



MD 4929 B1 2025.07.31

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) **4929** (13) **B1**
(51) Int.Cl: *C07D 405/04* (2006.01)
C07D 311/04 (2006.01)
C07D 249/08 (2006.01)
A01N 43/653 (2006.01)
A01P 3/00 (2006.01)

(12) BREVET DE INVENȚIE

În termen de 6 luni de la data publicării mențiunii privind hotărârea de acordare a brevetului de invenție, orice persoană poate face opoziție la acordarea brevetului	
(21) Nr. depozit: a 2024 0009 (22) Data depozit: 2024.04.22	(45) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului: 2025.07.31, BOPI nr. 7/2025
(71) Solicitant: INSTITUȚIA PUBLICĂ UNIVERSITATEA DE STAT DIN MOLDOVA, MD (72) Inventatori: MACAEV Fliur, MD; LUPAȘCU Galina, MD; STÂNGACI Eugenia, MD; ZVEAGHINȚEVA Marina, MD; SUCMAN Natalia, MD; LUPAȘCU Lucian, MD; GAVZER Svetlana, MD; CRISTEA Nicolae, MD (73) Titular: INSTITUȚIA PUBLICĂ UNIVERSITATEA DE STAT DIN MOLDOVA, MD	

(54) Bromură de 1-(2-terț-butil-2-hidroxi-7-fenil-2H-cromen-3-il)-4-(2-oxo-2-p-toliletil)-1H-1,2,4-triazol-4-*iu* care manifestă proprietăți antifungice contra *Fusarium culmorum*

(57) Rezumat:

Invenția se referă la chimie și agricultură, în special la un derivat cuaternar al 1,2,4-triazolului care manifestă proprietăți antifungice contra *Fusarium culmorum*.

Conform invenției, se revendică un compus nou din clasa 1,2,4 triazolilor - bromură de 1-(2-terț-butil-2-hidroxi-7-fenil-2H-cromen-3-il)-4-(2-oxo-2-p-toliletil)-1H-1,2,4-triazol-4-*iu*, care poate fi utilizat în calitate de compus activ contra fungului fitopatogen din specia *F. culmorum* – unul dintre agenții cauzali ai putregaiului de rădăcină.

Concentrațiile active variază în diapazonul 0,00125...0,02%.

Revendicări: 2

MD 4929 B1 2025.07.31

Descriere:**(Descrierea se publică în varianta redactată de solicitant)**

Invenția se referă la chimie și agricultură, în special la un derivat al 1,2,4-triazolului care manifestă proprietăți antifungice contra *Fusarium culmorum*.

Fungul *Fusarium culmorum* este un agent patogen al putregaiului de rădăcină la grâu și al maladiilor spicelor la culturile păioase (Lupașcu G. Putregaiul de rădăcină la grâul comun de toamnă. Chișinău: Print-Caro, 2020, 120 p.).

Conform datelor recente, contaminarea crescută a culturilor de grâu și orz din Europa și Asia cu micotoxine emergente, cum ar fi eniatinele sau bovericina, produse de fungii din genul *Fusarium* sugerează că această specie ar putea fi implicată în viitoarele crize de siguranță alimentară (Ponts N., Gautier Ch., Gouzy J. et al. Evolution of *Fusarium tricinctum* and *Fusarium avenaceum* mitochondrial genomes is driven by mobility of introns and of a new type of palindromic microsatellite repeats. BMC Genomics, BioMed Central, 2020, 21:358 ([10.1186/s12864-020-6770-2](https://doi.org/10.1186/s12864-020-6770-2)). Întrucât speciile *Fusarium*, ca și multe alte micromicete, ușor se adaptează la preparatele chimice utilizate în măsurile de protecție a plantelor, sunt deosebit de actuale cercetările cu privire la identificarea noilor compuși cu activitate antifungică, ceea ce a și prezentat scopul invenției.

Este cunoscut compusul (Z)-1-(2,4-diclorfenil)-5-metil-2-(1H-1,2,4-triazol-1-il)hex-1-en-3-onă ce manifestă activitate antifungică pentru fungii care frecvent cauzează putregaiul de rădăcină la culturile agricole [1].

Dezavantajele lui constau în aceea că acesta nu-și manifestă activitatea antifungică la un nivel suficient de înalt, de asemenea, are un preț de cost ridicat față de cel din cadrul invenției propuse.

Problema rezolvată de invenție constă în extinderea gamei de preparate din clasa 1,2,4-triazolilor cu activitate fungitoxică care ar putea fi utilizate cu succes în agricultură pentru combaterea putregaiului de rădăcină provocat de fungul *Fusarium culmorum*.

Esența invenției constă în aceea că se revendică un compus nou din clasa 1,2,4 triazolilor: bromură de 1-(2-terț-butil-2-hidroxi-7-fenil-2H-cromen-3-il)-4-(2-oxo-2-p-toliletil)-1H-1,2,4-triazol-4-iu (3) care manifestă activitatea antifungică contra fungului *Fusarium culmorum*. Concentrațiile active variază în diapazonul 0,0025...0,02%.

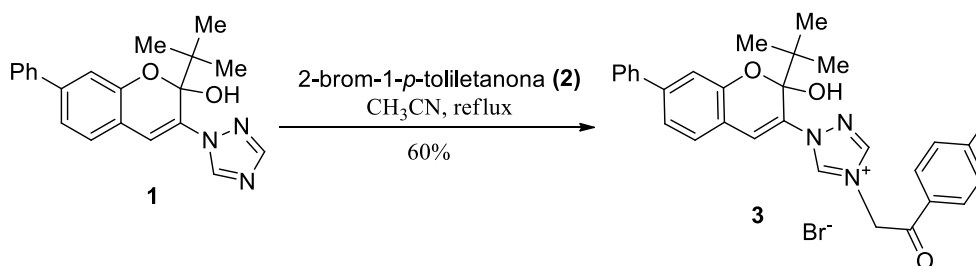
Avantajul invenției constă în accesibilitatea compusului revendicat și activitatea fungitoxică pronunțată.

Rezultatul tehnic constă în sporirea activității fungitoxice a compusului din invenție în raport cu soluția cea mai apropiată cu 23,1...1,3 % pentru tulpina 5 și cu 56,2...26,2 % pentru tulpina 19 a fungului *Fusarium culmorum* în ultimele zile de cultivare a fungilor, în diapazonul de concentrații de 0,0025...0,02%, respectiv.

Exemplu de realizare a invenției

Substanța inițială 2-terț-butil-7-fenil-3-(1H-1,2,4-triazol-1-il)-2H-cromen-2-ol (1) a fost obținută prin metoda descrisă în literatură (MD 4665 B1 2019.12.31; Zveaghintseva M., Stingaci E., Pogrebnoi S., Smetanscaia A., Valica V., Uncu L., Kravtsov V., Melnic E., Petrou A., Glamoclija J., Sokovic M., Carazo A., Mladenka P., Poroikov V., Geronikaki A., Macaev F.Z. Chromenol Derivatives as Novel Antifungal Agents: Synthesis, In Silico and In Vitro Evaluation. Molecules, 2021, nr. 26(14), 4304), care a fost supusă cuaternizării cu 2-brom-1-p-toliletanonă (2), care a fost procurat de la firma Aldrich.

Sinteza compusului revendicat (3) decurge conform schemei de reacție:



Amestecul reactant alcătuit din părți echimolare 3,47 g (0,01 mol) de 2-terț-butil-7-fenil-3-(1H-1,2,4-triazol-1-il)-2H-cromen-2-ol (1) și 2-brom-1-p-toliletanonă 2,13 g (0,01 mol) (2) în 150 mL acetonitril, se fierbe timp de 15 ore (control CSS), apoi din soluția reactantă se evaporă excesul de

acetonitril în vid. Rămășița se cristalizează din alcool. Substanța cristalină (3) a fost uscată la temperatura camerei.

Randamentul reacției este de 3,36 g (60%).

Punctul de topire – 184-185°C.

5 Structura compusului (3) este confirmată pe baza analizei elementelor și datelor spectrale:

$C_{30}H_{30}BrN_3O_3$, M: 560,48.

Calculat (%): C: 64,29; H: 5,40; N: 7,50

Stabilit (%): C: 63,81; H: 5,08; N: 7,27

10 IR (ν, cm^{-1}): 3344, 3097, 2959, 1697, 1607, 1576, 1480, 1340, 1259, 1204, 1116, 1077, 990, 911, 890, 820, 760, 718, 699.

Obținerea unui singur izomer (3) este confirmată prin metoda RMN, în special prin prezența în spectrul RMN ^1H a două dublete ale grupărilor metilen la 6,23 și 6,16 ppm., semnale singlet ale grupării hidroxil și doi triazoli la 8,52, 10,40 și 9,47 ppm., respectiv.

15 Spectrul RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6 , δ , ppm, J/Hz): δ 10,40 (s, 1H, 1,2,4-triazol), 9,47 (s, 1H, 1,2,4-triazol), 8,52 (s, 1H, OH), 8,00 (d, $J=8,1$, 2H), 7,83 (d, $J=2,3$, 1H), 7,75 – 7,64 (m, 4H), 7,47 (dd, $J=8,0$, 6,2, 4H), 7,40 – 7,31 (m, 1H), 7,10 (d, $J=8,5$, 1H), 6,23 (d, $J=17,0$, 1H, CH_2), 6,16 (d, $J=17,0$, 1H, CH_2), 2,45 (s, 3H, CH_3), 0,90 (s, 9H, $(\text{CH}_3)_3$).

20 Spectrul RMN ^{13}C (101 MHz, DMSO- d_6 , δ , ppm): δ 190,19(CO), 152,89, 146,45 (triazol), 145,98, 144,48(triazol), 139,46, 133,84, 131,35, 130,77, 130,22, 129,45, 128,83, 127,99, 127,68, 127,20, 126,80, 126,68, 118,07, 115,67, 103,47(quad.C), 54,84 (grupa metilen), 43,52(quad.C), 24,65 (CH_3) $_3$), 21,84 (CH_3). Structura obținută se confirmă prin datele IR și RMN.

25 Izolarea fungului *F. culmorum* – agent cauzal al putregaiului de rădăcină la grâu s-a efectuat în condiții aseptice pe mediu PDA (Potatoes Dextrosis Agar) (Методы экспериментальной микологии. Киев: Наукова думка, 1982, 550 p.). Acest mediu este unul din cele mai optime medii pentru izolarea, cultivarea și cercetarea caracterelor morfologo-culturale ale patogenilor menționați.

Identificarea patogenului s-a efectuat în baza caracteristicilor macro- și microscopice conform determinatoarelor (Билай В.И. Фузариин. Киев: Наукова думка, 1977, 422 p.; Barnett H.L., Hunter B.B. Illustrated Genera of Imperfect Fungi, Fourth Edition. APS Press, 1998, 218 p.).

30 Procedeu de obținere a tulpinilor de *Fusarium culmorum*

Se respectă următoarele etape:

- i) colectarea plantelor de grâu comun cu simptome de putregai de rădăcină/bazei tulpinii în condiții de câmp la etapa de maturitate tehnică a boabelor;
- ii) secționarea bazei tulpinii cu semne de necroză în fragmente mici;
- 35 iii) uscarea fragmentelor prelevate între 2 foi de hârtie de filtru și menținerea lor în soluție de hipoclorit de calciu de 2%, timp de 5 min, prin agitare continuă a conținutului;
- iv) clătirea fragmentelor de țesut de 3 ori în apă sterilă cu ulterioara uscare a lor;
- v) plasarea fragmentelor de țesut în cutii Petri, pe mediu Potato Dextrose Agar (PDA) și menținerea lor timp de 4-5 zile la temperatura 23-24°C;
- 40 vi) din coloniile apărute pe mediu PDA, mici fragmente de miceliu se prelevează și se transferă în eprubete care conțin același mediu, în care vor crește timp de 10-14 zile, după care se va identifica specia de fung pe baza determinantului micologic.

45 Tulpinile de *Fusarium culmorum* se deosebesc semnificativ pe baza caracterelor morfobiologice: *F. culmorum*/5 are un miceliu maro-roșcat, cu creștere concentrică a coloniei; *F. culmorum*/19 are miceliu de culoare albă, creștere uniformă, mai încetinită decât a fungului *F. culmorum*/5.

Compușii din invenție și soluția cea mai apropiată au fost suplimentați la mediul nutritiv PDA în concentrațiile 0,02 (1); 0,01 (2); 0,005 (3); 0,0025 (4); care s-a aseptizat prin autoclavare la presiunea de 0,5 atm timp de 30 min. Martorul indicat în tabel reprezintă mediul nutritiv PDA nesuplimentat cu preparat. Mediul aseptizat, fierbinte s-a turnat în cutii Petri, câte 10 mL în fiecare. După solidificarea mediului, fungii au fost însămânțați – câte un disc de PDA cu miceliul fungului, cu diametrul de 4 mm în centrul cutiei Petri. Cutiile cu fungii însămânțați, au fost menținute în termostat la temperatura de 24°C. Înregistrarea diametrului coloniilor (câte 2 diametre perpendiculare, media cărora a servit ca indice biometric) s-a efectuat din ziua 3-4 de la însămânțare, în dependență de viteza de creștere a fungilor. Experimentele s-au efectuat în 5 repetiții. Datele au fost prelucrate statistic în pachetul de soft STATISTICA 7.

Tabelul 1

Influența derivatului triazolic asupra creșterii tulpinii 5 a fungului *Fusarium culmorum*

Varietă	Concentrație, %	Ziua 6		Ziua 7	
		Diametrul coloniei, mm	% din martor	Diametrul coloniei, mm	% din martor
Martor	-	70,9±0,8	-	80,4±0,9	-
Invenția	0,02	7,1±2,1*	10,1	8,4±2,8*	10,4
	0,01	22,1±0,9*	31,2	28,5±2,1*	35,4
	0,005	39,9±2,6*	56,3	49,9±3,6*	62,1
	0,0025	54,5±0,2*	76,9	63,9±0,1*	79,5
Soluția cea mai apropiată	0,02	23,0±1,3*	32,4	27,0±2,2*	33,5
	0,01	44,3±0,6*	62,5	52,3±0,9*	65,1
	0,005	50,0±0,4*	70,5	59,0±1,2*	73,4
	0,0025	56,4±0,3*	79,5	65,0±0,2*	80,8

*- diferență de martor statistic semnificativă, p<0,05.

- 5 Conform rezultatelor prezentate, se atestă sporirea activității fungitoxice în ultima zi de cultivare a compusului din invenție în raport cu cel din cadrul soluției celei mai apropiate asupra tulpinii 5 a fungului *Fusarium culmorum* cu 23,1 ...1,3% în intervalul de concentrații 0,02....0,0025%, respectiv.

Tabelul 2

Influența derivatului triazolic asupra creșterii tulpinii 19 a fungului *Fusarium culmorum*

10

Varietă	Concentrație, %	Ziua 6		Ziua 7	
		Diametrul coloniei, mm	% din martor	Diametrul coloniei, mm	% din martor
Martor	-	42,3±2,2	-	47,8±2,9	-
Invenția	0,02	3,8±0,3*	8,9	3,8±0,3* ^v	7,9
	0,01	20,4±3,4*	48,2	31,4±3,3*	65,7
	0,005	29,5±1,8*	69,7	37,5±2,4*	78,4
	0,0025	34,1±0,6*	80,6	40,4±2,8*	84,5
	0,00125	37,6±2,2*	88,8	45,9±2,1*	96,1
Soluția cea mai apropiată	0,02	23,6±1,6*	55,8	30,6±2,0*	64,1
	0,01	33,6±2,4*	79,4	38,8±4,3*	81,2
	0,005	40,9±4,1*	96,7	47,5±5,1*	99,3
	0,0025	47,5±1,4*	112,3	55,1±2,3*	115,3
	0,00125	50,4±0,8*	119,2	58,4±0,8*	122,3

*- diferență de martor statistic semnificativă, p<0,05.

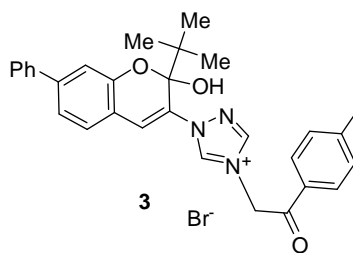
- 15 Conform rezultatelor prezentate, se atestă sporirea activității fungitoxice în ultima zi de cultivare a compusului din invenție în raport cu cel din cadrul soluției celei mai apropiate asupra tulpinii 19 a fungului *Fusarium culmorum* cu 56,2...26,2% în intervalul de concentrații 0,02....0,00125%, respectiv.

(56) Referințe bibliografice citate în descriere:

1. MD 4823 B1 2022.09.30

(57) Revendicări:

1. Bromură de 1-(2-terț-butil-2-hidroxi-7-fenil-2*H*-cromen-3-il)-4-(2-oxo-2-*p*-toliletil)-1*H*-1,2,4-triazol-4-*iu* cu formula:



totodată spectrul RMN ^1H al compusului conține două dublete ale grupărilor metilen la 6,23 și 6,16 ppm., semnale singlet ale grupării hidroxil și doi triazoli la 8,52, 10,40 și 9,47 ppm., respectiv.

2. Compus, conform revendicării 1, **caracterizat prin aceea că** manifestă proprietăți antifungice contra *Fusarium culmorum*.