



MD 2892 G2 2005.11.30

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) **2892** (13) **G2**
(51) Int. Cl.: *A01G 7/06* (2006.01)
A01G 17/00 (2006.01)
C07J 71/00 (2006.01)

(12) **BREVET DE INVENȚIE**

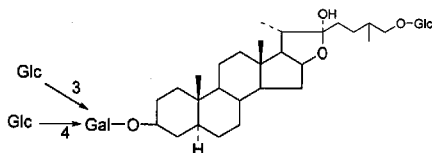
<p>(21) Nr. depozit: a 2005 0101 (22) Data depozit: 2005.04.06</p>	<p>(45) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului: 2005.11.30, BOPI nr. 11/2005</p>
<p>(71) Solicitanți: INSTITUTUL DE FIZIOLOGIE A PLANTELOR AL ACADEMIEI DE ȘTIINȚE A REPUBLICII MOLDOVA, MD; INSTITUTUL DE GENETICĂ AL ACADEMIEI DE ȘTIINȚE A REPUBLICII MOLDOVA, MD (72) Inventatori: CHIRILOV Alexandru, MD; ȘVEȚ Stepan, MD; CHINTEA Pavel, MD; COZMIC Raisa, MD (73) Titulari: INSTITUTUL DE FIZIOLOGIE A PLANTELOR AL ACADEMIEI DE ȘTIINȚE A REPUBLICII MOLDOVA, MD; INSTITUTUL DE GENETICĂ AL ACADEMIEI DE ȘTIINȚE A REPUBLICII MOLDOVA, MD</p>	

(54) **Trioizidă 3-O-{{β -D-glucopiranozil(1→4)}-[β-D-glucopiranozil(1→3)]-β-D-galactopiranozidă}-(25R)-5α-furostan-3β,22α,26-triol-[26-O-β-D-glucopiranozidă] - regulator al metabolismului hidric al plantelor**

(57) Rezumat:

Invenția se referă la o substanță biologic activă nouă din clasa glicozidelor steroidice și poate fi aplicată în agricultură, în particular în viticultură, pentru reglarea metabolismului hidric al plantelor.

Se propune o substanță biologic activă nouă, trioizida 3-O-{{β-D-glucopiranozil(1→4)}-[β-D-glucopiranozil(1→3)]-β-D-galactopiranozidă}-(25R)-5α-furostan-3β,22α,26-triol-[26-O-β-D-glucopiranozidă] cu formula structurală



unde Glc este glucoza, Gal - galactoza, în calitate de regulator al metabolismului hidric al plantelor.
Revendicări: 1

10

15

MD 2892 G2 2005.11.30

MD 2892 G2 2005.11.30

3

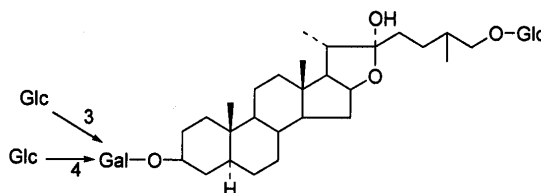
Descriere:

Invenția se referă la o substanță biologic activă nouă din clasa glicozidelor steroidice și poate fi aplicată în agricultură, în particular în viticultură, pentru reglarea metabolismului hidric al plantelor.

5 Este cunoscută glicozida steroidică 3-O- $\{[\alpha\text{-L-ramnopirazonil}(1\rightarrow3)]\text{-}[\beta\text{-D-glucopiranozil}(1\rightarrow2)]\text{-}\beta\text{-D-glucopiranozidă}\}\text{-}[(25\text{R})\text{-furost-5-en-3}\beta, 22\alpha, 26\text{-triol}]\text{-}26\text{-O-}\beta\text{-D-glucopiranozidă}$, care posedă proprietăți de reglare a metabolismului hidric al plantelor [1]. Însă această substanță este puțin eficientă.

Problema pe care o soluționează invenția constă în obținerea unei glicozide noi cu activitate de regulator al metabolismului hidric al plantelor.

10 Se propune o substanță biologic activă nouă, triozida 3-O- $\{[\beta\text{-D-glucopiranozil}(1\rightarrow4)]\text{-}[\beta\text{-D-glucopiranozil}(1\rightarrow3)]\text{-}\beta\text{-D-galactopiranozidă}\}\text{-}(25\text{R})\text{-}5\alpha\text{-furostan-3}\beta, 22\alpha, 26\text{-triol-}[26\text{-O-}\beta\text{-D-glucopiranozidă}]$ (hiosciamozida F) cu formula structurală



15

unde Glc este glucoza, Gal – galactoză, în calitate de regulator al metabolismului hidric al plantelor.

Formula de structură stabilită nu este descrisă în literatura de specialitate; proprietățile fizico-chimice ale substanței: $t_{\text{op.}}=192\text{...}193^{\circ}\text{C}$, $[\alpha]_{\text{D}}^{20} - 89^{\circ}$ (1,0; H_2O), spectrul IR $3100, 900\text{ cm}^{-1}$ (o bandă largă caracteristică pentru glicozidele șirului furostanolic).

20

Hiosciamozida F este un praf de culoare cafenie deschisă, care se dizolvă bine în apă, alcoolii (etilic, metilic, butilic), nu se dizolvă în acetonă, clorofom, eter dietilic.

25

La hidroliza acidă a hiosciamozidei F a fost identificată prin metode fizico-chimice tigogenina în calitate de aglicon: $t_{\text{op.}}=202\text{...}203^{\circ}\text{C}$, $[\alpha]_{\text{D}}^{20} - 65^{\circ}$ (C 1,0; CHCl_3). Spectrul IR: $850, 900>920, 965\text{ cm}^{-1}$ (prezența benzilor de absorbție $900>920$ indică existența lanțului spirocetalic al șirului 25R), $[\text{M}]^+ 416$. Spectrul ^{13}C RMN al agliconului extras corespunde cu datele din literatură pentru tigogenină. Deoarece hiosciamozida F este o glicozidă din șirul furostanolic, agliconul lui nativ este (25R)-5 α -furostan-3 β , 22 α , 26-triol.

30

În partea oligozaharidică a hiosciamozidei F, utilizând cromatografierea în strat subțire (CSS) și cromatografia pe hârtie, au fost identificate glucoza și galactoză, iar cu ajutorul CGL a acetatilor derivaților aldonitrici ai monozaharidelor obținute s-a constatat că aceste monozaharide sunt în raport de 3:1.

35

Consecutivitatea unirii monozaharidelor în lanțul glucidic a fost stabilită prin hidroliza acidă parțială, iar analiza produselor obținute în rezultatul metilării și metanolizei hiosciamozidei F permițate a permis determinarea dimensiunii ciclurilor oxidative și succesiunea de unire a monozaharidelor între ele.

40

În baza rezultatelor metilării și hidrolizei parțiale a hiosciamozidei F s-a constatat că lanțul glucidic al glicozidei este ramificat și la galactoză, în pozițiile 4 și 3, care este unită nemijlocit de aglicon, sunt unite două molecule de glucoză. O moleculă de glucoză este unită în poziția C-26 a agliconului, ceea ce s-a determinat prin scindarea fermentativă a glicozidei în rezultatul căreia glucoza din poziția C-26 a agliconului ușor se desprinde și glicozida se transformă în analogul său spirostanolic. Spectrul ^{13}C RMN a confirmat această structură. În spectru s-au determinat deplasări chimice în câmp slab ale atomilor C-4 și C-3 ai galactozei și atomilor C-3 și C-26 ai agliconului (efectul glicozilării).

45

În spectrul $^{13}\text{C}/^1\text{H}$ COSY al glicozidei s-a evidențiat o poziție cu câmp slab a semnalelor C-3 și C-4 ale galactozei în comparație cu rămășițele substituie corespunzătoare, ceea ce indică că ele sunt substituie la atomii de carbon indicați. S-a demonstrat apropierea spațială H-1 a galactopiranozidei și H-3 a agliconului, H-1 a primei glucopiranozide și H-3 a galactopiranozidei, H-1 a glucopiranozidei a doua și H-4 a galactopiranozidei, H-1 a glucopiranozidei a treia și H-26 a agliconului.

50

Rezultatul invenției constă în aceea că a fost obținută o glicozidă steroidică nouă, care posedă acțiune de reglare a metabolismului hidric al plantelor mai pronunțată în comparație cu cea mai apropiată soluție; concomitent contribuie la extinderea asortimentului de glicozide steroidice care pot fi utilizate în agricultură în calitate de substanțe biologic active de proveniență naturală.

MD 2892 G2 2005.11.30

4

5 Triozida 3-O{[β-D-glucopirazonil(1→4)]-[β-D-glucopirazonil(1→3)]-β-D-galactopiranozidă}-(25R)-
5α-furostan-3β,22α,26-triol-[26-O-β-D-glucopiranozidă] (hiosciamozida F) a fost obținută prin urmă-
torul procedeu: semințele de *Hyosciamus niger L.* (0,5 kg) uscate la aer liber au fost mărunțite, degresate
cu cloroform (2 ori x 1 litru) și supuse extragerii complete în soluție de 70% de etanol apos la încălzire (3
10 ori x 1 litru). Extractele obținute au fost unite, evaporate până la soluție apoasă care a fost extrasă cu
butanol (4 ori x 150 ml). Extractele butanolice concentrate în condiții de vid până la sediment uscat au
fost diluate în 50 ml de etanol. Din soluția obținută au fost precipitate glicozidele sumare cu acetona.
Sedimentul a fost separat prin filtrare și uscat în condiții de vid. Masa glicozidelor sumare obținute a
constituit 13,6 g sau 2,72% din masa materiei prime inițiale. Prin aplicarea filtrării de gel pe sefadexul G-
25 și cromatografierii pe o coloană cu silicagel L 40/100 μ suma de glicozide a fost separată în fracții a
câte 10 ml. Controlul asupra separării a fost efectuat prin cromatografierea în strat subțire și revelarea
componenților cu reactivele Sanie și Ehrlich. S-au obținut 0,51 g de hiosciamozidă F ce constituie 1,02%
din greutatea produsului vegetal inițial.

15 Susceptibilitatea invenției la aplicarea în agricultură în scopul reglării metabolismului hidric al
plantelor poate fi argumentată prin următorul exemplu.

 În anii 2003-2004 au fost efectuate cercetări asupra proprietății glicozidelor steroidice triozidei 3-
O{[β-D-glucopirazonil(1→4)]-[β-D-glucopirazonil(1→3)]-β-D-galactopiranozidă}-(25R)-5α-furostan-
3β, 22α, 26-triol-[26-O-β-D-glucopiranozidă](hiosciamozida F) și 3-O{[α-L-ramnopirazonil(1→3)]-[β-
20 D-glucopiranozil(1→2)]-β-D-glucopiranozidă}-(25R)-furost-5-en-3β,22α,26-triol-[26-O-β-D-glucopira-
nozidă] (Mestim) de reglare a metabolismului hidric al plantelor. Ca obiect de studiu au servit plante de
viță de vie de soiurile Muscat Iantarnâi și Chardonnay. Experimentele au fost efectuate în condiții de
câmp pe microparcele. Au fost organizate următoarele variante în trei repetiții, câte 15 plante în fiecare:

- 25 1 - plante tratate cu apă – martor;
2 - plante tratate cu soluție apoasă de Mestim în concentrație de 0,001% - cea mai apropiată soluție;
3 - plante tratate cu soluție apoasă de hiosciamozidă F în concentrație de 0,01% - invenția propusă.

 Tratarea plantelor a fost efectuată cu 10 zile până la înflorirea în masă. În scopul elucidării influenței
hiosciamozidei F asupra metabolismului hidric au fost determinați următorii indici: conținutul de apă,
deficitul hidric, capacitatea țesuturilor frunzelor de a reține apă, intensitatea transpirației.

30 Datele experimentale din tabelele 1...4 denotă că hiosciamozida F manifestă proprietăți de substanță
biologic activă, are o acțiune benefică esențială asupra componentelor metabolismului hidric contribuind
la optimizarea stării hidrice a plantelor, sporește capacitatea de reținere a apei (tab. 1), ce condiționează
consumul mai econom al apei, diminuarea pierderilor ei prin transpirație.

Tabelul 1

35 Influența SBA asupra capacității de reținere a apei a țesuturilor frunzelor de viță de vie (apa eliminată
timp de 2 ore, în % din conținutul ei total)

Variante	s. Muscat Iantarnâi		s. Chardonnay	
	15.06	27.07	15.06	11.08
Martor	16,96	33,94	11,20	23,86
Mestim 0,001%	15,47	32,02	10,41	16,89
Hiosciamozida F 0,01%	14,09	25,12	8,54	12,09

40 Aceasta se confirmă prin rezultatele din tabelul 2 referitoare la valorile deficitului hidric și din tabelul 3,
unde sunt prezentate rezultatele determinării intensității transpirației, care indică concludent acțiunea
antitranspiratorică pronunțată a substanței propuse în invenție.

Tabelul 2

Deficitul hidric al frunzelor plantelor de viță de vie în funcție de acțiunea SBA, %

Variante	s. Muscat Iantarnâi		s. Chardonnay	
	15.06	27.07	15.06	11.08
Martor	7,59	10,44	11,06	9,31
Mestim 0,001%	7,36	10,00	10,20	7,00
Hiosciamozida F 0,01%	6,12	9,00	9,07	6,56

MD 2892 G2 2005.11.30

5

Tabelul 3

Influența SBA asupra intensității transpirației plantelor de viță de vie, g/m²/h

Variante	s. Muscat Iantarnâi		s. Chardonnay	
	15.06	27.07	15.06	11.08
Martor	185,8	178,1	141,5	175,2
Mestim 0,001%	166,2	153,9	131,2	132,7
Hiosciamozida F 0,01%	135,8	135,4	116,8	119,4

- 5 Intensitatea transpirației plantelor soiului Muscat Iantarnâi în perioada de înflorire (15.06) din varianta martor a constituit 185,8 g/m²/h, în varianta Mestim (cea mai apropiată soluție) – 166,2 g/m²/h, iar în varianta hiosciamozida F (invenție) – 135,8 g/m²/h; la plantele soiului Chardonnay acest indice era caracterizat prin următoarele valori: 141,6; 131,2 și, respectiv, 116,8 g/m²/h. În perioada de pârğă (s. Muscat Iantarnâi 27.07, s. Chardonnay 11.08) s-a constatat aceeași legitate de diminuare a intensității transpirației în funcție de variantele de tratare a plantelor.

10 Modificările capacității de reținere a apei și intensității transpirației condiționate de acțiunea hiosciamozidei F conduc la menținerea conținutului de apă în țesuturile plantelor la un nivel mai înalt față de plantele din variantele martor și Mestim (tab. 4).

Tabelul 4

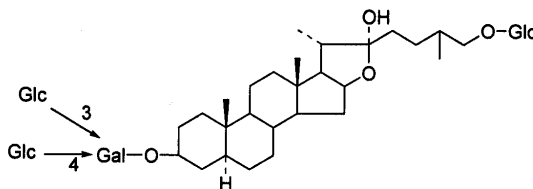
- 15 Influența SBA asupra conținutului de apă în frunzele plantelor de viță de vie, %

Variante	s. Muscat Iantarnâi		s. Chardonnay	
	15.06	27.07	15.06	11.08
Martor	64,54	67,62	64,82	66,00
Mestim 0,001%	66,12	67,15	65,20	65,40
Hiosciamozida F 0,01%	66,96	67,63	66,20	67,30

(57) Revendicare:

20

Triozidă 3-O-[[β-D-glucopiranozil(1→4)]-[[β-D-glucopiranozil(1→3)]-β-D-galactopiranozidă]- (25R)-5α-furostan-3β,22α,26-triol-[26-O-β-D-glucopiranozidă] cu formula structurală



- 25 unde Glc este glucoza, Gal - galactoza, în calitate de regulator al metabolismului hidric al plantelor.

(56) Referințe bibliografice:

1. MD 2026 G2 2003.05.31

Șef Secție: GUȘAN Ala
Examinator: BANTAȘ Valentina
Redactor: LOZOVANU Maria