



MD 1192 Z 2018.04.30

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) **1192** (13) **Z**
(51) Int.Cl: **A01N 31/00** (2006.01)
C07H 1/08 (2006.01)
C07H 17/07 (2006.01)
C07D 311/30 (2006.01)
C12P 19/44 (2006.01)
A01P 3/00 (2006.01)

(12) **BREVET DE INVENȚIE
DE SCURTĂ DURATĂ**

(21) Nr. depozit: s 2017 0010 (22) Data depozit: 2017.02.06	(45) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului: 2017.09.30, BOPI nr. 9/2017
(71) Solicitant: INSTITUTUL DE GENETICĂ, FIZIOLOGIE ȘI PROTECȚIE A PLANTELOR AL ACADEMIEI DE ȘTIINȚE A MOLDOVEI, MD (72) Inventatori: ȘUBINA Victoria, MD; MAȘCENCO Natalia, MD; BOROVSKAIA Alla, MD; GUREV Angela, MD; ROȘCA Ilie, MD (73) Titular: INSTITUTUL DE GENETICĂ, FIZIOLOGIE ȘI PROTECȚIE A PLANTELOR AL ACADEMIEI DE ȘTIINȚE A MOLDOVEI, MD	

(54) Preparat glicozidic din plante de *Veronica officinalis* L. cu acțiune fungicidă
asupra *Alternaria alternata*

(57) Rezumat:

1
Invenția se referă la preparatele fungicide,
și anume la un preparat glicozidic din plante de
Veronica officinalis L. cu acțiune fungicidă
asupra *Alternaria alternata*.

Preparatul, conform invenției, conține o
soluție apoasă de extract sumar de glicozide
din plante de *Veronica officinalis* L. cu
concentrația de $5 \times (10^{-4} \dots 10^{-2})\%$, obținut din
partea aeriană a plantei prin extragere triplă cu

2
soluție hidrometanolică, concentrarea
extractului prin distilare in vid, extragerea
dublă cu benzen a substanțelor balast,
cromatografierea extractului purificat pe
coloană cu poliamidă cu eluarea în sistemul
apă-metanol în raport de 4:1 și concentrarea
ulterioară a eluatelor până la reziduu uscat.

Revendicări: 1

Figuri: 2

MD 1192 Z 2018.04.30

(54) Glycoside preparation from *Veronica officinalis* L. plants with fungicidal action on *Alternaria alternata*

(57) Abstract:

1
The invention relates to fungicidal preparations, namely to a glycoside preparation from *Veronica officinalis* L. plants with fungicidal action on *Alternaria alternata*.

The preparation, according to the invention, comprises an aqueous solution of total extract of glycosides from *Veronica officinalis* L. plants with a concentration of $5 \times (10^{-4} \dots 10^{-2})\%$, obtained from the aboveground part of the plant by triple extraction with an aqueous

2
methanol solution, concentration of extract by vacuum distillation, double benzene extraction of ballast substances, chromatography of purified extract on polyamide column with elution in the water-methanol system in a ratio of 4:1 and subsequent concentration of eluates to a dry residue.

Claims: 1

Fig.: 2

(54) Гликозидный препарат из растений *Veronica officinalis* L. с фунгицидным действием на *Alternaria alternata*

(57) Реферат:

1
Изобретение относится к фунгицидным препаратам, а именно к гликозидному препарату из растений *Veronica officinalis* L. с фунгицидным действием на *Alternaria alternata*.

Препарат, согласно изобретению, содержит водный раствор суммарного экстракта гликозидов из растений *Veronica officinalis* L. с концентрацией $5 \times (10^{-4} \dots 10^{-2})\%$, полученного из надземной части растения путем тройного экстрагирования воднометанольным раствором,

2
концентрирования экстракта при дистилляции в вакууме, двойного бензольного экстрагирования балластных веществ, хроматографирования очищенного экстракта на полиамидной колонне с элюированием в системе вода-метанол в соотношении 4:1 и последующего концентрирования элюатов до сухого остатка.

П. формулы: 1

Фиг.: 2

Descriere:**(Descrierea se publică în redacția solicitantului)**

- 5 Invenția se referă la preparatele fungicide, și anume la un preparat glicozidic din plante de *Veronica officinalis* L. cu acțiune fungicidă asupra *Alternaria alternata*.
Este cunoscut extractul sumar de glicozide iridoidice (genistifoliozide), obținut prin extragere cu soluție hidrometanolică la fierbere din plante de *Linaria genistifolia* L. Mill, pentru tratarea plantelor de grâu în faza de înfrățire [1].
- 10 Dezavantajul produsului constă în accesibilitatea limitată a materiei prime, totodată acesta a fost testat pe grâu de primăvară față de agenții fitopatogeni *Pyrenophora teres* Drechsler și *Fusarium* spp.
- Problema pe care o rezolvă invenția constă în lărgirea sortimentului de substanțe naturale, cu activitate fungicidă sporită, ecologic inofensivă și accesibile pentru
- 15 combaterea *Alternaria alternata* la culturile legumicole.
- Invenția soluționează problema prin aceea că se propune un preparat glicozidic din plante de *Veronica officinalis* L. cu acțiune fungicidă asupra *Alternaria alternata*, care conține o soluție apoasă de extract sumar de glicozide din plante de *Veronica officinalis* L. cu concentrația de $5 \times (10^{-4} \dots 10^{-2})\%$, obținut din partea aeriană a plantei prin
- 20 extragere triplă cu soluție hidrometanolică, concentrarea extractului prin distilare în vid, extragerea dublă cu benzen a substanțelor de balast, cromatografierea extractului purificat pe coloană cu poliamidă cu eluarea în sistemul apă-metanol în raport de 4:1 și concentrarea ulterioară a eluatelor până la reziduu uscat.
- Rezultatul tehnic al invenției constă în lărgirea sortimentului de substanțe biologic active obținute din materie primă vegetală accesibilă, cu acțiune fungicidă, inofensivă pentru organismele vii, utilizate pentru reducerea răspândirii bolilor provocate de fungii *Alternaria alternata* la culturile legumicole.
- 25 Preparatul se obține în felul următor: masa vegetală proaspătă de planta *Veronica officinalis* L. (partea aeriană), în cantitate de 400 g, se mărunțește și se extrage cu soluție de metanol (4 litri) de 3 ori la încălzire (35...40°C). Extractele se unifică, se concentrează prin distilare în vid la temperatura de 40°C, până la reziduu apos. Reziduu se extrage cu benzen de 2 ori câte 300 ml pentru eliminarea substanțelor de balast. Restul apos se concentrează în vid până la volumul de 100 ml, după care se aplică pe coloana 4x50 cm cu poliamidă (Woelm). Coloana este eluată cu apă-metanol în raport de 4:1.
- 30 Eluatele sunt combinate conform mobilității cromatografice și concentrate prin distilare în vid până la uscat. Ca rezultat se obțin 3,25 g de praf amorf de culoare maro. Extractul este analizat cu ajutorul cromatografiei în strat subțire pe plăci Silufol. Reacțiile calitative (cu reagenții Sahnje și proba Shinod) au confirmat prezența glicozidelor flavonoidice în extractul din *Veronica officinalis*. Constantele fizico-chimice și datele spectrale înregistrate pentru compușii obținuți coincid cu datele respective din literatură pentru: 6-hidroxiluteolin-7-O-glucopiranozidă, cinarozidă, apigenin-7-O-glucopiranozidă și apigenin-7-O-glucuronidă.
- 35 Pentru identificarea sumei de glicozide a fost înregistrat spectrul FT-IR (KBr), unde valorile $\nu_{\max}$ [cm⁻¹] corespund unui amestec, în care predomină glicozidele flavonoidice: 3362, 3339 (-OH); 2924, 2854 (-CH- și -CH₂ din zaharide); 1706 (>C=O cetona aromatică); 1629, 1602, 1515 (C=C cicluri aromatice); 1447, 1374 (-OH din fenoli), 1260 (grupa =C-O-C din flavonol), 1159, 1062, 1033, 918 (C-O-C din zaharide), 813, 782, 687, 613 (cicluri aromatice substituite) (vezi figura 1).
- 40 Exemplu de realizare a invenției
- În condiții de laborator (*in vitro*), pentru aprecierea proprietăților fungicide ale extractului sumar (Σ) de glicozide din *Veronica officinalis* L. a fost aplicat procedeul discurilor de hartie. Mediul nutritiv agar cartof-glucoză a fost topit și inoculat cu *Alternaria alternata*. Câte 20 ml de mediu inoculat a fost turnat în cești Petri sterile. După solidificare, pe suprafața mediului au fost plasate discuri de hârtie de filtru îmbibate
- 55 cu soluții apoase de Σ de glicozide din *Veronica officinalis* L. cu diferite părți de masă: $5 \times 10^{-6}\%$, $5 \times 10^{-5}\%$, $5 \times 10^{-4}\%$, $5 \times 10^{-3}\%$, $5 \times 10^{-2}\%$ (invenția) și cu soluție de genistifoliozide în concentrație de $5 \times 10^{-4}\%$ (cea mai apropiată soluție). Discurile îmbibate cu apă au servit ca martor. Experimentul a fost efectuat în trei replici. Ceștile

Petri au fost ținute în termostat la temperatura de 25°C timp de 7 zile. Diametrul zonelor de inhibiție a fungilor a fost măsurat cu ajutorul unei rigle.

- Conform rezultatelor înregistrate, cea mai înaltă activitate fungică o manifestă soluția de Σ de glicozide din *Veronica officinalis* cu concentrația de $5 \times 10^{-2}\%$. Diametrul zonei de inhibiție a fungilor *Alternaria alternata* este de 5,4 ori mai mare comparativ cu varianta martor și de 1,47 ori mai mare comparativ cu cea mai apropiată soluție (vezi tabelul, figura 2).

Tabel

Influența glicozidelor asupra dezvoltării fungilor *Alternaria alternata*

Varianta	Concentrația, %	Diametrul zonei de inhibiție a fungilor		
		mm	comparativ cu martorul	comparativ cu cea mai apropiată soluție
1. Σ de glicozide din <i>V.officinalis</i>	5×10^{-6}	5,6 $\pm$ 0,9	<1,12	0,3
2. Σ de glicozide din <i>V.officinalis</i>	5×10^{-5}	5,00 $\pm$ 0	0	0,27
3. Σ de glicozide din <i>V.officinalis</i>	5×10^{-4}	24,6 $\pm$ 0,9	<4,9	1,34
4. Σ de glicozide din <i>V.officinalis</i>	5×10^{-3}	22,0 $\pm$ 2,0	<4,4	1,20
5. Σ de glicozide din <i>V.officinalis</i>	5×10^{-2}	27,0 $\pm$ 0,7	<5,4	1,47
6. Σ de genistifoliozide	5×10^{-4}	18,3 $\pm$ 1,8	<3,6	
7. Martor H ₂ O	-	5,00 $\pm$ 0		

10

(56) Referințe bibliografice citate în descriere:

1. MD 902 Y 2015.05.31

(57) Revendicări:

Preparat glicozidic din plante de *Veronica officinalis* L. cu acțiune fungică asupra *Alternaria alternata*, care conține o soluție apoasă de extract sumar de glicozide din plante de *Veronica officinalis* L. cu concentrația de $5 \times (10^{-4} \dots 10^{-2})\%$, obținut din partea aeriană a plantei prin extragere triplă cu soluție hidrometanolică, concentrarea extractului prin distilare în vid, extragerea dublă cu benzen a substanțelor balast, cromatografierea extractului purificat pe coloană cu poliamidă cu eluarea în sistemul apă-metanol în raport de 4:1 și concentrarea ulterioară a eluatelor până la reziduu uscat.

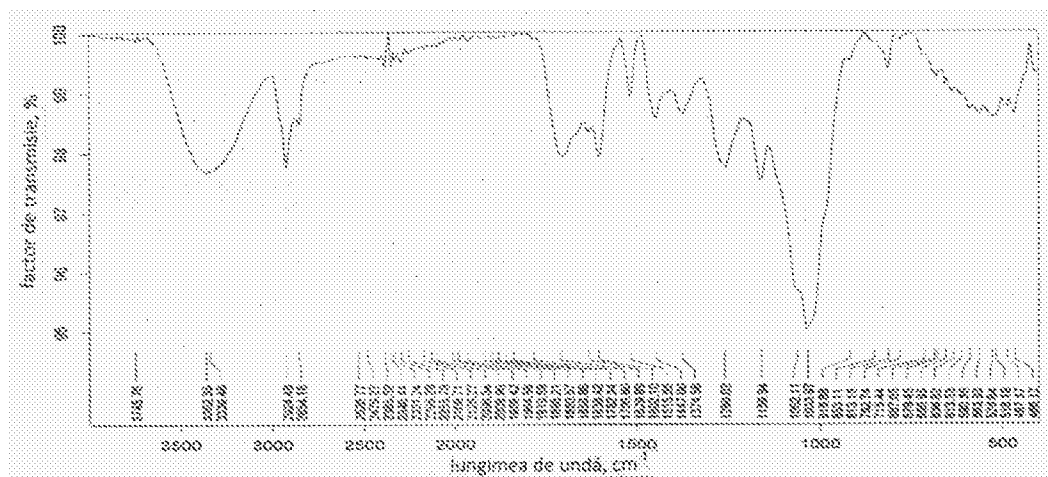


Fig. 1

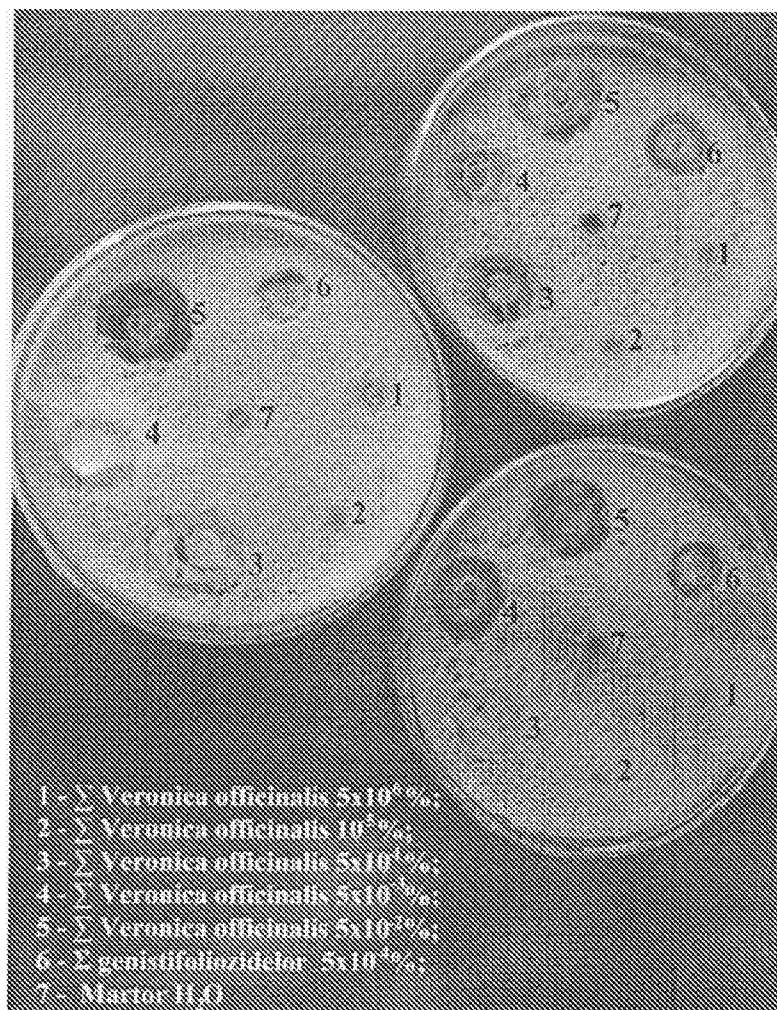


Fig. 2

RAPORT DE DOCUMENTARE

I. Datele de identificare a cererii

(21) Nr. depozit: s 2017 0010 (32) Data de prioritate recunoscută:
 (22) Data depozit: 2017.02.06 Raport de documentare internațională: ☐ da
 (67) Numărul cererii transformate și data transformării:
 (71) Solicitant: **INSTITUTUL DE GENETICĂ, FIZIOLOGIE ȘI PROTECȚIE A PLANTELOR AL ACADEMIEI DE ȘTIINȚE A MOLDOVEI, MD**
 (54) Titlul: **Efectul fungicidic al glicozidelor din *Veronica officinalis***

II. Clasificarea obiectului invenției:

(51) **Int.Cl:** **A01N 31/00** (2006.01) **C07D 311/30** (2006.01)
C07H 1/08 (2006.01) **C12P 19/44** (2006.01)
C07H 17/07 (2006.01) **A01P 3/00** (2006.01)

III. Colecții și Baze de date de brevete cercetate (denumirea, termeni caracteristici, ecuații de căutare reprezentative)

MD - Intern « Documentare Invenții » (inclusiv cereri nepublicate; trunchiere automată stanga/dreapta):

A01G 13/00 C12P 19/44
A01N 25/00 A01P 3/00
A01N 31/00
C07H 1/08
C07H 17/7
C07D 311/30

glicozide, *Alternaria alternata*, *Veronica officinalis*, fungicide, alternarioză

EA, (Eapatis):

A01G 13/00 C12P 19/44
A01N 25/00 A01P 3/00
A01N 31/00
C07H 1/08
C07H 17/7
C07D 311/30

гликозиды, фунгициды, альтернариоз, *Alternaria alternata*, *Veronica officinalis*

IV. Baze de date și colecții de literatură nonbrevet cercetate

V. Documente considerate a fi relevante

Categoria*	Date de identificare ale documentelor citate si, unde este cazul, indicarea pasajelor pertinente	Numărul revendicării vizate
A	MD 767 Y 2014.05.31	1
D, C	MD 902 Y 2015.05.31	1

* categoriile speciale ale documentelor citate:	
A – document care definește stadiul anterior general	T – document publicat după data depozitului sau a priorității invocate, care nu aparține stadiului pertinent al tehnicii, dar care este citat pentru a pune în evidența principiul sau teoria pe care se bazează invenția
X – document de relevanță deosebită: invenția revendicată nu poate fi considerată nouă sau implicand activitate inventivă când documentul este luat în considerație de unul singur	E – document anterior dar publicat la data depozit național reglementar sau după aceasta dată
Y – document de relevanță deosebită: invenția revendicată nu poate fi considerată ca implicand activitate inventivă când documentul este asociat cu unul sau mai multe documente de aceeași categorie	D – document menționat în descrierea cererii de brevet
O - document referitor la o divulgare orală, un act de folosire, la o expoziție sau la orice alte mijloace de divulgare	C – document considerat ca cea mai apropiată soluție
	& – document, care face parte din aceeași familie de brevete
P - document publicat înainte de data de depozit, dar după data priorității invocate	L – document citat cu alte scopuri
Data finalizării documentării 2017.05.25	
Examinator COLESNIC Inesa	