

Učinak kinazolinona na fitopatogenu bakteriju *Rhodococcus fascians*

Petrušić, Monika

Master's thesis / Diplomski rad

2023

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:

**Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek /
Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:151:880996>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-12-21**



Sveučilište Josipa Jurja
Strossmayera u Osijeku

**Fakultet
agrobiotehničkih
znanosti Osijek**

Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Agrobiotechnical
Sciences Osijek - Repository of the Faculty of
Agrobiotechnical Sciences Osijek](#)



SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU
FAKULTET AGROBIOTEHNIČKIH ZNANOSTI OSIJEK

Monika Petrušić

Diplomski sveučilišni studij Ekološka poljoprivreda

UČINAK KINAZOLINONA NA FITOPATOGENU BAKTERIJU
Rhodococcus fascians

Diplomski rad

Osijek, 2023.

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU
FAKULTET AGROBIOTEHNIČKIH ZNANOSTI OSIJEK

Monika Petrušić

Diplomski sveučilišni studij Ekološka poljoprivreda

UČINAK KINAZOLINONA NA FITOPATOGENU BAKTERIJU
Rhodococcus fascians

Diplomski rad

Povjerenstvo za ocjenu i obranu diplomskog rada:

1. prof. dr. sc. Vesna Rastija, predsjednik
2. prof. dr. sc. Gabriella Kanižai Šarić, mentor
3. izv. prof. dr. sc. Dejan Agić, član

Osijek, 2023.

SADRŽAJ

1. UVOD.....	1
2. PREGLED LITERATURE	2
2.1. Opće karakteristike bakterija	3
2.2. Uzročnici biljnih bolesti.....	3
2.2.1. Abiotički uzročnici bolesti	3
2.2.2. Biotički uzročnici biljnih bolesti.....	4
2.3. Fitopatogene bakterije.....	4
2.3.1. Suzbijanje fitopatogenih bakterija.....	5
2.4. Sredstva za zaštitu bilja.....	5
2.5. Rhodococcus	7
2.5.1. Opće karakteristike <i>Rhodococcus fascians</i>	8
2.6. Kinazolinoni.....	10
2.6.1. Biološka učinkovitost kinazolinona	10
3. MATERIJAL I METODE.....	13
4. REZULTATI	17
5. RASPRAVA.....	20
6. ZAKLJUČAK.....	24
7. POPIS LITERATURE.....	25
8. SAŽETAK	29
9. SUMMARY	30
10. POPIS TABLICE	31
11. POPIS SLIKA	32

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

BASIC DOCUMENTATION CARD

1. UVOD

Tlo je ključni neobnovljivi resurs, nastao mehaničkim, kemijskim i biološkim trošenjem stijena, to je najvažnija komponenta za održavanje ravnoteže ekosustava na Zemlji (Vukadinović i Vukadinović, 2018.). Sve većim rastom populacije, dolazi do veće proizvodnje hrane koristeći kemijske inpute kao što su gnojiva i pesticidi (Vukadinović i Vukadinović, 2018.). Većina agrokemikalija negativno utječe na mikrobne funkcije tla i biokemijske procese. Promjena u raznolikosti i sastavu korisne mikrobne zajednice može biti nepovoljna za rast i razvoj biljaka bilo smanjenjem dostupnosti hranjivih tvari ili povećanjem učestalosti bolesti (Kumar i sur., 2017.).

Zbog borbe s uzročnicima bolesti, proizvođači često posežu za pesticidima kako bi kontrolirali biljne bolesti. Međutim, neprikladna i obilna primjena pesticida može rezultirati otpornošću patogenih organizama na ta zaštitna sredstva. Kada je riječ o suzbijanju biljnih bolesti uzrokovanih bakterijama, kemijsko suzbijanje je manje učinkovito u usporedbi sa suzbijanjem bolesti uzrokovanih fitopatogenim gljivama (Thind, 2019.). Ovo je djelomice posljedica manjeg broja dostupnih učinkovitih kemikalija za suzbijanje bakterijskih bolesti (Thind, 2019.). Osim toga, mnogi antibiotici koji su učinkoviti u suzbijanju bakterija zabranjeni su za uporabu zbog rizika od prijenosa rezistencije na ljudske i životinjske patogene (Thind, 2019.).

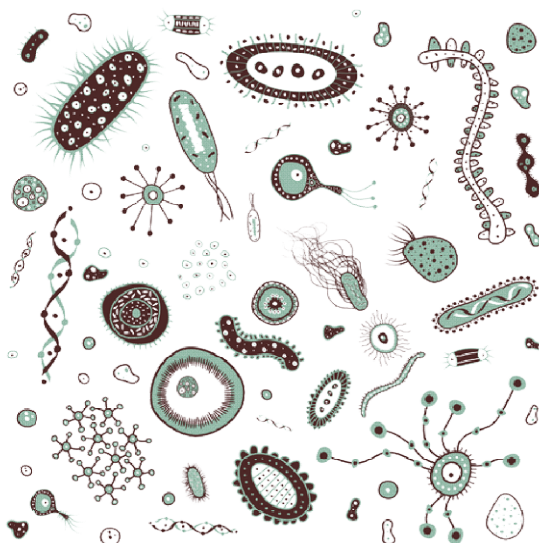
S obzirom na zabrinutost za okoliš i ljudsko zdravlje, sve veći naglasak se stavlja na pronalazak alternativnih, djelotvornih sredstava za suzbijanje biljnih bolesti koja ne ugrožavaju ekosustava (Thind, 2019.). Uzimajući u obzir ove čimbenike, istraživanja se usredotočuju na razvoj novih strategija i metoda, uključujući biološku kontrolu, primjenu biljnih ekstrakata s antimikrobnim svojstvima, primjenu probiotika i biostimulatora te primjenu otpornih sorti biljaka (Kumar i sur., 2017.).

U poljoprivredi za održavanje ravnoteže ekosustava veliku ulogu imaju mikroorganizmi (Saha i sur., 2016.). Najveći dio mikroorganizama boravi u rizosferi gdje su prisutni biljni eksudati koje mikroorganizmi iskorištavaju za svoj rast i razvoj. Mikroorganizmi se mogu iskoristiti za poboljšanje zdravlja tla, štite biljke od biljnih patogena i štetnika, budući da su uključeni u mnoge procese koji se odvijaju u tlu (Saha i sur., 2016.).

2. PREGLED LITERATURE

Mikroorganizmi, zajedno sa životinjama i biljkama, predstavljaju najmnogobrojniju i najraznovrsniju skupinu živih bića. Oni se dijele na različite kategorije, uključujući bakterije, gljive, alge, protozoe, viruse i druge heterogene organizme (Slika 1.), (Kalenić i Mlinarić-Missoni, 1995.). Građa mikroorganizama može biti jednostanična, višestanična ili acelularna, što se odnosi na organizme bez stanica poput virusa. Mikroorganizmi su poznati kao najstariji stanovnici Zemlje (Kalenić i Mlinarić-Missoni, 1995.).

Mikroorganizmi se prema svojem djelovanju mogu podijeliti na patogene, nepatogene i uvjetno patogene mikroorganizme. Patogeni mikroorganizmi su oni koji, u većini slučajeva, izazivaju bolest kod domaćina s normalnim obrambenim sposobnostima. (Kalenić i Mlinarić-Missoni, 1995.). Uvjetno patogeni mikroorganizmi izazivaju bolest samo kod osoba s oslabljenim obrambenim mehanizmima. S druge strane, nepatogeni mikroorganizmi, ili apatogeni, ne izazivaju bolest u većini ljudi s normalnim obrambenim sposobnostima.



Slika 1. Mikroorganizmi

Izvor: <http://www.anitgroup.rs/mikroorganizmi/>

2.1. Opće karakteristike bakterija

Bakterije su jednostanični mikroorganizmi. Bakterije su prisutne gotovo svuda u našem okruženju - u tlu, vodi, zraku, hrani, ali i na i unutar naših tijela (Trivedi i sur., 2010.).

Bakterije se razlikuju po obliku, veličini i načinu kretanja. Mogu biti kuglaste (koki), štapićaste (bacili) ili spiralne (spirili) (Trivedi i sur., 2010.). Neki sojevi bakterija su korisni i imaju važnu ulogu u ekosustavu. Na primjer, neke bakterije sudjeluju u razgradnji organske tvari, što pomaže u ciklusu kruženja elemenata. Također, neke bakterije su korisne za ljudsko zdravlje, poput probiotičkih bakterija koje podržavaju zdravu probavu (Trivedi i sur., 2010.).

2.2. Uzročnici biljnih bolesti

Biljne bolesti su abnormalnosti u morfološkom i fiziološkom razvoju biljaka koje uzrokuju pojavu simptoma ili mogu biti latentna infekcija, u kojem slučaju je uzročnik bolesti prisutan u biljci, ali nema vanjskih znakova infekcije (Kišpatić, 1992.). Neživi ili abiotički čimbenici (kao što su ekstremne temperature, nedostatak svjetla, obilje ili nedostatak vlage, nedostatak minerala, prisutnost opasnih plinova u tlu i atmosferi, tuča, snijeg, vjetar itd.) mogu uzrokovati bolesti biljaka kao i živi ili biotički (kao što su gljive, bakterije, virusi, viroidi, stvorenja nalik mikoplazmi (fitolpazmi), rikecije (Baudoin, 2007.).

2.2.1. Abiotički uzročnici bolesti

Nedostaci ili suvišak hranjivih tvari mogu rezultirati fiziološkim promjenama, odnosno funkcionalnim promjenama, koje se kasnije mogu pojaviti kao bolesti (Kenelly i sur., 2012.). Nadalje, manjak ili suvišak vode također utječe na biljke. Naprimjer nedostatak vode uzrokuje da biljke venu, suše i gube turgor (Kenelly i sur., 2012.). Toplina značajno utječe na pojavu infekcije i napredovanje bolesti. Na temperaturu biljke utječe toplina

zraka, što također utječe na vjerojatnost zaraze i brzinu širenja bolesti nakon što se zarazi (Kenelly i sur., 2012.).

2.2.2. Biotički uzročnici biljnih bolesti

Ove bolesti uzrokuju živi organizmi i nazivaju se biljnim patogenima. Patogeni se mogu širiti s biljke na biljku i mogu zaraziti sve vrste biljnog tkiva uključujući lišće, mladice, stabljike, krošnje, korijenje, gomolje, plodove, sjemenke i vaskularna tkiva (Agrios, 2005.).

Biljni patogeni vrlo su slični onima koji uzrokuju bolesti kod ljudi i životinja. Gljive, organizmi slični gljivama, bakterije, fitoplazme, virusi, viroidi, nematode i više parazitske biljke su sve biljni patogeni (Agrios, 2005.).

2.3. Fitopatogene bakterije

Fitopatogene bakterije su specifične vrste bakterija koje imaju sposobnost inficiranja i uzrokovati štetu biljkama (Jackson, 2009.). Nekoliko stotina vrsta bakterija koje pripadaju Proteobacteria, Mollicutes i Actinomycetes uzrokuju veliki broj različitih biljnih bolesti, od kojih su neke pogubne za poljoprivredne kulture (Van der Wolf i Boer, 2015.). Simptomi bakterijskih bolesti biljaka su raznoliki i uključuju nekrozu, maceraciju tkiva, uvenuće i hiperplaziju (Van der Wolf i Boer, 2015.). Da bi došlo do uspješne infekcije, patogen mora prevladati obrambene mehanizme biljaka, što često čini ubrizgavanjem efektorskih molekula izravno u biljne stanice (Van der Wolf i Boer, 2015.). Virulencija također može uključivati proizvodnju enzima, toksina i/ili biljnih hormona koji razgrađuju stanične stijenke biljaka, često pod kontrolom mehanizama za osjet kvoruma (Van der Wolf i Boer, 2015.). Neke fitopatogene bakterije aktivno se kreću do svog domaćina putem kemotaksije i ulaze u biljku kroz prirodne otvore kao što su puči ili rane uzrokovane hranjenjem kukcima, gljivičnom infekcijom ili mehaničkim oštećenjem biljke (Van der Wolf i Boer, 2015.). Biljke domaćini se koloniziraju lokalno kroz međustanične prostore i sustavno putem krvožilnog sustava (Van der Wolf i Boer, 2015.). Suzbijanje bakterijskih

bolesti biljaka postiže se uglavnom prevencijom i isključivanjem patogena budući da je malo učinkovitih kemijskih sredstava za kontrolu, a izvori otpornosti na bakterijske bolesti su ograničeni (Van der Wolf i Boer, 2015.). Glavni simptomi u usjevima uključuju abnormalne izrasline na korijenu, stabljikama, mrlje na lišću ili plodovima, mrlje ili odumiranje tkiva na lišću, stabljikama ili deblu drveća i trulež bilo kojeg dijela biljke, obično korijena ili gomolja (Vidaver i Lambrecht, 2004.). Konačna posljedica zaraze je smanjen rast i prinos biljaka, niža kvaliteta proizvoda, propadanje žetvenih proizvoda nakon žetve, uništenje nasada višegodišnjih nasada i, u određenim slučajevima, povećana osjetljivost na druge biotske ili abiotske čimbenike (Tampakaki i sur., 2009.).

2.3.1. Suzbijanje fitopatogenih bakterija

Fitopatogene bakterije se vrlo brzo razmnožavaju u povoljnim uvjetima, populacija im je promjenjiva i fleksibilna (Kousik i Ritchie, 1996.). Za kontrolu populacija fitopatogenih bakterija koriste se dvije metode:

1. Preventivne metode
2. Kurativne metode

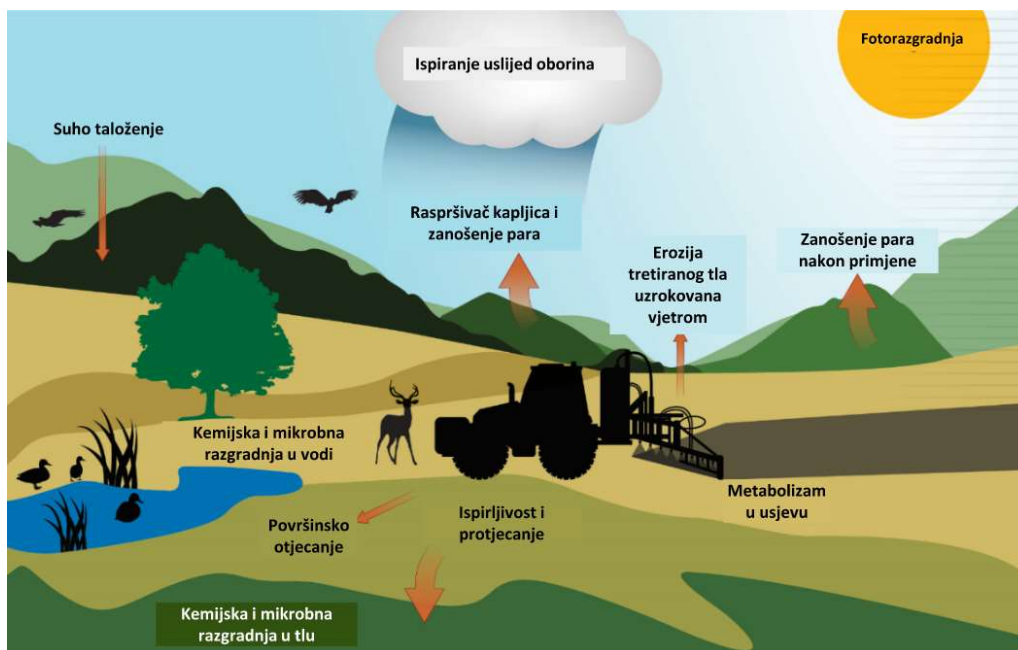
Preventivne mjere imaju veliku važnost u suzbijanju fitopatogenih bakterija, jer se fokusiraju na sprječavanje kontakta patogena s biljkama (Klement i sur., 1990.). U te mjere spada karantena, fitosanitarne službe, razne agrotehničke mjere kao što su: plodored, sadnja otpornih sorti, upotreba zdravog sadnog materijala, pravilna gnojidba, navodnjavanje, uništavanje korova itd. (Klement i sur., 1990.). Kurativne mjere se primjenjuju nakon infekcije, zbog toga nisu toliko značajne i koriste se samo u nekim situacijama (Klement i sur., 1990.).

2.4. Sredstva za zaštitu bilja

Kada preventivne mjere nisu dovoljne, mogu se koristiti zaštitna sredstva kako bi se suzbile fitopatogene bakterije (Bažok i sur., 2020.). Međutim, važno je biti svjestan da

upotreba pesticida može imati i negativne posljedice (Slika 2.), poput mogućnost pojave fitotoksičnosti, rezistencije organizama na aktivne tvari, perzistentnosti, bioakumulacije, neselektivnog djelovanja, ostataka pesticida i poremećaja prirodne ravnoteže koji može rezultirati pojavom novih štetnih organizama (Bažok i sur., 2020.).

Zaštita biljaka od bolesti, štetnika i korova ima odlučujuću ulogu u razvoju poljoprivrede, kao bitnu ulogu u planiranju i razvoju brojnih zemalja (Pogăcean i Gavrilescu, 2009.). Budući da su sredstva za zaštitu bilja prvenstveno izrađena od kemikalija i mogu biti otrovna i za ljude i životinje te zagađivati podzemne, površinske vode i tlo opasnim onečišćujućim tvarima, njihova se uporaba mora pažljivo kontrolirati. Šteta se može izbjeći samo ako se koristi ispravno i prema uputama. To znači korištenje sredstva za zaštitu bilja samo ako se smatraju apsolutno potrebno, nakon promatranja pragova oštećenja, izborom odgovarajućih sredstava za zaštitu bilja, ispravni tretman i tehnika primjene itd. (Pogăcean i Gavrilescu, 2009.). Korištenje pesticida počelo je nedugo prije drugog svjetskog rata, kada su otkrivena insekticidna svojstva DDT-a (diklordifeniltrikloretan) (Watts, 1997.). Mogući rizici povezani s korištenjem pesticida su u određenoj mjeri prihvaćeni zbog izravne koristi koje stvara (Watts, 1997.). Prema Znaoru (1996.) prisutne su tri generacije pesticida. Početna serija navodno učinkovitih pesticida uključivala je teške metale poput žive, bakra, arsena, mineralnih ulja i sumpora. Sve su te tvari bile nusproizvodi anorganske kemije. Kemijska sinteza novih organskih spojeva, također poznatih kao organo-sintetski pesticidi, označava početak druge generacije pesticida. Biopesticidi, su treća generacija pesticida. Bez upotrebe pesticida konvencionalna poljoprivreda je gotovo nezamisliva (Znaor, 1996.). Odavno je poznato da se ostaci pesticida - tj. ostaci od korištenja pesticida - mogu naći u tlu. Ostaci pesticida mogu negativno utjecati na životinje, okoliš i prirodu, baš kao i ljudsko zdravlje. Ostaci pesticida mogu uključivati razne štetne aktivne sastojke koji su se koristili ili se sada koriste za zaštitu biljaka, kao i nečistoće i brojne nusproizvode razgradnje (Bokulić i sur., 2015.). Količina ostataka pesticida ovisi o tome koliko je sredstva primijenjeno na poljoprivredne usjeve i zaštitu bilja, koliko je vremena prošlo od posljednjeg nanošenja sredstva u kulturi ili karence, koliko je puta sredstvo primijenjeno (Bokulić i sur., 2015.).



Slika 2. Negativan utjecaj sredstava za zaštitu bilja

Izvor: <https://op.europa.eu/webpub/eca/special-reports/pesticides-5-2020/hr/>

2.5. *Rhodococcus*

Rhodococcus (Slika 3.), je rod bakterija koji pripada skupini Gram-pozitivnih, nepokretnih i nekih pokretnih bakterija (Moh Park i sur., 2021.). Ovaj rod obuhvaća različite vrste koje se mogu pronaći u tlu, vodi, biljkama i životinjama. *Rhodococcus* je poznat po svojoj sposobnosti razgradnje različitih spojeva, uključujući ugljikovodike, aromatične spojeve i ostale organske tvari (Moh Park i sur., 2021.). Te se bakterije mogu izolirati iz vode, tla i mora, uključujući Arktik, pustinje i jako zagađena područja (Moh Park i sur., 2021.). Predstavnici roda *Rhodococcus* važni su zbog svoje sposobnosti da kataboliziraju širok raspon spojeva i proizvode bioaktivne steroide, akrilamid i akrilnu kiselinu (McLeod i sur., 2006.). *Rhodococcus* je istražen kao potencijalni agens za bioremedijaciju zagađivača, a to su ugljikovodici, klorirani spojevi, pesticidi i teški metali (Alvarez, 2019.). *Rhodococcus* sp. soj Q1, soj koji se prirodno nalazi u tlu, sadrži sposobnost razgradnje kinolina, raznih derivata piridina, katehola, benzoata i protokatehijske kiseline, također su sposobni akumulirati ione teških metala, kao što je radioaktivni cezij, što omogućuje lakše uklanjanje iz okoliša (Loughlin i sur., 1996.).

Rod *Rhodococcus* sadrži dvije vrste patogena: *Rhodococcus fascians* i *Rhodococcus equi* (Park i sur., 2021.).



Slika 3. *Rhodococcus*

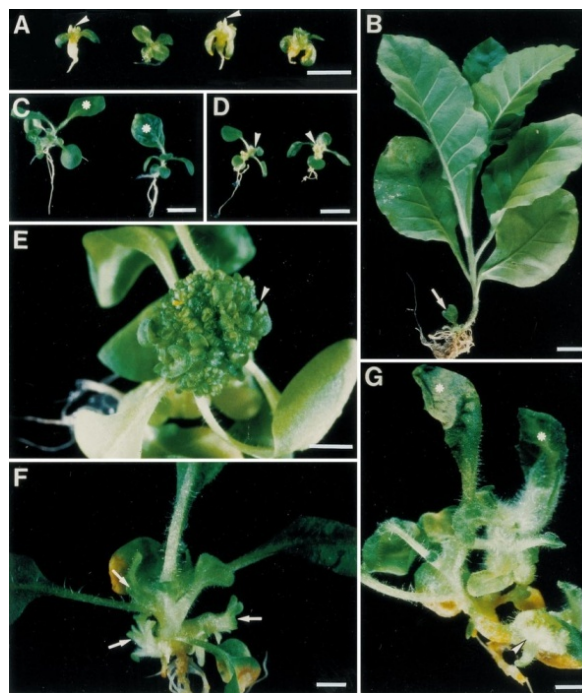
Izvor: <https://en.wikipedia.org/wiki/Rhodococcus>

2.5.1. Opće karakteristike *Rhodococcus fascians*

Rhodococcus fascians je bakterija koja inficira dikotiledone i monokotiledone biljke, što dovodi do promjene u normalnom procesu rasta domaćina, inducira bolest lisnih galica na velikom broju biljaka, koristeći gene virulencije smještene na linearnom plazmidu (Stes i sur., 2011.). *R. fascians* je poznat po svojoj sposobnosti manipuliranja rastom i razvojem biljaka. Inficira meristemska tkiva biljaka, koja su odgovorna za rast, te izaziva stvaranje abnormalnih izraslina nazvanih lisne galice ili tumori od lišća. Ove galice karakterizira prekomjerno razmnožavanje izdanaka i listova, što dovodi do bujnog ili paprastog izgleda (Verecke i sur., 2000.). Budući da obično pogađa biljke duhana (Slika 4.), značajno utječe na ekonomske gubitke u ovoj proizvodnji. Simptomi na zaraženim biljkama su: deformacija lista, vještija metla i lisna galica, razvoj simptoma ovisi o sorti biljke, starosti biljke i soju bakterije (Goethalsi sur., 2001.). Infekcija *R. fascians* može imati značajan ekonomski i poljoprivredni utjecaj, jer utječe na širok spektar biljnih vrsta, uključujući mnoge važne usjeve poput rajčice, krumpira i ukrasnih biljaka. Bolest se uglavnom prenosi putem kontaminiranog biljnog materijala, poput zaraženih reznica ili sjemenja (Putnam i Miller, 2007.). Dodatna poteškoća je što *R. fascians* može živjeti na površini biljke bez

izražavanja virulencije i izazivanja simptoma, tako da infekcija može proći nezapaženo mjesecima (Vereecke i Depuydt, 2018.). Štoviše, bolest se često pogrešno dijagnosticira i postoji nedostatak učinkovitosti tretmana za iskorjenjivanje ovih bakterija (Vereecke i Depuydt, 2018.).

Mjere kontrole za *R. fascians* uključuju uporabu sadnog materijala bez patogena, higijenske postupke radi sprječavanja širenja zaraženog biljnog materijala i u nekim slučajevima primjenu antibiotika ili kemijskih tretmana. Dodatno, istraživački napori su u tijeku kako bi se razvile otporne sorte biljaka i istražile biološke metode kontrole (Putnam i Miller, 2007.).

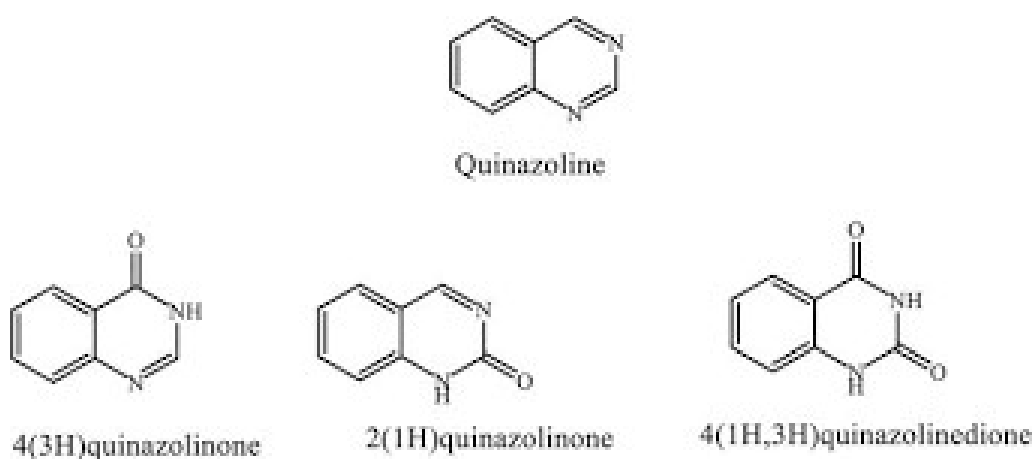


Slika 4. *Rhodococcus fascians* na duhanu

Izvor: https://www.researchgate.net/figure/AG-Overview-of-the-symptoms-that-are-induced-by-R-fascians-on-tobacco-after-different_fig2_226014309

2.6. Kinazolinoni

Kinazolinoni su velika klasa heterocikličkih spojeva, od kojih se mnogi javljaju u prirodi. Zbog širokog spektra bioloških aktivnosti koriste se u farmaceutskoj i medicinskoj kemiji (Asif, 2014.). Kemijska struktura kinazolinona ovisno o položaju keto- ili okso- skupina, mogu se klasificirati u 3 skupine (Slika 5.), 2(1*H*)-kinazolinoni, 4(3*H*)-kinazolinoni i 2,4(1*H*,3*H*)-kinazolindioni (Asif, 2014.). Kemijska struktura kinazolinona čini ključni temelj prirodnih i sintetskih spojeva s različitim terapijskim i biološkim aktivnostima (Asif, 2014.).



Slika 5. Kinazolin i derivati kinazolinona

Izvor: <https://www.intechopen.com/chapters/69071>

2.6.1. Biološka učinkovitost kinazolinona

Kinazolini i njegovi derivati predstavljaju jednu od najaktivnijih klasa spojeva, koji posjeduju širok spektar bioloških aktivnosti (Slika 6.), kao što su antibakterijsko, analgetsko, antimikrobno, protuupalno, antikancerogeno i antihipertenzivno, antifungalno, anti-HIV, antioksidativno, analgetsko, antikonvulzivno, antimalarijsko, antitumorsko, antituberkulozno djelovanja (Karan i sur., 2021.).

Inazolinski i kinazolinonski okviri dobili su značajnu pozornost zbog svog raznolikog terapijskog potencijala (Yu i sur, 2017.). Konkretno, hibridi kinazolin/kinazolinona mogu

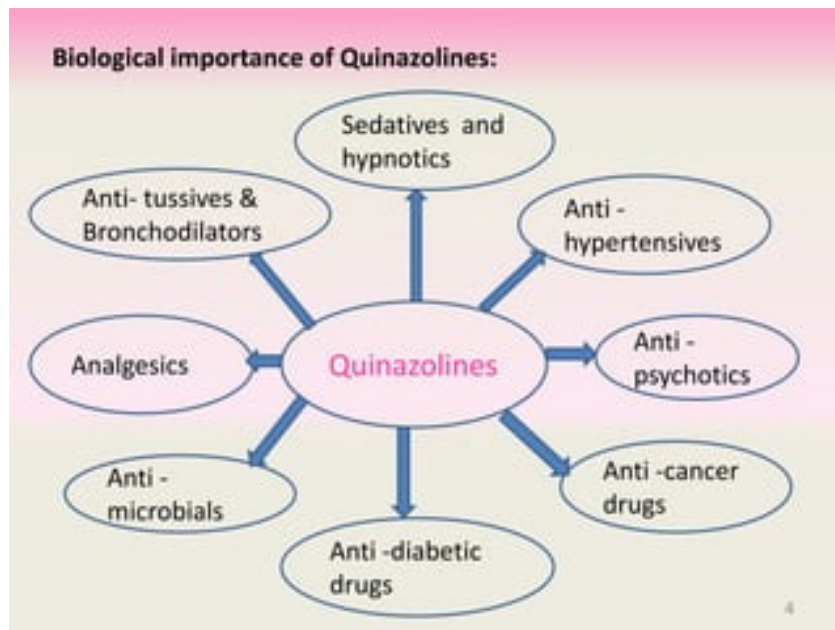
ispoljavati antibakterijsko djelovanje kroz različite mehanizme i korisni su okviri za otkrivanje novih antibakterijskih sredstava (Yu i sur, 2017.).

Yu i sur., (2017.) sintetizirali su seriju hibridnih spojeva gdje su kombinirali kinazolinonski i kinazolinski okvir kako bi istražili njihovu antibakterijsku aktivnost. Ispitivali su ove spojeve protiv različitih patogenih bakterija, uključujući Gram-pozitivne i Gram-negativne sojeve. Rezultati su pokazali da su neki od hibridnih kinazolin/kinazolinonskih spojeva pokazali značajnu antibakterijsku aktivnost protiv testiranih bakterijskih sojeva. Osim toga, otkrili su da ti spojevi djeluju na bakterijsku staničnu membranu i inhibiraju enzime koji su važni za rast i preživljavanje bakterija. (Yu i sur., 2017.).

Chavan i sur., (2014.) sintetizirali su nove 4,6-disubstituirane derivata kinazolina te ih testirali na antimikrobnu i antifungalnu aktivnost. Novosintetizirani derivati su evaluirani za antimikrobnu aktivnost protiv *E. coli* i *S. aureus* te za antifungalnu aktivnost protiv *C. albicans*, pri čemu su pokazali obećavajuće antimikrobne i antifungalne aktivnosti. Svi spojevi pokazuju minimalnu inhibicijsku koncentraciju za *E. coli* u rasponu od 50 do 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Spoj 6-bromo-2-fenilkinazolin-4[3H]-on pokazao je najbolju aktivnost među svim derivatima kinazolina, ali manju aktivnost u usporedbi sa standardnim lijekom. Ispitani su za antimikrobnu aktivnost, a identificirani su obećavajući spojevi koji pokazuju aktivnost (Chava i sur, 2014.).

Fleeman i sur., (2017.) proučavali su karakterizaciju antimikrobne aktivnosti N2, N4-disupstituiranih kinazolin-2,4-diamina prema multirezistentnom *Acinetobacter baumannii*. N2, N4-disupstituirani kinazolin-2,4-diamini pokazali su snažnu antimikrobnu aktivnost protiv Gram-pozitivnih organizama i Gram-negativnih patogena, što ukazuje na snažan potencijal za njihov razvoj kao antibakterijskih agenasa (Fleeman i sur, 2017.).

Cilj ovog istraživanja je bio utvrditi djelovanje osam derivata kinazolinona kao potencijalnih novih baktericida na rast i razmnožavanje fitopatogene bakterije *R. fascians*.



Slika 6. Biološka aktivnost kinazolinona

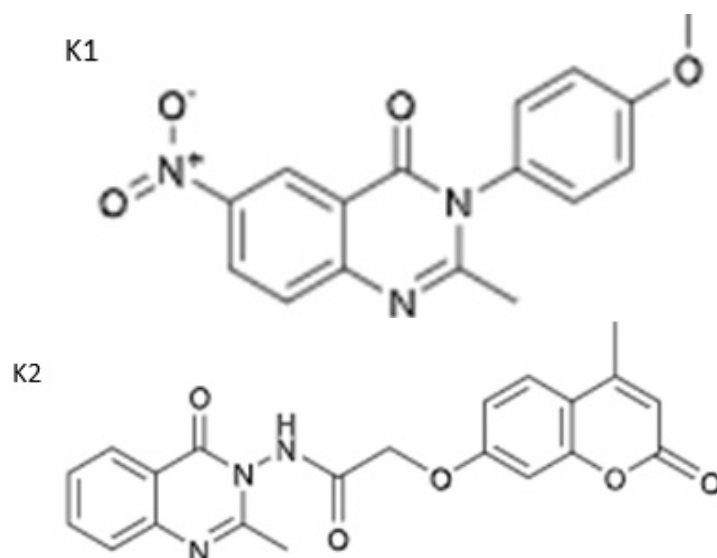
Izvor: <https://www.slideshare.net/mekalamamatha/seminar-quinazolines>

3. MATERIJAL I METODE

U istraživanju je korištena fitopatogena bakterija *Rhodococcus fascians* DSM 20669. (Slika 11.), čista kultura ispitivane bakterije je umnožena na triptikaza sojinom agaru (Liofilchem, Italija.) tijekom 48 sati na 30 °C. Derivati kinazolinona su sintetizirani na Prehrambeno tehnološkom fakultetu u Osijeku (Komar i sur., 2019.). Kinazolinoni uključeni u pokus su:

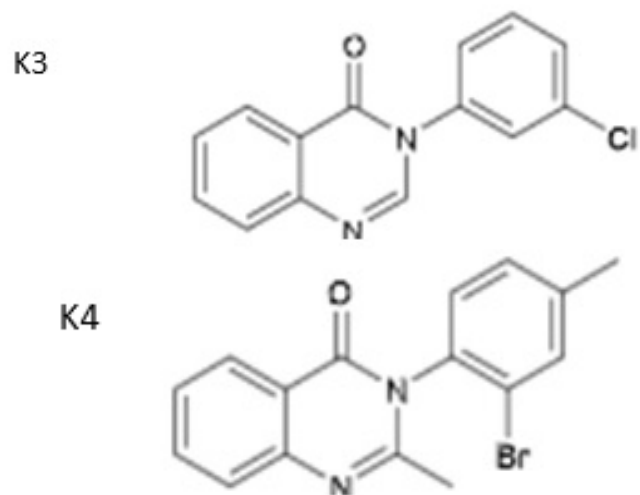
- 3-(4-metoksifenil)-2-metil-6-nitrokinazolin-4(3H)-on (K1),
- 2-((4-metil-2-okso-2H-kromen-7-il)oksi)-N-(2-metil-4-oxinikinoazolin-3(4H)-il) acetamid (K2),
- 3-(3-klorofenil)kinazolin-4(3H)-on (K3),
- 3-(2-bromo-4-metilfenil)-2-metilkinazolin-4(3H)-on (K4),
- 3-(3-klorofenil)-2-metilkinazolin-4(3H)-on (K5),
- 2-(2-metil-4-oksokinazolin-3(4H)-il) benzojeva kiselina (K6),
- 2-metil-3-fenilkinazolin-4(3H)-on (K7),
- 6-jodo-3-(4-metoksifenil)-2-metilkinazolin-4(3H)-on (K8).

U nastavku se nalazi prikaz struktura navedenih derivata kinazolinona (Slika 7. do 10.).



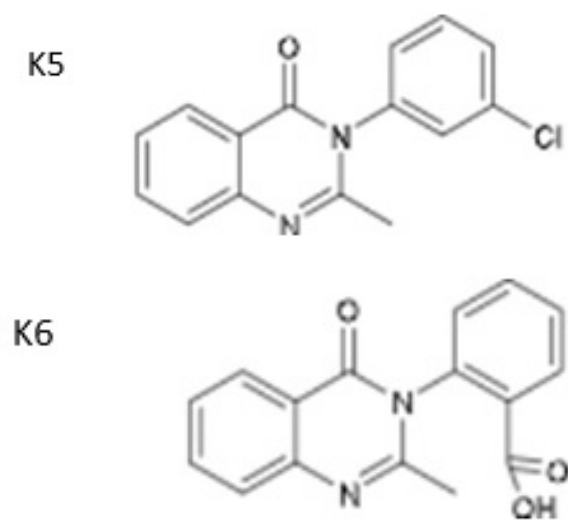
Slika 7. Struktura derivata kinazolinona K1 i K2

Komari sur. (2019.).



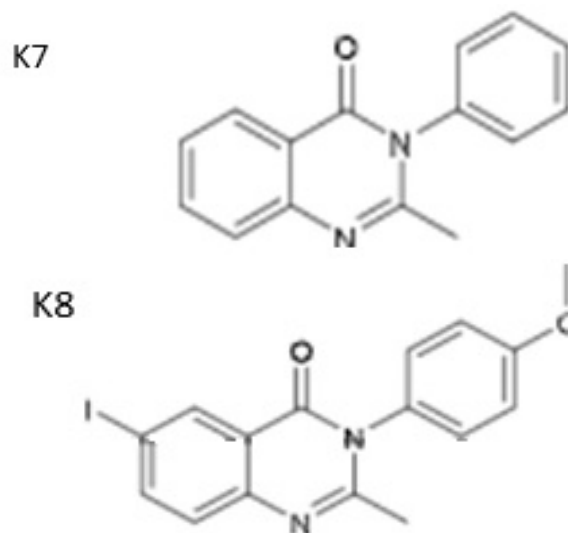
Slika 8. Struktura derivata kinazolinona K3 i K4

Izvor: Komar i sur. (2019.).



Slika 9. Struktura derivata kinazolinona K5 i K6

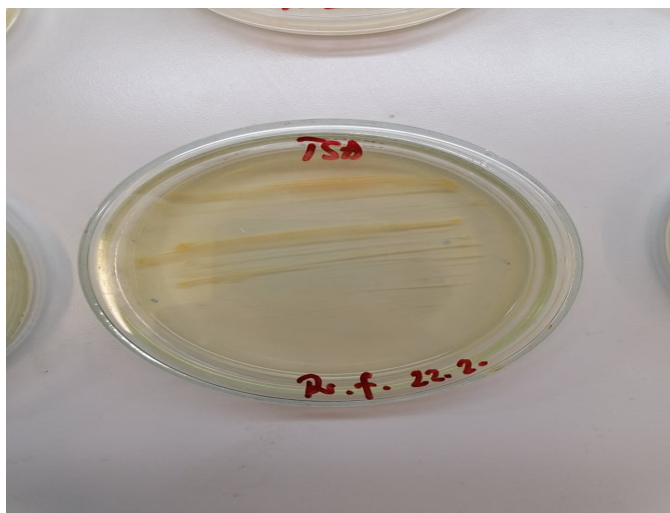
Izvor: Komar i sur. (2019.).



Slika 10. Struktura derivata kinazolinona K7 i K8

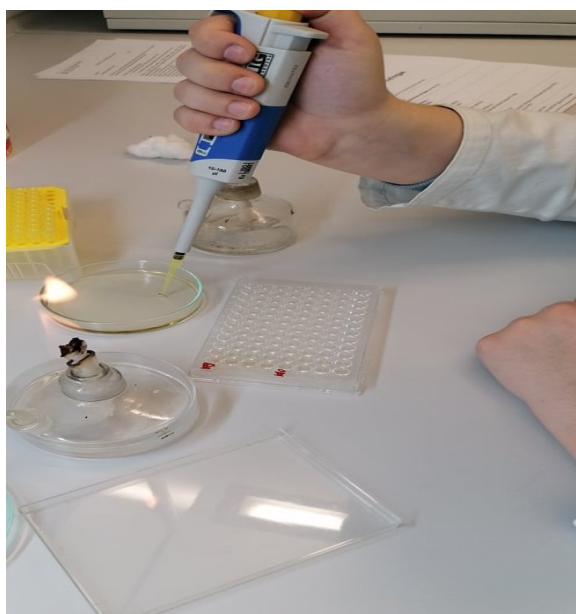
Izvor: Komar i sur. (2019.).

Djelotvornost derivata kinazolinona je utvrđena dilucijskom metodom određivanjem minimalne inhibitorne koncentracije na rast fitopatogene bakterije *R. fascians*. Pokus je proveden kroz sterilne mikrotitarske ploče (Slika 12). Najveća ispitana koncentracija je iznosila $512\mu\text{g mL}^{-1}$ koja je razrijeđena kroz jažice do $1\mu\text{g mL}^{-1}$. Svaka jažica se inokulirala s testnom bakterijom u koncentraciji koja odgovara 10^5 stanica po mL^{-1} . Nakon 48 h inkubacije očitani su rezultati. Pokus je postavljen u četiri ponavljanja. Svi postupci i materijali su provedeni pošivajući pravila sterilnosti.



Slika 11. Čista kultura *R. Fascians*

Izvor: Autor



Slika 12. Nanošenje hranjive podloge na mikrotitarsku ploču

Izvor: Kanižai Šarić

4. REZULTATI

U tablicama 1 do 8. prikazani su rezultati utjecaja ispitanih kinazolinona na fitopatogenu bakteriju *R. fascians*.

Tablica 1. Rezultati istraživanja djelotvornosti derivata kinazolinona (K1) na *Rhodococcus fascians*.

Koncentracija ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	512	256	128	64	8	4	2	1	kontrola +	kontrola -
K1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-

+ zabilježen porast, - nije zabilježen porast

Tablica 2. Rezultati istraživanja djelotvornosti derivata kinazolinona (K2) na *Rhodococcus fascians*.

Koncentracija ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	512	256	128	64	8	4	2	1	kontrola +	kontrola -
K2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-

+ zabilježen porast, - nije zabilježen porast

Tablica 3. Rezultati istraživanja djelotvornosti derivata kinazolinona (K3) *Rhodococcus fascians*.

Koncentracija ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	512	256	128	64	8	4	2	1	kontrola +	kontrola -
K3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-

+ zabilježen porast, - nije zabilježen porast

Tablica 4. Rezultati istraživanja djelotvornosti derivata kinazolinona (K4) na *Rhodococcus fascians*.

Koncentracija ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	512	256	128	64	8	4	2	1	kontrola +	kontrola -
K4	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-

+ zabilježen porast, - nije zabilježen porast

Tablica 5. Rezultati istraživanja djelotvornosti derivata kinazolinona (K5) na *Rhodococcus fascians*.

Koncentracija ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	512	256	128	64	8	4	2	1	kontrola +	kontrola -
K5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-

+ zabilježen porast, - nije zabilježen porast

Tablica 6. Rezultati istraživanja djelotvornosti derivata kinazolinona (K6) *Rhodococcus fascians*.

Koncentracija ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	512	256	128	64	8	4	2	1	kontrola +	kontrola -
K6	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-

+ zabilježen porast, - nije zabilježen porast

Tablica 7. Rezultati istraživanja djelotvornosti derivata kinazolinona (K7) *Rhodococcus fascians*.

Koncentracija ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	512	256	128	64	8	4	2	1	kontrola +	kontrola -
K7	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-

+ zabilježen porast, - nije zabilježen porast

Tablica 8. Rezultati istraživanja djelotvornosti derivata kinazolinona (K8) *Rhodococcus fascians*.

Koncentracija ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	512	256	128	64	8	4	2	1	kontrola +	kontrola -
K8	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-

+ zabilježen porast, - nije zabilježen porast

U istraživanju je djelovanjem kinazolinon K4 utvrđeno minimalna inhibitorna koncentracija od $256 \mu\text{g mL}^{-1}$ dok djelovanjem ostalih spojevi nije utvrđena inhibicija rasta bakterije niti u najvećoj koncentraciji ($512 \mu\text{g mL}^{-1}$).

5. RASPRAVA

Provedeno istraživanje djelotvornosti derivata kinazolinona utvrđeno je minimalna inhibitorna koncentracija od $256 \mu\text{g mL}^{-1}$, djelovanjem kinazolinona K4, dok ostali spojevi ne utječu na rast *R. fascians* niti u najvećoj koncentraciji.

Poljoprivredna proizvodnja diljem svijeta svake je godine ozbiljno ugrožena zbog brojnih patogenih mikroorganizama, posebice fitobakterija i fitofunga, koji uvelike utječu na prinose i kvalitetu globalnih usjeva i time uzrokuju velike ekonomske gubitke poljoprivrednicima diljem svijeta (Lv i sur., 2018.). Tijekom proteklih nekoliko desetljeća, iako je postignut veliki napredak u liječenju i kontroli mikrobnih infekcija u usjevima putem razvoja novih strategija, metoda kemijske kontrole je još uvijek učinkovita i praktična u borbi protiv mikrobnih infekcija sve do sada (Lv i sur., 2018.). Međutim, obzirom na slabu učinkovitost i neprekidnu evoluciju mikroba otpornih na antimikrobne tvari povezane s korištenjem trenutno dostupnih agroantibiotika, novi i učinkovitiji antimikrobni agensi u poljoprivredi trenutno su iznimno poželjni (Lv i sur., 2018.).

Antimikrobnu aktivnost derivata kinazolinona ispitivali su i drugi istraživači. Brojna ispitivanja su usmjerena na utvrđivanje antibakterijskog i antifungalnog djelovanja derivata kinazolinona.

Patei (2020.) je sintetizirao niz derivata kinazolina spojenih s 1,3,4-oksadiazolom i piperazinom. Kinazolini su također heterociklički spoj, ali s drugačijom kemijskom strukturom. Kinazolina je heterociklički spoj koji se sastoji od prstena s pet atoma ugljika i dva dušična atoma, pri čemu je jedan dušik dio amina. Strukturno se razlikuje od kinazolinona jer ne sadrži atom kisika u prstenu. *In vitro* istraživanje antimikrobne aktivnosti sintetiziranih analoga procijenjena je protiv tri Gram-pozitivne bakterije (*Staphylococcus aureus* RN4220, KCTC 503 i KCTC 209) i jedne Gram-negativne bakterije (*Escherichia coli* CCARM 1356). Uočeno je da su mnogi sintetizirani analozi pokazali izvrsnu učinkovitost protiv sve tri gram-pozitivne bakterije, točnije *S. aureus* RN4220 i *S. aureus* KCTC503 vrijednosti MIC (minimalna inhibitorna koncentracija) od $\leq 64 \mu\text{g mL}^{-1}$) Uvođenje fluoro-, trifluorometil-, hidroksi- i metoksi- funkcionalnih skupina na fenilni prsten vezan za piperazinski dio značajno je pojačalo antibakterijsku aktivnost. Derivat kinazolina 4-[(2-{4-[5-tioakso-4-({4-[4-(trifluorometil)fenil]piperazin-1-il}metil)-4,5-dihidro-1,3,4-oksadiazol-2-il]fenil}kinazolin-4-il)oksi]benzonitril spojen s

trifluorometil-piperazinom pokazao je obećavajuće djelovanje protiv *S. aureus* RN4220 na razini MIC od $2 \mu\text{g mL}^{-1}$. Štoviše, 4-({2-[4-(4-{[4-(4-fluorofenil)piperazin-1-il]metil}-5-tiokso-4,5-dihidro-1,3,4-oksadiazol-2-il)fenil]kinazolin-4-il}oksi)benzoni-tril (**7d**), 4-({2-[4-(4-{[4-(4-hidroksifenil)piperazin-1-il]metil}-5-tiokso-4,5-dihidro-1,3,4-oksadiazol-2-il)fenil]kinazolin-4-il}oksi)benzoni-tril (**7h**) i 4-({2-[4-(4-{[4-(4-metoksifenil)piperazin-1-il]metil}-5-tiokso-4,5-dihidro-1,3,4-oksadiazol-2-il)fenil]kinazolin-4-il}oksi)benzoni-tril (**7i**) derivati bili su upola manje aktivni od **7f**. Također je utvrđeno da je derivat **7i** spojen s metoksi-piperazinom aktivan protiv *S. aureus* KCTC 503 s najvišom razinom MIC od $2 \mu\text{g mL}^{-1}$. Štoviše, pronađeno je da je sličan analog aktivan protiv *S. aureus* KCTC 209 s upola manje aktivnosti. Međutim, utvrđeno je da je većina sintetiziranih analoga neaktivna (vrijednosti MIC $>64 \mu\text{g mL}^{-1}$) protiv gram-negativne bakterije *E. coli* CCARM 1356, osim hidroksi-supstituiranog **7h** i metoksi-supstituiranog **7i** (vrijednosti MIC-a od $32 \mu\text{g mL}^{-1}$) (Patei, 2020.).

Liu i suradnici (2021.) su dizajnirali i sintetizirali niz derivata miricetina koji sadrže kinazolinonski dio. Njihovo istraživanje je pokazalo uspješno antibakterijsko i antivirousno djelovanje protiv bakterija *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri*, *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* i *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*, kao i virusa mozaika duhana. Prema rezultatima istraživanja, derivati miricetina s kinazolinonskim dijelom su inhibirali rast stanica patogena te su utjecali na morfologiju tih stanica. Na koncentraciji od $50 \mu\text{g mL}^{-1}$ primijećena su oštećenja na površini stanica, dok je pri koncentraciji od $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ stanica bila uništena (Liu i sur., 2021.).

Jantova i sur. (2004.) proveli su istraživanje gdje su utvrđivali antibakterijski učinak supstituiranih kinazolina (157 derivata). Ispitan je metodom mikrodilucije na mikrotitracijskim pločama s 96 jažica. Antibakterijska aktivnost deset serija supstituiranih kinazolina protiv bakterijskih sojeva *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis* i *S. aureus*. Osjetljivost Gram-pozitivnih bakterija na testirane kinazoline bila je veća nego kod Gram-negativnih bakterija. Najučinkovitije serije kinazolina bile su kondenzirane [1,2,4]triazolin i 10H-[1,2,4]triazino[5,4-b]kinazolin-10-on serije. Proučavanje odnosa struktura i aktivnosti pokazalo je da su najučinkovitiji derivati oni koji nose nesupstituirani prsten benzena ili jedan supstituiran malim supstituentima, dok je prsten pirimidina supstituiran većim supstituentima poput morfolina, fenila ili sekundarnih amina. Najučinkovitiji derivat 1-[(3-metilfenil)amino]-10H-[1,2,4]triazino[5,4-b]kinazolin-10-on

imao je MIC vrijednosti od 5 mg L⁻¹ za *E. coli*; 100 mg L⁻¹ za *P. aeruginosa*, 10 mg L⁻¹ za *S. aureus* i 1 mg L⁻¹ za *B. subtilis*. 9-kloro-morfolin-4-il [1,2,4]triazolo[4,3-c]kinazolin-3(4*H*)-ion je pokazao MIC vrijednost nižu od ampicilina za *B. subtilis* i istu MIC vrijednost kao ampicilin za *E. coli* (Jantova i sur., 2004.).

Vani i sur. (2015.), sintetizirali su niz novih triazolnih derivata kinazolin-4(3*H*)-ona i novih oksadiazolnih derivata kinazolin-4(3*H*)-ona. Svim novosintetiziranim spojevima ispitano je antibakterijsko djelovanje naslijedećim bakterijama: *S. aureus*, *B. subtilis*, *Streptococcus pyogenes* (Gram-pozitivne bakterije), *E. coli*, *P. aeruginosa* (Gram-negativne bakterije). Svi spojevi pokazali su značajno antibakterijsko djelovanje protiv svih sojeva bakterija (Vani i sur, 2015.).

Lv i sur. (2018.) sintetizirali su seriju novih derivata kinazolin-4(3*H*)-ona (**6a-e**). 3-((6-fenil-[1,2,4]triazolo[3,4-b][1,3,4]tiazol-3-il)metil)kinazolin-4(3*H*)-on (**6a**), 3-((6-(2-fluorofenil)-[1,2,4]triazolo[3,4-b][1,3,4]tiazol-3-il)metil)kinazolin-4(3*H*)-on (**6b**), 3-((6-(2,4-diklorofenil)-[1,2,4]triazolo[3,4-b][1,3,4]tiazol-3-il)metil)kinazolin-4(3*H*)-on (**6c**), 3-((6-(3-nitrofenil)-[1,2,4]triazolo[3,4-b][1,3,4]tiazol-3-il)metil)kinazolin-4(3*H*)-on (**6d**), 3-((6-(2-aminofenil)-[1,2,4]triazolo[3,4-b][1,3,4]tiazol-3-il)metil)kinazolin-4(3*H*)-on (**6e**), 3-((6-(2-nitrofenil)-[1,2,4]triazolo[3,4-b][1,3,4]tiazol-3-il)metil)kinazolin-4(3*H*)-on (**6f**) koji sadrže skupinu 1,2,4-triazolo[3,4-b][1,3,4]thiadiazola. Dobiveni rezultati bioloških ispitivanja pokazali su da spojevi **6c**, **6d**, **6e** i **6f** imaju vrijednosti EC₅₀ (polovina maksimalne učinkovite koncentracije) od 34,8, 28,2, 41,5 i 42,5 μg mL⁻¹ protiv fitopatogene bakterije *Xanthomonas oryzae* pv. *Oryzae* što je značajno bolje od komercijalnog baktericida Bismertiazola (EC₅₀ = 95.8 μg mL⁻¹). Osim toga, spojevi **6a** i **6b** pokazali su snažnu inhibicijsku aktivnost protiv patogena *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* (Lv i sur., 2018.).

Yan i sur. (2016.) su sintetizirali seriju novih derivata kinazolinona koji sadrže 1,2,4-triazolilthioetarski fragmenti procjenjena su njihova antimikrobna svojstva. Također je određena struktura jednog kristala za 3-((5-((2-fluorobenzil)thio)-4-fenil-4*H*-1,2,4-triazol-3-il)metil)kinazolin-4(3*H*)-on. Preliminarni biotestovi su ukazali da neki od ciljnih spojeva posjeduju dobra antimikrobna svojstva. Na primjer, 3-((4-fenil-5-((4-(trifluormetil)benzil)thio)-4*H*-1,2,4-triazol-3-il)metil)kinazolin-4(3*H*)-on je pokazao najbolji inhibicijski učinak protiv *X. oryzae* pv. *oryzae* i *X. axonopodis* pv. *citri* s vrijednostima (polovina maksimalne učinkovite koncentracije) (EC₅₀) od 47,6 μg mL⁻¹ i

22,1 $\mu\text{g mL}^{-1}$, što je bilo bolje od komercijalnog baktericida bismertiazola. S druge strane, 3-((5-((4-klorobenzil)thio)-4-fenil-4*H*-1,2,4-triazol-3-il)metil)kinazolin-4(3*H*)-on je pokazao bolja fungicidna svojstva protiv *Pellicularia sasakii* i *Colletotrichum capsici* pri koncentraciji od 50 $\mu\text{g mL}^{-1}$, u usporedbi s komercijalnim fungicidom hymexazolom (Yan i sur., 2016.).

Singh i sur., (2013.) sintetizirali su novu seriju spojeva kinazolin-4(3*H*)-ona. Svi sintetizirani spojevi etil 4-(2-fenil-6,8-dibromo-4-okso-(4*H*) kinazolin-3-il) benzoat (**I**), 4-(2-Fenil-6,8-dibromo-4-okso-(4*H*)kinazolin-3-il)benzojeva kiselina hidrazid (**II**), 4-(2-Fenil-6,8-dibromo-4-okso-(4*H*)kinazolin-3-il)benzojeva kiselina(1-substituirani met(*E*)iliden)hidrazidi (**III**), 4-(2-Fenil-6,8-dibromo-4-okso-(4*H*)kinazolin-3-il)benzojeva kiselina (3,4-diklor fenil met(*E*)iliden)hidrazid (**IV**), ispitivani su na njihovu antibakterijsku aktivnost protiv *S. aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus*, *E. coli*, *P. Aeruginosa* i *Salmonella typhimurium*. Također su određene MIC koncentracije za sve spojeve. Rezultati su pokazali da su testirani spojevi umjereno dobro aktivni protiv svih testiranih patogenih bakterija. U usporedbi s standardnim lijekom Ciprofloksacinom. Spoj **II** pokazuje značajnu antimikrobnu aktivnost protiv *S. aureus* i *S. typhimurium* s MIC-om od 1,56 $\mu\text{g mL}^{-1}$ odnosno 3,125 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Spoj **IV** pokazuje snažnu antimikrobnu aktivnost protiv *B. cereus* s MIC-om od 1,56 $\mu\text{g mL}^{-1}$ (Singh i sur., 2013.).

6. ZAKLJUČAK

U okolišu koji čovjeka okružuje mnogo je mikroorganizama, koji mogu biti korisni ili štetni. Patogene bakterije pojavljuju se u tlu u velikom broju, izazivajući različita oboljenja usjeva što dovodi do bolesti i smanjenog prinosa. Kontrola fitopatogena provodi se kemijskim putem ili uzgojem vrsta koje su rezistentne na bolest. Jedan od načina za zaštitu bilja je korištenje pesticida. Ostaci pesticida mogu negativno utjecati na životinje, okoliš i prirodu, baš kao i ljudsko zdravlje. Zbog toga se poljoprivredni proizvođači sve više okreću manje štetnim spojevima. Heterociklički spojevi, pa tako i kinazolinoni, koriste se u farmaceutskoj i medicinskoj kemiji. Kinazolinoni su pokazali vrlo dobru biološku aktivnost, stoga su ova otkrića potaknula daljnja istraživanja kako bi se ispitaio potencijal kinazolinona u suzbijanju patogenih i fitopatogenih organizama. Većina istraživanja koja su provedena na patogenim bakterijama djelovanjem derivata kinazolinona pokazala su pozitivne i učinkovite rezultate. U ovom istraživanju je djelovanjem kinazolinon K4 utvrđeno minimalna inhibitorna koncentracija od $256 \mu\text{g mL}^{-1}$ dok djelovanjem ostalih spojevi nije utvrđena inhibicija rasta bakterije niti u najvećoj koncentraciji ($512 \mu\text{g mL}^{-1}$), stoga su potrebna daljna istraživanja u ovom smjeru.

7. POPIS LITERATURE

1. Agrios, G.N. (2005.): Plant Pathology (5th edition). Elsevier-Academic Press, San Diego, CA.
2. Alvarez, H. (2019.): Biology of Rhodococcus. Springer cham, Switzerland.
3. Asif M. (2014.): Chemical Characteristics, Synthetic Methods, and Biological Potential of Quinazoline and Quinazolinone Derivatives, International Journal of Medicinal Chemistry,2014: 1-27.
4. Baudoin, A.B.A.M. (2007.): The Plant Disease Doughnut, a Simple Graphic to Explain what is Disease and what is a Pathogen.Virginia Tech,Blacksburg.<https://www.apsnet.org/edcenter/foreducators/TeachingNotes/Pages/PlantDiseaseDoughnut.aspx> (15.7.2023.).
5. Bažok, R., Cvjetković, B., Ostojić, Z., Barić, K. (2020): Revolucija i evolucija kemijske metode zaštite bilja. Glasilo biljne zaštite, 20(3): 346-353.
6. Bokulić, A., Budinščak T., Čelig, D., Deždak, B., Hamel, D., Ivić, D., Novak, M., Mrnjavčić Vojvoda, A., Nikl, N., Novak, N., Novaković, V., Pavunić Miljanović, Z., Peček, G., Poje, I., Prpić, I., Rehak, T., Ševar, M., Šimala, M., Turk, R. (2015.): Priručnik za sigurno rukovanje i primjenu sredstava za zaštitu bilja, Ministarstvo poljoprivrede, Zagreb.125-128.
7. Chavan BB, Bhalawane PP, Kolsure AK, Chabukswar AR (2014.): Synthesis and evaluation of some new 4, 6- disubstituted quinazoline derivatives for antimicrobial and antifungal activities. Asian Journal of Biomedical and Pharmaceutical Sciences,4(33):43-6.
8. Fleeman R, Vanhorn KS, Barber MM, Burda WN, Flanigan DL Manetsch R, Shaw L. (2017.): Characterizing the Antimicrobial Activity of N^2, N^4 -Disubstituted Quinazoline-2,4-Diamines toward Multidrug-Resistant *Acinetobacter baumannii*. Antimicrob Agents Chemotherapy.61(6):17-59.
9. Gavrilesco M. (2009.): Plant protection products and their sustainable and environmentally friendly use. Environmental Engineering and Management Journal, 8(3):607-627.
10. Gothals K., Vereecke D., Jaziri M., Monatgu Van M., Holsters M. (2001.): Leafy gall formation by *Rhodococcus fascians*.Annual review of phytopathology,39:27-52.

11. He, D., Wang, M., Zhao, S., Shu, Y., Zeng, H., Xiao, C., Lu, C., Liu, Y. (2017): Pharmaceutical prospects of naturally occurring quinazolinone and its derivatives. *Fitoterapia*, 119:136-149.
12. Jackson R, (2009.): *Plant pathogenic bacteria: Genomics and molecular biology*. Caister Academic Press. School of Biological Sciences, University of Reading, Whiteknights, Reading, UK.
13. Jantova, S., Stankovský Š. Špirkova K. (2004.): In vitro antibacterial activity of ten series of substituted quinazolines, Department of Biochemistry and Microbiology, Faculty of Chemical and Food Technology, Slovak University of Technology, 59(6):741-752.
14. Kalenić S, Mlinarić-Missoni E. (1995): *Medicinska bakteriologija i mikologija. Prehrambenotehnoški inženjering*, Zagreb. Znanstveno stručna biblioteka. 533-536.
15. Karan, R., Agarwal, P., Sinha, M., Mahato, N. (2021): Recent Advances on Quinazoline Derivatives: A Potential Bioactive Scaffold in Medicinal Chemistry. *ChemEngineering*, 5(4): 73.
16. Kennelly, M., O'Mara, J., Rivard, C., Miller, G.L. and D. Smith (2012.): Introduction to abiotic disorders in plants. *The Plant Health Instructor*. 1904:26-35.
17. Kišpatić, J. (1992.): *Opća fitopatologija*, Skripta, Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu.
18. Klement, Z., Rudolf, K. and Sands, D.C. (1990.): *Methods in Phytobacteriology*. Akadémiai Kiadó, Budapest, Hungary. 27:95-124.
19. Komar, M., Molnar, M., Konjarević, A. (2019): Screening of Natural Deep Eutectic Solvents for Green Synthesis of 2-methyl-3-substituted Quinazolinones and Microwave-Assisted Synthesis of 3-aryl Quinazolinones in Ethanol. *Croatica Chemica Acta*, 92(4): 511-518.
20. Kousik, C.S., Ritchie, D.F. (1996.): Disease potential of pepper bacterial spot pathogen races that overcome the Bs2 gene for resistance. *Phytopathology*, 86: 1336-1343.
21. Kumar A.S., Kudva J., Lahtinen M., Peuronen A., Sadashiva R., Naral D. (2019.): Synthesis, characterization, crystal structures and biological screening of 4-amino quinazoline sulfonamide derivatives, *Journal of Molecular Structure*, 1190: 29-36.
22. Kumar, A., Verma, H., Singh, V. K., Singh, P. P., Singh, S. K., Ansari, W. A., Yadav, A., Singh, P. K., Pandey, K. D. (2017): Role of *Pseudomonas* sp. in

- sustainable agriculture and disease management. Agriculturally important microbes for sustainable agriculture,7:195-215.
23. Loughlin E., Kehrmeyer S., Sims G. (1996).: Isolation, characterization, and substrate utilization of a quinoline-degrading bacterium. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 38(2):107-118.
 24. Lv, X., Yang, L., Fan, Z., Bao, X. (2018): Synthesis and antimicrobial activities of novel quinazolin-4(3H)-one derivatives containing a 1, 2, 4-triazolo [3, 4-b][1, 3, 4] thiadiazole moiety. *Journal of Saudi Chemical Society*, 22(1):101-109.
 25. McLeod M., Warren R., Hsiao w., Araki n., Myhre M., Fernandes C., Miyazawa D., Wong W., Lillquist A., Wang D., Hara H., Petrescu A., Morin R., Yang J. (2006.): The complete genome of *Rhodococcus* sp. *Journal of Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103(42):15582–15587.
 26. Moh Park J., Koo J., Kang Won S., Jo Hee S., Park Mee J. (2021.): Detection of *Rhodococcus fascians*, the Causative Agent of Lily Fasciation in South Korea. *Journal of Pathogens*, 10(2):241.
 27. Patei A. (2020.): Investigation of the antibacterial activity of new quinazoline derivatives against methicillin and quinolone resistant *Staphylococcus aureus*. *Journal of Chemical Research*, 44:1-8.
 28. Pogacean M.O., Gavrilesco M. (2009.): Plant protection products and their sustainable and environmentally friendly use. *Environmental Engineering and Management Journal*, 8(3): 607-627.
 29. Putnam M.L., Miller M.L., (2007.): *Rhodococcus fascians* in Herbaceous Perennials. *Journal of The American Phytopathological Society*, 91(9):1064-1076.
 30. Singh V.K., Singh S.K. , Gangwar L., (2013.): Synthesis and Antimicrobial Activity of Nove fused 4-(3H) Quinazolinone Derivatives. *International Journal of Science and Research (IJSR)*, India.2(4):425-428.
 31. Stes E., Vandeputte O., El Jaziri M., Holsters M., Vereecke D. (2011.): A Successful Bacterial Coup d'État: How *Rhodococcus fascians* Redirects Plant Development. *Journal of Annual Review of Phytopathology*, 49: 69-86.
 32. Tampakaki A.P., Hatziloukas E., Panopoulos N.J. (2009.): Plant Pathogens, Bacterial. Academic press, *Encyclopedia of Microbiology (Third Edition)* 655-677.
 33. Thind, B. S. (2019): *Phytopathogenic bacteria and plant diseases*. CRC Press, Boca Raton, 398.

34. Trivedi P.C., Pandey S., Bhadauria S. (2010.):Text Book of Microbiology. Aavishkar Publishers, Distributors. India. 71-103.
35. Van der Wolf J.M, De Boer S.H. (2015.):Phytopathogenic Bacteria. Principles of Plant-Microbe Interactions, Switzerland,2015:65-77.
36. Vani K. V., Ramesh G. i Rao C. V. (2015.): Synthesis of New Triazole and Oxadiazole Derivatives of Quinazolin-4(3*H*)-one and Their Antimicrobial Activity, Journal of Heterocyclic Chemistry, 53(3): 719-726.
37. Vereecke D., Bursens S., Inze D., Montagu Van M., Gotheals K., Jaziri M. (2000.): The Rhodococcus fascians-plant interaction: morphological traits and biotechnological applications, An International Journal of Plant Biology,210(2):241-51.
38. Vidaver A, Lambrecht P. (2004.):Bacteria as Plant Pathogens. Department of Plant Pathology, University of Nebraska, Lincoln, NE.<https://www.apsnet.org/edcenter/disandpath/prokaryote/intro/Pages/Bacteria.aspx> (15.7.2023.).
39. Vereecke D. i Depuydt S. (2018.): Is there a role for salicylic acid in plant defence against *R.fascians*. Faculteit Bio-ingenieurswetenschappen.1:5.
40. Vukadinović V i Vukadinović V (2018.)- Zemišlji resursi, Vrednovanja zemljišnih resursa, Fakultet Agrobiotehničkih znanosti u Osijeku.
41. Watts M., (1997.): Proposal for a pesticide risk reduction policy for New Zealand. Environmental Engineering and Management Journal,1997: 498-505.
42. Yan, B. R., Lv, X. Y., Du, H., Gao, M. N., Huang, J., Bao, X. P. (2016): Synthesis and biological activities of novel quinazolinone derivatives containing a 1, 2, 4-triazolythioether moiety. Chemical Papers, 70(7): 983-993.
43. Yu L., Zenghua L., Zhao L., Yunqiang B., Jie Q., Feng S. (2017.): The Antibacterial Activity of Quinazoline and Quinazolinone Hybrids, Shandong Key Laboratory of Biophysics,22(12):1035-1044.
44. Znaor, D.(1996.): Ekološka poljoprivreda- poljoprivreda sutrašnjice. Nakladni zavod Globus d.o.o., Zagreb.

8. SAŽETAK

Kinazolinoni su heterociklički spojevi s raznovrsnim biološkim djelovanjem, uključujući antibakterijska, antifungalna i antivirusna. Kinazolinoni su prisutni prirodi, u biljkama ali se uspješno i sintetiziraju i laboratorijskim uvjetima. Kinazolinoni su potencijalna nova sredstva u zaštiti biljaka jer su pokazali iznimnu antibakterijsku i antifungalnu aktivnost protiv različitih patogena koji napadaju biljke. Cilj ovog istraživanja je bio ispitati djelotvornost osam derivata kinazolinona na fitopatogenu bakteriju *Rhodococcus fascians*. Rezultati su utvrdili minimalnu inhibitornu koncentraciju od $256 \mu\text{g mL}^{-1}$ do $512 \mu\text{g mL}^{-1}$ za ispitane kinazolinone stoga su neophodna daljnja istraživanja u ovom smjeru.

Ključne riječi: antibakterijsko djelovanje, fitopatogen, biološka aktivnost, zaštita bilja

9. SUMMARY

Quinazolinones are heterocyclic substances with various biological activities, including antibacterial, antifungal and antiviral. Quinazolinones are present in nature, in plants, but they are also successfully synthesized under laboratory conditions. Quinazolinones are potential new agents in plant protection because they have shown exceptional antibacterial and antifungal activity against various pathogens that attack plants. The aim of this research was to test the effectiveness of eight quinazolinone derivatives on the phytopathogenic bacterium *Rhodococcus fascians*. The results determined the minimum inhibitory concentration from 256 $\mu\text{g mL}^{-1}$ to 512 $\mu\text{g mL}^{-1}$ for the tested quinazolinones, so further research in this direction is necessary.

Keywords: antibacterial activity, phytopathogen, biological activity, plant protection

10. POPIS TABLICE

Tablica 1. Rezultati istraživanja djelotvornosti derivata kinazolinona (K1) na testnu bakteriju <i>Rhodococcus fascians</i>	17
Tablica 2. Rezultati istraživanja djelotvornosti derivata kinazolinona (K2) na testnu bakteriju <i>Rhodococcus fascians</i>	17
Tablica 3. Rezultati istraživanja djelotvornosti derivata kinazolinona (K3) na testnu bakteriju <i>Rhodococcus fascians</i>	17
Tablica 4. Rezultati istraživanja djelotvornosti derivata kinazolinona (K4) na testnu bakteriju <i>Rhodococcus fascians</i>	18
Tablica 5. Rezultati istraživanja djelotvornosti derivata kinazolinona (K5) na testnu bakteriju <i>Rhodococcus fascians</i>	18
Tablica 6. Rezultati istraživanja djelotvornosti derivata kinazolinona (K6) na testnu bakteriju <i>Rhodococcus fascians</i>	18
Tablica 7. Rezultati istraživanja djelotvornosti derivata kinazolinona (K7) na testnu bakteriju <i>Rhodococcus fascians</i>	19
Tablica 8. Rezultati istraživanja djelotvornosti derivata kinazolinona (K8) na testnu bakteriju <i>Rhodococcus fascians</i>	19

11. POPIS SLIKA

Slika 1. Mikroorganizmi.....	2
Slika 2. Negativan utjecaj sredstava za zaštitu bilja.....	7
Slika 3. <i>Rhodococcus</i>	8
Slika 4. <i>Rhodococcus fascians</i> na Duhanu.....	9
Slika 5. Kinazolinoni i derivati kinazolinona.....	10
Slika 6. Biološka aktivnost kinazolinona.....	12
Slika 7. Struktura derivata kinazolinona K1 i K2.....	13
Slika 8. Struktura derivata kinazolinona K3 i K4.....	14
Slika 9. Struktura derivata kinazolinona K5 i K6.....	14
Slika 10. Struktura derivata kinazolinona K7 i K8.....	15
Slika 11. Čišta kultura <i>R. fascians</i>	16
Slika 12. Nanošenje hranjive podloge na mikrotitarsku ploči.....	16

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku
Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek
Sveučilišni diplomski studij, smjer Ekološka poljoprivreda

Diplomski rad

Učinak kinazolinona na fitopatogenu bakteriju *Rhodococcus fascians*

Monika Petrušić

Sažetak: Kinazolinoni su velika klasa heterocikličkih spojeva, sastavljeni su od dva spojena šesteročlana aromatična prstena, benzena i pirimidin oksida. Posjeduju širok spektar bioloških aktivnosti kao što su antibakterijsko, analgetsko, antimikrobno, protuupalno, antikancerogeno i antihipertenzivno, antifungalno, anti-HIV, antioksidativno, analgetsko, antikonvulzivno, antimalarijsko, antitumorsko, antituberkulozno djelovanje. Cilj ovog istraživanja bio je ispitati djelotvornost derivata kinazolinona na ispitanu testnu patogenu bakteriju *Rhodococcus fascians*. Pokus je proveden u sterilnim mikrotitarskim pločama. Rezultati su pokazali manju učinkovitost spoja 3-(2-bromo-4-metilfenil)-2-metilkinazolin-4(3H)-on koji je inhibirao rast *R. fascians* pri 256 $\mu\text{g mL}^{-1}$, dok ostali kinazolinoni nisu imali inhibitornu djelotvornost na ispitanu bakteriju.

Rad je izrađen pri: Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek

Mentor: prof.dr.sc. Gabriella Kanižai Šarić

Broj stranica: 28

Broj slika: 12

Broj tablica: 8

Broj literaturnih navoda: 44

Jezik izvornika: hrvatski

Ključne riječi: antibakterijsko djelovanje, patogen, biološka aktivnost, zaštita bilja

Datum obrane:

Stručno povjerenstvo za obranu:

1. prof. dr. sc. Vesna Rastija, predsjednik
2. prof. dr. sc. Gabriella Kanižai Šarić, mentor
3. izv. prof. dr. sc. Dejan Agić, član

Rad je pohranjen u: Knjižnica Fakulteta agrobiotehničkih znanosti Osijek, Sveučilište J.J. Strossmayer u Osijeku i u digitalnom repozitoriju završnih i diplomskih radova Fakulteta agrobiotehničkih znanosti Osijek, Vladimira Preloga 1.

BASIC DOCUMENTATION CARD

Josip Juraj Strossmayer University of Osijek
Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek
University Graduate Studies, Organic agriculture

Graduate thesis

Effect of quinazolinone on the pathogenic bacterium *Rhodococcus fascians*

Monika Petrušić

Abstract: Quinazolinones are a large class of heterocyclic compounds, composed of two fused six-membered aromatic ring compounds, benzene and pyrimidine oxide. They have a wide range of biological activities such as antibacterial, analgesic, antimicrobial, anti-inflammatory, anticancer and antihypertensive, antifungal, anti-HIV, antioxidant, analgesic, anticonvulsant, antimalarial, antitumor, antituberculous action. The aim of this study was to examine the efficacy of quinazolinone derivatives on the tested test pathogenic bacterium *Rhodococcus fascians*. The experiment was performed through sterile microtiter plates. The results determined the lower efficiency of the compound 3-(2-bromo-4-methylphenyl)-2-methylquinazolin-4(3H)-one which inhibited the growth of *R. fascians* at $256 \mu\text{g mL}^{-1}$, the other quinazolinones had no inhibitory effect on the tested bacteria

Thesis performed at: Faculty of Agrobiotechnical sciences Osijek

Mentor: prof.dr.sc. Gabriella Kanižai Šarić

Number of pages: 28

Number of figures: 12

Number of tables: 8

Number of references:44

Original in: Croatian

Key words:antibacterial action, pathogen, biological activity, plant protection

Thesis defended on date:

Reviewers:

1. prof. dr. sc. Vesna Rastija, chairman
2. prof. dr. sc. Gabriella Kanižai Šarić, mentor
3. izv.prof. dr. sc. Dejan Agić, member

Thesis deposited at: Library of Faculty of AgrobiotechnicalSciences Osijek and in digital repository of Faculty of Agrobiotechnical sciences Osijek, Vladimira Preloga 1.