

# Utjecaj derivata kinazolinona na predstavnike korisnih bakterija tla

---

**Smolčić, Domagoj**

**Master's thesis / Diplomski rad**

**2024**

*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:151:102608>

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

*Download date / Datum preuzimanja:* **2025-02-07**



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**

Domagoj Smolčić

Diplomski studij Ishrana bilja i tloznanstvo

**UTJECAJ DERIVATA KINAZOLINONA NA PREDSTAVNIKE**  
**KORISNIH BAKTERIJA TLA**

Diplomski rad

**Osijek, 2024.**

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU  
FAKULTET AGROBIOTEHNIČKIH ZNANOSTI OSIJEK

Domagoj Smolčić

Diplomski studij Ishrana bilja i tloznanstvo

**UTJECAJ DERIVATA KINAZOLINONA NA PREDSTAVNIKE  
KORISNIH BAKTERIJA TLA**

Diplomski rad

Povjerenstvo za ocjenu i obranu diplomskoga 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, 2024.**

## Contents

1. UVOD .....	1
2. PREGLED LITERATURE .....	2
2.1. Održiva poljoprivreda – pokretač promjena .....	2
2.2. Kinazolinoni i njihova biološka aktivnost .....	4
2.3. Značaj mikroorganizama tla .....	9
2.4. Značajke korisne bakterije <i>Bacillus mycoides</i> .....	10
2.5. Značajke korisne bakterije <i>Bradyrhizobium japonicum</i> .....	12
3. MATERIJAL I METODE .....	16
4. REZULTATI .....	18
5. RASPRAVA .....	22
6. ZAKLJUČAK .....	25
7. POPIS LITERATURE .....	26
8. SAŽETAK .....	32
9. SUMMARY .....	33
10. POPIS SLIKA .....	34
11. POPIS TABLICA .....	35

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

BASIC DOCUMENTATION CARD

## 1. UVOD

Prema većini procjena, stručnjaci predviđaju kako će svjetska populacija dosegnuti 9,6 milijardi ljudi do 2050. godine. Kako bi se zadovoljile potrebe brzo rastuće populacije proizvodnja hrane morala bi se povećati za 70 % . Stoga, postaje sve izraženija potreba za ozbiljnijom reorganizacijom u poljoprivrednom sektoru kako bi se osigurao prehrambeni sustav sposoban odgovoriti na izazove rastućeg svjetskog stanovništva. U suštini, poljoprivredna proizvodnja mora se preusmjeriti s konzervativno industrijsko - prehrambenog sustava, koji je obilježio proizvodnju hrane u prošlim stoljećima, na održivu poljoprivrednu proizvodnju. Održiva poljoprivreda definirana je kao „učinkovita proizvodnja sigurnih, visokokvalitetnih poljoprivrednih proizvoda, na način koji štiti i poboljšava prirodni okoliš, društvene i ekonomske uvjete poljoprivrednika, njihovih zaposlenika i lokalnih zajednica, te čuva zdravlje i dobrobit svih uzgajanih vrsta” (Buckwell i sur., 2015.). Implementacija održive proizvodnje na širokoj razini kontinuiran je proces koji zahtijeva neprekidnu optimizaciju, prevladavanje postojećih i novonastalih barijera i prepreka te aktivno pronalazjenje novih načina i metoda za poboljšanja proizvodnje (Jastrzębska i sur., 2022.). Jedan od načina implementacije principa održive poljoprivrede je primjena korisnih mikroorganizama koji ili već postoje u nekom tlu ili se implementiraju u tlo ili na biljku i tako pozitivno utječu na rast i razvoj biljaka. Oni biljku čine izdržljivijom i snažnijom te na prirodan način biljci opskrbljuju esencijalne uvijete za rast i razvoj. Primjeri takvih mikroorganizama su korisne bakterije u tlu *Bacillus mycoides* i *Bradyrhizobium japonicum* te će iste biti opisane i ispitane u ovom radu. Isto tako, kinazolinoni, oksidirani kinazolini, obećavajući su spojevi sa širokim rasponom bioloških aktivnosti. U farmaceutskom području, kinazolinoni su gradivni elementi više od 150 prirodno prisutnih alkaloida izoliranih iz različitih biljaka, mikroorganizama i životinja (Alsibae i sur., 2023.). Znanstvenici pokazuju kontinuirani interes za ovu skupinu spojeva zbog njihove stabilnosti i relativno jednostavnih metoda pripreme (Alsibae i sur., 2023.). Derivati prije spomenutih kinazolinona imaju veliki neistraženi potencijal u području agrobiotehničkih znanosti zbog kojeg znanstvenici svoja istraživanja usmjeravaju ka ispitivanju njihovog utjecaja u različitim sferama poljoprivredne proizvodnje. Stoga, svrha ovog istraživanja je prikazati na koji način derivati kinazolinona utječu na predstavnike korisnih bakterija u tlu.

## 2. PREGLED LITERATURE

### 2.1. Održiva poljoprivreda – pokretač promjena

Konvencionalna poljoprivreda suočava se ili sa smanjenjem proizvodnje ili s povećanjem troškova proizvodnje, ili s oboje. Uzgoj monokultura, poput pšenice, na istom tlu dovodi do iscrpljivanja površinskog sloja tla, smanjenja plodnosti tla, zagađenja podzemnih voda i inhibicije rasta korisnih mikroorganizama te životinjskog svijeta, čineći usjev osjetljivim na štetnike i patogene. Sve veća količina gnojiva i pesticida, kao i energetske zahtjevi za obradom tla te rastući troškovi navodnjavanja, predstavljaju ključne probleme. Iako su konvencionalne metode omogućile veliki porast prinosa usjeva, te visoke prihode u početku svoje primjene, nisu se pokazale kao idealan pristup za budućnost (Singh i sur., 2011.)

Dok je konvencionalna poljoprivreda vođena gotovo isključivo produktivnošću i profitom, pojam "održiva poljoprivreda" definiran je kao sveobuhvatna integracija bioloških, kemijskih, fizikalnih, ekoloških, ekonomskih i društvenih znanosti za razvoj novih poljoprivrednih praksi koje su sigurne i ne degradiraju naš okoliš (Lichtfouse i sur., 2009.) Održiva poljoprivreda može uključivati dva glavna pristupa, lokalni i sveobuhvatni pristup. Prvi pristup promatra poljoprivredni sustav kao zatvorenu cjelinu, kojom se poljoprivreda treba održati kroz dugo vremensko razdoblje štiteći svoje proizvodne resurse, npr. očuvanje plodnosti tla, zaštita zalihe površinskih i podzemnih voda, razvoj obnovljivih izvora energije i pronalaženje rješenja za prilagodbu poljoprivrednih sustava klimatskim promjenama. Drugi pristup ima šire ciljeve i ne razdvaja ruralna od urbanih područja, pošto poljoprivreda mora doprinijeti održivosti velikih područja i društvenih zajednica (Semida i sur., 2019.)

Isto tako, održivost uključuje nove poljoprivredne metode za zaštitu okoliša, očuvanje prirodnih resursa, smanjenje upotrebe kemijskih spojeva i promicanje financijske neovisnosti. Suživot i sklad s poljoprivredom zapravo je ekonomska i ekološka nužnost. Dakle, napredak treba ocjenjivati kombinacijom kvalitativnih i kvantitativnih kriterija i učinaka razvoja poljoprivrede na društvene, ekološke i zdravstvene aspekte.

Održivi poljoprivredni okvir koji je nedjeljiv dio ruralnog razvoja zapravo je ekološki besprijekoran, financijski i ekonomski razuman, te društveno adekvatan (Singh i Mondal, 2017.).

Sadiq i suradnici (2024.) govore kako je od ključne važnosti ispitivanje i procjena definiranih pristupa osmišljenih za povećanje održivosti poljoprivrede posebno onih koji imaju naglasak na ekosustav. Ovi pristupi, prikazani načelima s ekološkim, ekonomskim i društvenim ciljevima, razvili su se tijekom vremena ili kao metodološki pristupi npr. agroekologija ili održivo intenziviranje proizvodnje ili su im od samog početka prioriteta u programima politike npr. sekvencijalno smanjenje ugljika.

Intenziviranje poljoprivrede ključno je za ispunjavanje zahtjeva rastuće ljudske populacije, s ciljem povećanja učinkovitosti korištenja resursa uz minimalni utjecaj na okoliš (Pretty i sur., 2011.). Održivo intenziviranje proizvodnje usmjereno je ka poticanju poljoprivredne proizvodnje bez štetnog utjecaja na okoliš ili prenamjene nepoljoprivrednog zemljišta. Uključuje strategije usmjerene na proizvodnju više hrane uz očuvanje ekosustava i jačanje otpornosti na klimatske promjene (Garnett i sur., 2013.). Intenziviranje obično znači veću proizvodnju po jedinici inputa, ali to može dovesti do smanjenih prihoda ako nije uravnoteženo s optimizacijom drugih inputa (Tilman i sur., 2011.). Održivo intenziviranje proizvodnje rješava to poboljšanjem učinkovitosti svih inputa i razmatranjem kompromisa prije intenzifikacije (Pretty i sur., 2011.). Prakse kao što su upravljanje tlom i vodom, poboljšanje i očuvanje bioraznolikosti i učinkovitije korištenje zemljišta pridonose održivom intenziviranju uz istovremeno smanjenje utjecaja na okoliš (Tilman i sur., 2011.; Pretty i sur., 2011.; Garnett i sur., 2013.).

Integrirana kontrola štetnika uspješno je razrađen model u upravljanju štetnicima, koji je razvijen kako bi promijenio praksu kontrole štetnika u recentnom dobu. Takav model naglašava uravnotežen pristup uzimajući u obzir ekonomsku održivost, sigurnost okoliša i društvenu prihvatljivost za postizanje održive proizvodnje i globalne sigurnosti hrane (Gurr i sur., 2017.). Izmjenjeni model uključuje temeljna načela kao što su monitoring i pragovi odlučivanja, smanjujući upotrebu pesticida integracijom bioloških, kulturoloških, mehaničkih, fizičkih i kemijskih procesa na održiv način kako bi se smanjili ekonomski, zdravstveni i ekološki rizik (Birkett i sur., 2018.). Cilj modela je uskladiti ga s trenutnim globalnim trendovima proizvodnje hrane, obrascima potrošnje te ekološkim i društvenim razmatranjima (Gurr i sur., 2017.). Model uključuje korištenje različitih strategija za

suzbijanje štetnika kako bi dopunio, smanjio ili zamjenio sintetičke pesticide, uključujući istovremeno upravljanje i integraciju strategija, redovito praćenje štetnika i prirodnih neprijatelja te korištenje pragova odlučivanja (Hoddle, 2017.) Ovaj pristup ne samo da smanjuje upotrebu sintetičkih pesticida, već također poboljšava održivost na farmi i izvan nje, štedi novac poljoprivrednicima uz očuvanje vrijednosti ekosustava (Birkett i sur., 2018.; Gurr i sur., 2017.). Provedbom praktičnih i jeftinih poljoprivrednih mjera s minimalnim remećenjem ekosustava, ovaj model osigurava održivu poljoprivrednu proizvodnju, što ga čini dokazanom strategijom za borbu protiv problema sa štetnicima bez nepotrebne uporabe pesticida (Hoddle, 2017.). Oslanja se na trenutne, temeljite podatke o životnim ciklusima i interakcijama štetnika kako bi se uspostavili pragovi djelovanja prije provedbe intervencija kontrole štetnika (Birkett i sur., 2018; Gurr i sur., 2017.).

Takve metode znanstvenike potiču na pronalazak novih načina djelovanja u poljoprivredi kako bi očuvali bioraznolikost i zaštitili okoliš od daljnje degradacije. Kinazolinoni i njihovi derivati, zbog svoje biološke aktivnosti, spojevi su koji se već nekoliko desetljeća proučavaju u sklopu medicine, farmakologije i farmaceutske industrije, a u zadnjem desetljeću njihova se biološka aktivnost ispituje i u zaštiti bilja u okviru agrobiotehničkih znanosti.

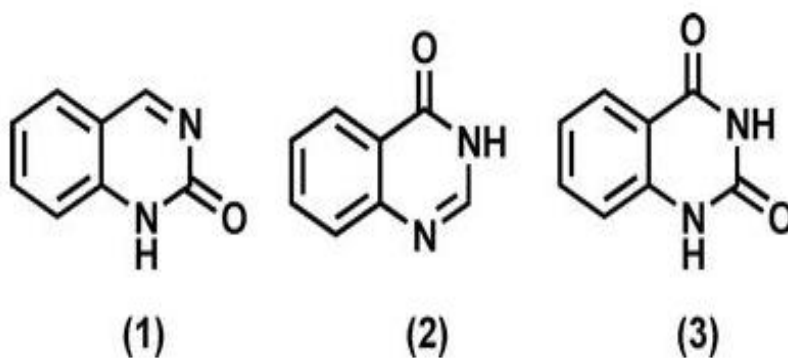
## **2.2. Kinazolinoni i njihova biološka aktivnost**

Kinazolini su heterociklični spojevi koji sadrže dušik i sastoje se od benzenskog prstena spojenog s pirimidinskim prstenom (Alsibae i sur., 2023.). Dušik prisutan u heterocikličnim spojevima pokazuje različite biološke aktivnosti zbog prisustva u mnogim prirodnim sredinama. Prirodni i umjetni kinazolini zanimljivo su područje istraživanja zbog svojih raznolikih farmakoloških aktivnosti: protuupalne, antikancerogene, imunotropne, hipolipidske, antitrombocitne, antifungalne, antimikrobne i antikonvulzivne aktivnosti (Mahato i sur., 2011.). U farmaceutskom području, kinazolinska skupina se smatra "privilegiranom strukturom" za razvoj lijekova. Štoviše, kinazolinoni su gradivni blokovi više od 150 prirodnih alkaloida izoliranih iz različitih biljaka, mikroorganizama i životinja (Mahato i sur., 2011.).



Stefan Niementowski je prvi sintetizirao kinazolinone (Radwan i Alanazi, 2020.). Prva zabilježena sinteza kinazolinona bila je 1989. godine i poznata je kao Griessova sinteza. Prvi korak je kondenzacija antranilne kiseline i cijanida u etanolu kako bi se dobio 2-etoksi-4(3*H*)-kinazolinon. Ovaj korak se nastavlja reakcijom s amonijakom kako bi se dobio 2-amino-4(3*H*)-kinazolinon ili reakcijom sa vodom kako bi se dobio 2,4(1*H*,3*H*)-kinazilindion (Mahato i sur., 2011.).

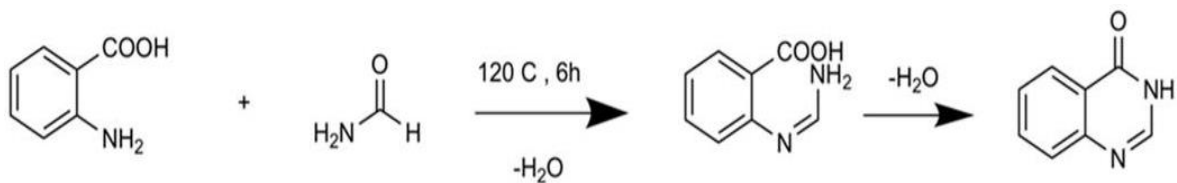
Kinazolinoni nastaju spajanjem benzenskog prstena s pirimidin-2-onom (1), pirimidin-4-onom (2) ili pirimidin-2,4-dionom (3) (Radwan i Alanazi, 2020.). Kinazolinoni se klasificiraju prema poziciji oksidne grupe u tri tipa: kinazolin-2(1*H*)-on, kinazolin-4(3*H*)-on ili kinazolin-2,4(1*H*,3*H*)-on. (Slika 1.).



Slika 1. Klasifikacija kinazolinona prema položaju kisika na pirimidinskom prstenu

Izvor: (Radwan i Alanazi, 2020.)

Sinteza po Niementowskom (Slika 2.) jednostavna je i laka metoda za sintezu 4-(3*H*) kinazolinona kondenzacijom antranilne kiseline s kiselim amidima. Nastaje zagrijavanjem antranilne kiseline u otvorenoj posudi s viškom formamida pri 120 °C. Reakcija uključuje eliminaciju vode, a nastavlja se preko *o*-amidobenzamidnog intermedijera. Ova metoda je modificirana korištenjem tehnika mikrovalnog zračenja kako bi se povećala količina i smanjilo vrijeme reakcije. Kinazolinon 2-metil-4-(3*H*-kinazolinon) sintetizira se zagrijavanjem uretana i acetanilida tri sata s fosforom pentoksidom u toluenu (Tiwary i sur., 2015.)



Slika 2. Niementowski sinteza

Izvor: (Alsibae i sur., 2023.)

Kinazolinoni i njihovi derivati čine važnu klasu heterocikličkih spojeva koji zauzimaju važno mjesto u medicinskoj kemiji. Pokazalo se da prirodni kinazolinoni pokazuju različite farmakološke aktivnosti koje su navedene u prijašnjem tekstu. Brojni lijekovi razvijeni su iz prirodnih izvora, a prirodni spojevi su glavni izvor kandidata za lijekove. Osim prirodnih proizvoda, mnogi derivati kinazolinona posjeduju farmakološke aktivnosti nakon modifikacije njihovih struktura, a oni mogu predstavljati važnu platformu za dizajniranje novih lijekova (He i sur., 2017.)

Novi 3-supstituirani derivati kinazolin-4(3*H*)-ona i 3,4-dihidro-kinazolin-2(1*H*)-ona objavljeni su kao antitumorski spojevi 2-[2-(4-klorofenil)-2-okso-etil] -3-(4-metoksifenil)kinazolin-4(3*H*) on (1) i 3-(4-klorofenil)-2-[2-(4-metoksifenil)-2-okso-etil]kinazolin-4(3*H*)-on uspješno pomažu u liječenju tumora (Gawad i sur., 2010.)

Epilepsija je definirana kao kronični neurološki sindrom i obilježena neuronskim aktiviranjem. Epilepsija se ne može izliječiti, ali u 70 % slučajeva se može kontrolirati lijekovima za spriječavanje napada. No ta stopa je premala te je nužno tražiti nove antiepileptičke spojeve s manje nuspojava i manje toksičnosti (Radwan i Alanazi, 2020.). Zheng i suradnici (2013.) opisali su sintezu i procjenu antikonvulzivne aktivnosti derivata 5-fenil [1,2,4]triazolo[4,3-*c*]kinazolin-3-amina. El-Azab i suradnici (2014.) dizajnirali su i sintetizirali novu seriju analoga kinazolina i procijenili njihovu antikonvulzivnu aktivnost. Malik i Khan (2014.) su izvijestili o novoj sintezi kinazolin-4(3*H*)-on supstituiranih derivata 1*H* i 2*H*-tetrazola i procjeni za razvoj antikonvulzivnih lijekova (ADD). Svi testirani spojevi pokazali su značajno antikonvulzivno djelovanje u barem jednom od antikonvulzivnih testova (Tiwary i sur., 2015.).

Nadalje, upala je odgovor na biokemijske reakcije koji štiti tijelo od infekcija i ozljeda. Reflektira odgovor organizma na različite podražaje i povezan je s mnogim poremećajima poput artritisa, astme i psorijaze koji zahtijevaju produljeno ili ponovljeno liječenje. Glavni uzrok upale je otpuštanje kemikalija iz tkiva kao što su prostaglandini, histamin,

leukotrieni, bradikinin, faktor aktivacije trombocita i interleukin-1. Kortikosteroidi inhibiraju otpuštanje tih kemikalija sintezu te ublažavajući upalu reumatoidnog artritisa ili astme. (Radwan i Alanazi, 2020.). Hussein (2013.) je izvijestio o sintezi 2,3-dihidro-2-(3,4-dihidroksifenil) pirazolo[5,1-b]kinazolin-9(1*H*)-ona i ispitaio njihovu protuupalnu aktivnost. Eweas i suradnici (2013.) dizajnirali su i sintetizirali neke nove derivate 2-piridil (3*H*)-kinazolin-4-ona i procijenili njihovu protuupalnu aktivnost. Svi ispitani spojevi pokazali su dobro protuupalno djelovanje (Tiwary i sur., 2015.).

U znanstvenoj literaturi istražena su antimikrobna svojstva derivata kinazolinona.

Istraživači Ghorab i suradnici (2000.) su većinu novosintetiziranih spojeva derivata kinazolinona testirali na antifungalnu aktivnost protiv četiri vrste gljivica, *Aspergillus ochraceus* Wilhelm (AUCC-230), *Penicillium chrysogenum* Thom (AUCC530), *Aspergillus flavus* Link (AUCC-164) i *Candida albicans* Robin Berkho (AUCC - 1720), koristeći metodu difuzije agara u Petrijevoj zdjelici. Fungicid Trosyd (Tioconazole) korišten je kao referenca za procjenu senzibilnosti testiranih spojeva. Rezultati su utvrdili kako spojevi 3-fenil-5-(4'-fluorofenil)-5,6,7,8,9-pentahidrotiazol[2,3-b]kinazolin-6-on i 3-fenil-5-(4'-fluorofenil)-5,6,7,8,9-pentahidrotiazolo[2,3-b]kinazolina-6-dion, su skoro jednako aktivni kao Trosyd, protiv *A. ochraceus* i *A. flavus* (minimalne inhibitorne vrijednosti (MIC) 40 mg mL<sup>-1</sup>). S druge strane, spojevi 3-(2-cianoetil)-4-(4'-fluorofenil)-2-tiokso-1,2,3,4,5,6,7,8,-oktahidrokinazolin-5-on, 3-amino-2-cijano-5-(4'-fluorofenil)-5,6,7,8,9-pentahidrotiazol[2,3-b]-kinazolin-6-on, 11-(4'-fluorofenil)-3,4,7,8,9,10,11-heptahidropirimidino[4',5':4,5]tiazolo[2,3-b]-kinazolina-4,10-dion, 2-metil-11-(4-fluorofenil)-3,4,7,8,9,10,11-heptahidropirimidino[4',5':4,5]tiazolo[2,3-b]-kinazolina-4,10-dion (MIC vrijednosti 40 mg mL<sup>-1</sup>) i 4-amino-3-fenil-2-tiokso-11-(4'-fluorofenil)-2,3,7,8,9,10,11-heptahidropirimidino[4',5':4,5]-tiazolo[2,3-b]kinazolin-10-on, 11-(4'-fluorofenil)-2-sulfoksido-1,3,4,7,8,9,11-heptahidro[1,2,6]tiadiazino[4',5':4,5] tiazolo[2,3-b]kinazolina-4,10-dion (MIC 50 mgmL<sup>-1</sup>) posjeduje visoku aktivnost, gotovo kao Trosyd, protiv *P. chrysogenum*, dok samo spoj 3-Amino-2-cijano-5-(4'-fluorofenil)-5,6,7,8,9-pentahidrotiazolo[2,3-b]-kinazolin-6-on (vrijednosti MIK 40 mg mL<sup>-1</sup>), pokazao je visoku aktivnost, protiv *C. albicans* (Ghorab i sur., 2000.).

Istraženo je također antibakterijsko djelovanje supstituiranih kinazolina protiv bakterijskih sojeva *Escherichia. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis* i *Staphylococcus aureus* u istraživanju Jantova i sur. (2004). Osjetljivost Gram pozitivnih bakterija na

ispitivane kinazoline bila je veća od osjetljivosti gram negativnih bakterija. Najučinkovitiji niz kinazolinskih struktura bili su kondenzirani [1,2,4]triazolokinazolini i 10*H*-[1,2,4]triazino[5,4-*b*]kinazolin-10-oni (Jantova i sur., 2004.). Za derivate 2-merkaptio-3-(4-klorfenil)-6-jodo-3*H*-kinazolin-4-ona utvrđeno je da pokazuju značajno antimikrobno djelovanje i mogu biti korisni kao vodeći spojevi za daljnji dizajn i otkrivanje snažnijih antimikrobnih sredstava (Jantova i sur., 2004.).

Kondenzacijom 2-metil/fenil/kloro metil disupstituiranog benzoosazina-4-ona i 1-(2-aminoetil)-4-supstituiranog benziliden-2-fenil-1*H*-imidazola-5(4*H*)-ona dobije se imidazolo-kinazolin-4-on derivati. Ovi spojevi su pokazali obećavajuće antibakterijsko i antifungalno djelovanje (Suthakaran i sur., 2008.).

Patel i Patel (2011.) napravili su niz novih 2-[2-(2,6-diklorfenil)amino]fenil metil-3-[(5-supstituirani fenil)-1,5-dihidro-1*H*-pirazola -3-il-amino]-6-jodokinazolin-4(3*H*) oni te su testirali i njihovu antibakterijsku aktivnost *in vitro* mjerenjem zone inhibicije u mm protiv dvije gram pozitivne bakterije, *S. aureus* i *B. subtilis* i dvije gram negativne bakterije, *E. coli* i *P. aeruginosa* u dvije različite koncentracije 100 µg mL<sup>-1</sup> i 50 µg mL<sup>-1</sup>.

Veena Vani i suradnici (2016.) sintetizirali su niz hibrida kinazolin-4(3*H*)-on-triazola hibrida kinazolin-4(3*H*)-ona i oksadiazola. Neki od spojeva pokazali su značajno antibakterijsko djelovanje protiv svih ispitanih bakterijskih sojeva, Gram-pozitivnih bakterija (*S. aureus*, *B. subtilis*) i Gram-negativnih bakterija (*E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*), dok su drugi spojevi pokazali najveću aktivnost protiv gljivičnih vrsta, *C. albicans* i *Aspergillus niger* u usporedbi s ciprofloksacinom i flukonazolom kao referentnim lijekovima. Primijenjene su dvije različite koncentracije, 100 i 200 µg mL<sup>-1</sup> i bakterijskih i gljivičnih sojeva.

Misra i suradnici (2020.) sintetizirali su novu seriju analoga 1,5-benzodiazepina kinazolinona i proučili su njihovu antibakterijsku aktivnost. Sintetizirani spojevi (*Z*)-3-(2-fenilkinazolin-4-il)-1*H*-benzo[*b*][1,4]diazepin-2(5*H*)-on i (E)-4-(metiltio)-3-(2-fenilkinazolin-4-il)-1*H*-benzo[*b*][1,4]diazepin-2(5*H*)-on, su se pokazali vrlo učinkovitim protiv *S. aureus* i *E. coli*. Primijenjene su dvije različite koncentracije, 200 i 300 µg mL<sup>-1</sup>.

Zbog velike biološke aktivnosti navedeni primjeri prikazuju široki potencijal primjene kinazolinona u medicinskoj znanosti, farmakologiji i farmaceutskoj industriji, što daje

mogućnost primjene i istraživanja istih u agrobiotehničkim znanosti kao sredstvo u kontroli štetnika i patogena odnosno uzročnika bakterioza, mikoza i viroza biljaka.

### **2.3. Značaj mikroorganizama tla**

Biljke u tlu nude vrlo specifično okruženje mikrobnim zajednicama tla koje se u njemu prirodno javljaju. Stoga su tijekom evolucijskog vremena mikroorganizmi tla razvili niz strategija koje su im omogućile interakciju s biljkama. Sastav mikrobnih zajednica povezanih s biljkom vrlo je važan za učinak biljke, jer interakcija s biljkom može biti korisna, neutralna ili štetna. Različite bakterije tla međusobno djeluju na različitim udaljenostima i s različitim stupnjevima bliskosti s biljkama. Mogu živjeti u tlu pod utjecajem korijena (tj. rizosfera), kolonizirati površinu korijena (tj. rizoplan), kolonizirati međustanične prostore ili vaskularna tkiva unutar biljaka (intercelularni prostor) (Sørensen i Sessitsch, 2007.).

Sørensen i Sessitsch (2007.) također spominju kako je rizosfera definirana kao dio tla koji je pod utjecajem korijena biljaka i spojeva koje on izlučuje. Korijenske naslage i eksudati predstavljaju važne izvore supstrata dostupnih mikroorganizmima rizosfere i rizoplana, te stoga imaju veliki utjecaj na strukture prisutnih mikrobnih zajednica. Nadalje, pokazalo se da se sastav ovih supstrata može značajno razlikovati između biljnih vrsta kao i između kultivara, a ovisi i o razvojnem stadiju biljke. Osim toga, na sastav korijenskih eksudata mogu utjecati parametri tla, uključujući pH, teksturu tla, dostupnost ili ograničenje hranjivih tvari te izloženost biljnim patogenima.

Wu i suradnici (2009.) spoznali su da ispitivanje ovih interakcija nam može pomoći razumjeti prirodne fenomene koji utječu na naše svakodnevne živote i mogu dovesti do primjena koje rezultiraju održivim resursima, manjim utjecajem na okoliš, čišćenjem onečišćenja i utjecajem na atmosferske plinove na globalnoj razini. Prednosti korištenja ovih interakcija za biotehnoške primjene su višestruke.

Mikroorganizmi su značajni u tlu jer sudjeluju u procesima humifikacije i dehumifikacije koji direktno utječu na biogeokemijska kruženje elemenata, a time i na pristupačnost hraniva u tlu, što o utječe na zdravlje i plodnost tla. Sve navedeno je razlog zašto ne želimo da pesticidi odnosno kinazolinoni utječu na njihovu brojnost.

## 2.4. Značajke korisne bakterije *Bacillus mycooides*

*Bacillus* spp. dobro su poznati stanovnici rizosfere mnogih biljaka i mogu izravno ili neizravno pridonijeti produktivnosti usjeva. *B. subtilis* i *B. mycooides* čine veći dio bakterijske populacije, čak i tijekom nepovoljnih razdoblja, zbog svoje sposobnosti proizvodnje spora (Yi, 2018.).

Kao mikroorganizam koji se prenosi tлом, vrste *Bacillus* se ne nalaze samo u rizosferi već i u endosferi biljaka. Endofitne bakterije definiraju se kao bakterije koje koloniziraju unutarnja tkiva biljaka bez izazivanja simptoma infekcije ili negativnih učinaka na svog domaćina (Collins i sur., 2004.).

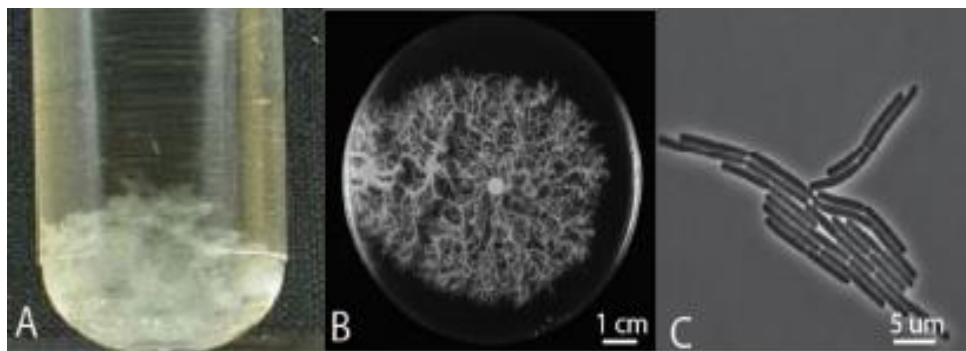
Štoviše, studije mikrobioma rizosfere neovisne o kulturi ukazale su na prisutnost velike raznolikosti u rodu *Bacillus* (Pereira i sur., 2011.). U tlu sa suzbijenim bolestima, *Bacillus* je identificiran kao dominantna bakterijska vrsta te među svim antimikrobnim spojevima sintetiziranih od roda *Bacillus*, ciklički lipopeptidi iz obitelji surfaktina, iturina i fengicina dobro su okarakterizirani, s potencijalnom primjenom u biotehnologiji i poljoprivredi (Ongena i Jacques, 2008.)

Endofitne bakterije također neizravno pogoduju rastu biljaka proizvodnjom antimikrobnih spojeva i indukcijom obrambenih mehanizama biljaka (Weyens i sur., 2009.). Štoviše, endofitne bakterije mogu pomoći domaćinu da se nosi s ekstremnim biotičkim (patogenima, štetnicima) i abiotičkim (temperatura, suša i kontaminacija teškim metalima) stresovima, koji mogu ozbiljno smanjiti proizvodnju usjeva. Kada se primjenjuju kao sredstva za poticanje rasta ili biokontrolu, endofitne bakterije imaju prednosti u odnosu na bakterije rizosfere zbog svoje bliske interakcije s biljkom. Za endofite koji se prenose sjemenom, postoji dodatna prednost za komercijalizaciju. Tretiranje sjemena je učinkovita tehnika isporuke za postavljanje inokuluma mikroba u tlo, gdje će biti dobro pozicionirani za naseljavanje korijena sadnica i zaštitu od bolesti koje se prenose tлом (Card i sur., 2016.).

Do danas su vrste za koje je dokazano da su endofiti te pripadaju rodu *Bacillus* raspoređene među vrstama *B. subtilis*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus mojavensis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus thuringiensis*, *B. mycooides* i drugi. (Yi, 2018.). Isti autor naglašava kako većina endofita pokazuje barem jednu korisnu funkciju na biljkama,

uključujući poticanje rasta, inducirana sustavna rezistentnost, antifungalno i antibakterijsko djelovanje, fitomedijacija i otpornost na stres.

*B. mycooides* je gram pozitivna bakterija štapićastog oblika koja stvara spore. Rast *B. mycooides* na agarnim pločama ima poseban rizoidni oblik, koji nastaje iz stanica koje su spojene kraj uz kraj i grupirane u snopove filamenata (Slika 3.) (Yi, 2018.).



Slika 3. Prikaz rasta *Bacillus mycooides* u (A) LB (lizogeni bujon) tekućem mediju; (B) LB agarnoj ploči; morfologija stanice promatrana fazno kontrastnim mikroskopom (C)

Izvor: (Yi, 2018.)

*B. mycooides* dobio je daleko manje pozornosti u usporedbi s ostalim članovima roda *Bacillus*, budući da nije niti patogen, kao *B.cereus* i *Bacillus anthracis*, niti pesticid kao *B.thuringiensis*. Široko je prisutan različitim vrstama tala a sudjeluje u stimuliranju antioksidativnog obrambenog sustava i signalnih putova fitohormona za regulaciju rasta biljaka i tolerancije na stres (Kurniawan i Chuang, 2022.).

Do danas postoji više od dvadeset sojeva *B. mycooides* koji su sekvencionirani, s veličinama genoma u rasponu od 5,17 megabaza (mb) do 6,55 mb. Svi sekvencionirani sojevi sadrže nekoliko plazmida različitih veličina (Fiedoruk i sur., 2017.).

Postoji više primjera izoliranih sojeva *B. mycooides* koji imaju različite uloge u poboljšanju rasta biljaka te zaštite od štetnih mikroorganizama. Nekoliko primjera takvih sojeva prikazano je u tekstu koji slijedi.

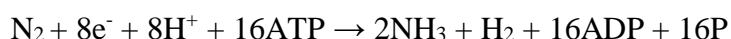
*B. mycooides* TKU038 izoliran iz tla može proizvesti novu kitozanazu koja pretvara hitin u kito oligomere s antioksidativnim i protuupalnim potencijalom (Liang i sur., 2016.). Većina studija o *B. mycooides* usredotočena je na njegovu biokontrolu i aktivnost PGPR-a (Plant-growth promoting rhizobacteria). *B. mycooides* Bac J (BmJ) izoliran iz lista šećerne repe te

smanjuje bolest *Cercospora* lisne pjegavosti šećerne repe do 91% (Bargabus i sur., 2002.). Ovaj je soj odgodio početak bolesti antraknoze i smanjio ukupnu i produkciju živih spora uzročnika patogena *Glomerella cingulata* var. *orbiculare*, kada se koristi za izazivanje SAR-a (pruža otpornost širokog spektra u cijeloj biljci za suzbijanje srodnih ili nepovezanih patogena) u krastavcima (Neher i sur., 2009). *B. mycoides* SU-23 mogao bi u potpunosti potisnuti simptome slabljenja biljaka uzrokovane *Pythium mamillatum* na krastavcima i ima aktivnost poticanja rasta na sadnicama (Paul i sur., 1995.). Primjena kulture *B. mycoides* koja proizvodi surfaktin u potpunosti je suzbila stvaranje lezija natopljenih vodom na lišću krastavca i smanjila štetnost uzrokovanu rodom *Pythium* za 35% u stakleniku (Peng i sur., 2017.).

## 2.5. Značajke korisne bakterije *Bradyrhizobium japonicum*

*B. japonicum* je Gram negativna štapićasta bakterija koja fiksira dušik i tvori simbiotski odnos s *Glycine max*, biljkom soje. Ove bakterije su vrlo korisne jer poboljšavaju rast soje. U biljci se provodi proces koji se naziva fiksacije dušika. Tim procesom se fiksira atmosferski dušik pri čemu dolazi do bržeg rasta biljke budući da ima obilje lako iskoristivog dušika. Poticanje rasta biljaka uzrokuje oslobađanje veće količine kisika u okoliš, što je ključni element za preživljavanje većine organizama. Genom je sekvenciran 2002. godine, a utvrđeno je ukupno 167 gena u genomu ove bakterije (Kaneko i sur., 2002.).

Biološku fiksaciju dušika izvode samo neke bakterije i Archae, ali te bakterije predstavljaju glavni izvor dostupnog (fiksiranog) dušika za organizme i u kopnenom i u morskom okolišu. Nitrogenaza katalizira redukciju atmosferskog dušika u amonijev ion, uz visoku potrošnju ATP-a, te također stvaranje H<sub>2</sub> tijekom procesa:



Ovi prokarioti mogu vezivati atmosferski dušik slobodno ili u simbiozi, surađujući s biljkama. Slobodnoživući diazotrofi mogu rasti u anaerobnim, mikroaerobnim ili aerobnim uvjetima, ali u ovom slučaju, budući da je nitrogenaza osjetljiva prema kisiku, koriste se različiti mehanizmi za zaštitu enzima od kisika. U najreprezentativnijoj simbiozi

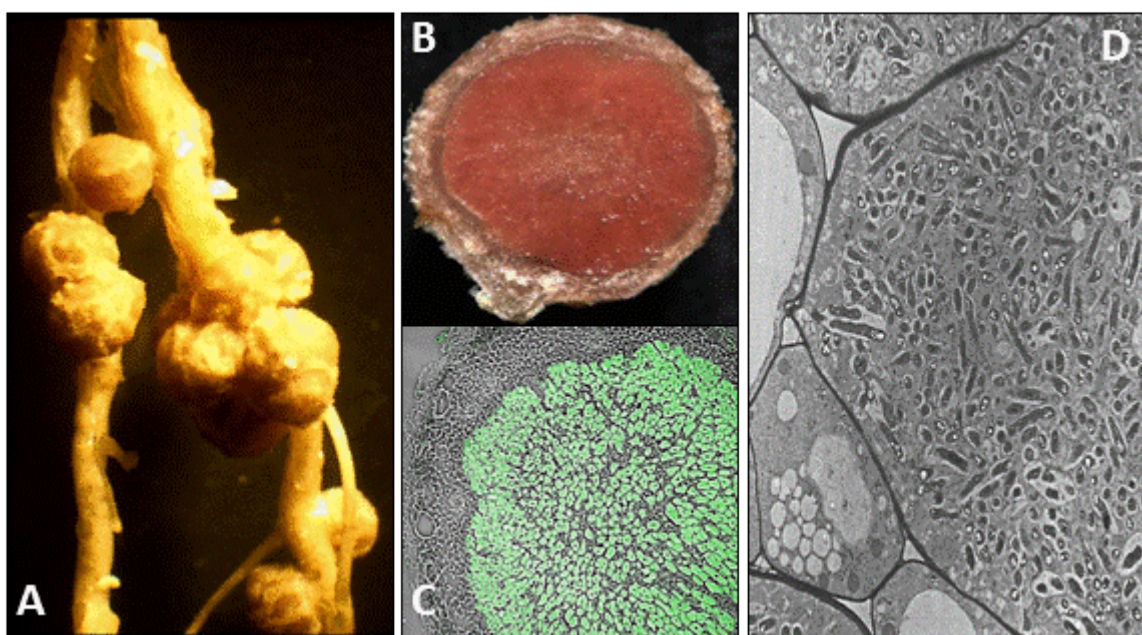


*Rhizobium*-leguminoza, fiksacija  $N_2$  događa se unutar kvržica korijena biljke, specijaliziranih struktura koje omogućuju rast bakterija pod mikroaerobiozom.

Proces fiksacije dušika je dio procesa kruženja dušika u prirodi.

Leguminoze (mahunarke) izlučuju (izlučevine korijena) razne organske metabolite, naime šećere (glukozu, fruktozu, maltozu, galaktozu, itd.), aminokiseline (leucin, izoleucin, valin, aminobutirat), organske kiseline (oksalatnu, malatnu, octenu), drugi (flavonoidi, adenin, gvanin) i proteine ili enzime (invertaza, amilaza, proteaza i peroksidaza) (Maheshwari i Sankar, 2023.).

Uspostavljanje simbioze mahunarke i roda bakterija *Rhizobium* i *Bradyrhizobium* zahtijeva formiranje specijaliziranog organa, nodula (Slika 4.), gdje se odvija fiksacija  $N_2$  (Maheshwari i Sankar, 2023.).



Slika 4. Noduli na korijenu biljke (A), presjek aktivnog nodula (B), mikroskopski prikaz bakterija unutar nodula (C) i (D)

Izvor: <https://micro.biol.ethz.ch>

Nodulacija je specifična interakcija u kojoj soj kvržičnih bakterija inficira definiranu biljku-domaćina, uz blisku koordinaciju bakterija-biljka koja se temelji na razmjeni difuzibilnih signalnih molekula. Flavonoidi koje izlučuju biljke djeluju kao specifični signali koje prepoznaju kompatibilni bakterijski sojevi, koji reagiraju pričvršćivanjem na

korijenske dlačice i induciranjem nodulacijskih gena koji aktiviraju infekciju. (Schmidt, 2019.)

Također, sve vrste ovih bakterija posjeduju specifičan adhezijski protein, nazvan rikadezin koji je ključan u izravno pričvršćivanje bakterija na površinu stanice korijenove dlačice (Maheshwari i Sankar, 2023.). Rikadezin je protein koji veže na sebe kalcij (Meckfessel i sur., 2012.) i veže kalcijeve komplekse na površini korijenovih dlačica. Lektini, proteini koji na sebe vežu ugljikohidrate, također doprinose vezivanju kvržičnih bakterija i leguminoza. (Maheshwari i Sankar, 2023.)

Nakon pričvršćivanja, korijenova se dlačica uvija kao rezultat djelovanja izlučivanja indol-3-octene kiseline (IAA). *Rhizobium* sp. indol-3-octenu kiselinu prepoznaju kao nod faktor. IAA dovodi do uvijanja vrha korijenskih dlačica (Maheshwari i Sankar, 2023.). Nakon uvijanja korijenove dlake, stanice korteksa diobom stvaraju primordijalne kvržice i bakterije ulaze u biljku kroz intercelularnu cjevastu strukturu, infekcijsku nit, koja raste i račva se u primordijalne kvržice (Schmidt, 2019.). Nod faktori sada stimuliraju diobu stanica korijena što na kraju dovodi do razvoja korijenske kvržice. Tetraploidna stanica i okolne diploidne stanice proliferiraju stvarajući kvržicu.

Maheshwari i Sankar (2023.) navode kako tijekom procesa penetracije bakterija proizvodi enzim koji se zove poligalakturonaza. Enzim djeluje na pektin stanične stijenke biljke i olakšava prodiranje. Infektivna nit raste prema unutra i postaje razgranata. Grane dopiru do unutarnje kore korijena.

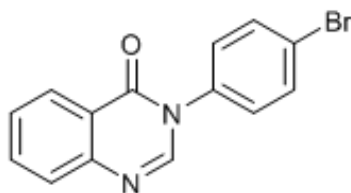
Bakterije koje žive unutar nodula nepravilnog su oblika i nazivaju se bakteroidi ili bakterijske stanice koje se množe i koloniziraju unutar stanice domaćina dok se ne popuni raspoloživi prostor. Bakteroidi postaju pojedinačno ili u malim skupinama okruženi membranom biljnog podrijetla — peribakteroidnom membranom kako bi formirali strukture koje se nazivaju simbiosomi. Simbiosomi su mjesto fiksacije dušika. Bakterije otpuštene u stanice zatvorene su u simbiosom, odjeljak u kojem se diferenciraju u bakterioide koji fiksiraju  $N_2$  (Maheshwari i Sankar, 2023.)

Noduli održavaju niske razine kisika kako bi se izbjegla inhibicija nitrogenaze, a leghemoglobin igra ključnu ulogu kao čistač  $O_2$ . (Schmidt, 2019.) Enzim nitrogenaza je kompleks sastavljen od dva proteina. Sastoji se od katalitičkog MoFe-proteina (dinitrogenaze) i Fe-proteina za prijenos elektrona (dinitrogenaza reduktaze), koji veže ATP, a također sudjeluje u sazrijevanju MoFe-proteina (Schmidt, 2019.).

Leghemoglobin (vrlo učinkovit hvatač O<sub>2</sub>) smanjuje razinu O<sub>2</sub> u blizini nitrogenaze kako bi pogodovao fiksaciji dušika, spaja se s O<sub>2</sub> i osigurava povoljne anaerobne uvjete za aktivnost enzima nitrogenaze. U isto vrijeme, opskrbljuje bakterioide sa O<sub>2</sub>. Bakteroidi se nalaze u crvenkastom pigmentu zvanom leghemoglobin (Appleby, 1984.). Slično hemoglobinu, sastoji se od hema i globina. Komponentu hema sintetiziraju bakterije, a komponenta globina potječe iz biljke. Bakterije dobivaju hranjive tvari i izvor energije iz biljke, a zauzvrat fiksiraju atmosferski dušik i čine ga dostupnim biljci. Fiksirani dušik se izlučuje kroz ksilem iz nodula u ostatak biljke, bilo kao amidi (asparagin) ili ureidi (alantoin ili alantoična kiselina).

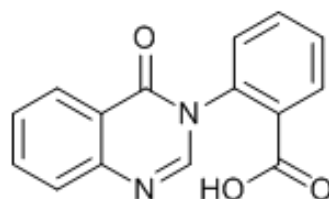
### 3. MATERIJAL I METODE

Za potrebe pokusa čista kultura *Bacillus mycoides* umnožena je na hranjivom agaru (Liofilchem, Italija) tijekom 48 sati na 25 °C. Također, *Bradyrhizobium japonicum* na Vincent agaru (manitol 10 g, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0,5 g, MgSO<sub>4</sub> x 7H<sub>2</sub>O 0,2 g, NaCl 0,1 g, kvasac 0,5 g) pri 28 °C kroz 72 sata. Obje kulture su dio kolekcije Katedre za mikrobiologiju Fakulteta agrobiotehničkih znanosti Osijek. Derivati kinazolinona sintetizirani su na Prehrambeno tehnološkom fakultetu u Osijeku (Komar i sur., 2019.). Ispitivani derivati su: 3-(4-bromofenil)kinazolin-4(3H)-on (K1), 2-(4-oxokinazolin-3(4H)-il)benzojeva kiselina (K2), 3-(2,5-dimetoksifenil)kinazolin-4(3H)-on (K3), 3-fenilkinazolin-4(3H)-on (K4) i 3-(4-metoksifenil)-2-metilkinazolin-4(3H)-on (K5). U nastavku se nalaze strukture ispitivanih derivata kinazolinona (Slika od 5. do 9.).



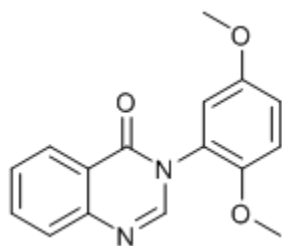
Slika 5: Struktura 3-(4-bromofenil)kinazolin-4(3H)-on (K1)

Izvor: (Komar i sur., 2019.)



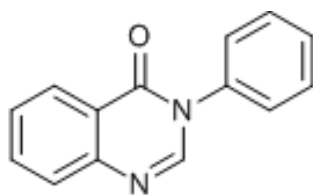
Slika 6. Struktura 2-(4-oxokinazolin-3(4H)-il)benzojeve kiseline (K2)

Izvor: (Komar i sur., 2019.)



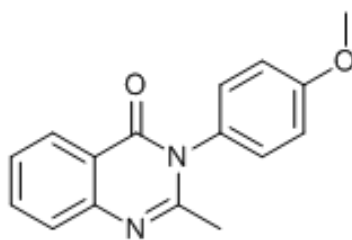
Slika 7. Struktura 3-(2,5-dimetoksifenil)kinazolin-4(3H)-on (K3)

Izvor: (Komar i sur., 2019.)



Slika 8. Struktura 3-fenilkinazolin-4(3H)-on (K4)

Izvor: (Komar i sur., 2019)



Slika 9. Struktura 3-(4-metoksifenil)-2-metilkinazolin-4(3H)-on (K5)

Izvor: (Komar i sur., 2019.)

Učinkovitost derivata kinazolinona ispitana je utvrđivanjem minimalne inhibitorne koncentracije dilucijskom metodom (Wiegand i sur., 2008.) pri čemu je najveća ispitana koncentracija iznosila  $512 \mu\text{g ml}^{-1}$ , a najmanja  $1 \mu\text{g ml}^{-1}$ . U *in vitro* pokusu su korištene sterilne mikrotitarske ploče. Nakon razrjeđivanja jažice mikrotitarske ploče su inokulirane s testnim bakterijama u koncentraciji koja odgovara  $10^5$  stanica po ml. Pokus uz tretmane sadržava kontrolu rasta i sterilnu kontrolu. Nakon 48 h inkubacije očitani su rezultati prema vizualnoj procjeni turbiditeta u jažicama. Pokus je postavljen u četiri ponavljanja. Svi postupci su rađeni poštujući pravila sterilnosti.

## 4. REZULTATI

U ovom poglavlju prikazani su rezultati očitani nakon ispitivanja utjecaja derivata kinazolinona na predstavnike korisnih bakterija tla, *B. mycooides* i *B. japonicum*. U nastavku bit će prikazan pregled rezultata djelovanja svih ispitivanih derivata kinazolinona na korisnu bakteriju u tlu, *B. mycooides*.

Tablica 1. Prikaz rezultata dobivenih djelovanjem derivata kinazolinona K1 na korisnu bakteriju u tlu, *B. mycooides*

Koncentracija [ $\mu\text{g mL}^{-1}$ ]	512	256	128	64	32	16	8	4	2	1	Kontrola	
Porast	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-

+ zabilježen porast, - nije zabilježen porast

Tablica 2. Prikaz rezultata dobivenih djelovanjem derivata kinazolinona K2 na korisnu bakteriju u tlu, *B. mycooides*

Koncentracija [ $\mu\text{g mL}^{-1}$ ]	512	256	128	64	32	16	8	4	2	1	Kontrola	
Porast	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-

+ zabilježen porast, - nije zabilježen porast

Tablica 3. Prikaz rezultata dobivenih djelovanjem derivata kinazolinona K3 na korisnu bakteriju u tlu, *B. mycooides*

Koncentracija [µg mL <sup>-1</sup> ]	512	256	128	64	32	16	8	4	2	1	Kontrola	
											+	-
<b>Porast</b>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-

+ zabilježen porast, - nije zabilježen porast

Tablica 4. Prikaz rezultata dobivenih djelovanjem derivata kinazolinona K4 na korisnu bakteriju u tlu, *B. mycooides*

Koncentracija [µg mL <sup>-1</sup> ]	512	256	128	64	32	16	8	4	2	1	Kontrola	
											+	-
<b>Porast</b>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-

+ zabilježen porast, - nije zabilježen porast

Tablica 5. Prikaz rezultata dobivenih djelovanjem derivata kinazolinona K5 na korisnu bakteriju u tlu, *B. mycooides*

Koncentracija [µg mL <sup>-1</sup> ]	512	256	128	64	32	16	8	4	2	1	Kontrola	
											+	-
<b>Porast</b>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-

+ zabilježen porast, - nije zabilježen porast

Ostaje prikazati rezultate dobivene djelovanjem svih ispitivanih derivata kinazolinona na korisnu bakteriju u tlu, *B. japonicum*.

Tablica 6. Prikaz rezultata dobivenih djelovanjem derivata kinazolinona K1 na korisnu bakteriju u tlu, *B. japonicum*

Koncentracija [µg mL <sup>-1</sup> ]	512	256	128	64	32	16	8	4	2	1	Kontrola	
											+	-
<b>Porast</b>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-

+ zabilježen porast, - nije zabilježen porast

Tablica 7. Prikaz rezultata dobivenih djelovanjem derivata kinazolinona K2 na korisnu bakteriju u tlu, *B. japonicum*

Koncentracija [µg mL <sup>-1</sup> ]	512	256	128	64	32	16	8	4	2	1	Kontrola	
											+	-
<b>Porast</b>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-

+ zabilježen porast, - nije zabilježen porast

Tablica 8. Prikaz rezultata dobivenih djelovanjem derivata kinazolinona K3 na korisnu bakteriju u tlu, *B. japonicum*

Koncentracija [µg mL <sup>-1</sup> ]	512	256	128	64	32	16	8	4	2	1	Kontrola	
											+	-
<b>Porast</b>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-

+ zabilježen porast, - nije zabilježen porast



Tablica 9. Prikaz rezultata dobivenih djelovanjem derivata kinazolinona K4 na korisnu bakteriju u tlu, *B. japonicum*

Koncentracija [µg mL <sup>-1</sup> ]	512	256	128	64	32	16	8	4	2	1	Kontrola	
Porast	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-

+ zabilježen porast, - nije zabilježen porast

Tablica 10. Prikaz rezultata dobivenih djelovanjem derivata kinazolinona K5 na korisnu bakteriju u tlu, *B. japonicum*

Koncentracija [µg mL <sup>-1</sup> ]	512	256	128	64	32	16	8	4	2	1	Kontrola	
Porast	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-

+ zabilježen porast, - nije zabilježen porast

## 5. RASPRAVA

Rezultati ovog istraživanja nisu pokazali inhibicijsko djelovanje ispitivanih derivata kinazolinona u koncentracijama od 1 do 512  $\mu\text{g mL}^{-1}$  na rast korisnih bakterija tla *B. mycooides* i *B. japonicum*.

Iako su istraživači prvenstveno usmjereni na istraživanja inhibicije rasta patogenih bakterija s derivatima kinazolinona, malo je istraživanja njihovog utjecaja na korisnu populaciju bakterija konkretno tla.

Ovakav rezultat istraživanje je vrlo zadovoljavajući s obzirom na činjenicu kako su prethodnim istraživanjima utvrđena antibakterijska svojstva derivata kinazolinona. Nadalje novosintetizirani derivati ne utječu na korisni mikrobiom tla i pri tome ne dolazi do poremećaja u procesima humifikacije i mineralizacije te kruženju elemenata što doprinosi održavanju zdravlja tla.

Slični rezultati ostvareni su u istraživanju Karnaš i suradnici (2024.) pri čemu nije utvrđena inhibicija rasta korisnih bakterija tla djelovanjem kumarinskih -1,2,4-triazolskih hibrida. Navedeni spojevi nisu utjecali na rast *B. japonicum* i *B. mycooides*. Kumarin-1,2,4-triazoli učinkovito inhibiraju rast micelija *Sclerotinia sclerotiorum* i *Fusarium oxysporum*. Međutim, kod svih ispitanih spojeva, statistički je značajno niža inhibicija u odnosu na inhibiciju komercijalnih poljoprivrednih fungicida (Karnaš i sur., 2024.).

Isto tako i u istraživanjima Rastija i suradnika (2023.) nije uočena inhibicija predstavnika korisnih bakterija tla, *B. japonicum* i *B. mycooides*, djelovanjem fluoriranih pirazola. Ispitivani spojevi pokazali su nisku antifungalnu aktivnost protiv *Macrophomina phaseolina* i *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*; međutim, najveća inhibicija protiv obje vrste primijećena je s istim spojem H9 (29,76 % odnosno 34,54 %). Za sve ispitivane spojeve, osim H3 i H4, utvrđene su statistički značajne razlike između njih i kontrolnog tretmana *M. phaseolina*. Ispitivani fluorirani pirazolaldehidi bili su umjereno aktivni protiv *S. sclerotiorum* i *Fusarium culmorum*. Ponovno se pokazalo da je najaktivniji spoj protiv obje vrste gljivica H9 (43,07 % odnosno 46,75 %). Umjerenu aktivnost prema *S. sclerotiorum* također je pokazao H7 (42,23 %), dok je prema *F. culmorum* pokazao umjerenu aktivnost, H2 (38,62 %). Postotci kojima je izražena aktivnost ispitivanih spojeva je stopa inhibicije (%) fitopatogenih gljiva, 48 h nakon inokulacije u koncentraciji 0,08  $\mu\text{mol mL}^{-1}$ .

Imena ispitivanih spojeva prema IUPAC nomenklaturi su: 3-(4-fluorofenil)-5-(4-metoksifenil)-4,5-dihidro-1*H*-pirazol-1-karbaldehid (H1); 3-(4-fluorofenil)-5-(2-metoksifenil)-4,5-dihidro-1*H*-pirazol-1-karbaldehid (H2); 5-(3-fluorofenil)-3-(4-fluorofenil)-4,5-dihidro-1*H*-pirazol-1-karbaldehid (H3) (E)-3-(4-fluorofenil)-5-(4-stirilfenil)-4,5-dihidro-1*H*-pirazol-1-karbaldehid (H4); 3-(4-fluorofenil)-5-(3-metoksifenil)-4,5-dihidro-1*H*-pirazol-1-karbaldehid (H5); 3-(4-fluorofenil)-5-(2-hidroksifenil)-4,5-dihidro-1*H*-pirazol-1-karbaldehid (H6); 5-(2,5-dim-etoksifenil)-3-(4-fluorofenil)-4,5-dihidro-1*H*-pirazol-1-karbaldehid (H7); 5-(4-brom-fenil)-3-(4-fluorofenil)-4,5-dihidro-1*H*-pirazol-1-karbaldehid (H8); 5-(2-klorofenil)-3-(4-fluorofenil)-4,5-dihidro-1*H*-pirazol-1-karbaldehid (H9); 5-(4-(dimetilamino)fenil)-3-(4-fluorofenil)-4,5-dihidro-1*H*-pirazol-1-karbaldehid (H10) (Rastija i sur. 2023.).

Schiffove baze kumarina također nisu imale inhibitorno djelovanje na predstavnike korisne bakterijske populacije tla u istraživanju Rastije i sur. (2022.).

Mnogobrojna druga istraživanja su utvrdila antibakterijsku aktivnost kinazolinona.

Raval i suradnici (2012.) razvili su jednostavnu i praktičnu tehniku za sintezu raznih derivata pirazolil-oksopropil-kinazolin-4(3*H*)-ona povezivanjem pirazolilnog ostatka na poziciji 2-kinazolinonske jezgre s kratkim reakcijskim vremenom, izvrsnim prirastom i bez stvaranje nepoželjnih nusproizvoda. Prikazani reprezentativni spojevi 6-bromo-2-(3-chloro-2-oxopropyl)-3-(4-fluorophenyl) quinazolin-4(3*H*)-on, 6-bromo-3-(4-fluorophenyl)-2-(3-hydrazinyl-2-oxopropyl) quinazolin-4(3*H*)-one i 6-bromo-2-(3-(3-(4-(1-(2-klorofenil)-3-metil-1*H*-pirazol-5(4*H*)-ilidenamino)fenil)-5-(supstituirani fenil)-4,5-dihidro-1*H*-pirazol-1-il)-2-oksopropil)-3-(4-fluorofenil)kinazolin-4(3*H*)-on pokazali su značajnu antibakterijsku aktivnost protiv *B. subtilis*, *S. aureus*, *E. coli* i *P. aeruginosa* i antifungalnu aktivnost protiv *Candida albicans* i *C. krusei*.

Mohamed i suradnici (2013.) su kao cilj svog istraživanja odlučili proučiti utjecaj četiri derivata 2-amino kinazolin-4(3*H*)on (Ia), 2-(6-brom-2-cianometil)-4-okso-kinazolin-3(4*H*)-il)acetat (II), arilidinski derivati (III) i 2-(6-bromo-4-okso-3,4-dihidrokinazolin-2-il)acetamid (IV) kinazolinona na morfologiju mikrobnih stanica i gene kodirane za podjedinice rRNA. Derivati kinazolinona pokazali su dobru antibakterijsku aktivnost, osobito protiv Gram-pozitivnih sojeva bakterija *S. aureus* i *B. subtilis* zbog njihove interakciju sa staničnom stijenkom i strukturama DNA. Derivati su pokazali slabiju antibakterijsku aktivnost prema sojevima Gram-negativnih bakterija *P. aeruginosa* i *E.*

*coli*. Najbolje rezultate je pokazao derivat (II) s minimalnom inhibitornom koncentracijom od 19  $\mu\text{g mL}^{-1}$  protiv Gram-pozitivnih sojeva i 156  $\mu\text{g mL}^{-1}$  protiv Gram-negativnih sojeva bakterija (Mohamed i sur., 2013.).

Derivat 6-kloro-*N*-(furan-2-ilmetil)kinazolin-4-amin (C1) ima izvrsnu inhibicijsku aktivnost protiv *Xoo* i *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* (Xac), s  $\text{EC}_{50}$  vrijednostima od 7,1 odnosno 10,3  $\text{mg L}^{-1}$ . Ljekovito i zaštitno djelovanje derivata C1 protiv bakterijske paleži riže bilo je 49,0 % odnosno 52,2 % pri 200  $\text{mg L}^{-1}$ . Osim toga, derivat C1 može imati značajan učinak na fiziološke procese *Xoo* i Xac (Long i sur., 2019). Na primjer, može uništiti integritet bakterija i povećati propusnost staničnih membrana. Međutim, povećanje propusnosti stanične membrane često je popraćeno propuštanjem nekih vodljivih iona iz stanice kako bi se povećala vodljivost ispitivane otopine (Chen i sur., 2020.).

Derivat kinazolinona D32 (IUPAC naziv: 6-kloro-3-(4-(3-(4-(3,4-diklorofenil)piperazin-1-il)-2-hidroksipropoksi)fenil)-2-metilkinazolin-4(3*H*)-on) je identificiran kao snažan bakterijski inhibitor: *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (*Xoo*), s  $\text{EC}_{50}$  vrijednošću od 1,5  $\mu\text{g mL}^{-1}$ , puno boljeg inhibicijskog kapaciteta u usporedbi s bismertiazolom (BT) i tiodiazol bakrom (TC) (31,9 i 74,2  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ). Aktivnosti spoja D32 protiv bakterijske paleži lišća riže *in vivo* bile su 46,7 % (zaštitne aktivnosti) i 43,9 % (kurativne aktivnosti), bolje od komercijalnog lijeka tiodiazol bakar (29,3 % zaštitne aktivnosti i 30,6 % kurativne aktivnosti). Identifikacija D32 kao bakterijskog inhibitora i otkrivanje njegovog mehanizma prepoznavanja ne samo da otvaraju mogućnost razvoja novih terapijskih strategija za liječenje *Xoo*-a, već također pružaju naznake za razjašnjenje mehanizma djelovanja derivata kinazolinona D32 (Shao i sur., 2023.).

## 6. ZAKLJUČAK

Planeta Zemlja trpi sve veći pritisak rastuće populacije, zbog koje je poljoprivreda opterećena velikim zahtjevima proizvodnje hrane. Pred poljoprivrednike se stavlja jako puno izazova koje je sve teže ispunjavati zbog sve ekstremnijih biotičkih i abiotičkih čimbenika koje poljoprivrednici ne mogu kontrolirati. Jedan od takvih problema je rastuća rezistentnost mikroorganizama na postojeće pesticide, i negativan utjecaj pesticida na okoliš. Stoga su se stručnjaci okrenuli prema drugim izvorima zaštite biljaka od patogena. U medicini, farmaciji i farmakologiji se već dugi niz godina proučavaju kinazoli i kinazolinoni i njihovi derivati. Zbog njihove biološke aktivnosti, istraživači su u mnogobrojnim istraživanjima dokazali njihovo antibakterijsko, antifugalno, antiviralno, protuupalno, antitumorsko i antikonvulzivno djelovanje. Stručnjaci u agrobiotehničkim znanostima prepoznali su potencijal ovih spojeva te su istraživanja usmjerena prema pronalasku derivata koji će zamijeniti uporabu postojećih vrlo štetnih pesticida. Istraživanja su pokazala njihovu inhibitornu aktivnost protiv različitih vrsta fitopatogenih organizama. U ovom istraživanju je dokazano kako ispitivani derivati kinazolinona nemaju utjecaj na korisne bakterije tla i rizosfere *B. mycoides* i *B. japonicum*. Cilj budućih istraživanja je pronalazak novih derivata koji će imati veću inhibitornu moć za bolje suzbijanje fitopatogena te koji će istodobno imati manji utjecaj na okoliš i živa bića koja prebivaju u njemu.

## 7. POPIS LITERATURE

1. Alsibae, A. M., Al-Yousef, H. M., Al-Salem, H. S. (2023.): Quinazolinones, the winning horse in drug discovery. *Molecules*, 28(3), 978.
2. Appleby, C. A. (1984.): Leghemoglobin and *Rhizobium* respiration. *Annual Review of Plant Physiology*, 35(1), 443-478.
3. Bargabus, R. L., Zidack, N. K., Sherwood, J. E., Jacobsen, B. J. (2002.): Characterisation of systemic resistance in sugar beet elicited by a non-pathogenic, phyllosphere-colonizing *Bacillus mycoides*, biological control agent. *Physiological and molecular plant pathology*, 61(5), 289-298.
4. Birkett, M. A., Pickett, J. A., Khan, Z. R., Al Abassi, S. (2018.): IPM to sustainable food production. *Phytochemistry Reviews*, 17(5), 1149-1151.
5. Buckwell, A., Capodiceci, G. L., Graeff, R. D., Dijkhuizen, A., Frabetti, E., Large, A., Chavez, M. (2015.): Sustainable Livestock Production in Europe, A Question of Food Security. *Climate and Innovation*.
6. Card, S., Johnson, L., Teasdale, S., Caradus, J. (2016.): Deciphering endophyte behaviour: the link between endophyte biology and efficacious biological control agents. *FEMS microbiology ecology*, 92(8), 114.
7. Chen, J., Luo, Y., Wei, C., Wu, S., Wu, R., Wang, S., ...Song, B. (2020.): Novel sulfone derivatives containing a 1, 3, 4-oxadiazole moiety: design and synthesis based on the 3D-QSAR model as potential antibacterial agent. *Pest management science*, 76(9), 3188-3198.
8. Collins, M. D., Hoyles, L., Foster, G., Falsen, E. (2004.): *Corynebacterium caspium* sp. nov., from a Caspian seal (*Phoca caspica*). *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 54(3), 925-928.
9. El-Azab A.S., Abdel-Hamide S.G., Sayed-Ahmed M.M., Hassan G.S., El-Hadiyah T.M., et al.(2013.): Novel 4(3*H*)-quinazolinoneanalogs: synthesis and anticonvulsant activity. *Medicinal Chemistry Research* 22: 2815-2827.
10. Fiedoruk, K., Drewnowska, J. M., Daniluk, T., Leszczynska, K., Iwaniuk, P., Swiecicka, I. (2017.): Ribosomal background of the *Bacillus cereus* group thermotypes. *Scientific Reports*, 7(1), 46430.
11. Garnett, T., Appleby, M. C., Balmford, A., Bateman, I. J., Benton, T. G., Bloomer, P., Godfray, H. C. J. (2013.): Sustainable intensification in agriculture: premises and policies. *Science*, 341(6141), 33-34.

12. Gawad, N. M. A., Georgey, H. H., Youssef, R. M., El-Sayed, N. A. (2010.): Synthesis and antitumor activity of some 2, 3-disubstituted quinazolin-4 (3*H*)-ones and 4, 6-disubstituted-1, 2, 3, 4-tetrahydroquinazolin-2*H*-ones. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 45(12), 6058-6067..
13. Ghorab, M. M., Abdel-Gawad, S. M., El-Gaby, M. S. A. (2000.). Synthesis and evaluation of some new fluorinated hydroquinazoline derivatives as antifungal agents. *Il Farmaco*, 55(4), 249-255.
14. Gurr, G. M., Wratten, S. D., Luna, J. M. (2017.): Multi-function agricultural biodiversity: Pest management and other benefits. *Basic and Applied Ecology*, 18, 1-14.
15. He, D., Wang, M., Zhao, S., Shu, Y., Zeng, H., Xiao, C., Liu, Y. (2017.): Pharmaceutical prospects of naturally occurring quinazolinone and its derivatives. *Fitoterapia*, 119, 136-149.
16. Hoddle, M. S. (2017.): IPM: What is it and why should extension educators care? *Journal of Extension*, 55(3), 3FEA2.
17. Jantova, S., Stankovský, Š., Špirková, K. (2004.): In vitro antibacterial activity of ten series of substituted quinazolines, *Biologia (Bratislava)*, 59(6), 741-752
18. Jastrzębska, M., Kostrzewska, M., Saeid, A. (2022.): Sustainable agriculture: A challenge for the future, *Smart agrochemicals for sustainable agriculture*, 314, 29-56
19. Kaneko, T., Nakamura, Y., Sato, S., Minamisawa, K., Uchiumi, T., Sasamoto, S., Tabata, S. (2002.): Complete genomic sequence of nitrogen-fixing symbiotic bacterium *Bradyrhizobium japonicum* USDA110. *DNA research*, 9(6), 189-197
20. Karnaš, M., Rastija, V., Vrandečić, K., Čosić, J., Kanižai Šarić, G., Agić, D., Šubarić D.i Molnar, M. (2024). Synthesis, antifungal, antibacterial activity, and computational evaluations of some novel coumarin-1, 2, 4-triazole hybrid compounds. *Journal of Taibah University for Science*, 18(1), 2331456.
21. 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), 511-517.
22. Kurniawan, A., Chuang, H. W. (2022.): Rhizobacterial *Bacillus mycoides* functions in stimulating the antioxidant defence system and multiple phytohormone signalling

- pathways to regulate plant growth and stress tolerance. *Journal of Applied Microbiology*, 132(2), 1260-1274.
23. Liang, T. W., Chen, W. T., Lin, Z. H., Kuo, Y. H., Nguyen, A. D., Pan, P. S., & Wang, S. L. (2016.): An amphiprotic novel chitosanase from *Bacillus mycoides* and its application in the production of chitooligomers with their antioxidant and anti-inflammatory evaluation. *International journal of molecular sciences*, 17(8), 1302
  24. Lichtfouse, E., Navarrete, M., Debaeke, P., Souchère, V., Alberola, C., & Ménessieu, J. (2009.): Agronomy for sustainable agriculture: a review. *Sustainable agriculture*, 919, 1-7.
  25. Long, Q. S., Liu, L. W., Zhao, Y. L., Wang, P. Y., Chen, B., Li, Z., Yang, S. (2019.): Fabrication of furan-functionalized quinazoline hybrids: their antibacterial evaluation, quantitative proteomics, and induced phytopathogen morphological variation studies. *Journal of agricultural and food chemistry*, 67(40), 11005-11017.
  26. Mahato, A. K., Srivastava, B., Nithya, S. (2011.): Chemistry, structure activity relationship and biological activity of quinazoline-4 (3H)-one derivatives. *Inventi Rapid Med Chem*, 2(1), 13-19.
  27. Maheshwari, P., Sankar, P. M. (2023.): Culture-independent and culture-dependent approaches in symbiont analysis: in proteobacteria. In *Microbial Symbionts* 922, 743-763, Academic Press.
  28. Malik S., Khan S.A. (2014.): Design and evaluation of new hybrid pharmacophorequinazolino-tetrazoles as anticonvulsant strategy. *Medical Chemistry Research* 23: 207-223.
  29. Meckfessel, M. H., Blancaflor, E. B., Plunkett, M., Dong, Q., Dickstein, R. (2012.): Multiple domains in MtENOD8 protein including the signal peptide target it to the symbiosome. *Plant physiology*, 159(1), 299-310.
  30. Misra, A., Dwivedi, J., Shukla, S., Kishore, D., Sharma, S. (2020.): Bacterial cell leakage potential of newly synthesized quinazoline derivatives of 1, 5-benzodiazepines analogue. *Journal of Heterocyclic Chemistry*, 57(4), 1545-1558.
  31. Mohamed, M. A., Ghanem, H. M., Abd El-Ghaffar, N. F., & Mohamed, S. S. (2013.): Biological evaluation and molecular docking of substituted quinazolinones as antimicrobial agents. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 7(2), 263-274.
  32. Neher, O. T., Johnston, M. R., Zidack, N. K., Jacobsen, B. J. (2009.): Evaluation of *Bacillus mycoides* isolate BmJ and *B. mojavensis* isolate 203-7 for the control of



- anthracnose of cucurbits caused by *Glomerella cingulata* var. *orbiculare*. *Biological Control*, 48(2), 140-146.
33. Ongena, M., and Jacques, P. (2008.): *Bacillus* lipopeptides: versatile weapons for plant disease biocontrol. *Trends Microbiol.* 16: 115–125.
  34. Patel, N. B., Patel, J. C. (2011.): Synthesis and antimicrobial activity of Schiff bases and 2-azetidiones derived from quinazolin-4 (3*H*)-one. *Arabian Journal of Chemistry*, 4(4), 403-411.
  35. Paul, B., Charles, R., Bhatnagar, T. (1995.): Biological control of *Pythium mamillatum* causing damping-off of cucumber seedlings by a soil bacterium, *Bacillus mycoides*. *Microbiological research*, 150(1), 71-75.
  36. Peng, Y. H., Chou, Y. J., Liu, Y. C., Jen, J. F., Chung, K. R., Huang, J. W. (2017.): Inhibition of cucumber *Pythium* damping-off pathogen with zoosporicidal biosurfactants produced by *Bacillus mycoides*. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 124, 481-491.
  37. Pereira, P., Ibáñez, F., Rosenblueth, M., Etcheverry, M., Martínez-Romero, E. (2011.): Analysis of the bacterial diversity associated with the roots of maize (*Zea mays* L.) through culture-dependent and culture-independent methods. *International Scholarly Research Notices*, 2011(1), 938546.
  38. Pretty, J., Toulmin, C., Williams, S. (2011.): Sustainable intensification in African agriculture. *International Journal of Agricultural Sustainability*, 9(1), 5-24
  39. Radwan, A. A., & Alanazi, F. K. (2020.): Biological activity of quinazolinones. *Quinazolinone and Quinazoline Derivatives*, IntechOpen, 11-38.
  40. Rastija, V., Vrandečić, K., Ćosić, J., Šarić, G. K., Majić, I., Agić, D., ... Molnar, M. (2022.): Effects of coumarinyl Schiff bases against phytopathogenic fungi, the soil-beneficial bacteria and entomopathogenic nematodes: Deeper insight into the mechanism of action. *Molecules*, 27(7), 2196.
  41. Rastija, V., Vrandečić, K., Ćosić, J., Kanižai Šarić, G., Majić, I., Agić, D., ... Komar, M. (2023.): Antifungal activities of fluorinated pyrazole aldehydes on phytopathogenic fungi, and their effect on entomopathogenic nematodes, and soil-beneficial bacteria. *International journal of molecular sciences*, 24(11), 9335.
  42. Raval, J. P., Desai, K. G., Desai, K. R. (2012.): Microwave synthesis, characterization and antimicrobial study of new pyrazolyl-oxopropyl-quinazolin-4 (3*H*)-one derivatives. *Journal of Saudi Chemical Society*, 16(4), 387-393.

43. Sadiq S.; Abubakar I. A.; Nasif A.; Kabiru M. A.; Abdullahi A.; Abdullahi L. U. (2024.): Modern Approaches to Sustainable Agriculture, Faculty of Agriculture and Veterinary Sciences, Mewar University, Chittorgarh, Rajasthan, India. 9, 2298-2307
44. Semida, W. M., Beheiry, H. R., Sétamou, M., Simpson, C. R., Abd El-Mageed, T. A., Rady, M. M., & Nelson, S. D. (2019.): Biochar implications for sustainable agriculture and environment: A review. *South African Journal of Botany*, 127, 333-347.
45. Shao, L., Zhao, S., Yang, S., Zhou, X., Li, Y., Li, C., ... Wang, Z. (2023.): Design, Synthesis, Antibacterial Evaluation, Three-Dimensional Quantitative Structure–Activity Relationship, and Mechanism of Novel Quinazolinone Derivatives. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 71(9), 3939-3949.
46. Singh, B. K., Millard, P., Whiteley, A. S., & Murrell, J. C. (2004.): Box 1. Use of FISH and microarrays to study rhizosphere–microbial interactions. *Trends in Microbiology*, 8(12), 386-393.
47. Singh, J. S., Pandey, V. C., & Singh, D. P. (2011.): Efficient soil microorganisms: a new dimension for sustainable agriculture and environmental development. *Agriculture, ecosystems & environment*, 140(3-4), 339-353.
48. Singh, R. L., Mondal, S.. (2017.): Biotechnology for Sustainable agriculture: Introduction, 399, 1-18
49. Sørensen, J., Sessitsch, A. (2007.): Plant-associated bacteria lifestyle and molecular interactions. *Modern soil microbiology*, 672 , 211-236. Abstract
50. Suthakaran, R., Kavimani, S., Venkaiaiah, P., & Suganthi, K. (2008.): Synthesis and antimicrobial activity of 3-(2-(4z)-4-substituted benzylidene-4, 5-dihydro-5-oxo-2-phenyl imidazol-1-yl) ethyl)-6, 8-un/dibromo substituted-2-substituted quinazoline-(3H)-one. *Rasayan Journal of Chemistry*, 1(1), 22-29.
51. Tilman, D., Balzer, C., Hill, J., & Befort, B. L. (2011.): Global food demand and the sustainable intensification of agriculture. *Proceedings of the national academy of sciences*, 108(50), 20260-20264.
52. Tiwary, B. K., Pradhan, K., Nanda, A. K., & Chakraborty, R. (2015.): Implication of quinazoline-4 (3H)-ones in medicinal chemistry: a brief review. *Journal Chemical Biology and Therapeutics*, 1(104), 2572-0406.

53. Veena Vani, K., Ramesh, G., & Venkata Rao, C. (2016.): 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.
54. Yi, Y. (2018.): *Bacillus mycoides*: novel tools for studying the mechanisms of its interaction with plants. [Thesis fully internal (DIV), University of Groningen]. University of Groningen, 165, 7-31
55. Weyens, N., van der Lelie, D., Taghavi, S., Vangronsveld, J. (2009.): Phytoremediation: plant-endophyte partnerships take the challenge. *Curr. Opin. Biotechnol.* 20: 248–254.
56. Wu, C. H., Bernard, S. M., Andersen, G. L., & Chen, W. (2009.): Developing microbe–plant interactions for applications in plant-growth promotion and disease control, production of useful compounds, remediation and carbon sequestration. *Microbial biotechnology*, 2(4), 428-440.
57. Zheng Y., Bian M., Deng X.Q., Wang S.B., Quan Z.S. (2013.): Synthesis and anticonvulsant activity evaluation of 5-phenyl-[1,2,4]triazolo[4,3-*c*]quinazolin-3-amines. *Archiv der Pharmazie (Weinheim)* 346: 119-126.

## 8. SAŽETAK

Rastuća rezistentnost fitopatogena na postojeće pesticide, kao i očuvanje okoliša od štetnog utjecaja istih, postaje sve veći problem koji stručnjaci agrobiotehničkih znanosti pokušavaju riješiti pronalaskom novih spojeva za suzbijanje fitopatogena uz minimalne posljedice za okoliš. Kinazolinoni i njihov derivati su spojevi visoke biološke aktivnosti te su prepoznati u medicini, farmaciji i farmakologiji s njihovim antibakterijskim, antifungalnim, antiviralnim, protuupalnim, antitumorskim i antikunvuzivnim djelovanjem. Stručnjaci u agrobiotehničkim znanostima prepoznali su potencijal ovih spojeva te su istraživanja usmjerena prema pronalasku derivata koji će u budućnosti zamjeniti uporabu postojećih toksičnih pesticida. Cilj ovog istraživanja bio je prikazati na koji način ispitani derivati kinazolinona utječu na predstavnike korisnih bakterija u tlu, *Bacillus mycoides* i *Bradyrhizobium japonicum*. Istraživanje je provedeno u *in vitro* uvjetima pri čemu nije zabilježen inhibitorni utjecaj na spomenute predstavnike tla. Buduća istraživanja trebaju se fokusirati na pronalazak još učinkovitijih derivata, potencijalnih pesticida, uz naglasak na očuvanje okoliša te minimalan utjecaj na korisni mikrobiom tla.

Ključne riječi: zaštita bilja, biopesticidi, antibakterijska aktivnost, očuvanje okoliša

## 9. SUMMARY

The increasing resistance of phytopathogens to existing pesticides, as well as the preservation of the environment from their harmful effects, is becoming a growing problem that experts in agrobiotechnical sciences are trying to solve by finding new compounds to control phytopathogens with minimal consequences for the environment. Quinazolinones and their derivatives are compounds recognized in medicine, pharmacy and pharmacology due to their high biological activity. Experts in these sciences have proven their antibacterial, antifungal, antiviral, anti-inflammatory, antitumor and anticonvulsant effects. Experts in agrobiotechnical sciences have recognized the potential of these compounds, and research is aimed at finding derivatives that will replace the use of existing pesticides in the future. The aim of this research was to show how the explored quinazolinone derivatives affect representatives of beneficial bacteria in the soil, *B. mycooides* and *B. japonicum*. The research conducted under *in vitro* conditions where noan inhibitory effect on the mentioned representatives in the soil. Future research should focus on finding more effective derivatives, potencial pesticides, to control phytopathogens while emphasizing environmental protection.

Key words: plant protection, biopesticides, antibacterial activity, environmental protection

## 10. POPIS SLIKA

Slika 1. Klasifikacija kinazolinona prema položaju kisika na pirimidinskom prstenu .....	5
Slika 2. Niementowski sinteza.....	6
Slika 3. Prikaz rasta <i>Bacillus mycoides</i> u (A) LB (lizogeni bujon) tekućem mediju; (B) LB agarnoj ploči; morfologija stanice promatrana fazno kontrastnim mikroskopom (C).....	11
Slika 4. Noduli na korijenu biljke (A), presjek aktivnog nodula (B), mikroskopski prikaz bakterija unutar nodula (C) i (D) .....	13
Slika 5: Struktura 3-(4-bromofenil)kinazolin-4(3 <i>H</i> )-on (K1) .....	16
Slika 6. Struktura 2-(4-oxokinazolin-3(4 <i>H</i> )-il)benzojeve kiseline (K2).....	16
Slika 7. Struktura 3-(2,5-dimetoksifenil)kinazolin-4(3 <i>H</i> )-on (K3) .....	17
Slika 8. Struktura 3-fenilkinazolin-4(3 <i>H</i> )-on (K4) .....	17
Slika 9. Struktura 3-(4-metoksifenil)-2-metilkinazolin-4(3 <i>H</i> )-on (K5).....	17

## 11. POPIS TABLICA

Tablica 1. Prikaz rezultata dobivenih djelovanjem derivata kinazolinona K1 na korisnu bakteriju u tlu, <i>B. mycooides</i> .....	18
Tablica 2. Prikaz rezultata dobivenih djelovanjem derivata kinazolinona K2 na korisnu bakteriju u tlu, <i>B. mycooides</i> .....	18
Tablica 3. Prikaz rezultata dobivenih djelovanjem derivata kinazolinona K3 na korisnu bakteriju u tlu, <i>B. mycooides</i> .....	19
Tablica 4. Prikaz rezultata dobivenih djelovanjem derivata kinazolinona K4 na korisnu bakteriju u tlu, <i>B. mycooides</i> .....	19
Tablica 5. Prikaz rezultata dobivenih djelovanjem derivata kinazolinona K5 na korisnu bakteriju u tlu, <i>B. mycooides</i> .....	19
Tablica 6. Prikaz rezultata dobivenih djelovanjem derivata kinazolinona K1 na korisnu bakteriju u tlu, <i>B. japonicum</i> .....	20
Tablica 7. Prikaz rezultata dobivenih djelovanjem derivata kinazolinona K2 na korisnu bakteriju u tlu, <i>B. japonicum</i> .....	20
Tablica 8. Prikaz rezultata dobivenih djelovanjem derivata kinazolinona K3 na korisnu bakteriju u tlu, <i>B. japonicum</i> .....	20
Tablica 9. Prikaz rezultata dobivenih djelovanjem derivata kinazolinona K4 na korisnu bakteriju u tlu, <i>B. japonicum</i> .....	21
Tablica 10. Prikaz rezultata dobivenih djelovanjem derivata kinazolinona K5 na korisnu bakteriju u tlu, <i>B. japonicum</i> .....	21

## TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku  
Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek  
Sveučilišni diplomski studij, smjer Ishrana bilja i tloznanstvo

Diplomski rad

Utjecaj derivata kinazolinona na predstavnike korisnih bakterija tla

Domagoj Smolčić

**Sažetak:** Rastuća rezistentnost fitopatogena na postojeće pesticide, kao i očuvanje okoliša od štetnog utjecaja istih, postaje sve veći problem koji stručnjaci agrobiotehničkih znanosti pokušavaju riješiti pronalaskom novih spojeva za suzbijanje fitopatogena uz minimalne posljedice za okoliš. Kinazolinoni i njihovi derivati su spojevi visoke biološke aktivnosti te su prepoznati u medicini, farmaciji i farmakologiji s njihovim antibakterijskim, antifungalnim, antiviralnim, protuupalnim, antitumorskim i antikunvuzivnim djelovanjem. Stručnjaci u agrobiotehničkim znanostima prepoznali su potencijal ovih spojeva te su istraživanja usmjerena prema pronalasku derivata koji će u budućnosti zamijeniti uporabu postojećih toksičnih pesticida. Cilj ovog istraživanja bio je prikazati na koji način ispitani derivati kinazolinona utječu na predstavnike korisnih bakterija u tlu, *Bacillus mycoides* i *Bradyrhizobium japonicum*. Istraživanje je provedeno u *in vitro* uvjetima pri čemu nije zabilježen inhibički utjecaj na spomenute predstavnike tla. Buduća istraživanja trebaju se fokusirati na pronalazak još učinkovitijih derivata, potencijalnih pesticida, uz naglasak na očuvanje okoliša te minimalan utjecaj na korisni mikrobiom tla.

**Rad je izrađen pri:** Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek

**Mentor:** prof. dr. sc. Gabriella Kanižai Šarić

**Broj stranica:** 32

**Broj grafikona i slika:** 9

**Broj tablica:** 10

**Broj literaturnih navoda:** 57

**Broj priloga:** 0

**Jezik izvornika:** hrvatski

**Ključne riječi:** zaštita bilja, biopesticidi, antibakterijska aktivnost, očuvanje okoliša

**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, Plant nutrition and soil science

Graduate thesis

The influence of quinazolinone derivatives on representatives of beneficial soil bacteria

Domagoj Smolčić

**Abstract:** The increasing resistance of phytopathogens to existing pesticides, as well as the preservation of the environment from their harmful effects, is becoming a growing problem that experts in agrobiotechnical sciences are trying to solve by finding new compounds to control phytopathogens with minimal consequences for the environment. Quinazolinones and their derivatives are compounds recognized in medicine, pharmacy and pharmacology due to their high biological activity. Experts in these sciences have proven their antibacterial, antifungal, antiviral, anti-inflammatory, antitumor and anticonvulsant effects. Experts in agrobiotechnical sciences have recognized the potential of these compounds, and research is aimed at finding derivatives that will replace the use of existing pesticides in the future. The aim of this research was to show how the explored quinazolinone derivatives affect representatives of beneficial bacteria in the soil, *B. mycooides* and *B. japonicum*. The research conducted under *in vitro* conditions where no an inhibitory effect on the mentioned representatives in the soil. Future research should focus on finding more effective derivatives, potential pesticides, to control phytopathogens while emphasizing environmental protection.

**Thesis performed at:** Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek

**Mentor:** prof. dr. sc. Gabriella Kanižai Šarić

**Number of pages:** 32

**Number of figures:** 9

**Number of tables:** 10

**Number of references:** 57

**Number of appendices:** 0

**Original in:** Croatian

**Key words:** plant protection, biopesticides, antibacterial activity, environmental protection

**Thesis defended on date:**

**Reviewers:**

1. prof. dr. sc. Vesna Rastija, president of the Commission
2. prof. dr. sc. Gabriella Kanižai Šarić, mentor
3. assoc. prof. dr. sc. Dejan Agić, member of the Commission

**Thesis deposit at:** Library of Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek and in digital repository of Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek, Vladimira Preloga 1.