



MD 4725 B1 2020.11.30

REPUBLICA MOLDOVA

(19) Agenția de Stat
pentru Proprietatea Intelectuală(11) **4725** (13) **B1**
(51) Int.Cl: *C07F 15/06* (2006.01)
C07D 471/04 (2006.01)
A01N 43/42 (2006.01)
A01N 43/90 (2006.01)
A01N 55/02 (2006.01)
A01G 17/02 (2006.01)

(12) BREVET DE INVENȚIE

In termen de 6 luni de la data publicării mențiunii privind hotărârea de acordare a brevetului de invenție, orice persoană poate face opoziție la acordarea brevetului	
(21) Nr. depozit: a 2019 0039 (22) Data depozit: 2019.05.13	(45) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului: 2020.11.30, BOPI nr. 11/2020
(71) Solicitanți: INSTITUTUL DE FIZICĂ APLICATĂ, MD; INSTITUTUL ȘTIINȚIFICO-PRACTIC DE HORTICULTURĂ ȘI TEHNOLOGII ALIMENTARE, MD	
(72) Inventatori: BACA Svetlana, MD; SULTANOVA Olga, MD; DARII Mariana, MD; BOUROȘ Pavlina, MD	
(73) Titulari: INSTITUTUL DE FIZICĂ APLICATĂ, MD; INSTITUTUL ȘTIINȚIFICO-PRACTIC DE HORTICULTURĂ ȘI TEHNOLOGII ALIMENTARE, MD	

(54) **Compusul coordinativ hexaamincobalt(III) triclorură bis(1,10-fenantrolină) trihidrat cu proprietăți de inhibitor al dezvoltării cancerului la viță de vie**

(57) Rezumat:

Invenția se referă la chimia coordinativă, biotehnologie și viticultură, și anume la un compus coordinativ al cobaltului(III) cu 1,10-fenantrolină, care poate găsi aplicare în calitate de inhibitor al dezvoltării cancerului la viță de vie.

Conform invenției, se revendică compusul coordinativ hexaamincobalt(III) triclorură bis(1,10-fenantrolină) trihidrat cu

formula $[\text{Co}(\text{NH}_3)_6]\text{Cl}_3 \cdot 2(\text{phen}) \cdot 3\text{H}_2\text{O}$.
Compusul coordinativ manifestă proprietăți de inhibitor al dezvoltării cancerului la viță de vie, fapt stabilit prin testarea efectului de inhibare a creșterii bacteriilor *Rhizobium (Agrobacterium) vitis*.

Revendicări: 2

Figuri: 3

MD 4725 B1 2020.11.30

(54) Coordination compound hexaamminecobalt(III) trichloride bis(1,10-phenanthroline) trihydrate with properties of cancer development inhibitor in grapevine

(57) Abstract:

1
The invention relates to coordination chemistry, biotechnology and viticulture, namely to a cobalt(III) coordination compound with 1,10-phenanthroline, which can be used as a cancer development inhibitor in grapevine.

According to the invention, claimed is the coordination compound hexaamminecobalt(III) trichloride bis(1,10-phenanthroline) trihydrate with the formula

2
[Co(NH₃)₆]Cl₃·2(phen)·3H₂O. The coordination compound exhibits the properties of cancer development inhibitor in grapevine, fact established by testing the growth inhibition effect of *Rhizobium (Agrobacterium) vitis* bacteria.

Claims: 2

Fig.: 3

(54) Координационное соединение гексаамминкобальт(III) трихлорид бис(1,10-фенантролин) тригидрат со свойствами ингибитора развития рака у виноградной лозы

(57) Реферат:

1
Изобретение относится к координационной химии, биотехнологии и виноградарству, а именно к координационному соединению кобальта(III) с 1,10-фенантролином, которое может найти применение в качестве ингибитора развития рака у виноградной лозы.

Согласно изобретению, заявляется координационное соединение гексаамминкобальт(III) трихлорид бис(1,10-

2
фенантролин) тригидрат, с формулой [Co(NH₃)₆]Cl₃·2(phen)·3H₂O. Координационное соединение проявляет свойства ингибитора развития рака у виноградной лозы, что установлено путем тестирования эффекта ингибирования роста бактерий *Rhizobium (Agrobacterium) vitis*.

П. формулы: 2

Фиг.: 3

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

5 Invenția se referă la chimia coordinativă, biotehnologie și viticultură, și anume la un compus coordinativ al cobaltului(III) cu 1,10-fenantrolină, care posedă proprietăți pronunțate antibacteriene contra procesului de dezvoltare a cancerului la vița de vie.

Cancerul bacterian al viței de vie este o boală dăunătoare și răspândită, care provoacă daune economice semnificative viticulturii industriale. Agentul cancerului bacterian al viței de vie este *Rhizobium vitis*, o bacterie oncogenă care diferă de alte specii de *Rhizobium* prin prezența plasmidelor Ti în ea. Ultimele au capacitatea de a exista mult timp latent (ascuns) în sistemul conductiv al plantelor, asigurând natura cronică și sistemică a bolii. În locurile de rănire e posibil contactul pereților celulelor microbiene și vegetale, iar procesele biochimice complexe asigură ca ADN-ul microorganismului să fie inserat în cromozomii celulei vegetale. Mai departe, sub influența genelor patogene, raportul auxinelor și citochininelor din celula vegetală este perturbat, ceea ce duce la creșterea necontrolată a celulelor și la formarea tumorilor.

Lipsa substanțelor chimice utile în lupta împotriva acestei boli a condus la faptul că în Republica Moldova boala este larg răspândită și apare în toate ariile de cultivare a viței de vie. Problemele legate de combaterea acestei boli sunt în prezent relevante pentru viticultură. În acest sens, o mare importanță o prezintă studiul remediilor în lupta împotriva bacteriilor oncogene care cauzează formarea de tumori la vița de vie. Metode de utilizare a remediilor: (i) menținerea în soluțiile acestor remedii a grefei și portaltoielor înainte de altoire pentru a preveni infecția întregului lot (sursa de infecție poate fi vița bolnavă, deoarece bacteria din butașii infectați difuzează în apă și infectează întregul lot); (ii) menținerea în soluțiile acestor remedii a rădăcinilor plantei pentru a preveni infecția secundară a viței de vie cu bacteriile oncogene ale solului (sursa de infecție a viței de vie poate fi solul).

Este cunoscut că clorura hexaamnei de cobalt(III) este compusul complex disponibil comercial și medicament cunoscut sub numele de Cohex, un antiviral, care acționează asupra virusului Sindbis (SINV) (J. B. Delehanty, J. E. Bongard, D. C. Thach, D. A. Knight, T. E. Hickey, E. L. Chang. Bioorg. Med. Chem. 2008, 16, p. 830–837) și a adenovirusului, virusului imunodeficienței umane (HIV) și tulpinii Zaire Ebola (ZEBOV) (E. L. Chang, G. G. Olinger, L. E. Hensley, C. M. Lear, C. E. Scully, M. K. Mankowski, R. G. Ptak, D. C. Thach, D. A. Knight. J Antivir Antiretrovir: 2011, vol. 3, 020-027, doi:10.4172/jaa.1000030). Utilizarea acestui compus în calitate de inhibitor al dezvoltării cancerului la vița de vie nu a fost descrisă în literatura de specialitate.

Se cunoaște de asemenea compusul hexaaminocobalt(III) clorură bis(hidrogenoftalat) trihidrat [1] cu formula $[\text{Co}(\text{NH}_3)_6]\text{Cl}(\text{C}_8\text{H}_5\text{O}_4)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$.

40 Utilizarea acestui compus în calitate de inhibitor al dezvoltării cancerului la vița de vie nu a fost descrisă în literatura de specialitate.

Sunt cunoscute deja două preparate – chinazolul și 1,4-difenil-1-(1-oxi-2,2,2-tricloretil)tiosemicarbazida folosite în lupta împotriva cancerului bacterian al viței de vie [2]. Producerea chinazolului și a preparatului 1,4-difenil-1-(1-oxi-2,2,2-tricloretil)tiosemicarbazidă a fost oprită cu mulți ani în urmă. Chinazolul a fost utilizat în pepiniere la prelucrarea viței de vie în perioada de păstrare împotriva bolilor fungice în baza cărei se forma pe vița de vie mucegai. Preparatul 1,4-difenil-1-(1-oxi-2,2,2-tricloretil)tiosemicarbazida (fungicid) a fost utilizat și împotriva mucegaiului pudră, de asemenea o boală fungică.

50 Dezavantajul acestor preparate constă în aceea că nu sunt eficiente și sunt utilizate în concentrații mari.

Problema pe care o rezolvă prezenta invenție constă în obținerea unui compus coordinativ nou al cobaltului(III) în bază de hexaamină de cobalt(III) triclurură ce conține 1,10-fenantrolină, care este solubil în apă, cu proprietăți de inhibitor al dezvoltării cancerului la vița de vie.

55 Esența invenției constă în aceea că în calitate de inhibitor al dezvoltării cancerului la vița de vie se propune un compus nou hexaaminocobalt(III) triclurură bis(1,10-

fenantrolină) trihidrat cu formula $[\text{Co}(\text{NH}_3)_6]\text{Cl}_3 \cdot 2(\text{phen}) \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (**I**), care manifestă proprietăți de inhibitor al dezvoltării cancerului la vița de vie.

Rezultatul invenției constă în obținerea unui compus nou $[\text{Co}(\text{NH}_3)_6]\text{Cl}_3 \cdot 2(\text{phen}) \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, care este solubil în apă, cu proprietăți de inhibitor al dezvoltării cancerului la vița de vie.

Invenția se explică prin desenele din fig. 1-3, care reprezintă:

- fig. 1 – Fragment din structura compusului **I** și notarea atomilor cristalografici independenți;

- fig. 2 – Formarea lanțului din cationii complecși alternativi $[\text{Co}(\text{NH}_3)_6]^{3+}$ prin intermediul anionilor Cl^- și a moleculelor de apă, corelate cu moleculele de 1,10-fenantrolină;

- fig. 3 – Lățimea zonei de inhibare a creșterii bacteriene în vasele Petri. Pregătirea preparatelor: pregătirea inițială – 10 mg în 300 μL ; **1** – diluarea de 10 ori; **2** - diluarea de 50 ori; **3** – diluarea de 100 ori.

Compusul revendicat, structura și proprietățile lui nu sunt descrise în literatura de specialitate.

Procedul de obținere al acestui compus este simplu în executare, substanțele inițiale sunt accesibile, randamentul constituie 85% față de cel teoretic calculat, sinteza sonochimică este utilizată ca metodă verde de sinteză („green synthesis”). Compusul revendicat este stabil în contact cu aerul, bine solubil în apă, etanol, dimetilformamidă și dimetilsulfoxidă la încălzire.

În reacția dintre clorura de hexaamină de cobalt(III) cu 1,10-fenantrolina în metanol și apă (1:1) se obține compusul $[\text{Co}(\text{NH}_3)_6]\text{Cl}_3 \cdot 2(\text{phen}) \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (**I**).

Exemplu de obținere a compusului hexaamincobalt(III) tricolorură bis(1,10-fenantrolină) trihidrat cu formula $[\text{Co}(\text{NH}_3)_6]\text{Cl}_3 \cdot 2(\text{phen}) \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (**I**)

Soluția care conține clorura de hexaamină de cobalt(III) (0,027 g, 0,1 mmoli; producător – Sigma-Aldrich, numărul CAS: 10534-89-1), 1,10-fenantrolină (0,036 g, 0,2 mmoli; producător – Sigma-Aldrich, numărul CAS: 66-71-7) și trietanolamină (0,03 g, 0,2 mmoli) în 5 mL metanol și apă în raport molar 1:1, a fost pusă la agitare cu ultrasunet (Wise Clean baie cu ultrasunete funcționând la 40 kHz cu o putere maximă de 140 W) timp de 40 min, apoi filtrată și lăsată într-un flacon acoperit cu capac de plastic la temperatura camerei pentru evaporare. Cristalele de culoare oranj, având forma unor prisme, au fost filtrate, spălate cu apă și uscate în aer, (randament ~85 % în raport cu sarea $\text{Co}(\text{III})$).

S-a determinat, %: Co 9,17; C 38,43; H 4,36; N 13,39. Pentru $\text{C}_{24}\text{H}_{40}\text{Cl}_3\text{CoN}_{10}\text{O}_3$ s-a calculat, %: Co 9,50; C 38,72; H 4,55; N 13,55. Spectrul infraroșu pentru compusul revendicat **I** a evidențiat FT/IR (ν , cm^{-1}): 3416, 3364, 3188, 3117, 3058, 1646, 1621, 1587, 1561, 1509, 1423, 1341, 1218, 1139, 1092, 882, 846, 772, 731, 709, 644, 624, 554, 494, 411.

Structura moleculară și cristalină a compusului $[\text{Co}(\text{NH}_3)_6]\text{Cl}_3 \cdot 2(\text{phen}) \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ a fost determinată, aplicând metoda difracției razelor X, datele experimentale sunt prezentate în Tabelul 1.

Compusul $[\text{Co}(\text{NH}_3)_6]\text{Cl}_3 \cdot 2(\text{phen}) \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (**I**) cristalizează în grupul spațial triclinic *P*-1 al singoniei triclinice cu parametrii celulei elementare $a = 7,4052(2)$, $b = 12,3354(4)$, $c = 18,1291(7)$ Å, $\alpha = 77,506(3)$, $\beta = 79,715(3)$, $\gamma = 72,971(3)^\circ$, $Z = 2$, $V = 1534,11(9)$ Å³ (Tab. 1). În rezultatul determinării structurii **I** a fost stabilit că ea este ionică și conține cationi complecși $[\text{Co}(\text{NH}_3)_6]^{3+}$, anionii Cl^- , ce compensează sarcina pozitivă a cationilor și molecule de cristalizare de 1,10-fenantrolină și apă. În celula elementară au fost depistați doi cationi complecși centrosimetrici $[\text{Co}(\text{NH}_3)_6]^{3+}$ cristalografic independenți, iar în poziție generală trei anioni Cl^- , două molecule de 1,10-fenantrolină și trei molecule de apă (fig. 1). Poliedrele de coordinare octaedrice ale atomilor de metal Co(1) și Co(2) sunt formate de setul de atomi donori N_6 , atomii de azot aparținând celor șase liganzi de amoniac. Distanțele interatomice Co–N în poliedrele de coordonare ale atomilor Co(1) și Co(2) primesc valori în intervalul 1,954(2) – 1,964(1) Å. În structura cristalină **I**, componentele ionice sunt interconectate, pe lângă interacțiunile ionice, printr-un sistem complex de legături de hidrogen intermoleculare, la care sunt antrenate și moleculele de cristalizare. Ca urmare, ca donori de proton participă grupările N–H din cationii complecși și O–H din moleculele de apă, respectiv, iar ca acceptori – anionii Cl^- , atomii de azot din 1,10-fenantrolină și atomii de oxigen din moleculele de apă, contribuind semnificativ la asamblarea acestora în cristal. Astfel, cationii complecși $[\text{Co}(\text{NH}_3)_6]^{3+}$ sunt asociați prin

legături de hidrogen intermoleculare N–H...Cl cu anionii Cl⁻, iar cu componentele organice necoordinate fenantr. prin legături de hidrogen intermoleculare N–H...N. În același timp, moleculele de apă implicate ca acceptori de protoni duc la formarea legăturilor de hidrogen intermoleculare N–H...O ce le unesc cu cationii complecși și ca donori duc la formarea legăturilor de hidrogen intermoleculare O(W)–H...Cl cu anioni Cl⁻. Cu atât mai mult, moleculele de apă sunt și ele unite prin legăturile de hidrogen intermoleculare O(W)–H...O(W). Ca rezultat în cristal se pot evidenția lanțuri din cationii complecși [Co(NH₃)₆]³⁺ formate prin intermediul anionilor Cl⁻ și moleculelor de apă, corelate cu moleculele de 1,10-fenantrolină (fig. 2). În cristal au fost depistate interacțiuni de tip π...π ce acționează între fragmentele aromatice din moleculele de 1,10-fenantrolină.

Compusul coordinativ hexaamincobalt(III) triclurură bis(1,10-fenantrolină) trihidrat cu formula [Co(NH₃)₆]Cl₃·2(phen)·3H₂O (**I**) posedă proprietăți pronunțate de inhibitor al dezvoltării cancerului la viță de vie.

Metodă de determinare a sensibilității *Rhizobium (Agrobacterium) vitis* la preparatele prin difuzie în agar. Această metodă se bazează pe capacitatea substanțelor (medicamente, antibiotice) de a difuza în grosimea agarului și provoacă o întârziere sau suprimare a creșterii microbului test. Pentru a studia proprietățile antagoniste ale medicamentelor cu ajutorul difuziei în agar, se folosește metoda puțurilor.

În vasele Petri sterile cu un diametru de 10 cm au fost turnate câte 20 mL de nutrient topit, mediu nutritiv fiind de cartofi. Pentru a obține o creștere bacteriană uniformă pe stratul de agar în veselă se adaugă 800 μL de suspensie de cultură bacteriană (două miliarde de bacterii într-un mL). Lichidul se distribuie uniform pe suprafața veselei și se lasă timp de o oră. Apoi, în agar s-au tăiat puțuri în care s-au turnat 1-2 picături de agar topit pentru a forma fundul. În puțurile obținute s-au aplicat diluții diferite ale preparatelor, după aceea vesela a fost plasată într-un termostat timp de 24 de ore. Gradul de sensibilitate al *Rhizobium vitis* la substanța activă a fost determinat și exprimat în milimetri (fig. 3). Zonele ale căror diametru nu depășesc 15 mm indică o sensibilitate slabă la substanța activă. Zonele de la 15 la 25 mm indică sensibilitatea microorganismelor, în timp ce zonele foarte sensibile sunt caracterizate prin diametru mai mare de 25 mm. Drept control a servit tetraciclina, singurul antibiotic care fiind utilizat în tratamentul mai multor infecții bacteriene, inhibă dezvoltarea *Rhizobium vitis* (Tabelul 2). Tetraciclina se află pe lista medicamentelor esențiale ale Organizației Mondiale a Sănătății.

În variantele obținute, conform lățimii zonei de inhibare a creșterii bacteriene, ca și în varianta de control, se manifestă compusul coordinativ hexaamincobalt(III) triclurură bis(1,10-fenantrolină) trihidrat dizolvat în dimetilsulfoxidă/apă/etanol (raport molar 3:1:1) (34 mm) (Tabelul 2).

Avantajele oferite: compusul solubil în apă suprimă bacteriile oncogene care cauzează formarea de tumori la viță de vie.

Datorită proprietăților de inhibitor al dezvoltării cancerului la viță de vie pe care le manifestă compusul hexaamincobalt(III) triclurură bis(1,10-fenantrolină) trihidrat cu formula [Co(NH₃)₆]Cl₃·2(phen)·3H₂O, acesta prezintă interes biotehnologic în calitate de inhibitor al dezvoltării cancerului la viță de vie, fapt stabilit prin testarea efectului de inhibare a creșterii bacteriilor *Rhizobium (Agrobacterium) vitis*.

Tabelul 1

45 Datele cristalografice și parametri de structură pentru compusul **I**.

	I
Formula empirică	C ₂₄ H ₄₀ Cl ₃ Co ₁ N ₁₀ O ₃
<i>M</i>	681,94
Singonia	Triclinică
Grupul spațial	<i>P</i> -1
Parametrii celulei elementare	
<i>a</i> , Å	7,4052(2)
<i>b</i> , Å	12,3354(4)
<i>c</i> , Å	18,1291(7)
<i>α</i> , grad	77,506(3)
<i>β</i> , grad	79,715(3)
<i>γ</i> , grad	72,971(3)

$V, \text{Å}^3$	1534,11(9)
Z	2
$D_{\text{calc}}, \text{g/cm}^3$	1,476
μ, mm^{-1}	0,865
$F(000)$	712
Mărime cristal, mm	0,52 x 0,39 x 0,17
Zona θ , grad	1,75 – 25,50
Numărul reflexelor colectate	29279/5689 ($R_{\text{int}} = 0,0336$)
Numărul de reflexe cu $I > 2\sigma(I)$	4865
Numărul de parametri definiți	427
$GOOF$	1,000
$R_1, wR_2 [I > 2\sigma(I)]$	$R_1 = 0,0269, wR_2 = 0,0757$
R_1, wR_2 (pentru toate datele)	$R_1 = 0,0332, wR_2 = 0,0797$
$\delta\rho_{\text{max}}, \delta\rho_{\text{min}}, e\cdot\text{Å}^{-3}$	0,309, -0,381

Tabelul 2

Gradul de sensibilitate al *Rhizobium vitis* față de substanța activă **I**.

N	Codul	Compoziția	Zonele de inhibare a dezvoltării bacteriilor ^a , mm		
			1	2	3
1.	SB-4m	10 mg I in 0,3 mL DMSO+0,1 mL H ₂ O+0,1 mL EtOH	34	25	18
2.	SB-4cd	10 mg I in 0,2 mL H ₂ O+0,1 mL EtOH	31	20	19
3.	SB-4	10 mg I in 0,3 mL H ₂ O	26	20	15
4.	Control: tetraciclina	10 mg in 0,3 mL H ₂ O	34	30	25

- 5 ^aPregătirea preparatelor: pregătirea inițială – 10 mg in 300 μL ;
1 – diluarea de 10 ori;
2 - diluarea de 50 ori;
3 – diluarea de 100 ori.
DMSO-dimetilsulfoxidă;
10 EtOH – etanol.

(56) Referințe bibliografice citate in descriere:

1. R. P. Sharma, R. Bala, R. Sharma, B. M. Kariuki, U. Rychlewska, B. Warzajitis. Role of second-sphere coordination in anion binding: Synthesis, characterization and X-ray structure of hexaamminecobalt(III) chloride hydrogen phthalate trihydrate and sodium hexaamminecobalt(III) benzoate monohydrate. Journal of Molecular Structure, 2005, vol. 748, p. 143-151
2. SU 1794433 A1 1993.02.15

(57) Revendicări:

1. Compus coordinativ hexaamincobalt(III) triclorură bis(1,10-fenantrolină) trihidrat cu formula $[\text{Co}(\text{NH}_3)_6]\text{Cl}_3 \cdot 2(\text{phen}) \cdot 3\text{H}_2\text{O}$.
2. Compus coordinativ, conform revendicării 1, care manifestă proprietăți de inhibitor al dezvoltării cancerului la vișă de vie.

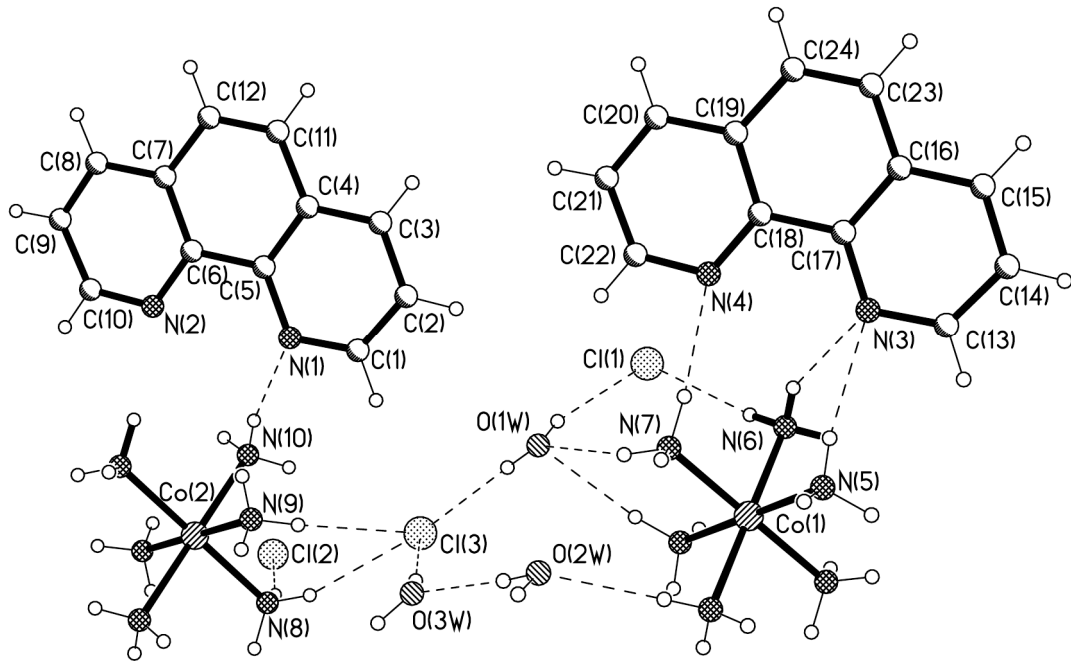


Fig. 1

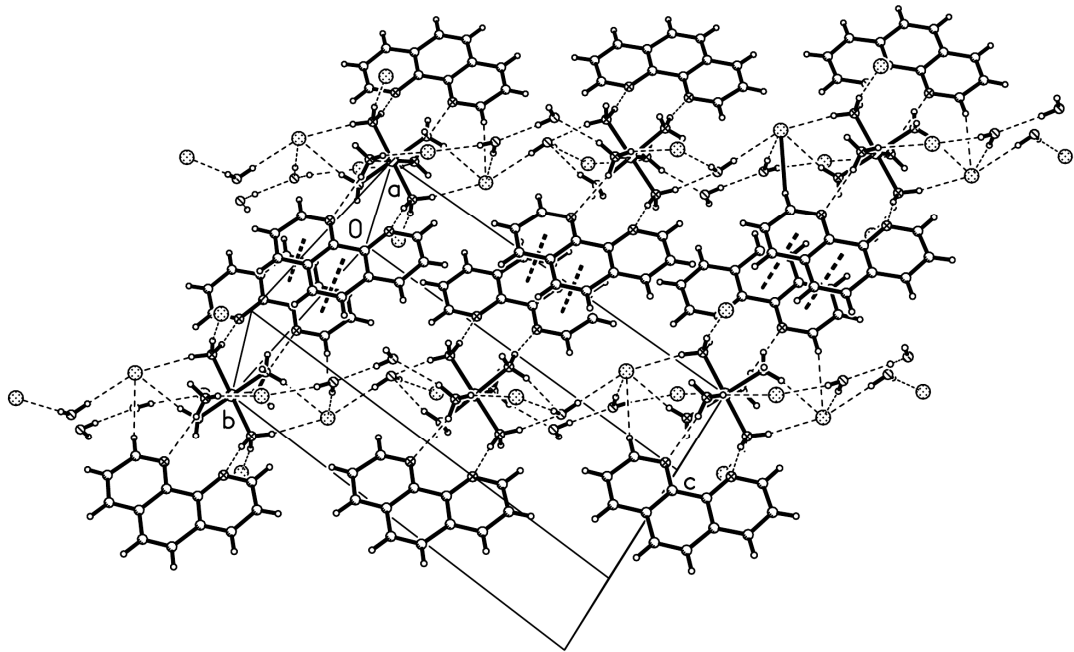


Fig. 2

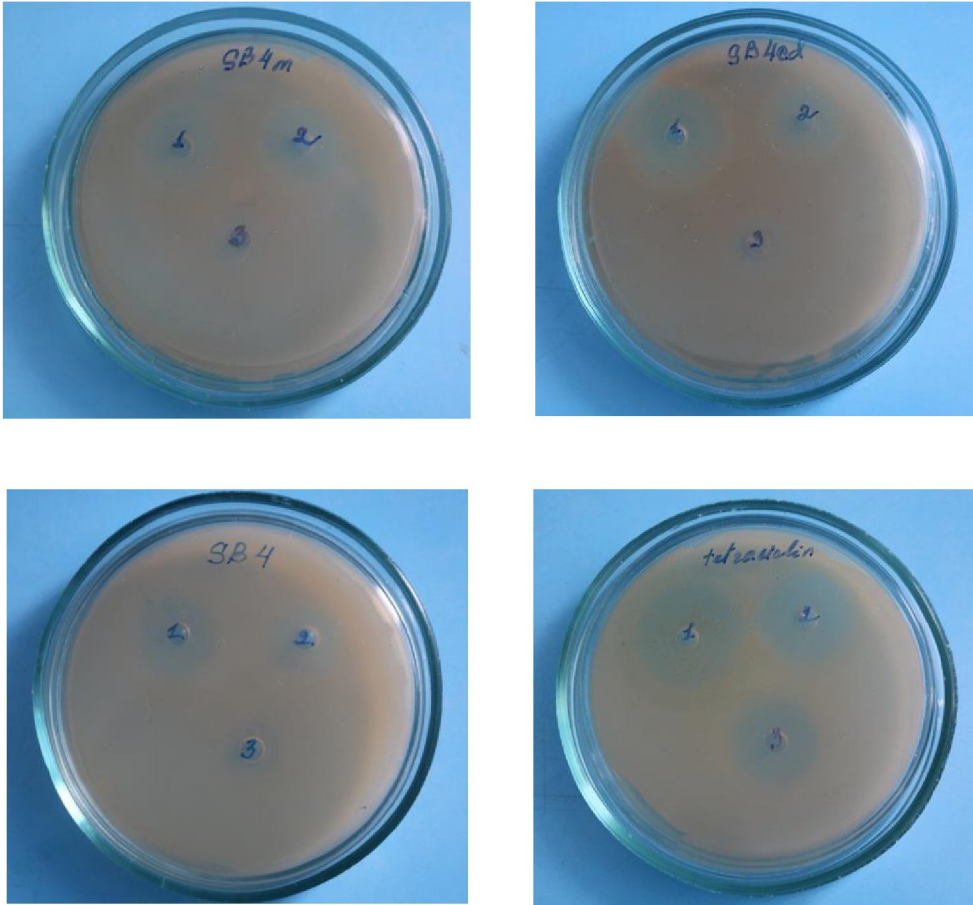


Fig. 3