

Invenția se referă la chimie și biotehnologie, și anume la sinteza unui nou compus coordinativ al cobaltului(II) și la un procedeu de cultivare a microalgei *Porphyridium cruentum* cu utilizarea acestuia în scopul majorării activității antioxidante a extractului etanolic, obținut în baza biomasei de porfiridium.

Este cunoscut procedeu de cultivare a microalgei *Porphyridium cruentum* pe mediul nutritiv mineral ce conține, g/L:  $\text{NaNO}_3$  - 5,0;  $\text{NaCl}$  - 7,0;  $\text{KCl}$  - 7,5;  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  - 1,8;  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  - 0,15;  $\text{KBr}$  - 0,05;  $\text{KI}$  - 0,05;  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  - 0,2;  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  - 0,00027;  $\text{ZnSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  - 0,00002;  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  - 0,00005;  $\text{MnSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  - 0,0003;  $\text{H}_3\text{BO}_3$  - 0,0006;  $\text{MoO}_3$  - 0,00002;  $\text{NaVO}_3$  - 0,00005 și apă distilată până la 1L; pH-ul 6,8...7,2; la temperatura de 23...25°C, iluminarea de 2000...3000 lx/cm<sup>2</sup>, la agitare lentă periodică. Din biomasa obținută se prepară extractul etanolic. Valoarea activității antioxidante a extractului etanolic este de 29% inhibiție ABTS+ [1].

Neajunsul acestui procedeu constă în activitatea antioxidantă joasă a extractului etanolic, obținut din biomasa de *Porphyridium cruentum* (29% inhibiție ABTS+).

Este cunoscut compusul coordinativ tiocianat de bis(nicotinoilhidrazon)-2,6-diacetilpiridin-(izotiocianato)(aqua)cobalt(II) cu formula  $[\text{CoII}(\text{L})(\text{NCS})(\text{H}_2\text{O})]\text{NCS}$ , structura moleculară a căruia a fost stabilită prin metoda difracției cu raze X [2].

Neajunsul acestui complex constă în faptul că, în virtutea structurii lui, la aplicare în calitate de adaos la cultivarea microalgei *Porphyridium cruentum*, conform procedurii expus mai sus, asigură un spor neînsemnat al activității antioxidante. Astfel, în urma testelor efectuate, activitatea antioxidantă a extractului etanolic, obținut din biomasa de *Porphyridium cruentum*, cultivat conform procedurii descris cu adaos de 0,021 g/L compus, a constituit 33% inhibiție ABTS+ (date nepublicate).

Problema pe care o rezolvă prezenta invenție constă în elaborarea unui procedeu eficient și reproductibil de sporire a activității antioxidante a extractului etanolic, obținut în baza biomasei de *Porphyridium cruentum*.

Esența invenției constă în faptul că se propune un compus coordinativ nou – sulfato-bis(nicotinoilhidrazon)-2,6-diacetilpiridin-cobalt(II) monometanol trihidrat cu formula  $\text{Co}(\text{H}_2\text{L})\text{SO}_4 \cdot \text{CH}_3\text{OH} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ .

De asemenea, se revendică un procedeu de cultivare a microalgei *Porphyridium cruentum*, care constă în aceea că se cultivă microalga pe un mediu nutritiv ce conține, g/L:  $\text{NaNO}_3$  - 5,0;  $\text{NaCl}$  - 7,0;  $\text{KCl}$  - 7,5;  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  - 1,8;  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  - 0,15;  $\text{KBr}$  - 0,05;  $\text{KI}$  - 0,05;  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  - 0,2;  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  - 0,00027;  $\text{ZnSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  - 0,00002;  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  - 0,00005;  $\text{MnSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  - 0,0003;  $\text{H}_3\text{BO}_3$  - 0,0006;  $\text{MoO}_3$  - 0,00002;  $\text{NaVO}_3$  - 0,00005 și apă distilată până la 1L, având pH-ul 6,8...7,2, la temperatura de 23...25°C, iluminarea de 2000...3000 lx/cm<sup>2</sup>, cu agitarea lentă periodică, totodată mediul conține suplimentar compusul sulfato-bis(nicotinoilhidrazon)-2,6-diacetilpiridin-cobalt(II) monometanol trihidrat, în concentrația de 0,019...0,021 g/L.

Compusul menționat, proprietățile lui și procedeu de obținere nu sunt descrise în literatură.

Rezultatul tehnic al invenției constă în majorarea activității antioxidante a extractului etanolic, obținut în baza biomasei microalgei *Porphyridium cruentum*, cu 17,8...18,2%, față de cea mai apropiată soluție. Administrarea compusului în prima zi de cultivare stimulează acumularea componentelor antioxidante în biomasa microalgei, care ulterior se extrag în alcool etilic de 96%.

Rezultatul invenției este condiționat de utilizarea, pentru prima dată, a compusului sulfato-bis(nicotinoilhidrazon)-2,6-diacetilpiridin-cobalt(II) monometanol trihidrat în calitate de stimulator al acumulării componentelor antioxidante care determină activitatea antioxidantă a extractului etanolic, obținut în baza biomasei de *Porphyridium cruentum*. Compusul dat are proprietatea de a stimula acumularea în biomasa microalgei de *Porphyridium cruentum* a componentelor extractibile în etanol, care participă în reacțiile de reducere a radicalilor în calitate de donori de electroni sau de hidrogen.

Compusul revendicat se obține ca rezultat al reacției pe matrice de cobalt la interacțiunea sulfatului de cobalt(II) heptahidrat, 2,6-diacetilpiridinei și a hidrazidei acidului nicotinic în mediu metanol-etanolic la temperatura de 65...70°C.

Procedeu de obținere a compusului revendicat este simplu în executare, substanțele inițiale sunt accesibile, randamentul constituie 50%. Compusul este stabil în aerul atmosferic și la temperatura camerei, solubil în dimetilformamidă (DMFA), dimetilsulfoxid (DMSO), alcooli.

Exemplu de obținere a  $\text{Co}(\text{L})\text{SO}_4 \cdot \text{CH}_3\text{OH} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$

$\text{CoSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  cu masa de 0,28 g (1 mmol) se dizolvă într-un amestec compus din 10 ml de etanol și 15 ml de metanol. Amestecul din 0,16 g (1mmol) de 2,6-diacetilpiridină și 0,28 g (2 mmol) de hidrazidă a acidului nicotinic se dizolvă în 27 ml de metanol. Soluția agenților coordinativi se adaugă la cea de sulfat de cobalt, după care soluția obținută se refluxează timp de 2 ore. Culoarea soluției treptat trece din roz-zmeuriu în oranj intens, din care se sedimentează un produs omogen cristalin de culoare oranj, care se separă prin filtrare, se spală cu metanol, apoi cu eter dietilic și se usucă în aer liber. Masa substanței este de 0,32 g, ce constituie 50% din cea teoretică.

Substanța este solubilă în DMFA, DMSO, mai puțin solubilă în alcooli, slab solubilă în apă, practic insolubilă în eter dietilic.

Rezultatele analizei elementelor

Determinat, %: Co 8,87; C 40,84; H 4,30; N 15,47.

Pentru  $\text{CoC}_{22}\text{H}_{29}\text{N}_7\text{O}_{10}\text{S}$

Calculat, %: Co 9,17; C 41,13; H 4,55; N 15,26.

Unele benzi mai importante în spectrul IR: 3500...2800 cm<sup>-1</sup>, bandă lată compusă din  $\nu(\text{OH})$ ,  $\nu(\text{NH})$ ,  $\nu(\text{CH})$ ; 1643 cm<sup>-1</sup> ( $\nu(\text{C}=\text{O})$ ) coordonată,  $\nu(>\text{C}=\text{N}-\text{N}=\text{C}<)$ ; 1630 cm<sup>-1</sup> ( $\nu(\text{C}=\text{N})$ ); 1599, 1583, 1517 cm<sup>-1</sup> (inelul Py); 1440 cm<sup>-1</sup> ( $\delta_{\text{as}}(\text{CH}_3)$ ); 1365 cm<sup>-1</sup> ( $\delta_{\text{s}}(\text{CH}_3)$ ); 1170, 1097, 1045 cm<sup>-1</sup> ( $\nu_3(\text{SO}_4)$ ); 996 cm<sup>-1</sup> ( $\nu_1(\text{SO}_4)$ ); 645, 599, 586 cm<sup>-1</sup> ( $\nu_4(\text{SO}_4)$ ); 456 cm<sup>-1</sup> ( $\nu_2(\text{SO}_4)$ ).

Din datele spectrului IR se poate presupune cu o doză mare de probabilitate că grupele SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> coordonează ca ligand-punte bidentat (K. Накамото. ИК спектры и спектры КР неорганических и координационных соединений. Перевод с английского. Москва, «Мир» 1991, 536 с).

Exemple de utilizare a sulfato-bis(nicotinoilhidrazon)-2,6-diacetilpiridin-cobalt(II) monometanolului trihidrat în calitate de stimulator al activității antioxidante a extractului etanolic, obținut în baza biomasei microalgei *Porphyridium cruentum*.

#### Exemplul 1

Se prepară mediul nutritiv mineral cu următorul conținut al componentelor (g/L): NaNO<sub>3</sub> - 5,0; NaCl - 7,0; KCl - 7,5; MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O - 1,8; Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O - 0,15; KBr - 0,05; KI - 0,05; K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> - 0,2; FeCl<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O - 0,00027; ZnSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O - 0,00002; CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O - 0,00005; MnSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O - 0,0003; H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> - 0,0006; MoO<sub>3</sub> - 0,00002; NaVO<sub>3</sub> - 0,00005 și apă distilată până la 1L. În prima zi de cultivare, la suspensia de porfiridium, în calitate de stimulator al activității antioxidante se adaugă compusul sulfato-bis(nicotinoilhidrazon)-2,6-diacetilpiridin-cobalt(II) monometanol trihidrat în concentrație de 0,019 g/L. Cultivarea se efectuează în baloane Erlenmayer a câte 100 ml cu 50 ml suspensie în următoarele condiții: pH-ul 6,8...7,2, temperatura de 23...25°C, iluminarea de 2000...3000 lx/cm<sup>2</sup>, cu agitare lentă periodică. La ziua a zecea, biomasa de porfiridium se separă de lichidul cultural, se supune demineralizării și se prepară extractul etanolic, în care se determină activitatea antioxidantă cu aplicarea testului ABTS+.

Extractul etanolic are activitatea antioxidantă de 37,7±1,04% inhibiție ABTS+, față de 32% inhibiție ABTS+ în cazul celei mai apropiate soluții (vezi tabelul). Sporul activității antioxidante este de 17,8%.

#### Exemplul 2

Se prepară mediul nutritiv mineral cu următorul conținut al componentelor (g/L): NaNO<sub>3</sub> - 5,0; NaCl - 7,0; KCl - 7,5; MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O - 1,8; Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O - 0,15; KBr - 0,05; KI - 0,05; K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> - 0,2; FeCl<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O - 0,00027; ZnSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O - 0,00002; CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O - 0,00005; MnSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O - 0,0003; H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> - 0,0006; MoO<sub>3</sub> - 0,00002; NaVO<sub>3</sub> - 0,00005 și apă distilată până la 1L. În prima zi de cultivare, la suspensia de porfiridium, în calitate de stimulator al activității antioxidante, se adaugă compusul sulfato-bis(nicotinoilhidrazon)-2,6-diacetilpiridin-cobalt(II) monometanol trihidrat în concentrație de 0,021 g/L. Cultivarea se efectuează în baloane Erlenmayer a câte 100 ml cu 50 ml suspensie în următoarele condiții: pH-ul 6,8...7,2, temperatura de 23...25°C, iluminarea de 2000...3000 lx/cm<sup>2</sup>, cu agitare lentă periodică. La ziua a 10-a, biomasa de porfiridium se separă de lichidul cultural, se supune demineralizării și se prepară extractul etanolic, în care se determină activitatea antioxidantă cu aplicarea testului ABTS+.

Extractul etanolic are activitatea antioxidantă de 39±0,82% inhibiție ABTS+, față de 33% inhibiție ABTS+ în cazul celei mai apropiate soluții (vezi tabelul). Sporul activității antioxidante este de 18,2%.

#### Tabel

Activitatea antioxidantă a extractului etanolic în baza biomasei de *Porphyridium cruentum*, obținută la cultivare conform procedurii revendicat și celei mai apropiate soluții

Procedeul utilizat	Concentrația compusului, g/L	Activitatea antioxidantă, % inhibiție ABTS+
Procedeul cunoscut	-	29±0,14
Procedeul cunoscut + [CoII(L)(NCS)(H <sub>2</sub> O)]NCS	0,019	32±0,81
	0,021	33±0,12
Procedeul revendicat (cu compusul Co(H <sub>2</sub> L)SO <sub>4</sub> ·CH <sub>3</sub> OH·3H <sub>2</sub> O)	0,019	37,7±1,04
	0,021	39±0,82

Datele din tabel demonstrează o creștere a activității antioxidante a extractului etanolic, obținut în baza biomasei de *Porphyridium cruentum* conform procedurii revendicat, cu 18% față de procedeul din cea mai apropiată soluție. Biomasa microalgei *Porphyridium cruentum* reprezintă o sursă de substanțe antioxidante, iată de ce sporul activității antioxidante a extractului etanolic, obținut în baza biomasei de porfiridium, crește valoarea ei în calitate de producător de substanțe antioxidante.

Proprietățile compusului sulfato-bis(nicotinoilhidrazon)-2,6-diacetilpiridin-cobalt(II) monometanol trihidrat prezintă interes pentru biotehnologie în calitate de stimulator al activității antioxidante a biomasei microalgei *Porphyridium cruentum*.