

Invenția se referă la chimie și biotehnologie, în special la sinteza unui nou compus coordinativ al cobaltului(III) și la un procedeu de cultivare a microalgei *Porphyridium cruentum* cu utilizarea acestuia.

Este cunoscut procedeu de cultivare a microalgei *Porphyridium cruentum* pe mediul mineral 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 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 tetrafluoroborat-[bis(dimetilgloximato)-di(piridină)cobalt(III)] cu formula  $[\text{Co}(\text{DH})_2(\text{Py})_2][\text{BF}_4]$ , molecula căruia constă dintr-un cation complex format din atomul generator de complex Co(III), la care coordonează doi radicali ai dimetilgloximei și două molecule de piridină, iar sfera externă este constituită din anioni tetrafluoroborat, structura moleculară a căreia a fost stabilită prin metoda difracției cu raze X [2].

Neajunsul acestui complex constă în faptul că, în virtutea structurii lui, la aplicarea 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*, cultivată conform procedurii descris cu adaos de 0,022 g/L compus, a constituit 32% 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 nou compus coordinativ – hexafluorotitanat-bis[(dimetilgloximato)-di(tiocarbamidă)cobalt(III)] dihidrat cu formula  $[\text{Co}(\text{DH})_2(\text{Thio})_2]_2[\text{TiF}_6] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ .

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 1 L, având pH-ul 6,8...7,2; la temperatura de 23...25°C, iluminarea de 2000...3000 lx/cm<sup>2</sup>, cu agitare lentă periodică, totodată mediul conține suplimentar compusul hexafluorotitanat-bis[(dimetilgloximato)-di(tiocarbamidă)cobalt(III)] dihidrat cu concentrația de 0,020...0,022 g/L.

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

Rezultatul tehnic al invenției constă în majorarea activității antioxidante a extractului etanolic obținut din biomasa microalgei *Porphyridium cruentum*, cu 77...78% față de cea mai apropiată soluție. Administrarea compusului din prima zi de cultivare stimulează acumularea componentelor antioxidante în biomasa microalgei, care ulterior se extrag cu alcool etilic de 96%.

Rezultatul invenției este condiționat de utilizarea, pentru prima dată, a compusului hexafluorotitanat-bis[(dimetilgloximato)-di(tiocarbamidă)cobalt(III)] dihidrat în calitate de stimulator al acumulării componentelor antioxidante care determină activitatea antioxidantă a extractului etanolic obținut din biomasa 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 donor de electroni sau de hidrogen.

Compusul revendicat se obține la interacțiunea soluției apoase fierbinți (~70° C) de hexafluorotitanat de cobalt(II) cu soluția metanolică fierbinte (50...55°C) a dimetilgloximei și tiocarbamidei în raport molar de 1:2:2. Reacția decurge timp de 10...15 min.

Procedeu de obținere a compusului revendicat este simplu în executare, substanțele inițiale sunt accesibile, randamentul constituie 53%. Compusul este stabil la contactul cu aerul, solubil în dimetilformamidă, dimetilsulfoxid, alcoolii și mai puțin solubil în apă.

Exemplu de obținere a hexafluorotitanat-bis[(dimetilgloximato)-di(tiocarbamidă)cobalt(III)] dihidrat 0,33 g (1 mmol)  $\text{CoTiF}_6 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  în 20 ml de apă se amestecă cu soluția din 0,23 g (2 mmol) dimetilgloximă și 0,15 g (2 mmol) tiocarbamidă dizolvate în 40 ml metanol. Amestecul obținut se fierbe la baia de apă timp de 10...15 min. Din soluția de culoare cafenie-închisă la evaporare lentă se obțin cristale de forma unor plăci hexagonale de culoarea soluției.

Rezultatele analizei elementelor

Determinat, %: C 22,13; H 4,36; N 20,59.

Pentru  $\text{C}_{20}\text{H}_{48}\text{Co}_2\text{F}_6\text{N}_{16}\text{O}_{10}\text{S}_4\text{Ti}$

Calculat, %: C 22,28; H 4,48; N 20,74.

Cercetarea sub microscop a compusului coordinativ sintetizat demonstrează că acesta posedă omogenitate fazică. Pentru a elucida compoziția și structura lui au fost utilizate metoda analizei elementelor, spectroscopia în IR și RMN.

Prezența benzilor de absorbție  $\nu(\text{CN})=1646$ ,  $\nu(\text{NO})_{\text{ioniz.}}=1233$  și 1074,  $\delta(\text{CNO})=730$ ,  $\nu(\text{Co-N})=542$  și  $\nu(\text{Co-N})=492$   $\text{cm}^{-1}$  în spectrul IR indică coordinarea dioximei la atomul central. Benzile  $\nu(\text{NH})=3299$ ,  $\nu(\text{NH})=3138$ ,  $\delta(\text{NH}_2)=1631$ ,  $\nu(\text{CS})=1392$ ,  $\text{cm}^{-1}$  indică prezența în dioximat a moleculelor de tiocarbamidă.

În spectrele RMN  $^1\text{H}$  semnalul grupelor metilice este deplasat în câmp slab – 2,31 ppm (în ligandul liber – 1,91 ppm). Semnalul la 17,54 ppm corespunde protonilor grupelor OH și este puternic deplasat în câmp slab în comparație cu dioxima necoordinată, fapt care indică formarea legăturilor de hidrogen intracationice între grupele oximice din planul ecuatorial.

La 7,60...8,52 ppm sunt prezente semnalele ce corespund tiocarbamidei coordonate. Integrarea semnalelor spectrului protonic indică la raportul 1:1 între radicalii dioximei și moleculele tiocarbamidei.

În spectrul RMN  $^{13}\text{C}$  semnalul atomului de carbon cuaternar al grupelor C=N este deplasat în câmp puternic, iar deplasarea semnalelor celorlalți atomi de carbon în câmp slab dovedește sporirea densității electronice în inelul chelat. Semnalul atomului de carbon al tiocarbamidei este deplasat în câmp puternic (175,24 ppm) în comparație cu molecula necoordinată (183,8 ppm).

În spectrul RMN  $^{19}\text{F}$  este prezentă o singură bandă la 72,21 ppm, care indică echivalența atomilor de fluor și stabilitatea anionului  $[\text{TiF}_6]^{2-}$  în soluție.

Astfel, în baza rezultatelor analizei elementelor și cercetărilor spectroscopice a fost stabilită compoziția și structura probabilă a compusului revendicat.

Exemple de utilizare a hexafluorotitanat-bis[(dimetilgloximato)-di(tiocarbamidă)cobalt(III)] dihidrat în calitate de stimulator al activității antioxidante a extractului etanolic obținut din biomasa microalgei *Porphyridium cruentum*.

#### Exemplul 1

Se prepară mediul nutritiv mineral cu următorul conținut al componentelor (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. În prima zi de cultivare, la suspensia de porfiridium, în calitate de stimulator al activității antioxidante, se adaugă compusul hexafluorotitanat-bis[(dimetilgloximato)-di(tiocarbamidă)cobalt(III)] dihidrat în concentrația de 0,020 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 agitarea 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 de inhibiție ABTS+.

Extractul etanolic are activitatea antioxidantă de  $53 \pm 0,88\%$  inhibiție ABTS+, față de 30% inhibiție ABTS+ în cazul celei mai apropiate soluții (vezi tabelul, procedeul descris [1] plus compusul  $[\text{Co}(\text{DH})_2(\text{Py})_2][\text{BF}_4]$ ). Sporul activității antioxidante este de 77%.

#### Exemplul 2

Se prepară mediul nutritiv mineral cu următorul conținut al componentelor (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. În prima zi de cultivare, la suspensia de porfiridium, în calitate de stimulator al activității antioxidante, se adaugă compusul hexafluorotitanat-bis[(dimetilgloximato)-di(tiocarbamidă)cobalt(III)] dihidrat în concentrația de 0,022 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 de inhibiție ABTS+.

Extractul etanolic are activitatea antioxidantă de  $57 \pm 1,14\%$  inhibiție ABTS+, față de 32% inhibiție ABTS+ în cazul celei mai apropiate soluții (vezi tabelul). Sporul activității antioxidante este de 78%.

#### Tabel

Activitatea antioxidantă a extractului etanolic în baza biomasei de *Porphyridium cruentum*, obținută la cultivarea 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 + compusul $[\text{Co}(\text{DH})_2(\text{Py})_2][\text{BF}_4]$	0,020	30±0,68
	0,022	32±0,04
Procedeul revendicat (cu compusul $[\text{Co}(\text{DH})_2(\text{Thio})_2][\text{TiF}_6] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ )	0,020	53±0,88
	0,022	57±1,14

Datele din tabel demonstrează o creștere a activității antioxidante a extractului etanolic, obținut în baza biomasei de *Porphyridium cruentum* conform procedurii revendicate, cu 77...78% față de cea mai apropiată soluție. Biomasă de microalgă *Porphyridium cruentum* reprezintă o sursă de substanțe antioxidante, iar 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 hexafluorotitanat-bis[(dimetilgliximato)-di(tiocarbamidă)cobalt(III)] dihidrat prezintă interes pentru biotehnologie în calitate de stimulator al activității antioxidante a biomasei microalgei *Porphyridium cruentum*.