



MD 4847 B1 2023.02.28

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) **4847** (13) **B1**
(51) Int.Cl: *C07F 3/00* (2006.01)
C07F 15/06 (2006.01)
C07D 213/79 (2006.01)
A01G 18/20 (2018.01)
C12N 1/14 (2006.01)
C12N 1/38 (2006.01)
C12N 9/26 (2006.01)
C12R 1/645 (2006.01)
C12R 1/685 (2006.01)

(12) BREVET DE INVENȚIE

În 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 2021 0059 (22) Data depozit: 2021.09.09	(45) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului: 2023.02.28, BOPI nr. 2/2023
(71) Solicitanți: INSTITUTUL DE CHIMIE, MD; INSTITUTUL DE FIZICĂ APLICATĂ, MD; INSTITUTUL DE MICROBIOLOGIE ȘI BIOTEHNOLOGIE, MD (72) Inventatori: BULHAC Ion, MD; URECHE Dumitru, MD; BOUROȘ Pavlina, MD; COCU Maria, MD; CILOCI Alexandra, MD; CONDRUC Viorica, MD; DVORNINA Elena, MD (73) Titulari: INSTITUTUL DE CHIMIE, MD; INSTITUTUL DE FIZICĂ APLICATĂ, MD; INSTITUTUL DE MICROBIOLOGIE ȘI BIOTEHNOLOGIE, MD (74) Mandatar autorizat: JOVMIR Tudor	

(54) **Tris(2,6-dimetil piridindicarboxilat-1kONO)-di-μ-(izotiocianato-1,2kN)-(diizotiocianato-2kN)bariu(II)cobalt(II) cu proprietăți de stimulator al sintezei principiilor biologice active la fungi**

(57) Rezumat:

1
Invenția se referă la chimia coordinativă, în special la un compus coordinativ heterodinuclear de Ba-Co cu proprietăți de stimulator al sintezei principiilor biologice active la fungi și poate fi utilizată în biotehnologia cultivării fungilor miceliali în scopul sporirii biosintezei enzimelor și productivității de biomasă microbiană.

Conform invenției, se revendică compusul coordinativ tris(2,6-dimetil piridindicarboxilat-1kONO)-di-μ-(izotiocianato-1,2kN)-(diizotiocianato-2kN)bariu(II)cobalt(II) cu formula $[\text{BaL}_3-\mu-$

2
 $(\text{NCS})_2-\text{Co}(\text{NCS})_2]$, în care L reprezintă esterul dimetilic al acidului 2,6-piridindicarboxilic.

Compusul coordinativ revendicat sporește biosinteza amilazelor exocelulare la tulpina de fungi *Aspergillus niger* CNMN FD 06, facilitând reducerea ciclului de cultivare cu 24 ore. De asemenea, compusul sporește cantitatea de biomasă micelială la tulpina *Lentinus edodes* (Berk.) Sing. CNMN FB 01, facilitând reducerea ciclului de cultivare cu 48 ore.

Revendicări: 3
Figuri: 1

MD 4847 B1 2023.02.28

(54) Tris(2,6-dimethyl pyridinedicarboxylate-1kONO)-di-μ-(isothiocyanato-1,2kN)-(diisothiocyanato-2kN)barium(II)cobalt(II) with stimulatory properties of the synthesis of biologically active substances in fungi

(57) Abstract:

1
The invention relates to coordination chemistry, in particular to a heterodinuclear coordination compound Ba-Co with stimulatory properties of the synthesis of biologically active substances in fungi, and can be used in mycelial fungi cultivation biotechnology in order to increase the biosynthesis of enzymes and the productivity of microbial biomass.

According to the invention, claimed is the tris(2,6-dimethyl pyridinedicarboxylate-1kONO)-di-μ-(isothiocyanato-1,2kN)-(diisothiocyanato-2kN)barium(II)cobalt(II) coordination compound with the formula

2
[BaL₃-μ-(NCS)₂-Co(NCS)₂], wherein L is 2,6-pyridinedicarboxylic acid dimethyl ester.

The claimed coordination compound increases the biosynthesis of extracellular amylases in the *Aspergillus niger* CNMN FD 06 fungal strain, which makes it possible to shorten the cultivation cycle by 24 hours. Also, the compound increases the amount of mycelial biomass in the strain of *Lentinus edodes* (Berk.) Sing. CNMN FB 01, facilitating the reduction of the cultivation cycle by 48 hours.

Claims: 3

Fig.: 1

(54) Трис(2,6-диметил пиридиндикарбоксилат-1kONO)-ди-μ-(изотиоцианато-1,2kN)-(диизотиоцианато-2kN)барий(II)кобальт(II) с свойствами стимулятора синтеза биологически активных веществ в грибах

(57) Реферат:

1
Изобретение относится к координационной химии, в частности к гетеродиядерному координационному соединению Ва-Со с свойствами стимулятора синтеза биологически активных веществ в грибах, и может быть использовано в биотехнологии культивирования мицелиальных грибов с целью увеличения биосинтеза ферментов и продуктивности микробной биомассы.

Согласно изобретению, заявляется координационное соединение трис(2,6-диметил пиридиндикарбоксилат-1kONO)-ди-μ-(изотиоцианато-1,2kN)-(диизотиоцианато-2kN)барий(II)кобальт(II) с формулой

2
[BaL₃-μ-(NCS)₂-Co(NCS)₂], в которой L представляет собой сложный диметиловый эфир 2,6-пиридиндикарбоксиловой кислоты.

Заявленное координационное соединение увеличивает биосинтез внеклеточных амилаз у штамма грибов *Aspergillus niger* CNMN FD 06, что позволяет сократить цикл культивирования на 24 часа. Также, соединение увеличивает количество мицелиальной биомассы у штамма *Lentinus edodes* (Berk.) Sing. CNMN FB 01, что позволяет сократить цикл культивирования на 48 часов.

П. формулы: 3

Фиг.: 1

Descriere:**(Descrierea se publică în varianta redactată de solicitant)**

Invenția se referă la chimia coordinativă, în special la un compus coordinativ heterodinuclear de Ba-Co și poate fi utilizată în biotehnologia cultivării fungilor miceliali în scopul sporirii biosintezei enzimelor și productivității de biomasă microbiană.

Este cunoscut un procedeu de obținere a biomasei miceliale a ciupercii *Lentinus edodes* (Berk.) Sing. într-un mediu nutritiv fără de metale în componența sa [1]. Neajunsul invenției constă în faptul că mediul nutritiv creat nu conține metale bivalente, care influențează esențial procesul de biosinteză.

Un efect de stimulare a biosintezei de enzime sau biomasă se poate de asigurat în unele cazuri prin includerea în mediul nutritiv a unor compuși coordinativi specifici cu liganzi polidentati. De exemplu, în procedeul de creștere a ciupercii *Lentinus edodes* se prevede ca la stadiul de cultivare a masei miceliale se utilizează un mediu format din clorură de mangan(II), glucoză și L-asparagină [2]. Procedeul permite obținerea unei pelicule pigmentate de miceliu, care condiționează reducerea ulterioară a perioadei de cultivare pe substrat.

Dezavantajul procedurii constă în faptul că acesta nu asigură și o mărire a biomasei miceliale.

Este necesar de menționat faptul că unii compuși coordinativi nu posedă proprietăți de biostimulatori ai biosintezei, ci din contra, se manifestă ca inhibitori. De exemplu, în cazul biosintezei enzimelor amilolitice de micromiceta *Aspergillus niger* în prezența compușilor coordinativi cu liganzi polidentati (Bulhac I. et al. Structure and some biological properties of Fe(III) complexes with nitrogen-containing ligands. Chemistry Journal of Moldova. General, Industrial and Ecological Chemistry, 2016, vol. 11(1), pp. 39-49).

Este cunoscut procedeul de cultivare a ciupercii *Lentinus edodes* cu scopul măririi biomasei de lectine – proteine extracelulare non-imunoglobulare, în medii care conțin săruri simple de metale de tranziție bivalente și liganzi simpli – etilenglicol, glucoza și asparagina [3]. Acești ioni manifestă un efect de stimulare a activității lectinelor, care se explică prin formarea unor complecși cu liganzi micști cu lectine și gluco-conjugați. Cu toate acestea utilizarea acestor metale și liganzi nu influențează esențial procesul de creștere a biomasei ciupercii *Lentinus edodes*.

Este cunoscut un mediu nutritiv pentru cultivarea tulpinii de fungi *Aspergillus niger* 33-19 CNMN FD 02 prin utilizarea unui biostimulator al sintezei enzimelor amilolitice heterodinuclear cu formula $[\text{Co}(\text{DH})_2(\text{Anilina})_2]_2[\text{TiF}_6]$, în care DH – reprezintă anionul dimetilgloximat [4]. După cum reiese din formula de mai sus ionii de metal nu sunt uniți între ei, ci fac parte din cationi și anioni complecși. Deși biostimulatorul este activ, el nu este stabil la păstrare și coroziv, interacționează cu sticla datorită prezenței fluorului în anionul de hexafluortitanat.

Problema tehnică pe care o rezolvă invenția constă în extinderea gamei de compuși coordinativi ai cobaltului cu proprietăți de biostimulatori prin obținerea unui compus coordinativ nou heterodinuclear, în care ionii de metal să fie legați între ei - tris(2,6-dimetil piridindicarboxilat-1kONO)-di-μ-(izotiocianato-1,2kN)-(diizotiocianato-2kN)bariu(II)cobalt(II) cu formula $[\text{BaL}_3-\mu-(\text{NCS})_2-\text{Co}(\text{NCS})_2]$ (L = esterul dimetilic al acidului 2,6-piridindicarboxilic) cu proprietăți de biostimulator al activității enzimatică și productivității de biomasă la tulpinile de fungi *Aspergillus niger* CNMN FD 06 producător de amilaze, *Lentinus edodes* (Berk.) Sing. CNMN FB 01 producător de biomasă micelială cu proprietăți curative și nutraceutice la un ciclu mai redus de cultivare. Totodată, compusul heterodinuclear biostimulator să fie cristalizabil, stabil la păstrare și noncoroziv.

Esența invenției constă în faptul că se propune un compus coordinativ nou - $[\text{BaL}_3-\mu-(\text{NCS})_2-\text{Co}(\text{NCS})_2]$ cu proprietăți de biostimulator al sintezei amilazelor exocelulare la tulpina de fungi *Aspergillus niger* CNMN FD 06 și productivității de biomasă micelială la *Lentinus edodes* (Berk.) Sing. CNMN FB 01.

Rezultatul tehnic al invenției constă în obținerea unui complex heterodinuclear monocristalin nou bine cristalizabil și noncoroziv $[\text{BaL}_3-\mu-(\text{NCS})_2-\text{Co}(\text{NCS})_2]$ (L = esterul dimetilic al acidului 2,6-piridindicarboxilic), care, fiind introdus în componența mediului nutritiv al producătorilor, sporesc biosinteza amilazelor la tulpina de fungi *Aspergillus niger* CNMN FD 06 și productivitatea de biomasă micelială la *Lentinus edodes* (Berk.) Sing. CNMN-FB-01 cu reducerea ciclului de cultivare cu 24...48 ore. Complexul manifestă influență stimulatorie asupra biosintezei amilazelor exocelulare la micromiceta *Aspergillus niger*, depășind la concentrațiile de 0,001 și 0,005 g/L respectiv cu 51,08 și 32,68% martorul zilei (ziua a 5-a de cultivare) și cu 39,18 și 22,24% maxima martorului (ziua a 6-a de cultivare), facilitând reducerea ciclului tehnologic cu 24 de ore.

Aplicarea compusului coordinativ heterometalic $[\text{BaL}_3\text{-}\mu\text{-(NCS)}_2\text{-Co(NCS)}_2]$ în procedeul de cultivare a tulpinii de fungi *Lentinus edodes* (Berk.) Sing. CNMN -FB -01 producător de biomasă micelială, asigură sporirea cantității de biomasă acumulată deja în ziua a 6-a de cultivare până la 27,13...28,15 g/L comparativ cu 20,46 g/L maxima matorului în ziua a 8-a de cultivare, ceea ce depășește nivelul maximei matorului cu 32,6...37,6 % în funcție de concentrația aplicată, totodată reducând termenul de cultivare cu 48 de ore.

Compusul coordinativ revendicat $[\text{BaL}_3\text{-}\mu\text{-(NCS)}_2\text{-Co(NCS)}_2]$ atât și procedeul de sinteză al lui, datele structurale cât și proprietățile sale biologice nu sunt descrise în Stadiul tehnicii.

Este cunoscut un complex al Ba(II) homodinuclear polimeric cu un ligand foarte asemănător – acidul 2,6-piridindicarboxilic, dar complexul acesta nu posedă proprietăți de biostimulator (Massoud Rafizadeh, Vahid Amani, Reza Tayebbe. Synthesis, characterization, and crystal structure of a new coordination polymer, $\{[\text{Ba}_2(\text{HPYDC})_2(\text{PYDC})(\text{H}_2\text{O})_3]\cdot\text{H}_2\text{O}\cdot(\text{H}_2\text{PYDC})\}_n$. Bull. Chem. Soc. Ethiop. 2008, 22(1), pp. 93-99).

Avantajele invenției revendicate constau în:

- obținerea compusului coordinativ revendicat este simplă în executare, iar substanțele inițiale sunt accesibile comercial;

- compusul-invenție se obține în formă de monocristale, ceea ce face posibilă separarea ușoară a complexului, precum și spălarea lui;

- compusul este stabil, nu interacționează cu sticla vasului recipientului la păstrare;

- obținerea compusului-invenție în formă de monocristale a permis stabilirea structurii moleculare și cristaline cu metoda difracției razelor X;

- complexul revendicat manifestă o solubilitate foarte bună în alcooli, ceea ce asigură o utilizare practică în calitate de component al mediului nutritiv.

Invenția se explică prin figură, care reprezintă structura moleculară a tris(2,6-dimetil piridindicarboxilat-1kONO)-di- μ -(izotiocianato-1,2kN)-(diizotiocianato-2kN)bariu(II)cobalt(II).

Exemple de realizare a invenției

Exemplul 1. Sinteza compusului $[\text{BaL}_3\text{-}\mu\text{-(NCS)}_2\text{-Co(NCS)}_2]$.

Tiocianatul de bariu dihidrat cu masa de 0,08 g (0,025 mmoli) și tiocianatul de cobalt trihidrat cu masa de 0,06 g (0,025 mmoli) s-au dizolvat în 7 mL metanol (soluția 1). 2,6-Piridindicarbonildiclorura cu masa de 0,16 g (0,075 mmoli) s-a dizolvat în 15 mL metanol (soluția 2) (raportul molar $\text{Ba}^{2+}:\text{Co}^{2+}:2,6\text{-piridindicarbonildiclorura}$ este 1:1:3). La o agitare permanentă soluția 1 se adaugă la soluția 2, după care, soluția obținută de culoare albastră a fost refluxată timp de 3 ore. După refluxare, soluția obținută este filtrată și lăsată la temperatura camerei pentru cristalizare. A doua zi în soluția filtrată se formează cristale albastre sub forma unor prisme, potrivite și pentru analiza cu raze X. Randamentul constituie 43% (0,11 g).

Găsit, %: C 36,75; H 2,76; Ba 13,51; Co 5,84; N 9,74.

Pentru $\text{C}_{31}\text{H}_{27}\text{BaCoN}_7\text{O}_{12}\text{S}_4$

calculat, %: C 36,71; H 2,68; Ba 13,54; Co 5,81; N 9,67.

Spectrul IR (ν , cm^{-1}): 3405sl.lată, 3084sl., 3009sl., 2955m., 2631sl.lată, 2327sl.lată, 2091m., 2066p., 2031f.p., 1737m., 1714f.p., 1584m., 1491f.sl., 1450m., 1435m., 1428m., 1311f.p., 1262f.p., 1225umăr, 1199m., 1175m., 1157sl., 1147f.sl., 1085m., 1027f.sl., 1001m., 989p., 957m., 950m., 870m., 848m., 838sl., 825m., 796sl., 756p., 728m., 694p., 654m., 530sl.lată, 500m., 480m., 429m (sl. semnifică intensitate slabă, m – medie, p – puternică, f.p. – foarte puternică, f.sl. – foarte slabă).

Exemplul 2. Structura compusului $[\text{BaL}_3\text{-}\mu\text{-(NCS)}_2\text{-Co(NCS)}_2]$ stabilită prin metoda difracției cu raze X.

Compusul obținut cristalizează în singonia triclinică (tabelul 1) și are formula $[\text{BaL}_3\text{-}\mu\text{-(NCS)}_2\text{-Co(NCS)}_2]$ (L = esterul dimetilic al acidului 2,6-piridindicarboxilic) (figură). Ca rezultat s-a obținut un compus complex molecular heteronuclear, în care la atomul Ba(1), pe lângă trei liganzi tridentati neutri L, coordonează fragmentul $[\text{Co(NCS)}_4]$ prin doi atomi de azot. Ca urmare numărul de coordinare (NC) al Ba(1) este 11 și este format de setul de atomi donori N_5O_6 . Poliedrul de coordinare al atomului Co(1) este format de patru atomi de azot, ce aparțin celor patru anioni NCS^- .

Tabelul 1

Datele cristalografice și parametrii de structură pentru $[\text{BaL}_3\text{-}\mu\text{-(NCS)}_2\text{-Co(NCS)}_2]$

Formula empirică	$\text{C}_{31}\text{H}_{27}\text{Ba}_1\text{Co}_1\text{N}_7\text{O}_{12}\text{S}_4$
Mr	1014.10
Singonia	Triclinică
Grupul spațial	P-1

$a(\text{\AA})$	10.6515(5)
$b(\text{\AA})$	11.0221(5)
$c(\text{\AA})$	18.1814(8)
$\alpha(\text{grad})$	85.125(4)
$\beta(\text{grad})$	83.249(4)
$\gamma(\text{grad})$	82.707(4)
$V(\text{\AA}^3)$	2097.27(16)
Z	2
$D_c(\text{g/cm}^{-3})$	1.606
$\mu(\text{mm}^{-1})$	1.591
$F(000)$	1010
Dimensiunile cristalului (mm)	0.44x0.42x0.10
Reflexele colectate/unice	13971/ 7780 [R(int) = 0.027]
Parametrii fițiți	512
GOF	1.001
$R_1, wR_2 [I > 2\sigma(I)]$	0.0353, 0.0806
R_1, wR_2 (pentru toate refexele)	0.0443, 0.0847

Distanțele interatomice din poliedrele de coordinare ale atomilor de metale sunt: Ba(1)-N(1)=2.979(2), Ba(1)-N(2)=2.984(3), Ba(1)-N(3)=2.946(2), Ba(1)-O(1)=2.786(2), Ba(1)-O(3)= 2.835(2), Ba(1)-O(5)=2.810(2), Ba(1)-O(7)=2.877(3), Ba(1)-O(9)=2.833(2), Ba(1)-O(11)= 2.833(2), Ba(1)-N(4)=3.325(3), Ba(1)-N(5)=3.220(3), Co(1)-N(4)=1.956(3), Co(1)-N(5)= 1.976(3), Co(1)-N(6)=1.957(4), Co(1)-N(7)=1.964(3) (figură). În cristal compușii complecși sunt uniți doar prin legături de hidrogen slabe de tipul C-H...O și C-H...S.

Exemple de aplicare a compusului revendicat $[\text{BaL}_3-\mu-(\text{NCS})_2-\text{Co}(\text{NCS})_2]$ în tehnologia cultivării tulpinilor de fungi miceliali cu semnificație biotehnologică: *Aspergillus niger* CNMN FD 06 producător de amilaze, *Lentinus edodes* (Berk.) CNMN FB 01 producător de biomasă micelială cu proprietăți curative și nutracutice.

Exemplul 3. Se pregătește mediul nutritiv cu următoarea compoziție ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$): amidon 3,0; faină de fasole 9,0; tărâțe de grâu 18,0; KH_2PO_4 2,0, KCl 0,5, MgSO_4 0,5, apă potabilă restul, pH-ul inițial – 5,0. Mediul pregătit se repartizează a câte 0,2 L în baloane Erlenmeyer cu capacitatea de 1,0 L și se sterilizează la temperatura de 120°C, 1 atm., timp de 1 oră. După răcire până la temperatura de cameră (25...28°C) mediul nutritiv se inoculează cu suspensie de spori ai tulpinii *Aspergillus niger* 33 în doză de 10% v/v. Concomitent se adaugă soluția apoasă a compusului coordinativ revendicat cu concentrații bine determinate, reieșind din intervalul revendicat, care nemijlocit înainte de utilizare, se agită discret timp de 2...5 minute pe baie de apă cu ultrasunet de tip DA-968 DADI. Cultivarea se realizează în condiții de agitare continuă (200 rot/min), la temperatura de 28°C, timp de 5 zile.

Activitatea amilolitică a lichidului cultural, determinată prin metoda colorimetrică după gradul de hidroliză a amidonului solubil în condiții standard de hidroliză a substratului (pH 4,7) (Грачева И.М. и др. Лабораторный практикум по технологии ферментных препаратов. М., Лёгкая и пищ. пром., 1982, с. 57-62) deja în ziua a 5-a de cultivare la concentrațiile compusului revendicat de 0,001, 0,005 g/L constituie respectiv 110,08 și 96,68 $\text{U}\cdot\text{mL}^{-1}$ față de 79,09 $\text{U}\cdot\text{mL}^{-1}$ în varianta martor, (ziua a 6-a de cultivare) ceea ce depășește cu 39,2 și 22,2% activitatea amilazelor maximei martorului. În ziua a 6-a de cultivare, ziua biosintezei maxime în varianta martor (79,9 U/mL) activitatea amilazelor în variantele experimentale la concentrațiile sus marcate a compusului revendicat constituie 143,94 U/mL și 132,15 U/mL , procentual fiind superioară martorului cu 67,1...82,0% (tabelul 2).

Tabelul 2

Modificarea activității amilolitice a tulpinii *Aspergillus niger* CNMN FD 06 sub influența compusului coordinativ $[\text{BaL}_3-\mu-(\text{NCS})_2-\text{Co}(\text{NCS})_2]$

Procedee de cultivare	Concen- trația, g/L	Activitatea amilolitică			
		a 5-a zi		a 6-a zi	
		Activitatea,	%, față de martor	Activitatea,	%, față de

		U/mL		U/mL	martor
[BaL ₃ -μ-(NCS) ₂ -Co(NCS) ₂]	0,001	110,08	151,1/139,2**	143,94	182,0
	0,005	96,68	132,7/122,2**	132,15	167,1
	0,010	72,86	92,1	61,40	77,6
Mediul de referință (martor)*	-	72,86	100,0	79,09	100,0

*Mediul de bază de cultivare submersă a tulpinii în condiții clasice (fără compusul revendicat): amidon 3,0; făină de fasole 9,0; tărâțe de grâu 18,0; KH₂PO₄ 2,0, KCl 0,5, MgSO₄ 0,5, apă potabilă restul, pH-ul inițial – 5,0 (MD2836).

**Calcululele sunt efectuate față de maxima martorului (ziua a 6-a)

5

Exemplul 4.

Materialul semincer (miaua) se obține la cultivarea în profunzime pe mediul nutritiv de bază timp de 8-10 zile a miceliului tulpinii *Lentinus edodes* (Berk.) Sing. CNMN-FB-01 de 20 zile, crescut pe suprafețe înclinate de malț-agar.

10 Se prepară mediul nutritiv cu compoziția (g): NH₄NO₃ 0,20; KH₂PO₄ 1,30; MgSO₄·7H₂O 0,35, malț de 5° Balling până la 1L, pH-ul inițial 5,0...5,5. Mediul pregătit se repartizează a câte 200 mL în colbe Erlenmeyer cu volumul de 0,75 L. După sterilizare (1oră, 1 atm.) și răcire până la temperatura de cameră, mediul se inoculează cu maiua obținută preventiv în raport de 10% v/v. Cultivarea se realizează în condiții de agitare continuă (200 rot/min), timp de 8 zile, la temperatura de 28°C.

15 Soluția apoasă a compusului coordinativ tris(2,6-dimetil piridindicarboxilat-1kONO)-di-μ-(izotiocianato-1,2kN)-(diizotiocianato-2kN)bariu(II)cobalt(II) cu formula [BaL₃-μ-(NCS)₂-Co(NCS)₂], în care L reprezintă esterul dimetilic al acidului 2,6 piridindicarboxilic, cu concentrații de 0,0025, 0,005, 0,010, și 0,015 g/L, prealabil tratată în baie cu ultrasunet tipul DA-96 DADI timp de 1...2 minute până la dizolvare completă, se adăunează la mediul de cultivare steril simultan cu materialul de inoculare.

20 Monitorizarea biomasei s-a efectuat în dinamică pe parcursul zilelor a 6-a, a 7-a și a 8-a de cultivare, perioadă în care cultura manifestă maxima de biosinteză. Masa uscată de miceliu s-a determinat prin cântărire (tabelul 3).

Tabelul 3

Influența compusului coordinativ [BaL₃-μ-(NCS)₂-Co(NCS)₂] asupra acumulării biomasei la tulpina *Lentinus edodes* (Berk.) Sing. CNMN-FB-01 în cultură submersă

25

Variante	Concen- trația, g/L	Ziua a 6-a		Ziua a 8-a	
		g/L	%/martor**	g/L	%/martor
Invenția	0,0025	24,27	118,6	23,67	115,7
	0,005	28,15	137,6	25,23	123,3
	0,010	27,76	135,7	24,98	122,1
	0,015	27,13	132,6	24,70	120,7
Mediul de referință (martor)*		17,32	100	20,46	100

*Mediu nutritiv fără compusul revendicat (g): must de bere - 270...320; melasă – 50...70; ulei de floarea soarelui - 0,5...1,5; restul – apă până la 1L; pH-ul inițial 4,5...5,0.

**Calcululele sunt efectuate față de maxima martorului (ziua a 8-a).

30

Nivelul maximal de biomasă micelială în varianta experimentală s-a marcat în ziua a 6-a de cultivare a producătorului și a constituit 28,15 g/L la concentrația complexului [BaL₃-μ-(NCS)₂-Co(NCS)₂] de 0,005 g/L și 27,76 g/L la concentrația complexului de 0,010 g/L, depășind maxima martorului (20,46 g/L în ziua a 8-a de cultivare) cu 37,6% și respectiv 35,7%.

35

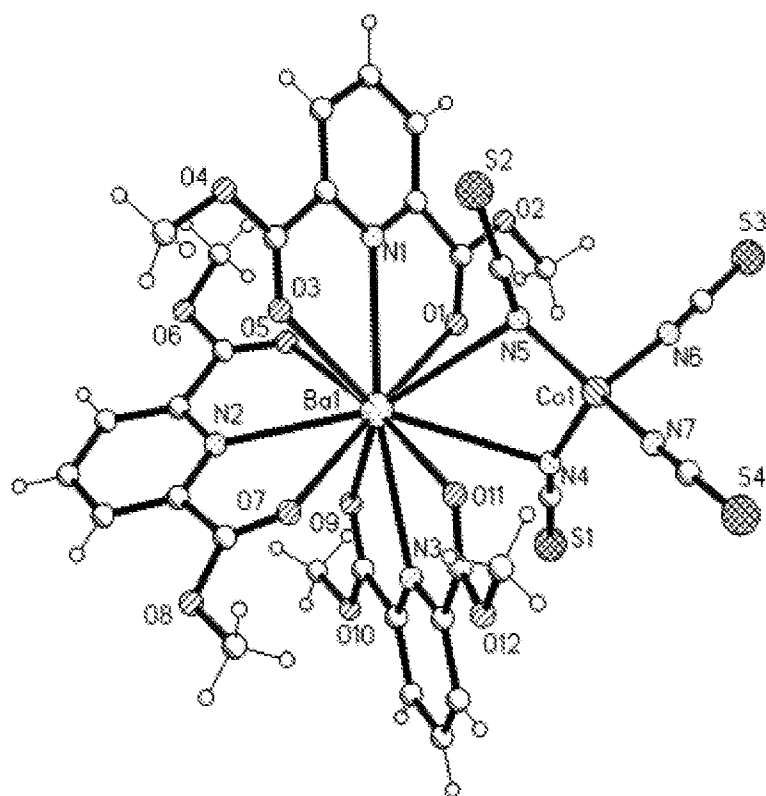
Cercetările au fost efectuate în cadrul proiectelor 20.80009.5007.28 și 20.80009.5007.15 din Programul de Stat 2020-2023 al Republicii Moldova cu finanțarea de către ANCD.

(56) Referințe bibliografice citate în descriere:

1. MD 2171 F1 2003.05.31
2. RU 2239983 C1 2004.11.20
3. Pankratov A. N. et al. Effect of Fe(II), Co(II), Ni(II), on the activity of extracellular lectins of the mushroom *Lentinus edodes*: the experiment and quantum chemical modeling. *Afinidad*, 2009, vol. 66, nr. 544, p. 498-504.
4. MD 3943 F1 2009.07.31

(57) Revendicări:

1. Compus tris(2,6-dimetil piridindicarboxilat-1kONO)-di-μ-(izotiocianato-1,2kN)-(diizotiocianato-2kN)bariu(II)cobalt(II) cu formula $[BaL_3-\mu-(NCS)_2-Co(NCS)_2]$, în care L reprezintă esterul dimetilic al acidului 2,6-piridindicarboxilic.
2. Compus, conform revendicării 1, **caracterizat prin aceea că** posedă proprietăți de biostimulator al sintezei amilazelor exocelulare la tulpina de fungi *Aspergillus niger* CNMN FD 06.
3. Compus, conform revendicării 1, **caracterizat prin aceea că** posedă proprietăți de biostimulator al creșterii productivității de biomasă micelială la tulpina *Lentinus edodes* (Berk.) Sing. CNMN FB 01.



RAPORT DE DOCUMENTARE

I. Datele de identificare a cererii		
(21) Nr. depozit: a 2021 0059 (32) Data de prioritate recunoscută: (22) Data depozit: 2021.09.09 Raport de documentare internațională: ☐ da (71) Solicitant: INSTITUTUL DE CHIMIE, MD; INSTITUTUL DE FIZICĂ APLICATĂ, MD; INSTITUTUL DE MICROBIOLOGIE ȘI BIOTEHNOLOGIE, MD (54) Titlu: Tris(2,6-dimetil piridindicarboxilat-1kONO)-di-μ-(izotiocianato-1,2kN)-(diizotiocianato-2kN)bariu(II)cobalt(II) cu proprietăți de stimulator al sintezei principiilor biologice active la fungi		
II. Clasificarea obiectului invenției:		
(51) Int.Cl: <i>C07F 3/00</i> (2006.01) <i>C12N 1/38</i> (2006.01) <i>C07F 15/06</i> (2006.01) <i>C12N 9/26</i> (2006.01) <i>C07D 213/79</i> (2006.01) <i>C12R 1/645</i> (2006.01) <i>A01G 18/20</i> (2018.01) <i>C12R 1/685</i> (2006.01) <i>C12N 1/14</i> (2006.01)		
III. Colecții și Baze de date de brevete cercetate (denumirea, termeni caracteristici, ecuații de căutare reprezentative)		
MD - Intern « Documentare Invenții » (inclusiv cereri nepublicate; trunchiere automată stânga/dreapta): <i>C07F 3/00 C07F 15/06 C07D 213/79 A01G 18/20 C12N 1/14 C12N 1/38 C12N 9/26 C12R 1/645 C12R 1/685</i> Cobalt, bariu, complex, ester dimetilic acid 2,6 piridindicarboxilic, dipicolinic, izotiocianat, stimulator, amilaze, <i>Aspergillus niger</i> , biomasa, <i>Lentinus edodes</i> "Worldwide" (Espacenet): <i>C07F 3/00 C07F 15/06 C07D 213/79 A01G 18/20 C12N 1/14 C12N 1/38 C12N 9/26 C12R 1/645 C12R 1/685</i> Cobalt, bariu, heterodinuclear complex, dimethyl ester 2,6 pyridinedicarboxylic acid, dipicolinic acid, dimethyl 2,6-pyridinedicarboxylate, isothiocyante, stimulator, amylase, <i>Aspergillus niger</i> , biomass, <i>Lentinus edodes</i> EA, CIS (Eapatis): <i>C07F 3/00 C07F 15/06 C07D 213/79 A01G 18/20 C12N 1/14 C12N 1/38 C12N 9/26 C12R 1/645 C12R 1/685</i> Кобальт, барий, гетеробиядерный комплекс, сложный диметилловый эфир 2,6-пиридиндикарбоксиловой кислоты, дипиколиновая кислота, изотиоцианат, стимулятор, синтез амилаз, <i>Aspergillus niger</i> , биомасса, <i>Lentinus edodes</i>		
IV. Baze de date și colecții de literatură nonbrevet cercetate		
https://scholar.google.com/		
V. Documente considerate a fi relevante		
Categoria*	Date de identificare ale documentelor citate si, unde este cazul, indicarea pasajelor pertinente	Numărul revendicării vizate

A, D	MD 2171 F1 2003.05.31	1-3
A, D	RU 2239983 C1 2004.11.20	1-3
A, D	Pankratov A. N. et al. Effect of Fe(II), Co(II), Ni(II), on the activity of extracellular lectins of the mushroom <i>Lentinus edodes</i> : the experiment and quantum chemical modeling. <i>Afinidad</i> , 2009, vol. 66, nr. 544, p. 498-504.	1-3
A, D, C	MD 3943 F1 2009.07.31	1-3
A	MD 1203 F1 1999.04.30	1-3
A	MD 2833 F1 2005.08.31	1-3
A	MD 2836 F1 2005.08.31	1-3
A	MD 3945 B1 2009.07.31	1-3
A	MD 3654 F1 2008.07.31	1-3

*** categoriile speciale ale documentelor citate:**

A – document care definește stadiul anterior general	T – document publicat după data depozitului sau a priorității invocate, care nu aparține stadiului pertinent al tehnicii, dar care este citat pentru a pune în evidență principiul sau teoria pe care se bazează invenția
X – document de relevanță deosebită: invenția revendicată nu poate fi considerată nouă sau implicând activitate inventivă când documentul este luat în considerație de unul singur	E – document anterior dar publicat la data depozit național reglementar sau după aceasta dată
Y – document de relevanță deosebită: invenția revendicată nu poate fi considerată ca implicând activitate inventivă când documentul este asociat cu unul sau mai multe documente de aceeași categorie	D – document menționat în descrierea cererii de brevet
O - document referitor la o divulgare orală, un act de folosire, la o expoziție sau la orice alte mijloace de divulgare	C – document considerat ca cea mai apropiată soluție
	& – document, care face parte din aceeași familie de brevete
P - document publicat înainte de data de depozit, dar după data priorității invocate	L – document citat cu alte scopuri

Data finalizării documentării, 2022.12.16

Examinatoare , LEVIȚCHI Svetlana