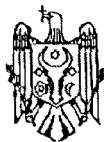




MD 4366 B1 2015.08.31

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) **4366** (13) **B1**
(51) Int.Cl: *C07F 15/02* (2006.01)
C07D 213/88 (2006.01)
C12N 1/12 (2006.01)
C12R 1/89 (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 2014 0069 (22) Data depozit: 2014.07.09	(45) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului: 2015.08.31, BOPI nr. 8/2015
(71) Solicitanți: INSTITUTUL DE CHIMIE AL ACADEMIEI DE ȘTIINȚE A MOLDOVEI, MD; INSTITUTUL DE MICROBIOLOGIE ȘI BIOTEHNOLOGIE AL ACADEMIEI DE ȘTIINȚE A MOLDOVEI, MD (72) Inventatori: COCU Maria, MD; RUDIC Valeriu, MD; BULHAC Ion, MD; RUDI Liudmila, MD; GUTIU Victoria, MD; CEPOI Liliana, MD; BALAN Cristina, MD; MISCU Vera, MD; CHIRIAC Tatiana, MD; GHELBET Viorica, MD (73) Titulari: INSTITUTUL DE CHIMIE AL ACADEMIEI DE ȘTIINȚE A MOLDOVEI, MD; INSTITUTUL DE MICROBIOLOGIE ȘI BIOTEHNOLOGIE AL ACADEMIEI DE ȘTIINȚE A MOLDOVEI, MD	

(54) Bis[1-fenil-3-metil-6-(piridinium-4-il)-4,5-diaza-hexa-1,3-dien-1-hidroxi-6-olato(-2)-O¹, N⁴, O⁶]fier(II) sulfat tetrahidrat și procedeu de cultivare a microalgei *Porphyridium cruentum* cu utilizarea acestuia

(57) Rezumat:

Invenția se referă la chimie și biotehnologie, în special la sinteza unui nou compus coordinativ al fierului(II) cu proprietăți antioxidante, care poate fi utilizat în industria alimentară și în medicină, și la un procedeu de cultivare a microalgei *Porphyridium cruentum* cu utilizarea acestuia.

Conform invenției, se revendică un compus coordinativ – bis[1-fenil-3-metil-6-(piridinium-4-il)-4,5-diaza-hexa-1,3-dien-1-hidroxi-6-olato(-2)-O¹, N⁴, O⁶]fier(II) sulfat tetrahidrat.

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: NaNO₃ - 5,0;

NaCl - 7,0; KCl - 7,5; MgSO₄·7H₂O - 1,8; Ca(NO₃)₂·4H₂O - 0,15; KBr - 0,05; KI - 0,05; K₂HPO₄ - 0,2; ZnSO₄·5H₂O - 0,00002; CuSO₄·5H₂O - 0,00005; MnSO₄·5H₂O - 0,0003; H₃BO₃ - 0,0006; MoO₃ - 0,00002; NaVO₃ - 0,00005, compusul bis[1-fenil-3-metil-6-(piridinium-4-il)-4,5-diaza-hexa-1,3-dien-1-hidroxi-6-olato(-2)-O¹, N⁴, O⁶]fier(II) sulfat tetrahidrat – 0,011...0,012 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/cm², cu agitare lentă periodică.

Rezultatul constă în majorarea conținutului de fenoli în biomasa de microalgă.

Revendicări: 2

Figuri: 1

MD 4366 B1 2015.08.31

(54) Bis[1-phenyl-3-methyl-6-(pyridinium-4-yl)-4,5-diaza-hexa-1,3-diene-1-hydroxy-6-olato(-2)- O^1, N^4, O^6]iron(II)sulphate tetrahydrate and process for cultivation of microalga *Porphyridium cruentum* with its use

(57) Abstract:

1

The invention relates to chemistry and biotechnology, in particular to the synthesis of a new coordinative compound of iron(II) with antioxidant properties that can be used in the food industry and in medicine, and to a process for cultivation of microalga *Porphyridium cruentum* with its use.

According to the invention, a coordinative compound – bis[1-phenyl-3-methyl-6-(pyridinium-4-yl)-4,5-diaza-hexa-1,3-diene-1-hydroxy-6-olato(-2)- O^1, N^4, O^6]iron(II)sulphate tetrahydrate is claimed.

Also, claimed is a process for cultivation of microalga *Porphyridium cruentum*, which consists in that microalga is cultivated on a nutrient medium containing, g/L: NaNO_3 – 5.0; NaCl – 7.0; KCl – 7.5; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 1.8;

2

$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ – 0.15; KBr – 0.05; KI – 0.05; K_2HPO_4 – 0.2; $\text{ZnSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ – 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; H_3BO_3 – 0.0006; MoO_3 – 0.00002; NaVO_3 – 0.00005, the compound bis[1-phenyl-3-methyl-6-(pyridinium-4-yl)-4,5-diaza-hexa-1,3-diene-1-hydroxy-6-olato(-2)- O^1, N^4, O^6]iron(II)sulphate tetrahydrate – 0.011...0.012 and distilled water up to 1 L; having the pH 6.8...7.2, at the temperature of 23...25°C, the illumination of 2000...3000 lx/cm², with periodic slow agitation.

The result consists in increasing the phenol content in the microalga biomass.

Claims: 2

Fig.: 1

(54) Бис[1-фенил-3-метил-6-(пиридиниум-4-ил)-4,5-диаза-гекса-1,3- диен-1- гидрокс-6-олато(-2)- O^1, N^4, O^6]железа(II) сульфат тетрагидрат и способ культивирования микроводоросли *Porphyridium cruentum* с его использованием

(57) Реферат:

1

Изобретение относится к химии и биотехнологии, в частности к синтезу нового координационного соединения железа(II) с антиоксидантными свойствами, которое может быть использовано в пищевой промышленности и в медицине, и к способу культивирования микроводоросли *Porphyridium cruentum* с его использованием.

Согласно изобретению, заявляется координационное соединение – бис[1-фенил-3-метил-6-(пиридиниум-4-ил)-4,5-диаза-гекса-1,3-диен-1-гидрокс-6-олато(-2)- O^1, N^4, O^6]железа(II) сульфат тетрагидрат.

Также, заявляется способ культивирования микроводоросли *Porphyridium cruentum*, который состоит в том, что культивируется микроводоросль на питательной среде, которая содержит, г/л: NaNO_3 – 5,0; NaCl – 7,0; KCl – 7,5;

2

$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 1,8; $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ – 0,15; KBr – 0,05; KI – 0,05; K_2HPO_4 – 0,2; $\text{ZnSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ – 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; H_3BO_3 – 0,0006; MoO_3 – 0,00002; NaVO_3 – 0,00005, соединение бис[1-фенил-3-метил-6-(пиридиниум-4-ил)-4,5-диаза-гекса-1,3- диен-1-гидрокс-6-олато(-2)- O^1, N^4, O^6]железа(II) сульфат тетрагидрат – 0,011...0,012 и дистиллированную воду до 1 л; имея pH 6,8...7,2, при температуре 23...25°C, освещении 2000...3000 лк/см², с медленным периодическим перемешиванием.

Результат состоит в повышении содержания фенолов в биомассе микроводоросли.

П. формулы: 2

Фиг.: 1

Descriere:

Invenția se referă la chimie și biotehnologie, în special la sinteza unui nou compus coordinativ al fierului(II) cu proprietăți antioxidante, care poate fi utilizat în industria alimentară și în medicină, și la un procedeu de cultivare a microalgei *Porphyridium cruentum* cu utilizarea acestuia.

Compusul coordinativ este propus spre aplicare în biotehnologiile de tip intensiv în scopul obținerii de biomasă cu un potențial antioxidant sporit. Biomasă obținută este utilizată în calitate de materie primă pentru obținerea produselor antioxidante, care pot fi utilizate în procesarea produselor alimentare și în scopuri medicale în calitate de antioxidanți (Rudic Valeriu ș.a. Ficobiotehnologie - cercetări fundamentale și realizări practice. Tipografia "Elena V.I." SRL, Chișinău, 2007, 365 p.).

Este cunoscut procedeu de cultivare a microalgei *Porphyridium cruentum* pe mediu mineral nutritiv ce conține, g/L: NaNO_3 - 5,0; NaCl - 7,0; 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; KBr - 0,05; KI - 0,05; K_2HPO_4 - 0,2; $\text{ZnSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ - 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; H_3BO_3 - 0,0006; MoO_3 - 0,00002; NaVO_3 - 0,00005 și apă distilată până la 1 litru; având pH-ul 6,8...7,2, la temperatura de 23...25°C, iluminarea de 2000...3000 lx, cu agitare lentă periodică. În prima zi de cultivare mediul este suplimentat cu compusul $[\text{Fe}_3\text{O}(\text{Gly})_6(\text{H}_2\text{O})_3](\text{NO}_3)_7 \cdot 3,5\text{H}_2\text{O}$ în concentrația de 0,001 g/L. Conținutul de fenoli în biomasă de *Porphyridium* constituie 10,6...11,8 echivalent mg acid galic/g biomasă [1].

Neajunsul compusului și al procedurii cunoscut constă în conținutul redus de fenoli în biomasă de *Porphyridium*.

Problema pe care o rezolvă prezenta invenție constă în sinteza unui compus nou și în elaborarea unui procedeu eficient și reproductibil de sporire a conținutului de fenoli în biomasă de *Porphyridium cruentum* CNMN-AR-01.

Esența invenției constă în faptul că se propune un compus coordinativ nou - bis[1-fenil-3-metil-6-(piridinium-4-il)-4,5-diaza-hexa-1,3-dien-1-hidroxi-6-olato(-2)- O^1, N^4, O^6] fier(II) sulfat tetrahidrat, obținut prin interacțiunea izonicotinoilhidrazonei 1-fenil-1,3-butandionei și a sulfatului de fier(II) în raport molar de 2:1 ($[\text{Fe}(\text{L})_2]\text{SO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$).

De asemenea, se propune un procedeu de cultivare a microalgei *Porphyridium cruentum*, care constă în aceea că se cultivă microalga pe un mediu nutritiv ce conține, g/L: NaNO_3 - 5,0; NaCl - 7,0; 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; KBr - 0,05; KI - 0,05; K_2HPO_4 - 0,2; $\text{ZnSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ - 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; H_3BO_3 - 0,0006; MoO_3 - 0,00002; NaVO_3 - 0,00005, suplimentat cu compusul bis[1-fenil-3-metil-6-(piridinium-4-il)-4,5-diaza-hexa-1,3-dien-1-hidroxi-6-olato(-2)- O^1, N^4, O^6]fier(II) sulfat tetrahidrat - 0,011...0,012 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/cm², cu agitare lentă periodică.

Conținutul de fenoli, determinat prin metoda Folin-Ciocalteu, în biomasă de *Porphyridium* este de 13,6...13,8 echivalent mg acid galic /g biomasă.

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

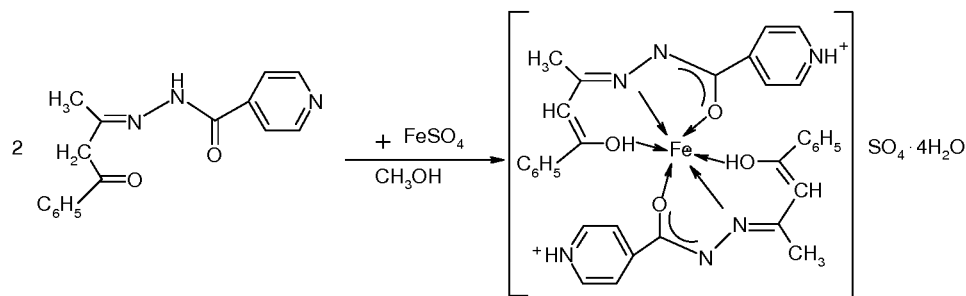
Rezultatul tehnic al invenției constă în majorarea conținutului de fenoli în biomasă microalgei *Porphyridium cruentum* cu 15...17% față de cea mai apropiată soluție. Administrarea compusului din prima zi de cultivare stimulează acumularea componentelor fenolice în biomasă microalgei, care sporesc valoarea biomasei de *Porphyridium* în calitate de producător de antioxidanți.

Rezultatul invenției este condiționat de aplicarea pentru prima dată a compusului bis[1-fenil-3-metil-6-(piridinium-4-il)-4,5-diaza-hexa-1,3-dien-1-hidroxi-6-olato(-2)- O^1, N^4, O^6]fier(II) sulfat tetrahidrat în calitate de stimulator al biosintezei componentelor fenolice de către microalga *Porphyridium cruentum*.

Exemplu de realizare a invenției

Metodă de obținere a compusului revendicat

În urma reacției dintre izonicotinoilhidrazona 1-fenil-1,3-butandionei și sulfatul de fier(II) în raport molar de 2:1, la agitare în atmosferă inertă se obține combinația complexă sub formă de cristale de culoare verde, care decurge conform schemei de mai jos:



Schema I. Obținerea compusului $[\text{Fe}(\text{L})_2]\text{SO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$

5 Structura ligandului necoordinat stabilită cu raze X este prezentată în figură, în care la împachetarea cristalină are loc formarea legăturilor de hidrogen cu participarea grupelor C=O și NH. În spectrul IR al ligandului liber se manifestă benzile $\nu(\text{NH})=3218 \text{ cm}^{-1}$ și $\nu(\text{C}=\text{O})=1664 \text{ cm}^{-1}$.

10 Compusul obținut a fost apreciat prin analiza chimică elementală și spectrele IR înregistrate în domeniul $4000 \dots 400 \text{ cm}^{-1}$.

Spectrul în IR se caracterizează prin prezența a două benzi late în regiunea $3500 \dots 3200 \text{ cm}^{-1}$, care pot fi atribuite $\nu(\text{OH})$ asociate, absorbție largă în regiunea $3100 \dots 3000 \text{ cm}^{-1}$, care conține câteva benzi $\nu(\text{CH})$ ale inelelor benzenic și heterociclic, $2930 \dots 2850 \text{ cm}^{-1}$ $\nu(\text{CH}_3)$, două benzi late de intensitate slabă la 2612 și 2148 cm^{-1} , care pot fi atribuite oscilațiilor $=\text{NH}^+$ (azotul heterociclic protonat) (Беллами Л. Инфракрасные спектры сложных молекул. Издательство иностранной литературы, Москва, 1963, 592 p., Накамото К. ИК спектры и спектры КР неорганических и координационных соединений. Москва, Мир, 1991, 536 p., Тарасевич Б. Н. ИК спектры основных классов органических соединений. Справочные материалы, Москва, 2012, 54 p.).

20 Dispariția benzii de absorbție $\nu(\text{C}=\text{O})$ a fragmentului hidrazidei acidului izonicotinic și manifestarea unei benzi intensive la 1303 cm^{-1} confirmă faptul că ligandul coordinează la atomul de fier în formă enolică. Banda de intensitate medie la 1631 cm^{-1} este atribuită oscilațiilor $\nu(\text{C}=\text{N})$ și $\nu(\text{C}=\text{C})$. Oscilațiile $\nu(\text{N}-\text{N})$ se manifestă printr-o bandă de intensitate medie la 841 cm^{-1} . Prezența celei mai intensive benzi de absorbție la 1079 cm^{-1} indică cu siguranță prezența anionului SO_4^{2-} în complex.

25 Conform datelor analizei elementale și spectroscopiei IR pentru complexul dat se propune formula $[\text{Fe}(\text{L})_2]\text{SO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$.

30 Datele structurale ale ligandului necoordinat și cele spectrale ale ligandului și complexului fierului conduc la concluzia că ligandul coordinează la metal ca unul tridentat (setul de atomi ONO) și nedeprotonat cu delocalizarea electronilor pe legăturile N-C-O ale fragmentului amidic și migrația protonului de la grupa N-H a acestui fragment la atomul de azot heterociclic, confirmând componența complexului $[\text{Fe}(\text{L})_2]\text{SO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (Jin-Xiu Wang, Xiao-Zeng Li, Li-Na Zhu, Ji-Yao Wang, Hao Qu. Synthesis and Crystal Structure of a Fe(III) Complex with an Isonicotinyl Ligand, $[\text{Fe}(\text{N-Isonicotinamidosalicylaldehyde})\text{Cl}_2]$. J. Chem. Crystallogr. (2010) 40: 726-730 DOI 10.1007/s10870-010-9726-6).

35 Metodă de obținere a $[\text{Fe}(\text{L})_2]\text{SO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$

Reacția are loc în atmosferă inertă, prin barbotare cu argon.

40 0,2 g de izonicotinoilhidrazona 1-fenil-1,3-butandionei se dizolvă în 10 ml metanol. La soluția obținută se adaugă soluția formată din 0,1 g FeSO_4 dizolvat în 5 ml de apă. Din soluția obținută de culoare neagră cad cristale mărunte de culoare cafenie, care se separă de soluția-mamă prin filtrare, se spală cu metanol și eter dietilic și se usucă la aer.

Se obțin 0,14 g (randamentul reacției este de 44,6%).

Compusul este solubil în cloroform, dimetilformamidă, dimetilsulfoxidă, etanol, metanol și insolubil în apă.

45 Rezultatele analizei elementale pentru $[\text{C}_{32}\text{H}_{30}\text{N}_6\text{O}_4\text{Fe}]\text{SO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ($M = 786 \text{ g}$):

găsit: C, 46,45; H, 4,64; N, 10,85; Fe, 8,00.

calculat: C, 48, 58; H, 4,83; N, 10,69; Fe, 7,13.

50 Exemple de aplicare a compusului bis[1-fenil-3-metil-6-(piridinium-4-il)-4,5-diaza-hexa-1,3-dien-1-hidroxi-6-olato(-2)- O^1, N^4, O^6]fier(II) sulfat tetrahidrat în calitate de

stimulator al acumulării componentelor fenolice în biomasa microalgei *Porphyridium cruentum*.

Exemplul 1

Se prepară mediul mineral nutritiv cu următorul conținut al componentelor (g/L):
 5 NaNO_3 - 5,0; NaCl - 7,0; 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; KBr - 0,05; KI - 0,05; K_2HPO_4 - 0,2; $\text{ZnSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ - 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; H_3BO_3 - 0,0006; MoO_3 - 0,00002; NaVO_3 - 0,00005 și apă distilată până la 1 litru.
 În prima zi de cultivare la suspensia de *Porphyridium*, în calitate de stimulator al biosintezei fenolilor, se adaugă compusul bis[1-fenil-3-metil-6-(piridinium-4-il)-4,5-diaza-
 10 hexa-1,3-dien-1-hidroxi-6-olato(-2)- O^l, N^t, O^6] fier(II) – sulfat tetrahidrat în concentrație de 0,011 g/L. Cultivarea se efectuează în baloane Erlenmayer a câte 1000 ml cu 500 ml suspensie în următoarele condiții: pH-ul 6,8...7,2, temperatura de 23...25°C, iluminarea de 2000...3000 lx, agitare lentă periodică. La ziua a 10-a, biomasa de *Porphyridium* se separă de lichidul cultural, se supune demineralizării și se standardizează după biomasă. În
 15 biomasa obținută se determină conținutul de fenoli cu aplicarea metodei Folin-Ciocalteu.

Biomasa de *Porphyridium* conține $13,6 \pm 0,06$ ($p < 0,5$) mg acid galic echivalent/g biomasă, față de 11,8 mg acid galic echivalent/g biomasă în cazul celei mai apropiate soluții (vezi tabelul). Sporul conținutului de fenoli este de 15%.

Exemplul 2

Se prepară mediul mineral nutritiv cu următorul conținut al componentelor (g/L):
 20 NaNO_3 - 5,0; NaCl - 7,0; 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; KBr - 0,05; KI - 0,05; K_2HPO_4 - 0,2; $\text{ZnSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ - 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; H_3BO_3 - 0,0006; MoO_3 - 0,00002; NaVO_3 - 0,00005 și apă distilată până la 1 litru.
 În prima zi de cultivare la suspensia de *Porphyridium*, în calitate de stimulator al biosintezei fenolilor, se adaugă compusul bis[1-fenil-3-metil-6-(piridinium-4-il)-4,5-diaza-
 25 hexa-1,3-dien-1-hidroxi-6-olato(-2)- O^l, N^t, O^6] fier(II) sulfat tetrahidrat în concentrație de 0,012 g/L. Cultivarea se efectuează în baloane Erlenmayer a câte 1000 ml cu 500 ml suspensie în următoarele condiții: pH-ul 6,8...7,2, temperatura de 23...25°C, iluminarea de 2000...3000 lx, agitare lentă periodică. La ziua a 10-a, biomasa de *Porphyridium* se separă de lichidul cultural, se supune demineralizării și se standardizează după biomasă. În
 30 biomasa obținută se determină conținutul de fenoli cu aplicarea metodei Folin-Ciocalteu. Biomasa de *Porphyridium* conține $13,8 \pm 0,04$ ($p < 0,5$) mg acid galic echivalent/g biomasă, față de 0,88 mg acid galic echivalent/g biomasă în cazul celei mai apropiate soluții (vezi tabelul). Sporul conținutului de fenoli este de 17%.

Tabel

Conținutul de fenoli în biomasa de *Porphyridium cruentum*, obținută la cultivare conform procedurii revendicate și celei mai apropiate soluții

Procedeele aplicate	Concentrația compusului, g/L	Conținutul de fenoli, echivalent mg acid galic /g biomasă
Cea mai apropiată soluție	0,01	10,6...11,8
Soluția revendicată	0,011	13,6±0,06
	0,012	13,8±0,04

Datele din tabel demonstrează o creștere a conținutului de fenoli în biomasa de
 40 *Porphyridium cruentum* cu 15...17% conform procedurii revendicate, față de procedeul cel mai apropiat. Biomasa microalgei *Porphyridium cruentum* reprezintă o sursă modernă de substanțe antioxidante, iată de ce sporul conținutului de fenoli este un factor al creșterii valorii porfiridiumului în calitate de producător de substanțe cu efect antioxidant. Proprietățile compusului bis[1-fenil-3-metil-6-(piridinium-4-il)-4,5-diaza-hexa-1,3-dien-1-
 45 hidroxi-6-olato(-2)- O^l, N^t, O^6] fier(II) sulfat tetrahidrat prezintă interes pentru biotehnologie în calitate de stimulator al producerii fenolilor, compuși cu proprietăți antioxidante, în biomasa microalgei *Porphyridium cruentum*.

(56) Referințe bibliografice citate în descriere:

1. Sadovnic D. Tehnologii de obținere a preparatelor antioxidante și antiradicalice din biomasa algei roșii *Porphyridium cruentum* CNM-AR-01. Teză de doctor în biologie, Chișinău, 2014

(57) Revendicări:

1. Compusul bis[1-fenil-3-metil-6-(piridinium-4-il)-4,5-diaza-hexa-1,3-dien-1-hidroxi-6-olato(-2)- O^1 , N^4 , O^6]fier(II) sulfat tetrahidrat, care sporește conținutul de fenoli în biomasa de *Porphyridium cruentum*.

2. Procedeu de cultivare a microalgei *Porphyridium cruentum*, care constă în aceea că se cultivă microalga pe un mediu nutritiv ce conține, g/L: NaNO_3 - 5,0; NaCl - 7,0; 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; KBr - 0,05; KI - 0,05; K_2HPO_4 - 0,2; $\text{ZnSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ - 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; H_3BO_3 - 0,0006; MoO_3 - 0,00002; NaVO_3 - 0,00005 și apă distilată până la 1L; având pH-ul 6,8...7,2, la temperatura de 23...25°C și iluminarea de 2000...3000 lx/cm², cu agitare lentă periodică, **caracterizat prin aceea că** mediul conține suplimentar compusul bis[1-fenil-3-metil-6-(piridinium-4-il)-4,5-diaza-hexa-1,3-dien-1-hidroxi-6-olato(-2)- O^1 , N^4 , O^6]fier(II) sulfat tetrahidrat în concentrație de 0,011...0,012 g/L.

Șef Secție Examinare:

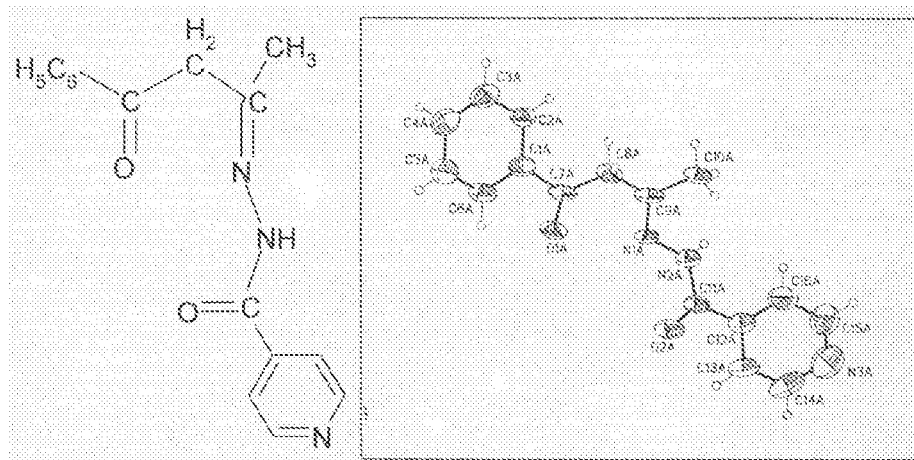
GROSU Petru

Examinator:

LUPAȘCU Lucian

Redactor:

LOZOVANU Maria



Structura ligandului necoordinat stabilită cu raze X

RAPORT DE DOCUMENTARE

I. Datele de identificare a cererii

(21) Nr. depozit: a 2014 0069

(22) Data depozit: 2014.07.09

(71) Solicitanți: **INSTITUTUL DE CHIMIE AL ACADEMIEI DE ȘTIINȚE A MOLDOVEI, MD; INSTITUTUL DE MICROBIOLOGIE ȘI BIOTEHNOLOGIE AL ACADEMIEI DE ȘTIINȚE A MOLDOVEI, MD**

(54) **Titlul: Bis[1-fenil-3-metil-6-(piridinium-4-il)-4,5-diaza-hexa-1,3-dien-1-hidroxi-6-olato(-2)-O¹, N⁴, O⁶]fier(II) sulfat tetrahidrat și procedeu de cultivare a microalgei *Porphyridium cruentum* cu utilizarea acestuia**

II. Clasificarea obiectului invenției:

(51) **Int.Cl: C07F 15/02** (2006.01)

C07D 213/88 (2006.01)

C12N 1/12 (2006.01)

C12R 1/89 (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 stanga/dreapta): "bis[1-fenil-3-metil-6-(piridinium-4-il)-4,5-diaza-hexa-1,3-dien-1-hidroxi-6-olato(-2)-O¹, N⁴, O⁶]fier(II) sulfat tetrahidrat+ *porphyridium cruentum*, "*porphyridium cruentum* + compuși coordinativi"

Int. Cl: C07F 15/02 (2006.01), **C07D 213/88** (2006.01), **C12N 1/12** (2006.01), **C12R 1/89** (2006.01)

"Worldwide" (Espacenet): "*porphyridium cruentum* +coordinative compounds", "*porphyridium cruentum* +cultivation +phenols"

Int. Cl: C07F 15/02 (2006.01), **C07D 213/88** (2006.01), **C12N 1/12** (2006.01), **C12R 1/89** (2006.01)

EA, CIS (Eapatis): "*porphyridium cruentum* координационные соединения", "*porphyridium cruentum*+ культивирование+ фенолы"

Int. Cl: C07F 15/02 (2006.01), **C07D 213/88** (2006.01), **C12N 1/12** (2006.01), **C12R 1/89** (2006.01)

SU (nonpublic): "*porphyridium cruentum* +координационные соединения", "*porphyridium cruentum* +культивирование +фенолы"

Int. Cl: C07F 15/02 (2006.01), **C07D 213/88** (2006.01), **C12N 1/12** (2006.01), **C12R 1/89** (2006.01)

IV. Baze de date și colecții de literatură nonbrevet cercetate

<http://chem.asm.md/node/179>
<http://studiamsu.eu/wp-content/uploads/40.-p.213-215.pdf>
http://chimie-biologie.ubm.ro/Cursuri%20on-line/MIHALI%20CRISTINA/COMPUSI%20COORDINATIVI/COMPUSI_COORDINATIVI.pdf
<http://usm.md/chimie/wp-content/uploads/2014/05/A.Cotovaia.Combinatii-coordinative.swf>
<http://www.akademos.asm.md/files/Compusi%20coordinativi%20ai%20unor%20metale%20de%20tip%203d%20cu%20activitate.pdf>
https://ibn.idsi.md/sites/default/files/imag_file/020_Productivitatea%20cianobacteriei%20Spirulina%20plantensis%20si%20capacitatea%20de%20acumulare%20a%20fierului%20si%20cromului.pdf
http://chem.asm.md/files/u1/Forma_4_0.doc
<http://topreferat.znate.ru/docs/index-2054.html?page=107>
<http://rudocs.exdat.com/docs/index-311096.html?page=5>
<http://core.kmi.open.ac.uk/display/974438>
http://www.imb.asm.md/uploades/File/Raport_IMB_2012.doc
http://ibn.idsi.md/sites/default/files/imag_file/020_Obtinerea%20biomasei%20fiercomponente%20de%20Porphyridium%20Cruentum%20si%20aprecierea%20activitatii%20ei%20antioxidante.pdf
http://ibn.idsi.md/sites/default/files/imag_file/acumularea%20acizilor%20arahidonic%20si%20eicosapentaenoic.pdf
http://www.imb.asm.md/uploades/File/Raport_IMB_2011.doc
<http://www.bioresearch.ro/bioresearch/2011-1/059-065-auofb.18.1.2011%20-%20bulimaga%20v.%20-%20s.u.Chisinau.Moldova%20%20The%20utilization%20of%20some.pdf>
<https://lirias.kuleuven.be/bitstream/123456789/336969/2/Antioxidant+potential+of+microalgae+in+relation+to+their+phenolic+and+carotenoid+content.pdf>

Cepoi L. Particularitățile fiziologo-biochimice de cultivare a algei roșii *Porphyridium cruentum* CNM-AR-01 – sursă de substanțe bioactive. // Autoref. tezei de doctor în științe biologice, 1995, 21 p.

Sinead Lordan, R. Paul Ross and Catherine Stanton. Marine Bioactives as Functional Food Ingredients: Potential to Reduce the Incidence of Chronic Diseases. *Mar. Drugs*, 2011, 9, p. 1056-1100.

Bulimaga V., Rudic V., Efremova N., Djur S., Elenciuc D., Lozan V. The utilisation of some coordinative compounds of V(IV) and Co(III) as regulators of the content of bioactive substances with antioxidant properties at *Spirulina platensis*. The Annals of Oradea University, Biology Fascicle”, Tom XVIII/1, pp 53-59 (ISSN: 1224-5119; CNCIS B+, BDI THOMSON, CABI, ExLibris; Copernicus).

Tan H M. Interphylum protoplast fusion and genetic recombination of the algae porphyridium cruentum and dunaliella spp. *Journal Of General Microbiology*, 1988, p. 635-642

Rudic V., Rudi L., Cepoi L., Chiriac T., Mescu V., Cojocari A., Ghelbet V., Dencicov L., Sadovnic D., Chelbet V. Studiul condițiilor optime de păstrare a activității antioxidante a preparatelor din *Porphyridium*. Conferința științifică internațională „Biotehnologia microbiologică – domeniu scientointensiv al științei contemporane”, Chișinău, 6-8 iulie 2011, p. 93-94.

Cepoi L. Antioxidative activity of ethanol extracts from *Porphyridium cruentum* measured by various methods. Conferința științifică Internațională „Biotehnologia microbiologică-domeniu scientointensiv al științei contemporane”, 2011, p. 18 -19

V. Documente considerate a fi relevante

Categoria*	Date de identificare ale documentelor citate si, unde este cazul, indicarea pasajelor pertinente	Numărul revendicării vizate
A	US 2010178674 A1 2010.07.15	2

A	US 4417415 A 1983.11.29	2
A	US 5338673 A 1992.01.28	2
A	CN 104046567 A 2013.03.17	2
A	CN 203668407 U 2014.06.25	2
A	UA 37571 U 2008.12.10	2
A	MD 275 G2 1995.09.30	1,2
A	MD 736 G2 1997.06.30	2
A	MD 4253 B1 2013.10.31	1,2
A	MD 4254 B1 2013.10.31	1,2
A	MD 4255 B1 2013.10.31	1,2
A	MD 4278 B1 2014.03.31	1,2
A	MD 691 G2 1997.03.31	2
A	MD 692 F1 1997.03.31	2
A	MD 4127 C1 2011.09.30	1
A	MD 4133 C1 2011.10.31	1
A	MD 4194 B1 2012.01.23	1
A	MD 4112 B1 2011.05.31	1
A	MD 2861 F1 2005.09.30	1
A	MD 2409 B2 2003.05.31	2
A	MD 2386 B2 2003.02.28	2
A	MD 909 G2 1998.02.28	2
A	MD 4026 C2 2010.11.30	1,2
A	MD 4043 C2 2010.05.31	1,2
A	MD 4069 C1 2010.09.30	1,2
A	MD 4108 C1 2011.04.30	2
A, D, C	Sadovnic D. Tehnologii de obținere a preparatelor antioxidante și antiradicalice din biomasa algei roșii <i>Porphyridium cruentum</i> CNM-AR-01. Teză de doctor în biologie, Chișinău, 2014	1,2

*** 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	19.06.2015
Examinator	LUPAȘCU Lucian