

(19)



SUOMI - FINLAND

(FI)

PATENTTI- JA REKISTERIHALLITUS

PATENT- OCH REGISTERSTYRELSEN

FINNISH PATENT AND REGISTRATION OFFICE

(10) **FI 761878 A7**

(12) **JULKISEKSI TULLUT PATENTTIHAKEMUS
PATENTANSÖKAN SOM BLIVIT OFFENTLIG
PATENT APPLICATION MADE AVAILABLE TO THE
PUBLIC**

(21) Patentihakemus - Patentansökan - Patent application 761878

(51) Kansainvälinen patenttiluokitus - Internationell patentklassifikation -
International patent classification (IPC¹)
C12D 9/04

(22) Tekemispäivä - Ingivningsdag - Filing date 29.06.1976

(23) Saapumispäivä - Ankomstdag - Reception date 29.06.1976

(41) Tullut julkiseksi - Blivit offentlig - Available to the public 09.01.1977

(43) Julkaisupäivä - Publiceringsdag - Publication date 12.06.2019

(32) (33) (31) Etuoikeus - Prioritet - Priority

08.07.1975 CH 8894/75

(71) Hakija - Sökande - Applicant

1 • Sandoz AG, Lichtstrasse 35, 4056 Basel, SVEITSI, (CH)

(72) Keksijä - Uppfinnare - Inventor

1 • Dreyfuss, Michael Morris, Switzerland, SVEITSI, (CH)

2 • Tscherter, Hans, Switzerland, SVEITSI, (CH)

(74) Asiamies - Ombud - Agent

Kolster Oy Ab, Salmisaarenaukio 1, 00180 Helsinki

(54) Keksinnön nimitys - Uppfinningens benämning - Title of the invention

Uusi orgaaninen yhdiste, sen valmistus ja käyttö

Ny organisk förening, dess framställning och användning

Sandoz AG, Basel, Sveitsi

Menetelmä uuden sienien vastaisen peptidiantibiootin valmistamiseksi - Förfarande för framställning av en ny antifungal peptidantibiot

Tämän keksinnön kohteena on menetelmä uuden sienien vastaisen peptidiantibiootin S 31794/F-1 valmistamiseksi, jolla on seuraavat ominaisuudet:

Sp. 178-180°C (haj.) [amorfinen]

Sp. 181-183°C (haj.) [kiteinen]

$[\alpha]_D^{20} = -24^\circ$ (c = 0,5 metanolissa)

$[\alpha]_D^{20} = +37^\circ$ (c = 0,5 pyridiinissä) [kiteinen]

UV-spektri metanolissa (kuvio 1): absorptiomaksimit

$\lambda_{\max} 194\text{nm}$, $E_{1\text{cm}}^{1\%} = 807$; $\lambda_{\max} 225\text{nm}$ (olake),

$E_{1\text{cm}}^{1\%} = 132$; $\lambda_{\max} 276\text{nm}$, $E_{1\text{cm}}^{1\%} = 12,8$; $\lambda_{\max} 284\text{nm}$ (olake), $E_{1\text{cm}}^{1\%} = 10,5$

IR-spektri KBr:ssä [amorfinen] (kuvio 2)

IR-spektri nujolissa [kiteinen] (kuvio 3)

$^1\text{H-NMR}$ -spektri (100 MHz DMSO:ssä), sisäisenä standardina tetrametyylisilaani (kuvio 4)

^{13}C -NMR-spektri D_4 -metanolissa (190 mg 1,5 ml:ssa D_4 -metanolia), sisäisenä standardina tetrametyylisilaani, katso taulukko 1 (kiteinen),

alkuaineanalyysi:

C 53,9 % H 7,5 % N 10,1 % O 27,3 % [amorfinen]

C 55,5 - 56,5 % H 7,5 - 7,7 % N 10,5 - 10,8 %

O 25,5 - 26,0 % [kiteinen].

Taulukko 1

Käytetty laitetta Bruker HX-90-E (valmistaja: Bruker-Spectrospin AG., Karlsruhe); 22,63 MHz, pyyhkäisylaajuus 6000 Hz, TMS = 0 miljoonasosaa

<u>Miljoonasosia</u>	<u>Miljoonasosia</u>	<u>Miljoonasosia</u>
176,2	75,5	51,2
175,0	74,0	39,7
173,7	71,0	38,8
172,6	70,5	36,6
172,0	69,7	34,8
171,8	68,0	32,8
171,7	62,2	30,6
168,6	58,3	26,7
157,7	57,0	23,5
132,5	56,2	19,7
129,0	55,4	14,3
115,9	52,9	11,1
76,6		

Analyysiä varten kuivattiin amorfinen aine 20°C :ssa korkeassa tyhjössä ja kiteinen aine kuivattiin korkeassa tyhjössä kahden tunnin ajan 100°C :ssa. S-31794/F-1:n molekyylipaino massaspektrometrisesti määritettynä oli 1050. Molekyylissä oleva tyyppi oli amidityyppinä.

Aine on helppoliukoinen metanoliin, etanoliin, pyridiiniin ja dimetyylisulfoksidiin, vaikealiukoinen veteen, kloroformiin, etikkaesteriin, eetteriin, bentseeniin ja heksaaniin.

Yhdiste on stabiili vesipitoisessa metanolissa, pH-välillä 3-7,5; alkalisella tai voimakkaasti happamalla pH-alueella tapahtuu hajoamista ja samalla antifungisen aktiviteetin häviötä.

Happaman hydrolyysin (6-n HCl/110°C) tuloksena saatiin hajoamistuotteena myristiinihappoa, joka voitiin identifioida metyyliesterin muodossa.

Käytettäessä ohutkerroskromatogrammissa Merck'in piihappogeelivalmislevyjä, kerrospaksuus 0,25 mm, antaa S 31794/F-1 seuraavat R_f -arvot seuraavilla ajoliuksilla:

Juoksutusaine		R_f -arvo
Kloroformi-metanoli-vesi	(71 : 25 : 4)	0,17 (0,4)
Kloroformi-metanoli-jäätikka	(70 : 29 : 1)	0,19 (0,6)
Kloroformi-metanoli	(2 : 1)	0,27 (0,5)

Täplät voidaan tehdä näkyviksi jodilla tai sopivan suihkutusraagenssin avulla. Seuraava suihkutusraagenssi on osoittautunut hyväksi:

Täydellisesti liuottimesta vapautettua levyä suihkutetaan ensiksi seoksella, joka sisältää 0,5 % jäätikkaa etanoli/asetoni (1 : 1)-seoksessa. Sitten levy pannaan noin 7 minuutin ajaksi klooriatmosfääriin, ja sen jälkeen ylimääräinen Cl_2 puhalletaan pois voimakkaassa ilmavirrassa. Sen jälkeen suihkutetaan liuoksella, joka sisältää yhden osan 0,05 molaarista KJ:n vesiliuosta + 4 osaa 0,5 %:sta bentsidiiniliuosta 20 %:ssa etikkahapossa. Antibiootti S 31794/F-1 antaa tämän kehityksen yhteydessä sinisen täplän.

Ninhydriiniä käytettäessä S 31794/F-1 ei anna mitään väriä.

Samaan peptidiluokkaan kuin S 31794/F-1 kuuluvia sienien vastaisia metaboliitteja tunnetaan FI-hakemuksesta 752 696. Ne eroavat kuitenkin S 31794/F-1:stä siinä suhteessa, että viimeksi mainitusta saadaan happamassa hydrolyysissä myristiinihappoa eikä linolihappoa kuten tunnetuista yhdisteistä. Rakenne-eroavuutena S-31794/F-1:ssä on lisänä kaksi H_2N-CO -ryhmää, ja C- ja N-atomien lukumäärä on eri. Rakenteellisesta erosta johtuen uudella antibiootilla on erityisen hyvä sienien vastainen vaikutus.

Keksinnön mukaiselle menetelmälle on tunnusomaista, että sienilajin *Acrophialophora limonispora* nov. spec. Dreyfuss + Müller uutta kantaa NRRL 8095 viljellään ravintoväliaineella tai ravintoväliaineessa, ja tämän jälkeen yhdiste S 31794/F-1 sinänsä tunnetulla tavalla eristetään viljelyväliaineesta ja puhdistetaan. Yhdistettä S 31794/F-1 tuottavan kannan viljelmä on talletettu USA:n maatalousministeriöön (Northern Utilization Research and Development Division), Peoria, Ill., USA, ja se on julkinen ja käytettävissä nimikkeellä NRRL 8095.

Kannan NRRL 8095 ominaisuudet

Uusi keksinnön mukaan käytetty sienilajin *Acrophialophora limonispora* nov. spec. Dreyfuss + Müller kanta eristettiin Brittiläisessä Kolumbiassa, Kanadassa kerätystä maanäytteestä.

Uusi kanta NRRL 8095 sijoitettiin morfologisten ominaisuuksiensa perusteella *Hyphomycetes*-sukuun *Acrophialophora* Edward, mutta se ei kuitenkaan osoittautunut yhdenmukaiseksi tämän suvun kolmen tähän asti kuvatun lajin kanssa (Samson ja Tariq Mahmud, 1970: The Genus *Acrophialophora*, Acta bot. Neerl. 19 (6); 804-808), joten uudesta kannasta NRRL 8095 käytetään vastedes uutena lajina nimitystä *Acrophialophora limonispora* nov. spec.

Lajin *A. limonispora* NRRL 8095 vaaleanruskeasta tummanruskeaan vaihtelevat konidioforit ovat useimmiten 700-1800 μ pitkiä ja 4-8 μ paksuja, septisoituneita, suoria tai lievästi kaarevia, alaosastaan ja keskiosastaan haarautumattomia tai muutamia kertoja hankahaaraisesti jakautuneita ja niissä voi olla koko pituudelta mystyröitä. Konidioforien kärkiin kehittyy symmetrinen tai asymmetrinen, useimmiten kompakti, penisilliinin tapaisesti haarautunut järjestelmä, jolloin useimmiten konidioforien pääakselin viimeisiin soluihin kasvaa yksisoluisesta harvasoluisiin vaihtelevia, primaarisia sivuhaaroja yksitellen, vuorottelevasti, enimmäkseen kuitenkin kaksittain vastakkaisesti tai kolmittain (harvoin nelittäin) kiehkuramaisesti. Näissä sivuhaaroissa on puolestaan sivussa tai kärjessä useita sekundaarisia haaroja, jotka voivat analogisesti olla tertiäärisesti haarautuneita. Sekundaarisissa tai tertiäärisissä haaroissa on kiinni kärjessä kahdesta kuuteen pullomuotoisia, kärjestä haarautuvia 7-11 x 2,4-4 μ :n suuruisia fialideja tiiviisti lähekkäin. Erityisesti vanhemmissa viljelmissä voidaan havaita pieniä pensselimäisiä osia, joissa on voimakkaasti pidentyneitä haaraosia.

Helposti hajaantuviin ketjuihin tyvihakuisesti muodostuneet lasinkuulaat konidiot ovat sivusta katsottuna leveitä sitruunan muotoisia ja niissä on tummempalta näyttäviä, pieniä teräviä kärkiosia, suuruudeltaan 3,2-4,2 x 3,0-3,5 μ ja pinnaltaan sileitä tai heikosti mystyrämäisiä.

Kannalla NRRL 8095 on hyvin laaja kasvuoptimi välillä 20°-27°C, jolloin 2 %:ssa mallasuuteagarissa kehittyy 7 päivässä noin 35-40 mm:n suuruisia koloniot. Alempi kasvuraja on noin 4°C:ssa, ylempi välillä 33°-34°C.

2 %:lla mallasuuteagarilla olevat koloniat ovat ensiksi vihertävän valkoisia ja hyvin kuohkean, valkoisen ilmahuovaston peittämiä. Iän lisäytyessä värjäytyy substraattihuovasto tummanruskeaksi. Aluksi muodostuneen ilmahuovaston peittää 5-10 päivän kuluessa yhä voimakkaammin tiheään mättään muodostavat konidioforit. Konidiomätäs vaikuttaa ensiksi kullankeltaiselta tai kellanvihreältä, myöhemmin vaalean-, tumman- tai harmaanruskealta.

Uutta kantaa NRRL 8095 voidaan viljellä koostumukseltaan sopivassa viljelyalustassa tai viljelyalustalla joko uposviljelmänä tai pintaviljelmänä.

Uuden yhdisteen S 31794/F-1 saamiseksi käytetään edullisesti uposviljelmiä, jolloin sopivat viljelyalustat, kuten esimerkeissä 1 ja 2 on esitetty, ympätään uuden kannan NRRL 8095 konidio- tai huovastosuspensiolla ja haudotaan pH-välillä 3-8, edullisesti välillä 5-7,0 ja välillä 15-30°C, edullisesti välillä 18-27°C

olevassa lämpötilassa samalla hämmentäen, ravistellen ja/tai ilmastaen 48-360 tuntia, edullisesti 120-288 tuntia.

Viljelyliemessä oleva huovasto-osa "avataan" mahdollisesti ja S 31794/F-1 otetaan talteen uutto- ja/tai adsorptiomenetelmillä sinänsä tunnetulla tavalla. Huovasto voidaan myöskin ensiksi erottaa viljelyliemestä sentrifugoimalla, viljelmäsuodos ja huovasto voidaan "avaamisen" jälkeen uuttaa erikseen ja uutteita voidaan käsitellä edelleen erikseen tai yhdessä.

Yhdisteellä S 31794/F-1 on kiintoisia farmakodynaamisia ominaisuuksia ja sitä voidaan käyttää lääkeaineena.

Yhdisteellä S 31794/F-1 on antimikrobiaalinen vaikutus ennenkaikkea hiivoja ja sieniä vastaan. Gram-positiivisten ja gram-negatiivisten bakteerien tavallisia edustajia vastaan ei voitu tunnettujen menetelmien mukaan todeta mitään vaikutusta, jota vastoin vaikutus erilaisia, ihmisille patogeenisia Candida-kantoja vastaan on erityisen selvä. Sarjalaimennuskokeessa, joka suoritettiin käyttäen mallasuuteväliainetta (2 % mallasuutetta, pH 5,2-5,4) haudontalämpötilan ollessa 27° ja haudonta-ajan 48-72 tuntia, saatiin yhdisteelle S 31794/F-1 seuraavat vähimmäisehkäisykonsentraatiot:

Kanta	MIC (µg/ml)
<i>Candida albicans</i>	0,3
<i>Candida krusei</i>	1
<i>Candida tropicalis</i>	0,3
<i>Candida albicans</i> 5897	0,3
<i>Candida albicans</i> H 12	0,3
<i>Candida albicans</i> Blast. res.	0,03
<i>Candida tropicalis</i> CK 4	0,01
<i>Candida albicans</i> 439	0,03
<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	32
<i>Trichophyton quinckeanum</i>	>100
<i>Blastomyces dermatitidis</i>	100
<i>Sporotrichum schenkii</i>	>100
<i>Aspergillus niger</i>	100
<i>Aspergillus fumigatus</i>	32
<i>Microsporum canis</i>	100
<i>Curvularia lunata</i>	>100
<i>Neurospora crassa</i>	>100

Vaikutus on osoitettavissa myös in vivo hiirillä *Candida albicans*-lajilla suoritetuilla kokeellisen Sepsis-infektion menetelmällä. Keksinnön mukaista ainetta voidaan tämän vuoksi käyttää antimykoottisena aineena. Päiväannokset ovat

2-14 mg/kg subkutaanisesti tai 100-300 mg/kg peroraalisesti. Päiväannos suuremmille nisäkkäille on 20-150 mg subkutaanisesti tai 1-3 g peroraalisesti.

Seuraavissa esimerkeissä, jotka valaisevat menetelmän toteuttamista, lämpötila on esitetty Celsius-asteina.

Esimerkki 1

Kannan NRRL 8095:n viljely

10 litraan ravintoliuosta, joka sisältää litraa kohti ionivapaata vettä, 20 g glukkoosia, 5 g kaseiniipeptonia, 3 g NaNO_3 , 1 g K_2HPO_4 , 0,5 g KCl, 0,5 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ja 10 mg $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, ympätään 1 litra kannan NRRL 8095 esiviljelmää ja haudotaan 10 litran vetoisessa lasisessa käymisastiassa samalla hämmentäen (150 kierrosta minuutissa) ja ilmastaen (1 litra ilmaa/minuutti/litra ravintoliuosta) 4 päivää 18° :ssa.

Lähtöaineena käytettyä esiviljelmää saadaan seuraavalla tavalla:

Ympäämiseen käytetty itiö- ja huovastosuspensio valmistetaan kannan NRRL 8095 viljelmästä, jota viljellään 10 päivää 27° :ssa agar-väliaineella, joka sisältää litraa kohti ionivapaata vettä, 20 g mallasuutetta, 20 g agaria ja 4 g hiivauutetta. Tämän viljelmän itiöt ja huovasto siirretään fysiologiseen keittosuolaliuokseen. Tällä suspensiolla ympätään 1 litra ravintoliuosta, joka sisältää litraa kohti ionivapaata vettä, 20 g mallasuutetta ja 4 g hiivauutetta ja haudotaan kahden litran vetoisessa Erlemeyer-kolvissa pyöröravistelukoneessa (180 kierrosta minuutissa) 2 päivää 27° :ssa. Tätä viljelylientä käytetään ympäimateriaalina 10 litran vetoista lasista käymisastiaa varten.

Esimerkki 2

Kannan NRRL 8095:n viljely

Yhdisteen S 31794/F-1 saamiseksi ympätään teräksisessä käymisastiassa oleva 50 litraa väliainetta, joka sisältää 200 g sakkaroosia, 10 g soijavalkuaista, 10 g hiivauutetta, 10 g mallasuutetta, 2 g KH_2PO_4 , 2 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ litraa kohti ionivapaata vettä 10 litralla sekundaarista esiviljelmää. Käymisen annetaan kestää 12 päivää 24° :ssa pH-alueella 5-7, ilmansyötön ollessa 0,8-1,0 litraa ilmaa/minuutti/litra väliainetta, jolloin kierroslukua nostetaan käymisen aikana 150:stä 400:aan kierrosta minuutissa.

Lähtöaineena käytetty esiviljelämä saadaan seuraavalla tavalla:

Kannan NRRL 8095 haudonta pienissä kaltevissa agarputkissa konidioiden saamiseksi suoritetaan 19 päivän ajan 27° :ssa väliaineella, jonka koostumus on seuraava: 100 g sorbitolia (6-arvoinen alkoholi, heksitoli), 10 g tryptonia (kaseiinista saatua, tryptisoitua peptonia), 250 mg KH_2PO_4 , 250 mg $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 250 mg $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 125 mg KCl, 16 mg $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 7 mg $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 15 g agaria ja niin paljon ionivapaata vettä, että tilavuudeksi tulee 1 litra.

Primaarisen esiviljelmän valmistamiseksi ympätään 1 litra esiviljelmäväliainetta, joka sisältää 20 g mallasuutetta ja 4 g hiivauutetta ja niin paljon ionivapaata vettä, että tilavuudeksi tulee 1 litra, kahden litran vetoisessa Erlenmeyer-kolvissa $8-9 \cdot 10^9$ konidiolla 10 ml:ssa 0,9 %:sta NaCl-liuosta ja haudotaan 4 päivää 24° :ssa pyöröravistelukolvissa kierrosluvun ollessa 180 kierrosta minuutissa.

Sekundaarisen esiviljelmän valmistamiseksi ympätään 2 litraa primääristä esiviljelmää lasisissa käymisastioissa 10 litralla esiviljelmäväliainetta ja haudotaan 4 päivää 24° :ssa, kierrosluvun ollessa 150 kierrosta minuutissa ja ilman- syötön ollessa 0,5 litraa/litra väliainetta/minuutti.

Esimerkki 3

Yhdisteen 31794/F-1 eristäminen

90 litraan esimerkin 1 tai 2 mukaan saatua viljelylientä lisätään 90 litraa etyyliasetaatia ja isopropanolin (4:1)-seosta, ja seos homogenoidaan Ultraturrax-kojeella huoneen lämpötilassa 30 minuuttia. Tämän jälkeen erotetaan orgaaninen faasi separaattorin avulla, ja uute haihdutetaan tyhjöissä enintään 40° :ssa. Uutteen jäännös kromatografoidaan 10-kertaisella määrällä piihappogeeliä (Merck; 0,06-0,2 mm). Tätä tarkoitusta varten levitetään raakauute 1-2-kertaiselle määrälle piihappogeeliä (Merck; 0,2-0,5 mm), jolloin jäännöksen liuokseen, mahdollisimman vähäisessä määrässä metanolia (500 ml) tai metanolin ja veden 9:1-seosta (500 ml), lisätään piihappogeeliä, ja sen jälkeen liuotin poistetaan uudelleen tyhjöissä. Näin kyllästetty piihappogeeli suspendoidaan kloroformin ja metanolin (95:5)-seokseen ja puuromainen seos pannaan kromatografiapylvään päälle. Eluointi aloitetaan kloroformin ja metanolin (95:5)-seoksella ja jatketaan sen jälkeen kaksinkertaistamalla kulloinkin metanolin osuutta aina 40 %:iin asti. Ne kromatogrammifraktiot, joilla on antifungista aktiviteettia lajia *Candida albicans* vastaan, sekä yhdisteen S 31794/F-1 metaboliitit ohutkerroskromatogrammialueella, yhdistetään.

Näin saadut fraktiot kromatografoidaan metanolilla käyttäen 100-kertaista määrää Sephadex LH-20, ja jälleen yhdistetään fraktiot, joilla on antifungista aktiviteettia, sekä fraktiot ohutkerroskromatografisen tuloksen perusteella. Nyt voimakkaasti rikastettu antibiootti kromatografoidaan uudelleen käyttäen 100-kertaista määrää piihappogeeliä (Merck; 0,05-0,2 mm), jolloin eluointiin käytetään kloroformi/metanoli/vesi (71:25:4)-seosta. Fraktiojäännöksistä tutkitaan ohutkerroskromatografisesti antibiootin S 31794/F-1 pitoisuus ja puhtaat osat yhdistetään. Aine liuotetaan pieneen määrään metanolia ja saostetaan lisäämällä eetteriä, jol-

loin S 31794/F-1 saadaan valkoisena, amorfisena jauheena. Korkeassa tyhjössä välillä 25-30° suoritetun kuivauksen jälkeen amorfinen S 31794/F-1 sulaa välillä 178-180° (hajooa). Se kiteytetään 10-kertaisesta määrästä etikkaesteri/metanoli/vesi (80:12:8)-seosta, jolloin saadaan antibiootin S 31794/F-1 lankamaisia kiteitä. Sp. korkeassa tyhjössä 20°:ssa suoritetun kuivauksen jälkeen 181-183° (hajooa).

Patenttivaatimus:

Menetelmä uuden sienien vastaisen peptidiantibiootin S 31794/F-1 valmistamiseksi, jolla on seuraavat ominaisuudet:

Sp. 178-180°C (haj.) [amorfinen]

Sp. 181-183°C (haj.) [kiteinen]

$[\alpha]_D^{20} = -24^\circ$ (c = 0,5 metanolissa)

$[\alpha]_D^{20} = +37^\circ$ (c = 0,5 pyridiinissä) [kiteinen]

UV-spektri metanolissa (kuvio 1): absorptiomaksimit

$\lambda_{\max} 194\text{nm}$, $E_{1\text{cm}}^{1\%} = 807$; $\lambda_{\max} 225\text{nm}$ (olake),

$E_{1\text{cm}}^{1\%} = 132$; $\lambda_{\max} 276\text{nm}$, $E_{1\text{cm}}^{1\%} = 12,8$; $\lambda_{\max} 284\text{nm}$ (olake), $E_{1\text{cm}}^{1\%} = 10,5$

IR-spektri KBr:ssä [amorfinen] (kuvio 2)

IR-spektri nujolissa [kiteinen] (kuvio 3)

$^1\text{H-NMR}$ -spektri (100 MHz DMSO:ssa), sisäisenä standardina tetrametyylisilaani (kuvio 4)

$^{13}\text{C-NMR}$ -spektri D_4 -metanolissa (190 mg 1,5 ml:ssa D_4 -metanolia), sisäisenä standardina tetrametyylisilaani, katso taulukko 1 (kiteinen),

alkuaineanalyysi:

C 53,9 % H 7,5 % N 10,1 % O 27,3 % [amorfinen]

C 55,5 - 56,5 % H 7,5 - 7,7 % N 10,5 - 10,8 %

O 25,5 - 26,0 % [kiteinen]

t u n n e t t u siitä, että sienilajin *Acrophialophora limonispora* nov. spec. Dreyfuss + Müller uutta kantaa NRRL 8095 viljellään ravintoväliaineella tai ravintoväliaineessa, ja tämän jälkeen yhdiste S 31794/F-1 sinänsä tunnetulla tavalla eristetään viljelyväliaineesta ja puhdistetaan.

FIG. 1

S 31794/F-1:n UV-spektri metanolissa

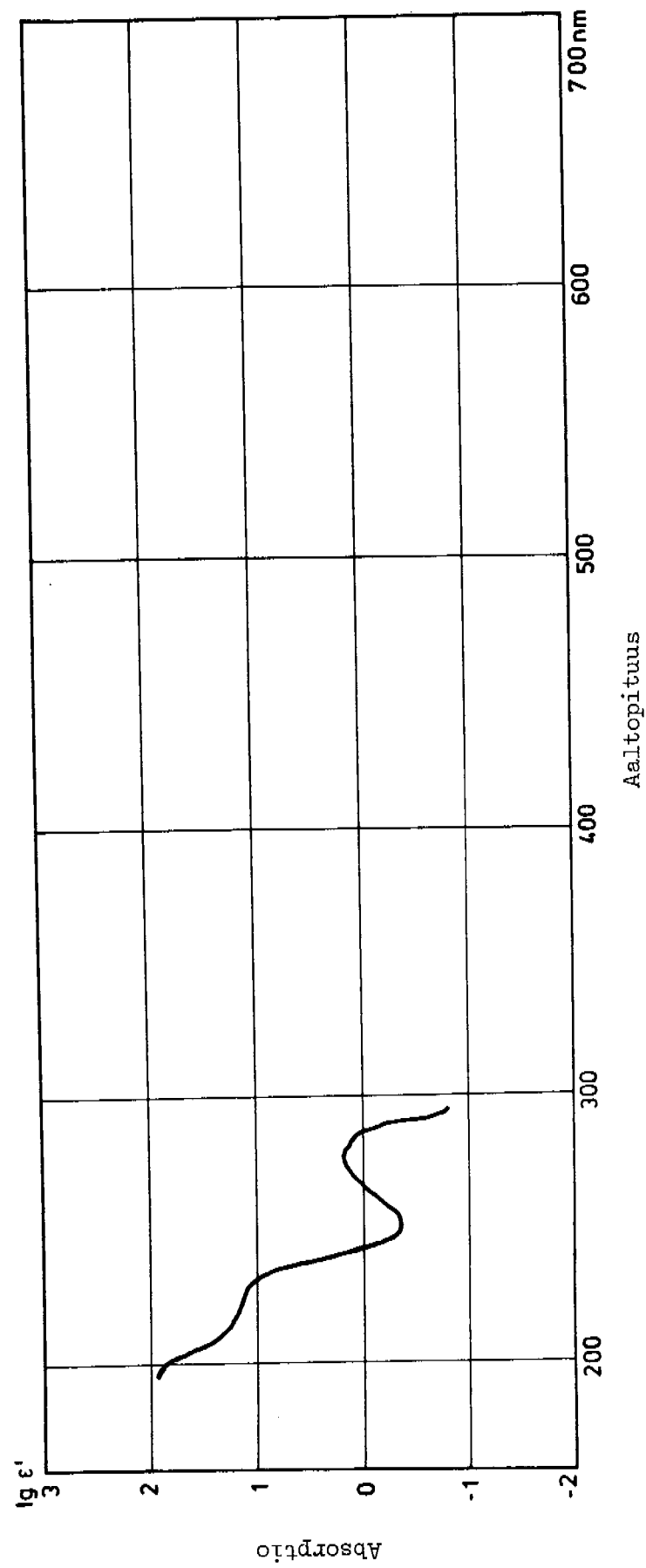


FIG. 2

S 31794/F-1:n (amorfinen) IR-spektri KBr:ssä

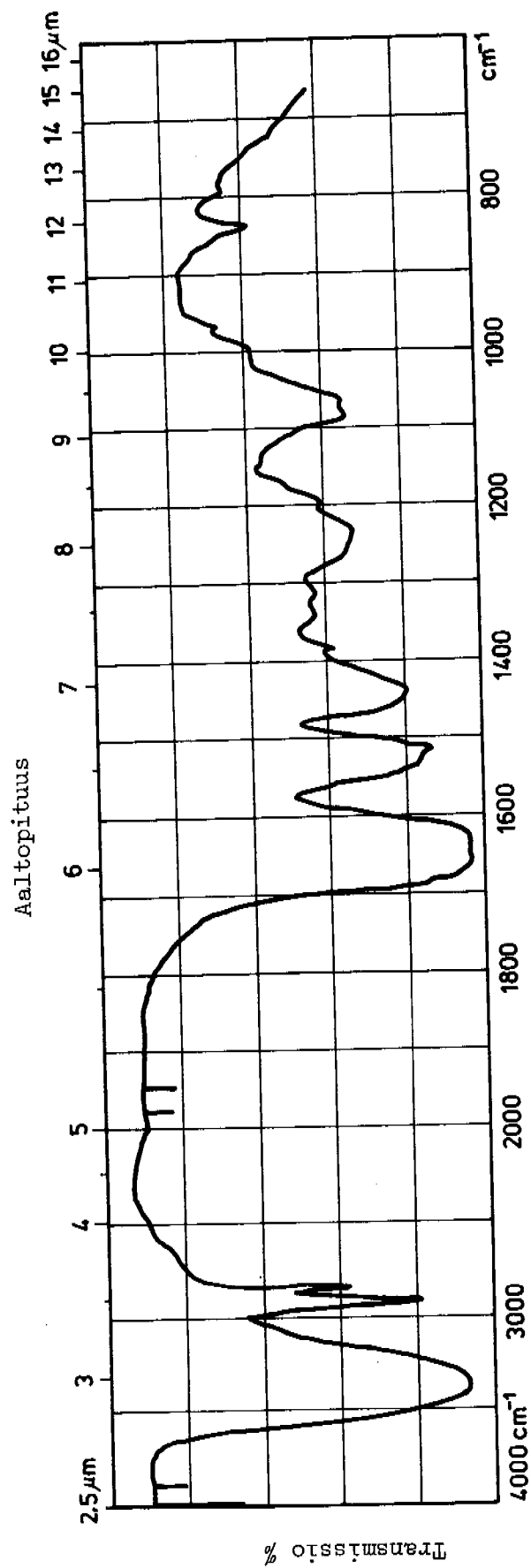


FIG. 3

S 3179₄/F-1:n (kiteinen) IR-spektri nujolissa

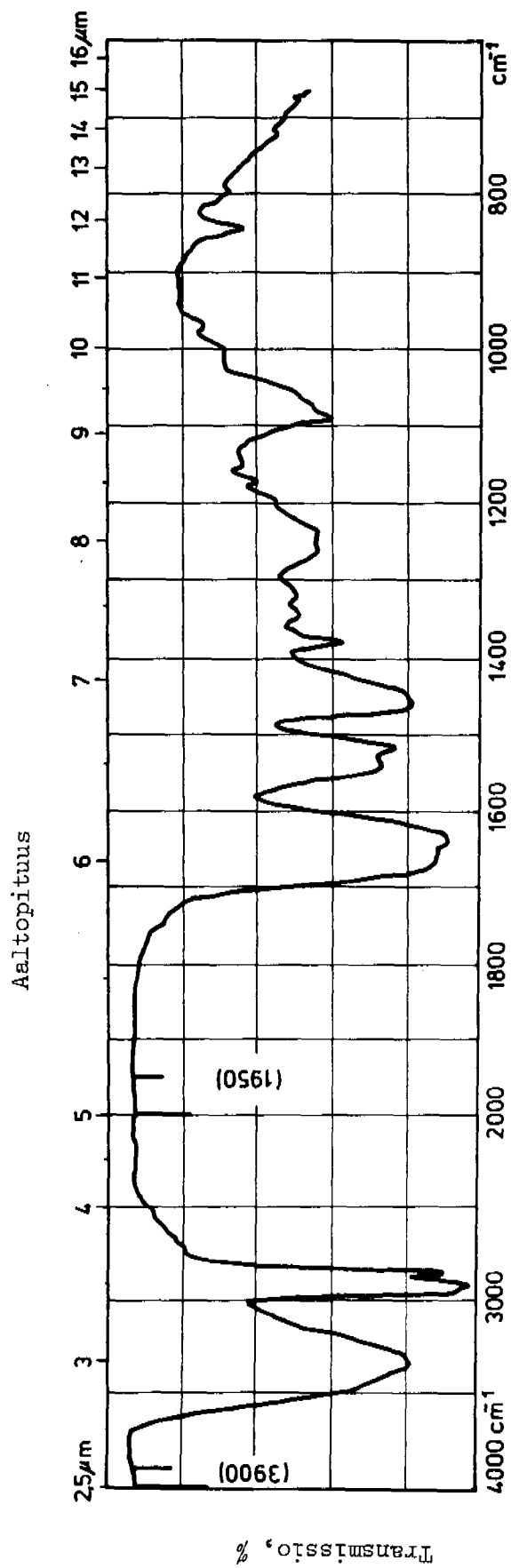
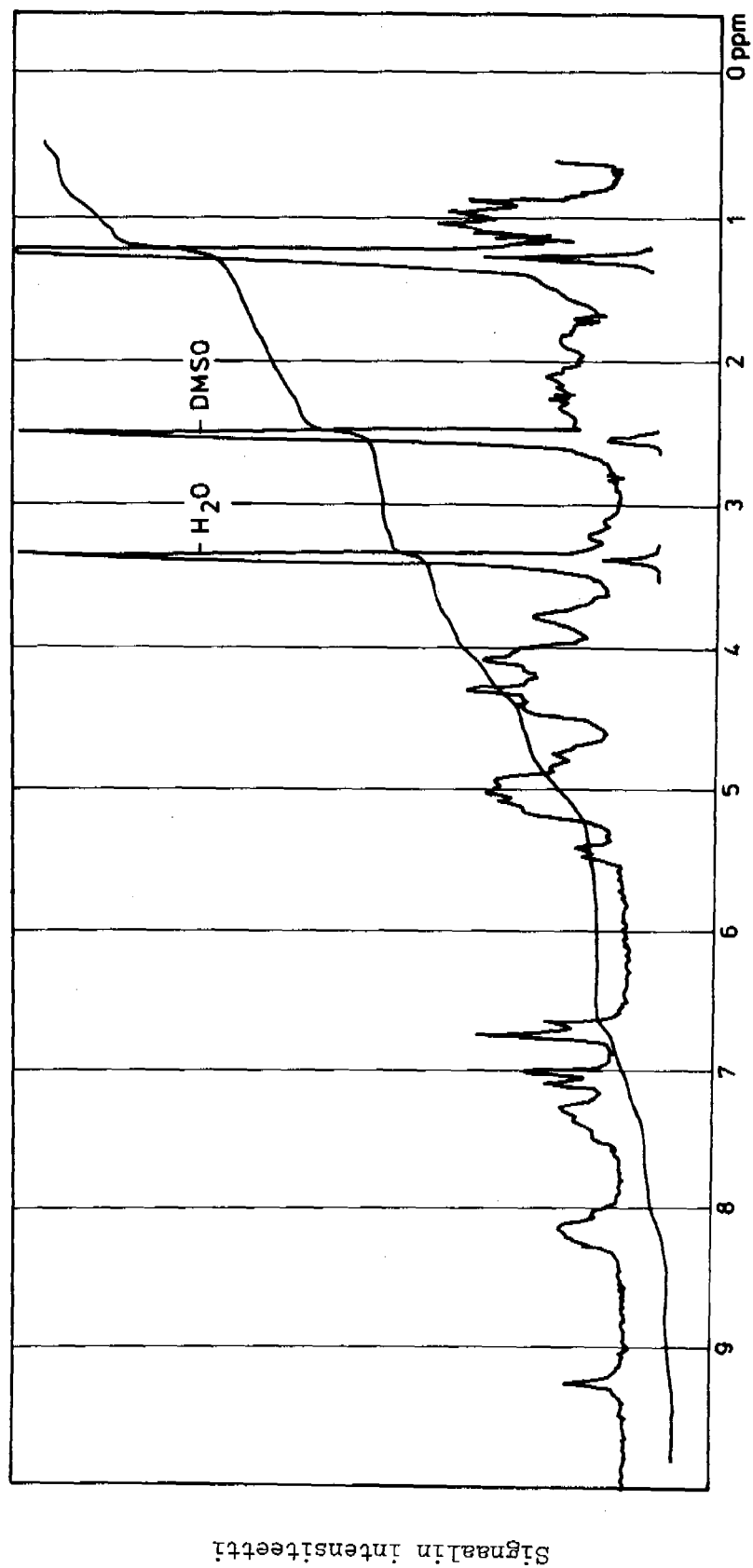


FIG. 4

S 31794/F-1:n ^1H -NMR-spektri, kun sisäisenä standardina on tetrametyylisilaani



Viitejulkaisuja - Anförda publikationer

Julkisia suomalaisia patenttihakemuksia: - Offentliga finska patentansökningar:

H 3434/74, H 752656

Hakemus-, kuulutus- ja patenttijulkaisuja: - Ansökningspublikationer, utläggnings- och patentskrifter:

Suomi - Finland _____

Iso-Britannia - Storbritannien _____

Norja - Norge _____

Ranska - Frankrike _____

Ruotsi - Sverige _____

Saksa - BRD - Tyskland _____

Sveitsi - Schweiz _____

Tanska - Danmark _____

USA _____

Muita julkaisuja: - Andra publikationer:

Ann. Rep. Med. Chem 10 (1975) 120-130

ibid 11 (1976) 101-109

Merkitse hakemusjulkaisun (esim. saksal. Offenlegungsschrift) numeron eteen H ja vastaavasti kuulutus- ja patenttijulkaisun numeron eteen K ja P.