



MD 4870 C1 2024.05.31

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) **4870** (13) **C1**
(51) Int.Cl: *C07F 3/04* (2006.01)
C07F 15/06 (2006.01)
C07D 213/79 (2006.01)
C12N 1/14 (2006.01)
C12N 1/38 (2006.01)
C12N 9/20 (2006.01)
C12R 1/845 (2006.01)

(12) BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. depozit: a 2022 0004 (22) Data depozit: 2022.02.04 (41) Data publicării cererii: 2023.08.31, BOPI nr. 8/2023	(45) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului: 2023.10.31, BOPI nr. 10/2023
(71) Solicitanți: INSTITUȚIA PUBLICĂ UNIVERSITATEA DE STAT DIN MOLDOVA, MD; INSTITUȚIA PUBLICĂ UNIVERSITATEA TEHNICĂ A MOLDOVEI, MD (72) Inventatori: BULHAC Ion, MD; URECHE Dumitru, MD; CILOCI Alexandra, MD; COCU Maria, MD; CLAPCO Steliana, MD; LABLIUC Svetlana, MD (73) Titulari: INSTITUȚIA PUBLICĂ UNIVERSITATEA DE STAT DIN MOLDOVA, MD; INSTITUȚIA PUBLICĂ UNIVERSITATEA TEHNICĂ A MOLDOVEI, MD	

(54) Tetra(izotiocianat)cobaltat(II) de tris(dietil piridin-2,6-dicarboxilat)calciu cu proprietăți de stimulator al activității lipolitice la tulpina de fungi *Rhizopus arrhizus* CNMN FD 03

(57) Rezumat:

1
Invenția se referă la chimia coordinativă și microbiologie, în special la un compus nou tetra(izotiocianat)cobaltat(II) de tris(dietil piridin-2,6-dicarboxilat)calciu, care poate fi utilizat în calitate de stimulator al activității lipolitice la tulpina de fungi *Rhizopus arrhizus* CNMN FD 03.

Conform invenției, se revendică compusul coordinativ

2
tetra(izotiocianat)cobaltat(II) de tris(dietil piridin-2,6-dicarboxilat)calciu cu formula $[CaL_3][Co(NCS)_4]$, în care L reprezintă esterul dietilic al acidului 2,6-piridindicarboxilic.

Compusul stimulează cu 37% producerea lipazelor exocelulare la tulpina de fungi *Rhizopus arrhizus* CNMN FD 03.

Revendicări: 2

MD 4870 C1 2024.05.31

(54) Tris(diethyl pyridine-2,6-dicarboxylate)calcium tetra(isothiocyanate)cobaltate(II) with the properties of lipolytic activity stimulator in the fungal strain *Rhizopus arrhizus* CNMN FD 03

(57) Abstract:

1
The invention relates to coordination chemistry and microbiology, in particular to a new compound tris(diethyl pyridine-2,6-dicarboxylate)calcium

tetra(isothiocyanate)cobaltate(II), which can be used as a lipolytic activity stimulator in the *Rhizopus arrhizus* CNMN FD 03 fungal strain.

According to the invention, claimed is the coordination compound tris(diethyl

2
pyridine-2,6-dicarboxylate)calcium tetra(isothiocyanate)cobaltate(II) with the formula $[CaL_3][Co(NCS)_4]$, wherein L is a diethyl ester of 2,6- pyridinedicarboxylic acid.

The compound stimulates by 37% the production of extracellular lipases in the *Rhizopus arrhizus* CNMN FD 03 fungal strain.

Claims: 2

(54) Тетра(изотиоцианат)кобальтат(II) трис(диэтил пиридин-2,6-дикарбоксилат)кальция со свойствами стимулятора липолитической активности штамма грибов *Rhizopus arrhizus* CNMN FD 03

(57) Реферат:

1
Изобретение относится к координационной химии и микробиологии, в частности к новому соединению

тетра(изотиоцианат)кобальтат(II) трис(диэтил пиридин-2,6-дикарбоксилат)кальция, которое может быть использовано в качестве стимулятора липолитической активности штамма грибов *Rhizopus arrhizus* CNMN FD 03.

Согласно изобретению заявляется координационное соединение

2
тетра(изотиоцианат)кобальтат(II) трис(диэтил пиридин-2,6-дикарбоксилат)кальция с формулой $[CaL_3][Co(NCS)_4]$, в которой L представляет собой сложный диэтиловый эфир 2,6-пиридиндикарбоксилатной кислоты.

Соединение стимулирует у штамма грибов *Rhizopus arrhizus* CNMN FD 03 продуцирование внеклеточных липаз на 37%.

П. формулы: 2

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

5 Invenția se referă la chimie și microbiologie, în special la un compus nou tetra(izotiocianat)cobaltat(II) de tris(dietil piridin-2,6-dicarboxilat)calciu - ($[\text{CaL}_3][\text{Co}(\text{NCS})_4]$), care poate fi utilizat în calitate de stimulator al activității lipolitice la micromiceta *Rhizopus arrhizus* CNMN FD 03.

10 *Rhizopus arrhizus* CNMN FD 03 reprezintă o tulpină de fungi miceliali (micromicetă), care este producător de lipaze exocelulare cu semnificație biotehnologică și poate fi utilizată în industria microbiologică pentru obținerea enzimelor pectolitice sau lipolitice exocelulare cu spectru larg de aplicare (MD2458 F1 2004.05.31). Pentru cultivarea tulpinilor de micromicete producătoare de lipaze se utilizează medii nutritive, care includ săruri minerale (diferite modificări ale mediului Czapek) și inductori ai sintezei lipazelor – ingrediente naturale cu conținut de componente lipidice – făină de soia, făină de porumb, extract de porumb, extract de drojdii, tărâțe de grâu *etc.* Componentele lipidice prezente în cantități mici în ingredientele din compoziția mediului stimulează efectiv biosinteza lipazelor (Fogarty W.M. Микробные ферменты и биотехнология. Москва: Агропромиздат, 1986, c. 189-190).

20 La multe microorganisme o parte considerabilă de lipaze exocelulare sunt legate de peretele celular, ce poate afecta secreția lipazelor în mediul de cultură și inhibarea biosintezei acestora. Incluzerea în mediul nutritiv a substanțelor cu abilități de stimulare a eliberării lipazelor legate din peretele celular, spre exemplu, surplus de ioni ai unor metale, accelerează secreția lipazelor legate în mediul de cultură ce favorizează procesul de biosinteză a lipazelor exocelulare.

25 Un efect de stimulare a biosintezei lipazelor exocelulare poate asigura și incluzerea în mediul nutritiv a anumitor compuși coordinațivi ai unor metale, în special al cobaltului. De exemplu, este cunoscută utilizarea în calitate de biostimulator al producerii de enzime lipolitice la tulpina *Rhizopus arrhizus* CNMN FD 03 a compusului de cobalt: bis(trietanolamin)-cobalt(II) diizobutirat). Dezavantajul acestui complex constă în faptul că sinteza necesită utilizarea unui compus auxiliar mai puțin accesibil ca 3,6-di-2-piridil-1,3,4,5,-tetrazină [1].

30 Este necesar de menționat că unii compuși ai metalelor nu posedă proprietăți de biostimulatori ai sintezei enzimelor, ci din contra, se manifestă ca inhibitori ai biosintezei acestor lipaze (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).

35 Spre exemplu, utilizarea în mediul nutritiv a compușilor coordinațivi ai cobaltului(III) cu structuri foarte apropiate – $[\text{Co}(\text{DH})_2(\text{Thio})_2]_3\text{F}[\text{SiF}_6] \cdot 1,5\text{H}_2\text{O}$ și $[\text{Co}(\text{DH})_2(\text{Thio})_2]_2[\text{SiF}_6] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ în calitate de biostimulatori, asigură creșterea capacității biosintetice a micromicetei *Rhizopus arrhizus* producătoare de enzime pectolitice [2]. Deși fiecare biostimulator este activ, compușii nu sunt stabili la păstrare, sunt corozivi – interacționează cu sticla datorită prezenței fluorurii și a anionului hidrolizabil de hexafluorsilicat.

40 De asemenea, este cunoscută utilizarea în mediul nutritiv în calitate de biostimulator a nanoparticulelor de Fe_3O_4 , care asigură o creștere sporită a capacității biosintetice a micromicetelor producătoare de lipaze exocelulare [3]. Dezavantajul acestui mediu nutritiv constă în faptul că este necesară dispersarea prealabilă riguroasă cu ultrasunet a nanoparticulelor de Fe_3O_4 , operație, care prezintă riscuri de sănătate prin inhalarea sau contactul direct a nanoparticulelor cu pielea. Astfel, utilizarea nanoparticulelor de Fe_3O_4 în calitate de biostimulator necesită condiții speciale, care pot conduce la ridicarea prețului produsului final. Alt dezavantaj constă în faptul că, deși activitatea lipolitică este destul de înaltă, maximul de activitate a tulpinii de fungi miceliali *Rhizopus arrhizus* CNMN FD 03 se atinge în a 2-a zi de cultivare, pe când în cazul compusului revendicat aceasta se manifestă în prima zi de cultivare.

50 Este cunoscut un compus, cel mai apropiat după structură și activitatea biologică, dioximatul de Co(III) cu formula $[\text{Co}(\text{DH})_2(\text{An})_2]_2[\text{ZrF}_6] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ [4]. Activitatea maximală lipolitică a tulpinii *Rhizopus arrhizus* CNMN FD 03, datorită utilizării acestui analog proxim, se manifestă în a doua zi de cultivare, care la concentrația de 10 mg/L constituie 81250 U/mL, ceea ce constituie 144,4% față de martor, pe când compusul revendicat - $[\text{CaL}_3][\text{Co}(\text{NCS})_4]$ manifestă o activitate maximală în prima zi de cultivare, chiar la concentrația de 5 mg/L - 41125,0 U/mL, ceea ce constituie 198,6% față de martor. Aceste date demonstrează că activitatea compusului revendicat este mai superioară comparativ cu cea a analogului proxim. În plus, acest dioximat de Co(III) conține anionul de fluorură în sarea de cobalt inițială și care la fel se conține și în contraanionul complex $[\text{ZrF}_6]^-$ al analogului proxim.

Datorită hidrolizei cu formarea acidului fluorhidric chimic agresiv, care reacționează cu sticla, atât la sinteză cât și la utilizările ulterioare a analogului proximal, sinteza și păstrarea dioximatului necesită condiții speciale. Mai mult ca atât, pentru sinteza compusului dat se reiese din sarea comercială de $\text{CoZrF}_6 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, reactiv care practic în prezent nu se mai produce de firmele specializate, fapt ce complică sinteza dioximaților respectivi de Co(III) .

Problema tehnică soluționată de invenție constă în extinderea gamei de compuși coordinați ai cobaltului – biostimulatori ai activității lipolitice la tulpina de micromicete *Rhizopus arrhizus* CNMN FD 03 prin sinteza unui nou compus heterometalic de Co și Ca în formă cristalină, ușor separabil prin filtrare, stabil și noncoroziv care ar conține într-un singur compus chimic individual mai multe macro- și microelemente: Co , Ca , N , și S . Totodată compusul să asigure reducerea duratei de cultivare submersă cu 24 de ore.

Esența invenției constă în obținerea unui compus chimic nou - tetra(izotiocianat)cobaltat(II) de tris(dietil piridin-2,6-dicarboxilat)calciu ($[\text{CaL}_3][\text{Co}(\text{NCS})_4]$) caracterizat prin aceea că manifestă activitate de stimulator al activității lipolitice la cultivarea micromicetei *Rhizopus arrhizus* CNMN FD 03, totodată se reduce durata de cultivare cu 24 de ore.

Rezultatul tehnic al invenției constă în obținerea unui complex bimetalic nou cristalin - tetra(izotiocianat)cobaltat(II) de tris(dietil piridin-2,6-dicarboxilat)calciu - $[\text{CaL}_3][\text{Co}(\text{NCS})_4]$, stabil și noncoroziv care manifestă activitate stimulatorie a activității lipolitice la cultivarea micromicetei *Rhizopus arrhizus* CNMN FD 03 și asigură atingerea maximului de producere a lipazelor exocelulare în prima zi de cultivare a micromicetei menționate.

Avantajele invenției constau în faptul că:

- caracterul bimetalic al compusului înaintat ca invenție - $[\text{CaL}_3][\text{Co}(\text{NCS})_4]$ conține în componența sa cobaltul și calciul, care sunt cunoscuți ca microelemente necesare pentru dezvoltarea normală a plantelor superioare și inferioare;

- compusul revendicat se obține în formă cristalină, ceea ce face posibilă separarea ușoară a compusului, precum spălarea și uscarea lui;

- compusul este stabil și noncoroziv față de sticlă.

Compusul coordinațional revendicat $[\text{CaL}_3][\text{Co}(\text{NCS})_4]$, atât și procedeu de sinteză a lui, datele spectrale cât și proprietățile sale biologice nu sunt descrise în Stadiul tehnicii.

În literatura științifică sunt descriși complecși ce au ligand și structură apropiată cu cea a invenției însă conțin în calitate de metal Cd(II) , cationul complex $[\text{CdL}_3]^{2+}$ și anionul complex $[\text{CdI}_4]^{2-}$ / $[\text{CdBr}_4]^{2-}$ (Hakimi M., Mardani Z., Moeini K., Mohr F. Coordination behavior of dimethyl pyridine-2,6-dicarboxylate towards mercury(II), cadmium(II) and chromium(III) in the solid- and gaseous state supported by CSD studies. Polyhedron, 2015, vol. 102. pp. 569-577).

Dezavantajul acestor complecși ai cadmiului constă în faptul că: 1) aceștia conțin metalul cadmiu, cunoscut prin toxicitatea pronunțată a acestuia; 2) cadmiul este prezent în componența complecșilor în concentrație ridicată (și în cationul complex și în anionul complex); 3) sinteza complecșilor cadmiului menționați se efectuează în două etape (prima etapă - obținerea ligandului și a doua etapă - sinteza complecșilor cadmiului); 4) în literatura de specialitate examinată nu sunt cunoscute date referitor la vreo activitate biologică a compușilor cadmiului.

Exemple de realizare a invenției

Exemplul 1. Sinteza tetra(izotiocianat)cobaltat(II) de tris(dietil piridin-2,6-dicarboxilat)calciu.

Amestecul mecanic din 0,05 g (0,025 mmol) de tiocianat de calciu tetrahidrat, 0,06 g (0,025 mmol) tiocianat de cobalt trihidrat și 0,15 g (0,075 mmol) de 2,6-bis(carbonilclorură)piridină într-un raport molar de 1:1:3 a fost suspendat în 15 mL etanol și refluxat timp de 3 ore. Toate componentele sunt solubile în alcool. Soluția formată, de culoare albastră-violetă, s-a filtrat și s-a lăsat la temperatura camerei pentru cristalizare. Peste 24 de ore în soluție s-au format cristale mărunte albastre în formă de prisme. Randamentul constituie 45% (0,09 g).

Găsit, %: C 44,46; H 4,08; Ca 4,07; Co 5,94; N 9,87; S 12,89.

Pentru: $\text{C}_{37}\text{H}_{39}\text{CaCoN}_7\text{O}_{12}\text{S}_4$

calculat, %: C 44,39; H 3,93; Ca 4,00; Co 5,89; N 9,79; S 12,81.

Spectru IR (ν , cm^{-1}): 3413 f.s, 3079 f.s, 2983 s, 2939 f.s, 2902 f.s, 2823 f.s, 2296 s, 2058 f.p, 1700 f.p, 1587 p, 1469 m, 1445 s, 1396 m, 1373 p, 1320 f.p, 1265 f.p, 1195 m, 1153 s, 1113 s, 1082 m, 1012 p, 964 f.s, 857 m, 818 f.s, 794 f.s, 754 p, 727 m, 692 p, 658 m, 561 f.s, 506 f.s, 480 s, 431 s, 409 s (f.p – foarte puternică, p – puternică, m – medie, s – slabă, f.s – foarte slabă).

Compusul este stabil, noncoroziv față de sticlă și poate fi păstrat în recipiente standarde de sticlă.

Compoziția chimică și structura compusului înaintat au fost determinate prin datele analizei elementale și spectrale în IR, dar și prin comparație cu structura determinată cu metoda difracției razelor X a compusului similar tetra(izotiocianat)cobaltat(II) de tris(dimetil piridin-2,6-dicarboxilat)calciu (brevet acordat MD4853, data depozit 2021.10.11). În spectrele IR ale acestor doi compuși majoritatea benzilor de absorbție importante coincid, ceea ce confirmă faptul că structura compuşilor este asemănătoare sau chiar identică. Aceste benzi sunt (cm^{-1}): 2983 $\nu_{\text{as}}(\text{CH}_3)$, 2902 $\nu_{\text{s}}(\text{CH}_3)$, 2058 $\nu(\text{NCS})$, 1700 $\nu(\text{C}=\text{O})$, 1587 $\nu(\text{C}=\text{C})_{\text{arom.}}$, 1469 $\delta_{\text{as}}(\text{CH}_3)$, 1373 $\delta_{\text{s}}(\text{CH}_3)$, 1265 $\nu_{\text{as}}(\text{C}-\text{O}-\text{C})_{\text{ester}}$, 1014 $\nu_{\text{s}}(\text{C}-\text{O}-\text{C})_{\text{ester}}$, 754 și 692 $\delta_{\text{nepl.}}(\text{CH})$ în inelul aromatic 1,2,3-substituit (3 atomi de hidrogen alăturați), 480 $\delta(\text{NCS})$ în cazul coordonării grupei NCS⁻ la metal prin intermediul atomului de azot (Co-NCS). Pe de altă parte, compoziția compusului revendicat se deosebește prin prezența grupării $-\text{CH}_2-$ în ligand care lipsește în componența compusului similar, fapt confirmat cu metoda spectroscopiei IR. Astfel, în spectrul IR se manifestă benzile de absorbție: 2939, 2823 și 794 cm^{-1} care sunt atribuite diferitelor tipuri de oscilații a grupei $-\text{CH}_2-$, care nu se observă în spectrul compusului similar. Datele respective dovedesc că în componența complexului revendicat sunt grupări de atomi $-\text{CH}_2-$ ce fac parte din grupa etil. Aceste diferențe de structură în ligand sunt cauzate de particularitățile de sinteză a complexului revendicat obținut în mediu de alcool etilic ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$), spre deosebire de compusul analog, sinteza căruia s-a petrecut în alcool metilic (CH_3OH), care nu conține gruparea $-\text{CH}_2-$. În cazul dat metoda spectrală IR este indicată pentru elucidarea acestei diferențe de structură a ligandului.

20 Exemplul 2. Aplicarea compusului revendicat $[\text{CaL}_3][\text{Co}(\text{NCS})_4]$ în cultivarea tulpinii de micromicete *Rhizopus arrhizus* CNMN FD 03 producătoare de lipaze exocelulare.

Cultivarea tulpinii *Rhizopus arrhizus* CNMN FD 03 se efectuează în pahare Erlenmeyer cu capacitatea de 0,5 L care conțin 0,1 L de mediu nutritiv lichid steril cu următoarea compoziție, (g): făină de soia – 35,0; K_2HPO_4 – 5,0; $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ – 1,0; $[\text{CaL}_3][\text{Co}(\text{NCS})_4]$ - 0,005...0,015; apă potabilă până la 1,0 L; pH-ul inițial al mediului – 8,0. Mediul nutritiv se inoculează cu suspensie de spori și miceliu în cantitate de 10% din volumul mediului nutritiv inoculat cu densitatea de $(2...3) \times 10^6$ spori/mL. Suspensia de spori și miceliu se obține prin spălarea cu apă distilată sterilă a culturii de *Rhizopus arrhizus* CNMN FD 03 crescută timp de 30 de zile pe suprafețe oblice de malț-agar. Compusul revendicat se include în mediul nutritiv concomitent cu materialul semincer. Nemijlocit înainte de utilizare, compusul revendicat, dizolvat în cantitate minimă de apă distilată sterilă, se tratează cu ultrasunet pe baie de apă de tipul DA-968 DADI discret a câte 1-2 minute până la obținerea soluției străvezii.

Cultivarea se efectuează în condiții de agitare continuă la 180...200 rot/min, timp de 24 de ore. Temperatura de cultivare - 28°C. Martor a servit proba cultivată în mediu nutritiv în absența compusului revendicat.

Activitatea enzimatică, determinată prin metoda titrimetrică Otto-Iamada (Грачева И.М. și al. Лабораторный практикум по технологии ферментных препаратов. Москва, «Легкая и пищевая промышленности», 1982, p.75-76), a fost dozată în dinamică în zilele a 1-3-a de cultivare, perioadă în care micromiceta manifestă cote superioare de acumulare a enzimelor.

Conform datelor obținute nivelul maxim al activității lipolitice în proba de referință a fost înregistrat în a doua zi de cultivare, activitatea constituind 30000 U/mL, comparativ cu valoarea de 20708,3 U/mL, respectiv 22083,3 U/mL marcată în prima și a treia zi de cultivare (tabel).

Tabel

45 Influența compusului revendicat asupra activității lipolitice a micromicetei *Rhizopus arrhizus* CNMN FD 03

Compusul	Conc., g/L	1-a zi		a 2-a zi		a 3-a zi	
		Activitatea, U/mL	%, față de martor	Activitatea, U/mL	%, față de martor	Activitatea, U/mL	%, față de martor
$[\text{CaL}_3][\text{Co}(\text{NCS})_4]$	0,005	41125,0	198,6/137,1	19375,0	64,6	2083,3	9,4
	0,010	28291,7	136,6/94,3	25000,0	83,3	2083,3	9,4
	0,015	20125,0	97,2	23750,0	79,2	1250,0	5,7
Martor	-	20708,3	100,0	30000,0	100,0	22083,3	100,0

198,6/137,1 – față de martorul zilei/față de maxima martorului (ziua a 2-a)

5 Analiza datelor, privind influența compusului revendicat asupra activității lipolitice a tulpinii producătoare pune în evidență o intensificare semnificativă a procesului de acumulare a enzimelor, efectul pozitiv fiind constatat deja în prima zi de cultivare. La această etapă, activitatea lipolitică în variantele cu compusul revendicat $[\text{CaL}_3][\text{Co}(\text{NCS})_4]$ a constituit 41125,0 U/mL (0,005 g/L), 28921,7 U/mL (0,010 g/L) și 20125,0 U/mL (0,015 g/L) în funcție de concentrația aplicată, depășind nivelul maximal al probei martor, ziua 1-a de cultivare – cu 37,1% la concentrația de 0,005 g/L cu reducerea ciclului tehnologic cu 24 ore.

10 Cercetările au fost efectuate în cadrul Programului de Stat 2020-2023 al Republicii Moldova prin proiectul cu titlul: ”Elaborarea noilor materiale multifuncționale și tehnologii eficiente pentru agricultură, medicină, tehnică și sistemul educațional în baza complexelor metalelor „s” și „d” cu liganzi polidentari”, (cifrul: 20.80009.5007.28) cu finanțarea de către ANCD.

(56) Referințe bibliografice citate în descriere:

1. MD a 2020 0002 A2 2020.08.31
2. MD 1748 F1 2001.09.30
3. MD 4532 B1 2017.11.30
4. Coropceanu E., Deseatnic A., Stratan M., Rija A., Bologa O., Tiurin J., Labliuc S., Clapco S., Bulhac I. The study of the biological activity of some cobalt(III) dioximates with fluorine containing anions. Chemistry Journal of Moldova. General, Industrial and Ecological Chemistry, 2008, vol. 3 (2), p. 70-80, găsit în Internet la data 05.05.2023, URL: <<http://www.cjm.asm.md/the-study-of-the-biological-activity-of-some-cobalt-iii-dioximates-with-fluorine-containing-anions>>

(57) Revendicări:

1. Tetra(izotiocianat)cobaltat(II) de tris(dietil piridin-2,6-dicarboxilat)calciu cu formula $[\text{CaL}_3][\text{Co}(\text{NCS})_4]$, unde L reprezintă esterul dietilic al acidului 2,6-piridindicarboxilic.
2. Compus, conform revendicării 1, **caracterizat prin aceea că** manifestă activitate de stimulator al activității lipolitice la tulpina de fungi *Rhizopus arrhizus* CNMN FD 03.