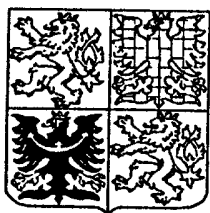


ČESKÁ
REPUBLIKA

(19)



ÚŘAD
PRŮMYSLOVÉHO
VLASTNICTVÍ

ZVEŘEJNĚNÁ PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU

(12)

(22) 31.03.94

(40) 17.05.95

(21) 778-94

(13) A3

6(51)

C 12 N 1/14

(71) Galena a.s., Opava-Komárov, CZ;

(72) Valík Josef RNDr., Opava, CZ;

(54) Průmyslový produkční kmen mikroorganismu
Claviceps purpurea /Fr./ Tul.

(57) Nový průmyslový produkční kmen mikroorganismů Claviceps purpurea (Fr.) Tul, CCM 8178 tvořící při parazitickém růstu na obilninách, zejména na žitě, sklerocia s obsahem alkaloidů, zejména .alfa.-ergokryptinu. Účelem vynálezu je získávání producenta výchozí suroviny pro výrobu námelo-vého alkaloidu .alfa.-ergokryptinu, jeho polosyntetických derivátů nebo kyseliny lysergové.

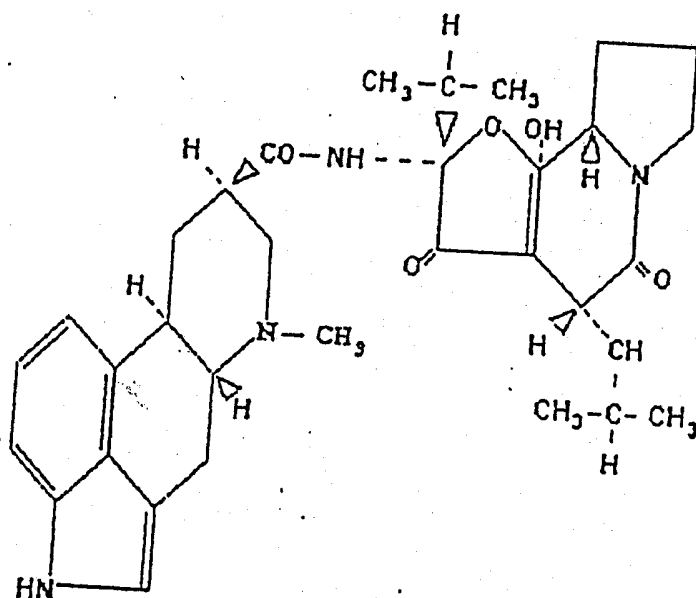
Průmyslový produkční kmen mikroorganismu *Claviceps purpurea* (Fr.) Tul.

Oblast techniky

Vynález se týká oborů biotechnologie, mikrobiologie, mykologie a farmaceutického průmyslu, konkrétně nového průmyslového produkčního kmene mikroorganismu houby *Claviceps purpurea* (Fr.) Tul. tvořící při parazitickém růstu na žitě a jiných obilninách sklerocia s obsahem alkaloidů.

Dosavadní stav techniky

☞- ergokryptin je námelový alkaloid chemického vzorce:



Je významnou léčivou substancí. V humánní medicíně je používán buď samostatně, nebo v lékových formách ve směsích s jinými námelovými alkaloidy. Lze jej využít i jako zdroj kyseliny lysergové pro následnou výrobu polosyntetických derivátů námelových alkaloidů, využitelných v humánní medicíně.

α - ergokryptin může být získáván ze sklerocií houby *Claviceps purpurea* (Fr.) Tul., kultivované paraziticky v polní kultuře na žitě (CS P 276 627) nebo jiných obilninách. Lze jej připravit i saprofytní kultivací za podmínek submerzní fermentace.

Podstata vynálezu

Podstatou vynálezu je nový průmyslový produkční kmen mikroorganismu *Claviceps purpurea* (Fr.) Tul., CCM 8178, uložený v České sbírce mikroorganismů Masarykovy Univerzity v Brně, ul. Tvrdého č. 14, tvořící při parazitickém růstu na obilninách, zejména na žitě, sklerocia s obsahem alkaloidů, zejména α -ergokryptinu. Tento nový kmen umožňuje zefektivnit extrakční a izolační postupy při výrobě α -ergokryptinu, kyseliny lysergové a polosyntetických derivátů námelových alkaloidů podstatným zvýšením výtěžnosti těchto postupů. Zvýšená výtěžnost je dána velmi vysokým obsahem α -ergokryptinu ve sklerociích nového kmene ve srovnání s dosud užívaným kmenem CCM 8059. Obsah alkaloidů ve sklerociích nového kmene CCM 8178 dosahuje hodnot 0.78% až 1.7% sušiny biomasy, přičemž obsah α -ergokryptinu je 0.75% až 1.4% sušiny biomasy. Další výhodou nového kmene je schopnost dosahovat velmi vysokých hektarových výnosů, srovnatelných s ostatními vysokoprodukčními kmeny *Claviceps purpurea* (Fr.) Tul. (CCM 8057, CCM F-755, CCM F-734), který bývá při recentně používané agrotechnice pěstování námele minimálně 790 kg/ha, průměrně 1100 kg/ha.

Příklady provedení vynálezu

Popis vlastností nového kmene

Při saprofytní kultivaci na sladinném médiu ztuženém agarem tvoří kmen CCM 8178 kolonie z typického sfaceliového vzdušného mycelia. Mycelium je zpočátku bílé, po 14 dnech kultivace světle béžové, vrásčité tvořené rozvětvenými hyfami a oválnými konidiemi délky 4 - 12 μm a šířky 4 - 6 μm .

Při parazitickém růstu na žitě tvoří houba zpočátku světlá, béžová, později světle hnědá sklerocia o průměrné váze 0.03g. Sklerocia obsahují námelové alkaloidy v množství 0.78% až 1.7% sušiny biomasy při průměrném obsahu 1.3%. Minimálně 86%, průměrně 90% sumy alkaloidů je tvořeno α -ergokryptinem. Zbytek je tvořen doprovodnými alkaloidy ergometrinem 7 - 12%, valinamidem 1-1.5%, ergok ninem 0.5%.

Nový průmyslový kmen CCM 8178 byl vyšlechtěn z produkčního kmene CCM 8058. Světle hnědé sklerocium tohoto kmene s obsahem 2.57% sumy alkaloidů s převahou ergokristinu bylo převedeno do saprofytní kultury a narostlé konidie byly ozářeny na kobaltovém zářiči gama-zářením o energii 5000 Gy, kdy přežívala 1/1000 konidií. Po ozáření byla suspenze konidií monosporicky rozizolována. Poté byly kultury z jednotlivých monosporických izolátů naočkovány na žito. Na základě provedených analýz narostlých sklerocií byl vybrán izolát, produkující světle hnědá sklerocia o obsahu 1.65% sumy alkaloidů, z toho 86% sumy alkaloidů bylo tvořeno α -ergokryptinem.

Příklad využití nového kmene:

Z potřebného množství trvanlivé suché námeloviny kmene CCM 8178, vyrobené podle CS P 276 530, se připraví vodná suspenze konidií. Touto suspenzí konidií se pomocí očkovacího stroje naočkují klasy žita ve fázi metání tak, že se na plochu 1 ha použije 1.6×10^{11} klíčivých konidií. V době zrání žita (zasychání klasů), kdy se začínají sklerocia uvolňovat z lůžka, tj. za 55 dnů, se provede sklizeň narostlých sklerocií kombajnem. Z 1 ha bylo získáno 1000 kg světle hnědých sklerocií, obsahujících v průměru 1.5% sumy alkaloidů, a tato suma byla z 86% tvořena α -ergokryptinem.

Získaná droga byla vyextrahována, extrakty byly použity pro výrobu čistého α -ergokryptinu do finálních lékových forem, částečně byly použity pro polosyntetickou výrobu 2-brom- α - ergokryptinu a částečně pro výrobu kyseliny lysergové a další polosyntetických derivátů.

Průmyslová využitelnost:

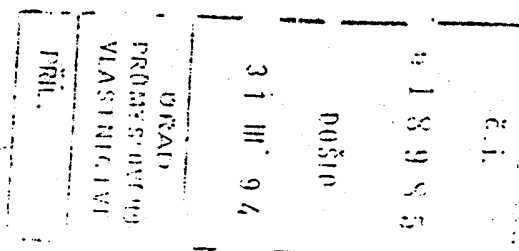
Vynález je využitelný ve farmaceutickém průmyslu jako kvalitativně nový zdroj námelových alkaloidů pro výrobu substancí a lékových forem α -ergokryptinu, polosyntetických derivátů námelových alkaloidů a kyseliny lysergové, využívaných v humánní medicíně.

POCT, RBZ, ...

Handwritten signature

P A T E N T O V Ě N Á R O K Y

Průmyslový, produkční kmen mikroorganismu *Claviceps purpurea* (Fr.) Tul. CCM 8178 tvořící při parazitickém růstu na obilninách, zejména na žitě, sklerocia s obsahem alkaloidů, zejména α -ergokryptinu.



ROTT, RŮŽIČKA & GUTTMANN

149.111.111.111