



Patent dodatkowy  
do patentu nr \_\_\_\_\_

Zgłoszono: 30.08.77 (P. 200532)

Pierwszeństwo: 30.08.76 Japonia

Zgłoszenie ogłoszono: 19.06.78

Opis patentowy opublikowano: 15.01.1980

Int. Cl.<sup>2</sup>

A01H 15/00

C12K 1/06

C12D 13/04

CZYTELNIĄ

Urzędu Patentowego  
P. O. Box 1000, 00-100 Warszawa

Twórcy wynalazku: Chikao Yoshikumi, Takao Furusho, Kenichi  
Matsunaga, Toriyuki Toyoda

Uprawniony z patentu: Kureha Kagaku Kogyo Kabushiki Kaisha, Tokio  
(Japonia)

### Sposób prowadzenia hodowli grzybów podstawczaków należących do rodzaju *Coridus* z *Polyporaceae*

1

Przedmiotem wynalazku jest sposób prowadzenia hodowli grzybów podstawczaków, należących do rodzaju *Coriolus* z *Polyporaceae*, a w szczególności sposób prowadzenia hodowli przy użyciu podłoża o określonym składzie, zawierającego glukozę i ekstrakt drożdżowy, ze zwiększeniem wydajności grzybni uzyskiwanej w wyniku hodowli podstawczaków.

W ostatnich latach ogólną uwagę zwróciły na siebie polisacharydy, uzyskiwane z podstawczaków, należących do rodzaju *Coriolus* z *Polyporaceae*, a to ze względu na przejawianą przez nie wybitną aktywność przeciwnowotworową oraz inne skutki farmakologiczne. Spowodowało to żądanie opracowania korzystnych metod otrzymywania tych substancji na skalę przemysłową, a w szczególności opracowania wysokowydajnej metody hodowli podstawczaków.

Przeprowadzono badania nad metodą hodowli, prowadzącą do namnażania się podstawczaków, należących do rodzaju *Coriolus* z *Polyporaceae* z wysoką wydajnością i w ich wyniku stwierdzono, że wydajność grzybni podstawczaków znacznie się zwiększa w przypadku prowadzenia hodowli przy użyciu podłoża, zawierającego glukozę i ekstrakt drożdżowy w wysokim stężeniu i w określonym wzajemnym stosunku ilościowym.

Dotychczas w przypadku hodowli podstawczaków stosowano na ogół podłoża typu, używanego zazwyczaj przy hodowli podstawczaków podłoża o

2

określonym składzie, zawierającego glukozę i ekstrakt drożdżowy.

Sposób według wynalazku polega na tym, że hodowlę podstawczaków, należących do rodzaju *Coriolus* z *Polyporaceae*, prowadzi się w podłożu, zawierającym glukozę i ekstrakt drożdżowy w stosunku ilościowym od 3 do 15:1, przy czym zawartość glukozy w podłożu wynosi od 7,5 do 15% wagowych.

Przedmiotem wynalazku jest więc sposób prowadzenia hodowli podstawczaków, należących do rodzaju *Coriolus* z *Polyporaceae*, umożliwiający znaczny wzrost wydajności grzybni przez użycie wyżej wspomnianego podłoża. Jak wspomniano w powyższej części opisu, wynalazek odnosi się do hodowli podstawczaków, należących do rodzaju *Coriolus* z *Polyporaceae*, przy użyciu podłoża, zawierającego glukozę i ekstrakt drożdżowy w stosunku ilościowym od 3 do 15:1, przy czym zawartość glukozy w podłożu wynosi do 7,5 do 15%.

Należy zaznaczyć, że nawet przy zachowaniu w składzie podłoża stosunku ilościowego glukozy do ekstraktu drożdżowego w zakresie od 3 do 15:1, nie można oczekiwać znacznego wzrostu wydajności grzybni, jeśli zawartość glukozy w podłożu wynosi mniej, niż 7,5%. Niewiele zmienia się również wydajność grzybni w przypadku zwiększenia zawartości glukozy powyżej 15%. W przypadku prowadzenia hodowli podstawczaków, należących do rodzaju *Coriolus*, przy użyciu podłoża, zawierają-

cego glukozę i ekstrakt drożdżowy o ustalonym składzie, takim jak wyżej opisano w sposobie według wynalazku, uzyskuje się wydajność grzybni od 2 do 5 razy wyższą od wydajności, uzyskiwanej w przypadku hodowli tego podstawczaka przy użyciu zwykłych podłoży, np. podłoży naturalnych, takich jak podłoże z peptonem lub jego modyfikacje, podłoże z ekstraktem słodowym, podłoże z ekstraktem kukurydzianym, podłoże z namokiem kukurydzianym, lub podłoży syntetycznych, takich jak podłoże Pfeffera, podłoże Sabourauda lub podłoże Meyera.

Sposób według wynalazku umożliwia także uzyskanie wydajności grzybni od 2 do 4 razy wyższej od wydajności, uzyskiwanej w przypadku użycia któregośkolwiek podłoża, zawierającego glukozę i ekstrakt drożdżowy o składzie poza zakresem, określonym w sposobie według wynalazku. Przy tym, podłożem zawierającym glukozę i ekstrakt drożdżowy, stosowanym w sposobie według wynalazku, umożliwiającym uzyskanie najwyższej wydajności grzybni, jest podłoże o zawartości glukozy od 10 do 15% i o stosunku ilościowym glukozy do ekstraktu drożdżowego od 6 do 10:1.

Do podłoża, stosowanego w sposobie według wynalazku, można dodać nie tylko składniki mineralne, takie jak fosfor, mangan, magnez, wapń, żelazo itp. w postaci soli, ale i składniki odżywcze, takie jak witaminy.

W sposób według wynalazku hodowlę prowadzi się zazwyczaj w temperaturze  $25 \pm 3^\circ\text{C}$ , przez 3–10 dni w przypadku hodowli głębinowej, przy napowietrzaniu i mieszaniu, oraz przez 20–30 dni w przypadku hodowli statycznej.

Podstawczaki, należące do rodzaju *Coriolus* z Polyporaceae, są znane, a ich właściwości mykologiczne są opisane w „Colored Illustration of Fungi of Japan”, Rokuya Imazeki i Tsuguo Hongo, tom I, 1975 i tom II, 1974. Spośród podstawczaków tego rodzaju, następujące gatunki są zdeponowane w japońskim państwowym Fermentation Research Institute, Agency of Industrial Science and Technology (Chiba-shi), Japonia:

| Gatunek                                         | Nr. katalogowy kolekcji | Data zdeponowania |
|-------------------------------------------------|-------------------------|-------------------|
| <i>Coriolus versicolor</i> (Fr.) Quél. CM—103   | FERM—P<br>Nr. 2414      | 25.XII.1973       |
| <i>Coriolus consors</i> (Berk.) Imaz. CM—166    | FERM—P<br>Nr. 988       | 24.VI.1971        |
| <i>Coriolus hirsutus</i> (Fr.) Quél. CM—151     | FERM—P<br>Nr. 2711      | 6.IX.1974         |
| <i>Coriolus pargamentinus</i> (Fr.) Pat. CM—161 | FERM—P<br>Nr. 2712      | 6.IX.1974         |

Pośród powyższych podstawczaków najkorzystniejszy jest w stosowaniu *Coriolus versicolor* (Fr.) Quél.

Grzybnię, uzyskaną w wyniku hodowli jednego

z powyższych podstawczaków należących do rodzaju *Coriolus* sposobem według wynalazku, można poddać ekstrakcji rozpuszczalnikiem wodnym, takim jak woda lub rozcieńczony roztwór alkaliczny, a następnie otrzymany ekstrakt oczyszczaniu w celu usunięcia frakcji niskocząsteczkowej, po czym pozostałość suszy się, otrzymując produkt polisacharydowy. Tak otrzymany polisacharyd zawiera w cząsteczce azot i wykazuje wysoką aktywność przeciwnowotworową. Substancja ta, po podaniu myszom, wykazuje wysoką aktywność przeciwnowotworową nie tylko przy podawaniu dootrzewnowym, ale także i doustnym.

Ogłoszono wiele prac, podających wyniki badań aktywności przeciwnowotworowej tej substancji. Jej użycie nie ogranicza się jednak do wspomnianego zastosowania przeciwnowotworowego, ponieważ wyniki badań ujawniają jej znaczny wpływ na odzyskiwanie odporności przez organizm, oraz zapobieganie objawom ubocznym przy chemoterapii, jak i zapobieganie pogorszeniu się stanu fizycznego pacjenta po operacji lub z innych przyczyn. Trzeba też zauważyć, że doustne podawanie tej substancji polepsza apetyt, redukuje zaburzenia jelitowe i ułatwia oddawanie moczu.

Wynalazek objaśnia, nie ograniczając jego zakresu, następujący przykład, w którym udziały procentowe podano jako wagowe.

Przykład. Do 100-mililitrowych kolb stożkowych wprowadzono po 20 ml podłoża, wyszczególnionych w poniższej tablicy 1, a następnie każdą porcję podłoża zaszczerpiono hodowlą posiewową

Tablica I

| Glukoza<br>%            |      | Ekstrakt<br>drożdżowy<br>% | Glukoza<br>(ekstrakt<br>drożdżowy) | Wydajność<br>grzybni<br>g/litr |
|-------------------------|------|----------------------------|------------------------------------|--------------------------------|
| Sposób według wynalazku | 15   | 1,0                        | 15                                 | 28,7                           |
|                         | 15   | 1,25                       | 12                                 | 33,0                           |
|                         | 15   | 1,5                        | 10                                 | 39,1                           |
|                         | 12,5 | 1,0                        | 12,5                               | 34,2                           |
|                         | 12,5 | 1,25                       | 10                                 | 39,2                           |
|                         | 12,5 | 1,5                        | 8,3                                | 42,9                           |
|                         | 10,0 | 0,75                       | 13,3                               | 30,7                           |
|                         | 10,0 | 1,0                        | 10                                 | 35,4                           |
|                         | 10,0 | 1,25                       | 8,0                                | 41,2                           |
|                         | 10,0 | 1,5                        | 6,7                                | 40,6                           |
|                         | 7,5  | 0,5                        | 15                                 | 27,6                           |
|                         | 7,5  | 0,75                       | 10                                 | 33,7                           |
|                         | 7,5  | 1,0                        | 7,5                                | 32,2                           |
|                         | 7,5  | 1,25                       | 6                                  | 30,3                           |
| Hodowle<br>porównawcze  | 2,5  | 0,25                       | 10                                 | 11,0                           |
|                         | 5,0  | 0,5                        | 10                                 | 23,3                           |
|                         | 7,5  | 0,25                       | 30                                 | 18,8                           |
|                         | 10,0 | 0,5                        | 20                                 | 23,1                           |
|                         | 12,5 | 0,5                        | 25                                 | 15,9                           |
|                         | 15,0 | 0,75                       | 20                                 | 22,8                           |
|                         | 2,5  | 1,25                       | 2                                  | 5,8                            |

*Coriolus versicolor* (Fr.) Quél. Cś—103 (FERM—P Nr 2414), po czym w ciągu 28 dni prowadzono hodowlę statyczną w temperaturze od 25 do 28°C. Po zakończeniu hodowli oznaczono wydajność grzybní w każdej kolbie i uzyskane wyniki zamieszczono w tablicy 1. W tablicy tej podano także wyniki, otrzymane w przypadku hodowli porównawczych, prowadzonych w tych samych warunkach, jak wyżej opisano, z tą różnicą, że użyto podłoża, zawierających glukozę i ekstrakt drożdżowy w stosunku ilościowym poza zakresem określonym w sposobie według wynalazku.

Jak widać z danych, zamieszczonych w tablicy 1, wydajność grzybní, uzyskiwanej w hodowli prowadzonej w sposób według wynalazku, jest znacznie wyższa od wydajności, uzyskiwanej w przypadku hodowli porównawczych.

# Zastrzeżenia patentowe

1. Sposób prowadzenia hodowli grzybów podstawczaków, należących do rodzaju *Coriolus* z Polyporaceae, **znamienny tym**, że hodowlę prowadzi się przy użyciu podłoża, zawierającego glukozę i ekstrakt drożdżowy w stosunku ilościowym od 3 do 15:1, przy czym zawartość glukozy w podłożu wynosi od 7,5 do 15% wagowych.
2. Sposób według zastrz. 1, **znamienny tym**, że glukozę i ekstrakt drożdżowy stosuje się w stosunku ilościowym od 6 do 10:1.
3. Sposób według zastrz. 1, **znamienny tym**, że stosuje się podłoże o zawartości glukozy od 10 do 15% wagowych.
4. Sposób według zastrz. 1, **znamienny tym**, że jako podstawczak stosuje się *Coriolus versicolor* (Fr.) Quél.