

MINISTERIO DE INDUSTRIA Y ENERGIA
Registro de la Propiedad Industrial



ESPAÑA

30 MAYO 1978
COMERCIO

19 ES	11	NUMERO	10 A1
	21	454304	
	22	FECHA DE PRESENTACION	
		16 DIC. 1976	

PATENTE DE INVENCION

30 PRIORIDADES:	32 FECHA	33 PAIS
31 NUMERO		
Nº 150 114/1975	18.12.1975	JAPON

47 FECHA DE PUBLICIDAD	51 CLASIFICACION INTERNACIONAL	62 PATENTE DE LA QUE ES DIVISIONARIA
	C12D; A61K	

54 TITULO DE LA INVENCION

"Procedimiento para preparar productos medicinales con caracter anti-tumor, especialmente a base de polisacaruros."

71 SOLICITANTE (S)

KUREHA KAGAKU KOGYO KABUSHIKI KAISHA (sociedad japonesa)

DOMICILIO DEL SOLICITANTE

TOKYO (JAPON) Nº 8, Horidome-cho, 1-chome, Nihonbashi, Chuo-ku

72 INVENTOR (ES)

1.- Kiro ASANO
2.- Tsuyoshi SAITO
3.- Hiromitsu TANAKA
4.- Satoru ENOMOTO

(todos de nacionalidad japonesa)

73 TITULAR (ES)

74 REPRESENTANTE

Concedido el Registro de acuerdo con los datos que figuran en la presente descripción y según el contenido de la Memoria adjunta.

EL PRESIDENTE DEL COMITÉ COMO PRIMERA PAGINA DE LA MEMORIA

20 JUL. 1978

454304



-1-

1 El presente invento se relaciona con un procedimiento
para preparar ventajosamente sustancias antitumorígenicas
extrayendo el hongo perteneciente a la clase basidiomycetes
con un disolvente acuoso, bajo ciertas condiciones especi-
5 ficas.

Como es bien conocido, pueden prepararse sustancias
antitumorígenicas, compuestas de polisacaruros, refinando
el extracto obtenido de la extracción del hongo pertene-
ciente a la clase de basidiomycetes con un disolvente acuo-
10 so bajo presión normal. Tal procedimiento conocido, sin em-
bargo, tiene un serio inconveniente, en que el método de
extracción empleado aquí es intolerablemente pobre para
extraer con eficacia los compuestos activos. Tal baja afi-
15 cacia extractora da por resultado una considerable pérdida
de los componentes activos, ya que se deja una gran canti-
dad en el residuo de extracción. Esto es bastante indesea-
ble no sólo desde el punto de vista de la productividad
de sustancias antitumorígenicas, sino también desde el
20 punto de vista industrial, porque tal pérdida conduce a un
desperdicio de los valiosos materiales y también tiene el
problema de la disposición de los materiales residuales.

En el curso del estudio para eliminar los arriba men-
25 cionados problemas en la preparación de sustancias antitu-
morigénicas de la extracción del hongo perteneciente a la
clase de basidiomycetes con un disolvente acuoso, los in-
ventores han hallado que una sustancia compuesta de poli-
sacaruro, conteniendo nitrógeno y teniendo una excelente
30 actividad antitumorígenica puede obtenerse con un gran



1 rendimiento, cuando el hongo perteneciente a la clase de basidiomycetes se extrae con un disolvente acuoso bajo presión y a una temperatura dentro del alcance de 120 a 200°C.

5 El término de "hongo perteneciente a la clase de basidiomycetes" aquí utilizado, significa los micelios y/o cuerpos de fruto del hongo y los basidiomycetes usados en este invento pertenecen a las familias de Polyporaceae, Micromonosporaceae, Tricholomataceae, Hygrophoraceae, Bolbitiaceae, Strophariaceae, Cortinariaceae, Rhodophyllaceae, 10 Boletaceae, Hydaceae, Fistulinaceae, Tremellaceae, Phallinaceae, Clathraceae, Clavariaceae, Corticiaceae, Agaricaceae, Coprinaceae, Russulaceae, Auriculariaceae, Comiophoraceae, y familia de Lycoperdaceae, género Rhizopogon y género 15 Calostoma en la clasificación de plantas. Tales Basidiomycetes son conocidos e incluyen, por ejemplo, Trametes sanguinea, Trametes cinnabaria, Polyporellus squamosus (Fr.) Karst., Daedaleopsis styracina (P.Henn.et shir) Imazeki, Fomitopsis pinicola (Fr.) Karst., Lenzites butulina (Fr.), 20 Gloeophyllum saepiarium (Fr.) Karst., Ganoderma boninense Pet., Fomes fomentarius (Fr.) Kickx, Grifola gigantea (Fr.) Pilát, Favolus alveolaris (Fr.) QuéL, Coriolus versicolor (Fr.) QuéL, Coriolus hirsutus (Fr.) QuéL, Coriolus pargamensis (Fr.) Pat., Coriolus consora (Besh.) Imaz, Coriolus conchifer (Schw)Pat, Coriolus pubescens (Fr.) QuéL, Coriolus bi- 25 formis- (Klotz), Hirschioporus abietinus, Laetiporus sulphureus, Grifola frondosa, Porodisculus pendulus, Rigidoporus almarinus, Oxyporus radivus, Tyromyces lacteus, Cryptoporus volvatus, Poria vaporaria, Irpex lacteus, Lamptero-



- 1 myces japonicus, Tricholomopsis rutilans (Fr.) Sing. (Tricholoma rutilans (Fr.) Quél, Armillariella mellea, Laccaria amethystina, Ischnoderma resinosum (Fr.) Karst. (Polyporus resinosum Fr.), Lyophyllum ulmarium, Lyophyllum aggregatum,
- 5 Tricholoma matsutake, Hohenbuehelia serotina (Fr.) Sing., Cantharellula cyathiformis (Fr.) Sing, Panellus stipiteus, (Fr.) Karst., Schizophyllum commune (Fr.), Panus conchatus (Fr.), Pleurotus ostreatus (Fr.) Quél, Oudemansiella radicata (Fr.) Sing., Lentinus edodes (Berk.) Sing., Flammulina velutipes, Mycena pura, Lepista subnuda, Clitocybe imfundibuliformis, Tricholomopsis platyphylla (Fr.) Sing. [*Collybia platyphylla* (Fr.) Kummer], Tremellodon gelatinosum Fr., Aleurodiscus amorphus Rabenh., Lycoperdon pyriforme Pers., Phaeolus schweinitzii (Fr.) Pat., Cryptoderma pini (Fr.) Imazeki, Phellinus gilvus (Fr.) Pat., Stereum hirsutum Fr., Merulius tremellosus Fr., Lopharia mirabilis (Berk. et Br.) Pat., Echinodontium Tsugecola (P. Henn. et Shirai), Hygrocybe ovina (Fr.) Kühn. (Hygrophorus ovinus Fr.)
- 15 Agaricus bisporus (Lange) Sing. [*Psalliota hortensis* (Cke) W.G. Smith var. bispora Lange], Phaeolepiota aurea (Fr.) Maire [*Pholiota aurea* (Fr.) Gill.; *Cystoderma aureum* (Fr.) Kühn. et Romagn.; *Pholiota vahlii* (Fr.) Lange], Coprinus atramentarius (Fr.) Fr., Agrocybe arvalis (Fr.) Fayod var. tuberigena (Quél) Konr. et Maubl., [*Naucoria arvalis* (Fr.) Quél. var. tuberigena Quél.; *Agrocybe tuberosa* (Henn.) Sing.]
- 20 Gymnopilus aeruginosus (Peck) Sing. [*Pholiota aeruginosa* Peck], Rhodophyllum murraini (Berk. et Curt.) Sing. (Entoloma murraini (Berk. et Curt.) Sacc.] Boletus edulis Fr.,
- 25
- 30



- 1 *Lectarius volemus* Fr, *Auricularia polytricha*-(mont) Sacc.,
Rocites caperata (Fr.) Karst. [*Pholiota caperata* (Fr.) Gi-
ll.], *Suillus granulatus* (Fr.) Kuntze (*Bektus granulatus* Fr.)
Russula delica Fr. [*Russula chloroides* (Krombh.) Bres.],
5 *Phlogiotis helvelloides* (Fr.) Martin [*Guepinia helvelloides*
Fr.; *Gyrocephalus rufus* Bref.], *Gyroporus castaneus* (Fr.)
Quél., *Auricularia auriculajudae* (Fr.) Quél. *Cyrophana la-*
crimans (Fr.) Pat. (*Merulius lacrymans* Fr.) *Omnia orientalis*
10 (*Lloyd*) *Imazeki* [*Polyporus orientalis* *Lloyd*], *Fuscoporia*
obliqua (Fr.) Aoshima [*Poria obliqua* Fr.], *Inonotus cuticu-*
laris (Fr.) Karst. (*Polyporus cuticularis* Fr.; *Polyporus*
mokadoi *Lloyd*), *Hygrophorus leucophaeus* (Fr.) Gill, *Agrocy-*
be cylindracea (Fr.) Maire [*Pholiota cylindracea* (Fr.) Gill.
15 *P.aegerita* (Brig.)-Quél.], *Naematoloma sublateritium* (Fr.)
Karst., *Pholiota nameko* (T.Ito) S.Ito et Imai (*Pholiota*
glutinosa Kawam.), *Cortinarius elatior* Fr., *Rhodophyllus*
abortivus (Berk, et Curt) Sing. [*Clitopilus abortivus* (Berk.
et Curt) Sacc.], *Suillus grevillei* (Klotzch) Sing., *Creolo-*
20 *phus spathulatus* Imazeki, *Fistulina hepatica* Fr., *Proto-*
daedalea hispida Imazeki, *Dictyophora indusiata* (Pers.)
Fisch., *Lysurus mokusui* (Pers.) Fr. f. *sinensis* (*Lloyd*)
Kobayasi, *Lycoperdon gemmatum* Fr. *Rhizopogon rubescens*
25 (*Tul.*) *Tul.*, *Calostoma japonicum* P.Henn., *Ramaria flava*
(Fr.) Quél. (*Clavaria flava* Fr.) y *Rhodophyllus rhodopoli-*
us (Fr.) Quél. [*Entoloma rhodopolium* (Fr.) Quél.]. (Véase
la obra COLOURED ILLUSTRATIONS OF FUNGI OF JAPAN por Ro-
kuya Imazeki y Tsuguo Hongo, Vols. I, 1.974 y II, 1.975.
30 Por lo tanto, el objeto principal de este invento es



1 preparar un procedimiento para preparar sustancias con excelentes actividades antitumorígenicas en un elevado rendimiento, por medio de extracción de los mycelios y/o cuerpos de fruto de los arriba mencionados Basidiomycetes.

5 Otros objetos de este invento resultaran evidentes de la consideración de la siguiente descripción detallada del invento.

10 La característica de este invento reside en que el género perteneciente a la clase de Basidiomycetes se extrae con un disolvente acuoso a presión y a una temperatura dentro del alcance de 120 a 200°C para obtener un polisacaruro conteniendo nitrógeno antitumorígeno.

15 Se ha considerado generalmente que si los Basidiomycetes se extraen bajo una condición de alta temperatura, tal como 120 a 200°C, se descomponen los ingredientes activos del hongo de modo que, aunque fuera posible incrementar el régimen general de extracción es difícilmente posible mejorar el rendimiento con las sustancias antitumorígenicas deseadas.

20 Sin embargo el presente invento reveló el hecho de que la deseada sustancia antitumorígenica puede obtenerse en un alto rendimiento, muy al contrario de la creencia general, si la extracción, bajo la arriba mencionada condición de temperatura, se realiza a presión.

25 Para realizar la extracción a presión de acuerdo con el presente invento, el material, los micelios y/o cuerpos de fruto del hongo de Basidiomycetes, se colocan dentro
30 de un recipiente de presión, tal como, por ejemplo, un



1 autoclave del tipo de lotes o un extractor tubular del ti-
po de flujo, conjuntamente con un disolvente acuoso, el ma-
terial se extrae en los mismos a una temperatura de 120 a
200°C. La presión aplicada de este tratamiento es del nivel
5 equivalente a la presión de vapor total del disolvente acu-
so contenido en el recipiente. Usualmente el mismo no es su-
perior a 20 kg/cm², preferentemente menor de 16 kg/cm², pe-
ro no debe ser inferior a 1,8 kg/cm². El tiempo de extracci-
10 ón puede estar adecuadamente ajustado, dependiendo de la
temperatura aplicada, pero usualmente está preferentemente
dentro del alcance de 5 a 360 minutos. Es decir, se seleccio-
na un tiempo de extracción apropiado desde dentro del arri-
ba mencionado alcance, de acuerdo con la temperatura apli-
15 cada, que está dentro del alcance de 120 a 200°C. Si la tem-
peratura de extracción fuese inferior a 120°C, no se consi-
gue ningún efecto satisfactorio de extracción, mientras que
si tal temperatura excede de 200°C, puede tener lugar la
descomposición del principio activo o hacer impracticable
20 el procedimiento. Deberá observarse también que el tiempo
de extracción inferior a 5 minutos da por resultado un efec-
to de extracción pobre, mientras que el periodo de extra-
cción de más de 360 minutos puede causar la descomposición
25 del principio activo.

En la práctica del procedimiento de este invento, la
operación extractora debe realizarse repetidas veces bajo
las condiciones arriba mencionadas, o el material de par-
tida (Basidiomycetes) puede sumergirse en un disolvente acu-
30 so a una temperatura inferior a 100°C, antes de la opera-



1 ción extractora o, en otro caso, el extracto obtenido puede
ser lavado con un disolvente acuoso a una temperatura menor
de 100°C después de la extracción.

5 El disolvente acuoso, usado en este invento, puede ser
del tipo comunmente usado en los métodos conocidos, tales
como, por ejemplo, agua pura, ácido acuoso, solución alcalina
acuosa, solución acuosa de urea y solución de amino
10 ácido. Tal disolvente acuoso se utiliza usualmente en la
proporción desde cinco veces a cien veces preferentemente
de diez veces a cincuenta veces (de peso) respecto al ma-
terial de partida. El disolvente acuoso más preferido para
el uso en este invento es agua o una solución diluida de
álcali de menos de 1N.

15 El extracto así obtenido, es entonces refinado por
via de ultrafiltración, precipitación desde sal, diálisis,
inversa u otros medios, que pueden utilizarse, bien sea
individualmente o en combinación, para eliminar las sus-
tancias de bajo peso molecular (aquellas con pesos molecu-
20 lares menores de 5.000) en el extracto. Este tratamiento
refinador da por resultado un polisacaruro conteniendo ni-
trógeno, teniendo una excelente actividad antitumorígenica.

25 Las sustancias compuestas de los polisacaruros con-
teniendo nitrógeno, obtenidas de acuerdo con el procedi-
miento de este invento, demuestran una excelente actividad
antitumorígenica con efectos inhibitorio particularmente
alto, contra cáncer sólido de Sarcoma, no sólo en la ad-
30 ministración intraperitoneal, sino también con administra-



1 ción oral a ratones. Esto significa que los polisacaruros
conteniendo nitrógeno de este invento pueden procurar una
2 espléndida medicina anticancerosa y tal efecto ha sido con-
firmado por muchos experimentos. El uso de las sustancias
5 obtenidas de acuerdo con este invento no están limitado a
las aplicaciones orales para producir las actividades anti-
tumorígenicas, sino que también estimulan respuestas inmu-
nes. Más específicamente se ha comprobado que estas sustan-
10 cias fueron eficaces, no sólo para prevenir los efectos
secundarios en las terapéuticas químicas de pacientes te-
niendo tumor y mostrando creciente susceptibilidad a ra-
dioterapéutica, sino también para contener la declinación
de inmunidad o resistencia física del paciente resultante
15 de una operación o transfusión de sangre o dando resisten-
cia contra infección de virus o bacterias cuando era pobre
la inmunidad o resistencia física del paciente. También se
ha determinado que la administración oral de las presentes
20 sustancias producía un excelente efecto para mejorar la
función hepática, promoviendo el apetito, poniendo remedio
a desórdenes intestinales y promoviendo la micción --. Tam-
bién procuraron eficaz tratamiento de la lepra.

25 Como se ha descrito arriba, de acuerdo con el procedi-
miento de este invento, los polisacaruros conteniendo ni-
trógeno, que producen una excelente actividad antitumori-
génica, no sólo en la administración intraperitoneal, sino
también en administración oral, en adición a las otras efi-
cacias, tales como las arriba mencionadas, pueden obtener-
30 se en un elevado rendimiento y con un procedimiento rela-

1 tivamente simple como se describirá en las siguientes ejecu-
ciones del invento. Asi, el presente invento ofrece una
gran contribución técnica a la manufactura industrial de
Las sustancias anticancerosas procedentes del Basidiomyce-
5 tes.

Ahora el presente invento se describirá con ulterior
detalle por medio de algunas de sus ejecuciones preferidas.

Ejemplo 1:

10 Micelios de *Coriolus versicolor* (Fr.) QuéL, obtenidas
por cultivo artificial, fueron desecadas a un contenido de
10% de agua y divididas en cinco secciones y después cada
sección fué mezclada en 12,5 veces (de peso) de agua y se
alimentaron en un autoclave, seguido de extracción en el
15 mismo, bajo las condiciones extractoras mostradas en la
tabla 2 a continuación. El extracto, obtenido de cada se-
cción, fué filtrado para fraccionar la solución de extrac-
to sola y la solución de extracto obtenida fue sometida a
una diálisis de agua corriente durante 72 horas a 5°C, usan-
20 do un tubo de diálisis (Visking Tube, fabricado por Unión
Carbide Corp.) de acuerdo con un método normal. Este tra-
tamiento de diálisis elimina las sustancias de bajo peso
molecular (aquellas con peso molecular inferior a 5.000) en
el extracto. La solución de dializado fué ulteriormente con-
25 centrada para obtener polvo de color castaño hígado con
contenido de agua de 7%. Este material pulverulento tuvo un
peso molecular mayor de 10.000 y los resultados del análisis
elemental y varios ensayos de reacción de color, mos-
30 trados en la tabla 1 de más abajo, aseguraron que este

1 material es un polisacaruro conteniendo nitrógeno.

TABLA I
Ensayo de reacción de color

	Reacción de color	Color	Observaciones
5	Reacción de α -naftol-ácido-sulfúrico (reacción de Molish)	Púrpura	Se confirmó el sacaruro.
	Reacción de indol-ácido-sulfúrico (reacción de Dish)	Castaño	Idem.
10	Reacción de antrona-ácido-sulfúrico.	Azul verdoso	idem.
	Reacción de fenol-ácido sulfúrico.	Castaño	idem.
	Reacción de triptofano-ácido-sulfúrico	Castaño púrpura	Idem.
15	Procedimiento de Lowry-Folin	Azul	Se confirmó el enlace de peptiuro.
	Reacción de ninhidrina después de hidrolisis de ácido clorhídrico.	Azul púrpura	Se confirmó α -amino ácido.

20 Se comprenderá de los resultados de los ensayos arriba indicados, que los productos de este invento son polisacaruros conteniendo principalmente nitrógeno enlazado con peptiuro.

25 Con el fin de determinar el efecto antitumorígeno de los polisacaruros conteniendo nitrógeno, obtenidos de acuerdo con el presente invento, se realizó el siguiente ensayo.

Método de ensayo:

30 Células de tumor de Sarcoma-180 fueron transplantadas



16 OCT 1976

-11-

1 a las cavidades abdominales de ratones y siete días más tar
de (después de suficiente multiplicación de las células),
fueron transplantadas 10⁶ piezas de las células ulterior-
mente a las áreas subcutaneas de las axilas de otro grupo
5 de ratones para desarrollar tumores sólidos. La adminis-
tración intraperitoneal de la sustancia de este invento
fue iniciada desde 24 horas después del trasplante. La
sustancia fue administrada 10 veces, una vez al día, pero
cada segundo día, en la dosis de 10 mg/kg por administra-
10 ción para la cantidad total de 0,2 ml/20 g (peso del cuer-
po del ratón). El día vigésimo-quinto después del trasplan-
te, el tumor en cada ratón fué enucleado y su peso fue me-
dido. El efecto inhibitorio de crecimiento del tumor, de la
15 sustancia de este invento, fue calculado del peso medio de
los tumores en el grupo de ratones, a los que se había su-
ministrado la sustancia de este invento y el peso medio de
los tumores en el control.

20 Los resultados de las mediciones se ilustran en la
tabla 2 de más abajo en una forma resumida. Los datos para
la preparación de las respectivas muestras, usadas en este
ensayo, es decir cantidad de disolvente acuoso (agua) usa-
do, temperatura de extracción y régimen de tiempo de ex-
25 tracción, selectivamente y rendimiento, también se ilus-
tran en la tabla 2.

(Tabla 2).

NOTAS:

30 (1) El ejemplo comparativo es una muestra
preparada usando el mismo hongo que las muestras 1 a 5 de



1 acuerdo con este invento pero extrayendo bajo presión normal de acuerdo con un método convencional.

(2). "Régimen de extracción" es el alcance disuelto de hongos

Tabla 2

5

Muestra No.	Cantidad de agua (Proporción de agua a hongo.)	Temp. (°C)	P. (kg/cm ²)	Tiempo (min)	Régimen extracción (%)	Selectividad (%)	Rendimiento contra hongos (%)	Inhibición contra Sarcoma-180 (%)	Contenido de Nitrógeno (%)
1	12,5	120	2,0	360	34,5	52,2	18,1	89,9	0,71
2	12,5	150	5,0	60	51,5	52,5	27,1	87,9	0,72
3	12,5	160	6,3	60	62,0	68,4	42,4	91,0	0,72
10 4	12,5	165	7,2	30	68,8	59,0	40,6	93,0	0,73
5	12,5	180	10,2	20	80,6	70,6	57,0	94,9	0,73
Ejemplo comparativo	12,5	98		360	21,6	47,9	10,4	89,8	0,71

15 usados como material de partida, que se expresa por (%) de peso.

(3). "Selectividad" es el rendimiento del tanto por ciento de los polisacaruros conteniendo nitrógeno, con peso molecular mayor de 10.000 obtenidos del extracto.

20 (4). "Rendimiento contra hongo" es el rendimiento en tanto por ciento contra la alimentación total del hongo de los polisacaruros conteniendo nitrógeno con peso molecular mayor de 10.000.

25 Se comprenderá de los resultados mostrados en la tabla 2 que, en los ensayos realizados sobre ratones, que habian sido subcutáneamente transplantados con células de tumor de Sarcoma-180, cada uno de los polisacaruros conteniendo nitrógeno, obtenidos bajo las condiciones de extracción, de acuerdo con este invento, exhibe una actividad
30 antitumorígenica igual o mayor en comparación con las



1 preparaciones similares obtenidas bajo las condiciones de-
extracción convencionales y debe hacerse observar particu-
larmente que los rendimientos contra la cantidad de hongos
usados, se mejora notablemente.

5 Ejemplo 2.

Los micelios de los mismos Basidiomycetes, que se usa-
ron en el ejemplo 1, fueron divididos en ocho grupos y ca-
da grupo fue alimentado dentro de un autoclave, junto con
una cantidad de 12 veces (de peso de los micelios) de una
10 solución alcalina o sustancialmente neutra, acuosa, mostra-
da en la tabla 3 de más abajo, seguido de extracción, bajo
las condiciones de presión y temperatura, también ilustra-
das en la tabla 3. Después de extracción, el material en el
15 autoclave fue neutralizado y filtrado para fraccionar la
solución del extracto, separando los insolubles como resi-
duos de extracción. Esta solución de extracto fue sometida
a un tratamiento de diálisis, de acuerdo con el procedimien-
to descrito en el ejemplo 1 para recuperar las sustancias
20 con un peso medio molecular mayor de 10.000. Cuando estas
sustancias fueron investigadas por varias reacciones de
color, mostradas en la tabla 1, se confirmó que eran poli-
sacaruros conteniendo nitrógeno,-

25

30



16-0-1976

1
5
10
15
20
25
30

Tabla 3

Mues- tra No.	Disol- vente.	Temp. (°C)	Tiem- po P. (min)	(kg/ cm ²)	Régi- men de extra- cción (%)	Selec- tivi- dad (%)	Rendi- miento contra hongos (%)	Inhibi- ción contra Sarcoma -180(%)	Contenido de Nitrógeno (%)
1	0.1N-NaH CO ₃	120	60	2.0	40.0	58.0	21.2	92	4.92
2	2N-NaH CO ₃	160	60	6.3	74.4	36.6	27.0	90	4.12
3	0.1N-NaH CO ₃	160	60	6.3	50.7	46.8	24.6	92	3.65
4	0.1N-NaH CO ₃	180	20	10.2	57.4	51.9	29.8	92	2.12
5	0.1N-NaH CO ₃	200	20	15.5	84.3	50.3	42.4	98	1.25
6	0.1N-Na- OH.	180	60	10.2	72.6	50.0	38.1	91	2.39
7	14% NH ₄ OH.	180	180	18.0	68.9	30.5	21.0	94	5.29
8	1% L- gluta- mine.	200	10	15.5	85.1	55.1	46.9	92	3.42
Ejemp- plo com- para- tivo:	0.1N- NaOH	98	60		22.3	38.1	8.5	90	4.91

Con el fin de determinar la actividad antitumorígenica de los polisacaruros conteniendo nitrógeno así obtenidos, se administraron las muestras de 1 a 8 de estas sustancias a los ratones que habían sido subcutáneamente transplantados con Sarcoma-180. Los resultados mostraron que



1 estas sustancias producen efecto antitumorígeno igual o
más elevado, en comparación con los polisacáridos conte-
niendo nitrógeno, obtenidos de acuerdo con el convencional
método de extracción de agua caliente a presión normal.

5 (Sigue la tabla 3).

(Notas)

10 (1) "Ejemplo comparativo" es una muestra preparada
usando los mismos Basidiomycetes que las muestras 1 a 8 de
este invento, de acuerdo con el convencional método de ex-
tracción de agua caliente a presión normal.

(2). Otros asuntos son los mismos que se explican en
conexión con la tabla 2.

Ejemplo 3.

15 Cuerpos de frutos crudos de *Lentinus edodes* disponi-
bles comercialmente, teniendo un contenido de agua de 88,
27% fueron agrupados en seis secciones y cada sección fue
alimentada dentro de un autoclave, junto con una cantidad
de agua, según se cita en la tabla 4 de más abajo y des-
20 pués se sometieron a extracción bajo las condiciones de
presión y temperatura especificadas en la tabla 4. Después
de extracción, el material tratado de cada sección en el
autoclave fue filtrado para fraccionar el filtrado, con
25 los insolubles dejándose como residuo de extracción. El
filtrado obtenido fue sometido a un tratamiento de diálisis
de acuerdo con el procedimiento descrito en el Ejem-
plo 1., para recuperar las fracciones con un peso molecu-
lar medio de más de 10.000. Este tratamiento de diálisis
30 eliminó las sustancias con bajo peso molecular en la so-



1 lución de extracto. Cada una de las sustancias aquí obteni-
 das fué investigada por medio de varias reacciones de color
 mostradas en la tabla 1 y por el análisis elemental, y los
 resultados del ensayo confirmaron que estas sustancias son
 5 polisacaruros conteniendo nitrógeno.

Cada una de las sustancias aquí obtenidas mostraron
 un elevado régimen de inhibición de más de 80% por el mis-
 mo método de ensayo que se ha descrito en el ejemplo 1.

10 Las condiciones de extracción, así como los resulta-
 dos de la extracción obtenida en este ejemplo, también se
 ilustra en la tabla siguiente.

(Tabla 4)

NOTAS

15 Los asuntos mostrados en esta tabla son los mismos
 que se han explicado en conexión con la tabla 2.

Tabla 4

20	Núm. muestra	Canti- tra. de agua (propor- ción agua a hongos secos.	Temp. (°C)	Tiem- po (min.)	Þ. (kg/ cm ²)	Régi- men de ex- tra- cción (%)	Selecc- tividad (%)	Rendi- miento contra hongos secos (%)	Contenido de nitrógeno (%)
	1	30	120	60	1.7	52.0	15.0	7.8	1.02
25	2	30	150	60	4.5	74.5	31.2	23.2	0.98
	3	30	190	60	11.5	80.9	16.1	13.1	0.99
	4	30	180	20	8.5	79.4	25.8	20.5	0.97
	5	30	190	20	11.5	80.0	29.7	23.7	0.98
	6	70	180	20	8.5	68.5	56.4	38.6	1.01
30	Ejemplo compara tivo.	30	100	60	1.0	45.0	13.8	6.2	1.03

REIVINDICACIONES

=====

1
5
10
15
20
25
30

1.- Procedimiento para preparar productos medicinales con caracter anti-tumor, especialmente a base de polisacaruros, conteniendo nitrógeno por extracción del hongo perteneciente a la clase de Basidiomycetes con un disolvente acuoso y refinando el extracto obtenido, caracterizado porque dicho hongo se extrae con un disolvente acuoso a presión y a una temperatura dentro del alcance de 120 a 200 °C.

2.- Procedimiento según la reivindicación 1, caracterizado porque dicho hongo es un miembro seleccionado de Basidiomycetes perteneciente al género Coriolus.

3.- Procedimiento según la reivindicación 1, caracterizado porque dicho hongo es un miembro seleccionado de Basidiomycetes perteneciente al género Lentinus.

4.- Procedimiento según la reivindicación 1, caracterizado porque dicha extracción se efectúa a presión dentro del alcance de 1,8 a 20 Kg/cm².

5.- Procedimiento según la reivindicación 1, caracterizado porque dicha extracción se efectúa durante un periodo de 5 a 360 minutos.

6.- Procedimiento según la reivindicación 1, caracterizado porque dicho disolvente acuoso es agua o una solución alcalina diluida de menos de 1 N.

7.- Procedimiento para preparar productos medicinales con caracter anti-tumor, especialmente a base de polisacaruros. Según se describe y reivindica en la presente memoria des-



16

- 18 -

1 criptiva y consta de 18 hojas foliadas y escritas a máquinas por una sola de sus caras.

Madrid, a 16 de Diciembre de 1976.

CARLOS ROEB
P. R.
Fde.: Pedro Masamoren

5

10

15

20

25

30

pe