

C 12 d 13/06



POLSKIEJ RZECZYPOSPOLITEJ LUDOWEJ

OPIS PATENTOWY

Nr 42397

Kl. 12 p, 7/11

SPOFA, spojene farmaceuticke zavody, narodni podnik

Praga, Czechosłowacja

Sposób wytwarzania ribozydów zasad kwasów nukleinowych i ich analogów

Patent trwa od dnia 18 stycznia 1958 r.

Pierwszeństwo: 28 lutego 1957 r. (Czechosłowacja)

Ribozidy zasad kwasów nukleinowych i ich analogi, jak np. ribozyd 6 — azauracylu albo jego 6 — podstawione pochodne posiadają cenne właściwości kancerostatyczne i bakteriostatyczne. Niektóre z nich wykazują również działanie terapeutyczne w przypadku leukemii.

Przedmiotem wynalazku jest biologiczny sposób wytwarzania ribozydów zasad kwasów nukleinowych, szczególnie 6 — azauracylu i jego pochodnych lub także dezoksyribozydów tych samych substancji. Sposób według wynalazku polega na tym, że zasadę kwasu nukleinowego albo jego pochodne, albo jego analogi poddaje się działaniu pożywki fermentującej zaszczonej odpowiednim mikroorganizmem i że produkt po usunięciu mikroorganizmów oddziela się od pożywki na drodze adsorpcji. Jako od-

powiedni mikroorganizm okazał się np. *Escherichia coli*.

Ten sposób można łatwo przeprowadzić w normalnych urządzeniach przemysłu fermentacyjnego bez potrzeby stosowania specjalnej aparatury. Adsorbcję można przeprowadzić na węglu aktywnym albo na normalnych materiałach chromatograficznych.

Biosynteza, jak też wyosabnianie przebiega ją prawie ilościowo.

Przykład. Ciekłą pożywkę w ilości 300 l. przygotowano w następujący sposób: 1080 g glukozy w 5 litrach wody wysterylizowano i dodano w warunkach aseptycznych do sterylnego roztworu soli w temperaturze 37°C. Mieszanka soli posiadała następujący skład:

siarczan amonowy	792 g
chlorek sodowy	174 g
siarczan magnezowy (krystaliczny)	72 g

*) Właściciel patentu oświadczył, że współtwórcami wynalazku są Jan Skoda, Vilem Hess i Frantisek Sarm.

chlerek wapniowy (krystaliczny)	3 g
siarczan żelazowy (krystaliczny)	4,5 g
ortofosforan jednopotasowy	816 g
fosforan dwusodowy (krystaliczny)	8595 g

Pożywka ta została zaszczipiona szczepionką w ilości 1%.

Jako szczepionkę zastosowano 24-godzinna kulturę *Escherichia coli* na powyższej pożywce. Po 6-cio godzinnej kultywacji dodano sterylne- go roztworu 6 — azauracylu w takiej ilości, że stężenie wyniosło $7 \cdot 10^{-4}$ M. Następnie kontynuowano dalej fermentację przez dalsze 5—15 godzin bez mieszania i napowietrzania. Temperaturę utrzymywano na poziomie 37°C. Z kolei obniżono temperaturę pożywki do temperatury wody chłodzącej i odwirowano bakterie. Klarowne medium przepuszczono przez kolumnę z węglem aktywnym. Azauracyloribozyd wyeluowano z węgla aktywnego za pomocą 50%-owego etanolu z dodatkiem 1% amoniaku. Z pozostałości po oddestylowaniu eluatu otrzymano czysty azauracyloribozyd przez przekry- stalizowanie z butanolu nasyconego wodą.

Eluat można również oczyścić chromatogra- ficznie na kolumnie z mączką celulozową. Wy- dajność w odniesieniu do 6 — azauracylu wy- nosi powyżej 90%. Czysty azauracyloribozyd topi się w temperaturze 160—161°C.

Zastrzeżenie patentowe

Sposób wytwarzania ribozydów albo dezo- ksyribozydów zasad kwasów nukleinowych i ich analogów, szczególnie 6 — azauracylu i jego pochodnych, znamieny tym, że odpowiednie zasady kwasów nukleinowych poddaje się dzia- łaniu fermentującej pożywki zaszczipionej od- powiednim mikroorganizmem, jak np. *Escheri- chia coli*, a otrzymany produkt po usunięciu mikroorganizmów z pożywki wyodrębnia się na drodze adsorpcji.

Spofa, spojone farmaceuticke
zavody, narodni podnik

Zastępca: mgr Józef Kamiński
rzecznik patentowy