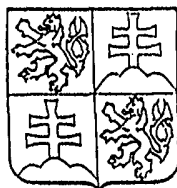


ČESKÁ A SLOVENSKÁ
FEDERATÍVNA
REPUBLIKA
(19)



FEDERÁLNY ÚRAD
PRE VYNÁLEZY

POPIS VYNÁLEZU

K AUTORSKÉMU OSVEDČENIU

270 103

(11)

(13) B1

(51) Int. Cl.⁴

C 12 N 1/18

(21) PV 3944-86.V
(22) Prihlásené 29 05 86

(40) Zverejnené 14 11 89
(45) Vydané 27 02 91

(75)
Autor vynálezu

MASLER LADISLAV ing. CSc.,
ŠANDULA JOZEF RNDr. CSc.,
FERENČÍK MIROSLAV ing. DrSc.,
REPÁŠ MILAN člen korešpondent ČSAV a SAV,
BRATISLAVA

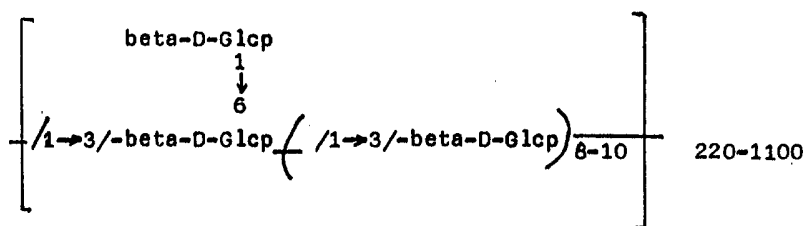
(54) Stenový /1→6/-beta-D-gluko-/ 1→3/-beta-D-glukán kvasiniek

(57) Stenový /1→6/-beta-D-gluko-
(1→3/-beta-D-glukán kvasiniek
 $\alpha / \alpha' / 20^\circ + 5,0$ až $8,8^\circ / c=0,50$
v DMSO/_D molekulová hmotnosť 4×10^5
až 2×10^6 , obsah dusíka 0 až 0,2 %
hmot. stanovený podľa Dumasu/
obsah popola 0,3 až 0,6 % hmot.,
Ič-spektrum v KBr 892, 1045, 1080,
1160, 1205, 1252, 1315, 1375, 1640,
2922, 3434 cm^{-1} , ¹³CNMR spektrum
v DMSO-d₆ so signálom 86,21 ppm.
Účelom riešenia je stenový /1→6/-
-beta-D-gluko-/1→3/-beta-D-glukán
s biologicky účinnou štruktúrou,
chemicky a fyzikálno chemicky defino-
vaný, ktorý má použitie ako adjuvant-
ná zložka vakcín a ako základná látka
pre prípravu vo vode rozpustných sti-
mulátorov nešpecifických imunitných
mechanizmov.

Vynález sa týka stenového /1→6/-beta-D-gluko-/1→3/-beta-D-glukánu kvasiniek.

Stenové /1→6/-beta-D-gluko-/1→3/-beta-D-glukány tvoria skeletálnu mikrofibrilárnu časť bunkových stien húb. Sú nerozpustné v organických rozpúšťadlách, vode a v zriedených alkáliách. Z farmakologického hľadiska sú to látky netoxické, ktoré nešpecificky zvyšujú rezistenciu hostiteľa, voči rôznym chorobným procesom najmä bakteriálnym, vírusovým a hubovým infekciám, imunodeficientným stavom a neoplastickým procesom. Javia výrazný rádioprotektívny efekt a pôsobia ako adjuvanty pri imunizácii a výrobe vakcín /G. Chihara, Y. Y. Maeda, J. Hamuro, Int. J. Tiss. Reac., 4, 207, 1982; N. R. Diluzio, Trends Pharm. Sci., 4, 344, 1983/.

Podstatou vynálezu je stenový /1→6/-beta-D-gluko-/1→3/-beta-D-glukán kvasiniek s biologicky účinnou štruktúrou obecného vzorca



kde Glcp je glukopyranozylová jednotka.

Stenový /1→6/-beta-D-gluko-/1→3/-beta-D-glukán kvasiniek sa získa frakcionáciou bunkových stien postupom podľa D. J. Bella a D. H. Northcota, J. Chem. Soc. 1950, 1944 a jeho modifikáciami A. L. Houwink, D. R. Kreger, Antonie van Leeuwenhoek 19, 1, 1953; S. Peat, W. J. Whelan, T. E. Edwards, J. Chem. Soc. 1958, 3862; J. S. D. Bacon, W. C. Farmer, D. Jones, J. F. T. Taylor, Biochem. J. 114, 557, 1969; D. J. Manners, A. J. Masson, J. C. Patterson, J. Gen. Microbiol. 80, 411, 1974; J. Jelsma, D. R. Kreger, Carbohydr. Res. 43, 200, 1975.

Príklad 1

100 g pekárenského droždía *Saccharomyces cerevisiae* sa suspenduje v 150 ml 6 % hmot. hydroxidu sodného a pri 60 °C sa mieša 4 h. Suspenzia sa zriedi 100 ml 60 °C teplej vody a odstredí. Sediment sa suspenduje v 150 ml 3 % hmot. hydroxidu sodného, mieša pri 80 až 100 °C 2 h a odstredí. Sediment sa trikrát premyje vodou a extrahuje trikrát 20 ml 4 % hmot. kyselinou chlorovodíkovou alebo kyselinou fosforečnou za miešania pri teplote miestnosti 2 h a odstredí. Sediment sa premýva vodou dovtedy až supernatant je čirý a reaguje neutrálne. Výťažok 4,5 až 5,4 % hmot. počítané na sušinu kvasiniek. Mol. hmotnosť 4×10^5 až 2×10^6 . Glukán neobsahuje dusík a obsah popola je 0,5 % hmot.

Infračervené spektrum: 892, 1045, 1080, 1160, 1205, 1252, 1315, 1375, 1640, 2922, 3434 cm^{-1} .

Modifikovaný spôsob príkladu 1 s použitím org. kyselín a enzýmov sa uskutoční podľa známeho postupu D. J. Manners, A. J. Masson, J. C. Patterson, Biochem. J. 135, 19, 1973.

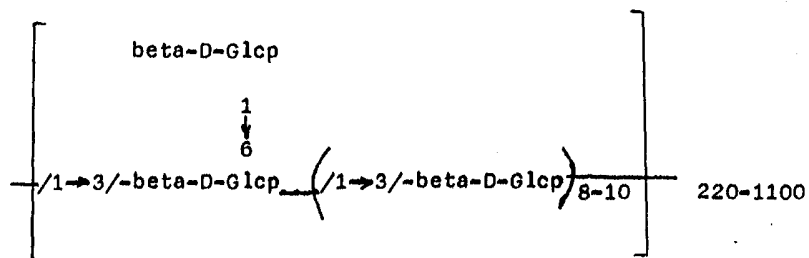
Príklad 2

Peritoneálne makrofágy kontrolných morčiat /namiesto stenového /1→6/-beta-D-gluko-/1→3/-beta-D-glukánu dostali fyziologický roztok/ mali stupeň metabolickej aktivity 8,1 femtomólov redukovaného formazánu, fagocitárnu aktivitu 64,8 % a za hodinu boli schopné usmrtiť 35,9 % prítomných patogénnych kandid. Naproti tomu peritoneálne makrofágy morčiat, ktoré dostali 3 dávky stenového /1→6/-beta-D-gluko-/1→3/-beta-D-glukánu v dňoch 12, 7, 3 dni pred odberom makrofágov v množstve 10 mg/kg živej váhy,

tieto makrofágy mali stupeň metabolickej aktivity stimulovaný na 13,5 fentomólu redukovaného formazánu, rovnako bola zvýšená fagocitárna aktivita priemerne na 72,9 % a schopnosť usmrcovať patogénne kandidy na 58,2 %.

P R E D M E T V Y N Á L E Z U

Stenový /1→6/-beta-D-gluko-/1→3/-beta-D-glukán kvasiniek vzorca



kde Glcp je glukopyranozylová jednotka.