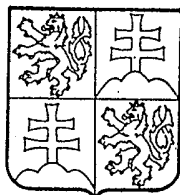


ČESKÁ A SLOVENSKÁ
FEDERATÍVNA
REPUBLIKA
(19)



FEDERÁLNY ÚRAD
PRE VYNÁLEZY

POPIS VYNÁLEZU

K AUTORSKÉMU OSVEDČENIU

271 706

(21) PV 7303-87.K
(22) Prihlásené 09 10 87

(11)

(13) B1

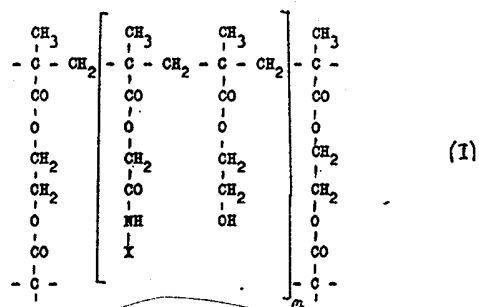
(51) Int. Cl.⁵
C 08 F 24/00

(40) Zverejnené 14 11 89
(45) Vydané 09 09 91

(75) Autor vynálezu KÉRY VLADIMÍR ing.CSc.,
LINEK KAZIMÍR ing.CSc.,
TIHLÁRIK KAROL ing.CSc., BRATISLAVA

(54) N-glykozyl deriváty karboxymetyl-glycidylmetakrylátu

(57) Riešenie sa týka N-glykozylovaných derivátov karboxymetyl-glycidylmetakrylátu všeobecného vzorca I. Pripravujú sa obecnou acylazidovou metódou z hydrazidov karboxymetyl-glycidylmetakrylátu a príslušných glykozylamínov. N-glykozylované deriváty karboxymetyl-glycidylmetakrylátu majú využitie v molekulárnej biológii a biotechnológii na izoláciu a purifikáciu špecifických lektínov a glykozidáz, ako i v medicíne v diagnostike ochorení, ktorých markermi sú glykozidázy a lektíny.

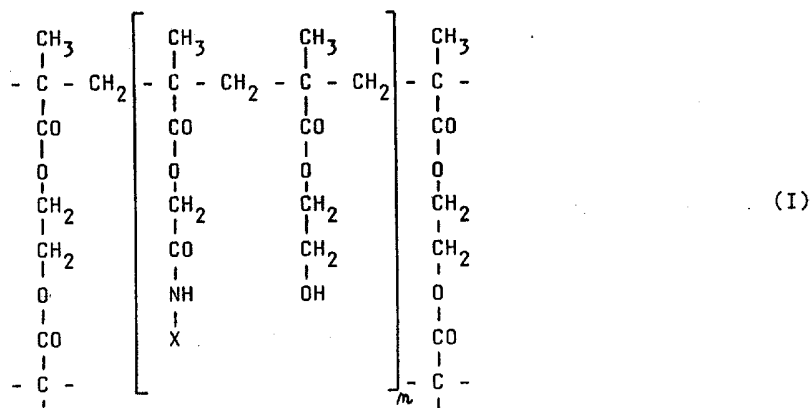


Vynález sa týka nového typu derivátov, N-glykozyl derivátov karboxymetylglycidylmetakrylátu.

Glycidylmetakryláty, vyrábané pod obchodným názvom SPHERON v n.p. Lachema Brno sú československé sorbenty, vyrábané radikálovou polymerizáciou v suspenzii na báze etyldimetakrylátu a cyklohexanolu alebo dodekanolu (Švec, F., Kálal, J., čs. AO č. 175 112). Zmenou zloženia dispergovanej organickej fázy je možné v ňom meniť rozmer a objem pórov, hodnotu merného povrchu, obsah hydroxylových skupín a ďalšie parametre (Švec, F., Hradil, J., Čoupek, J., Kálal, J., Angew. Makromol. Chem. **48**, 135 /1975/). Tak sa môžu glycidylmetakryláty využiť ako materiály pre gélovú chromatografiu (Vondruška, M., Šudřich, M., Mládek, M., J. Chromatogr., **116**, 457 /1976/). Primárne hydroxylové skupiny glycidylmetakrylátu možno rôznym spôsobom meniť za vzniku derivátov glycidylmetakrylátu.

V roku 1978 bola popísaná kyslo katalyzovaná O-glykozylácia voľných hydroxylových skupín glycidylmetakrylátu v bezvodom dioxáne (Filka, K., Čoupek, J., Kocourek, J., Biochim. Biophys. Acts. **539**, 518 /1978/). Takto derivatizované gély možno využiť na afinitnú izoláciu lektínov z biologických zdrojov a ich imobilizáciu (Filka, K., Čoupek, J., Kocourek, J., Protides Biol. Fluids, **27**, 375 /1979/). Ich nevýhodou je, že O-glykozidické väzby sa môžu štiepiť glykozidázami, špecifickými k príslušnému naviazanému cukru, ktoré sú často prítomné v biologických extraktoch, z ktorých sa lektíny izolujú. To isté platí aj v prípade použitia takto derivatizovaných glycidylmetakrylátových gélov na izoláciu glykodáz, špecifických k naviazanému cukru. Enzymová hydroláza O-glykozylovaných derivátov glycidylmetakrylátu môže významne skrátiť životnosť afinitného nosiča a možnosť jeho regenerácie a opätovného použitia.

Tieto nedostatky riešia N-glykozyl deriváty karboxymetyl-glycidylmetakrylátu všeobecného vzorca (I). Možno ich použiť na rovnaké spektrum aplikácií ako O-glykozylované deriváty glycidylmetakrylátu, t.j. na izoláciu a purifikáciu lektínov a glykozidáz, avšak ich príprava je jednoduchšia a stabilita voči glykozidázam väčšia.



kde X znamená hexózu, pentózu, tetrózu.

Nové deriváty glycidylmetakrylátu sa syntetizujú axylazidovou metódou z vyrábaných hydrazidov karboxymetyl-glycidylmetakrylátu (SPHERON CH-1000 alebo SPHERON CH-3000), s obsahom hydrazidových skupín $0,3 \pm 0,1 \text{ mmol.g}^{-1}$ suchého nosiča. Viaže sa 0,05 až 0,15 mmol sacharidu na 1 g suchej hmotnosti gélu (stanovené fenolsírovou metódou podľa Lee, F., McKelvy, J. F., Archiv. Biochem. Biophys., **132**, 99 /1969/), čo je 15 až 50 %-ná konverzia.

Príklad 1

5 g premytého hydrazidu karboxymetyl-glycidylmetakrylátu (SPHERON CH-300) s obsahom hydrazidových skupín $0,3 \pm 0,1 \text{ mmol.g}^{-1}$ sa rozsuspenduje v 50 ml $0,5 \text{ mol.l}^{-1}$ kyseliny chlorovodíkovej, ochladí sa na 0°C , pridá sa 5 ml mol.l^{-1} roztoku dusitanu sodného a za miešania sa inkubuje 2 min. Po odsatí na frite a premytí destilovanou vodou a uhličitanovým tlmivým roztokom, $0,1 \text{ mol.l}^{-1}$, pH 9,0 sa gél znovu odsaje a pridá do 50 ml $0,05 \text{ mol.l}^{-1}$ roztoku β -D-glukopyranozylamínu a za laboratórnej teploty sa mieša 2 hod. Po ukončení reakcie sa produkt premyje na frite destilovanou vodou, 2 mol.l^{-1} roztokom chloridu sodného, etanolom a vysuší sa. Obsah glukózy $0,15 \text{ mmol}$ na gram suchého gélu čo, je 50 %-ná konverzia.

Príklad 2

Postupuje sa ako v príklade 1 s tým rozdielom, že sa aktivovaný gél pridá do 50 ml $0,05 \text{ mol.l}^{-1}$ roztoku galaktopyranozylamínu. Obsah galaktózy $0,05 \text{ mmol}$ na gram suchého gélu, čo je 15 %-ná konverzia.

Príklad 3

Postupuje sa ako v príklade 1 s tým rozdielom, že sa aktivovaný gél pridá do 50 ml $0,05 \text{ mol.l}^{-1}$ β -D-xylopyranozylamínu. Obsah xylózy $0,1 \text{ mmol}$ na gram suchého gélu, čo je 30 %-ná konverzia.

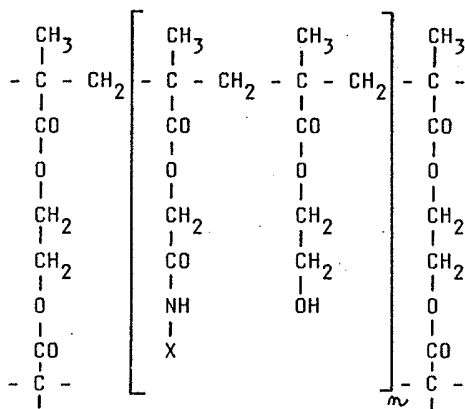
Príklad 4

Postupuje sa ako v príklade 1 s tým rozdielom, že sa aktivovaný gél pridá do 50 ml $0,05 \text{ mol.l}^{-1}$ roztoku α -D-manopyranozylamínu. Obsah manózy $0,1 \text{ mmol}$ na gram suchého nosiča, čo je 30 %-ná konverzia.

Vynález má využitie v molekulárnej biológii, biotechnológii a medicíne pri izolácii špecifických lektínov a glykozidáz, ako i v diagnostike.

P R E D M E T V Y N Á L E Z U

N-glykozylyl deriváty karboxymetyl-glycidylmetakrylátu všeobecného vzorca



kde X znamená hexózu, pentózu alebo tetrózu.