

О. Г. Коваленко, О. С. Шашков, В. М. Васильєв, Т. А. Телегєєва

СТРУКТУРНІ ОСОБЛИВОСТІ ТА БІОЛОГІЧНА АКТИВНІСТЬ МАНАНІВ *CANDIDA SPEC.* Н\*

З використанням методів метилювання, періодатного окислення (деградація за Смітом) і спектроскопії  $^{13}\text{C}$ -ЯМР вивчали структурні особливості мананів, продукованих трьома представниками *Candida spec.* Показано, що манан *C. tropicalis* являє собою сильно розгалужений ланцюг, манопіранозні залишки якого пов'язані між собою глікозидними зв'язками типу  $\alpha(1\rightarrow2)$ ,  $\alpha(1\rightarrow3)$  і  $\alpha(1\rightarrow6)$ . Основну частину полімеру (більше 40 %) складають  $\alpha(1\rightarrow2)$ -зв'язки, локалізовані у бічних відгалуженнях головного ланцюга, зв'язаного  $\alpha(1\rightarrow6)$ -зв'язком. Аналогічні типи зв'язків знайдено і в інших мананів *Candida spec.*

Періодатне окислення мананів призводить до повної або часткової (в залежності від концентрації періодату) деградації вуглецевого ланцюга  $\alpha(1\rightarrow2)$ -,  $\alpha(1\rightarrow2)\alpha(1\rightarrow6)$ -зв'язаної манопіранози та втрати антивірусної активності мананів. Встановлено, що біологічна активність мананів *Candida spec.* обумовлена особливостями їх хімічної будови, зокрема, розгалуженістю ланцюга, наявністю  $\alpha(1\rightarrow2)$ - і  $\alpha(1\rightarrow2)\alpha(1\rightarrow6)$ -зв'язаної манопіранози, яка містить гідроксильні групи біля 3-го і 4-го вуглецевих атомів.

**Вступ.** Поряд з білками та нуклеїновими кислотами полісахариди є невід'ємними складовими компонентами кожної клітини і виконують її життєво важливі функції. Завдяки великій різноманітності моносхаридного складу та хімічних зв'язків між складовими полімеру, а також високій здатності до хімічних модифікацій ці сполуки набувають все більшої поширеності у фундаментальних дослідженнях, зокрема при вивченні взаємозв'язку структури і функції біополімерів. Поміж полісахаридів різного походження особливим інтересом дослідників користуються манани дріжджових організмів, які не лише є носіями таких важливих функцій останніх, як міжклітинна взаємодія, антигенна специфічність, захист і взаємодія з факторами зовнішнього середовища, але й в ізольованому стані проявляють різнобічні активності, зокрема, антигенну, лектинозв'язуючу, антибактеріальну, антивірусну, антибластомну та ін.

В результаті багаторічних досліджень дріжджових мананів різної будови як антифітотвірусних чинників нами було встановлено [1], що найактивнішими щодо вірусу тютюнової мозаїки (ВТМ) та інших вірусів рослин є розгалужені манани (РМ), які продукуються різними видами дріжджів *Candida spec.* Н. Згідно з існуючими даними [2, 3], ці речовини, подібно до мананів з дріжджів роду *Saccharomyces* [4], являють собою сильно розгалужені полімери, у головному ланцюгу яких манопіранозні залишки пов'язані між собою  $\alpha(1\rightarrow6)$ -, у бокових ланцюгах —  $\alpha(1\rightarrow2)$ - та  $\alpha(1\rightarrow3)$ -глікозидними зв'язками. Оскільки РМ виявилися активнішими інгібіторами інфекції, спричинюваної ВТМ у надчутливих до нього рослин, ніж лінійний  $\beta(1\rightarrow3)\beta(1\rightarrow4)$ -зв'язаний манан *Rhodotorula rubra* та одержані на його основі мананосульфати, і інгібіторна активність РМ блокувалася конканаваліном А, було зроблено припущення про те, що антивірусна і лектиносполучна властивості розгалужених мананів обумовлені вільними ОН-групами при 4-му вуглецевому атомі нередукуючих манопіранозних залишків у бокових

\* Роботу фінансовано з фонду фундаментальних досліджень ДКНТ України.

ланцюгах полімеру [5], пов'язаних між собою переважно  $\alpha(1\rightarrow2)$ -глікозидним зв'язком [2, 3, 6]. Причому для вираження цих властивостей РМ, очевидно, мають значення і інші елементи їх структури, зокрема розгалуження ланцюга  $\rightarrow$ Man<sub>1</sub> $\rightarrow$ , позаяк найдовший боковий ланцюг (пентасахарид), вилучений із полісахариду завдяки ацетолізу, сам по собі антивірусної активності не мав [7]. Для виявлення останньої необхідно було мати довжину фрагментів принаймні 6—10 манопіранозних залишків [1].

Метою цієї роботи є подальше вивчення взаємозв'язку структури і біологічної активності РМ, зокрема, характеристика типів глікозидних зв'язків манану *C. tropicalis* К-41, а також кореляції цих ознак у інтактних та частково окислених і фрагментованих мананів із дріжджів *Candida spec. Н.*

**Матеріали і методи.** Препарати мананів із клітин *C. tropicalis* К-41 (далі — МК-41) і плазмолізатів кормових дріжджів *C. maltosa* (МКМ) та *Candida spec. Н.* (МК) одержували за методиками, описаними раніше [8]. Манани додатково очищали гель-хроматографією на колонках (2,5×90 см) з Тоурpearl НW55 («Тоуо Soda MFG», Японія), зрівноважених 0,1 М піридин-ацетатним буфером, рН 3,8. Полісахаридні компоненти з колонки елюювали тим же буфером із швидкістю 1,5—2 мл/хв. Фракції по 5 мл збирали автоматичним колектором фракцій («Mufet», Угорщина) і аналізували в них вміст редуруючих речовин антроновим методом. Продукти реакції реєстрували спектрофотометрично при 610 нм.

Моносахаридний склад мананів визначали після гідролізу їх у 2 н. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (2 год, 100 °С) методом ГЖХ на хроматографі Chrom 5 (ЧСФР), як вказано в роботі [9]. Метилювання манану МК-41 здійснювали за методикою, описаною у роботі [10]. Продукти метанолізу аналізували за допомогою ГЖХ, застосовуючи для цього колонки довжиною 1 м з 15 %-м бутан-1,4-діолсукцинатом на целіті 545. Газом-носієм був гелій. Метилманозиди ідентифікували за часом виходу їх з колонки, порівнюючи з таким у відповідних стандартних речовин.

Періодатне окислення мананів проводили в 0,1 М Na-ацетатному буфері, рН 7,5—8,0, за допомогою різних концентрацій NaJO<sub>4</sub> (від 0,02 М розчинів у попередніх дослідженнях до 0,2—4 моль/моль полісахариду — у заключних) при 4—12 °С у темряві. Реакцію окислення контролювали за витратою JO<sub>4</sub><sup>-</sup>, концентрацію якого вимірювали спектрофотометрично при 222 нм, як у роботі [7]. Реакцію зупиняли додаванням до суміші етиленгліколю. Окислені продукти очищали діалізом проти дистильованої води і відновлювали NaBH<sub>4</sub>, надлишок якого в суміші після завершення реакції руйнували 0,1 н. оцтовою кислотою. Випарений насухо препарат окисленого манану піддавали частковому гідролізу 0,1 н. HCl. Після нейтралізації кислоти хроматографували на колонці (1,5×48 см) з Тоурpearl НW55 та рехроматографували на колонці з Тоурpearl НW40. Молекулярну масу окислених фрагментів манану визначали за допомогою гель-хроматографії на колонці з Тоурpearl НW55, як описано вище, використовуючи декстрані різних молекулярних мас (10 000—70 000) як стандарти.

Спектри <sup>13</sup>C-ЯМР інтактних і окислених періодатом мананів одержували на спектрофотометрі Bruker WM-250 у 3 %-х розчинах полісахаридів в D<sub>2</sub>O при 343 К. Хімічні зсуви сигналів атомів вуглецю вимірювали відносно диметилсульфоксиду (40,5 м. ч.) як внутрішнього стандарту. Віднесення сигналів С-атомів здійснювали за даними [3].

Антивірусну активність інтактного манану та його похідних визначали в дослідях з ВТМ на дурмані, як і раніше [7].

**Результати и обговорення.** Гель-хроматографія препаратів МК-41 та МК, очищених за допомогою реактиву Фелінга, показала (рис. 1), що вони негомогенні і містять у собі по два компоненти різної молекулярної маси. Компонент Б обох препаратів мав приблизно однако-

вий об'єм на виході з колонки і являв собою полімер з молекулярною масою близько 35 000. За моносахаридним складом компоненти А і Б були також неоднакові (табл. 1). Так, у компонента А вміст манози був вищий (87—94 %), ніж у компонента Б (79—87 %); вміст глюкози, навпаки, вищий у Б- і менший у А-компонента. Крім основних моносахаридів, у препаратах МК-41 і МК виявлені незначні домішки галактози, а також рамнози. Частково очищені препарати за моносахаридним складом дещо відрізнялися від хроматографічно чистих, зокрема

по глюкозі, що може свідчити про домішки в них іншого полісахариду — глюкану. У противагу наведеному даним препарат МКМ, очищений через утворення мідно-мананового комплексу, за моносахаридним складом виявився досить гомогенним і на 97,4 % складався з манози.

Оскільки основним об'єктом на-

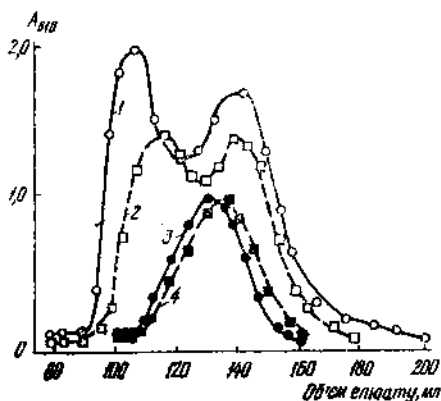


Рис.1. Гель-хроматографія та рехроматографія мананів *C. tropicalis* (МК-41) (1, 3) та *Candida spec.* (МК) (2, 4) на колонці з Toyopearl HW55: А- і Б-компоненти

ших досліджень слугував МК-41, а його структурна характеристика була маловідомою [6], виникла необхідність більш детального вивчення його будови. Для цього нами було використано три різних методи дослідження: а) періодатне окислення манану з наступним частковим кислотним гідролізом та аналізом продуктів окислення методом ГЖХ; б) метильювання манану і аналіз метанолізатів тим же методом; в) спектроскопію  $^{13}\text{C}$ -ЯМР.

Раніше [6] було встановлено, що повне окислення МК-41 0,02 М  $\text{NaIO}_4$  завершувалося за 72 год. Аналіз продуктів періодатного окислення манану показав, що переважну більшість серед них становить гліцерин — 93 %; лише незначна кількість манози (7 %) виявилася стійкою до дії періодату, і після відновлення боргидридом натрію та часткового гідролізу окисленого продукту вона утворювала маніт. Одержані дані свідчать про те, що в МК-41 маноза зв'язана переважно чутливими до періодату  $\alpha(1\rightarrow2)$ - та  $\alpha(1\rightarrow6)$ -глікозидними зв'язками і лише 7 % її загальної кількості —  $\alpha(1\rightarrow3)$ -зв'язком.

Аналіз продуктів метанолізу метильованого МК-41 підтвердив попередні дослідження (табл. 2). Виявилось, що основну масу метанолізату складають 3,4,6-три-О-метил- $\alpha$ -D-манопіранозид, який відповідає

Таблиця 1

Моносахаридний склад препаратів манану, виділених з дріжджів *Candida spec.*

Моносахарид	МК-41				МК			МКМ	
	Частково очищений	Хроматографічний компонент		Частково очищений	Хроматографічний компонент		Частково очищений	Очищений через мідно-манановий комплекс	
		А*	Б*		А*	Б*			
Маноза	84,8	94,4	88,6	52,1	86,7	79,1	70,0	97,4	
Глюкоза	15,2	2,3	10,3	37,2	6,2	10,2	12,9	2,6	
Галактоза	сліди	0,7	1,2	9,84	5,7	8,8	—	—	
Рамноза	сліди	2,6	—	0,8	1,4	1,9	—	—	
Арабіноза	—	—	—	—	—	—	14,3	—	
Рибоза	—	—	—	—	—	—	2,8	—	

Примітка. Прочерк означає, що моносахариду не виявлено. \* А і Б — компоненти мананів, одержані гель-фільтрацією на колонках з Toyopearl HW55.

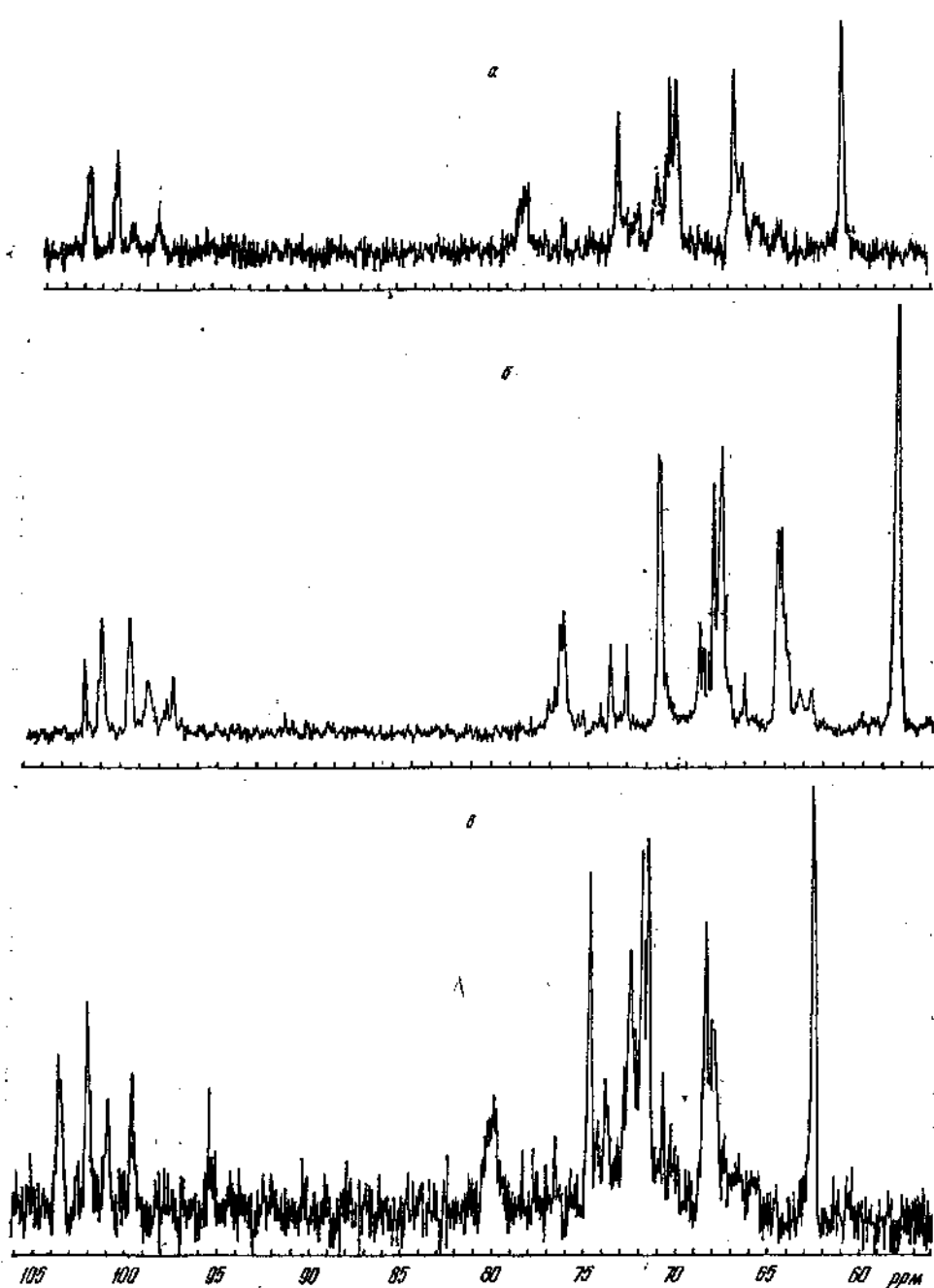


Рис. 2. Спектри  $^{13}\text{C}$ -ЯМР мананів *C. tropicalis* (МК-41) (а), *C. maltosa* (МКМ) (б) та *Candida spec.* (МК) (в)

$\alpha(1\rightarrow2)$ -зв'язаній манозі полімеру, та 2,4,6-три-О-метил- $\alpha$ -D-манопіранозид, який на ГЖ-хроматограмі не відділився від попереднього метилманозиду і йшов з ним одним асиметричним піком. Останній утворився з  $\alpha(1\rightarrow3)$ -зв'язаної манози і, враховуючи результати періодатного окислення МК-41, складає не більше 7 % від суми його метанолізатів. Біля 22 % кількості метанолізатів становить 3,4-ди-О-метил- $\alpha$ -D-манопіранозид і 28 % — 2,3,4,6-тетра-О-метил- $\alpha$ -D-манопіранозид, що утворилися з манозильних залишків, заміщених у 2-му і 6-му положенні вуглецевих атомів, тобто розгалужень ланцюга  $\rightarrow\text{Man}\begin{matrix} 6 \\ \uparrow \\ 2 \end{matrix}$ , і кінцевих манозильних залишків. Переважання другого манопірано-

зиду над першим означає, по-перше, що кожний манопіранозний залишок у головному ланцюзі має відгалуження бокового ланцюга або ланки; по-друге, що, крім розгалужень у головному ланцюзі, можуть бути і інші розгалуження, зокрема у бокових ланцюгах полімеру [2].

Таким чином, манан *C. tropicalis* за хімічною будовою близький до інших мананів із дріжджів родів *Candida* і *Saccharomyces* [2—4]. До структурних особливостей даного манану можна віднести, в першу чергу, сильну розгалуженість первинної структури полімеру, що, очевидно, і обумовлює його високу антивірусну активність [1]. Щодо вмісту в манані міnorних компонентів (глюкози, галактози і рамнози), то він залежить не лише від виду продуцента, але й способу екстракції полісахаридів [2, 9].

Порівняльне вивчення структури полімерів МК-4I, МК і МКМ методом спектроскопії  $^{13}\text{C}$ -ЯМР дало змогу встановити ідентичність хімічних зсувів  $^{13}\text{C}$  у спектрах і, значить, ідентичність глікозидних зв'язків між манопіранозними залишками (рис. 2). В найбільш слабгопольній області спектрів виявлено чотири сигнали, характерні для  $\alpha$ -мананів [3]. Три сигнали, скоріш за все, відповідають С-1-атомам кінцевих (103,0; 103,5 і 103,6 м. ч.), 2-моно- (102,0; 102,1 і 101,6 м. ч.) та 2,6-дізамішених (99,5 і 99,8 м. ч.) залишків манопіранози. Останні зв'язані між собою в полімерах відповідно  $\alpha(1\rightarrow2)$ - та  $\alpha(1\rightarrow6)$ -глікозидними зв'язками.  $\alpha(1\rightarrow3)$ -Зв'язаній манопіранозі належать сигнали С-1-атома: 103,1; 103,5 та 103,6 м. ч.

Орієнтовне віднесення хімічних сигналів С-2 — С-6-атомів наведено в табл. 3. Слід зазначити, що інтерпретація багатьох з них ус-

Таблиця 2

Метилглікозиди в метанолізатах метильованого препарату МК-4I

Метилглікозид	Вміст, %	Відповідний глікозидний зв'язок у полімері
2,3,4,6-тетра-О-метил- $\alpha$ -D-манопіранозид	28	Man $\xrightarrow{1}$
3,4,6-три-О-метил- $\alpha$ -D-манопіранозид*	50	$\xrightarrow{2}$ Man $\xrightarrow{1}$
2,4,6-три-О-метил- $\alpha$ -D-манопіранозид*		$\xrightarrow{3}$ Man $\xrightarrow{1}$
3,4-ди-О-метил- $\alpha$ -D-манопіранозид	22	$\xrightarrow{6}$ Man $\xrightarrow{1}$ 12

\* На ГЖХ зареєстровано одним асиметричним піком.

Таблиця 3

Віднесення сигналів (м. ч.) в спектрах  $^{13}\text{C}$ -ЯМР мананів *Candida spec.*

Манан	Манопіранозний залишок	С-1	С-2	С-3	С-4	С-5	С-6
МК-4I		103,6	71,5	71,7	69,7	74,3	62,6
МК	Man $\xrightarrow{1}$	103,5	71,5	71,7	69,7	74,5	62,4
МКМ*		103,0	71,6	71,6	—	—	62,2
МК-4I		—	79,9	71,5	67,8	72,3	66,5
МК	$\xrightarrow{6}$ Man $\xrightarrow{1}$	99,5	79,9	71,	67,8	72,3	66,5
МКМ*	12	99,4	79,4	71,2	—	72,3	66,5
МК-4I		102,1	79,7	70,8	67,5	74,4	62,6
МК	$\xrightarrow{2}$ Man $\xrightarrow{1}$	102,0	79,7	70,6	67,9	—	62,4
МКМ*		101,6	79,2	70,7	67,9	74,3	62,2
МК-4I		103,5	—	80,4	—	—	62,6
МК	$\xrightarrow{3}$ Man $\xrightarrow{1}$	103,6	—	80,4	—	—	62,4
МКМ*		103,1	—	80,3	—	—	62,2

\* Спектр містить також сигнали 103,95; 76,8; 76,1; 70,9; 70,0, нехарактерні для  $\alpha$ -мананів.

кладнювалася присутністю у  $^{13}\text{C}$ -ЯМР-спектрі полімеру МКМ сигналів, нехарактерних для дріжджових  $\alpha$ -мананів [3]. Можна припустити, що ці сигнали обумовлені домішками в препараті  $\alpha$ -глюкозану або ж  $\alpha$ -D-глюкозою як структурною одиницею полімеру [2]. У цілому дані спектроскопії  $^{13}\text{C}$ -ЯМР підтвердили результати, одержані при періодатному окисненні та метанолізі МК-41, і були необхідними для подальших досліджень взаємозв'язку структури і антивірусної активності мананів.

Для вирішення останнього завдання ми застосували підхід, який полягав у зіставленні структурних характеристик і антивірусної активності інтактних і частково окислених періодатом мананів з різним ступенем деградації глікозидних зв'язків. Оскільки чутливим до періодату є  $\alpha(1\rightarrow2)$ - та  $\alpha(1\rightarrow6)$ -зв'язки, а стійким —  $\alpha(1\rightarrow3)$ -зв'язок [11], і окислення 1,2-діольних груп в манопіранозних залишках, з'єднаних

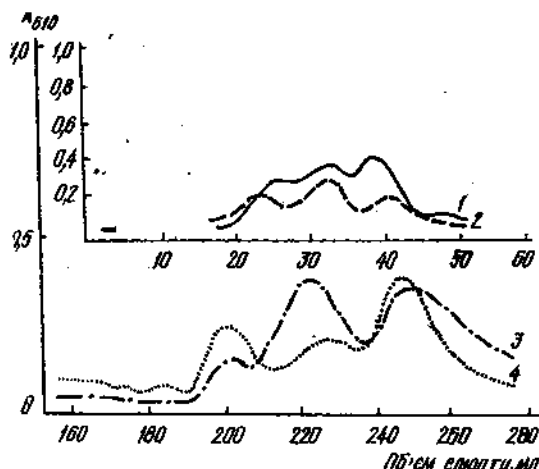


Рис. 3. Гель-хроматографія продуктів часткового кислотного гідролізу окисленого періодатом манану *S. tropicalis* (МК-41) на колонці з Тоурреарі HW55. Обробку манану 0,02 М  $\text{NaJO}_4$  здійснювали протягом 6 (1), 9 (2), 12 (3) та 24 (4) год

між собою  $\alpha(1\rightarrow2)$ -зв'язком, відбувається в 2 рази меншою кількістю періодату, ніж 1,2,3-тріольних груп в залишках, з'єднаних  $\alpha(1\rightarrow6)$ -зв'язком [12], то при дії періодату на  $\alpha$ -манани першими повинні порушуватися  $\alpha(1\rightarrow2)$ -зв'язані манопіранозні залишки у бокових ланцюгах полімерів.

Попередніми дослідженнями показано, що окислення хроматографічного компонента Б полімеру МК-41 0,02 М  $\text{NaJO}_4$  протягом 12 і 24 год і наступний частковий кислотний гідроліз продукту призводять до утворення принаймні трьох фракцій полімеру різної молекулярної маси (рис. 3). Рехроматографія найбільшої за об'ємом фракції III (6000—8000) продуктів 12- та 24-год окислення періодатом на колонці з Тоурреарі HW40 засвідчила її однорідність. Проте лише при 12-год окисненні полімеру дещо зберігалася антивірусна активність цієї фракції, при 24-год вона повністю зникла.

Далі було встановлено, що 6- та 9-год окислення МК-41 надлишком 0,02 М  $\text{NaJO}_4$  також призводить до утворення трьох фракцій з молекулярною масою від 8000 до 20 000. Однак антивірусна активність цих фракцій була низькою, що могло бути результатом значної, якщо не повної, деградації 1,2-діольних груп у полімері. Тому в подальших дослідях для одержання препаратів частково окисленого манану ми пішли шляхом лімітування кількості окислювача, розраховуючи її на 1 моль полісахариду. Випробували дію 0,2; 0,5; 1, 2, 3 та 4 моль на 1 моль МКМ. Отримані окислені похідні після часткового кислотного гідролізу та очистки від низькомолекулярних продуктів аналізували на наявність інтактних глікозидних зв'язків і антивірусної активності. Результати цих досліджень наведено на рис. 4.

Як видно з діаграми (рис. 4), антивірусна активність зберігалася при дії 0,2 М, частково порушувалася — при 0,5—1 М і майже повністю зникла при дії 2 М  $\text{NaJO}_4$  на 1 моль полісахариду. Порівняння спектрів  $^{13}\text{C}$ -ЯМР у найінформативнішій області (атомів С-1) показує

(на рис. 4, праворуч), що при зростанні концентрації періодату поступово зменшується відносна інтенсивність сигналів 99,4; 99,8; 100,7 м. ч. і особливо 101,6 та 101,3 м. ч., але збільшується інтенсивність сигналу 103,95, нехарактерного для  $\alpha$ -мананів. Одержані дані свідчать про порушення під впливом періодату в першу чергу кінцевих манопіранозних залишків, з'єднаних з наступними залишками в ланцюзі  $\alpha(1\rightarrow2)$ -зв'язком (103,1 м. ч.), та залишків, розміщених у середині бокових ланцюгів і заміщених також у положенні С-2 (101,6 м. ч.). Ці зміни у

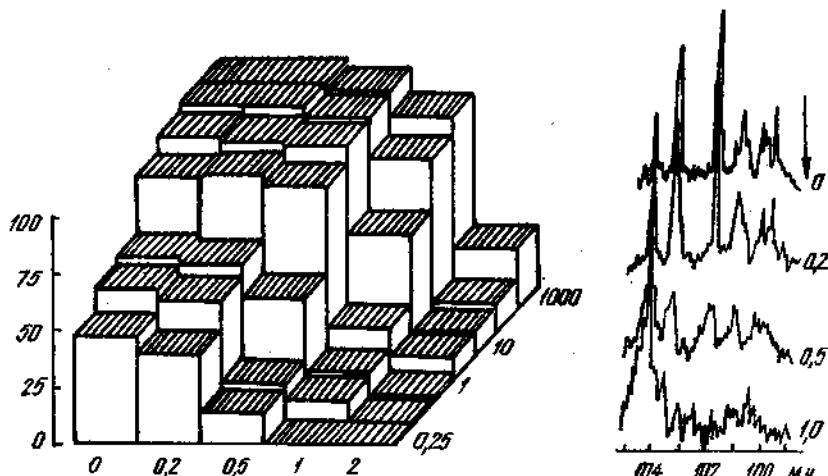
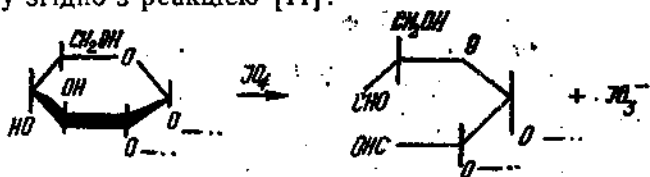


Рис. 4. Антивірусна активність і  $^{13}\text{C}$ -ЯМР-спектральні характеристики (слабопольна область сигналів С-1) інтактного манану *S. maltosa* та продуктів часткового гідролізу його періодатокислених похідних. По осі  $Oy$  — пригнічення інфекційності ВТМ на листках дурману (%); по осі  $Ox$  — концентрація  $\text{NaJO}_4$ , яку використано для окислення манану (моль/моль полісахариду); по осі  $Oz$  — концентрація манану та його похідних в інокулюмі (мкг/мл). Праворуч спектрів наведено концентрацію періодату, необхідну для одержання відповідних окислених похідних (моль/моль)

структурі полімеру корелюють з початковою стадією втрати в них біологічної активності, яка спостерігається при обробці препарату 0,5 М  $\text{NaJO}_4$ . При подальшому збільшенні кількості оксиданту порушуються і інші структурні елементи полісахариду, зокрема мономери, заміщені в положенні С-6 (100,7 м. ч.), які знаходяться у розгалуженнях

→Map→.  
 $\uparrow^2$   
 Як згадувалося вище, періодат, зберігаючи полімерність молекули, порушує 1,2-діольні групи вуглецевого ланцюга, в результаті чого у положеннях С-3 та С-4 манопіранозних залишків, з'єднаних між собою  $\alpha(1\rightarrow2)$ - та  $\alpha(1\rightarrow6)$ -глікозидними зв'язками, порушується структура манану згідно з реакцією [11]:



Тому окислені періодатом похідні мананів не мають антивірусної активності. Крім того, в досліджених нами дріжджових мананів  $\alpha(1\rightarrow6)$ -зв'язані манопіранозні залишки, заміщені у положенні С-2 такими, що знаходяться у бокових ланцюгах полімеру, також можуть бути окислені періодатом. У зв'язку з цим можна припустити, що розгалуження  $\rightarrow\text{Map}\rightarrow$  мають безпосереднє значення для надання полімерам антивірусних властивостей, а також виконують допоміжну роль, забезпечуючи розгалуженість ланцюга — умови, необхідної для вираження антивірусної активності дріжджових  $\alpha$ -мананів [1].

Таким чином, проведені дослідження переконливо свідчать про те, що біологічна активність розгалужених  $\alpha(1\rightarrow2)\alpha(1\rightarrow3)\alpha(1\rightarrow6)$ -зв'язаних мананів з дріжджів *Candida spec.* обумовлена їх структурними особливостями, зокрема, сильною розгалуженістю манопіранозного ланцюга та високим вмістом  $\alpha(1\rightarrow2)$ -глікозидних зв'язків. Доведено вирішальну роль  $\alpha(1\rightarrow2)$ - та  $\alpha(1\rightarrow2)\alpha(1\rightarrow6)$ -зв'язаних манопіранозних ланок, що мають біля С-3 і С-4 вільні ОН-групи.

Автори щиро вдячні д-ру Г. А. Вітовській за допомогу в одержанні метильованого манану та аналіз продуктів метанолізу.

A. G. Kovalenko, A. S. Shashkov, B. N. Vasiljev, T. A. Telegeeva

#### THE STRUCTURAL FEATURES AND BIOLOGICAL ACTIVITY OF CANDIDA SPEC. YEAST MANNANS

##### Summary

The structural peculiarities of mannans, produced by three representatives of *Candida sp.* were studied by methods of methylation, periodic oxydation (degradation by Smith) and  $^{13}\text{C}$ -NMR spectroscopy. It had been shown that mannan from *C. tropicalis* exhibits the chained polymer in which mannopyranosyl residues are linked by  $\alpha(1\rightarrow2)$ ,  $\alpha(1\rightarrow3)$ - and  $\alpha(1\rightarrow6)$ -glycosyl bonds. The analogous bonds were detected in other mannans from *Candida*.

The periodic oxydation leads to full or partial degradation of carbon chains and loss of mannan antiviral activity. It had been stated that the biological activity of mannans depends on their chemical structure, especially the chain branching, presence of  $\alpha(1\rightarrow2)$ - and  $\alpha(1\rightarrow2)\alpha(1\rightarrow6)$ -linked mannopyranosa with OH-groups at 3 and 4 carbon atoms.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Kovalenko A. G. Antivirale Eigenschaften mikrobieller Polysaccharide — ein Überblick // Zbl. Mikrobiol.— 1987.— 142.— S. 301—310.
2. Grimmecke H.-D., Reuter G. Struktur der Zellwandpolysaccharide in der Futereiwiehefe *Candida spec.* H. 5. Die komplexe Struktur des Proteophosphomannans // Biochem. Physiol. Pflanzen.— 1980.— 175.— S. 781—788.
3. Кочин П., Маслер Л., Шандула Й. и др. Изучение строения дрожжевых  $\alpha$ -D-маннанов методом спектроскопии  $^{13}\text{C}$ -ЯМР // Биоорг. химия.— 1984.— 10, № 4.— С. 536.
4. Bailou C. E. Yeast cell wall and cell surface // The mol. biol. of the yeast *Saccharomyces*. Metabolism and gene expression.— New York: Cold Spring Harbor Lab., 1982.— P. 335—360.
5. Коваленко А. Г., Коваленко Э. А., Грабина Т. Д. Лектинсвязывающая и антивирусная активность дрожжевых маннанов в сверхчувствительных растениях // Микробиол. журн.— 1991.— 53, № 2.— С. 83—89.
6. Коваленко А. Г., Васильев В. Н., Шашков С. А. Антивирусные свойства и некоторые структурные особенности маннана, выделенного из клеток *Candida tropicalis* K-41 // V съезд Укр. микробиол. о-ва: Тез. докл.— Киев: Наук. думка, 1980.— С. 222—223.
7. Коваленко А. Г., Васильев В. Н., Grimmecke H.-D. Антивирусная активность продуктов ацетализа и периодатного окисления дрожжевого маннана // Микробиол. журн.— 1984.— 46, № 2.— С. 67—69.
8. Коваленко О. Г., Баркалова А. О. Одержання біологічно активних мананвмісних препаратів з дріжджів // Там же.— 1995.— 56, № 3.— С. 41—47.
9. Коваленко А. Г., Васильев В. Н., Воцелко С. К. Исследование антивирусных веществ, продуцируемых дрожжами *Candida tropicalis* K-41. II. Физико-химическая характеристика препаратов // Там же.— 1978.— 40, № 6.— С. 767—772.
10. Елинов Н. П., Витовская Г. А. Внеклеточные полисахариды, продуцируемые дрожжевыми организмами рода *Rhodotorula* // Биохимия.— 1970.— 35, № 6.— С. 1187—1192.
11. Джонс Дж. К. Н., Перри М. Б. Разрыв связи углерод — кислород. Деградация полисахаридов // Установление структуры орг. соединений физ. и хим. методами.— М.: Химия, 1967.— Кн. 2.— 800 с.
12. Hay G. M., Lewis B. A., Smith F. Periodate oxydation of polysaccharides: general procedures // Meth. Carbohydr.— 1965.— 5.— P. 357—361.

Ін-т мікробіології і вірусології  
ім. Д. К. Заболотного НАН України, Київ  
Ін-т орг. хімії ім. Н. Д. Зелінського РАН, Москва

Одержано 10.11.94