

ČESKOSLOVENSKÁ
SOCIALISTICKÁ
REPUBLIKA
(19)



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU K AUTORSKÉMU OSVEDČENÍU

231544
(11) (B1)

(51) Int. Cl.³
C 07 H 3/02

(22) Prihlášené 01 06 83
(21) {PV 3908-83}

(40) Zverejnené 15 02 84

(45) Vydané 15 12 86

(75)

Autor vynálezu

KUBALA JOZEF ing., ČAPLOVIČ JÁN ing., ŠVEC JOZEF ing.,
BRATISLAVA

(54) Spôsob prípravy L-glukózy a L-manózy

1

2

Vynález sa týka spôsobu prípravy L-glukózy a L-manózy. Podstata vynálezu spočíva v tom, že sa zmes L-glukózy, L-manózy a L-arabinózy, ktorá vzniká pri nitrometánovej syntéze z L-arabinózy selektívne rozdelí pomocou silne kyslého vymieňača kationov vo vápenatej forme. Ako eluačné činidlo sa použije 40 až 60 % vodný roztok etylalkoholu. Čisté frakcie L-glukóza a L-manóza sa po zahutnení a odfarbení aktívnym uhlím jednotlivo zahustia na rotačnej odparke a z etylalkoholu vykryštalizujú. Vynález má rozsiahle použitie pri štúdiu biochemických pochodov, v medicíne, pri príprave nových nukleozidov.

Vynález sa týka prípravy kryštalickej L-glukózy a L-manózy zo zmesi cukrov po nitrometanovej syntéze L-arabinózy.

L-glukóza a L-manóza sú hexózy vzácné sacharidy, ktoré sa v prírode nenachádzajú a preto sa pripravujú synteticky. Najstaršou a najznámejšou metódou prípravy je tzv. kyanhydrinová syntéza. Aldózy poskytujú pôsobením kyanovodíka kyanhydríny aldóz ich kyslou hydrolýzou vznikajú aldónové kyseliny, ktoré sa prevedú na laktón a v tejto forme redukujú napr. sodíkovým amalgámom za vzniku aldózy a jeden uhlíkový atóm. Tak vzniká z L-arabinózy L-glukóza a L-manóza [C. S. Hudson: Adv. Carbohydr. Chem. 1, 1 (1945); E. Fischer: Ber. 22, 2204 (1889)]. Najvhodnejšou metódou prípravy L-glukózy a L-manózy je kondenzácia L-arabinózy s nitrometanom v prítomnosti metylátu sodného. Pri tejto syntéze vzniká kryštalická zmes sodných solí 1-deoxy-1-nitro-L-glucitolu a 1-deoxy-1-nitro-L-manitolu, ktoré pomocou katalyzátora kyseliny sírovej alebo peroxida vodíka sa rozkladajú za vzniku L-glukózy a L-manózy [J. C. Sowden, H. O. L. Fischer: J. Am. Chem. Soc. 67, 1963 (1947); J. C. Sowden: Methods Carbohydr. Chem. L. 132 (1962); V. Bílik: Coll. Czech. Chem. Commun. 39, 1621 (1974)]. V preparatívnom množstve sa L-glukóza a L-manóza pripravuje z čistých kryštalických látok 1-deoxy-1-nitro-L-glucitolu a 1-deoxy-1-nitro-L-manitolu získaných frakčnou kryštalizáciou s acetonom [J. C. Sowden, H. O. L. Fischer: J. Am. Chem. Soc. 67, 1963 (1947); J. Kubala a kol.: Coll. Czech. Commun. v tlačí]. Alebo sa využíva priamy rozklad sodných solí, kde L-manóza sa izoluje vo forme fenylyhydrazónu a po uvoľnení sa katalyticky epimerizuje pomocou molybdenanových iónov na L-glukózu [Čs. AO 149463]. Uvedená metóda prípravy L-glukózy a L-manózy kyanhydrinovou syntézou je značne komplikovaná pre náročnosť viac stupňovej syntézy a má len teoretický význam v porovnaní so spôsobom prípravy kondenzácie s nitrometanom. Pri príprave L-glukózy, resp. L-manózy z čistých 1-deoxy-1-nitro-L-glucitolu a 1-deoxy-1-nitro-L-manitolu výstupu je obmedzujúci faktor ich vzájomnej preferenčnej kryštalizácie zo zmesi v prospech 1-deoxy-1-nitro-L-manitolu. Pri priamom rozklade zmesi sodných solí 1-deoxy-1-nitro-L-glucitolu a 1-deoxy-1-nitro-L-manitolu izolácia L-manózy pomocou fenylyhydrazínu je sťažená tým, že získaná zmes vždy obsahuje veľké množstvo L-arabinózy, čím príprava nedosahuje uspokojivé výťažky a navyše fenylyhydrazín je nebezpečný jed.

Uvedené nevýhody v podstatnej miere odstraňuje spôsob prípravy L-glukózy a L-manózy podľa vynálezu, ktorého podstata spočíva v tom, že sa zmes cukrov uvoľnených po nitrometanovej syntéze selektívne rozdelí pomocou silne kyslého vymieňača kationov vo vápenatej forme. Ako eluačné činidlo sa použije vodný roztok 40 až 60 % etyl-

alkoholu. Frakcie L-glukózy a L-manózy sa zahustia na rotačnej odparke na sirup a z etylalkoholu vykryštalizujú.

Výhodou navrhovaného spôsobu prípravy L-glukózy a L-manózy oproti doterajším postupom prípravy je, že predmetný spôsob prípravy dovoľuje vyrobiť obidva sacharidy v jednom stupni. Je zdravotne nezávadný, hospodárnejší, umožňuje pracovať v jednoduchých zariadeniach, ktoré sú bežne dostupné. Umožňuje pracovať bez látok, ktoré znečisťujú životné prostredie ako fenylyhydrazín, ktorý ako zvlášť nebezpečný jed je karcinogénnou látkou a jeho odstránenie v prevádzkovom merítke je nákladné, vyžaduje si špeciálne zariadenie. Vyrobené produkty L-glukóza a L-manóza sa získajú vo vysokej čistote.

Príklad 1

Silno kyslý vymieňač kationov (Dowex 50 wx 8 0,07 až 0,13 mm) sa naplní do kolóny dĺžky 100 cm a priemeru 2,5 cm postupne sa premýva 10 % kyselinou chlorovodíkovou (1000 ml) po dobu 24 h. Ionomenič sa premyje destilovanou vodou do neutrálnej reakcie pH 7 (5000 ml). Aktivácia iontomeniča do vápenatej formy sa uskutoční 20 % roztokom chloridu vápenatého (2000 ml) a po 24 h sa nadbytočné ióny vymyjú destilovanou vodou do negatívnej reakcie na chloridy (5000 ml). Zmes cukrov 26 % L-glukózy, 71 % L-manózy a 3 % L-arabinózy (5 g) sa rozpustí v 40 % etylalkohole (10 ml) a nanesie na kolónu naplnenú silno kyslým vymieňačom kationov (Dowex 50 wx 8 0,07 až 0,13 mm vo vápenatej forme) s dĺžkou 100 cm a priemerom 2,5 cm. Ako eluačné činidlo sa použije 40 % etylalkohol. Pomocou zberača frakcií pri prieťoku 12 ml/h sa jednotlivé frakcie sledujú papierovou chromatografiou (chromatografický papier Whatman No 1) vzostupnou chromatografiou v sústave etylacetát, pyridín, voda v objemovom pomere 8 : 2 : 1 a detegujú alkalickým dusičnanom strieborným, alebo za pomoci kyseliny 3,5 dinitrosalicylovej spektrofotometricky. Frakcia 1 až 42 bola negatívna na cukry, frakcia 43 až 52 obsahovala L-glukózu, frakcia 53 až 56 bola negatívna na cukry, frakcia 57 až 68 obsahovala L-manózu, frakcia 69 až 90 bola negatívna na cukry a frakcia 91 až 93 obsahovala L-arabinózu. Frakcie, ktoré obsahovali L-glukózu a L-manózu sa jednotlivé zahustia na rotačnej odparke na sirup, prečistia prídavkom aktívneho uhlia (0,5 g) filtrujú a znovu zahustia na sirup L-glukóza (1,25 g), L-manóza (3,50 g). Prídavkom 96 % etylalkoholu (20 ml) vykryštalizuje L-glukóza (1,05 g) a L-manóza (3,0 g). Opakovanou kryštalizáciou matečných sirupov sa dosiahla výťažnosť L-glukózy 93,1 % (α)_D²⁰ — 52° [C = 5 H₂O], teplota topenia 141 až 143 °C a L-manózy 91,7 % (α)_D²⁰ —

14° (C = 5 H₂O), teplota topenia 130 až 132 °C.

Príklad 2

Postupuje sa ako v príklade 1, s tým rozdielom, že namiesto 40 % etylalkoholu sa použije 60 % etylalkohol. Získá sa 94 % výťažnosť L-glukózy (α)_D²⁰ — 53° (C = 5 H₂O),

teplota topenia 142 až 144 °C a L-manózy 92,5 % (α)_D²⁰ — 14,5° (C = 5 H₂O), teplota topenia 131 až 132 °C.

Vynález má rozsiahle využitie pri štúdiu biochemických pochodov, v medicíne, pri príprave nových nukleozidov v genetickom inžinierstve. L-glukóza a L-manóza patria medzi vzácne a ťažko dostupné sacharidy.

PREDMET VYNÁLEZU

Spôsob prípravy L-glukózy a L-manózy vyznačujúci sa tým, že sa zo zmesi L-glukózy a L-manózy a L-arabinózy, ktorá vzniká pri nitrometanovej syntéze z L-arabinózy pomocou silne kyslého vymieňača katió-

nov vo vápenatej forme za pomoci 40 až 60 % etylalkoholu ako eluačného činidla izoluje L-glukóza a L-manóza, ktorá po prečistení aktívnym uhlím a zahustení vykryštalizuje z etylalkoholu.