



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY  
A OBJEVY

# POPIS VYNÁLEZU K AUTORSKÉMU OSVEDČENÍU

**254694**  
(11) (B1)

(51) Int. Cl.<sup>4</sup>  
C 12 P 19/02

(22) Prihlášené 18 08 86

(21) (PV 6052-86.Z)

(40) Zverejnené 14 05 87

(45) Vydané 15 11 88

(75)

Autor vynálezu

ZEMEK JIŘÍ ing. CSc., LEHNICE, KUČÁR ŠTEFAN RNDr. CSc.,  
BRATISLAVA

(54) **Spôsob stereošpecifickej prípravy 1,6-anhydro-3,4-di-O-acetyl-  
-β-D-glukopyranózy**

1

2

Riešenie sa týka oboru chémie a biochémie sacharidov.

Rieši sa spôsob stereošpecifickej prípravy 1,6-anhydro-3,4-di-O-acetyl-β-D-glukopyranózy pôsobením buniek *Aureobasidium pullulans* CCY 27-1-14a. Uvedeného účelu sa dosiahne tým, že sa roztok 1,6-anhydro-2,3,4-tri-O-acetyl-β-D-glukopyranózy v citranyfosforečnanovom pufrí 0,01 až 0,05 mol. dm<sup>-3</sup> a pH 5,0 až 5,8 sa pôsobí suspenziou buniek alebo imobilizovanými bunkami *Aureobasidium pullulans*.

Využitie je v základnej chémii a biochémii sacharidov, predovšetkým pri príprave derivátov D-glukózy obmenených v polohe C-2, alebo k príprave disacharidov.

Vynález sa týka stereošpecifickej prípravy 1,6-anhydro-3,4-di-O-acetyl- $\beta$ -D-glukopyranózy.

1,6-anhydro- $\beta$ -D-glukopyranóza (levoglukoza) a jej acetylované deriváty sú vhodnými prekursorami pri príprave mnohých derivátov glukózy (dezoxycukry, amínocukry, tiocukry, disacharidy a pod.) a nachádzajú preto široké použitie ako čisté chemikálie, vhodné pre teoretické štúdium chémie a biochémie sacharidov. Doteraz využívaným spôsobom ich prípravy je priama acetylácia 1,6-anhydro-D-glukopyranózy [D. Shapiro, Y. Rabinsohn, A. J. Acher, A. Diver-Haber: J. Org. Chem. 35, 1464 (1970)], alebo chemická hydrolýza 2,3,4-tri-O-acetylderivátu [Š. Kučár, J. Zámocký, J. Zemek, D. Anderle, M. Matulová: Collection Czechoslov. Chem. Commun. 49, 1780 (1984)]. Nevýhodou uvedených spôsobov je nízka stereošpecificita reakcie, čo má za následok vo väčšine prípadov vznik zmesi mono- a di-acetyl-derivátov. Stereošpecifický spôsob prípravy 2,3-di-O-acetyl- a 2,4-di-O-acetyl-derivátov možno zabezpečiť použitím vybraných esteráz, lipáz alebo proteáz v rozpustnom alebo imobilizovanom stave [Čsl. AO č. 240 331; Čsl. AO číslo 240 333; J. Zemek, Š. Kučár, D. Anderle: Collection Czechoslov. Chem. Commun. (1985)]. Obdobný stereošpecifický spôsob prípravy 3,4-di-O-acetyl-derivátu levoglukózanu doteraz popísaný nebol.

Uvedené nedostatky v podstatnej miere odstraňuje postup podľa vynálezu, ktorého podstata spočíva v pôsobení suspenzie buniek *Aureobasidium pullulans* CCY 27-1-14a v 0,01 až 0,05 mól . dm<sup>-3</sup> citranovo-fosforečnanovom tlmivom roztoku o pH 5 až 5,8 pri teplote 20 až 40 °C na 1,6-anhydro-2,3,4-tri-O-acetyl- $\beta$ -D-glukopyranózu. Výťažok 1,6-anhydro-3,4-di-O-acetyl- $\beta$ -D-glukopyranózy v tejto reakcii je okolo 90 %. Z vedľajších produktov tejto deacetylačnej reakcie prevláda 1,6-anhydro-3-O-acetyl- $\beta$ -D-glukopyranóza, ktorej zastúpenie v reakčnej zmesi nepresahuje však 7 %. Výhodou tohto postupu je jeho jednoduchosť a vysoký výťažok 1,6-anhydro-3,4-di-O-acetyl- $\beta$ -D-glukopyranózy v jednom reakčnom stupni.

#### Príklad 1

1,6-anhydro-2,3,4-tri-O-acetyl- $\beta$ -D-glukopyranóza (1 g) sa rozpustí v 10 cm<sup>3</sup> metanolu a takto pripravený roztok sa pridá do 50 cm<sup>3</sup> citranovo-fosforečnanového pufru 0,05 mólu . dm<sup>-3</sup> o pH 5,8 a pridá sa 100 mg lyofilizovaných buniek *Aureobasidium pullulans* CCY 27-1-14a, ktoré boli kultivované do neskorej exponenciálnej fázy rastu na YNB rastovej pôde (6 g . dm<sup>-3</sup>), Yeast Nitrogen Base s D-glukózou (15 g . dm<sup>-3</sup>) a 1,6-anhydro-2,3,4-tri-O-acetyl- $\beta$ -D-glukopyranózy (0,5 gramov . dm<sup>-3</sup>). Hydrolýza prebiehala pri teplote 20 °C po dobu 48 hodín. Získaný reakčný produkt obsahoval 92,5 % normalizovaných, to je 925 mg 1,6-anhydro-3,4-di-O-acetyl- $\beta$ -D-glukopyranózy. Separácia 1,6-anhydro-3,4-di-O-acetyl- $\beta$ -D-glukopyranózy od vedľajších produktov deacetylačnej reakcie, medzi ktorými prevládal 3-O-acetyl-derivát (45 mg) sa previedla chromatograficky na kolone s náplňou silikagélu v chromatografickej sústave octan etylnatý : benzén : 2-propanol (8 : 4 : 1 objemových podielov).

#### Príklad 2

Postupuje sa ako je uvedené v príklade 1, s tým rozdielom, že sa použije 0,01 mólu . dm<sup>-3</sup> citranovo-fosforečnanový tlmivý roztok o pH 5,0 a vysitovaná frakcia buniek *Aureobasidium pullulans* CCY 27-1-14a (100 miligramov, 0,06 — 0,120 mm) imobilizovaných podľa Čsl. AO č. 232 642. Hydrolýza prebiehala pri 40 °C po dobu 36 hodín. Získaný reakčný produkt obsahoval 93 % normalizovaných, to je 930 mg 1,6-anhydro-3,4-di-O-acetyl- $\beta$ -D-glukopyranózy.

Vynález môže nájsť široké uplatnenie v základnej organickej syntéze v oblasti sacharidov, predovšetkým glukózových derivátov modifikovaných substitučne na hydroxylovej skupine v polohe C-2 a oligosacharidov, zložených z D-glukopyranozylových jednotiek viazaných  $\alpha$  alebo  $\beta$  — 1,2-väzbami.

#### PREDMET VYNÁLEZU

Spôsob stereošpecifickej prípravy 1,6-anhydro-3,4-di-O-acetyl- $\beta$ -D-glukopyranózy vyznačený tým, že sa suspenziou buniek *Aureobasidium pullulans* CCY 27-1-14a v 0,01 až

0,05 mól . dm<sup>-3</sup> citranovo-fosforečnanovom tlmivom roztoku o pH 5,0 až 5,8 pri teplote 20 až 40 °C katalyticky pôsobí na 1,6-anhydro-2,3,4-tri-O-acetyl- $\beta$ -D-glukopyranózu.