

POPIS VYNÁLEZU K AUTORSKÉMU OSVEDČENIU

240315
(11) (B1)

(51) Int. Cl.⁴
C 07 H 3/02



URAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

(22) Prihlášené 20 07 84

(21) (PV 5603-84)

(40) Zverejnené 13 06 85

(45) Vydané 15 06 87

(75)

Autor vynálezu

BÍLIK VOJTECH RNDr. DrSc.; STANKOVIČ EUDOVÍT RNDr. CSc.,
BRATISLAVA

(54) Spôsob izolácie D-volemitolu z prvosienky jarnej

1

2

Riešenie sa týka spôsobu izolácie D-volemitolu z prvosienky jarnej, *Primula officinalis*. Podstata vynálezu spočíva v extrakcii nadzemnej časti prvosienky jarnej 3 až 7 % hmot. vodným roztokom kyseliny mravčej pri teplote 75 až 95 °C po dobu 15 až 25 hodín a z extraktu sa bielkovinová časť vyzráža 50 % objem. etanolom, skvasiteľné sacharidy sa skvasia prekvasením roztoku pekárskymi kvasnicami a zo zvyšku D-volemitol kryštalizuje z methanol-vodného roztoku. D-volemitol sa používa ako štandard pri štúdiách sacharidov v prírodnom materiáli a ako východisková zlúčenina pri biochemických syntézach.

Vynález sa týka spôsobu izolácie D-volemitolu z prvosienky jarnej (*Primulus officinalis*).

V prírodnom materiáli D-volemitol (D-glycero-D-taloheptitol, D-glycero-D-maňheptitol) bol zistený a izolovaný v mnohých prípadoch. Bol zistený vo všetkých častiach rastliny v 90 druhoch prvosienok [B. Kremer: Z. Pflanzenphysiol. 86, 453 (1978)] a izolovaný z nadzemnej časti prvosienky jarnej extrakciou vodou v množstve 1,7 % hmot. [R. Begbie, N. K. Richtmyer: Carbohydr. Res. 2, 272 (1966)]. Zistený bol tiež v rôznych druhoch lišajníkov (*Dermatocarpon lachneum*, *D. miniatum*, *D. fluviatile*, *Endocarpon adscendens*) [B. Lindberg, A. Misiorny, C. A. Wachtmeister: Acta Chem. Scand. 7, 591 (1955)] a izolovaný z *D. miniatum* v množstve 4 % hmot. [B. Lindberg: Acta Chem. Scand. 9, 917 (1955)], z *D. moulinii* v množstve 0,01 % hmot. [P. S. Rao, K. G. Sarma, T. R. Seshari: Indian J. Chem. 5, 177 (1967)]. D-volemitol sa nachádza v pečevníku trojlaločnom (*Plagiochila asplenoides*) [A. A. A. Suleiman, J. Bacon, A. Christie, D. H. Lewis: New. Phytol. 82, 439 (1979); A. A. A. Suleiman, D. H. Lewis: New Phytol. 84 45 (1980)], v rastlinách z rodu rozchodníkov (*Sedum*) [N. K. Richtmyer: Carbohydr. Res. 12, 139 (1970)] a v avokádových semenách [N. K. Richtmyer: Carbohydr. Res. 12, 135 (1970)]. Z rias červených (*Pophyra umbilicalis*) bol D-volemitol izolovaný v množstve 0,01 % hmot. [B. Lindberg: Acta Chem. Scand. 9, 1097 (1955)] a z rias hnedých (*Pelvetia canaliculata*) v množstve 0,7 % hmot. a súčasne mono- a di-O-D-glukozylderiváty D-volemitolu s naviazaním D-glukózy β -glykozidickou väzbou na primárne hydroxylové skupiny D-volemitolu [B. Lindberg, J. Paju: Acta Chem. Scand. 8, 817 (1954)]. Pri kultivácii kvasinkami *Torulopsis versatilis* na laktóze vzniká D-volemitol v množstve 1,1 až 3,3 % hmot. [H. Onichi, M. B. Pery: Can. J. Microbiol. 18, 925 (1972)]. Z prírodného materiálu sa D-volemitol získava extrakciou jednotlivých častí rastliny metanolom, prípadne etanolom, vodou, alebo acetónom.

Podstata vynálezu spočíva v extrakcii nadzemnej časti prvosienky jarnej 3 až 7 % hmot. vodným roztokom kyseliny mravej pri teplote 75 až 95 °C po dobu 15 až 25 hodín a z extraktu sa odstráni bielkovinná časť vyvrážaním 50 % objem. etanolom, skvasiteľné sacharidy prekvasením roztoku s pekárskymi kvasnicami a zo zvyšku sa kryštalizáciou s metanolvodným roztokom získa kryštalický D-volemitol.

Výhodou navrhovaného spôsobu izolácie D-volemitolu z prvosienky jarnej je, že technické prevedenie je jednoduché a jeho výťažnosť je podstatne vyššia. Ďalšou výhodou je, že techniku izolácie je možné uplatniť pre izoláciu D-volemitolu i z iných druhov rastlín, resp. častí rastlín.

Príklad 1

Na vzduchu vysušená nadzemná časť prvosienky jarnej nazbieraná v dobe kvitnutia (400 g) sa maceruje v 7 % hmot. vodnom roztoku kyseliny mravej (4 l) 10 hodín pri teplote 75 °C, potom sa droga odfiltruje a opäť zahrieva 5 hodín v 7 % hmot. kyseliny mravej (2 l). Spojené filtráty sa prečistia aktívnym uhlím a roztok zahustí do sucha. Destilačný zvyšok sa rozpustí vo vode (1 l) a po pridaní 96 % objem. etanolu (1 l) sa roztok prefiltruje a zahustí. Destilačný zvyšok sa rozpustí v pitnej vode (2 l) a po pridaní pekárskych kvasníc (10 g) sa roztok prekvasí do úplného odstránenia D-glukózy (2 dni). Roztok sa prefiltruje, mierne zahustí (na objem ca 300 ml) a deionizuje na kolonkách (o priemere 3,2 cm a dĺžke 40 cm) v poradí iónomenič s funkčnými sulfofoskupinami (Ostion KS 0210) a iónomenič s kvartérnymi skupinami (Ostion AT 0209) v uhličitanovom cykle. Deionizovaný roztok sa zahustí, destilačný zvyšok rozpustí vo vode (70 ml) a pri teplote 60 °C sa k roztoku pridá metanol (210 ml) a potom sa roztok nechá kryštalizovať pri teplote 20 až 25 °C (2 dni), čím sa získa prvý kryštalický podiel D-volemitolu (8,2, t. j. 2,1 % hmot. počítané na suchú drogu). Matečný roztok sa zahustí do sucha, destilačný zvyšok rozpustí vo vode (20 ml) a po pridaní metanolu (80 ml) sa kryštalizáciou získa druhý podiel D-volemitolu (4,6 g, t. j. 1,1 % hmot.). Z matečného roztoku sa chromatografickou frakcionáciou na iónomeniči (kolona o priemere 3,5 cm a dĺžke 120 cm, Dowex 50 W, X-8, zrnitosť 0,07 až 0,15 mm) v báriovom cykle elúciou vodou (o prietoku 30 ml $\cdot$ h⁻¹) sa z frakcie obsahujúcej D-volemitol (elúčný objem 540 až 700 ml) kryštalizáciou získa tretí podiel (1,2 g, t. j. 0,3 % hmot.) D-volemitolu. Celkový výťažok kryštalického D-volemitolu je 3,5 % hmot. počítané na suchú hmotu prvosienky jarnej.

Rekryštalizovaný D-volemitol zo zmesi metanol-voda má teplotu topenia 151 až 151,5 °C (Kofler) a $[\alpha]_D^{20} + 1,5 \pm 0,2^\circ$ (c 2, voda), $[\alpha]_D^{20} + 54 \pm 1^\circ$ (c 2, 4 % hmot. vodný roztok molybdénanu amónneho o pH 5,9), $[\alpha]_D^{20} + 100 \pm 1^\circ$ (c 2, kyslý roztok 4 % hmot. molybdénanu amónneho o pH 1,9). Literatúra udáva pre D-volemitol teplotu topenia 153 °C, $[\alpha]_D^{20} + 2,07^\circ$ (c 3, voda) [V. Ettel: Collection Czechoslov. Chem. Commun. 4, 505 (1932)] a $[\alpha]_D^{20} + 55^\circ$ (c 0,4, 5 % hmot. vodný roztok molybdénanu amónneho), $[\alpha]_D^{20} + 109^\circ$ (c 0,4, 4 % hmot. kyslý roztok molybdénanu amónneho) [N. K. Richtmyer: J. Amer. Chem. Soc. 73, 2249 (1951)]. Sledovanie čistoty D-volemitolu, resp. jeho obsah v zmesiach sacharidov sa uskutočňuje chromatografiou na papieri (Whatman No 1) elučným systémom acetón:1-butanol:voda v objemových pomeroch 7:2:1 (prietok 20 h), resp. elučným

systémom 1-butanol:etanol:voda v objemových pomeroch 5:1:4 (prietok 40 až 50 h) kde pohyblivosť D-volemitolu vzťahovaná na pohyblivosť D-glukózy je 0,75, resp. 0,95.

Príklad 2

Postupuje sa ako v príklade 1 s tým rozdielom, že extrakcia drogy sa uskutočňuje 3 % hmot. vodným roztokom kyseliny mravčej 15 a 10 hodín pri teplote 95 °C. Výťažok D-volemitolu je rovnaký ako je uvedený v príklade 1.

PREDMET VYNÁLEZU

Spôsob izolácie D-volemitolu z prvosienky jarnej, *Primula officinalis*, vyznačujúci sa tým, že nadzemná časť rastliny sa extrahuje 3 až 7 % hmot. vodným roztokom kyseliny mravčej pri teplote 75 až 95 °C po dobu 15

až 25 hodín a z extraktu sa bielkovinová časť vyzráža 50 % objem. etanolom, skvasiteľné sacharidy sa skvasia prekvasením roztoku pekárskymi kvasnicami a zvyšok kryštalizuje v metanol-vodnom roztoku.