



ÚŘAD PRO VYNALEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU K AUTORSKÉMU OSVEDČENÍU

251992

(11)

(B1)

(51) Int. Cl.⁴
C 07 H 3/02

(22) Prihlášené 24 09 85
(21) (PV 6799-85)

(40) Zverejnené 18 12 86

(45) Vydané 15 09 88

(75)

Autor vynálezu

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

(54) Spôsob prípravvy 1,6-anhydro-2,3-di-O-acetyl- β -D-glukopyranózy

1

2

Postup rieši spôsob stereošpecifickej prípravy 1,6-anhydro-2,3-di-O-acetyl- β -D-glukopyranózy. Uvedeného účelu sa dosiahne tým, že na 1,6-anhydro-2,3,4-tri-O-acetyl- β -D-glukopyranózu sa katalyticky pôsobí bunkami Aureobasidium pullulansccy 27-1-14 v tlmivom roztoku o pH 5,0 až 5,8, pričom vhodným tlmivým roztokom je citran fosforečnanový alebo malát-fosforečnanový. Riešenie má význam v chémii a biochémií sacharidov.

Vynález sa týka stereospecifickej prípravy 1,6-anhydro-2,3-di-O-acetyl- β -D-glukopyranózy.

Parciálne acetylované deriváty 1,6-anhydro- β -D-glukopyranózy sú výhodnými východzími látkami pri príprave mnohých látok napr. amínoderivátov, metylderivátov, oligosacharidov atď. Nachádzajú tiež použitie ako modelové látky pri teoretických štúdiách chémie a biochémie sacharidov. Doteraz sa pripravovali buď parciálnou acetyláciou 1,6-anhydro- β -D-glukopyranózy [D. Shapiro a spol. J. Org. Chem. 35, 1464 (1970)], chemickou hydrolýzou 2,3,4-tri-O-acetyl- β -D-glukopyranózy [Š. Kučár a spol. Collection Czech. Chem. Commun. 49, 1780 (1984)], alebo enzymatickou hydrolýzou [J. Zemek a spol. PV 7046/84].

Nevýhodou prvých dvoch postupov je nízka stereospecifita reakcie, čo má za následok vo väčšine prípadov vznik zmesi mono- a di-O-derivátov. Pri enzymovej hydrolýze stereospecifita reakcie sa podstatne zvýši (výťažok 2,3-di-O-acetyl- β -D-glukopyranózy je 70 až 75 percent), nevýhodou však je nutnosť prípravy prečistených enzymových systémov.

Uvedené nedostatky v podstatnej miere odstraňuje nový postup podľa vynálezu, ktorého podstata spočíva v tom, že na 1,6-anhydro-2,3,4-tri-O-acetyl- β -D-glukopyranózu sa kataliticky pôsobi bunkami kvasiniek *Aureobasidium pullulans* CCY 27-1-14, vo vodnom roztoku tlmivého roztoku o pH 5,0 až 5,8 pri teplote 20 až 40 °C.

Výhodou predmetného spôsobu je jeho jednoduchosť, stereospecifita, vysoké výťažky 1,6-anhydro-2,3-di-O-acetyl- β -D-glukopyranózy v jednom reakčnom stupni (~90 %) a nižšie náklady.

Príklad 1

1,6-anhydro-2,3,4-tri-O-acetyl- β -D-glukopyranóza (1 g) sa rozpustí v 10 ml metanolu, pridá sa 50 ml citran-fosforečnanový pufer (0,05 mol.l⁻¹, pH 5,0) a k tomuto roztoku sa pridajú bunky izolované z kmeňa *Aureobasidium pullulans* CCY 27-1-14 (0,5 gramov). Enzymová hydrolýza prebieha pri teplote 40 °C po dobu 48 hod. Reakčný roztok sa po odsolení iónomeničom (Amberlit

IR-120 H⁽⁺⁾-cykle, amberlit IR-402 v bikarbonátovom cykle) zahustí, pričom sa získa sirup, ktorý obsahuje 1,6-anhydro-2,3-di-O-acetyl- β -D-glukopyranózu a 1,6-anhydro-2,3,4-tri-O-acetyl- β -D-glukopyranózu v pomere 9:1. Čistá 1,6-anhydro-2,3-di-O-acetyl- β -D-glukopyranóza (0,76 g, 90 %) sa pripraví chromatografiou na kolóne s náplňou hydroxidu kremičitého v chromatografickej sústave octan etylnatý-benzén (2:1, objemových podielov).

Príklad 2

Postupuje sa tak ako v príklade 1 s tým rozdielom, že sa použije malát-fosforečnanový pufer (0,01 mol.l⁻¹, pH 5,8). Enzymová hydrolýza prebieha po dobu 24 hod. pri teplote 20 °C. Po odsolení reakčnej zmesi s iónomeničom (amberlit IR-120 H⁽⁺⁾-cykle, amberlit IR-402 v bikarbonátovom cykle) a zahustení, získa sa sirup, ktorý obsahuje zmes 1,6-anhydro-2,3-di-O-acetyl- β -D-glukopyranózy (85 %) a mono-O-acetyl- β -D-glukopyranózy (15 %). Chromatografickým delením zmesi na kolóne s náplňou hydroxidu kremičitého v deliacom systéme octan etylnatý : benzén (2:1, v objemových pomeroch) sa získa 0,72 g (85 %) čistej 1,6-anhydro-2,3-di-O-acetyl- β -D-glukopyranózy.

Príklad 3

Postupuje sa ako v príklade 1 s tým rozdielom, že sa použijú v reakcii bunky *Aureobasidium pullulans* CCY 27-1-14 (1 g) imobilizované enkapsuláciou v polyetylénimíne (0,1 g) za prídavku 2-chlórmetyloxiránu (0,02 g) pri teplote miestnosti. Pri aplikácii imobilizovaných buniek *A. pullulans*, výťažok 1,6-anhydro-2,3-di-O-acetyl- β -D-glukopyranózy je 0,75 g (88,2 %). Imobilizované bunky *A. pullulans* umožňujú viac ako 20-násobné použitie v reakčnej zmesi.

Vynález môže nájsť široké uplatnenie pri syntézach glukózových derivátov modifikovaných substitučne na hydroxylovej skupine v polohe C-4, prípadne pri syntézach oligosacharidov zložených z D-glukózy viazaných α - alebo β -1,4 väzbami a vo výrobe liečiv.

PREDMET VYNÁLEZU

Spôsob stereospecifickej prípravy 1,6-anhydro-2,3-di-O-acetyl- β -D-glukopyranózy vynášaný tým, že sa na 1,6-anhydro-2,3,4-tri-O-acetyl- β -D-glukopyranózu katalyticky pô-

sobi bunkami *Aureobasidium pullulans* CCY 27-1-14 v 0,01 až 0,05 mol.l⁻¹ tlmivom roztoku o pH 5,0 až 5,8 a teplote 20 až 40 °C.