

(19) DANMARK



PATENTDIREKTORATET
TAASTRUP

(12) FREMLÆGGESESSKRIFT

(11) 159851 B



(21) Patentansøgning nr.: 2436/80

(22) Indleveringsdag: 04 jun 1980

(41) Alm. tilgængelig: 09 dec 1980

(44) Fremlagt: 17 dec 1990

(86) International ansøgning nr.: -

(30) Prioritet: 08 jun 1979 DE 2923266 08 jun 1979 DE 2923267 08 jun 1979 DE 2923268

06 feb 1980 DE 3004304

(71) Ansøger: *BASF Aktiengesellschaft; D-6700 Ludwigshafen, DE

(72) Opfinder: Rudolf *Wolf; DE, Fritz *Reiff; DE, Rolf *Wittmann; DE, Juergen *Butzke; DE

(51) Int.Cl.⁵ C 07 D 475/14
 // C 07 C 215/16
 // C 07 C 245/08
 // C 07 H 3/02

(74) Fuldmægtig: Plougmann & Vingtoft Patentbureau

(54) Fremgangsmåde til fremstilling af riboflavin

(56) Fremdragne publikationer

(57) Sammendrag:

2436-80

Riboflavin kan fremstilles ud fra D-glucose via N-D-ribityl-3,4-xyloidin, idet D-glucose oxideres til D-gluconsyre eller et alkalimetallgluconat, det således vundne gluconat omdannes ved hjælp af hypochlorit til D-arabinose, D-arabinosen omdannes med en molybden(VI)forbindelse til D-ribose, D-ribosen hydrogeneres i nærværelse af en nitroxylen eller xyloidin, det vundne N-D-ribityl-3,4-xyloidin omdannes ved behandling med det tilsvarende diazoniumsalt til 1-D-ribitylamino-3,4-dimethyl-6-phenylazobenzen, og denne azoforbindelse omdannes ved omsætning med barbitursyre til riboflavin.

Ved denne fremstilling fås riboflavin i højere udbytte end ved de kendte fremgangsmåder, ligesom der ved fremgangsmåden undgås anvendelse af kviksølvforbindelser, og ved hydrogeneringen anvendes katalysator, der er let at genvinde i kvantitativt udbytte.

DK 159851 B

Den foreliggende opfindelse angår en fremgangsmåde til fremstilling af riboflavin ud fra D-glucose via N-D-ribityl-3,4-xylidin.

Fremgangsmåder til fremstilling af riboflavin er kendte. Den sædvanligvis industrielt udførte fremgangsmåde går ud fra D-glucose, som
5 oxideres til D-arabonsyre, der epimeriseres til D-ribonsyre og derefter omsættes til D-ribonolacton, fra hvilken ved amalgamreduktion dannes D-ribose, som via xylidinribosid hydrogeneres til N-D-ribityl-3,4-xylidin. Ud fra N-D-ribityl-3,4-xylidin kan der ved omsætning med diazoteret anilin og barbitursyre fås riboflavin. Denne proces er
10 beskrevet i *Kirk-Othmer*, bind 17, s. 451, samt i *Chemical Abstracts*, bind 55, abstract nr. 12307b.

Udbyttet ved denne fremgangsmåde ligger for trinene fra D-glucose til N-D-ribityl-3,4-xylidin på ca. 20-23%. Deraf fås et totaludbytte af riboflavin ud fra D-glucose på 15-16% af det teoretiske. Der er
15 udover det relativt dårlige totaludbytte ved denne fremgangsmåde også en ulempe ved epimeriseringstrinet fra D-arabonsyren til D-ribonsyren, hvor der dannes en række harpiksgtige biprodukter, som gør en kompliceret oparbejdning nødvendig. Amalgamreduktionen giver dog især store problemer, da det ved arbejdet med store mængder af kviksølv er nødvendigt med store anstrengelser for at holde både produktet og affaldsstofferne fri for kviksølv.
20

Der er derfor allerede foreslået fremgangsmåder, hvor arbejdet med kviksølv undgås. Således kan D-ribonsyre eller D-ribonolacton i ét trin i nærværelse af 3,4-xylidin eller 4-nitro-1,2-xylen hydrogeneres
25 til N-D-ribityl-3,4-xylidin (jfr. fx DE-B-2.558.515, DE-B-2.558.516, DE-B-2.650.232 og DE-B-2.650.830). Dette kræver dog et meget investeringstungt højtrykshydrogeneringsanlæg, da hydrogeneringen foregår ved et tryk på ca. 250-300 bar. Trods besparelsen af mellemtrin og trods de høje omkostninger ligger udbyttet af N-D-ribitylxylidin ud
30 fra D-glucose ved denne fremgangsmåde også kun ved ca. maksimalt 35%, hvoraf der fås et riboflavinudbytte på mindre end 25%.

Det er endvidere foreslået at fremstille D-ribose direkte ved fermentation i en mikrobiologisk proces ved hjælp af egnede mikroorganismer ud fra D-glucose og derfra på sædvanlig måde vinde N-D-

ribitylxyloidin og riboflavin (jfr. DE-B-1.904.265 og DE-A-2.454.931).
Selv om denne vej har fordele, må der forventes betydelige vanskelig-
heder ved den industrielle gennemførelse af den komplicerede og frem-
for alt over for forstyrrelser ømfindtlige biokemiske proces, hvilket
5 begrænser fremgangsmådens økonomi.

Desuden ligger udbyttet af D-ribitylxyloidin ud fra D-glucose også ved
denne fremgangsmåde kun ved ca. 34%, hvoraf fås et riboflavinudbytte
på ca. 24%.

Der har derfor stadig været et behov for at finde en fremgangsmåde
10 til fremstilling af riboflavin, ved hvilken der i enkle reaktions-
trin, som ikke kræver store investeringer, under anvendelse af bil-
lige udgangsmaterialer og under undgåelse af miljøskadelige, meget
giftige reaktionskomponenter i godt udbytte fås et rent produkt.
Dette behov løses ved den foreliggende opfindelse.

15 Det har nu overraskende vist sig, at der ved en hidtil ukendt vej,
der ligeledes går ud fra D-glucose, hvilken dog ikke går via arabon-
syre og ribonsyre, men over gluconsyre og arabinose giver D-ribose og
N-D-ribityl-3,4-xyloidin, hvorved de kendte fremgangsmåders ulemper
undgås, og der fås riboflavin i højere udbytter end ved de kendte
20 fremgangsmåder. Dette er så meget mere overraskende, da de enkelte
trin i den her omhandlede fremgangsmåde hver for sig er kendt som
sådan. Det kunne dog ikke forudses, at netop denne kombination af
enkeltreaktioner skulle føre til et så fordelagtigt totalresultat,
især da der er udført adskillige forsøg på også i større målestok at
25 fremstille dette vigtige produkt fordelagtigt. Det kunne især ikke
forudses, at dette allerede fordelagtige totalkoncept kunne forbedres
yderligere ved opfinderiske forbedringer af en række enkelttrin i
denne kombination.

Den foreliggende opfindelse angår således en fremgangsmåde til frem-
30 stilling af riboflavin, hvilken fremgangsmåde er ejendommelig ved, at
man successivt

a) oxiderer D-glucose til D-gluconsyre eller et alkalimetalgluconat,

- b) omdanner det således vundne gluconat til D-arabinose ved en temperatur på fra 30°C til 90°C ved hjælp af en 10-20 vægtprocent hypochloritopløsning,
- c) omsætter D-arabinose med en molybdæn(VI)forbindelse til dannelse af en epimer blanding indeholdende D-ribose og D-arabinose og adskiller det meste af D-arabinosen fra epimerblandingen,
- d) hydrogenerer remanensen indeholdende D-ribose i nærværelse af 4-nitro-o-xylen eller 3,4-xylidin og udvinder N-D-ribityl-3,4-xylidinen ved krystallisation,
- 10 e) omdanner det vundne N-D-ribityl-3,4-xylidin til 1-D-ribitylamino-3,4-dimethyl-6-phenylazobenzen ved omsætning med det tilsvarende diazoniumsalt, og
- f) omdanner azoforbindelsen til riboflavin ved omsætning med barbitursyre.
- 15 Det er overraskende fordelagtigt ved denne fremgangsmåde, at de enkelte trin uden vanskelighed kan gennemføres med billige og ugiftige reaktionskomponenter, og at der delvis kan gives afkald på en isolering af mellemprodukterne uden udbyttetab, så at der nås frem til slutproduktet uden stor arbejds- og investeringsindsats.
- 20 Det er især overraskende, at der alligevel opnås særdeles gode udbytter, som ligger over dem, som kan opnås ved de hidtil kendte fremgangsmåder. Således fås ved fremgangsmåden ifølge den foreliggende opfindelse N-D-ribitylxylidin ud fra D-glucose i et udbytte på ca. 40%, hvilket svarer til et riboflavinudbytte på næsten 30%, beregnet på D-glucose.
- 25 Ved gennemførelsen af fremgangsmåden kan der, ligesom ved de kendte fremgangsmåder, gås ud fra det let tilgængelige, billige D-glucose. D-Gluconsyre fås derfra i meget højt udbytte på over 90% på kendt måde ved fermentativ, kemisk eller elektrokemisk oxidation. En oversigt over sådanne fremgangsmåder findes bl.a. i Ind. Eng. Chem. 11, side 370-372 (1972).

Der gennemføres fortrinsvis den fermentative oxidation. Til dette behandles D-glucose i vandig opløsning under tilsætning af næringsstoffer i en fermentor under sterile betingelser med en egnet bakteriestamme såsom *Acetobacter suboxydans* under beluftning og neutralisering af den fremkomne syre med en base, fortrinsvis natriumhydroxid, så længe, at testen for sukker falder negativt ud, dvs. alt glucose er omsat. Alt efter charge-størrelsen og bakteriestammen er oxidationen færdig efter ca. 10-40 timer. Den derved i praktisk taget kvantitativt udbytte vundne ca. 20%’s gluconatopløsning kan umiddelbart anvendes til videre oxidation til arabinose.

Det har overraskende vist sig, at den i og for sig kendte oxidation af gluconat, fortrinsvis et alkalimetaltgluconat, til arabinose med hypochlorit kan forbedres væsentligt, når oxidationen gennemføres med høj gluconatkoncentration og høj temperatur. Dette er overraskende, for det var nemlig kendt fra J. Amer. Chem. Soc., bind 81, side 5190 (1959), at gluconat kan oxideres til arabinose med natriumhypochlorit. Der arbejdes dog på grund af hypochloritets instabilitet her kun i meget fortyndet opløsning og ved relativt lav temperatur. Oxidationen, hvortil der anvendes ca. 2,5 gange den teoretiske mængde hypochlorit, forløber derved over ca. 20-30 timer og giver kun et udbytte på ca. 40%.

Ved fremgangsmåden ifølge den foreliggende opfindelse kan der overraskende ved anvendelsen af forhøjet temperatur ikke kun opnås et dobbelt så højt udbytte, men der kan desuden arbejdes ved meget højere koncentrationer. Da reaktionstiden også ved fremgangsmåden ifølge den foreliggende opfindelse kan afkortes fra ca. 20-30 timer til ca. 10-60 minutter, opnås ved fremgangsmåden ifølge den foreliggende opfindelse et med tierpotenser forbedret rum/tids-udbytte. Dette er især overraskende, da arabinose selv under disse fremgangsmådebetingelser ved en hurtig reaktion med hypochlorit oxideres videre eller nedbrydes. Trods disse betingelser, som muliggør en hurtig omsætning og industriel produktion, udnyttes oxidationsmidlet ved fremgangsmåden ifølge den foreliggende opfindelse endog endnu bedre end ved den hidtil kendte reaktion. Ved omsætningen ifølge den foreliggende opfindelse kræves der nemlig kun ca. 1,0-1,5, i reglen

ca. 1,1-1,2 ækvivalenter af oxidationsmidlet i modsætning til 2,5 ækvivalenter ved den kendte omsætning.

For at kunne opnå disse overraskende fordelagtige fremgangsmådebetin-
gelser er det ikke nødvendigt at anvende særlig rene udgangsmateri-
5 aler. Det som udgangsmateriale anvendte natriumgluconat kan fremstil-
les i særdeles godt udbytte på sædvanlig måde ved fermentation eller
ved kemisk eller elektrokemisk oxidation af D-glucose. Det er uden
videre muligt, og gøres også med fordel, at anvende den derved vundne
gluconatopløsning direkte. Da der f.eks. ved den kendte fermentation
10 af glucose fås en ca. 25-35%'s gluconatopløsning, arbejdes der med
fordel direkte videre med denne opløsning, selv om der også kan
anvendes opløsninger med højere koncentration.

Gluconatopløsningen opvarmes som anført til en temperatur mellem 30
og 90°C, fortrinsvis til ca. 50-70°C, og der indstilles med en syre,
15 fortrinsvis en mineralsyre, især saltsyre, til en pH-værdi på ca. 4 -
6, især ca. 4,5-5,5.

Til oxidation af gluconsyren tilsættes en relativt koncentreret hypo-
chloritopløsning, hvorunder reaktionsopløsningens pH-værdi holdes
konstant ved samtidig tilsætning af syre og fortrinsvis saltsyre.
20 Trods den kendte instabilitet for hypochlorit, som især i sur opløs-
ning meget let sønderdeles under chlorudvikling eller i neutral
opløsning disproportioneres til chlorat og chlorid, kan oxidations-
reaktionen åbenbart konkurrere med disse sønderdelingsreaktioner, og
der opnås ved fremgangsmåden ifølge den foreliggende opfindelse endog
25 forbavsende, også med hensyn til det anvendte hypochlorit, et bedre
udbytte end ved den ved lavere temperatur og lavere koncentration
forløbende kendte reaktion. I reglen anvendes der 1,1-1,2 ækvi-
valenter af oxidationsmidlet.

Hypochloritopløsningen tilsættes med en sådan dosering, at tilsætning-
30 gen er afsluttet inden for ca. 10-60 minutter og fortrinsvis ca. 30
minutter. Doseringen kan naturligvis også ske over længere tidsrum,
hvilket ved meget store charger også kan være nødvendigt. I reglen
vil man dog forsøge at klare sig med en så kort tid som muligt. Der
omrøres derefter kort, til overskydende hypochlorit er forsvundet, og

derefter kan D-arabinose isoleres på sædvanlig måde. Selv ved anvendelse af den fra D-glucose vundne fermentationsopløsning opnås der et udbytte af D-arabinose på ca. 70-75%, beregnet på D-glucose.

Det er til isolering af D-arabinose kendt at inddampe reaktionsopløsningen, hvorhos hovedmængden af kogsalt udfælder og kan fraskilles, og derefter at befri opløsningen for resterende mængder af ioniske bestanddele ved ionbytning.

En særlig fordelagtig metode er fraskillelsen af reaktionsblandings ioniske bestanddele ved hjælp af elektrodialyse. Denne fremgangsmåde frembyder væsentlige fremgangsmådetekniske fordele. Således spares der væsentlige mængder kemikalier, som ellers havde været nødvendige til regenerering af ionbytteren. En overraskende fordelagtig effekt er også, at ved elektrolysen vandrer de ioniske bestanddele sammen med en hydratomhylning gennem byttermembranen, og således fjernes samtidig en betydelig mængde vand fra reaktionsopløsningen. Da reaktionsopløsningen alligevel skal opkoncentreres til udvinding af arabinosen, spares derved en betydelig energimængde. Den inddampede opløsning udrøres derefter f.eks. med methanol, hvorved der fås meget rent D-arabinose i højt udbytte. Det allerede da meget højtliggende totaludbytte kan yderligere forøges, når det genvundne gluconat indsættes påny.

Den således vundne D-arabinose kan ved en i og for sig kendt fremgangsmåde under katalyse med molybdænsyre eller en anden molybdæn-(VI)forbindelse omsættes til en epimerblanding, som indeholder D-arabinose og D-ribose i et forhold på ca. 3:1, men desuden også pentoser såsom D-lyxose og D-xylose samt andre biproduktet. Det er også kendt, at en opspaltning af disse stoffer kan ske ved chromatografiske metoder. Til industriel fremstilling af D-ribose er sådanne fremgangsmåder på grund af de betydelige arbejds- og investeringskrav, som er forbundet dermed, dog mindre egnede. Selv om den til den videre omdannelse til riboflavin alene ønskede D-ribose kun udgør den mindre del af epimerblandingen, har denne vej til ribose dog overraskende i totalfremgangsmåden vist sig at være meget fordelagtig. For det første kan det som hovedbestanddel af epimerblandingen foreliggende D-arabinose meget enkelt næsten fuldstændigt skilles fra epi-

merblandingen. For det andet har det vist sig, at den ved den med molybdænsyre eller en anden molybdæn(VI)forbindelse katalyserede epimerisering af D-arabinose vundne epimerblanding, som efter grov-fraskillelse af D-arabinose består af pentoserne D-ribose, D-arabino-
5 se, D-xylose, D-lyxose og andre biprodukter, med fordel kan indsættes direkte i den katalytiske hydrogenering i nærværelse af 4-nitro-O-xylen eller 3,4-xylidin. Derved kan det rene N-D-ribityl-3,4-xylidin overraskende vindes ud fra den vundne reaktionsblanding ved krystallisation. Det er for så vidt overraskende, da det på grund af den
10 meget store konstitutionelle lighed af de dannede pentitylxylidiner skulle forventes, at der ville udkrystallisere en blanding af ribityl-, arabityl-, xylityl- og lyxitylxylidinerne, fra hvilken den alene ønskede ribitylxylidin kun skulle kunne vindes i ren form ved vanskelige rensningstrin.

15 Fremgangsmåden forløber i enkeltheder således, at arabinosen opløses i vand og ved forhøjet temperatur tilsættes katalysatoren. Arabinose-koncentrationen er ikke kritisk, men der anvendes dog for at få en god udnyttelse af det forhåndenværende apparatur en så høj koncentration som muligt, f.eks. ca. 10-20 vægtprocents opløsninger. Der
20 kan også anvendes den ved gluconatoxidationen vundne opløsning uden isolering af arabinosen. Denne opløsning opvarmes til en temperatur på ca. 80-100°C og tilsættes ca. 1 vægtprocent katalysator, f.eks. molybdænsyre, beregnet på arabinosen, hvorhos det er fordelagtigt, når der indstilles til en pH-værdi på ca. 3. Med stigende katalysatormængder og stigende temperatur opnås en hurtigere indstilling af epimerligerævægten. Ved en temperatur på ca. 90-95°C og 1 vægtprocent molybdænsyre er ligevægtstilstanden opnået efter ca. 2 timer, dvs.
25 der foreligger en blanding af de fire pentoser arabinose, ribose, lyxose og xylose sammen med en vis andel af sønderdelings-og oxidationsprodukter. Til undgåelse af en overmåde stor andel af oxidations-
30 produkter kan apparaturet under reaktionen skylles med en inertgas, f.eks. nitrogen.

Efter afslutning af omsætningen fjernes katalysatoren fra opløsningen, f.eks. ved hjælp af ionbyttere. Derefter inddampes, fortrinsvis
35 under reduceret tryk. Ved tilsætning af en lavere alkohol, f.eks. methanol eller, fortrinsvis, ethanol, kan hovedmængden af den i

reaktionsblandingen tilstedeværende arabinose krystalliseres, fraskilles i ren form og påny i en yderligere charge indsættes i omsætningen. Også dette er et fordelagtigt aspekt af den foreliggende opfindelse.

- 5 Af moderluden, som indeholder ca. 10-20% faststof, der består af ca. 75% D-ribose, ca. 10% D-arabinose, ca. 5% D-xylose og D-lyxose og ca. 10% biprodukter, kan ribosen vindes ved chromatografi over en med calcium- eller bariumioner ladet kationbytter.

- 10 Ved fremgangsmåden ifølge den foreliggende opfindelse kan denne kostbare renfremstilling af D-ribosen udelades, og i stedet for kan moderluden direkte anvendes til katalytisk hydrogenering i nærværelse af 4-nitro-o-xylene eller 3,4-xylidin. Dertil fortyndes moderluden med vandig alkohol og tilsættes den ækvivalente mængde, beregnet på totalmængden af pentoser, 4-nitro-1,2-xylene.

- 15 Selve hydrogeneringen kan, som beskrevet i fremlagt japansk patentsøgning nr. 6665 (1964), gennemføres med Raney-nikkel som katalysator ved et hydrogentryk på ca. 50-100 bar. Ved en hydrogeneringstemperatur på ca. 60-80°C er reaktionen afsluttet efter ca. 30 -60 minutter, og efter fjernelse af katalysatoren og inddampning af
20 opløsningen udkrystalliserer det rene N-D-ribityl-3,4-xylidin ved afkøling.

- Medens der ved de hidtil kendte fremgangsmåder næsten udelukkende anvendes den med nikkel katalyserede hydrogenering, har det vist sig, at hydrogeneringen særdeles fordelagtigt også kan gennemføres med
25 palladium på kul ved blot et ringe hydrogentryk på ca. 3 bar. Også her arbejdes der i en blanding af vand og en lavere alkohol ved forhøjet temperatur på ca. 50-80°C, hvorhos hydrogenoptagelsen er afsluttet efter ca. 2-3 timer. Udbyttet er sammenligneligt med det ved højtrykshydrogeneringen; fordelene ligger dog for det første i,
30 at investeringen i hydrogeneringsanlægget er væsentligt mindre, og for det andet at katalysatoren kan genvindes kvantitativt og indsættes påny. En efterrensning af spildvandet til fjernelse af nikkelioner kan også udelades. Efter fraskillelse af katalysatoren ved filtrering krystalliserer N-D-ribityl-3,4-xylidin ved afkøling af

opløsningen i højt udbytte og høj renhed. N-D-Ribityl-3,4-xylydinet skal ved riboflavinsyntesen anses for at være et nøgleprodukt, som også passerer ved de andre, kendte riboflavinsynteser. Omsætningen af dette mellemprodukt til riboflavin sker som bekendt ved azokobling af
5 ribitylxylydinet med et benzendiazoniumsalt og efterfølgende omsætning af azoforbindelsen med barbitursyre. Denne omsætning er kendt. En litteraturoversigt over disse fremgangsmåder findes bl.a. i Kirk-Othmer, Encyclopedia of Chemical Technology, bind 17 (1968), side 451.

- 10 Der sættes derved i reglen phenyldiazoniumchlorid til en vandig sur eller vandig/alkoholisk opløsning eller suspension af N-D-ribityl-xylydinet ved lav temperatur, og den dannede azoforbindelse isoleres. Den efterfølgende omsætning med barbitursyre i eddikesur opløsning giver under fraspaltning af anilin riboflavin, som eventuelt kan
15 renses yderligere ved opløsning i vandig saltsyre, behandling med hydrogenperoxid og udfældning med vand.

- Totaludbyttet ved fremgangsmåden ifølge den foreliggende opfindelse ud fra D-glucose ligger over de udbytter, der opnås ved de kendte fremgangsmåder, så at der ved fremgangsmåden ifølge den foreliggende
20 opfindelse tilvejebringes en meget værdifuld hidtil ukendt fremgangsmåde til fremstilling af riboflavin.

Fremgangsmåden ifølge den foreliggende opfindelse belyses nærmere ved følgende eksempler:

Eksempel 1.

a) Omsætning af D-glucose til natrium-D-gluconat.

I en fermentor podes en 10 liters steril vandig opløsning, som indeholder

- 5 1,5 kg D-glucose H_2O ,
10 g majsstøbetørs substans,
10 g ammoniumdihydrogenphosphat,
10 g kaliumdihydrogenphosphat,
5 g magnesiumsulfat
- 10 og har en pH-værdi på 6,5 ved en temperatur på 30°C med en ryste-
kultur af Acetobacter suboxydans ATCC 621 og beluftes under omrøring.
Ved tildosering af natriumhydroxid opretholdes en pH-værdi på
5,5-6,0. Når glucosen efter ca. 40 timer er fuldstændig omsat til
gluconat afkøles og centrifugeres. Natriumgluconat kan ved inddampn-
15 ing af den centrifugerede opløsning vindes i krystallinsk form i
over 90%'s udbytte.

b) Omdannelse af natrium-D-gluconat til D-arabinose.

- En opløsning af 218 g natrium-D-gluconat i 872 ml vand eller den
tilsvarende mængde fermentationsopløsning fra eksempel 1 a) opvarmes
20 til 60°C, og ved denne temperatur tilsættes 532 ml af en natrium-
hypochloritopløsning med et indhold på 16% w/v aktivt chlor, hvorhos
pH-værdien ved samtidig tilsætning af ca. 80 ml koncentreret saltsyre
konstant holdes ved 4,5-5,0. Derefter befries opløsningen for elek-
trolyter ved elektrodialyse. Dertil pumpes opløsningen i kredsløb
25 gennem en elektrodialysecelle med en virksom membranflade på 500 cm².
Ved en spænding på 5 V og en strømstyrke på 5 A elektrolyseres i ca.
24 timer, til arabinoseopløsningen er fuldstændig chloridfri og fri
for ionogene biprodukter. Ved inddampning og udrøring af remanensen
med methanol fås 110 g (73% af det teoretiske) krystallinsk D-arabi-
30 nose.

c) Omdannelse af D-arabinose til D-ribose.

En opløsning af 100 g D-arabinose i 500 ml vand eller den tilsvarende mængde arabinoseopløsning fra eksempel 1 b) opvarmes under nitrogenatmosfære til 92° og omrøres i 1-2 timer sammen med 1 g molybdænsyre (sædvanlig handelskvalitet, består for størstedelens vedkommende af ammoniummolybdat). Derefter fjernes katalysatoren ved elektrolyse eller ionbytning (stærkt sur og svagt basisk ionbytter). Opløsningen inddampes til en sirup, som indeholder endnu ca. 10% vand, og udrøres med 200 ml ethanol. Derved udkrystalliserer 70 g D-arabinose, som fraskilles og indsættes påny. Den vandig/alkoholiske moderlud, som indeholder ca. 21 g D-ribose, 3 g D-arabinose, 3 g af en blanding af D-lyxose og D-xylose samt 3 g yderligere produkter, kan til renudvinding af D-ribose chromatograferes over en med calcium- eller bariumioner ladet kationbytter.

d) Omdannelse af D-ribose til N-D-ribityl-3,4-xylidin.

Den alkoholiske moderlud fra eksempel 1 c) fortyndes med et lige så stort volumen vand, indstilles med 5 g natriumacetat og eddikesyre til pH-værdi 5,8, tilsættes 30 g 4-nitro-o-xylen og 15 g fugtigt Raney-nikkel, opvarmes til 80°C og hydrogeneres ved et hydrogentryk på 50 bar i 1/2 time. Efter frafiltrering af katalysatoren og af-dampning af en del af ethanolet udkrystalliserer 30 g N-D-ribityl-3,4-xylidin ved afkøling.

En yderligere mængde N-D-ribityl-3,4-xylidin kan vindes ved inddampning af moderluden, udrøring af remanensen med 10%'s saltsyre, hvorved kun det letopløselige hydrochlorid af ribitylxylidin går i opløsning, og neutralisering af den fra remanensen fraskilte opløsning, hvorved N-D-ribityl-3,4-xylidin udkrystalliserer.

e) Omdannelse af N-D-ribityl-3,4-xylidin til 1-D-ribitylamino-3,4-dimethyl-6-phenylazobenzen.

En til -5°C afkølet suspension af 616 g anilin, 1320 ml vand og 1732 ml 37%'s saltsyre tilsættes i løbet af en time en opløsning af 456 g natriumnitrit i 1140 ml vand. Den således vundne diazoniumsaltopløsning

ing lades ved en temperatur på maksimalt 5°C i løbet af 1 time løbe til en suspension, som indeholder 1532 g N-D-ribityl-3,4-xylydin, 2200 ml vand, 1800 ml 100%'s eddikesyre og 470 ml 37%'s saltsyre, hvorhos pH-værdien ved samtidig tilsætning af 32%'s natriumhydroxid
5 holdes konstant ved 1,5. Efter nogen omrøring indstilles pH-værdien med natriumhydroxid til 3,5, og de udfældede krystaller omrøres i endnu nogle timer ved stuetemperatur og isoleres ved sugefiltrering. Herved fås 2564 g råprodukt, som kan renses ved omkrystallisation af ethanol. f) Omdannelse af 1-D-ribitylamino-3,4-dimethyl-6-phenylazo-
10 benzen til riboflavin.

En opløsning af 35,9 g rå 1-D-ribitylamino-3,4-dimethyl-6-phenyl-azobenzen (vundet ifølge eksempel 1 e) og 21,6 g barbitursyre i 135 ml dioxan og 25 ml iseddike koges i 16 timer. Efter afkøling frafiltreres det udfældede riboflavin, vaskes med 100 ml 50°C varmt vand
15 og tørres, hvorved fås 32,7 g råriboflavin.

En rensning kan ske således, at 100 g råriboflavin ved 50°C opløses i 130 ml 37%'s saltsyre, 29 ml vand og 7,1 ml 35%'s hydrogenperoxid, og den filtrerede opløsning opvarmes sammen med 1144 ml vand i 1 time til 90-100°C. Efter afkøling filtreres, vaskes med 380 ml vand og
20 160 ml methanol og tørres, hvorved fås 88,1 g rent riboflavin.

Totaludbyttet i trin a)-f) er, beregnet på D-glucose, 28% af det teoretiske.

Eksempel 2.

Der arbejdes i analogi med eksempel 1, ider der i stedet for den
25 under d) beskrevne hydrogenering gås frem som følger:

En opløsning af 5,243 kg epimerblanding fra eksempel 1 c), som indeholder ca. 60% ribose, og 5,442 kg 4-nitro-o-xylen i 72 liter 50%'s vandig methanol (v/v) hydrogeneres sammen med 0,6 kg palladium/kulkatalysator ved en temperatur på ca. 62°C og et hydrogentryk på 3
30 bar. Når hydrogenoptagelsen er ophørt efter ca. 2,5 timer filtreres,

og filtratet afkøles til krystallisation til 0°C. Efter centrifugering, vask og tørring fås i alt 4,2 kg N-D-ribityl-3,4-xylidin.

Katalysatoren er efter vask med iseddike og vand genanvendelig.

PATENTKRAV

- 5 1. Fremgangsmåde til fremstilling af riboflavin ud fra D-glucose via N-D-ribityl-3,4-xylidin,
k e n d e t e g n e t ved, at man successivt
- a) oxiderer D-glucose til D-gluconsyre eller et alkalimetalgluconat,
- b) omdanner det således vundne gluconat til D-arabinose ved en tempe-
10 ratur på fra 30°C til 90°C ved hjælp af en 10-20 vægtprocent hypochloritopløsning,
- c) omsætter D-arabinose med en molybdæn(VI)forbindelse til dannelse af en epimer blanding indeholdende D-ribose og D-arabinose og adskiller det meste af D-arabinosen fra epimerblandingen,
- 15 d) hydrogenerer remanensen indeholdende D-ribose i nærværelse af 4-nitro-o-xylen eller 3,4-xylidin og udvinder N-D-ribityl-3,4-xylidinen ved krystallisation,
- e) omdanner det vundne N-D-ribityl-3,4-xylidin til 1-D-ribitylamino-3,4-dimethyl-6-phenylazobenzen ved omsætning med det tilsvarende
20 diazoniumsalt, og
- f) omdanner azoforbindelsen til riboflavin ved omsætning med barbitursyre.
2. Fremgangsmåde ifølge krav 1,
k e n d e t e g n e t ved at D-gluconsyren oxideres ved en pH-værdi
25 på 4-6, en temperatur på 30-90°C og en gluconsyrekoncentration på 10-40 vægtprocent ved hurtig tilsætning af en ca. 10-20 vægtprocent hypochloritopløsning.

3. Fremgangsmåde ifølge krav 2,
k e n d e t e g n e t ved, at reaktionsblandingen, som indeholder
arabinosen, før isolering af arabinosen i vidt omfang befries for
ioniske bestanddele ved elektrodialyse.
- 5 4. Fremgangsmåde ifølge krav 1,
k e n d e t e g n e t ved, at hydrogeneringen udføres ved en tempe-
ratur på 50-80°C og et hydrogentryk på ca. 3 bar med en palladium/-
kul-katalystør.