



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU

K AUTORSKÉMU OSVEDČENIU

201 336

(11) (B1)

(61)

(23) Výstavná priorita

(22) Prihlášené 18 09 78

(21) PV 6005-78

(51) Int. Cl.³ C 07 H 3/02

(40) Zverejnené 29 02 80

(45) Vydané 01 03 83

(75)

Autor vynálezu KUČÁR ŠTEFAN RNDr. CSc., BRATISLAVA, ZEMEK JURAJ ing. CSc., LETONICA,
LINEK KAZIMÍR ing. CSc., BRATISLAVA a KOLINA JOZEF ing. CSc., PRAHA

(54)

Spôsob prípravy D-erytrózy /U-¹⁴C/ z rádioaktívneho polysacharidu /U-¹⁴C/ a jej p-nitro-fenylhydrazónu

1

Vynález sa týka spôsobu prípravy D-erytrózy /U-¹⁴C/ z rádioaktívneho polysacharidu a jej p-nitro-fenylhydrazónu.

Vodorozpustný rádioaktívny polysacharid typu α /1 $\rightarrow$ 4/ glukánu vetveného α /1 $\rightarrow$ 6/ väzbami získaný v procese komplexného spracovania rádioaktívnej biomasy zelených alebo modrozelených rias kultivovaných v prostredí ¹⁴CO₂ /Čsl. patent 121 808/ je vhodnou surovinou na prípravu vzácnych cukrov.

Podstata vynálezu spočíva v príprave D-erytrózy /U-¹⁴C/ resp. jej p-NO₂-fenylhydrazónu z rádioaktívneho biologického materiálu s výhodou zo zelených, resp. modrozelených rias tak, že hydrolyzáť získaný z vodorozpustného polysacharidu /U-¹⁴C/ typu α /1 $\rightarrow$ 4/ glukánu účinkom minerálnych kyselín alebo enzýmu glukosylázy sa podrobí oxidatívnej odbúraniu octanom olovičitým. D-erytróza /U-¹⁴C/ sa izoluje z reakčného prostredia vo výťažku cca 50 % a pôsobením p-nitrofenylhydrazínu sa prevedie na stabilný p-nitrofenylhydrazon D-erytrózy /U-¹⁴C/.

Výhodou navrhovaného spôsobu prípravy D-erytrózy /U-¹⁴C/ je jeho jednoduchosť, nízke pracovné náklady a možnosť prechovávanía D-erytrózy /U-¹⁴C/ vo forme jej stabilného hydrazónu. D-erytróza /U-¹⁴C/ je dôležitá látka pri biochemickom výskume a pri štúdiu chémie sacharidov.

Príklad 1

K 1 ml 1 % roztoku vodorozpustného polysacharidu $/U-^{14}C/$ zo zelených rias o celkovej aktivite 50 μCi sa pridalo 180 mg celulóзовého papiera Whatman 3 MM, obsahujúceho chemicky viazanú glukoamylázu /obsah proteínu 40 mg/g papiera o špecifickej aktivite 160 U/g nosiča pripraveného podľa čs. autorského osvedčenia č. 189472. Reakčná zmes sa nechá pretrepávať pri teplote 20 °C po dobu 6 hod. Po prebehnutí reakcie sa glukoamyláza zakotvená na papieri odfiltruje a zmes sa rozdelí na chromatografickom papieri Whatman No 1 v systéme octan etylnatý : 2-propanol : voda /6:2:1/. Rádiochemický výťažok D-glukózy $/U-^{14}C/$ je 45 μCi /90 %/. K tomuto množstvu sa pridá ešte 200 mg neaktívnej D-glukózy, rozpustí sa v 12,5 ml kyseliny octovej. Po pridaní 0,87 % octanu olovičitého do reakčného roztoku sa zmes nechá stáť 10 min. pri laboratórnej teplote. Vzniknutý octan olovnatý sa vyzráža roztokom kyseliny šťavelovej /252 mg dihydrátu kyseliny šťavelovej v 2,8 ml Kyseliny octovej/, po 10 min. sa zrazenina odfiltruje a filtrát sa zahustí pri zníženom tlaku pri 35 °C. K zvyšku sa pridá 10 ml octanu etylnatého, vypadnutá zrazenina sa odfiltruje a filtrát sa premyje 3 x 1 ml vody, vysuší so sírnanom sodným a zahustí. Získa sa 115 mg di-O-formyl-D-erytrózy $/U-^{14}C/$, ktorá sa rozpustí v 11,5 ml 5 % kyseliny octovej a nechá refluxovať 2 hod. Potom sa roztok zahustí pri zníženom tlaku a zvyšok sa trikrát odparí s etanolom. Chromatografia v systéme octan etylnatý : kyselina octová : 4 % kyselina ortoboritá ukazuje 97 % čistotu D-erytrózy $/U-^{14}C/$ o aktivite 23,4 μCi /52 %/. Výťažok 78,8 mg.

Príprava p-NO₂-fenyldiazónu D-erytrózy $/U-^{14}C/$

70 mg D-erytrózy $/U-^{14}C/$ sa rozpustí v 10 ml etanolu, k roztoku sa pridá 89 mg p-NO₂-fenyldiazínu a zmes sa refluxuje 15 minút. Potom sa reakčná zmes zahustí na polovičný objem a nechá kryštalizovať. Vypadnuté kryštály sa prekryštalizujú z vody, pričom sa získa 95,4 mg /64,8 %/ chromatograficky čistého p-NO₂-fenyldiazónu D-erytrózy $/U-^{14}C/$ o t.t. = 208 až 210 °C.

Príklad 2

Tak ako je uvedené v postupe podľa príkladu 1, s tým rozdielom, že hydrolýza vodorozpustného polysacharidu $/U-^{14}C/$ sa vykoná účinkom 1 N kyseliny chlorovodíkovej pri 100 °C po dobu 2 hod. Po odstránení kyseliny chlorovodíkovej sa získaný hydrolyzáť podrobí oxidatívnej odbúravajúcej, tak ako je uvedené v príklade 1.

P R E D M E T V Y N Á L E Z U

Spôsob prípravy D-erytrózy $/U-^{14}C/$ z rádioaktívneho polysacharidu a jej p-nitro-fenyldiazónu vyznačujúci sa tým, že hydrolyzáť, získaný z vodorozpustného polysacharidu $/U-^{14}C/$ typu α /1 $\rightarrow$ 4/ glukánu účinkom minerálnych kyselín alebo enzýmu glukoamylázy, sa podrobí oxidatívnej odbúravajúcej octanom olovičitým a získaná D-erytróza $/U-^{14}C/$ sa rozpustí v etanole a refluxuje s p-nitro-fenyl-hydrazínom, zmes sa potom za-

hustí na polovičný objem a nechá kryštalizovať.

O P R A V A

popisu vynálezu k autorskému osvědčení č.201 336
/51/ Int.Cl.³C 07 H 3/02

V popisu vynálezu k autorskému osvědčení č.201 336 je chyba
u druhého autora v názvu bydliště.

Místo: ..., ZEMEK JURAJ ing.CSc., LETONICA

Správně: .., ZEMEK JURAJ ing.CSc., LEHNICA

ÚŘAD PRO VYNÁLEZY A OBJEVY