



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU

K AUTORSKÉMU OSVEDČENÍU

240333

(11)

(81)

(22) Prihlášené 20 09 84
(21) (PV 7048-84)

(40) Zverejnené 13 06 85

(45) Vydané 15 06 87

[51] Int. Cl.⁴
C 07 H 3/02
C 13 K 1/00

(75)

Autor vynálezu

ZEMEK JIŘÍ ing. CSc., LEHNICE; KUČÁR ŠTEFAN RNDr. CSc.;
ZÁMOCKÝ JURAJ ing. CSc., BRATISLAVA

(54) Spôsob stereošpecifickej prípravy 1,6-anhydro-2,4-di-O-acetyl- β -D-glukopyranózy

1

2

Spôsob stereošpecifickej prípravy 1,6-anhydro-2,4-di-O-acetyl- β -D-glukopyranózy.

Riešenie sa týka oboru chémie a biochémie sacharidov. Vynález rieši spôsob stereošpecifickej prípravy 1,6-anhydro-2,4-di-O-acetyl- β -D-glukopyranózy pôsobením enzýmov skupiny hydroláz. Uvedeného účelu sa dosiahne tým, že na roztok 1,6-anhydro-2,3,4-tri-O-acetyl- β -D-glukopyranózy v citrátovo fosforečnanovom pufri o 0,01 až 0,05 mol. l⁻¹ a pH 5,0 až 5,5 sa pôsobí roztokom chymotrypsínu alebo lipázy pšeničného klíčku.

Riešenie má využitie v základnej chémii a biochémii sacharidov, predovšetkým pri príprave derivátov D-glukózy obmenených v polohe C-3, alebo k príprave disacharidov.

Vynález sa týka stereospecifickej prípravy 1,6-anhydro-2,4-di-O-acetyl- β -D-glukopyranózy.

1,6-Anhydro- β -D-glukopyranóza a jej parciálne acetylované deriváty sú vhodnými prekurzormi pri príprave mnohých derivátov glukózy (deoxycukry, aminocukry a podobne) ako aj disacharidov glukózového typu. Nachádzajú preto použitie ako čisté chemikálie, vhodné pre teoretické štúdium chémie a biochémie sacharidov. Doteraz sa pripravovali buď acetyláciou 1,6-anhydro- β -D-glukopyranózy [D. Shapiro, Y. Rabinsohn, A. J. Acher, A. Diver-Haber: J. Org. Chem. 35, 1464 (1970)] alebo chemickou hydrolýzou 2,3,4-tri-O-acetylderivátu 1,6-anhydro- β -D-glukopyranózy [Š. Kučár, J. Zámocký, J. Zemek, D. Anderle, M. Matulová: Collection Czech. Chem. Commun. 1985]. Nevýhodou uvedených spôsobov je nízka stereospecificita reakcie, čo má za následok vo väčšine prípadov vznik zmesi mono- a di-acetyl-derivátov.

Uvedené nedostatky v podstatnej miere odstraňuje postup podľa vynálezu, ktorého podstata spočíva v pôsobení chymotrypsínu EC 3.4.4.5 alebo lipázy z pšeničných klíčkov EC 3.1.1.3 v 0,01 až 0,05 mol . l⁻¹ 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- β -D-glukopyranózu.

Výťažok 1,6-anhydro-2,4-di-O-acetyl- β -D-glukopyranózy v tejto reakcii je okolo 90 perc. V reakcii s chymotrypsínom podiel všetkých ostatných deacetylačných produktov v reakčnej zmesi je okolo 10 %. Reakcia s lipázou z pšeničných klíčkov prebieha podstatne rýchlejšie, už za 1 hodinu je pri rovnakých aktivitách enzýmov ako v prípade chymotrypsínu východzí 1,6-anhydro-2,3,4-tri-O-acetyl- β -D-glukopyranóza čiastočne deacetylovaná, výťažok 1,6-anhydro-2,4-di-O-acetyl- β -D-glukopyranózy v reakčnej zmesi je však nižší, okolo 52 %. Výhodou tohto postupu je jeho jednoduchosť, vysoké výťažky 1,6-anhydro-2,4-di-O-acetyl- β -D-glukopyranózy v jednom reakčnom stupni.

Príklad 1

1,6-Anhydro-2,3,4-tri-O-acetyl- β -D-glukopyranóza (1 g) sa rozpustí v 10 ml metanolu a takto pripravený roztok sa pridá do 50 ml citranovo fosforečnanového pufru, 0,05 mol . l⁻¹ o pH 5,8 a pridá sa chymo-

trypsin z bravčového pankreasu, 1 ml o celkovej aktivite 1,5 ncat a špecifickej aktivite 2,8 ncat . mg⁻¹. Enzymová hydrolýza prebieha pri teplote 20 °C po dobu 90 hodín. Získaný reakčný produkt obsahoval 91,2 % normalizovaných to je 0,912 mg 1,6-anhydro-2,4-di-O-acetyl- β -D-glukopyranózy. Reakčná zmes mimo tohoto hlavného produktu obsahovala 1,6 % 1,6-anhydro-4-O-acetyl- β -D-glukopyranózy, 0,8 % 1,6-anhydro-3-O-acetyl- β -D-glukopyranózy, 6,4 % 1,6-anhydro-2,3-di-O-acetyl- β -D-glukopyranózy. Separácia 1,6-anhydro-2,4-di-O-acetyl- β -D-glukopyranózy sa prevedie chromatograficky na kolóne s náplňou silikagél v chromatografickej sústave octan etylatý : benzen : 2-propanol (8 : 4 : 1 objemových podielov).

Príklad 2

Postupuje sa ako je uvedené v príklade 1, s tým rozdielom, že sa použije chymotrypsín z hovädzieho pankreasu. Výsledky boli rovnaké, ako v prípade použitia chymotrypsínu z pankreasu ošípaných.

Príklad 3

Postupuje sa tak ako v príklade 1 s tým rozdielom, že sa použije ako enzým lipáza z pšeničného klíčku o celkovej aktivite 1,9 ncat a špecifickej aktivite 1,8 ncat . mg⁻¹, rozpustená v 50 ml citranovo fosforečnanového pufru, 0,01 mol . l⁻¹ o pH 5,0. 1,6-Anhydro-2,3,4-tri-O-acetyl- β -D-glukopyranóza sa rozpustí v 10 ml metanolu a pridá k pufrovanému roztoku enzýmu. Enzymová hydrolýza prebieha po dobu 1 hodiny pri teplote 40 °C. Výťažok 1,6-anhydro-2,4-di-O-acetyl- β -D-glukopyranózy bol 0,52 g, to je 52 %. Obsah ďalších sprievodných mono- a di-O-acetylderivátov v reakčnej zmesi bol nasledovný: 1,6-anhydro-4-O-acetyl- β -D-glukopyranózy bol 0,23 g, 1,6-anhydro-2-O-acetyl- β -D-glukopyranózy 0,04 g, 1,6-anhydro-3-O-acetyl- β -D-glukopyranózy 0,06 g, 1,6-anhydro-3,4-di-O-acetyl- β -D-glukopyranózy 0,08 g a 1,6-anhydro-2,3-di-O-acetyl- β -D-glukopyranózy 0,07 g.

Vynález môže nájsť široké uplatnenie v základnej organickej syntéze v oblasti sacharidov, predovšetkým glukózových derivátov modifikovaných substitučne na hydroxylovej skupine v polohe C-3 a oligosacharidov zložených z D-glukopyranozylových jednotiek viazaných α - alebo β -1,3-väzbami.

PREDMET VYNÁLEZU

Spôsob stereošpecifickej prípravy 1,6-anhydro-2,4-di-O-acetyl- β -D-glukopyranózy, vyznačený tým, že chymotrypsín EC 3.4.4.5 alebo lipáza z pšeničného klíčku EC 3.1.1.3 v 0,01 až 0,05 mol . l⁻¹ citranovo fosforeč-

nanovom 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- β -D-glukopyranózu.