



ÚRAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU K AUTORSKÉMU OSVEDČENIU

239597
(11) (B1)

[51] Int. Cl.⁴
C 07 H 3/02

[22] Prihlásené 08 03 84
[21] (PV 1679-84)

[40] Zverejnené 13 06 85

[45] Vydané 15 06 87

(75)

Autor vynálezu

KUBALA JOZEF ing.; ONDREJKOVIČ ANTON ing., BRATISLAVA

(54) Spôsob prípravy melibiózy a D-fruktózy

1

2

Vynález sa týka spôsobu prípravy melibiózy a D-fruktózy. Podstata vynálezu spočíva v tom, že sa 40 až 70 % hmot. vodný roztok melibiózy a D-fruktózy v 35 až 55 % hmot. etanole chromatograficky selektívne frakcionizuje na kolóne s iontomeničom s funkčnými sulfoskupinami vo vápenatej forme, z ktorej sa eluuje 35 až 55 % hmot. etanolom, zahustí a kryštalizuje. Vynález môže nájsť široké použitie pri štúdiu biochemických pochodov bioinžinierstve a medicíne.

Vynález sa týka spôsobu prípravy melibiózy a D-fruktózy.

Melibióza ako aj D-fruktóza patria medzi vzáčne sacharidy. Melibióza je redukujúci disacharid 6-O- α -D-galaktopyranozyl-D-glukopyranóza. V prírode sa nachádza ojedinele. Najčastejšie sa pripravuje kyslou alebo enzymatickou hydrolýzou rafinózy [C. S. Hudson, T. S. Harding: J. Am. Chem. Soc. 37,2734 (1915); T. S. Harding: Sugar 25,514 (1923); A. Wickström, J. E. Coutois, P. Le Dizet, A. Archambault: Bull. Soc. Chim. France 1410 (1958)]. Taktiež sa dá pripraviť parciálnou hydrolýzou tetrasacharidu a pentasacharidu izolovaného z *Lychnis dioica* [F. J. Bates: Polarimetry, Saccharimetry and Sugars, Washington 473 (1942)]. H. S. Isbell pripravil melibiózu z rafinózy fermentatívne pomocou pekárenských kvasníc [H. S. Isbell: Preparation and Properties of the Sugars and their Derivatives 473 (1966)]. F. Rendoš a A. Ondrejko pripravili melibiózu frakčnou kryštalizáciou po parciálnej hydrolýze rafinózy [Čs. AO 169453]. D-fruktóza sa pripravovala hydrolýzou polysacharidu inzulínu [J. Honeyman: Methods in Carbohydrates of Chemistry Vol. I, 116 (1962)]. Uvedené metódy prípravy melibiózy a D-fruktózy sú komplikované a náročné na chemikálie a zariadenie. Ďalšou nevýhodou je, že melibióza a D-fruktóza obsahovala rôzne koloidné látky, ktoré bolo treba práčne odstrániť.

Uvedené nevýhody v podstatnej miere odstraňuje spôsob prípravy melibiózy a D-fruktózy, ktorého podstata spočíva v tom, že sa 40 až 70 % hmot. vodný roztok melibiózy a D-fruktózy v 35 až 55 % hmot. etanole chromatograficky selektívne frakcionizuje na kolónu s ionomeničom s funkčnými sulfoskupinami vo vápenatej forme, z ktorej sa eluje 35 až 55 % hmot. etanolom, zahustí a kryštalizuje.

Výhodou navrhovaného spôsobu prípravy melibiózy a D-fruktózy oproti doterajším postupom prípravy je, že predmetný spôsob prípravy je jednoduchší, účinnejší a hospodárnejší. Umožňuje pripraviť v jednom stupni obidva vzáčne sacharidy melibiózu a D-fruktózu. Pri príprave nevznikajú žiadne vedľajšie produkty a vyrobené produkty sú kryštalické látky o vysokej čistote.

Príklad 1

K roztoku 25 g rafinózy v 250 ml vody sa pridá 25 g ionomeniča s funkčnými sulfoskupinami (Wofatit KPS 200 0,3 až 0,85 mm) a za miešania sa hydrolyzuje pri teplote 60 °C po dobu 8 h. Hydrolyzát sa filtráciou oddelí od ionomeniča a zahustí na 21 g sirupu. 2 g tohto sirupu sa rozpustí v 2 ml 35

perc. hmot. vodného roztoku etanolu a nanesie na kolónu naplnenú ionomeničom s funkčnými sulfoskupinami vo vápenatej forme (Dowex 50 W $\times$ 8 0,07 až 0,13 mm) s dĺžkou kolóny 100 cm a priemerom kolóny 2,5 centimetra. Ako eluačné činidlo sa použije 35 % hmotný vodný roztok etanolu. Pomocou zbberača frakcií pri prietoku 10 mililitrov $\cdot$ h⁻¹ sa jednotlivé frakcie sledujú zostupnou papierovou chromatografiou (Whatman No. 1) v sústave etylacetát : pyridín : voda v objemovom pomere 8 : 2 : 1 a deteguje anilíniumhydrogénftalátom, ako aj s kyselinou 3,5 dinitrosalicylovou spektrofotometricky pri 575 nm. Frakcia 1 až 11 bola negatívna na cukry, frakcia 12 až 25 obsahovala 1,16 g melibiózy, frakcia 26 až 32 bola negatívna na cukry, frakcia 33 až 46 obsahovala 0,56 g D-fruktózy. Frakcie, ktoré obsahujú čisté cukry melibiózu a D-fruktózu sa jednotlivito zahustia na rotačnej odparke, prečistia prídavkom 0,5 g aktívneho uhlia, prefiltrujú a vykryštalizujú v 5 ml etanolu. Melibióza mala optickú otáčavosť $(\alpha)_D^{20} + 136^\circ$ ($c = 2$ voda) teplotu topenia 179 až 181 °C sa získala v 95,7 % výťažku. D-fruktóza mala optickú otáčavosť $(\alpha)_D^{20} - 92^\circ$ ($c = 2$ voda), teplotu topenia 103 až 105 °C sa získala v 92,5 % výťažku.

Príklad 2

Postupuje sa ako v príklade 1 s tým rozdielom, že sa hydrolyzuje pri teplote 80 °C po dobu 6 h a ako eluačné činidlo sa použije 55 % hmot. etanol. Melibióza mala optickú otáčavosť $(\alpha)_D^{20} + 134^\circ$ ($c = 5$ voda), teplotu topenia 179 až 180 °C a získala sa v 93,2 percenta výťažku. D-fruktóza mala optickú otáčavosť $(\alpha)_D^{20} - 91^\circ$ ($c = 2$ voda), teplotu topenia 103 až 104 °C sa získala v 94,2 % výťažku.

Príklad 3

Postupuje sa ako v príklade 1 s tým rozdielom, že sa použije ako eluačné činidlo 42,5 % hmot. etanol. Frakcia 1 až 15 bola negatívna na cukry, frakcia 16 až 30 obsahovala 1,17 g melibiózy, frakcia 31 až 35 bola negatívna na cukry a frakcia 36 až 52 obsahovala 0,55 g D-fruktózy. Melibióza mala optickú otáčavosť $(\alpha)_D^{20} + 135^\circ$ ($c = 2$ voda), teplotu topenia 180 až 181 °C a sa získala v 96,5 % výťažku. D-fruktóza mala optickú otáčavosť $(\alpha)_D^{20} - 92^\circ$ ($c = 2$ voda), teplotu topenia 103 až 104 °C a sa získala v 91,0 % výťažku.

Vynález môže nájsť široké použitie pri štúdiu biochemických pochodov v bioinžinierstve a medicíne.

PREDMET VYNÁLEZU

Spôsob prípravy melibiózy a D-fruktózy hydrolýzou rafinózy vo vodnom roztoku za katalýzy ionomeniča s funkčnými sulfoskupinami vyznačujúci sa tým, že sa 40 až 70 % hmot. vodným roztokom melibiózy a D-fruktózy v 35 až 55 % hmot. etanole chromato-

grafický selektívne frakcionizuje na kolóne s ionomeničom s funkčnými sulfoskupinami vo vápenatej forme, z ktorej sa eluuje 35 až 55 % hmot. etanolom, zahustí a kryštalizuje.