



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU K AUTORSKÉMU OSVĚDČENÍ

231401

(11)

(B1)

(22) Přihlášeno 22 08 60
(21) (PV 5183-60)

(51) Int. Cl.³

C 12 P 7/24

(45) Vydáno 15 06 86

(75)

Autor vynálezu

HANČ OLDŘICH RNDr. ing., KAKÁČ BOHUMIL RNDr.,
ŽVÁČEK JAROSLAV RNDr. ing., TŮMA JAN, PRAHA

(54) Způsob výroby opticky aktivního fenylacetylkarbinolu
biochemickou syntézou

Vynález se týká způsobu výroby opticky aktivního fenylacetylkarbinolu biochemickou syntézou z benzaldehydu a ethanolu, vznikajícího činností kvasinek v živném prostředí obsahujícím cukry. Biochemická syntéza se provádí v přítomnosti látky sloužící jako akceptor vodíku, s výhodou acetaldehydu. Acetaldehyd se přidává v množství, které činí 50 až 100 % hmotnostního množství použitého benzaldehydu a je ho možno přidávat současně s benzaldehydem.

Vydálek se týká způsobu výroby opticky aktivního fenylacetylkarbinolu biochemickou syntézou z benzaldehydu a meziproductů alkoholického kvašení, vznikajícího činností kvasinek v živném prostředí obsahujícím cukry.

Biochemická syntéza opticky aktivního fenylacetylkarbinolu, důležitého farmaceutického meziproductu pro výrobu efedrinu a fenmetrazinu, je založena na pozorování C. Neuberga se spol. (Biochem. Ztg. 15, 1921; 127, 1922; 128, 1923), že po přisadě benzaldehydu do násady cukru, rozkvašené pomocí kvasinek, vzniká vedle benzylalkoholu opticky aktivní látka charakteru alfa-ketolu. Na tomto principu je opticky aktivní fenylacetylkarbinol již po léta průmyslově vyráběn, a to extrakcí kvasného média vhodným, s vodou nemísitelným rozpouštědlem.

Nyní bylo zjištěno, že přísada benzaldehydu silně inhibuje alkoholické kvašení, a to zášhem do jednotlivých oxidoredukčních stupňů tohoto pochodu. Redukující enzymy kvasinek převádějí přitom asi 50 % benzaldehydu v benzylalkohol, takže pro vznik ketolu se zužitkuje jen jeho menší část.

Za optimálních podmínek se získá celkem asi 35 % fenylacetylkarbinolu počítáno stechiometricky na výchozí benzaldehyd.

Tento nepříznivý celkový bilanční poměr se nepodařilo zlepšit ani různými úpravami fyzikálně chemických podmínek při kvašení, ani použitím různých sort kvasinek.

Při studiu optimálních podmínek pro vznik fenylacetylkarbinolu jsme sledovali, že pro kondensační reakci mezi benzaldehydem a meziproducty alkoholického kvašení není třeba Neubergem předpokládaného enzymu karboligázy, nýbrž že pochod probíhá v přítomnosti benzaldehydu a pyrohroznové kyseliny v prostředí tlumivého roztoku již za přítomnosti pouhé kvasničné karboxylázy (Naturwiss. 43, 498, 1956); v období k biosyntéze acetoinu z acetaldehydu a kyseliny pyrohroznové.

Vyšetřování podmínek pro potlačení redukce benzaldehydu v benzylalkohol přísadou některých akceptorů vodíku, které by mohly působit při této reakci soutěživě, podařilo se nalézt látku, která ze všech zkoušených látek projevovalela nejpriznivější vliv na průběh biosyntézy fenylacetylkarbinolu.

Předmětem vynálezu je způsob výroby opticky aktivního fenylacetylkarbinolu biochemickou syntézou z benzaldehydu a meziproductů alkoholického kvašení, vznikajících činností kvasinek v živném prostředí obsahujícím cukry. Podstata způsobu podle vynálezu spočívá v tom, že se biochemická syntéza provádí v přítomnosti látky sloužící jako akceptor vodíku.

Nejlepších výsledků lze dosáhnout tehdy, když se jako akceptoru vodíku používá acetaldehydu, který se přidává do živného prostředí v takovém množství, které činí 50 - 100 % váhového množství použitého benzaldehydu.

Do živného prostředí se acetaldehyd přidává současně s benzaldehydem. V průběhu vyhledávání optimálních podmínek pro biosyntetickou výrobu opticky aktivního fenylacetylkarbinolu byly vyzkoušeny tetrazoliové soli, metylenová modř, aceton a další podobné látky, které však většinou působily silně inhibičně na celý průběh kvašení, zvláště také na dekarboxylaci kyseliny pyrohroznové, jak bylo zjištěno měřením vývoje CO_2 .

Teprve použití fyziologicky poměrně inertního acetaldehydu, vhodně dávkovaného, vedlo k příznivým výsledkům. Podařilo se tak zvýšit výtěžek fenylacetylkarbinolu až o 50 % při současném potlačení vzniku benzylalkoholu.

Použitím snadno přístupného a levného acetaldehydu způsobem podle vynálezu se poda-

řilo podstatně z hospodárnit výrobu opticky aktivního fenylacetylkarbinolu, aniž by bylo nutno měnit technologii a způsob izolace konečného produktu.

P ř í k l a d 1

Ve 20 l vody byl rozpuštěn 1 kg surové sacharosy, 100 g kukuřičné máčecí vody, 8 ml kyseliny fosforečné a roztokem KOH bylo pH upraveno na hodnotu 5,5.

Po vyhřátí na 30 °C bylo do roztoku za míchání vneseno 600 g droždí. Po 1 hodině kvašení bylo započato s přidáváním benzaldehydu, a to v 10 dávkách po 16 g, celkem 160 g. S každou dávkou benzaldehydu bylo přidáno současně poloviční váhové množství acetaldehydu.

Fermentace bylo skončena po 12 hodinách. Obsah vzniklého L-fenylacetylkarbinolu byl hodnocen jednak po extrakci alikvotního podílu násady polarograficky a chromatograficky, jednak po extrakci a analýze celého množství. Celkem bylo podle provedených analýz získáno 112 g čistého L-fenylacetylkarbinolu.

P ř í k l a d 2

Do živné půdy, obsahující v 1 litru vody 50 g sacharosy, 2 g KH_2PO_4 , 1 g MgSO_4 a 2 g peptonu (pH 5,5), přidáno 30 g pekařského droždí. Za míchání fermentováno při 27 °C po dobu 3 hodin, pak postupně přidáván benzaldehyd a acetaldehyd vždy po 3 hodinách, až do celkového množství 8 g každé složky na 1 litr živné půdy.

Vždy před přidáním další dávky aldehydů bylo polarograficky sledováno mizení benzaldehydu a vznik L-fenylacetylkarbinolu.

Po 12 hodinách byla fermentace zastavena, násada byla zbavena kvasinek odstředěním a filtrací a filtrát pak extrahován éterem.

Po odpaření rozpouštědla byla zbylá kapalina hodnocena jednak přímou analýzou, jednak po provedení hydrogenační aminace v efedrin. Po přepočtení na výchozí benzaldehyd bylo získáno podle analýz 65 % L-fenylacetylkarbinolu, podle převedení v efedrin 55 %; v souběžném pokuse bez přísady acetaldehydu získáno toliko 43 % L-fenylacetylkarbinolu podle analýzy a asi 35 % podle převedení v efedrin.

PŘEDMĚT VYNÁLEZU

1. Způsob výroby opticky aktivního fenylacetylkarbinolu biochemickou syntézou z benzaldehydu a meziproduktů alkoholického kvašení, vznikajících činností kvasinek v živném prostředí obsahujícím cukry, vyznačující se tím, že se biochemická syntéza provádí v přítomnosti látky sloužící jako akceptor vodíku.

2. Způsob podle bodu 1, vyznačující se tím, že se jako akceptoru vodíku používá acetaldehydu.

3. Způsob podle bodu 1 a 2, vyznačující se tím, že se acetaldehyd přidává do živného prostředí v takovém množství, které činí 50 - 100 % hmotnostního množství použitého benzaldehydu.

4. Způsob podle bodu 1, 2 a 3, vyznačující se tím, že se acetaldehyd přidává současně s benzaldehydem.