



DEUTSCHE DEMOKRATISCHE REPUBLIK
AMT FÜR ERFINDUNGS- UND PATENTWESEN

PATENTSCHRIFT 143 261

Wirtschaftspatent

Erteilt gemäß § 5 Absatz 1 des Änderungsgesetzes zum Patentgesetz

In der vom Anmelder eingereichten Fassung veröffentlicht

Int. Cl. 3

(11) 143 261 (44) 13.08.80 3(51) C 07 H 3/00
(21) WP C 07 H / 212 467 (22) 25.04.79

(71) Akademie der Wissenschaften der DDR, ZI für Krebsforschung, Berlin, DD
(72) Tschiersch, Bruno, Dr. Dipl.-Biol., DD; Schwabe, Konrad, Dr. Dipl.-Chem., DD; Stokov, Ilja, Dr. Dipl.-Chem., BG
(73) siehe (72)
(74) Akademie der Wissenschaften der DDR, Forschungszentrum für Molekularbiologie und Medizin, AG Patent- und Neuererwesen, 1115 Berlin, Lindenberger Weg 70

(54) Verfahren zur Gewinnung von L-(+)-Arabinose

(57) Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, ein billiges und industriell anwendbares Verfahren zu entwickeln. Erfindungsgemäß wird Zuckerrübenmaterial mit Wasser extrahiert, anschließend mit Wasser unter Zugabe von $\text{Ca}(\text{OH})_2$ erhitzt, filtriert, das Filtrat mit H_2SO_4 angesäuert, durch Erhitzen hydrolysiert und die Schwefelsäure neutralisiert. Anwendungsgebiet ist die Mikrobiologie, speziell die Bakteriologie.

7 Seiten

DEM DEU DEG

143 261 Ac 141/79-79 5.

ATEP 2650

212 467 -1-

Erfinder: Tschiersch, Dr.rer.nat.habil., Bruno
Schwabe, Dr.rer.nat., Konrad
Stokov, Dr.rer.nat., Ilja

Verfahren zur Gewinnung von L-(+)-Arabinose

Anwendungsgebiet der Erfindung

Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Gewinnung von L-(+)-Arabinose.

L-(+)-Arabinose wird in der Mikrobiologie, speziell in der Bakteriologie für diagnostische Zwecke verwendet und dient als Ausgangsmaterial für chemische Synthesen, u.a. zur Synthese von Kanzerostatika-Transportformen.

Charakteristik der bekannten technischen Lösungen

In der Natur kommt L-(+)-Arabinose als Polysaccharid der höheren Pflanzen weit verbreitet vor, zum Teil als Baustein der pflanzlichen Organismen, zum Teil aber auch als gummiartiges Ausscheidungsprodukt verschiedener Pflanzen (Gummi arabicum, Mesquite-Gummi, Kirsch-Gummi u.a.m.).

Schon in der älteren Literatur werden Methoden zur Gewinnung von L-(+)-Arabinose aus Pflanzenmaterialien beschrieben. Eine Zusammenfassung gibt S. Harding (Sugar 24, 656, 1922). Allgemein werden dabei die pflanzlichen Materialien direkt einer sauren Hydrolyse unterworfen. Anschließend wird die L-Arabinose aus dem Hydrolysat isoliert. Auch in neuerer Zeit, so z.B. von E. Anderson und L. Sands (Org. Synth. 1, 67, 1941), die L-(+)-Arabinose aus Mesquite-Gummi gewinnen, werden ähnliche Verfahren beschrieben. Das dabei anfallende Produkt ist auf Grund wechselnder, stets in größerer Menge vorhandener Verunreinigungen, z.B. durch andere Zucker, für anschließende synthetische Arbeiten nur bedingt verwendbar, so daß aufwendige Reinigungsverfahren angeschlossen werden müssen.

Von S. Harding (Sugar 24, 656, 1922) wurde auch darauf verwiesen, daß Zuckerrüben ein sehr gut geeignetes Ausgangsmaterial für die L-(+)-Arabinose-Gewinnung darstellen. In die gleiche Richtung zielt auch das von F. Janecek, F. Rendos u. V. Tibensky (CSSR-Patent 153 378) 1975 beschriebene Verfahren, nach dem aus Zuckerrübenschnitzeln oder Zuckerrübenpulpe L-Arabinose, Pektin und Zellulose durch Hydrolyse mit 0,1 - 6 % Schwefelsäure gewonnen werden. Durch die Hydrolyse des rohen Pflanzenmaterials entstehen jedoch Gemische von Zuckern, die ein nur sehr schwer auftrennbares und deshalb meist unsauberes, d.h. für weitere synthetische Arbeiten kaum verwendbares Präparat darstellen.

Aus der Literatur ist außerdem bekannt, daß aus Zuckerrübenpulpe durch Erhitzen mit NaOH das Polysaccharid Araban in Lösung gebracht werden kann. Von K. Kaji und T. Tagawa (B.B.A.

207, 456, 1970) wurde es z.B. zur Induktion des Fermentes α -L-Arabinofuranosidase bei dem Aspergillus niger-Stamm K₁ verwendet.

Die Autoren nehmen die Extraktion des Arabans mit NaOH-Lösung vor und verwenden die mit HCl neutralisierte Arabanlösung zur Herstellung der Nährmedien.

Ziel der Erfindung

Das Ziel der Erfindung besteht darin, ein billiges und industriell anwendbares Verfahren zur Gewinnung der L-(+)-Arabinose zu entwickeln.

Darlegung des Wesens der Erfindung

Erfindungsgemäß wird Zuckerrübenmaterial zur Entfernung der Saccharose und anderer wasserlöslicher Verbindungen mit kaltem oder heißem Wasser extrahiert. Anschließend wird das Pflanzenmaterial mit der 5-20fachen, vorzugsweise 10fachen Menge Wasser unter Zugabe von 1 - 10 % (bezogen auf Pflanzenmaterial), vorzugsweise 4 % $\text{Ca}(\text{OH})_2$ versetzt und für 10 - 120 Minuten, vorzugsweise 30 Minuten auf 80 - 100°C, vorzugsweise 95°C erhitzt. Danach wird der Extrakt vom unlöslichen Pflanzenmaterial und dem durch Einstellen auf pH 3,0 - 6,0 mittels Schwefelsäure gebildeten CaSO_4 durch Filtration abgetrennt. Durch Zugabe von Schwefelsäure wird der H_2SO_4 -Gehalt des Extraktes dann auf 0,2 - 3 %, vorzugsweise 0,5 % gebracht und das in der Lösung enthaltene Araban anschließend durch Erhitzen auf 80 - 100°C, vorzugsweise 95°C innerhalb eines Zeitraumes von 10 - 120 Minuten, vorzugsweise 60 Minuten hydrolysiert. Durch Zugabe von CaCO_3 wird die Schwefelsäure neutralisiert und das dabei entstehende CaSO_4 durch anschließende Filtration abgetrennt. Das Filtrat enthält nach dünnenschichtchromatographischer Analyse die L-(+)-Arabinose als einzigen Zucker, der durch Einengen, Kristallisation oder durch Extraktionsverfahren in ein kristallines, reines Produkt überführt wird.

Ausführungsbeispiel 1

100 g Zuckerrüben-Pelletmaterial (Angaben des Herstellers: Trockenmasse 890 g/kg, Rohascheanteil 60 g/kg, Gesamtzuckergehalt 650 g/kg) werden 2 x mit je 1000 ml Wasser auf 95°C erhitzt und danach abfiltriert. Das so extrahierte Pflanzenmaterial wird mit 500 ml Wasser und 4 g Ca(OH)₂ versetzt und für 30 Minuten auf 95°C erhitzt. Nach Abtrennung der unlöslichen Bestandteile durch Filtration wird die das Araban enthaltende Lösung durch Zugabe von konzentrierter Schwefelsäure auf 0,5 % H₂SO₄ gebracht und 60 Minuten auf 95°C erhitzt. Durch Versetzen mit CaCO₃ wird die Schwefelsäure neutralisiert und anschließend das dabei entstandene CaSO₄ durch Filtration abgetrennt. Im Filtrat ist L-(+)-Arabinose als einziger Zucker dünnenschichtchromatographisch nachweisbar. Das Filtrat wird im Vakuum bei erhöhter Temperatur zur Trockne eingedampft und der Rückstand 4 x mit je 200 ml Äthanol ausgekocht. Die äthanolischen Extrakte werden zur Abtrennung von Farbstoffen über eine kleine Al₂O₃-Säule (ca. 20 g Al₂O₃ für die Chromatographie, Aktivitätsstufe 1, neutral) gegeben. Mit 600 ml Äthanol wird die Al₂O₃-Säule nachgewaschen. Die vereinigten Eluate werden stark eingeengt und durch Stehen bei Raumtemperatur die L-(+)-Arabinose zur Kristallisation gebracht. Durch Kühlung wird die Kristallisation vervollständigt.

Ausbeute an reiner L-(+)-Arabinose: 4,2 g

Smp.: 145-150°C (Lit.: 159°C)

Opt. Drehung: + 104° ± 1°, (c=10 in H₂O); (Lit.: +105°)

Derivat: 1-Methyl-2,3,5-tri-O-benzoyl- α -L-arabinofuranosid
vom Smp.: 100-103,5°C, (Lit.: 100-103°C)

Anwendungsbeispiel 2

30 kg Zuckerrüben-Schnitzel (feucht) werden in ein 300-l-Kochgefäß gefüllt und mit Wasser auf 300 l Volumen aufgefüllt. Es wird aufgekocht und danach über ein Plastesieb filtriert. Der Kochvorgang wird noch einmal wiederholt. Nach erneuter Filtration wird das Material wieder in Wasser aufgenommen (300 l Endvolumen) und mit 8 g $\text{Ca}(\text{OH})_2$ /l versetzt. Es wird 1/2 h unter Röhren gekocht, filtriert und der Rückstand nochmals mit Wasser (300 l Endvolumen) 5 Min. aufgekocht. Beide Filtrate werden mit 33 %iger Schwefelsäure auf pH 5 eingestellt und ergeben ein Volumen von 150 l. Pro 100 l Flüssigkeit werden 9 l 33 %ige Schwefelsäure zugegeben und es wird 6 h auf 80°C erhitzt. Nach Abkühlung wird mit CaCO_3 auf pH 5 eingestellt. Am nächsten Tag wird vom Überstand dekantiert und der Rest auf einer Nutsche abgesaugt. Zum Filtrat werden 2 kg Aktivkohle (Norit) /100 l zwecks Entfärbung gegeben. Nach Filtration wird die Lösung im Vakuum (40°C) zu einem dicken Sirup eingeengt. Der Sirup wird fünfmal mit 5 l heißen 99 %igen Äthanol versetzt und jeweils 1 h auf 60°C erhitzt. Die Alkoholextrakte werden zum Sirup eingedickt und dieser mit 1 l 99 %igem Äthanol behandelt. Nach etwa 1 h beginnt die Kristallisation der L-Arabinose, die durch Aufbewahrung in der Kälte über Nacht vervollständigt wird. Das Produkt wird schließlich auf der Nutsche zweimal mit wenig kaltem Äthanol gewaschen.

Ausbeute: 600 g L-(+)-Arabinose.

Erfindungsanspruch

1. Verfahren zur Gewinnung von L-(+) Arabinose, dadurch gekennzeichnet, daß man Zuckerrübenmaterial mit Wasser extrahiert, danach das Pflanzenmaterial mit der 5 - 20fachen Menge Wasser unter Zugabe von 1 - 10 % (bezogen auf Pflanzenmaterial) versetzt und für 10 - 120 Minuten auf 80 - 100°C erhitzt, anschließend den Extrakt nach Einstellung auf einen pH 3,0 - 6,0 filtriert, den H_2SO_4 -Gehalt auf 0,2 - 3 % bringt und das in der Lösung enthaltene Araban durch Erhitzen auf 80 - 100°C innerhalb von 10 - 120 Minuten hydrolysiert, neutralisiert und filtriert.
2. Verfahren nach Punkt 1, dadurch gekennzeichnet, daß man vorzugsweise mit 4 % $Ca(OH)_2$ versetzt, 30 Minuten auf 95°C erhitzt, den H_2SO_4 -Gehalt auf 0,5 % einstellt und die Hydrolyse bei 95°C für 60 Minuten durchführt.