



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU K AUTORSKÉMU OSVĚDČENÍ

231238

(11) (B1)

(22) Přihlášeno 09 12 82
(21) (PV 8919-82)

(51) Int. Cl.³
C 07 D 473/34

(40) Zveřejněno 15 09 83

(45) Vydáno 15 06 86

(75)
Autor vynálezu

HOLÝ ANTONÍN RNDr. CSc., PRAHA

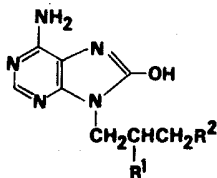
(54) 9-(RS)-[3(2)-(3-Aminopropylamino-2(3)-hydroxypropyl)-8-hydroxyadenin]
a způsob jejich přípravy

Vynález se týká 9-(RS)-[3(2)-(3-aminopropylamino-2(3)-hydroxypropyl)-8-hydroxyadenin]
a způsobu jejich přípravy.

Předmětné látky jsou nové sloučeniny, které mají neočekávané vlastnosti: jako ligandy vázané na polymerní nosiče prostřednictvím jejich alifatické 3-aminoskupiny mají schopnost pevně a reversibilně vázat enzym S-adenosyl-L-homocystein-hydrolasu z živočišných a rostlinných zdrojů a jsou proto klíčovými sloučeninami pro účinné čištění tohoto enzymu afinitní chromatografi (a.o. 231 239).

K tomuto účelu se dosud používal 8-(3-aminopropylamino)adenosin (E. O. Kajender, A. M. Raina: Bioch. J. 193, 503 /1981/); účinnost nosičů připravených z této látky (pevnost afinitní vazby enzymu) není dostatečná.

Tuto nevýhodu odstraňuje předmět vynálezu, kterým jsou nové látky - isomerní 9-(RS)- 3(2)- (3-aminopropylamino)-2(3)-hydroxypropyl -8-hydroxyadeniny vzorce I

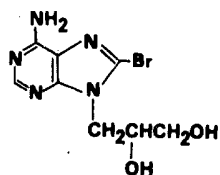


(I)

kde R¹ a R² jsou střídavě OH a NH(CH₂)₃ NH₂ skupina.

231238

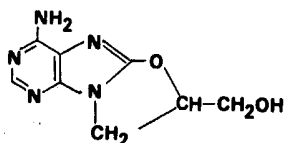
Dále je předmětem vynálezu způsob jejich přípravy, spočívající v tom, že se 9-(RS)-(2,3-dihydroxypropyl)-8-bromadenin vzorce II



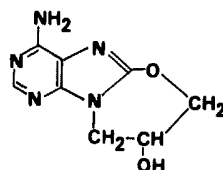
(II)

uvádí do reakce s 1,3-diaminopropanem s obsahem až 30 % objemových vody při teplotách 80 až 100 °C, a látky vzorce I se isolují chromatografií, s výhodou na celulóse.

Klíčovou sloučeninu pro přípravu obou isomerních látek vzorce I je derivát 8-bromadeninu vzorce II, který se snadno získá bromací (a.o. 231 237 9-(RS)-(2,3-dihydroxypropyl)adeninu (DHFA) (a.o. 191 656). Působením silné báze 1,3-diaminopropanu vznikají nejprve isomerní 2,8- a 3,8-anhydroderiváty vzorců III nebo IV

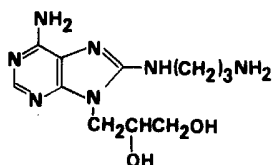


(III)



(IV)

které se dále štěpí tímtež aminem, takže se současně zavádějí 3-aminopropylskupiny do postranního řetězce a 8-hydroxylová funkce do polohy 8 adeninu. Vedle látek I při této reakci současně vzniká 9-(RS)-(2,3-dihydroxypropyl)-8-(3-aminopropylamino)adenin vzorce V



(V)

všechny tři látky je možno rozdělit např. rozdělovací chromatografií na celulóse v soustavě 2-propanol-konc. vodný amoniak-voda (7:1:2, v/v/v) nebo v téže soustavě na silikagelu. Takto se získají chromatograficky čisté volné báze sloučenin vzorce I, které reagují pozitivně s ninhydrinem a mají typická spektra derivátů 8-hydroxyadeninu.

Směs obou isomerů může být rovněž použita přímo k vazbě na afinitní nosiče. V dalším je vynález osvětlen na příkladech provedení přípravy látek vzorce I, aniž se tím jakkoliv omezuje.

Příklad 1

Ke směsi 25 ml 1,3-diaminopropanu a 5 ml vody předehřáté na 100 °C se přidá 7,2 g 9-(RS)-(2,3-dihydroxypropyl)-8-bromadeninu a směs se míchá při 100 °C pod zpětným chladičem s uzavěrem z natronového vápna 5 h. Pak se odpaří při 40 °C/13 Pa a odparek se kódestiluje 3x25 ml dimethylformamidu za stejných podmínek. Odparek směsi v 50 ml vody se vnesse na sloupec 250 ml středně kyselého katexu (Amberlitu IRC 50 /H⁺-forma/), promyje se vodou (3 ml/min) do ztráty ultrafialové absorpce při 260 nm a sloupec se poté eluuje 5% roztokem triethylaminu v 50% vodném methanolu.

Frakce absorbující v ultrafialovém světle se odpaří a odparek chromatografuje na sloupci (100x4 cm) mikrokryštalické celulosy v soustavě 2-propanol-konc. vodný amoniak-voda (7:1:2, v/v/v); rychlost slunce 20 ml/h, detekce v ultrafialovém světle (viz výše). Jednotlivé frakce se analyzují chromatografií na papíře Whatman No 1 v téže soustavě. Frakce obsahující látku R_F 0,41 (látky vzorce V) se nezpracovávají; frakce látek R_F 0,36 (I) a R_F 0,27, které představují oba isomery, se odděleně spojí, odpaří, vysuší ve vakuu (13 Pa) a jejich odparky se rozpustí v methanolu (5 ml). Přidáním etheru (200 ml) se vyloučí sraženiny, které se odsají, promyjí etherem a vysuší ve vakuu. Získá se 1,4 g látky vzorce I, (kde R¹OH a R²=NH(CH₂)₃NH₂) o t.t. 144 °C (monohydrát). Pro C₁₁H₂₁N₇O₃ (299,4) vypočteno 44,13 % C, 7,07 % H, 32,76 % N; nalezeno 43,83 % C, 6,91 % H, 32,88 % N. UV-Spektrum (pH 2): λ_{max} 278 nm, (pH 7): λ_{max} 276 nm, (pH 12): λ_{max} 286 nm.

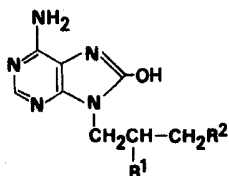
Dále se získá 1,8 g látky vzorce I (kde R²=OH a R¹=NH(CH₂)₃NH₂) o t.t. 138 °C (monohydrát). Pro C₁₁H₂₁N₇O₃ (299,4) vypočteno 44,13 % C, 7,07 % H, 32,76 % N; nalezeno 44,35 % C, 7,15 % H, 33,02 % N. UV-Spektrum je shodné se spektrem předchozí látky vzorce I.

Příklad 2

Reakce se provede stejně jako je uvedeno v příkladu 1 s polovičním množstvím všech složek: Po odpaření směsi ve vakuu se zbytek v 20 ml směsi 2-propanol-konc. vodný amoniak-voda nanese na sloupec (50x4 cm) silikagelu podle Pitry a eluuje se toutéž směsí (2 ml/min, frakce 10 min). Průběh chromatografie se sleduje stejně jako v příkladu 1. Frakce obsahující látky vzorce I se spojí, odpaří a odparky rozpustí v 25 ml vody. Zfiltruje se přes křemelinu od nerozpustného zbytku, znovu odpaří, vysuší kódestilací ethanolom (3x25 ml) při 40 °C/2 kPa a sráží z methanolu (5 ml) etherem (100 ml). Další zpracování se provede stejně jako v příkladu 1. Získá se 1,56 g směsi isomeru látky vzorce I, shodných s preparáty podle příkladu 1.

PŘEDMĚT VYNÁLEZU

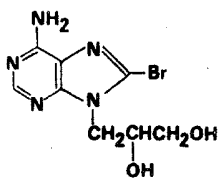
1. 9-(RS)-[3(2)-(3-aminopropylamino)-2(3)-hydroxypropyl]-8-hydroxyadeniny obecného vzorce I



(I),

kde R¹ a R² jsou střídavě OH a NH(CH₂)₃NH₂ skupina.

2. Způsob přípravy látek vzorce I podle bodu 1, vyznačený tím, že se 9-(RS)-(2,3-di-hydroxypropyl)-8-bromadenin vzorce II



(II),

uvádí do reakce s 1,3-diaminopropanem s obsahem až 30 % objemových vody při teplotách 80 °C až 100 °C, a látky vzorce I se izolují chromatografií, s výhodou na celulóse.