

Patent dodatkowy
do patentu nr _____

Zgłoszono: 07.06.78 (P. 207477)

Pierwszeństwo: _____

Zgłoszenie ogłoszono: 10.03.80

Opis patentowy opublikowano: 30.07.1983

Int. Cl.³

C07F 9/65
C07H 19/16

Twórcy wynalazku: Wiktor Koziółkiewicz, Anna Janecka, Jerzy Pankowski, Henryk Panusz

Uprawniony z patentu: Akademia Medyczna, Łódź (Polska)

Sposób wytwarzania adenozy-no- γ [³²P] trójfosforanu sodowo-potasowego

1

Przedmiotem wynalazku jest sposób wytwarzania adenozy-no- γ [³²P] trójfosforanu sodowo-potasowego o wzorze 1, mającego zastosowanie w biochemii do badań enzymatycznych.

Znany sposób wytwarzania tego związku, opisany przez Vehrli, Verheyden, Moffat w Journal American Chemical Society 87, 2265, 1965 r., polega na otrzymywaniu aktywnego amidu adenozy-nodwufosforanu z morfoliną, a następnie jego kondensacji z ³²P ortofosforanem trójbutyloamoniowym, przy czym produkt otrzymuje się w roztworze wodnym z wydajnością 65% w stosunku do fosforanu nieorganicznego o aktywności właściwej $2,44 \times 10^{11}$ rozpadów/sekundę/mol.

Inny sposób opisany przez Hecht, Kozarich w Biochemistry Biophysic Acta 331, 307 — 1973 r., Stany Zjednoczone Ameryki, polega na uaktywnieniu adenozy-nodwufosforanu przy użyciu 1,1'-karbonyldwuimidazolu, a następnie na kondensacji powstałego adenozy-nodwufosforanu — imidazolidu z ³²P-ortofosforanem trójbutyloamoniowym, przy czym produkt otrzymuje się w roztworze wodnym z wydajnością 60% w stosunku do fosforanu nieorganicznego o aktywności właściwej $3,7 \times 10^9$ rozpadów/sekundę/mol.

Niedogodnością znanych sposobów jest to, że reakcje syntezy są pracochłonne i długotrwałe do czterech dni, co powoduje spadek aktywności znaczonego izotopem ³²P-związku o okresie półtrwania wynoszącym 14,3 dni.

2

Celem wynalazku jest usunięcie niedogodności znanych sposobów i otrzymanie związku znaczonego izotopem w sposób prosty i szybki w celu ograniczenia do minimum rozpad izotopu. Istota tego sposobu polega na tym, że ³²P-ortofosforan potasowy poddaje się reakcji kondensacji w temperaturze od -18°C do -20°C z mieszanym bezwodnikiem kwasu adenozy-nodwufosforowego i kwasu etylowegłowego o wzorze 2.

Zaletę sposobu według wynalazku stanowi prosty jednodniowy przebieg reakcji syntezy związku znaczonego izotopem ³²P, kosztem spadku wydajności wynoszącej 40% w stosunku do fosforanu nieorganicznego z jednoczesnym zwiększeniem się aktywności właściwej produktu wynoszącej $1,48 \times 10^{13}$ rozpadów/sekundę/mol.

Przedmiot wynalazku jest przedstawiony w przykładzie wykonania na rysunku przedstawiającym schemat przebiegu reakcji syntezy.

Przykład I.

A. Otrzymywanie bezwodnika mieszanego.

Do 86 części wagowych adenozy-nodwufosforanu dwusodowego, wysuszonego przez trzykrotne odparowanie z pirydyną, dodaje się 10 000 części objętościowych bezwodnego dwumetyloformamidu i po oziębieniu całości do temperatury od -18°C do -20°C dodaje się 10 części objętościowych chloromrówczanu etylowego. W tej temperaturze całość się miesza przez 30 minut z pozostawieniem roz-

puszczonego w masie reakcyjnej bezwodnika mieszanego.

B. Otrzymywanie adenozyno- γ [^{32}P] trójfosforanu sodowopotasowego.

Do pełnej ilości otrzymanego bezwodnika w temperaturze -20°C dodaje się 5,3 części wagowych ortofosforanu potasowego o aktywności $3,7 \times 10^{12}$ rozpadów/sekundę/mol. Całość się miesza przez dalsze 30 minut w temperaturze od -18°C do -20°C i doprowadza do temperatury $10-20^\circ\text{C}$ przez usunięcie łaźni chłodzącej. Otrzymuje się, rozpuszczony w masie reakcyjnej, adenozyno- γ [^{32}P] trójfosforan sodowo-potasowy obok dwutlenku węgla i etanolanu potasowego.

C. Oczyszczanie adenozyno- γ [^{32}P] trójfosforanu sodowo-potasowego.

Z masy reakcyjnej odparowuje się dwumetyloformamid, natomiast pozostałość rozpuszcza się w 1000 częściach objętościowych wody i całość w celu oczyszczenia przepuszcza się przez kolumnę wypełnioną wymiennikiem jonowym. Produkt wymywa się z kolumny octanem trójetyloamoniowym o stężeniu molowym 1,4.

Adenozyno- γ [^{32}P] trójfosforan sodowo-potasowy w postaci roztworu wodnego otrzymuje się z wydajnością 40% w stosunku do ortofosforanu potasowego

o aktywności właściwej $1,48 \times 10^{13}$ rozpadów/sekundę/mol.

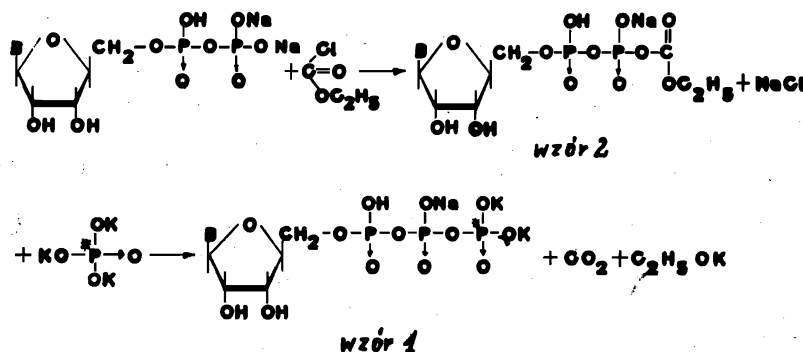
Przykład II.

Otrzymywanie bezwodnika mieszanego oraz adenozyno- γ [^{32}P] trójfosforanu sodowo-potasowego odbywa się według przykładu I. Natomiast oczyszczanie gotowego produktu odbywa się przez odparowanie masy reakcyjnej do suchej pozostałości, którą następnie rozpuszcza się w 1000 częściach objętościowych wody i roztwór ten przepuszcza się przez kolumnę wypełnioną wymiennikiem jonowym. Po tym kolumnę przemywa się roztworami chlorku amonowego i kwasu solnego oraz wodą.

Wydajność procesu zwiększa się o 3% w stosunku do wyniku uzyskanego w przykładzie I, przy czym produkt otrzymuje się również w postaci roztworu wodnego.

Zastrzeżenia patentowe

Sposób wytwarzania adenozyno- γ [^{32}P] trójfosforanu sodowo-potasowego o wzorze 1, **znamienny tym**, że ^{32}P -ortofosforan potasowy poddaje się reakcji kondensacji w temperaturze od -18°C do -20°C z mieszanym bezwodnikiem kwasu adenozynodwufosforowego i kwasu etylowęgłowego o wzorze 2 przedstawionym na rysunku.



B - reszta adenylova