

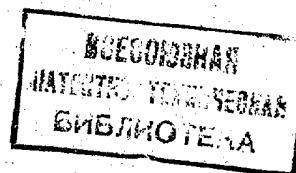


СОЮЗ СОВЕТСКИХ
СОЦИАЛИСТИЧЕСКИХ
РЕСПУБЛИК

(19) **SU** (11) **1160720 A 1**

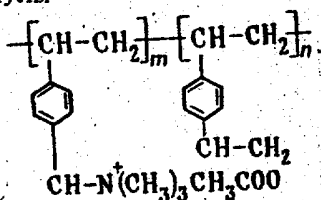
(51)5 C 08 F 212/14, 8/44, C 08 J 5/20

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ КОМИТЕТ
ПО ИЗОБРЕТЕНИЯМ И ОТКРЫТИЯМ
ПРИ ГИИТ СССР

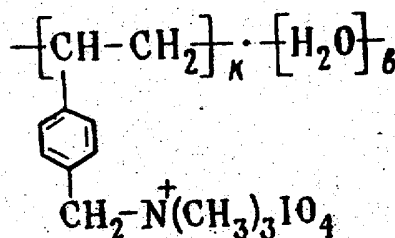
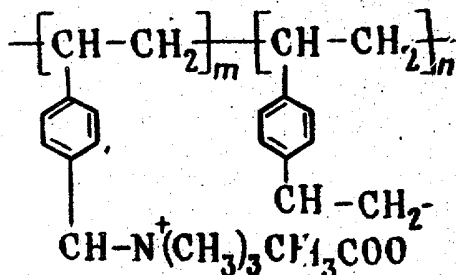


ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К АВТОРСКОМУ СВИДЕТЕЛЬСТВУ

- (21) 3585760/23-05.
(22) 22.04.83
(46) 07.05.91. Бюл. № 17
(71) Всесоюзный онкологический научный центр АМН СССР
(72) Н.А.Брусенцов и М.Н.Преображенская
(53) 661.183.123(088.8)
(56) J.X.Khum, W.E.Cohn. Characterizations and some chemical reactions of periodate - oxidized nucleosides. I. Am. Chem. Soc. 1960, v.82, N 24, p.6380-6386.
(54) ИММОБИЛИЗОВАННЫЕ ПЕРИОДАТЫ ДЛЯ СЕЛЕКТИВНОГО ОКИСЛЕНИЯ РИБОЗИДОВ И СПОСОБ ИХ ПОЛУЧЕНИЯ.
(57) 1. Иммуобилизованные периодаты общей формулы

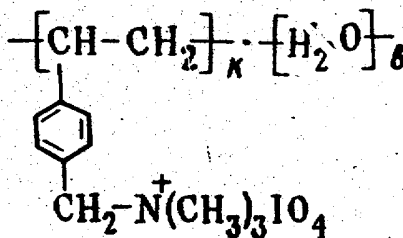


Изобретение относится к соединениям общей формулы (I)



при соотношении m:n:k:b от 35:6:35:24 до 9,7:10:48,3:32 для селективного окисления рибозидов.

2. Способ получения иммобилизованных периодатов, заключающийся в том, что водный раствор йодной кислоты смешивают с уксуснокислой солью сильноосновного анионита и хлорметилированного и аминированного триметиламином сополимера стирола с 6-10% дивинилбензола при соотношении ионов IO_4^- и CH_3COO^- равном 1:1-5, при температуре от -1 до $+20^\circ\text{C}$ и pH 1,5-3,0.



где m:n:k:b = 35:6:35:24 -
9,7:10:48,3:32,

которые могут быть использованы при

(19) **SU** (11) **1160720 A 1**

селективном окислении рибозидов, в том числе при синтезе соединений, обладающих противоопухолевой активностью, и к способу их получения.

Наибольшее распространение при окислении нуклеозидов получил описанный в литературе метапериодат натрия (NaIO_4), KIO_4 применяется реже.

Используемый в качестве окислителя NaIO_4 не проявляет избирательности, он является неспецифичным и одновременно окисляет рибозиды, глюкозиды и галактозиды.

Цель изобретения - создание окислителей для селективного окисления рибозидов из группы периодатов.

Предлагаются иммобилизованные периодаты общей формулы I для селективного окисления рибозидов.

Предлагается также способ получения иммобилизованных периодатов формулы I, который заключается в том, что водный раствор йодной кислоты смешивают с уксуснокислой солью сильноосновного анионита - хлорметилированного и аминированного триметиламином сополимера стирола с 6-10% дивинилбензола при соотношении ионов IO_4^- и CH_3COO^- , равном 1:1-5, при $(-1) - (+20)^\circ\text{C}$ и pH 1,5-3,0.

Предложенный способ обеспечивает получение селективных периодатов с выходом 90-99%. Способ прост, поскольку реакция проходит при атмосферном давлении, температуре $(-1) - (+20)^\circ\text{C}$ и не требует специального оборудования. Полученные при этом иммобилизованные периодаты селективнее метапериодата натрия.

Они избирательно окисляют рибозиды в присутствии глюкозидов и галактозидов, действуют мягко, окисление происходит при pH 2,3-2,8 в условиях, исключающих возможность отщепления агликонов. Выделение продуктов окисления упрощается, повышается выход. В конце процесса окисления отработанные аниониты легко отделяются от продуктов реакции фильтрованием, уксусную и йодную кислоты регенерируют известными способами.

Для получения периодатов по предложенному способу сильноосновные аниониты, полученные на основе гелевых или макропористых сшитых сополимеров стирола и дивинилбензола, в OH^- форме перемешивают при комнатной температуре с 20%-ным раствором уксусной

кислоты, отмывают водой до нейтральной реакции промывных вод, перемешивают суспензию при $(0) - (+5)^\circ\text{C}$ с 5-10%-ным раствором йодной кислоты, отфильтровывают, промывают на фильтре водой (от 0 до 20°C) до нейтральной реакции промывных вод. Хранят полученные периодаты при $(-4) - (-20)^\circ\text{C}$, при таких условиях периодаты стабильны в течение года. При $20-25^\circ\text{C}$ они инактивируются в течение 3-5 ч, при этом анион IO_4^- восстанавливается до IO_3^- . Количественное определение продуктов окисления проводят спектрофотометрически.

Содержание дивинилбензола (ДВБ) в сополимере и зернение ионитов учитывают в соответствии с назначением получаемых иммобилизованных периодатов.

Молекулярная проницаемость анионитов непрерывно-гелевой структуры обратно пропорциональна количеству ДВБ в сополимере. Чем меньше диаметр молекул, которые предполагается окислять, тем большее содержание ДВБ допустимо в иммобилизованных периодатах.

Выбор анионитов с содержанием ДВБ 6-10%, зернением 20-400 меш в предлагаемых периодатах обусловлен их оптимальной молекулярной проницаемостью для соединений с молекулярной массой 100-400 дальтон (нуклеозиды).

Аниониты с содержанием ДВБ 12-16% имеют пониженные молекулярную проницаемость и обменную емкость.

Анион CH_3COO^- , присутствующий в соединениях в определенных соотношениях, образует окислительно-восстановительную пару $\text{IO}_4^- - \text{CH}_3\text{COO}^-$ и буферную систему с pH 1,5-3,0, создавая благоприятные условия для избирательного окисления рибозидов и последующего полного выделения хроматографически чистых диальдегидов.

Определение выхода периодатов.

Поскольку в результате иммобилизации йодной кислоты одновременно изменяется несколько параметров носителя (влажность, удельный вес, содержание уксусной кислоты), выход целевого продукта (S) определяют по разности количеств введенной в реакцию йодной кислоты (Q) и возвращенной, неприсоединившейся йодной кислоты (G). $S = Q - G$

Молекулярная масса $\text{HIO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 228.
Обменная емкость анионита Дауэкс 1 OH^- 1,7 мг-экв/г.

Количество исходного анионита Дауэкс 1 OH^- 60 г,
 $Q = 11,61$ г, $G = 1,11$ г, $S = 10,5$ г (пример 1).

Пример 1. 60 г анионита Дауэкс 1 OH^- (ДВБ 6%; обменная емкость 1,7 мг-экв/г; влажность 43,3%) перемешивают со 100 мл 20%-ной уксусной кислоты 30 мин при комнатной температуре, отфильтровывают, промывают холодной водой на фильтре до нейтральной реакции промывных вод, охлаждают до -2°C , прибавляют охлажденный (1°C) раствор 11,6 г йодной кислоты в 80 мл дистиллированной воды и перемешивают до pH 1,5, отфильтровывают на холоду (от 0 до 2°C), промывают холодной водой до нейтральной реакции промывных вод, объединенный фильтрат упаривают, возвращают 1,1 г дигидрата йодной кислоты. На стеклянном фильтре получают продукт с влажностью 24,6%, соотношением $m:n:k:v = 35:6:35:24$. Выход 61,0 г (90,4%).

Пример 2. 60 г анионита Дауэкс 1 OH^- (ДВБ 8%; обменная емкость 1,7 мг-экв/г; влажность 42%) в 100 мл 20%-ной уксусной кислоты перемешивают 30 мин при комнатной температуре, фильтруют, промывают холодной водой на фильтре до нейтральной реакции промывных вод, охлаждают до -2°C прибавляют холодный (1°C) раствор 7,74 г йодной кислоты в 60 мл дистиллированной воды, перемешивают на холоду (от 0 до 2°C) до pH 2,1, промывают холодной водой до нейтральной реакции промывных вод, объединенный фильтрат упаривают, возвращают 0,04 г дигидрата йодной кислоты. На стеклянном фильтре получают продукт с влажностью 26,1% и соотношением $m:n:k:v = 22,30:8:43,6:26,1$. Хранят при (-4) - $(20)^\circ\text{C}$.

Пример 3. 600 г анионита АВ-17-8чС. OH^- (ДВБ 8%; обменная емкость 1,7 мг-экв/г, влажность 44%) перемешивают с 600 мл 20%-ной уксусной кислоты 30 мин при комнатной температуре, отфильтровывают, промывают водой на фильтре до нейтральной реакции промывных вод, охлаждают до -2°C и прибавляют охлажденный (1°C) раствор 46,44 г йодной кислоты в 320 мл

дистиллированной воды, перемешивают до pH 2,2, отфильтровывают на холоду (от 0 до 2°C), промывают холодной водой, объединенный фильтрат упаривают, возвращают 0,44 г дигидрата йодной кислоты. На стеклянном фильтре получают продукт с влажностью 32,4% и соотношением $m:n:k:v = 12:8:48:32$. Выход 611 г (99,0%). Хранят при (-4) - $(-20)^\circ\text{C}$.

Пример 4. 60 г анионита Дауэкс 1 OH^- (ДВБ 10%, зернение 200-400 меш, обменная емкость 1,7 мг-экв/л, влажность 42%) в 100 мл 20%-ной уксусной кислоты перемешивают 30 мин при комнатной температуре, фильтруют, промывают холодной водой на фильтре до нейтральной реакции промывных вод и при 10°C прибавляют раствор 4,7 г йодной кислоты в 80 мл дистиллированной воды, перемешивают до pH 2,8, отфильтровывают, промывают водой при 18°C до нейтральной реакции промывных вод, объединенный фильтрат упаривают, возвращают 0,07 г дигидрата йодной кислоты. На стеклянном фильтре получают продукт с $m:n:k:v = 9,7:10:48,3:32$. Выход 60,1 г (97,7%) содержание IO_4^- 0,35 ммоль/г.

Примеры 5-9, проведенные в условиях примера 1, но при различных соотношениях $m:n:k:v$, приведены в табл.1. Поскольку за время высушивания при комнатной температуре (24 ч над P_2O_5 в вакууме) анион IO_4^- восстанавливается до IO_3^- в ИК-спектрах периодатов, снятых в таблетках с бромистым калием, наблюдается сильная полоса поглощения при $740-770 \text{ см}^{-1}$, соответствующая частоте колебаний аниона IO_3^- , аниону IO_4^- соответствует частота колебаний при 791 см^{-1} .

Применение периодатов.

Для избирательного окисления субстратов, содержащих рибозиды, периодаты формулы I перемешивают с растворами субстратов, доводят температуру до требуемой, перемешивают заданное время, аниониты отфильтровывают и регенерируют. Фильтрат и промывные воды упаривают, полученные продукты окисления выделяют известными способами.

Селективность действия периодатов иллюстрируется примерами 10 и 11 и табл.2.

Пример 10. Избирательное окисление рибозида в присутствии

глюкозида. 1,0 г продукта, полученного по примеру 1, смешивают с раствором, содержащим 10 мг инозина и 10 мл 1- β -D-глюкопиранозил-5-фторурацила в 5 мл дистиллированной воды, перемешивают при 30°C 30 мин, отфильтровывают, промывают (10 мл) водой, упаривают до объема 1 мл, делят на пластинках "Кизельгель 60 F 254" в системе н-бутанол-этанол-вода (4:1:5). Получают 9-(2'-оксиметил-3-оксапентадиаль-1',5'-ил-4') гипоксантин моногидрат (инокс). Выход 7,48 мг (75,4%). Rf 0,52. УФ-спектр, $\lambda_{\text{макс}}$, lg(ϵ): 248 см⁻¹ (4,09). 1- β -D-глюкопиранозил-5-фторурацил выделяют в неизменном виде, выход 8,2 мг (82%). Rf 0,47. Система этилацетат-метанол (20:3), Rf 0,3.

10 мг 1-0-метил- β -D-галактопиранозида в 5 мл дистиллированной воды, перемешивают при 30°C 30 мин, отфильтровывают, промывают (10 мл) водой, упаривают до объема 1 мл. Делят на пластинках "Кизельгель 60 F 254" в системе н-бутанол-этанол-вода (4:1:5). Получают 9-(2'-оксиметил-3-оксапентадиаль-1',5'-ил-4') гипоксантин моногидрат (инокс). Выход 7,16 мг (72,2%), Rf 0,52. УФ-спектр, $\lambda_{\text{макс}}$, lg(ϵ): 248 см⁻¹ (4,09). По литературным данным Rf 0,52. 1-0-Метил- β -D-галактопиранозид выделяют в неизменном виде, выход 8,3 мг (83%), Rf 0,2.

Кроме избирательного окисления рибозидов иммобилизованные периоды могут быть полезными при быстром количественном отделении тория (Th) от урана (U) VI, при производстве чистого гомогенного интерферона с молекулярной массой 15000 и в других производствах, связанных с применением периодатов.

Пример 11. Избирательное окисление рибозида в присутствии галактозида. 1,0 г продукта, полученного по примеру 3, смешивают с раствором, содержащим 10 мг инозина и

Т а б л и ц а 1

Получение иммобилизованных периодатов

Но- мер при- мера	Анионит						Иммобилизованный периодат					
	Тип	Коли- чество, г	Влаж- ность, %	Обмен- ная ем- кость мг-экв/г	Коли- чество введен- ной йодной кислоты	pH реак- цион- ной смеси	Тип	Содержание, %				Выход, %
								IO ₄ ⁻	ДВВ	CH ₃ COO ⁻	H ₂ O	
5	AB-17-8чС	600	44,0	1,7	77,4	2,3	AB-17-8чС	15,9	8	47,6	28,5	99,4
6	Лауэкс-1	60	42,0	1,7	4,64	2,8	Лауэкс-1	15,75	8	47,25	29	98,7
7	AB-17-8чС	60	44,0	1,7	11,6	2,0	AB-17-8чС	33,5	8	33,5	25	94,8
8	Амберлит IRA 900	10	27,4	1,8	1,3	2,3	Амберлит IRA 900	17,25	8	47,75	27	97
9*	AB-17-8чС	60	44,0	1,7	4,64	2,8	AB-17-8чС	1,25	8	63,75	7	Содержит 20% IO ₄ ⁻

*) Промытый периодат дополнительно высушивают в эксикаторе над прокаленным хлористым кальцием.

