



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU

K AUTORSKÉMU OSVEDČENÍU

209 557

(11) (B 1)

(61)

(23) Výstavná priorita
(22) Prihlášené 21 01 80
(21) PV 400-80

(51) Int. Cl.³ C 07 H 3/02

(40) Zverejnené 27 02 81
(45) Vydané 15 02 82

(75)

Autor vynálezu BÍLIK VOJTECH RNDr. CSc., BIELY PETER RNDr. CSc., BRATISLAVA,
KOLINA JOSEF ing. CSc., PRAHA

(54) Spôsob prípravy ¹⁴C-značkovanej D-galaktózy

Vynález sa týka spôsobu prípravy ¹⁴C-značkovanej D-galaktózy katalyzovanou epimerizáciou ¹⁴C-značkovanej D-xylózy.

Podstata vynálezu spočíva v tom, že D-xylóza sa vo vodnom roztoku za prítomnosti kyseliny molybdenovej epimerizuje a epimérne aldepentózy sa prevedú nitrometánovou syntézou na l-deoxy-l-nitrohexitoly, ktoré sa oxidačným rozkladom konvertujú na odpovedajúce aldózy.

Vynález má význam v tom, že ¹⁴C-značková D-galaktóza má široké uplatnenie v biochemickom výskume, a to v oblasti štúdia transportu a metabolizmu sacharidov.

Predmetom vynálezu je spôsob prípravy ^{14}C -značkovanej D-galaktózy katalyzovanou epimerizáciou ^{14}C -značkovanej D-xylózy a následným uplatnením nitrometánovej syntézy a oxidačného rozkladu reakciou vzniknutých nitrohexitolov.

Efektívne postupy syntézy galaktózy sú založené hlavne na predlžovaní uhlíkatého reťazca lyxózy. Kyanhydrínovou syntézou, hydrolýzou a následnou reakciou galaktónovej kyseliny sa získa z D-(1- ^{14}C)lyxózy D-(2- ^{14}C)galaktóza (H. S. Isbell, H. L. Frush, R. Schaffer; J. Res. Nat. Bur. Stand. 51, 201 (1953)), resp. z D-lyxózy a ^{14}C -značkovaného kyanovodíka D-(1- ^{14}C)galaktóza (H. S. Isbell, H. L. Frush, N. B. Holt; J. Res. Nat. Bur. Stand. 51, 307 (1953)), prípadne uplatnením nitrometánovej syntézy a oxidačného rozkladu 1-deoxy-1-nitro-galaktitolu na galaktózu (V. Bílik; Coll. Czechoslov. Chem. Commun. 39, 1621 (1974)). Vo všetkých týchto prípadoch je potrebná relatívne menej dostupná lyxóza. Navrhovaný spôsob prípravy využíva ako východiskovú zlúčeninu relatívne dostupnejšiu D-xylózu.

Podstata vynálezu spočíva v tom, že D-xylóza sa vo vodnom roztoku za prítomnosti katalytických množstiev kyseliny molybdénovej pri teplote 80 až 100 °C po dobu 0,5 až 3 hodiny epimerizuje a epimérne aldopentózy sa bez osobitného delenia prevedú nitrometánovou syntézou na odpovedajúce 1-deoxy-1-nitrohexitoly, ktoré sa oxidačným rozkladom konvertujú na odpovedajúce aldózy. Zo zmesi aldóz sa galaktóza osobitne jednoducho izoluje chromatografiou na papieri.

Z D-(U- ^{14}C)xylózy a ^{14}C -značkovaného nitrometánu sa uvedeným postupom získa D-(U- ^{14}C)galaktóza. Obmenou D-xylózy, resp. špecificky ^{14}C -značkovanej D-xylózy a nitrometánu, resp. ^{14}C -značkovaného nitrometánu je daná možnosť prípravy celej palety špecificky ^{14}C značkovaných D-galaktóz.

Výhodou navrhovaného spôsobu prípravy ^{14}C -značkovanej D-galaktózy je, že

- využíva relatívne dostupnejšiu aldopentózu,
- značná časť aldopentóz (60 - 70 %) sa späť regeneruje a môže sa použiť do ďalšieho cyklu prípravy D-galaktózy (nitrohexitoly odvodené od xylózy sa za podmienok oxidačného rozkladu retrogresnou reakciou konvertujú na východiskovú xylózu),
- celý postup prípravy je v technickom prevedení veľmi jednoduchý,
- všetky potrebné chemikálie - vynímajúc ^{14}C -značkovanú D-xylózu sú bežne dostupné.

Príklad prevedenia

V skúmavke opatrenej zábrusom a spätným chladičom sa zmes D-xylózy (25 mg), D-(U- ^{14}C)xylózy (10 μCi o špecifickej aktivite 90 mCi/mmól), 0,1 % vodný roztok kyseliny molybdénovej zahrieva 2 hodiny pri 90 °C. Roztok sa potom zahustí (vákuová rotačná odpar-ka) a k suchému destilačnému zvyšku sa pridá metanolícky roztok metanolátu sodného (0,25 ml pripravený rozpustením 0,3 g sodíka v 10 ml metanolu) a nitrometán (0,1 ml). Reakčná zmes sa nechá stáť pri teplote miestnosti 20 hodín a po pridaní 15 % vodného roztoku peroxidu vodíka (1 ml) sa nechá stáť ďalších 24 hodín. Roztok sa deionizuje na stípci (20 x 1 cm) zmesného iónomeniča "Bio-Deminrolit" (Permutit) a eluát (60 - 80 ml) sa po zahutnení a po rozpustení destilačného zvyšku v zmesi metanol - voda chromatografuje na papieri Whatman No. 1 (20 x 56 cm) elučným xvstémom 1-butanol-etanol-voda (5 : 1 : 4, v/v) zostupnou chro-

matografiou pri teplote miestnosti 24 hodín. Po detekcii reprezentatívneho pásu chromatografického papiera (0,5 cm) rádiometricky, resp. číniidlom kyslého ftalátu anilínu sa z chromatogramu vystrihne zóna D-galaktózy a zóna aldopentóz (v zóne D-galaktózy je 25 % a v zóne aldopentóz 68 % z rádioaktivity východiskovej D-(U- ^{14}C)xylózy). Chromatograficky čistá D-(2,3,4,5,6- ^{14}C)galaktóza sa získa následnou rechromatografiou izolovanej ^{14}C -značkovanej D-galaktózy v elučnom systéme octan etylový-pyridín-voda (8 : 2 : 1, v/v, prietok pri teplote miestnosti 20 hodín) v ca 20 % výťažku počítané na východiskovú ^{14}C -značkovánú D-xylózu.

^{14}C -značkováaná D-galaktóza má široké uplatnenie v biochemickom výskume, a to hlavne v oblasti štúdia transportu a metabolismu sacharidov.

P R E D M E T V Y N Á L E Z U

Spôsob prípravy ^{14}C -značkovanej D-galaktózy, vyznačujúci sa tým, že ^{14}C -značkováaná D-xylóza sa vo vodnom roztoku za prítomnosti katalytických množstiev kyseliny molybdénovej pri teplote 80 až 100 °C po dobu 0,5 až 3 hodiny epimerizuje a epimérne aldopentózy sa bez osobitného delenia prevedú nitrometánovou syntézou na odpovedajúce nitrohexitoly, ktoré sa oxidačným rozkladom konvertujú na odpovedajúce aldózy.