

ČESKOSLOVENSKÁ
SOCIALISTICKÁ
REPUBLIKA
(19)



FEDERÁLNÍ ÚŘAD
PRO VYNÁLEZY

POPIS VYNÁLEZU K AUTORSKÉMU OSVĚDČENÍ

265746

(11) (B1)

(13)

(51) Int. Cl.⁴

C 07 H 3/02

(22) přihlášeno 27 05 88

(21) PV 3639-88.E

(40) zveřejněno 10 02 89

(45) vydáno 13 04 90

(75)

Autor vynálezu

SKÁLA LADISLAV RNDr. CSc., PRAHA

(54) Způsob přípravy D-ribosy značené radioisotopem ¹⁴C

(57) Značený ribonukleosid se hydrolýzuje kyselinou trifluoroctovou při teplotě 70 až 120 °C za alespoň atmosférického tlaku po dobu 1 až 8h.

Vynález řeší způsob přípravy D-ribosy značené radioisotopem ^{14}C .

D-ribosa je velmi významný monosacharid, hojně rozšířený v přírodě jako součást biologicky mimořádně důležitých nukleových kyselin.

Z řady způsobů přípravy D-ribosy, které jsou vesměs obtížné a zdlouhavé, jsou za nejvýhodnější považovány izolace z nukleových kyselin a redukce D-arabinonové kyseliny (Jeanloz R. W., Fletcher H. G. Jr.: *Advan. Carbohyd. Chem.* 6, 135 (1951), Berezovskij V. M., Rodionova E. P.: *Sbornik statej obšč. chim.* 2, 939 (1953), Whistler R. L., BeMiller J. N.: *Methods Carbohyd. Chem.* 1, 81 (1962)).

Postupy, vycházející z D-glukosy (Sowden J. C.: *J. Amer. Chem. Soc.* 72, 808 (1950), stejně jako epimerace D-arabinosy kyselinou molybdenovou (Bílik V.: *Chem. zvesti* 26, 372 (1972)) poskytují nízké výtěžky a nejsou preparativně využívány.

Pro přípravu D-ribosy značené radioisotopem ^{14}C , která má značný význam v biologickém, biochemickém a lékařském výzkumu, má důležitost pouze využití složek nukleových kyselin.

Na tomto principu je založena i příprava D-ribosy značené radioisotopem ^{14}C kyselou hydrolýzou ribonukleosidů podle analogie s přípravou nezačené D-ribosy.

Provádí se kyselinou chlorovodíkovou nebo kyselinou mravenčí. Největším problémem při hydrolýze kyselinou chlorovodíkovou je odstraňování této kyseliny z reakční směsi. I relativně nejvhodnější způsob, tj. použití iontoměníčů, je pracný a ztrátový. V průběhu hydrolýzy kyselinou chlorovodíkovou dochází již i k částečnému rozkladu vznikající D-ribosy v důsledku podmínek reakce.

Kyselina mravenčí je méně agresivní činidlo, ale současně i méně účinné. Za podmínek nutných k hydrolýze kyselinou mravenčí dochází k částečnému vzniku O-formylesterů D-ribosy. Odstraňování kyseliny mravenčí z reakční směsi vakuovým odpařováním je časově náročné a málo efektivní vzhledem k relativně vysokému bodu varu této kyseliny a současně nutnosti práce při teplotě pod 40°C . Zbytků kyseliny mravenčí je možno se zbavit jen obtížně, např. převáděním na těžavější methylester.

Uvedené nedostatky odstraňuje navrhovaný způsob přípravy D-ribosy značené radioisotopem ^{14}C jehož podstata spočívá v tom, že značený ribonukleosid se hydrolýzuje kyselinou trifluoroctovou, s výhodou o koncentraci 20 až 40 %, při teplotě 70 až 120°C , výhodně 90 až 100°C , po dobu 1 až 10 hodin, za alespoň atmosférického tlaku, přičemž na množství 1 mol ribonukleosidu se použije s výhodou množství 1 až 2 moly kyseliny trifluoroctové.

Výhoda tohoto způsobu přípravy D-ribosy značené radioisotopem ^{14}C spočívá v tom, že

- umožňuje snadnou a kvantitativní hydrolýzu ribonukleosidů na D-ribosu a purinovou bázi,
- hydrolýza je šetrnější, než při použití minerálních kyselin a účinnější, než při použití kyseliny mravenčí,
- kyselinu trifluoroctovou lze vzhledem k jejímu bodu varu odstranit za mírných podmínek z reakční směsi vakuovým odpařením, čímž se zjednoduší pracovní postup a omezí ztráty produktu.

Způsob podle vynálezu je dále objasněn v následujících příkladech provedení.

P ř í k l a d 1

Roztok [$\text{U-}^{14}\text{C}$]guanosinu (436,6 MBq; 9,5 mg) v 7 ml 40% kyseliny trifluoroctové se zahřívá na 90°C po dobu 4 h pod zpětným chladičem. Poté se kyselina trifluoroctová odstraní vakuovým odpařením při teplotě pod 40°C .

Radiochemický výtěžek D-[U-¹⁴C]ribosy je kvantitativní (50 % výchozí radioaktivity).

Izolace D-[U-¹⁴C]ribosy se provede např. preparativní papírovou chromatografií v soustavě kyselina isomáselná 25% hydroxid amonný-voda (400:0,4:208).

P ř í k l a d 2

Roztok [U-¹⁴C]guanosinu (103,6 MBq; 2,3 mg) v 5 ml 20% kyseliny trifluoroctové se zahřívá na 95 °C po dobu 7 h pod zpětným chladičem.

Poté se reakční směs zpracuje způsobem, jak je uvedeno v příkladu 1.

Radiochemický výtěžek D-[U-¹⁴C]ribosy je 50 %.

P ř í k l a d 3

Roztok [U-¹⁴C]adenosinu (315 MBq; 4,6 mg) v 6 ml 30% kyseliny trifluoroctové se zahřívá na 100 °C po dobu 1 h v zatavené ampuli.

Poté se reakční směs zpracuje způsobem, jak je uvedeno v příkladu 1.

Radiochemický výtěžek D-[U-¹⁴C]ribosy je 50 %.

P Ř E D M Ě T V Y N Á L E Z U

Způsob přípravy D-ribosy značené radioisotopem ¹⁴C vyznačený tím, že značený ribonukleosid se hydrolyzuje kyselinou trifluoroctovou, s výhodou o koncentraci 20 až 40 %, při teplotě 70 až 120 °C, výhodně 90 až 100 °C, za alespoň atmosférického tlaku, po dobu 1 až 10 h, přičemž na množství 1 mol ribonukleosidu se použije s výhodou množství 1 až 2 moly kyseliny trifluoroctové.