



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU K AUTORSKÉMU OSVĚDČENÍ

252613

(11) (B1)

(51) Int. Cl.⁴

C 07 D 311/76

(22) Přihlášeno 05 04 86
(21) PV 2443-86

(40) Zveřejněno 12 02 87

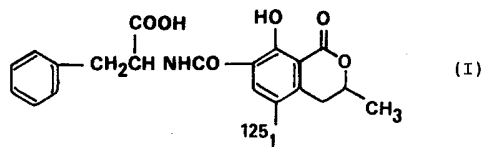
(45) Vydáno 16 05 88

(75)
Autor vynálezu

VEREŠ KAREL doc. RNDr. CSc.,
SCHMIEDOVÁ DANIELA ing., PRAHA

(54) [¹²⁵I] ochratoxin a způsob jeho přípravy

Řešení se týká [¹²⁵I] ochratoxinu obecného vzorce I a způsobu jeho přípravy. Výchozí látkou způsobu přípravy je ochratoxin A, v jehož molekule se atom chloru v poloze 5 nejdříve hydrogenací odstraní a poté se do této polohy s použitím beznosičového jodidu sodného - ¹²⁵I a chloraminu B nebo chloraminu T zavede radionuklid ¹²⁵I.



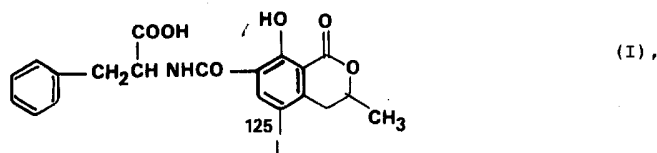
Vynález se týká [^{125}I]ochratoxinu a způsobu jeho přípravy.

Ochratoxiny jsou mykotoxiny produkované kmeny plísní *Aspergillus ochraceus* Wilhelm. Jejich izolaci a chemickou charakterizaci provedli K. J. van der Merwe a spol. (J. Chem. Soc. 1965, 7083). Protože jde o látky toxické jak pro lidský organismus tak pro hospodářská zvířata, je množství ochratoxinu stanovováno různými analytickými metodami. Radioligand pro radioimunoanalýzu ochratoxinů A na bázi ^{14}C o molové radioaktivitě 4,7 TBq připravili D. M. Rousseau a spol. (Appl. and Environm. Microbiol., 1985, 529).

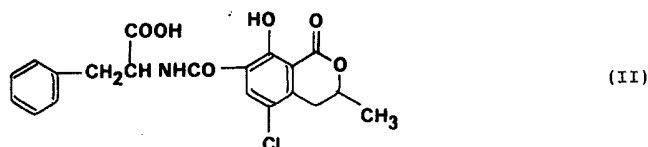
Postupem podle vynálezu dochází k záměně atomu chloru v molekule ochratoxinu A v poloze 5 za ^{125}I a získá se radioligand o mnohem vyšší molové radioaktivitě (až 81 TBq/mmol). Použitím ^{125}I radioligandu lze nejen podstatně zvýšit citlivost radioanalýzy, ale i snížit náklady.

[^{125}I]ochratoxin je látka nová a nebyla dosud připravena ani v neradioaktivní formě.

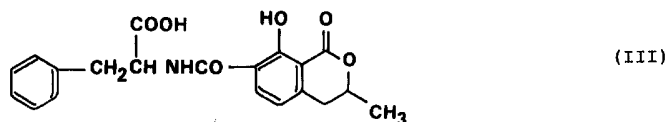
Předmětem vynálezu je nová látka [^{125}I]ochratoxin obecného vzorce



Dále je předmětem vynálezu způsob přípravy této látky, který pozůstává v tom, že ochratoxin A obecného vzorce



se podrobí katalytické hydrogenaci vodíkem při teplotě +10 až +30 °C v etylacetátu nebo v metanolu za přítomnosti paladia a takto získaný ochratoxin B obecného vzorce



se při pH = 7 až 8 a za teploty 0 až 20 °C joduje beznosičovým jodidem sodným - ^{125}I za přítomnosti chloraminu B nebo chloraminu T.

Dále je uveden příklad přípravy [^{125}I]ochratoxinu.

P ř í k l a d

a) hydrogenace

Do 5 ml hydrogenační baničky se naváží 10 mg ochratoxinu A, 8 mg octanu sodného, 15 mg 10% hmot. Pd/BaSO₄ a přidá se 1 ml 80% obj. metanolu. Po připojení baňky na hydrogenační aparaturu se hydrogenuje vodíkem za atmosférického tlaku při teplotě 20 °C po dobu 1 hodiny, spotřeba vodíku 0,5 až 0,8 ml.

Poté se obsah baničky přefiltruje přes cca 2 mm vrstvu silikagelu o váze cca 0,5 g a rozpouštědlo se odpaří ve vakuu vodní vývěvy a při teplotě vodní lázně +30 až 40 °C k suchu.

Rozpuštěním odparku v 25 ml destilovaného dioxanu vzniká zásobní roztok ochratoxinu B pro následnou jodaci.

Průběh hydrogenace se kontroluje tenkovrstvou chromatografickou analýzou na silikagelové fólii (Silufol, Kavalier) v soustavě $\text{CHCl}_3:\text{EtOAc}:\text{HCOOH} = 60:40:1$

R_F ochratoxinu A = 0,5

R_F ochratoxinu B = 0,4.

b) radiojodace

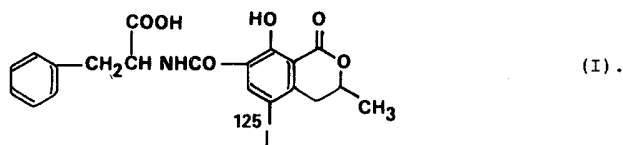
Do 5 ml zkumavky se vnese 10 μl dioxanového roztoku ochratoxinu B, 10 μl fosfátového pufru (0,05 M, pH 7,4), 10 μl roztoku beznosičového Na^{125}I o radioaktivitě cca 37 MBq a 10 μl 0,5% hmot. chloraminu T v uvedeném pufru. Obsah baňky se intenzívně míchá při teplotě +5 °C pomocí vibrační třepačky po dobu 3 minut a poté se přidá 10 μl 0,5% roztoku hydrosiřičitanu sodného ve stejném pufru.

Produkt se z vodného roztoku vyextrahuje dvakrát 100 μl etylacetátu a poté se podrobí preparativní chromatografii na tenké vrstvě silikagelu (Silufol, Kavalier) v již uvedeném soustavě. Radioaktivní produkt má R_F o něco vyšší než výchozí látka a jeho poloha se zjišťuje autoradiografií (doba expozice při použité radioaktivitě a při použití běžného rtg. filmu je 3 až 5 minut). Produkt se z chromatografické fólie vymyje 2 až 3 ml metanolu. Tímto způsobem se získá 10 až 15 MBq ^{125}I ochratoxinu.

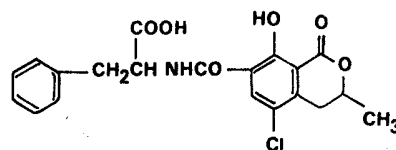
Uvedená látka našla uplatnění jako radioligand při radioimunoanalytickém stanovení ochratoxinu A v biologických materiálech.

P R E D M Ě T V Y N Á L E Z U

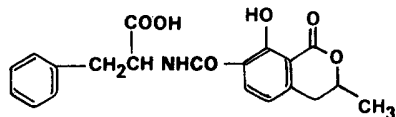
1. ^{125}I ochratoxin obecného vzorce



2. Způsob přípravy ^{125}I ochratoxinu podle bodu 1, vyznačený tím, že ochratoxin A obecného vzorce



se podrobí katalytické hydrogenaci vodíkem při teplotě +10 až +30 °C v etylacetátu nebo v metanolu za přítomnosti paladia a takto získaný ochratoxin B obecného vzorce



se při pH 7 až 8 a za teploty 0 až +10 °C joduje beznosičovým jodidem sodným - ^{125}I za přítomnosti chloraminu B nebo chloraminu T.