

ČESKOSLOVENSKÁ
SOCIALISTICKÁ
REPUBLIKA
(19)

POPIS VYNÁLEZU K AUTORSKÉMU OSVĚDČENÍ

187091

(11) (B1)

(51) Int. Cl.²
C 07 D 239/52



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

(22) Přihlášeno 22 10 76
(21) (PV 6840-76)

(40) Zveřejněno 28 04 78

(45) Vydáno 15 03 81

(75)

Autor vynálezu

JIRÍ FILIP, LADISLAV PŘITASIL a HYNEK HRADEC, PRAHA

(54) Způsob přípravy kyseliny orotové značené radioizotopem ¹⁴C

1

Předmětem vynálezu je způsob přípravy kyseliny orotové značené radioizotopem ¹⁴C. Kondenzací [¹⁴C]šťovanu ethylnatého a [¹⁴C]octanu ethylnatého získaný [¹⁴C]oxal-octan ethylnatý je reakcí s [¹⁴C]methylisothiuronium jodidem ve vodném roztoku hydroxidu sodného převeden na etylester kyseliny S-methyl-thio[¹⁴C]orotové, který hydrolyzou v kyselém prostředí poskytne kyselinu [¹⁴C]orotovou.

Dosud známé metody přípravy kyseliny orotové univerzálně značené radioizotopem [¹⁴C]používají jednak oxidaci [U-¹⁴C]6-methyluracilu [Kwang-Juen Zee-Cheng and C. C. Cheng.: J. Heterocycl. Chem., 4, 163 — 165, 1967. Warrenner R. N., Cain E. N.: Austral. J. Chem. 24 804 (1971)] kyslíčným seleničitým, která poskytuje v mikroměřítku nízké výtěžky, jednak vychází z kyseliny [U-¹⁴C]asparágové kyseliny [Přitasil L., Filip J., Zikmund J., Hradec H., Radioizotopy 12, (6) 929 — 947 (1971)], což je málo ekonomické.

Vhodná není ani cesta přes kyselinu [U-¹⁴C]2-thioorotovou, neboť desulfurace probíhá obtížně.

Pro řešení mnoha biochemických problémů je nezbytné použití kyseliny [U-¹⁴C]orotové o vysoké molové aktivitě.

Přínosem našeho vynálezu je nalezení ta-

2

kového postupu, který umožňuje připravit kyselinu [U-¹⁴C]orotovou o molové aktivitě větší než 250 mCi/mMol. Claisenovou kondenzací ethylesterem kyseliny [1,2-¹⁴C]-šťavelové a ethylesterem kyseliny [1,2-¹⁴C]-octové o molových aktivitách větších než 50 mCi/miliatom ¹⁴C je získána sodná sůl ethylesteru [U-¹⁴C]oxalocetové. Tato látka reakcí s S-methyl [¹⁴C]isothiuronium jodidem (o molové aktivitě větší než 50 mCi) poskytne ethylester kyseliny S-methyl[U-¹⁴C]-2-thioorotové, jehož hydrolyzou v kyselém prostředí se připraví kyselina [U-¹⁴C]-orotová. Z reakční směsi vypadne [U-¹⁴C]orotová kyselina ve formě snadno izolovatelné sraženiny, která je téměř čistá chemicky i radiochemicky.

Vynález dále umožňuje s výhodou připravit kyselinu [2,4,5-¹⁴C]orotovou o molové aktivitě vyšší než 150 mCi/mMol postupem výše uvedeným, použije-li se při synthese neaktivní šťovan ethylnatý.

Vyšší účinek podle vynálezu ve srovnání se známými způsoby přípravy kyseliny orotové značené izotopem ¹⁴C je dosažen nalezením optimálních reakčních podmínek. Zároveň celkový radiochemický výtěžek kyseliny [U-¹⁴C]orotové postupem přes oxidaci [U-¹⁴C]6-methyluracilu je nižší než 5 %, při použití reakčních podmínek podle vyná-

lezu je radiochemický výtěžek 10 až 20 %. Příprava kyseliny [2,4,5-¹⁴C]orotové dosud popsána nebyla. Radiochemický výtěžek kyseliny [2,4,5-¹⁴C]orotové je nad 20 %.

Využití postupu podle vynálezu umožňuje připravit kyselinu [U-¹⁴C]orotovou o vysoké molové aktivitě. Dále lze postupem podle vynálezu připravit kyselinu [2,4,5-¹⁴C]orotovou, použije-li se při Claisenově kondenzaci ethylesteru [1,2-¹⁴C]octové kyseliny a ethylesteru šťavelové kyseliny.

Příklad 1

Kyselina [U-¹⁴C]orotová

200 mCi (2,0 mMoly) bezvodého ethylesteru kyseliny [1,2-¹⁴C]octové se na vakuové lince předestiluje do reakční baňky obsahující 200 mCi (2,0 mMoly) bezvodého ethylesteru kyseliny [1,2-¹⁴C]šťavelové, 2,2 mMolu ethylátu sodného a 1,0 ml bezvodého ethanolu. Reakční směs se míchá 1 hodinu při teplotě lázně 75 °C. Ethanol a nezreagovaný [1,2-¹⁴C]octan ethylnatý (50 až 60 mCi) se za vakua oddestiluje. Odparek se suspenduje v 1,0 ml 3,0 M vodného hydroxidu sodného a k reakční směsi se přidá 2 x 0,4 ml 2M vodného roztoku S-methyl [¹⁴C]isothiuronium jodidu o celkové radioaktivitě 80 mCi.

Reakční směs se míchá při 20 °C 15 minut. Pak se za míchání při 20 °C přidá 1 ml koncentrované kyseliny solné a reakční směs se dále zahřívá 3 hodiny při teplotě lázně 110 °C. Dále se reakční směs ponechá stát 24 hodin při 2 °C a vypadlá sraženina kyseliny [U-¹⁴C]orotové se oddělí odstře-

děním, rozpustí se ve 2 ml 5% hydroxidu amonného a přesráží přidáním kyseliny solné. Vypadlá kyselina [U-¹⁴C]orotová má radiochemickou čistotu lepší než 98 %.

Z matečných loubů se izoluje kyselina [1,2-¹⁴C]šťavelová (40 až 60 mCi).

Výtěžek: 42 mCi kyseliny [U-¹⁴C]orotové (11,7 %) o molové aktivitě 252 mCi/mMol.

Příklad 2

Kyselina [2,4,5-¹⁴C]orotová

200 mCi (2,0 mMoly) bezvodého ethylesteru kyseliny [1,2-¹⁴C]octové se na vakuové lince předestiluje do reakční baňky, která obsahuje 0,27 ml bezvodého ethylesteru kyseliny šťavelové (2,0 mMoly), 2,2 mMoly ethylátu sodného a 1,0 ml bezvodého ethanolu. Reakční směs se míchá 1 hodinu při teplotě lázně 75 až 80 °C. Ethanol a nezreagovaný [1,2-¹⁴C]octan ethylnatý (40 až 50 mCi) se za vakua oddestiluje. Odparek se suspenduje v 1 ml 3,0 M vodného hydroxidu sodného a k reakční směsi se přidá 0,9 ml vodného roztoku S-methyl [¹⁴C]isothiuronium jodidu (90 mCi; 1,8 mMolu). Reakční směs se míchá 15 minut při 20 °C. Pak se za míchání při 20 °C přidá 1 ml koncentrované kyseliny solné a reakční směs se zahřívá 3 hodiny při teplotě lázně 110 stup. Celsia. Dále se reakční směs ponechá stát při 2 °C 24 hodin a vypadlá sraženina kyseliny [2,4,5-¹⁴C]orotové se odstředí, promyje vodou a ethanolem.

Výtěžek: 51 mCi kyseliny [2,4,5-¹⁴C]orotové (21,2 %) o molové aktivitě 151 mCi/mMol.

PŘEDMĚT VYNÁLEZU

Způsob přípravy kyseliny orotové, značené buď ve všech polohách univerzálně, nebo v poloze 2,4,5 radioizotopem ¹⁴C o molové aktivitě větší než 50 mCi/miliatom radioizotopu ¹⁴C, vyznačený tím, že se kondenzuje sodná sůl [¹⁴C]oxalocyanu ethyl-

natého nebo oxalocyanu ethylnatého s S-methyl-¹⁴C]isothiuronium jodidem ve vodném roztoku hydroxidu sodného za teploty místnosti a výsledný produkt se hydrolyzuje kyselinou chlorovodíkovou.