

CESKOSLOVENSKÁ  
SOCIALISTICKÁ  
REPUBLIKA  
(19)

**POPIS VYNÁLEZU  
K AUTORSKÉMU OSVĚDČENÍ**

**191689**  
(11) (B1)



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY  
A OBJEVY

(22) Přihlášeno 28 07 77  
(21) (PV 5002-77)

(51) Int. Cl.<sup>2</sup>  
C 07 D 473/34  
C 07 D 239/54

(40) Zveřejněno 31 10 78

(45) Vydáno 15 04 82

[75]

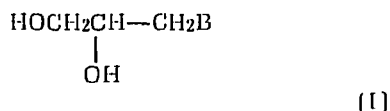
Autor vynálezu

HOLÝ ANTONÍN RNDr. CSc. a FILIP JIŘÍ ing. CSc., PRAHA

**[54] Způsob výroby 2,3-dihydroxypropylderivátů adeninu a thyminu značených radioisotopem <sup>14</sup>C**

1

Předmětem vynálezu je způsob výroby 2,3-dihydroxypropylderivátů adeninu a thyminu značených radioisotopem <sup>14</sup>C obecného vzorce I



kde

B je adenin-9-yl- thymín-1-yl nebo thymín-3-ylový zbytek, značený radioisotopem <sup>14</sup>C.

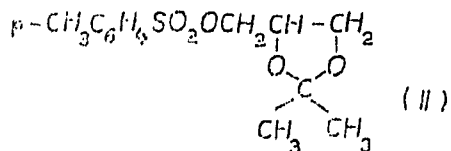
Některé 2,3-dihydroxypropylderiváty heterocyklických bází jsou inhibitory enzymů metabolismu nukleových kyselin, například adenosindeaminasy [Holý A., Hrnčířová D.: Collection, v tisku] nebo vykazují silný antivirový účinek při nízké toxicitě [DeClerq E., Descamps J., DeSommer P., Holý A.: Science, v tisku]. Podrobné studium účinku těchto látek před možnou klinickou aplikací vyžaduje použití sloučenin značených radioisotopy, především radioisotopem <sup>14</sup>C. Pro přípravu těchto sloučenin může být použit některý z postupů přípravy neaktivních sloučenin téže struktury, jako vzorce 1, přičemž se vychází z heterocyklické báze

2

značené radioisotopem <sup>14</sup>C; látky obecného vzorce I se dosud připravovaly reakcí heterocyklických bází nebo jejich solí s 1-chlor-2,3-dihydroxypropanem [Seita T. a další: Bull. Chem. Soc. Japan 45, 926 /1972/], jeho 2,3-O-isopropylidenderivátem [Kritzin A. M. a další: Khim. geterotsikl. soed. 1975, 125], glycidolem [Seita T.: Bull. Chem. Soc. Japan 46, 1572 /1973/], cyklickým 1,2-karbo-nátem glycerinu [Holý A.: 191 656 nebo 1-O-p-toluensulfonyl-2,3-O-isopropylidenglycerinem [Holý A.: Collection 40, 187 /1975/]. Uvedené postupy poskytují vesměs buď nízké výtěžky vzhledem k použité heterocyklické bázi, nebo jsou použitelné pouze pro přípravu racemických sloučenin obecného vzorce I nebo vyžadují izolaci a čištění meziproductů. Proto nejsou vhodné pro přípravu sloučenin značených radioisotopy, k značené reakční komponentě, postup bez izolace meziproductů a konečně provedení reakce a izolace produktu v mikroměřítku.

Uvedené nevýhody odstraňuje předmětný vynález způsobu výroby 2,3-dihydroxypropylderivátů adeninu a thyminu značených radioisotopem <sup>14</sup>C obecného vzorce I, jehož podstatou je, že se adenin nebo thymín značený radioisotopem <sup>14</sup>C odpaří s 2 — 3 ekvivalenty vodného nebo vodně alkalického

roztoku hydroxidu sodného nebo draselného a po vysušení se uvede do reakce s 1 až 3 ekvivalenty (S)-, (R)- nebo (RS)-1-O-p-toluensulfonyl-2,3-O-isopropylidenglycerinu vzorce II



v bezvodém dimethylformamidu jako rozpouštědla při teplotě 80 — 130 °C, s výhodou při 110 °C, a po odpaření rozpouštědla a zahřívání odparku v kyselém prostředí, s výhodou v 80% kyselině octové, při teplotě 50 — 100 °C, se produkt izoluje papírovou chromatografií.

Tento postup může být použit pro přípravu obou opticky aktivních forem i racemických sloučenin obecného vzorce I ze snadno dostupných výchozích látek vzorce II. Významem modifikace uvedené v předmětném vynálezu je vysoký výtěžek látek obecného vzorce I vzhledem k drahé, značené heterocyklické bázi, kterého se dosahuje použitím nadbytku látek vzorce II a hydroxidu sodného nebo draselného, dále provedení celého postupu bez izolace reakčního meziproductu v jedné reakční nádobě, snadná izolace produktů vzorce I papírovou chromatografií a konečně možnost regenerace nezreagované značené výchozí heterocyklické báze.

V dalším je vynález osvětlen v příkladech provedení, aniž se tím jakkoliv omezuje.

#### Příklad 1

9-(S)-(2,3-Dihydroxypropyl)[8-<sup>14</sup>C]adenin.

[8-<sup>14</sup>C]Adenin (8 μmolů, molová aktivita 192 × 10<sup>7</sup> Bq/mmol) se odpaří s 16 μmoly 2% hydroxidu sodného ve vakuu a odparek se opakovaně destiluje s bezvodým dimethylformamidem (po 1 ml) ve vakuu. K tomuto odparku se přidá roztok 5,8 mg (20 μmolů) 1-O-p-toluensulfonyl-2,3-O-isopropyliden-D-glycerinu ve 0,3 ml dimethylformamidu a směs se zahřívá 16 h za občasného míchání při 110 — 120 °C. Směs se odpaří ve vakuu, přidá se 0,5 ml 80 % kyseliny octové a zahřívá 1 h při 100 °C. Směs se nanese na 2 archy chromatografického papíru (Whatman No 3 mm) a chromatografuje v soustavě 1-butanol nasycenou vodou. Produkt (R<sub>E</sub> 0,2) se eluuje vodou (2 — 5 ml) a eluát koncentruje ve vakuu na žádaný objem nebo lyofilisuje. Získá se 10<sup>7</sup> Bq, tj. 65% chromatograficky čistého produktu o molové aktivitě 192 × 10<sup>7</sup> Bq na

mmol a radiochemické čištění lepší než 98 procent, identického podle R<sub>E</sub> s autentickým materiálem.

#### Příklad 2

9-(S)-(2,3-Dihydroxypropyl)[U-<sup>14</sup>C]adenin.

[U-<sup>14</sup>C] Adenin (10 μmolů, molová aktivita 7,4 × 10<sup>9</sup> Bq/mmol) se odpaří s 20 μmoly 2% hydroxidu draselného ve vakuu a dále zpracuje stejně jako je uvedeno v příkladu 1. Získá se 3,7 až 4,4 × 10<sup>7</sup> Bq (tj. 50 až 60 %) chromatograficky čistého produktu o molové aktivitě 7,4 × 10<sup>9</sup> Bq/mmol) a radiochemické čistatě lepší než 98 %.

#### Příklad 3

1-(S)- a 3-(S)- (2,3-Dihydroxypropyl)[2-<sup>14</sup>C]-thymín

Roztok 8,0 mmolů [2-<sup>14</sup>C] thymínu (mol. aktivita 1,92 × 10<sup>9</sup> Bq/mmol) v 0,2 ml 0,1 N hydroxidu sodného se odpaří dosucha ve vakuu a zbytek odpaří třikrát po 1 ml dimethylformamidu při 35 °C/13,3 Pa. Ke zbytku se přidá roztok 6 mg (20,6 μmolu) 1-O-p-toluensulfonyl-2,3-O-isopropyliden-D-glycerinu v 0,3 ml dimethylformamidu. Zahřívá se 14 h na 115 — 120 °C, odpaří při 35 °C/13,3 Pa, přidá se 0,5 ml 80% kyseliny octové a zahřívá 1 na 100 °C. Směs se nanese na 2 archy chromatografického papíru (Whatman No 3 MM) a chromatografuje v octanu ethylnatém nasyceném vodou. Pásky produktů se odděleně eluují vodou (2 — 5 ml) a eluáty zpracují stejně jako v příkladu 1. Získá se 44,5 % 1-(S)-isomeru (R<sub>F</sub><sup>thymín</sup> = 0,30) a 14,3 % 3-(S)-isomeru (R<sub>F</sub><sup>thymín</sup> = 0,10) a 30,8 % [2-<sup>14</sup>C] thymínu zpět. Látky jsou chromatograficky homogenní a mají radiochemickou čistotu lepší než 98 %. Molová aktivita 1,92 × 10<sup>9</sup> Bq/mmol.

#### Příklad 4

1-(RS)- a 3-(RS)-(2,3-Dihydroxypropyl)-[U-<sup>14</sup>C] thymín

[U-<sup>14</sup>C] Thymín (8,0 μmolů, molová aktivita 7,4 × 10<sup>9</sup> Bq/mmol) se odpaří s 0,2 ml 0,1 N hydroxidu draselného, vysuší destilací s dimethylformamidem a uvede do reakce s 20,6 μmolu (6 mg) 1-O-p-toluensulfonyl-2,3-O-isopropyliden-DL-glycerinu stejně jako je uvedeno v příkladu 3. Po izolaci papírovou chromatografií v octanu ethylnatém nasyceném vodou se získá 46 % 1-(S)-isomeru, 17 % 3-(RS)- a 26 % [U-<sup>14</sup>C] thymínu zpět. Látky jsou vesměs chromaticky čisté (R<sub>F</sub> viz příklad 3) a mají radiochemickou čistotu lepší než 98 %. Molová aktivita 7,4 × 10<sup>9</sup> Bq/mmol.

