



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU K AUTORSKÉMU OSVĚDČENÍ

243898

(11) (B1)

(51) Int. Cl.⁴
G 21 G 4/04

(22) Přihlášeno 06 03 85
(21) PV 1552-85

(40) Zveřejněno 17 09 85

(45) Vydáno 15 06 87

(75)

Autor vynálezu

ELBERT TOMÁŠ RNDr. CSc.; FILIP JIŘÍ ing. CSc., PRAHA

(54) Způsob přípravy kyseliny orotové značené radioisotopem uhlíku ¹⁴C o molové aktivitě 5,5 až 11,5 GBq.mmol⁻¹

Kyselina [U-¹⁴C] orotová o molové aktivitě vyšší než 9,25 GBq.mmol⁻¹ je nepostradatelná při řešení řady biochemických a medicínských problémů.

Cílem vynálezu je nalezení takového postupu, který by vedl ke zvýšení výtěžku, a tak k lepšímu využití drahých výchozích surovin.

Výběrem vhodných výchozích látek a nalezením optimálních reakčních podmínek bylo dosaženo zvýšení radiochemického výtěžku z původních 8,75 % na 33 až 40 %.

Uvedeného cíle bylo dosaženo tím, že v požadované čistotě obtížně připravitelný diethyl-[1,2-¹⁴C]oxalát byl nahrazen lehkou dostupným dimethyl-[1,2-¹⁴C]oxalátem, jehož kondenzace s ethyl-[1,2-¹⁴C]acetátem byla potom provedena v dioxanu za přítomnosti hydridu alkalického kovu. Reakcí takto připraveného ethylmethyl-2-oxo[U-¹⁴C]jantarátu s S-methyl-[¹⁴C] isothiouronium jodidem byl připraven methylester kyseliny S-methyl-2-thio-[U-¹⁴C]orotové, jehož kyselou hydrolyzou se potom získá kyselina [U-¹⁴C]-orotová v celkovém výtěžku 33 až 40 %.

Vynález se týká způsobu přípravy kyseliny orotové značené radioisotopem ^{14}C o molových aktivitách 5,5 až 11,5 GBq.mmol $^{-1}$ kondenzací ethylmethylesteru kyseliny 2-oxo [U- ^{14}C]-jantarové, připraveného reakcí dimethylesteru kyseliny [1,2- ^{14}C]oxalové s ethylesterem kyseliny [1,2- ^{14}C]octové v dioxanu za přítomnosti hydridu sodného, s S-methyl[^{14}C] isothiuronium jodidem a kyselou hydrolyzou vzniklého methylesteru kyseliny S-methylthio[U- ^{14}C]orotové.

Dosud známý způsob přípravy kyseliny [U- ^{14}C]orotové a kyseliny [2,4,5- ^{14}C]orotové spočívá v kondenzaci diethyl[1,2- ^{14}C]oxalátu, respektive neaktivního diethyloxalátu s ethyl [1,2- ^{14}C]-acetátem působením ethanolátu sodného v ethanolu na diethyl-2-oxo-[U- ^{14}C]jantarát, respektive diethyl-2-oxo[3,4- ^{14}C]jantarát, který pak kondenzací s S-methyl[^{14}C]isothiuronium jodidem poskytne ethylester kyseliny S-methyl-2-thio[U- ^{14}C]orotové, respektive S-methyl-2-thio[2,4,5- ^{14}C]orotové (čs. AO 187 091 a citace tam uvedené).

Kyselou hydrolyzou těchto derivátů se potom připraví příslušně značená kyselina orotová. Autoři uvádějí výtěžek 8,75 %, vztaheno na výchozí ethylestery kyseliny [1,2- ^{14}C]octové, [1,2- ^{14}C]oxalové a S-methyl [1,2- ^{14}C]isothiuronium jodid, respektive 17,5 %, vychází-li se z neaktivního diethyloxalátu.

Nízké výtěžky značených sloučenin v porovnání s modelovými pokusy jsou způsobeny nečistotami v diethyl [1,2- ^{14}C]oxalátu, který se připravuje reakcí [1,2- ^{14}C]oxalátu distriburného s ethyljodidem. Vyčištění takto získaného olejovitého produktu destilací v měřítku 2 mmol je málo účinné a značně ztrátové. Potiže činí také suspendování diethyl-2-oxo[U- ^{14}C]jantarátu ve vodném hydroxidu sodném před kondenzací s S-methyl[^{14}C]isothiuronium jodidem.

Uvedené nevýhody odstraňuje předmětný vynález přípravy kyseliny orotové značené radioisotopem ^{14}C o molové aktivitě 5,5 až 11,5 GBq.mmol $^{-1}$, jehož podstatou je nahrazení diethyl-esteru kyseliny [1,2- ^{14}C]oxalové dimethylesterem kyseliny [1,2- ^{14}C]oxalové a provedení kondenzace s ethyl [1,2- ^{14}C]acetátem (ethanolu prostého) v dioxanu působením hydridu alkalického kovu.

Dimethyl [1,2- ^{14}C]oxalát je krystalický a dá se snadno připravit v radiochemické čistotě vyšší než 99 % reakcí kyseliny 1,2- ^{14}C oxalové s diazomethanem s 98% výtěžkem (Elbert T.: nepublikované výsledky). Ethylmethyl-2-oxo-[U- ^{14}C]jantarát se po odlyofilizování dioxanu velmi dobře suspenduje ve vodném hydroxidu sodném a kondenzace s S-methyl[^{14}C]isothiuronium jodidem potom poskytne methylester kyseliny S-methyl-2-thio[U- ^{14}C]orotové.

Kyselou hydrolyzou se získá kyselina [U- ^{14}C]orotová ve výtěžku 33 až 40 %, vztaheno na výchozí estery a S-methyl[^{14}C]isothiuronium jodid. Radiochemická čistota je lepší než 98 % a produkt nevyžaduje další přečišťování. Při přípravě kyseliny [2,4,5- ^{14}C]orotové se tímto způsobem dosáhne výtěžku 40 až 50 %, vztaheno na ethyl [1,2- ^{14}C]acetát a S-methyl[^{14}C]isothiuronium jodid.

Přínosem vynálezu je nalezení způsobu přípravy kyseliny orotové značené radioisotopem ^{14}C o molové aktivitě 5,5 až 11,5 GBq.mmol $^{-1}$ ve výtěžku 33 až 50 %. Vyšší účinek podle vynálezu, ve srovnání se známými postupy, spočívá ve čtyřnásobném zvýšení výtěžku, a tím v úspoře drahých výchozích surovin. Také zjednodušení některých operací (čištění esteru kyseliny [1,2- ^{14}C]oxalové, dispergování esteru kyseliny 2-oxo[U- ^{14}C]jantarové ve vodném hydroxidu sodném) vede ke zvýšení bezpečnosti práce s otevřenými radioaktivními zářiči.

Využití postupu podle vynálezu umožňuje přípravu kyseliny [U- ^{14}C]orotové o molové aktivitě 9,25 až 11,5 GBq.mmol $^{-1}$, která je nezbytná při řešení problémů biochemického a medicínského výzkumu. Dále lze využít tohoto postupu k přípravě kyseliny [2,4,5- ^{14}C]orotové, kyseliny [4,5- ^{14}C]orotové, kyseliny [6,7- ^{14}C]orotové a kyseliny 2- ^{14}C orotové volbou vhodné kombinace značených a neznačených výchozích látek.

P ř í k l a d 1

Kyselina [U-¹⁴C]orotová

K 7,3 g GBq (2,0 mmol) dimethyl[1,2-¹⁴C]oxalátu a 50 mg (2,1 mmol) hydridu sodného bylo na vakuové lince přidestilováno 8,5 GBq (2,3 mmol) ethyl[1,2-¹⁴C]acetátu a 4 cm³ dioxanu (sušených hydridem sodným). Reakční směs byla za míchání zahřívána na 353 K pod zpětným chladičem po dobu jedné hodiny. Potom byl dioxan spolu s nezreagovanými estery (2,8 GBq) odlyofilizován. Získaný lyofilizát byl pomocí magnetického míchadélka dispergován v 1 cm³ 3M vodném hydroxidu sodném a k suspenzi bylo přidáno 2 x 0,5 cm³ vodného roztoku S-methyl[¹⁴C]isothiouronium jodidu o celkové aktivitě 2,95 GBq. Po 15 minutách míchání za laboratorní teploty byl k reakční směsi přidán 1 cm³ konc. kyseliny chlorovodíkové a reakční směs byla zahřívána 3 hodiny v lázni 393 K teplé. Krystalická sraženina kyseliny [U-¹⁴C]orotové byla oddělena centrifugací a po trojnásobném promytí vodou a dvojnásobném promytí acetonem usušena. Bylo tak získáno 6,11 GBq (115 mg, 33 %) kyseliny [U-¹⁴C]orotové o radiochemické čistotě vyšší než 98 % a molové aktivitě 9,25 GBq.mmol⁻¹.

P ř í k l a d 2

Kyselina [2,4,5-¹⁴C]orotová

Ke 2,0 mmol dimethyloxalátu a 50 mg (2,1 mmol) hydridu sodného bylo na vakuové lince přidestilováno 7,4 GBq (2,0 mmol) ethyl[1,2-¹⁴C]acetátu a 4 cm³ dioxanu (sušených hydridem sodným). Reakční směs byla za míchání zahřívána na 353 K pod zpětným chladičem po dobu jedné hodiny. Dioxan spolu s nezreagovanými estery byl odlyofilizován. Získaný lyofilizát byl dispergován v 1 cm³ 3M vodném hydroxidu sodném a k suspenzi bylo přidáno 2 x 0,5 cm³ vodného roztoku S-methyl[¹⁴C]isothiouronium jodidu o celkové aktivitě 2,95 GBq. Po kyselé hydrolyze a po izolaci shodných s postupem v příkladu 1 bylo získáno 4,60 GBq (144 mg, 44,5 %) kyseliny [2,4,5-¹⁴C]orotové o radiochemické čistotě vyšší než 98 % a molové aktivitě 5,55 GBq.mmol⁻¹.

P Ř E D M Ě T V Y N Á L E Z U

Způsob přípravy kyseliny orotové značené radioisotopem uhlíku ¹⁴C o molové aktivitě 5,5 až 11,5 GBq.mmol⁻¹ kondenzací diesteru kyseliny 2-oxo[U-¹⁴C]jantarové, popřípadě 2-oxo[3,4-¹⁴C]jantarové, připravených reakcí esteru kyseliny [1,2-¹⁴C]octové s diesterem kyseliny [1,2-¹⁴C]oxalové, popřípadě diesterem kyseliny oxalové, a S-methyl[¹⁴C]isothiouronium jodidem a kyselou hydrolyzou vzniklého esteru kyseliny S-methyl-2-thio[U-¹⁴C]orotové, popřípadě S-methyl-2-thio[2,4,5-¹⁴C]orotové, vyznačený tím, že reakcí ethyl[1,2-¹⁴C]acetátu s dimethyl[1,2-¹⁴C]oxalátem, popřípadě s dimethyloxalátem v dioxanu za přítomnosti hydridu alkalického kovu při teplotě 343 až 353 K vznikne ethylmethyl-2-oxo[U-¹⁴C]jantarát, popřípadě ethylmethyl-2-oxo[3,4-¹⁴C]jantarát, který kondenzací s S-methyl[¹⁴C]isothiouronium jodidem poskytne methylester kyseliny S-methyl-2-thio[U-¹⁴C]orotové, popřípadě S-methyl-2-thio[2,4,5-¹⁴C]orotové, jejichž kyselá hydrolyza poskytne kyselinu [U-¹⁴C]orotovou, popřípadě kyselinu [2,4,5-¹⁴C]orotovou ve výtěžku 33 až 50 %, vztaženo na výchozí estery a S-methyl[¹⁴C]isothiouronium jodid.