



FEDERÁLNÍ ÚŘAD
PRO VYNÁLEZY

POPIS VYNÁLEZU

K AUTORSKÉMU OSVĚDČENÍ

269 442

(21) PV 6735-88.P
(22) Přihlášeno 11 10 88

(40) Zveřejněno 12 09 89
(45) Vydáno 21 01 91

(11)

(13) B1

(51) Int. Cl.⁴
C 01 B 7/14

(75) Autor vynálezu

KRONRÁD LEO ing. CSo., PRAHA,
HRADILEK PAVEL ing., ČERNOŠICE,
KOPIČKA KAREL ing. PharmDr., PRAHA,
PERESZLÉNYIOVÁ EVA PharmDr., BRATISLAVA

(54)

Způsob značení biologicky účinných látek
radionuklidy jodu

(57)

Řešení se týká způsobu značení biologicky účinných látek radionuklidy jodu. Podstatou řešení je to, že se roztok biologicky účinné látky spolu s radioaktivním jodidem nechá protéct vrstvou porézního materiálu s obsahem nasorbovaného derivátu 1, 3, 4, 6 tetraochlore 3 α , 6 α - diphenylglycolurilu, porézním materiálem je filtrační papír, filtrát se dále může nechat protéct další vrstvou porézního materiálu s obsahem nasorbovaného chlorádu stříbrného nebo pyrosiřičitanu stříbrného a dále se filtrát může nechat protéct membránovým filtrem o velikosti porů 0,22 až 0,4 μ m.

Vynález se týká způsobu značení biologicky účinných látek radionuklidy jodu. Preparáty takto připravené jsou používány v nukleární medicíně k vyšetřování onemocnění různých orgánů a k radioimunoanalytickým stanovením.

V odborné literatuře je popsáno několik různých způsobů značení biologicky účinných látek radionuklidy jodu.

V případě, kdy je v molekule látky obsažen atom jodu, provádí se značení výměnnou reakcí s radioaktivním jodidem sodným dlouhodobým zahříváním roztoků reakčních směsí na vyšší teploty (333 - 373 K). Například Zeltman, A. M. a Kahn, M., J. Am. Chem. Soc. 76, 1554 (1954) tímto způsobem značí ve vodném roztoku při 62 °C jodtyrosiny, Nakamura, Y. a kol., J. Nucl. Med., 18, 1112 (1977), Anghileri, L. J., Int. J. Appl. Rad. Isotopes 14, 328 (1963), Burges, A. a kol., Endocrinology 94, 1189 (1963), Reese, M. a kol., J. Labelled Comp. Radiopharm. 15, 555 (1978), Pabel, M. C. a kol., Int. J. Appl. Rad. Isotopes 25, 421 (1974), Toth, G., Radiochem. Radioanal. Letters 30, 297 (1977) a Taunog a kol., J. Biol. Chem. 194, 655 (1952) tímto způsobem značí v acetátovém pufru o pH 5,3 za případného přídavku elementárního jodu jodtyroniny a Hallaba, E. a kol., J. Nucl. Med., 15, 270 (1974) takto značí v etanolickém roztoku při 338 K tyroxin. Obdobně Hallaba, E. a kol., Isotopenpraxis 2, Isotopenpraxis 2, 194 (1966), Henry R. a kol., CEA REPORT 1784 (1960), Serafini, A. N. a kol., J. Nucl. Med. 16, 629 (1975), Wheeler, O. H. a kol., Ing. J. Appl. Rad. Isotopes 21, 110 (1970), Desai, C. N. a kol., Int. J. Appl. Rad. Isotopes 19, 153 (1968), Suner, A. A. a kol., Radiochem. Acta 12, 119 (1969) a Hupf, H. B. a kol., J. Nucl. Med. 19, 525 (1978) v acetátovém pufru při pH 5 až 7 značí bengálskou červeně a Koplčka K. a kol., šs. autorské osvědčení č. 249 288 ve vodném roztoku za katalýzy solemi Cu⁺ značí monojodbromsulfoftalein.

U látek, které neobsahují ve své molekule jod se značení provádí pomocí radioaktivního jodu přídavkem různých oxidačních činidel do roztoku reakční směsi. Z anorganických činidel používají Abdel-Wahab, M. F. a kol., Isotopenpraxis 2, 166 (1973) jodičnan draselný a Charamza O., Isotopenpraxis 2, 298 (1966) peroxid vodíku. Reakce probíhá pro různé sloučeniny po dobu 40 minut až 10 hodin. Velmi často je jako oxidační činidlo přidáván do roztoku reakční směsi chloramin T podle dnes již klasického vzoru Greenwood, Hunter: Nature 194, 495 (1962) jako například popisují Hallaba, E. a kol., Int. J. Appl. Radiat. Isotopes 22, 46 (1971), Kroha K. A a kol., Int. J. Appl. Radiat. Isotopes 25, 315 (1974) a Coleman R. E. a kol., J. Lab. Clin. Med. 83, 977 (1974). Reakce probíhá během několika minut, její výtěžek se pohybuje v rozmezí 30 až 80 %. Dalším často používaným oxidačním činidlem je laktoperoxidáza jak uvádějí Mc Ilhiney J. a kol., Endocrinology 94, 1259 (1974), Thorell J. I. a kol., Biochim. Biophys. Acta 251, 363 (1971) a Marchalonis J. J., Biochem. J. 113, 299 (1969). Reakce je spravidla ukončena do 30 minut a výtěžek se pohybuje v rozmezí 30 až 90 %. Velmi často používaným oxidačním činidlem je také jodmonochlorid, jehož použití je popsáno v pracích Reabodyho R. A. a kol., J. Nucl. Med. 15, 195 (1974), Reifa A. E., J. Nucl. Med. 9, 148 (1968) a Haxhe J. J. a kol., Clin. Chim. Acta 8, 302 (1963). Reakce je ukončena během 10 až 60 minut s výtěžkem v rozmezí 50 až 80 %. Pro jodaci proteinů je v pracích Frakerové P. J. a kol., Biophys. Res. Commun. 80, 859 (1978) a Wooda W. G., J. Clin. Chem. Clin. Biochem., 19, 1051 (1981) popsáno značení pomocí 1, 3, 4, 6-tetrachloro-3', 6'-difenyglycolurilu (Jodogen). Podle popsané metody se jodogen, který je ve vodném roztoku prakticky nerozpustný, nanese jako tenký filtr na povrch skleněné nádoby, ve které po přidání reakční směsi sestávající z proteinu a radioaktivního jodidu sodného probíhá značení. Nevýhodou této metody je obtížná reprodukovatelnost nanášení filmu jodogenu související s výběrem vhodných rozpouštědel jodogenu, komplikovanou technikou nanášení a stabilitou připravených nádobek a s tím potom související relativně nízké a proměnlivé výtěžky značeného produktu. Obměnu této metody uvádí Richardson A. P. a kol., Nucl. Med.

Commun., 7, 355 (1988), kteří vnášejí jodogen do reakční směsi ve formě suspenze. I když jsou v tomto případě výtěžky podstatně vyšší, hlavní nevýhodou je, že aceton použitý jako rozpouštědlo jodogenu i jodogen je nutné z produktu odstraňovat a produkt je nezbytně zvláště pečlivě čistit v případě, kdy má být humánně používán.

Hlavní nevýhodou všech výše popsaných metod je nutnost čistit produkt po provedení reakce od nezreagovaného radioaktivního jodidu a v převážné většině případů i od oxidačních činidel, přidávaných do reakční směsi. Toto čištění se zpravidla provádí preparativními chromatografickými metodami, které jsou časově i aparaturně značně náročné a jen s velkými obtížemi je lze používat při práci s vysokými radioaktivitami.

Hlavní z těchto nevýhod odstraňuje způsob podle vynálezu, při kterém se roztok biologicky účinné látky spolu s radioaktivním jodidem nechá protéci vrstvou porézního materiálu s obsahem nasorbovaného derivátu 1, 3, 4, 6-tetrachloro-3',6'-diphenylglucosurilu a získaný filtrát se popřípadě dále nechá protéci vrstvou pórezního materiálu s obsahem nasorbovaného chloridu stříbrného nebo pyrosiřičitanu stříbrného a v případě potřeby se získaný filtrát nechá dále protéci membránovým filtrem o velikosti porů 0,22 až 0,4 μ m.

Mezi hlavní výhody způsobu podle vynálezu patří mimořádná jednoduchost a rychlost značení, a tím i podstatné snížení radiační zátěže pracovníků, velmi vysoký výtěžek, možnost získat přímo sterilní produkt, zvýšená stabilita preparátů a možnost provádět značení i v mikroměřítku. Další výhodou způsobu podle vynálezu je možnost provádět všechny operace, tj. jak značení, tak odstraňování, popřípadě nezreagovaného radioaktivního jodidu i sterilizace produktu v jediné operaci, pokud jsou jednotlivé uváděné filtry použity současně ve formě složeného filtru.

Příklad 1

K 1 ml roztoku HSA (2 mg/ml) v 0,1 N borátovém pufru (pH = 8,0) se přidá 50 μ l (0,5 GBq) radioaktivního jodidu sodného Na 131 I. Tato směs se filtruje přes papírový filtr W 3 MN předem nasycený chloroformovým roztokem jodogenu (2 mg/ml) a vysušený. Po půl hodině se přidá k filtrátu 1 μ l vodného roztoku pyrosiřičitanu sodného a směs filtruje přes filtr obsahující AgCl. Výtěžek značení je 80 %. Výsledný produkt obsahuje 2 % anorganického jodidu.

Příklad 2

K 50 μ l etanoličného roztoku thyroxinu (0,4 mg/ml) se přidá 50 μ l radioaktivního jodidu sodného Na 125 I (270 MBq). Tato směs se filtruje přes složený filtr, sestávající z filtru obsahujícího jodogen, mezivrstvy bez účinných látek a filtru obsahující chlorid stříbrný. Výtěžek značení je 85 %. Výsledný produkt obsahuje méně než 0,5 % anorganického jodidu. Výsledná specifická aktivita je 12 GBq/mg.

Příklad 3

K 0,1 ml roztoku monoklonální protilátky typu anti CEA DG-2 (9,4 mg/ml) se přidá 0,4 ml 0,1 N borátového pufru (pH=8,0) a 150 μ l radioaktivního jodidu sodného Na 123 I (200 MBq). Tato směs se filtruje přes sterilní filtr složený z vrstvy obsahující jodogen, vrstvy obsahující pyrosiřičitan stříbrný a vrstvy tvořené membránovým filtrem (0,4 μ m). Výtěžek značení je 72 %. Produkt obsahuje 3,4 % anorganického jodidu.

PŘEDMĚT VYNÁLEZU

1. Způsob značení biologicky účinných látek radionuklidy jodu, vyznačující se tím, že se roztok biologicky účinné látky spolu s radioaktivním jodidem nechá protéci vrstvou pórézního materiálu s obsahem nasorbovaného derivátu 1, 3, 4, 6 - tetrachloro-3, 6 - diphenyl glucolurilu.
2. Způsob podle bodu 1, vyznačující se tím, že se jako pórézní materiál použije filtrační papír.
3. Způsob podle bodu 1, vyznačující se tím, že se získaný filtrát nechá protéci vrstvou pórézního materiálu s obsahem nasorbovaného chloridu stříbrného.
4. Způsob podle bodu 3, vyznačující se tím, že se jako pórézní materiál použije filtrační papír.
5. Způsob podle bodu 1, vyznačující se tím, že se získaný filtrát nechá protéci vrstvou pórézního materiálu s obsahem nasorbovaného pyrosiřičitanu stříbrného.
6. Způsob podle bodu 5, vyznačující se tím, že se jako pórézní materiál použije filtračního papíru.
7. Způsob podle bodu 1, vyznačující se tím, že buď roztok biologicky účinné látky spolu s radioaktivním jodidem a/nebo filtrát průtoku pórézním materiálem s chloridem stříbrným a nebo filtrát získaný po průtoku pórézním materiálem s pyroměříčitanem stříbrným nechá protéci membránovým filtrem o velikosti porů 0,22 až 0,4 μm .