



H U 0 0 0 2 1 6 3 0 0 B

(19) Országkód

HU

MAGYAR
KÖZTÁRSASÁGMAGYAR
SZABADALMI
HIVATALSZABADALMI
LEÍRÁS

(21) A bejelentés ügyszáma: P 93 02925
(22) A bejelentés napja: 1992. 05. 12.
(30) Elsőbbségi adatok:
07/701,438 1991. 05. 15. US
(86) Nemzetközi bejelentési szám: PCT/US 92/03943
(87) Nemzetközi közzétételi szám: WO 92/21019

(40) A közzététel napja: 1995. 01. 30.
(45) A megadás meghirdetésének a dátuma a Szabadalmi
Közlönyben: 1999. 06. 28.

(11) Lajstromszám:

216 300 B

(51) Int. Cl.⁶

G 01 N 27/30

G 01 N 33/58

G 01 N 33/68

(72) Feltalálók:

Bartlett, Janeth M., Midland, Michigan (US)
Scortichini, Carey Lee, Sanford, Michigan (US)

(73) Szabadalmaz:

The Dow Chemical Co., Midland, Michigan (US)

(74) Képviseelő:

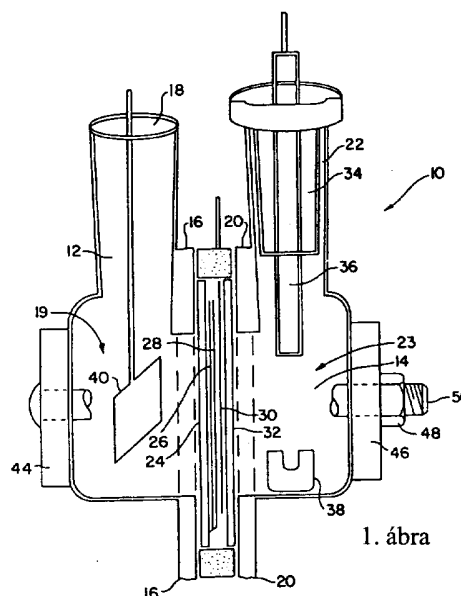
DANUBIA Szabadalmi és Védjegy Iroda Kft.,
Budapest

(54) Elektrolitikus cella, és eljárás proteinek és peptidek jelölésére

KIVONAT

A találmány tárgya elektrolitikus cella, és eljárás proteinek és peptidek jelölésére. A cella katódot (40) és anódot (28) tartalmaz, és lényege, hogy (a) a katód (40) katódos félcellában (12), az anód (28) anódos félcellában (14) van elrendezve, a katódos és anódos félcella (12, 14) között szeparátor (26) helyezkedik el, (b) a katódos félcella (12) és az anódos félcella (14) közül az egyikben levő elektród munkaelektrodként, (c) a katódos félcella (12) és az anódos félcella (14) közül a másikban levő elektród ellenelektrodként van kiképezve, továbbá (d) a katódos és anódos félcella (12, 14) közül a munkaelektrodot tartalmazó félcellában az anód (28) és a katód (40) közötti áramúton kívül vonatkoztatási elektród (36) van elrendezve. Az eljárásban anódot (28) és katódot (40) tartalmazó elektrolitikus cellába (10) proteint, peptidet vagy más szerves molekulát tartalmazó vizsgálati anyagot juttatnak, és a vizsgálati anyagot jelölőszerezrel kezelik, majd az elektrolitikus cellán (10) áramot engednek át, amikor is lényeges, hogy az elektrolitikus cellát (10) szeparátorral (26) elválasztott katódos félcellát (12) és anódos félcellát (14) tartalmazó egységként hozzák létre, ahol a katódos félcella (12) és az anódos félcella (14) közül az egyikben porózus anyagú munkaelektrodot, a másikban ellenelektrodot rendeznek el, továbbá a katódos félcella (12) és az

anódos félcella (14) közül a munkaelektrodot tartalmazóban a munkaelektrod és az ellenelektrod közötti áramúton kívül vonatkoztatási elektródot (36) rendeznek el, majd a megjelölt vizsgálati anyagot a munkaelektrodot tartalmazó félcellába juttatják.



A találmány tárgya elektrolitikus cella, és eljárás proteinek és peptidek jelölésére. Az elektrolitikus cella katódot és anódot tartalmaz, míg a javasolt eljárás végrehajtása során anódot és katódot tartalmazó elektrolitikus cellába proteint, peptidet vagy más szerves molekulát tartalmazó vizsgálati anyagot juttatunk, majd a vizsgálati anyagot jelölőszerezrel kezeljük, és ezt követően az elektrolitikus cellán áramot engedünk át. A találmány szerinti elektrolitikus cella és az azt hasznosító eljárás alapvetően proteinek, peptidek és más hasonló vagy eltérő szerves molekulák radioaktív izotópos jelölésére szolgál.

A proteinek, peptidek és más szerves molekulák halogén elemmel vagy más jelölőanyaggal történő megjelölésére jelenleg ismert eljárások számos komoly hiányosságot mutatnak. A kémiai megjelölési folyamatok végrehajtásakor például gyakran nehéz a megfelelő eljárási módozat kiválasztása, ennek hiányában pedig a proteinek és a peptidek a jelölés művelete alatt megsemmisülhetnek. További problémát jelent az, hogy a kémiai jelölőfolyamatok hatékonysága kicsi, ezért számos jelölőanyag esetében a reakcióból kimaradt mennyiséget külön el kell választani. Ez a tisztítási vagy elválasztási lépés a kémiai megjelölési folyamat hatékonyságát csökkenti, ha pedig a jelölőanyag radioaktív összetevőt is tartalmaz, a kezelő személyzet veszélynek lehet kitéve. A proteinek radioaktív jelölésére kidolgozott ismert folyamatok között van a szilárd fázisú jódózás, amelynek végrehajtása során oxidatív lépéseket hajtanak végre abból a célból, hogy nátrium-jodidból elektrofil jód-változatokat (I^+) képezzenek.

A proteinek, peptidek és más szerves molekulák halogénelemmel vagy más jelölővel, például technéciummal vagy réniummal történő megjelölésére kidolgozott elektrokémiai módszerek esetében más hiányosságokkal kell számolni. Ilyen eljárásokat és ezek megvalósítására szolgáló elektrokémiai cellát ismertet például az US-A 3,441,490 és az US-A 4,126,034 lajstromszámú US szabadalmi leírás, míg elektrokémiai jelölési eljárás ismerhető meg az US-A 4,184,937 és az US-A 4,859,305 lajstromszámú US szabadalmi leírásokból, illetve Wong et al.: „*Comparison of the lodogen and the Microelectrochemical Techniques for the Radioiodination of Monoclonal Antibody* 140.240. (Nucl. Med. Biol., Vol. 15. 505–509. oldal, 1988) irodalmi helyről, amely a kémiai jellegű jelölési eljárásokra is kitér. Az ioncserélő membránok felhasználására ebben a vonatkozásban a Raoult et al.: „*Use of Ion Exchange Membranes in Preparative Organic Electrochemistry, II. Anodic Dimethoxylation of Furman*” (Journal of Applied Electrochemistry, Vol. 15., 1988) irodalmi hely ad útmutatást. Az elektrokémiai jelölési folyamatokban olyan elektrolitikus cellát használnak, amelynek általában platinából vagy aranyból készült anódja és katódjá egy közös térben helyezkedik el. Az elektrokémiai technikák eredményeként a biológiai anyagokat mikrogrammos mennyiségben lehet legalább 80%-os hatékonysággal ionizált radioaktív jódizotóppal megjelölni, ami rövid reakcióidőket eredményez, és ezért számos esetben az anód felszínét az elektrolit térfogatához

viszonyítva viszonylag nagyra állítják be. Az anód munkafelületének és az elektrolit térfogatának aránya az egyik fontos tényező, amely mellett lényeges, hogy platinaedényt használnak fel, amely egyidejűleg reakcióedényként és anódként szolgál. A platinából álló edények felhasználása viszont számos oknál fogva a kereskedelmi, a rutinszerű alkalmazásoknál elfogadhatatlan. Ennek egyik alapvető indoka az, hogy geometriai alakjuknál fogva az anód felülete mentén igénylik az azonos potenciál fenntartását, ami a kis vezetőképességű oldatok esetében nehézkes, míg nem lényegtelen az sem, hogy a platina igen költséges. Geometriájuk miatt az anód felületének az elektrolit térfogatához viszonyított aránya csak nehezen változtatható, ami egyébként annak a ténynek is a következménye, hogy ugyanolyan alakú edény esetében a felület nagysága a térfogathoz képest mindenkor lassabban változik. A platinából készült edények viszonylag nagy mennyiségben tartalmaznak platinát vagy aranyat. Az edényt felhasználás után vagy el kell dobni, vagy sok gonddal járó tisztítási procedúrának kell alávetni, aminek következménye folyékony halmazállapotú radioaktív hulladék keletkezése.

Az elektrokémiai eljárások ismert változatait lényegében a kémiai eljárásokéhoz hasonló hátrányok jellemzik. Így például radioaktív elemmel megjelölt monoklonális antitestek kereskedelmi gyártása során az elektrolitikus cellában levő anódok, katódok, membránok és hasonló elemek a radioaktív jelölőanyaggal szennyezetté válnak. Miután a radioaktív hulladékot el kell különítenni, külön kell kezelni és lerakni, ezért nagy gondosságot kell fordítani az izotóp felhasználásának hatékonyságára, ami annyit jelent, hogy 100%-osnál kisebb hatékonyság esetén a hulladék elhelyezéséről gondoskodni kell.

A találmány célja az ismert elektrokémiai jelölőeljárások hiányosságainak lehető legnagyobb mértékű megszüntetése, mindenekelőtt újszerű elektrolitikus cella kidolgozása révén.

Felismertük, hogy akár radioaktív, akár radioaktivitást nem mutató jelölőanyagot (-elemet, -vegyületet) használnak, az elektrolitikus cellát az eddigi megoldásoktól eltérően két félcellára kell osztani, ahol az egyik félcellába az általában katódként kialakított munkaelektrod, míg a másik félcellába az általában anódként kiképzett ellenelektrod kerül. Lényeges lehet, hogy adott esetben vonatkoztatási elektródot is használnak, amely a munkaelektrod befogadó félcellában helyezkedik el, de a munkaelektrod és az ellenelektrod közötti áramúton kívül van elrendezve. Felismerésünk szerint a vonatkoztatási elektródnak ez az elrendezése megkönnyíti a jelölőanyagnak a peptidekhez, proteinekhez vagy más szerves molekulákhoz való csatlakoztatását.

Feladatunk a felismerésre támaszkodva olyan eljárás és elektrolitikus cella létrehozása, amelyek az ismert megoldásoknál hatékonyabban teszik lehetővé a kijelölt szerves anyag (peptidek, proteinek stb.) megjelölését, és amelyek alkalmazása mellett kis mennyiségű, külön kezelendő hulladék keletkezésével kell számolni.

A kitűzött feladat megoldására ezért elektrolitikus cellát és eljárást dolgoztunk ki, ahol az elektrolitikus cella proteinek, peptidek és más szerves molekulák jelölésére szolgál, katódot és anódot tartalmaz. A találmány értelmében lényeges, hogy a javasolt elektrolitikus cellában

(a) a katód katódos félcellában, az anód anódos félcellában van elrendezve, a katódos és anódos félcella között szeparátor helyezkedik el,

(b) a katódos félcella és az anódos félcella közül az egyikben levő elektród munkaelektrodként,

(c) a katódos félcella és az anódos félcella közül a másikban levő elektród ellenelektrodként van kiképezve, továbbá

(d) a katódos és anódos félcella közül a munkaelektrodot tartalmazó félcellában az anód és a katód közötti áramúton kívül vonatkoztatási elektród van elrendezve, vagy egy másik lehetőség szerint az elektrolitikus cellában

(a) a katód nyílást körbevevő, első kör alakú gyűrűvel ellátott katódos félcellában, az anód nyílást körbevevő, második kör alakú gyűrűvel ellátott anódos félcellában van elrendezve, ahol az első és második kör alakú gyűrű egymással szemben helyezkedik el,

(b) az első kör alakú gyűrűvel szomszédosan első rugalmas anyagú tömítőlemez van elrendezve,

(c) a katódos és anódos félcella között szeparátor helyezkedik el,

(d) a katódos félcella és az anódos félcella közül az egyikben levő elektród munkaelektrodként, porózus anyagból van kiképezve, és a szeparátorral szomszédosan van elrendezve,

(e) a munkaelektroddhoz azt teljesítményforráshoz csatlakoztató elektromos csatlakozóeszköz van illesztve,

(f) a második kör alakú gyűrűvel szomszédosan második rugalmas anyagú tömítőlemez van elrendezve,

(g) az első kör alakú gyűrűt, az első rugalmas anyagú tömítőlemezt, a szeparátort, a porózus anyagú munkaelektrodot, a második rugalmas anyagú tömítőlemezt és a második kör alakú gyűrűt az említett sorrendben szendvicsszerkezetté összefogó szorítót tartalmaz,

(h) a katódos félcella és az anódos félcella közül a másikban levő elektród ellenelektrodként van kiképezve, továbbá

(i) a katódos és anódos félcella közül a munkaelektrodot tartalmazó félcellában az anód és a katód közötti áramúton kívül vonatkoztatási elektród van elrendezve, vagy egy még további lehetőség szerint az elektrolitikus cellában

(a) a katód katódos félcellában, az anód anódos félcellában van elrendezve, a katódos és anódos félcella között szeparátor helyezkedik el,

(b) a katódos félcella és az anódos félcella közül az egyikben levő elektród munkaelektrodként,

(c) a katódos félcella és az anódos félcella közül a másikban levő elektród ellenelektrodként van kiképezve,

(d) a katódos félcella és az anódos félcella közül az egyik szomszédságában elrendezett rögzített rúddal, valamint a katódos félcella és az anódos félcella közül a

másik szomszédságában megfogott mozgatható rúddal ellátott szorítót tartalmaz,

(e) a rögzített és a mozgatható rudat egymással összefogó, az elektrolitikus cellára nyomóerőt gyakorló, a szeparátort a katódos félcella és az anódos félcella között megtartó eszközzel van ellátva, továbbá célszerűen

(f) a katódos és anódos félcella közül a munkaelektrodot tartalmazó félcellában vonatkoztatási elektród van elrendezve.

A találmány szerinti elektrolitikus cella egy előnyös kiviteli alakjában a munkaelektrodd, amely általában a katódos félcellában helyezkedik el, aranyból, platinából vagy 90 tömeg% platinát és 10 tömeg% ródiumot tartalmazó anyagkeverékből van kiképezve. Igen célszerű, ha a munkaelektrodd porózus szerkezetű.

A találmány szerinti elektrolitikus cella egy még további előnyös kiviteli alakjában a munkaelektrodd a szeparátoron kiképzett bevonatként és/vagy a szeparátorral közvetlenül szomszédosan van elrendezve.

Különösen célszerű a találmány szerinti elektrolitikus cellának az a megvalósítása, amelynél a munkaelektrodd porózus szerkezettel van kialakítva és a szeparátorral közvetlenül szomszédosan van elrendezve, és előzetesen nem radioaktív jelölőszerezrel kezelt anyagból van kiképezve. A jelölés hatékonyságát javítja, ha a találmány szerinti elektrolitikus cellának azt az előnyös megvalósítását alkalmazzuk, amelynél a szeparátor anioncserélő vagy kationcserélő membránt alkotó szerkezetként van kiképezve.

Ugyancsak a hatékonyság szempontjából előnyös a találmány szerinti elektrolitikus cellának az a kiviteli alakja, amelynél a munkaelektrodd nem radioaktív halogénnel, jelölőszerezrel előkezelt anyagból van kialakítva.

A találmány szerinti elektrolitikus cella felhasználási jellemzőit javítja, ha célszerűen az ellenelektrodd rozsdamentes acélból vagy platinából van kiképezve.

A jelölés megbízhatóságát növeli a találmány szerinti elektrolitikus cellának az a célszerű kiviteli alakja, amelynél a célszerűen porózus anyagú munkaelektrodd nem radioaktív tulajdonságú halogén jelölőszerezrel előkezelt anyagból van kiképezve. Adott esetben a jelölőszerez nem radioaktív anyag is lehet.

Ha a találmány szerinti elektrolitikus cellában az elektromos csatlakozóeszközt használjuk fel, az célszerűen fémes gyűrűvel van kialakítva.

Ha a találmány szerinti elektrolitikus cellához mozgatható és rögzített rudas szerkezetet rendelünk, célszerű, ha a rögzített rúd hőcsapdaként van kiképezve, mégpedig célszerűen úgy, hogy az elektrolitikus cellához illeszkedő alapfelülete és annak oldalfelületét körbevevő, kiálló fala van. Mind a rögzített, mind a mozgatható rúd előnyösen az elektrolitikus cella hátsó zárólapjához illeszkedően van elrendezve.

A jelölés hatékonyságát javítja, ha a találmány szerinti elektrolitikus cellában a katódos és anódos félcella közül a munkaelektrodot tartalmazó félcellában az anód és a katód közötti áramúton kívül vonatkoztatási elektród van elrendezve.

Ugyancsak a jelölés hatékonysága szempontjából előnyös a találmány szerinti elektrolitikus cellának az a

kiviteli alakja, amelynél a munkaelektrod felületének és az anódos félcella térfogatának aránya mintegy $0,001 \text{ cm}^{-1}$ és mintegy 5000 cm^{-1} között, különösen célszerűen mintegy $0,05 \text{ cm}^{-1}$ és mintegy 10 cm^{-1} között van.

A találmány elé kitűzött feladat megoldása céljából létrehozott eljárás megvalósítása során proteinek, peptidek és más szerves molekulák jelölésére anódot és katódot tartalmazó elektrolitikus cellába proteint, peptidet vagy más szerves molekulát tartalmazó vizsgálati anyagot juttatunk és a vizsgálati anyagot jelölőszerezrel kezeljük, majd az elektrolitikus cellán áramot engedünk át. A találmány értelmében az elektrolitikus cellát szeparátorral elválasztott katódos félcellát és anódos félcellát tartalmazó egységként hozzuk létre, ahol a katódos félcella és az anódos félcella közül az egyikben porózus anyagú munkaelektrodot, a másikban ellenelektrodot rendezünk el, továbbá a katódos félcella és az anódos félcella közül a munkaelektrodot tartalmazóban a munkaelektrod és az ellenelektrod közötti áramúton kívül vonatkoztatási elektrodot rendezünk el, majd a megjelölt vizsgálati anyagot a munkaelektrodot tartalmazó félcellába juttatjuk. Célszerű, ha a munkaelektrodot porózus szerkezettel képezzük ki, és azt a szeparátor közvetlen szomszédságában rendezzük el, vagy a szeparátoron kialakított réteggént hozzuk létre.

Ha a porózus szerkezetű munkaelektrodot a szeparátortól elválasztva helyezzük el, igen célszerű a találmány szerinti eljárásnak az a megvalósítási módja, amelynél a szeparátort kationcserélő membránt vagy anioncserélő membránt alkotó anyagból képezzük ki, és ez utóbbi esetben a vizsgálati anyagot az ellenelektrodot tartalmazó félcellában hozzuk a jelölőszerezrel érintkezésbe, majd az anioncserélő membránon áthatoló jelölőszert a porózus munkaelektrod közelében a vizsgálati anyaggal reakcióba visszük.

A jelölés hatékonyságát tudjuk magas szinten tartani, ha a találmány szerinti eljárás megvalósítása során célszerűen a munkaelektrod és az ellenelektrod között az áram átengedésekor a munkaelektrod potenciálját a vonatkoztatási elektróddal szabályozzuk.

A jelölés során keletkező hulladék kezelése szempontjából előnyös a találmány szerinti eljárásnak az a megvalósítási módja, amelynél a jelölőszert a munkaelektrodot tartalmazó félcellában hozzuk a vizsgálati anyaggal érintkezésbe. Egy másik lehetőség szerint ugyanezt az előnyt célszerűen úgy biztosítjuk, hogy a vizsgálati anyagot az ellenelektrodot tartalmazó félcellában hozzuk a jelölőszerezrel érintkezésbe, majd az anioncserélő membránon áthatoló jelölőszert a porózus munkaelektrod közelében a vizsgálati anyaggal reakcióba visszük. Általában jelölőszerként radioaktív hatású anyagot, mégpedig halogénelem radioaktív izotópját és általában ^{125}I -izotópot használunk.

A jelen találmány értelmében olyan elektrolitikus cellát és ennek a cellának a felhasználására épülő, proteinek, peptidek és más szerves molekulák, mindenekelőtt monoklonális antitestek halogénanyaggal vagy más jelölőszerekkel, különösen technéciummal és ródiummal való jelölését biztosító eljárást javasolunk,

amely az ismert megoldásokhoz képest javított jellemzőket mutat. A jelölőszerez fogalmán itt és a továbbiakban mind a radioaktív, mind pedig a radioaktivitástól mentes, a szakmai gyakorlatban szokásos anyagokat értjük. A katodit tartalmazó katódos félcella és az anolittal kitöltött anódos félcella között olyan szeparátort rendezünk el, amely az anolit és a katodit összekeveredését csak kis tartományokban teszi lehetővé, ezzel szemben az ionáram mozgása előtt akadályt lényegében nem jelent. A proteinek, peptidek és más szerves molekulák jelölésére abban a félcellában kerül sor, amely a munkaelektrodot tartalmazza. Ha a jelölőszerez oxidálás révén válik aktív jelölőanyaggá, az anódos félcellában elhelyezett porózus anód a munkaelektrod szerepét játssza el, míg a katódos félcellában jelen levő katód a nem működő elektrod, vagyis az ellenelektrod funkcióját látja el. Ha a jelölőszerez redukálással válik aktív jelölőanyaggá, a porózus felépítést a katódnál biztosítjuk, amely a katódos félcellában elhelyezve munkaelektrodként üzemel, míg az ellenelektrod szerepe ennél a megoldásnál az anódos félcellában levő anódnak jut. A munkaelektrod és az ellenelektrod közötti áramúton kívül elhelyezett ellenelektrod szolgál a munkaelektrod potenciáljának pontos beállítására és szükség szerinti szabályozására, ezzel a jelölési folyamat hatékonysága maximalizálható, míg egyúttal a proteinek, peptidek és más szerves molekulák oxidatív jellegű károsodása korlátozható.

A javasolt elektrolitikus cella és eljárás a jelölés igen magas hatékonyságát, a jelölési folyamat megtervezésének egyszerűsödését hozza, és radioaktív jelölőszerez alkalmazása esetében a folyékony halmazállapotú radioaktív hulladék mennyisége az ismert megoldásokhoz képest csökken.

A találmány tárgyát a továbbiakban példakénti kiviteli alakok és megvalósítási módok kapcsán, a csatolt rajzra hivatkozással ismertetjük részletesen. A rajzon az

1. ábra: a találmány szerinti elektrolitikus cella felépítésének vázlata, a
2. ábra: a találmány szerinti elektrolitikus cellában kialakított egyik, üveganyagú félcella oldalnézete, a
3. ábra: a találmány szerinti elektrolitikus cellában kialakított egyik, üveganyagú félcella előlnézete, részbeni keresztmetszetben, a
4. ábra: a találmány szerinti elektrolitikus cellában használt rugalmas anyagú tömítőlemez előlnézete, az
5. ábra: a találmány szerinti elektrolitikus cellában használt szeparátor előlnézete, a
6. ábra: a találmány szerinti elektrolitikus cellában használt porózus szerkezetű anód előlnézete, a
7. ábra: a találmány szerinti elektrolitikus cellában használt gyűrű alakú fémcsatlakozó előlnézete, a
8. ábra: a találmány szerinti elektrolitikus cellában használt szorító oldalnézete, a
9. ábra: a 8. ábrán bemutatott szorító oldalnézete, a

10. ábra: hőcsapdával kombinált szorító oldalnézete, míg a

11. ábra: a hőcsapda és szorító 10. ábrán bemutatott kombinációjának oldalnézete.

A találmány szerint 10 elektrolitikus cellát alkotunk meg (1., 2. és 3. ábra), amely két lényegében azonos felépítésű üvegből készült részre oszlik, mégpedig 12 katódos félcellára és 14 anódos félcellára. A 12 katódos félcellában lecsiszoltüveg-felületű, 16 első kör alakú gyűrű van elrendezve, amely (az ábrán külön nem jelölt) 17 nyílást vesz körbe. Felső részén 18 nyitott fedél helyezkedik el, amely alatt 19 reakciókamra van kiképezve. A 14 anódos félcella szintén lecsiszoltüveg-felületű, (az ábrán külön nem jelölt) 21 nyílást körbevevő 20 második kör alakú gyűrűt fogad be, felülről 22 nyitott fedél határolja, benne 23 reakciókamra van kiképezve. A 16 első és a 20 második kör alakú gyűrű között szendvicsszerkezetet alkotóan 24 első rugalmas anyagú tömítőlemez (1. és 4. ábra), 26 szeparátor (1. és 5. ábra), porózus szerkezetben létrehozott 28 anód (1. és 6. ábra), továbbá 30 gyűrű alakú fémcsatlakozó (1. és 7. ábra), valamint 32 második rugalmas anyagú tömítőlemez helyezkedik el. A különböző alkatrészek elhelyezkedése és relatív nagysága a 2–11. ábrákból kivehető. A rajzokból is kitűnik, hogy a 24 első és a 32 második rugalmas anyagú tömítőlemez belső átmérője a 28 anód aktív felületét határozza meg.

A találmány szerinti elektrolitikus cellának az 1. ábrán bemutatott megvalósításánál a 14 anódos félcellában eltávolítható módon 36 vonatkoztatási elektródot hordozó 34 hőmérő adapter van elrendezve. A 36 vonatkoztatási elektród ezüstből és ezüst-kloridból készül. A 12 katódos félcella platinából vagy aranyból készült fóliaként kialakított, vagy adott esetben rozsdamentes acélból kiképzett 40 katóddal van ellátva. Az 1. ábra szerinti megoldásnál az üveganyagú 14 anódos félcellában 38 mágneses keverőrúd van elrendezve, a 12 katódos félcella méretei szintén alkalmasak egy hasonló nagyságú mágneses keverő befogadására. A 12 katódos és a 14 anódos félcella üvegedényeinek alsó részében a 19 és 23 reakciókamrák a mágneses keverő meghajtására szolgáló lemez minél közelebbi megfogására alkalmasak, és így a 38 mágneses keverőrúd keverő, intenzív hatása biztosítható.

A 12 katódos és a 14 anódos félcella számos különböző módon egyesíthető. Az egyik megoldás, amit a 8. és a 9. ábra mutat be, az, hogy a két félcella egymással szemközti végeit 42 szorítóhoz illesztjük, ezzel a 16 első és a 20 második kör alakú gyűrű szükséges tömítése megbízhatóan hozható létre, nincs szükség a szendvicsszerkezetben tömítőkészítmény vagy ragasztó elhelyezésére. A 8. és 9. ábrán látható 42 szorító 44 rögzített rúdból és 46 mozgatható rúdból áll, ahol az utóbbi két 50 csavarmentes rúdon elrendezett 48 szorító- vagy lazítófeltét nyitó vagy záró irányú mozgatásával aktiválható, illetve rögzíthető. A 44 rögzített rúd és a 46 mozgatható rúd kialakítása olyan, hogy mind a 12 katódos félcella, mind a 14 anódos félcella hátsó lapjához illeszkednek. A 44 rögzített rúd és a 46 mozgatható rúd, valamint a 12 katódos és a 14 anódos félcella egymáshoz

illeszkedő felületei sík kialakításúak, ami az érintkezés biztonságát adja, és egyúttal a nyomás egyenletes eloszlását teszi lehetővé. A 42 szorító kialakítható úgy is, hogy az egy 52 fémtömb integrális alkotórészét képezi, és ez utóbbi hőcsapdaként működik (10. és 11. ábra). A 10. és a 11. ábrán bemutatott 52 fémtömb ugyancsak 46 mozgatható rudat tartalmaz, továbbá 54 zárófelülettel van kialakítva, amely az előbbieken bemutatott 42 szorító feladatát látja el, és azt helyettesíti. Az 52 fémtömbnek 56 alapfelülete és 58 kiálló fala van, ahol az 58 kiálló falnak az 54 zárófelület részét képezi, egyúttal a 10 elektrolitikus cellát körbeveszi, és annak megtámasztását biztosítja. Az 52 fémtömb hőmérséklete számos különböző módon állítható be és tartható fenn, ide értve inkubátor alkalmazását vagy azt a megoldást, amikor az 52 fémtömbben csatornát képezünk ki, és abban folyadékokat áramoltatunk.

Az előzőekben bemutatott 10 elektrolitikus cella alapanyaga üveg. Ez azonban nem jelent korlátozást, mivel a jelölési feladatok ellátásában a különböző műanyagok, mint a polipropilén, a polikarbonát, a fluorozott szénhidrogének, továbbá a Lucit nevű műanyag, illetve ezek bármely kombinációja jól használható. A felhasznált anyagokkal szemben általános követelmény, hogy az eljárásban alkalmazott vegyszerekkel szemben a jelölési eljárás végrehajtásának feltételei mellett ne lépjenek reakcióba, megtartsák strukturális integritásukat, és a jelölt vizsgálati anyaghoz nemkívánatos összetevőket ne juttassanak.

A proteinek, peptidek és más szerves molekulák, különösen a monoklonális antitestek jelölésére jól ismert a radioaktív és nem radioaktív halogének alkalmazása. A jelen találmány szerint azonban javasoljuk más jelölőszerek és anyagok alkalmazását is, ide értve a technéciumot és a réniumot. A nem halogén jellegű jelölőanyagok szintén lehetnek radioaktívak vagy nem radioaktívak.

A 10 elektrolitikus cella fentiekben bemutatott kiviteli alakjánál különösen célszerű, ha a 28 anód porózus szerkezetű, és ez szolgál munkaelektrodként. A porózus anyagú 28 anód kialakításához célszerűen aranyat, platinát vagy 90 tömeg% platinából és 10 tömeg% ródiumból álló fémkeveréket használunk. Megállapításaink szerint az arany tűnik a legjobb anódnak abban az esetben, ha a halogénanyaggal jelölendő protein, peptid vagy más szerves molekula oxidálással szemben igen érzékeny, viszont a jelölést jódozás útján kívánjuk végrehajtani. Egyébként anódként lényegében bármilyen elektromosan vezető vagy félvezető jellegű anyag felhasználható. Így vizsgálataink szerint a szén különböző módosulatai, az ólom, az ólom-dioxid, a nemesfémek (mégpedig a periódusos rendszer VIII és IB csoportjába tartozó fémek), illetve ezek oxidjai, például a platina-oxid. Egy másik lehetőség szerint egyenirányító jellegű fémek, például titán felületére kerülő bevonatot alakítunk ki legalább egy nemesfémről, illetve nemesfém oxidjából. Az anód anyagát annak figyelembevételével választjuk meg, hogy milyen átalakítási hatékonyságra van szükség, illetve számításba vesszük a korróziós hatásokkal szembeni ellenállást. Halogénanyaggal, és kü-

lönösen radioaktív halogénanyaggal történő jelölés esetében a nemesfémek semleges voltuk miatt különösen előnyösek, és ugyancsak kedvező az a tulajdonságuk, hogy képesek a halogenideket aktív halogenizálószerrekké oxidálni. A nemesfémek oxidjai azonban jóddal történő jelölési folyamatoknál, akár radioaktív, akár nem radioaktív jódizotópot használunk, nem alkalmazhatók, mivel jódátot képeznek.

Ha a 40 katódot is porózus szerkezetű anyagként hozzuk létre és ezt választjuk munkaelektrodként, anyagként alapvetően ugyancsak bármilyen vezető vagy félvezető készítmény választható. Az erre a célra különösen alkalmas anyagok között említjük a szén különböző módosulatait, a különböző rozsdamentes acélokat, a periódusos rendszer VIII és IB csoportjába tartozó nemesfémeket, illetve ez utóbbiak oxidjait, például a platina-oxidot, de ugyancsak megfelelő eredményeket értünk el az átmenetifémek felhasználásával, közöttük a rézzel és nikkellel.

A 10 elektrolitikus cella felépítésében a 30 gyűrű alakú fémes csatlakozó fontos, de nem alapvetően lényeges részelemet képez. Ennek feladata a munkaelektrod és külső áramforrás között az elektromos kapcsolat fenntartása. A 30 gyűrű alakú fémes csatlakozó alkalmazása akkor különösen kívánatos, ha a munkaelektrod, amely tehát akár anód, akár katód lehet, a rendkívül költséges platinából vagy aranyból készül, és ezért igen vékony elemeket alkot. Ha ezeket a vékony platina- vagy aranydarabokat nem lehet közvetlenül például krokodilcsipesszel az áramforráshoz csatlakoztatni, a 30 gyűrű alakú fémes csatlakozó biztosíthatja az áram bevezetését.

Függetlenül attól, hogy a munkaelektrodként a porózus szerkezetű 40 katódot vagy 28 anódot választjuk, fontos, hogy a munkaelektrod széleit, ide értve éleit, a 24 első és a 32 második rugalmas anyagú tömítőlemezrel fedjük le, hogy ennek révén a széleknél a tömegátadási folyamatokat minimálisra csökkentsük. A tömegátadási folyamatok egy bizonyos mértéken túl a munkaelektrod széleinél azzal a nehézséggel járnak, hogy a munkaelektrod felülete mentén az egyenletes potenciált nem lehet fenntartani, és ez a jelölőanyag felhasználásában problémát okoz. Ha ugyanis például a potenciál nem elegendően nagy, a jodidból az aktív jelölőszer csak kis, nem elegendő mennyiségben szabadul fel, míg ha a potenciál értéke túl nagy, a jodid jodáttá oxidálódik, és ez utóbbi jelölésre lényegében alkalmatlan, aktivitása kicsi. Ha viszont a munkaelektrod széleit és éleit lefedjük, a 36 vonatkoztatási elektród elrendezésével szemben nem kell szigorú követelményeket állítani, elegendő, ha csak annyit követelünk meg, hogy a munkaelektrod és az ellenelektrod közötti áramúton kívül helyezkedjen el, mivel ennél az elrendezésnél az áram nem folyhat a munkaelektrod szélei mentén. Ha azonban a munkaelektrod szélei fedetlenek maradnak, a 36 vonatkoztatási elektród elrendezésével szemben igen szigorú követelményeket kell állítani, amelyeket nehéz úgy teljesíteni, hogy a 36 vonatkoztatási elektród az említett áramúton kívül helyezkedjen el.

Az anolit és a katolit nagyobb mérvű keveredését a 26 szeparátor felhasználásával előzzük meg. Ez utóbbi

azonban olyan szerkezetű, hogy a 28 anód és a 40 katód között az ionáram fennmaradását lehetővé teszi. A 26 szeparátort általában elektromosan szigetelő anyagból készítjük el, erre a célra számos lehetőség adódik. A 26 szeparátor készülhet például frittelt üvegből, üvegpороkból szintereléssel, porózus vagy habosított műanyagból, mint például a fluorozott szénhidrogénekből, azbesztből, porózus kerámiakészítményekből, ioncserélő membránokból és ultraszűrőre alkalmas membránokból. Egy megvalósult berendezésben a 26 szeparátor Nafion 117 jelű kationcserélő membránból állt. Ha a 26 szeparátor kationos jellegű, biztosítja, hogy a radioaktív halogenidek a jelen találmány szerinti 10 elektrolitikus cella 14 anódos félcellájában maradnak.

A jelen találmány értelmében célszerű lehet a 26 szeparátor anionos jellegű ioncserélő membránnal történő kialakítása. Ennél a megoldásnál a radioaktív halogenidet a 12 katódos félcellát kitöltő katolitba adagoljuk, amikor is a halogenid a koncentráció gradienseinek megfelelően az anionos membránt jelentő 26 szeparátoron át diffúzió révén áramlik. A halogenidek a 28 anód porózus fém-szerkezetébe lépnek, ha annak elegendően nagy a 36 vonatkoztatási elektróddal szembeni potenciálja, a halogenidből oxidáció révén aktív halogenizálószer alakul ki, amely a 28 anód elegendő mértékű porozitása esetén például a proteinekkel hatékonyan tud reakcióba lépni. A találmány szerinti 10 elektrolitikus cella egy gyakorlatban megvalósult kiviteli alakjánál Raipore 1030, 4030 és 5030 jelű anioncserélő membránokat használtunk, amelyek a Pall RAI Inc., cég termékei.

A radioaktív halogenidnek a katolitba való bevezetése azzal az előnnyel jár, hogy a reakcióból kimaradt radioaktív anyagot viszonylag kis nehézség árán lehet a radioaktív módon megjelölt proteintól elválasztani. Ez a nehézség tovább csökkenthető, ha a 28 anódot porózus szerkezetben a 26 szeparátor közvetlen szomszédságában rendezzük el. Ennél az elrendezésnél a radioaktív jodid a 28 anód porózus szerkezeténél lép a proteinnel reakcióba, mégpedig a 14 anódos félcellába történő belépés során, és a 10 elektrolitikus cella működését akkor szüntetjük meg, amikor a 14 anódos félcellában már lényegében reakcióból kimaradt radioaktív jodid nem maradt, így tehát csak igen kis mennyiségű anyagot kell a radioaktív módon megjelölt proteintól elválasztani. Hiányossága azonban a radioaktív halogenidnek a katolitba történő bevezetését javasoló megoldásnak az, hogy a radioaktív anyag egy jelentős része a 26 szeparátoron fennakad. Ez azonban végeredményben nem jelenthet problémát azoknál a gyakorlati alkalmazásoknál, ahol a 10 elektrolitikus cellát ismételtelen vagy folyamatos üzemmódban használjuk, hiszen ez esetben a 26 szeparátor telítődése a továbbiakban nem okoz gondot.

A katolit vagy anolit anyagával szemben különösebb megkötést nem támasztunk, az ismert elektrolitok a 10 elektrolitikus cella felhasználási céljának megfelelően használhatók. Az ismert elektrolitok között említhetjük az igen gyakran alkalmazott nátrium-kloridot, a foszfátos puffereket, a tetraalkil-ammóniumsókat, vala-

mint az alkálifémek acetátjait. A 10 elektrolitikus cella egyébként felhasználható a munkaelektrodát befogadó félcellában mindenféle elektrolit nélkül is, ha ezt a javasolt eljárás végrehajtásának feltételei indokolják.

Függetlenül a felhasznált elektrolit típusától, a találmány szerinti 10 elektrolitikus cellának a munkaelektrodát tartalmazó félcellájában az esetek nagy többségében szükség van keverőfolyamat fenntartására, hogy a reagensek megfelelő mértékben összekeveredjenek és folyamatosan érintkezésbe kerülhessenek a munkaelektroddal. A fentiekben ismertetett 10 elektrolitikus cella esetében ezt a feladatot a 38 mágneses keverőrúd látja el. Más keverési eljárások ugyancsak jól hasznosíthatók, ide értve gáz átbuborékoltatását a megfelelő félcellában. Világos azonban, hogy ha mind a 12 katódos, mind a 14 anódos félcellában keverést biztosítunk, ez különösen előnyös akkor, ha a jelölőanyag az egyik félcellában, míg a vizsgálati anyag a másik félcellában helyezkedik el.

A jelen találmánynak egy proteinek halogénnel történő megjelölésére kidolgozott változatában a 14 anódos félcella tartalmazza a munkaelektrodát, különböző 28 anódokat használtunk, és a 28 anódot a 36 vonatkoztatási elektród felett helyeztük el. A 28 anód vékony, porózus anyagdarabból állt, amelyet az 1. ábra szerint rendeztünk el oly módon, hogy ezzel az igen költséges nemesfém-ből készült anód felhasználásának gazdaságosságát javítsuk, a tisztítási folyamatok hatékonyságát és flexibilitását biztosítsuk, és egyúttal lehetővé tegyük az anódpotenciál finom és pontos szabályozását, vagyis javítsuk a halogénezési reakció hatékonyságát. Amikor a 36 vonatkoztatási elektródot a fentiekben meghatározott módon az áramúton kívül helyeztük el, ezzel az anód potenciáljának finom és pontos szabályozására adunk lehetőséget, ami viszont biztosítja, hogy a proteinek minimális oxidációs károsodása mellett a halogénnel történő megjelölés maximális mértékű legyen. A 36 vonatkoztatási elektródnak az áramúton kívüli elrendezése azonban azzal a követelménnyel jár, hogy a munkaelektrodát alapvetően, az esetek többségében porózus szerkezetben kell kialakítani. A 36 vonatkoztatási elektród anyagának megválasztásával szemben különös feltételt nem támasztunk, erre a célra kiválóan alkalmasak a munkaelektrodok potenciáljának szabályozására kidolgozott, ismert anyagfélések.

A találmány szerinti 10 elektrolitikus cella további előnyös jellemzőket mutat különösen akkor, ha a porózus szerkezetű 28 anódot közvetlenül a 26 szeparátor szomszédságában rendezzük el. Ez ugyanis a szerkezeti kialakítást leegyszerűsíti, az elrendezés hatékony működése pedig akkor is biztosítható, ha a felhasználásra kerülő oldószerek elektromos vezetőképessége egészen kicsi. A jodidok vagy jodidok leadására képes források, például a fenil-jodid oldására szolgáló szerek közül több nem képes elektrolitokban feloldódni, és ezért a vezetőképességhez hozzájárulni. Ilyen helyzet van akkor, ha nemkívánatos reakciók játszódnak le, mégpedig sók vagy víz jelenlétében. Ilyen helyzetben az anolit alkotó oldat elektromos vezetőképessége általában nagyon kicsi, de a 28 anódot közvetlenül a 26 szeparátor szomszédságában elrendezve az áram útja biztosítható, és en-

nek révén a proteinek, peptidek vagy más szerves molekulák jódosítása végrehajtható. A halogénezőkezelésnek alávetendő vizsgálati anyagot ilyenkor a 14 anódos félcellában helyeztük el, míg a 12 katódos félcellába elektromosan vezető oldószert kerül. Ezt a megoldást az 1. ábra szerinti 10 elektrolitikus cellában valósítottuk meg. Ha az anódos részben levő oldószert vezetőképessége lényegtelen abból a szempontból, hogy az oldószert és a halogénezendő vizsgálati anyag közötti nemkívánatos kémiai reakciók elkerülhetők-e vagy sem, célszerű a vezetőképés oldószert felhasználása, és ilyenkor a 28 anód a 14 anódos félcellában bárhol elrendezhető. A 28 anódnak közvetlenül a 26 szeparátor szomszédságában való elhelyezése az egyik hatékony lehetőség az, hogy a 28 anódot alkotó anyagot kémiai reakció útján a 26 szeparátoron lerakattuk. A lerakás egyik lehetséges módját a továbbiakban a 16. példában mutatjuk be. Ha a 28 anódot nemesfém-ből alakítjuk ki, a találmány szerinti 10 elektrolitikus cella működése szempontjából azzal a hiányossággal kell számolni, hogy ezek az anyagok viszonylag nagy hatékonysággal a jodidok és más halogének abszorbeálására képesek. A vizsgálatok során kitűnt például, hogy a radioaktív jodidnak az oxidálására, és ezzel az aktív jódosóanyagok előállítására szolgáló anódon való adszorpciója lényegében ugyanakkora, mint amennyivel az antitesteknél használatos elektrokémiai jelölési eljárásokban felhasznált izotópok használata a teljes mértékűtől eltér. Az előző kijelentés akkor igaz, ha a szabályozott potenciál vagy a szabályozott áramerősség felhasználásával működő eljárásokat megfelelő módon hajtottuk végre. Jól ismert az a tény, hogy az anód felületének az anolit térfogatához viszonyított aránya meghatározza azt az időt, amire az ellenőrzött potenciálú elektrolízis végrehajtásához szükség van, és ezért az anód méretei egy bizonyos határon túl nem csökkenthetők anélkül, hogy ezzel az elektrolízis időtartama elfogadhatatlan mértékben ne növekedjen. Az előzőeknek megfelelően, az anódon lejátszódó adszorpciós folyamatok miatt az aktiválásban bekövetkező csökkenés problémáját más módon kell megoldani.

Ha jelentkezik, a probléma súlyosságát komoly mértékben lehet csökkenteni oly módon, hogy a munkaelektrod felületének az azt befogadó félcella térfogatához viszonyított arányát megfelelő módon szabályozzuk. A vizsgálatok során kitűnt, hogy ha az elektród felületének és a félcella térfogatának aránya túlságosan kicsi, az elektrolízis hosszú időtartamával kell számolni, míg ha ez az arány túl nagy értékű, a radioaktív halogénidek abszorpció miatti vesztesége elfogadhatatlan mértékben megnövekszik. Mindez különösen a radioaktív halogénizotópokkal történő jelöléseknél érvényes, hiszen az elektrokémiai átalakításánál, illetve a radioaktív jelölési reakciók más típusainál erre a nehézségre nem kell odafigyelni, vagy az könnyen elkerülhető. A proteinek radioaktív halogénnel történő megjelölésénél igen célszerűnek bizonyult, ha a munkaelektrod felületének és az azt befogadó félcella térfogatának aránya $0,05 \dots 10 \text{ cm}^{-1}$ tartományba esik, de jó eredmények voltak elérhetők az ezt a tartományt is magába foglaló mintegy $0,001 \text{ cm}^{-1}$ -től mintegy 5000 cm^{-1} tartomány

egészében. A geometriai felületet az elektród egyszerű fizikai méréséből lehet megállapítani. Az elektrolízishez szükséges időtartam és a halogénnel szembeni adszorpciók képesség aktuális értékét meghatározó paraméter mindenekelőtt a munkaelektrod felületének tényleges nagysága. A munkaelektrod felületének nagysága a mikroszkopikus egyenetlenségekkel változik, ezt pedig az elektród felülete, az előző felhasználásból eredő felületi pusztlása és más tényezők határozzák meg. A tényleges felület a geometriai felületnél mind nagyobb, mind kisebb lehet.

Az említett nehézségekkel járó negatív hatások következményeit jelentős mértékben korlátozni lehet, ha a találmány szerinti 10 elektrolitikus cellában a 28 anódot nem radioaktív halogénanyaggal telítjük, és ezután a jelölési eljárás folyamatában a radioaktív halogén és az adszorpcióval megkötött, nem radioaktív halogének közötti kicserélődési folyamatokat minimalizáljuk. A 28 anódnak a nem radioaktív halogénanyaggal történő telítése különösen két eljárással hajtható végre célszerűen, mégpedig vagy a 28 anód porózus anyagának a 10 elektrolitikus cella belső terébe való bevitelle előtti, nem radioaktív halogénnel történő átitatásával, és/vagy a 28 anód porózus anyagának elektrolitikus kezelésével, amikor ez az anyag a nem radioaktív halogénanyag oldatába merül.

A találmány szerint javasolt felépítésű 10 elektrolitikus cella működtetése során célszerűen a munkaelektrod potenciálját, a cellában folyó áramot vagy a cella teljes eredő feszültségét, tehát az anód és a katód közötti potenciált szabályozzuk. A 10 elektrolitikus cellába bevezetett áram lehet akár egyenáram, akár pedig változó áram, amelyeknél adott esetben a potenciál lehet állandó szintű vagy egy adott hullámforma szerint változó, attól függően, hogy a vizsgálati anyagot milyen jelölési folyamatnak kívánjuk alávetni. Ha a potenciált szabályozzuk, a 36 vonatkoztatási elektródnak az áramúton kívüli elrendezése a szabályozás pontosabb és finomabb végrehajtását teszi lehetővé, mintha a 36 vonatkoztatási elektród az áramútba nyúlna. Ennek a sza-

bályozásnak az alapvető oka az, hogy a javasolt geometria mellett az IR szorzat (vagyis a 10 elektrolitikus cellában folyó áram és a benne levő árammal átjárt folyadék ellenállásának szorzata) a 36 vonatkoztatási elektród és a munkaelektrod közötti potenciálhoz minimális mértékben járul hozzá. Ha a cellaáramot vagy a potenciált szabályozzuk, a bemutatott geometria révén a munkaelektrod potenciálja nagy pontossággal mérhető. A radioaktív és nem radioaktív jódozási folyamatokban vizes közeg használata mellett kitűnt, hogy számos szubsztráturnál az anód potenciáljának pontos szabályozása igen fontos tényező, mivel a jelölési folyamat hatékonyságának magas szinten tartása mindenekelőtt a potenciál pontos szabályozásával lehetséges.

A találmány tárgyát a továbbiakban példák bemutatásával ismertetjük még részletesebben, ahol a példák nem jelentik a használati lehetőségek összességét, azok csak egy-egy különösen előnyös megvalósítási módot mutatnak be a számos javasolható közül.

1–13. példa

Monoklonális antitestek jódozása

A jelen találmány szerinti 10 elektrolitikus cella felhasználásával több kísérletet végeztünk annak meghatározása céljából, hogy a radioaktív jelölt tartalmazó halogén készítmény és az anód halogénnel történő előkezelése milyen hatással van a proteinek, peptidek és más szerves molekulák jelölésének hatékonyságára. A kísérletek során ^{125}I -izotópot használtunk, mégpedig a 28 anód adszorpciók kapacitásához képest rendkívül kis mennyiségben, ezért az eredményeket oldatfázisú hordozójodid (nem radioaktív jodid) felhasználásával nyertük. A nem radioaktív jelölőszert, és különösen a nem radioaktív halogén összetétele olyan, hogy az eleget tesz az Egyesült Államok Nukleáris Szabályozási Bizottsága által állított követelményeknek. Ennek megfelelően monoklonális antitestek ^{125}I -izotóppal történő radioaktív elektrolitikus jelölésénél kapott eredményeket az A. táblázat mutatja be.

A. táblázat

Példa sorszáma	μCi	Hordozó, nmd	E^a , mV	pH	Idő, perc	Anód ^b , %	MAB ^b , %	Nem reagált ^b , %	Megjegyzés sorszáma ^c
1.	200	100	600	7,0	45	7,5	77,2	15,3	1, 4, 9
2.	202	0	600	7,0	325	95,0	0	5,0	1, 4, 9
3.	232	100	600	7,0	192	18,4	81,6	0	1, 4, 9, 11
4.	231	0	600	7,0	32	26,8	62,2	11,0	1, 5
5.	115	0	650	7,0	194	50,3	41,6	8,0	1, 5
6.	8710	0	650	7,0	121	30,8	61,1	8,2	1, 5, 10, 12
7.	332	3,5	650	7,0	220	23,5	73,8	2,8	1, 5
8.	272	0	650	8,0	90	32,4	58,4	9,3	1, 5
9.	306	0	650	7,0	180	13,7	82,9	3,4	1, 6, 13
10.	240	0	650	7,3	106	72,9	8,4	18,7	1, 7
11.	397	0	650	7,3	240	57,9	24,0	18,1	2, 8
12.	287	7	650	7,3	90	18,5	72,9	8,6	2, 8
13.	310	0	600	7,0	30	4,5	0	95,5	3

Megjegyzések a táblázat fejlécéhez:

- a: E az elektrolízis potenciálja Ag/AgCl rendszerben
 b: anód, %, MAb, %, továbbá nem reagált, %, a ^{125}I -izotópnak a kiinduláshoz viszonyítva az elektrolízis idejének elmúltával az anódhoz, az antitesthez kapcsolódó, illetve az oldatban maradó mennyisége
 c: a továbbiakban megadott, sorszámozott megjegyzések.

Megjegyzések a táblázat soraihoz:

1. Az anód elektrolitikusan lerakott Au-rács, 394 sor/cm
2. Az anód elektrolitikusan lerakott Au-rács, 264 sor/cm
3. Az anód platinarácsra lerakott platina-oxid
4. Előkezelt anód: nyitott áramkör mellett az elektrolitikus cellán kívül jodidoldatban átitatott anyag
5. Előkezelt anód: az elektrolitikus cellában 650 mV feszültség mellett végzett, 40 vagy 50 μmol jodidot felhasználó elektrolízis
6. Előkezelt anód: az elektrolitikus cellában 650 mV feszültség mellett végzett, 1 mmol jodidot felhasználó elektrolízis
7. Előkezelt anód: nyitott áramkör mellett az elektrolitikus cellán kívül 1 mmol jóddal kezelve
8. Előkezelt anód: az elektrolitikus cellán kívül 650 mV feszültség mellett, 1 mmol jodidot felhasználó elektrolízis
9. A tömörödést nagynyomású folyadékkromatográfiás eljárás bizonyítja
10. Az immunoreaktivitás értéke 78,4
11. A hordozójodidot a ^{125}I -izotópnak az anódon való adszorpciója után adtuk be
12. 9 mg MAb
13. 6 mg MAb.

A 10 elektrolitikus cella összeszerelése előtt a 26 szeparátort, amely kationcserélő membránként van kialakítva, majdnem forráspontra melegített 2 mol/l koncentrációjú salétromsavban 2 órán keresztül hevítjük, és ezzel belőle a szennyezéseket eltávolítjuk. A 26 szeparátor membránját ezután só formájába visszük át, foszfáttal puffertolt sóoldatba való bemelegítéssel. A 26 szeparátor feladata volt annak megakadályozása, hogy az antitestek a 14 anódos félcellából a 12 katódos félcellába áramoljanak át, és egyúttal annak biztosítása, hogy a radioaktív jodid a 14 anódos félcellát ne tudja elhagyni.

A 10 elektrolitikus cella összeállítása során a 28 anódot a fenti megjegyzésekben leírt előkezelésnek vetettük alá. Mind a 12 katódos félcellát, mind pedig a 14 anódos félcellát a foszfáttal puffertolt sóoldattal töltjük fel. Hordozójodid alkalmazása mellett azt az anolitba adagoljuk, majd ezt követően visszük be a frissen előkészített monoklonális antitestet és végül a radioaktív ^{125}I -tartalmú anyagot. Rövid keverés után az anolit egészét 10 ml térfogatú fecskendővel felszívjuk, és CrC7 jelű CAPINTEC típusú radioizotópos kalibrátorban megvizsgáljuk. Ezután az anolít visszahelyezzük a 10 elektrolitikus cellába, elkezdjük keverését, majd szabályozott potenciál mellett az elektrolízist végrehajtjuk. A potenciál értékének tartására CV1B típusú voltmérőt használunk, amely a Bioanalytical Systems, Inc. (BAS-West Lafa-

ette, IN) cég terméke. Az áram értékét digitális voltméter jelzései alapján követjük.

Az elektrolízis folyamatát periodikusan megszakítjuk, hogy az anoliton a számlálást végrehajthassuk, és egyúttal a nagynyomású folyadékkromatográfiás elemzés céljaira 50 μl nagyságú mintákat vegyünk. A felvett mintákat mindenkor 200 μl eluensben (nátrium-azidot tartalmazó, foszfátos, puffertolt só 400 mmol nagyságú adagjában) feloldjuk, és zselés adszorpciós oszlopba juttatjuk. A reakcióból kimaradt és az MAb monoklonális antitesteken kötött ^{125}I -izotóp viszonylagos mennyiségeit sorosan kapcsolt ultraibolya (280 nm tartományban üzemelő) és sugárzási detektorokkal követjük.

Az elektrolízis befejezése után a 28 anódot a 10 elektrolitikus cellából kiemeljük, és a számlálást elvégezzük. Ennek befejezése után a mérés eredményei alapján közvetlenül megállapítjuk, hogy a ^{125}I -izotóp kiindulási mennyiségéhez viszonyítva milyen arányú adszorpció következett be a 28 anódon. A vizsgálatok szerint lényegében csak a 28 anód jelenti a 10 elektrolitikus cellának azt a részét, amelyen az elektrolízist követően a radioaktivitás észlelhető növekedése következett be. Az anolítot mindig számlálásnak vetjük alá, és ha a 28 anódot nem vizsgáljuk, a rajta adszorbeálódott mennyiséget úgy állapítjuk meg, hogy az anolitra vonatkozó kezdeti és végső számlálási eredmények különbségét képezzük. Mivel az anolítot a fecskendővel nehéz egy adott állandó mennyiségben eltávolítani, a radioaktivitás figyelmen kívül maradt mennyiségéről feltételezzük, hogy az a maradék oldatra jellemző, és a hiányzó mennyiséggel az anolitra kapott számlálási eredményt növeljük.

Az A. táblázat szerinti első három kísérletnél aranyból álló anódot használunk, amelyet a radioaktív jóddal történő megjelölés céljaira felhasznált 10 elektrolitikus cellán kívül itattunk át a kijelölt anyaggal. Ez az előkezelés minden bizonnyal nem volt alkalmas arra, hogy az adszorbeált jódizotóp teljes telítést biztosítson, minden bizonnyal olyan nyitott zónák maradtak, amelyen a ^{125}I -izotóp úgy tud adszorbeálódni, hogy az előzőleg adszorbeált jóddal nem lép cserekapcsolatba. Feltételezhető, hogy hordozójodid alkalmazása nélkül a ^{125}I -izotóp lényegében kvantitatív módon kerül át az anódba. Ha a hordozójodidot nagy mennyiségben használjuk, például 100 nmol jodid jut 33,3 nmol monoklonális antitestre, ekkor a jódzás határfoka igen nagy lesz, de a monoklonális antitestekből összetömörödött anyagdarabok keletkeznek. Az összetömörödést a szakemberek jól ismerik, és ezt a végtermék szempontjából azért tartják károsnak, mivel a megítélés szerint a biológiai eloszlást és a farmakológiai aktivitást megváltoztatja. A harmadik kísérletnél a második kísérlethez hasonlóan indítunk, ezután ellenőrizzük, hogy a ^{125}I mennyiségét az anód felvette-e, hordozójodidot adagolunk, és annak megfelelő mennyisége mellett az elektrolízist folytatva kapjuk a táblázatban szereplő eredményeket.

A kísérletek egy következő csoportjában (a 4–9. példánál) az anódot olyan előkezelésnek vetjük alá, amelynek során a monoklonális antitestek jelenlétének kizárása mellett a 10 elektrolitikus cellában a jodidot oxidáljuk, majd ezt követően a 10 elektrolitikus cellát

gondosan kiöblítjük (A. táblázat, 5. és 6. megjegyzés.). Az ismertetett megelőző kezeléssel feldolgozott radioaktív jóddal történő megjelölés esetén a vizsgálatok szerint a hatékonyság kívánt nagy értékének elérése céljából nincs szükség a hordozójodid nagyobb mennyiségére. A különállóan elvégzett egyéb kísérletek arra utaltak, hogy az öblítés nem alkalmas a jodid és/vagy jodin teljes mennyiségének előzetes eltávolítására, és ezek a kísérletek a hordozó egy meghatározhatatlan mennyiségét maguk után hagyták. Semmiféle módon nem lehet azonban ezeknél a kísérleteknél a monoklonális antitestek összetömrődésének, felhalmozódásának jeleit észlelni.

Az A. táblázatban bemutatott további három kísérlet (10., 11. és 12. példa) végrehajtása során az anódot a 10 elektrolitikus cellán kívül vetjük alá előkezelésnek (7. és 8. megjegyzés), és ezzel biztosítjuk, hogy a hordozó egy adott szintjét be lehet azonosítani. Ha nem adunk hordozót, a megjelölt anyag kinyerése viszonylag rossz hatások mellett zajlik, az aktivitás jelentős része az anódnál fejeződik be. Ha azonban hordozót korlátozott mennyiségben a rendszerbe viszünk, ezzel a kinyert mennyiség jelentős mértékben javul, és egyúttal a monoklonális antitestek összetömrődése nem figyelhető meg. Az eredményekből az következik, hogy az antitestek károsodásának veszélye nélkül hordozóból annyit lehet a rendszerbe vinni, hogy a jodidok teljes mennyiségének a monoklonális antistekhez viszonyított molaránya lényegében 0,2 körül van.

Az előzőekben bemutatott, 1–13. példák azt bizonyítják, hogy a 28 anód abszorpciós kapacitásához képest igen kis mennyiségben alkalmazott ^{125}I -izotóp felhasználása esetén a 28 anód előkezelésének módja és a hordozójodid alkalmazott mennyiségének szintje a jelölt monoklonális antitestek részarányának meghatározásában igen fontos szerepet játszik. A hordozó igen kis mennyiségével, vagy éppen hordozó nélkül sikerült a jelölt monoklonális antitestek 70...80%-os részarányát elérni a ^{125}I kezdeti mennyiségéhez viszonyítva, amikor az anód előkezeléséhez nem radioaktív jodidot és elektrolízist használtunk, nem pedig az anód bemeztetését és átitatását.

14. példa

Monoklonális antitestek jódozása oldatos fázishordozó alkalmazása nélkül

A 14. példa azt bizonyítja, hogy oldatos fázishordozó alkalmazása nélkül, ha a ^{125}I -izotóp aktivitási szintjeit megfelelő módon állítjuk be, az előzőekhez hasonló, vagy jobb hatékonyság érhető el.

A találmány szerinti 10 elektrolitikus cellát tumorral szemben specifikus monoklonális antitestek ^{125}I radioaktív izotóppal történő megjelölésére hasznosítottuk. Az izotóp különösen kis méretű tumorok észlelésére alkalmas, mégpedig azokéra, amelyeket más módon aligha lehet észlelhetővé tenni, pedig sebészeti beavatkozást igényelnek.

A találmány szerinti 10 elektrolitikus cellát 5 ml térfogatú 14 anódos félcellával készítjük el, ahol az anód

geometria felülete $2,9\text{ cm}^2$ (ez egy oldalra vonatkozik). A felhasznált membrán az anódot és a katódot választja el, ez kimondottan aktív kationcserélő membránt jelent, mégpedig a Nafion 117 jelű anyagból. Az anódot aranyból alakítjuk ki, ehhez elektrolitikus lerakást végzünk 264 sor/cm sűrűséggel, majd a nem radioaktív jodid 1 mmol/l koncentrációjú oldatában végzett elektrolízissel előkezeljük, és ezzel a jód befogadására szolgáló részeit telítjük. A példa végrehajtása során felhasznált anódot a két előző példa szerint végzett elektrolízissel már hasznosítottuk, a jodid elektrolíziséz ez esetben nem ismételjük meg, de az anódot a kísérletek között 1 mol/l koncentrációjú NaOH -oldattal itatjuk át, ami előtt foszfáttal pufferelt sóoldattal gondosan többször leöblítjük.

A radioaktív jód bevitelére a következő eljárást használjuk: a foszfáttal pufferolt sóoldat 2 ml-éhez 60 mg antitestet adunk, $1\text{ ml } ^{125}\text{I}$ -öt tartalmazó oldatot, amelynek aktivitása 105 mCi , és a foszfáttal pufferolt sóoldatból, amelynek pH-értéke 7, annyit adunk hozzá, hogy 5 ml anyag keletkezzen, amit a 10 elektrolitikus cella 14 anódos félcellájába juttatunk. A 12 katódos félcellát a foszfáttal pufferelt sóoldattal töltjük fel. Az anolitot mágneses keverővel hozzuk mozgásba, és az elektrolízis kezdeti feszültségét (az ezüst/ezüst-klorid vonatkoztatási elektróddal szemben) $+0,650\text{ V}$ értékre állítjuk be. Az elektrolízist mintegy 90 perc elteltével fejezzük be, amikor is az anolitot eltávolítjuk. Az anolit és a 10 elektrolitikus cella számlálásával a radioaktivitás szintjét, és ezzel a 28 anódon abszorbeált radioaktív jód mennyiségét mint a radioaktív jelölőanyag veszteségét meghatározzuk. Az elektrolízist követően az aktivitásból $96,4\text{ mCi}$ az anolitban jelentkezik, míg $8,6\text{ mCi}$ a 10 elektrolitikus cellában marad.

Az anolitot triklór-ecetsavval kezelve precipitátumot képezünk, amelynek elemzése azt mutatja, hogy az anolit radioaktivitásának mintegy $5,0\%$ -a az antitestekkel nem kovalens módon kapcsolódik. Az anolitra vonatkozó számlálási eredményekkel együtt ezt az eredményt értelmezve megállapítható, hogy a ^{125}I -izotóp kezdeti mennyiségéhez képest a radioaktív izotóppal megjelölt anyag $87\text{ tömeg}\%$ -ot képvisel. Az anolit nagynyomású folyadékkromatográfiás elemzése azt mutatja, hogy a radioaktív izotóppal megjelölt antisteknek legalább $97\text{ tömeg}\%$ -a monomer formájában jelenik meg, míg a radioaktív módon megjelölt antistekre $82,7\%$ -os immunoreaktivitás adódik.

A fentiek szerint tehát sikerül a monoklonális antistestekhez radioaktív halogénizotópot kötni, és ezenkívül a találmány szerinti elektrolitikus cella, valamint a hozzá kapcsolódó és ugyancsak a találmány szerinti eljárás biztosítja, hogy a proteinek, peptidek és szerves molekulák hatékony halogénes megjelölése végrehajtható legyen.

15. példa

Tirozin jódozása pH 9,0 értékű közegben

Az elektrolitikus cellát hálós platinakatóddal, elektrolitikusan lerakott aranyból készült rácsos anóddal (264 sor/cm , geometriai felülete $3,5\text{ cm}^2$), valamint

Nafion 117 jelű kationcserélő membrán jellegű szeparátorral állítjuk össze. Katolitiként 9,0 pH-értékű puffert használunk, amely 0,20 mol/l koncentrációjú kálium-foszfát, 0,10 mol/l koncentrációjú nátrium-klorid-oldatból áll, és pH-értékét a 9,0 szintre nátrium-hidroxiddal állítjuk be. Az anolit 3,0 ml 1,07 mmol/l koncentrációjú (3,07 μ mol) L-tirozint 9,0 pH-értékű pufferben tartalmazó oldatból, 20 ml 9,0 pH-értékű pufferből és 180 μ l 10,0 mmol/l koncentrációjú nátrium-jodid-oldatból (1,53 μ mol jodidból) készült oldat, amelyet fecskendővel viszünk be az anódot befogadó térbe, míg az elektrolízist Ag/AgCl vonatkoztatási elektróddal szemben (3 mol/l KCl) +600 mV feszültségen végezzük. Az anolitot mágneses úton keverjük, a katolitot nem. 90 perc elteltével az elektrolízist befejezzük, és az anolitot nagynyomású folyadékkromatográfiás berendezéssel elemezzük. A jodid 84 tömeg%-os konverziója mellett a 3-jód-L-tirozin kitermelése a kezdeti jodidtartalomhoz képest 72%-nak adódik.

16. példa

Aranyanód kémiai lerakata anioncserélő membránon, tirozin jódosítása előtt

Raipore 4030 jelű anioncserélő membránra a következők szerint kémiai úton aranyréteget viszünk fel. Két térrészből álló reaktorban, amelyben a két térrészt a membrán szeparátorként választja el, és a membrán egyik oldalán a teret 0,02 mol/l koncentrációjú, 1 pH-értékű AuCl₃-oldattal, míg a másik oldalon 13 pH-értékű 0,1 mol/l koncentrációjú hidrazinoldattal töltöttük fel. Mintegy 45 perc után a membrán metallizációját befejezettnek tekintjük, és azt a reaktorból kiemeljük, ionmentesített vízben leöblítjük, és 10 percen keresztül jód 70 tömeg% metanol és 30 tömeg% víz keverékében készült 1 mmol/l koncentrációjú oldatában áztatjuk. Ezután a metallizált membránt többször 70 tömeg%-os metanololdatban lemoszuk, és 9,0 pH-értékű pufferben, a puffer többszörös cseréje mellett áztatjuk. A fémezett membránt az elektrolízis során anódként hasznosítjuk, egyúttal anyagát szeparátorként is felhasználjuk, mégpedig a 15. példa szerinti eljárásban. A jodid 88%-os átalakulását érjük el, ahol a méréseket az anolitról vett mintán végezzük, és az eredmények szerint a kezdeti jodidtartalomhoz képest a 3-jód-L-tirozin hozama 40%.

17. példa

Jodid adagolása katolithoz a tirozin jódosítása előtt

Ha egy szerves vegyületet radioaktív jódal kívánunk megjelölni, egyes esetekben célszerű lehet a reakcióból kimaradt radioaktív jód mennyiségét a terméket tartalmazó oldatban az elektrolízist követően minimalizálni anélkül, hogy ezzel a különlegesen hosszú idejű elektrolízisek alkalmazására szükség lenne. Ez nem radioaktív jodid alkalmazásával mutatható be, amikor is a jelen találmány szerinti eljárást a következő módon hasznosítjuk: az elektrolitikus cellát a 16. példában bemutatott felépítésű metallizált membránal állítjuk össze, majd a 15. példa szerint elektrolízist végzünk, de azzal a különbséggel, hogy a jodidot a katolithba vezet-

jük be, és ezt követően a mágneses keverő felhasználásával mind az anolitot, mind a katolitot keverjük. A katolithba adagolt jodid kezdeti mennyiségéhez képest a 3-jód-L-tirozin hozama 45%-nak mutatkozik, míg az anolitban gyakorlatilag zérus szinten marad vissza jodid.

18. példa

Tirozin jódosítása pH 7,0 értéken

Az elektrolízist a 15. példában bemutatott módon, az ott ismertetett elektrolitikus cella, anód és membrán felhasználásával végezzük el, azzal a különbséggel, hogy mind az anolit, mind a katolit pH-ját 7,0 értékre állítjuk be. A jodid 85 tömeg%-os átalakulása mellett a kezdeti jodidtartalomra viszonyítva a 3-jód-L-tirozin hozama 58%-osnak adódik.

19. példa

Aranyanód gőzfázisból történő lerakata ultra-szűrő membránon, tirozin jódosítása előtt

Gőzfázisból kiindulva 15 nm vastagságú aranyréteget rakatunk le poliszulfonanyagú ultraszűrő membránra, amelynek molekulaszűrési tömeghatára 100 000. A fémezett membránt tartalmazó elrendezést L-tirozin jódosítására használjuk, mégpedig a 18. példa szerinti eljárást követve, amikor is a kísérleti hibahatárokon belül 100%-osnak tekinthető jódoszás érhető el: a 45%-os jodidkonverzió mellett a kezdeti jodidtartalomhoz viszonyítva a 3-jód-L-tirozin hozama 54%-nak adódik.

20. példa

Nemszteroid ösztrogén jódosítása

A találmány szerinti elektrolitikus cellát a I. reakcióvázat szerinti jódos desztannillálási reakció végrehajtásához használjuk fel.

A I. reakcióvázatban szereplő tamoxiphen olyan ösztrogénnel analóg nemszteroid vegyület, amely az ösztrogénreceptorral szemben affinitást mutat, és in vivo antiösztrogénaktivitása van. A radioaktív módon megjelölt jódszármazékot gamma-sugárzást kibocsátó jelzőként hasznosítjuk a receptornál. A jód-tamoxiphen a jelen példa szerint nem radioaktív jodiddal alakítjuk ki, hogy ezzel a találmány felhasználhatóságát bizonyítsuk.

Az elektrolitikus cellát Pt/Rh összetételű (10 tömeg% Rh-tartalmú, 0,177 mm lyukbőségű szitaként kialakított) anóddal, platinaalapú, rácsos katóddal és Naphion 117 jelű kationcserélő membránból készült szeparátorral állítjuk össze. A katolitot 7,0 pH-értékű puffert alkotó vizes oldatként készítjük el, míg az anolit mintegy 5 ml metanolt, 0,086 g (0,00013 mol) 3-n-butil-sztannil-tamoxiphen, továbbá 0,042 g (0,00028 mol) nátrium-jodidot tartalmaz. Az anolitról más elektrolitot nem adunk. Az elektrolízis végrehajtásához mágneses keverést biztosítunk, amikor is az anolitot mintegy 2,5 órán át az Ag/AgCl (3 mol KCl) elektróddal szemben +500 mV lfeszültség hatásának tesszük ki. Ezen idő alatt az anolit összetételét vékonyréteg-kromatográfiás vizsgálattal (szilikagélén, ahol az eluens kloroformban oldott 5 tömeg% metanolt tartalmaz) ellenőrizzük, és megállapít-

hatjuk, hogy a 3-n-butil-sztannil-tamoxiphen teljes mértékben átalakul. Ezután az anolít az elektrolitikus cellából eltávolítjuk, 30 ml dietil-éterrel felhígítjuk, és 10 ml 10 tömeg%-os nátrium-metabiszulfít-oldattal és kétszer 10 ml nagyságú 1 mol/l koncentrációjú NaOH-oldattal mossuk. A szerves fázist ezzel kiválasztjuk, majd szárítjuk, mégpedig anhidrátos magnézium-szulfát jelenlétében, és szűrjük. Az oldószert elpárologtatjuk, mégpedig száraz nitrogén lassú áramoltatásával, aminek eredményeként 0,051 g (0,00010 mol) szintelen olaj marad vissza.

A termék ^1H és ^{13}C szerinti NMR-spektrumai (CDCl_3 -ban) konzisztensek a kívánt jód-tamoxiphen-vegyülettel.

21. példa

17- α -(tributil-sztannil)-vinil-ösztadiol jódosítása

A 17- α -(tributil-sztannil)-vinil-ösztadiol radioaktív módon megjelölt derivátumai szírtén gamma-sugárzó gyógyászati készítmények, amelyek szelektív módon az ösztrogén receptoroldalaira kapcsolódnak. A jelen példa azt bizonyítja, hogy a találmány szerinti elektrolitikus cella alkalmas a 17- α -jód-vinil-ösztadiol előállítására a II. reakcióvázlat szerint, amikor is 17- α -(tributil-sztannil)-vinil-ösztadiol jódos desztannillálási reakcióját hajtjuk végre.

A reakció végrehajtásához a találmány szerinti elektrolitikus cellának azt a változatát alakítjuk ki, amelyben 3,9 cm² geometriai felületű, elektrolitikus módon aranyból készített, hálós anód, 304 jelű rozsdamentes acélból készült, 0,42 mm lyukbőségű, hálószerű katód és Naphion 117 jelű kationcserélő membránból készült szeparátor van. A katolítot 7,0 pH-értékű pufferoldat alkotja. Az anolít 10 tömeg% vizet tartalmazó metilalkohol 5 ml-es adagjába vitt 0,060 g (0,00010 mol) 17- α -(tributil-sztannil)-vinil-ösztadiolt és 0,031 g (0,00010 mol) nátrium-jodidot tartalmaz. Az elektrolízist +600 mV feszültségen, Ag/AgCl vonatkoztatási elektróddal szemben, 3 mol/l koncentrációjú KCl-oldat jelenlétében, mágneses keverés mellett hajtjuk végre, eközben vékonyréteg-kromatográfiás vizsgálatot végzünk, mégpedig szilikagélén, ahol az eluens etil-acetát 20 tömeg%-os oldata hexánban. Az elektrolízis végét a 17- α -(tributil-sztannil)-vinil-ösztadiol teljes konverziója jelzi. Az anolítot ezt követően 20 ml kloroformban oldjuk, és egyszer 10 tömeg% nátrium-metabiszulfítot és 1 tömeg% kálium-fluoridot tartalmazó vizes oldatban extraháljuk. A vizes fázist 10 ml friss kloroformmal újból extraháljuk. A kloroformmal kapott extraktumokat összekeverjük, hidrátmentes magnézium-szulfát fölött szárítjuk, és ezzel 0,056 g fehér színű, szilárd anyagot nyerünk. A kapott anyagot oldószerben oldjuk és flash-kromatográfiás módszerrel tisztítjuk, mégpedig 40 μm -es szilikagélből 12 g mennyiséget és 25 tömeg% etil-acetátot tartalmazó hexánból álló eluenst használva. A homogén frakciókat összekeverjük és az oldószert elpárologtatjuk, amivel 0,030 g (0,000071 mol) fehér színű, szilárd anyagot kapunk. Az anyag ^1H - és ^{13}C -NMR-spektruma, a gyors atombesugárzásos tömegspektruma és a kémiai ionizációs tömegspektrum mind a kívánt

17- α -jód-vinil-ösztadiol-termék struktúrájával konzisztens.

22. példa

Ösztroenol-diacetát brómozása

Ismert, hogy az ösztrogénreceptort tartalmazó emberi mell tumor feltérképezésében a 16- α -[^{77}Br]bróm-ösztadiol kiválóan hasznosítható. A jelen példa szerint nem radioaktív analógot képezünk, mégpedig ösztroenolból kiindulva, amikor is a találmány szerinti elektrolitikus cellát intermedier vegyület, pontosabban ösztroenol-diacetát brómozására hasznosítjuk. Ennek során a III. reakcióvázlat szerinti reakciókat játszátjuk le, mégpedig a következő módon:

- 15 Izopropenil-acetátból 15 ml-t, ösztroenolból 2,0 g (0,0074 mol) mennyiséget és katalitikus hatású oldatból (5 ml izopropenil-acetátban oldott 0,1 ml tömény kénsavból) 0,6 ml-t 2,5 órán keresztül visszafolyató hűtő alkalmazásával áramoltatunk. Ezután 4 ml oldószert 1,5 órán keresztül desztillálunk. A keverékhez 0,5 ml katalizátor-oldatot tartalmazó izopropenil-acetátból 10 ml-t adunk, és a keveréket folyamatosan térfogatának mintegy feléig bepároljuk. A visszamaradó anyagot jégfürdőben lehűtjük, hidrátmentes dietil-éter 50 ml-es adagjával felhígítjuk, és nátrium-bikarbonát 10 ml telített vizes oldatában mossuk. A szerves fázist hidrátmentes magnézium-szulfát fölött szárítjuk, szűrjük, majd száraz állapotig párologtatjuk. A visszamaradó anyagot 20 tömeg% etil-acetátos hexán-oldat 1 literében oldjuk, és semleges alumínium-trioxid 0,074...0,177 átlagos nagyságú szemcséit tartalmazó, 5 cm hosszú és 2 cm átmérőjű rövid oszlopon átengedjük. Ezután az oldatból a folyadékfázist csökkentett nyomás mellett mintegy 50 ml térfogat eléréséig bepároljuk, és a terméket hagyjuk kristályosodni. Ezzel
- 35 1,56 g fehér színű, 149...150 °C olvadáspontú (az irodalom szerint 149...150 °C olvadáspontú) kristályos anyagot nyerünk, amelynek ^1H és ^{13}C szerinti NMR-spektrumai a kívánt enol-diacetát (ösztroen-3-acetát-17-enol-acetát) struktúrájával konzisztens.
- 40 Az elektrolitikus cellát 0,177 mm lyukbőségű, 3,9 cm² geometriai felületű, Pt/Rh összetételű hálós anóddal, 304 jelű rozsdamentes acélból készült, 0,42 mm lyukbőségű, hálós katóddal, és szeparátorként Naphion 117 jelű kationcserélő membránnal állítjuk össze. Mind
- 45 az anolítot, mind a katolítot 10 ml tetrahidrofuránt, 7 ml dietil-étert és 33 ml puffert tartalmazó elektrolitoldatból alakítjuk ki, ahol a puffer 50 ml 85 tömeg% ecetsavból és 15 tömeg% vízből álló oldószerben oldott 2,81 g kálium-acetát összetételű. Az anolít esetében a folyadékhoz 5 ml
- 50 0,039 g (0,00011 mol) ösztroen-3-acetát-17-enol-acetátot és 0,013 g (0,00013 mol) nátrium-bromidot adunk. Az elektrolízist Ag/AgCl vonatkoztatási elektróddal szemben, 3 mol/l koncentrációjú KCl-közegben +1200 mV feszültségen az anolít mágneses keverése mellett végzük, a folyamatot vékonyréteg-kromatográfiával ellenőrizzük, aminél szilikagél és eluensként hexánban oldott
- 55 20 tömeg% etil-acetátot tartalmazó oldatot használunk. Az elektrolízis végét az ösztroen-3-acetát-17-enol-acetát teljes átalakulása jelzi. Az anolítot 25 ml vízhez adjuk, és
- 60 a keveréket háromszor dietil-éter 10 ml-es adagjaival

extraháljuk. Az éteres extraktumokat kombináljuk, hidrátmentes magnézium-szulfát fölött szárítjuk és szűrjük. Az oldószert száraz nitrogén áramával távolítjuk el, és végül fehér, szilárd anyagot kapunk, mégpedig 0,032 g (0,00082 mol) mennyiségben. A végtermék ^1H és ^{13}C szerinti NMR-spektrumai a 16- α -bróm-ösztron-3-acetát spektrumaival konzisztensek.

A kapott 16- α -bróm-ösztron-3-acetátból 0,064 g (0,00016 mol) mennyiséget 5 ml tetrahidrofuranban (THF) feloldunk, és nitrogénatmoszférában izopropanolt és szárazjeget tartalmazó fürdőben -78°C hőmérsékletre hűtjük le. A THF-ben oldott 1,0 mol lítium-alumínium-hidridet tartalmazó oldat 2 ml-ét gyors mágneses keverés mellett folyamatosan az anyaghoz adjuk. Mintegy 10 perces keverés után a keverékhez -78°C hőmérsékletre előhűtött 4 ml 1:1 arányban etil-acetátot és THF-t tartalmazó anyagot adunk, amivel azt nagy sebességgel lehűtjük. A keveréket 5 percen keresztül keverjük, majd az izopropanolból és szárazjégből álló fürdőt jégfürdővel váltjuk fel. Hűtött hidrogén-klorid 3 mol/l koncentrációjú vizes oldatából 10 ml lassú ütemű beadagolásával a nagy sebességű hűtési folyamatot befejezzük. Ezután további 10 ml-t adunk a 3 mol/l koncentrációjú HCl-oldatból a keverékhez, és az anyagot hagyjuk szobahőmérsékletre melegedni. A keveréket háromszor dietil-éter 10 ml-es adagjaival extraháljuk. Az éteres extraktumokat összekeverjük, hidrátmentes magnézium-szulfát fölött szárítjuk és szűrjük. Az oldószert száraz nitrogén áramában elpárologtatva végül is zöldes árnyalatú maradványt kapunk, amelynek tömege 0,075 g. Szilikagél és eluensként hexánban oldott 25 tömeg% etil-acetátot használva, vékonyréteg-kromatográfiás vizsgálattal a visszamaradt anyagról azt állapítjuk meg, hogy legalább öt összetevőt tartalmaz. Ezt flash-kromatográfiának vetjük alá, mégpedig 15 g 0,42 mm átlagos szemcsenagyságú szilikagéllal és hexánban oldott 25 tömeg% etil-acetátot tartalmazó eluenssel. A homogén frakciók kombinációját az oldószert elpárologtatásával érjük el, és ezzel $R_f=0,31$ jellemzőjű főkomponenst tartalmazó 0,24 g fehér színű, szilárd anyagot nyerünk. Az anyag ^1H és ^{13}C szerinti NMR-spektrumai a 16- α -bróm-ösztradiol struktúrájával konzisztensek. A ^{13}C szerinti NMR-adatok azt látszanak bizonyítani, hogy a 17 pozíciónál a sztereokémiai indikáció α .

23. példa

A B72.3 monoklonális antitest megjelölése radioaktív jóddal

Az anódot aranyból elektrolitikus úton 264 vonal/cm sűrűségű hálóként készítjük el, és az elektrolitikus cellába való beépítés előtt 1 mmol/l koncentrációjú, nem radioaktív jóddoldatban való áztatással előkezeljük. Az említett összetételű anód mellett az elektrolitikus cella 304 jelű rozsdamentes acélból készült, hálószerű katódot és szeparátorként Naphion 117 jelű kationcserélő membránt tartalmaz. A katodot befogadó kamrába pH 7,0 értékű foszfáttal pufferolt só (PBS) 3,0 ml-ét vezetjük be, míg az anolit befogadó kamrába 3 ml olyan 8,1 pH-értékű foszfáttal pufferolt sóoldatot viszünk be, amely az antitestből 15 mg-ot, ^{125}I -izotópból

1,44 mCi aktivitást biztosító mennyiséget, és hordozójodidból 22 nmolt tartalmaz, vagyis a ^{125}I -izotópra számított teljes jódekvivalens 40 mCi volt. Mágneses keverés mellett az elektrolízist $+800\text{ mV}$ feszültségen, Ag/AgCl vonatkoztatási elektróddal szemben, 3 mol/l koncentrációjú Cl-iont tartalmazó közegben hajtjuk végre. Az elektrolízis közben 30 perc elteltével közben-ső mintát veszünk, és ez 71,8%-os jódozást hozamot bizonyít. 90 perc elteltével a ^{125}I kezdeti mennyiségének 9,5%-a adszorbeálódik az anódon, 4,5% az oldatban marad, az antitesttel nem kapcsolódik, vagyis a jódozási hatékonyság 86,0%-nak mutatkozik.

24. példa

A B72.3 monoklonális antitest megjelölése radioaktív jóddal

A 23. példa szerinti eljárást hajtjuk végre, azzal a különbséggel, hogy a radioaktív jóddal történő megjelölés céljából az anódpotenciált $+850\text{ mV}$ -ra emeljük, míg a vonatkoztatási elektród azonos marad. A 30 perc elteltével vett minta szerint a jódozási hozam mintegy 31,8%-os alacsony szinten marad.

A 15–24. példák azt bizonyítják, hogy a találmány szerinti elektrolitikus cella sokféle módon hasznosítható. A 15. és 18. példa bemutatja a pH-érték változásának az L-tirozin jódozására kifejtett hatását. A 16. és 17. példa viszont a jodidnak az anolithoz és a katolithoz való hozzáadását hasonlítja össze, amikor is mindkét példánál anioncserélő membránt használunk. A katolithoz való adagolás révén azt sikerül elérni, hogy a kapott oldatban a reakcióból kimaradt jodid mennyisége minimális marad. A 16., a 17. és a 19. példa arra is útmutatást ad, hogy a 26 szeparátor szilárd támaszként szolgálhat anódot képző anyag leraktatásához, és ennek megfelelően a 28 anód a 26 szeparátor környezetében, szomszédságában helyezkedhet el. A 20., 21., 22., 23. és 24. példa azt bizonyítja, hogy a találmány szerinti eljárás különböző szerves molekulák halogénes megjelölésénél hasznosítható.

A fenti példák megvalósítása során célszerűnek bizonyult a szobahőmérséklet alkalmazása, mivel ez egyszerűsítette a vizsgálatok végrehajtását. Ez azonban nem jelenti azt, hogy kisebb vagy nagyobb hőmérsékletek ne lennének használhatók, a hőmérséklet megválasztásakor azonban alapvető követelménynek a jelölendő anyag stabilitásának megtartását kell tekinteni. A puffer jellegű összetevők pH-értékét, koncentrációját és anyagi minőségét igen széles körben választhatjuk, itt is az elsődleges szempont az, hogy a jelölendő anyag stabilitása megtartható legyen. A munkaelektrod potenciálja, a munkaelektrod és az azt befogadó félcella térfogatának aránya, illetve a vonatkoztatási elektród jelenléte olyan intézkedéseket tesz lehetővé, amelyek segítségével a jelölés hatékonysága maximális mértékben emelhető, a proteinek oxidatív jellegű károsodása megelőzhető.

Az előzőekben adott leírás mindenekelőtt a találmány lényegének jobb megértését szolgálja, és nem tekinthető az oltalmi igény bármiféle korlátozásának, mivel az itt foglaltak alapján szakember köteles tudá-

sa szerint számos egyéb, most már nyilvánvalóan lehetséges megvalósítási módot, kiviteli alakot tud létrehozni.

SZABADALMI IGÉNYPONTOK

1. Elektrolitikus cella proteinek, peptidek és más szerves molekulák jelölésére, amely katódot (40) és anódot (28) tartalmaz, *azzal jellemezve*, hogy

(a) a katód (40) katódos félcellában (12), az anód (28) anódos félcellában (14) van elrendezve, a katódos és anódos félcella (12, 14) között szeparátor (26) helyezkedik el,

(b) a katódos félcella (12) és az anódos félcella (14) közül az egyikben levő elektród munkaelektrodként,

(c) a katódos félcella (12) és az anódos félcella (14) közül a másikban levő elektród ellenelektrodként van kiképezve, továbbá

(d) a katódos és anódos félcella (12, 14) közül a munkaelektrodot tartalmazó félcellában az anód (28) és a katód (40) közötti áramúton kívül vonatkoztatási elektród (36) van elrendezve.

2. Az 1. igénypont szerinti elektrolitikus cella, *azzal jellemezve*, hogy a munkaelektrod aranyból, platinából vagy 90 tömeg% platinát és 10 tömeg% ródiomot tartalmazó anyagkeverékből van kiképezve.

3. Az 1. vagy 2. igénypont szerinti elektrolitikus cella, *azzal jellemezve*, hogy a munkaelektrod a szeparátoron (26) kiképzett bevonatként van kialakítva.

4. Az 1–3. igénypontok bármelyike szerinti elektrolitikus cella, *azzal jellemezve*, hogy a munkaelektrod porózus szerkezettel van kiképezve.

5. Az 1–4. igénypontok bármelyike szerinti elektrolitikus cella, *azzal jellemezve*, hogy a munkaelektrod porózus szerkezettel van kiképezve, és a szeparátorral (26) közvetlenül szomszédosan van elrendezve.

6. Az 1–5. igénypontok bármelyike szerinti elektrolitikus cella, *azzal jellemezve*, hogy a munkaelektrod porózus szerkezettel van kialakítva, és a szeparátorral (26) közvetlenül szomszédosan van elrendezve, és előzetesen nem radioaktív jelölőszerezrel kezelt anyagból van kiképezve.

7. Az 1–6. igénypontok bármelyike szerinti elektrolitikus cella, *azzal jellemezve*, hogy a szeparátor (26) anioncserélő vagy kationcserélő membránt alkotó szerkezetként van kiképezve.

8. Az 1–7. igénypontok bármelyike szerinti elektrolitikus cella, *azzal jellemezve*, hogy a szeparátor (26) anioncserélő vagy kationcserélő membránt alkotó szerkezetként van kiképezve, továbbá a munkaelektrod porózus anyagból van kialakítva.

9. Az 1–8. igénypontok bármelyike szerinti elektrolitikus cella, *azzal jellemezve*, hogy a munkaelektrod nem radioaktív halogénnel jelölőszerezrel előkezelt anyagból van kialakítva.

10. Az 1–9. igénypontok bármelyike szerinti elektrolitikus cella, *azzal jellemezve*, hogy az ellenelektrod rozsdamentes acélból vagy platinából van kiképezve.

11. Elektrolitikus cella proteinek, peptidek és más szerves molekulák jelölésére, amely katódot (40) és anódot (28) tartalmaz, *azzal jellemezve*, hogy

(a) a katód (40) nyílást (17) körbevevő, első kör alakú gyűrűvel (16) ellátott katódos félcellában (12), az anód (28) nyílást (21) körbevevő, második kör alakú gyűrűvel (20) ellátott anódos félcellában (14) van elrendezve, ahol az első és második kör alakú gyűrű (16, 20) egymással szemben helyezkedik el,

(b) az első kör alakú gyűrűvel (16) szomszédosan első rugalmas anyagú tömítőlemez (24) van elrendezve,

(c) a katódos és anódos félcella (12, 14) között szeparátor (26) helyezkedik el,

(d) a katódos félcella (12) és az anódos félcella (14) közül az egyikben levő elektród munkaelektrodként, porózus anyagból van kiképezve, és a szeparátorral (26) szomszédosan van elrendezve,

(e) a munkaelektrodhoz azt teljesítményforráshoz csatlakoztató elektromos csatlakozóeszköz van illesztve,

(f) a második kör alakú gyűrűvel (20) szomszédosan második rugalmas anyagú tömítőlemez (32) van elrendezve,

(g) az első kör alakú gyűrűt (16), az első rugalmas anyagú tömítőlemezt (24), a szeparátort (26), a porózus anyagú munkaelektrodot, a második rugalmas anyagú tömítőlemezt (32) és a második kör alakú gyűrűt (20) az említett sorrendben szendvicsszerkezetté összefogó szorítót (42) tartalmaz,

(h) a katódos félcella (12) és az anódos félcella (14) közül a másikban levő elektród ellenelektrodként van kiképezve, továbbá

(i) a katódos és anódos félcella (12, 14) közül a munkaelektrodot tartalmazó félcellában az anód (28) és a katód (40) közötti áramúton kívül vonatkoztatási elektród (36) van elrendezve.

12. A 11. igénypont szerinti elektrolitikus cella, *azzal jellemezve*, hogy a porózus anyagú munkaelektrod aranyból, platinából vagy 90 tömeg% platinát és 10 tömeg% ródiomot tartalmazó keverékből van kiképezve.

13. A 11. vagy 12. igénypont szerinti elektrolitikus cella, *azzal jellemezve*, hogy a porózus anyagú munkaelektrod nem radioaktív tulajdonságú, halogén jelölőszerezrel előkezelt anyagból van kiképezve.

14. A 11–13. igénypontok bármelyike szerinti elektrolitikus cella, *azzal jellemezve*, hogy a munkaelektrod a szeparátoron (26) lerakott anyagréteggént van kiképezve.

15. A 11–13. igénypontok bármelyike szerinti elektrolitikus cella, *azzal jellemezve*, hogy a porózus munkaelektrod a szeparátor (26) szomszédságában elrendezett elemként van kiképezve.

16. A 15. igénypont szerinti elektrolitikus cella, *azzal jellemezve*, hogy a porózus munkaelektrod nem radioaktív tulajdonságú halogénnel megjelölt, előkezelt anyagból van kiképezve.

17. A 11–16. igénypontok bármelyike szerinti elektrolitikus cella, *azzal jellemezve*, hogy az ellenelektrod rozsdamentes acélból vagy platinából van kiképezve.

18. A 11–17. igénypontok bármelyike szerinti elektrolitikus cella, *azzal jellemezve*, hogy az elektromos csatlakozóeszköz fémes gyűrűvel van kialakítva.

19. A 11–18. igénypontok bármelyike szerinti elektrolitikus cella, *azzal jellemezve*, hogy a szeparátor (26) anioncserélő vagy kationcserélő membránként van kialakítva.

20. A 11–19. igénypontok bármelyike szerinti elektrolitikus cella, *azzal jellemezve*, hogy a szeparátor (26) anioncserélő vagy kationcserélő membránként van kialakítva, és a porózus anyagú munkaelektrod a szeparátor (26) közvetlen szomszédságában van elrendezve.

21. Elektrolitikus cella proteinek, peptidek és más szerves molekulák jelölésére, amely katódot (40) és anódot (28) tartalmaz, *azzal jellemezve*, hogy

(a) a katód (40) katódos félcellában (12), az anód (28) anódos félcellában (14) van elrendezve, a katódos és anódos félcella (12, 14) között szeparátor (26) helyezkedik el,

(b) a katódos félcella (12) és az anódos félcella (14) közül az egyikben levő elektrod munkaelektrodként,

(c) a katódos félcella (12) és az anódos félcella (14) közül a másikban levő elektrod ellenelektrodként van kiképezve,

(d) a katódos félcella (12) és az anódos félcella (14) közül az egyik szomszédságában elrendezett, rögzített rúddal (44), valamint a katódos félcella (12) és az anódos félcella (14) közül a másik szomszédságában megfogott, mozgatható rúddal (46) ellátott szorítót (42) tartalmaz,

(e) a rögzített és a mozgatható rudat (44, 46) egymással összefogó, az elektrolitikus cellára (10) nyomóerőt gyakorló, a szeparátort (26) a katódos félcella (12) és az anódos félcella (14) között megtartó eszközzel van ellátva, továbbá célszerűen

(f) a katódos és anódos félcella (12, 14) közül a munkaelektrodot tartalmazó félcellában vonatkoztatási elektrod (36) van elrendezve.

22. A 21. igénypont szerinti elektrolitikus cella, *azzal jellemezve*, hogy a rögzített rúd (44) hőcsapdaként van kiképezve.

23. A 21. vagy 22. igénypont szerinti elektrolitikus cella, *azzal jellemezve*, hogy a rögzített rúd (44) alapfelülettel (56) és az elektrolitikus cellát (10) körbevevő, kiálló fallal (58) ellátott hőcsapdaként van kiképezve.

24. A 21–23. igénypontok bármelyike szerinti elektrolitikus cella, *azzal jellemezve*, hogy a rögzített és a mozgatható rúd (44, 46) az elektrolitikus cella (10) hátsó zárólapjához illeszkedően van elrendezve.

25. A 21–24. igénypontok bármelyike szerinti elektrolitikus cella, *azzal jellemezve*, hogy a rögzített és a mozgatható rúd (44, 46) az elektrolitikus cella (10) hátsó zárólapjához illeszkedően van elrendezve, továbbá a rögzített és a mozgatható rúd (44, 46), valamint az elektrolitikus cella (10) hátsó zárólapja egymásnak megfelelő sík felületekkel van kialakítva.

26. A 21–25. igénypontok bármelyike szerinti elektrolitikus cella, *azzal jellemezve*, hogy a katódos és anódos félcella (12, 14) közül a munkaelektrodot tartalmazó félcellában az anód (28) és a katód (40) közötti áramúton kívül vonatkoztatási elektrod (36) van elrendezve.

27. A 21–26. igénypontok bármelyike szerinti elektrolitikus cella, *azzal jellemezve*, hogy a munkaelektrod aranyból, platinából vagy 90 tömeg% platinát és 10 tömeg% ródiomot tartalmazó keverékből van kiképezve.

28. A 21–27. igénypontok bármelyike szerinti elektrolitikus cella, *azzal jellemezve*, hogy a porózus anyagú munkaelektrod nem radioaktív tulajdonságú halogén jelölőszerral előkezelt anyagból van kiképezve.

29. A 21–28. igénypontok bármelyike szerinti elektrolitikus cella, *azzal jellemezve*, hogy a munkaelektrod porózus anyagból van kiképezve.

30. A 21–29. igénypontok bármelyike szerinti elektrolitikus cella, *azzal jellemezve*, hogy a munkaelektrod a szeparátor (26) szomszédságában elrendezett elemként van kiképezve.

31. A 21–30. igénypontok bármelyike szerinti elektrolitikus cella, *azzal jellemezve*, hogy a munkaelektrod nem radioaktív tulajdonságú halogénnel megjelölt, előkezelt anyagból van kiképezve.

32. A 21–31. igénypontok bármelyike szerinti elektrolitikus cella, *azzal jellemezve*, hogy az ellenelektrod rozsdamentes acélból vagy platinából van kiképezve.

33. A 21–32. igénypontok bármelyike szerinti elektrolitikus cella, *azzal jellemezve*, hogy a szeparátor (26) anioncserélő vagy kationcserélő membránként van kialakítva.

34. A 21–33. igénypontok bármelyike szerinti elektrolitikus cella, *azzal jellemezve*, hogy a munkaelektrod felületének és az anódos félcella (14) térfogatának aránya mintegy $0,001\text{ cm}^{-1}$ és mintegy 5000 cm^{-1} között van.

35. A 21–34. igénypontok bármelyike szerinti elektrolitikus cella, *azzal jellemezve*, hogy a munkaelektrod felületének és az anódos félcella (14) térfogatának aránya mintegy $0,05\text{ cm}^{-1}$ és mintegy 10 cm^{-1} között van.

36. Eljárás proteinek, peptidek és más szerves molekulák jelölésére, amikor is anódot (28) és katódot (40) tartalmazó elektrolitikus cellába (10) proteint, peptidet vagy más szerves molekulát tartalmazó vizsgálati anyagot juttatunk és a vizsgálati anyagot jelölőszerral kezeljük, majd az elektrolitikus cellán (10) áramot engedünk át, *azzal jellemezve*, hogy az elektrolitikus cellát (10) szeparátorral (26) elválasztott katódos félcellát (12) és anódos félcellát (14) tartalmazó egységként hozzuk létre, ahol a katódos félcella (12) és az anódos félcella (14) közül az egyikben porózus anyagú munkaelektrodot, a másikban ellenelektrodot rendezünk el, továbbá a katódos félcella (12) és az anódos félcella (14) közül a munkaelektrodot tartalmazóban a munkaelektrod és az ellenelektrod közötti áramúton kívül vonatkoztatási elektrodot (36) rendezünk el, majd a megjelölt vizsgálati anyagot a munkaelektrodot tartalmazó félcellába juttatjuk.

37. A 36. igénypont szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy a porózus anyagú munkaelektrodot a szeparátor (26) közvetlen szomszédságában rendezzük el.

38. A 36. vagy 37. igénypont szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy a szeparátort (26) kationcserélő memb-

ránt vagy anioncserélő membránt alkotó anyagból képezzük ki.

39. A 38. igénypont szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy a szeparátort (26) anioncserélő anyagból képezzük ki, és a vizsgálati anyagot az ellenelektrodát tartalmazó félcellában hozzuk a jelölőszerezrel érintkezésbe, majd az anioncserélő membránon áthatoló jelölőszert a porózus munkaelektrod közelében a vizsgálati anyaggal reakcióba vesszük.

40. A 36. igénypont szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy a szeparátoron (26) a porózus munkaelektrod anyagát képező réteget rakatunk le.

41. A 36–40. igénypontok bármelyike szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy a célszerűen porózus anyagú munkaelektrodát aranyból, platinából, vagy 90 tömeg% platinát és 10 tömeg% ródiomot tartalmazó keverékből alakítjuk ki.

42. A 36–41. igénypontok bármelyike szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy az ellenelektrodát rozsdamentes acélból vagy platinából képezzük ki.

43. A 36–42. igénypontok bármelyike szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy a munkaelektrod és az ellen-

elektrod között az áram átengedésekor a munkaelektrod potenciálját a vonatkoztatási elektróddal (36) szabályozzuk.

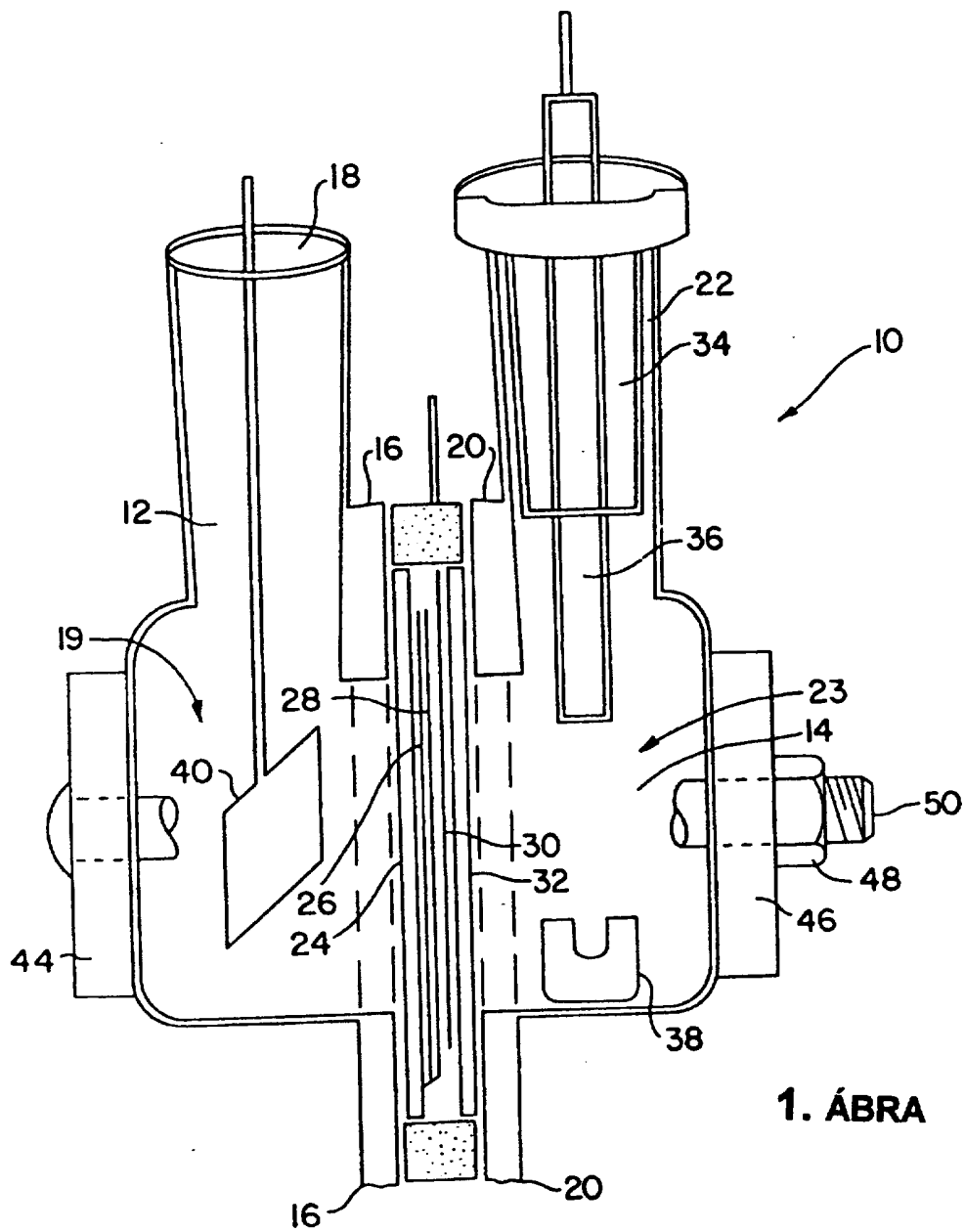
5 44. A 43. igénypont szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy a jelölőszert a munkaelektrodát tartalmazó félcellában hozzuk a vizsgálati anyaggal érintkezésbe.

10 45. A 43. igénypont szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy a vizsgálati anyagot az ellenelektrodát tartalmazó félcellában hozzuk a jelölőszerezrel érintkezésbe, majd az anioncserélő membránon áthatoló jelölőszert a porózus munkaelektrod közelében a vizsgálati anyaggal reakcióba vesszük.

15 46. A 36–45. igénypontok bármelyike szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy jelölőszerként radioaktív hatású anyagot használunk.

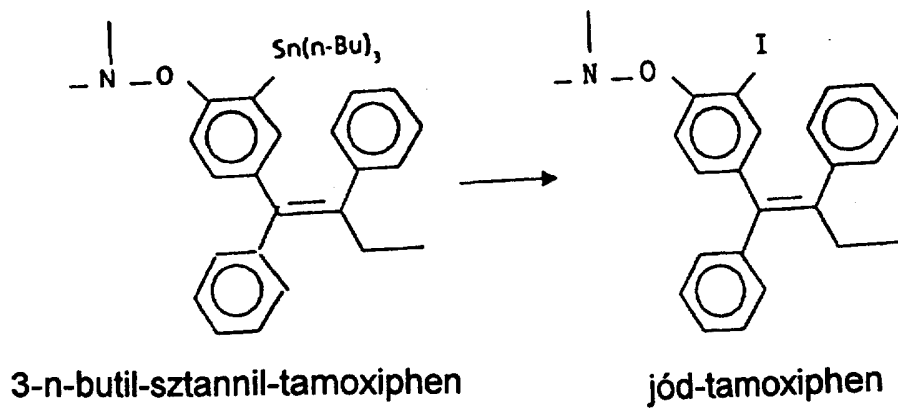
47. A 36–46. igénypontok bármelyike szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy jelölőszerként halogénelem radioaktív izotópját használjuk.

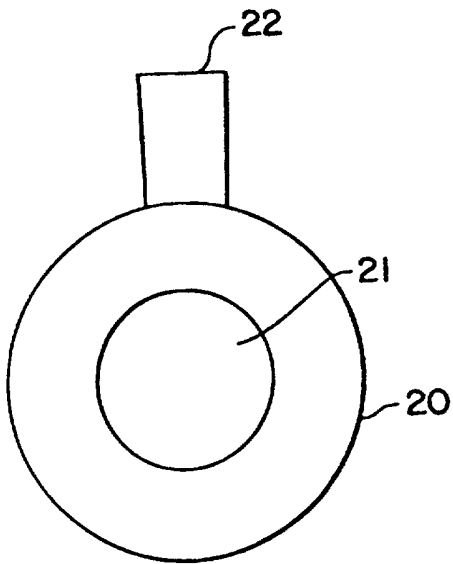
20 48. A 36–47. igénypontok bármelyike szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy jelölőszerként ^{125}I -izotópot használunk.



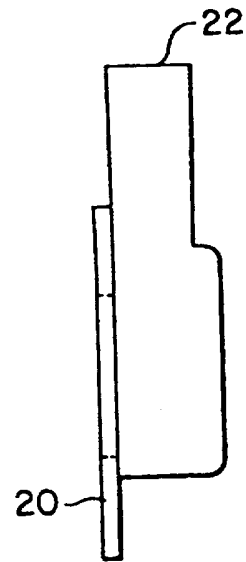
1. ÁBRA

I. REAKCIÓVÁZLAT

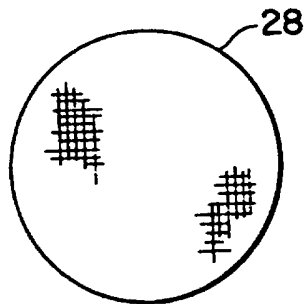




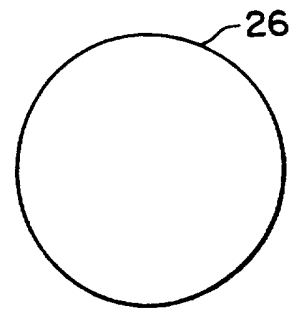
3. ÁBRA



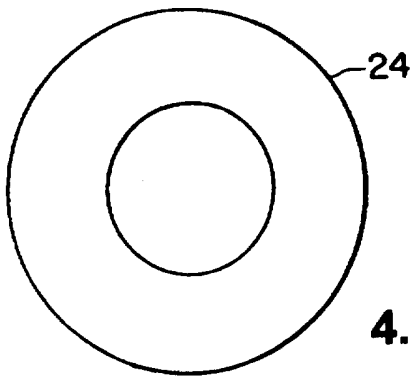
2. ÁBRA



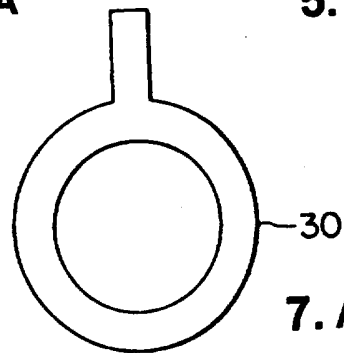
6. ÁBRA



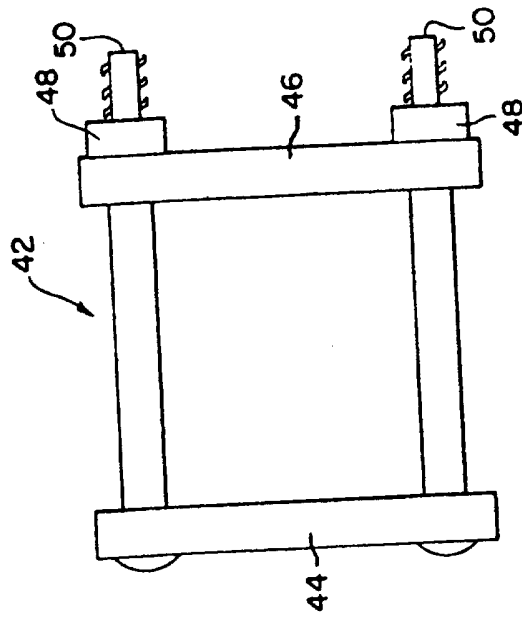
5. ÁBRA



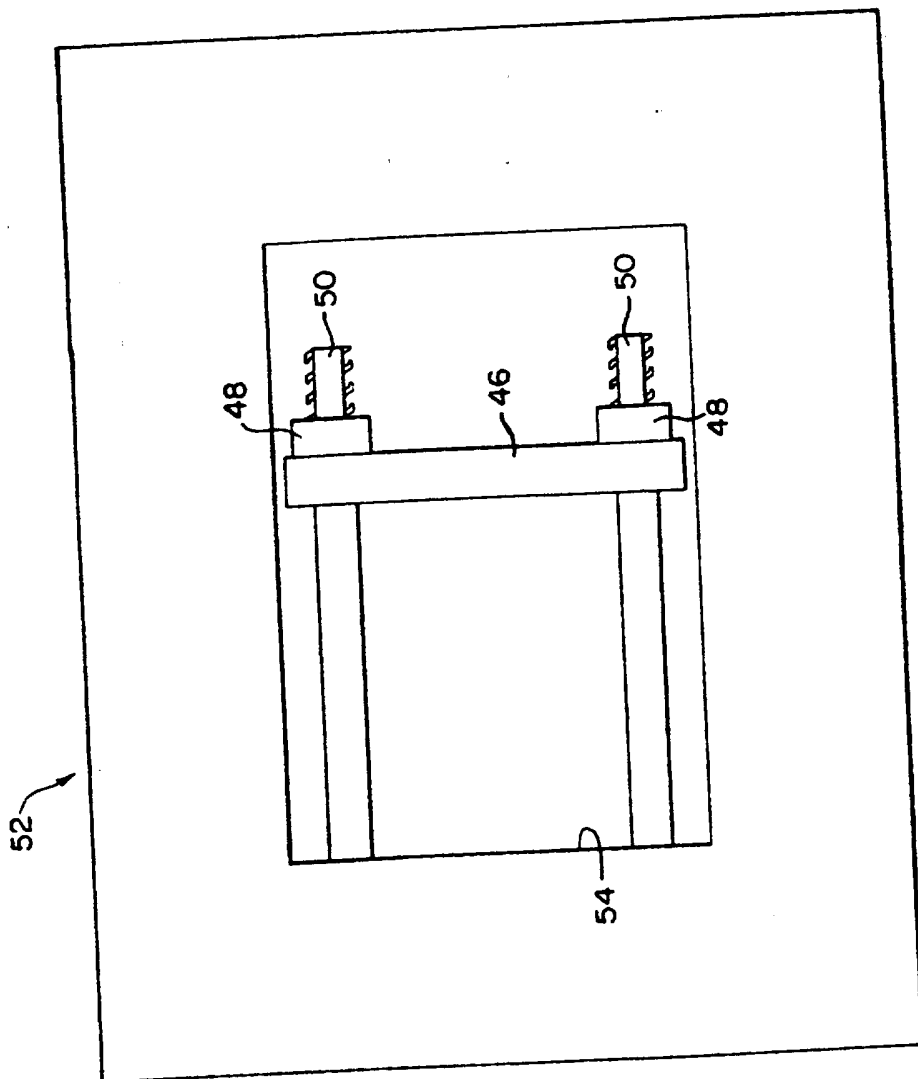
4. ÁBRA



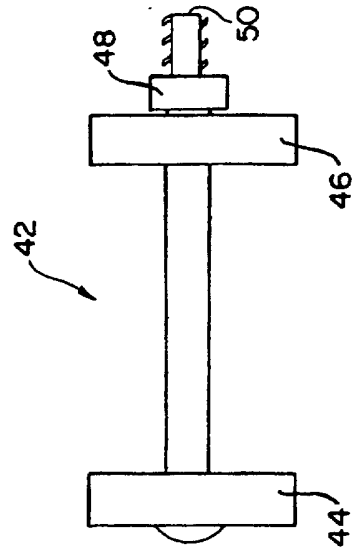
7. ÁBRA



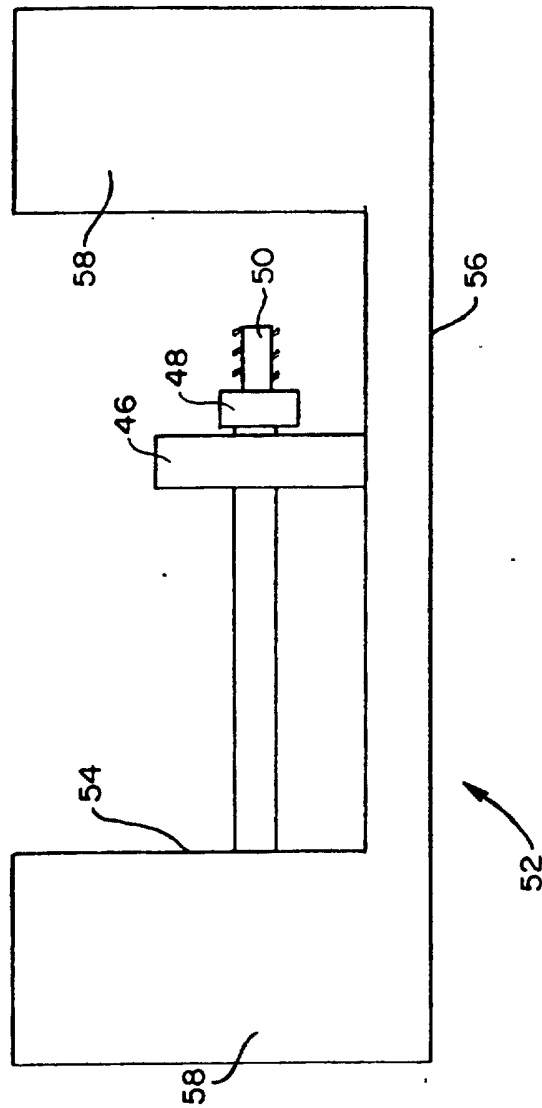
8. ÁBRA



10. ÁBRA

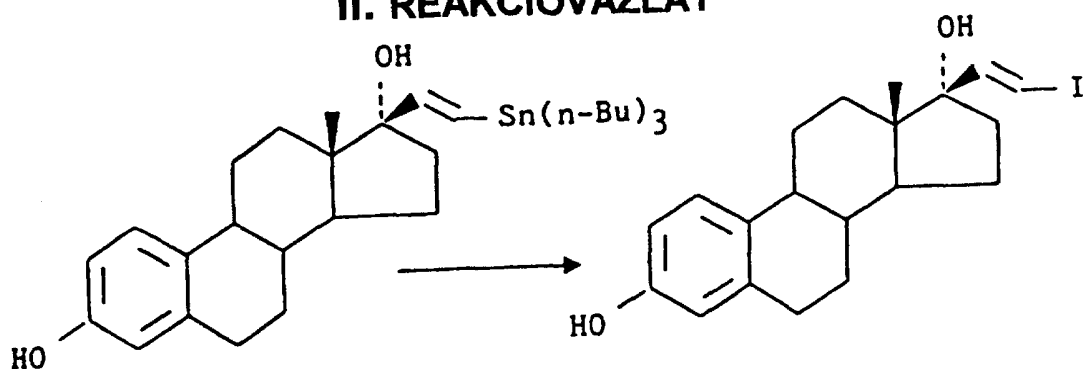


9. ÁBRA



11. ÁBRA

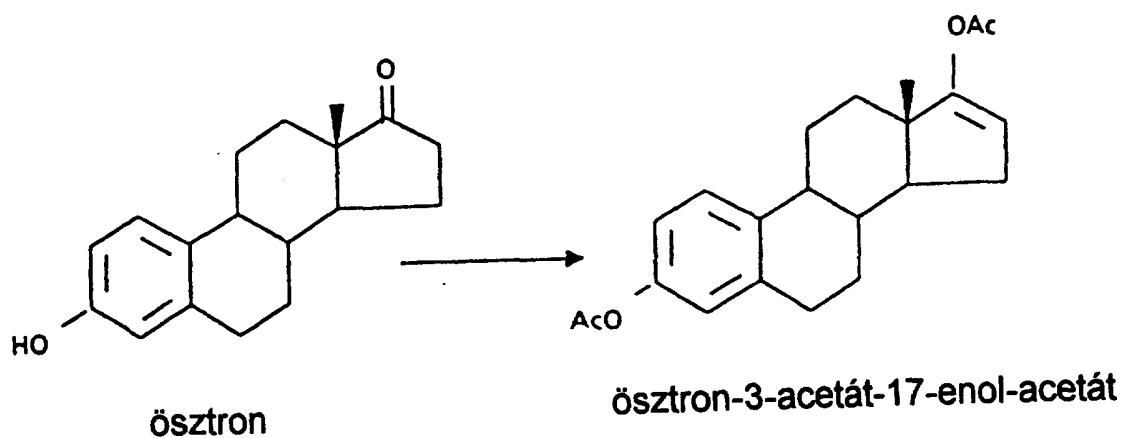
II. REAKCIÓVÁZLAT



17- α -(tributyl-sztannil)-vinil-ösztadiol

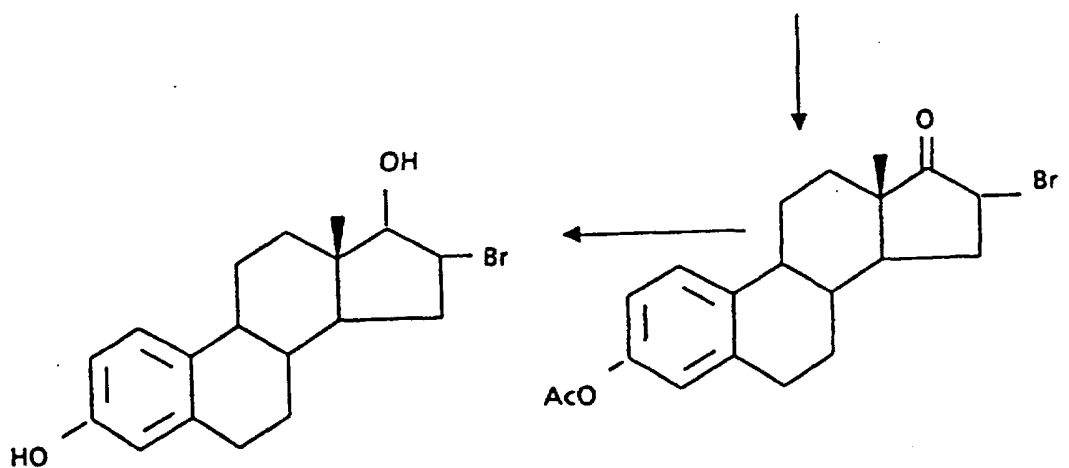
17- α -jód-vinil-ösztadiol

III. REAKCIÓVÁZLAT



öszttron

öszttron-3-acetát-17-enol-acetát



16- α -bróm-öszttradiol

16- α -bróm-öszttron-3-acetát