



FEDERÁLNÍ ÚŘAD
PRO VYNÁLEZY

POPIS VYNÁLEZU

K AUTORSKÉMU OSVĚDČENÍ

270 774

(21) PV 444-89.H
(22) Přihlášeno 23. 01. 89

(40) Zveřejněno 13. 12. 89
(45) Vydáno 04. 07. 91

(11)

(13) B1

(51) Int. Cl.⁴

C 07 D 221/00
C 07 H 19/06

(75) Autor vynálezu PODVALOVÁ ZDISLAVA ing., PRAHA,
 KÜBLBL JAN ing., ONDŘEJOV,
 TICHÁ ANEŽKA, PRAHA

(54) Způsob izolace /5-³H/uridinu z reakční směsi

(57) /5-³H/uridin je používán jako stopovací látka v biochemickém, biologickém a lékařském výzkumu. Vyrábí se dehalogenací 5-joduridinu. Cílem řešení bylo zvýšit výtěžek výše uvedeného preparátu při separaci z reakční směsi, zkrátit separační cyklus a zlepšit kvalitu výrobku. Vyšší účinek vynálezu ve srovnání se známými postupy spočívá ve využití eluční vysokoúčinné kapalinové chromatografie, což umožňuje získat radiochemicky čistý uridin o vyšším výtěžku v kratším separačním cyklu. Uvedeným postupem bylo dosaženo až 95 % výtěžku radioaktivního uridinu o radiochemické čistotě vyšší než 97 %. Dělení probíhá na silikagelu s okta-decylovými skupinami vodným roztokem kyseliny mravenčí s přísadou metanolu.

Vynález se týká preparativní izolace $5\text{-}^3\text{H}$ /uridinu metodou eluční vysokoúčinné kapalinové chromatografie.

Dosud známá metoda izolace uvedené sloučeniny z reakční směsi do dehalogenaci 5-joduridinu je metoda preparativní papírové chromatografie /Hais, I. M.; Macek K. a kol.: Papírová chromatografie, NČSAV Praha 1959, str. 532 až 535/. Tento způsob izolace má řadu nedostatků. Především dochází k izolačním ztrátám /až 30 %/, postup je časově náročný a velmi pracný a izolovaná sloučenina není chemicky čistá. Je to způsobeno přítomností výluhů z chromatografického papíru, případně nečistotami z rozpouštědel. Tyto nečistoty vadí při aplikaci preparátů v biochemickém, biologickém a lékařském výzkumu. Další nedostatek papírové chromatografie spadá do oblasti bezpečnosti práce s radioaktivními látkami. Manipulace s radioaktivními sloučeninami při nanášení na chromatografické papíry, vlastní chromatografie, autoradiochromatografie a eluce zvyšují možnost kontaminace prostředí i osob. Dosud používaný technologický postup izolace $5\text{-}^3\text{H}$ /uridinu z reakční směsi se provádí metodou papírové chromatografie na chromatografickém papíru Whatman 3 v soustavě butanol - kyselina octová - voda /4 : 1 : 5/, rozdělovací koeficient R_F uridinu v této soustavě je 0,38. Identifikace radioaktivních sloučenin na chromatogramech se provádí porovnáním s jejich neaktivními standardy. Pruh, odpovídající radioaktivnímu uridinu, se vystříhne a eluuje redestilovanou vodou. Protože se nedosáhne požadované radiochemické čistoty, je třeba papírovou chromatografií zopakovat v jiné vyvíjecí soustavě (např. butanol - voda), čímž se dále zvyšují ztráty izolovaného preparátu.

Výše uvedené nedostatky nemá způsob preparativní izolace $5\text{-}^3\text{H}$ /uridinu metodou eluční vysokoúčinné kapalinové chromatografie podle vynálezu, jehož podstata spočívá v tom, že se směs sloučenin, vznikajících při přípravě radioaktivního $5\text{-}^3\text{H}$ /uridinu, dělí na sloupci hydrofobního sférického sorbentu /podstatou je kyselina tetrahydrokřemičitá, povrch silikagelu je pokryt oktadecylovými skupinami /za použití eluentu vodného roztoku kyseliny mravenčí o koncentraci 0,2 až 0,7 mol/l a 0,9 až 1,5 % metanolu. S výhodou lze použít tuzemský sorbent Separon SGX C18. Z eluovaného radioaktivního $5\text{-}^3\text{H}$ /uridinu se odpaří kyselina mravenčí na vakuové odparce a uridin se převede do 2 % etanolu a po dozimetrickém měření aktivity a stanovení radiochemické čistoty se naředí na expediční koncentraci a sterilizovaný se expeduje.

Výhody nového postupu spočívají v tom, že výtěžek radioaktivního uridinu dosahuje až 90 % a značně se tedy sníží ztráty, ke kterým dochází při izolaci shora uvedeným způsobem preparativní papírové chromatografie. Zásadní výhodou izolace $5\text{-}^3\text{H}$ /uridinu eluční vysokoúčinnou kapalinovou chromatografií je možnost získání produktu o vysoké radiochemické čistotě /97 až 98 %/ a bez přítomnosti chemických nečistot. Další výhodou je zkrácení doby separace, místo 40 pouze 8 hodin. Dělení kapalinovou chromatografií probíhá v kapalném prostředí v uzavřeném poloautomatizovaném systému. Odpadá autoradiografie a sušení chromatografických papírů, kdy snadno může dojít ke kontaminaci. Tím se podstatně zvyšuje bezpečnost práce při přípravě $5\text{-}^3\text{H}$ /uridinu.

Dále je uveden příklad izolace $5\text{-}^3\text{H}$ /uridinu o molové aktivitě 0,6 až 1,0 TBq/mmol z reakční směsi po katalytické dehalogenaci 5-joduridinu /Filip J.; Havlíček J.: Jaderná energie 15, 388 /1969/. $5\text{-}^3\text{H}$ /uridin je z reakční směsi po neutralizaci na pH = 7 kyselinou chlorovodíkovou a mrazové sublimaci rozpouštědla zbaven tritiu v labilních polohách. Přidá se 1 ml destilované vody, reakční směs se rozpustí zahřátím a znovu se podrobí mrazové sublimaci. Postup se opakuje celkem třikrát. $5\text{-}^3\text{H}$ /uridin zbavený tritiu v labilních polohách se vnáší na kolonu z koroziivzdorné oceli /250 mm x 8 mm/ naplněnou Separonem SGX C18. Reakční směs o objemu menším, než 5 ml obsahuje 5-joduridin v množství do 5 mg, KCL a KI celkem do 0,5 mg a malé množství rozpadových látek /např. $5\text{-}^3\text{H}$ /uracil/. Dělení probíhá při laboratorní teplotě, za tlaku 1,0 MPa a průtoku 60 ml/hod 0,5 M kyseliny mravenčí s 1 % metanolu. Eluční čas je 15 minut. $5\text{-}^3\text{H}$ /uridin se eluuje v objemu cca 12 ml. Na kolonu byla vnesena reakční směs o složení 90,3 % uridinu a 2,4 % uracilu v množství 26 032 MBq. Bylo získáno 22 257 MBq $5\text{-}^3\text{H}$ /uridinu o čistotě větší než 97 %, což odpovídá 95 % výtěžku.

PŘEDMĚT VYNÁLEZU

Způsob izolace /5-³H/uridinu z reakční směsi vznikající při katalytické dehalogenaci 5-joduridinu, obsahující jako vedlejší příměsi 5-joduridin, chlorid draselný, jodid draselný a rozpadové látky jako /5-³H/uracil eluční vysokoúčinnou kapalinovou chromatografií, vyznačující se tím, že se uvedená směs sloučenin dělí na sloupci porézního hydrofobního iontoměniče na bázi silikagelu, jehož povrch je pokryt oktadecylovými skupinami za použití eluentu vodného roztoku kyseliny mravenčí o koncentraci 0,2 až 0,7 mol/l s 0,9 až 1,5 % metanolu.