



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU

209 960

(11) (B1)

K AUTORSKÉMU OSVEDČENIU

(61)

(23) Výstavná priorita
(22) Prihlášené 07 09 79
(21) PV 6061-79

(51) Int. Cl.³ B 01 J 15/00

(10) Získané 31 03 81
(15) Vydáno 31 08 82

(75)

Autor vynálezu MUCHA JURAJ ing., TREBIŠOV
TALÁN PETER RNDr., KOŠICE
DOBIAŠ MARTIN RNDr., KOŠICE

(54) Spôsob separácie (^{125}I)-L-tyroxínu zo zmesi po rádiojodácii
Obor: nukleárna analytická chémia
Ďalšie obory využitia: nukleárna medicína, rádioimunoanalýza, biochémia

Účelom vynálezu je zlepšenie separácie, zvýšenie výťažku, zníženie objemov eluátu a skrátenie času separácie (^{125}I)-L-tyroxínu zo zmesi po rádiojodácii, ktorá okrem (^{125}I)-L-tyroxínu obsahuje ešte s nasledujúcim jednoduchým prevedením (^{125}I)-L-tyroxínu do ochranného média (50 %-ný vodný roztok 1,2-propándiolu).

Uvedeného účelu sa dosiahne gélovou filtráciou na kolónke naplnenej gélom nepolárneho charakteru typu polydextránu s veľkosťou častice 25-100 μm gradientovou elúciou pomocou elučných zmesí, ktoré obsahujú 1,2-propándiol-dest. voda - konc. vodný roztok amoniaku (26 %) v rôznych objemových pomeroch. Po separácii sa upraví koncentrácia 1,2-propándiolu v eluáte (^{125}I)-L-tyroxínu na 50 obj. %.

Vynález sa týka spôsobu separácie (^{125}I)-L-tyroxínu z reakčnej zmesi po značení tohto hormónu 125-jódrom.

(^{125}I)-L-tyroxín má použitie v nukleárnej medicíne pri stanovení poruchy štítnej žľazy pomocou stanovenia obsahu tyroxínu v sére rádioimunoanalyticky. Doposiaľ sa pre jeho separáciu po rádiojodácii používala väčšinou papierová chromatografia, chromatografia na tenkej vrstve a gélová filtrácia, respektíve kombinácia týchto metód. Nevýhodou papierovej chromatografie bol dlhý čas elúcie a vymývanie produktov z papiera nebolo dostatočne kvantitatívne. Pri použití gélovej filtrácie buď dochádza k nedostatočnému oddeleniu (^{125}I)-L-tyroxínu od (^{125}I)-L-3,5,3'-trijódtironínu, alebo sa tieto hormóny oddelia dobre, ale po separácii je (^{125}I)-L-tyroxín v pomerne veľkých elučných objemoch, čo môže mať vplyv po jeho nariadení na priebeh vlastnej rádioimunoanalýzy. Často sa doporučuje kombinácia papierovej alebo tenkovrstvej chromatografie s dočistením značeného hormónu gélovou chromatografiou pomocou 0,1 M fosfátového tlmivého roztoku s $\text{pH}=7,5$ a zmesi metanol-konc. amoniak (99:1 obj. dielov), resp. konc. etanolu. Táto kombinácia je nevýhodná, lebo sa skladá z dvoch krokov, pričom eluát (^{125}I)-L-tyroxínu je potrebné zahustiť, alebo odpariť pod prúdom dusíka a opäť rozpustiť v 50 %-nom vodnom roztoku 1,2-propándiolu, ktorý sa pre značený tyroxín používa ako ochranné médium a v ktorom je pri 4°C stály (^{125}I)-L-tyroxín až 7 týždňov.

Uvedené nedostatky je možné odstrániť spôsobom separácie (^{125}I)-L-tyroxínu zo zmesi po rádiojodácii, ktorá obsahuje (^{125}I)-L-tyroxín, (^{125}I)-L-3,5,3'-trijódtironín a 125-jodid, pomocou gélovej filtrácie na kolónke naplnenej gélom nepolárneho charakteru typu polydextránu s veľkosťou častice 25-100 μm , podľa vynálezu, ktorého podstatou je to, že elučnými zmesami sú 1,2-propándiol-dest. voda-konc. vodný roztok amoniaku (26 %), ktoré obsahujú v 100 obj. dieloch 25-35 obj. dielov 1,2-propándiolu, 64-74 obj. dielov dest. vody, 1-5 obj. dielov konc. vodného roztoku amoniaku (26 %), alebo 90-98 obj. dielov 1,2-propándiolu, 1-9 obj. dielov dest. vody, 1-5 obj. dielov konc. vodného roztoku amoniaku (26 %), respektíve 1,2-propándiol-konc. vodný roztok amoniaku (26 %), ktorý v 100 obj. dieloch obsahuje 95-99 obj. dielov 1,2-propándiolu a 1-5 obj. dielov konc. vodného roztoku amoniaku (26 %), s nasledujúcou úpravou koncentrácie eluátu, v ktorom je (^{125}I)-L-tyroxín, pomocou dest. vody tak, aby koncentrácia 1,2-propándiolu bola 50 % objemových.

Spôsobom separácie podľa vynálezu je možné získať vysoko imunoreaktívny (^{125}I)-L-tyroxín, ktorý má tie výhody, že jednoduchou úpravou koncentrácie sa nachádza vo svojom ochrannom médiu - v 50 %-nom vodnom roztoku 1,2-propándiolu, je v relatívne malom objeme, maximálne 0,5 ml, čo má význam pri jeho použití pre rádioimunoanalýzu, nepoužíva sa kombinácia dvoch separačných metód, čo zvyšuje jeho výťažok a zjednodušuje sa manipulácia s rádioaktívnym materiálom.

P R Í K L A D 1

Gél nepolárneho charakteru typu polydextránu s veľkosťou častice 25-100 μm bol ekvilibrovaný 24 hodín vodou. V sklenenej kolónke priemeru 8 mm a výšky 250 mm bol pripravený 80 mm stípec gélu, ktorý bol 1 hodinu premývaný 0,08 M barbitálovým tlmivým roztokom s $\text{pH} \approx 8,6$. Na kolónku bola nanesená reakčná zmes po rádiojodácii (asi 74 MBq), ktorá obsahovala 125-jodid, (^{125}I)-L-3,5,3'-trijódtyronín a (^{125}I)-L-tyroxín (ako hlavný produkt), pomocou mikropipety s polypropylénovou hadičkou dlhou 150 mm. K separácii sa použila zmes 1,2-propándiol-dest.voda-konc.vodný roztok amoniaku (26 %) (30:69:1 obj. dielov), ktorou bol naplnený celý stípec kolónky nad gélom. Čas separácie bol 400 minút a frakcie boli zberané po 10 minútach. Došlo k dobrému oddeleniu komponent zmesi, z kolónky vytiekla najprv frakcia 125-jodidu (1 ml), potom (^{125}I)-L-3,5,3'-trijódtyronínu (2 ml) a nakoniec frakcia (^{125}I)-L-tyroxínu (2,5 ml). Určitou nevýhodou je relatívne väčší objem frakcie.

P R Í K L A D 2

K separácii frakcie (^{125}I)-L-tyroxínu sa použila elučná zmes 1,2-propándiolu s konc.vodným roztokom amoniaku (26 %) (99:1 obj. dielov). V tejto ale nedochádza k oddeleniu (^{125}I)-L-tyroxínu od (^{125}I)-L-3,5,3'-trijódtyronínu. Preto sa najprv postupovalo postupom podľa príkladu 1. Reakčná zmes sa eluovala roztokom 1,2-propándiol-dest.voda-konc.vodný roztok amoniaku (26 %) (30:69:1 obj. dielov) až dovtedy, pokiaľ sa z kolónky nevymyl 125-jodid a (^{125}I)-L-3,5,3'-trijódtyronín (200 minút). Z kolónky nad stípcom sa potom odstránila táto elučná zmes a pridala sa elučná zmes 1,2-propándiol-konc.vodný roztok amoniaku (99:1 obj. dielov). V tejto zmesi z kolónky vyteká (^{125}I)-L-tyroxín a zberajú sa jednotlivé frakcie po 10 minútach (objem 1 frakcie cca 0,03 ml). Po separácii sa frakcie zlejú, ich objem je okolo 0,2 ml. Tento roztok sa prevedie do polypropylénovej nádoby, zistí sa objem elučnej zmesi vážením 0,23 ml) a koncentrácia 1,2-propándiolu sa upravila pridaním 0,23 ml dest. vody na približne 50 obj. %. (^{125}I)-L-tyroxín, ktorý bol získaný týmto postupom, obsahoval menej ako 3 % (^{125}I)-L-3,5,3'-trijódtyronínu a menej ako 3 % 125-jodidu. Čas separácie bol 400 minút a produkt bol použiteľný pre rádioimunoanalýzu. Pri 4 °C bol (^{125}I)-L-tyroxín v 50 %-nom vodnom roztoku 1,2-propándiolu stabilný 8 týždňov.

P R Í K L A D 3

Postupuje sa ako v príklade 2. K elúcii 125-jodidu a (^{125}I)-L-3,5,3'-trijódtyronínu sa použila elučná zmes 1,2-propándiol-dest.voda-konc.vodný roztok amoniaku (26 %), ktorý obsahoval v 100 obj. dieloch 30 obj. dielov 1,2-propándiolu, 65 obj. dielov dest. vody a 5 obj. dielov konc. amoniaku (26 %). Elučný roztok bol odstránený a (^{125}I)-L-tyroxín sa eluoval roztokom 1,2-propándiol-voda-konc.vodný roztok amoniaku (26 %) (90:5:5 obj. dielov). Ďalej bola koncentrácia eluátu upravená podobne ako v príklade 2.

P R E D M E T V Y N Á L E Z U

Spôsob separácie (^{125}I)-L-tyroxín zo zmesi po rádiojodácii, ktorá obsahuje (^{125}I)-L-tyroxín, (^{125}I)-L-3,5,3'-trijódtyronín a 125-jodid, pomocou gélovej filtrácie na kolónke naplnenej gélom nepolárneho charakteru typu polydextránu s veľkosťou častice 25-100 μm , vyznačujúci sa, že elučnými zmesami sú 1,2-propándiol-dest.voda-konc.vodný roztok amoniaku (26 %), ktoré obsahujú v 100 obj. dieloch 25-35 obj. dielov 1,2-propándiolu, 64-74 obj. dielov dest. vody, 1-5 obj. dielov konc. vodného roztoku amoniaku (26 %), alebo 90-98 obj. dielov 1,2-propándiolu, 1-9 obj. dielov dest. vody, 1-5 obj. dielov konc. vodného roztoku amoniaku (26 %), respektíve zmesou 1,2-propándiol-konc.vodný roztok amoniaku (26 %), ktorý v 100 obj. dieloch obsahuje 95-99 obj. dielov 1,2-propándiolu a 1-5 obj. dielov konc. vodného roztoku amoniaku (26 %), a nasledujúcou úpravou koncentrácie eluátu, v ktorom je (^{125}I)-L-tyroxín, pomocou dest. vody tak, aby koncentrácia 1,2-propándiolu vo vode bola 30 obj. %.