



FEDERÁLNÍ ÚŘAD  
PRO VYNÁLEZY

# POPIS VYNÁLEZU

## K AUTORSKÉMU OSVĚDČENÍ

269 441

(21) PV 6734-88.N  
(22) Přihlášeno 11 10 88

(40) Zveřejněno 12 09 89  
(45) Vydáno 14 02 92

(11)

(13)

(51)

B1

Int. Cl.<sup>4</sup>

C 01 B 7/14

(75) Autor vynálezu

KRONRÁD LEO ing. CSc., PRAHA,  
HRADILEK PAVEL ing., ČERNOŠICE,  
KOPIČKA KAREL ing. PharmDr., PRAHA,  
PEREZSLÉNYIOVÁ EVA PharmDr., BRATISLAVA

(54)

Filtr pro přípravu biologicky účinných  
látek značených radionuklidy jodu

(57)

Řešení se týká filtru pro přípravu biologicky účinných látek značených radionuklidy jodu. Podstatou řešení je to, že porézní materiál filtru obsahuje nasorbovaný derivát 1, 3, 4, 6 tetrachloro-3 $\alpha$ , 6 $\alpha$  - difenylglycolurilu, porézním materiálem je filtrační papír, filtr může obsahovat další vrstvu porézního materiálu s nasorbovaným chloridem stříbrným nebo pyrosiřičitanem godným, další vrstvu může tvořit filtrační papír a poslední vrstvu membránový filtr o velikosti porů 0,22 až 0,4  $\mu$ m.

Vynález se týká filtru pro přípravu biologicky účinných látek značených radionuklidu jodu. Filtr může být použit při značení všech preparátů, u kterých je vlastním jodačním činidlem elementární jod.

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

V případě, kdy je v molekule látky obsažen atom jodu, provádí se značení výměnnou reakcí s radioaktivním jodidem sodným dlouhodobým zahříváním roztoků reakčních směsí na vyšší teploty (333 - 373 K). Například Zeltman, A. M. a Kahn, M., J. Am. Chem. Soc. 76, 1554 (1954) tímto způsobem značí ve vodném roztoku při 62 °C jodtyrosin, Nakamura, Y. a kol., J. Nucl. Med., 18, 1112 (1977), Anghileri, L. J., Int. J. Appl. Rad. Isotopes 14, 328 (1963), Burges, A. kol., Endocrinology 24, 1189 (1963), Reesse, M. a kol., J. Labelled Comp. Radiopharm. 15, 555 (1978), Pabel, M. C. a kol., Int. J. Appl. Rad. Isotopes 25, 421 (1974), Toth, G., Radiochem. Radionucl. Letters 30, 297 (1977) a Taunog a kol., J. Biol. Chem. 194, 655 (1952) tímto způsobem značí v acetátovém pufru o pH 5,3 za případného přídavku elementárního jodu jodtyrosin a Hallaba, E. a kol., J. Nucl. Med., 15, 270 (1974) takto značí v etanolickém roztoku při 338 K tyrosin. Obdobně Hallaba, E. a kol., Isotopenpraxis 2, 194 (1966), Henry R. a kol., CEA Report 1784 (1960), Serafini, A. N. a kol., J. Nucl. Med. 16, 629 (1975), Wheeler, O. H. a kol., Int. J. Appl. Rad. Isotopes 21, 110 (1970), Desai, C. N. a kol., Int. J. Appl. Rad. Isotopes 19, 153 (1968), Suner, A. A. a kol., Radiomech. Acta 12, 119 (1969) a Hupf, H. B. a kol., J. Nucl. Med. 19, 525 (1978) v acetátovém pufru při pH 5 až 7 značí bengálskou červeň a Kapička K. a kol., čs. autorské osvědčení č. 249288 ve vodném roztoku za katalýzy solemi  $\text{Cu}^+$  značí monojodbromsulfoftalein.

U látek, které neobsahují ve své molekule jod se značení provádí pomocí radioaktivního jodu přídavkem různých oxidačních činidel do roztoku reakční směsi. Z anorganických činidel používají Abdel-Wahad, M. F. a kol., Isotopenpraxis 2, 166 (1973) jodičnan draselný a Charamza O., Isotopenpraxis 2, 298 (1966) peroxid vodíku. Reakce probíhá pro různé sloučeniny po dobu 40 minut až 10 hodin. Velmi často je jako oxidační činidlo přidáván do roztoku reakční směsi chloramin T podle dnes již klasického vzoru Greenwood, Hunter: Nature ... 194, 495 (1962) jako například popisují Hallaba, E. a kol., Int. J. Appl. Radiat. Isotopes 22, 46 (1971), Krohn K. A. a kol., Int. J. Appl. Radiat. Isotopes 25, 315 (1974) a Coleman R. E. a kol. J. Lab. Clin. Med. 83, 977 (1974). Reakce probíhá během několika minut, její výtěžek se pohybuje v rozmezí 30 až 80 %. Dalším často používaným oxidačním činidlem je laktoperoxidáza jak uvádějí Mc Ilhiney J. a kol., Endocrinology 24, 1259 (1974), Thorell J. I. a kol., Biochem. Biophys. Acta 251, 363 (1971) a Marchalonis J. J., Biochem. J. 113, 299 (1969). Reakce je zpravidla ukončena do 30 minut a výtěžek se pohybuje v rozmezí 30 až 90 %. Velmi často používaným oxidačním činidlem je také jedmono-chlorid, jehož použití je popsáno v pracích Peabodyho R. A. a kol., J. Nucl. Med. 15, 195 (1974), Reifa A.E., J. Nucl. Med. 9 148 (1968) a Haxhe J. J. a kol., Clin. Chim. Acta 8, 302 (1963). Reakce je ukončena během 10 až 60 minut s výtěžkem v rozmezí 50 až 80 %. Pro jodaci proteinů je v pracích Frakerové P. J. a kol., Biophys. Res. Commun. 80, 859 (1978) a Wooda W. G., J. Clin. Chem. Clin. Biochem., 19, 1051 (1981) popsáno značení pomocí 1, 3, 4, 6 - tetrachloro-3, 6 - difenylglycolurilu (Jodogen). Podle popsané metody se jodogen, který je ve vodném roztoku prakticky nerozpustný, nanese jako tenký filtr na povrch skleněné nádoby, ve které po přidání reakční směsi sestávající s proteinu a radioaktivního jodidu sodného probíhá značení. Nevýhodou této metody je obtížná reprodukovatelnost nanášení filmu jodogenu související s výběrem vhodného rozpouštědla jodogenu, komplikovanou technikou nanášení a stabilitou připravených nádobek a s tím potom související relativně nízké a proměnlivé výtěžky značeného produktu. Obměnu této metody uvádí Richardson A. P. a kol., Nucl. Med. Commun., 7, 355 (1988), kteří vnášejí jodogen do reakční směsi ve formě suspenze. I když jsou v tomto případě výtěžky podstatně vyšší,

hlavní nevýhodou je, že aceton použitý jako rozpouštědlo jodogenu a jodogen je nutné z produktu odstraňovat a produkt je nezbytně zvlášť pečlivě čistit v případě, kdy má být humánně používán.

Hlavní z těchto nevýhod odstraňuje způsob podle vynálezu, při kterém porézní materiál filtru, přes který se značení pomocí filtrace provádí, obsahuje nasorbovaný derivát 1, 3, 4, 6-tetrachloro-3,6-difenylglycolurilu, filtr může obsahovat další vrstvu porézního materiálu s nasorbovaným chloridem stříbrným nebo pyrosiřičitanem sodným, další vrstvu může tvořit filtrační papír a poslední vrstvu membránový filtr o velikosti pórů 0,22-04  $\mu\text{m}$ .

Mezi hlavní výhody způsobu podle vynálezu patří jednoduchost přípravy filtru, snadnost jeho výroby ve velkém měřítku, mimořádná jednoduchost a rychlost značení biologicky účinných látek připravovaných jeho pomocí, vysoký výtěžek značené látky, zvýšení stability preparátů, možnost získat přímo sterilní produkt a možnost provádět značení i v mikroměřítku. Další výhodou způsobu podle vynálezu je možnost provádět všechny operace přípravy radioaktivních biologicky účinných látek, tj. jak značení, tak odstraňování, popřípadě nezraňovaného jodidu i sterilizace produktu v jediné operaci, pokud jsou jednotlivé uváděné filtry použity současně ve formě složeného filtru.

#### Příklad 1

V 10 ml. chloroformového roztoku jodogenu (2 mg/ml) se máčí pás chromatografického papíru. Watmanna 3 MN. Po vysušení a úpravě do vhodného tvaru je připravený k použití

#### Příklad 2

V 10 ml vhodného roztoku dusičnanu stříbrného (0,5 M) se máčí pás chromatografického papíru Watmann 4. Po vysušení ve tmě se tento papír máčí v 0,5 M kys. chlorovodíkové. Následuje několikanásobné promytí destilovanou vodou do neutrální reakce. Po vysušení a úpravě do vhodného tvaru je filtr připravený k použití.

#### Příklad 3

V 10 ml. vodného roztoku dusičnanu stříbrného (0,01 M) se máčí pás chromatografického papíru Watmann 4. Po vysušení ve tmě se tento papír máčí v 0,01 M roztoku pyrosiřičitanu sodného. Po důkladném promytí destilovanou vodou, vysušení a úpravě do vhodného tvaru je filtr připraven k použití.

#### Příklad 4

Sestavíme složený filtr, sestávající z filtru připraveného podle příkladu 1, mezivrstvy z chromatografického papíru Watmann 4 bez dalších úprav a filtru připraveného podle příkladu 2.

#### Příklad 5

Sestavíme složený filtr sestávající se z filtru připraveného podle příkladu 1, filtru připraveného podle příkladu 3 a membránového filtru o velikosti pórů 0,4  $\mu\text{m}$ . Jednotlivé vrstvy jsou proloženy mezivrstvami z chrom. papíru Watmann 4 bez dalších úprav.

## P Ř E D M Ě T V Y N Á L E Z U

1. Filtr pro přípravu biologicky účinných látek, značených radionuklidy jodu, vyznačující se tím, že porézní materiál filtru obsahuje nasorbovaný derivát 1, 3, 4, 6 tetrachloro-3  $\alpha$  , 6  $\alpha$  - diphenyl glycolurilu.
2. Filtr podle bodu 1, vyznačující se tím, že pórézním materiálem je filtrační papír.
3. Filtr podle bodu 1, vyznačující se tím, že obsahuje další vrstvu pórézního materiálu s nasorbovaným chlorkem stříbrným.
4. Filtr podle bodu 3, vyznačující se tím, že pórézním materiálem další vrstvy je filtrační papír.
5. Filtr podle bodu 1, vyznačující se tím, že obsahuje další vrstvu pórézního materiálu s nasorbovaným pyrosiřičitanem stříbrným.
6. Filtr podle bodu 5, vyznačující se tím, že pórézním materiálem další vrstvy je filtrační papír.
7. Filtr podle bodů 3 nebo 5, vyznačující se tím, že obsahuje další vrstvu tvořenou membránovým filtrem o velikosti porů 0,22-0,4  $\mu\text{m}$ .
8. Filtr podle bodů 3 nebo 5 nebo 7, vyznačující se tím, že obsahuje další mezivrstvy prosté účinných látek.