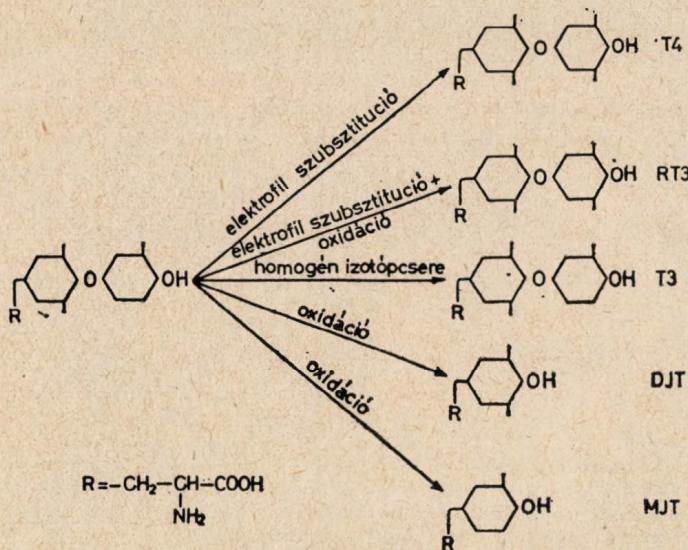


# Radiojóddal jelzett trijód-tironin és tiroxin adszorpciós kromatográfiás elválasztásáról

TÓTH GÉZA

Trijód-tironin (T3) és tiroxin (T4) jó hatásfokkal jelezhető radiojóddal az ún. klóramin T módszerrel<sup>1-2</sup>. A homogén izotópcserével egyidejűleg lejátszódó elektrofil szubsztitúció és a klóramin T oxidáló hatása azonban elkerülhetetlenül több jelzett termék keletkezéséhez vezet. Így pl. T3 jelzése esetén homogén izotópcserére útján jelzett T3, míg elektrofil szubsztitúció révén jelzett tiroxin keletkezik. E két termék mellett még számosnak kell a klóramin T oxidáló hatása útján keletkező 3,3',5'-L-trijód-tironin (RT3), monojód-tirozin (MJT) és dijód-tirozin (DJT) megjelenésével is. Analitikai cérra alkalmas tisztaságú jelzett T3 és T4 előállításának így elkerülhetetlenül tartalmazni kell olyan elválasztási eljárást, amely alkalmas az 1. ábrán feltüntetett termékek elkülönítésére. E feladathoz járul még a jelzés során szerves kötésekbe be nem épült radiojód elválasztása is. Az erre alkalmas eljárás kiválasztásánál figyelembe kell venni, hogy az esetek zömében  $\mu\text{g}$ -nyi anyagmennyiségek elválasztását kell megvalósítani, s hogy a T3 és T4 fémnyomok, oxidáló anyagok nyomai stb. hatására egy vagy több jódatom leadása mellett bomlik.



1. ábra  
T3 radiojóddal és klóramin T módszerrel történő jelzésekkel keletkező termékek

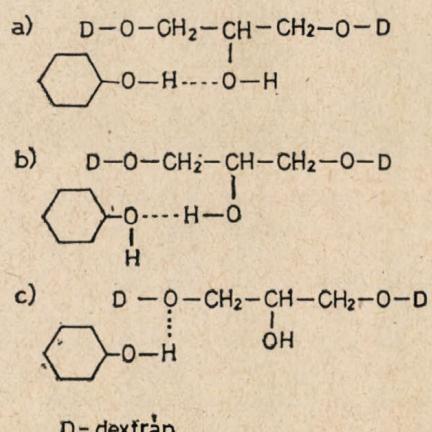
Az 1. ábrán feltüntetett termékek az aromás mag szubsztituensei szempontjából *o*-jód-, illetve *o,o'*-dijód-fenolszármazékok. E tekintetben szembetűnő a hasonlatosság a peptidek radiojód-dal történő jelzése során jelentkező elválasztási feladathoz; klóramin T módszerrel történő jelzés

<sup>1</sup> F. C. Greenwood, W. M. Hunter, Biochem. J. 89. 114. 1962.

<sup>2</sup> Patel, K. B. Desai, M. N. Mehta, K. J. Glenn: JARI 25. 421. 1974.

során a peptid tirozinmolekulája jelződik radiojóddal oly módon, hogy egyidejűleg a tirozinmolekula fenolos hidroxilcsoportjához képest *o*-jód- és *o,o'*-dijód-tirozinszármazék keletkezik. Így a peptidbe be nem épült radiojódon kívül három komponenst kell elválasztani: a radiojódöt nem tartalmazó peptidet, valamint annak a monojód-tirozin- és dijód-tirozinszármazékát.

Fenolszármazékok adszorpciós kromatográfiás elválasztására adszorbensként eredményesen alkalmazható a Sephadex gél\*, amelynek előnyös tulajdonságai közül elsősorban az emelendő ki, hogy rajta aromás és heterociklikus vegyületek adszorpciója reverzibilis s az adszorpciós izoterma lineáris<sup>3</sup>. Amíg aromás vegyületek adszorpciója Sephadex gélen az aromás mag  $\pi$  elektronrendszere és a gél közötti kölcsönhatás eredménye<sup>3, 4</sup>, addig fenolszármazékok adszorpciójánál a fenolos hidroxil és a gél hidroxil-propil csoportja között az alábbi lehetőségek valamelyike szerint kialakuló hidrogénkötés játszik jelentősebb szerepet<sup>5</sup>:



Halogén-fenol-származékok adszorpciójákor minden valószínűség szerint az említett két kölcsönhatásforma mellett még jelentősebb a halogénatomok és a gél közötti kölcsönhatás<sup>5, 6</sup>. Ez különösen szemléletesen tünik ki akkor, ha a tirozin, mono-, di- és trijód-tironin, valamint tiroxin elúciós térfogatát ( $V_e$ ), illetve az ebből számított  $K_{av}$  volumetrikkus megoszlási hányadost — egyébként azonos kísérleti körülményeket feltételezve — a jódatomok számának függvényében tüntetjük fel<sup>6</sup>. Ez esetben mind az elúciós térfogat, mind pedig  $K_{av}$  értéke a jódatomok számának növekedésével növekszik.

\* A Sephadex a Pharmacia cég által forgalmazott térfázisított dextrán gél.

<sup>3</sup> B. Gelotte: J. Chromatogr. 3. 330. 1960.

<sup>4</sup> C. A. Streuli: J. Chromatogr. 56. 219. 1971.

<sup>5</sup> A. J. W. Brook, K. C. Munday: J. Chromatogr. 47. 1. 1970.

<sup>6</sup> F. Blasi, R. V. De Masi: J. Chromatogr. 28. 33. 1967.

Fenolszármazékok kromatográfiás elválasztása így akkor is megvalósítható, ha az elválasztandó komponensek csak a jódatomok számában küllönböznek egymástól. Ilyen feladat nem csupán T3 és T4 elválasztásánál merül fel, hanem radiojóddal jelzett peptidhormonok esetében is, ahol a jelzetlenül maradt peptid, valamint annak mono- és dijódszármazéka választandó el egymástól.

Jelentősen bonyolítja azonban az elválasztás tervezését az a körülmény, hogy egyrészt az elválasztás megvalósíthatóságára jellemző  $K_{av}$  volumetrikus megoszlási hánnyados, másrészt pedig az elválasztandó jódatomok száma, illetve az elválasztáshoz alkalmazott eluens összetétele közötti kapcsolatra vonatkozóan csak gyér számú adat, illetve összefüggés ismeretes.

Aromás fenol-, anilin- és benzoéaveszármarazékok esetében a Hammett összefüggés alapján kielégítő közelítéssel számítható  $K_{av}$ , ha ismeretes az ún. reakciókonstans ( $\varrho$ ) és szubsztituenskonstans ( $\sigma$ ) értéke<sup>5, 7, 8</sup>:

$$\lg \frac{K_{av}}{K_{av}^0} = \sigma \cdot \varrho$$

ahol  $K_{av}^0$  a benzoéaveszármarazékok volumetrikus megoszlási hánnyadosa.

A halogénatomot nem tartalmazó benzol-, fenol- és anilinszármazékok esetében a kísérleti eredmények jó közelítéssel kielégítik az (1) egyenletet, bróm-, klór- és jódatomot tartalmazó komponensek esetében azonban  $K_{av}$  minden esetben nagyobb a számított értéknél, ami a halogénatomok és a gél közötti kölcsönhatás jelentős voltára mutat.

Gyakorlatilag a Hammett összefüggés az egyedüli, amelynek segítségével valamely benzol-fenol-, illetve anilinszármazék adszorpciós kromatográfiás elválasztása elvileg tervezhető lenne. A Hammett összefüggés felhasználhatóságát korlátozza azonban az, hogy a reakciókonstans és szubsztituenskonstans sok esetben csak bizonyos önkényességgel adható meg, valamint az is, hogy nem ad felvilágosítást a  $K_{av}$  és az eluens összetétele közötti kapcsolatra vonatkozóan.

Jelen munka célját éppen ilyen jellegű összefüggés felállítása képezi. T3 és T4 esetében vizsgáltuk a megoszlási hánnyados ( $D$ ) és az elúcióhoz alkalmazott szerves oldószerek koncentrációja ( $S$ ) közötti összefüggést. Adsorbensként szerves oldószerekben is duzzadt LH-20 Sephadexet alkalmaztunk. A volumetrikus megoszlási hánnyados és az eluens koncentrációja között kísérletileg meghatározott összefüggéshez elméleti úton is eljutottunk.

### Kísérleti rész

#### Kromatografáló oszlop

10 mm átmérőjű és 150–180 mm hosszú, az alsó végén üvegszűrővel ellátott üvegesövet előzetesen 12–24 óráig duzzasztott Sephadex LH-20 géllel töltöttünk meg úgy, hogy ülepítés után a géloszlop magassága 100 mm legyen.

<sup>7</sup> L. P. Hammett: J. Amer. Chem. Soc. 59. 96. 1937.  
<sup>8</sup> H. H. Jaffe: Chem. Rev. 53. 191. 1953.

<sup>9</sup> A. J. W. Brook, S. Housley: J. Chromatogr. 41. 200. 1969.

Az oszlopra jellemző  $V_m$  és  $V_t - V_m$  értékeket, azaz a mozgófázis térfogatát és a gélmátrix térfogatát a 100 mm magas töltet duzzadt és száraz állapotban mért tömegének összevetése útján határoztuk meg. Az így kapott értékek jól egyeztek a gél vízfelvételére képessége alapján számítottakkal.

Az oszloból kifolyó eluent frakciószerű közelítőleg 1 cm<sup>3</sup>-es frakciókban fogtuk fel. A I-131-gyel jelzett T3-at, illetve T4-et tartalmazó vizes oldat 0,1–0,5 cm<sup>3</sup>-ét a szokásos módon rétegeztük a géloszlopra, ügyelve arra, hogy a művelet közben a gél ne keveredjék fel. Az elúció sebességét 25–30 cm<sup>3</sup>/óra értékre állítottuk be.

Az oszlopra felvitt T3 és T4 mennyisége esetenként 1–50 µg között változott. Ezen értékek között az oszlopra felvitt T3 és/vagy T4 mennyisége nem befolyásolta kimutathatóan a retenciós térfogat értékét.

#### Aktivitásmérés

Az egyes frakciók radioaktivitását NK-350 típusú scalerrel összekapcsolt, üreges NaI(Tl) szcintillációs krisztályban határoztuk meg.

#### I-131-gyel jelzett T3 és T4

Koch-Light gyártmányú 3,3'-5-L-trijód-tironint és L-tiroxint jelezünk I-131-gyel a kloramin-T módszer alkalmazásával<sup>2</sup>. Jelzés után a reakciókeveréket 80–100 mm magas és 20–25 mm átmérőjű, Sephadex G-25 géllel töltött oszlopra vittük, amelyről az egyes komponenseket foszfátpufferrel (pH = 7,4) elúáltuk. Az elúatumnak a T3-at és T4-et tartalmazó részleteit használtuk fel a továbbiakban.

#### Eluensek

Eluensként az alábbi szolvensek vizes oldatát használtuk: metilalkohol, etilalkohol, aceton, tetrahidrofurán. A T3 és T4 fenolos OH csoportja disszociációjának visszasorítása s ezáltal az anionként a gélből történő kizáradás elkerülése céljából az eluens pH-ját citrát puferral pH = 4 értékre állítottuk be, ügyelve arra, hogy az eluens elektrolit-koncentrációja minden esetben azonos legyen.

#### Megoszlási hánnyados

Az elúciós görbékkel leolvasott elúciós térfogat ( $V_e$ ), az oszlop teljes térfogata ( $V_t$ ) és a mozgófázis térfogata ( $V_m$ ) ismeretében a megoszlási hánnyadost az adszorpciós kromatográfiában használatos

$$D = \frac{c_a}{c_m} = \frac{V_e - V_m}{V_t - V_m} \quad (2)$$

összefüggéssel számítottuk.

A megoszlási hánnyados (2) egyenlet szerinti definíciója természetesen csak olyan esetekben alkalmazható, amikor az adsorbens az elválasztandó komponensekre nézve nem játszik molekulászita szerepet, vagyis az elválasztandó komponensek részére a folyadékfázis teljes térfogata hozzáférhető. Ellenkező esetben a gélkromatográfia esetével alkunk szemben, amelyre a megoszlási hánnyadosnak a (3) egyenlet által definiált alakja alkalmazható:

$$K_{av} = \frac{V_e - V_0}{V_t - V_0} \quad (3)$$

amelyben  $V_e$  és  $V_t$  jelentése ugyanaz, mint a (2) egyenletben,  $V_0$  pedig a gélszemcséken kívül elhelyezkedő folyadékfázis térfogatát, az ún. holttérfogatot jelenti.

Mivel a Sephadex dextrán gélek, így az LH-20 is a gélkromatográfiában alkalmazott, molekulászitaként működő töltetek, szükségesnek látszik foglalkozni azzal a kérdéssel, hogy mennyiben jogosult az adszorpciós kromatográfiában használatos, (2) egyenettel definiált megoszlási hánnyados alkalmazása  $K_{av}$  helyett. Az eredeti definíció szerint gélkromatográfiás elválasztásoknál  $K_{av} 0$  és 1 között bármely értéket felvehet;  $K_{av} = 1$  a teljes kizáradás esetekor lép fel, a  $K_{av} = 0$  eset pedig olyankor áll elő, amikor az adott komponens akadály nélkül hatolhat be a gélszemcsék belséjében helyet foglaló folyadékfázisba.

## 1. táblázat

T3 és T4-re a (2) egyenlet szerint számított D értékek. (Kísérleti feltételek:  $V_t = 7 \text{ cm}^3$ ,  $V_m = 5,9 \text{ cm}^3$ ,  $V_t - V_m = 1,1 \text{ cm}^3$ , hőmérséklet:  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ )

Tér fogat %	Metanol		Etanol		Aceton		THF	
	$\frac{\text{mól}}{\text{dm}^3}$	D	$\frac{\text{mól}}{\text{dm}^3}$	D	$\frac{\text{mól}}{\text{dm}^3}$	D	$\frac{\text{mól}}{\text{dm}^3}$	D
10	2,5		1,7	750	1,4		1,3	165 280
20	4,9	296 550	3,4	146	2,8	46 140	2,5	31 36
30	7,4	134 240	5,0	51 78	4,2	17 38	3,8	8 12
40	9,8	56 82	6,7	22,5	5,6	6 11	5,0	
50	12,4	30 42	8,4	10	6,9	3 5	6,3	
60	14,8	11,5 18	10	5,2	8,2	2,6 2,6	7,5	1,3 1,3
70	17,2	8 9	11,8	2,8 8	9,8		8,8	
80	19,6		13,5		11,0		10,0	

\* Megjegyzés: Az egyes négyzetek bal felső sarkában a T3-ra, a jobb alsó sarokban pedig a T4-re vonatkozó D értékek állnak.

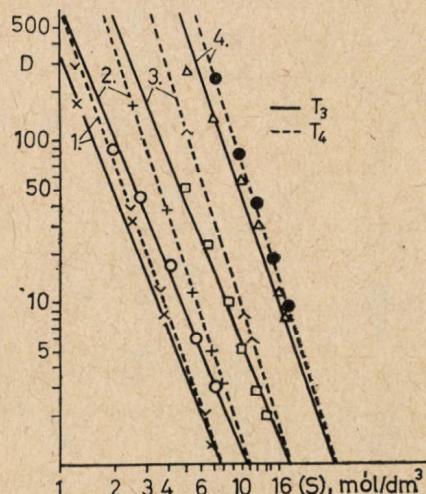
Gyakran előfordul, hogy az elválasztandó komponensek a gélen adszorbeálódnak, s rájuk nézve a gél egyidejűleg a molekulászita szerepét is betölti. Ilyen esetekben a megoszlási hányados kifejezésére a (2) és (3) egyenlet összevont alakját kellene használnunk, amelyben a mozgófázis térfogataként a folyadékfázisnak az adott komponens által hozzáférhető hányada szerepelne.

Annak igazolására, hogy esetünkben, amikor is az elválasztandó komponensek (T3 és T4) molekulászula 650 és 777, az LH-20 gél molekulászita hatása nem játszik szerepet, s jogvalosan használhatjuk az adszorpciós kromatográfiában megszokott, a (2) egyenlettel definiált megoszlási hányadost megemlíttük, hogy olyan nagy eluens koncentrációknál (60–70 térfogatszázelék), amelyeknél a T3 és T4 adszorpciója már elhanyagolhatóan kis mértékű, az elúciós térfogatok jó közelítéssel  $V_m$ -mel, azaz az oszlophan jelenlevő folyadékfázis térfogatával, s nem  $V_0$ -val, az ún. holtérfogattal egyeznek meg. Ez egyúttal azt is jelenti, hogy a T3 és T4 esetében az LH-20 gélen bekövetkező molekulakizáródás mértéke is elhanyagolhatóan csekély.

## Kísérleti eredmények

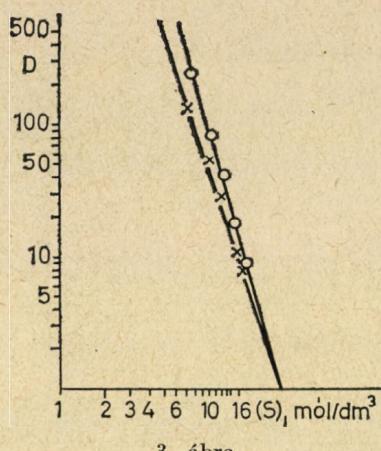
A metanol, etanol, aceton és tetrahidrofurán (THF) eluensek esetében mért elúciós görbékkel számított D értékeket T3-ra és T4-re az 1. táblázat mutatja be. A táblázatban feltüntetett volumetrikus megoszlási hányadosok logaritmusának a szolvenskoncentráció logaritmusától való függését a négy eluensre vonatkozóan a 2. ábra szemlélteti, a 3. ábrán ugyanezen összefüggést tüntet-

tük fel metanol eluens esetére s T3—T4-re vonatkozóan.



2. ábra  
A T3-ra és T4-re vonatkozó  $\lg D$  vs.  $\lg (S)$  összefüggések.  
Eluensek: 1. tetrahidrofurán, 2. aceton, 3. etanol, 4. metanol

A  $\lg D$  vs.  $\lg (S)$  összefüggések a 2–3. ábrán bemutatott esetekben igen jó közelítéssel lineárisak.



A metanol eluens esetében a T3-ra (x-x) és T4-re (o-o) kapott  $\lg D$  vs.  $\lg(S)$  összefüggések

### A kísérleti eredmények értékelése

A kísérleti eredmények értékelését célszerűnek látjuk két részre bontani azért, hogy az a megoszlási hányados és az eluens koncentrációja közötti kapcsolattal foglalkozik, vagy pedig a radiojóddal jelzett T3 és T4 elválasztásának gyakorlati megvalósításával kapcsolatos.

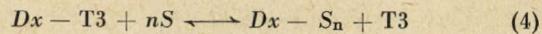
#### a) A megoszlási hányados ( $D$ ) és az eluens koncentrációja ( $S$ ) közötti kapcsolat értelmezése

A dextrángél és a T3-T4 között kialakuló kölcsönhatás részben a T3-T4 aromás magjának, részben a fenolos hidroxilnak, részben pedig az aromás magon elhelyezkedő jódatomoknak tulajdonítható. Jóllehet aromás vegyületek  $\pi$  elektronszerkezete és a dextrángél között csak nem minden esetben fellép kölcsönhatás, ennek gyenge voltára mutat azonban az, hogy  $K_{av}$  aromás vegyületek esetében alig haladja meg az egységet<sup>7, 11</sup>. Szubsztituált fenolok, anilinek és benzoésvák esetében, valamint halogeno-fenolszármazékoknál  $K_{av}$  rendszerint eléri vagy meghaladja a 20–30-at, ami a hidrogénhídiktés és a halogén-gél kölcsönhatás jelentős mértékére utal<sup>5, 8</sup>.

Aromás vegyületek dextrángélen bekövetkező adszorpciójára vonatkozó kísérleti adatok csak elvétve állnak rendelkezésre, közvetett úton azonban kimutatható, hogy az adszorpció reverzibilis s az adszorpciós izotermája lineáris. Saját mérési eredményeink is arra mutatnak, hogy a T3 és T4 adszorpciója dextrángélen reverzibilis és az adszorpciós izotermája lineáris<sup>10</sup>.

Reverzibilis és lineáris izotermával leírható adszorpció esetén a megoszlási hanyados független az adszorbeált mennyiségtől. Amennyiben az eluensként alkalmazott szolvens adszorpciójára a reverzibilitás és a lineáris izotermá feltételei ugyancsak fennállnak, az elúciót a kompetitív

adszorpció olyan esetének tekinthetjük, amelyre alkalmazható a tömeghatás törvénye:



ahol  $Dx - T3$  a dextrángélen adszorbeált T3-at,  $S$  az elúcióhoz alkalmazott szolvenst jelenti,  $Dx - S$  pedig a dextrángélen adszorbeált szolvenst. A (4) folyamat egyensúlyi állandója

$$K = -\frac{[Dx - S_n] \cdot [T3]}{[Dx - T3] \cdot [S]^n} \quad (5)$$

amelyből a T3 és/vagy T4 adszorbens és oldat közötti megoszlásának állandójára a következő összefüggés adódik:

$$\lg D = -\lg K + \lg(Dx - S_n) - n \cdot \lg(S) \quad (6)$$

azaz — a kísérleti eredményekkel egyezően —  $\lg D$  lineáris függvénye  $n \cdot \lg(S)$ -nek.

Mivel  $(Dx - S_n)$ , azaz az adszorbeált szolvens felületi koncentrációjának változása nagyobb szolvenskoncentrációjánál elhanyagolható, maga a  $(Dx - S_n)$  tag bevonható egy állandóba, amelyet célszerűen az egységnyi szolvenskoncentrációhoz tartozó  $D^0$  megoszlási hanyadosnak tekinthetünk:<sup>\*</sup>

$$\lg D = \lg D^0 - n \cdot \lg(S) \quad (7)$$

A (7) egyenlet lehetőséget nyújt arra, hogy  $D^0$  és  $n$  ismeretében  $D$  értékét tetszőleges szolvenskoncentrációra számoljuk, valamint arra, hogy több elválasztandó komponens esetében megkapjuk azt a szolvenskoncentrációt, amelynél az elválasztás megvalósítható.

A (7) egyenlettel kapesolatban meg kell jelezni, hogy  $D^0$  értéke, azaz az elúcióhoz használt szolvens elúcióképessége a  $\text{THF} > \text{aceton} > > \text{etanol} > \text{metanol}$  sorrendben csökken, ugyanakkor azonban a  $\lg D$  vs.  $\lg(S)$  egyenesek iránytangense, azaz  $n$  értéke, közel azonos. Ez azt látzik bizonyítani, hogy az elúció során kialakuló  $(Dx - S_n)$  adszorpció komplexum sztöchiometriailag mind a négy szolvens esetében közel azonos, azaz a dextrán/szolvens molarának gyakorlatilag független a szolvens minőségétől.  $D^0$  fizikai jelentésének megnyugtató tisztázásához minden esetre további kísérletek szükségesek.

#### b) A T3 és T4 kromatográfiás elválasztásának optimalizálása

Két komponens kromatográfiás elválaszthatósága egyrészt a retenciós térfogatok ( $V_e$ ) különbsége, másrészről pedig az elúciós csúcsok alapszélessége alapján ítéltethető meg

$$R_s = \frac{V_e^{(2)} - V_e^{(1)}}{4 \sigma} \quad (8)$$

ahol  $R_s$  a felbontóképességet,  $V_e$  az elúciós térfogatot,  $\sigma$  pedig az elúciós csúcsot leíró Gauss-görbe standard deviációját jelenti. Kimutatható,

\* Ahelyett, hogy a  $(Dx - S_n)$  tag változása elhanyagolásának jogosságát bizonyítanánk, utalunk a kelátképződésen alapuló extrakció tartalmilag analóg egyenletére.

<sup>9</sup> C. J. O. R. Morris, P. Morris: Separation Methods in Biochemistry. Pitman, London, 1964.

<sup>10</sup> Nem közolt adatok.

<sup>11</sup> C. A. Streuli: J. Chromatogr. 56, 225, 1971.

hogy  $R_s$  az elválasztandó komponensek megoszlási hánnyadosaival s a kromatografáló oszlop effektív tányérszámával ( $N_{eff}$ ) az alábbi módon is kifejezhető:

$$R_s = \frac{1}{4} \left[ \frac{D_2}{D_1} - 1 \right] \cdot \sqrt{N_{eff}} \quad (9)$$

A (9) egyenletben a  $D_2/D_1$  tört a szelektivitással kapcsolatos, míg az effektív tányérszám magában foglalja az ún. kapacitástényezőt is.

A (7) egyenlet szerint a  $D_2/D_1$  hánnyados a szolvenskoncentrációtól a

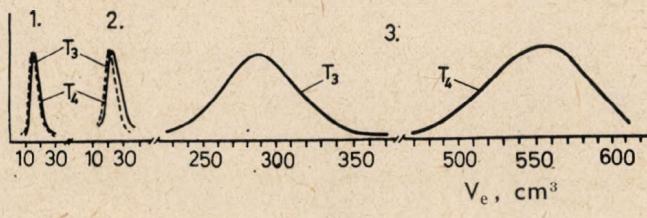
$$\frac{D_2}{D_1} = \frac{D_2^0}{D_1^0} \cdot (S)^{n_1-n_2} \quad (10)$$

egyenlet szerint függ. Behelyettesítve a  $D_2/D_1$  hánnyadost a felbontóképesség (9) egyenletébe,  $R_s$ -re a következő összefüggés adódik:

$$R_s = \left[ \frac{D_2^0}{D_1^0} (S)^{n_1-n_2} - 1 \right] \cdot \sqrt{N_{eff}} \quad (11)$$

Mivel a (10) egyenletben  $n_2 > n_1$ ,  $R_s$  értéke tehát ( $S$ ) csökkenésével növekszik.

A felbontóképesség függését az eluens koncentrációjától a 4. ábrán bemutatott elúciós gör-



4. ábra

A T3-T4 elúciós görbék 1:70%-os, 2:60%-os, 3:20%-os metanol eluens alkalmazása esetén

(Megjegyzés: Az 1–2 elúciós görbék a T3 és T4 elúciós maximumának közelsége miatt kettős nyomjelzéssel határozuk meg; az egyes frakciókban kétesztornás analizátor segítségével egyidejűleg mértük a I-125-T3 és I-131-T4 aktivitását.)

bék szemléltetik. Amíg 70 és 60%-os metanol eluens esetében az elúciós csúcsok csaknem fedik egymást, addig 20%-os metanol eluens alkalmasánál  $R_s$  jelentősen nagyobb az egységnél.

Véleményünk szerint a felbontóképesség növelése sokkal előnyösebben valósítható meg az eluens koncentrációjának megfelelő megválasztásával, mint az eluens pH-jának optimalizálásával; a megoszlási hánnyadosok pH-függése ugyanis csak az elválasztandó sav vagy bázis pK értéke közelében számottevő, az eluens koncentrációjának

változtatása ezzel szemben igen nagy koncentráció-intervallumban a megoszlási hánnyados változását idézi elő.

### Összefoglalás

Radiojóddal jelzett 3,3,5-L-trijód-tironin és tiroxin kromatográfiás elválasztását valósítottuk meg Sephadex LH-20 géllel töltött oszlopon. Megállapítottuk, hogy — egyébként azonos kísérleti feltételek mellett — az elúciós térfogatok az eluens-ként használt szerves oldószerek koncentrációjának növekedésével csökkennek; az elúciós térfogatokból számított megoszlási hánnyadosok logaritmusa az eluens-koncentráció logaritmusának a (7) egyenlet szerinti lineáris függvénye. A lineáris  $\lg D$  vs.  $\lg (S)$  összefüggéshez elméleti úton is eljutottunk lineáris izoterma és reverzibilis adszorpció feltételezése mellett.

### On the adsorption chromatographic separation of radioiodine labelled triiodothyronine and thyroxine. G. Tóth

The chromatographic behaviour of radio-iodine labelled T3 and T4 was investigated using Sephadex LH-20 as adsorbent and aqueous solution of organic solvents (methanol, ethanol, acetone and tetrahydrofuran) as eluents. The dependence of the distribution coefficient ( $D$ ) on the organic solvent concentration of the eluent ( $S$ ) obeys the equation

$$\lg D = \lg D^0 - n \cdot \lg (S) \quad (7)$$

where  $D$  stands for the distribution coefficient,  $D^0$  for the distribution coefficient at 1 mole/dm<sup>3</sup> eluent concentration and ( $S$ ) for the eluent concentration. Eq. 7 can be obtained by formulating the elution as a reversible reaction,



expressing the equilibrium constant

$$K = \frac{[Dx-S_n] \cdot [T3]}{[Dx-T3] \cdot [S]^n}$$

and neglecting the change of the term  $[Dx - S_n]$ .

Eq. 7 can be used over a wide range of eluent concentration to calculate either the resolution at a given concentration or the concentration at which complete separation occurs.

Budapest, MTA Izotóp Intézet.  
Érkezett: 1976. IX. 10.