

放射性 醫藥品 合成方式에 關한 研究

—第1報—

原子力研究所 化學研究室

金 裕 善 · 金 純 玉 · 金 鍾 斗

=Abstract=

Preparation of Radiopharmaceuticals-(1)*

You Sun Kim, Soonok Kim, Chong Doo Kim

Chemistry Division, Atomic Energy Research Institute

The iodine containing radiopharmaceuticals, Hippuran, L-Thyroxine, Triiodothyronine, Rose Bengal, RISA, MAA, Triolein, Oleic acid and sterilized iodide solution were prepared. The labelling yield was av. 100—70%. The exchange method, iodination method, and chloramine-T procedure for a low temperature iodination were adopted as the preparative procedures. The preparative procedures and pyrogen free test of products were described and the distribution activity of the products in this institute was reported.

概 要

¹³¹I 및 ¹²⁵I 를 含有하는 Hippuran, L-Thyroxine, Triiodothyronine, Rose Bengal, RISA, MAA, Triolein, Oleic acid 및 注射用 沃素液의 合成方式과 ²⁰³Hg 을 含有하는 Neohydrine 의 合成方式을 各各 研究하여 標識收率 100~60%의 좋은 結果를 얻었다. 合成方式에서는 交換法, 沃化法을 使用하였고 特히 Chloramin-T 를 利用한 低溫 沃化反應을 利用하였다.

合成品の 製劑法 및 pyrogen free 試驗結果를 記述하였으며 當研究所에서의 製品分配 狀況을 報告하였다.

序 論

韓國內 醫學界에서 使用되어온 放射性醫藥品은 大部分 外來品이며 國內에서 生産되는것이 없어 이에對한 對策으로서 先進國家의 各 Maker 의 procedure 및 特別 合成法을 擇하여 可及的이면 國內에서 製造 分配하여 보고자 하였다.

*Presented at the 8th annual meeting of the peaceful use of atomic energy in Korea. Nov. 1966. Seoul, Korea

今次 擇한 化合物의 種別은 現在까지 國內 各 醫療機關 및 大學, 研究所 등에서 使用하여 오던것을²⁾ 取하고 核種으로는 長期貯藏이나 外註가 不便한 ¹³¹I, ¹²⁵I 및 ²⁰³Hg을 擇하였다.

使用한 放射性同位元素는 外國水準에 맞는 醫藥品으로서의 標準純度を 維持하기 위하여 佛國 原子力研究所 製 ¹³¹I, 美國 Oak Ridge 研究所製 ¹²⁵I, ²⁰³Hg 을 各各 使用하여 보고자 하였다. 製品의 製劑法으로서는 美國 Abbot 會社의 製法에서 쓰이는 方式¹⁾을 大部分 取하였으며 製品의 pyrogen free test 는 國立保健院에 依賴하여 實施하고자 하였다. 製品의 生物學的 및 臨床實驗은 放射線醫學研究所 및 서울大學病院에서 各各 實施하고자 하였다.

醫藥品의 合成方式으로서는 文獻¹⁾에서 記載된것 및 各 會社固有의 方式을 擇하고자 하였으나 合成試藥이나 施設上 國內 事情에 맞지 않는점을 맞도록 變換하여 國內 方式으로서 適合한 方式을 開發하고자 하였다.

製品分配에 關하여서는 一定期間 開發期間을 設置하여 品質이 均一化 될때까지는 研究段階로하고 그다음에 藥事法規를 制定하고 一般에게 供給을 開始하고자 하였다. 本報에서는 主로 國內方式으로서 適合한 合成方式,

製劑品の pyrogen free test 및 臨床實驗用 試製品 分配 結果에 對하여 報告하여 將次 國內普及에 寄與하고자 하였다.

實 驗

1) 交換活化反應

沃素를 含有한 「아미노酸」 또는 沃度化合物 10~20 mg 을 秤量하고 5~10 ml 의 水溶液을 만든다음 KI 溶液 (mg/ml) 1~2 ml, ^{131}I (carrier free) 을 加하고 pH*를 調節한 다음 還流冷却器를 附하고 砂浴上에서 100°C 以下 또는 그 以上の 溫度에서 還流시킨다. 加熱時間은 12時間 以上한다.

反應物의 pH를 調節하여 化合物을 析出시키고 遠心 分離後 이것을 물로 數回 洗滌한다음 다시 遠心分離하고 析出物을 pH 8.0 以上으로 調節한다음 所定의 容量으로 水溶液을 만든다. 5% benzyl alcohol 1 滴을 加한 다음 Millipher filter (0.22 μ)로 1次 여과하고 低溫滅菌消毒한다.

製品中の 放射化度를 計數하고 反應에 使用한 ^{131}I 의 放射化度와 比較하여 標識收率을 定한다.

2) 沃化法

沃素나 其他 「하로젠」을 含有치않은 「아미노」酸鹽 또는 有機化合物 10~50 mg 을 秤量하고 水溶液 또는 水溶性溶媒(例 tert-butanol)에 溶解하여 一定容量의 溶液을 만들고 pH를 調節한 다음 따로 만들어놓은 沃素試藥을 加하여 低溫에서 沃化시킨다. 生成物을 析出시키고 水洗 再結晶한 다음 一定容量으로 水溶液을 만들고 Millipher filter (0.22 μ)로 1次 여과한 다음 低溫滅菌한다. 沃化物中の 放射化度를 計數하여 標識收率을 定한다.

a) 沃素化試藥

KI(mg/ml) 1~2 ml 에 ^{131}I (carrier free) 을 加하고 pH를 7.0 으로 調節한 다음 砂浴上에서 蒸發乾涸하여 둔다. 여기다 물 4 ml 을 加하고 0.1N-H₂SO₄ 1 滴을 加하여 沃素를 發生시킨 다음 5 ml 의 t-butanol 을 加하여 表面을 被覆하여 둔다. 이 試藥은 製造 即時로 沃化反應에 使用한다.

b) ICl 沃化試藥

KI(mg/ml), ^{131}I 을 適量水溶液으로 만들고 여기에 H₂O₂(30%), 稀黃酸, 「모리부렌암모니움」溶液을 加하여 KI₃溶液을 만든 다음에 이것을 benzene 으로 抽出하여 沃素의 benzene 溶液을 만들고 여기다 當量의 ICl 을 加하여 I*Cl 溶液을 만든다. 이것을 冷暗所에 貯藏하였다가 沃化反應에 利用한다.

*pH는 各 化合物의 標識位置에 따라 適宜調節함.

3) Chloramin-T 法^{3,4)}

20~50 mg 의 蛋白質化合物을 5% NaCl 水溶液에 녹여 溶液을 만들고 KI(mg/ml), ^{131}I 을 各各 必要量 첨가한 다음 5% Na₂CO₃溶液으로 pH 9.0 으로 調節한다. 여기에 chloramin-T 溶液(28.2 mg/l)을 適量 소량씩 5 分間 간격으로 加한다. 이때 chloramin-T 溶液의 量은 化合物과의 當量비가 2:1 以上이 되도록 調節한다. Chloramin-T 溶液 첨가 中에는 反應液을 攪拌하고 溫度는 25~30°C 로 維持한다. 反應終結後 反應物의 成分內容을 paper partition chromatography(75% methanol 展開 溶媒)로 檢討하고 dialysis 또는 anion 交換樹脂를 利用하여 未反應物質과 excess 의 chloramin-T 를 除去한다. 精製된 溶液을 再次 paper partition chromatography 로 純度檢査를 한다. millipher filter (1.2 μ)로 여과하고 低溫滅菌한 다음 放射化度를 計測하여 標識收率을 定한다.

4) ^{203}Hg -Neohydrine 合成

Roward et al⁵⁾의 合成方式을 若干 變更하여 行하였다.

Hg(NO₃)₂ (0.0022 mole)을 ^{203}Hg (NO₃)₂와 함께 混合하여 水溶液을 만들고 여기에 0.1N-NaOH 를 加하여 pH9~10 이 되게하여 Hg(OH)₂의 赤色沈澱을 析出시키고 이것을 glass filter 에서 여과하고 1次 H₂O 로 washing 한 다음 乾燥한다. 여기에 水酢酸(0.0044 mole)을 加하여 加熱 白色 Hg(OAC)₂를 析出시키고 食酢酸無水物(0.25 ml)을 가한다.

methanol 3 ml 를 加하여 加溫溶液을 만들고 溫溶液 狀態로 反應에 利用한다.

三口 flask(50 ml)에 冷却器, 滴下 깔대기를 裝置하고 allyl urea(0.0022 ml)를 methanol 2.5 cc 에 溶解시켜 加하고 砂浴上에서 加熱하여 reflux 시킨다. 滴下 깔대기를 거쳐서 Hg(OAC)₂ 溫溶液을 徐徐히 加하고 繼續 6 時間 還流시킨다. 反應終結後 反應液을 氷冷하면서 當量의 NaCl 溶液을 加하여 白色 沈澱을 析出시킨다. 沈澱을 溫 ethanol 로부터 再結晶하고 遠心分離한 다음 pH 8.0 으로 調節하여 水溶液을 만든다.

放射化度를 計數하여 標識收率을 定한다.

5) Pyrogen free test

醫藥品으로 調製, 消毒 및 殺菌한 것을 藥品의 濃度가 放射性醫藥品 通常 投與量의 2 倍가 되도록하고 그 一定量(0.2~1 cc)을 1.5 kg 體重의 家兎**한테 靜脈投與한 다음 直腸溫度計로 體溫上昇을 測定하여 0.6°C 以下

**國立保健院에서 施行하였으며 家兎는 2週間 一定한 條件下에서 飼育한 平衡體溫兎를 使用함.

의 體溫變化를 正常으로 한다. 每 藥品마다 3 마리씩의 家兔에 施行하여 그 成績을 綜合評價한다.

6) 臨床檢査

製劑包裝한 醫藥品은 原子力院, 放射線醫學研究所 同位元素室, 서울大學病院 同位元素室에 各各 送付하여 各 品目的 臨床試驗을 行하였다.

患者事情에 따라서 今期中엔 首都陸軍病院, 聖母病院 等에서도 一部檢査를 行하였다.

成績 및 考按

各 醫藥品의 合成條件 및 合成收率을 表示하면 Table 1 과 같다. 合成收率은 放射化收率을 表示한 것이며 表에서 보듯이 대체로 100~70%의 좋은 結果를 보여주었으나 L-thyroxine 및 triiodothyronine, neohydrine 에서는 50~60%의 낮은 收率을 보여주었다. 著者が 使用한 合成方式은 從來의 Abbot 社法¹⁾을 土臺로하여 소량 合成에 適合한 方式으로 變更한 것이었든바 沃化反應에서는 一般적으로 收率이 높았었다. 著者の 考案으로 變更된 部分은 擔體量, 合成反應方式 및 pH 등이었다. 製品의 化學的純度는 主로 paper partition chromatography 에 依하여 檢査하였다.

最近 報告된 바에 依한다면⁶⁾ 製品純度檢査에 各種 溶媒系를 組合하여 不純物 分離能을 증가시키는 것이 研究되고 있으나 著者が 行한 研究에서는 一般方式⁷⁾을 使用하였으며 純度檢定에 큰 支障이 없었다.

醫藥品으로 製劑하는 過程은 Table 2에서 表示한 것을 使用하였으나 이것은 化合物의 種類와 實驗室 事情에 依하여 相異한 것이므로 여기 記載된 것이 標準이라고는 할 수 없다. 그러나 著者の 經驗에 依한다면 pyrogen free 製品을 얻는데 도움이 되었으며 이러한 과정을 밟아 製劑한 것은 全體實驗을 通하여 여러 lot에서 pyrogen 또는 臨床上的 副作用을 이르지 않았었다. 合成方式에 있어서 製品을 macroaggregate 하는 段階에서는 文獻^{7,8)}의 方式을 따랐던 바 이 操作이 容易치 않고 操作條件에 따라 製品品質에 差異가 있었고 臨床實驗에서도 體內分布가 均一치 못하였다. 이點에 關하여서는 앞으로 研究를 繼續하여 均一한 臨床結果를 얻으려고 한다. 蛋白質系 化合物 및 特히 低溫에서 分解되기 쉬운 化合物의 合成에서는 從來方式을 바꾸어 chloramin-T 法^{3,4)}을 利用하였다. 이 試藥을 使用하는 沃化反應에 關하여서는 그 詳細한 內容을 따로 發表할 것이지만⁴⁾

合成收率이 높았고 製品을 長期貯藏하여도 製品內的 脫沃素反應이 크지 않았으므로 優秀한 方式으로 生覺된다.

製劑된 製品의 臨床檢査에 있어서는 pyrogen free test를 하지 않은것을 그냥 分配하여 動物檢査, 人體投與試驗 等을 施行케 하였으나 大體的으로 良好한 結果를 얻었으며 Table 3에 表示된 바와 같은 分配量, 分配處에서 副作用, pyrogen問題等 이 한 件도 나타나지 않았나.

따라서 本方式에 依하여 合成調劑한 製品은 實用性이 있고 優秀한 品質을 갖고 있음이 입증되었다고 볼 수 있다.

製品의 pyrogen free 를 保證하기 위하여 國立保健院에 依頼하여 test 한 結果(Table 4) 正常投與量의 數倍의 藥量을 投與하여도 副作用이 없음을 본다면 本方式에 依하여 合成製劑한 製品의 品質이 實用에 充分한 것 이라고 할 수 있다.

但 國立保健院의 事情으로 放射性物質의 取扱이 禁忌되었던 關係로 製品中の 放射能이 完全히 崩壞되었거나 또는 거의 崩壞된 것을 試料로 삼아서 test 하였다.

따라서 放射性同位元素가 없는 狀態이었으나 一說에 依한다면 試料中에 放射性同位元素가 包含되어 있으면 그렇지 않은 境遇보다 더 pyrogen free 한 結果를 나타낸다고 한다. 그러므로 實用에는 支障이 없을 듯 하다.

Table 1. Preparation of radiopharmaceuticals

Compounds	Synthetic method**	Yield (Radiochemical)
Hippuran- ¹³¹ I	(a)	100~90%
Hippuran- ¹²⁵ I	(a)	100~90%
L-thyroxine- ¹³¹ I	(b)-2	50~60%
L-thyroxine- ¹²⁵ I	(b)-2	50~60%
Triiodothyronine- ¹³¹ I	(b)-2	60~70%
Triiodothyronine- ¹²⁵ I	(b)-2	60~70%
Oleic acid- ¹³¹ I	(b)-3	100~90%
Human serum albumin- ¹³¹ I	(b)-3	100~60%
Human serum albumin- ¹²⁵ I	(b)-3	100~60%
Rose Bengal- ¹³¹ I	(a)	54~80%
Rose Bengal- ¹²⁵ I	(a)	54~80%
MAA- ¹³¹ I	(a)	40~40%
²⁰³ Mercury-neohydrine	(2)	55~50%
NaI (Sterilized)	(2)	100%
Triolein- ¹³¹ I	(b)-3	100%~90%

** (a) 交換反應: $RI + ^{131}I \rightarrow R-^{131}I + RI + I + ^{131}I$ (2) 全合成
沃化反應 (b)-1 無機沃化物: $RH + KI + K^{131}I \rightarrow R^{131}I + RI + KI + K^{131}I$
(b)-2 沃素: $I_2 + I^- \rightarrow I_3^{2-}$
 $RH + I_3^- + ^{131}I_3^- \rightarrow R^{131}I + RI + I_2 + ^{131}I_2$
(b)-3 發生機沃素: $RH + HOI + HO^{131}I \rightarrow R^{131}I + RI + H_2O$

*本 合成에서는 5mc 以下の 量을 取하였다. 따라서 大量의 放射能取扱에 있어서는 施設及方式에 있어 本方式과 差異가 있을것이나 根本的인 差異는 없는 것으로 生覺된다.

Table 2. 合成化合物의 調製

1) 合成分離
2) 合成生成物中的 純度檢査(paper partition chromatography)
3) 合成成品의 低溫消毒 및 精製(微細粒子 및 細菌除去)
4) 容器消毒(熱水蒸氣)
5) 放射化度 檢定
6) pyrogen free test
7) 包裝
8) 臨床實驗
9) 實用(診斷用) (治療用)

Table 3. Preparation and distribution of radiopharmaceuticals Feb. 1966—Oct. 1966

Compounds.	Prepared activity	Distributed activity	Place of distribution
Hippuran- ¹³¹ I	27.8mc	19.7mc	Seoul National Univ.
Hippuran- ¹²⁵ I	6.2mc	4.2mc	Hospital & Radiological
L-thyroxine- ¹³¹ I	2.5mc	0.2mc	Research
L-thyroxine- ¹²⁵ I	0.5mc	—	Institute.
Triiodothyronine- ¹³¹ I	1.5mc	—	
Triiodothyronine- ¹²⁵ I	0.5mc	—	
Rose Bengal- ¹³¹ I	1.5mc	—	
Rose Bengal- ¹²⁵ I	0.5mc	0.3mc	
Human serum albumin- ¹³¹ I	3.5mc	3.0mc	
Human serum albumin- ¹²⁵ I	0.5mc	—	
MAA- ¹³¹ I	7.4mc	3.7mc	
Oleic acid- ¹³¹ I	0.5mc	—	
Triolein- ¹³¹ I	0.5mc	—	
NaI-(Sterilized or arabled)	0.5mc	—	
Egg albumin- ¹³¹ I	0.6mc	—	
Egg albumin- ¹²⁵ I	0.3mc	—	
²⁰³ Hg-Neohydrine	0.2mc	—	
Liver protein (Labelled)	3.4mc	3.8mc	AERI Biology Div.
Phosphorous protein	0.4mc	0.4mc	
Total activity	58.8mc	34.9mc	

Table 4. Pyrogen free test

Compounds.	Inj. dose	mg/ml	Pyrogen	Remarks
Hippuran- ¹³¹ I	0.2cc	1.5	free	Temp. rise of rabbit
L-Tyroxine- ¹³¹ I	1.0cc	0.3	"	is less than 0.6°C
Rose Bengal	0.5cc	6.0	"	"
Mercury neohydrine ²⁰³ Hg)	0.2cc		"	"
NaI(Sterilized)	0.5cc	4.0	"	"
RISA- ¹³¹ I	1.0cc	250	"	"
MAA- ¹³¹ I	1.0cc	200	"	"

앞으로는 放射線醫學研究所에 放射性醫藥品專用 pyrogen free test 施設을 設置하여 더 科學的인 資料를 得하여야 할것이다.

結 論

아미노酸系 及 蛋白質系 化合物을 交換法, 沃化法으로 各各 放射性沃素標識(radioiodine labelling)하여 본 結果 著者의 方式으로서 平均 100~60%의 좋은 標識收率을 얻었으며 製品이 化學的 및 生物學으로 純粹하였고 pyrogen free 였다.

水銀을 含有한 neohydrine 은 常法에 依하여 標識合成 하였으며 좋은 品質의 製品을 得하였으나 標識收率은 50~60%였다.

製品의 臨床檢査에 있어서는 副作用이 한 例도 發見되지 않았다.

1966年 2~10月末間에 hippuran¹³¹I 外 18種의 醫藥品을 58.8mc 合成하였으며 그중 7種을(34.9mc) 分配하여 試驗에 提供하였다.

附記：本 研究事業에 積極 協調 하여주신 美國 ORINS Mr.G. Gleason, 美國 Argonne 國立研究所 Dr. R.M. Zelle, Dr. D.C. Stewart 各位에게 謝意를 表한다. 醫藥品의 品質檢定에 協力を 아끼시지 않았는 放射線醫學研究所 所長 安致烈博士, 同所 高昌舜 博士, 서울大學校 李文鎬 博士 및 國立保健院 各位에게 各 深甚한 謝意를 表하는 바이다.

REFERENCES

- 1) G. Gleason: *Private Communication*. Nov. 1966, Oakridge, Tenn. U.S.A. cf. *Proceeding of Symposium No. 9*. Nov. 1965. Oakridge, Tenn. U.S.A.
- 2) 高昌舜: 原子力院 放射線醫學研究所 서울 Nov. 1965.
- 3) R.S. Yallow: *Medical Symposium*. No. 9. Nov.

- 1965, Oakridge Tenn. U.S.A.
- 4) Y.S. Kim: *J. Nucl. Science in Korea. in press* (1966)
- 5) Powland. et al.: *J. Am. Chem. Soc.* 72:3595, 3598 (1950)
- Blan and Bender: *J. Nucl. Med.* 3:83 (1963).
- 6) Urakalo, Garo, et al. *Nuclear Sciences Abstract.* 5515 (1966) and related literature.
- 7) G.V. Taplin: *Medical Symposium No. 9, Nov. 1965 Oakridge Tenn. U.S.A.*
- Hideo Ulda: *J. Heart, J. Vol. No.5, 431-444* (1964).
- 8) Office of Atomic Energy: *Proceeding of Korea Symposium on Nuclear Medicine Oct. 18-21, 1966. Seoul, Korea*
-