

# 放射性醫藥品 合成方式에 關한 研究

## — 第 II 報 —

原子力研究所 化學研究室

金 裕 善 · 金 泰 榮 · 嚴 京 子

— Abstract —

### Preparation of Radiopharmaceutical (II)

You Sun Kim, Tae Young Kim and Kyung Ja Uhm

Chemistry Division, Atomic Energy Research Institute

Mercury bromo hydroxy propane-Hg<sup>203</sup>, Tc-<sup>99m</sup> colloidal, Tc-<sup>99m</sup> per technate (from Tc-<sup>99m</sup> Generator) were prepared and prepared products were tested their clinical usability to give agreeable results. Labelling of HSA by Tc<sup>99m</sup> and coagulation of HSA to MAA were conducted on a lab. scale.

The iodine containing Radiopharmaceuticals; Hippuran, Sodiumiodide (inj), RISA, MAA, Rosebengal, Triolein, Phosphorus protein and Mercury<sup>203</sup> neohyrine were prepared by the conventional procedure. Total 206.4 mC of Radiopharmaceuticals were prepared and 141.910 mC of them were distributed to the major users in this country.

### 概 要

Hg<sup>203</sup>-BMHP, Tc<sup>99m</sup>-S-colloidal, Tc<sup>99m</sup>-pertechnate (Tc<sup>99m</sup>-generator로부터)을 各各 合成調製하여 臨床試驗에 供한바 各各 滿足할만한 結果를 얻을 수 있었다. Tc<sup>99m</sup>로 人血清蛋白을 標識하는 方法, Tc<sup>99m</sup>-人血清蛋白을 MAA로 膠化하는 方法에 關하여서는 實驗室 規模로서만 行하였다. 沃素를 含有한 放射性醫藥品—hippuran, NaI(注射用), RISA, MAA, rosebengal, triolein, 蛋白 및 Hg<sup>203</sup>-neohyrine—을 總計 206.4 mC 合成하여 (1966 11月~1967 10月間) 그中 141.9 mC를 市內 主要 機關에 分配 試用케 하였다.

### 序 論

韓國內 醫學界에서 使用하여온 放射性 醫藥品은 大部分 外來品이며 國內에서 生産되는 것이 없어 1966年 著者が 本研究所의 姉妹研究所인 美國 國立 Argonne 研究所의 協調로 放射性醫藥品을 合成 供給하기 始作하여 1966年 2月~1966年 10月間 58.8 mC를 合成, 그中 34.9 mC를 供給 試用케 한 바있고 合成方式에 關하여 本誌<sup>1)</sup>에

報告한 바 있다. 1967年度엔 從來 合成하던 沃素를 含有한 放射性醫藥品을 繼續 合成 供給하는 同時에 最近 美國을 爲始하여 世界各國에서 使用되어 好評을 얻고 있는<sup>2)</sup> Tc<sup>99m</sup>系 標識化合物을 合成하여 보고자 하였다. Tc<sup>99m</sup> 同位元素는 國內研究用 原子爐를 갖고서도 그 母體元素인 Mo<sup>99</sup>를 만들 수 있으나 生成되는 放射能이 弱하여 臨床用으로는 不適合하므로 外國—日本—에서 Tc<sup>99m</sup> Generator를 導入하여 標識化合物을 合成해 보고자 하였다. I<sup>131</sup>, Hg<sup>203</sup> 同位元素는 各各 前年度와 같이 外國製品을 使用하여 臨床結果의 再生成을 維持하였다. 1967年度의 製品調製에 있어서는 前年度에 設定한 方式으로서도 別般 pyrogen 問題가 없었으므로 pyrogen free test를 行하지 않았고 그 방식에 따라 合成 調製한 다음 그양 臨床實驗에 供하였다.

### 實 驗

#### 1) Tc<sup>99m</sup>-Pertechnate의 調製<sup>4)</sup>

日本 Dainabott社에서 導入한 Tc<sup>99m</sup>-generator(Dainabott社 FTC07 100 mC Mo<sup>99</sup>-Tc<sup>99m</sup> generator, 100 mC)을 使用하고 生理的食鹽水로 溶出하여 멸균된 容器에 받고

一次 milliphore filter (0.22 $\mu$ )로 걸른 다음 消毒된 용기에 넣어 供給한다. 溶出物の paper partition chromatography를 80%MeOH 溶液으로 展開하여 Rf 0.5~0.6의 spot(TcO<sub>4</sub><sup>-</sup>)를 確認한다.

### 2) Tc<sup>99m</sup>-S-colloidal<sup>3)</sup> 溶液 調製

Generator로부터 溶出된 Tc<sup>99m</sup>-pertechnetate 溶液을 一定量 取하고 이 溶液에 1.0 ml의 진한 HCl 溶液을 加하여 1 N 濃度の 酸性液을 만든다음 H<sub>2</sub>S gas를 約 3分間 通過시킨다. H<sub>2</sub>S가 吸收된 다음 P.V.P. 溶液(6 g/100 ml H<sub>2</sub>O) 1 ml를 加하여 乾燥된 窒素 gas를 通하고 殘餘 H<sub>2</sub>S gas를 쫓아낸다. 이때 醋酸鉛試驗紙를 容器入口에 가까이 갖다 대어서 H<sub>2</sub>S gas로 黑變이 되다가 檢査한다. 醋酸鉛試驗紙의 色이 黑變되지 않을때까지 窒素 gas를 通한 다음 5.0 ml의 醋酸鹽 緩衝液을 加하여 pH 5.6~5.7이 되도록 한다. 이 溶液을 paper chromatography로 檢査하여 Rf 0.0 點의 spot을 (Tc<sup>99m</sup>-S-colloidal) 確認한다. Colloidal 溶液의 一部를 精정한 vial에 담고 高溫滅菌한 다음 容器를 密栓하여 製品으로 한다.

### 3) Tc<sup>99m</sup>-Albumine 合成<sup>3)</sup>

Tc<sup>99m</sup>-generator로부터 溶出한 TcO<sub>4</sub><sup>-</sup> 溶液을 攪拌器가 裝置된 20 ml들이 flask에 넣고 攪拌을 始作한다. 攪拌된 溶液에 2 N-HCl 溶液을 4滴 떨어뜨리고 pH를 約 2로 調節한다. 10 mg의 FeCl<sub>3</sub>·6 H<sub>2</sub>O와 同量의 ascorbic acid를 加하고 pH를 1 N-NaOH로 5로 調節한다. 따로 마련하여 둔 flask에 2 ml의 人血清蛋白, 3 ml의 10%-dextrose, 5 ml의 0.025 N-sodium acetate, 1滴의 表面活性劑(비누液)를 混合하고 잘 攪拌하면서 만들어 놓았던 Tc<sup>99m</sup> 溶液에 加한다. 2 N-HCl 溶液을 加하여 pH를 2.5로 調節하고 10分間 攪拌한다. 위 溶液을 陰 ion 交換樹脂를 充填한 column(ID 2×H 7 cm)에 注加하고 溶出液의 pH를 1 N-NaOH로 6~8로 調節한다. Milliphore filter로 (0.22 $\mu$ ) 一次 걸른다음 消毒된 容器에 密栓包裝하여 製品으로 한다. 製品을 消毒하기 前에 80%-MeOH로 paper partition chromatography하여 Rf 0.0 (albumine)의 spot을 確認한다. 이렇게 만든 Tc<sup>99m</sup>-albumine은 pH 5.5의 酸性 溶液에서 70~80°C 溫度로 진할 때 macroaggregation하여 MAA를 形成한다.

### 4) Mercury Bromo Hydroxy Propane 合成<sup>4)</sup>

2 mC의 Hg<sup>203</sup>NO<sub>3</sub>을 反應器에 담고 10~15 ml의 5.2 %HNO<sub>3</sub>를 加한다. 여기다 15 ml의 1 N-KOH를 加하여 pH를 9~10로 調節한다. 100 g의 propylene gas를 溶液內에 通하고 70~80 $\mu$ C/ml가 되도록 증류수로 稀釋한다. 여기다 carrier인 非放射性 mercury bromo hydroxy propane (m.p. 72~75° Dainabott社 製品)을 加하여 藥의 濃도가 1 mg/ml가 되게하고 室溫에서 2時間 攪拌하면서 反應시킨다음 溶液의 paper partition chroma-

toqram을 benzene: glacial acetic acid: water의 混合비가 2:2:1인 溶媒로 展開하여 spot을 檢査하였던바 RI=0.0, 0.3, 0.6의 peak를 얻었으며 反應液을 60°C로 2時間 繼續 攪拌하면서 加熱한다음 paper chromatography로 다시 檢査한 結果 Rf=0.0~0.6 (BMHP)를 얻었다. 反應液을 milliphore filter로 (0.22 $\mu$ ) 一次 걸러 消毒된 容器에 넣고 密栓 包裝하여 製品으로 한다.

### 5) NaI(注射液) 調製<sup>1)</sup>

臭化加里(0.005 mole), 過酸化水素(10%) 1 ml, 1%-ammonium molybdate液 2滴, 묽은 黃酸(6 N) 4 ml를 증류수 20 cc에 녹여 용액으로 하고 I<sup>131</sup> 溶液을 適量 加한다. 이 溶液을 잘 混合한 다음 cyclohexane 20ml를 加하고 잘 振盪하여 沃度を 水溶液으로부터 抽出한다. Cyclohexane 溶液層을 묽은 亞黃酸溶液(0.001 mole)과 함께 振盪하여 沃度を 沃度 ion으로 變化시킨다음 水溶液을 取하고 그 放射能을 計測하여 標準化시킨 다음 milliphore filter (0.22 $\mu$ )로 걸르고 sterile인 capsule 또는 瓶에 一定容量 담아 密栓包裝하여 製品으로 한다.

### 6) 沃度-131을 含有한 放射性醫藥品 合成

本研究 第1報<sup>1)</sup>에 記載된 方式에 따라 合成 供給하였다(第3表參照).

Table 1. Preparation and distribution of radio pharmaceuticals (Feb. 1966~Oct. 1966.)

Compounds	Preparations	Distributions	Users
Hippuran-I <sup>131</sup>	27.8 mc	19.7 mc	Seoul National University
Hippuran-I <sup>125</sup>	6.2 mc	4.2 mc	
L-thyroxine-I <sup>131</sup>	2.5 mc	0.2 mc	Radiology Research Institute
L-thyroxine-I <sup>125</sup>	0.5 mc	—	
Triiodothyronine-I <sup>131</sup>	1.5 mc	—	Biology Div. AERI
Triiodothyronine-I <sup>125</sup>	0.5 mc	—	
Rosebengal-I <sup>131</sup>	1.5 mc	—	Biology Div. AERI
Rosebengal-I <sup>125</sup>	0.5 mc	0.3 mc	
Human serum albumine-I <sup>131</sup>	3.5 mc	3.0 mc	
Human serum albumine-I <sup>125</sup>	0.5 mc	—	
MAA-I <sup>131</sup>	7.4 mc	3.7 mc	
Oleic acid-I <sup>131</sup>	0.5 mc	—	
Triolein-I <sup>131</sup>	0.5 mc	—	
NaI (Sterilized)	0.5 mc	—	
Egg albumine-I <sup>131</sup>	0.6 mc	—	
Egg albumine-I <sup>125</sup>	0.3 mc	—	
<sup>203</sup> Hg-neohydrine	0.2 mc	—	
Lvier protein (Labelled)	3.4 mc	3.4 mc	
Phosphorous protein	0.4 mc	0.4 mc	
Total activity	58.8 mc	34.9 mc	

**Table 2. Preparation of radiopharmaceuticals**

Compounds	Synthetic Methods	Yields	Remarks
Tc <sup>99m</sup> (TcO <sub>4</sub> <sup>-</sup> )	Generate by 0.1N-HCl		Quantitative
Tc <sup>99m</sup> -S-Colloidal	(a)		Quantitative
Tc <sup>99m</sup> -albumine	(b)	52~100%	
Mercury bromo hydroxy propane	(c)	60~ 82%	

(a) H<sub>2</sub>S Method  
 (b) Ferric Chloride Method  
 (c) Dainabott procedure

**Table 3. Preparation and distribution of radio-pharmaceuticals (Nov. 1966~Oct. 1967)**

Compounds	Preparations	Distribution	Users Remarks
Hippuran-I <sup>131</sup>	29,500 mc	26,600mc	1. Seoul National University
NaI (Sterilized)	0.300	0.300	2. Radiology Research Institute
RISA-I <sup>131</sup>	1,150	1,150	3. Sudo Army Hospital
MAA-I <sup>131</sup>	1,550	1,250	4. Biology Div. KAERI
Rosebengal-I <sup>131</sup>	6,500	6,200	
Triolein-I <sup>131</sup>	1,200	1,000	
Tc <sup>99m</sup> -TcO <sub>4</sub> <sup>-</sup>	120,200	96,200	
Tc <sup>99m</sup> -S-colloidal	40,000	6,000	
Tc <sup>99m</sup> -albumine Tc <sup>99m</sup> -MAA	試 製		
Mercury <sup>203</sup> bromo hydroxy propane	2,000	0.200	
Mercury <sup>203</sup> neohydrine	1,000	1,000	
Proteineous I <sup>131</sup>	4,000	4,000	
<b>Total</b>	<b>207,400</b>	<b>142,900</b>	

7) Hg<sup>203</sup>-Neohydrine 合成

本研究 第1 報에 記載된 方式에 따라 合成 供給하였다(第1 表參照).

8) 臨床 檢査

製品化한 放射性醫藥品을 pyrogen free test 없이 原子力廳, 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 따라 其他病院에서도 一部檢査를 行하였다.

**成績 및 考按**

各 醫藥品の 合成條件 및 合成收率을 表示하면 第1, 2 表와 같다. 第1 表에 記載된 方式에 關하여서는 本研究 第1 報에서 이미 記述한바 있으며 今期中에는 收率が 낮은 Hg<sup>203</sup>-neohydrine 의 合成方式을 改善코자 努力하였으나 收率의 向上이 別로 없었다. Rosebengal-I<sup>131</sup> 의 合成에 있어서는 反應條件의 pH가 合成收率에 큰 影響을 미쳤으나 平均 50~80%의 收率을 얻을 수 있었다. pH 의 調節이 어렵다기 보다 合成收率에 對한 銳敏도가 커

서 本方式에서 使用한 反應條件으로서는 收率의 變動이 컸다. 앞으로 이 問題에 關하여서는 더 檢討하여 보고자한다. 今期中에 供給한 rosebengal-I<sup>131</sup> 中 放射能濃度가 높은 것 1件에 있어서 投與한 患者에 異常이 있었고 頭痛이 2,3日 繼續된 것이 發見되었다<sup>5)</sup>. 그 原因은 確實치 않으나 activity가 약한 것을 多量 投與한데 起因하는 藥物中毒인가 한다. 이 臨床結果後 다시 調製한 것에서는 副作用이 發見되지 못하였다.<sup>5)</sup> I<sup>131</sup> 을 含有한 放射性醫藥品中 全般的으로 臨床結果에 큰 異常이 없었으나 MAA 調製에 있어서는 macroaggregation process 에서 操作에 따라 particle size가 다르고 또 蛋白質 自身의 加水分解에 依한 amino 酸이 一部 混在하기도 하여 臨床結果가 고르지 못하였다. Particle 이 微小하면 肺에 남지 않고 全身으로 循環하고<sup>5)</sup> particle 이 크면 分解하여 溶解하여 버렸다. 이 問題를 原報<sup>6)</sup>에 실린 操作으로 再檢討하여 振盪回數를 줄이고 (每分間 100回) 加溫溫度를 높인 結果 良好한 aggregation 을 얻을 수 있었으나 人體臨床檢査는 患者事情으로 하지 못하였다. 이 aggregation particle 은 50μ 程度가 좋다하나 化合物

의 性質上 不安定하여 다른 方法으로서는 粒子를 檢査하기에 不便하고 動物試驗에만 依存할 수 밖에 없다는 애로가 있었다.

$Tc^{99m}$  核種을 主體로 하는 放射性醫藥品에 關하여서는 當初 計劃은 核醫學會를 中心으로 하여 外國에서 generator를 導入한 다음 當所에서 標識分配하여 使用케 하고자 하였었다. 그러나 國內의 患者事情 및 核醫學會 內部的 事情으로 共同導入은 하지 못하고 著者가 研究用으로 一基 導入하여(Dainabott社 FTC07 100mC  $Mo^{99}$ - $Tc^{99m}$  generator) 各種 標識法을 研究하고 製品을 臨床試驗에 供하였다.  $Tc^{99m}$ 은 그 半減期가 짧아서 操作, 處理 및 分配에 難點이 있었으나 文獻에 記載된 바에 依하면<sup>3,2)</sup>  $Tc^{99m}$  核種을 放射性醫藥品으로 만들어 利用한 結果가 優秀하여 美國 뿐만아니라 歐洲 各國에서도 널리 愛用되고 있다고 한다. 따라서 將次 國內事情, 患者의 集合의인 調整, 國內 原子爐의 出力增加에 따른 國內 生産의 可能性 등을 豫期한다면 國內의 一般 普及이 可能하다고 思料되었다.  $Tc^{99m}$ -generator로부터의  $TcO_4^-$  溶出은 特別한 困難없이 進行되었으며  $Mo^{99}$ 의 一部 溶出이 念慮되었으나 溶出液의 paper partition chromatography의 spot가 單一한 것으로 보아 ( $R_f=0.5\sim 0.6$ , 80% methanol 展開液)  $Mo^{99}$ 의 混入은 거의 없는 것으로 보이며 臨床實驗에서도 良好한 scanning 結果를 보여 주었다.<sup>5)</sup>  $Tc^{99m}$ -colloid는 臨床實驗에서 여러가지 좋은 成績을 外國에서 보여주고 있다 最近엔  $Tc^{99m}$  以外の 核種으로서 Tin 等の 同位元素의 colloid sol.을<sup>2)</sup> 臨床에 使用하고 있음으로 (liver, brain, scanning 등)  $Tc^{99m}$ -colloid를 만들고자 하였던바 Dainabott社의 procedure<sup>4)</sup>로서는 colloid 生成이 不良하여 成功되지 못하였고 Brook Haven 法<sup>5)</sup>으로 S-colloid를 만들어 본 結果 colloid가 만들어졌다. 이 colloid sol.의 scanning 結果는 그리 良好치 못하였으나 識別할 수 있는 程度이었음으로<sup>5)</sup> 앞으로 臨床實驗을 더 한다면 良好한 成績을 얻을 수 있을 것이다. 放射化學的 生成收率은 良好하였다.  $Tc^{99m}$ 으로 標識된 RISA, MAA 등이 亦是 많이 利用될 可能性이 있음으로 그 合成을 試圖하여 보았다.  $Tc^{99m}$ 과 같은 金屬元素와 人血清蛋白과의 化學反應에 있어서는 그 標識되는 位置가 아직 不明하고 反應生成物의 化學構造에 關하여서도 albumine의 carbonyl基와 amino基 間에 걸친  $Tc^{99m}$ -chelate化合物, Carbonyl隣接  $\alpha$ -炭素 또는 窒素原子에 結合된 水素의 metalation 反應物等 여러가지 說이 있다.<sup>4)</sup> 이 問題에 關하여서는 學術的인 觀點에서 研究하여 볼 價値가 있다. 標識問題 自身만을 爲先 考慮하고자 文獻을 調査하여 본 結果,<sup>2,3,4)</sup> 合成條件에 따라서 合成收率에 差異가 甚하였고 標識位置 및 生成物의 化學構造가 不明하다는 點 등이 있어 合成上

隘路가 豫測되었다. 따라서 가장 安定한  $Tc^{99m}$ -albumine을 얻을 수 있다는 Dainabott社의 standard procedure<sup>4)</sup>에 依하여 合成하여 본 結果 좋은 收率을 얻을 수 있었으며(第2表參照) 化合物 自身의 paper chromatography도 單一한 spot을 보여 주었다. 앞서 말한 바와 같이 이 標識法은 鐵鹽을 媒介로한  $Tc^{99m}$ 의 chelate化 또는 鹽形成化로 이루어지는 것으로 보이나 그 生成物의 化學構造에 對하여서는 앞으로 더 研究를 繼續할 豫定에 있다.  $Tc^{99m}$ -albumine의 macroaggregation을 試圖한 바  $I^{131}$  標識化合物에서와 같은 方式을 取하여서도 aggregation을 잘 일으켰으며  $Tc^{99m}$ -ion의 水溶液으로서의 分解溶出이 거의 없었다. 이 製品의 臨床實驗은 患者事情 및 半減期 關係로 今期에는 施行치 못하였으나 外國의 例를 보더라도 앞으로 開拓되어갈 可能性이 많다고 본다.

美國 Dr. Wagner의 實驗結果에 依한다면<sup>2)</sup> spleen test에 mercury bromo hydroxy propane이란 化合物이 良好한 成績을 낸다고 報告되어 있다. spleen test엔 從來 albumine 系統이 主로 使用되어 왔으나 spleen의 size 및 體內 位置 關係로 鮮明한 scanning을 얻지 못하고 있다. 따라서 水銀을 主劑로 하는 MBHP는 이 方面에 많이 利用될 可能性이 있어 合成을 試圖하여 본 것이다. 文獻에 依한다면 이 化合物은 Wagner 教室의 有機化學者<sup>2)</sup>가 合成 使用하였다 하는바 그 原報를 얻기 힘들어 日本 Dainabott社의 協調로서 製造方式을<sup>4)</sup> 檢討하고 合成原料인  $Hg^{203}$  nitrate와 propylene gas를 美國 Argonne 研究所로부터 協調를 받아서 原方式보다 加熱時間 등을 變更하여서 條件을 定하였다. 그러나 paper chromatography上에 나타난 spot는 broad하여 異性體와 같은 것이 混雜되어 있지 않은가 하는 疑問이 있었다(第1圖參照) 그러나 原方式에 報告된  $R_f$  領域에서 peak를

Solvent ; Benz : HAc : H<sub>2</sub>O (2 : 2 : 1)  
Front ; 23 cm  
 $R_f$  ; 0.60  
LR ;  $3 \times 10^4$



Fig. 1. Paper chromatogram of M.B.H.P.- $Hg^{203}$ .

確認할 수는 있었으며 이 peak의 分析에 關하여서는 臨床結果를 보고 考察하고자 하였는데 患者事情으로<sup>5)</sup> 今期에는 施行치 못하고 化合物만을 定性確認 하였다. 앞으

로의 臨床實驗과 國內에서의 活用方案이 時急히 要請되는 바이다.

NaI(注射液)은 常法<sup>1)</sup>에 依하여 서울大學校 要請으로 少量試驗生産하여 보았으며 調製條件 및 製品の 化學的 純度는 保證할만한 것이었다. pyrogen 有無는 昨年の 保健院 test 結果<sup>1)</sup> 良好하였으므로 實用上 不便이 없으리라고 思料된다.

### 結 論

今期中엔 前年度(1966年度)에 合成研究한 것을 繼續하여 (合成方式을 一部 改良하고) 合成品을 各 機關에 分配 試用케 하였다. (205.4 mC 合成, 141.90 mC 分配) 國內에서는 最初인 Tc<sup>99m</sup> 核種을 導入하여 TcO<sub>4</sub><sup>-</sup>, Tc-S-colloid, Tc-albumine, Tc-MAA 의 調製 및 合成方式을 設定하고 國內에 普及시켰다. spleen test 에 利用되는 MBHP, 注射用 NaI 를 各各 試製하여 供給하였다. Tc<sup>99m</sup>-generator 및 그 利用 普及에 關하여서는 核醫學會와 共同으로 推進시켰으나 資金, 患者事情 등으로 1968 年度에나 그 實驗이 可能할가 한다. 1966年末~1967年度에 걸쳐 合成한 製品은 pyrogen free test 를 거치지 않고 供給하였으나 副作用이 別로 없었고 rosebengal 의

경우 1件 副作用이 發見되었을 뿐이다.

附記: 本研究 進行을 1967年度 初期에 協調하여 준 前 研究員 金鍾斗君, 臨床試驗과 試用に 協調하여 주신 放射線醫學研究所 同位元素室 및 서울大學校附屬病院 同位元素室 諸位, 材料 供給을 協調하여 주신 姉妹研究所인 美國 Argonne 研究所에 各各 謝意를 表한다.

### REFERENCES

- 1) 金裕善, 金純玉, 金鍾斗: 本誌 Vol. 1, No.1, pp. 83. (1967) 및 그中에 紹介되어 있는 文獻.
- 2) Office of Atomic Energy: *Proceeding of Korea Symposium on Nuclear Medicine, 18-21, 1966, Seoul, Korea.*
- 3) Steng: *Private Communication. Brook Haven National Laboratory, U.S.A. March, 1967.*
- 4) Kunio Kurata: *Private Communication, Dainabott Co, Tokyo, Japan Jan. 1967.*
- 5) C. S. Koh: *Private Communication, Sept. 1967.*
- 6) Hideo, Ueda: *J.H.J. (Heart Journal) Vol. No.5, pp. 431, 1964.*