

방사성의약품 합성방식에 관한 연구

— 제 3 보 —

¹¹³In cow eluate 검토실험

원자력연구소 화학연구실

김 유 선 · 김 태 영

=Abstract=

Preparation of Radio-pharmaceuticals-III

— An evaluation of the eluate from a ¹¹³Sn-^{113m}In cow system —

You Sun Kim and Tae Young Kim

Chemistry Division, Atomic Energy Research Institute, Seoul, Korea

In 1968 total 94,660 mc of radioactive iodocompound were prepared and distributed to the users. In order to obtain an effective liver scanning In-113 m colloidal of even particle size from a ¹¹³Sn-^{113m}In cow, the eluate(pH; 1.5) was examined by a radio paper partition chromatography. It was found that the eluate was composed of two components, ionic form and colloidal form. The ionid form could be eliminated by cation exchange resine and the eluate from the ion exchange resine was of even particle size to give an excellent liver scanning result. Labelling of ^{113m}In to human serum albumine was attempted.

개 요

방사성 의약품 Hippuran-I¹³¹의 4종의 I¹³¹ 화합물 94,660 mc를 1968년 1월~11월 사이에 합성 공급하였다. ^{113m}In colloid의 입자도를 균일화하는 방법을 모색하는 과정에서 ^{113m}In-cow의 용출액의 성질을 검토하여 본 바 그 용출액(pH 1.5)이 ionic form과 colloidal form으로 구성되어 있음을 radio-paper partition chromatography에 의하여 알아 내었다. 양이온 교환수지에 의하여 분리한 각 성분으로부터 출발하여 colloid를 만든 결

과, 양성분의 혼합물로 부터 만든 것 보다 더욱 균일한 것을 얻을 수 있었다. ^{113m}In을 human serum albumin에 표지하여 보고자 시도하였다.

서 론

전년도에 이어서 계속하여 ¹³¹I 함유의약품의 합성법^{1,2)}을 개량중인바, 그동안(1968, 1~1968, 12)에 Hippuran-I¹³¹ 등을 총계 94,660 mc 합성하여 각 기관에 공급하였다(별표 1 참조). 그러나 이들 의약품은 수요자와 공급자 간의 간격으로 인하여 효과적인 이용 및 보급이 저조한 실태이어서, 저자들은 1967년도에 손쉽게 임상 시험에 이용할 수 있는 radioisotopic cow를 보급하여 불 목적으로 우선 ^{99m}Tc cow system을 도입하여 ^{99m}Tc colloid의 제법과 ^{99m}Tc 표지 의약품의 합성법 및 그 이용법을 소개한바 있다.²⁾ 최근에 와서 In-113 m도 ¹¹³Sn-^{113m}In radioisotopic "cow"로 부터 0.05 N-HCl로 용출 함으로써 쉽게 얻을 수 있게 되었고 반감기가 적당히 짧으므로(1.7 hr.) 환자의 방사능에 대한 노출은 최소로 줄일 수 있다는 이점등이 있어서 liver, lung 및 blood pool scanning^{3,4)}과 brain scanning⁵⁾등에 많이 쓰이게 되었다. 이들은 ^{113m}In을 colloid로 만들어 사용하

Table 1. Preparation of Radiopharmaceuticals

From Jan. 1968~to Dec. 1968

Compounds	Preparations	Distributions
Hippuran-I ¹³¹	39,970 mc	37,420 mc
Rosebengal-I ¹³¹	26,670	24,670
Risa-I ¹³¹	24,240	22,640
MAA-I ¹³¹	6,560	6,260
Trioleine-I ¹³¹	3,820	3,670
Total	101,260	94,660

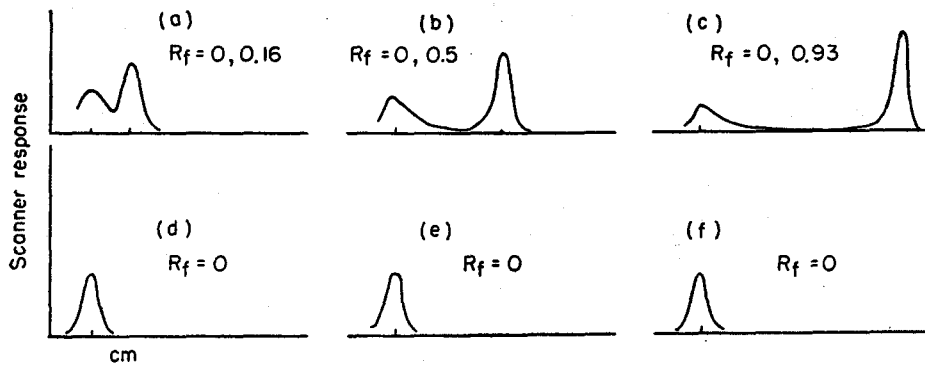


Fig. 1. Radio-paper partition chromatogram of the eluate of ^{113m}In-cow

- 1) The final pH of the eluate was adjusted to (a) 1.5, (b) 1.0, (c) 0, (d) 2.0, (e) 6.0 (f) 14.0.
- 2) Filter paper: Whatmann #1
- 3) Developing solvent: 75% CH₃OH

고 있는 바 이것을 임상적으로 이용하기 위해서는 그 제법이 신속 간이 할 것을 요하므로 이에 대한 연구도 많이 보고되고 있으며,^{6,7)} 또한 이 colloid는 그 particle size에 따라서 organ distribution이 상이해 지므로 제품의 particle size를 균일하게 함은 무엇보다도 중요하다. 그러나 현재 이용되고 있는 간이 조작법에 의한 제품은 만족할 만큼 particle size가 균일치 못하여 불편을 느끼고 있는 형편이므로⁸⁾ 저자들은 이들의 particle size를 균일화 하는 방법을 모색하여 보았다. 또한 각종 indium-labelled organic compound의 합성법을 연구할 목적으로 우선 albumine에 대한 In-113m 표지를 시도하여 보았다.

실 험

a) 실험재료

0.05 N-HCl, N-HCl, 3 N-HCl. Sodium phosphate buffer solution (pH 6.5), sat. Na₂CO₃ soln. 등은 특급 시약을 써서 만들어 사용하였고 cation exchange resin (Dowex 50 w-×8), anion exchange resin (AG 1-×8). Pyrogen free, sterile water 등은 각각 blend 제품을 그대로 이용하였다. Resin exchange column은 (I.D 2 cm×H 7.5 cm)의 것을 pyrex glass로 만들어서 사용하였다.

b) ¹¹³Sn-^{113m}In Radioactive cow eluate의 조성검사

^{113m}In-cow로 부터 용출된 pH 1.5인 eluate를 75% CH₃OH를 전개제로 사용하여 radio paper partition chromatography로 검사하였다(Fig. 1. (a) 참조).

c) ¹¹³Sn-^{113m}In cow eluate 성분의 분리

^{113m}In-cow로 부터 0.05 N-HCl로 용출하여 얻은 eluate를 cation 및 anion exchange column을 통과시켜 eluate의 성분을 분리하여 보았다. 각 column의 effluent를 filter paper strip에 점적하고 75% CH₃OH

를 전개제로 하여 약 2시간 전개시켜 얻은 radio paper partition chromatogram으로 검토한다(Fig. 2 참조).

d) ^{113m}In cow eluate 성분의 pH 변화에 의한 영향

^{113m}In-cow eluate를 cation exchange column에 통과시키고, 그 effluent를 6개의 flask에 나누어 넣고 여기에 각각 HCl 또는 NaOH Soln.을 가하여 pH를 0, 1.0, 1.5, 2, 6, 14로 조정후 이들의 radio paper chromatogram (developer 75% CH₃OH)을 비교하여 보았다(Fig. 1).

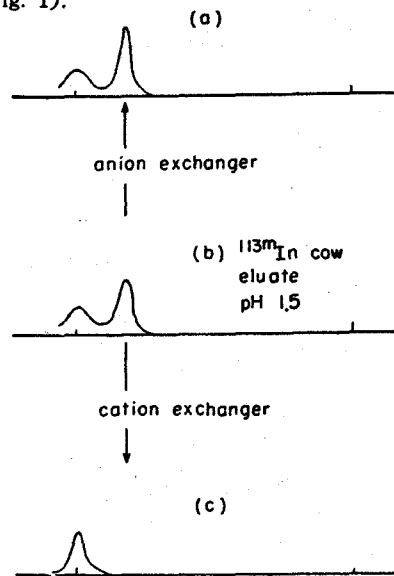


Figure 2. Separation of the components of the eluate by ion exchange resin.

e) Liver Scanning용 Colloid의 조제

(a) Cation exchange resin column을 통과한 effluent를 20 ml flask에 넣고 계속하여 stirring하면서 용액의 pH가 3.5가 될 때까지 0.05 N-HCl을 적가한다. 이 용액을 Ultra fine filter(3 μ)로 한번 걸른 다음에 멸균

소독된 vial에 넣어 마개를 하고 사용 전에 고압 솥에서(250°F for 20 min)멸균 한다.

(b) 위에서 ^{113m}In 의 colloid가 제거된 cation exchange column을 pyrogen free, sterile water로 여러 번 씻어 낸 후 3N-HCl을 가하여 resin에 흡착되었던 ^{113m}In 을 용출시킨다. 이 용출액을 20 ml flask에 옮겨 넣고 계속하여 교반하면서 이 용액의 pH가 3.5가 될 때까지 포화 Na_2CO_3 Soln.을 적가 한다. 다음부터는 (a)와 같은 조작으로 제품을 만든다.

f) ^{113m}In labelled albumin의 합성 실험

^{113m}In -Cow의 eluate 3 ml를 20 ml flask에 넣고 교반하면서 0.1N-NaOH 약 1.5 ml를 가하여 용액의 pH가 2~3이 되도록 한다. 여기에 $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 10 mg 및 ascorbic acid 10 mg을 가한 후 N-NaOH를 가하여 pH 5로 만든다.

따로 별도의 flask에 human serum albumine 2 ml, 10% dextrose 3 ml, 0.025N CH_3COONa 5 ml 및 surface active agent 1 drop을 넣어 혼합한 것을 위의 용액에 교반하면서 가하고 N-HCl로 pH 2.5로 조절한다. 약 15분간 교반한다. 이 반응액을 cation exchange column(I.D. 2 cm×H 10 cm) (dowex 50 w-×8)을 통과시킨다. 여과액을 N-NaOH로써 pH 6~8이 되도록 마춘다. 여과액을 radio paper partition chromatography로 검토하여 합성생성물의 성분을 검사한다(chromatogram Fig. 3).

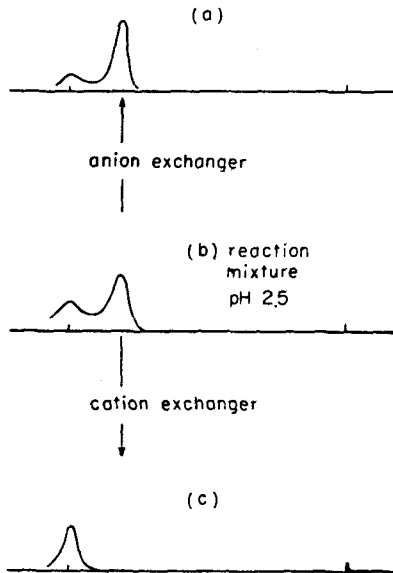


Figure 3. Reaction mixture of Fe-In 113m cow eluate in the presence of H.S.A.

결과 및 고찰

^{113m}In 의 colloid particle size를 균일화하는 방법을

모색하기 위하여 ^{113}Sn - ^{113m}In cow로 부터 얻어지는 eluate의 조성 및 성분의 성질을 radio paper partition chromatography와 ion exchange로서 검토한 결과, pH 1.5인 eluate는 그림 1에서 보는 바와 같이 2개의 peak로 분리되는 것으로 보아 원점의 peak는 ^{113m}In 의 colloid로 생각되고 Rf value 0.16의 peak는 ^{113m}In 의 ion으로 여겨지므로 pH 1.5의 eluate중에는 In-113m의 colloidal form과 ionic form이 섞여 있고, 이 혼합물용액을 anion exchanger를 통과시켜 얻은 effluent는 그 chromatogram 상에 아무런 변동을 보이지 않았으나(그림 2 참조) cation exchanger를 통과한 effluent의 chromatogram에서는 Rf value 0의 peak에는 변동이 없었고 Rf 0.16의 peak가 없어진 것으로 보아 cow로 부터 직접 나온 pH 1.5의 eluate 중에는 ^{113m}In colloid와 ^{113m}In 의 cation이 섞여 있음을 알 수 있다.

^{113m}In -cow의 eluate에 HCl 또는 NaOH Soln.을 가해서 용액의 pH를 변화시켜 본 바 pH 0, 1.0, 1.5,에서는 각각 2개의 peak가 나타났고 이들 각 pH에서의 peak를 비교하여 볼 때 3가지 모두가 원점에서 colloidal form의 peak가 나타났으나 ionic form peak의 Rf 값은 각기 다르며 이 Rf 값은 pH가 작아짐에 따라 커짐을 볼 수 있고 또한 각 pH에서의 2 peak의 면적비도 달라서 pH가 작아짐에 따라 ionic form의 peak area가 커지고 상대적으로 colloidal form의 peak area가 작아지는 것을 볼 수 있다. 이러한 사실들로 미루어 보아 ^{113m}In -cow eluate는 pH 0, 1.0, 1.5에서는 ionic form과 colloidal form이 섞여 있고 또한 pH에 따라서 양자의 구성비율이 다르며 ^{113m}In 의 ionic form 자체도 동일한 것이 아니라 pH에 따라서 다른 모양을 하고 있는 것으로 사료된다. pH 2이상 6.14일 때는 모두가 원점에서만 peak가 나타나는 것으로 보아 이때는 ^{113m}In 이 모두 colloidal form으로써 존재하는 것으로 여겨진다.

^{113m}In -cow의 pH 1.5 eluate는 이와같이 ionic form과 colloidal form이 섞여 있다는 사실을 미루어 볼 때, 종래의 조작법에 의한 제품은 처음부터 In-113m의 두 가지 형태로 부터 출발하여 일정한 size의 colloid를 만든 관례로 그 particle size가 균일하지 못한 것으로 생각되었다. 따라서 사실상 방사선의학연구소에서 임상실험(liver scanning)하여 본 결과에 의하면 이렇게 조제된 colloid 용액은 인체 내에서 liver뿐만 아니라 spleen 등의 다른 장기에도 많이 모이고 있었다. 이 혼합물을 ion exchanger로 분리하여 ionic form 및 colloidal form으로 부터 각각 별도로 출발하여 colloid를 만든다면 보다 균일한 colloidal particle을 얻을 수 있으리라는 것이 예상 되었으므로 colloidal을 만들어 보았다. Colloidal

particle size 를 전자현미경에 의하여 규명하는 것이 원칙이겠으나 시료용액을 검사판에 정착시킬때 colloid의 분해가 일어나고 한편 pH를 중성으로 조절하면 colloid의 size가 변화하므로 임상시험만을 실시하였다. 그 결과 종래의 조작법에 의한 제품보다 우수한 성적을 나타내는 것이 확인되었다. 즉 인체 내에서 colloid의 대부분이 liver에 모이는 것을 확인하였다.

^{113m}In -RISA의 합성실험에 있어서는 Fig. 3에서 보여주는 Rf 값만으로써는 표지 여부를 가려 낼 수 없었다. 따라서 분리방식을 달리 더 연구하여 보고저 하고 있다. 저자들은 cow에서 직접 용출시킨 것에는 colloid가 섞여 있고 이것이 RISA 표지를 방해시킬 가능성이 있는 것으로 생각된다. 따라서 ion 교환수지론 사용한 분리액이 합성에 더 적합할 것 같이 보이므로 앞으로 이것을 원료로 하여 실험을 계속할 예정에 있다.

(이 연구에 있어서 임상실험등에 협조하여 주신 방사선의학연구소 동위원소실 여러분에게 사의를 표하는 바이다.)

참 고 문 헌

- 1) 김유선, 김순옥, 김중두 : 大韓核醫學雜誌 Vol. 1, P. 83, 1967.
- 2) 김유선, 김태영, 엄경자 : 大韓核醫學雜誌 Vol. 2, No. 1, P. 67, 1968.
- 3) Stern, H. S., Goodwin, D.A., Wagner, H.N., Jr. and Kramer, H. H.: *Iron (^{113m}In) hydroxide: A new radiopharmaceutical for lung scanning. Nucleonics 24:10, 1966.*
- 4) Goodwin, D.A., Scheffel, U., Wagner, H. N., Jr. and Kramer, J.H.: *Indium-113m colloid: A new radiopharmaceutical for liver scanning. Nucleonics 24:65, 1966.*
- 5) Stern, H.S., Goodwin, D.A., Scheffel, U., Wagner, H.N., Jr. and Kramer, H.H.: *Indium-113m for blood pool and brain scanning. Nucleonics 25:62, 1967.*
- 6) M.H. Adatepe, M. Welch, E. Archer and E.J. Potchen: *The laboratory preparation of indium-labelled compound. Journal of nuclear medicine, 426, 1968.*
- 7) Mishima, Tsutomu, Hisada, Kinichi: *Clinical application Indium-113 m^ocow^o (radioisotopic). III. A new radiopharmaceutical, Indium-113m-iron-ascorbic acid, for blood pool scanning. Chemical Abstract. 69. 41,656 m.*
- 8) C.S. Koh: *Private communication (Nov. 1968) (Radiology Research Institute, O.A.E. Seoul).*