

## 放射性 沃化反應 (第 1 報)

### 低溫沃化反應

原子力研究所 化學研究室

金 裕 善 · 金 鍾 斗

(1966. 12. 29 受理)

---

## Radio Iodination of Organic Compounds (1)

### A Low Temperature Procedures

by

YOU SUN KIM AND CHONG DOO KIM

*Chemistry Division, Atomic Energy Research Institute*

(Received December 29, 1966)

#### Abstract

A procedure, which is effective enough to label various compounds at low temperature by radioactive iodine, was investigated. The chloramine-T procedure was mostly effective for labelling various protein, amino acids, hormones, and organic compounds by iodine, and the procedure was able to afford both high specific activity and high radiochemical yield. However, the procedure was ineffective for labelling unsaturated compounds or other organic compounds which has not active aromatic nucleus of reactive character. The radiochemical yield of the procedure was generally averaged from 100% to 60%. The reactivity of the aromatic part of the organic compound towards this reagent towards this reagent was correspond to that of an electrophilic reagent. The procedures were described and the reaction path was considered.

---

#### 概 要

放射性 沃化反應 中 分解하기 쉬운 化合物의 沃化反應으로 有用한 低溫沃化反應에 關하여 研究하였다. Chloramine-T 를 利用한 沃化反應은 低溫에서 높은 收率로 放射性 沃化反應을 進行시킬 수 있었으며, 活性化된 芳香核이 있는 또는 이에 類似한 아미노酸, 蛋白質化合物, 各種 Phenol 類의 沃化가 不可能하였으나 二重結合化合物 및 一般化合物엔 큰 效果가 없었다. 反應收率は 100~60% 이었으며, 各 化合物의 試藥에 對한 反應度는 親電子反應에 對한 芳香核의 反應度와 比例하는 것이었다. 反應操作을 記述하였으며 反應過程을 考察하였다.

#### 序 論

放射性 沃化反應에서는 交換法<sup>(1)</sup>, 沃化反應法<sup>(2)</sup> 등이 있는데 그 中에서 低溫에서 沃化反應을 進行시키는 것이 放射性 醫藥品을 合成하는 데 重要하다. 醫藥品으로 使用되는 것 中에서 蛋白質系化合物, Hormone 類

등은 室溫에서도 化合物 自體가 分解됨으로 普通沃化反應과 같이 加熱操作이 必要한 것은 不適當하다. 따라서 이러한 化合物에 對하여서는 低溫에서 沃化反應을 進行시킬 必要가 있다. 從來 使用되고 있는 低溫沃化反應에는 反應성이 큰 芳香核을 가진 化合物에 對한 것으로서 沃素法<sup>(3)</sup>, 次亞鹽素酸法<sup>(4)</sup>, ICI法<sup>(5)</sup>, 交換法<sup>(6)</sup>

등이 있으나 이 방법은 원化合物 自體를 反應途 中에 一部 分解시키거나 또는 反應에 함께 使用한 補助試藥에 依하여 分解가 隨伴되어 그 沃化收率이 不良하였다. 最近 研究된 바에 依한다면<sup>(2)</sup> 蛋白質系化合物에 Chloramine-T를 利用한 結果 高比放射能沃化物을 높은 收率로 얻을 수 있었다고 하였으나 그 反應의 反應操作과 一般性에 關하여서는 論及되어 있지 않다. 著者は 이러한 低溫沃化反應이 放射性 醫藥品으로 利用되는 蛋白質系化合物 뿐만 아니라 Hormone類 및 其他 低溫에서만 安定한 有機化合物에 다 같이 適用될 수 있을 것이고, 한편 放射性沃化反應 뿐만 아니라 普通沃化反應에도 應用될 수 있는 것이라고 생각하여 蛋白質系化合物, Hormone類 및 이와 類似한 基本化學構造를 갖는 Phenol系化合物에 適用시켜 反應條件, 合成收率을 檢討하고자 하였다.

이 研究의 結果는 低溫沃化反應의 一般性을 究明하는 데 도움이 될 것이며 앞서 말한 바와 같이 低溫에서만 安定한 有機化合物을 沃化하는 데 實用될 수 있을 것이라고 思料된다. 本 研究에서 擇한 有機化合物은 蛋白質類, 副腎홀몬類, 各種 Phenol類 등 뿐이었으나 앞으로 더 廣汎한 範圍의 有機化合物을 取하여 볼가 한다.

沃化化合物의 確認에 있어서는 放射性同位元素를 使用한 關係上 確認에 Radio Chromatography法을 利用하여 標識收率(全沃化反應收率)만을 檢討하여 볼가 하며 이와 같은 方式은 一般沃化反應을 確認하는 데에도 有效할 것으로 생각된다.

## 實 驗

### (1) Chloramine-T 低溫沃化反應

#### A. 蛋白質, Hormone系

50 ml 들이 三角 Flask 內에 mg 當量의 蛋白質 또는 Hormone 化合物을 5% NaCl 용액에 溶解하여 10% 濃度로 稀釋하고 KI(mg/ml)溶液을 當量比로 加하고 放射性同位元素  $I^{131}$ (無擔體)을 加한다. 이 混合液을 5%  $Na_2CO_3$  용액을 使用하여 pH 9.0~10.0로 調節한 다음 水浴上에서 磁石式攪拌器로 攪拌하면서 25~30°C로 溫度를 調節한다.

Chloramine-T의 水溶液(28.2 mg/l)을 따로 調製하였다가 反應試藥과의 當量比를 計算하여 反應에 所要되는 量을 取하고 이것을 10等分한 다음 各 部分을 5分間隔으로 加하고 攪拌을 繼續한다. Chloramine-T 試藥의 添加가 끝나면 5分間 더 反應混合물을 攪拌하고 反應을 終結시킨다.

### B. Phenol類

50 ml 들이 三角 Flask 內에 Phenol類 10 mg 을 20 cc 의 묽은  $Na_2CO_3$  水溶液에 溶解시키고 KI(mg/ml)水溶液을 1cc 加한 다음  $I^{131}$  용액(無擔體)을 一定量 加한다. 反應液 全體의 pH를  $Na_2CO_3$  용액으로 9.0~10.0으로 調節한 다음, 磁石式攪拌器로 攪拌하면서 水浴上에서 加溫하여 25~30°C로 溫度를 維持한다. Chloramine-T 水溶液(28.2 mg/l)을 따로 調製하였다가 原料化合物과 當量比의 量을 計算하여 取하고 이것을 小量式 20分內에 反應液에 加한다. Chloramine-T의 添加가 끝나면 5分間 더 攪拌을 繼續한 다음 反應을 終結시킨다. 反應 期間 中에는 反應液의 溫度를 水浴上에서 25~30°C로 繼續 維持한다.

#### (2) 反應生成物의 分離確認

Chromatography 用 濾紙(Eaton Dickeman)에 反應液을 毛細管 Pippete 로 小量 Spot 한 다음(濾紙上에 Sample 용액이 0.5 cm 直徑으로 퍼지게 함) 乾燥하고 BuOH에 5% 食醋酸水溶液을 飽和시킨 것 또는 75% MeOH 水溶液을 各各 展開溶媒로 使用하여 Chromatography Chamber(250 ml 들이 Pyrex 製 共檢 Mess Cylinder)內에서 25~27°C에서 展開한다. 溶媒尖端이 試藥原點으로부터 20 cm 內外가 될 때까지 展開시키고 濾紙를 꺼내어 室溫空氣 中에서 乾燥한 다음 自家製 Chromatogram Scanner (Detector; K1001-H, T, 型)으로 Scanning 한다. Scanning 한 Chromatogram 上의 Peak 頂點의 位置를 Rf 值로 換算한 다음 標準化合物의 Rf 值와 比較하여 合成化合物을 確認한다.

#### (3) 標識收率의 決定

各 反應液의 Paper Chromatogram 上에 나타난 展開 Peak 中 未反應의  $I^{131}$  에 該當하는 Peak\*와 沃化物에 該當하는 Peak 의 面積을 計算하고 이 兩面積을 舍친 것(即 反應에 使用한  $I^{131}$  全量)에 對한 沃化物 Peak 의 面積의 %比率를 算出하여 이것을 標識收率로 한다.

Table 1. Radio iodination of proteins

Quantities of Albumin	* Add. method the Quantities of C. T	Reaction time (min)	Reaction temp (°C)	Yield (%)
2	1	45	25~30	100
1	1	45	25~30	50~30
1	1	45	30	100
3	1	45	0	0
2	1/10	45	15	15

\* Quantity of albumin 1=250 mg

+ Quantity of Chloramine-T=0.99 mg

\* 食醋酸 ~ Butanol系 Rf 0.24

75% Methanol系 Rf 0.71

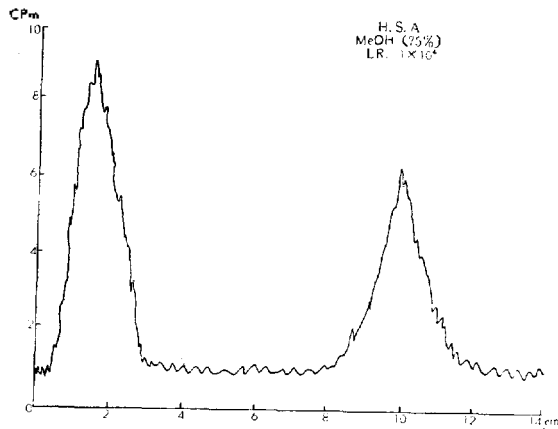


Figure 1. Radio paper partition chromatogram of the reaction product of protein (Human Serum Albumin)

Solvent: 75% Methanol (V/V)

Filter paper: Dieckman Eaton

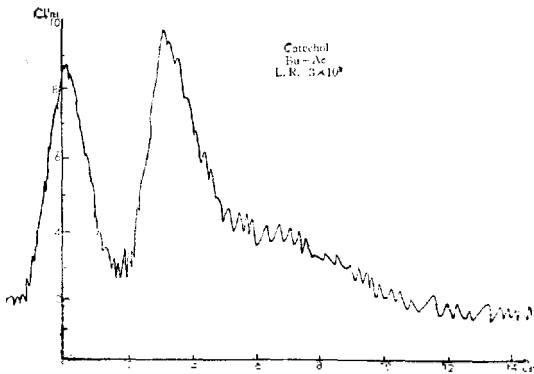


Figure 2. Radio paper partition chromatogram of the reaction product of phenols (catechol)

Solvent: Butanol-Acetic acid

Filter paper: Eaton Dieckman

### 結果及討論

各種蛋白質系化合物的低溫沃化反應結果를 表示하면 Fig. 1 과 같으며 20~30 分間의 低溫反應으로서 放射化學收率이 100~90%의 結果를 보여 주고 있다.

本 研究에서는 放射性 沃藥에 依한 標識 卽 沃化反應의 全體 收率에 關하여서만 檢討하였으므로 沃化生成物의 種類를 表示하지 않았으나 Fig. 1 에 例示한 反應生成物의 Radio Paper Partition Chromatogram 上에 나타난 것을 본다면 放射性 沃化物이라고 確認되는

Table 2. Radio iodination of phenols

Compounds	Chloramine T/ compounds (mole Ratio)	Labelling yield (%)	Rf value of the product.
Phenol	1 : 2	above 99	0.95
	1 : 1	above 99	0.95
	2 : 1	100	0.95
o-Cresol	1 : 2	90	0.90
	1 : 1	above 99	0.90
	2 : 1	100	0.90
Hydroquinone	1 : 1	61	0.17
	2 : 1	100	0.19
Pyrogallol	1 : 1	32	(0.00)
	2 : 1	46	(0.00)
o-Catechol	1 : 1	12	(0.00)
	2 : 1	30	(0.00)

Rf value of the paper chromatogram developed by butanol-acetic acid solvent.

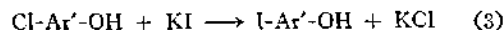
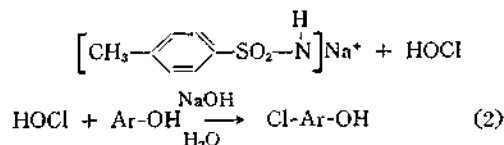
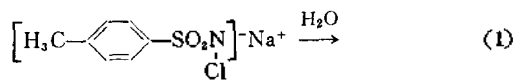
Peak A는 單一한 Peak 이므로 一沃物이 主로 生成되어 있다고 볼 수 있다. 이 問題에 關하여서 著者가 研究한 바에 依하면<sup>(3)</sup> 蛋白質系化合物의 沃化物의 加水分解生成物을 Paper Chromatography 로 檢査한 結果 蛋白質分子의 Amino acid Residue 中 Tyrosine, Histidine 兩 Residue 에 主로 沃化가 일어났고 極少量의 다른 Amino Acid 沃化物이 混在되고 있었다. Hormone 類의 沃化生成物의 種類에 關하여서는 앞으로 더 研究을 繼續할 豫定이다.

蛋白質沃化物의 主成分인 Tyrosine, Histidine 및 Hormone 類 등은 다 反應性이 강한 芳香核(Phenol Residue) 또는 이와 類似한 環狀構造單位를 갖고 있으므로 本方式에 依한 沃化反應이 이러한 芳香核과의 沃化反應으로 일어나는가 하는 點을 究明하고 아울러 本反應이 芳香核化合物의 沃化物合成法으로서 有效한가 하는 點을 究明하기 爲하여서 各種 Phenol 類에 對한 反應을 研究하였던 바 그 結果는 Table 2 와 같다. 豫期한 바와 같이 Phenol 類와의 反應은 低溫에서 迅速히 進行되어 平均 100~60%의 標識收率을 보여 주었다. 따라서 蛋白質系 및 Hormone 類의 沃化反應은 主로 Phenol Residue 側에서 沃化反應이 進行된 것이라고 確認되는 것으로써 이 點은 蛋白質沃化物의 生體內 作用을 究明하는데 重要한 情報을 提供하여 주는 것으로 보인다. Chloramine-T 을 利用한 方式으로 放射性沃化反應을 進行시킨 Yallow 氏<sup>(2)</sup> 등은 이 試藥이 蛋白質化合物의 分解하는 것을 保護하여 주기 때문에 反應收率이 높다고 하였으나 Phenol 類가 이 試藥으로 反應이 迅速히 進行되는 것을 본다면 蛋白質分子內의 化學構造 卽 Phenol Residue 와 反應이 잘 進行되는 데 基因된다고 함이 더 妥當할 것이다. 著者는 反應性이 弱한 芳香核을 갖거나 또는 芳香核이 없는 것, 二重結合化合物 등을 이 試藥으로 反應시켜 보았으나 全部 沃化反應이

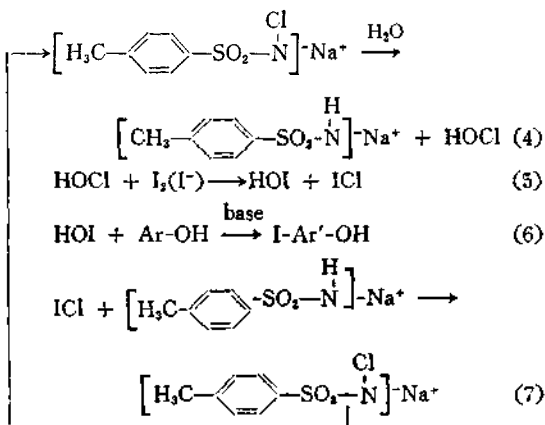
低溫에서 進行되지 않았다<sup>(4)</sup>. Phenol 類化合物的 反應에서도 亦是 標識收率만을 爲先 檢査하였고 沃化生成物の 成分에 關하여서는 Paper Chromatography 로만 檢査하였다. Fig. 2에 例示한 Radio Paper Partition Chromatogram 에서 보는 바와같이 沃化物로 確認되는 Peak A가 單一 Peak 이므로 一沃化物 또는 構造異性體(o- or p- isomer)가 主로 生成되었고 二沃化物 以上の 沃化物은 生成되지 않았다고 볼 수 있다. 이 問題에 關하여서는 앞으로 더 研究가 繼續되어 갈 것이다. 그러나 沃化反應度를 檢査하는데 있어서는 標識收率과 生成物 Peak A의 確認만으로 充分하다고 生覺된다.

Phenol 類의 反應에 있어서는 本 試藥에 依한 沃化反應條件을 詳細히 檢査하기 爲하여서 Phenol 와 Chloramine-T의 使用量을 變更시켜 보았던 바 表示되어 있듯이 1:2의 比에서는 Phenol, Hydroquinone, o-Cresol 等은 標識收率이 100%이고(即 沃化反應收率が 높고), 1:1의 比에서는 Hydroquinone의 境遇만 61%로 收率が 低下되었고 Phenol 와 o-Cresol의 境遇는 100%收率을 보여 주며 1:1/2의 比에서는 Phenol은 99%以上, o-Cresol은 90% 程度의 收率을 보여 주고 있어 이러한 收率의 變化는 Chloramine-T와 Phenol 類가 1:1의 當量比로 反應하는 것이 아닌 點 및 各 Phenol 間에 反應度의 差異가 있다는 點 等을 示唆하여 주는 것으로서 反應過程을 考察하는 데 큰 도움을 주는 것이다. Table 2에서의 結果를 살펴보면 沃化反應度의 順序가 Phenol > o-Cresol > Hydroquinone > Pyrogallol > o-Catechol로 되어 있다. 따라서 이 反應이 芳香核의 親電子反應의 一種이란 點 卽 Benzene 核의  $\pi$  Electron Density에 比例함을 알 수 있다. 그러나 o-Catechol, Pyrogallol이 低反應收率을 보여 주고 있음을 본다면 反應試藥이 化合物의 立體化學構造에 依하여 影響을 받고 있음을 나타낸다. 이러한 例는 Friedel Craft 反應 등에서 흔히 볼 수 있는 現象이다. Chloramine-T은 Alkali 性에서는 室溫에서 NaOCl을 徐徐히 發生하면서 分解함이 알려져 있다<sup>(5)</sup>. Phenol 類化合物은 Alkali 存在下에서 NaOCl에 依하여 低溫에서도 核鹽素化反應이 일어나므로<sup>(6)</sup> 다음과 같은 反應過程을 考察할 수 있으나 實驗條件에서 보듯이 KI의 量과 反應收率엔 相互關係가 없고 (3)과 같은 Halogen 交換反應이 芳香核化合物에서는 低溫에서 不可能하므로 이러한 過程을 생각하기 困難하다.

이와 같은 過程을 考察할 수는 있으나 反應過程에 關하여서는 反應生成物의 成分을 더 確認하고 反應速度를 定하여 따로 報告하고자 한다.



한편 Chloramine-T와 Phenol 類의 比가 1/2:1일 때에도 Phenol 와 o-Cresol의 境遇 收率이 5%以上인 것을 본다면 다음과 같은 反應過程이 가장 妥當할 것으로 생각된다.



## 結 論

蛋白質系化合物, Hormone 類의 低溫沃化反應을 Chloramine-T을 利用하여 進行시켜 높은 標識收率을 얻었으며, 이와 같은 反應이 分子內의 反應성이 강한 芳香核과의 沃化反應에 依하여서 進行됨을 確認하였다. 이 反應 方式은 蛋白質系化合物 뿐만 아니라 Phenol 類化合物에 一般적으로 適用될 수 있는 것으로서 그 操作이 簡便하고 反應收率が 높으므로 低溫沃化反應으로서 放射性沃化反應 뿐만 아니라 一般沃化反應으로서도 有用한 合成方式임을 究明하였다. 本 反應의 反應過程에 關한 것은 따로 研究하여 報告하고자 한다.

## References

- (1) G. Gleason. Private Communication Nov. 1965. ORINS. Oakridge. Tenn. U. S. A.
- (2) R. S. Yallow, W. M. Hunter; Medical Symposium No. 9, Oct. 1965. Oakridge Tenn. U. S. A. cf. Proceeding of the Symposium on Nuclear Medicine Nov. 18-21 (1966) Seoul Korea.

- (3) Y. S. Kim; Journal of NuCl. Sci. Korea in press (1966) Reinhold publishing Co. New York N. Y. (1961)
- (4) Y. S. Kim; Private Communication (1966) (6) Kikodo; Handbook of Organic Chemistry pp. 56~58 (1959) Tokyo, Japan
- (5) Fieser & Fieser; Advaned Org. Chem. p. 700 Ber 19. 2273 (1886)