

# Miniaturized Chromatography에 의한 $^{99m}\text{Tc}$ -표지 방사성의약품의 정도 관리\*

서울대학교병원 핵의학과

염미경 · 정재민 · 진광호 · 조규진

서울대학교 의과대학 내과학교실

정준기 · 이명철 · 고창순

= Abstract =

## Miniaturized Chromatographic Quality Control of $^{99m}\text{Tc}$ Radiopharmaceuticals

Mi Kyoung Yeom, Jae Min Jeong, Ph.D., Kwang Ho Jin and Kyu Jin Cho

Department of Nuclear Medicine, Seoul National University Hospital, Seoul, Korea

June-Key Chung, M.D., Myung Chul Lee, M.D. and Chang-Soon Koh, M.D.

Department of Internal Medicine, Seoul National University College of Medicine, Seoul, Korea

The general use of a number of  $^{99m}\text{Tc}$ -labelled compounds makes the need for good routine quality control procedures, especially the labelling efficiency measurements. The purpose of these study were to measure the labelling efficiency of  $^{99m}\text{Tc}$ -labelled MDP, DTPA, Tin colloid, and Antimony sulfide colloid using miniaturized paper and instant thin layer chromatography. The chromatographic systems include whatman 3 MM paper and acetone, Gelman ITLC-SG and 0.9% sodium chloride. The chromatographic strips are miniaturized (1×10 cm), marked and numbered. Labelling efficiencies of  $^{99m}\text{Tc}$ -labelled DTPA and Tin colloid were above 98.0%.  $^{99m}\text{Tc}$ -labelled Antimony sulfide colloid was 90.0%. And labelling efficiency of  $^{99m}\text{Tc}$ -labelled MDP was 89.0% Coefficient variance of  $^{99m}\text{Tc}$ -labelled MDP, DTPA, Tin colloid, and Antimony sulfide colloid were 5.14%, 2.06%, 1.82% and 4.90%, respectively. We found that this miniaturized chromatographic quality control was simple and reliable.

### 서 론

핵의학의 체내검사에는 많은 종류의 방사성의약품이 사용되고, 이들의 사용에 있어서 가장 기본이 되는 것은 정도관리를 통한 방사성의약품의 안전성 확보와 효율적 사용에 있다. 방사성의약품의 정도관리는 크게 방사측면과 약제학적 측면, 생물학적 측면으로 나눌 수 있다<sup>1)</sup>.

이 중 방사핵종순도와 방사화학적 순도가 관계되는 방

사측면은 사용하는 pertechnetate와 방사성동위원소의 표지방법과 조건에 따라 크게 변화할 가능성이 있어, 방사성의약품의 방사화학적 순도 측정이 가장 먼저 요구되며 필수적이다<sup>2)</sup>.

Stannous reduced  $^{99m}\text{Tc}$ -표지 방사성의약품에서 흔히 나타나는 방사화학적 불순물은 표지안된 pertechnetate와 hydrolyzed-reduced  $^{99m}\text{Tc}$ 이다. 표지안된 pertechnetate는 stannous ion이 공기중으로 산화되어 stannic ion으로 변화하여 환원제 역할을 상실하는 경우와, 킬레이트와 약하게 결합되어있는 환원된 Tc(IV)의 재산화로써 생겨난다. Hydrolyzed reduced Tc은 바이알내의

\*본 논문은 1990년도 서울대학교병원 특진연구비의 보조로 이루어진 것임.

습기로 인해 stannous ion이 stannous hydroxide로 변하여 stannous hydroxide complex를 형성하는 것과 환원된 Tc이 표지전에 Tc dioxide (TcO<sub>2</sub>)로 가수분해하여서 형성된다<sup>3-6)</sup>.

방사화학적 순도측정방법으로는 보통 박층크로마토그래피와 종이크로마토그래피, 그리고 이온교환 또는 겔여과방법과 같은 칼럼크로마토그래피 방법등이 사용된다. 그러나 이온교환 또는 칼럼크로마토그래피방법은 복잡하고 많은 시간과 기술이 요구되어<sup>1)</sup>, Zimmer, Pavel등이 <sup>99m</sup>Tc-표지 방사성의약품 순도측정에 종이, 박층크로마토그래피를 사용하이하래 현재 많이 사용되고 있다<sup>2)</sup>.

저자들은 이들이 제시한 miniaturized 종이, 박층크로마토그래피의 신뢰성을 조사하고 이 방법을 이용하여 서울대학교병원 핵의학과에서 사용하고 있는 <sup>99m</sup>Tc-표지 방사성의약품을 대상으로 정도관리를 시행하였다.

### 대상 및 방법

서울대학교병원 핵의학과에서 환자에게 투여하기 위해서 표지시킨 방사성의약품들 중에서 흔히 사용되고 있는 <sup>99m</sup>Tc-표지 methylene diphosphonic acid (MDP), diethylene triamine pentaacetic acid (DTPA), Tin colloid, Antimony sulfide colloid (Sb<sub>2</sub>S<sub>3</sub>)를 대상으로 표지율을 알아보기 위해 표지된 방사성의약품을 표지 후 1~2시간 사이에, 표지율을 빠르고 간편하게 측정할 수 있는 축소화된 크로마토그래피를 하였다<sup>2)</sup>.

표지에 사용된 pertechnetate는 캐나다 Frosst사의 generator에서 뽑아냈으며, MDP는 Frosst사, DTPA, Tin colloid, Antimony sulfide colloid는 원자력연구소의 kit였다. Whatman 3MM 종이와 Gelman ITLC-SG를 1cm×10cm 크기로 잘라서 strip의 끝으로부터 각각 1cm, 5cm, 9cm에 연필로 선을 긋고 이에 생기는 구역마다 연필로 3MM 종이에는 1, 2를, ITLC-SG에는 3, 4를 표시하였다. 용매진출선을 확인하기 위해 3MM 종이에는 유성볼펜으로, ITLC-SG에는 수성싸인펜으로 표시하였다<sup>3)</sup>. <sup>99m</sup>Tc-표지 방사성의약품이 수용성인 <sup>99m</sup>Tc-MDP와 <sup>99m</sup>Tc-DTPA의 경우 two-strip miniaturized 크로마토그래피를 이용하였고, 비수용성인 <sup>99m</sup>Tc-Tin colloid, <sup>99m</sup>Tc-Antimony sulfide colloid는 one-strip 방법을 이용하였다<sup>3)</sup> (Fig. 1). One-

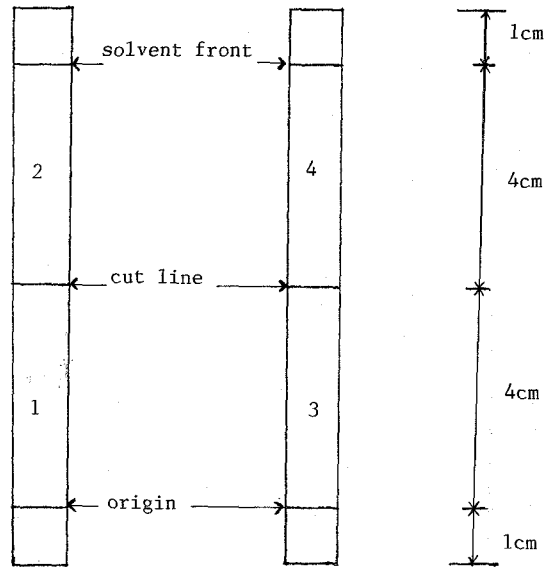


Fig. 1. Stationary phases for two-strip mini-chromatography method.

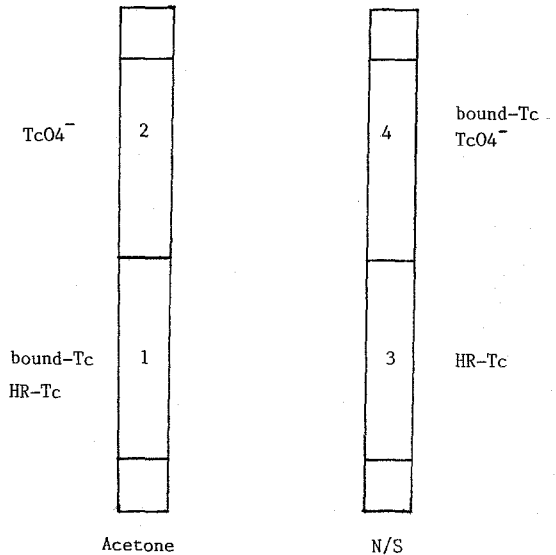


Fig. 2. Two-strip chromatography method, showing location of technetium species after chromatograms were developed in acetone and normal saline, respectively.

strip 방법의 경우는 3MM 종이 strip의 1cm선에 방사성의약품을 찍고 바로, 용매 아세톤으로 포화된 크로마토그래피 전개용기에 넣어서 용매를 9cm선까지 이동시

**Table 1. Activity Distribution (% strip counts) for Tc-99m Radiopharmaceuticals using Miniaturized Chromatography**

Chromatography strip and solvent	Strip section	Radiopharmaceutical (% of total activity)			
		Tc-99m DTPA	Tc-99m MDP	Tc-99m Tin colloid	Tc-99m Sb <sub>2</sub> S <sub>3</sub>
3MM paper and acetone	1 (cm from origin)	42.2	62.6	99.7	93.4
	2	28.0	32.7	0.0	0.2
	3	13.5	2.5	0.0	0.2
	4	13.3	0.0	0.0	0.0
	5	2.3	0.0	0.0	0.0
	6	0.3	0.0	0.0	0.1
	7	0.3	1.0	0.0	1.6
	8 (solvent front)	0.1	1.2	0.3	4.5
ITLC-SG and 0.9% NaCl	1 (cm from origin)	0.1	0.3		
	2	0.1	0.3		
	3	0.1	0.4		
	4	0.0	0.5		
	5	0.0	0.5		
	6	0.0	0.9		
	7	0.3	1.5		
	8 (solvent front)	99.4	95.6		

**Table 2. The Measured Mean Labelling Efficiencies of <sup>99m</sup>Tc - Radiopharmaceuticals**

Radiopharmaceuticals	Labelling Efficiency		
	mean (%)	SD (n-1)	CV (%)
<sup>99m</sup> Tc -MDP	89.0	4.57	5.14
<sup>99m</sup> Tc -DTPA	98.0	2.02	2.06
<sup>99m</sup> Tc -Tin colloid	99.2	1.81	1.82
<sup>99m</sup> Tc -Sb <sub>2</sub> S <sub>3</sub>	90.0	4.41	4.90

킨 후 꺼내 말리고, 5cm 연필선을 잘라서 감마카운터로 cpm을 측정하였다. two-strip 방법의 경우, 3MM 종이에 찍은 것은 아세톤 용매로 전개시켰고 ITLC-SG에 찍은 것은 생리 식염수에 전개시켰다(Fig. 2). 1번 구역에는 표지된 방사성의약품과 HR-Tc이 남아있고 2번 구역으로는 표지 안된 pertechnetate가 이동한다. 3번 구역에는 HR-Tc이 남아있고 4번구역으로 표지된 방사성의약품과 표지안된 pertechnetate가 이동한다<sup>1~3)</sup>. 각각을 잘라서 감마카운터로 측정된 cpm을 이용하여 다음 공식에서 %free pertechnetate와 %HR-Tc를 구하

였다.

$$\%TcO_4^- = \frac{\text{구역 2의 cpm}}{\text{구역 1의 cpm} + \text{구역 2의 cpm}} \times 100$$

$$\%HR-Tc = \frac{\text{구역 3의 cpm}}{\text{구역 3의 cpm} + \text{구역 4의 cpm}} \times 100$$

수용성 <sup>99m</sup>Tc-표지방사성의약품의 경우, 표지율은 100%에서 %TcO<sub>4</sub><sup>-</sup>와 %HR-Tc를 빼준 값으로 하였으며, 비수용성인 <sup>99m</sup>Tc-표지방사성의약품의 경우 HR-Tc를 분리할 수 있는 크로마토그래피방법은 개발되지 못했으며<sup>3)</sup>, <sup>99m</sup>Tc-표지 Antimony sulfide colloid는 산·환원에 의한 반응이므로 표지안된 pertechnetate만이 불순물로서 생각되어진다. 따라서 비수용성 <sup>99m</sup>Tc-표지방사성의약품의 표지율은 100%에서 %TcO<sub>4</sub><sup>-</sup>를 빼준 값으로 하였다<sup>3)</sup>.

서울대학교병원 핵의학과의 <sup>99m</sup>Tc-표지방사성의약품의 정도관리의 일환으로 일주일에 두번씩 임상에서 쓰이는 방사성의약품을 무작위로 추출하여 <sup>99m</sup>Tc-MDP와 <sup>99m</sup>Tc-DTPA에 대해서는 28번, <sup>99m</sup>Tc-Tin colloid는 23번, <sup>99m</sup>Tc-Antimony sulfide colloid는 37번 크로마토그래피를 하여 각 방사성의약품의 표지율을 알아보고 이들의 표준편차와 분포도를 알아보았다.

결 과

방사성의약품의 표지율측정에 있어서 strip을 2등분하

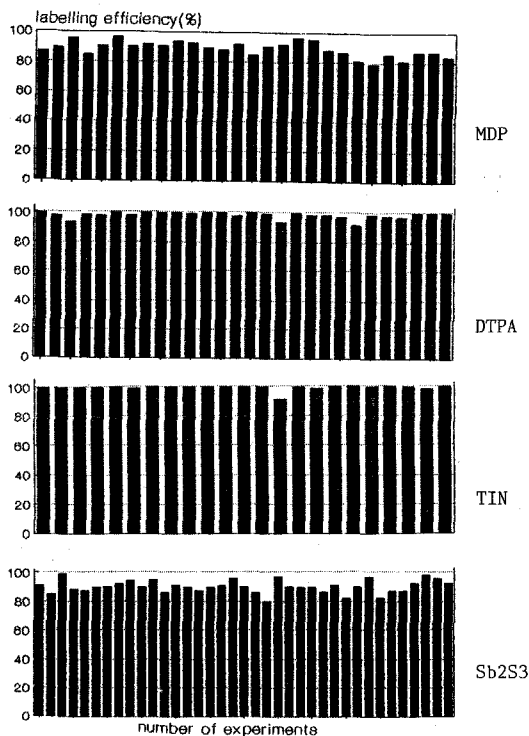


Fig. 3. Distribution of measured labelling efficiencies in Tc-99m radiopharmaceuticals.

여 감마카운터로 cpm을 측정하기 전에 먼저 각 strip을 1 cm크기로 잘라서 Table 1과 같이 origin에서 4 cm까지의 strip을 경계로 하여 방사성의약품들이 분리되는 결과를 얻었다. 이 결과에 기초해서 다음부터는 strip을 간단히 2등분하여 표지율을 측정하였다. 2등분하여 얻은 측정의 결과는 Fig. 3과 같다. <sup>99m</sup>Tc-표지방사성의약품의 표지율 평균과 변이계수는 Table 2에서와 같이, <sup>99m</sup>Tc-DTPA는 98.0%의 표지율과 2.06%의 변이계수를 나타냈고, <sup>99m</sup>Tc-Tin colloid는 99.2%의 표지율과 1.82%의 변이계수를 나타냈다. <sup>99m</sup>Tc-MDP와 <sup>99m</sup>Tc-Antimony sulfide colloid는 각각 89.0%와 90.0%의 표지율을 보였고 5.14%, 4.90%의 변이계수를 나타냈다. 표지율이 가장 낮았던 <sup>99m</sup>Tc-MDP의 표지율에 있어서 넣어준 pertechnetate의 부피에 따른 변화를 살펴 보았다(Fig. 4). 넣어준 부피와 표지율과의 유의한 상관성은 없었으나(r=0.58), 넣어준 부피가 3 ml 이하로 적은 경우에는 모두 90.0%이상의 표지율을 보였다.

Table 3. The Percentage of TcO<sub>4</sub><sup>-</sup>, HR-Tc for <sup>99m</sup>Tc-labelled MDP, and DTPA

	Mean (%) ± SD	
	% TcO <sub>4</sub> <sup>-</sup>	% HR-Tc
<sup>99m</sup> Tc-MDP	5.7 ± 3.2	5.3 ± 3.0
<sup>99m</sup> Tc-DTPA	1.4 ± 1.8	0.5 ± 1.0

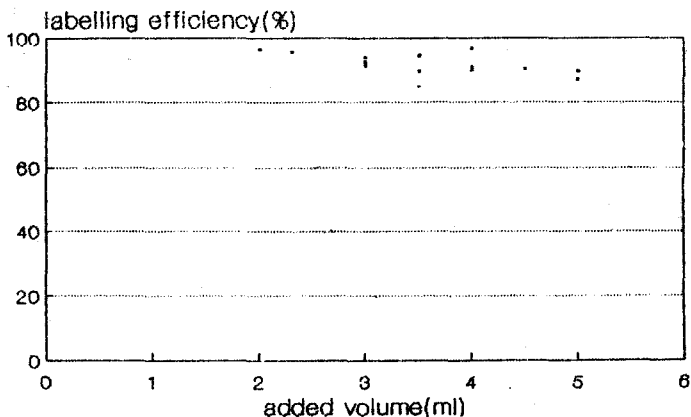


Fig. 4. Correlation between added <sup>99m</sup>TcO<sub>4</sub><sup>-</sup> volume and labelling efficiencies for <sup>99m</sup>Tc-MDP (r=0.58).

## 고 안

방사화학적 순도측정방법으로는 보통 박층크로마토그래피와 종이크로마토그래피, 그리고 이온교환 또는 겔여과방법과 같은 칼럼크로마토그래피방법등이 사용된다. 박층크로마토그래피와 종이크로마토그래피는 방사성의약품의 용매에 대한 용해성의 차이로 불순물과 분리하는 방법이다. 이온교환칼럼은 방사성의약품의 전기적 전하의 특성에 의한 분류방법이며 겔여과방법은 분자크기에 따른 분류방법으로써 박층과 종이크로마토그래피보다 더 복잡하고 많은 시간과 기술이 요구된다<sup>1)</sup>.

이번 실험에 사용한 크로마토그래피방법은 핵의학검사에서 가장 간편하고 빠르게 방사화학적 순도를 측정할 수 있는 방법이다<sup>1)</sup>. 그러나 비수용성  $^{99m}\text{Tc}$ -표지 방사성의약품의 HR-Tc는 이방법으로 분리할 수 없는 단점이 있으며, 현재까지는 비수용성  $^{99m}\text{Tc}$ -표지 방사성의약품의 HR-Tc를 분리할 수 있는 크로마토그래피 방법은 개발되지 못했다<sup>3)</sup>.

저자들이 표지율측정에 있어서 3MM 종이와 ITLC-SG strip을 각각 1cm로 잘게 잘라서 표지된 방사성의약품과 불순물의 strip에서의 분포를 살펴본 결과, 간단히 strip을 2등분하여도 결과분석에 아무 이상이 없었다. 간단히 2등분하여 얻은 방법은 아주 빠르고 간단하게 시행할 수 있었으며 믿을 수 있는 방법임을 확인할 수 있었다.

$^{99m}\text{Tc}$ -DTPA, Tin colloid, Antimony sulfide colloid는 비교적 안정하여 크로마토그래피하는데 문제는 없었으나  $^{99m}\text{Tc}$ -MDP는 약한킬레이트결합을 하고 있으므로 크로마토그래피를 하는 도중에도 변화가 일어날 수 있는 가능성이 있다<sup>8)</sup>.  $^{99m}\text{Tc}$ -MDP의 경우  $\%TcO_4$ 와  $\%HR-Tc$ 가 약 5% 정도로서 비슷한 비율을 차지하였으며  $\%TcO_4$ 가 증가하면 배후 방사능(background)이 증가하고,  $\%HR-Tc$ 가 증가하면 bone imaging에서 간에 섭취가 증가한다<sup>3)</sup>.

현재 본 병원에서 사용하고 있는  $^{99m}\text{Tc}$ -표지 DTPA, Tin colloid는 98.0%이상의 높은 표지율을 나타냈으

며, Antimony sulfide colloid는 90.0%로 비교적 높고 고른 표지율을 나타냈으므로, 표지율과 표지율변화에 관한 사항에 대해서는 비교적 안심하고 사용할 수 있다고 생각되었다.  $^{99m}\text{Tc}$ -MDP의 경우는 다른 방사성의약품보다는 약간 떨어지는 경향을 보였고 표지율변화도 약간 크게 나타났으므로 더 자주 표지율을 측정하는 것이 필요하고, 같은 조건에서 시행하여야 하며, 재현성있는 기술적인 정확한 표지율측정이 요구된다고 생각되었다.

## REFERENCES

- 1) Kowalsky RJ, Perry JR: *Radiopharmaceuticals in nuclear medicine practice*, Appleton & Lange, Chapter 6, 1987
- 2) Zimmer AM, Pavel DG: *Rapid Miniaturized chromatographic Quality-Control Procedures for Tc-99m Radiopharmaceuticals*. *J Nucl Med*, 18:1230-1233, 1977
- 3) Robbins PJ: *Chromatography of Technetium-99m Radiopharmaceuticals —A Practical Guide*, 2nd, The Society of Nuclear Medicine, 1985
- 4) Weber DA, O'Mara RE: *Factors Influencing paper Chromatographic Analysis of Technetium-99m Phosphorus compounds: Concise communication*. *J Nucl Med*. 19:534-537, 1978
- 5) Eckelman WC, Richards P: *Analytical pitfalls with  $^{99m}\text{Tc}$ -labelled compounds*. *J Nucl Med* 13:202-204, 1972
- 6) Billingham MW: *Chromatographic quality Control of  $^{99m}\text{Tc}$ -labelled compounds*. *J Nucl Med* 14:793-797, 1973
- 7) 박경배, 오옥두, 김재록, 임상무, 홍성운: 림포신티 그래프용  $^{99m}\text{Tc}$ -표지황화안티몬 콜로이드 및 전분의 제조에 관한 연구. *대한핵의학회지* 23(1):71-83, 1989
- 8) Salehi N, Lichtenstein M, Pojer PM: *Technetium-99m Radiopharmaceutical Preparation by Surface Adsorbed Stannous Ions*. *J Nucl Med* 28:1041-1046, 1987
- 9) Deutsch E, Hirth W: *In Vivo Inorganic Chemistry of Technetium Cations*. *J Nucl Med* 28:1491-1500, 1987