

^{99m}Tc-MDP 제조시 산화방지제 첨가영향

연세대학교 보건과학대학 임상병리학과

오 옥 두

한국원자력연구소 원자로동위원소실

박 경 배 · 김 재 록

= Abstract =

Effect of Antioxidants on the Preparation of ^{99m}Tc-MDP

Ok Doo Awh, Ph.D.

Department of Medical Technology, College of Health Science, Yonsei University, #234
Maeji-ri, Hungob-myon, Wonju-gun, Kangwon-do, Korea

Kyung Bae Park, Ph.D. and Jae Rok Kim, Ph.D.

Reactor Isotope Department, Korea Atomic Energy Research Institute, Seoul, Korea

To improve the quality of ^{99m}Tc-methylenediphonate (^{99m}Tc-MDP) for skeletal imaging, different composed ^{99m}Tc-MDP complexes were prepared with addition of antioxidants such as ascorbic acid, gentisic acid, and p-aminobenzoic acid. To characterize the different ^{99m}Tc-MDP preparations, some physical and biochemical properties of ^{99m}Tc-MDP such as thermal stability, lipophilicity and bindability to serum protein were studied and organ distribution pattern of these complexes also compared. The thermal stabilities of ^{99m}Tc-MDP contained antioxidants were dependant mainly on pH, temperature, and elapsed time after the preparation. ^{99m}Tc-MDP complex contained gentisic acid as antioxidant was extremely unstable at alkaline condition. The most stable

^{99m}Tc-MDP was found in the presence of p-aminobenzoic acid. ^{99m}Tc-MDP complexes with antioxidants were very lipophilic but lipophilicity differences in antioxidants were not observed. The bindability of ^{99m}Tc-MDP to serum protein was not affect at pH 5.0~9.0 by the different antioxidants. However, protein binding percentage of

^{99m}Tc-MDP with ascorbic acid was relatively low (22.7%) at pH 9.0. In biodistribution studies in mice, bone to muscle ratios of ^{99m}Tc-MDPp preparations containing ascorbic acid, gentisic acid, and p-aminobenzoic acid were 15.3, 24.5, and 30.1, respectively. Im to our results, p-aminobenzoic acid is fond to be the most promising antioxidant.

서 론

Chiewitz등¹⁾의 ³²P 표지 orthophosphate의 골격 친화성에 대한 연구를 효시로 하여 수많은 방사성동위원소

들이 골격영상화에 의한 임상진단을 목적으로 조사되었다. Subramanian등²⁾은 핵의학적 진단에 가장 적합한 물리적 특성을 가진 ^{99m}Tc와 polyphosphate계 화합물들을 표지하여, 영상화에 성공함으로써 ^{99m}Tc 표지화합물들의 중요성이 인식되었으며, 그 이후 인을 함유한 화

합물들로서 pyrophosphate, hydroxyethylenediphosphonate (HEDP), methylenediphosphonate (MDP), hydroxydi-methylenediphosphonate (HMDP) 등의 ^{99m}Tc 표지화합물들이 실용화되었다. 이들 ^{99m}Tc 착물들의 골집적율, 골(bone)에 대한 연조직(soft tissue)의 비, 뇨배설율 등에 대한 비교로부터 ^{99m}Tc -MDP 및 ^{99m}Tc -HMDP가 우수함이 증명되었다³⁾. 그러나 HMDP의 경우 화학적 합성방법이 비교적 난이하며, MDP에 비해 정상 뼈에 대한 callus의 비가 불량하다는 점 등으로 현재 ^{99m}Tc -MDP가 가장 보편적으로 사용되고 있다. 그러나 이 ^{99m}Tc -MDP는 착물안정성이 비교적 크지 못하여 제조방법에 따라 뼈에 대한 집적율이 다르며, 이에 대한 원인으로써 제조방법에 따라 서로 다른 ^{99m}Tc 착물이 형성되기 때문이며, 또한 착물이 형성되기 전 콜로이드형태의 환원은 되었으나 수화된 ^{99m}Tc (hydrolyzed-reduced ^{99m}Tc , HR- ^{99m}Tc)의 형성이 방해요인으로 보는 보고도 있다⁴⁾. 그러나 아직까지 이에 대해서는 논란의 여지가 많으며 양질의 ^{99m}Tc -MDP는 어떠한 성질을 가진 것인가를 확인하기 위하여 ^{99m}Tc -MDP에서 ^{99m}Tc 의 산화상태⁵⁾, 혈청단백질과의 결합능⁶⁾, tricalciumphosphate에의 흡착력⁷⁾, 산화방지제 첨가효과 등⁸⁾에 대한 연구가 계속되고 있는 실정이다.

따라서 본 연구에서는 산화방지제로써 ascorbic acid, gentisic acid, p-aminobenzoic acid 등을 선택하여 이들이 첨가된 ^{99m}Tc -MDP 착물을 만들고 이들의 열안정성, 친유성(lipophilicity), 인 혈청단백질과의 결합능 등의 성질을 조사하고 실험동물에서의 생체분포도와 연계시킴으로써 우수한 ^{99m}Tc -MDP 제조를 위한 지침을 마련코자 하였다.

재료 및 방법

1. 재료

- Methylenediphosphonic acid (MDP): Fluka
- L-Ascorbic acid: Sigma
- Gentisic acid: Sigma
- p-Aminobenzoic acid: Sigma
- Stannous chloride: 99.999%, Aldrich
- Sodium pertechnetate ($\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$): KAERI
- Ar gas: 99.9%, Dong-gin Gas
- Filter membrane: 0.2 μm , Nuclepore

- ITLC-SG (instant thin layer chromatography-silica gel): Gelman Science
- Gamma Counter: Well type, Polyspec Research Spectrometer, Baird Atomic
- Freeze dryer: Labconco Model 5 equipped with Vaco-stop apparatus
- Centrifuge: Sorvall RC-5B, Dupont Instruments
- Bio-Freezer: Forma Scientific
- pH meter: Orion Research
- Animal whole body counter: Aloka

2. 방법

1) 산화방지제가 첨가된 ^{99m}Tc -MDP의 제조

산화방지제(L-ascorbic acid, gentisic acid, p-aminobenzoic acid 중 한가지) 100 mg과 MDP 500 mg을 Ar 충전수 약 35 ml에 녹였다(A액). 이때 산화방지제가 녹지 않을 경우에는 진한 NaOH 수용액을 가하여 녹였다. Stannous chloride 125 mg을 진한 염산 0.3 ml에 녹이고 Ar 충전수로 25 ml 되게 희석한 후 0.2 μm 여과막을 사용하여 여과하였다(B액). A액 전체에 B액 3ml를 가한 다음 pH 7.0되게 조절하고, 전체 부피가 50 ml 되게 Ar 충전수로 희석하고 0.2 μm 여과막을 사용하여 여과하였다. 이때 용액의 액성을 pH 3.0, 6.0, 9.0, 11.0이 되게 조절하여서도 실험하였다. 이 액을 10 ml 유리바이알에 1ml씩 소분하고 $\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$ 수용액 0.1 ml를 가해 흔들어 표지하였다.

2) ^{99m}Tc 표지수율 및 방사화학적 순도 검정

^{99m}Tc -MDP 표지수율 및 시간경과에 따른 방사화학적 순도결정에는 acetone을 전개용매로 한 종이크로마토그래피와 생리식염수(saline)을 전개용매로 한 ITLC-SG 크로마토그래피계가 사용되었다.

3) 열안정성 실험

산화방지제(ascorbic acid, gentisic acid, p-aminobenzoic acid 중 한가지) 및 각기 다른 액성(pH 5.7, 9)에서 제조한 ^{99m}Tc -MDP를 4°C, 37°C, 60°C 등에서 항온유지하면서 1시간, 3시간, 6시간 간격으로 그 방사화학적 순도를 MDP의 ^{99m}Tc 표지수율 결정에서 적용된 크로마토그래피방법으로 결정함으로써 각각의 열안정성을 비교하였다.

4) ^{99m}Tc -MDP의 혈청단백질과의 결합능 결정

기보된 방법⁹⁾에 따라 서로 다른 산화방지제가 첨가된 ^{99m}Tc -MDP들의 혈청 단백질과의 결합능을 결정하

였다. 즉, 항응고제가 함유되지 않은 인혈(human wholeblood)을 원심분리하여 혈청을 얻었다. 이 혈청 500 μl에 ^{99m}Tc-MDP 50 μl를 가하고 잘 섞어 준 다음 37°C에서 20분 동안 정온유지하였다. 정온유지후 30% trichloroacetic acid 수용액 500 μl를 가해 vortex mixer로 섞어 준 다음 3,000 g로 30분 동안 원심분리하였다. 총방사능(T)를 측정하고 상등액을 따라버린 다음 침전층 방사능(B)을 측정하여 B/T(%0를 환산함으로써 혈청단백질에 대한 결합능를 결정하였다.

5) Lipophilicity 결정 실험

Imre가 보고한 방법에 따라 실험하였다⁹⁾. 즉, 각기 다른 산화방지제를 첨가하여 제조한 ^{99m}Tc-MDP 수용액 3ml에 n-octanol 3ml를 가하여 37°C에서 60분 동안 정온유지하며 자주 흔들어 주어 물층과 유기층이 잘 섞이도록 하였다. 정온유지가 끝난 다음 30분 동안 상온에 방치하여 물층과 유기층이 완전히 분리되게 한 후 각 층에서 50 μl씩을 취하여 각각의 방사능을 측정하였다. 유기액층에 대한 수용액층의 방사능의 비를 환산한 후 그 대수값을 취하여 lipophilicity를 나타내었다.

6) 동물 실험

체중 25~30 gr인 ICR계 생쥐의 꼬리정맥에 ^{99m}Tc-MDP 수용액 100 μl를 주사하였다. 3시간 경과후 animal whole body counter로 전체 방사능(T)을 측정하고, 심장에서 전혈을 채취한 후 간, 위, 골격, 근육 등을 적출하여 각각의 무게를 달고 방사능을 측정하였다. 이들 값들로부터 각 장기 g당 투여 방사능 백분율(% dose per gr tissue)을 환산하였다.

결과 및 토의

1. ^{99m}Tc 표지수율 및 방사화학적 순도

산화방지제 및 pH 변화에 따른 MDP의 ^{99m}Tc 표지 반응 수율 변화와 이들의 시간경과에 따른 방사화학적 순도 변화 여부를 검정하였다.

Table 1에서 보는 바와 같이 pH 5~9의 범위에서는 ascorbic acid, gentisic acid, p-aminobenzoic acid들 중 어느 산화방지제를 가하더라도 MDP의 ^{99m}Tc 표지 수율은 정량적이었다. 그러나 pH 3과 11의 비교적 산성 과 알칼리 조건에서는 산화방지제 변화에 따른 ^{99m}Tc 표지수율의 변화가 관찰되었다. Ascorbic acid의 경우 pH 3과 11에서 ^{99m}Tc(VII)가 SnCl₂에 의하여 환원은

되었으나 MDP와 표지되지 않고 ^{99m}Tc와 콜로이드를 형성하는 경향이 뚜렷하여 ^{99m}Tc 표지수율의 감소현상이 관찰되었으며, gentisic acid와 p-aminobenzoic acid의 경우 pH 11의 강알칼리조건에서 그 ^{99m}Tc 표지수율이 각각 63.4%와 61.4%로써 환원제 SnCl₂의 산화방지 효과가 저하되는 현상을 보였는데, 이들간의 차이는 뚜렷하지 않았다. 이상의 결과를 종합하면 pH 5~9의 범위에서는 상기 3종류의 어느 산화방지제를 첨가하더라도 MDP의 ^{99m}Tc 표지수율은 정량적이어서 방사화학적 순도만을 고려할 경우 비교적 넓은 범위의 pH 조건을 최적 ^{99m}Tc 표지조건으로 설정할 수 있겠으나 ^{99m}Tc-MDP가 인체에 직접 혈관 주사하는 주사제임을 고려하면 pH 7 부근의 중성조건에서 제조하는 것이 타당할 것으로 생각한다.

Kroesbergen등¹⁰⁾은 pH 4~10의 범위에서 pH 변화에 따른 MDP의 ^{99m}Tc 표지수율 변화를 실험한 결과에 의하면, pH 증가에 따라 그 표지수율이 감소하여 pH 10의 조건에서는 ^{99m}Tc와의 표지가 전혀 일어나지 않는다고 하였다. 이와 같은 현상은 산화방지제가 첨가되지 않은 결과로 해석된다. 산화방지제가 첨가되면, 환원제

Table 1. Labelling Percentage of MDP kit* with ^{99m}Tc as a Function of Antioxidants and pH

Antioxidants	pH	Labelling Percentage
Ascorbic acid	3.0	31.0
	5.0	100
	7.0	100
	9.0	100
	11.0	13.6
Gentisic acid	3.0	98.7
	5.0	100
	7.0	100
	9.0	100
	11.0	63.4
p-Aminobenzoic acid	3.0	97.9
	5.0	100
	7.0	100
	9.0	100
	11.0	61.4

* The vial contained 10mg MDP, 0.3mg SnCl₂ and 2mg antioxidants.

인 SnCl₂의 효과적 산화방지 역할을 함으로써 ^{99m}Tc-MDP 제조시 용액의 액성 변화에 따른 영향이 당연히 줄어들 것임으로, 일반적으로 일선 의료기관에서는 자체 생산품 대신 즉석표지 키트 형태로 공급되는 MDP 바이알을 사용한다는 점을 고려하면 산화방지제의 첨가가 효과적임을 토의하였다.

2. ^{99m}Tc-MDP의 열안정성

서로 다른 산화방지제를 첨가하여 제조한 ^{99m}Tc-MDP들의 열안정성을 조사하기 위하여 보관온도, pH, 시간경과 등의 변화에 따른 방사화학적 순도를 결정하였다(Table 2-4).

Table 2에서 보는 바와 같이 ascorbic acid가 산화방지제로 첨가될 경우 pH 5-9의 범위에서 ^{99m}Tc-MDP는 비교적 안정하여 37°C로 6시간동안 보관하더라도 그 방사화학적 순도는 100% 정도로 일정하게 유지되었다. 60°C로 보관할 경우에는 3시간부터 Na^{99m}TcO₄가 유리되어 나오는 현상이 관찰되었는데 pH가 증가할수록 유리되어 나오는 Na^{99m}TcO₄의 양이 증가되었으나 pH 9로 6시간동안 보관하더라도 그양은 4.5%밖에 되지 않아 ascorbic acid가 ^{99m}Tc-MDP의 열안정성 유지를 위해서는 효과적임을 확인하였다. Table 3의 결과에서 보는 바와 같이 gentisic acid가 첨가될 경우에도 ascorbic acid에서와 비슷한 현상이 관찰되었으나, pH와 온도가 증가할수록 ^{99m}Tc-MDP의 방사화학적 순도는 현

저히 감소되었다. 특히 pH 9의 약알카리조건에서는 60°C로 6시간동안 보관하면 ^{99m}Tc-MDP의 거의 대부분이 Na^{99m}TcO₄로 변환되었다. 그러나 p-aminobenzoic acid가 산화방지제로 첨가될 경우(Table 4)에는 ascorbic acid와 gentisic acid에서 관찰되었던 pH 및 온도 증가에 따른 ^{99m}Tc-MDP의 방사화학적 순도 감소현상이 전혀 나타나지 않았다. pH 9로 제조된 ^{99m}Tc-MDP에서도 60°C로 6시간동안 보관하여도 99% 이상의 방사화학적 순도를 보여 p-aminobenzoic acid가 ^{99m}Tc-MDP의 열안정성을 유지하는 데에는 가장 효과적인 첨

Table 3. Thermal Stability* of ^{99m}Tc-MDP Preparations with Gentisic Acid as Antioxidants

Temperature	pH	Elapsed Time		
		1hr	3hr	6hr
4°C	5.0	100	100	100
	7.0	100	100	100
	9.0	100	100	100
37°C	5.0	100	100	100
	7.0	100	100	99.6
	9.0	100	99.5	97.7
60°C	5.0	100	99.8	98.6
	7.0	100	98.1	7.7
	9.0	75.4	18.7	0.7

* Expressed in radiochemical purity (%).

Table 2. Thermal Stability* of ^{99m}Tc-MDP Preparations with Ascorbic Acid as Antioxidants

Temperature	pH	Elapsed Time		
		1hr	3hr	6hr
4°C	5.0	100	100	100
	7.0	100	100	100
	9.0	100	100	100
37°C	5.0	100	100	100
	7.0	100	100	99.8
	9.0	99.9	99.6	99.5
60°C	5.0	100	99.0	98.6
	7.0	100	98.0	97.7
	9.0	99.2	98.3	95.5

* Expressed in radiochemical purity (%).

Table 4. Thermal Stability* of ^{99m}Tc-MDP Preparations with p-Aminobenzoic Acid as Antioxidants

Temperature	pH	Elapsed Time		
		1hr	3hr	6hr
4°C	5.0	100	100	100
	7.0	100	100	100
	9.0	100	100	100
37°C	5.0	100	100	99.8
	7.0	100	100	99.7
	9.0	100	100	100
60°C	5.0	100	100	99.9
	7.0	100	100	99.5
	9.0	100	99.9	99.0

* Expressed in radiochemical purity (%).

Table 5. Protein Binding Percentage* of ^{99m}Tc -MDP Preparation with Different Antioxidants

Antioxidants	pH		
	5.0	7.0	9.0
Ascorbic Acid	47.1	47.5	22.7
Gentisic Acid	45.2	50.9	53.0
p-Aminobenzoic Acid	49.7	47.2	45.6

* Determined by precipitation method using 30% trichloroacetic acid solution.

가제임을 확인하였다. 이상의 결과를 종합하면 ^{99m}Tc -MDP의 열안정성 유지를 위한 안정화 효과는 p-aminobenzoic acid, ascorbic acid, gentisic acid 순으로 우수함을 확인할 수 있었다.

3. 혈청단백질과의 결합능

서로 다른 산화방지제를 첨가하여 제조한 ^{99m}Tc -MDP의 물성을 동물실험 결과와 연관시킴으로써 산화방지제 첨가영향을 구명하기 위하여 30% trichloroacetic acid 수용액에 의한 침전법을 적용하여 혈청단백질과의 결합능을 결정하였다.

Table 5에서 보는 바와 같이 ascorbic acid를 첨가하여 제조한 ^{99m}Tc -MDP의 혈청단백질 결합능은 pH 5~7의 범위에서는 차이가 없으나 pH 9에서는 22.7%로써 가장 작은 값을 보여 알칼리조건에서 제조하면 결합능이 감소할 것으로 예측된다. 그러나 gentisic acid의 경우에는 ascorbic acid에서와는 반대되는 현상, 즉 pH 증가에 따라 ^{99m}Tc -MDP의 혈청단백질 결합능의 감소경향을 보였다. 이상의 결과를 종합하면, 산화방지제와 pH 증가에 따라 결합능의 감소경향을 보였다. 이상의 결과를 종합하면, 산화방지제와 pH 변화에 의한 차이는 있으나 pH 9에 ascorbic acid를 첨가하여 제조한 ^{99m}Tc -MDP를 제외하면, 결합능의 차이는 크지 않았으며, 그 변화 범위는 45.2~53.0%로써 뚜렷한 경향을 유추하기는 어려웠다. 이와 같은 ^{99m}Tc -MDP의 혈청단백질에 대한 결합율은 기보된 값, 45%¹¹⁾, 33%¹²⁾, 8%¹³⁾ 등 보다는 높은 경향을 보이고 있다.

^{99m}Tc -MDP를 체내에 투여하면 3시간 이내에 투여량의 약 10%가 단백질과 결합한다고 한다¹⁴⁾. 혈청단백질이나 적혈구와의 결합이 작을수록 urinary excretion과 골집적율이 증가되어 bone/soft tissue 비가 증가된다

고 한다. 따라서 ^{99m}Tc -MDP의 체내 단백질 결합에 대한 간접적인 조사방법으로써 체외에서 그 결합능 결정을 위한 trichloroacetic acid (TCA), ammonium sulfate, uranylacetate, alcohol, perchloric acid 등을 사용하는 침전법과 젤여과 방법 등이 알려져 있다. 그러나 서로 다른 방법들로 결정된 단백질 결합능간에 차가 심하여, 같은 시료에 대해서도 alcohol로 결정된 값이 10.3%이나 ammonium sulfate에 의해서는 98%의 단백질 결합능은 보였다¹⁵⁾. 이와같은 관점에서 단백질 결합능은 동일조건에서 동일방법으로 비교할 때에 한해 비교가 가능하다고 본다. 본 실험에서 30% TCA 방법으로 결정된 ^{99m}Tc -MDP의 단백질 결합능은 pH 7의 조건에서 첨가된 산화방지제 p-aminobenzoic acid, ascorbic acid, gentisic acid 순으로 그 값이 감소되었다. 이와같은 결과가 체내에도 그대로 적용된다면 앞의 순서로 ^{99m}Tc -MDP의 혈청단백질과 결합능이 감소되어 bone/soft tissue 비가 증가될 것으로 본다.

4. Lipophilicity

서로다른 산화방지제를 첨가하여 제조된 ^{99m}Tc -MDP의 lipophilicity를 조사하기 위하여 ^{99m}Tc -MDP의 수용액층과 유기물층(n-octanol)에 대한 분배비의 log 값이 ascorbic acid, gentisic acid, p-aminobenzoic acid 등을 첨가할 경우 각각 -2.7, -2.7, -2.6으로서 어느 경우든 매우 친수성 ^{99m}Tc -MDP가 제조됨이 관찰되었으며 이들간의 차이는 없었다. 방사성 의약품의 여러가지 물성중 lipophilicity는 체내 대사과정의 반응기구(mechanism)를 설명할 수 있는 한 요인으로서 방사성의약품의 세포내의 결합여부 판정에 이용된다. Lipophilicity가 클 경우 ^{99m}Tc 착물이 유기질막(lipoidal membrane)을 통과하여 세포내 결합이 가능하다고 한다¹⁶⁾. 따라서 본 실험에서 제조된 ^{99m}Tc -MDP는 매우 친수성이 큼으로 lipophilicity 개념에 의한 적혈구내 ^{99m}Tc 표지 반응기구를 설명하기는 어렵다고 본다.

5. 동물 실험

ICR계 생쥐를 실험동물로 한 ^{99m}Tc -MDP의 산화방지제 첨가에 의한 생체분포실험을 수행하여 Table 6과 같은 결과를 얻었다.

^{99m}Tc -MDP의 골격에 대한 집적율(% dose per gram tissue)은 산화방지제로써 gentisic acid가 첨가

Table 6. Biodistribution of ^{99m}Tc-MDP Preparations with Different Antioxidants in Mice at 3Hrs after I.V. Injection

Organ	% Dose Per Gram Tissue*		
	Ascorbic Acid	Gentisic Acid	PABA**
Liver	3.7±0.3	2.0±0.4	2.1±0.2
Stomach	4.9±0.9	2.3±0.5	1.2±0.1
Bone	21.5±1.4	28.0±1.1	27.1±4.5
Blood	2.3±0.6	1.8±0.2	1.7±0.0
Muscle	1.4±0.3	1.1±0.1	0.9±0.1
Bone/Blood	9.3	15.5	15.9
Bone/Muscle	15.3	24.5	30.1

* Mean ± SD for 3 animals in each measurement.

** p-aminobenzoic acid.

될 경우 가장 높았으며(28.0), ascorbic acid가 첨가될 경우 가장 낮았다(21.5). p-Aminobenzoic acid가 첨가될 경우 ^{99m}Tc-MDP의 골집적율이 27.1로 gentisic acid가 첨가되었을 때와 큰 차이가 없다. 또한 혈액(blood)과 근육(muscle)에서는 ^{99m}Tc-MDP의 집적율이 p-aminobenzoic acid, gentisic acid, ascorbic acid 순으로 증가되는 현상을 보였다. Bone/soft tissue 비에 결정적 영향을 미치는 bone/blood와 bone/muscle의 비 또한 앞의 첨가제가 사용된 순으로 증가되었다. 이상의 결과는 ^{99m}Tc-MDP 제조를 위한 산화방지제로써 p-aminobenzoic acid가 가장 우수함을 반영한다. 기보된 문헌에 의하면⁹⁾, gentisic acid와 p-aminobenzoic acid의 비교실험에서 ^{99m}Tc-MDP 제조를 위해서는 gentisic acid가 우수한 산화방지제라고 한다. Gentisic acid의 경우 비교적 물에 대한 용해성이 커 제조시 산성에서도 용이하게 용해되는 반면 p-aminobenzoic acid의 경우 gentisic acid보다 강알칼리성에서 용해가 가능하여 제조상 각별한 주의가 요구된다. MDP와 p-aminobenzoic acid를 pH 5.0 정도의 수용액에 녹여 제조하면 ^{99m}Tc 표지반응에서 ^{99m}Tc 콜로이드 형성방지에 효과적이다. 앞의 결과는 p-aminobenzoic acid가 첨가된 ^{99m}Tc-MDP가 gentisic acid가 첨가된 경우보다 간접적용이 컸는데 그와같은 현상을 ^{99m}Tc-MDP 제조시 형성된 ^{99m}Tc 콜로이드에 기인하는 것으로 해석하였다. 결론적으로 골격질환진단용 ^{99m}Tc-MDP의 산화방지제 첨가에 의한 bone/soft

tissue 비 향상효과는 ^{99m}Tc 표지수율, 열안정성, 혈청 단백질 결합능과 상호 밀접한 관계가 있는 것으로 보며, 열안정성이 클수록 혈청 단백질 결합능이 작을수록 그 비가 향상됨을 관찰할 수 있었다.

결 론

1) pH 5-9의 범위에서 MDP 10 mg, SnCl₂ 0.3 mg, 산화방지제 2 mg, 50 mCi(2 ml) 이하의 Na^{99m}TcO₄ 등을 사용할 경우 98%이상의 ^{99m}Tc 표지수득율을 얻을 수 있었다.

2) 비교적 온화한 조건(pH, 온도)에서는 산화방지제 ascorbic acid, gentisic acid, p-aminobenzoic acid 들간의 산화방지제 효과는 차이를 보이지 않아 모두 사용 가능함을 알 수 있었으나, pH 9에서 제조한 ^{99m}Tc-MDP를 60°C에서 6시간 보관할 경우 gentisic acid 첨가에 의한 열안정성 효과는 기대하기 어려웠다.

3) pH 9에서 ascorbic acid를 첨가하여 제조한 ^{99m}Tc-MDP의 경우 혈청단백질 결합능이 약 23%로 낮아지는 것을 제외하고는 pH 5-9에서 여러가지 산화 방지제를 첨가하더라도 46~53%의 비교적 높은 혈청단백질 결합능을 보였다.

4) 서로 다른 산화방지제를 사용한 ^{99m}Tc-MDP의 lipophilicity는 모두가 유사한 결과를 보였으며, 친수성이 컸다.

5) Ascorbic acid, gentisic acid, p-aminobenzoic acid 등이 각각 첨가된 ^{99m}Tc-MDP의 동물실험 결과 그 방사능이 bone/muscle 비는 각각 15.3, 24.5, 30.1로써 p-aminobenzoic acid가 효과적인 산화제임이 확인되었다.

REFERENCES

- 1) Chiewitz O, Hevesy G: *Radioactive indicators in the study of phosphorus metabolism in rats. Nature (London) 1936:754, 1924*
- 2) Subramanian G, McAfee JG: *A new complex of ^{99m}Tc for skeletal imaging. Radiology 99:192, 1971*
- 3) Subramanian G, McAfee JG, et al: *Localization of new Tc-99m labeled diphosphonates in experimental bone lesions. Presented at the 19th International Annual Meeting of the Society of Nuclear Medicine*

Europe, Bern, Switzerland, Sept 8-11, 1981

- 4) Handeland A, Lindegaard MW, Heggli DE: *Biodistribution of anionic separated MDP complexes from different MDP preparations. Eur J Nucl Med 15: 609, 1989*
- 5) Tji TG, Vink HA, Gelsema WJ, Deligny CL: *Determination of the oxidation state of Tc in ^{99}Tc (Sn) EHDP, ^{99m}Tc (Sn) EHDP, ^{99}Tc (Sn) MDP and ^{99m}Tc (Sn) MDP complexes. Characterization of Tc (III)-, Tc (IV)- and Tc (V) EHDP complexes. Appl Radiat Isot 41:17, 1990*
- 6) Huigen YM, Tji TG, Gelsema WJ, Deligny CL: *The binding of ^{99m}Tc (Sn)-MDP complexes to human serum albumin and other blood proteins determined with gel chromatography and ultrafiltration. Appl Radiat Isot 40:629, 1989*
- 7) Huigen YM, Krips HJ, et al: *The adsorption of ^{99m}Tc (Sn)-diphosphonate complexes on tricalcium-phosphate: The influence of preparation conditions, ligand-type, incubation media and adsorption conditions. The reversibility of the adsorption. Appl Radiat Isot 41:189, 1990*
- 8) Heggli DE, Franco P, Norbygaard: *Differences in biodistribution in rats injected with ^{99m}Tc -MDP preparations with different stabilizing agents. Eur J Nucl Med 14:105, 1988*
- 9) Imre J: *Chromatographic and biologic comparison of ^{99m}Tc -DMSA prepared by direct labeling and ligand exchange reaction. J Radioanal Nucl Chem 87:301, 1984*
- 10) Kroesbergen J, Gelsema WJ, Deligny CL: *^{99m}Tc bone scanning agents III. Preparation and gel chromatography of ^{99m}Tc (Sn) MDP complexes. Nucl Med Biol 12:419, 1985*
- 11) Bevan JA, Tofe AJ, et al: *Tc-99m HMDP; A radiopharmaceutical for skeletal and acute myocardial infarct imaging. I. Synthesis and distribution in animals. J Nucl Med 21:961, 1980*
- 12) Owunwanne A, O'Mara RE, O'Brien C: *The interaction of Tc-99m phosphorous radiopharmaceuticals and serum proteins. J Nucl Med 20:653, 1979*
- 13) Kroesbergen J, Roozen AM, et al: *^{99m}Tc bone scanning agents-VI. Gel chromatographic analysis of the plasma protein binding of ^{99m}Tc (Sn) pyrophosphate, ^{99m}Tc (Sn) MDP, and ^{99m}Tc (Sn) HMDP. Nucl Med Biol 15:479, 1988*
- 14) Saba GB, Boyd CM: *A study of protein binding of ^{99m}Tc -MDP in plasma. Nucl Med Biol 6:201, 1979*
- 15) Schumichen C, Koch K, et al: *Binding of technetium-99m to plasma protein: Influence on the distribution of Tc-99m phosphate agents. J Nucl Med 21: 1080, 1980*
- 16) Loberg MD, Corder EH, et al: *Transport of Tc-99m complexes through the blood-brain barrier; Radiopharmaceuticals II, Proceeding of the 2nd International Symposium of Soc. Nucl Med New York, 449, 1979*