

뇌혈류 영상용 방사성의약품 PRODD의 ^{99m}Tc 표지 및 생체내분포

서울대학교병원 핵의학과, 한국과학기술연구원 응용과학부*

정수욱 · 정재민 · 이동수 · 조정혁* · 오승준* · 정준기 · 이명철 · 고창순

= Abstract =

^{99m}Tc Labeling and Biodistribution of PRODD as a Cerebral Blood Flow Imaging Radiopharmaceutical

Soo-Wook Chung, B.S., Jae Min Jeong, Ph.D., Dong Soo Lee, M.D.
Jung-Hyuck Cho, Ph.D., Seung-Joon Oh, M.S., June-Key Chung, M.D.
Myung Chul Lee, M.D. and Chang-Soon Koh, M.D.

Department of Nuclear Medicine, Seoul National University Hospital, Seoul, Korea
Division of Applied Science, Korea Institute of Science and Technology*, Seoul, Korea

^{99m}Tc labeled PnAO(propylene amine oxime) derivatives have been widely studied as brain perfusion agents. We synthesized and characterized a PnAO derivative, (RR/SS/meso)-4,8-diaza-3,9-dimethylundecane-2, 10-dione bisoxime(PRODD). Proton-NMR spectroscopy and thin layer chromatography(silica gel) were performed for its characterization. PRODD was labeled with ^{99m}Tc using stannous chloride as reducing agent. The labeling efficiency was determined to be about 85%.

Brain uptakes of 4.16 ± 0.42 %ID/g and 3.24 ± 0.13 %ID/g were found after 10min and 30min after intravenous injection. Brain-to-blood ratios were 1.17 and 0.75 at 10 and 30 minutes, which were lower than 1.3 and 1.9 of the ratios with commercial ^{99m}Tc -HMPAO. Autoradiographs of rat brain sections showed the gray matter to white matter ratios of 1.13 ± 0.10 at 30 min after intravenous injection, which was lower than 1.94 ± 0.19 of commercial ^{99m}Tc -HMPAO.

With the above findings, we concluded that the lipophilic ^{99m}Tc -PRODD complex was able to cross the blood-brain barrier, however the complex showed lower uptake than ^{99m}Tc -HMPAO in mouse or rat brains.

We could suggest possibility that PRODD could be used as another ^{99m}Tc chelator.

Key Words : PnAO, PRODD, Biodistribution, ^{99m}Tc labeling

서 론

현재 연구되고있는 국소뇌혈류를 평가하기 위한 방사성의약품은 대부분 ^{99m}Tc 으로 표지한 착화합물이다. ^{99m}Tc 으로 표지한 착화합물이 개발되기 이전에 단일

광자방출전산화단층촬영(single photon emission computed tomography, SPECT)영상용 방사성의약품으로 ^{75}Se 과 ^{123}I 으로 표지한 착화합물이 연구되었지만 SPECT영상에 부적합한 물리적 특성, 비경제성 등의 단점으로 거의 쓰이지 않고 있다. 이에 반해 ^{99m}Tc 은 SPECT영상을 얻기에 적합한 물리적 특성($t_{1/2}=6.02\text{h}$, γ , 140keV), ^{99}Mo 발생기를 통한 이용의 용이성, 경제성 등의 장점을 가진다.

본 논문은 1995년도 서울대학교병원 지정 공동 연구비 (02-95-343)의 보조로 이루어졌음.

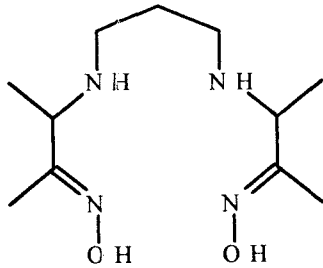


Fig. 1. The chemical structure of PRODD.

국소뇌혈류 측정용 화합물에 대한 최근의 연구는 크게 세 부류로 나눌 수 있다. Ethyl cysteine dimer (ECD)로 대표되는 diaminedithiols(DADT)유도체 계열, hexamethyl propylene amine oxime (HMPAO)로 대표되는 PnAO(propylene amine oxime) 유도체 계열 그리고 Boronic Acid adducts of Technetium diOximes(BATOs) 등이 그것이다. ^{99m}Tc로 표지한 이들 착화합물은 모두 수동확산에 의해 뇌조직에 섭취되지만 저류기전이 달라 뇌의 분포양상, 뇌의 저류기간, 제거율 등이 서로 다르게 나타난다. 이상적인 뇌혈류 영상제제의 필수조건은 정상적인 뇌혈류에서 뇌혈류를 정확히 반영할 수 있어야 한다. 그런데 위의 뇌혈류 영상제제는 이 점에서 이상적이지는 않고 각각 몇가지의 단점을 가지고 있다. 그러므로 국소뇌혈류를 더욱 정확하게 반영할 수 있는 중성 지용성의 ^{99m}Tc표지 착화합물을 찾아내는 노력이 필요하다¹.

저자들은 PnAO를 기본구조로하는 PRODD을 합성하였으며(Fig. 1)² 이 연구에서 PRODD의 ^{99m}Tc 표지방법의 개발 및 마우스 생체내분포를 조사하고 랫트 뇌에서 자가방사촬영을 시행하여 뇌내분포를 영상화하고 그 결과를 상품화되어 있는 ^{99m}Tc-HMPAO와 비교 평가하였다.

대상 및 방법

1. 기기 및 시약

합성된 화합물은 Varian사의 Gemini 300MHz 핵자기공명 분광계(NMR spectrometer)를 이용하여 동정하였으며, chemical shift는 내부 표준물질인 TMS를 기준으로 하여 δ-unit로 표시하였다. 녹는점의 측

정은 Hoover 용점측정기를 이용하였다. 합성에 사용된 시약은 Aldrich사 제품을 사용하였으며, 유기용매는 Merck사 제품을 사용하였다. Methylene chloride는 calcium chloride로 정제하여 사용하였다. 유기 합성화합물의 분리를 위한 박층크로마토그래피(thin layer chromatography, TLC)는 Kieselgel 60 F₂₅₄(Art, 5715, 0.2mm, Merck)를 사용하였다. 이때 검출법은 254nm의 UV lamp 조사법과 p-anisaldehyde 분부법을 병행하였다. ^{99m}Tc로 표지후 표지효율은 ITLC(Gelman)와 paper(Whatman No. 1)를 사용하여 결정하였다. 생물학적 평가를 위한 실험동물은 ICR마우스, SD랫트를 사용하였다.

2. PRODD에 대한 ^{99m}Tc표지와 표지효율 측정

PRODD를 DMSO(dimethyl sulfoxide)에 용해시켜 약 0.025mg/μl의 농도로 제조하였다. 이중 20μl을 취해 1M carbonate buffer(pH 8) 100μl와 SnCl₂·2H₂O 4.0μg을 혼합한 후 0.5ml의 [^{99m}Tc] NaTcO₄ (0.5mCi)를 가하여 진공 중에서 반응시켰다. 표지효율은 10분 후에 측정하였다.

지용성 ^{99m}Tc착화물과 pertechnetate는 ITLC-SG, acetone에서 용매전선단(R_f=0.9-1.0)까지 이동하였고 pertechnetate및 지용성 ^{99m}Tc착화물 그리고 그 외 다른 수용성 ^{99m}Tc착화대사물 등은 paper, 50% acetonitrile에서 용매전선단(R_f=0.9-1.0)까지 전개되었다. 그리고 pertechnetate는 ITLC-SG, saline에서 용매전선단(R_f=0.9-1.0)까지 이동하였다. 전개가 끝난 후 각 지지체를 반으로 나누어 방사능측정기에서 각각의 방사능을 측정하여 지용성 ^{99m}Tc착화물, pertechnetate, 수용성 ^{99m}Tc착화대사물, 그리고 콜로이드성 ^{99m}Tc의 분율을 계산하였다³.

3. 마우스를 이용한 생체분포 조사

^{99m}Tc-PRODD의 생체분포를 조사하기 위해 총 12마리의 ICR마우스(27±3g)의 무게를 측정한 후 꼬리정맥을 통해 ^{99m}Tc-PRODD 100μCi를 주사하여 10분, 30분, 60분 후에 각각 4마리씩 희생시켰다.

각 마우스의 심장강으로부터 약 500μl의 혈액을 채취하고 뇌, 심장, 폐, 간, 비장, 위장, 장관, 신장, 근육, 지방 그리고 꼬리를 분리하여 각각의 장기별 무게를 측정 후 감마선계측기를 이용하여 방사능을 계수하

Table 1. Biodistribution of ^{99m}Tc -HMPAO and ^{99m}Tc -PRODD at 10, 30 and 60min in Mouse*

Organ	% Injected dose/g					
	10 min		30 min		60 min	
	^{99m}Tc -HMPAO	^{99m}Tc -PRODD	^{99m}Tc -HMPAO	^{99m}Tc -PRODD	^{99m}Tc -HMPAO	^{99m}Tc -PRODD
blood	3.62±0.93	3.55±0.42	3.35±0.69	4.28±1.32	2.12±0.78	2.68±0.57
brain	4.07±0.38	4.16±0.42	5.09±0.98	3.24±0.13	4.16±0.46	3.49±0.02
heart	6.48±0.53	9.20±1.26	6.21±0.62	8.65±2.84	5.44±0.47	8.95±0.75
intestine	5.68±0.51	3.58±0.16	5.51±1.59	3.85±0.72	6.10±0.83	4.48±1.87
kidney	15.7±3.04	10.73±1.13	11.45±4.31	8.85±1.46	8.48±1.23	7.50±1.09
liver	7.86±1.33	8.83±0.58	6.64±1.38	8.23±1.44	5.21±0.38	7.12±1.32
lung	21.53±1.91	19.61±3.47	18.21±2.31	18.3±3.57	15.99±0.99	17.63±4.70

* Mean±SD(n=3)

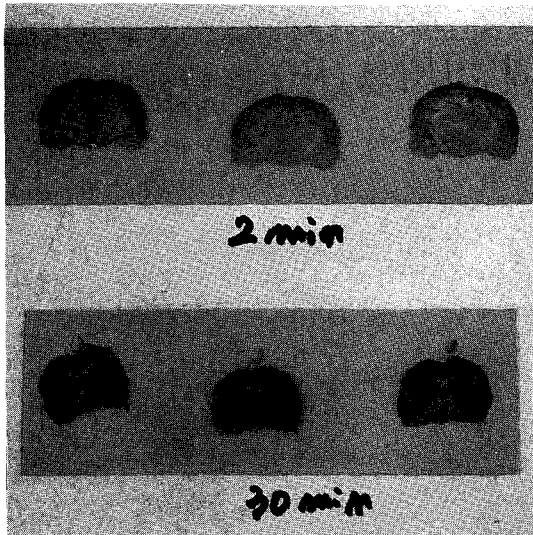


Fig. 2. The autoradiograms of ^{99m}Tc -PRODD at 2 min and 30 min after injection in rats.

였다. 이때 전체 혈액, 근육, 지방의 무게는 쥐 전체 무게의 5%, 43%, 0.7%로 계산하였다⁴⁾.

투여한 방사능량과 장기내 방사능치를 측정하여 각 장기당 섭취율(% injected dose/organ, % injected dose/g)을 계산하였다. 그리고 그 결과를 상품화되어 있는 ^{99m}Tc -HMPAO와 비교평가 하였다.

4. 랫트 뇌에 ^{99m}Tc -PRODD 분포의 자가방사 촬영

^{99m}Tc -PRODD의 뇌 분포를 조사하기 위하여 랫트를 ether로 약 5분간 마취한 다음 ^{99m}Tc -PRODD 10mCi를 대퇴정맥을 통해 주사하였다. 30분 후 랫트

를 희생시키고 뇌를 적출 하여 20 μm 의 냉동절편을 구하였다. 이것을 X-ray 필름과 24시간 동안 접촉시켜 자가방사촬영 영상을 얻었고 음영농도계(densitometer)를 이용해 백질 대 회백질의 방사능분포비를 계산하였다. 그리고 그 결과를 상품화되어 있는 ^{99m}Tc -HMPAO와 비교평가하였다.

결 과

PRODD의 표지 효율은 약 85% 였다. 마우스의 뇌에 ^{99m}Tc -PRODD는 10분에 약 4.16±0.42 %ID/g이 최대로 섭취된 후 일부 배출되어 60분 후에는 3.49±0.02 %ID/g이 되는 반면 ^{99m}Tc -HMPAO는 30분까지 약 5.09±0.98 %ID/g 섭취가 이루어진 후 배출되어 60분에 4.16±0.46 %ID/g이 되었다(Table 1). ^{99m}Tc -PRODD는 주사후 대부분의 방사능이 신장과 폐에 존재하였고 혈액 내 방사능은 10분후 최대 3.62±0.93 %ID/g에 도달한 후 서서히 감소하였다.

랫트의 두뇌에 대한 자가방사촬영 결과 ^{99m}Tc -PRODD, ^{99m}Tc -HMPAO에 대해 각각 1.13±0.10, 1.94±0.19의 회백질 대 백질의 방사능분포비 결과를 얻었다(Fig. 2).

고 찰

PRODD는 $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 의 양과 pH의 넓은 범위에서 ^{99m}Tc 와 반응하여 높은 표지효율을 갖는 중성 지용성의 착화합물이 되었다. 이렇게 PRODD가 비교적 높은 표지효율을 가지며 ^{99m}Tc 와 표지될 수 있는

것은 입체적으로 HMPAO와 유사한 구조를 가지는 PnAO계열의 화합물이기 때문인 것으로 생각된다⁵⁾.

PnAO는 ^{99m}Tc 와 결합시 대개 안정한 중성의 지용성 착화합물로 된다. 이러한 화합물이 중성인 것은 결합시 두개의 amine protons와 하나의 oxime proton을 잃어버리며 전체적으로 전하를 중성으로 만드는 데 기인한다⁶⁾. 이렇게 생성된 착화합물의 ^{99m}Tc 은 산화수가 +5인 것으로 알려져있다. 그리고 oxime group사이에 강한 수소 결합으로 인해 열역학적 및 동력학적으로 안정한 pseudo-macrocyclic이 만들어진다는 보고가 있다⁷⁾.

^{99m}Tc -PRODD는 마우스의 뇌로 빠르게 섭취되었지만 뇌로부터의 제거도 빠르게 일어났다. 이에 반해 ^{99m}Tc -HMPAO는 30분까지 뇌에 대한 섭취가 지속되었고 그 후에는 서서히 제거되었다. 그리고 랫트 뇌에 대한 ^{99m}Tc -PRODD의 자가방사촬영 실험에서도 ^{99m}Tc -PRODD가 뇌에 높은 비율로 섭취되었다가 빠르게 뇌로부터 제거되는 같은 결과를 보여주었다.

따라서 ^{99m}Tc -PRODD는 기존의 뇌혈류 영상제제인 ^{99m}Tc -HMPAO를 대체하는 것이 부적절하지만 PnAO가 ^{99m}Tc 와 안정한 지용성 ^{99m}Tc 복합체를 형성하며 oxime group사이에 수소 결합에 의해 제공되는 안정성은 PnAO를 모핵으로 하는 유도체에 대한 연구에 응용할 수 있다고 생각된다.

결 론

본 연구는 PnAO의 유도체인 PRODD에 대한 ^{99m}Tc 의 표지효율, 마우스에서의 생체내분포 및 랫트 뇌에서의 자가방사촬영 등의 실험을 통해 PRODD가 기존에 상품화된 뇌혈류 영상제제인 HMPAO를 대체할 수 있는가를 비교평가했다. 이로부터 PRODD에

대한 ^{99m}Tc 의 표지 효율은 80%정도로 비교적 높았지만 마우스 뇌에서의 섭취와 랫트 뇌에 대한 자가방사촬영은 뇌내의 섭취가 ^{99m}Tc -HMPAO보다 낮은 결과를 보였다.

본 연구에서 저자들은 PnAO유도체의 합성 및 검색과정의 예를 제시할 수 있었다.

REFERENCES

- 1) Corlija M, Volkert WA: *Biocalization and cell labeling properties of neutral-lipophilic ^{99m}Tc -amine-phenol chelates*. Nucl Med Biol 1990;18:167-172
- 2) 오승준: 혈류 평가용 방사성의약품의 개발에 관한 연구, 석사학위논문 1994;12-13
- 3) Nakamura K: *The behavior of ^{99m}Tc -hexamethylpropyleneamineoxime in blood and brain* Eur J Nucl Med 1989;15:100-107
- 4) Neirinckx RD, Channing LR, Piper IM: *^{99m}Tc -d,l-HMPAO; A new radiopharmaceutical for SPECT imaging of regional cerebral blood perfusion*. J Nucl Med 1987;28:191-201
- 5) 정재민, 조정력, 오승준, 이명철, 정수욱, 정준기, 이동수, 광철은, 이경한, 고창순: *Dione Bisoxime계통의 화합물에 대한 테크네슘표지 원리에 관한 연구*. 대한핵의학회지 1995;29:110-117
- 6) Volkert WA, Hoffman TJ, Seger RM, Troutner DE, Holmes RA: *^{99m}Tc -propylene amine oxime: a potential brain radiopharmaceutical*. Eur J Nucl Med 1984;9:511-516
- 7) Jurisson S, Aston K, Fair CK, Schlemper EO, Sharp PR, Troutner DE: *Effect of ring size on properties of technetium amine oxime complexes. X-ray structures of $\text{TcO}_2\text{Pent}(\text{AO})_2$, which contains an unusual eight-membered chelate ring, and of $\text{TcOEn}(\text{AO})_2$* . Inorg Chem 1987;12:3576