

베타아밀로이드 영상용 프로브

서울대학교 의과대학 핵의학교실
정재민

β -Amyloid Imaging Probes

Jae Min Jeong, Ph.D.

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

Imaging distribution of β -amyloid plaques in Alzheimer's disease is very important for early and accurate diagnosis. Early trial of the β -amyloid plaques includes using radiolabeled peptides which can be only applied for peripheral β -amyloid plaques due to limited penetration through the blood brain barrier (BBB). Congo red or Chrysamine G derivatives were labeled with Tc-99m for imaging β -amyloid plaques of Alzheimer patient's brain without success due to problem with BBB penetration. Thioflavin T derivatives gave breakthrough for β -amyloid imaging in vivo, and a benzothiazole derivative [C-11]6-OH-BTA-1 brought a great success. Many other benzothiazole, benzoxazole, benzofuran, imidazopyridine, and styrylbenzene derivatives have been labeled with F-18 and I-123 to improve the imaging quality. However, [C-11]6-OH-BTA-1 still remains as the best. However, short half-life of C-11 is a limitation of wide distribution of this agent. So, it is still required to develop an Tc-99m, F-18 or I-123 labeled agent for β -amyloid imaging agent. (Nucl Med Mol Imaging 2007;41(2):112-117)

Key Words : β -amyloid, alzheimer's, disease, PET

서 론

알츠하이머병은 인지능력저하, 비가역적 기억 상실, 방향 감각 상실, 언어 장애 등과 같은 임상적인 증상으로 진단을 할 수 있다.^{1,2)} 그러나 더 조기에 정확한 진단을 위하여는 단일광자단층촬영(Single Photon Emission Computed Tomography, SPECT)이나 양전자단층촬영(Positron Emission Tomography, PET)과 같은 영상법을 이용할 필요가 있다.

PET으로 알츠하이머병의 진단은 전통적으로 [¹⁸F]fluorodeoxyglucose (FDG)를 이용하여 두정엽 부위에 포도당 대사가 감소하는 것을 보고 진단하였다. 그러나 최근에는 뇌속에 형성된 베타아밀로이드 플라크를 영상화함으로써 더욱 더 정확한 진단을 할 수 있게 되었다.

알츠하이머병의 확인은 부검에 의하여 두뇌 속에 베타아밀로이드의 형성을 관찰함으로써 이루어진다.^{3,4)} 그러나 이러한 베타아밀로이드의 형성이 알츠하이머병의 원인인지는 아직 확실히 밝혀져 있지 않다. 알츠하이머병 환자의 두뇌에

는 같은 나이의 치매가 없는 사람의 두뇌에 비하여 많은 양의 베타아밀로이드가 침착되어 있지만 아직 이러한 베타아밀로이드 침착 정도가 치매의 정도와 정확히 비례하는지는 불명확하다.

베타아밀로이드 영상을 위한 방사성핵종

베타아밀로이드 영상을 위한 방사성핵종은 감마선 방출 핵종과 양전자 방출핵종으로 나눌 수 있다. 감마선 방출 핵종은 SPECT로 영상을 얻는데 PET로 영상을 얻는 양전자 방출 핵종에 비하여 구하기는 쉬우나 영상의 질이 떨어지는 단점이 있다. 그리고 양전자 방출 핵종은 단기적인 영상의 질은 좋지만 반감기가 짧아 장기적인 영상은 하기 어려운 단점이 있다.

감마선 방출 핵종 중 SPECT로 사용하기 가장 좋은 핵물리적 특성을 가진 핵종은 Tc-99m으로서 특히 경제적인 장점도 매우 크지만, 화학적인 성질이 복잡한 단점이 있다. Tc-99m을 표지하려면 킬레이트를 형성해야 하는데 이러한 경우 원래 베타아밀로이드에 결합하는 성질을 변경시킬수 있을 뿐만 아니라, 분자량이 커져서 혈액뇌관문 통과율도 매우 떨어지게 된다(Table 1).

또 다른 중요한 감마선 방출핵종으로 I-123이 있다. 이는

• Received: 2007. 4. 16. • Accepted: 2007. 4. 19.
• Address for reprints: Jae Min Jeong, Ph.D. Department of Neurology, Seoul National University College of Medicine, #28 Yunkeun-dong Chongno-gu, Seoul 110-744, Korea
Tel: 82-2-2072-3805, Fax: 82-2-745-7690
E-mail: jmjng@snu.ac.kr

Table 1. Radionuclides used for β -amyloid imaging agents

	Tc-99m	I-123	F-18	C-11
Production	Generator	Cyclotron	Cyclotron	Cyclotron
Economy	Good	Poor	Poor	Moderate
Half-life	6 hr	13 hr	110 min	20 min
Decay mode	Isomeric transition	Electron capture	Positron	Positron
Energy	140 keV	155 keV	511 keV	511 keV
Chemistry	VIIIB	VIIA	VIIA	IVA

Tc-99m보다 가격이 훨씬 비싼 단점이 있지만, 화학적으로는 Tc-99m에 비하여 훨씬 장점이 많다. 즉 어떤 화합물질에 표지를 하여도 그 화합물의 성질이 크게 변하지 않고 또한 혈액뇌관문 통과율도 높게 유지하기가 쉽다. 그리고 반감기가 13시간으로 Tc-99m보다 길어 더 오랜시간 영상이 가능하다.(Table 1)

기타 수많은 감마선 방출 방사성핵종이 있지만 Tc-99m와 I-123을 제외하고는 베타아밀로이드 영상용으로 고려한 만한 것은 현재로는 없다.

양전자 방출 핵종으로 가장 중요한 것은 F-18이다. 이는 주로 O-18-water에 양성자를 조사하여 만드는데, O-18-water의 가격이 비싸고 또한 조사시간이 1시간 정도로 길어 사이클로트론 이용시간이 길며, 표지시간도 1시간 남짓 걸려서 총 단가가 C-11에 비하여 비싸다는 단점이 있지만, 반감기가 110분으로 비교적 길어 한번 합성하면 여러 사람을 촬영할 수 있고, 근처의 다른 PET 센터에도 공급이 가능하다는 장점이 있다.(Table 1)

C-11은 가격이 싼 질소가스에 양성자를 조사하여 만들고, 조사시간이 대체로 30분 이내이고 합성시간도 비교적 짧으므로 단가가 싼 장점이 있지만, 반감기가 20분으로 너무 짧아 장시간의 영상에 부적절하고 또한 한 번 합성하면 스캐너가 한 대인 경우 한 사람의 영상을 얻을 수 밖에 없다는 단점이 있다.(Table 1)

동위원소표지 펩타이드

베타아밀로이드 영상에 In-111-DTPA-베타아밀로이드와 Tc-99m-표지 아프로티닌이 유효하다는 보고가 있었다.^{5,6)} 그러나 이들은 혈액뇌관문을 통과할 수 없기 때문에 모두 말초조직의 베타아밀로이드 영상에만 유효하고 중추신경계의 영상은 할 수가 없었다. I-123 표지 혈청 아밀로이드 P를 이용한 알츠하이머병 영상도 시도된 바 있으나 정상인과의 차이는 거의 없었다.⁷⁾

동위원소 표지된 펩타이드를 혈액뇌관문을 통과시키려고 비오틴을 결합한 I-125-베타아밀로이드를 스트렙타비딘과

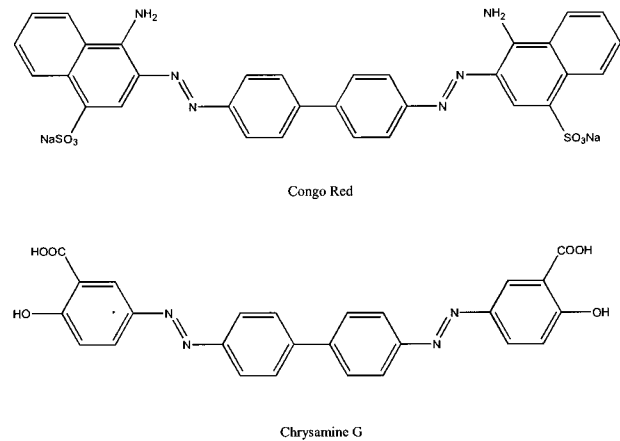


Fig. 1. Congo red and Chrysamine G are used for staining β -amyloid plaques of postmortem Alzheimer patient's brain.

OX26 단일클론항체를 결합한 접합체를 운반 시스템으로 하여 수용체 매개 식균작용을 통하여 쥐의 혈액뇌관문을 통과시키려는 시도가 있었다.⁸⁾ 그 결과 약간의 혈액뇌관문 통과가 발견이 되었으나 실제적인 적용은 의심스럽다.

콩고레드와 크리사민 G 유도체

콩고레드는 알츠하이머병 환자의 부검시에 신경계 속의 베타아밀로이드 침착을 염색하는데 사용되는 바이페닐기를 가진 시약이다. 그러나 콩고레드는 수용성이 강하므로 혈액뇌관문을 통과할 수가 없다. 강한 음이온인 2개의 설펜산과 약한 양이온인 2개의 아미노기가 콩고레드 분자를 매우 친수성으로 만든다.(Fig. 1) 게다가 분자 크기도 혈액뇌관문을 통과하기에는 비교적 크다.

또다른 바이페닐기를 가진 물질로 베타아밀로이드에 강하게 결합하는 방향족 아조 염료인 크리사민 G가 있다.^{9,10)} 그러나 이 역시 친수성인 카르복실기와 수산기가 있어 혈액뇌관문 통과를 어렵게 만든다. 비록 수산기와 카르복실기 사이에 분자내 수소결합을 하여 친수성을 어느 정도 줄인다 해도 분자 크기가 너무 커서 혈액뇌관문 통과는 쉽지 않을 것이다.

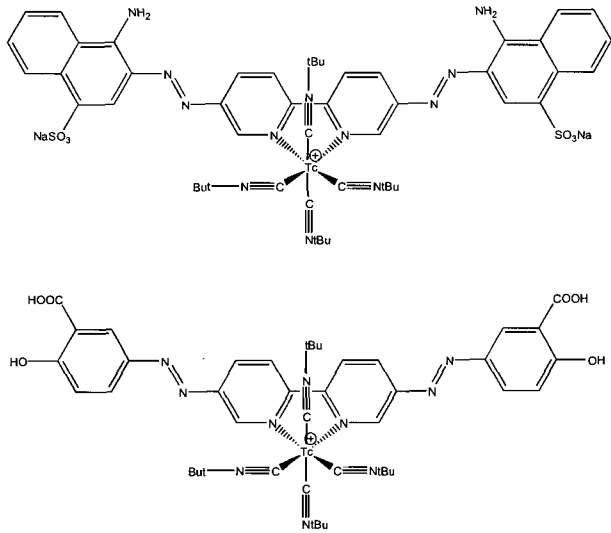


Fig. 2. Tc-99m-labeled Congo red and Chrysamine G derivatives. Tc(I) makes +1 charged octahedral structure with tetrakis isonitrite.

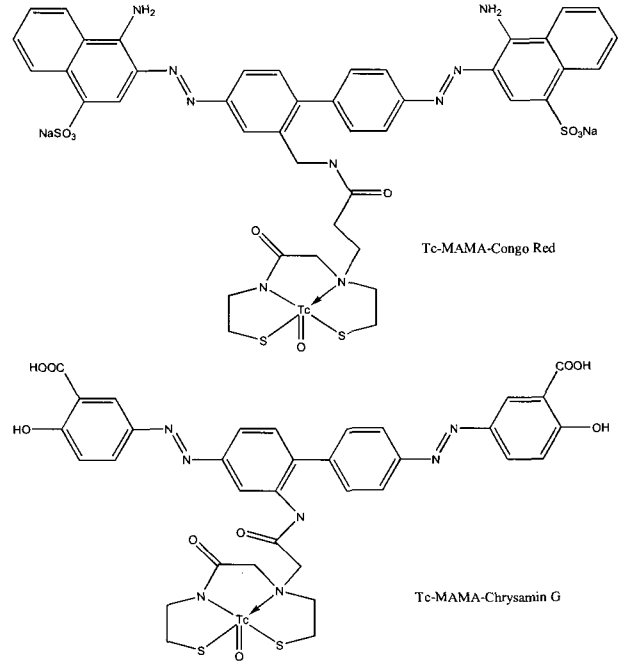


Fig. 3. Tc-99m-labeled derivatives of Congo Red and Chrysamine G containing MAMA. Tc (V)=O makes neutral square-pyramidal conjugate with MAMA.

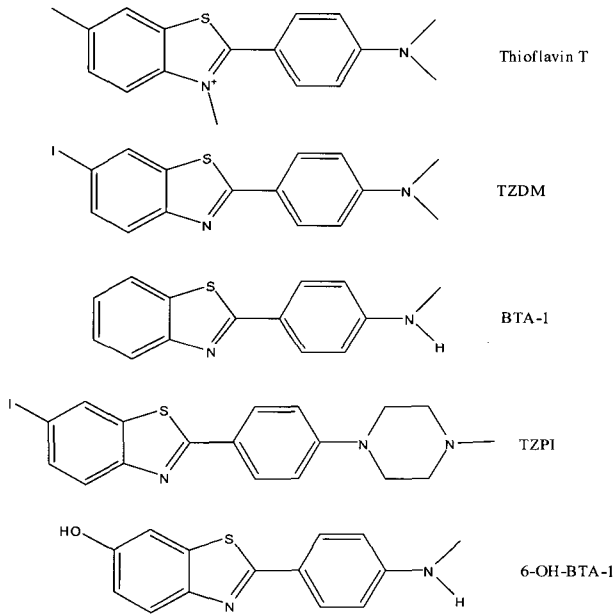


Fig. 4. Thioflavin T (benzothiazole) ligands for β -amyloid binding agent. Removal of methyl group from quaternary ammonium of Thioflavin T makes the molecule more hydrophobic and enables penetration through the BBB.

성공 확률은 낮지만 그래도 크리사민 G 유도체를 Tc-99m으로 표지하는 시도가 있었다. 크리사민 G는 Tc-99m으로 직접 표지될 수가 없으므로 화학적인 수식을 가하였다. 콩고레드의 바이페닐 잔기에 수식을 가하여도 베타아밀로이드 결합력에는 영향을 미치지 않는다는 사실이 보고되어 있었다.¹¹⁾ 따라서 크리사민 G도 바이페닐기를 바이피리딘기로 바꾸어서 여기에 이소니트릴기 4개와 결합한 Tc-99m이 결

합할 수 있게 만들었다. 그런데 이렇게 합성한 Tc-99m 착체는 +1가를 띠는 양이온이었다.(Fig. 2) 따라서 비록 이 화합물이 시험관내에서는 베타아밀로이드와 강하게 결합하기는 해도 혈액뇌관문을 전혀 통과할 수가 없어 실용적으로 사용할 수는 없었다.^{1, 2)}

생물학적인 성질을 개선하고자 Tc(V)=O 또는 Re(V)=O와 안정한 사각피라미드형 착체를 형성할 수 있는 모노아마이드-모노아민다이치올(monoamide-monoaminedithiol, MAMA)을 도입하여 중성 지용성인 크리사민 G 유도체들이 합성되었다.¹³⁻¹⁵⁾ MAMA를 도입함으로써 양전하는 없앨 수 있었다.(Fig. 3) 그러나 이 역시 체외에서 베타아밀로이드와는 잘 결합하였지만 혈액뇌관문을 통과하지 못해 체내 영상에는 사용이 불가능하였다.^{16,17)} 그 이후에도 MAMA를 도입한 콩고레드나 크리사민 G 유도체의 개발은 계속되었으나 모두 헛수고에 지나지 않았다.¹⁸⁾

치오플라빈 T 유도체

치오플라빈 T는 베타아밀로이드 단백질 염색에 사용되어 왔다. 4급 아민을 가지고 있어서 강한 양전하를 띠므로 친수성이다.(Fig. 4) 그러나 4급 아민에서 메틸기를 제거하면 소수성으로 된다. 또한 분자의 크기가 콩고레드나 크리사민 G보다 반정도밖에 되지 않는다. 따라서 치오플라빈 T 유도체

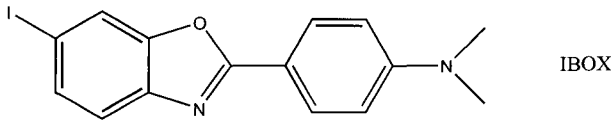


Fig. 5. Benzoxazole ligand for β -amyloid binding shows excellent biological behaviors.

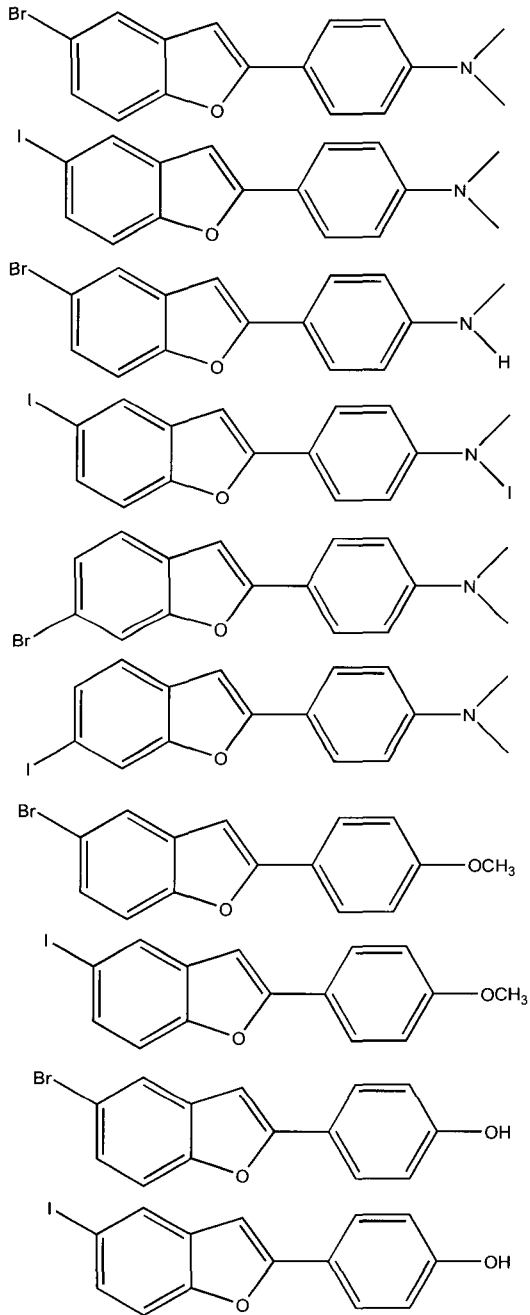
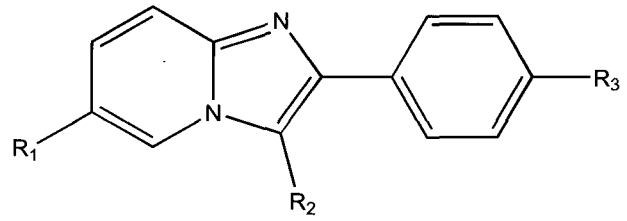


Fig. 6. Benzofuran ligands for amyloid binding. Interestingly, the compounds with no amine moiety also show excellent biological behavior.



$R_1 = H, Me, I, Br, NMe_2$
 $R_2 = H, I$
 $R_3 = NHMe, NMe_2, Br$

IMPY: $R_1 = I, R_2 = H, R_3 = NMe_2$

Fig. 7. Imidazopyridine ligands for β -amyloid binding.

계통의 베타아밀로이드 영상제 개발은 이론적으로 타당하고 가능성도 높다. 따라서 수많은 화합물들이 특허출원이 되어 있는 상태.^{19,20)}

치오플라빈 T 유도체 중 가장 유명한 것은 [N-methyl-C-11]2-(4'-methylaminophenyl)-6-hydroxybenzothiazole([C-11]6-OH-BTA-1)이다.²¹⁻²³⁾ 이는 베타아밀로이드에 강한 결합을 보이고, 두뇌 섭취 및 제거가 빨라 현재 개발된 베타아밀로이드 영상제 중 가장 높은 섭취/제거 비율을 나타낸다. 그러나 반감기가 짧아 사이클로트론이 없는 곳에서는 사용이 불가능하여 F-18이나 I-123 표지 제제 개발이 필요한 상황이다.

치오플라빈 T 유도체중 방사성요드 표지 화합물인 2-[4-(dimethylamino)phenyl]-6-iodobenzothiazole (TZDM)과 2-[4-(4-methylpiperazin-1-yl)phenyl]-6-iodobenzothiazole (TZPI)가 높은 비방사능으로 표지되었다.(Fig. 4) 이들은 시험관내시험에서 높은 결합력을 보였고, 체내시험에서 높은 혈액뇌관문 통과를 보였다.²⁴⁾

개선된 화합물들

벤조치아졸 유도체에 속하는 치오플라빈 T 계열 화합물 대신 새로운 벤족사졸 유도체인 2-(4'-dimethylaminophenyl)-6-iodobenzoxazole (IBOX)가 개발되었다.(Fig. 5) IBOX는 TZDM보다 더 빠른 두뇌 섭취와 더 빠른 두뇌 제거를 보여 주었고, 또한 베타아밀로이드에 대한 결합력도 TZDM보다 조금 더 높았다.²⁵⁾ 따라서 IBOX가 TZDM보다 더 뛰어난 알츠하이머병 영상용 제제가 될 것이다.

벤족사졸 유도체인 IBOX의 성공 이후에 수많은 벤조퓨란 유도체들이 합성되었다.(Fig. 6) 이 화합물들도 아밀로이드 단백질에 대하여 높은 결합력을 보였다. 흥미있게도 결합력

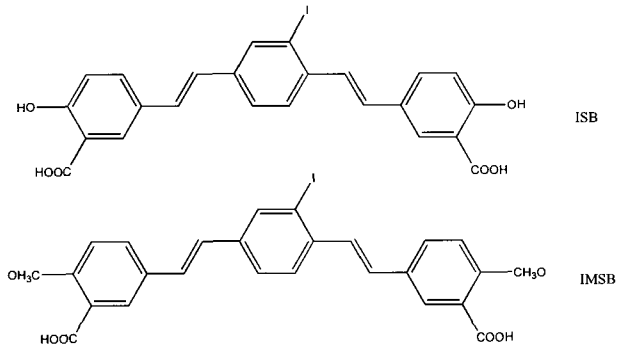


Fig. 8. Styrylbenzene derivatives bind to β -amyloid protein with different specificity with Thioflavin T derivatives.

은 아미노기를 메톡시 또는 하이드록시기로 바꾸어도 유지가 되었다.²⁶⁾

이미다조피리딘 계열의 새로운 화합물들이 개발되었는데, (Fig. 7) 이들 중 2-(4'-dimethylaminophenyl)-6-(iodoimidazo[1,2-a]pyridine (IMPY)가 알츠하이머병 영상에 가장 이상적인 성질을 나타내었다.²⁷⁾

비슷한 구조를 하고 있는 물질로 벤조치오펜 계열의 화합물이 발표되었다. 이 화합물들은 F-18로 표지가 되었으며, 베타아밀로이드에 대하여 높은 결합력을 보여 주었고 또한 두뇌 섭취도 좋았다. 그러나 두뇌에서 제거 속도가 느려서 아직 개선의 여지가 있다.²⁸⁾

마지막으로 또 다른 부류의 화합물로서 스타이릴벤젠 유도체인 (E,E)-1-iodo-2,5-bis(3-hydroxycarbonyl-4-hydroxy)-styrylbenzene (ISB)와 (E,E)-1-iodo-2,5-bis(3-hydroxycarbonyl-4-methoxy)-styrylbenzene (IMSB)가 있다. (Fig. 8) 스타이릴벤젠 계열의 화합물은 치오플라빈 유도체들과는 다른 결합 특이성을 보여 주었다. 예를 들어 치오플라빈 T 유도체는 다운 증후군의 $A\beta(1-42)$ 를 염색하는데 비하여 스타이릴벤젠 계열의 화합물은 염색하지 않는 것이다.²⁴⁾

불행하게도 Tc-99m-표지 벤조치아졸, 벤조사졸, 벤조퓨란, 이미다조피리딘 계열의 화합물로서 베타아밀로이드 영상에 적당한 제제는 아직 발표된 바 없다. Tc-99m을 이러한 화합물에 표지할 경우 두가지 다른 방법으로 영향을 미칠 수 있다. 하나는 평면 구조를 망가뜨리는 것이다. 흥미롭게도 베타아밀로이드 영상제제는 별로 장애가 촉망되지 않는 몇가지 이외에는 모두 평면 구조를 하고 있다. Tc-99m을 이러한 화합물에 표지할 경우 평면구조가 파괴될 수 밖에 없으며, 그 결과 베타아밀로이드에 대한 결합력 또는 특이성도 영향을 받을 수 밖에 없을 것이다. 또 다른 점은 Tc-99m을 표지할 경우 거의 항상 혈액뇌관문 투과력을 감소시킨다는 것이다. 이러한 현상은 Tc-99m 표지 두뇌 수용체 영상제제

개발시에도 항상 심각한 문제가 되어 왔다. 따라서 Tc-99m 표지 베타아밀로이드 영상 제제가 개발되기에는 아직 갈 길이 멀다.

결론

베타아밀로이드 영상화 제제는 놀라운 발전을 하여 왔다. 그 중 가장 유명한 것은 [C-11]6-OH-BTA-1이어서 많은 주목을 받고 있다. 그러나 반감기가 너무 짧아 사용에 제한이 많으므로 F-18, I-123, Tc-99m 등으로 표지된 제제의 개발이 절실한 상황이다.

References

1. McKhann G., Drachman D, Folstein M, Katzman R, Price D, Stadlan EM. Clinical diagnosis of Alzheimer's disease: a report of the NINCDS-ADRDA Work Group, Department of Health and Human Services Task Force on Alzheimer's Disease. *Neurology* 1984;34:939-44.
2. Weiner MF. Alzheimer's disease: diagnosis and treatment. *Harvard Rev. Psychiatry* 1997;4:306-16.
3. Selkoe DJ. Amyloid β -protein and the genetics of Alzheimer's disease. *J Biol Chem* 1996;271:18295-8.
4. Yankner BA. Mechanism of neuronal degeneration in Alzheimer's disease. *Neuron* 1996;16:921-32.
5. Marshall JR, Stimson ER, Ghilardi JR, Vinters HV, Mantyh PW, Maggio JE. Noninvasive imaging of peripherally injected Alzheimer's disease type synthetic $A\beta$ amyloid in vivo. *Bioconjugate Chem* 2002;13:276-84.
6. Schaadt BK, Hendel HW, Gimsing P, Jønsson V, Pedersen H, Hesse B. ^{99m}Tc-Aprotinin scintigraphy in amyloidosis. *J Nucl Med* 2003;44:177-83.
7. Bornebroek M, Verzijlbergen JF, Haan J, Van Scheyen EJ, Verhoeff NPLG, Pauwels EKJ, et al. Potential for imaging cerebral amyloid deposits using ¹²⁵I-labelled serum amyloid P component and SPET. *Nucl Med Commun* 1996;17:929-33.
8. Saito Y, Buciak J, Yang J, Pardridge WM. Vector-mediated delivery of ¹²⁵I-labeled β -amyloid peptide $A\beta_{1-40}$ through the blood-brain barrier and binding to Alzheimer disease amyloid of the $A\beta_{1-40}$ /vector complex. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995;92:10227-31.
9. Klunk WE, Debnath ML, Pettegrew JW. Development of small molecule probes for the beta-amyloid protein of Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* 1994;15:691-8.
10. Klunk WE, Debnath ML, Pettegrew JW. Chrysamine-G binding to Alzheimer and control brain: Autopsy study of a new amyloid probe. *Neurobiol Aging* 1995;16:541-8.
11. Ashburn TT, Han H, McGuinness BF, Lansbury PT. Amyloid probes based on Congo Red distinguish between fibrils comprising different peptides. *Chem Biol* 1996;3:351-8.
12. Han H, Cho C-G, Lansbury PT Jr. Technetium complexes for the quantitation of brain amyloid. *J Am Chem Soc* 1996;118:4506-7.
13. Oya S, Plössl K, Kung M-P, Stevenson DA, Kung HF. Small and neutral TcVO BAT, bisaminoethanthiol (N_2S_2) complexes for developing new brain imaging agents. *Nucl Med Biol* 1998;25:135-40.

14. Kung HF, Molnar M, Billings J, Blau M. Synthesis and biodistribution of neutral lipid-soluble Tc-99m complexes that cross the blood-brain barrier. *J Nucl Med* 1984;25:326-32.
15. Jeong JM, Kim YJ, Lee YS, Ko JI, Son M, Lee DS, et al. Lipiodol solution of a lipophilic agent, ^{188}Re -TDD, for the treatment of liver cancer. *Nucl Med Biol* 2001;28:197-204.
16. Dezutter NA, Dom RJ, de Groot TJ, Bromans GM, Verbruggen AM. $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -MAMA-chrysamine G, a probe for beta-amyloid protein of Alzheimer's disease. *Eur J Nucl Med* 1999;26:1392-9.
17. Dezutter NA, de Groot TJ, Busson RH, Janssen GA, Verbruggen AM. Preparation of Tc-99m- N_2S_2 conjugates of chrysamine G, potential probes for the beta-amyloid protein of Alzheimer's disease. *J Label Compd Radiopharm* 1999;42:309-24.
18. Zhen W, Han H, Anguiano M, Lemere CA, Cho C-G, Lansbury PT Jr. Synthesis and amyloid binding properties of rhenium complexes: preliminary progress toward a reagent for SPECT imaging of Alzheimer's disease brain. *J Med Chem* 1999;42:2805-15.
19. Klunk WE, Mathis CA, Wang Y. Thioflavin derivatives for use in antemortem diagnosis of Alzheimer's disease and vivo imaging and prevention of amyloid deposition. US Patent 2002/0133019 A1.
20. Wischik CM, Harrington CR, Rickard JE, Horsley D. Neurofibrillary labels. 2002 PCT WO 02/075318 A2.
21. Mathis CA, Holt DP, Wang Y, Huang GF, Debnath ML, Klunk WE. Lipophilic $^{11\text{C}}$ -labelled thioflavin-T analogues for imaging amyloid plaques in Alzheimer's disease. *J Label Compd Radiopharm* 2001;44:S26-S8.
22. Mathis CA, Bacskai BJ, Kajdasz ST, McLellan ME, Frosch MP, Hyman BT, et al. A lipophilic thioflavin-T derivative for positron emission tomography (PET) imaging of amyloid in brain. *Bioorg Med Chem Lett* 2002;12:295-8.
23. Mathis CA, Wang Y, Holt DP, Huang GF, Debnath ML, Klunk WE. Synthesis and Evaluation of $^{11\text{C}}$ -Labeled 6-Substituted 2-Arylbenzothiazoles as Amyloid Imaging Agents. *J Med Chem* 2003;46:2740-54.
24. Zhuang Z-P, Kung M-P, Hou C, Skovronsky D, Gur TL, Trojanowski JQ, et al. Radioiodinated styrylbenzenes and thioflavins as probes for amyloid aggregates. *J Med Chem* 2001;44:1905-14.
25. Zhuang Z-P, Kung M-P, Hou C, Plössl K, Skovronsky D, Gur TL, et al. IBOX (2-(4'-dimethylaminophenyl)-6-iodobenzoxazole): a ligand for imaging amyloid plaques in the brain. *Nucl Med Biol* 2001;28:887-94.
26. Ono M, Kung M-P, Hou C, Kung HF. Benzofuran derivatives as A β -aggregate-specific imaging agents for Alzheimer's disease. *Nucl Med Biol* 2002;29:633-42.
27. Zhuang Z-P, Kung M-P, Wilson A, Lee C-W, Plössl K, Hou C, et al. Structure-activity relationship of imidazo[1,2-a]pyridines as ligands for detecting β -amyloid plaques in the brain. *J Med Chem* 2003;46:237-43.
28. Chang YS, Jeong JM, Lee Y-S, Kim HW, Rai BG, Kim YJ, et al. Synthesis and evaluation of benzothiophene derivatives as ligands for imaging β -amyloid plaques in Alzheimer's disease. *Nucl Med Biol* 2006;33:811-820.