

# $^{11}\text{C}$ 표지 자동합성장치에서 루프법을 이용한 [ $^{11}\text{C}$ ](R)-PK11195의 간편한 합성법

서울대학교 의과대학 핵의학교실 및 방사선의학연구소<sup>1</sup>, 서울대학교 의과대학 암연구소<sup>2</sup>,  
서울대학교 의과대학 의과학과<sup>3</sup>, 서울대학교병원 임상의학연구소<sup>4</sup>  
이학정<sup>1,2,3,4</sup> · 정재민<sup>1,2,3,4</sup> · 이윤상<sup>1,2,3,4</sup> · 김형우<sup>1,2,3,4</sup> · 최재연<sup>1,2,3,4</sup> · 이동수<sup>1</sup> · 정준기<sup>1,2,3</sup> · 이명철<sup>1</sup>

## A Convenient Radiolabeling of [ $^{11}\text{C}$ ](R)-PK11195 Using Loop Method in Automatic Synthesis Module

Hak Jeong Lee, M.S.<sup>1,2,3,4</sup>, Jae Min Jeong, Ph.D.<sup>1,2,4</sup>, Yun-Sang Lee, Ph.D.<sup>1,2,4</sup>,  
Hyung Woo Kim, Ph.D.<sup>1,2,4</sup>, Jae Yeon Choi, B.S.<sup>1,2,4</sup>, Dong Soo Lee, M.D.<sup>1</sup>,  
June-Key Chung, M.D.<sup>1,2,3</sup>, and Myung Chul Lee, M.D.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Nuclear Medicine and Institute of Radiation Medicine, <sup>2</sup>Cancer Research Institute, and <sup>3</sup>Department of Biomedical Sciences, Seoul National University College of Medicine; <sup>4</sup>Clinical Research Institute, Seoul National University Hospital, Seoul, Korea

**Purpose:** ((R)-1-(2-chlorophenyl)-N-1- $^{11}\text{C}$ methyl-N-(1-propyl)-3-isoquinoline carboxamide ((R)-PK11195) is a specific ligand for the peripheral type benzodiazepine receptor and a marker of activated microglia, used to measure inflammation in neurologic disorders. We report here that a direct and simple radiosynthesis of [ $^{11}\text{C}$ ](R)-PK11195 in mild condition using NaH suspension in DMF and one-step loop method. **Materials and Methods:** (R)-N-Desmethyl-PK11195 (1 mg) in DMSO (0.1 mL) and NaH suspension in DMF (0.1 mL) were injected into a semi-prep HPLC loop. [ $^{11}\text{C}$ ]methyl iodide was passed through HPLC loop at room temperature. Purification was performed using semi-preparative HPLC. Aliquots eluted at 11.3 min were collected and analyzed by analytical HPLC and mass spectrometer. **Results:** The labeling efficiency of [ $^{11}\text{C}$ ](R)-PK11195 was  $71.8 \pm 8.5\%$ . The specific activity was  $11.8 \pm 6.4$  CBq/ $\mu\text{mol}$  and radiochemical purity was higher than 99.2%. The mass spectrum of the product eluted at 11.3 min showed m/z peaks at 353.1 (M+1), indicating the mass and structure of (R)-PK11195. **Conclusion:** By the one-step loop method with the [ $^{11}\text{C}$ ]CH<sub>3</sub>I automated synthesis module, [ $^{11}\text{C}$ ](R)-PK11195 could be easily prepared in high radiochemical yield using NaH suspension in DMF. (Nucl Med Mol Imaging 2009;43(4):337-343)

**Key Words:** PK11195, microglia, PBR, PET, [ $^{11}\text{C}$ ]methyl iodide, loop method

## 서 론

1-(2-Chlorophenyl)-N-methyl-N-1-(1-methyl-propyl)-3-isoquinoline carboxamide (PK11195)는 말초형 벤조디아

제핀 수용체 (PBR)의 친화성이 높으며,<sup>1)</sup> 활성화된 소교세포(microglia)의 PBR에 선택적으로 결합하는 것으로 알려져 있다.<sup>2)</sup> 또한, PK11195는 (R)-이성질체가 (S)-이성질체보다 PBR의 친화력이 더 높은 것으로 발표되었다.<sup>3)</sup>

소교세포는 뇌를 구성하는 세포의 10-20%를 차지하며,<sup>4)</sup> 대식세포(macrophage)로 분화되어 중추 신경계의 중요한 면역 세포 역할을 한다.<sup>5)</sup> 소교세포에 대부분이 존재하는 PBR은 중추신경계 내 염증을 매개하는 케모카인 수용체(chemokine)로 염증성뇌질환에서 활성화된다.<sup>6)</sup>

중추 신경계에 외상, 허혈, 감염과 같은 병적 상황이 발생하면, 소교세포는 활성화되어 염증을 유발시키는 사이토카인(proinflammatory cytokine)을 분비한다. 이후에 유리라디칼(free radical)의 생성이나,<sup>7,8)</sup> N-methyl-D-aspartate(NMDA) - 유발성 흥분성 신경독성(excitatory neuroto-

• Received: 2009. 4. 3. • Revised: 2009. 8. 11.

• Accepted: 2009. 8. 12.

• Address for reprints: Jae Min Jeong, Ph.D., Department of Nuclear Medicine, Seoul National University College of Medicine, 28 Yongon-dong, Jangno-gu, Seoul 110-744, Korea Tel: 82-2-2072-3805, Fax: 82-2-745-7690

E-mail address: jmjng@snu.ac.kr

※ 본 연구는 보건복지부 보건과학기술진흥사업(A07-0001-B41104-07N1-1T010A)의 지원에 의하여 이루어진 것임. 또한 교육과학기술부의 한국과학재단 국가지정연구실사업(ROA-2008-000-20116-0)과 원자력연구개발사업(2007-00416)의 지원을 받았음.

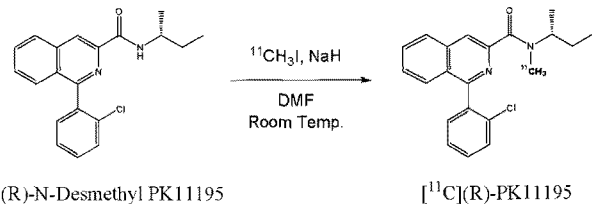
xicity), caspase의 활성화와 관련된 apoptosis로 신경세포사 (Neuronal death)를 일으킨다.<sup>9)</sup> 소교세포가 활성화(Microglial activation)되면, 소교세포의 사립체막 표면에 PBR가 발현된다. 이와 같은 PBR는 알츠하이머병(AD),<sup>10)</sup> 파킨슨 병,<sup>11)</sup> 헌팅톤병,<sup>12)</sup> 근위축성 측삭경화증<sup>13)</sup>과 같은 다양한 신경계 퇴행성 질환에서 관찰되었다.<sup>14)</sup>

또한, PBR은 말초 기관, 특히 간이나 부신 그리고 조혈 기관에 풍부하게 분포하고 있으나,<sup>15)</sup> 정상 중추신경계에서는 매우 적은 양만 존재하며,<sup>14)</sup> PK11195는 염증이 없는 경우 활성화가 없어 signal to noise ratio가 커서 Positron Emission Tomography (PET)을 이용한 좋은 영상의 프로브(probe)로 주목 받고 있다. 따라서, 신경계 퇴행성 질환,<sup>2,16-24)</sup> 중추신경계 감염성 질환,<sup>25-27)</sup> 중추신경계 염증성 질환,<sup>28-34)</sup> 그리고 뇌혈관성 질환<sup>35-38)</sup>에서 PK11195는 생체 소교세포의 활성화의 영상 프로브(imaging probe)로서 이용될 수 있으며, 이에 대한 많은 연구 결과가 보고되었다.

PET나 Single Photon Emission Computed Tomography (SPECT)를 이용해 소교세포를 영상화하기 위해PK11195에 [<sup>11</sup>C]탄소와 [<sup>123</sup>I]요오드 등의 표지에 대한 많은 연구가 진행되었다. 그 중 [<sup>11</sup>C]탄소로 표지된 PET용 PK11195가 더 좋은 영상을 얻을 수 있다는 장점에서 더욱 주목 받고 있으며, 기존의 연구 결과에서 PK11195를 [<sup>11</sup>C]탄소로 표지하여 다발성 경화증사람의 뇌를 촬영하여 병변을 찾아낸 예가 있다.<sup>39)</sup>

PET용 동위원소인 [<sup>11</sup>C]탄소를 이용한PK11195의 표지는 주로 [<sup>11</sup>C]CH<sub>3</sub>I를 이용하며,<sup>3,40-42)</sup> [<sup>11</sup>C]CH<sub>3</sub>I를 이용한 표지에는 기체상과 액체상 방법이 있다.<sup>43)</sup> 기체상 방법은 [<sup>11</sup>C]CO<sub>2</sub>를 Ni촉매 하에서 수소와 반응한 후 생성된 [<sup>11</sup>C]CH<sub>4</sub>을 순환하는 기체상에서 요오드와 라디칼 반응을 하여 [<sup>11</sup>C]CH<sub>3</sub>I를 생산하는 방법으로, 생산된 [<sup>11</sup>C]CH<sub>3</sub>I는 더 이상 요오드화가 진행되지 않도록 계속하여 고체상에 포집된다.<sup>44)</sup> 이는 매우 높은 비방사능을 갖지만 액체상 방법 보다 높은 기술력이 필요하다. 주로 사용되는 액체상 방법은 [<sup>11</sup>C]CO<sub>2</sub>를 LiAlH<sub>4</sub>로 환원한 다음 HI와 반응하여 얻는 방법이 있다.<sup>45)</sup> 최근 이차전구물질인 [<sup>11</sup>C]CH<sub>3</sub>I를 이용하지 않고 [<sup>11</sup>C]CO<sub>2</sub>를 이용한 기체상 표지방법으로 PK11195를 표지하는 방법이 개발되었다.<sup>46)</sup>

방사성의약품 조제 시 반복적인 생산절차를 보다 빠르고 간단하며 안전하게 하기 위해 많은 연구가 되고 있으며, 그 중 reaction vial에서 [<sup>11</sup>C]CH<sub>3</sub>I과 전구체를 반응하고 분리하는 단계를 줄이기 위한 루프 방법<sup>47)</sup>을 자동화 합성장치에 적용하여 방사성의약품의 [<sup>11</sup>C]탄소 표지에 많이 적용하고 있다.



**Figure 1.** Scheme of radiosynthesis for [<sup>11</sup>C](R)-PK11195 described that (R)-N-desmethyl-PK11195 was reacted with [<sup>11</sup>C]CH<sub>3</sub>I and NaH DMF complex in HPLC loop.

이 연구에서는 [<sup>11</sup>C](R)-PK11195를 임상에 적용하기 위해 합성절차가 간단하고 빠른 [<sup>11</sup>C]CH<sub>3</sub>I자동화 합성장치를 이용한 1차 루프 방법으로 조제하고자 한다 (Fig. 1).

## 대상 및 방법

### 1. 기기 및 시약

표준물질인 (R)-PK11195와 전구물질인 1-(2-chlorophenyl)-N-(1-methylpropyl)-isoquinoline-3-carboxamid ((R)-N-desmethyl-PK11195)는 ABX (advanced biochemical compounds, Germany, www.abx.de)에서 구입하였다. 질량분석을 위해서는 Alliance 3100 Mass Detector (Waters Corp., Milford, MA, U.S.A.)를 이용하였다. 방사능을 측정하기 위한 Dose calibrator는 Atomlab 100 (Biodex, New York, NY, U.S.A.)을 이용하였다. [<sup>11</sup>C](R)-PK11195의 정제를 위해Semi-preparative High Performance Liquid Chromatography (HPLC) (Binary Gilson 321 pump, Gilson UV/Vis-155 detector, 506C interface module (Gilson Inc., Middleton-Wisconsin, U.S.A.); End-window Geiger Müller (GM) detector Model 44-7, Ludlum Model 3 Portable Survey Meter (Ludlum Measurements, Inc., Sweetwater, Texas); Waters XTerra RP-8, 10 X 250 mm, 10 μm (Waters, Milford, Ma, U.S.A.); EtOH 55-60% in water)와 분석을 위해Analytical HPLC (Binary Gilson 321 pump, Gilson UV/Vis-155 detector, 506C interface module (Gilson Inc., Middleton-Wisconsin, U.S.A.); Gabistar gamma-radioactivity detector (Raytest Inc., Wilmington, NC, U.S.A.); C<sub>18</sub> HL A/B, 4.6×150 mm, 5 μm (Waters, Milford, MA, U.S.A.); MeCN 50% in water)을 사용하였다. [<sup>11</sup>C]CO<sub>2</sub>는 TR13 사이클로트론 (Ebc Technologies, Vancouver, Canada, 13 MeV)에서 질소기체 (99.9999%, 미량의O<sub>2</sub> 포함)에 양성자빔을 10분간 조사하여 <sup>14</sup>N(p,a)<sup>11</sup>C반응을 일으켜 생산하였다. 이외의 명시되어 있지 않은 시약이나 용매들은 Aldrich, Fluka, 또는

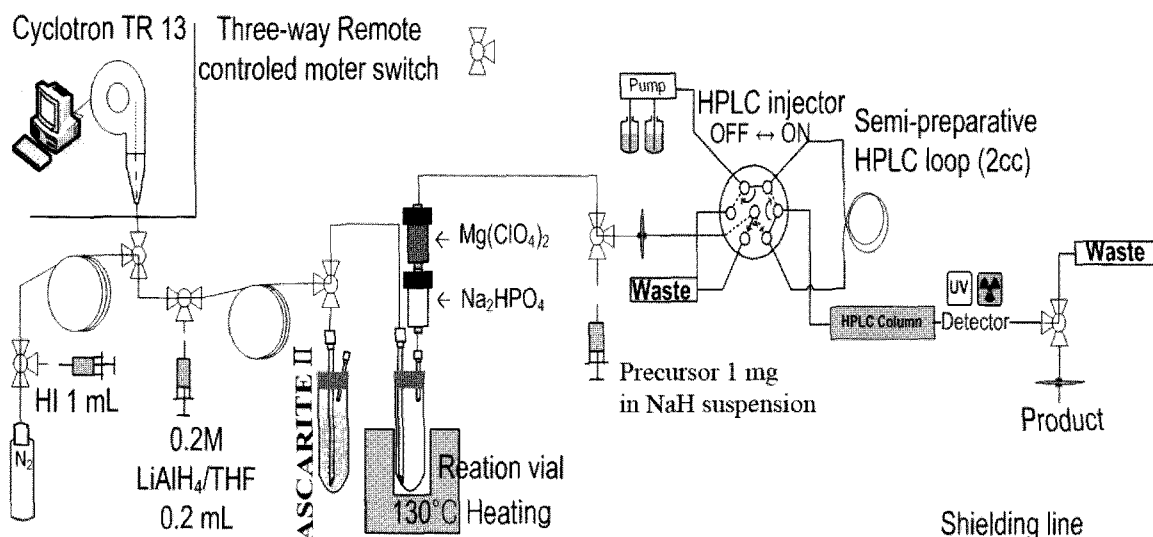


Figure 2. Diagram of  $^{11}\text{C}$  automatic synthesis module shows that  $^{11}\text{C}(\text{R})$ -PK11195 was synthesized by loop method.

Sigma (Milwaukee, WI, USA)에서 구입하여 더 이상의 정제 없이 사용하였다.  $^{11}\text{C}[\text{CH}_3\text{I}]$  자동화 합성장치는 문헌에 보고된 장치를 조금 변경해서 자체 제작하여 사용하였다 (Fig. 2).<sup>48)</sup>

## 2. NaH의 DMF 현탁액의 제조

플라스크(25 mL)에 mineral oil에 들어있는 60% NaH (0.5g, 12.5 mmol)을 담은 뒤 플라스크에 anhydrous n-hexane 10 mL을 넣고 약 10초 동안 교반기로 교반하였다. 부유물이 가라앉을 동안 가만히 두었다가 상층액을 버렸다. 같은 방법으로 mineral oil을 씻는 작업을 3회 이상 반복하였다. 감압 증류기로 NaH가 들어 있는 플라스크를 열을 가하지 않고 용매를 증류하였다. NaH가 든 플라스크에  $\text{N}_2$ (99.999%) 가스로 충전하고 조심스럽게 감압증류기로부터 플라스크를 분리하였다. Anhydrous DMF를 5 mL을 NaH 플라스크에 넣고 교반기로 수 초 동안 교반하였다. 용액을 10 mL vial로 옮기고 고무 septum으로 막아 4°C냉장실에 보관하였다.

## 3. $^{11}\text{C}[\text{CH}_3\text{I}]$ 의 합성

$^{11}\text{C}[\text{CH}_3\text{I}]$ 는 이미 알려져 있는 방법대로  $\text{LiAlH}_4$ 와 HI를 사용하여 생산하였다.<sup>22)</sup> 간단히 설명하면, 사이클로트론에서 생성된  $^{11}\text{C}\text{CO}_2$ 를 Teflon tubing에 들어있는  $\text{LiAlH}_4$ 과 반응시키고, 이 tubing에 HI를 주입하고 질소기체(20 mL/min)를 불어주어 반응 vial에 받아내었다. 반응혼합물을 질소기체로 계속 불어주면서 130°C로 가열하여 그 안에서 생성된  $^{11}\text{C}[\text{CH}_3\text{I}]$ 를 증발시키면서  $\text{Mg}(\text{ClO}_4)_2$ 와  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ 를

채운 카트리지를 통과시킨 후, 전구물질이 들어있는 HPLC 루프로 이동시킴으로써 표지반응이 일어나게 하였다.

## 4. 루프법을 통한 $^{11}\text{C}(\text{R})$ -PK11195의 표지반응

전구물질 (*R*)-*N*-desmethyl-PK11195 (1 mg, 3  $\mu\text{mole}$ )을 반응용매(DMSO, 0.1 mL)에 녹여 vial (4 mL)에 준비하고 NaH DMF complex (0.1 mL, 250  $\mu\text{mole}$ )를 넣고 교반기로 수 초 동안 교반 한 뒤에 실온에서 1분 동안 반응시켰다. 전구물질(*R*)-*N*-desmethyl-PK11195이 든 혼합용액을 Hamilton 주사기로 semi-preparative HPLC의 stainless steel 루프(2 mL)에 미리 주입해두었다. 질소 기체(99.999%)를 20 mL/min로 불어  $^{11}\text{C}[\text{CH}_3\text{I}]$ 를 stainless steel 루프에 5분 동안 흘려 보낸 뒤 HPLC에 주입하였다. Semi-preparative HPLC는 역상 column Waters XTerra RP8 (10×250 mm)을 사용했다. 용매는 20분 동안 HPLC의 gradient program을 이용해 55-60% EtOH/Water의 조성으로 4 mL/min를 흘려주었다. 전구물질인 (*R*)-*N*-desmethyl-PK11195와 표준물질인 (*R*)-PK11195의 HPLC에서 UV 피크의 머무름 시간은 각각 16.22분, 11.72분이었고,  $^{11}\text{C}(\text{R})$ -PK11195의 HPLC에서 UV와 RI 피크의 머무름 시간은 각각 11.72분과 11.96분이었다. 분리한  $^{11}\text{C}(\text{R})$ -PK11195의 물질확인용 analytical HPLC (Bio-Rad 2800)로  $^{11}\text{C}$  동위원소로 표지 되어있지 않은 표준물질 (*R*)-PK11195을 비교함으로써 같은 물질 확인을 할 수 있었고, 질량분석스펙트럼을 이용해서 물질의 분자량을 확인할 수 있었다.  $^{11}\text{C}(\text{R})$ -PK11195의 비방사능은 semi-prep HPLC에서 회수한  $^{11}\text{C}(\text{R})$ -PK11195의 용액의 부피를 측정한다

뒤 dose calibrator로 방사선의 양을 측정하고 [<sup>11</sup>C](R)-PK11195용액의 일부를 analytical HPLC에 주입하여 얻은 피크의 면적과 몰 수를 알고 있는 표준물질 (R)-PK11195로 얻은 피크의 면적으로 만든 표준검량곡선과 비교하여 [<sup>11</sup>C](R)-PK11195의 비방사능을 측정하였다. [<sup>11</sup>C](R)-PK11195의 주사제는 semi-prep HPLC에서 회수한 58% EtOH/water인 수용액 ≤ 2 mL에 녹아있는 [<sup>11</sup>C](R)-PK11195를 무균 필터를 통해 멸균된 최종 vial에 받아 주사용수로 ≤10배로 희석하여 만들었다.

## 결 과

### 1. NaH의 DMF 현탁액의 사용

염기를 사용하지 않고 [<sup>11</sup>C]CH<sub>3</sub>I와 전구물질인 (R)-N-desmethyl-PK11195를 반응하였지만 [<sup>11</sup>C](R)-PK11195은 표지되지 않았다. 그래서 [<sup>11</sup>C]CH<sub>3</sub>I 보다 반응성이 높다고 알려져 있으며 [<sup>11</sup>C]메틸화반응에 자주 사용되고 있는 [<sup>11</sup>C]MeOTf와 반응하였지만 역시 [<sup>11</sup>C](R)-PK11195은 생성되지 않았다. 이 결과로 [<sup>11</sup>C]MeOTf가 염기도가 센 친핵체에 선택적으로 [<sup>11</sup>C]메틸화 되는 것으로 추정할 수 있었으며,<sup>49)</sup> 전구물질인 (R)-N-desmethyl-PK11195가 아마이드의 공명 안정화로 인하여 반응성이 떨어지는 것을 보완하기 위해서 반응에 염기를 사용하였다. 열을 가하지 않고 K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, KOH, NaOH 등을 사용했으나 반응하지 않았고, 보다 강한 염기인 NaH를 상온에서 사용해서 표지를 할 수 있었다. 순도가 높은 NaH시약은 반응성이 높아 다루기가 위험하며 입장에서 반복적으로 시약을 만들어 사용하기가 쉽지 않아서 안전하게 60% mineral oil에 들어 있는 NaH를 hexane을 이용하여 질소조건하에서 mineral oil을 제거 후 DMF용매에 보관하여 사용하였다.

### 2. 자동화 표지반응

[<sup>11</sup>C]CH<sub>3</sub>I 자동합성장치는 효율적인 생산을 위하여 원격 제어를 할 수 있는 자체 제작한 자동화 합성장치를 사용하였다. Vial (4 mL) 에 분주된 전구물질인 (R)-N-desmethyl-PK11195 을 DMSO (1 mg, 0.1 mL) 에 녹인 뒤에 DMF용매 안에 있는 NaH의 DMF 현탁액(0.1 mL)을 첨가하여 상온에서 1분 동안 반응시킨 뒤 prep-HPLC 의 stainless steel 루프 (2 mL) 안으로 주입시켰다. 생산된 [<sup>11</sup>C]CH<sub>3</sub>I를 전구물질인 (R)-N-desmethyl-PK11195와 반응혼합용액이 든 semi-prep HPLC의 루프로 통과시켰다.<sup>42)</sup> [<sup>11</sup>C](R)-PK11195의 정제는 semi-prep HPLC를 이용하였다. HPLC 정제와 모든 과정(EOB)은 21±1분 동안 실행하였다. 양성자

Table 1. Synthesis Data and Production Yields for [<sup>11</sup>C](R)-PK11195.

Number of experiments	≥ 3
Reaction parameters with [ <sup>11</sup> C]CH <sub>3</sub> I	≤ 5 min, at RT
Radiochemical yield after [ <sup>11</sup> C]CH <sub>3</sub> I	71.8±8.5%
Absolute yield of final radiopharmaceutical product solution	1.92±0.53 GBq
Synthesis time	21±1 min (EOB)
Radiochemical purity	> 99.2%
Specific activity	11.8±6.4 GBq/μmol

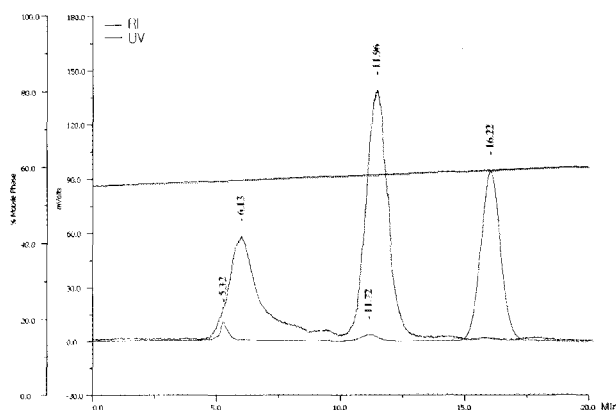


Figure 3. Semi-preparative HPLC chromatogram for the radiosynthesis of [<sup>11</sup>C](R)-PK11195 shows the radiolabeling yield and retention time. Reverse-phase column Waters XTerra RP8 (i.d 10x250 mm) was used with a mobile-phase EtOH 55-60% gradient in water (4 mL/min). Aliquots eluted at 11.96 min were collected as [<sup>11</sup>C](R)-PK11195.

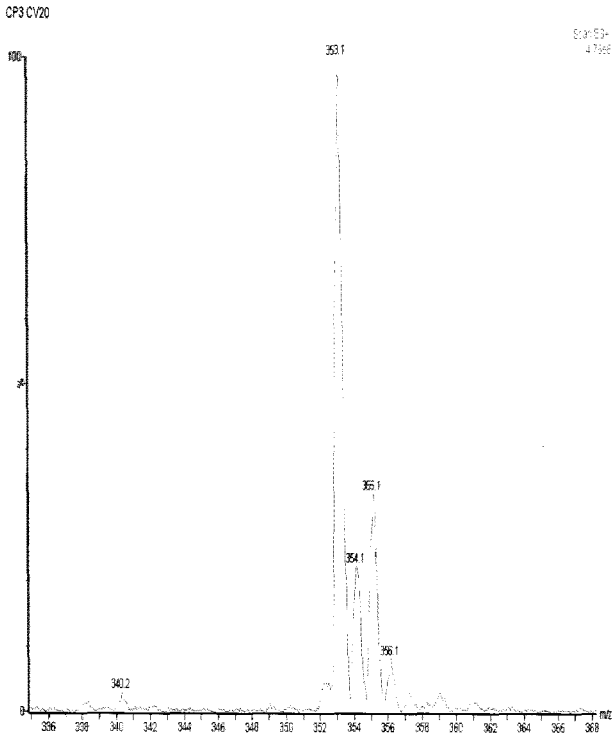
빔을 10분 동안 조사하여 합성을 진행하였을 때 얻어진 [<sup>11</sup>C](R)-PK11195의 방사능량은 1.92±0.53 GBq 이었다. Analytical HPLC를 사용한 [<sup>11</sup>C](R)-PK11195의 정제 관련 결과 방사화학적 순도가 99.2% 이상이며, 비방사능은 11.8±6.4 GBq/μmol (EOS)이었다(Table 1).

### 3. 정제

반응 혼합물은 정제를 위해 semi-prep HPLC의 역상 column 에 loading 하였다. [<sup>11</sup>C](R)-PK11195은 11.96 분에 포집할 수 있었다. 전구물질 또는 부산물은 semi-prep HPLC를 통한 정제 과정에서 쉽게 제거할 수 있었고 생성된 [<sup>11</sup>C](R)-PK11195의 표지효율은 71.8±8.5% 이었다 (Fig. 3).

### 4. 물질 확인

Semi-prep HPLC으로 분리한 [<sup>11</sup>C](R)-PK11195는 analytical HPLC를 이용해서 표준물질 (R)-PK11195와 동



**Figure 4.** The molecular weight peak of [<sup>11</sup>C](R)-PK11195 preparation showed the same peak corresponding to (R)-PK11195 (353.1 m/z (M+1)).

시에 주입하는 방법으로 같은 물질임을 확인 할 수 있었다. 포집한 [<sup>11</sup>C](R)-PK11195를 decay 후에 질량분석한 결과 표준물질인 (R)-PK11195 (352.1 MW)과 같은 m/z 353.1 (M+1)의 피크 값을 나타냈다(Fig. 4).

현재 PBR의 영상용 방사성의약품인 PK11195는 뇌의 염증 영역을 영상화한다고 알려져 있어서 신경계 퇴행성 질환 중에서 주된 질환인 AD<sup>50)</sup>의 진단 및 약물들의 치료 효과를 평가할 수 있는 바이오마커로 주목 받고 있다.

## 고찰

이번 실험을 통해 뇌염증에 의한 활성화 소교세포의 영상화를 위한 PET용 방사성의약품인 [<sup>11</sup>C](R)-PK11195에 대한 합성방법을 확립할 수 있었으며, 루프법을 이용한 (R)-PK11195의 자동합성장치에서의 합성은 임상에서의 반복적인 생산을 더욱 빠르고 간편하게 할 수 있었다.

또한, <sup>11</sup>C 표지 자동합성장치는 임상에서 반복적으로 생산하는 생산자들의 피로를 줄일 수 있으며, 합성에서 자동합성장치의 루프법은 상온에서 전구물질과 [<sup>11</sup>C]CH<sub>3</sub>I의 최종 반응단계를 루프에서 진행하고 바로 HPLC로 분리하여 반응단계 및 장비를 단순화하여 합성시간 21분으로 단축하

였다. 이는 C-11 방사성의약품은 짧은 반감기를 갖고 있기 때문에 합성시간을 단축하면 더 좋은 영상을 얻을 수 있기 때문이다. NaH의 DMF 현탁액의 사용은 반응성이 높아 위험한 NaH를 안전하게 사용하기 위해 60% mineral oil이 포함된 NaH를 사용하였다.

단, 실험 중 개선해야 될 점은 NaH의 DMF 현탁액을 만든 다음 냉장보관 후 침전되면 덩어리로 응고 되어 루프에 반응혼합물을 주입한 후 루프가 막히는 경우가 있어 가급적 수분이 들어가지 않게 보관하고, 약 5일 마다 새로 만들어서 사용하는 것이 좋다. 물론, 물 주입으로 루프는 쉽게 씻어지기는 하지만 개선 점이 필요하며, 60% mineral oil이 포함된 NaH를 미리 분주해서 사용 직전에 NaH의 DMF 현탁액을 제조해서 사용하거나 냉장보관 된 NaH의 DMF 현탁액을 교반기나 초음파세척기로 잘 섞은 뒤 사용할 수 있다. NaH의 DMF 현탁액을 이용하지 않는 다른 방법으로는 다른 강염기를 사용하고 반응 루프에 열을 가하는 것도 가능하다. 또한, [<sup>11</sup>C](R)-PK11195의 비방사능은 사이클로트론에 사용되는 N<sub>2</sub> 표적기체 내의 미량의 CO<sub>2</sub>가 존재하여 비교적 낮은 비방사능을 갖는 원인으로 추정되며,<sup>48)</sup> 서론에서 언급한 기체상 표지방법 등으로 개선할 수 있다. 앞으로의 연구에서는 PET을 이용한 [<sup>11</sup>C](R)-PK11195를 신경계 염증의 영상프로브(imaging probe)로서 정량적 평가가 수행되어야 할 것이다.

## 요약

**목적:** (R)-1-(2-Chlorophenyl)-N-methyl-N-1-(1-methyl-propyl)-3-isoquinoline carboxamide ((R)-PK11195)는 말초형 벤조디아제핀 수용체 (PBR)의 친화성이 높으며, 활성화된 소교세포(microglia)의 PBR에 선택적으로 결합하는 것으로 알려져 있다. 본 연구에서는 말초형 벤조디아제핀 수용체 (PBR)의 PET용 리간드인 [<sup>11</sup>C](R)-PK11195를, 절차가 빠르고 간단한 [<sup>11</sup>C]CH<sub>3</sub>I 자동합성장치 및 루프법을 도입해서 합성하였다. **대상 및 방법:** 사이클로트론에서 <sup>14</sup>N(p,α)<sup>11</sup>C 핵반응에 의하여 생산된 [<sup>11</sup>C]CO<sub>2</sub>를 0.2 M LiAlH<sub>4</sub>/THF (0.2 mL)로 환원한 다음 HI (1 mL)과 반응하여 [<sup>11</sup>C]CH<sub>3</sub>I를 생산하였다. 반응용매인 NaH DMF complex (0.1 mL)와 녹인 전구물질 (R)-N-desmethyl-PK11195 (1 mg)을 녹인 DMSO (0.1 mL)를 섞은 혼합액을 HPLC의 루프에 미리 주입하고 [<sup>11</sup>C]CH<sub>3</sub>I를 상온에서 5분 동안 질소가스로 불어준 뒤에 semi-preparative HPLC로 [<sup>11</sup>C](R)-PK11195를 분리하였다. **결과:** 전구물질과 [<sup>11</sup>C]CH<sub>3</sub>I의 [<sup>11</sup>C]메틸화 반응에서의 표지효율은 71.8±8.5% 이

었다. 분리 후 얻은 [<sup>11</sup>C](R)-PK11195의 비방사능은 11.8±6.4 GBq/μmol 이었으며, 방사화학적 순도는 99.2% 이상이 었다. C-11 표지 후 얻어진 (R)-PK11195의 물질의 질량 분석은 m/z 353.1 (M+1)으로 물질구조를 확인 할 수 이었다. 결론: 뇌염증에 의한 활성화 소교세포의 영상화를 위한 PET용 방사성의약품인 [<sup>11</sup>C](R)-PK11195를 반복적으로 생산해야 하는 임상 적용을 위해, 합성절차가 빠르고 간단한 [<sup>11</sup>C]CH<sub>3</sub> 자동화 합성장치를 1차 루프 방법을 이용하여 <sup>11</sup>C을 표지 할 수 있었다. 이 연구를 통해서 [<sup>11</sup>C](R)-PK11195 표지 할 때 반응 단계를 줄이고 반응을 실온에서 할 수 있어서 표지과정을 보다 단순화할 수 있었으며, NaH의 DMF 현탁액을 사용함으로써 보다 안전하게 생산할 수 있게 되었다.

## References

- Gerhard A, Pavese N, Hotton G, Turkheimer F, Es M, Hammers A, et al. In vivo imaging of microglial activation with [<sup>11</sup>C](R)-PK11195 PET in idiopathic Parkinson's disease. *Neurobiol Dis* 2006;21:404-12.
- Tai YF, Pavese N, Gerhard A, Tabrizi SJ, Barker RA, Brooks DJ, et al. Imaging microglial activation in Huntington's disease. *Brain Res Bull* 2007;72:148-51.
- Shah F, Hume SP, Pike VW, Ashworth S, McDermott J. Synthesis of the enantiomers of [N-methyl-<sup>11</sup>C]PK11195 and comparison of their behaviours as radioligands for PK binding sites in rats. *Nucl Med Biol* 1994;21:573-81.
- Banati RB, Graeber MB. Surveillance, intervention and cytotoxicity: is there a protective role of microglia? *Dev Neurosci* 1994;16:114-27.
- Schwartz M. Macrophages and microglia in central nervous system injury: are they helpful or harmful? *J Cereb Blood Flow Metab* 2003;23:385-94.
- Kremlev SG, Roberts RL, Palmer C. Differential expression of chemokines and chemokine receptors during microglial activation and inhibition. *J Neuroimmunol* 2004;149:1-9.
- Chao CC, Hu S, Peterson PK. Modulation of human microglial cell superoxide production by cytokines. *J Leukoc Biol* 1995;58:65-70.
- Kim SU, de Vellis J. Microglia in health and disease. *J Neurosci Res* 2005;81:302-13.
- Wang X, Chen S, Ma G, Ye M, Lu G. Involvement of proinflammatory factors, apoptosis, caspase-3 activation and Ca<sup>2+</sup> disturbance in microglia activation-mediated dopaminergic cell degeneration. *Mech Ageing Dev* 2005;126:1241-54.
- McGeer EG, McGeer PL. The importance of inflammatory mechanisms in Alzheimer disease. *Exp Gerontol* 1998;33:371-8.
- McGeer PL, McGeer EG. Inflammation and neurodegeneration in Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord* 2004;10(Suppl 1):S3-S7.
- Sapp E, Kegel KB, Aronin N, Hashikawa T, Uchiyama Y, Tohyama K, et al. Early and progressive accumulation of reactive microglia in the Huntington disease brain. *J Neuropathol Exp Neurol* 2001;60:161-72.
- Sargsyan SA, Monk PN, Shaw PJ. Microglia as potential contributors to motor neuron injury in amyotrophic lateral sclerosis. *Glia* 2005;51:241-53.
- Koh S. Microglial Imaging in neurological disorders with PK11195 PET. *J Korean Soc Clin Neurophysiol* 2007;9:91-7.
- Parola AL, Yamamura HI, Laird HE. Peripheral-type benzodiazepine receptors. *Life Sci* 1993;52:1329-42.
- Gerhard A, Trender-Gerhard I, Turkheimer F, Quinn NP, Bhatia KP, Brooks DJ. In vivo imaging of microglial activation with [<sup>11</sup>C](R)-PK11195 PET in progressive supranuclear palsy. *Mov Disord* 2006;21:89-93.
- Cagnin A, Brooks DJ, Kennedy AM, Gunn RN, Myers R, Turkheimer FE, et al. In-vivo measurement of activated microglia in dementia. *Lancet* 2001;358:461-7.
- Gerhard A, Banati RB, Goerres GB, Cagnin A, Myers R, Gunn RN, et al. [<sup>11</sup>C](R)-PK11195 PET imaging of microglial activation in multiple system atrophy. *Neurology* 2003;61:686-9.
- Gerhard A, Watts J, Trender-Gerhard I, Turkheimer F, Banati RB, Bhatia K, et al. In vivo imaging of microglial activation with [<sup>11</sup>C](R)-PK11195 PET in corticobasal degeneration. *Mov Disord* 2004;19:1221-6.
- Groom GN, Junck L, Foster NL, Frey KA, Kuhl DE. PET of peripheral benzodiazepine binding sites in the microgliosis of Alzheimer's disease. *J Nucl Med* 1995;36:2207-10.
- Henkel K, Karitzky J, Schmid M, Mader I, Glatting G, Unger JW, et al. Imaging of activated microglia with PET and [<sup>11</sup>C]PK11195 in corticobasal degeneration. *Mov Disord* 2004;19:817-21.
- Pavese N, Gerhard A, Tai YF, Ho AK, Turkheimer F, Barker RA, et al. Microglial activation correlates with severity in Huntington disease: a clinical and PET study. *Neurology* 2006;66:1638-43.
- Tai YF, Pavese N, Gerhard A, Tabrizi SJ, Barker RA, Brooks DJ, et al. Microglial activation in presymptomatic Huntington's disease gene carriers. *Brain* 2007;130:1759-66.
- Turner MR, Cagnin A, Turkheimer FE, Miller CC, Shaw CE, Brooks DJ, et al. Evidence of widespread cerebral microglial activation in amyotrophic lateral sclerosis: an [<sup>11</sup>C](R)-PK11195 positron emission tomography study. *Neurobiol Dis* 2004;15:601-9.
- Rao VL, Bowen KK, Rao AM, Dempsey RJ. Up-regulation of the peripheral-type benzodiazepine receptor expression and [<sup>3</sup>H]PK11195 binding in gerbil hippocampus after transient forebrain ischemia. *J Neurosci Res* 2001;64:493-500.
- Hammoud DA, Endres CJ, Chander AR, Guilarte TR, Wong DF, Sacktor NC, et al. Imaging glial cell activation with [<sup>11</sup>C]R-PK11195 in patients with AIDS. *J Neurovirol* 2005;11:346-55.
- Mankowski JL, Queen SE, Tarwater PJ, Adams RJ, Guilarte TR. Elevated peripheral benzodiazepine receptor expression in simian immunodeficiency virus encephalitis. *J Neurovirol* 2003;9:94-100.
- Vowinckel E, Reutens D, Becher B, Verge G, Evans A, Owens T, et al. PK11195 binding to the peripheral benzodiazepine receptor as a marker of microglia activation in multiple sclerosis and experimental autoimmune encephalomyelitis. *J Neurosci Res* 1997;50:345-53.
- Versijpt J, Debruyne JC, Van Laere KJ, De Vos F, Keppens J, Strijckmans K, et al. Microglial imaging with positron emission tomography and atrophy measurements with magnetic resonance imaging in multiple sclerosis: a correlative study. *Mult Scler* 2005;11:127-34.
- Debruyne JC, Versijpt J, Van Laere KJ, De Vos F, Keppens J, Strijckmans K, et al. PET visualization of microglia in multiple sclerosis patients using [<sup>11</sup>C]PK11195. *Eur J Neurol* 2003;10:

- 257-64.
31. Debruyne JC, Van Laere KJ, Versijpt J, De Vos F, Keppen J, Strijckmans K, et al. Semiquantification of the peripheral-type benzodiazepine ligand [ $^{11}\text{C}$ ]PK11195 in normal human brain and application in multiple sclerosis patients. *Acta Neurol Belg* 2002; 102:127-35.
  32. Chen MK, Guilarte TR. Imaging the peripheral benzodiazepine receptor response in central nervous system demyelination and remyelination. *Toxicol Sci* 2006;91:532-9.
  33. Cagnin A, Gerhard A, Banati RB. The concept of in vivo imaging of neuroinflammation with [ $^{11}\text{C}$ ](R)-PK11195 PET. *Ernst Schering Res Found Workshop* 2002:179-91.
  34. Banati RB, Newcombe J, Gunn RN, Cagnin A, Turkheimer F, Heppner F, et al. The peripheral benzodiazepine binding site in the brain in multiple sclerosis: quantitative in vivo imaging of microglia as a measure of disease activity. *Brain* 2000;123: 2321-37.
  35. Gerhard A, Neumaier B, Elitok E, Glatting G, Ries V, Tomczak R, et al. In vivo imaging of activated microglia using [ $^{11}\text{C}$ ]PK11195 and positron emission tomography in patients after ischemic stroke. *Neuroreport* 2000;11:2957-60.
  36. Gerhard A, Schwarz J, Myers R, Wise R, Banati RB. Evolution of microglial activation in patients after ischemic stroke: a [ $^{11}\text{C}$ ](R)-PK11195 PET study. *Neuroimage* 2005;24:591-5.
  37. Imaizumi M, Kim HJ, Zoghbi SS, Briard E, Hong J, Musachio JL, et al. PET imaging with [ $^{11}\text{C}$ ]PBR28 can localize and quantify upregulated peripheral benzodiazepine receptors associated with cerebral ischemia in rat. *Neurosci Lett* 2007;411:200-5.
  38. Pappata S, Levasseur M, Gunn RN, Myers R, Crouzel C, Syrota A, et al. Thalamic microglial activation in ischemic stroke detected in vivo by PET and [ $^{11}\text{C}$ ]PK11195. *Neurology* 2000;55: 1052-4.
  39. Vowinckel E, Reutens D, Becher B, Verge G, Evans A, Owens T, et al. PK11195 binding to the peripheral benzodiazepine receptor as a marker of microglia activation in multiple sclerosis and experimental autoimmune encephalomyelitis. *J Neurosci Res* 1997;50:345-53.
  40. Camsonne R, Crouzel C, Comar D, Maziere M, Prenant C, Sastre J, et al. Synthesis of  $N$ -( $^{11}\text{C}$ ) methyl,  $N$ -(methyl-1 propyl), (chloro-2 phenyl)-1 isoquinoline carboxamide-3 (PK 11195): A new ligand for peripheral benzodiazepine receptors. *J Label Compd Radiopharm* 1984;21:985-91.
  41. Cremer JE, Hume SP, Cullen BM, Myers R, Manjil LG, Turton DR, et al. The distribution of radioactivity in brains of rats given [ $N$ -methyl- $^{11}\text{C}$ ]PK 11195 in vivo after induction of a cortical ischaemic lesion. *Int J Rad Appl Instrum B* 1992;19:159-66.
  42. Hashimoto K, Inoue O, Suzuki K, Yamasaki T, Kojima M. Synthesis and evaluation of  $^{11}\text{C}$ -PK 11195 for in vivo study of peripheral-type benzodiazepine receptors using positron emission tomography. *Ann Nucl Med* 1989;3:63-71.
  43. Choe YS. Radiolabeling methods used for preparation of molecular probes. *Nucl Med Mol Imaging* 2004;38:121-30.
  44. Larsen P, Ulin J, Dahlstrom K, Jensen M. Synthesis of [ $^{11}\text{C}$ ]iodomethane by iodination of [ $^{11}\text{C}$ ]methane. *Appl Radiat Isot* 1997;48:153-7.
  45. Crouzel C, Langstrom B, Pike VW, Coenen HH. Recommendations for a practical production of [ $^{11}\text{C}$ ]methyl iodide. *Appl Radiat Isot* 1987;38:601-3.
  46. Rahman O, Kihlberg T, Långström B. Synthesis of  $N$ -methyl- $N$ -(1-methylpropyl)-1-(2-chlorophenyl)isoquinoline-3- $^{11}\text{C}$ carboxamide ([ $^{11}\text{C}$ -carbonyl]PK11195) and some analogues using [ $^{11}\text{C}$ ]carbon monoxide and 1-(2-chlorophenyl)isoquinolin-3-yl triflate. *J Am Chem Soc Perkin Trans 1* 2002:2699-703.
  47. Wilson AA, Garcia A, Jin L, Houle S. Radiotracer synthesis from [ $^{11}\text{C}$ ]iodomethane: a remarkably simple captive solvent method. *Nucl Med Biol* 2000;27:529-32.
  48. Lee HJ, Jeong JM, Lee Y, Kim HW, Lee E, Lee DS, et al. Radiosynthesis of [ $^{11}\text{C}$ ]6-OH-BTA-1 in different media and confirmation of reaction by-products. *Nucl Med Mol Imaging* 2007;41:241-6.
  49. Wilson AA, Garcia A, Chestakova A, Kung H, Houle S. A rapid one-step radiosynthesis of the  $\beta$ -amyloid imaging radiotracer  $N$ -methyl-[ $^{11}\text{C}$ ]2-(4'-methylaminophenyl)-6-hydroxybenzothiazole ([ $^{11}\text{C}$ ]-6-OH-BTA-1). *J Label Compd Radiopharm* 2004;47:679-82.
  50. Bachman DL, Wolf PA, Linn R, Knoefel JE, Cobb J, Belanger A, et al. Prevalence of dementia and probable senile dementia of the Alzheimer type in the Framingham Study. *Neurology* 1992;42: 115-9.