

In vivo comparison of Lu-177-labeled phosphonate compounds as potential agents for bone pain palliation in rodents

Young Soo Chang¹, Yun-Sang Lee^{1,2,3}, Young Ju Kim^{1,2}, and Jae Min Jeong^{1,2,3,*}

¹Department of Nuclear Medicine, Seoul National University College of Medicine, ²Institute of Radiation Medicine, Seoul National University College of Medicine, ³Cancer Research Institute, Seoul National University College of Medicine, Seoul, Korea

ABSTRACT

Lutetium-177 ($T_{1/2}=6.71$ day) is an adequate radionuclide for therapy, which has both beta emission ($E_{\max}=497$ keV) for therapeutic effect and gamma emission (113 and 208 keV) for imaging. ¹⁷⁷Lu labeled ethylenediamine-*N,N,N',N'*-tetrakis (methylene phosphonic acid) (EDTMP) and 1,4,7,10-tetraazacyclododecane-1,4,7,10-tetraaminomethylenephosphonate (DOTMP) have been proposed as radiopharmaceuticals for bone pain palliation. In this study, we compared radiochemistry and biodistribution of ¹⁷⁷Lu-EDTMP and ¹⁷⁷Lu-DOTMP. EDTMP and DOTMP were synthesized, and 1 mg of each was labeled with ¹⁷⁷Lu at pH 7~8 with high efficiency (>98%). For comparative biodistribution studies, ¹⁷⁷Lu-EDTMP or ¹⁷⁷Lu-DOTMP were injected into ICR-mice through tail vein, and then biodistribution data were obtained as percentages of injected dose per gram of tissue (% ID/g). Urine excretions of both agents in mice were checked for 7 days. Rat images were also obtained after injection of ¹⁷⁷Lu-EDTMP or ¹⁷⁷Lu-DOTMP. ¹⁷⁷Lu-DOTMP (100% at 1 min) showed faster labeling than ¹⁷⁷Lu-EDTMP (100% at 30 min). Both of them were stable at least for 21 days at room temperature. High bone uptakes were found for both ¹⁷⁷Lu-EDTMP and ¹⁷⁷Lu-DOTMP: 38.0 and 34.1% ID/g at 3 hr, respectively; and 33.2 and 18.8% ID/g at 7 day, respectively. Rapid excretions to urine were found for both agents (¹⁷⁷Lu-EDTMP: 56%, ¹⁷⁷Lu-DOTMP: 63% at 1 day). Other organs showed very low uptakes. Rat images of both ¹⁷⁷Lu-EDTMP and ¹⁷⁷Lu-DOTMP showed high bone uptakes and low soft tissue uptakes. In conclusion, both ¹⁷⁷Lu-EDTMP and ¹⁷⁷Lu-DOTMP showed high potential as bone pain palliation agents. ¹⁷⁷Lu-EDTMP showed higher bone uptake and slower bone clearance in mice than those of ¹⁷⁷Lu-DOTMP. *J Radiopharm Mol Probes* 1(1):53-61, 2015

Key Words: Bone pain palliation, Therapeutic radiopharmaceutical, ¹⁷⁷Lu-EDTMP, ¹⁷⁷Lu-DOTMP, Biodistribution

Introduction

전립선암이나 폐암, 유방암 등 여러 가지 악성종양의 이차적인 뼈전이로 인하여 발생하는 뼈의 통증은 암환자 치료에 있어서 중요한 문제 중 하나이다. 뼈의 통증에는 병태생리학적으로 많은 요소들이 관여하고 있기 때문에 뼈 통증의 측정과 치료에는 각 전문분야의 협력이 필요하다. 치료에는 진통제를 사용한 치료뿐만 아니라 방사선치료, 호르몬치료, 화학요법 및 수술이 필요하기도 하다. 광

범위한 뼈전이가 일어나 일반적인 치료가 어려운 경우에 시행되는 방사성핵종을 체내에 투여하는 치료법은 뼈통증을 감소시키고 나아가 환자의 삶의 질을 개선시켜 준다(1-5).

뼈전이암 통증치료용 방사성핵종으로 P-32 (6) ($E_{\beta\max}=1.71$ MeV, $T_{2/1}=14.3$ d), Sr-89 (7,8) ($E_{\beta\max}=1.41$ MeV, $T_{2/1}=50.5$ d), Sm-153 (9-12) ($E_{\beta\max}=0.81$ MeV, $T_{2/1}=47.26$ h), Re-186 (10,13) ($E_{\beta\max}=1.07$ MeV, $T_{2/1}=90.64$ h), Re-188 (14,15) ($E_{\beta\max}=2.12$ MeV, $T_{2/1}=17$ h) 등 다양한 방사성동위원소가 사용된다. 이들은 각기 고유한 물리적, 생체동력학적 특성을 가

Received February 6, 2015 / Revised March 30, 2015 / Accepted April 1, 2015

Corresponding Author: Jae Min Jeong

Department of Nuclear Medicine, Seoul National University Hospital, 101 Daehak-ro Jongno-gu, Seoul 110-744, Korea
Tel: +82-2-2072-3805, Fax: +82-2-745-7690, E-mail: jmjeong@snu.ac.kr

Copyright © 2015, The Korean Society of Radiopharmaceuticals and Molecular Probes

지며, 다른 투여량과 투여방법이 요구되지만, 모두 뼈의 통증을 감소시킬 수 있을 만큼의 충분한 양이 전이된 골아세포 영역에 섭취된다. 그러나 방사성동위원소를 사용함에 있어서 제한 요소가 되는 것은 골수독성으로서 이 독성을 감소시킨 약제의 개발이 필요하다.

뼈전이암 환자의 통증치료에 현재 많이 사용되는 베타선방출 방사성동위원소인 ⁸⁹Sr는 상당히 고가이며 반감기(50.6일)가 길고 감마선을 방출하지 않아 치료 후 정량영상화가 되지 않는 등 여러 가지 단점이 있다(7,8). 레늄의 동위원소 중 ¹⁸⁶Re과 ¹⁸⁸Re은 치료용으로 적당한 베타선과 영상화가 가능한 감마선을 동시에 방출하는 특성이 있다. 또한 ¹⁸⁸Re의 경우 ¹⁸⁸W/¹⁸⁸Re generator의 개발과 더불어 사용의 편의가 증가되었다. 우리 실험실에서는 방사성동위원소로 ¹⁸⁸Re을, 배위자로 phosphonate 음이온(hydroxyethylidene diphosphonate, HEDP)을 사용한 방사성의약품 개발하여 임상 적용이 가능함을 확인한 바 있다(14). 그러나 ¹⁸⁶Re, ¹⁸⁸Re은 방출되는 베타에너지가 높아 골수독성의 가능성이 있다.

Lutetium-177은 치료용 핵종으로서 최근 생산기술의 향상으로 ¹⁷⁷Lu 표지 방사성의약품의 개발 연구가 활발하다(16-22). ¹⁷⁷Lu은 심각한 골수억제를 일으키지 않을 정도의 베타선(176 keV [12.2%], 384 keV [9.1%], 497 keV [78.6%])을 방출하며, 영상이 가능한 감마선(113 keV [6.4%], 208 keV [11.0%])을 동시에 방출하고, 6.75 일인 물리적 반감기는 치료용으로 적절하다. 또한 국내 연구용 원자로인 하나

로를 이용한 ¹⁷⁷Lu의 생산이 가능하며, ¹⁷⁷Lu을 표지한 새로운 치료용 방사성의약품 개발이 필요하다.

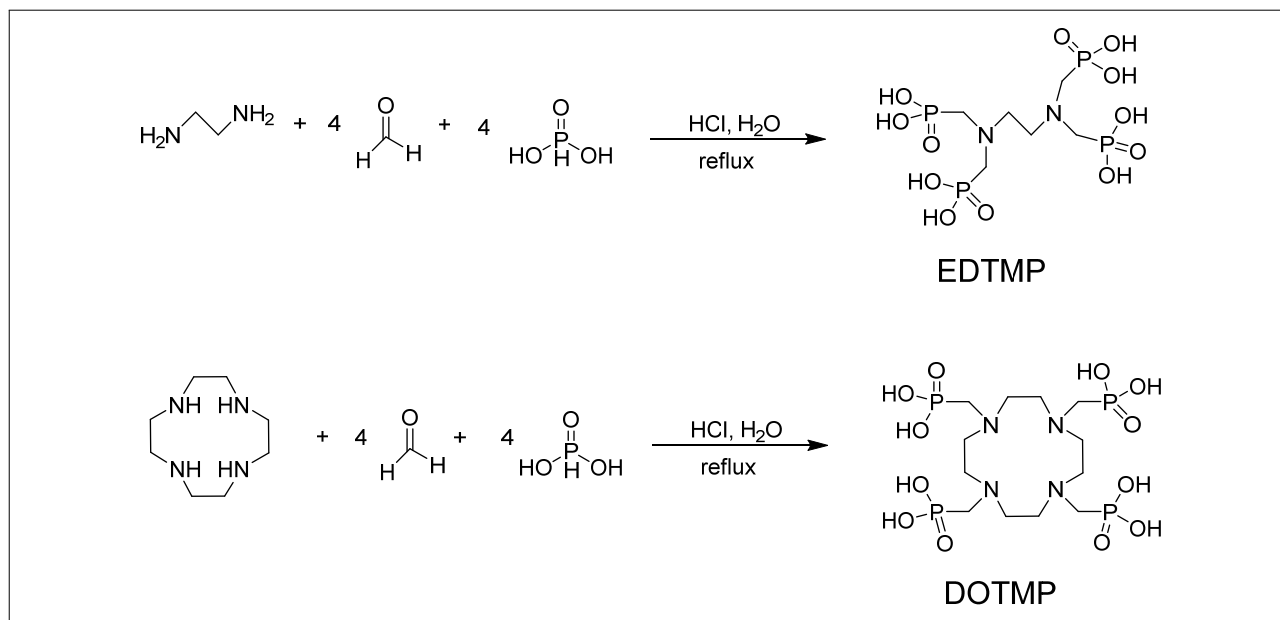
뼈전이암 통증 억제용 방사성의약품의 배위자로 여러 가지 polyaminophosphonate가 제시되었으며, 특히 베타선방출 핵종이 표지된 HEDP, EDTMP (ethylenediamine-*N,N,N',N'*-tetrakis[methylene phosphonic acid]) 등은 뼈의 통증을 효과적으로 감소시킬 수 있음이 보고된 바 있다(10,15,17,23). Cyclic polyaminophosphonate는 유사한 비환구조보다 열역학적으로 안정하며, 탄탄계열의 원소와는 비환구조보다 더 잘 결합한다(23-25). 최근에는 Cyclic polyaminophosphonate의 일종인 1,4,7,10-tetraazacyclododecane-1,4,7,10-tetraaminomethylenephosphonate (DOTMP) 등이 뼈통증 억제용 방사성의약품으로 가능성이 있음이 제시됐다(26).

이 연구에서는 ¹⁷⁷Lu-EDTMP와 ¹⁷⁷Lu-DOTMP 두 가지 화합물의 표지조건을 확립하고, 실험동물에서 체내분포의 차이를 비교하여 보다 우수한 뼈전이암 통증 억제용 방사성의약품을 선별하고자 하였다.

Materials and Methods

1. EDTMP와 DOTMP의 합성

EDTMP와 DOTMP 각각은 문헌에 보고된 방법을 참조하여 합성하였으며(Scheme 1), 합성한 화합물은 ¹H-NMR



Scheme 1. Synthesis of EDTMP and DOTMP.

(AL 300 FT NMR spectrometer, JEOL Ltd., Tokyo, Japan)과 mass spectrometer (ESI MS) (PI-3000 Spectrometer, Biosystems, Barcelona, Spain)로 그 구조를 확인하였다.

EDTMP의 합성은 문헌을 참조하여 다음과 같이 하였다 (26). Phosphorous acid (27.28 g, 332.78 mmol)를 물과 포화 HCl 용액 1 대 1 혼합액 68 mL에 녹이고 ethylene diamine (5 g, 83.19 mmol)을 가한 후 환류 교반하면서 formaldehyde 수용액을 과량 점적하였다. 2 시간 후 상온으로 온도를 낮추고, 반응 용액에 포화 HCl 용액을 가하여 pH가 7이 되도록 하였다. 얻어진 결정을 건조하여 하얀색 가루 형태로 EDTMP (15.6 g, 205.22 mmol, 61%)를 얻었다.

$^1\text{H-NMR}$ (D_2O) δ 3.38 (s, 4H, $-\text{N-CH}_2\text{-P}$), 3.42 (s, 4H, $-\text{N-CH}_2\text{-P}$), 3.73 (s, 4H, $=\text{N-CH}_2\text{-CH}_2\text{-N=}$).

DOTMP의 합성은 문헌을 참조하여 다음과 같이 하였다 (26). Cyclen (2.6 g, 15 mmol)과 무수 orthophosphorous acid (4.9 g, 60 mmol)를 30% HCl 용액(10 mL)에 녹이고, 이 반응액에 36% formaldehyde 용액 (1.4 mL)을 점적하였다. 1 시간 후 상온으로 온도를 낮추고, EtOH을 넣어 얻어진 결정을 여과하여 하얀색의 고체로 DOTMP (5.95 g, 80%)를 얻었다. $^1\text{H-NMR}$ (D_2O) δ 3.20 (bs, 8H, $-\text{N-CH}_2\text{-P}$), 3.28 (s, 16H, $=\text{N-CH}_2\text{-CH}_2\text{-N=}$). MS 549.4 ($\text{M}^+ + 1$, base peak).

2. ^{177}Lu 표지

EDTMP와 DOTMP의 ^{177}Lu 표지 조건을 확립하기 위하여 다음과 같이 여러 조건에서 반응시킨 후 표지효율을 확인하였다. 실험에 사용한 $^{177}\text{LuCl}_3$ (비방사능 37 GBq/mg-88.8 GBq/mg)는 한국원자력연구원의 연구용원자로인 하나로에서 생산한 것을 사용하였다.

EDTMP 용액(EDTMP 1-20 mg/ 0.1 N NaOH 0.4 mL) 혹은 DOTMP 용액 (DOTMP 1-20 mg/ 0.5 M NaHCO_3 0.4 mL)에 0.1 N HCl 혹은 0.1 N NaOH를 사용하여 pH를 조절한 후 생리식염수를 사용하여 총 반응액을 0.9 mL로 맞추었다. 여기에 ^{177}Lu 0.1 mL을 넣어 실온에서 반응을 시키면서 시간별로 크로마토그래피를 실시하여 표지효율을 확인하였다.

$^{177}\text{Lu-EDTMP}$ 와 $^{177}\text{Lu-DOTMP}$ 의 표지효율은 고정상으로 Whatman 3MM paper (1×10 cm)를 사용하고 이동상으로 20% acetone 혹은 saline을 사용하여 크로마토그래피를 실행하고, 결과는 TLC 스캐너(Imaging Scanner System 200, Bioscan, Poway, CA, USA)를 사용하여 판독하였다. 위 크로마토그래피 조건에서 ^{177}Lu 의 R_f 값은 0.0이고, $^{177}\text{Lu-EDTMP}$

와 $^{177}\text{Lu-DOTMP}$ 의 R_f 값은 0.9-1.0이었다.

3. 안정성

$^{177}\text{Lu-EDTMP}$ 와 $^{177}\text{Lu-DOTMP}$ 의 실온에서의 안정성을 보기위해, 표지 후 실온에 보관하며 21일까지 여러 시간별로 크로마토그래피를 실행하여 방사화학적 순도를 계산하였다.

4. 마우스에서의 생체내분포

모든 동물실험은 AAALAC International (Association for Assessment and Accreditation of Laboratory Animal Care International)의 인증을 받은 서울대학교병원의 의생명연구원에서 실시하였다.

$^{177}\text{Lu-EDTMP}$ 와 $^{177}\text{Lu-DOTMP}$ 의 체내분포를 마우스를 이용하여 확인하였다. 마우스(ICR, 수컷, 24.2 ± 2.1 g, 각 그룹별 개체수=4)의 꼬리정맥에 $^{177}\text{Lu-EDTMP}$ 혹은 $^{177}\text{Lu-DOTMP}$ 를 각각 370 kBq/0.1 mL씩 주사하였다. 방사성의약품을 투여한 각 군은 3 시간, 1, 2, 7일 후에 여러 장기(혈액, 근육, 지방, 심장, 폐, 간, 비장, 위, 장, 신장, 뇌, 뼈)를 적출하고 각각의 장기별 무게를 측정된 후 감마카운터(Cobra II, Packard Canberra Co., Ramsey, MN, USA)를 이용하여 남아 있는 방사능을 계수하였다. 측정 결과는 각 장기의 단위무게당 섭취백분율(percent injected dose/g, % ID/g)로 나타내었다. 또한 뇨를 통한 배설량을 확인하기 위하여 개체별로 방사능이 바닥에 흡수지를 설치한 후 1, 2, 3, 4, 7일 후 배설한 뇨를 채취하여 남아있는 방사능을 측정하였다.

5. 랫트의 영상

$^{177}\text{Lu-EDTMP}$ 와 $^{177}\text{Lu-DOTMP}$ 의 실험동물 영상을 랫트를 이용하여 얻었다. $^{177}\text{Lu-EDTMP}$ 혹은 $^{177}\text{Lu-DOTMP}$ 약 111 MBq/200 μL 를 흰쥐 (SD, 수컷, 약 200 g)의 꼬리정맥에 투여하고 3시간, 1, 2, 7일 후의 영상을 감마카메라(LEN, SIMENS, 평형다공형 고해상도 조준기)를 사용하여 얻었다.

Results

1. ^{177}Lu 표지

EDTMP와 DOTMP의 최적의 ^{177}Lu 표지조건을 확인하기

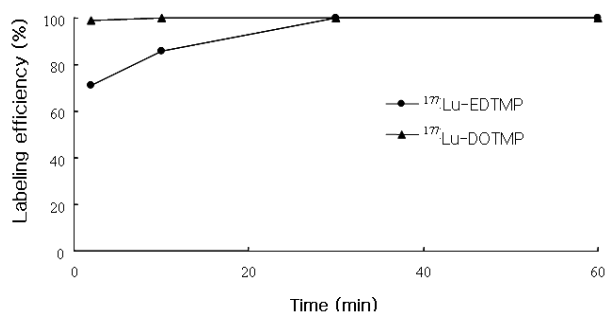


Figure 1. When the reaction mixtures of ¹⁷⁷Lu-EDTMP (●) and ¹⁷⁷Lu-DOTMP (▲) were incubated at room temperature for different time periods and checked the labeling efficiencies at those time points. Lu-177-DOTMP showed faster labeling than ¹⁷⁷Lu-EDTMP.

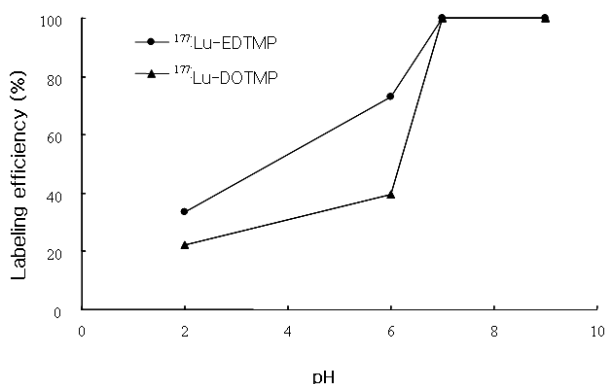


Figure 2. The effect of variation of pH on complexation yield of ¹⁷⁷Lu-EDTMP (●) and ¹⁷⁷Lu-DOTMP (▲) at room temperature was studied by varying the pH at the reaction mixture from 2 to 9 using HCl or NaOH solution. Maximum yield of over 99% was observed at pH 7 for both of labeled compounds.

위하여, 각각을 여러 가지 조건하에서 ¹⁷⁷Lu로 표지하고 크로마토그래피를 이용하여 표지효율을 확인하였다.

반응시간별 표지효율을 확인한 결과, ¹⁷⁷Lu-EDTMP의 경우 실온에서 30분 반응으로 99% 이상의 표지효율을 나타냈으며, ¹⁷⁷Lu-DOTMP의 경우는 실온에서 반응 2분 이내에 99% 이상의 표지효율을 나타냈다(Figure 1).

최적의 표지효율을 나타내는 pH 조건을 확인하기 위하여 반응액을 0.1 N HCl 혹은 0.1 N NaOH를 사용하여 pH를 조절한 후 ¹⁷⁷Lu 표지효율을 확인하였다. ¹⁷⁷Lu-EDTMP와 ¹⁷⁷Lu-DOTMP는 pH 7 이상에서 99% 이상의 표지효율을 나타냈다(Figure 2).

배위자의 농도에 따른 표지효율을 확인한 결과, ¹⁷⁷Lu-EDTMP는 EDTMP의 농도가 5 mg/mL 이상에서 95% 이상의 표지효율을 나타냈으며, ¹⁷⁷Lu-DOTMP의 경우는 3 mg/mL 이상에서 95% 이상의 표지효율을 나타냈다(Figure 3).

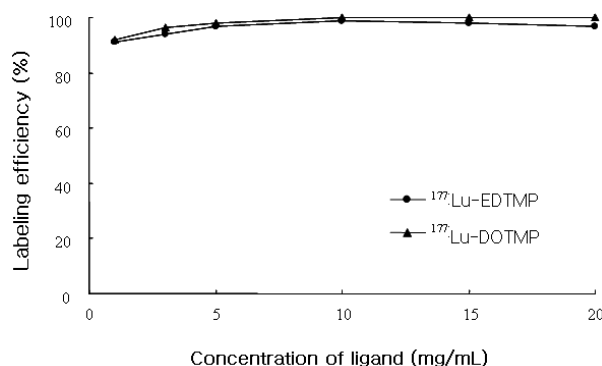


Figure 3. Effect of ligand concentration on labeling efficiency of ¹⁷⁷Lu-EDTMP (●) and ¹⁷⁷Lu-DOTMP (▲) were checked. Ligand concentration was varied between a wide range starting from 1 to 20 mg/mL for EDTMP or DOTMP. It was observed that over 95% complexation were achieved with 5 mg/mL of both ligands.

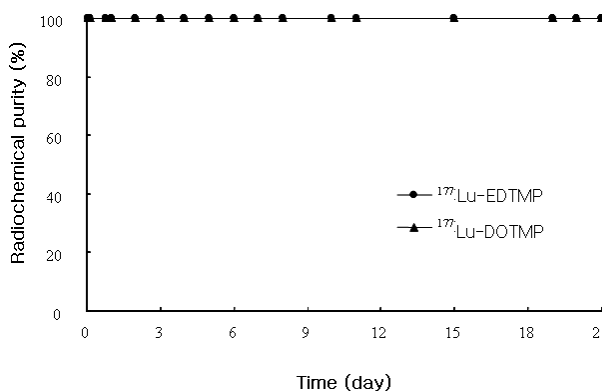


Figure 4. The stability of ¹⁷⁷Lu-EDTMP and ¹⁷⁷Lu-DOTMP were tested by incubating the preparations at room temperature. Both of ¹⁷⁷Lu-EDTMP (●) and ¹⁷⁷Lu-DOTMP (▲) showed high stabilities.

이상의 실험결과로 ¹⁷⁷Lu-EDTMP와 ¹⁷⁷Lu-DOTMP의 최적의 표지조건을 확인하였고, 실험동물을 사용한 체내분포 실험과 영상실험에는 다음과 같은 조건으로 EDTMP와 DOTMP를 ¹⁷⁷Lu로 표지하였다. EDTMP 용액(EDTMP 5 mg/0.5 M NaHCO₃ 0.4 mL) 혹은 DOTMP 용액(DOTMP 5 mg/0.5 M NaHCO₃ 0.4 mL)을 pH 7-8로 맞추고, 생리식염수를 사용하여 총 반응액을 0.9 mL로 맞춘 후, 여기에 ¹⁷⁷Lu 0.1 mL을 넣어 실온에서 30분간 반응을 시켜 표지하였다. 실험에는 방사화학적 순도가 98% 이상이 되는 것을 사용하였다.

2. 안정성

¹⁷⁷Lu-EDTMP와 ¹⁷⁷Lu-DOTMP의 안정성을 확인하기 위하여, 각각의 방사성의약품을 표지 후 실온에 방치하면서 21일

Table 1. Biodistribution of ^{177}Lu -EDTMP in Mice

Organ	% ID/g			
	3 hr	1 day	2 day	7 day
Blood	0.02±0.01 ^{a)}	0.01±0.001	0.00±0.00	0.01±0.01
Muscle	0.37±0.08	0.41±0.08	0.33±0.22	0.42±0.14
Fat	0.02±0.01	0.01±0.01	0.01±0.01	0.02±0.00
Heart	0.04±0.00	0.04±0.01	0.03±0.01	0.04±0.02
Lung	0.06±0.00	0.05±0.01	0.04±0.01	0.05±0.01
Liver	0.09±0.01	0.08±0.01	0.10±0.01	0.13±0.02
Spleen	0.04±0.01	0.06±0.01	0.07±0.01	0.12±0.01
Stomach	0.18±0.07	0.08±0.02	0.09±0.02	0.05±0.03
Intestine	0.13±0.03	0.05±0.02	0.11±0.03	0.04±0.03
Kidney	1.50±0.22	0.57±0.04	0.45±0.02	0.15±0.02
Brain	0.02±0.01	0.03±0.02	0.02±0.01	0.02±0.00
Bone	37.98±7.21	39.53±8.66	35.38±3.94	33.22±6.39

^{a)}% ID/g, mean±SD.

Table 2. Biodistribution of ^{177}Lu -DOTMP in Mice

Organ	% ID/g			
	3 hr	1 day	2 day	7 day
Blood	0.03±0.01 ^{a)}	0.01±0.00	0.00±0.00	0.01±0.01
Muscle	0.34±0.05	0.31±0.05	0.21±0.13	0.221±0.11
Fat	0.02±0.01	0.24±0.44	0.02±0.01	0.021±0.001
Heart	0.03±0.00	0.03±0.00	0.02±0.01	0.021±0.011
Lung	0.07±0.01	0.03±0.00	0.02±0.00	0.021±0.011
Liver	0.08±0.01	0.05±0.01	0.07±0.00	0.041±0.011
Spleen	0.04±0.00	0.04±0.01	0.03±0.02	0.05±0.01
Stomach	0.05±0.01	0.03±0.01	0.08±0.03	0.02±0.01
Intestine	0.11±0.01	0.05±0.02	0.07±0.04	0.04±0.02
Kidney	1.85±0.62	0.81±0.13	0.57±0.18	0.16±0.04
Brain	0.02±0.02	0.01±0.01	0.01±0.01	0.01±0.00
Bone	34.11±4.47	24.95±3.71	24.96±4.24	18.78±2.94

^{a)}mean±SD.

간 방사화학적 순도를 확인하였다(Figure 4). ^{177}Lu -EDTMP와 ^{177}Lu -DOTMP은 모두 21일까지 상당히 안정한 것으로 나타났다.

3. 마우스에서의 생체내분포

^{177}Lu -EDTMP와 ^{177}Lu -DOTMP의 체내분포를 비교하기 위하여 마우스를 이용하여 생체내분포 실험을 시간 별로 실시하였다(Table 1, 2). ^{177}Lu -EDTMP와 ^{177}Lu -DOTMP 모두 3시간에 뼈를 제외한 거의 모든 장기에서 섭취를 보이지 않았다. 3시간의 뼈 섭취가 ^{177}Lu -EDTMP는 38.0±7.2, ^{177}Lu -DOTMP는 34.1±4.5% ID/g이었고, 7일 후에는 ^{177}Lu -EDTMP는 33.2±6.4, ^{177}Lu -DOTMP는 18.8±2.9% ID/g이었다. ^{177}Lu -EDTMP는 1일에 최고 뼈섭취율을 나타내었으나, 3시간에서 7일까지 통계적으로 유의한 변화를 보이지는 않았

Table 3. Accumulated Excretion Amount through Urine of ^{177}Lu -EDTMP and ^{177}Lu -DOTMP

Day	%ID	
	^{177}Lu -EDTMP	^{177}Lu -DOTMP
1	55.7±7.1 ^{a)}	62.8±3.0
2	55.9±7.1	63.7±2.9
3	56.2±7.1	64.5±2.9
4	56.4±7.2	65.1±2.9
7	56.9±7.3	66.3±2.6

^{a)}mean±SD.

다($p=0.36$). 반면에 ^{177}Lu -DOTMP는 3시간에 최고 뼈섭취율을 보이고 점차 감소하여 7일 후에는 3시간 섭취량의 약 45%가 감소하였다($p=0.002$). ^{177}Lu -EDTMP를 ^{177}Lu -DOTMP와 비교하였을 때, 3시간의 뼈 섭취율은 큰 차이가 없었으나($p=0.40$) 제거되는 속도는 더 느림(7일 뼈섭취율 차이 $p=0.01$)을 알 수 있었다.

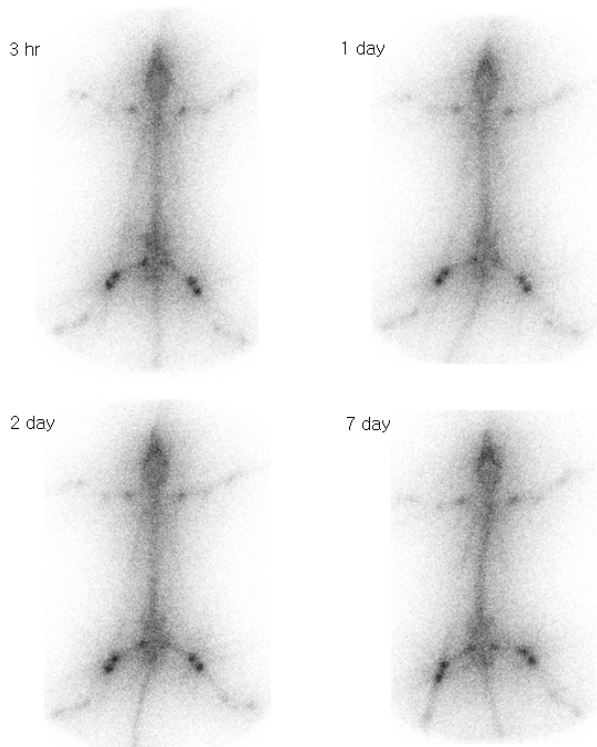


Figure 5. Rat Images were obtained after intravenous injection of $^{177}\text{Lu-EDTMP}$ (about 111 MBq) through the tail vein of SD-rat by using gamma camera (LEN, SIMENS) equipped high resolution parallel collimator.

신장에 약간의 섭취를 보이는 것은 결합하지 않은 $^{177}\text{Lu-EDTMP}$ 혹은 $^{177}\text{Lu-DOTMP}$ 가 신장을 통해 배설되기 때문으로 추정된다. 이는 배설된 뇨의 방사능으로 확인할 수 있었다(Table 3). $^{177}\text{Lu-EDTMP}$ 와 $^{177}\text{Lu-DOTMP}$ 투여 이후 1일만에 $^{177}\text{Lu-EDTMP}$ 의 경우 $55.7 \pm 7.1\%$ ID, $^{177}\text{Lu-DOTMP}$ 은 투여량의 $62.8 \pm 3.0\%$ ID가 뇨로 배설되며, 그 이후 아주 소량의 증가만이 있었다. 그러나 두 방사성의약품의 시간에 따른 뇨배설량의 증가와 서로간의 차이는 통계적으로 유의하지 않았다.

4. 랫트의 영상

랫트의 $^{177}\text{Lu-EDTMP}$ 와 $^{177}\text{Lu-DOTMP}$ 영상을 확인한 결과, 각 방사성의약품의 뼈의 섭취는 모두 3시간 이내에 최대에 도달함을 알 수 있었다(Figure 5, 6). 뼈 이외의 다른 장기의 섭취는 거의 나타나지 않았으며, 7일까지 다른 장기의 섭취 없이 뼈에만 집적됨을 알 수 있었다.

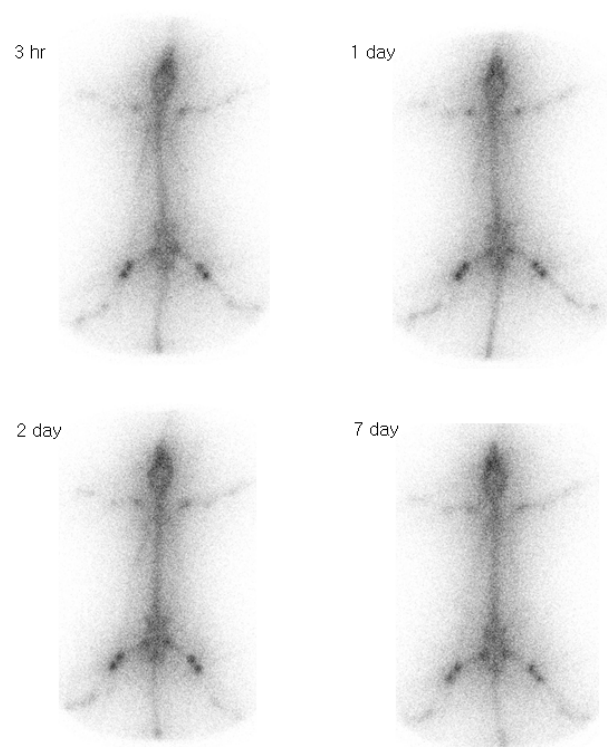


Figure 6. Rat Images were obtained after intravenous injection of $^{177}\text{Lu-DOTMP}$ (about 111 MBq) through the tail vein of SD-rat by using gamma camera (LEN, SIMENS) equipped high resolution parallel collimator.

Discussion

베타선 방출핵종을 표지한 다양한 구조의 phosphonate 배위자가 뼈전이암 통증치료용 방사성의약품으로 광범위하게 연구되어 왔다(1-5,23). Phosphonate는 활성이 있는 뼈의 칼슘에 효과적으로 결합되는 특성이 있으며, 이는 암이 전이된 뼈의 병소에 선택적으로 섭취되는 요인으로 간주된다(27,28). Diphosphonate를 수용액 상태에서 방사성금속과 결합을 시킬 경우, 중합체를 형성하는데 이것은 결합구조의 확인이 어렵고 안정성이 좋지 않다. Multidentate phosphonate는 diphosphonate에 비해 좀 더 효과적인 배위자로 알려져 있다. 특히 multidentate aminomethylenephosphonic acids는 금속과 안정한 형태의 화합물을 형성하며 방사성 금속과의 결합구조의 규명이 용이하다(27). Multidentate aminomethylenephosphonic acids의 하나인 EDTMP는 여러 가지 방사성핵종과 안정한 화합물을 형성하며 체내분포 실험 결과 뼈에 높은 섭취를 보이는 것으로 알려져 있다(26,27). $^{153}\text{Sm-EDTMP}$ 는 뼈전이암 통증치료용 방사성의약품으로 높은 가능성이 있음이 보고되었다(9-12).

DOTMP와 같은 cyclic polyaminomethylenephosphonic acid는 EDTMP와 같은 linear aminomethylenephosphonic acid에 비해 방사성금속 표지시 필요한 배위자와 방사성금속의 몰비가 적다(23). 이것은 란탄계열의 원소를 결합시킨 cyclic chelate를 acyclic 유사체와 비교했을 때 cyclic chelate 화합물이 열역학적으로 안정성이 높고 동력학적으로 반응성이 없는 화합물을 형성하기 때문이다(23,24). 방사성의 약품으로서 열역학적으로 안정하다는 것은 혈액내에서 방사성금속의 유리가 생기지 않으며 따라서 표적장기가 아닌 장기의 섭취를 방지할 수 있다는 면에서 아주 중요하다(24). 이것은 Sm(III)과 DOTMP 결합물이 acyclic 유사체인 EDTMP와의 결합체와 비교하였을 때 열역학적으로 훨씬 안정하다는 결과로도 증명된다(23). 또한 금속결합체 화합물에 있어서 동력학적 불활성은 체내안정성이라는 점에서 중요한 요소가 될 수 있다. 란탄계 금속과 결합한 acyclic chelator 화합물은 대체로 빠른 분해를 보이며, macrocyclic chelator 화합물의 경우는 훨씬 더 동력학적 불활성을 보인다(24). 따라서 ^{177}Lu 을 표지한 cyclic polyaminophosphonate가 acyclic 유사체보다 훨씬 더 높은 체내 안정성을 보일 수 있다.

그러나 뼈전이암 통증치료용 의약품으로 탁월한 성공을 보이고 있는 ^{153}Sm -EDTMP (Quadramet[®])는 우수한 체내 약물동력학을 보이고 있다(9-12). ^{153}Sm -EDTMP는 뼈의 병변에 우선적으로 집적되고 나머지 방사능은 신장을 통해 빠른 배설을 보임을 실험동물과 환자군 모두에서 확인하였다(11,12). 그리고 $^{177}\text{Lu}^{+3}$ 는 Sm^{+3} 와 비슷한 배위화학을 보이기 때문에 ^{177}Lu -EDTMP의 약물동력학적 특성은 ^{153}Sm -EDTMP와 유사할 것으로 기대할 수 있다.

이 논문에서는 뼈전이암 통증 억제용 방사성의약품으로 높은 가능성이 있는 acyclic 배위자를 사용한 ^{177}Lu -EDTMP와 cyclic 배위자를 사용한 ^{177}Lu -DOTMP의 실험동물에서 체내분포의 차이를 비교하여 보다 우수한 뼈전이암 통증 억제용 방사성의약품을 선별하고자 하였다.

EDTMP와 DOTMP의 조건별 ^{177}Lu 표지효율 결과를 보면, ^{177}Lu -EDTMP가 실온에서 30분 (표지효율 >99%)으로 2분에 99% 이상의 방사화학적 수율을 보이는 ^{177}Lu -DOTMP보다 표지시간이 더 많이 필요하다는 것을 알 수 있었다(Figure 1). 두 가지 방사성의약품 모두 표지 최적 pH는 pH 7-8이었으며(Figure 2), 최종 배위자 농도가 5 mg/mL 이상이었을 때 방사화학적 수율이 95% 이상으로 나타났다(Figure 3). 적정 표지조건을 이용하여 얻은 ^{177}Lu -EDTMP와 ^{177}Lu -DOTMP를 실온에서 모두 21일까지 상당히 안정한

것으로 나타났다(Figure 4). 이상의 결과는 EDTMP가 DOTMP보다 표지하는데 시간이 좀 더 요구되기는 하지만 표지효율과 안정성은 두 화합물이 유사함을 나타낸다고 할 수 있다. Ando 등이 보고한(17) ^{177}Lu -EDTMP와 Das 등이 보고한(26) ^{177}Lu -DOTMP 또한 높은 표지효율과 실온 보관시 2주 이상 경과 후에도 높은 방사화학적순도를 나타내었다. 그러나 Chakraborty 등의 보고에서 ^{177}Lu 이 표지된 EDTMP와 DOTMP는 pH 7 이하, 실온 보관 조건에서 2일 이내에 상당량의 분해가 나타나며, ^{177}Lu -EDTMP가 ^{177}Lu -DOTMP보다 빠른 분해를 보인다고 하였다(29). 이는 ^{177}Lu -EDTMP와 ^{177}Lu -DOTMP가 알칼리 조건에서 높은 표지효율을 보이는 특성(Figure 2)으로 인한 pH의 특성에 의한 영향으로 보인다.

^{177}Lu -EDTMP와 ^{177}Lu -DOTMP의 마우스에서의 체내분포 실험결과(Table 1, 2)는 모두 3시간에 높은 뼈섭취율을 보이는 것으로 나타났으며, ^{177}Lu -EDTMP와 ^{177}Lu -DOTMP의 뼈섭취율은 통계적으로 차이가 없었다($p=0.40$). ^{177}Lu -EDTMP의 경우 7일에서의 뼈섭취율은 3시간의 섭취율과 유의한 차이가 없었으나($p=0.36$), ^{177}Lu -DOTMP의 경우는 7일에 3시간 뼈섭취율의 45%가 제거됨을 할 수 있었다. 반면에 Chakraborty 등의 흰쥐를 이용한 체내분포영상 실험에서는 ^{177}Lu -EDTMP가 ^{177}Lu -DOTMP보다 약간 높은 뼈섭취를 보이며 이것은 7일간 거의 변화가 없었다고 보고하였다(29). 이러한 결과들은 실험동물의 중간 섭취율과 대사의 차이에 따른 영향을 좀 더 연구할 필요가 있음을 나타낸다.

섭취되지 않은 방사능의 대부분은 신장을 통해 1일 이내에 제거되는 것으로 추정된다(Table 3). Das 등은 투여한 ^{177}Lu -DOTMP의 약 50% 이상이 1일 이내에, Chakraborty 등은 투여한 ^{177}Lu -EDTMP와 ^{177}Lu -DOTMP의 36-40%가 30분 이내에 신장을 통해 배설되는 것으로 계산된다고 보고한 바 있다(26,29).

^{177}Lu -EDTMP와 ^{177}Lu -DOTMP의 랫트의 영상은, 두 방사성의약품 모두 3시간 이내에 뼈의 섭취율이 최대에 도달함을 알 수 있었다(Figure 5, 6). 실험동물을 이용한 체내분포실험과 영상실험 결과는 ^{177}Lu -EDTMP와 ^{177}Lu -DOTMP 모두 뼈전이암 통증치료로 높은 가능성이 있음을 시사한다. 그러나 체내분포실험을 통한 뼈섭취율과 제거율 결과는 뼈전이암 통증 치료용 방사성의약품으로 ^{177}Lu -EDTMP가 ^{177}Lu -DOTMP보다 좀 더 좋은 체내동태를 보인다고 할 수 있다.

치료용 방사성의약품을 환자에게 적용하기 위해서는 체내흡수선량에 대한 연구가 좀 더 필요하다. 실험동물을

사용하여 선원장기 및 표적장기 등의 흡수선량을 평가하고, 특히 골수가 전신적 방사성의약품치료에서의 투여량 제한 장기이기 때문에 ^{177}Lu -EDTMP와 ^{177}Lu -DOTMP의 골수에 대한 흡수선량평가 실험 등은 추후에 필수적으로 하여야 할 것이다.

Conclusion

^{177}Lu 을 표지한 EDTMP와 DOTMP를 합성하고 이 두 가지 화합물의 방사화학적 특성 및 실험동물에서 체내분포의 차이를 비교하였다. 그 결과 ^{177}Lu -EDTMP와 ^{177}Lu -DOTMP는 배위자 농도가 5 mg/mL 이상, pH 7-8, 실온에서 30분간 반응을 했을 때 높은 표지효율을 나타내었으며, 실온보관시 21일까지 안정하였다. 마우스 체내분포실험결과, ^{177}Lu -EDTMP와 ^{177}Lu -DOTMP는 모두 투여 후 3시간에 뼈를 제외한 모든 장기에서 낮은 섭취를 보였다. ^{177}Lu -EDTMP와 ^{177}Lu -DOTMP는 투여 이후 1일만에 투여량의 55% 이상이 뇨로 배설되며, 그 이후 아주 소량의 배설 증가가 있었다. 흰쥐영상의 결과, ^{177}Lu -EDTMP와 ^{177}Lu -DOTMP 섭취는 모두 3시간 이내에 최대에 도달하고, 뼈 이외의 다른 장기의 섭취가 나타나지 않았으며, 7일까지 다른 장기의 섭취는 나타나지 않았다. 결론적으로 ^{177}Lu -EDTMP와 ^{177}Lu -DOTMP 모두 뼈전이암 통증치료에 사용할 수 있는 가능성을 보였다. ^{177}Lu -EDTMP가 ^{177}Lu -DOTMP보다 뼈 섭취율이 조금 더 높고 뼈에서 제거되는 속도도 더 느림을 알 수 있었다.

Acknowledgments

이 연구는 한국연구재단 도약연구과제(2013R1A2A1A05006227)와 방사선연구개발과제(NRF-2012M2A2A7035853)의 지원을 받았으며, 다른 이해관계는 없음을 밝힙니다.

References

1. Pandit-Taskar N, Batraki M, Divgi CR. Radiopharmaceutical therapy for palliation of bone pain from osseous metastases. *J Nucl Med* 2004;45:1358-1365.
2. Lam MG, de Klerk JM, van Rijk PP, Zonnenberg BA. Bone seeking radiopharmaceuticals for palliation of pain in cancer patients with osseous metastases. *Anticancer Agents Med Chem* 2007;7:381-397.
3. Silberstein EB. Teletherapy and radiopharmaceutical therapy of painful bone metastases. *Semin Nucl Med* 2005;35:152-158.
4. Damerla V, Packianathan S, Boerner PS, Jani AB, Vijayakumar

- S, Vijayakumar V. Recent developments in nuclear medicine in the management of bone metastases: a review and perspective. *Am J Clin Oncol* 2005;28:513-520.
5. Lewington VJ. Bone-seeking radionuclides for therapy. *J Nucl Med* 2005;46 (1 Suppl):S38-47.
6. Cheung A, Driedger AA. Evaluation of radioactive phosphorus in the palliation of metastatic bone lesions from carcinoma of the breast and prostate. *Radiology* 1980;134:209-212.
7. Robinson RG, Spicer JA, Preston DE, Wegst AV, Martin NL. Treatment of metastatic bone pain with strontium-89. *Int J Rad Appl Instrum B* 1987;14:219-222.
8. Shani J, Amir D, Soskolne WA, Schwartz Z, Chisin R, Sela J. Correlations between uptake of technetium, calcium, phosphate, and mineralization in rat tibial bone repair. *J Nucl Med* 1990;31:2011-2014.
9. Goeckeler WF, Edwards B, Volkert WA, Holmes RA, Simon J, Wilson D. Skeletal localization of samarium-153 chelates: potential therapeutic bone agents. *J Nucl Med* 1987;28:495-504.
10. Ketrang AR. ^{153}Sm -EDTMP and ^{186}Re -HEDP as bone therapeutic radiopharmaceuticals. *Int J Rad Appl Instrum B* 1987; 14:223-232.
11. Singh A, Holmes RA, Farhangi M, Volkert WA, Williams A, Stringham LM, Ketrang AR. Human pharmacokinetics of samarium-153 EDTMP in metastatic cancer. *J Nucl Med* 1989; 30:1814-1818.
12. Serafini AN. Systemic metabolic radiotherapy with samarium-153 EDTMP for the treatment of painful bone metastasis. *Q J Nucl Med* 2001;45:91-99.
13. de Klerk JM, van het Schip AD, Zonnenberg BA, van Dijk A, Quirijnen JM, Blijham GH, van Rijk PP. Phase 1 study of rhenium-186-HEDP in patients with bone metastases originating from breast cancer. *J Nucl Med* 1996;37:244-249.
14. Chang YS, Jeong JM, Kim BK, Cho JH, Lee DS, Chung JK, Lee SJ, Jin RJ, Lee SE, Lee MC. Effect of carrier on labeling and biodistribution of Re-188-hydroxyethylene diphosphonate. *Korean J Nucl Med* 2000;34:344-352.
15. Liepe K, Kotzerke J. A comparative study of ^{186}Re -HEDP, ^{186}Re -HEDP, ^{153}Sm -EDTMP and ^{89}Sr in the treatment of painful skeletal metastases. *Nucl Med Commun* 2007;28:623-630.
16. Schlom J, Siler K, Milenic DE, Eggensperger D, Colcher D, Miller LS, Houchens D, Cheng R, Kaplan D, Goeckeler W. Monoclonal antibody-based therapy of a human tumor xenograft with a ^{177}Lu -labeled immunoconjugate. *Cancer Res* 1991;51:2889-2896.
17. Ando A, Ando I, Tonami N, Kinuya S, Kazuma K, Kataiwa A, Nakagawa M, Fujita N. ^{177}Lu -EDTMP: a potential therapeutic bone agent. *Nucl Med Commun* 1998;19:587-591.
18. de Jong M, Breeman WA, Bernard BF, Bakker WH, Schaar M, van Gameren A, Bugaj JE, Erion J, Schmidt M, Srinivasan A, Krenning EP. [^{177}Lu -DOTA(0),Tyr3] octreotate for somatostatin receptor-targeted radionuclide therapy. *Int J Cancer* 2001; 92:628-633.

19. Breeman WA, De Jong M, Visser TJ, Erion JL, Krenning EP. Optimising conditions for radiolabelling of DOTA-peptides with ^{90}Y , ^{111}In and ^{177}Lu at high specific activities. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2003;30:917-920.
20. Das T, Chakraborty S, Banerjee S, Mukherjee A, Samuel G, Sarma HD, Nair CK, Kagiya VT, Venkatesh M. Preparation and preliminary biological evaluation of a ^{177}Lu labeled sanazole derivative for possible use in targeting tumor hypoxia. *Bioorg Med Chem* 2004;12:6077-6084.
21. Banerjee S, Das T, Chakraborty S, Samuel G, Korde A, Venkatesh M, Pillai MR. An estradiol-conjugate for radiolabelling with ^{177}Lu : an attempt to prepare a radiotherapeutic agent. *Bioorg Med Chem* 2005;13:4315-4322.
22. Chen J, Linder KE, Cagnolini A, Metcalfe E, Raju N, Tweedle MF, Swenson RE. Synthesis, stabilization and formulation of [^{177}Lu]Lu-AMBA, a systemic radiotherapeutic agent for Gastrin Releasing Peptide receptor positive tumors. *Appl Radiat Isot* 2008;66:497-505.
23. Volkert WA, Hoffman TJ. Therapeutic radiopharmaceuticals. *Chem Rev* 1999;99: 2269-2292.
24. Liu S, Edwards DS. Bifunctional chelators for therapeutic lanthanide radiopharmaceuticals. *Bioconjug Chem* 2001;12:7-34.
25. Caravan P, Ellison JJ, McMurry TJ, Lauffer RB. Gadolinium (III) chelates as MRI contrast agents: structure, dynamics, and applications. *Chem Rev* 1999;99:2293-2352.
26. Das T, Chakraborty S, Unni PR, Banerjee S, Samuel G, Sarma HD, Venkatesh M, Pillai MR. ^{177}Lu -labeled cyclic polyaminophosphonates as potential agents for bone pain palliation. *Appl Radiat Isot* 2002;57:177-184.
27. Jurisson S, Berning D, Jia W, Ma D. Coordination compounds in nuclear medicine. *Chem Rev* 1993;93:1137-1156.
28. O'Mara RE, Subramanian G. Experimental agents for skeletal imaging. *Semin Nucl Med* 1972;2:38-49.
29. Chakraborty S, Das T, Sarma HD, Venkatesh M, Banerjee S. Comparative studies of ^{177}Lu -EDTMP and ^{177}Lu -DOTMP as potential agents for palliative radiotherapy of bone metastasis. *Appl Radiat Isot* 2008;66:1196-1205.