

<https://doi.org/10.22643/JRMP.2018.4.2.73>

# Synthesis and biological evaluation of tricarbonyl technetium labeled 2-(4-chloro)phenyl-imidazo[1,2-a]pyridine analog ( $^{99m}\text{Tc}$ -CB257) as a TSPO-binding ligand

Ji Young Choi<sup>1,2</sup>, Jae Ho Jung<sup>2</sup>, In Ho Song<sup>2</sup>, Byung Seok Moon<sup>2</sup>, Byung Chul Lee<sup>2,3,\*</sup>, Sang Eun Kim<sup>1,2,3,\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Transdisciplinary Studies, Graduate School of Convergence Science and Technology, Seoul National University, Seoul 08826, Republic of Korea.

<sup>2</sup>Department of Nuclear Medicine, Seoul National University College of Medicine, Seoul National University Bundang Hospital, Seongnam 13620, Republic of Korea

<sup>3</sup>Center for Nanomolecular Imaging and Innovative Drug Development, Advanced Institutes of Convergence Technology, Suwon 16229, Republic of Korea

## ABSTRACT

In our previous study, tricarbonyl  $^{99m}\text{Tc}$ -labeled TSPO-binding ligand, named  $^{99m}\text{Tc}$ -CB256, having positively charge (+1) was investigated but did not show promising results in *in vivo* environment despite of a nanomolar binding affinity for TSPO. Because the overall positively charge of  $^{99m}\text{Tc}$ -CB256 would likely interrupt its target protein uptake, we herein designed the neutral tricarbonyl- $^{99m}\text{Tc}$  labeled TSPO-binding ligand ( $^{99m}\text{Tc}$ -CB257, **1**).  $^{99m}\text{Tc}$ -CB257 was prepared by the facile incorporation of the [ $^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3$ ]<sup>+</sup> into a N-(hydroxycarbonylmethyl)-2-picolyl moiety in CB257. The radiochemical yield of  $^{99m}\text{Tc}$ -CB257 after HPLC purification was  $54.1 \pm 2.4\%$  (decay corrected, n = 3). The authentic Re-CB257 (**2**) was synthesized by using  $(\text{NEt}_3)_2[\text{Re}(\text{CO})_3\text{Br}_3]$  in 69.0% yield. The binding affinity of **2** for TSPO was measured in leukocyte and showed approximately 280 times higher than that observed for the positively charged (+1) ligand, Re-CB256 ( $K_i = 0.57 \pm 0.06$  nM versus  $159.3 \pm 8.7$  nM, respectively). Our results indicated that **1** can be considered potentially as a new SPECT radiotracer for TSPO-rich cancer and provides the foundation for further *in vivo* evaluation related with abnormal TSPO-overexpression environments.

**Key Word:** Translocator protein (TSPO), Tricarbonyltechnetium-99m, SPECT

## Introduction

중추신경계의 미세아교세포(microglial cell)는 신경계의 활성화, 항상성 유지에 기여하며, 알츠하이머병, 파킨슨병, 헌팅턴 등의 다양한 퇴행성 신경계 질환, 뇌경색 또는 뇌손상 그리고 뇌 감염 등의 질환에서 미세아교세포의 활성화 및

접하게 관련되어 있음이 알려져 있다. 세포의 성장, 사멸, 스테로이드의 합성 등의 생물학적 과정에 주요한 역할을 담당하는 미토콘드리아의 외막에 존재하는 막 관통 단백질인 18 kDa 전이체 단백질(translocator protein, TSPO)의 발현증가는 특별히 활성화된 미세아교세포(activated microglial)에서 주로 관찰되고 있다(1,2). 또한, 최근 발표된 논문에서

Received: December 12, 2018 / Revised: December 19, 2018 / Accepted: December 21, 2018

**Corresponding Author :** Prof. Byung Chul Lee,

Department of Nuclear Medicine, Seoul National University Bundang Hospital, 82, Gumiro 173 Beongil, Bundanggu, Seongnam 13620, Republic of Korea, Tel: +82-31-787-2956, Fax: +82-31-787-4072, E-mail: leebc@snu.ac.kr

Prof. Sang Eun Kim,

Department of Transdisciplinary Studies, Graduate School of Convergence Science and Technology, Seoul National University, Gwanggyo-ro 145, Yeongtong-gu, Suwon-si, Gyeonggi-do 16229, Republic of Korea, Tel: +82-31-787-7671, Fax: +82-31-787-4018, E-mail: kse@snu.ac.kr

Copyright©2018 The Korean Society of Radiopharmaceuticals and Molecular Probes

하면 뇌, 간, 유방, 전립선 암 등의 특정 종양에서도 TSPO의 발현이 정상세포와 달리 높게 분포하고 있어, 종양을 표적으로 하는 영상 바이오마커로 이용될 수 있다. 따라서, 다양한 의료용 방사성동위원소가 표지된 TSPO 선택적 타겟 방사성 추적자는 중추 신경계 질환의 진단 뿐만 아니라 종양의 진단, 나아가 치료용으로도 응용이 가능하다(3,4).

1984년, TSPO 평가를 위한 양전자방출단층촬영(Positron Emission Tomography, PET)용 방사성추적자로 C-11(반감기 20.4분)이 표지된  $^{11}\text{C}$ PK11195가 최초로 개발되었다(5). 하지만,  $^{11}\text{C}$ PK11195는 짧은 반감기, 비특이적 결합, 그리고 낮은 신호대잡음비(signal to noise ratio)의 문제점으로 인하여 널리 사용하기에는 한계가 있다(6,7). 그 결과 지난 30여년간 TSPO 영상화를 위한 새로운 방사성추적자가 개발되어 왔으며, 대표적으로  $^{11}\text{C}$ DAA1106,  $^{11}\text{C}$ PBR28,  $^{18}\text{F}$ Fluoromethyl-PBR28,  $^{18}\text{F}$ CB251,  $^{18}\text{F}$ FPBR28 등의 화합물이 보고되었다(8-12).

하지만 현재까지 보고된 TSPO를 표적 하는 방사성추적자는 대부분 PET용 방사성동위원소를 이용하였으며(13,14), 단일광자방출단층촬영(Single photon emission computed tomography, SPECT)용 방사성추적자 개발 연구는 소수에 불과하다. 대표적으로 SPECT 영상에 이용되는 방사성동위원소인  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 은 사이클로트론 및 관련 부대시설 없이 발생기로부터 쉽게 용출하여 사용이 가능한 장점이 있으며, 제조 및 영상 획득 측면에서도 효율적인 6시간의 적당한 반감기를 가지고 있다. 또한, 다양한 Tc-99m 표지 방법 중에서 트리카르보닐기를 이용한 표지 방법은 높은 화학적 안정성과 함께 작은 사이클로 인해 화학적, 생물학적 특징 변화가 적다는 이점도 갖고 있다(15,16). 또한 PET용 TSPO 진단의약품과는 달리 Tc-99m로 표지된 TSPO 표적 진단의약품은 주기를 표에서 7B쪽에 속해있는 치료용 방사성동위원소 Re-188과 Re-186으로 치환이 가능하여, TSPO 발현이 특이적으로 높은 종양의 경우 진단과 치료를 동시에 실현할 수 있는 기회를 제공할 수 있다. 이러한 배경을 바탕으로 본 연구팀은 이전 연구 결과에서 특이적으로 TSPO에 결합하며 메탈이 결합할 수 있는 di-(2-picoly)amine기를 가진 imidazopyridine 기반 TSPO 표적 방사성추적자(CB256)를 보고한 바가 있다(17-19).  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -CB256은 +1가의 양전하를 가진 화합물로서 *in vitro* 실험에서 nM 수준의 결합친화도를 보여주었다(19). 하지만 TSPO 과다발현 질환모델에서 SPECT를 이용한 *in*

*vivo* 영상 획득 실험 결과, 진단용으로 쓰이기에 유의미한 결과를 보여주진 못하였다. 이에 본 연구에서는 화합물의 전하에 따라 결합친화도 및 체내 분포가 달라질 수 있음이 보고한 바가 있어(20) 체내에서 이상적인 분포와 함께 결합친화도를 증진시키기 위한 목적으로 전하를 띄지 않은 방사성추적자,  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -CB257를 고안하였다(Figure 1). Rhenium-185/187 또는 technetium-99m 표지방식은  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -CB256과 동일한 트리카르보닐기를 사용하였으며, 이의 합성과 TSPO에 대한 결합친화도를 평가 및 비교하고자 한다.

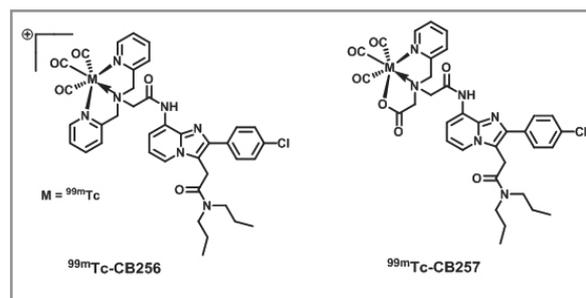


Figure 1. Structure of  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ - or Re-CB256 and  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ - or Re-CB257

## Materials

### 1. 장비 및 시약

모든 시약은 Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA)와 TCI (Tokyo, Japan) 제품을 구입하여 특별히 명시되지 않는 한 추가 정제 없이 사용하였다. 화합물의 분석에 사용된  $^1\text{H}$ -NMR은 Varian 400 MR (400 MHz, Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA)을 이용하였으며, Electrospray mass spectrometry (ESI-MS)는 Agilent 6130 Series (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA)를 사용하였다. 고성능액체크로마토그래피(High Performance Liquid Chromatography, HPLC)는 semi-preparative column (Waters, Xterra RP18, 10  $\mu\text{m}$ , 10 x 250 mm)을 이용하고, UV 검출기 (254 nm) 및 gamma-ray 검출기(Biocan)가 장착된 Agilent 1220 infinity 시스템을 사용하였다. 전개 용매는 HPLC용 용매(J. T. Baker, U.S.A.)를 사용하였으며 HPLC 분리 전 membrane 필터(Whatman, 0.20  $\mu\text{m}$ , GE Healthcare, U.S.A)를 이용하여 정제 후 사용하였다. HPLC 분리 시 사용된 용매 조건은 60%  $\text{CH}_3\text{CN}$ - $\text{H}_2\text{O}$  (including 0.1% trifluoroacetic acid)

이며, 유속은 3 mL/min 속도로 분석하였다.  $\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4$ 는  $^{99}\text{Mo}/^{99\text{m}}\text{Tc}$  용출기(Samyong Unitech Co., Ltd., Korea)로부터 용출하여  $\text{fac}-[^{99\text{m}}\text{Tc}(\text{CO})_3(\text{H}_2\text{O})_3]^+$ 를 합성 후 표지 하였으며, 비방사성동위원소 Re이 도입된 기준물질은  $[\text{NEt}_4]_2[\text{ReBr}_3(\text{CO})_3]$ 를 사용하여 알려진 방법과 유사한 조건에서 합성하였다(21,22). 최종 전구체 중간물질인 CB254는 이탈리아 University of Bari "Aldo Moro"의 Nunzio Denora 교수로부터 제공받아 사용하였다.

## 2. 전구체(CB257, **3**) 합성

CB254 (60 mg, 0.12 mmol)가 녹여져 있는 tetrahydrofuran (6 mL)에 *N*-(2-carboxymethyl)-*N*-(2-pyridinylmethyl)-1,1-dimethylethylester-glycine, potassium carbonate (26 mg, 0.12 mmol),  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (16 mg, 0.12 mmol)를 가하였다. 혼합물을 상온에서 18시간 동안 교반 후 dichloromethane 과 증류수(30 mL, v/v = 1:1)를 첨가하고 유기층을 추출하였다. 분리된 유기층을 sodium sulfate anhydrous로 소량의 물을 제거 한 후 flash column chromatography (10% EtOAc/hexane)를 이용, 분리, 정제하였다. 얻어진 화합물 (50 mg, 0.08 mmol)를 trifluoroacetic acid: $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (2 mL, v/v = 1/2)에 녹였다. 혼합물을 상온에서 4시간 동안 교반 후 감압 조건 하에서 용매를 제거하였다. 최종물질은 flash column chromatography (40% EtOAc/hexane)로 분리하였으며, 무색의 용액 형태(10 mg, 71%)로 얻었다.  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  10.6 (s, 1H), 8.49 (d,  $J = 8.0$  Hz, 1H) 8.17 (d,  $J = 8.0$  Hz, 1H), 8.01 (d,  $J = 8.0$  Hz, 1H), 7.89 (d,  $J = 8.0$  Hz, 1H), 7.69 (d,  $J = 8.0$  Hz, 2H), 7.46 (d,  $J = 8.0$  Hz, 2H), 7.30 (t,  $J = 4.0$  Hz, 1H), 7.09–7.08 (m, 1H), 6.80 (t,  $J = 6.0$  Hz, 1H), 4.09 (s, 4H), 3.63 (s, 2H), 3.42 (s, 2H), 3.29 (t,  $J = 8.0$  Hz, 2H), 3.13 (t,  $J = 8.0$  Hz, 2H), 1.56–1.46 (m, 4H), 0.86–0.73 (m, 6H); MS (ESI)  $m/z$  calcd. for  $[\text{C}_{31}\text{H}_{35}\text{ClN}_6\text{O}_4 + \text{H}]^+$ : 591.2; found: 591.4 (100%).

## 3. Re-CB257 (**2**) 합성

CB257 (3, 3 mg, 5  $\mu\text{mol}$ )을 메탄올 1 mL에 녹인 후  $(\text{Net}_4)_2[\text{ReBr}_3(\text{CO})_3]$  (5.7 mg, 7.5  $\mu\text{mol}$ )을 첨가하였다. 혼합물을 80 °C에서 1 시간 동안 교반 후에 감압 하에서 용매를 제거한 후 prep-HPLC를 이용하여 분리 정제하였다( $T_R$

= 16.2분, 3 mg, 69 %).  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.82 (d,  $J = 8.0$  Hz, 1H), 8.17 (d,  $J = 8.0$  Hz, 1H), 8.01 (d,  $J = 8.0$  Hz, 1H), 7.91 (t,  $J = 8.0$  Hz, 1H), 7.56 (d,  $J = 8.0$  Hz, 1H), 7.51–7.41 (m, 4H), 6.91 (t,  $J = 8.0$  Hz, 1H), 5.35 (d,  $J = 8.0$  Hz, 1H), 4.65–4.53 (m, 3H), 4.06 (s, 2H), 3.95–3.91 (m, 2H), 3.31 (t,  $J = 8.0$  Hz, 2H), 3.15 (t,  $J = 8.0$  Hz, 2H), 1.56–1.49 (m, 4H), 0.88–0.77 (m, 6H); MS (ESI)  $m/z$  calcd. for  $[\text{C}_{34}\text{H}_{34}\text{ClN}_6\text{O}_7^{187}\text{Re}]^+$ : 861.1; found 861.2 (100%); for  $[\text{C}_{34}\text{H}_{34}\text{ClN}_6\text{O}_7^{185}\text{Re}]^+$  859.1; found 859.2 (39%).

## 4. $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -CB257 (**1**) 합성

보고된 방법에 따라 합성된  $[\text{Re}(\text{H}_2\text{O})_3(\text{CO})_3]^+$  (0.25 mL, ~370 MBq)(21,22) 용액에 메탄올(0.25 mL)에 녹여진 화합물 **3** (1 mg, 1.6  $\mu\text{mol}$ )을 첨가하였다. 혼합물을 80 °C에서 20분 간 반응하고 상온으로 식힌 후 15 mL의 증류수로 희석하였다. 희석된 용액을 C18 light Sep-Pak 카트리지에 흡착하고 5 mL 증류수로 씻어준 후, 90% MeOH/ $\text{H}_2\text{O}$  (2 mL)로 용출하였다. 용출한 용액은 prepaive-HPLC 시스템을 이용하여 목적화합물을 분리, 정제하였다( $T_R = 15.8$  분). 얻어진 용액은 다시 증류수(15 mL)로 희석한 후 C18 Light Sep-Pak 카트리지에 흡착, 5 mL 물로 씻어준 후, 90% EtOH/ $\text{H}_2\text{O}$  (2 mL)로 용출하였으며, 생리식염수를 이용 10% EtOH/saline 이하로 맞춰 사용하였다. 최종 분리된  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -CB257은 기준물질 Re-CB257 (**2**)과 HPLC에 동시 주입한 후 약 1분 차이를 두고 용출됨을 확인하였다. 총 합성 시간은 90분 소요되었으며, 방사화학적 수율은  $54.1 \pm 2.4\%$  ( $n = 3$ ), 방사화학적 순도는 >99%이었다.

## 5. TSPO 결합친화도 평가

사람의 혈청에서 분리한 백혈구는 50 mL의 헤파린첨가 혈액(heparinized blood)으로부터 림프구 분리 배양기를 사용하여 피콜-하이팩 농도구배(Ficoll-Hypaque gradient)를 이용하여 원심 분리한 백혈구는 동결 보존하였다. 분석 전날에 세포를 해동하고, 동량의 버퍼(50 mM의 HEPES, pH 7.4)로 희석한 후 균질화하며, 4 °C에서 15분간 20,000 g로 원심 분리하였다. 얻어진 백혈구를 2.4 mL의 완충액에 재현탁하여 -70 °C에서 보존하며, 단백질 농도는 브래드포드(Bradford) 분석법을 사용하여 계산하였다. 체외결합도는

백혈구(100  $\mu$ L의 재현탁 막)를 100  $\mu$ L의 방사성리간드( $[^3\text{H}]$  PK11195, Specific activity: 83.4 Ci/mmol), in 1 x PBS)와 억제 시험으로 화합물 2 (0.124–10,000 nM) 및 0.07 nM의 방사성리간드( $[^3\text{H}]$ PK11195) 50  $\mu$ L를 함유하는 반응 혼합물 1 mL를 실온에서 30분간 반응하였다. Cell harvester를 사용하여 2회 세척한 후 결합방사능 양을 베타카운터로 측정된 후 결합친화도( $K_i$ ) 값을 계산하기 위해 PRISM 소프트웨어를 사용하였으며, 비선형 분석을 실시하여 획득하였다.

## Results and discussion

TSPO에 결합하는 중성의  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -표지 CB 화합물 유도체를 합성하기 위해, 기존의 CB256의  $^{99\text{m}}\text{Tc}$  표지 포켓에서 한 개의 2-picolyl 기를 *N*-methyl acid기로 바꿈으로써 트리카르보닐 Tc-99m이 도입 시 생기는 전하를 없앴다. 전구체 CB257 (3)을 합성하기 위해 CB245에 *N*-(2-carboxymethyl)-*N*-(2-pyridinylmethyl)-1,1-dimethylethylester-glycine, potassium carbonate를 첨가하고 *N*-alkylation을 통하여 합성하였다. Technetium과 Rhenium 원소는 같은 족 화합물로 화학적 성질이 유사하여  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -CB257 (1)과 비교하기 위한 기준 물질로서 Re-CB257 (2)을 합성하였다. 전구체인 CB257을 녹인 메탄올 용액에  $[\text{Net}_4]_2[\text{ReBr}_3(\text{CO})_3]$ 를 첨가한 후 80도에서 가열하면서 반응 진행 정도를 HPLC로 모니터링을 이용하여 확인하였다. 기준물질 2의 합성반응은 HPLC에서 CB257 ( $T_R = 4.5$  min)의 피크가 사라질 때까지 진행하였으며, 머무름시간 16.2분에서 69%의 수율로 분리하였다. 최종적으로 얻어진 2는 NMR과 LC-MS로 구조를 확인하였다.  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 이 표지 된 1 화합물은 알려진 방법에 따

라  $^{99\text{m}}\text{TcO}_4^-$ 와 CO 가스를 이용,  $fac-[^{99\text{m}}\text{Tc}(\text{H}_2\text{O})_3(\text{CO})_3]^+$ 를 합성한 후 CB257이 메탄올에 녹아있는 용액에 첨가하였다. 혼합액을 80도에서 20분간 가열한 후 고성능액체크로마토그래피를 이용하여 분리, 정제하였다. 총 합성시간은 약 90 분 소요되었으며, 방사화학적 수율은  $54.1 \pm 2.4\%$  ( $n = 3$ , decay-corrected), 방사화학적 순도는 99% 이상이었다. 기준 물질로 합성한 2과 1은 분석용 고성능액체크로마토그래피에 동시 주입한 후 분석함으로써 최종 목적 화합물을 확인하였으며, 2과 1의 머무름 시간은 각각 8.27분과 7.59분에 용출되었다(Figure 2, HPLC conditions: column (Xterra RP18, 5  $\mu\text{m}$ , 4.6 x 250 mm), 254 nm, 60%  $\text{CH}_3\text{CN}/0.1\%$  TFA, flow rate: 1 mL/min).

TSPO에 대한 결합친화도는 사람 혈청에서 TSPO가 높게 발견되어 있는 것으로 알려진 백혈구를 추출하여 측정하였다. 경쟁물질로  $[^3\text{H}]$ PK11195를 사용하였으며, Re-CB257 (2)의 결합친화도는 Table 1에 요약하였다. 전하를 띄지 않은 Re-CB257의 TSPO에 대한 결합친화도는  $0.57 \pm 0.06$  nM로 PK11195 ( $1.38 \pm 0.13$  nM) 보다 약 2배 높은 결합친화도를 보여주었으며, +1의 양전하를 가진 Re-CB256에

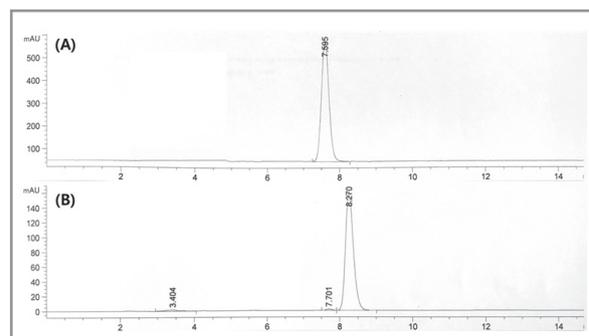
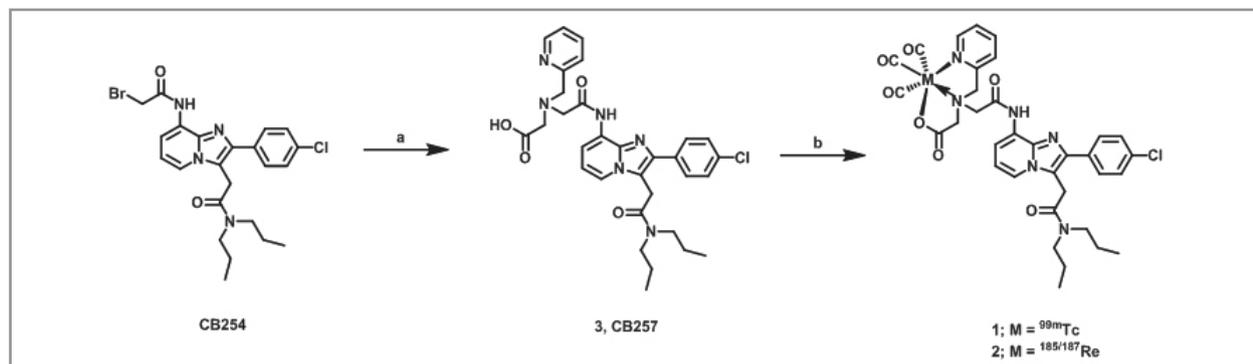


Figure 2. Coinjection HPLC profile of  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -CB257 (1) and Re-CB257 (2). (A) gamma-ray spectrum. (B) UV spectrum (254 nm).



Scheme 1. Synthesis of CB257 (3),  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ - (1) and Re-CB257 (2). Reagents and conditions: a) (i) *N*-(2-carboxymethyl)-*N*-(2-pyridinylmethyl)-1,1-dimethylethylester-glycine,  $\text{K}_2\text{CO}_3$ , THF, r.t., 16 h, (ii) TFA: $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , r.t., 4 h; b)  $(\text{Net}_4)_2[\text{ReBr}_3(\text{CO})_3]$ , MeOH, 80  $^\circ\text{C}$ , 1 h for 2 and  $[\text{Net}_4]_2[\text{ReBr}_3(\text{CO})_3]$ , MeOH:saline (v/v = 1/1), 80  $^\circ\text{C}$ , 20 min for 1.

**Table 1.** Affinity ( $K_i/nM$ ) of 2 for TSPO by using the separated leukocytes in human blood<sup>a</sup>.

Compound	$K_i$ (nM) for TSPO
PK11195	1.38 ± 0.13
Re-CB256	159.3 ± 11.3 <sup>a</sup>
Re-CB257 (2)	0.57 ± 0.06

<sup>a</sup>Reference 19. Corresponding values for PK11195 and Re-CB256 are also reported for comparison.

비해 약 280배의 높은 결합친화도를 보여주었다. 이는 di-(2-picolyl)amine을 가진 Re-CB256이 PK11195 보다 낮은 결합친화도를 보여준 것과 전혀 다른 결과이다(19). Re-CB256의 경우, di-(2-picolyl)amine로 인해 생기는 입체 장애(steric hindrance) 때문에 결합친화도가 떨어지는 것으로 추측할 수 있다. 본 연구의 결과는 선행 연구의 결과를 뒷받침하는 것으로 di-(2-picolyl)amine 구조를 입체 장애가 적은 구조로 바꾼 결과, 결합친화도가 증진된 것으로 예측되며, 더불어 Re-CB256은 양전하를 가지고 있는 구조이고 Re-CB257은 전하가 없는 구조로서 전하에 따라 TSPO의 결합친화도에 영향을 줄 수 있다는 것을 보여준다. 결과적으로 기존의 다른 바이오마커 관련 연구와 같이 전하에 따라 결합친화도 및 체내 분포에 영향을 준다는 결과와 일치하는 결과라 할 수 있다. 이는 추후 TSPO 방사성추적자 개발 또는 최적화 과정시 금속 방사성동위원소 기반 방사성추적자를 디자인할 경우 고려되어야 하는 중요한 요소 중에 한가지 사항이 될 수 있을 것으로 보인다.

## Conclusion

본 연구에서는 전하를 달리한 Tc-99m 표지 TSPO 방사성 추적자(<sup>99m</sup>Tc-CB257, 1)를 높은 방사화학적 수율 및 순도로 합성하였다. 트리카보닐 레늄이 표지된 CB257은 기존 양전하를 가진 Re-CB256 보다 약 280배 높은 TSPO 결합친화도를 보여주었으며 PK11195와 유사한 결합친화도를 확인할 수 있었다. 이러한 *in vitro* 결과는 기존 CB256의 구조를 최적화한 CB257이 TSPO 표적 방사성추적자로서 보다 우수할 것으로 예측되며, TSPO 과다 발현 질환모델에서 SPECT 영상 결과가 기대된다.

## Acknowledgments

This study was funded by the Ministry of Health & Welfare and the Korean Research Foundation grants (HI14C-1072, HI16C0947 and NRF-2018M2A2B3A02071842).

## References

- Papadopoulos V, Baraldi M, Guilarte TR, Knudsen TB, Lacapère JJ, Lindemann P, Norenberg MD, Nutt D, Weizman A, Zhang MR. Translocator protein (18 kDa): New nomenclature for the peripheral-type benzodiazepine receptor based on its structure and molecular function. *Trends Pharmacol Sci* 2006;27:402–409.
- Rupprecht R, Papadopoulos V, Rammes G, Baghai TC, Fan J, Akula N, Groyer G, Adams D, Schumacher M. Translocator protein (18 kDa) (TSPO) as a therapeutic target for neurological and psychiatric disorders. *Nat Rev Drug Discov* 2010;9:971–988.
- Austin CJD, Kahlert J, Kassiou M, Rendina LM. The translocator protein (TSPO): A novel target for cancer chemotherapy. *Int J Biochem Cell Biol* 2013;45:1212–1216.
- Zheng J, Boisgard R, Siquier-Pernet K, Decaudin D, Dollé F, Tavitian B. Differential expression of the 18 kDa translocator protein (TSPO) by neoplastic and inflammatory cells in mouse tumors of breast cancer. *Mol Pharm* 2011;8:823–832.
- Camsonne R, Crouzel C, Comar D, Mazière M, Prenant C, Sastre J, Moulin MA, Syrota A. Synthesis of N-[<sup>11</sup>C]methyl, N-(methyl-1-propyl)(chloro-2-phenyl)-1-isoquinolinecarboxamide-3 (PK11195): a new ligand for peripheral benzodiazepine receptors. *J Labelled Comp Radiopharm* 1984;21:985–991.
- 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;21:573–581.

7. Petit-Taboué MC, Baron JC, Barré L, Travère JM, Speckel D, Camsonne R, MacKenzie ET. Brain kinetics and specific binding of [<sup>11</sup>C]PK 11195 to omega 3 sites in baboons: positron emission tomography study. *Eur J Pharmacol* 1991;200:347-351.
8. Doorduyn J, Klein HC, de Jong JR, Dierckx RA, de Vries EF. Evaluation of [<sup>11</sup>C]DAA1106 for imaging and quantification of neuroinflammation in a rat model of herpes encephalitis. *Nucl Med Biol* 2010;37:9–15.
9. Zhang MR, Kida T, Noguchi J, Furutsuka K, Maeda J, Suhara T, Suzuki K. [<sup>11</sup>C]DAA1106: radiosynthesis and in vivo binding to peripheral benzodiazepine receptors in mouse brain. *Nucl Med Biol* 2003;30:513–519.
10. Imaizumi M, Briard E, Zoghbi SS, Gourley JP, Hong J, Fujimura Y, Pike VW, Innis RB, Fujita M. Brain and whole-body imaging in nonhuman primates of [<sup>11</sup>C]PBR28, a promising PET radioligand for peripheral benzodiazepine receptors. *NeuroImage* 2008;39:1289–1298.
11. Moon BS, Kim BS, Park C, Jung JH, Lee YW, Lee H-Y, Chi DY, Lee BC, Kim SE. [<sup>18</sup>F]Fluoromethyl-PBR28 as a potential radiotracer for TSPO: Preclinical comparison with [<sup>11</sup>C]PBR28 in a rat model of neuroinflammation. *Bioconjugate Chem* 2014;25:442-450.
12. Perrone M, Moon BS, Park HS, Laquintana V, Jung JH, Cutrignelli A, Lopedota A, Franco M, Kim SE, Lee BC, Denora N. A novel PET imaging probe for the detection and monitoring of translocator protein 18 kDa expression in pathological disorders. *Sci Rep* 2016;6:20422.
13. Le Fur G, Perrier ML, Vaucher N, Imbault F, Flamier A, Benavides J, Uzan A, Renault C, Dubroeuq MC, Guérémy C. Peripheral benzodiazepine binding sites: Effect of PK11195, 1-(2-chlorophenyl)-N-(1-methylpropyl)-3-isoquinolinecarboxamide I. *In vitro studies. Life Sci* 1983;32:1839–1847.
14. Imaizumi M, Briard E, Zoghbi SS, Gourley JP, Hong J, Fujimura Y, Pike VW, Innis RB, Fujita M. Brain and whole-body imaging in nonhuman primates of [<sup>11</sup>C]PBR28, a promising PET radioligand for peripheral benzodiazepine receptors. *NeuroImage* 2008;39:1289–1298.
15. Schibli R, Netter M, Scapozza L, Birringer M, Schelling P, Dumas C, Schoch J, Schubiger PA. First organometallic inhibitors for human thymidine kinase: Synthesis and in vitro evaluation of rhenium(I)- and technetium(I)-tricarbonyl complexes of thymidine. *J Organomet Chem* 2003;668:67–74.
16. Lee BC, Kim DH, Lee JH, Sung HJ, Choe YS, Chi DY, Lee KH, Choi Y, Kim BT. <sup>99m</sup>Tc(CO)<sub>3</sub>-15-[N-(Acetyloxy)-2-picolylamino]pentadecanoic acid: A potential radiotracer for evaluation of fatty acid metabolism. *Bioconjug Chem* 2007;18:1332–1337.
17. Denora N, Margiotta N, Laquintana V, Lopedota A, Cutrignelli A, Losacco M, Franco M, Natile G. Synthesis, characterization, and in vitro evaluation of a new TSPO selective bifunctional chelate ligand. *ACS Med Chem Lett* 2014;5:685–689.
18. Margiotta N, Denora N, Piccinonna S, Laquintana V, Lasorsa FM, Franco M, Natile G. Synthesis, characterization, and in vitro evaluation of new coordination complexes of platinum(II) and rhenium(I) with a ligand targeting the translocator protein (TSPO). *Dalton Trans* 2014;43:16252–16264.
19. Choi JY, Iacobazzi RM, Perrone M, Margiotta N, Cutrignelli A, Jung JH, Park DD, Moon BS, Denora N, Kim SE, Lee BC. Synthesis and evaluation of tricarbonyl <sup>99m</sup>Tc-Labeled 2-(4-chloro)phenyl-imidazo[1,2-a]pyridine analogs as novel SPECT imaging radiotracer for TSPO-rich cancer. *Int J Mol Sci* 2016;7:1085
20. Schottelius M, Rau F, Reubi JC, Schwaiger M, Wester HJ. Modulation of pharmacokinetics of radioiodinated sugar-conjugated somatostatin analogues by variation of peptide net charge and carbohydrate chemistry. *Bioconjugate Chem* 2005;16:429–437.
21. Alberto R, Schibli R, Egli A, Schubiger AP. A novel

- organometallic aqua complex of technetium for the labeling of biomolecules: Synthesis of  $[\text{}^{99\text{m}}\text{Tc}(\text{OH}_2)_3(\text{CO})_3]^+$  from  $[\text{}^{99\text{m}}\text{TcO}^4]$ - in aqueous solution and its reaction with a bifunctional ligand. *J Am Chem Soc* 1998;120:7987–7988.
22. Schibli R, Katti KV, Volkert WA, Barnes CL. Novel coordination behavior of  $\text{fac-}[\text{ReBr}_3(\text{CO})_3]^2-$ -with 1,3,5-triaza-7-phosphaadamantane (PTA). Systematic investigation on stepwise replacement of the halides by PTA ligand. Phase transfer studies and X-ray crystal structure of  $[\text{NEt}_4][\text{ReBr}_2(\text{PTA})(\text{CO})_3]$ ,  $[\text{ReBr}(\text{PTA})_2(\text{CO})_3]$ , and  $[\text{Re}(\text{PTA})_3(\text{CO})_3]\text{PF}_6$ . *Inorg. Chem.* 1998;37:5306–5312.