

<https://doi.org/10.22643/JRMP.2021.7.2.99>

Comparison of Positron Emission Tomography(PET) imaging-based initial *in vivo* pharmacokinetics by administration routes of [¹⁸F]FDG

Yiseul Choi, Jang Woo Park, Eun Sang Lee, Ok-Sun Kim and Hye Kyung Chung*

Korea Radioisotope Center for Pharmaceuticals, Korea Institute of Radiological and Medical Sciences (KIRAMS), Seoul 01812, Republic of Korea.

ABSTRACT

In this study, the initial *in vivo* pharmacokinetic changes according to the routes of drug administration were investigated using bioimaging techniques. The purpose of this study was to quantify the degree of distribution of each major organ in normal mice over time by acquiring Positron Emission Tomography/Computed Tomography images while administering routes F-18 fluorodeoxyglucose such as intravenous, intraperitoneal and per oral, a representative diagnostic radiopharmaceutical. Dynamic Positron Emission Tomography images were acquired for 90 minutes after drug administration. Radioactivity uptake was calculated for major organs using the PMOD program. In the case of intravenous administration, it was confirmed that it spread quickly and evenly to major organs. Compared to intravenous administration, intraperitoneal administration was about three times more absorbed and distributed in the liver and intestine, and it was showed that the amount excreted through the bladder was more than twice. In the case of oral administration, most stayed in the stomach, and it was showed that it spread slowly throughout the body. In comparison with intravenous administration, it was presented that the distribution of kidneys was more than 9 times and the distribution of bladder was 66% lower. Since there is a difference in the initial *in vivo* distribution and excretion of each administration method, we confirmed that the determination of the administration route is important for *in vivo* imaging evaluation of new drug candidates.

Key Word: ¹⁸F-FDG, Administration route, Animal PET/CT imaging, Pharmacokinetics

Introduction

약물이 효과를 나타내기 위해서는 체내의 작용부위에 최소량이 도달해야 하므로 원하는 작용부위와 약물의 체내에서 분포, 축적되는 양식이 그 약물의 투여경로를 결정한다(1). 약물이 위장관에서 흡수가 잘 되고 신속한 약효발현이 필요하지 않는 경우라면 보통 경구투여를

선택하며, 위장관에서 불활성화 되거나 경구투여 시 흡수가 잘 되지 않는 약물은 보통 주사로 투여한다. 주사투여경로에는 피하, 근육, 정맥주사가 있다. 주사투여는 적은 용량으로 신속한 효과를 볼 수 있고 재현성을 기대할 수 있다는 장점이 있으나, 자극의 위험이 있고 멸균제품을 사용해야 하며 숙련된 전문가에 의해 투여되어야 하는 단점이 있다(2,3).

신약 후보 물질의 전체 개발에 있어서 실험동물을

Received: December 06, 2021 / **Revised:** December 27, 2021 / **Accepted:** December 28, 2021

Corresponding Author : Hye Kyung Chung, PhD, Korea Radioisotope Center for Pharmaceuticals, Korea Institute of Radiological and Medical Sciences (KIRAMS), 75 Nowon-ro, Nowon-Gu, Seoul 01812, Republic of Korea.

Tel: +82-2-970-8905. Fax: +82-2-970-1989. E-mail: hkchung@kirams.re.kr

Copyright©2021 The Korean Society of Radiopharmaceuticals and Molecular Probes

이용한 안전성, 유효성을 확인하는 비임상 평가는 임상에서 나타날 수 있는 효능 및 부작용을 예측하는데 필수적이고 매우 중요하다(4). 비임상 평가에서 신약 후보물질의 투여는 약물의 흡수, 분포, 대사, 배설의 중요한 결정요인으로 작용하기 때문에 임상 예정 투여와 동일한 투여경로를 권하나, 미지의 약물을 어떤 경로로 투여하는 것이 좋을지 결정하는 것이 어려운 경우가 종종 있다. 실험동물을 이용하는 비임상 평가에서 주로 사용되는 투여경로는 정맥(intravenous, IV), 복강(intraperitoneal, IP), 경구(per oral, PO) 투여가 있으며 그 중 정맥 투여가 표준 투여 경로로 그에 따른 약동학적 특성이 잘 알려져 있다(5). 하지만, 쥐의 꼬리 정맥은 약하고 작기 때문에 경험 많은 연구자들조차 정맥투여에 어려움을 겪고, 짧은 간격의 반복적인 정맥 투여가 필요하다면 모든 실험을 원활하게 성공하는 것이 쉽지 않다.

생체 영상기법은 임상시험 초기 단계에서 후보 물질 작용의 메커니즘을 이해하고 표적 장기에서 적정 투여 용량과 표적에 대한 약동학적 평가를 개체 별로 수행할 수 있어 개체간의 차이를 확인할 수 있고, 정량화 할 수 있으므로 미국, EU, 일본 등의 임상선진국을 중심으로 새로운 임상평가 기술로 주목받고 있다(6). 비임상실험에서도 신뢰도와 효율성을 높이기 위한 노력의 일환으로 생체 영상기법이 부각되고 있다. 생체 영상기법은 영상장비를 활용해 실험동물의 해부학적 구조 및 분자영상을 제공하는 기술로서 동일 개체에서 반복적인 영상 획득이 가능하며, 획득한 영상을 분석하여 질병의 주요원인 추정과 진단, 신약 후보 물질의 체내 분포 및 활성 메커니즘을 연구하는데 활용되고 있다(7,8).

생체 영상기법은 X-ray, CT, MRI, PET/CT 및 SPECT/CT 등의 장비를 활용하며, 그 중 PET/CT는 양전자방출 동위원소를 표지하여 한 개체에서 반복 측정 촬영할 수 있고 약물에 의한 생체 내 변화를 개체 별로 정량화 할 수 있으며, PET과 CT의 융합영상을 통하여 기능 및 해부학적 정보 제공이 한 영상에서 가능하며, 정확한 내부장기의 위치를 확인할 수 있어 이를 바탕으로 질병의 진단, 치료 반응 평가 및 약동력학 특징 파악에 활용할 수 있다는 장점이 있다(9,10).

따라서 본 연구에서는 ^{18}F -FDG를 정상 마우스에 대표적인 투여 경로인 꼬리정맥, 복강, 경구로 투여하면서 PET/CT 영상을 획득하여 시간에 따른 주요 장기에서의 초기 분포를 확인하고 정량화하였다. 이 결과를 토대로 각각의 투여경로에 따른 약물 후보 물질의 초기 생체 내 분포를 영상으로 비교함으로써 약동학 기초자료를 제공하고자 한다.

Materials

실험동물은 specific pathogen free (SPF) 조건의 5주령의 수컷 Balb/c 마우스를 DBL(대한바이오링크)에서 공급받아 일주일의 순화기간을 거친 후 실험을 진행하였고, 한국원자력 의학원 실험동물윤리위원회의 승인(kirams2020-0057) 및 611호 표준작업지침서에 따라 수행되었다. 동물용 흡입 마취제는 아이프란액(isoflurane 하나제약주식회사)을 구입하여 사용하였고, 마취 유도 시 2~3%, 마취 유지 시 1.5~2%의 농도로 마취를 진행하였다. 진단용 방사성의약품(^{18}F -FDG)는 한국원자력 의학원 방사선의학연구소 방사성의약품생산팀에서 공급 받아 사용 하였다. ^{18}F -FDG는 생리식염 주사액을 이용하여 농도에 맞게 희석하여 사용하였고, 30G 주사기(꼬리정맥 투여, 복강투여 시)와 일회용 경구 여용 존데(경구투여 시)를 이용하여 실험동물에 약물을 투여하였다. 영상 촬영은 Mediso (Budapest, Hungary)의 nanoScan PET/CT 를 이용하였다. 영상 분석은 PMOD 소프트웨어(version 3.8, PMOD Group)를 이용하여 수행 하였다.

Protocol

1. PET/CT 영상촬영

절식하지 않은 상태의 정상 마우스(Balb/c, male, $21.5 \pm 0.7\text{g}$)에 ^{18}F -FDG ($180 \pm 80 \mu\text{Ci} / 6.66 \pm 2.96 \text{MBq} / 200 \mu\text{L}$)를 꼬리정맥, 복강 또는 경구로 투여 후, 90분 동안 dynamic PET/CT 영상을 획득하였다. 약물 투여 전 흡입마취제를 이용하여 마취한 후 안정적인 약물의 투여를 진행하였다.

코리정맥과 복강투여의 경우, PET/CT 영상 획득과 동시에 인퓨전펌프를 이용하여 1분간 200 μ L속도로 약물을 투여하였다. 경구투여의 경우, 일회용 경구투여용 존데를 이용하여 200 μ L의 약물을 직접 투여하고, 약물 투여 직후 PET/CT 영상을 획득하였다. CT영상은 50kVp, 0.16mAs 조건으로 약 5분간 획득하였고, PET영상은 400-600keV 에너지 준위에서 90분간 영상을 획득하였다. 획득된 PET/CT영상은 20초 x 30프레임, 5분 x 4프레임, 10분 x 3프레임, 15분 x 2프레임으로 재구성하였으며, CT영상으로 감쇠보정을 진행하였다.

2. 영상분석

PMOD 프로그램을 이용하여 주요장기(뇌, 폐, 간, 근육 등)에서의 radioactivity uptake per cc (% ID/cc)를 획득하고 질량단위로 환산(% ID/g) 후, 기준에 알려진 각장기별 무게를 이용하여 radioactivity uptake (% ID)로 나타내었다. 끝으로 시간에 따른 radioactivity uptake 그래프로부터 AUC_{0-last} 값을 계산하였다.

Representative Results

코리정맥으로 투여된 18 F-FDG는 간과 폐에서 각각 $T_{max} = 2.23$ 분에 최대 radioactivity uptake에 도달하였고 신장은 3분내에 최대 radioactivity uptake에 도달하고 낮아지는 것 같았으나 다시 증가하여 $T_{max} = 60.23$ 분에 최대치에 도달하였다. 방광은 간과 신장에서 초기 radioactivity uptake가 감소할 때부터 점차 증가하였으며, AUC_{0-last} 값은 방광(14.08%ID·h), 신장(3.97%ID·h), 간(3.77%ID·h), 장(3.36%ID·h), 심장(2.28%ID·h), 뇌(1.21%ID·h) 순으로 높은 것을 확인하였다(Figure 1).

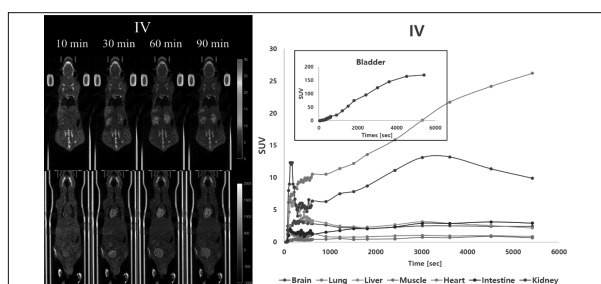


Figure 1. 18 F-FDG accumulations of the typical organs according to IV administration

복강으로 투여된 18 F-FDG는 간과 장에서 각각 $T_{max} = 4.23$ 분과 $T_{max} = 10.23$ 분에 최대 radioactivity uptake에 도달하였고, 방광은 간에서 초기 radioactivity uptake가 감소할 때부터 점차 증가하였다. AUC_{0-last} 값은 방광(26.91%ID·h), 장(14.59%ID·h), 간(13.68%ID·h), 신장(4.50%ID·h), 뇌(2.16%ID·h) 순서로 높은 것을 확인하였다(Figure 2).

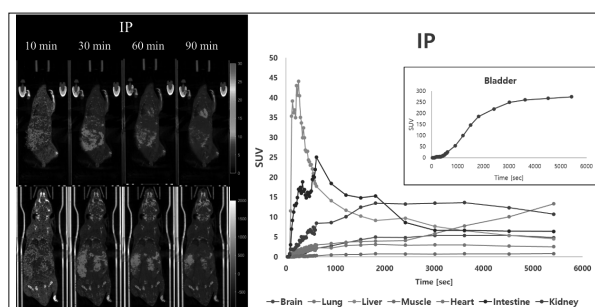


Figure 2. 18 F-FDG accumulations of the typical organs according to IP administration

경구로 투여된 18 F-FDG는 위장에서 $T_{max} = 0.56$ 분에 최대 radioactivity uptake에 도달하였고, 점차 감소되다 약 5분 후부터 일정하게 유지됨을 확인하였다. 간과 폐에서는 각각 $T_{max} = 8.89$ 분과 $T_{max} = 7.56$ 분에 최대 radioactivity uptake에 도달하였다. 방광에서의 radioactivity uptake는 천천히 증가하였으며, 장에서는 약40분 후부터 급격한 증가를 보였다. 그리고 위(17.95 %ID·h), 장(6.76%ID·h), 방광(4.67%ID·h), 간(1.36%ID·h) 순으로 AUC_{0-last} 값이 높음을 확인하였다(Figure 3).

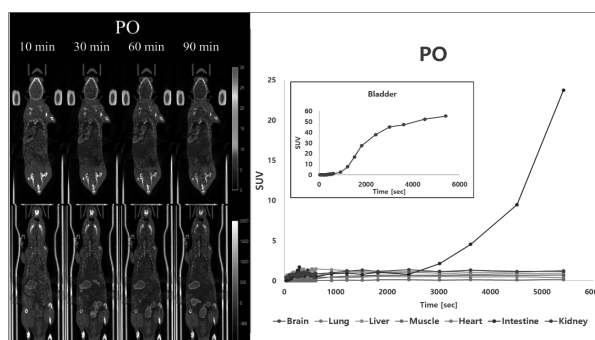


Figure 3. 18 F-FDG accumulations of the typical organs according to PO administration

각각의 투여경로에 따라 주요 장기에서 구한 AUC_{0-last} 값을 비교한 결과(Table 1), 정맥투여의 경우, 주요 장기

빠른 시간에 고르게 퍼진 것을 확인할 수 있었으며 정맥투여에 비하여 복강투여의 경우 간과 장에서의 흡수, 분포가 약 3배 정도 많으며, 방광으로의 배설량도 2배 이상 많은 것을 확인하였다. 경구투여의 경우, 대부분의 ¹⁸F-FDG가 위에서 머물러 있었으며, 천천히 전신으로 퍼져 나가는 것을 관찰하였고, 정맥투여에 비하여 신장으로의 분포는 9배 이상, 방광으로의 분포는 3배 이상 낮음을 확인하였다(Figure 4).

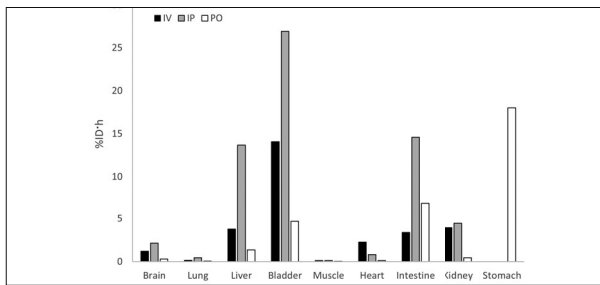


Figure 4. AUC_{0-last} for each organ according to the routes of administration.

Table 1. The area under the curve from dosing (time 0-last) for each organ

	Brain	Lung	Liver	Bladder	Muscle	Heart	Intestine	Kidney	Stomach
IV	1.22	0.17	3.78	14.09	0.12	2.28	3.36	3.97	-
IP	2.17	0.46	13.69	26.91	0.13	0.82	14.59	4.51	-
PO	0.30	0.08	1.36	4.68	0.02	0.14	6.76	0.46	17.95

Value given as %ID·h of organ.

Discussion

약물은 거의 대부분 경구로 투여되고 있는데, 이는 가장 손쉽고 안전하며 비용이 저렴하기 때문이다. 경구투여는 일반적으로 소화관을 통해 흡수·분포되므로, 필요 장기로의 흡수·분포에 제약이 있을 수 있다. 본 실험에서는 임상/비임상 평가에서 가장 기본이 되는 정맥투여, 약물의 투여경로에서 가장 많이 사용되는 경구투여, 비임상 평가에서 편의성을 제공하는 복강투여 방법으로 생체 내 초기 약동학의 변화를 비교하고자 하였다.

약물 후보물질의 생체 내 주요 장기분포의 확인은 약물의 약동학적 정보의 기초자료로서 중요하다. 약물은 각각의 투여경로에 따라 초기 생체 내 흡수·분포되는 장기가 달라지며, 시간에 따른 이동의 양상이 달라지게 된다. 약물의 약동학적 평가에 있어 약물의 투여 직후, 생체 내 약물의 분포 정도를 확인하는 일은 주요 장기 내로의

흡수되는 양을 확인하는데 있어 중요한 역할을 한다.

생체영상을 이용한 초기 약동학의 평가는 대부분 ¹⁸F-FDG를 이용하여 수행하였다(11). 임상에서 가장 많이 사용하는 진단용 방사성의약품이며, 약물투여 후 90분 동안 초기 생체 내 약동학을 확인하기에 가장 적합하다고 판단하여 본 실험에서도 사용하였다. ¹⁸F-FDG의 경우, 생체 내 장기 및 혈류의 glucose 농도와 음식물의 섭취 여부에 따라 흡수율이 달라지므로, 이를 이용한 약동학적인 평가에 있어 복강투여 방법을 제안하는 연구도 있으며(12), 이와 반대로 설치류를 이용한 비임상 평가에 있어 정맥투여를 해야 한다는 연구도 있다(13).

정상마우스에 꼬리정맥을 통해 투여된 ¹⁸F-FDG의 큰 특징은 다른 투여방식에 비해 AUC_{0-last}가 심장에서 상대적으로 높게, 간, 장, 신장에서 비슷한 분포를 보임으로써 심장혈관을 통하여 생체 내 주요 장기로 빠르게 분포되고, 간과 신장을 통하여 대사 후 배설되는 양상을 관찰할 수 있었다.

복강투여는 장과 간에서 높은 AUC_{0-last}를 보여 장주변의 모세혈관을 통해 간으로 이동 후 체순환을 통해 방광으로 배설되는 것을 관찰하였다. 정맥투여와 비교하여 상대적으로 간 및 장으로의 흡수량이 3배 이상이었으며, 이로 인한 방광으로의 배설량도 약 2배정도 높음을 확인할 수 있었다. 약물의 초기 배설량이 많으므로, 실제 장기에 흡수되는 양을 고려하면, 정맥투여에 비하여 더 많은 약물을 투여해야 할 수도 있다. 하지만, 간과 장으로의 흡수량은 정맥투여에 비하여 훨씬 높으므로 복강 내 장기들에 대하여 국소적으로 투여농도를 높일 수 있는 방법으로 활용할 수 있을 것이다.

경구투여는 위, 장, 방광, 간에서 높은 AUC_{0-last}를 보여 위·장·간 소화과정과 유사하였다. ¹⁸F-FDG가 위장에서 머무는 시간이 정맥 및 복강투여에 비하여 길고, 주요 장기로 흡수되는 양이 적었다. 90분 동안 방광으로 배설되는 양도 약 30%에 불과함을 확인하여 보다 긴 시간 동안 영상평가가 필요하다고 판단하였다. 본 실험에서는 음식물의 섭취여부는 별도의 식이요법을 수행하지 않았으며, 그로 인한 약물의 흡수량 및 속도가 영향을 받았을 수 있다(12,14).

정상적인 실험동물을 이용한 약물의 초기 생체 내 분포를 PET/CT 영상을 이용하여 평가하고자 할 때, 정맥투여를 통한 초기 전신노출 평가와 더불어 실제 투여 경로의 약동학적 비교를 수행하는 것이 바람직할 것으로 판단된다. 각각의 투여방식에 따라 초기 생체 내 분포 및 배설의 차이가 있으므로, 신약 후보물질의 생체 내 영상평가의 수행에 있어 투여경로의 결정이 중요함을 확인할 수 있었다.

그러나, 약물은 질환의 치료를 목적으로 하고 특정 장기에 약효를 나타낼 수 있는 충분한 양이 도달하거나 시간에 따라 대사과정을 통해 불활성화 되는지에 대한 약동학적 정보가 중요하기 때문에(15), 질환동물모델을 이용한 투여경로에 따른 생체영상 약동학 평가가 필요할 것으로 사료된다. 질환동물모델을 이용한 실험은 실제 임상에서 필요로 하는 투여경로 설정에 있어 중요한 기초 자료를 제공할 수 있을 것으로 기대한다.

Conclusion

본 연구에서는 ^{18}F -FDG를 이용하여 정상 마우스 내 투여경로에 따른 PET/CT영상을 획득하여 초기 생체 내 주요 장기에서의 약동학적인 변화를 확인하였다. 본 연구 결과를 기초로 하여 약물의 투여경로에 따른 초기 생체 내 약물의 분포 및 배설을 예측함으로써, 약물종류에 따른 핵의학을 이용한 생체 약동학 평가 및 질환동물이용 약물의 분포예측에 활용할 수 있을 것으로 기대한다.

Acknowledgments

이 연구는 과학기술정보통신부 한국원자력연구원 연구운영비지원사업의 지원을 받아 수행하였음 (No. 50539-2021).

Conflict-of-interest statement: No conflict of interest.

References

1. 홍순연. 체제설계 및 Scale Up. *J Pharm Investg* 1983;13:115-125.

- Zempsky W T. Alternative routes of drug administration--advantages and disadvantages (subject review). *Pediatrics* 1997;100:143-52.
- Verma P, Thakur A.S, Deshmukh K. Dr. Jham A.K, Verma S. Routes of drug administration. *Int J Pharm Studies Res* 2010; 1:54-59.
- Chee DH. New drug development and clinical trial. *J Korean Med Assoc* 2010;53: 753-760.
- Kim C, Kim IH, Kim S, Kim YS, Kang SH, Moon SH, Kim T-S, Kim S Comparison of the Intraperitoneal, Retroorbital and per Oral Routes for F-18 FDG Administration as Effective Alternatives to Intravenous Administration in Mouse Tumor Models Using Small Animal PET/CT. *Nucl Med Mol Imaging* 2011;45:169-176.
- Lee JG, Kim SH, Kim JK, Kim KW, Jo WR, Ryu SA, Park Z, Yi JY, Kim B, Oh WY. Study on the Technology Trends and Development
- Plan of Bioimaging for New Drug Development. *Yakhak Hoeji* 2018;62:262-273.
- Willmann JK, van Bruggen N, Dinkelborg LM, Gambhir SS. Molecular imaging in drug development. *Nat Rev Drug Discov* 2008;7:591-607.
- Nandu H, Wen PY, Huang RY. Imaging in neuro-oncology. *Ther Adv Neurol Disord* 2018;11:1-19.
- Yun MJ, Lee JD. Imaging of Cancer Metabolism using Positron Emission Tomography. *J Korean Med Assoc* 2009;52:113-120.
- Kalimuthu S, Jeong JH, Oh JM, Ahn BC. Drug Discovery by Molecular Imaging and Monitoring Therapy Response in Lymphoma. *Int J Mol Sci* 2017;18:1639.
- Barbara J. Fueger, Johannes Czernin, Isabel Hildebrandt, Chris Tran, Benjamin S. Halpern, David Stout, Michael E. Phelps, and Wolfgang A. Weber. Impact of Animal Handling on the Results of ^{18}F -FDG PET Studies in Mice. *J Nucl Med* 2006;47:999-1006.
- Wong K-P, Sha W, Zhang X, Huang SC. Effects of administration route, dietary condition, and blood glucose level on kinetics and uptake of ^{18}F -FDG in mice. *J Nucl Med* 2011;52: 800-807.
- Higashi T, Fisher SJ, Nakada K, Romain DJ, Wahl RL. Is enteral administration of fluorine-18-fluorodeoxyglucose (F-18 FDG) a palatable alternative to IV injection? Pre-clinical evaluation in normal rodents. *Nucl Med Biol* 2002;29:363-373.
- Brodeur J, Lalonde S, Leroux S. Influence of starvation on absorption, distribution, and action of barbital in mice and rats. *Can J Physiol Pharmacol* 1974;52:1192-200.
- Lee J, Ahn JH. Recent Trends in Drug Interaction Studies based on Drug Metabolism. *Yakhak Hoeji* 2020;6 Chromatogr A 2001; 914:105-110.