2001 추계학술발표회 논문집
한국원자력학회

심근 영상 SPCET를 위한 ^{99m}Tc - *N,N'* - disubstitued N_2S_2 유도체의 합성과 생체내 분포

Synthesis and Biodistribution of ^{99m}Tc - *N,N'* - disubstitued N_2S_2 derivatives for Myocardial SPECT agents

이윤상, 정재민, 김영주, 여정석, 이동수, 정준기, 이명철, 서영거
서울대학교
서울특별시 종로구 연건동 28번지

요 약

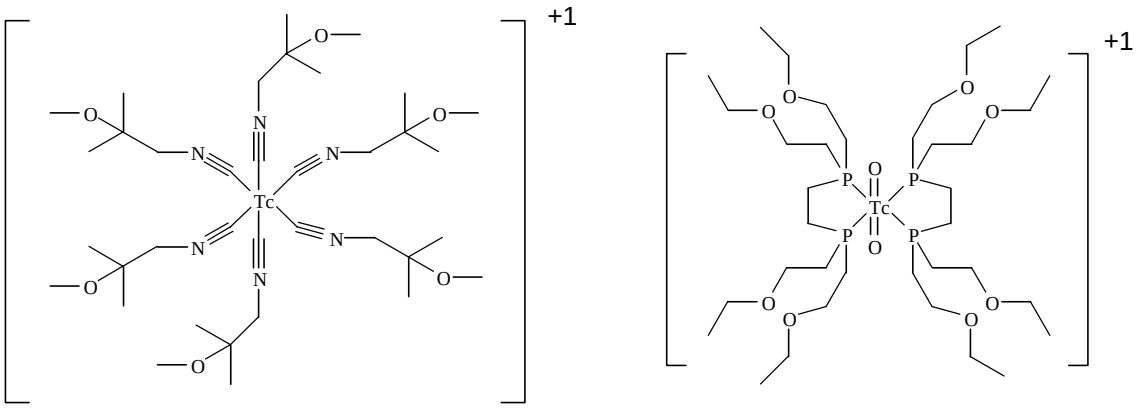
^{99m}Tc - sestamibi 나 ^{99m}Tc - tetrofosmin 와 같은 ^{99m}Tc 로 표지된 지용성 양이온은 심근 영상용 SPECT 약물로 널리 사용되고 있다. 이 논문에서는 +1 가를 갖는 새로운 지용성의 ^{99m}Tc - *N,N'* - disubstituted N_2S_2 유도체를 합성하여 생체 내 분포를 비교하였다. ^{99m}Tc - *N,N'* - disubstituted N_2S_2 유도체들은 전기 영동 실험을 통하여 양이온임을 확인하였고, 모든 화합물의 표지 효율은 93% 이상이었다. 생체 내 분포 실험에서 심근 내 섭취율은 ^{99m}Tc - *N,N'* - dimethylN_2S_2, ^{99m}Tc - *N,N'* - diethylN_2S_2, ^{99m}Tc - *N,N'* - bis(methoxyethyl) - N_2S_2, ^{99m}Tc - *N,N'* - bis(ethoxyethyl)N_2S_2가 각각 10 분에 5.4 ±1.0, 3.0 ±0.2, 4.3 ±0.5, 7.2 ±1.0% ID/g 이였고, 2 시간에 5.3 ±1.6, 2.1 ±0.4, 1.0 ±0.2, 1.7 ±0.0% ID/g 이였다.

Abstract

^{99m}Tc labeled lipophilic cations have been widely used for myocardial SPECT, like ^{99m}Tc-sestamibi and ^{99m}Tc-tetrofosmin. We synthesized novel +1 charged lipophilic ^{99m}Tc-labeled *N,N'*-disubstituted N_2S_2 derivatives and investigated their biodistribution. ^{99m}Tc-*N,N'*-disubstituted N_2S_2 derivatives were proved to have positive charge by electrophoresis and all the ^{99m}Tc-labeled compounds showed labeling efficiencies of higher than 93%. In biodistribution study, the myocardial uptake of ^{99m}Tc-*N,N'*-dimethylN_2S_2, ^{99m}Tc-*N,N'*-diethylN_2S_2, ^{99m}Tc-*N,N'*-bis(methoxyethyl)-N_2S_2 and ^{99m}Tc-*N,N'*-bis(ethoxyethyl)N_2S_2 were 5.4 ±1.0, 3.0 ±0.2, 4.3 ±0.5, and 7.2 ±1.0% ID/g at 10 min, respectively, and 5.3 ±1.6, 2.1 ±0.4, 1.0 ±0.2, and 1.7 ±0.0% ID/g at 2 hr, respectively.

1. 서론

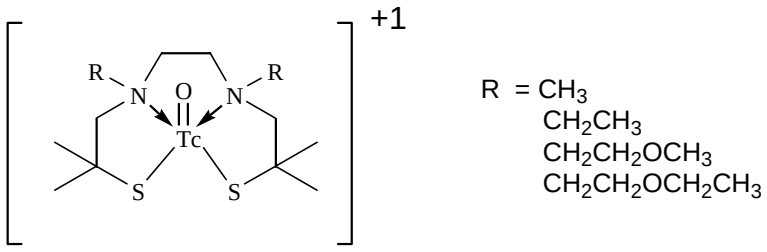
1990 년대 이전에는 ^{201}Tl 이 심근 관류를 평가하는 유일한 방사성의약품으로 사용되었으나[1] Deutsch 등의 보고[2]에 의해 ^{99m}Tc 이 표지된 지용성의 양이온 화합물이 심근 관류를 평가하는 약물로 사용 가능성이 있음을 제시한 이 후 다양한 ^{99m}Tc 착물들이 개발되고, 사용되고 있다.[3-6] 이 화합물들 중 가장 널리 쓰이는 화합물은 ^{99m}Tc-sestamibi 와 ^{99m}Tc-tetrofosmin 으로 아래 그림과 같이 알킬기를 여러 개 가진 지용성의 양이온이다.



^{99m}Tc-sestamibi ^{99m}Tc-tetrofosmin

그림 1. ^{99m}Tc - sestamibi 와 ^{99m}Tc - tetrofosmin 의 화학적 구조

최근 ^{99m}Tc 로 표지된 *N,N'* - disubstituted N_2S_2 유도체가 +1 가의 전하를 갖는다는 보고[7]를 발표한 바 있는 우리는 이런 지식에 기초하여 지용성이면서 +1 가의 전하를 갖는 ^{99m}Tc - *N,N'* - disubstituted N_2S_2 유도체를 합성하고자 하였고, 이 화합물들의 생체 내 분포를 보고자 하였다.



^{99m}Tc-N,N'-disubstituted N_2S_2 derivatives

그림 2. ^{99m}Tc - *N,N'* - disubstituted N_2S_2 유도체의 화학적 구조

이와 함께 아미노기에 치환된 알킬기의 종류에 따라 생체 내 분포가 어떻게 달라지는지도 함께 보았다.

2. 실험 방법

2.1. 기기 및 시약

Nuclear magnetic resonance spectra (^{1}H - NMR spectra)는 내부 표준 물질로tetramethylsilane을 이용한 Varian 300MHz Gemini 300 FT - NMR spectrometer를 사용하였고, Mass spectrum은 HP5980 GC/MS 5970MSD를 사용하였다. Melting point는 open capillary을 이용한 Thomas - Hoover capillary melting point apparatus로 보정 없이 측정하였다. Analytical thin layer chromatography는 Kieselgel 60F254 (0.25 mm, Merck)로 도포되어 있는glass plate를 이용하였고, silica gel column chromatography는 Kieselgel 60 (230~400 mesh, Merck)을 이용하였다. 발색시약으로는 short - wave ultraviolet light (254 nm)를 쪼여주거나 ethanolic p - anisaldehyde를 사용하였다. 유기 용매들은 1급 시약을 정제 없이 사용하였고, 나머지 반응 시약들은 Sigma - Aldrich, Kanto, Janssen등에서 구입한 시약으로 사용하였다.

2.2. *N,N'* - disubstituted N_2S_2 유도체의 합성

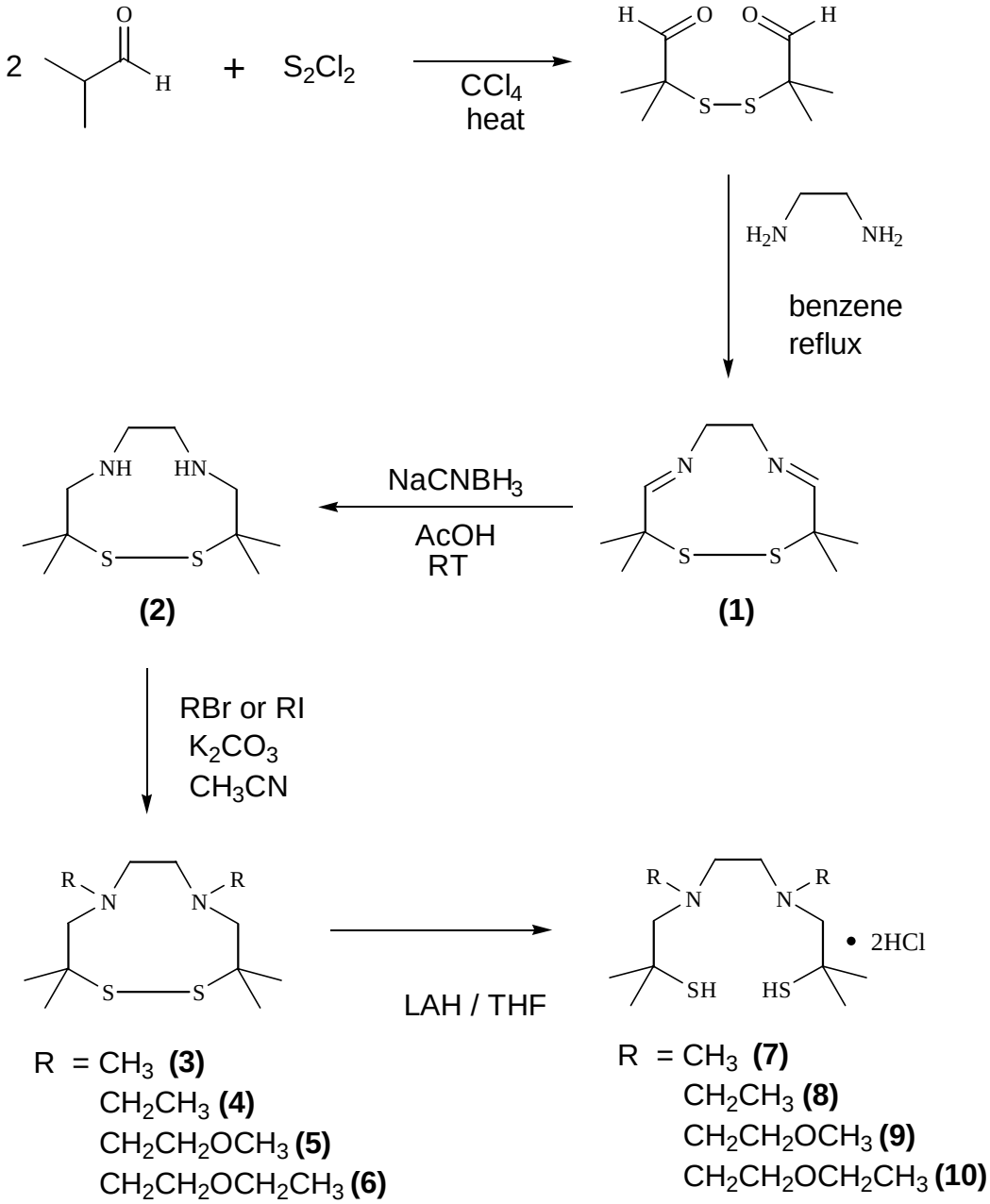


그림 3. *N,N'* - disubstituted N_2S_2 유도체의 합성

2.2.1. 3,3,10,10 - Tetramethyl - 1,2 - dithia - 5,8 - diazacyclo - deca - 4,8 - diene**(1)**의 합성.

Isobutylaldehyde(10ml, 100mmol)을 tetrachloromethane(30ml)에 묽히고 50℃로 가열한다. 이 반응 혼합물에 sulfur monochloride(3.58ml,43.8mmol)를 가한다. 반응 혼합물을 50℃ 유지하며

4 시간 교반하고, 상온으로 식힌다. 감압 하에 용매를 제거하고 ethyl acetate(30ml)를 가한 후 1M sodium hydroxide 용액, 포화 소금물 용액으로 씻어준다. 유기층을 무수 sodium sulfate로 건조하고 감압 하에 용매를 제거한다. 얻어진 생성물을 무수benzene(20ml)에 묽히고 이 혼합물에 1,2 - diaminoethane(4.08ml, 61mmol)을 적가한다.반응 혼합물을 2시간 동안 환류 교반하고 감압 하에 용매를 제거한다. 얻어진 생성물에 chloroform(30ml)을 가한 후 여과하고 여액을 감압 증류한 후 acetonitrile(30ml)에서 재결정한다. 재결정 고체는 여과를 통해 모아 옅은 노란색의 고체 3,3,10,10 - tetramethyl - 1,2 - dithia - 5,8 - diazacyclo - deca - 4,8 - diene(8.56g, 37.2mmol, 85%)를 얻었다. mp 167 ~ 169 ; TLC (silica gel/ ethyl acetate : n - hexane = 1:2) : Rf 0.2 ; 1H NMR (CDCl3) : δ 1.36(6H, s), 1.44(6H, s), 3.22~3.24(2H, d, J=6.0Hz), 4.14~4.16(2H, d, J=6.0Hz), 6.85(2H,s)

2.2.2. 3,3,10,10 - Tetramethyl - 1,2 - dithia - 5,8 - diazacyclodecane(2)의 합성.

3,3,10,10 - Tetramethyl - 1,2 - dithia - 5,8 - diazacyclo - deca - 4,8 - diene(2.0g, 8.7mmol)을 무수 methanol(30ml)에 녹이고, sodium cyanoborohydride(3.45g, 52.1mmol)를 천천히 가한다. 이 용액에 무수 초산을 가하여 pH가 5.0를 유지하게 한다. 상온에서 2시간 반응하고 60℃로 온도를 올려 6시간 동안 교반한다. 반응이 종결되기 전까지 용액의 pH는 5.0를 유지하도록 무수 초산을 가한다. 반응 용액에 포화 ammonium chloride 용액(10ml)을 가하고 감압 하에 용매를 제거한다. 이 생성물에 1M sodium hydroxide 용액(5ml)을 가하고 chloroform(20ml)으로 추출한다. 유기 층을 포화 소금물 용액으로 씻어주고 무수 sodium sulfate로 건조한다. 이 생성물을 감압 하에 용매를 제거하여 옅은 갈색의 액체인 3,3,10,10 - tetramethyl - 1,2 - dithia - 5,8 - diazacyclodecane(2.02g, 8.69mmol, 99%)을 얻었다. TLC (silica gel/ diethyl ether : n - hexane : n - propyl amine = 7:3:1) : Rf 0.3. 1H NMR (CDCl3) : δ 1.24 (s, 6H), 1.36 (s, 6H), 2.34 (s, 2H), 2.55~2.59 (d , 2H, *J* = 12.0 Hz), 2.80 (s, 4H), 2.98~3.02 (d, 2H, *J* = 12.0 Hz). MS (EI *m/z*) 234.2 (M+, 12%), 130.2 (100%).

2.2.3. 3,3,5,8,10,10 - Hexamethyl - 1,2,5,8 - dithiadiazecane(3)의 합성.

3,3,10,10 - Tetramethyl - 1,2 - dithia - 5,8 - diazacyclodecane (1.17 g, 5.0 mmol)을 무수acetonitrile (20ml)에 묽히고, potassium carbonate (6.91 g, 50 mmol)를 가하고 상온에서 1시간 교반한다. 이 용액에 methyl iodide (1.09 ml, 17.5 mmol)를 가하고 상온에서 1시간 교반한다. 반응 혼합물을 여과하고 그 여액을 농축한다. 농축액을 Preparative thin layer chromatography(diethyl ether : n - hexane : n - propyl amine = 30:30:1)를 통하여 분리하여 노란색의 액체인 3,3,5,8,10,10 - hexamethyl - 1,2,5,8 - dithiadiazecane (754 mg, 2.87 mmol, 57.7%)를 얻었다. TLC (silica gel/ diethyl ether : n - hexane : n - propyl amine = 7:3:1) : R_f 0.9. ^{1}H NMR ($CDCl_3$) δ 1.26 (s, 6H), 1.32 (s, 6H), 2.10 (d, 2H, *J* = 14.4 Hz), 2.31 (s, 6H), 2.71 (s, 4H), 3.49 (d, 2H, *J* = 14.4 Hz). MS (EI *m/z*) 290.2 (M^+, 5.2%), 86.2 (100%).

2.2.4. 5,8 - Diethyl - 3,3,10,10 - tetramethyl - 1,2,5,8 - dithiadiazecane(4)의 합성

2.2.3과 같은 방법으로 ethyl iodide (1.1 ml, 136 mmol)를 사용하여 노란색의 액체인 5,8 - diethyl - 3,3,10,10 - tetramethyl - 1,2,5,8 - dithiadiazecane (950 mg, 3.27 mmol, 84%)를 얻었다. TLC (silica gel/ diethyl ether : n - hexane : n - propyl amine = 7:3:1) : R_f 0.9. MS (EI *m/z*) 262.2 (M^+, 6.7%), 57.2 (100%).

2.2.5. 5,8 - Di(2 - methoxyethyl) - 3,3,10,10 - tetramethyl - 1,2,5,8 - dithiadiazecane(5)의 합성

2.2.3.과 같은 방법으로 2 - bromoethyl methyl ether (2.14 ml, 17.1 mmol)를 사용하여 노란색의 액체인 5,8 - di(2 - methoxyethyl) - 3,3,10,10 - tetramethyl - 1,2,5,8 - dithiadiazecane (1.26 g, 3.3 mmol, 78%)를 얻었다. TLC (silica gel/ diethyl ether : n - hexane : n - propyl amine = 7:3:1) : R_f 0.9. MS (EI *m/z*) 350.2 (M^+, 7.7%), 146.2 (100%).

2.2.6. 5,8 - Di(2 - ethoxyethyl) - 3,3,10,10 - tetramethyl - 1,2,5,8 - dithiadiazecane(6)의 합성

2.2.3.과 같은 방법으로 2 - bromoethyl ethyl ether (2.67 ml, 21.3 mmol)를 사용하여 노란색의 액체인 5,8 - di(2 - ethoxyethyl) - 3,3,10,10 -

tetramethyl - 1,2,5,8 - dithiadiazecane (1.37 g, 3.6 mmol, 84%)를 얻었다. TLC (silica gel/ diethyl ether : n - hexane : n - propyl amine = 7:3:1) : R_f 0.9. MS (EI *m/z*) 378.3 (M^+, 5.6%), 174.2 (100%).

2.2.7. 2 - methyl - 1 - (methyl{2 - [methyl(2 - methyl - 2 - sulfanylpropyl)amino]ethyl}amino) - 2 - propanethiol**(7)**의 합성.

3,3,5,8,10,10 - hexamethyl - 1,2,5,8 - dithiadiazecane (754 mg, 2.87 mmol)을 무수 tetrahydrofuran (20 ml)에 묽히고, tetrahydrofuran에 녹아있는 1M litium aluminum hydride (6.0 ml, 6.0 mmol)을 적가한다. 반응 혼합물을 상온에서 10 시간 교반하고, 포화 ammonium chloride 용액(5 ml)으로 반응을 종결하고 반응 혼합물을 감압 하에 농축한다. 그 여액에 물(5 ml)을 가하고, pH가 5.0이 되도록 2M hydrogen chloride 용액을 가한 후 물 층을 diethyl ether (10 ml X 2)로 씻어준다. 물 층을 pH가 8.0이 되도록 2M sodium hydroxide 용액을 가하고, diethyl ether (10 ml X 3)로 추출한다. 유기 층을 포화 소금물 용액(10 ml)으로 씻어주고 무수 sodium sulfate로 건조한다. 이 용액에 4M hydrogen chloride의 1,4 - dioxane (2 ml)용액을 가한다. 이 용액을 감압 하에 용매를 제거하고 물과 isopropyl alcohol 혼합액에서 재결정하여 하얀 색의 고체인 2 - methyl - 1 - (methyl{2 - [methyl(2 - methyl - 2 - sulfanylpropyl)amino]ethyl}amino) - 2 - propanethiol (319 mg, 0.95 mmol, 33.0%)을 얻었다. TLC (silica gel/ acetonitrile : water = 5:1) : R_f 0.3. ^{1}H NMR (D_2O) δ 1.31 (t, 6H), 1.48 (s, 12H), 3.30 (q, 4H), 3.39 (s, 4H), 3.82 (s, 4H). MS (EI *m/z*) 231.2 (M^+ - SH, 4%), 58.2 (100%).

2.2.8. 1 - (Ethyl{2 - [ethyl(2 - methyl - 2 - sulfanylpropyl)amino]ethyl}amino) - 2 - methyl - 2 - propanethiol**(8)**의 합성

5,8 - Diethyl - 3,3,10,10 - tetramethyl - 1,2,5,8 - dithiadiazecane (950 mg, 3.27 mmol)을 2.2.7.과 같은 방법으로 처리하여 하얀 색의 고체인 1 - (ethyl{2 - [ethyl(2 - methyl - 2 - sulfanylpropyl)amino]ethyl}amino) - 2 - methyl - 2 - propanethiol (153 mg, 0.42 mmol, 13%)을 얻었다. TLC (silica gel/ acetonitrile : water = 5:1) : R_f 0.4. ^{1}H NMR (D_2O) δ 1.49 (s, 12H), 3.10 (s, 6H), 3.49 (s, 4H), 3.88 (s, 4H). MS (EI *m/z*) 259.2 (M^+ - SH, 1%), 58.2 (100%).

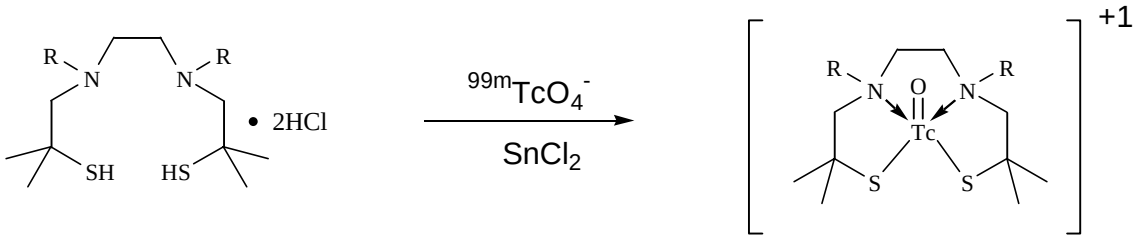
2.2.9. 1 - ((2 - Methoxyethyl){2 - [(2 - methoxyethyl)(2 - methyl - 2 - sulfanylpropyl)amino]ethyl}amino) - 2 - methyl - 2 - propanethiol**(9)**의 합성

5,8 - Di(2 - methoxyethyl) - 3,3,10,10 - tetramethyl - 1,2,5,8 - dithiadiazecane (1.03 g, 2.93 mmol)을 2.2.7.과 같은 방법으로 처리하여 하얀 색의 고체인 1 - ((2 - methoxyethyl){2 - [(2 - methoxyethyl)(2 - methyl - 2 - sulfanylpropyl)amino]ethyl}amino) - 2 - methyl - 2 - propanethiol (352 mg, 0.83 mmol, 28%)을 얻었다. TLC (silica gel/ acetonitrile : water = 5:1) : R_f 0.4. ^{1}H NMR (D_2O) δ 1.47 (s, 12H), 3.37 (s, 6H), 3.48 (s, 4H), 3.57 (t, 4H), 3.83 (t, 4H), 3.94 (s, 4H). MS (EI *m/z*) 319.2 (M^+ - SH, 2%), 55.2 (100%).

2.2.10. 1 - ((2 - Ethoxyethyl){2 - [(2 - ethoxyethyl)(2 - methyl - 2 - sulfanylpropyl)amino]ethyl}amino) - 2 - methyl - 2 - propanethiol**(10)**의 합성

5,8 - Di(2 - ethoxyethyl) - 3,3,10,10 - tetramethyl - 1,2,5,8 - dithiadiazecane (1.37 g, 3.6 mmol)을 2.2.7.과 같은 방법으로 처리하여 하얀 색의 고체인 1 - ((2 - ethoxyethyl){2 - [(2 - ethoxyethyl)(2 - methyl - 2 - sulfanylpropyl)amino]ethyl}amino) - 2 - methyl - 2 - propanethiol (63 mg, 0.17 mmol, 5%)을 얻었다. TLC (silica gel/ acetonitrile : water = 5:1) : R_f 0.4. ^{1}H NMR (D_2O) δ 1.18 (t, 6H), 1.50 (s, 12H), 3.49 (s, 4H), 3.60 (q, 4H), 3.75 (t, 4H), 3.98 (t, 4H), 4.00 (s, 4H). MS (EI *m/z*) 347.3 (M^+ - SH, 0.5%), 174.3 (100%).

2.3. *N,N'* - disubstituted N_2S_2 유도체의 ^{99m}Tc 의 표지



R = CH_3 **(7)**
CH_2CH_3 **(8)**
$CH_2CH_2OCH_3$ **(9)**
$CH_2CH_2OCH_2CH_3$ **(10)**

R = CH_3 **(11)**
CH_2CH_3 **(12)**
$CH_2CH_2OCH_3$ **(13)**
$CH_2CH_2OCH_2CH_3$ **(14)**

그림 4. *N,N'* - disubstituted N_2S_2 유도체의 ^{99m}Tc 의 표지

각각의 *N,N'* - disubstituted N_2S_2 유도체에 50% Gluconic acid (0.05 ml)과 0.01 M HCl (0.1 ml) 용액을 가하고, $SnCl_2$•$2H_2O$ 10 ug/0.01 M HCl (10 ul)용액을 가한다. 이 용액에 ^{99m}Tc - pertechnetate 370 MBq/2.5 ml 을 가한 후 1 N Na_2CO_3 (0.3 ml) 용액을 이용하여 pH 가 8 이 되게 한다. 끓는 물에서 30 분간 반응하고 여과하여 각각의 ^{99m}Tc 이 표지된 N_2S_2 유도체를 합성하였다. 표지 효율은 Paper No. 1, ITLC - SG/saline 으로 측정하였다.

2.4. 전기 영동 실험

Whatman No.1chromatography paper(10 cm)을 이용하여 0.2 M sod. Phosphate 완충 용액으로 pH 7 에서 200 V 로 40 분간 수행하고 방사능은 TLC scanner 로 측정하였다.

2.5. 생체 내 분포 실험

ICR - mouse (male, 26.1±1.3 g, n=64)를 이용하였고, 각각의 mouse 에 꼬리 정맥으로 ^{99m}Tc - *N,N'* - disubstituted N_2S_2 유도체 (37~74 kBq/0.1 ml)를 주사하였다. 각각 10, 20, 60, 120 분에 mouse 를 죽이고 각각의 장기를 취하여 방사능을 측정하였다. 측정된 방사능은 % ID/g(20 g (mouse 무게)로 표준화하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. *N,N'* - disubstituted N_2S_2 유도체의 ^{99m}Tc 의 표지

	표지 효율(%)	R_f
^{99m}Tc - *N,N'* - dimethyl - N_2S_2 **(11)**	94	0.38
^{99m}Tc - *N,N'* - diethyl - N_2S_2**(12)**	99	0.40
^{99m}Tc - *N,N'* - bis(methoxyethyl) - N_2S_2**(13)**	96	0.39
^{99m}Tc - *N,N'* - bis(ethoxyethyl) - N_2S_2**(14)**	95	0.27

표 1. *N,N'* - disubstituted N_2S_2 유도체의 ^{99m}Tc의 표지 효율

N,N' - disubstituted N_2S_2 유도체의 ^{99m}Tc의 표지 효율은 전체적으로 94%이상이었다.

3.2. 전기 영동 실험

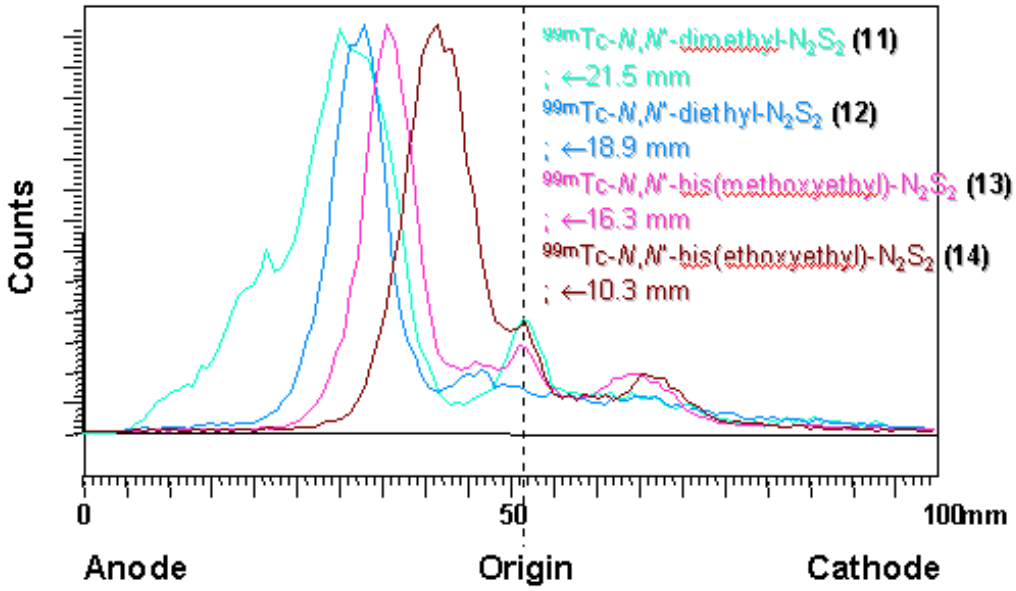


그림 5. ^{99m}Tc - *N,N'* - disubstituted N_2S_2 유도체의 전기 영동 결과

^{99m}Tc - *N,N'* - disubstituted N_2S_2 유도체는 전기 영동 실험 결과에서와 같이 +1가를 갖는 화합물임을 알 수 있었고, 알킬기가 증가할수록 원점에서의 이동거리가 감소함을 볼 수 있었다. 이는 알킬기가 증가함에 따라 화합물의 전하가 감소한다고 볼 수 있다.

3.3. 생체 내 분포 실험 – 심근 내 섭취율

	10분	120분
^{99m}Tc - *N,N'* - dimethyl - N_2S_2 **(11)**	5.4 ±1.0	5.3 ±1.6
^{99m}Tc - *N,N'* - diethyl - N_2S_2**(12)**	3.0 ±0.2	2.1 ±0.4
^{99m}Tc - *N,N'* - bis(methoxyethyl) - N_2S_2**(13)**	4.3 ±0.5	1.0 ±0.2
^{99m}Tc - *N,N'* - bis(ethoxyethyl) - N_2S_2**(14)**	7.2 ±1.0	1.7 ±0.0

표 2. ^{99m}Tc - *N,N'* - disubstituted N_2S_2 유도체의 심근 내 섭취율 (% ID/g)

생체 내 분포 실험에서는 알킬기의 길이가 늘어날수록 초기 섭취율이 높음을 볼 수 있었다. 하지만 ^{99m}Tc - *N,N'* - dimethyl - N_2S_2 **(11)**의 경우는 10 분이나 2 시간 모두 섭취율이 다른 화합물에 비해 높았다.

4. 결론

우리는 새로운 지용성 +1 가의 ^{99m}Tc - labeled *N,N* - disubstituted N_2S_2 유도체를 합성하였고, 생체 내 분포 실험 결과에서 심근 영상용 SPECT 약물의 개발 가능성을 알 수 있었다.

5. 참고 문헌

1) 고창순 편저 "핵의학", p 337

2) Deutsch EA , Gerson MC, Sodd VJ *J. Nucl. Med.,* **22**, 897(1981)

3) Deutsch EA, Ketring AR, Libson K, Vanderheyden J - L, Hirth WW *Nucl. Med. Biol.*, **16**, 191(1989)

4) Numm AD, *Semin. Nucl. Med.*, **20**, 111(1991)

5) Abrams MJ, Jones AG *Nucl. Med. Biol.*, **22**, 225(1984)

6) Kelly JD, Forster AM, Higley B *J. Nucl. Med.*, **34**, 222(1993))

7) Jeong JM, Lee YS, Kim YJ *J. Labe. Comp. Radiopham.*, **44**, S605(2001)