

^{99m}Tc -tetraalkylcyclam의 제조와 생체내분포

Preparation and biodistribution of ^{99m}Tc -tetraalkylcyclam

김영주, 정재민, 홍성현, 이동수, 정준기, 이명철, 조정혁,¹ 오창현¹

서울대학교병원
서울시 종로구 연건동 28
한국과학기술연구소¹
성북구 하월곡동 39-1

요약

^{99m}Tc 을 표지한 cyclam (1,4,8,11-tetraazacyclotetradecane) 유도체의 심근 영상용 방사성의약품으로의 가능성에 대한 연구가 이루어지고 있다. 이 연구에서 우리는 몇가지 1,4,8,11-tetraalkylcyclam 유도체를 합성하여, ^{99m}Tc 으로 표지하고 마우스에서의 생체내분포를 관찰하였다. Cyclam과 tetramethylcyclam은 Aldrich co.에서 구입하였다. Tetraalkylcyclams 은 cyclam으로 부터 합성하였다. Cyclam 유도체를 ^{99m}Tc -pertechnetate와 $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, Na_2CO_3 을 사용하여 표지하였다. 표지한 화합물의 전하를 측정하기 위하여 종이 전기영동을 실시하였다. 표지한 화합물을 마우스에서 투여 후 20 분에서의 생체내분포를 조사하였다. ^{99m}Tc 이 표지된 Cyclam과 tetramethylcyclam, tetraethylcyclam의 표지효율은 >97% 이상으로 나타났으며, ^{99m}Tc -tetrapropylcyclam의 표지효율은 86%였다. ^{99m}Tc 이 표지된 cyclam 유도체는 양전하를 띠는 것으로 나타났다. ^{99m}Tc -tetrapropylcyclam을 제외한 ^{99m}Tc -cyclam과 ^{99m}Tc -tetramethylcyclam, ^{99m}Tc -tetraethylcyclam은 실온에서 6 시간 까지 안정하였다. 마우스 생체내분포 실험결과 신장에서 가장 높은 섭취를 보였다. 신장을 제외한 다른 장기에서는 간과 장에서 섭취가 높았다. 치환된 곁가지가 큰 유도체일수록 신장과 간, 장의 섭취가 높았다. 심근 영상 제제의 전형적인 특성은 소수성이며 양전하를 띤 것인데 합성한 cyclam 유도체 화합물은 모두 심장에서 유의한 섭취를 보이지 않았다. Cyclam 유도체의 이러한 성질들은 이들 화합물이 친수성 화합물들이라는 것으로 설명할 수 있다.

Abstract

The possibility of using lipophilic ^{99m}Tc complexes of cyclam (1,4,8,11-tetraazacyclotetradecane) derivatives for myocardial imaging agent has been investigated. In this study, we synthesized several 1,4,8,11-tetraalkylcyclam, labeled with ^{99m}Tc , and investigated biodistribution in mice. Cyclam and tetramethylcyclam were purchased from Aldrich Co. Tetraalkylcyclams were synthesized by refluxing iodalkyl with cyclam in chloroform with anhydrous potassium carbonate for 24 hr. Cyclam derivatives were labeled by incubating with $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, Na_2CO_3 and ^{99m}Tc -pertechnetate. Paper electrophoresis was performed to determine the charge of labeled compounds. Biodistribution result of each labeled compound was obtained 20 min postinjection. Cyclam, Tetramethylcyclam, and tetraethylcyclam were labeled with >97% efficiency. Labeling efficiency of tetrapropylcyclam was 70~80%. ^{99m}Tc labeled cyclam derivatives were proved to be positively charged and stable at room temperature for more than 6 hr except tetrapropylcyclam. Highest retention was found in kidney. Liver and intestine showed higher uptakes than other organs except kidney. The compounds with bigger side chain showed higher retention in kidney, liver, and intestine. These properties can be explained by the fact that the compounds are hydrophilic charged compounds. However, none of these compounds showed significant uptake in heart, which is typical property of hydrophobic positively charged myocardial imaging agents.

1. 서론

핵의학 분야에서 심근 영상용 방사성의약품으로 오래 전부터 ^{201}Tl 이 사용되어 왔으나 방출되는 에너지가 낮아 영상이 선명하지 못하다. ^{99m}Tc 은 140 keV의 감마 에너지를 가지고 있어 감마 카메라로 영상을 얻기가 적당하고, ^{201}Tl 보다 낮은 방사선량 때문에 ^{201}Tl 보다 10~15배의 방사선량을 주사 할 수 있다. 이러한 이유로 ^{99m}Tc 이 표지된 sestamibi(MIBI)와 같은 방사성의약품이 널리 사용되고 있다. Sestamibi는 isonitrile 화합물로 지질친화성인 양이온 화합물이다. Cyclam(1,4,8,11-tetraazacyclotetradecane)은 Tc과 반응하면 양전하를 띤 화합물을 형성하는 것으로 알려져 있으며¹⁾, ^{99m}Tc 을 표지한 cyclam과 tetramethylcyclam은 심장영상용으로 사용할수 있다는 보고가 있다^{2,3)}. Ketring 등은 cyclam의 아민기에 소수성인

알킬기를 도입하면 심근영상용 제제로서의 가능성이 있다고 하였다⁴⁾. 이 연구에서 우리는 cyclam 유도체를 합성하여 ^{99m}Tc 으로 표지한 후 실험동물에서 생체내분포를 확인하여 심근 영상용 방사성의약품으로 가능성을 알아보았다.

2. 대상 및 방법

2-1. ^{99m}Tc -tetraalkylcyclam 제조

^{99m}Tc -cyclam은 cyclam 1 mg에 1 N Na_2CO_3 250 μl , $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 5 μg , ^{99m}Tc -pertechnetate 370 ~740 MBq/2 ml을 넣고 실온에서 10 분 동안 반응시켜 제조하였다. ^{99m}Tc -tetramethylcyclam, ^{99m}Tc -tetraethylcyclam, ^{99m}Tc -tetrapropylcyclam의 제조는 tetraalkylcyclam 1 mg에 1 N Na_2CO_3 250 μl , $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 10 μg , ^{99m}Tc -pertechnetate 370 ~740 MBq/2 ml을 넣고 실온에서 2 시간 이상 반응시켜 만들었다. 표지효율의 측정은 고정상으로 paper No.1(Whatman co.), 이동상으로 acetone, saline을 사용하였으며 결과는 TLC scanner(AR-2000, Bioscan)를 사용하여 판독하였다.

2-2. 종이 전기영동

^{99m}Tc -cyclam, ^{99m}Tc -tetramethylcyclam, ^{99m}Tc -tetraethylcyclam, ^{99m}Tc -tetrapropylcyclam 222 kBq/0.7 μl 를 전개용액(0.1 N sodium phosphate buffer pH 8.0)을 적신 고정상(paper No.1 (25×20 cm, Whatman co.))의 중간에 점적 후 고정상의 양끝 쪽에 양/음 전압(100 V)을 60 분 동안 걸었다. 고정상을 건조시킨 후 남아있는 방사능을 TLC scanner(AR-2000, Bioscan)를 사용하여 측정하였다.

2-3. 안정성

실온과 사람 혈청에서 ^{99m}Tc -cyclam, ^{99m}Tc -tetramethylcyclam, ^{99m}Tc -tetraethylcyclam의 안정성을 6 시간동안 관찰하였다. 사람혈청에서의 안정성 실험은 사람혈청 2 ml에 ^{99m}Tc 이 표지된 cyclam, tetramethylcyclam, tetraethylcyclam 74 MBq/0.2 ml을 넣고 37°C 5% CO_2 존재 하에 보관하여 0.5, 1, 3, 6시간에 관찰하였으며, 방사화학적 순도는 고정상으로 paper No.1 (Whatman co.), 이동상으로 acetone, saline을 사용하여 측정하였다.

2-4. 단백질 결합능

^{99m}Tc -cyclam, ^{99m}Tc -tetramethylcyclam, ^{99m}Tc -tetraethylcyclam, ^{99m}Tc -MIBI 19 ~28 MBq/0.1 ml을 사람혈청 1 ml에 넣고 37°C 5% CO_2 에서 0.5, 1, 3, 6 시간동안 반응시킨 후,

ethanol 1 ml을 넣어 원심분리(3000 rpm, 10 분)한 후 상층액과 침전한 단백질의 방사능을 dose calibrator(Atomlab 100, Medical system inc.)를 사용하여 측정하였다.

2-5. 생체내분포

^{99m}Tc -cyclam, ^{99m}Tc -tetramethylcyclam, ^{99m}Tc -tetraethylcyclam, ^{99m}Tc -tetrapropylcyclam 74 kBq/0.1 ml을 ICR-마우스(수컷, n=16, 32 ± 1.7 g)의 꼬리 정맥으로 주사하고 20 분 후에 각 장기(혈액, 근육, 지방, 심장, 폐, 간, 비장, 위, 장, 신장, 뇌, 뼈)를 격출하여 무게를 재고, 감마 카운터(Packard, A canberra co.)를 사용하여 각 장기에 남아있는 방사능을 측정하였다.

3. 결과

2-1. ^{99m}Tc -tetraalkylcyclam 제조

^{99m}Tc -cyclam의 표지효율은 반응시간 10 분에 99% 이상으로 나타났으며, 2 시간 이상 반응시킨 ^{99m}Tc -tetramethylcyclam, ^{99m}Tc -tetraethylcyclam은 97% 이상, ^{99m}Tc -tetrapropylcyclam은 86%의 표지효율을 보였다.

2-2. 종이 전기영동

표지한 ^{99m}Tc -cyclam, ^{99m}Tc -tetramethylcyclam, ^{99m}Tc -tetraethylcyclam, ^{99m}Tc -tetrapropylcyclam의 전하를 측정하기 위하여 전기영동 실험을 한 결과 ^{99m}Tc 이 표지된 cyclam 유도체들은 음 전압을 걸어준 방향으로 이동하였다(Fig. 1).

2-3. 안정성

^{99m}Tc -cyclam은 6 시간 동안 실온과 사람혈청에 반응시 방사화학적 순도가 99% 이상, 98% 이상 이였으며, ^{99m}Tc -tetramethylcyclam은 96% 이상, 89%, ^{99m}Tc -tetraethylcyclam은 각각 92% 이상, 97% 이상으로 ^{99m}Tc 표지 cyclam 유도체들은 매우 안정한 것으로 나타났다.

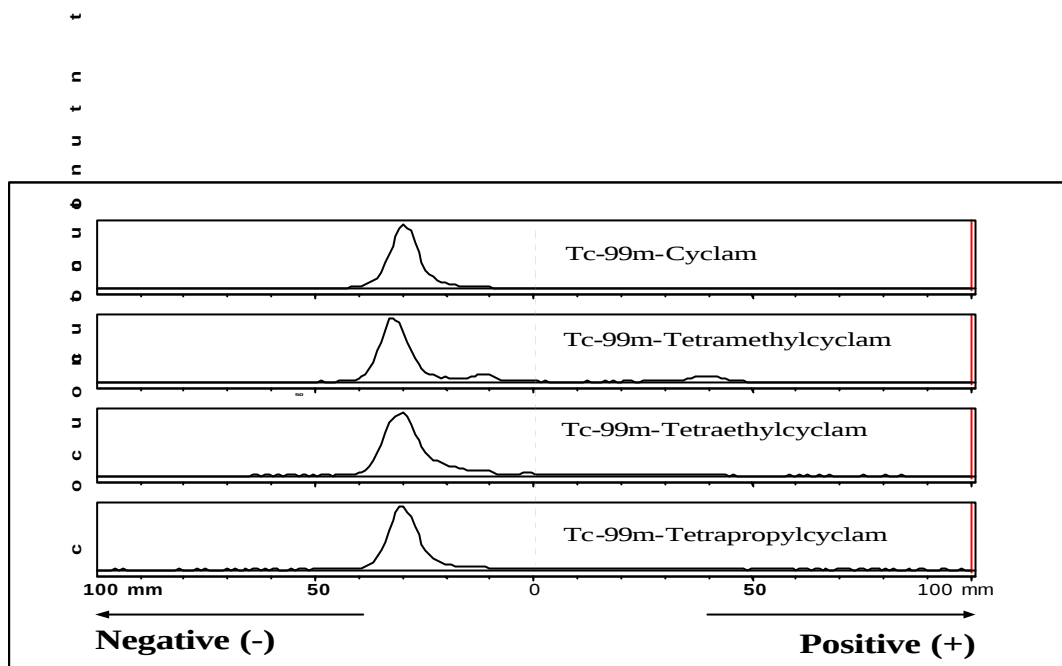


Fig.1. Paper electrophoresis of ^{99m}Tc -cyclam, ^{99m}Tc -tetramethylcyclam, ^{99m}Tc -tetraethylcyclam, ^{99m}Tc -tetrapropylcyclam

2-4. 단백질 결합능

^{99m}Tc -cyclam, ^{99m}Tc -tetramethylcyclam, ^{99m}Tc -tetraethylcyclam, ^{99m}Tc -MIBI의 단백질 결합능을 Fig.2에 나타내었다. ^{99m}Tc -cyclam 유도체가 ^{99m}Tc -MIBI보다 단백질 결합이 대략 10% 더 높게 나타났다.

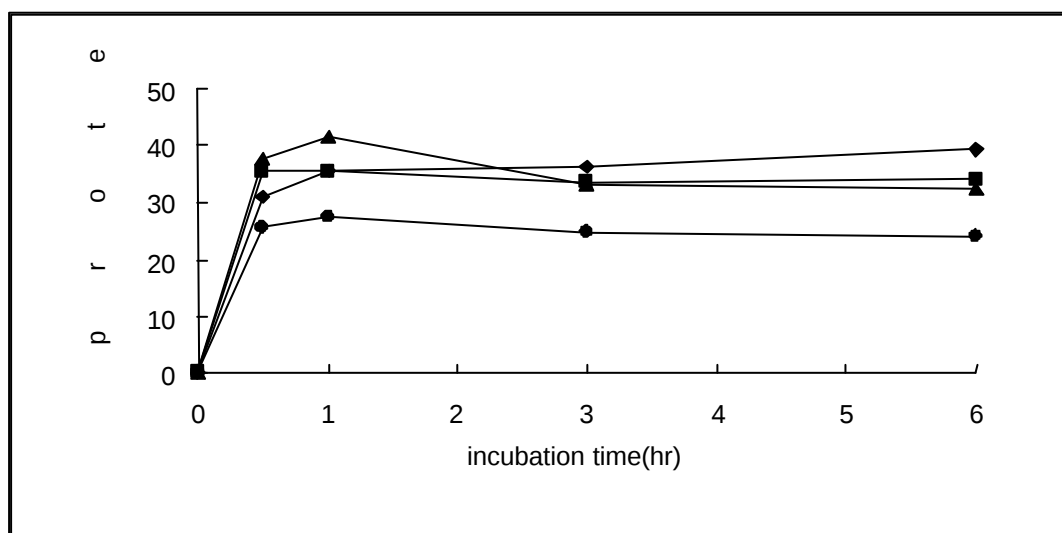


Fig.2. Protein binding of ^{99m}Tc -Cyclam(◆), ^{99m}Tc -tetramethylcyclam(■), ^{99m}Tc -tetraethylcyclam(▲), ^{99m}Tc -MIBI(●) versus time is plotted

2-5. 생체내 분포

^{99m}Tc -cyclam, ^{99m}Tc -tetramethylcyclam, ^{99m}Tc -tetraethylcyclam, ^{99m}Tc -tetrapropylcyclam 의 생체내분포는 Table 1. 과 같다. ^{99m}Tc 이 표지된 cyclam 유도체 모두 신장의 섭취가 가장 높고, 다음으로 간과 위의 섭취가 높았다. 그 외 장기의 섭취량은 매우 낮았다.

Table 1. Biodistribution of ^{99m}Tc -tetraalkylcyclam at 20 min after tail vein injection in ICR-mice (* : ^{99m}Tc -cyclam, ** : ^{99m}Tc -tetramethylcyclam *** : ^{99m}Tc -tetraethylcyclam, **** : ^{99m}Tc -tetrapropylcyclam)

	Cy*	TMCy**	TECy***	TPCy****
Blood	0.15 ± 0.08	0.78 ± 0.07	0.36 ± 0.04	0.39 ± 0.03
Muscle	0.12 ± 0.05	0.17 ± 0.02	0.08 ± 0.01	0.09 ± 0.02
Fat	0.41 ± 0.16	0.61 ± 0.06	0.70 ± 0.10	0.61 ± 0.15
Heart	0.13 ± 0.04	0.25 ± 0.02	0.14 ± 0.03	0.17 ± 0.02
Lung	0.14 ± 0.04	0.67 ± 0.02	0.29 ± 0.05	0.55 ± 0.43
Liver	1.22 ± 0.58	4.17 ± 0.78	3.19 ± 0.64	5.00 ± 0.80
Spleen	0.09 ± 0.01	0.35 ± 0.03	0.23 ± 0.04	0.36 ± 0.11
Stomach	0.15 ± 0.06	1.01 ± 0.14	0.66 ± 0.20	0.74 ± 0.24
Intestine	1.01 ± 0.26	2.13 ± 0.65	2.60 ± 0.30	3.45 ± 0.77
Kidney	4.26 ± 1.91	7.66 ± 0.74	7.31 ± 0.83	11.64 ± 2.33
Brain	0.02 ± 0.01	0.05 ± 0.01	0.03 ± 0.00	0.03 ± 0.01
Bone	0.13 ± 0.03	0.31 ± 0.03	0.19 ± 0.03	0.19 ± 0.06

% ID/g, Mean ± S.D.(n=4)

4. 고찰

Polyamine은 Co^{2+} , Ni^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Pb^{2+} , Hg^{2+} 과 같은 여러 금속과 킬레이트를 형성하는 것으로 알려져 있다⁵⁾. Polyamine의 일종인 cyclam은 ^{99m}Tc 과 반응시 양전하를 갖는 안정한 킬레이트를 형성한다는 보고가 있다²⁾. Ethylenediamine도 이와 유사하여 Sn(II) 존재하에서 ^{99m}Tc 과 반응시 일가의 양전하를 갖는 화합물을 형성하며, 이것은 약알칼리 용매에서 대단히 안정하다¹⁾. Cyclam과 ethylenediamine의 Tc 킬레이트 화합물에서 Tc은 Tc(V)O_2 핵을 형성하는 것으로 추정된다²⁾. Cyclam과 tetraamine의 ^{99m}Tc 화합물은 거대고리화 효과

(macrocyclic effect)와 킬레이트 효과 때문에 ethylenediamine 보다 더 안정한 형태를 이룬다⁶⁾. 지질친화성인 ^{99m}Tc 표지 cyclam 유도체에 대한 보고가 있었다. 몇가지 monoalkyl-cyclam 유도체가 합성되었고, 이들 화합물은 ^{99m}Tc 과 반응시 일가 양이온 킬레이트를 형성한다. 그리고 이들 킬레이트 화합물은 모두 신장과 간을 통해서 빠르게 순환기에서 제거된다⁴⁾. ^{99m}Tc -cyclam 유도체를 심근 영상용 방사성의약품으로 사용하기 위해서는 화학적 성질이 지질친화성이며 양이온 화합물이어야 한다. 우리가 ^{99m}Tc 으로 표지한 cyclam 유도체는 종이 전기영동 실험결과 양이온 화합물인 것을 확인하였으나, 심장에서의 섭취는 낮게 나타났다. 이는 제조한 ^{99m}Tc -cyclam 유도체가 지질친화성 화합물이기 보다는 친수성 화합물에 더 가깝기 때문으로 여겨진다. 동물실험 결과 ^{99m}Tc 표지 cyclam 유도체는 치환한 곁가지의 크기가 증가할수록 간과 장, 신장에서 제거되는 시간이 증가하기는 하지만 신장을 영상화 할 수 있을 것으로 보여진다. 이상의 실험결과 이 연구에서 제조한 ^{99m}Tc -cyclam 유도체는 심근의 영상용 방사성의약품으로 사용하기에는 부적절하지만 신장을 영상화하는 방사성의약품으로서 사용할 수 있을 것으로 생각한다

5. 참고문헌

1. J. R. Thornback, A. E. Theobald ; Technetium-99m-ethylenediamine : a new cationic complex of technetium ; Int J Appl Radiat Isot (1981) 32:833-838
2. D. E. Troutner, J. Simon, A. R. Ketring, W. Volkert, R. A. Holms ; Complexing of Tc-99m with cyclam : concise communication ; J Nucl Med (1980) 21:443-448
3. K. M. Herzog, E. Deutsch, K. Deutsch, E. B. Silberstein, R. Sarangarajan, W. Cacini ; Synthesis and renal excretion of technetium-99m-labeled organic cations ; J Nucl Med (1992) 33:2190-2195
4. A. R. Ketring, D. E. Troutner, T. J. Hoffman, D. K. Stanton, W. A. Volkert, R. A. Holmes ; Biodistribution of lipophilic ^{99m}Tc complexes of cyclam derivatives ; Int J Nucl Med Biol (1984) 11:113-119
5. G. Anderegg, P. Blauenstein, X. V. Polyamines ; Thermodynamics of metal complex formation of liner tetraamines containing two rthylenediamine residues ; Helv Chem Acta (1982) 65:913-923
6. E. Deutsch, K. Libson, S. Jurisson ; Technetium chemistry and technetium radiopharmaceuticals ; Prog Inorg Chem (1982) 30:75-139