

# 신장기능영상용 방사성의약품 Bz-MAG<sub>3</sub> (Benzoylmercaptoacetylglucylglycylglycine)의 키트화 및 체내분포

서울대학교병원 핵의학과, 한국과학기술연구소 유기합성실\*

김영주 · 정재민 · 조정혁\* · 장영수 · 이동수 · 정준기 · 이명철 · 고창순

= Abstract =

## Kit Preparation and Biodistribution of Bz-MAG<sub>3</sub> (benzoylmercaptoacetylglucylglycylglycine) for Renal Imaging

Young Ju Kim, B.S., Jae Min Jeong, Ph.D., Jung-Hyuk Cho, Ph.D.\*  
Young Soo Chang, M.S., Dong Soo Lee, M.D., June-Key Chung, M.D.  
Myung Chul Lee, M.D. and Chang-Soon Koh, M.D.

*Department of Nuclear Medicine, Seoul National University Hospital and Laboratory of Organic Synthesis, Korea Institute of Science and Technology\*, Seoul, Korea*

The MAG<sub>3</sub> is a tubular excreting radiopharmaceutical for renal image. We synthesized benzoyl MAG<sub>3</sub> (Bz-MAG<sub>3</sub>) and made a kit for labeling with <sup>99m</sup>Tc. We checked the labeling efficiency of <sup>99m</sup>Tc labeled MAG<sub>3</sub> and biodistribution. Labeling efficiency was checked by TLC-SG (acetonitrile/H<sub>2</sub>O=2/1). After injecting of 1 mCi of <sup>99m</sup>Tc-MAG<sub>3</sub> to ICR-mice, T<sub>max</sub>(min), T<sub>1/2</sub>(min) were obtained in the renogram. Sequential images (30sec, 2min, 5min, 10min, 15min, 20min) of <sup>99m</sup>Tc-MAG<sub>3</sub> were compared with those of commercial <sup>99m</sup>Tc-DTPA (Du Pont Merck Pharmaceutical Co.) kit.

1) The R<sub>f</sub> value of synthesized <sup>99m</sup>Tc-MAG<sub>3</sub> was 0.78 and labeling efficiency was 97.5 ± 1.9% (n=10).

2) The dynamic images of the <sup>99m</sup>Tc-MAG<sub>3</sub> were better than those of the <sup>99m</sup>Tc-DTPA.

3) The T<sub>max</sub>(min.) and T<sub>1/2</sub>(min.) of <sup>99m</sup>Tc-MAG<sub>3</sub> (n=10) were 1.5 ± 0.5 (left), 1.4 ± 0.4 (right), and 4.3 ± 1.4 (left), 4.8 ± 2.0 (right), respectively.

The T<sub>max</sub>(min.) and T<sub>1/2</sub>(min.) of <sup>99m</sup>Tc-DTPA (n=7) were 2.7 ± 1.6 (left), 2.7 ± 1.6 (right), and 3.8 ± 1.7 (left), 4.5 ± 2.7 (right), respectively.

The quality of image and labeling efficiency of the synthesized Bz-MAG<sub>3</sub> kit were excellent, that it was supposed to be used in routine clinical work.

**Key Words :** Bz-MAG<sub>3</sub>, Kit preparation, Renal imaging, <sup>99m</sup>Tc-DTPA

### 서 론

신장기능을 측정하기 위해 사용되는 방사성의약품 중 대표적인 것으로는 사구체여과약제인 <sup>99m</sup>Tc-

diethylenetriaminepentaacetic acid (DTPA)와 신  
피질영상약제인 <sup>99m</sup>Tc-dimercaptosuccinic acid  
(DMSA), 신세뇨관약제인 <sup>131</sup>I-orthoiodo-hippurate  
(OIH), <sup>99m</sup>Tc-mercaptoacetyltriglycine (MAG<sub>3</sub>)  
등이 있다.

신세뇨관약제인 <sup>131</sup>I-OIH는 혈장으로부터 사구체여

이 연구는 1995년도 서울대학교 임상연구비(02-95-203)의  
보조로 이루어진 것임.

과에 의해 약 20%, 세뇨관분비(tubular secretion)에 의해 약 80%가 배출되지만<sup>1)</sup>, 신장스캔에 이용되는 감마카메라에서 영상이 선명하지 않고 불필요한 방사선 피폭량이 많아 <sup>131</sup>I-OIH같이 신장추출분획이 크고 <sup>99m</sup>Tc로 표지된 방사성의약품의 개발이 요구되었다. 1986년 Fritzberg 등<sup>2)</sup>이 보고한 <sup>99m</sup>Tc-MAG<sub>3</sub>는 신세뇨관 분비기전으로 대부분 배설되고, <sup>131</sup>I-OIH에 비해서 혈청단백과의 결합능이 높으며(90%), 분포용적이 적고 적혈구에 의한 섭취가 적어(5%) 혈장농도가 높으나, 실제 소변으로 배설되는 양은 <sup>131</sup>I-OIH와 비슷함이 동물실험과 사람에서 밝혀졌다. 또한 <sup>99m</sup>Tc-MAG<sub>3</sub>에 의한 신기능곡선은 <sup>131</sup>I-OIH의 신기능곡선과 거의 동일하며, 신장영상의 해상력은 훨씬 좋다<sup>2, 3)</sup>. 그러나 시판중인 MAG<sub>3</sub>는 가격이 비싸 대중적인 사용이 용이하지 않으므로 국내에서 MAG<sub>3</sub>를 자체 합성, 키트화하여 국산화 할 필요가 있다.

본 연구실에서는 앞서 MAG<sub>3</sub>의 sulfhydryl기를 benzoyl기로 보호한 benzoyl-MAG<sub>3</sub> (Bz-MAG<sub>3</sub>)를 2단계반응으로 합성한 후 <sup>99m</sup>Tc로 표지하고<sup>4)</sup> <sup>131</sup>I-OIH와 비교실험<sup>5)</sup>을 하였다. 이 합성한 Bz-MAG<sub>3</sub>의 계속된 임상 기초실험으로 Bz-MAG<sub>3</sub>를 동결건조된 키트로 제조하여, <sup>99m</sup>Tc로 표지 후 표지효율 측정 및 ICR-마우스를 사용하여 체내분포실험을 시행하였다. 합성한 <sup>99m</sup>Tc-MAG<sub>3</sub>를 작용기전은 다르지만 유사한 신기능영상을 나타내는 <sup>99m</sup>Tc-DTPA (Du Pont Merck Pharmaceutical 사)와 영상을 비교하였다.

## 재료 및 방법

### 1. Bz-MAG<sub>3</sub>합성

Bz-MAG<sub>3</sub>는 문헌<sup>2)</sup>에 보고된 바와 같이 합성하였다. Glycylglycylglycine (Sigma 사)과 chloroacetylchloride (Fluka 사)를 약 1:9 당량으로 1 N NaOH 알칼리 용액에서 0°C에서 반응시켜 chloroacetylglycylglycylglycine을 합성하였다. 이 용액에 6 N HCl을 적가하여 산성으로 하여 이를 회수한 다음 동일 당량의 sodium thiobenzoate (Aldrich 사)와 methanol에서 반응시켜 Bz-MAG<sub>3</sub>를 합성하였다. 합성된 Bz-MAG<sub>3</sub>를 2 N HCl을 가하여 석출시켜 회수한 다음 methanol에 녹여 재결정하였다.

### 2. 키트 제조

Bz-MAG<sub>3</sub> 1 mg을 0.01 N NaCl 0.25 ml에 녹이고 이 용액에 SnCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O 0.1 mg을 0.02 N HCl 0.1 ml에 녹여 섞었다. 여기에 L(+) tartaric acid 40 mg과 d-lactose 20 mg을 H<sub>2</sub>O 0.7 ml에 녹여 섞고 pH를 5.5로 맞추었다. 그리고 동결건조한 후 N<sub>2</sub> 가스로 충전하였다.

### 3. 발열원(Pyrogen)과 세균오염 검사

동결건조한 키트 100개중 무작위로 5개를 선정하여 생리식염수 3 ml을 주입한 후 발열원(pyrogen)과 세균오염 검사를 실시하였다. LAL (Limulus amoebocyte lysate, Associates of Cape Cod, Inc.) 검사는 발열원의 유무를 알아보기 위한 검사로 양성 및 음성 대조시료 시험관에는 생리식염수 0.2 ml을 넣었고 검사 시험관에는 생리식염수 0.1 ml과 시료 0.1 ml을 넣고 37°C 항온수조에서 1 시간 반응시키고 실온에서 5 분간 둔 후 젤(gel)화 정도를 보고 판정하였다. 세균오염 검사는 일반세균과 장내세균 및 호기성, 혐기성세균의 유무를 알아보기 위해 혈액한천배지(blood agar plate), 맥콘키 한천배지(MacConkey agar plate), 티오글리콜레이트 액체배지(thioglycolate broth media)에 접종후 35°C 항온배양기에서 각각 24시간, 24시간, 72시간 동안 배양하였다.

### 4. <sup>99m</sup>Tc 표지

동결건조된 Bz-MAG<sub>3</sub> 키트에 venting needle filter(Watertown 사)를 사용하여 <sup>99m</sup>Tc pertechnetate 40 mCi/4 ml과 공기 2 ml을 넣고 95°C에서 10 분간 가열하여 표지하였다. 방사화학적 수율을 보기 위하여 이동상으로 acetonitrile/H<sub>2</sub>O = 2/1로 하고 정지상으로 TLC-SG (Merck 사)를 사용하여 크로마토그래피를 시행하고 그 결과를 TLC 스캐너 (Imaging Scanner System 200, Bioscan)로 판독하였다.

### 5. <sup>99m</sup>Tc-MAG<sub>3</sub>와 <sup>99m</sup>Tc-DTPA의 체내분포

ICR-마우스(25-30 g)에 ketamine hydrochloride 5.4 µg을 복강내주사하여 마취한 후 <sup>99m</sup>Tc-MAG<sub>3</sub> 1 mCi를 꼬리정맥에 주사 후 30초, 2분, 5분, 10분, 15

분, 20분에 신장과 방광의 영상을 얻었다. 감마-11 컴퓨터시스템(Siemens 사)을 이용하여 신기능곡선을 구하고 신장에 대한 최대분포시간( $T_{max}$ )과 반감기( $T_{2/1}$ )을 구하였다. 시판중인 <sup>99m</sup>Tc-DTPA(Du Pont Merck Pharmaceutical 사)도 같은 방법으로 시행하여 실험하였다.

### 결 과

Sulfhydryl기를 benzoyl기로 보호한 Bz-MAG<sub>3</sub>는 약 40%의 최종 수율로 합성되었다. <sup>99m</sup>Tc 표지 후

크로마토그래피로 확인한 결과 <sup>99m</sup>Tc-MAG<sub>3</sub>의  $R_f$  값은 0.78, <sup>99m</sup>TcO<sub>4</sub><sup>-</sup>의  $R_f$  값은 0.98이었으며 (Fig. 1), <sup>99m</sup>Tc-MAG<sub>3</sub>의 표지효율은 95±1.9% (n=10)로 높은 표지효율을 보였다.

합성하여 동결건조한 100개의 키트중 무작위로 5개를 선택하여 발열원검사와 세균오염 검사를 실시한 결과, 발열원과 일반세균, 장내세균 및 호기성, 혐기성세균에서 모두 음성으로 나타났다.

ICR-마우스에 대한 <sup>99m</sup>Tc-MAG<sub>3</sub>와 <sup>99m</sup>Tc-DTPA의 시간별 영상은 Fig. 2, 3에서 보듯이 <sup>99m</sup>Tc-MAG<sub>3</sub>가 시판중인 <sup>99m</sup>Tc-DTPA보다 선명한 영상을 보였다. ICR-마우스에 대한 신기능 곡선(Fig. 4)으로부터  $T_{max}$ 와  $T_{1/2}$ 를 계산하였을때 Table 1에서와 같이  $T_{max}$ 는 <sup>99m</sup>Tc-MAG<sub>3</sub> (n=10)에서 1.4-1.5분으로 <sup>99m</sup>Tc-DTPA (n=7)의 2.7분 보다 1.2분정도 빠른 것을 보였고(p<0.05),  $T_{1/2}$ 는 <sup>99m</sup>Tc-MAG<sub>3</sub> (n=10)에서 4.3-4.8분으로 <sup>99m</sup>Tc-DTPA (n=7)의 3.8-4.5분과 비슷한 결과를 보였다. 방광출현 시간은 <sup>99m</sup>Tc-

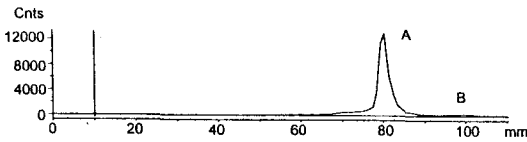


Fig. 1. Chromatogram of <sup>99m</sup>Tc-MAG<sub>3</sub> (A: <sup>99m</sup>Tc-MAG<sub>3</sub>  $R_f$ =0.78, B: <sup>99m</sup>TcO<sub>4</sub><sup>-</sup>  $R_f$ =0.98)

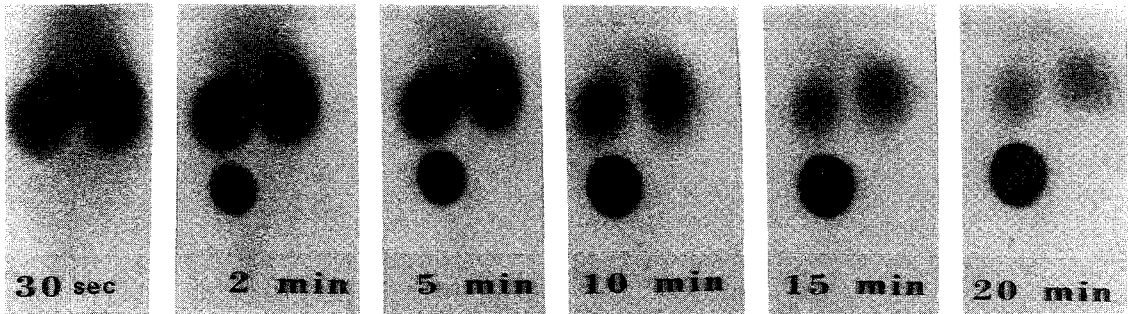


Fig. 2. Renal scintigraphy of <sup>99m</sup>Tc-MAG<sub>3</sub> in a ICR-mouse.

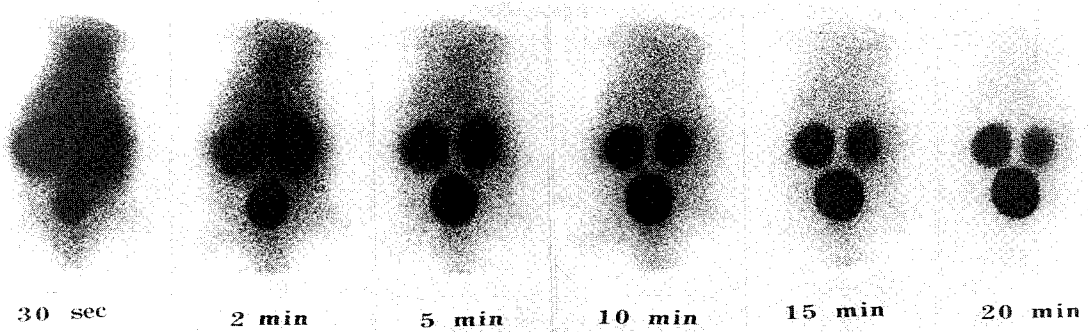


Fig. 3. Renal scintigraphy of <sup>99m</sup>Tc-DTPA (B) in a ICR-mouse.

Table 1. Comparison of Pharmacokinetics between  $^{99m}\text{Tc-MAG}_3$  and  $^{99m}\text{Tc-DTPA}$  in Mouse Kidney

	$T_{\max}$ (min)		$T_{1/2}$ (min)	
	Left	Right	Left	Right
$^{99m}\text{Tc-MAG}_3^a$	$1.5 \pm 0.5^*$	$1.4 \pm 0.4^{**}$	$4.3 \pm 1.4$	$4.8 \pm 2.0$
$^{99m}\text{Tc-DTPA}^b$	$2.7 \pm 1.6^*$	$2.7 \pm 1.6^{**}$	$3.8 \pm 1.7$	$4.5 \pm 2.7$

a : n=10, b : n=7, \* : (p<0.05), \*\* : (p<0.05), (mean  $\pm$  S.D)

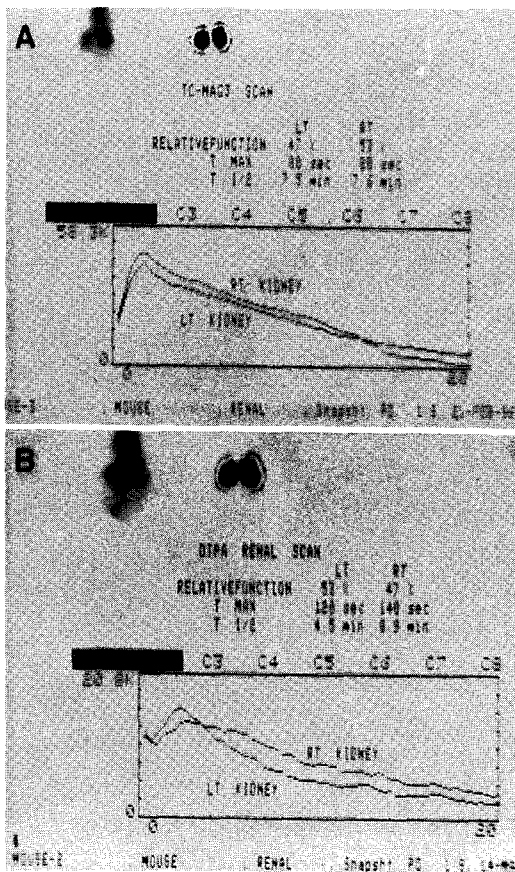


Fig. 4. Renogram of  $^{99m}\text{Tc-MAG}_3$  (A) and  $^{99m}\text{Tc-DTPA}$  (B) in a ICR-mouse.

$\text{MAG}_3$ 와  $^{99m}\text{Tc-DTPA}$  모두 2분 이내로 나타났다.

### 고찰

신장기능을 영상화하는데 사용되는 방사성의약품으로는  $^{99m}\text{Tc-DTPA}$ ,  $^{99m}\text{Tc-DMSA}$ ,  $^{99m}\text{Tc-MAG}_3$  등이 있다<sup>6)</sup>. 이중 신세뇨관약제인  $^{99m}\text{Tc-MAG}_3$ 는

triamide mercaptide( $\text{N}_3\text{S}$ ) 복합체의 일종으로 1986년 Fritzberg 등이 소개한 이후 광범위하게 연구되어 왔다<sup>2, 3, 7)</sup>.  $^{99m}\text{Tc-MAG}_3$ 는 신세뇨관배설에 의한 신장기능의 영상을 얻는데 지금까지 알려진 같은 목적의 다른 어떠한 방사성의약품보다 많은 장점을 가지고 있다.  $^{99m}\text{Tc-MAG}_3$ 에 의한 신기능곡선은  $^{131}\text{I-OIH}$ 의 신기능곡선과 거의 동일하며, 신장영상의 해상력은 훨씬 우수하였다<sup>6)</sup>.

이에 본 연구실에서는  $\text{MAG}_3$ 를 국산화 할 수 있는 기초연구의 일환으로 문헌<sup>2, 4)</sup>에 보고된 바와 같이  $\text{Bz-MAG}_3$ 를 합성하였다(최종 수율 약 40%). 합성한  $^{99m}\text{Tc-MAG}_3$ 로 동물실험한 결과가 앞서 보고된 것과 동일한 결과가 나왔다<sup>5)</sup>.

합성된  $\text{Bz-MAG}_3$ 로 동결건조 키트를 만들어  $^{99m}\text{TcO}_4^-$ 로 표지 후 크로마토그래피로 확인한 결과  $^{99m}\text{Tc-MAG}_3$ 의  $R_f=0.78$ ,  $^{99m}\text{TcO}_4^-$ 의  $R_f=0.98$  (Fig. 1)이고, 표지효율은  $95 \pm 1.9\%$ 로 높은 효율을 보였다. Fig. 2, 3은 ICR-마우스의 시간별 신기능영상으로  $^{99m}\text{Tc-MAG}_3$ 가  $^{99m}\text{Tc-DTPA}$ 보다 선명한 영상을 보였다. 신기능 곡선에서  $T_{\max}$ 와  $T_{1/2}$ 을 계산했을 때 (Table 1),  $T_{\max}$ 는  $^{99m}\text{Tc-MAG}_3$  (n=10)에서 1.4-1.5분으로  $^{99m}\text{Tc-DTPA}$  (n=7)의 2.7분 보다 1.2분정도 빠른 것을 보였다(p<0.05). 이는  $^{99m}\text{Tc-MAG}_3$ 가 세뇨관배설로 표적대 배후의 비율이 높고  $^{99m}\text{Tc-DTPA}$ 는 사구체여과 배설로 표적대 배후의 비율이 낮다는 다른 보고와 동일함을 보여주는 결과이다<sup>8)</sup>.

$T_{1/2}$ 는  $^{99m}\text{Tc-MAG}_3$  (n=10)에서 4.3-4.8분으로  $^{99m}\text{Tc-DTPA}$  (n=7)의 3.8-4.5분과 비슷한 결과를 보였다. 방광출현 시간은  $^{99m}\text{Tc-MAG}_3$ 와  $^{99m}\text{Tc-DTPA}$  모두 2분 이내로 나타났다. 정상인에서의  $^{131}\text{I-OIH}$ 을 이용한 기능 검사상 방사능이 최고점에 도달하는 시간( $T_{\max}$ )이 3.5분 이내이고 배설시 기울기의 반감기( $T_{1/2}$ )가 10분 이내, 방광 출현 시간이 4.4분

이내이다<sup>6)</sup>. 정상인에서 <sup>131</sup>I-OIH의 결과와 동물실험에서 합성한 <sup>99m</sup>Tc-MAG<sub>3</sub>의 결과를 비교할 때 동일함을 보여주었으며, 시판중인 DTPA와 비교에서도 같은 결과를 보였다.

본 실험실에서 합성한 Bz-MAG<sub>3</sub> 키트가 높은 표지효율과 선명한 신장의 동적영상을 나타내는 것으로 보아 시판중인 신장기능 영상용 방사성의약품을 대체하여 사용할 수 있을 것으로 사료된다.

## 요 약

본 연구에서는 Bz-MAG<sub>3</sub>를 합성한 후 동결건조된 키트를 제조하였으며, 이를 <sup>99m</sup>Tc로 표지 후 <sup>99m</sup>Tc-MAG<sub>3</sub>의 방사화학적 특성 및 동물체내에서의 분포를 알아보았다.

- 1) 합성된 <sup>99m</sup>Tc-MAG<sub>3</sub>의 R<sub>f</sub>값은 0.78, 표지효율은 97.5±1.9% (n=10)로 나타났다.
- 2) <sup>99m</sup>Tc-MAG<sub>3</sub>를 사용하여 얻은 신기능영상은 <sup>99m</sup>Tc-DTPA를 사용한 경우에서 보다 더 선명한 영상을 나타냈다.
- 3) <sup>99m</sup>Tc-MAG<sub>3</sub>를 사용한 ICR-마우스실험(n=10)에서 T<sub>max</sub>(분)는 <sup>99m</sup>Tc-MAG<sub>3</sub> (n=10)에서 1.4-1.5분으로 <sup>99m</sup>Tc-DTPA (n=7)의 2.7분 보다 1.2분 정도 빠른 것을 보였고(p<0.05), T<sub>1/2</sub>는 <sup>99m</sup>Tc-MAG<sub>3</sub> (n=10)에서 4.3-4.8분으로 <sup>99m</sup>Tc-DTPA (n=7)의 3.8-4.5분과 비슷한 결과를 보였다. 방광출현 시간은 <sup>99m</sup>Tc-MAG<sub>3</sub>와 <sup>99m</sup>Tc-DTPA 모두 2분 이내로 나타났다.

합성한 Bz-MAG<sub>3</sub> 키트가 높은 표지효율과 신장의

선명한 동적영상을 나타내는 것으로 보아 시판중인 신장기능 영상용 방사성의약품을 대체하여 사용할 수 있을 것으로 사료된다.

## REFERENCES

- 1) Stadalnik RC, Vogel JM, Jansholt A-L, et al.: Renal clearance and extraction parameters of orthiodohippurate(I-123) compared with OIH (I-131) and PAH. *J Nucl Med* 1980;21:168-170
- 2) Fritzberg AR, Kasina S, Eshima D, et al.: Synthesis and biological evaluation of Technetium-99m MAG<sub>3</sub> as a hippuran replacement. *J Nucl Med* 1986;27:111-116
- 3) Taylor A Jr, Eshima D, Fritzberg AR, et al.: Comparison of Iodine-131 OIH and Technetium-99m MAG<sub>3</sub> renal imaging in volunteers. *J Nucl Med* 1986;27:795-803
- 4) Jae Min Jeong: Study on <sup>99m</sup>Tc-labeling mechanism of Bz-MAG<sub>3</sub>. 대한핵의학회지 1993;27(2): 277-284
- 5) 정재민, 염미경, 김문혜, 박경호, 송세흠, 이범우, 이동수, 정준기, 이명철, 조보연, 고창순: <sup>131</sup>I-OIH와 <sup>99m</sup>Tc-MAG<sub>3</sub>의 약물동력학 및 체내 분포에 관한 연구. 대한핵의학회지 1990;24:74-79
- 6) 김병태, 이정상, 이강욱, 노홍규: 신장 및 하부요로계. 핵의학, 고창순 편저: 477-524, 고려의학, 1992
- 7) 전우진, 김주현, 박미옥, 이희정, 현정애, 전석길: <sup>99m</sup>Tc-MAG<sub>3</sub>제거지수를 이용한 이식신장의 기능평가. 대한핵의학회지 1995;29:79-83
- 8) Barbour GL, Crum CK, Boyd CM, et al.: Comparison of inulin, iothalamate, and Tc-99m-DTPA for measurement of glomerular filtration rate. *J Nucl Med* 1976;17:317-320