

새로운 거대분자 MR 조영제의 합성 및 MR 특성에 관한 연구

장용민^{1,3} · 장영환² · 황문정³ · 박현정⁴ · 전경녀¹ · 이종민¹ · 배경수¹ · 강봉석⁵

목적 : 새로운 개념의 macromolecular MR 조영제를 개발하여 자기이완적 특성 및 조직특이성 조영제로서의 가능성을 탐색해 보고자 하였다.

대상 및 방법 : Phthalocyanine (PC)을 상자성 원소의 배위자로 선택하였다. 2.01g (5.2 mmol)의 Phthalocyanine을 0.37 g(1.4 mmol)의 Mn chloride와 310°C에서 36시간동안 반응시킨후 혼합물을 크로마토그래피(CHCl₃/CH₃OH 98/2 v/v, Rf, 0.76)로 정제하여 1.04 g (46%)의 MnPC (분자량 2000)를 얻었다. 0.1 mM로 희석시킨 MnPC를 1.5T(64 MHz) MR 장비를 이용하여 T1/T2 자기이완율을 측정하였다. MnPC의 MR 영상 특성을 알아보기 위해 1.5T MRI에서 스핀반향 기법(TR/TE=500/14 msec)과 경사예코 기법중 FLASH 기법(TR/TE=80/4 msec, flip angle=60)을 사용하여 매 10분 간격으로 최고 4시간까지 연속적으로 토끼의 간에서 영상을 획득하였다. 농도별 차이를 알아보기위해 MnPC를 20 mM, 50 mM, 100 mM로 희석하여 사용하였다.

결과 : MnPC의 1.5 T(64 MHz)에서의 자기이완율은 $R1=7.28 \text{ mM}^{-1}\text{S}^{-1}$, $R2=55.56 \text{ mM}^{-1}\text{S}^{-1}$ 으로 small molecular weight 조영제인 Gd-DTPA의 $R1(=4.8 \text{ mM}^{-1}\text{S}^{-1})$, $R2(=5.2 \text{ mM}^{-1}\text{S}^{-1})$ 값과 비교할 때 T1/T2 자기이완율이 매우 컸다. 스핀반향과 FLASH 기법 모두에서 조영증강은 조영제 주사후 약 10분 정도에 최고치에 달한 후 약 2시간 정도까지 유지하였다. MnPC는 small molecular weight의 간특이성 조영제들인 Gd-EOB-DTPA, Gd-BOPTA 및 MnDPDP과 비교할 때 조영증강을 유지하는 시간이 훨씬 더 긴 특성을 보였다. MnPC는 시간 경과에 따라 담도로 배출되었다.

결론 : 새로운 종류의 macromolecular MR agent인 MnPC를 자체 개발하였고 자기이완율을 측정한 결과 T1/T2 효과가 기존의 small molecular Gd-chelate에 비해 매우 큼을 알 수 있었다. MnPC는 간세포에 흡수된후 담도계로 배출되는 간특이성 조영제임을 확인하였다.

서 론

상자성 자기공명조영제의 임상적 유용성은 이미 잘 알려져 있

다. 현재 임상적으로 사용되고 있는 자기공명조영제들 (gadopentetate dimeglumine, gadodiamide, gadoteridol) 은 모두 작은 분자량의 조영제로 인체내에서 빠르게 세포외공간으로 확산되어 혈관뿐만 아니라 조직을 조영증강시키는 성질을

대한자기공명의과학회지 6:35-40(2002)

¹경북대학교 의과대학 진단방사선과학교실

²한국과학기술원 화학과

³경북대학교 대학원 의용생체공학과

⁴경북대학교 수의과대학

⁵경북대학교병원 의학연구소

접 수 : 2001년 11월 15일, 채 택 : 2002년 2월 25일

통신저자 : 장용민, (700-721) 대구광역시 중구 삼덕동 50 경북대학교병원 진단방사선과

Tel. (053) 420-5471 Fax. (053) 422-2677

장용민 외

가지고 있다 (1-2). 최근 거대분자에 상자성 물질을 배위시켜 거대분자량을 갖는 새로운 개념의 조영제에 대한 연구가 활발히 진행되고 있는데 이러한 macromolecular 조영제는 기존의 작은 분자량의 조영제에 비해 몇가지 장점이 예견되고 있다 (3-5). 첫째 장점으로서는 기존의 조영제에 비해 상대적으로 매우 긴 혈관내 반감기를 갖는다는 점이다. 이러한 macromolecular 조영제의 특성은 자기공명혈관조영술에 있어서 매우 중요하다. 기존의 small molecular weight 조영제의 경우 혈관내 반감기가 매우 짧기 때문에 정맥주사후 조영제가 세포외 공간으로 확산되기전 arterial phase에서 급속영상기법을 사용하여 영상을 획득하여야 하고 충분한 혈관 조영효과를 위해서는 보통 2-3배의 용량을 사용하여야 한다. macromolecular 조영제의 경우 혈관내 반감기가 매우 길기 때문에 상대적으로 영상기법상의 어려움이 없고 또한 농도당 자기이완율이 기존의 조영제에 비해 커서 기존의 조영제에 비해 적은 용량을 사용하더라도 같은 조영증강 효과를 나타낼 것으로 기대되고 있다. macromolecular 조영제의 또다른 장점으로서는 조직특이성 조영제로서의 가능성이다. 조직특이성 자기공명조영제에 관한 연구는 small molecular weight 조영제에 친지질성 물질을 부착시켜 조영제의 친지질성

을 높임으로서 세포막을 형성하는 phospholipid bilayer에 친화성을 나타내도록 하는 연구가 주류를 이루고 있으며 이러한 조영제의 예로는 Gd-EOB-DTPA와 Gd-BOPTA등이 있다. 본 연구에서는 약 2000 달톤의 분자량을 갖는 macromolecular 조영제를 개발하여 자기이완 특성 및 조직특이성 조영제로서의 가능성을 탐색하고자 하였다.

대상 및 방법

조영제 합성

상자성 원소의 배위자로 Porphyrin의 합성 유도체인 Phthalocyanine(PC) 물질을 선택하였다. 2.01g(5.2 mmol)의 Phthalocyanine을 0.37g(1.4 mmol)의 Mn chloride와 310°C에서 36시간동안 반응시킨후 혼합물을 크로마토그래피(CHCl3/CH3OH 98/2 v/v, Rf, 0.76)로 정제하여 1.04g (46%)의 MnPC (분자량 2000 dalton)를 얻었다.

NMR 자기이완 특성 측정

MnPC의 자기이완율을 측정하기 위해 MnPC를 0.08% 생

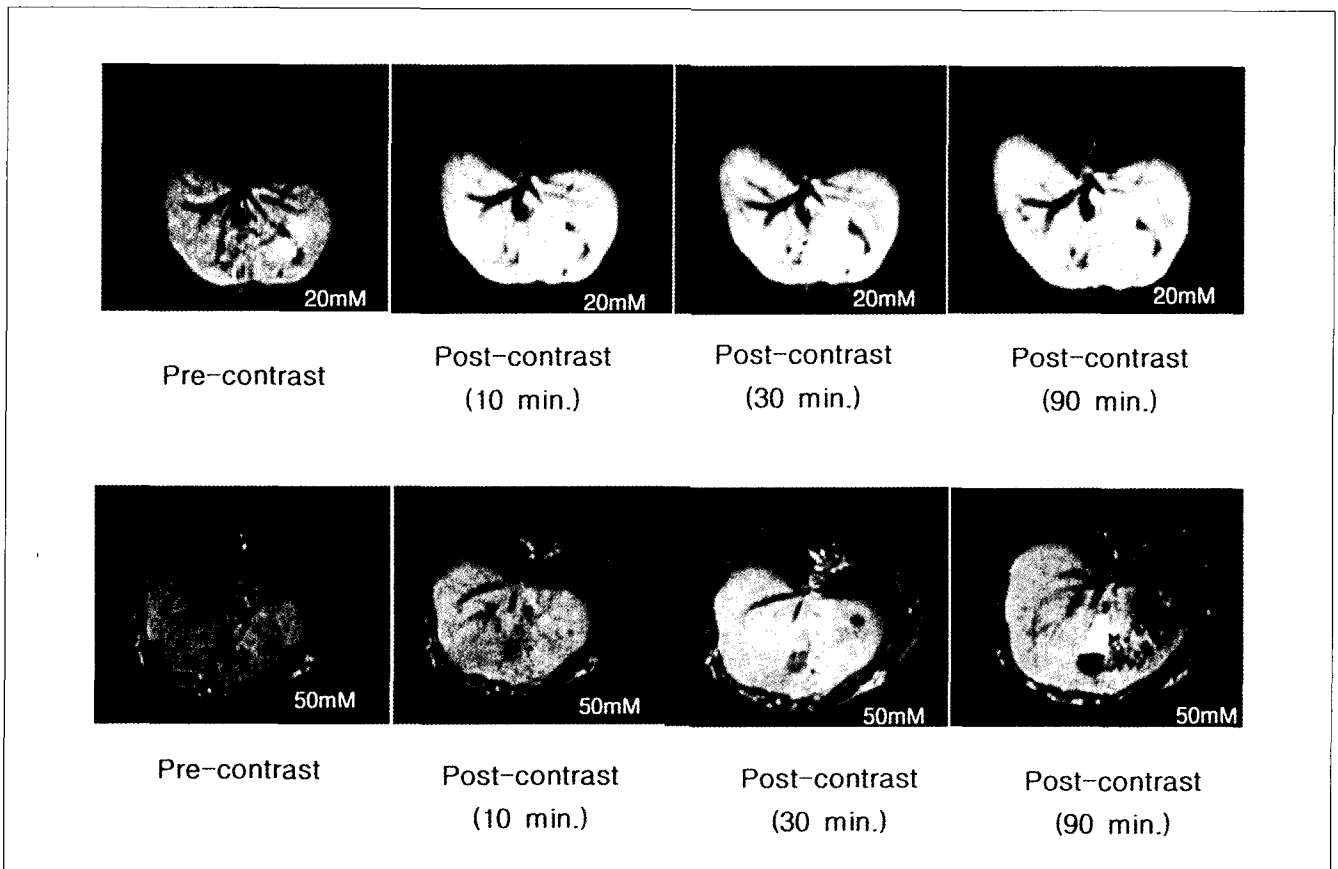


Fig. 1. Spin-echo MR images of rabbit liver with IV administration of MnPC. Due to high T2 relaxation effect of MnPC, the images of 50 mM show less contrast enhancement compared to 20 mM. The excretion through hepatobiliary system is well demonstrated by the enhancement of gall bladder on the delayed image.

리식염수를 사용하여 0.1 mM로 희석시켰으며 1.5T(64 MHz)에서 측정하였다. T1 자기이완시간을 측정하기 위하여 inversion-recovery 펄스열을 사용하였으며 T2 자기이완시간은 CPMG(Carr-Purcell-Meiboon-Gill) 펄스열을 사용하였다.

MR 영상 특성

MnPC를 0.08% 생리식염수를 사용하여 20 mM, 50 mM, 100 mM 농도로 희석하여 사용하였다. 토끼(New zealand white rabbit, female)는 ketamine hydrochloride and (35 mg/kg)과 xylazine(5mg/kg)을 혼합한 용액을 근육주사하여 마취하였으며 MnPC를 토끼의 귀정맥을 통하여 급속 정맥주사후 간 영상을 획득하였다. 모든 영상은 1.5T MRI(Signa, GE Medical, USA)에서 시행하였으며 스핀반향 기법(TR/TE = 500/14 msec)과 경사자장 반향기법중 FLASH 기법(TR/TE = 80/4 msec, flip angle = 60)을 사용하였고 매 10분 간격으로 최고 4시간까지 연속적으로 영상을 획득하였다. 또한 신장을 통한 조영제의 배출 여부를 확인하기 위하여 토끼의 신장 영상을 동일한 방법으로 획득하였다.

결 과

MnPC의 1.5T(64MHz)에서의 자기이완율은 $R1 = 7.28 \text{ mM}^{-1}\text{S}^{-1}$, $R2 = 55.56 \text{ mM}^{-1}\text{S}^{-1}$ 로 여기서 R1은 mM당 $1/T1$ 그리고 R2는 mM당 $1/T2$ 이다. MnPC의 R1, R2값은 small molecular weight 조영제인 Gd-DTPA의 $R1 (= 4.8 \text{ mM}^{-1}\text{S}^{-1})$, $R2 (= 5.2 \text{ mM}^{-1}\text{S}^{-1})$ 값과 비교할 때 T1/T2 자기이완율이 매우 큰 결과를 나타내고 있다. 1.5T에서 MnPC의 영상특성을 알아보기위해 20 mM과 50 mM 농도의 MnPC를 토끼에 급속 정맥주사후 시간별로 획득한 스핀반향 영상과 FLASH 영상은 Fig. 1과 Fig. 2에 나타내었다. 두 기법 모두에서 조영증강은 조영제 주사후 약 10분 정도에 최고치에 달한 후 이러한 조영증강을 약 2시간 정도까지 유지하였다 (Fig. 3). 이러한 간질질의 조영증강형태는 small molecular weight의 간특이성 조영제 들인 Gd-EOB-DTPA, Gd-BOPTA 및 MnDPDP과 비교할 때 MnPC의 경우 조영증강을 유지하는 시간이 훨씬 더 긴 특성을 나타내고 있다. Fig. 1에서 보여지고 있는 바와같이 MnPC의 경우 시간의 경과에 따라 담관을 조영증강시키고 있고 따라

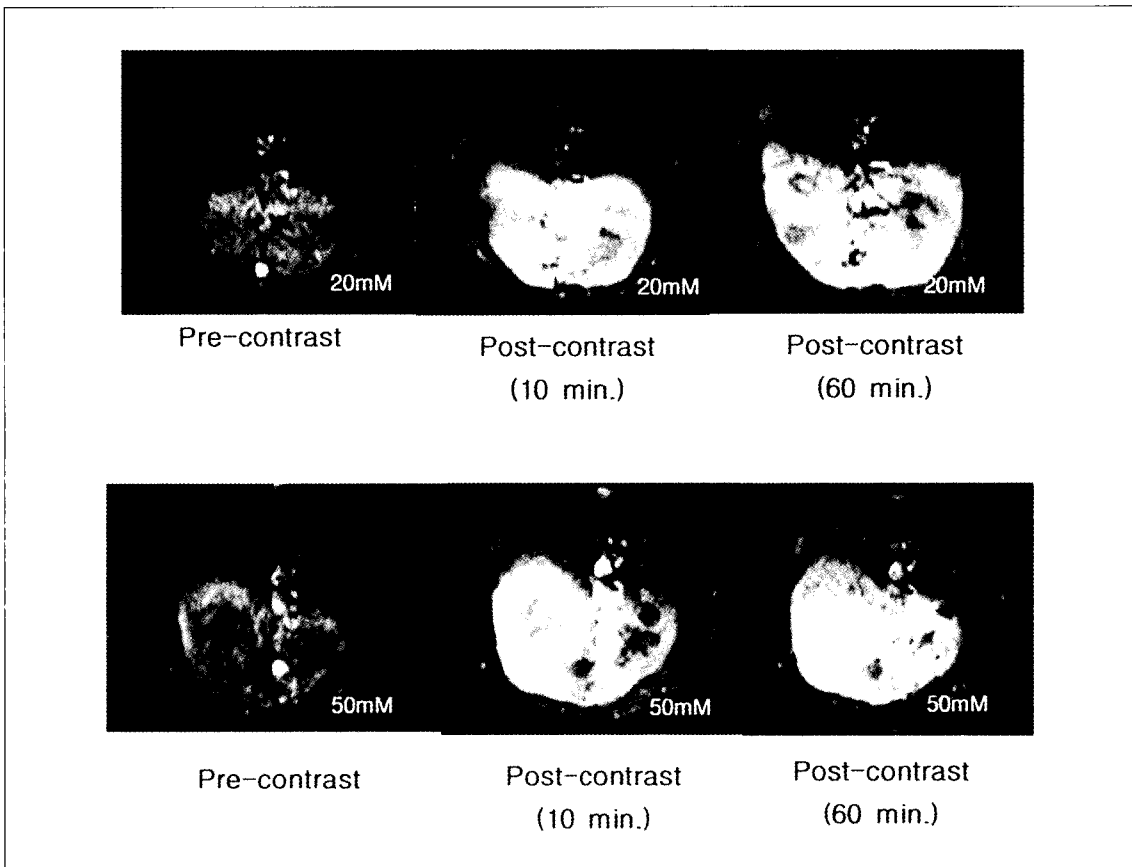


Fig. 2. The FLASH MR images of rabbit liver with IV administration of MnPC. Since FLASH images were acquired with short TE (= 4 msec), the strong T2 relaxation effect of MnPC is minimized and the contrast enhancement is much greater than SE images.

장용민 외

서 간세포에 흡수된 후 담도계를 통하여 배출됨을 확인 함으로써 간특정조영제로서의 성질을 확인 할 수 있었다.

고 찰

본 연구에서 합성한 macromolecular agent인 MnPC는 기존의 small molecular 조영제에 비해 T1/T2 자기이완율이 크고 결과적으로 T1/T2 조영증강 효과가 클 것으로 예상된다. MnPC의 이러한 자기이완특성은 실제 MR영상을 획득할 때 사용하는 펄스열의 파라미터를 선택시 기존의 small molecular 조영제를 사용한 조영증강 영상에 사용되는 파라미터와는 차이가 있을 것으로 여겨진다. 그 이유로는 MnPC의 경우 R2값이 기존의 조영제에 비해 매우 크기 때문에 강한 T2 신호감쇄가 예견되고 따라서 T1강조영상을 획득할 때 사용되는 스핀반향 영상의 경우 최소 반향시간(TE)가 일반적으로 10 -15 msec 이므로 MnPC의 경우 T1 조영증가효과가 강한 T2신호감쇄효과에 의해 일부 상쇄될 가능성이 있다. 이러한 사실은 스핀반향 영상에서 50mM의 MnPC보다 20mM의 MnPC에서 더 강한 T1조영증강이 보여지고 있는(Fig. 1) 반면 TE가 짧은 FLASH 영상에서는 20mM의 MnPC보다 50mM의 MnPC에서 더 강한 T1조영증강이 보여지고 있다(Fig. 2)는 사실에서 잘 나타나고 있다. 한편 MnPC의 R2값이 기존의 조영제에 비해 매우 크다는 사실은 T2강조영상을 획득하는데 사용되는 펄스열의 파라미터를 적절히 변경하는 경우 T1 조영제로서뿐만 아니라 T2 조영제로서의 사용 가능성을 보여주는 것으로 여겨진다. 따라서 실험적 검증을 통해 이러한 가능성이 확인하기 위한 추가적인 연구가 필요할 것으로 판단된다. 현재 개발중인 다른 macromolecular agent들의 경우 기존의 small molecular 조영제인 Gd-DTPA에 macromolecule인 단백질이나 dendrimer를 부착하여 전체적인 분자량을 증가시킴으로써 T1 조영증강효과만을 나타내고 T2 신호감쇄는 Gd-DTPA와 유사한 값을 가지도록 구성하고 있는 반면 본 연구진이 개발

한 MnPC의 경우 chelating agent로서 macromolecule인 Phthalocyanine(PC)를 사용하고 있다기 때문에 강한 T2 이완효과가 나타난 것으로 판단된다.

Gd-EOB-DTPA (6)의 경우 간세포에 흡수되는 기전으로는 albumin mediated active transport 기전이 알려져 있고 MnDPDP (7)의 경우 DPDP의 화학적 구조가 vitamine B6와 유사하여 간세포에 흡수되는 것으로 알려져 있는 반면 MnPC의 경우 간세포막을 통과하여 간세포에 어떻게 흡수되는지에 대한 연구가 추가적으로 필요하다. 담도계를 통한 배출경로 이외에 또다른 배출경로를 확인하기 위해 토끼의 신장에 대한 MR영상 (Fig. 4)을 획득한 결과 시간에 따라 신장의 조영증강

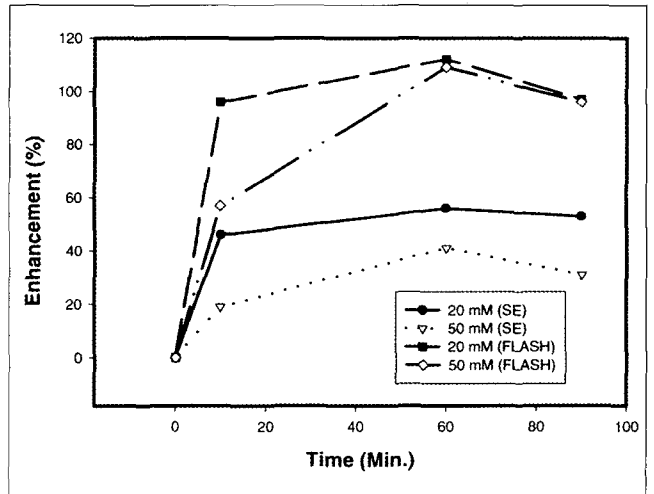


Fig. 3. The contrast enhancement ratios of MnPC. As shown in Fig. 1-2, FLASH images show higher enhancement ratios. For both SE and FLASH images, the enhancement is continued for more than 90 minutes and thus the imaging window is enough for liver examination.

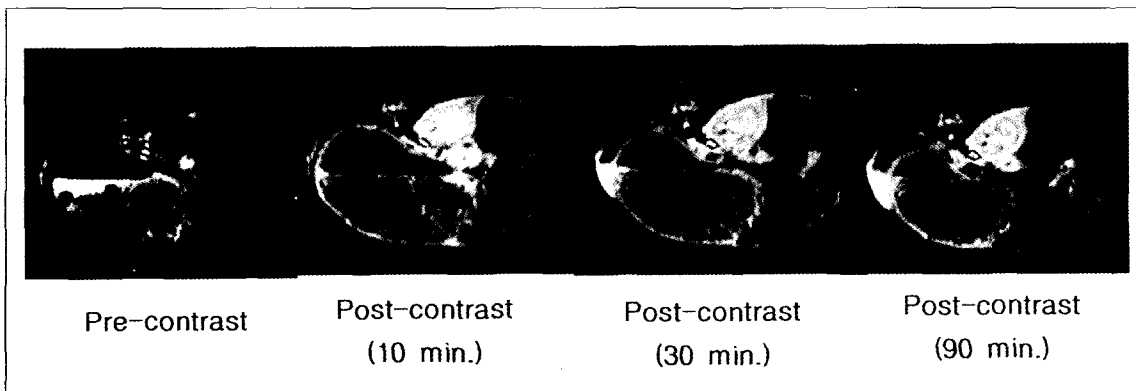


Fig. 4. The time course of rabbit kidney images after MnPC injection. Kidney enhancement at the delayed phase suggests MnPC is also excreted by renal excretion pathway. Therefore, it is believed that the part of MnPC molecules are uptaken by hepatocyte and the rest are filtered by kidney during circulation.

이 일어남을 확인하였고 따라서 MnPC의 경우 담도계 및 신장을 통한 두가지 배출 경로를 가짐을 알 수 있다. 기존의 small molecular weight의 간특이성 조영제들인 Gd-EOB-DTPA, Gd-BOPTA 및 MnDPDP의 경우에도 담도계 및 신장을 통한 두가지 배출 경로를 가진다는 기존의 보고 [8-9]와 비교할 때 MnPC의 경우에도 이들 간특이성 조영제들과 동일한 성질을 가짐을 알 수 있다. 간특이성 조영제들의 이러한 이중 배출경로에 대해서는 조영제의 일부는 간실질에 흡수되는 반면 일부는 혈관내를 순환하는 과정에서 신장에 흡수되어 체외로 배설되는 것으로 설명되고 있다.

현재 macromolecular MR agent들의 개발방향은 몇가지로 분류할 수 있다. 첫째 방향은 기존의 small molecular Gd-chelate에 macromolecule을 비공유적(noncovalent)으로 결합시키는 방법으로 여기에 해당하는 조영제들로는 Gd-BOPTA (Bracco, Milan, Italy)와 Gd-EOB-DTPA(Schering, Germany)등이 있다 (10-12). 이러한 조영제들은 혈액내의 알부민에 가역적으로 약하게 결합하여 간특이성을 나타내면서 또한 알부민과 같은 macromolecule과의 결합에 의해 자기이완율(R1)이 증가하여 세포의 조영제인 Gd-DTPA에 비해서 상대적으로 높은 혈관조영을 나타낸다. 또다른 개발방향은 Gd-chelate에 macromolecule을 공유적(covalent)으로 강하게 결합시키는 방법으로 이때 사용되는 macromolecule은 주로 단백질을 사용한다 (13-14). 여기에 해당하는 조영제로는 MS-325(Epix Medical, Cambridge, USA)로 알부민에 96% 이상 결합되는 것으로 보고되고 있다. macromolecular MR agent의 또다른 개발방향으로는 초상자성 nano-particle을 이용한 USPIO(Ultrasmall Superparamagnetic Iron Oxide)이 있다 (15-17). 산화철의 경우 일반적으로 그 입자 크기가 수십에서 수백 나노미터로 작아지는 경우 초상자성을 나타내는 것으로 알려져 있고 이러한 입자 크기를 수 나노에서 수십나노미터로 작게하는 경우 T2효과뿐만 아니라 낮은 농도로 사용하는 경우 T1효과도 나타나는 것으로 보고되어 MR 혈관 조영제로서의 가능성이 탐색되고 있으며 여기에 해당하는 조영제로는 NC100150(Nycomed, Oslo, Norway)등이 있다. 현재의 이러한 macromolecular MR agent들의 개발방향과 본 연구진에 의한 MnPC를 비교하는 경우 MnPC의 경우 상자성 물질인 Mn을 macromolecule인 Phthalocyanine(PC)에 강하게 공유결합시켰다는 점에서는 MS-325와 유사하지만 강한 T2효과를 나타낸다는 점에서는 USPIO와 비슷한 성질을 가지고 있는 새로운 종류의 macromolecular MR agent 이다.

참 고 문 헌

1. Watson AD, Rocklage SM, Carvlin MJ. Contrast agents. In

Stark DD, Bradley WG, eds. Magnetic Resonance Imaging. 2nd ed. St. Louis: Mosby-Year Book, 1992: 372-437

2. Lauffer RB. Magnetic resonance contrast media: Principles and Progress. Magn Reson Q 1990; 6(2):65-84

3. Mahfouz AE, Hamm B. Contrast agents. MRI Clin North Am 1997;5:223-240

4. Brasch RC. New directions in the development of MR imaging contrast media. Radiology 1992;183:1-11

5. Knopp MV, Tengg-Kobligk H, Floemer F, et al. Contrast Agents for MRA: Future Directions. JMIR 1999;10:314-316

6. Weinmann H, Schuhmann-Giampieri G, et al. A new lipophilic Gadolinium chelate as a tissue specific contrast medium for MRI. Magn Reson Med 1991;22:233-237

7. Lumeng L, Lui A, Li TK. Plasma content of B6 vitamers and its relationship to hepatic vitamine B6 metabolism. J Clin Invest 1980;66:688-695

8. Enochs WS, Weissleder R. Organ- and tissue-directed MRI contrast agents. In RR Edelman, JR Hesselink, MB Zlatkin (eds.), Clinical Magnetic Resonance Imaging, 2nd ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 1996: 192-220

9. Hustvedt SO, Grant D, Southon TE, Zech K. Plasma pharmacokinetics, tissue distribution and excretion of MnDPDP in the rat and dog after intravenous administration. Acta Radiol 1997;38:690-699

10. Spinazzi A, Lorusso V, Pirovano G, Kirchin MA. Safety, tolerance, biodistribution and MR imaging enhancement of the liver with Gd-BOPTA: results of clinical pharmacologic and pilot imaging studies in non-patient and patient volunteers. Acta Radiol 1999;6:282-291

11. Schuhmann-Giampieri G, Schmitt-Willich H, Press WR, et al. Preclinical evaluation of Gd-EOB-DTPA as a contrast agent in MR imaging of the hepatobiliary system. Radiology 1992;183:59-64

12. Schmitz SA, Muller A, Wagner S, Wolf K. Functional hepatobiliary imaging with Gadolinium-EOB-DTPA. Invest Radiol 1996;31:154-160

13. Lauffer RB, Parmelee DJ, Dunham SU, et al. MS-325: albumin-targeted contrast agent for MR angiography. Radiology 1998;207:529-538

14. Grist TM, Korosec FR, Peters DC, et al. Steady-state and dynamic MR angiography with MS-325: initial experience in humans. Radiology 1998;207:539-544

15. Jung CW. Surface properties of superparamagnetic iron oxide MR contrast agents. Magn Reson Imaging 1995;13:675-691.

16. Stillman AE, Wilke N, Li D, Haacke M, McLachlan S. Ultrasmall superparamagnetic iron oxide to enhance MRA of the renal and coronary arteries. J Comput Assist Tomogr 1996;20:51-55

17. Anzai Y, McLachlan S, Morris M, Saxton R, Lufkin RB. Dextran-coated superparamagnetic iron oxide, an MR contrast agent for assessing lymph nodes in the head and neck. AJNR Am J Neuroradiol 1994;15:87-94

The Synthesis and MR Properties of New Macromolecular MR Contrast Agent

Yongmin Chang^{1,3}, Young-Hwan Chang², Moon-Jung Hwang³, Hyun-Jung Park⁴,
Kyungnyeo Jeon¹, Jongmin Lee¹, Kyungsoo Bae¹, Bong-Seok Kang⁵

¹Department of Diagnostic Radiology, College of Medicine, Kyungpook National University and Hospital

²Department of Chemistry, KAIST

³Department of Biomedical Engineering, Kyungpook National University

⁴Department of Veterinary Medicine, College of Veterinary Medicine, Kyungpook National University

⁵The Biomedical Research Institute, Kyungpook National University Hospital

Purpose : To evaluate the NMR relaxation properties and imaging characteristics of tissue-specificity for a newly developed macromolecular MR agent.

Materials and methods : Phthalocyanine (PC) was chelated with paramagnetic ion, Mn. 2.01g (5.2 mmol) of Phthalocyanine was mixed with 0.37g (1.4 mmol) of Mn chloride at 310°C for 36 hours and then purified by chromatography (CHCl₃/CH₃OH 98/2 v/v, R_f, 0.76) to obtain 1.04g (46%) of MnPC (molecular weight = 2000d). The T₁/T₂ relaxivity of MnPC was measured in 1.5T(64 MHz) MR using 0.1 mM MnPC. The MR image characteristics of MnPC was evaluated using spin-echo (TR/TE = 500/14 msec) and gradient-echo (FLASH) (TR/TE = 80/4 msec, flip angle = 60) techniques in 1.5T MR scanner. The images of rabbit liver were obtained every 10 minutes up to 4 hours. To study the effect of concentration on image, 20 mM, 50 mM, 100 mM of MnPC were tested.

Results : The relaxivities of MnPC at 1.5T (64MHz) were R₁ = 7.28 mM⁻¹S⁻¹, R₂ = 55.56 mM⁻¹S⁻¹. Compared to the values of Gd-DTPA (R₁[= 4.8 mM⁻¹S⁻¹], R₂[= 5.2 mM⁻¹S⁻¹]), both T₁/T₂ relaxivities of MnPC were higher than those of Gd-DTPA. For both of SE and FLASH techniques, the contrast enhancement reached maximum at 10 minutes after bolus injection and the enhancement continued for more than 2 hours. When compared with small molecular weight liver agents such as Gd-EOB-DTPA, Gd-BOPTA and MnDPDP, MnPC was characterized by more prolonged enhancement time. The time course of MR images also revealed biliary excretion of MnPC.

Conclusion : We developed a new macromolecular MR agent, MnPC. The relaxivities of MnPC were higher than those of small molecular weight Gd-chelate. Hepatic uptake and biliary excretion of MnPC suggests that this agent is a new liver-specific MR agent.

Index words : Contrast Agent
Liver, Relaxation
Paramagnetism
Macromolecule

Address reprint requests to : Yongmin Chang, Ph.D., Department of Diagnostic Radiology, College of Medicine, Kyungpook National University and Hospital, 50 Samduk-dong, Taegu 700-412, Korea.
Tel. 82-53-420-5471 Fax. 82-53-422-2677