

[¹¹C]6-OH-BTA-1 조제 시 생성되는 부산물 규명과 반응용매에 따른 표지 효율 비교

서울대학교 의과대학 핵의학교실¹, 서울대학교병원 임상의학연구소², 서울대학교 의과대학 암 연구소³
이학정 · 정재민 · 이윤상 · 김형우 · 이은경 · 이동수 · 정준기 · 이명철

Radiosynthesis of [¹¹C]6-OH-BTA-1 in Different Media and Confirmation of Reaction By-products.

Hak Jeong Lee, M.D.^{1,2}, Jae Min Jeong, M.D.^{1,2,3}, Yun-Sang Lee, M.D.^{1,2}, Hyung Woo Kim, M.D.^{1,3}, Eun-Kyoung Lee, M.D.², Dong Soo Lee, M.D.¹, June-Key Chung, M.D.^{1,3}, and Myung Chul Lee, M.D.^{1,2}

¹Department of Nuclear Medicine, Seoul National University College of Medicine, Seoul, Korea; ²Clinical Research Institute, Seoul National University Hospital, Seoul, Korea; ³Cancer Research Institute, Seoul National University College of Medicine, Seoul, Korea

Purpose: [¹¹C]6-OH-BTA-1 (*N*-methyl-¹¹C]2-(4'-methylaminophenyl)-6-hydroxybenzothiazole, **1**), a β -amyloid imaging agent for the diagnosis of Alzheimer's disease in PET, can be labeled with higher yield by a simple loop method. During the synthesis of [¹¹C]**1**, we found the formation of by-products in various solvents, e.g., methylethylketone (MEK), cyclohexanone (CHO), diethylketone (DEK), and dimethylformamide (DMF). **Materials and Methods:** In Automated radiosynthesis module, 1 mg of 4-aminophenyl-6-hydroxybenzothiazole (**4**) in 100 μ l of each solvent was reacted with [¹¹C]methyl triflate in HPLC loop at room temperature (RT). The reaction mixture was separated by semi-preparative HPLC. Aliquots eluted at 14.4, 16.3 and 17.6 min were collected and analyzed by analytical HPLC and LC/MS spectrometer. **Results:** The labeling efficiencies of [¹¹C]**1** were 86.0 \pm 5.5%, 59.7 \pm 2.4%, 29.9 \pm 1.8%, and 7.6 \pm 0.5% in MEK, CHO, DEK and DMF, respectively. The LC/MS spectra of three products eluted at 14.4, 16.3 and 17.6 mins showed m/z peaks at 257.3 (M+1), 257.3 (M+1) and 271.3 (M+1), respectively, indicating their structures as **1**, 2-(4'-aminophenyl)-6-methoxybenzothiazole (**2**) and by-product (**3**), respectively. Ratios of labeling efficiencies for the three products ([¹¹C]**1**: [¹¹C]**2**: [¹¹C]**3**) were 86.0 \pm 5.5%:5.0 \pm 3.4%:1.5 \pm 1.3% in MEK, 59.7 \pm 2.4%:4.7 \pm 3.2%:1.3 \pm 0.5% in CHO, 9.9 \pm 1.8%:2.0 \pm 0.7%:0.3 \pm 0.1% in DEK and 7.6 \pm 0.5%:0.0%:0.0% in DMF, respectively. **Conclusion:** The labeling efficiency of [¹¹C]**1** was the highest when MEK was used as a reaction solvent. As results of mass spectrometry, **1** and **2** were conformed. **3** was presumed. (Nucl Med Mol Imaging 2007;41(3):241-246)

Key Words: Alzheimer's disease, PIB, PET, by-product, [¹¹C]methyl triflate, [¹¹C]6-OH-BTA-1, loop method, β -amyloid plaque

서 론

알츠하이머병(Alzheimer's disease, AD)은 뇌 속에 아밀로이드 플라크와 Neurofibrillary tangles (NFTs)가 부분적으로 많이 존재하는 질병이다.¹⁻³⁾ 아밀로이드 플라크는 주로 베타아밀로이드(A β) 펩타이드 섬유로 이루어져 있다. 반면 NFTs는 주로 과인산화 된 타우 단백질의 미세섬유로 되어

있다. 뇌 속에 아밀로이드가 축적된 것을 확인 할 수 있는 추적자를 이용하면 AD을 진단하고, 현재 개발 중인 항 아밀로이드 치료제의 평가도 할 수 있을 것이다.⁴⁻⁸⁾ 최근 Thioflavin-T 유도체 계열의 방사성동위원소 표지 추적자가 양전자단층촬영(positron emission tomography, PET)을 이용한 AD 영상용 의약품으로 기대되고 있다.⁹⁻¹²⁾ Thioflavin-T 유도체 중에서도 특히 [*N*-methyl-¹¹C]2-(4'-methylaminophenyl)-6-hydroxybenzothiazole([¹¹C]6-OH-BTA-1, **1**)에 많은 기대가 되고 있다.¹²⁾ 중증 AD 환자들을 사후 부검하여 얻은 전두엽의 균질액에서 [¹¹C]**1**이 높은 친화력(K_d=1.4 nmol/L)으로 단일한 위치에 결합되는 것이 보고되었다.¹²⁾ [¹¹C]**1**는 AD의 모델로 된 형질전환 마우스에 정맥주사 한

- Received: 2007. 3. 2. • Accepted: 2007. 4. 17.
- Address for reprints: Jae Min Jeong, Ph.D., Department of Nuclear Medicine, Seoul National University College of Medicine, 28 Yungun-dong, Jongno-gu, Seoul 110-744, Korea. Tel: 82-2-2072-3805, Fax: 82-2-745-7690 E-mail: jmjng@snu.ac.kr

후 3분 이내에 Aβ 플라크에 결합하고 정상 뇌 조직에서는 빠르게 씻겨나가는 것이 실시간 체내 다중광자현미경으로 관찰되었다.¹³⁾ 또한 [¹¹C]1은 이미 여러 가지의 체내와 체외 분석에 의해서 방사성 추적자로서 가능성이 평가되었고, 최근 AD에 대한 임상 PET 연구를 통해서 뇌 속의 아밀로이드 축적 영상이 보고되었다.^{10-12,14-16)} 경증 AD 환자 16명과 9명의 건강한 대조군에 [¹¹C]1을 사용한 첫 번째 임상 연구에서 AD 환자와 건강한 대조군은 [¹¹C]1의 분포 양상에 차이가 있었고,¹⁴⁾ 그 결과는 재현성이 있었다.¹⁷⁾ 대조군과 비교해서 AD 환자들은 일반적으로 많은 양의 아밀로이드가 축적되어 있는 것으로 알려진 대뇌피질에 [¹¹C]1의 축적이 2~3배 증가하는 것을 보였다. 소뇌와 같이 Aβ 축적이 상대적으로 낮은 부위에는 AD 환자와 대조군에서 같은 축적을 보였다. 한편, 4에 ¹¹C동위원소 표지반응을 위하여 [¹¹C]CH₃I를 사용할 경우 10-20%의 낮은 방사화학적 수율을 보였다.¹²⁾ Phenolic hydroxyl group의 methylation를 피하기 위해 [¹¹C]1의 표지반응에서 제거에 시간을 소비하는 protecting group이 필요하다는 보고가 있었다.¹⁸⁾ 하지만 높은 반응성을 갖는 methylation 치환체인 [¹¹C]trifluoromethanesulfonate ([¹¹C]methyl triflate, [¹¹C]MeOTf)를 이용함으로써 효과적인 표지반응을 가능하게 했다.¹⁸⁾ 게다가 루프 방법을 이용함으로써 더욱 직접적이고 간단한 [¹¹C]1의 표지반응이 가능해졌다.^{19,20)} [¹¹C]MeOTf의 사용과 함께 aniline nitrogen이 보호되지 않은 전구물질 4를 직접 표지 한 결과 [¹¹C]1의 표지효율을 높였고 불필요한 부산물 [¹¹C]2이 만들어졌다.¹⁸⁾ 이 논문에서는 다른 부산물인 [¹¹C]3의 발견과 각 반응용매에서의 [¹¹C]1과 부산물의 표지효율의 비교를 기술하였다. (Fig. 1)

재료 및 방법

1. 기기 및 시약

1과 [¹¹C]1의 전구물질인 4는 ABX advanced biochemical compounds, Germany, www.abx.de)에서 구입하였다. LC/MS spectra는 API-3000 Spectrometer (Applied Biosystems, Foster city, CA, U.S.A)를 이용하였다. 방사능을 측정하기 위한 Dose calibrator는 Atomlab 100 (Biodex, New York, NY, U.S.A)을 이용하였다. [¹¹C]MeOTf 자동합성장치 자체 제작하여 사용하였다. [¹¹C]1의 정제를 위해 Semi-preparative High Performance Liquid Chromatography (HPLC) (Bio-Rad, model 2800, Hercules, CA, U.S.A.; Waters Xterra RP-8, 10 * 250 mm, 10 m, Waters, Milford, Ma, U.S.A.; Gradient EtOH 35-85% in 0.1 M NaH₂PO₄)와

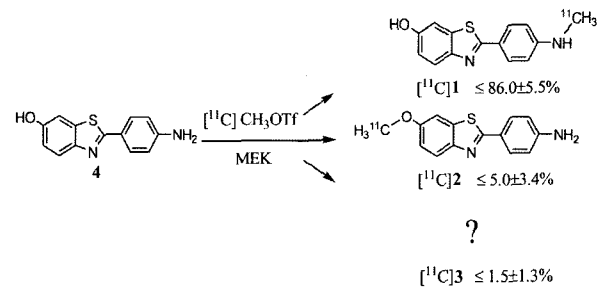


Fig. 1. Radiolabeling reactions with [¹¹C]CH₃OTf in MEK at RT provided [¹¹C]1, [¹¹C]2, and [¹¹C]3. Ratios of labeling efficiency for the three products in MEK were 86.0±5.5%, 5.0±3.4%, and 1.5±1.3% as [¹¹C]1, [¹¹C]2, and [¹¹C]3, respectively.

분석을 위해 Analytical HPLC (Bio-Rad, model 2800, Hercules, CA, U.S.A.; C₁₈ HL A/B, 4.6 * 150 mm, 5 m, Waters.; Gradient MeCN 40-90% in 0.01 M HCO₂NH₄)을 사용하였다. [¹¹C]CO₂은 TR13사이클로트론(Ebco Technologies, Vancouver, Canada)를 이용하여 N₂ (≥99.9999%)로 부터 ¹⁴N(p, α)¹¹C 반응과 미량의 O₂로 부터 생산되었다. 이외의 명시되어 있지 않은 시약이나 용매들은 Aldrich, Fluka, 또는 Sigma (Milwaukee, WI, USA)에서 구입하여 더 이상의 정제 없이 사용하였다.

2. AgOTf-Graphpac GC 및 [¹¹C]MeOTf 제조 컬럼의 제작

문헌에 보고된 내용을 약간 수정하여 만들었다.²¹⁾ Silver triflate가 빛에 민감하기 때문에 빛을 차단하고 건조한 환경에서 작업하였다. Silver triflate (Aldrich) 1.5 g을 100ml 등근바닥 플라스크에 담고 EtOH 20 ml에 녹였다. Graphpac GC, 100 mesh (Alltech) 3.0 g을 플라스크에 조금씩 넣어주었다. 플라스크를 30분 동안 교반기로 섞어 준 후 감압 증류기로 농축했다. 플라스크에 Sea sand (15-20 mesh) 4.5 g을 첨가한 후 잘 섞어 주었다. 진공 펌프를 이용해서 건조 시켜 준 후 알루미늄 호일에 싸서 보관 하였다. Pyrex tube (6 mm o.d. × 23 cm)를 한 쪽 끝에서 13 cm되는 부위에 불로 가열 하여 못으로 3개의 작은 홈을 찍어서 만들었다. 이때 홈의 외경(o.d.)이 4 mm가 되게 하였다. Pyrex tube의 긴 쪽 방향 안쪽을 glass wool로 막았다. 같은 방향으로 AgOTf가 혼합된 Graphpac GC 약 600 mg (2.5 cm)를 집어 넣은 뒤 glass wool로 다시 막았다. 길이 18 cm와 외경(o.d.)이 2.5 cm되는 알루미늄 블록에 6.3 mm 내경(i.d.)을 갖는 구멍을 내고 양 옆에 작은 cartridge heater를 심었다. 반응 시 AgOTf와 혼합된 Graphpac GC가 든 pyrex tube를 알루미늄 블록에 넣고 N₂(gas)로 충전하여 공기를 제거한 후 사용

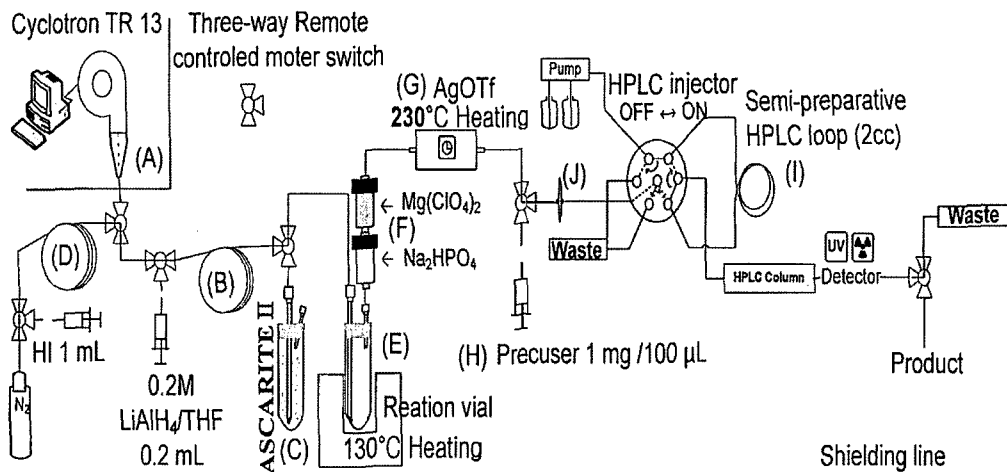


Fig. 2. [^{11}C]1 was generated by Loop method for automatic synthesis with [^{11}C]CH₃OTf. Each reagent had been injected before Cyclotron was operated. The reaction mixture was carried by N₂ (99.999%). Internal Three-way remote control switches were operated by program of an external Computer. [^{11}C]CO₂ was produced by TR13 cyclotron (A). 0.2 M LiAlH₄ in 0.2 ml of THF was injected at a stainless steel loop (B). [^{11}C]CO₂ was reduced with LiAlH₄. Impurities were passed through the loop and Unreduced [^{11}C]CO₂ were captured in 7 ml vacuum vial including 4 g of ASCARITE II (ALDRICH) (C). After that, 1 ml of HI (D) was injected to produce [^{11}C]methyl iodide and rinse the reaction mixture into a reaction vial (E). The reaction mixture was heated to 130°C. Vaporized [^{11}C]methyl iodide was pass through Na₂HPO₄ anhydrous and Mg(ClO₄)₂ packed into each vacant Sep-Pak Cartridges (F). [^{11}C]methyl iodide was passed through the AgOTf-Graphpac GC column (G) heated at 200C, affording [^{11}C]MeOTf. The precursor solution (1 mg in 100 μ L of the four captive solvents)(H) was preloaded into a stainless steel loop (2 cc) of semi-preparative HPLC (I), which was then flushed with N₂. [^{11}C]MeOTf was blown (N₂ sweep flow of 25 ml/min) into a solution of the precursor in the loop at RT. A sterilizing filter (J) was set up at an injection port of HPLC. After 1 min, the reaction mixture was injected into a HPLC column, eluted at a flow rate of 4 ml/min and purified by semi-preparative HPLC.

하였다. 외부는 Teflon으로 틀을 만들어 열로부터 보호하였다.²¹⁾

3. [^{11}C]CO₂에서 [^{11}C]MeOTf 합성

[^{11}C]CO₂은 TR13 사이클로트론으로 동위원소 생산을 위해 양성자 에너지는 13 MeV로 티타늄 입사 창을 통과 하고 난 후 표적물질인 질소기체 ($\geq 99.9999\%$)에 양성자를 조사 하여 $^{14}\text{N}(p,\alpha)^{11}\text{C}$ 핵반응과 미량의 O₂로부터 생산되었다. 13 MeV 양성자를 10분간 조사하였다. 표적기체의 압력은 480 psi이었다. [^{11}C]CH₃I는 이미 알려져 있는 LAH와 HI를 사용한 방법으로 생산하였다.²²⁾ Reaction vial에 생성된 bp (boiling point) 42.5°C인 [^{11}C]CH₃I를 증발시킨 뒤 질소기체 (99.999%) 20 ml/min로 불어서 Mg(ClO₄)₂와 Na₂HPO₄를 채운 카트리지를 통과시켰다. 23°C로 달궂힌 AgOTf-Graphpac GC column을 통과시켜 [^{11}C]MeOTf로 전환하였다.²²⁾ (Fig. 2)

4. Loop method를 통한 [^{11}C]6-OH-BTA-1의 표지 반응

전구물질인 4의 1 mg (4.13 mole)을 반응용매(MEK,

DEK, CHO, or DMF) 0.1 ml에 녹여 semi-preparative HPLC의 stainless steel 루프 (2 cc)에 미리 주입해두었다. 질소 기체 (99.999%)를 20 ml/min로 불어 [^{11}C]MeOTf를 stainless steel 루프에 7분 동안 흘려 보낸 뒤 HPLC에 주입 하였다. semi-prep HPLC는 역상 column Waters Xterra RP8 (i.d 10×250 mm)을 사용했다. 용매는 40분 동안 HPLC의 gradient program을 이용해 EtOH 35-85% / 0.1 M NaH₂PO₄의 조성으로 4 ml/min를 흘려주었다. semi-prep HPLC에 loading할 때는 Injection port에 무균 필터를 장착 해 통과시켰다. 각각의 세가지 화합물의 HPLC에서 RI와UV 피크의 머무름 시간은 [^{11}C]1이 13.58분, [^{11}C]2 가 15.62분, [^{11}C]3이 16.66분 이었다. 분리한 [^{11}C]1은 Analytical HPLC(Bio-Rad 2800)로 1의 표준물질을 이용해서 물질 확인을 할 수 있었다. 부산물은 방사능 붕괴 후 LC/MS 분광 스펙트럼을 이용해서 물질의 분자량을 확인하였다. [^{11}C]1의 비방사능은 semi-prep HPLC에서 회수한 [^{11}C]1의 용액의 부피를 측정하고 Dose calibrator로 방사선의 양을 측정하고 [^{11}C]1용액을 analytical HPLC에 주입하여 얻은 피크의 면적과 물 수를 알고 있는 표준물질으로 얻은 피크의 면적으로 만든 표준검량곡선과 비교하여 [^{11}C]1의 비방사능을 측정하

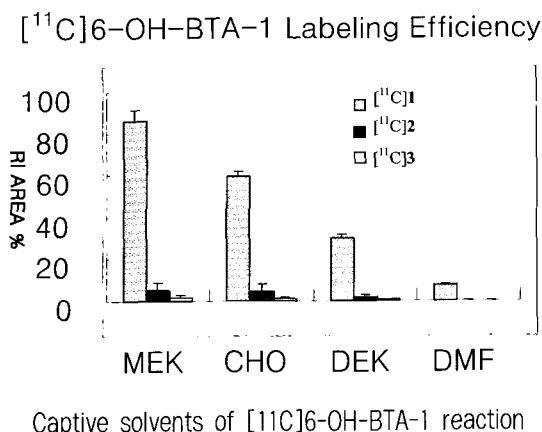


Fig. 3. Labeling efficiency for [¹¹C]1, [¹¹C]2, and [¹¹C]3. MEK (Methyl ethyl ketone), CHO (Cyclohexanone), DEK (Diethyl ketone), and DMF (N,N-dimethylformamide) were used for a reaction solvent. (n=3)

였다. [¹¹C]1의 주사제는 semi-prep HPLC에서 회수한 EtOH 60% / 0.1M NaH₂PO₄인 수용액 ≤1 ml 에 녹아있는 [¹¹C]1 를 무균 필터를 통해 멸균된 최종 Vial에 받아 주사 용수로 ≤10배로 희석하여 만들었다.

결 과

1. 반응 용매

[¹¹C]1과 부산물의 표지효율에 대한 각 네 가지 반응용매의 영향은 Fig. 3에 정리하였다. [¹¹C]methyl iodide를 통한 [¹¹C]1의 표지반응은 극성 비양성자성 용매로서 DMSO (Dimethylsulfoxide)를 첫 번째 용매로 시도하였지만 DMSO는 매우 낮은 효율을 주었다. 또한, [¹¹C]methyl triflate대해 주로 사용되는 용매는 acetone도 시도하였지만, Acetone은 loop method 적용하기엔 증발속도가 너무 빨랐다.^{18,20)} 그래서, 증발이 적은 ketone 계열로 MEK, CHO, DEK 와 DMF의 네 가지 용매를 선정하였다. 네 가지 용매 중 MEK는 이미 보고된바 있다.¹⁹⁾ 각각의 용매에서 [¹¹C]1, [¹¹C]2, [¹¹C]3의 표지효율의 변화를 조사한 결과 [¹¹C]1의 표지효율은 MEK, CHO, DEK, DMF에서 각각 86.0±5.5%, 59.7±2.4%, 29.9±1.8%, 7.6±0.5%이었다.(Fig. 3) 각 반응 용매 중에서 MEK가 루프방법에서 가장 높은 표지효율을 나타냈다.

2. 자동화 표지반응

자동 [¹¹C]MeOTf 합성장치는 신뢰성 있고 효율적인 생산을 위하여 원격제어를 할 수 있는 모듈로 제작하였다. 생산된 [¹¹C]MeOTf는 각 네 가지 용매(MEK, CHO, DEK,

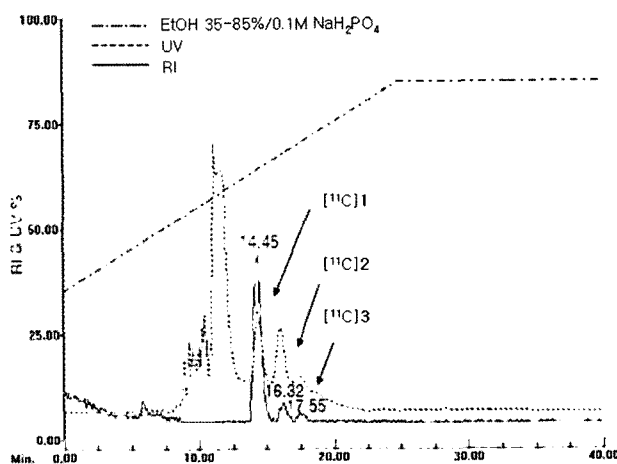


Fig. 4. It was a Semi-preparative HPLC chromatogram of the purification of [¹¹C]1 in MEK. Reverse-phase column was used by Waters Xterra RP8 (I.d 10×250 mm). mobile-phase solvents (Gradient EtOH 35-85% /0.1 M NaH₂PO₄) was flowed by 4 ml/min. Aliquots eluted at 14.4, 16.3, and 17.6 mins were collected as [¹¹C]1, [¹¹C]2, and [¹¹C]3, respectively.

DMF)속에 녹인 전구물질 1 mg을 채운 루프 안을 통과시켰다. 그 후, 20°C에서 1분 동안 표지반응을 하였다. 그 다음 [¹¹C]1의 정제는 semi-prep HPLC를 이용하였다. HPLC정제와 모든 과정(EOB)은 24±2분 동안 실행하였다. 양성자 빔을 10 분 동안 조사한 후 MEK 용매를 사용하여 [¹¹C]1를 297±19 MBq 생산하였다. Analytical HPLC를 이용한 [¹¹C]1의 정도관리결과 순도가 98%이상이고, 비방사능은 9 ±8 (GBq/μ mol) (EOS)이었다. (Table. 1)

3. 정제

반응 혼합물은 정제를 위해 semi-prep HPLC의 역상 column 에 loading 되었다. [¹¹C]1, [¹¹C]2, [¹¹C]3은 각각 14.4, 16.3, 17.6 분에 포집 할 수 있었다.(Fig. 4) [¹¹C]2 과 [¹¹C]3의 표지효율은 각 용매에서 8.3%와 2.5% 이하였다. 두 부산물 또한 semi-prep HPLC를 통한 정제 과정에서 쉽게 제거할 수 있었다. 네 가지 용매 속에서 세 개의 생성물질의 표지효율은 MEK에서 각각 86.0±5.5%: 5.0±3.4%: 1.5 ±1.3% ([¹¹C]1: [¹¹C]2: [¹¹C]3), CHO에서 59.7±2.4%: 4.7±3.2%: 1.3±0.5%, DEK에서 29.9±1.8%:2.0±0.7%:0.3 ±0.1%, DMF에서 7.6±0.5%:0.0%:0.0%이었다.

4. 물질 확인

Semi-prep HPLC에서 14.4, 16.3, 17.6 분에 포집 된 세 개의 물질의 질량 분광스펙트럼은 각각 1 (256.3 Mol. Wt.), 2 (256.3 M.W.), 3 (270.3 M.W.)을 나타내는 m/z 257.3 (M+1), 257.3 (M+1), 271.3 (M+1) 이었다.(Fig. 5) 부산물

Table 1. Synthesis Data and Production Yields for [¹¹C]6-OH-BTA-1 in MEK

Number of experiments	≥3
Reaction parameters	1 min, 20°C
Radiochemical yield	86±5.5%
Absolute yield of final radiopharmaceutical product solution	297±19 MBq
Synthesis time	24±2 min (EOB)
Radiochemical purity	> 98%
Specific activity	9±8 (GBq/μmol)

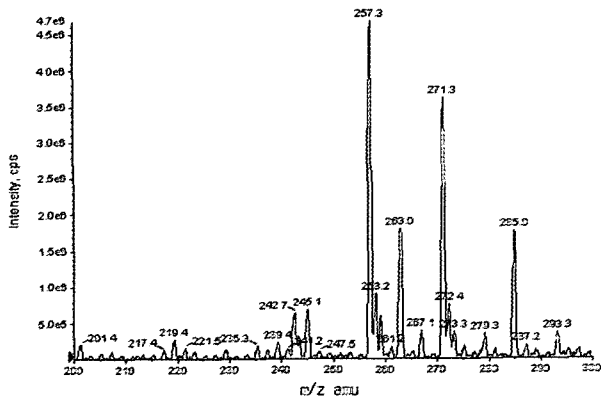


Fig. 5. It was a LC/MS spectrum of two by-products after the Radiosynthesis of [¹¹C]1. Scan 257.3 m/z (M+1) was pointed out a 256.3 molecular weight of **2**. Scan 271.3 m/z (M+1) was pointed out a 270.3 molecular weight of **3**.

3의 LC/MS 분광스펙트럼의 m/z 271.3 (M+1)은 2-(4'-methylaminophenyl)-6-methoxybenzothiazole (270.3 M.W.)과 2-(4'-dimethylaminophenyl)-6-hydroxybenzothiazole (270.3 M.W.) 둘 중 하나로 추정할 수 있다. 그러나, 2-(4'-methylaminophenyl)-6-methoxybenzothiazole은 [¹¹C]MeOTf에서 N-alkylation이 O-alkylation 보다 우세하기 때문에 거의 생성되지 않을 것이다.¹⁹⁾ 또한, 아민의 반응은 한 번 알킬화된 후에 깨끗하게 반응이 끝나지 않는다. 이는 일차, 이차 및 삼차 아민 모두가 반응성이 비슷하므로 일단 생성된 알킬아민은 더욱 반응하여 부산물을 형성한다. 그러므로, 부산물인 2-(4'-dimethylaminophenyl)-6-hydroxybenzothiazole은 [¹¹C]MeOTf에 의해서 1,2차 N-alkylation 반응으로 생성되었을 것으로 추정할 수 있다.

고찰

AD 환자의 진단을 위한 A를 영상화하는데 필요한 새로운 방사성 추적자들이 합성되었다. 그 중 뇌혈관장벽을 통과하기 위해 고안된 극성이 없고 지용성인 [¹¹C]1이 유용한 결과를 보였다.⁹⁻¹²⁾ 자동화 [¹¹C]MeOTf 합성장치를 이용한 루프 합성방법의 개발은 용이한 합성, 높은 표지효율과 높은

비방사능을 가진 합성으로 임상 사용을 유용하게 하였다.^{18,19)} 우리는 루프 합성방법을 이용해서 실험하던 중 보고된 [¹¹C]2와 함께 [¹¹C]3을 발견하여 이를 추정하였고 다른 용매에서 [¹¹C]1과 부산물에 대한 표지효율을 비교하였다. 이 연구결과 [¹¹C]1표지를 MEK, CHO, DEK, DMF의 반응 용매에서 비교해본 결과 MEK 반응용매가 가장 효율이 좋았다. 또한, [¹¹C]1표지반응의 전구물질인 **4**가 [¹¹C]MeOTf 의해서 1,2차 alkylation 반응으로 진행해 [¹¹C]3이 생성할 수 있다고 추정할 수 있었다. [¹¹C]1의 비방사능은 사이클로트론에서 ¹⁴N(p,^α)¹¹C 반응할 때 사용되는 표적기체가 ¹⁴N (99.9999%)이지만 0.0001%이내의 미량의 CO₂가 존재하여 생성되는 ¹¹C에 대해 적지 않은 양이어서 비교적 낮은 비방사능을 갖는 원인으로 추정한다.

요약

목적: 베타아밀로이드 양전자단층촬영 영상 추적자인 [¹¹C]OH-BTA-1(**1**)는 알츠하이머병의 진단용으로 개발되었다. 반응용매 루프 방법에 의한 [¹¹C]1은 [¹¹C]MeOTf를 통해서 한번의 반응으로 ¹¹C을 바로 표지 할 수 있다. 또한 반응 중에 [¹¹C]2가 생긴다는 것이 보고된바 있다. 하지만, 실험 중에 다른 부산물이 생기는 것이 발견되어 그 물질을 추정하고, 각 반응용매에 따른 [¹¹C]1과 부산물의 표지효율 변화에 대한 조사를 했다. **대상 및 방법:** 사이클로트론에서 ¹⁴N(p,^α)¹¹C 핵반응과 미량의 O₂로 부터 의하여 생산되는 [¹¹C]CO₂를 0.2 M LiAlH₄/THF 0.2 ml로 환원한 다음 HI 1 ml과 반응하여 [¹¹C]CH₃I를 생산했다. 질소가스를 20 ml/min로 불어 주면서 200C 에서 AgOTf-Graphpac GC column를 통과시켜 [¹¹C]CH₃OTf를 생산했다. 각 반응용매 (MEK, CHO, DEK, DMF) 100 l에 녹인 전구물질 1 mg를 고성능 액체 크로마토그래피 시료 루프에 미리 주입하고 [¹¹C]CH₃OTf를 상온에서 7분 동안 질소가스를 불어줬다. Semi-preparative HPLC로 분리하였다. **결과:** 각 반응용매에서 [¹¹C]1에 표지효율은 MEK: 86.0±5.5%, CHO: 59.7±2.4%, DEK: 29.9±1.8%, DMF: 7.6±0.5%이었다. MEK에서 얻은 [¹¹C]1의 비방사능은 98 (GBq/μ mol)이다. 각 물질

의 질량 분석은 1: m/z 257.3 (M+1), 2: 257.3 (M+1), 3: 271.3 (M+1)이었다. 각 생물물질의 표지효율은 MEK에서 86.0±5.5%:5.0±3.4%:1.5±1.3% ([¹¹C]1:[¹¹C]2:[¹¹C]3), CHO에서 59.7±2.4%:4.7±3.2%:1.3±0.5%, DEK에서 29.9±1.8%:2.0±0.7%:0.3±0.1%, DMF에서 7.6±0.5%:0.0%:0.0%이다. 결론: [¹¹C]1은 4가지 반응용매 중 MEK 반응용매에서 가장 높은 표지효율을 나타냈다. 부산물인 [¹¹C]3은 고성능 액체 크로마토그래피의 자외선, 방사능 검출기와 질량 분석법을 통해 물질을 추정할 수 있었다.

Acknowledgement

기술적인 부분에서 많은 도움을 주신 서울대학교 병원 핵의학과 조용현, 박광서 선생님께 감사드립니다.

References

- Braak H, Braak E. Neuropathological staging of Alzheimer-related changes. *Acta Neuropathol* 1991;82:239-59.
- Mirra SS, Heyman A, McKeel D, Sumi SM, Crain BJ, Brownlee LM, et al. The Consortium to Establish a Registry for Alzheimer's Disease (CERAD). Part II. Standardization of the neuropathologic assessment of Alzheimer's disease. *Neurology* 1991;41:479-86.
- Klunk WE, Abraham DJ. Filamentous proteins in Alzheimer's disease: new insights through molecular biology. *Psych Dev* 1988;6:121-52.
- Schenk DB, Rydel RE, May P, Little S, Panetta J, Lieberburg I, et al. Therapeutic approaches related to amyloid-beta peptide and Alzheimer's disease. *J Med Chem* 1995;38:4141-54.
- Schenk DB, Seubert P, Lieberburg I, Wallace J. {beta}-Peptide Immunization: A Possible New Treatment for Alzheimer Disease. *Arch Neurol* 2000;57:934-6.
- Holtzman DM, Bales KR, Paul SM, DeMattos RB. A[beta] immunization and anti-A[beta] antibodies: potential therapies for the prevention and treatment of Alzheimer's disease. *Advan Drug Delivery Rev* 2002;54:1603-13.
- Olson RE, Copeland RA, Seiffert D. Progress towards testing the amyloid hypothesis: inhibitors of APP processing. *Curr Op Drug Disc Dev* 2001;4:390-401.
- Matsuoka Y, Saito M, LaFrancois J, Saito M, Gaynor K, Olm V, et al. Novel Therapeutic Approach for the Treatment of Alzheimer's Disease by Peripheral Administration of Agents with an Affinity to beta -Amyloid. *J Neurosci* 2003;23:29-33.
- Klunk WE, Wang Y, Huang G-f, Debnath ML, Holt DP, Mathis CA. Uncharged thioflavin-T derivatives bind to amyloid-beta protein with high affinity and readily enter the brain. *Life Sci* 2001;69:1471-84.
- Mathis CA, Holt DP, Wang Y, Huang GF, Debnath ML, Klunk WE. Lipophilic ¹¹C-labelled thioflavin-T analogues for imaging amyloid plaques in Alzheimer's disease. *J Labelled Compd Radiopharm* 2001;44:S26-S8.
- Mathis CA, Bacskai BJ, Kajdasz ST, McLellan ME, Frosch MP, Hyman BT, et al. A lipophilic thioflavin-T derivative for positron emission tomography (PET) imaging of amyloid in brain. *Bioorg Med Chem Lett* 2002;12:295-8.
- Mathis CA, Wang Y, Holt DP, Huang GF, Debnath ML, Klunk WE. Synthesis and Evaluation of ¹¹C-Labeled 6-Substituted 2-Arylbenzothiazoles as Amyloid Imaging Agents. *J Med Chem* 2003;46:2740-54.
- Bacskai BJ, Hickey GA, Skoch J, Kajdasz ST, Wang Y, Huang GF, et al. Four-dimensional multiphoton imaging of brain entry, amyloid binding, and clearance of an amyloid-beta ligand in transgenic mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003;100:12462-7.
- Klunk WE, Engler H, Nordberg A, Wang Y, Blomqvist G, Holt DP, et al. Imaging brain amyloid in Alzheimer's disease with Pittsburgh Compound-B. *Ann Neurol* 2004;55:306-19.
- DeKosky ST, Marek K. Looking Backward to Move Forward: Early Detection of Neurodegenerative Disorders. *Science* 2003;302:830-4.
- Klunk WE, Lopresti BJ, Ikonovic MD, Lefterov IM, Koldamova RP, Abrahamson EE, et al. Binding of the positron emission tomography tracer Pittsburgh compound-B reflects the amount of amyloid-beta in Alzheimer's disease brain but not in transgenic mouse brain. *J Neurosci* 2005;25:10598-606.
- Price JC, Klunk WE, Lopresti BJ, Lu X, Hoge JA, Ziolk SK, et al. Kinetic modeling of amyloid binding in humans using PET imaging and Pittsburgh Compound-B. *J Cereb Blood Flow Metab* 2005;25:1528-47.
- Solbach C, Uebele M, Reischl G, Machulla HJ. Efficient radiosynthesis of carbon-11 labelled uncharged Thioflavin T derivatives using [¹¹C]methyl triflate for [beta]-amyloid imaging in Alzheimer's Disease with PET. *Appl Radiat Isot* 2005;62:591-5.
- Wilson AA, Garcia A, Chestakova A, Kung H, Houle S. A rapid one-step radiosynthesis of the b-amyloid imaging radiotracer N-methyl-[¹¹C]2-(4'-methylaminophenyl)-6-hydroxybenzothiazole (¹¹C]-6-OH-BTA-1). *J Labelled Cpd Radiopharm* 2004;47:679-82.
- Iwata R, Pascali C, Boghi A, Miyake Y, Yanai K, Ido T. A simple loop method for the automated preparation of [¹¹C]raclopride from [¹¹C]methyl triflate. *Appl Radiat Isot* 2001;55:17-22.
- Jewett DM. A simple synthesis of [¹¹C]methyl triflate. *Appl Radiat Isot* 1992;43:1383-5.
- Choe YS. Radiolabeling Methods Used for Preparation of Molecular Probes. *Korean J Nucl Med* 2004;38:121-30.