

<https://doi.org/10.22643/JRMP.2017.3.2.103>

Radiolabeling of nanoparticle for enhanced molecular imaging

Ho Young Kim^{1,2}, Yun-Sang Lee^{2*}, Jae Min Jeong^{1,2}

¹Department of Nuclear Medicine, Seoul National University College of Medicine, Seoul, Republic of Korea; ²Department of Nuclear Medicine, Seoul National University Hospital, Seoul, Republic of Korea;

ABSTRACT

The combination of nanoparticle with radioisotope could give the in vivo information with high sensitivity and specificity. However, radioisotope labeling of nanoparticle is very difficult and radioisotopes have different physicochemical properties, so the radioisotope selection of nanoparticle should be carefully considered. ¹⁸F was first option to be considered for labeling of nanoparticle. For the labeling of ¹⁸F with nanoparticle, Prosthetic group is widely used. Iodine, another radioactive halogen, is often used. Since radioiodine isotopes are various, they can be used for different imaging technique or therapy in the same labeling procedures. ^{99m}Tc can easily be obtained as pertechnetate (^{99m}TcO₄⁻) by commercial generator. Ionic ⁶⁸Ga (III) in dilute HCl solution is also obtained by generator system, but ⁶⁸Ga can be substituted for ⁶⁷Ga because of the short half-life (67.8 min). ⁶⁴Cu emits not only positron but also β⁻ particle. Therefore ⁶⁴Cu can be used for imaging and therapy at the same time. These radioactive metals can be labeled with nanoparticle using the bifunctional chelator. ⁸⁹Zr has longer half-life (78.4 h) and is used for the longer imaging time. Unlike different metals, ⁸⁹Zr should use the other chelate such as DFO, 3,4,3-(LI-1,2-HOPO) or DFOB.

Key Word: Nanoparticle, Radiohalogen, Radiometal, PET, SPECT

Introduction

양전자단층촬영(PET), 단일광자단층촬영(SPECT) 및 평면 감마카메라 영상 또는 2D 신티그래피로 구성된 핵의학 영상은 양전자 또는 감마선 방출 핵종이 표지된 추적자를 생체 내에 투여함으로써 방사성 붕괴를 통해 양전자를 방출하는데, 방출된 양전자는 원자 주변의 전자와 상호 작용하여 소멸이라는 과정을 거치게 된다. 이 과정을 통해 180° 떨어져서 움직이는 한 쌍의 감마선을 방출하게 된다. 감마선 방출 핵종은 마찬가지로 자발적 방사성 붕괴를 통해 감마선을 방출하는

데, 전자 포획(EC, γ) 또는 핵이성체 전이(IT)의 과정을 거쳐 감마선을 방출하게 된다. 양전자 또는 감마선 방출 핵종이 표지된 방사성 추적자가 체내에 투여될 때, 붕괴 과정의 결과로서 생성되는 고 에너지 감마선은 체내를 통과하여 외부 검출기에 의해 검출된다. 그리고 이렇게 검출되는 감마선은 최종적으로 생체 내 방사성 추적자의 시공간 분포에 대한 정보를 포함하는 2차원(2D) 또는 3차원(3D) 영상으로 재구성된다.

핵의학 영상 기법은 매우 민감하고 비침습적이기 때문에 투여되는 양은 영상을 얻기 위한 최소한의 양으로 제한되며 동일한 개체에서 시간이 지남에 따라 반복적인 연구가 수행될 수도 있다. 그러나 이러한 핵의학 영상 기법의 가장 큰 단점은 방사선(감마선)을 방출하는 핵종이 필요하며 공간 해상도가 낮다는 것이다. 핵의학 영상과 다른 영상 기법간의 차이

Received: December 11, 2017/ Revised: December 22, 2017/ December 26, 2017

Corresponding Author : Yun-Sang Lee, Department of Nuclear Medicine, Seoul National University Hospital, 101, Daehak-ro, Jongno-gu, Seoul 03080, Republic of Korea,
Tel: +82-2-3668-8906, Fax: +82-745-7690, E-mail: wonza43@snu.ac.kr

Copyright©2017 The Korean Society of Radiopharmaceuticals and Molecular Probes

Table 1. The comparison of molecular imaging modalities.

영상 기법	공간 해상도	시간 해상도	민감도	조영제
Ultrasound	50 μ m	Seconds-Minutes	10^{-3} Mol	Microbubbles
CT ^{a)}	50 μ m	Minutes	10^{-3} Mol	Iodine
MR ^{b)}	100 μ m	Minutes-Hours	10^{-5} Mol	Gadolinium,
iron oxide	1.69 \pm 0.23 GBq	1.69 \pm 0.23 GBq	1.69 \pm 0.23 GBq	1.69 \pm 0.23 GBq
PET ^{c)}	> 1 mm	Minutes	10^{-11} - 10^{-12} Mol	¹⁸ F, ¹¹ C, ¹³ N
SPECT ^{d)}	> 1 mm	Minutes	10^{-10} - 10^{-11} Mol	^{99m} Tc, ¹¹¹ In
BLI ^{e)}	1-3 mm (depth)	Minutes	10^{-5} Mol	Luciferins

^aCT: X-ray computed tomography. ^bMR: magnetic resonance. ^cPET: positron emission tomography. ^dSPECT: single-photon emission computed tomography. ^eBLI: bioluminescence imaging.

는 table 1에 비교되어있다 (4, 5).

일반적으로 의료 또는 생의학 분야에서 사용되는 양전자 방출 핵종은 단일광자 방출 핵종에 비해 짧은 반감기를 갖는다. 예전부터 가장 일반적으로 사용되어 왔던 양전자 방출 핵종은 ¹⁸F, ¹¹C, ¹³N 및 ¹⁵O인데 소형 사이클로트론에서 비교적 쉽게 생산될 수 있다. 최근에는 ⁶⁸Ga의 경우 ⁶⁸Ge/⁶⁸Ga 발생장치를 통해 쉽게 얻을 수 있으므로 이에 대한 수요가 늘어나고 있다. 그러나 이러한 양전자 방출 핵종은 모두 짧은 반감기라는 단점을 가지고 있다. 이것보다 반감기가 긴 양전자 방출핵종에는 ⁸⁹Zr ($T_{1/2}$ = 78.41 시간), ⁶⁴Cu ($T_{1/2}$ = 12.7 시간), ¹²⁴I ($T_{1/2}$ = 100.22 시간) 등이 있다.

나노입자 표지의 필요성

나노입자가 생물 의학분야에 적용되기 힘든 가장 큰 이유 중의 하나는 나노입자를 생체 내 투여하였을 때 추적하는 것이 힘들다는 점이다. 실제로 나노입자가 생체 내로 들어갔을 때 그 분포나 안정성 혹은 생물학적 운명을 결정하는 것은 매우 어려운 부분이다. 하지만 나노입자의 생체 내 행동에 관한 정보를 얻기 위한 한 가지 대안은 나노입자에 방사성동위원소를 붙이는 것, 즉 양전자 혹은 감마선을 내는 방사성동위원소를 나노입자에 표지하는 것이다. 이러한 방사성동위원소를 나노입자에 붙임으로써 핵의학 기법을 이용해 나노입자의 생체 내 영상을 얻을 수 있다. 방사성 핵종 기반의 나노입자를 추적하는 가장 큰 장점은 높은 감도와 검출의 정량화 그

리고 물리적 특성에 따라 적절한 동위원소를 선택할 수 있다는 점이다 (table 2) (6). 다만 방사성동위원소를 표지하는 것은 쉬운 일이 아니므로 처음에 어떤 방사성동위원소를 사용할 지를 잘 선택해야 한다. 방사성 핵종을 적절하게 선택하려면 물리 화학적인 특성들을 포함해 많은 요소들을 주의 깊게 고려해야만 한다.

일반적으로 양전자 혹은 감마선을 내는 방사성동위원소는 감마선이 높은 투과력을 가지며 신체를 뚫고 나와 쉽게 검출기에 도달할 수 있기 때문에 생체 내에서 나노입자를 추적하는 데 유용하게 사용될 수 있다. 그러나 방사선은 살아있는 유기체 내에서 방사선 세기가 약화될 가능성 (저에너지 감마 방출 핵종 및 대형 동물 또는 인간에게 중요할 수 있음)이 있으므로 정량화 과정에 영향을 주지 않도록 적절한 보정 도구로 보정해야 한다. 고려해야 할 또 다른 중요한 요소는 나노입자를 추적하는 시간 설정이다. 만약 방사성동위원소의 물리적 반감기가 너무 짧으면 생체 프로세스를 충분히 조사하기 힘들 것이고, 물리적 반감기가 너무 길다면 유기체가 방사선을 불필요하게 많이 받게 될 것이다. 또한 폐기물 처리도 문제가 될 것이다. 그리고 무엇보다도 중요한 것은 방사성동위원소 표지 화합물의 표지 안정성이다. 즉, PET이나 SPECT는 감마선을 검출하는 기법인데, 사용 도중 방사성동위원소가 나노입자로부터 떨어져 나간다면 PET이나 SPECT의 분석은 사용한 나노입자를 추적하지 않고 완전히 다른 결과를 초래할 수 있다. 그러므로 방사성동위원소를 나노입자에 표지하는 방법은 굉장히 신중하게 고려해야 한다.

Table 2. The physicochemical characteristics of radioisotopes for nuclear medicine imaging.

방사성 동위원소	물리적 반감기	시간 해상도	민감도	조영제	조영제
^{11}C	20.4분	β^+ (100)	0.511	200	PET 영상
^{13}N	9.96 분	β^+ (100)	0.511	200	PET 영상
^{18}F	109.8 분	β^+ (97), EC(3)	0.511	194	PET 영상
^{64}Cu	12.7 시간	β^+ (18), β^- (38), EC ^{a)} (44)	0.511	38.6	PET 영상, 치료
^{67}Ga	3.26 일	EC(100)	0.093, 0.184, 0.300, 0.393	40, 20 17, 14	SPECT 영상
^{68}Ga	67.8 분	β^+ (89), EC(11)	0.511	178	PET 영상
^{89}Zr	78.4 시간	β^+ (23), EC(77)	0.511, 0.909, 1.621, 1.713	46, 99 0.07, 0.745	PET 영상
$^{99\text{m}}\text{Tc}$	6.02 시간	IT ^{b)} (88), IC ^{c)} (12)	0.140	90	SPECT 영상
^{111}In	2.8일	EC(100)	0.171, 0.245	90, 94	SPECT 영상
^{123}I	13.2 시간	EC(100)	0.159	83	SPECT 영상
^{124}I	4.17 일	β^+ (23), EC(77)	0.511, 0.035	46	PET 영상
^{125}I	59.49 일	EC(100)	X-ray (0.027-0.032)	7, 140	체외검사
^{131}I	8.02 일	β^- (97),	0.364, 0.637	81, 7	치료

^aEC: Electron capture, ^bIT: Isomeric transition, ^cIC: Internal conversion.

이러한 점들을 염두에 둔다면 표지하는 데 사용할 수 있는 양전자 혹은 감마선 방출 핵종은 굉장히 많다. 그러나 실용적인 측면에서 보면, 단지 몇 개의 방사성 핵종 만이 바이오 기술 분야에서 실제 적용이 가능하다. 지금부터는 나노의학의 맥락에서 가장 관련이 있는 양전자 혹은 감마선 방출 핵종의 표지에 대한 생산 공정 및 화학적 가능성과 같은 물리적 특성에 대해 알아보도록 하겠다.

1. 방사성할로겐

방사성할로겐은 화학적 특징들이 잘 알려져 있고 반감기와 붕괴 방식이 다양하여 수십 년 동안 널리 사용되어왔다. 따라서 방사성할로겐은 나노입자의 방사성 표지에 접근할 때 고려해야 할 첫 번째 옵션 중 하나이다.

1.1 불소-18 (^{18}F)

^{18}F 은 100% 양전자 방출에 가까운 붕괴 모드를 가지고 있으며 $^{18}\text{O}(p,n)^{18}\text{F}$ 핵 반응에 의하여 fluoride ($[^{18}\text{F}]\text{F}^-$) 또는 fluorine ($[^{18}\text{F}]\text{F}_2$)의 2 가지 화학 형태로 생산될 수 있다 (7). $[^{18}\text{F}]\text{F}^-$ 의 생산은 일반적으로 8–18 MeV의 에너지 범위를 가지는 양성자를 ^{18}O 이 풍부한 물 (95–98%)에 조사하여 만들 수 있다. $[^{18}\text{F}]\text{F}_2$ 의 생산은 소위 “더블 샷 (double-shot)”의 방법에 기반을 두고 있으며, 두 번의 조사 단계를 가진다. 첫 번째 단계에서는 순수한 $[^{18}\text{O}]\text{O}_2$ 에 양성자를 조사하여 ^{18}F 을 생성하며 생성된 ^{18}F 은 타겟 챔버의 벽면에 흡착된다. 그 다음 산소는 극저온으로 냉각하여 제거하고 타겟 챔버를 Ne/F_2 혼합 가스로 채운 뒤 두 번째 조사를 시작한다. 두 번째 조사 동안, 타겟 챔버의 벽면에 흡착된 ^{18}F 과 F_2 사이에 동위 원소 교환 반응이 일어나면서 ^{18}F 과 ^{19}F 가 교환되어 $[^{18}\text{F}]\text{F}_2$ 가 생성된다.

^{18}F 을 표지하는 합성 전략은 크게 2가지로 분류될 수 있다. 첫 번째는 직접적인 표지 방법이다. 즉, 불소 -18을 친핵성

또는 친전자성 치환 반응으로 원하는 물질에 직접 표지하는 것이다. 친핵성 치환 반응은 주로 친핵성 [¹⁸F]F⁻를 사용하는 데, [¹⁸F]F⁻는 이탈기에 지방족 또는 방향족 친핵 치환 반응을 이용하여 ¹⁸F를 표지하기 위해 사용된다. 이 방법은 현재 전세계 PET 센터에서 매일 생산하고 있는 2-데옥시-2-플루오로-D-글루코스(¹⁸F) 주사액 ([¹⁸F]FDG)을 생산하는데 사용된다. 참고로, [¹⁸F]FDG는 방사성 ¹⁸F이 표지된 당 대사 화합물로서 다양한 종양의 치료에 대한 반응의 조기 진단과 평가에 탁월한 공헌을 하였다. 친전자성 불소화의 경우 가장 일반적으로 사용되는 시약은 [¹⁸F]F₂ gas 이다. [¹⁸F]F₂ gas는 직접적으로 사용되거나 혹은 좀 더マイル드한 시약인 아세틸하이포플루오라이드(CH₃COO[¹⁸F]F)(8), [¹⁸F]플루오로피리돈(9), [¹⁸F]플로오로-N-술폰 아마이드(10) 또는 [¹⁸F]Selectfluor(11)와 같은 다른 ¹⁸F-플로오르화 N-F 시약들로 변환해서 사용할 수 있다.

¹⁸F를 표지하는 또 다른 전략은 간접적인 표지 방법이다. 이것은 ¹⁸F-표지된 보결 그룹을 이용하고 직접 불소화에 필요한 까다로운 반응 조건에서 불안정한 생체 분자의 방사성 표지에 주로 사용된다. 다수의 ¹⁸F 표지된 보결 그룹이 개발되어 1차 아미노기 또는 티올 잔기의 ¹⁸F-플루오로알킬화(12), ¹⁸F-플로오로아실화 또는 ¹⁸F-플루오로아미드화(13-16)에 사용되거나 또는 Huisgen 고리화 반응(17)을 수행하는데 이용되었다 (Fig 1).

간접적인 표지 방법은 ¹⁸F-표지된 나노입자를 만드는 데에도 많이 이용되어 왔다(18).

1.2 방사성요오드: 요오드-123 (¹²³I), 요오드-124 (¹²⁴I), 요오드-125 (¹²⁵I), 요오드-131 (¹³¹I)

¹²³I은 핵의학 영상에 주로 사용된다. ¹²³I은 비교적 긴 반감기 (13.22시간)를 가지고 있고 전자 포획을 통해 ¹²³Te으로 붕괴되면서 159 keV의 감마 에너지를 방출한다. ¹²³I은 고체, 액체, 기체 타겟 모두에서 ¹²⁴Te(p, 2n)¹²³I 핵반응을 통해 생산될 수 있으나 고체와 기체 타겟이 ¹²³I 생산에 주로 사용된다 (19). 생산 중에 방사성 이핵종이 생성될 수 있는데 예를 들어 ¹²⁴Te(p, n) 이나 ¹²⁵Te(p, 2n) 핵반응을 통해 ¹²⁴I가 만들어진다. 이러한 이유로 ¹²⁴Te를 고순도로 사용하는 것이 좋다. 고체 타겟일 경우 조사된 물질은 텔루륨 원소 혹은 산화 텔루륨이다. 조사 후, ¹²³I은 증류를 통해 분리한 다음 염기성 용액에 포집한다. 반대로 조사된 물질은 산화된 알칼리성 용액에 녹임으로써 텔루륨은 원소 상태로 환원시키고 요오드는 알루미늄 분말을 이용해 환원하여 요오드이온(I⁻)을 만든다. 침전된 텔루륨 금속은 여과를 통해 제거하고 I⁻은 양이온 교환 수지를 사용하여 정제한다.

¹²⁴I는 양전자 방출 핵종으로 긴 반감기 (4.17일)를 가지며 높은 에너지의 감마선들과 양전자 (Eβmax=2.14 MeV, 23%)를 방출한다. ¹²⁴I는 여러 다른 핵반응을 통해 생산될 수 있는데 ¹²⁴Te(p,n)¹²⁴I 반응이 현재 가장 일반적으로 사용되고 있다 (20, 21). 생산을 위해서는 전기 도금된 텔루륨 원소 혹은 산화 텔루륨을 녹여 타겟 공동에 도입하고 고체 상태로 사용한다. 조사 후 ¹²⁴I의 정제는 ¹²³I과 동일하게 증류나 또는 알루미늄 분말을 이용해 환원하여 I⁻을 만들고 양이온 교환 수지

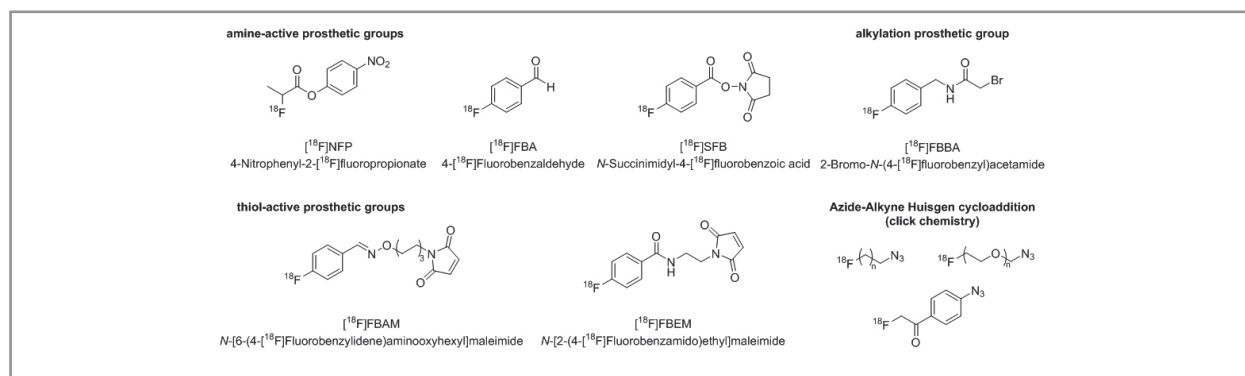


Figure 1. Prosthetic groups for ¹⁸F-labeling

를 사용하여 정제한다.

^{125}I 는 반감기가 59.49 일이고 전자 포획을 거쳐 여기된 ^{125}Te 로 붕괴되면서 35.5 keV의 최대 에너지를 가지는 감마선을 방출한다. 감마선의 에너지가 낮기 때문에 체내 사용시 방사능이 약화되어 검출이 어려우므로 체외검사나 생체 외 검사 (ex vivo)에 주로 사용된다(22). ^{125}I 는 $^{124}\text{Xe}(n,\gamma)^{125m}\text{Xe}$ 또는 $^{124}\text{Xe}(n,\gamma)^{125g}\text{Xe}$ 와 같은 핵반응을 통해 생산되는데, ^{124m}Xe 과 ^{125g}Xe 는 불안정하여 각각 57 초와 16.9 시간의 반감기를 가지고 자발적으로 ^{125}I 로 붕괴된다. 즉, 중성자 빔을 쬐는 동안 만들어지는 짧은 반감기의 핵종이 붕괴되어 만들어지는 것이다. 이 조사시간 동안 새롭게 만들어지는 ^{125g}Xe 는 ^{125}I 로 붕괴되어 염화나트륨 용액에 포집되고 이 후 이온 교환수지를 이용해 정제한다.

^{131}I 은 8.02 일의 반감기를 갖고 대부분 전자 방출로 붕괴하며 또한 최대 364 keV (81.7%)의 에너지를 갖는 감마선을 방출하기도 한다. 동시에 베타선과 감마선을 방출하기 때문에 ^{131}I 은 주로 치료 목적으로 많이 사용된다(23). ^{131}I 은 크게 두 가지 핵반응을 통해 생산될 수 있는데 천연 텔루륨에 중성자를 조사하여 $^{130}\text{Te}(n,\gamma)^{131}\text{Te}$ 의 핵반응을 거쳐 ^{131}I 을 만들거나 (^{131}Te 의 $t_{1/2} = 25$ 분), 또는 우라늄 조사 후 만들어지는 핵분열 생성물로부터 얻어질 수 있다. 현재 앞서 언급한 요오드의 모든 동위원소들은 구입해서 사용할 수 있다.

방사성 요오드화는 small molecules부터 펩타이드, 항체, 단백질 및 나노입자에 이르기까지 광범위한 분자 포맷의 방사성 표지에 광범위하게 사용되어 왔다. 이러한 방사성 표지

는 주로 세 가지 전략을 이용하여 달성 할 수 있다 (Fig 2).

첫 번째 방법은 산화제를 이용하는 것이다. 즉, N-chlorotosylamide나 chloramine-T(24)와 같은 산화제를 이용하여 I-를 산화시키고 이 후 활성화된 방향족 고리에 방향족 친전자성 치환반응을 통해 요오드를 도입하는 것이다. 이 방법은 주로 티로신을 포함하는 펩타이드나 단백질, 항체에 주로 사용되었다. 나중에는 더욱 편리하고 마일드한 산화제인 1,3,4,6-tetrachloro-3 α ,6 α -diphenylglycoluril (Iodogen)이 개발되었다(25). Iodogen은 물에는 녹지 않고 반응 용기 벽면에 침전되기 때문에 반응 용액을 반응 용기에서 제거하는 것만으로도 쉽게 반응을 끝낼 수 있다는 장점이 있다. 두 번째 방법은 간접적인 표지 방법으로 미리 표지된 물질이나 혹은 화학적으로 활성화된 그룹을 이용하여 두 단계로 표지를 하는 것이다. 가장 널리 사용되는 그룹은 N-succinimidyl 3-(4-hydroxyphenyl)propionate (Bolton-Hunter reagent)(26)인데 1차 아민과 반응하여 쉽게 아미드 결합을 이룬다. 마지막으로 요오드를 표지하는 방법은 촉매 조건 하에서 수행되는 동위 원소 교환방법이다(27). 이 방법은 표지 할 분자에 요오드가 있어야 하며, specific activity가 낮다는 단점이 있다. 방향족 친전자성 치환반응 또는 간접적인 표지 방법은 지금까지 상이한 유형의 나노입자에 방사성요오드를 표지하기 위해 널리 사용되어왔다. 또한 금속성 나노입자의 표면에 직접적으로 방사성 요오드를 흡착하여 영상 목적으로 사용하기도 하였다(28).

2. 방사성 금속

2.1. 테크네튬-99m (^{99m}Tc)

^{99m}Tc 은 임상 분야에서 핵의학 영상에 사용되는 동위원소 비중의 약 80%를 차지하고 있다. ^{99m}Tc 은 적당한 감마선 에너지 (141keV)와 반감기 (6.02 시간)를 가지고 있으며 잘 알려진 배위 결합 금속이며, 상업적으로 이용 가능한 $^{99}\text{Mo}/^{99m}\text{Tc}$ 발생장치로부터 $^{99m}\text{TcO}_4^-$ 의 형태로 쉽게 얻을 수 있다는 장점이 있다. 이 발생장치에서 ^{99}Mo ($T_{1/2} = 67$ 시간)는 산성 알루미늄 컬럼에 $^{99}\text{MoO}_4^{2-}$ 의 형태로 걸러지고 $^{99m}\text{TcO}_4^-$ 만 용출된

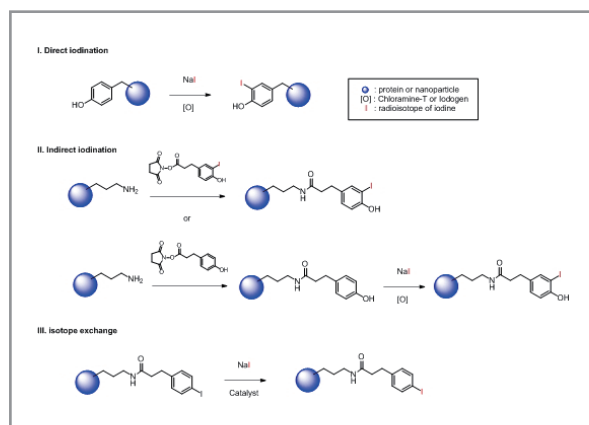


Figure 2. The major strategies for radioactive iodination.

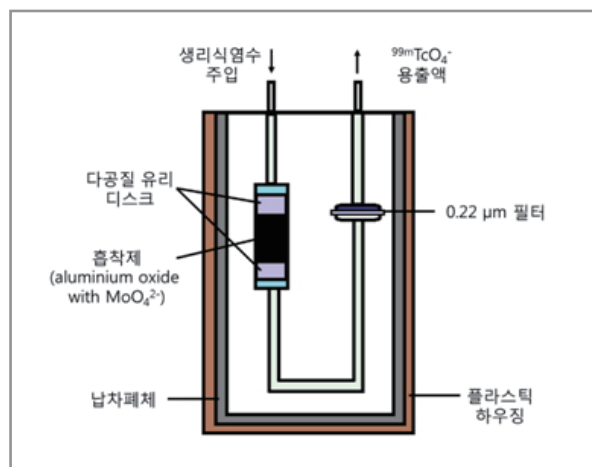


Figure 3. Representative scheme of ^{99m}Tc generator

다 (Figure 2). 발생장치에 사용되는 ⁹⁹Mo는 ⁹⁸Mo(n, γ)⁹⁹Mo 핵반응 (낮은 molar activity value를 가짐)을 통해 생산되거나 혹은 고농축 우라늄에 중성자를 조사하여 만들어낸 ²³⁵U의 핵분열을 통해 생산할 수 있다. 전자의 경우는 specific activity가 낮은 반면 후자의 경우 specific activity가 높은 ⁹⁹Mo를 얻을 수 있다.

^{99m}Tc이 표지된 방사성 추적자의 제조에 사용된 대부분의 합성 방법은 ^{99m}TcO₄⁻ (사면체, d0 이온)에서 출발한다. 수용액에서 ^{99m}Tc은 7가에서 1가까지의 임의의 산화 상태로 존재할 수 있다. 배위 결합을 할 때 질소, 산소 및 황으로부터의 시그마 결합을 사용하는 리간드들은 거의 예외 없이 테크네튬이 5가의 산화 상태이며 전체 전하가 음이거나 중성이다. 또한 복합체의 형태는 대부분 사각뿔 모양이다. 반면에 전체 전하가 양이면 복합체의 형태는 팔면체 모양이다. 시그마 공여체와 파이 수용체를 포함하는 혼합된 리간드 시스템은 테크네튬 1가, 2가, 3가 또는 5가의 착물을 만들어낸다. ^{99m}Tc을 사용하는 방사성 표지는 기본적으로 배위 결합을 형성하며, 합성 공정은 일반적으로 ^{99m}TcO₄⁻, 환원제 (Sn²⁺, Fe²⁺, Cu⁺) 및 리간드를 포함한다. 환원제의 존재 하에 ^{99m}TcO₄⁻는 우선 반응성이 높은 준 안정 종(metastable species)으로 환원되며, 이 후 리간드에 의해 잡혀 복합체를 형성한다. 복합체의 형성이 약하거나 느리면 TcO₂를 형성할 수도 있는데 이럴 경우 약한 리간드를 갖는 중간체 착물이 먼저 형성되고 최종 착물은 2 단계에서 리간드 변위에 의해 달

성될 수 있다. 나노입자의 맥락에서 볼 때 가장 많이 사용되는 킬레이터는 Hydrazinonicotinamide (HYNIC)이며, 이는 단일 또는 두 자리의 리간드 역할을 하고 트리신 또는 N,N'-ethylenediaminediacetic acid (EDDA)와 같은 방사성 금속을 안정화시킬 수 있는 공동 리간드를 필요로 한다. HYNIC은 주로 다른 성질의 금 나노입자를 표지하는 데 많이 사용되어왔다(29). 이와는 완전히 다른 방식으로 ^{99m}Tc 이 미리 표지된 이인산염을 사용하여 초상자성 산화철 나노입자(SPIONs)를 표지할 수도 있다(30).

2.2. 갈륨-67 (⁶⁷Ga)과 갈륨-68 (⁶⁸Ga)

⁶⁸Ga (T_{1/2} = 67.7 분)은 모핵종인 ⁶⁸Ge (T_{1/2} = 270.8 일)로부터 얻을 수 있으며 전자 포획을 통해 안정 동위원소인 ⁶⁸Zn로 붕괴된다. ⁶⁸Ga은 89%의 양전자를 방출하며 물리적 반감기는 small molecule의 약물동태학을 확인하는데 적당하다. ⁶⁸Ga은 ⁶⁸Ge-⁶⁸Ga 발생장치의 개발과 함께 사이클로트론 없이도 이온 형태로 생산이 가능해짐으로써 ⁶⁸Ga의 사용은 급격히 증가하였다. ⁶⁸Ge-⁶⁸Ga 발생장치가 개발되기 전에는 천연 갈륨(31)이나 갈륨/니켈 합금(32)의 조사를 통해 만들어진 ⁶⁸Ge로부터 붕괴된 것을 추출하여 얻을 수 있었다. 하지만 생산 공정이 쉽지 않았기 때문에 60년 대 초반 이미 최초의 ⁶⁸Ge-⁶⁸Ga 발생장치가 개발되었고, 이러한 개발 과정에서 알루미늄(Al₂O₃)로 충전된 칼럼을 사용하여 ⁶⁸Ge은 흡착되고 ⁶⁸Ga만을 ethylenediamine tetraacetic acid (EDTA) 용액을 이용하여 용출할 수 있었다(33, 34). 다만 이 공정은 발생장치로부터 용출되는 화학 물질들이 후속 표지 공정에 영향을 미친다는 단점이 있었기 때문에 그 결과로 2세대 발생장치인 "이온형 갈륨-68 발생장치"가 수 년에 걸쳐 개발되었다(35). 현재는 다양한 종류의 발생장치가 구입 가능하며 발생장치에 따라 칼럼에 충전되는 고체 지지체 물질이나 칼럼으로부터 ⁶⁸Ga을 용출하기 위한 용출액을 다르게 사용한다. 그리고 또한 ⁶⁸Ge breakthrough나 금속 불순물 잔량도 발생장치마다 다르다. 용출된 ⁶⁸Ga 용액에서 ⁶⁸Ge이나 다른 금속 이온의 잔량은 주로 정제 과정에 따라 차이가 나는데, 높은 순도의 ⁶⁸Ga 용액은 다음과 같은 방법을 통해 얻을 수 있다.

(i) 한번에 용출을 하는 것이 아니라 여러 용출액의 fraction 들을 얻은 후 이 중 ^{68}Ga 의 방사능량이 가장 높은 fraction만 을 사용하거나 (ii) 음이온 교환 수지를 사용하여 강한 산성 조건 (5.5 M HCl) 하에서 형성된 $^{68}\text{Ga}^{3+}$ 의 염화 착물을 선택 적으로 포집한 후 소량의 물로 용출하여 사용하고 (iii) 희석 된 염산을 사용하여 용출한 ^{68}Ga 을 양이온 교환 카트리지를 통과시켜 사용함으로써 얻을 수 있다. 금속 불순물들은 이 후 카트리지를 통과시켜 제거할 수 있다.

^{68}Ga 은 상대적으로 반감기가 짧아 나노입자에는 적용 되기 힘들기 때문에 ^{68}Ga 을 표지한 나노입자를 이용한 연 구가 많지는 않다. 이러한 맥락에서 보면 ^{67}Ga 이 좀 더 나 을 수 있다. ^{67}Ga 은 감마선을 방출하며 반감기는 3.26 일 이고 β 선 방출 없이 전자 포획을 통해서만 안정 동위원 소인 ^{67}Zn 으로 붕괴하며 여러 종류의 가속화된 입자를 통 해 $^{67}\text{Zn}(p,n)^{67}\text{Ga}$, $^{68}\text{Zn}(p,2n)^{67}\text{Ga}$, $^{68}\text{Zn}(d,n)^{67}\text{Ga}$ 등과 같 은 핵반응을 통해 생산된다(36, 37). 그리고 최종적으로 이 온 교환 크로마토그래피 또는 액체 추출에 의해 아연으로 부터 분리될 수 있다. 이렇게 생산된 갈륨 이온은 하드산 금속으로 용액상에서 3가의 산화 상태로만 존재하고 물질 과 배위 결합을 하기 때문에 그 방사성동위원소인 ^{67}Ga 이 나 ^{68}Ga 이온은 킬레이트화를 통해 물질에 표지 될 수 있 다. 갈륨 이온을 표지하기 위해 가장 많이 사용되는 킬레이 트제는 1,4,7,10-tetraazacyclododecane-tetraacetic acid (DOTA), 1,4,7-triazacyclononane-1,4,7-triacetic acid (NOTA) 또는 1,4,7-triazacyclononane,1-glutaric acid-4,7-acetic acid (NODAGA)로 모두 고리형 azacyclo acetic acid 화합물이다(38, 39). 갈륨의 배위 결합은 pH의 변화 에 크게 영향을 받는데, pH가 5 이상에서의 표지는 안정한 $\text{Ga}(\text{OH})_3$ 가 형성되어 억제되는 반면에 매우 산성인 pH에서 의 표지는 배위 부위의 양성자화를 초래하여 배위 결합을 감

소시키고 복합체의 형성을 저해한다(39). 나노입자에 ^{67}Ga 을 도입하는 방법은 금속 산화물 나노입자의 표면에 갈륨(III) 이온을 직접 흡착시키거나 혹은 나노입자의 표면에 킬레이 트제를 고정한 후 갈륨(III)과 배위 결합하여 표지할 수 있다 (Figure 3) (40).

2.3. 구리-64 (^{64}Cu)

^{64}Cu 는 반감기가 12.7 시간으로 전자포획을 통해 43.8%, 양전자를 방출하면서 ^{64}Ni 로 17.8%가 붕괴하고 베타선을 방 출하면서 아연-64로 38.4%가 붕괴한다. 구리-64는 오제 전 자와 함께 베타선을 방출하는데 이는 구리-64가 치료용으로 사용되기 적당한 동위원소임을 보여준다.

^{64}Cu 는 원자로 또는 가속기에서 생산될 수 있는데, 원 자로의 경우 안정한 ^{63}Cu 에 열 중성자를 조사함으로써 $^{63}\text{Cu}(n,\gamma)^{64}\text{Cu}$ 핵반응을 통해 생산할 수 있다. 하지만 이 방법 은 specific activity가 낮다는 단점이 있다. Specific activity 를 높이기 위해 고속 중성자를 조사하여 $^{63}\text{Zn}(n,p)^{64}\text{Cu}$ 핵반 응을 통해 ^{64}Cu 를 생산할 수도 있지만 고속 중성자와 함께 항상 존재하는 열 중성자는 상당한 양의 다른 방사성 핵종 을 생산한다 (e.g. ^{65}Zn). ^{64}Cu 는 사이클로트론을 이용하여 $^{64}\text{Ni}(n,p)^{64}\text{Cu}$ 핵반응을 통해 생산될 수도 있는데 이 방법은 처음 제안 된 후 (41) 지속적으로 개선되고 있다. 현재는 농축 된 니켈을 골드 디스크에 도금한 후 양성자를 조사하여 ^{64}Cu 를 생산한 다음 표적 물질을 진한 염산으로 녹이고 음이온 교 환 칼럼을 이용해 정제하는 방법을 사용하고 있다.

^{64}Cu 는 상대적으로 간단한 화학 반응을 보인다. 용액에서 구리는 두 가지 산화 상태 (1가 또는 2가)로 존재하며 구리 와 안정한 복합체를 형성할 수 있는 킬레이트제는 다양하다. 그 중 가장 많이 사용되는 것은 DOTA와 NOTA이며 이러한 킬레이트제는 실리카-금 나노입자 (silica-gold core-shell NPs)(42), 퀀텀닷 (Quantum dots)(43), 단일벽 탄소나노튜브 (SWCNTs)(44), 산화철나노입자(45)와 같은 다양한 나노 물질에 ^{64}Cu 를 표지하는데 사용되어 왔다.

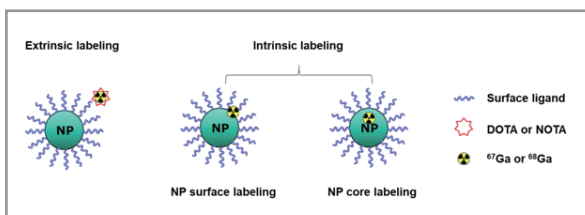


Figure 4. Extrinsic or Intrinsic labeling of nanoparticle with radioactive gallium(III).

2.4. 지르코늄-89 (⁸⁹Zr)

⁸⁹Zr는 23%가 양전자를 방출하는 붕괴 모드를 가지고 있으며 상대적으로 긴 반감기 (78.4 시간)를 가지고 있다. 그러나 높은 비율 (99.0%)로 고 에너지 감마선을 동시에 방출하기 때문에 피험자에게 주어지는 유해 선량이 높다는 단점을 가지고 있다. ⁸⁹Zr는 89Y(p,n)89Zr 핵반응을 통한 천연 이트륨의 양성자 조사에 의해 생산될 수 있으며, 여러 방사능 불순물 (e.g. ⁸⁸mZr, ⁹⁰Zr 또는 ⁸⁸Y)이 조사 중에 형성될 수 있음에도 불구하고 약 15 MeV 에너지를 가지는 양성자를 사용하여 높은 순도의 ⁸⁹Zr를 생산할 수 있다. 처음 ⁸⁹Zr의 정제는 고상 추출 (solid phase extraction)방법을 이용하였는데 현재는 이트륨과는 달리 지르코늄은 hydroxamate와 착물을 형성할 수 있기 때문에 hydroxamate로 충전된 칼럼을 사용하여 정제하고 있다. 이 방법으로 높은 방사핵종 및 방사화학적 순도를 가지는 ⁸⁹Zr를 생산할 수 있다.

앞서 언급했던 방사성 금속과는 달리 ⁸⁹Zr는 diethylenetriaminepentaacetic acid (DTPA)나 ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA)와 착물을 이룰 경우 stability가 매우 낮고 NOTA, DOTA와 같은 킬레이트제와도 착물을 형성하지 않는다. 대신 desferrioxamine (DFO)와 같은 hydroxamate 유도체와 착물을 형성하기 때문에 peptide나 antibody와 같은 생물학적제제에 ⁸⁹Zr를 표지하는 경우 주로 DFO를 많이 사용하며 나노입자의 표지에도 많이 사

용하고 있다. 그러나 최근 연구 결과에서 DFO를 사용할 경우 착물을 형성하고 있던 ⁸⁹Zr⁴⁺가 떨어져 나와 뼈에 흡수되므로 더 나은 stability를 가지는 킬레이트제의 개발이 필요하다. 현재는 1,5,10,14-tetra (1-hydroxy-2-pyridone-6-oxyl)1,5,10,14-tetraazatetradecane (3,4,3-(LI-1,2-HOPO)) (46) 또는 deferrioxamine B-O₃-4-((2-aminoethoxy)ethyl)(hydroxyl)amino)-4-oxobutanoic acid (DFOB-O₃-PBH-O)/oxoDFO^{*}(47)와 같은 개선된 착물 성질을 가지는 킬레이트제가 DFO에 대한 대안으로 제시되고 있다 (Figure 5).

Conclusion

방사성동위원소를 나노입자에 붙이는 것은 많은 장점을 가질 수 있다. 나노입자와 방사성동위원소의 결합은 높은 민감도와 정량화를 가능하게 할 뿐 만 아니라 PET/MRI와 같은 hybrid 영상을 가능하게 한다. 또한 표면을 개질함으로써 우수한 생체 내 분포가 가능하고, α 입자나 β- 입자를 방출하는 방사성동위원소를 표지함으로써 치료용으로도 사용할 수가 있다. 다만, 나노입자에 방사성동위원소를 도입하는 것은 여러 어려움이 있고 적절한 방사성동위원소를 고르는 것 역시 쉬운 일이 아니다. 여기서는 나노입자에 적용할 수 있는 방사성동위원소와 그 표지 방법에 대해 알아보았다. 새로운 나노물질의 개발과 함께 목적에 맞는 적절한 방사성동위원소를 조합할 수 있다면 향후 연구나 환자 사용에 큰 도움이 될 것으로 기대된다.

Acknowledgements

이 연구는 2017년도 과학기술정보통신부의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받은 국책연구사업(NRF-2017M2A2A7A01021401, NRF-2017M3A9G5082640)을 통하여 수행된 연구이며, 다른 이해관계는 없음을 밝힙니다.

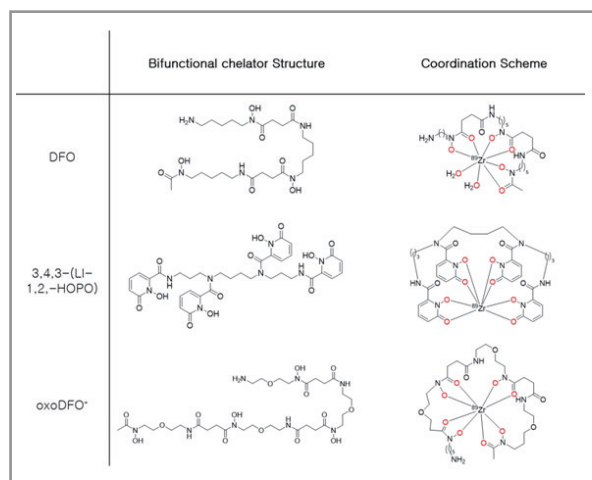


Figure 5. Structure and coordination scheme of bifunctional chelators for Zr-89

Reference

- Phelps ME. PET: The merging of biology and imaging into molecular imaging. *J Nucl Med* 2000;41:661-681.
- Madsen MT. Recent advances in SPECT Imaging. *J Nucl Med* 2007;48:661-673.
- Ametamey SM, Honer M, Schubiger PA. Molecular imaging with PET. *Chem Rev* 2008;108:1501-1516.
- Rudin M, Weissleder R. Molecular imaging in drug discovery and development. *Nat Rev Drug Discov* 2003;2:123-131.
- Schubiger PA, Lehmann L, Friebe M. (Eds.) *PET chemistry: The driving force in molecular imaging*. Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg; 2007. p.6
- Saha GB. *Fundamentals of nuclear pharmacy*. 5th Ed. New York: Springer-Verlag; 2003. p. 60-61.
- Guillaume M, Luxen A, Nebeling B, Argentini M, Clark JC, Pike VW. Recommendations for fluorine-18 production. *Appl Radiat Isot* 1991;42:749-762.
- Visser GWM, Bakker, CNM, Herscheid, JDM, Brinkman, G, Hoekstra, A. The chemical properties of [¹⁸F]-acetylhydropofluorite in acetic acid solution. *J Label compd Radiopharm* 1984;21:1226.
- Oberdorfer F, Hofmann E, Marier-Brost W. Preparation of 18F-labelled N-fluoropyridinium triflate. *J Label compd Radiopharm* 1988;25:999-1005.
- Satyamurthy N, Bida GT, Phelps ME, Barrio JR. N-[¹⁸F] Fluoro-N-alkylsulfonamides: novel reagents for mild and regioselective radiofluorination. *Int J Rad Appl Instrum A*. 1990;41:733-7388.
- Teare H, Robins EG, Kirjavainen A, Forsback S, Sandford G, Solin O, et al. Radiosynthesis and evaluation of [¹⁸F]selectfluor bis(triflate). *Angew Chem Int Ed Engl* 2010;49:6821-6824.
- Koslowsky I, Mercer J, Wuest F. Synthesis and application of 4-[(¹⁸F)]fluorobenzylamine: A versatile building block for the preparation of PET radiotracers. *Org Biomol Chem* 2010;8:4730-4735.
- Haskali MB, Roselt PD, Karas JA, Noonan W, Wichmann CW, Katsifis A, Hicks, RJ, Hutton, CA. One-step radiosynthesis of 4-nitrophenyl 2-[(¹⁸F)]fluoropropionate ([(¹⁸F)]NFP); improved preparation of radiolabeled peptides for PET imaging. *J Labelled Comp Radiopharm* 2013;56:726-730.
- Tang G, Zeng W, Yu M, Kabalka G. Facile synthesis of N-succinimidyl 4-[(¹⁸F)]fluorobenzoate ([¹⁸F]SFB) for protein labeling. *J Label compd Radiopharm* 2008;51:68-71.
- Berndt M, Pietzsch J, Wuest F. Labeling of low-density lipoproteins using the 18F-labeled thiol-reactive reagent N-[6-(4-[(¹⁸F)]fluorobenzylidene)aminoxyhexyl] maleimide. *Nucl Med Biol* 2007;34:5-15.
- Cai W, Zhang X, Wu Y, Chen X. A Thiol-Reactive 18F-Labeling agent, N-[2-(4-18F-fluorobenzamido)Ethyl] maleimide, and synthesis of RGD peptide-based tracer for PET Imaging of alpha v beta 3 integrin expression. *J Nucl Med* 2006;47:1172-1180.
- Jacobson O, Kiesewetter DO, Chen X. Fluorine-18 radiochemistry, labeling strategies and synthetic routes. *Bioconjug Chem* 2015;26:1-18.
- Rojas S, Gispert JD, Menchón C, Baldoví HG, Buaki-Sogo M, Rocha M, Abad S, Victor VM, Garcia H, Herance JR. Novel methodology for labelling mesoporous silica nanoparticles using the 18F isotope and their in vivo biodistribution by positron emission tomography. *J of Nanopart Res* 2015;17:131.
- Kondo K, Lambrecht RM, Wolf AP. Iodine-123 production for radiopharmaceuticals-XX excitation functions of the 124Te(p, 2n)123I and 124Te(p, n)124I reactions and the effect of target enrichment on radionuclidic purity.. *Int J Appl Radiat Isot* 1977;28:395-401.
- Lambrecht RM, Sajjad M, Qureshi MA, Al-Tanbawi SJ. Production of iodine-124. *J Radioanal Nucl Chem Letters* 1988;127:143-150.
- Braghirolli AM, Waissmann W, da Silva JB, dos Santos GR. Production of iodine-124 and its applications in nuclear medicine. *Appl Radiat Isot* 2014;90:138-148.
- Oliver SCN, Leu MY, DeMarco JJ, Chow PE, Lee SP, McCannel TA. Attenuation of iodine 125 radiation with vitreous substitutes in the treatment of uveal melanoma. *Arch Ophthalmol* 2010;128:888-893.
- Min JJ, Chung JK, Lee YJ, Jeong JM, Lee DS, Jang JJ, Lee MC, Cho BY. Relationship between expression of the sodium/iodide symporter and 131I uptake in recurrent lesions of differentiated thyroid carcinoma. *Eur J Nucl Med* 2001;28:639-645.
- McConahey PJ, Dixon FJ. A method of trace iodination of proteins for immunologic studies. *Int Arch Allergy Appl Immunol* 1966;29:185-189.
- Fraker PJ, Speck JC. Protein and cell membrane iodinations with a sparingly soluble chloramide, 1,3,4,6-tetrachloro-3a,6a-diphenylglycoluril 1978. *Biochem Biophys Res Commun* 2012;425:510-518.
- Bolton AE, Hunter WM. The labelling of proteins to high specific radioactivities by conjugation to a 125I-containing acylating agent. *Biochem J* 1973;133:529-539.
- Saha GB. *Fundamentals of Nuclear Pharmacy*. 5th Ed. New York. Springer-Verlag; 2003. p. 127-128.
- Shao X, Agarwal A, Rajian JR, Kotov NA, Wang X. Synthesis and bioevaluation of ¹²⁵I-labeled gold nanorods. *Nanotechnology* 2011;22:135102.
- Morales-Avila E, Ferro-Flores G, Ocampo-Garcia BE, De Leon-Rodriguez LM, Santos-Cuevas CL, Garcia-Becerra R, Medina LA, Gomez-Oliván L. Multimeric system of 99mTc-labeled gold nanoparticles conjugated to c[RGDFK(C)] for molecular imaging of tumor α(v)β(3)

- expression. *Bioconjug Chem* 2011;22(5):913-922.
30. Torres Martin de Rosales R, Tavaré R, Glaria A, Varma G, Protti A, Blower PJ. (^{99m}Tc)-bisphosphonate-iron oxide nanoparticle conjugates for dual-modality biomedical imaging. *Bioconjug Chem* 2011;22:455-465.
 31. van der Walt TN, Vermeulen C. Thick targets for the production of some radionuclides and the chemical processing of these targets at iThemba LABS. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section A* 2004;521:171-175.
 32. Loc'h C, Maziere B, Comar D, Knipper R. A new preparation of germanium 68. *Int J Appl Radiat Isot* 1982;33:267-270.
 33. Gleason GI. A positron cow. *Int J Appl Radiat Isot* 1960;8:90-94.
 34. Yano Y, Anger HO. A GALLIUM-68 POSITRON COW FOR MEDICAL USE. *J Nucl Med* 1964;5:484-487.
 35. Schuhmacher J, Marier-Brost W. A new ⁶⁸Ge/⁶⁸Ga radioisotope generator system for production of ⁶⁸Ga in dilute HCl. *Int J Appl Radiat Isot* 1981;32:31-36.
 36. Little FE, Lagunas-Solar MC. Cyclotron production of ⁶⁷Ga. Cross sections and thick-target yields for the ⁶⁷Zn(p,n) and ⁶⁸Zn(p,2n) reactions. *Int J Appl Radiat Isot* 1983;34:631-637.
 37. Steyn J, Meyer BR. Production of ⁶⁷Ga by deuteron bombardment of natural zinc. *Int J Appl Radiat Isot* 1973;24:369-372.
 38. Shetty D, Lee YS, Jeong JM. (⁶⁸Ga)-labeled radiopharmaceuticals for positron emission tomography. *Nucl Med Mol Imaging* 2010;44:233-240.
 39. Shetty D, Choi SY, Jeong JM, Hoigebazar L, Lee Y-S, Lee DS, Chung JK, Lee MC, Chung YK. Formation and characterization of gallium(III) complexes with monoamide derivatives of 1,4,7-triazacyclononane-1,4,7-triacetic acid: A study of the dependency of structure on reaction pH. *Eur J Inorg Chem* 2010;34:5432-5438.
 40. Lee YK, Jeong JM, Hoigebazar L, Yang BY, Lee YS, Lee BC, Youn H, Lee DS, Chung JK, Lee MC. Nanoparticles modified by encapsulation of ligands with a long alkyl chain to affect multispecific and multimodal imaging. *J Nucl Med* 2012;53:1462-1470.
 41. Szelecsenyi F, Blessing G, Qaim SM. Excitation functions of proton induced nuclear reactions on enriched ⁶¹Ni and ⁶⁴Ni: Possibility of production of no-carrier-added ⁶¹Cu and ⁶⁴Cu at a small cyclotron. *Appl Radiat Isot* 1993;44:575-580.
 42. Xie H, Wang ZJ, Bao A, Goins B, Phillips WT. In vivo PET imaging and biodistribution of radiolabeled gold nanoshells in rats with tumor xenografts. *Int J Pharm* 2010;395:324-330.
 43. Chen K, Li Z-B, Wang H, Cai W, Chen X. Dual-modality optical and positron emission tomography imaging of vascular endothelial growth factor receptor on tumor vasculature using quantum dots. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2008;35:2235-2244.
 44. Liu Z, Cai W, He L, Nakayama N, Chen K, Sun X, Chen X, Dai H.. In vivo biodistribution and highly efficient tumour targeting of carbon nanotubes in mice. *Nat Nanotechnol* 2007;2:47-52.
 45. Wong RM, Gilbert DA, Liu K, Louie AY. Rapid size-controlled synthesis of dextran-coated, ⁶⁴Cu-doped iron oxide nanoparticles. *ACS Nano* 2012;6:3461-3467.
 46. Deri MA, Ponnala S, Zeglis BM, Pohl G, Dannenberg JJ, Lewis JS, Francesconi LC. Alternative chelator for ⁸⁹Zr radiopharmaceuticals: radiolabeling and evaluation of 3,4,3-(LI-1,2-HOPO). *J Med Chem* 2014;57:4849-4860.
 47. Richardson-Sanchez T, Tieu W, Gotsbacher MP, Telfer TJ, Codd R. Exploiting the biosynthetic machinery of streptomyces pilosus to engineer a water-soluble zirconium(iv) chelator. *Org Biomol Chem* 2017;15:5719-5730.