



SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ,
UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

- (84) **지정국** (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의
역내 권리의 보호를 위하여): ARIPO (BW, GH, GM,
KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW),
유라시아 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), 유
럽 (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR,
GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT,

NL, NO, PL, PT, RO, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF,
BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE,
SN, TD, TG).

공개:

- 국제조사보고서 없이 공개하며 보고서 접수 후 이를
별도 공개함 (규칙 48.2(g))

명세서

발명의 명칭: 방사성 세포 표지자

기술분야

- [1] 본 발명은 오랜 기간 동안 세포의 움직임을 추적할 수 있는 방사성 세포 표지자에 관한 것으로, 보다 구체적으로는 오랜 기간 동안 세포의 움직임을 추적할 수 있는 방사성 표지 화합물, 상기 방사성 표지 화합물을 포함하는 방사성 표지 조성물 및 이의 제조방법에 관한 것이다.

배경기술

- [2] 양전자방출 단층촬영술 (Positron emission tomography: PET)은 살아있는 유기물에 투입된 세포의 위치나 분포를 영상화 할 수 있는 잠재력을 갖고 있다. 특히 체내에 주사한 세포를 표지하고 영상화시키는 것은 바이오팩터의 전달을 통한 치료나 재생을 위한 조직 엔지니어링 등의 다양한 분야에서 활용될 수 있다.
- [3] 여러 PET 핵종을 이용하여 세포를 표지하는 방법이 제한적으로 개발되어 왔다. F-18과 Cu-64로 세포를 표지하였을 경우 수 시간 내지 1-2일 까지 세포의 움직임을 추적할 수 있는 것으로 보고되었다. PTSM ([⁶⁴Cu]pyruvaldehyde-bis-(n⁴-methyl-thiosemicarbazone)은 좀 더 장기간 세포 표지가 가능하였다. F-18으로, 세포를 표지하는 방법에는 대표적으로, [¹⁸F]FDG (2-[¹⁸F]fluoro-2-deoxy-D-glucose)의 신진대사 물질로 세포 트래핑(trapping)하거나 [¹⁸F]FSB (N-succinimidyl-4-[¹⁸F]fluorobenzoate)를 이용해 세포를 아실레이션(acylation)시키는 방법이 있다.
- [4] 하지만, 상기 두 가지 방법 모두 단점이 있다. [⁶⁴Cu]PTSM 또는 [¹⁸F]FDG를 세포와 함께 배양시키면 표지된 세포를 분리 할 수는 있지만, 수 시간 후에 세포에서 떨어져 나와 체내에서 방사능을 측정하는 영상 데이터의 해석을 어렵게 한다. 방사능 표지된 물질을 세포에 공유 결합으로 연결되었으므로 표지된 세포와 [¹⁸F]FSB는 더 영구적으로 결합될 것으로 여겨지지만, 선행결과에 의하면 알킬레이트된 부분이 신진 대사로 방출되면서 세포에서 표지자가 빠져나가는 것으로 여겨진다. 또한, [¹⁸F]FSB의 합성은 여러 단계로 이루어져 있어 합성이 어렵다는 단점도 있다. 이들의 단점을 극복하기 위하여 F-18의 합성이 용이하고 표지 효율이 높은 [¹⁸F]HFB(Hexadecylfluorobenzoate)가 합성되었다. 그러나, 이 화합물은 F-18의 반감기가 110분이므로 단기 표지자(short-term trafficking agent)로만 적합한 뿐이다.

발명의 상세한 설명

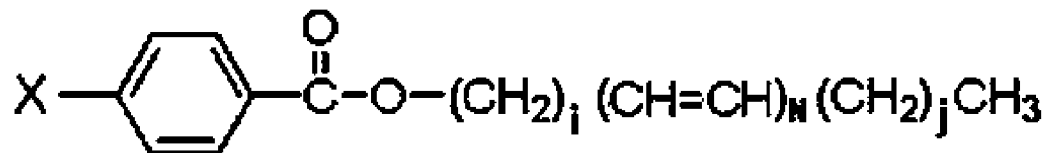
기술적 과제

- [5] 세포를 높은 수율로 효과적으로 표지할 수 있으며 PET (Positron Emission Tomography)이나, SPECT (Single Photon Emission Computed Tomography) 등의

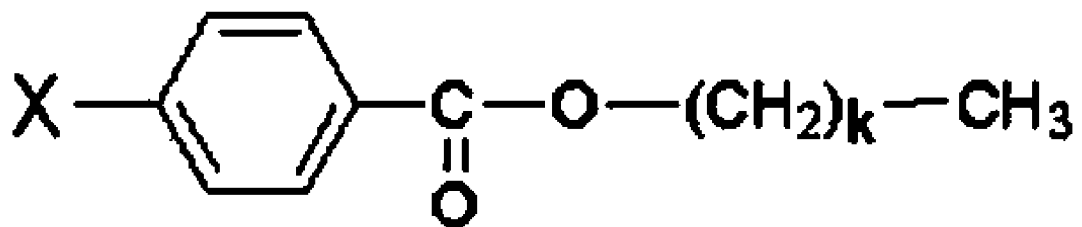
핵의학적 영상 장비를 이용하여 생체내에서 세포의 이동을 장기간 추적 가능하게 하는 세포 표지자의 개발이 요구된다.

과제 해결 수단

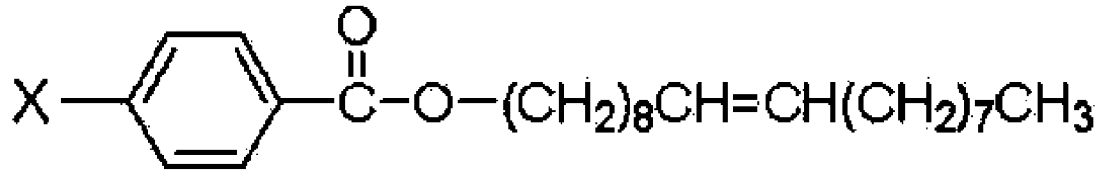
- [6] 본 발명은 ^{122}I , ^{123}I , ^{124}I , ^{125}I , ^{131}I 및 ^{132}I 등의 방사선 요오드를 이용하여 장기간 추적이 가능하도록 개선된 표지 화합물을 개발하고자 한다.
- [7] 구체적으로, 본 발명은 하기 화학식 1 또는 화학식 2의 방사성 표지 화합물에 관한 것이다.
- [8] 화학식 1



- [9] 상기 식에서, X는 요오드의 방사선 동위원소이고, $5 \leq i+j \leq 30$ 이며, 상기 N은 1 내지 10으로서, 이는 이 부분에 이중결합($-\text{CH}=\text{CH}-$)이 1 내지 10개 존재 할 수 있음을 의미하며, 상기 이중결합($-\text{CH}=\text{CH}-$)은 연속적으로 연결될 수도 있고, 경우에 따라서는 불연속적으로 결합될 수도 있다. 즉, 이중결합이 연속적인 경우는 예를 들면 ($-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}=\text{CH}-\dots$)이고, 상기 이중결합이 불연속적으로 결합되는 경우는 ($-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}=\text{CH}-$), ($-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}=\text{CH}-$), ($-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-$) 등과 같이 이중결합 사이에 $-\text{CH}_2-$ 가 결합될 수 있음을 의미한다. 특히, 상기 요오드의 방사선 동위원소는 ^{122}I , ^{123}I , ^{124}I , ^{125}I , ^{131}I 및 ^{132}I 로 이루어진 요오드의 방사성 동위원소 군으로부터 선택되며, 보다 바람직하게는 ^{123}I , ^{124}I , ^{125}I , ^{131}I 이다.
- [10] 화학식 2

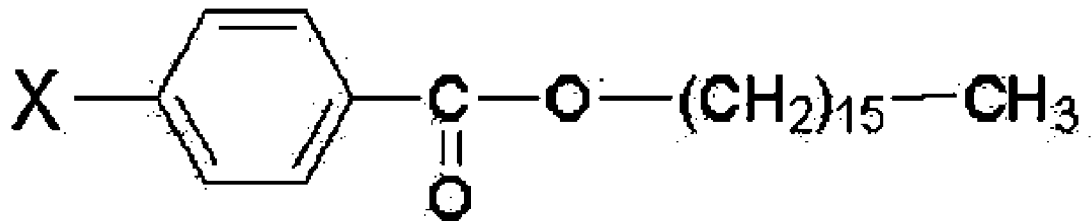


- [11] 상기 식에서, X는 요오드의 방사선 동위원소이고, $5 \leq k \leq 30$ 이다. 특히, 상기 요오드의 방사선 동위원소는 ^{122}I , ^{123}I , ^{124}I , ^{125}I , ^{131}I 및 ^{132}I 로 이루어진 요오드의 방사성 동위원소 군으로부터 선택되며, 보다 바람직하게는 ^{123}I , ^{124}I , ^{125}I , ^{131}I 이다.
- [12]
- [13] 보다 구체적으로, 본 발명은 하기 화학식 3 또는 화학식 4의 방사성 표지 화합물에 관한 것이다.
- [14] 화학식 3



- [15] 상기 화학식 3은 상기 화학식 1의 화합물 중 하나이며, 상기 식에서, X는 요오드의 방사선 동위원소이다. 구체적으로, X는 ^{122}I , ^{123}I , ^{124}I , ^{125}I , ^{131}I 및 ^{132}I 로 이루어진 요오드의 방사성 동위원소 군으로부터 선택되며, 보다 바람직하게는 ^{123}I , ^{124}I , ^{125}I , ^{131}I 이다.

- [16] 화학식 4



- [17] 상기 화학식 4는 상기 화학식 2의 화합물 중 하나이며, 상기 식에서, X는 요오드의 방사선 동위원소이다. 구체적으로, X는 ^{122}I , ^{123}I , ^{124}I , ^{125}I , ^{131}I 및 ^{132}I 로 이루어진 요오드의 방사성 동위원소 군으로부터 선택되며, 보다 바람직하게는 ^{123}I , ^{124}I , ^{125}I , ^{131}I 이다.

- [18]

- [19] 방사성 동위원소, 구체적으로 요오드의 방사선 동위원소에 의해 표식이 부여된 상기 화학식 1 또는 화학식 2, 보다 바람직하게는 화학식 3 또는 화학식 4의 화합물은 세포, 리포솜, 마이셀, 엑소솜 등의 다양한 물질과 결합할 수 있고, 양전자 방출 단층 촬영(PET) 및 단광자 방출 컴퓨터 단층 촬영(SPECT)과 같은 의료용 방사선 촬영 등에 사용이 가능한 표지자이다.

- [20] 본 발명의 화합물은 살아있는 세포에 침투하는 성질이 있어 세포의 분포도를 반영할 수 있다. 또한, 본 발명의 화학식 1 또는 화학식 2, 보다 바람직하게는 화학식 3 또는 화학식 4의 화합물은 합성이 용이하고, 높은 세포 침투율과 세포내 축적 능력을 가진다. 무엇보다, 생체 내에 투여 후, 충분한 시간 동안 추이 관찰, 장시간 동안의 연속적 또는 간헐적 영상 진단을 가능하게 하는 장점이 있다.

- [21] 본 발명의 화합물이 적용되는 한 구현 예는, 세포의 표지에 이용하는 것이다. 세포의 표지는 세포와 화합물을 실온에서 반응시키는 간단한 공정으로 이루어진다. 이를 통하여, 분석이나 치료의 목적으로 인간을 포함한 동물의 생체내로 투입되는 세포의 위치, 분포를 영상화시킬 수 있고, 따라서, 세포수준의 정상 및/또는 이상 정보, 시간에 따른 진척 상황과 이동 및 추이 결과 등을 장기간에 걸쳐 효과적으로 얻을 수 있다. 즉, 투입되는 세포에 대한

표적영상화를 가능하게 하므로, 예를 들어, 줄기세포 등을 투여하는 세포치료 등에서 세포의 발현, 이동경로의 추적이 용이하다.

[22] 그러나, 본 발명의 상기 화학식 1 또는 화학식 2, 보다 바람직하게는 화학식 3 또는 화학식 4의 화합물은 상기 예시한 세포 표지자로만 그 사용이 한정되는 것이 아니라, 용도 및 목적에 맞게 생체내 세포, 리포솜, 마이셀, 엑소솜 등과 같은 다양한 물질의 표지자로 사용될 수 있다.

[23] 본 발명은 화합물은 화학식 1 또는 화학식 2, 보다 바람직하게는 화학식 3 또는 화학식 4의 화합물에서 추가의 특징 및 기능이 포함되도록 개질되거나 변형된 형태를 포함한다. 예를 들어, 본 화합물에 표적 인자를 직접적으로 또는 링커 등을 통하여 간접적으로 결합시킬 경우 종양을 비롯한 다양한 질병에 대하여 표적지향적 진단 및 치료를 위한 표지자로 사용 가능하다. 또한, 본 발명의 화합물에 면역치료제, 사이토카인, 케모카인, 독소 등의 기존 치료제를 직접 또는 링커 등을 통하여 간접적으로 결합시킬 수 있다.

[24]

[25] 또한, 본 발명은 상기 화학식 1 또는 화학식 2, 보다 바람직하게는 화학식 3 또는 화학식 4의 방사성 표지 화합물을 포함하는 조성물에 관한 것이다.

[26] 본 발명의 조성물은 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함할 수 있다.

약학적으로 허용가능한 담체는 임의의 용매, 분산 매질, 코팅제, 등장제, 투여 증진제 및 흡수 지연제 등을 포함하나 이로 제한되지 않는다. 또한, 추가의 활성 성분을 조성물에 도입할 수 있다. pH 및 정확한 농도는 익히 공지된 요인에 따라 조정될 수 있다. 또한, 방사성 영상 기법의 촬영에 요구되는 소정을 물질을 추가로 포함할 수 있다.

[27] 본 발명의 조성물은 수, 의학 분야에서 사용되는 일반적 경로를 통해 투여될 수 있으며, 예를 들어 정맥내, 복강내, 근육내, 피하 또는 국부 경로를 통하여 투여할 수 있다.

[28]

[29] 상기 조성물의 구체적인 적용 예는 다음과 같다.

[30] 개체내로 투여되는 세포와 본 발명의 조성물을 반응시켜 세포를 표지시키는 공정; 표지된 세포를 개체내로 투여하는 공정; 및 개체 내 또는 개체의 일부 조직에서 투여된 세포의 분포와 이동을 방사성 영상 기법을 통하여 분석하는 공정을 포함한다. 분석 가능한 방사성 영상 기법은 양전자 방출 단층 촬영, 단광자 방출 컴퓨터 단층 촬영, 감마 카메라 촬영 등을 포함하나, 이로 제한되지 않는다.

[31] 본 발명의 화학식 1 또는 화학식 2, 보다 바람직하게는 화학식 3 또는 화학식 4의 화합물 또는 상기 화합물을 포함하는 조성물이 투여될 수 있는 개체는 인간을 포함하는 포유 동물이다. 예를 들어, 소, 양, 염소, 암소, 돼지 등과 같은 가축; 닭, 오리, 거위, 칠면조 등과 같은 가금; 개, 고양이 등과 같은 애완동물; 설치류(예컨대 마우스, 랫트, 햄스터), 토끼 등과 같은 실험동물의 개체내로

투여될 수 있다.

[32]

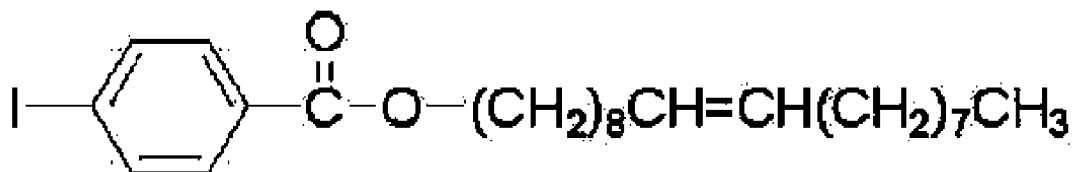
[33] 또한, 본 발명은 화학식 1 또는 화학식 2, 보다 바람직하게는 화학식 3 또는 화학식 4의 방사성 세포 표지용 화합물의 제조방법에 관한 것이다.

[34] 화학식 1, 보다 바람직하게는 화학식 3의 화합물은 올레일-4-요오도벤조에이트 (oleyl-4-iodobenzoate: OIB)로부터 올레일-4-트리부틸틴벤조에이트 (oleyl-4-tributyltinbenzoate)를 합성하고 이를 방사성 요오드로 표지시키는 공정으로 제조할 수 있다.

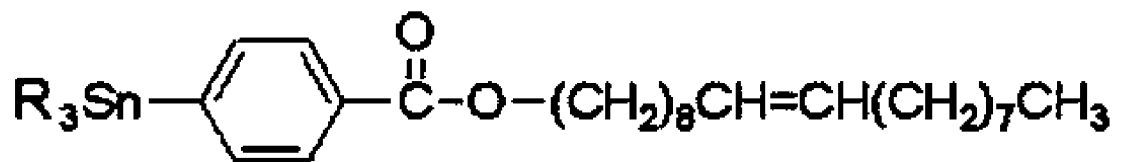
[35] 화학식 2, 보다 바람직하게는 화학식 4의 화합물은 헥사데실-4-요오도벤조에이트 (hexadecyl-4-iodobenzoate: HIB)로부터 헥사데실-4-트리부틸스테인벤조에이트 (hexadecyl-4-tributylstannylbenzoate)를 합성하고 이를 방사성 요오드로 표지시키는 공정으로 제조할 수 있다

[36] 화학식 1, 보다 바람직하게는 화학식 3의 화합물을 제조하는 구체적인 예시로서, 올레일알코올, 4-요오도벤조일 클로라이드, 메틸렌 클로라이드 및 트리에틸아민을 반응시켜 화학식 5의 올레일-4-요오도벤조에이트를 수득하는 공정; 상기 올레일-4-요오도벤조에이트를 헥사부틸디틴 및 테트라키스(트리페닐포스핀)팔라듐과 반응시켜 화학식 6의 화합물을 수득하는 공정; 및 상기 화학식 6의 화합물을 방사성 요오드 금속염과 반응시켜 화학식 1, 보다 바람직하게는 화학식 3의 화합물을 수득하는 공정을 포함한다.

[37] 화학식 5



[38] 화학식 6



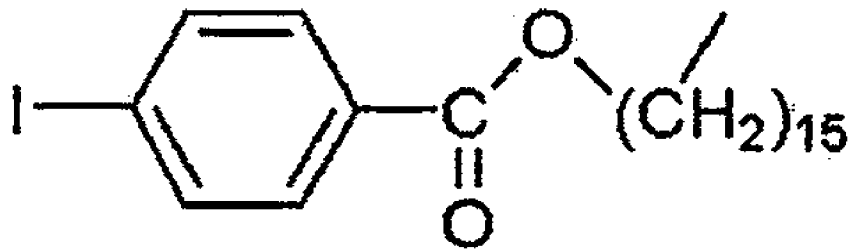
[39] 상기 식에서, R은 특별히 제한되는 것은 아니나, 바람직하게는 직쇄 또는 분기쇄의 알킬기 또는 방향족 치환기이며, 보다 바람직하게는 직쇄 또는 분기쇄의 탄소수 1 내지 6의 알킬기 또는 방향족 치환기일 수 있다.

[40]

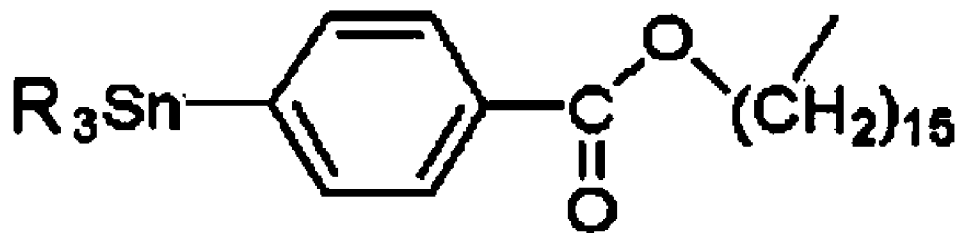
[41] 화학식 2, 보다 바람직하게는 화학식 4의 화합물을 제조하는 구체적인 예시로서, 1-헥사데카놀, 4-요오도벤조일 클로라이드, 메틸렌 클로라이드 및 트리에틸아민을 반응시켜 화학식 7의 헥사데실-4-요오도벤조에이트를 수득하는 공정; 상기 헥사데실-4-요오도벤조에이트를 헥사부틸디틴 및

테트라키스(트리페닐포스핀)팔라듐과 반응시켜 화학식 8의 화합물을 수득하는 공정; 및 상기 화학식 8의 화합물을 방사선 요오드 금속염과 반응시켜 화학식 2, 보다 바람직하게는 화학식 4의 화합물을 수득하는 공정을 포함한다.

[42] 화학식 7



[43] 화학식 8



[44] 상기 식에서, R은 특별히 제한되는 것은 아니나, 바람직하게는 직쇄 또는 분기쇄의 알킬기 또는 방향족 치환기이며, 보다 바람직하게는 직쇄 또는 분기쇄의 탄소수 1 내지 6의 알킬기 또는 방향족 치환기일 수 있다.

[45]

[46] 상기 화학식 1 또는 화학식 2, 보다 바람직하게는 화학식 3 또는 화학식 4의 화합물의 제조 공정에서 구체적으로, 방사선 요오드는 ^{122}I , ^{123}I , ^{124}I , ^{125}I , ^{131}I 및 ^{132}I 로 이루어진 요오드의 방사성 동위원소 군으로부터 선택되며, 보다 바람직하게는 ^{123}I , ^{124}I , ^{125}I , ^{131}I 이다. 또한, 방사선 요오드 동위원소는 요오드화 금속염 형태로 제공되며, 방사성 이온을 제공할 수 있는 것이면 어떤 것도 가능하나, 요오드화나트륨, 요오드화칼륨 및 요오드화리튬과 같은 알칼리금속염이 바람직하다.

[47] 상기 각 공정에 필요한 시약, 용매 및 반응은 당 합성분야의 숙련자에게 잘 알려져 있다. 또한, 제조공정에서, 중간 반응 생성물을 반응 매질로부터 분리하고, 필요에 따라 추출, 결정화 및 크로마토그래피 등과 같은 당해 기술에 일반적으로 공지된 방법에 따라 추가로 정제할 수 있다. 상기 반응과정에 사용된 출발물질, 중간체 등은 상업적으로 입수할 수 있거나, 당 업계에 공지된 방법에 따라 제조할 수 있다.

[48] 그러나, 본 발명의 화합물을 합성하는 방법은 상기로 제한되지는 않는다. 각 공정의 제법이 다양화될 수 있으며, 합성을 위하여 당 분야에 잘 알려진 다양한

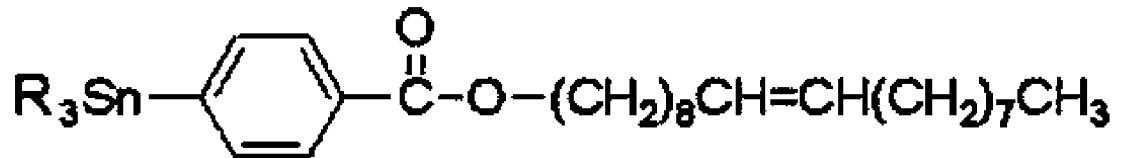
방법을 응용하여 수행할 수 있다.

[49]

[50] 또한, 본 발명은 하기 화학식 6 또는 화학식 8로 표시되는 화합물에 관한 것이다.

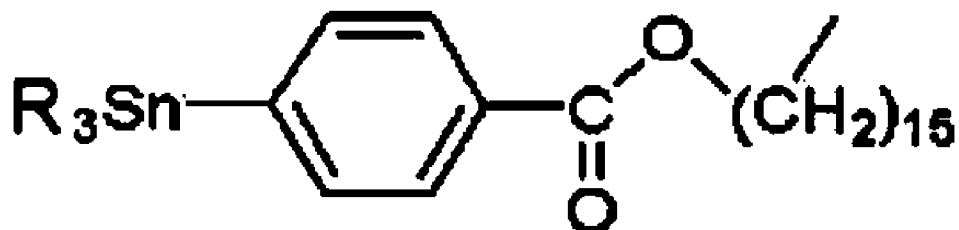
[51] <화학식 6>

[52]



[53] <화학식 8>

[54]



[55] 상기 화학식 6 또는 화학식 8에서, R은 특별히 제한되는 것은 아니나, 바람직하게는 직쇄 또는 분기쇄의 알킬기 또는 방향족 치환기이며, 보다 바람직하게는 직쇄 또는 분기쇄의 탄소수 1 내지 6의 알킬기 또는 방향족 치환기일 수 있다.

[56] 본 발명에서 상기 화학식 6은 화학식 1, 바람직하게는 화학식 3으로 표시되는 방사성 표지 화합물의 전구체이며, 상기 화학식 8의 화합물은 본 발명인 화학식 2, 바람직하게는 화학식 4로 표시되는 방사성 표지 화합물의 전구체이다.

[57]

[58] 또한, 본 발명은 상기 화학식 1 내지 화학식 4 중 어느 하나로 표시되는 방사성 표지 화합물에 의해 표지된 세포, 리포솜, 엑소솜 또는 마이셀 등에 관한 것이다. 상기 본 발명의 방사성 표지 화합물에 의해 표지된 세포, 리포솜, 엑소솜 또는 마이셀 등은 핵의학 영상법에 적용할 경우, 오랜기간 동안 추적이 가능하다. 상기 핵의학 영상법은 인체 내에 방사성 동위원소가 포함된 약물을 투여하여, 상기 방사성 동위원소에서 방출되는 방사선을 포착하여 암을 포착하거나 장기 기능을 검사하는 방법이다.

발명의 효과

[59] 본 발명의 방사성 세포 표지 화합물은 합성이 간단하며, 높은 효율로 세포에 표지되었다. 또한, 본 발명의 화합물은 비 침습적인 방법으로 약 2주 정도까지 추적이 가능 하였다. 따라서, 본 발명의 화합물을 이용할 경우, 본 발명의 화합물에 의해 표지된 세포를 핵의학 영상을 통해 오랜 기간 동안 세포 추적을

할 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [60] 도 1은 OIB의 ^1H NMR 결과를 나타낸다.
- [61] 도 2는 OIB의 ^{13}C NMR 결과를 나타낸다.
- [62] 도 3은 $[^{131}\text{I}]\text{OIB}$ 전구체의 ^1H NMR 결과를 나타낸다.
- [63] 도 4는 $[^{131}\text{I}]\text{OIB}$ 전구체의 ^{13}C NMR 결과를 나타낸다.
- [64] 도 5는 HIB의 ^1H NMR 결과를 나타낸다.
- [65] 도 6은 HIB의 ^{13}C NMR 결과를 나타낸다.
- [66] 도 7은 $[^{131}\text{I}]\text{HIB}$ 전구체의 ^1H NMR 결과를 나타낸다.
- [67] 도 8은 $[^{131}\text{I}]\text{HIB}$ 전구체의 ^{13}C NMR 결과를 나타낸다.
- [68] 도 9는 $[^{131}\text{I}]\text{OIB}$ 의 반응 후 Radio TLC 결과를 나타낸다.
- [69] 도 10은 $[^{131}\text{I}]\text{OIB}$ 의 정제 후 Radio TLC 결과를 나타낸다.
- [70] 도 11은 $[^{131}\text{I}]\text{OIB}$ 와 $[^{131}\text{I}]\text{HIB}$ 세포표지 수득률을 나타낸다.
- [71] 도 12는 $[^{131}\text{I}]\text{OIB}$ 를 랫트에 투입한 후의 감마카메라 영상 결과이다.
- [72] 도 13은 $[^{131}\text{I}]\text{OIB}$ 를 누드 마우스에 투입한 후의 감마카메라와 GFP 영상 결과이다.
- [73] 도 14는 $[^{131}\text{I}]\text{HIB}$ 로 표지된 MDCK 세포를 마우스에 투입 30분 후 감마카메라 영상 결과이다.
- [74] 도 15는 $[^{124}\text{I}]\text{HIB}$ 를 꼬리정맥을 이용하여 마우스에 주입한 후 얻은 MicroPET 이미지 결과이다.
- [75] 도 16은 $[^{124}\text{I}]\text{HIB}$ 를 이용하여 표지한 세포를 꼬리정맥을 통하여 마우스에 주입한 후 얻은 MicroPET 이미지 결과이다.
- [76] 도 17은 본 발명의 또 다른 실시예에 의해 생성된 $[^{131}\text{I}]\text{HIB}$ 에 대한 방사성 TLC 결과이다.
- [77] 도 18은 본 발명의 또 다른 실시예에 의해 생성된 $[^{131}\text{I}]\text{HIB}$ 에 대한 방사성-HPLC 결과이다.
- [78] 도 19는 본 발명의 또 다른 실시예에 의해 생성된 $[^{131}\text{I}]\text{HIB}$ 의 방사화학적 순도를 나타낸 것이다.
- [79] 도 20은 본 발명의 또 다른 실시예에 의해 생성된 $[^{124}\text{I}]\text{HIB}$ 에 대한 방사성 TLC 결과이다.
- [80] 도 21은 본 발명의 또 다른 실시예에 의해 생성된 $[^{124}\text{I}]\text{HIB}$ 에 대한 방사성-HPLC 결과이다.
- [81] 도 22는 본 발명의 또 다른 실시예에 의해 생성된 $[^{124}\text{I}]\text{HIB}$ 의 방사화학적 순도를 나타낸 것이다.

발명의 실시를 위한 최선의 형태

- [82] 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세히 설명하고자 한다. 이들 실시예는 오로지 본 발명을 예시하기 위한 것으로, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해

제한되는 것으로 해석되지 않는 것은 당업계에서 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 자명할 것이다.

[83]

[84] <실시예 1> 올레일-4-요오도벤조에이트 (Oleyl-4-iodobenzoate)의 합성

[85] 메틸렌 클로라이드 (130mL) 와 4-요오도벤조일 클로라이드 (4-iodobenzoyl chloride)(2.65g, 9.94mmol)의 혼합물에 올레일알코올(oleylalcohol)(2.7mL, 9.31mmol)과 트리에틸아민 (triethylamine)(2.25mL)를 넣었다. 상기 용액을 상온에서 밤새 반응시킨 후, 메틸렌 클로라이드를 감압 하에서 제거한 후 남겨진 물질을 컬럼 크로마토그래피를 통하여 정제 하였다(2.80g, 60%). ¹H NMR(CDCl₃, 400MHz) 7.78(4H, ABq, J=8.48Hz), 5.36(2H, m), 4.32(2H, t, J=8Hz), 2.04(4H, m), 1.77(2H, m), 1.28-1.44(22H, m), 0.88 (3H, m). ¹³CNMR 14.55, 23.11, 26.41, 27.58, 27.63, 29.06, 29.61, 29.66, 29.74, 29.82, 29.95, 30.07, 30.13, 30.18, 32.32, 33.03, 65.76, 100.97, 130.14, 130.60, 130.84, 138.32, 166.46

[86]

[87] <실시예 2> 올레일-4-트리부틸틴벤조에이트 (Oleyl-4-tributyltinbenzoate)의 합성

[88] 톨루엔 150ml에 올레일-4-요오도벤조에이트(0.46g, 0.87mmol)이 있는 용액에 헥사부틸디틴 (Hexabutyltin) (1ml, 1.39mmol)과 테트라키스(트리페닐포스핀)팔라듐 (tetrakis(triphenylphosphine)palladium) (0.02g, 17.3μmol)을 넣은 후 아르곤 하에서 혼합물의 색이 검정색이 될 때까지 환류(reflux) 시켰다. 용매는 감압 하에서 제거 해 주고, 남은 물질은 컬럼 크로마토그래피를 통하여 정제 하였다(0.37g, 61%). ¹H NMR(CDCl₃, 400MHz) 7.99(2H, d, J=8Hz), 7.62(2H, d, J=8Hz), 5.39(2H, m), 4.33(2H, t, J=8Hz), 2.05(4H, m), 1.8(2H, m), 1.12-1.57(22H, m), 0.91(12H, m). ¹³CNMR(CDCl₃, 400MHz) 10.03, 14.06, 14.52, 23.10, 26.46, 27.59, 27.62, 27.73, 29.44, 29.69, 30.14, 30.18, 32.30, 33.02, 65.36, 128.55, 130.65, 130.83, 136.76, 149.79, 166.48.

[89]

[90] <실시예 3> [¹³¹I]OIB의 합성

[91] [¹³¹I]OIB 전구체(50μl, 1mg/1ml)에 1M HCl(50μl), 3% H₂O₂(50μL) 및 [¹³¹I]NaI (2.25mCi)를 넣은 후 상온에서 20분 동안 반응시켰다. 반응물에 sat. NaHSO₃ (50μl) 넣어서 퀀치(quench)시켰다. 생성물은 HPLC (Luna C8 column, 5 μm, 4.6x50mm, 이동상 95% acetonitrile in d-H₂O, flow rate 1 ml/min)로 정제하였다. 용매는 감압 하에서 제거 했으며, 분리된 [¹³¹I]OIB는 10% DMSO/saline에 녹였다. 위의 방법으로 얻어진 활성도는 817μCi(36%, 방사화학적 수율, 합성 시간 2 hrs)이었다.

[92]

[93] <실시예 4> [¹³¹I]OIB를 이용한 L6 세포 표지

[94] 10% DMSO/saline에 있는 [¹³¹I]OIB 33μl(136μCi)를 0.5ml 무혈청 배지에 있는

4x10⁵개의 L6 세포에 넣어 주었다. 혼합물은 상온에서 30분간 반응시켰다. 원심분리기(2000xg for 2min)를 이용하여 부양물을 제거한 후 세포를 PBS (phosphate-buffered saline, pH 7.4)으로 두 번 세척하였다. 세척후의 분리된 세포와 배지의 합쳐진 방사능(radioactivity)은 dose calibrator(Capintec radioisotope calibrator)로 측정하였다. 세포 라벨링 효율은 26% 이었다. 표지된 세포의 손실은 세포를 원심분리하거나 PBS로 세척하는 동안에 방사능의 손실이 결정 되어졌다.

[95]

[96] <실시예 5> 감마 카메라와 GFP 영상

[97] 마우스를 Triad XLT 감마 카메라 (Tronix, Twinsburg, OH)의 머리 쪽에 놓고 [¹³¹I]OIB로 표지된 L6 세포를 투입하였다. 카메라의 머리 쪽은 MEGP(medium energy general purpose collimator) 장비를 갖추고 있었다. 영상은 256x256 매트릭스로 처음 5분 동안 측정하였다. 그리고는 하루, 이틀 그리고 이주일까지 영상을 획득하였다.

[98]

발명의 실시를 위한 형태

[99] <실시예 6> 헥사데실-4-요오도벤조에이트 (hexadecyl-4-iodobenzoate)의 합성

[100] 1-헥사데카놀(1-hexadecanol)(1g, 4.12mmol), 4-요오도벤조일 클로라이드 (4-iodobenzoyl chloride)(1.32g, 4.94mmol), 트리에틸아민(triethyl-amine)(1.15ml, 8.25mmol)과 메틸렌 클로라이드 (30ml)의 혼합물을 상온에서 3시간동안 반응 시켰다. 용매는 감압하에서 제거되었으며, 잔여물로부터는 헥산을 사용하여 흰색의 결정을 얻었다(1.42g, 80%)

[101]

[102] <실시예 7> 헥사데실-4-트리부틸스테닐벤조에이트 (Hexadecyl-4-tributyl stannyl benzoate) 합성

[103] 헥사부틸디틴 (Hexabutyliditin) (0.78ml, 1.56mmol)과 테트라키스(트리페닐포스핀)팔라듐 (tetrakis(triphenylphosphine)palladium) (0.02g, 19.4μmol)을 10ml의 톨루엔(toluene)에 있는 헥사데실-4-요오도벤조에이트 (hexadecyl-4-iodobenzoate)(0.46g, 0.9mmol)에 첨가하였다. 혼합물은 용액이 검은색이 될 때까지(6~8시간) 환류시켰다. 용매는 감압하에서 제거 되었으며, 잔여물은 컬럼 크로마토그래피(alumina)를 통하여(hexanes/ethyl acetate=20/1(v/v)) 무색의 생성물을 (0.43g, 70%)얻었다.

[104]

[105] <실시예 8> [¹³¹I]HIB의 합성

[106] [¹³¹I]HIB 전구체(50μl, 1mg/1ml)에 1M HCl(50μl), 3% H₂O₂(50μL) 그리고 [¹³¹I]NaI (2.75mCi)를 넣은 후 상온에서 20분 동안 반응 시켰다. 반응은 반응물에 sat. NaHSO₃ (50 μl) 넣어서 퀀치시켰다. 생성물은 HPLC (Luna C8 column, 5 μm,

4.6x50mm, 이동상 95% acetonitrile in d-H₂O, flow rate 1 ml/min)로 정제하였다. 용매는 감압 하에서 제거 했으며, 분리된 [¹³¹I]OIB는 10% DMSO/saline에 녹였다. 상기 방법으로 얻어진 활성도는 1.815mCi(66%, 방사화학적 수율, 합성 시간 2 hrs)이었다.

[107]

[108] <실시예 9> [¹²⁴I]HIB의 합성

[109] [¹²⁴I]HIB(50μl, 1mg/1ml) 전구체에 30% H₂O₂/AcOH(100μL, 1/3 v/v) 그리고 [¹²⁴I]NaI (0.3mCi)를 넣은 후 상온에서 10분 동안 반응 시켰다. 반응은 반응물에 0.1N HCl (100 μl)을 넣어서 퀀치시켰다. 생성물은 HPLC (Luna C8 column, 5 μm, 4.6x50mm, 이동상 95% acetonitrile in d-H₂O, flow rate 1 ml/min)로 정제하였다. 용매는 감압 하에서 제거 했으며, 분리된 [¹²⁴I]HIB는 10% DMSO/saline에 녹였다. 위의 방법으로 얻어진 활성도는 75μCi(25%, 방사화학적 수율, 합성 시간 2 hrs)이었다.

[110]

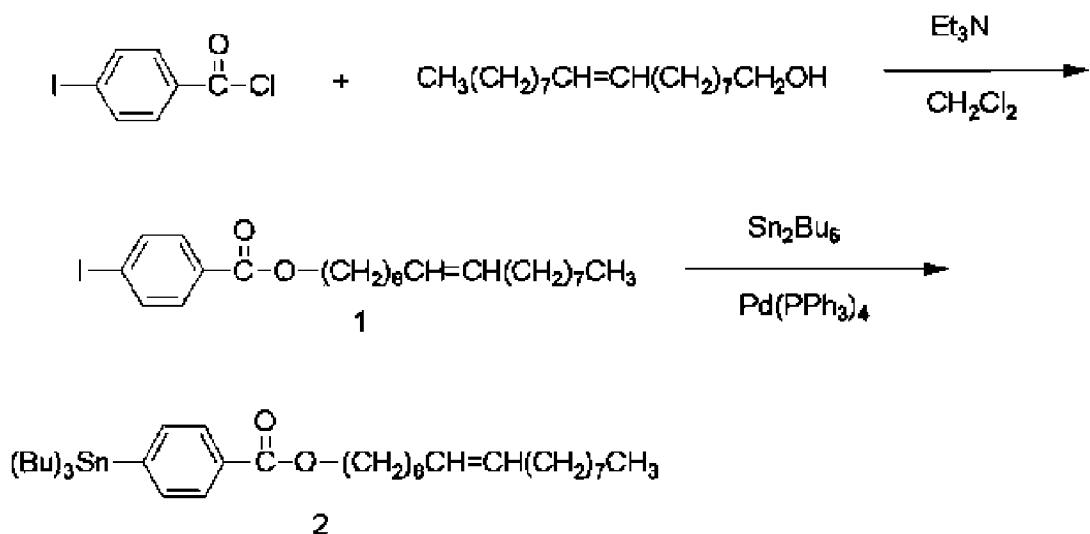
[111] <실시예 10> [¹³¹I]OIB(oleyliodobenzoate) 및 [¹³¹I]HIB(hexadecyl iodobenzoate) 전구체의 합성 결과

[112] 4-요오도벤조일 클로라이드를 메틸렌 클로라이드에 녹여 있는 트리에틸아민과 올레일알코올 혼합물에 넣은 후 상온에서 밤새 반응시킨 후 컬럼 크로마토그래피를 통하여 OIB (oleyl-4-iodobenzoate)인 에스테르(1)를 56 %로 얻었다. [¹³¹I]OIB 전구체의 합성 과정을 반응식 1로 나타내었다. 생성된 화합물은 ¹H NMR 과 ¹³C NMR로 확인 할 수 있었다 (도 1 및 도 2).

[113]

[114] [반응식 1]

[115]



[116] 에스테르 화합물(1)을 팔라듐 (palladium) 촉매하에 헥사부틸틴(hexabutyltin) 화합물과 반응시켜 요오드 기가 트리부틸틴(tributyltin)기로 치환된 [¹³¹I]OIB 전구체(2)를 61% 수율로 얻었다. 합성된 화합물(2)은 ¹H NMR과 ¹³C NMR로 확인

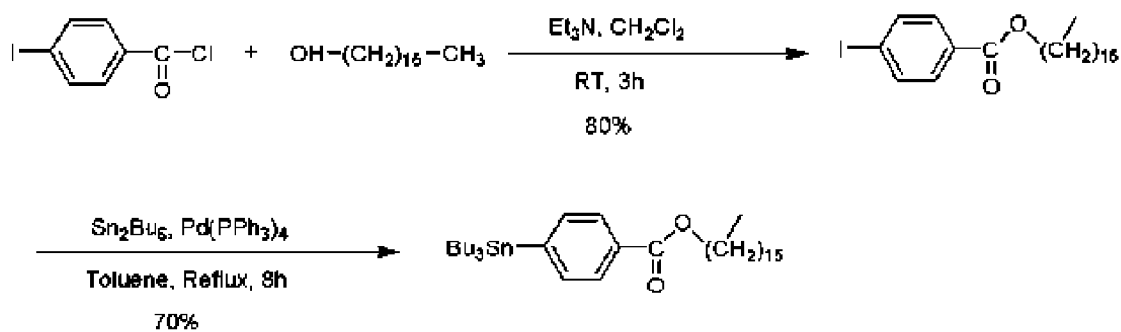
할 수 있었다(도 3 및 도 4).

- [117] 4-요오도벤조일 클로라이드(4-iodobenzoyl chloride)를 메틸렌 클로라이드에 녹여 있는 트리에틸아민(triethylamine)과 헥사데실알코올(hexadecylalcohol) 혼합물에 넣은 후 상온에서 밤새 반응시킨 후 컬럼 크로마토그래피를 통하여 헥사데실-4-요오도벤조에이트(HIB)인 에스테르를 80%로 얻었다. [¹³¹I]HIB 전구체의 합성 과정을 반응식 2로 나타내었다. 생성된 화합물은 ¹H NMR과 ¹³C NMR로 확인 할 수 있었다. 에스테르 화합물을 팔라듐 촉매하에 헥사부틸틴 화합물과 반응시켜 요오드기가 트리부틸틴 기로 치환된 [¹³¹I]HIB 전구체를 70% 수율로 얻었다. 합성된 화합물은 ¹H NMR과 ¹³C NMR로 확인 할 수 있었다(도 5, 6, 7 및 8).

[118]

[119] [반응식 2]

[120]



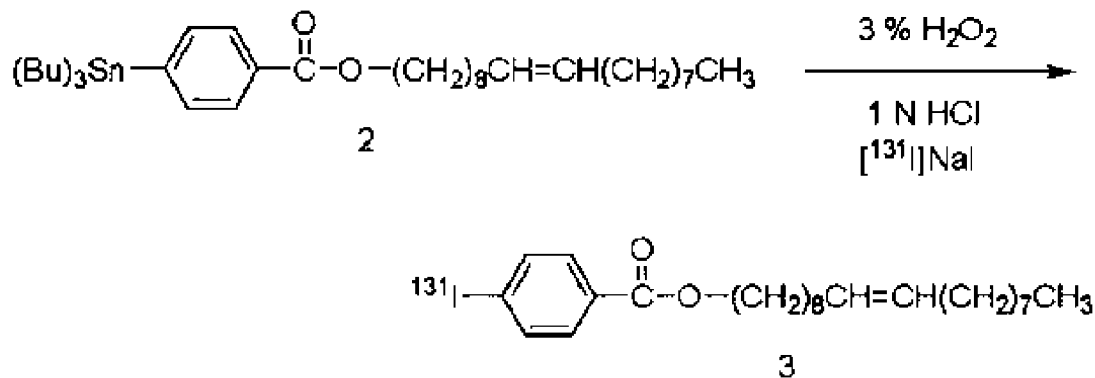
[121] <실시예 11> [¹³¹I]OIB, [¹³¹I]HIB와 [¹²⁴I]HIB의 합성 결과

[122] [¹³¹I]OIB 전구체를 1M 염산 하에서 I-131과 3% 과산화수소와 반응시켜 [¹³¹I]OIB를 51% 수율로 얻었다. [¹³¹I]OIB의 합성 과정을 반응식 3으로 나타내었다. 수율은 incorporation 수율로 radio-TLC를 바탕으로 계산되었다(도 9 및 도 10). 합성된 [¹³¹I]OIB는 HPLC로 정제 하였으며, 순도는 95% 이상이었다.

[123]

[124] [반응식 3]

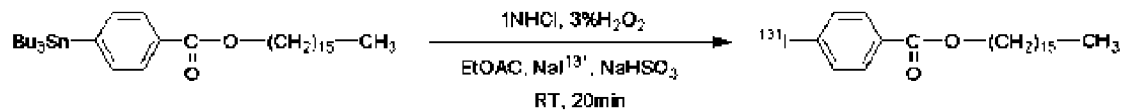
[125]



[126] [¹³¹I]HIB는 [¹³¹I]OIB의 합성법과 동일한 방법으로 66%의 수율로 합성되었다. [¹³¹I]HIB의 합성 과정을 반응식 4로 나타내었다.

[127] [반응식 4]

[128]

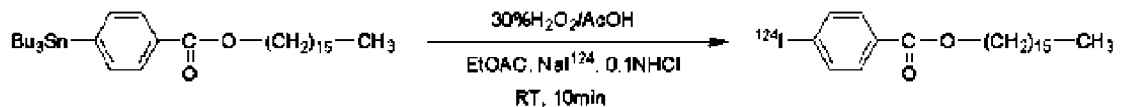


[129] $[^{124}\text{I}]\text{HIB}$ 전구체를 I-124와 30% 과산화수소와 반응시켜 $[^{124}\text{I}]\text{HIB}$ 를 25% 수율로 얻었다. $[^{124}\text{I}]\text{HIB}$ 의 합성 과정을 반응식 5로 나타내었다. 수율은 incorporation 수율로 radio-TLC를 바탕으로 계산되었다 합성된 $[^{124}\text{I}]\text{HIB}$ 는 HPLC로 정제 하였으며, 순도는 99% 이상이었다.

[130]

[131] [반응식 5]

[132]



[133] <실시예 12> $[^{131}\text{I}]\text{OIB}$ 와 $[^{131}\text{I}]\text{HIB}$ 의 세포 표지 결과

[134] 세포 표지는 PBS 용액에 $[^{131}\text{I}]\text{OIB}$ 와 $[^{131}\text{I}]\text{HIB}$, 및 세포를 각각 넣고 혼합한 후 원심 분리기를 사용 하여 세포를 분리한 후, 여러 번 세척하는 과정으로 이루어 졌다. 세포 표지는 L6, H9C2, HeLa, 4T1 과 SCC-7에 대하여 진행되었다(도 11). 세포 표지 수득률은 상기 5종류의 세포에 대하여 모두 20% 이상이다.

[135]

[136] <실시예 13> 감마 카메라 영상 결과

[137] 세포 표지자 $[^{131}\text{I}]\text{OIB}$ 를 이용하여 랫트(rat) 심근세포 L6에 2시간 표지 후 표지된 심근세포를 백서의 심근에 직접 이식 후 2주간 감마카메라로 영상을 획득 하였다. 영상은 $[^{131}\text{I}]\text{OIB}$ 를 통하여 이식된 세포의 영상을 획득하였으며, 2주동안 다른 장기의 전이를 볼 수 없었다 (도 12). L6-NIS/GFP 리포터가 이입된 세포에 $[^{131}\text{I}]\text{OIB}$ 화합물을 세포에 표지 후, 누드 마우스(nude mouse)의 각 대퇴부와 어깨에 1×10^7 세포수로 피하 주사를 하였다. 주사 후 1일에서 14일 까지 감마카메라로 $[^{131}\text{I}]\text{OIB}$ 에 표지된 세포를 영상화 한 후 24일에 NIS유전자의 발현을 확인하고자 $500\mu\text{Ci}$ Tc-99m을 복강에 투여후 감마카메라로 영상을 획득 하였다. GFP유전자는 24일까지 측정하였다. $[^{131}\text{I}]\text{OIB}$ 는 감마카메라 영상에서는 14일 까지 볼 수 있었으며, 또한 GFP 영상도 14일 까지 측정 가능하였다(도 13). 또한 $[^{131}\text{I}]\text{HIB}$ 로 표지된 MDCK 세포를 마우스에 투입 30분 후 감마카메라로 보았을 때 폐에 축적됨을 확인할 수 있었다 (도 14).

[138]

[139] <실시예 14> MicroPET 영상

[140] $[^{124}\text{I}]\text{HIB}$ 를 꼬리정맥을 이용하여 마우스에 주입한 후 microPET 영상을 얻었다. 이 때 원래 요오드가 축적되는 부위인 갑상선과 방광 부위에 $[^{124}\text{I}]\text{HIB}$ 가 축적되는 것을 확인할 수 있었다. 이 외에 간 위치에 활성도가 축적되는 것으로 보아 간을 통하여 배출되는 것으로 여겨진다(도 15).

[141] $[^{124}\text{I}]\text{HIB}$ 를 이용하여 표지한 세포를 꼬리정맥을 통하여 주입한 후 microPET 이미지를 획득하였다. 이 때에 대부분이 폐에 축적되는 것을 확인 할 수 있었는데, 이것은 잘 알려진 대로 대부분의 세포가 폐의 모세혈관에 걸리기 때문인 것으로 생각된다. 동일 동물을 시간에 따라 계속적으로 이미징 함으로써 긴시간 동안 관찰의 가능 여부를 확인 하였다. 세포를 주입한 후 2시간동안 microPET 이미징을 얻었고, 주입 18시간 후 2시간동안, 그리고 66시간(약 3일)이 지난 시간 까지도 폐 부위에 세포가 집적되어 있는 것이 이미지로 확인 되었다(도 16). 그러므로 $[^{124}\text{I}]\text{HIB}$ 가 긴 시간동안의 세포 표지자 (cell trafficking agent)로 사용 가능함을 확인하였다.

[142]

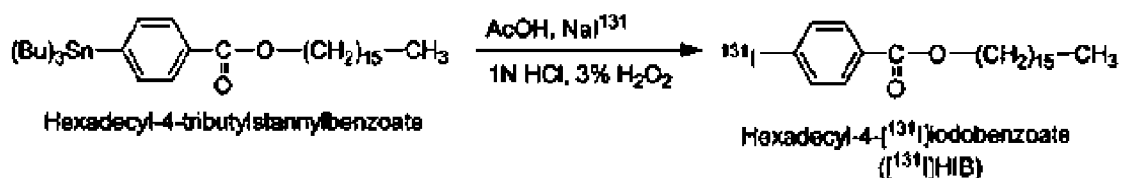
[143] <실시예 15> $[^{131}\text{I}]\text{HIB}$ 의 또 다른 합성방법

[144] $[^{131}\text{I}]\text{HIB}$ 의 또 다른 합성과정은 다음과 같다. 상기 <실시예 7>에서 수득한 헥사데실-4-트리부틸스테인벤조에이트 (Hexadecyl-4-tributyl stannyl benzoate) (100 μg)에 아세트산(100 μL), 3% H_2O_2 (100 μL), 0.1N HCl(100 μL) 및 NaI^{131} (1.73mCi)용액을 혼합한 후 70°C 에서 30분 동안 반응시켜 생성물 $[^{131}\text{I}]\text{HIB}$ 를 수득하였다. $[^{131}\text{I}]\text{HIB}$ 의 또 다른 합성 과정을 하기 반응식 6으로 나타내었다.

[145]

[146] [반응식 6]

[147]



[148] 상기 생성물 $[^{131}\text{I}]\text{HIB}$ 는 실리카 플레이트(silica plate)에서 이동상 20:1 Hexane:EtOAc를 이용하여 방사성 TLC(radio-TLC)에 의해 확인하였다. 50°C 진공상태에서 용매를 제거한 후, 분리된 $[^{131}\text{I}]\text{HIB}$ 를 20% DMSO/PBS에 용해시켰다. 상기와 같은 방법으로 얻어진 활성도는 1.56 mCi (> 90% 방사화학적 수율, 감쇠 보정 없음, 합성시간 40 min) 이었다(도 17).

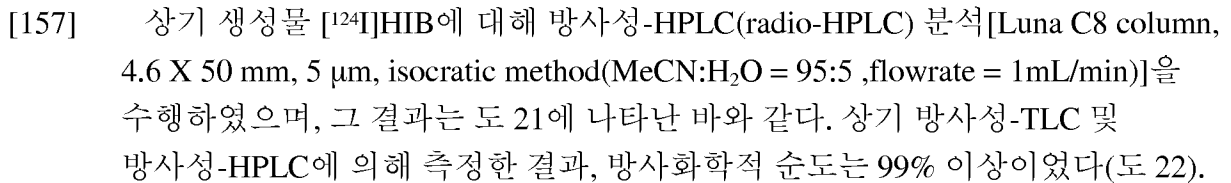
[149] 또한, 상기 생성물 $[^{131}\text{I}]\text{HIB}$ 에 대해 방사성-HPLC(radio-HPLC) 분석[Luna C8 column, 4.6 X 50 mm, 5 μm , isocratic method($\text{MeCN}:\text{H}_2\text{O} = 95:5$, flowrate = 1mL/min)]을 수행하였으며 그 결과는 도 18에 나타난 바와 같다. 상기 방사성-TLC(radio-TLC) 및 방사성-HPLC(radio-HPLC)의 측정 결과, 생성물 $[^{131}\text{I}]\text{HIB}$ 의 방사화학적 순도는 99% 이상이었다(도 19).

[150]

[151] <실시예 16> $[^{124}\text{I}]\text{HIB}$ 의 또 다른 합성방법

[152] $[^{124}\text{I}]\text{HIB}$ 의 또 다른 합성과정은 다음과 같다. 상기 <실시예 7>에서 수득한 헥사데실-4-트리부틸스테인벤조에이트 (Hexadecyl-4-tributyl stannyl benzoate) (100 μg)에 아세트산(100 μL), 3% H_2O_2 (100 μL), 0.1N HCl(100 μL) 및 NaI^{124}

[155]



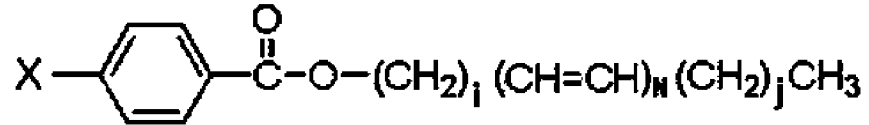
[158] 생체내 유입되는 세포의 위치와 분포를 오랫동안 영상화하여 추적가능하게 하는 본 발명의 화합물은, 의생명과학 등의 기초연구 분야 및 유전분야 등의 연구분야 및 세포 치료나 재생을 위한 임상분야에서의 응용이 기대된다.

청구범위

[청구항 1]

하기 화학식 1로 표시되는 방사성 표지 화합물.

<화학식 1>

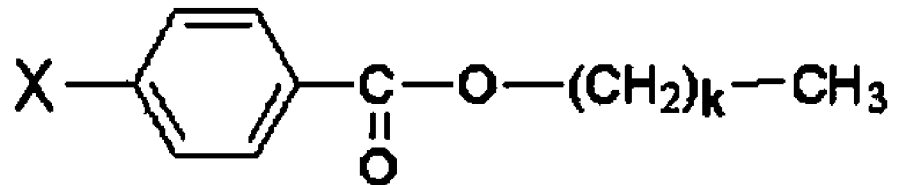


(상기 식에서, X는 요오드의 방사선 동위원소이고, $5 \leq i+j \leq 30$ 이다. 상기 이중결합($-\text{CH}=\text{CH}-$) 부분의 N은 1 내지 10 이며, 상기 이중결합은 연속적 또는 불연속적으로 결합된다.)

[청구항 2]

하기 화학식 2로 표시되는 방사성 표지 화합물.

<화학식 2>



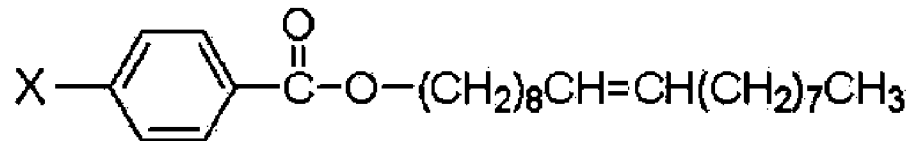
(상기 식에서, X는 요오드의 방사선 동위원소이고, $5 \leq k \leq 30$ 이다.)

[청구항 3]

제 1항에 있어서,

하기 화학식 3 로 표시되는 것을 특징으로 하는 방사성 표지 화합물.

<화학식 3>



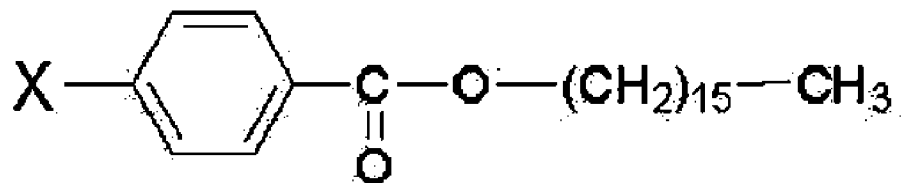
(상기 식에서, X는 요오드의 방사선 동위원소이다.)

[청구항 4]

제 2항에 있어서,

하기 화학식 4 로 표시되는 것을 특징으로 하는 방사성 표지 화합물.

<화학식 4>



(상기 식에서, X는 요오드의 방사선 동위원소이다.)

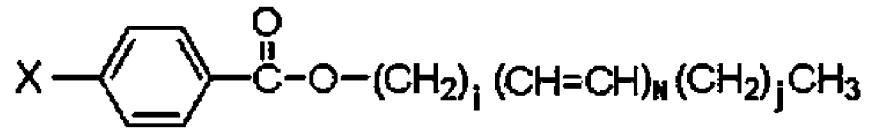
[청구항 5]

제 1항 내지 제 4항 중 어느 한 항에 있어서,
상기 X는 ^{122}I , ^{123}I , ^{124}I , ^{125}I , ^{131}I 및 ^{132}I 로 이루어진 요오드의 방사성 동위원소 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 방사성 표지 화합물.

[청구항 6]

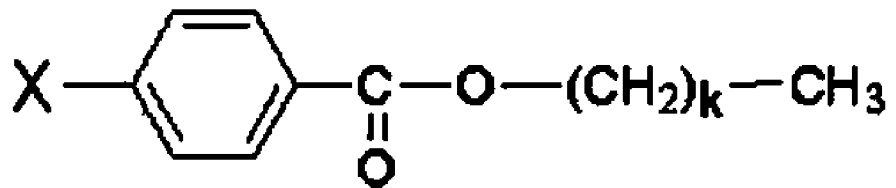
하기 화학식 1, 화학식 2의 방사성 표지 화합물을 포함하는 조성물.

<화학식 1>



(상기 식에서, X는 요오드의 방사성 동위원소이고, $5 \leq i+j \leq 30$ 이며, 상기 N은 1 내지 10 이다.)

<화학식 2>



(상기 식에서, X는 요오드의 방사성 동위원소이고, $5 \leq k \leq 30$ 이다.)

[청구항 7]

제 6항에 있어서, X는 ^{122}I , ^{123}I , ^{124}I , ^{125}I , ^{131}I 및 ^{132}I 로 이루어진 요오드의 방사성 동위원소 군으로부터 선택되는 조성물.

[청구항 8]

올레일알코올, 4-요오도벤조일 클로라이드, 메틸렌 클로라이드 및 트리에틸아민을 반응시켜 화학식 5의

올레일-4-요오도벤조에이트를 수득하는 공정;

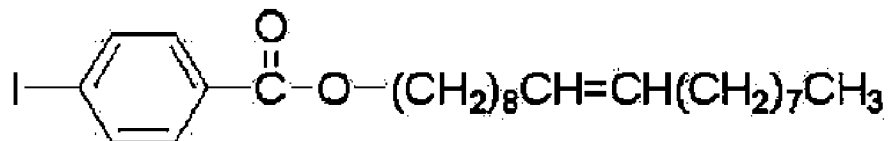
상기 올레일-4-요오도벤조에이트를 헥사부틸디틴 및

테트라키스(트리페닐포스핀)팔라듐과 반응시켜 화학식 6의 화합물을 수득하는 공정; 및

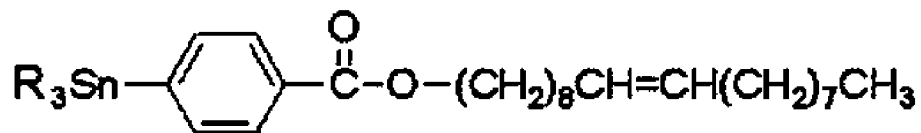
상기 화학식 6의 화합물을 방사성 요오드 금속염과 반응시켜

화학식 1의 화합물을 수득하는 공정을 포함하는 제1항의 방사성 표지 화합물의 제조방법.

<화학식 5>



<화학식 6>



(상기 식에서, R은 직쇄 또는 분기쇄의 알킬기 또는 방향족 치환기이다.)

[청구항 9]

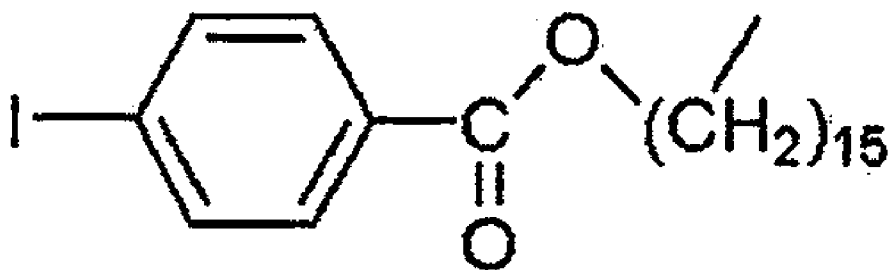
1-헥사데카놀, 4-요오도벤조일 클로라이드, 메틸렌 클로라이드 및 트리에틸아민을 반응시켜 화학식 7의

헥사데실-4-요오도벤조에이트를 수득하는 공정;

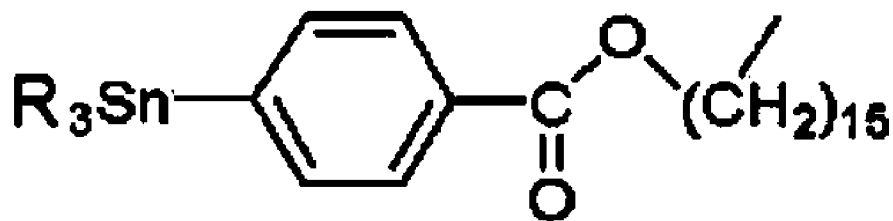
상기 헥사데실-4-요오도벤조에이트를 헥사부틸디틴 및 테트라키스(트리페닐포스핀)팔라듐과 반응시켜 화학식 8의 화합물을 수득하는 공정; 및

상기 화학식 8의 화합물을 방사선 요오드 금속염과 반응시켜 화학식 2의 화합물을 수득하는 공정을 포함하는 제2항의 방사성 표지 화합물의 제조방법.

<화학식 7>



<화학식 8>



(상기 식에서, R은 직쇄 또는 분기쇄의 알킬기 또는 방향족 치환기이다.)

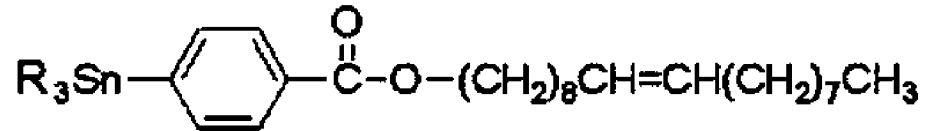
[청구항 10]

제 8항 또는 제 9항에 있어서, 요오드는 ^{122}I , ^{123}I , ^{124}I , ^{125}I , ^{131}I 및 ^{132}I 로 이루어진 요오드의 방사성 동위원소 군으로부터 선택되는 방법.

[청구항 11]

하기 화학식 6으로 표시되는 것을 특징으로 하는 화합물.

<화학식 6>

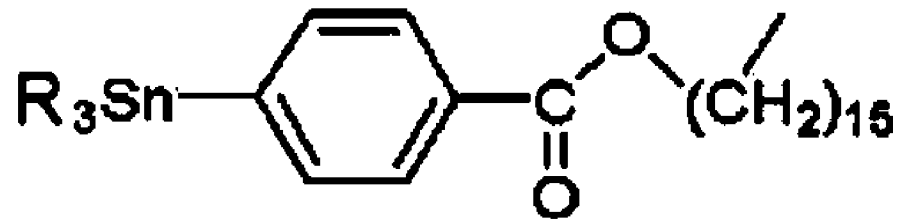


(상기 식에서, R은 직쇄 또는 분기쇄의 알킬기 또는 방향족 치환기이다.)

[청구항 12]

하기 화학식 8로 표시되는 것을 특징으로 하는 화합물.

<화학식 8>



(상기 식에서, R은 직쇄 또는 분기쇄의 알킬기 또는 방향족 치환기이다.)

[청구항 13]

제 1항 내지 제 5항 중 어느 한 항의 방사성 표지 화합물에 의해 표지된 세포.

[청구항 14]

제 1항 내지 제 5항 중 어느 한 항의 방사성 표지 화합물에 의해 표지된 리포솜.

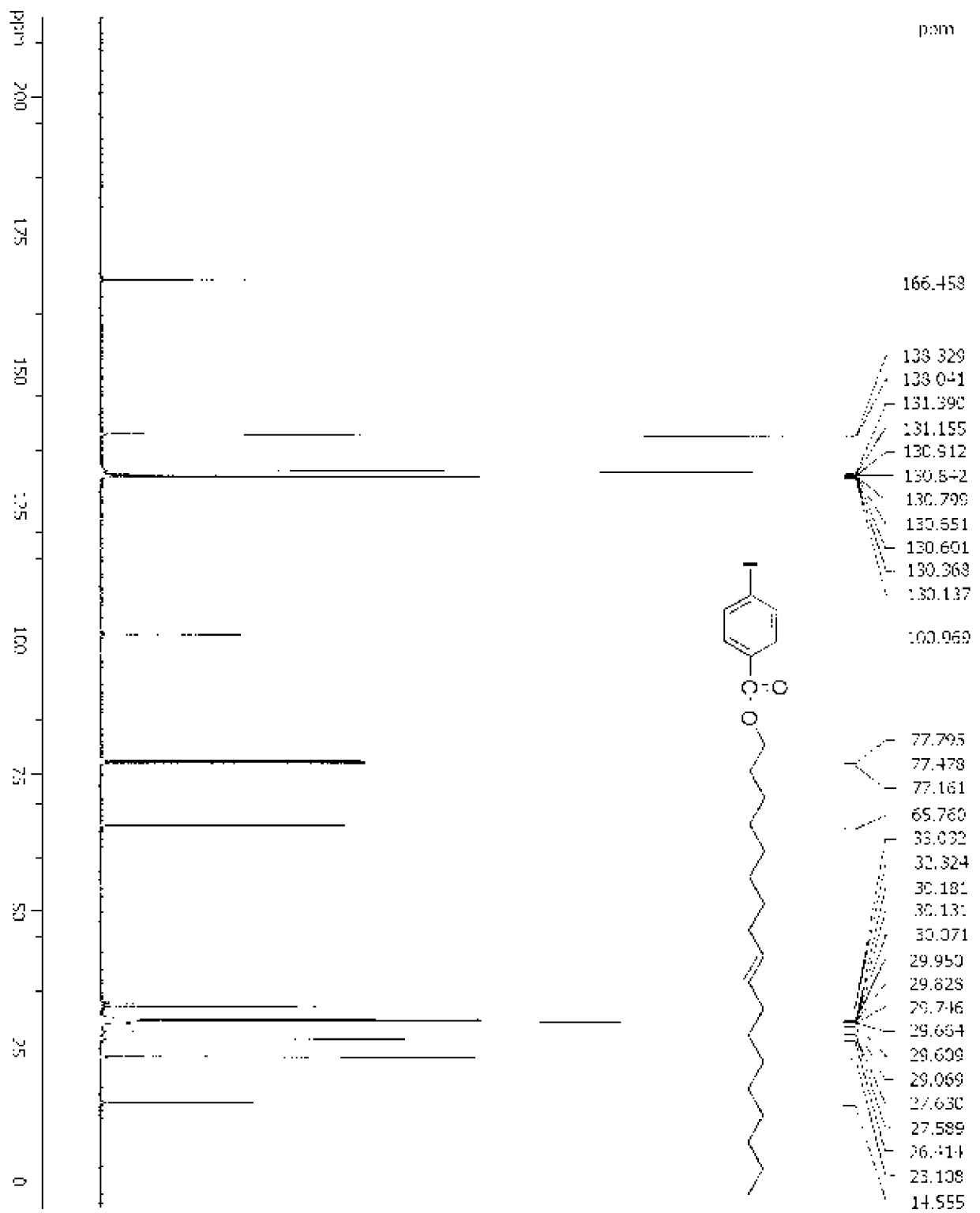
[청구항 15]

제 1항 내지 제 5항 중 어느 한 항의 방사성 표지 화합물에 의해 표지된 엑소솜.

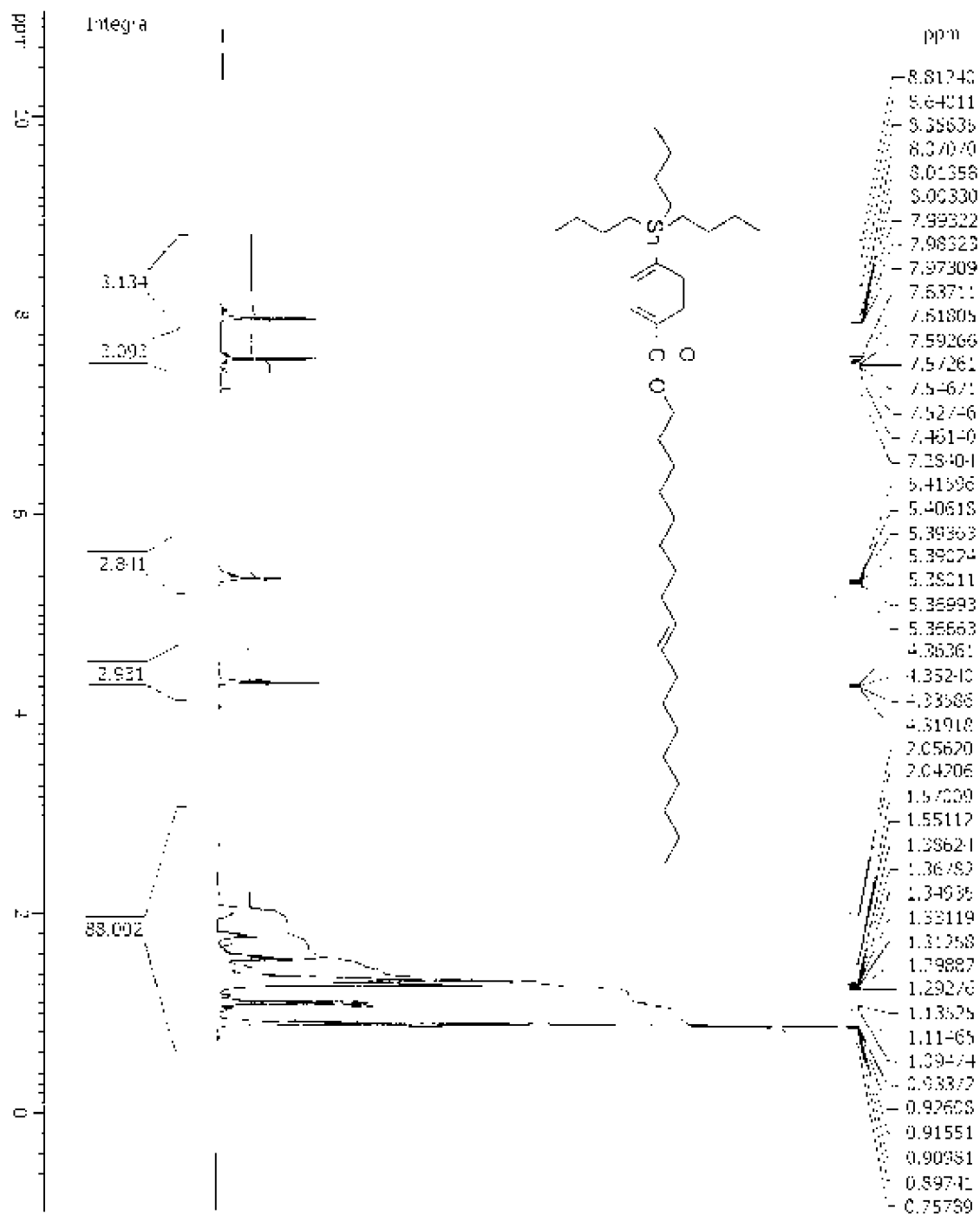
[청구항 16]

제 1항 내지 제 5항 중 어느 한 항의 방사성 표지 화합물에 의해 표지된 마이셀.

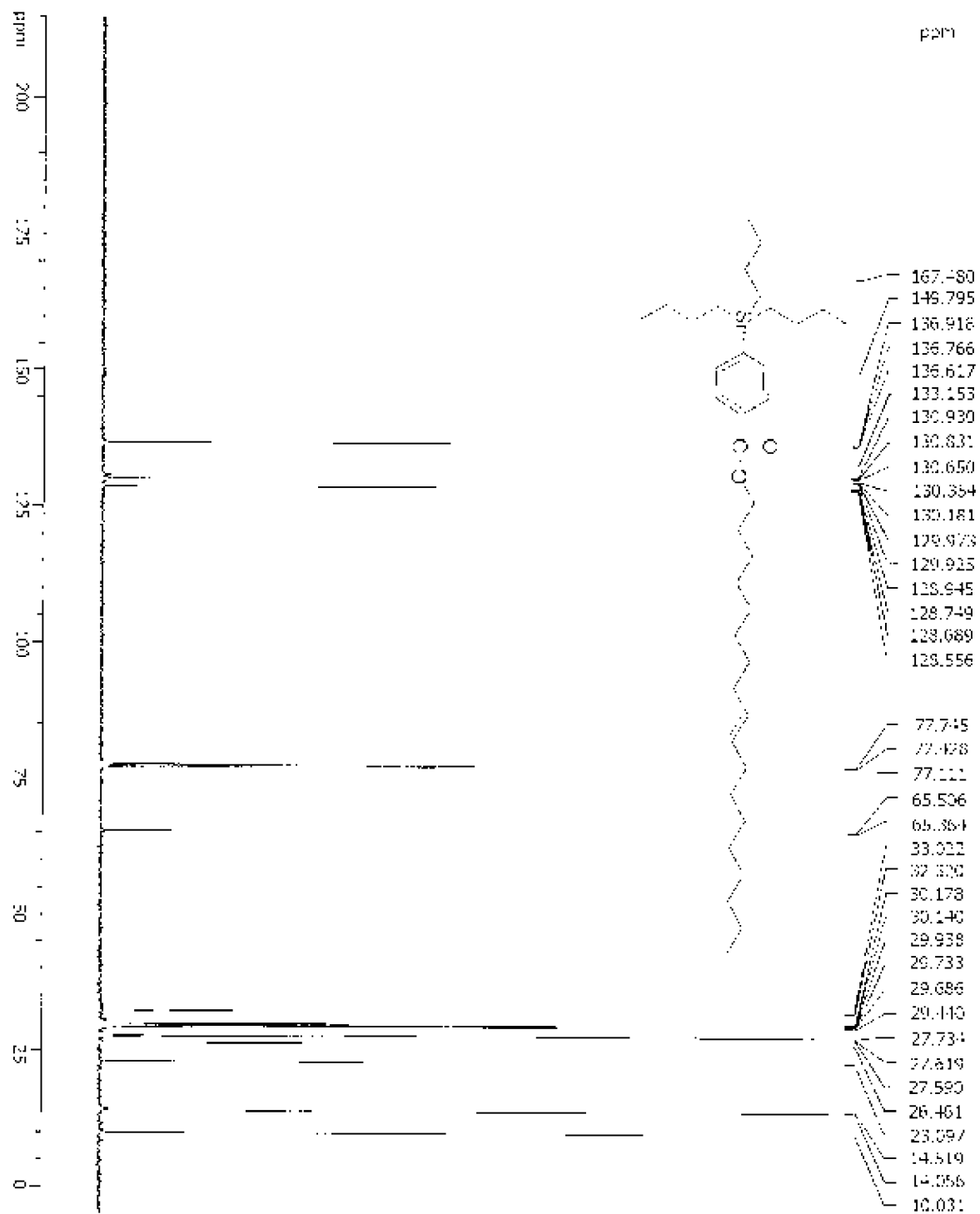
[Fig. 2]



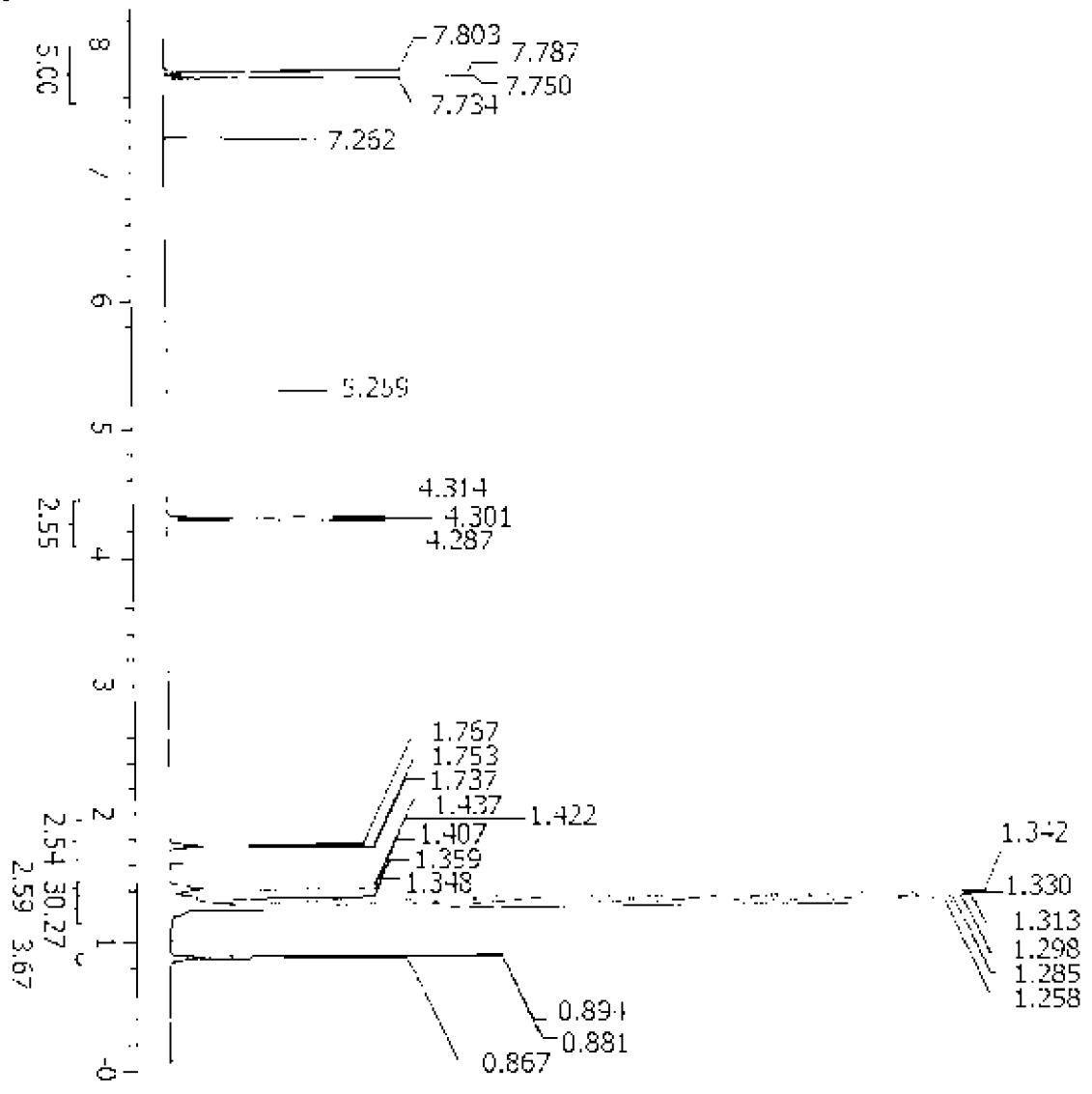
[Fig. 3]



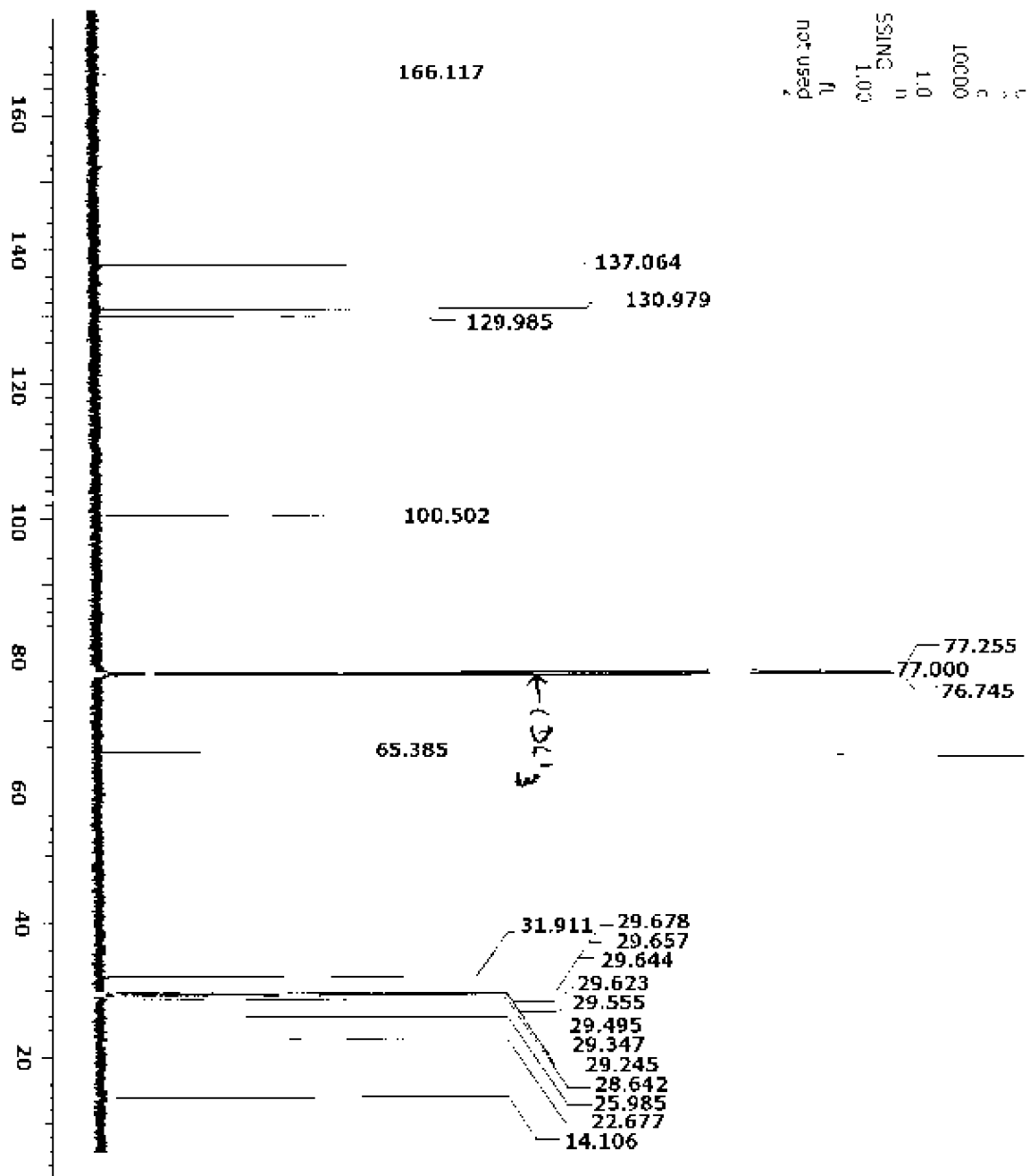
[Fig. 4]



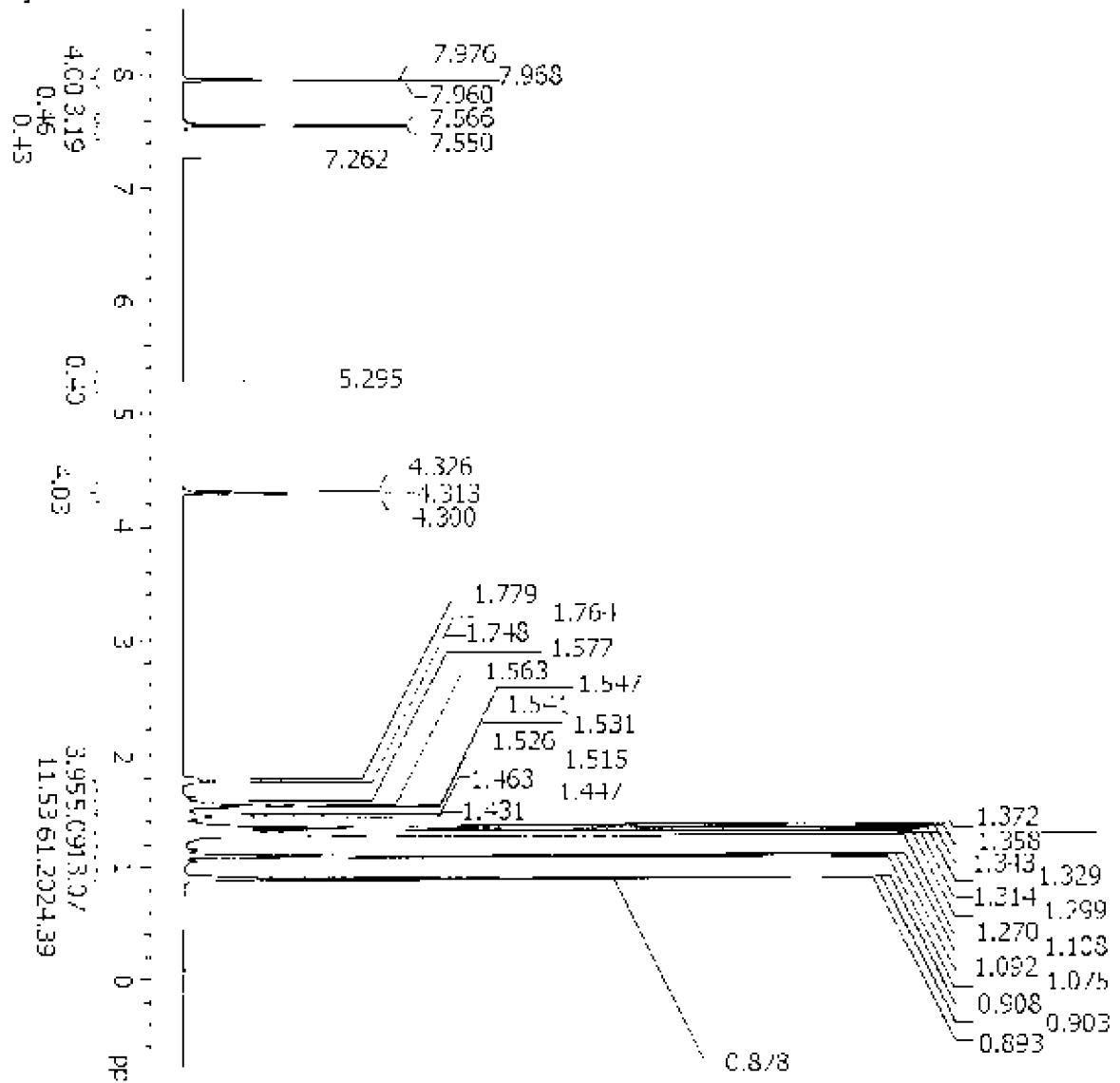
[Fig. 5]



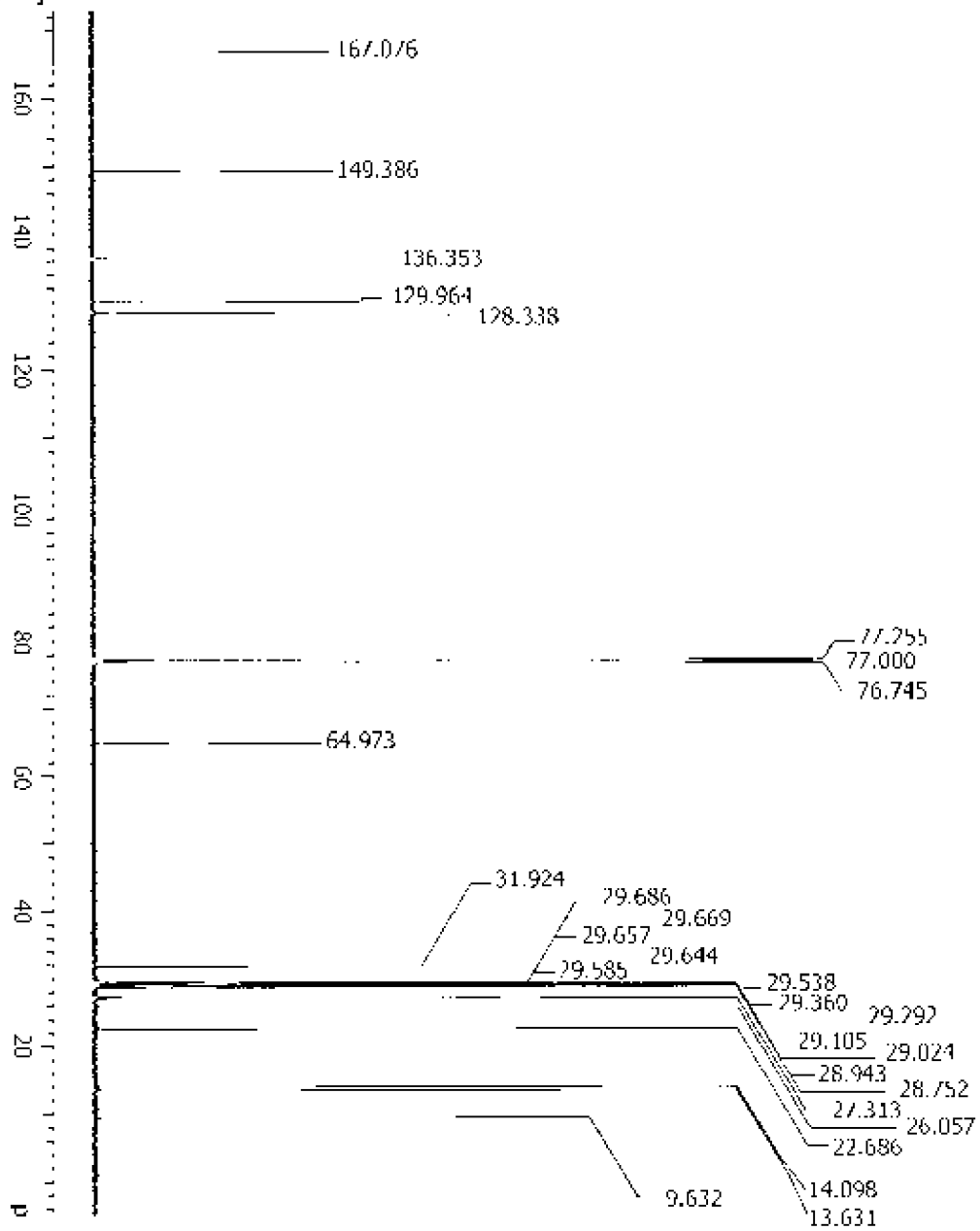
[Fig. 6]



[Fig. 7]

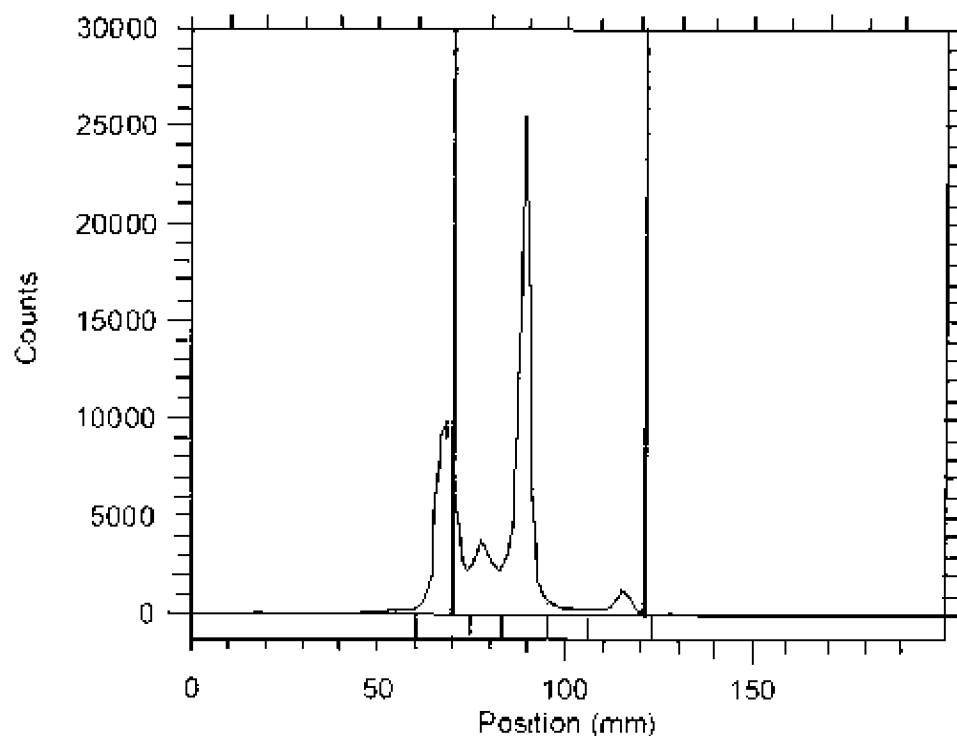


[Fig. 8]



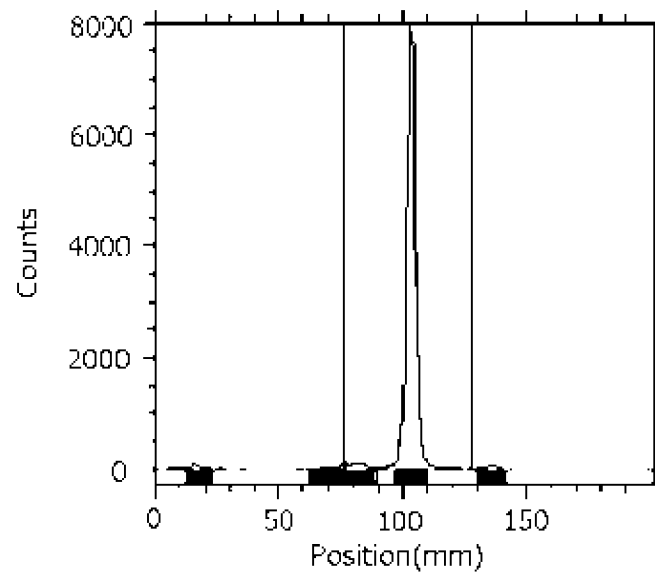
[Fig. 9]

Reg	(mm) Start	(mm) Stop	(mm) Centroid	RF	Region Counts	Region CPM	% of Total	% of ROI
Rgn 1	60.2	74.8	68.4	-0.032	76623.0	25541.0	31.46	33.14
Rgn 2	74.8	82.6	78.2	0.161	26568.0	8856.0	10.91	11.49
Rgn 3	83.4	95.5	88.6	0.365	118707.0	39569.0	48.74	51.34
Rgn 4	105.8	123.0	114.2	0.867	9314.0	3104.7	3.82	4.03
4 Peaks					231212.0	77070.7	94.93	100.00

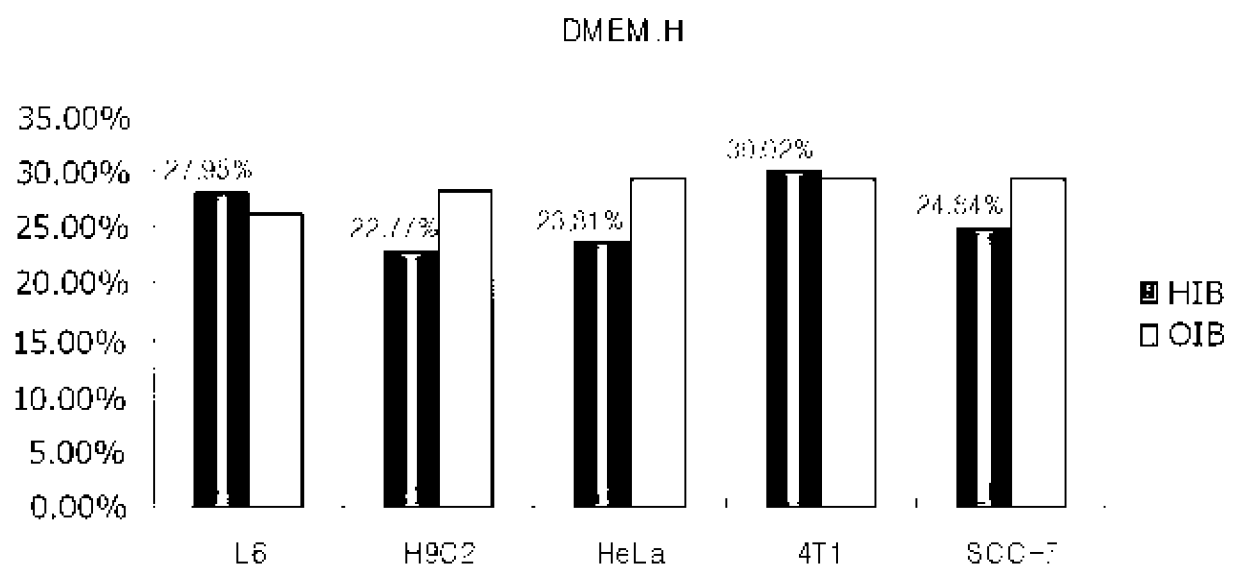


[Fig. 10]

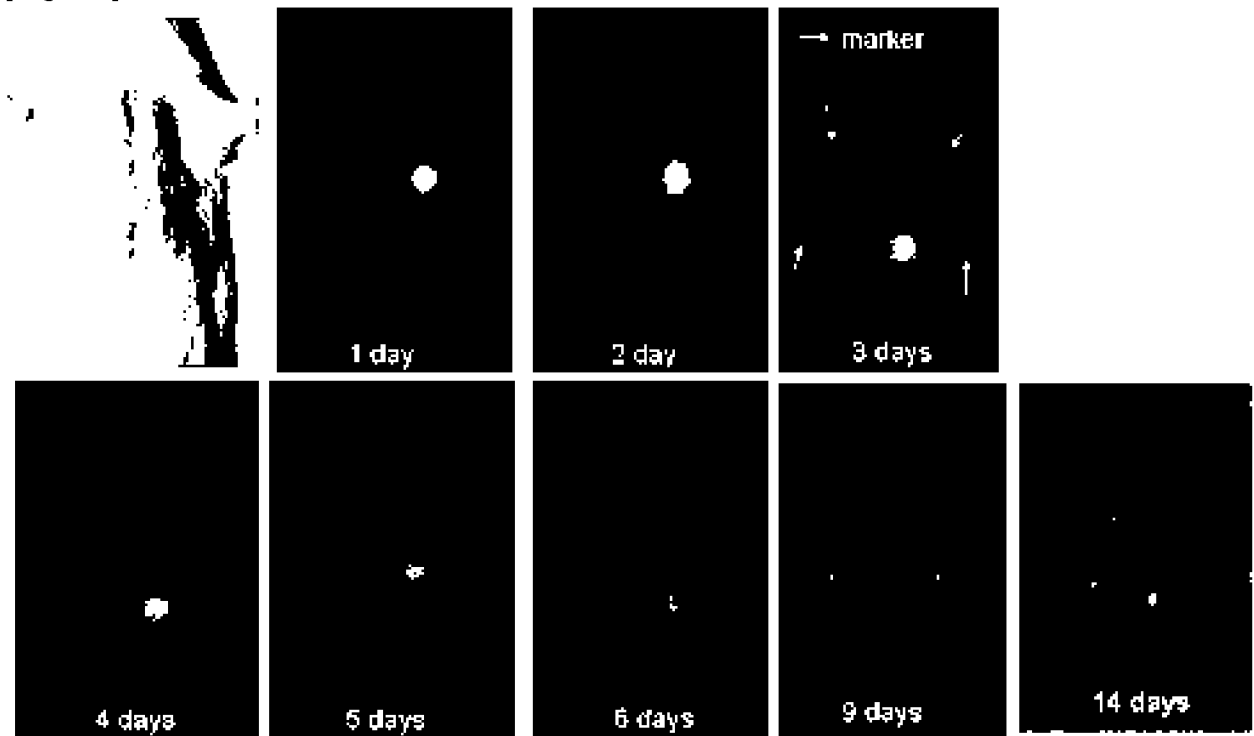
Reg	(mm) Start	(mm) Stop	(mm) Centroid	Rf	Region Counts	Region CPM	%of Total	%of ROI
Rgn1	12.0	24.1	16.8	1.139	500.0	500.0	1.11	1.17
Rgn2	61.9	79.1	73.6	0.046	689.0	689.0	1.53	1.61
Rgn3	79.1	90.3	83.4	0.142	972.0	972.0	2.17	2.27
Rgn4	97.2	111.0	103.4	0.527	10176.0	10176.0	29.49	33.75
Rgn5	129.9	142.8	136.0	1.154	516.0	516.0	1.15	1.20
5Peaks					12853.0	12853.0	95.45	100.00



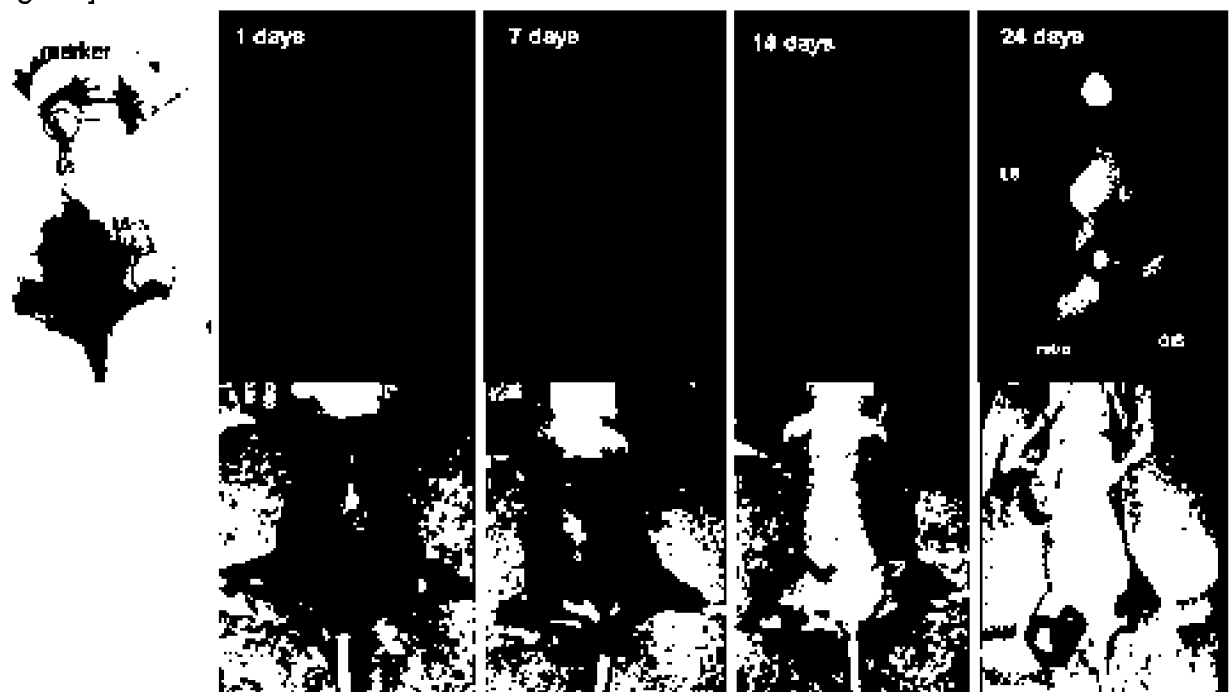
[Fig. 11]



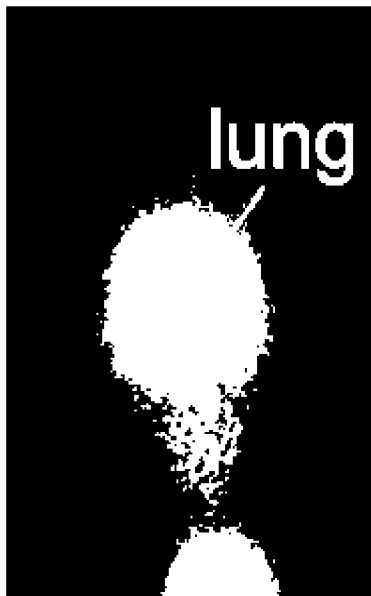
[Fig. 12]



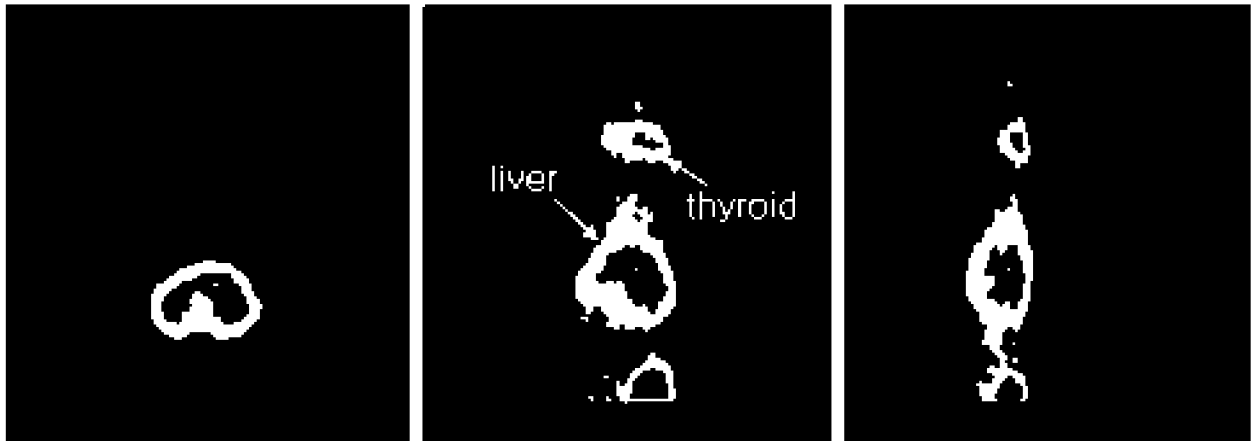
[Fig. 13]



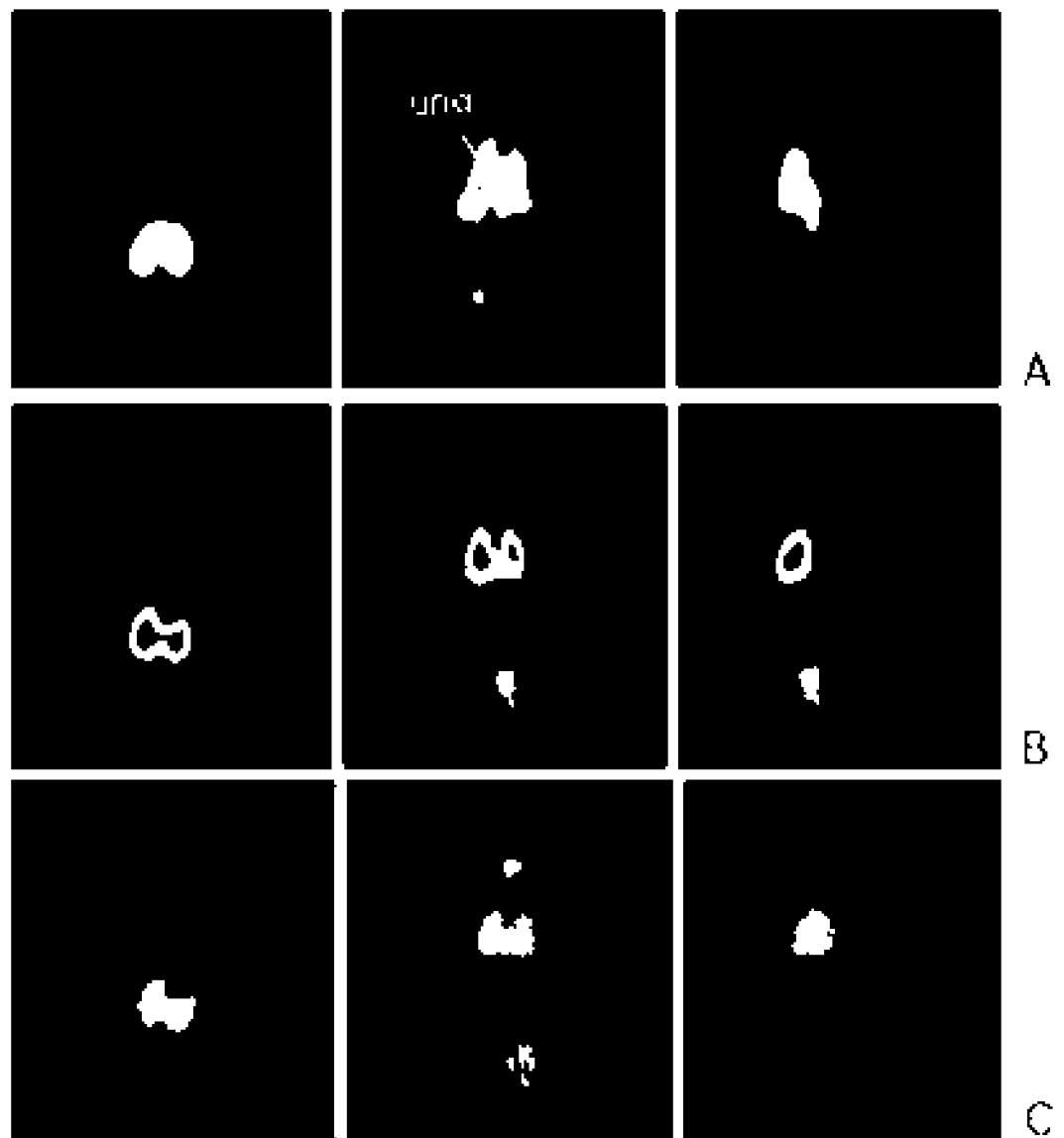
[Fig. 14]



[Fig. 15]

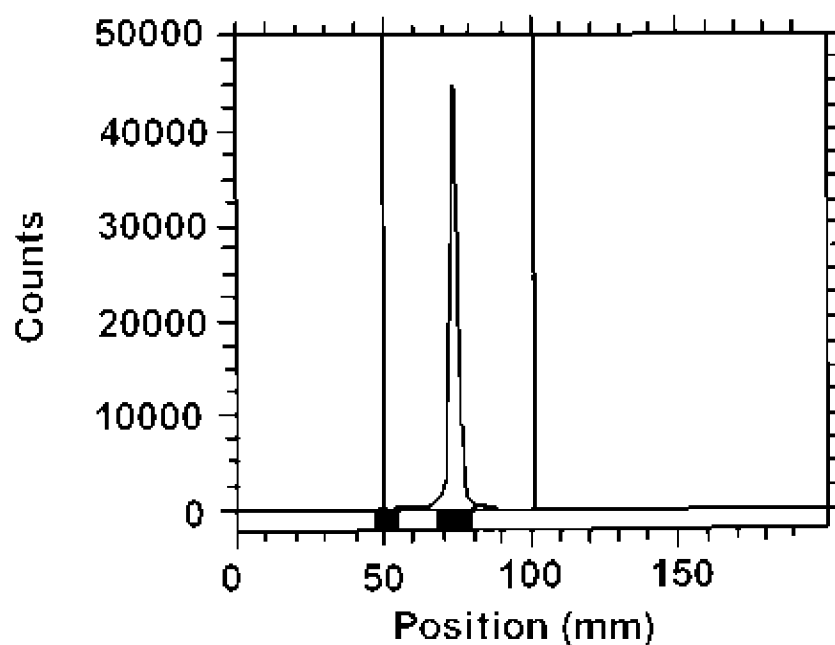


[Fig. 16]

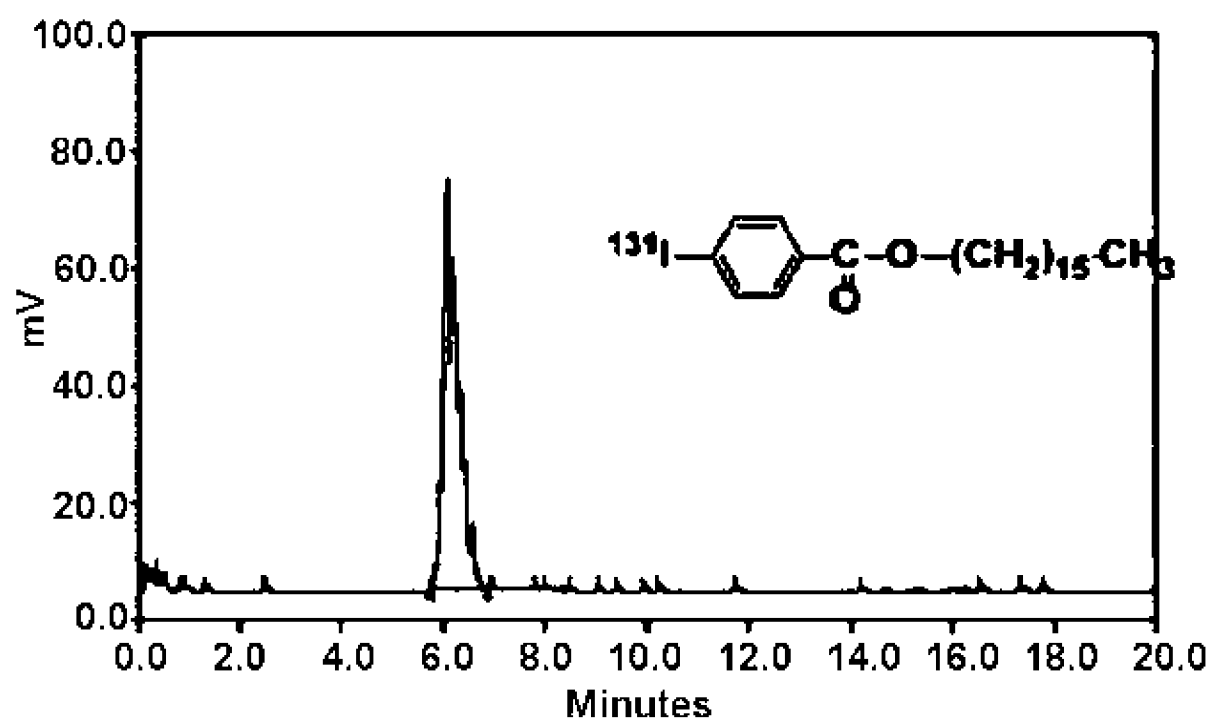


[Fig. 17]

Reg	(mm) Start	(mm) Stop	(mm) Centroid	RI	Region Counts	Region CPM	% of Total	% of ROI
Rgn 1	46.4	55.0	50.9	0.018	3203.0	1601.5	1.68	1.76
Rgn 2	68.0	80.9	73.8	0.467	179204.0	89602.0	93.80	98.24
2 Peaks					182407.0	91203.5	95.48	100.00

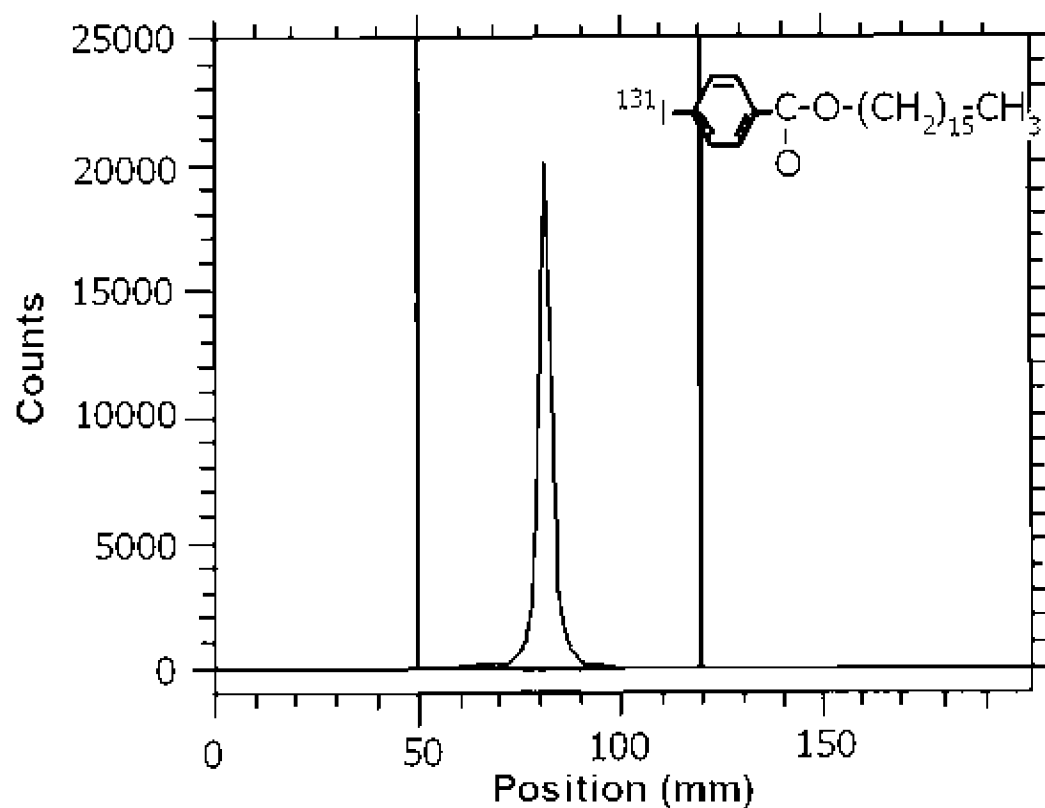


[Fig. 18]



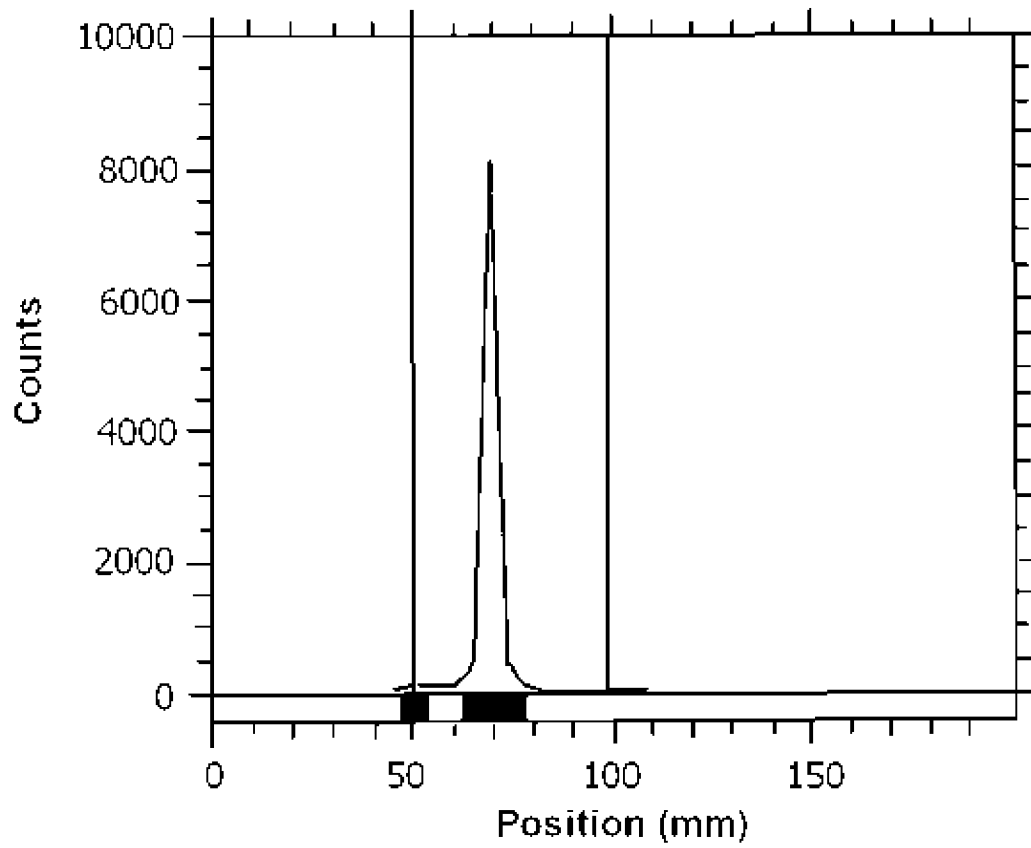
[Fig. 19]

Reg	(mm) Start	(mm) Stop	(mm) Centroid	RI	Region Counts	Region CPM	% of Total	% of ROI
Rgn 1	74.8	90.3	81.4	0.449	98360.0	98360.0	95.28	100.00
1 Peaks					98360.0	98360.0	95.28	100.00

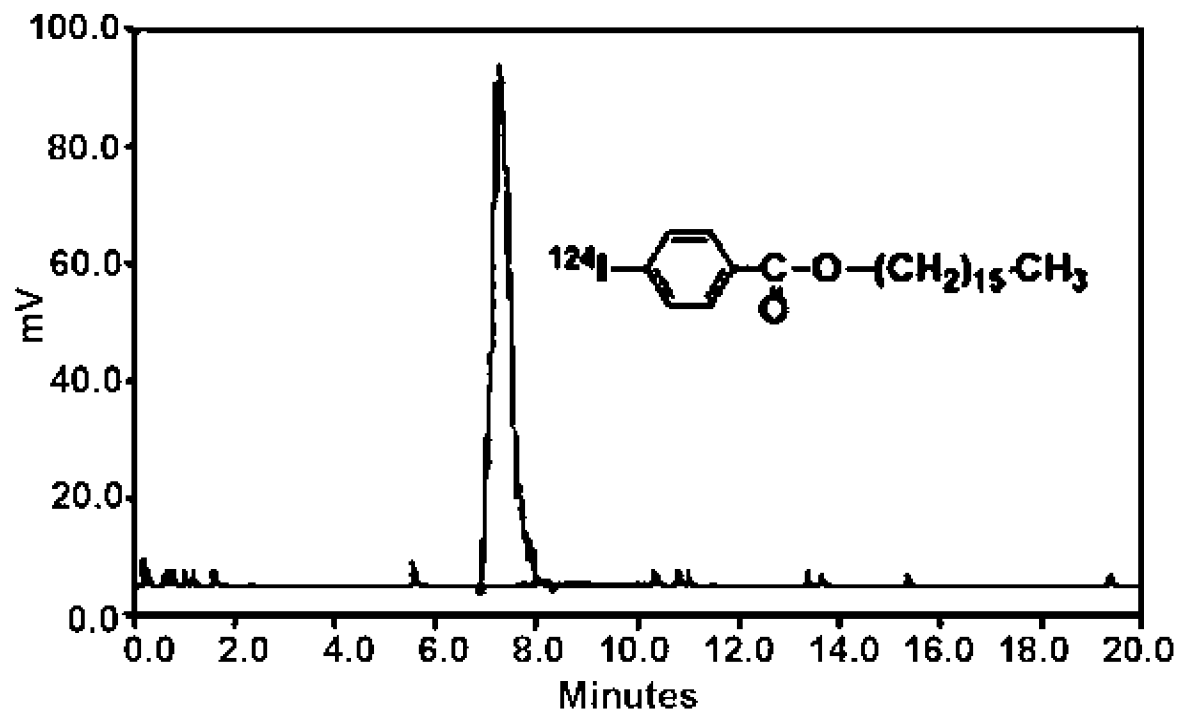


[Fig. 20]

Reg	(mm) Start	(mm) Stop	(mm) Centroid	Ratio	Region Counts	Region CPM	% of Total	% of ROI
Rgn 1	47.3	53.3	50.0	0.000	919.0	459.5	1.90	2.27
Rgn 2	62.8	78.3	69.0	0.407	39646.0	19823.0	81.78	97.73
2 Peaks					40565.0	20282.5	83.68	100.00



[Fig. 21]



[Fig. 22]

Reg	(mm) Start	(mm) Stop	(mm) Centroid	RF	Region Counts	Region CPM	% of Total	% of ROI
Rgn 2	94.6	108.4	100.9	0.468	128/20.0	42906.7	92.86	100.00
1 Peaks						42906.7	92.86	100.00

