

기체 크로마토그래피를 이용한 [¹⁸F]FDG 주사액 중의 잔류 용매의 정도관리

서울대학교 의과대학 핵의학교실 및 의학연구원 방사선의학연구소¹, 서울대학교병원 임상의학연구소², 서울대학교 의과대학 암 연구소³
이학정^{1,2} · 정재민^{1,2,3} · 이운상^{1,2} · 김형우^{1,3} · 장영수¹ · 이동수¹ · 정준기^{1,3} · 이명철^{1,2}

Quality Control of Residual Solvents in [¹⁸F]FDG Preparations by Gas Chromatography

Hak Jeong Lee, B.S.^{1,2}, Jae Min Jeong, Ph.D.^{1,2,3}, Yun-Sang Lee, Ph.D.^{1,2}, Hyung Woo Kim, M.S.^{1,3}, Young Soo Chang, Ph.D.¹, 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, College of Medicine and Institute of Radiation Medicine, Medical Research Center, Seoul National University, ²Clinical Research Institute, Seoul National University Hospital, Seoul, Korea; ³Cancer Research Institute, Seoul National University College of Medicine, Seoul, Korea

Purpose: Analysis of volatile organic solvents in 2-deoxy-2-[¹⁸F] fluoro-D-glucose ([¹⁸F]FDG) preparations was performed by gas chromatography (GC), in accordance with USP. **Materials and Methods:** Analyses were carried out on a Hewlett-Packard 6890 gas chromatography equipped with an FID. **Results:** We determined the amounts of ethanol and acetonitrile on every batch of our routine [¹⁸F]FDG preparations, ranging between 5000 ppm and 100 ppm. In our routine preparation of [¹⁸F]FDG, the amount of acetonitrile and ethanol in the final product were well below the maximum allowable limit described in the USP. **Conclusion:** Our [¹⁸F]FDG preparations were in accordance with the suggested USP maximum allowable levels of the quality control analysis of volatile organic compounds. (Nucl Med Mol Imaging 2007;41(6):566-569)

Key Words : residual solvents, [¹⁸F]FDG, gas chromatography, quality control

서 론

양전자단층촬영(Positron Emission Tomography, PET)으로 암의 조기 검진을 가능하게 한 2-deoxy-2-[¹⁸F]fluoro-D-glucose ([¹⁸F]FDG) 방사성의약품은 전 세계적으로 가장 널리 보급되고 있으며, 사용이 증가됨에 따라 정도관리(Quality Control)의 중요성이 더욱 부각되고 있다. [¹⁸F]FDG에 대한 정도관리 중에서 불순물의 분석은 2-deoxy-2-chloro-D-glucose (CIDG)¹⁾와 Kryptofix 2.2.2의 검출에 집중되었고¹⁻⁶⁾ 휘발성 유기 용매의 분석에는 상대적으로 관심

이 적었다.⁷⁾

U.S. Pharmacopeia (USP)에 따르면, [¹⁸F]FDG 주사액 내에 존재하는 유기용매 양은 acetonitrile 0.04% (400 ppm)과 ethanol 0.5% (5000 ppm), ether 0.5% (5000 ppm)를 초과하면 안 된다. 또한, USP는 [¹⁸F]FDG를 조제한 뒤 환자에게 주사하기 전에 불꽃 이온화 검출기(FID)가 장착된 GC를 이용해 잔류유기용매 평가시험을 반드시 수행하게 되어 있다.^{8,9)} 이 논문에서는 [¹⁸F]FDG 주사액 중에 잔류하는 ethanol과 acetonitrile의 양을 USP 467¹⁰⁾에 명시되어있는 유기 용매 불순물에 대한 방법에 따라 기체 크로마토그래피(Gas chromatography: GC)를 이용해 측정하였다.

• Received: 2007. 8. 9. • Accepted: 2007. 9. 15.
• 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
*This Study was Made Easy by the Support of Giga-network (KREONET) of KISTI.

대상 및 방법

[¹⁸F]FDG은 TR13 사이클로트론(Ebco Technologies, Vancouver, BC Canada)과 [¹⁸F]FDG 자동합성 모듈인 FDG carouser (Advanced Cyclotron Systems INC, Richmond, BC

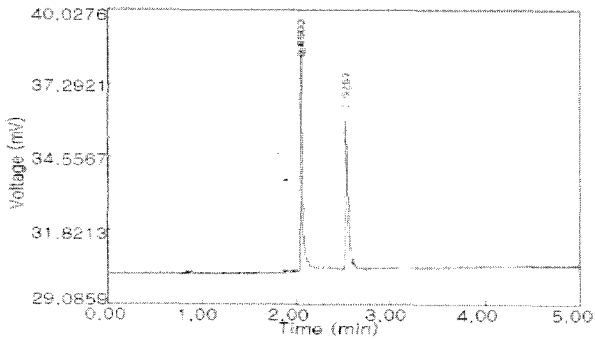


Figure 1. This image shows typical GC chromatogram of ethanol and acetonitrile in FDG. GC: HP 6890; Column: 25 m × 0.32 mm, 0.3 μm; Oven temperature: 50°C for 1 min, 20°C/min to 80°C for 1.5 min; Carrier gas: nitrogen, 2.0 mL/min, constant flow; Injection: 250°C, 1.0 μL, 20/1 split; Detector: FID, 250°C.

Canada)를 이용하여 기존에 보고된 합성 방법을 조금 변경하여 생산하였다.¹¹⁾ $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$ 주사제는 FID가 장착된 GC (Hewlett-Packard 6890)를 분석을 수행하였다.⁷⁾ Injection Port는 Split 시료 주입으로 셋팅하고, Split ratio는 20:1로 설정하였다. Injection port의 온도는 250°C로 설정하였다. Column (HP-20M (Carbowax 20M) column 25 m × 0.32 mm, 0.3 μm film thickness)의 초기 1분 동안 온도를 50°C로 설정하였다. 1.5분 동안 20°C/min로 80°C까지 올렸다. 좁은 온도범위에서 휘발성이 높은 성분을 분석할 때 유용하며, 저렴하여 범용성이 높은 N_2 (gas)를 운반기체로 사용하였다. 운반기체의 유속은 2.0 mL/min. 수소가스는 40 mL/min로 흘러주었다. 공기는 450 mL/min로 흘러주었다. 질소가스의 혼합 흐름은 45 mL/min. FID 검출기는 250°C에서 작동시켰다. 시료 주입을 위해 10 μL 해밀톤 주사기를 사용하여 $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$ 주사액을 1 μL 주입하였다. Acetonitrile과 ethanol의 표준용액을 검출기의 측정을 위해서 HPLC 급 증

류수와 혼합하여 준비하였다. $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$ 자동 합성장치는 ethanol을 이용해서 3회 세정한 후 Ar 가스로 불어서 건조시킨 다음 사용하였다.

$[^{18}\text{F}]\text{FDG}$ 정량분석을 위해 표준용액의 측정 값을 기준으로 검량곡선을 만들었다. 생산되는 $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$ 를 상온에서 밀봉된 바이알에 보관하였고 일주일 내에 분석하였다. $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$ 자동 합성장치는 ethanol을 이용해서 3회 세정한 후 Ar 가스로 불어서 건조시킨 다음 사용하였다.

결 과

표준 잔류 용매의 GC크로마토그램에서 ethanol과 acetonitrile의 잔류 시간은 각각 1.76과 2.26분이었다.(Fig. 1) USP에서는 $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$ 주사액 내에 잔류유기 용매의 허용할 수 있는 범위를 ethanol에 대해 0.5% (5000 ppm), acetonitrile에 대해 0.04% (400 ppm)을 제한하였다.⁷⁻⁹⁾ $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$ 를 합성하기 전에 ethanol을 이용하여 $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$ 자동 합성 장치를 씻어 주었다. Ethanol 과 acetonitrile의 표준용액의 검량곡선의 상관계수는 각각 0.9962과 0.9944 이었다.(Fig. 2) 면적 응답 4%의 신호대비 잡음비에 근거하여,¹²⁾ 각 유기용매에 대한 검출 한계는 1.0 μL를 주입하였을 때 0.1 ppm에 상당하는 0.1 ng이었다.⁷⁾ 2006년 1월부터 약 3개월 동안 생산된 $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$ 안에 존재하는 잔류유기용매에 대한 정도관리 결과 잔류용매가 USP에서 제시한 최대 허용할 수 있는 양인 acetonitrile 400 ppm 과 ethanol 5000 ppm 이내로 분포됨을 보여주었다.(Fig. 3) $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$ 에서 ethanol은 C_{18} Sep-Pak을 활성화하기 위하여 반응 중에 첨가 되었고 $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$ 자동 합성장치와 $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$ 의 자동분주기의 세정을 위해 사용되었고 최종 $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$ 생성물에서 ethanol의 양은 USP

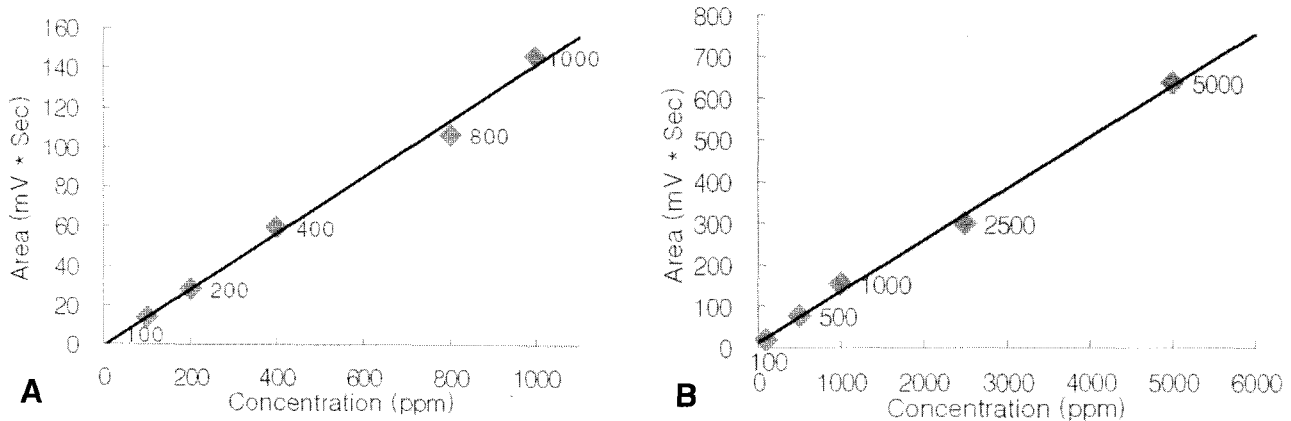


Figure 2. The lines are calibration curves for acetonitrile (A) and ethanol (B). Y-axis shows peak area and X-axis shows concentration as ppm. Five-levels of standard sources were used over the range of 100-1000 ppm and 100-5000 ppm for A and B, respectively.

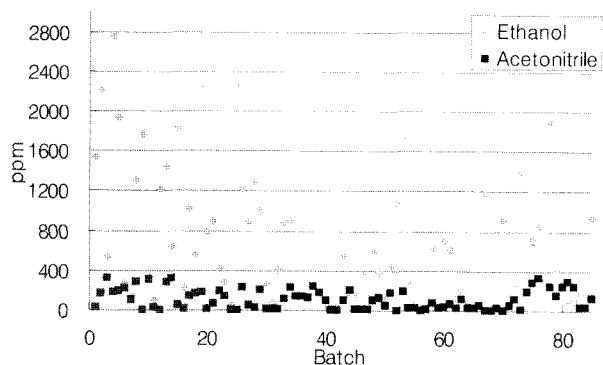


Figure 3. The charts shows quality control data of residual solvents for routine (¹⁸F)FDG synthesis during three months.

에서 정한 규정의 5000 ppm 이내인 16.8~2762.8 ppm이 검출되었다. Acetonitrile은 전구물질에 용매로 사용되었는데 최종 [¹⁸F]FDG 주사액에서 acetonitrile의 양은 USP에서 정한 규정 400 ppm이내인 2.3~327.6 ppm이 함유되어 있어 모든 휘발성 유기 용매 준위는 USP에 제시된 허용 한도에 잘 부합하였다.

고 찰

유기용매 중 하나인 acetone은 일반적으로 자동화 합성 장치의 세정을 위하여 사용되지만, 이 연구에서는 acetone 대신 ethanol을 사용하였으므로 분석할 필요가 없었다. [¹⁸F]FDG를 합성하는 과정에서 C₁₈ Sep-Pak의 활성화 및 합성 후 [¹⁸F]FDG 분배기의 세정에 ethanol이 이용되므로 ethanol이 끝까지 제거되지 않는다는 문제점이 있지만 그래도 유기용매 중 가장 독성이 낮고 허용 농도도 높은 ethanol을 선택하였다. GC를 이용한 분석 방법은 현재 사용되고 있는 [¹⁸F]FDG 조제에서 휘발성 유기물의 분석에 적합하다^{7,8)}. 만약 [¹⁸F]FDG주사제에서 다른 휘발성 유기용매가 검출된다면, 반드시 검출된 유기용매의 잠재적 독성학적과 생리학적인, 약리학적인 영향이 숙고되어야 하며, 어떠한 잔류유기용매라 할 지라도 주사제로서 유효한 한계 범위 안에 있어야 한다.⁸⁾ 그 이유는 사람이 유기용매에 어느 수준 이상으로 노출되면 발암성과 기형발생, 신경독성이 나타나게 되고 상당 수준에 이르면 사망하기 때문에 사람에게 이득이 없는 잔류유기용매는 조금도 함유되어있지 않아야 하며, 치료나 진단에 사용되는 의약품과 같이 환자에 이득이 있는 경우에도 인체에 영향이 없도록 USP에서 제시된 한계 내에서도 가장 적은 양의 잔류유기용매만을 남기도록 노력해야 한다. 따라서, 방사성의약품인 [¹⁸F]FDG 주사액 역시 잔류유기용매의

양을 항상 정도관리를 함으로써 모니터링이 수행되어야 한다.⁸⁾ Food and Drug Administration(FDA)에서1997년에 발행된 Guidance for Industry Q3C Impurities: Residual Solvents에 따르면 유기용매는 유해 정도에 따라 세 개의 등급으로 나뉘며 1등급은 발암성과 환경적인 위험 정도가 높은 것이다. 2 등급은 유전적 독성이 없는 동물성 발암물질이나 신경 독성이나 기형유발성과 같이 되돌릴 수 없는 위험 가능성 있는 용매이다. 마지막 3등급은 사람에게 낮은 독성의 가능성을 가지며, 건강의 위험에 대한 용매 노출의 제한이 필요하지 않는 것이다. 또한 3 등급은 하루 이상 또는 매일 노출 허용량이 50 mg 정도까지 되는 용매를 가리킨다.¹³⁾ 그 중 acetonitrile은 2 등급으로 ethanol은 3 등급으로 분류되어 있다. Rat에 혈관주사로 투여 후 60일 내에 50%의 치사율을 나타내는데 요구되는 양 (Lethal Dose, 50%)는 acetonitrile이 1,680 mg/kg이고 ethanol이 1,440 mg/kg이다.⁸⁾ Acetonitrile에 과다노출이 되었을 경우에는 기절과 경련, 메스꺼움, 구토, 가슴 통증, 허약, 혼미, 혼수 중추신경계에 영향 등의 증상이 나타나며,^{14,15)} ethanol에 과다노출이 되었을 경우에는 두통과 메스꺼움, 구토, 졸음, 피로감, 마취, 기침, 상기, 맥박이 빨라짐, 땀 흘림, 흥분, 우울증, 지각장애, 운동실조증, 혼란, 무의식, 간의 손상, 빈혈증, 중추신경계에 영향 등의 증상이 있다^{14,16)} 일반적으로 이러한 독성을 나타낼 만큼의 유기용매가 잔류할 가능성은 없지만, 최대한 [¹⁸F]FDG 주사액의 잔류유기용매의 양이 USP에 제시된 허용할 수 있는 한계 아래로 부합하는지를 항상 모니터링 해야 한다.

요 약

목적: 의약품의 FDA 개정에 따라 [¹⁸F]FDG에 휘발성 유기 용매의 분석을 GC로 수행하였다. [¹⁸F]FDG 주사액은 약 3개월에 걸쳐 생산하면서 정도관리를 수행하였다. **대상 및 방법:** [¹⁸F]FDG 주사액에 존재하는 잔류유기용매의 종류를 줄이기 위해 [¹⁸F]FDG 자동합성장치를 ethanol을 이용해 세정하였다. [¹⁸F]FDG 주사액은 FID가 장착된 Hewlett-Packard 6890 Gas Chromatograph로 분석을 수행하였다. 생산된 [¹⁸F]FDG의 시료는 상온에서 밀봉된 Vial에 보관하였고 일주일 내에 분석하였다. **결과:** [¹⁸F]FDG 생성물에서 ethanol의 양은 16.8~2762.8 ppm이 검출 되었고 acetonitrile의 양은 2.3~327.6 ppm이 검출 되었다. **결론:** 약 3개월간 생산한 [¹⁸F]FDG 주사액 중에 ethanol과 acetonitrile잔류 용매를 측정해본 결과 USP 허용기준인 ethanol 5000 ppm과 acetonitrile 400 ppm 이하가 유지됨을 확인하였다.

References

- Alexoff DL, Casati R, Fowler JS, Wolf AP, Shea C, Schlyer DJ, et al. Ion Chromatographic Analysis of High Specific Activity ¹⁸F-FDG Preparations and Detection of the Chemical Impurity 2-Deoxy-2-chloro-D-glucose. *Appl Radiat Isot* 1992;43:1313-22.
- Alexoff DL, Fowler JS, Gatley SJ. Removal of the 2.2.2 Cryptand (Kryptofix 2.2.2) from ¹⁸F-FDG by Cation Exchange. *Appl Radiat Isot* 1989;42:1189-93.
- Chaly T, Dahl JR. Thin layer Chromatographic Detection of Kryptofix 2.2.2 in the Routine Synthesis of [¹⁸F]2-Fluoro-2-deoxy-D-glucose. *Nucl Med Biol* 1989;16:385-7.
- Ferrieri RA, Schlyer DJ, Alexoff DL, Fowler JS, Wolf AP. Direct Analysis of Kryptofix 2.2.2 in ¹⁸F-FDG by Gas Chromatography Using a Nitrogen-selective Detector. *Nucl Med Biol* 1993;20:367-9.
- Mock BH, Winkle W, Vavrek MT. A Color Spot Test for the Detection of Kryptofix 2.2.2 in [¹⁸F]FDG Preparations. *Nucl Med Biol* 1997;24:193-5.
- Moerlein SM, Brodack JW, Siegel BA, Welch MJ. Elimination of Contaminant Kryptofix 2.2.2 in the Routine Production of 2-[¹⁸F]Fluoro-2-deoxy-D-glucose. *Appl Radiat Isot* 1989;40:741-3.
- Channing MA, Huang BX, Eckelman WC. Analysis of residual solvents in 2-[¹⁸F]FDG by GC. *Nucl Med Biol* 2001;28:469-71
- Hung JC. Comparison of Various requirements of the Quality Assurance procedures for ¹⁸F-FDG Injection. *J Nucl Med*. 2002;43: 1495-1506.
- Yu S. Review of ¹⁸F-FDG synthesis and Quality control. *Biomed Imaging Interv J* 2006;2(4):e57
- Rockville, MD. Organic volatile impurities. (2000)*The United States Pharmacopeia* 24/National Formulary 19 The United States Pharmacopeial Convention.
- Hamacher K, Coenen HH, Stecklin G. Efficient Stereospecific Synthesis of No-Carrier-Added 2-[¹⁸F]-Fluoro-2-Deoxy-D-Glucose Using Aminopolyether supported Nucleophilic Substitution, *J Nucl Med* 1986;27:235-8
- Chang IL, Diubaldo D, Sanders WJ. Headspace Analysis of Organic Volatile Impurities in Bulk Pharmaceutical Chemicals. *Hewlett-Packard Company*, USA, 1994 Application Note 228-55.
- Classification of residual solvents by risk assessment. In: Guidance for Industry: Q3C Impurities-Residual Solvents. Rockville, MD: *Food and Drug Administration*; 1997:3 Available at: <http://www.fda.gov/cder/guidance/Q3Cfnl.pdf>. Accessed August 14, 2002.
- The Merck Index 13th edition*, An Encyclopedia of Chemicals, Drugs, And Biologicals. Maryadele J. O'Neil et al (Ed.). Whitehouse Station. Nj. Merck & Co., Inc. 2001
- Acetonitrile [material safety data sheet]. *Thermo Fisher Scientific Inc.* available USA at: <http://fscimage.fishersci.com/msds/00170.html>. Accessed June 19, 2007.
- Ethanol SDA1, Anhydrous [material safety data sheet]. *Thermo Fisher Scientific Inc.* USA. available at: <http://fscimage.fishersci.com/msds/88067.html>. Accessed June 19, 2007.