

<https://doi.org/10.22643/JRMP.2019.5.1.48>

Establishment of automated manufacturing system for high-purity [^{18}F]Sodium fluoride: 3-year production experience

Soonjae Jung,¹ Jung Young Kim,¹ Sang Jin Han,¹ Youngbeom Seo,² Kyo Chul Lee,¹ Young Hoon Ryu,^{3*} Jae Yong Choi^{1,†}

¹ Division of Applied RI, Korea Institute of Radiological & Medical Sciences, Seoul, Korea;

² DUCHEM BIO Co.LTD, Seoul, Korea;

³ Department of Nuclear Medicine, Gangnam Severance Hospital, Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea

ABSTRACT

A bone metastasis is an important factor for prognosis and treatment of breast or prostate cancer patients. [^{18}F]Sodium fluoride (^{18}F]NaF) is a PET radiopharmaceutical that can detect bone metastasis. Conventional [^{18}F]NaF production process included radioactive metal impurities because the product was prepared by adding saline after beam irradiation to [^{18}O]H₂O. In this study, we apply the method of removing radionuclidic impurities. To meet the criteria prescribed by GMP in quality control, we designed the custom-made [^{18}F]NaF automatic module. The mean radiochemical yield was $82.1 \pm 4.4\%$ ($n = 32$) productions for 3 years) and the total preparation time was 4 min. The final produced [^{18}F]NaF solution meets the USP criteria for quality control. Thus, this fully automated system is validated for clinical use.

Key Word: [^{18}F]Sodium fluoride, Bone scintigraphy, Positron emission tomography

Introduction

보건복지부에서 2018년에 발표한 ‘암등록통계’ 보고서에 따르면 2016년 국내 암 발생률은 2015년 대비 5.8% 증가하였으며, 그 중 유방암은 13.1%, 전립선암은 14.5% 증가하여 다른 암 대비 발생률이 급격히 증가하였다(1). 유방암 및 전립선암은 병의 진행과정 중 70%가 골 전이를 일으키고 이로 인해 뼈 통증, 골절, 척수신경 압박 등 여러 가지 합병증을 동반한다(2, 3). 이와 같이 골 전이는 유방암 및 전립선암 환자의 치료 및 예후에 큰 영향을 주는 요인이므로 이를 정확히 진단하는 것은 임상적으로 매우 중요하다. 골 전이를 진단하는 데에는 단일광자방출단층촬영(Single

photon emission tomography, SPECT) 기법을 이용하며, 전신 뼈 스캔(bone scintigraphy)에 주로 이용하는 방사성의약품은 technetium 99m-methyl diphosphonate($^{99\text{mTc}}$ -MDP)이다(4). Technetium-99m($^{99\text{mTc}}$)은 molybdenum-99(^{99}Mo)로부터 생산되며, pyrophosphate, diphosphate 및 methylene diphosphonate와 같은 킬레이트제(chelator)와 함께 사용한다(5, 6). 그러나 $^{99\text{mTc}}$ 생산 원자재의 노후와 원료물질의 부족으로 공급이 안정적이지 못함에 따라 $^{99\text{mTc}}$ 스캔의 대안이 요구되고 있다(7).

[^{18}F]Sodium fluoride(^{18}F]NaF)는 1962년에 Blau 연구팀에 의해 보고된 뼈 영상용 방사성의약품으로 양전자방출단층촬영(Positron emission tomography, PET) 기법에 사용된

Received: May 10, 2019 / Revised: July 4, 2019 / Accepted: July 8, 2019

Corresponding Author : Young Hoon Ryu, MD. Ph.D. Department of Nuclear Medicine, Gangnam Severance Hospital, Yonsei University College of Medicine, 211 Eonju-ro, Gangnam-gu, Seoul, 06273, Korea, Tel: +82-2-3497-3518, Fax: +82-2-3462-5472, E-mail: ryuyh@yuhs.ac.kr

Jae Yong Choi, Ph.D. Division of Applied RI, Korea Institute of Radiological & Medical Sciences, 75 Nowon-ro, Nowon-gu, Seoul, 01812, Korea, Tel: +82-2-970-1639, Fax: +82-2-978-2005, E-mail: smhany@kirams.re.kr

Copyright©2019 The Korean Society of Radiopharmaceuticals and Molecular Probes

다(8). ^{99m}Tc -MDP와 ^{18}F NaF를 비교하면 반감기는 ^{99m}Tc 표지 화합물은 약 6시간이고 ^{18}F NaF는 110분이며, 뼈에 섭취되는 양은 두 방사성의약품 모두 50%로 거의 같다(9). 그러나 혈중 단백질과 ^{99m}Tc -MDP 과의 결합은 약 30%지만 ^{18}F NaF는 결합량이 미미하다(10). 혈중 단백질과 결합한 방사성의약품은 신장으로 쉽게 배출되지 않으므로 ^{99m}Tc -MDP을 이용한 뼈 스캔의 경우에는 방사성의약품 투여 후 3~4시간의 기다림이 필요하지만 ^{18}F NaF는 주사 후 1시간 이내에 검사를 시행할 수 있는 장점이 있다(11). 또한, PET 영상은 511 keV의 감마선을 검출하여 영상화하고 SPECT는 ^{99m}Tc 로부터 방출되는 140 keV의 감마선을 검출하여 영상화하기 때문에 PET 영상은 SPECT에 비해 높은 해상도의 영상을 얻을 수 있다. 전립선암 환자의 골 전이 병변을 평가하는 데 있어서 같은 환자군에서 ^{18}F NaF PET 영상이 기존의 뼈 스캔보다 더 많은 수의 병변을 발견하였으며, 유방암 환자를 대상으로 한 다른 연구에서도 PET 영상의 골 전이 발견율이 높았다(12, 13). 이러한 장점으로 ^{18}F NaF의 임상적 수요가 증가함에 따라 임상적 활용에 적합한 고품질의 ^{18}F NaF 생산 시스템이 필요하다.

^{18}F NaF의 제조에 사용하는 ^{18}F fluoride는 사이클로트론에서 $^{18}\text{O}(p,n)^{18}\text{F}$ 핵반응으로 생성된다. 양성자 빔으로 조사된 ^{18}O H₂O는 cadmium-109(^{109}Cd , $T_{1/2} = 462.6$ days), cobalt-56(^{56}Co , $T_{1/2} = 77.3$ days), cobalt-58(^{58}Co , $T_{1/2} = 70.8$ days), manganese-52(^{52}Mn , $T_{1/2} = 5.6$ days) 등과 같은 다양한 방사성금속 핵종 불순물을 함유하고 있다(14, 15). 방사성금속 핵종 불순물은 표적 조사 시 표적 용기의 얇은 포일 창에도 에너지 빔이 조사되어 발생하며, 이들 불순물이 존재할 경우 방사성의약품의 품질이 저하된다(16). 방사성금속 핵종 불순물을 효과적으로 제거하기 위하여 Sunderland 연구팀과 Hockley 연구팀 등은 2010년에 양이온 교환 수지와 음이온 교환 수지를 함께 사용하는 방법을 제안하였다(17, 18). 그러나 ^{18}F NaF에 대한 전용 생산장치나 일회용 카트리리지 등을 이용한 것이 아니었고, 시행횟수가 3회로 생산 안정성에 대한 신뢰도가 높지 않아 방사성의약품 제조 및 품질관리 기준을 만족하지 못하였다.

본 연구에서는 방사성금속 핵종 불순물 없이 ^{18}F NaF 주사액을 생산할 수 있는 방법을 개발하고 이에 대한 제조 안정성을 평가하고자 한다.

Materials and Methods

1. 장비 및 시약

Acetonitrile, ethanol 및 potassium fluoride은 Sigma-aldrich(USA)에서 구매하여 추가적인 정제과정을 거치지 않고 사용하였다. Normal saline, 0.9% USP 및 멸균 주사용수는 JW제약(Korea)에서 구매하였다. Oxygen-18 enriched water는 Rotem(Israel)에서 구매하였다. Sep-Pak® QMA cartridge와 CM cartridge는 Waters(USA) 제품을 구매하였다. 각 Sep-Pak cartridge는 사용 전 10 mL의 ethanol을 흘려준 후 10 mL의 주사용수를 흘려 conditioning 후 사용하였다. Millipore(Ireland)의 Millex GS unit을 멸균 필터로 사용하고, venting needle은 International Medical Industries(USA)에서 구입하였다. 제조용 튜브 및 진공펌프는 각각 Dow Corning(USA) 및 Air Cardet(USA)에서 구입하였다. Glass based silica thin layer chromatography(TLC)는 Merck(Germany)에서 구매하였다. 방사화학적 순도 및 확인 시험에는 Younglin의 고성능 액체 크로마토그래피 장비(YL9100 system, Korea)를 사용하였으며, UV는 YL9120 UV/Vis detector를 사용하여 220 nm에서 검출하였고, 방사능은 Bioscan의 FC3300을 사용하여 검출하였다. 방사성핵종 순도 시험의 방사능 측정용 CRC®-25W 방사능 측정용 전리함(Capintec, USA)을 사용하였으며, 품질관리 시험에는 pH 시험지(Sigma, USA), multi-channel analyzer(Seiko EC&G MCA, Japan), limulus amebocyte lysate(LAL, Pryotell, USA), tryptic soy agar 및 fluid thioglycollate 배지(ATS Korea, Korea)를 사용하였다.

2. 합성방법

2.1. 자동합성장치의 구성

^{18}F NaF 전용 자동합성장치는 GE TRACERlab MX 모듈을 변형하여 자체 제작하였다. CM cartridge는 ^{18}F source reservoir에 연결하고, 5개의 3-way 밸브는 멸균 일회용 카세트의 형태로 본체에 넣었다. 밸브는 압축공기로 가동하고 진공펌프는 액체를 흡입하거나 옮기는 데 사용하였다. 액체 질소로 채워진 cold trap은 수용성 폐기물 동결에 사용하고, 10 mL 주사기가 장착된 syringe motor로 식염수를 밀어내어 주사액을 제조하였다(Fig. 1).

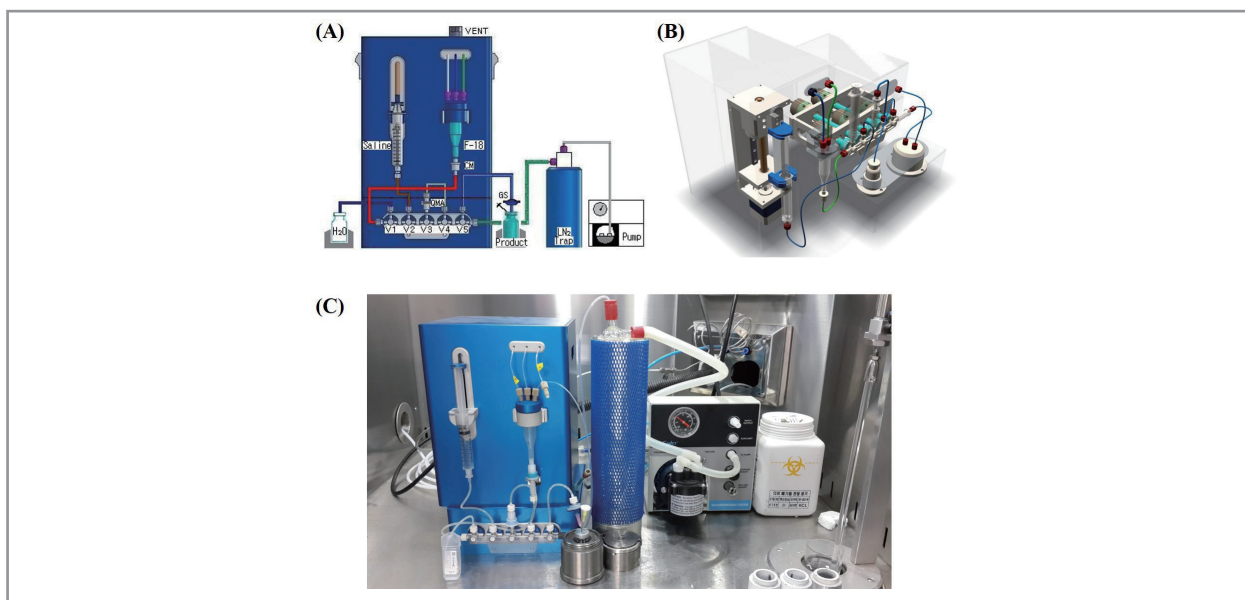


Figure 1. Layout of the experimental set-up (A), 3-dimensional CAD (B) and photograph of an automation module (C) for $[^{18}\text{F}]\text{NaF}$ production.

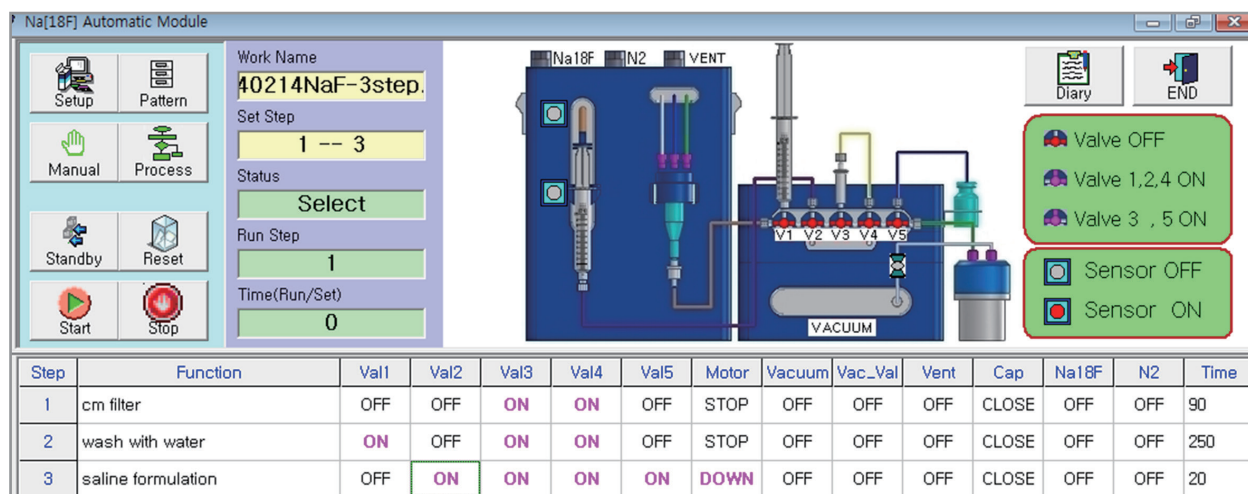


Figure 2. Operation and work flow of software.

2.2. $[^{18}\text{F}]\text{NaF}$ 주사액의 제조

무담체 $[^{18}\text{F}]\text{fluoride}$ 는 사이클로트론(Siemens, Eclipse-HP cyclotron, Germany)에서 $^{18}\text{O}(p,n)^{18}\text{F}$ 의 핵반응으로 얻었다. 수화된 $[^{18}\text{F}]\text{fluoride}$ 의 방사성금속 핵종 불순물을 제거하기 위해 Plus-CM Sep-Pak cartridge를 통과시켰다. 정제된 $[^{18}\text{F}]\text{fluoride}$ 용액을 light QMA cartridge에 흡착시킨 후, QMA cartridge에 남아 있는 $[^{18}\text{O}]\text{H}_2\text{O}$ 를 제거하기 위해 10 mL의 멸균 주사용수로 씻어주었다. QMA Sep-Pak에 흡착된 $[^{18}\text{F}]\text{fluoride}$ 는 10 mL의 0.9% 식염수를 이용하여

용출하였으며, 0.22 μm 멸균 필터(vented filter, Millipore Millex-GS)에 통과시킨 후 멸균 바이알로 옮겼다.

3. 품질관리

$[^{18}\text{F}]\text{NaF}$ 주사액의 품질관리는 미국약전(USP-31) 지침에 따라 시험하였다. 정상 확인을 위하여 멸균 바이알을 L-형 블록 뒤에서 육안으로 관찰하였다. 제조된 주사액은 깨끗하고 무색이며, 입자가 없어야 한다. pH 측정은 pH 시험지를 사용하였으며 허용 pH는 4.5~8.0이다. 방사화학

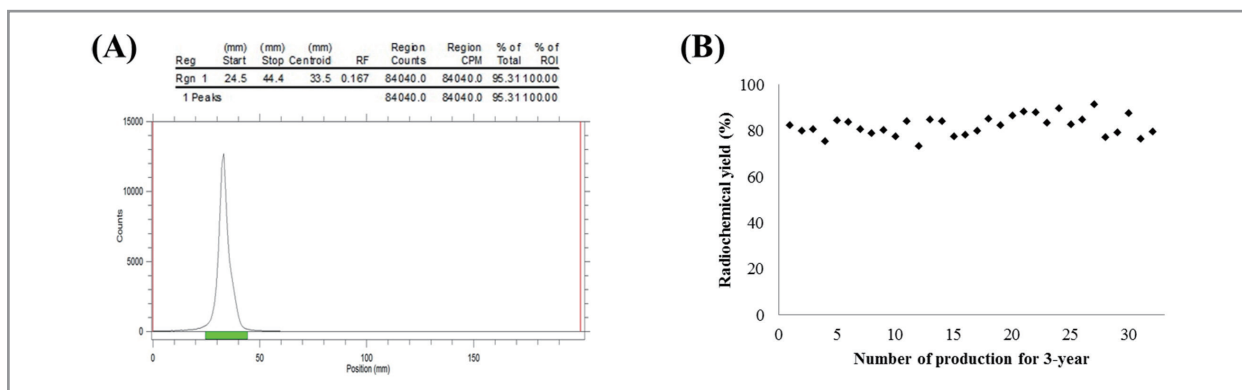


Figure 3. Profile of radio-TLC (A) and the 3-year production results (B) with [^{18}F]NaF dedicated automatic module (n=32).

적 순도는 radio-TLC를 이용하였으며 순도는 95% 이상이어야 한다. 방사화학적 동등성 측정을 위해 음이온교환 컬럼(PRX-X100 10 μm 4.1 \times 250 mm, Hamilton, USA, mobile phase 0.1 M aqueous NaOH; flow rate 1 mL/min; wavelength 220 nm)에 기준물질(potassium fluoride, KF)과 동시 주입하여 분석하였다. 방사화학적 동등성은 상대 머무름 시간(relative retention time, RRT = (retention time of [^{18}F]NaF)/(retention time of KF))을 계산하였으며, 0.90~1.10의 값이어야 한다. 반감기 계산을 위해 CRC $^{\text{®}}$ -25W 방사능 측정용 전리함(Capintec, USA)을 사용하여 방사능을 측정하였다. 검체를 채취하여 초기 방사능(A0)을 측정하고 10분 간격으로 방사능을 측정하여 기록하였다. 시간에 따른 방사능을 그래프화 하여 반감기를 구했으며, 허용 오차는 ± 5 분이다. 방사성핵종 순도 시험은 다중채널분석기(Ortec, USA)를 사용하여 실시하였고, 허용 기준은 511 또는 1022 keV이다. 엔도톡신 시험은 limulus amoebocyte lysate(LAL, Pryotell) test로 실시하였으며, 최대 허용량은 < 175 endotoxin unit(EU)이다. 무균 시험은 대두트립신소화배지 및 액상티오글리콜산배지(ATS Korea, Korea)를 사용하여 실시하였으며, 음성대조군과 비교하여 미생물학적 증식이 없으면 균이 없는 것으로 간주한다.

Results and Discussion

기존의 상업용 자동합성장치는 초기 설치비용이 높고, 유지 보수 비용 또한 높다. 본 연구에서 개발한 [^{18}F]NaF 전용 자동합성 장치는 기존의 장치보다 1/3 가격으로 설치가 가능

하며, 최소한의 필요한 부품을 사용하였기 때문에 유지 비용 또한 낮다. 이 장치는 구조가 간단하고 효율적인 프로토콜을 갖춘 [^{18}F]NaF 전용의 자동화된 시스템으로, 장치의 각 부분은 사용자가 원하는 대로 배치가 가능하게 설계하였다. [^{18}F]NaF 주사액 제조 시 오염 가능성을 피하기 위해 무균 일회용 카세트를 사용하였으며, 이는 방사성의약품 제조품질관리(good manufacturing practice, GMP)를 준수한다. 운영 프로그램은 허가 받은 사용자만 접근할 수 있으며, 관리자는 프로토콜을 쉽게 만들 수 있고 수정할 수 있다. [^{18}F]NaF 제조 중 문제가 발생하면 수동제어로 변환할 수 있게 프로그램 하였다(Fig. 2).

이 자동 합성장치를 이용하여 3년 동안 32회의 [^{18}F]NaF 주사액을 제조하는 과정에서 높은 방사화학적 수율과 높은 재현성을 나타내었다. 제조공정은 정제되지 않은 [^{18}F]fluoride 용액을 source reservoir에서 흡입하여 CM cartridge로 통과시키며 시작하였다(Step 1). 양이온교환수지를 이용하여 방사성금속 핵종 불순물을 제거하였다. 정제된 [^{18}F]fluoride는 QMA cartridge에서 약 60초 동안 흡착되었으며, cartridge를 100초 동안 10mL의 주사용수로 세척하여 QMA 남아있는 [^{18}O]H $_2$ O를 제거하였다(Step 2). 흡착된 [^{18}F]fluoride는 20초 동안 0.9% 식염수로 용출하여 멸균 바이알로 수집하였다(Step 3). [^{18}F]NaF 주사액은 $82.1 \pm 4.4\%$ (n = 32)의 방사화학적 수율로 제조하였다. 자동합성장치를 이용하여 주사액을 제조하는데 소요된 시간은 총 4분으로, 수동합성 방법(평균 제조 시간: 15분) 보다 짧은 시간에 제조할 수 있었다. 또한 [^{18}F]NaF 전용 자동합성장치를 사용하여 3년 동안 방사성의약품을 생산한 결과, 75% 이상의 방사화학적 수율을 안정적으로 얻을 수 있었다(Fig. 3).

Table 1. Quality control release criteria for [¹⁸F]NaF injection, USP (n=32)

QC test	Release criteria	Result
Appearance	Clear, colorless, no particles	Pass
pH	4.5~8.0	7.0
Radiochemical purity	> 95%	Pass
Radiochemical identity	RRTa = 0.90~1.10	1.01
Radionuclidic identity	T1/2 = 105~115 min	pass
Radionuclidic purity	511 or 1022 keV	pass
Endotoxin	< 17.5 EU ^b /mL	< 5.00 EU/mL
Sterility	Sterile	Sterile

^a) RRT: Relative retention time. ^b) EU: Endotoxin units

최종 제조된 [¹⁸F]NaF 주사액의 성상은 육안으로 관찰 시 맑고 투명하였으며, 부유물이 관찰되지 않았다. [¹⁸F]NaF 검체가 점적된 pH 시험지를 육안으로 관찰 시 기준 범위(pH 4.5~8.0)을 만족하였다. 방사화학적 순도는 95% 이상이었으며, 상대 머무름 시간으로 계산한 방사화학적 동등성은 1.01이었다. 방사성핵종 순도 시험 시 이핵종은 검출되지 않았고, 전리함으로 방사능을 측정하여 반감기를 산출한 결과는 ¹⁸F의 반감기 기준(105~115분)에 부합하였다. 엔도톡신 시험은 17.5 EU/mL 미만이었으며, 무균 시험 결과 어떠한 혐기성균 호기성균, 및 진균의 증식도 관찰되지 않았다. 따라서 제조된 [¹⁸F]NaF 주사액에 대한 품질관리 시험 결과는 임상 적용 기준에 부합하였다(Table 1).

Conclusion

본 연구에서는 [¹⁸F]NaF의 임상 적용 시 빠르고 간편하게 제조할 수 있는 완전 자동화된 방법과 제조 안정성을 기술하였다. 제조된 [¹⁸F]NaF 주사액은 높은 재현성, 방사화학적 수율 및 순도로 제조되었으며 품질관리 시험 기준을 모두 만족하였다. 전용 자동합성장치를 이용하여 제조된 고품질의 방사성의약품은 [¹⁸F]NaF PET을 이용한 뼈 영상의 평가에 활용될 수 있을 것으로 사료된다.

Acknowledgments

This work was supported by a Nuclear Research and Development Program of the National Research Foundation of Korea (NRF) grant funded by the Korean government (No. 2017M2A2A6A02019904).

References

1. 암등록통계. 보건복지부 2018.
2. Gibril F, Doppman JL, Reynolds JC, Chen CC, Sutliff VE, Yu F, Serrano J, Venzon DJ, Jensen RT. Bone metastases in patients with gastrinomas: a prospective study of bone scanning, somatostatin receptor scanning, and magnetic resonance image in their detection, frequency, location, and effect of their detection on management. *J Clin Oncol* 1998;16:1040-1053.
3. Cho EK. *Treatment of Bone Metastasis Korean J Med* 2011;81:300-306.
4. Khatcheressian JL, Wolff AC, Smith TJ, Grunfeld E, Muss HB, Vogel VG, Halberg F, Somerfield MR, Davidson NE. American Society of Clinical Oncology 2006 update of the breast cancer follow-up and management guidelines in the adjuvant setting. *J Clin Oncol* 2006;24:5091-5097.
5. Davis MA, Jones AL. Comparison of ^{99m}Tc-labeled phosphate and phosphonate agents for skeletal imaging. *Semin Nucl Med* 1976;6:19-31.
6. Bombardieri E, Buscombe J, Lucignani G, Schober O. *Advances in Nuclear Oncology: Diagnosis and Therapy* 1ed. London : Informa Healthcare; 2007. p.399-400.
7. Jeon TJ. 18F-Fluoride-PET in Skeletal Imaging. *Nucl Med Mol Imaging* 2009;43:253-258.
8. Blau M, Nagler W, Bender MA. Fluorine-18: a new isotope for bone scanning. *J Nucl Med* 1962;3:332-334.

9. Chilton HM, Francis MD, Thrall JH. Radiopharmaceuticals for bone and bone marrow imaging. In: Swanson DP, Chilton HM, Thrall JH, eds. *Pharmaceuticals in Medical Imaging: Radiopaque contrast media, Radiopharmaceuticals, enhancement agents for magnetic resonance imaging and ultrasound*. New York: Macmillan Pub. Co: 1990. p.537-563.
10. Blake GM, Park-Holohan SJ, Cook GJ, Fogelman I. Quantitative studies of bone with the use of ^{18}F -fluoride and $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -methylene diphosphonate. *Semin Nucl Med* 2001;31:28-49.
11. Park-Holohan SJ, Blake GM, Fogelman I. Quantitative studies of bone using ^{18}F -fluoride and $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -methylene diphosphonate: evaluation of renal and whole blood kinetics. *Nucl Med Commun* 2001;22:1037-1044.
12. Schirrmester H, Guhlmann A, Elsner K, Kotzerke J, Glatting G, Renstschler M, Neumaier B, Träger H, Nüssle K, Reske SN. Sensitivity in detecting osseous lesions depends on anatomic localization: planar bone scintigraphy versus ^{18}F PET. *J Nucl Med* 1999;40:1623-1629.
13. Schirrmester H, Guhlmann A, Kotzerke J, Santjohanser C, Kuhn T, Kreienberg R, Messer P, Nüssle K, Elsner K, Glatting G, Träger H, Neumaier B, Diederichs C, Reske SN. Early detection and accurate description of extent of metastatic bone disease in breast cancer with fluoride ion and positron emission tomography. *J Clin Oncol* 1999;17:2381-2389.
14. Ito S, Sakane H, Deji S, Saze T, Nishizama K. Radioactive byproducts in ^{18}O H_2O used to produce ^{18}F for ^{18}F FDG synthesis. *Appl Radiat Isot* 2006;64:298-305.
15. Schueller MJ, Alexoff DL, Schlyer DJ. Separating long-lived metal ions from ^{18}F during H_2^{18}O recovery. *Nucl Instr Meth Phys Res B* 2007;261:795-799.
16. Bowden L, Vintro LL, Mitchell PI, O'Donnell RG, Seymour AM, Duffy GJ. Radionuclide impurities in proton-irradiated ^{18}O H_2O for the production of ^{18}F :- activities and distribution in the ^{18}F FDG synthesis process. *Appl Radiat Isot* 2009;67:248-255.
17. Sunderland J, Watkins GL, Erdahl CE, Sensoy L, Kónik A. International workshop on targetry and target chemistry: a further exploration of the merits of a niobium/niobium vs niobium/havar target body/foil combination for ^{18}F fluoride production: a detailed HP γ -spectrometry study. *Denmark*, 2010.
18. Hockley BG, Scott PJ. An automated method for preparation of ^{18}F sodium fluoride for injection, USP to address the technetium-99m isotope shortage. *Appl Radiat Isot* 2010;68:117-119.