

Original Article

N-13 암모니아 주사액 제조 시 멸균필터의 흡착율 차이에 관한 비교 평가

삼성서울병원 핵의학과

오창범 · 김시할 · 차민정 · 신 진 · 지용기 · 최성욱

Studies on sterile filters in the preparation of N-13 ammonia injection

Chang Bum Oh, Si Hwal Kim, Min Jung Cha, Jin Shin, Yong Gi Ji and Sung Ook Choi

Department of nuclear medicine, Samsung Medical Center, Seoul, Korea

Purpose	In the preparation process for N-13 Ammonia injections, there were radioactive medicines adsorbed on filters remarkably. Hereby, we have compared the adsorption rate and quality test on Millex GS filter and Satorious Minisart filter, both representatively hydrophilic sterilizing filters, also evaluated which filter is more accommodative for N-13 Ammonia injection.
Materials and Methods	The filters used for sterilization of N-13 Ammonia injections were Millex GS filter(0.22 μm) and Satorious Minisart filter (0.2 μm), which are generally used to strain aqueous solutions. After the N-13 Ammonia passes through each sterilization filter, the adsorption rate of the filter (n=10) is determined by measuring not only the radioactivity through the filter also the amount of radioactivity remaining in it using a Dose Calibrator. The N-13 Ammonia injections after each filter is tested by the quality control test to conform to the Samsung Medical Center standard.
Results	The ratio of radioactivity passed through Millex GS indicated $29.0 \pm 17.6\%$. Satorious Minisart filters output was $80.9 \pm 3.2\%$, respectively. Each ratio of radioactivity adsorbed on the sterile filter was $71.0 \pm 17.6\%$ for Millex GS and $19.1 \pm 3.2\%$ for the Satorious Minisart filters, respectively. Furthermore, on the ratio of filtered radioactivity, Using Satorious Minisart filter showed about 2.8 times higher than using Millex GS filter. The quality testing of N-13 Ammonia injections through each filter met the Samsung Medical Center standard.
Conclusion	The Millex GS filter is composed of cellulose acetate and cellulose nitrate, whereas the Satorious Minisart filter is composed only of cellulose acetate. Therefore, the presence of cellulose nitrate in the membrane seems to have made differences. Therefore, the use of Satorious Minisart filter in the preparation of N-13 Ammonia injection solution minimized the loss of radioactive medicines due to filter adsorption, thereby improving the synthesis yield.
Key Words	N-13 ammonia, sterile filter, CAD,

서 론

양전자 방출 단층 검사(PET/CT)를 이용한 심근검사는 방

사성 추적자가 높은 에너지를 방출하여 단일 광자 방출 단층 검사(SPECT)보다 높은 검출 민감도를 나타낸다. 동시계수회로를 이용하여 감마선을 검출하기 때문에 더욱 많이 계수할 수 있고, 정확한 감쇠보정이 가능하여 정량적이고 정확한 정보를 제공한다.¹⁾

기존의 SPECT를 이용한 심근검사는 심근경색과 같이 심근이 죽거나, 심한 허혈이 있는 경우에 육안 판독이 가능하지만, 경미한 심근 허혈 또는 미세혈관 협심증과 같은 경한 환자

• Received: February 28, 2019 Accepted: March 2, 2019

• Corresponding author: **Chang Bum Oh**

Department of nuclear Medicine, B1, Main Building

81 Irwon-Ro Gangnam-gu, Seoul, Korea

Tel: +82-2-3410-2669, Fax: +82-2-6190-5373

E-mail: changbum7.oh@samsung.com

에 대해서는 정상 환자와 큰 차이가 나지 않는 결과물을 보여 주었다. 반면, N-13 암모니아를 이용한 PET/CT를 통해 Myocardial Blood Flow(MBF), Coronary Flow Reserve(CFR) 등의 정량평가를 하게 되면 경미한 심근 허혈 또는 미세혈관 협심증과 같은 환자군을 찾아내어 진단할 수 있다.²⁻⁴⁾

이러한 N-13 암모니아를 이용한 심근검사를 진행하기 위해, 사이클로트론에서 생산된 질소산화물을 Devardas alloy와 수산화나트륨으로 반응한 후, 생성된 암모니아를 생리식염수에 포집하여 얻는다. 이때 짧은 반감기와 방사선 노출의 위험으로 인해 방사성 의약품의 최종 멸균은 멸균 필터를 사용한 막 여과법을 이용하게 된다.⁵⁾ 그러나 멸균 필터에 주사액이 흡착되는 경우도 있어서, 방사성의약품 생산량의 많은 손실을 초래하기도 한다.⁶⁾

따라서 본 연구에서는 N-13 암모니아 주사액 제조의 소개 및 적합한 멸균 필터를 찾아 제조 수율을 향상해보고자 한다.

실험재료 및 방법

1. 실험 대상

멸균 필터에 흡착량과 제조 수율을 비교하기 위해서 일반적으로 수용액을 여과할 때 사용하는 Millex GS 필터(pore size :0.22 μ m, Meck millipore, Ireland)와 Sartorius Minisart 필터(pore size :0.2 μ m, Sartorius, Germany)를 대상으로 하였다(Fig. 1,2).



Fig. 1. The Millex GS filter(Meck millipore, Ireland) was used in the experiment. (Left)



Fig. 2. The Sartorius Minisart filter(Sartorius, Germany) was used in the experiment. (Right)

2. 실험 방법

본원의 사이클로트론 (PETtrace™, GE Healthcare, USA) (Fig. 3)으로 양성자 빔을 조사하여 [¹⁶O(p, α)¹³N] 핵반응으로 질소산화물을 생성하였다. 다음으로 암모니아 제조용 카세트의 Trapping Vessel에 생리식염수 5 mL을 주입한다. 그리고 Reaction Vessel에 Devarda's alloy 100mg, NaOH 250mg을 가루 상태로 넣는다. 이때 가운데 피드 튜브에 Devarda's alloy에 의한 오염이 되지 않도록 주의해서 장착한다. 카세트에 준비된 시료를 넣고 합성 모듈에 장착한 뒤, 앞서 사이클로트론에서 생산한 질소산화물과 합성하고 생리식염수에 포집 되도록 한다. 약 4분간의 합성이 이루어진 뒤에 멸균 필터를 거쳐서 Product vial로 여과된 N-13 암모니아 주사액이 나오게 된다.(Fig. 4) 제조된 N-13 암모니아를 실험 대상의 멸균 필터에 통과시킨 후, Dose Calibrator를 이용하여 필터를 통과한 방사선량과 필터에 잔류된 방사선량을 측정하여 필터의 흡착률을 구하였고(n=10), 이러한 흡착률이 제조 수율에 미치는 영향의 정도를 파악하고자 하였다.



Fig. 3. The picture shows PET trace™16.5 MeV Cyclotron, GE Healthcare, USA) in use in SMC.

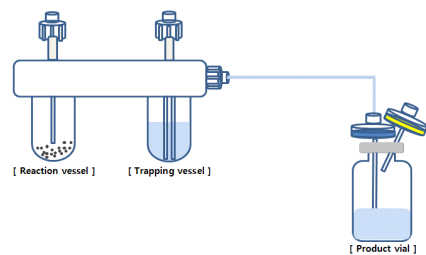


Fig. 4. This schematic diagram demonstrated cassette setting for N-13 ammonia injection.

3. 품질시험

(1) 방사화학적 순도

방사화학적 순도평가를 위해 HPLC 분석을 하였다. 분석 조건은 다음과 같다(Table 1). 그리고 N-13 암모니아 주사액과 암모니아 표준품을 5:1 비율로 희석하여 Co-Injection 하였다.

Table 1. The following table shows the detailed configuration of HPLC settings

HPLC	Agilent 1260 infinity (Agilent technologies, USA)
Radioactivity detector	Flow-count(Eckert&Ziegler, Germany)
Conductivity detector	Shodex™ CD-200(Showa Denko, Japan)
Stationary phase	SCX IC-Pak cation M/D WAT036570(Waters, USA)
Mobile phase	4mM Nitric acid
Flow rate	1.2mL/min

(2) 화학적 이물 평가

여과된 N-13 암모니아 주사액에서 중금속인 알루미늄의 농도를 확인하기 위해 화학적 이물 평가를 하였다. 방법은 먼저 테스트튜브에 1 mL acetate buffer(pH 4.6)와 Chromazurol R 10g/L를 0.05 mL를 혼합한다. 그다음 준비된 테스트튜브에 Al 2ppm과 여과된 N-13 암모니아 주사액을 각각 0.5 mL 주입하고 3분 뒤 검액의 색을 알루미늄 표준품과 비교하여 평가한다(Fig. 5).

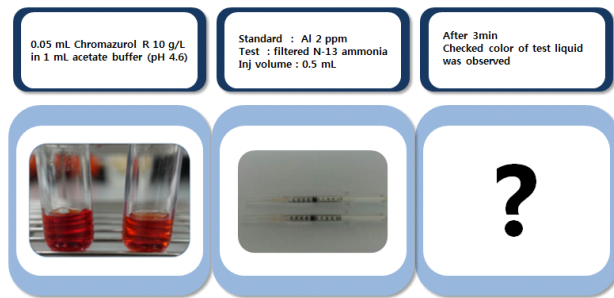


Fig. 5. This process shows the chemical purity testing.

(3) 기타 품질 평가

그 외에 이 핵종 분석을 위한 감마카운터, 박테리아에 의한 내독성 분석을 위해 엔도톡신 시험, pH, 무균 시험 등 멸균 필터를 통과한 N-13 암모니아 주사액의 품질 관리 시험을 시행

하여 실험 대상의 필터들이 본원 기준을 충족하는지 시험하였다.

결 과

1. 멸균 필터의 흡착률 및 제조 수율

Millex GS와 Sartorius Minisart 필터를 10회씩 실험하였다. 필터에 흡착된 방사선량과 vial로 여과된 N-13 암모니아 주사액의 방사선량을 측정한 결과(Fig. 6), Millex GS와 Sartorius Minisart 필터에 각각 $71.0 \pm 17.6\%$ 와 $19.1 \pm 3.2\%$ 흡착되었다. 필터를 제거한 product vial에는 Millex GS와 Sartorius 각각 $29.0 \pm 17.6\%$ 와 $80.9 \pm 3.2\%$ 여과되었다(Fig. 7). 여과된 암모니아 주사액의 양은 GS 필터보다 Minisart 필터를 사용할 때 약 2.8배 더 많이 획득할 수 있었다.

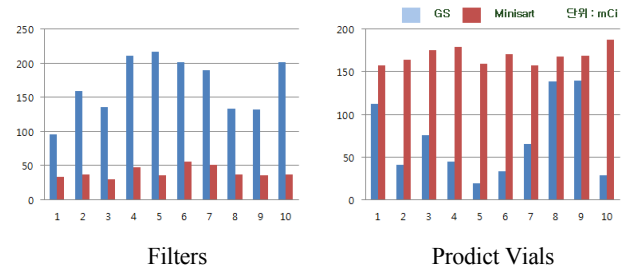


Fig. 6. The graph on the left shows the measurement of radioactivity adsorbed in the Millex GS & Sartorius Minisart filters, while the graph on the right shows the measurement of radioactivity in the product vials filtered through the Millex GS and Sartorius Minisart filters.

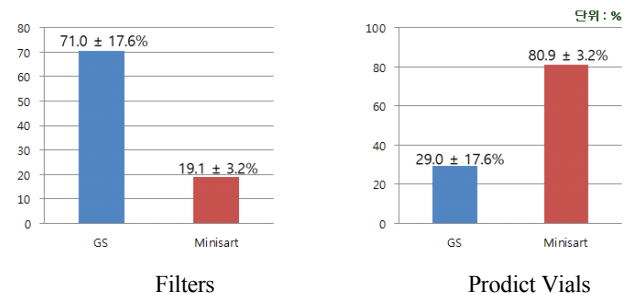


Fig. 7. The graph on left shows the proportion of radioactivity adsorbed by each filter, and the graph on the right shows the rate of radioactivity filtered into the product vial by each filter.

2. 멸균 필터의 품질 평가

(1) 방사화학적 순도평가

Millex GS, Sartorius Minisart 필터를 사용한 각각의 N-13 암모니아 주사액의 보존 시간은 conductivity detector에 측정된 암모니아 표준품과 큰 차이가 없었고, 기타 방사화학적 Peak가 나타나지 않았다.

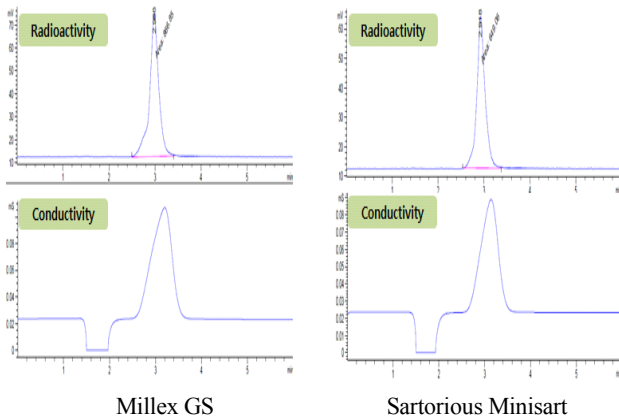


Fig. 8. This graph shows the radio chemical purity analyzed compared to the ammonia standard product using HPLC.

(2) 화학적 이물 평가

육안으로 평가하는 화학적 이물 평가에서 Al 2ppm 0.5 mL 를 넣은 튜브는 보라색을 띠었고, Millex GS와 Sartorius Minisart 필터를 사용하여 여과된 N-13 암모니아 주사액 0.5 mL씩 넣은 튜브는 모두 색상에 큰 변화가 없었다(Fig. 9).

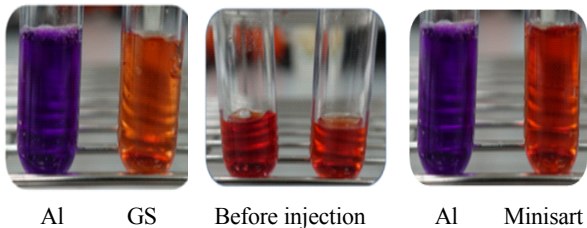


Fig. 9. Add 0.5 ml of aluminum 2ppm and filtered ammonia injection to the prepared reagent and change the color after 3 minutes. Tubes with 2ppm of aluminum are purple, while both Millex GS and Sartorius Minisart show no significant change in color.

(3) 기타 품질 테스트

그 외 품질 테스트 모두 본원 기준을 만족하는 것으로 나타났다(Table 2).

Table 2. This table shows the results of the quality test.

Check list	Criteria	GS	Minisart	
pH	4.5 ~ 7.5	Pass	Pass	
Radiochemical	< of total radioactivity 95 %	Pass	Pass	
Purity	Radionuclidic	No peaks other than 0.511 & 1.02 MeV	Pass	Pass
	Chemical (Al)	≤ 2 ppm	≤ 2 ppm	≤ 2 ppm
Bacterial endotoxin	< 175/V EU as endotoxin per mL	< 0.5	< 0.5	
Sterility test	No proliferation of bacteria.	Pass	Pass	

고찰 및 결론

실험 결과에서 Millex GS 필터 보다 Sartorius Minisart 필터를 사용하였을 때, 약 2.8배 더 많이 여과된 것을 확인하였다. 그리고 두 필터를 사용하여 여과된 N-13 암모니아 주사액의 품질시험 결과는 우려하였던 불순물에 의한 순도 차이 없이 본 병원의 기준을 충족하였다.

멸균 필터의 구조에서 Sartorius Minisart 필터의 얇은 막은 Cellulose Acetate(CA)계열의 필터로써, acetic acid, sulfic acid, anhydride로 구성되어 있고, Millex GS 필터의 얇은 막은 Mixed Cellulose Ester(MCE)로써 acetic acid, sulfic acid, anhydride에 추가로 Nitrocellulose가 약 80%의 비중을 차지하고 있는 필터이다. 비록 Millex GS의 물질이 지나갈 수 있는 공극 크기는 더 크지만 Nitrocellulose가 포함된 얇은 막의 구조가 물질을 더욱 흡착시키는 결과를 나타내었다. 여과할 수 있는 성능은 얇은 막의 차이 때문에 Millex GS가 우수하나, 품질 테스트의 평가상 Sartorius Minisart 필터를 사용하여도 N-13 암모니아 주사액의 품질에 큰 영향이 없었다.

따라서 N-13 암모니아 주사액 제조 시, Sartorius Minisart 필터를 사용함으로써 필터 흡착율로 인한 손실을 최소화하고, 비용도 절감 할 수 있으며, 보다 안정적으로 N-13 암모니아 주사액을 제조 할 수 있을 것으로 생각한다.

요 약

기준에 Millex GS 멸균 필터를 사용하여 방사성 의약품 N-13 암모니아 주사액 제조 시 많은 양의 방사성 의약품이 멸균 필터에 흡착되어 있었다. 이에 Sartorius의 Minisart 멸균 필터를 사용하여 흡착률의 차이를 확인하고 합성 수율을 증가시키고자 하였다. 실험 대상은 Millex GS 필터와 Sartorius Minisart 필터를 대상으로 하였으며 제조된 N-13 암모니아를 각각의 멸균 필터에 통과시킨 후 선량계를 이용하여 흡착률을 구하였다(n=10). 그리고 품질 관리 시험을 시행하여 본원 기준에 적합한지 확인하였다. 실험 결과 Millex GS와 Sartorius Minisart 필터에 각각 71.0 ± 17.6%와 19.1 ± 3.2% 흡착되었다. 필터를 제거한 product vial에는 Millex GS와 Sartorius 각각 29.0 ± 17.6%와 80.9 ± 3.2% 여과되었다. 여과된 암모니아 주사액의 양은 GS 필터보다 Minisart 필터를 사용할 때 약 2.8배 더 많이 획득할 수 있었다. 각 멸균 필터를 통과한 N-13 암모니아 주사액의 방사화학적 이물, 화학적 이물, 이 핵종, pH, 엔도톡신, 무균 시험 등 품질 관리 시험 결과 본원 기준에 적합하였다. Millex GS 필터의 얇은 막은 mixed cellulose ester(MCE)

로써 acetic acid, sulfuric acid, anhydride에 추가로 Nitrocellulose가 약 80%의 비중을 차지하고 있는 필터이다. 때문에 Nitrocellulose가 포함되지 않은 CA계열인 Sartorius Minisart 필터보다 여과할 수 있는 성능은 Millex GS가 우수하나, 품질시험의 평가상 Sartorius Minisart 필터를 사용하여도 문제가 없을 것이다. 따라서 N-13 암모니아 주사액 제조 시, Sartorius Minisart 필터를 사용함으로써 필터 흡착으로 인한 손실을 최소화하고, 비용도 절감할 수 있으며, 보다 안정적으로 N-13 암모니아 주사액을 제조할 수 있을 것으로 생각한다.

REFERENCE

1. 공은정 외 관상동맥질환에서 N-13 암모니아 PET/CT와 Tc-99m 세스타미비 SPECT의 임상 유용성 비교. *Nucl Med Mol Imaging* Vol. 42, No. 5, Oct 2008.
2. Firas Al Badarin et al Assessment of myocardial blood flow and coronary flow reserve with positron emission tomography in ischemic heart disease : current state and future directions *Heart Fail Rev* (2017) 22:441-453.
3. Thorsten M. Leucker et al Positron emission Tomography-Determined Hyperemic Flow, Myocardial Flow Reserve, and Flow Gradient-Quo vadis? *Front Cardiovasc Med.* 2017 Jul.
4. Aydinbelge FN et al Current status of myocardial perfusion imaging radiopharmaceuticals for SPECT and PET imaging modalities. *Int J Res Med Sci.* 2017 Jan;5(1):1-7
5. 안현호 외 [¹¹C]PIB 제조 수율 증진을 위한 다양한 멸균필터의 적용 및 비교. *J Nucl Med.* (2016).
6. 지용기 외 Lymphoscintigraphy에서 방사성의약품의 Filter 선택에 관한 연구. *J Nuc Med Technol.*