

Original Article

비 카세트 방식과 카세트 방식을 이용한 [⁶⁸Ga]PSMA-11의 자동 합성 방법 비교

분당서울대학교병원 핵의학과¹, (주)비아이케이테라퓨틱스²

박현식¹ · 조병민² · 안현호¹ · 이홍진¹ · 이진형¹ · 이경재¹ · 이병철¹ · 이원우¹

A Comparative Study of Production of [⁶⁸Ga]PSMA-11 with or without Cassette Type Modules

Hyun-Sik Park¹, Byeong-Min Jo², Hyun-Ho An¹, Hong-Jin Lee¹, Jin-Hyeong Lee¹,
Gyeong-Jae Lee¹, Byung-Chul Lee¹, and Won-Woo Lee¹

¹Department of Nuclear Medicine, Seoul National University Bundang Hospital, Seongnam-si 13620, Republic of Korea

²BIK THERAPEUTICS Inc., Seongnam-si 13605, Republic of Korea

Purpose [⁶⁸Ga]PSMA-11 is needed the high reproducibility, excellent radiochemical yield and purity. In term of radiation safety, the radiation exposure of operator for its production also should be considered. In this work, we performed a comparative study for the fully automated synthesis of [⁶⁸Ga]PSMA-11 between non-cassette type and cassette type.

Materials and Methods Two different type of modules (TRACERlab FX N pro for non-cassette type and BIKBox for cassette type) were used for the automated production of [⁶⁸Ga]PSMA-11. According to the previously identified elution profile, Only 2.5 ml with high radioactivity was used for the reaction. After adjusting the pH of the reaction solution with HEPES buffer solution, the precursor was added and reacted with at 95 °C for 15 minutes. The reaction mixture was separated and purified using a C18 light cartridge. The product was eluted with 50% EtOH/saline solution and diluted with saline. It was completed by sterilizing filter. In the non-cassette type, the aforementioned process must be prepared directly. However, in the cassette method, synthesis was possible simply by installing a kit that was already completed.

Results Both total [⁶⁸Ga]PSMA-11 production time were 25±3(non-cassette type) and 23±3 minutes(cassette type). The radiochemical yield of the non-cassette type(65.5±5.7%) was higher than that of the cassette type(61.6±4.8%) after sterilization filter. The non-cassette type took about 120 minutes of preparation time before synthesis due to washing of synthesizer and reagent preparation. However, since the cassette type does not require washing and reagent preparation, it took about 20 minutes to prepare before synthesis. Both type of synthesizer had a radiochemical high purity(>99%).

Conclusion The non-cassette type production of [⁶⁸Ga]PSMA-11 showed higher radiochemical yield and lower cost than the cassette type. However, The cassette type has an advantage in terms of preparation time, convenience, and equipment maintenance.

Key Words [⁶⁸Ga]PSMA-11, Automated synthesis, ⁶⁸Ge/⁶⁸Ga generator

서론

•Received: September 30, 2022 Accepted: October 11, 2022

•Corresponding author: Hyun-Sik Park

•Department of Nuclear Medicine, Seoul National University Bundang Hospital, 82, Gumi-ro 173beon-gil, Bundang-gu, Seongnam-si, Gyeonggi-do, Republic of Korea
Tel: +82-31-787-2957, Fax: +82-31-787-4072
E-mail: goya2000@naver.com

PSMA(전립선특이막항원, Prostate specific membrane antigen)는 전립선세포 표면에 자연적으로 존재하는 단백질의 일종으로 전립선 암 환자에서 과 발현 된다. 과 발현된 PSMA를 타겟으로 하여 전립선암 환자의 병기 결정과 수술 후

재발과 전이를 진단하는 방사성의약품인 [^{68}Ga]PSMA-11은 2020년 12월 FDA에서 전립선암 환자를 대상으로 사용이 허가되었다. 그 후 우리나라에서는 2021년 10월 신 의료 기술로 승인되었다. 이에 분당서울대학교병원에서는 2021년 11월부터 [^{68}Ga]PSMA-11의 자동화 생산 시스템을 구축하고 [^{68}Ga]PSMA-11 PET/CT 검사에 활발히 사용하고 있다. 특히 [^{68}Ga]PSMA-11은 낮은 수준의 PSA 수치 증가에서는 찾기 힘든 재발 위치를 찾는 데도 효과가 있어 많은 검사가 이루어지고 있다. [^{68}Ga]PSMA-11을 통한 진단과 더불어 ^{177}Lu -PSMA-617, PSMA-DGUL 등의 PSMA를 타겟으로 하는 재발암 치료제들도 활발하게 개발되고 있어 [^{68}Ga]PSMA-11의 진단 가치는 향후 더 높아질 것으로 예상된다. [^{68}Ga]PSMA-11은 자동화 생산 방법을 통해 높은 재현성과 우수한 방사화학적 수율 및 순도를 얻을 수 있으며 제조 시 작업자의 방사선 피폭을 최소화할 수 있다. 이를 위해 분당서울대학교병원에 적용한 비 카세트 방식과 카세트 방식의 두 가지 자동 합성 방법을 소개하고 비교하고자 한다.

실험재료 및 방법

1. 실험재료

[^{68}Ga]PSMA-11 자동화 생산에 필요한 방사성 동위원소 ^{68}Ga 을 얻기 위해 $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ generator 50 mCi(iThemba LABS, Johannesburg, South Africa)와 ^{68}Ga 용출을 위한 주사기 펌프 NE-1000(New Era Pump System, New York, USA)을 사용하였으며, 용출에 사용된 용액은 0.6 N 염산용액(ROTEM)이다. 비교에 사용된 두 가지 자동합성장치는 비 카세트 방식의 TRACERlab FX N pro(GE Healthcare, Liege, Belgium)와 카세트 방식의 BIKBox(BIK THERAPEUTICS Inc., Seongnam-si, Republic of Korea)이다. 그 밖에 비 카세트 방식과 카세트 방식의 자동합성장치에 사용된 재료로는 HEPES buffer, 주사용수, C18 Light Sep-Pak cartridge(Waters), 생리식염수, 에탄올, PSMA-11 전구체(ABX) 등이 있다. 카세트 방식의 자동합성장치에 사용되는 재료는 일회용 합성 키트의 카세트와 함께 포함된 구성품들로 사용하였고, 구성품에는 비 카세트 방식의 자동합성장치에 사용된 재료와 동일한 제품들이 포함되어 있다.

2. ^{68}Ga 용출

생산에 앞서 생산에 사용할 ^{68}Ga 의 용량은 제네레이터 제조사에서 제공하는 시간에 따른 ^{68}Ga 용출 정보와 실제로

^{68}Ga 용출 테스트를 통해서 얻은 정보를 바탕으로 총 용출 용량 5.0 ml 중 방사능양이 가장 높은 중간 부분의 용량 2.5 ml로 결정하였다. 본 실험의 ^{68}Ga 용출 조건은 주사기 펌프를 2.0 ml/min의 속도로 용출하도록 설정하였고, 초기 1.7 ml를 제외한 방사능 농도가 가장 높은 중간의 2.5 ml 부분의 용출액을 사용하였다(Fig. 1).

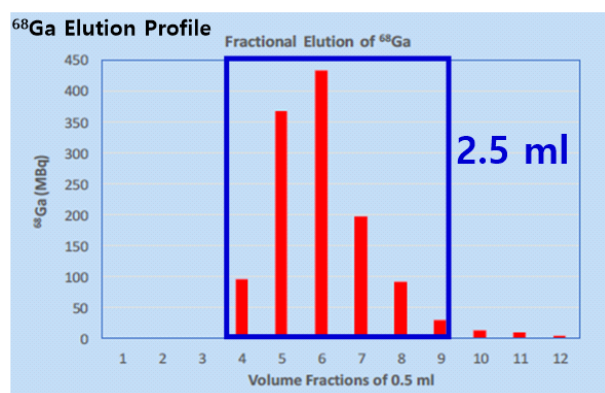


Fig. 1. The distribution of radioactivity when the generator is eluted.

선택적으로 방사능 농도가 가장 높은 2.5 ml 부분만을 합성에 사용하기 위해 0.6 N 염산 용액 6 mL의 주사기가 장착된 실린지 펌프를 $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ -generator의 inlet-line과 연결하고 outlet-line은 자동합성장치와 연결하였다(Fig. 2). 최적화된 표지 조건이 입력된 자동합성장치와 실린지 펌프의 작동을 동시에 시작하였으며, ^{68}Ga 은 2 ml/min의 속도로 용출하였다. 미리 확인된 용출 정보에 따라 초기 약 1.7 ml은 waste vial로 용출 시켰고, 그 후 자동합성장치 내 3-way 밸브를 이용, 72초간 반응용기로 용출하여, 체적당 방사능 농도가 높은 2.5 ml의 용출액만 표지 과정에 이용 되도록 하였다.

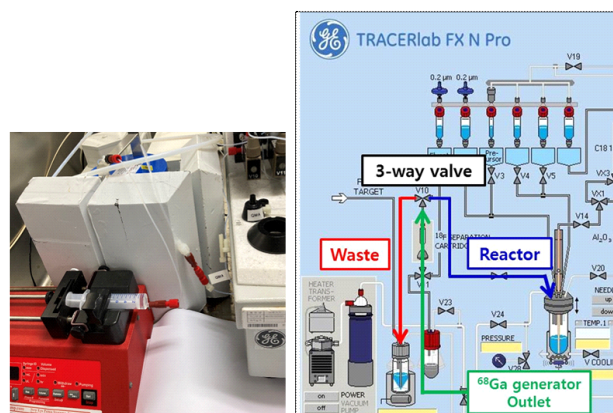


Fig. 2. The syringe pump, generator and automatic synthesis device are connected.

3. $[^{68}\text{Ga}]$ PSMA-11 주사액의 제조

반응용기로 ^{68}Ga 용출이 끝나면 HEPES buffer 600 mg을 주사용수 0.8 ml에 녹여 첨가하고, 전구체 $5\ \mu\text{g}$ 을 주사용수 0.5 ml에 녹여 첨가한 후 반응용기의 온도를 $95\ ^\circ\text{C}$ 로 가열하여 15분 동안 반응 시킨다. 반응이 끝난 반응 용액은 실온에서 식혀준 후 주사용수 5 ml를 첨가하고 C18 light 카트리지를 통과시켜 분리 및 정제 하였다. 그 후 C18 light 카트리지를 주사용수 10 ml로 세척한다. 세척된 C18 light 카트리지에 50% 에탄올/생리식염수 희석액을 통과시켜 $[^{68}\text{Ga}]$ PSMA-11을 용출하고 생리식염수 10 ml를 첨가한 후 AEF filter를 통과시켜 멸균함으로써 생산을 완료하였다. 비 카세트 방식의 자동합성장치는 합성 전 장비를 세척 및 건조하고 합성에 필요한 시약들을 준비하여 유리 초자에 정량을 직접 주입한 후 합성을 시작한다(Fig. 3). 비 카세트 방식 자동합성장치의 세척과정은 주사용수를 이용한 1차 세척과 아세톤을 이용한 2차 건조 과정을 포함하여 약 90분이 소요된다. 합성에 필요한 시약과 카트리지를 준비하는데 소요되는 시간은 약 30분이다.

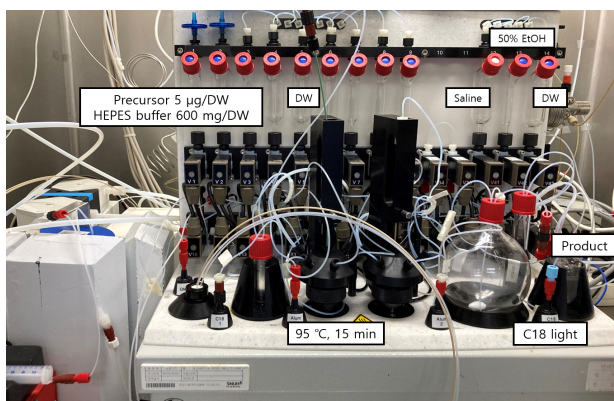


Fig. 3. It is a non-cassette type automatic synthesis device.

카세트 방식의 자동합성장치는 일회용 키트에 들어있는 카세트를 자동합성장치에 장착하고 동봉되어있는 시약 바이알과 주사기를 카세트에 장착한 후 합성을 시작한다(Fig. 4). 카세트 방식의 자동합성장치에 카세트를 장착하고, 시약 바이알과 주사기, 카트리지를 장착하여 합성 준비를 완료하기 까지 소요되는 시간은 20분 미만이다. 합성 준비 후 제조 공정은 비 카세트 방식과 카세트 방식의 자동합성장치에서 최적화된 프로그램 시퀀스에 의해 자동 생산된다.

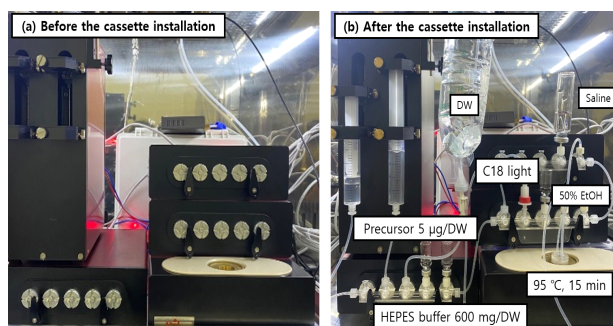


Fig. 4. This is a picture of the cassette type automatic synthesis device before(a) and after(b) the cassette installation.

4. 품질관리

제조된 $[^{68}\text{Ga}]$ PSMA-11 주사액의 품질관리는 정상, 방사화학적 순도, 확인시험, pH, 잔류용매, 엔도톡신 및 무균시험 등과 멸균필터 완전성시험의 항목으로 시행하였다. 정상은 납유리를 통해 육안으로 확인하였다. 방사화학적 순도는 radio-TLC(Thin layer chromatography)를 이용하여 iTLC-SG, 1 M ammonium acetate in water-methanol(50:50, V/V) 조건에서 확인하였다(^{68}Ga : $R_f=0.0-0.1$, $[^{68}\text{Ga}]$ PSMA-11: $R_f=0.8-1.0$). 이외의 품질관리는 대한민국약전 일반시험법에 따라 시험하였다. 품질관리를 시행한 후 두 가지 자동합성장치를 이용한 $[^{68}\text{Ga}]$ PSMA-11 주사액 생산 방법의 장단점을 비교하였다.

결 과

비 카세트 방식 자동합성장치에서의 총 합성시간은 25 ± 3 분이 소요되었으며, 방사화학적 수율은 멸균 필터 후 $65.5\pm 5.7\%$ ($n=45$, non-decay corrected)이다. 카세트 방식 자동합성장치에서의 총 합성 시간은 23 ± 3 분이 소요되었으며, 방사화학적 수율은 멸균 필터 후 $61.6\pm 4.8\%$ ($n=98$, non-decay corrected)이다. 비 카세트 방식은 자동합성장치의 세척과 시약 준비 시간으로 인해 합성 전 준비시간이 약 120분 소요되었으나, 카세트 방식은 세척과 시약 준비 과정이 없어 합성 전 준비 시간은 약 20분 소요되었다. 두 가지 방식의 자동합성장치에서 제조된 $[^{68}\text{Ga}]$ PSMA-11 주사액의 방사화학적 순도는 모두 $>99\%$ 이었다(Fig. 5). 그 밖에 정상, 방사화학적 순도, 확인시험(511 KeV, 반감기), pH, 잔류용매, 엔도톡신 및 무균시험 등의 품질검사 결과는 모두 적합했다(Table 1).

Table 1. This is a table showing the results of quality control.

Quality control	Non-Cassette type	Cassette type
Radiochemical yield (% , non-decay corrected)	65.5±5.7	61.6±4.8
Radiochemical purity (%)	>99	>99
Radionuclide purity (KeV)	511	511
Visual inspection	pass	pass
pH	6.0-7.0	6.0-7.0
Radionuclide identity	pass	pass
Residual solvent analysis(ppm)	<50,000	<50,000
Filter integrity	pass	pass
Endotoxins	<2.0 EU/mL	<2.0 EU/mL
Sterility	Sterile	Sterile
Synthesis time (min)	25 ± 3	23 ± 3

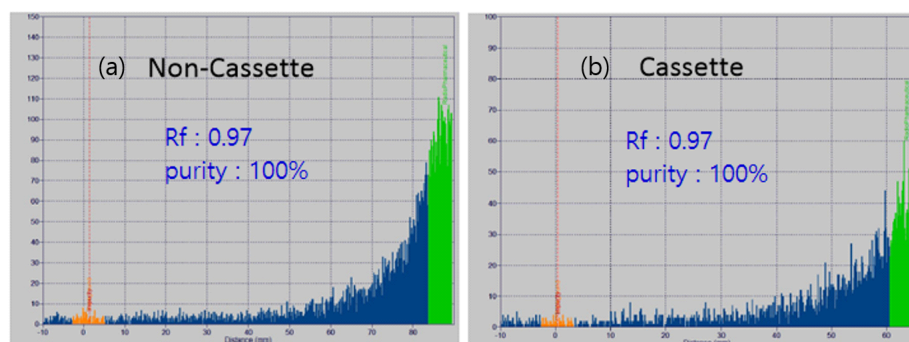


Fig. 5. This is the radio TLC results of the non-cassette(a) and cassette(b) type method.

고 찰

방사성의약품 제조소는 신규 의약품의 생산을 도입 할 때 마다 제조 방법과 사용할 장비, 재료들을 준비하게 된다. 보통은 갖고 있는 장비를 이용하기도 하고, 편의성을 갖춘 신규 장비를 도입하기도 한다. 그리고 제조 방법 또한 논문을 통해 알려진 방법이 제조소의 실정에 맞게 변형되거나 개선 되기도 한다. $[^{68}\text{Ga}]\text{PSMA-11}$ 또한 2021년 10월 신 의료 기술 로 승인 되며, 각 병원의 제조소들은 새로운 방사성의약품인 $[^{68}\text{Ga}]\text{PSMA-11}$ 의 생산을 위한 준비를 시작했다. 이에 분당 서울대학교병원 핵의학과에서는 보다 빠른 신규 방사성의약품 생산을 위해 기존에 가지고 있던 비 카세트 방식의 자동 합성장치 TRACERlab FX N pro(GE Healthcare, Liege, Belgium)를 개량하여 $[^{68}\text{Ga}]\text{PSMA-11}$ 을 생산하는 방법을 개발하였다. 그 결과 2021년 11월부터 생산을 시작하고 임상에 활발히 적용하였다. 여러 회사에서 $[^{68}\text{Ga}]\text{PSMA-11}$ 를 생산 하는 자동합성장치와 Kit들이 개발 되었고, 분당서울대학교 병원의 $[^{68}\text{Ga}]\text{PSMA-11}$ PET/CT 환자 수의 증가와 맞물려 새로운 합성 방법을 모색 중에 개발 중이던 BIKBox(BIK

THERAPEUTICS Inc., Seongnam-si, Republic of Korea) 장비를 이용한 $[^{68}\text{Ga}]\text{PSMA-11}$ 생산을 시험적으로 도입함에 따라 두 가지 자동합성장치를 이용한 $[^{68}\text{Ga}]\text{PSMA-11}$ 생산의 장단점을 비교해 볼 수 있었다. 같은 방사성의약품을 생산하더라도 각 병원의 환자 수, 각 제조소의 환경과 시설 및 장비, 인력 여건이 다른 점을 고려해 최적의 방법을 결정하고 도입하는 것이 중요하다.

결 론

비 카세트 방식과 카세트 방식 자동합성장치를 이용한 $[^{68}\text{Ga}]\text{PSMA-11}$ 생산의 차이점을 비교하기 위한 실험에서 비 카세트 방식 자동합성장치에서의 제조는 기존의 18F 자동합성장치를 사용하여 새로운 장비의 추가설치가 필요하지 않고, 높은 방사화학적 수율과 제조비용이 저렴한 장점이 있다. 하지만 사용 후 합성장치의 세척 과정과 시약 준비 과정이 필요해 합성 전 준비시간이 120 분 이상 소요되고, 합성장치의 튜브와 밸브 등 소모품의 주기적인 유지보수가 필요하고, 합성에 필요한 원자재를 직접 관리해야하는 단점이 있

다. 생산에 필요한 모든 재료가 일회용 키트화 되어 있어 합성 전 준비단계가 간단한 카세트 방식 자동합성장치를 이용한 방법의 경우 20분 이하의 짧은 준비 시간이 소요되고, 시약 준비가 편리하며 정량화된 완제품의 사용으로 재현성이 높고, 간단한 합성장치 구조상 유지보수가 필요 없다는 장점이 있다. 하지만 카세트 방식의 신규 자동합성장치가 필요하고, 제조비용이 비 카세트 방식에 비하여 상대적으로 고가이며, 사용 후 카세트에 의해 방사성폐기물의 양이 증가 한다는 단점이 있다.

요 약

전립선암 환자의 전이성 질환 진단을 위해 사용되는 양전자 방출 단층촬영용 ^{68}Ga PSMA-11 주사액은 자동화 생산 방법을 통해 높은 재현성과 우수한 방사화학적 수율 및 순도를 얻을 수 있으며 제조 시 작업자의 방사선 피폭을 최소화할 수 있다. 이를 위해 적용한 비 카세트 방식과 카세트 방식의 자동 합성 방법을 소개하고 비교하고자 한다. ^{68}Ga PSMA-11 주사액의 자동화 생산을 위해 $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ generator 50 mCi (iThemba LABS, Johannesburg, South Africa), 주사기 펌프 NE-1000(New Era Pump System, New York, USA)을 사용하였으며, 자동 합성 장치는 비 카세트 방식의 TRACERlab FX N pro(GE Healthcare, Liege, Belgium)와 카세트 방식의 BIKBox(BIK THERAPEUTICS Inc., Seongnam-si, Republic of Korea)를 사용하였다. 0.6 N 염산 용액 6 mL의 주사기가 장착된 실린지 펌프를 $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ generator의 inlet-line과 연결하고 outlet-line은 자동 합성 장치와 연결한 후 자동 합성 장치와 동시에 작동하였으며, 2 mL/min의 속도로 ^{68}Ga 를 용출하였다. 초기 약 1.7 mL은 waste vial로 용출 시켰고, 그 후 2.5 mL은 반응용기로 용출하여, 방사능 농도가 높은 2.5 mL의 용액만 표지 과정에 이용하였다. 반응 용액의 pH를 HEPES buffer 용액으로 조절한 후 전구체와 95 °C에서 15분간 반응하였으며, C18 light 카트리지를 이용, 분리·정제하였다. 50% 에탄올/생리식염수 희석액으로 최종 화합물을 용출하고 생리식염수를 추가한 후 멸균 필터 함으로써 제조를 완료하였다. 각각의 자동 합성 장치에서 제조된 ^{68}Ga PSMA-11 주사액의 품질관리를 시행하고 장단점을 비교하였다. 총 합성 시간은 각각 25±3분(비 카세트 방식), 23±3분(카세트 방식)이 소요되었으며, 방사화학적 수율은 멸균 필터 후 비 카세트 방식이 65.5±5.7%(n=45, non-decay corrected), 카세트 방식이 61.6±4.8%(n=98, non-decay corrected)였다. 비 카세트 방식은 장비 세척과 시약 준비 시

간으로 인해 합성 전 준비 시간이 약 120분 소요되었고, 카세트 방식은 세척과 시약 준비 과정이 없어 합성 전 준비 시간은 약 20분 소요되었다. 비 카세트 방식 자동 합성 방법은 방사화학적 수율과 비용적 측면에서 카세트 방식 대비 높은 장점을 가지나, 제조 준비 단계에서의 편의성과 장비 유지 보수 측면에서는 카세트 방식이 장점을 가진다.

참고문헌

1. Park HS, Lee HJ, An HH, Moon BS, Lee BC, Lee WW, et al. Fully automated radiosynthesis of ^{68}Ga edotreotide (^{68}Ga DOTA-TOC) and its quality controls. *J Radiopharm Mol Prob* 2017;3(2):85-90
2. Michael M, Yury S, Elisabeth E. Gallium-68: Radiolabeling of Radiopharmaceuticals for PET Imaging - A Lot to Consier. Intechopen Web site. Available at: <http://www.intechopen.com/chapters/70578>. Published December 23, 2019.
3. Ukihide T. Prostate-specific membrane antigen(PSMA)-ligand positron emission tomography and radioligand therapy (RLT) of prostate cancer. *Japanese Journal of Clinical Oncology*, 2020;50(4):349-356
4. Wolfgang PF, Jeremie C, Matthias E, Robert RF, Ashley M, Felix YF, et al. Assessment of ^{68}Ga -PSMA-11 PET Accuracy in Localizing Recurrent Prostate Cancer A Prospective Single-Arm Clinical Trial. *JAMA Oncol*. 2019;5(6):856-863
5. Michael SH, Nathan L, Roslyn JF, Colin T, Ian V, Paul T, et al. Prostate-specific membrane antigen PET-CT in patients with high-risk prostate cancer before curative-intent surgery or radiotherapy (proPSMA): a prospective, randomised, multicentre study. *Lancet* 2020;395:1208-16