

Original article

사이클로트론 in-target을 이용한 [^{13}N]암모니아 주사액의 제조방법 및 품질관리김대홍, 김강빈, 김정연, 박민욱, 이정훈
전남대학교병원 핵의학과Production Method and Quality Control of [^{13}N]Ammonia Injection Using Cyclotron In-TargetDae-Hong Kim, Kang-Bin Kim, Jeong-Yeon Kim, Min-yook Park and Jeong-Hun Lee
Department of Nuclear Medicine, Chonnam National University Hospital, Gwangju, Korea***Corresponding Author :** Dae-Hong Kim, Department of Nuclear Medicine, Chonnam National University Hospital, 42, Jebong-ro, Dong-gu, Gwangju, 61469, Rep. of Korea, Tel :+82-062-220-6877, E-mail : eoghd1591590@naver.com

ABSTRACT

Purpose: Our institution, the demand for [^{13}N]ammonia is increasing, so we will introduce the manufacturing process, quality testing, and other processes for [^{13}N]ammonia injection until it is supplied to patients. **Materials and Methods:** [^{13}N]ammonia is produced by irradiating water containing 5 mmol of ethanol as a target material in a cyclotron manufactured by IBA at about 90 mA for 15 minutes. The quality of the prepared [^{13}N]ammonia injection is tested according to USP standards. **Results:** The [^{13}N]ammonia injection solution produced in a cyclotron passes through a cartridge and a sterile filter, and the final amount is about 200 mCi on average in about 2 mL volume, and the production time is about 20 minutes. All quality test results met USP standards. **Conclusion:** [^{13}N]ammonia injection is a drug whose demand is gradually increasing due to its simple manufacturing process and manufacturing time that does not require synthesis equipment, relatively uncomplicated quality testing, and good visual image.

Key Words: [^{13}N]Ammonia, Cyclotron, Quality control

서론

[^{13}N]Ammonia ([^{13}N]NH₃) 주사액은 양전자방출단층촬영(positron emission tomography, PET)을 이용하여 심근 관류영상과 심근관류 및 심근의 에너지대사를 평가할 수 있는 방사성의약품이다. 특히 [^{13}N]ammonia 주사액을 활용한 PET은 [$^{99\text{mTc}}$]sestamibi와 [$^{99\text{mTc}}$]tetrofosmin을 사용한 단일광자방출전산화단층촬영(single-photon emission computed tomography, SPECT)에서 평가하기 어려웠던 심근관류를 정량적으로 측정할 수 있어 다혈관질환이나 미세혈관질환을 추가로 발견할 수 있는 이점이 있어 협심증, 심근경색증 등 다양한 심장질환 환자에서 활용되고 있다. 또한 [^{13}N]ammonia 심장 PET은 심장 SPECT 영상검사에 비해 검사시간이 짧고 방사선 피폭량도 현저히 낮아 소아환자에서도 반복 검사 및 추적 관찰 검사활용이 가능하며 영상의 질 또한 훨씬 뛰어나다.

[^{13}N]Ammonia 주사액의 생산방법은 사이클로트론에서 $^{16}\text{O}(\text{p}, \alpha)^{13}\text{N}$ 반응을 통해 만들어진 [^{13}N]NO_x를 알루미늄, 구리, 아연으로 구성된 데바르다 합금(devarda's alloy)과 수산화나트륨(sodium hydroxide)을 반응시켜 생산하는 DeVarda's 방법과 5 mM 에탄올이 함유된

O-16 물에 양성자(proton)를 직접 조사하여 사이클로트론 타겟 내에서 [^{13}N]ammonia를 생산하는 in-target 방법 (in-target production)으로 분류할 수 있다 [5-7]. 본원에서는 [^{13}N]ammonia 주사액을 생산 시 in-target 방법을 사용하고 있으며, 본 연구에서는 사이클로트론을 활용한 [^{13}N]ammonia 주사액의 제조공정 및 품질관리를 소개하고자 한다.

대상 및 방법

1. [^{13}N]Ammonia 주사액 제조

[^{13}N]Ammonia는 IBA사 18 MeV 사이클로트론에서 5 mmol 에탄올이 함유된 산소-16 물(^{16}O water)을 타겟으로 사용하여 약 90 mA에서 15분간 조사하여 제조하였다(Fig. 1A). [^{13}N]Ammonia 제조하기 위한 사이클로트론의 가동 조건은 아래의 표 1과 같다 (Table 1). 타겟으로 사용되는 에탄올은 Sigma-Aldrich사에서 구매 후 별도의 정제 과정 없이 바로 조제 후 타겟으로 사용하였다. 사이클로트론의 타겟에서 제조된 [^{13}N]NH $^{3+}$ 는 이송관을 통해 핫셀로 전달된 후 음이온 교환 카트리지를 통과시켜 불순물을 제거한 후 최종적으로 무균 필터를 통과시켜 Venting needle이 장착된 멸균바이알에 포장하였다 (Fig. 1B). [^{13}N]Ammonia 제조에 사용된 음이온 교환 카트리지는 S*PURE Pte Ltd사의 Maxi-Clean SPE 600 mg SAX cartridge를 사용하였다. Venting needle은 Satorius-stedim사의 75×200mm 제품을 사용하였고, 무균필터는 PALL사의 Supor[®] AEF 0.2 μm Intravenous Filter 를 사용하였다.

Table 1. Cyclotron operating conditions for [^{13}N]ammonia injection

Category	Setting value
Irradiation time	20 ~30 min
Target material	Water(5 mmol ethanol)
Ampere	90 mA
Main Coil	137.2 A
Rf voltage	34.5 kV
Vacuum pressure	1.1E-005 mbar
Chemical from after irradiation	$^{13}\text{NH}_3$ at > 95%

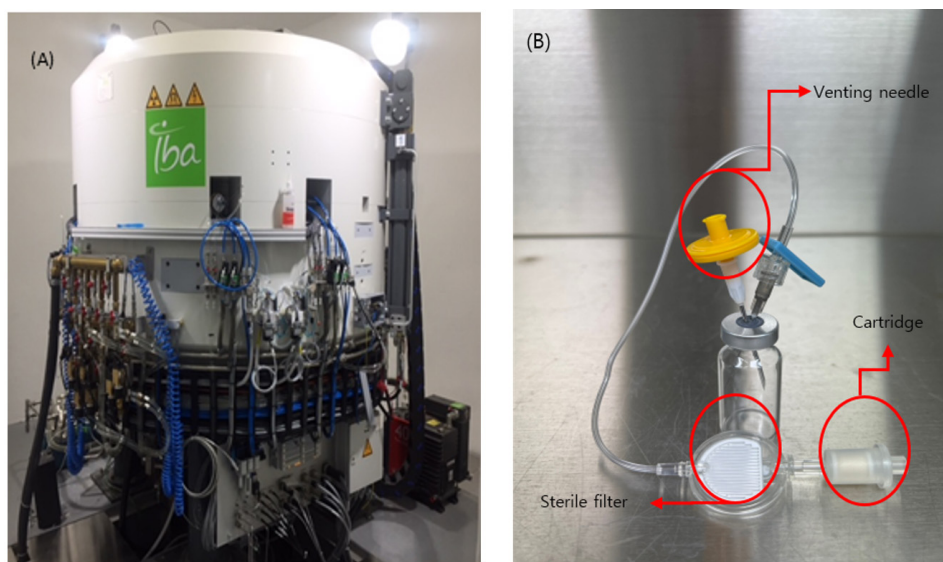


Fig. 1. A representative image of (A) IBA Cyclotron and (B) aseptic purification set-up for [^{13}N]ammonia production.

2. [¹³N]Ammonia 주사액 품질관리

생산 완료된 [¹³N]ammonia 주사액은 미국약전(United States Pharmacopeia, USP)에 기재된 기준에 따라 품질관리를 수행하였다. 미국약전에 기재된 [¹³N]ammonia 주사액의 품질관리 항목 및 기준은 표와 같다(Table 2). 반감기를 측정하기 위하여 CRC-55tPET(CAPINTEC, USA)사의 dose calibrator로 5분간 방사능을 측정한 후 계산식으로 반감기를 산출했다. pH는 pH meter(METTLER TOLEDO, USA)로 측정하였다. 확인시험(방사핵종)은 다중채널분석기(CAPINTEC, USA)를 사용하였다. 엔도톡신시험은 Endosafe®-PTS(Charles River Laboratories, USA)로 전용 카트리지를 사용하여 측정하였고, 무균시험은 직접법으로 액상티오글리콜산배지 및 대두카제인소화배지(Asan pharm, Korea)에 접종 후 호기성균, 혐기성균 및 진균의 증식을 14일간 관찰하였다. 방사화학적 순도 및 확인시험은 이온 크로마토그래피(Thermo Fisher Scientific, USA)와 Flow-Count(Eckert & Ziegler, Germany)를 사용하여 측정하였다. [¹³N]ammonia를 이온 크로마토그래피로 측정하기 위하여 이동상 용매(mobile phase), 컬럼(column) 및 표준액(standard solution) 설정과 방법은 표 3과 같다(Table 3). 이동상 용매에 사용된 질산(nitric acid) 및 메탄올(methanol)은 각각 Sigma-Aldrich사와 Honeywell사에서 구매 후 별도의 정제 과정없이 사용하였으며, 컬럼은 Thermo Fisher Scientific사의 Dionex IonPac™ CS14 4×250 mm 제품을 사용하였고, 표준액은 USP ammonium chloride 200 mg를 구매하여 약 mL 당 0.1 mg 농도로 조제 후 사용하였다.

Table 2. Acceptance criteria of the quality control of [¹³N]ammonia injection

QC test	Acceptance criteria
Half-life	9.5 ~ 10.5 min
pH	4.5 ~ 7.5
Radionuclidic identity	0.511, 1.022 MeV
Radiochemical identity	The retention time of the major peak in the chromatogram of the test solution corresponds to that in the chromatogram of the standard solution
Radiochemical purity	>95%
Bacterial endotoxin	<17.5 EU/mL
Appearance	Clear, colorless
Sterility	No growth observed after 14 days

Table 3. Items and methods for testing [¹³N]ammonia injection by Ion chromatography

Ion chromatography	Method
Mobile	Add 0.25 mL of concentrated nitric acid to 1000 mL of a mixture of water and methanol (7:3)
Column	4.1 mm × 25 cm column
Standard solution	USP ammonium chloride standard

결과

1. [¹³N]Ammonia 주사액 제조 결과

본원에서는 [¹³N]ammonia 주사액을 조제실제제로 등록한 이후 2021년 10월부터 2023년 현재까지 약 500 회 이상 제조 및 품질관리 시험을 수행하였다. 사이클로트론으로부터 생산된 [¹³N]ammonia 주사액은 카트리지와 무균필터를 통과 후 최종적으로 멸균바이알에 포장되었을 때 약 2 mL의 부피에 평균적으로 200 mCi가 생산되며, 제조시간은 약 20분이었다.

2. [¹³N]Ammonia 주사액 품질관리 결과

품질시험 결과는 모두 USP 기준에 적합하였다. 품질시험에 소요되는 시간은 평균적으로 생산이 완료된 후부터 약 20분이 소요되며, 품질시험 완료 후에 환자에게 투여하였다. [¹³N]Ammonia 주사액의 시험결과는 다음과 같다.

2. 1. 성상, 반감기, pH, 엔도톡신시험, 확인시험, 무균시험

아래의 그림(Fig. 2)은 각각 순서대로 반감기, pH, 방사성핵종 확인시험, 엔도톡신시험, 무균시험의 원자료(raw data)이며, 도출된 결과는 표와 같다(Table 4).

[¹³N]Ammonia 품질시험결과 성상은 육안으로 관찰 시 무색이었으며, 불용성이물은 관찰되지 않았다. 반감기는 10.08분으로 기준인 9.5~10.5분을 만족하였다. pH는 5.14로 기준인 4.5~7.5를 만족하였다. 방사성핵종 확인시험에서는 0.510, 1.024 MeV로 기준인 0.511, 1.022 MeV를 만족하였다. 엔도톡신시험결과 <1.55 EU/mL가 나왔으며 기준인 <17.5 EU/mL를 만족하였고 무균시험에서 14 일 관찰 경과 미생물이나 진균의 증식은 발견되지 않았다.

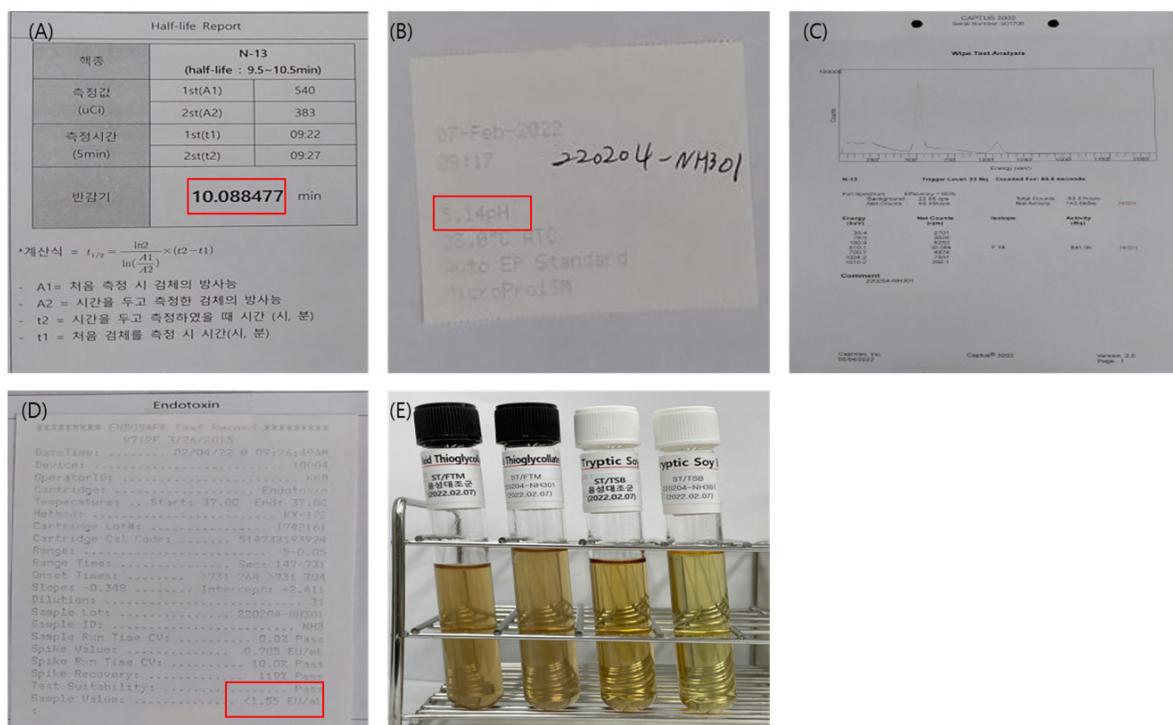


Fig. 2. Raw data of (A) half-life, (B) pH, (C) radionuclidic identity, (D) endotoxin test and (E) sterility test.

2. 2. 확인 및 순도시험(방사화학적)

이온 크로마토그래피로 방사화학적 확인시험을 시험하기 위해 표준액과 [¹³N]ammonia 검액을 각각 측정된 결과 머무름 시간 (retention time, RT) 값은 각각 4.503, 4.470 이었고, 검액을 Flow-Count로 측정된 결과 RT 값이 4.852로 시험기준을 만족하였다(Fig. 3. A,B,C). 방사화학적 순도시험에서 검액을 Flow-Count로 측정 시 99.77%로 기준인 95% 이상을 만족하였다(Table 4).

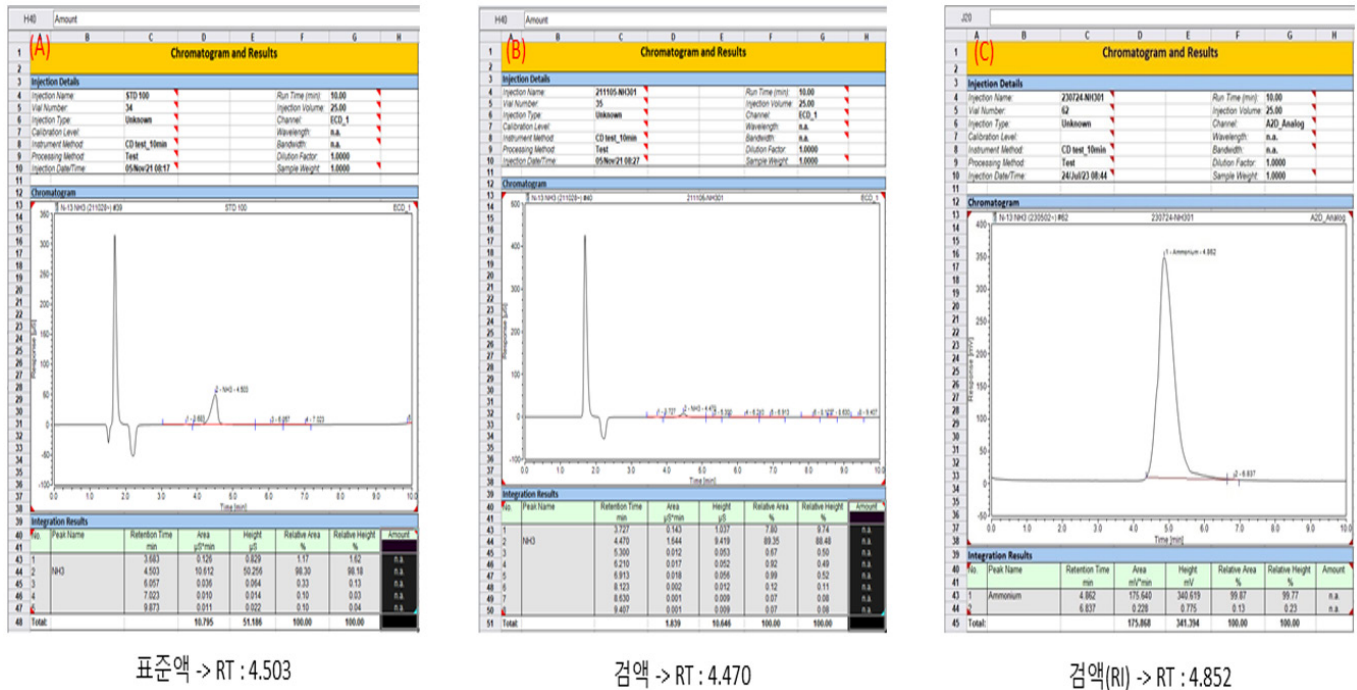


Fig. 3. Raw data of (A) standard solution measured by ion chromatography, (B) [¹³N]ammonia measured by ion chromatography and (C) [¹³N]ammonia measured Flow-Count.

Table 4. Quality control results for [¹³N]ammonia injection

Acceptance criteria	Results
Appearance	Clear, colorless
Half-life	10.8 min
pH	5.14
Radionuclidic identity	0.510, 1.024 MeV
Bacterial endotoxin	<1.55 EU/mL
Sterility	No growth
Radiochemical identity	Pass
Radiochemical purity	99.77%

고찰

[¹³N]Ammonia 주사액은 별도의 합성장치를 필요로 하지 않고 간단한 제조공정과 짧은 제조시간 및 영상의 질이 우수하여 임상적으로 유용한 방사성의약품이다. 하지만 방사성동위원소 N-13의 물리적 반감기가 약 10분으로 매우 짧아 [¹³N]ammonia 주사액을 제조시 1 배치(batch)당 1명의 환자에게만 투여될 수 있는 단점이 있으며, 사이클로트론 장비의 상태, 품질시험 시간 및 환자의 상태, 상황 등의 변수가 발생되어 투여 시기를 놓칠 수가 있는 방사성의약품이다. 그렇기 때문에 [¹³N]ammonia 주사액 제조 후 사이클로트론실에서 핵의학과까지 의약품의 운반 및 투여량 등 진료실 및 PET 촬영실 부서간의 긴밀한 협력이 필요하다. 특히, in-target 방법으로 제조 시 제조된 [¹³N]ammonia 주사액의 생산량과 품질을 일정하게 유지하기 위하여 사이클로트론의 타겟 관리가 매우 중요하며, 타겟물질로 사용하고 있는 5 mmol 에탄올 용액의 균일한 조제를 통해 생산량을 일정하게 유지할 수 있어야 한다. 본 연구에서는 [¹³N]ammonia 주사액의 제조 시 발생했던 일탈이나 그 외 다른 변수에 의하여 제조 실패 및 수율 저하에 대한 경우는 다루지 않았

다. 그렇기에 다음 연구에서 일탈 부분에 대하여 연구를 추가로 진행한다면 [¹³N]ammonia 주사액의 효율적인 품질관리가 될 수 있을 것이라 사료된다.

REFERENCES

1. Fiechter M, Ghadri JR, Gebhard C, Fuchs TA, Pazhenkottal AP, Nkoulou RN, et al. Diagnostic value of ¹³N-ammonia myocardial perfusion PET: added value of myocardial flow reserve. *J Nucl Med*. 2012;53(8):1230-4. DOI: <http://dx.doi.org/10.2967/jnumed.111.101840>
2. Fathala A, Aboulkheir M, Shoukri MM, Alsergani H. Diagnostic accuracy of ¹³N-ammonia myocardial perfusion imaging with PET-CT in the detection of coronary artery disease. *Cardiovasc Diagn Ther*. 2019;9(1):35-42. DOI: <http://dx.doi.org/10.21037/cdt.2018.10.12>
3. Muzik O, Beanlands RS, Hutchins GD, Mangner TJ, Nguyen N, Schwaiger M. Validation of nitrogen-13-ammonia tracer kinetic model for quantification of myocardial blood flow using PET. *J Nucl Med*. 1993;34(1):83-91. Retrieved from <https://jnm.snmjournals.org/content/34/1/83.long>
4. Dorbala S, Di Carli MF, Delbeke D, Abbara S, DePuey EG, Dilsizian V, et al. SNMMI/ASNC/SCCT guideline for cardiac SPECT/CT and PET/CT 1.0. *J Nucl Med*. 2013;54(8):1485-507. DOI: <http://dx.doi.org/10.2967/jnumed.112.105155>
5. Vaalburg W, Kamphuis JA, Beerling-van der Molen HD, Rijkskamp A, Woldring MG. An improved method for the cyclotron production of ¹³N-labelled ammonia. *Int J Appl Radiat Isot*. 1975;26(5):316-8. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/0020-708X\(75\)90169-6](http://dx.doi.org/10.1016/0020-708X(75)90169-6)
6. Slegers G, Vandecasteele C, Sambre J. Cyclotron production of ¹³N-labelled ammonia for medical use. *J Radioanal Nucl Chem*. 1980;59:585-7. Retrieved from <https://inis.iaea.org/search/searchsinglerecord.aspx?recordsFor=SingleRecord&RN=12594911>
7. Wieland B, Bida G, Padgett H, Hendry G, Zippi E, Kabalka G, et al. In-target production of [¹³N]ammonia via proton irradiation of dilute aqueous ethanol and acetic acid mixtures. *Int J Rad Appl Instrum A*. 1991;42(11):1095-8. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/0883-2889\(91\)90018-v](http://dx.doi.org/10.1016/0883-2889(91)90018-v)
8. Kang KW, Kim JS, Cho SG, Kim J, Song HC. Acquisition of dynamic N-13 ammonia PET for myocardial blood flow quantification. *J Nucl Cardiol*. 2020;27(4):1288-92. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s12350-020-02062-y>