

<https://doi.org/10.22643/JRMP.2024.10.1.3>

Study on the Solution for the Reduced [⁶⁸Ga]Ga-PSMA-11 Synthesis Yield

Sang Min Shin¹, Young Si Park¹, Ji Hoon Kang¹, Hea Ji Kim¹, Hwa Youn Jang¹, Jeongmin Son², Jun Young Park^{2,*}

¹Innovation Center for Molecular Probe Development, Department of Nuclear Medicine, Chonnam National University Hwasun Hospital, Hwasun, Korea; ²Department of Nuclear Medicine, Severance Hospital, Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea

ABSTRACT

[⁶⁸Ga]Ga-PSMA-11 is a prostate-specific membrane antigen (PSMA)-targeting radiopharmaceutical based on lysine-urea-glutamic acid derivatives. This study aimed to identify the cause of the irregular decrease in the radiosynthesis yield of [⁶⁸Ga]Ga-PSMA-11 and to suggest a solution. An irregular decrease in production yield occurred during the synthesis of [⁶⁸Ga]Ga-PSMA-11 using a cassette-based automatic synthesizer. Although the reagents used in synthesizing [⁶⁸Ga]Ga-PSMA-11 were replaced with new products, the irregular decrease in radiosynthesis yield continued. In addition, cassettes, equipment, and operating programs used in the cassette-based automatic synthesizer operated normally. On the other hand, when eluting with 0.6 N hydrochloric acid(HCl), leakage was found at the outlet line connection site of the ⁶⁸Ge/⁶⁸Ga generator. The ⁶⁸Ge/⁶⁸Ga generator was eluted with 0.6 N HCl two to four hours before synthesis to remove impurities and improve the synthetic yield reduction. No further irregular yield reduction occurred after using this method. In the event of an irregular decrease in the radiolabeling yield, the pretreatment method developed in this study would help produce [⁶⁸Ga]Ga-PSMA-11 injections with a stable labeling yield.

Key Words: [⁶⁸Ga]Ga-PSMA-11, Prostate cancer, Gallium-68, Radiopharmaceuticals

Introduction

전립선암(prostate cancer)은 남성의 생식기관인 전립선에 발생하는 악성종양으로 유전적 요인, 노령인구의 증가, 서구식 식이습관, 높은 남성호르몬 수치, 염증 및 감염 등에 의해 발생하는 것으로 알려져 있다(1, 2). 전립선암은 세계적으로 발생률과 사망률이 매우 높고 국내에서도 발생률이 꾸준히 증가하고 있으며, 2021년 발간된 국가암등록통계 연례보고서에 따르면 전립선암은 국내 전

체 암 발생의 6위를 차지하고 남성암 중에서는 네 번째로 높은 발병률을 보였다(3, 4). 전립선암의 선별검사는 직장수지검사와 혈청 전립선 특이항원 검사가 있고, 영상진단 방법으로 경직장 전립선 초음파검사(transrectal ultrasound), 컴퓨터단층촬영(computed tomography, CT), 자기공명영상(magnetic resonance imaging, MRI) 등이 있다(5). CT와 MRI는 전립선암 진단 시 가장 많이 사용되어 왔지만 잠재적 재발병소나 정확한 병변의 확인에 한계점이 있는 것으로 보고되고 있다(6, 7). 하지만 최근 전립선특이막항원

Received: February 22, 2024 / Revised: March 13, 2024 / Accepted: March 18, 2024

Corresponding Author: Jun Young Park, Department of Nuclear Medicine, Severance Hospital, Yonsei University College of Medicine, 50-1 Yonsei-ro, Seodaemun-gu, Seoul 03722, Republic of Korea
Tel: +82-2-2228-4871, E-mail: abies60@naver.com

Copyright©2024 The Korean Society of Radiopharmaceuticals and Molecular Probes

(prostate-specific membrane antigen, PSMA)을 표적으로 한 방사성의약품들이 개발됨에 따라 양전자방출단층촬영(positron emission tomography, PET)을 이용한 전립선암 진단법이 새로이 각광받고 있다(8).

전립선특이막항원은 100 kD의 750개의 아미노산으로 구성된 제2형 막경유 당단백질(type II transmembrane glycoprotein)로 1987년 Horoszewicz 등이 사람 전립선암유래 세포주인 LNCaP에 특이적으로 결합하는 항체인 capromab pendetide (7E11-C5)를 개발하면서 알려졌다(9, 10). 1996년 ^{111}In -capromab pendetide (ProstaScint[®])가 단일광자단층촬영(single-photon emission computed tomography)의 영상제제로 미국식품의약국(U.S Food and Drug Administration, FDA)의 승인을 받았고(11), 1997년 Liu 등에 의해 LNCaP 세포의 표면에 결합하는 항체인 J591가 개발되어 영상제제로의 개발이 시도되었지만 PSMA 표적 항체기반 방사성의약품은 생체 내 긴 반감기와 높은 신장섭취, 합병증 유발 등으로 인해 진단제로서는 많은 한계점을 나타냈다(12, 13). 이후 항체보다 약물동태(pharmacokinetics)가 빠른 저분자 화합물(small-molecule)인 lysine-urea-glutamic acid (Lys-urea-Glu) 기반 리간드(ligand)가 전립선암 세포에 과발현 되어있는 PSMA에 특이적으로 결합되는 것이 밝혀지면서 MIP-1095, MIP-1404, DCFPyL, PSMA-11, PSMA-617 등 다양한 저분자 화합물들이 전립선암의 진단 및 치료 목적으로 개발되었다(14,15).

Germanium-68/gallium-68 ($^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$) 제너레이터는 1960년 Gleason 등에 의해 처음 소개되었고(16), 이후 1980년 tin(II) dioxide 기반 흡착제에 1 M HCl을 흘려 ^{68}Ga 을 용출하는 방법이 보고되면서 이를 응용한 다양한 $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ 제너레이터가 개발되어 상용화되었다(17). ^{68}Ga 은 쉽게 $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ 제너레이터로부터 용출하여 사용할 수 있고, Ga^{3+} 의 산화상태에서 킬레이트제(chelator)와 안정적인 배위결합(coordinate bonds)을 할 수 있어 다양한 진단용 방사성의약품 개발에 활용되고 있다(18). ^{68}Ga 표지 방사성의약품 중 ^{68}Ga 에도트레오타이드(^{68}Ga]Ga-DOTA-TOC) 주사액과 ^{68}Ga 전립선특이막항원-11(^{68}Ga]Ga-PSMA-11) 주사액이 2019년과 2020년에 각각 FDA의 승인을 받았고, 국내에서도 신의료기술로 승인되어 환자의 진단에 사용 중이다(19-21). 특히, ^{68}Ga]Ga-PSMA-11은 전립선특이막

항원에 특이적으로 결합하는 방사성의약품으로 전립선암 의심 환자의 조직생검 여부와 위치 확인 및 전립선암 환자의 재발진단 및 병기설정, 치료반응 평가를 위해 사용될 수 있으며, 전통적인 영상진단법인 CT와 MRI보다 진단적 가치가 더 높은 것으로 보고되고 있다(7, 22).

^{68}Ga]Ga-PSMA-11은 N,N'-bis[2-hydroxy-5(carboxyethyl)benzyl]ethylenediamine-N,N'-diacetic acid(HBED-CC) 킬레이터가 도입된 PSMA-11를 ^{68}Ga 과 표지반응을 통해 합성될 수 있다. 특히, ^{68}Ga]Ga-PSMA-11의 유용성이 높아짐에 따라 다양한 자동합성장치를 사용하여 합성하는 방법도 개발되고 있다(23-25). 이에 본 연구에서는 국내에서 제조된 카세트기반 방사성의약품합성장치를 사용하여 ^{68}Ga]Ga-PSMA-11을 합성하는 방법을 소개하고 ^{68}Ga]Ga-PSMA-11 합성 시 발생하는 수율 저하의 원인과 해결방안을 제시하고자 한다.

Materials

^{68}Ga]Ga-PSMA-11의 합성은 BIK Therapeutics사의 BIKBox[®] 자동합성장치를 사용하였고, ^{68}Ga]Ga-PSMA-11 합성용 카세트는 BIK Therapeutics사의 PSMA-11 Cassette set (catalog no. G7-31-508)를 사용하였다. $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ 제너레이터는 iThemba Labs사의 1850 MBq (50 mCi) 제품을 사용하였고, ^{68}Ga]GaCl₃를 용출하기 위한 0.6 N HCl은 ROTEM사에서 구매하였다. 생리식염수 및 주사용수는 대한약품공업에서 구매하였고, 4-(2-hydroxyethyl) piperazine-1-ethanesulfonic acid (HEPES; 99% Dry Basis, Ultrapure, catalog no. J16926-30)는 Thermo Fisher Scientific 사 제품을 사용하였다. 에탄올(200 Proof, United States Pharmacopeia grade)은 Sigma-Aldrich사에서 구매하였고, 멸균필터는 Pall Medical사의 Supor[®] AEF 0.2 μm Intravenous filter (part no. AEF1NTE)를 구매하여 사용하였다. Sep-Pak[®] C18 plus Light 카트리지를(part no. WAT023501, Waters)는 사용 전 전처리를 위하여 5 mL의 에탄올로 흘려 준 후 10 mL의 주사용수로 잔존 에탄올을 제거 후 사용하였다. 방사능량은 Capintec사의 방사능측정기(dose calibrator)인 CRC-712MH 제품을 사용하여 측정하였고, 방사화학적 표지수율(radiosynthesis yield)은 반감기를 보정한 수율(decay corrected yield)로 표기하였다.

Protocol

1. [^{68}Ga]Ga-PSMA-11 합성

[^{68}Ga]Ga-PSMA-11의 합성은 PSMA-HBED-CC 전구체를 2.7 M HEPES 완충액을 사용하여 pH를 3.5–4로 조정 후 [^{68}Ga]GaCl₃ 용액과 100°C에서 7분간 반응하였다(Figure 1). 자세한 합성공정은 다음과 같다.

1.1) PSMA-11 Cassette set를 BIKBox[®] 자동합성장치에 장착 후 카세트 이상 유무 및 동작 상태를 확인한다.

1.2) PSMA-HBED-CC 전구체를 주사용수 0.5 mL에 녹

인 후 카세트 매니폴드A의 5번째 위치에 장착하고, HEPES는 주사용수 0.9 mL에 녹인 후 매니폴드A의 4번째 위치에 장착한다. 에탄올-0.9% 생리식염수 혼합액(1:1 v/v) 1 mL이 들어있는 바이알은 매니폴드B의 3번째 위치에 장착하고, 9 mL 식염수를 20 mL 주사기에 취하여 매니폴드C의 4번째 위치에 장착한다(Figure 2A).

1.3) 자동합성장치의 1번 주사기 펌프에 5 mL의 0.6 N HCl이 담긴 내화학성 Norm-ject 주사기 (Henke Sass Wolf)를 장착 후 $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ 제너레이터의 inlet line과 연결하고 제너레이터의 outlet line은 매니폴드B의 4번째 위치에 연결한다.

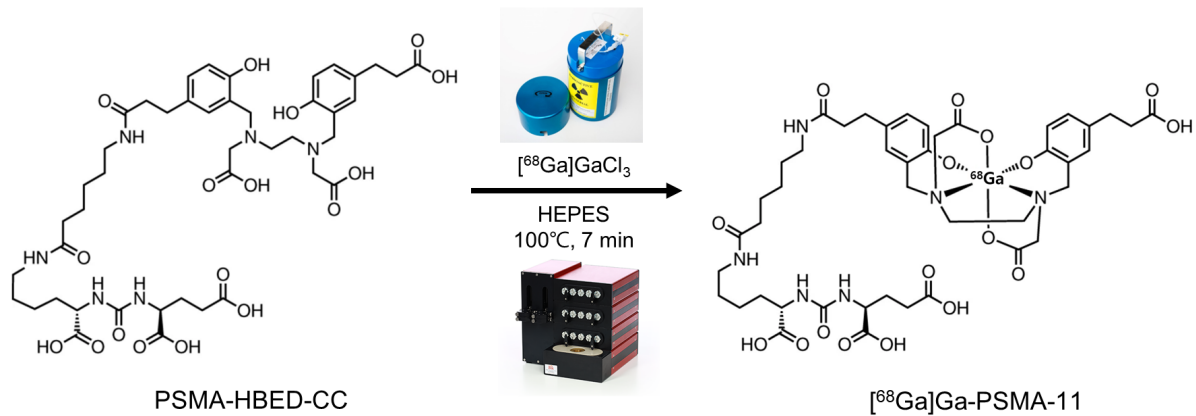


Figure 1. Molecular structure illustration and radiosynthesis conditions of [^{68}Ga]Ga-PSMA-11.

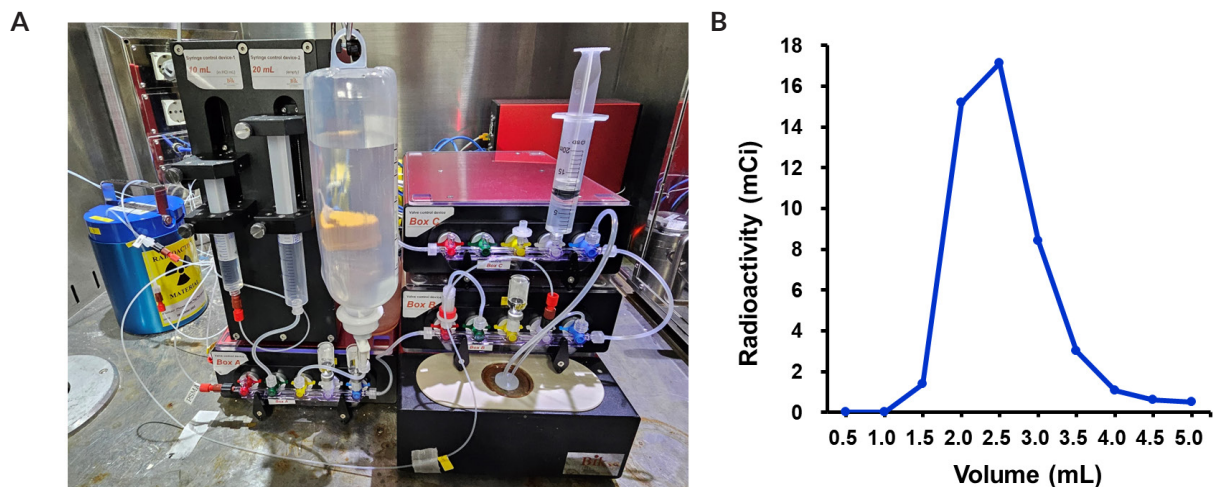


Figure 2. (A) BIKBox[®] synthesizer set-up for automated radiosynthesis of [^{68}Ga]Ga-PSMA-11. Picture of BIKBox[®] synthesizer equipped with cassette and luer-lock connection with $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ generator. (B) Elution profile of iThemba Labs $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ generator. The generator was eluted with 6 mL of 0.6 N hydrochloric acid at a flow rate of 2 mL/min.

1.4) 자동합성장치의 2번 주사기 펌프에 장착된 20 mL 주사기를 사용하여 PSMA-HBED-CC 전구체와 HEPES완충액을 반응기로 이동시킨 후 1번 주사기 펌프의 0.6 N HCl로 $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ 제너레이터에 흘려주어 용출된 $[^{68}\text{Ga}]\text{GaCl}_3$ 을 반응기로 이송 후 100°C에서 7분간 반응한다.

1.5) 표지반응 후 반응용액을 50°C 이하로 냉각시킨 다음 주사용수 3 mL을 넣어 희석한 후 합성된 $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-PSMA-11}$ 의 분리정제를 위하여 Sep-Pak® C18 카트리지에 통과시킨다.

1.6) 2번 주사기 펌프를 사용하여 Sep-Pak® C18 카트리지에 주사용수 10 mL을 흘려주어 불순물을 제거한 후 에탄올·0.9% 생리식염수 혼합액을 Sep-Pak® C18 카트리지에 흘려주어 표지된 $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-PSMA-11}$ 를 용출한다.

1.7) 용출된 $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-PSMA-11}$ 를 생리식염수 9 mL로 희석한 다음 0.22- μm 멸균필터에 통과시켜 멸균 바이알에 충전한다.

2. $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-PSMA-11}$ 품질관리

$[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-PSMA-11}$ 주사액의 품질관리는 유럽약전 (European pharmacopoeia monograph No. 3044) 지침에 따라 성상, 수소이온농도(pH), 방사화학적순도, 방사핵종 순도, 잔류용매, 엔도톡신, 무균시험, 필터 완전성시험 등의 항목으로 실시하였다. 성상은 차폐가 가능한 핫셀 내부 납 유리를 통해 확인하였고, pH는 Merck사의 pH indicator strip (catalog no. 1.09535.0001)를 사용하여 육안으로 확인한 후 Thermo Fisher Scientific사의 pH 측정기(Orion Star™ A211)를 사용하여 확인하였다. 방사화학적순도는 Agilent Technologies사의 instant thin-layer chromatography on silica gel impregnated glass fiber sheets (ITLC-SG)를 고정상으로 하고 1 M ammonium acetate·methanol 혼합액(1:1, v/v)을 이동상으로 사용하여 전개한 후 Eckert & Ziegler사의 방사능-박층크로마토그래피 스캐너 AR-2000으로 분석하였다. 방사핵종순도 시험은 PerkinElmer사의 감마카운터(2480 Wizard)를 사용하여 분석하였고, 화학적이물 시험은 박층크로마토그래피에 HEPES 표준용액을 점적 한 후 아이오딘으로 발색하여 HEPES의 기준치 초과 여부를 확인하는 점적 시험(spot test)을 시행하였다. 엔도톡신시험은 Charles River사의 Endosafe® nexgen-PTS™를 사용하였

고, 무균시험은 아산제약에서 구매한 액상티오글리콜산배지 및 대두카제인소화배지에 접종 후 호기성균, 혐기성균 및 진균의 증식을 14일간 관찰하였다.

Representative Results

1. $[^{68}\text{Ga}]\text{GaCl}_3$ 의 용출 및 $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-PSMA-11}$ 합성

표지반응에 사용되는 $[^{68}\text{Ga}]\text{GaCl}_3$ 는 $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ 제너레이터에 0.6 N HCl을 흘려주어 용출하였을 때 가장 많은 방사능을 포함하는 부분만 사용하는 분획법(fraction collection)을 적용하였다. 먼저 $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ 제너레이터로부터 용출되는 방사능량의 최적 구간을 찾기 위해 $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ 제너레이터에 0.6 N HCl을 0.5 mL씩 흘려주어 획득된 방사능을 측정 한 결과 1.5 mL부터 4 mL까지 가장 많은 $[^{68}\text{Ga}]\text{GaCl}_3$ 의 방사능량이 용출되는 것을 확인하였다(Figure 2B). 실험을 통해 도출된 최적 용출구간을 BIKBox® 자동합성장치에 적용하기 위하여 주사기 펌프에 장착된 0.6 N HCl을 2 mL/min의 일정한 속도로 1.5 mL과 2.5 mL씩 $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ 제너레이터에 각각 흘려주어 용출하였다. 첫 번째 분획인 1.5 mL의 0.6 N HCl으로 용출하였을 때 37–51 MBq (1.0–1.4 mCi)의 방사능이 용출되었고, 두 번째 분획인 2.5 mL의 0.6 N HCl을 흘려주었을 때 1517–1702 MBq (41–46 mCi)의 $[^{68}\text{Ga}]\text{GaCl}_3$ 가 용출되었다(n = 40). 10 μg PSMA-HBED-CC 전구체와 2.7 M HEPES를 $[^{68}\text{Ga}]\text{GaCl}_3$ 와 100°C에서 7분간 반응하였을 때 $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-PSMA-11}$ 의 평균 표지수율은 $86.9 \pm 4.0\%$ (n = 37)이었으며, 총 합성시간은 약 35분이 소요되었다.

2. $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-PSMA-11}$ 품질관리

멸균과정을 거쳐 최종 생산된 $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-PSMA-11}$ 주사액은 품질관리 시 모든 평가기준을 만족하였다. 육안으로 성상 관찰 시 $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-PSMA-11}$ 주사액은 맑고 투명하였으며, pH는 5-6로 기준범위인 pH 4.0–8.0를 만족하였다. ITLC-SG를 사용한 방사화학적순도는 99%로 기준범위인 97% 초과를 만족하였고, 잔존 HEPES의 농도는 기준값인 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 미만을 만족하였다. 방사핵종순도 시험 시 511 keV 이외의 피크는 검출되지 않았으며, 반감기는 61.5분으로 측정되어 기준인 62–74분을 만족하였다. 엔도톡신시험

에서 [^{68}Ga]Ga-PSMA-11 주사액은 5.0 entotoxin units (EU)/mL 미만으로 검출되어 기준범위인 175 EU/mL 미만을 만족하였고, 무균시험 시 액상티오글리콜산배지와 대두카제인소화배지에서 14일간 어떠한 세균의 증식도 관찰되지 않아 무균상태임을 확인하였다.

3. [^{68}Ga]Ga-PSMA-11 합성 이상사례 발생

2022년 12월부터 2월까지 [^{68}Ga]Ga-PSMA-11 합성을 116회 시행하였다. 하지만 2023년 1월부터 2월까지 약 75회의 [^{68}Ga]Ga-PSMA-11 합성에서 평균 표지수율보다 급격히 저하되는 사례가 여러 차례 발생하였다(Figure 3A). 표지수율의 저하 원인을 파악하기 위해 먼저 합성에 사용되는 PSMA-HBED-CC 전구체와 HEPES를 새로운 제품으로 바꾼 후 합성반응을 진행하였지만 표지수율은 개선되지 않았

다. 장비나 가동 프로그램 점검 시 정상작동 하였으며, 카세트의 밸브 손상이나 카세트 내 라인 연결부위의 누수도 발견되지 않았다. 이에 $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ 제너레이터를 정밀 점검한 결과 0.6 N HCl로 용출 시 제너레이터 본체와 outlet line의 틈 사이로 용액이 새어 나오는 것을 확인하였다(Figure 3B).

4. [^{68}Ga]Ga-PSMA-11 표지수율 개선 방안

^{68}Ga 표지 방사성의약품의 합성 시 ^{68}Ga 이외의 금속이온이 존재할 경우 표지수율에 영향을 줄 수 있으므로 표지반응 전에 미리 HCl을 $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ 제너레이터에 흘려주어 축적된 금속이온을 제거 후 표지반응을 진행하여 수율 변화를 관찰하였다(Table 1). 합성반응 1시간, 2시간, 3시간, 4시간 전에 각각 5 mL의 0.6 N HCl로 [^{68}Ga]GaCl₃를 미리 용출한 후 [^{68}Ga]Ga-PSMA-11의 합성을 위해 다시 0.6 N HCl

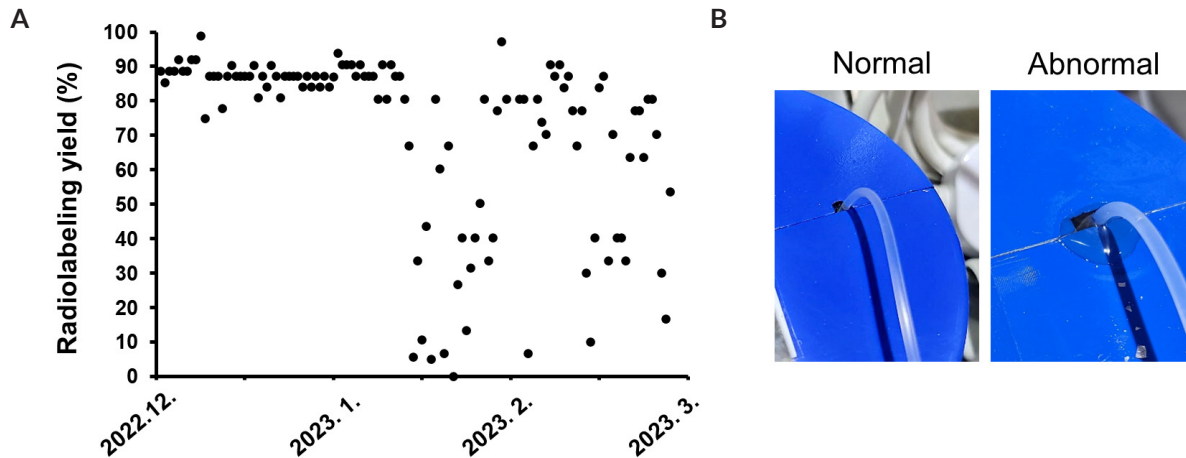


Figure 3. (A) Radiolabeling yield profile of [^{68}Ga]Ga-PSMA-11. (B) Representative images of a leakage from $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ generator.

Table 1. Synthetic yield of [^{68}Ga]Ga-PSMA-11 depend on pre-elution time (decay corrected, n = 4).

Pre-elution time	1 hour	2 hour	3 hour	4 hour
Radioactivity of ^{68}Ga eluate at pre-elution	1702 ± 3.7 MBq (46 ± 0.1 mCi)	1702 ± 3.7 MBq (46 ± 0.1 mCi)	1665 ± 3.7 MBq (45 ± 0.1 mCi)	1665 ± 3.7 MBq (45 ± 0.1 mCi)
Radioactivity of ^{68}Ga eluate in synthesis after pre-elution	658.6 ± 18.5 MBq (17.8 ± 0.5 mCi)	1191.4 ± 59.2 MBq (32.2 ± 1.6 mCi)	1350.5 ± 118.4 MBq (36.5 ± 3.2 mCi)	1513.3 ± 11.1 MBq (40.9 ± 0.3 mCi)
Radioactivity of [^{68}Ga]Ga-PSMA-11	194.3 ± 48.1 MBq (5.25 ± 1.3 mCi)	658.6 ± 96.2 MBq (17.8 ± 2.6 mCi)	758.5 ± 92.5 MBq (20.5 ± 2.5 mCi)	1024.9 ± 118.4 MBq (27.7 ± 3.2 mCi)
Synthesis yield of [^{68}Ga]Ga-PSMA-11	41.0 ± 9.3%	76.6 ± 9.6%	77.6 ± 3.3%	92.7 ± 9.8%

을 사용하여 분획법으로 용출할 경우 두 번째 분획구간에서 획득된 $[^{68}\text{Ga}]\text{GaCl}_3$ 의 방사능량은 각각 658.6 ± 18.5 MBq (17.8 ± 0.5 mCi), 1191.4 ± 59.2 MBq (32.2 ± 1.6 mCi), 1350.5 ± 118.4 MBq (36.5 ± 3.2 mCi), 1513.3 ± 11.1 MBq (40.9 ± 0.3 mCi)이었다($n = 4$). 두 번째 분획구간에서 용출된 $[^{68}\text{Ga}]\text{GaCl}_3$ 으로 $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-PSMA-11}$ 의 표지반응을 진행하였을 때 반응 1시간 전에 미리 $[^{68}\text{Ga}]\text{GaCl}_3$ 을 용출한 후 합성할 경우 표지수율은 $41.0 \pm 9.3\%$ 였으며, 2시간 전 미리 용출한 후 합성할 경우 $76.6 \pm 9.6\%$, 3시간 전 미리 용출한 후 합성할 경우 $77.6 \pm 3.3\%$ 그리고 4시간 전 미리 용출한 후 합성할 경우 표지수율은 $92.7 \pm 9.8\%$ 이었다($n = 4$).

Discussion

전립선특이막항원에 특이적으로 결합하는 Glu-urea-Lys 기반 리간드가 개발된 이후 저분자 화합물을 응용하여 $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-PSMA-11}$, $^{18}\text{F-PSMA-1007}$, $^{18}\text{F-DCFPyL}$, $^{18}\text{F-DCFCB}$, $^{18}\text{F-CTT1057}$, $^{18}\text{F-JK-PSMA-7}$ 등 다양한 방사성의약품들이 개발되고 있다(26, 27). 핵의학 적 전립선암 진단에는 전립선암의 대사를 활용한 $[^{18}\text{F}]$ fluorodeoxyglucose와 $^{18}\text{F-}$ 혹은 $^{11}\text{C-choline}$ 이 주로 사용되어 왔다. 하지만 $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-PSMA-11}$ 등 전립선암에 과발현되어있는 PSMA를 표적으로 하는 저분자 화합물기반 방사성의약품들이 기존 방사성의약품보다 진단적 정확도가 더 우수하고, CT나 MRI보다 진단적 유효성이 높은 것으로 보고됨에 따라 PSMA 표적 저분자 화합물 기반 방사성의약품의 활용도가 더욱 높아질 것으로 예상된다(28, 29). 본 의료기관은 전립선암의 핵의학 적 진단을 위해 카세트기반 자동합성장치를 사용하여 $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-PSMA-11}$ 을 생산하고 있지만 표지수율이 불규칙적으로 저하되는 현상이 발생하여 본 연구를 통해 발생 원인과 이에 대한 해결방안을 제시하고자 하였다.

^{68}Ga 은 모핵종인 ^{68}Ge 의 전자포획(electron capture)으로 붕괴되어 생성되는 방사성동위원소로 양전자(positron)를 방출하며 반감기가 67.71분으로 핵의학 적 영상을 통해 각종 질환을 진단하기 적정한 특성을 가지고 있다(30). ^{68}Ga 은 반감기가 비교적 짧아 생산 후 먼 거리를 이동하거나 저장 후 장기간 사용하기 힘든 단점이 있지만 반감기가 270.9일인 모핵종 ^{68}Ge 을 컬럼의 흡착제에 흡착시켜 일정

시간 후에 단순한 용출작업으로 딸핵종인 ^{68}Ga 을 획득할 수 있는 제너레이터 형태로 개발됨에 따라 ^{68}Ga 표지 방사성의약품의 활용빈도는 증가하고 있다(31, 32). 현재 상용화된 $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ 제너레이터는 Eckert & Ziegler사의 IGG100와 GalliaPharm®, IRE Elit사의 Galli Eo™, Cyclotron사의 Obninsk 및 iThemba Labs사와 ITM radiopharma사에서 판매하는 $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ 제너레이터가 있다(33). 각 $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ 제너레이터들은 titanium dioxide (TiO_2), tin dioxide (SnO_2), silica 등 다양한 종류의 흡착제를 사용하여 딸핵종으로 생성되는 ^{68}Ga 을 안정적으로 분리 및 용출할 수 있게 제작되었다. 하지만 잦은 용출과 지속적으로 강산을 사용하여 용출할 경우 $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ 제너레이터로부터 Fe^{3+} , Cu^{2+} , Ti^{4+} , Al^{3+} , Zn^{2+} 등의 금속이온들이 용출될 수 있으며, 이는 표지효율을 떨어뜨릴 수 있는 주요한 원인이 될 수 있다(34, 35).

$^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ 제너레이터의 사용기한은 제조사마다 다르지만 본 의료기관에서 사용하고 있는 iThemba Labs사의 $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ 제너레이터는 유효기간을 9개월 혹은 300회 용출로 권장하고 있다. 하지만 $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-PSMA-11}$ 생산 시 $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ 제너레이터의 유효기간과 용출 권장횟수를 초과하지 않았음에도 적은 방사능량의 $[^{68}\text{Ga}]\text{GaCl}_3$ 가 용출되거나, 정상적인 방사능량으로 용출된 $[^{68}\text{Ga}]\text{GaCl}_3$ 를 사용하여도 표지수율이 불규칙적으로 저하되는 현상이 발생되었다. 표지수율이 저하되는 원인은 크게 시약문제와 장비문제를 들 수 있다. 시약의 경우 전구물질 및 합성에 사용되는 유기용매나 완충제의 오염이나 부적절한 보관 등으로 손상되었을 경우 표지수율이 저하될 수 있고, 장비의 경우 기계적 결함이나 가동 프로그램에 문제가 생길 경우 합성이 되지 않을 수 있다. 하지만 본 의료기관에서 수율 저하 현상 발생 이후 $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-PSMA-11}$ 의 합성에 사용되는 전구체 및 시약을 새제품으로 변경하였고, 카세트 및 장비 점검 시 문제가 발견되지 않았지만 수율 저하는 지속적으로 발생되었다. 이에 $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ 제너레이터를 정밀 점검한 결과 0.6 N HCl로 용출 시 제너레이터의 outlet line부위에서 누수가 발견되어 제너레이터 컬럼이 손상된 것을 확인하였다.

수율 저하 문제를 해결하기 위하여 $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-PSMA-11}$ 표지반응 전 미리 HCl을 $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ 제너레이터에 흘려주어 불순물을 제거하는 방법을 적용하였다. 본 실험을 통해 $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-PSMA-11}$ 합성 4시간 전에 HCl로 사전 용출 후 합성반응을 진행할 경우 기존 표지수율과 유사하게 합성되

는 것을 확인하였으며, $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ 제너레이터로부터 누수가 발생됨에도 본 연구에서 개발한 사전 용출법을 적용하여 [^{68}Ga]Ga-PSMA-11을 합성한 이후 더 이상 불규칙한 수율 저하 현상은 발생되지 않았다.

^{68}Ga 표지 방사성의약품은 리간드에 ^{68}Ga 과 안정적인 결합을 할 수 있는 킬레이트를 도입하여 표지하기 때문에 합성 시 반응액에 금속이온이 불순물로 존재할 경우 표지수율에 큰 영향을 줄 수 있다. $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ 제너레이터는 용출 이후 모핵종인 ^{68}Ge 이 붕괴되어 딸핵종인 ^{68}Ga 으로 전환되어 방사능과 원자수 비가 일정한 방사평형상태에 도달하기까지 재생시간(regeneration time)이 지나야 한다. SnO_2 를 흡착제로 사용하는 iThemba Labs사의 $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ 제너레이터는 [^{68}Ga]GaCl₃ 용출 후 최소 4시간의 재생시간을 권장하고 있다. 하지만 $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ 제너레이터의 손상과 [^{68}Ga]Ga-PSMA-11검사의 급격한 증가로 인해 재생시간이 충분히 지나지 않은 상태에서 잦은 주기로 용출함에 따라 $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ 제너레이터 컬럼이 내 존재하는 불순물들이 함께 용출되어 표지수율에 영향을 미쳤을 것이라 사료된다. 특히, $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ 제너레이터 사용 시 재생시간을 준수하고 높은 압력으로 용출 할 경우 제너레이터 내부에 장착된 컬럼이 손상될 수 있으므로 ^{68}Ga 용출 시 분당 2-3 mL의 속도로 천천히 용출하는 등 사용 시 주의가 필요할 것이다. 또한 표지수율이 갑자기 저하되는 현상이 발생될 경우 시약과 장비뿐만 아니라 $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ 제너레이터의 손상여부 확인도 필요할 것으로 사료된다. 잦은 용출과 $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ 제너레이터 손상으로 인해 표지수율이 저하되는 현상이 발생될 경우 본 연구에서 개발한 사전 용출법을 적용한다면 보다 안정적인 표지수율로 [^{68}Ga]Ga-PSMA-11 주사액을 생산할 수 있을 것으로 사료된다.

Conclusion

[^{68}Ga]Ga-PSMA-11은 전립선암에 과발현 되어 있는 전립선특이막항원에 특이적으로 결합하는 Glu-urea-Lys 기반 리간드에 방사성동위원소 ^{68}Ga 을 표지한 방사성의약품이다. 본 연구에서는 카세트기반 자동합성장치를 사용하여 [^{68}Ga]Ga-PSMA-11을 합성 시 불규칙적으로 수율 저하가 발생하는 현상의 원인을 파악하여 해결방안을 제시하고자 하였다. 수율 저하 현상 발생 후 [^{68}Ga]Ga-PSMA-11의 합성

에 사용되는 시약을 새제품으로 교체하여 생산하였으나 개선되지 않았고, 카세트나 장비 및 자동 프로그램도 정상 작동하였다. 하지만 $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ 제너레이터 점검결과 outlet line의 연결부위에 누수가 발견되었다. 수율 저하 현상을 해결하기 위해 합성 전 미리 $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ 제너레이터에 0.6N HCl을 흘려주어 불순물을 제거한 후 [^{68}Ga]Ga-PSMA-11을 합성한 이후 더 이상 불규칙적인 수율 저하 현상은 발생하지 않았다. $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ 제너레이터는 컬럼의 흡착제에 ^{68}Ge 을 흡착시킨 장치로써 높은 압력을 가하거나 빠른 속도 용출할 경우 손상을 받을 수 있고, 재생시간을 준수하지 않고 잦은 횟수로 용출할 경우 제너레이터에서 불순물이 함께 용출되어 [^{68}Ga]Ga-PSMA-11의 표지수율이 저하될 수 있다. 표지수율이 불규칙적으로 저하되는 현상이 발생될 경우 본 연구에서 개발한 사전 용출법을 적용한다면 안정적인 표지수율로 [^{68}Ga]Ga-PSMA-11 주사액을 생산하는데 도움이 될 것이다.

References

1. Choi Kim WT, Kim WJ. Current update in basic research in Korea: prostate cancer. *Korean J Urol Oncol* 2013;11(2):63-70.
2. Yoo KH, Lee HL. Early prostate cancer in old-aged patients. *Korean J Urol Oncol* 2010;8(3):97-101.
3. Kang MJ, Won YJ, Lee JJ, Jung KW, Kim HJ, Kong HJ, Im JS, Seo HG. Cancer statistics in Korea: incidence, mortality, survival, and prevalence in 2019. *Cancer Res Treat* 2022;54:330-44.
4. Ha YS, Kim KT, Nam W, Park HZ, Yoo S, Lee CH, Chung HS, Choi WS, Kim J, Shin J, Kim JH, Kwak C. A survey on the quality of life of prostate cancer patients in Korean prostate cancer patients association. *Korean J Urol Oncol* 2022;20(4):265-72.
5. Ghafoor S, Burger IA, Vargas AH. Multimodality imaging of prostate cancer. *J Nucl Med* 2019;60(10):1350-8.
6. Hong JH. An update of prostate-specific membrane antigen theranostics in prostate cancer. *Korean J Urol Oncol* 2022;20(4): 207-22.
7. Padhani AR, Lecouvet FE, Tunariu N, Koh DM, De Keyzer F, Collins DJ, Sala E, Fanti S, Vargas HA, Petralia G, Schlemmer HP, Tombal B, Bono J. Rationale for Modernising Imaging in Advanced Prostate Cancer. *Eur Urol Focus* 2017;3(2-3):223-39.
8. Capasso G, Stefanucci A, Tolomeo A. A systematic review

- on the current status of PSMA-targeted imaging and radioligand therapy. *Eur J Med Chem* 2024;263:115966.
9. Horoszewicz JS, Kawinski E, Murphy GP. Monoclonal antibodies to a new antigenic marker in epithelial prostatic cells and serum of prostatic cancer patients. *Anticancer Res* 1987;7:927-35.
 10. Adnan A, Basu S. PSMA Receptor-based PET-CT: The basics and current status in clinical and research applications. *Diagnostics (Basel)* 2023;13(1):158.
 11. Kahn D, Williams RD, Seldin DW, Libertino JA, Hirschhorn M, Dreicer R, Weiner GJ, Bushnell D, Gulfo J. Radioimmunoscinigraphy with ¹¹¹Indium labeled CYT-356 for the detection of occult prostate cancer recurrence. *J Urol* 1994;152:1490-5.
 12. Liu H, Moy P, Kim S, Xia Y, Rajasekaran A, Navarro V, Knudsen B, Bander NH. Monoclonal antibodies to the extracellular domain of prostate-specific membrane antigen also react with tumor vascular endothelium. *Cancer Res* 1997;57:3629-34.
 13. Tateishi U. Prostate-specific membrane antigen (PSMA)-ligand positron emission tomography and radioligand therapy (RLT) of prostate cancer. *Jpn J Clin Oncol* 2020;50(4):349-56.
 14. Barrio M, Fendler WP, Czernin J, Herrmann K. Prostate specific membrane antigen (PSMA) ligands for diagnosis and therapy of prostate cancer. *Expert Rev Mol Diagn* 2016;16(11):1177-88.
 15. Kumar K, Mathur A. Total chemical synthesis of PSMA-11: API for ⁶⁸Ga-PSMA-11 used for prostate cancer diagnosis. *Eur J Med Chem* 2021;3:100014.
 16. Gleason GI. A positron cow. *Int J Appl Radiat Isot* 1960;8:90-4.
 17. Loc'h C, Mazière B, Comar D. A new generator for ionic gallium-68. *J Nucl Med* 1980;21(2):171-3.
 18. Shetty D, Lee YS, Jeong JM. ⁶⁸Ga-labeled radiopharmaceuticals for positron emission tomography. *Nucl Med Mol Imaging* 2010;44:233-40.
 19. Hennrich U, Benešová M. [⁶⁸Ga]Ga-DOTA-TOC: The first FDA-Approved ⁶⁸Ga-radiopharmaceutical for PET imaging. *Pharmaceuticals (Basel)* 2020;13(3):38.
 20. Hennrich U, Eder M. [⁶⁸Ga]Ga-PSMA-11: The first FDA-approved ⁶⁸Ga-radiopharmaceutical for PET imaging of prostate cancer. *Pharmaceuticals (Basel)* 2021;14(8):713.
 21. Park JY, Son JM, Kang WJ. Development of an automated synthesizer for the routine production of Ga-68 radiopharmaceuticals. *Korean J Clin Lab Sci* 2023;55(4):253-60.
 22. Hofman MS, Lawrentschuk N, Francis RJ, Tang C, Vela I, Thomas P, Rutherford N, Martin JM, Frydenberg M, Shakher R, Wong LM, Taubman K, Ting Lee S, Hsiao E, Roach P, Nottage M, Kirkwood I, Hayne D, Link E, Marusic P, Matera A, Herschtal A, Iravani A, Hicks RJ, Williams S, Murphy DG; proPSMA Study Group Collaborators. 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.
 23. Zhang X, Liu F, Payne AC, Nickels ML, Bellan LM, Manning HC. High-Yielding Radiosynthesis of [⁶⁸Ga]Ga-PSMA-11 using a low-cost microfluidic device. *Mol Imaging Biol* 2020;22(5):1370-9.
 24. Wichmann CW, Ackermann U, Poniger S, Young K, Nguyen B, Chan G, Sachinidis J, Scott AM. Automated radiosynthesis of [⁶⁸Ga]Ga-PSMA-11 and [¹⁷⁷Lu]Lu-PSMA-617 on the iPHASE MultiSyn module for clinical applications. *J Labelled Comp Radiopharm* 2021;64(3):140-6.
 25. Lin M, Paolillo V, Ta RT, Damasco J, Rojo RD, Carl JC, Melancon MP, Ravizzini GC, Le DB, Santos EB. Fully automated preparation of ⁶⁸Ga-PSMA-11 at curie level quantity using cyclotron-produced ⁶⁸Ga for clinical applications. *Appl Radiat Isot* 2020;155:108936.
 26. Shahrokhi P, Masteri Farahani A, Tamaddondar M, Rezazadeh F. The utility of radiolabeled PSMA ligands for tumor imaging. *Chem Biol Drug Des* 2022;99(1):136-61.
 27. Kopka K, Benešová M, Bařinka C, Haberkorn U, Babich J. Glu-Ureido-based inhibitors of prostate-specific membrane antigen: lessons learned during the development of a novel class of low-molecular-weight. Theranostic Radiotracers. *J Nucl Med* 2017;58(Suppl 2):17S-26S.
 28. Lawhn-Heath C, Salavati A, Behr SC, Rowe SP, Calais J, Fendler WP, Eiber M, Emmett L, Hofman MS, Hope TA. Prostate-specific membrane antigen PET in prostate cancer. *Radiology* 2021;299(2):248-60.
 29. Debnath S, Zhou N, McLaughlin M, Rice S, Pillai AK, Hao G, Sun X. PSMA-targeting imaging and theranostic agents-current status and future perspective. *Int J Mol Sci* 2022;23(3):1158.
 30. Sudbrock F, Fischer T, Zimmermanns B, Guliyev M, Dietlein M, Drzezga A, Schomäcker K. Characterization of SnO₂-based ⁶⁸Ge/⁶⁸Ga generators and ⁶⁸Ga-DOTATATE preparations: radionuclide purity, radiochemical yield and long-term constancy. *EJNMMI Res* 2014;4(1):36.
 31. Roesch F. Maturation of a key resource - the germanium-68/gallium-68 generator: development and new insights. *Curr Radiopharm* 2012;5(3):202-11.
 32. Kim GG, Lee JY, Kim SW, Hur MG, Yang SD, Park JH. Study on synthesis of ⁶⁸GeO₂ and behavior of ⁶⁸Ga³⁺ for generator column. *J Radiat Ind* 2016;10(4):189-92.

33. Kumar K. The current status of the production and supply of gallium-68. *Cancer Biother Radiopharm* 2020;35(3):163-6.
34. Oehlke E, Le VS, Lengkeek N, Pellegrini P, Jackson T, Greguric I, Weiner R. Influence of metal ions on the ⁶⁸Ga-labeling of DOTATATE. *Appl Radiat Isot* 2013;82:232-8.
35. Cusnir R, Cakebread A, Cooper MS, Young JD, Blower PJ, Ma MT. The effects of trace metal impurities on Ga-68-radiolabelling with a tris(3-hydroxy-1,6-dimethylpyridin-4-one) (THP) chelator. *RSC Adv* 2019;9(64):37214-21.