

## Original Article **[<sup>11</sup>C]아세트산의 방사화학적 수율 증가를 위한 연구**

연세의료원 세브란스병원 핵의학과  
박준영 · 손정민

### Improvement of Radiosynthesis Yield of [<sup>11</sup>C]acetate

Jun Young Park and Jeongmin Son

Department of Nuclear Medicine, Severance Hospital, Yonsei University Health System, Seoul, Republic of Korea

<b>Purpose</b>	[ <sup>11</sup> C]acetate has been proved useful in detecting the myocardial oxygen metabolism and various malignancies including prostate cancer, hepatocellular carcinoma, renal cell carcinoma and brain tumors. The purpose of study was to improve the radiosynthesis yield of [ <sup>11</sup> C]acetate on a automated radiosynthesis module.
<b>Materials and Methods</b>	[ <sup>11</sup> C]acetate was prepared by carboxylation of grignard reagent, methylmagnesium chloride, with [ <sup>11</sup> C]CO <sub>2</sub> gas, followed by hydrolysis with 1 mM acetic acid and purification using solid phase extraction cartridges. The effect of the reaction temperature (0°C, 10°C, -55°C) and cyclotron beam time (10 min, 15 min, 20 min, 25 min) on the radiosynthesis yield were investigated in the [ <sup>11</sup> C]acetate labeling reaction.
<b>Results</b>	The maximum radiosynthesis yield was obtained at -10°C of reaction temperature. The radioactivities of [ <sup>11</sup> C]acetate acquired at -10°C reaction temperature was 2.4 times higher than those of [ <sup>11</sup> C]acetate acquired at -55°C. Radiosynthesis yield of [ <sup>11</sup> C]acetate increased with increasing cyclotron beam time.
<b>Conclusion</b>	This study shows that radiosynthesis yield of [ <sup>11</sup> C]acetate highly dependent on reaction temperature. The best radiosynthesis yield was obtained in reaction of grignard reagent with [ <sup>11</sup> C]CO <sub>2</sub> at -10°C. This radiolabeling conditions will be ideal for routine clinical application.
<b>Key Words</b>	[ <sup>11</sup> C]Acetate, Grignard reagent, Hepatocellular carcinoma, Radiopharmaceutical

## 서 론

[<sup>11</sup>C]아세트산 양전자단층촬영은 허혈성 심질환, 간세포암, 신세포암, 전립샘암, 뇌종양 등의 진단에 유효한 것으로 알려져 있다.<sup>1)</sup> 아세트산은 세포에 섭취된 후 아세틸 조효소 A 합성효소 (acetyl CoA synthetase)에 의해 아세틸 조효소 A (acetyl coenzyme A, acetyl-CoA)로 변환하게 된다. 변환된 아세틸 조효소 A는 콜레스테롤과 지방산으로 합성되어 세포막의 성분으로 사용되는 동화작용경로 (anabolic pathway)에 사용되거나, 미토콘드리아 내에서 트리카복실산 회로 (tricarboxylic acid cycle)에 의해 이산화탄소와 물로 산화되

면서 에너지를 만드는 이화작용경로 (catabolic pathway)에 사용된다.<sup>1-4)</sup> 생체 내 투여된 [<sup>11</sup>C]아세트산은 심장에 섭취되어 트리카복실산 회로를 통해 [<sup>11</sup>C]CO<sub>2</sub>로 대사되는데, 이때 심근에서 [<sup>11</sup>C]아세트산의 제거율은 심근의 산소 소모와 밀접한 연관성이 있어 [<sup>11</sup>C]아세트산을 이용해 산소 소비량을 비침습적으로 측정할 수 있다.<sup>5,6)</sup> 대부분의 종양세포는 정상 세포보다 당대사가 증가되어 있어 [<sup>18</sup>F]fluorodeoxyglucose ([<sup>18</sup>F]FDG)의 섭취가 증가된다. 하지만 간암이나 전립선암 등은 특이하게 포도당 섭취가 낮지만 아세트산의 섭취는 증가된다.<sup>7,8)</sup> 아세트산의 종양세포에서의 축적에 대한 정확한 기전은 밝혀지지 않았으나 Yoshimoto 등의 연구에 의하면 C-14이 표지된 아세트산은 종양세포에 섭취 시 포스파티딜 콜린 (phosphatidylcholine)과 지질의 합성에 주로 사용된다고 보고하였고<sup>9)</sup> Vavere 등은 전립선암 세포에서 지방산 합성효소 (fatty acid synthase)를 억제할 경우 [<sup>11</sup>C]아세트산의 섭취가 감소되는 것을 보고하였다<sup>10)</sup>. 이러한 연구를 통해

• Received: October 01, 2018 Accepted: October 11, 2018  
• Corresponding author: Jun Young Park  
• Department of Nuclear Medicine, Yonsei University College of Medicine, 50-1 Yonsei-ro, Seodaemun-gu, Seoul 03722, Republic of Korea  
Tel: +82-2-2228-4870, E-mail: abies60@naver.com

$[^{11}\text{C}]$ 아세트산은  $[^{18}\text{F}]$ FDG의 섭취가 낮은 종양세포에서 섭취 후 지질 대사를 통해 지질 합성에 주로 사용되는 것으로 사료되며, 종양세포가 빠르게 성장함에 따라  $[^{11}\text{C}]$ 아세트산의 섭취율도 증가되기 때문에 간암이나 전립선암 등의 진단제로 사용할 수 있다.<sup>11)</sup>

$[^{11}\text{C}]$ 아세트산의 합성은 반응용기 내 담겨있는 그리냐르 시약에  $[^{11}\text{C}]\text{CO}_2$  가스를 직접 불어넣어 반응시키는 기체포집 반응법 (bubbling method)<sup>12)</sup>과 테프론 혹은 폴리에틸렌 튜브를 루프형태로 만든 후 관 내부에 그리냐르 시약을 도포 후  $[^{11}\text{C}]\text{CO}_2$  가스를 불어넣어 반응시키는 루프법 (in-loop method)<sup>13)</sup>으로 분류할 수 있다. 표지반응 후  $[^{11}\text{C}]$ 아세트산은 고성능 액체 크로마토그래피 (High-performance liquid chromatography, HPLC) 혹은 고체상 추출 (solid phase extraction, SPE) 카트리지로 분리정제 한다. 본 연구에서는 기체포집 반응법에서 그리냐르 시약과  $[^{11}\text{C}]\text{CO}_2$  가스의 반응온도를 최적화함에 따라  $[^{11}\text{C}]$ 아세트산의 방사화학적 수율을 증가하는 방법을 소개하고자 한다.

### 대상 및 방법

본 연구에서 사용된 methylmagnesium chloride ( $\text{CH}_3\text{MgCl}$ ; 3.0 M in tetrahydrofuran)와 무수 tetrahydrofuran은 Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA)로부터 구입하여 별도의 정제 없이 사용하였다. Maxi-Clean™ IC-H 카트리지 (0.5 ml, Part no.5122575), Maxi-Clean™ IC-Ag 카트리지 (1.5ml, Part no.5122569) 및 Maxi-Clean™ SAX 카트리지 (600 mg, Part no.5122471)는 Grace Davison-Alltech (Deerfield, IL, USA)사에서 구매하여 사용하였다. 사용 전 Maxi-Clean™ IC-H와 IC-Ag 카트리지는 주사용수 10 ml로 충전물을 활성화 시킨 후 사용하였고, Maxi-Clean™ SAX는 70% 에탄올 10 ml로 씻어준 후 생리식염수 5 ml를 흘려준 다음 다시 주사용수 10 ml를 흘려주어 충전물을 활성화 시킨 후 사용하였다. 방사성동위원소  $[^{11}\text{C}]\text{CO}_2$  가스는 사이클로트론 (PETtrace™ 16.5 MeV cyclotron, GE Healthcare, WI, USA)을 사용하여 0.1% 고순도 산소를 포함하는 고순도 질소가스에 양성자빔을 조사하여  $^{14}\text{N}(p,\alpha)^{11}\text{C}$ 의 핵반응으로 생산하였다.  $[^{11}\text{C}]$ 아세트산의 합성은 GE사의 TRACERlab™ FX<sub>C-Pro</sub> 자동합성장치를 사용하였다 (Fig. 1).

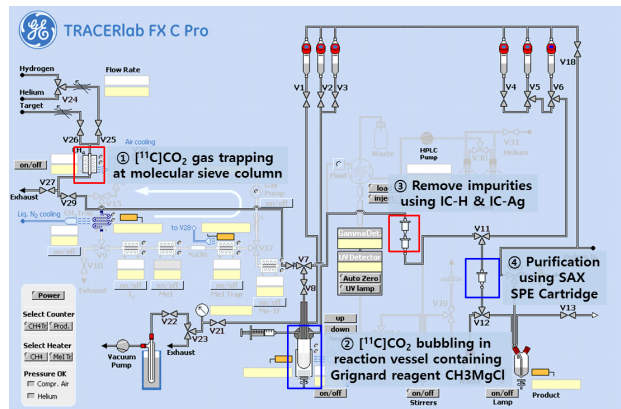


Fig. 1. Configuration of TRACERlab FX<sub>C-Pro</sub> module for  $[^{11}\text{C}]$ acetate production.

$[^{11}\text{C}]$ 아세트산의 표지방법은 다음과 같다. 사이클로트론에서 생산된  $[^{11}\text{C}]\text{CO}_2$  가스를 TRACERlab™ FX<sub>C-Pro</sub> 자동합성장치의 molecular sieve 컬럼에 포집한 후 컬럼을 350 °C로 가열하여  $[^{11}\text{C}]\text{CO}_2$  가스를 컬럼으로부터 분리시킨 후 고순도 헬륨가스를 이용하여 0.5 M  $\text{CH}_3\text{MgCl}$ 이 담겨있는 반응용기에 불어넣었다. 이때 반응용기는 액체질소로 냉각하여 0°C, -10°C, -55°C가 각각 되게 한 후 표지반응을 진행하였다. 반응 후 3 ml의 1 mM 아세트산 용액을 넣어 반응액을 희석한 후 IC-H 카트리지와 IC-Ag 카트리지를 통과시켜 불순물을 제거하였고, 최종산물인  $[^{11}\text{C}]$ 아세트산은 SAX 카트리지에 통과시켜 흡착하였다. 10 ml의 주사용수를 SAX 카트리지에 통과시켜 유기용매 및 불순물을 제거한 후 5 ml의 생리식염수로 카트리지에 흡착된  $[^{11}\text{C}]$ 아세트산을 용출한 후 0.22- $\mu\text{m}$  Millex® GS (Millipore, Bedford, MA, USA) 멸균필터를 사용하여 멸균하였다.

사이클로트론의 빔 가속시간에 따른  $[^{11}\text{C}]$ 아세트산의 생산량을 비교하기 위하여 빔 전류 (beam current)를 50  $\mu\text{A}$ 로 고정 후 10분, 15분, 20분, 25분간 각각 조사 후 -10°C로 냉각된 반응용기 담겨있는 0.5 M  $\text{CH}_3\text{MgCl}$ 에  $[^{11}\text{C}]\text{CO}_2$  가스를 불어넣어  $[^{11}\text{C}]$ 아세트산을 표지하였다. 분리정제 방법은 동일하게 진행하였다.

제조완료 후 방사화학적 순도는 Bioscan사의 FC-200가 장착된 Waters사의 HPLC (Alliance e2695 HPLC system)를 사용하여 측정하였다. 고정상으로 역상 Zorbax SB-Aq 컬럼 (4.6 × 250 mm; Agilent)을 사용하여 분석하였고, 이동상으로 생리식염수를 사용하여 1 ml/min의 유속으로 분석하였다.

## 결 과

본 연구에서는  $[^{11}\text{C}]$ 아세트산의 합성을 위하여 기체포집 반응법과 고체상 추출카트리지를 병행한 방법을 사용하였다. 그리냐르 시약으로 3.0 M  $\text{CH}_3\text{MgCl}$ 를 사용하였으며, 합성 시 무수 tetrahydrofuran을 사용하여 0.5 M  $\text{CH}_3\text{MgCl}$ 로 희석 후 사용하였다. 그리냐르 시약은 수분에 상당히 민감하고 공기 중의 이산화탄소와도 반응하므로 표지반응 직전에 완전히 건조된 상태의 반응용기에서 희석하였다. 합성 후  $[^{11}\text{C}]$ 아세트산의 분리정제는 IC-H, IC-Ag, SAX 등 3가지의 고체상 추출 카트리지를 사용하여 분리하였다. 강한 양이온 교환 (strong cation-exchange) 카트리지인 IC-H는 부가물질인  $[^{11}\text{C}]$ acetylmagnesium chloride를 가수분해 시키는 역할을 하고, 양이온 교환 카트리지인 IC-Ag는 염소이온의 농도를 낮춰 표지된  $[^{11}\text{C}]$ 아세트산이 SAX 카트리지에서 용출되는 것을 방지하는 역할을 한다.<sup>14)</sup> 그리고 강한 음이온 교환 (strong anion-exchange) 물질이 충전되어 있는 SAX 카트리지는 최종산물인  $[^{11}\text{C}]$ 아세트산을 흡착하는 역할을 한다.

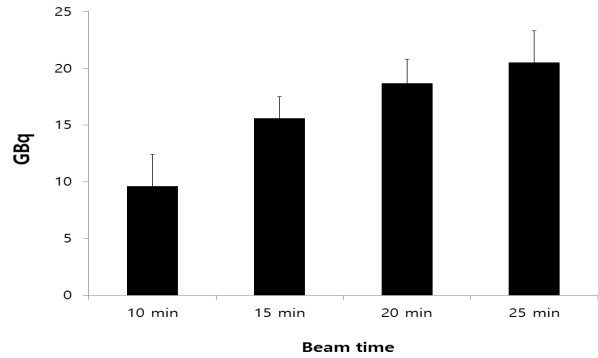
사이클로트론의 빔 전류를 50  $\mu\text{A}$ 로 고정하고 빔 조사를 20분간 하여 생산된  $[^{11}\text{C}]\text{CO}_2$  가스를 그리냐르 시약과 반응시킬 때 표지반응 온도가 0 $^\circ\text{C}$ 일 때  $15.2 \pm 1.6 \text{ GBq}$  ( $409.8 \pm 44.3 \text{ mCi}$ ,  $n=5$ )의  $[^{11}\text{C}]$ 아세트산이 합성되었고, 표지반응 온도가 -10 $^\circ\text{C}$ 일 때는  $18.7 \pm 2.1 \text{ GBq}$  ( $505.1 \pm 58.1 \text{ mCi}$ ,  $n=19$ )가 합성되었으며, -55 $^\circ\text{C}$ 일 때는  $7.7 \pm 1.7 \text{ GBq}$  ( $208.4 \pm 45.9 \text{ mCi}$ ,  $n=19$ )가 합성되었다(Table 1).

**Table 1.** Produced radioactive of  $[^{11}\text{C}]$ acetate depend on reaction temperature

Reaction Temperature	$[^{11}\text{C}]$ Acetate activities
0 $^\circ\text{C}$	$18.9 \pm 0.9 \text{ GBq}$ ( $509.8 \pm 25.5 \text{ mCi}$ )
-10 $^\circ\text{C}$	$20.5 \pm 2.8 \text{ GBq}$ ( $555 \pm 74.9 \text{ mCi}$ )
-55 $^\circ\text{C}$	$12.3 \pm 1.4 \text{ GBq}$ ( $333.4 \pm 38.4 \text{ mCi}$ )

사이클로트론의 빔 가속시간에 따른  $[^{11}\text{C}]$ 아세트산의 생산량을 비교하기 위해 50  $\mu\text{A}$ 에서 10분, 15분, 20분, 25분간 조사한  $[^{11}\text{C}]\text{CO}_2$  가스를 방사화학적 수율이 가장 높았던 반응 온도 -10 $^\circ\text{C}$ 에서 불어넣어 합성하였을 때  $[^{11}\text{C}]$ 아세트산의 생산량은 빔 조사시간이 10분일 때  $9.6 \pm 2.8 \text{ GBq}$  ( $260.2 \pm 75.3 \text{ mCi}$ ,  $n=6$ )이었고, 15분일 때  $15.6 \pm 1.9 \text{ GBq}$  ( $422.6 \pm 52.9 \text{ mCi}$ ,  $n=19$ ), 20분일 때  $18.7 \pm 2.1 \text{ GBq}$  ( $505.1 \pm 58.1 \text{ mCi}$ ,  $n=19$ )이었으며 25분일 때는  $20.5 \pm 2.8 \text{ GBq}$  ( $555.0 \pm 74.9$

mCi,  $n=5$ )의  $[^{11}\text{C}]$ 아세트산이 생산되었다 (Fig. 2). 제조완료 후 방사화학적 순도는 모두 98% 이상이었다.



**Fig. 2.** Produced radioactive of  $[^{11}\text{C}]$ acetate depend on cyclotron beam time.

## 고찰 및 결론

$[^{11}\text{C}]$ 아세트산의 합성은 methylmagnesium chloride와 methylmagnesium bromide와 같은 그리냐르 시약을 사용한다. 그리냐르 시약은 프랑스의 화학자 빅토르 그리냐르 (Victor Grignard)가 발견한 시약으로 이산화탄소와 반응하여 카르복실산 (carboxylic acids)을 생성하는 원리로  $[^{11}\text{C}]$ 아세트산을 합성할 수 있다.<sup>15)</sup> 초기  $[^{11}\text{C}]$ 아세트산의 합성은 복잡한 화학반응으로 표지가 쉽지 않았으나 최근 자동화합성 장치의 개발과 고체상 추출 방법의 보편화에 따라 보다 빠르고 간단하며 재현성 있는 표지반응을 진행할 수 있게 되었다. 양전자방출 방사성동위원소인 C-11은 20분의 비교적 짧은 반감기를 가지고 있어 C-11 방사성의약품의 표지, 분리정제, 멸균, 온도관리 및 배송까지의 시간을 고려하였을 때 임상에서는 높은 방사화학적 수율이 요구된다. 이에 본 연구에서는 기체포집 반응법을 이용하여  $[^{11}\text{C}]$ 아세트산을 합성 시  $[^{11}\text{C}]\text{CO}_2$  가스와 그리냐르 시약의 반응을 다양한 온도에서 실시하여  $[^{11}\text{C}]$ 아세트산의 방사화학적 수율을 증가시킬 수 있는 방법을 개발하고자 하였다.

본 실험에서  $[^{11}\text{C}]\text{CO}_2$  가스와 그리냐르 시약의 표지반응 온도가 -10 $^\circ\text{C}$ 일 때  $[^{11}\text{C}]$ 아세트산의 생산량은 표지반응 온도가 -55 $^\circ\text{C}$ 일 때보다 약 2.4배 증가하였고, 표지반응 온도가 0 $^\circ\text{C}$ 일 때보다 약 1.2배 증가함을 확인할 수 있었다. 또한, 빔 조사시간에 따라서도  $[^{11}\text{C}]$ 아세트산의 합성수율이 증가하는 것을 확인할 수 있었는데, 10분간 빔을 조사할 때보다 20분간 조사할 경우 약 1.9배 생산량이 증가하는 것을 확인할 수 있었다. 본 연구를 통해  $[^{11}\text{C}]\text{CO}_2$  가스와 그리냐르 시약을 -10 $^\circ\text{C}$ 에서 반응할 경우 방사화학적 수율을 크게 개선할 수

있어 향후 임상에서 통상적으로 생산 시 유용한 표지조건으로 활용될 수 있을 것이라 기대된다.

## 요 약

본 연구는 그리냐르 시약과 [<sup>11</sup>C]CO<sub>2</sub> 가스의 반응온도를 최적화하여 [<sup>11</sup>C]아세트산의 방사화학적 수율을 향상시킬 수 있는 방법을 개발하고자 하였다. 본 연구에서는 TRACERlab™ FXC-Pro 자동합성장치에 기체포집 반응법과 고체상 추출 카트리지를 분리정제법을 적용하여 [<sup>11</sup>C]아세트산을 합성하였다. 그리냐르 시약으로 3.0 M CH<sub>3</sub>MgCl를 사용하였으며, 표지반응 시 무수 tetrahydrofuran을 사용하여 0.5 M CH<sub>3</sub>MgCl로 희석하여 사용하였다. 사이클로트론에서 생산된 [<sup>11</sup>C]CO<sub>2</sub> 가스를 포집 후 반응용기에 담겨있는 그리냐르 시약에 넣어놓을 때 반응용기를 액체질소로 냉각하여 0°C, -10°C, -55°C가 각각 되게 한 후 표지반응을 진행하였다. 표지반응 후 1 mM 아세트산 용액을 넣어 반응액을 희석한 후 고체상 추출 카트리지를 IC-H와 IC-Ag를 차례로 통과시켜 불순물을 제거하고, 최종산물인 [<sup>11</sup>C]아세트산은 SAX 카트리지에 통과시켜 흡착시킨 후 주사용수를 통과시켜 유기용매 및 불순물을 제거한 후 생리식염수로 용출하였다. 용출된 [<sup>11</sup>C]아세트산은 0.22-μm 멸균필터를 사용하여 멸균 후 HPLC로 방사화학적 순도를 측정하였다. 사이클로트론의 빔 전류를 50 μA로 고정하고 빔 조사를 20분간 하여 생산된 [<sup>11</sup>C]CO<sub>2</sub> 가스를 그리냐르 시약과 반응시킬 때 온도가 0°C일 때 15.2 ± 1.6 GBq (n=5)의 [<sup>11</sup>C]아세트산이 합성되었고, 표지반응온도가 -10°C일 때는 18.7 ± 2.1 GBq (n=19)가 합성되었으며, -55°C일 때는 7.7 ± 1.7 GBq (n=19)가 합성되었다. 방사화학적 수율이 가장 높았던 -10°C에서 빔 조사시간에 따른 [<sup>11</sup>C]아세트산의 합성수율을 비교하였을 때 10분간 빔을 조사할 때보다 20분간 조사할 경우 약 1.9배 생산량이 증가하는 것을 확인할 수 있었다. 본 연구를 통해 [<sup>11</sup>C]CO<sub>2</sub> 가스와 그리냐르 시약을 -10°C에서 반응 할 경우 방사화학적 수율을 크게 개선할 수 있어 향후 임상에서 통상적으로 생산 시 유용한 표지조건으로 활용될 수 있을 것이라 기대된다.

## REFERENCES

- Grassi I, Nanni C, Allegri V, Morigi JJ, Montini GC, Castellucci P, et al., The clinical use of PET with <sup>11</sup>C-acetate. *Am J Nucl Med Mol Imaging* 2012;2:33-47.
- Choudhary, C., Weinert, B.T., Nishida, Y., Verdin, E., and Mann, M. The growing landscape of lysine acetylation links metabolism and cell signalling. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2014;15:536-550.
- Pietrocola F, Galluzzi L, Bravo-San Pedro JM, Madeo F, Kroemer G. Acetyl coenzyme A: a central metabolite and second messenger. *Cell Metab* 2015;21:805-821.
- DeBerardinis RJ, Chandel NS. Fundamentals of cancer metabolism. *Sci Adv* 2016;2:e1600200.
- Arakawa K, Kudo T, Ikawa M, Morikawa N, Kawai Y, Sahashi K, et al., Abnormal myocardial energy-production state in mitochondrial cardiomyopathy and acute response to L-arginine infusion. <sup>11</sup>C-acetate kinetics revealed by positron emission tomography. *Circ J* 2010;74:2702-2711.
- Naya M, Tamaki N. Imaging of myocardial oxidative metabolism in heart failure. *Curr Cardiovasc Imaging Rep* 2014;7:9244.
- Oyama N, Akino H, Suzuki Y, Kanamaru H, Sadato N, Yonekura Y, Okada K. The increased accumulation of [<sup>18</sup>F]fluorodeoxyglucose in untreated prostate cancer. *Jpn J Clin Oncol* 1999;29:623- 629.
- Ho C, Yu S, Yeung D. <sup>11</sup>C-acetate PET imaging in hepatocellular carcinoma and other liver masses. *J Nucl Med* 2003;44:213-221.
- Yoshimoto M, Waki A, Yonekura Y, Sadato N, Murata T, Omata N, et al., Characterization of acetate metabolism in tumor cells in relation to cell proliferation: acetate metabolism in tumor cells. *Nucl Med Biol* 2001;28: 117-122.
- Vāvere AL, Kridel SJ, Wheeler FB, Lewis JS. <sup>11</sup>C-acetate as a PET radiopharmaceutical for imaging fatty acid synthase expression in prostate cancer. *J Nucl Med* 2008;49:327-334.
- Yoo MJ, Lee JD. Imaging of cancer metabolism using positron emission tomography. *J Korean Med Assoc* 2009; 52:113-120.
- Roeda D, Dollé F, Crouzel C. An improvement of [<sup>11</sup>C]acetate synthesis non-radioactive contaminants by irradiation-induced species emanating from the [<sup>11</sup>C]carbon dioxide production target. *Appl Radiat Isotopes* 2002;57: 857-860.
- Davenport RJ, Dowsett K, Pike VW. A simple technique for the automated production of no-carrier-added

- [1-<sup>11</sup>C]acetate. *Appl Radiat Isotopes* 1997;48:1117-1120.
14. Soloviev D, Tamburella C. Captive solvent [<sup>11</sup>C]acetate synthesis in GMP conditions. *Appl Radiat Isotopes* 2006;64:995-1000
15. Pike VW, Eakins MN, Allan RM, Selwyn AP. Preparation of [1-<sup>11</sup>C]acetate - an agent for the study of myocardial metabolism by positron emission tomography. *Int J Appl Radiat Isot* 1982;33:505-512.