

^{18}F 標識薬剤合成システムの構築とその評価： 低酸素腫瘍イメージング剤 ^{18}F FRP-170 合成による検証

寺崎一典¹、石川洋一²、別府高明³、小豆島正典⁴、後藤祥子⁵、岩田 鍊²

¹岩手医科大学サイクロトロンセンター

020-0173 岩手県岩手郡滝沢村滝沢字留が森 348-58

²東北大学サイクロトロン・ラジオアイソトープセンター

980-8579 宮城県仙台市青葉区荒巻字青葉

³岩手医科大学脳神経外科学講座

020-8505 岩手県盛岡市内丸 19-1

⁴岩手医科大学総合歯科学講座歯科放射線学分野

020-8505 岩手県盛岡市内丸 19-1

⁵日本アイソトープ協会仁科記念サイクロトロンセンター

020-0173 岩手県岩手郡滝沢村滝沢字留が森 348-58

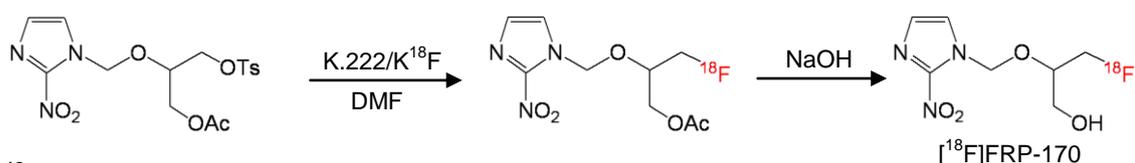
1 はじめに

これまでに東北大学サイクロトロン・ラジオアイソトープセンター (CYRIC) と仁科記念サイクロトロンセンター (NMCC) 間の共同研究の中で、CYRIC から多くの技術移譲を受け、実用性の高い新規 PET 標識薬剤の製造、およびその臨床利用を目指し実施されてきた。 ^{18}F 標識プローブの製造は、フッ素標識反応、保護基の加水分解、HPLC (高速液体クロマトグラフィー) での分離・精製、および製剤化を基本とする。そのため自動合成装置も煩雑な工程を確実に実施できる機能を有する信頼性のある合成システムが求められる。今回、既存の FDG 自動合成装置を中核装置とし、CYRIC で開発した標識物単離のための HPLC 注入・精製装置、および住友重機製の精製・製剤化装置を装備することによって、標識反応、分離・精製、製剤化に至る一連の製造工程を迅速、効率的に実施し、かつ高品質な製剤の供給を可能とする ^{18}F 標識薬剤合成シ

テムを構築した。このシステムの性能評価を目的として、CYRIC で独自に開発された低酸素腫瘍イメージング剤である $[^{18}\text{F}]\text{FRP-170}$ の合成を行いシステムの有用性を検証した。また、現在進行中のアミロイドイメージング剤 $[^{18}\text{F}]\text{AV-45}$ の合成についても併せて報告する。

$[^{18}\text{F}]\text{FRP-170}$ は、悪性腫瘍の増大に伴い発生する低酸素細胞に選択的に集積する。その集積メカニズムは、主骨格の 2-ニトロイミダゾールが、低酸素細胞内で還元を受けて巨大分子と結合あるいは極性の高い代謝物となって細胞内に留まるとされる。従って、腫瘍診断、放射線治療や化学療法などのがん治療抵抗性の大きな因子となっている低酸素細胞を定量的に画像化でき、放射線治療の有効性や抗がん剤の選択に関して有用な情報を与え個別化した治療が可能となる^{1,2)}。また、 $[^{18}\text{F}]\text{AV-45}$ は、米国 Avid 社で開発された ^{18}F -標識アミロイドイメージング剤である。 $[^{18}\text{F}]\text{AV-45}$ は脳への取り込みが速く、非特異的結合部位から迅速に排出され、投与 50 分後に平衡に達し、5~10 分の画像収集でコントラストの高い画像が得られるなど優れた特徴を有する。現在、米国では第 III 相試験が実施されており、世界中に急速に広まりつつある⁴⁻⁶⁾。

$[^{18}\text{F}]\text{FRP-170}$



$[^{18}\text{F}]\text{AV-45}$

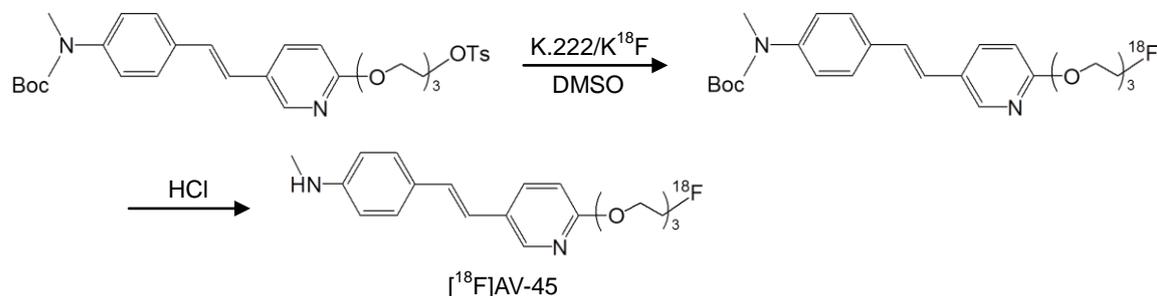


図1 $[^{18}\text{F}]\text{FRP-170}$ と $[^{18}\text{F}]\text{AV-45}$ の合成スキーム

2 方法

2.1 F-100 装置の改良およびプログラムの作成

多くの ^{18}F 標識化合物は、 $[^{18}\text{F}]\text{F}$ イオン、カリウムイオン、および相関移動触媒のクリプトフィックス 2.2.2 (K.222) の無水化处理された混合物と反応基質を無水溶媒中で $[^{18}\text{F}]$ フッ素化反応させ、脱保護のため、酸またはアルカリで加水分解後、HPLC で目的物を分離・精製し、これを製剤化する一連のプロセスで合成される。

住友重機製 FDG 合成装置 F-100 (以下 F-100) の特徴として、フッ素の吸着が少ないグラッシーカーボン製の反応容器を装備していることにある。反応容器は油浴によって均一かつ迅速に温度制御され、反応液はスターラーチップによる攪拌によって均一に混合される。また、減圧装置を装備しているので溶媒除去のための加熱乾燥が確実に実施することができ、信頼性、安定性

に優れた合成装置である。また、合成プログラム「Cupid」は温度、ガス流速などのパラメータは任意に変更が可能で、非常に柔軟性が高い。しかしながら、F-100は、フッ素化後に固相抽出等のカラム精製によって標識化合物を製造するために製作されたFDG専用装置のため、 ^{18}F -標識化合物の合成に必須機能であるHPLC精製機能を欠いているため汎用的な合成には適していない。本研究ではF-100を中心として、固相抽出・HPLC精製装置および固相抽出・製剤化装置を装備した汎用性に優れた合成システムの構築を行ったので報告する。

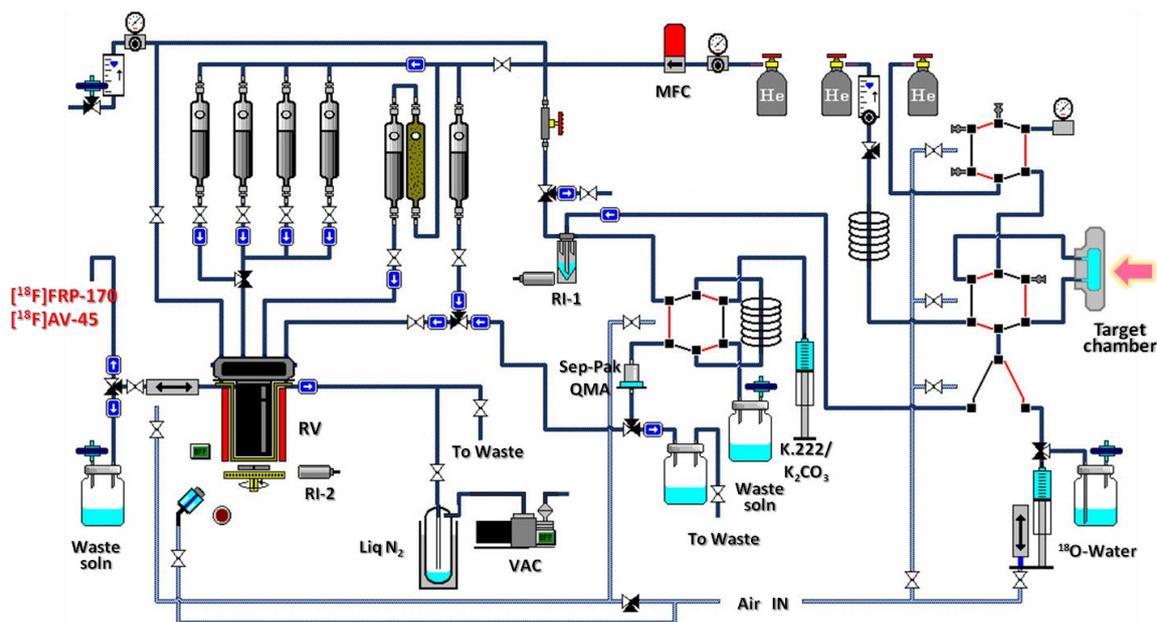


図2 F100装置の系統図

F-100を ^{18}F FRP-170および ^{18}F AV-45合成に適応させるため、次のような変更を加えた。従来QMAカートリッジに通じて吸着させた ^{18}F フッ素イオンの溶出には K_2CO_3 溶液を用いていたが、製造工程の簡略・迅速化のためK.222と炭酸カリウムを含むアセトニトリル、水との混液(1 mL)で溶出することとした。この場合、容量の変更を伴うため、注入・保持するPEEK素材のループ状に巻いたチューブの長さを延長した。また、図1の系統図からわかるようにF-100ではアセトニトリルなどの有機溶媒および水系の溶媒が反応容器に移送される流路はそれぞれ明確に独立し、相互の混入を極力防ぐ流路構成になっているが、変更前はK2.2.2/アセトニトリル用のリザーバーとして使用するため、アセトニトリルを追加した共沸乾燥は行うことができなかった。上記の変更によりフッ素化の前に少量のアセトニトリルを添加し、共沸によって無水化処理を確実にするための工程を追加することが可能になった。

フッ素化前の無水化処理のための乾燥工程はフッ素化反応の可否を決定する重要な工程であるが、 ^{18}F フッ素の溶出液の組成と容量の変更を伴っているため、アセトニトリルによる共沸留去を追加し、吹きつけのガス流速、3段階の温度で加熱する最適化した。また、その他の合成パラメーターを設定し、本合成に適応した制御プログラムを作成した。

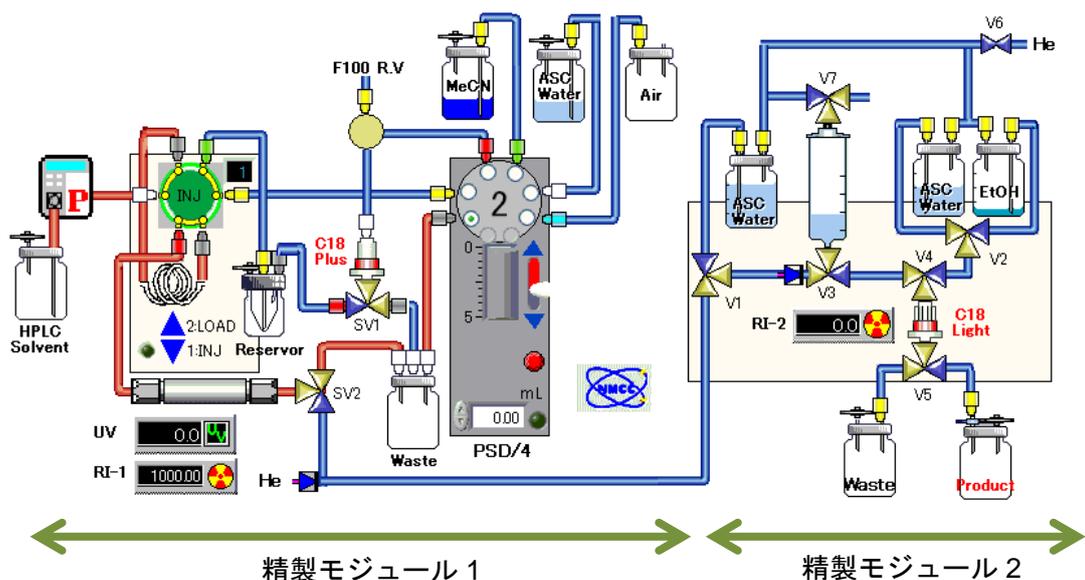


図3 精製モジュールの系統図

2.2 精製モジュールの作成

(1) 精製モジュール 1

電動シリンジポンプと6方切換えバルブから成るシリンジポンプモジュール(Hamilton社製)と電動HPLCインジェクター(Rheodyne社製)、および3方電磁弁で構成される精製モジュールを製作した。図4にその構成図を示す。 ^{18}F -フッ素化反応とその後の希塩酸添加までをF100で行い、この反応液をC18カートリッジへ移送後、NaOHの注入、洗い出し、HPLCインジェクターへの移送をすべてこのシリンジポンプと切換えバルブの操作で行う。また、HPLCカラムに導入後、UVおよびRIセンサー値をモニターし、目的物フラクションの分取を切り替えバルブで引き続き精製モジュール2のリザーバーに導入する。吸いだしをシリンジポンプで行う。

(2) 精製モジュール 2

精製モジュール2はHPLC分取液をリザーバーに回収後、C18で固相抽出を行い、さらに水で洗浄後、エタノールで回収できる機能を持ち、最終的な製剤化までを自動で行う。本モジュールの制御には、USB対応のインターフェースモジュールを通して動作する専用のプログラムを、LabView(National Instruments社)を用いて開発した。

2.3 ^{18}F フッ素の製造

^{18}F フッ素の製造は、サイクロトロン(MCY-1750、島津製作所)で加速した陽子ビームを(電流値: $20\ \mu\text{A}$ 、20分間) ^{18}O H₂O(98%、太陽日酸)に照射し、 ^{18}F フッ素イオンを、QMAカートリッジ(炭酸イオン型)に通じて吸着させた。

2.4 ^{18}F FRP-170合成³⁾

^{18}F フッ素イオンをK.222(20 mg)と炭酸カリウム(4 mg)を含むアセトニトリル(0.7 mL)

と Milli-Q 水 (0.3 mL) との混液 1 mL で溶出し、反応容器に導入した。ヘリウムガス気流下で溶媒を加熱乾固 (50~120°C) し、さらに無水アセトニトリル (0.7 mL) を加え、共沸留去によって無水化処理を行った。

DMF (0.7 ml) に溶解した反応基質 (2mg) を加え、110°C、6 分間のフッ素化反応を行った。冷却後 0.05 M HCl (5 ml) を加え、中間精製モジュールに導入し、Sep-Pak C18 (Long 型) カートリッジに通した後、H₂O (5 ml) で反応容器と C18 カートリッジを洗浄した。次に、C18 カートリッジに 0.5 M NaOH (1 ml) を満たし、室温下 3 分間放置してオンカラム的に加水分解を行った。C18 カートリッジを H₂O (1 ml) で洗浄して大部分の NaOH を除去後、加水分解生成物を無水アセトニトリルと酢酸の混合溶媒 (アセトニトリル 0.35 ml、酢酸 0.10 ml) で溶出し、水で希釈した後、分取 HPLC のカラムに導入し、精製・分取した。HPLC 分取条件は次のとおりである。

カラム: YMC A-324 (10×300 mm)、溶離液: アセトニトリル/H₂O (12/88) 流速: 3.0 ml/min の分離条件を用いた。約 18 分前後に溶出する [¹⁸F]FRP-170 の画分をロータリエバポレータのフラスコに集めた。減圧下エタノール (5 ml) を繰り返し添加することで迅速に溶媒を留去して分取液を乾固後、残渣を生理食塩水に溶解、脂溶性薬剤の吸着の少ない Millex-GV フィルターを用いて滅菌濾過し、滅菌バイアルに捕集、[¹⁸F]FRP-170 注射液とした。

3 結果および考察

FDG 自動合成装置 F-100 を基本として HPLC 注入装置と精製装置を装備することで反応、精製、製剤化に至る一連の製造工程を迅速、効率的に実施でき、かつ高品質な製剤の供給を可能とする ¹⁸F 標識薬剤合成システムを構築した。このシステムの有益性を検証することを目的として、[¹⁸F]FRP-170 および [¹⁸F]AV-45 の合成を行った。

図 4 は [¹⁸F]FRP-170 の精製を目的としたセミ分取 HPLC による分離プロフィールを示している。オンカラム加水分解後、C18 固相抽出で得られた精製物は HPLC ループ (2 mL) から HPLC カラムに導入後、約 18 分で成績体の [¹⁸F]FRP-170 が溶出され、直後に大きな不純物の UV のピークが確認されるが、両者はほぼ完全に分離されており、分取フラクション液には不純物の混入はほとんどないものと思われる。20 μA のビーム電流、20~25 分間の照射で製造された [¹⁸F]フッ素イオンから出発して、最終製剤として 59~104 mCi の [¹¹C]FRP-170 が得られた。この実収量は複数人の PET 検査に十分な量である。合成終了時における合成収率は 8.3~12.3%、[¹⁸F]フッ素の量に放射性化学的純度は 95~97%。照射ターゲット水の回収から合成終了には 80~88 分を要した。一方、[¹¹C]FRP-170 は放射能分解を起こしやすく、特に、製剤化工程のエバポレータによる減圧乾燥の際に分解が促進され、その結果として著しく放射化学的純度を低下させた。通常、高比放射能、高放射能濃度で得られる多くの ¹⁸F-標識化合物は放射線分解を受けやすく、この防止のためエタノールなどのラジカルスカベンジャーおよびアスコルビン酸の添加が有効とされている。[¹⁸F]FRP-170 の場合、アスコルビン酸の添加は分解を促進することが確認されており、HPLC 分取液の減圧乾燥中に比較的多量のエタノール (5 mL) を数回にわたり添加す

ることで放射線分解を抑えることが可能だった。しかしながら、この方法では安定した、良好な放射化学的純度を得ることはできなかった。この問題点を解決すべき、ロータリーエバポレーターによる濃縮乾固を行わず、固相抽出によって得られた ^{18}F FRP-170のエタノール液を生理食塩水で希釈する製剤化の方法も検討する必要があると思われた。

一方、 ^{18}F AV-45 合成結果をまとめると以下のとおりである。合成時間：80~83 分、放射化学的純度：95~98.5%、比放射能：2.4~4.6 Ci/ μmol (85~172 GBq/ μmol) 合成収率：17~22% (EOS) 合成収量：56~104 mCi (2.0~3.8 GBq)。

以上の結果より、 ^{18}F FRP-170 および ^{18}F AV-45 合成を通して構築した合成システムの有用性が明らかになった。また、この合成システムは他の ^{18}F 標識プローブの合成にも対応可能な汎用性の高い機能を有していることが確認できた。

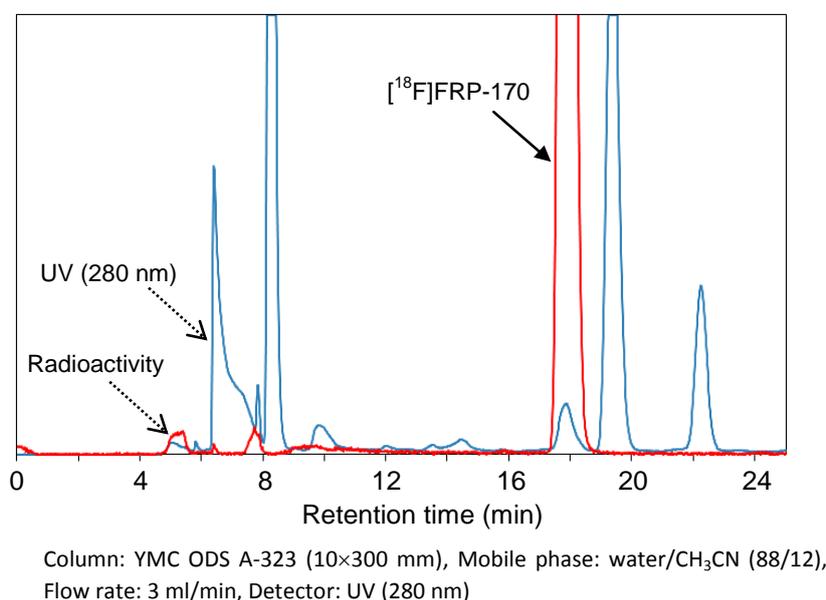


図4 分取 HPLC 分離パターン

謝辞

本研究に関して、ご協力いただいた住友重機機械工業、加藤潤氏、および日本アイソトープ協会 仁科記念サイクロトロンセンターのスタッフのご協力に感謝いたします。

参考文献

1. Kaneta T, Takai Y, Iwata R, et al Initial evaluation of dynamic human imaging using ^{18}F -FRP170 as a new PET tracer for imaging hypoxia. Ann Nucl Med. 21: 101-107, 2007.
2. Ishikawa Y, Iwata R, Furumoto S, Takai Y. Automated preparation of hypoxic cell marker ^{18}F FRP-170 by on-column hydrolysis. Appl Radiat Isot. 62: 705-710, 2005.
3. 石川洋一、船木善仁、岩田 錬：低酸素細胞の PET 画像化を目的とする ^{18}F FRP-170 注射液の開発. 核医学 42: 1-10, 2005.

4. Liu Y, Zhu L, Plössl K, Choi SR, Qiao H, Sun X, Li S, Zha Z, Kung HF. Optimization of automated radiosynthesis of [^{18}F]AV-45: a new PET imaging agent for Alzheimer's disease. *Nucl Med Biol.* 37: 917-925, 2010.
5. Yao CH, Lin KJ, Weng CC, Hsiao IT, Ting YS, Yen TC, Jan TR, Skovronsky D, Kung MP, Wey SP. GMP-compliant automated synthesis of [(18)F]AV-45 (Florbetapir F18) for imaging beta-amyloid plaques in human brain. *Appl Radiat Isot.* 68: 2293-2297, 2010.
6. Wong DF, Rosenberg PB, Zhou Y, Kumar A, Raymond V, Ravert HT, Dannals RF, Nandi A, Brasic JR, Ye W, Hilton J, Lyketsos C, Kung HF, Joshi AD, Skovronsky DM, Pontecorvo MJ. In vivo imaging of amyloid deposition in Alzheimer disease using the radioligand ^{18}F -AV-45 (florbetapir [corrected] F18). *J Nucl Med.* 51: 913-920, 2010.
7. Choi SR, Golding G, Zhuang Z, Zhang W, Lim N, Hefti F, Benedum TE, Kilbourn MR, Skovronsky D, Kung HF. Preclinical properties of ^{18}F -AV-45: a PET agent for Abeta plaques in the brain. *J Nucl Med.* 50: 1887-1894, 2009.

A flexible automated nucleophilic [^{18}F]fluorination synthesis system for ^{18}F -labeled radiopharmaceuticals

K. Terasaki¹, Y. Ishikawa², T. Beppu³, M. Shozushima⁴, S. Goto⁵ and R. Iwata²

¹ Cyclotron Research Center, Iwate Medical University
348-58 Tomegamori, Takizawa 020-0173, Japan

² CYRIC, Tohoku University
Aramaki, Aoba-ku, Sendai 980-8578, Japan

³ Department of Neurosurgery, Iwate Medical University
19-1 Uchimaru, Morioka 020-8505, Japan

⁴ Department of Dental Radiology, School of Dentistry, Iwate Medical University
19-1 Uchimaru, Morioka 020-8505, Japan

⁵ Japan Radioisotope Association, Nishina Memorial Cyclotron Center
348-58 Tomegamori, Takizawa 020-0173, Japan

Abstract

The relative simplicity of FDG production may not reflect the complexity required for many ^{18}F -radiosyntheses. Based on an automated module for FDG preparation, F100 (Sumitomo Heavy Industries, Ltd.), a new automated system has been developed by introducing two purification modules, one for the hydrolysis/deprotection reaction, the purification of the intermediate, and HPLC loop-loading, and one for the formulation of the injectable solution. Its flexibility and utility were demonstrated by the production of [^{18}F]FRP-170 from [^{18}F]fluoride ion. The reaction was performed in DMF for 3.5 minutes at 100°C, and then the reaction mixture was injected into a semi-preparative HPLC system. The desired [^{18}F]FRP-170 fraction was collected after 18 min. The overall decay-corrected radiochemical yield was 10–16.7 %. Radiochemical purity was > 95 % and the specific activity was 180–320 GBq/ μmol at the end of synthesis.