

ループ法による $[^{11}\text{C}]$ メチルトリフレートからの $[^{11}\text{C}](+)\text{N}$ -メチル-3-ピペリジルベンジレート自動合成法の開発

岩田 錬 寺崎一典*1 古本祥三*2 高橋和弘*3 佐々木基仁*4

東北大学サイクロトロン・ラジオアイソトープセンター
980-8578 仙台市青葉区荒巻

*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 東北大学加齢医学研究所
980-8575 仙台市青葉区星稜町 4-1

*3 秋田脳血管研究センター
010-0874 秋田市千秋久保田町 6-10

*4 住友重機械工業量子機器事業センター
141-8686 品川区北品川 5-9-11 住友重機械ビル

1 はじめに

アセチルコリン受容体はニコチン性とムスカリン性の2つに大別されるが、後者のムスカリン受容体には $M_1 \sim M_5$ の5種類のサブタイプが存在し、Gタンパク質を介する Ca^{2+} チャンネルの抑制やセカンドメッセンジャーによる種々の細胞応答など、脳内の神経情報伝達系において重要な役割を担っているとされる。このため、PET核種で標識したムスカリン受容体リガンドを用い脳内のムスカリン受容体を定量化することは、痴呆などの中枢神経系に発する病気の解明やその診断と治療に役立つと期待される。ムスカリン受容体のアンタゴニストである(+)-N-メチル-3-ピペリジルベンジレート(3NMPB)のN-メチル基を $^{11}\text{CH}_3$ で標識した $[^{11}\text{C}]$ 3NMPBは、秋田脳研で開発されたムスカリン受容体のPET診断薬であり¹⁾、これまでに開発された数種のものに比ベムスカリン受容体に対する適度な親和性を有し、ひと脳内のムスカリン受容体の定量測定に有用なPET放射性薬剤として期待されている²⁾。

本研究は、この優れたPET薬剤をNMCCでのムスカリン受容体に関する基礎研究と臨床診断に供すべく、既存の住重製の $[^{11}\text{C}]$ ヨウ化メチル自動合成装置を改造して $[^{11}\text{C}]$ 3NMPBの自動合成法を確立することを目的

とする。この改造に当たっては、自動化に適した簡便な ^{11}C メチル化法である ^{11}C メチルトリフレートを用いるループ標識法³⁻⁴⁾を導入した。ループ標識法は、ガラス製の容器内に満たした反応液にガス状の標識前駆体を吹き込むバッチ型の従来の合成操作法と異なり、小さな内径を有するチューブをループ状にしたものを反応容器に用い、チューブ内壁に存在する少量の反応液がそこを流れる標識前駆体を捕集し反応する効率的で迅速なフロー型の標識合成法である。従って、揮発性が高い ^{11}C ヨウ化メチルよりはこれからオンライン的に変換される ^{11}C メチルトリフレートに適する方法である。

2 ^{11}C ヨウ化メチル自動合成装置の改造

住重製の ^{11}C ヨウ化メチル自動合成装置は HPLC による精製法を備え、 ^{11}C CO₂ を出発物質として標識前駆体の ^{11}C ヨウ化メチル合成を経て種々の ^{11}C -標識化合物の自動合成が可能である。本装置の特徴は、反応容器と電磁弁の一部を取り外し可能な一枚のトレイ上に乗せ、これを交換することで数種類の ^{11}C メチル化反応に対応できることである。従ってこのトレイ部分だけの改造ならば、本来の機能を損なうことなく目的とする新しい標識法に対応可能となる。図 1a に元となる装置のフローチャートを示す。破線で囲った部分がトレイ部分である。

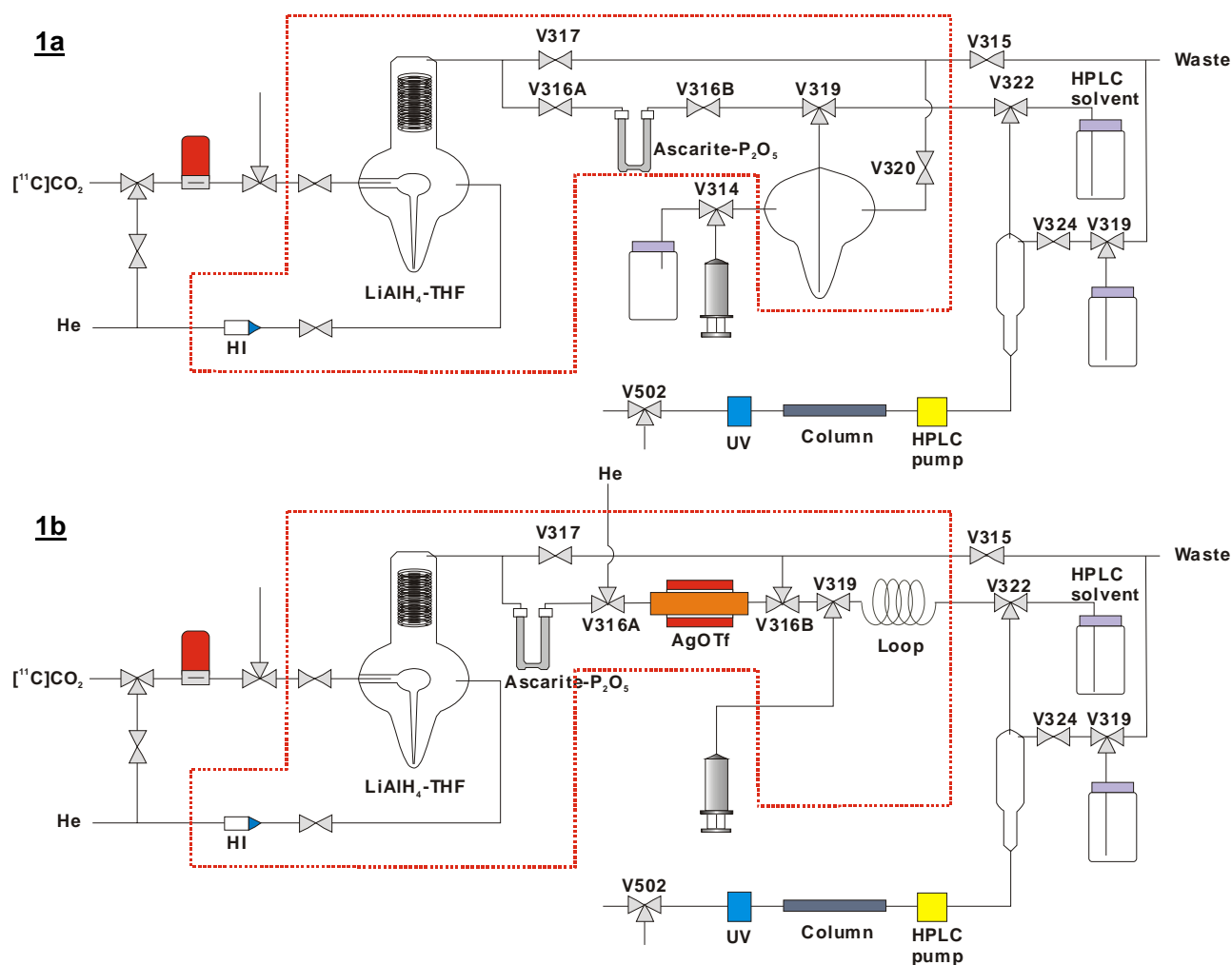


図 1. 住重製 ^{11}C ヨウ化メチル自動合成装置フローチャート

1a : 改造前、1b : 改造後

^{11}C ヨウ化メチルをオンライン的に ^{11}C メチルトリフレートに変換するためには 200°C に加熱された AgOTf カラムに通す必要がある。従って Ascarite- P_2O_5 カラムを電磁弁 V316A の手前に移し、V316A と V316B の間に小型の電気炉で加熱された AgOTf カラムを挿入した。このカラムをあらかじめ加熱するとき是不活性の雰囲気で行う必要があり、このためこれら 2 つの電磁弁を 3 方弁に交換し外部から流速 30-50 mL/min の He を流せるようにした。

^{11}C メチル化用のガラス製反応容器に代わりテフロンチューブ（内径 0.7 x 70 mm）をループ状にしたものを電磁弁 V319 と V322 の間に取り付けた。反応液をループから移送するために既設の溶媒注入用のシリンジを利用した。下図は改造された ^{11}C ヨウ化メチル自動合成装置の写真を示す。

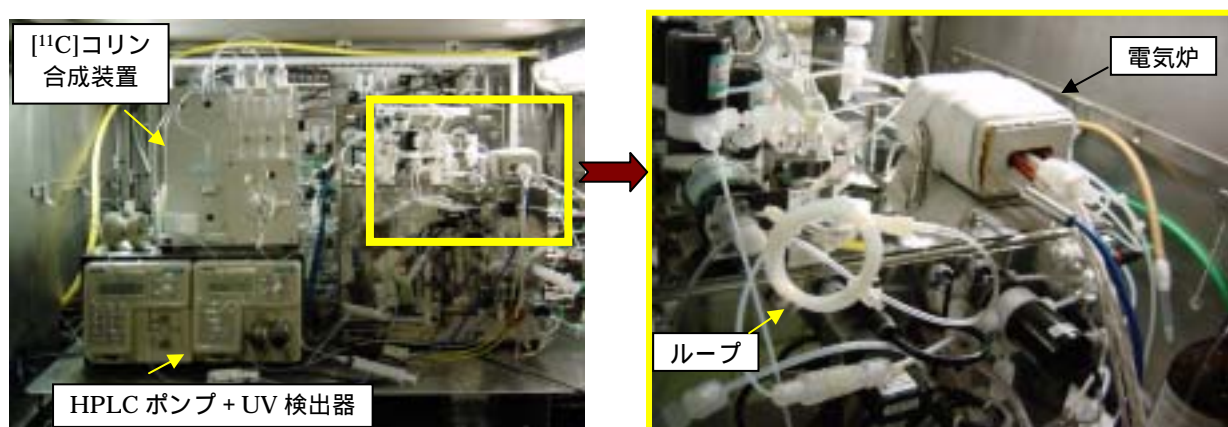


図 2 . 改造後の ^{11}C ヨウ化メチル自動合成装置

本装置の改造に伴い、専用制御プログラム（Cupid）の一部を書直し、ループ標識法に適応した制御プログラムを開発した。

3 改造装置を用いたループ法による ^{11}C ラクロプライドと ^{11}C 3NMPB の自動合成

3.1 ^{11}C トリフレートによるループ標識法

^{11}C CO₂ から合成された ^{11}C CH₃I は反応容器から He 気流で次の反応部へ移送されるが、その流速は移送時間と反応液への捕集効率を考慮して決めなければならない。加熱された AgOTf カラムによる ^{11}C ヨウ化メチルから ^{11}C メチルトリフレートへの変換効率に対する流速の影響を調べた報告はないが、置換反応は迅速だと推測されるので引き続き捕集条件に従って流速を決定すれば十分であると考えた。液相に気体をバブリングする方法に比べループ法では気体と液体の相互作用の効率は当然低い。従って、流速が小さいほど効率的な捕集が実現できる。ただし流速を低くしすぎると ^{11}C ヨウ化メチルを移送するのに時間がかかりすぎ、減衰効果で実収量の低下を招く。本方法では実用的な流速として 30 mL/min を採用した。図 3 に、この流速で行ったループ標識法におけるガラス反応容器とループ近傍での放射能の時間変化（PC モニター上に表示される情報の一部を書き出したもの）を示す。 ^{11}C CO₂ から目的物を得るまでの自動合成操作は、図 3 に示すように次の 5 つのステップからなる。

1. ^{11}C CO₂ を照射容器から導入し、LiAlH₄ で ^{11}C メタノールへと還元した後ヨウ化水素酸との反応により ^{11}C ヨウ化メチルを生成する。

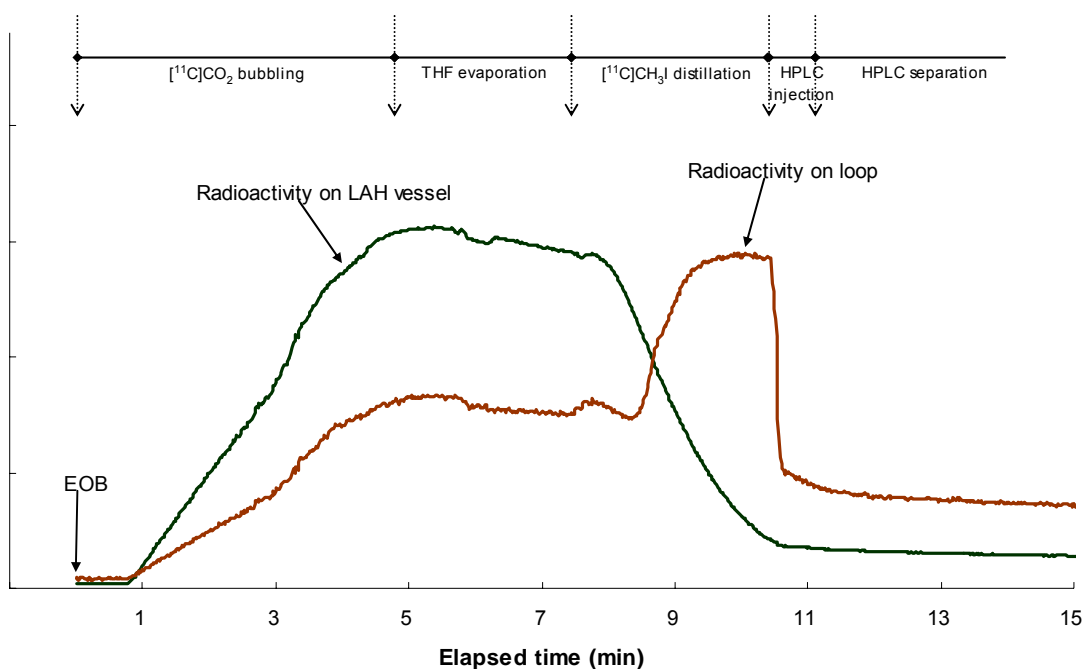


図3．合成時の ^{11}C -放射能の経時的な動き

2. ^{11}C ヨウ化メチルをのガラス反応容器からの蒸留し、 ^{11}C メチルトリフレートへオンライン的に変換してループでこれを捕集する。
3. ループにシリンジから水を流し、反応物を HPLC 注入用リザーバーへ移送する。
4. 反応物を HPLC カラムへ注入する。
5. 目的物を HPLC カラムからの溶出液から分取する。

この図に示すように、 ^{11}C ヨウ化メチルの蒸留開始とともに反応容器の ^{11}C -放射能が減少しループに移行・蓄積し、次にループから洗い出される様子が PC のモニター上に表示され、合成が自動的に進行する過程が、

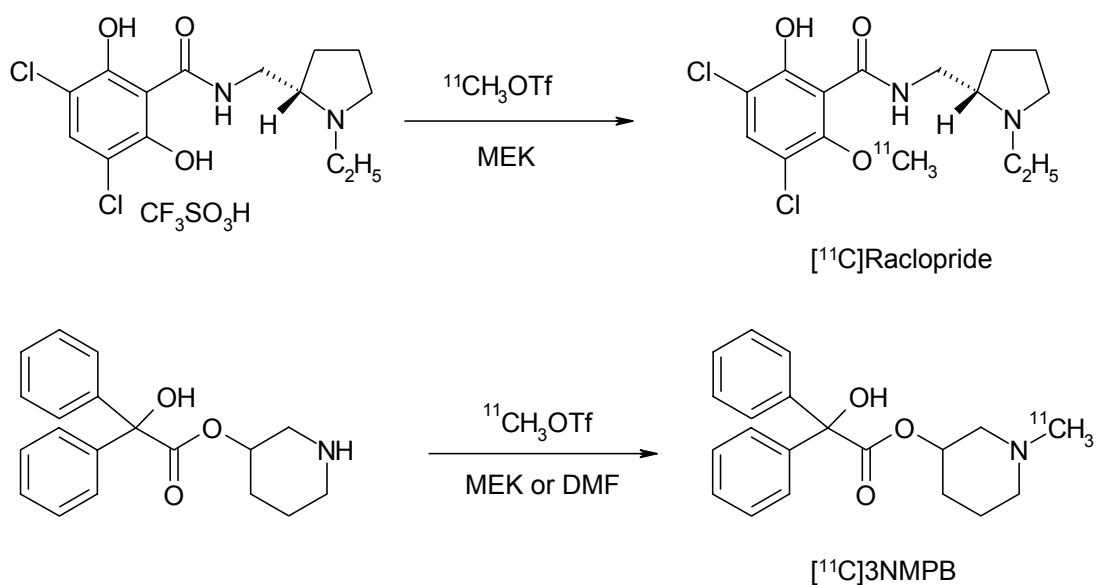


図4． ^{11}C メチルトリフレートからの ^{11}C ラクロプライドと ^{11}C 3NMPBの合成スキーム

引き続き HPLC 精製過程 (図 5 と 6 を参照) と共に明確にわかる。同様に図 3 から明らかなように、上記の全合成過程は照射終了後 11 分以内に完了する。

3.2 ^{11}C ラクロプライドの合成

^{11}C メチルトリフレートによるループ標識法は東北大学で開発された方法であり ^{11}C ラクロプライドの合成に応用された³⁾。従って、本研究でもこの標識薬剤を合成することで住重製の ^{11}C ヨウ化メチル自動合成装置改造を評価した。図 4 の上段に使用した合成反応スキームを示す。

前駆体であるデスメチルラクロプライドのトリフレート塩 (1 mg) をメチルエチルケトン (MEK、0.6 mL) に溶解し、これに NaOH 水溶液 (1 M、2 μL) を加えた。この溶液の全量をシリンジに取りループに注入し装置に装着した。 ^{11}C メチルトリフレート通過後、水 (0.7 mL) をシリンジから押し出し反応物をループから洗い出してリザーバーに集めた。図 5 は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す。本装置で採用されている試料の注入法は、通常用いられるインジェクションループと 6 方バルブの切換による方法と異なり、HPLC ポンプ入り口側のリザーバーに試料を集めそのままポンプに送り込む。従って分離されるピークに若干の広がりが見られるが、原料の前駆体と ^{11}C ラクロプライドはきれいに分離されている。

30 μA ビーム電流での 20 分間照射で製造された ^{11}C CO₂ から出発して、分取時点で 26-29 mCi の ^{11}C ラクロプライドが得られた。これは通常 PET 検査を行うのに十分な放射エネルギーであり、この結果からループ標識法への本装置の改造とその新たに開発した制御プログラムが所期の目的を達成したものと判断した。

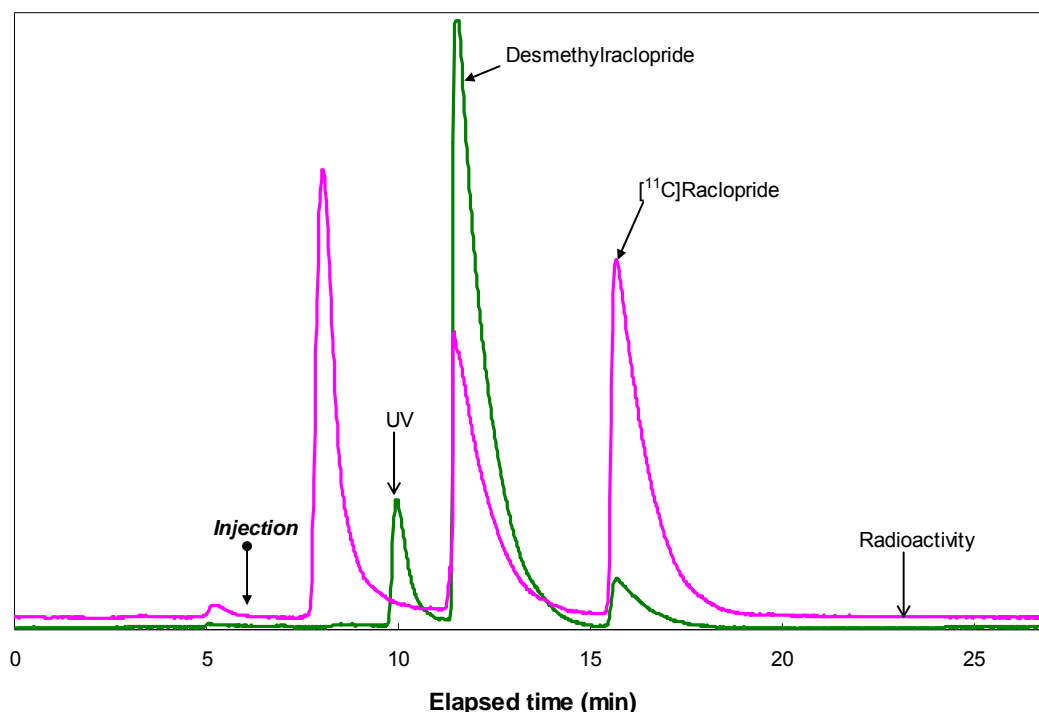


図 5 . ^{11}C ラクロプライドの HPLC 精製プロフィール

- カラム : YMC-Pack ODS-A-323
- 溶媒 : MeCN-0.01 M H₃PO₄ (27/73)、5.0 mL/min

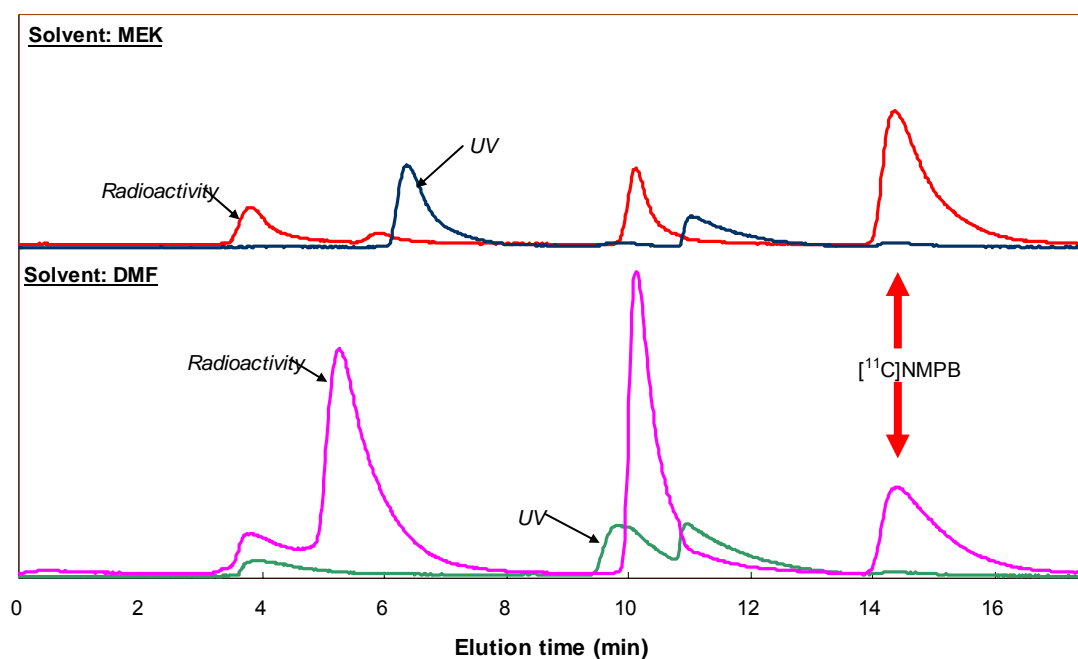


図6 . $[^{11}\text{C}]3\text{NMPB}$ の HPLC 精製プロフィール

- カラム : YMC-Pack ODS-A-323
- 溶媒 : MeCN-H₂O-AcOH (30/70/0.1) 4.0 mL/min

3.3 $[^{11}\text{C}]3\text{NMPB}$ の合成

次に本研究の目的化合物である $[^{11}\text{C}]3\text{NMPB}$ の合成を試みた。ループ標識法では、揮発性の溶媒を使用すると、 $[^{11}\text{C}]$ メチルトリフレートがループ内を通過中に反応溶媒が蒸発して反応前駆体が析出し、これが反応取率の低下につながるとされる。従って、より高沸点の溶媒の使用が望ましく、 $[^{11}\text{C}]3\text{NMPB}$ の合成では良く用いられるジメチルホルムアミド(DMF)も比較検討した。 $[^{11}\text{C}]\text{CO}_2$ の製造や使用する前駆体量などは $[^{11}\text{C}]$ ラクロブライドの場合と同じ条件を使用した。図6に示すように MEK の場合が合成収量は若干高い傾向が見られたが、上述した理由を考慮すると再現性を重視してルーチン合成には DMF を反応溶媒として使用するほうがより適すると思われる。

分取時点で得られた $[^{11}\text{C}]3\text{NMPB}$ は 27-35 mCi であった。また、全合成時間は 40 分以内であり、本法により $[^{11}\text{C}]3\text{NMPB}$ をルーチンに製造して PET 検査に供することが可能であると結論できた。

4 まとめ

住重製の $[^{11}\text{C}]$ ヨウ化メチル自動合成装置改造し、 $[^{11}\text{C}]$ メチルトリフレートからのループ法による標識装置とした。本装置をもちいるドーパミン D2 受容体測定用の $[^{11}\text{C}]$ ラクロブライドとムスカリン受容体測定用の $[^{11}\text{C}]3\text{NMPB}$ の自動合成法を確立した。NMCC では、 $[^{11}\text{C}]$ ラクロブライドと $[^{11}\text{C}]3\text{NMPB}$ をもちいる PET 検査が可能となった。

なお本研究は、平成 13 年度と 14 年度の滝沢研究所研究助成を受けて実施したものである。

引用文献

- 1) Takahashi K., Murakami M., Miura S., Iida H., Kanno I., Uemura K. 1999. Synthesis and autoradiographic localization of muscarinic cholinergic antagonist (+)*N*-[¹¹C]methyl-3-piperidyl benzilate. *Appl. Radiat. Isot.* **50**:521-525.
- 2) Tsukada H., Takahashi K., Miura S., Nishiyama S., Kakiuchi T., Ohba H., Sato K., Hatazawa J., Okudera T. 2002. Evaluation of novel PET ligands (+)*N*-[¹¹C]methyl-3-piperidyl benzilate ([¹¹C](+)-3-MPB) and its stereoisomer [¹¹C](-)-3-MPB for muscarinic cholinergic receptors in the conscious monkey brain: a PET study in comparison with [¹¹C]4-MPB. *Synapse* **39**:182-192.
- 3) Iwata R., Pascali C., Bogni A., Miyake Y., Yanai K., Ido T. 2001. A Simple loop method for the automated preparation of [¹¹C]raclopride from [¹¹C]methyl triflate. *Appl. Radiat. Isot.* **55**:17-22.
- 4) Iwata R., Pascali C., Bogni A., Yanai K., Kato M., Ido T., Ishiwata K. 2002. A combine loop-SPE method for the automated preparation of [¹¹C]doxepin. *J. Labeld. Compd. Radiopharm.* **45**:271-280.