

[¹⁸F]臭化フルオロメチル合成モジュールの開発と性能評価

寺崎一典*¹、石川洋一*²、小豆島正典*³、白石秀夫*⁴、後藤祥子*⁵、岩田 錬*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 RI センター
980-8579 宮城県仙台市青葉区荒巻字青葉

*³岩手医科大学歯学部歯科放射線学講座
020-8505 岩手県盛岡市内丸 19-1

*⁴岩手医科大学医学部整形外科学講座
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

[¹¹C]ヨウ化メチルは¹¹C-メチル化標識化合物を合成するための重要な反応前駆体として、さまざまなPET用¹¹C-標識化合物が比較的手軽に自動合成され診断に利用されている。しかし、実用的にはより長い半減期を有する¹⁸F (半減期: 110分) 標識化合物が求められており、臨床的な有効性が定まった¹¹C-標識をフッ素18で置き換える試みが進められている。

[¹⁸F]フルオロアルキレーション法はフッ素18標識トレーサーを開発する方法として、現在、[¹⁸F]臭化フルオロメチル ([¹⁸F]FMeBr)^{1,2}、[¹⁸F]ヨウ化フルオロメチル ([¹⁸F]FMeI)³および[¹⁸F]フルオロメチルトリフレート ([¹⁸F]FMeOTf)⁴などの[¹⁸F]フルオロメチル化剤が開発され、その応用が進められている。これらフルオロメチル化剤は、フッ素が高い電子吸引性を有するため、求核基質に対する反応性は[¹¹C]ヨウ化メチルよりも高いことが予想され、[¹¹C]ヨウ化メチルと同様な標識反応によって、¹⁸F-標識化合物合成に応用できる可能性を持っている。

FDGはPET腫瘍診断の中心的役割を果たしているが、生理的にグルコース代謝の盛んな脳、心筋への集積あるいは、炎症組織への集積、膀胱への排泄など腫瘍組織以外の集積がPET診断を困難にしている。一方、[¹¹C]コリンはFDGを補完・補助する薬剤として、脳腫瘍、前立腺癌^{5,6}などに対する臨床的有用性が示されているが、上述した理由で[¹⁸F]フルオロメチルコリン ([¹⁸F]FCH)⁷、[¹⁸F]フルオロエチルコリン ([¹⁸F]FEC)⁸などのフルオロコリン誘導体の開発が進められている。特に、コリントランスポーター、コリンキナーゼのリン酸化

の最適な基質として、コリンとの構造的類似性の高い ^{18}F FCHが、 ^{11}C コリンと同様の代謝動態を示すことが報告されており⁹⁾、今後の進展が期待されている。

本研究では、既に評価の定まった ^{11}C -標識体に対応する種々の ^{18}F -標識化合物を開発することを目的として、 ^{18}F 臭化フルオロメチル体を合成する超小型モジュールおよび制御プログラムを開発し、この性能評価のため、ポストFDGとして期待されている ^{18}F FCH合成を試みた。

2 方法

2.1 ^{18}F フルオロメチルコリン合成システムの構築

2.1.1 ^{18}F 臭化フルオロメチル合成装置

自動合成装置システムは、 ^{18}F 製造ユニット（住友重機械工業社製）、新たに製作した ^{18}F FMeBr合成モジュールおよびコリン合成モジュールから構成されている（図1）。 ^{18}F FMeBrモジュールはPEEK製のブロック内部に細い流路を有し、そこにガスや液体の流れを制御するための超小型電磁バルブを組み込んでマニホールド化した。これによって電磁バルブ間をつなぐ細いテフロンチューブが不要になり、モジュールと外部との接続は排ガスライン、ヘリウム導入ラインのみである。加熱反応には従来のホットエアーを吹き付ける加熱方式の代わりにリング状の小型赤外線ヒーターを採用した。このヒーターは波長約1-1.5 μm の近赤外線を発生し、水の赤外線の吸収特性によりガラス製反応容器内の溶媒を効率よく加熱することができる。これにより、ホットエアー式の加熱方法に比べ構成部品を大幅に減らすことができた。また、試薬の注入はマイクロポンプを使用し、設定容量を正確に繰り返し注入することができる。

2.1.2 制御プログラムの開発

本装置の制御には、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、各種OSのプラットフォームに対応し、独自のグラフィカルインターフェースを持つLabViewを使用して開発した。また、合成装置本体のインターフェースからPCへはUSB接続のみで、取り外しや設置も容易になった。図2にPC上の操作画面を示す。

^{18}F FMeBrを経て ^{18}F FCHに至る合成経路を図3に示す。 ^{18}F FCH自動合成は大きく分けて以下の4ステップから構成される。

1. クリプトフィックス222 (K.222)を溶解したアセトニトリル溶液に ^{18}F KFを加え、ヘリウムを流しながら180°Cに加熱し溶媒を留去する。
2. アセトニトリルを加え、完全に水分を除去するため加熱留去を繰り返し、 ^{18}F KFとK.222とのコンプレックスを生成する。
3. 残渣に CH_2Br_2 を加え、加熱しながらフッ素化反応を行い ^{18}F FMeBrを生成する。
4. 反応混合物をシリカカラムに移送して ^{18}F FMeBrを分離・精製する。
5. これをHe気流下で移送し、Sep-Pakカートリッジ上の反応基質とフルオロメチレーション反応を行う。

特に、ステップ2は ^{18}F フッ素化反応を行う無水化処理を行う重要な過程である。 ^{18}F Fイオンを含む K_2CO_3 水溶液はK.222を溶解したアセトニトリル溶液に加えられ、加熱留去後、アセトニトリルを加え、水とアセトニトリルの共沸を利用することによって、Heを吹き付けて飛ばす操作を2回繰り返し、反応溶媒中から完全に水分を除いた。また、溶媒留去の自動制御は、反応容器のテフロンセプタムに刺した細い注射針のヘリウム流速の状態を監視し、溶媒留去の際の急激な流速の変化を検出することで行った。また、加熱温度の制御は円形の赤外線ヒーター中心に設置した温度センサーで検知し、設定温度でフィードバック制御を行いヒーターのON/OFFを調節した。

2.2 ^{18}F フルオロメチルコリン合成

2.2.1 ^{18}F 臭化フルオロメチルの合成

ターゲット容量0.7 mLを有する照射容器に ^{18}O -濃縮水を充填し、20 kg/cm^2 のヘリウムガス加圧下、電流値30 μA 、10-20分間のプロトンビームを照射した。ターゲット水を回収し、陰イオン交換樹脂（Sep-Pak QMC、Waters）を通し、保持された ^{18}F Fイオンを0.6 mLの33mM K_2CO_3 で脱離し、 ^{18}F KFとして反応容器に導入し

た。次に、K.222のアセトニトリル溶液1.5 mLを加え、Heを流しながら180°Cで加熱乾燥した。このとき完全に水分除去を行うため1 mLのアセトニトリルを加え乾燥し、この操作を2回繰り返した。その後80°Cまで冷却し、臭化メチレン1 mL ($\text{CH}_3\text{CN}:\text{CH}_2\text{Br}_2$, 95:1, v/v)を添加し、80-100°Cで5分間のフッ素化反応させ、室温まで冷却させた後、このガス状の反応物をヘリウム気流下 (50 mL/min)、4連に連結したSep-Pakシリカカラム (Waters) に導入し、 $^{18}\text{F}]\text{FMeBr}$ を分離精製後、コリン合成装置に移送した。

2.2.2 ^{18}F フルオロメチルコリン合成

あらかじめ200-400 μL の2-ジメチルアミノエタノール(DMAE)を注入したSep-Pak C18と分離精製のための陽イオン交換樹脂カートリッジ(Sep-Pak Accell CM, Waters)を連結しておき、ここにヘリウムガス気流下 (50 mL/min)、 $^{18}\text{F}]\text{FMeBr}$ をSep-Pakカートリッジに通してフルオロメチレーション反応させた。反応後の $^{18}\text{F}]\text{FCH}$ の精製は次のように実施した。まず、10 mLのメタノールを流し、続いて、注射用蒸留水で洗浄後、最終精製物を10 mLの生理食塩水で溶出し、0.22 μm のフィルターを通して滅菌ガラスバイアルに充填、 ^{18}F フルオロメチルコリン注射剤を得た。

3 結果および考察

開発した $^{18}\text{F}]\text{FMeBr}$ 合成モジュールは、赤外線ヒーターを有する加熱反応ユニットと小型電磁バルブから成る合成ブロックから構成されている。このモジュールの特徴としては、PEEK製のブロック内に流路を形成し、超小型電磁バルブで流れを制御しているため、従来用いられてきた細いチューブの配管が不要になるとともに、配管の接続箇所が減るため放射性ガスの漏れリスクが小さくなり、さらに、マニホールド化によって装置が超小型化になる、などが挙げられる。モジュール全体の大きさは22×19×12 cmであり、ホットセル内の空きスペースを有効に利用できる。

水の赤外線の吸収特性は、3 μm と6 μm に吸収率の高いピークを有しており、用いた赤外線ヒーターは波長約1.2 μm の近赤外線を発し、液体の加熱には極めて有効に作用し、ガラス製反応容器の溶媒を直接加熱することが出来る。これによって、180°C (反応容器外部温度) までの到達時間はわずか2分30秒と、きわめて応答性の良い加熱が可能になった。さらに、光加熱はコントローラーからの応答性が良く、微妙な温度制御が可能になった。従来用いてきたホットエアーを吹きつける加熱方法に比べ、エアーコンプレッサーやニクロム線ヒーターを必要とせず、装置は格段に小型化され、エアー吹き付けによる激しい騒音が発生しないなどの優れた特徴を有している。

図4に自動合成のシーケンス動作中のヘリウム流速と反応容器温度および放射能変化のトレンドグラフを示す。ヘリウム流速は反応容器の内圧の増減に対応して変化している。すなわち、反応溶媒の加熱によって容器内部の圧が上昇し、流速が低下してくる。次いで、溶媒が留去されるにしたがって流速は上昇し、溶媒乾固の直前には急激に流速が急激に回復してくる。溶媒移送の自動制御は、この流速の変化量を検出して行った。また、溶媒溜去後に反応容器温度の急上昇を抑えるため、完全に乾固する前にアセトニトリルを加えることにより反応容器内温度を低く抑えた。フッ素化は、混在する水分が反応活性種であるフッ素アニオンと強固な水素結合を形成し、その反応性の低下を招くため、このステップは慎重に実施されなければならないが、本プログラムによって成功裏に達成されることを確認した。

フッ素化により生成した $^{18}\text{F}]\text{FMe}_2\text{Br}$ の固相抽出は、Sep-Pakシリカカートリッジ (Waters) を4連に接続して行い、ヘリウム流速50mL/minのときに4-10分の範囲に放射能のピークが検出された。この $^{18}\text{F}]\text{FMe}_2\text{Br}$ の放射能ピークを分取し、コリン合成装置に導入した。 CH_2Br_2 は14-18分に溶出することから、 $^{18}\text{F}]\text{FMeBr}$ と CH_2Br_2 はこの精製条件で完全に分離が可能であった。ガス状 $^{18}\text{F}]\text{FMeBr}$ のカラムからの溶出をカラム下流のテフロンチューブ上で、放射能センサーを用いて検出した場合、わずかな放射能 (数十 μCi 程度) であるため、放射能センサーで検出できないことから、シリカカラムの4つ目の最終カラムの濃縮された放射能をモニターした。

フッ素化反応は本合成の最も重要な過程である。特に、反応温度は $^{18}\text{F}]\text{FMeBr}$ の合成収率に大きな影響を及ぼすことが推定される (表1)。フッ素化温度をアセトニトリルの沸点 (81.6°C) 付近の80°Cに設定した場合、

合成収率は20%程度で、95°Cにすることで43%に収率が改善することから、フッ素化反応の効率に関しては、温度が重要なファクターであり、高温のほうがより高効率で $[^{18}\text{F}]\text{FMeBr}$ を生成できるという結果を得た。さらに高温にすることにより収率の改善が見込めると思われるが、この温度は反応容器の外部温度を示しており、内部温度とはかなりの隔りがある。したがって、内部温度を正確にモニターし、 $[^{18}\text{F}]\text{FMeBr}$ の温度に対する安定性をも考慮して最適温度を決定しなければならない。

今回のフルオロコリン合成は $[^{11}\text{C}]\text{コリン}$ 合成と同じオンカラム法¹⁰⁾、すなわち、フロー系の反応を採用し、合成収率よりも簡便性、迅速性を重視している。したがって、 $[^{18}\text{F}]\text{FMeBr}$ より反応性の高い前駆体である $[^{18}\text{F}]\text{FMeOTf}$ の使用は有効であると思われる。Sep-Pakカートリッジ内を流れる $[^{18}\text{F}]\text{FMeBr}$ の捕集効率を良くするためには、キャリアーガスであるヘリウムの流速をできる限り低くすることが望ましいが、 $[^{11}\text{C}]\text{コリン}$ の合成条件を採用し、その流速を50 mL/minとした。

表1に示すように、 $[^{18}\text{F}]\text{FCH}$ 合成は $[^{18}\text{F}]\text{FMeBr}$ を $[^{18}\text{F}]\text{FMeOTf}$ に変換せず $[^{18}\text{F}]\text{FMeBr}$ を直接用いた結果である。Br体のままDMAEと反応を行った場合では、トラップ効率が悪く約30%である。一方、DMAEの使用量を0.2mLから0.4mLに増やすと、その捕集効率は約30%から45%に改善することからDMAE量に依存していることが推測された。しかし、DMAEは腫瘍の取り込みにおいてコリンと競合することが報告されており¹¹⁾、コリン製剤へのDMAE混入量は洗浄条件（量、種類）を最適化することにより混入量を最小限に抑える必要があり、その確認にはガスクロマトグラフ装置などによる評価が不可欠となる。

一方、高収率を目指すためには $[^{18}\text{F}]\text{FMeBr}$ を、より反応性の高い反応前駆体である $[^{18}\text{F}]\text{FMeOTf}$ に変換することが要求される。これは200°C程度に加熱したAgOTfカラムを通過させることで $[^{18}\text{F}]\text{FMeBr}$ から簡単に変換される。岩田らの報告⁴⁾によると $[^{18}\text{F}]\text{FCH}$ の合成収率は、 $[^{18}\text{F}]\text{FMeBr}$ で63%、 $[^{18}\text{F}]\text{FMeOTf}$ で80%と非常に高い。本成績は、 $[^{18}\text{F}]\text{FMeBr}$ に基づいて20-43%、 $[^{18}\text{F}]\text{FCH}$ では4-10%の収率であった。本合成システムを用いた場合でも、 $[^{18}\text{F}]\text{FMeOTf}$ 使用では約2-4倍となり、文献値とほぼ同様な収率が得られるものと推察される。

まとめ

マニホールドタイプの $[^{18}\text{F}]\text{FCH}_2\text{Br}$ 合成ミニチュアモジュールを用い、自動合成条件の最適化によって高収率で $[^{18}\text{F}]\text{FCH}_2\text{Br}$ を合成することができた。その精製には使い捨てシリカカラムを用い、 $[^{18}\text{F}]\text{FCH}$ を簡便、迅速に合成することが可能になった。さらなる高収率化のためには $[^{18}\text{F}]\text{FMeOTf}$ への変換が不可欠である。また、本モジュールは他の $[^{18}\text{F}]\text{臭化フルオロアルキル}$ 体の合成に対しても適応性が高いと考えられた。

文献

- 1) Coenen HH, Colomiso M, Schüller M, Stöcklin G. Preparation of N.C.A. $[^{18}\text{F}]\text{CH}_2\text{BrF}$ via aminopolyether supported nucleophilic substitution. *J Label Comp.* 1986;23:587-595.
- 2) Bergman J, Eskola O, Lehtikoinen P, Solin O. Automated synthesis and purification of $[^{18}\text{F}]\text{bromofluoromethane}$ at high specific radioactivity. *Appl Radiat Isot.* 2001 Jun;54(6):927-33.
- 3) Zheng L, Berridge MS. Synthesis of $[^{18}\text{F}]\text{fluoromethyl iodide}$, a synthetic precursor for fluoromethylation of radiopharmaceuticals. *Appl Radiat Isot.* 2000 Jan;52(1):55-61.
- 4) Iwata R, Pascali C, Bogani A, Furumoto S, Terasaki K, Yanai K. $[^{18}\text{F}]\text{fluoromethyl triflate}$, a novel and reactive $[^{18}\text{F}]\text{fluoromethylating agent}$: preparation and application to the on-column preparation of $[^{18}\text{F}]\text{fluorocholine}$. *Appl Radiat Isot.* 2002 Sep;57(3):347-352.
- 5) Hara T, Kosaka N, Shinohara N, Kondo T. PET imaging of brain tumor with [methyl- ^{11}C]choline. *J Nucl Med.* 1997;38:842-847.
- 6) Hara T, Kosaka N, Kishi H. PET imaging of prostate cancer using carbon-11-choline. *J Nucl Med.* 1998;39:990-995.
- 7) DeGrado TR, Coleman RE, Baldwin SW. $[^{18}\text{F}]\text{fluorocholine (FCH)}$ as a oncologic PET tracer: evaluation and in murine prostate cancer xenograft model (abstract). *J Nucl Med.* 2000;41:231p.

- 8) Hara T. ¹⁸F-fluorocholine: a new oncologic PET tracer. J Nucl Med. 2001;42(12):1815-1817.
- 9) DeGrado TR, Coleman RE, Wang S, et al. Synthesis and evaluation of ¹⁸F-labeled choline as an oncologic tracer for positron emission tomography: initial findings in prostate cancer. Cancer Res. 2000;61:110-117.
- 10) Pascali C, Bogni A, Iwata R, Cambiè M, Bombardieri E. [¹¹C]Methylation on a C18 Sep-Pak: a convenient way to produced [N-methyl-¹¹C]choline. J. Labelled Cpd Radiopharm. 2000;43:195-203.
- 11) Rosen MA, Jones RM, Yano Y, Budinger TF. Carbon-11 choline: Synthesis, Purification, and brain uptake inhibition by 2-dimethylaminoethanol. J Nucl Med. 1985;26:1424-1428.

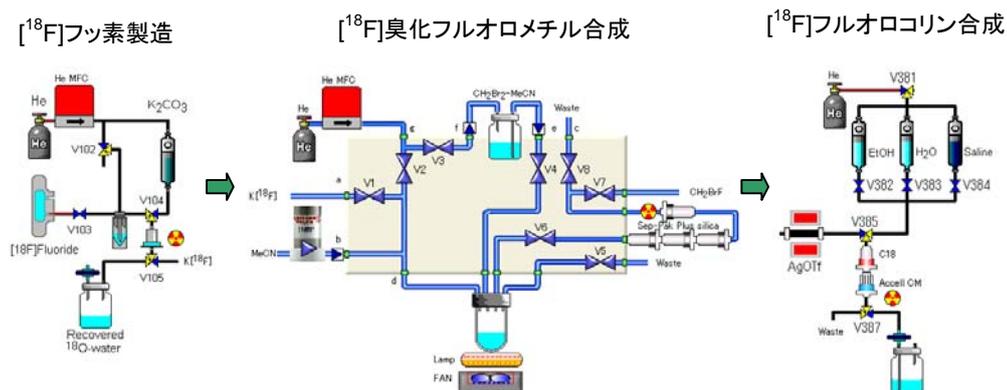


図1 ¹⁸Fフルオロメチルコリン合成経路

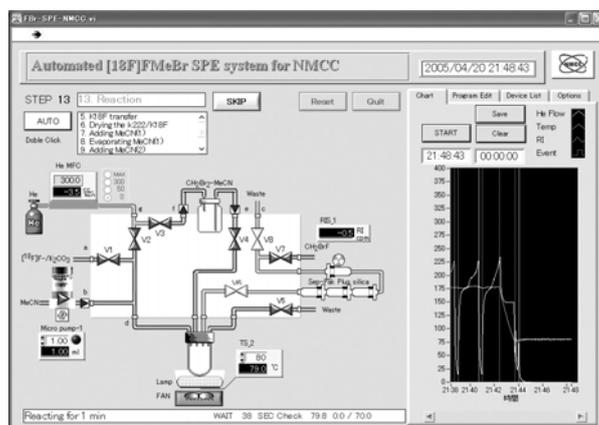


図2 操作画面

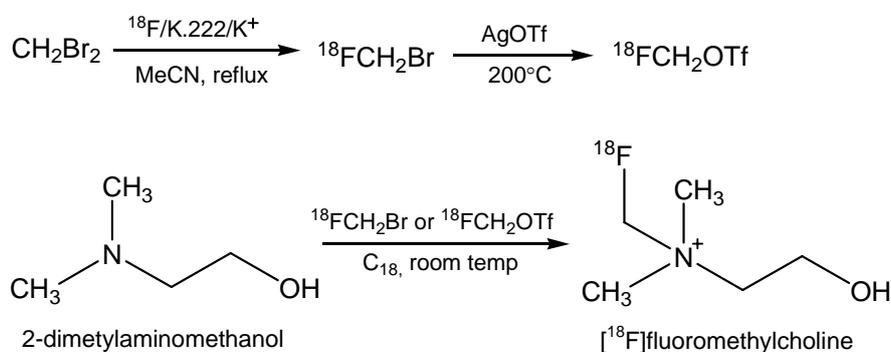


図3 自動合成フローチャート

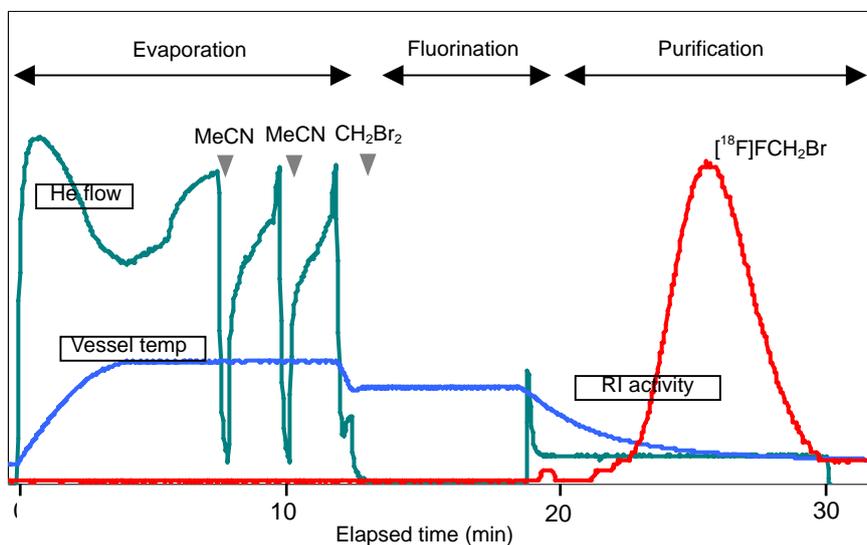


図 4 $[^{18}\text{F}]\text{FMeBr}$ の自動合成トレンドグラフ

表 1 $[^{18}\text{F}]$ フルオロコリン合成結果

^{18}F - injected	Reaction temp.	$[^{18}\text{F}]\text{FMeBr}$ yield	Precursor (DMAE)	Trapping yield	$[^{18}\text{F}]\text{FCH}$ yield (EOB)
100 mCi	80°C	19.9%	0.2 mL	29.7%	
115 mCi	90°C	24.4%	0.2 mL	29.4%	4.3%
82.6 mCi	95°C	43.3%	0.4 mL	45.1%	10.3%