

# ループ標識法を用いた $^{11}\text{C}$ ラクロプライド合成と臨床利用のための品質評価

寺崎一典、高橋和弘\*1、小豆島正典\*2、後藤祥子\*3、岩田 鍊\*4

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

\*1 秋田脳血管研究センター  
010-0874 秋田市千秋久保田町 6-10

\*2 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

\*3 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

\*4 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

## 1 はじめに

小型サイクロトロンで製造される 4 核種の中で炭素 11 は標識の自由度が高いことから最もよく用いられ、神経機能測定用トレーサを中心として多くの  $^{11}\text{C}$ -標識化合物が開発されてきた。実際の合成にとっては、 $^{11}\text{C}$ を化合物中に直接組み込む反応は合成ステップを多くし、また、短半減期 (20 分) の性質上、合成時間の制約を受けることから実用的ではない。このため $^{11}\text{C}$ ヨウ化メチルを用いた  $^{11}\text{C}$ -メチル化標識法が一般に行われ、事実  $^{11}\text{C}$ -標識化合物のほとんどがこの方法によるものである。近年、より高い反応性を有するメチル化剤である $^{11}\text{C}$ メチルトリフレートが用いられるようになり<sup>1)</sup>、合成収率が向上し、室温下の標識反応が可能になったことから、液体中の反応に代わって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として使い、そこにガス状の標識前駆体を流してチューブ内の少量の反応液に捕集・反応するフロー型の標識合成法 (ループ法) が開発された<sup>2-3)</sup>。ループ法の特徴としては、この標識反応には温度制御が不要であり、合成装置の構造・機構が簡素化されること、オンライン的に反応が進行するため装置の自動化に適しているなどがあげられ、さらに最大の特徴は合成準備、後処理に対する作業者の省力化に大きく貢献することにある。

$^{11}\text{C}$ ラクロプライドはベンザマイド系の抗精神病薬ラクロプライドの  $^{11}\text{C}$  標識体でドーパミン  $\text{D}_2$  受容体測定用の標準的なりガンドである。従来用いられてきた $^{11}\text{C}$ メチルスピペロンが  $\text{D}_2$  レセプターと選択的に結合するのではなく  $5\text{-HT}_2$  レセプターにも親和性を持ち、通常の PET 測定時間内では不可逆的結合をするのに対して、 $^{11}\text{C}$ ラクロプライドは、より選択性が高く、 $\text{D}_2$  受容体との結合は PET 測定時間内に平衡に達し、可逆的結合をする。したがって、薬剤分布の時間変化を解析することにより結合と解離の速度定数をもとめる

ことができる。また、その結合は内因性ドーパミンと競合するため、ドーパミン神経に焦点をあてた脳賦活マーカーとして応用されている。さらには、抗精神病薬や抗うつ病薬による受容体の占有率測定応用、例えば、統合失調症治療薬の錐体外路障害などの副作用評価と有効な最小投与量の決定を対象として $^{11}\text{C}$ ラクロプライドによる PET 測定が実施されている<sup>4)</sup>。

前報において、既存の合成装置に $^{11}\text{C}$ メチルトリフレート電気炉の設置および合成プログラム開発を行い、ループ標識法による $^{11}\text{C}$ ラクロプライドおよび $^{11}\text{C}$ (+)-N-メチル-3-ピペリジルベンジレート( $^{11}\text{C}$ 3NMPB)<sup>5)</sup>の合成が可能になった<sup>6,7)</sup>。本報では PET 臨床利用を目的としてループ標識法による $^{11}\text{C}$ ラクロプライドの合成の自動化の適正化を図るとともに、合成した薬剤が PET 標識薬剤品質管理基準を満たし、高品質と安全性が確保されているか評価した。

## 2 方法

### 2.1 試薬の調整

試薬はすべて特級以上をそれ以上の精製を行わずに使用した。

#### 2.1.1 デメチルラクロプライドトリフレートの調整

ラクロプライド酒石酸塩 (Research Biochemical International) を 30%臭化水素/酢酸で溶解し、3 時間加熱還流した後溶媒を除き、水 10-20 mL とアンモニアを数滴加え、得られた遊離デメチルラクロプライドを塩化メチレンで抽出した。次に、トリフルオロメタンスルホン酸を加え乾固させ、エタノールとイソプロピルアルコールの混液で再結晶し、デメチルラクロプライドトリフルオロスルホン酸塩を得た。

#### 2.1.2 銀トリフレートカラムの調整

3.0 g の銀トリフレート(AgOTf) (Aldrich) を 60 mL のジエチルエーテルで溶解し、Graphac GC 6.0 g (80-100 mesh、Alltech) を少量ずつ攪拌しながら加え減圧乾燥した後、石英砂を等容量で混合する。内径 4 mm × 長さ 70mm のパイレックスガラス管に約 300 mg を充填し、両端を石英ウールで塞ぎ、これを AgOTf カラムとした。使用直前のコンディショニングは 200°C の加熱下でヘリウム (50 mL/min) を 20 分間流した。

#### 2.1.3 $^{11}\text{C}$ ラクロプライドの合成

自動合成装置は前回報告した住友重機製の合成装置を用いた<sup>6,7)</sup>。主要な改良部分は以下のとおりである。AgOTf カラムを 200°C に加熱できる小型の電気炉、予備加熱された AgOTf の酸化分解を防ぐための He 導入ライン、および反応容器となるループと反応物を HPLC 試料のリザーバーへ洗い流すためのシリンジポンプを設置し、自動合成装置の制御プログラムの変更を行った。 $^{11}\text{C}$ ヨウ化メチル合成以降の系統図を図 2 に、全体の反応式を図 1 に示した。

合成の詳細は次のとおりである。前駆体のデメチルラクロプライド・トリフレート塩 (1 mg) をメチルエチルケトン 60  $\mu\text{L}$  に溶解し、1.2 M 水酸化ナトリウム 2  $\mu\text{L}$  を加えアルカリ溶液 (PH 8) とした後、全量をループ(内径 0.75 mm×50 cm のテフロンチューブをループ状にしたもの)に注入保持させ、装置に装着した。続いて、サイクロトロンのプロトン照射 (電流値: 30 $\mu\text{A}$ 、照射時間: 30 分間) によって得られる $^{11}\text{C}$ CO<sub>2</sub> を-10°C 程度に冷却した 0.1M 水酸化リチウムアルミニウム 0.5mL に捕集し、常法によってヨウ化水素酸にて $^{11}\text{C}$ ヨウ化メチルを得る。この後、ヘリウム気流下 (30 mL/min)、200°C に加熱した AgOTf カラムを通し、 $^{11}\text{C}$ メチルトリフレートへの変換を行い、これをループに導入、メチル化反応を行った。 $^{11}\text{C}$ ヨウ化メチルの合成から  $^{11}\text{C}$ -メチル反応はオンライン的に連続した反応として進行する。次に、ループ内の反応混合物を 1 mL の HPLC 溶媒で洗い出し、高速液体クロマトグラフィー (HPLC) カラムに導入し、分離精製した。 $^{11}\text{C}$ ラクロプライドのフラクションを小型ロータリーエバポレータのフラスコに分取後、25%アスコルビン酸注射液 0.5 mL を添加し、溶媒を減圧留去し、8 mL の注射用生理食塩水で溶解後、回収し、滅菌フィルター (0.22  $\mu\text{m}$ ) を通して滅菌ガラスバイアルに充填した。HPLC 分取条件は以下のとおりである。

カラム：YMC-Pack ODS-A-323

溶離液：10 mM リン酸/アセトニトリル=70/30

流速：4 mL/min UV：254 nm

## 2.2 品質検査

[<sup>11</sup>C]ラクロプライド注射液の品質検査の実施にあたっては、日本アイソトープ協会医学薬学部会サイクロトロン核医学利用専門委員会「サイクロトロン核医学利用専門委員会が成熟薬剤と認定した放射性薬剤の基準と臨床使用の指針（2001年改訂）」<sup>8</sup>を基本とし、「東北大学サイクロトロン製造放射性薬剤管理基準」を参考にした。以下に検査項目、規格値および試験頻度を示す。

項目	規格値	頻度
1 比放射能 <sup>a</sup>	7.4 GBq/μmol (200mCi/μmol)	毎合成後
2 放射能半減期	19～21分。20分後の放射能残存率は47～53%である。	毎合成後
3 性状	透明	毎合成後
4 粒子の有無	認めない	毎合成後
5 エンドトキシン試験 <sup>b</sup>	0.25 EU/mL以下	毎合成後（事後）
6 無菌試験 <sup>c</sup>	菌の発育を認めない	毎合成後（事後）
7 PH	5～7	毎合成後
8 放射能核種純度	511 keV にピークを認める。	毎合成後
9 前駆体混入量(デスメチル体)	0.5 μg (1.5 nmol)	毎合成後
10 担体混入量（投与時の最大量）	10 μg (30 nmol)	毎合成後
11 放射化学的純度	95%以上	毎合成後

<sup>a</sup> 紫外吸光度検出器による液体クロマトグラフ法で求めたラクロプライド量と本品の注入放射能より算出する。

<sup>b</sup> 全自動血液培養検査装置「BACTEC 9050」（日本ベクトン・デッキンソン社）を用いて7日間の培養の後、好気性菌と嫌気性菌の存在を判定する。

<sup>c</sup> 感度 0.25 EU/ml の LAL(Limulus Amebocyte Lysate)（和光純薬工業）試薬を使用し、ゲル化転倒法にて判定する。

液体クロマトグラフ法による放射化学純度、ラクロプライド量の測定条件は次のとおりである。

カラム：YMC A-303 (5 μm 250×4.6 mm I.D.)

移動相：10 mM リン酸/アセトニトリル=65/35 流速：1.0 mL/min

検出器：UV (254 nm), NaI 検出器 注入量：50 μL

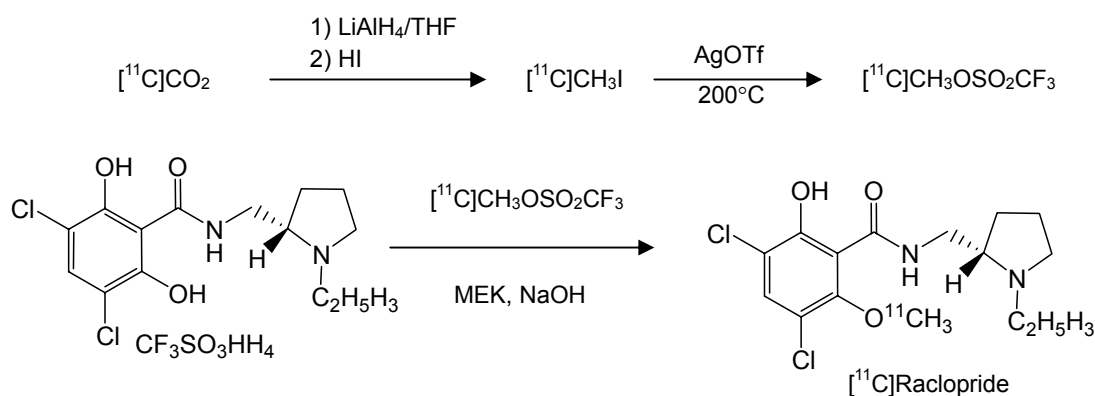


図 1 [<sup>11</sup>C]ラクロプライドの合成スキーム

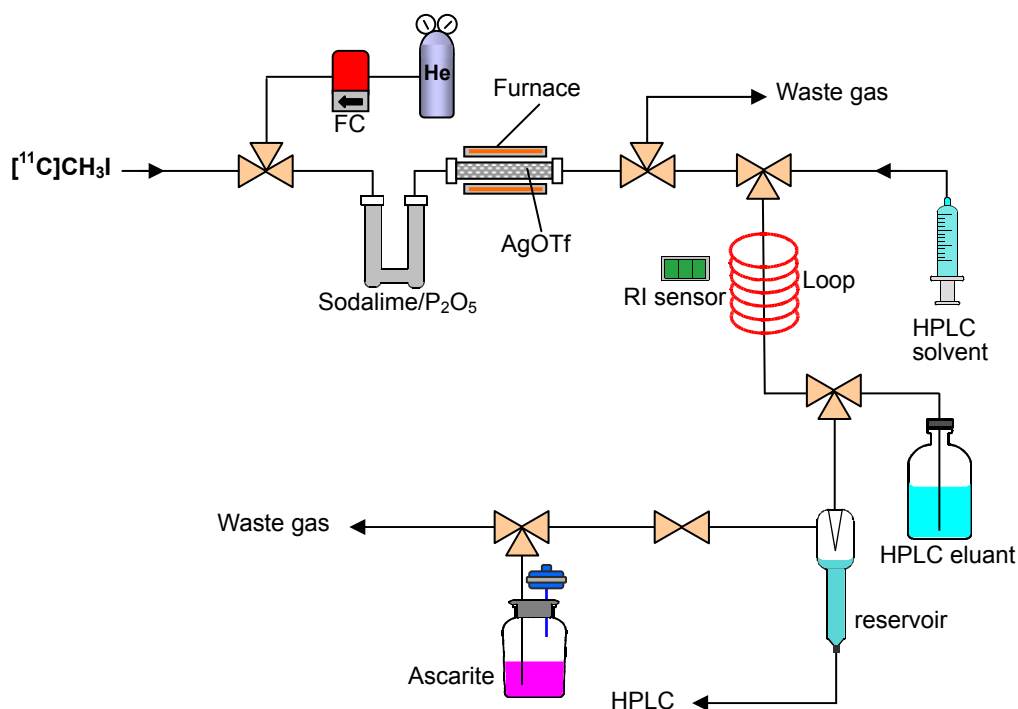


図2  $[^{11}\text{C}]$ メチルトリフレートの合成とループ法のフローチャート

### 3 結果および考察

#### 3.1 ラクロプライドの合成

ループ標識法は $[^{11}\text{C}]$ メチルトリフレートを標識前駆体として用いるため、迅速かつ室温下でも反応が進行する。一方、ループ内壁を反応基質溶媒であらかじめ濡らしておき、そこに $[^{11}\text{C}]$ メチルトリフレートを通すフロー式の反応であるため、液相に気体をバブリングする方法に比べ、気体と液体の相互作用の効率は当然低くなり、その結果として合成収率を多少犠牲にすることになる。

照射容器からの $[^{11}\text{C}]\text{CO}_2$ 回収に4分間、HPLCによる分離・精製に14分間を要し、全合成時間は照射終了時から40分であった。表1に示すように合成収量は10–20 mCiと低く、合成収率も非常に低値であることが予想される。この量は通常のPET検査を行うには足るものであるが、前報にて最適化された合成条件で、約30 mCiの実収量が得られており、今回の収量は満足できる結果ではない。収率に及ぼすいくつかの問題点が明らかになった。 $[^{11}\text{C}]$ ヨウ化メチルから $[^{11}\text{C}]$ メチルトリフレートへの変換は通常、 $200^\circ\text{C}$ 程度に加熱したAgOTfカラムに $[^{11}\text{C}]$ ヨウ化メチルを30–50 mL/minの低速度で通過させることで達成されるが、トレンドグラフから確認される充分量の $[^{11}\text{C}]$ ヨウ化メチルが効率良く $[^{11}\text{C}]$ メチルトリフレートへと変換されていない可能性が考えられた。このため、AgOTfの再調整を試み、酸化分解を防ぐ目的で加熱とHeによって十分にコンディショニングを実施したが、実収量の改善には至らなかった。さらに想定される原因として、 $[^{11}\text{C}]$ ヨウ化メチルの導入速度を制御可能な最小流量に設定(30 mL/min)しているものの、ループ導入バルブ切り替え時、瞬時に200 mL/min以上の流速になる。この結果ループ内から急激に反応溶媒が押し出された可能性も考えられた。反応基質量、反応溶媒の量・種類は前報と同一条件を用いているので上記の点を重点的に検討するためにも $[^{11}\text{C}]$ メチルトリフレートの生成量については評価する必要がある。

ループ内の反応混合物は1 mLのHPLC溶媒で洗い出され、HPLCポンプ入り口側のガラス製リザーバーに集め、そのままHPLCカラムに送り込むため、図3の分離プロファイルから明らかなようにピークはかなりブロードになる。従って原料と $[^{11}\text{C}]$ ラクロプライドとの分離能の低下をもたらし、目的物フラクションの分

取液量を増大させ製剤化に要する時間を長くする。リザーバー方式は構造が単純化である故に HPLC カラムへ空気の流入を留意することなしに試料を導入できる方式であるが上述のような欠点を持っている。より簡便に分離能を損なわない方法としては、反応混合物を固相抽出カートリッジに一旦保持させ、少量の溶媒で溶出し、高圧 6 方バルブの切り替えで直接導入する方法が理想的である。しかし、このバルブの設置に関わる、設置場所や新たな高圧注入シリンジの増設の問題が生じてくる。

### 3.2 品質検査

合成成績（表 1）に示したように、比放射能および放射化学的純度が若干低い傾向をしめしたが、PET 薬剤管理基準をすべて満たし臨床利用が可能な品質を有しているのが確認された。比放射能の低下をきたす非放射性担体混入の原因としては、ターゲットから来るもの、使用する試薬に由来するものがあり、特に、水素化リチウムアルミニウムが空気中の二酸化炭素を吸収するため生じる場合が多い。近年、 $\text{LiAlH}_4$  を使用しない気相中で $^{11}\text{C}$ ヨウ化メチル合成する方法が用いられてきた。この場合、より高比放射能体が得られることから、このシステムの導入 UV の結果から、反応基質の混入があったが、PET 臨床には岩手医科大学サイクロトロンセンター放射性薬剤管理基準への収載と岩手医科大学倫理審査の承認を得る必要があり、これらは逐次実施する予定である。

表 1  $^{11}\text{C}$ ラクロプライド合成成績

収量 mCi	放射化学的純度 %	比放射能 mCi/ $\mu\text{mol}$	PH	エンドトキシン試験	無菌試験	
					好気性	嫌気性
19.5	98.8	1109	5	—	—	—
11.1	96.9	918	5	—	—	—
12.5	98.6	980	5	—	—	—

照射時間：30分 電流値：30  $\mu\text{A}$  合成時間：40~43分  
担体混入量：11.5-16.4 nmol 前駆体混入量：0.01-1.22 nmol

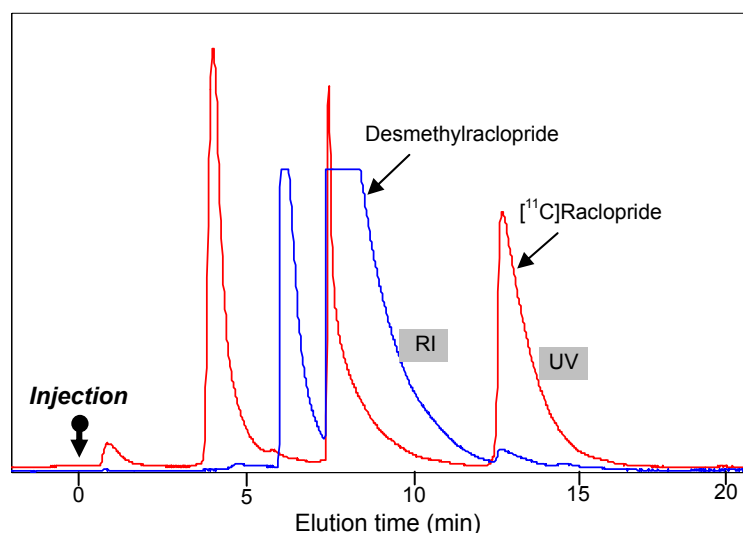


図 3 HPLC 分取プロフィール

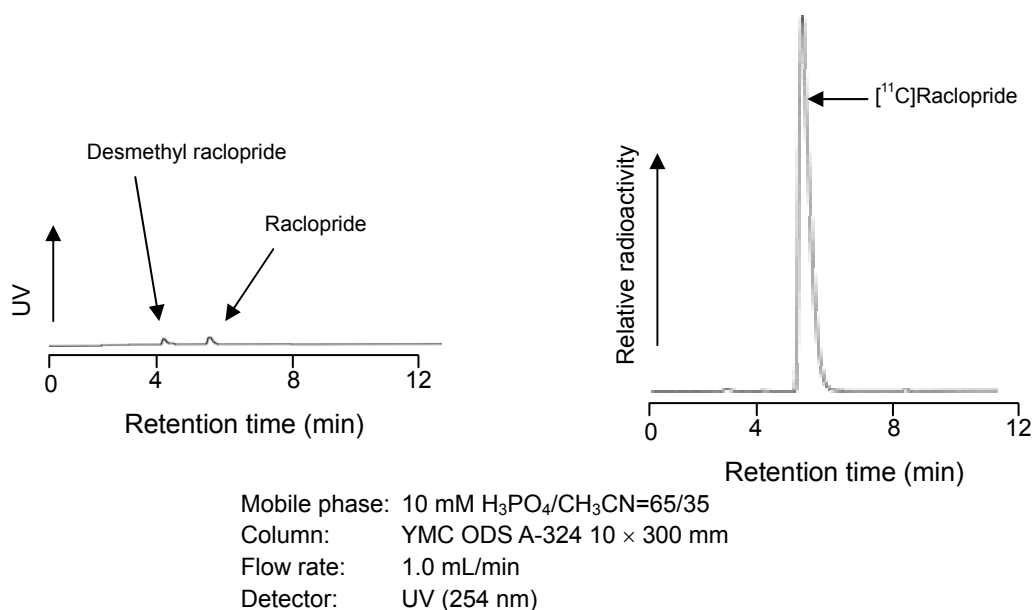


図 2 HPLC による<sup>[11C]</sup>ラクロプライドの分析

#### 4 まとめ

PET 臨床使用を目的としてループ標識法を用いて<sup>[11C]</sup>ラクロプライドの合成を行った。低収量の原因として<sup>[11C]</sup>ヨウ化メチルから<sup>[11C]</sup>メチルトリフレートへの変換の不具合による可能性が考えられた。合成条件の最適化、および HPLC への試料導入法の改良の必要と思われる。3 回の合成結果からこの注射剤は PET 標識薬剤品質管理基準すべての項目を満たし、その安全性と品質が確保されていることを確認した。

#### 文 献

- 1) Jewett DM. A simple synthesis of <sup>[11C]</sup>methyl triflate. *Appl. Radiat Isot.* 1992; 43: 1383-1385.
- 2) Iwata R, Pascali C, Bogni A, Miyake Y, Yanai K, Ido T. A simple loop for the automated preparation of <sup>[11C]</sup>raclopride from <sup>[11C]</sup>methyl triflate. *Appl Radiat Isot.* 2001; 55: 17-22.
- 3) Iwata R, Pascali C, Bogni A, Yanai K, Kato M, Ido T. and Ishiwata, K. A combine loop-SPE method for the automated preparation of <sup>[11C]</sup>doxetin. *J. Labeld. Compd. Radiopharm.* 2002; 45: 271-280.
- 4) Farde L, Wiesel FA, Halldin C, Sedvall G. D2 dopamine receptor occupancy in schizophrenic patients treated with antipsychotic drug. *Arch Gen Psychiat.* 1988; 45: 71-76.
- 5) Takahashi K, Murakami M, Miura S, Iida H, Kanno I, Uemura K. Synthesis and autoradiographic localization of muscarinic cholinergic antagonist (+) N-<sup>[11C]</sup>methyl-3-piperidylpiperidyl benzilate as potent radioligand for positron emission tomography. *Appl Radiat Isot.* 1999; 50: 521-525.
- 6) 寺崎一典、高橋和弘、佐々木基仁、岩田 錬. <sup>[11C]</sup>メチルトリフレートによるループ標識合成を目的とする<sup>[11C]</sup>ヨウ化メチル自動合成装置の改造例. *Radioisotopes.* 2003; 54: 12-34.
- 7) 岩田 錬、寺崎一典、古本昌造、高橋和弘. ループ法による<sup>[11C]</sup>メチルトリフレートからの<sup>[11C]</sup>(+)-N-メチル-3-ピペリジルベンジレート自動合成法の開発. *NMCC 共同利用研究成果報文集.* 2001; 10: 257-251.
- 8) サイクロトロン核医学利用専門委員会が成熟技術として認定した放射性薬剤の基準(2001年改定). *Radioisotopes.* 2001; 50: 38-104.