

令和 3 年 5 月 18 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2020

課題番号：17K10362

研究課題名(和文) 固相抽出法によるF-18標識薬剤用 Disposable 合成システムの構築

研究課題名(英文) Construction of a disposable synthesis system for F-18 labeled tracers by solid phase extraction method

研究代表者

仲 定宏 (Sadahiro, Naka)

大阪大学・医学部附属病院・薬剤師

研究者番号：60599843

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、Positron Emission Tomography検査用薬剤の固相抽出(SPE)カラムと専用カセットを用いた自動合成化について検討を行った。その結果、¹⁸F標識薬剤(¹⁸F-FBPA、¹⁸F-PSMA-1007及び¹⁸F-DPA-714)において、SPEカラムによる分離精製又は製剤化を達成することができた。さらには、¹⁸F-FBPA及び¹⁸F-PSMA-1007においては、専用カセットと自動合成装置による合成システムを確立した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまで煩雑であったPET検査用薬剤の標識合成において、SPEカラムと自動合成装置専用カセットを用いた合成手順を確立したことで、薬剤間での高速液体クロマトグラフや濃縮装置の共用がなくなり、また、合成後の各装置の洗浄も不要となった。その結果、シンプルかつ安定した薬剤合成を達成し、さらには、合成後の片付けなどによる作業者の被ばく低減にも大きく貢献できると考えられた。この成果により、サイクロトロン保有施設において、合成装置1台で他薬剤を簡便かつ安全に製造することが可能となり、さらなるPET検査の普及に繋がることを期待している。

研究成果の概要(英文)：In this study, we investigated the automated synthesis of tracers for Positron Emission Tomography inspection using a solid phase extraction (SPE) column and a dedicated disposable cassette. As a result, the separation and purification of fluorine-18 (¹⁸F)-labeled tracers (¹⁸F-FBPA, ¹⁸F-PSMA-1007, and ¹⁸F-DPA-714) using SPE columns was achieved. Furthermore, in ¹⁸F-FBPA and ¹⁸F-PSMA-1007, we established a synthesis system using a dedicated disposable cassette and an automated synthesizer.

研究分野：放射化学、分析化学

キーワード：PET ¹⁸F 固相抽出 カセット式自動合成装置

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

Positron Emission Tomography (PET)薬剤を保険診療として利用するためには、自動合成装置が医療機器として承認されている必要があり、注射液としては、 $[^{18}\text{F}]$ FDG 及び $[^{13}\text{N}]$ アンモニアのみとなっている。これらは、合成装置本体のみで構成されており、全ての材料が単回使用となっている。一方、これまでに多くの有用な PET 薬剤が開発されているが、その大半は、複数の装置を共用して合成されている。すなわち、サイクロトロンで製造した放射性核種(^{11}C 、 ^{13}N 、 ^{18}F など)を標識前駆体と反応させ、得られた目的物を高速液体クロマトグラフ(HPLC)にて分離精製する。さらに、分離精製された目的物に含まれる HPLC の溶離液(主に有機溶媒や緩衝液)を濃縮装置により留去し、生理食塩液などで再溶解することで注射液としている(図 1)。

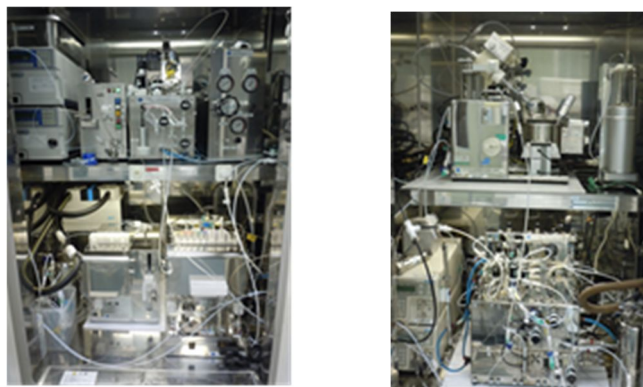


図 1. CFN 多目的合成装置(左)及び C 多目的合成装置(右)

この方法においては、HPLC や濃縮装置の準備及び合成にかかる手間や時間、共用する配管や材料への残留物に対する洗浄方法の検討及びその効果の確認など煩雑化が避けられず、また、目的物の分取時や溶媒除去完了の判断などは目視で確認しなければならないことから不安定かつ再現性がとりづらいことが問題となっている。さらには、共用する箇所については、できる限り早く洗浄することが望ましいことから、片付け時の被ばくが少なからず発生する。また、物理的にも複数の装置を設置するための場所の確保や保守点検費用の高騰なども問題となっている。これらの問題のほとんどが、HPLC や濃縮装置などの共用箇所をなくすことで解決できると考えられる。

そこで申請者は、単回使用の専用カセットを用いて $[^{18}\text{F}]$ FDG 注射液を合成する PET 検査用薬剤合成装置「FASTlab」において、アミロイド検出用薬剤 $[^{18}\text{F}]$ フルテメタモル注射液が追加承認されたことに着目した。本薬剤の合成は、HPLC 及び濃縮装置を使用しない方法、すなわち単回使用のカートリッジカラムを用いた固相抽出(Solid Phase Extraction, SPE)法を駆使することで、完全単回使用化を実現している。この方法の導入により、合成準備や合成にかかる時間を大幅に短縮し、かつ簡便で再現性の高い薬剤合成が可能となった。しかし、SPE 法を用いるためには、 $[^{18}\text{F}]$ 標識薬剤ごとに標識前駆体や目的物の化学的物性などを考慮し、使用する試薬や SPE カラムの種類、加水分解及び分離精製条件などを確立する必要がある。また、SPE 法と組み合わせるカセット式の合成装置自体も多くの施設では導入されていないこともあり、まだ国内では普及していないのが現状であった。

2. 研究の目的

大阪大学医学部附属病院においては、すでにカセット式合成装置が導入されていることから、これを用いて、有用性が注目されている複数の $[^{18}\text{F}]$ 標識薬剤($[^{18}\text{F}]$ FBPA、 $[^{18}\text{F}]$ FAMT、 $[^{18}\text{F}]$ DPA714 及び $[^{18}\text{F}]$ PSMA-1007) について SPE 法を用いた完全単回使用の新規合成法を確立し、簡便かつ再現性に優れた薬剤供給を目指す。さらには、大阪大学医学部附属病院の治験薬 GMP に準拠した PET 薬剤製造施設において、最適化した条件にてカセット化を実現することで PET 薬剤の医療機器承認の加速化を目指す。

3. 研究の方法

$[^{18}\text{F}]$ FBPA 及び $[^{18}\text{F}]$ FAMT については、 $[^{18}\text{F}]$ F₂ ガス法を用いて、2 段階の反応を経て標識合成を行い、その反応液からの目的物の分離精製、又は製剤化のための固相抽出条件について検討を予定した(図 2)。申請者は、すでに $[^{18}\text{F}]$ FBPA については、HPLC 及び濃縮装置を用いた合成実績があり、反応溶媒(TFA 及び酢酸)、未反応の $[^{18}\text{F}]$ CH₃COOF 及び前駆体(BPA)、さらには、副生成物として $[^{18}\text{F}]$ 位置異性体などが生成することを確認していたため、逆相系カラム(C2、C18 及び HLB)、弱陽イオン交換(CM)カラムまたは強陽イオン交換(IC-H、MCX)を用いた $[^{18}\text{F}]$ FBPA の検討をはじめに実施した。

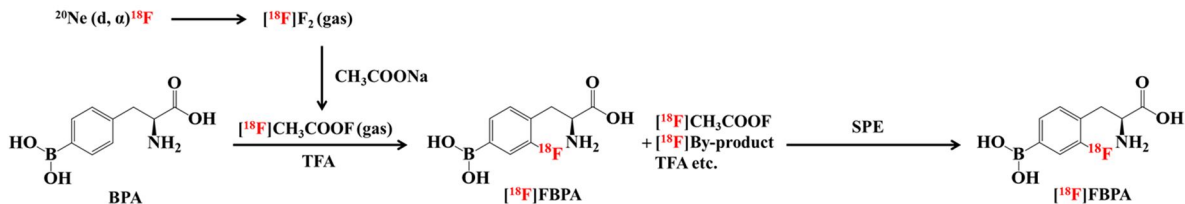
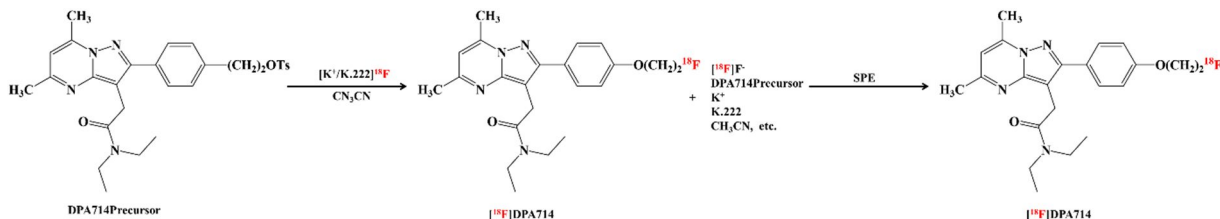


図 2. 固相抽出法を用いた^[18F]FBPA の合成スキーム

^[18F]DPA714 においては、^[18F]F-法によりふっ素化後、反応液について^[18F]FBPA 等と同様に SPE カラムを用いた分離精製及び製剤化について検討した(図 3)。また、当初は、これに加え^[18F]FDOPA の検討も予定していたが、より PET 薬剤としての有用性が期待された^[18F]PSMA-1007 について検討することに変更した。

図 3. 固相抽出法を用いた^[18F]DPA-714 の合成スキーム



4. 研究成果

^[18F]FBPA 分取工程の固相抽出条件の検討においては、前駆体である BPA と FBPA を各 SPE カラムで分離を試みたが、pKa がほぼ同じであるということなどから、どちらか一方を分取することはできなかった。そこで、分取にはこれまで通りに HPLC を用い、HPLC 分取後の溶液について SPE カラムにて製剤化した結果、逆相(C2、C18 及び HLB)及弱陽イオン交換(CM)カラムでは、FBPA を十分に保持することができなかったが、強陽イオン交換(IC-H 及び MCX)カラムでは、95%以上の保持を確認した(表 1)。

表 1. 各固相抽出カラムにおける FBPA の捕集効率

固相抽出カラム	捕集効率(%)
tC2	87±2
tC18	89±6
HLB	79±3
MCX	> 99
IC-H	> 99
CM	42±4

しかし、IC-H では、検討した全ての回収溶媒においてその回収率は~15%程度であり、一度カラムに捕捉された目的物を溶出することは困難であった。一方、MCX においては、0.1mol/L りん酸緩衝液(pH7.0)15 mL を通じることで、80%以上の FBPA を回収できることを確認した。また、りん酸緩衝液の液量及びその pH を可変させて回収率の検討を行った結果、pH8.0 で液量 20 mL を用いたホットテストにより、95±1%の回収率で^[18F]FBPA を得ることに成功した(表 2)。

表 2. 0.1 mol/L りん酸緩衝液の各 pH における^[18F]FBPA の回収率

0.1 mol/L りん酸緩衝液	溶出液量 (mL)			
	5	10	15	20
溶出率(%)				
pH 7.0	50±1	76±1	87±0	92±0
pH 8.0	64±4	88±1	94±1	95±1

さらに、上記の SPE 部を合成装置に反映させることで、濃縮装置を使用しない新たな合成カセット及びプログラムを構築することに成功した。また、^[18F]FAMT については、^[18F]FBPA の検討結果より、同じことが想定されたため、^[18F]F₂ からの SPE カラムによる精製は困難であると判断し、^[18F]F-法での合成のための前駆体及び標識合成法の検討を実施したが、最終的に SPE カラムを用いた合成法を確立することはできなかった。

^[18F]DPA-714 については、^[18F]F-から目的物を標識した後、その反応液を精製することを想定

していたが、実際に反応液を HPLC で測定したところ、目的物付近に多くの不純物が存在し、これを分取することは困難であると考えた（図 4）。

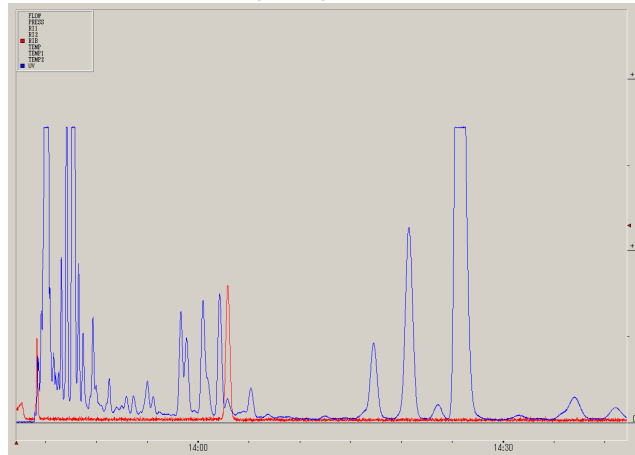


図 4. ^{18}F -を用いた ^{18}F DPA-714 標識後の HPLC 分取クロマトグラム

そこで、2 プロモエチルトリフレートを用いて ^{18}F フルオロエチル化によるふっ素化条件を確立後、この反応液について SPE カラムでの分離精製を試みた（2 プロモエチルトリフレートを 0-ジクロロベンゼンに溶解し、これを ^{18}F と反応させることで ^{18}F フルオロエチルプロマイドを生成し、これを DMF に溶解した前駆体と反応させることで目的物を得た）。その結果、 ^{18}F フルオロエチルプロマイドを用いた標識法では、目的物以外の不純物がほとんど存在せず、SPE カラムを用いた分離精製が可能であり、tC2 カラム及び 30%のエタノール水溶液を用いることで ^{18}F DPA-714 を回収率 31%で得られることを確認した(図 5)。

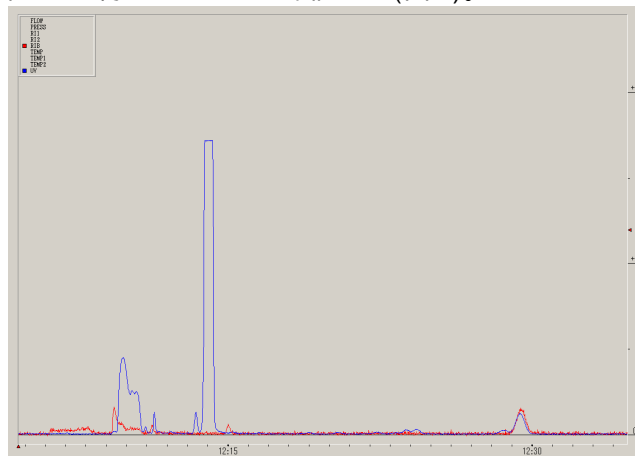


図 5. ^{18}F フルオロエチプロマイドを用いた ^{18}F DPA-714 標識後の HPLC 分取クロマトグラム

^{18}F PSMA-1007 においては、前立腺がんの診断薬剤としてその有用性が注目されていたことから、追加で検討を実施した。これについては、すでに他の合成装置による報告がなされていたため、申請者が使用するカセット式合成装置での最適化を行った。その結果、カセット式合成装置 MPS-200 において固相抽出カラム(C18+PS-H)を用いた専用カセット及び合成プログラムを構築し、放射化学的収率 40%以上、放射化学的純度 95%以上で ^{18}F PSMA-1007 を得ることができた（図 6）。

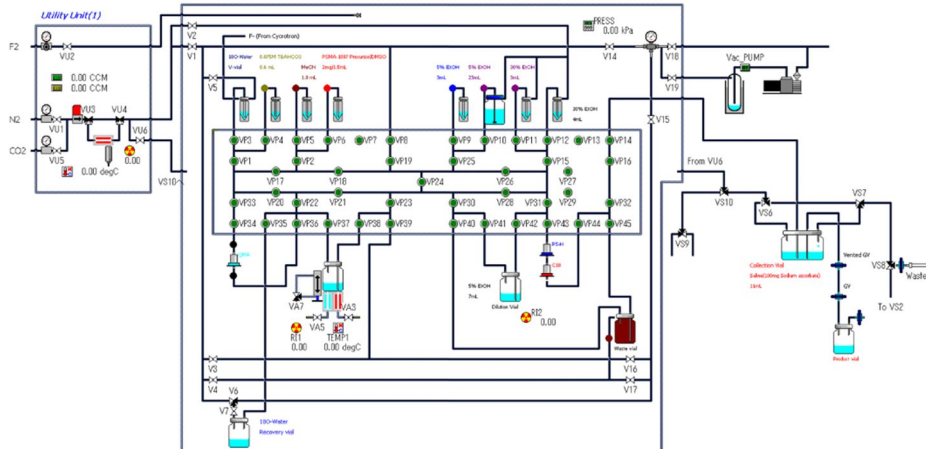


図 6. ^{18}F PSMA-1007 合成ダイアグラム

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Naka Sadahiro, Watabe Tadashi, Kurimoto Kenta, Uemura Motohide, Soeda Fumihiko, Neels Oliver C., Kopka Klaus, Tatsumi Mitsuki, Kato Hiroki, Nonomura Norio, Shimosegawa Eku, Cardinale Jens, Giesel Frederik L., Hatazawa Jun	4. 巻 5
2. 論文標題 Automated [18F]PSMA-1007 production by a single use cassette-type synthesizer for clinical examination	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 EJNMMI Radiopharmacy and Chemistry	6. 最初と最後の頁 1-17
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1186/s41181-020-00101-0	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 栗本 健太
2. 発表標題 簡便な製剤化を目指した4-Borono-2-[18F]Fluoro-L-Phenylalanineの固相抽出条件の検討
3. 学会等名 第59回 日本核医学会学術総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 仲 定宏
2. 発表標題 Synthesis of [18F]PSMA-1007 injection using single use cassette for GMP production
3. 学会等名 SNMMI 2018 Annual Meeting（国際学会）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 仲 定宏
2. 発表標題 [18F]FBPAの大量合成を目指した1802ガス単回使用による[18F]F2製造システムの構築
3. 学会等名 第15回 日本中性子捕捉療法学会 学術大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 仲 定宏
2. 発表標題 F-BPA合成法の改良と革新
3. 学会等名 第58回 日本核医学会学術総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 仲 定宏
2. 発表標題 固相抽出カラムを用いた4-ボロノ-2-[18F]フルオロ-L-フェニルアラニンの製剤化に関する検討
3. 学会等名 日本薬学会 第139年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 仲 定宏
2. 発表標題 Study of Separation and Formulation Using Solid-Phase Extraction Method to Produce [11C]DPA713 and [18F]DPA714 as a Translocator Protein Ligands.
3. 学会等名 33rd Annual Congress of the European Association of Nuclear Medicine (国際学会)
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	金井 泰和 (Kanai Yasukazu) (60397643)	大阪薬科大学・薬学部・助教 (34413)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------