## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 5 年 6 月 1 5 日現在

機関番号: 11301

研究種目: 基盤研究(C)(一般)

研究期間: 2020~2022

課題番号: 20K08070

研究課題名(和文)気液マイクロフロー反応による高品質110標識プローブの迅速合成システムの開発

研究課題名(英文) Development of a rapid synthesis system for high-quality 11C-labeled probes by gas-liquid microflow reaction

#### 研究代表者

石川 洋一(ishikawa, yoichi)

東北大学・サイクロトロン・ラジオアイソトープセンター・助手

研究者番号:60361200

交付決定額(研究期間全体):(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文):11C-標識プローブのマイクロスケール合成法の開発を目指し、 先ず冷却装置により [11C]メチルトリフレートを濃縮捕捉し、加熱気化後Heガスで効率的(>85%)に回収し濃縮する方法を確立した

この[11C]MeOTfを用いて[11C]PIBのマイクロスケール合成法を開発を行った。反応溶媒CHOと反応前駆体の添加法を種々検討し、11C-標識 プローブを0.5~4 µ Lのスケールで99%以上の放射化学的収率で合成する方法を見出した。目的物は分析用HPLCカラムで迅速に精製できた。

研究成果の学術的意義や社会的意義
11C標識プロープ合成で最も頻繁に使用されている11Cヨウ化メチルを、より反応性の高く不可欠な11C標識メチルトリフレートに変換し数千倍に濃縮してマイクロ流路に導くことで、従来の合成法に比べ大幅にスケールダウンした気液マイクロフロー合成法を開発した。またその自動合成装置を試作した。このマイクロフロー合成法により、使用する前駆体量を1/100近くまで減らし、効率的で高品質な11標識プロープを再現性良く合成できるようになった。

研究成果の概要(英文): To develop a microscale synthesis method for 11C-labeled probes, we first established a method to concentrate and capture [11C]methyl triflate by a cooling system, and then efficiently collect and concentrate it (>85%) with He gas after heating and vaporization. We have found a method to synthesize 11C-labeled probes in >99% yield on a scale of 0.5 to 4  $\mu$ L by various methods, including the addition of reaction solvent CHO and reaction precursors. The target product was rapidly purified on an analytical HPLC column.

研究分野: 医歯薬学

キーワード: PET診断プローブ

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等に ついては、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

#### 1.研究開始当初の背景

[11C]MeI 自動合成装置を 1980 年代初頭に開発し、多くの 11C 標識プローブ合成を行ってきた。新規 11C 標識プローブの開発にとどまらず、標識合成の自動化を念頭に合成法の簡便化にも取り組み、オンライン標識法、オンカラム標識法、ループ 固相抽出法などを世界に先駆けて開発・採用してきた。近年マイクロリアクター合成が注目され、我々も[18F]フッ素イオンによるマクロリアクター合成に積極的に取り組むとともに、11C 標識に関しても基礎的な研究を行ってきた。我々のマイクロリアクター合成への取り組みの特徴は、実用的な合成法開発の観点から、出発物質である[18F]フッ素イオンや[11C]MeI の効率的で迅速な濃縮法を優先的に開発してきたことである。[11C]MeI 濃縮に関しては、ペルチェ冷却を採用した冷却装置を開発し、20 μL 以内に濃縮することに成功した。この濃縮装置で得られた[11C]MeI を少量の溶媒で回収して[11C]ラクロプライドのマイクロリアクター合成に成功したが、移送による反応溶液の増加により分析用 HPLC カラムによる精製はできなかった。濃縮した[11C]MeI を He で移送して[11C]MeOTf に変換しオンカラム的に[11C]メチオニンを小スケールで合成したが、市販の固相抽出カートリッジ(Sep-Pak Light tC18)を使用したため、He の流速はそれほど低くする必要がなかった。本研究で初めて極低流速での回収と移送を試みる。

我々が目指す PET 診断用の標識プローブ合成は、できるだけ反応スケールを小さくして高品質な目的物を製造で迅速な合成である。冷却濃縮した[110]メチルトリフレートをマイクロ流路内で反応させることで標識前駆体を大幅に削減して、そのため精製が容易になり、結果として高品質の 110 標識プローブが迅速に合成可能になる。

PET 診断用標識プローブのマイクロリアクター合成は、[¹8F]フッ素イオンによる ¹8F 標識プローブの合成に関する研究がほとんどである。[¹¹C]MeI を適当な溶媒に溶解させてフロー合成した報告があるが、概念実証研究であり、その実用性はほとんどないと言える。我々の開発する方法は、¹¹C 標識プローブのルーチン合成を目的に自動合成される[¹¹C]MeI を高反応性の[¹¹C]メチルトリフレートに変換しそのまま出発物質とし、これを濃縮してマイクロ流路に導く実用的な方法であり、このような手法での開発の報告はなされていない。本研究でマイクロフロー合成が効率よく可能になれば、世界で初めての実用的な[¹¹C]MeI のマイクロリアクター合成となる。

#### 2. 研究の目的

[110]Mel を用いる標識反応において使用する試薬を大幅に削減することで、高品質な 110 標識プ ローブを迅速に合成することを目指す。すでにループ標識法では気体中に存在する[110]Mel と チューブ内壁に捕捉されている前駆体溶液とが効率的に反応することが実証されているが、こ の気液反応をマイクロ流路内で行う試みは、我々の知る限りこれまで報告されていない。 その理由の一つは、流路に存在する前駆体溶液が極端に少なく、また反応溶媒が揮発減少し率 的に反応させることが困難なためと推測される。そこで我々は、[11C]Melを[11C]MeOTfに変換 し少量の低流速 He で取り出し、マイクロ流路を流れる前駆体溶液と接触させることで効率的に 反応させることができると考える。本研究では、[11C]Mel の滞留時間を最小限にするため、変 換反応のための試薬である銀トリフレート(AgOTf)カラムをマイクロ化し、[11c]MeOTfによる 11C 標識プローブ合成法も開発する。前駆体などの標識反応に使用する試薬の量を減らすことで、 反応後に必要な分離精製を容易にするとともに、より化学的純度の高い <sup>11</sup>C 標識プローブを得 ることが可能になる。分離精製に小さな分析用の HPLC カラムを使用して ¹¹C 標識プローブの精 製を行い、迅速な分離精製を目指す。また、より一層の迅速化と効率化を達成するために、反 応液の移送を伴わない HPLC カラムへの注入法、すなわちインジェクターループを反応のマイク 口流路とし、バルブの切り替え操作だけで迅速かつ効率的に反応混合物をカラムに導入するオ ンラインシステムを開発する。

### 3. 研究の方法

本研究には2種類の標識法で合成を行った。一つはアミロイドイメージング剤である Ptiisburgh compound-B ([11C]PIB)を冷却ループ法で行う[11C]MeOTf との標識合成と超低温冷却捕集で高濃縮した[11C]MeOTf を超低流速で移送し標識合成を行うオンカラム法。

図 1. [<sup>11</sup>C]PIB合成スキーム

## (1)標識反応用のマイクロ流路と標識反応の最適化

単純な2つの流路がT字あるいはY字で合流するタイプのマイクロチップでは層流が支配的で

あるため気液混合が進みづらい。メチル化反応に加熱が必要なく気液接触面積を大きくできる内径 0.25~mm のピークチュープをマイクロ流路として検討する。この流路内に前駆体溶液を通して内壁を濡らす程度に冷却保持して粘性を高め標識反応を試みる。前駆体を保持してオンカラム反応を行う場合は、高比表面積・高気孔率をもつ多孔質体のモノリスを充填剤として使用する。このマイクロ流路に[110]MeI からオンライン変換された[110]MeOTf や、さらに超低温冷却して濃縮捕集した[110]MeOTf を流速  $20 \sim 0.1~\text{mL/min}$  程度の He 気流で通して、最適な標識方法を確立する。いずれの方法でも、使用する前駆体液量は 10~µL 以内を目指す。これまでの経験から、反応溶媒のスケールが 10~µL 以内であれば溶媒の分離への影響は無視できる程度であり、分析用の HPLC カラム (Inertsil ODS4 4.6x250~mm) で十分高い分離が期待できる。

(2)マイクロ AgOTf カラムとヒータの開発

空容積をできるだけ小さくしたキャピラリーカラムを試作し、最高の変換効率と最小の滞留時間を与える AgOTf カラムを決定する。

## (3) オンラインシステムの試作

2つの6方バルブを組み合わせて、オンライン標識法を自動的に実行できるシステムを試作する。この移送を伴わない方法により液量を増やすことなく HPLC カラムに反応液を全量効率よく注入できる。システムは、 [¹¹C]MeOTf 変換カラム・ヒーター、[¹¹C]MeOTf 冷却濃縮部、HPLCポンプ・検出器システム、分離フラクション捕集部を一体として自動的に制御する装置として試作・開発する。

### 4. 研究成果

(1) 11C-標識プローブのマイクロスケール合成法の開発を目指し、先ず少量の前駆体溶液の気液混合の効率を上げるために、従来のループ法(テフゼルチューブ ETFE 1.58mm(内径 0.75mm x 1000mm)をピークチューブ PEEK 0.79mm(内径 0.25mm x 1000mm)に替えて標識反応に用いた。反応溶媒は反応収率に優れているシクロヘキサノン(CHO)とした。前駆体溶媒濃度 0.04~0.03mg(4~3  $\mu$ L)を PEEK チューブ内に注入した。反応溶媒が数  $\mu$ L と非常に微量な為に室温捕集では[ $^{11}$ C]MeOTf 移送 He ガスにより反応溶媒がほぼ気化してしまい気液反応できない。そこで、ペルチェ冷却加熱モジュールで - 15 で冷却し[ $^{11}$ C]MeOTf を 20mL/min 捕集後に室温まで加熱し 1 分間反応させた。(冷却ループ法 )HPLC 溶離液 200  $\mu$ L で溶出させ、HPLC で精製分取した。前駆体溶液(4  $\mu$ L、0.04mg)反応から[ $^{11}$ C]PIB の溶出まで約 15 分を要し、1 GBq の実収量が得られた。[ $^{11}$ C]MeOTf トラップ率は 85%以上であった。

冷却ループ法は簡便な合成法だが、さらに微量の前駆体溶液の使用は[11C]MeOTf 容量(>50 mL)が大き過ぎて、チューブ内での接触時間が短く反応効率が顕著に低下する。

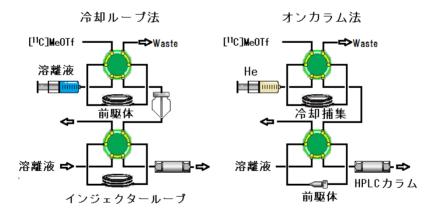


図2. オンラインシステム系統図

次に、[ $^{11}$ C]MeOTf 冷却濃縮でオンカラム合成を検討した。[ $^{11}$ C]MeOTf をマイナス 90 に冷却したチューブ内に捕集し、これを加熱気化させ He ガス ( $^{0.1}$  mL/min)で前駆体( $^{1}$   $^{1}$  L)を注入した固相カラム ( $^{0}$  OPTI-GUARD 1x15 mm 40  $^{1}$  m  $^{1}$  で標識反応を行い、HPLC で精製分離した。

前駆体溶液 (1 μ L、0.01mg) 反応から [11C] PIB の溶出まで約 20 分を要し、平均 0.588 GBq の実収量が得られた。比放射能は 平均 55 GBq/μ moL であった。

前駆体溶液 ( $0.5\,\mu$ L、0.005mg) では、収量が半減した。[ $^{11}$ C]MeOTf は微量の水の存在下で容易に失活し分解する。マイクロスケール標識反応で十分に乾燥させることが非常に重要である。冷却装置により濃縮捕捉した[ $^{11}$ C]MeOTf を用いて、11C-標識プローブを $0.5\sim4\,\mu$ L のスケールで 99%以上の放射化学的収率で合成する方法を見出した。目的物は分析用 HPLC カラムで迅速に精製できた。

今後、マイクロリアクター合成で、少量のエタノール製剤として製剤化することで、臨床応用 にも使用できる可能性が示唆された。 (2) マイクロ AgOTf カラムと加熱用電気炉を試作した。(図3) 従来の低熱膨張ガラス管(硼珪酸硝子 PYREX 外径 6(内4) x 160mm)から、マイクロカラムとして外径の同じ毛細管(キ

ャピラリー)ガラス管(外径 6(内1.5) x 160mm)の硼珪酸硝子 PYREX を使用した。メチルトリフレートへの変換反応試薬(AgOTf)の充填量を約 1/7 とマイクロ化した。[110]MeI 変換反応時の滞留時間は流速50mL/min から 20mL/min に変更した。これにより変換元の[110]MeI 全量を変換するに2~3倍の時間が掛かった。また、AgOTf充填量少なくしたことで繰り返し使用できる回数は大幅に減少した。

(3)本研究ではオンライン標識法を自動的に行う超低温冷却で[¹¹C]MeOTfを濃縮捕集し2つの6方バルブを組み合わせた装置を設計し試作した。(図4)装置は超低温で冷却濃縮(スターリング冷凍機)・加熱気化装置、[¹¹C]MeOTfガス移送シリンジモジュール、HPLCポンプ・検出器システムで構成されている。制御シーケンスはLabVIEWシステムで開発を行った。



図3. マイクロAgOTfカラムヒーター



図4. 合成装置概観 [110]MeOTf冷却濃縮装置(右) ペルチェ温冷反応装置とHPLCインジェクタ(左)

### 5 . 主な発表論文等

「雑誌論文 〕 計2件(うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件)

オープンアクセスとしている(また、その予定である)

〔雑誌論文〕 計2件(うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオーブンアクセス 1件)	
1.著者名	4 . 巻
Ryuichi Harada	13(3)
2.論文標題	5 . 発行年
The Role of Chirality of [18F]SMBT-1 in Imaging of Monoamine Oxidase-B	2022年
3.雑誌名	6.最初と最後の頁
ACS chemical neuroscience	322-329
	*****
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子)	査読の有無
10.1021/acschemneuro.1c00655	有
+ 1,70+7	
オープンアクセス	国際共著
オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	-
1.著者名	4 . 巻
Yuka Yokoyama	95
Tura Toroyalla	95
2.論文標題	5 . 発行年
Comparison of the binding characteristics of [18F]SNFT-1 and other tau imaging tracers to	2022年
Alzheimer's disease pathology	2022 1
3.雑誌名	6.最初と最後の頁

1-SS-45

査読の有無

国際共著

有

# 〔学会発表〕 計2件(うち招待講演 0件/うち国際学会 0件)

1	. 発表者名		
	原田 龍一		

オープンアクセス

2 . 発表標題 第二世代タウPETトレーサーの結合性比較

Japanese Pharmacological Society

10.1254/jpssuppl.95.0\_1-ss-45

掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子)

3.学会等名 第61回日本核医学会学術総会

4 . 発表年 2021年

# 1.発表者名 清水 悠暉

# 2 . 発表標題

OFF-target結合のない新規タウPETプローブ開発

3.学会等名 第61回日本核医学会学術総会

4.発表年 2021年

٢	図書〕	ı <u>≐</u> -	٠0	仕
ι	凶音		ľ	т

## 〔産業財産権〕

〔その他〕	
-------	--

<b>東北大学サイクロトロン・ラジオアイソトープセンター</b>	
tps://www.cyric.tohoku.ac.jp/kenkyu/yakugaku/	

6.研究組織

_ 6	.妍光紐緻		
	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
	岩田 錬	東北大学・サイクロトロン・ラジオアイソトープセンター・	
石 ラク 打 者	F 3	名誉教授	
	(60143038)	(11301)	

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
---------	---------