

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 13 日現在

機関番号：31201

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25461845

研究課題名(和文) 固相抽出法によるPET薬剤の製剤化の検討

研究課題名(英文) Formulation of PET radiopharmaceuticals using solid phase extraction method

研究代表者

寺崎 一典 (TERASAKI, Kazunori)

岩手医科大学・医学部・講師

研究者番号：60285632

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：数種のPET薬剤の製造に固相抽出(SPE)による製剤化法を実施し、SPEカートリッジの選択、HPLC分取液の希釈率、洗浄およびエタノール溶出の各工程を最適化した。エタノール含有量は2.5%(v/v)に設定した。ロータリーエバポレーター法とは異なり、いずれの薬剤も高いトラップ率、回収率が得られた。また、注射剤中のアセトニトリルなど残留溶媒は基準値以下だった。実用時間内で製剤の安定性、溶解性は十分に保持されており、2.5%のエタノール濃度は適切であると判断した。SPE法による製剤化は省力的、かつ効率的であることが示された。

研究成果の概要(英文)：Solid phase extraction (SPE) was used for the formulation of several PET radiopharmaceuticals as an alternative to the rotary evaporator methods. The SPE formulation process were optimized for dilution of the purified HPLC fraction with water, the selection of SPE cartridge, washing the cartridge with water, elution of the radiopharmaceutical with a small volume of ethanol and dilution with isotonic saline. The percentage of ethanol in the final solution was adjusted 2.5% (v/v) of volume. In all cases, a high radiochemical purity (>95%), residual organic solvent levels in the injectable solutions were below the recommended limits. The stability and the solubility of in the final solutions containing 2.5% of ethanol were maintained in practical time limit. The formulation by the SPE method enabled the efficiency and labor-saving in the manufacturing operation.

研究分野：核薬学

キーワード：PET 放射性薬剤 固相抽出

1. 研究開始当初の背景

固相抽出 (SPE: Solid Phase Extraction) は、主に化学分析の前処理として化合物を分離、あるいは濃縮するために用いられ、目的とする化合物と不純物とを物理・化学的性質に基づいて分離する方法である。PET 製剤への応用としては、現在、標準的に使用されているカセット型の FDG 製造例のように、製造の初期工程から製剤化に至るまで、複数の固相抽出カラムが使用されるなど、固相抽出は、もはや PET 薬剤製造にとって不可欠な手法になっている。

通常、PET 薬剤の製剤化は、標識反応物を高速液体クロマトグラフィー (HPLC) で目的化合物を分離・精製し、ロータリーエバポレーターで加熱・乾固し溶媒を除いた後、生理食塩水に溶解して製する (エバポレーター法)。しかしながら、この工程は製剤ごとに設定される条件が異なり、工程の複雑さから、経験的な積み上げに頼る部分も多く、再現性と信頼性を確保することが難しい。例えばこの工程は比較的時間を要し、一定の乾燥状態を得るのが難しく回収率は不安定である。また、乾固時に放射線分解の影響を受けやすいなど、安定な製造の障害となる多くの不確実要素を含んでいる。一方、SPE 法による製剤化は、小さな使い捨ての固相抽出カラムを使い、目的標識体を含む HPLC 分取液の精製が短時間で済み、精製物は少量のエタノールで回収され、そのまま投与可能なエタノール濃度に希釈して注射製剤とすることができる。さらに、一連の工程は完全自動化が可能であり、合成プログラムのパラメーターを大きく変更することなしに種々の薬剤に対応できる。また、エバポレーター法と異なり、SPE 法は PET 製剤 GMP (Good Manufacturing Practice) への適合性も高く、製造作業員の負担、放射線被曝を大幅に軽減できる方法として、今後確実に普及すると思われる。

2. 研究の目的

PET 用製剤で最も重要なことは、目的とする有効性と安全性が発揮されるように高度な品質が確保されていることであり、この観点から、PET 薬剤製造にとって製剤化は、品質に直接影響を及ぼす重要な最終工程である。PET 薬剤の製剤化は、通常、ロータリーエバポレーターを用い溶媒の濃縮乾固を経て注射剤を製するが、不安定な収率、放射線分解を受けやすい等、安定な製造を妨げる多くの不確実要素を含んでいる。一方、最終精製に SPE 法を適用することで、エタノール溶出液を投与可能なエタノール濃度に希釈して注射剤を製することができる。この方法は製剤の可溶化と安定性の保持に有効で、PET 製剤 GMP への適合性も高く、簡便、効率的である。本研究では、数種の PET 薬剤の製造に SPE による製剤化法を実施し最適化する。また、エタノール含有製剤の PET 臨床利用に向けた問題点を基礎的・系統的に明らかにする。

3. 研究の方法

臨床的有用性が高く、従来、エバポレーター法で実施されてきた数種の PET 製剤、 ^{18}F FRP-170 (低酸素細胞イメージング剤)、 ^{18}F AV-45 (アミロイドイメージング剤)、 ^{11}C PK11195 (末梢性ベンゾジアゼピンレセプターリガンド)、 ^{11}C PIB (アミロイドイメージング剤) を対象モデルとした。

^{11}C -標識トレーサーの合成は高反応性の標識前駆体 ^{11}C メチルトリフレートによるループ標識 (内径の小さなチューブ内での標識反応) 後、また、 ^{18}F -標識トレーサーは ^{18}F フッ素イオンによるフッ素化、加水分解後、それぞれ HPLC による分離・精製を行った。SPE による製剤化は、今回新たに作製した専用のモジュールにて実施する。カートリッジの選択、HPLC 分取液の希釈率、洗浄および

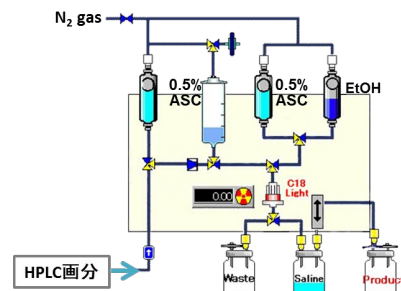


図 1 SPE 製剤化装置の系統図

エタノール溶出の各工程を最適化し、安定性 (純度) 溶解性の試験を実施し、薬剤ごとに最適なエタノール濃度を設定する。また、エバポレーターを用いた製剤化法と比較し、SPE 法の有用性を明らかにする。

4. 研究成果

(1) ^{11}C PIB および ^{11}C PK11195 の製剤化

^{11}C -標識薬剤の場合、その短半減期核種 ^{11}C (半減期: 20 分) ゆえに製剤化は迅速に実施されなければならない。通常、エバポレーター法では 10 分以上を要するのに対して、SPE 法では C18 カートリッジに通液を開始して 6 分以内に注射剤を得ることができる。しかし、カートリッジの微小容積に放射能が濃縮するため放射線分解が生じる傾向があり、特に、 ^{11}C PIB ではその影響が強く表れ、放射化学的純度の低下が確認された。このため、HPLC 分取液の希釈、洗浄液には 0.5% (v/w) アスコルビン酸ナトリウム液を用いた。その結果、注射用水を用いた場合に比べ、放射化学的純度はわずかながら改善した。また、エバポレーター法では乾燥後の残渣の溶解にはポリリソルベート 80 などの可溶化剤の添加を必要とするが、SPE 法を適用する場合は、エタノールを含有 (2.5% v/v) するので添加剤は不要となった。

(2) ^{18}F FRP-170

^{18}F FRP-170 は放射線分解を起こしやすく、特に、エバポレーター使用の際に分解が促進する、放射線分解防止に有効とされるアスコルビン酸の添加は逆に分解を助長することが報告されている。SPE 法を実施するにあたっては、 ^{18}F FRP-170 が比較的極性が高

く、逆相系の C18 ではトラップされにくいため、極性化合物の濃縮が可能なグラファイトカーボンを充填剤する ENVI-Carb (充填剤量: 100 mg) を適用した。この固相は活性炭にみられるようなミクロポアが存在しないため少量のエタノールで高い回収率が得られた。トラップ効率は、C18 を用いる他の薬剤に比べやや低い傾向にあり (90~95%)、また、のエタノール (0.6 mL) による回収率も若干低値だった (80~88%)。しかし、SPE 工程の迅速性、有益性を考慮すると、上記条件は妥当であると判断した。

(3) [¹⁸F]AV-45 (Florbetapir)

[¹⁸F]AV-45 は高脂溶性化合物で、放射線分解を起こしやすい。また、光異性化に起因する放射性不純物が生じる。エバポレーターによる乾固工程はアスコルビン酸の添加、ポリソルベートのような溶解補助剤の使用が必須であった。一方、SPE 法の適用によって希釈液、洗浄液ともに 0.5%アスコルビン酸ナトリウム液を用いて、カートリッジへの通液を開始して7分以内に注射剤を得ることができた。洗浄液に注射水を用いた場合、カートリッジ内で著しく放射線分解が起こるため、固相抽出の工程にはアスコルビン酸の存在が不可欠であった。エタノールを含有 (2.5% v/v) するので溶解補助剤は不要であり、薬剤の安定性、溶解性は十分に保持されていた。

薬剤によって SPE カートリッジ、HPLC 分取液の水希釈倍率は多少異なるが、いずれの薬剤も良好なトラップ率、回収率が得られた。水希釈によって溶媒極性を高くし、目的物の疎水性を増加させる状態に調製する必要があり、HPLC 分取液組成、目的化合物の疎水性に基づいて最適な希釈率を設定した。また、注射液中のアセトニトリルは基準値以下、他の残留溶媒は検出感度以下だった。実用時間内で純度は基準範囲内、溶解性の低下は認められず、添加剤として 2.5%のエタノール濃度は適切であると判断した。SPE 法による製剤化は省力的、かつ効率的であることが示された。

表 1 SPE 製剤化のまとめ

	[¹⁸ F]AV-45	[¹⁸ F]FRP-170	[¹¹ C]PIB	[¹¹ C]PK11195
SPEカラム	Sep-Pak C18 130 mg	ENVI-Carb 100 mg	Sep-Pak C18 130 mg	Sep-Pak C18 130 mg
希釈水	0.5% ASC 15 mL	注射用水 30 mL	0.5% ASC 15 mL	0.5% ASC 20 mL
洗浄水	0.5% ASC 10 mL	注射用水 10 mL	0.5% ASC 10 mL	0.5% ASC 10 mL
溶出液	エタノール (0.6 mL)			

ASC: アスコルビン酸ナトリウム

(4) 薬剤の溶解性と安定性の試験

[¹¹C]PIB、[¹¹C]PK11195、[¹⁸F]AV-45、[¹⁸F]FRP-170 を対象として、SPE 法で得られるエタノール溶出液を生理食塩水で 10% から 0.5%までのエタノール濃度に段階的に希釈し、調製直後および経時的に (¹⁸F 標識化合物では 6 時間まで、¹¹C では 2 時間まで) HPLC を用い、放射線分解の抑制、溶解性保

持のための効果的なエタノール濃度を設定した。[¹⁸F]FRP-170 を除くいずれのトレーサーは 2.5%エタノール濃度で溶解性、放射化学的純度ともに保持されるが、1%、0.5%の濃度では溶解性、安定性の低下が認められた。

(5) エタノール含有 PET 薬剤の投与

SPE 法による製剤化を最適化したエタノール濃度を 2.5% (最終濃度) と設定した。この場合、製造量を 1850 MBq (液量: 20 mL)、投与放射エネルギーを 370 MBq (4 mL) と仮定すると、投与されるエタノール量は 100 μL となる。エタノールを含む薬剤が投与されたとき、最初に想定される副作用は、痛みと溶血である。このようなリスクを回避する方法はゆっくり投与することであり、大量の血液で急速に混じるため、注射部位でのアルコール濃度を下げることができる。実際の静脈投与に際しては、エタノールに対する過敏症、肝障害、神経疾患のないことを十分に確認し、投与に要する時間を可能な限りゆっくり注入することによって、エタノールの副作用の発現を防ぐことができる。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 11 件)

1. Yoshida J, Ogasawara K, Chida K, Oikawa K, Matsumoto Y, Nomura J, Ogasawara Y, Fujiwara S, Kobayashi M, Yoshida K, Terasaki K, Ogawa A. Preoperative prediction of cerebral hyperperfusion after carotid endarterectomy using middle cerebral artery signal intensity in 1.5-tesla magnetic resonance angiography followed by cerebrovascular reactivity to acetazolamide using brain perfusion single-photon emission computed tomography. *Neurol Res.* 2016;19:1-9. doi: 10.1080/01616412.2015.1114291.
2. 柴田俊秀, 米澤久司, 高橋純子, 工藤 雅子, 小原智子, 鈴木真紗子, 石塚直樹, 藤澤 豊, 佐々木敏秋, 寺崎一典, 世良耕一郎, 寺山靖夫: ¹⁸F-AV45(Florbetapir F 18) を用いた認知症における脳アミロイドイメージング 脳循環代謝 26:11-18, 2015.
https://www.jstage.jst.go.jp/article/cbfm/26/2/26_11/_pdf.
3. Yoshida K, Ogasawara K, Saura H, Saito H, Kobayashi M, Yoshida K, Terasaki K, Fujiwara S, Ogawa A. Post-carotid endarterectomy changes in cerebral glucose metabolism on ¹⁸F-fluorodeoxyglucose positron emission tomography associated with postoperative improvement or impairment in cognitive function. *J Neurosurg.* 2015;31:1-9.

4. Saura H, Ogasawara K, Beppu T, Yoshida K, Kobayashi M, Yoshida K, Terasaki K, Takai Y, Ogawa A. Hypoxic viable tissue in human chronic cerebral ischemia because of unilateral major cerebral artery steno-occlusive disease. *Stroke*. 2015;46(5):1250-1256. doi: 10.1161/STROKEAHA.114.008238.
 5. Beppu T, Sasaki T, Terasaki K, Saura H, Mitsuura H, Ogasawara K, Sasaki M, Ehara S, Iwata R, Takai Y. High-uptake areas on positron emission tomography with the hypoxic radiotracer ¹⁸F-FRP170 in glioblastomas include regions retaining proliferative activity under hypoxia. *Ann Nucl Med*. 2015;29(4):336-41. doi: 10.1007/s12149-015-0951-0.
 6. Abe T, Momii Y, Morisaki I, Sasaki M, Watanabe J, Kamida T, Kashino G, Matsumoto S, Hayashi K, Mori H, Nakayama K, Beppu T, Ogasawara K, Terasaki K, Iwata R, Fujiki M. Gene profiles in high uptake area on positron emission tomography with a hypoxic cell tracer, ¹⁸F-FRP170. *Neuro-Oncology*. 2014;16:v138-v158. doi: 10.1093/neuonc/nou264.
 7. Saito H, Ogasawara K, Beppu T, Mitsuura H, Terasaki K. Biological characteristics of a cerebellar mass regrowing after removal in a patient with lhermitte-duclos disease: emission tomography studies. *Case Rep Neurol*. 2014;6(1):96-100. doi: 10.1159/000362118.
 8. Nomura J, Ogasawara K, Saito H, Terasaki K, Matsumoto Y, Takahashi Y, Yasushi Ogasawara Y, Saura H, Yoshida K, Sato Y, Kubo Y, Ogawa A. Combination of blood flow asymmetry in the cerebral and cerebellar hemispheres on brain perfusion SPECT predicts 5-year outcome in patients with symptomatic unilateral major cerebral artery occlusion. *Neurological Research*. 2014;36(3):262-369. doi: 10.1179/1743132813Y.0000000300.
 9. Beppu T, Terasaki K, Sasaki T, Fujiwara S, Mitsuura H, Ogasawara K, Sera K, Yamada N, Uesugi N, Sugai T, Kudo K, Sasaki M, Ehara S, Iwata R, Takai Y. Standardized uptake value in high uptake area on positron emission tomography with ¹⁸F-FRP170 as a hypoxic cell tracer correlates with intratumoral oxygen pressure in glioblastoma. *Mol Imaging Biol*. 2014;16(1):127-135. doi: 10.1007/s11307-013-0670-7.
 10. Nomura J, Ogasawara K, Saito H, Terasaki K, Matsumoto Y, Takahashi Y, Yasushi Ogasawara Y, Saura H, Yoshida K, Sato Y, Kubo Y, Ogawa A. Combined measurement of cerebral and cerebellar blood flow on Preoperative brain Perfusion SPECT Imaging Predicts Development of New Cerebral Ischemic Events after endarterectomy for symptomatic unilateral cervical carotid stenosis. *Clin Nucl Med*. 2013;38(12):957-961. doi: 10.1097/RLU.0000000000000279.
 11. Matsumoto Y, Ogasawara K, Saito H, Terasaki K, Takahashi Y, Ogasawara Y, Kobayashi M, Yoshida K, Beppu T, Kubo Y, Fujiwara S, Tsushima E, Ogawa A. Detection of misery perfusion in the cerebral hemisphere with chronic unilateral major cerebral artery steno-occlusive disease using crossed cerebellar hypoperfusion: comparison of brain SPECT and PET imaging. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2013;40(10):1573-1581. doi: 10.1007/s00259-013-2463-2.
- 〔学会発表〕(計17件)
1. 石川洋一、岩田 隼、寺崎一典：¹¹C-標識プローブの実用的なマイクロリアクター合成法の開発.第55回日本核医学会学術総会,2015.11月6日,東京
 2. 佐々木敏秋、寺崎一典、世良耕一郎：3D-DRAMA法を使用した分解能補正効果の検討.第55回日本核医学会学術総会,2015.11月6日.東京
 3. Beppu T, Sasaki T, Terasaki K, Mitsuura H, Ogasawara K: Frequency of pseudo-response on MRI at the early stage during BEVACIZUMAB treatment for recurrent glioblastoma: comparisons with biological responses on L-methyl-¹¹C-methionine PET. 38th European Society of Neuroradiology Annual Meeting, 2015. Sep 18, Naples, Italy
 4. Yoshida K, Ogasawara K, Saura H, Saito H, Kobayashi M, Yoshida K, Terasaki K, Fujiwara S, Ogawa A: Post-carotid endarterectomy changes of cerebral glucose metabolism on ¹⁸F-fluoro-deoxyglucose positron emission tomography associated with postoperative improvement and impairment in cognitive function. 7th Japanese-Korean Joint Stroke Conference, 2015. Oct 23, Busan, Korea
 5. Saura H, Ogasawara K, Beppu T, Yoshida K, Kobayashi M, Yoshida K,

- Terasaki K, Takai Y, obayashi M, Ogawa A: Hypoxic viable tissue in human chronic cerebral ischemia because of unilateral major cerebral artery steno-occlusive disease. 7th Japanese-Korean Joint Stroke Conference, 2015. Oct 23, Busan, Korea
6. Chida K, Ogasawara K, Yoshida J, Oikawa K, Matsumoto Y, Fujiwara S, Kobayashi M, Yoshida K, Terasaki K, Ogawa A: Preoperative prediction of cerebral hyperperfusion after carotid endarterectomy using middle cerebral artery signal intensity in 1.5-Tesla magnetic resonance angiography followed by cerebrovascular reactivity to acetazolamide using brain perfusion single-photon emission computed tomography. 7th Japanese-Korean Joint Stroke Conference, 2015. Oct 23, Busan, Korea
 7. 寺崎一典, 石川洋一、世良耕一郎、小豆島正典、岩田 鍊: ^{11}C メチオニンの効率的、信頼性の高い製造法の開発: オンカラム標識法と固相抽出による製剤化. 第 54 回日本核医学会学術総会, 2014. 11 月 8 日. 大阪
 8. 佐々木敏秋、寺崎一典、世良耕一郎: 散乱体を考慮した脳ファントムの SUV 値比較. 第 54 回日本核医学会学術総会, 2014. 11 月 7 日, 大阪
 9. 佐浦宏明、小笠原邦昭、齋藤秀夫、吉田浩二、寺崎一典、佐々木敏秋、小林正和、吉田研二、別府高明、小川 彰: 脳主幹動脈狭窄閉塞性病変による慢性虚血脳における低酸素組織の存在: ^{18}F -FRP170 による検討. 日本脳神経外科学会第 73 回学術総会, 2014. 10 月 10 日, 東京
 10. 阿部竜也、初井泰朋、阿部竜也、森崎郁子、藤木稔、松本俊郎、森 宣、菓子野元朗、林和孝、別府高明、小笠原邦明、岩田 鍊、寺崎一典: 悪性脳腫瘍の低酸素 PET 検査と遺伝子解析. 第 32 回日本脳腫瘍学会学術集会, 2014. 12 月 1 日, 浦安
 11. 別府高明、寺崎一典、佐々木敏秋: ^{18}F -FRP-170 PET における膠芽腫内トレーサー高集積部位と低酸素部の組織学的特性の比較. 第 31 回日本脳腫瘍学会学術集会, 2013. 12 月 9 日, 宮崎
 12. 別府高明、松浦秀樹、小笠原邦昭、寺崎一典、佐々木敏秋、世良耕一郎、岩田 鍊、高井良尋: ^{18}F -FRP170 PET による膠芽腫内低酸素細胞検出と病理学的検討. 第 20 回東北脳循環カンファレンス, 2013. 11 月 30 日, 仙台
 13. 南波孝昌、小笠原邦昭、西本英明、石垣大哉、村上寿孝、佐藤由衣子、吉岡 芳親、佐々木真理、吉田研二、小林正和、藤原俊朗、寺崎一典、小川 彰:

Multi-voxel proton MRS を用いた大脳半球深部白質の脳温イメージング: PET との比較. 第 25 回日本脳循環代謝学会総会, 2013. 11 月 1 日, 札幌

14. 寺崎一典、石川洋一、世良耕一郎、小豆島正典、岩田 鍊: ^{11}C メチオニンのオンカラム合成法と固相抽出法による製剤化の検討. 第 53 回日本核医学会学術総会, 2013. 11 月 8 日, 福岡
15. 佐々木敏秋、寺崎一典、世良耕一郎: 脳血流測定における Steady state 法の分割法. 第 53 回日本核医学会学術総会, 2013. 11 月 9 日, 福岡
16. 寺崎一典: 低酸素イメージング剤 ^{18}F FRP-170 の合成と臨床応用. SHI ユーザーズミーティング 2013, 2013. 11 月 7 日, 福岡
17. 寺崎一典: 固相抽出法による効率的な PET 薬剤の製剤化. PET サマーセミナー 2013, 2013. 8 月 24 日, 金沢

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕
出願状況 (計 0 件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
出願年月日:
国内外の別:

取得状況 (計 0 件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
取得年月日:
国内外の別:

〔その他〕
ホームページ等
<http://www.jrias.or.jp/association/cat9/sub-nishina/>

6. 研究組織
(1) 研究代表者
寺崎一典 (TERASAKI, Kazunori)
岩手医科大学・高エネルギー医学研究部門・講師
研究者番号: 60285632

(2) 研究分担者
小豆島正典 (SHOZUSHIMA, Masanori)
岩手医科大学・歯科放射線学分野・教授
研究者番号: 00118259

(3)連携研究者

岩田 錬 (IWATA, Ren)

東北大学・サイクロトロンラジオアイソトープセンター・教授

研究者番号：60143038