

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 10 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25461870

研究課題名(和文) 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

研究課題名(英文) Development of a practical microreactor synthesys method of 11C-probes

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) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：11C-標識プローブのマイクロリアクター合成を目的に、11C-よう化メチルからフロー合成される11C-メチルトリフレート(11C-MT)を電子冷却された微少なチューブ内に凍結捕集して濃縮し、これをアセトンなどの溶媒(～20μL)で溶出して次のマイクロリアクターに迅速に移送する自動装置を開発した。捕集と回収条件を最適化することで、11C-メチルトリフレートを迅速かつ高率で回収でき、また良好な再現性を得ることができた。本システムを用いて11C-標識ラクロプライドをマイクロ合成し、その実用性を実証した。

研究成果の概要(英文)：A rapid automated microreactor system was developed for 11C-methylation with 11C-methyl triflate (11C-MT). 11C-MT was flowed through a small diameter tube where it was trapped by thermoelectric cooling. It was then released and recovered with a small volume of suitable solvent such as acetone or acetonitrile. The 11C-MT was thus concentrated in a good recovery yield with optimized conditions and successfully applied to microreactor preparation of 11C-raclopride.

研究分野：医歯薬学

キーワード：マイクロリアクター合成 分子イメージング PET 分子プローブ 自動合成 methyl triflate Radio
synthesys PET probe

1. 研究開始当初の背景

今日、PET 診断用の標識プローブ合成化学は、その大部分を自動合成できるまで成長し、合成技術は確立した感がある。しかし、高比放射能の PET プローブが有する本来の微量物質スケール(微量な担体量)での合成化学(マイクロケミストリー)を生かした合成技術(マイクロリアクター合成)の開発と実用化は遅れている。 ^{18}F に関しては、水溶液(^{18}F フッ素イオン)として製造されるため比較的扱い易く、多くのマイクロリアクターによる合成例が発表されている。一方、 ^{11}C は気体($^{11}\text{CO}_2$ または $^{11}\text{CH}_4$)として製造され、これらを出発物質として合成される中間体のうち最も汎用される ^{11}C よう化メチル($^{11}\text{CH}_3\text{I}$)も気体であり、マイクロリアクターの反応チップに効率的かつ連続的に導入することは(気液反応チップは存在するが)これまで困難であった。

$^{11}\text{CH}_3\text{I}$ の一般的な合成利用法は、キャリアガスと共に反応前駆体を溶解した溶液中にバブリングする方法(バブリング法)である。効率的に $^{11}\text{CH}_3\text{I}$ を捕集するためには、流速にも依存するが 200 ~ 500 μL は必要である。 $^{11}\text{CH}_3\text{I}$ からオンライン的に変換して得られる ^{11}C メチルトリフレート($^{11}\text{CH}_3\text{OTf}$)によるループ ^{11}C メチル化法は、反応前駆体溶液を内壁に保持したループ状のチューブに $^{11}\text{CH}_3\text{OTf}$ を通して反応させる気液反応を利用した合成法(ループ法)であり、バブリング法に比べ使用する前駆体量を低減(<100 μL)することができる。HPLC インジェクターのループをこの目的に利用したり、あるいは抽出カラムと組み合わせたりすることで反応液の精製用 HPLC カラム注入が容易に自動化できる。しかし、ループ法では $^{11}\text{CH}_3\text{OTf}$ の捕集効率を犠牲にしない限り反応前駆体溶液の使用量を 50 μL 以下に減らすことはできず、分離精製カラムへの試料負荷量の軽減にはそれほど貢献しない。

^{11}C -標識プローブのマイクロリアクター合成の報告は数例あるが、あらかじめ $^{11}\text{CH}_3\text{I}$ を溶解させた溶媒を手動でシリンジに移し替えて反応チップに導入して行った研究であり実用的ではない。しかし、その反応性は迅速で放射化学的収率も改善されることが報告され、マイクロリアクター合成への期待は大きく、マクロからマイクロ世界への導入を仲介する濃縮法の開発が望まれてきた。

近年、合成装置の小型化と操作の簡便化を目指して、最終目的物の分離精製に HPLC を使用せず使い捨ての固相抽出カラムだけで精製を行う合成法が開発されてきた。 ^{11}C -標識プローブ合成においてもこのような簡便な精製法の導入が望まれるが、 ^{11}C -標識レセプターリガンドなどは、レセプターにある程度の親和性を持つ合成前駆体と化学構造が近いため相互分離が難しく、最終注射液への混入を可能な限り少なくするためには高分離能を有する HPLC の使用が一般的である。

マイクロリアクターの使用で量的スケールが小さくなれば、多少分離能が劣っても小さな使い捨て固相抽出カラム(あるいはその組み合わせで)で前駆体を除去できるのではと期待できる。

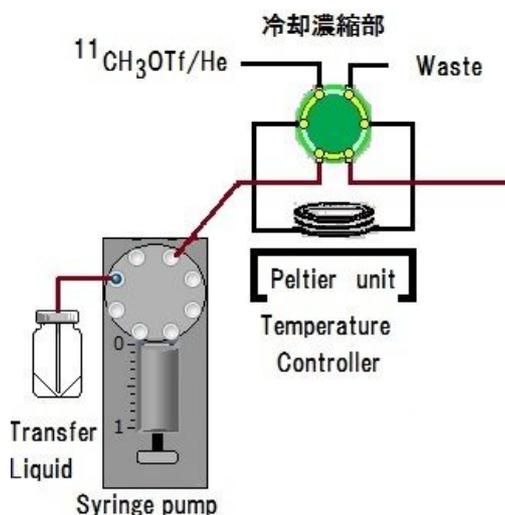
2. 研究の目的

PET 診断プローブのうち ^{11}C -標識プローブのマイクロリアクター合成のための実用的な装置を開発することを目指す。マイクロリアクター合成により、比放射能の改善、高価な試薬の使用量低減、使い捨て固相抽出カラムによる目的プローブの分離精製が期待される。出発標識試薬の ^{11}C メチルトリフレート($^{11}\text{CH}_3\text{OTf}$)をマイクロリアクター反応チップに導入するため、気体として得られる $^{11}\text{CH}_3\text{OTf}$ を捕集して極微量の反応溶媒に溶解する濃縮装置を開発する。 ^{11}C ラクロプライド等をマイクロリアクター合成し、その最適な反応条件を見出して合成法を確立することで、 ^{11}C -標識プローブのマイクロリアクター合成の実用性を実証する。

3. 研究の方法

(1) $^{11}\text{CH}_3\text{OTf}$ を冷却捕集して反応溶媒に溶解する濃縮部の開発

既存の自動合成装置で合成される ^{11}C メチルトリフレート($^{11}\text{CH}_3\text{OTf}$)を出発標識試薬として用い、 $^{11}\text{CH}_3\text{OTf}$ を冷却捕集する冷却トラップ(縦 25 x 横 25 x 厚さ 3 mm の 2 枚のアルミプレートで外径 1 x 内径 0.3 x 長さ 200 mm、容積 14 μL の銅製チューブを挟み込んで張り合わせた金属製トラップ)に $^{11}\text{CH}_3\text{OTf}$ を 25 mL/min の流速で通して冷却捕集し、次に冷却した捕集チューブを室温まで加熱して $^{11}\text{CH}_3\text{OTf}$ を解凍し、その後アセトンなどの無水溶媒で捕集チューブから溶出させ、マイクロリアクター合成装置に移送した。この操作を自動化するため、電動シリンジポンプモジュールを組み込んだ以下に示す冷却捕集装置を試作した。



マイクロリアクターチップ導入のために、ガス状の $^{11}\text{CH}_3\text{OTf}$ を冷却捕集する濃縮部に、

高効率なペルチェ素子(電子冷却素子)と、その放熱に小型の組み込み型 FPSC(フリーピストン・スターリング)方式の冷凍機(冷却能力 60W)を組み合わせ、冷却捕集部を真空断熱容器内に収めた冷却捕集装置とすることで、操作時間、効率、回収溶媒量に関して検討した。

(2) マイクロリアクター反応部の試作と合成法の確立

$^{11}\text{CH}_3\text{OTf}$ を含む溶媒と合成前駆体溶液とを反応させる反応部を反応制御に優れたチップ型マイクロリアクター合成装置を用いることで、ドーパミン D2 受容体イメージングプローブである $^{[11\text{C}]}$ ラクロプライド合成法の検討を行った。マイクロリアクターには、シンプルな Y 字型ミキシング構造のチップ(縦 30 x 横 30 x 厚さ 1.3mm、流路:幅 500 μm x 深さ 100 μm 、容積:18.4 μL)を用いた。合成前駆体として、デスメチルラクロプライドのトリフレート塩(1 mg)のアセトン溶液(400 μL)、0.5 M NaOH(15 μL)と冷却捕集した $^{11}\text{CH}_3\text{OTf}$ のアセトン溶液を用意し、マイクロリアクターチップの 2 か所の注入口から導入し、反応させた。反応チップ出口より回収した反応液を HPLC にて精製、分取し $^{[11\text{C}]}$ ラクロプライドを得た。回収後同様に HPLC 分析で反応収率を求めた。温調器を用いて温度制御下で反応を行った。

4. 研究成果

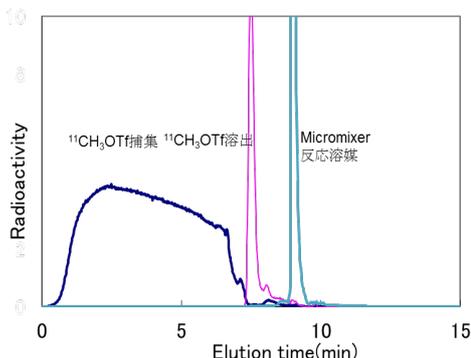
(1) $^{11}\text{CH}_3\text{OTf}$ 冷却捕集装置の試作と評価

試作した装置の外観を以下に示す。この装



置の使用により、最適化した条件下では 5 分以内(冷却捕集:2.2 分)に約 98%の効率で $^{11}\text{CH}_3\text{OTf}$ を冷却捕集・回収することに成功した。

また下図に示すように、冷却トラップから



の反応溶媒による $^{11}\text{CH}_3\text{OTf}$ 溶出プロファイルを測定し、最大 20 μL の溶媒量の中に標識反応に利用可能な $^{11}\text{CH}_3\text{OTf}$ が回収されることを明らかにした。 $^{11}\text{CH}_3\text{OTf}$ 溶出効率は 98.3%、溶出液量 $14 \pm 6 \mu\text{L}$ であり、短時間での高回収率、かつ良好な再現性を認めた。(2) $^{11}\text{CH}_3\text{OTf}$ 濃縮溶媒を用いる $^{[11\text{C}]}$ ラクロプライドのマイクロリアクター合成

マイクロリアクターでの室温における収率は 20 秒で $14 \pm 1\%$ であり、短時間での高収率を得ることができた。また、冷却捕集法による $^{11}\text{CH}_3\text{OTf}$ 濃縮溶媒を用いることで、マイクロリアクター合成に使用する前駆体量を 1/30 程度に低減することができ、通常使用するセミ分取カラムではなく、分析カラムで迅速な分離精製が可能になった。

以上の結果は、冷却捕集された極微量の濃縮 $^{11}\text{CH}_3\text{OTf}$ を用いる効率的なマイクロリアクター合成の実用性を示すものであり、本システムを応用することで、 ^{11}C -標識 PET プローブをマイクロリアクター合成により簡便に供給できることが実証できた。

(3) 今後の展望

当初に掲げた課題では、 $^{11}\text{CH}_3\text{OTf}$ の冷却捕集による濃縮を行い、数十 μL の微量の溶媒で溶出する方法を確立し、マイクロリアクター標識反応後の反応物の精製を含めた全合成工程を行う予定であったが、固相抽出カラムでは ^{11}C -標識プローブと前駆体の相互分離が難しいため十分な精製が得られず、最終注射液への前駆体混入が懸念されたことから、高分離能を有する HPLC での精製に頼らざるを得なかった。この問題の解決には、さらなる高濃縮法の開発が不可欠と考える。凍結捕集前に $^{11}\text{CH}_3\text{OTf}$ の凝固点付近までプレ冷却し捕集容積を縮小化することで $^{11}\text{CH}_3\text{OTf}$ 溶媒量を改善することと、酸(HCl)やアルカリ(NaOH)で脱保護反応が行える高強度で耐薬品性に優れる超耐熱高分子樹脂(PEEK など)で構成される捕集とマイクロリアクターチップを一体化した合成装置を開発することが、捕集効率を犠牲にしない濃縮と固相抽出による精製が実現できる新たな方策として期待される。

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 6 件)

1. Tetsuro Tago, Shozo Furumoto, Nobuyuki Okamura, Ryuichi Harada, Hajime Adachi, Yoichi Ishikawa, Kazuhiko Yanai, Ren Iwata, Yukitsuka Kudo, Structure-activity relationship of 2-areylquinolines as PET imaging tracers for tau pathology in Alzheimer's disease., J. Nucl. Med. 査読有, 2016 Apr;57(4):608-14. DOI:10.2967/jnumed.115.166652.

- Epub 2015 Dec 23
2. Ryuichi Harada, Nobuyuki Okamura, Shozo Furumoto, Katsutoshi Furukawa, Aiko Ishiki, Naoki Tomita, Kotaro Hiraoka, Shoichi Watanuki, Miho Shidahara, Masayasu Miyake, Yoichi Ishikawa, Rin Matsuda, Akie Inami, Takeo Yoshikawa, Tetsuro Tago, Yoshihito Funaki, Ren Iwata, Manabu Tashiro, Kazuhiko Yanai, Hiroyuki Arai, Yukitsuka Kudo, [18F]THK-5117 PET for assessing neurofibrillary pathology in Alzheimer's disease., *Eur J Nucl Med Mol Imaging.*, 査読有, 2015, 42:1052-1061. DOI:10.1007/s00259-015-3035-4
 3. Tetsuro Tago, Shozo Furumoto, Nobuyuki Okamura, Ryuichi Harada, Hajime Adachi, Yoichi Ishikawa, Kazuhiko Yanai, Ren Iwata, Yukitsuka Kudo, Preclinical Evaluation of [18F]THK-5105 enantiomers: effects of chirality of its wffectiveness as a tau imaging radiotracer, *Mol. Imaging Biol.*, 査読有, 2016., Apr;18(2):258-66. DOI:10.1007/s11307-015-0879-8.
 4. Tago T, Furumoto S, Okamura N, Harada R, Ishikawa Y, Arai H, Yanai K, Iwata R, Kudo Y, Synthesis and preliminary evaluation of 2-arylhydroxyquinoline derivatives for tau imaging, *J Labelled Comp Radiopharm.* 査読有, 57(1), 2014, 18-24. DOI:10.1002/jlcr.3133
 5. Furumoto S, Okamura N, Furukawa K, Tashiro M, Ishikawa Y, Sugi K, Tomita N, Waragai M, Harada R, Tago T, Iwata R, Yanai K, Arai H, Kudo Y, A 18F-labeled BF-227 derivative as a potential radioligand for imaging dense amyloid plaques by positron emission tomography, *Mol Imaging Biol.* 査読有, 15(4), 2013, 497-506. DOI:10.1007/s11307-012-0608-5
 6. Furumoto S, Shinbo R, Iwata R, Ishikawa Y, Yanai K, Yoshioka T, Fukuda H, In vitro and in vivo characterization of 2-deoxy-2-18F-fluoro-D-mannose as a tumor-imaging agent for PET, *J Nucl Med.* 査読有, 54(8), 2013, 1354-61. DOI:10.2967/jnumed.112.113571
- 〔学会発表〕(計 13 件)
1. 石川洋一, 岩田 錬, 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 年 11 月 5~7 日, ハイアットリージェンシー東京(東京都新宿区)
 2. 多胡哲郎, 古本祥三, 岡村信行, 原田龍一, 安立創, 石川洋一, 谷内一彦, 工藤幸司, 岩田 錬, PET によるアルツハイマー病タウイメージングのための 2-アリアルキノリン誘導体開発, 第 55 回日本核医学会学術総会, 2015 年 11 月 5~7 日, ハイアットリージェンシー東京(東京都新宿区)
 3. 船木善仁, 林緑也, 石川洋一, 岩田 錬, 谷内一彦, メチルトリフレートを用いたオンカラムメチオニン合成における放射化学的純度の変化, 第 55 回日本核医学会学術総会, 2015 年 11 月 5~7 日, ハイアットリージェンシー東京(東京都新宿区)
 4. 富永隆裕, 古本祥三, 風間あずさ, 石川洋一, 岩田 錬, フッ素 18 標識ホスホニウム型心筋血流プローブの開発, 日本薬学会 第 135 年会 2015 年 3 月 25~28 日 兵庫医療大学(神戸市中央区)
 5. 船木善仁, 林 緑也, 石川洋一, 岩田 錬, 谷内一彦, メチルトリフレートを用いたオンカラムメチオニン合成における放射化学的純度の向上, 日本薬学会 第 135 年会 2015 年 3 月 25~28 日 兵庫医療大学(神戸市中央区)
 6. Tetsuro Tago, Shozo Furumoto, Nobuyuki Okamura, Ryuichi Harada, Hajime Adachi, Yoichi Ishikawa, Kazuhiko Yanai, Ren Iwata, Yukitsuka Kudo.; Chirality of [18F]THK-5105 Affects its Preclinical Characteristics as a PET Tau Imaging Probe.; The 9th Human Amyloid Imaging Conference.; 第 9 回ヒトアミロイドイメージング会議(米国フロリダ州マイアミ) January 14-16, 2015 Miami, Florida, United States.
 7. 多胡哲郎, 古本祥三, 岡村信行, 原田龍一, 安立 創, 石川洋一, 谷内一彦, 工藤幸司, 岩田 錬, PET 用タウイメージング剤[18F]THK-5105 のエナンチオマー体の詳細評価, 第 54 回日本核医学会学術総会 2014 年 11 月 6~8 日 大阪国際会議場(大阪市北区)
 8. 富永隆裕, 古本祥三, 風間あずさ, 石川洋一, 岩田 錬, 新規 18F 標識ミトコンドリアプローブの生物学的評価, 第 54 回日本核医学会学術総会 2014 年 11 月 6~8 日 大阪国際会議場(大阪市北区)
 9. 寺崎一典, 石川洋一, 小豆島正典, 世良耕一郎, 岩田 錬, [11C]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 年 11 月 6~8 日 大阪国際会議場(大阪市北区)
 10. 多胡哲郎, 古本祥三, 岡村信行, 原田龍一, 安立創, 石川洋一, 谷内一彦, 工藤

幸司、岩田 錬、PET 用タウイメー
ジング剤^[18F]THK-5105 エナンチオマー
体の評価、第 9 回日本分子イメージ
ング学会総会、2014 年 5 月 22 ~ 23 日
千里ライフサイエンスセンター（大
阪府豊中市）

11. 多胡哲郎、古本祥三、岡村信行、石川洋二、谷内一彦、工藤幸司、岩田 錬、PET 用タウイメー
ジング剤^[18F]THK-5105 のエナンチオマー
体の合成と評価、第 53 回日本核医学
学会学術総会 2013 年 11 月 8 ~ 10 日
福岡国際会議場（福岡市博多区）
12. 寺崎一典、石川洋一、小豆島正典、世
良耕一郎、岩田 錬、^[11C]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
医学学会学術総会 2013 年 11 月 8 ~ 10
日 福岡国際会議場（福岡市博多区）
13. 富永隆裕、古本祥三、伊東弘晃、石川洋二、谷内一彦、岩田 錬、^{18F}標識
トリフェニルホスホニウム誘導体の
合成と評価、第 53 回日本核医学学会
学術総会 2013 年 11 月 8 ~ 10 日 福
岡国際会議場（福岡市博多区）

〔図書〕（計 0 件）

〔産業財産権〕 出願状況（計 0 件）

〔その他〕

ホームページ等
東北大学サイクロトロン・ラジオアイ
ソトープセンター核薬学研究部
<http://www.cyric.tohoku.ac.jp/kenkyu/yakugaku.html>

6. 研究組織

(1) 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

(2) 研究分担者

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・名誉教授
研究者番号：60143038