

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 20 日現在

機関番号：14401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2013

課題番号：24791301

研究課題名(和文) 活性化ミクログリアイメージングを目指した C-11 及び F-18 標識薬剤合成法の研究

研究課題名(英文) Study of C-11 and F-18 labeled drug synthesis method with the aim of activated microglia imaging

研究代表者

仲 定宏 (Naka, Sadahiro)

大阪大学・医学部附属病院・特任技術職員

研究者番号：60599843

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000 円、(間接経費) 840,000 円

研究成果の概要(和文)：11C-DPA713及び18F-DPA714の標識合成法の最適化を行った。両薬剤について、前駆体濃度や反応液量又は反応時間の検討を実施した。また、HPLC分取時の溶媒についてもより安全な組成となるような条件の検討を行った。

その結果、両薬剤において臨床使用に十分な放射エネルギーと比放射能が得られる条件を確立し、その品質についても注射剤として問題ないことを確認した。また、小動物用PET/CT装置を用いたラット正常組織への集積を比較し、両薬剤の集積が類似していることも確認できた。

研究成果の概要(英文)：I optimized the labeling synthesis method of 11C-DPA713 and 18F-DPA714. In both drugs, we conducted a study of the reaction time or solution volume and the amount of precursor concentration. In addition, I also investigated the conditions of safer mobile phase composition about the preparative HPLC.

As a result, it was established conditions of enough radioactivity and specific radioactivity for clinical use in both drugs, and was confirmed the quality was sufficient as an injection. Furthermore, it was confirmed that the accumulation of both drugs in normal rat tissues using a small animal PET / CT were similar.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学 放射線科学

キーワード：放射性医薬品 TSP0

### 1. 研究開始当初の背景

末梢性ベンゾジアゼピン受容体 (現在は、トランスロケータープロテイン: TSPO と呼ぶ) は、特に脳内のミクログリア細胞中に存在しており、近年、その活性化とアルツハイマー病に代表される神経変性疾患の炎症プロセスとの関連性について多くの研究が行われている。ミクログリアは、一般的に炎症性サイトカインなどを産生し、神経障害的に働くことが知られているが、もう一方では、神経の保護的機能として働くことがある。炎症部位においては、ミクログリア細胞の活性化に伴った TSPO の発現増加が確認されているが、これが、どちらに寄与しているかは、まだわかっていない点が多い。そこで、TSPO の発現と病理についての評価を行うために、TSPO を標的とした Positron Emission Tomography (PET) 薬剤が開発されてきた。これまでは、TSPO を標的とした PET 薬剤として  $^{11}\text{C}$ -PK11195 が幅広く用いられてきたが、これは TSPO に対する結合親和性、脳への取り込みが低く、さらに脳からの排出も早いため明瞭な画像を得ることが困難であった。そこで、今回、基本骨格が異なり、 $^{11}\text{C}$ -PK11195 よりも高い結合親和性を有しており、同一前駆体から C-11 及び F-18 標識体を合成可能な  $^{11}\text{C}$ -DPA713、 $^{18}\text{F}$ -DPA714 に注目し、臨床使用に向けて両標識体の最適化を試みた。

### 2. 研究の目的

これまでに報告されている両標識体の標識合成方法の改良、さらには、新規合成方法の開発を行い、臨床使用により適した使用 (標識合成の簡略化及び迅速化、放射線量・比放射能の向上、注射剤の規格を満たす品質など) にすることを目的とする。

### 3. 研究の方法

(1) H24 年度:  $^{11}\text{C}$ -DPA713 の合成条件の検討を実施した。

#### HPLC 分取溶媒の検討

通常、不揮発性塩を含む溶離液を用いる場合は、固相抽出法で溶媒置換後、蒸発乾固を行うが、極力使用せずに分取することを考えた。まず、水又は希塩酸などの揮発性塩溶媒を用いて分取を行い、分離が悪ければ毒性の低い塩を順番に検討することとした。

#### メチル化剤の製造検討

メチル化剤には、室温で反応性の高い  $^{11}\text{C}$ - $\text{CH}_3\text{OTf}$  を用いる。本メチル化剤の合成には、気相法ヨウ化メチル合成装置を用いた気相反応で行った。比放射能向上のため、非放射線の  $\text{CO}_2$  が混入しないようにターゲットボックス、ターゲットガス回収ラインのパーズ及びプレ照射を実施した。

#### $^{11}\text{C}$ -DPA713 の合成条件の検討

気相法ヨウ化メチル合成装置にて製造した  $^{11}\text{C}$ - $\text{CH}_3\text{OTf}$  を前駆体溶液に直接吹き込む「バブリング法」の条件を検討した。前駆体濃度、反応液量及び脱プロトン剤の添加量の最適

な組み合わせを確認することで、可能な限り前駆体使用量を少なくすることを計画した。  
(2) H25 年度:  $^{11}\text{C}$ -DPA713 の臨床使用に向けた注射剤としての品質確認、 $^{18}\text{F}$ -DPA714 合成条件検討及び小動物用 PET/CT 装置を用いた両薬剤のラット正常組織への分布比較を行った。

#### $^{11}\text{C}$ -DPA713 の 3Lot 試験の実施

H24 年度で達成した最適合成条件にて、3Lot 試験を実施した。 $^{11}\text{C}$ -DPA713 注射液に必要な品質検査 (純度試験、pH 試験、エンドトキシン試験、無菌試験など) を行い、併せてラットを用いた単回静脈内投与毒性試験を実施した。

#### $^{18}\text{F}$ -DPA714 の HPLC 分取条件の検討

$^{11}\text{C}$ -DPA713 の分取条件の検討時と同様に水又は希塩酸などの揮発性塩溶媒を用いて分取を行い、分離が悪ければ毒性の低い塩を順番に検討することとした。

#### $^{18}\text{F}$ -DPA714 の合成条件の検討

先に報告されている前駆体を用いて、前駆体濃度及び反応時間の合成収率への影響を確認した。

両薬剤のラットにおける正常組織への集積比較

最適化した  $^{18}\text{F}$ -DPA713 及び  $^{11}\text{C}$ -DPA713 をそれぞれラットの尾静脈より投与し、小動物用 PET/CT を用いて撮像を行った。

### 4. 研究成果

(1) H24 年度:  $^{11}\text{C}$ -DPA713 の合成条件の検討結果

#### HPLC 分取溶媒の検討

水又は希塩酸とアセトニトリルの組成を用いて HPLC 分取を行った結果、水では多少ベースラインが安定しなかったが、10mmol/L 塩酸では、良好な分離を示した。本検討結果から、ODS カラムを用いて 10mmol/L 塩酸/アセトニトリル=40/60 の条件にて HPLC 分取を実施することで前駆体と DPA713 は完全に分離できることができた。

#### メチル化剤の製造検討結果

合成前にターゲットボックス内及び回収ラインをターゲットガスにて 5 回パーズした後、プレ照射 (10 $\mu\text{A}$ 、10 分照射) を 2 回実施することで、139GBq $\pm$ 50 GBq/ $\mu\text{mol}$  と安定かつ高比放射能の  $^{11}\text{C}$ -DPA713 を得ることができた。

#### $^{11}\text{C}$ -DPA713 の合成条件の検討結果

まず、脱プロトン剤として用いた水酸化ナトリウムの添加量について確認した結果、前駆体のモル数に対して 2.1 倍以上添加することで放射化学的収率 70% 以上と良好な値を得ることができた (脱プロトン剤を添加しない場合には、全く反応は進行しなかったが、前駆体のモル数の半分では 48% の放射化学的収率となったことから、脱プロトン剤は必要だが、少量添加で反応が進行することも確認できた)。

次に、前駆体濃度及び反応液量について検討した結果、前駆体濃度 0.1 mg/mL で反応液量

は 0.2 mL (0.3 mL の V バイアルを使用) まで減らしても放射化学的収率 70 %以上を維持することが可能であった。前駆体量としては 50 µg となり、これは、過去に報告されている論文 (C. Thominaux, Apple Radiat Isot. 64, 570-573 2006) の 10 分の 1 程度と大幅に低減させることに成功した。

(2) H25 年度: <sup>11</sup>C-DPA713 の臨床使用に向けた注射剤としての品質確認、<sup>18</sup>F-DPA714 合成条件検討及び小動物用 PET/CT 装置を用いた両薬剤のラット正常組織への分布比較の結果

<sup>11</sup>C-DPA713 の 3Lot 試験の実施結果  
H24 年度にて最適化した条件 (脱プロトン剤を前駆体のモル数の 2.1 倍、前駆体濃度 0.1 mg/mL 及び反応液量 0.2 mL) 及び臨床使用時の照射条件 (25 µA, 60 分) にて 3 回製造した結果、放射エネルギーの平均は 3 GBq 以上、比放射能も平均 85 GBq/µmol 以上と臨床使用に十分な値で得ることができた。また、その他の注射液に必要な品質試験においても全て適合することを確認した。併せて、臨床投与量の 100 倍量を用いてラット単回静脈内投与毒性試験を実施 (5 匹/群) したが、全てのラットにおいて、一般症状、体重及び剖検名などに異常所見は見られなかった。以上の検討から、ヒトでの臨床研究に使用するために十分な品質にて <sup>11</sup>C-DPA713 を合成することが可能となった。

<sup>18</sup>F-DPA714 の HPLC 分取条件の検討結果  
希塩酸とアセトニトリルの組成を用いて HPLC 分取を行った結果、分離が悪かった。そこで揮発性塩である酢酸ナトリウムを用いて検討した結果、良好な分離を示すことが確認できた。本検討結果から、ODS カラムを用いて 100mmol/L 酢酸アンモニウム/アセトニトリル=60/40 の条件にて HPLC 分取を実施することで前駆体と DPA714 は完全に分離できることができた。

<sup>18</sup>F-DPA714 の合成条件の検討結果  
まず、前駆体濃度について検討した結果、5 mg/mL 以下では放射化学的収率は 30 %程度であったのに対し、10 mg/mL 以上では 70 %以上と良好な値を得ることができた。また、10 mg/mL の濃度にてフッ素化の時間を検討した結果、5 分間の反応では、50 %とやや収率は悪くなる傾向にあったが、7 分以上の反応時間では 70 %以上を維持できることを確認した。上記の条件 (前駆体濃度 10 mg/mL、反応時間 7 分) にて合成を行った結果、放射化学的純度 99 %以上、比放射能が 800 GBq/µmol の注射液を得ることができた。

両薬剤のラットにおける正常組織への集積比較結果

これまでの検討から最適化した条件にて <sup>11</sup>C-DPA713 及び <sup>18</sup>F-DPA714 をそれぞれラットに投与し、Siemens 社製の小動物用 PET/CT 装置 (Inveon) にて撮像を行った結果、両薬剤ともに甲状腺、唾液腺、心筋、肺、骨髄などへの集積が見られ、集積が類似している

ことを確認した。  
以上の結果より、<sup>11</sup>C-DPA713 及び <sup>18</sup>F-DPA714 合成条件の最適化を達成することができた。

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 0 件)

[学会発表](計 4 件)

注射液として臨床使用可能な [<sup>11</sup>C]DPA713 の開発. 仲定宏, 金井泰和, 木下大輔 他, 日本薬学会第 134 年会, 2014.3.29, 熊本市総合体育館

[<sup>18</sup>F]DPA714 の合成条件最適化と基礎的検討. 金井泰和, 仲定宏, 服部能英 他, 日本薬学会第 134 年会, 2014.3.29, 熊本市総合体育館

S Naka, Y Kanai, H Kato, et al. Optimization of translocator protein radioligands [<sup>11</sup>C]DPA713 synthesis condition for clinical use. SNMMI 2013 Annual Meeting, 2013.6.9, Vancouver Convention center Exhibit Hall A-B.

活性化ミクログリアイメージングを目指した [<sup>11</sup>C]DPA713 標識合成条件の検討. 仲定宏, 金井泰和, 木下大輔 他, 第 52 回日本核医学会学術総会, 2012.10.11, 札幌

[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

6. 研究組織

(1) 研究代表者

仲 定宏 (NAKA SADAHIRO)

大阪大学・医学部附属病院・特任技術職員

研究者番号：60599843

(2) 研究分担者

( )

研究者番号：

(3) 連携研究者

( )

研究者番号：