

臨床供給のための PET 用薬剤の高効率合成と製剤化に関する研究

西嶋 劍一

A Study on the Highly Efficient Synthesis and Pharmaceutical Evaluation of PET Radiopharmaceuticals for the Clinical Application

Ken-ichi NISHIJIMA

Faculty of Pharmaceutical Sciences, Health Sciences University of Hokkaido, Ishikari-Tobetsu, Hokkaido 061-0293, Japan

(Received May 30, 2006)

Positron Emission Tomography (PET) is an advanced non-invasive technology used in the field of nuclear medicine for clinical diagnosis using radiotracers labeled with short-lived positron emitting radionuclides such as ^{11}C (half-life: 20.4 min), ^{13}N , ^{15}O and ^{18}F . The present study describes an efficient rapid synthesis method for $[^{11}\text{C}]$ Phosgene ($[^{11}\text{C}]\text{COCl}_2$) which is an important potential precursor for preparation of PET radiopharmaceuticals. Catalytic oxidation of $[^{11}\text{C}]\text{CCl}_4$ using Fe_2O_3 powder mixed with Fe granules as an oxidizing agent was newly accomplished with a development of fully automated synthetic apparatus. Utilization of produced $[^{11}\text{C}]\text{COCl}_2$ provided a substantial synthesis of $[2-^{11}\text{C}]$ thymine as a key intermediate for preparation of $[2-^{11}\text{C}]$ thymidine, a PET tracer to evaluate cellular proliferation. Direct ring closure reaction of the alkali metal salt of β -(*N*-benzoyl-amino) methacrylamide with $[^{11}\text{C}]\text{COCl}_2$ readily proceeded under mild conditions to afford $[2-^{11}\text{C}]$ thymine in fair yield reproducibly. By way of further application, a useful PET ligand for β -adrenoreceptors, *S*-(-)- $[^{11}\text{C}]\text{CGP-12177}$ (CGP) was synthesized in markedly high yield with high specific activity and radiochemical purity. CGP for intravenous injection was prepared in 25 min after EOB with a yield of 1.5 ± 0.2 GBq. These results of quality control tests demonstrated that CGP preparation is suitable for routine clinical use. Thus, CGP-PET study has been newly added to clinical PET for cardiac functional investigation in Hokkaido University Hospital.

Key words— $[^{11}\text{C}]$ phosgene; *S*-(-)- $[^{11}\text{C}]\text{CGP-12177}$; $[2-^{11}\text{C}]$ thymine; Positron Emission Tomography

1. はじめに

Positron Emission Tomography (PET) は、 ^{11}C , ^{15}O , ^{13}N , ^{18}F などのポジトロン放出核種を用いて放射性薬剤 (PET 薬剤) を合成し、体内に投与された薬剤からの放射線を検出することにより、脳や心臓を始めとして、多くの生体臓器の活動、生化学過程の解明、悪性腫瘍や精神神経疾患などの診断や治療状況の分子レベルでの把握を非侵襲的に行う機能的診断技術である。PET は糖代謝、核酸代謝などの動態測定に用いられているばかりでなく、神経伝達物質の受容体に特異的に結合する PET 薬剤を用いれば、神経伝達に関与する様々な機能を画像化

することも可能となる。神経シナプスに存在する受容体やトランスポータのマッピング、薬剤による受容体占拠率の測定、神経伝達物質の合成と分解に関与する酵素反応の評価、細胞内情報伝達機能の画像化等が試みられている。¹⁾

PET に用いられるポジトロン放出核種には放射活性の半減期が極めて短い (^{15}O : 2.0 min, ^{13}N : 9.96 min, ^{11}C : 20.4 min, ^{18}F : 109.8 min) という特性があるため、PET 薬剤は病院内に設置されたサイクロトロンによりポジトロン放出核種を製造し、自動合成装置により製する院内製剤として供出される。院内で PET 検査が日常的な診断法として利用されるには、ポジトロン放出核種を用いた標識化剤や標識合成法の開発、標識化及び製剤化の工程を含む迅速で高効率な PET 薬剤の製造、安定した薬剤の供給、静脈注射製剤としての安全性を確立することなどが必須となる。

北海道医療大学薬学部 (〒061-0293 北海道石狩郡当別町金沢 1757)

e-mail: nishijim@hoku-iryo-u.ac.jp

本総説は、平成 17 年度日本薬学会北海道支部奨励賞の受賞を記念して記述したものである。

代表的な PET 薬剤 2-Deoxy-2- ^{18}F fluoro-D-glucose (^{18}F FDG) は、脳機能、心機能、悪性腫瘍診断と広い分野で使用される、極めて有効性の高い糖代謝測定薬剤であり、 ^{18}F FDG-PET 検査の健康保険の適用化が切に望まれていた。そのためには、自動合成装置を用いて製する ^{18}F FDG の院内注射用製剤としての安全性及びその安全性を評価する品質管理の妥当性に関する科学的データの集積と自動合成装置の「医療用具」承認が必須であった。筆者らは、日本で初めて北海道大学病院に導入されたオンカラム法による自動合成装置 FDG MicroLabTM を用いて、 ^{18}F FDG 製剤の品質の安全性（製剤学的検討、²⁾ 製剤中に含まれる不純物の測定³⁾）、品質管理（エンドトキシン試験、無菌試験）の最適化、⁴⁾ ^{18}F FDG 製剤の安定な供給に関する研究⁵⁾ を実施した。これらの結果は、「 ^{18}F FDG 製剤の安全性に関する科学的根拠」として、また FDG MicroLabTM の ^{18}F FDG 自動合成装置として初めての「医療用具」認可に寄与することとなり、ついには平成 14 年 4 月に ^{18}F FDG-PET 検査が健康保険の適用を受けることとなった。

^{11}C 標識薬剤は、生体成分そのものを PET 薬剤とすることができる点と、それを用いる短時間内の繰り返し検査が可能であるという利点がある。院内で製剤される PET 薬剤の製造（標識反応、単離精製、品質管理）は、半減期の 2 倍以内で行うことが望ましいと考えられ、半減期が 20.4 min の ^{11}C においてはこの制限された時間から単離、精製時間を差し引くと標識反応に与えられる時間は、数分である。また、質量が極微量なポジトロン標識の場合では大過剰の試薬と超低濃度（pmol 程度）の標識化剤の間で反応を行わせるのが一般的である。したがって PET 薬剤の合成には、短寿命及び超低濃度に適した合成法の開発が必要である。標識化には現在までに知られている有機合成法が利用されるが、標識化剤が限定されているため、通常の有機合成反応をすべて利用することは不可能で、標識素材を基盤として標識反応設計を考慮せねばならない。 ^{11}C -カルボニル標識化剤である ^{11}C ホスゲンは、反応性に優れた有用な標識化剤であるが、その合成が極めて困難で再現性に乏しいため、 ^{11}C ホスゲンを利用した薬剤合成の研究や PET 薬剤の臨床供給はほとんど行われていなかった。⁶⁻¹⁰⁾

CGP12177 は親水性の非選択的 β アンタゴニストであり、*in vitro* での β 受容体研究に用いられてきた。その ^{11}C -標識体である *S*-($-$)- ^{11}C CGP-12177¹¹⁻¹⁴⁾ は心臓、肺の β 受容体密度測定に有効であると報告されている。¹⁵⁻²¹⁾ しかしながら、その薬剤合成段階における ^{11}C -カルボニル標識化剤 ^{11}C ホスゲンの合成が非常に困難なため、いまだ臨床的に十分利用される段階には至っていなかった。臨床的に利用される ^{11}C -標識 PET 用薬剤の開発のためには、実質的な ^{11}C -カルボニル化剤の開発が必須であると考えられた。そこで、筆者は標識化剤 ^{11}C ホスゲンの新規合成法を開発し、これを *S*-($-$)- ^{11}C CGP12177 の合成に適用し、さらに、注射用製剤としての安全性を製剤学的に確立し、臨床応用に不可欠なその安定供給を図るべく本研究を開始することとした。

さらに新たな PET 薬剤の臨床供給を可能にするべく、本法を核酸系 PET 薬剤合成に適用することとした。

本論文では、1) 標識化剤 ^{11}C ホスゲンの新規合成法の開発、2) β 受容体イメージング剤 *S*-($-$)- ^{11}C CGP-12177 の製造、3) ^{11}C ホスゲンを用いた核酸系 PET 薬剤の合成法の開発について順に論述する。

2. 標識化剤 ^{11}C ホスゲンの新規合成法の開発

標識化剤 ^{11}C ホスゲンは、 ^{11}C 四塩化炭素を Fe 触媒存在下、酸素ガス添加又は無添加で加熱することにより導かれるが、^{22,23)} その効率・再現性が低く、実用的合成が困難であった。そこで新規 ^{11}C ホスゲン合成法の新規開発を目指し、 ^{11}C 四塩化炭素から ^{11}C ホスゲンへの反応に用いられる触媒について検討した。 ^{11}C メタンより導かれた ^{11}C 四塩化炭素は、酸素ガス無添加の環境下、次の組み合わせにより反応を実施した。 ^{11}C 四塩化炭素を 1) Fe 顆粒、2) CuO 顆粒、3) Fe 顆粒と Fe_2O_3 粉末、4) Fe 顆粒と CuO 粉末の 4 種類のカラムを用いて 320°C に加熱し、 ^{11}C ホスゲンに導くこととした (Figs. 1, 2)。

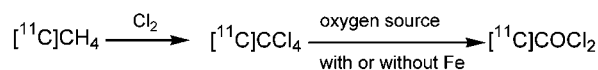


Fig. 1. New Radiosynthesis of ^{11}C Phosgene

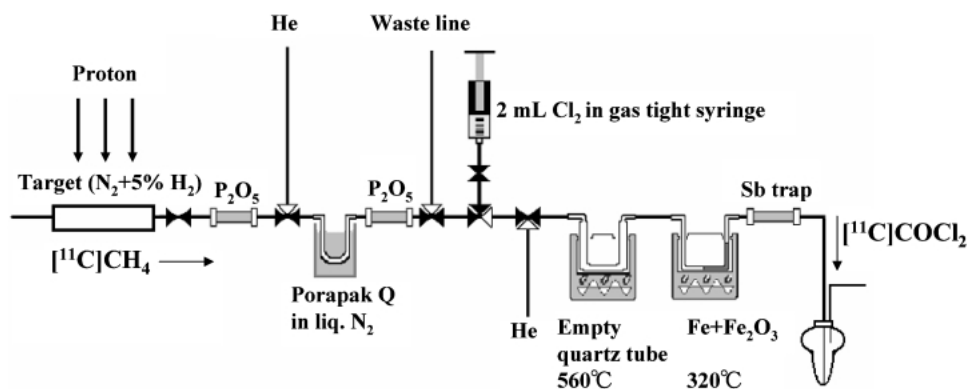


Fig. 2. Schematic Diagram of the Automated Synthesis of $[^{11}\text{C}]$ Phosgene

In a typical procedure, $[^{11}\text{C}]$ methane was produced using an ultra-compact cyclotron by the $^{14}\text{N}(\text{p}, \alpha)^{11}\text{C}$ nuclear reaction on nitrogen containing hydrogen (5%) in an aluminum target. The labeled $[^{11}\text{C}]$ methane was delivered to an automated synthesis apparatus and trapped in a copper U-tube filled with Porapak Q immersed in liquid nitrogen. The copper trap was then warmed to room temperature and $[^{11}\text{C}]$ methane was transferred by helium flow to glass-tylon gas tight syringe previously loaded with chlorine (2 ml at 1 atom). The mixture of $[^{11}\text{C}]$ methane and chlorine was carried by helium flow through a quartz U-tube heated at 560°C to yield $[^{11}\text{C}]$ carbon tetrachloride. $[^{11}\text{C}]$ Carbon tetrachloride was carried by helium flow through the second quartz U-tube filled with Fe_2O_3 powder mixed with Fe granules at 320°C to yield $[^{11}\text{C}]$ phosgene. The generated $[^{11}\text{C}]$ phosgene was then passed through a glass tube (3.0 mm I.D. \times 50 mm) filled with a mixture of antimony powder and glass beads in order to remove residual chlorine and chlorinated compounds. The generated $[^{11}\text{C}]$ phosgene was bubbled with helium flow into a reaction vial containing a solution of trapping reagents. The solvent was then removed from the reaction mixture by heating the reaction vial.

$[^{11}\text{C}]$ ホスゲンはトルエンに溶解したアニリンと反応させ、生成した $[^{11}\text{C}]$ ジフェニルウレアを $[^{11}\text{C}]$ ホスゲンの収量とみなした (Fig. 3).

$[^{11}\text{C}]$ ジフェニルウレアの収量と比放射能について Table 1 にまとめた. Fe 顆粒及び Fe 顆粒と Fe_2O_3 粉末を用いた場合の $[^{11}\text{C}]$ ジフェニルウレアの収量と比放射能は 202 ± 101 MBq, 18 ± 5 GBq/ μmol (end of synthesis: EOS, $n=4$) と $1,749.5 \pm 509.2$ MBq, 118 ± 83 GBq/ μmol (EOS, $n=4$) であり, Fe 顆粒と Fe_2O_3 粉末を用いた場合の方が有意に高かった ($p < 0.001$, $p < 0.05$).

$[^{11}\text{C}]$ ホスゲンの収量は, Fe- Fe_2O_3 触媒を用いることにより, Fe 触媒のみの場合の約 8 倍まで増加した. また比放射能についても, Fe- Fe_2O_3 触媒を用いる方が著しく高い結果が得られた. このことは, Fe 触媒だけでなく Fe_2O_3 を加えることにより $[^{11}\text{C}]$ ホスゲンの収量を増加させ, 実際的で有効な $[^{11}\text{C}]$ ホスゲン合成法の開発に初めて成功したことになる. さらにこの合成法では, 酸素ガスは添加していないことから Fe_2O_3 が酸素の供給源となっている. すなわち, $[^{11}\text{C}]$ 四塩化炭素が Fe の触媒作用によって塩素が脱離し, 反応性に優れた $[^{11}\text{C}]$ ジクロロカルベンが生成, $[^{11}\text{C}]$ ジクロロカルベンは直ちに Fe_2O_3 により $[^{11}\text{C}]$ ホスゲンへと導かれたと考えられる (Fig. 4). Link らは,²³⁾ 酸素ガスを必要としない方法を報告しているが, 本実験結果から酸

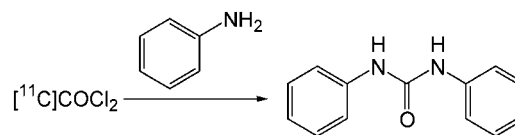


Fig. 3. Synthesis of $[^{11}\text{C}]$ Diphenylurea

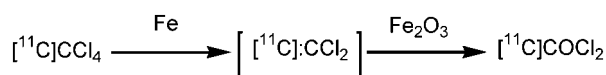


Fig. 4. Reaction Mechanism of Radiosynthesis of $[^{11}\text{C}]$ Phosgene

Table 1. Yields and Specific Activities of $[^{11}\text{C}]$ Diphenylurea

Catalyst and/or oxidizing agent	$[^{11}\text{C}]$ Diphenylurea (MBq)	Specific activity (GBq/ μmol)
Fe (G)	202 ± 101 ($n=4$)	18 ± 5 ($n=4$)
Fe (G) + Fe_2O_3 (P)	$1750 \pm 509^{*,**}$ ($n=4$)	$118 \pm 83^\dagger$ ($n=4$)
CuO (G)	93 ± 20 ($n=3$)	67 ± 32 ($n=3$)
Fe (G) + CuO (P)	117 ($n=2$)	51 ($n=2$)

G: granule, P: powder. * $p < 0.001$, vs. Fe (G), * $p < 0.001$, vs. CuO (G), $^\dagger p < 0.05$, vs. Fe (G). Bombardment was carried out with a $10 \mu\text{A}$ beam of 18 MeV protons for 10 min.

素の必要性が示され, その酸素供給源として Fe_2O_3 粉末を用いることにより簡便で再現性のよい $[^{11}\text{C}]$ ホスゲンの合成が達成された. また加えて, 酸素ガスを添加する必要はなく, そのため自動合成装置に

酸素ガスの供給ラインが不要となり、装置、合成システムが単純なものとなった (Fig. 2).^{24,25)}

3. β 受容体診断薬 $S(-)-[^{11}\text{C}]\text{CGP-12177}$ の製造

心不全において β 受容体は down regulation を受けていると言われ、心不全に対する β 遮断療法は心筋負荷の増大を抑制し、 β 受容体の down regulation を改善することにより治療に役立つとされる。しかし、心収縮力の低下、心拍数の低下などのために β 遮断薬治療の中止に至る例も多い。このため心筋 β 受容体の機能低下をヒトにおいて非侵襲的に測定することが重要とされる。そこで、 β 受容体密度が測定可能な $S(-)-[^{11}\text{C}]\text{CGP-12177}$ が、PET 薬剤として期待されていた。しかしながら $S(-)-[^{11}\text{C}]\text{CGP-12177}$ の合成は困難で再現性に乏しく、⁶⁻⁹⁾ これまでに報告されている本化合物の比放射能は 55—111 GBq/ μmol (end of bombardment),¹³⁾ 29.6—44.4 GBq/ μmol ,¹⁴⁾ 0.37—18.5 GBq/ μmol ⁸⁾ と非常に低いものであり、 β 受容体密度計測を解析^{26,27)} する上で問題があるものと考えられた。さらにその合成の困難さから製剤学的、薬物動態学的に十分に検討されておらず、臨床応用には多くの問題が残されていた。そこで新規 $[^{11}\text{C}]$ ホスゲン合成法により得られる高比放射能 $[^{11}\text{C}]$ ホスゲンを適用し、 $S(-)-[^{11}\text{C}]\text{CGP-12177}$ の臨床応用を目的として本化合物の合成の再現性と製剤化を検討することにした。 $S(-)-[^{11}\text{C}]\text{CGP-12177}$ は、 $[^{11}\text{C}]$ ホスゲンをトルエンに溶解させた (2*S*)-1-(2,3-diaminophenoxy)-3-(*t*-butylamino)-2-propanol (**1**) との反応により合成した (Fig. 5)。

単離精製は、逆相 HPLC [Megapak CIL C18-10: 7.5 mm \times 250 mm, 20% エタノール/生理食塩水 (pH 2.3, リン酸), 3 ml/min] に付すことにより

行った。得られた溶液を溶媒留去したのち、生理食塩液に再溶解し、無菌ろ過 (0.22 μm) を行うことで注射用製剤とした。連続して合成した 3 回の結果を Table 2 にまとめた。サイクロトロンによるプロトン照射終了後、合成時間 25 分間で生理食塩液に溶解した $S(-)-[^{11}\text{C}]\text{CGP-12177}$ 製剤を得ることができた。 $S(-)-[^{11}\text{C}]\text{CGP-12177}$ 製剤の収量は 1.5 ± 0.2 GBq (EOS, $n=3$) であり、臨床応用において十分な収量である。HPLC により求めた放射化学的純度、化学的純度はともに 99% 以上であった (Table 2)。非放射性 $S(-)-\text{CGP-12177}$ の濃度は 0.4 ± 0.1 nmol/ml であり、この値から比放射能は 385 ± 133 GBq/ μmol (EOS) と算出した。また、 $S(-)-[^{11}\text{C}]\text{CGP-12177}$ の放射化学的純度は、1 時間後において 99% 以上と安定であり、放射線分解による純度の変化は認められなかった。これまでの報告と比較して $S(-)-[^{11}\text{C}]\text{CGP-12177}$ を再現性及び収量よく合成することができ、3 から 10 倍以上の高い比放射能を有する製剤を得ることができ

Table 2. Production Data for Three Consecutive Syntheses of $S(-)-[^{11}\text{C}]\text{CGP-12177}$

Parameters	Run No.			
	1	2	3	Mean \pm S.D.
Yields at the end of preparation (GBq)	1.2	1.6	1.6	1.5 ± 0.2
$S(-)-\text{CGP-12177}$ concentration (nmol/ml)	0.4	0.6	0.3	0.4 ± 0.1
Specific activity (GBq/ μmol)	303.8	313.5	538.8	385.4 ± 133.0
Radiochemical purity (%)	>99.9	>99.9	>99.9	>99.9

Bombardment was carried out with a 20 μA beam of 18 MeV protons for 30 min.

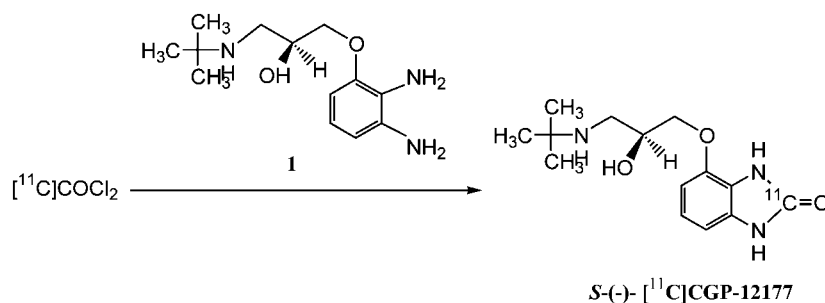


Fig. 5. Synthesis of $S(-)-[^{11}\text{C}]\text{CGP-12177}$

た. 新規 ^{11}C ホスゲン合成法を用いることで ^{11}C ホスゲンの収量の増加, さらに自動合成装置の簡便化に成功したことにより高い比放射能を有する $S(-)-^{11}\text{C}$ CGP-12177 製剤を得ることができたと考えられる.

本製剤に関して, 品質管理を実施した. 現在のところ $S(-)-^{11}\text{C}$ CGP-12177 は「放射性薬剤の基準と臨床使用の指針」(「指針」)²⁸⁾に記載されていないため, 品質試験は他の PET 用 ^{11}C 製剤に準じて実施した. 連続して合成した 3 回の $S(-)-^{11}\text{C}$ CGP-12177 製剤の品質試験の結果を Table 3 にまとめた. 無菌試験, エンドトキシン試験, ガンマ線スペクトル, 半減期, 放射能残存率の結果は「指針」に定められている他の PET 用 ^{11}C 製剤の基準を満たしていた. pH は HPLC 溶出溶媒の pH が 2.3 のため, 4.0 と酸性側を示した. そこで「指針」に従い最終的に日本薬局方炭酸水素ナトリウム注射液を加えることにより pH を 7.0 とした. 本研究で合成した $S(-)-^{11}\text{C}$ CGP-12177 製剤の品質は, 注射用製剤として臨床応用に適するものであった (Table 3).²⁹⁾

放射性薬剤を臨床応用するためには, 放射性薬剤に起因する被曝線量を推定することが望まれる. そこで, $S(-)-^{11}\text{C}$ CGP-12177 製剤をマウスに静脈内投与して経時的に体内分布を測定し, 本製剤による被曝線量を推定した. 本製剤投与後, 1 分, 5 分, 15 分, 30 分, 60 分におけるマウスの放射能の組織内濃度 (%dose/g tissue) を Table 4 にまとめた. $S(-)-^{11}\text{C}$ CGP-12177 製剤は, β 受容体密度の高い肺, 心臓への集積は持続的であった. 投与直後,

腎臓, 肝臓で本製剤の高い集積が認められたが, 比較的早い時期に組織中から排泄された. この値を用いて MIRD 法によるヒトにおける被曝線量を算出し,³⁰⁾ 結果を Table 5 に示した. さらに筆者らはラットを用いた *in vivo* 実験, ラット心筋スライスを用いた *in vitro* 実験による基礎的検討において, 本法により合成した $S(-)-^{11}\text{C}$ CGP-12177 の心筋への取り込みは, 主に β 受容体との特異的結合に起因していることも証明した.³¹⁾ 交感神経 β 受容体に高い親和性を有する $S(-)-^{11}\text{C}$ CGP-12177 を使用した PET 検査は, 非侵襲的に心筋 β 受容体機能を評価できるため, 各種心疾患の病態解明, 臨床診断に大きく貢献するものと期待された. そこで, 製剤学的検討と動物を用いた基礎的検討をもとに, 北海道大学医学部の倫理委員会に「 $S(-)-^{11}\text{C}$ CGP-12177 によるポジトロン断層検査」として本製剤のヒトへの使用が申請され, 平成 14 年 2 月に承認された.

4 ^{11}C ホスゲンを用いた核酸系 PET 薬剤の合成法の開発

核酸代謝の機能を測定する PET 用核酸系標識薬剤の開発は, 悪性腫瘍の鑑別診断や核酸系薬物の治療効果予測の点からも, その実用化が期待されるものである. 標識化剤 ^{11}C ホスゲンによる ^{11}C -カルボニル化反応は, PET 用核酸誘導体ピリミジン及びプリン骨格の合成に有用であると期待された. 既に [$2-^{11}\text{C}$] ウラシル,³²⁾ [$2-^{11}\text{C}$] チミン³³⁾の合成が報告されているが, 両標識化合物ともにその標識化剤は ^{11}C ホスゲンでなく ^{11}C ウレアである. 核酸の有機合成法は, ウレアとジエステル体との環

Table 3. Results of Quality Control Tests for Three Consecutive Syntheses of $S(-)-^{11}\text{C}$ CGP-12177

Parameters		Run No.			Mean \pm S.D.
		1	2	3	
pH		7.0	7.0	7.0	7.0 \pm 0.0
Residual organic solvent (ppm)	Ethanol	110.5	5.8	64.7	60.3 \pm 52.5
	Toluene	<0.10*	<0.10*	<0.10*	<0.10*
Chlorine concentration (ppm)		<0.1*	<0.1*	<0.1*	<0.1*
Antimony concentration (ppb)		8.0	10.5	5.2	7.9 \pm 2.7
Bacterial endotoxins test		Negative	Negative	Negative	—
Sterility test		Negative	Negative	Negative	—

* under detection limit.

Table 4. Tissue Distribution of Radioactivity in Mice at 1, 5, 15, 30 and 60 min after Intravenous Injection of *S*-(-)-[¹¹C]CGP-12177

Tissue	Time after injection (min)				
	1 min	5 min	15 min	30 min	60 min
Blood	4.74±0.36	4.38±0.52	4.39±0.63	3.57±0.23	2.96±0.18
Plasma	0.68±0.07	0.51±0.10	0.67±0.24	0.45±0.33	0.28±0.03
Heart	6.74±0.44	6.88±0.20	6.42±0.46	5.65±0.07	4.66±0.57
Lung	33.19±8.21	47.09±6.33	47.35±9.13	45.71±5.67	42.60±4.80
Liver	4.38±0.88	4.70±0.65	4.40±0.42	2.85±0.12	2.43±0.22
Kidney	21.43±5.86	23.91±8.10	8.98±1.21	8.26±0.58	6.20±0.44
Spleen	8.98±1.08	11.44±3.23	11.39±2.12	10.01±1.50	8.19±1.41
Muscle	0.90±0.13	1.48±0.23	1.07±0.14	1.27±0.28	1.20±0.36
S. intestine	2.87±0.12	3.16±0.23	3.01±0.20	3.24±0.43	3.31±0.27
L. intestine	1.37±0.14	1.45±0.20	1.47±0.18	1.55±0.12	1.65±0.38
Testis	0.31±0.01	0.25±0.06	0.40±0.22	0.36±0.15	0.40±0.12
Brain	0.16±0.02	0.22±0.09	0.16±0.14	0.23±0.13	0.08±0.06

Uptake values are expressed as % injection dose/g tissue. Data are the means±S.D. for four mice.

Table 5. Absorbed Dose of *S*-(-)-[¹¹C]CGP-12177 for Human Adult Estimated from Mouse Data

	$\mu\text{Gy}/\text{MBq}$		$\mu\text{Gy}/\text{MBq}$
Adrenals	5.99	Muscle	2.85
Brain	8.73	Ovaries	5.21
Breasts	4.92	Pancreas	6.03
Gall bladder wall	5.15	Red marrow	5.00
Large lower intestine wall	3.68	Bone surfaces	5.09
Small intestine wall	4.78	Skin	3.48
Stomach wall	5.19	Spleen	1.09
Upper large intestine wall	4.01	Testes	1.73
Heart wall	8.43	Thymus	5.62
Kidneys	1.22	Thyroid	4.88
Liver	5.52	Urinary bladder wall	4.53
Lungs	3.75	Uterus	5.30
Total body	4.30		

化反応が古くから一般的な合成法である。これまで報告された標識合成もこの方法に準じたものである。しかしながら、反応性に優れた [¹¹C] ホスゲンから反応性に劣る [¹¹C] ウレアに導くこと、さらに反応段階が1つ増えることは時間の制限された標識合成には、不利なことである。さらに自動合成装置には不向きである液体アンモニアや発煙硫酸のような強酸を使用することから、標識化剤に [¹¹C] ウレアを用いる合成法は実用的ではないと考えられた (Fig. 6).³³⁾

そこで [¹¹C] ホスゲンの ¹¹C-標識化剤としての有用性と応用性を明らかにすることを目的に

[2-¹¹C] チミンの合成に着手することとした。すなわち新規合成法により得られる [¹¹C] ホスゲンを最終工程で利用すれば [2-¹¹C] ピリミジン誘導体の簡便な合成法の開発につながるものと考え、環化に適したアミノアミド誘導体 (**2**, **2a**) の合成を行い、さらにその誘導体と [¹¹C] ホスゲンとの環化反応による [2-¹¹C] チミンの one-pot 迅速合成法を開発すべく研究を開始した (Fig. 6)。

前駆体は、Ethyl α -formylpropionate (**3**) とアンモニアとの反応によりシッフ塩基を経由し、ethyl β -aminomethacrylate (**4**) を定量的に得ることができた。アミノエステル **4** は、ベンゾイル化により *N*-ベンゾイル体 **5** とし、次に **5** とアンモニアとの反応により β -(*N*-benzoylamino) methacrylamide (**2a**) を定量的に得ることができた (Fig. 7)。

環化に適した *Z* 体 **2a** を前駆体とし、[¹¹C] ホスゲンとの環化反応による [2-¹¹C] チミンの合成を検討した (Fig. 8)。反応容器に **2a** を溶解した溶液を加えて [¹¹C] ホスゲンを導入し反応させたが、[¹¹C] 標識成績体をほとんど得ることができなかった (Table 6)。アミド **2a** はジアミド体であり、反応性が低いと考えられたことから **2a** をアルカリ金属塩 (**6a**, **6b**) とすることにより活性化し、[¹¹C] ホスゲンとの反応を検討した。その結果、溶媒に 1,2-dimethoxyethane を用いた場合、**6a** と **6b** はともに比較的良好な収量で [2-¹¹C] チミンを与えた (Table 6)。本法による合成時間はサイクロトロン

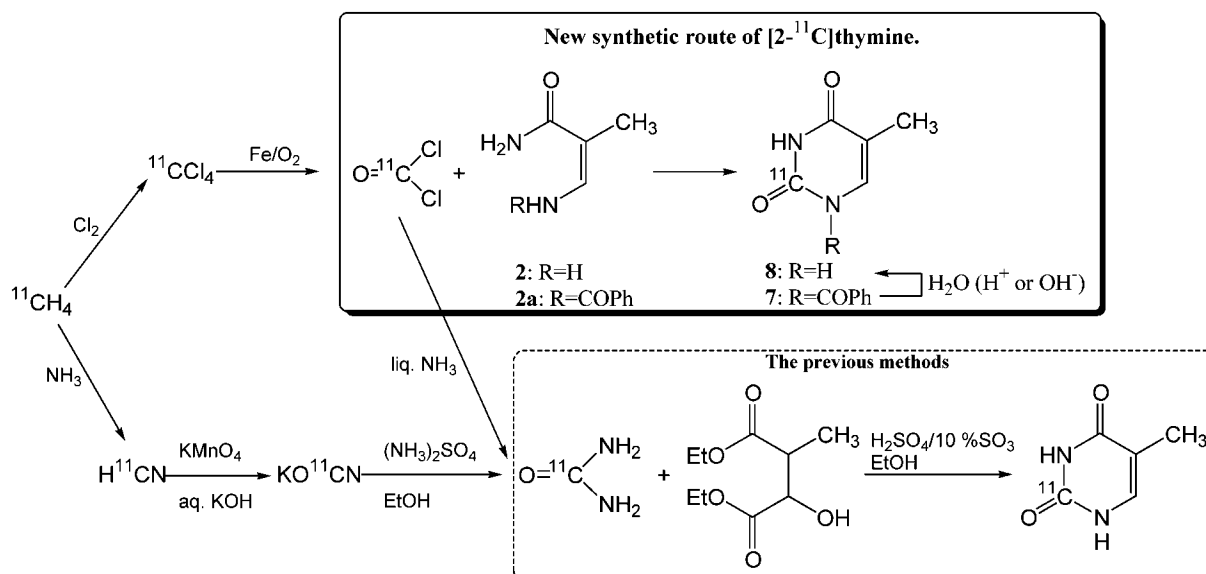
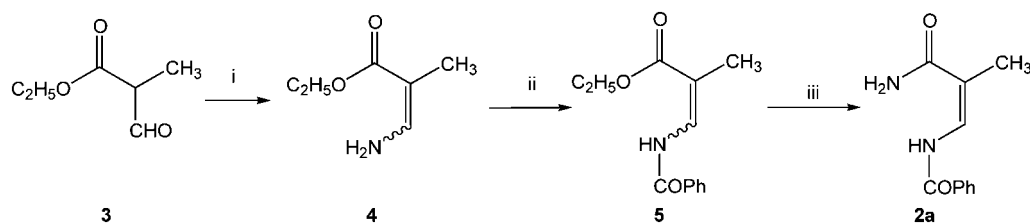
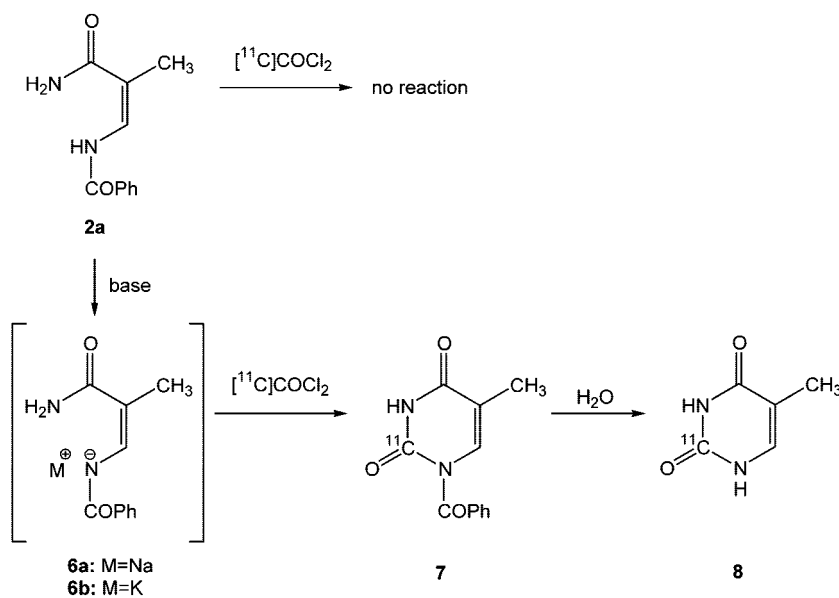
Fig. 6. Synthesis of [2-¹¹C]Thymine Using [¹¹C]Phosgene or [¹¹C]UreaFig. 7. Synthesis of β -(N-Benzoylamino) methacrylamide (**2a**)Reagents and Conditions: i) NH_3 , CH_3OH , reflux, 2 hr, ii) PhCOCl , $\text{C}_3\text{H}_5\text{N}$, CHCl_3 , 0°C , 2 hr, then r.t., overnight, iii) NH_3 , CH_3OH Fig. 8. Synthesis of [2-¹¹C]Thymine

Table 6. Yields of [2-¹¹C]Thymine

Solvent	Base	Mol. eq.	Yield (MBq, EOS)
Toluene	—	—	ND
Toluene	NaH	5	41 (n=2)
DME	NaH	2	68±65 (n=3)
DME	(CH ₃) ₃ COK	2	137 (n=2)
DME	(CH ₃) ₃ COK	1	362±53 (n=3)

Bombardment was carried out with a 10 μA beam of 18 MeV protons for 10 min. EOS: end of synthesis, ND: not detected, DME: 1,2-dimethoxyethane.

の照射終了後 16 分であった。環化に適した前駆体 **2a** を新たに開発し、[¹¹C] ホスゲンとの直接環化反応により合成時間は Steel ら³³⁾ が報告した 30 分よりも大幅に短縮され、[2-¹¹C] チミンの迅速簡便な標識合成を達成した。本法は、ピリミジン誘導体の新規合成法、また実用的な ¹¹C- 標識薬剤の合成法として有効な手段と考えられた。^{34,35)}

5. 結 論

[¹¹C] 四塩化炭素から [¹¹C] ホスゲンへの反応に、Fe 顆粒と Fe₂O₃ 粉末の混合カラムを用いることにより、標識化剤 [¹¹C] ホスゲンの簡便かつ高効率合成法の開発に成功した。新規 [¹¹C] ホスゲン合成法によって高収量、高比放射能 S(-)-[¹¹C] CGP-12177 製剤を再現性よく製造できたことにより臨床への安定供給が達成された。S(-)-[¹¹C] CGP-12177 を用いた PET 検査は、国内で初めて北海道大学病院において心筋交感神経機能情報を与える有用な検査として実施された。現在、日常臨床において本検査が行われ、心不全患者の病態評価に有用な情報が提供され、地域医療の質の向上に大いに役立っている。さらに β-(N-benzoylamino) methacrylamide (**2a**) を合成し、[¹¹C] ホスゲンと反応させることにより [2-¹¹C] チミンの新規標識合成に成功した。現在、新規 [¹¹C] ピリミジン合成法を適応した新規分子イメージング剤の開発について研究中である。

最後に、本研究は北海道医療大学大学院薬学研究科、大倉一枝教授のご指導の下に、佐ノ木公人修士のご協力により行われたものです。ここに心からの感謝を申し上げます。終始御懇篤なるご指導、ご鞭撻を賜りました北海道大学アイソトープ総合センター 興一教授、同大大学医学研究科 玉木長良教授、並びに京都大学大学院薬学研究科 久下裕司助教

授に謹んで感謝の意を表します。また、この研究の一部は、医用原子力技術研究振興財団の研究助成により実施されたものであることを付記いたします。

REFERENCES

- 1) Itoh M., Endo K., Hatazawa J., Fukuda H., Yonekura Y., Ishiwata K., "State of the Art of Clinical PET," Institute for Advanced Medical Technology, Tokyo, 2004, pp. 21–26.
- 2) Kuge Y., Tsukamoto E., Katoh C., Seki K., Ohkura K., Ohmiya Y., Nishijima K., Tanaka A., Sasaki M., Tamaki N., *Kaku Igaku*, **36**, 873–878 (1999).
- 3) Kuge Y., Nishijima K., Nagatsu K., Seki K., Ohkura K., Tanaka A., Sasaki M., Tsukamoto E., Tamaki N., *Nucl. Med. Biol.*, **29**, 275–279 (2002).
- 4) Kuge Y., Nishijima K., Nagatsu K., Tanaka A., Tsukamoto E., Tamaki N., *Kaku Igaku*, **38**, 125–130 (2001).
- 5) Nishijima K., Kuge Y., Tsukamoto E., Seki K., Ohkura K., Magata Y., Tanaka A., Nagatsu K., Tamaki N., *Appl. Radiat. Isot.*, **57**, 143–149 (2002).
- 6) Elsinga P. H., Van Waarde A., Jaeggi K. A., Schreiber G., Helderdoorn M., Vaalburg W., *J. Med. Chem.*, **40**, 3829–3835 (1997).
- 7) Elsinga P. H., Van Waarde A., Visser T. J., Vaalburg W., *Clin. Pos. Imag.*, **1**, 81–94 (1998).
- 8) de Jong R. M., Blanksma P. K., Van Waarde A., Van Veldhuisen D. J., *Eur. J. Nucl. Med.*, **29**, 88–97 (2002).
- 9) Van Waarde A., Elsinga P. H., Doze P., Helderdoorn M., Jaeggi K. A., Vaalburg W., *Eur. J. Pharmacol.*, **343**, 289–296 (1998).
- 10) Schirbel A., Holschbach M. H., Coenen H. H., *J. Labelled Compds. Radiopharm.*, **42**, 537–551 (1999).
- 11) Aigbirhio F., Pike V. W., Francotte E., Jaeggi K. A., Waters S. L., *J. Labelled Compds. Radiopharm.*, **31**, 159–161 (1992).
- 12) Boullais A., Crouzel C., Syrota A., *J. Labelled Compds. Radiopharm.*, **23**, 565–567 (1986).
- 13) Brady F., Luthra S. K., Tochon-Danguy H., Steel C. J., Waters S. L., Kensett M. J., Landais P., Shah F., Jaeggi K. A., Drake A.,

- Clark C. J., Pike V. W., *Appl. Radiat. Isot.*, **42**, 621–628 (1991).
- 14) Hammadai A., Crouzel C., *J. Labelled Compds. Radiopharm.*, **29**, 681–690 (1991).
- 15) Choudhury L., Guzzetti S., Lefroy D. C., Nihoyannopoulos P., McKenna W. J., Oakley C. M., Camici P. G., *Heart*, **75**, 50–54 (1996).
- 16) Lefroy D. C., Silva R. D., Choudhury L., Uren N. G., Crake T., Rhodes C. G., Lammertsma A. A., Boyd H., Patsalos P. N., Nihoyannopoulos P., Oakley C. M., Jones T., Camici P. G., *J. Am. Coll. Cardiol.*, **22**, 1653–1660 (1993).
- 17) Merlet P., Delforge J., Syrota A., Angevin E., Maziere B., Crouzel C., Valette H., Loisance D., Castaigne A., Rande J. L., *Circulation*, **87**, 1169–1178 (1993).
- 18) Van Waarde A., Anthonio R. L., Visser T. J., Elsinga P. H., Posthumus H., Weemaes A., Blanksma P. K., Visser G. M., Paans A. M. J., Vaalburg W., *J. Chromatogr. B Biomed. Appl.*, **663**, 361–369 (1995).
- 19) Qing F., Hayes M. J., Rhodes C. G., Krausz T., Fountain S. W., Burke M. M., Jones T., Hughes J. M. B., *Thorax*, **51**, 727–732 (1996).
- 20) Qing F., Rhodes C. G., Hayes M. J., Krausz T., Fountain S. W., Jones T., Hughes J. M. B., *J. Nucl. Med.*, **37**, 1275–1281 (1996).
- 21) Ueki J., Rhodes C. G., Hughes J. M. B., de Silva R., Lefroy D. C., Ind P. W., Qing F., Brady F., Luthra S. K., Steel C. K., Waters S. L., Lammertsma A. A., Camici P. G., Jones T., *J. Appl. Physiol.*, **75**, 559–565 (1993).
- 22) Landais P., Crouzel C., *Appl. Radiat. Isot.*, **38**, 297–300 (1987).
- 23) Link J. M., Krohn K. A., *J. Labelled Compds. Radiopharm.*, **40**, 306–308 (1997).
- 24) Nishijima K., Kuge Y., Seki K., Ohkura K., Motoki N., Nagatsu K., Tanaka A., Tsukamoto E., Tamaki N., *Nucl. Med. Biol.*, **29**, 345–350 (2002).
- 25) Nagatsu K., Tanaka A., Kuge Y., Seki K., Okura K., Tsukamoto E., Tamaki N., Nishijima K., Jpn. Kokai Tokkyo Koho, JP 2002308615.
- 26) Delforge J., Syrota A., Lancon J. P., Nakajima K., Loc'h C., Janier M., Vallois J. M., Cayla J., Crouzel C., *J. Nucl. Med.*, **32**, 739–748 (1991).
- 27) Delforge J., *J. Nucl. Med.*, **35**, 921 (1994).
- 28) Sub-committee on Medical Application of Cyclotron-produced Radionuclides, Medical Science and Pharmaceutical Committee, Japan Radioisotope Association, *Radioisotopes*, **50**, 190–204 (2001).
- 29) Nishijima K., Kuge Y., Seki K., Ohkura K., Morita K., Nakada K., Tamaki N., *Nucl. Med. Commun.*, **25**, 845–849 (2004).
- 30) ICRP Publication 80 1998: 49.
- 31) Nishijima K., Kuge Y., Motoki N., Seki K., Ohkura K., Morita K., Tamaki N., “PET and Molecular Imaging,” eds. by Tamaki N., Kuge, Y., International Congress Series 1264C, Elsevier Science B. V., Amsterdam, 2004, pp. 261–266.
- 32) Chakraborty P. K., Mangner T. J., Chugani H. T., *Appl. Radiat. Isot.*, **48**, 619–621 (1997).
- 33) Steel C. J., Brady F., Luthra S. K., Brown G., Khan I., Poole K. G., Sergis A., Jones T., Price P. M., *Appl. Radiat. Isot.*, **51**, 377–388 (1999).
- 34) Okura K., Seki K., Sanoki K., Nishijima K., Kuge Y., Tamaki N., Jpn. Kokai Tokkyo Koho, JP 2005336179.
- 35) Ohkura K., Nishijima K., Sanoki K., Kuge Y., Tamaki N., Seki K., *Tetrahedron Lett.* (in press).