

## [<sup>18</sup>F]酢酸の標識合成と分取精製 (臨床応用への基礎実験)

宮崎吉博<sup>1)</sup>、二宮賢太郎<sup>1)</sup>、竹永枝里子<sup>1)</sup>、山野正起<sup>1)</sup>、  
盛島由貴<sup>2)</sup>、野守裕明<sup>3)</sup>、富吉勝美<sup>4)</sup>

### A simple <sup>18</sup>F-Acetate Synthesis and Purification and Quality Control for Clinical Use

Yoshihiro Miyazaki<sup>1)</sup>, Kentaro Ninomiya<sup>1)</sup>, Eriko Takenaga<sup>1)</sup>, Masaki Yamano<sup>1)</sup>,  
Yoshitaka Morisima<sup>2)</sup>, Hiroyuki Nomori<sup>3)</sup> and Katsumi Tomiyoshi<sup>4)</sup>

**Abstract :** <sup>18</sup>F-Acetate (<sup>18</sup>F-Ace) was synthesized by a simple and quick halogen phase exchange catalysis. Solvent extraction method was employed to purify <sup>18</sup>F-Ace directly from the reaction vessel. These all simple synthesis and purification method make reactions short and quick so that all synthesis time takes less than 30 minutes. 2- Iodo-acetic ethylester (ICH<sub>2</sub>COOC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>) dissolved in anhydrous acetonitrile reacted with <sup>18</sup>F-fluorine in Kryptfix-222 and produce 2-<sup>18</sup>F-acetic ethylester in acetonitrile. Final product <sup>18</sup>F-Ace was obtained by hydrolysis of 2-<sup>18</sup>F-acetic ethylester in 0.25N NaOH. <sup>18</sup>F-Actate radiochemical yield was 48.7% ± 5.2% ( n=5). Pyrogen test and sterility check were all negative. With these new simple synthesis and quick purification, <sup>18</sup>F-Ace will be more employed to diagnose tumors such as well differentiated one than <sup>18</sup>FDG.

**Key words :** <sup>18</sup>F-Acetate, Synthesis, Solvent extraction, Radiochemical yield, Pyrogen test

### I. はじめに

PET心筋検査では[<sup>11</sup>C]酢酸(<sup>11</sup>C-Acetate)が、心筋からの洗い出し速度を測定することにより酸素代謝の定量評価ができることから、心筋検査の酸化代謝指標として利用されてきた<sup>1)</sup>。他方、野守らは[<sup>11</sup>C]酢酸を用いたPETはFDG-PET陰性の高分化肺線がん、前立腺がん、高分化肝細胞がんの診断において[<sup>11</sup>C]酢酸はFDGより有用で

あることを報告している<sup>2-3)</sup>。しかし炭素-11(<sup>11</sup>C)による標識合成は、その物理的半減期が20分であることから、取り込み速度が遅い腫瘍には十分なコントラストが得られず、また患者毎に標識合成が必要となる。他方<sup>18</sup>Fは半減期110分で臨床診断および合成に有利であることから<sup>18</sup>F標識による酢酸が求められていた。[<sup>11</sup>C]酢酸標識合成は日本アイソトープ協会・医学薬学会サイクロロン核医学専門委員会において成熟技術として

1) 熊本大学医学部保健学科放射線技術科学専攻 2) 日本赤十字社熊本健康管理センター  
3) 慶応義塾大学医学部呼吸器外科 4) 熊本大学大学院生命科学研究部  
投稿責任者: 富吉勝美・ktomiyo@kumamoto-u.ac.jp

認定され<sup>4)</sup>、それに基づき標識合成され臨床利用されている。他方、 $^{18}\text{F}$ 酢酸 ( $^{18}\text{F}$ -Acetate) の標識合成は、近年標識合成が行われるようになり、Jeongら<sup>5)</sup> の合成法があるのみで、 $^{18}\text{F}$ 酢酸標識合成法は未だに確立されていない。

本研究は迅速な標識合成法であるヨード酢酸エチル (ICH<sub>2</sub>COOC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>) に相間移動触媒Kriptfix-222を用いた $^{18}\text{F}$ イオンをアセトニトリル中で反応させ、 $^{18}\text{F}$ イオンの置換反応による $^{18}\text{F}$ CH<sub>2</sub>COOC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>を合成した。その後0.25N NaOHによる加水分解により $^{18}\text{F}$ -酢酸を合成、抽出分取精製することにより臨床応用に必要な品質管理を行ったので報告する。

## II. 方法および材料

### 2. 1 使用薬品

標識合成に使用した薬品はアセトニトリル (ナカライ、東京)、ヨード酢酸エステル (和光工業、東京)、クリプトフィックス (Sigma-Aldrich Japan、東京)、無水炭酸カリウム (和光工業、東京) を用いた。加水分解反応には水酸化ナトリウム (ナカライ、東京)、メイロン (炭酸水素ナトリウム、和光工業、東京) を使用した。中間合成化合物 [11C] ヨウ化メチル合成に無水テトラヒドロフラン (Aldrich、米国)、リチウムアルミニウムハイドライド (Aldrich、米国) を用いた。品質検査にはpH測定にリトマス試験紙 (東洋工業、東京)、エンドトキシン検出用キットLimulus ES-II (和光工業、東京)、無菌検査キットDxoid Signal Blood Culture System (Dxoid、米国) を用いた。

### 2. 2 使用機器

$^{18}\text{F}$ 酢酸の標識合成には日本赤十字社熊本健康管理センターPET-CT診断センター内のサイクロトロン IBA 10-5 (IBA、ベルギー)、FDG合成装置TRACERlab MXFDG (GE、米国) を利用した。分析に用いたHPLC装置は、圧力ボ

ンプLP-250 (島津製作所、京都) とUV検出器SPD-20A (島津製作所、京都) 及びNaIシンチレーションカウンタLC-20A (島津製作所、京都) を用いた。品質管理測定にはインキュベータ IC100W (Yamato、東京) を使用し、放射能精製量および放射能収率の測定には、キュリーメーター井戸型NaIシンチレーション検出器1GC-7 (アロカ、東京) を使用した。

## III. $^{18}\text{F}$ 酢酸の合成方法

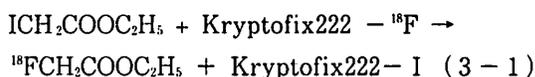
$^{18}\text{F}$ 酢酸の標識合成には日本赤十字社熊本健康管理センターPET-CT診断センター内のサイクロトロン及び、FDG合成装置を利用し、次の3段階による合成を行った。

### 3. 1 $^{18}\text{F}$ の生成

サイクロトロンによる $^{18}\text{O}$ 濃縮水にプロトン (p:陽子) を照射し、 $^{18}\text{O}$  (p,n)  $^{18}\text{F}$ 核反応により $^{18}\text{O}$ 濃縮水に生成した無担体の $^{18}\text{F}$ -イオンを陰イオン交換フィルターQMAに通し、吸着させた。

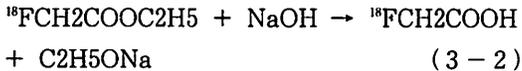
### 3. 2 $^{18}\text{F}$ 酢酸エステルの合成

$^{18}\text{F}$ イオンを吸着した陰イオン交換フィルターQMAに、66mM炭酸カリウム (K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) と15mg/mlのKriptfix 222をアセトニトリルに溶かした混合溶液0.3mlで反応器に溶離する。溶離した $^{18}\text{F}$ 溶液を無水アセトニトリルとともに減圧蒸留を3回繰り返す、乾固させたあと、10mg/mlの無水アセトニトリルに溶かしたヨード酢酸エステルを反応器に加えて、10分85℃で加温反応させる。反応式 (3-1) により、Kriptfix 222の相関移動触媒による $^{18}\text{F}$ -イオンとヨードのイオン交換反応 $^{18}\text{F}$ 酢酸エステルが生成する。



### 3. 3 [<sup>18</sup>F]酢酸エステルの加水分解

標識合成した[<sup>18</sup>F]酢酸エステルの加水分解するため、反応式（3-2）に示すように、2 mlの0.25N NaOHを反応器に加え、常温で攪拌しながら30秒間反応させる。反応液は上層がアセトニトリル有機相と下相に無機相の水相の2層に分離する。未反応の[<sup>18</sup>F]酢酸エステルは上層のアセトニトリル有機相に残り、下層にある無機相の水相に[<sup>18</sup>F]酢酸は抽出される。0.25NHClで中和し、メイロン（炭酸水素ナトリウム）を加えてPHを6~8に調整し、0.24 μm フィルターを通すことにより [<sup>18</sup>F]酢酸を得る。



## IV. 分析方法および分析条件

標識合成した生成物の分析には、HPLCやUV検出器、NaIシンチレーションカウンタによる分析システムを利用した。分析に使用したHPLCの圧力ポンプ及びUV検出器の設定条件は流速2.0ml/min、UV波長280nmとした。カラムはPartisil-10SAX（4.6mmx250mm、Whatman）を使用し、移動相は10mM NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>を用いた。

## V. 無菌検査および発熱性検査

無菌検査の測定には、ブラッドカルチャー50 mlに試料1 mlをシリンジで加え、インキュベータに37℃で安置する。1週間後に細菌がカルチャーで発生したCO<sub>2</sub>を専用測定器で測定し、2 ml以上の体積増加を陽性とし、それ以下を陰性とした。発熱性検査では、パイロジェンキットに試料0.1ml加え、混合した後37℃で20分間放置したのち、ゲル状の液体がキットを静かに180度転倒し、内容物が凝固して変形しない場合を陽性、それ以外の場合を陰性とする<sup>6)</sup>。

## VI. 結果

### 6. 1 [<sup>18</sup>F]酢酸エステル合成

66mM炭酸カリウム（K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>）と15mg/mlのKriptfix 222の溶離液で、QMAから溶離した<sup>18</sup>Fイオンは約50MBqから100MBqの放射能が得られた。アセトニトリルで3回蒸発乾固した<sup>18</sup>Fに10mg/mlの無水アセトニトリルに溶かしたヨード酢酸エステル（ICH<sub>2</sub>COOC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>）を加えて、10分85℃で加温反応させ、反応式（3-1）により得られた[<sup>18</sup>F]酢酸エステルを図1に示す。分析カラムはワットマン Partisil-10SAX（4.6mmx250mm、Whatman、USA）を用い、移動相は10mM NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>、流速 2 ml/minで分析した。RIスペクトル（上段）のRIピークはフルオロ酢酸エチルエステル（<sup>18</sup>FCH<sub>2</sub>COOC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>）で約2.5分の保持時間である。UVスペクトル（下段）のUVピークはヨード酢酸エチルエステルで保持時間がほとんど同じ約2.5分である。UVピークが約8.5分にてているが、ヨード酢酸エチルの脱離生成物である2量体化合物と思われる。

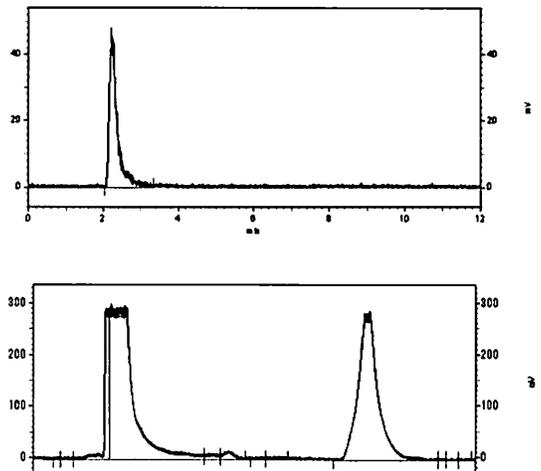


図1 [<sup>18</sup>F]酢酸エステル標識合成後の分析結果  
（上段：RIピーク、下段：UVピーク）

6. 2  $[^{18}\text{F}]$ 酢酸エステルの加水分解

3 ml無水アセトニトリルの反応器内で  $^{18}\text{F}$  標識合成した  $^{18}\text{F}$ -フルオロ酢酸エチルエステルは、0.25N NaOH 2 mlを加えて、室温下で攪拌しながら約 30秒間加水分解を行い、 $^{18}\text{F}$ -酢酸を得た。その分析結果を図 2 に示す。分析条件は前記と同じで分析した。RI スペクトル (上段) の RI ピークは  $^{18}\text{F}$ -酢酸 ( $^{18}\text{F}$ -CH<sub>2</sub>OOH) で約 4.5 分の保持時間である。UV スペクトル (下段) の UV ピークはヨード酢酸 (ICH<sub>2</sub>COOH) で保持時間が約 5.0 分である。他に UV ピークが約 8.5 分にでていますが、ヨード酢酸エチルの 2 量体化合物と思われる。

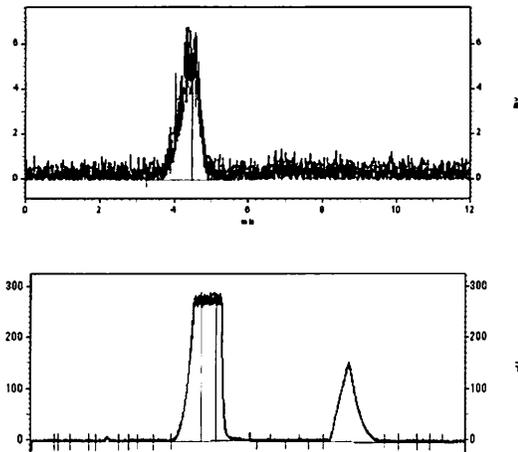


図 2  $[^{18}\text{F}]$ 酢酸エステル加水分解後の分析結果 (上段: RI ピーク、下段: UV ピーク)

6. 3  $[^{18}\text{F}]$ 酢酸の分取

2 ml無水アセトニトリルで標識合成された  $[^{18}\text{F}]$ 酢酸エステルは、加水分解のため 2 mlの0.25 N NaOHを反応器に加え、常温で攪拌しながら 30 秒間反応させる。溶媒抽出法により反応液は上層がアセトニトリル有機相と下相に水相の 2 層に分離する。未反応の  $[^{18}\text{F}]$ 酢酸エステルはアセトニトリル有機相に残り、下相の水相に抽出された  $[^{18}\text{F}]$ 酢酸はシリンジにより分取され、約 2 mlの0.25 NHClで中和した後、0.24  $\mu\text{m}$  フィルターを通す

ことにより PH を 6 ~ 8 に中和させ  $[^{18}\text{F}]$ 酢酸を得る。

6. 4  $[^{18}\text{F}]$ 酢酸の放射化学的純度

放射化学的収率を調べるために、溶離した  $^{18}\text{F}$  イオンと分取  $^{18}\text{F}$ 酢酸の放射エネルギーを NaI シンチレーションカウンタ LC-20A で測定した結果を表 1 に示す。リトマス試験紙による pH によりすべて pH は 6 ~ 8 の範囲にあることが確認された。溶出した  $^{18}\text{F}$ 放射エネルギーに対して、最終  $^{18}\text{F}$ 酢酸の収率は平均  $48.7 \pm 5.2\%$  (n=5) であった。

表 1 溶離  $^{18}\text{F}$ イオンと分取  $^{18}\text{F}$ 酢酸の放射エネルギー (MBq)

回	A 溶離 $^{18}\text{F}$ イオン放射能 (t = 0)	B 分取 $^{18}\text{F}$ 酢酸 (t = 30m)	C 放射能収率 (B/A) x 100
1	60 MBq	34.4 MBq	57.1 %
2	70 MBq	32.0 MBq	45.7 %
3	14.5 MBq	6.54 MBq	45.2 %
4	151 MBq	60.9 MBq	45.3 %
5	127 MBq	64.1 MBq	50.4 %
			平均 = $48.7 \pm 5.2\%$ (n=5)

6. 5 無菌検査とバイロジェンテスト

上記の 5 回の試料とその後 2 回合成実験の試料の連続 7 回の無菌検査とバイロジェン検査を行い、判定基準によってすべて無菌検査および発熱性検査とも陰性であった。

## VII. 考察

成熟製剤として記載されている[<sup>11</sup>C]酢酸の標識合成は、有機金属化合物である Grignard 試薬と <sup>11</sup>CO<sub>2</sub> を反応させ、加水分解により[<sup>11</sup>C]酢酸を合成する標識方法が「PET用放射性薬剤の製造および品質管理」に記載され確立されている<sup>6)</sup>。他方、新薬剤である <sup>18</sup>F-酢酸の合成は、Jeongらが最初に合成法を報告している。彼らは前駆体 O-mesyl glycolate ethyl ester を合成し、tetrabutyl ammonium <sup>18</sup>F fluoride を反応させた後、分取精製に SepPak カラムを利用して <sup>18</sup>F-酢酸 (<sup>18</sup>F-CH<sub>2</sub>OOH) を得ている。Jeongらの合成法を用いた[<sup>18</sup>F]酢酸の臨床的有用性に関しては、前立腺癌のヒヒを用いた Ponde<sup>7)</sup>らの研究により、前立腺癌においては[<sup>11</sup>C]酢酸よりも[<sup>18</sup>F]酢酸のほうの検出能が高いことが報告されている。

同じ前駆体を用いて藤林ら<sup>8)</sup>は、標識合成の自動化を報告しており、Jeongらが70分から90分の合成時間を32分に短縮している。この前駆体 O-mesyl glycolate ethyl ester を用いる[<sup>18</sup>F]酢酸の標識合成は、前駆体の化学合成が少なくとも2、3週間の合成時間と有機合成の技術が必要であることから、一般のPET施設での前駆体合成は困難であり、それが<sup>18</sup>F-酢酸合成の普及を妨げている。

本研究で報告した合成法は前駆体の施設での合成を必要としない市販されているヨード酢酸エチル (ICH<sub>2</sub>COOC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>) を反応試薬に用い、Kriptfix-222 を用いた <sup>18</sup>F をアセトニトリル中で反応させ、<sup>18</sup>F イオンの相関移動触媒による <sup>18</sup>F-フッ素酢酸エチルエステル (<sup>18</sup>FCH<sub>2</sub>COOC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>) を合成した。この方法は図1の上段に示すように、85度による10分間の反応で <sup>18</sup>F-フッ素酢酸エチル (<sup>18</sup>FCH<sub>2</sub>COOC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>) を約2.5分に1ピークのみ放射能生成物が得られている。下段のUVでは同じ約2.5分にヨード酢酸エチルエステルがあり、もう一つのUVピークが約8.5分にてているが、ヨード酢酸エチルの2量体化合物と思われる。

次に <sup>18</sup>F-フッ素酢酸エチルエステルの加水分解による <sup>18</sup>F-酢酸で、Jeongらは、<sup>18</sup>F-フッ素酢酸エチルエステルを1 N KOH で加水分解し、イオンカラムに吸着させ、大量の水で洗ったのち、1 M NaHCO<sub>3</sub> (炭酸水素ナトリウム) で溶離し、中性アルミナカラム SepPak カラムで分取精製している。藤林らも同様の方法で自動化して合成者の被曝を軽減している。我々は2.0ml 0.25 N NaOH を3 ml アセトニトリル中に標識合成された <sup>18</sup>F-フッ素酢酸エチルエステルに加え室温で約30秒間攪拌する。図2に示すように、上段の RI スペクトルで RI ピークは <sup>18</sup>F-酢酸 (<sup>18</sup>F-CH<sub>2</sub>OOH) のみで約4.5分の保持時間である。約2.5分のほとんど全量の <sup>18</sup>F-フッ素酢酸エチルエステルから <sup>18</sup>F-酢酸 (<sup>18</sup>F-CH<sub>2</sub>OOH) に加水分解されているのが分かる。下段 UV スペクトルの UV ピークはヨード酢酸 (ICH<sub>2</sub>COOH) で保持時間が約5.0分である。他に UV ピークが約8.5分にてているが、ヨード酢酸エチルの2量体化合物と思われるが同定はしていない。この加水分解の操作時間は1分未満であり反応は瞬時に終わる。

分取精製は抽出分離により反応器の上層が約3 ml のアセトニトリルの有機相であり、下相が2 ml の0.25 N NaOH を含む水相になり、<sup>18</sup>F-酢酸はナトリウム塩として水相に抽出される。シリンジにより下相の水相約2 ml を抽出しキュウリメータで測定し、その放射能収率を測定した。溶出した <sup>18</sup>F 放射能量に対して、最終 <sup>18</sup>F 酢酸の収率は平均48.7%であった。臨床応用のため連続7回の無菌検査およびバイロジェンテストにおいていずれも陰性で臨床利用に十分な放射能収率と品質検査の結果から、この合成および分取精製法から臨床応用可能であることが分かった。

## VIII. 結論

無担体 <sup>18</sup>F を用いたハロゲン交換による <sup>18</sup>F 酢酸の合成とその精製分離を行った。ヨード酢酸エチル (ICH<sub>2</sub>COOC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>) にアセトニトリル中の

Kriptfix-222 を触媒として  $K^{18}F$  と反応させ、 $^{18}F$  イオンの相関移動触媒による  $^{18}F$ -酢酸エチルエステル ( $^{18}FCH_2COOC_2H_5$ ) を合成した。 $^{18}F$ -酢酸エチルエステルは0.25N水酸化ナトリウムによる加水分解と抽出分離法によりヨード酢酸と $^{18}F$ -酢酸を分離した。放射化学的収率は $48.7 \pm 5.2\%$  ( $n=5$ ) であった。放射化学純度は $98.0\% \pm 1.0\%$  ( $n=7$ ) 以上が得られた。臨床応用に供するための品質検査は、無菌検査と発熱性検査とも陰性であった。臨床利用に十分な放射能収率と品質検査の結果から、この合成および分取精製法から臨床応用可能であることが分かった。

## IX. 文献

- 1) 石渡喜一: 期待されるFDG以外の腫瘍PETイメージング製剤 -  $^{11}C$ 標識製剤の基礎-, 臨床放射線. 51(7): 801-806, 2006.
- 2) Nomori, H. et al:  $^{11}C$ -acetate positron emission tomography imaging for lung adenocarcinoma 1 to 3 cm in size with ground-glass opacity images on computed tomography. Annals of thoracic Surgery. 80(6): 2020-2025, 2005.
- 3) Shibata, H. et al:  $^{18}F$ -Fluorodeoxyglucose and  $^{11}C$ -Acetate Positron Emission Tomography are useful Modalities for Diagnosis the Histologic Type of Thymoma. Cancer. 115: 2531-2538, 2009.
- 4) PET化学ワークショップ編: PET用放射性薬剤の製造および品質管理 第3版: 59-62, 2007.
- 5) Jeong, JM. et al: Synthesis of no-carrier-added [ $^{18}F$ ] Fluoroacetate. J. Labelled Compd. Radiopharm. 39(5): 395-399, 1997.
- 6) PET化学ワークショップ編: PET用放射性薬剤の製造および品質管理、日本アイソトープ協会 医学・薬学部会 サイクロトロン核医学利用委員会: 60-84, 1995.
- 7) D. Ponde, et al: [ $^{18}F$ ]Fluoroacetate: A Potential Acetate Analog for Prostate Tumor Imaging In Vivo Evaluation of  $^{18}F$ -Fluoroacetate Versus  $^{11}C$ -Acetate. J. Nucl. Med. 48(3): 420-428, 2007.
- 8) Li-Quan, Su. et al: New Approach to fully automated synthesis of sodium [ $^{18}F$ ]fluoroacetate- a simple and fast method using a commercial synthesizer-. Nucl. Med. Biology. 33(1): 153-158, 2006.