

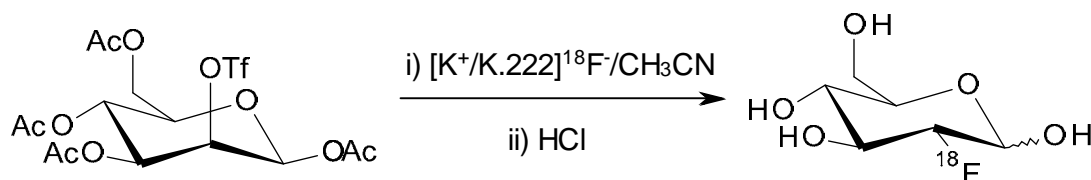
4. $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$ 合成法

$[^{18}\text{F}]\text{フルオロデオキシグルコース}$ (2-deoxy-2- $[^{18}\text{F}]\text{fluoro-D-glucose}$, $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$) は、脳、心筋および癌等のグルコース代謝を診断する薬剤として使用される。グルコース類似体としてヘキソキナーゼによりリン酸化されて $[^{18}\text{F}]\text{FDG-6-リン酸}$ となり、組織内に蓄積する。 ^{15}O -標識ガスや水とならんで、PETにおいて最も汎用される基本的薬剤である。

(佐々木 基仁、石渡喜一、岩田 錬)

A-1. ワンポット酸加水分解法¹⁻³⁾

下記の反応スキームにより合成する。



[使用試薬]

$[^{18}\text{O}]\text{H}_2\text{O}$ ——大陽日酸、Rotem 社、Euriso-top 社、Isotec 社等（化学的純度 99.9%、通常市販されている試薬は 95 原子%以上の濃縮水である）（註 1）

$[^{18}\text{F}]\text{フッ素イオン}$ （註 2）

1,3,4,6-Tetra-O-acetyl-2-O-trifluoromethanesulfonyl- β -D-mannopyranose（マンノーストリフレート）——和光純薬（209-16061）、ABX（92051-23-5）など（註 3）

Kryptofix 222 (K.222) ——Merck（29111-0）（註 4）

無水アセトニトリル——Merck（12636）

炭酸カリウム——Merck（4926、化学的に高純度 99.999%の試薬を使用する）（註 5）

1 M HCl（註 6）

Sep-Pak Accell Plus Light QMA——Waters（註 7）

Maxi-Clean IC-H——Alltech（30256）など（註 8）

Sep-Pak C18——Waters（註 9）

Sep-Pak alumina N——Waters（註 10）

イオン遅延樹脂 AG 11A8——Bio-Rad（143-7834 Biotechnology grade, 50-100 mesh）（註 11）

註 1) PET 用の $[^{18}\text{F}]\text{フッ素イオン}$ 製造原料をうたった市販の $[^{18}\text{O}]\text{H}_2\text{O}$ を使用する。また、使用済みの $[^{18}\text{O}]\text{H}_2\text{O}$ の再利用はできるだけ避けることが望ましいが、再利用のためには、 KMnO_4 と KOH を少量加え還流し、その後蒸留操作を行って混入した不純物を除去し、

残留する有機物をガスクロマトグラフィで、比放射能の低下を招く安定なフッ素イオンの混入をイオンクロマトグラフィであらかじめ検定する必要がある。

- 註2) $[^{18}\text{O}]\text{H}_2\text{O}$ を用い、 $^{18}\text{O}(\text{p},\text{n})^{18}\text{F}$ 反応により製造する。照射終了直後には、多少に係わらず ^{13}N のイオン性物質が検出される。また、イオンクロマトグラフ装置と放射能検出器により放射化学的純度と $[^{18}\text{F}]$ フッ素イオンの比放射能を求めることができる。
- 註3) マンノーストリフレートは、水分の存在や温度により分解しやすい性質を有するため取り扱いに注意が必要である。窒素封入し冷暗所で保存する。また、購入後はなるべく早く使用することが望ましい。
- 註4) 正式名称は、4,7,13,16,21,24-hexaoxa-1,10-diazabicyclo-[8,8,8]-hexacosane。
- 註5) $[^{18}\text{F}]$ フッ素イオンの陰イオン交換樹脂からの脱離に使用するため、不純物等が混入している場合そのまま反応系にも混入して、フッ素化の効率を損ねる可能性がある。なお、溶液調製に用いる水は、超純水を使用することが望ましい。
- 註6) 定量分析用試薬を利用すると便利である。
- 註7) 1 M K_2CO_3 水溶液 (10 mL) と注射用水 (30 mL) で洗浄し炭酸イオン形に調製したものを使用する。この使い捨てカートリッジの代わりに強塩基性陰イオン交換樹脂 AG 1X8 (Bio-Rad 140-1431 Analytical grade, 50-100 mesh) を使用することもできる。
- 註8) 注射用水で良く洗浄して使用する。この使い捨てカートリッジの代わりに強酸性陽イオン交換樹脂 AG 50W-X8 (Bio-Rad 143-5441 Biotechnology grade, 100-200 mesh) を滅菌したガラスカラム (内径 7.0 mm X 長さ 20 mm) に充填して使用することもできる。
- 註9) エタノール (5 mL) と注射用水 (5 mL) であらかじめ洗い活性化しておく。
- 註10) 注射用水 (約 10 mL) で洗浄したものを使用する。
- 註11) 滅菌したガラスカラム (内径 7.0 mm X 長さ 150 mm) に充填して使用する。微生物含有量が少ない biotechnology grade の樹脂を使用することが望ましい。通常、樹脂は購入後消毒用の 70%エタノールで洗浄し、同液に入れて室温保存する。使用する直前にカラムに充填し、注射用水 500 mL で洗浄する。洗浄に輸液セットを用い、最大流量で洗浄すると便利である。

[方法]

$[^{18}\text{F}]$ フッ素イオンを含むターゲット水 (1~2.0 mL) を Sep-Pak Accell Plus Light QMA に通し、 $[^{18}\text{F}]$ フッ素イオンを吸着させる。(註1)

樹脂に吸着させた $[^{18}\text{F}]$ フッ素イオンを 66 mM 炭酸カリウム水溶液 (0.3 mL) で脱離し、 $[^{18}\text{F}]\text{KF}$ として反応器に導入する。(註2)

次に、15 mg/mL の K.222 のアセトニトリル溶液 (1 mL) を加え、濃縮乾固して溶媒を除く。(註2)

反応基質である 20 mg/mL のマンノーストリフレートのアセトニトリル溶液 (1 mL) を加え、閉鎖系で攪拌しながら 85°C で 5 分間フッ素化を行う。(註3)

次いで、アセトニトリルを濃縮乾固する。

残渣に 1 M HCl (2 mL) を加え、閉鎖系で攪拌しながら 130°C で 15 分間加水分解を行う。

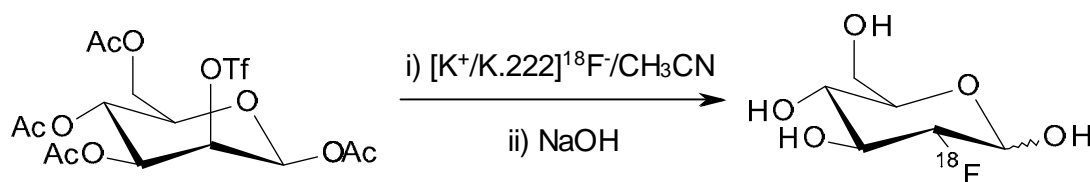
次いで室温程度まで冷却し、一連の精製カラム（IC-H カートリッジ、AG 11A8 カラム、C18 カートリッジおよび alumina N カートリッジ）に通して精製する。更に、注射用水（10 mL 程度）を精製カラムに通して溶出液を合わせる。（註 4）

溶出液を 0.22 μm のメンブレンフィルターに通して注射用薬剤とする。

- 註 1) 樹脂に通過させる速度が速い場合、¹⁸F フッ素イオンの吸着率が低下することがある。
- 註 2) この操作に代わり、あらかじめ K₂CO₃ 水溶液に K.222 とアセトニトリルを混合した液を使用することができる（A-2 を参照）。この場合、K.222 の代わりに TBAHCO₃（tetra-*n*-butylammonium bicarbonate）を使用することができる⁴⁾。また、ここでは十分に水分を除くことが重要であり、再度無水アセトニトリルを加え共沸により十分に水分を蒸発させる方法も有効である。
- 註 3) 反応容器の材質は、温度特性に優れ壁損失の少ない物を使用することが望ましい。材質によっては、収量の低下や不安定化を引き起こすことがある。
- 註 4) IC-H により K.222 を、AG 11A8 により HCl を、Sep-Pak C18 により未加水分解物や着色物質、Sep-Pak alumina N により未反応の¹⁸F フッ素イオンを除去する。溶出速度が速すぎる場合には十分に HCl が除去されず酸性側に傾き、Sep-Pak alumina N よりアルミニウムイオンが溶出する。また、その他の不純物も混入する可能性が高くなる。

A-2. ワンポットアルカリ加水分解法⁵⁾

下記の反応スキームにより合成する。



[使用試薬]

[¹⁸O]H₂O——大陽日酸、Rotem 社、Euriso-top 社、Isotec 社等（化学的純度 99.9%、通常市販されている試薬は 95 原子%以上の濃縮水である）（註 1）

[¹⁸F]フッ素イオン（註 2）

1,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl-2-*O*-trifluoromethanesulfonyl-β-D-mannopyranose（マンノーストリフレート）——和光純薬（209-16061）、ABX（92051-23-5）など（註 3）

Kryptofix 222 (K.222) /炭酸カリウム溶液（註 4）

無水アセトニトリル——Merck（12636）

0.3 M NaOH（註 5）

Sep-Pak Accell Plus Light QMA——Waters（註 6）

Maxi-Clean IC-H——Alltech（30256）など（註 7）

Sep-Pak PS-2——Waters（註 8）

Sep-Pak alumina N——Waters (註9)

- 註1) A-1を参照。
註2) A-1を参照。
註3) A-1を参照。
註4) K_2CO_3 (Merck4926) 28 mg を注射用水 2 mL に溶解し約 0.1 M K_2CO_3 水溶液を調製する。 $K.222$ (Merck29111-0) 200 mg をアセトニトリル 7 mL に溶解し、この 0.7 mL に対し K_2CO_3 水溶液 0.2 mL を用事調製して使用する。
註5) 市販の容量分析用 1 M NaOH 水溶液 (和光純薬 190-13085) 15 mL に対し注射用水 35 mL を加えて調製する。
註6) A-1を参照。
註7) A-1を参照。
註8) エタノール (5 mL) と無菌水 (5 mL) であらかじめ洗い活性化しておく。
註9) A-1を参照。

[方法]

$[^{18}F]$ フッ素イオンを含むターゲット水 (1~2.0 mL) を Sep-Pak Accell Plus Light QMA に通し、 $[^{18}F]$ フッ素イオンを吸着させる。(註1)

樹脂に吸着させた $[^{18}F]$ フッ素イオンを K_2CO_3 水溶液/ $K.222$ 溶液 (0.9 mL) で脱離し、 $[^{18}F]KF$ として反応器に導入する。(註2)

アセトニトリル (1 mL) を加え、濃縮乾固して溶媒を除く。(註2)

反応基質である 20 mg/mL のマンノーストリプレートのアセトニトリル溶液 (1 mL) を加え、閉鎖系で攪拌しながら 85°C で 5 分間フッ素化を行う。(註3)

次いで、アセトニトリルを濃縮乾固する。

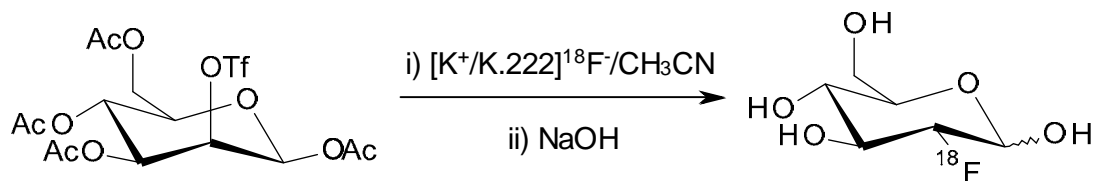
残渣に 0.5 M NaOH (4 mL) を加え、閉鎖系で加熱した後、室温で攪拌しながら加水分解を行う。(註4)

加水分解液を精製カラム (IC-H カートリッジ、PS-2 カートリッジ、および alumina N カートリッジ) に通して精製し、0.22 μm のメンブレンフィルターに通して注射用薬剤とする。

- 註1) A-1を参照。
註2) A-1を参照。
註3) A-1を参照。
註4) 残渣を溶解するためには加熱が必要であるが、この加水分解反応を加熱下で行うと生成した $[^{18}F]FDG$ は一部異性化し 2-deoxy-2- $[^{18}F]$ fluoro-D-mannose (FDM) となるので十分注意する。自動合成装置を使用する場合は、この操作は最適化されている。

A-3. オンカラムアルカリ加水分解法⁶⁾

次の反応式により合成する。



[使用試薬]

$[^{18}\text{O}]\text{H}_2\text{O}$ ——大陽日酸、Rotem 社、Euriso-top 社、Isotec 社等（化学的純度 99.9%、通常市販されている試薬は 95 原子%以上の濃縮水である）（註 1）

$[^{18}\text{F}]$ フッ素イオン（註 2）

1,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl-2-*O*-trifluoromethanesulfonyl- β -D-mannopyranose（マンノーストリフレート）——和光純薬（209-16061）、ABX（92051-23-5）など（註 3）

Kryptofix 222（K.222）/炭酸カリウム溶液（註 4）

無水アセトニトリル——Merck（12636）

2 M NaOH（註 5）

クエン酸緩衝液（註 6）

Sep-Pak Accell Plus Light QMA——Waters（註 7）

Sep-Pak tC18——Waters（註 8）

Sep-Pak alumina N——Waters（註 9）

註 1） A-1 を参照。

註 2） A-1 を参照。

註 3） A-1 を参照。

註 4） K_2CO_3 （Merck4926）水溶液（35 mg/mL）と K.222（Merck29111-0）アセトニトリル溶液（110 mg/mL）を等量用事調製して使用する。

註 5） 市販の容量分析用 2 M NaOH 水溶液（和光純薬 194-05631）が使用できる。

註 6） クエン酸水素二ナトリウム-0.5 水和物（ $\text{C}_6\text{H}_6\text{Na}_2\text{O}_7 \cdot 0.5\text{H}_2\text{O}$ 、25 mg、関東化学 37218-08）、クエン酸三ナトリウム-2 水和物（ $\text{C}_6\text{H}_5\text{Na}_3\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 、144 mg、関東化学 6448-1M）、2 M 塩酸（1 mL、Merck1.09063.100）、純水（5 mL）の混合物が使用できる。

註 7） A-1 を参照。

註 8） A-1 を参照。

註 9） A-1 を参照。

[方法]

$[^{18}\text{F}]$ フッ素イオンを含むターゲット水（1~2.0 mL）を Sep-Pak Accell Plus Light QMA に通し、 $[^{18}\text{F}]$ フッ素イオンを吸着させる。（註 1）

樹脂に吸着させた $[^{18}\text{F}]$ フッ素イオンを K_2CO_3 水溶液/K.222 溶液（0.4 mL）で脱離し、 $[^{18}\text{F}]\text{KF}$ として反応器に導入する。（註 2）

アセトニトリル（1 mL）を加え、濃縮乾固して溶媒を除く。（註 2）

反応基質である 30 mg/mL のマンノーストリフレートのアセトニトリル溶液（1.5 mL）を加

え、閉鎖系で攪拌しながら 85°C で 4 分間フッ素化を行う。(註 3)

次いで、反応液を注射用水 (30 mL) で希釈し、活性化した tC18 カートリッジに通す。

カートリッジを注射用水 (10 mL) で 2 回洗い、窒素ガスを通して大部分の水分を除去する。

カートリッジに 2 M NaOH (0.8 mL) を満たし、室温で 4 分間放置して加水分解を行う。

カートリッジからクエン酸緩衝液、又はリン酸緩衝液で生成した [¹⁸F]FDG を溶出し、次いで精製カラム (alumina N カートリッジと tC18 カートリッジ、又は Oasis カートリッジと alumina A カートリッジ) に通して精製し、0.22 µm のメンブレンフィルターに通して注射用薬剤とする。

註 1) A-1 を参照。

註 2) A-1 を参照。

註 3) A-1 を参照。

[トラブル処理]

1. エンドトキシン試験で陽性になったとき。

応急に対処できない。陽性となる主な原因は、イオン遅滞樹脂の洗浄処理が不十分なときと考えられるので、イオン遅滞樹脂の洗浄法を再点検する。

2. アルミニウムイオンが検出されたとき。

メイロン等でアルカリ性にして、精製した沈澱を 0.22 µm フィルターに通して除く。

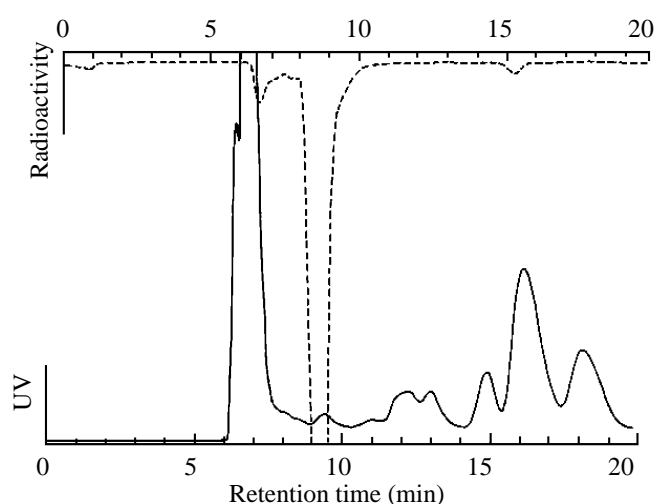
[HPLC 分取条件] 7) (註 1)

カラム : Delta-pak C18 (内径 25 mm X 長さ 100 mm を 2 本連結)、Waters、又は、
YMC-Pack ODS (内径 20 mm X 長さ 250 mm)、ワイエムシー (註 2)

溶離液 : 注射用生理食塩水

流 速 : 10 mL/min

検出器 : UV (210 nm)



カラム管理 : 通常カラムは局方の 95%エタノールに平衡化しておく。使用前には、まず注射用蒸留水 (約 200~250 mL) でエタノールを十分に除き、次いで注射用生理食塩水 (約 200~250 mL) で平衡化して用いる。使用後は、初め注射用蒸留水 (約 200~250 mL) で洗浄して塩を十

分に除き、次いで局方の 95%エタノールによりカラムを洗浄する。(註 3)

- 註 1) 通常 HPLC 分取は必要ないが、簡単な $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$ 精製法として紹介する。方法は、(塩酸加水分解の後) 反応液をロータリエバポレーターで濃縮乾固し、残渣をメイロン (2 mL) に溶かす。この溶液をガラスウールを充填したフィルターに通して HPLC カラムに注入し、分離精製を行う。
- 註 2) カラムとしては、YMC-Pack ODS の方が優れた分離を示し、 $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$ の溶液量は 5~6 mL と少ない。Delta-Pak C18 を用いるとき、 $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$ の溶液量は約 10 mL と多くなり臨床使用に相当である。また、経済的にも、後者の方が安価である。どちらのカラムによっても、放射性不純物はほぼ完全に除くことができる。UV 検出器 (210 nm) で見るとかなり大部分の非放射性的の不純物も除かれる。
- 註 3) HPLC ポンプによる溶離液の吸い上げ口には、通常のフィルターを使わずに、長いステンレス針 (24 cm、16 ゲージ) を乾熱滅菌して使用すると便利である。

B. 分析法

[放射化学的純度]

HPLC (註 1)

- i) カラム : $\mu\text{Bondapak Carbohydrate}$ (内径 3.9 mm X 長さ 300 mm)、Waters (註 2)
 溶離液 : $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ (85/15)
 流速 : 2 mL/min
 保持時間 : 3.8 分
- ii) カラム : Asahipak NH2P-50 4E (内径 4.6 mm X 長さ 250 mm)、昭和電工
 溶離液 : $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ (9/1)
 流速 : 2 mL/min
 保持時間 : 5.9 分
- iii) カラム : Aminex HPX-87H (内径 7.8 mm X 長さ 300 mm)、Bio-Rad (註 3)
 溶離液 : H_2O (85°C)
 流速 : 1 mL/min
 保持時間 : 7.0 分

- 註 1) 通常分析には 1 つの条件で分析すればよいが、反応条件等の検討やなんらかのトラブル時には、性質の異なる 2 つの条件で分析することが望ましい。また、溶離液に緩衝液を使用しない系では、 $[^{18}\text{F}]\text{F}$ 素イオンはカラムに吸着され溶出されないのに注意を要する。通常アルミナカラムを通したときは、 $[^{18}\text{F}]\text{F}$ 素イオンは含まれていないと考えられる。
- 註 2) 加水分解が不十分とき除ききれない放射性不純物は、条件 i) では $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$ と分離できず、条件 iii) では分離が良好である。
- 註 3) Bio-Rad 社の HPX 87C カラムがほぼ同様に使用できる。

TLC

- i) プレート：セルロース、Merck
溶離液：2-butanol/conc.NH₄OH/H₂O (66/1/33)
Rf 値：0.67
- ii) プレート：シリカゲル (0.2 M NaH₂PO₄ に浸し室温で乾かしたのち、110°C で 30 分加熱して活性化する)
溶離液：iso-propanol/H₂O (4/1)
Rf 値：0.70
- iii) プレート：シリカゲル (0.2 M NaH₂PO₄ に浸し室温で乾かしたのち、110°C で 30 分加熱して活性化する)
溶離液：2-butanol/MeOH/AcOH (3/1/1)
Rf 値：0.76

[化学的純度]

無担体添加のフッ素イオン法で合成された[¹⁸F]FDG の比放射能の測定には、高感度の電気化学検出器が必要である。電気化学検出器の場合には、糖の高感度分析になるためパルスドアンペロメトリーモードが利用できる機種が必要である（日本ダイオネックス、横河アナリティカル等）。[¹⁸F]FDG の定量限界は 30~50 ppb である。

カラム：Dionex CarboPac PA1（内径 4 mm X 長さ 250 mm）、日本ダイオネックス
溶離液：0.1 M NaOH；ポストカラム試薬：0.35 M NaOH
流速：どちらも 1 mL/min
保持時間：9.5 分

化学的不純物

●**K.222**：フッ素イオン法による[¹⁸F]FDG 標品中の K.222 の検出には、以下の 2 つの方法がある。

TLC による展開・発色テスト

展開後よう素にて発色させる。確認限界は約 30 ppm である。（註 1）

- i) プレート：シリカゲル
溶離液：MeOH/conc. NH₄OH (9/1)
Rf 値：K.222：0.38、[¹⁸F]FDG：0.83
- ii) プレート：シリカゲル
溶離液：triethylamine/MeOH (0.1/99.9)
Rf 値：[¹⁸F]フッ素イオン：0、K.222：0.16、glucose：0.36、[¹⁸F]FDG：0.62

よう化白金酸試薬によるスポットテスト⁸⁾

よう素白金酸試薬溶液に浸し乾燥させて調製した TLC シリカゲルプレート上に 5-10 μL の試料液を滴下し、発色により判定する。確認限界は約 20 ppm である（注 2）。

註 1) 通常、精製に陽イオン交換樹脂 AG50W-X8 を使用するとき、標品中に K.222 が検出されることはほとんど無い。

注 2) 専用の TPLC プレート「カラースポットテスト K222」が JFE エンジニアリングお

よび同様の製品がユニバーサル技研から市販されている。

●**TBAHCO₃**：反応触媒に TBAHCO₃ を使用した場合には、本試験を必要とする。1 mM TBA イオン標準液を 0.1~0.5 mL の範囲で一定量とり、これに 3.75 mM の sodium bis(cis-1,2-diethylenedithiolate)nickelate 溶液 (3 mL) と 0.1 M 酢酸緩衝液 (pH 5) (1 mL) を加え、さらに水を加えて 5 mL にした後、約 20 分間放置して標準試薬溶液とする。次に、クロロホルム (10 mL) を分液漏斗にとり、これに標準試薬溶液を加えて十分に振り混ぜ、下層のクロロホルム層を分取し、テフロン濾紙で濾過して混入する水分を除去した後、分光光度計によって波長 318 nm で吸光度を測定して検量線を作成する。同様の操作で検体 (1 mL) を用いて検体試料を調製して吸光度を測定し、検量線から本品中の TBA イオン濃度を定量する。

●**アルミニウムイオン**： $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$ の精製にアルミナカラムを使用するときは、本検査を必要とする (註 1)。 $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$ 溶液 1 滴を滴板にとり、アンモニア試薬 1 滴、次いでアリザリンスルホン酸水溶液を 1 滴加えたとき紫色を呈し、さらに酢酸溶液を加え酸性にしたとき赤色を呈しない。確認限界は 0.65 mg (約 0.02 ppm) である。

市販のイオン試験紙アルミチェック (アドバンテック東洋) の測定範囲は、2~100 ppm である。

註 1) 通常、 $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$ 標品が中性のとき、アルミニウムイオンは検出されない。

C. その他

[毒性]

FDG : LD₅₀ (腹腔注射)、ラット : およそ 600 mg/kg⁹⁾

K.222 : LD₅₀ (経口)、ラット : 0.032-0.035 g/kg

[被曝線量]¹⁰⁾

ヒト全身 PET 動態計測による (日本人男)。

実効線量 : 21 μSv/MBq (ICPR 60)

膀胱壁 : 120 μGy/MBq、心臓 : 45 μGy/MBq、脳 : 44 μGy/MBq、脾臓 : 38 μGy/MBq

参考文献

1. Hammacher K., Coenen H.H., Stöcklin G.: *J. Nucl. Med.*, **27**, 235-238 (1986).
2. Chaly T., Dahl J.R.: *Nucl. Med. Biol.*, **16**, 385-387 (1989).
3. Morlein S.M.M., Brodack J.W., Siegel B.A., et al.: *Appl. Radiat. Isot.*, **40**, 741-743 (1989).
4. Culbert P.A., Adam M.J., Hurtado E.T., et al.: *Appl. Radiat. Isot.*, **46**, 887-891 (1995).
5. Füchtner F., Steinbach P., Mäding P., et al.: *Appl. Radiat. Isot.*, **47**, 61-66 (1996).
6. Lemaire C., Damhaut Ph., Lauricella B., et al.: *J. Label. Compd. Radiopharm.*, **45**, 435-447 (2002).
7. Ishiwata K., Ishii S., Senda M.: *Appl. Radiat. Isot.*, **44**, 1119-1124 (1993).
8. Mock B.H., Winklw W., Vavrek M.T.: *Nucl. Med. Biol.*, **24**, 193-195 (1997).
9. Bessell E.M., Courtenay V.D., Foster A.B., et al.: *Eur. J. Cancer*, **9**, 463-470 (1973).

10. Deloar H.M., Fujiwara T., Shidahara M., et al.: *Eur. J. Nucl. Med.*, **25**, 565–574 (1998).