

《ノート》

¹¹C-Ro 15-1788 の前臨床段階における有効性と安全性の評価

Preclinical Evaluation of ¹¹C-Ro 15-1788 Solution for Injection as a Radiopharmaceutical

井上 修* 橋本 謙二* 山崎統四郎* 篠遠 仁*
館野 之男* 鈴木 和年** 山口 寛*** 樫田 義彦****

Osamu INOUE*, Kenji HASHIMOTO*, Toshiro YAMASAKI*
Hitoshi SHINOTO*, Yukio TATENO*, Kazutoshi SUZUKI**,
Hiroshi YAMAGUCHI*** and Yoshihiko KASHIDA****

*Division of Clinical Research, **Section of Cyclotron, ***Division of Physics,
****Senior Research Counselor, National Institute of Radiological Sciences

I. 序 論

Ro 15-1788 は Roche 社により開発された強力なベンゾジアゼピンのアンタゴニストであり、中枢神経系のベンゾジアゼピンレセプター (以下 Bz-R と略) に対しては、そのサブクラスを問わず非常に高い親和性を有することが示されている¹⁾。すでに Comar らにより ¹¹C による標識合成が示され、パプーンを用いた実験結果から脳内の放射能の大部分はレセプターに対する特異結合であることが示されている²⁾。著者らはヒト脳における Bz-R の結合能を定量化し、生理学的応用や各種疾患の病態を把握することを目的として、¹¹C-Ro 15-1788 注射液の製法を確立し、前臨床段階における有効性と安全性との評価を行ったのでその結果を報告する。

* 放射線医学総合研究所臨床研究部

** 同 サイクロトン管理課

*** 同 物理研究部

**** 同 特別研究員

受付: 60 年 4 月 12 日

最終稿受付: 60 年 6 月 20 日

別刷請求先: 千葉市穴川 4-9-1 (☎260)

放射線医学総合研究所臨床研究部

井 上 修

II. ¹¹C-Ro 15-1788 の製法

Comar らの原法²⁾や Ehrin らの方法³⁾を一部変更し、分離条件を変えることによって、水性注射剤として調製することができた。最終的に確立した製法を Fig. 1 および Table 1 に示す。

III. 小型動物における有効性の評価

1. 実験方法

上記の方法により調製した ¹¹C-Ro 15-1788 液 0.2 ml (約 100 μ Ci) をマウス (C₃H, ♂) に静注し、経時的に全脳および血液を取り出し重量および放射能を測定した。また ³H-Ro 15-1788 生食液 (87 Ci/mmol, 1 μ Ci/0.2 ml) に、キャリアーとして非放射性の Ro 15-1788 を種々の濃度に添加し (3.4 ng/kg, 0.1 μ g/kg, 3 μ g/kg, 30 μ g/kg, 300 μ g/kg), マウス静注 5 分後の、大脳皮質および血液の放射能分布を求めた。放射能測定は燃焼法により行った。

2. 結 果

¹¹C-Ro 15-1788 の体内挙動を Fig. 2 に示すが、静注後速やかに、脳へ移行し、以後単一指数関数

Key words: ¹¹C-Ro 15-1788, Benzodiazepine receptor.

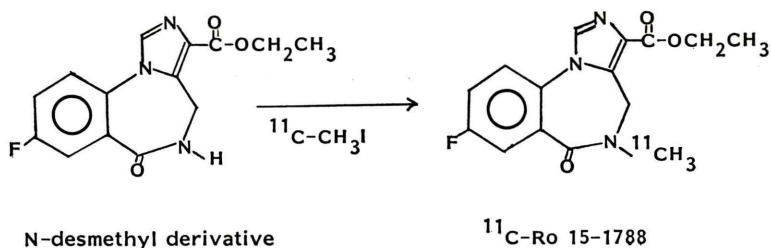
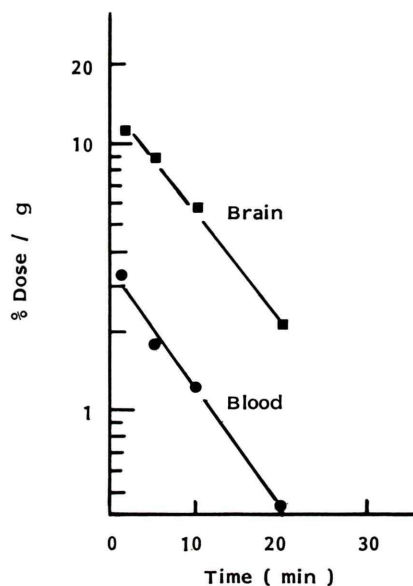
Fig. 1 Synthesis of ^{11}C -Ro 15-1788 solution for injection.

Table 1 製法

1. 高純度の N_2 ガスをターゲットに充填する (ターゲット圧 10–20 kg/cm^2)
2. 反応経路をよく乾燥する.
3. 2–20 μA の Proton (10–16 MeV) を 10–40 分間照射する.
4. $^{11}\text{CO}_2$ 還元槽に LiAlH_4 -THF 溶液 (0.1–1.0 ml) を注入する.
5. HI 槽に HI (0.2–1 ml) を注入する.
6. 反応槽に N-desmethyl 体, NaH, の DMF 溶液 (0.2–0.5 ml) を注入する.
{N-desmethyl 体 4 mg/ml, NaH-DMF (0.1 g/ml, 10 l)}
7. $^{11}\text{CO}_2$ を還元槽に導入し, 以後自動遠隔操作により, ^{11}C -Ro 15-1788 溶液を分離する. (アセトニトリル–0.1 M リン酸バッファー混合液, 逆相高速液体クロマトカラム C-18)
8. 溶媒を留去する (100°C 以下 -15 分以内)
9. 注射用生理食塩水 (3–11 ml) にて溶解する.
10. 限外濾過膜, またはミリポアフィルタにて無菌バイアル中に濾過する.

Fig. 2 Biodistributions of ^{11}C -Ro 15-1788 in mice (n=3).

的に放射能は減少した。この脳放射能の減少は、血中放射能の減少ときわめてパラレルに変化しており、このトレーサーは体内で比較的速く、準平衡状態に到達することが推定される。また Fig. 3 に示すように、非放射性のキャリアー Ro 15-1788 の投与量を増すに従って、大脳皮質の放射能は著明に減少するが、血中放射能はほとんど変化しない。この投与量による大脳皮質の放射能の減少は、Bz-R との結合に対する競合阻害によるものであり、Bz-R が最も高密度に分布している大脳皮質では、その放射能の 80% 以上は特異的結合によるものであることが判明した。以上のように、このトレーサーは、静注後、速やかに脳へ移行し、Bz-R と特異的に結合することが明らかになった。

IV. 品質試験結果

Table 2 に示すように、 ^{11}C -Ro 15-1788 の規格および試験方法を定め、3 Lot の製剤につき試験を行った結果、いずれの項目にも適合した。Table 3 に主な項目についての試験結果を示す。

V. 急性毒性試験

A. 主な含有成分

主成分である Ro 15-1788 のマウスまたはラットにおける LD₅₀ 値はそれぞれ 100–300 mg/kg i.v. (マウス), 100–1,000 mg/kg i.v. (ラット) である⁴⁾。10 mCi (100 mCi/ μmol) を体重 60 kg のヒ

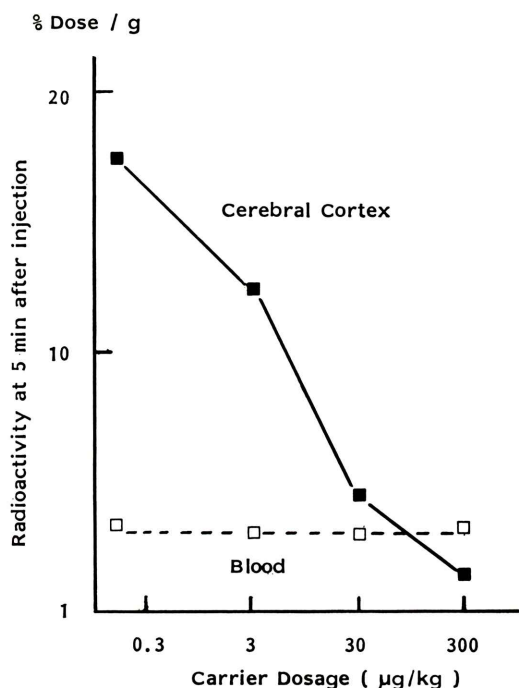


Fig. 3 Effect of carrier Ro 15-1788 on the biodistributions of ³H-Ro 15-1788 in mice (n=3).

トに投与した場合少なくとも 30,000 倍以上の安全係数を有することになる。

分離精製の段階で微量混在してくる N-des-methyl 体については、マウスについては 5 mg/kg i.v. の投与量では、なんら異常を認めなかった。この 5 mg/kg を最大無作用量と仮定すると本注射剤の規格 (30 µg/10 mCi 以下) においては、10 mCi を体重 60 kg のヒトに投与した場合 10,000 倍以上の安全係数を有する。

B. 最終製剤の急性毒性

雄 C₃H マウス (7-8 週齢, 体重約 30 g) を用い、各 Lot の最終製剤 0.2 ml を尾静脈より投与し、1 週間にわたって経過を観察した (n=10)。その結果 3 Lot とともに死亡例はなく、なんらの異常を認めなかった。この製剤を 10 mCi 投与した場合においても最低限 100 倍以上の安全係数を有することが判明した。

Table 2 ¹¹C-Ro 15-1788 注射薬規格および試験方法

(1) 性状	無色透明の液体
(2) 容量	3-11 ml
(3) pH	pH 試験紙により pH を測定するとき 2.5-6.0 である
(4) 異物	肉眼で観察するときこれを認めない
(5) 放射能	校正されたキュリーメーターで測定するとき 3 mCi 以上である
(6) 確認試験	①本品について、NaI (TI) または Ge (Li) 検出器を用いてガンマ線スペクトルを描くとき、511 KeV においてピークを認める ②本品につき半減期を測定するとき、その値は 19-21 分である また、20分の測定間隔における残存率は 47-53% である
(7) 純度試験	①放射性核種異物：確認試験①により試験を行うとき、511 KeV 以外にピークを認めない ②放射性異物：ラジオ液体クロマトグラフ法 (C-18 逆相カラム CH ₃ CN-0.01 M H ₃ PO ₄ 1:1 または 3:2) にて検定するとき、 ¹¹ C-Ro 15-1788 以外の不純物は 4% 以下である ③N-desmethyl 体含量：純度試験②により試験を行ったときの UV (254 nm) の吸光度と検量線より定量するとき 30 µg/10 mCi 以下である
(8) 比放射能	純度試験②により試験を行い、UV (254 nm) の吸光度と検量線より定量するとき、50 Ci/mmol 以上である
(9) 無菌性	放射性医薬品基準の無菌試験法、またはバクテック試験法により試験を行うとき無菌である
(10) 発熱性	放射性医薬品基準のエンドトキシン試験法により試験を行うとき、本品は発熱性物質を含まない

本規格のうち、(9)、(10) の項目については事後検定を行うことが可能である

Table 3 ^{11}C -Ro 15-1788 の規格試験成績

Lot No.	放射能 (mCi)	比放射能 (mCi/ μmol)	放射化学的純度	放射核化学的純度	N-desmethyl 体 ($\mu\text{g}/10\text{ mCi}$)
Ro-001	68.2	417	>99%	>99%	3.0
Ro-002	32.0	196	>99%	>99%	2.2
Ro-003	40.2	673	>99%	>99%	1.0

VI. 被曝線量の推定

1. 方 法

^3H -Ro 15-1788, 0.2 ml (1 μCi , 0.01 nmol) をマウス (C_3H , ♂, 8-9 週齢) の尾静脈より投与し, 経時的に血液, 肝, 心, 肺, 筋, 脳を摘出し, その重量および放射能を測定して放射能分布を算出した. その結果に基づいて, 各臓器における生物学的半減期を推定し, MIRD 法によりヒト (25歳, 体重 60 kg) における被曝線量を推定した. なお, 直接放射能分布を測定しなかった臓器については, その放射能濃度は血液中の放射能と同一であると仮定して計算した.

2. 結 果

Table 4 に ^3H -Ro 15-1788 のマウスにおける体内分布を示す. この結果に基づいて, 各臓器における residence time A_h を求め, 次式に従って臓器 r_k における被曝線量を推定した.

$$D(r_k) = \sum_h \tilde{A}_h \cdot S(r_k \leftarrow r_h)$$

$$\tau_h = \int_0^\infty A_h(t) / A_0 \cdot dt \quad (\text{hr})$$

ここで

$\tilde{A}_h = A_0 \tau_h$: 臓器 r_h における the cumulated activity,

$S(r_k \leftarrow r_h)$: Absorbed dose per unit cumulated activity,
(rad/Ci-hr)

(MIRD pamphlet No. 11),

* 日本人の $S(r_k \leftarrow r_h)$ は MIRD の比吸収割合 (ICRP. Pub23) から日本人の体格を変数として「変換法」で計算した.

その結果を Table 5 に示す.

最大 5 mCi 投与したと仮定して, 最も被曝線

Table 4 ^3H -Ro 15-1788 のマウス体内分布 (n=3)

	%dose/g			
	1 min	15 min	30 min	60 min
血液	4.65	1.10	1.49	0.233
肝臓	5.95	5.64	1.74	0.368
脾臓	2.40	0.657	0.439	0.194
小腸	6.80	36.95	13.81	6.72
腎臓	8.13	6.81	3.58	0.85
心臓	5.57	0.819	0.374	0.122
肺	5.99	1.07	0.485	0.165
睾丸	1.88	1.13	0.595	0.197
筋肉	3.74	1.35	0.462	0.107
膀胱	1.66	71.60	63.28	11.91
脳	9.71	5.47	1.93	0.229

Table 5 ^{11}C -Ro 15-1788 による主要臓器の推定被曝線量 (成人に 1 mCi を静脈内投与したとき)

	mRad
副 腎	6.2
膀 胱	51
小 腸	78
大 腸	6.3
肝	9.7
腎	12
肺	4.3
脾	3.8
脾	3.6
辜 丸	2.9
卵 巢	5.8
甲 状 腺	4.8
乳 腺	0.9
骨 (腕)	4.8
骨 (脚)	8.5
赤色骨髄	3.1

量が多い小腸においてもその値は約 300 mR と非常に少ないことがわかった.

VII. 結 論

^{11}C -Ro 15-1788 は, 脳内の Bz-R と特異的に結

合し、かつ毒性、被曝線量からみても安全性の高い放射性薬剤であるといえる。

Ro 15-1788 および N-desmethyl 体を供与して下さった日本ロッシュ株式会社ならびに貴重な助言をいただいた中村圭二、岡田敏一両博士に深謝致します。

文 献

- 1) Hunkeler W, Mohler H, Pieri L, et al: Selective antagonists of benzodiazepines. *Nature* **290**: 514–516, 1981
- 2) Maziere M, Hantraye P, Prenant C, et al: Synthesis of Ethyl 8-Fluoro-5,6-dihydro-5-¹¹C methyl-6-oxo-4H-imidazo 1,5-a 1,4 benzodiazepine-3-carboxylate (Ro15-1788-¹¹C): A selective Radioligand for the In Vivo Study of Central Benzodiazepine Receptors by Positron Emission Tomography. *Int J Appl Radiat Isot* **35**: 973–976, 1984
- 3) Ehrin E, Johnstrom P, Stone-Elander S, et al: C-11 labelling of Ligands for PET Studies of Dopamine and Benzodiazepine Receptors. 5th Inter Symp on Radiopharm Chem July 9–13. Tokyo, 1984
- 4) Bonetti EP, Pireri L, Cumin R, et al: Benzodiazepine Antagonist Ro 15-1788: Neurological and Behavioral Effects. *Psychopharmacology* **78**: 8–18, 1982