

《原 著》

[¹¹C]McN5652X 注射液の改良自動合成とマウス、ヒトにおける体内動態

佐々木正大*** 須原 哲也* 久保寺昭子** 鈴木 和年*

要旨 セロトニン再取り込み阻害剤である [¹¹C]McN5652X {(6S,10bR)-trans-(+)-1,2,3,5,6,10b-hexahydro-6-[4-(methylthio)phenyl]pyrrolo-[2,1-a]-isoquinoline} はこれまで報告された他のセロトニントランスポーター標識リガンドに比較し, in vivo での標的組織への集積が迅速であり, 特異結合の割合が高いことが報告されている. この化合物は Suehiro らにより反応基質 {(6S,10bR)-trans-(+)-1,2,3,5,6,10b-hexahydro-6-[4-(mercapto)phenyl]pyrrolo-[2,1-a]-isoquinoline: **A**) を [¹¹C] ヨウ化メチルで S-メチル化することによりはじめて合成された. しかし, **A** は非常に反応性に富み分解しやすいため, その改良合成法が望まれていた. そこで, SH 基保護剤である DTT (Dithiothreitol) を添加することにより **A** を安定化し, かつ自動合成法を確立することにより比放射能 181.3 ± 7.4 GBq/ μ mol, 放射化学的純度 $98.6 \pm 0.4\%$ の [¹¹C]McN5652X 注射液を 2.76 ± 1.23 GBq で得ることに成功した. この [¹¹C]McN5652X をマウスに静注し, 安全性, 被ばく線量などについて前臨床評価を行った. マウスにおける脳内分布については, 視床, 線条体, 大脳皮質に高い集積が認められ, 健康人を対象とした PET 計測では, 視床, 線条体, 中脳に高い集積が認められた. これまでの in vitro および in vivo のセロトニントランスポーターの分布の報告と同様の結果が確認された.

(核医学 33: 1319-1327, 1996)

I. はじめに

神経伝達物質であるセロトニンは, 神経終末より放出されシナプス間隙に放出された後, 神経終末に存在するセロトニントランスポーターによって再び神経終末に取り込まれる. セロトニントランスポーターについては, うつ病との関連性が指摘されており, 自殺者の大脳皮質における減少が報告されている¹⁾. また, パーキンソン病患者の

被殻における減少や加齢による増加なども報告されており^{2,3)}, セロトニントランスポーターのインビボ測定はこれら疾患の病態解明にとってきわめて有用であるものと考えられる. これまでポジトロン CT (PET) によるセロトニントランスポーター測定のために多くの標識リガンドが開発されてきた. しかしながら抗うつ薬を主体としたこれらのリガンドは選択性や親和性, 特異結合性に問題があり, インビボでの定量測定は不十分なものであった^{4,5)}. 最近開発された [¹¹C]McN5652X はセロトニントランスポーターに高い親和性を示すとともにインビボでの特異結合が高いことが報告されている⁶⁻⁹⁾. われわれは, [¹¹C]McN5652X の自動合成法の確立を目的として Suehiro らの方法に従い [¹¹C]McN5652X の合成を試みたが¹⁰⁾, 混入してくる異性体の分離が不十分であり, 純度の高

* 放射線医学総合研究所高度診断機能研究ステーション

** 東京理科大学薬学部

受付: 8 年 6 月 20 日

最終稿受付: 8 年 10 月 11 日

別刷請求先: 千葉市稲毛区穴川 4-9-1 (☎ 263)

放射線医学総合研究所

高度診断機能研究ステーション

鈴木 和 年

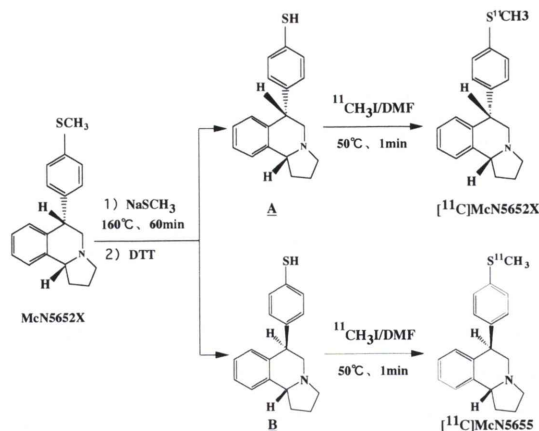


Fig. 1 Improved synthesis of $[^{11}\text{C}]\text{McN5652X}$.

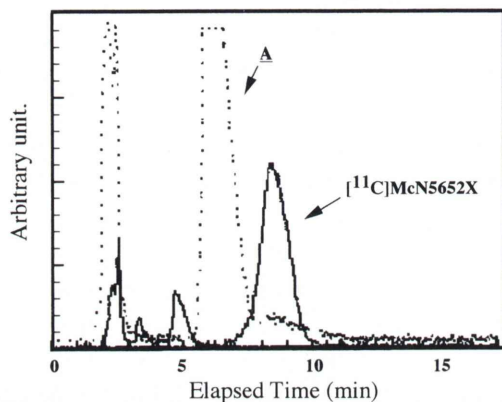


Fig. 2 Purification of $[^{11}\text{C}]\text{McN5652X}$ obtained by S- $[^{11}\text{C}]$ methylation of a precursor **A**. broken line: UV signal at 254 nm, solid line: radioactivities

い $[^{11}\text{C}]\text{McN5652X}$ の合成には至らなかった。これは反応基質である **A** {(6S,10bR)-trans-(+)-1,2,3,5,6,10b-hexahydro-6-[4-(mercapto)phenyl]pyrrolo-[2,1-a]-isoquinoline} が非常に分解しやすく、分離カラムの分離能の著しい低下を引き起こし、再現性のある結果が得られなかったことによる。その上、調製した **A** は保存も困難で $[^{11}\text{C}]\text{McN5652X}$ の製造に当たって毎回新たに調製する必要があった。また、この方法では精製中に **A** が分解し減少するため、最終的に標識合成に必要とされる限界量まで低下することもしばしば認められた。最近 Suehiro らによって SH 基のチオ

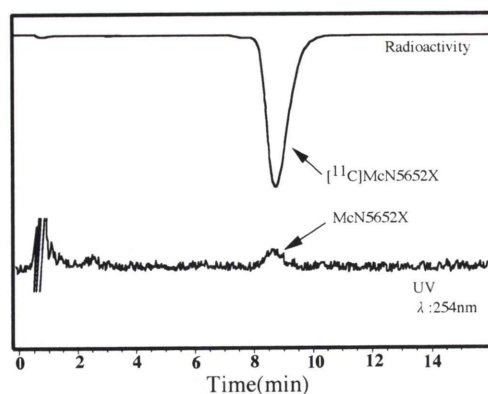


Fig. 3 Analytical HPLC chromatogram of the isolated $[^{11}\text{C}]\text{McN5652X}$.

エステル形成による **A** の安定化が報告されたが¹¹⁾、本研究では、反応基質に対し SH 基保護剤である DTT (Dithiothreitol) の添加による安定化と、それを用いた $[^{11}\text{C}]\text{McN5652X}$ の自動合成を試みた (Fig. 1)。さらにマウスおよび健康人の生体脳におけるトレーサ挙動を調べると共に、前臨床段階での被ばく線量測定の報告がなされていないため、ここに毒性、被ばく線量の評価も行った。

II. 方 法

1. 反応基質 (**A**) の合成

McN5652X の乾燥 DMF 溶液 (4 mg/200 μl) に NaSCH₃ の乾燥 DMF 溶液 (9.6 mg/200 μl) を加え、160°C で 1 時間反応させた。冷却後、希釈液 500 μl {HCOONH₄ (63 mg), DTT (90 mg), 1N-HCl (2 ml) を混合、水で全量を 10 ml としたもの} を反応混合物に添加し、逆相 HPLC で分離、精製した (カラム：日本分光 Megapak SIL C18-10 250 \times 7.5 mm i.d., 移動相：CH₃CN/0.1 M HCOONH₄ (pH 4.0, 0.5% DTT)=30/70, 流速：4 ml/min, UV 波長：254 nm)。**A** に相当するフラクション (保持時間 30 分から 33 分) を分取し、水浴 20°C でアセトニトリルを除去した後、ジクロロメタンで抽出し、濃縮乾固を行い **A** を得た。この状態で、冷凍保存し (-18°C)、使用時に乾燥 DMF を加えて標識原料とした。

また、脱メチル化反応において cis 異性体である {cis-1,2,3,5,6,10b-hexahydro-6-[4-(mercapto)-phenyl]pyrrolo-[2,1-a]-isoquinoline: **B**} も同時に生成するため、上と同様の方法で精製し、[¹¹C]-McN5652X の cis 異性体である [¹¹C]McN5655 の標識原料とした。

これら反応基質の確認はそれぞれを非放射性ヨウ化メチルで再びメチル化し、各々に対応する標品と比較することにより行った。

2. 標識合成

[¹¹C]McN5652X 注射液は Suzuki らの方法に従い、自動合成装置を用いて行った¹²⁾。99.9999% の高純度窒素ガスをアルミニウム製ターゲット容器 (入射窓: Al 600 μm, 入射径: 20 mmφ, 出口径: 30 mmφ, 長さ: 150 mm) に 14 kg/cm² で充填し、18 MeV のプロトンビーム、15 μA で 30 分間照射した。生じた ¹¹CO₂ を -15°C 程度に冷却した LiAlH₄ の THF 溶液にバブリングし、THF を除去したのち、57% HI 溶液を加えることにより ¹¹CH₃I を得た。これを **A** の乾燥 DMF 溶液 (0.5~1.0 mg/500 μl) 中に捕集し ¹¹CH₃I と 50°C で 1 分間反応させた。反応混合物を HPLC で分離し (カラム: 日本分光 Megapak SIL C18-T 250×7.5 mm

i.d., 移動相: CH₃CN/0.1 M HCOONH₄ (pH 3.5)=40/60, 流速: 6 ml/min, UV 波長: 254 nm), [¹¹C]McN5652X に相当するフラクション (保持時間 9 分) を分取した (Fig. 2)。エバポレーターで濃縮乾固した後、生理食塩水 5~10 ml に溶解し、これを 0.22 μm Millex Filter で濾過滅菌することにより最終製剤とした。以上の行程は自動合成装置を用いて行った。この [¹¹C]McN5652X 注射液について、HPLC 分析 (カラム: 日本分光 Finepak SIL C18-10 250×4.6 mm i.d., 移動相: CH₃CN/0.1 M HCOONH₄ (pH 3.5)=35/65, 流速: 4 ml/min, UV 波長 254 nm) (Fig. 3), エンドトキシン試験, 無菌試験, pH 試験などの品質検査を行った。

3. [¹¹C]McN5652X 注射液の安全性について

[¹¹C]McN5652X (12.2 MBq) を雄性 C3H (8 週齢 体重約 30 g, 1 群 3 匹で 5 群) の尾静脈より投与し、経時的に血液, 肝, 腎, 心, 肺, 脾, 脳, 小脳, 筋肉, 睾丸を摘出し, その重量および放射能を測定して, 放射能分布を求めた。この [¹¹C]McN5652X の体内動態に基づいて, 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) における被ばく線

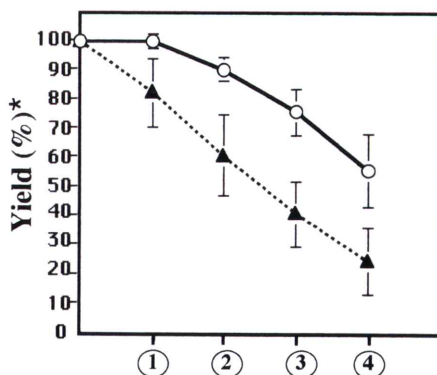


Fig. 4 Yield in each step for the synthesis of **A**. ①: Dilution, ②: HPLC separation, ③: Extraction (CH₂Cl₂), ④: Concentration
○ DTT added, ▲ without DTT
*Yield (%)=(mol of **A** in each step)×100/(mol of **A** after desmethylation)

Table 1 Stability of [¹¹C]McN5652X in isotonic saline (n=3)

Time after synthesis (min)	Radiochemical purity (%)
0	98.6±0.4
30	97.0±0.8
60	96.5±0.8
90	96.4±0.7

Table 2 Results of [¹¹C]McN5652X synthesis

Yield (GBq)	2.76±1.23
Specific Activity (GBq/μmol)	181.3±7.4
Radiochemical Purity (%)	98.6±0.4
Raw Material (μg/370 MBq)	0.33±0.11
Bacteria	N.D.
Pyrogen	N.D.
pH	4.0~4.2
N.D.: not detected	(n=3)

量を推定した。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それと同一と仮定して計算した。

さらに McN5652X 塩酸塩の生理食塩水溶液 (0.1%) 10 mg/kg を、C3H 雄性マウス (8 週齢、体重約 30 g, 5 匹) の尾静脈より投与し、7 日間において、生死、体重の増減について観察を行った。

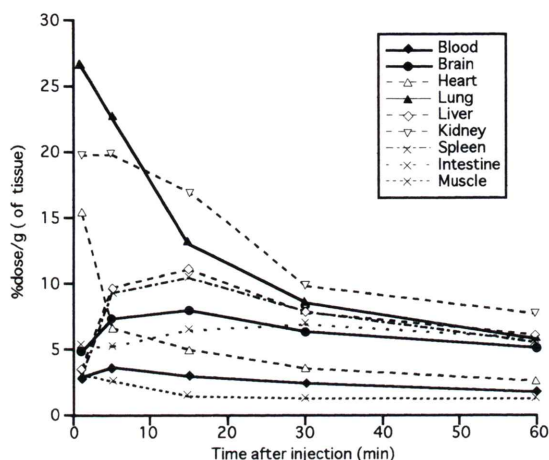


Fig. 5 Biodistribution of $[^{11}\text{C}]\text{McN5652X}$ in mice.

Table 3 Expected human dosimetry

Target organ	Sv/Bq
Adrenal	9.35×10^{-15}
Bladder	4.62×10^{-14}
STM-Wall	1.46×10^{-13}
SI-Wall	4.48×10^{-15}
ULI-Wall	4.80×10^{-15}
LLI-Wall	1.09×10^{-13}
Kidney	3.25×10^{-14}
Liver	2.79×10^{-13}
Lung	8.64×10^{-13}
Gonads	3.03×10^{-13}
Pancreas	9.40×10^{-15}
Spleen	2.04×10^{-14}
Thymus	5.86×10^{-15}
Thyroid	9.41×10^{-14}
Uterus	8.35×10^{-16}
Breast	2.14×10^{-14}
Red Marrow	1.10×10^{-13}
Bone Surface	1.92×10^{-14}
Whole Body	2.08×10^{-12}

また、最終製剤について、C3H 雄性マウスに 0.3 ml/30 g を静注し (8 週齢、体重約 30 g, 1 群 5 匹で 3 群), 7 日間にわたって生死、中毒症状の有無、体重の増減の観察を行った。

4. マウスによる集積

雄性 ddY マウス (22 週齢、体重約 40 g, 1 群 3 匹で 4 群) に $[^{11}\text{C}]\text{McN5652X}$ (19.0 MBq), もしくは、cis 異性体である $[^{11}\text{C}]\text{McN5655}$ (16.2 MBq) を尾静脈より投与した。トレーサ投与後、1, 5, 15, 30 分で経時的に断頭し、小脳、視床、大脳皮質、嗅球、海馬、線条体を摘出し湿重量を測定した後、オートガンマカウンターにて放射能を測定した。測定値は全投与放射能に対する各組織の放射能の割合を単位湿重量 (% dose/g) で表した。

5. 健常人の脳内動態

$[^{11}\text{C}]\text{McN5652X}$ 投与前に、10 分間のトランスミッションスキャンを行い、その後静脈より $[^{11}\text{C}]\text{McN5652X}$ を 600 MBq 投与し、90 分間の脳内の放射能動態を PET カメラ (シーメンス社製 ECAT47) で測定した。90 分間の加算画像上に MRI を参照して視床、中脳、大脳皮質、小脳に関心領域を設定し、各領域ごとの時間放射能曲線を求めた。

なお、本研究は放射線医学総合研究所の「短寿命および、陽電子 RI の医学利用に関する研究委員会」「放射線安全会議」「臨床医学研究倫理審査委員会」の承認を受けて行われた。

III. 結果および考察

1. 合成

Fig. 4 は前駆体合成の各操作段階において、酸化防止剤である DTT の効果を調べたものであり、脱メチル反応終了後冷却した時点での Δ の mol 数を基準とし、各精製段階における Δ の mol 数を % で示したものである。実線は DTT を添加した場合、点線は Suehiro らの方法をそのまま適用した場合の結果を示す。Suehiro らの方法で行ったところ¹⁰⁾, Δ の収量低下が認められ、分離に用いた HPLC カラムは 1~2 回の使用で分離能が著しく低下する現象も観察された。これに対

し、DTT を添加した場合には **A** の収量は 2 倍程度高い結果が得られた。これは合成に使用した McN5652X を基準とすると 15~25% の収量に相当する。またカラム性能の低下は認められず、20

回以上の使用にわたり簡単な洗浄で再使用可能であった。Suehiro らも **A** の合成について新たに報告を行っており¹⁰⁾、**A** とのチオエステル化による安定化を図っている。一般にチオール類は、酸化

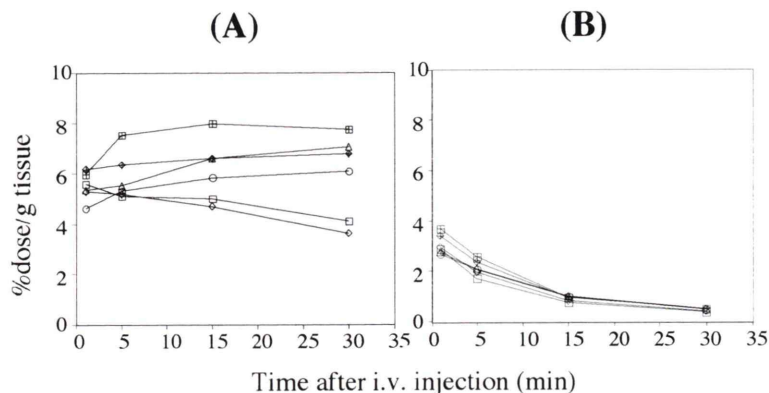


Fig. 6 Regional brain distributions of [¹¹C]McN5652X (A) and [¹¹C]McN5655 (B) in mice. □ Olfactory bulb, ○ Hippocampus, 田 Thalamus, ◇ Cerebellum, △ Striatum, ⊕ Cerebral cortex.

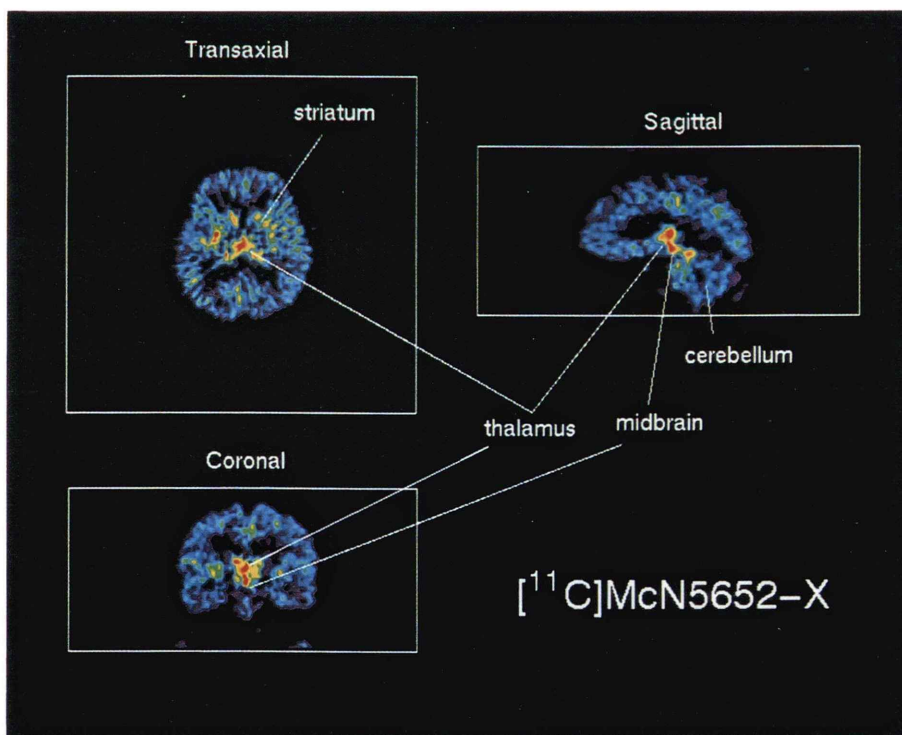


Fig. 7 PET images of human brain acquired between 45 and 90 min after i.v. injection of [¹¹C]McN5652X.

して二硫化物となることが広く認められている。反応基質 **A** も酸化されてこれらと同様ジスルフィド結合を生成すると容易に想像され、これが精製を困難にし、カラムなどへの悪影響を及ぼしていると考えられた。しかし、DTT の添加によりその結合は還元されて、結果的に **A** の SH 基が保護され収量の改善につながったと思われる。この機構については Cleland によって以下のように説明されている¹³⁾。

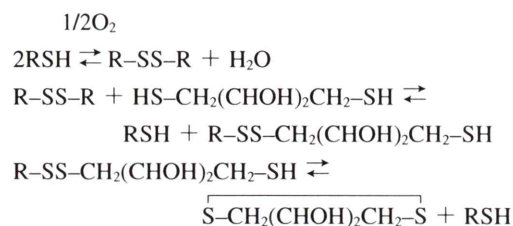


Fig. 2 は $[^{11}C]McN5652X$ の HPLC 分離チャートを示したものであり、分離に要した時間は 10 分以内であった。原料として用いた **A** は異性体が十分除去されたものを用いたため、分離時に異性体分離を行う必要がなく分離時間の短縮につながった。また、チャートから判断して ^{11}C のヨウ化メチルとの標識反応においては、その放射能の大部分が $[^{11}C]McN5652X$ と反応していると考えられる。**A** の調製において、異性体分離を省略することも可能であるがその場合、同時に生成する $[^{11}C]McN5652X$ とシス異性体 $[^{11}C]McN5655$ の分離が必要となり、15 分程度の分離時間が余分にかかり、収量、比放射能ともに低下した。Fig. 3 は本法で得られた $[^{11}C]McN5652X$ 溶液の分析チャートである。チャートより $[^{11}C]McN5652X$ 注射液は放射化学的純度が高く、cis 異性体 (保持時間 8 分) が十分に除去されている。UVチャートより McN5652X のピーク (保持時間 9 分) が認められ、また、反応基質 **A** (保持時間 6 分) については検出限界以下であり、十分除去されていることが確認された。分析所要時間は 9 分と比較的長い、cis 異性体 $[^{11}C]McN5655$ の混入の程度を確認するためにこの分析条件で行った。また Table 1 に示すように、 $[^{11}C]McN5652X$ 注射液の放射化

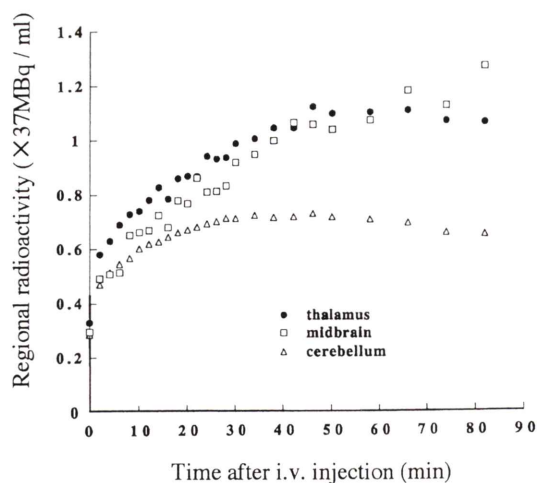


Fig. 8 Time-activity curves of $[^{11}C]McN5652X$ in human brain.

学的純度は時間とともに徐々に低下していくことが認められた。しかし、90 分経過後でも放射化学的純度は 95% 以上を保っていたので実用上問題はないものと思われる。 $[^{11}C]McN5652X$ 注射液の製造結果を Table 2 に示した。収量 2.76 ± 1.23 GBq, 放射化学的純度 98.6 ± 0.4 , 比放射能 181.3 ± 7.4 GBq/ μ mol で得られ、セロトニントランスポーターの計測において十分な品質であった。比放射能についてはかなり高い値が得られたが、より大量の照射を行うことでさらに高い比放射能を期待できる。照射終了後 $[^{11}C]McN5652X$ 注射剤の合成所要時間は 25~30 分であった。

$^{11}CH_3I$ を用いた標識では反応基質の不安定さのために困難が伴ったが、DTT 添加により結果として SH 基が保護され、かつ $^{11}CH_3I$ との反応も問題ないことが確認された。これにより、他の SH 基を有するメチル化反応も本法が適用できるとされる。

2. $[^{11}C]McN5652X$ の安全性について

Fig. 5 は C3H の雄性マウスにおける $[^{11}C]McN5652X$ の体内動態を測定したものである。Table 3 は Fig. 5 の結果をもとに MIRD 法によりヒト (25 歳, 体重 60 kg) における被ばく線量を推定したものである。全身で被ばく総量が $2.08 \times$

10^{-12} Sv/Bq であった。ここで、ヒトに 500 MBq 程度の $[^{11}\text{C}]\text{McN5652X}$ 注射液を投与するものと仮定すると、これは実効線量当量として 1.0×10^{-3} Sv に相当し、法令で定められている 50 mSv/year の 1/50 に程度に相当する。

また、McN5652X 塩酸塩の生理食塩水溶液 (0.1%) 10 mg/kg を C3H 雄性マウス (5 匹) に投与したが、死亡例は認められなかった。この値は、37 GBq/ μmol 程度の比放射能で標識した $[^{11}\text{C}]\text{McN5652X}$ を体重 60 kg のヒトに 500 MBq 投与するものと仮定すると、少なくとも 10 万倍以上の安全係数を有していることを示している。さらに最終製剤について C3H 雄性マウス (0.3 ml/30 g, 1 群 5 匹, 3 群) に静注し、7 日間にわたって観察したが、死亡例はなかった。体重の増減については、対照群と同じ増加率が観察された。以上から、本法により製造した $[^{11}\text{C}]\text{McN5652X}$ は毒性的には問題ないと考えられる。

3. 動物実験

Fig. 6 は ddY マウス脳内各部位における $[^{11}\text{C}]\text{McN5652X}$ 注射剤およびその非活性異性体である $[^{11}\text{C}]\text{McN5655}$ 注射剤の経時変化を示したものである。 $[^{11}\text{C}]\text{McN5655}$ は部位間の集積に差が認められなかったのに対し、 $[^{11}\text{C}]\text{McN5652X}$ では、視床、線条体、大脳皮質などに高い集積が認められた。また、*in vitro* において Hrdina らによりセロトニントランスポーターのラット脳内分布が視床、扁桃体、中脳などに高く、また小脳にはその分布がほとんど認められないことが報告されている¹⁴⁾。*in vivo* においては Suehiro らにより視床、線条体、大脳皮質への高い集積が報告された⁷⁾。これらはわれわれの結果とほぼ一致する。

4. ヒト脳への集積

Fig. 7 は健常人において、 $[^{11}\text{C}]\text{McN5652X}$ 投与後 45 分から 90 分までの集積画像を水平断、冠状断、矢状断で表示したものである。動物実験と同様に $[^{11}\text{C}]\text{McN5652X}$ は視床、線条体に高い集積を示し、さらに中脳にも高い集積が認められた。Fig. 8 は健常人における $[^{11}\text{C}]\text{McN5652X}$ の中脳、視床、小脳における時間放射能曲線である。90

分後における視床/小脳比は 1.6、中脳/小脳比は 1.9 であった。また、Coté らによりヒトの *in vitro* における分布でも中脳、視床などに高い集積が認められ、小脳には集積がほとんどないことが報告されている¹⁵⁾。また、Szabo らも中脳、視床に高い集積が認められたことを報告しており⁸⁾、これらについてもわれわれの結果とほぼ一致する。これらの結果より、小脳を対照部位と各部の集積で比較することでセロトニントランスポーターの *in vivo* での評価の可能性が示唆される。

IV. 結 語

1. DTT の添加により、反応混合物から標識前駆体を高純度、高収率で安定的に回収することができた。

2. 本法により、高比放射能、高純度 $[^{11}\text{C}]\text{McN5652X}$ 注射液を短時間で自動合成することができた。

3. 前臨床段階の評価を行った結果、 $[^{11}\text{C}]\text{McN5652X}$ 注射液の安全性を確認することができた。また、MILD 法により被ばく線量評価を行った結果、1 回の PET 測定における全身の実効線量当量は法令値の 1/50 程度と推定された。

4. 得られた $[^{11}\text{C}]\text{McN5652X}$ は、マウスでは視床、線条体、大脳皮質に高い集積を示し、ヒトでは視床、線条体、中脳に高い集積を示した。これまでの報告の結果ともあわせて $[^{11}\text{C}]\text{McN5652X}$ は PET によるセロトニントランスポーター測定の有効なリガンドであると考えられる。

謝辞：稿を終えるにあたり、McN5652X、McN5655 を供与していただきました R.W. ジョンソン製薬研究所に深謝いたします。また、動物実験、被ばく線量の推定で多大な助力をしていただいた放射線医学部総合研究所の井上修博士およびその研究室の方々、入江俊章博士、山口寛博士、本稿を校閲してくださいました原田平輝志博士およびサイクロトロン運転、 ^{11}C の製造でご支援をいただいた重粒子治療センター運転課の方々に感謝いたします。

文 献

- 1) Stanley M, Virgilio J, Gershon S: Tritiated imipramine binding sites are decreased in the frontal cortex of suicides. *Science* **216**: 1337–1339, 1982
- 2) Raisman R, Cash R, Agid Y: Parkinson's disease: Decreased density of ^3H -imipramine and ^3H -paroxetine binding sites in putamen. *Neurology* **36**: 556–560, 1986
- 3) Severson JA, Marcusson JO, Osterburg HH, Finch CE, Winblad B: Elevated density of [^3H]imipramine binding in aged human brain. *J Neurochem* **45**: 1382–1389, 1985
- 4) Hume SP, Pascali C, Pike VW, Turton DR, Ahier RG, Myers R, et al: Citalopram: Labelling with carbon-11 and evaluation in rat as a potential radioligand for in vivo PET studies of 5-HT re-uptake site. *Nucl Med Biol* **18**: 339–351, 1991
- 5) Crouzel C, Guillaume M, Barre L, Lemaire C, Pike VW: Ligands and tracers for PET studies of the 5-HT system—Current status. *Nucl Med Biol* **19**: 857–870, 1992
- 6) Suehiro M, Scheffel U, Dannals RF, Ravert HT, Ricaurte GA, Wagner HN Jr: A PET radiotracer for studying serotonin uptake sites: Carbon-11-McN5652Z. *J Nucl Med* **34**: 120–127, 1993
- 7) Suehiro M, Scheffel U, Ravert HT, Dannals RF, Wagner HN Jr: [^{11}C](+)-McN5652 as a radiotracer for imaging serotonin uptake sites with PET. *Life Sci* **53**: 883–892, 1993
- 8) Szabo Z, Kao PF, Scheffel U, Suehiro M, Mathews WB, Ravert HT, et al: Positron emission tomography imaging of serotonin transporters in the human brain using [^{11}C](+)-McN5652. *Synapse* **20**: 37–43, 1995
- 9) Szabo Z, Scheffel U, Suehiro M, Dannals RF, Kim SE, Ravert HT, et al: Positron emission tomography of 5-HT transporter sites in the baboon brain with [^{11}C]McN5652. *J Cereb Blood Flow Metab* **15**: 798–805, 1995
- 10) Suehiro M, Ravert HT, Dannals RF, Scheffel U, Wagner HN Jr: Synthesis of a radiotracer for studying serotonin uptake sites with positron emission tomography: [^{11}C]McN-5652-Z. *J Lab Comp Radio-pharm* **31**: 841–848, 1992
- 11) Suehiro M, Musachio JL, Dannals RF, Mathews WB, Ravert HT, Scheffel U, et al: An improved method for the synthesis of Radiolabeled McN5652 via Thioester Precursors. *Nucl Med Biol* **22**: 543–545, 1995
- 12) Suzuki K, Inoue O, Hashimoto K, Yamasaki T, Kuchiki M, Tamate K: Computer controlled large scale production of high specific activity C-11-Ro15-1788 for PET studies of benzodiazepine receptor. *Int J Appl Radiat Isot* **36**: 971–976, 1985
- 13) Cleland WW: Dithiothreitol, a new protective reagent for SH groups. *Biochem* **3**: 480–482, 1964
- 14) Hrdina PD, Foy B, Hepner A, Summers RJ: Antidepressant binding sites in brain: Autoradiographic comparison of [^3H]paroxetine and [^3H]imipramine localization and relationship to serotonin transporter. *J Pharmacol Exp Ther* **22**: 410–418, 1990
- 15) Cotés R, Soriano E, Pazos A, Probst A, Palacios JM: Autoradiography of antidepressant binding sites in the human brain: Localization using [^3H]imipramine and [^3H]paroxetine. *Neuroscience* **27**: 473–496, 1988

Summary

An Improved Automated Synthesis and In Vivo Evaluation of PET Radioligand for Serotonin Re-uptake Sites: [¹¹C]McN5652X

Masahiro SASAKI^{***}, Tetsuya SUHARA^{*}, Akiko KUBODERA^{**}
and Kazutoshi SUZUKI^{*}

^{}National Institutes of Radiological Science*

*^{**}Faculty of Pharmaceutical Science, Science University of Tokyo*

Carbon-11 labeled serotonin (5-HT) re-uptake inhibitor, [¹¹C]McN5652X {(6S,10bR)-trans-(+)-1,2,3,5,6,10b-hexahydro-6-[4-(methylthio)phenyl]pyrrolo-[2,1-a]-isoquinoline}, has recently been reported to be favorable for studying human 5-HT re-uptake site by positron emission tomography (PET) because of its rapid and high specific binding characteristics as radioligands. [¹¹C]McN5652X has been synthesized by S-methylation of the corresponding des-methyl precursor **A** with [¹¹C]iodomethane. One serious disadvantage of this procedure, however, is the lack of stability of **A**. The improved method for the synthesis of **A** has been desired. We have found that the decomposition of **A** is significantly reduced by adding a protecting agent for SH groups, dithiothreitol (DTT), into the reaction medium immediately after the

demethylation of McN5652X. By using this stabilized precursor **A**, we have developed an automated procedure giving [¹¹C]McN5652X with $98.6 \pm 0.4\%$ radiochemical purity in high specific activity (181.3 ± 7.4 GBq/ μ mol). Preclinical evaluation of the product was carried out by injecting the solution of [¹¹C]-McN5652X obtained by this procedure into mice. [¹¹C]McN5652X showed the high accumulation into mouse thalamus, striatum and cerebral cortex, organs known to have high level of 5-HT receptor density, after intravenous injection. Human PET studies also showed the high uptakes of this radioligand into the thalamus, striatum and midbrain.

Key words: McN5652X, Serotonin transporter, PET, [¹¹C] radioligands.