

## 出國報告（出國類別：實習）

赴瑞典 Karolinska Institute 實習 PET 神經造影核醫藥物標誌及分析技術

服務機關：核能研究所

姓名：夏建忠

職稱：助理研究員

派赴國家：瑞典

出國期間：96.08.13～96.09.15

報告日期：96.11.15

# 目 次

一、摘 要 . . . . .	2
二、目 的 . . . . .	3
三、過 程 . . . . .	3
四、心得與建議 . . . . .	34
五、附表、附件與附圖 . . . . .	36

## 摘要

此次出國實習目的，主要配合輻應中心中央計畫及規劃中優先推動計畫書「神經造影核醫藥物於腦科學之應用研究科技發展」執行內容，學習與進行 PET 神經造影核醫藥物，遠赴瑞典醫學大學 Karolinska Institute 實習 PET 神經造影核醫藥物標誌、分析及藥物代謝...等技術，並將這些關鍵技術移轉至國內。

Christer Halldin 專精於 PET 神經造影核醫藥物之開發研究，大部分是 C-11 標誌藥物，其過去自行開發新藥經驗，有高達 10% 可以執行到達臨床試驗，效果驚人。其獨特的人腦 autoradiography 技術與使用猴子當成動物實驗模式，快速完成腦神經藥物之有效性分析，故能吸引國際大藥廠與其合作，創造驚人之績效。因此，利用此次實習機會，學習 Christer Halldin 之過人技術、經驗與知識，並希望能夠建立雙方未來之國際合作模式，使本所之研發內容與經營績效能夠提升，並提高本所之技術水準與國際地位。

出國目的：

此次出國實習目的，主要配合輻應中心中央計畫及規劃中優先推動計畫書「神經造影核醫藥物於腦科學之應用研究科技發展」執行內容，學習與進行 PET 神經造影核醫藥物，遠赴瑞典醫學大學 Karolinska Institute 實習 PET 神經造影核醫藥物標誌、品管分析技術及藥物代謝結構分析...等技術。Christer Halldin 專精於 PET 神經造影核醫藥物之開發研究，並能與國際大藥廠互相合作，因此，利用此次實習機會，學習 Christer Halldin 之過人技術、經驗與知識，並希望能夠建立雙方未來之國際合作模式，使本所之研發內容與經營績效能夠提升，並提高本所之技術水準與國際地位。

出國過程：

配合輻應中心中央計畫及規劃中優先推動計畫書「神經造影核醫藥物於腦科學之應用研究科技發展」執行內容，學習與進行 PET 神經造影核醫藥物，於民國 96 年 08 月 13 日啓程出發，前往瑞典醫學大學 Karolinska Institute 實習 PET 神經造影核醫藥物標誌過程、品管技術分析、藥物代謝結構分析、autoradiography 與動物實驗...等技術，於 96 年 09 月 15 日返國，實習 1 個月之過程，學習內容相當充實。現將實習詳細過程與學習心得，分述如下：

#### 一、 PET 應用在腦神經研究

PET應用在腦神經研究方面，可用於Functional index（如 Cerebral blood flow與Cereberal glucose metabolism...等）、Neurotransmitter function（如Enzyme與Receptor...等）與Pathological processes（如Amyloid與Tau...等）之研究，因此，在人體腦神經相關疾病，例如Parkinson、Schizophrenia、Alzheimer's disease、Depression與Epilepsy...等，PET的研究應用就非常的適合，依據目前的研究成果亦顯示，PET所提供的功能性影像，對於上述疾病的診斷非常有幫助，所得的診斷結果可以提供臨床治療的重要參考。

一般人在日常生活中不論是思考、記憶、交談或運動等所有的行為均涉及腦中神經細胞的訊息傳遞。在腦中，細胞與細胞間的訊息傳遞是透過前突觸神經細胞(presynaptic neuron)釋放神經傳導物質(neurotransmitter)與後突觸神經細胞(postsynaptic neuron)細胞膜上相對應的受體(receptor)結合後，造成膜電位或細胞內生化環境改變而達成。藉由選擇不同的 PET 核醫藥物，我們可以對腦中負責重要訊息傳遞的一些神經受體進行造影，以瞭解造成腦部病變的機制，並建立診斷或治療的方法。

##### (1) 多巴胺(dopamine)神經系統造影劑

多巴胺神經系統使用多巴胺為神經傳導物質，其在腦中的作用為調控肢體動作、情緒、個人喜好等，另外也有研究顯示多巴胺受體與藥物上癮的機制有關。許多腦神經興奮劑如古柯鹼及安非他命等，其藥理作用即抑制多巴胺神經系統中的多巴胺轉運體(dopamine transporter)的作用，使腦中多巴胺濃度上升而產生快感。與多巴胺神經系統有關之腦神經病變有巴金森氏症(Parkinson's disease)、亨丁頓氏舞蹈症(Huntington's disease)、精神分裂症、遲延性運動困難症及杜萊德氏症(Tourette's syndrome)等。目前用於研究多巴胺神經系統的 PET 造影劑有：D1 多巴胺受體造影劑包括  $^{11}\text{C}$ -SCH 23390 及  $^{11}\text{C}$ -NNC 112；D2 多巴胺受體造影劑包括  $^{11}\text{C}$ -raclopride、 $^{11}\text{C}$ -FLB 457、 $^{11}\text{C}$ -benzamides、 $^{18}\text{F}$ -fallypride 及 Br-76-FLB 等；多巴胺轉運體造影劑包括  $^{11}\text{C}$ - $\beta$ -CIT-FE、 $^{11}\text{C}$ -altropane、 $^{11}\text{C}$ - $\beta$ -CFT 及  $^{18}\text{F}$ - $\beta$ -CIT-FP 等；多巴胺的合成及代謝造影劑包括  $^{11}\text{C}$ -DOPA 及  $^{18}\text{F}$ -6-F-DOPA。有關 SPECT 的多巴胺轉運體藥物，今年有  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Trodat-1 與  $^{123}\text{I}$ -PE21 的文獻發表；D2 多巴胺受體造影劑方面則仍使用  $^{123}\text{I}$ -IBZM，國內現正與成大醫院...等進行人體臨床試驗中。

## (2) 血清素(serotonin, 5-HT)神經系統造影劑

憂鬱疾患是常見的精神疾患，而其中較為嚴重之重度憂鬱症，其終身盛行率，國外報告可高達 19%，且多好發於 30-50 歲之青壯年。憂鬱症往往伴隨個人、社會、以及家庭功能之嚴重損害，並合併其他醫療支出之增加，對於國民健康與生產力之衝擊甚大，世界衛生組織亦指出與心臟血管疾病相同，憂鬱症是二十一世紀，僅次於心臟血管疾患，影響人類健康及醫療支出之重要

疾病。此外，國內外流行病學研究共同指出：自殺成功之個案，有極高比率同時患有憂鬱症。

世界衛生組織已預估公元 2020 年，憂鬱症將名列引起失能與早夭的第二疾病。眾所皆知，憂鬱症也被公認是新世紀的三大疾病，與癌症及愛滋病並駕齊驅。根據美國心理衛生研究院的研究報告指出，一般人口中憂鬱症終生盛行率為 15%，其中女性較多，約為男性的兩倍；可發生於任何年齡層，而平均發病年齡為 40 歲，正值人生的精華時期。此外，憂鬱症常同時合併其他精神科疾病，如焦慮症等，所以，憂鬱症能否及早診斷並接受適當專業治療，是當今十分重要的課題。

過去對於憂鬱症之生物性病因學，其理論基礎多源自於單胺（MAO）缺乏之假說，此一假說最早是在單胺氧化抑制劑以及具有三環結構之抗憂鬱劑能夠治療憂鬱症之發現中提出。此外，由於抗高血壓劑 reserpine 能引發憂鬱症，而 reserpine 可以減少腦中之新腎上腺素含量之發現。其後由於發現血清素同時也受 reserpine 影響而減少，而且三環抗憂鬱劑也同時增加血清素之含量。這些理論主要是基於治療憂鬱症之藥物其藥理作用，都會使神經突觸間之新腎上腺素以及血清素增加。

血清素神經系統使用血清素為神經傳導物質，其作用之一為調控一般人的生理時鐘，也與一些較複雜的行為調控有關，例如在群體中取得領導地位的企圖心及侵略性的行為。血清素神經系統的過度亢進會導致焦慮症，而不足則會引發憂鬱症，著名的抗憂鬱藥物—百解憂（Prozac）其作用就是抑制血清素轉送體的功能進而提高腦中血清素的濃度，減輕憂鬱症的症狀。目前用於研究血清素神經系統的藥物結構都屬於 Raphe 類，PET 造影劑有：5-HT<sub>1A</sub> 血清素受體造影劑包括 <sup>18</sup>F-FCWAY、<sup>18</sup>F-p-MPPF、

$^{11}\text{C}$ -DWAY 及  $^{11}\text{C}$ -WAY-100635 等；5-HT<sub>2A</sub> 血清素受體造影劑包括  $^{11}\text{C}$ -NMSP、 $^{11}\text{C}$ -MDL 100907、 $^{18}\text{F}$ -alanserin 及  $^{18}\text{F}$ -setoperone 等；血清素轉運體造影劑包括  $^{11}\text{C}$ -MADAM、 $^{11}\text{C}$ -DADAM、 $^{124}\text{I}$ -ADAM、 $^{18}\text{F}$ -FP-DTBZ、 $^{11}\text{C}$ -DASB、 $^{11}\text{C}$ -nor- $\beta$ -CIT 及  $^{11}\text{C}$ -McN5652 等。SPECT 方面最經典的，就是  $^{123}\text{I}$ -ADAM，目前本所也在進行人體臨床試驗中。

### (3) 乙醯膽鹼(acetylcholine)神經系統造影劑

乙醯膽鹼神經系統使用乙醯膽鹼為神經傳導物質，一般認為乙醯膽鹼神經系統在學習、記憶及對事物的認知等行為中扮演著重要的角色。許多臨床及死後解剖的研究結果顯示，乙醯膽鹼神經系統與許多的腦神經疾病如阿茲海默症(Alzheimer's disease)、巴金森氏症、杜萊德氏症、癲癇及煙癮等有關。因此對乙醯膽鹼神經系統進行非侵襲性造影將有助於瞭解乙醯膽鹼神經系統與疾病的形成及惡化間的關係，藉此建立診斷或治療的基準。目前用於研究乙醯膽鹼神經系統的 PET 造影劑有：nicotinic 乙醯膽鹼受體造影劑包括： $^{18}\text{F}$ -FPH,  $^{18}\text{F}$ -6-F-A-85380,  $^{18}\text{F}$ -2-F-A-85380,  $^{11}\text{C}$ -A-84543,  $^{11}\text{C}$ -N-methyl-FPH 及  $^{67}\text{Br}$ -BrPH 等；muscarinic 乙醯膽鹼受體造影劑包括  $^{11}\text{C}$ -NMPB 及  $^{11}\text{C}$ -3-MPB 等；乙醯膽鹼代謝造影劑包括  $^{11}\text{C}$ -PMP 及  $^{11}\text{C}$ -MP4A 等。

### (4) 腦神經疾病造影劑

失智症(dementia)一詞泛指智力退化。它的原因很多，有的與老化並無直接關係，譬如腦外傷、腦部受感染、巴金森症(Parkinson's disease)等所引起。一般人所說的「老年癡呆症」並無嚴格的定義，但主要應包括阿茲海默型失智症(Alzheimer's disease)。

阿茲海默型失智症病因:老年性斑和神經纖維糾結這兩個特徵在腦部各處皆可看到，但是最集中的區域是在大腦的海馬迴( hippocampus ) 以及相鄰的杏仁核( 或稱扁桃體 ) ( amygdala )。所以，造成阿茲海默症的病變很可能從海馬迴和杏仁核開始，然後擴散至其它區域。海馬迴係學習記憶新事物的中心（例如：空間概念的記憶等），而杏仁核掌管情緒與情緒的學習記憶。進一步的化學分析顯示，老年性斑主要由  $\beta$  澱粉樣蛋白( $\beta$  amyloid protein，簡稱  $A\beta$  蛋白)組成。於 1853 年，德國的病理學家 Rudolf Virchow 把這種沈澱物叫 amyloid。amyloid 有很多種，各有不同的大小和氨基酸序列。造成阿茲海默症的  $A\beta$  蛋白含有 40-42 個氨基酸。它在溶液裡的結構並不固定。一塊老年性斑包含許多個  $A\beta$  蛋白，病症越重，老年性斑平均就越大。因此，老年性斑可能由  $A\beta$  蛋白逐漸聚集而成。阿茲海默症的另一個特徵「神經纖維糾結」，主要的成分 is tau 蛋白。在正常的情況下它能與細胞骨架的微管 (microtubule)結合而穩定細胞的架構。形成糾結後，就失去這種穩定的力量，使細胞容易瓦解。

加州大學洛杉磯分校 (UCLA) 研究團隊首度發表的 PET 造影劑： $^{18}\text{F}$ -FDDNP 及其衍生物  $^{18}\text{F}$ -FENE 之實驗結果顯示，這兩種造影劑皆屬於 Thioflavin-T 類結構，可以專一性的對阿茲海默症病患腦部組織中變性蛋白( $\beta$ -amyloid 及 hyperphosphorylated tau protein)沈積進行造影。針對阿茲海默症的診斷，Prof. Halldin 亦開發出  $^{11}\text{C}$ -6-OH-BTA -1 與  $^{11}\text{C}$ -PIB 藥物，Dr. Kung 開發出  $^{18}\text{F}$ -FPEG-PIB，Dr. Wang 亦開發出  $^{18}\text{F}$ -FBM...等，SPECT 方面則有  $^{123}\text{I}$ -IBOX 在積極進行研究，在國際上新藥不停的被開發出來下，藉著上述藥品的造影結果，阿茲海默症現在已可以利用 PET 影像準確的提早診斷出疾病，並

可以提供臨床醫師進行治療之參考。

巴金森病的主要病因乃是神經元dopamine transporter有問題，因此，針對此病因，除了上述兩種核醫藥物可以使用外，後續又開發出許多藥物，PET方面，如 $^{11}\text{C}$ -PE2I與 $^{18}\text{F}$ -PE2I (Prof. Halldin推薦，效果較好)， $^{18}\text{F}$ - $\beta$ -CIT-FP、 $^{18}\text{F}$ - $\beta$ -CFT...等。SPECT方面，除了 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ - TRODAT-1本所已領先國際上市， $^{123}\text{I}$ - $\beta$ -CIT (DOPASCAN) 與 $^{123}\text{I}$ - $\beta$ -CIT-FT (DATSCAN-20K)、 $^{123}\text{I}$ -PE2I...等藥物亦以臨床使用或進行試驗中。目前國際上還是以 $^{123}\text{I}$ - $\beta$ -CIT (DOPASCAN) 使用為主，本所雖然已上市銷售，但基於世界各國之專利、臨床試驗、查驗登記...等限制，目前推廣之速度仍相當緩慢，本所應該更加快腳步，積極行銷國際，搶下 $^{123}\text{I}$ - $\beta$ -CIT (DOPASCAN) 之國際市場。

## 二、瑞典 Karolinska Institute PET Centre 研發現況

瑞典 Karolinska Institute PET Center 之主管 Prof. Christer Halldin 目前在 molecular neuroimaging 核醫藥物 (如 Serotonin、Dopamine、GABA...等造影藥物) 中之研究，在國際上具有傑出與卓越之研究成果。

Christer Halldin 從 1982-2007 年間，總共自行設計出 125 個新的配位子，其中，有 30 個藥物進行至動物實驗，而更有 13-15 個藥物更積極進行至人體臨床試驗當中，其中，有 4 個藥品更分別榮獲 3 次歐洲核醫年會年度最佳研發論文獎 Marie Curie Award (有 2 次由 Christer Halldin 親自獲獎 1992 【 $^{11}\text{C}$ - $\beta$ -CIT】、2001 【 $^{11}\text{C}$ -MADAM】，另一個為 Christer Halldin 親自指導之學生 N. Seneca 獲獎, 2005【 $^{11}\text{C}$ -MNPA 與  $^{11}\text{C}$ -raclopride】)(詳如附件四)，此驚人之成果與成就，真是破了核醫界之紀錄，因為歐洲核醫界自從 1990 開始頒獎 Marie Curie Award 以來，至今沒有一個人曾獲獎 2 次以上，Christer

Halldin 是目前唯一之一人。

目前，Christer Halldin 領導之團隊所進行之研究藥物，主要包含

- (01)  $^{11}\text{C}$ -Raclopride (多巴胺【dopamine】D2 接受體 antagonist，臨床試驗中)
- (02)  $^{11}\text{C}$ -MNPA (多巴胺 D2 接受體 agonist，猴子試驗中)
- (03)  $^{11}\text{C}$ -WAY100635 (血清素【serotonin】接受體，臨床試驗中)
- (04)  $^{11}\text{C}$ -SCH23390 (多巴胺 D1 接受體，臨床試驗中)
- (05)  $^{11}\text{C}$ -PK11195 (benzodiazepine receptor，猴子試驗中)
- (06)  $^{11}\text{C}$ -MP4A (乙醯膽鹼【acetylcholine】analog，應用於 Alzheimer's disease 診斷，猴子試驗中)
- (07)  $^{11}\text{C}$ -NNC-259 (多巴胺運輸體【DAT】antagonist，猴子試驗中)
- (08)  $^{11}\text{C}$ -RTI32 (多巴胺運輸體 DAT，猴子試驗中)
- (09)  $^{11}\text{C}$ -PE2I (多巴胺運輸體，臨床試驗中)
- (10)  $^{18}\text{F}$ -FD<sub>2</sub>MENER (正腎上腺素運輸體【Norepinephrine transporter】，臨床試驗中)
- (11)  $^{18}\text{F}$ -F-A85380 (乙醯膽鹼接受體，猴子試驗中)
- (12)  $^{18}\text{F}$ -FE-PE2I (多巴胺運輸體，臨床試驗中)
- (13)  $^{18}\text{F}$ -FEDAA1106 (benzodiazepine 接受體，猴子試驗中)

由上述之資料顯示，目前 Christer Halldin 主導之研發藥物，主要以 C-11 標誌者為多，主要是因為 C-11 標誌之藥物

大都不影響原來藥物之任何化學特性，因此能正確呈現原來藥物在動物體內之任何藥動學分佈狀況，體內之生化反應完全相同；另一個重大好處，那就是因為 C-11 的半衰期很短，因此，在短短的一天內，就可以重複進行多次相同試驗或進行不同劑量之試驗，因此，在很短的時間內，就可以獲得很好的動物實驗相關造影結果，這就是 C-11 那麼受重視於新藥藥動學方面之應用研究。相反的，F-18 的半衰期稍長（109 min），因此，F-18 標誌藥物的動物試驗頻率並無法很高，而且，F-18 取代的 H 原子改變分子原來之化學特性，對於新藥之藥動學作用有不同之影響。

有一點特色要注意的，那就是可以看到 Christer Halldin 規劃進行的動物實驗模式，就只有猴子（附圖一）而已，沒有傳統使用之老鼠，為何不使用價格最便宜、成本最低之老鼠進行實驗，最主要之目的，提高效率，縮短研發時間。

因為 Christer Halldin 擁有自己的 baby cyclotron，又擁有 2 台 PET camera（其中一台 PET camera【HRRT】正安裝測試中【附圖二】），研發團隊也包含醫生，因此，Christer Halldin 研發重點以 C-11 為主一點都不意外，進行猴子之動物實驗及人體臨床試驗之速度，效率極佳。反之，核研所目前最大之問題，就是沒有屬於自己的附設醫院及人體用 PET camera，C-11 標誌藥物研究成爲本所的最大限制，本所與藥廠進行藥動學與生物體分佈...等相關試驗之可行性因此大爲降低。F-18 標誌藥物之研究，乃爲本所目前唯一可行之方向，F-18 標誌藥物之好處，就是半衰期稍長，因此藥物足夠由本所運送至附近醫院進行相關試驗。

目前本所開發的 F-18 標誌藥物很少除了已接近停產的

$^{18}\text{F}$ -FDG 外，就只剩下研發中的  $^{18}\text{F}$ -FLT 與  $^{18}\text{F}$ -FDDNP，這兩個藥物目前國際上皆已開發許久，但國內目前才開始起步，本所的研發速度真的趕不上國際之強烈競爭，尤其是  $^{18}\text{F}$ -FDDNP，目前國際上以研發出針對 Alzheimer's disease 診斷效果比  $^{18}\text{F}$ -FDDNP 更好的藥物（例如  $^{11}\text{C}$ -PIB、 $^{18}\text{F}$ -FPEG-PIB...等），因此，本所實在需考慮立即停止進行  $^{18}\text{F}$ -FDDNP 之研發主題，改從其他之新藥著手。 $^{18}\text{F}$ -FLT 雖為診斷腫瘤之新利器，可以區分腫瘤與發炎部位之差異，但國外也已經研發多年，本所目前才介入似乎已經太慢，若要發表任何相關 paper 於國際 SCI 期刊，似乎被接受的可能性較低，可以發表的研究主題也更少，而且，這些藥物結構應該都已被發明人申請專利保護，本所不會再有機會搶先機上市或取得投機之機會，只往沒有專利保護的國家上市，而僅拿到小小的國際市場。也就是說，若本所一直跟隨國際的腳步走，沒有自己的創新思維，本所將永遠站不上國際舞台，永遠扮演二等的角色。

### 三、 Karolinska Institute 實驗技術

Karolinska Institute PET Center 之研發藥物，大都依照 GMP 之精神，一切依照 SOP 之規範，人力也依照 GMP 之方式區分製造與品管（QC）+品保（QA），因此，在 GMP 之管制方面，本所執行之程度與水準依照個人之觀察而言，核研所核醫製藥中心之 GMP 管制水準在 Karolinska Institute PET Center 之上，但因 Karolinska Institute PET Center 乃純粹研發機構，並非核醫藥廠，工作人力也非常少，通常一人身兼多項工作，能夠達到此基本 GMP 精神規範已難能可貴。但

是，除了 GMP 之管制精神之外，Karolinska Institute PET Center 有許多特殊技藝，值得本所好好學習，這些特殊技藝，就是其能傲視歐洲核醫界與藥廠之獨家武器，現分述如下：

## 1. Autoradiography

Autoradiography 是核醫造影分析非常普通之 *in vitro* 技術，每一個核醫研發機構，都會使用此技術，但是，若是進行腦神經造影藥物之 Autoradiography，一般之研發機構都會面臨一個重大問題，那就是若以老鼠做為動物實驗模式，Autoradiography 之解析度並不足以區分腦中細微組織之藥物分佈狀況，造成藥物之造影結果無法確認分析之窘境。

Karolinska Institute PET Center 最厲害的地方，就是其能夠取得人腦，利用人腦的冷凍切片進行藥物親和力測試 (binding affinity test)，並利用添加不同競爭性藥物之條件下，進行 autoradiography (附圖三)，由 autoradiography 的顯影效果，就可以知道放射性藥物特异性的聚集於腦內特殊部位之能力。用人腦進行 Autoradiography 之實驗大致步驟如下 (詳如附件一)：

- (01) 配製緩衝液 (每一類藥物之緩衝液皆不同，緩衝液之化學藥物成分與含量可由 paper 查詢)。
- (02) 配製競爭性藥物 (濃度約  $10^{-6}$  M，依藥物之特性而異)。
- (03) 準備相近部位之腦切片 (每切片厚度約 100  $\mu$ m)。
- (04) 將上述腦切片浸泡於緩衝液內。
- (05) 於不同反應槽內加入競爭性藥物 (依不同藥物結

合於腦神經細胞之特殊運輸體或接受體之特性而選擇)(詳如附表一)。

- (06) 加入測試之核醫藥物，活度約 4 MBq。
- (07) 反應分鐘 55 分鐘。
- (08) 抽出緩衝液，加入新的冰緩衝液，反應 5 分鐘。
- (09) 再加入新的冰緩衝液，反應分鐘。(共 3 次)。
- (10) 取出腦切片，烘乾(約 50°C 即可)。
- (11) 放入 cassette，開始進行壓片，時間約 3 小時(若為 C-11 藥物，時間可以縮短)。
- (12) 讀片，判讀結果。

另外一個重大問題，依據 Karolinska Institute PET Center 過去之研究結果發現，各個動物間之腦造影結果並不相同，不同種系間之差異極大，如 Karolinska Institute 提供之附圖四所示，人腦、猴腦與鼠腦對於同一藥物之結合能力效果不同，因此，若用齧齒類動物(老鼠)之實驗結果來推論人類之藥物效果，就可能產生極大的差異。就算是使用猴腦，其藥物分佈亦與人類稍有不同，但這已是所有動物實驗模式中最佳之選擇。

如何取得人類 brain slide，這是一個非常重要與關鍵的問題，只要是想要進行腦神經造影之藥物研發團隊都很需要的基本材料，但如何取得，這個問題很重要，但是，因為人類之傳統觀念，取得人類器官進行實驗非常不容易，Christer Halldin 為了解決這個關鍵問題，經由屬於匈牙利國籍的醫師牽線，由 Christer Halldin 每年支付高達 3-4 人之人事費用給匈牙利醫院，換取各種腦

神經病患與正常人之腦，運回瑞典後，自行進行冷凍切片。經與 Christer Halldin 討論，Christer Halldin 認為本所若真的需要腦組織切片，應可以依照此模式向匈牙利醫院洽談，或者，Christer Halldin 也建議可以向德國直接購買已經處理好之腦組織切片，但購買細節與價位需進一步聯繫與確認，但利用此途徑取得之腦切片可能只有非常局部之腦組織切片，無法購得全腦之切片，而全腦之組織藥物吸附試驗對於評估藥效更具有強烈意義，局部之腦組織切片結果實在無法正確評估藥物在腦內之分佈比例與差異。

## 2. 動物實驗

動物實驗在所有研究機構都需要進行，一點都不稀奇，技術也沒有任何特別，但是，Christer Halldin 厲害之處，就是克服萬難，直接利用「猴子」來進行腦神經核醫藥物之動物造影試驗，跳過最容易取得與最容易執行的實驗動物「老鼠」。

目前 Christer Halldin 與國際上最知名的大藥廠（如 Schering-Plough，Merck KGaA，Bayer，GE-Health）皆有互相合作之關係，Prof. Christer Halldin 有很好的研究團隊與其他有機合成專業公司合作，可以將各大藥廠所願意進行的神經方面新藥藥動學方面研究，設計與合成藥物之前驅物，並運用專業的藥物標誌技術，並利用最有效率之靈長類動物（e.g. 猴子）直接進行動物相關試驗，跳過齧齒類動物（e.g. 老鼠）之腦部太小與 PET 儀器解析度不足造成影像不佳與不同種系動物之結果差異性。

老鼠種系與人類大不相同，且老鼠之實驗結果與靈長類之實驗結果並不完全相當，就如上述所提，老鼠之腦部太小，即使是利用本所現有之 micro PET，影像仍然是不夠清晰，無法區出腦部細微之部位，拜科技之進步，目前的 nano-SPECT ( Bioscan ) 解析度 ( < 1mm ) 已超越 micro PET，使 nano-SPECT 進行小鼠之腦造影實驗變成可能，但因老鼠之種系與靈長類差距太遠，結果並不完全相符。因此，最適合進行實驗之動物還是猴子，猴子與人類同樣都是屬於靈長類，腦部結構相似，功能也相似，因此，猴子是最好的選擇，Christer Halldin 目前擁有 13 隻正常模式之猴子，可以隨時提供進行腦部造影動物實驗。

Karolinska Institute 直接利用人類 brain slide 與猴子進行 in vitro 及 in vivo 試驗，進行藥物效用評估...等相關試驗的進度會比一般 PET Center 先利用老鼠進行試驗的速度快上 2-3 年，這也是 Christer Halldin 與國際上大藥廠洽談與合作之重要武器，即使是自己具有極強核醫藥物開發能力之 GE-Health 公司，其核醫藥物行銷全世界，目前也正在與 Christer Halldin 進行  $^{18}\text{F}$ -A85380 之動物實驗， $^{18}\text{F}$ -A85380 屬於 Nicotine antagonist，是屬於全新之藥物，目前仍未於無任何文獻發表，未來之發展值得期待。

爲了進行猴子之動物試驗，Karolinska Institute 特別向瑞典政府管理當局進行申請，經歷了近 2 年之努力，才終於獲得許可進行試驗，但仍受到嚴格之管制及飼養健康管理...等要求。本所目前沒有飼養猴子之許可

與環境，因此，短期之內，核研所不可能進行猴子試驗，但是，若本所中央計畫與科發基金計畫規劃執行「腦神經造影藥物」發展與開發研究，猴子的購買、飼養、申請許可...等許多困難問題就最好儘早規劃執行，若仍由老鼠之試驗來進行藥物研發測試，雖然計畫執行度容易許多，動物實驗也會得到可貴的參考數據，但因時效與準確度較差，反而降低了本所之國際競爭力。

### 3. 藥物代謝研究與標準品分析

藥物代謝之研究，對於藥物之體內變化，其影響非常重大，理想之藥物，最好其代謝之產物與原藥物產生極性方面很大的變化，如此，藥物代謝之產物才不會影響與干擾原藥物之藥理作用，若藥物之代謝物會影響原藥物之作用，則必須將原藥物之化學結構進行適當修改，使其藥物代謝後之結構能夠不影響原藥物之作用，當然，藥物代謝之研究，也可以應用在研究藥物之體內穩定性。因此，藥物代謝之研究，對於新藥的開發，扮演非常重要之角色。

藥物代謝之研究方法並不困難，步驟大約如下：（詳如附件二與附圖五、六）

- (1) 藥物注射至動物或人體內。
- (2) 於不同時間點抽血，每次約 2mL。
- (3) 高速離心，抽取出 plasma。
- (4) 加入 acetonitrile，反應去除蛋白質，再次高速離心。
- (5) 抽取出上清液，注入 HPLC 分析系統。
- (6) 觀察 HPLC 圖譜分離出各 peak 之經時變化。
- (7) 收集 HPLC 分離出之各 peak 物質，進行 IR、NMR、MASS

分析，鑑定代謝物之化學結構與化學特性。

藥物之體內代謝，對於藥品之性質研究相當重要，代謝物之特性，對於藥品本身是否會有影響，需要進行藥物體內代謝物之結構鑑定，經由代謝物之結構鑑定，可以瞭解代謝物是否會影響主藥物之特性，進而評估是否需要進行主藥物之結構修飾，因此，進行代謝物研究是開發新藥必須有的一個程序，只是鑑於技術性與儀器設備之限制，一般研究機構是無法有能力負擔或建立此套技術。目前 Christer Halldin 僅能分離與純化出藥物之代謝物，而代謝物之結構則委託其他機構進行，但近期內將會安裝一台 LC-Mass-Mass，代謝物之結構未來將可自行進行。本所目前已擁有令許多研究機構稱羨的 LC-Mass-Mass，只是，對於應用在藥物代謝方面之研究，目前還未進行，未來，本所可以考慮與 Christer Halldin 進行技術交流，互相提供資源，藉此建立本所於新藥體內代謝研究之國內權威性，並逐步擴展至亞洲其他國家。到目前為止，國內各研究機構皆無針對核醫藥物之代謝狀況進行研究，本所若能建立起這一關鍵技術，未來將是本所卓越特色之一，也是本所未來賺取研究服務費用之可能重要財源之一。

但是，新藥體內代謝之最大困難處，在於審查通過進行人體臨床試驗之行政程序，國內申請人體臨床試驗之審核程序非常嚴格。進行藥物體內代謝，不宜使用老鼠，因為實在是太小了，無法於各時間點採血分析，另一個因素，畢竟齧齒類動物之藥物體內代謝狀況與靈長

類可能不同，因此，進行藥物體內代謝研究，還是需要靈長類動物，猴子，是取代人類之最佳實驗動物，只是目前本所也沒有此實驗動物可供進行實驗，但猴子與人類是否完全相同？此還需要進一步進行確認，目前，Christer Halldin 是猴子與人類皆有進行，二者之結果如何，還需進一步比對。因此，本所若想建立此一關鍵技術，可能還需要很長的一段時間進行準備，許多的行政程序也需要花許多的時間來慢慢解決，LC-Mass-Mass、NMR、IR...等的實驗結果分析技術及能力也可能需要加強。

另外一個重點，本所目前進行藥物放射化學純度分析，一直沒有注意到一點，那就是沒有使用標準品來進行藥物定性比對，因為單以 radio-detector 來進行量測純度，很可能發生藥物之放射化學純度很高，但實際上之化學純度卻很低之狀況，也就是說，可能大部分之 precursor ligand 都沒有與 isotope 標誌結合，而僅有的少部分標誌上去之藥物在 radio-detector 上卻呈現高純度之結果。

解決此問題的方法如下：

- (1) HPLC 串連 radio-detector 與 UV-detector。
- (2) 購買或合成標準品，確認標準品於 UV-detector 下之滯留時間 (Retention time)。
- (3) 進行確效試驗，確認串連 radio-detector 與 UV-detector 之狀況下不同流速之二者 detector 所出現之時間差。
- (4) 每批次進行產品分析時，先注射標準品，確認儀器狀況分析正常。
- (5) 同時注入產品與標準品，收集 radio-detector 與 UV-detector

之分析圖譜，比對 radio-detector 與 UV-detector 二者出現之 peak 時間差是否符合確效試驗之結果。

(6) 判定與確認產品之純度。

#### 4. 自動化製造系統建立

PET 核醫藥物所使用之同位素 F-18、C-11...等，其能量皆為 511KeV，如此之高能量，一般之鉛屏蔽一定不夠阻擋放射線，因此，於鉛室內設置自動化或半自動化之控制系統，取代人工操作之方式，這將是減少操作人員接受過多劑量最好的解決方式。自動化的遙控控制系統，確實是一個很重要的複雜技術，不同的藥物，具有不同的製程，但鉛室內不可能有足夠的空間來為每一個藥物都設立獨立的一套自動化控制系統，如何建立一個功能性強，並且能夠多種藥物通用之自動化控制設備，將是很重要且關鍵的工作。

拜科技之進步，自動化控制系統之硬體與軟體，目前都有長足之進步，在硬體上，具有許多可選購之控制模組，可以依照自己研發藥物之製程需要，組裝常用或共用之零組件，透過電腦與軟體間之連結，撰寫電腦控制程式來操作鉛室內之硬體設備，最主要之好處，就是只需要一套硬體設備，利用不同的控制程式，更換不同之藥品與溶劑或緩衝液，就可以達到製造不同藥物之效果，這真是進行新藥物研發製造最重要之工具。本所目前之自動化控制系統之技術，確實需要有學有專精之人員負責建立藥物自動生產化之系統，但自動化生產系統之條件設立，還是需要研發人員之藥物研製步驟確實掌

握，再與上述自動化系統建立之專職人員進行完整之技術溝通與交流，如此才能夠快速的建立自動化生產系統，進行大量生產，提供動物實驗或人體試驗之用。

過去的 Karolinska Institute PET Center 爲了生產出許多研發藥物，鉛室一個一個的建立，單一鉛室只爲生產單一的藥品，設置的半自動化藥物標誌製造系統也只適用於單一藥物，各藥物間無法共用同一系統。

爲了解決鉛室不足問題，建立自動化控制系統與多藥品共用系統，此爲唯一解決之道。目前，Karolinska Institute PET Center 採購了一套 Scansys Laboratorieteknik 可組合式 (module) 自動化控制系統 (附圖七)，設計自己的生產需求，採購所需要的零組件來自行組裝，透過 USB 連接系統連線至電腦，再由電腦軟體 (Labview) 撰寫電腦程式控制 Scansys Laboratorieteknik 可組合式自動化控制系統，經由此套硬體與軟體模式之建立，許多藥品皆可以利用不同的電腦控制軟體，以單一的一套硬體來進行藥物生產，達到利用最少空間，產生最大效益之功效。

本所進行研發與生產的藥物越來越多，雖然本所有許多的鉛室可供利用，但並非所有的鉛室都符合 GMP 生產之規範，因此，仿效 Karolinska 購買一套可組合式自動化控制系統，在有限的鉛室空間下，進行最大之利用，此爲本所當務之急。另外一個好處，就是可以利用現有的設備進行新藥物的研發生產，不用考慮重新設計合成盒，大量減少新藥開發的時程。利用可組合式自動化控制系統唯一要注意的一點，就是要避免交叉污染之問題，但這一點是可以利用更換必要之耗材，加上操作人員適

當的注意更換程序與確認，應該就可以順利解決。

## 5. F-18 標誌催化劑 Kryptofix 2.2.2 含量分析

Kryptofix 2.2.2 對於 F-18 標誌，在催化反應中扮演極為重要的角色，幾乎所有 F-18 標誌 precursor 的反應中，都有 Kryptofix 2.2.2 的參與，但是，針對 Kryptofix 2.2.2 在完成標誌反應後之含量定量，卻有一定之規範，因此，標誌反應後 Kryptofix 2.2.2 之含量分析，就非常重要，本所目前研究與生產 F-18 標誌藥物，並沒有針對 Kryptofix 2.2.2 之含量進行定量分析，這點需要立即改進，有關 Kryptofix 2.2.2 含量分析方法簡要如下（詳如附件三）：

- （1）於 TLC 層析紙上標示標準品與試驗品位置
- （2）於上述 TLC 層析紙滴上少量標準品與試驗品
- （3）於層析槽中展開
- （4）烘乾
- （5）TLC 層析紙置於 Iodine 內染色
- （6）結果判讀（附圖八）

## 6. 國際合作

國際上所有藥廠都花費相當多的經費與時間研發與合成新藥，並進行新藥之後續篩選與評估藥效，本所目前也在往這一條道路邁進，但是，本所人力與經費都不足與國際級大藥廠競爭，對於一般非核醫藥物之開發現況並不很瞭解，而這非核醫藥物之開發現況正是核醫藥物開發設計的基礎，所以，開發核醫新藥，一定也要針

對非核醫藥物的研發現況有徹底的瞭解。

有機合成新配位子，這是開發新藥的最基礎，核醫藥物開發之基礎，也需要能從非核醫藥物之概念介入後，開發核醫藥物新配位子之速度才能加快與更有效率，若僅從現有核醫藥物之結構概念進行修改，者可能會造成發展之侷限。本所目前具有很強之有機合成團隊，在化學組林正憲博士的領導下，確實也開發出了許多新配位子，但這些新配位子的最初藥物設計邏輯與概念，再加上後續的藥效評估，這些都扮演極為重要的角色，也需要極多的人力資源，而這些角色的參與人員，目前本所人力實在不足。

其實，所有的新藥開發工作，並不需要都要本所負責所有事情，有機合成新的配位子，這有許多專業公司（例如 **Pharmasynth...etc**）可以提供專業又快之服務，新藥之藥效細胞篩選，也有公司可以配合，因此，本所並不需要將所有人力耗費在重複的工作上，但重點是，如何作在正確的決策上。**Christer Halldin** 從 1982-2007 年間，總共自行設計出 125 個新的配位子，其中，有 30 個藥物進行至動物實驗，而更有 13-15 個藥物更積極進行至人體臨床試驗當中，依照此比例來看，**Christer Halldin** 設計開發的新藥，有高達一成的比例進行至人體臨床試驗，此效率是一般藥廠的百倍以上，要創造此高效率的成果，需具備極高與多方面的充足知識，才有可能達成，**Christer Halldin** 就是這樣的人才，努力，聰明，再加上智慧與知識，廣大的人脈資源，卓越、親切與不高傲的領導風範，雖然 **PET Center** 的人數不多，卻創造

出驚人的成效，讓許多國際級大藥廠願意支付極大筆之研究經費與 Christer Halldin 合作，這就是 Christer Halldin 的過人之處。

北歐各國是一個追求創意的國家，北歐雖然人口稀少，卻能影響、改變與領導全世界。本所擁有各方面的優秀人才，更有優秀之領導主管，本所之相關研究設備，研究經費，哪一項都不比 Christer Halldin 所領導的 PET Center 研究團隊差，但本所之效率，確實就有許多改進的空間，更良好的自由知識交流與溝通，各方面專家多聚集在一起腦力激盪，往往就能創造出驚人的火花與創意。 所長費心安排的每週五積彭講座，邀請國內外各專家至本所演講各方面最先進之知識，讓所內各同仁之收穫非常多，但如何應用這些豐富之資料激盪出本所領先國際的研發主題，這是本所未來可以設法突破的地方，定期追蹤成效，是可以考慮執行的策略之一，否則，所有傾聽演講之同仁，花了 2 小時傾聽一場精彩演講，只是填報了 2 小時人力工時，對於自己或相關的研究工作是否有幫助，能否互相搭配結合？而若是真的有心提出創意研究主題的同仁，本所有否適當的途徑來表達與表現研發創意？是否有任何的積極鼓勵措施來獎勵提出研發創意的同仁？

Christer Halldin 具有一些獨特的功力與技術，因此才能夠使一些國際大藥廠願意支付龐大的費用來與 Christer Halldin 進行研究合作，當然，Christer Halldin 研發團隊的特色與績效，更能給這些國際大藥廠帶來未來可觀之利益，二者各得其所，互相得利。據與 Christer Halldin 當面請益之過程，Christer Halldin 相當願意將其

目前之成果、研發計畫、與藥廠之合作模式、PET 應用於新藥之研發...等經驗與本所分享，但很現實的，學術也需付出代價，Christer Halldin 不可能完全免費傳授其多年辛苦研究、溝通交際...等經驗分享給核研所，更不可能將其目前腦中規劃之新藥開發計畫免費送給核研所。未來，若本所欲與瑞典 Karolinska Institute 建立好國際合作研究模式，一定要與 Christer Halldin 維持良好關係，甚至於由核研所聘用 Christer Halldin 為顧問或是其他有經費之合作模式，相信對於本所未來開發腦神經造影藥物之方向與經營策略會有極大之幫助或利益。

#### 7. 血清素 Serotonin (5-HT) 造影劑之製備

血清素 Serotonin (5-HT) 是腦中很重要的一種神經傳遞物質 (neurotransmitter)，Serotonin 系統與身體內的血壓、肥胖、嘔吐與一些腦神經異常疾病，例如焦慮 (anxiety)、痴呆 (dementia)、精神分裂 (schizophrenia)、沮喪 (depression) ...等，血清素共有 7 種接受體 (5-HT<sub>1A</sub>R~5-HT<sub>7A</sub>R)，其中，5-HT<sub>1A</sub>R 最為重要，其功能與睡眠 (sleep)、情緒 (mood)、學習 (learning) 有重大關係。

本次出國實習之任務之一，就是要學習血清素接受體造影劑 (如 <sup>11</sup>C-WAY100635、<sup>18</sup>F-FCWAY...等) 之標誌技術建立、品管分析、藥物代謝分析...等技術，此次學習之旅，在每天忙碌的與 Karolinska PET Center 的工作同仁一起至實驗室進行生產 (附圖九)、品管、代謝物分析及動物試驗，在跟隨進行實驗的同時，利用空檔詢問相關技術性問題，並將所有學習心得或相關實驗步驟

緊急記錄於個人的記錄本內，並於晚上儘速整理於電腦中，因此，每天的學習課程相當充實與忙碌，收穫相當多。

有關  $^{11}\text{C}$ -WAY100635 之標誌方面，此藥乃由 Christer Halldin 所首創，其研發成果榮獲歐洲核醫年會最佳論文獎，此藥物之半自動化合成盒已建立，人體臨床試驗積極進行中。

$^{18}\text{F}$ -FCWAY 臨床上應用於憂鬱症、癲癇症...等之診斷，可與本所目前研發中之  $^{123}\text{I}$ -ADAM (血清素運輸體) 互相搭配與比對，提高憂鬱症病患之診斷精確性，因此， $^{18}\text{F}$ -FCWAY 之研發列入本所輻應中心中央計畫及規劃中優先推動計畫書「神經造影核醫藥物於腦科學之應用研究科技發展」執行內容之一，可是，本所真的要進行此項研究計畫嗎？此問題需要考量下列幾點：

- (1)  $^{18}\text{F}$ -FCWAY 藥物在體內非常不穩定，很容易被 cytochrome P450 作用，釋放出 free F-18，導致聚集於全身骨骼。目前國際上已針對  $^{18}\text{F}$ -FCWAY 之缺點進行結構改良與 SAR 分析 (附圖十一)，期待未來可以獲得更穩定之新藥。
- (2) 本所真的還要跟隨國際之腳步嗎？ $^{18}\text{F}$ -FCWAY 以發表多年，相關論文至少數十篇，若本所至今才規劃進行研究，本所未來可以獲得什麼？國際論文還能發表什麼呢？只怕本所投入相當多的人力與物力，獲得的成果有限。
- (3)  $^{18}\text{F}$ -FCWAY 規劃要上市嗎？還是僅僅做實驗與本所研發之  $^{123}\text{I}$ -ADAM 搭配？ $^{18}\text{F}$ -FCWAY 在國外一定獲有專

利（專利證號待查證），若本所投入大把經費進行人體臨床試驗與藥品查驗登記，未來之市場將可能僅侷限於台灣，且 F-18 標誌之藥物半衰期短，不可能遠送至台灣東部與南部，更不可能送至國外。再者，就像上述已提， $^{18}\text{F}$ -FCWAY 本身之體內穩定性不佳，未來上市之機率應該不大，若僅僅定位於研究，則投入之人力、經費與設備或許僅能發表幾篇等級不高之國際期刊，然後一切歸零，消失無蹤，值得嗎？

- (4) 有關 serotonin transporter 造影劑，目前主要開發的藥物，主要都是以 PET 為主，例如  $^{11}\text{C}$ -WAY10065、 $^{18}\text{F}$ -FCWAY... 等，但 SPECT 藥物卻相當稀少，因此，本所發展  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -pertechnetate 標誌 DWAY 確實是一條光明且獨特的藥物，值得進一步投入人力研究。

綜合上列之陳述，本所若想走出自己的路，開發出廣大國際市場，唯有自己設計與合成新的 precursor，選擇之核種以 SPECT 為主要考量，不要再走別人走過的路，核研所才能走入國際。

本所擁有很好的  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -pertechnetate 標誌經驗，技術也相當純熟，過去的 Trodat-1 開發研究相當成功，國際期刊也發表了許多篇，本所也獲得了許多國內、外專利，國際間也對於 Trodat-1 於台灣之發展有極為深刻之印象，另一個好處，就是本所生產的 Trodat-1 可以規劃行銷全世界許多國家，不是僅侷限於台灣，因此，藥物行銷市場可以擴張至數倍，甚至十倍、百倍，本所之國際知名度更能因此而打開。所以，以 SPECT 藥物為本所之發展重點，並考慮與 Christer Halldin（以 PET 藥物為主）

洽談討論分工合作，進行 CNS 方面藥物之開發，是本所未來可以考慮執行的重點方向。

就如 Christer Halldin 所言，全世界之藥廠都計畫與研究生產新藥，只是這一條路並不容易走，投入的成本資金與人力相當大，但誰能靠豐富的知識與 know-how 來降低開發新藥之失敗率，提高成功率，即能大量降低新藥開發費用。Christer Halldin 自行設計開發之新藥，目前有高達 10% 進行人體臨床試驗，成功率相當高，其所依靠的，就是大量的閱讀 paper 與豐富的知識與經驗，沒有任何的捷徑，本所若能與 Christer Halldin 洽談充分合作，或許可以減少自我摸索的時間耗費，提早新藥上市的時間，當然，自我充實相關學問，還是根本之道。

就如 Christer Halldin 所言，診斷用核醫藥物之生物應用範圍極廣，目前的臨床應用主流，就如 Christer Halldin 所言，以「中樞神經系統造影藥物」與「腫瘤」造影藥物為最具潛力方向，本所目前在所長之領導下，也確實往這一條道路邁進。除了診斷用核醫藥物之研發外，腫瘤治療用核醫藥物目前也是全世界研發之重點，單株抗體、短肽與微脂體與治療性核種結合...等，達到 target therapy 之目的，但實際上，以目前之科技水準，藥物之生物體分佈只有極少數（<3%）可以到達腫瘤部位，絕大部分之藥物（>97%）會依照藥物之藥理特性循環與分佈全身，造成正常組織之輻射傷害。如何克服與提高治療用核醫藥物 specific target 之作用，是本所可以全力發展與思考之處，誰能設法有效提高或突破治療用核醫藥物 specific target 之比例，誰就能成功，但是，以目前已發

表之技術，要到達成功之路還有一段很長的距離，畢竟，治療用核醫藥物若不能高比例並專一性的 **target** 在腫瘤部位，對於正常組織之傷害力反而更大，接受治療用核醫藥物處理之病患可能未受其利，反受其害。

## 心得

開發 CNS 新藥，主要是要遵循下列幾個重要關鍵 (Criteria)：

- (01) 體外親和力 (In vitro affinity) ( $K_d$ ,  $IC_{50}$ ,  $K_m$ )
- (02) 體外選擇性 (In vitro selectivity)
- (03) 目標位置之濃度 (Concentration in target sites) ( $B_{max}$ )
- (04) 結合可逆性 (reversibility of binding) ( $k_1$  or  $k_4$ )
- (05) 效力 (Potency) ( $EC_{50}$ )
- (06) 毒性 (toxicity) ( $LD_{50}$ )
- (07) 非專一性結合 (Non-specific binding) (Log P)
- (08) 血漿蛋白結合力 (plasma protein binding)
- (09) 血腦障壁穿透力 (Blood-brain-barrier permeability) (Log P)
- (10) 代謝/標誌位置 (Metabolism/labeling position)
- (11) 放射核種選擇與標誌方法 (Choice of radionuclide and radiolabeling method)

依據上述 11 種重要關鍵來設計與評估新開發 CNS 之藥品，只要新藥越能夠符合上述之要求，就表示越具臨床上市之潛力，符合的條件越少，值得繼續研究的價值越低。本所自行開發新藥，一切需依照此邏輯來評估新藥之發展與潛力。

懂得探討消費者比較深層的需求，抓到市場純粹的需要，才是王道。診斷用核醫藥物之生物應用範圍極廣，若以目前的臨床應用市場考量，神經系統造影藥物與腫瘤造影藥物兩大類，是關鍵的主流，本所人力有限，選擇最重要的研

發主題切入，全力發揮，這才是生存之道。腫瘤治療用核醫藥物目前也是全世界研發之重點，如何克服與提高治療用核醫藥物 specific target 之作用，是本所可以全力發展與思考之處。

瑞典的教育就非常重視團體活動與討論，凡是都必須經過成員充分表達意見，一旦做出決議，就一切全力以赴。溝通與討論，是 Karolinska Institute 進行研究相當重要的一部份，每個人都學有專精，但這也表示，每一位都無法萬能，因此，隨時溝通討論，往往就能激盪出新的研發創意，或是解決一些未知的問題答案。Karolinska PET Center 每週一早上 09:30 的 meeting（附圖十二），主要是所有相關人員（包含科技人員與技術員）一起討論本週之工作項目與執行工作分配確認，並討論上週工作之執行成果或再檢討發生之任何生產或品管分析...等所有問題，不分階級，不分程度，在非常輕鬆和諧的環境下進行討論與協調上、中、下游間之需求與互動。研究的進行，需具備相當高的彈性，實驗的進行，不可能完全都在正常上班的時間內完成，因為緊急事件，隨時需邀調整時間，Christer Halldin 所領導的 PET Center，工作同仁的上班時間極富彈性，完全採取責任制，自己要完成自己分內的工作與所應負責的工作，為因應研究需要，Christer Halldin 要求假日來上班，雖然沒有加班費，但沒有人會拒絕，這一切的現象，就是工作態度。瑞典人的工作態度相當積極與負責，此點國人應加以學習與效法。

因此，Christer Halldin 所領導之研發團隊雖然人數不多，可以在很短的時間內，結合國際各項資源，完成藥廠委託進行的新藥藥動學研究報告。反之，若 Christer Halldin 所

領導之團隊有任何新的 project，藥廠也在評估完成市場潛力後，由藥廠支付所有新藥開發之龐大費用，但專利權仍由 Christer Halldin 所擁有。在雙方雙贏的經營策略上，Christer Halldin 利用所具備的知識及廣大的溝通及協助資源，雖然 PET Center 的人力不多，但卻能創造出驚人的成就與金錢收入，此點真的值得本所學習。

microPET、micro-SPECT 越來越進步，解析度越來越高，是否表示老鼠之實驗結果可以直接驗證人類之結果？為何需要進行人腦之 autoradiography，老鼠之腦造影結果是否可以取代？這是一個很重要的問題，也是在科學上亟需驗證的問題，若動物之結果可以直接映射在人類之上，那是最好不過的事了，可是，實際上，動物之實驗結果與人類大不相同，Karolinska Institute 就曾經進行過以同一個核醫藥物進行老鼠、猴子與人類腦部之 autoradiography 比較，經過實驗之結果發現，腦部之藥物吸收分佈比例並不相同，腦中之同一個部位（例如 striatum...等），藥物之吸收量或是接受體分佈量，在不同動物間，其結果就是不一樣，猴子與人類間之差距較少，但老鼠與人類之 autoradiography 之結果差距就非常。

因此，若本所目前之條件，還是以老鼠之實驗為主，本所目前也沒有條件與環境來進行猴子之動物實驗，所以，實驗參與者應該要有一個重要概念，那就是老鼠之實驗結果，並不同於人類之結果，而且，其差異性可能非常大。

若本所想往腦神經造影劑進行開發研究，又想具有能力來與國際競爭，或是使核研所走入世界一流之研究機構，儘早規劃猴子之實驗環境與儀器設備，沒有這一些實驗動物與

相關試用的儀器，一切走向傳統的實驗道路，在實驗結果的時效上就會慢上至少 1-2 年，藥物開發的成本也會大量增加，藥物上市的道路也會更加漫長，最主要的，還是無法與國際競爭，產生本所的獨特優越性，為將眼光放遠，拿下全世界都很熱門的腦神經造影劑或甚至於造影劑是其他類的核醫藥物（例如腫瘤...等），本所要創造出獨特與卓越的特色，如此，國際上才會與本所充分合作，創造雙方共同的商機。若本所沒有自己獨特的優越性，則還是僅淪落為普通的角色，所獲得的商機，純粹只是從降低利潤著手，大家削價競爭的結果，本所之存在意義何在？普通的藥廠嗎？還是走高科技路線，建立獨特的高品質？

使用猴子進行動物實驗，確實可以模擬人類之實驗之結果，但因目前 Christer Halldin 所擁有之猴子皆屬於正常組，以目前之動物倫理管制限度及猴子之取得極其不易與昂貴，因此，目前並無法進行疾病模式之猴子，故無法評估腦部特殊異常疾病時之藥物分佈差異。目前唯一可行之腦部特殊異常疾病動物模式，來源還是只有老鼠，但此老鼠之模式建立極其不易，需要很強之基因工程技術，因此，本所若欲建立起腦神經造影藥物之權威技術，建立獨特之動物疾病模式，將是可以發展之處。

目前，Christer Halldin 所發展之藥物，完全以 PET 為主，特別是 C-11 之藥物，更高達 80%，F-18 藥物則僅為 20%，但是，畢竟 PET 藥物進行研究相當適當，因為 PET 同位素標誌藥物進行藥動學研究絕對優於傳統之生物方式，而且可以在極短的時間內獲得所有資料，因此，配合藥廠進行新藥生物體分佈研究非常適合。可以，若要 PET 藥物商業化行銷

全世界，那絕對不可能，若核研所純粹從市場考量，發展 SPECT 藥物是唯一選擇，SPECT 核種半衰期較長，因此可能運送至國內外，特別是  $^{99m}\text{Tc}$ -pertechnetate 標誌之 kit，幾乎更無任何時間與距離限制，因此，未來可以與 Christer Halldin 考慮合作，由本所專職研究與開發同類別、同性質、相似結構之腦神經 SPECT 藥物，搭配 Christer Halldin 之專業 PET 藥物，雙方還可共同比較優劣，討論未來進一步改善之措施，共同創造雙贏之成果。畢竟，本所自行開發全新藥品之能力有限，而 Christer Halldin 針對此點之開發新藥之經驗相當豐富，成功率也相當高，若本所真能與 Christer Halldin 建立起此互相合作之關係，對於本所未來專業之發展非常有幫助。若無法建立起合作之關係，以目前本所之實力，想要獨立設計與開發新藥上市，還需要相當多與長時間的努力。

英文，是國際之語言，任何之科學交流，一切都以英文為主，Karolinska Institute 雖為瑞典之國立研究機構，當然，工作之同仁，大部分都以瑞典人為主，可是，為何 karolinska 能夠吸引全世界的人士前往參觀與實習，甚至是求取學位，最住要的，還是以英文為溝通的主要語言，每週的 meeting，也都以英文為主，因此，來自世界各國的學生與學者，一起討論學問。本所雖然是國家級之最高核能研究機關，可是卻很少能夠吸引國際人士來所學術交流，關鍵之一，除了本所的科技學術地位外，另外一個原因，可能就是語言，本所之任何學術活動，一切都以本土之國語為主，只有少數之國際人士演講，使用英文，本國之人士上台演講或相關學術討論，也仍以國語為主，如此可以思考與推論，這樣的水準，如何與國際接軌。為提昇國內之水準，英文之溝通，應當要

在各種場合充分練習，甚至於各小計畫之學術 meeting，都要以英文為主，平時多練習英文表達與溝通，大家才能有進步，走入國際才有希望，平時沒有機會多加練習，未來不可能會有明顯之成效。

## 建議

1. **技術**：核醫之應用領域非常的廣大，以本所現有之人力與設備，不可能把所有之核醫應用領域都納入研究之範疇，唯有專精，並具備獨特之技術，而此技術更要能夠是世界第一或是世界最好，本所才有利用此特殊技術立足於全世界，其實，本所現有之設備，並不輸給國際一流之實驗室，人力之素質也極為優秀，但本所之目前研發水準確實仍與國際有一點差距，此關鍵因素之一在於本所研究主題重多不重精，本所開發之藥物涵蓋範圍太廣，造成人力資源之分散，最後之結果，就是技術不夠特殊性，唯有創造本所獨有之特色與技術，集中發展重點之藥物，才是生存之道。爲了本所之未來，建請不該再浪費人力在跟隨國際上已進行研究藥物之後塵，改良現有藥物缺失之新藥與設計全新之藥物，或是建立全世界獨特之技術，本所才能在國際上佔有一席之地。若本所開發之藥物都只跟隨別人之腳步，雖然可能縮短藥物開發與摸索之時間，但在國際上將不具有任何競爭角色。核醫之應用領域非常的廣大，以本所現有之人力與設備，不可能把所有之核醫應用領域都納入研究之範疇，唯有專精，具備獨特之技術，才能立足於全世界。本所過去開發 TRODAT-1 之良好經驗與技術，創造了極佳之績效，也打響了台灣之國際知名度，未來，建請本所之未來研發計畫，宜集中全力發展  $^{99m}\text{Tc-pertechnetate}$  標誌藥物於腦神經及腫瘤診斷之新藥研發，以配合本所目前進行自行生產  $^{99m}\text{Tc-pertechnetate}$  發生器計畫之執行，不宜再浪費人力在建立別人已發表 paper 之舊藥身上，走出本所於國際之特色。研發範圍貴專而不貴多，就如 Christer Halldin 全力發展 CNS 之 PET 藥物，研發之藥物不多，卻能利用獨特之特色與技術吸引國際大藥廠甘願支付大筆費用與其合作。
2. **效率**：開發新藥，最重高效率，如此才能減少上市時程，Christer Halldin

進行腦神經藥物之實驗，克服萬難取得人體腦器官及實驗動物，直接取用人腦組織切片與猴子進行 *in vitro*、*in vivo* 及藥物代謝試驗，評估新藥之藥效，跳過傳統之老鼠實驗，準確並提高了中樞神經新藥之研發效率。科發基金「奈米核醫藥物於腦中樞神經病變之診療應用研究」計畫確認本所未來之執行腦神經藥物之研發方向，但是，解決人體腦部器官及實驗動物問題，建立本所之藥物親和力篩選平台技術，只要所有關鍵步驟都解決後，本所開發新藥之效率就能有效提升。如何解決人體腦部器官及實驗動物問題，可以進一步與 Christer Halldin 進行接洽與請教。

3. **創新與國際合作：**輻應中心執行之中央計畫與科發基金計畫...等研發主題相當本土化，缺乏國際學者專家參與及評估，侷限了研發計畫發展之深度與範圍，目前規劃執行中之研究藥物（如  $^{18}\text{F}$ -FDDNP...等）也大都是多年前之舊藥，真正由本所自行創新之藥物比例相當低，此表示本所自行開發新藥之能力與人力仍相當不足。廣泛的與國際研究機構、公司、藥廠、醫院合作，利用國際資源，解決本所人力、設備不足與部分技術不足問題，為本所創造最佳績效。建請加強本所與國際學者專家之溝通聯繫，廣邀國際知名學者專家參與及評估本所研發計畫內容，鼓勵同仁進行新藥之設計與研發，提高本所之研發國際水準。充實基礎藥理知識、參考最新「非」核醫藥物之發展與廣泛的 paper 閱讀及知識交流討論，都是提供本所自行開發核醫新藥之最好創意來源。
4. **市場國際化：**目前台灣已通過美國 FDA 查廠標準之藥廠不到 3 家，本所是國內唯一生產符合 cGMP 規範之核醫藥物專業藥廠，唯有提高本所核醫製藥中心之製藥國際水準，藥品才能行銷全世界。符合 FDA 查廠標準，並通過 FDA 認證，是本所可能實現之夢想，更是走入美國...等國際市場之第一步，只要本所之藥物能

夠打入美國市場，未來之行銷績效必定是現在的數十倍以上。核研所之同仁程度與水準都很高，強化與改善現有軟體與硬體，申請 FDA 查廠之目標並非遙不可及。擴大視野，提高本所同仁之國際觀，台灣的總人口數超過瑞典 1 倍，僅少於北歐 5 國總人口數 200 萬，但台灣企業之國際化程度與國際競爭力卻遠落後於北歐各國，北歐國家以世界為關心的對象，寬闊的視野以及有能力與來自世界各國的團隊合作，讓北歐人能夠影響全世界，這是小國經濟應該學習的方向，也是本所應該學習效法的地方，只要本所之執行規劃遠及國際，本所一樣有能力可以影響全世界。強化英文語言訓練與自己的能力，是參與國際化之最基本要求。大前研一曾說，英語即戰力，現在國內、外之工作職場，英語已經進階到高階語言思考，宏碁電腦董事長王振堂為了產品全球化，英語成了公司共同語言，未來宏碁所有公開活動，要求一律以英語進行，國內之私人企業已如此要求，本所貴為國家最高核能專業研究機構，若不加強英文訓練，擴展全球化，外來真的會被世界所淘汰。

## 附件一、autoradiography 實驗步驟

### SOP of autoradiography in $^{18}\text{F}$ -FD<sub>2</sub>MENER, $^{18}\text{F}$ -flumazenil

1. Buffer preparation: (pH=7.4)
  - A、Tris 50mM
  - B、NaCl 300mM
  - C、KCl 5mM
  - D、Ascorbic acid 0.1%
  
2. In  $^{18}\text{F}$ -FD<sub>2</sub>MENER, binding competent (blocker)
  - A、Nisoxetine (10<sup>-6</sup> M)
  - B、Desipramin (10<sup>-6</sup> M)
  
3. Tissue preparation
  - A、Tissue block, frozen -70°C
  - B、Brain tissue cryostat slide thickness 100 μm
  
4. SOP
  - A、Tissue slide put in rack
  - B、Adding 22°C buffer (with competent or without competent)
  - C、Adding  $^{18}\text{F}$ -FD<sub>2</sub>MENER 2-4 MBq/slide
  - D、Incubate 55min (don't need to stir, shake or flow the buffer )
  - E、Draw 20 μL of buffer solution to paper strip as radioactivity quantity control
  - F、Draw out the buffer, discard
  - G、Adding new 4°C buffer, wash 3 times, 5min/time with new buffer
  - H、Rinse in distill water, 1 time
  - I、Dry the slide
  - J、Put in cassette, expose 3 hr
  - K、Read the result

For C-11

- A、Incubate 20 min
- B、Wash 3 times, 5min/time, or wash 2 times, 2min/time
- C、Expose 30 min

PS 1. Different receptor or transporter use different blocker

PS 2. Different tracer use different buffer

## Operating procedures for handling of metabolites samples

Provide from Karolinska

1. The volume of blood sample for metabolite studies should be approximately 2mL.
2. measure counts in blood sample by using well counter
  - a. Put blood sample in well counter
  - b. Read off and note in protocol counts and time
3. Centrifuge blood sample for 1-5 min
4. By using micropipette collect precisely 500  $\mu$ L of plasma in clean tube
5. Measure counts in plasma by well counter
  - a. Put blood sample in well counter
  - b. Read off and note in protocol counts and time
6. Measure background without having anything in it. Note background in protocol
7. Add 700  $\mu$ L acetonitrile to plasma for participating of proteins
8. Centrifuge plasma with acetonitrile for 3-4 min
9. Collect precisely 1 mL of supernatant
10. Inject supernatant in HPLC-system and run HPLC-series according time schedule

## Kryptofix 2.2.2 test SOP

1. Two boxes are drawn on a TLC plate (silica gel 60 F254, Merck) using a pencil. One of the boxes is marked 'std', and the other is marked 'test'
2. An aliquot (5 L) of a Kryptofix 2.2.2 standard solution (50 g/mL in water) is applied to the box on the TLC plate marked 'std' using a capillary pipette.
3. An equal aliquot (5 L) of the formulated solution is applied to the box on the TLC plate marked 'test' using a capillary pipette.
4. The TLC plate is dried under a stream of compressed air.
5. After completed drying, the TLC plate is placed inside an iodine chamber, where it is left until a distinct spot is obtained inside the 'std' box (-10min)

The TLC plate is removed from the iodine chamber and visually inspected for a potential spot in the 'test' box.

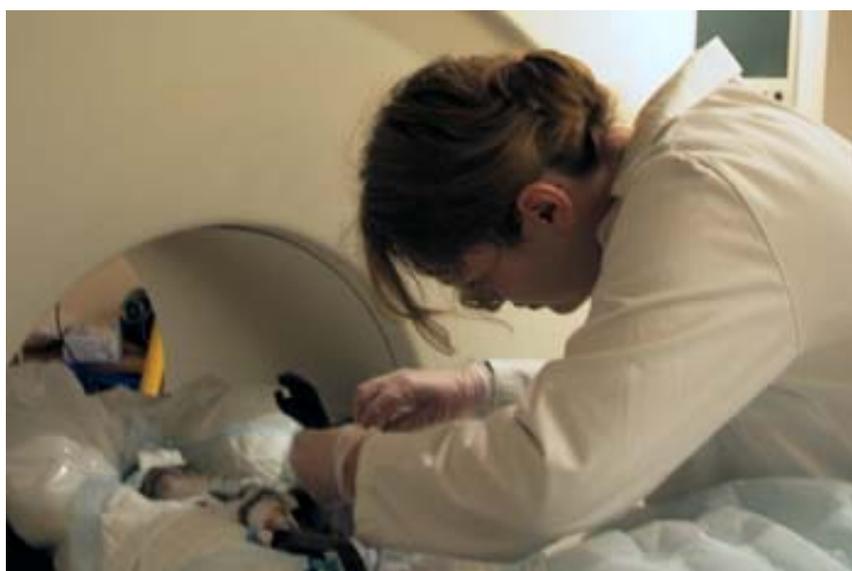
附件四、Winners of the Marie Curie Award in EANM

2006	Early predictive value of positron emission tomography with [18F]-fluorodeoxyglucose for the pathologic complete response of primary tumor in breast cancer patients treated by neoadjuvant chemotherapy. A. Berriolo-Riedinger et al Centre G.F. Leclerc, Dijon, France
2005	A comparison of amphetamine induced changes in agonist and antagonist radioligand binding potential on the dopamine D2 receptor in primate brain N. Seneca, S. Finnema, M. Ichise, B. Gulyas, H. Wikstrom, R. Innis, L. Farde, C. Halldin (Stockholm, Bethesda, Groningen)
2004	<sup>99m</sup> Tc Interleukin-2 ( <sup>99m</sup> Tc-IL2) Scintigraphy for Imaging Vulnerable Atherosclerotic Plaques A. Signore, A. Annovazzi, E. Bonnano, M. Arca, C. D'Alessandria, A. Marcoccia, L. Spagnoli, F. Violi, F. Scopinaro, G. De Toma (Rome)
2003	"Radioimmunotherapy with Lutetium-177-DOTA-Rituximab: a Phase I/II-Study in Patients with Follicular and Mantle Cell Lymphoma. An interim Analysis" F.Forrer, A.Lohri, H.Uusijärvi, G.Moldenhauer, J.Chen, R.Herrmann, E.Nitzsche, H.Mäcke, J.Müller-Brand (Basel, Liestal, Gothenburg)
2002	"Combined [11C]Raclopride-PET and voxel based morphometry analysis in early Huntington's disease: separating between functional and morphological alterations" F.D. Juengling, J. Karitzky, C. Solbach, J. Kassubek, C. Saft, B. Heinen, S.N. Reske, T. Kioschies, K. Henkel (Ulm)
2001:	"[11C]MADAM - a highly suitable radioligand for examination of the serotonin transporter with PET" C. Halldin, D. Guilloteau, J. Tarkiainen, J. Sóvágó, B. Gulyás, J. Sandell, P. Emond, J. Vercouillie, S. Chalon, J. Hiltunen, L. Farde.
2000:	"Partial reversibility and gender differences in the toxic effects of MDMA ('ecstasy') on brain serotonin neurons" L. Renemann, J. Booij, K. De Bruin, F.A. De Wolff, W. van den Brink, G.J. Den Heeten (Amsterdam)
1999:	"Low- versus high-dose radioimmunotherapy with humanized anti-CD20 antibodies in a broad spectrum of B-cell associated malignancies" T.M. Behr, B. Wörmann, M. Gramatzki, M. Béhé, F. Griesinger, W. Hiddemann, D.M. Goldenberg, W. Becker (Göttingen)

1998:	"Lymphoscintigraphy and radioguided biopsy of the sentinel axillary node in breast cancer" G. Paganelli, C. DeCicco, M. Cremonesi, A. Luini, M. Bartolomei, C. Grana, G. Proscio, V. Galimberti, P. Calza, G. Viale, U. Veronesi (Milan)
1997:	"Coronary revascularization improves survival and left ventricular function in patients with chronic coronary artery disease and dysfunctional but viable myocardium at thallium-201 imaging" A. Cuocolo, E. Nicolai, M. Petretta, L. Pace, S. Cardei, A. Varrone, B. Trimarco, M. Salvatore (Naples)
1996:	"Relationship between clinical features of Parkinson's disease and presynaptic dopamine transporter function assessed with I-123 IPT and SPECT" K. Tatsch, P.D. Mozley, J. Schwarz, R. Linke, O. Pogarell, R.S. Fieber, K. Hahn, H.F. Kung (Munich)
1995:	"Imaging of 5-HT <sub>1a</sub> receptors in human brain using (C-11)Way-100635 and PET" V. Pike, J. McCarron, S. Hume, S. Ashworth, J. Opcka-Juffry, A. Lammerstma, K. Poole, A. Malizia, C. Bench, P. Grasby, I. Cliffe, A. Fletcher (London)
1994:	"Recombinant human interleukin-1: a potential agent to image infectious foci" J. van der Laken, I.C. Boerman, W.J.G. Oyen, M.T.P. van de Ven, J. Makarewicz, R.A.M.J. Claessens, J.W.M. van der Meer, F.H.M. Corstens (Nijmegen)
1993:	"Comparison of 123-I-alpha-methyl tyrosine SPECT and 11C-L-methionine PET in patients with brain tumors: initial results" K.J. Langen, B. Hamacher, K. Ziemons, T. Kuwert, U. Braun, H. Herzog, J.C.W. Kiwit, B. Nebeling, G. Stöcklin, H.W. Müller-Gärtner (Düsseldorf, Jülich)
1992:	"Preparation of (11C)β-CIT, a new ligand for imaging cocaine binding sites in vivo by PET" C. Halldin, L. Farde, L. Müller, P. Karlsson, J.L. Neumeyer, Y. Gao, R. Milius, H. Hall, C.G. Swahn (Stockholm, Natick)
1991:	"PET studies of human cerebral malignancy with (2-11C) thymidine (TRD) and (18F)FDG" T. van der Borght, S. Pauwels, L. Lambotte, L.D. Labor, S. De Maeght, G. Stroobandt, C. Laterre (Brussels)

1990:	"Ventilation and perfusion in a single image" J.J.P. de Lima, M.F.R. Botelho, A.M.S. Pereira, J.A.S. Rafael, M.A.T. Marques, A.J. Pinto, F. Godinho, M.C. Pereira, M.F. Baganha (Aveiro, Coimbra, Lisbon)
-------	--

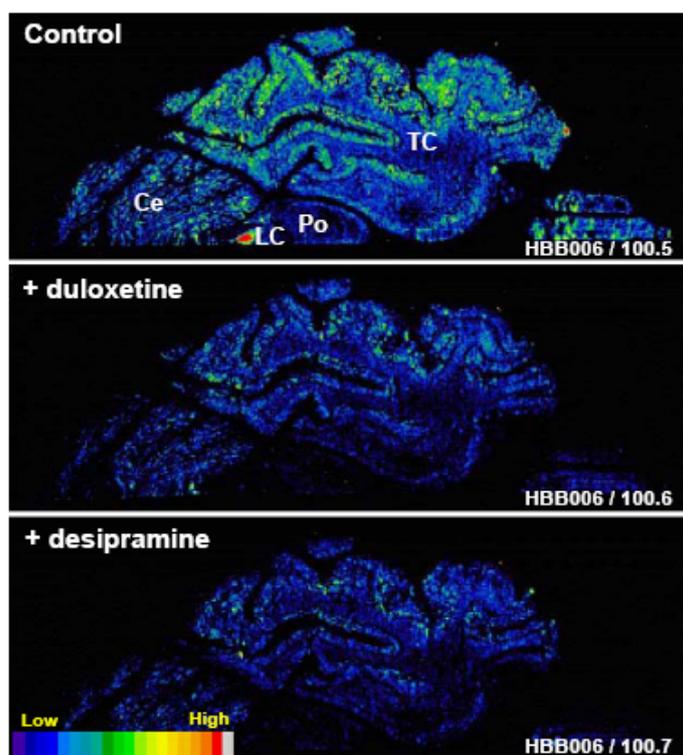
附圖一、以猴子進行中樞神經造影劑之動物實驗



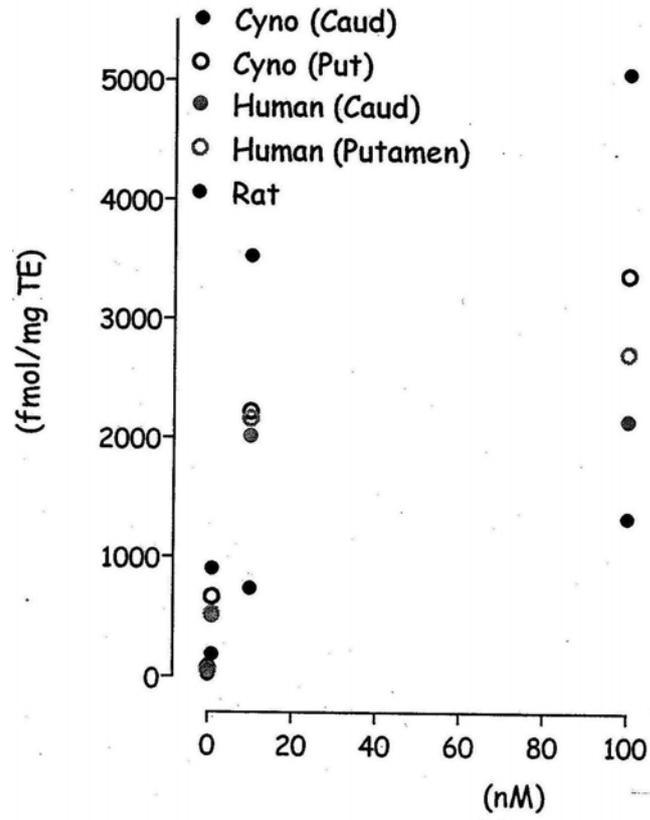
附圖二、新購 PET camera-HRRT



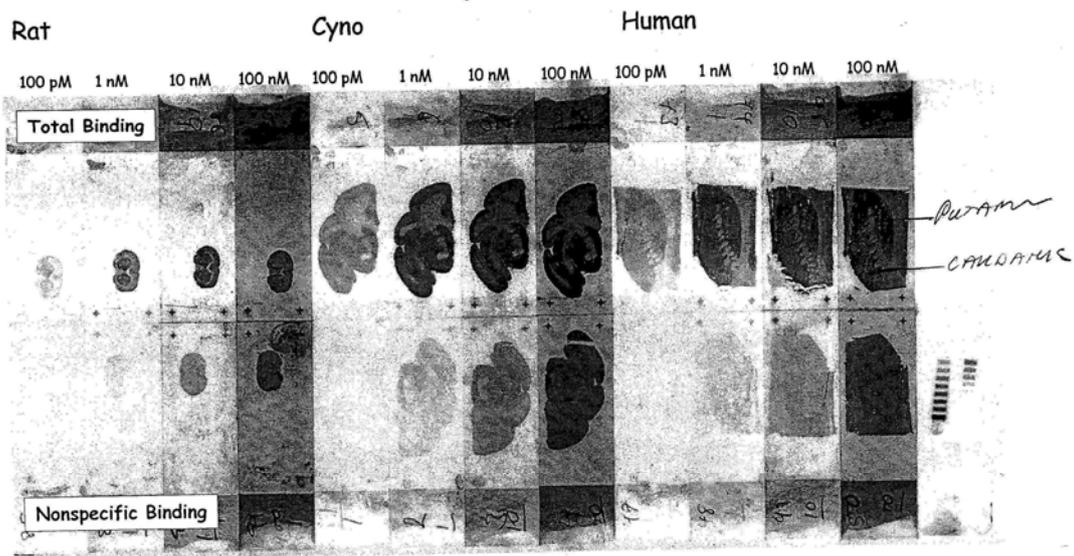
附圖三、Autoradiography 分析



附圖四、動物間藥物之分佈差異



Results: Autorads



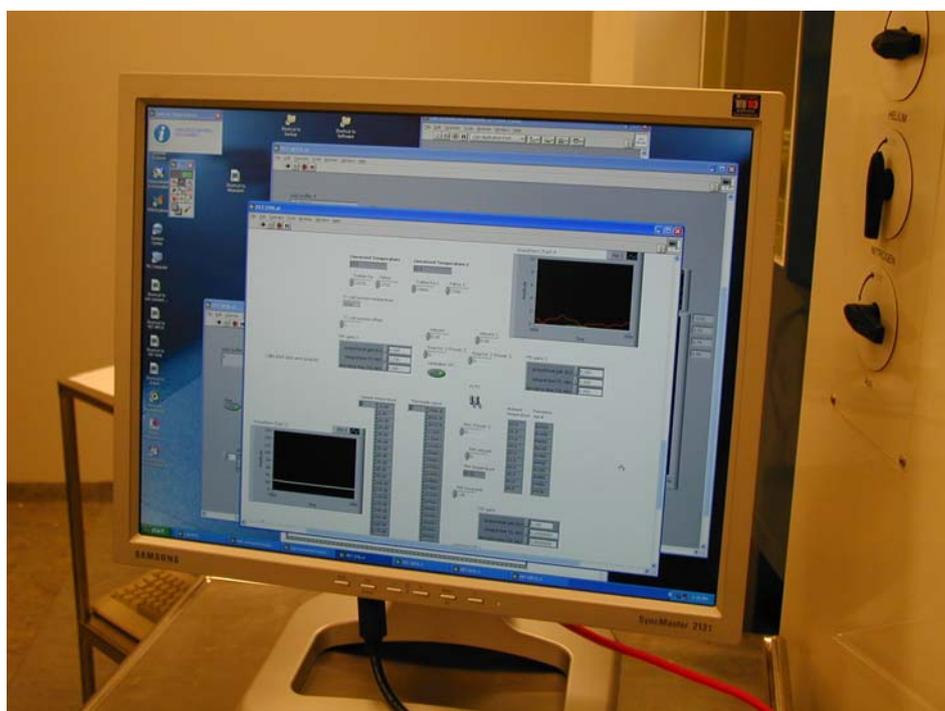
附圖五、藥物代謝物之操作



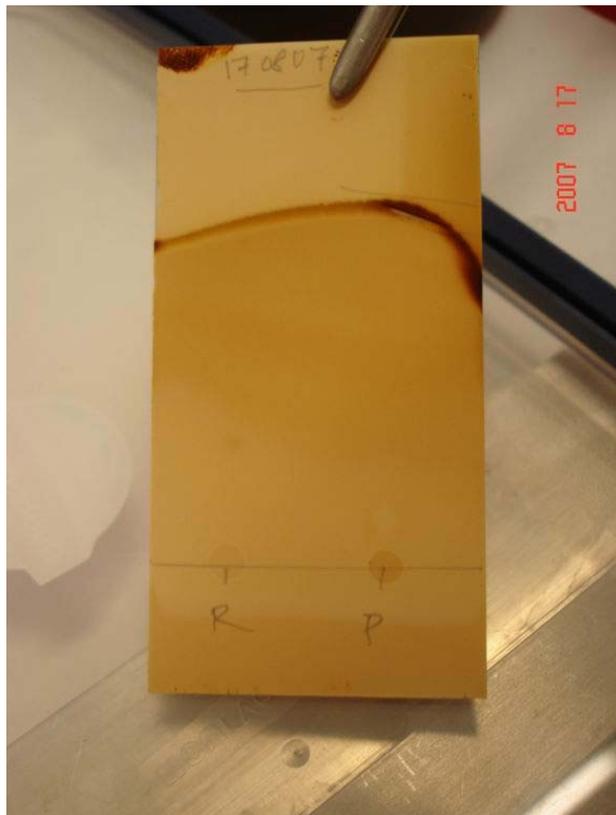
附圖六、藥物代謝物之分離與純化



附圖七、Karolinska 新購之整合性自動化合成系統



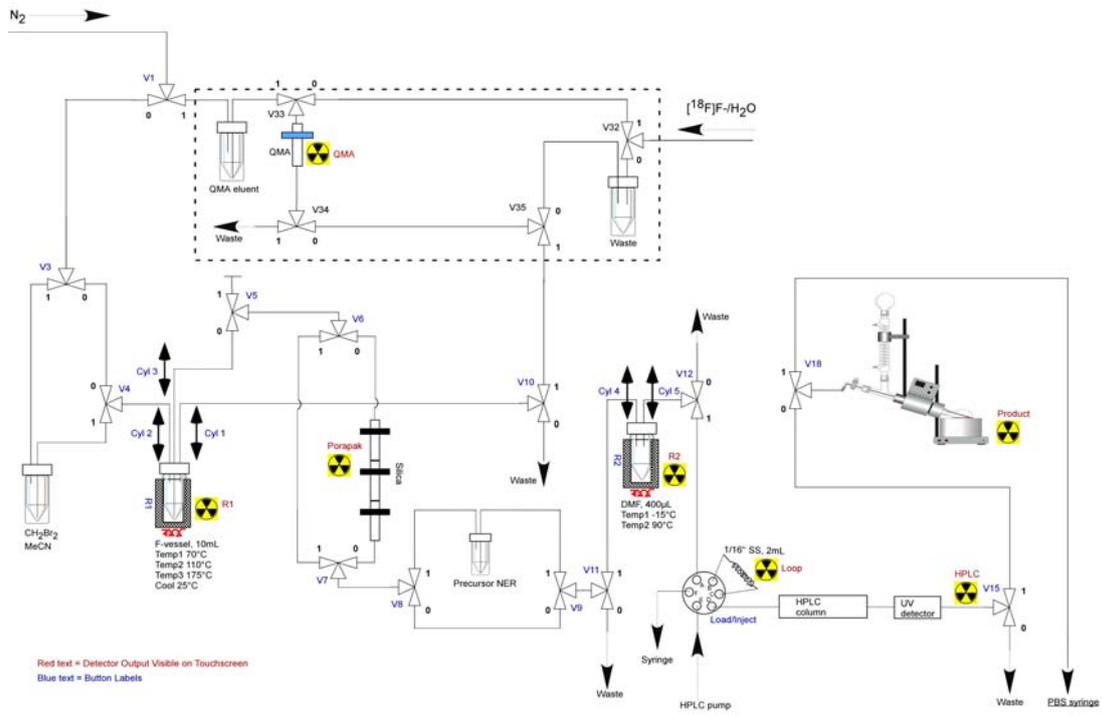
附圖八、criptofix 分析結果



附圖九、Clean room 製造與品管



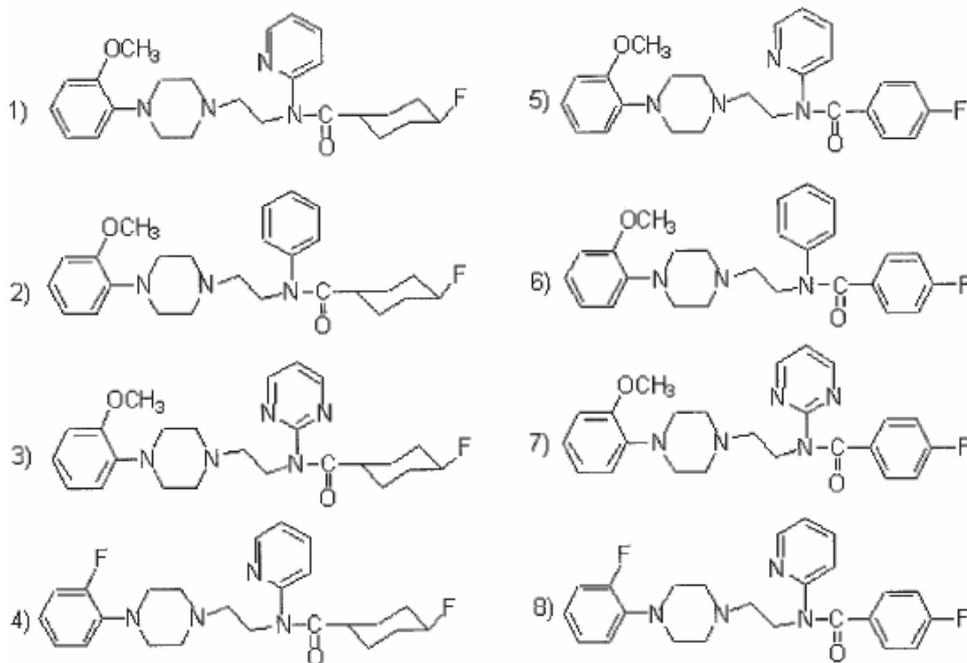
附圖十、 $^{18}\text{F}$ -FD<sub>2</sub>MENER 自動化合成步驟



Production of [ $^{18}\text{F}$ ]FMeNER-D2 (Evap.)

2004-03-31 /PT  
2004-06-09 /MS  
2004-11-23 /PT  
2004-12-02 /PT

附圖十一、 $^{18}\text{F}$ -FCWAY 之 SAR 與改良



附圖十二、karolinska 每週一早上 meeting



附表一、藥物 autoradiography 競爭性藥物之彙整

## Blocker of receptor and transporters

	Blocker(10 M)		
	transporter	receptor	Buffer
Dopamine D1	-CIT GBR	Flupentixol, SCH23390 Ketanesrin	
Dopamine D2	Butaccamol Haloperido Clozapin		
Norepinephrine	(1)Monocyclics (eg. Nisoxetine, reboxetine) (2)Bicyclics (eg. Talopram, phenylindanamine) (3)Tricyclics (eg. Desipramine, Maprotiline) (4)Tropanes (eg. Biphenyl, Cocaine)	*****	
Benzodiazepine	*****	vinpocetine	TRIS
Adenosine A1	*****		