

出國報告（出國類別：實習）

赴瑞典 Karolinska Institute prof. Christer
Halldin 實驗室研習腦神經分子影像藥
物出國報告

服務機關：核能研究所

姓名職稱：樊修秀 副研究員

派赴國家：瑞典

出國期間：101年8月23日~101年9月21日

報告日期：101年10月21日

摘要

根據行政院經建會之台灣 1976-2060 人口結構評析報告，本國人口結構已由燈籠型態（上下窄中寬）逐漸轉為瓶罐型態（上寬下窄），目前台灣已屬於「高齡化社會」，但隨著老年族群的擴大，衍生而出的健康問題一一浮現。例如：隨年齡增長而發生的失智症之疾病，60~70%失智症病患多屬阿茲海默氏症（Alzheimer's Disease；簡稱 AD），AD 常被稱為「老年失智症」或「老年癡呆症」。根據世界衛生組織估計全球總計約 2 仟 4 佰萬（24,000,000）人口罹患 AD，目前，單以美國 1 仟 6 佰萬（16,000,000）人口來估算，至 2050 年，AD 病患數就會超過 5 佰萬（5,000,000），預估到 2050 年每 85 人就有 1 人為 AD 患者，目前並無治癒與預防的方法，專家學者預估未來可能造成極龐大的社會成本，因此各國謹慎地面對此隱藏的危機，而許多藥廠與研究單位莫不希望盡速尋找出診斷、延緩或阻斷 AD 病程發展。

職本次實習目的主要研習腦神經 PET 核醫藥物研製，針對「Alzheimer's disease 診斷性分子影像藥物」、「神經發炎診斷性分子影像藥物」、「多巴胺轉運體（Dopamine Transporter；DAT）診斷性分子影像藥物」等三種，從腦神經分子影像藥物之設計概念到同位素及藥物合成、品管分析、代謝物分析、*in vivo* 動物試驗與人體臨床試驗等項目，進行實際觀摩研習。

研習最終目的希望能吸收 *prof. Christer Halldin* 腦神經之分子影像藥物開發研究之專業知識外，同時更希望朝向與 *prof. Christer Halldin* 建立良好合作關係來共同開發腦神經新藥。

目 次

	(頁碼)
摘 要	i
一、目 的	1
二、過 程	1
(一) 研習之行程規劃	1
(二) Karolinska Institutet_PET Center介紹	2
(三) 應用於PET研究之放射性同位素	3
(四) 應用PET於CNS腦中樞神經系統藥物之開發	4
(五) 適當親脂性 (Appropriate lipophilicity)	6
(六) 非特異性結合 (Nonspecific Binding)	6
(七) Receptor結合程度 (Receptor-binding)	6
(八) 血漿蛋白結合度 (Plasma Protein Binding)	8
(九) 代謝產物分析 (metabolite Analysis)	9
(十) 短半衰期PET同位素合成 (Synthesis of Short-Lived PET Isotopes)	10
(十一) 碳-11標幟藥物GMP自動化合成系統 ([¹¹ C]Labeled Compound GMP Automatic Production System)	12
(十二) 親核性[¹⁸ F]氟化取代反應 (Nucleophilic [¹⁸ F] Substitution Reactions)	13
(十三) 風險評估角度進行臨床試驗藥物之品質管制	15
(十四) Alzheimer's disease診斷性分子影像藥物研製	17
(十五) 神經發炎診斷性分子影像藥物研製	19
(十六) 多巴胺轉運體 (Dopamine Transporter ; DAT) 診斷性分子影像藥物研製	21
(十七) Rodent啮齒類動物影像實驗 (small animal image Studies)	22
(十八) Monkey靈長類動物影像實驗	

(Nonhuman Primates image Studies)	23
(十九) Current studies of Department of Neurosciences of PET center	23
(二十) 參考文獻	24
(二十一) 結語	25
三、心得	25
四、建議事項	25
(一) 建立核醫藥物研發之專業分工制度	25
(二) 建立自動化合成設備影像化系統	26
(三) 與 <i>prof. Christer Halldin</i> 保持聯繫與建立極佳互動關係	26
五、附錄	26
致謝	26

一、目的

本次實習目的主要希望能隨 *prof. Christer Halldin* 研習腦神經 PET 核醫藥物之開發設計與研製及其他相關技術，並瞭解該實驗室目前的發展動向，除冀望提升本所腦神經核醫藥物研製水準外，並希望與 *prof. Christer Halldin* 建立未來良好之合作關係。

二、過程

(一) 研習之行程規劃

職於 2012 年 08 月 23 日（天氣：颱風天）搭乘長榮航空（BR87 航班）23:50 離開台灣中正國際機場（TPE），當日飛抵巴黎戴高樂機場（CDG）後於 11:20 轉機搭乘北歐航空（SK574 航班）前往斯德哥爾摩（Stockholm）阿蘭達機場（ARN），於 2012 年 08 月 24 日 pm 13:45 抵達阿蘭達機場（ARN）。經由搭乘 Alranda Express 快捷列車到達斯德哥爾摩。於 2012 年 08 月 27 日早上參加 PET center 每週一的工作討論會議，*prof. Christer Halldin* 於工作會議上介紹職給所有 PET center 研發工作夥伴認識，職簡介本所組織以及有關藥物研發方向與現況，會後由化學博士 Dr. Kenneth 引領熟悉實驗工作環境，並與 *prof. Christer Halldin* 討論本次有關新正子核醫藥物之研習主題，包括瞭解該機構之 PET 藥物法規規範、腦中樞神經藥物研製(AD, DAT)、receptor、production, Quality Control, metabolite、pre-clinical 與 clinical study 現況與研製藥物之解惑。即刻展開與工作同仁每日進行各類項目研習與討論。

經研習一個月後，於 2012 年 09 月 20 日（天氣：晴）搭乘北歐航空（SK527 航班）15:25 離開阿蘭達機場（ARN），當日飛抵倫敦希斯洛機場（LHR）後於 17:00 轉機搭乘長榮航空（BR68 航班），於 2012 年 09 月 21 日 pm 21:00 返抵台灣中正國際機場（TPE）

Departure				Arrival		
Date	Time	Place	Flight	Date	Time	Place
08/23	23:50	(TPE) Taoyuan, Taiwan	BR87	08/23	07:45+1	(CDG) Paris, France
08/24	11:20	(CDG) Paris, France	SK574	08/24	13:45	(ARN) Stockholm, sweden
09/20	15:25	(ARN) Stockholm, sweden	SK527	09/20	17:00	(LHR) London, England
09/20	21:35	(LHR) London, England	BR68	09/21	21:00+1	(TPE) Taoyuan, Taiwan

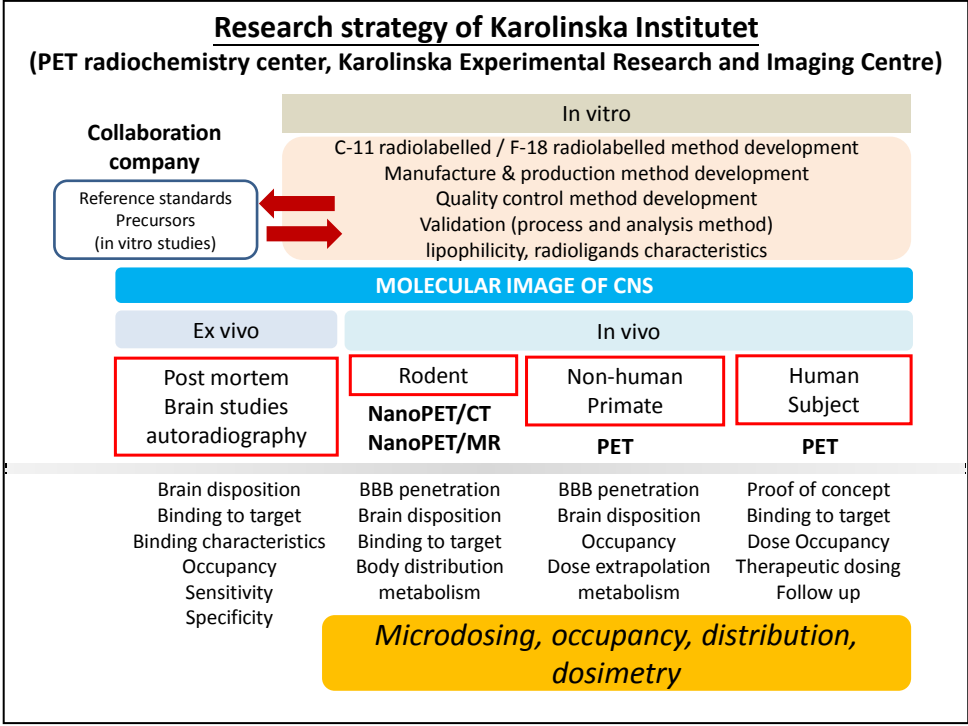
(二) Karolinska Institutet_PET Center介紹

早於 1974 年開始，Karolinska Institutet 之臨床神經生理科、神經放射科、精神科等研究單位攜手合作以同位素技術進行腦部代謝研究，發展迄今達將近 40 年，目前 *prof. Christer Halldin* 所領導的 PET center 已成為歐洲腦神經新藥研究發開的重鎮之一。發展迄今，該實驗室的規模現況：(1)腦神經藥物研製：多達 150 種 PET 放射性示蹤劑 (Radiotracers / Radioligands)，約有 15% 已進入人體臨床試驗。(2)人力資源：估計約有 65 人以上，包括化學家、放射化學家、分析化學家與臨床醫師等。(3)實驗室規模：辦公區域與實驗室座落於 Karolinska Institutet Psykiatri R5 建築物 (圖一) 之 plane 2 與地下室，沿地下通道可至另一建築物之 GMP 藥品產製區域，包括二間 production 實驗室、一間 cyclotron and QC 實驗室、二間 metabolite 實驗室、一間照影儀器室與其他房間。(4)新藥研發策略：主要以 C-11 與 F-18 放射性示蹤劑為主，先期以針對特定疾病與生理機轉設計 C-11 放射性示蹤劑，分子化合物進行 C-11 標幟之優點在於 C-11 取代原有分子的 C-12，不會改變分子的生理特性，但受制於 C-11 短半衰期之缺點，不利於此類藥物之商業化發展，所以，再接續開發以 F-18 放射性示蹤劑，約莫 20 多家藥廠與 PET center 聯手合作開發新藥其中合作最為密切的是英國阿斯利康 (AstraZeneca) 藥廠，合作策略如圖二。

職本次赴瑞典 *prof. Christer Halldin* 實驗室主要研習 PET 腦神經核醫藥物之研製、品管、嚙齒類與靈長類動物實驗與代謝物分析等技術，並了解該機構於腦神經研究之發展策略與動向。根據了解 Karolinska Institutet 正興建新研究大樓，約數年後完工，未來 *prof. Christer Halldin* 實驗室均整合於新研究大樓，並預定新增兩座 cyclotrons。



圖二



(三) 應用於PET研究之放射性同位素

放射性示蹤劑可廣泛應用在偵測癌症代謝、細胞增生、腫瘤缺氧、β-amyloid plaque 以及基因表現等。目前，最常應用於 PET 研究之放射性同位素，如 C-11、N-13、O-15 及 F-18 等，其特性如下表一。

Nuclide	Half-life (min)	Decay Mode	Maximum Energy (Mev)	Nuclear Reaction	Target	Product	Decay Product
Carbon-11	20.4	β ⁺	0.96	¹⁴ N(p,α) ¹¹ C	N ₂ (+O ₂)	[¹¹ C]CO ₂	¹¹ B
					N ₂ (+H ₂)	[¹¹ C]CH ₄	
Nitrogen-13	9.96	β ⁺	1.19	¹⁸ O(p,α) ¹³ N	H ₂ O	[¹³ N]NO ₂	¹³ C
					H ₂ O+EtOH	[¹³ N]NH ₃	
Oxygen-15	2.04	β ⁺	1.72	¹⁵ N(d,n) ¹⁵ O	N ₂ (+O ₂)	[¹¹ O]O ₂	¹⁵ N
Fluorine-18	109.7	β ⁺	0.635	²⁰ Ne(d,α) ¹⁸ F ¹⁸ O(p,n) ¹⁸ F	Ne(+F ₂)	[¹⁸ F]F ₂	¹⁸ O
					[¹⁸ O]H ₂ O	¹⁸ F ⁻	

其中，F-18 放射性示蹤劑是應用最為廣泛的診斷性正子藥物，F-18 也是 PET 研製藥物之最佳核種選擇，其原因在於 F-18 具有下列特性：

1. F-18為低能量0.64MeV的正子核種，對組織的穿透力（penetration）較低（最大2.4mm距離），所以，可得到較清晰的影像。
2. 可產製高比活度（High Specific Activity）F-18放射性示蹤劑。
3. 可於cyclotron中產製大量F-18放射性同位素。
4. F-18放射性示蹤劑產率高（20-40%）。

5. F-18放射性示蹤劑於相同個體的多項試驗，其劑量是可接受的。
6. F-18半衰期 ($t_{1/2}=109.7 \text{ min}$) 較其他正子核種半衰期長，可運送到不具有 on-site baby cyclotron 的研究單位或醫院以供使用。

(四) 應用PET於CNS腦中樞神經系統藥物之開發

分子影像是一種非侵入式且可觀察活體內細胞功能變化與分子轉變過程之技術，包括有 MRI、光學、核醫影像等技術，其中核醫影像技術又可分為 PET 與 SPECT。PET 相較於 SPECT 具有諸多優點，例如 PET 解析度為 3.8mm (SPECT 8.0mm)、準確性與具有衰減校正等，敏感性優於 MRI。但是，PET 也有其缺點，需要短半衰期的放射性同位素，且須 cyclotron 而昂貴設備的投資⁽¹⁾。

對於腦部神經功能造影研究來說，一般考量偏重以放射性示蹤物追蹤腦部 receptor 結合以及神經功能等方面著手，包括 Endogenous transmitters、Endogenous substrate for neurotransmitters、Selective receptor binding ligands、Selective molecules visualizing other processes of the neuron such as the uptake system, reuptake system, and enzymatic metabolic systems either for neurotransmitter synthesis or for the degradation of neurotransmitters 等，其分子影像藥物特性藉由 *in vitro* 與 *in vivo* 研究；包括親和性、專一性與選擇性、適當親脂性、高度分子穩定性與血漿蛋白之間的低親和性、比活度、藥物代謝物分析、動力學分析等方面來評估。

職詢問 M.D., Ph.D. Akihiro 醫學博士有關 *prof. Christer Halldin* 闡述關於 PET 放射性示蹤劑之所以能成為「CNS 腦中樞神經系統藥物開發之熱門方法」，主要在於 PET 放射性示蹤劑具有下列特性：(1)Microdosing，(2)Drug occupancy at target of interest，(3)Biomarkers of pathophysiology。

1. Microdosing：開發 CNS 核醫藥物的關鍵因子在於 brain exposure，由藥物動力學數據顯示，腦部過低 exposure 往往是造影失敗主要原因，但是，注射過高的劑量，可能會造成不預期的藥理作用。近年來，歐美國家制定藥物相關規範單位，如 EMEA 或 FDA 已開始接受 PET 放射性示蹤劑的 microdosing 觀念，Microdosing 主要概念是指在極短時間內注射極低的劑量(低於 1/1000 以下治療劑量)，以 PET 藥物來說，是指注射低於藥理效應之 1/100 劑量與 < 100ug 藥物濃度。由於歐美政府相關衛生單位對 Microdosing 概念的接受度增加，則免除了核醫藥物之 toxicology 的安全疑慮，大幅提升 eIND 階段之各類新藥研製的發展。

目前該實驗室以 8 種已知 CNS reference drugs (包括: caffeine, clozapine, citalopram, clomipramine, diazepam, selegiline, venlafaxine, verapamil) 進行 PET 放射性示蹤劑 microdosing 與藥效實驗, 結果證明無顯著差異性存在。實驗設計為將前述藥物以 C-11 標幟得到高比活度放射性示蹤劑後進行 PET 造影, 分成兩組實驗: (1) 每一種 C-11 標幟藥物 microdosing 分別注射於兩隻不同個體長尾猴 (cynomolgus monkey) (n=2)。 (2) 每一種 C-11 標幟藥物注射兩次於同個體恆河猴 (rhesus monkey), 第一次僅注射 C-11 標幟藥物 (microdosing), 第二次先以 pre-infusion 注入具有藥理作用之藥物劑量後, 隨即注射 C-11 標幟藥物, 所有試驗個體均進行腦部造影, 共計 32 次。【註: 恆河猴試驗主要用於進行 compartmental analysis】。

實驗結果發現, CNS reference drugs 於長尾猴平均最大藥物濃度值 (average C_{max}) 為 3.2 SUV (or 3.9% I.D), 同樣地, 於恆河猴平均最大藥物濃度值為 3.1 SUV (or 3.5% I.D)。且從上述第(2)組實驗結果發現, 僅進行 microdosing 之平均最大藥物濃度值低於 pre-infusion 藥物的平均最大藥物濃度值, 大約 1.25 倍差異。從藥物動力學結果顯示, 經過 pre-infusion 藥物所得到 K_1 與 k_2 和僅接受 microdosing 之 K_1 與 k_2 , 並沒有明顯的差異。結論: 數據顯示並無觀察到差異存在。目前, 仍持續以其他 CNS reference drugs 進行試驗⁽²⁾。

2. Drug occupancy at target of interest: 主要偵測藥物結合 receptor 能力。可找出適當藥物投予劑量, 並可以推估劑量或血漿濃度與 receptor occupancy 之間的關係, 甚至於可作為 surrogate endpoint。

Receptor occupancy (RO) PET 技術是一種非侵入式方法來測定藥物與 receptor 結合情形, 其應用在於評估當施予藥物治療後, 腦神經「可利用的接受體濃度」(available (not occupied) receptors; B_{avail}) 的變化情形, 可藉由 PET 相關實驗數據計算出來, 其他如酵素抑制效果亦可利用相同原理來評估。兩種方法都是用來評估藥物劑量。

$$Occupancy = 100\% \times \frac{Baseline - Medication}{Baseline}$$

實際上, RO 的估算是複雜的程序且 B_{avail} 測量是相當具有挑戰性, 假設治療藥物的劑量不會改變 Ligand-receptor 親和性($1/K_D$), 則 RO 的估算可藉由以下兩種參數來評估: (1) Binding potentials (BP): BP_{ND} , BP_P , BP_F 。 (2) (ROI-Reference) / Reference ratios。

3. Biomarkers of pathophysiology: 以早期神經退化疾病診斷來說, 必須在明顯可被診斷的臨床徵兆出現前, 即「無徵兆階段 Asymptomatic phase」, 進行檢驗觀察。以阿茲海默氏症 (AD) 為例, 該疾病是一相

當常見的神經退化性疾病，已有證據顯示在無徵兆階段以 MRI 觀察腦部結構仍為正常狀態下，事實上，已發生功能上的變異。

(五) 適當親脂性 (Appropriate lipophilicity)。

通常，PET 藥物分子具有適當的親脂性 ($\text{LogP} \leq 3$)，對腦神經放射性示蹤劑來說，最佳 LogP 值為 1.5~3.0 之間，於此範圍表示，藥物可通過 BBB。但是， LogP 值無法反映出生理狀態 pH 發生變化，所以，考量在生理狀態下 pH=7.4 的親脂性測量法 LogD 比 LogP 更為恰當， LogD 是目前篩選 PET 候選藥物的標準方法。

(六) 非特異性結合 (Nonspecific Binding)

以放射性示蹤劑來研究特異性接受體 (specific receptor) 或酵素時，若存在有非特異性結合情形，則會造成背景值提高，而使 PET 訊號值降低。目前最新研究指出，候選分子與單一磷脂質分子之間的 *ab initio* 能量交互作用估算方式是優於 LogP 估算的。所以，目前相關研究建議，針對非特異性結合研究，可以利用候選分子水解磷脂質細胞膜雙層結構的能力來評估。

其他，影響非特異性結合的因素尚有分子的親和性，理論上，放射性示蹤劑應具有極低於 nanomolar 的親和性，因為，親和性太高，表示放射性示蹤劑緊密附著在標的位置，造成 S/N 過高。所以，對設計具有適當的親和性之 PET 放射性示蹤劑來說，亦須考量標的分子的密度以及可逆性結合程度，這對 *in vivo* 定量分析來說是相當重要的。

(七) Receptor結合程度 (Receptor-binding)

用在評估新合成放射性示蹤劑與體內 receptor 或 binding site 結合能力的優劣。一般來說，人體生理狀況是相當複雜的，當放射性示蹤劑進入人體後，會受到數個因素；包括血管毛細管之運送、擴散到結合位置 (binding site)、與內生性神經傳導物質 (endogenous neurotransmitter) 競爭、與血漿蛋白 (plasma protein) 之結合度及與 specific binding site 之分離與結合狀況等因素，均影響放射性示蹤劑的分佈情形。

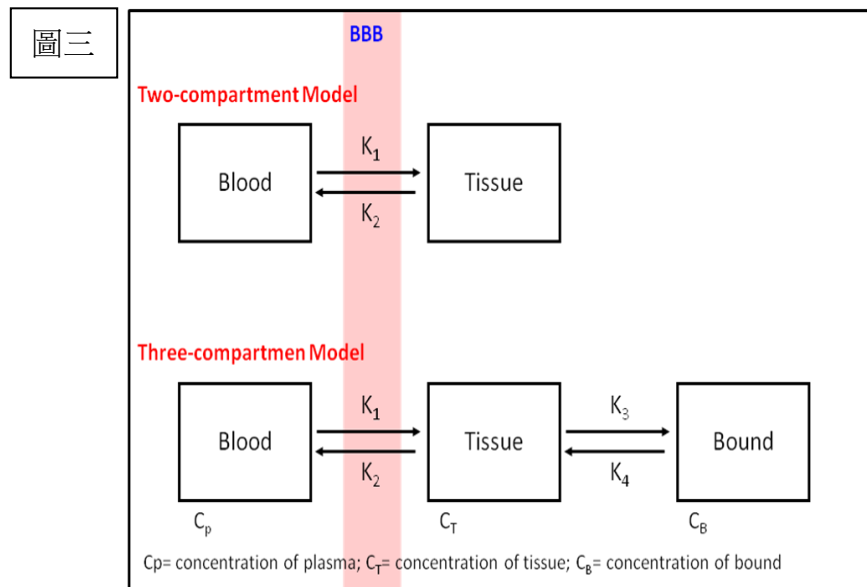
定量分析是利用數學模型來建立在人體內各標的器官組織之動脈血中，放射性示蹤劑的代謝變化及濃度與時間的關係，可進一步評估示蹤劑於標的組織的結合能力 (binding potential; BP) 或分布體積比 (distribution volume ratio, DVR)，來瞭解藥物在標的位置之特異性結合程度。

定量分析的數學模型，可分為兩大類型：

1. 隔室模型 (compartment model): 須綜合考量動脈血流函數 (Arterial input function: AIF)、特異性/非特異性結合濃度、動態平衡等參數。

放射性示蹤劑 *in vivo* 定量分析研究除了需量測藥物的 uptake、washout 以及組織內 retention 情形外，還必須了解從血液運送至組織的動脈血流函數 (arterial input function, AIF)，其方式是直接抽取動脈血液後進行血液之放射活度測量。但對於放射性示蹤劑與 receptor 結合的來說，單以測量血漿放射活度是不夠的，還必須測量隨著時間變化，其放射性示蹤劑代謝變化情形⁽³⁾。

通常放射性示蹤劑進入人體後，可以簡易 two-compartment model 或 three-compartment model 概念 (圖三) 來表示，經由數學模式推導所得之相關數據來了解複雜的生理狀況，除二隔室模型與三隔室模型外，甚至可做更多隔室的區隔 (例如：四隔室、五隔室等)，但相對的，數學模式更加複雜。



不管 two-compartment model 或 three-compartment model，基本概念為放射性示蹤劑的運送和與 receptor 結合狀態，受到四個參數控制 (包括 K_1 , K_2 , K_3 , K_4 等)。

- 血液 (Blood) 與組織 (Tissue) 間之放射性示蹤劑的運送，受 K_1 與 K_2 控制， K_1 表示 Blood-Tissue 之注入常數 (influx constant)， K_2 表示 Tissue-Blood 之流出常數 (efflux constant)。
- K_3 與 K_4 常數與 receptor 結合有關， K_3 常數與 free receptor 或 binding site 的濃度成一比例關係， K_4 表示放射性示蹤劑解離常數。
- C_p 、 C_t 或 C_b 之間屬於動態平衡， C_p 、 C_t 或 C_b 瞬間動力變化可以下列公式表示。

$$-dC_p/dt = K_1 C_p - K_2 C_t$$

$$-dC_t/dt = K_1 C_p - K_2 C_t - K_3 C_t + K_4 C_b$$

$$-dC_B/dt = K_3C_T - K_4C_B$$

- 放射性示蹤劑與 C_B 反應可分為可逆 (reversible reaction) 或不可逆反應 (irreversible reaction) 兩種。

$$\text{不可逆反應: } K_3K_1C_P / (K_2 + K_3)$$

$$\text{可逆反應: } K_3K_1C_P + K_3K_4C_B / (K_2 + K_3) - K_4C_B$$

- 藉由測定血漿中放射性示蹤劑之放射活度以及 PET 影像測量所得到的 total radioactivity 數據，代入上述公式中，則可獲得到結合狀態的參數數值。
2. 參考組織模型 (reference tissue model): 僅需考量參考組織 (reference tissue) 與標的組織 (target tissue) 兩者間的藥物濃度關係，而不須考量動脈血流函數。

參考組織模型並不需要以血漿內放射性示蹤劑之放射活度數值來運算，反以無特異性結合區域 (non-specific binding) 參考區域的 TAC (time-activity curve) 來計算。通常，參考組織模型被用於 PET 研究之放射性示蹤劑與 receptor 之間為可逆反應之結合潛力 (binding potential; BP_{ND}) 估算，同樣的，參考組織模型亦可經修飾後用於不可逆反應之結合能力探討。Cunningham et al 提出以參考組織模型來估算 BP_{ND} 已是一公認的黃金標準“gold standard”，可採用簡易參考組織模型 (Simplified reference tissue model; SRTM) 方法評估⁽⁴⁾。

SRTM 基本概念為放射性示蹤劑與 receptor 結合狀態，受到四個參數包括： R_1 , K_2 , K_3 , BP_{ND} (K_3/K_4) 等影響，利用非線性適合度曲線 (nonlinear fitting) 計算出各參數⁽⁴⁾。(參考圖三， R_1 : 表示標的組織 K_1 與參考組織 K_1 比值)。

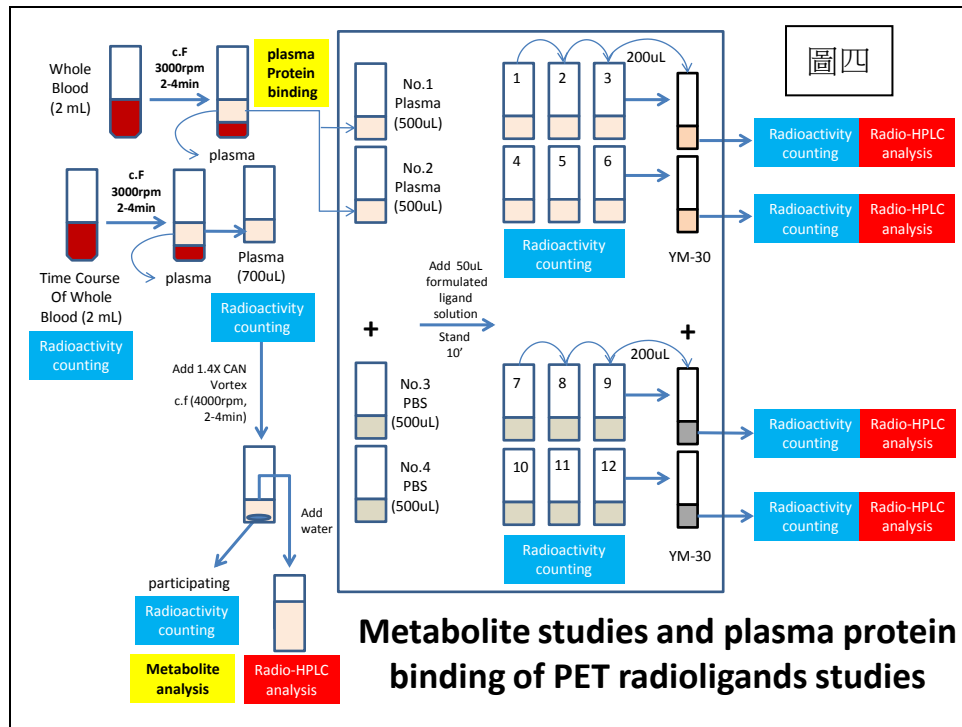
基本上，應用 SRTM 分析的前提是假設藥物注射入體後到 PET 掃描結束的過程，均維持在一穩定平衡的生理狀態下，如此，方可進行腦內藥物投予誘發神經傳導變化研究評估。

(八) 血漿蛋白結合度 (Plasma Protein Binding)

對腦神經藥物來說，放射性示蹤劑分子特性可影響進入 BBB 程度；包括帶電性 (charge)、脂溶性 (lipid solubility)、與血漿蛋白結合力 (extent of protein binding) 與分子大小 (molecular size) 等特性。另外，如果分子具有 local dipole moments；即分子外部有氫鍵鍵結存在 (例如分子氫鍵與血漿水分子結合)，會降低分子穿過 BBB 的能力。

此外，藥物在血液中與血漿蛋白質結合程度，無論是可逆或是不可逆的結合，均會影響藥物通過腦部 BBB (blood brain barrier) 的效率。而藥物與血漿蛋白質結合度好壞，取決於藥物之親脂性 (lipophilicity) 特性。plasma protein binding (PPB) 檢測法，主要檢測出藥物不會與血

漿蛋白質結合的比例。職與研究人員 Nana 學習 metabolite 與 PPB 實驗方法（圖四）。

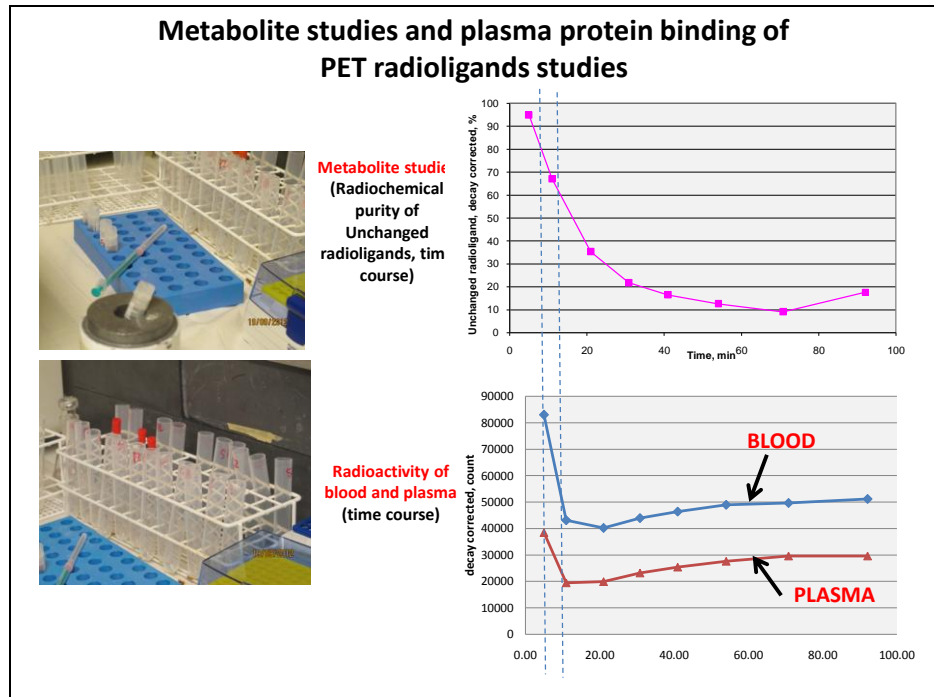


$$PPB(\text{unbound}\%) = \frac{\text{Activities of unbound}}{\text{Activities of bound and unbound}} \times 100\%$$

（九）代謝產物分析（metabolite Analysis）

了解放射性示蹤物（radiotracer）的代謝狀態對核醫藥物設計來說，是相當重要的一環，同樣也是評估放射性示蹤物之最佳化學分子標識位置。以 PET 放射性示蹤物於腦部生化研究來說，通常同位素標識在分子最易發生代謝斷裂之處，例如：N-[¹¹C]methyl group，所以，當放射性示蹤物注射入人體後，產生的代謝物質屬於親水性質，是無法通過 BBB 血腦障壁到達腦組織。在不同的時間點收集經過離心後之血漿樣品，方法如圖四，打入 Radio-HPLC 進行分析，可獲得不同時間的層析圖譜，用以計算各時間的 unchanged radioligand 比例以及 metabolite peaks，職與研究人員 Nana 分析 metabolite results（圖五）。

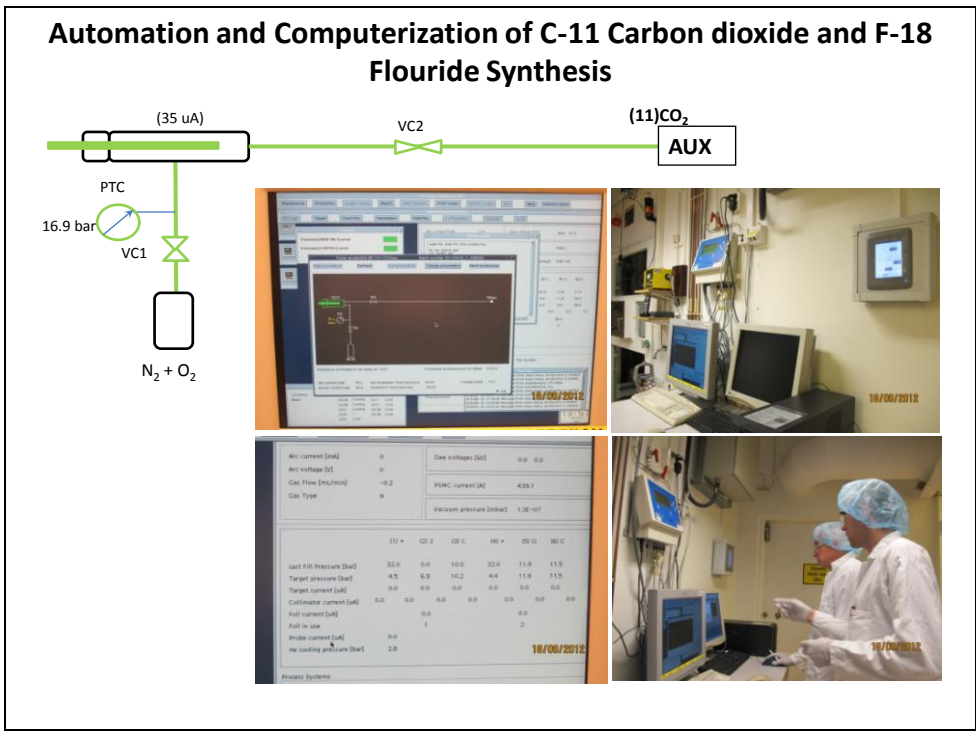
圖五



(十) 短半衰期PET同位素合成 (Synthesis of Short-Lived PET Isotopes)

該實驗室之 C-11 與 F-18 短半衰期 PET 同位素合成，均由放射化學專家於 cyclotron & QC Lab 內直接以電腦控制 16MeV 加速器，其狀態可藉由電腦螢幕顯示狀態，共設計有 6 個 channel，每一 channel 各是不同的加速器內靶材（無論是水靶或氣體靶），工作人員依據排定的工作時程逐實登錄各項參數，電腦化優點在於工作人員可正確明瞭所進行的合成步驟每一階段的時間點（圖六）。

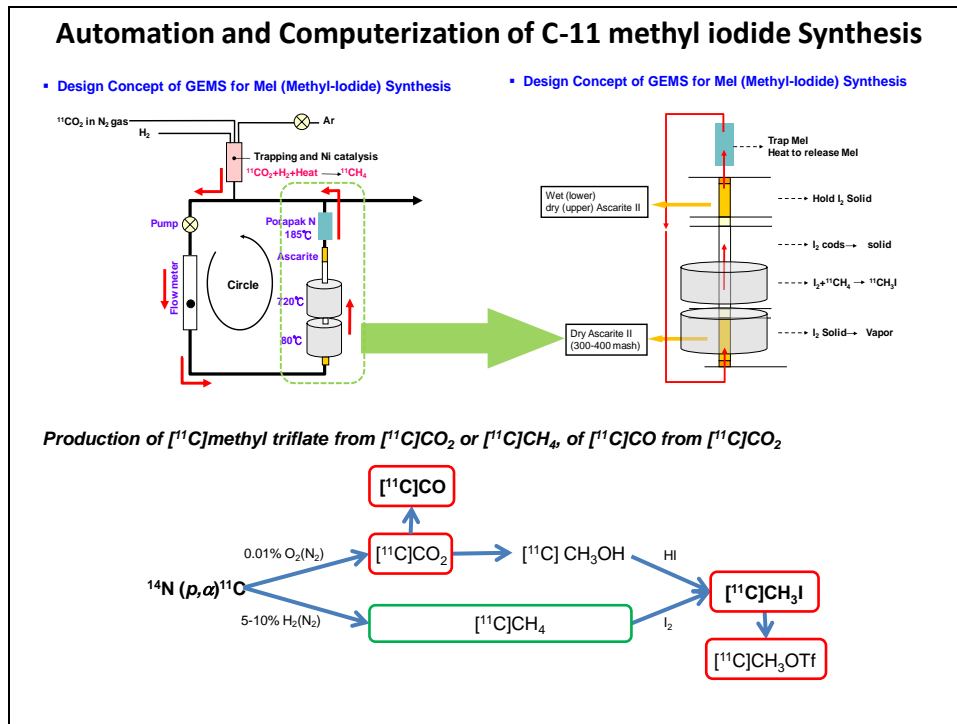
圖六



[¹¹C] methyl iodide ([¹¹C] MeI) 與 ¹¹C-carbon dioxide (¹¹C¹⁸O) 合成

利用先將 [¹¹C]CO₂ 捕捉於 nickel/molecular sieve 中並轉換成 [¹¹C]CH₄ 後，利用控制閥，將 [¹¹C]CH₄ 隔離在具有 pyrolysis tube 的密閉循環系統中，pyrolysis tube 內 I₂ 蒸氣與 [¹¹C]CH₄ 作用，使 [¹¹C]CH₄ 變成 ·[¹¹C]CH₃ 自由基，爾後 ·[¹¹C]CH₃ 自由基再從 I₂ 捕捉 iodine 轉變成 [¹¹C] methyl iodide (圖七)。¹¹C]Methyl iodide 是廣泛使用的甲基化試劑，近年來，另一甲基化試劑替代品為 [¹¹C]methyl triflate ([¹¹C]CH₃OTf)，其合成方法利用將 [¹¹C]Methyl iodide 通過 silver triflate 管柱 (200°C)，¹¹C]methyl triflate 特性在於具有高度反應性與揮發性，可讓反應快速進行。讓 [¹¹C]CO₂ 通過以預熱鋅金屬或鉬催化來轉變成 [¹¹C]CO，總括來說，以 [¹¹C]CO₂ 為反應起始物的前趨物有許多種，該實驗室主要以 [¹¹C]carbon dioxide、¹¹C]carbon monoxide 與 [¹¹C]methyl triflate 為主 (圖八)。

圖七



圖八

(十一) 碳-11標幟藥物GMP自動化合成系統 ($[^{11}\text{C}]$ Labeled Compound GMP Automatic Production System)

放射化學家對 PET 藥物發展的主要挑戰與瓶頸之一就是開發快速的合成方法。將正子核種快速的導入感興趣的分子中。在數分鐘內完成合成、純化、分析與劑型等步驟。開發 C-11 或 F-18 標幟藥物合成步驟時，有三項關鍵點需注意：(1)放射核種須能盡快進入合成系統。(2)標幟反應時間須快速。(3)需有高產率。Karolinska Institutet 之 C-11 或 F-18 合成系統為 GE 奇異公司所設計 GEMS PETracer 系統，已整合為自動化合系統並搭配數位影像顯示器，採取 on-line 與 one-pot 的反應系統，縮短合成時間與降低放射活度的損失。目前，該機構已建立的 GMP 產製區域（圖九與圖十）。

根據 *prof. Christer Halldin* 研究報告指出，目前有關放射性藥品之化學製造管制 (Chemical Manufacture Chemistry) 皆遵循 USP 或 EP 藥典規範，目前已收載於藥典有 $[^{11}\text{C}]$ raclopride 與 $[^{11}\text{C}]$ methionine 等兩種，但不同的國家規範仍不盡相同。以製藥觀點來看，要獲得高品質產品的主要關鍵有兩點：純化 (purification) 與品質管制 (quality control)，而高效能液相層析 HPLC 方法已成為這兩個關鍵步驟之標準方法，且可獲得高比活度放射性藥品，例如：比活度高大於 3mCi/nmol (111 MBq/nmol) 對研究 receptor 已顯足夠。

圖九

Preparation of C-11 and F-18 Molecular Image Agent Synthesis



圖十

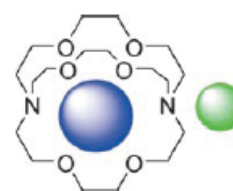
Automation and Computerization of C-11 Molecular Image Agent Synthesis

(十二) 親核性 ^{18}F 氟化取代反應 (Nucleophilic ^{18}F Substitution Reactions)

^{18}F 可藉由親電性或親和性反應標識於生物分子中，本所過去研製之 ^{18}F FDG 採用親核性 ^{18}F 氟化取代反應原理來產製。目前，應用此相同原理產製的 PET 放射性示蹤劑包括如 3'-deoxy-3'- ^{18}F fluorimidine (^{18}F FLT)用於腫瘤研究； ^{18}F fallypride、 ^{18}F haloperidol 與 ^{18}F spiperone 用於多巴胺接受體研究以及 ^{18}F fluoro-azomycinarabinofuranoside (^{18}F FAZA) 與 ^{18}F Fluoro-misonidazole (^{18}F FMISO) 應用於組織缺氧

造影研究。

職與 Dr. Kenneth 討論有關親核性取代反應合成步驟，除反應溫度與時間的掌握十分重要外，職認為有兩個關鍵步驟與參數：（1）讓 $^{18}\text{F}^-$ 離子成為一個極佳親核性物質 (highly negatively charged molecule)：當水靶 $^{18}\text{H}_2\text{O}$ 進行 $^{18}\text{O}(p,n)^{18}\text{F}$ 反應產生

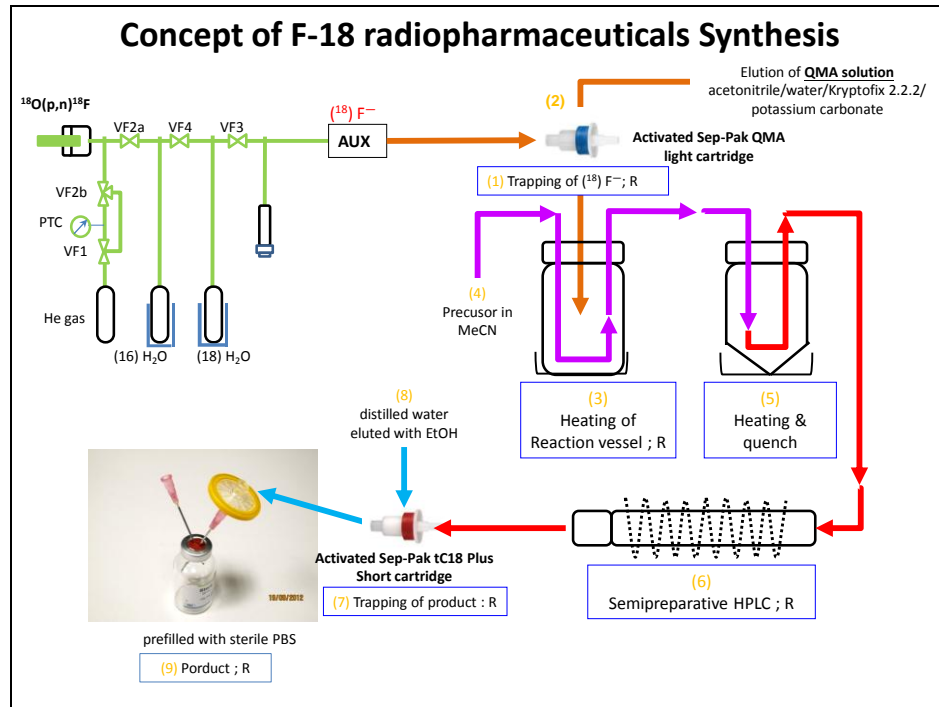


大量 $^{18}\text{F}^-$ 離子 ($[^{18}\text{F}]$ fluoride ion)，利用 light QMA (Quaternary ammonium anion exchange) Sep-Pak column 經離子交換反應來抓住 $^{18}\text{F}^-$ 離子，未反應 $[^{18}\text{O}]\text{H}_2\text{O}$ 則通過管柱後可再回收或是排去。水溶液狀態下的 fluoride 是相當不好的親核性物質，因為具有高度溶合作用 (solvation)，所以，必須利用加入相轉移試劑與催化劑 Kryptofix 222 (4,7,13,16,21,24-hexaoxa-1,10-diazabicyclo(8,8,8)-hexacosane) 及將殘餘水分除去來增加 $^{18}\text{F}^-$ 離子親核取代能力。Kryptofix 222 是一個環狀冠醚結構 (cyclic crown ether)，其環狀冠醚結構與溶液中鉀離子形成強的結構體，避免形成 $^{18}\text{F}^- \text{K}^+$ ，而讓 $^{18}\text{F}^-$ 離子裸露在外，如右圖 (藍色：鉀離子，綠色：氟離子)。

當然，鉀離子主要是氟離子的平衡離子 (counter ion) 可增加反應性但不會干擾合成反應。此外，利用 DMF、DMSO 或 Acetonitrile 此類不具質子極性溶劑 (polar aprotic solvents) 當成溶劑，於乾燥氮氣環境 (濕度 <3 ppm) 下以加熱共沸方式來除去多餘水分，讓 $^{18}\text{F}^-$ 離子成為一個極佳親核性物質，則易發生 $\text{S}_{\text{N}}2$ 親核性取代反應，且所有合成過程均在此乾燥氮氣環境下進行。（2）氟化反應的前驅物必須具有適當的離去基，且具有高純度。

放射性示蹤劑以半製備 HPLC 層析方法來分離與純化是相當重要的階段，可獲得高放射化學純度的藥物。整個合成過程中，有四個位置必須有 radioactivity detector (R)，包括 $\text{R}_1 = \text{QMA}$ 、 $\text{R}_2 = \text{reaction vessel}$ 、 $\text{R}_3 = \text{semi-preparative column}$ 、 $\text{R}_4 = \text{product}$ ，適合用於計算藥物之產率與比活度，以及開發新 ligands 研製過程時，了解是否有活度殘留等問題 (圖十一)。

圖十一



值得我們學習的地方是：

- (1) 改進本所自動化合成系統設計：該機構的合成系統屬於自動化方式，以電腦程式控制 valve 閥開關時間、溫度、氣體運送以及全程監測管柱內活度，現場工作人員可知放射性示蹤劑進入分離管柱之真正移動狀態，利於收集高純度產品，目前本所目前對於核醫藥物的研製採合成盒系統，未連接半製備型 HPLC 層析管柱。

(十三) 風險評估角度進行臨床試驗藥物之品質管制

目前該實驗室對於所有臨床試驗或前臨床試驗藥物的品管分析項目與本所藥物研製大致相同，均遵循 USP 或 EP 規範。但由於每日產製的 C-11 放射性示蹤劑與 F-18 放射性示蹤劑相當多，且 C-11 與 F-18 核種短半衰期之故，所以，品管項目中殘留溶劑 (Residual Solvent)、熱原試驗 (Pyrogen test) 與無菌試驗 (Sterile test) 等項目採取風險評估方式進行，以每十批次進行一次檢測分析，此點與本所不相同。其中，熱原試驗 (Pyrogen test) 採用 endosafe, PTS 方法 (如圖十一(a)與圖十一(b))，每一個 LOT 個別具有每一 LOT calibration curve，具有極高的可信度。



圖十一(a)

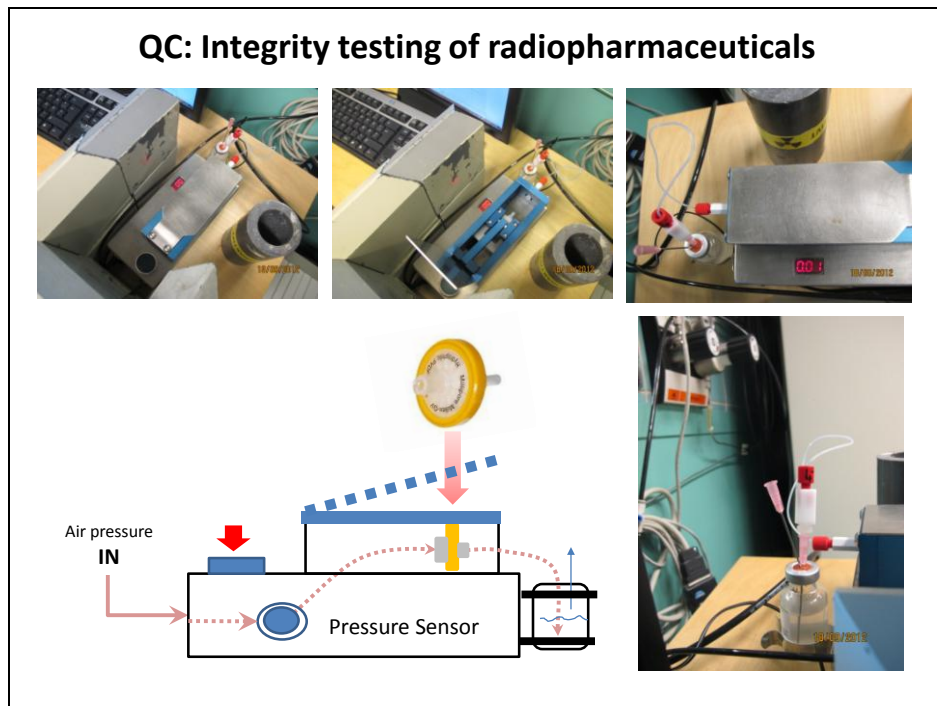


圖十一(b)

值得我們學習的是：

- (1) 濾膜完整性 (Millipore Integrity)：該實驗室每日生產的藥物，逐批次均執行該項目檢測。利用壓縮空氣，以自行設計的儀器，搭配藥物特性進行前處理後（例如：腦神經藥物通常具有中度的親脂性）進行檢測（如圖十三），除可避免品管人員承受高活度劑量外，操作方式更是簡便與快速，該儀器已具備完整確效文件，並已執行 3Q 確效作業。

圖十三

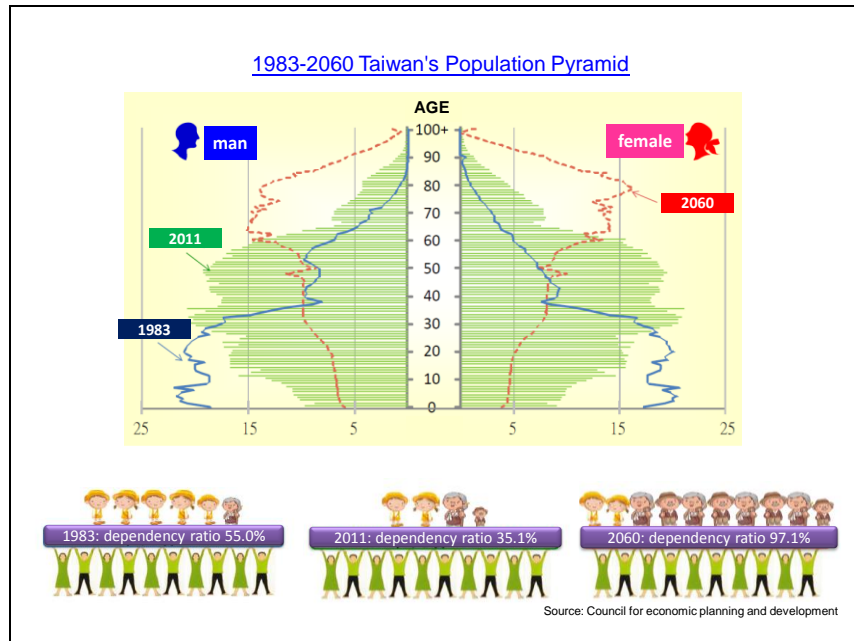


- (2) 比活度 (Specific Activity Determination)：藉由利用品管分析 radio-HPLC 面積積分值、cold comps 檢量線、Injected Dose (GBq)與合成過程偵測的活度讀值來計算，Injected mass of the tracer (μg)，可精確了解進入體內的藥物質量。

(十四) Alzheimer's disease 診斷性分子影像藥物研製

失智症是一種漸進式功能退化症狀，多種不同的原因如血管型、混合型與退化型等可造成失智症，但最常見的是退化型失智症，其中最常見是阿茲海默氏症 (Alzheimer's Disease; 簡稱 AD)，約佔失智症的 60~70%，在北歐及北美地區，更高達 70~80% 的比例，所以，阿茲海默氏症常被稱為「老年失智症」或「老年癡呆症」。根據世界衛生組織估計全球總計約 2 仟 4 佰萬 (24,000,000) 人口罹患 AD，目前，單以美國 1 仟 6 佰萬 (16,000,000) 人口來估算，至 2050 年，AD 病患數就會超過 5 佰萬 (5,000,000)。預估到 2050 年每 85 人就有 1 人為 AD 患者，社會成本極龐大，因此不可不謹慎地面對此隱藏的危機。AD 是一種漸進性神經退化疾病，造成記憶、學習與溝通障礙。對於 AD 病患來說，年齡的增長是主要的危險因子，目前並無治癒與預防的方法。台灣 65 歲以上輕度認知功能障礙 (mild cognitive impairment, MCI) 人口比例，約佔 65 歲以上老年人口 10.2% 左右，而 75 歲以上老年人口，MCI 所佔的比率可高達 13.01%。MCI 輕度認知功能障礙者，會漸近的發展成為 AD，因此，失智症盛行率，會隨著年齡的增加而增加。依據行政院經建會之台灣 1976-2060 人口結構評析報告，人口結構已由燈籠型態 (上下窄中寬) 逐漸轉為瓶罐型態 (上寬下窄)，台灣已屬於「高齡化社會」(圖十四)，隨著老年族群的擴大，衍生而出的健康問題一一浮現，所以，AD 早期診斷亦形重要，約 75%~100% 臨床研究多聚焦在診斷、延緩或阻斷 AD 病程發展，同樣的，AD 分子影像藥物的開發是相當具有潛力的。

圖十四

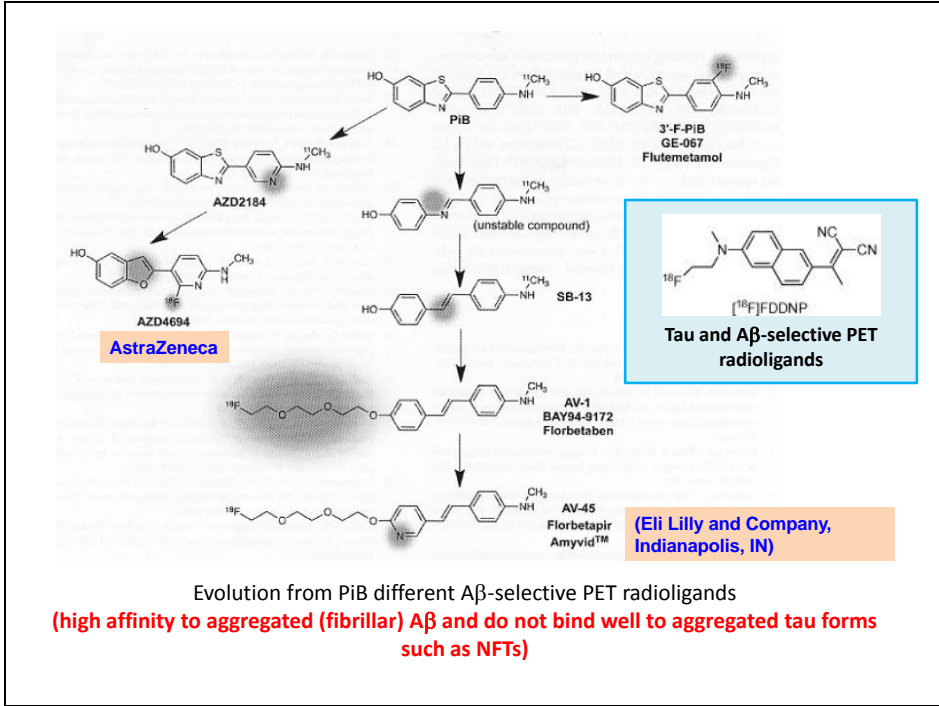


Braak (1997) 依據觀察 AD 之 post-mortem 組織病理學上變化，將 AD 變化分為 A、B 與 C 三階段。對於 AD 的診斷以 post-mortem 病理學變化佐以及 β -amyloid plaques 與 tau tangles 分析。此方法十分準確但對於病患的

幫助不大，基於此原因，研究集中鎖定在尋找準確的 AD biomarker 以期對疾病的早期診斷。AD 分子影像藥物的開發最早研究可追溯匹茲堡大學開發出 [¹¹C]Pittsburgh B 或簡稱[¹¹C]PiB，屬於第一代正子影像藥物。但是具有白質區非特異性結合 (nonspecific binding) 以及 C-11 半衰期僅有 20 分鐘導致無法商業化等缺點⁽⁵⁾。

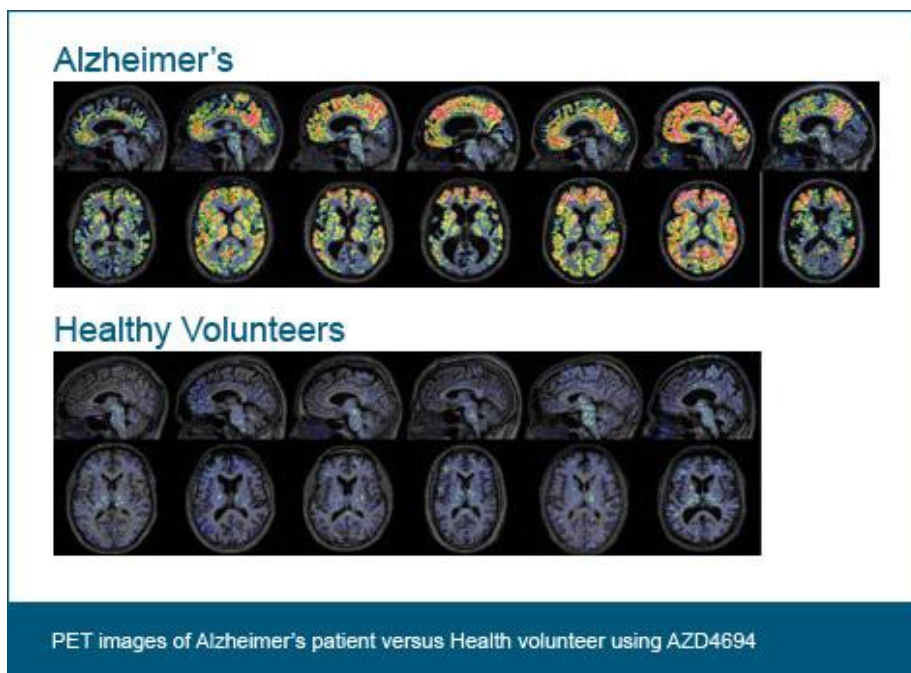
現階段 AD 分子影像藥物之開發，第一類由[¹¹C]PiB 衍生而來的分子，針對 amyloid 具有高度親和性 ($K_i < 10\text{nm}$)，依合成路徑分為三類，包括(1) Flutemetamol ([¹⁸F]GE067, [¹⁸F]3'-F-PIB)。(2) [¹¹C]SB13→Florbetaben ([¹⁸F]AV-1, [¹⁸F]BAY949172)→Florbetapir: ([¹⁸F]AV-45, Amyvid™)。(3) [¹¹C]AZD2184→[¹⁸F]AZD4694(圖十五)⁽⁶⁾。第二類為[¹⁸F]FDDNP，對 amyloid 與 tau tangles 均具有親和性，其他學者認為 Tau tangles 是最佳方式，在於(1)AD 病患早期出現 Tau tangles 的聚集。(2)與臨床徵兆的相關性比 A β 好。(3)Tau tangles 是 AD 第二種病理特徵。全球關於 AD 分子影像藥物多已進展至臨床試驗階段。

圖十五



目前，該實驗室積極與 AstraZeneca's 公司合作，進行 $[^{11}\text{C}]$ AZD2184 與 $[^{18}\text{F}]$ AZD4694 等分子影像藥物開發，以圖十六為例， $[^{18}\text{F}]$ AZD4694 對於 low amyloid plaque 具有敏感度，且沒有白質區的非特異性結合出現，屬於可逆式結合反應，並影像擷取快速及數據處理簡易，故具有高可靠性，目前是 Karolinska Institutet 主要發展項目之一。根據 Navidea Biopharmaceuticals 公司資料顯示， $[^{18}\text{F}]$ AZD4694 已進展到 phase II 階段，預定 2013 於 USA 與 EU 兩區域申請臨床試驗 phase III (圖片來源：Navidea Biopharmaceuticals)

圖十六



對於失智症診斷核醫藥物的開發，第一代藥物主要在於早期 amyloid 病理變化診斷，而第二代藥物主側重在神經發炎病程分級、Tau 病理變化與治療監控等功能性 marker 的開發。腦中樞神經藥物研發仍是目前重點之一。理想的 β -amyloid plaques 的 image marker，須具有下列特性：(1)對於 amyloid plaques 具有高度親和性 ($K_d \sim 1\text{nM}$)。(2)注射藥物後極短時間內快速通過 BBB。(3)快速的藥物清除率 (例如：啮齒類動物之清除時間 $t_{1/2} \leq 30$ 分鐘)。(4)腦部不會出現放射性代謝物。(5)於基因轉殖鼠動物模式 (transgenic mice models) 仍可獲得良好影像數據⁽⁶⁾。

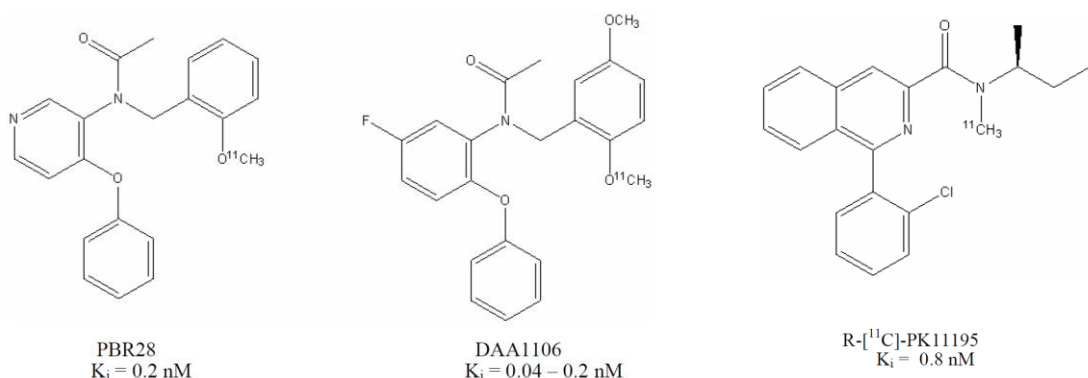
(十五) 神經發炎診斷性分子影像藥物研製

神經退化過程 (neurodegenerative processes) 之主要表徵是神經發炎現象，發炎程度受已活化腦部免疫細胞 (microglia) 與星狀細胞 (astrocytes) 來調控。

早於 1950 末期開始，苯重氮基鹽（Benzodiazepine）廣泛應用作為抗焦慮劑（anxiolytics）、抗驚厥劑（anticonvulsants）與鎮定劑等安眠藥之用途。近期確定苯重氮基鹽之結合位置有可分為兩種：(1)CBR（central benzodiazepine receptor）：主要位於 GABA_A receptor 的細胞外區域，主要功能在於作為 CNS 氯離子調節通道。(2)PBR（peripheral benzodiazepine receptor）：PBR 是一種轉運蛋白（Translocator protein；簡稱 TSPO）（18 kDa 分子量），為線粒體膜外蛋白質，扮演粒線體過渡性通透孔（mitochondrial permeability transition pore）角色，主要存在於周圍組織包括肝臟、心臟、腎上腺、睪丸、造血系統淋巴細胞以及大腦，主要功能與腺嘌呤核苷酸轉移酶(adenosine nucleotide translocase)及陰離子電位通道（voltage-dependent anion channel）有關。microglia 可調節 PBR 的表現⁽⁷⁾。

事實上，PBR 生理功能角色還不是很明確，但是目前已知與神經荷爾蒙、免疫調節、細胞增生與細胞凋亡有關。在正常腦組織，PBR 主要存在於免疫細胞（microglia）且表現量相當低，當腦部受傷害時，microglia 被活化而造成 PBR 表現增加，此種特性讓 PBR 可以作為神經發炎或神經退化疾病的臨床指標⁽⁷⁾。

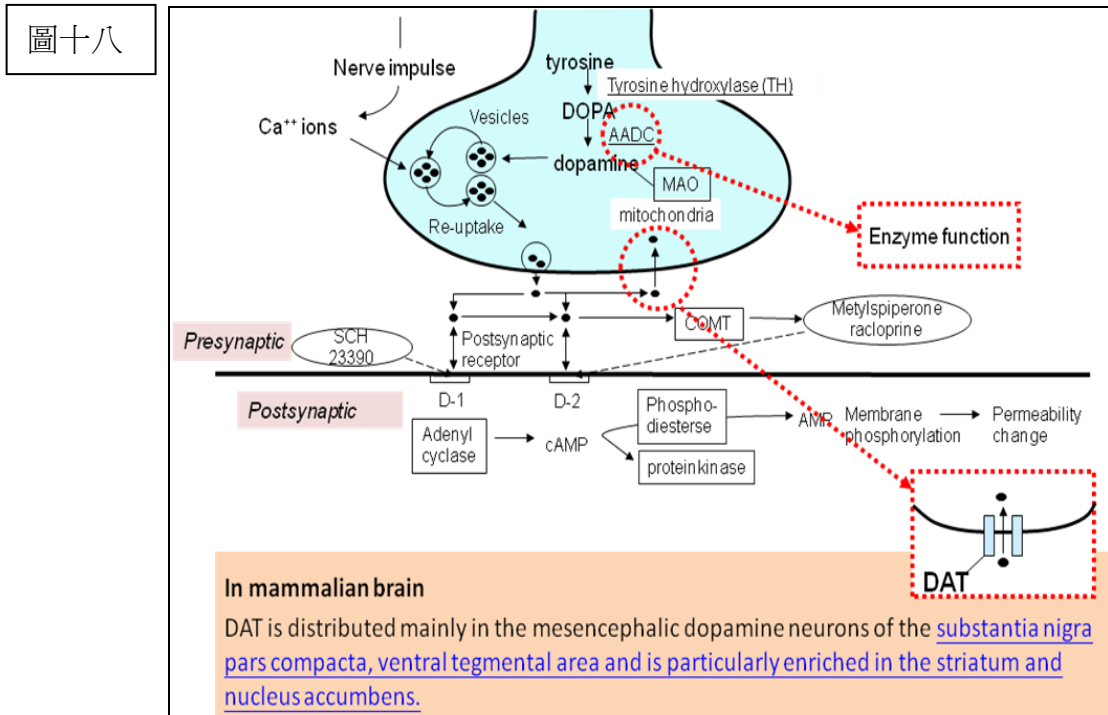
另外，MAO-B 是一種存在於星狀細胞的蛋白質，可選擇性氧化單胺類化合物，例如 o-tyramine 與 phenethylamine，亦可作為為神經退化/星形膠質細胞增生（astrocytosis）的指標分子。研習期間所知該實驗室針對 PBR 與 MAO-B 之研製分子影像藥物，主要為 [¹¹C]PBR 與 C-11 Deprenyl 等兩種。本報告主要討論 PBR 分子影像藥物。過去研究指出，PBR 分子影像藥物包括 [¹¹C]PK11195（[¹¹C]1-(2-chlorophenyl-N-methylpropyl)-3-isoquinoline carboxamide）與 [¹¹C]DAA1106 等（圖十七）。但是，臨床數據顯示 [¹¹C]PK11195 之腦部吸收值（specific to nonspecific binding）低於 20% 以至於無法進行定量分析⁽⁷⁾。prof. Christer Halldin 實驗室目前發展 [¹¹C]PBR28（N-(2-[¹¹C] methoxybenzyl)-N-(4-phenoxyphenyl)-3-yl)acetamide）分子影像藥物。



圖十七

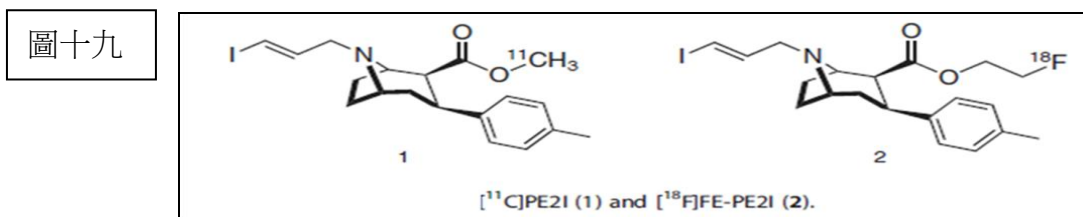
(十六) 多巴胺轉運體 (Dopamine Transporter ; DAT) 診斷性分子影像藥物研製

對研究腦神經 receptor 或基因表現相關研究，理想的藥物應須具有下列特性：高比活度、可快速通過 BBB、可從血液中快速的被清除、具有高親和性(K_d)與專一性、緩慢代謝以及與 binding site 的 specific 結合能力必需 nonspecific binding 來的緩慢，均是必備的條件。多巴胺神經傳導路徑如圖十八。



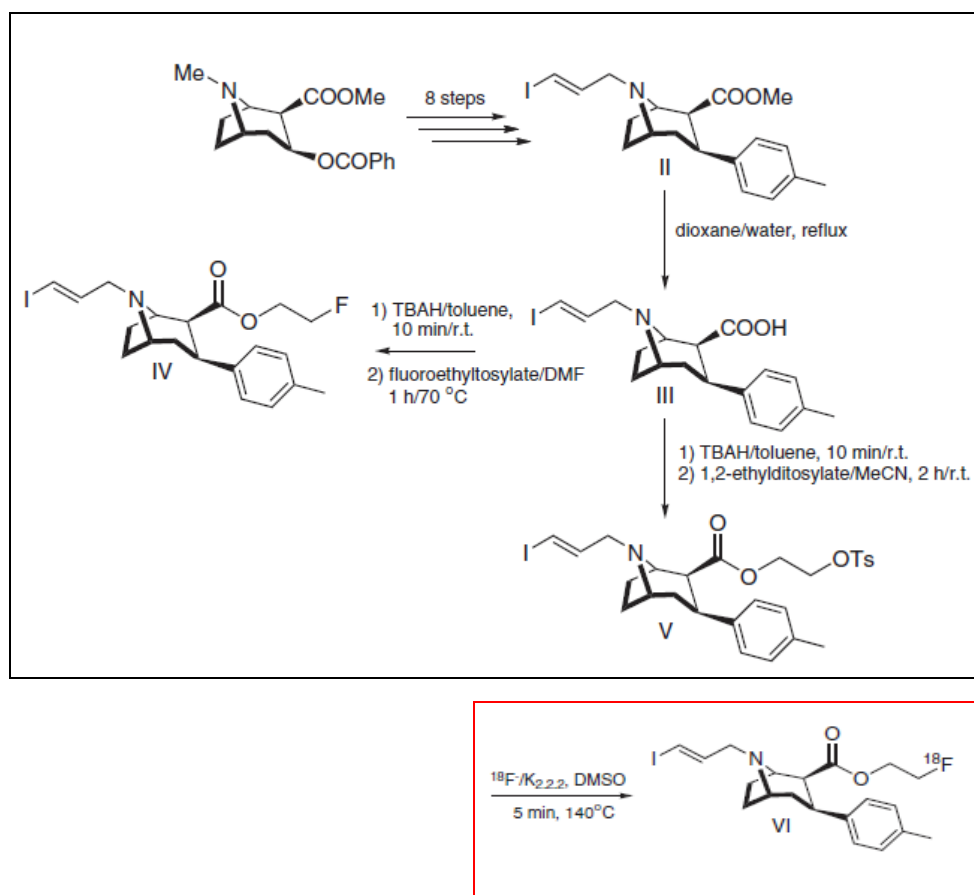
本所目前針對 DAT 造影之商品化產品為 ^{99m}Tc TRODAT-1，其分子式 ^{99m}Tc -[2-[[2-[[[3-(4-chlorophenyl)-8-methyl-8-azabicyclo [3.2.0.1]oct-2 -yl] methyl] (2-mercaptoethyl)amino]ethyl]amino]ethanethiolato(3-)-N2,N29,S2,S29] oxo-[1R-(exo-exo)]。優點在於是唯一 SPECT 核醫藥物，方便於臨床使用。但缺點在於 target to background ratio 過低，也就是說 S/N 比值過低，另外，不適合用於 parkinsonian 病患病程的追蹤⁽⁸⁾。

過去 ^{11}C PE2I 應用在 DAT 研究，但發現 *in vivo* 定量分析的問題，如 (1)緩慢的藥物動力以及 late peak equilibrium，(2)至少出現一種以上的放射性代謝物可通過 BBB。所以，目前，最新發展的是朝向改以 F-18 標幟方向進行，即 ^{18}F FE-PE2I。 ^{11}C PE2I 與 ^{18}F FE-PE2I 結構 (圖十九)



[¹⁸F]FE-PE2I 合成途徑，如圖二十。

圖二十



(十七) Rodent 嚙齒類動物影像實驗 (small animal image Studies)

目前 *prof. Christer Halldin* 教授實驗室之嚙齒類動物影像相關實驗由 Karolinska Experimental Research and Imaging Centre (KERIC) 執行，KERIC 隸屬 Karolinska University Hospital 醫院的 comparative medicine (AKM) 部門，該實驗室系統執行 swine 與 rodents (mouse, rat) 各類實驗。核心設施包括 Mediso nanoScan® PET-MRI/CT multimodal small animal imaging system 【MRI modul (spatial resolution < 100 μm), PET modul (spatial resolution 0.8 mm), act modul (voxel size: 10-34 μm)】，可針對 Radioligand、Molecular imaging biomarker、Drug (microdosing, occupancy...etc) 提供影像定量資訊。而此核心設施維護由醫院及使用者付費方式來支應。

略述整體實驗程序，將 mouse 以 isoflurane 麻醉【一般應用於氣體麻醉劑有三種，分別為 halothane、isoflurane 及 seroflurane，目前，KERIC 採 isoflurane 氣體麻醉方式。本藥劑特性：均由肺臟代謝，只有極少量需以肝臟代謝，其誘導效果好，且有效縮短麻醉動物的恢復時間，此外，對心臟血管的影響性不大】。稱重後置於 Mediso nanoScan® PET-MRI/CT 動物承載軌道，以頭朝前方俯臥方式固定，頭部持續灌注 isoflurane 氣體麻醉，由尾

部肛門置入溫度量測感應裝置，並連接外部監控系統以進行生命跡象監測，以 27G 針頭由尾靜脈微量注射 radioligand 後，開始推入儀器內部進行持續 2 小時的照影，再將所得到的影像數據進行分析。

(十八) Monkey 靈長類動物影像實驗 (Nonhuman Primates) image Studies)

目前 *prof. Christer Halldin* 教授實驗室之靈長類動物相關實驗，採用兩種猴子品系，一為恆河猴【*rhesus monkeys (Macaca mulatta)*】用於 DAT 定量研究，包括 AIF (arterial input function) 量測。另一為長尾猴【*cynomolgus monkeys (Macaca fascicularis)*】用於全身生物分佈研究 (whole-body biodistribution) 與劑量評估研究 (dose evaluation)。由於因為老齡化長尾猴腦部，可見到零星的 plaque 形成 (Alzheimer's disease 主要的組織病理特徵之一)，所以，長尾猴被認為適合用於阿茲海默氏症與其他神經退化異常疾病之相當有用的動物模式之一。據現場工作人員說明，長尾猴喜群居，且其大腦的結構最接近人腦。

前述兩種猴子均屬該單位所擁有，但由瑞典疾病感染控制中心之 Astrid Fagraeus Laborator 進行妥善的日常生活照料。所有試驗程序均遵循相關法令規範，且研究內容業經瑞典動物福利行政機構 (Animal Welfare Agency) 之動物倫理委員會 (Animal Ethics Committee) 核可下進行。經實驗人員說明 *cynomolgus monkey* 長尾猴價格昂貴，每一隻 3,500 歐元(EUR)，共有 32 隻猴子，除此之外，每天的照顧額外費用需 21 歐元(EUR)。

在 DAT 定量研究上，採用肌肉注射方式給與 ketamine hydrochloride (12 mg/kg) 誘發初始麻醉效果，接著以氣管插管方式 (endotracheal intubation) 持續供應 Sevoflurane (2%–8%) 與氧氣來維持麻醉效果。在全身生物分佈研究上，則改以靜脈灌注方式持續供應 ketamine hydrochloride (4 mg/kg/h) and xylazine hydrochloride (0.4 mg/kg/h) 來維持麻醉效果。並依不同實驗設計，在不同的時間點採集血液，同步進行 radioactivity、BBP、metabolite 分析。

(十九) Current studies of Department of Neurosciences of PET center

目前 *prof. Christer Halldin* 實驗室目前以研製碳-11 標識化合物之新正子核醫藥物為主，研習期間，該實驗室所執行 C-11 或 F-18 標製藥物研製 (表一)。

表一	radioligands	Target	Testing	Pre-clinical trial	Clinical trial	Metabolites, plasma Study
C-11	[¹¹ C] MDL100907	5-HT (2A) receptors		*(Ap)		
	[¹¹ C] AZ10419369	5-HT (1B) receptor		*(Ap)	*	
	[¹¹ C] Raclopride	D2-dopamine receptors			*	

	[¹¹ C] PBR28	(PBR) peripheral benzodiazepine receptors		* (Ap)	*	
	[¹¹ C] Deprenyl-D2	MAO activity			*	
	[¹¹ C] Carfentanil	[mu]-opiate receptor	*			
	[¹¹ C] AZD9272	(mGluR5) metabotropic glutamate receptor subtype 5		* (Ap)		*
F-18	[¹⁸ F] FE-PE2I	(DAT)dopamine transporter			*	
	[¹⁸ F] AZD4694	□ -amyloid plaques		*	*	

(二十) 參考文獻

1. Jan Andersson., “Development of PET radioligands synthesised from in-target produced [¹¹C] methane”, *Department of Clinical Neuroscience, Karolinska Institutet, Stockholm, Sweden*. 2010.
2. Magnus Schou, Katarina Varnäs, Stefan Lundquist, Ryuji Nakao, Nahid Amini, Balázs Gulyás, Akihiro Takano, Sjoerd Finnema, Christer Halldin and Lars Farde., “Microdosing of radiolabeled CNS drugs in non-human primates. Assessment of brain exposure and dose dependent effects on brain exposure using positron emission tomography”, *J Nucl Med*. 2012; 53 (Supplement 1):1899
3. Adriaan AL and Susan PH., “Simplified Reference Tissue Model for PET Receptor Studies”, *Neuroimage*, 1996; 4: 153–158.
4. Cunningham VJ, Hume SP, Price GR, Ahier RG, Cremer JE, Jones AKP., “Compartmental analysis of diprenorphine binding to opiate receptors in the rat in vivo and its comparison with equilibrium data in vitro”, *J Cereb Blood Flow Metab*. 1991; 11: 1-9.
5. Klunk WE, Engler H, Nordberg A, Wang Y, Blomqvist G, Holt DP, Bergström M, Savitcheva I, Huang GF, Estrada S, Ausén B, Debnath ML, Barletta J, Price JC, Sandell J, Lopresti BJ, Wall A, Koivisto P, Antoni G, Mathis CA, Långström B., “Imaging brain amyloid in Alzheimer's disease with Pittsburgh Compound-B”, *Ann Neurol*. 2004; 55(3):306-19.
6. Chester AM, N. Scott M, Brian JL and William EK., “Development of positron emission tomography b-amyloid plaque imaging agents”, *Seminars in Nuclear Medicine*. <http://dx.doi.org/10.1053/j.semnuclmed.2012.07.01>.
7. Exploratory IND Application: Evaluation of [¹¹C]PBR28.
8. Vladimir Stepanov, Raisa Krasikova, Liina Raus, Olavi Loog, Jukka Hiltunen and Christer Halldina., “An efficient one-step radiosynthesis of [¹⁸F]FE-PE2I, a PET radioligand for imaging of dopamine transporters”, *J. Label Compd. Radiopharm*. 2012; 55 206-210.

(二十一) 結語

二十一世紀，生物醫藥研究的發展朝向預防醫學（prevention）與個人化醫療（personalized medicine）兩大方向邁進，期望鎖定特定疾病或特定個體。對藥物研究與開發更走入探索疾病之分子層次，例如「生理作用機轉」與「疾病診斷與療效評估」之探討，分子影像藥物恰是探究疾病機轉的前瞻研究利器，目前其應用範疇包括偵測癌症代謝、細胞增生、腫瘤缺氧、腦神經發炎、 β -amyloid plaque 與基因表現等研究。

近年來分子影像已成為生物醫學最熱門的研究主題之一，對於人類疾病之早期發現診斷及治療，乃至於治療效果評估，扮演極重要的角色。腦神經分子影像藥物的開發，職認為是現今我們必須正視與責無旁貸的責任。

三、心得

- (一) 雖然本次赴瑞典實習僅為期一個月，但可說是獲益良多，開闊腦神經研究領域的國際化視野與前瞻思維，也同時提升磨練外語溝通能力，更認識了許多腦神經研究領域的化學、生物、醫學等學者與專家，讓職能初探腦神經分子影像藥物開發之奧妙研究領域。
- (二) 「工欲善其事，必先利其器」，這是本次實習最大震撼之處。從16MeV加速器的多靶材系統以及dual beam實際應用、標幟合成系統的自動化與影像化到環境整體的控制，大幅降低研究人員對於輻射的疑慮，增加探索研究的深度與廣度。本次研習相當遺憾遺憾無法深入了解腦神經藥物藥物動力學數據之解析。
- (三) 本次也學習到瑞典研究機構Karolinska Institutet PET center整體管理架構與分工系統，冀望提供拙見以協助本所核醫藥物專業分工，以提升研究水準。

四、建議事項

- (一) 建立核醫藥物研發之專業分工制度。

分子影像藥物設計之專業領域涉及化合物合成技術（有機化學）、配位子或螯合劑之耦合技術（無機化學）、放射化學標幟技術、生物化學分析、*in vitro* 細胞試驗以及 *in vivo* 大小型動物之吸收、分佈代謝、排泄（ADME）等生物試驗，乃至於人體試驗，須集中各專業領域人才共同參與。目前本所研製之核醫藥物種類繁多，職認為整合專業人才與建立研發專業分工制度是首要任務。

(二) 建立自動化合成設備影像化系統。

改進本所自動化合成系統設計：該機構的合成系統屬於自動化系統，以電腦程式控制 valve 閥開關時間、溫度、氣體運送，並全程監測分離管柱內活度，現場工作人員可知放射性示蹤劑進入分離管柱之真正移動狀態，於適當時間開始收集高純度產品，目前本所目前對於核醫藥物的研製所採合成盒系統，未連接半製備型 HPLC 層析管柱。以製藥觀點來看，產製獲得高品質的核醫藥物是我們共同努力追求的目標，職認為儘速改進加裝分離系統，可降低不純物的存在。

(三) 與 *prof. Christer Halldin* 保持聯繫與建立極佳互動關係。

prof. Christer Halldin 研究領域主攻在各類腦神經之分子影像藥物開發，無論是興建新研究大樓、預定投入建立 cyclotrons、其他先進的研發設備甚至於各類專業人才的投入，可預見的未來是更多對人類聚效益且卓越的研究成果，本所目前開發多種核醫藥物，未來可朝向與 *prof. Christer Halldin* 建立良好合作關係來共同開發新藥。

五、附 錄

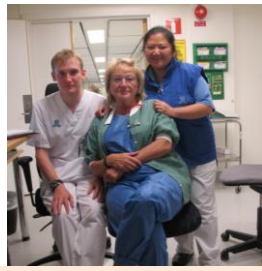
【註：本研習之 *prof. Christer Halldin* PET center 單位係與多家藥廠簽訂相關製藥合約與保密協定，職考量可能涉及智財/合約等法律條文，故無相關資料附錄於本報告。】

六、致謝

本次研習誠摯感謝 PET center 實驗室所有工作夥伴於日常生活幫忙與照顧以及專業討論，包括 (1) 與 *phD. NAKAO, Ryuji* 與 *NANA* 執行 metabolite analysis，(2) 與研究人員 *phD. NAG, Sangram*、*phD. NORD, Magdalena* 和 *phD. JIA, Zhisheng* 共同執行 C-11 放射性示蹤劑產製合成，(3) 與 *phD. JOHNSTRÖM, Peter* 執行放射性示蹤劑的品管分析，(4) 與 *phD. STEIGER, Carsten* 討論藥廠 QP 的角色，(5) 秘書 *ZAHIR, Karin* 對職聯繫及報到細節幫忙。

特別感謝 *prof. Christer Halldin* 本次研習的邀請、研習期間 *phD. JIA, Zhisheng* 關心與解惑以及 *phD. DAHL, Kenneth* 詳細的解說有關 C-11 與 F-18 放射性示蹤劑標識理論及照顧，讓職於研習期間收穫豐碩。

prof. Christer Halldin



phD. JOHNSTRÖ M, Peter



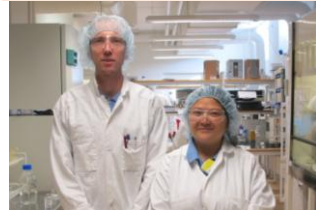
phD. NAKAO, Ryuji



NANA



phD. DAHL, Kenneth



phD. JIA, Zhisheng