

DEOXYFLUORGLUKOSA, MEZNÍK VE VÝVOJI POZITRONOVÉ EMISNÍ TOMOGRAFIE (HISTORIE JEDNOHO VÝZKUMU)

JOSEF PACÁK^a a MILOSLAV ČERNÝ^b

^aKatedra učitelství a didaktiky chemie a ^bKatedra organické chemie, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Karlova, Albertov 3, 128 42 Praha 2
e-mail: pacak@natur.cuni.cz, mila@natur.cuni.cz

Došlo dne 3.1.2002

Klíčová slova: deoxyfluoroglukosa, FDG, ¹⁸FDG, pozitronová emisní tomografie (PET)

Deoxyfluoroglukosa a její osud jsou ukázkou křivolakosti cest vědeckého bádání i důkazem, že základní výzkum může překvapivě přinášet cenné podněty i plody tam, kde se to původně vůbec nepředpokládalo, ba ani předpokládat nemohlo.

Historie 2-deoxy-2-fluor-D-glukosy, zkráceně označované jako deoxyfluoroglukosa (v medicíně se používá zkratka FDG), sahá do padesátých let minulého století, kdy na místo vedoucího katedry organické chemie Přírodovědecké fakulty Univerzity Karlovy nastoupil tehdejší prezident Československé akademie věd, profesor František Šorm. Ten na katedře ustavil tři pracovní týmy, z nichž jeden dostal za úkol studovat syntézy různě substituovaných monosacharidů. Jeho vedoucím byl Jaroslav Staněk a členy oba autoři tohoto příspěvku; později, koncem šedesátých let, k nim přibyl ještě Tomáš Trnka a Jitka Doležalová.

Při jednom ze zasedání katedry upozornil akademik Šorm na velký význam některých fluorovaných derivátů přírodních sloučenin v medicíně a navrhl naší pracovní skupině, aby zvažila téma zavádění fluorových atomů do molekul cukrů. Tento podnět nás zaujal a od té doby se stal jedním z hlavních pracovních témat naší skupiny.

Na počátku našeho výzkumu byly známy jen tři deoxyfluorderiváty sacharidů, a to 6-deoxy-6-fluor-D-glukosa (cit.¹), 6-deoxy-6-fluor-D-galaktosa (cit.²) a 5-deoxy-5-fluor-D-ribosa (cit.³), jejichž strukturální vzorce představuje schéma 1.

Naším cílem ale bylo připravit takový deoxyfluoromonosacharid, který by měl atom fluoru situován, na rozdíl od výše uvedených derivátů, na místě hydroxyskupiny sekundární. Rozhodli jsme se pokusit se o přípravu 2-deoxy-2-fluor-D-glukosy, od níž jsme si slibovali výraznou biologickou účinnost s ohledem na její strukturální podobnost s D-glukosou. Jevilo se totiž jako pravděpodobné, že fluorový atom, vázaný

k atomu uhlíku, se svým objemem, elektronegativitou i schopností vytvářet vodíkové vazby natolik podobá hydroxyskupině, že by se takto pozměněná molekula glukosy měla chovat téměř jako glukosa, a tu v živých systémech simulovat.

Záměna hydroxyskupiny glukosy fluorovým atomem na uhlíkovém atomu C-2 musí rušivě působit na průběh glykolýzy deoxyfluoroglukosy, při níž může dojít nanejvýš k její fosforylaci v poloze C-6 účinkem enzymu hexokinasy za tvorby deoxyfluoroglukosa-6-fosfátu. Z toho pramenil náš další předpoklad, že tento cukerný derivát by v důsledku své výrazné strukturální podobnosti s přírodní glukosou měl sice do buněk vstupovat, ale neměl by jim být zdrojem energie. A protože právě nádorové buňky mají, vzhledem ke svému rychlému růstu, velkou spotřebu glukosy, dalo se očekávat, že by deoxyfluoroglukosa mohla jevit kancerostatický účinek tím, že by tyto buňky zahlcovala, aniž by je vyživovala. Tak by měla brzdit, nebo dokonce zastavovat jejich růst.

Tato myšlenka autory článku inspirovala k tomu, že se rozhodli tuto sloučeninu syntetizovat, což se po zdolání nemalých úskalí podařilo v druhé polovině roku 1968. Vycházeli jsme přitom z 1,6-anhydro-β-D-glukopyranosy, získané pyrolýzou škrobu. Sedmistupňovou syntézou (schéma 2), jejímž klíčovým krokem bylo stereoselektivní štěpení epoxidového kruhu již dříve popsáné 1,6:2,3-dianhydro-4-O-benzyl-β-D-mannopyranosy³ hydrogenfluoridem draselným ve vroucím ethan-1,2-diolu, jsme ji získali ve formě bezbarvých, sladce chutnajících krystalů, jejichž strukturu jsme potvrdili pomocí ¹H NMR.

Předběžnou zprávu o této vůbec první syntéze 2-deoxy-2-fluor-D-glukosy jsme uveřejnili⁴ v roce 1969, podrobnější později⁵ v roce 1972.

Často se stává, že se ve světě vědy pracuje na témž problému současně na několika místech. A tak ze zcela stejných důvodů jako my, tedy pro předpokládané kancerostatické účinky, se pokoušela o syntézu téže látky i velká skupina pracovníků v londýnském Chester Beatty Research Institute (Institute of Cancer Research, Royal Cancer Hospital), vedená prof. A. B. Fosterem. Prováděli ji jinak než my, dokončili ji o několik měsíců později⁶, a k její identifikaci si vyžádali náš vzorek. Světového primátu v její přípravě, o nějž prokazatelně a z pochopitelných důvodů velmi usilovali, tedy ke svému velkému zklamání nedosáhli.

Zkoušky na kancerostatickou účinnost deoxyfluoroglukosy, provedené v Londýně, bohužel ukázaly, že nádorové buňky touto sloučeninou ničeny nejsou. Přesto naše představa o přednostním pronikání deoxyfluoroglukosy do nádorových buněk, závislých na rychlém přísunu glukosy, a o jejím hromadění

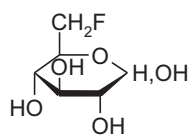
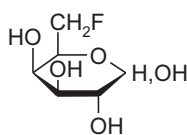
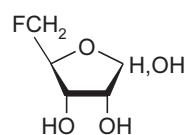


Schéma 1 6-deoxy-6-fluor-D-glukosa



6-deoxy-6-fluor-D-galaktosa



5-deoxy-5-fluor-D-ribosa

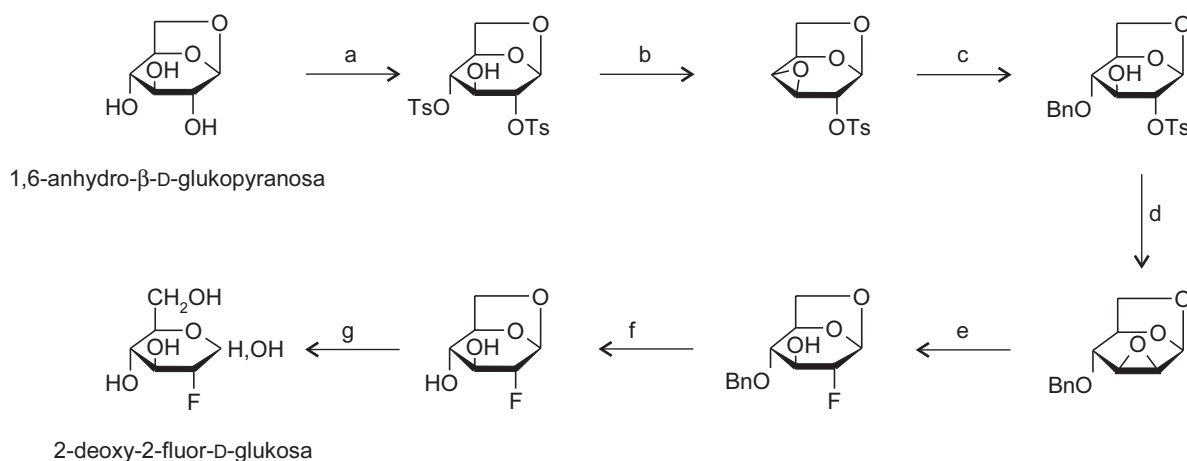


Schéma 2. Ts – tosyl, Bn – benzyl; a – TsCl/py, b – MeO⁻, c – BzOH/*p*-TsOH, d – MeO⁻, e – KHF₂/ED/200 °C, f – H₂/Pd/C, g – 1% *p*-TsOH/H₂O/165 °C

v nich byla potvrzena jako správná o necelých deset let později, kdy se stala chemickým základem metabolického zkoumání mozku a jedné z nejdokonalějších diagnostických metod nádorových onemocnění.

Došlo k tomu v polovině sedmdesátých let v USA, kdy skupina vědců v Brookhavenu (National Laboratories, Associate Universities, Upton, NY, U.S.A.) vyvinula⁷ pozitronovou emisní tomografii, zkráceně označovanou jako PET. Její princip, velmi zjednodušeně řečeno, spočívá v tom, že registruje přítomnost atomů izotopu, emitujícího pozitrony. Ty se při styku s elektrony ve svém těsném sousedství anihilují a výsledkem této anihilace je vznik γ -záření. Analýzou směru a intenzity jeho paprsků je možno za pomoci velmi složitých detekčních zařízení zjistit rozložení i koncentraci takového izotopu. Jeho atomy musejí být ovšem zabudovány do sloučeniny s vhodnými vlastnostmi. Takovou sloučeninu právě tvůrci PET hledali a narazili přitom na naši práci o deoxyfluoroglukose, která výrazně ovlivnila další vývoj této diagnostické metody. V roce 1976 nás překvapivě navštívil Dr. Drell (Behring Diagnostics, La Jolla, CA, U.S.A.) s žádostí o prodej 10 g deoxyfluoroglukosy, aniž by nám vysvětlil důvod svého zájmu o ni. Tím, že jsme jeho žádosti vyhověli, se deoxyfluoroglukosa stala dostupnou i výše zmíněné skupině badatelů, kteří si na ní mohli ověřit, že tato sloučenina má potřebné vlastnosti pro pozitronovou emisní tomografii, tedy že snadno proniká do buněk, hromadí se v nich, ale na rozdíl od glukosy se neštěpí (nepodléhá glykolýze), a neposkytuje jim tedy energii, a konečně, že je možné zavést do ní pozitrony emitující atom radioizotopu ¹⁸F s vhodným poločasem rozpadu (110 minut). To je vedlo k rozhodnutí syntetizovat deoxyfluoroglukosu neseoucí právě tento radioizotop. Syntézu takovéto sloučeniny, totiž 2-deoxy-2-[¹⁸F]fluor-D-glukosy, uskutečnil v roce 1978 Ido se svými spolupracovníky⁸. Je třeba říci, že při syntéze postupovali jinak než my: pro poměrně krátký poločas rozpadu vnašeli radioaktivní fluor do molekuly cukru až v její závěrečné fázi. V současnosti se výroba 2-deoxy-2-[¹⁸F]fluor-D-glukosy provádí i u nás, a to na dvou pracovištích, v Ústavu jaderné fyziky AV ČR v Řeži a v Ústavu jaderného výzkumu Řež a.s. Pracovní postup spočívá v nukleofilní substituci 1,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-2-*O*-trifluormethylsulfonyl- β -D-mannosy působením iontů ¹⁸F⁻ a následné hydrolyze⁹.

Vzhledem k mimořádné strukturální podobnosti glukosy a deoxyfluoroglukosy bylo prokázáno, že tam, kam vstupuje glukosa, činí tak i deoxyfluoroglukosa, jen s tím rozdílem, že se nemetabolizuje, a tedy se v buňkách pouze hromadí. Sledováním její koncentrace, zobrazené barevnými snímky fiktivních, vhodně zvolených řezů zkoumanými tkáněmi nebo orgány, lze tedy zpětně usuzovat na intenzitu spotřeby glukosy. Použitím značené deoxyfluoroglukosy v pozitronové emisní tomografii vznikla metoda, označovaná jako FDG-PET, využívající sledování distribuce glukosy v různých orgánech, jíž se převážně používá k odhalování nádorového bujení, zejména v jeho nejranějších stádiích, kdy jinými metodami není ještě zjištělné, a ke sledování úspěšnosti jeho léčení. Slouží také k mapování fyziologických i patologických dějů probíhajících v mozku (mozek je za normálních okolností vyživován výlučně glukosou, a proto ji intenzivně metabolizuje) a je např. cenným pomocníkem neurochirurgů při lokalizování chorobných ložisek v mozku (nádory, epilepsie). Uplatňuje se i při diagnóze Alzheimerovy choroby. Významná je rovněž pro hodnocení metabolických poměrů při infarktu myokardu.

S aplikací této metody na psy začali Gallagher a spol.¹⁰, do humánní medicíny ji uvedli Phelps a spol.¹¹, k prvním studiím různých mozkových funkcí posloužila Reivichovi a spol.¹² a Phelpsovi a spol.¹³, do onkologie ji zavedli Som a spol.¹⁴

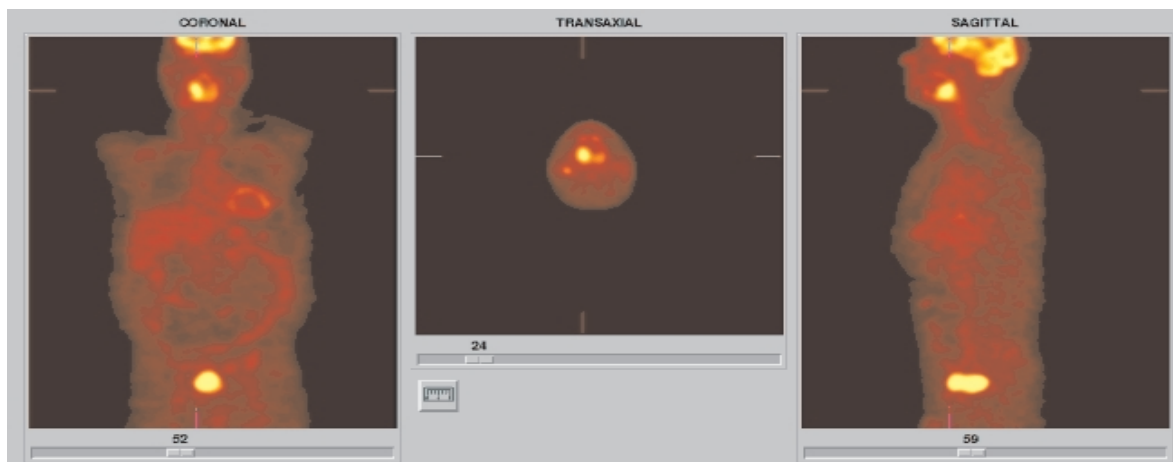
Badatelé, kteří se o vznik a využití pozitronové emisní tomografie v lékařství zasloužili zejména, američtí profesori Kuhl z univerzity v Michiganu a Phelps¹⁵ z kalifornské univerzity v Los Angeles, byli v roce 2001 oceněni za svůj objev jednou z nejprestižnějších cen světové medicíny, cenou Charlese F. Ketteringa. Naši syntézu deoxyfluoroglukosy zhodnotil prof. Kuhl takto: „Your 1969 paper was an extremely important contribution that has impacted both neuroscience and cancer diagnosis“.

Metoda FDG-PET se využívá v Praze v PET-Centru v Nemocnici Na Homolce, dobudovaném v roce 1999 a vedeném MUDr. O. Bělohávkem. Slouží jak k diagnostice, tak i k výzkumu onkologických onemocnění¹⁶. Počet vyšetřených pacientů přesáhl v roce 2001 již tři tisíce. Je třeba konstatovat, že zatímco ve vyspělých zemích připadá na milion obyvatel jedno PET-centrum, u nás je to zatím desetkrát méně. V Ja-

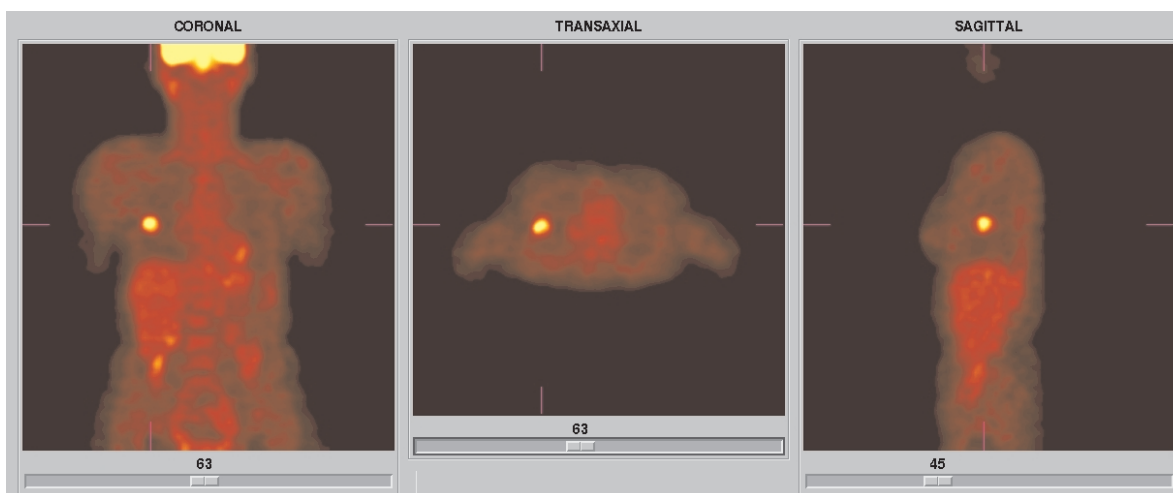
ponsku se metody FDG-PET užívá k preventivním prohlídkám obyvatel.

Závěrem můžeme konstatovat, že naše původní představa

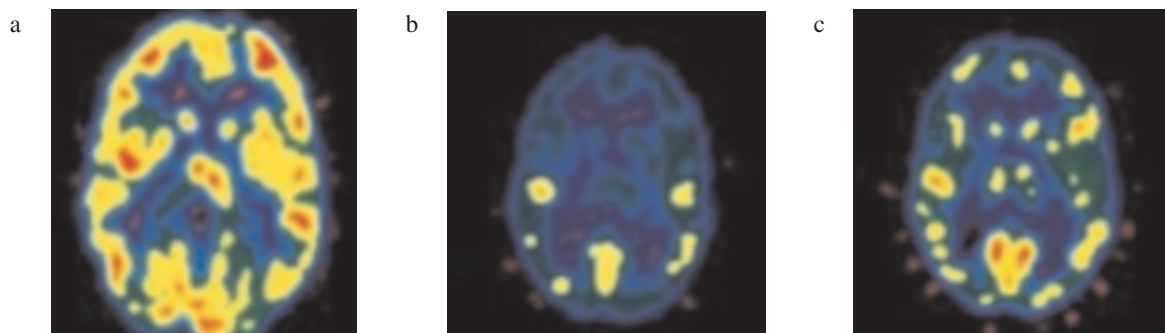
deoxyfluoroglukosy jako sloučeniny dokonale simulující glukosu a stejně jako ona rychle vstupující do buněk náročných na přísun glukosy, se ukázala jako správná, a výrazně ovlivnila



Obr. 1. Zobrazení zhoubného nádoru hltanu. Tři navzájem kolmé tomografické řezy, získané metodou FDG-PET. Vysoká koncentrace FDG v mozku je v souladu s intenzivní fyziologickou spotřebou glukosy, zobrazení močového měchýře odpovídá vylučování FDG močí. Maximální koncentrace FDG je vyjádřena žlutou barvou. Jiné zobrazovací metody nádor vůbec neodhalily.



Obr. 2. Zobrazení zhoubného nádoru v pravé plicí. Podrobnější popis obrázku je obdobou popisu uvedeného u obr. 1



Obr. 3. Změny intenzity metabolismu glukosy; tomografický řez mozku před aplikací kokainu (a), po 10 dnech (b) a po 100 dnech (c) po užití drogy. Intenzita metabolismu glukosy vyjádřená koncentrací FDG po podání drogy prudce klesá a ani po 100 dnech se plně neobnovuje. Nejintenzivnější metabolické pochody vyjadřuje červená, resp. žlutá barva

začátek vývoje převratné lékařské diagnostické metody FDG-PET tím, že se uplatnila jako její chemický princip.

Nelze vyloučit, že i neznačená, námi připravená deoxyfluoroglukosa, s ohledem na svou strukturní podobnost s glukosou a současně metabolickou odlišnost a možnost její detekce pomocí ^{19}F NMR (cit.^{17,18}), sehraje v budoucnu významnou úlohu také v jiných biochemických či lékařských disciplínách.

Obrázky 1–3 ukazují příklady praktické aplikace metody FDG-PET.

Za poskytnutí prvních dvou snímků autoři děkují MUDr. O. Bělohlávkovi z PET-Centra, Nemocnice Na Homolce, za třetí snímek prof. J. S. Fowlerové z Brookhaven National Laboratories, New York, U.S.A.

LITERATURA

- Helferich B., Gnüchtel A.: Ber. Dtsch. Chem. Ges. 74, 1035 (1941).
- Taylor N. F., Kent P. W.: J. Chem. Soc. 1958, 872.
- Trnka T., Černý M.: Collect. Czech. Chem. Commun. 36, 2216 (1971).
- Pacák J., Točík Z., Černý M.: Chem. Commun. 1969, 77.
- Pacák J., Podešva J., Točík Z., Černý M.: Collect. Czech. Chem. Commun. 37, 2589 (1972).
- Adamson J., Foster A. B.: Chem. Commun. 1969, 309.
- Phelps M. E., Hoffman E. J., Mullani N. A., Ter-Pogossian M. M.: J. Nucl. Med. 16, 210 (1975).
- Ido T., Wan C. N., Casella V. R., Fowler J. S., Wolf A. P., Reivich M., Kuhl D. E.: J. Labelled Compd. Radiopharm. 14, 175 (1978).
- Toorongian S. A., Mulholland G. K., Jewett D. M., Bachelor M. A., Kilbourn M. R.: Nucl. Med. Biol. 17, 273 (1990).
- Gallagher B. M., Ansari A., Atkins H., Casella V., Christman D. R., Fowler J. S., Ido T., MacGregor R., Som P., Wan C. N., Wolf A. P., Kuhl D. E., Reivich M.: J. Nucl. Med. 19, 1154 (1978).
- Phelps M. E., Hoffman E. J., Selin C., Huang S. C., Kuhl D. E.: J. Nucl. Med. 19, 1311 (1978).
- Reivich M., Kuhl D. E., Wolf A. P.: Circ. Res. 44, 127 (1979).
- Phelps M., Huang S.-C., Hoffman E., Selin C., Kuhl D.: Ann. Neurol. 6, 371 (1979).
- Som P., Atkins H. L., Bandyopadhyay D.: J. Nucl. Med. 21, 670 (1980).
- Phelps M. E.: Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 97, 9226 (2000).
- Bělohlávek O., Táborská K., Šimonová K., Janeba D.: Prakt. Lekar 80, 503 (2000).
- Nakada T., Kwee I., Griffey B. V., Griffey R. H.: Magn. Reson. Imaging 6, 633 (1988).
- Wiebe L. I.: J. Nucl. Med. 42, 1679 (2001).

J. Pacák^a and M. Černý^b (^a*Department of Teaching Chemistry and* ^b*Department of Organic Chemistry, Faculty of Sciences, Charles University, Prague*): **Deoxyfluoroglucose, a Milestone in the Development of Positron Emission Tomography (History of a Research)**

The history and individual steps of the first successful synthesis of 2-deoxy-2-fluoro-D-glucose are described. In many respects, this substance perfectly imitates the behavior of naturally occurring glucose: e.g., the rate of incorporation into the cells rapidly consuming glucose (such as the cerebral, cardiac or tumorous ones) is almost the same in both cases. Nevertheless, due to the presence of a fluoro atom at C-2, the fluorinated derivative does not undergo glycolysis and, therefore, accumulates (in the form of its 6-phosphate) in the cells. Thanks to these properties of the substance, eight years after the synthesis, its ^{18}F -labeled derivative has been successfully used in positron emission tomography (PET), as applied to the exploration of physiological and pathophysiological functions of the brain and, above all, in clinical oncology. Thus, early stages of tumor growth can be detected and malignity of the tumor can be revealed even in those cases, which are not detectable by other imaging methods.