

令和 2 年 6 月 19 日現在

機関番号：82502

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K10459

研究課題名(和文) 速度論的アプローチによるケイ素-アスタチン交換反応の評価と 線治療薬開発への応用

研究課題名(英文) Evaluation of silicon-astatine exchange reaction by kinetics approach and its applications to the development of alpha-emitting therapeutic agents

研究代表者

渡辺 茂樹 (Watanabe, Shigeki)

国立研究開発法人量子科学技術研究開発機構・高崎量子応用研究所 放射線生物応用研究部・主幹研究員(定常)

研究者番号：10450305

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：アスタチン-211(At-211)は 線治療薬を用いる内用療法(標的 線治療)での利用が期待される放射性同位元素の一つである。本研究では、これまで課題であった高い安全性と耐放射線性を有する新規標識法としてケイ素-アスタチン(Si-At)交換反応に着目し、速度論的アプローチを用いた本反応の定量的な評価、と、標的 線治療に利用可能なアスタチン化合物の合成を行い、反応性の有用性について検討した。その結果、本法を用いることで、がん治療薬としての利用が期待できるアスタチン化したアミノ酸(フェニルアラニン)およびベンジルグアニジン(MABG)が従来よりも効率よく合成できることが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

標的 線治療は、線を用いる従来の治療法よりも高い効果が期待されることから、これまで治療が難しかった疾患の治療が期待できる。本研究で検討したケイ素-アスタチン交換反応は、At-211標識化合物を簡便かつ高収率で合成できるため、今後、これまで合成が難しかった化合物の合成が可能になり、ひいては新たな標的 線治療薬の開発につながることを期待できる。

研究成果の概要(英文)：Astatine-211 is one of the promising radionuclides for the Targeted Alpha Therapy (Radionuclide therapy using alpha-emitting radionuclides). The aims of this study are to evaluate the usefulness of silicon-astatine (Si-At) exchange reaction (electrophilic desilylation) by kinetic approach and to synthesize astatinated compounds via the Si-At exchange reaction. We have successfully synthesized an astatinated amino acid (phenylalanine) and benzylguanidine (MABG) in a good yield which is better than those by the conventional astatinated method. Therefore, this study revealed that the Si-At exchange reaction is quite useful for the synthesis of astatinated compounds for the Targeted Alpha Therapy.

研究分野：放射化学、有機化学

キーワード：アスタチン-211 標的 線治療 ケイ素 ハロゲン交換反応 アミノ酸

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

放射性同位元素(RI)が放出する放射線を利用して、体内からがんを破壊する RI 内用療法では、近年、 β 線に比べて高い線エネルギー付与(LET)と短い飛程により大きな細胞障害活性を与えることができる α 線の利用を目指す研究が精力的に行われている。そして、世界初の α 線治療薬となる塩化ラジウム-223($^{223}\text{RaCl}_2$)が欧米で、2016年3月には本邦で骨転移した去勢抵抗性前立腺がんに対する治療薬として承認されている。このことから α 線治療薬を用いる内用療法 (α 線内用療法)は、次世代のがん治療法として今後大きく発展していくことが期待される。アスタチン-211(^{211}At)は、ハロゲンに属する α 線放出 RI であり、 ^{211}At を用いることで金属 RI では実現が難しい低分子化合物の薬剤化など新たな α 線治療薬開発への道が拓かれる。さらに、 ^{211}At はサイクロトロンを利用して比較的安価に製造できるなど、今後の α 線内用療法の発展に欠かせない RI である。 ^{211}At は、半減期 (7.2 時間) が短いことから、標識薬剤合成では短時間のうちに高収率で導入 (標識) できる反応が求められる。そして ^{211}At の標識反応には室温で短時間のうちに反応が進行するスズ-アスタチン (Sn-At) 交換反応が、これまで広く利用されてきた(1)。しかし、製造量のスケールアップを伴う今後の臨床研究において懸念される点も多い。具体的には、前駆体である有機スズ化合物 (化審法に定める第二種特定化学物質) の残留による長期毒性や、高線量 α 線による有機スズ化合物の放射線分解、および、その結果として起こる標識率の大幅な低下があげられる(2)。さらに、有機スズ化合物は酸で容易に分解してしまうため、その合成過程で酸性条件を極力回避する必要があり、この点が新規 ^{211}At 標識薬剤開発を停滞させてきた。代表者は、生体に対する安全性が高いケイ素を用いるケイ素-アスタチン (Si-At) 交換反応を用いることができれば、有機スズ化合物が有する前述の諸課題が解決すると考えた。これまで Si-At 交換反応を用いた ^{211}At 標識薬剤合成は 1 例のみ報告されているが、その反応性について体系的に明らかにされていない。

2. 研究の目的

そこで、本研究では、高い安全性と耐放射線性を有する標識前駆体を用いる新規標識法として有機ケイ素前駆体を用いるケイ素-アスタチン交換反応に着目し、有機反応化学で用いられる速度論的アプローチを用いて反応性を定量的に評価するとともに、反応性の有用性を明らかにする。

3. 研究の方法

ケイ素-アスタチン交換反応における活性種を検討することを目的として、はじめに同じくハロゲンであるヨウ素-131(^{131}I)との標識実験を行った。前駆体として N-tert-ブトキシカルボニル-4-トリエチルシリルフェニルアラニンメチルエステル (N-Boc-Phe(4-SiEt₃)-OMe)、および、4-トリエチルシリルフェニルアラニン(H-Phe(4-SiEt₃)-OH)を用い、酸化剤として異なる反応活性種が形成されていると考えられる N-クロロスクシンイミド(NCS)および次亜塩素酸 tert-ブチル(TBHC)存在下で検討を行った。

次に I-131 での結果を基に、がん治療用薬剤としての利用が期待できるフェニルアラニンおよびメタアスタトベンジルグアニジン(MABG)をケイ素-アスタチン交換反応を用いて合成し、本法の有用性について検討した。フェニルアラニン誘導体の合成は、分離した ^{211}At 、4-トリエチルシリル-L-フェニルアラニン (200 μg , 0.72 μmol)、NCS (400 μg , 3.0 μmol) を含むメタノール溶液をバイアルに添加した後、N₂ ガスを吹き付けることで溶媒を留去した。その後、トリフルオロ酢酸(TFA) 20 μL 添加し、70 $^{\circ}\text{C}$ で 10 分間反応させた。反応溶液を室温まで冷却した後、TFA を N₂ ガスで留去後 HPLC で分取・精製した。反応による放射化学的収率を算出し、評価した。また、従来法であるスズ-アスタチン交換反応による合成との比較についても検討した。さらに、褐色細胞腫などの神経内分泌腫瘍での治療薬として利用が期待される MABG での定常製造もケイ素-アスタチン交換反応により行ってきた。分離した ^{211}At 溶液、3-トリメチルシリルベンジルグアニジン TMSBG(1.0 mg, 4.52 μmol)、NCS (400 μg , 3.00 μmol) を含むメタノール溶液をバイアルに添加した後、N₂ ガスを吹き付けることで溶媒を留去した。その後、トリフルオロ酢酸(TFA) 20 μL 添加し、70 $^{\circ}\text{C}$ で 10 分間反応させた。反応溶液を室温まで冷却した後、TFA を N₂ ガスで留去した後、HPLC で分取・精製した。分取した溶液の放射エネルギーを測定し、その値から放射化学的収率を算出、評価した。

4. 研究成果

はじめに、酸化剤として異なる反応活性種が形成されていると考えられる N-クロロスクシンイミド(NCS)および次亜塩素酸 tert-ブチル(TBHC)存在下、N-Boc-Phe(4-SiEt₃)-OMe を前駆体とするケイ素 ヨウ素交換反応での ¹³¹I 標識について検討を行った。その結果、TBHC を前駆体として反応を行った場合、反応が全く進行しない結果となった。また、NCS 存在下、酢酸中、室温あるいは 70 °C で反応を行った場合でも、同じく反応がほとんど進行しなかった。一方で H-Phe(4-SiEt₃)-OH を出発原料として、トリフルオロ酢酸 (TFA) 存在下、70 °C で反応を行った結果、4-[¹³¹I]ヨード-L-フェニルアラニン (H-[¹³¹I]Phe(4-I)-OH) が生成することが明らかとなった。以上の結果からヨウ素の反応では NCS との間で形成される Cl-I 中間体が反応に関与することが示唆される結果が得られた。

¹³¹I を用いた実験結果を基に、²¹¹At を用いたケイ素 アスタチン交換反応による検討を行った。²¹¹At の製造は QST 高崎研の AVF サイクロトロンを用いて加速した ⁴He²⁺ ビームを 10 × 10 mm の Bi ターゲット (0.245 g) に照射することで生成させた後、乾式分離法を用いて分離した(3)。²¹¹At の標識反応としての有用性を示すため、がん細胞に多く取り込まれるアミノ酸誘導体であるフェニルアラニンへの標識について検討した。NCS 存在下、H-Phe(4-SiEt₃)-OH から 4-[²¹¹At]アスタト-L-フェニルアラニン (H-[²¹¹At]Phe(p-At)-OH) への標識反応を行った。その結果、TFA 除去後の反応溶液について HPLC を用いて分析した結果、保持時間 17 分にピークが得られた。アスタチンは安定同位体を持たないため、非放射性化合物の標準サンプルを用いて直接同定することができない。そこで、非放射性ヨウ素化フェニルアラニンについても同様に同定を行った結果、ほぼ同一の保持時間であった(図 1)。さらに当該ピークを回収し、大腸がん細胞 LS-180 への取込み実験を行った結果、²¹¹At の特異的な取込みと阻害剤存在下での取込みの阻害が見られたことから、アミノ酸誘導体であることが確認された。以上の結果から、HPLC で得られたピークは H-[²¹¹At]Phe(p-At)-OH であることが確認された。そして、放射量を測定した結果、放射化学的収率 (64–75%) で目的物が得られることが明らかとなった。本法の有用性を明らかにするために、従来法であるスズ アスタチン交換反応を経由した H-[²¹¹At]Phe(p-At)-OH 合成も行った。その結果、有機スズ化合物は酸または熱に弱いことから有機スズ基導入後にアミノ基の脱保護が困難であった。そこで、出発物質として N-tert-ブトキシカルボニル-(4-トリブチルスタニル)シリルフェニルアラニンメチルエステル (N-Boc-Phe(4-SnBu₃)-OMe) を用いた。その結果、収率は 10–17% であった。また、合成に係る時間も 3 時間であった。以上の結果から、ケイ素 アスタチン交換反応が有用であることが示された(4)。

同様にケイ素 アスタチン交換反応を用いた MABG の合成についても実施した。フェニルアラニン誘導体と同じく、NCS 存在下、TMSBG を前駆体として標識反応を行った結果、保持時間 14.9 分にピークが得られた。本法においても同じく、非放射性 MIBG の保持時間および褐色細胞腫細胞 PC-12 への特異的な取込みから化合物を同定した。これまでの平均放射化学的収率 57.4±14.2% で目的物が得られることが明らかとなった。

本研究を通して速度論的アプローチにより定量的な反応速度の評価を行うことはできなかったが、線標識薬剤合成におけるケイ素 アスタチン交換反応の有用性を示すことはできた。また定量的な反応の有用性を明らかにしていくことは標識化学の研究を更に進めていく上で重要であることから今後も研究を進めていく予定である。

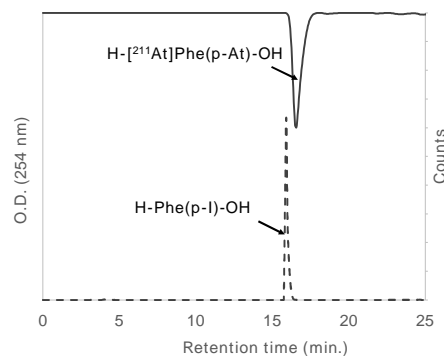


図 1. H-Phe(4-SiEt₃)-OH と ²¹¹At の反応溶液 (—) および非放射性 H-Phe(p-I)-OH (---) の HPLC チャート

引用文献

1. Guerard F, Gestin JF, Brechbiel MW. Cancer Biother Radiopharm. 2013;28(1):1-20.
2. Pozzi OR, Zalutsky MR. J Nucl Med. 2005;46(8):1393-400.
3. Ohshima Y, Sudo H, Watanabe S, Nagatsu K, Tsuji AB, Sakashita T, et al. Eur J Nucl Med Mol Imaging. 2018;45(6):999-1010.
4. Watanabe S, Azim MA, Nishinaka I, Sasaki I, Ohshima Y, Yamada K, et al. Org Biomol Chem. 2018;17(1):165-71.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Watanabe Shigeki, Azim Mohammad Anwar-UI, Nishinaka Ichiro, Sasaki Ichiro, Ohshima Yasuhiro, Yamada Keiichi, Ishioka Noriko S.	4. 巻 -
2. 論文標題 A Convenient Synthesis of Astatinated Phenylalanine Derivatives via the Electrophilic Desilylation	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 QST Takasaki Annual Report 2018	6. 最初と最後の頁 93 ~ 93
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Watanabe Shigeki, Azim Mohammad Anwar-UI, Nishinaka Ichiro, Sasaki Ichiro, Ohshima Yasuhiro, Yamada Keiichi, Ishioka Noriko S.	4. 巻 17
2. 論文標題 A convenient and reproducible method for the synthesis of astatinated 4-[²¹¹ At]astato-l-phenylalanine via electrophilic desilylation	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Organic & Biomolecular Chemistry	6. 最初と最後の頁 165 ~ 171
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1039/c8ob02394h	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計10件（うち招待講演 1件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 渡辺茂樹
2. 発表標題 核医学治療薬開発のためのアルファ線核種の分離・標識法の研究
3. 学会等名 PETサマーセミナー2019 in 福島（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 渡辺茂樹、Azim Mohammad Anwar-UI、西中一郎、佐々木一郎、大島康宏、山田圭一、石岡典子
2. 発表標題 ケイ素 アスタチン交換反応による ²¹¹ At標識アミノ酸誘導体の簡便合成
3. 学会等名 QST高崎サイエンスフェスタ
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 渡辺 茂樹, 山田 圭一, 佐々木 一郎, 石岡 典子
2. 発表標題 ケイ素 ハロゲン交換反応を用いた放射性臭素標識化合物合成に関する基礎的検討
3. 学会等名 第2回日本核医学会分科会放射薬品科学研究会/第18回放射性医薬品・画像診断薬研究会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 渡辺 茂樹, Azim Mohammad Anwar-Ul, 西中 一郎, 佐々木 一郎, 大島 康宏, 山田 圭一, 石岡 典子
2. 発表標題 ケイ素 アスタチン交換反応を用いたアスタチン標識アミノ酸誘導体の合成
3. 学会等名 2018日本放射化学会年会・第62回放射化学討論会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 渡辺 茂樹, Azim Mohammad Anwar-Ul, 西中 一郎, 佐々木 一郎, 大島 康宏, 山田 圭一, 石岡 典子
2. 発表標題 Synthesis of astatinated amino acid derivatives via an organosilyl precursor
3. 学会等名 第58回日本核医学会学術総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Shigeki Watanabe, Mohammad Anwar-Ul Azim, Ichiro Nishinaka, Ichiro Sasaki, Yasuhiro Oshima, Keiichi Yamada, Noriko Ishioka
2. 発表標題 Synthesis of 4-[211At]astato-L-phenylalanine via electrophilic demetallation from a silyl precursor
3. 学会等名 11th International Symposium on Targeted-Alpha-Therapy (TAT11) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 山田圭一・渡辺茂樹・佐々木一郎・花岡宏史・石岡典子
2. 発表標題 ケイ素 ハロゲン交換を利用した放射性臭素標識ペプチドの合成研究
3. 学会等名 第17回放射性医薬品・画像診断薬研究会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 渡辺 茂樹 , 佐々木 一郎 , 山田 圭一 , 石岡 典子
2. 発表標題 有機ケイ素前駆体を用いた放射性臭素標識アミノ酸誘導体の合成
3. 学会等名 第57回日本核医学会学術総会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 山田 圭一 , 渡辺 茂樹 , 佐々木 一郎 , 花岡 宏史 , 石岡 典子
2. 発表標題 Synthesis and Characterization of Radiobromine-labeled Bioactive Peptides for Molecular Imaging
3. 学会等名 第54回ペプチド討論会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 渡辺 茂樹, Azim Mohammad Anwar-Ul, 西中 一朗, 佐々木 一郎, 大島 康宏, 山田 圭一, 石岡 典子
2. 発表標題 ケイ素 アスタチン交換反応によるAt-211標識アミノ酸誘導体の簡便合成
3. 学会等名 QST高崎サイエンスフェスタ
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担者	山田 圭一 (Yamada Keiichi) (70323334)	群馬大学・大学院理工学府・准教授 (12301)	
研究 分担者	羽場 宏光 (Hiromitu Haba) (60360624)	国立研究開発法人理化学研究所・仁科加速器科学研究センター・チームリーダー (82401)	
研究 協力者	佐々木 一郎 (Sasaki Ichiro)		