

平成23年5月31日現在

機関番号： 82401
 研究種目： 若手研究(B)
 研究期間： 2007～2010
 課題番号： 19790028
 研究課題名（和文） オキサゾリン基を活用したフッ素18標識GABA、アミノ酸、および
 乳酸の合成
 研究課題名（英文） Synthesis of ^{18}F -labeled GABA, amino acids, and lactic acids by using
 oxazoline precursors
 研究代表者
 土居 久志 (DOI HISASHI)
 独立行政法人理化学研究所・分子イメージング標識化学研究チーム・チームリーダー
 研究者番号： 00421818

研究成果の概要（和文）：

本研究では、GABA、アミノ酸、および乳酸の ^{18}F -標識 PET トレーサーの実現を目指して、その前駆体となるオキサゾリン化合物の合成を行い、本前駆体を用いた目的の ^{18}F -標識体の合成を鋭意検討した。しかしながら、PET 化学特有の超希薄濃度（ μM レベル）における無水反応は予想以上に困難に直面し、さらに放射線分解により化合物が壊れてしまう問題も発生した。そこで、思考をこらして、Pd 触媒を用いた $\text{C}-[^{18}\text{F}]$ フルオロメチル化反応の開発を並行して行い、この反応を応用して上記の乳酸をはじめとした目的化合物の ^{18}F -標識化の検討を行った。

研究成果の概要（英文）：

In order to realize synthesis of ^{18}F -labeled GABA, amino acid, and lactic acid, we have investigated ^{18}F -labeling reaction using oxazoline precursors under PET radiolabeling conditions. However, we encountered difficulties to conduct the ^{18}F -labeling under anhydrous conditions by remote-controlling radiolabeling system, and unfortunately, oxazoline precursors underwent radiolysis under the conditions, giving many side products due to decomposition. In the circumstances, we have tried to develop Pd⁰-mediated rapid $\text{C}-[^{18}\text{F}]$ fluoromethylation in parallel and have explored other ^{18}F -labeling methods for the target compounds.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,200,000	0	1,200,000
2008年度	600,000	180,000	780,000
2009年度	600,000	180,000	780,000
2010年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
総計	3,200,000	600,000	3,800,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：薬学・化学系薬学

キーワード：合成化学、生体分子、生理活性、脳神経、放射線

1. 研究開始当初の背景

陽電子放射断層画像撮影(PET)は、化学・物理学・工学・生物学・薬学・医学が融合した学際研究であり、機能性化合物の創製ならびに標識化学反応の開発に始まり、続くラット・サルを用いた分子動態イメージング研究を経て、最終的にはヒト臨床研究に至る一貫通貫型研究である。合成化学者の立場からすると、本研究の源流は、生物活性化合物の開発と陽電子放出核種での標識化であり、優れたPETトレーサーの創製がPETによる一貫通貫型分子イメージング研究の成否の鍵となる。PETで用いる陽電子放出核種としては、代表的なものに、 ^{11}C (半減期、20.4分) ^{13}N (半減期、9.96分)、 ^{15}O (半減期、2.07分)、 ^{18}F (半減期、109.7分)、 ^{76}Br (半減期、16時間)がある。これらの陽電子放出核種は主に生体構成元素の放射性同位体である。したがって、これらの陽電子放出核種を薬剤や生命機能の探索分子に効果的に導入する事ができれば、PET法により生体の *in vivo* 分子情報の抽出が可能となる(図1参照)。現在PETは、がん診断をはじめとした人間ドックや創薬研究における基盤技術としての活用が始まっている。

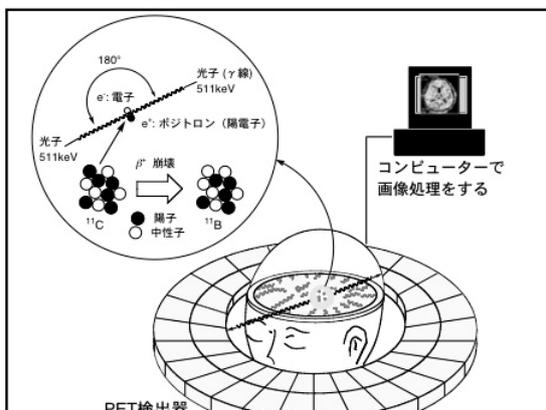


図1. PETによる脳内分子のイメージングの原理

PETは、生体外から生体内の分子動態を高精度かつ非侵襲的に画像化できる唯一の方法である。PETの原理は、陽電子を放出する短寿命核種で標識された放射性化合物(PET分子プローブ)を生体内に投与し、PETカメラ(γ線検出器)によりこの標識化合物から放出されるγ線を計測して、その体内分布をコンピューターにより画像化するものである。放射線被曝は多くても自然界から受ける年間放射線量と同程度。微量投与の場合は日本一米国フライト往復程度とも言われている。

この短寿命PETトレーサーの合成には通常とは異なった化学反応が必要となる。例えば、使用する陽電子放出核種が超微量(比放射能を考慮すると通常はナノモル量)なので、大過剰の被標識基質で捕捉するように反応系が設定される。さらに、極限希薄条件下で行われるPET化学反応では、微量の不純物や副生成物が目的反応の進行を妨げたり、再現性に悪影響をもたらすことがある。また半減期が短いために、標識反応に与えられた時間はわずか数分から十分程度である。すなわち

PET化学では、超低濃度条件に合致し、かつ短時間で終了する化学反応の開発が必要である。このようにPET研究分野ではPETトレーサーの合成が研究推進の要となっており、生物活性有機化合物や創薬候補化合物をいかにしてPETトレーサー化できるかということが最重要課題となっている。そこで、著者は、本研究において、GABA、アミノ酸、および乳酸の ^{18}F -標識PETトレーサー化を実現したいと考えた。なぜなら、GABAやアミノ酸は脳内神経伝達物質として近年再び注目を浴びており、また、乳酸は脳内においてはエネルギー代謝に関与していることが報告されている。しかしながら、これらの化合物の脳機能発現機構の解析は、脳ホモジネートや脳断片を用いた *in vitro* 系の研究が主であるため、*in vivo* すなわち固体レベルでの研究に大きな期待が寄せられている。すなわち、*in vivo* における脳の高次機能発現や神経活動の分子の実態に迫るにはPET法が最良の手段であると考え、これらの化合物のPETトレーサー化を目的に研究立案を行なうこととした。

2. 研究の目的

例えばアミノ酸のPETトレーサー化に関しては、これまでに、酵素を用いた $[^{11}\text{C}]$ ドーパ、 $[^{11}\text{C}]$ チロシン、および $[^{11}\text{C}]$ トリプトファンなどの合成が報告されている。一方で、その他のα-アミノ酸そのもののPETトレーサー化の実例は少ない。α-アミノ酸は生体内の代表的な生理活性物質であり、これらのPETトレーサー化を可能とする方法論の開発は焦眉の課題である。

著者は ^{18}F 核種に着目し、GABA、アミノ酸、および乳酸の共通骨格であるカルボン酸のα位に ^{18}F 核を導入することを目的として、カルボン酸の合成素子(シントン)であるオキサゾリン官能基を活用した一般的 ^{18}F 標識法の開発を企画した。具体的には、図2に示したオキサゾリン基あるいはオキサゾリジン基を有する化合物を設計し、これらを共通前駆体として ^{18}F -標識化することを考えた。

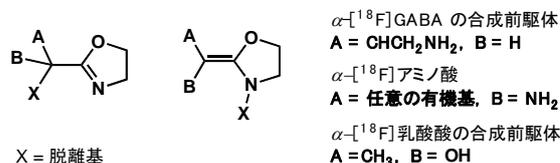


図2. GABA、アミノ酸、乳酸の ^{18}F -標識体を合成するための共通前駆体

なお、PET研究においては、 ^{18}F の半減期は110分と比較的長いため、化合物の体内動態や体内分布を探る点において最もふさわしい核種と考えられている。また、フッ素原子は水素原子とほぼ同じ大きさであり、水素をフッ素置換しても分子の大きさはほとんど変化しない。一方で、フッ素置換した部分の結合が安定になり、化合物が分解や代謝を受けにくくなる効果もある。このことを標識化合物に応用すると、生理機能的に不利になる場合もあるが、置換位置をうまく工夫した場合に

は、より優れた機能を示す可能性がある。この代表例が、糖消費量測定薬剤として重要な ^{18}F FDG (がんの診断トレーサー) である。すなわち、著者の目的化合物に関しても、同様の効果を期待して ^{18}F 核種の導入を計画した。

3. 研究の方法

ここでは α - ^{18}F フルオロアミノ酸の合成法を例に研究方法を述べる。本合成を実現するために、図 3 に示したフッ素化反応 (A) および (B) を計画した。放射性条件下の PET 化学反応は、標識用合成装置 (合成ロボット) を遠隔操作で動かして行うので、複雑な合成化学操作は難しい。つまり現在の PET 研究環境を鑑みたとき、 K^{18}F (^{18}F フッ化カリウム) と Kryptofix2.2.2 から発生させた ^{18}F フッ素アニオンによる求核置換反応を利用することが現実的かつ実用的であり、すなわち、シンプルな $\text{S}_{\text{N}}2$ 型の ^{18}F フッ素化反応を開発する事が適切であると考えた。

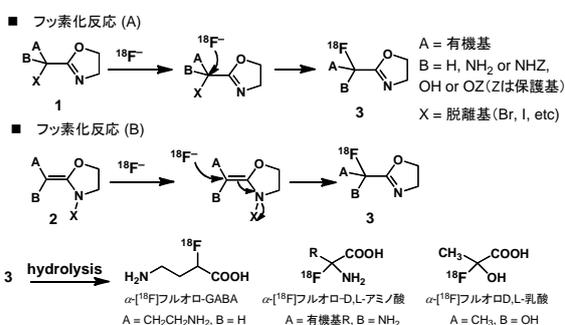


図3. GABA、アミノ酸、乳酸の α 位の ^{18}F -標識化に向けた一般的合成法の開発

本反応を行うためにはフッ素化を受ける側の被標識基質 (前駆体) の分子設計が要となると考え、オキサゾリン前駆体 1 およびオキサゾリン前駆体 2 の設計を考えた。例えば、前駆体 1 に対する ^{18}F フッ素アニオンの $\text{S}_{\text{N}}2$ 反応によりオキサゾリン中間体 3 が生成であろう。続いて、3 を酸性条件下でオキサゾリン基を加水分解することにより目的の ^{18}F -標識 α -アミノ酸が生成するものと考えた。一方、前駆体 2 を用いた場合は ^{18}F フッ素アニオンによる 1,3-脱離反応が起こり、同じ中間体 3 を経て目的の ^{18}F -標識 α -アミノ酸が合成できるものと考えた。本反応では、図 3 に示した様に B が NH_2 であり、有機基 A がメチル基、2-プロピル基、イソブチル基、ベンジル基の場合、それぞれ、 ^{18}F アラニン、 ^{18}F バリン、 ^{18}F ロイシン、 ^{18}F フェニルアラニンの合成が可能となる。つまり、本オキサゾリン前駆体を用いるとあらゆる有機基を導入することができるので、原理的には全ての α -アミノ酸の ^{18}F -標識体の合成が可能になると考えた。なお、B が H あるいは OH であり、有機基 A がアミノエチル基あるいはメチル基の場合は、生成物はそれぞれ ^{18}F GABA あるいは ^{18}F 乳酸となる。

4. 研究成果

まず、アラニン等のアミノ酸の PET トレーサー化を実現するために、前述のオキサゾリン前駆体の合成を行ってきた。続いて、PET 放射性条件下において本前駆体を用いた ^{18}F -標識アラニンの合成を検討してきた。しかしながら、通常の有機合成化学で行われる無水条件下での反応が、PET 放射性核種を用いた超希薄濃度 (μM レベル) における無水反応の実施は当初の予想以上に困難に直面した。すなわち、本反応は厳密な無水条件下で行わなければならないのであるが、これを PET 放射性条件下で行うには様々な問題点が浮上した。そこで、化学反応の検討に加えて標識用合成装置の機器改良による解決策も探ってきた。例えば、本研究では放射線被曝を避けるために、PET トレーサーの合成は遠隔操作で標識用合成装置を駆使して化学合成を行うのであるが、しかしながら、この PET 化学条件下においては、どうしても本合成装置内を厳密な無水状態にすることは難しかった。加えて、オキサゾリン化合物は、本条件下においては反応溶液中で徐々に分解してしまった。これには、無水反応の難しさのみならず PET 化学特有の放射線分解による可能性も考えられた。数多くの標識実験の結果から、当初設定した反応条件下においては、オキサゾリン前駆体は放射線分解を受け易いことがわかった。結果として、目的の ^{18}F -標識体は得られず、むしろ放射線分解による多数の分解物のみが得られた。そこで、この放射線分解を防ぐために、さらに希薄な濃度での反応を試みることにした。しかしながら、本反応のように $\text{S}_{\text{N}}2$ 型の ^{18}F フッ素化反応は原理的には濃度依存であるため、さらなる希薄濃度下では反応は進行しなかった。なお、 ^{18}F フッ素アニオンの濃縮法などの改良・機器調整 (放射化学実験の安全な実施のため) も行ってみたが、残念ながら、本方針では目的の ^{18}F -標識化体を得ることはできなかった。

そこで、思考をこらして、本件と並行して、無水条件を必要とせず、かつ経験的に放射線分解を抑えることが知られているアミド系極性溶媒の使用を念頭に、 ^{18}F ハロゲン化フルオロメタンを用いた Pd 触媒による α - ^{18}F フルオロメチル化反応の開発を行ってみた。本反応開発の方は順調に進み、新たに開発した Pd 触媒の使用下に 15 分の反応時間で目的の α - ^{18}F フルオロメチル化体を高収率で得ることができた (特許出願と学会発表を行った。現在、学術論文作成中)。そこで、当初の研究方針を一部変更し、最終年度 (2010 年度) の下半期から、この Pd 触媒による α - ^{18}F フルオロメチル化反応を応用して、上記の乳酸をはじめとした目的化合物の ^{18}F -標識化の検討を行ってきた。現在、この研究方針は順調に進んでいると言える。結果として、本研究期間内 (2010 年度まで) に研究をまとめることはできなかったが、研究の原点に立ち返った反応化学的考察により、新しい標識反応を開発することに繋がった。残念ながら、当初の研究計画を成功させることはできなかった。

が、今後のPET化学研究の推進に重要な化学的知見を得た意義は大変大きいと考えている。

5. 主な発表論文等

本研究を推進するにあたり、研究設備および研究進捗の事情から研究方針の一部を変更することとなったが、その関連研究が順調に進んだ。そのため、下記の項目にはそれらの研究成果を含めて記述した。

[雑誌論文] (計1件)

① Hisashi Doi, Ikuya Ban, Akihito Nonoyama, Kengo Sumi, Chunxiang Kuang, Takamitsu Hosoya, Hideo Tsukada, Masaaki Suzuki, “Palladium(0)-Mediated Rapid Methylation and Fluoromethylation on Carbon Frameworks by Reacting Methyl and Fluoromethyl Iodide with Aryl and Alkenyl Boronic Acid Esters Useful for the Synthesis of ^{14}C - and ^{18}F -Containing PET Tracers”, *Chem. Eur. J.*, **15**, 4165-4171 (2009). 査読有り

[学会発表] (計6件)

① H. Doi, M. Goto, M. Suzuki, “Pd⁰-mediated rapid C- ^{18}F fluoromethylation: Coupling reaction of an organoboron compound with a ^{18}F fluoromethyl halide”, 2010 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies (PACIFICHEM 2010), December 15, Hawaii, USA (2010).

② H. Doi, M. Goto, M. Suzuki, “Pd⁰-mediated rapid C- ^{18}F fluoromethylation by the reaction of a ^{18}F fluoromethyl halide and an organoboron compound”, 15th European Symposium On Radiopharmacy And Radiopharmaceuticals, Edinburgh, Scotland (UK), April 8-11, 2010, Abstract, *Q. J. Nucl. Med. Mol. Imaging*, April 2010, 54, Suppl. 1 to No. 2, pp 18-19.

③ 後藤美樹、土居久志、鈴木正昭、「 ^{18}F -FCH₂基含有PETトレーサーの新規合成法の開発; New Methodology of the Synthesis of ^{18}F -FCH₂-Incorporated PET Tracers」、日本ケミカルバイオロジー学会 第5回年会、慶応義塾大学、横浜、5月18-19日 (2010)。

④ 土居久志、「理研におけるPET標識化学の展開: ^{14}C および ^{18}F -標識法の現状と将来展望」、分子イメージング研究シンポジウム2010 - 未来を拓く創薬・疾患診断研究-, Molecular Imaging 2010, The Future with Drug Discovery and PET Diagnosis、1月21-22日 (2010)、日経ビル3階日経ホール、東京。

⑤ 土居久志、「PETを活用した分子イメージ

ング創薬化学の展開; Molecular imaging medicinal chemistry by PET in RIKEN CMIS」、第7回糖鎖科学コンソーシアムシンポジウム-糖鎖研究と他領域との統合、12月7-8日 (2009)、千里ライフサイエンスセンター、大阪。

⑥ 土居久志、橋爪良信、畑中恵子、高島好聖、後藤美樹、長田浩子、斯琴、倉橋正浩、鈴木正昭、「PETプローブの一般的合成法の開発とPETケミカルバイオロジーへの展開; Development of General Synthetic Methodologies of PET Probes and Its Applications to PET Chemical Biology」、日本ケミカルバイオロジー学会 第4回年会、5月18-19日 (2009)、神戸市産業振興センター、神戸。

[図書] (計3件)

① 土居久志，“短寿命PET分子プローブ合成のための高速化学反応の開発”，科学と工業 (大阪工研協会誌)，**85**(4)，154-161 (2011)。

② 土居久志，遺伝子医学MOOK18号 創薬研究への分子イメージング応用，“第1章3. PET分子プローブの合成法”，メディカルドゥ，pp. 47-53. 初版発行：2010年12月25日。

③ 土居久志，臨床医とコメディカルのための最新クリニカルPET，“第15章2. PET分子プローブの開発研究とその進歩”，先端医療技術研究所，pp. 251-257. 初版発行：2010年11月30日。

[産業財産権]

○出願状況 (計1件)

名称：高速フルオロメチル化法及びそれを利用したPETトレーサーの製造方法

発明者：鈴木正昭、土居久志、後藤美樹

権利者：(独)理化学研究所

種類：PCT出願

番号：PCT/JP2010-71632

出願年月日：2010年12月3日

国内外の別：国外

[その他]

ホームページ等

理化学研究所分子イメージング科学研究センター

<http://www.cmis.riken.jp/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

土居 久志 (DOI HISASHI)

独立行政法人理化学研究所・分子イメージング標識化学研究チーム・チームリーダー
00421818

(2) 研究分担者：なし

(3) 連携研究者：なし