

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年 3月31日現在

機関番号：82401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2010～2012

課題番号：22790121

研究課題名（和文） PETプローブの安全性向上を指向した高速メチル化法の開発

研究課題名（英文） Development of rapid methylation reaction using polymer supported palladium complex

研究代表者

伊集院 良祐 (IJUIN RYOSUKE)

独立行政法人理化学研究所・分子イメージング創薬化学研究チーム・研究員

研究者番号：40442925

研究成果の概要（和文）：

PETは最終的にヒトに投与を行う薬剤を製造することが目的であり、その安全性を担保することは重要な課題である。現在、研究が行われている炭素-炭素結合生成反応を用いた合成法は代謝安定型のプローブを合成できるが反応に際して有機金属錯体を用いている。金属化合物の最終製剤への混入を防ぐために、本研究課題では、固相担持型パラジウム触媒を利用したPETプローブ合成を計画し、その基礎化学反応の検討を行った。

研究成果の概要（英文）：

It is important issue to ensure the safety of PET probes because which is finally give to human clinical study. Carbon-carbon bonding formation is widely used to synthesize PET probes because C-C bond is stable than C-N, C-O or C-S bond in vivo system. Though, in many cases, an organometallic complex is required to form the C-C bond. In order to prevent contamination of the metal complex to the final product for clinical use, solid phase reaction using solid supported palladium complex have examined.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2011年度	900,000	270,000	1,170,000
2012年度	500,000	150,000	650,000
年度			
年度			
総計	3,100,000	930,000	4,030,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：薬学・創薬化学

キーワード：PET, 高速化学反応, クロスカップリング, 陽電子画像診断法, 固相反応

## 1. 研究開始当初の背景

PET(Positron Emission Tomography; 陽電子が贈診断法)は近年様々な進化を遂げており、生きたままの生体の機能を可視化する有

効な手法である。しかしながら、そのためのPETプローブの開発は進んでいるとはいえない。初期のPETプローブはヘテロ原子に体する標識化(メチル化)が主であったが、最近では代謝安定性にまさる炭素-炭素結合

を用いたプローブが増えて来ている。しかしながら、炭素—炭素結合を形成するためには有機金属化合物を用いたクロスカップリング反応を利用する必要があり、生体に投与する最終製剤への金属化合物の混入の不安が残されていた。

## 2. 研究の目的

近年、急速に発達しつつある PET 化学において、そのプローブ合成は重要な位置を占めている。しかしながら、多くの場合、N-メチル化、O-メチル化に代表されるヘテロ原子への標識法が用いられている。この方法は簡便に放射性同位体を化合物に導入することが可能であるが、同時に生体内における代謝により速やかに脱離することが知られている。そこで、所属研究室では代謝安定型である炭素-炭素結合を用いた PET プローブ合成を行って来た。しかしながら、標識反応に際して金属化合物を用いるために、生体に投与する最終製剤への金属化合物の残留という問題がある。そこで、本研究提案では有機金属化合物を固相に担持した錯体を用いることで化学的アプローチから最終製剤への安全性を担保することを目的とした。

## 3. 研究の方法

本課題においては固相担持金属錯体を用いたクロスカップリング反応を用いる計画を立てた。この反応はメリットとして反応後の金属錯体を濾過のみで取り除けることにある反面、デメリットとして反応速度が遅い、錯体濃度を上げることが難しいことが挙げられる。つまり、反応濃度が薄くなるために反応速度の低下が考えられた。PET 標識反応においては $^{14}\text{C}$ ヨウ化メチルの濃度がきわめて薄い環境になるために、極低濃度での化学反応を高速に行う必要が生じる。そこで、反応時間は最終的な目標としては5分間であるが、まず反応が最大に進行する条件を見つけるために通常の固相反応に準じた反応条件から速やかなメチル化反応が進行する条件を探ることとした。また、標識反応においては通常の有機化学反応と異なり、放射性化合物を扱うために遠隔操作で行う必要があり、反応自体は合成装置を用いることになる。そのために通常の反応時の攪拌あるいは震とう、濾過等の操作は困難を要する。そこで、その操作を簡便化しかつ合成装置本体に改造を加えることなく、反応容器の改良のみで対応できるかプロトタイプの器具作成も考察してみた。

## 4. 研究成果

実際の固相反応では通常、室温下で強く浸透することにより反応を促進するが、今回の PET プローブ合成を目指した反応では静置条件あるいは緩やかなバブリング条件下で反応が進行する必要がある。加熱に関しては可能であるが、溶媒の蒸発を加味した上で行う必要があった。そこで、それらの条件を探るためにいくつかの反応条件を試した。反応基質としてはヨウ化メチルに対して 40 等量のフェニルボラン酸を用いた。すると、室温条件下においてわずかではあるが、目的のトルエンを HPLC により検出することが出来た。ただし、これは反応時間が長時間 (60 分~180 分) であり、そのままでは標識合成には応用できない反応速度であった。

そこで、温和な加熱条件下 (50~70 度) に設定したところ同じ反応時間で数%ではあるが反応が進行することが確認できた。これは、反応条件の検討により反応を加速することが可能であると判断し、様々な条件を検討した。しかしながら、大きな反応効率の改善は見られなかった。この時点で、反応は静置した条件で行っているので、攪拌を効率的に行うことで反応効率が改善すると考えた。同時に並行して行っていた反応容器の改良では、反応容器下部にガラスフィルターを設置し細かいガスを下部からフローすることにより攪拌を狙っていたが、ガラス細工の技術的に困難であったために計画の変更が余儀なくされた。そこで、外部からの視認は出来なくなるが簡易的に HPLC のガードカラムのケースを流用して反応を行ってみた。その結果、静置条件よりも反応効率は上昇することが確認できた。このことから、固相担持パラジウム錯体を用いた標識反応は更なる条件検討は必要かと考えられるものの、可能であることを示すものであると考えている。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 2 件)

① Ryosuke Ijuin, Tadayuki Takashima, Yasuyoshi Watanabe, Yuichi Sugiyama and Masaaki Suzuki; Synthesis of  $^{14}\text{C}$ Dehydropravastatin, a PET Probe Potentially Useful for Studying OATP1B1 and MRP2 Transporters in the Liver; *Bioorg. Med. Chem.*, **2012**, *20*, 3703-3709, DOI: 10.1016/j.bmc.2012.04.051, (査読有)

② Tadayuki Takashima, Satoshi Kitamura, Yasuhiro Wada, Masaaki Tanaka, Yoshihito Shigihara, Hideki Ishii, Ryosuke Ijuin, Susumu Shiomi, Takahiro Nakae, Yumiko

Watanabe, Yilong Cui, Hisashi Doi, Masaaki Suzuki, Kazuya Maeda, Hiroyuki Kusuha, Yuichi Sugiyama and Yasuyoshi Watanabe; Positron emission tomography (PET) imaging-based evaluation of hepatobiliary transport in humans using  $15R$ - $[^{11}C]$ TIC-Me; *J. Nucl. Med.*, **2012**, *53*, 741-748; DOI: 10.2967/jnumed.111.098681, (査読有)

[学会発表] (計 9 件)

- ① Tadayuki Takashima, Ryosuke Ijuin, Yumiko Katayama, Takashi Okauchi, Yasuhiro Wada, Masaaki Suzuki, Kazuya Maeda, Hiroyuki Kusuha, Yuichi Sugiyama and Yasuyoshi Watanabe; PET を活用した  $[^{11}C]$ dehydropravastatin のトランスポーターを介した肝胆系輸送の定量的評価; 第 27 回日本薬物動態学会(千葉) 2012 年 11 月 20 ~22 日
- ② Hiroko Koyama, Ryosuke Ijuin, Jeongwan Son, Siqin, Yuma Hatta, Masashi Ohta, Masahiro Wakao, Takamitsu Hosoya, Hisashi Doi, Masaaki Suzuki; Pd<sup>0</sup>-Mediated Rapid Coupling of Methyl Iodide with Excess Amounts of Benzyl- and Cinnamylboronates: Efficient Method for Incorporation of Positron-Emitting  $^{11}C$  Radionuclide into Organic Frameworks by Coupling between sp<sup>3</sup>-Hybridized Carbons; The Twelfth International Kyoto Conference on New Aspects of Organic Chemistry (Kyoto) 12-16, November, 2012
- ③ Tadayuki Takashima, Ryosuke Ijuin, Yumiko Katayama, Yasuhiro Wada, Takashi Okauchi, Masaaki Suzuki, Kazuya Maeda, Yuichi Sugiyama, Yasuyoshi Watanabe; Analysis of OATP and MRP2 Function in Hepatobiliary Transport using Positron Emission Tomography with  $[^{11}C]$ Dehydropravastatin; 11th International Symposium on the Synthesis and Applications of Isotopes and Isotopically Labelled Compounds (Heidelberg) 9-13, September, 2012
- ④ Ryosuke Ijuin, Tadayuki Takashima, Yasuyoshi Watanabe, Yuichi Sugiyama and Masaaki Suzuki; Synthesis of  $[^{11}C]$ dehydropravastatin designed as a PET probe for *in vivo* study on the functions of OATP1B1 and MRP2 transporters in the liver; World Molecular Imaging Congress 2012 (Dublin) 5-8, September, 2012
- ⑤ Tadayuki Takashima, Ryosuke Ijuin,

Yoshinobu Hashizume, Yumiko Katayama, Yasuhiro Wada, Masaaki Suzuki, Kazuya Maeda, Yuichi Sugiyama, Yasuyoshi Watanabe; Noninvasive Analysis of Transporter-mediated Drug-Drug Interaction in Hepatobiliary Transport: PET Studies using  $[^{11}C]$ Dehydropravastatin and  $[^{11}C]$ Telmisartan; World Molecular Imaging Congress 2012 (Dublin) 5-8, September, 2012

⑥ Hiroko Koyama, Ryosuke Ijuin, Siqin, Yuma Hatta, Jeongwan Son, Masashi Ohta, Masahiro Wakao, Takamitsu Hosoya, Hisashi Doi and Masaaki Suzuki; Pd<sup>0</sup>-Mediated Rapid Coupling of Methyl Iodide with Excess Amounts of Benzyl- or Cinnamylboronic Acid Esters (sp<sup>3</sup>-sp<sup>3</sup> Type Coupling) for the Incorporation of Positron-Emitting  $^{11}C$  Radionuclide into an Organic Framework; World Molecular Imaging Congress 2012 (Dublin) 5-8, September, 2012

⑦ 伊集院良祐、高島忠之、渡辺恭良、杉山雄一、鈴木正昭; 肝トランスポーター機能評価のための  $[^{11}C]$ dehydropravastatin PET プロブの合成; 日本ケミカルバイオロジー学会 第 7 回年会(京都) 2012 年 6 月 7-9 日

⑧ 伊集院良祐、高島忠之、渡辺恭良、杉山雄一、鈴木正昭;  $[^{11}C]$ Dehydropravastatin の合成-肝トランスポーター機能評価のための PET プロブ開発に向けて; 日本薬学会 第 132 年会(札幌) 2012 年 3 月 29-31 日

⑨ Tadayuki Takashima, Hiroko Nagata, Hideki Ishii, Ryosuke Ijuin, Takahiro Nakae, Masaaki Tanaka, Yoshihito Shigihara, Suzuka Ataka, Hisashi Doi, Yasuhiro Wada, Kazuya Maeda, Hiroyuki Kusuha, Yuichi Sugiyama and Yasuyoshi Watanabe; Evaluation of *in vivo* Hepatobiliary Transport Using Positron Emission Tomography (PET): Studies in Rats and Application to Microdosing Clinical Studies; 9th International ISSX Meeting (Istanbul) 4-8, September, 2011

[産業財産権]

○出願状況 (計 2 件)

名称: 高速メチル化法(アルキル炭素上への短寿命放射性核種  $^{11}C$  の効果的導入法)  
発明者: 鈴木正昭、伊集院良祐、土居久志、古山浩子  
権利者: 同上

種類：特願  
番号：2012-159725  
出願年月日：2012年7月18日  
国内外の別：国内

名称：プラバスタチン類縁体、その前駆体、  
PET 用分子プローブ及びトランスポーター  
機能評価用プローブ

発明者：鈴木正昭、伊集院良祐、高島忠之、  
渡辺恭良、杉山雄一、前田和哉

権利者：同上

種類：特願

番号：2012-104359  
出願年月日：2012年5月1日  
国内外の別：国内

〔その他〕  
ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

伊集院 良祐 (IJUIN RYOSUKE)  
独立行政法人理化学研究所・分子イメージン  
グ創薬化学研究チーム・研究員  
研究者番号：40442925

### (2) 研究分担者

無し

### 3) 連携研究者

無し