

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 16 日現在

機関番号：82611

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23510289

研究課題名(和文) 四級アンモニウムフルオリド類に促進される標識反応の開発とイメージングへの応用

研究課題名(英文) 11C-labeling reactions promoted by quaternary ammonium fluorides and their application for PET studies

研究代表者

加藤 孝一 (KATO, KOICHI)

独立行政法人国立精神・神経医療研究センター・脳病態統合イメージングセンター・室長

研究者番号：50382198

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円、(間接経費) 1,230,000円

研究成果の概要(和文)：本研究ではテトラブチルアンモニウムフルオリドが活性メチレンの $^{11}\text{C}$ -メチル化反応に適した塩基であることを見出し、 $^{11}\text{C}$ 標識アミノイソ酪酸( $^{11}\text{C}$ -AIB)の簡便かつ効率的ワンポット合成、アミノレブリン酸(ALA)誘導体新規PETトレーサーである $^{11}\text{C}$ -MALAの開発、一般的な抗炎症薬のイブuproフェンの $^{11}\text{C}$ 標識に成功した。これらのトレーサーを用いた動物PET研究により $^{11}\text{C}$ -AIBはがんの放射線治療効果の早期診断に、 $^{11}\text{C}$ -MALAはALAによる光線力学療法の治療効果判定に有効であることが明らかとなった。

研究成果の概要(英文)：In this study, tetrabutylammonium fluoride (TBAF) was found to be a suitable base for the  $^{11}\text{C}$ -methylation reaction of versatile active methylene compounds. The TBAF-promoted  $^{11}\text{C}$ -methylation was useful for one-pot synthesis of  $^{11}\text{C}$ -labeled aminoisobutyric acid ( $^{11}\text{C}$ -AIB) and  $^{11}\text{C}$ -labeling of ibuprofen. A novel  $^{11}\text{C}$ -labeled 5-aminolevulinic acid analog  $^{11}\text{C}$ -MALA was also developed. We evaluated these tracers by small animal PET studies. We found that  $^{11}\text{C}$ -AIB was a promising tracer for diagnosis of radiation therapy and  $^{11}\text{C}$ -MALA-PET was useful for prediction of PDT or SDT of cancers.

研究分野：複合領域

科研費の分科・細目：ケミカルバイオロジー

キーワード：PET TBAF アミノ酸 AIB MALA 早期診断 光線力学療法

## 1. 研究開始当初の背景

PETトレーサーの開発において<sup>11</sup>C標識反応は分子設計における重要な検討要素の一つである。しかし、<sup>11</sup>C標識反応には、<sup>11</sup>Cの半減期が約20分と非常に短いこと、<sup>11</sup>Cの物質量が極めて微量であること、高エネルギーの放射線から作業者を防護するために遠隔操作が必要であり化学的な操作も限られること等から、窒素あるいは酸素といったヘテロ元素上への<sup>11</sup>Cメチル化を選択するのが一般的である。炭素-炭素結合による<sup>11</sup>C標識法は分子骨格を構築するものであり標識可能な分子構造を多様化するため分子設計の上で有力な手法となるが、上述した<sup>11</sup>C標識の困難さからこれまでほとんど開発されてこなかった。炭素-炭素結合による<sup>11</sup>C標識法としてはパラジウム等の遷移金属を利用した<sup>11</sup>C標識法がいくつか報告されている。しかし、これらの精密な有機化学反応をPETトレーサー合成の特殊な環境で行うのは容易でなく、実際に医療の現場で広く利用されるようなPETトレーサーの開発には至っていない。こうした背景下、<sup>[11C]</sup>メチル基を簡便かつ迅速に導入する方法の構築は、新たなPETトレーサーを開発するために必要な基盤的課題となっていた。

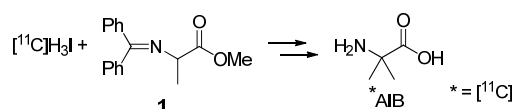
## 2. 研究の目的

以前より<sup>11</sup>C標識アミノ酸は、FDG-PETでは困難な腫瘍と炎症の区別が可能なPETトレーサーとして有力視されていた。中でも、システムAトランスポーターの基質であり代謝に安定なアミノ酸イソ酪酸(AIB)は、唯一ルーチン的に利用されている<sup>11</sup>C標識アミノ酸のメチオニンとは特性が異なることから<sup>11</sup>C標識トレーサーとして興味深い標的であった。しかし、AIBの<sup>11</sup>C標識にはルーチン提供に適した合成法がなく、その結果、<sup>11</sup>C標識AIBはトレーサーとしての評価が定まっていなかった。本研究では<sup>11</sup>Cメチル化を利用してAIBを簡便かつ効率よく<sup>11</sup>C標識合成することを研究目的とした。また、アリールプロピオン酸骨格(プロフェン)は非ステロイド性抗炎症薬の共通構造であり、炎症イメージングのPETトレーサーとして興味深い研究対象であった。そこで、本研究ではアリールプロピオン酸骨格を<sup>11</sup>C-メチル化により構築する方法を探索することにした。

さらに本研究では標識合成が達成された化合物に対してPETトレーサーとしての評価を行うことにした。

## 3. 研究の方法

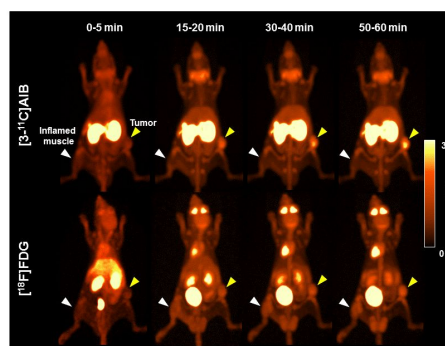
AIBの<sup>11</sup>C標識には化学的に安定なベンゾフェノイミンで保護されたアラニンエステル**1**を前駆体とする<sup>11</sup>Cメチル化が適していると考えられる。しかし、**1**はメチル基の



立体障害により相当するグリシン誘導体と比較するとα位の酸性度が下がっているため、塩基による温和な活性化が困難とされている。有機合成化学的には、α位の酸性度を上げるために化学的には基質はやや不安定になるが保護基をより立体障害の少ないアルジミンタイプにする、もしくはリチウムアミド系の禁水性強塩基により活性化することで問題を克服するが、これらの複雑な実験操作は作業環境が限られた<sup>11</sup>C標識合成に適していない。したがって、**1**を簡便な操作で活性化することが研究の鍵となる。われわれは第四級アンモニウムフルオリドであるテトラブチルアンモニウムフルオリド(TBAF)がTHF溶媒中pKa23程度の活性メチレンを効率よく活性化することを予備的に見出していた。そこでTBAFを塩基として用いた<sup>11</sup>Cメチル化を鍵反応とするAIBの標識合成法を検討した。同様なアリール酢酸類のメチル化によりプロピオン酸の構築を検討することにした。

## 4. 研究成果

TBAFを用いた**1**の<sup>11</sup>Cメチル化を検討したところ、THF中では反応が全く進行しなかったが溶媒をDMSOとしたところ、室温、90秒の条件で、80%以上の放射化学的変換率により目的のメチル化体が得られた。また、同様な条件下においてその他の塩基では目的物は効率よく得られなかった。メチル化に続いて2段階の脱保護過程を組み合わせることにより<sup>11</sup>C-AIBの標識合成に成功した。本合成法は1ポット操作のため自動合成化が容易であり、三段階の放射化学的変換率も80%と効率的であり、また、実際の単離収率も核反応による<sup>[11C]</sup>O<sub>2</sub>の生産量(計算値)に対して合成終了時点で15%(減衰補正なし)と非常に高いものであった。この合成法の開発をもとに、腫瘍・急性炎症の同時モデルラットを用いた小動物PETを撮像し、<sup>11</sup>C標識AIBが腫瘍選択的に高集積することを明らかにした。同じモデルラットを用いたFDG-PETは腫瘍と炎症を区別なく高集積を示したことから、<sup>11</sup>Cが短半減期であること



も考慮すると今後 AIB と FDG の相補的な PET 診断が有望になると考えられる。

アリール酢酸類の  $^{11}\text{C}$  メチル化によりプロフェン類の標識は THF 中、TBAF を塩基として用いることにより効率よく進行する。この結果を基に一般的な抗炎症薬であるイブプロフェンを  $^{11}\text{C}$  標識することは可能となっていた。ところで、イブプロフェンの示す抗炎症作用は COX 阻害作用に起因するものと考えられている。イブプロフェンの立体異性体の内、COX 阻害作用を有するのは S 体のみであるため、イブプロフェンの抗炎症作用をイメージングするためには光学異性体を標識合成する必要がある。そこで、われわれは光学分割による異性体の標識合成を試みるために照射量を増やして  $^{11}\text{C}$  の生産したところ、合成中間体の  $^{11}\text{C}$  標識イブプロフェンメチルエステルに顕著な放射分解が生じ、撮像に十分な放射能のイブプロフェンの光学異性体の合成が困難となった。われわれは DMSO がパルスラジオリシスに対して抑制効果を示すことに着目し、溶媒を DMSO に変更した。その結果、 $^{11}\text{C}$  標識イブプロフェンメチルエステル放射分解が抑えられ、著しく収量が改善し、効率的な  $^{11}\text{C}$  標識イブプロフェンの光学異性体の合成に成功した。そこで、関節炎モデルラットに対する  $^{11}\text{C}$  標識イブプロフェンの両光学異性体の PET を撮像したところ、COX 阻害作用を有する S 体のみならず R 体も同様に炎症部位に集積することが明らかになった。

上述の結果より TBAF が活性メチレンに対する  $^{11}\text{C}$  メチル化に効果的であることが明らかになったため、われわれはこの知見を利用してアミノレブリン酸誘導体の  $^{11}\text{C}$  標識を新たに企画した。本課題に対して種々検討したところ、新規 PET トレーサー  $^{11}\text{C}$ -MALA の開発に成功した。さらに、ホーナーエモンズ (HWE) 反応に着目し、活性メチレン種としてホスホン酸誘導体を利用して  $^{11}\text{C}$  メチル化と HWE 反応を連続して施す標識法を開発した。本手法は種々の  $^{11}\text{C}$  標識分子骨格を簡便に構築する方法として注目されている

#### 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 8 件)

1. Takashima M, Kato K\*, Ogawa M, Magata Y: One-pot sequential reactions for the synthesis of versatile  $^{11}\text{C}$ -labeled olefin frameworks. *RSC Adv.* 3: 21275–79, 2013. 査読有 10.1039/c3ra43636e
2. Kikuchi T, Minegishi K, Hashimoto H, Zhang MR, Kato K\*: The use tetrabutylammonium fluoride to promote *N*- and *O*- $^{11}\text{C}$ -methylation

reactions with iodo $^{11}\text{C}$ methane in DMSO. *J. Label. Compd. Radiopharm.* 56: 672–78, 2013. 査読有 10.1002/jlcr.3092

3. Suzuki C, Kato K\*, Tsuji AB, Kikuchi T, Zhang MR, Arano Y, Saga T: Synthesis and in vitro cellular uptake of  $^{11}\text{C}$ -labeled 5-aminolevulinic acid derivative to estimate the induced cellular accumulation of protoporphyrin IX. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 23: 4567–70, 2013. 査読有 10.1016/j.bmcl.2013.06.025
4. Tsuji AB\*, Kato K, Sugyo A, Okada M, Sudo H, Yoshida C, Wakizaka H, Zhang MR, Saga T: Comparison of 2-amino-[3- $^{11}\text{C}$ ]isobutyric acid and 2-deoxy-2-[ $^{18}\text{F}$ ]fluoro-D-glucose in nude mice with xenografted tumors and acute inflammation. *Nucl. Med. Commun.* 33: 1058–1064, 2012. 査読有 10.1097/MNM.0b013e328356efb0
5. Kikuchi T, Okada M, Nengaki N, Furutsuka K, Wakizaka H, Okamura T, Zhang MR, Kato K\*: Efficient synthesis and chiral separation of  $^{11}\text{C}$ -labeled ibuprofen assisted by DMSO for imaging of in vivo behavior of the individual isomers by positron emission tomography. *Bioorg. Med. Chem.* 19: 3265–3273, 2011. 査読有 10.1016/j.bmc.2011.03.041
6. Kato K\*, Tsuji AB, Saga T, Zhang MR: An Efficient and Expedient Method for the Synthesis of  $^{11}\text{C}$ -labeled  $\alpha$ -Aminoisobutyric Acid: A Tumor Imaging Agent Potentially Useful for Cancer Diagnosis. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 21: 2437–2440, 2011. 査読有 10.1016/j.bmcl.2011.02.065
7. Kato K\*, Zhang MR, Minegishi K, Nengaki N, Takei M, Suzuki K: Nitroaldol reaction of nitro $^{11}\text{C}$ methane to form 2-(hydroxymethyl)-2-nitro[2- $^{11}\text{C}$ ]propane-1,3-diol and [ $^{11}\text{C}$ ]Tris. *J. Label. Compd. Radiopharm.* 54: 140–144, 2011. 査読有 10.1002/jlcr.1833
8. Asakawa C, Ogawa M, Kumata K, Fujinaga M, Kato K, Yamasaki T, Yui J, Kawamura K, Hatori A, Fukumura T, Zhang MR: [ $^{11}\text{C}$ ]Sorafenib: radiosynthesis and preliminary PET study of brain uptake mediated by P-glycoprotein and breast cancer resistance protein. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 21: 2220–2223, 2011. 査読有 10.1016/j.bmcl.2011.03.0002

[学会発表](計 18 件)

1. Kato K\*, Shukuri, M. Kikuchi T, Funasaka M, Hanakawa T: Synthesis of <sup>11</sup>C-labelled α-methyl profens for COX2 imaging by PET. 20<sup>th</sup> International Symposium on Radiopharmaceutical Sciences: ICC Jeju, Jeju Korea, 2013.5.
2. Kato K, Kikuchi T, Minegishi K, Okada M, Zhang MR: Efficient <sup>11</sup>C-methylation of α-nitroesters by milder base: 11<sup>th</sup> International Symposium on the Synthesis and Applications of Isotopically Labelled Compounds: Heidelberg University, Heidelberg Germany, 2012.9.
3. Takashima-Hirano M, Magata Y, Kato K: One-pot sequential reaction: simple and efficient methodology for the preparation of <sup>11</sup>C-labeled molecular framework: 11<sup>th</sup> International Symposium on the Synthesis and Application of Isotopically Labelled Compounds: Heidelberg University, Heidelberg Germany, 2012.9.
4. Kato K, Tsuji AB, Saga T, Kikuchi T, Zhang MR: Expedient synthesis and revaluation of <sup>11</sup>C-labeled AIB: XII Turku PET Symposium: ICT building, Turku Finland, 2011.5.
5. Kato K, Kikuchi T, Minegishi K, Okada M, Zhang MR: The use of TBAHF<sub>2</sub> as a milder fluoride base for [<sup>11</sup>C]methylation: 19<sup>th</sup> International Symposium on Radiopharmaceutical Sciences: VU University, Amsterdam Netherland, 2011.8.
6. Okada M, Kikuchi T, Nengaki N, Fukumura T, Wakizaka H, Okamura T, Zhang MR, Kato K: Preparation and PET study of individual isomers of [<sup>11</sup>C]ibuprofen: International Symposium on Radiopharmaceutical Sciences: VU University, Amsterdam Netherland, 2011.8.
7. 加藤孝一, 峯岸克行, 張明榮: 炭素 11 で標識されたニトロメタンの Michael 付加反応: 第 131 回日本薬学会年会: 北海道大学, 札幌, 2011.3.

他 11 件

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

## 6 . 研究組織

### (1) 研究代表者

加藤 孝一 (KATO KOICHI)

国立精神・神経医療研究センター・脳病態

統合イメージングセンター・室長

研究者番号 : 50382198