

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 23 日現在

機関番号：81404

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2013

課題番号：24791350

研究課題名(和文)脳変性疾患診断のための選択的ドパミンD3受容体PET新規イメージング剤の開発

研究課題名(英文)Study on Derivatives of Benperidol as Imaging Agents for Dopamine D3 Receptor

研究代表者

山口 博司(Yamaguchi, Hiroshi)

秋田県立脳血管研究センター(研究局)・その他部局等・研究員

研究者番号：00450841

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円、(間接経費) 900,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、ドパミンD3受容体に選択的に結合するイメージング剤の開発である。ドパミンD2様受容体に結合する薬剤として知られているベンペリドールに、ハロゲンやアルキル基などの置換基の導入を検討した。また、合成した誘導体に対する標識条件検討をおこなった。

本研究期間中に、20種類以上のベンペリドール誘導体を合成し、標識体について実験動物を用いた検討を実施した結果、ドパミンD3受容体イメージング剤の候補になり得る薬剤を見出すに至った。

研究成果の概要(英文)：This study is to develop an imaging agent that binds selectively to the dopamine D3 receptor. Was carried out considering the introduction of a substituent such as an alkyl group or halogen to benperidol known as a drug that binds to D2-like dopamine receptor. Further, it was subjected to labeling conditions examined for derivative synthesized.

Results of the present study period, we performed studies to synthesize benperidol derivatives of 20 or more, using laboratory animals for labels, and have found a drug which can be a candidate of the D3 receptor imaging agent dopamine.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・放射線科学

キーワード：脳神経疾患 受容体 放射性薬品化学 有機化学 薬学

### 1. 研究開始当初の背景

近年、パーキンソン病やアルツハイマー病を始めとした脳変性疾患に対し Positron Emission Tomography (PET) が有効な病態診断法として注目されている。この PET 診断において重要な役割を果たすのが放射性標識されたトレーサーであり、特に生体内の情報伝達に重要な役割を果たす受容体に結合するトレーサーについて盛んに研究されている。

受容体にはサブタイプが存在し、薬剤のサブタイプ選択性が重要であると考えられている。例えばドパミン受容体には D1 から D5 の 5 つのサブタイプ (D1 様受容体ファミリー (興奮系): D1, D5 / D2 様受容体ファミリー (抑制系): D2, D3, D4) が明らかにされており、パーキンソン病ではこれらドパミン受容体の機能変化が大きく関わっていることが知られている。パーキンソン病の治療においては、ドパミンアゴニストが用いられることがあるが、薬剤の種類や用量による過剰効果で病的賭博症状 (pathological gambling) を起こす例が報告されている。このような精神症状変化を起こすのにドパミンサブタイプのドパミン D3 受容体が関与していると考えられているが、詳細については未だに解明されていない。こうしたサブタイプ選択性を狙った治療薬候補が多く開発されており、図 1 に示したような麦角骨格を有するドパミン D2 様受容体アゴニストは、側鎖の極性や立体構造の差異で、D2 / D3 受容体選択性に違いが生じることが知られている (図 1)。

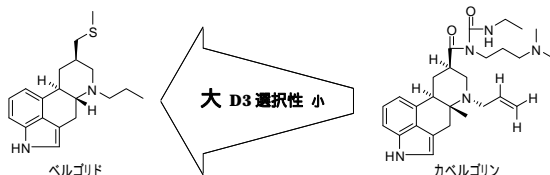


図 1 ドパミン D2/D3 選択性

一方、これまでドパミン受容体イメージング剤では、ドパミン D2 受容体選択的に結合する [<sup>11</sup>C] メチルスピペロンや [<sup>11</sup>C] FLB457、D2 / D3 の両サブタイプに結合する [<sup>11</sup>C] ラクロプライドといった PET トレーサーが開発されてきているが、ドパミン D3 受容体に結合する臨床応用可能なトレーサーは開発されていない。臨床に用いることが出来るトレーサーが望まれている。ドパミン D3 受容体に対し選択特異的に結合するトレーサーを用いることができれば、さらに詳細な病態診断が可能になると考えられている。

### 2. 研究の目的

本研究は、ドパミン D3 受容体に選択的に結合するイメージング剤の開発が目的である。ドパミン受容体イメージング剤の一種であるベンペリドール (Benperidol :

1-{1-[4-(4-Fluorophenyl)-4-oxobutyl]piperidin-4-yl}-1,3-dihydro-2H-benzimidazol-2-one) に対して化学修飾を加え、ドパミン D3 受容体への結合選択性の向上を図る。図 2 にベンペリドール合成法の一例を示す。

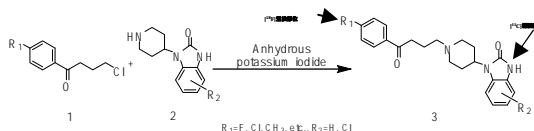


図 2 ベンペリドール誘導体合成法の一例

ベンペリドールは、ブチロフェノン (化合物 1, R<sub>1</sub>=F) とベンズイミダゾリノン (化合物 2, R<sub>2</sub>=H) から構成される化合物であるが、化合物 1, 2 とともに化学修飾を加えやすい構造を有している。研究代表者は、これまでに図 2 に示した合成法を用い、数種類のベンペリドール誘導体を合成してきた。

本研究においては、標識前駆体として、さらに数種類のベンペリドール誘導体を合成すると共に、標識条件についての検討を行うことを目的とする。標識した化合物については、実験動物を用いて、ドパミン D3 受容体への結合および選択性について評価を行なう。

ドパミン D3 受容体に対して選択的に結合するイメージング剤の開発が臨床に与える影響は非常に大きく、意義ある研究であると考え、本研究を実施した。

### 3. 研究の方法

- (1) 標識前駆体薬剤の合成
- (2) 標識条件の決定
- (3) 結合親和性の解析評価
- (4) 実験動物を用いた評価

上記の (1), (2) によって合成、標識した化合物について (3), (4) の手法によって評価し、結果を (1), (2) にフィードバックしながら研究を展開していく。

### 4. 研究成果

(1) ベンペリドールおよび誘導体は、一般市販されておらず、合成する必要があった。過去の文献および薬剤の骨格から、ブチロフェノン誘導体とベンズイミダゾリノン誘導体から様々なベンペリドール誘導体合成を行なった。原料化合物の 1 つであるブチロフェノン誘導体はハロアルキル化合物、もう 1 つのベンズイミダゾリノン誘導体には環状アミンであるピペリジン骨格を有する化合物を用い、塩存在下、加熱カップリング反応による方法での合成検討をおこなった。ハロアルキル化合物とアミンのカップリング反応では、原料である有機化合物と添加する塩いずれも溶解する条件が必要である。当初、有機化合物および塩を溶解する両親性溶媒として一般的な Dimethylsulfoxide (DMSO)

や Dimethylformamide (DMF) を用いたが、基質と等モル量添加した塩を十分に溶解させることが出来なかった。そこで本検討では、DMSO、DMF と同じ非プロトン性極性溶媒に分類され、ペプチド合成などで多用されている N-Methyl-2-pyrrolidinone (NMP) を用いることで解決できた。また、添加する塩の種類についてはヨウ化カリウム (KI) が最適であった。本合成方法により、国内において市販されていないベンペリドールおよび、その誘導体を合成できるようになった。

(2) ベンペリドール誘導体の標識は、ヨウ化メチル法を用いた。ヨウ化メチルの合成は、加速器サイクロトロンおよび自動合成装置を用いておこなった。サイクロトロンで加速したプロトンビームを  $N_2$  ガスに照射して  $[^{11}C]$   $CO_2$  ガスを発生させ、自動合成装置上の反応容器内で水素化アルミニウムリチウム溶液に吹込んで接触還元させ、次いでヨウ化水素酸を加えることで  $[^{11}C]$  ヨウ化メチルを得た。ベンペリドール誘導体の溶液に対し、ガス状で  $[^{11}C]$  ヨウ化メチルを吹込み、標識反応をおこなった。当初、文献に基づき、反応溶媒には DMF、触媒として水素化ナトリウム (NaH) を使用したが、反応効率が悪く、十分な標識体を得られなかった。これはベンペリドールが誘導体化されたことで、溶解度が落ちたこと、NaH が本反応で活性を落としやすいことに原因があると推測した。そこで、溶媒に (1) におけるベンペリドール誘導体合成反応に用いた NMP を用いると共に触媒として Tetrabutylammonium hydroxide (TBAOH) を用いた。NMP は高沸点および低融点を有しており、ベンペリドール誘導体に対するヨウ化メチル法による標識において最適な溶媒であった。TBAOH は触媒として反応性が高いが、反応直前に微量を添加することで、目的とする標識反応をさせることが可能となった。本標識方法では、従来、標識反応に用いられていなかった NMP が有用な溶媒になることを見出せた。なお、NMP の最終製剤への混入がないことも、検証済みであり、将来的に臨床に用いる薬剤においても利用可能である。

(3) 合成検討 (1) および標識検討 (2) によって 20 種以上のベンペリドール誘導体の標識体を得られた。これらの一次スクリーニングとして、オクタオール抽出法による脂溶性測定、生理食塩水中での化合物安定性試験、さらに計算科学的手法を用いたドパミン D3 受容体に対する結合親和性の評価をおこなった。その結果、図 3 に示したベンペリドール誘導体がドパミン D3 受容体イメージング剤の有力な候補になり得る結果が得られた。

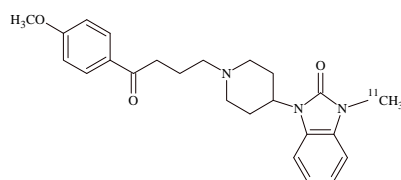


図 3 メトキシ導入ベンペリドール標識体

(4) 一次スクリーニング (3) の結果を受け、実験動物を用いての評価をおこなった。受容体イメージングを目的とした放射性標識薬剤に対する一般的な評価法として、レセプターアッセイ法や ARG 法が知られている。本研究で対象としたドパミン D3 受容体は脳内での発現量が低いため、非常に評価することが困難であった。そこで、小動物用イメージング装置を用いて撮像実験を実施した。図 3 に示したメトキシ導入ベンペリドール標識体は脳への移行性が低く、ドパミン D3 受容体が多く発現している線条体への特異的集積が見られなかった。これは脂溶性の高いフルオロ基をメトキシ基に変換したことで、分子全体の脂溶性が落ち、血液脳関門 (BBB: Blood Brain Barrier) の透過性が低下したためと推測した。そこで、この実験結果によって得られた情報を合成検討 (1) にフィードバックし、脂溶性を担保する目的で図 4 に示すフルオロ基を導入した誘導体を合成した。

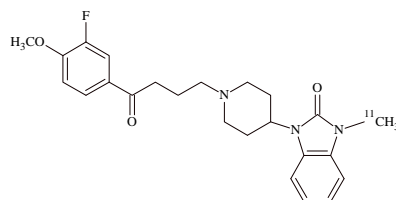
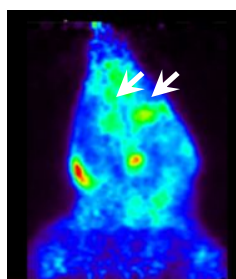


図 4 メトキシフルオロ導入ベンペリドール標識体

先のメトキシ導入ベンペリドール標識体同様に、メトキシフルオロ導入ベンペリドール標識体についても、小動物用イメージング装置を用いた撮像実験を実施した。この結果、脳移行性および線条体への集積が確認できた (図 5)。



**実験条件**

動物 : Wistar ラット,  
8 週齢, オス  
撮像 : Dynamic 収集  
投与量 : 20 MBq  
麻酔 : Isoflurane

図 5 メトキシフルオロ導入ベンペリドール標識体撮像画像

図5に示した画像での線条体集積は、官能基を導入していないベンペリドールのそれとは異なる集積を示している。D2、D3への集積比、特異性については、さらなる精査が必要であるが、置換基導入によって集積に変化が現れることを見出すことができた。本研究の結果は、ドパミンD3受容体イメージング剤開発の礎になると考える。

(2)研究分担者 なし  
(3)連携研究者 なし

## 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1件)

Hiroshi Yamaguchi, Yasuhiro Kuroda, Takashi Yamada, Hiroshi Ikenuma, Junichiro Abe, Shizuaki Murata, Kengo Ito, Kazuhiro Takahashi, Study on derivatives of Benperidol as imaging agents for dopamine D3 receptor, 査読有, 56 (Sup.1), 2013年, S282

〔学会発表〕(計6件)

山口博司, 黒田康弘, 茨木正信, 中村和浩, 村田静昭, 高橋和弘, [<sup>11</sup>C]Benperidol誘導体が標識条件に与える影響, 第52回日本核医学会学術集会, 2012年10月11-10月13日, 札幌市

山口博司, 黒田康弘, Kang Jiyoung, 茨木正信, 中村和浩, 館野賢, 村田静昭, ドパミン受容体イメージング剤開発に向けたベンペリドール誘導化検討, 第30回メディシナルケミストリーシンポジウム, 2012年11月28-11月30日, 東京都

山口博司, 認知症早期発見を目指したドパミンサブタイプイメージング剤の開発検討, 認知症研究を知る若手研究者の集まり, 2013年7月27-7月28日, 熱海市

山口博司, ピペリジニル環を有したドパミンD3受容体イメージング剤の開発, 第43回複素環化学討論会, 2013年10月17-10月19日, 岐阜市

山口博司, 黒田康弘, 村田静昭, 茨木正信, ドパミンD3受容体イメージング剤開発に向けてのベンペリドール誘導化, 第53回日本核医学会学術総会, 2013年11月8-11月10日, 福岡市

山口博司, 脳疾患早期発見に向けた新規放射性薬剤合成に関する研究, 第31回メディシナルケミストリーシンポジウム, 2013年11月20-11月22日, 広島市

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕 なし

〔その他〕 なし

## 6. 研究組織

(1)研究代表者

山口博司 (YAMAGUCHI HIROSHI)

秋田脳研・放射線医学研究部・研究員

研究者番号: 00450841