

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 20 日現在

機関番号：14401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2015

課題番号：26860994

研究課題名(和文) ホウ素中性子捕捉療法の普及を目指した[18F]FBPA新規標識合成法の開発

研究課題名(英文) Development of [18F]FBPA new labeling synthesis method for the spread of Boron Neutron Capture Therapy

研究代表者

仲 定宏 (Naka, Sadahiro)

大阪大学・医学部附属病院・薬剤師

研究者番号：60599843

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,400,000円

研究成果の概要(和文)： 中性子捕捉療法の実施可否を決定するPET検査用薬剤である[18F]FBPAの新規合成法を開発することで、検査件数の向上を目指した。新規前駆体を用いた各種溶媒への溶解性及び標識率を従来法と比較した。その結果、Boc-BPA-tBuにおいては、検討した溶媒全てにおいてほぼ未反応であったが、本検討にて標識から脱保護までのプロセスを確立することができた。また、Cbz-BPAでは、脱保護前で目的物の標識率は35%程度と従来法と同程度で得られることを確認した。

研究成果の概要(英文)： We tried to develop a novel synthesis of [18F] FBPA for PET inspection to determine the implementation propriety of Boron Neutron Capture Therapy, aimed to improve the inspection number. We compared with the conventional method for solubility in various solvents and its labeling index using a novel precursor.

As a result, the Boc-BPA-tBu was almost unreacted in all solvents. But we were able to establish a process to de-protection from the label in the present study. In the Cbz-BPA, labeling index of the target was about 35% before de-protection. It was about the same as the labeling index of the conventional method.

研究分野：医歯薬学

キーワード：PET BNCT

1. 研究開始当初の背景

ホウ素中性子捕捉療法 (BNCT) は、腫瘍細胞に取り込ませたホウ素 (^{10}B) に中性子を照射することで発生するリチウム (^7Li) 及び粒子により腫瘍細胞を死滅させる放射線治療の一つであり、難治性がんの治療法として注目されている。これまで、この中性子の発生は、原子炉で行われていたため、実施可能な施設が極端に制限されており、本治療普及の足かせとなっていた。しかし、近年、サイクロトロンを用いた中性子発生装置が開発され、病院に併設可能な治療法として臨床研究が進んでおり、今後、本治療の拡大が予想されている。

本治療に先立ち、腫瘍内の ^{10}B 濃度を 2- ^{18}F フルオロボロノフェニルアラニン (^{18}F FBPA) を用いた Positron Emission Tomography (PET) 検査 (^{18}F FBPA-PET) が実施され、その集積量から BNCT 適用可否が判断されている。しかし、従来の ^{18}F FBPA 合成法では、放射化学的収率が 8-10% (^{18}F F₂ から換算して) と非常に低く、1回で多数の検査ができないことが問題となっている。大阪大学医学部附属病院においても 2013 年 7 月より従来法を用いた臨床検査を実施しているが、その検査数は、1回合成あたり 1-2 名程度となっており、収量の向上が望まれていた (図 1)。

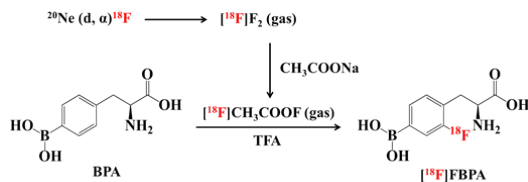


図 1. ^{18}F FBPA 合成法 (従来法)

そこで本研究において、新規 ^{18}F FBPA 合成法を開発し、その問題解決を図った。

2. 研究の目的

これまでに、従来法における ^{18}F FBPA の放射化学的収率が低い原因は、プロトン性溶媒であるトリフルオロ酢酸 (TFA) 又は酢酸を使用したことによる前駆体であるボロノフェニルアラニン (BPA) のジヒドロボリル基とプロトンとの置換に起因することを予備的研究にて明らかにした。そこで本研究では、反応溶媒に非プロトン性溶媒を用いて副反応を抑制する新規 ^{18}F FBPA 合成法を開発することで収量を向上させ、 ^{18}F FBPA-PET 検査の抑制緩和を目指すことを目的とした。

3. 研究の方法

本研究では、非プロトン性溶媒 (アセトン、アセトニトリル、THF、ジクロロメタン、クロロホルム等) を用いて検討を行うことから、脂溶性溶媒に溶解し難い BPA に脂溶性を付与する必要があった。そこで、脂溶性を高めた BPA 誘導体として N-第三ブトキシカルボニル-4-ボロノフェニルアラニン第三ブチルエステル

ル (Boc-BPA-tBu)、N-ベンジルオキシカルボニル-4-ボロノフェニルアラニン (Cbz-BPA)、N-ベンジルオキシカルボニル-4-ボロノフェニルアラニンメチルエステル (Cbz-BPA-Me) 及び N-ベンジルオキシカルボニル-4-ボロノフェニルアラニンベンジルエステル (Cbz-BPA-Bz) の 4 種類の新規前駆体を用いて検討することを計画した (図 2)。

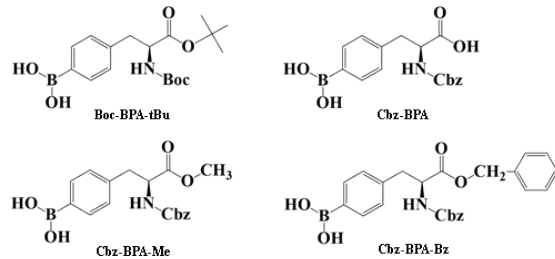


図 2. 新規 BPA 誘導体の構造式

(1) 平成 26 年度: Boc-BPA-tBu を前駆体を用いた標識合成条件の検討

非プロトン性溶媒への溶解性の検討
非プロトン性溶媒にアセトン、アセトニトリル、テトラヒドロフラン (THF) 及びクロロホルムを用い、各種溶媒における Boc-BPA-tBu の溶解性について確認した。溶解性については、従来法で使用している濃度 (6 mg/mL) を基準とした。

標識率の確認

各種溶媒にて溶解した Boc-BPA-tBu 溶液中に標識前駆体である ^{18}F アセチルハイポフルオライト (^{18}F CH₃COOF) を導入し、その標識率について確認した。標識率の測定には、薄層クロマトグラフィー (TLC) を用いた。シリカゲルプレートに反応液をスポットし、クロロホルム/メタノール=9/1 にて展開した後、ラジオ TLC アナライザーにて、標識率の測定を行った。

脱保護条件の検討

において良好な標識率が得られた溶媒について、脱保護条件の検討及び ^{18}F FBPA の標識率について確認した。脱保護には、トリフルオロ酢酸を用いた。また、脱保護後の ^{18}F FBPA 標識率の測定には、高速液体クロマトグラフィー (HPLC) を用い、分析条件は、臨床検査と同じものを使用した (カラム: YMC-Pack ODS-AQ 150*4.6 mm、溶離液: 50 mM リン酸に水素ナトリウム溶液、流速 1.5 ml/min)。

(2) 平成 27 年度: Cbz-BPA を前駆体を用いた標識合成条件の検討

溶媒への溶解性の検討

非プロトン性溶媒にアセトン、アセトニトリル及びクロロホルムを用いた。また、前年度の結果から、TFA や酢酸の極性が本反応には必要である可能性が示唆されたため、TFA 及び酢酸も追加し、各種溶媒における Cbz-BPA

の溶解性について確認した。溶解性については、前回同様、従来法で使用している 6 mg/mL を基準とした。

標識率の確認

良好な溶解性を示した溶媒において、CBz-BPA 溶液中に $[^{18}\text{F}]\text{CH}_3\text{COOF}$ を導入し、その標識率を TLC (展開溶媒はクロロホルム/メタノール=1/1) にて確認した。

さらに、HPLC により目的物である Cbz $[^{18}\text{F}]\text{FBPA}$ の定性及びその標識率を算出した。分析条件については、溶離液をアセトニトリル/50 mM リン酸に水素ナトリウム溶液=20/80 に変更した。

4. 研究成果

(1) 平成 26 年度：Boc-BPA-tBu を前駆体を用いた標識合成条件の検討結果

検討に用いたいずれの溶媒においても臨床合成に用いている 6 mg/mL の濃度にて十分溶解可能であることを確認した。

の検討に用いた溶媒のうち、THF を用いて、 $[^{18}\text{F}]\text{CH}_3\text{COOF}$ と Boc-BPA-tBu (30 mg) を反応させた結果、放射能は TLC プレートの原点位置にほとんど留まっていたことから、本溶媒においては、標識されずに未反応のままであることを確認した。また、アセトン及びアセトニトリルにおいても同様の結果が得られた。そこで、過去、 $[^{18}\text{F}]\text{F}_2$ からの標識合成に用いられてきたトリクロロフルオロメタン (現在は使用禁止) の代替としての可能性を考え追加したクロロホルムを用いて同様に標識率の検討を行った結果、未反応の $[^{18}\text{F}]\text{CH}_3\text{COOF}$ 以外に約 80 % の単一ピークが存在することが確認された (図 3)。標準品の Rf 値と比較しても近接していることから目的物である可能性が示唆された。

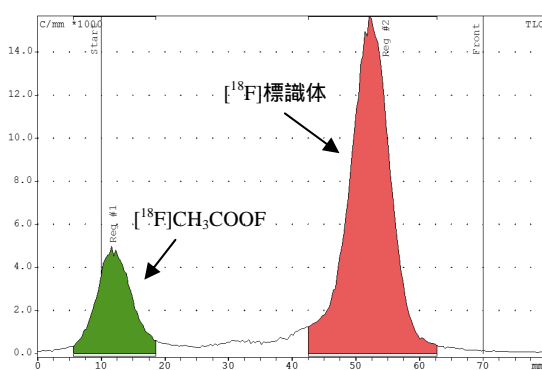


図 3. 反応液の TLC クロマトグラム

の検討にてクロロホルムを溶解溶媒とした際に良好な標識率が得られたが、異性体などの可能性もあり TLC では、類似化合物の分離までは困難と考えた。そこで HPLC 分析にてより詳細な分離を試みたが、保護体の状態では、良好な分離が得られなかったため、脱保護を行い、 $[^{18}\text{F}]\text{FBPA}$ の標識率を確認することとした。脱保護は、強酸であるトリフル

オロ酢酸 1 mL にて 5 分間室温で行った。その結果、 $[^{18}\text{F}]\text{FBPA}$ の標識率は約 3 % 程度であり、脱保護前に確認された単一ピークは、 $[^{18}\text{F}]\text{-4-フルオロフェニルアラニン (FPhe)}$ であることが確認された (図 4)。

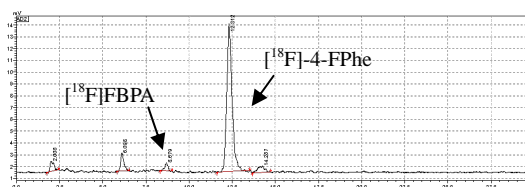


図 4. 脱保護後の HPLC クロマトグラム

本結果より、Boc-BPA-tBu を用いた標識合成においては、収率向上を達成することはできなかったが、新規 BPA 誘導体からの製造プロセスを確立することができた。

(2) 平成 27 年度：Cbz-BPA を前駆体を用いた標識合成条件の検討結果

検討に用いた溶媒のうち TFA 及びアセトンについては 6 mg/mL の濃度で完全溶解であったが、その他の溶媒では、1.5 mg/mL の濃度においても溶解残りが確認された (表 1)。

表 1. 各種溶媒に対する Cbz-BPA の溶解性

前駆体濃度	6 mg/mL	3 mg/mL	1.5 mg/mL	溶解性
TFA	完全溶解	—	—	○
酢酸	溶解残りあり	溶解残りあり	ほぼ溶解	△
アセトニトリル	溶解残りあり	溶解残りあり	ほぼ溶解	△
アセトン	完全溶解	—	—	○
クロロホルム	ほとんど溶けず	ほとんど溶けず	ほとんど溶けず	×

の検討において良好な溶解性を示したアセトン及び TFA を用いて、 $[^{18}\text{F}]\text{CH}_3\text{COOF}$ との反応性について検討を行った。すなわち、原点 ($[^{18}\text{F}]\text{CH}_3\text{COOF}$) 及び展開したピーク ($[^{18}\text{F}]\text{標識体}$) の割合を測定し、Cbz-BPA に対する標識率を算出した結果、アセトンでは、60 % 程度、TFA では 90 % 以上の割合で $[^{18}\text{F}]\text{標識体}$ が生成していることが確認できた (図 5)。

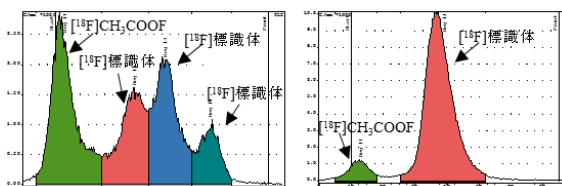


図 5. 反応液の TLC クロマトグラム

左：アセトン、右：TFA

これらの結果から、TFA を溶解溶媒として用いることが最適であると考え、さらに HPLC により目的物である Cbz $[^{18}\text{F}]\text{FBPA}$ の定性及びその標識率を算出したところ、約 35 % であることが確認された (図 6)。

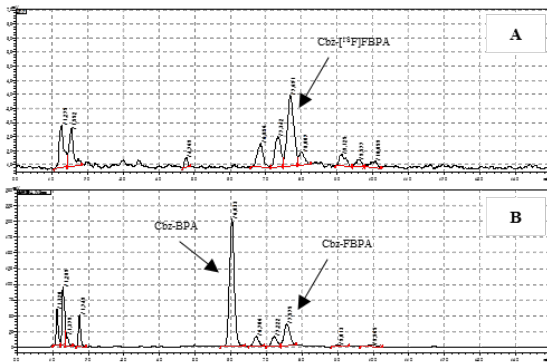


図 6. TFA 溶液の HPLC クロマトグラム
A: Radioactivity、B: UV 215 nm

従来法である BPA からの $[^{18}\text{F}]$ FBPA 標識率が 30-40 %程度であることから、今回用いた標識合成条件では、従来法と同程度で標識が可能であることが示された。

以上のことから、今回用いた新規 BPA 誘導体については、大幅な収率向上を果たすことはできなかったが、保護基を導入した状態でも標識反応が進行することが確認でき、また、その製造プロセスについても確立することができたものとする。

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 0 件)

〔学会発表〕(計 2 件)

S Naka, Y Miyake, Y Ota et al.

A novel method for synthesis of 4-Borono-2- $[^{18}\text{F}]$ fluoro-L-phenylalanine. SNMMI 2014 Annual meeting, 2014.6.8, St. Louis Convention Center Exhibit Hall 5.

新規 BPA 誘導体を用いた $[^{18}\text{F}]$ FBPA 標識合成法の検討. 仲定宏, 金井泰和, 大田洋一郎他, 日本薬学会第 136 年会, 2016.3.28, パシフィコ横浜 展示ホール AB.

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

国内外の別:

取得状況(計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年月日:

国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

仲 定宏 (NAKA SADAHIRO)

大阪大学・医学部附属病院・薬剤師

研究者番号: 60599843

(2) 研究分担者

()

研究者番号:

(3) 連携研究者

()

研究者番号: