

令和 3 年 5 月 25 日現在

機関番号：14401

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2019～2020

課題番号：19K22598

研究課題名（和文）超安定、迅速反応性MRIおよびアルファ線核医学治療用キレート剤の開発

研究課題名（英文）Development of stable and rapid reactive chelating agent for MRI and Targeted Alpha Therapy

研究代表者

吉村 崇 (Yoshimura, Takashi)

大阪大学・放射線科学基盤機構附属ラジオアイソトープ総合センター・教授

研究者番号：90323336

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 4,900,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、MRIで使用されているGd及びアルファ線核医学治療研究で用いられるAcに対する安定性と迅速反応性をもつ新しいキレート剤の開発を目的に研究を行った。本研究では新しい9配位のキレート配位子を合成し、ランタノイドおよびYを用いて錯体を合成した。錯体は全て室温下で生成し、Gdとの安定度定数はLaとの値に比べて1000倍ほど高かった。このことから、今回合成したキレート配位子はランタノイドの後半側の元素群に適した配位子であることが分かった。マウス肝細胞を用いて細胞障害性を調べたところキレート剤及びGd錯体は、Gd塩に比べて高い生存率を示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では医学利用されている金属錯体に着目し、現在までに用いられているキレート剤がもつ問題点を解消するための基礎研究を行った。その結果、新しく設計及び合成したキレート剤は、室温下、水中で容易にランタノイドと安定な錯体を生成することが分かった。さらに得られた化合物の細胞毒性も低いことが分かった。これらの結果に加えて、種々の金属イオンとの反応によりこのキレート剤に適した金属イオンを見出すことに成功した。これらの結果は医学利用される金属錯体のためのキレート剤開発の指針になると考えられる。

研究成果の概要（英文）：The purpose of the study is to develop a new chelating agent with high stability and rapid reactivity to Gd for MRI and to Ac for targeted alpha therapy. In this study, a new 9-coordinate chelating agent and the lanthanide and Y complexes were newly synthesized and characterized. All the complexes were formed at room temperature, and the stability constant with Gd is about 1000 times higher than that with La. This result indicates that the new chelating agent is suitable for the latter lanthanide elements. Cytotoxicity study using mouse hepatocytes showed that the chelator and Gd complexes showed higher viability than the Gd salt.

研究分野：無機化学

キーワード：キレート剤 ランタノイド アクチニウム ガドリニウム 安定度定数 迅速反応性

## 様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

Gd<sup>3+</sup>は、MRI で利用されている。そのキレート剤は、線状型(DTPA ベース)と環状型(DOTA ベース)がある。体内で Gd<sup>3+</sup>が蓄積されると腎性全身線維症が生じることが報告されている。これは、一部の Gd<sup>3+</sup>がキレート剤から解離し、Gd<sup>3+</sup>が体内に蓄積されているためと考えられる。この問題を解決するためには、高い安定性をもつキレート剤を開発する必要がある。最近、アクチニウム-225 (<sup>225</sup>Ac<sup>3+</sup>) を用いたアルファ線核医学治療が非常に注目を集めている。アルファ線は極めて短い距離しか飛ばないが、その範囲内では大きな線エネルギー付与を起こす。従って、癌細胞にアルファ線放出核種をデリバリーできれば、効果的に癌細胞の DNA 二重鎖切断を起こすことができ、死滅させることができる。このため、<sup>25</sup>Ac<sup>3+</sup>は治療薬として非常に有望である。この場合、DOTA が Ac<sup>3+</sup>のキレート剤として使用されている。しかしながら、Ac<sup>3+</sup>が DOTA にキレートされる反応の反応速度が遅いため加熱が必要である。そのため、加熱に耐えられる有機配位子部分で先に Ac<sup>3+</sup>をキレートさせた後、ターゲティング分子等と結合させる必要があり、放射性の Ac<sup>3+</sup>の存在下で煩雑な反応を行う必要があった。

### 2. 研究の目的

1. で示した問題点解決の基礎的な情報を取得するために、本研究では、Gd<sup>3+</sup>、Ac<sup>3+</sup>と室温下で迅速に錯形成反応が起こり、安定に金属イオンにキレートする配位子を合成することを目的とした。DOTA は、分子全体が柔軟性の高い構造をしている。錯体形成の際に最終的には安定構造に落ち着くが、キレート剤の柔軟性が高いために安定構造になるまでに時間がかかり、反応を遅くしていると我々は考えた。しかしながら、剛直すぎるとキレートする際に金属イオンにうまくフィット出来ず安定性が低下する。そこで、キレート剤の構造に剛直な部分を取り入れつつ、柔軟にフィット出来る部位も取り入れたキレート配位子を用いることにした。

### 3. 研究の方法

研究は以下のステップで行った。

- (1) 剛直部位と柔軟部位をもつ9座キレート配位子の合成と同定、及び基礎物性の評価
- (2) 9座キレート配位子と各種ランタノイドイオンとの錯形成反応及び得られた化合物の同定
- (3) 錯安定度の測定と評価
- (4) Gd<sup>3+</sup>錯体の細胞及び動物への投与と安全性評価

### 4. 研究成果

(1) 剛直部位と柔軟部位をもつ9座キレート配位子の合成と同定、及び基礎物性の評価  
+3価のランタノイドイオンやアクチノイドイオンは配位数が8または9をとるものが多い。そこで、今回は配位数が9になるようキレート配位子(以降、H<sub>3</sub>TPTC、図1)を合成した。キレート配位子は、C<sub>3</sub>対称をとる形になるように設計した。そこで、剛直部位としてトリアミノシクロヘキササン骨格を用い、3つのピコリン酸アームが結合した配位子を新たに合成した。得られた化合物の構造は、単結晶 X 線結晶構造解析及び NMR を用いて同定し、目的のキレート配位子が得られたことを確認した。さらに、酸塩基滴定により、この配位子の酸解離定数を決定した。この配位子では、強酸性条件下において、H<sub>3</sub>TPTC にさらに H<sup>+</sup>が3つ結合した状態になっており、ここから4段階のプロトンの解離の反応が進行し、その pK<sub>a</sub>の値は 3.7-9.8 となることが分かった。

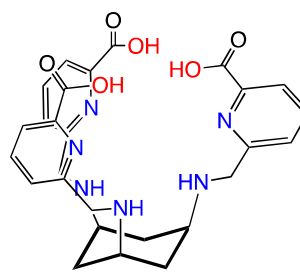


図 1. H<sub>3</sub>TPTC の構造

- (2) 9座キレート配位子と各種ランタノイドイオンとの錯形成反応及び得られた化合物の同定  
・キレート配位子と La<sup>3+</sup>との錯体合成

Ac<sup>3+</sup>の模擬として、同族の La<sup>3+</sup>を用いて錯体合成を行った。La<sup>3+</sup>と TPTC との反応は室温、水中で即座に起こることが分かった。得られた化合物について、各種分光法により La<sup>3+</sup>と TPTC とが 1:1 の錯体を形成していることが判明した。なお、得られた化合物の全体電荷はゼロであったため、反応中に H<sub>3</sub>TPTC から 3 つの H<sup>+</sup>が脱離していることが分かった。単結晶エックス線結晶構造解析を実施したところ、得られた錯体は 10 配位構造をとっており、9 座を 1 分子の TPTC が占め、残りの 1 座は隣接する La(TPTC)ユニットのカルボキシ基の酸素原子が配位していることが判明した。したがって、この錯体は La(TPTC)が 2 量化した [La(TPTC)]<sub>2</sub> になっていることが分かった。水溶液中の <sup>1</sup>H NMR スペクトルでは、錯体が C<sub>3</sub>対称性を有していることが分かった。このことから、水溶液中では単量体になり、空いた配位座には溶媒分子が配位しているものと考えられる。そのため、この配位子を用いた場合、イオン半径の大きい La<sup>3+</sup>や Ac<sup>3+</sup>では TPTC の他に新たな分子が配位できる部位が存在することが分かった。

### ・キレート配位子と Ce<sup>3+</sup>から Lu<sup>3+</sup>までのランタノイド、Y<sup>3+</sup>との錯体合成

周期表における Ce<sup>3+</sup>から Lu<sup>3+</sup>までのランタノイド、及び Y<sup>3+</sup>を用いて、H<sub>3</sub>TPTC との反応により錯体を新しく合成した。錯体は全て水中、室温下で容易に生成することが分かった。得られた錯体については、単結晶 X 線結晶構造解析により構造を同定した。図 2 に Y<sup>3+</sup>を用いて得られた錯体、[Y(TPTC)]の構造を示す。興味深いことに、La<sup>3+</sup>の錯体が 10 配位構造であったのに対し、Ce<sup>3+</sup>から Lu<sup>3+</sup>、及び Y<sup>3+</sup>の錯体は全て単量体で 9 配位構造をとることが分かった。これらのイオンにおいては 9 座全てを TPTC が占め、錯体は大まかに C<sub>3</sub> 対称性を有していることが分かった。ランタノイドと TPTC の配位原子との結合距離は、原子番号が大きくなるにつれて減少しており、イオン半径の減少とともに直線的に減少することが分かった。これは、結合距離の減少がイオン半径の減少によるものであることを示している。水溶液中での構造の情報を得るために、反磁性である Y<sup>3+</sup>を用いて、水溶液中での <sup>1</sup>H NMR 測定を行った。その結果、錯体が単結晶 X 線結晶構造解析で得られた結果と同様に C<sub>3</sub> 対称性を有していることが分かった。このことは、得られた錯体は、水溶液中でも構造を保持していることを示唆している。

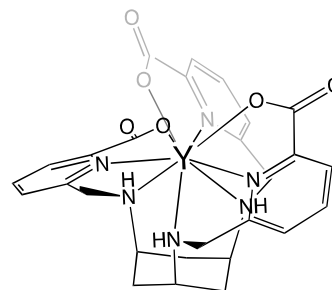


図 2. [Y(TPTC)]の構造

### (3) 錯安定度の測定と評価

ランタノイドのうち、La<sup>3+</sup>、Eu<sup>3+</sup>、Gd<sup>3+</sup>、Dy<sup>3+</sup>、Lu<sup>3+</sup>、及び Y<sup>3+</sup>を用いて、TPTC が配位した錯体について安定性を評価した。この実験では、水溶液中で錯体を形成させた後、塩基を加えてその pH 変化を調べることによって錯安定度定数を導出した。錯安定度定数は、La<sup>3+</sup>を用いた場合、logK<sub>ML</sub> = 11.7 で最も低い値を示し、Eu<sup>3+</sup>以降のランタノイドイオン、及び Y<sup>3+</sup>においては logK<sub>ML</sub> = 13.7-15.1 であった。この結果、今回用いたキレート配位子では、Gd<sup>3+</sup>に対する安定度定数が La<sup>3+</sup>に比べて 1000 倍程度高いことが分かった。また、このキレート配位子は Gd<sup>3+</sup>等の周期表の f ブロック元素のうち、真ん中から後半に位置する元素群に適合したキレート配位子である事がわかった。単結晶 X 線結晶構造解析の結果では、原子番号の増加とともに直線的に結合距離が短くなる傾向が見られたが、錯安定度定数においては、ランタノイドの後ろのほうに位置するランタノイドについては、イオン半径が小さくとも安定性については大きな変化が無いことが分かった。続いて、安定度定数の最も小さい La<sup>3+</sup>について得られた化合物の水溶液中での安定性について紫外可視吸収スペクトルを用いて調べた。純水中では錯体の吸収スペクトルの時間変化が見られなかったため、この錯体は純水中では安定であることが分かった。一方、pH7 のリン酸緩衝溶液中および pH4 の酢酸緩衝溶液中では、錯体の吸収スペクトルが時間とともに変化し、最終的に配位子のみの吸収スペクトルと一致した。このことから、緩衝溶液中では、時間とともに配位子からランタンが解離していくことが判明した。酢酸緩衝溶液中でさらに詳しく反応を調べたところ、同一の pH では、緩衝溶液中の酢酸および酢酸イオンの濃度が高いほど、解離反応が迅速に起こることが分かった。一方で、pH を変化させても吸収スペクトルの時間変化には、大きな違いが無いことが判明した。配位子からのランタンの解離には、緩衝剤が大きな影響を及ぼしていることが分かったが、その反応機構について、詳細に調べる必要があることが分かった。

### (4) Gd<sup>3+</sup>錯体の細胞及び動物への投与と安全性評価

マウス肝細胞を用いて細胞障害性を調べた。HEPES 緩衝液のみ、キレート剤を HEPES 緩衝液に混合した溶液、本研究で得られた[Gd(TPTC)]を HEPES 緩衝液に混合した溶液、[Gd(triflate)<sub>3</sub>]を HEPES 緩衝液に混合した溶液を用いた。15000 cell あたり [Gd(triflate)<sub>3</sub>]を 10 mM 加えた場合、生存率は 20%程度であったが、キレート剤のみでは 70%程度、[Gd(TPTC)]では 60%程度になり、キレート剤及び[Gd(TPTC)]は、[Gd(triflate)<sub>3</sub>]に比べて大幅に高い生存率を示した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 石田陽太、永田光知郎、吉村崇
2. 発表標題 リアミノシクロヘキサソ骨格を有する三脚型キレートランタノイド錯体の合成
3. 学会等名 錯体化学会第69回討論会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 永田光知郎、矢島辰雄、吉村崇
2. 発表標題 ラリアート型クラウンキレーターによる放射性アルカリ土類金属錯体の合成
3. 学会等名 錯体化学会第69回討論会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 永田光知郎、神田晃充、矢島辰雄、吉村崇
2. 発表標題 ピコリン酸アームを有する九座配位子を用いたランタノイド錯体の合成と構造
3. 学会等名 錯体化学会第70回討論会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	兼田 加珠子 (中島加珠子)  (Kaneda Kazuko)  (00533209)	大阪大学・放射線科学基盤機構・特任准教授(常勤)    (14401)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	永田 光知郎  (Kojiro Nagata)  (10806871)	大阪大学・放射線科学基盤機構附属ラジオアイソトープ総合センター・助教    (14401)	
研究分担者	豊嶋 厚史  (Atsushi Toyoshima)  (40414578)	大阪大学・放射線科学基盤機構・特任教授（常勤）    (14401)	
研究分担者	渡部 直史  (Tadashi Watabe)  (90648932)	大阪大学・医学系研究科・助教    (14401)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関