

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 31 日現在

機関番号：82401
 研究種目：基盤研究(C)
 研究期間：2012～2014
 課題番号：24550127
 研究課題名(和文) [11C] 二酸化炭素を用いた常圧下における高速 [11C] カルボン酸合成法の開発

 研究課題名(英文) Rh(I)-Mediated rapid [11C]carboxylation using [11C]CO₂ and organoborane at atmospheric pressure

 研究代表者
 土居 久志 (Doi, Hisashi)

 独立行政法人理化学研究所・ライフサイエンス技術基盤研究センター・チームリーダー

 研究者番号：00421818

 交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,300,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、サイクロトロンから払い出される[11C]二酸化炭素を用いて、わずか1段階で目的とする[11C]カルボン酸体を合成するための標識化学反応の開発に取り組んできた。基本反応として、Rh(I)触媒下にフェニルボロン酸ピナコールエステルを基質とした[11C]安息香酸の合成を設定し、常圧下における本[11C]カルボキシル化反応の最適化を行った。反応条件を鋭意検討した結果、アセトン溶媒中、約-98℃の低温下で[11C]二酸化炭素を冷却濃縮し、続いて、Rh(I)触媒の存在下、わずか3-5分の反応時間で、目的の[11C]安息香酸を38%～57%の収率(崩壊補正放射化学収率)で得ることができた。

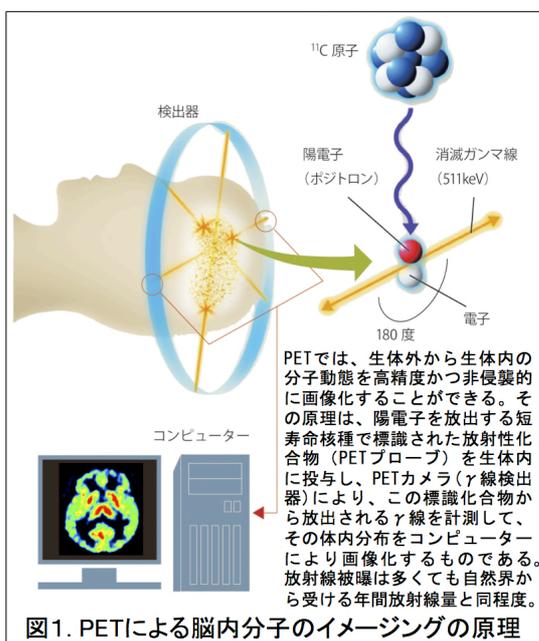
研究成果の概要(英文)：Transition-metal-mediated rapid [11C]carboxylation using organoborane and [11C]carbon dioxide ([11C]CO₂) produced in a cyclotron were explored, for developing an efficient route for the 11C-labeling of carboxyl groups. After extensive experiments, we found that the use of acetone was more effective for [11C]CO₂-trapping at temperatures of ca. -98 °C. As a result, [11C]carboxylation was promoted at atmospheric pressure with a short reaction time of 3-5 min using a Rh(I) catalyst. The desired [11C]benzoic acid was obtained in the decay-corrected radiochemical yield of 38%-57%.

研究分野：PET化学

キーワード：PET化学 [11C]カルボキシル化 [11C]二酸化炭素 常圧化学反応 高速化学反応 有機金属化学 マイクロスケール反応器 PET分子イメージング

1. 研究開始当初の背景

陽電子放射断層画像撮影法 (PET) は、極微量の放射性化合物 (PET プローブ) を動物やヒトに投与して、生体内での分子の動態を高精度かつ定量的に画像化する技術である。本研究の源流は、生物活性化合物の開発と陽電子放出核種での標識化であり、優れた PET プローブの創製が一気通貫型 PET 分子イメージング研究の成否の鍵となる。すなわち、本分野では、真の原動力として化学者の力量が試されていると言える。図1に PET の原理を簡単にまとめた。現在 PET は、がん診断をはじめとした人間ドックや、薬物動態および創薬研究における活用が始まっている (2014 年 8 月現在 ; 国内 PET 関連施設は 350 箇所超)。



PET で用いる陽電子放出核種として、代表的なものに、 ^{11}C 、 ^{13}N 、 ^{15}O 、 ^{18}F 、 ^{76}Br (半減期は、それぞれ、20.4 分、9.96 分、2.07 分、109.7 分、16.2 時間) などがある。これらの核種を薬剤や生体機能の探索分子に標識する事ができれば、PET 法により生体の *in vivo* 分子情報の抽出が可能となる。しかしながら、PET プローブの合成には、通常とは異なった化学合成手法が必要である。例えば、有機化学的に最も重要な核種である ^{11}C の場合、その半減期はわずか 20 分である。そのため、 ^{11}C の導入は合成の最終段階で、反応、精製、生体への投与までを半減期の 3 倍の 60 分以内で行う必要がある。その結果、 ^{11}C の導入に許される反応時間はわずか 5 分程度である。また、サイクロトロンで製造できる陽電子放出核種の量は、超微量 (多くても数 μg 程度) である。このような短時間かつ超微量という極限の有機化学においては、短寿命放射性核種に適応した新たな化学反応の開発が必要となっている。さらに、合成作業中の放射線被曝の防止や、動物やヒト投与に向けた PET プローブの品質も担保しないとイケない。こ

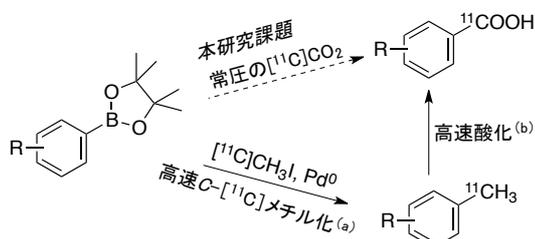
のように、PET 化学の研究概念は、従来の有機化学と意を同じくしつつも、放射線防護と生体投与のための緊張感が加わる。本研究では従来の有機化学にはないこれらの問題解決にも挑む必要がある。

このような研究背景の下、本研究では、力量ある ^{11}C -標識反応の開発を目的として、 ^{11}C 核種の特徴 (短寿命性: 半減期が 20 分、極微量: 最大で数 μg) を考慮した、常圧下の ^{11}C 二酸化炭素を用いたわずか数分で終結する高速 ^{11}C カルボン酸合成法を開発することを企画した。

2. 研究の目的

カルボニル官能基は多くの生物活性有機化合物の基本骨格に含まれており、PET 分子イメージングの観点からは、本官能基の実用的な ^{11}C -標識化は急務の課題となっている。本研究では、常圧の ^{11}C 二酸化炭素の使用を前提条件として、有機ホウ素化合物を出発原料とした ^{11}C カルボン酸体の高速合成法を実現したいと考えた。とくに、サイクロトロンで製造された ^{11}C 二酸化炭素の直接利用は、PET プローブ合成の観点からは時間的にも放射能の減衰や比放射能の損失がなく、最も理想的である。もし本研究提案のように、常圧下の反応が実現できれば、オートクレーブなどの高圧装置が不要となり PET プローブ合成装置もシンプルなものになる。また、高圧反応ゆえに問題となっていた放射性核種の漏洩も、今回の様な常圧下においてはその心配もほとんどないと考えたからである。

本研究と関連して、著者はこれまでに有機ホウ素化合物を用いた Pd(0) 触媒による高速 ^{11}C メチル化反応の開発を行ってきた経緯がある (図2参照)。もし本件の高速 ^{11}C カルボン酸合成法が実現できれば、有機ホウ素化合物を共通の出発原料として、 ^{11}C メチル化体、および、 ^{11}C カルボン酸体の双方の合成が実現できることになる。すなわち、標識合成の多様性が広がることが期待される。



これまでは、高速 ^{11}C メチル化^(a)および高速酸化により ^{11}C 安息香酸体の合成を行ってきた (^{11}C]SC-62807 の合成実例あり)^(b)。

(a) 高速 ^{11}C メチル化の総説: M. Suzuki, H. Doi, H. Koyamaら, *Chem. Rec.* 14, 516-541 (2014).

(b) M. Takashima-Hirano, H. Doi, M. Suzuki ら, *Bioorg. Med. Chem.*, 19, 2997-3004 (2011).

図2. 有機ホウ素化合物を共通原料とした ^{11}C 安息香酸の合成戦略

3. 研究の方法

著者は、サイクロトロンから払い出される ^{11}C 二酸化炭素を直接用いて、有機金属化学的手法によるわずか 1 段階で目的とする ^{11}C カルボン酸体を合成したいと考えた。本

研究を推進するにあたり、2006年に岩澤らが報告した常圧下の二酸化炭素と有機ホウ素化合物を用いた Rh(I)触媒によるカルボキシル化法 (K. Ukai, M. Aoki, J. Takaya, N. Iwasawa, *J. Am. Chem. Soc.* 128, 8706–8707, 2006.) に着目した。しかしながら、岩澤らの方法では、二酸化炭素は過剰量を使用し、反応時間は10–30時間と長時間である。すなわち、本反応の PET 放射性条件下への適用拡大のためには、 ^{14}C 核種の半減期 (20.4 分) を考慮し、かつ、極微量の ^{14}C 二酸化炭素 (数 μg) の使用条件下という ^{14}C -標識化学の特殊性に適合する ^{14}C カルボキシル化法を開発する必要があった。

まず、基本反応として、Rh(I)触媒下にフェニルボロン酸ピナコールエステル **1** を基質とした ^{14}C 安息香酸 ^{14}C -**2** の合成を設定し、本 ^{14}C カルボキシル化の反応条件の最適化を行うこととした (図3)。ここでは、実際の PET 放射性条件下において、常圧下の ^{14}C 二酸化炭素の使用を前提条件として、反応時間は長くても 10 分以内に終結することを目指して、反応条件の探索を行うこととした。

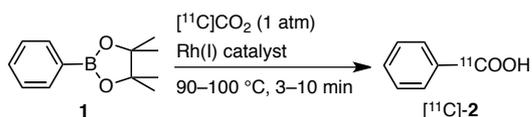


図3. フェニルホウ素化合物を基質とした ^{14}C 安息香酸の合成検討

一方で、本反応を実施するにあたり、その重要課題の一つとして、窒素ガス気流下に含まれる極微量の ^{14}C 二酸化炭素を効率良く濃縮する必要性があった。そこで、具体的な実験方針として、以下の2通りの手法を企画した。すなわち、(1) ^{14}C 二酸化炭素をモレキュラーシーブに吸着濃縮し、常圧下で ^{14}C カルボキシル化反応を実施する方法、(2) 低温下で ^{14}C 二酸化炭素を冷却濃縮し、常圧下で ^{14}C カルボキシル化反応を実施する方法の2通りである。

4. 研究成果

(1) ^{14}C 二酸化炭素をモレキュラーシーブに吸着濃縮して、常圧下での ^{14}C カルボキシル化法の探索について

^{14}C 二酸化炭素の反応溶液内への回収率 (捕獲効率) を向上させるために、まずは、サイクロトロンで製造した約 30 GBq の ^{14}C 二酸化炭素をモレキュラーシーブ (MS13X) に吸着濃縮させた。次に、モレキュラーシーブを加熱し、He ガスを通して、フェニルホウ素 **1**、 $[\text{Rh}(\text{cod})\text{OH}]_2$ (cod: シクロオクタジエン)、1,3-ビス (ジフェニルホスフィノ) プロパン (dppp) を含むマイナス 10 °C に冷却した DMF 溶液 (500 μL) に吹き込んだ。本法において、溶液内に捕獲した ^{14}C 二酸化炭素の放射能は約 10–15 GBq であった。続いて、本溶液を 100 °C で、10 分間反応させた。得られた反応溶液を分取 HPLC に供し、目的の ^{14}C 安息香酸 ^{14}C -**2** を単離し、 ^{14}C -**2** の放射能を測定し

た。本件の全合成時間は 40 分以内であった。収率は、反応開始当初に溶液内に捕獲した ^{14}C 二酸化炭素の放射能に基づいて、 ^{14}C -**2** の崩壊補正放射化学収率 (decay-corrected radiochemical yield: ^{14}C 核種の半減期 20.4 分の時間減衰を考慮した収率。以下、DCY と略) を算出した。なお、比較検討のために、CsF を添加した反応条件も検討した。本反応探索の結果を表1に示した。

表1. 常圧下の ^{14}C CO₂ を用いた ^{14}C 安息香酸の合成: 反応最適化1

エントリー	フェニルホウ素 1 (μmol)	$[\text{Rh}(\text{cod})\text{OH}]_2$ (μmol)	dppp (μmol)	CsF (μmol)	捕獲した ^{14}C CO ₂ に 基づいた DCY ^a (%)
1	50	11	24	260	2
2	50	11	24	-	30
3	70	11	24	80	11
4	70	11	24	-	41
5	150	11	24	80	15
6	150	22	48	80	17
7	150	11	24	-	46
8	150	11	-	80	0
9	150	11	-	-	0

^aサイクロトロンで製造した約 30 GBq の ^{14}C 二酸化炭素を、He ガス気流下に、まずモレキュラーシーブ (MS13X) に吸着濃縮させ、次に、He ガス気流下に、-10 °C に冷却させた有機ホウ素基質 **1**、Rh 触媒、CsF 添加剤を含む DMF 溶液 (500 μL) に吹き込んで、溶液内に捕獲した。このとき溶液内の ^{14}C 二酸化炭素は、約 10–15 GBq であった。反応は、100 °C で、10 分間反応を行った。^b目的の ^{14}C 安息香酸 ^{14}C -**2** を HPLC により分離精製し、単離した ^{14}C -**2** の放射能を測定した。反応開始当初、溶液内に捕獲した ^{14}C 二酸化炭素の放射能に基づいて、 ^{14}C 核種 (半減期: 20.4 分) の減衰補正を施して崩壊補正放射化学収率 (DCY) を算出した。

エントリー1と2、3と4、5–7を比べてわかるように、本 ^{14}C カルボキシル化反応の結果は、岩澤らの報告内容とは異なったものとなった。すなわち、本反応では、CsF を加えない時の方が、より良い収率を与えることがわかった (DCY: 30–46%)。PET 研究における標識反応では、放射性核種の効果的な標識 (導入) を目的としているため、ここでは、岩澤らの提案のように Rh 触媒の使用量は触媒量では行っていない。本 ^{14}C カルボキシル化では、反応を加速・促進するためにも、当量反応で行っている。そのため、反応機構も異なっていると思われる。事実、本 ^{14}C カルボキシル化反応では、CsF の添加は反応を阻害する結果となった (反応機構の考察は後述)。最終的に、本反応探索においては、表1のエントリー7の条件が最適だと判断した (DCY: 46%)。本反応では、生成物は目的の ^{14}C 安息香酸 ^{14}C -**2** のみであり、副生成物はほとんどなかった。なお、エントリー8と9のように、dppp 配位子を添加しなかった場合は、目的の ^{14}C 安息香酸 ^{14}C -**2** は全く得られなかった。

続いて、反応溶媒、反応温度、反応時間の検討を行った (表2)。まず、DMF 溶媒中、10 分の反応時間で本 ^{14}C カルボキシル化反応を行った時、60 °C よりも 100 °C で反応を行った方が良い結果が得られた (エントリー1と2)。次に、反応時間の短縮を検討した。その

結果、反応時間はわずか3-5分でも、47-50%の収率で得られることがわかった(エントリー3と4)。一方で、DMFと同じアミド系溶媒であるDMPUを用いて反応を行ってみたが、顕著な結果は得られなかった(エントリー7)。なお、岩澤らの反応条件では、溶媒に1,4-dioxaneを用いているが、本¹¹Cカルボキシル化反応においては、¹¹C-2の収率はわずか5%となった(エントリー8)。表2の反応探索においても、全合成時間は40分以内で行った。

表2. 反応溶媒、反応温度、反応時間の検討: 反応最適化2

エントリー ^a	溶媒	反応温度 (°C)	反応時間 (分)	捕獲した ¹¹ C ₂ CO ₂ に基づいたDCY ^b (%)
1	DMF	60	10	15
2	DMF	100	10	46
3	DMF	100	5	47
4	DMF	100	3	50
5	DMPU	100	10	35
6	THF	60	10	21
7 ^c	1,4-dioxane	60	10	5

^aサイクロトロンで製造した約30 GBqの¹¹C二酸化炭素を、Heガス気流下に、まずモレキュラーシーブ(MS13X)に吸着濃縮させ、次に、Heガス気流下に、-10°Cに冷却させた有機ホウ素基質1 (150 μmol)、[Rh(cod)OH]₂ (5.0 μmol)、dppp (10 μmol)を含む溶液(500 μL)に吹き込んで、溶液内に捕獲し反応を行った。このとき溶液内の¹¹C二酸化炭素は、約10-15GBqであった。^b目的の¹¹C安息香酸¹¹C-2をHPLCにより分離精製し、単離した¹¹C-2の放射能を測定した。反応開始当初、溶液内に捕獲した¹¹C二酸化炭素の放射能に基づいて、¹¹C核種(半減期:20.4分)の減衰補正を施して崩壊補正放射化学収率(DCY)を算出した。^c¹¹C二酸化炭素の1,4-dioxane溶液への捕獲は、溶媒の凝固点を考慮して、室温で行った。

本¹¹Cカルボキシル化反応における予想される反応機構をスキーム1に示した。なお、本¹¹Cカルボキシル化反応は、当量反応であり、かつ、CsFの添加は不要であった事実を踏まえて、反応機構を考察した。

スキーム1. 本¹¹Cカルボキシル化の予想される反応機構

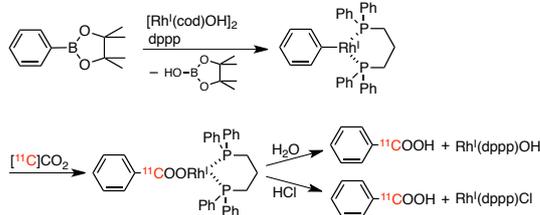


表2のエントリー4の反応条件に基づいて、その他のビニルホウ素化合物(スチレン)(3)およびアリールホウ素化合物(アニリン、フェノール)(4, 5)に対する¹¹Cカルボキシル化を行った。その結果、目的の¹¹Cカルボン酸体(¹¹C-6, ¹¹C-7, ¹¹C-8)が16-40%の崩壊補正放射化学収率で得られることがわ

かった(図4)。

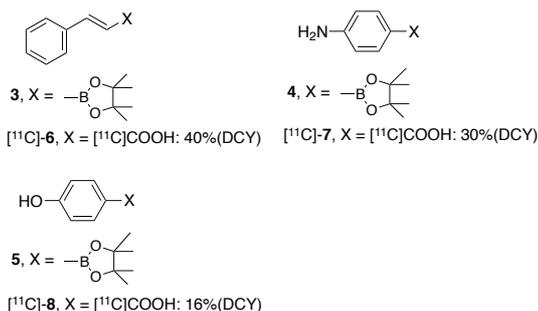


図4. その他の有機ホウ素基質に対する¹¹Cカルボン酸体の合成

(2) 低温下で¹¹C二酸化炭素を冷却濃縮して、常圧下での¹¹Cカルボキシル化の探索について

実のところ、表1および表2で行った¹¹C安息香酸¹¹C-2の合成では、その比放射能は0.1-5.0 GBq/μmolの比較的低い値となった。恐らく、¹¹C二酸化炭素を吸着濃縮させるために用いたモレキュラーシーブ(MS13X)には、どうしても除き切れない¹²C二酸化炭素が存在するため、これが比放射能の低下の原因であると考えられた。なお、反応で用いたモレキュラーシーブ(MS13X)は、あらかじめ、真空条件下、加熱処理を行っているのが、これ以上の厳密な脱¹²C二酸化炭素の操作も難しいことから、本手法に関しては、これ以上の比放射能の向上は期待できないと判断した。

そこで、マイナス98°Cに冷却したアセトン溶媒に¹¹C二酸化炭素を吹き込んで冷却濃縮する手法に着手した。この冷却濃縮法を鋭意検討した結果、¹¹C二酸化炭素の捕獲効率は67%にまで向上した。例えば、約30 GBqの¹¹C二酸化炭素を用いた場合、約20 GBqの¹¹C二酸化炭素をアセトン溶媒に捕獲することができた。捕獲した¹¹C二酸化炭素は、フェニルホウ素1を基質として、[Rh(cod)OH]₂/dppp(1:2)を用いて、90°Cで5分間反応させた。その結果、目的の¹¹C安息香酸¹¹C-2を38-57%の崩壊補正放射化学収率で得ることができた。加えて、¹¹C-2の比放射能は、約20 GBq/μmolにまで向上した。以上の結果から、前述の¹¹C二酸化炭素をモレキュラーシーブに吸着濃縮させる方法よりも、本件のように冷却したアセトン溶媒中に¹¹C二酸化炭素を冷却濃縮させる手法の方が、比放射能が向上することがわかった。

(3) 究極目標であるマイクロスケール反応器を用いた¹¹Cカルボキシル化の探索について

実のところ、本研究推進中にも、¹¹Cカルボン酸官能基の合成法の開発は、国際競争が激しくなってきた。実際に、Cu触媒下、¹¹C二酸化炭素を用いた¹¹Cカルボキシル化反応の報告例も出た(P.J. Rissら、*Angew. Chem. Int. Ed.* 51, 2698-2702, 2012.)。そのため、本

研究では、PET 化学反応における究極目標とも言える「マイクロスケール反応器を用いた¹¹Cカルボキシル化法の実現」という、当初の研究目的や目標をさらに高いレベルに置き換えることとした。

マイクロスケール反応器の開発に関しては、本科研費の研究内容とは別に共同研究契約を締結している(株)化繊ノズル製作所との共同下に行った。本件に関しては、内部容量が 20 μL の¹¹C-標識用マイクロスケール反応器の試作機を二つ開発した。しかしながら、ヘリウム気流下(流速:約 30 mL/min)に含まれる極微量の¹¹C二酸化炭素(数ナノモル程度、0.1-0.5 マイクログラム程度)を本マイクロスケール反応器に捕獲することは大変難しく、例えば、反応器をマイナス 195°C に冷やしても¹¹C二酸化炭素の捕獲はほとんど向上しなかった。そこで、反応器内に極微量のシリカゲルやモレキュラーシーブを添加することで、¹¹C二酸化炭素の捕獲は見違えるように向上したが、残念ながら、それに続く、Rh(I)触媒を用いた¹¹Cカルボキシル化反応はほとんど進行しなかった。以上が、現時点での進捗状況である。

マイクロスケール反応器における¹¹C-標識化反応の開発は、当分野における喫緊の課題でもある。今後、とくに、¹¹C二酸化炭素を効率良く捕獲するためにも、マイクロスケール反応器の形状を改良するなど、引き続き、鋭意研究を続けていきたい。

以上、本研究推進中には、残念ながら、究極目標であるマイクロスケール反応器を用いた¹¹Cカルボキシル化法を実現するには至らなかった。しかしながら、本研究活動を通じて、基本となる 500μL スケールの¹¹Cカルボキシル化法の開発は、ほぼ達成できたと言える。本件は、従来型の標識用合成装置を用いた手法であるので、当分野の一般性の観点からは、むしろ実用性の高い手法であると考えられる。今後、本研究成果を学会等で発表していく予定である。加えて、本¹¹Cカルボキシル化法の最適化条件を早急に完成させて、なるべく平成 27 年度中に学術論文の作成・発表を行っていきたく考えている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕

なし

〔学会発表〕(計 2 件)

- ① 後藤美樹、倉井佐知、鈴木正昭、土居久志、「Rh 触媒による¹¹C二酸化炭素を用いた¹¹Cカルボン酸体の高速合成」、第 10 回日本分子イメージング学会、タワーホール船橋(東京)、5月20-21日(2015)。
- ② 土居久志、「PET イメージング創薬の基盤となる標識化学技術:低分子、中分子、生体分子の PET プローブ化法」、日本薬学会

医薬化学部会 第 32 回メディシナルケミストリーシンポジウム、神戸国際会議場(神戸)、11月26-28日(2014)。招待講演

- ③ H. Doi, "Application of C-11 Intermediates and Methodology: ¹¹C-labeling methods by C-C bond formation using [¹¹C]CH₃I mediated by Pd⁰ catalysts", C-11 Workshop in pre-symposium in The 20th International Symposium on Radiopharmaceutical Sciences (ISRS 2013), International Convention Center (ICC) Jeju, Jeju, Korea, May 12-17 (2013). Invited lecture

〔図書〕

なし

〔産業財産権〕

なし

〔その他〕

ホームページ
理化学研究所ライフサイエンス技術基盤研究センター・標識化学研究チーム
<http://www.clst.riken.jp/ja/science/labs/bdi/chem/lct/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

土居 久志 (Doi, Hisashi)
理化学研究所ライフサイエンス技術基盤研究センター・標識化学研究チーム・チームリーダー
研究者番号: 00421818

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

倉井 佐知 (Kurai, Sachi)
理化学研究所ライフサイエンス技術基盤研究センター・標識化学研究チーム・リサーチアソシエイト
研究者番号: なし

後藤 美樹 (Goto, Miki)
理化学研究所ライフサイエンス技術基盤研究センター・標識化学研究チーム・リサーチアソシエイト
研究者番号: 60565779