

令和 4 年 10 月 18 日現在

機関番号：13701

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K06575

研究課題名(和文) 高い脳内移行性を有する非環式レチノイド類の11C標識PETプローブの創製

研究課題名(英文) Synthesis of 11C-labeled acyclic retinoids with high brain permeability

研究代表者

古山 浩子 (Koyama, Hiroko)

岐阜大学・工学部・准教授

研究者番号：50402160

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：全-trans-レチノイン酸(ATRA)およびその人工類縁体は核内受容体の活性化を通して抗がん作用を示すが、近年、中枢神経系(CNS)変性疾患に対する改善効果にも大きな注目が集まっている。本研究では、ATRAの化学的および代謝不安定性を鑑み、より安定な非環式レチノイドに着目し、パラジウム錯体を介する高速カップリング反応による高効率な11C標識化に成功するとともにラットおよびサルを用いた脳PET研究により高い脳移行性を観測した。これらの成果は、非環式レチノイド類の脳機能研究を助長する重要な知見となる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、光や酸素に不安定なポリオレフィン構造から成り、化学的にも生物学的にも取扱いの難しい天然型環式レチノイドに代わるべく安定な非環式レチノイドの11C標識化と脳移行性の評価を主課題とし、実際に、パラジウム0価錯体を介する独自の高速カップリング反応により11C標識化に成功するとともに、さらにPET研究により高い脳移行性を見出した。脳移行性の発見は、非環式レチノイド類のこれまでのがん研究に、新たな脳研究分野を加え、疾患診断や治療薬の開発を助長する重要な知見であり、学術的および社会的影響は大きい。

研究成果の概要(英文)：All-trans-retinoic acid (ATRA) and its synthetic analogues (retinoic acids, RAs) play roles in inhibiting cancer development through activating nuclear receptors. Recently, the interest of RAs has been focused on their neuroprotection in central nervous system injury. In view of the chemical and metabolic instability of ATRA, we successfully synthesized the 11C-labeling of acyclic retinoid, which has the higher stability than ATRA, based on our original Palladium(0)-mediated rapid cross-coupling. PET studies on the both rat and monkey brains demonstrated that the 11C-labeled acyclic retinoid showed the high brain permeability. These results are important findings that could lead a retinoid drug candidate potential for chemotherapy of neurodegeneration.

研究分野：医歯薬学

キーワード：非環式レチノイド(ペレチノイン) 高速クロスカップリング 11C標識 PET 脳イメージング 血液脳関門透過性

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

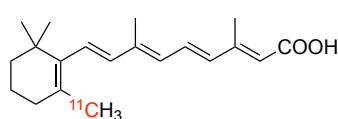
1. 研究開始当初の背景

(1) ビタミン A の代謝産物である全-*trans*-レチノイン酸 (ATRA, **1**) およびその人工類縁体 (以下, レチノイドと総称) は, 核内受容体の活性化を通して抗がん活性を示すことから, これまで癌の化学療法薬としての研究・開発が盛んに行われてきたが, 近年, レチノイドはアミロイドβの産生抑制あるいは除去機能に叩くこと, アセチルコリン系を活性化することなどが認められ, 難治性疾患であるアルツハイマー病などの中枢神経系 (CNS) 変性疾患治療薬の候補化合物として注目を集めている。

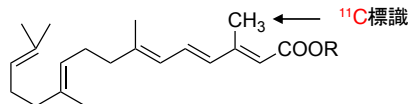
(2) CNS 関連疾患の最適治療薬の開発には, 候補化合物の脳内移行性の賦活や脳内動態の解明が重要な課題であり, これらの研究には, 候補薬を短寿命放射性核種の ^{11}C や ^{18}F (半減期は順に 20.4 分, 110 分) などで標識したのち, 生体への投与によりヒトを含めて生体丸ごとでの非侵襲的にイメージングできる陽電子断層画像撮像法 (PET) の活用が有効である。

(3) これまでに当研究グループにおいて独自の高速炭素-炭素カップリング反応を基に ^{11}C 標識した ATRA および人工レチノイドである Am80 の PET プローブ (図 1, [^{11}C]**1**, [^{11}C]**2**) が開発された^{①, ②}。ラット脳イメージングにより [^{11}C]**1** にはわずかな脳移行性が認められたが, 長い標識前駆体の合成行程やオレフィン構造の容易な異性化に伴う分離精製の煩雑さに悩まされ, 容易な酸化的代謝により生体での動態解析を複雑にさせる懸念があり, PET イメージング研究を遂行するにはこれらの問題の解決が必要となった。他の研究グループによりベキサロテンの ^{11}C 標識体 ([^{11}C]**3**) が合成され, 高い脳への移行が確認されたが, その高い脂溶性 ($\log P = 7.0$) による CNS の脂質膜への非特異的集積が問題となり, 脳内動態の詳細は依然不明のままである^③。

天然・天然型人工レチノイド:



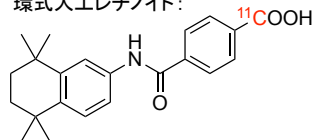
^{11}C 標識全-*trans*-レチノイン酸 ([^{11}C]**1**)



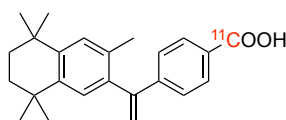
R = H: [^{11}C]非環式レチノイド ([^{11}C]ペレチノイン, [^{11}C]**4**), 本研究

R = CH₃, CH₂CH₃, Bn: [^{11}C]GGA エステルプロドラッグ ([^{11}C]**5a**, **5b**, **5c**), 本研究

環式人工レチノイド:



^{11}C 標識Am80 ([^{11}C]**2**)



^{11}C 標識ベキサロテン ([^{11}C]**3**)

図1. レチノイドPETプローブの構造式.

2. 研究の目的

(1) ATRA (**1**) と同程度の脂溶性を示し, 共役系を短縮した構造を有する人工化合物である非環式レチノイド (一般名 ペレチノイン, **4**) に着目し (**1**: $\log P = 4.7$; **4**: $\log P = 5.2$), **1** を代替する安定かつ脳内移行性の高いすぐれた PET プローブの創製を目的とした。

(2) 脳移行に対して有効な高い脂溶性を有するエステルプロドラッグ ($\log P = 7.2$) の PET プローブ化を含む。なお、静注した ^{11}C 標識エステルプロドラッグ体 [^{11}C]5 は脳に入ったのち素早く加水分解を受け、活性本体のカルボン酸体 [^{11}C]4 として核内受容体に特異的に結合するように設計した。

3. 研究の方法

(1) 非環式レチノイド及びそのエステルプロドラッグの ^{11}C 標識 PET プローブの合成

- ① トリブチルスズ置換アルデヒド合成中間体 **8** を用いて、ホーナー・ワズワース・エモンズ (HWE) 反応により *E* 体高選択的にカルボン酸保護スズ化合物標識用前駆体 **11** を合成する。
- ② 放射性 [^{11}C] ヨウ化メチルを用いて、高速クロスカップリング反応により ^{11}C 標識エステルプロドラッグ ([^{11}C]5) を合成する。
- ③ ②の ^{11}C 標識化に連続した [^{11}C]5 の強塩基性条件下の加水分解により、 ^{11}C 標識非環式レチノイド ([^{11}C]4) を合成する。実用的標識合成プロトコルを確立する。

(2) 小動物およびサル用 PET カメラの使用によるイメージング実験

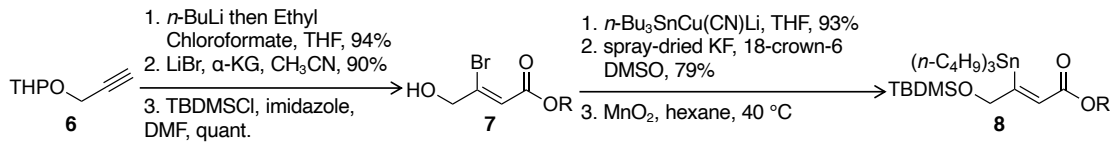
- ① 実験用ラットを用いてエステルプロドラッグ [^{11}C]5 の PET 動態撮像により脳内移行性を評価する。より代謝の遅いサルでの PET 動態撮像を行う。
- ② 実験用ラット及びサルを用いて、活性本体である [^{11}C]4 の PET 動態撮像を行う。
- ③ [^{11}C]4 のラット静脈内投与後の血中および脳ホモジナイズ中の放射性化合物をラジオ HPLC により分析する。

4. 研究成果

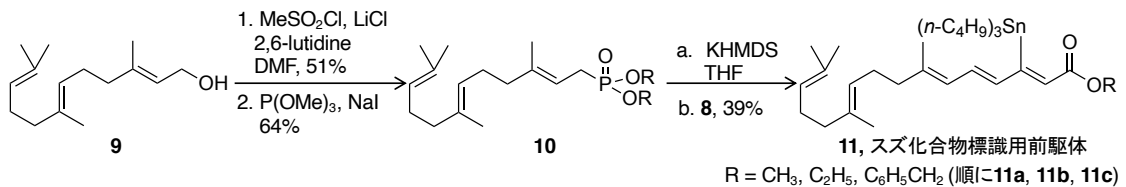
(1) 非環式レチノイド及びそのエステルプロドラッグの ^{11}C 標識 PET プローブの合成

- ① 多量に入手できる天然化合物ファルネソール **9** を出発原料として導いたホスホン酸誘導体 **10** と別途合成したトリブチルスズ置換アルデヒドユニット **8** を HWE 反応により *E* 型立体選択的に結合し、 ^{11}C 標識用スズ前駆体を短工程 (9 工程) で合成した (スキーム 1 A と B)。
- ② 放射性 [^{11}C] ヨウ化メチルを用いて、ビニル炭素上への高速クロスカップリング反応条件を適用し^④、 ^{11}C 標識非環式レチノイド ([^{11}C]4) のエステルプロドラッグが二重結合の異性化もなく立体特異的に合成された (スキーム 1 C 前半, 図 2A)。高速クロスカップリング反応に連続して強塩基性条件下でのエステルの加水分解を行うことにより、崩壊補正収率 25% で [^{11}C]4 を合成した (スキーム 1 C, 図 2B)。

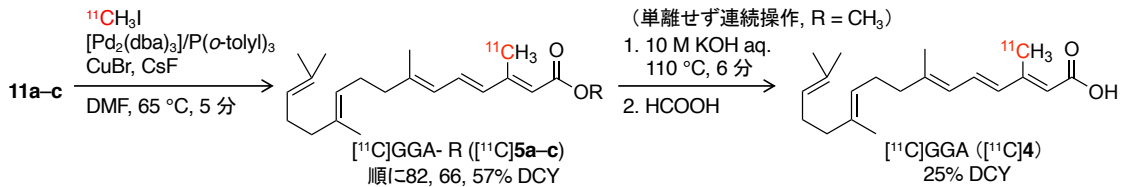
A トリブチルスズ置換アルデヒドユニット**8**の合成



B スズ化合物標識用前駆体合成



C 高速C-[¹¹C]メチル化によるベンジルエステルプロドラッグ(**5c**)の¹¹C標識化および脱保護を組み合わせた¹¹C標識非環式レチノイドの合成



スキーム1. 短工程合成、立体特異的な標識化および安定供給から成る¹¹C標識非環式レチノイド(¹¹C**4**)および¹¹C標識エステルプロドラッグ(¹¹C**5**)の合成。(DCY: decay corrected yield, 崩壊補正収率)

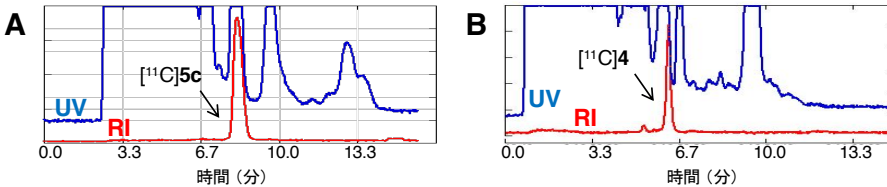


図2.スズ化合物標識用前駆体**11c**を用いた高速C-[¹¹C]メチル化による非環式レチノイドベンジルエステル(**5c**)の¹¹C標識後(A), およびスズ化合物標識前駆体**11a**を用いた高速C-[¹¹C]メチル化と脱保護による非環式レチノイド(**4**)の¹¹C標識後(B)の分取HPLCカラムを用いたHPLC分析結果(上側:UV(280 nm);下側:RI). 構造異性体の生成を伴うことなく構造特異的に合成される。

(2) 小動物およびサル用 PET カメラの使用によるイメージング実験

- ① エステルプロドラッグ [¹¹C]**5c** のラット脳イメージング実験を行ったところ、脳への僅かな取り込みが観察された後 (ラット: 0.6 SUV; サル: 0.33 SUV), 10 分程度の時間差を経て、取り込みが再開された (図 3A)。この結果は、サル脳においてより顕著であった。
- ② ¹¹C 標識カルボン酸 [¹¹C]**4** を別途調整し、ラットおよびサル脳のイメージングを行ったところ、エステル体で観察された時間差が大きく短縮され、その後脳移行が増大しつづける経時変化が観測された (図 3B, ラット: 1.4 SUV, 60 分時点; サル: 3.2, 90 時点)。さらに、この放射能時間曲線をよく見ると本格的な脳移行が開始するまでになお数分の時間差が見られた。
- ③ [¹¹C]**4** のラット静脈内投与後の血液および脳ホモジネートのラジオ HPLC 分析では、も

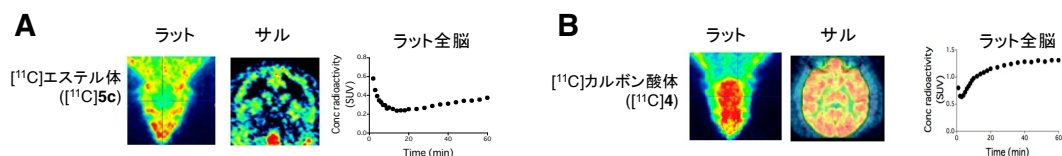


図3. ^{11}C 標識ベンジルエステルプロドラッグ (^{11}C 5c, **A**) および ^{11}C 標識非環式レチノイド (^{11}C 4, **B**) を用いたラットおよびサル脳の平均イメージング図とラット全脳における放射能時間曲線. (SUV: standard uptake value, 組織放射能)

との ^{11}C 4 に比べてかなり高い極性化合物への変化が観測された。

なお、上記の実験用ラットおよび実験用サルを用いた PET 実験は、国立長寿医療研究センターおよび量子科学技術研究開発機構にて行われた。

(3) 結語

本研究により、パラジウム錯体を介する高速カップリング反応を適用した非環式レチノイドの ^{11}C 標識に対応するスズ化合物標識用前駆体を短工程で合成し、つづく ^{11}C 標識により、PET イメージング研究に供給できる十分量の ^{11}C 標識プローブが効率よく合成された。活性本体であるカルボン酸体の ^{11}C 標識体を用いたラットおよびサルを用いた脳PET 研究により、高い脳移行性と脳全体への明確な集積が明らかとなった。これまで、天然型レチノイド類の不安定性と脳移行性を補うために、環式レチノイドに関して、極めて脂溶性の高いいくつかの誘導体の開発が行われてきたが、高い脂溶性による非特異的結合など問題点が多い。一方、非環式レチノイドで得られた本研究での新知見は、レチノイド類に対して、高い脳移行性と低脂溶性のバランスのとれた柔軟な分子設計が可能であることを示している。今後、標的分子との特異性が高いレチノイド誘導体の創製が期待され、これまでのがん研究に新たな脳研究分野が加わり、アルツハイマー病などの疾患診断や治療薬の開発が助長されることを期待したい。なお、非環式レチノイドに関しては、これまで中枢系機能が不明であったが、本研究を契機に研究が始まっており、それらの成果の詳細は別途報告する予定である。

<引用文献>

- ① M. Suzuki, M. Takashima-Hirano, H. Ishii, C. Watanabe, K. Sumi, H. Koyama, H. Doi, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2014**, *243*, 3622-3625.
- ② M. Takashima-Hirano, H. Ishii, M. Suzuki, *ACS Med. Chem. Lett.* **2012**, *3*, 804-807.
- ③ B. H. Rotstein, M. S. Placzek, H. S. Krishnan, A. P. MPharm, T. L. Collier, C. Wang, S. H. Liang, E. S. Burstein, J. M. Hooker, N. Vasdev. *Mol. Imaging.* **2016**, *15*, 1-5.
- ④ T. Hosoya, K. Sumi, H. Doi, M. Wakao, M. Suzuki, *Org. Biomol. Chem.* **2006**, *4*, 410-415.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Hiroko Koyama, Atsuto Izumiseki, Masaaki Suzuki	4. 巻 60
2. 論文標題 Organozinc-aided, HMPA-free, stoichiometric three-component coupling for the general synthesis of prostaglandins and stable prostacyclin analogs with biological significance	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Tetrahedron Lett.	6. 最初と最後の頁 1467-1470
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.tetlet.2019.04.037	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Hiroshi Ikenuma, Hiroko Koyama, Naoya Kajino, Yasuyuki Kimura, Aya Ogata, Junichiro Abe, Yasuhiro Kawasumi, Takashi Kato, Akihiko Takashima, Kengo Ito, Masaaki Suzuki	4. 巻 29
2. 論文標題 Synthesis of (R,S)-isoproterenol, an inhibitor of tau aggregation, as an 11C-labeled PET tracer via reductive alkylation of (R,S)-norepinephrine with [2-11C]acetone	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Bioorg. Med. Chem. Lett.	6. 最初と最後の頁 2107-2111
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bmcl.2019.07.005	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Tashima Hideaki, Yoshida Eiji, Iwao Yuma, Wakizaka Hidekatsu, Maeda Takamasa, Seki Chie, Kimura Yasuyuki, Takado Yuhei, Higuchi Makoto, Suhara Tetsuya, Yamashita Taichi, Yamaya Taiga	4. 巻 64
2. 論文標題 First prototyping of a dedicated PET system with the hemisphere detector arrangement	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Physics in Medicine & Biology	6. 最初と最後の頁 065004 ~ 065004
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1088/1361-6560/ab012c	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Hitoshi Shinotoh, Hitoshi Shimada, Yasumasa Kokubo, Kenji Tagai, Fumitoshi Niwa, Soichiro Kitamura, Hironobu Endo, Maiko Ono, Yasuyuki Kimura, Shigeki Hirano, Maya Mimuro, Masanori Ichise, Naruhiko Sahara, Ming-Rong Zhang, Tetsuya Suhara, Makoto Higuchi	4. 巻 92
2. 論文標題 Tau imaging detects distinctive distribution of tau pathology in ALS/PDC on the Kii Peninsula	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Neurology	6. 最初と最後の頁 e136 ~ e147
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1212/WNL.0000000000006736	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Aya Ogata, Yasuyuk Kinuma, Hiroshi Ikenuma, Takashi Yamada, Junichiro Abe, Hiroko Koyama, Masaaki Suzuki, Masanori Ichise, Takashi Kato, Kengo Ito	4. 巻 86-87
2. 論文標題 Brain pharmacokinetics and biodistribution of 11C-labeled isoproterenol in rodents	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Nucl. Med. Biol.	6. 最初と最後の頁 52-58
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.nucmedbio.2020.06.002	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

[学会発表] 計6件(うち招待講演 0件/うち国際学会 2件)

1. 発表者名 Hiroshi Ikenuma, Hiroko Koyama, Yasuyuki Kimura, Junichiro Abe, Yasuhiro Kawasumi, Aya Ogata, Takashi Yamada, Takashi Kato, Kengo Ito, Masaaki Suzuki
2. 発表標題 Improved (R,S)-[11C]isoproterenol formulation toward clinical study
3. 学会等名 The 59th Annual Scientific Meeting of the Japanese Society of Nuclear Medicine
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Aya Ogata, Yasuyuki Kimura, Takashi Yamada, Masanori Ichise, Junichiro Abe, Hiroshi Ikenuma, Hiroko Koyama, Masaaki Suzuki, Takashi Kato, and Kengo Ito
2. 発表標題 PET imaging of colony stimulating factor 1 receptor
3. 学会等名 The 59th Annual Scientific Meeting of the Japanese Society of Nuclear Medicine
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 鈴木 恵一, 古山 浩子, 池沼 宏, 沢田 知辰, 石井 里咲, 石井 英樹, 土居 久志, 木村 泰之, 鈴木 正昭
2. 発表標題 脳移行性グルコース・ギンゴライド連結体の設計とPETプローブ化
3. 学会等名 第50回中部化学関係学協会支部連合秋季大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Hiroshi Ikenuma, Aya Ogata, Yasuyuki Kimura, Hiroko Koyama, Junichiro Abe, Takashi Yamada, Masanori Ichise, Takashi Kato, Masaaki Suzuki, and Kengo Ito
2. 発表標題 Formulation of 11C-labeled (R,S)-isoproterenol and pharmacokinetic studies in rats
3. 学会等名 Brain & Brain PET 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Aya Ogata, Yasuyuki Kimura, Takashi Yamada, Masanori Ichise, Hiroshi Ikenuma, Junichiro Abe, Hiroko Koyama, Masaaki Suzuki, Takashi Kato, Kengo Ito
2. 発表標題 PET imaging of colony stimulating factor 1 receptor in rat brains
3. 学会等名 Brain & Brain PET 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 中西咲乃, 倉内祐樹, 関貴弘, 木村泰之, 鈴木正昭, 鈴木恵一, 古山浩子, 香月博志
2. 発表標題 In vitro脳内出血病理モデルに対するレチノイドの組織保護効果
3. 学会等名 第141年会日本薬学会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 [11C]標識非環式レチノイド、中枢神経系活性化剤及びそれらの製造方法	発明者 鈴木 正昭、伊藤 健吾、木村 泰之、 古山 浩子、他	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、2020-193167	出願年 2020年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔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	木村 泰之 (Kimura Yasuyuki) (20423171)	国立研究開発法人国立長寿医療研究センター・認知症先進医療開発センター・副部長 (83903)	
研究分担者	石井 英樹 (Ishii Hideki) (80425610)	国立研究開発法人量子科学技術研究開発機構・量子医科学研究所 先進核医学基盤研究部・主任研究員(任常) (82502)	
研究分担者	鈴木 正昭 (Suzuki Masaaki) (90093046)	国立研究開発法人国立長寿医療研究センター・認知症先進医療開発センター・特任研究員 (83903)	

	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
連携研究者	池沼 宏 (Ikenuma Hiroshi) (10751159)	国立研究開発法人国立長寿医療研究センター・認知症先進医療開発センター・研究技術員 (83903)	
連携研究者	山田 貴史 (Yamada Takashi) (50531860)	名古屋経済大学・人間生活科学部・准教授 (33923)	
連携研究者	小縣 綾 (Ogata Aya) (10805857)	岐阜医療科学大学・薬学部・助教 (33708)	

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
---------	---------