

機関番号：10101  
 研究種目：若手研究(B)  
 研究期間：2009～2010  
 課題番号：21791163  
 研究課題名(和文) 腫瘍の悪性度診断の指標となりうる新規 PET 用血管新生イメージング剤の開発  
 研究課題名(英文) Development of Novel Neovascularization-Imaging Agent for PET.  
 研究代表者  
 相田 一樹 (AITA KAZUKI)  
 北海道大学・アイソトープ総合センター・助教  
 研究者番号：80456839

研究成果の概要(和文)：本研究の目的は、腫瘍の悪性度に深いかかわりがあるチミジンホスホリラーゼ(TP)を、Positron Emission Tomography (PET) 装置により可視化し、腫瘍に対する様々な知見を得ることである。そのために、本研究では、TP に対して高い親和性を有するウラシル誘導体を母体化合物した新規新規含フッ素 TP 阻害化合物(F-TPI)ならびにそのF-18 標識化合物の合成を目的として研究を進めた。その結果、F-TPI を合成するにあたって、その標識前駆体である化合物の合成にまで至ることに成功した。

研究成果の概要(英文)：The aim of this study is “Development of Novel PET(Positron Emission Tomography) Imaging Agent for Neovascularization”. And we selected thymidine phosphorilase(TP) as the neovascularization indicator. So, we designed F-TPI as the novel neovascularization-imaging agent for PET. F-TPI has urasil structure and (radio)fluorine atom. And we succeeded in the synthesis of the precursor of F-TPI.

#### 交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	2,200,000	660,000	2,860,000
2010 年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：放射線医学

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：造影剤・PET・標識化

#### 1. 研究開始当初の背景

核医学診断法は、放射性薬剤により生体内の機能的、生化学的情報を画像化する、すなわち、疾患に特異的な分子の分布などを、非侵襲的に描出可能な「分子イメージング技術」の一つである。

腫瘍の治療方針の決定、患者の予後予測の際の重要なポイントとして腫瘍の浸潤性、増殖能、転移能により総合的に判断される腫瘍悪性度がある。そのため、腫瘍の悪性度を判

断する指標を定量的にイメージングすることが出来れば、多くの情報を悪性腫瘍の治療方針決定の際に与えることが出来る。

PET は非常に定量性に優れ、空間・時間分解能も高いため、腫瘍の早期発見、および悪性度診断には最適な手法である。

一方、多くの悪性腫瘍において、腫瘍細胞の増殖と血管新生を続けることは不可欠の要件である。この観点から、血管新生因子である血小板由来血管内皮細胞増殖因子

(PD-VEGF)などを標的とする画像診断薬剤の開発が進められている (Clinical Cancer Research, 2008; 13:4146)。

また、血管新生に際して重要な役割を担う TP の酵素活性は、腫瘍の血管新生、浸潤、転移など悪性度の指標とも関連があるため (Acta Oncologica, 2008; 47: 1054)、TP の酵素活性を定量的に把握することは、腫瘍の悪性度を診断する上で重要な指標となると考えられるが、TP 発現やその活性の評価を目指した診断薬剤の開発研究はほとんど報告されていない。

ごく最近、報告者の所属する研究室では、これらの点に着目し、TP を標的とした  $^{11}\text{C}$ -標識分子プローブ ( $^{11}\text{C}$ -BOMU, *Heterocycles*, 2008; 76: 237-241.)、ならびに  $^{123}\text{I}$  標識分子プローブ ( $^{123}\text{I}$ -IMU, *J Labelled Compds and Radiopharm.* 2008; 51: 384-387) を合成し、これら分子プローブの有効性を評価し、以下のことを明らかにした。

(1)  $^{11}\text{C}$ -BOMU は、腫瘍へ取り込みが時間とともに増加する傾向が観察された。PET 薬剤の有用性が示唆されたものの C-11 よりもより半減期の長い核種への応用が望まれた。

(2)  $^{123}\text{I}$ -IMU は、TP への特異的な腫瘍への高い取り込み、および高い腫瘍-血液、筋肉比を有しており SPECT 用腫瘍イメージング剤としての有用性が示唆された。

この結果は SPECT 薬剤による画像化に比べより感度、空間分解能、定量性の点で優れた PET 画像、すなわち PET 薬剤の開発がより期待されるものであった。

## 2. 研究の目的

報告者は、我々の研究の結果をもとに、より良い TP イメージング剤を開発することを目指した。

以前の研究で使用した、C-11 と同じ PET 用放射性核種である放射性フッ素 ( $^{18}\text{F}$ ) を標識核種に選択した。 $^{18}\text{F}$  は C-11 と比較して長い半減期 (110 分) を持ち、サイクロトロンで製造できるため非常に有用である。そのため、 $^{18}\text{F}$  を導入した TP イメージング剤は腫瘍の悪性度診断に関する、新たな知見を与えると考えられる。

また、放射性標識合成においては、その半減期から最終段階で標識することが望ましい。そのため、放射性同位元素を容易に導入できる標識前駆体の設計も重要である。

本研究では、以上の観点から、直接標識法、及び間接標識法の両方の合成法を検討し、両標識法において、含フッ素ウラシル誘導体 (F-TPI) とその標識前駆体の最適な合成法を模索することにした。

今回、含フッ素ウラシル誘導体 (F-TPI) を新たに設計し、本化合物ならびにその標識前駆体を効率的に得ることを目的とし以下

の検討を実施した。

(1) 直接標識法による F-ウラシル誘導体の合成：モデル化合物による検討

(2) 間接標識法による含フッ素ウラシル誘導体、および標識前駆体の合成

## 3. 研究の方法

(1) 直接標識法による F-ウラシル誘導体の合成：モデル化合物による検討

6-メチルウラシルをモデル化合物として、直接フッ素化法による、ウラシル骨格のフッ素化法の検討を行った。

同時に、ウラシル骨格をフッ素標識するために必要な措置 (保護基の導入、合成経路の模索) について検討した。

(2) 間接標識法による含フッ素ウラシル誘導体、および標識前駆体の合成

間接標識法によるフッ素標識を可能にするために、標識前駆体として有機スズ化合物を選択し、その合成経路の模索を行った。

以上の研究により  $^{18}\text{F}$  標識 TP 阻害化合物の合成を可能とし、PET 用薬剤としての有用性の検索を可能とすることにした。

## 4. 研究成果

(1) 直接標識法による F-ウラシル誘導体の合成：モデル化合物による検討

モデル化合物として 6-メチルウラシル誘導体をモデル化合物として、ウラシルの効率的なフッ素化法の最適化を行った。

フッ素導入可能な官能基であるヒドロキシメチル基のウラシル環への導入は、パラホルムアルデヒドを用いることで達成した。

次の課題は、共役系に属していることから、構造の共鳴により、標識反応の際、効率的な反応の進行を妨げる可能性が高い 2 つの NH 基の保護であった。それらは共役系であるため、保護はかなり難しいことが予想された。

しかし、ヒドロキシ基の保護を経由した上で、NH 基の保護基として、ベンジル基を用いることで、NH 基の保護に成功し、その後、ヒドロキシル基の再生を経て、フッ素化可能な官能基を有するウラシル誘導体の合成に成功した。以下に詳細を示す。

① 6-メチルウラシル (**1**) へのヒドロキシメチル基導入

6-メチルウラシルを、水中でトリエチルアミン存在下、パラホルムアルデヒドと反応させることで、ヒドロキシメチル基が導入されたウラシル誘導体 (化合物 **2**) を得た。収率：16%

$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) 8.52 (1H, s), 8.15 (1H, s), 4.55 (2H, s), 2.21 (3H, s)

② ヒドロキシ基のベンジル基による保護 (ベンジルオキシ化)

化合物 **2** を濃塩酸中、ベンジルアルコール

と反応させることで、ヒドロキシ基がベンジル基によって保護された化合物 **3** を得た。収率：73%

<sup>1</sup>H-NMR(400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 8.52 (1H, s), 8.15 (1H, s), 7.35-7.25 (5H, m), 4.55 (2H, s),  
 ③ ウラシル環のNH基のベンジル基による保護

化合物 **3** をDMF中水素化ナトリウム、臭化ベンジルと反応させることで、ウラシル環のNH基が保護された化合物 **4** を得た。収率：38%

<sup>1</sup>H-NMR(400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 7.33-7.28 (15H, m), 5.21 (2H, s), 5.14 (2H, s), 4.55 (2H, s), 4.44 (2H, s), 2.22 (3H, s)

#### ④ ベンジルオキシ基の選択的臭素化

化合物 **4** をジオキサン中、集荷水素と反応させることで、ベンジルオキシ基が臭素化した化合物 **5** を得た。収率：38%

<sup>1</sup>H-NMR(400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 7.32-7.25 (10H, m), 5.20 (2H, s), 5.17 (2H, s), 4.45 (2H, s), 2.26 (3H, s)

#### ⑤ 臭素の酢酸基への変換

化合物 **5** をDMF中、酢酸ナトリウムと反応させることで、臭素が酢酸基へと置換された化合物 **6** を得た。収率：26%

<sup>1</sup>H-NMR(400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 7.49-7.12 (10H, m), 5.20 (2H, s), 5.17 (2H, s), 5.01 (2H, s), 2.26 (3H, s), 2.03 (3H, s)

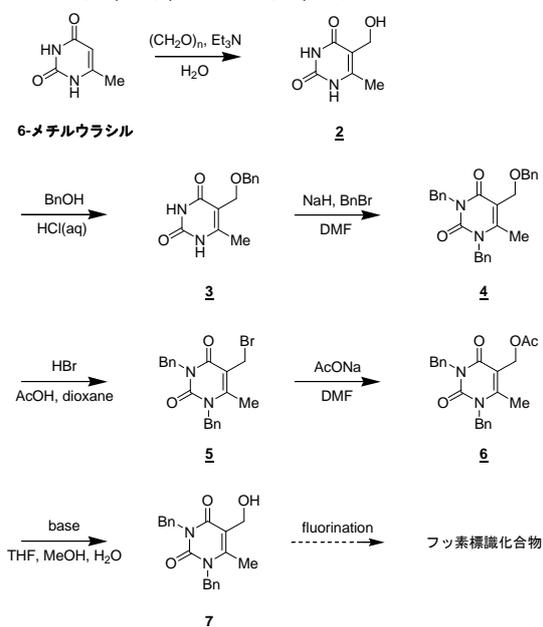


図. 直接標識法を目指した標識前駆体の合成経路

#### ⑥ 酢酸基の加水分解

化合物 **6** を水中で水酸化リチウムにより、加水分解することで水酸基を再生した化合物 **7** を得た。収率：90%

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 7.47-7.17 (10H, m), 5.20 (2H, s), 5.16 (2H, s), 4.51 (2H, s), 2.25 (3H, s) 3.45 (2H, s), 2.21 (3H, s)

以上の検討を経て得ることができたヒドロキシ基を有するウラシル誘導体は、フッ素化を目的としたウラシル誘導体として適していると考えられ、本研究におけるフッ素化しうる化合物の合成を達成することが出来た。

本合成経路は新たな含フッ素ウラシル誘導体の合成に関する多くの知見を与え、今後のウラシル誘導体の合成研究に非常に有用であることが示唆された。

本研究期間においてフッ素化反応までは実施することはできなかったが、引き続き研究を行う予定である。

#### (2) 間接標識法による含フッ素ウラシル誘導体、および標識前駆体の合成

本研究では、TP に対して高い親和性を有するウラシル誘導体を母体化合物とする TP 阻害化合物(F-TPI)の合成を目的として、まず、F-TPI を合成するにあたって重要な、フッ素標識するための標識前駆体となるスズ前駆体の合成を行った。スズ前駆体は、市販品であり、容易に入手可能な6-クロロメチルウラシル (**8**)から5段階の反応を経て、総収率7%で得ることができた。

本検討においても、先の検討で得られたウラシル構造のNH基の保護基の検討の知見を生かし、効率的な合成経路の確立を行った。以下に、スズ前駆体の合成経路の概略を示す。

#### ① ウラシルへのヨウ素導入

化合物**8**をDMF中、N-ヨードコハク酸と反応させ、ウラシル環へヨウ素を導入した化合物**9**を得た。収率：91%

<sup>1</sup>H-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>, 400 MHz) 4.43 (2H, s), 11.57 (1H, s), 11.67 (1H, s)

#### ② ウラシル骨格への1,2-ジアミノエタン基の導入

化合物**9**を水中で、エチレンジアミンと反応させ、1,2-ジアミノエタン基を導入した化合物**10**を得た。収率：78%

<sup>1</sup>H-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>, 400 MHz) 2.70 (2H, t, J = 7.6 Hz), 2.87 (2H, t, J = 7.6 Hz), 3.67 (2H, s), 11.55 (1H, s), 11.65 (1H, s)

#### ③ イミダゾール環の形成

化合物**10**を水中で、プロモシアンと反応させ、イミダゾール環を形成した化合物**11**(IIMU)を得た。収率：99%

<sup>1</sup>H-NMR (D<sub>2</sub>O, 400 MHz) 3.75 (4H, s), 4.60 (2H, s)

#### ④ NH基の保護

化合物**11** をジクロロメタン中、 $(\text{Boc})_2\text{O}$  と反応させ、NH基がBoc によって保護された化合物**12** を得た。収率：30%

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz) 1.50~1.62 (36H, m), 3.52 (2H, t,  $J = 7.8$  Hz), 3.92 (2H, t,  $J = 7.8$  Hz), 4.66 (2H, s)

#### ⑤ ヨウ素と有機スズの交換

化合物**12** をジオキサン中、テトラトリフェニルホスフィンパラジウム(0) とヘキサメチルニスズと反応させることで、スズ前駆体**13** を得た。収率：30%

NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz) 0.60 (9H, s), 1.50~1.62 (36H, m), 3.44 (2H, t,  $J = 7.8$  Hz), 3.91 (2H, t,  $J = 7.8$  Hz), 4.42 (2H, s)

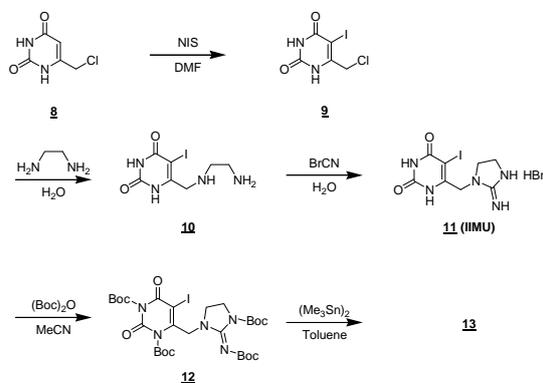


図. 新規含フッ素 TP 阻害化合物ならびにその標識前駆体の合成経路

以上の結果より、目的とする前駆体を得ることに成功した。ハロゲン化アルキルとのカップリング反応により含フッ素ウラシル誘導体が見られるものと期待される。また、IIMU は既知化合物であるが、本合成法は、新規合成経路であり、若干の総収率の向上に成功した。(既知の方法：63%、本法：71%)

本研究では、新規TP阻害化合物ならびにその放射性標識体を得ることを目的として、モデル化合物による新たな標識合成経路を開発、標識前駆体の合成を達成することが出来た。今後のさらなる検討により、PET を用いたTP活性イメージングの可能性が大きく広がると考えている。

#### 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)

なし

#### 6. 研究組織

##### (1) 研究代表者

相田 一樹 (AITA KAZUKI)

北海道大学・アイソトープ総合センター・  
助教

研究者番号：80456839

##### (2) 研究分担者

なし

##### (3) 連携研究者

なし