

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 9 日現在

機関番号：11301

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2013～2014

課題番号：25670523

研究課題名(和文) 18F-標識プローブライブラリーの新たな展開：[18F]CF₃Brの合成と利用研究課題名(英文) A new extended library of 18F-labeled probes: Synthesis and use of [18F]CF₃Br

研究代表者

岩田 錬 (Iwata, Ren)

東北大学・サイクロトロン・ラジオアイソトープセンター・教授

研究者番号：60143038

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,700,000円

研究成果の概要(和文)：CF₃Brを有するPETプローブの標識前駆体として、CBrF₂18Fの合成とその標識利用に挑戦した。18F-をマイクロリアクターでCBrF₂と反応させCBrF₂18Fを46±5%の放射化学的収率で得た。次に、CBrF₂18Fの分離精製をカラムと新規に開発した蒸発チップで試みたが、完全にCBrF₂を分離除去できなかった。次に、CBrF₂18FをタイロシンとDMSO溶液中で反応させO-[18F]トリフルオロメチル-L-タイロシンの合成を試みたが、目的物を得ることはできなかった。CBrF₂18Fは18F-トリフルオロメチル化の有望な標識前駆体として期待できないと結論した。

研究成果の概要(英文)：In the present study we challenged the synthesis and use of a labeling precursor for 18F-trifluoromethylated PET probes. [18F]CBrF₃ was synthesized in radiochemical yields of 46±5% by the reaction of electrochemically concentrated [18F]F⁻ with CBrF₂ in a micro-flow reaction chip. The separation and concentration of [18F]CBrF₃ from CBrF₂ was carried out using several adsorbents such as silica gel, and this approach turned out to be not promising. Then an evaporation chip, which was used in connection with a reaction chip, was designed and tested for the separation of the volatile labeled product. The reaction solution was flowed into the chip where [18F]CBrF₃ was statistically evaporated into a He gas flow. Although [18F]CBrF₃ was not completely separated from CF₂Br₂, it was then bubbled in a DMSO solution of L-tyrosine to produce O-[18F]trifluoromethyl-L-tyrosine, but no product was observed. In conclusion, [18F]CBrF₃ is not a promising precursor for 18F-trifluoromethylation.

研究分野：放射性医薬品化学

キーワード：分子イメージング マイクロリアクター 標識合成 PET 標識プローブ トリフルオロメチル基 フッ素-18

1. 研究開始当初の背景

フッ素を分子内に持つ化合物は、その強い電気陰性度で分子の極性を増大させるが、医薬品の場合フッ素の導入は、生物活性、脂溶性、代謝的安定性を飛躍的に向上させる。また生体内での標的タンパク質との相互作用を増強するなど優れた利点を持ち、今やおよそ 20%の医薬品にフッ素が導入されている。なかでも強い電子吸引基であるトリフルオロメチル (CF₃) 基を有する医薬品開発が活発に行われている (図 1 を参照)。このよう

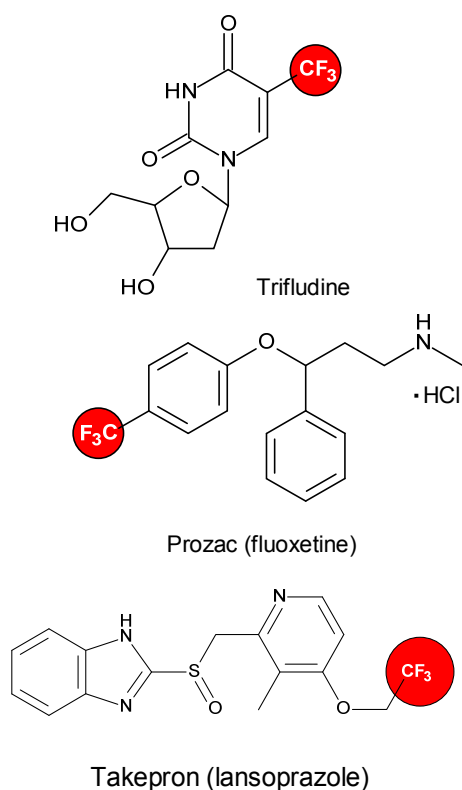


図 1. CF₃ 基を有する医薬品の例

にフッ素の医薬品への導入は、その組成と性質を変えることなく放射性の ¹⁸F (陽電子放出核種、半減期 109.8 分) で標識できるため、核医学的診断のみならず創薬研究においても PET (陽電子断層撮影法) の利用を促進する重要な要因になっている。¹⁸F の標識には、多くの場合その求核置換性を利用するが、CF₃ 基に ¹⁸F を導入して CF₂¹⁸F を得ることは現在のところ確立した方法は存在しない。CF₂¹⁸F 基導入法を開発することは、¹⁸F-標識プローブの利用範囲を広げ、医薬品開発に資

するところは大きい。

これまで実際に CF₂¹⁸F 基を有する化合物合成の報告は、国際学会の要旨が一つあるだけであり、詳細なものはない。その合成法は、CHF₂¹⁸F の H⁺ をアルカリ存在下で引き抜いて CF₂¹⁸F⁻ を生成し、その求核反応を用いるものである。しかし、この中間体は不安定であり、合成法は汎用性に欠ける。一方、予め CF₂X⁻ (X: 脱離基) を導入した合成前駆体に直接 [¹⁸F] フッ素を求核置換して CF₂¹⁸F を得る合成法も模索されているが、その前駆体物質を合成することは困難なことが予想される。

2. 研究の目的

本研究では、これまで行ってきたマイクロリアクターによる CH₂¹⁸FBr の合成とその利用研究の成果を生かして、同様な方法による CF₂¹⁸FBr の合成法を確立する。まず、電気化学的に濃縮された ¹⁸F⁻ を用いて、求核置換反応で CF₂¹⁸FBr を合成するためのマイクロリアクター反応条件を最適化する。次に、反応液から揮発性の目的物を分離精製する方法を開発する。気相中に取り出された CF₂¹⁸FBr を微量な反応系に導く効率的な方法を開発する。精製された CF₂¹⁸FBr を適当な基質と反応させて CF₂¹⁸F 基を有する化合物の標識合成を試みる。

3. 研究の方法

3-1. CF₂¹⁸FBr のマイクロリアクター合成

サイクロトロンを用いて ¹⁸O(p,n)¹⁸F 核反応で水ターゲット中に製造された ¹⁸F⁻ を電気化学的な濃縮チップに通して、求核置換反応にそのまま利用可能な [K⁺/K.222] ¹⁸F⁻ コМПレックスを短時間に自動的にアセトニトリル中 (MeCN : 80~100 μL) に得た。これに標識前駆体の CBr₂F₂ を含む MeCN を混合した後、石英ガラス製の加熱した反応チップ

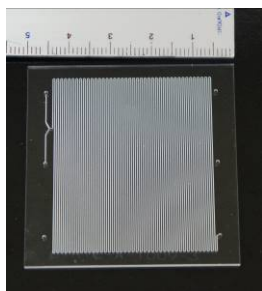


図 2. 石英ガラス製反応チップ

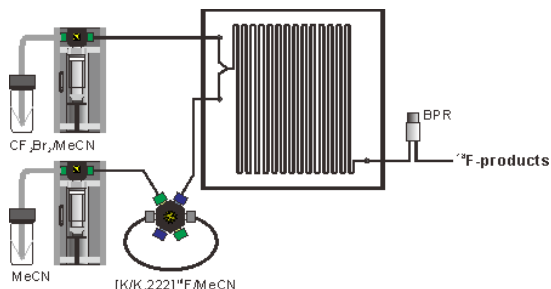


図 3. $\text{CF}_2^{18}\text{FBr}$ のマイクロリアクター合成実験系

(図 2) に通して $\text{CF}_2^{18}\text{FBr}$ を得た。HPLC 分析により標識収率を求めた。反応は、反応温度、時間、前駆体濃度に関して最適化した。使用した実験系を図 3 に示す。

反応液中から $\text{CF}_2^{18}\text{FBr}$ を分離して取り出す方法として、先ず、図 4 に示す吸着カラム (シリカゲルカラム) を通して MeCN と

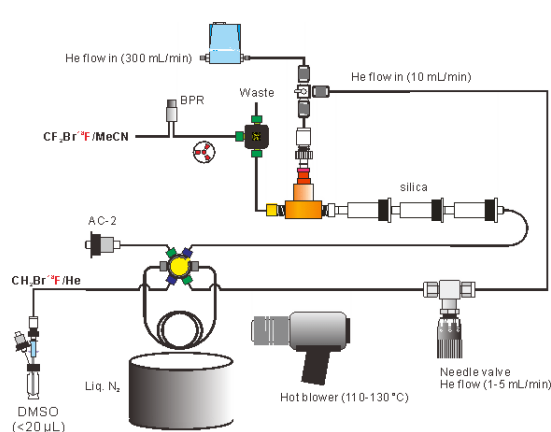


図 4. $\text{CF}_2^{18}\text{FBr}$ の吸着カラムによる分離濃縮実験系

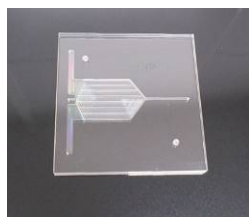


図 5. 蒸発チップ

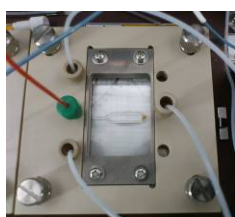


図 6. チップステージ

CF_2Br_2 を分離することを検討した。

次に、 $\text{CF}_2^{18}\text{FBr}$ の分離精製法として図 5 に示すような蒸発チップを検討した。このチップを図 6 に示す加熱冷却ステージに組み込んで実験を行った。その全体の概要を図 7 に示す。

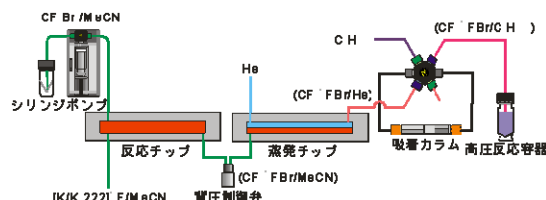


図 7. 実験系の概要

3-2. CF_2^{18}F 化反応

$\text{CF}_2^{18}\text{FBr}$ による CF_2^{18}F 化のモデル反応として、図 8 に示すタイロシンのパラ位の水酸基に $\text{O}-\text{CF}_3$ を置換する反応を選んだ。この反応は、室温下で迅速かつ効率的に進行する $\text{CH}_2^{18}\text{FBr}$ による $\text{O}-[^{18}\text{F}]$ フルオロメチル-L-タイロシンの合成を参考にした。少量の L-タイロシンを溶解した DMSO 溶液に $\text{CF}_2^{18}\text{FBr}$ をバブリングして、反応物を HPLC で分析した。

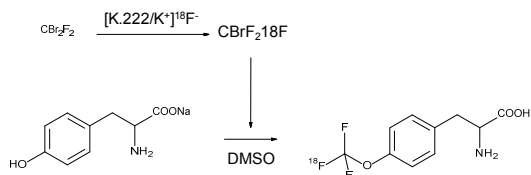


図 8. タイロシンとの反応スキーム

4. 研究成果

$\text{CH}_2\text{Br}^{18}\text{F}$ 合成には、は高温で短時間の反応が有利であることが明らかになっているため、 $\text{CF}_2^{18}\text{FBr}$ に関しても同様な条件で反応を行った。その結果、反応温度 130°C 、反応時間 0.2 分で最も高い放射化学的収率 $46 \pm 5\%$ を得た。この条件を達成するため、MeCN の沸点を上昇させる執拗があり、図 3 に示すように反応チップ出口に 100 psi (0.7 MPa) のバックプレッシャーレギュレータ (BPR) を設置した。 $\text{CF}_2^{18}\text{FBr}$ を含む MeCN の容積をできるだけ小さくするため、

[K+/K.222] $^{18}\text{F}^-$ を含む MeCN 溶液に対し $\text{CF}_2\text{Br}_2/\text{MeCN}$ (体積比 4/1) を 5:1 の割合で添加して反応チップに通した。このようにして、約 200~250 μL の MeCN 溶液中に $\text{CF}_2^{18}\text{FBr}$ を得るマイクロリアクター合成条件を確立した。BPR を経て溶出する反応液の放射能をモニターし、バルブを切り替えて $\text{CF}_2^{18}\text{FBr}$ の分画だけを次の分離精製に導入した。

得られた $\text{CF}_2^{18}\text{FBr}$ の HPLC 分析の結果を図 9 に示す。この溶出位置は $\text{CH}_2^{18}\text{FBr}$ とほぼ等しく、また加熱下 He バブリングすることで容易に気相に移行することからこのピークが揮発性の高い $\text{CF}_2^{18}\text{FBr}$ であることが確認できた。

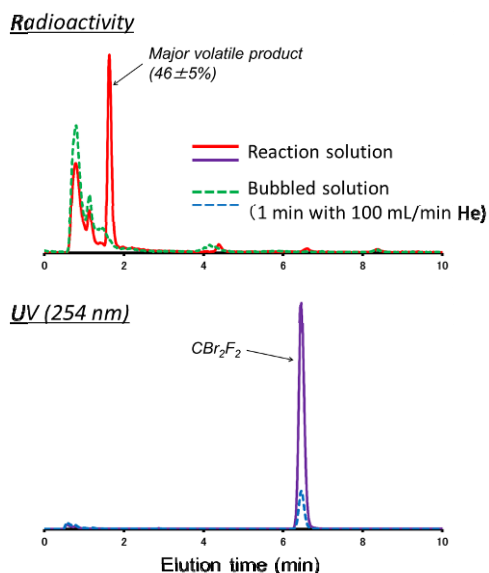


図 9. $\text{CF}_2^{18}\text{FBr}$ の HPLC 分析
分析条件

- ・ Column: YMC Pack Pro C18 (4.6 x 100 mm)
- ・ Solvent: $\text{CH}_3\text{CN} \cdot \text{H}_2\text{O}$ (40/60), 2.0 mL/min

次に、 $\text{CF}_2^{18}\text{FBr}$ の CF_2Br_2 からの分離精製を市販の使い捨てシリカゲルカートリッジ (Waters Sep-Pak Silica) を 3 個連結したカラムで行い、分離精製された $\text{CF}_2^{18}\text{FBr}$ を別の小さなカラムで吸着濃縮したのち取り出す方法を検討した。図 4 に示す濃縮カラム (2 x 40~100 mm) に Porapak Q、シリカゲル、Carbosphere の 3 種の吸着剤を充填して、液体窒素温度で冷却下 He により運ばれる

$\text{CF}_2^{18}\text{FBr}$ をこれに捕集した。その後ホットブローアで加熱しながら $\text{CF}_2^{18}\text{FBr}$ を取り出し、これを活性炭カラムに吸着してその放射能を測定することで回収効率を求めた。その結果、 CF_2Br_2 が不完全に分離されるため、カラム内で凝固して流路を回収途中で塞いでしまうことが判明した。一方、室温で強い吸着能を有する Carbosphere を試した結果、加熱しても効率よく (最少の気体容積で) 取り出せなく、吸着カラムだけを使用する方法は、 $\text{CF}_2^{18}\text{FBr}$ の精製と濃縮を行う実用的な方法にはならないと結論した。

多段階のフロー合成をマイクロリアクターシステムで行う場合、反応液を添加するに従い反応液の溶媒量が増大する。この場合、途中段階で濃縮 (中間濃縮) し、次の反応チップに導入する必要がある。反応溶媒を蒸発チップ内で蒸発させて乾固し、残渣を少量の溶媒に再溶解するチップ (蒸発チップ) が提案されている。一方、本研究ではこの蒸発チップを、溶媒中の揮発性成分を分離する目的で使用することを検討した。反応チップから流出する反応液を蒸発中に貯留し、チップ内の液面上部にガス (He) をゆっくりと流して溶媒から揮発する目的物 ($\text{CF}_2^{18}\text{FBr}$) を取り出した。いくつかのデザインの蒸発チップを試作し (図 10)、 $\text{CF}_2^{18}\text{FBr}$ の分離精製に利用可能かどうかを実験で検討した。その結果、十分な回収効率を得ることはできたが、チップ温度を変化させても揮発性の CBr_2F_2 の混入は避けられなかった。そこで、蒸発チップ出口に再び小さな市販の使い捨てカラムを接続して、He で取り出される生成物を吸着濃縮し、その後 $\text{CBrF}_2^{18}\text{F}$ を優先的にカラムから取り出す方法を検討した。捕集・溶出温度を変えていくつかのカラムから固相抽出用のシリカカラムを選択した結果、回収効率と CBr_2F_2 混入割合は相反することが判明し、効率よく純度の高い $\text{CBrF}_2^{18}\text{F}$ を得る精製法は残念ながら見出されなかった。

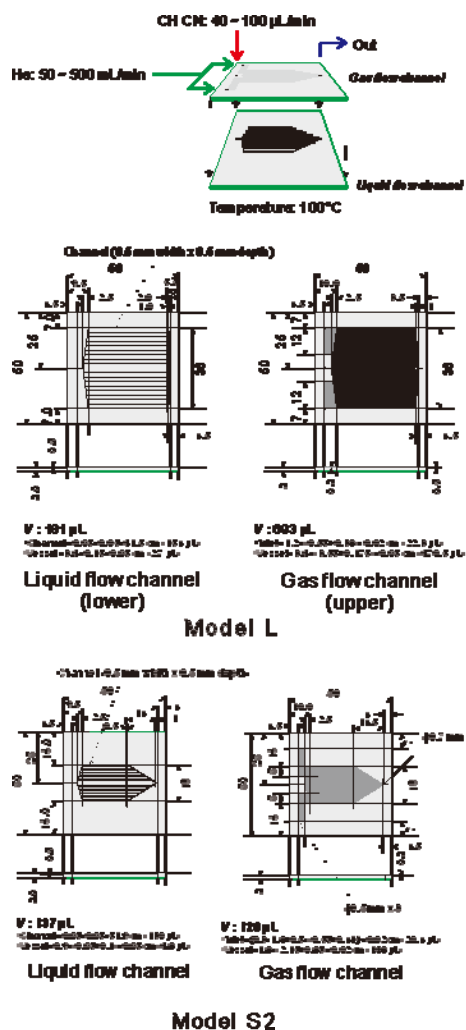


図 10. 蒸発チップの設計図の例

$\text{CBrF}_2^{18}\text{F}$ の反応性を評価するモデル化合物として、 $\text{O}-[^{18}\text{F}]$ フルオロメチルタイロシンを選択して、先ず、シリカカラムから He ガスで溶出した $\text{CBrF}_2^{18}\text{F}$ を反応溶液にバブリングしたが、目的物は得られなかった。そこで He に代えて溶媒 (DMSO) に対し溶解性の高いキセノンとブタンガスを用いて反応を行ったが、He と同様目的物の生成は観測されなかった。この結果は、 $\text{CBrF}_2^{18}\text{F}$ が求核置換反応の基質としての反応性が低く、このままでは CF_2^{18}F 基を有するプローブ合成の標識前駆体としては適さないと結論された。この反応のためには適切な触媒を用いて求核置換性を高める必要がある。

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 5 件)

① Furumoto S., Shinbo R., Iwata R., Ishikawa Y., Yanai K., Yoshioka T., Fukuda H. In-vitro and in-vivo characterization of 2-deoxy-2- $[^{18}\text{F}]$ -fluoro-D-mannose as a tumor-imaging agent for positron emission tomography. *J. Nucl. Med. Mol. Imag.* **54**, 1354-1361 (2013). (査読有)

Doi: 10.2967/jnumed.112.113571

② Furumoto S., Okamura N., Furukawa K., Tashiro M., Ishikawa Y., Sugi K., Tomita N., Waragai M., Harada R., Tago T., Iwata R., Yanai K., Arai H., Kudo Y. A ^{18}F -Labeled BF-227 derivative as a potential radioligand for imaging dense amyloid plaques by positron emission tomography. *Mol. Imag. Biol.* **15**, 497-506 (2013). (査読有)

Doi: 10.1007/s11307-012-0608-5

③ Beppu T., Terasaki K., Sasaki T. Fujiwara S., Matsuura H., Ogasawara K., Sera K., Yamada N., Sugai T., Kudo K., Sasaki M., Ehara S., Iwata R., Takai Y. Standardized uptake value in high uptake area on positron emission tomography with ^{18}F -FRP170 as a hypoxic cell tracer correlates with intratumoral oxygen pressure in glioblastoma. *Mol. Imag. Biol.* **16**, 127-135 (2014). (査読有)

Doi: 10.1007/s11307-013-0670-7

④ Tago T., Furumoto S., Okamura N., Harada R., Ishikawa Y., Yanai K. Iwata R., Kudo Y. Synthesis and preliminary evaluation of 2-arylhydroxyquinoline derivatives for tau imaging. *J. Label. Compd. Radiopharm.* **57**, 18-24 (2014). (査読有)

Doi: 10.1002/jlcr.3133

⑤ Kaneta T., Okamura N., Arai A., Takanami K., Furukawa K., Tashiro M., Furumoto S., Iwata R., Takahashi S., Arai H., Yanai K., Kudo Y. Analysis of early phase $[^{11}\text{C}]$ BF-227 PET, and its application for anatomical standardization of late-phase images for 3D-SSP analysis. *Jpn. J. Radiol.* **32**, 138-44 (2014). (査読有)

[学会発表] (計 0 件)

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

岩田 錬 (IWATA, Ren)
東北大学・サイクロトロン・ラジオアイソ
トープセンター・教授
研究者番号：60143038

(2) 研究分担者

古本 祥三 (FURUMOTO, Shozo)
東北大学・学際科学フロンティア研究所・
准教授
研究者番号：00375198

(3) 連携研究者

なし