

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 29 年 5 月 30 日現在

機関番号：17301

研究種目：若手研究(A)

研究期間：2014～2016

課題番号：26713041

研究課題名(和文) 難診断疾患の診断薬を目指した[18F]CF<sub>3</sub>標識プローブの実用的な合成法の開発研究課題名(英文) Practical protocol of preparation of [18F]CF<sub>3</sub> labelled probe for diagnostic agents

研究代表者

水田 賢志 (MIZUTA, Satoshi)

長崎大学・医歯薬学総合研究科(医学系)・助教

研究者番号：50717618

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 18,400,000円

研究成果の概要(和文)：フッ素化反応を鍵とするトリフルオロメチル化反応の開発に取り組んだ。プロモジフルオロメチルチオ化合物を基質として、Ag塩によるジフルオロメチルチオニウムを形成し、フッ化カリウムをフッ素源とした求核的フッ素化が進行し、目的とするトリフルオロメチルチオ化合物を得ることに成功した。別途、新しいトリフルオロメチル化合物の合成法の開発として、求電子的トリフルオロメチル化剤とチオウレアからイミダゾリウム塩の合成、ならびに医薬品の重要なモチーフであるトリフルオロメチル置換ヘテロ環の新しい合成を開発した。さらに、生理活性物質によく見受けられるオキシインドール環への求核的フッ素化反応にも成功している。

研究成果の概要(英文)：Our group addressed to development of new methods for synthesis of trifluoromethyl compounds via a fluorination reaction as a key step. Reactions of dibromofluoromethylthio substrates with KF and silver(I) salt were performed affording the trifluoromethylthio products. The F-CF<sub>2</sub>S bond forming reaction might be available for the hot fluorination reaction with radio isotope. Alternatively, we have developed methods for synthesis of new trifluoromethyl compounds. As one examples, phase transfer catalysts, trifluoromethylthio substituted imidazolium salts from thiourea and electrophilic trifluoromethylating reagents have been synthesized. In addition, dibromo-2-trifluoromethyl acrylic acid ethyl ester found to be a versatile platform for the stereoselective preparation of functionalized- -trifluoromethyl, -unsaturated lactones and trifluoromethyl pyrazolinones. Ionic liquid-mediated hydrofluorination of 3-bromooxindoles also have been achieved.

研究分野：有機化学、放射線科学

キーワード：フッ素含有ヘテロ環 フッ素化反応 イミダゾリウム塩 イオン性液体 生理活性物質

### 1. 研究開始当初の背景

ポジトロン断層撮影(PET)による分子イメージングは、体内における<sup>+</sup>崩壊する核種(<sup>11</sup>C, <sup>13</sup>N, <sup>15</sup>O, <sup>18</sup>F)で標識した放射性物質が放出する線を体外で検出、定量画像化する非侵襲的可視イメージング技術である。利用されているPET核種の内、<sup>18</sup>F種は他の核種に比べて110分と長く、標識合成に最も適した核種である。事実、腫瘍のイメージング剤 [<sup>18</sup>F]FDG がPET診断薬として臨床で最も利用されている。PET技術は、臨床における治療効果の判断や疾患の早期発見の決め手となる診断方法であるが、現在では早期診断が困難である疾患(がんやアルツハイマー)の診断法としてPET技術に大きな期待が持たれている。

トリフルオロメチル(CF<sub>3</sub>)基は、その特異的な性質；電子吸引性、脂溶性や代謝安定性から、生理活性物質の物性を著しく変化させることができるため、 [<sup>18</sup>F]CF<sub>3</sub> 標識化合物は臨床応用を指向したPET標識プローブの魅力的な分子モチーフである。そのため、 [<sup>18</sup>F]CF<sub>3</sub> 標識PETプローブの合成法として、トリフルオロメチル基の炭素上3つのフッ素原子の1つを放射性同位体 [<sup>18</sup>F] に置き換える方法の開発、並びに新たなモチーフとなるフッ素含有化合物の探索と合成法の開発が重要となる。

### 2. 研究の目的

本研究は、幅広い基質と反応するトリフルオロメチルラジカル種に着目し、“ [<sup>18</sup>F]CF<sub>3</sub> ” の発生法の確立と、多様なPET標識プローブの合成法の取り組み、早期診断が難しい疾患であるがんやアルツハイマーの診断薬を創製することを目的とする。また、フッ素含有化合物の新たな合成法を開発し、フッ素原子の特性を活かした生理活性の評価および機能性について調査した。

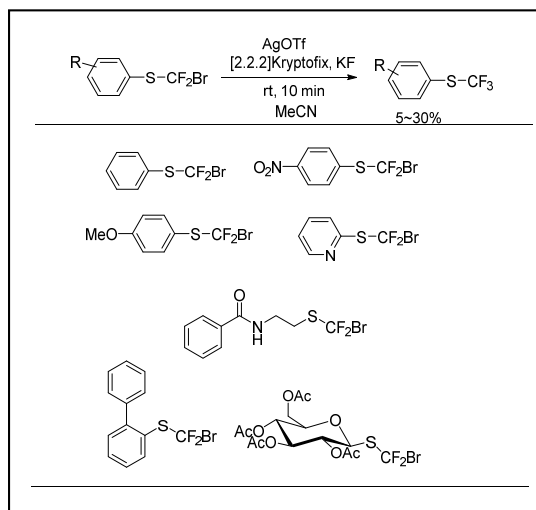
### 3. 研究の方法

基質適用範囲が広いラジカル種による反応プロセスに着目し、簡便に“ [<sup>18</sup>F]CF<sub>3</sub> ” を形成することができれば、様々な基質に対して [<sup>18</sup>F]CF<sub>3</sub> 化反応が進行し、目的とする [<sup>18</sup>F]CF<sub>3</sub> 標識化合物を高いRCYで得られると考えた。そこで、フッ化物イオンと反応し、F-CF<sub>2</sub> 結合形成反応が進行する条件を調査する。別途、医農薬品の分子モチーフとして有望なトリフルオロメチル基を含有するヘテロ環化合物の構築法として、ビルディングブロック法を活用した方法に着目する。さらに、PET標識を指向した、求核的フッ素化反応の開発にも着手する。

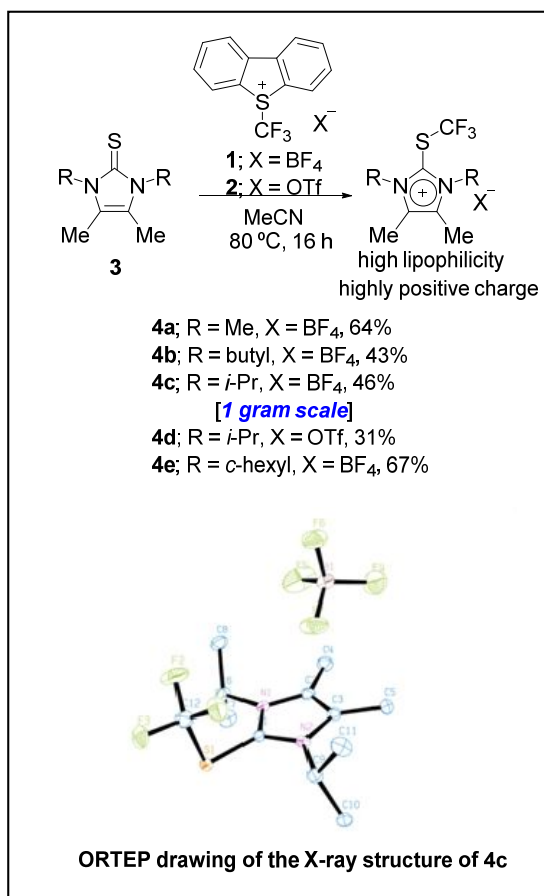
### 4. 研究成果

(1) **フッ素化反応を鍵とするトリフルオロメチル化反応の開発**：プロモジフルオロメチルチオ化合物を基質として、Ag塩によってジフルオロメチルチオニウムが形成され、フッ

化カリウムをフッ素源とした求核的フッ素化が進行し、目的とするトリフルオロメチルチオ化合物を得ることに成功した。

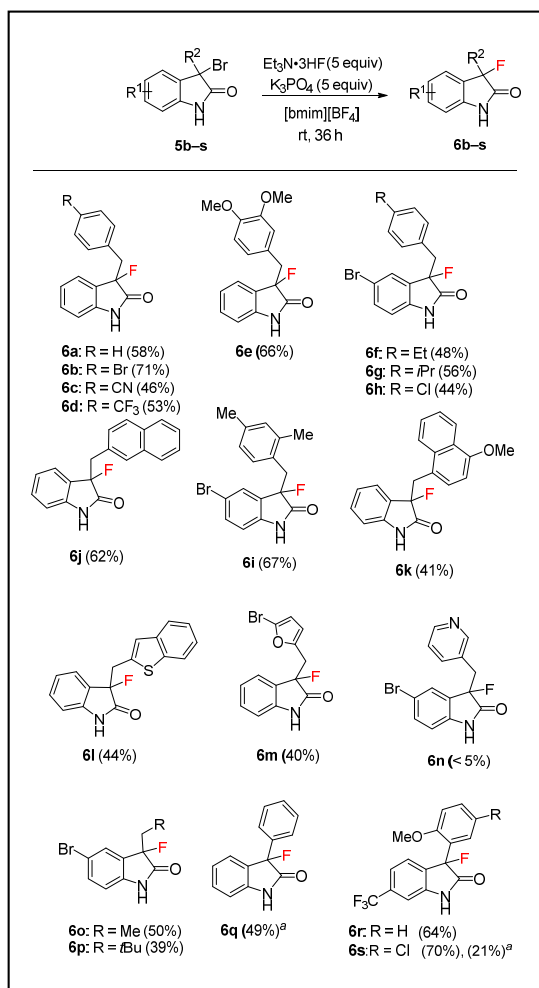


(2) **トリフルオロメチルメルカプト基置換イミダゾリウム塩の合成**：イミダゾリウム塩は、イオン性液体をはじめ、金属リガンド、触媒等の様々な機能を持っている。機能性の発現には、安定かつカチオン性が強いイミダゾリウムカチオンが一躍を担っている。本研究では、求電子的トリフルオロメチル化剤 **1**、**2** とチオウレア誘導体 **3** からトリフルオロメチルチオ基が置換したイミダゾリウム塩 **4** を首尾よく合成することに成功した。イミダゾリウム塩のX線結晶構造より、トリフルオロメチルチオ基の電気求陰性により、イミダゾリ



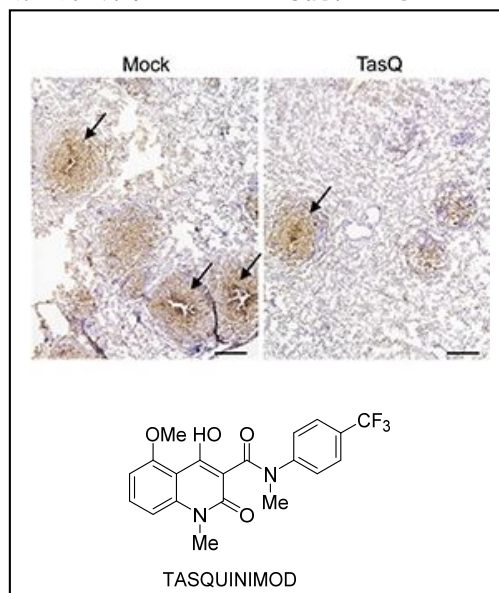
ウムカチオンのカチオン性並びに疎水性が向上していることが分かった。さらに、その機能性を利用して、活性メチレン化合物の触媒的アルキル化反応を触媒を見出した。

(3) **高い 3 置換  $sp^3$  炭素への求核的フッ素化反応**：フッ化物イオンを用いた求核的フッ素化反応は、Fの求核力をどのように上昇させるかにある。イミダゾリウムイオン性液体中、フッ化水素をF源とした求核的フッ素化反応を行ったところ、3位フッ素置換オキシインドール誘導体 **6** の合成に成功した。イミダゾリウム環 2 位の酸性水素と対イオン( $BF_4^-$ )両方の水素結合を介して、フッ化水素の結合距離(0.91 Å)が 0.04Å 伸長していることが量子化学計算より分かった。本求核的フッ素化反応を用いて、脳卒中薬として知られている BMS-204352(MaxiPost) **6s** の合成を達成した。



(4) **免疫細胞の炎症局所への遊走やマクロファージの活性化を担う多機能分子の同定**：結核などの慢性感染病態において、病原体と宿主免疫系の攻防の結果、マクロファージが同心円状に密に配置された球状の細胞集塊(肉芽腫)が形成される。肉芽腫形成機構の解明は慢性感染病態の理解や制御に不可欠であるが、その詳細はほとんど不明となっている。モルモット肉芽腫モデルを開発し、肉芽腫に

対して特徴的な染色性を示すモノクローナル抗体を多数樹立し、このうち G213 抗体が、肉芽腫の構成主体であるマクロファージには反応せず、肉芽腫中心部に集積した活性化好中球に強い反応性を有することが分かった。さらに生化学的解析により、G213 認識抗原が S100 ファミリー分子 A9 であることを突き止めた。S100A9 タンパク質は、免疫細胞の炎症局所への遊走やマクロファージの活性化を担う多機能分子であり、肉芽腫形成に深く関わっている可能性が考えられた。

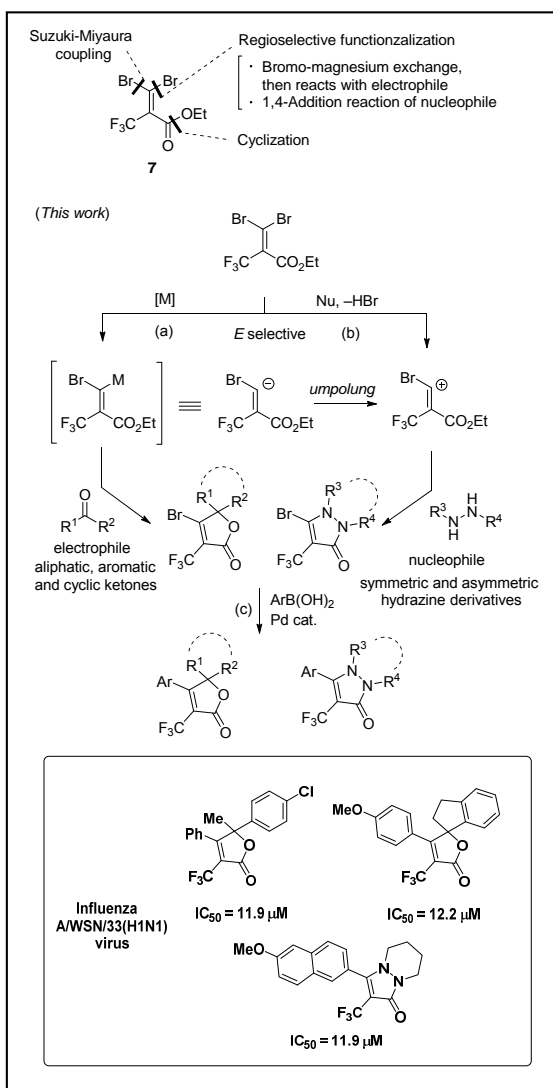


そこで、CF<sub>3</sub>基を有する S100A9 特異的阻害剤 (Tasquinimod) をモルモット肉芽腫モデルに投与したところ、1) 肉芽腫中心部での S100A9 陽性好中球の集積(コア形成)が減少し、2) マクロファージ密度が疎な未成熟肉芽腫が生じ、3) 成熟肉芽腫数が有意に減少することを見出した。これらの結果は、S100A9 タンパク質が、好中球の遊走とマクロファージ活性化を介して肉芽腫形成の制御機能を有していることが分かった。

(5) **3,3-Dibromo-2-trifluoromethylacrylate を用いた CF<sub>3</sub> 置換ヘテロ環の合成法**：トリフルオロメチル(CF<sub>3</sub>)基は、その特異的な性質；電子吸引性、脂溶性や代謝安定性から、生理活性物質の物性を著しく変化させることができるため、医農薬分野において重要なモチーフである。特に CF<sub>3</sub> 置換ヘテロ環は、多くの医農薬品(trifluridine, efavirenz, mefloquin, celecoxib etc.)に見受けられることから、新しい合成法の開発が望まれている。本研究では、Ethyl 3,3-dibromo-2-trifluoromethylacrylate (7) を、トリフルオロメチル基を持つ合成素子として利用し、様々な CF<sub>3</sub> 置換ヘテロ環の合成に取り組んだ。Grignard 試薬との反応により、系中に金属カルベノイド中間体を位置選択に形成し、ケトンと反応させることで、CF<sub>3</sub> 置換ラクトン化合物を得ることに成功した。一方、2つの求核性反応基を持つヒドラジン誘導体との反応から CF<sub>3</sub> 置換ピラゾリノ誘導体を得ることに成功した。これら、得ら

れた CF<sub>3</sub> 置換ヘテロ環は、Suzuki-Miyaura カップリング反応より芳香環を導入することが出来ることから、これら一連の反応が多様性指向型反応として有用であることを証明した。

更に、これらの化合物において、生物・生理活性評価を実施したところ、幾つかの化合物において、優れたインフルエンザウイルスの感染阻害活性を示した。インフルエンザは、インフルエンザウイルスに感染して起こる病気で、悪寒、高熱、筋肉痛、全身倦怠感を発症する。本邦では、年間数万人が感染し、肺炎等も含めインフルエンザ関連で毎年 1 万人以上が死亡している。その理由の 1 つとして、真に有効な抗インフルエンザ薬が無いことが挙げられる。事実、現在医療現場では、抗インフルエンザ剤開発は喫緊の課題である。今後、トリフルオロメチル含有ヘテロ環化合物を更に改変し、より優れた抗インフルエンザ活性を示す化合物の取得が期待される。



##### 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 6 件)

Takeshi Ishikawa, Hiroki Otaki, Satoshi Mizuta, Masami Kuriyama, Osamu Onomura, Norihide Higuchi, Mihoko N. Nakashima, Mikiro Nakashima, Kaname Ohya, Computational study of the competitive binding of valproic acid glucuronide and carbapenem antibiotics to acylpeptide hydrolase, *Drug Metabolism and Pharmacokinetics* (2017)

DOI: 10.1016/j.dmpk.2017.04002 査読有

Satoshi Mizuta, Hiroki Otaki, Ayako Kitagawa, Kanami Kitamura, Yuki Morii, Jun Ishihara, Kodai Nishi, Ryo Hashimoto, Usui Toshiya, Kenya Chiba, Ionic Liquid-Medicated Hydrofluorination of *o*-Azaxylylenes Derived From 3-Bromo-oxindoles, *Org. Lett.* 19, 2572-2575 (2017)

DOI: 10.1021/acs.orglett.7b00887 査読有

Yuya Yoshioka, Tatsuki Mizutani, Satoshi Mizuta, Ayumi Miyamoto, Satoru Murata, Toshiaki Ano, Hiroshi Ichise, Daisuke Morita, Yoshihiko Hoshino, Tatsuki Tsuruyama, and Masahiko Sugita, Neutrophils and the S100A9 protein critically regulate granuloma formation, 1, 184-192 (2016)

DOI: 10.1182/bloodadvances.2016000497 査読有

Satoshi Mizuta, Hiroki Otaki, Kanami Kitamura, Kodai Nishi, Ryo Hashimoto, Usui Toshiya, Kenya Chiba, 3,3-Dibromo-2-trifluoromethyl acrylic Acid Ethyl Ester: a versatile Platform for the Stereoselective Preparation of functionalized- $\alpha$ -Trifluoromethyl  $\alpha,\beta$ -Unsaturated Lactones and Trifluoromethyl Pyrazolinones, *Org. Chem. Front.* 3, 1661-166 (2016)

DOI: 10.103921/C6Q0000360E 査読有

Satoshi Mizuta, Kanami Kitamura, Kodai Nishi, Ryo Hashimoto, Usui Toshiya, Kenya Chiba, Activity of N,N'-dialkyl-2-trifluoromethylthiomimazolium salts as phase-transfer catalyst for the alkylation of activator methylene compounds, *RSC Advances.* 6, 1661-166 (2016)

DOI: 10.1039/c6ra06870g 査読有

[学会発表](計 3 件)

森井優樹、石原淳、畑山範、水田賢志、イオン性液体を媒体とした求核的フッ素化反応、第 137 回日本薬学会、東北大学(宮城県、仙台市) 2017 年 03 月 24 日

水田賢志、石川岳志、大滝大樹、栗山正巳、尾野村治、樋口則英、中嶋弥穂子、中嶋幹郎。大山要、バルプロン酸とカルバペネム系抗菌薬の相互作用機序の計算化学的考察、第 137 回日本薬学会、東北大学(宮城県、仙台市) 2017 年 03 月 27 日

石川岳志、水田賢志、金子修、矢幡一英、  
抗マラリア化合物の開発をめざしたフラグ  
メント分子軌道法による SERCA と  
Thapsigargin の分子間相互作用解析、第 137  
回日本薬学会、東北大学(宮城県、仙台市)、  
2017 年 03 月 25 日

## 6 . 研究組織

### (1)研究代表者

水田 賢志 (MIZUTA, Satoshi)  
長崎大学・医歯薬学総合研究科(医学系)  
・助教  
研究者番号 : 50717618

### (4)研究協力者

大滝 大樹(OTAKI, Hiroki)  
長崎大学・医歯薬学総合研究科(医学系)  
・助教

渡邊 健(WATANABE, Ken)  
長崎大学・医歯薬学総合研究科(医学系)  
・助教

石川 岳志(ISHIKAWA, Takeshi)  
長崎大学・医歯薬学総合研究科 (医学系)  
・准教授