

チアミン(ビタミン B₁) 及び フルスルチアミン(プロドラッグ型 ビタミン B₁) の ¹¹C-標識化と PET イメージングへの展開



Doi Hisashi



恭良 Watanabe Yasuyoshi (理化学研究所ライフサイエンス 技術基盤研究センター)

1 はじめに

ビタミンの化学史は、1910年の東京化学会 例会で、鈴木梅太郎博士により米糠の抽出物と して報告されたアベリ酸(後にオリザニンと改 名) にさかのぼる。翌 1911 年に、鈴木は東京 化学会誌に「糠中の一有効成分に就いて」との 題目で日本語にて論文報告を行い、続いて. 1912 年には、ドイツの生化学誌 (Biochemische Zeitschrift) にドイツ語で論文報告を行ってい る。この間、1911年にポーランドのカシミー ル・フンクが米糠から同一成分を発表し、翌 1912年には「重要な生命活動をつかさどるア ミン という意味の造語で、これを"ビタミン (vitamine)"と名付けた。当時の地理的かつ言 語的要因により, 第一発見者としての鈴木の功

績は日本国内で知られるのみとなってしまった が、この米糠の抽出物こそが栄養素としてのビ 9ミン B_1 (チアミン)であった。鈴木は、当 時から、米糠の抽出物には脚気の予防・治療に 有効であることを強調し、また、ヒトの生存に 不可欠な栄養素であることを訴えていた。鈴木 は東京帝国大学の教授であったが, 理化学研究 所の設立にも尽力し、理化学研究所の主任研究 員も務めていた(後に,鈴木は日本農芸化学会 初代会長となり文化勲章も受賞)。なお、1920 年に英国の生化学者であったジャック・ドラモ ンドが、 自らが研究していたビタミンにはアミ ンの性質を持っていないことから"vitamine" を "vitamin" に改名することを提案し、現在 に引き継がれている。

さて、我々ヒトは、なぜビタミンを食事から

摂取しないといけないのであろうか。生物種によっては、ビタミンを自らの生体内で生合成している事実もある。例えば、ヒトはビタミンC(アスコルビン酸)を食事などによって外部から摂取する必要があるが、地球上の多くの動物はアスコルビン酸を自らの生体内で生合成している。すなわち、生物学・医学的観点からすると、なぜヒトはビタミンの生合成機能を持ち合わせていないのか、なぜ生体維持に必要なこのような微量物質をわざわざリスクのある外部摂取に頼るのかなど、疑問は尽きない。生命の根源に関わる自然科学の究極課題でもある。

筆者らは、我が国で最初に発見されたビタミン B_1 の体内動態を、現在の最新の科学技術である陽電子放射断層画像撮影法(PET)を用いて追跡してみたいと考えた。PET イメージング研究から、ビタミンの謎にアプローチしたいと考えたわけである。本研究は、鈴木梅太郎博士とゆかりの深い理化学研究所と、ビタミン B_1 のプロドラッグの開発と販売を行ってきた武田薬品工業(株)との共同下に、時は正に、ビタミン発見 100 周年の節目となる 2010 年から研究を開始した。

2 PET 分子イメージングと高速 *C*-[¹¹C] メチル化法

PET は、極微量の短寿命放射性化合物を使用して、動物やヒトの体内での分子の動態を高精度かつ定量的に画像化できる核医学検査法である。PET は、理・工・薬・医が融合した学際研究であり、PET 分子プローブの開発に始まり、続くラット・サルを用いた分子動態イメージング研究を経て、最終的にはヒト臨床研究に至る一気通貫型研究である。PETでは、"C(半減期、20.4分)、"N(半減期、9.96分)、"O(半減期、2.04分)、"F(半減期、109.7分)などの陽電子放出核種を用いる。これらの主要核種は生体構成元素の同位体であるので、薬剤や生命

機能の探索分子(プローブ)に標識する事ができれば、PET 法により生体の in vivo 分子情報が取得できる(PET 分子イメージング)。しかしながら、PET 放射性条件下における化学は、独自の難しさゆえに従来の有機化学からすると想定外の化学とも言われる。例えば、優れた化学反応でも、反応濃度や合成時間に制限のあるPET 分子プローブの化学合成には適さない場合もある。また、放射線を取り扱うために専用の遠隔操作型合成装置を用いて化学合成を行う。そして何より、PET 分子プローブは半減期が短いため作り置きができない。必要があれば、その都度、時間と闘いながら合成する。

高速 C- $[^{11}C]$ メチル化反応の開発の原点は、 Pd(0)錯体の使用下に、ヨウ化メチルとフェニ ルスズを用いた高速クロスカップリング反応の 開発に成功したことに始まる $(図 1)^{1)}$ 。最終的 に、Pd₂(dba)₃/P(o-tolyl)₃/CuCl/K₂CO₃(モル比; 1:4:4:4) の触媒系を発見するのに、実に、 5年にわたる試行錯誤が必要であった (第一報 は 1997 年に報告)。本反応は、60℃の温和な条 件下で、わずか5分間で目的とするメチル化体 (トルエン)を90%以上の高収率で与えた。本 件は、過剰量の Pd(0) 触媒系を用いた反応では あるが、ヨウ化メチルの sp3 炭素とフェニルス ズの sp² 炭素間の迅速カップリングという有機 金属化学的にも見事な反応であった1)。さらに 2年の歳月を掛けて、実際の PET 放射性条件 下において、[11C]ヨウ化メチルを用いた高速 C- $[^{11}C]$ メチル化反応を実現するに至った $^{2)}$ 。こ の高速 C-[11 C]メチル化法による標識部位は、 化学結合的に丈夫な炭素-炭素結合であり、結 果として,標識部位が生体内における代謝に対

図1 ヨウ化メチルとフェニルスズ基質を用いた 高速クロスカップリング反応 (高速 *C*-メチル化法)

しても安定であることが期待される。事実,本標識法によるPET分子プローブの活用により,従来よりも説得力のあるPETイメージング画像も得られている。近年では,低分子化合物の炭素-炭素結合型 "C-標識化法の1つとして,国内外の多くのPET研究グループに活用されている³⁾。

3 チアミン及びフルスルチアミンの "C-標識化

鈴木によるビタミンB₁(チアミン)の発見以 来,このチアミンが持つ潜在的な生物活性に注 目が集まり、安定性、体内吸収性、及び薬剤香 気等が改善されたビタミン B₁ 誘導体が開発さ れてきた。1951年には、京都大学の藤原元典 博士らにより世界初の人工のビタミンB₁誘導 体であるアリチアミンが開発された。これは、 水溶性のチアミンをニンニク成分のアリシンと 反応させて脂溶性の誘導体にしたものである。 その後も多くの誘導体が開発されたが、その中 でも商業的に大きな成功を収めたのが、1961 年から販売が始まったフルスルチアミンであ る。我が国の近代産業・経済を代表する化合物 の1つである。なお、フルスルチアミンなどの ジスルフィド構造を持つプロドラッグ型ビタミ ン B, 誘導体は、体内のシステインやグルタチ オンと反応してチアミンに戻る。しかしなが ら、ビタミンやその誘導体は、体内のどこに集 **積し、どのように効果を発揮するのかなど、固** 体レベルでの薬物動態や作用機序についてはま だ不明な点が多い。このような背景の下,筆者

らは、是非ともチアミンとフルスルチアミンの "C-標識体の合成を実現し、それらの体内動態を PET 法によりイメージングしたいと考えた。チアミン及びフルスルチアミンの"C-標識部位としては、丸で囲んだメチル基を選択した(図 2)⁴。これ

らのメチル基は前記の高速 *C*-[¹¹C]

メチル化法により "C-標識化が実現可能であるともくろんだ。実のところ、本研究計画には、高速 C-["C]メチル化反応の適用が難しいヘテロ芳香環を含むことや、チアミンは水溶性化合物であるために短時間での分離精製が難しいことなど、これまでにない未知の困難が伴うことが予想された。しかしながら、筆者らは、PET化学分野に新しい潮流を生み出すべく、あえてこの難しい課題に取り組むこととした。

まず、図3のように、ヒドロキシエチルチア ゾールのトリブチルスズ化合物(1)を出発原料 として、Pd(0)触媒を用いた高速 C- $[^{11}C]$ メチル 化反応(反応時間3分)を応用して, [11C]メチ ル化体([¹¹C]-2)を86%の高収率で合成でき る化学的手法を開発した。次に, ハロゲン化メ チルピリミジン(3)を用いたベンジル化反応 (反応時間7分)により、目的の¹¹C-標識チア ミン(["C]-4)を得ることに成功した。この [11C]-4 を、更に塩基性条件下でテトラヒドロ フルフリルブンテ塩(5)と反応させて(反応時 間3分)、ジスルフィド基を有する最終目的物 の ¹¹C-標識フルスルチアミン ([¹¹C]-6) に変換 することができた。実は、ベンジル化反応並び にジスルフィド化反応そのものはオーソドック スな化学反応である。しかし、これらの反応を 遠隔操作によりわずか数分で化学合成すること は想像以上に困難を極めた。結果として、有機 化学的考察に基づいて実験操作に小さな改良を 積み重ねることが問題解決の糸口となった⁴⁾。

このようにして見事合成できた 11 C-標識フルスルチアミン ($[^{11}$ C]-**6**) であったが、驚いたことに、 $[^{11}$ C]-**6** は分解して再び 11 C-標識チア

図2 チアミン, フルスルチアミンの構造式

第一段階: 11C-標識チアミンの合成

第二段階: 11C-標識フルスルチアミンの合成

[¹¹C]フルスルチアミン([¹¹C]-**6**)

図3 高速 C-[11 C]メチル化法を用いたチアミン及びフルスルチアミン 11 C-標識体の合成

ミン([11C]-4) に戻ってしまった。非標識体 のフルスルチアミンではこのような分解は起こ らない。この原因を調査した結果, 放射線分解 により発生したラジカルが¹¹C-標識フルスルチ アミンのジスルフィド結合の解離を引き起こ し、再び¹¹C-標識チアミンが生成しているもの と考えられた。そこで、ラジカルを捕捉する抗 酸化物質であるクエン酸やアスコルビン酸を添 加したところ、放射線分解を抑制できることが 分かった。さらに、水溶性の「¹¹C]チアミンに 対しては HPLC 精製を 2 度行うことし、一方 で、「"C]フルスルチアミンに対しては固相抽 出カラムを用いた精製法を取り入れることによ り、それぞれ生体投与に向けた高純度溶液の調 製法を確立することができた。前記の一連の手 順を含めて、"C-標識チアミン及び"C-標識フ ルスルチアミンの合成時間は、それぞれ60分、 及び 70 分以内であった⁴⁾。

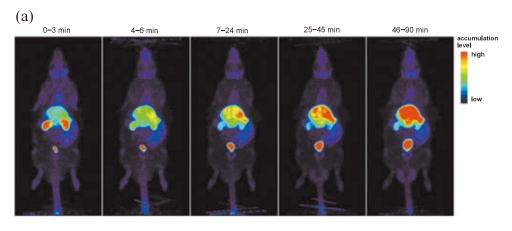
次に、これらの 11 C-標識 PET プローブをラット静脈に投与し、PET 撮像を行った。その結果、チアミンは速やかに全身に行きわたり、その後、肝臓や腎臓からの排泄機構に移行する様子が観察された(図 $\mathbf{4}$ (\mathbf{a})) 4)。一方、フルスルチアミンは、投与初期は心臓に集積するなど、チアミンと異なる体内動態をとることが初めて

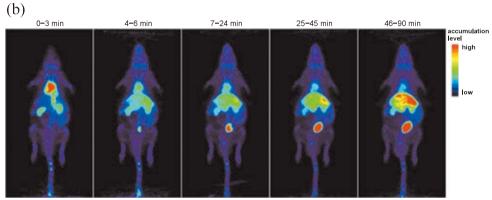
明らかとなった(図 $\mathbf{4}$ (\mathbf{b})) 4)。近い将来,本研究はヒトPET 臨床研究へと応用展開し,チアミンの体内動態とビタミン \mathbf{B}_1 欠乏時の諸症状の関連性や,フルスルチアミンの疲労回復効果の解明を進めていく予定である。

4 おわりに

本研究におけるチアミン及びフルスルチアミンの "C-標識体の合成に当たっては、通常の有機化学研究では見られない多くの課題に直面した。しかしながら、様々な制限のある PET 放射性条件下の化学研究といえども、有機化学の基本に立ち返って取り組むことが問題解決の糸口であった。

PET は、動物のみならずヒトを対象とした 生体内分子のイメージング法として、生命の理 解と探究に対して大きな魅力と可能性を秘めて いる。事実、PET は、創薬・医療に直結した 実学として発展してきた経緯がある。本分野で は、21世紀に入り、各学問分野の融合、産官 学のオールジャパン体制、更には、国際的連携 が着実に進んできた。本分野にまた新しい舞台 が整いつつある。正に、瑞々しいビジョンを持 った科学者の参画と活躍が期待されている。





- (a) 11C-標識チアミンの投与結果
- (b) ¹¹C-標識フルスルチアミンの投与結果
- 図4 ラット全身の PET イメージング (写真上部の数字は投与後の撮像時間帯)

【謝辞】

本研究を推進するに当たり、化学合成及び動物 PET イメージングを担当していただいた理化学研究所の馬渡彩氏と野崎聡博士に感謝申し上げます。また、フルスルチアミンに関する研究指導を賜りました武田薬品工業(株)へルスケアカンパニーの二宮伸二氏、秋元浩二氏、北吉正人氏、野村之博氏に感謝申し上げます。本研究の初期に理化学研究所に在職され、化学合成の研究支援並びに研究指導を賜りました金澤奨

勝博士と鈴木正昭教授に感謝申し上げます。

参考文献

- Suzuki, M., et al., Chem. Eur. J., 3, 2039–2042 (1997)
- Suzuki, M., et al., Trends Anal. Chem., 23, 595– 607 (2004)
- 3) Doi, H., J. Label. Compd. Radiopharm., **58**, 73–85 (2015)
- 4) Doi, H., et al., J. Org. Chem., 80, 6250-6258 (2015)