

複雑な化学構造を有する PET プローブの開発



丹羽 節*^{1,2,3}
Niwa Takashi



細谷 孝充*^{2,3}
Hosoya Takamitsu

1 医薬品開発と PET

現在、様々なモダリティの医薬品が開発されている。従来は低分子医薬が主流であったが、近年はこれに加え、天然物やペプチド医薬、核酸医薬に代表される中分子医薬や、抗体医薬や抗体薬物複合体等のバイオ医薬品を含む高分子医薬が盛んに研究されている。その結果、医薬品の構造多様性は極めて広がってきた。いずれの場合でも臨床試験までに、複数種の動物を用いて薬効や安全性、動態を多角的に検証するが、それらの情報を外挿してヒトに適用することはできない。このため臨床試験で予期せぬ性質が判明し開発中止を余儀なくされる医薬品候補分子は多い。もし開発品のヒトにおける情報を先取りできれば、不要な臨床試験の実施を回避でき、創薬開発にかかる時間と費用の削減が期待できる。

これに対する方策の1つとして、マイクロドーズ試験が挙げられる¹⁾。これは、医薬品開発早期に、ヒトに対してごく僅かな量の候補品を投与し、その薬物動態を評価する、侵襲性の低い手法である。ヒト体内の動態を知ることができるが、投与量が少ないために医薬品の行方を観察する技術は限られる。その1つに陽電子放射断層撮像 (PET: Positron Emission Tomography) がある。PETは、陽電子放出核種で標識された分子 (PET プローブ) の近傍から生じるγ線対の検出を原理とし、生体中の分子のふるまいを画像化する分子イメージング技術である。放射線の検出感度が極めて高いため、生体内の

低濃度の分子の定量的な観察が可能であり、ヒトを対象としたマイクロドーズ試験の手法として適している。

2 PET プローブの合成

この実現には、医薬品候補分子に陽電子放出核種を結合させた PET プローブを化学合成する必要がある。具体的にはまず、元となる分子の性質に合わせて、適切な陽電子放出核種を選択する (図1)。

元の医薬品が低分子の場合、化学構造に含まれるいずれかの原子を陽電子放出核種に置換する形で設計する。多くの場合、適度な半減期を有する ¹¹C (20.4分) か ¹⁸F (109.8分) が選択され、実施可能な標識法に基づきその置換位置が決められる。この場合、元の分子と PET プローブの化学構造を完全に一致させることができるため、PET 撮像により医

PETプローブ例		
陽電子放出核種 (半減期)	¹¹ C (20.4 min), ¹⁸ F (109.8 min) 等	⁶⁴ Cu (12.7 h), ⁸⁹ Zr (78.4 h) 等の金属核種
被標識分子の構造	低分子 中分子 (天然物由来分子等)	中分子 (ペプチド, 核酸等) 高分子 (タンパク質等)
連結方法	安定な共有結合	キレターへの配位
標識法の特徴	PETプローブ化による 化学構造の変化がない 高速反応が必要 化学構造によって標識法が多様	PETプローブ化により 化学構造が若干変化する 標識法は画一的

図1 分子の大きさによる PET プローブ合成の違い

薬品候補化合物の動態そのものを可視化できる。より大きなペプチド医薬や核酸医薬、またタンパク質等の高分子を母体とする医薬品候補の場合、低分子に比べ、分子の患部等への集積に時間がかかることから、 ^{64}Cu (約 12.7 時間) や ^{89}Zr (約 78.4 時間) 等の、より長い半減期を有する金属核種が汎用される。これらの核種は一般に元の医薬品の化学構造に含まれないため、その連結のために必要なキレーター部位等を合わせて医薬品候補分子に付与することとなる。すなわち、PET プローブ化に伴い化学構造が変わることになるが、元の医薬品が大きな分子であるため、諸性質の変化は小さくて済む場合が多い。

用いる陽電子放出核種を決めたら、それを化学的に導入するための手法 (標識反応) に基づき、対応する標識前駆体を取得する。例えば抗体医薬に金属核種を導入する場合、その化学構造に DOTA 等のキレーターを連結した分子が前駆体となる。この際、キレーターは、タンパク質のアミノ酸側鎖の化学修飾により付与する手法がよく取られる。このようにして化学合成した前駆体に ^{64}Cu イオン等を含む溶液を作用させることで、標識を行う。一方、低分子に ^{11}C や ^{18}F を導入する場合には、それらを共有結合を介して連結する。この過程は一般的な有機反応であるが、これらの核種の半減期は短く、短時間で完結する高速反応が必要となることから、適用できる手法は限定的である。加えて、導入する位置によってその効率は大きく異なるため、標識反応に精通した専門家による標識位置及び標識法の選定が不可欠である。従来、この共有結合形成を伴う標識反応の開発が PET プローブ合成の要として認識され、これまでに多数の手法が開発されてきた。しかし、現在も標識可能な部位は限定的であり、発展の余地を残している。

3 中分子 PET プローブの開発例

PET プローブ開発にかかる前述の課題を踏まえ、最近筆者らが報告した [$^{35}\text{-}^{11}\text{C}$] エリブリンの開発を紹介したい²⁾。エリブリン (ハラヴェン[®]) はエーザイ (株) と岸義人氏ら (ハーバード大学) の共同研究で創出された抗がん剤で、局所再発性・転移性乳癌及び悪性軟部腫瘍に対する治療薬として認可されている (図 2)³⁾。この分子は、1986 年に平田義正氏・

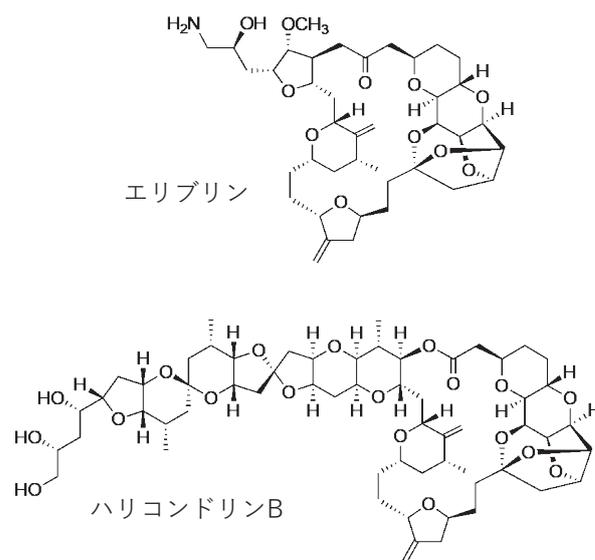
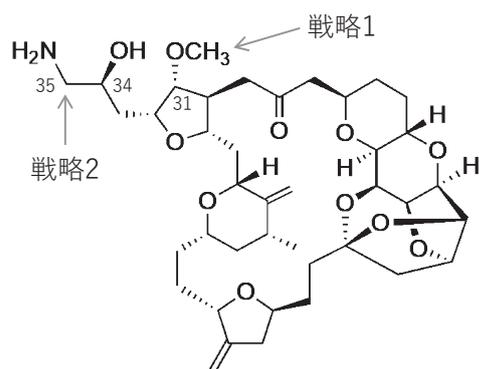


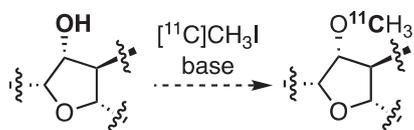
図 2 エリブリン及びハリコンドリリン B の化学構造

上村大輔氏ら (名古屋大学) によって単離された海洋天然物ハリコンドリリン B^{4,5)} を元に開発された中分子である (分子量 729.9)。非常に複雑な化学構造を持ち、その合成には 60 以上の工程が必要とされる等、これまでに開発された中で化学合成の難易度が極めて高い医薬品の 1 つである。近年になり、増富健吉氏ら (国立がんセンター) によって、エリブリンが悪性度の高い膠芽腫に対する有効性が示唆された⁶⁾。薬剤投与による治療法の創出に際し、ヒトに薬剤を投与した場合にどの程度の量が患部に到達するのかを知ることができれば、治療時における適切な投与量の検討が可能になると期待される。そこで、エリブリンに陽電子放出核種を連結した PET プローブを用いて、PET 撮像を行う計画が立案された。

本計画の実施における課題は、この複雑な化学構造のどこに、どのように陽電子放出核種を導入するかということに集約される。まず核種の選定に当たっては、エリブリンは F を含まない分子であるため、 ^{11}C による標識に限られる。続いて ^{11}C の導入位置と手法を検討した。 ^{11}C は古くから [^{11}C] ヨウ化メチルを用いた ^{11}C -メチル化反応によって導入することが多いため、エリブリン 31 位のメトキシ基に含まれる炭素を ^{11}C で置換することが考えられた (図 3)。この場合、標識前駆体として 31 位が水酸基に置換されたアルコールが必要になる。しかし、この化合物は新規化合物であり、その合成法を検討せねばならない。元のエリブリンの合成ルート⁷⁾



戦略1: $[^{11}\text{C}]$ ヨウ化メチルによる標識
汎用性高い手法だが前駆体が入手困難



戦略2: $[^{11}\text{C}]$ ニトロメタンによる標識
入手可能な前駆体から標識可能

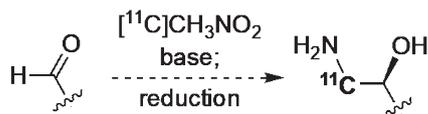
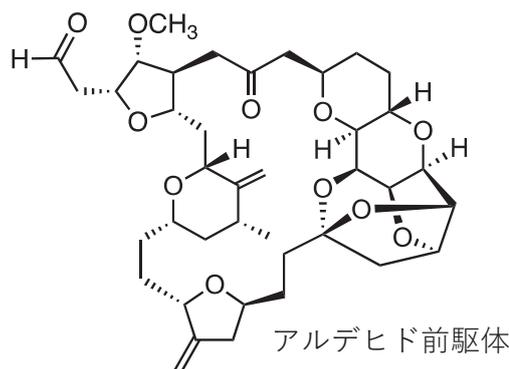


図3 エリブリンの標識位置の検討

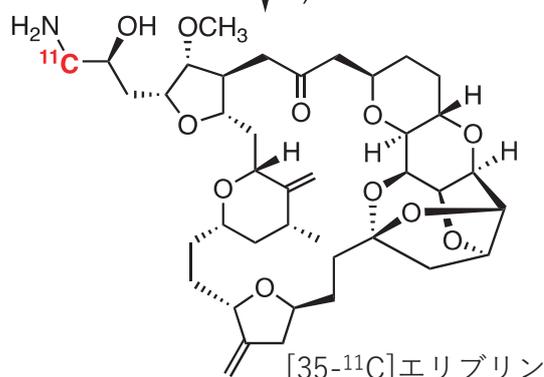
を踏まえると、この前駆体となるアルコールを得るために合成ルートを大きく廻る必要がある。これはエリブリンの複雑な化学構造を鑑みると非現実的であり、この標識法は断念することとなった。

これに対し、エリブリン側鎖にあるエタノールアミン部位に着目し、窒素原子隣接位(35位)への ^{11}C 導入を検討した。この場合、必要となる前駆体は一炭素少ないアルデヒドになるが、これはエリブリンの合成中間体から容易に誘導可能であった⁷⁾。このアルデヒドに対し、 $[^{11}\text{C}]$ ヨウ化メチルから誘導できる $[^{11}\text{C}]$ ニトロメタンを作用させ、続いてニトロ基の還元を行うことで、35位に ^{11}C が導入されたエリブリンを合成できると考えた。この合成ルートは用いる核種、標識反応、必要となる前駆体の入手容易性の面から妥当であり、この計画に基づき標識検討が行われた。詳細は割愛するが、結果として $[^{11}\text{C}]$ 二酸化炭素(40 GBq)から 248 ± 104 MBqの放射能($n=12$)、 132 ± 32 MBq/ μmol の比放射能($n=4$)を持つ $[^{35}\text{-}^{11}\text{C}]$ エリブリンを、総合成時間 38.0 ± 1.3 分($n=12$)で合成できる手法



アルデヒド前駆体

- 1) $[^{11}\text{C}]\text{CH}_3\text{NO}_2$
- 2) SmI_2
- 3) HPLC



$[^{35}\text{-}^{11}\text{C}]$ エリブリン

図4 エリブリンの ^{11}C による標識

を確立できた(図4)。脳にがん組織を移植したモデルマウスへ $[^{35}\text{-}^{11}\text{C}]$ エリブリンを投与してPET撮像を行うことで、そのがん組織への特異的な集積を確認することができた。結果の詳細については原著論文²⁾を参照いただきたい。

4 標識前駆体の取得に関する課題と取組み

筆者らが前述の $[^{35}\text{-}^{11}\text{C}]$ エリブリン開発で直面した課題は、いかに実践的な標識前駆体を取得するかである。この標識前駆体は放射性元素を含まない、いわば普通の分子である。このため、現代の有機合成化学を持ってすれば、時間さえかければどのような化学構造でも合成可能と思われがちである。しかし、エリブリンのように一定以上複雑な化学構造を持つ場合、その合成法の確立には莫大な時間を要する。標識前駆体の合成はPET撮像やその後の解析を含めた研究計画の端緒であることを踏まえると、この過程の効率化は重要である。従来、PETプローブ開発に資する多くの標識反応が開発されてきた一

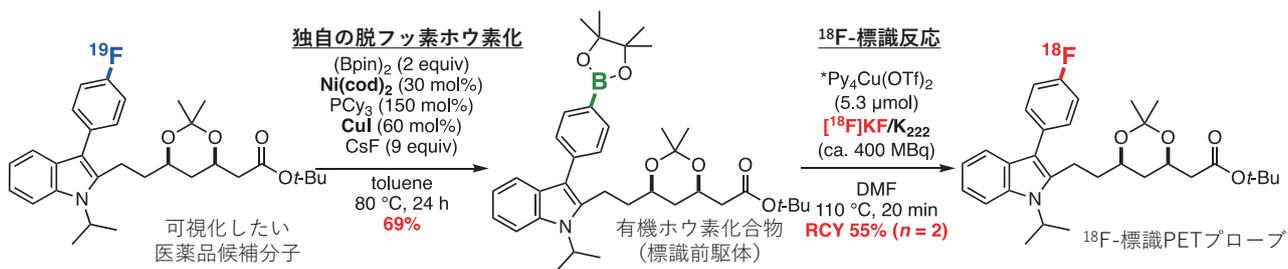


図5 分子リノベーション技術の一例

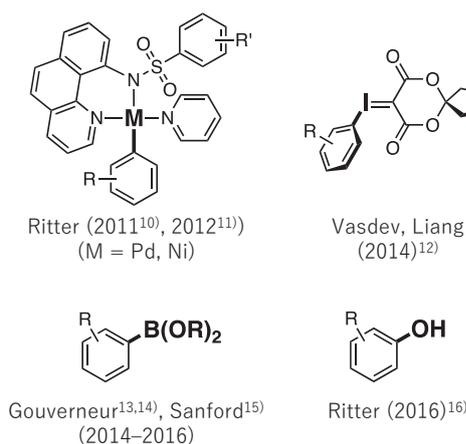


図6 芳香族 ^{18}F -標識反応の前駆体の例

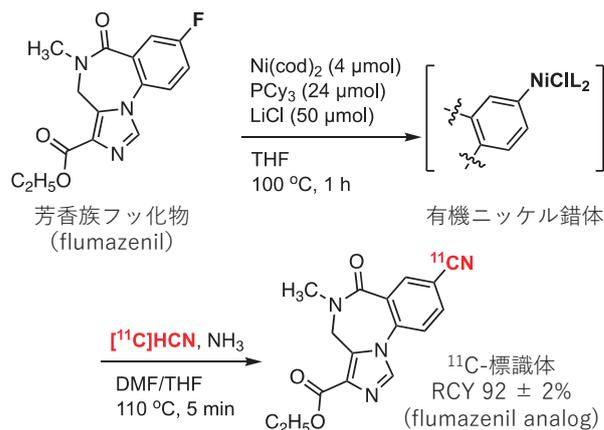


図7 芳香族フッ化物を標識前駆体とする ^{11}C -シアノ化反応

方で、標識前駆体の取得法は各論的であり、これまでに合理的な戦略は提唱されていなかった。特に中分子創薬に注目が集まる昨今においては、化学構造の複雑さに依存しない標識前駆体の入手戦略が強く求められる。

筆者らはこれに対し、医薬品候補分子そのものを原料とし、 ^{11}C や ^{18}F を導入する位置を選択的に化学変換することで、標識前駆体として利用できる有機ホウ素化合物を迅速に入手する合成戦略を立案し、「分子リノベーション技術」と名付けた(図5)⁸⁾。この技術の実現に向け、筆者らは炭素置換基やフルオロ基等をBに置換するホウ素化反応の開発を進めてきた。本技術については既に本誌⁹⁾で解説しているため詳述を避けるが、強調すべき点は、標識前駆体の取得に際し、市販される分子を組み立てる合成戦略(全合成)ではなく、ほぼ同じ化学構造を持つ医薬品候補分子そのものの改変(半合成)を採用することで、それらの迅速取得を目指したことにある。半合成を実施するには、標的とする分子に近い化学構造を持つ原料の入手が鍵となるが、PETプ

ローブ開発においてはほとんどの場合、PET撮像の検討の前に元となる分子の生物活性等を評価しているので、その入手法は確立しているはずである。このため、半合成による標識前駆体の合成戦略は合理的であると言える。

前駆体取得を容易にする別のアプローチとして、合成しやすい化学構造を選択することが考えられる。標識反応は迅速に進行する必要があるため、標識前駆体には一般に高い反応性を示す部位を有する。しかし、このような部位を持つ分子は、その合成過程で反応性部位が予期せぬ化学変換を起こすことがある。このため、特に化学構造が複雑になるほど合成が難しくなる。理想的には、前駆体の化学構造は高い反応性と合成容易さを持ち合わせることが望ましい。この狙いは、2010年代に劇的に発展した芳香族 ^{18}F -フッ素化反応の前駆体の変遷にも見て取れる。2011年にRitterら(ハーバード大学)によって、有機パラジウム及びニッケル錯体を標識前駆体とする例が報告された(図6)^{10,11)}。本手法は従来の基質適用範囲を大幅に拡張する重要な成果だが、標

識前駆体の構造が複雑であり、汎用されるに至っていない。この後、より合成容易な有機ホウ素化合物等を標識前駆体とする¹⁸F-フッ素化が複数開発された¹²⁻¹⁶⁾が、これらは現在でも多くの芳香族フッ化物の¹⁸Fによる標識に用いられている。これらのことは、標識前駆体の入手容易性が標識化学の発展に重要であることを示している。

筆者らは前駆体の取得可能性を更に向上させるために、安定な化学結合であるC-F結合の切断を経る標識反応を開発した(図7)¹⁷⁾。芳香族フッ化物が有するC-F結合は化学的に極めて安定である一方で、低原子価ニッケル錯体を作用させるとこれが切断され、有機ニッケル錯体を与えることが知られている¹⁸⁾。この錯体に[¹¹C]シアン化物イオンを作用させることで、芳香族フッ化物を原料とする段階的な¹¹C-シアノ化が進行することを明らかにした。C-F結合のように化学的に安定な部位は複雑な化学構造にも容易に導入できるため、対応する標識前駆体の化学合成はより容易になる。これらのアプローチを深め組み合わせることで、迅速かつ確実なPETプローブ合成が実現できるものと期待される。

5 おわりに

以上のように筆者らは、より複雑な化学構造を持つPETプローブ開発における経験を踏まえ、この簡便化を指向し、有機化学の深化に努めてきた。これらの化学の進展はPETプローブの創出を直接後押しするものではないが、動物実験等を含む避けがたい試行錯誤を効率よく進める上で重要な基盤技術になると考えている。今後、多彩な分子のPETプローブ化の開発に向け、標識化学に加え、放射性核種を用いない一般的な有機化学の発展が望まれる。

これにより、PETを駆使した創薬開発並びに生命科学研究所の推進が期待される。

参考文献

- 1) Kurihara, C., *Isotope News*, **696**, 2-7 (2012)
- 2) Niwa, T., *et al.*, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **96**, 283-290 (2023)
- 3) Littlefield, B. A., *et al.*, *Macrocyclic analogs and methods of their use and preparation.*, WO **99** 65894, Dec. 23, 1999
- 4) Uemura, D., *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.*, **107**, 4796-4798 (1985)
- 5) Hirata, Y., *et al.*, *Pure Appl. Chem.*, **58**, 701-710 (1986)
- 6) Takahashi, M., *et al.*, *Cancer Sci.*, **110**, 2247-2257 (2019)
- 7) 千葉博之, 他, *有機合成化学協会誌*, **69**, 600-610 (2011)
- 8) Niwa, T., *et al.*, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **93**, 230-248 (2020)
- 9) Niwa, T., *et al.*, *Isotope News*, **753**, 8-13 (2017)
- 10) Lee, E., *et al.*, *Science*, **334**, 639-642 (2011)
- 11) Lee, E., *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.*, **134**, 17456-17458 (2012)
- 12) Rotstein, B. H., *et al.*, *Nat. Commun.*, **5**, 4365 (2014)
- 13) Matthew, T., *et al.*, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **53**, 7751-7755 (2014)
- 14) Preshlock, S., *et al.*, *Chem. Commun.*, **52**, 8361-8364 (2016)
- 15) Mossine, A. V., *et al.*, *Org. Lett.*, **17**, 5780-5783 (2015)
- 16) Neumann, C. N., *et al.*, *Nature*, **534**, 369-373 (2016)
- 17) Zhang, Z., *et al.*, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **62**, e202302956 (2023)
- 18) Liu, X.-W., *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.*, **137**, 12470-12473 (2015)

(¹九州大学大学院薬学研究院, ²東京医科歯科大学(TMDU)生体材料工学研究所, ³理化学研究所生命機能科学研究センター(BDR))