総説**REVIEW ARTICLE****低分子 PET プローブの開発**

丹羽 節, 細谷 孝充

国立研究開発法人 理化学研究所ライフサイエンス技術基盤研究センター

(平成 28 年 2 月 29 日受理, 平成 28 年 3 月 14 日掲載決定)

Development of Small Molecule-Based PET Probes

Takashi Niwa, Takamitsu Hosoya

RIKEN Center for Life Science Technologies (CLST)

(Received February 29, 2016, Accepted March 14, 2016)

要 旨

PET (陽電子放射断層撮像) は, 放射線の検出を原理とする分子イメージング技術である. ヒトにも適用可能な侵襲性の低いイメージング法であり, 診断や創薬に活用されている. PET では, 陽電子放射核種で標識された分子 (PET プローブ) を用いる. とくに分子量の小さい低分子 PET プローブには, 核種の半減期などの性質を考慮し, 炭素 11 やフッ素 18 がよく用いられる. 本稿では, 近年著しい発展を遂げているこれら二つの核種で標識された低分子 PET プローブの合成法について概観する.

キーワード: PET (陽電子放射断層撮像), PET プローブ, 標識反応, 陽電子放射核種

Abstract

PET (Positron Emission Tomography) is a less-invasive molecular imaging method that is used for clinical diagnosis and evaluation of drug candidates at the early stage of drug development. This article reviews recent achievements on PET chemistry with a focus on the development of PET probes, particularly for small molecules labeled with a short-lived positron-emitting radionuclide such as carbon-11 or fluorine-18.

Key words: PET (Positron Emission Tomography), PET probe, labeling reaction, positron-emitting radionuclide

1. 背景**1.1 PET の原理と性質**

陽電子放射断層撮像 (PET: Positron Emission Tomography) は, 放射線を検出することで生体中の分子の動態を画像化する分子イメージング技術である (Fig.1). 検出に用いる放射線は, 陽電子放射核種から生じる陽電子が近傍の電子と対消滅することによって生じる, 511 keV のエネルギーを有する γ 線対である. これを観察対象

の周囲に円形状に検出器を備えた PET カメラで観測し, 得られたデータを解析することで, 陽電子放射核種で標識された分子 (PET プローブ) の空間的な位置を明らかにできる. 放射線は極めて高い感度で測定可能であるため, 様々な利点がある. 例えば, γ 線の高い透過性のために, 生体深部の撮像を全身で行うことができる. さらに, PET プローブの投与量が, 生物活性が発現しない極めて少ない量で十分であるため, 生体への侵襲性が低く,

Fig.1 Basic principle of positron emission tomography (PET).

Fig.2 Chemical structures of $[^{18}\text{F}]$ FDG and D-glucose.

ヒトに適用可能である。定量性も高く、また連続的に撮像することにより、PET プローブの動的挙動を立体的に可視化することができる。これらの特長は、生体内において特定の分子の挙動を追跡する上で極めて有用である。

1.2 PET の利用

これらの性質を活かし、PET は診断に活用されている。これまでに様々な PET プローブが開発されているが、中でも $[^{18}\text{F}]$ フルオロデオキシグルコース ($[^{18}\text{F}]$ FDG) が代表的である (Fig.2)。 $[^{18}\text{F}]$ FDG はグルコースの 2 位の水酸基をフッ素 18 に置き換えた化合物である。グルコースと異なり解糖系による代謝が途中で停止するため、細胞内に蓄積する。このため、体内で活発に糖取り込みが行われるがん細胞に多量の含フッ素 18 化合物が集積し、PET によりがん組織を可視化することができる。 $[^{18}\text{F}]$ FDG は、1970 年代に米国ブルックヘブン国立研究所で井戸、Wolf らによって初めて合成され¹⁾、その後米国ペンシルバニア大学にて初めてヒトに投与された²⁾。 $[^{18}\text{F}]$ FDG を用いたがん検診は日本でも 2002 年に保険適用されており、現在世界で最も利用されている PET プローブである。 $[^{18}\text{F}]$ FDG 以外にも $[^{15}\text{O}]$ 酸素ガス (脳血流)、 $[^{13}\text{N}]\text{NH}_3$ (心機能) などが診断に用いられている。近年は、中枢における分子動態の可視化と診断を目指した研究が盛んに行われており、現代の大きな社会問題であるアルツハイマー病を始めとする認知症や、うつ病、統合失調症などの診断薬となる PET プローブの開発が期待されている。

一方で、PET の活用による創薬開発の効率化も期待されている。数多くの薬剤候補化合物が動物実験などを通じて創出されるものの、それらのほとんどが phase 1 以降の臨床試験において動物実験からは予期できなかった動態を示すなどして、開発中止へと追込まれるのが現状である。臨床試験にかかる費用が膨大であるため、成功確率を高め創薬にかかるコストを削減することが重要な課題となっている。この創薬開発における種差の問題に対し、薬剤候補化合物に対応する PET プローブを健

常人にごく少量投与することで、ヒトにおいてその化合物の動態を可視化・評価することが可能である。この手法はマイクロドーズ法と呼ばれ、創薬開発の早期段階で不適切な候補化合物を排除でき、不要な臨床試験の実施を抑えられることから、医薬品開発コストの削減と薬価の低減に寄与するものと期待されている³⁾。

1.3 陽電子放射核種の選択

これらの背景から、様々な化学構造を有する PET プローブの開発が強く求められている。その際、様々な陽電子放射核種を用いることができるが (Table 1)⁴⁾、PET プローブの合成や投与後の解析に必要な時間を考慮すると、半減期が極端に短い核種は実用的ではない。また医薬品や生体構成分子に共通する元素の利用が望ましく、一般に創薬の中心となる低分子化合物に対応する PET プローブの合成では、適度な半減期を有する炭素 11 (半減期約 20 分) とフッ素 18 (同約 110 分) が汎用される。一方、近年盛んに研究されている抗体医薬などの高分子の場合、体内での拡散に時間を要することから、銅 64 やジルコニウム 89 のような長い半減期を持つ金属核種がよく用いられる。紙面の都合上本稿では、これら高分子 PET プローブについては触れず、炭素 11 やフッ素 18 の導入法など、低分子 PET プローブの開発に関する現状について紹介する。

Table 1 Typical positron-emitting radionuclides used in PET

Positron-emitting radionuclide	Representative nuclear reaction	Half-life	Energy of decay
Carbon-11	$^{14}\text{N}(\text{p},\alpha)^{11}\text{C}$	20.4 min	0.96 MeV
Nitrogen-13	$^{16}\text{O}(\text{p},\alpha)^{13}\text{N}$	9.97 min	1.20 MeV
Oxygen-15	$^{14}\text{N}(\text{d},\text{n})^{15}\text{O}$	2.04 min	1.73 MeV
Fluorine-18	$^{18}\text{O}(\text{p},\text{n})^{18}\text{F}$	109.8 min	0.63 MeV
Copper-64	$^{64}\text{Ni}(\text{p},\text{n})^{64}\text{Cu}$	12.7 h	0.65 MeV
Zirconium-89	$^{89}\text{Y}(\text{p},\text{n})^{89}\text{Zr}$	78.4 h	0.90 MeV

2. PET プローブの合成

PET プローブは、陽電子放射核種を化学的に化合物に結合させることで合成する (Fig.3 (a))。この過程は標識反応と呼ばれ、その手法は多岐にわたるが、陽電子放射核種の持つ性質のために、実際の合成には様々な制約がある。

2.1 標識反応における制約

代表的な制約は、PET プローブ合成時の時間制限である。サイクロトロンで製造、供給された核種は崩壊により減少し続けるため、PET プローブ合成に与えられる時間は最大で 2 半減期程度 (炭素 11 であれば 40 分に相当) だと言われる。サイクロトロンで製造される陽電子放射核種を持つ化学種は一般に反応性が低いため、まず、これらを標識反応に利用できる反応性の高い標識化剤 ($[^{11}\text{C}]$ ヨウ化メチルなど) に変換する必要がある。さらに、標識反応後の分取、精製に要する時間を考慮すると、標識反応自体にかかる時間は短いほどよ

Fig.3 Labeling reaction and system for preparation of PET probes.

い。そのため、PETプローブ合成には、極めて短時間で進行する高速反応の利用が不可欠である。また、副反応を抑え標識反応の効率を向上させるべく、標識前駆体の反応に関与しない官能基部位を保護することがある。この場合、標識反応の後に保護を除去する過程が必要になるが、この過程も同様に迅速に行う必要がある。従ってPETプローブ合成では、標識前駆体の緻密な設計も重要となる。

また、一般的な有機反応と大きく異なる点として、利用可能な陽電子放射核種の量が非常に少ないことがある。サイクロトロンで一度に製造できる原子の数は、照射核種や製造条件にも依存するが、一般に数百ナノモル以下である。一般の有機反応で使用する試薬の量は少なくともサブミリモル程度であり、1000倍以上の差がある。標識化剤の濃度が低くなると、分子間の衝突確率が低下し、反応速度は劇的に遅くなる。標識反応は、このような不利な条件下で、上述したように高速に進行させる必要がある。実際に標識反応を行う際には、標識前駆体や触媒などの活性化のための試薬類を大量に使用し、ごくわずかに存在する標識化剤をできるだけ欠かすことなく捕捉できる反応条件を設定するのが一般的である。しかし、標識反応終了後には標識前駆体や試薬類が大量に残存することになる。その混合物の中からわずかに生成した所望のPETプローブを確実にかつ迅速に精製するための条件設定も、PETプローブ合成では重要なプロセスとなる。なお、HPLCなどでの分離過程では、PETプローブの物質量がごく微量であるため、紫外吸収などを指標にした検出は容易ではない。この場合でもγ線検出器を併用すれば、目的とするPETプローブを明確に見分けることができる。

2.2 放射線分解

PETプローブ特有の問題点として、放射線による自己分解がある。放射線が分子に衝突すると、共有結合の均等開裂を経て、反応性の高いラジカルが生じる。これを起点とし、連続的にPETプローブが分解する現象が見られることがある。この場合、アスコルビン酸などを始めとする抗酸化剤(ラジカル捕捉剤)を精製後の溶液に共存することにより、分解を防げることがある。

2.3 標識用合成装置の利用

PETプローブの合成は、研究者の放射線被曝を避けるために、ホットセルと呼ばれる専用キャビネットの中に設置された標識用合成装置を用いて実施する(Fig.3 (b))。合成装置は、 $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$ のように既存のPETプローブ合成用に最適化され、市販されているものもあるが、新しいPETプローブの開発には、柔軟性が高い研究用の機器が望ましい。機器は一度使用した後、残存する放射能が十分低下するまで待機した後に洗浄し、次の使用に備える。例えば炭素11であれば数時間、フッ素18であれば少なくとも翌日まで待ってから洗浄する。従って、標識反応自体は短時間で終わるものの、標識反応の検討には長時間を要する。また、通常の標識用合成装置は機能的にシンプルなものが多く、反応容器が一つしか設置できない、加熱はできるが攪拌はできないなど、通常の有機反応では当たり前に行っている操作が適用できないこともある。これらの機能の拡張には、装置そのものの開発が必要であり、多額のコストが求められる。このような機器開発は、新しい標識反応の開発に向けて取り組むべき課題の一つである。近年、機能拡張による標識手法開発の加速を目指し、マイクロフロー合成装置⁵⁾やマイクロウェーブ反応装置⁶⁾を組み合わせた試みが行われている。

2.4 標識反応の評価

標識反応の効率を評価する指標として、放射化学収率 (RCY: RadioChemical Yield) がある。放射化学収率は、反応開始時の放射エネルギーに対する、合成した PET プローブが持つ放射エネルギーの比で表され、数値が高いほど標識反応が高効率であったことを意味する。例えば、20 GBq の ^{11}C 二酸化炭素を用いて、1 GBq の放射エネルギーを持つ ^{11}C -標識 PET プローブを単離した場合、このプロセスは「RCY 5%」ということになる。時間経過に伴う放射能の自然消滅分を補正した放射化学収率も頻繁に用いられる。先の例の標識プロセスが 40 分かかっていた場合、炭素 11 の半減期が約 20 分であることを考慮すると、自然消滅しなければ 4 GBq のプロローブが得られていたはずであり、「RCY 20% (decay corrected)」と表すことができる。

合成した PET プローブの質を評価する指標として、通常の化合物と同様に化学純度があるが、ほかに放射化学純度がある。これは精製した試料の全放射エネルギーに対する PET プローブが持つ放射エネルギーの比で表す。生体に投与した後は γ 線のみを追跡することになるため、高精度な PET 撮像のためには、PET プローブの放射化学純度は極めて高い値が求められる。この放射化学純度は、 γ 線検出器を備えた HPLC を用いた測定をもとに算出できる。

さらに重要な指標として、比放射能 (SA: Specific Activity) がある。これは PET プローブの放射エネルギーに対する物質質量の比で表される。標識反応ではサイクロトロンで製造した核種 (炭素 11 やフッ素 18 など) のみが利用されると考えられがちだが、実際には多量の非放射性核種 (炭素 12 やフッ素 19 など) が混入する。陽電子放射核種に通常の安定核種が混入すると、放射能を持たない PET プローブと同等の化学構造を持つ化合物が同時に合成されることになり、これらは分離できないことから比放射能を低下させる原因となる。比放射能が著しく低い場合、観察可能な放射エネルギーを担保するため多量の PET プローブの投与が必要になり、望まない生物活性が発現する恐れがあるほか、低感度化を招き明瞭な画像の取得が困難になる。そのため比放射能は、PET プローブの質を表現する上で非常に重要な指標となる。

以上述べてきたように、新たな PET プローブの開発には有機反応化学に対する深い理解が必要であるだけでなく、放射線の利用に基づく現実的な課題が多く存在しており、機器開発も視野に入れた検討が求められる。以下に、これらの問題を解決し利用される標識反応を、炭素 11 ならびにフッ素 18 標識反応に絞って概観する。

3. ^{11}C -標識 PET プローブの合成

炭素は有機化合物の基本骨格となる元素であり、あらゆる生体構成分子に含まれるため、多彩な化学構造を持つ PET プローブを合成する上で、炭素 11 による標識は合理的である。炭素 11 の半減期は約 20 分とかなり短く (Table 1), 合成した PET プローブは同一の施設において速やかに生体に投与して利用する必要がある。一方で、例えば午前中に ^{11}C -標識 PET プローブを投与した場合、午後にはその放射能がほぼ消失する。そのため一日に同一個体に対して PET プローブを複数回投与することもでき、研究用途に適していると言える。

3.1 炭素 11 の製造と標識化剤

陽電子放射核種である炭素 11 は、高純度窒素ガスへのプロトン照射 ($^{14}\text{N}(\text{p}, \alpha)^{11}\text{C}$) により製造する。生じた炭素 11 は酸素、もしくは水素と速やかに反応して、 ^{11}C 二酸化炭素または ^{11}C メタンを与える。この二つの一次生成物を起点に化学変換を行い、標識前駆体と反応させやすい化学構造を持つ標識化剤へと誘導するが、これらの変換も迅速に行う必要がある (Fig.4)。これまでに様々な ^{11}C -標識化剤が開発されているが、中でも求電子的な高反応性メチル化剤である ^{11}C ヨウ化メチルが多用されている。 ^{11}C ヨウ化メチルの合成については、 ^{11}C 二酸化炭素の還元を伴う液相法と、 ^{11}C メタンの酸化を経由する気相法が開発されている。液相法は、一つのガラス製反応容器に連続して試薬を加える簡単な操作に基づいており、多くの標識用合成装置で実施可能である。しかし、空气中に存在する ^{12}C 二酸化炭素の合成装置への混入を完全に防ぐことは難しく、比放射能の低下を招く⁷⁾。一方、気相法では ^{11}C 二酸化炭素を利用しないため、比放射能の低下が起こりにくい⁸⁾。

有機化合物の構造多様性に対応するため、 ^{11}C ヨウ化メチル以外にも様々な化学構造を持つ ^{11}C -標識化剤が利用されている。例えば、有機化合物に普遍的に存在するカルボキシ基を標識する場合、サイクロトロンから得られる ^{11}C 二酸化炭素を直接標識化剤として活用することが最も直截的である。 ^{11}C 二酸化炭素を亜鉛などで還元することにより得られる ^{11}C 一酸化炭素は、エステルやアミドなどカルボニル化合物を合成する際に有用な ^{11}C -標識化剤である⁹⁾。また ^{11}C ホスゲン は、尿素誘導体の合成に有用な標識化剤である¹⁰⁾。カルボニル基の誘導体であるシアノ基は、後述するフッ素と並んで創薬において頻繁に活用される官能基であるが、シアノ基の標識には ^{11}C シアン化物イオンを用いる手法が簡便である¹¹⁾。また近年、 ^{11}C ヨウ化メチルから容易に調製可能な ^{11}C ニトロメタンも注目され、 γ -アミノ酸などの合成に利用されている¹²⁾。これらの例のように様々な標識化剤が活用され、広範な化学構造に対応する ^{11}C -標識 PET プローブの開発が進んでいる。

3.2 求核置換反応による標識

^{11}C ヨウ化メチルを用いた求核置換反応は、最も汎用される ^{11}C -標識手法の一つである。求核剤として酸素 (アルコール)、窒素 (アミン)、硫黄 (チオール) などを用いることで、 ^{11}C -メチル化を迅速に行える。この手

Fig.4 Representative ^{11}C -labeling reagents.

法を用いれば、生物活性化合物によく見られるメトキシ基やメチルアミノ基、メチルチオ基などを容易に ^{11}C -標識することができる (Fig.5 (a)).

3.3 高速メチル化法による標識

前述の求核置換反応によって得られる ^{11}C メトキシ基などは、生体内で代謝を受け ^{11}C メチル基が脱落し、投与した PET プローブの動態を反映しない PET 画像を与えることがある。信頼性の高い画像の取得には、化学的に安定な結合を介して炭素 11 を導入することが重要である。この背景の中、パラジウム触媒を用いるクロスカップリング反応^{13,14)}を適用することで、 ^{11}C メチル基をベンゼン環に直接接続する「高速メチル化」法が開発された¹⁵⁾。炭素 11 が極めて安定な炭素-炭素結合で接続されるため、代謝による欠落を抑えることができる。

最近我々はこの高速メチル化法を用い、新たな PET プローブとして ^{11}C セトロゾールを開発した (Fig.5 (b))¹⁶⁾。この PET プローブは、近年脳機能にも重要な役割を果たすことが示唆されているエストロゲン合成酵素であるアロマターゼの脳内分布の可視化に利用できる。アロマターゼの可視化プローブはすでにベンゾトリアゾール上の窒素を ^{11}C メチル化した ^{11}C ボロゾールが知られていたが、 ^{11}C -標識部位が代謝されやすいためか、脳内での局在の部位特異性が十分ではなかった¹⁷⁾。これに対し、代謝安定な ^{11}C -炭素結合で標識された ^{11}C セトロゾールは、アカゲザルへの投与、PET 撮像から側坐核、扁桃核、視床下部へ特異的に集積することが明らかになり、アロマターゼの発現量の定量的な評価が可能となった。

また、高速メチル化法の有効性を如実に表した例として、15R-TIC メチルエステルの ^{11}C -標識が挙げられる (Fig.6)¹⁸⁾。この化合物は二種類のメチル基をもち、求核的にエステル部位を、またはカップリング反応を経てベンゼン環を ^{11}C -メチル化することができる。合成した二種類の ^{11}C -標識 PET プローブをアカゲザルに投

与したところ、メチルエステル部位を標識したプローブを用いた際には、脳内全体に炭素 11 が分布した画像が得られた。一方、交差カップリングを用いてベンゼン環上を ^{11}C -標識したものでは、脳内中枢型プロスタサイクリン (PGI_2) 受容体の分布と一致する画像が得られた。この結果は、15R-TIC ^{11}C メチルエステルが脳内で加水分解を受け、標識部位が ^{11}C メタノールとして乖離していることを示唆しており、PET プローブの分子設計における標識部位の選択が重要であることを表している。

4. ^{18}F -標識 PET プローブの合成

フッ素を構造中に導入することで代謝安定性の向上や水素結合能の付与など、医薬品としての性質の向上が期待できる。実際、これまでに多くの含フッ素医薬品が開発されている。対応するフッ素 19 をフッ素 18 に置換した PET プローブを開発できれば、マイクロドーズ臨床試験を経て、医薬品ならびに候補化合物そのものの薬物動態を評価できる^{3,19)}。

フッ素 18 は炭素 11 と比べて放出する陽電子のエネルギーが小さい (Table 1)。陽電子が電子と衝突するまでの飛程距離が小さく、PET プローブのごく近傍で対消滅を起こす。このため観測誤差が小さく、画像化した際に鮮明な画像が得られやすい。また、フッ素 18 の半減期は炭素 11 に比べて長く、約 110 分である。そのため、合成した PET プローブを近隣の病院へ輸送することが可能である。合成にかけられる時間も長いため、炭素 11 に比べて柔軟な合成経路の設計が可能である。

4.1 フッ素 18 の製造と標識化剤

フッ素 18 の標識化剤は反応性の観点から、求核的なものと求電子的なものに大別できる (Fig.7)。現在は一般に、酸素 18 を有する重水 (H_2^{18}O) に対するプロトン照射 ($^{18}\text{O}(\text{p},\text{n})^{18}\text{F}$) により、求核的な ^{18}F フッ化物イオンを水溶液として得る手法がよく取られる (Fig.7 (a))。フッ化物イオンは近傍に水分子が存在すると、強い水素結合を形成し安定化するため、フッ化物イオンとしての求核性 (反応性) は大幅に低下する。このため ^{18}F -標識反応に用いる際には、まず得られた水溶液から水分をできる限り除去する必要がある。現在よく用いられる手法は、一度イオン交換樹脂に ^{18}F フッ化物イオンを捕捉し、後から若干の塩基性水溶液で溶出した後、不活性ガ

Fig.5 Preparation of ^{11}C -labeled PET probes using ^{11}C iodomethane.

Fig.6 Two types of ^{11}C -labeled PET probes of 15R-TIC methyl ester.

スを吹き込みながら加熱乾固するものである。厳密に水分を除くため、アセトニトリルの添加による共沸操作を数回繰り返すのが一般的である。こうして得た脱水 ^{18}F フッ化物イオンは、求核置換反応により標識前駆体との反応に利用される。なお、この反応形式の特性上、アルキル基などの脂肪鎖にフッ素 18 を導入することは可能だが、ベンゼン環など芳香環へのフッ素 18 の導入は限定的である。

一方、 ^{18}F フッ化物イオンに少量のフッ素ガス ($^{19}\text{F}_2$) を添加すると、フッ素の同位体交換が起き、一部が ^{18}F フッ素ガス ($^{18}\text{F}-^{19}\text{F}$) として取り込まれる (Fig.7b)。こうして得られた ^{18}F フッ素ガスは求電子性が極めて高く、様々な有機化合物と反応し ^{18}F -標識することが可能である。さらに、酢酸アンモニウムなど他の試薬と反応させることで反応性を調節した標識化剤も開発されている。求電子的な ^{18}F フッ素化剤を用いると、 ^{18}F フッ化物イオンの求核置換反応では合成できない芳香環へのフッ素 18 の導入が可能である。芳香環上にフッ素原子を持つ化学構造は医薬品に多く存在するため、求電子的フッ素化剤は今も利用されている。一方で、フッ素ガスの危険性が極めて高く、利用可能な病院などの施設が大きく限定される。また、 ^{18}F フッ素ガス中に存在するフッ素 19 の混在が原理的に避けられず、比放射能が大幅に低下する問題を有している。従って、高い比放

射能を有する ^{18}F 芳香族フッ化物の合成は極めて限定的であったが、近年の化学の進展により、この課題を克服しつつある (後述)。

4.2 脂肪鎖の ^{18}F -標識

フッ化物イオンの求核置換反応による脂肪鎖のフッ素化は古くから知られており、 ^{18}F -フッ素化にもそのまま適用されている。本反応は、脱水アセトニトリルや脱水ジメチルホルムアミド (*N,N*-dimethylformamide: DMF) など、求核置換反応を起こしやすい高極性な溶媒中で行うのが一般的である。よく用いられる標識前駆体は、アルコールから一段階で合成できるスルホナートであり、これまでに ^{18}F FDG や 3'-deoxy-3'- ^{18}F fluorothymidine (^{18}F FLT), ^{18}F fluoroazomycin arabinoside (^{18}F FAZA) など、主に糖や核酸を基盤とする化合物の ^{18}F -標識が実施されてきた (Fig.8 (a))。一方で、可視化したい化合物がフッ素原子を持たない場合など、現状の手法での ^{18}F -標識が困難な場合、 ^{18}F fluoroethyltyrosine (^{18}F FET) のように化合物の一部をフルオロエチル基に置換した PET プローブを設計することがある。このような場合には化学構造が変化するため、新たに設計した PET プローブの生物活性を検証する必要があるが、 ^{18}F フルオロエチル基の導入は比較的容易であるため、現在でも PET プローブ設計の有力な手法の一つとなっている。

Fig.7 Representative ^{18}F -labeling reagents.

(a) ^{18}F -Labeled PET probes prepared by using a nucleophilic reagent ($^{18}\text{F}\text{F}^-$)

(b) ^{18}F -Labeled PET probes prepared by using an electrophilic reagent ($^{18}\text{F}\text{F}^+$)

Fig.8 Preparation of ^{18}F -labeled PET probes.

4.3 芳香環の ^{18}F -標識

芳香環にフッ素 18 を導入する場合、脂肪鎖への導入の場合とは異なり、電子不足芳香環に対する芳香族求核置換反応が可能な場合以外は適用が困難である。従って、 ^{18}F フッ素ガス由来の求電子的な標識化剤を用いて導入する手法がよく用いられる。例えば脳内のドーパミン代謝の診断用プローブである ^{18}F fluoro-L-DOPA (^{18}F F-DOPA) は、 ^{18}F フッ素ガスなどの求電子的フッ素化剤を作用させることで合成される (Fig.8 (b))²⁰。こうして得られた ^{18}F F-DOPA は比放射能が小さいものの、フッ素ガスが使える施設であれば安定供給が可能であり、臨床試験に用いられている。

求電子的フッ素化ではフッ素ガスの使用に伴う比放射能の低下を免れないため、高い比放射能を持つ PET プローブを開発し鮮明な画像を得るためには、求核的にフッ素 18 を導入することが課題となる。芳香環への ^{18}F フッ化物イオンの導入では、電子不足芳香環に対する芳香族求核置換反応が有効であることが古くから知られていた。一方で電子豊富な芳香環への ^{18}F フッ化物イオンの導入は、つい数年前まで極めて困難だった。しかし、遷移金属錯体などを駆使した最新の有機反応化学を活用することで、電子豊富な芳香環にも求核的にフッ素 18 を導入することが可能となってきた (Fig.9 (a))。Ritter らがパラジウム錯体を標識前駆体とする ^{18}F -標識法を報告したのを皮切りに²¹⁾、近年多数の方法論が開発された。中でも、有機合成化学における重要な合成中間体であるホウ素化合物を標識前駆体として用いる手法が開発され^{22,23)}、芳香環へのフッ素 18 の導入はほぼ実現可能な状況に達した^{24,25)}。これらの手法も個々に諸問題を残すが、今後の検討によりさらに実用的な手法が開発されるものと期待される。

標識手法の発展に伴い、様々な標識前駆体が利用できるようになったが、これらの取得にはいずれも多段階の化学合成が必要である。PET プローブの開発をより速やかに推進するため、必要となる標識前駆体の簡便合成法の開発が望まれている。これに対し我々は、Martin らと同時期に、芳香族フッ化物のフッ素原子をホウ素原子に置換する反応を開発した (Fig.9 (b))^{26,27)}。この反応で得られる有機ホウ素化合物は、上述したようにフッ素 18 を導入するための標識前駆体として利用できる^{22,23)}。

基質適用範囲に改善の余地はあるものの、これらの手法を組み合わせることで、可視化したいフッ素原子を有する分子そのものを、わずか二段階の化学変換で迅速に ^{18}F -標識することが可能である (Fig.9 (c))。

5. おわりに

以上、本稿では PET イメージングを実施するためのプローブ開発の際に、通常の有機化学とは異なる注意すべき点や、様々な標識反応について概観した。PET は炭素 11 やフッ素 18 などの単一の原子を追跡できるため、可視化したい分子の化学構造を変化させることなく、対応する PET プローブを開発できる。放射線の利用に基づく特有の課題はあるが、特別な化学修飾を必要とする他のイメージングプローブとは異なり、目的分子の挙動を生体内で正確に追跡できるため、PET は分子の動態を基盤とする生命科学研究や医学・創薬において強力な技術であると言える。これらの要望に応えるためには、あらゆる生物活性化合物に陽電子放射核種を導入する標識技術が必要である。本稿では様々な標識技術を紹介したため、すでに実用的な標識技術が確立していると思われるかもしれないが、実際にはまだ解決すべき科学的、もしくは技術的な課題が山積している。有機化学の発展に基づく合理的な標識前駆体設計と標識反応の実現により、任意の分子の PET イメージングを実現する化学基盤技術の熟成が求められる。

利益相反の開示

開示すべき利益相反なし。

参考文献

- 1) T. Ido, C.-N. Wan, V. Casella, J.S. Fowler, A.P. Wolf, M. Revich, D.E. Kuhl: Labeled 2-deoxy-D-glucose analogs. ^{18}F -labeled 2-deoxy-2-D-glucose, 2-deoxy-2-fluoro-D-mannose and ^{14}C -2-deoxy-2-fluoro-D-glucose. *J Labelled Comp Radiopharm*, 14: 175-183, 1978.
- 2) M. Reivick, D. Kuhl, A. Wolf, J. Greenberg, M. Phelps, T. Ido, V. Casella, E. Hoffmann, A. Alavi, L. Sokoloff: The ^{18}F fluorodeoxyglucose method for the measurement of local cerebral glucose utilization in man. *Circ Res*, 44: 127-137, 1979.
- 3) J.K. Willmann, N. van Bruggen, L.M. Dinkelborg, S.S.

Fig.9 Recently developed technologies for aromatic ^{18}F fluorination.

- Gambhir: Molecular imaging in drug development. *Nat Rev Drug Discovery*, 7: 591-607, 2008.
- 4) National Nuclear Data Center, Brookhaven National Laboratory: <http://www.nndc.bnl.gov>.
 - 5) S.Y. Li, V.W. Pike: Micro-reactors for PET Tracer Labeling, P.A. Schubiger, L. Lehmann, M. Friebe(eds), *PET Chemistry: The Driving Force in Molecular Imaging*, 271-288, 2007, Springer-Verlag.
 - 6) S. Stone-Elander, N. Elander, J.-O. Thorell, A. Fredriksson: Microwaving in F-18 Chemistry: Quirks and Tweaks, P.A. Schubiger, L. Lehmann, M. Friebe(eds), *PET Chemistry: The Driving Force in Molecular Imaging*, 243-270, 2007, Springer-Verlag.
 - 7) R. Iwata, T. Ido, A. Ujiie, T. Takahashi, K. Ishiwata, K. Hatano, M. Sugahara: Comparative study of specific activity of [^{11}C]methyl iodide: A search for the source of carrier carbon. *Appl Radiat Isot*, 39: 1-7, 1988.
 - 8) P. Larsen, J. Ulin, K. Dahlström, M. Jensen: Synthesis of [^{11}C]iodomethane by iodination of [^{11}C]methane. *Appl Radiat Isot*, 48: 153-157, 1997.
 - 9) B. Långström, O. Itsenko, O. Rahman: [^{11}C]Carbon monoxide, a versatile and useful precursor in labelling chemistry for PET-ligand development. *J Labelled Comp Radiopharm*, 50: 794-810, 2007.
 - 10) D. Roeda, F. Dplle: [^{11}C]Phosgene: a versatile reagent for radioactive carbonyl insertion into medical radiotracers for positron emission tomography. *Curr Top Med Chem*, 10: 1680-1700, 2010.
 - 11) R. Iwata, T. Ido, T. Takahashi, H. Nakanishi, S. Iida: Optimization of [^{11}C]HCN production and no-carrier-added [^{11}C]amino acid synthesis. *Appl Radiat Isot*, 38: 97-102, 1987.
 - 12) K. Kato, M.-R. Zhang, K. Suzuki: Synthesis of (*R,S*)-[4- ^{11}C]baclofen via Michael addition of nitromethane labeled with short-lived ^{11}C . *Bioorg Med Chem Lett*, 19: 6222-6224, 2009.
 - 13) S. Miyaura, A. Suzuki: Palladium-Catalyzed Cross-Coupling Reactions of Organoboron Compounds. *Chem Rev*, 95: 2457-2483, 1995.
 - 14) J.K. Stille: The Palladium-Catalyzed Cross-Coupling Reactions of Organotin Reagents with Organic Electrophiles. *Angew Chem Int Ed Engl*, 25: 508-524, 1986.
 - 15) M. Suzuki, H. Doi, H. Koyama, Z. Zhang, T. Hosoya, H. Onoe, Y. Watanabe: Pd⁰-Mediated Rapid Cross-Coupling Reactions, the Rapid C-[^{11}C]Methylations, Revolutionarily Advancing the Syntheses of Short-Lived PET Molecular Probes. *Chem Rec*, 14: 516-541, 2014.
 - 16) K. Takahashi, T. Hosoya, K. Onoe, H. Doi, H. Nagata, T. Hiramatsu, X.-L. Li, Y. Watanabe, Y. Wada, T. Takashima, M. Suzuki, H. Onoe, Y. Watanabe: ^{11}C -cetrozole: An Improved C- ^{11}C -Methylated PET Probe for Aromatase Imaging in the Brain. *J Nucl Med*, 55: 852-857, 2014.
 - 17) K. Takahashi, M. Bergström, P. Frändberg, E.-L. Vesström, Y. Watanabe, B. Långström: Aromatase Imaging with [*N*-Methyl- ^{11}C]Vorzole PET in Healthy Men and Women. *Nucl Med Biol*, 33: 599-605, 2006.
 - 18) M. Suzuki, H. Doi, T. Hosoya, B. Långström, Y. Watanabe: Rapid methylation on carbon frameworks leading to the synthesis of a PET tracer capable of imaging a novel CNS-type prostacyclin receptor in living human brain. *Trends Anal Chem*, 23: 595-607, 2004.
 - 19) S. Purser, P.R. Moore, S. Swallow, V. Gouverneur: Fluorine in medical chemistry. *Chem Soc Rev*, 37: 320-330, 2008.
 - 20) K. Ishiwata, S. Ishii, M. Senda, Y. Tsuchiya, K. Tanimoto: Electrophilic synthesis of 6-[^{18}F]fluoro-L-dopa: Use of 4-*O*-pivaloyl-L-dopa as a suitable precursor for routine production. *Appl Radiat Isot*, 44: 755-759, 1993.
 - 21) E. Lee, A.S. Kamlet, D.C. Powers, C.N. Neumann, G.B. Boursalian, T. Furuya, D.C. Choi, J.M. Hooker, T. Ritter: A Fluoride-Derived Electrophilic Late-Stage Fluorination Reagent for PET Imaging. *Science*, 334: 639-642, 2011.
 - 22) M. Tredwell, S.M. Preshlock, N.J. Taylor, S. Gruber, M. Huiban, J. Passchier, J. Mercier, C. Génicot, V. Gouverneur: A General Copper-Mediated Nucleophilic ^{18}F Fluorination of Arenes. *Angew Chem Int Ed Engl*, 53: 7751-7755, 2014.
 - 23) A.V. Mossine, A.F. Brooks, K.J. Makaravage, J.M. Miller, N. Ichiishi, M.S. Sanford, P.J.H. Scott: Synthesis of [^{18}F]Arenes via the Copper-Mediated [^{18}F]Fluorination of Boronic Acids. *Org Lett*, 17: 5780-5783, 2015.
 - 24) A.F. Brooks, J.J. Topczewski, N. Ichiishi, M.S. Sanford, P.J.H. Scott: Late-stage [^{18}F]fluorination: new solutions to old problems. *Chem Sci*, 5: 4545-4553, 2014.
 - 25) M. Campbell, T. Ritter: Modern Carbon-Fluorine Bond Forming Reactions for Aryl Fluoride Synthesis. *Chem Rev*, 115: 612-633, 2015.
 - 26) T. Niwa, H. Ochiai, Y. Watanabe, T. Hosoya: Ni/Cu-Catalyzed Defluoroborylation of Fluoroarenes for Diverse C-F Bond Functionalizations. *J Am Chem Soc*, 137: 14313-14318, 2015.
 - 27) X.-W. Liu, J. Echavarren, C. Zarate, R. Martin: Ni-Catalyzed Borylation of Aryl Fluorides via C-F Cleavage. *J Am Chem Soc*, 137: 12470-12473, 2015.

著者紹介

丹羽 節 (Takashi Niwa)

2004 年 東京大学理学部卒業, 2006 年 同大学大学院理学系研究科修士課程修了, 2009 年 京都大学大学院工学研究科博士後期課程修了 (博士 (工学)). 2008-2010 年 日本学術振興会特別研究員 (DC2, PD), 2009-2010 年 ハーバード大学博士研究員, 2010 年 早稲田大学先進理工学部化学・生命化学科助教. 2013 年 理化学研究所ライフサイエンス技術基盤研究センター分子標的化学研究チーム・研究員. 2016 年 4 月より同副チームリーダー.

細谷 孝充 (Takamitsu Hosoya)

1990 年 慶應義塾大学理工学研究科化学専攻博士後期課程修了 (博士 (理学)). 1992-1995 年 日本学術振興会特別研究員, 1995 年 岐阜大学工学部生命工学科助手, 2002 年 岐阜大学大学院医学研究科再生医科学専攻助手, 2005 年 東京工業大学大学院生命理工学研究科生命情報専攻助教, 2007 年 同准教授, 2009 年 東京医科歯科大学大学院疾患生命科学研究部教授. 2012 年 4 月より東京医科歯科大学生体材料工学研究所教授 (現職), 2014 年 4 月より理化学研究所ライフサイエンス技術基盤研究センター分子標的化学研究チーム・チームリーダー (兼任).