

氏名 (生年月日) <sup>こんどう</sup> 近藤 <sup>ゆうと</sup> 悠斗 (1994年5月14日)

学位の種類 博士 (薬学)

学位記番号 博薬 第234号

学位授与の日付 2024年3月16日

学位授与の要件 学位規則第4条第1項該当

学位論文題目 銅触媒による脱ホウ素ヨウ素化反応に基づいた放射性ヨウ素標識法の開発及び放射性標識ペプチドプローブ合成への応用

論文審査委員 (主査) 教授 安井 裕之

(副査) 教授 武上 茂彦

(副査) 教授 古田 巧

## 論文内容の要旨

### 序章

ラジオセラノスティクスは、微小がんの病巣の可視化（診断）からシームレスに治療へ移行できる医療技術であり、その基盤となるのが画像化技術と放射性薬剤である。診断薬と治療薬の切り替えは、標識する放射性核種を切り替えることで可能となり、高い組織透過性を示す $\gamma$ 線を放出する核種は診断に用いられ、細胞殺傷性を有する $\alpha$ 線及び $\beta^-$ 線を放出する核種は治療に用いられる。従って、放射性薬剤開発において、標識核種及びradioisotope (RI) 標識法の選択が開発戦略に大きな影響を与える。ヨウ素には、37の同位体が存在し、すでに4つの放射性ヨウ素 ( $^{123}\text{I}$ ,  $^{124}\text{I}$ ,  $^{125}\text{I}$ ,  $^{131}\text{I}$ ) が臨床研究において利用されており、それらの有用性が示されている。また、 $\alpha$ 線放出核種である $^{211}\text{At}$ のセラノスティクスペアとしても再注目されている。放射性ヨウ素標識法には、様々なタイプの標識法が存在するが、ペプチドやタンパク質を放射性ヨウ素標識する場合、選択できるRI標識法は制限される。直接標識法として、芳香族求電子置換反応を用いた酸化的ヨウ素化法及びスズーハロゲン交換反応を用いたヨウ素化法などが利用されるが、標識位置の選択性の低さや標識前駆体の毒性や安定性などの問題を抱えている。また、RI標識試薬を利用した間接標識法も選択肢の一つとして挙げられるが、標識工程が多段階となるため、工程が複雑になりやすく、合成の自動化、作業時間、被ばくの観点から、最適な方法とはいえない。そこで、本研究では、前述の問題を克服した放射性ヨウ素標識法の開発とペプチドへの応用を指向した。

### 第1章 銅触媒による脱ホウ素ヨウ素化反応を用いた放射性ヨウ素標識法

本章では、ペプチドの放射性ヨウ素標識に利用できる銅触媒による脱ホウ素放射性ヨウ素化 (Copper-mediated radioiododeboronation: CuRIB) 法の開発を行った。本法は、室温下で、ア

リールボロン酸及びヨウ化ナトリウムから、銅触媒を用いて放射性ヨウ素標識体を合成する手法である。本検討では、 $\alpha_v\beta_3$  integrin 阻害剤として知られる環状ペプチド c(RGDyk) 及び Prostate Specific Membrane Antigen (PSMA) 阻害剤を母核に有する分子の  $^{125}\text{I}$  標識を行った。メタノール溶媒中、 $25^\circ\text{C}$ で銅触媒  $\text{Cu}(\text{py})_4(\text{OTf})_2$  を用いることにより、 $^{125}\text{I}$  標識体を約 8 割の収率 (radiochemical yield:  $78.5 \pm 3.3\%$  及び  $77.1 \pm 6.0\%$ ) で合成することができた。

さらに、様々なタイプのペプチドへ利用できる反応を目指し、反応条件に関する検討を行った。特に、ペプチドの反応液への溶解性と放射性ヨウ素がヨウ化ナトリウム水溶液として供給される点から、水が CuRIB 反応に与える影響を調べた。反応溶媒の比較では、本反応はアルコール溶媒中で  $^{125}\text{I}$  標識体を高収率で与えることが確認されたため、含水メタノールを用いて実験を行った。なお、radiochemical conversion (RCC) は、反応液を radio-HPLC 及び radio-TLC を用いて分析し、得られた RI ピークの面積比より算出した。結果として、 $^{125}\text{I}$ ethyl 3/4-iodobenzoate の RI 合成をモデルに用いて比較実験を行ったところ、含水率の上昇に伴う CuRIB 反応の反応速度の低下が確認された。また、メタノール溶媒下では観察されなかった置換基効果による標識率の違いも観察され、電子供与性基が反応速度を上昇させることが明らかとなった。但し、水は CuRIB 反応の反応速度を低下させるが、標識時間の延長もしくは、銅触媒量を増量することで、含水条件下においても高収率 (RCC >90%) で  $^{125}\text{I}$  標識体を合成することができた。さらに、20%含水メタノール中、 $25^\circ\text{C}$ でソマトスタチン受容体アゴニストである octreotate 誘導体の  $^{125}\text{I}$  標識を行ったところ、95%を超える高い収率で合成できることが明らかとなった。

以上、銅触媒による脱ホウ素ヨウ素化反応は、温和な条件下でのペプチドの放射性ヨウ素標識反応に利用できることが明らかとなった。以上の結果は、ペプチドを母体とした放射性ヨウ素標識プローブの開発を支える基礎的なデータとなる。

## 第 2 章 銅触媒による脱ホウ素ヨウ素化反応及びアジド-アルキン環化付加反応に基づいた One-Pot Two-Step 標識法の構築

本章では、CuRIB 反応及び Copper-catalyzed azide-alkyne cycloaddition (CuAAC) 反応を銅触媒により連続的に制御できる One-Pot Two-Step 放射性ヨウ素標識法の開発を行った。CuRIB 反応は、銅触媒の添加のみで反応が進行し、RI 副産物も生じにくく、反応を構成する諸要素が少ない。この特徴は、逐次反応を構築する上で有利であり、間接標識法の欠点である精製工程の多段階化の解決に繋がると考えた。本章では、 $^{125}\text{I}$ 1-(4-iodobenzyl)-4-phenethyl-1H-1,2,3-triazole の RI 合成をモデルに用いて 2 つの反応を連続的に制御するために必要な標識条件を調べた後、基質適用範囲の探索を行った。低分子を用いた反応条件の比較実験の結果を基に、銅触媒として  $\text{Cu}(\text{py})_4(\text{OTf})_2$  を、反応溶媒として含水メタノールを選択し、直鎖及び環状ペプチドを含む 8 種の  $^{125}\text{I}$  標識体を高い収率 (RCC: 87.8–97.6%) で合成することに成功した。なお、反応はすべて  $25^\circ\text{C}$  で実施され、反応時間は 13–23 分であった。

本法では、連続的な試薬の添加による放射性ヨウ素標識体の合成が可能であり、精製工程も 1 回に集約できる。また、ペプチドの放射性ヨウ素標識にも利用できることが確認された。以上のことから、本法は、間接標識法の利点を有しながら、直接標識法に劣らない簡便性を

有する手法であることから、自動合成装置にも組み込みやすく、RI 標識プローブの開発に貢献することが期待できる。

## 総括

本研究では、銅触媒による脱ホウ素ヨウ素化反応に基づいたペプチドの放射性ヨウ素標識法の開発を行った。CuRIB 反応は、放射性ヨウ素標識ペプチドの直接的な合成に有効であると同時に、CuAAC 反応と組み合わせることで、従来型の間接標識法よりも効率的な RI 標識を可能とする。本研究では、放射性ヨウ素に焦点を絞り実験を行ったが、得られた実験結果や戦略は、アスタチンを含む、他の放射性ハロゲン標識にも応用可能であり、ハロゲン標識法全体の発展に寄与することが期待される。但し、本研究では基質適用範囲に関する調査が限定的であるため、今後はタンパク質などのより高分子のターゲットに対しても適用できるかを評価していく必要がある。

## 審査の結果の要旨

### 《緒言》

ラジオセラノスティクスは、微小がんの病巣の診断から治療へ移行できる医療技術であり、その基盤は画像化技術と放射性薬剤にある。診断薬と治療薬の橋渡しは、薬剤分子を標識する放射性核種を切り替えることで可能となるため、放射性薬剤開発における標識核種及び radioisotope 標識法の選択が開発に大きな影響を与える。ヨウ素には 4 種の放射性同位体が存在し、臨床における有用性が示されている。また、 $\alpha$  線放出核種である  $^{211}$  アスタチンのセラノスティクスペアとしても再注目されている。低分子医薬品の放射性ヨウ素標識法には様々な標識法が存在するが、ペプチドやタンパク質を標識する場合に選択できる RI 標識法は極めて制限されていることから、本研究では、現状の問題を克服した新規の放射性ヨウ素標識法の開発とペプチド標識への応用について検討を行った。

### 《審査結果》

第 1 章では、申請者はペプチドの放射性ヨウ素標識に利用できる銅(II)触媒による脱ホウ素放射性ヨウ素化 (Copper-mediated radioiododeboronation: CuRIB) 法を新規に確立した。本法は、室温下でアリアルボロン酸及びヨウ化ナトリウムから、銅触媒を用いて放射性ヨウ素標識体を合成する手法であり、環状ペプチド c(RGDyk) 及び Prostate Specific Membrane Antigen 阻害剤の  $^{125}\text{I}$  標識に高い収率で成功した。さらに、CuRIB 反応への影響因子を検討し、溶媒中の含水率の効果及び置換基効果による標識率の違いを新たに見出した。

第 2 章では、CuRIB 反応及び銅(I)触媒による Copper-catalyzed azide-alkyne cycloaddition (CuAAC) 反応を連続的に制御できる One-Pot Two-Step 放射性ヨウ素標識法を新規に確立した。 $^{125}\text{I}$ 1-(4-iodobenzyl)-4-phenethyl-1H-1,2,3-triazole をモデルに用いて、2つの反応を連続的

に制御するために必要な標識条件を精査し、 $\text{Cu}(\text{py})_4(\text{OTf})_2$  を銅触媒として選択し、直鎖及び環状ペプチドを含む 8 種の  $^{125}\text{I}$  標識体を高い収率で合成することに成功した。

#### 《結論》

本研究の新規性は、銅触媒による脱ホウ素ヨウ素化反応を、温和な条件下でのペプチドの放射性ヨウ素標識反応に利用できることを新たに見出し、ペプチドを母体とした放射性ヨウ素標識プローブの開発法を新たに確立したこと、加えて、連続的な試薬の添加により還元した銅触媒を利用することで、精製工程を 1 回に集約した幅広い放射性ヨウ素標識体の合成を可能にしたことである。本研究の成果は、間接標識法の利点を有しながら、直接標識法に劣らない簡便性を有する手法であり、自動合成装置にも組み込みやすいため、将来的には放射性ハロゲン核種全体の RI 標識プローブ開発に貢献すると期待できる。

学位論文とその基礎となる報文の内容を審査した結果、本論文は博士（薬学）の学位論文としての価値を有するものと判断する。