

2023 年度 課程博士学位論文

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
の開発及び放射性ヨウ素標識ペプチドプローブ合成への応用

【薬学】代謝分析学分野 近藤 悠斗

本論文は、以下の論文の内容を総括したものである。

- 1) Yuto Kondo, Hiroyuki Kimura, Chiaki Fukumoto, Yusuke Yagi, Yasunao Hattori, Hidekazu Kawashima, Hiroyuki Yasui. Copper-mediated radioiodination reaction through aryl boronic acid or ester precursor and its application to direct radiolabeling of a cyclic peptide. *J. Labelled Comp. Radiopharm.* **2021**, *64*, 336–345.
- 2) Yuto Kondo, Hiroyuki Kimura, Ichiro Sasaki, Shigeki Watanabe, Yasuhiro Ohshima, Yusuke Yagi, Yasunao Hattori, Manami Koda, Hidekazu Kawashima, Hiroyuki Yasui, Noriko S. Ishioka. Copper-mediated radioiodination and radiobromination *via* aryl boronic precursor and its application to ¹²⁵I/⁷⁷Br-labeled prostate-specific membrane antigen imaging probes. *Bioorg. Med. Chem.* **2022**, *69*, 116915.
- 3) Yuto Kondo, Hiroyuki Kimura, Minon Sasaki, Sumina Koike, Yusuke Yagi, Yasunao Hattori, Hidekazu Kawashima, and Hiroyuki Yasui. Effect of water on direct radioiodination of small molecules/peptides using copper-mediated iododeboronation in water–alcohol solvent. *ACS Omega* **2023**, *8*, 24418–24425.
- 4) Yuto Kondo, Hiroyuki Kimura, Ryota Chisaka, Yasunao Hattori, Hidekazu Kawashima, Hiroyuki Yasui. One-pot two-step radioiodination based on copper-mediated iododeboronation and azide–alkyne cycloaddition reaction. *Chem. Comm.* **2024**, *60*, 714–717.

目次

略語表

序論	p1
第一章 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	
第一節 低分子化合物の放射性ヨウ素標識	p13
第二節 ペプチド様分子の直接的な放射性ヨウ素標識	
第一項 ^{125}I IB-c(RGDyk)の放射化学合成	p16
第二項 ^{125}I IB-PS の放射化学合成	p18
第三節 銅触媒による脱ホウ素放射性ヨウ素化反応に対する水の影響 の調査及び反応メカニズムの推定	p21
第二章 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	p30
総括	p35
実験項	p39
実験データ	p63
引用文献	p165
謝辞	

略語表

Boc	<i>tert</i> -Butoxycarbonyl
CAT	Chloramine-T
CEL	Chan-Evans-Lam
CuRIB	Copper-mediated radioiododeboronation
CuAAC	Copper-catalyzed azido-alkyne cycloaddition
DCC	Dicyclohexylcarbodiimide
DCM	Dichloromethane
DIEA	<i>N,N</i> -diisopropylethylamine
DMF	<i>N,N</i> -dimethylformamide
DMSO	Dimethyl sulfoxide
EDC	1-(3-dimethylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimide
EDT	1,2-Ethanedithiol
ESI	Electrospray ionization
EtOAc	Ethyl acetate
EtOH	Ethanol
Fmoc	Fluorenylmethyloxycarbonyl
HATU	1-[Bis(dimethylamino)methylene]-1 <i>H</i> -1,2,3-triazolo[4,5- <i>b</i>]pyridinium 3-oxide hexafluorophosphate
HPLC	High-performance liquid chromatography
ICP	Inductively coupled plasma
LC	Liquid chromatography
MeCN	Acetonitrile
MeOH	Methanol
MS	Mass spectrometry
NHS	<i>N</i> -hydroxy succinimide
NMR	Nuclear magnetic resonance
OTf	Trifluoromethanesulfonate
PET	Positron emission tomography
PSMA	Prostate-specific membrane antigen
py	Pyridine
RCC	Radiochemical conversion
RCY	Radiochemical yield
RCP	Radiochemical purity
RI	Radioisotope
RP	Reverse phase

RT	Room temperature
Sat.	Saturated
SCIDY	Spirocyclic aryliodonium ylides
SPECT	Single photon emission computed tomography
SSTR2	Somatostatin receptor subtype 2
TBTA	Tris[(1-benzyl-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4-yl)methyl]amine
^t Bu	<i>tert</i> -Butyl
TEA	Triethylamine
TFA	Trifluoroacetic acid
THF	Tetrahydrofuran
TIS	Triisopropylsilane
TLC	Thin-layer chromatography
UV	Ultraviolet

序論

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、薬剤を標識する RI を切り替えることで可能となる。高い組織透過性を示す γ 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 α 線及び β^- 線を放出する核種は治療に用いられる (Figure 1)。 β^- 線は、 α 線よりも組織透過性が高く、病変部周辺の正常組織に対する影響 (Crossfire effect) が強いとされている。 α 線は狭い範囲に高いエネルギーを付与することから細胞殺傷性が高く、高い治療効果が期待できる¹⁻⁴。例えば、 α 線放出核種で標識された中分子 PSMA-617 を用いることにより、難治性の転移性前立腺がんが完全寛解したという驚くべき結果が報告されている⁵。しかしながら、それらの高い有効性は PSMA を高発現する悪性腫瘍に限られることから、新たな標的指向性を有する α 線核医学治療薬の開発が進められている。

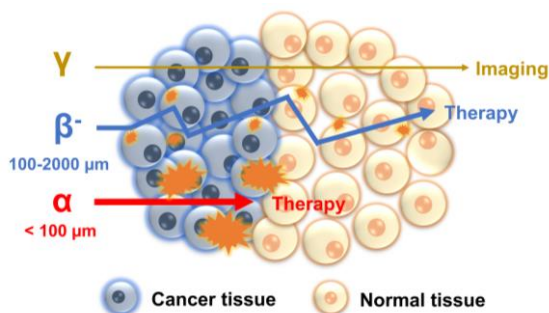


Figure 1 Characteristics of α , β , and γ ray

一般的な抗がん剤の開発とは異なり、放射性薬剤の新規開発では 1. 標識核種の選択, 2. RI 標識法の選択が開発戦略に大きな影響を与える。

1. 標識核種の選択

放射性医薬品に用いられる RI は、主に放射性金属元素と放射性非金属元素に分類される (Figure 2)。金属元素の標識は、配位子を介して行われることが一般的であり、標識対象の分子を配位子で修飾する必要がある⁶。配位子を介した RI 標識では、標識後の精製工程・薬剤調整が比較的容易であり、臨床へ応用しやすい。現在、 ^{44}Sc , ^{64}Cu , ^{67}Ga , ^{68}Ga , ^{89}Zr , ^{90}Y , $^{99\text{m}}\text{Tc}$, ^{111}In , ^{177}Lu , ^{223}Ra などの放射性金属元素がすでに臨床で用いられている。しかしながら、配位子は比較的大きな分子構造を有するため、配位子による修飾はファーマコフォアの標的物質との結合能に影響を与えることがあり、その影響は低分子で特に大きくなる。一方、非金属元素

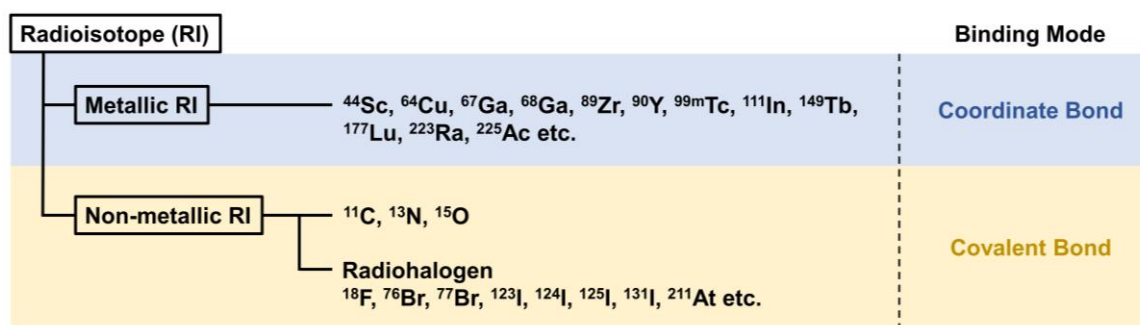


Figure 2 Binding modes used for RI-labeling

[e.g., ^{11}C , ^{13}N , ^{15}O , 放射性ハロゲン (e.g., ^{18}F , ^{123}I)] による標識を行う場合は、特殊な例を除き^{7,8}、標識の際に配位子を必要とせず、それらは共有結合を介して母核に導入される⁹⁻¹³。 ^{11}C ($t_{1/2} = 20.4 \text{ min}$)、 ^{13}N ($t_{1/2} = 10.0 \text{ min}$)、 ^{15}O ($t_{1/2} = 2.0 \text{ min}$) は、物理的半減期が非常に短いため、取り扱いが難しく、利用範囲が限られる⁹。従って、非金属元素では、放射性ハロゲンがよく利用されており、 ^{18}F 、 ^{123}I 、 ^{131}I がその主役を担っている¹⁰⁻¹³。また、放射性ヨウ素には、様々な物理的特性を有した RI が存在し、 α 線放出核種である ^{211}At のセラノスティクスペア*¹ としても再注目されている。^{*2}

ヨウ素の同位体には ^{108}I から ^{144}I までの 37 の同位体があり、安定同位体である ^{127}I を除いて、すべて放射性同位体に分類される。そして、現在、主に 4 つの放射性ヨウ素 (^{123}I 、 ^{124}I 、 ^{125}I 、 ^{131}I) が臨床研究において利用されており、その有用性が示されている (Table 1)。

γ 線放出核種である ^{123}I ($t_{1/2} = 13.22 \text{ h}$) は SPECT イメージングに利用され、 β^+ 線放出核種である ^{124}I ($t_{1/2} = 4.18 \text{ days}$)*³ は PET イメージングに利用される。また、 β^- 線放出核種である ^{131}I ($t_{1/2} = 8.02 \text{ days}$) は、治療用核種として用いられているが、SPECT イメージングにも利用できる。 ^{125}I ($t_{1/2} = 59.39 \text{ days}$) は、長半減期核種であり、前臨床研究、生物学、化学などの基礎研究において利用される。また、 ^{125}I は、*in vitro* 放射性医薬品へも応用されている。更に、放射性ヨウ素標識体は、 ^{211}At 標識体の等価体としても用いられる。臨床では、 ^{123}I 標識体を用いた SPECT イメージングを行い、病変部への集積を確認した上で、 ^{211}At 標識体を用いた治療が実施される*⁴。(但し、その他の放射性ハロゲン標識体についても、類似した体内動態を示すことが証明されている場合は、診断用薬剤として用いることができる。)

以上に示すように、種々の放射性ヨウ素には、目的に応じた使い分けが可能である。また、 ^{211}At 標識体のセラノスティクスペアとしても利用できることから、 ^{211}At 標識放射性薬剤を用いた治療の発展においても欠かせない存在となることは間違いない。

*1. ラジオセラノスティクスペアとは、ラジオセラノスティクスにおいて用いられる診断用核種と治療用核種の組み合わせを意味する。

(例) 診断用核種： ^{123}I (γ 線放出核種)、治療用核種： ^{211}At (α 線放出核種)

*2. ^{211}At には安定同位体が存在しないため、等価体を用いた薬剤の評価が一般的であり、17 族ハロゲン元素の中で最も性質の近いヨウ素原子が等価体として用いられる。

*3. ^{124}I は、高い陽電子エネルギーを持つため、画像の空間解像度が ^{18}F の場合と比較して低くなる。また、 γ 線放出核種でもあり、そのエネルギー (603 keV) は、陽電子と電子から生じる消滅ガンマ線のエネルギー (511 keV) に非常に近いため、それらを互いに分離して検出することは難しく、結果として、画像のノイズが多くなる^{14,15}。更に、現在の技術力では、臨床で利用できるだけの量を製造することが困難であるため、イメージングには、今のところ ^{123}I が主に用いられている。

Table 1 Characteristics of radioiodine and astatine^{1, 13}

Radiohalogen	Half-life	Decay mode	Application
^{123}I	13.2 h	EC	SPECT
^{124}I	4.1 day	β^+	PET
^{125}I	59.8 day	EC	Assay
^{131}I	8.0 day	β^- , EC	Therapy
^{211}At	7.2 h	α	Therapy

*4. ^{209}At ($t_{1/2}=5.4\text{ h}$) は、 α 壊変または β^+ 壊変により ^{205}Bi (4%) または ^{209}Po (96%) を生じる。 β^+ を豊富に放出するため ^{211}At のセラノスティクスペアとして用いることが出来るが¹⁶, ^{209}At はアクチノイドを標的に用いた高エネルギー陽子による核破碎反応により生成されるため¹⁷, 臨床に必要な量を安定的に供給することは困難とされている。従って, ^{211}At にとって, 放射性ヨウ素が最も現実的なセラノスティクスペアである。

参考) ^{211}At について

α 線放出核種の中でも ^{211}At は金属とハロゲンの性質を併せ持った異色の元素である^{18,19}。 ^{211}At の半減期 (7.2 h) は, 他の α 線放出核種の半減期と比較して短い。 ^{211}At は, α 壊変 (42 %) または EC 壊変 (58 %) により, ^{207}Bi または ^{211}Po へ 7.2 h の半減期で崩壊する (Figure 3)。 ^{211}Po は速やかに α 線を放出して安定な ^{207}Pb になる。即ち, 1 壊変ごとに 1 つの α 線が生成されることになる。 ^{211}Po への EC 壊変では 70–90 keV の特性 X 線が発生するため, 簡便に定量することができ, ガンマカメラによる画像化も可能である²⁰。また, ^{211}At は, サイクロトロンで製造可能であり, 原材料 ^{209}Bi (天然存在比 100%) であることから, 他の α 線放出核種と比較して入手しやすい。従って, 安定した供給体制を整備するために必要な地盤が整っているため, 医療応用の観点からも他の α 線放出核種と比較して利用しやすい核種といえる。

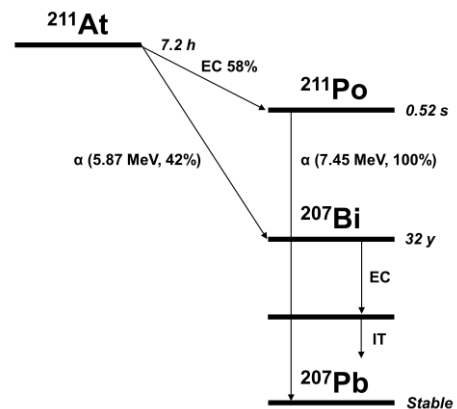


Figure 3 Decay scheme of ^{211}At

2. RI 標識法の選択

2-1. RI 標識反応と安定同位体を用いた一般的な有機化学反応との違い

RI 標識反応では、安定同位体を用いた一般的な有機化学反応とは異なり、RI の半減期に依存した時間的な制約を受ける。従って、反応時間は可能な限り短くし、精製工程も簡便な手法を適用する必要がある。また、RI は少量でも検出できるだけの高いエネルギーを有するため、1 回の標識に利用する RI の物質量は pmol オーダーと非常に少量であり、希薄な条件で標識を行うことになる。結果的に、反応スケールも小さくなり、nmol 又は μmol オーダーで反応を行う必要がある。更に、供給可能な RI の化学形も限られており、RI 製造後、標識反応に最適な化学形に変換することが必要となる場合がある。従って、大スケールで行われる有機反応を RI 標識反応として直接利用できる場合は少なく、多くの場合、上記の制約を考慮し、反応条件を RI 標識反応に最適化する必要がある。また、標識対象のモダリティに応じた条件の調整も求められることから、各反応パラメータの役割を十分に理解する必要がある。更に、臨床での利用を想定する場合は、標識前駆体、反応試薬、副生成物等に由来する毒性も考慮する必要がある。

2-2. RI 標識法の分類

RI 標識法は、主に直接標識法と間接標識法に分けることができる (Figure 4)²¹。直接標識法は、標識前駆体を介して、RI を直接的に標識対象に組み込む手法である。放射性ヨウ素標識の場合、放射性ヨウ化ナトリウムを用いて、放射性ヨウ素を芳香環上に組み込む場合が多い。直接標識法は、間接標識法と比較して、作業工程を簡素化しやすく、自動合成装置との相性も良い。一般的に、まず初めに直接標識法の利用を検討するが、標識対象の構造が直接標識で用いる標識条件に耐えられず生物学的活性の低下を引き起こす可能性がある場合や選択的な標識が困難な場合に、代替的な手法として間接標識法が用いられる。間接標識法では、RI 標識試薬をライブラリー化しておくことで、直接標識法のように対応する前駆体の合成を経由せずに、異なる部分構造を持った候補化合物を供給できる。しかし、標識反応と精製工程が多段階となる場合が多く、作業時間が長くなる傾向にある。また、RI 標識体の自動合成装

1. Direct labeling approach



2. Indirect labeling approach



 : Radioisotope  : Purification step

Figure 4 Direct and indirect labeling approaches

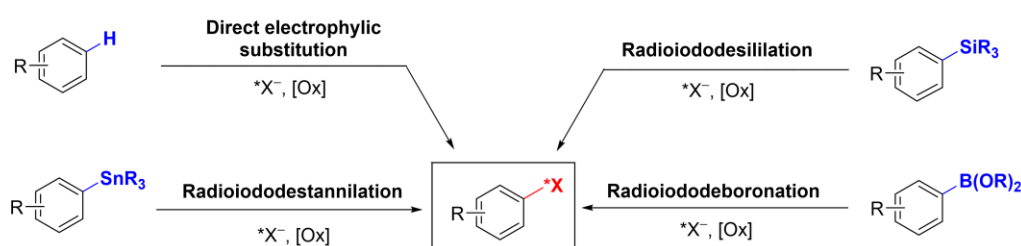
置の構築を考慮すると煩雑な工程を必要とする手法は最適な方法とはいえない。しかしながら、放射性ヨウ素標識反応は、しばしば厳しい反応条件を必要とするため、中分子や高分子（タンパク質）の放射性ヨウ素標識では間接標識法が一般的に利用される。

2-3. 放射性ヨウ素 / アスタチン標識法

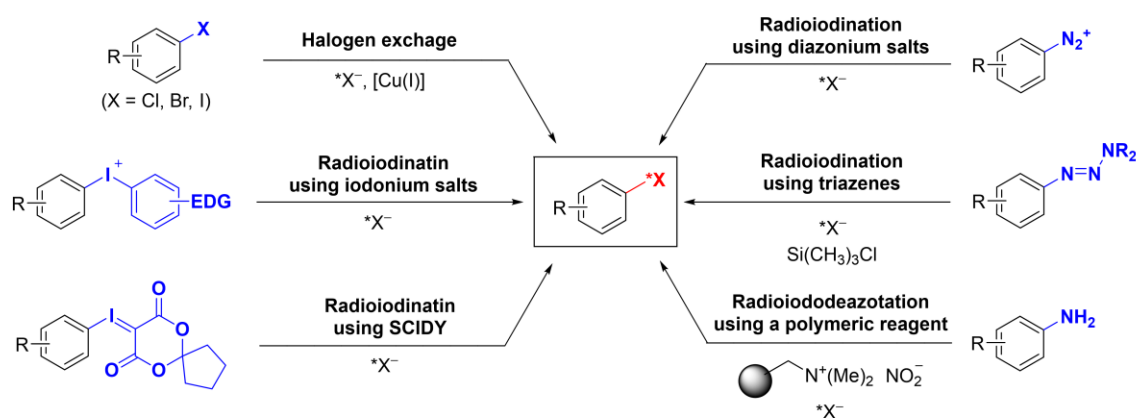
ここでは、 ^{211}At 標識体のセラノスティクスペアとしての将来的な利用も視野に入れ、放射性ヨウ素及びアスタチン標識の両方の RI 標識に利用できる反応について簡単にまとめる。

放射性ヨウ素は、比較的に入りにやすく、古くから利用されていることもあり、放射性ヨウ素標識法に関する報告は比較的が多い¹³。一方、アスタチンには、安定同位体が存在せ

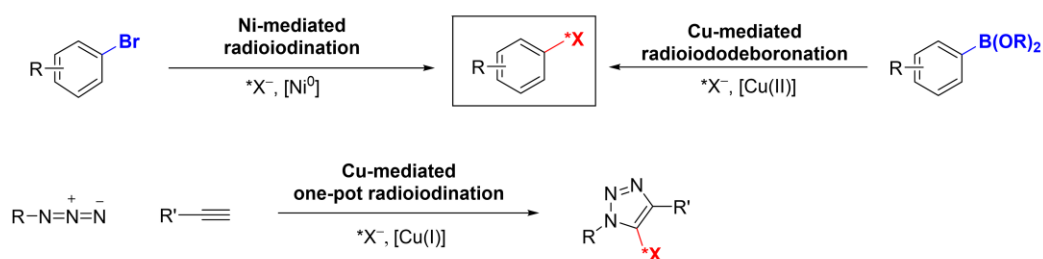
(a) Electrophilic aromatic substitution reaction



(b) Nucleophilic aromatic substitution reaction



(c) Metal-mediated radiolabeling reaction



*X = radioiodine or astatine-211, [Ox] = Oxidizing reagents (e.g. CAT, NCS, H₂O₂)

Figure 5 Radioiodination and astatination reactions

ず、製造（利用）できる研究グループも限られていることから、放射性ヨウ素標識法と比較すると、アスタチン標識に関する研究報告は少ない。一般的に、アスタチン標識法の開発においては、放射性ヨウ素標識に関する研究結果を基に行われる²。しかしながら、アスタチンには、複数の化学形 [At⁻, AtO(OH)₂⁻, At⁺, AtO⁺, AtO(OH)] が存在するため³、すべての放射性ヨウ素標識法をアスタチン標識法として直接適用できない場合もある。以下、現在報告されている放射性ヨウ素標識法及びアスタチン標識法に利用できることが明らかになっている反応についてまとめる (Figure 5)。

(a) 芳香族求電子置換反応を用いた標識

酸化的脱プロトンハロゲン化反応

芳香族求電子置換反応を用いたチロシン残基への放射性ヨウ素化法は、最も古典的な方法の一つであり、信頼性が高い手法である²²。また、タンパク質やペプチドなどの標識にも利用されており、酸化剤として、CAT, Iodobeads, Iodogen^{*5}がよく用いられる²³⁻²⁵。但し、位置選択的な標識が困難となる場合がある²⁶。更に、アスタチン標識へ利用できることが確認されている²⁷。しかしながら、ヨウ素とは異なり、アスタチンはタンパク質のチロシン残基に安定して結合せず、代わりに、システインのチオール基と弱い結合を形成することが明らかとなっている³。従って、ヨウ素と比較して、アスタチンはタンパク質から外れやすい。この事実は、放射性ヨウ素標識法をアスタチン標識に応用する際、予期せぬ結果が生じる可能性を示す典型的な例である。

*5. CAT, Iodobeads, Iodogen について²¹

CAT (Chloramine-T) は、頻繁に利用される放射性ヨウ素標識試薬の一つであり、CAT を用いた報告例は豊富にある。しかし、特にペプチドやタンパク質の場合には、副反応から様々な副生成物が生じることがあり、それらの分離のために追加で精製工程が必要となる場合がある。

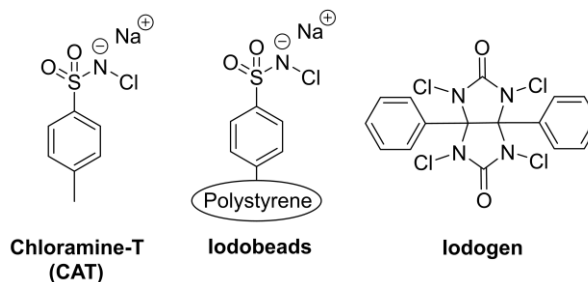


Figure 6 Chemical structure of CAT, Iodobeads, and Iodogen

Iodobeads は、ポリスチレンビーズに固定化された CAT であり、反応混合物から酸化剤を容易に分離することができる。Iodogen は、厳しい酸化条件から生じる副反応を避けるために利用され、Iodogen により表面をコーティングした反応容器中で、比較的穏やかに放射性ヨウ素化反応を行うことが出来る。また、Iodogen は、極性の違いにより水系溶媒から分離することが可能であり、反応を簡単に停止することができるため、抗体などの放射性ヨウ素標識に利用される。

酸化スズ-ハロゲン交換反応

有機スズ前駆体を用いたハロゲン交換反応は、最もよく利用されてきた標識法の一つである。この手法は、位置選択的な標識が可能であり、適用例も多いことから、信頼性の高い手法の一つである^{22,29-31}。また、アスタチン標識にも利用できることも報告されている³²⁻³⁵。しかしながら、前駆体に由来する有機スズ化合物の毒性が問題となることがあるため、生体へ利用する前に、十分に取り除く必要がある。このような問題に対して、フルオラス有機スズ前駆体を用いる手法や^{36,37}、後述するアリールボロン前駆体やシリル前駆体などの生体への毒性が比較的低い前駆体を用いた手法が開発されている。この有機スズ前駆体由来する毒性の回避は、新規標識法の開発の動機の一つとなっている。

シリル前駆体を用いた求電子的ハロゲン化反応

シリル前駆体を用いた放射性ヨウ素及びアスタチン標識法は、古くから知られているが、スズ前駆体を用いた標識法と比較すると報告例は少ない³⁸⁻⁴⁰。C-Si結合は、比較的安定であるため、前駆体の合成・保存の観点では利点となるが、酸化スズ-ハロゲン交換反応と比較して、標識効率がやや低下する傾向にある。また、反応溶媒には、酸性溶媒 (e.g., TFA) を利用するため、酸性条件で分解しやすい化合物への適用が難しい。2016年には、シリカ前駆体を固定した固相樹脂を用いた手法についても報告されているが、アスタチン標識への適用については検証されていない⁴¹。

アリールボロン前駆体を用いた求電子的ハロゲン化反応

本反応は、NBS, CATなどの酸化剤存在下で、アリールボロン前駆体から放射性ハロゲン標識体を誘導する手法である⁴²⁻⁴⁶。酸化剤は、ハロゲンカチオンを生成するために加えられる。また、KOAcの添加により反応が促進されることも知られている⁴⁵。更に、本反応は水中で進行することも確認されている⁴⁶。但し、標識率が低下しやすい基質も明らかとなっており、特に、芳香環上に電子吸引性基を持つ場合は、標識率が低下しやすい。

(b) 芳香族求核置換反応を用いた標識

芳香族求核置換反応を用いた放射性ヨウ素標識法は、修飾された基質に電子吸引性基、脱離基 (例えば、ヨウ素、臭素、塩素)、ジアゾ基、ヨードニウム基が含まれている場合に利用可能である。これらの反応では、芳香族求電子置換反応の場合とは異なり、CATなどの酸化剤によるハロゲンカチオンの生成を必要としない。

ハロゲン交換反応

ハロゲン交換反応では、非放射性ヨウ素標識体を前駆体として用いることが可能であり、前駆体の合成を必要としない⁴⁷⁻⁵⁰。しかし、比放射能の低下を防ぐ目的で、臭素前駆体などの別のハロゲン化合物が前駆体として用いられる⁵¹⁻⁵³。本反応は、Cu(I)触媒やクラウンエーテ

ル存在下，加熱条件 (>100°C) で行われる。従って，熱に弱い分子の標識には使用できないため，基本的に低分子化合物の RI 標識に用いられる。

ジアゾニウム塩を用いたハロゲン化反応

ジアゾニウム塩を用いた手法では，塩酸または硫酸などの水溶液中，低温で亜硝酸ナトリウムを用いてジアゾ化を行った後，得られたジアゾニウム塩溶液をヨウ化ナトリウムで処理することで，S_N1 機構に従って反応は進行し，目的の放射性ハロゲン標識体が得られる⁵⁴⁻⁵⁶。また，アスタチン標識への利用も可能である。ジアゾニウム塩の安定性は低いが，この問題については，比較的安定なトリアゼンを使用することで回避できる^{57,58}。但し，トリアゼン誘導体は，対応するジアゾニウム塩よりも反応性が低い。また，前駆体を大過剰に使用する必要がある。更に，中間アリアルカチオンまたはラジカルの反応性が高く，副生成物が生成する可能性が非常に高く，副反応により生じる沈殿物は，精製と単離を困難にする。従って，その他の標識法と比較すると，適用例が少ない反応である。

放射性ヨウ素化においては，亜硝酸アニオンを生成するポリマー試薬を使用した芳香族アミンの放射性ヨウ素化法も報告されている¹⁷。本手法では，ジアゾ化とサンドマイヤー反応を穏やかな条件下で行うことが可能である。しかしながら，トリアゼン誘導体は対応するジアゾニウム塩よりも反応性が低いため，適用できる範囲は限られる。また，アスタチン標識に適応した例は報告されていない。

ヨードニウム塩を前駆体として用いたハロゲン化反応

ヨードニウム塩を前駆体として用いる手法は，触媒や酸化剤などの添加剤を必要とせず，ハロゲン化ナトリウムと前駆体を混合し，加熱することで，放射性ヨウ素標識体を合成できる手法である⁶⁰⁻⁶²。但し，目的としない RI 副産物が必ず発生し，加熱も必要であることから，前述したように適用範囲は制限される。間接標識法に用いる RI 標識試薬の合成に対する適用例が多く，アスタチン標識に関する報告も，芳香族求核置換反応を用いた他の標識法と比較すると豊富にある。

スピロサイクリックヨードニウムイリドを用いたハロゲン化反応

ヨードニウム塩を前駆体とするハロゲン化反応と同様に，触媒や酸化剤の使用を必要とせず，スピロサイクリックヨードニウムイリド化合物（標識前駆体）とハロゲン化ナトリウムを混合し加熱することで目的のハロゲン標識化合物を合成することができる^{63,64}。しかし，アスタチン標識においては，他の標識法と比較して収率が低い。また，加熱が必要であるため，適用範囲は制限される。

(c) 遷移金属触媒を用いた放射性ヨウ素標識

ニッケル(0)触媒を用いた臭素化アリールの放射性ヨウ素化反応

本反応は、Ni(0) の C-Br 結合への酸化的挿入を介して進行し、Ni(II)-Br 錯体が形成された後、ヨウ素と臭素が置換し、Ni(II)-I 錯体が生じると考えられている。その後、Ni は還元的に外れ、C-I 結合が形成されることでハロゲン交換が完了する⁶⁵。但し、本反応は、高温条件下で標識を行うため、加熱に耐えられない分子の標識には適用できない。また、Ni(0) は、酸素に不安定であり、使用時はグローブボックス内で作業を行う必要があるため、臨床での利用には不向きである。

銅触媒による脱ホウ素ハロゲン化反応

本反応は、銅(II)触媒を用いて、ボロン前駆体から放射性ヨウ素標識体を温和な条件で位置選択的に合成できる反応である⁶⁶⁻⁶⁸。また、有機スズ前駆体を用いた手法とは異なり、標識前駆体に由来する毒性の問題も回避することが可能である。更に、ボロン化合物は、鈴木宮浦カップリングなどのビルディングブロックとしても利用されているため、入手しやすく、前駆体の合成計画も比較的立てやすい。しかしながら、著者が研究を開始した当時、比較的最近 (2016 年) に報告された手法であることから、応用例が少なく、反応機構に関する研究もほとんど進んでいなかった。

クリック反応を用いた One-Pot ハロゲン化反応

本法は、銅(I)触媒を用いて、アジド化合物、アルキン化合物、ハロゲン化ナトリウムより 5-halogen-1,4,5-trisubstituted-1,2,3-triazoles を One-Pot で導く手法である⁶⁹⁻⁷²。クリック反応と同時に、ハロゲン化を行うことができる手法であり、非常に合理的な手法である。放射性ハロゲン及び蛍光団の両方の修飾に利用することも可能である。但し、トリアゾール環上にヨウ素を挿入するため、トリアゾール環からの脱ハロゲン化が問題となることがある⁷³⁻⁷⁴。芳香環の放射性ハロゲン化法では、芳香環上の置換基を変更・追加することにより脱ハロゲン化の回避が可能となる場合があるが、本手法では、そのような方法論が確立されていない。

本研究を着想するに至った経緯及び目的

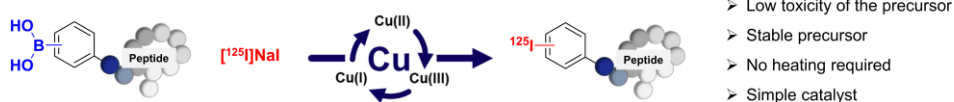
前項では、現時点で報告されている放射性ヨウ素標識法及びアスタチン標識法について簡単に解説した。多くの場合、初めに低分子化合物を対象に標識実験が行われ、その後、各モデル化合物に合わせた標識条件の探索が行われる。標識対象が複雑な構造（高分子）になるにつれて、選択できる標識法は制限を受ける。ペプチドなどの中分子化合物の直接的な放射性ヨウ素標識に適用できることが確認されている標識法は、2-3で紹介した11種の内、3種のみである。これまでの報告によると、「① 酸化的脱プロトンハロゲン化反応²³」、「② 酸化的スズ-ハロゲン交換反応³⁷」、「③ クリック反応を用いた One-Pot ハロゲン化反応^{72,73}」がペプチドの直接的な放射性ヨウ素又はアスタチン標識に適応されている。しかしながら、前述したように、①の手法は、アスタチン標識に適応できない場合があり、位置選択的な標識も困難となる場合がある。また、②の手法は、有機スズ前駆体の毒性の問題がある。更に、両手法とも CAT, NCS, H₂O₂ などの酸化剤を用いる必要があることから、それらによる RI 副産物の生成確率も高くなる。③の手法は、合理的な手法ではあるが、生体内で脱ヨウ素化することが確認されている。勿論、①, ②, ③以外の手法として、間接標識法を用いることもできるが、合成及び精製工程が多段階となるため、最適な方法とはいえない。

以上に示すように、ペプチドの放射性ヨウ素標識に用いることが出来る RI 標識法は十分とはいえない。そこで、著者は、ペプチドに利用できるハロゲン標識法の開発を行うことにした。まず初めに、著者は、以下に示した銅触媒による脱ホウ素ハロゲン化反応の特徴に注目し、それらをペプチドの直接標識法へ適応できるかを検討した。

1. ボロン前駆体は、有機スズ前駆体と比較して生体への毒性が低い。
2. CAT, NCS, H₂O₂ などの酸化剤を用いる必要がない。
3. 低分子のアスタチン標識に利用できることが報告されている。

本博士論文では、放射性ヨウ素を用いた銅触媒による脱ホウ素ハロゲン化反応に関する調査結果について記述する。第一章では、ペプチドへの応用を行うと共に、直鎖及び環状ペプチドを含む様々なタイプのペプチドに対して適用できる標識法を目指し、標識率に影響を与

(a) Copper-mediated radioiododeboronation (CuRIB)



(b) One-pot two-step radiolabeling method using CuRIB and CuAAC

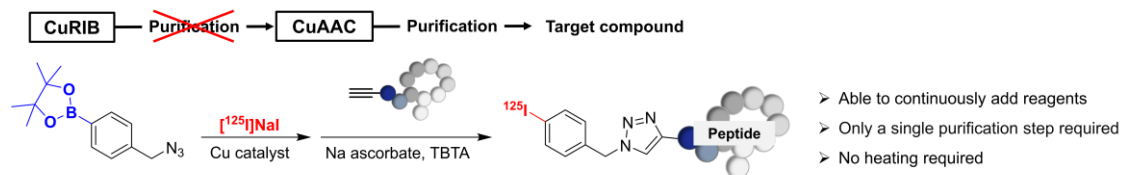


Figure 7 Characteristics of (a) copper-mediated radioiododeboronation (CuRIB) and (b) one-pot two-step radiolabeling method using CuRIB and CuAAC.

えるパラメータの調査及び標識条件の最適化を行った。また、本研究で得られた結果を基に、本反応の反応機構の推定についても試みた。

第二章では、第一章で得られた CuRIB 反応に関する知見を基に、ペプチドの One-Pot Two-Step 標識法の開発を行った。本研究では、CuRIB 反応を用いた放射性ヨウ素標識後の銅塩の化学形及び価数を CuRIB の反応機構から推定し、放射性ヨウ素化とコンジュゲーション反応を連続的に制御可能な逐次反応の構築を計画した (Figure 7)。本計画の達成により、従来型の間接標識法の欠点である精製工程の多段階化に起因する作業工程の煩雑化を回避することができる。即ち、従来型の間接標識法の利点を温存しつつ、直接標識法に劣らない迅速かつ簡便なペプチドの放射性ヨウ素化法の構築が可能となる。具体的には、CuRIB 反応後のコンジュゲーション反応として CuAAC 反応を選択し、連続的な試薬の添加による ^{125}I 標識体の合成と精製工程の短縮を試みた。

本論

第一章 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

第一節 低分子化合物の放射性ヨウ素標識

ペプチドの標識を行う前に、CuRIB 反応を用いた低分子化合物の放射性ヨウ素標識を実施した。本検討では、ボロン前駆体設計の観点から、置換基の影響を評価すると共に、ボロン酸化合物の保護基として頻繁に利用されるピナコール型保護基の影響について評価した。

反応条件は、既報を参考に設定し、銅触媒には本反応を効率的に触媒するとされる $\text{Cu}(\text{py})_4(\text{OTf})_2$ を採用した⁶⁸。反応溶媒には MeOH を用いた。また、本検討では、PerkinElmer Inc. (Waltham, MA, USA) より購入した $[\text{I}^{125}]\text{NaI}$ (aq. 10 μM NaOH) を利用した。標識反応は、全行程をドラフト内で行い、鉛ブロックで遮蔽した状態で 10 分間反応させた。反応終了後、ラジオ TLC 分析を行い、ピーク面積比より RCC を算出した (RCC の算出方法については実験項参照)。各標識実験は 3 回実施され、それらの平均を収率とした。

結果を Figure 8 にまとめた。今回標識実験を行った化合物の RCC は高い値 (84.6–99.7%) を示し、保護基を含まないボロン酸前駆体を用いた場合とピナコール型保護基を有するボロン前駆体を用いた場合で、有意な差は確認されなかった。また、本検討では、置換基の立体障害による顕著な収率の低下は確認されなかった。更に、芳香環上の置換基 (-OH, -COOH, -CHO, -SMe) による RCC への影響は小さく、位置異性体間で有意な差は確認されなかった。

以上の結果から、今回用いた標識条件は、芳香環上の置換基による影響を受けずに、高い収率で ^{125}I 標識体を与えた。更に、本標識条件において、ピナコール型保護基の有無は、標識率に顕著な影響を与えないことから、ボロン前駆体の設計において、それらの有無は優先度の低い項目であると考えられる。

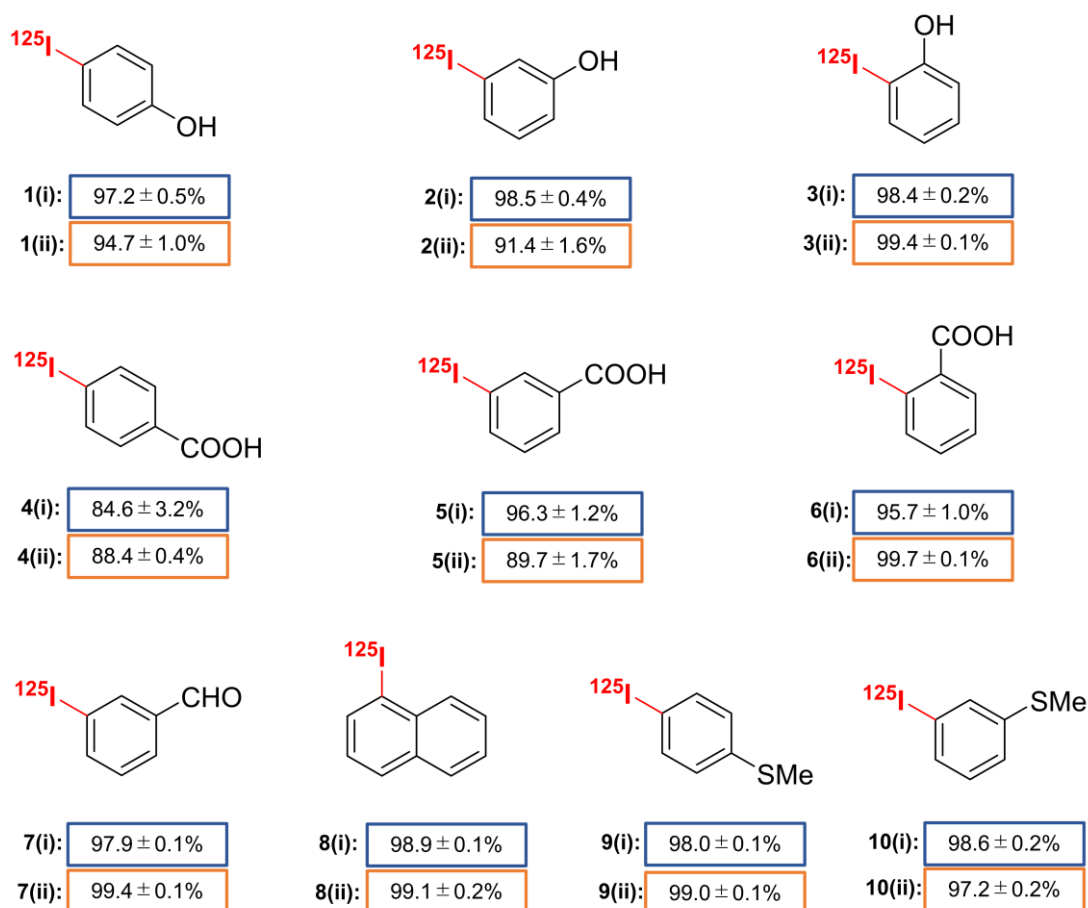
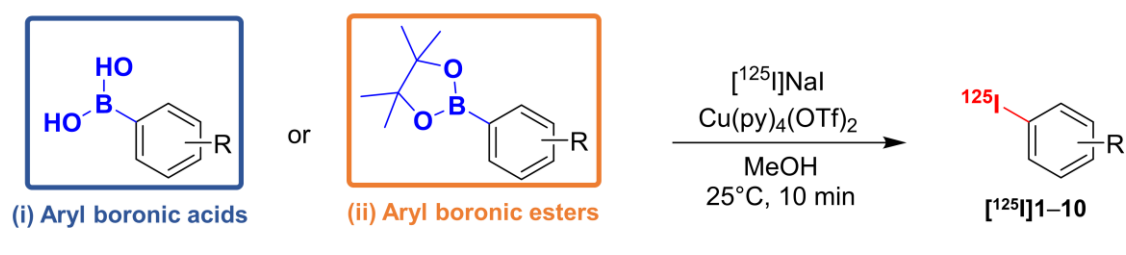


Figure 8 Scope study of CuRIB via aryl boronic acid or pinacol ester

RCCs of radiolabeled compounds were determined by radio-TLC ($n = 3$). The reaction solution was analyzed using the radio-HPLC to confirm identity of ^{125}I -radiolabeled compounds.

[*J. Labelled Comp. Radiopharm.* (2021), Figure 2 より一部引用]

次に、第二節で記述する間接標識法を用いた $[^{125}\text{I}]\text{IB-c(RGDyK)}$ の合成に向けて、Bolton-Hunter 試薬の一種である $[^{125}\text{I}]\text{12}$ 及び $[^{125}\text{I}]\text{14}$ の合成を実施した (Figure 9)。 $[^{125}\text{I}]\text{12}$ 及び $[^{125}\text{I}]\text{14}$ は、ペプチドやタンパク質のアミノ基と反応し、アミド結合を形成することで標識対象と結合する。標識部位の選択性は低いが、古くからタンパク質の放射性ヨウ素標識に用いられており、その有用性は高い。しかし、分子中の NHS エステル構造は、反応性の高い構造であるため、放射性ヨウ素標識時の反応条件に、その構造が耐えられない可能性がある。そ

ここで、筆者が設定した標識条件が、 $[^{125}\text{I}]\mathbf{12}$ 及び $[^{125}\text{I}]\mathbf{14}$ の合成に与える影響について事前に調べることにした。

初めに、前述した条件下で、ボロン酸前駆体 **11** を用いて $[^{125}\text{I}]\mathbf{12}$ の合成を行った。結果として、RCC は 10 分後に高い値を示したが、RCC は反応時間の経過と共に減少した。そこで、標識反応後の安定性の改善を目的に、反応溶媒の比較を行うことにした。反応後の溶媒除去の容易さを考慮し、MeOH, EtOH, MeCN, Acetone を選択し、ラジオ TLC 分析により、各反応時間 (10, 30, 60 min) における目的化合物及び RI 副生成物の RCC を調べた (Table 2)。反応溶媒として EtOH を用いた際、反応時間 10 分で、RCC は 98.8% であった。また、経時的な RI 副生成物の増加は、MeOH を用いた場合よりも小さかった (Figure 10)。MeOH 及び EtOH を用いた場合においても、精製処理後は比較的安定であり、数週間であれば冷蔵保存が可能であった。一方、MeCN 及び Acetone を用いた場合は、時間経過に伴う RI 副生成物の増加は確認されなかったが、他の副生成物の生成により、わずかに収率が低い値となった (Table 2)。以上の実験結果を基に、 $[^{125}\text{I}]\mathbf{12}$ 及び $[^{125}\text{I}]\mathbf{14}$ の合成には EtOH を用いることにした。結果として、メタ及びパラ置換体共に、95%を超える高い RCC で得られることが確認された (メタ置換体 : $97.3 \pm 0.1\%$, パラ置換体 : $96.3 \pm 1.0\%$)。

本実験結果から、CuRIB 反応を用いて、 $[^{125}\text{I}]\mathbf{12}$ 及び $[^{125}\text{I}]\mathbf{14}$ の合成を行う場合、反応溶媒として EtOH を用いることが望ましい。EtOH を反応溶媒に用いた場合でも僅かにではあるが、時間経過に伴い RI 副生成物が増加するため、標識反応後は速やかに精製処理を行う必要がある。

Table 2 Effect of reaction solvents on the synthesis of $[^{125}\text{I}]\mathbf{12}$

Entry	Solvent	Reaction time		
		10 min	30 min	60 min
1	MeOH	97.7%	93.6%	88.2%
2	EtOH	98.8%	97.6%	95.2%
3	MeCN	87.8%	91.2%	91.5%
4	Acetone	90.2%	90.7%	92.1%

*RCCs were determined by radio-TLC (n = 1)

[*J. Labelled Comp. Radiopharm.* (2021), Figure S1 より引用]

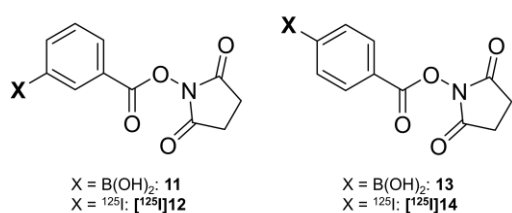


Figure 9 RCCs of $[^{125}\text{I}]\mathbf{12}$ and $[^{125}\text{I}]\mathbf{14}$ when using EtOH as the reaction solvent (n = 3)

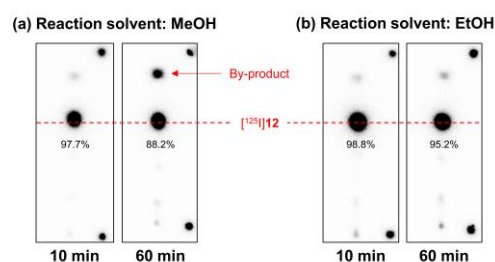


Figure 10 Radio-TLC of $[^{125}\text{I}]\mathbf{12}$

Analysis condition: SiO₂; CHCl₃: MeOH (= 18:1)

第二節 ペプチド様分子の直接的な放射性ヨウ素標識

低分子化合物を用いた標識実験の結果を基に、より医薬品ライクな化合物への適用を試みた。本研究では、 $\alpha_v\beta_3$ integrin inhibitor の一つである環状ペプチド **c(RGDyk)** を母核に有する化合物 **[¹²⁵I]**16**** (**[¹²⁵I]IB-c(RGDyk)**), 及び PSMA inhibitor を母核に有するペプチド様分子 **[¹²⁵I]**22**** (**[¹²⁵I]IB-PA**) をモデルに実験を行った。**[¹²⁵I]**16**** の合成においては、直接標識法及び間接標識法をそれぞれ用いて合成し、それらの結果を比較した。

第一項 [¹²⁵I]IB-c(RGDyk)の放射化学合成

まず初めに、間接標識法を用いて、**[¹²⁵I]**16**** (**[¹²⁵I]IB-c(RGDyk)**) の合成を行った。第一節で示した結果を基に、**[¹²⁵I]**14**** を EtOH 溶媒下で合成し、HPLC を用いて単離した (RCY = 76.7 ± 2.3%)。単離溶液は、水で希釈後、固相抽出カラム (C₁₈ Sep-Pak[®]) に吸着し、水で洗浄した。次に、MeCN で **[¹²⁵I]**14**** を溶出し、窒素ガスにより濃縮後、¹²⁵I 標識試薬として TEA 存在下、DMF 中で、**c(RGDyk)** と反応させた (Figure 11)。反応終了後、HPLC 精製により、**[¹²⁵I]**16**** を得た [RCY = 60.4 ± 5.6% (Overall RCY: 38.1 ± 1.4%)]. 全体の作業時間は、140–157 分 (n = 3) であった。

次に、直接標識法を用いて **[¹²⁵I]**16**** の合成を行った (Figure 12 (a))。 **[¹²⁵I]**16**** の合成を行うにあたり、まず初めにボロン酸前駆体の合成を行った。本実験では、標識反応後の HPLC 精製を考慮し、前駆体と RI 標識体の極性の違いが大きくなるように、保護基フリーのボロン酸前駆体 **15** を採用した。ボロン酸前駆体 **15** は、**c(RGDyk)** と **13** を TEA/DMF 中で反応させた後、HPLC 精製を行うことで得られた (収率: 43.6%)。化学構造は、NMR 及び高分解能 ESIMS 分

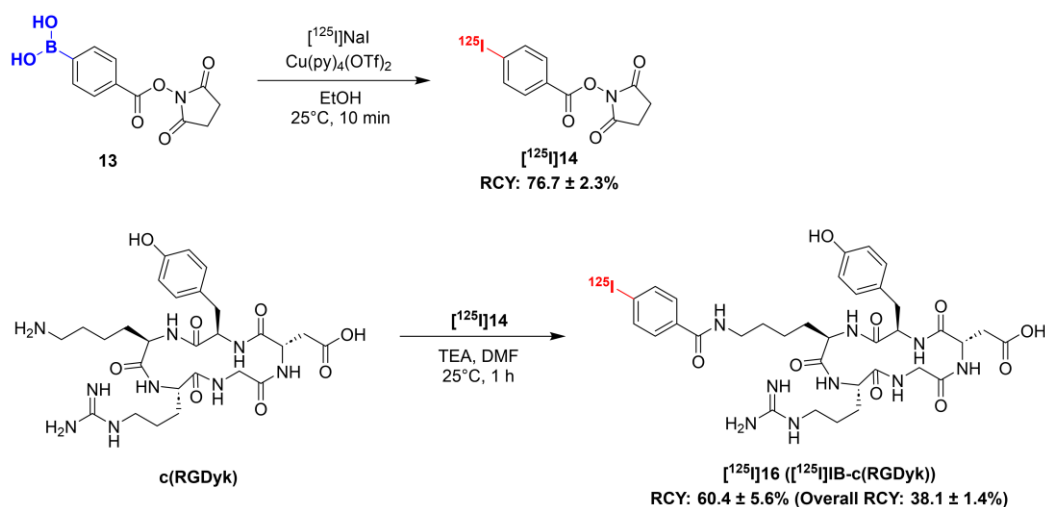


Figure 11 Synthesis of **[¹²⁵I]**16**** using indirect radioiodination (n = 3)

[J. Labelled Comp. Radiopharm. (2021), Scheme 1 より一部引用]

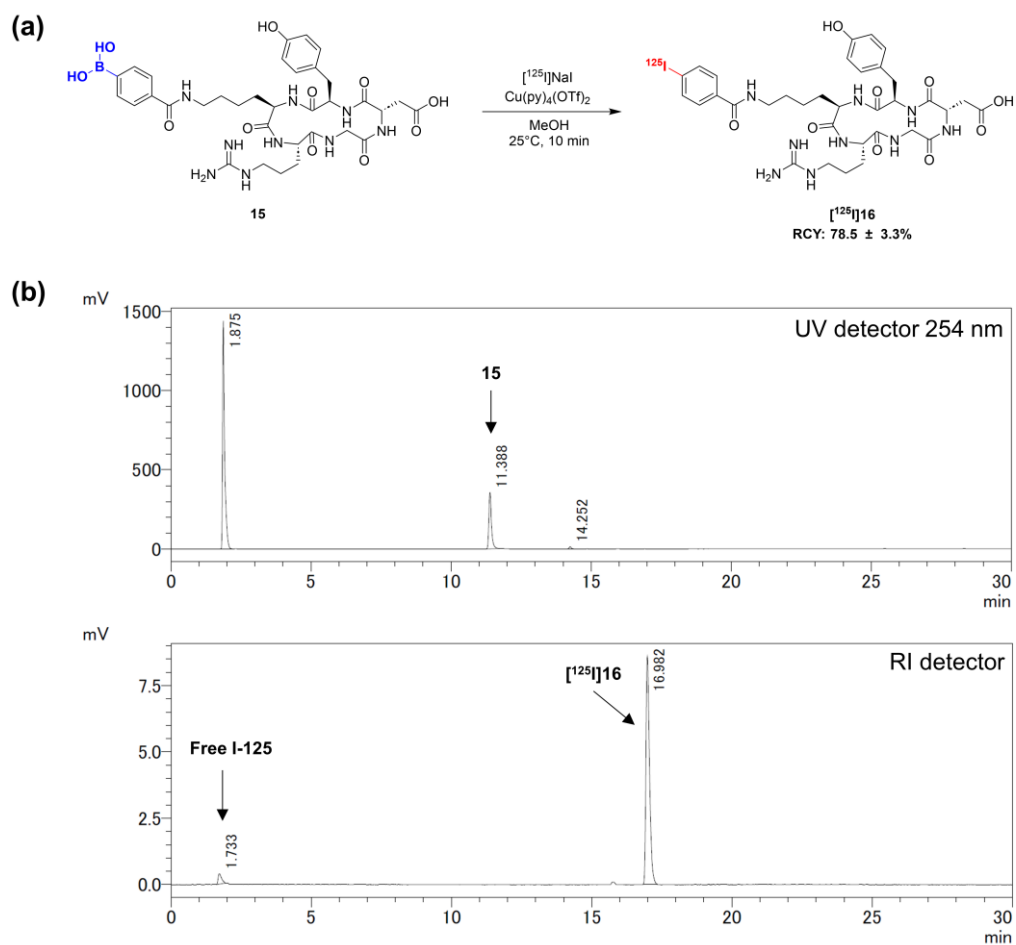


Figure 12 Synthesis of [^{125}I]16 using direct radioiodination via boronic precursor **15** ($n = 3$)

(a) Synthesis scheme, (b) HPLC chromatogram of the reaction mixture.

[*J. Labelled Comp. Radiopharm.* (2021), Scheme 1 及び Figure 4 より一部引用]

析を行うことで決定した。続いて、 $[^{125}\text{I}]16$ の同定を目的に、標準化合物として、非標識体 **16** を合成した。化合物 **13** の代わりに **14** を用いて、**15** の合成と同様の手法により合成した (収率 : 60.8%)。

次に、 $[^{125}\text{I}]16$ の合成を行った。**15** 及び **16** が MeOH に溶解することが確認されたため、低分子化合物に用いた手法を適用することにした。結果として、 $[^{125}\text{I}]16$ は、RCY [$78.5 \pm 3.3\%$ ($n = 3$)] で得られた。また、作業時間は、28–32 分 ($n = 3$) であった。更に、Figure 12 (b) に示すように、ボロン酸前駆体と目的化合物の保持時間は大きく異なっており、HPLC を用いた精製も容易であった。間接標識法で合成した場合と比較して、単離収率は約 2 倍、作業時間は約 1/5 となった。

以上の実験結果から、CuRIB 反応は、環状ペプチド c(RGDyk) 誘導体の直接的な ^{125}I 標識に利用できることが示された。また、間接標識法を用いた場合と比較して、効率的に標識できることも明らかとなった。

第二項 $[^{125}\text{I}]\text{IB-PS}$ の放射化学合成

本研究では2通りの合成経路（方法I及びII）を用いて $[^{125}\text{I}]\mathbf{22}$ ($[^{125}\text{I}]\text{IB-PS}$) を合成し、それらの結果を比較した。方法Iでは、カルボキシ基が $t\text{Bu}$ 基で保護されていないボロン酸前駆体 $\mathbf{21}$ (PB-PS) を用いて、直接的に $[^{125}\text{I}]\mathbf{22}$ を合成した。一方、方法IIでは、 $[^{125}\text{I}]\mathbf{22}$ を2段階で合成しており、カルボキシ基が $t\text{Bu}$ 基で保護されたボロン酸前駆体 $\mathbf{19}$ (PB-PS($t\text{Bu}$)) を用いて ^{125}I 標識を行った後、TFA で脱保護を行った。

初めに、ボロン酸前駆体及び非標識体の合成を行った。 $[^{125}\text{I}]\mathbf{16}$ の合成と同様に、標識反応後の HPLC 精製を考慮し、前駆体と RI 標識体の極性の違いが大きく異なるボロン酸前駆体を用いることにした。反応スキームを Figure 13 に示す。DMF 中で、HATU 及び DIEA を用いて、化合物 $\mathbf{17}$ 及び $\mathbf{18}$ をアミド結合形成反応により結合させた。反応終了後、分液及び HPLC を用いて目的の化合物 $\mathbf{19}$ を単離した (収率: 60.2%)。その後、その一部を、TFA で処理することによりボロン酸前駆体 $\mathbf{21}$ を得た (収率: 73.0%)。以下同様の方法により、 $\mathbf{20}$ (収率: 62.5%) 及び $\mathbf{22}$ (収率: 84.8%) を合成した。

次に、方法Iを用いて、 $\mathbf{21}$ から $[^{125}\text{I}]\mathbf{22}$ を合成した (Figure 14 (a))。標識反応は、銅触媒 $\text{Cu}(\text{py})_4(\text{OTf})_2$ を用いて、MeOH 溶媒下で行った。ボロン酸前駆体 $\mathbf{21}$ と $[^{125}\text{I}]\text{NaI}$ を、 25°C で10分間反応させた後、反応混合物を HPLC で精製したところ、 $[^{125}\text{I}]\mathbf{22}$ の RCY は $77.1 \pm 6.0\%$ ($n=3$) であった。次に、方法IIを用いて、ボロン酸前駆体 $\mathbf{19}$ から2段階で $[^{125}\text{I}]\mathbf{22}$ を合成した (Figure 14 (b))。まず、方法Iと同じ標識条件で ^{125}I 標識を行い、窒素ガスを吹付けて反応液を濃縮した。次に、TFA を加えて、 25°C で脱保護処理を行った後、窒素ガスを用いて反応溶液を濃縮した。最後に HPLC 精製を行い、 $[^{125}\text{I}]\mathbf{22}$ を得た (RCY: $93.8 \pm 2.6\%$)。更に、方法IIにおける合成中間体の生成を確認することを目的に $[^{125}\text{I}]\mathbf{20}$ の合成を行ったところ、その RCY は $98.0 \pm 1.6\%$ であった。従って、TFA 処理によって収率が改善された可能性は否定された。

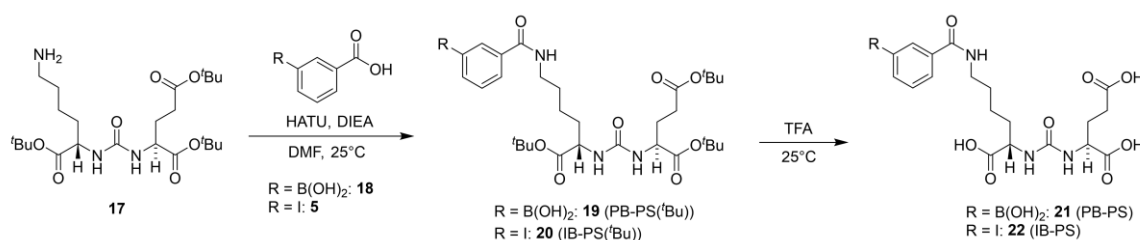
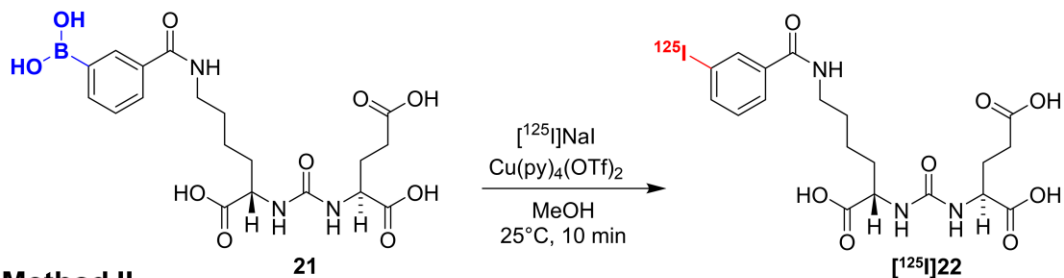


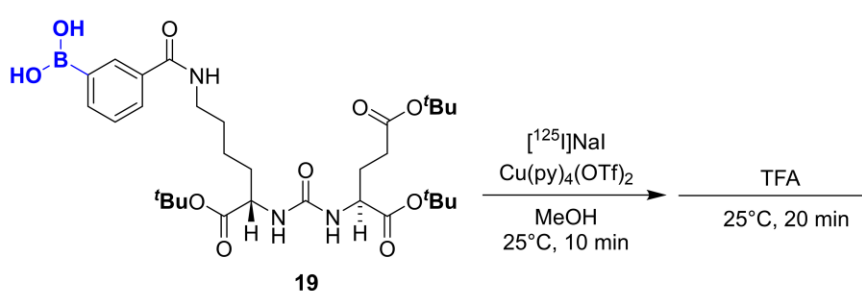
Figure 13 Synthesis of boronic precursors ($\mathbf{19}$ and $\mathbf{21}$) and standard samples ($\mathbf{20}$ and $\mathbf{22}$)

[*Bioorg. Med. Chem.* (2022), Scheme 1 より一部引用]

(a) Method I



(b) Method II



(c)

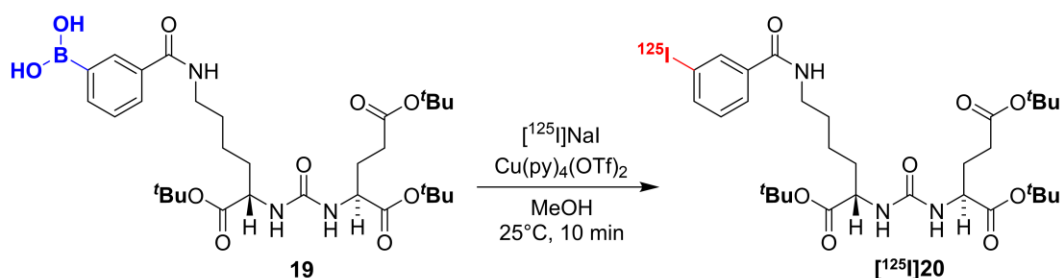


Figure 14 Radiosynthesis of [¹²⁵I]22 via boronic precursors (**19** or **21**)

(a) Radiosynthesis of [¹²⁵I]22 using boronic precursor **21** (Method I; $n = 3$). (b) Radiosynthesis of [¹²⁵I]22 using boronic precursor **19** (Method II; $n = 3$). A deprotection reaction by TFA after the radiolabeling reaction was performed continuously without a purification process. (c) Radiosynthesis of [¹²⁵I]20 using boronic precursor **19** ($n = 3$).

[*Bioorg. Med. Chem.* (2022), Scheme 2 より一部引用]

本研究では、室温下で、目的化合物 [¹²⁵I]22 を良好な収率 (RCY: 77.1–93.8%) で得ることができた。収率は、方法 II を用いた場合の方がより高い値となった。作業時間の観点では、方法 II (ca. 1.0 h) と比較して、方法 I (ca. 0.5 h) の方が優位性の高い手法といえるが、¹²⁵I ($t_{1/2} = 13.2$ h) 標識への適用を考慮したとしても 1 時間の作業時間は十分に許容される範囲にあると考える。但し、自動合成装置への適用を考えると、工程がより簡易的で、かつ腐食性の高い TFA を用いない方法 I の方が有効な手法と考えられる。

これまでに、ウレア骨格を有する PSMA 阻害剤の放射性ヨウ素標識には、有機スズ前駆体を用いた酸化的スズ-ハロゲン交換反応 (RCY: 50–70%)^{75–77} や iodogen を用いたチロシン残基

の酸化的な放射性ヨウ素化反応 (RCY: 69–80%)⁷⁸⁻⁷⁹ が用いられてきた。既報と比較して、本実験で得られた収率は、同等又はそれ以上の値となっている。また、CuRIB 反応を用いた手法では、生体に対して高い毒性を示す有機スズ前駆体や酸化剤を用いることなく、温和な条件下で、目的化合物を高収率で合成することができる。

[¹²⁵I]16 及び [¹²⁵I]22 の合成実験の結果から、CuRIB 反応による放射性ヨウ素標識法は、ペプチド（様分子）の放射性ヨウ素標識を行うための有効な手段となる可能性が示された。本実験における CuRIB 反応の利用範囲は非常に限定的であり、適用範囲の拡大を図るためには、さらなる検討が必要であった。

第三節 銅触媒による脱ホウ素放射性ヨウ素化反応に対する水の影響の調査

及び反応メカニズムの推定

CuRIB 反応は、穏やかな条件で放射性ヨウ素標識体を合成できることから、熱や酸化剤に弱い分子の標識に有効であると考えられる。また、ペプチドのような中分子の放射性ヨウ素標識にも適用できることが前節の研究結果から明らかとなった。しかしながら、前述したように、応用例は限定的であり、反応条件の各パラメータが収率に与える影響について不明な点が多かった。特に、幅広いペプチドへの利用を考慮すると、ペプチドの溶解性の観点から、CuRIB 反応に対する含水溶媒の影響に関する調査は優先度の高い項目といえる。また、一般的に、放射性ヨウ素 (^{125}I , ^{125}I , ^{131}I etc.) は、水酸化ナトリウムを含むヨウ化ナトリウム水溶液として供給・利用されるため、それらに含まれる水は、標識反応の結果に影響を与える可能性がある。勿論、放射性同位元素の供給に由来する水は、標識反応前に窒素ガス処理や加熱処理などにより除去できるが、それに伴う作業時間の延長や飛散リスクの増大は、操作者の被ばくリスクの増加や収率の低下などの望まない結果を引き起こす。更に、工程が多段階になれば、自動合成装置の設計も複雑になる。よって、放射性ヨウ素の供給の観点からも CuRIB 反応に対する水の影響を調査することは重要である。

本章では、CuRIB 反応に対する水の影響を調べると共に、含水溶媒中における放射性ヨウ素標識を成功させるために必要となる条件を調査した。また、含水溶媒を用いた実験において、反応機構を推定する手掛かりとなる現象が確認されたため、さらに追加実験を行い、反応機構の推定を試みた。

本研究では、モデルペプチドとして SSTR2 アゴニストである octreotate を母核構造に有する ^{125}I 35/36 (^{125}I m/p-IBTA) を選択し、それらの標識部位の構造を基に、小分子モデルとして、 ^{125}I 25 及び ^{125}I 26 を選択した (Figure 15)。銅触媒は、これまでと同様に $\text{Cu}(\text{py})_4(\text{OTf})_2$ を使用した^{68, 80, 81}。ボロン酸前駆体 (23 又は 24) と $\text{Cu}(\text{py})_4(\text{OTf})_2$ は、対応する溶媒にそれぞれ

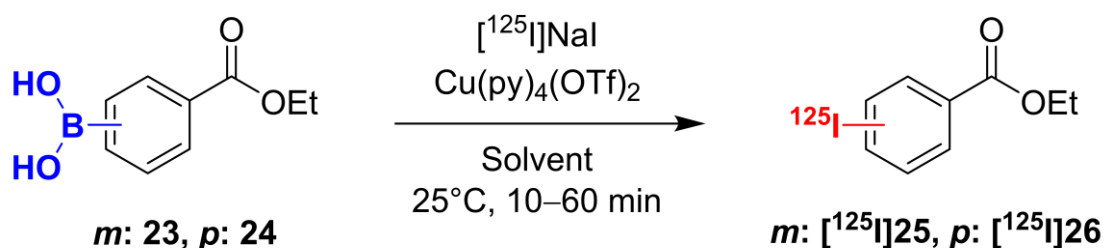


Figure 15 Radiosynthesis of ^{125}I 25 or ^{125}I 26 using copper-mediated iododeboration.

Reaction conditions: boronic precursor (1 or 3; 100 nmol), $\text{Cu}(\text{py})_4(\text{OTf})_2$ (0–40 nmol), solvent (0–50% v/v $\text{H}_2\text{O}/\text{MeOH}$, EtOH, MeCN, DMF, or DMSO; 100 μL).

[ACS Omega (2023), Figure 1 より引用]

れ溶解させておき、使用直前にマイクロチューブに加えて混合させた。更に、反応溶媒中の含水量を制御するために、水又は有機溶媒を添加した（反応容量：100 μ L）。最後に、 $[^{125}\text{I}]\text{NaI}$ 溶液を添加し、25 $^{\circ}\text{C}$ で反応させた。RCC は、ラジオ TLC 及びラジオ HPLC 分析を行い、ピーク面積比より算出した ($n=3$)。

含水溶媒の影響を評価するにあたり、有機溶媒が CuRIB 反応に与える影響について改めて評価することにした。実験結果を Table 3 にまとめた。尚、本研究では、前駆体及び標識体の溶解性の観点から、 H_2O 単独での標識実験は実施していない。これまでの結果と同様に、MeOH を溶媒として用いると、 $[^{125}\text{I}]\mathbf{25}$ 及び $[^{125}\text{I}]\mathbf{26}$ の RCC は高い値を示した (RCC = 97%; Table 3, entry 1 and 6)。また、EtOH を用いた場合においても、RCC は 95% を超える結果となった (Table 3, entry 2 and 7)。更に、MeOH 及び EtOH を用いた場合では、位置異性体間で RCC の違いは確認されなかった。一方、MeCN, DMF, DMSO を溶媒に用いた場合では、 $[^{125}\text{I}]\mathbf{25}$ 及び $[^{125}\text{I}]\mathbf{26}$ の RCC は低い値となった。

次に、MeCN, DMF, DMSO に MeOH 又は H_2O を添加し、それらが標識率に与える影響を調べた (Table 4)。MeOH を添加した場合は、RCC の改善が確認された (Table 4, entry 1–3)。一方、 H_2O を添加した場合は、MeOH で観察されたような劇的な RCC の改善は確認されなかった (Table 4, entry 4–6)。Table

Table 3 Solvent effect on CuRIB

Entry	Precursor	Solvent	RCC (%) *
1	23	MeOH	97.4 \pm 0.8
2		EtOH	95.2 \pm 0.6
3		MeCN	7.4 \pm 0.6
4		DMF	-
5		DMSO	-
6	24	MeOH	97.7 \pm 0.3
7		EtOH	95.9 \pm 0.1
8		MeCN	3.3 \pm 0.6
9		DMF	-
10		DMSO	-

*Data are presented as the mean \pm standard deviation ($n = 3$).

Reaction conditions: precursor (100 nmol), $\text{Cu}(\text{py})_4(\text{OTf})_2$ (5 nmol), 25 $^{\circ}\text{C}/10$ min. Note: The reaction contained water (ca. 0.5 %) derived from an aqueous solution of ^{125}I .

[ACS Omega (2023), Table 1 より一部引用]

Table 4 Effect of MeOH and H_2O on the labeling efficiency

Entry	Precursor	Solvent	RCC (%) *
1	23	MeCN:MeOH (= 1:1)	75.7 \pm 5.0
2		DMF:MeOH (= 1:1)	39.6 \pm 1.5
3		DMSO:MeOH (= 1:1)	24.9 \pm 1.1
4		MeCN: H_2O (= 1:1)	-
5		DMF: H_2O (= 1:1)	4.0 \pm 0.2
6		DMSO: H_2O (= 1:1)	2.9 \pm 0.5

*Data are presented as the mean \pm standard deviation ($n = 3$).

Reaction conditions: precursor (100 nmol), $\text{Cu}(\text{py})_4(\text{OTf})_2$ (5 nmol), 25 $^{\circ}\text{C}/10$ min.

[ACS Omega (2023), Table 2 より一部引用]

Table 5 Effect of H_2O content of MeOH solvent on the labeling efficiency

Entry	Precursor	$\text{H}_2\text{O}/\text{MeOH}$ (%)	RCC (%) *
1	23	0	97.2 \pm 0.1
2		20	57.1 \pm 3.8
3		50	20.1 \pm 1.5
4	24	0	97.6 \pm 0.5
5		20	45.1 \pm 2.4
6		50	14.5 \pm 0.6

*Data are presented as the mean \pm standard deviation ($n = 3$).

Reaction conditions: precursor (100 nmol), $\text{Cu}(\text{py})_4(\text{OTf})_2$ (10 nmol), 25 $^{\circ}\text{C}/10$ min.

[ACS Omega (2023), Table 3 より一部引用]

3 及び 4 に示された結果から、MeOH は CuRIB 反応に適した溶媒であるといえる。これらの結果から、MeOH に対する H₂O の添加が収率にどのような影響を与えるのか、さらに詳しく評価することにした。

本実験では、3 種類の含水メタノール溶媒 (0, 20, 50% v/v H₂O/MeOH) を用いて合成を行い、それらの RCC を比較した。尚、ボロン酸前駆体 (23 及び 24) 及びヨウ素標識体 ([¹²⁵I]25 及び [¹²⁵I]26) の溶解性に伴った収率の低下が現れないようにするために、含水率 50% 以上のメタノールを用いた標識実験は行っていない。Table 5 が示すように、含水量の増加と共に RCC の値は減少し、[¹²⁵I]25 の RCC は [¹²⁵I]26 と比較して僅かに低い値を示した。

次に、銅触媒量が、標識効率に与える影響について調査した。Figure 16 が示すように、銅触媒量の増加に伴った RCC の改善が確認され、40 nmol の銅触媒を用いた時、RCC は 85% まで改善された。更に、10 nmol 及び 20 nmol の銅触媒を用いた場合を例に、標識反応時間が標識効率に与える影響について評価した。結果として、Figure 17 に示すように、反応時間の延長に伴った RCC の改善が観察された。20 nmol の Cu(py)₄(OTf)₂ を使用した場合は 30 分で、10 nmol の Cu(py)₄(OTf)₂ を使用した場合は 60 分で、それぞれの RCC は 90% に達した。以上の結果から、含水メタノール中の H₂O は CuRIB 反応の反応速度を下げる事が明らかとなった。迅速な放射性ヨウ素標識を行うには、銅触媒量を増量し、溶媒中の水分含有量を可能な限り減らすことが望ましいといえる。但し、H₂O は反応効率を低下させるが、銅触媒量及び反応時間を調整することで改善可能である。本実験結果は、CuRIB 反応が極性の高い環境化

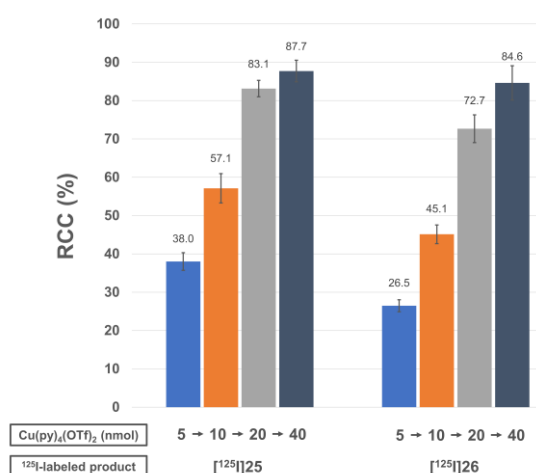


Figure 16 Effect of the copper catalyst amount (5–40 nmol) on RCCs of [¹²⁵I]25 and [¹²⁵I]26.

Reaction conditions: precursor (23 or 24; 100 nmol), 20% v/v H₂O/MeOH (100 μL), 25°C/10 min.

[ACS Omega (2023), Figure 2 より一部引用]

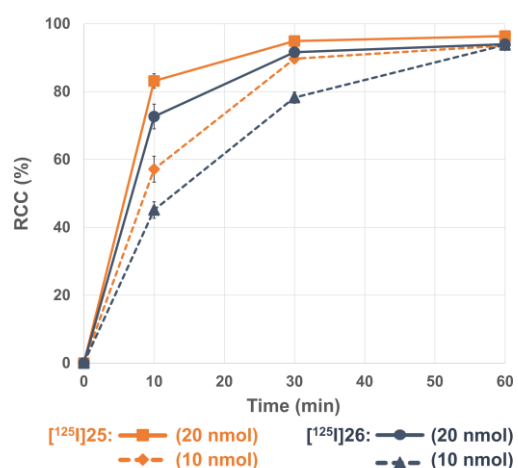


Figure 17 Effect of the labeling reaction time (0–60 min) on RCCs (%) of [¹²⁵I]25 and [¹²⁵I]26.

Reaction conditions: precursor (23 or 24; 100 nmol), Cu(py)₄(OTf)₂ (10 nmol: dashed lines, 20 nmol: full lines), 20% v/v H₂O/MeOH (100 μL), 25°C.

[ACS Omega (2023), Figure 3 より一部引用]

でも機能することを示しており、ペプチドなどの極性の高い分子を CuRIB 反応により放射性ヨウ素標識する際に、非常に有益な知見となる。

続いて、前述した結果を基に、追加実験の計画を行った。これまでの実験結果⁸⁰及び他のグループの報告⁶⁸によると、CuRIB 反応は芳香族置換基による影響を受けないと考えられていた。しかしながら、前述の実験結果では、含水メタノールを用いた際に、位置異性体間での違いが観察された。そこで、筆者は CuRIB 反応における置換基効果について、さらに詳細に調査することにした。本研究では、ニトロ基、ヒドロキシ基、メトキシ基を有する低分子 [¹²⁵I]30、[¹²⁵I]31、および [¹²⁵I]32 をモデルに、含水メタノール中での放射性ヨウ素標識を行った。Figure 18 に示すように、MeOH を溶媒として用いた場合は、電子供与性基および電子吸引性基の影響は確認されず、いずれも高収率 (RCC = 94.9–97.6%) で得られた。これらの結果は、これまでの実験結果ともよく一致している。しかしながら、含水メタノール条件では、電子吸引性基よりも、電子供与性基を有するボロン酸化合物を前駆体として用いた場合において、RCC はより高い値を示した。以上の結果より、含水メタノール下で CuRIB 反応を実施する際には、銅触媒量及び反応時間に加えて、芳香族置換基の影響を考慮する必要があると

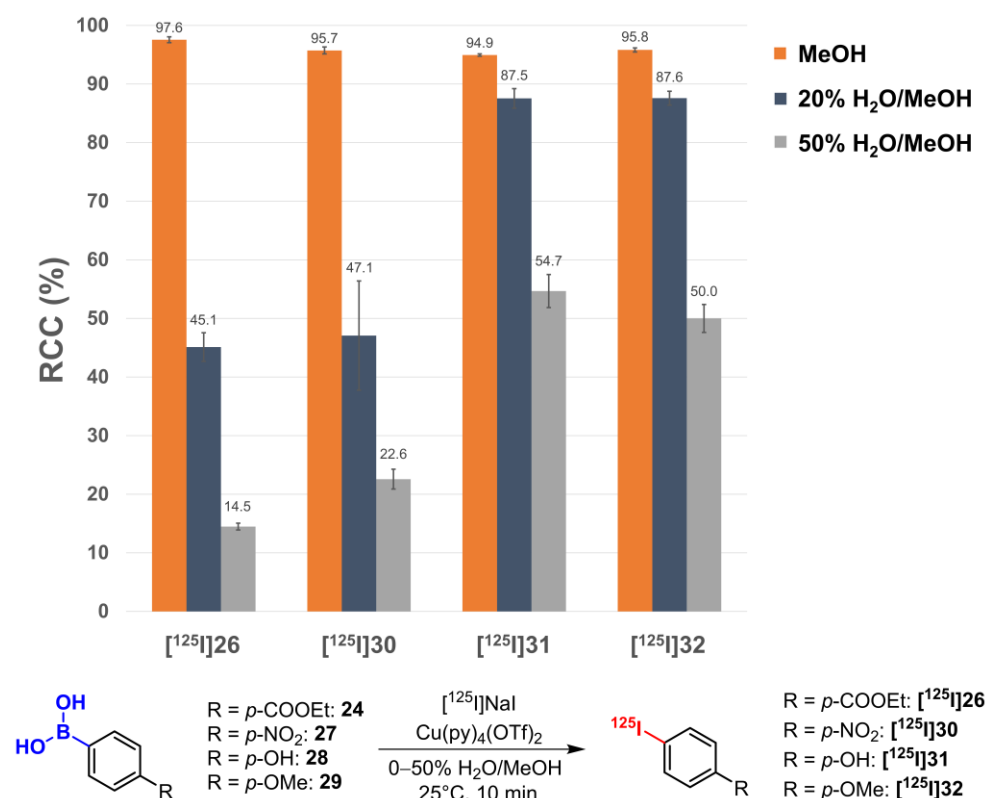


Figure 18 Substituent effect on CuRIB.

Reaction condition: precursor (**24**, **27**, **28**, and **29**; 100 nmol), Cu(py)₄(OTf)₂ (10 nmol), mixture solvent comprising 0–50% v/v H₂O/MeOH (100 μL), 25°C/10 min.

[ACS Omega (2023), Figure 4 より一部引用]

いえる。即ち、芳香族置換基の種類や挿入位置を調整することで、効率的な放射性ヨウ素標識反応をデザインすることができる。

本研究を報告した当時、他のグループによる先行報告において CuRIB 反応が CEL カップリングに分類される可能性についてすでに言及されていたが、その詳細な反応機構について記述している報告はなかった⁶⁶⁻⁶⁸。また、本反応の反応機構に関する研究は、筆者の調べる限り存在しなかった。しかしながら、CEL エーテル化およびアミノ化反応の反応機構に関する研究は比較的進んでおり、いくつかの研究が報告されている⁸²⁻⁸⁵。そこで、著者は、これらの研究報告を参考に、本研究の結果を考慮しつつ、CuRIB 反応の反応機構の推定を行った。その結果を、Figure 19 に示す。CEL カップリングでは、一価銅、二価銅、三価銅が絶妙な触媒サイクル（トランスメタル化、酸化、還元的脱離、空気酸化）を形成することで進行すると考えられており、トランスメタル化の過程が、律速段階であるとされている。Figure 19 に示すように CEL ヨウ素化反応の大部分は、CEL エーテル化^{82,83} 及びアミノ化^{84,85} 反応と同様の機構で進行すると予想される。但し、CEL エーテル化及び CEL アミノ化の場合では、ヒドロキシ基又はアミノ基を有する基質（例えば、メタノール^{82,83}、ピペリジン⁸⁴）が、どの段階で銅原子に配位するのかは明確になっておらず、おそらく、基質によって変化する。しかしながら、CEL ヨウ素化の場合は、ヨウ素の銅に対する高い配位性から、反応初期の段階でヨウ素は銅へ配位していると予想される。ヨウ素が銅へ配位した後は、CEL エーテル化およびアミノ化反応と同様の機構で進行していると筆者は考える。 $L_nCu^II(X)^*I$ は、アリアルボロン酸と

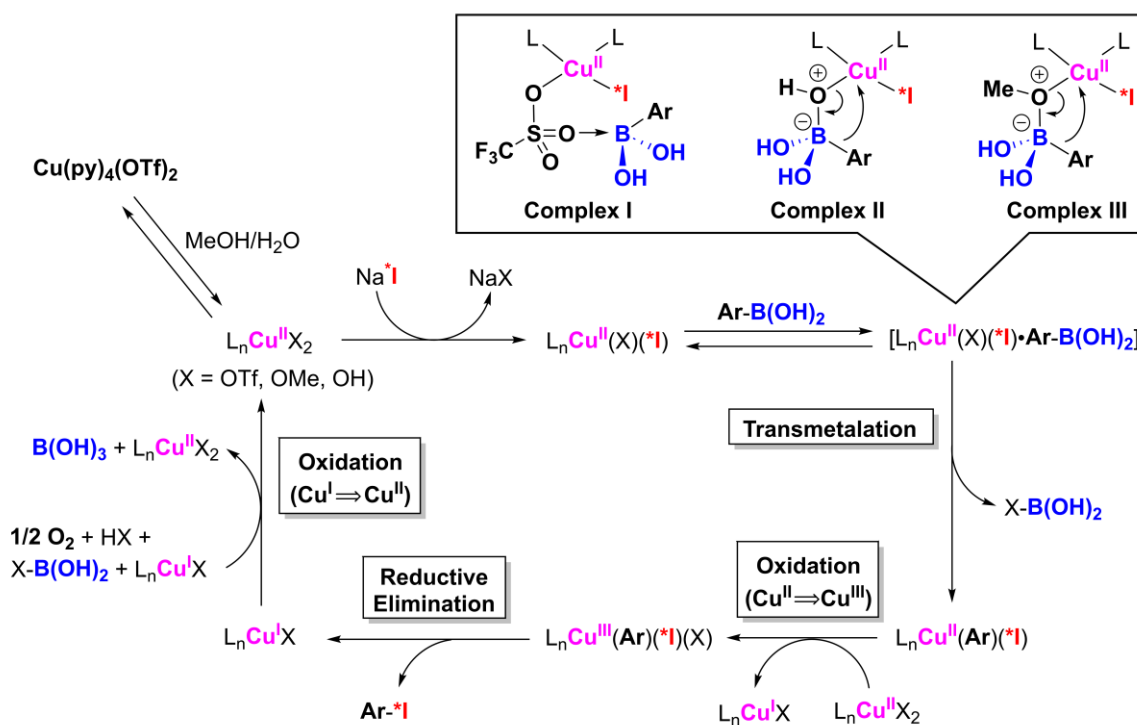


Figure 19 Proposed mechanism of copper-mediated radioiododeboronation (*I = ¹²⁵I).

[ACS Omega (2023), Figure 5 より一部引用]

複合体を形成し、アリール基が銅へと移動（トランスメタル化）する。その後、 $L_nCu^{II}X_2$ により $L_nCu^{II}(Ar)*I$ は $L_nCu^{III}(Ar)*I(X)$ へ酸化される。次に、 $L_nCu^{III}(Ar)*I(X)$ から、アリールヨウ素化合物が還元的に脱離する。最後に、酸化及び還元的脱離の段階で生じた $L_nCu^I X$ は、空気酸化されて $L_nCu^{II}X_2$ が再生する。

トランスメタル化については、鈴木宮浦カップリングの反応機構に関する研究から、よく理解されており、電子リッチなアリールボロン酸では、このトランスメタル化のステップが早く進行することが知られている⁸⁶。また、この現象は、CEL エーテル化及びアミノ化でも観察されている。さらに、本研究においても Figure 18 に示すように、電子供与性の官能基をパラ位に有するボロン酸前駆体を用いた時に、放射性ヨウ素体の RCC は高い値となっている。

トランスメタル化の初期段階として、複合体の形成が重要であるとされており、ヒドロキシ基やスルホン酸の酸素原子 (O) とホウ素 (B) が配位した複合体の形成が提唱されている^{84,85,87}。Figure 19 に示した推定反応機構においては、複合体 I 及び複合体 II がそれらに該当する。ある種の反応溶媒は、銅の配位子と置換することが可能であり、反応溶媒が収率に影響を与える要因の一つであると考えられる。MeOH を溶媒として用いた場合、MeOH が銅の配位子となり、複合体 III が生じることが予想される。これは、CEL エーテル化を用いたメトキシ化反応が進行する事実からも支持される^{82,83}。複合体 II と複合体 III を比較したとき、酸素原子に結合するメチル基の電子供与性効果を考慮すると複合体 III は複合体 II よりも生成しやすいことが予想され、このトランスメタル化に必要な複合体形成の容易さは、MeOH 存在時の劇的な収率の改善を説明していると筆者は考える。逆に、含水メタノールを用いた場合は、複合体 III の濃度が低下するため、反応速度が低下したと考える。

筆者らが報告してから、すぐにイギリスのグループからも類似した推定反応機構が報告されている⁸⁸。Macgregor 及び Watson らは、X 線結晶構造解析と密度汎関数理論計算に基づいた反応機構の推定を行っている。使用している銅触媒が異なるため、直接比較することはできないが、著者の予想と同様に、Macgregor 及び Watson らのグループも、一価銅、二価銅、三価銅による触媒サイクルを介したトランスメタル化、酸化、還元的脱離、空気酸化により、ヨウ素化反応が進行すると推定している。一部の中間体に関しては、現状、物理的に観測することが困難であるため完全に決定することはできないが、おおよその反応機構は明らかになりつつある。

含水メタノール溶媒下におけるペプチドの ^{125}I 標識

基礎実験の結果を基に、CuRIB 反応を用いた含水メタノール条件下でのペプチドの ^{125}I 標識を行った (Figure 20)。ボロン酸前駆体 (33 及び 34) および 標準化合物 (35 及び 36) は、それぞれ固相ペプチド合成法を用いて合成した。Fmoc 保護されたアミノ酸をブロックビルディングとして用いて、Fmoc 法に従って直鎖状ペプチドを合成した後、脱保護、脱樹脂、精製処理を順に行い、目的の直鎖状ペプチドを合成した。続いて、それらを $\text{NH}_4\text{HCO}_3/\text{DMF}$ 飽和溶液に溶解させて、空気酸化により環化し、HPLC を用いて得られた混合物を精製することで目的の環状ペプチドを合成した。ボロン酸ペプチドを用いた研究報告は豊富に存在し、それらの固相合成技術も十分に確立されている⁸⁹。従って、トリブチルスズまたはヨードニウム塩前駆体の合成のように、特定の合成中間体を経由する必要がないため、既存の自動合成装置へ組み込みやすいことから、ボロン酸ペプチド前駆体の合成は比較的容易であるといえる。この特徴は、CuRIB 反応を用いたペプチドの放射性ヨウ素化を行う上での重要な利点であると考えられる。

続いて、 $[^{125}\text{I}]\mathbf{35}$ 及び $[^{125}\text{I}]\mathbf{36}$ の放射化学合成を行った。標識プロトコルは、低分子化合物の標識と同様のものを用いた。但し、予備実験において、 $\text{Cu}(\text{py})_4(\text{OTf})_2$ (5 nmol) を用いて、MeOH 中で、 $[^{125}\text{I}]\mathbf{35}$ 及び $[^{125}\text{I}]\mathbf{36}$ の合成を実施したところ、その RCC は低い値 ($[^{125}\text{I}]\mathbf{35}$: 7.8%, $[^{125}\text{I}]\mathbf{36}$: 4.0%) となった。そこで、Figure 21 に示すように、銅触媒の量を 40 nmol に増量し、再実験を行ったところ、RCC の改善が確認された。更に、銅触媒の量を増量し、 $[^{125}\text{I}]\mathbf{35}$ 及び $[^{125}\text{I}]\mathbf{36}$ の RCC を確認したところ、 $\text{Cu}(\text{py})_4(\text{OTf})_2$ を 80 nmol 及び 160 nmol を用いた時、それぞれの RCC は $98.6 \pm 1.3\%$ 及び $98.3 \pm 1.7\%$ に達した。9 割を超える高い RCC で標識体を合成するためには、 $[^{125}\text{I}]\mathbf{25}$ 及び $[^{125}\text{I}]\mathbf{26}$ の場合と比較して、より多く銅触媒が必要であった。

次に、含水メタノール中での $[^{125}\text{I}]\mathbf{35}$ 及び $[^{125}\text{I}]\mathbf{36}$ の合成を行った。前述した低分子化合物の結果と同様に、含水メタノール下の反応において RCC の低下が確認された。また、銅触媒の増量による RCC の改善も、低分子の場合と同様に確認された。更に、Figure 22 に示すように、時間依存的な RCC の改善も確認された。 $[^{125}\text{I}]\mathbf{35}$ の RCC は、80 nmol の $\text{Cu}(\text{py})_4(\text{OTf})_2$ を

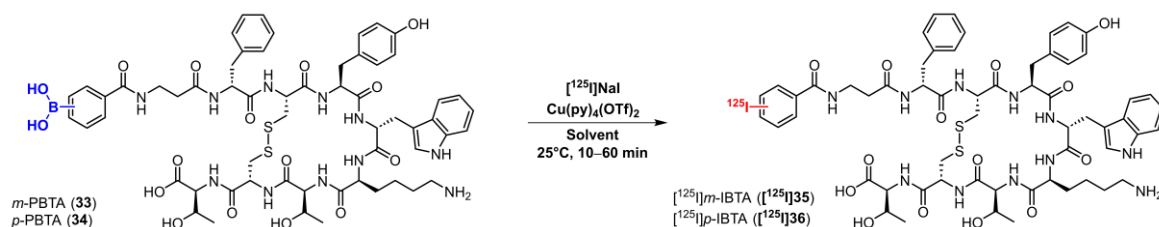


Figure 20 Radiosynthesis of $[^{125}\text{I}]\mathbf{35}$ and $[^{125}\text{I}]\mathbf{36}$ using CuRIB.

Reaction conditions: precursor (33 or 34; 100 nmol) and solvent (MeOH or 20% v/v $\text{H}_2\text{O}/\text{MeOH}$; 100 μL).

[ACS Omega (2023), Figure 6 より一部引用]

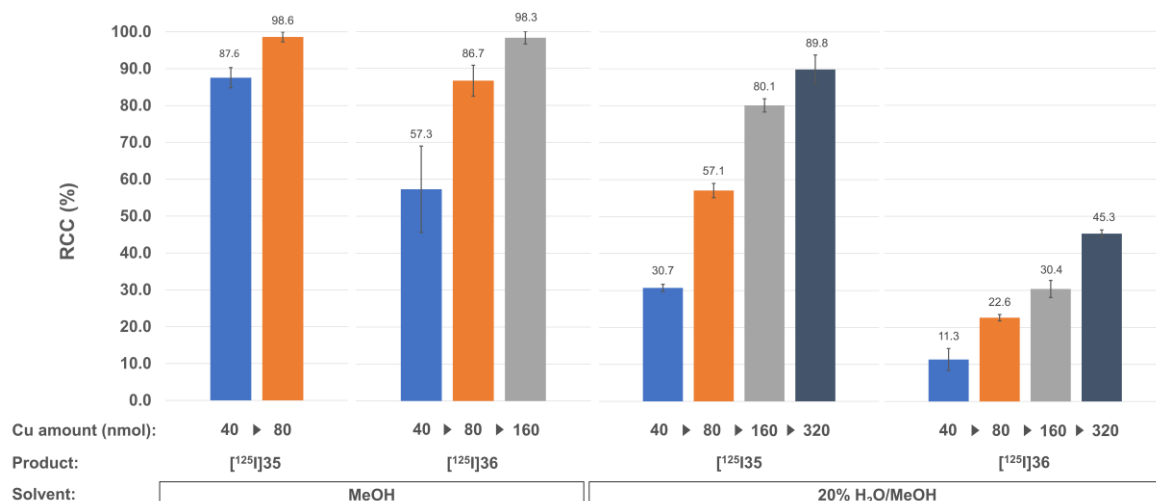


Figure 21 Effect of copper catalyst (40–320 nmol) on RCCs of [¹²⁵I]35 and [¹²⁵I]36.

Reaction condition: precursor (**33** or **34**; 100 nmol), 25°C/10 min.

[ACS Omega (2023), Figure 8 より一部引用]

用いて 30 分間反応させた時、 $98.6 \pm 1.3\%$ に達した。一方、[¹²⁵I]36 の RCC は、320 nmol の Cu(py)₄(OTf)₂ を用いて 60 分間反応させた時、 $94.8 \pm 0.5\%$ に達した。

以上、[¹²⁵I]35 及び [¹²⁵I]36 の合成実験の結果においても、[¹²⁵I]25 及び [¹²⁵I]26 の場合と類似した傾向が観察された。しかしながら、[¹²⁵I]25 及び [¹²⁵I]26 の場合と比較して、[¹²⁵I]35 及び [¹²⁵I]36 の場合では、高収率かつ短時間で目的の化合物を合成するために、より多くの銅触媒を必要とした。また、[¹²⁵I]35 及び [¹²⁵I]36 の場合では、位置異性体間での RCC の違いがより顕著に現れた。これらの原因の一つとして、ペプチドを構成するアミノ酸の影響が考えられる。CuRIB 反応において、銅触媒を構成する配位子は反応を効率的に進行させる上で重要な要素であり、銅の配位子の反応促進機能が、ペプチドを構成するアミノ酸の官能基によって阻害された可能性がある。ペプチド骨格に存在するヒドロキシ基、アミノ基、カルボキシ基は、銅へ配位する可能性があるため、それらの影響により反応速度が低下し、ペプチドの ¹²⁵I 標識の場合では、より多くの銅触媒が必要になったと考える。また、位置異性体間での RCC の違いについても、反応速度が低下したため、観測地点 (反応開始 10 分後) において、より顕著な違いが観察されたと考え

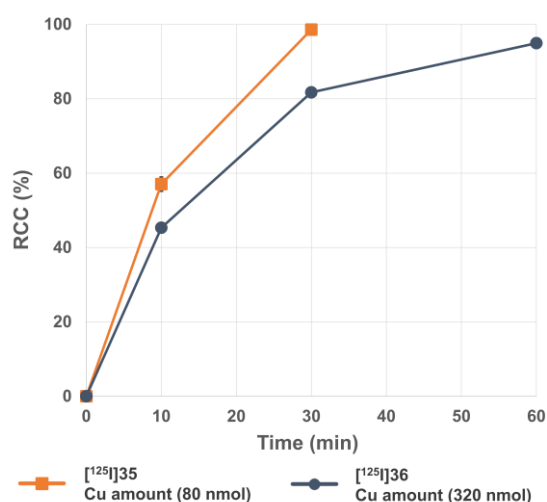


Figure 22 Effect of radiolabeling time (0–60 min) on RCCs of [¹²⁵I]35 and [¹²⁵I]36.

Reaction condition: precursor (**33** or **34**; 100 nmol), solvent: 20% v/v H₂O/MeOH (100 μL), 25°C.

[ACS Omega (2023), Figure 9 より一部引用]

る。本研究では、構成アミノ酸の影響に関する評価が十分でないため推測の域を出ないが、銅と強く配位結合を形成するような特殊な構造を有するペプチドでなければ、Figure 21 及び Figure 22 に示す結果と同様、銅触媒量及び反応時間の調整により、収率の改善が可能であると考えられる。但し、ペプチドの放射性ヨウ素標識を計画する際には、標識効率の観点から、芳香族置換基の位置を十分に考慮した分子設計が望まれる。

一般的に、放射性標識プローブの合成、精製、及び調製は、RI の物理的半減期による制約から、可能な限り迅速に実施される必要がある。従って、この原則に従う場合、前述した実験結果から、CuRIB 反応を用いたペプチドの放射性ヨウ素化を行う際には、低分子化合物の場合よりも多くの銅触媒を用いることが望ましいといえる。しかしながら、銅触媒による調製後サンプルの汚染による毒性の発生に十分注意を払う必要がある。本研究では、ICH Q3D で定められる一日許容暴露量 (PDE) の 300 µg/day 以下の銅触媒しか用いておらず、精製過程においても、HPLC を用いた精製を行っているため、銅が混入する可能性は低いと予想される。しかしながら、より厳密に評価するために、精製後サンプルを ICP-MS 技術を用いて分析することにより、残留銅の量を定量的に評価することにした。但し、本学の ICP-MS は、RI 管理区域外に設置されているため、本実験には非放射性ヨウ化ナトリウムを使用した。分析の結果、精製後の溶液に含まれる Cu-63 の量は、ICH Q3D の基準値 (300 µg/day) を大きく下回る 0.3 ng (n = 4) であった。以上の結果から、CuRIB 反応後の銅の残留による副作用が生じる可能性は極めて低く、放射性医薬品の合成にも適用可能であると考えられる。

本章では、水が CuRIB 反応に与える影響の評価を行った。CuRIB 反応を用いる場合には、反応溶媒として MeOH を使用することが望ましい。また、水は反応を阻害しないが、反応速度を低下させるため、迅速な標識を行うためには、可能な限り除くべきである。但し、銅触媒の増量や置換基効果を利用することにより、反応効率を改善することが可能である。本研究成果は、CuRIB を用いた放射性ヨウ素化におけるプロトコルの作成に貢献することが期待できる。また、放射性ヨウ素標識を題材に調査を実施したが、今回得られた知見は、他の放射性ハロゲン標識にも適用可能な情報を含んでいることから、銅触媒による脱ホウ素ハロゲン化反応を深く理解するための足掛かりとなることが期待される。

第二章 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

序論でも記述したように、放射性ハロゲン標識法は、主に直接標識法と間接標識法に分けることができる。前章では、主に CuRIB 反応を用いた直接標識法に関する研究結果について述べた。本章では、それらの研究結果より得られた知見を基に開発した新規 One-Pot Two-Step 標識法について記述する。

間接標識法は、直接標識で用いる標識反応条件に分子プローブの構造が耐えられない場合や選択的な標識が困難な場合に用いられる。また、RI 標識試薬をライブラリー化しておくことで、直接標識法のように対応する前駆体の合成を経由せずに、異なる部分構造を持った候補化合物を供給することも可能である。しかしながら、標識反応と精製工程が多段階で必要となる場合が多いため作業時間が長くなる傾向にあり、特に精製工程が原因となる場合が多い。間接標識法は、候補化合物の供給の点において高い利点を有するが、欠点が目立つため、直接標識法と比較して扱いにくい手法である。そこで、筆者は、間接標識法の利点を温存しつつ、欠点を克服できないか検討を行った。具体的には、RI 標識試薬合成（1 段階目）とコンジュゲーション反応（2 段階目）を連続的に行い、精製工程を回避することで先に示した問題を克服できると考えた。そして、その中核となる反応として、CuRIB 反応の利用を検討した。

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。また、放射性ヨウ素アニオンを CAT, NCS, H₂O₂ などの酸化剤により放射性ヨウ素カチオンに変換する必要はなく、標識反応後の銅触媒は他の反応に再利用することが可能である。これらの特徴は、放射性ヨウ素化とコンジュゲーション反応を連続的に制御する逐次反応を構築する上で有利な特徴であるといえる。そこで、Figure 23 に示すように、CuRIB を用いた One-Pot Two-Step 放射性ヨウ素標識法を考案した。本研究では、複雑な分子構造の合成にも広く用いられている CuAAC 反応をコンジュゲーション反応として採用した⁹⁰⁻⁹⁴。CuRIB 反応では、一価銅、二価銅、三価銅が触媒サイクル（トランスメタル化、酸化、

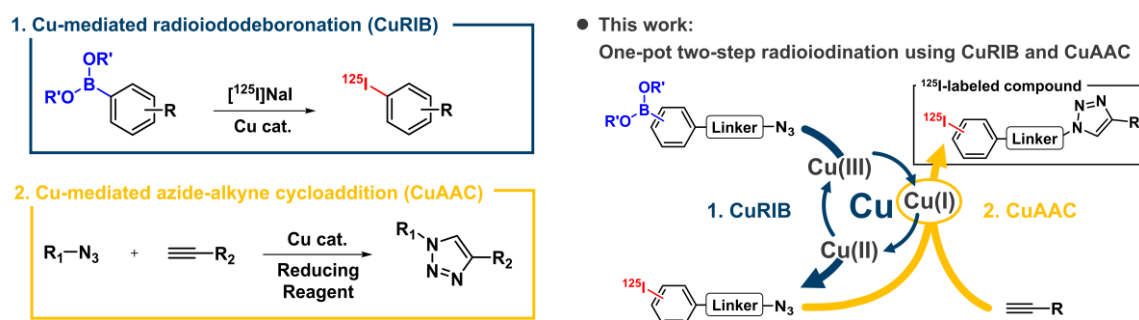


Figure 23 Overview of the chemical reactions investigated in this study.
[Chem. Comm. (2024), Figure 1 より一部引用]

還元的脱離, 空気酸化) を形成することで反応が進行し, 反応終了後には, 空气中で安定である二価銅として系中に存在していると考えられる。一方, CuAAC 反応は, 一価銅により反応が触媒されることから⁹⁶, 一段階目の反応終了後に還元剤を添加することで, 一段階目の銅触媒を CuAAC 反応の触媒として再利用できると考えた。以上の仮説を基に, 第二章では, 低分子化合物を用いたモデル反応を用いて反応の基礎を構築し, 最終的にペプチドへの適用を試みた。

本研究では, [¹²⁵I]39 をモデル化合物として選択し, 標識条件の最適化を試みた (Figure 24)。銅触媒を用いた One-Pot 標識法を構築するにあたり, 初めに銅触媒の比較実験を行うことにした。CuAAC 反応では, 既報を参考に, 還元剤として sodium ascorbate を使用し, 一価銅の安定化剤として TBTA を採用した⁹⁵。また, 前章の研究結果より, MeOH が CuRIB 反応の反応溶媒として最適であることが明らかになっていたため, 本実験では MeOH を反応溶媒として採用した。尚, 反応溶媒の比較実験については, 銅触媒の比較を行った後に実施した。Table 6 に銅触媒の比較実験の結果を示す。結果として, 80 nmol の Cu(OTf)₂, Cu(py)₄(OTf)₂, CuSO₄ を使用した時, 目的化合物 [¹²⁵I]39 が, 高い RCC (>94%) で得られた (Table 6, entries 1–3)。一方, CuCl₂, Cu(OMe)₂, [Cu(MeCN)]PF₆ を用いた場合には, 合成中間体である [¹²⁵I]38 は生成しなかったが未反応の ¹²⁵I が観察され, [¹²⁵I]39 の RCC は, 比較的到低い値 (5.4–87.1%) となった (Table 6, entries 4–6)。これらの結果を基に, Cu(OTf)₂, Cu(py)₄(OTf)₂, CuSO₄ の銅触媒量をさらに減量できないか調べた。結果的に, 20 nmol に減量した際, [¹²⁵I]NaI は消費されたが, [¹²⁵I]38 と [¹²⁵I]39 の両方が確認された (Table 6, entries 7–9)。次に, Table 6 の entry 8 をモデルに, 反応時間の延長が RCC を改善させるか確認した (Figure 25)。[¹²⁵I]38 は時間の経過と共に消費され, 最終的に, [¹²⁵I]39 の RCC は 93.0±1.5% まで改善された。以上の結果から, CuAAC 反応の反応時間は, 本反応における重要なパラメータの一つであることが明らかとな

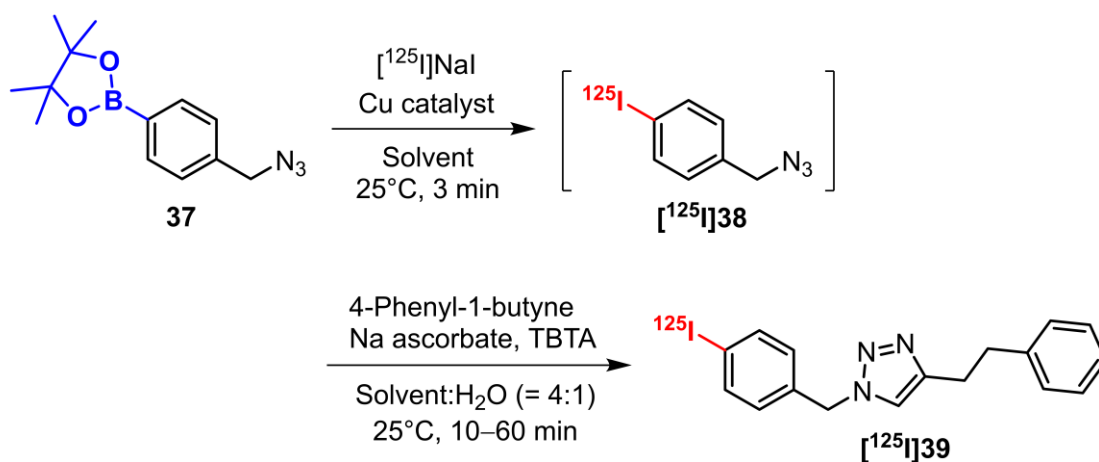


Figure 24 One-pot two-step radiosynthesis of [¹²⁵I]39 using a copper catalyst.

[Chem. Comm. (2024), Figure 2 より一部引用]

Table 6 Optimization of copper catalyst on the one-pot two-step radioiodination.

Entry	Cu complex	Moles of Cu (nmol)	RCC (%) *	
			[¹²⁵ I]38	[¹²⁵ I]39
1	Cu(OTf) ₂	80	-	95.1 ± 1.1
2	Cu(py) ₄ (OTf) ₂	80	-	96.2 ± 0.4
3	CuSO ₄	80	-	93.8 ± 0.2
4	CuCl ₂	80	-	5.4 ± 0.6
5	Cu(OMe) ₂	80	-	25.3 ± 3.3
6	[Cu(MeCN)]PF ₆	80	-	87.1 ± 2.9
7	Cu(OTf) ₂	20	75.5 ± 0.7	22.9 ± 0.7
8	Cu(py) ₄ (OTf) ₂	20	65.6 ± 0.7	30.6 ± 0.8
9	CuSO ₄	20	62.3 ± 2.2	32.6 ± 1.8

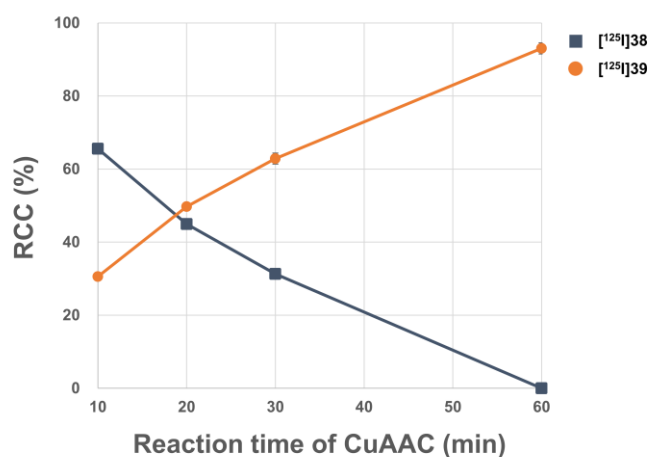
Reaction conditions: **37** (100 nmol), 4-phenyl-1-butyne (200 nmol), sodium ascorbate (400 nmol), TBTA (80 nmol), methanol (MeOH; final volume: 100 μL), 25°C/10 min.

*Data are presented as the mean ± standard deviation (n = 3).

[Chem. Comm. (2024), Table 1 より一部引用]

った。また、本反応をより短時間で行う必要がある場合は、銅触媒量を増量することが望ましいといえる。

Table 6 の Entry1–6 の結果から、銅触媒の違いから生じる CuRIB 反応の標識効率の違いが、目的化合物の RCC に影響を与えていることが分かる。筆者は、銅触媒の配位子による影響より、この現象を説明できると考えている。前述したように CEL カップリングの律速段階はトランスメタル化であり、Duparc らの報告によると、配位子に含まれるスルホン酸基がトランスメタル化に必要な複合体の形成を促すとされている⁸⁷。今回得られた結果も、この配位子の影響に従った結果となっており、スルホン酸基を有する配位子を含む銅触媒を用いた時、目的化合物の収率は高い値となっている。一方で、1 段階目の CuRIB 反応とは異なり、2 段階目の CuAAC 反応においては、銅触媒の違いによる顕著な収率の違いは観察されていない。以上を踏まえると、本反応においては、CuRIB 反応に最適な銅触媒を選択することが、収率改善のカギになると考えられる。これ以降の実験で

**Figure 25** Effect of CuAAC reaction time on the RCCs of [¹²⁵I]39.

Reaction conditions: **37** (100 nmol), 4-phenyl-1-butyne (200 nmol), Cu(py)₄(OTf)₂ (20 nmol), sodium ascorbate (400 nmol), TBTA (80 nmol), MeOH (final volume: 100 μL), 25°C/10 min. (n = 3)

[Chem. Comm. (2024), Figure S1 より一部引用]

は、CuRIB に関連するこれまでの研究結果との比較を容易にするために、Cu(py)₄(OTf)₂ を銅触媒として使用することにした。

次に、反応溶媒が本反応に与える影響について評価した。本研究では、ペプチドへの適用を考慮し、比較する溶媒を選択した。Table 7 に、実験結果をまとめた。MeCN, DMF, DMSO を使用すると、MeOH を使用した場合と比較して、¹²⁵I]39 の RCC が低下した。CuRIB

と CuAAC 反応の反応効率は低く、合成中間体である ¹²⁵I]38 とフリーの ¹²⁵I を含む RI 副生成物が観察された。EtOH を使用した場合には、86.4% の ¹²⁵I]NaI が ¹²⁵I]38 に変換されたが、その内の 41.5% が反応後に残留した。以上の結果から、本反応における最適な反応溶媒は、MeOH であると結論づけた。

続いて、2つの反応の順序が与える影響について確認を行った (Figure 26)。Cu(py)₄(OTf)₂ を銅触媒として用いた 1 段階目の標識反応は、MeOH 溶媒下 25°C で効率的に進行し、合成中間体である ¹²⁵I]38 は高収率 (RCC: 96.3 ± 1.5%) で生成した (Figure 26 (a))。更に、反応の順番を逆にして反応を行ったところ、¹²⁵I]NaI (>99%) は消費されず、¹²⁵I]38 及び ¹²⁵I]39 ともに観察されなかった (Figure 26 (b))。また、すべての試薬を同時に添加した場合においても、目的の化合物は確認されなかった。これらの結果は、本反応が逐次的に進行していることを示しており、試薬を添加する順番が本手法において重要といえる。

Table 7 Effect of solvent on the radiosynthesis of [¹²⁵I]39

Entry	Solvent	RCC (%) *	
		[¹²⁵ I]38	[¹²⁵ I]39
1	MeOH	-	96.2 ± 0.4
2	EtOH	41.5 ± 1.8	44.9 ± 2.6
3	MeCN	21.4 ± 2.0	6.2 ± 1.1
4	DMF	7.6 ± 1.0	10.4 ± 0.5
5	DMSO	14.0 ± 1.5	6.4 ± 1.4

Reaction conditions: **37** (100 nmol), 4-phenyl-1-butyne (200 nmol), Cu(py)₄(OTf)₂ (80 nmol), sodium ascorbate (400 nmol), TBTA (80 nmol), solvent (final volume: 100 μL), 25°C/10 min.

*Data are presented as the mean ± standard deviation (n = 3).

[Chem. Comm. (2024), Table 2 より一部引用]

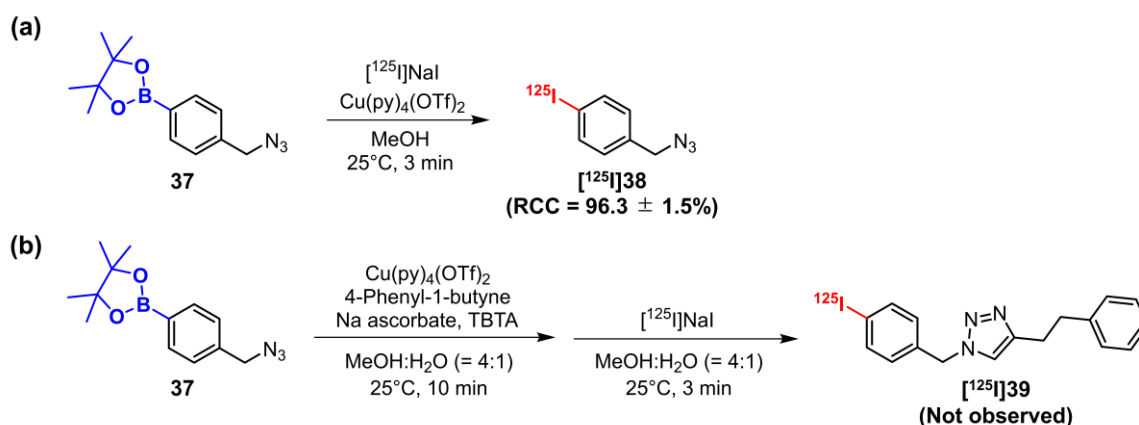


Figure 26 Mechanistic investigation (a) Confirmation of a synthetic intermediate (¹²⁵I]38). (b) Assessment reversing the order of reactions.

[Chem. Comm. (2024), Figure S2 及び Figure S3 より一部引用]

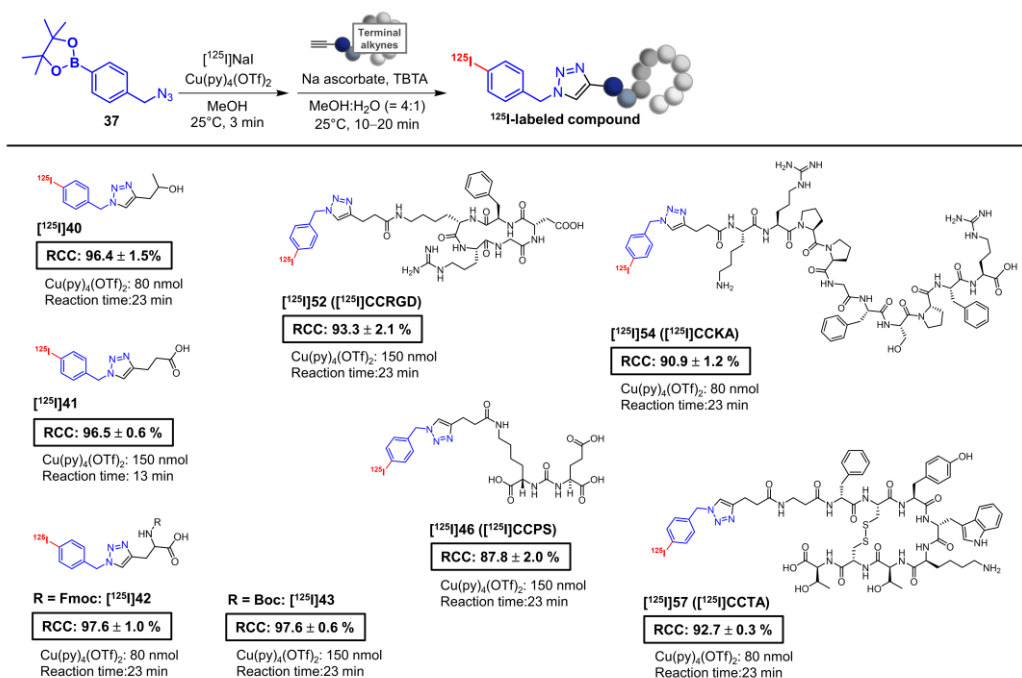


Figure 27 Applicability of radiolabeling reaction using copper mediated one-pot two-step radioiodination using CuRIB and CuAAC. [Chem. Comm. (2024), Figure 3 より一部引用]

[¹²⁵I]39 の実験結果に基づいて、基質適用範囲の確認を行った。本実験では、[¹²⁵I]40–43、PSMA 阻害剤 ([¹²⁵I]46: [¹²⁵I]CCPS), $\alpha_v\beta_3$ integrin 阻害剤 ([¹²⁵I]52: [¹²⁵I]CCRGD), Kallidin 誘導体 ([¹²⁵I]54: [¹²⁵I]CCKA), SSTR2 アゴニスト誘導体 ([¹²⁵I]57: [¹²⁵I]CCTA) を、新規手法を用いて合成した。[¹²⁵I]39 の合成における基礎実験の結果から、銅触媒量と CuAAC の反応時間が目的化合物の RCC に影響を与えることが明らかとなっていたため、それらの条件を調整することで各標識反応の条件の最適化を行った。まずは予備実験 (n = 1) を行い、最も標識率が高い値を示した条件に対して、再現性の確認を行った (n = 3)。最終的な結果を Figure 27 にまとめた。反応はすべて 25°C で実施され、反応時間は 13–23 分であった。本研究において、Fmoc 基及び Boc 基は、本標識法の反応条件において安定に存在した。また、直鎖状ペプチド及び環状ペプチドの放射性ヨウ素標識への適用も可能であり、分解副産物の目立った生成も確認されなかった。以上の結果より、本手法は、低分子化合物の放射性ヨウ素標識だけでなく、ペプチドの放射性ヨウ素標識にも適用できることが示された。

本章では、CuRIB 及び CuAAC 反応を単一の銅触媒により連続的に制御可能な One-Pot Two-Step 放射性ヨウ素標識法について述べた。本標識法では、試薬を連続的に添加することが可能であり、温和な条件下で効率的に反応を行うことができる。更に、精製工程も 1 回に集約された。本法は、間接標識法の利点を有しつつ、直接標識法に劣らない工程の簡便性を有することから、自動合成装置との相性も良い手法である。従って、放射性ヨウ素標識分子プローブの開発に貢献することが十分に期待できる。

総括

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 (CuRIB) 法の開発を行った。第一節では、 $[^{125}\text{I}]1-10$ の合成を通して、ピナコール保護基の影響を評価した。結果として、ピナコール保護基の有無は、CuRIB 反応の収率に影響を与えなかった。第二節では、 $\alpha_v\beta_3$ integrin 阻害剤として知られる環状ペプチド c(RGDyk) 及び PSMA 阻害剤を母核に有する分子 (化合物 **16** 及び **22**) の ^{125}I 標識体を CuRIB 反応により合成した。各反応は、室温条件で進行し、 ^{125}I 標識体は約 8 割の収率で得られた。 $[^{125}\text{I}]22$ の合成では、 ^{125}I 標識後に脱保護反応を行う 2 段階での合成 (方法 II) を用いることで、さらに高収率 (RCY: $93.8 \pm 2.6\%$) で目的の放射性ヨウ素標識体を合成することができた。

第三節では、幅広いペプチドへの適用を目的に、水が CuRIB 反応に与える影響について詳細に調査を行った (Figure 28)。低分子モデル ($[^{125}\text{I}]25$ 及び $[^{125}\text{I}]26$) を用いた実験では、含水メタノールにおける含水率の上昇に伴った反応速度の低下が確認された。また、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 ^{125}I 標識体を高収率 (RCC >90%) で合成できることが明らかとなった。加えて、 $[^{125}\text{I}]25$, $[^{125}\text{I}]26$, $[^{125}\text{I}]30$, $[^{125}\text{I}]31$, 及び $[^{125}\text{I}]32$ を用いた実験では、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確認され、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。更に、SSTR2 アゴニストである octreotate を母核に持つ分子 ($[^{125}\text{I}]35$ 及び $[^{125}\text{I}]36$) の ^{125}I 標識においても、低分子化合物を用いた標識実験の結果と同様の傾向が観察された。但し、短時間でペプチドを標識する場合、低分子の場合と比較して、より多くの銅触媒を必要とした。また、位置異性体間での収率の違いも顕著であった。最終的に、含水メタノール中、 25°C で $[^{125}\text{I}]36$ 及び $[^{125}\text{I}]36$ を高い収率 (>95%) で合成することができた。

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。本研究で得られた結果は、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。

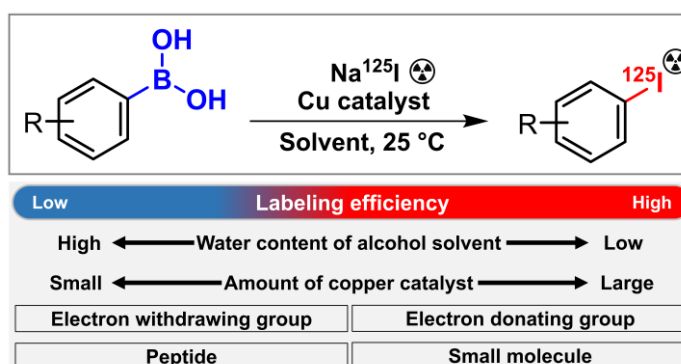


Figure 28 Characteristics of CuRIB reaction.

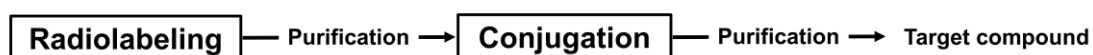
[ACS Omega (2023), Graphical abstract より引用]

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 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について記述した。低分子モデル ($[^{125}\text{I}]\mathbf{39}$) を用いた標識条件の比較実験では、銅触媒として $\text{Cu}(\text{OTf})_2$, $\text{Cu}(\text{py})_4(\text{OTf})_2$, CuSO_4 が利用可能であり、 MeOH が最適な反応溶媒であることが明らかとなった。更に、本反応は、直鎖状及び環状ペプチドを含む 8 種の ^{125}I 標識体の合成に利用できることが明らかとなった (RCC: 87.8–97.6%)。尚、反応はすべて 25°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 ^{125}I 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 (Figure 29)。また、ペプチドの放射性ヨウ素標識にも利用できる。本手法は、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、放射性ヨウ素標識プローブの開発に貢献することが期待される。

● Classical indirect radiolabeling approach



● One-pot two-step radiolabeling approach

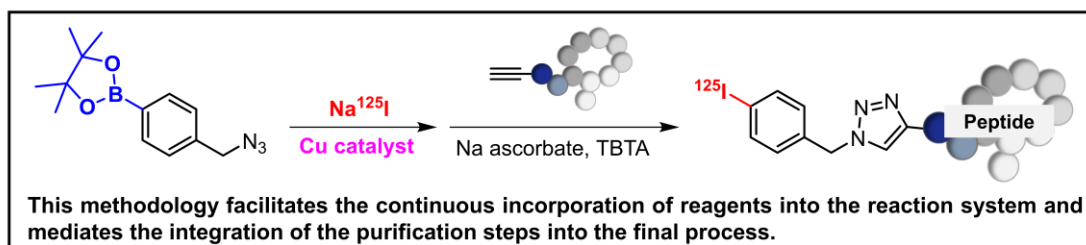
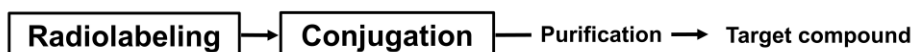


Figure 29 Characteristics of one-pot two-step approach using CuRIB and CuAAC reaction.

最後に

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 標識合成を可能とする。

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高分子化合物に対しても適用できるかを評価していく必要がある。

実験の部

実験項

General

All reagents were purchased from Tokyo Chemical Industry Co., Ltd. (Tokyo, Japan), Nacalai Tesque, Inc. (Kyoto, Japan), Fujifilm Wako Chemical Corp. (Osaka, Japan), Crysdot (Bel Air, MD, USA), and Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA). They were used without purification unless otherwise indicated. Sodium iodide-125 ($[^{125}\text{I}]\text{NaI}$) carrier-free solution was acquired from PerkinElmer, Inc. (Waltham, MA, USA).

Low-resolution mass spectra were obtained by Agilent LC/MS 6130B (Agilent Technologies, California, USA). High-resolution MS was obtained using liquid chromatography coupled to ion trap time-of-flight MS (ESI; Shimadzu, Kyoto, Japan), GC mate II (EI, JEOL, Tokyo, Japan), or SX-102A (FAB; JEOL, Tokyo, Japan). Cu concentrations were quantified using ICP-MS (Agilent 7700X/Mass Hunter; Agilent Technologies, Inc., Santa Clara, CA, USA).

The ^1H NMR and ^{13}C NMR spectra of samples were evaluated using AscendTM 500 MHz and Bruker Avance III 300 MHz NMR spectrometers (Bruker, Billerica, MA, USA); CDCl_3 , CD_3OD , $\text{DMSO}-d_6$, and $\text{CD}_3\text{CN}:\text{D}_2\text{O}$ (98:2 v/v) were used as solvents. Chemical shifts are reported as δ in units of parts per million (ppm) relative to an internal standard (tetramethylsilane); multiplicities are symbolized as follows: s (singlet), d (doublet), t (triplet), q (quintet), br. s (broad singlet), dd (doublet of doublets), ddd (doublet of doublet of doublets), or m (multiplet); coupling constants are expressed as a J value in Hertz (Hz); the number of protons (n) for a given resonance is indicated as $n\text{H}$, based on spectral integration values.

An autoradiograph of the reagents was acquired on a TLC sheet (5.0×2.0 cm; TLC silica gel 60 F₂₅₄ aluminum plate; Merck, Kenilworth, NJ, USA) using an image analyzer (Typhoon 9410; GE Healthcare, Waukesha, WI, USA). The radioactive signal intensities of each TLC were evaluated by processing the respective images using ImageQuant TL software (GE Healthcare).

An LD-20AD (Shimadzu, Kyoto, Japan) was employed for HPLC, along with a CBM-20A (Shimadzu) communication bus module, a DGU-20A3R (Shimadzu) degassing unit, a CTO-20AC (Shimadzu) column oven, a SPD-20A (Shimadzu) UV detector ($k = 254$ nm), and a γ -survey meter TCS-172 (ALOKA, Mitaka, Japan) or GABI Star (Elysia-raytest GmbH, Straubenhardt, Germany). RP-HPLC was conducted using COSMOSIL 5C₁₈-AR-II column ($4.6\text{ID} \times 150$ mm or $10.0\text{ID} \times 150$ mm; Nacalai Tesque, Inc.).

Definition of Yields

The radiochemical conversion (RCC; %), radiochemical purity (RCP; %), radiochemical yield (RCY; %), and overall RCY were defined and calculated by using the following formula:

$$\mathbf{RCC\ (\%)} = [(\text{RI peak area of a target compound}) / (\text{RI peak area of all compounds})] \times 100$$

$$\mathbf{RCP\ (\%)} = [(\text{RI peak area of an isolated target compound}) / (\text{RI peak area of all compounds})] \times 100$$

$$\mathbf{RCY\ (\%)} = [(\text{Radioactivity of an isolated target compound}) / (\text{Radioactivity of a reaction mixture before purification process})] \times 100$$

$$\mathbf{Overall\ RCY\ (\%)} = [(\text{Radioactivity of an isolated target compound}) / (\text{Radioactivity of a RI used for labeling reaction})] \times 100$$

第一章 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

第一節 低分子の放射性ヨウ素標識

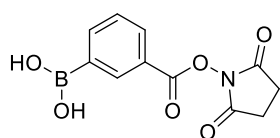
以下, *J. Labelled Comp. Radiopharm.* **2021**, *64*, 336–345, Experimental より引用.

General procedure in the radiosynthesis of [¹²⁵I]1–10

The corresponding boronic acid or ester precursor (0.5 mg) and Cu(py)₄(OTf)₂ in solvent* (2.2 mg/mL, 100 μL) were added into a 1.5 mL microtube. a 10-μM NaOH aqueous solution of ¹²⁵I (0.5 μL, 1–4 MBq) was added to the microtube. Then, the tube was gently vortexed for 5 seconds. The reaction was left at 25°C for 10 min. RCCs were determined through radio-TLC analysis. The target sample was isolated using radio-HPLC. Both the standard sample and purified sample were analyzed by UV- and radio-HPLC to identify the isolated radioiodinated compound.

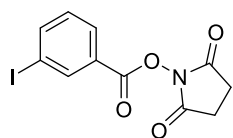
*Solvent = MeOH, EtOH, MeCN, Acetone.

Synthesis of compound 11



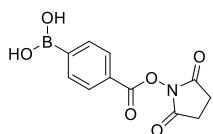
3-Carboxyphenylboronic acid (401.2 mg, 2.4 mmol) was dissolved in DCM (5.0 mL) and added with NHS (231.9 mg, 2.0 mmol), EDC·HCl (386.3 mg, 2.0 mmol), and TEA (279.3 μL, 2.0 mmol). The reaction was stirred at 25°C for 4 h. The solvent was removed under reduced pressure and dissolved in EtOAc (100 mL). The organic layer was washed with water (50 mL × 2), sat. NH₄Cl aq. (50 mL × 2), sat. NaHCO₃ aq. (50 mL × 2), and brine (50 mL × 1). The obtained organic solution was dried over MgSO₄ and removed under reduced pressure. The residual water was removed by freeze-drying to yield compound **11** (453.8 mg, 1.7 mmol) as a white powder. Yield: 71.4%; ¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 2.90 (br. s., 4H), 7.63 (t, *J* = 7.6 Hz, 1H), 8.11 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 8.20 (d, *J* = 7.3 Hz, 1H), 8.44 (br. s, 2H), 8.52 (s, 1H); ¹³C NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 25.56, 123.79, 128.66, 131.48, 135.59, 140.99, 162.09, 170.41; HRESIMS: calculated for C₁₁H₁₀NO₆BNa [M+Na]⁺ 286.049 and detected to be 286.0492.

Synthesis of compound 12



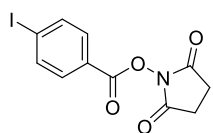
3-Iodobenzoic acid (**5**; 1.9 g, 7.8 mmol) was dissolved in THF (20 mL), and then with NHS (1.0 g, 8.6 mmol) and DCC (1.8 g, 8.6 mmol). The reaction was stirred at 25°C for 22 h. The solution was filtered, and then the mother liquid was concentrated using a rotary evaporator and purified using medium-pressure LC (SiO₂, hexane:EtOAc = 1:1) to yield compound **12** (2.6 g, 7.6 mmol) as a white solid. Yield: 96.8%; ¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 2.90 (br. s, 4H), 7.46 (t, *J* = 7.9 Hz, 1H), 8.11 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 8.22 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 8.35 (s, 1H); ¹³C NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 25.56, 95.53, 126.40, 129.29, 131.61, 137.85, 144.10, 160.58, 170.22; HRFABMS: calculated for C₁₁H₉INO₄ [M+H]⁺ 345.9578 and detected to be 345.9577.

Synthesis of compound 13



4-Carboxyphenylboronic acid (745.0 mg, 4.5 mmol) and NHS (559.2 mg, 4.9 mmol) were dissolved in THF (22.0 mL), and then DCC (1.0 g, 4.9 mmol) was added into the solution. The reaction was stirred at 25°C under nitrogen for 3 h. The reaction solution was concentrated by the rotary evaporator and dissolved in EtOAc (200 mL). The organic layer was washed with sat. NH₄Cl aq. (100 mL × 2), sat. NaHCO₃ aq. (100 mL × 2), and brine (50 mL × 1). The obtained organic solution was dried over MgSO₄ and concentrated using a rotary evaporator. Residual water was removed by freeze-drying to yield compound **13** (682.0 mg, 2.6 mmol). Yield: 57.8%; ¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 2.90 (br. s, 4H), 8.01 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H), 8.05 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 8.46 (br. s, 2H); ¹³C NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 24.93, 124.91, 128.12, 134.19, 161.33, 169.73; HRESIMS: calculated for C₁₁H₁₀NO₆BNa [M+Na]⁺ 286.0495 and detected to be 286.0497.

Synthesis of compound 14

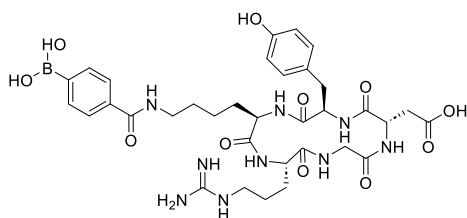


4-Iodobenzoic acid (**4**; 103.5 mg, 0.42 mmol) was dissolved in THF (4.1 mL), and NHS (61.5 mg, 0.53 mmol) and DCC (111.9 mg, 0.54 mmol) were then added into the solution. The reaction was stirred at 25°C under nitrogen for 4 h. The reaction solution was concentrated using a rotary evaporator and dissolved in EtOAc (50 mL). The organic layer was washed with sat. NH₄Cl aq. (30 mL × 2), sat. NaHCO₃ aq. (30 mL × 2), and brine (20 mL × 1). The obtained organic solution was dried over MgSO₄ and concentrated using a rotary evaporator. The residual water was removed by freeze-drying to yield compound **14** (142.5 mg, 0.41 mmol). Yield: 98.4%; ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ: 2.92 (br. s, 4H), 7.84 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H), 7.90 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H); ¹³C NMR (126 MHz, CDCl₃) δ: 25.65, 103.39, 124.55, 131.67, 138.30, 161.58, 169.05; HREIMS: calculated for C₁₁H₈INO₄ [M]⁺ 344.9498 and detected to be 344.9498.

第二節 ペプチド様分子の直接的な放射性ヨウ素標識

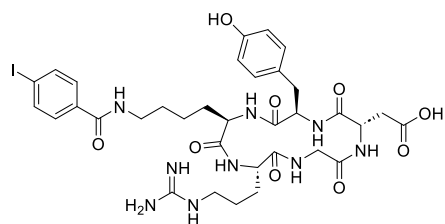
第一項 [¹²⁵I]IB-c(RGDyk)の放射化学合成

Synthesis of compound 15 [PB-c(RGDyk)]



c(RGDyk) (20.0 mg, 32.3 μmol) and **13** (8.0 mg, 32.3 μmol) were dissolved in DMF (2.0 mL), and then TEA (100 μL) was added into the solution and reacted at 25°C for 16 h. The reaction solvent was removed using a rotary evaporator and purified by RP-HPLC [column: COSMOSIL 5C₁₈-AR-II (10.0 ID×150mm), phase: 5–50% MeCN/H₂O + 0.1% TFA (0–20 min), 50% MeCN/H₂O + 0.1% TFA (20–30 min), flow rate: 4.0 mL/min, temperature: 40°C] to yield compound **15** (10.8 mg, 14.1 μmol) as white powder. Yield: 43.6%; Purity: 98.5%; ¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 1.07–1.17 (m, 1H), 1.29–1.53 (m, 6H) 1.54–1.62 (m, 1H) 1.65–1.75 (m, 1H), 2.34–2.42 (m, 1H), 2.62–2.74 (m, 2H), 2.79 (m, *J* = 8.9 Hz, 1H), 3.03–3.13 (m, 2H), 3.16–3.28 (m, 3H), 3.92 (t, *J* = 9.4 Hz, 1H), 4.03 (m, *J*₁ = 14.9, *J*₂ = 7.7 Hz, 1H), 4.16 (q, *J* = 7.5 Hz, 1H), 4.36 (q, *J* = 7.3 Hz, 1H), 4.58–4.66 (m, 1H), 6.63 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H), 6.91 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H), 7.49 (br. s, 1H), 7.60 (d, *J* = 6.7 Hz, 1H), 7.79 (d, *J* = 7.9 Hz, 2H), 7.85 (d, *J* = 7.8 Hz, 2H), 7.94 (d, *J* = 7.0 Hz, 1H), 8.07 (d, *J* = 7.2 Hz, 1H), 8.12 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 8.23 (s, 2H), 8.42 (dd, *J*₁ = 6.4, *J*₂ = 4.6 Hz, 1H) 8.48 (t, *J* = 5.6 Hz, 1H), 9.19 (s, 1H), 12.29 (br. s, 1H); ¹³C NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 23.42, 25.69, 28.99, 29.13, 31.33, 37.16, 43.69, 49.34, 52.30, 55.13, 115.39, 126.50, 127.69, 130.48, 134.39, 136.32, 156.27, 157.03, 166.77, 170.01, 170.41, 171.37, 171.69, 172.19, 172.67; HRESIMS: calculated for C₃₄H₄₆N₉O₁₁BNa [M+Na]⁺ 790.3308 and detected to be 790.3309.

Synthesis of compound 16 [IB-c(RGDyk)]



c(RGDyk) (20.0 mg, 32.3 μmol) and **14** (10.6 mg, 32.3 μmol) were dissolved in DMF (2.0 mL), and then TEA (100 μL) was added into the solution and reacted at 25°C for 16 h. The reaction solvent was removed using a rotary evaporator and purified by RP-HPLC [column: COSMOSIL 5C₁₈-AR-II (10.0 ID×150mm), phase: 5–50% MeCN/H₂O + 0.1% TFA (0–20 min), 50% MeCN/H₂O + 0.1% TFA (20–30 min), flow rate: 4.0 mL/min, temperature: 40°C] to yield compound **16** (16.7 mg) as white powder; Yield: 60.8%; Purity: >99%; ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz) δ : 1.10 (m, 2H), 1.27–1.51 (m, 6H), 1.58 (m, 1H), 1.65–1.74 (m, 1H), 2.34–2.41 (m, 1H), 2.62–2.74 (m, 2H), 2.74–2.81 (m, 1H), 3.02–3.13 (m, 2H), 3.15–3.27 (m, 3H), 3.88–3.95 (m, 1H), 3.99–4.06 (m, 1H), 4.11–4.18 (m, 1H), 4.35 (q, *J* = 7.2 Hz, 1H), 4.59–4.66 (m, 1H), 6.63 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 6.91 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 7.49 (t, *J* = 5.7 Hz, 1H), 7.59 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 7.62 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 7.85 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 7.95 (d, *J* = 7.2 Hz, 1H), 8.06 (d, *J* = 7.0 Hz, 1H), 8.11 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 8.43 (dd, *J*₁ = 6.8, *J*₂ = 4.8 Hz, 1H), 8.55 (t, *J* = 5.5

Hz, 1H), 9.19 (br. s, 1H); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 126 MHz) δ : 1.63, 23.39, 25.69, 29.00, 31.29, 35.45, 37.15, 43.69, 49.33, 52.31, 55.07, 55.15, 99.21, 115.38, 127.68, 129.61, 130.47, 134.42, 137.60, 156.26, 157.00, 158.57, 165.91, 170.03, 170.38, 171.36, 171.67, 172.16, 172.64; HRESIMS: calculated for $\text{C}_{34}\text{H}_{45}\text{N}_9\text{O}_9\text{I}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 850.2379 and detected to be 850.2359.

Radiosynthesis of [^{125}I]16 via indirect ^{125}I -labeling approach using [^{125}I]14

Boronic precursor **13** (0.2 mg) and $\text{Cu}(\text{py})_4(\text{OTf})_2$ in EtOH (2.2 mg/mL, 50 μL) were added to a 1.5 mL microtube. A 10- μM NaOH aqueous solution of ^{125}I (1.0 μL , 2.4–2.9 MBq) was added to the mixture in the microtube. Then, the tube was gently vortexed for 5 seconds. The reaction was left to set at 25°C for 10 min. The obtained solution was dried under a flow of nitrogen for 2 min and dissolved in MeCN (40 μL). [^{125}I]14 was isolated using RP-HPLC [column: COSMOSIL 5C₁₈-AR-II (4.6 ID×150mm), phase: 40–100% MeCN/H₂O + 0.1% TFA (0–15 min), flow rate: 1.0 mL/min, temperature: 40°C]. The solution of [^{125}I]14 was diluted with water (30 mL), passed through a C₁₈ Sep-Pak column, and washed with water (4 mL). Finally, [^{125}I]14 was eluted with MeCN (0.5 mL) and dried under a flow of nitrogen for 10–20 min. c(RGDyk) (10 mg/mL, 20 μL), TEA (2.5 μL), and DMF (20 μL) were added into the microtube containing [^{125}I]14. The reaction was left at 25°C for 1 h. The reaction mixture was purified using RP-HPLC [column: COSMOSIL 5C₁₈-AR-II (4.6 ID×150mm), phase: 5–50% MeCN/H₂O + 0.1% TFA (0–20 min), 50% MeCN/H₂O + 0.1% TFA (20–30 min), flow rate: 1.0 mL/min, temperature: 40°C] to yield [^{125}I]16 (RCY: 60.4 ± 5.6%; RCP: >99%; working time: 140.5–157.3 min; n = 3). The mixture of purified and cold samples was analyzed by UV- and radio-HPLC, showing a single peak (t_{R} : 16.92 min) corresponding to the cold sample (t_{R} : 16.85 min).

Radiosynthesis of [^{125}I]16 via direct ^{125}I -labeling approach using boronic precursor 15

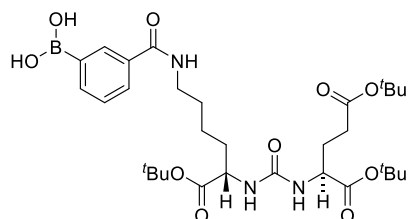
Boronic precursor **15** (0.1 mg) and $\text{Cu}(\text{py})_4(\text{OTf})_2$ in MeOH (2.2 mg/mL, 50.0 μL) were added to a microtube. A 10- μM NaOH aqueous solution of ^{125}I (1.0 μL , 2.6–2.8 MBq) was added to the mixture. Then, the tube was gently vortexed for 5 seconds. The reaction was left at 25°C for 10 min. The reaction mixture was purified using RP-HPLC [column: COSMOSIL 5C₁₈-AR-II (4.6 ID×150mm), phase: 5–50% MeCN/H₂O + 0.1% TFA (0–20 min), 50% MeCN/H₂O + 0.1% TFA (20–30 min), flow rate: 1.0 mL/min, temperature: 40°C] to yield [^{125}I]16 (RCY: 78.5 ± 3.3%; RCP: >99%; working time: 27.7–32.1 min; n = 3). The mixture of purified and cold samples was analyzed using UV- and radio-HPLC, which showed a single peak (t_{R} : 16.91 min) corresponding to the cold sample (t_{R} : 16.83 min).

第二節 ペプチド様分子の直接的な放射性ヨウ素標識

第二項 [¹²⁵I]IB-PS の放射化学合成

以下, *Bioorg. Med. Chem.* **2022**, *69*, 116915, Material and methods より引用.

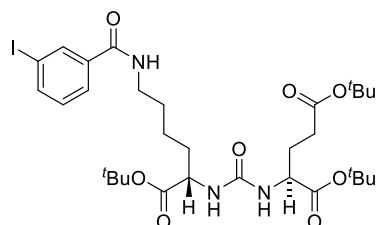
Synthesis of compound 19 [PB-PS(^tBu)]



(*S*)-Di-*tert*-butyl 2-(3-((*S*)-6-amino-1-(*tert*-butoxy)-1-oxohexan-2-yl)ureido) pentanedioate (**17**; 100 mg, 205.1 μ mol), 3-carboxyphenylboronic acid (**18**; 40.8 mg, 246.1 μ mol), and HATU (93.6 mg, 246.1 μ mol) were dissolved in DMF (1 mL). Subsequently, DIEA (41.9 μ L, 246.1 μ mol) was added to the mixture. The reaction was stirred at 25°C for 12 h. DMF was

removed *in vacuo*. The crude solid was dissolved in CHCl₃, and then the solution was poured into a separatory funnel. The organic layer was washed with water, sat. NH₄Cl aq., sat. NaHCO₃ aq., and brine. The obtained solution was dried over magnesium sulfate and concentrated using a rotary evaporator to provide oily compounds. Finally, the crude compound was purified using RP-HPLC [column: COSMOSIL 5C₁₈-AR-II (10.0ID \times 150 mm), phase: 50% CH₃CN [isocratic elution], flow rate: 4.5 mL/min, temperature: 40°C] to yield the boronic precursor **19** (78.4 mg, 123.4 μ mol); yield: 60.2%; ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 1.35 (s, 9H), 1.42–1.45 (m, 20H), 1.55–1.65 (m, 3H), 1.77–1.90 (m, 2H), 1.99–2.09 (m, 1H), 2.24–2.39 (m, 2H), 3.36–3.45 (m, 2H), 4.19–4.26 (m, 1H), 4.26–4.33 (m, 1H), 5.58–5.69 (m, 2H), 6.49 (br. s, 2H), 7.03 (br. s, 1H), 7.43 (dd, *J* = 7.6, 7.6 Hz, 1H), 7.93–8.01 (m, 2H), 8.32 (s, 1H); ¹³C NMR (126 MHz, CDCl₃) δ : 22.69, 27.64, 27.91, 28.00, 28.08, 28.55, 31.82, 32.34, 39.58, 53.46, 53.61, 80.99, 81.97, 82.48, 128.15, 130.07, 132.14, 133.77, 137.36, 157.74, 168.32, 172.46, 172.73, 172.85; HRESIMS: calculated for C₃₁H₅₀BN₃O₁₀Na (M+Na)⁺ 658.3514 *m/z* and detected to be 658.3525 *m/z*.

Synthesis of compound 20 [IB-PS(^tBu)]

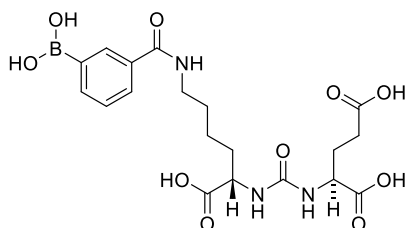


Compound **17** (50.0 mg, 102.5 μ mol), 3-iodobenzoic acid (**5**; 30.5 mg, 123.0 μ mol), and HATU (46.8 mg, 123.0 μ mol) were dissolved in DMF (2 mL). Subsequently, DIEA (20.9 μ L, 123.0 μ mol) was added to the mixture. The reaction was stirred at 25°C for 16 h. DMF was removed *in vacuo*. The crude solid was dissolved in CHCl₃, and then the solution was poured into a separatory funnel. The organic

layer was washed with water, sat. NH₄Cl aq., sat. NaHCO₃ aq., and brine. The obtained solution was dried over magnesium sulfate and concentrated using a rotary evaporator to provide oily compounds. Finally, the crude compound was purified using RP-HPLC [column: COSMOSIL 5C₁₈-AR-II (10.0ID \times 150 mm), phase: 65% CH₃CN [isocratic elution], flow rate: 4.5 mL/min, temperature: 40°C] to yield the title compound **20** (46.0 mg, 64.1 μ mol); yield: 62.5%; ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 1.41 (s, 9H),

1.42–1.46 (m, 20H), 1.59–1.73 (m, 3H), 1.77–1.90 (m, 2H), 2.02–2.11 (m, 1H), 2.23–2.38 (m, 2 H), 3.34–3.43 (m, 1H), 3.44–3.53 (m, 1H), 4.22–4.28 (m, 1H), 4.30–4.37 (m, 1H), 5.15–5.21 (m, 2H) 6.86 (br. s, 1H), 7.16 (dd, $J = 7.9, 7.9$ Hz, 1H), 7.78–7.85 (m, 2H) 8.19 (s, 1H); ^{13}C NMR (126 MHz, CDCl_3) δ : 22.70, 27.97, 28.02, 28.10, 28.53, 31.62, 32.88, 39.88, 53.20, 80.67, 81.89, 82.25, 94.11, 126.47, 130.08, 136.21, 136.75, 140.09, 157.04, 166.15, 172.34, 172.40, 172.48; HRESIMS: calculated for $\text{C}_{31}\text{H}_{48}\text{IN}_3\text{O}_8\text{Na}$ ($\text{M}+\text{Na}$) $^+$ 740.2378 m/z and detected to be 740.2367 m/z .

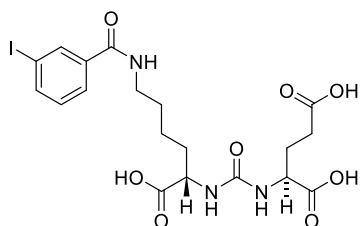
Synthesis of compound 21 [PB-PS]



Compound **19** (40.7 mg, 64.0 μmol) was dissolved in TFA. The reaction was stirred at 25°C for 2 h. TFA was then removed *in vacuo*, and the residue was dissolved in 10% MeCN (containing 0.1% TFA). The mixture was purified using RP-HPLC [column: COSMOSIL 5C₁₈-AR-II [10.0ID \times 150 mm], phase: 50% CH₃CN + 0.1% TFA [isocratic elution], flow rate: 4.5 mL/min, temperature:

40°C] to yield the boronic precursor **21** (21.8 mg, 46.7 μmol); yield: 73.0 %; ^1H NMR (500 MHz, $\text{CD}_3\text{CN}:\text{D}_2\text{O}$ [= 98:2 v/v]) δ : 1.39–1.47 (m, 2H), 1.53–1.64 (m, 2H), 1.64–1.72 (m, 1H), 1.78–1.87 (m, 2H), 2.02–2.10 (m, 1H), 2.32–2.40 (m, 2H), 3.30–3.40 (m, 2H), 4.17–4.23 (m, 2H), 7.46 (dd, $J = 7.6, 7.6$ Hz, 1H), 7.84 (ddd, $J = 7.9, 1.4, 1.4$ Hz, 1H), 7.92 (d, $J = 7.3$ Hz, 1H), 8.20 (s, 1H); ^{13}C NMR [126 MHz, $\text{CD}_3\text{CN}:\text{D}_2\text{O}$ (= 98:2 v/v)] δ : 23.57, 28.09, 29.72, 30.76, 32.18, 40.06, 53.33, 53.88, 128.86, 130.18, 133.53, 135.02, 137.93, 159.27, 169.02, 174.78, 175.04, 175.23; HRESIMS: calculated for $\text{C}_{19}\text{H}_{21}\text{BN}_3\text{O}_8$ ($\text{M}-2\text{H}_2\text{O}-\text{H}$) $^-$ 430.1431 m/z and detected to be 430.1421 m/z .

Synthesis of compound 22 [IB-PS]



Compound **22** (38.7 mg, 53.9 μmol) was dissolved in TFA. The reaction was stirred at 25°C for 2 h. TFA was then removed *in vacuo*, and the residue was dissolved in 25% MeCN (containing 0.1% TFA). The mixture was purified using RP-HPLC [column: COSMOSIL 5C₁₈-AR-II [10.0ID \times 150 mm], phase: 25% CH₃CN + 0.1% TFA [isocratic elution], flow rate: 4.5 mL/min, temperature: 40°C] to yield the title

compound **22** (25.1 mg, 45.7 μmol); yield: 84.8 %; ^1H NMR (500 MHz, $\text{CD}_3\text{CN}:\text{D}_2\text{O}$ [= 98:2 v/v]) δ : 1.37–1.46 (m, 2H), 1.51–1.62 (m, 2H), 1.62–1.71 (m, 1H), 1.76–1.87 (m, 2H), 2.02–2.11 (m, 1H), 2.34–2.39 (m, 2H), 3.28–3.36 (m, 2H), 4.16–4.23 (m, 2H), 7.24 (dd, $J = 7.9, 7.9$ Hz, 1H), 7.79 (ddd, $J = 7.8, 0.9, 0.9$ Hz, 1H), 7.88 (ddd, $J = 7.9, 1.1, 1.1$ Hz, 1H), 8.15 (dd, $J = 1.6, 1.6$ Hz, 1H); ^{13}C NMR (126 MHz, $\text{CD}_3\text{CN}:\text{D}_2\text{O}$ [= 98:2 v/v]) δ : 23.60, 28.13, 29.61, 30.79, 32.29, 40.25, 53.30, 53.83, 94.55, 127.57, 131.47, 137.09, 137.82, 141.14, 159.22, 167.04, 174.85, 175.17, 175.37; HRESIMS: calculated for $\text{C}_{19}\text{H}_{25}\text{IN}_3\text{O}_8$ ($\text{M}+\text{H}$) $^+$ 550.0681 m/z and detected to be 550.0685 m/z .

Radiosynthesis of [¹²⁵I]22 ([¹²⁵I]IB-PS)

Method I (One-step radiosynthesis)

A boronic precursor **21** in methanol (0.2 mg, 20 μ L) and Cu(py)₄(OTf)₂ in methanol (2.5 mg/mL, 80 μ L) were added to a microtube. A 10- μ M NaOH aqueous solution of ¹²⁵I (1.0 μ L, 2.2–2.5 MBq) was added to the mixture. The tube was then gently vortexed for 10 seconds. After the reaction was conducted at 25°C for 10 min, the solvent was removed by a flow of nitrogen gas. The residue was dissolved in 25% MeCN/H₂O. The mixture was purified by RP-HPLC [column: COSMOSIL 5C₁₈-AR-II (4.6 ID×150 mm), phase: 25% MeCN/H₂O + 0.1% TFA (0–15 min), 25–100% MeCN/H₂O + 0.1% TFA (15–16 min), 100% MeCN/H₂O + 0.1% TFA (16–25 min), flow rate: 1.0 mL/min, temperature: 40°C] to yield [¹²⁵I]**22** (RCY: 77.1 \pm 6.0%; RCP: >99%). The labeled compound was identified by UV- and radio-HPLC analysis of a standard sample and the synthesized radiolabeled compound.

Method II (Two-step radiosynthesis)

A boronic precursor **19** in methanol (0.2 mg, 20 μ L) and Cu(py)₄(OTf)₂ in methanol (2.5 mg/mL, 80 μ L) were added to a microtube. A 10- μ M NaOH aqueous solution of ¹²⁵I (1.0 μ L, 1.6–2.0 MBq) was added to the mixture. The tube was then gently vortexed for 10 seconds. The reaction proceeded at 25°C for 10 min. A flow of nitrogen gas removed the solvent. Next, TFA (100 μ L) was added to the mixture and gently vortexed for 10 s. After the reaction proceeded at 25°C for 20 min, TFA was removed using a nitrogen gas flow. The residue was dissolved in 25% MeCN/H₂O. The mixture was purified by RP-HPLC [column: COSMOSIL 5C₁₈-AR-II (4.6 ID×150 mm), phase: 25% MeCN/H₂O + 0.1% TFA (0–15 min), 25–100% MeCN/H₂O + 0.1% TFA (15–16 min), 100% MeCN/H₂O + 0.1% TFA (16–25 min), flow rate: 1.0 mL/min, temperature: 40°C] to yield [¹²⁵I]**22** (RCY: 93.8 \pm 2.6%; RCP: >99%). The labeled compound was identified by UV- and radio-HPLC analysis of a standard sample and the synthesized radiolabeled compound.

Radiosynthesis of [¹²⁵I]20 to confirm intermediate in method II.

A boronic precursor **19** (0.2 mg, 20 μ L) and Cu(py)₄(OTf)₂ in methanol (2.5 mg/mL, 80 μ L) were added to a microtube. A 10- μ M NaOH aqueous solution of ¹²⁵I (1.0 μ L, 1.3–1.8 MBq) was added to the mixture. The tube was then gently vortexed for 10 seconds. The reaction proceeded at 25°C for 10 min. The solvent was removed using a flow of nitrogen gas. The residue was dissolved in 65% MeCN/H₂O. The mixture was purified by RP-HPLC [column: COSMOSIL 5C₁₈-AR-II (4.6 ID×150 mm), phase: 65% MeCN/H₂O + 0.1% TFA (0–15 min), 65–100% MeCN/H₂O + 0.1% TFA (15–16 min), 100% MeCN/H₂O + 0.1% TFA (16–25 min), flow rate: 1.0 mL/min, temperature: 40°C] to yield [¹²⁵I]**20** (RCY: 98.0 \pm 1.6%; RCP: >99%). The labeled compound was identified by UV- and radio-HPLC analysis of a standard sample and the synthesized radiolabeled compound.

第三節 銅触媒による脱ホウ素放射性ヨウ素化反応に対する水の影響の調査

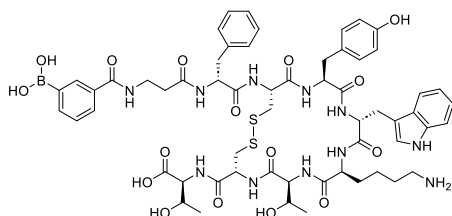
及び反応メカニズムの推定

以下, *ACS Omega* **2023**, 8, 24418–24425, Methods より引用.

General procedure in the radiosynthesis of [¹²⁵I]25, 26, 30, 31, and 32

Boronic precursor (**23**, **24**, **27**, **28**, or **29**; 100 nmol) in the solvent and Cu(py)₄(OTf)₂ (0–40 nmol) in the solvent were added to a microtube; H₂O or MeOH was further added to adjust the H₂O content (the final solution volume = 100 μL). A 10-μM NaOH aqueous solution of ¹²⁵I (0.5 μL, 1–1.3 MBq) was added to the mixture. The tube was then gently vortexed for 10 seconds. The reaction proceeded at 25°C for 10–60 min. The mixture was analyzed using radio-TLC and HPLC. RCCs were determined using radio-TLC analysis.

Synthesis of compound 33 (m-PBTA)



The linear peptide was manually assembled from 2-chlorotrityl chloride resin using a standard Fmoc-protocol with Fmoc-amino acid derivatives and 3-carboxyphenylboronic acid.

Coupling of first Fmoc-amino acids:

In total, 2-chlorotrityl chloride resin (188.7 mg, loading capacity 1.06 mmol/g), was swelled in dichloromethane for 16 h. The resin was thoroughly washed with fresh DMF (1 × 3 mL). Fmoc-Thr(^tBu)-OH (238.5 mg, 0.6 mmol, 3.0 eq.), DIEA (102.0 μL, 0.6 mmol, 3.0 eq.), and DMF (1.5 mL) were mixed and added to the reaction vessel. The reaction mixture was agitated at 25°C for 16 h. After the solution was removed, the resin was thoroughly washed with DMF (5 × 3 mL).

Capping 2-chlorotrityl chloride resin:

DMF (1.5 mL), MeOH, and DIEA (102.0 μL, 0.6 mmol, 3.0 eq.) were added to the resin. The reaction mixture was then agitated for 1 h at 25°C. After the reaction solution was removed, the resin was thoroughly washed with DMF (5 × 3 mL). Piperidine (20%) in DMF (1.5 mL) was added to the reaction vessel and agitated for 30 min to deprotect the Fmoc groups of the amino acids. Once the reaction was completed, the resin was thoroughly washed with DMF (5 × 3 mL). Kaiser test showed that the resin was deprotected.

Coupling of the second and subsequent amino acids:

Fmoc-Cys(Trt)-OH (351.4 mg, 0.6 mmol, 3.0 eq.), HATU (228.1 mg, 0.6 mmol, 3.0 eq.), DIEA (102.0 μL, 0.6 mmol, 3.0 eq.), and DMF (1.5 mL) were mixed and added to the reaction vessel. The reaction mixture was agitated for 3 h at 25°C. After the reaction solution was removed, the resin was thoroughly washed with DMF (5 × 3 mL). A Kaiser test was performed to confirm the completion of coupling by showing the absence of free amines on the resin. Piperidine (20%) in DMF (1.5 mL) was added to the reaction vessel and agitated for 30 min to deprotect the Fmoc groups of the amino acids. Once completed,

the resin was thoroughly washed with DMF (5 × 3 mL). Kaiser test showed that the resin was deprotected. Cycles of coupling, washing, deprotection, and washing were repeated until the desired peptide sequence was obtained. Finally, the resin was washed with MeOH (5 × 3 mL) and dried under reduced pressure.

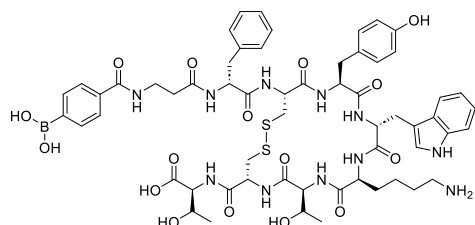
Deprotection and removal of the peptide from the resin:

The linear peptide was cleaved from the solid support by the addition of TFA/TIS/EDT/H₂O (94.0:1.0:2.5:2.5) for 3 h at 25°C. The resin was removed by filtration and washed with TFA. The obtained solution was concentrated using a rotary evaporator. The residual oily compound was treated with cold diethyl ether to obtain a precipitate. The precipitate was washed thrice with diethyl ether. Finally, the mixture was purified using RP-HPLC [column: COSMOSIL 5C₁₈-AR-II (10.0 ID×150 mm), phase: 27% MeCN/H₂O + 0.1% TFA, flow rate: 4.5 mL/min, temperature: 25°C] to yield the crude linear *m*-PBTA (*m*Cpb-*b*Ala-*D*-Phe-Cys-Tyr-*D*-Trp-Lys-Thr-Cys-Thr-OH) (47.0 mg).

Cyclization by air oxidation:

Crude linear peptide (47.0 mg) was dissolved in 4.7 mL (10 mg/mL) of saturated NH₄HCO₃/DMF:H₂O (1:1). The reaction solution was air-oxidized for 16 h at 25°C. Finally, the mixture was purified using RP-HPLC [column: COSMOSIL 5C₁₈-AR-II (10.0 ID×150 mm), phase: 27% MeCN/H₂O + 0.1% TFA, flow rate: 4.5 mL/min, temperature: 25°C] to yield compound **33** (16.2 mg). HRESIMS: calculated for C₅₉H₇₂BN₁₁O₁₄S₂ (M-2H₂O+2H)²⁺ 616.7397 *m/z* and detected to be 616.7395 *m/z*.

Synthesis of compound 34 (p-PBTA)

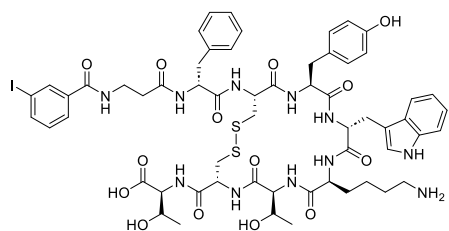


The linear peptide was manually assembled from 2-chlorotrityl chloride resin (188.7 mg, loading capacity 1.06 mmol/g) according to the standard Fmoc-protocol using Fmoc-amino acid derivatives and 4-carboxyphenylboronic acid. After deprotection and removal of peptide from the resin

using TFA/TIS/EDT/H₂O (94.0:1.0:2.5:2.5), the obtained mixture was purified using RP-HPLC [column: COSMOSIL 5C₁₈-AR-II (10.0 ID×150 mm), phase: 28% MeCN/H₂O + 0.1% TFA, flow rate: 4.5 mL/min, temperature: 25°C] to evaluate the yield of the crude linear *p*-PBTA (*p*Cpb-*b*Ala-*D*-Phe-Cys-Tyr-*D*-Trp-Lys-Thr-Cys-Thr-OH) (35.0 mg).

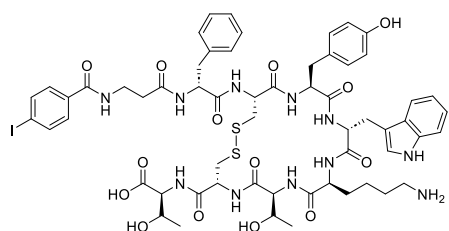
The crude linear peptide (35.0 mg) was dissolved in 3.5 mL (10 mg/mL) solvent comprising saturated NH₄HCO₃/DMF:H₂O (1:1). The reaction solution was air-oxidized for 16 h at 25°C. Finally, the mixture was purified using RP-HPLC [column: COSMOSIL 5C₁₈-AR-II (10.0 ID×150 mm), phase: 28% MeCN/H₂O + 0.1% TFA, flow rate: 4.5 mL/min, temperature: 25°C] to yield compound **34** (15.4 mg). HRESIMS: calculated for C₅₉H₇₄BN₁₁O₁₅S₂ (M-H₂O+2H)²⁺ 625.7450 *m/z* and detected to be 625.7441 *m/z*.

Synthesis of compound 35 (*m*-IBTA)



The linear peptide was manually assembled from 2-chlorotrityl chloride resin (188.7 mg, loading capacity 1.06 mmol/g) according to the standard Fmoc-protocol using Fmoc-amino acid derivatives and 3-iodobenzoic acid. After deprotection and removal of peptide from the resin using TFA/TIS/EDT/H₂O (94.0:1.0:2.5:2.5), the obtained mixture was purified using RP-HPLC [column: COSMOSIL 5C₁₈-AR-II (10.0 ID×150 mm), phase: 37% MeCN/H₂O + 0.1% TFA, flow rate: 4.5 mL/min, temperature: 25°C] to yield the crude linear *m*-IBTA (*m*Ibz-*b*Ala-*D*-Phe-Cys-Tyr-*D*-Trp-Lys-Thr-Cys-Thr-OH) (14.6 mg). The crude linear peptide (14.6 mg) was dissolved in 1.5 mL (10 mg/mL) of solvent comprising saturated NH₄HCO₃/DMF:H₂O (1:1). The reaction solution was air-oxidized for 16 h at 25°C. Finally, the mixture was purified using RP-HPLC [column: COSMOSIL 5C₁₈-AR-II (10.0 ID×150 mm), phase: 37% MeCN/H₂O + 0.1% TFA, flow rate: 4.5 mL/min, temperature: 25°C] to yield compound **35** (8.4 mg). HRESIMS: calculated for C₅₉H₇₄IN₁₁O₁₄S₂ (M+2H)²⁺ 675.6946 *m/z* and detected to be 675.6956 *m/z*.

Synthesis of compound 36 (*p*-IBTA)



The linear peptide was manually assembled from 2-chlorotrityl chloride resin (188.7 mg, loading capacity 1.06 mmol/g) according to the standard Fmoc-protocol using Fmoc-amino acid derivatives and 4-iodobenzoic acid. After deprotection and removal of peptide from the resin using TFA/TIS/EDT/H₂O (94.0:1.0:2.5:2.5), the obtained mixture was purified using RP-HPLC [column: COSMOSIL 5C₁₈-AR-II (10.0 ID×150 mm), phase: 37% MeCN/H₂O + 0.1% TFA, flow rate: 4.5 mL/min, temperature: 25°C] to yield the crude linear *p*-IBTA (*p*Ibz-*b*Ala-*D*-Phe-Cys-Tyr-*D*-Trp-Lys-Thr-Cys-Thr-OH) (13.2 mg). The crude linear peptide (13.2 mg) was dissolved in 1.3 mL (10 mg/mL) solvent comprising saturated NH₄HCO₃/DMF:H₂O (1:1). The reaction solution was air-oxidized for 16 h at 25°C. Finally, the mixture was purified using RP-HPLC [column: COSMOSIL 5C₁₈-AR-II (10.0 ID×150 mm), phase: 37% MeCN/H₂O + 0.1% TFA, flow rate: 4.5 mL/min, temperature: 25°C] to yield compound **36** (7.1 mg). HRESIMS: calculated for C₅₉H₇₂IN₁₁O₁₄S₂Na₂ (M+2Na)²⁺ 697.6765 *m/z* and detected to be 697.6789 *m/z*.

Radiosynthesis of [¹²⁵I]35 and [¹²⁵I]36

Boronic precursor **33** or **34** (100 nmol) in MeOH (40 μL) and Cu(py)₄(OTf)₂ (0–320 nmol) in MeOH (40 μL) were added to a microtube; H₂O (20 μL) or MeOH (20 μL) and a 10 μM NaOH aqueous solution of ¹²⁵I (0.5 μL, 1–1.3 MBq) were added to the mixture. The tube was gently vortexed for 10 seconds. The reaction proceeded at 25°C for 10–60 min. The mixture was analyzed using radio-HPLC. RCCs were determined using radio-HPLC analysis.

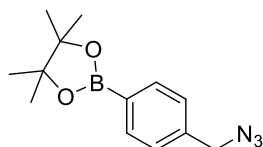
ICP-MS analysis

Boronic precursor **33** (100 nmol) in MeOH (40 μ L) and Cu(py)₄(OTf)₂ (80 nmol) in MeOH (40 μ L) were added to a microtube; MeOH (20 μ L) and 10- μ M NaOH aqueous solutions of NaI (5 nmol, 0.5 μ L) were further added. The reaction was performed at 25°C for 10 min. After the reaction, the solution was concentrated *in vacuo* and dissolved in 35% MeCN + 0.1% TFA (50 μ L). The target compound **35** was isolated by RP-HPLC [column: COSMOSIL 5C₁₈-AR-II (4.6 ID \times 150 mm), phase: 35% MeCN/H₂O + 0.1% TFA (0–15 min), 35–100% MeCN/H₂O + 0.1% TFA (15–16 min), 100% MeCN/H₂O + 0.1% TFA (16–25 min), flow rate: 1.0 mL/min, temperature: 40°C]. The isolated sample solution was heated at 160°C, and 60% HNO₃, 60% HClO₄, and 30% H₂O₂ were added. This procedure was repeated until all organic materials were removed. After the samples were cooled to 25°C, the residues were resuspended in 5 mL of 5% HNO₃ (5 mL). The solutions were then used to quantify the copper concentrations using ICP-MS. Standard curves were plotted using a 5% HNO₃ solution with final metal concentrations of 0, 0.1, 0.2, 0.5, 1, 2, 5, 10, 20, 50, 100, and 200 ng/mL (ppb), prepared using 1000 μ g/mL (ppm) standard solutions of Cu (FUJIFILM Wako Pure Chemical Corporation). For quality control, 1 ng/mL (ppb) of a reference internal standard (In) was measured in parallel with the samples. All the tall beakers and sample cups used in this experiment were pretreated with 1% HNO₃ to avoid metal contamination.

第二章 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

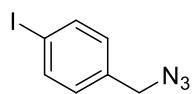
以下, *Chem. Comm.* **2024**, *60*, 714–717, Supporting information より引用.

Synthesis of compound 37



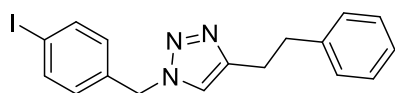
The compounds 4-(4,4,5,5-Tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)benzyl bromide (118.8 mg, 400.0 μmol) and sodium azide (31.2 mg, 480.0 μmol) were dissolved and stirred in DMF (1 mL) at 25°C for 16 h. The reaction solution was concentrated under reduced pressure, the residue was dissolved in EtOAc and H₂O, and the resultant solution was poured into a separatory funnel. The EtOAc layer was washed with H₂O and dried over MgSO₄. This organic layer was concentrated under reduced pressure to yield compound **37** (78.7 mg, 303.7 μmol); yield: 75.9%; ¹H NMR [500 MHz, CDCl₃] δ : 1.35 (s, 12H), 4.35 (s, 2H), 7.32 (d, J = 7.9 Hz, 2H), 7.83 (d, J = 7.9 Hz, 2H); ¹³C NMR [126 MHz, CDCl₃] δ : 24.89, 54.80, 83.93, 127.44, 135.30, 138.31; HRFABMS: calculated for C₁₃H₁₉O₂N₃B (M+H)⁺ 260.1573 m/z and detected to be 260.1582 m/z .

Synthesis of compound 38



The compounds 4-iodobenzyl bromide (148.5 mg, 500.0 μmol) and sodium azide (39.0 mg, 600.0 μmol) were dissolved and stirred in DMF (1 mL) at 25°C for 16 h. The reaction solution was concentrated under reduced pressure, the residue was dissolved in EtOAc and H₂O, and the solution was poured into a separatory funnel. The EtOAc layer was washed with H₂O and dried over MgSO₄. This organic layer was concentrated under reduced pressure to yield compound **38** (91.9 mg, 354.8 μmol); yield: 71.0%; ¹H NMR [500 MHz, CDCl₃] δ : 4.29 (s, 2H), 7.07 (d, J = 8.2 Hz, 2H), 7.72 (d, J = 8.2 Hz, 2H); ¹³C NMR [126 MHz, CDCl₃] δ : 54.21, 93.92, 129.98, 135.05, 137.98; HREIMS: calculated for C₇H₆N₃I (M)⁺ 258.9607 m/z and detected to be 258.9599 m/z .

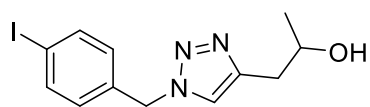
Synthesis of compound 39



Compound **38** (25.9 mg, 100 μmol), copper (II) sulfate pentahydrate (12.5 mg, 50 μmol), sodium ascorbate (29.7 mg, 150 μmol), TBTA (26.5 mg, 50 μmol), and 4-phenyl-1-butyne (13.0 mg, 100 μmol) were mixed in a round-bottom flask, and methanol (1 mL) was supplemented to the resultant mixture. The reaction proceeded for 16 h at 25°C. Subsequently, the reaction solution was concentrated under reduced pressure, and the mixture was purified using flash chromatography (SiO₂ column, hexane:EtOAc = 90:10 \rightarrow 30:70) to yield compound **39** (35.3 mg, 90.7 μmol); yield: 90.7 %; ¹H NMR [500 MHz, CDCl₃] δ : 2.94–3.05 (m, 4H), 5.40 (s, 2H), 6.93 (d, J = 8.2 Hz, 2H), 7.00 (s, 1H), 7.11–7.15 (m, 2H), 7.16–7.21 (m, 1H), 7.21–7.25 (m, 2H), 7.68 (d, J = 8.1 Hz, 2H); ¹³C NMR [126 MHz, CDCl₃]

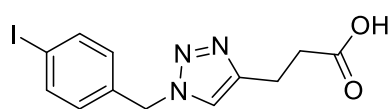
δ : 27.50, 35.47, 53.32, 94.30, 120.93, 126.08, 128.35, 128.47, 129.62, 134.62, 138.15, 141.03, 147.85; HREIMS: calculated for $C_{17}H_{16}N_3I$ (M)⁺ 389.0389 m/z and detected to be 389.0393 m/z .

Synthesis of compound 40



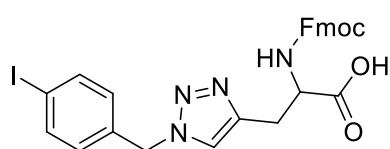
Compound **38** (25.9 mg, 100 μ mol), copper (II) sulfate pentahydrate (12.5 mg, 50 μ mol), sodium ascorbate (29.7 mg, 150 μ mol), and 4-pentyn-2-ol (9.25 mg, 110 μ mol) were mixed in a round-bottom flask, and aqueous methanol (MeOH:H₂O = 4:1; 1.25 mL) was supplemented into the mixture. The reaction proceeded for 5 h at 25°C. Subsequently, the reaction solution was concentrated under reduced pressure, and the mixture was purified using flash chromatography (SiO₂ column, CHCl₃:MeOH = 100:0 → 20:80) to yield compound **40** (29.7 mg, 86.5 μ mol); yield: 86.5%; ¹H NMR [300 MHz, CDCl₃] δ : 1.24–1.28 (m, 3H), 2.68–2.91 (m, 3H), 4.07–4.22 (m, 1H), 5.45 (s, 2H), 7.01 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.29 (s, 1H), 7.71 (d, J = 8.4 Hz, 2H); ¹³C NMR [75 MHz, CDCl₃] δ : 22.91, 34.82, 53.51, 67.09, 94.52, 121.59, 129.81, 134.38, 138.27, 145.93; HRESIMS: calculated for $C_{12}H_{15}N_3OI$ (M+H)⁺ 344.0254 m/z and detected to be 344.0257 m/z .

Synthesis of compound 41



Compound **38** (25.9 mg, 100 μ mol), copper (II) sulfate pentahydrate (12.5 mg, 50 μ mol), sodium ascorbate (29.7 mg, 150 μ mol), TBTA (26.5 mg, 50 μ mol), and 4-pentynoic acid (10.8 mg, 110 μ mol) were mixed in a round-bottom flask, and aqueous methanol (MeOH:H₂O = 4:1; 1.25 mL) was supplemented to the mixture. The reaction proceeded for 5 h at 25°C. Subsequently, the reaction solution was concentrated under reduced pressure, and the mixture was purified using RP-HPLC [column: COSMOSIL 5C₁₈-AR-II (10.0 ID×150 mm), phase: 30% MeCN/H₂O + 0.1% TFA, flow rate: 4.5 mL/min, temperature: 40°C] to yield compound **41** (13.1 mg, 36.7 μ mol); yield: 36.7%; ¹H NMR [500 MHz, DMSO-*d*₆] δ : 2.57 (t, J = 7.4 Hz, 2H), 2.83 (t, J = 7.5 Hz, 2H), 5.51 (s, 2H), 7.09 (d, J = 7.6 Hz, 2H), 7.73 (d, J = 7.6 Hz, 2H), 7.89 (s, 1H), 12.17 (br. s, 1H); ¹³C NMR [126 MHz, DMSO-*d*₆] δ : 20.53, 32.94, 51.92, 94.23, 122.09, 130.04, 135.88, 137.38, 145.97, 173.48; HRESIMS: calculated for $C_{12}H_{13}N_3O_2I$ (M+H)⁺ 358.0047 m/z and detected to be 358.0060 m/z .

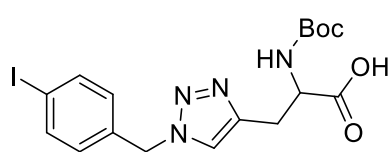
Synthesis of compound 42



Compound **38** (25.9 mg, 100 μ mol), copper (II) sulfate pentahydrate (12.5 mg, 50 μ mol), sodium ascorbate (29.7 mg, 150 μ mol), TBTA (26.5 mg, 50 μ mol), and Fmoc-*L*-propargylglycine (36.9 mg, 110 μ mol) were mixed in a round-bottom flask, and aqueous methanol (MeOH:H₂O = 4:1; 1.25 mL) was supplemented to the mixture. The reaction proceeded for 5 h at 25°C. Subsequently, the reaction solution was concentrated under reduced pressure, and the mixture was purified using flash chromatography (SiO₂ column, CHCl₃:MeOH = 100:0 → 30:70) to yield crude oily

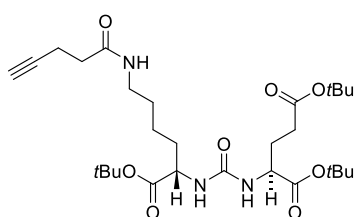
compounds (31.6 mg). The resultant mixture was dissolved in 50% MeCN/H₂O, and 50% MeCN/H₂O (containing 0.1% TFA) was added to form a white precipitate. Next, the precipitate was washed with 50% MeCN/H₂O (containing 0.1% TFA) to yield compound **42** (14.4 mg, 24.2 μmol); yield: 24.2%; ¹H NMR [500 MHz, DMSO-*d*₆] δ: 2.93–3.02 (m, 1H), 3.09–3.15 (m, 1H), 4.13–4.28 (m, 4H), 5.51 (s, 2H), 6.99–7.04 (m, 2H), 7.28–7.34 (m, 2H), 7.39–7.45 (m, 2H), 7.63–7.70 (m, 4H), 7.70–7.76 (m, 1H), 7.87–7.92 (m, 3H), 12.80 (br. s, 1H); ¹³C NMR [126 MHz, DMSO-*d*₆] δ: 27.18, 46.44, 51.90, 53.72, 65.57, 94.14, 120.02, 123.09, 125.14, 126.97, 127.54, 129.86, 135.84, 137.31, 140.59, 143.31, 143.62, 143.65, 155.81, 172.80; HRESIMS: calculated for C₂₇H₂₄N₄O₄I (M+H)⁺ 595.0837 *m/z* and detected to be 595.0836 *m/z*.

Synthesis of compound 43



Compound **38** (25.9 mg, 100 μmol), copper (II) sulfate pentahydrate (12.5 mg, 50 μmol), sodium ascorbate (29.7 mg, 150 μmol), and Boc-*L*-propargylglycine (23.5 mg, 110 μmol) were mixed in a round-bottom flask, and aqueous methanol (MeOH:H₂O = 4:1; 1.25 mL) was supplemented to the mixture. The reaction proceeded for 5 h at 25°C. Subsequently, the reaction solution was concentrated under reduced pressure, and the mixture was purified using flash chromatography (SiO₂ column, CHCl₃:MeOH = 100:0 → 30:70) to yield crude oily compounds (38.5 mg). The resultant mixture was purified using RP-HPLC [column: COSMOSIL 5C₁₈-AR-II (10.0 ID×150 mm), phase: 45% MeCN/H₂O + 0.1% TFA, flow rate: 4.5 mL/min, temperature: 40°C] to yield compound **43** (11.2 mg, 23.7 μmol); yield: 23.7%; ¹H NMR [500 MHz, DMSO-*d*₆] δ: 1.31 (s, 9H), 2.86–2.96 (m, 1H), 3.00–3.09 (m, 1H), 4.11–4.19 (m, 1H), 5.53 (s, 2H), 7.03–7.12 (m, 3H), 7.69–7.75 (m, 2H), 7.84 (s, 1H), 12.64 (br. s, 1H); ¹³C NMR [126 MHz, DMSO-*d*₆] δ: 27.12, 28.00, 51.90, 53.24, 78.01, 94.21, 122.99, 130.00, 135.86, 137.36, 143.38, 155.20, 173.04; HREIMS: calculated for C₁₇H₂₁N₄O₄I (M)⁺ 472.0608 *m/z* and detected to be 472.00598 *m/z*.

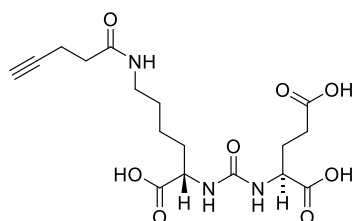
Synthesis of compound 44 (CCPS-2)



Compound **17** (CCPS-1; 48.8 mg, 100.0 μmol), 4-pentynoic acid (11.8 mg, 120.0 μmol), and HATU (45.6 mg, 120 μmol) were dissolved in dichloromethane (DCM; 1 mL). Then, DIEA (20.4 μL, 120.0 μmol) was added into the mixture. The reaction proceeded for 16 h at 25°C. After the reaction solution was concentrated under reduced pressure, the crude solid was dissolved in EtOAc, and the solution was poured into a separatory funnel. The organic layer was washed with H₂O, saturated aqueous NaHCO₃, and brine. The obtained solution was dried over MgSO₄ and concentrated under reduced pressure to yield an oily compound. Finally, the crude compound was purified using RP-HPLC [column: COSMOSIL 5C₁₈-AR-II (10.0 ID×150 mm), phase: 55% MeCN/H₂O + 0.1% TFA, flow rate: 4.5 mL/min, temperature: 40°C] to yield compound **44** (42.5 mg, 74.9 μmol); yield: 74.9%; ¹H NMR [500 MHz, CDCl₃] δ: 1.30–1.41 (m, 2H), 1.44 (s, 9H), 1.45 (s,

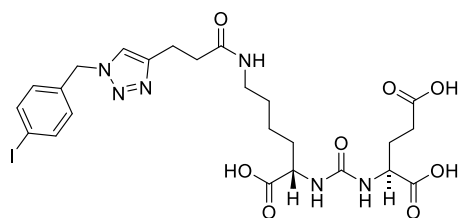
9H), 1.47 (s, 9H), 1.51–1.63 (m, 3H), 1.73–1.81 (m, 1H), 1.82–1.91 (m, 1H), 2.01 (t, $J = 2.4$ Hz, 1H), 2.04–2.13 (m, 1H), 2.26–2.39 (m, 2H), 2.42 (t, $J = 7.2$ Hz, 2H), 2.54 (td, $J = 7.0, 2.6$ Hz, 2H), 3.17–3.25 (m, 1H), 3.26–3.35 (m, 1H), 4.24–4.37 (m, 2H), 5.21–5.28 (m, 1H), 5.30–5.37 (m, 1H), 6.34 (br. s, 1H); ^{13}C NMR [126 MHz, CDCl_3] δ : 14.99, 22.45, 28.02, 28.08, 28.20, 28.69, 31.63, 32.57, 35.28, 39.02, 53.12, 53.27, 69.21, 80.62, 81.77, 82.27, 83.23, 157.02, 171.25, 172.39, 172.65; HRESIMS: calculated for $\text{C}_{29}\text{H}_{49}\text{N}_3\text{O}_8\text{Na}$ ($\text{M}+\text{Na}$) $^+$ 590.3412 m/z and detected to be 590.3400 m/z .

Synthesis of compound 45 (CCPS-3)



Compound **44** (34.7 mg, 61.1 μmol) was dissolved in TFA (2 mL). The reaction proceeded at 25°C for 2 h. Then, the reaction solution was concentrated under reduced pressure and the residue was dissolved in 7% MeCN (containing 0.1% TFA). The mixture was purified using RP-HPLC [column: COSMOSIL 5C₁₈-AR-II (10.0 ID×150 mm), phase: 7% MeCN/H₂O + 0.1% TFA, flow rate: 4.5 mL/min, temperature: 40°C] to yield compound **45** (22.6 mg, 56.6 μmol); yield: 92.6 %; ^1H NMR [500 MHz, CD_3OD] δ : 1.38–1.48 (m, 2H) 1.48–1.60 (m, 2H) 1.61–1.71 (m, 1H), 1.78–1.95 (m, 2H), 2.09–2.19 (m, 1H), 2.24–2.29 (m, 1H), 2.34–2.48 (m, 6H) 3.15–3.22 (m, 2H), 4.22–4.32 (m, 2H); ^{13}C NMR [126 MHz, CD_3OD] δ : 15.83, 23.99, 29.06, 29.98, 31.22, 33.31, 36.13, 40.23, 53.69, 54.13, 70.39, 83.53, 160.17, 174.06, 176.07, 176.61; HRESIMS: calculated for $\text{C}_{17}\text{H}_{26}\text{N}_3\text{O}_8$ ($\text{M}+\text{H}$) $^+$ 400.1714 m/z and detected to be 400.1725 m/z .

Synthesis of compound 46 (CCPS)



Compound **45** (16.3 mg, 40.8 μmol), **38** (12.7 mg, 49.0 μmol), copper (II) sulfate pentahydrate (8.2 mg, 32.6 μmol), sodium ascorbate (32.3 mg, 163.2 μmol), and TBTA (17.3 mg, 32.6 μmol) were added into a round-bottom flask, and MeOH/H₂O (= 4:1, 1 mL) was added to the mixture. The reaction proceeded for 3 h at 25°C. Then, the reaction solution was concentrated under reduced pressure, and the residual mixture was dissolved with 25% MeCN (containing 0.1% TFA). After removing the precipitate with a filter, the mixture solution was purified using RP-HPLC [column: COSMOSIL 5C₁₈-AR-II (10.0 ID×150 mm), phase: 25% MeCN/H₂O + 0.1% TFA, flow rate: 4.5 mL/min, temperature: 40°C] to yield Compound **46** (15.2 mg, 23.1 μmol); yield: 56.6%; ^1H NMR [500 MHz, CD_3OD] δ : 1.28–1.38 (m, 2H), 1.39–1.48 (m, 2H), 1.56–1.68 (m, 1H), 1.75–1.84 (m, 1H), 1.84–1.94 (m, 1H), 2.09–2.19 (m, 1H), 2.34–2.47 (m, 2H), 2.51 (t, $J = 7.3$ Hz, 2H), 2.97 (t, $J = 7.3$ Hz, 2H), 3.03–3.16 (m, 2H), 4.21–4.34 (m, 2H), 5.51 (s, 2H), 7.04–7.12 (m, 2H), 7.68–7.75 (m, 3H); ^{13}C NMR [126 MHz, CD_3OD] δ : 22.59, 23.86, 28.96, 29.89, 31.20, 33.16, 36.41, 40.06, 53.65, 54.02, 54.24, 94.82, 123.68, 123.73, 131.13, 136.80, 139.29, 160.21, 174.52, 176.50, 176.53; HRESIMS: calculated for $\text{C}_{24}\text{H}_{32}\text{N}_6\text{O}_8\text{I}$ ($\text{M}+\text{H}$) $^+$ 659.1321 m/z and detected to be 659.1332 m/z .

Synthesis of compound 47 (CCRGD-1)

The linear peptide immobilized was manually assembled from 2-chlorotrityl chloride resin following a standard Fmoc-protocol using Fmoc-amino acid derivatives with certain modifications to previous reports.

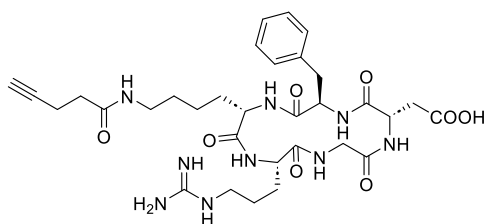
Coupling of Fmoc-amino acids

2-Chlorotrityl chloride resin (188.7 mg, loading capacity 1.06 mmol/g) was swelled in DCM for 6 h. The resin was washed thoroughly with DMF (1 × 2 mL). Fmoc-Gly-OH (178.4 mg, 0.6 mmol, 3.0 eq.), DMF (1.5 mL), and DIEA (102.0 μL, 0.6 mmol, 3.0 eq.) were mixed and added to a reaction vessel. The reaction mixture was agitated for 16 h at 25°C. After the reaction solution was removed, the resin was washed thoroughly with DMF (5 × 2 mL). Then, DMF (1.5 mL), methanol (0.2 mL), and DIEA (102.0 μL, 0.6 mmol, 3.0 eq.) were added to the reaction vessel. The reaction mixture was agitated for 1 h at 25°C. After the reaction solution was removed, the resin was washed thoroughly with DMF (5 × 2 mL), and 20% piperidine in DMF (1.5 mL) was added to the reaction vessel and agitated for 30 min to remove Fmoc groups. Once completed, the resin was washed thoroughly with DMF (5 × 2 mL). A Kaiser test showed that the resin had deprotected. Fmoc-Arg(Pbf)-OH (389.3 mg, 0.6 mmol, 3.0 eq.), HATU (228.1 mg, 0.6 mmol, 3.0 eq.), DMF (1.5 mL), and DIEA (102.0 μL, 0.6 mmol, 3.0 eq.) were added to the reaction vessel. The reaction mixture was agitated for 6 h at 25°C. After the reaction solution was removed, the resin was washed thoroughly with DMF (5 × 2 mL). A Kaiser test was performed to confirm the completion of coupling by showing an absence of free amine on the resin. 20% piperidine in DMF (1.5 mL) was added to the reaction vessel and agitated for 30 min to eliminate Fmoc groups. Once completed, the resin was washed thoroughly with DMF (5 × 2 mL). A Kaiser test showed that the resin was deprotected. Cycles of coupling, washing, deprotection, and washing were repeated until the desired peptide sequence was synthesized. Finally, the resin was washed with methanol (5 × 2 mL), and the resin was dried under reduced pressure.

Removal of peptides protected from the resin

The resin was treated with 20% hexafluoro-2-propanol / DCM (2 mL) for 3 h at 25°C to cleave the linear peptide from the solid support. The resin was removed *via* filtration and was washed with DCM. The obtained solution was concentrated under reduced pressure. The crude compound (258.7 mg) was analyzed *via* a mass spectrometric technique to confirm that compound **47** is contained in the crude products. HRESIMS: calculated for C₅₄H₇₉N₉O₁₃SNa₂ (M+2Na)²⁺ 569.7651 *m/z* and detected to be 569.7625 *m/z*.

Synthesis of compound 51 (CCRGD-5)



The crude compound **47** (258.7 mg) was dissolved in DCM and HATU (89.9 mg, 236.4 μmol), and DIEA (40.2 μL, 236.4 μmol) were added into the reaction solution. After the reaction proceeded for 16 h at 25°C, the reaction solution was concentrated under reduced pressure. Then, the residue

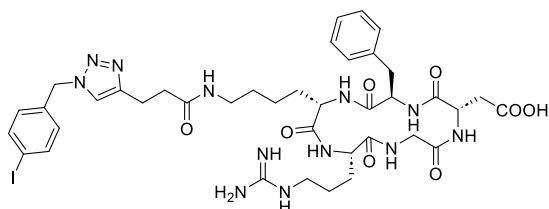
was purified using flash chromatography (SiO₂ column, CHCl₃:MeOH = 100:0 → 70:30) to yield compound **48** (CCRGD-2; 169.8 mg) as crude products. HRESIMS: calculated for C₅₄H₇₇N₉O₁₂SNa₂ (M+2Na)²⁺ 560.7598 *m/z* and detected to be 560.7588 *m/z*.

Subsequently, compound **48** (169.8 mg) was dissolved in 2% hydrazine/DMF (2.0 mL), and the reaction was stirred at 25°C for 2 h. After the reaction mixture was concentrated using a rotary evaporator, the residue was purified using flash chromatography (SiO₂-NH₂ column, CHCl₃:MeOH = 95:5 → 70:30) to yield compound **49** (CCRGD-3; 113.0 mg) as crude products. HRESIMS: calculated for C₄₄H₆₅N₉O₁₀SNa₂ (M+2Na)²⁺ 478.7180 *m/z* and detected to be 478.7167 *m/z*.

Compound **49** (46.0 mg) was dissolved in DCM (2.0 mL) followed by the addition of 4-pentynoic acid (5.9 mg, 60.5 μmol), HATU (23.0 mg, 60.5 μmol), and DIEA (10.3 μL, 60.5 μmol). The reaction proceeded for 2 h at 25°C. Then, the reaction solution was concentrated using under reduced pressure, and the residue was purified using flash chromatography (SiO₂ column, CHCl₃:MeOH = 98:2 → 70:30) to yield compound **50** (CCRGD-4; 15.1 mg) as crude products. HRESIMS: calculated for C₄₉H₆₉N₉O₁₁SNa (M+Na)⁺ 1014.4729 *m/z* and detected to be 1014.4729 *m/z*.

Finally, compound **50** (11.2 mg) was dissolved in TFA (2.0 mL), and the reaction was stirred for 2 h at 25°C to eliminate protected groups. The reaction solution was concentrated by a rotary evaporator, and the residue was purified using RP-HPLC [column: COSMOSIL 5C₁₈-AR-II (10.0 ID×150 mm), phase: 20% MeCN/H₂O + 0.1% TFA, flow rate: 4.5 mL/min, temperature: 40°C] to yield compound **51** (CCRGD-5; 7.1 mg, 10.4 μmol). HRESIMS: calculated for C₃₂H₄₆N₉O₈ (M+H)⁺ 684.3464 *m/z* and detected to be 684.3461 *m/z*.

Synthesis of compound **52** (CCRGD)



Compound **51** (CCRGD-5; 2.7 mg, 4.0 μmol), **38** (1.2 mg, 4.8 μmol), copper (II) sulfate pentahydrate (0.8 mg, 3.2 μmol), sodium ascorbate (3.2 mg, 16.0 μmol), and TBTA (1.7 mg, 3.2 μmol) were added into a round-bottom flask, and MeOH/H₂O (= 4:1, 1 mL) was added

to the mixture. The reaction proceeded for 3 h at 25°C. Then, the reaction solution was concentrated under reduced pressure, and the residual mixture was dissolved with 30% MeCN/H₂O (containing 0.1% TFA). After removing the precipitate with a filter, the mixture solution was purified using RP-HPLC [column: COSMOSIL 5C₁₈-AR-II (10.0 ID×150 mm), phase: 30% MeCN/H₂O + 0.1% TFA, flow rate: 4.5 mL/min, temperature: 40°C] to yield compound **52** (1.4 mg, 1.5 μmol). Yield: 37.1%; HRESIMS: calculated for C₃₉H₅₃N₁₂O₈I (M+2H)²⁺ 472.1572 *m/z* and detected to be 472.1558 *m/z*.

Synthesis of compound **53** (CCKA-1)

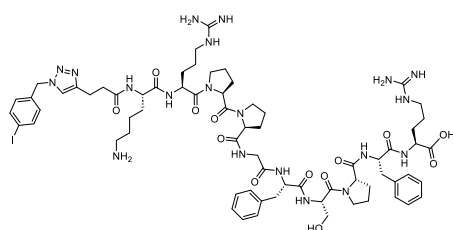
Compound **53** (CCKA-1) was synthesized using the same method as that for **47** (CCRGD-1). The linear peptide immobilized was manually assembled from 2-chlorotrityl chloride resin (94.3 mg, loading

capacity 1.06 mmol/g) following a standard Fmoc-protocol using Fmoc-amino acid derivatives and 4-pentynoic acid.

Removal of peptides protected from the resin

The linear peptide was cleaved from the solid support by the addition of TFA/TIS/Thioanisole/H₂O (94.0:1.0:2.5:2.5, 2.0 mL) for 3 h at 50°C. The resin was removed *via* filtration and was washed with TFA. The obtained solution was concentrated under reduced pressure. The residual oily compound was treated with cold diethyl ether to form a precipitate. The solid was washed with cold diethyl ether thrice. Finally, the mixture was purified using RP-HPLC [column: COSMOSIL 5C₁₈-AR-II (10.0 ID×150 mm), phase: 19% MeCN/H₂O + 0.1% TFA, flow rate: 4.5 mL/min, temperature: 40°C] to yield compound **53** (4Pta-Lys-Arg-Pro-Pro-Gly-Phe-Ser-Pro-Phe-Arg-OH; 10.2 mg, 8.0 μmol). HRESIMS: calculated for C₆₁H₉₂N₁₇O₁₃ (M+3H)³⁺ 423.5681 *m/z* and detected to be 423.5700 *m/z*.

Synthesis of compound 54 (CCKA)



Compound **53** (2.5 mg, 2.0 μmol), **38** (0.6 mg, 2.4 μmol), copper (II) sulfate pentahydrate (0.4 mg, 1.6 μmol), sodium ascorbate (1.6 mg, 8.0 μmol), and TBTA (0.8 mg, 1.6 μmol) were added into a round-bottom flask, and MeOH/H₂O (= 4:1, 1 mL) were added to the mixture. The reaction proceeded for 3

h at 25°C. Then, the reaction solution was concentrated under reduced pressure, and the residual mixture was dissolved with 26% MeCN (containing 0.1% TFA). After removing the precipitate with a filter, the mixture solution was purified using RP-HPLC [column: COSMOSIL 5C₁₈-AR-II (10.0 ID×150 mm), phase: 26% MeCN/H₂O + 0.1% TFA, flow rate: 4.5 mL/min, temperature: 40°C] to yield compound **54** (CCKA; 1.3 mg, 0.9 μmol). Yield: 37.5%; HRESIMS: calculated for C₆₈H₉₈N₂₀O₁₃I (M+3H)³⁺ 509.8884 *m/z* and detected to be 509.8892 *m/z*.

Synthesis of compound 55 (CCTA-1)

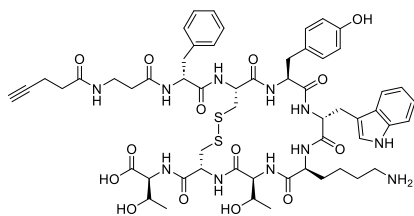
Compound **55** (CCTA-1) was synthesized using the same method as that for **47** (CCRGD-1). The linear peptide immobilized was manually assembled from 2-chlorotriyl chloride resin (188.7 mg, loading capacity 1.06 mmol/g) following a standard Fmoc-protocol using Fmoc-amino acid derivatives and 4-pentynoic acid.

Removal of peptides protected from the resin

The linear peptide was cleaved from the solid support by the addition of TFA/TIS/EDT/H₂O (94.0:1.0:2.5:2.5, 3 mL) for 3 h at 25°C. The resin was removed by filtration and was washed with TFA. The obtained solution was concentrated using a rotary evaporator. The residual oily compound was treated with cold diethyl ether to form a precipitate. The solid was washed with cold diethyl ether thrice. Finally, the mixture was purified using RP-HPLC [column: COSMOSIL 5C₁₈-AR-II (10.0 ID×150 mm), phase: 29% MeCN/H₂O + 0.1% TFA, flow rate: 4.5 mL/min, temperature: 40°C] to yield compound **55**

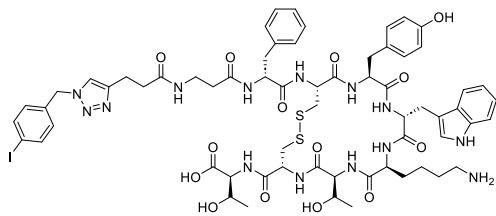
(4Pta- β Ala-DPhe-Cys-Tyr-DTrp-Lys-Thr-Cys-Thr-OH; 25.0 mg, 20.8 μ mol). HRESIMS: calculated for $C_{57}H_{77}N_{11}O_{14}S_2$ ($M+2H$) $^{2+}$ 601.7541 m/z and detected to be 601.7531 m/z .

Synthesis of compound 56 (CCTA-2)



The purified compound **55** (25.0 mg, 20.8 μ mol) was dissolved in 2.5 mL of a saturated NH_4HCO_3 / DMF: H_2O (= 1:1). The reaction solution was air-oxidized for 12 h at 25°C. Finally, the mixture was purified using RP-HPLC [column: COSMOSIL 5C₁₈-AR-II (10.0 ID \times 150 mm), phase: 28% MeCN/ H_2O + 0.1% TFA, flow rate: 4.5 mL/min, temperature: 25°C] to yield compound **56** (14.8 mg, 12.3 μ mol). Yield: 59.3%. HRESIMS: calculated for $C_{57}H_{75}N_{11}O_{14}S_2$ ($M+2H$) $^{2+}$ 600.7463 m/z and detected to be 600.7462 m/z .

Synthesis of compound 57 (CCTA)



Compound **56** (2.4 mg, 2.0 μ mol), **38** (0.6 mg, 2.4 μ mol), copper (II) sulfate pentahydrate (0.4 mg, 1.6 μ mol), sodium ascorbate (1.6 mg, 8.0 μ mol), and TBTA (0.8 mg, 1.6 μ mol) were added into a round-bottom flask, and MeOH/ H_2O (= 4:1, 1 mL) was added to the mixture. The reaction proceeded for 3 h at 25°C. Then, the reaction solution was concentrated under reduced pressure, and the residual mixture was dissolved with 35% MeCN (containing 0.1% TFA). After removing the precipitate with a filter, the mixture solution was purified using RP-HPLC [column: COSMOSIL 5C₁₈-AR-II (10.0 ID \times 150 mm), phase: 35% MeCN/ H_2O + 0.1% TFA, flow rate: 4.5 mL/min, temperature: 40°C] to yield compound **57** (1.4 mg, 1.0 μ mol). Yield: 48.0%; HRESIMS: calculated for $C_{64}H_{81}N_{14}O_{14}S_2I$ ($M+2H$) $^{2+}$ 730.2266 m/z and detected to be 730.2276 m/z .

Radiosynthesis of [^{125}I]39

Compound **37** (100 nmol) in 20 μ L of solvent* and the copper catalyst** (80 nmol or 20 nmol) in 20 μ L of solvent* were poured into a microtube along with a 10- μ M NaOH aqueous solution of ^{125}I (0.3 μ L, 1.0–1.4 MBq). The reaction solution was gently vortexed for 10 seconds. The reaction proceeded at 25°C for 3 min. Subsequently, 4-phenyl-1-butyne (200 nmol) in solvent* (20 μ L), and sodium ascorbate (400 nmol) and TBTA (80 nmol) in an aqueous solution (solvent*: H_2O = 1:1; 40 μ L) were incorporated into the reaction solution, following which the resultant mixture was gently vortexed for 10 seconds. The reaction proceeded at 25°C for 10–60 min. The mixture was analyzed *via* radio-TLC (hexane:EtOAc = 1:1) and radio-HPLC [column: COSMOSIL 5C₁₈-AR-II (4.6 ID \times 150 mm), phase: 55% MeCN/ H_2O + 0.1% TFA, flow rate: 1.0 mL/min, temperature: 40°C]. RCC (%) was determined by radio-TLC analysis.

*Solvent = MeOH, EtOH, MeCN, DMF, or DMSO.

**Copper catalyst = $Cu(py)_4(OTf)_2$, $CuSO_4 \cdot 5H_2O$, $Cu(OTf)_2$, $CuCl_2$, $Cu(OMe)_2$, or $[Cu(CH_3CN)]PF_6$.

Radiosynthetic method I: Confirmation of synthetic intermediates

Compound **37** (100 nmol) in 20 μL of MeOH and $\text{Cu}(\text{py})_4(\text{OTf})_2$ (80 nmol) in 20 μL of MeOH were added to a microtube along with a 10- μM NaOH aqueous solution of ^{125}I (0.3 μL , 1.3–1.6 MBq). Subsequently, the reaction solution was gently vortexed for 10 seconds. The reaction proceeded at 25°C for 3 min. The resultant mixture was analyzed *via* radio-TLC (hexane:EtOAc = 1:1) and radio-HPLC [column: COSMOSIL 5C₁₈-AR-II (4.6 ID \times 150 mm), phase: 55% MeCN/H₂O + 0.1% TFA, flow rate: 1.0 mL/min, temperature: 40°C]. RCC (%) was determined by radio-TLC analysis.

Radiosynthetic method II: Assessment reversing the order of reactions

Compound **37** (100 nmol) in 20 μL of MeOH, $\text{Cu}(\text{py})_4(\text{OTf})_2$ (80 nmol) in 20 μL of MeOH, 4-phenyl-1-butyne (200 nmol) in 20 μL of MeOH, and sodium ascorbate (400 nmol) and TBTA (80 nmol) in aqueous methanol (MeOH:H₂O = 1:1; 40 μL) were collected in a microtube. The reaction solution was gently vortexed for 10 seconds. The reaction was performed at 25°C for 10 min. Subsequently, a 10- μM NaOH aqueous solution of ^{125}I (0.3 μL , 1.2–1.4 MBq) was added to the reaction solution. The reaction solution was gently vortexed for 10 seconds. The reaction was performed at 25°C for 3 min. The mixture was analyzed using radio-TLC (hexane:EtOAc = 1:1) and radio-HPLC [column: COSMOSIL 5C₁₈-AR-II (4.6 ID \times 150 mm), phase: 55% MeCN/H₂O + 0.1% TFA, flow rate: 1.0 mL/min, temperature: 40°C]. RCC (%) was determined *via* radio-TLC analysis.

Radiosynthesis of ^{125}I -labeled small molecules and peptides

Compound **37** (100 nmol) in 20 μL of MeOH and $\text{Cu}(\text{py})_4(\text{OTf})_2$ (80–150 nmol) in 20 μL of MeOH were added into a microtube along with a 10- μM NaOH aqueous solution of ^{125}I (0.3 μL , 1.0–1.3 MBq). The reaction solution was gently vortexed for 10 seconds. The reaction was performed at 25°C for 3 min. Subsequently, corresponding peptides (200 nmol) in MeOH (20 μL), and sodium ascorbate (400–750 nmol) and TBTA (80–150 nmol) in aqueous methanol (MeOH:H₂O = 1:1; 40 μL) were incorporated into the reaction solution, following which the resultant mixture was gently vortexed for 10 seconds. The reaction proceeded at 25°C for 10–20 min. The mixture was analyzed *via* radio-HPLC, and the RCC (%) was determined *via* radio-HPLC analysis.

実験データ

第一章 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

第一節 低分子の放射性ヨウ素標識

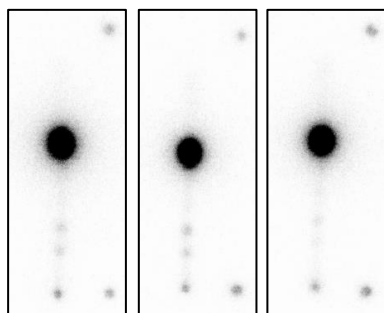
以下, *J. Labelled Comp. Radiopharm.* **2021**, *64*, 336–345, Supporting information より引用.

High-performance liquid chromatography analysis condition

- **Column:** COSMOSIL[®] 5C₁₈-ARII (4.6 ID×150 mm)
- **Temperature:** 40 °C
- **Flow:** 1.0 mL/min
- **Phase A:** H₂O (containing 0.1% TFA)
- **Phase B:** MeCN (containing 0.1% TFA)
- **Condition A:** 20% to 100% phase B (0–15 min)
- **Condition B:** 40% to 100% phase B (0–15 min)
- **Condition C:** 50% to 100% phase B (0–15 min)
- **Condition D:** 60% to 100% phase B (0–15 min)
- **Condition E:** 70% to 100% phase B (0–15 min)

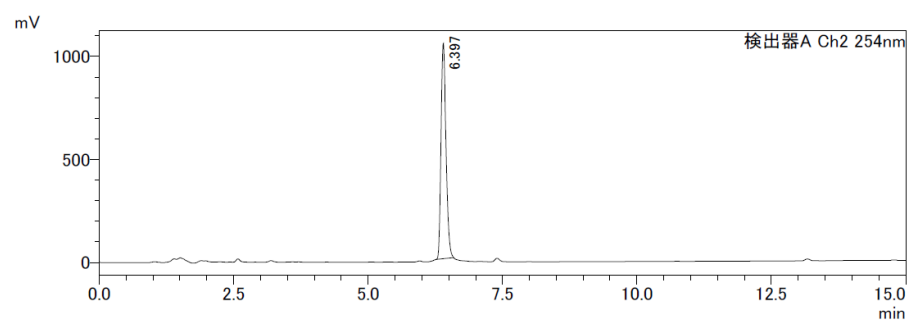
UV-HPLC and radio-HPLC chromatograms, and radio-TLC traces

Radio-TLC of [^{125}I]1(i) without purification [CHCl_3 : EtOAc (= 9:1)]

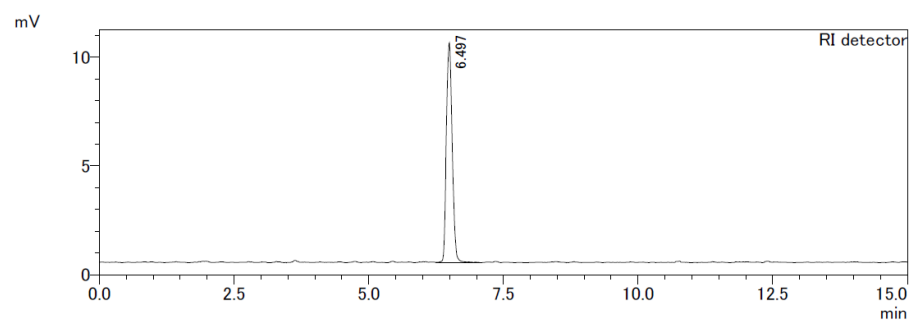


UV- and radio-HPLC of 1(i) and [^{125}I]1(i) [Analysis condition B]

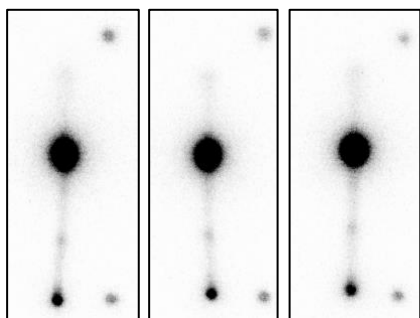
UV detector



RI detector

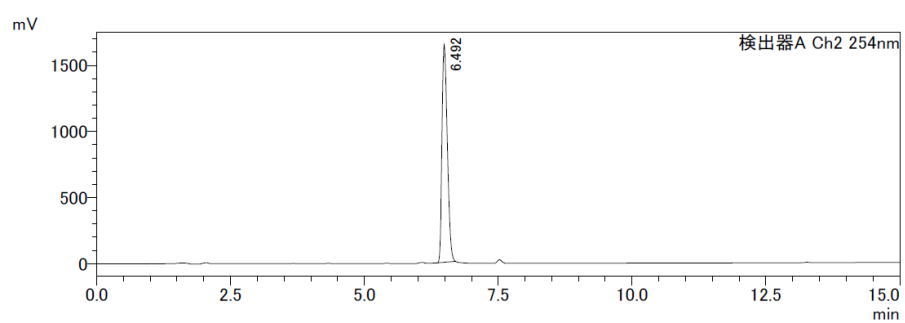


Radio-TLC of [^{125}I]1(ii) without purification [CHCl_3 : EtOAc (= 9:1)]

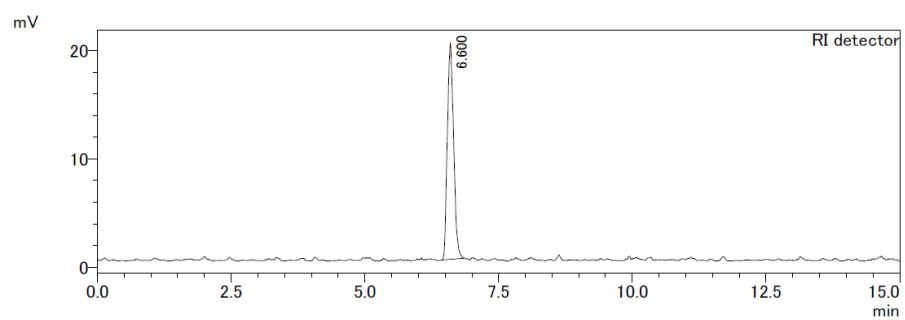


UV- and radio-HPLC of 1(ii) and [^{125}I]1(ii) [Analysis condition B]

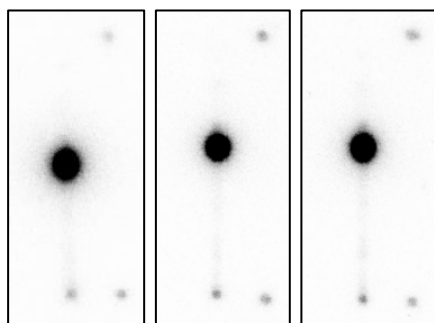
UV detector



RI detector

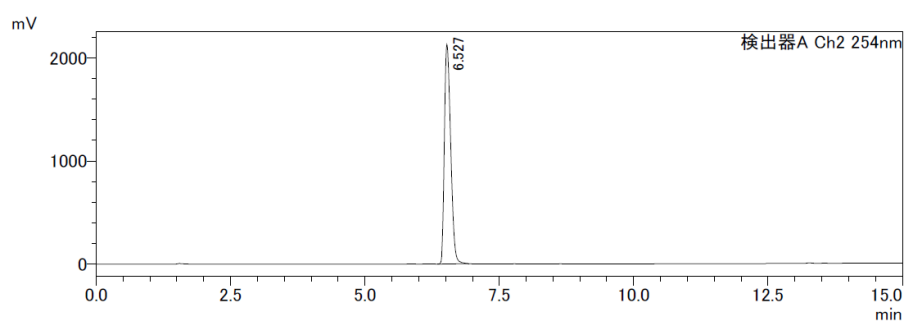


Radio-TLC of [^{125}I]2(i) without purification [CHCl_3 : EtOAc (= 9:1)]

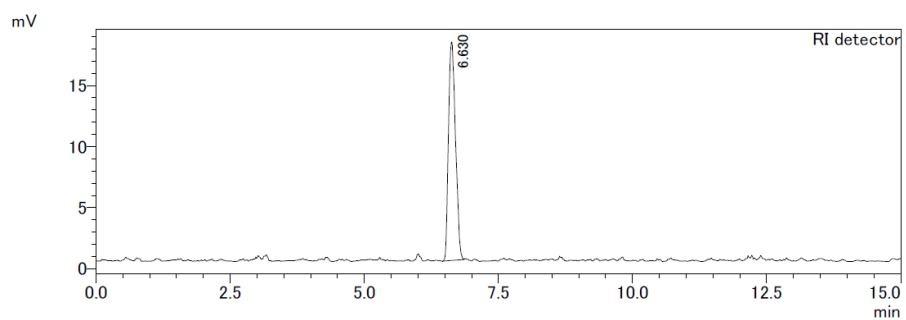


UV- and radio-HPLC of 2(i) and [^{125}I]2(i) [Analysis condition B]

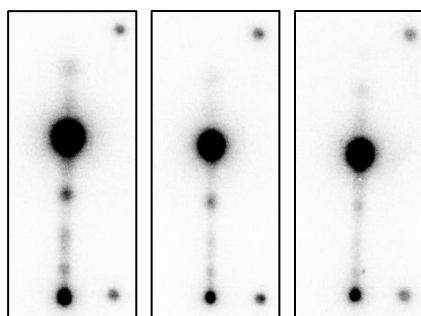
UV detector



RI detector

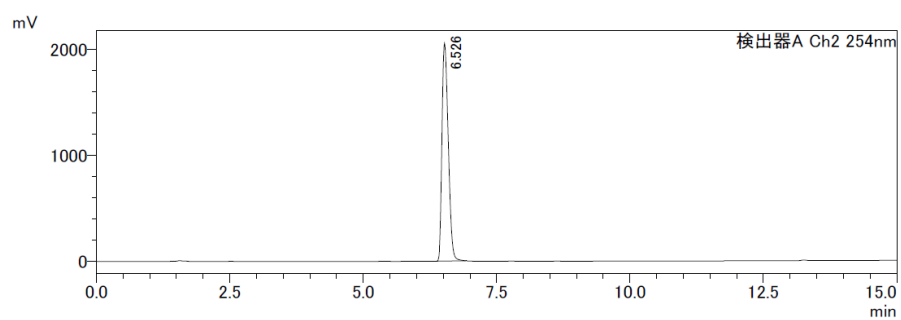


Radio-TLC of [^{125}I]2(ii) without purification [CHCl_3 : EtOAc (= 9:1)]

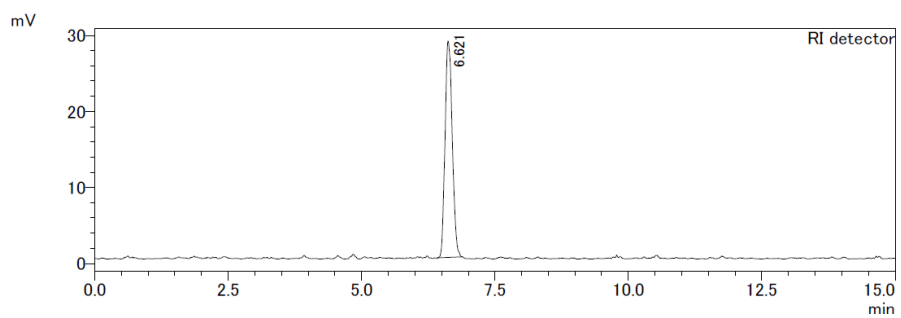


UV- and radio-HPLC of 2(ii) and [^{125}I]2(ii) [Analysis condition B]

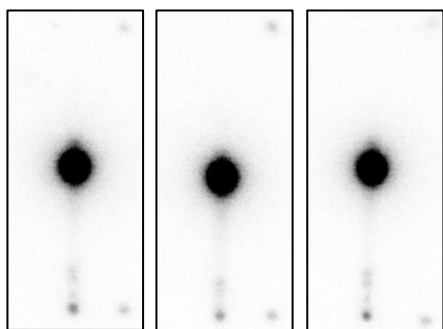
UV detector



RI detector

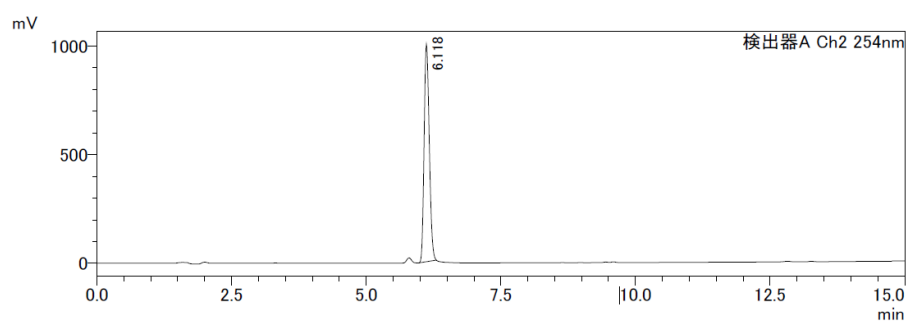


Radio-TLC of [^{125}I]3(i) without purification [CHCl_3]

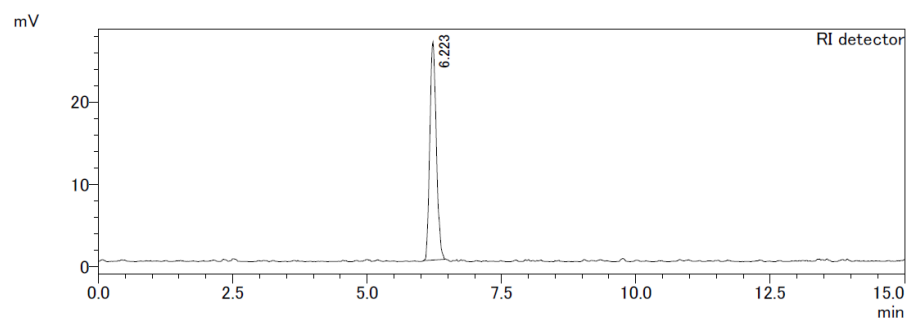


UV- and radio-HPLC of 3(i) and [^{125}I]3(i) [Analysis condition B]

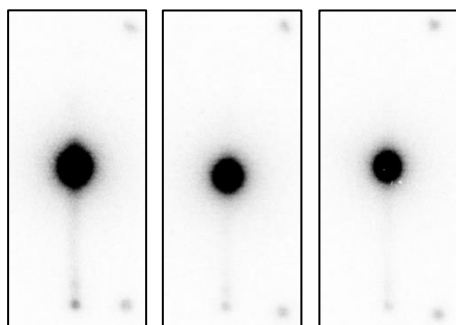
UV detector



RI detector

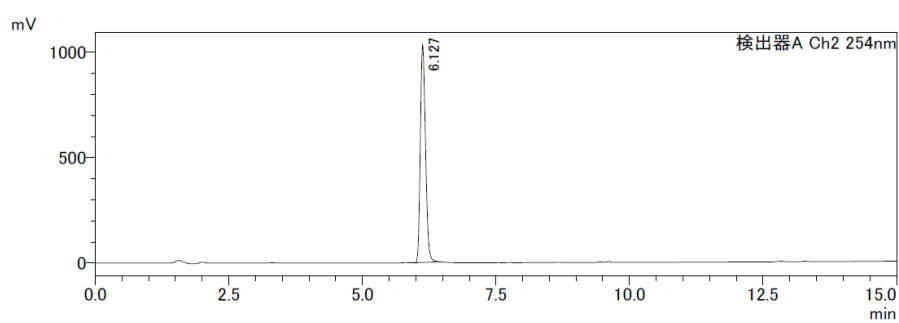


Radio-TLC of [^{125}I]**3(ii)** without purification [CHCl_3]

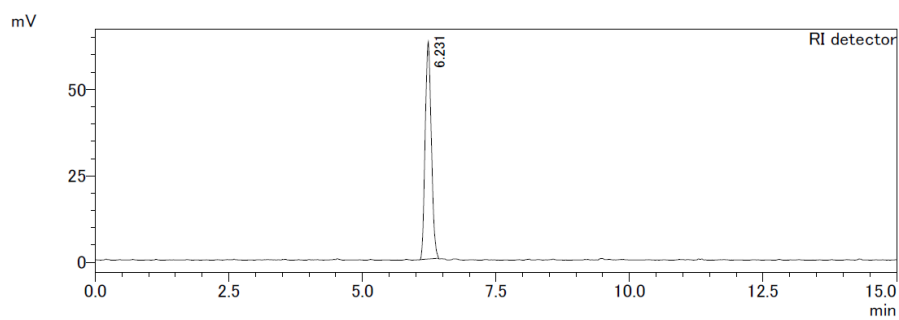


UV- and radio-HPLC of **3(ii)** and [^{125}I]**3(ii)** [Analysis condition B]

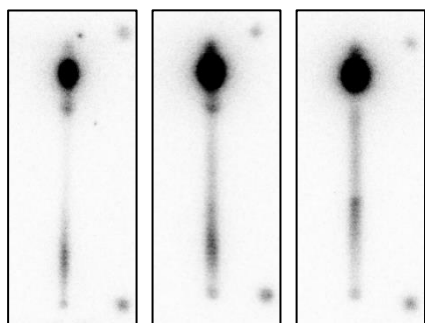
UV detector



RI detector

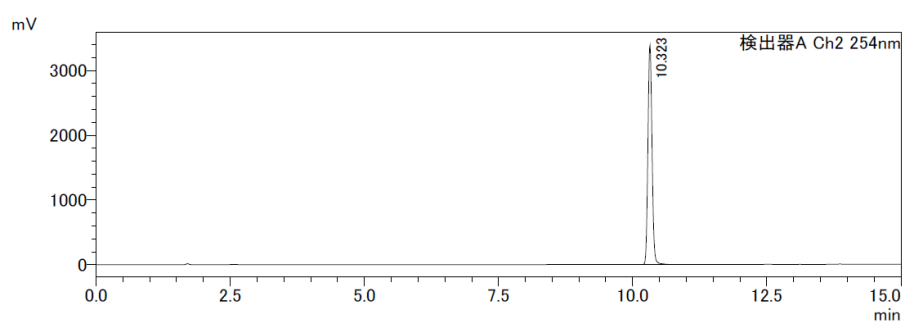


Radio-TLC of [^{125}I]4(i) without purification [CHCl_3 : MeOH (= 1:1)]

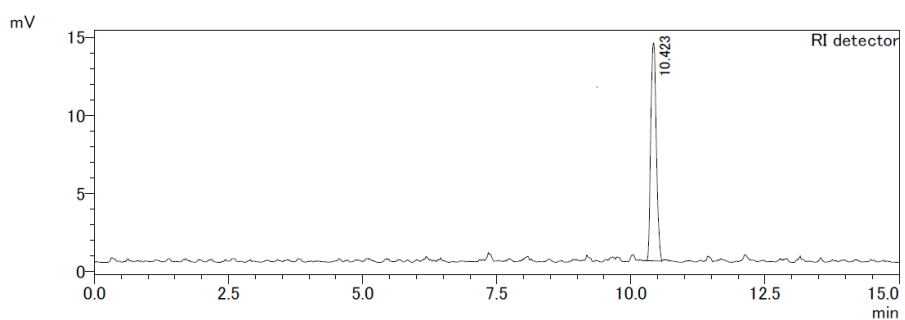


UV- and radio-HPLC of 4(i) and [^{125}I]4(i) [Analysis condition A]

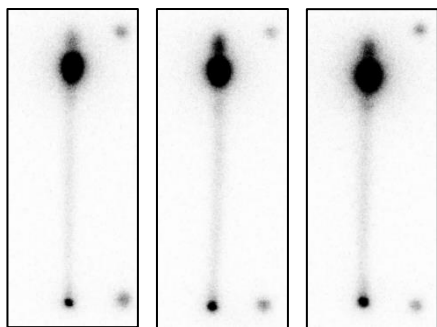
UV detector



RI detector

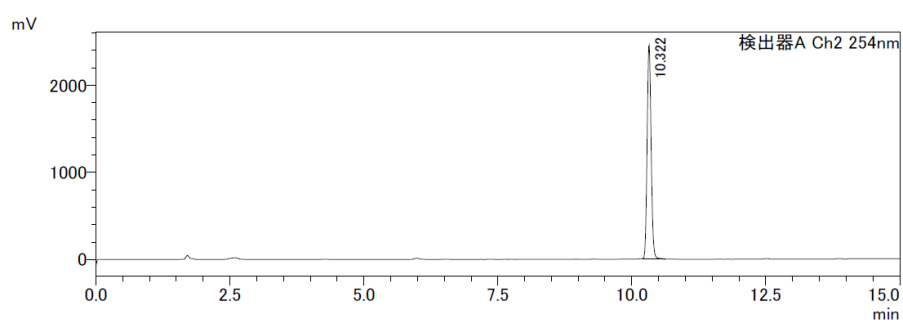


Radio-TLC of [^{125}I]4(ii) without purification [CHCl_3 : MeOH (= 1:1)]

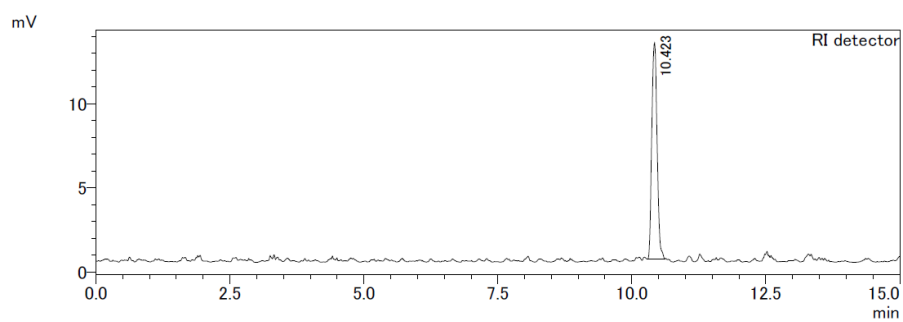


UV- and radio-HPLC of 4(ii) and [^{125}I]4(ii) [Analysis condition A]

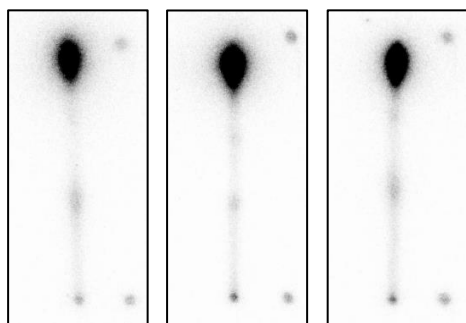
UV detector



RI detector

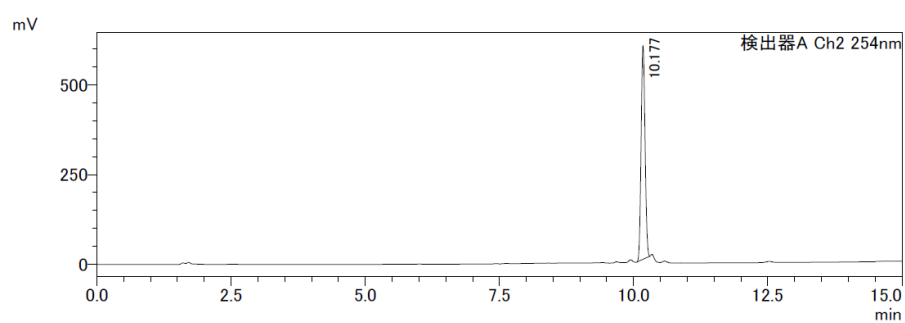


Radio-TLC of [^{125}I]5(i) without purification [CHCl_3 : MeOH (= 1:1)]

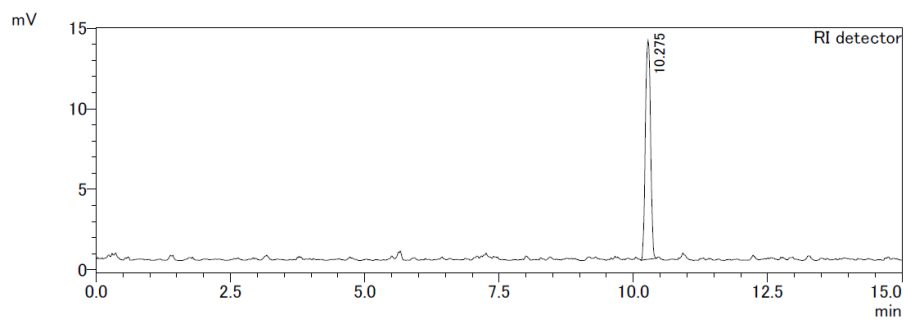


UV- and radio-HPLC of 5(i) and [^{125}I]5(i) [Analysis condition A]

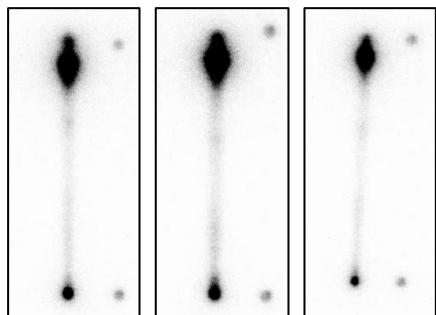
UV detector



RI detector

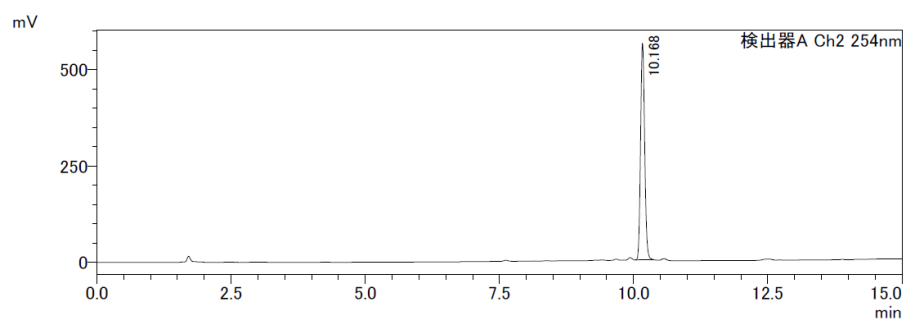


Radio-TLC of [^{125}I]**5(ii)** without purification [CHCl_3 : MeOH (= 1:1)]

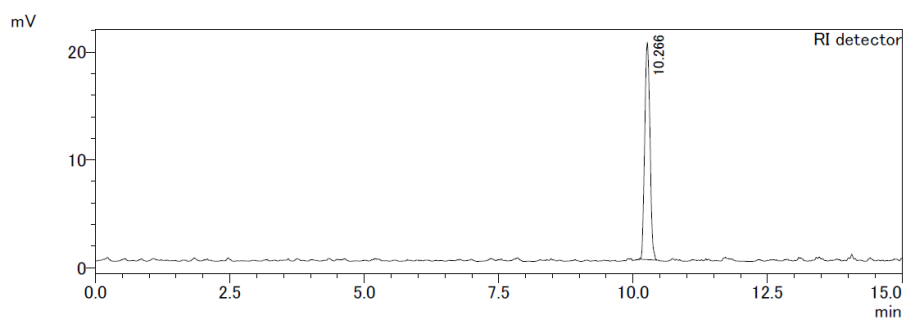


UV- and radio-HPLC of **5(ii)** and [^{125}I]**5(ii)** [Analysis condition A]

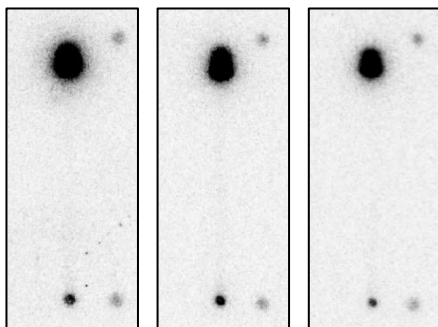
UV detector



RI detector

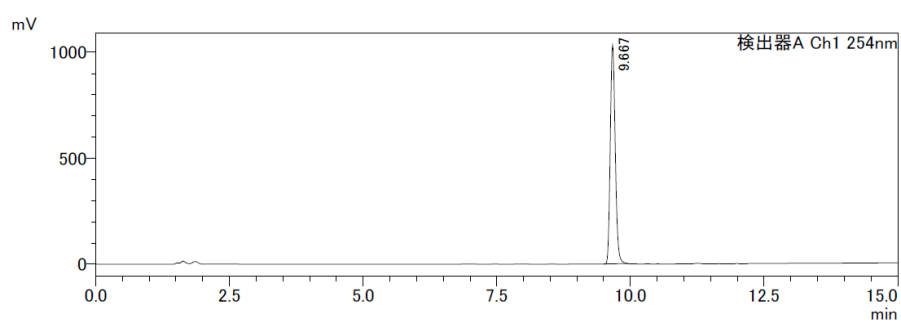


Radio-TLC of [^{125}I]6(i) without purification [CHCl_3 : MeOH (= 3:7)]

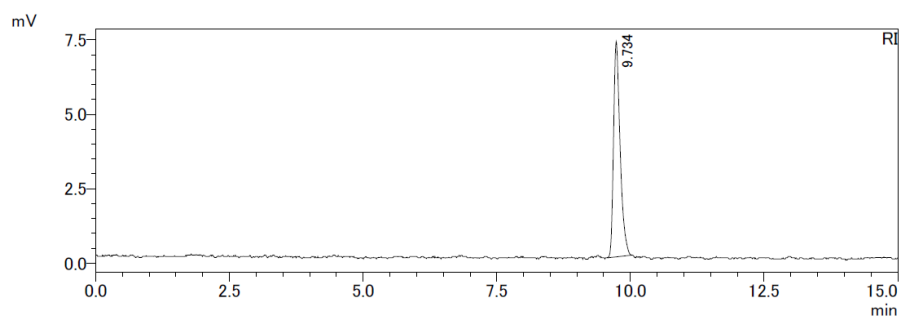


UV- and radio-HPLC of 6(i) and [^{125}I]6(i) [Analysis condition A]

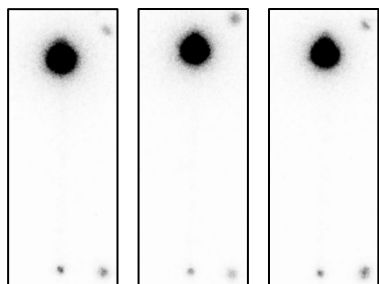
UV detector



RI detector

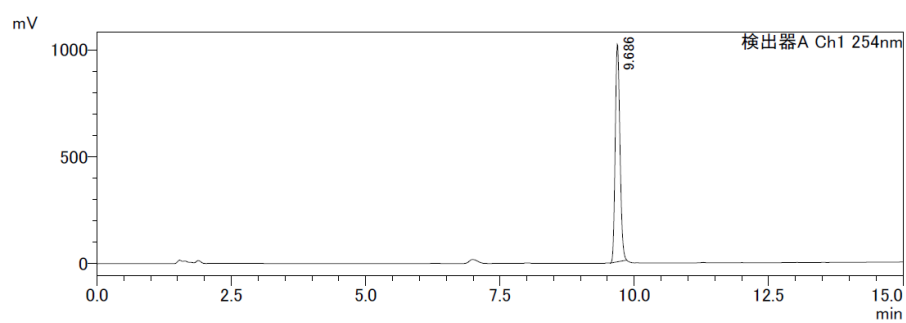


Radio-TLC of [^{125}I]6(ii) without purification [$\text{CHCl}_3 : \text{MeOH} (= 3:7)$]

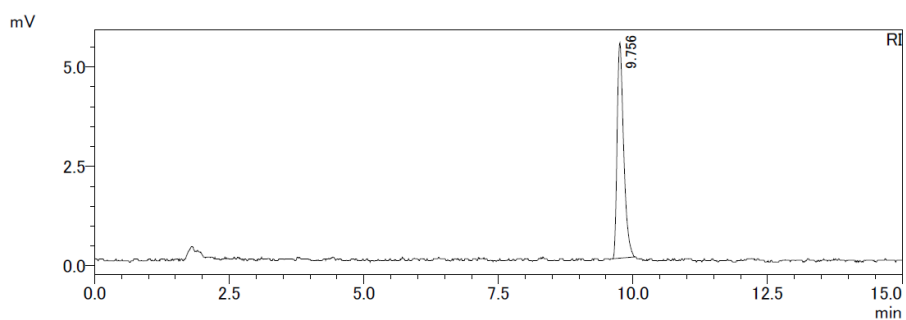


UV- and radio-HPLC of 6(ii) and [^{125}I]6(ii) [Analysis condition A]

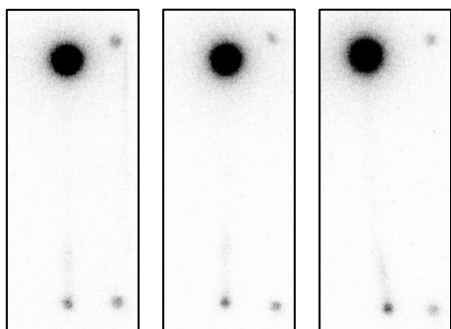
UV detector



RI detector

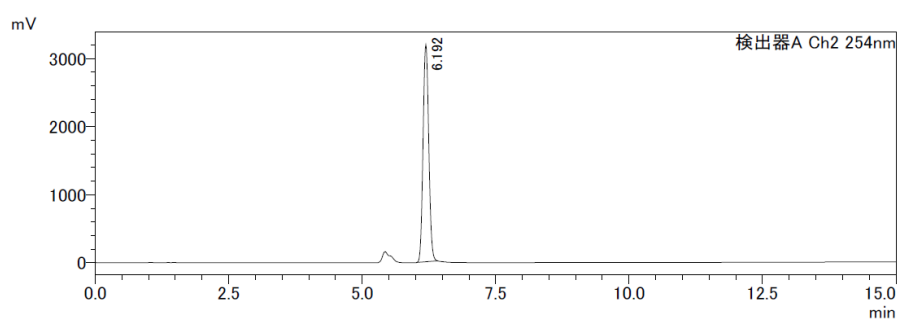


Radio-TLC of [^{125}I]7(i) without purification [CHCl_3 : EtOAc (= 1:1)]

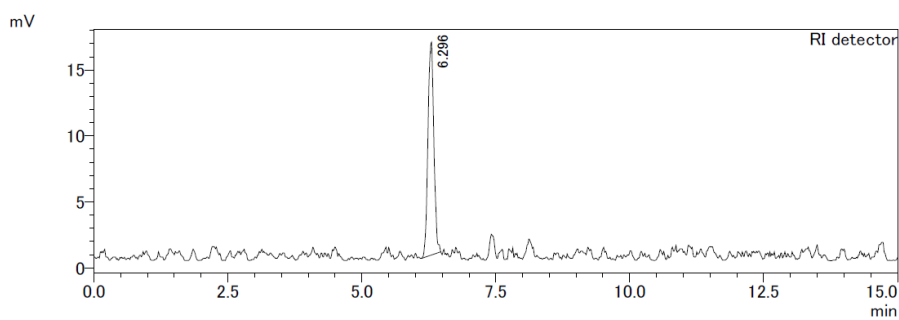


UV- and radio-HPLC of 7(i) and [^{125}I]7(i) [Analysis condition C]

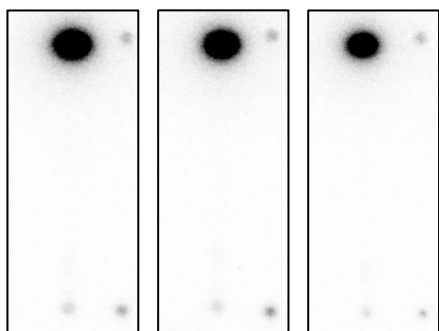
UV detector



RI detector

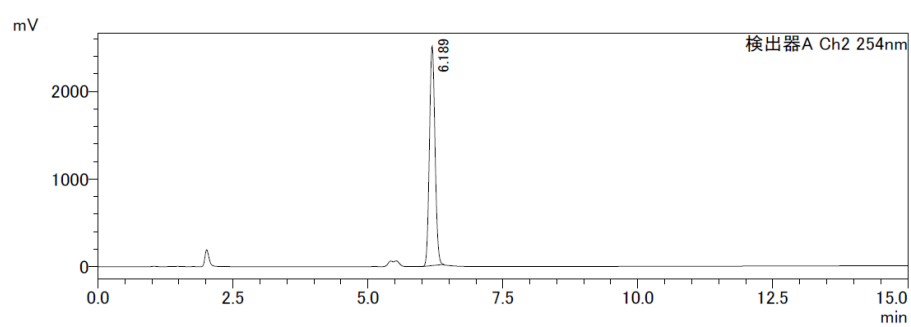


Radio-TLC of [^{125}I]7(ii) without purification [$\text{CHCl}_3 : \text{EtOAc} (= 1:1)$]

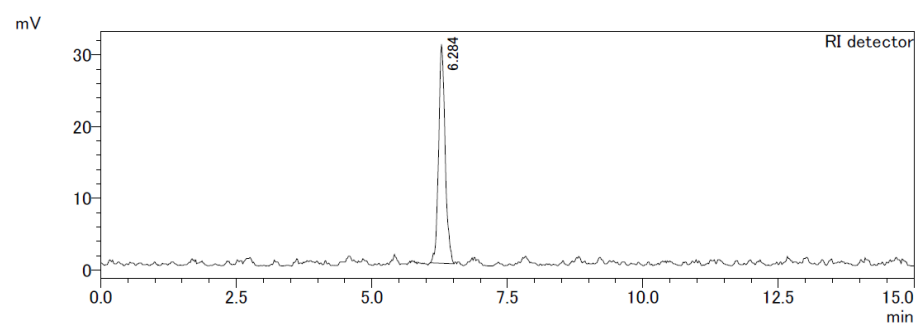


UV- and radio-HPLC of 7(ii) and [^{125}I]7(ii) [Analysis condition C]

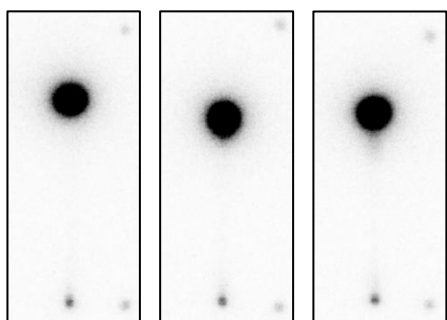
UV detector



RI detector

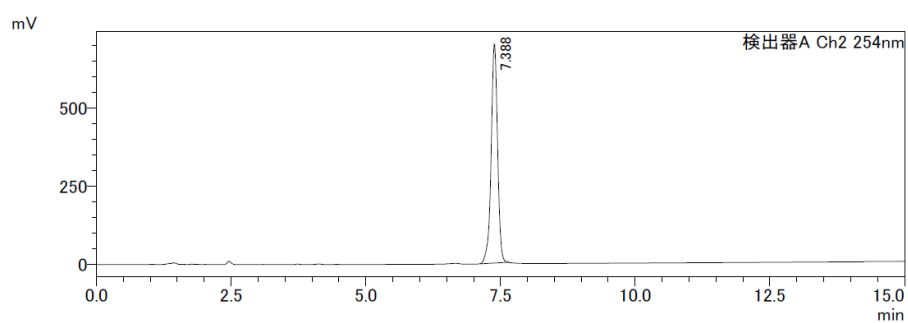


Radio-TLC of [^{125}I]**8(i)** without purification [hexane : CHCl_3 (= 8:2)]

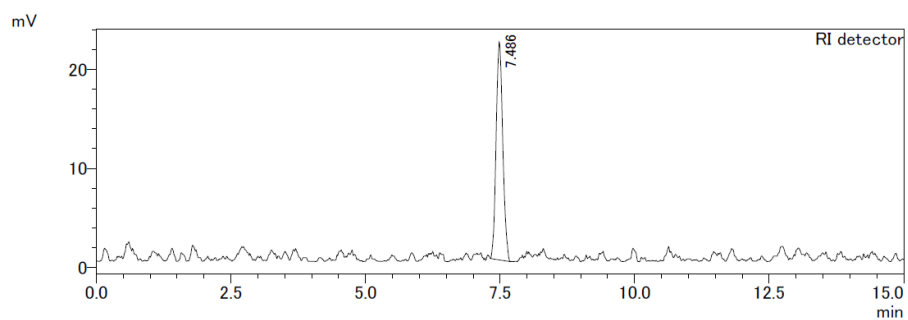


UV- and radio-HPLC of **8(i)** and [^{125}I]**8(i)** [Analysis condition E]

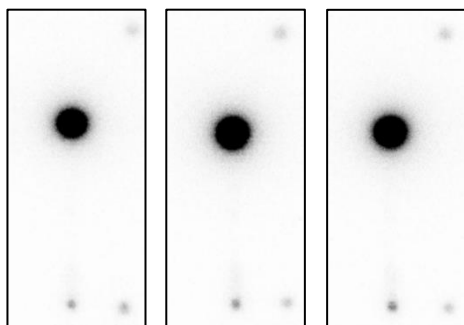
UV detector



RI detector

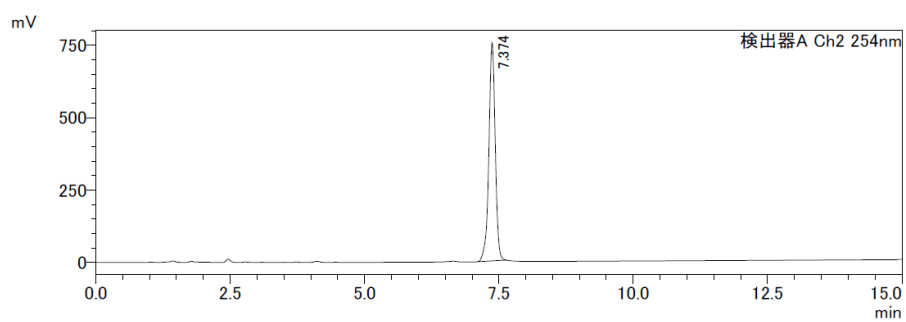


Radio-TLC of [^{125}I]**8(ii)** without purification [hexane : CHCl_3 (= 8:2)]

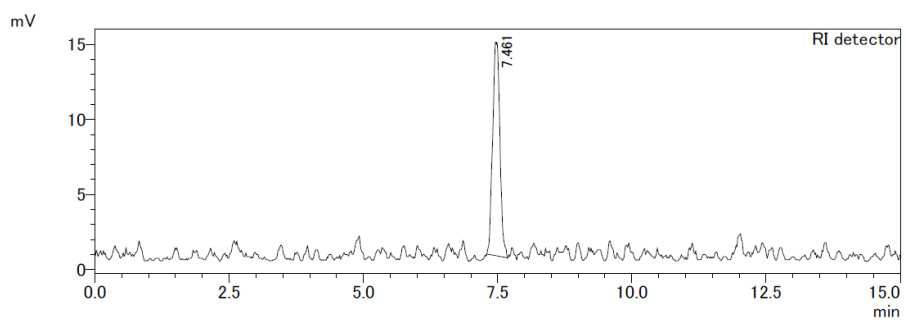


UV- and radio-HPLC of **8(ii)** and [^{125}I]**8(ii)** [Analysis condition E]

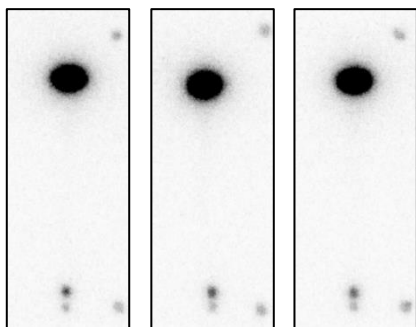
UV detector



RI detector

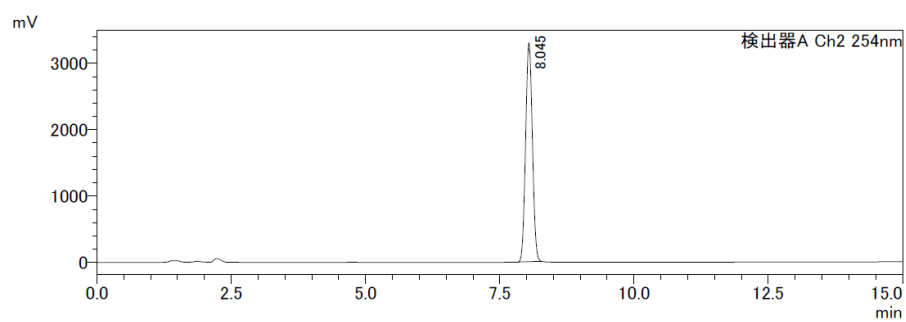


Radio-TLC of [^{125}I]9(i) without purification [hexane: EtOAc (= 2:1)]

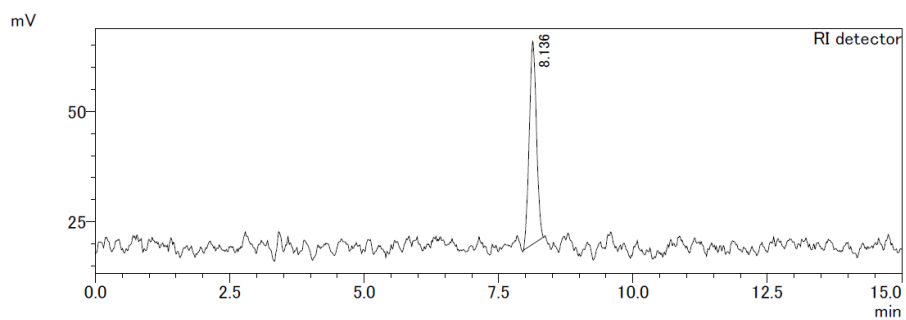


UV- and radio-HPLC of 9(i) and [^{125}I]9(i) [Analysis condition D]

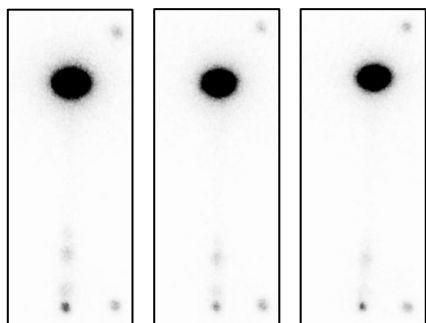
UV detector



RI detector

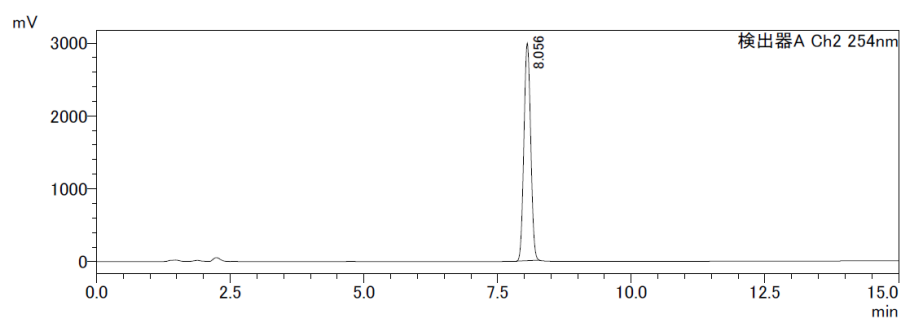


Radio-TLC of [^{125}I]9(ii) without purification [hexane: EtOAc (= 2:1)]

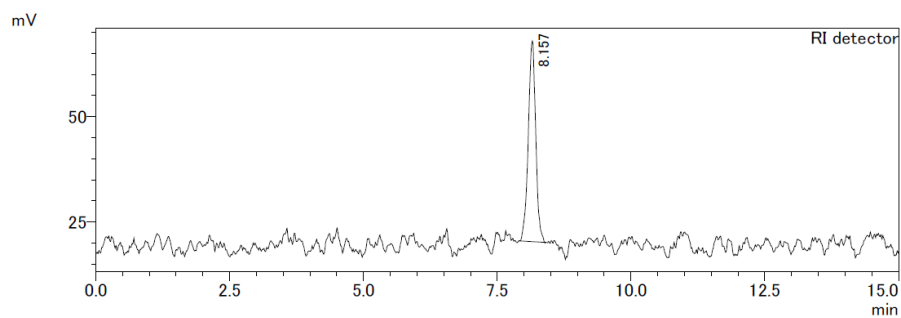


UV- and radio-HPLC of 9(ii) and [^{125}I]9(ii) [Analysis condition D]

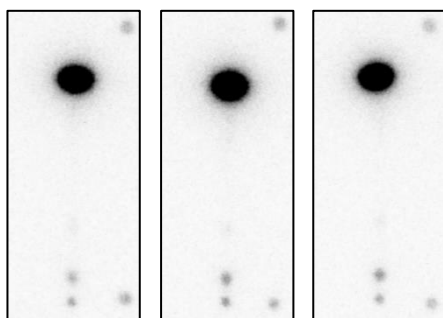
UV detector



RI detector

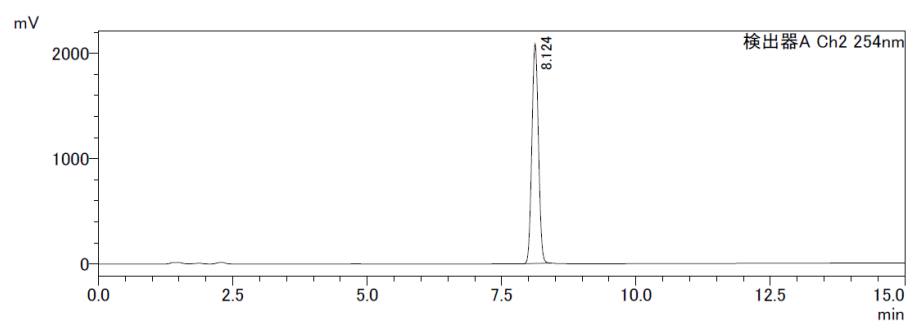


Radio-TLC of [^{125}I]10(i) without purification [hexane: EtOAc (= 2:1)]

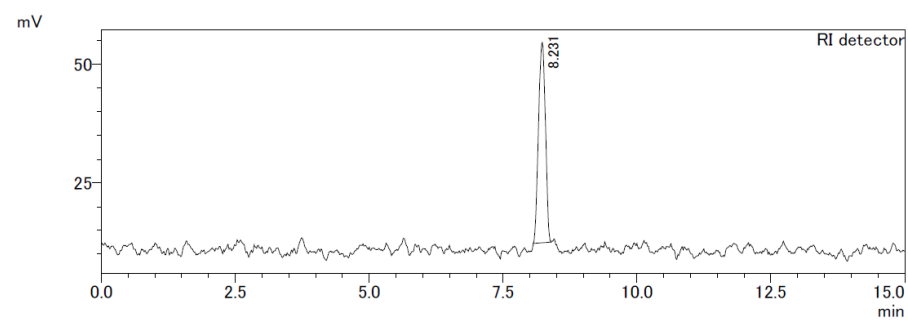


UV- and radio-HPLC of 10(i) and [^{125}I]10(i) [Analysis condition D]

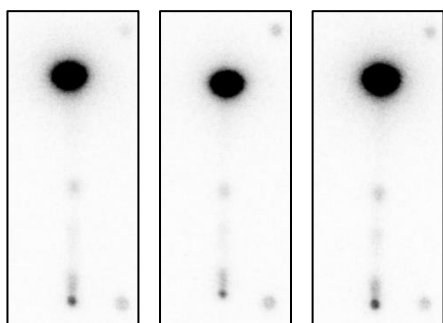
UV detector



RI detector

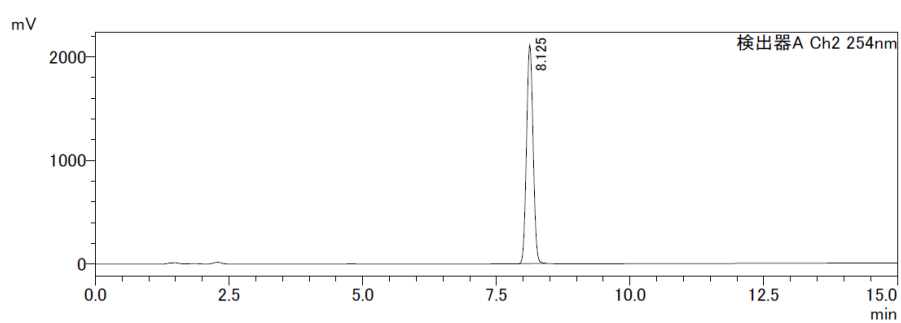


Radio-TLC of [^{125}I]10(ii) without purification [hexane: EtOAc (= 2:1)]

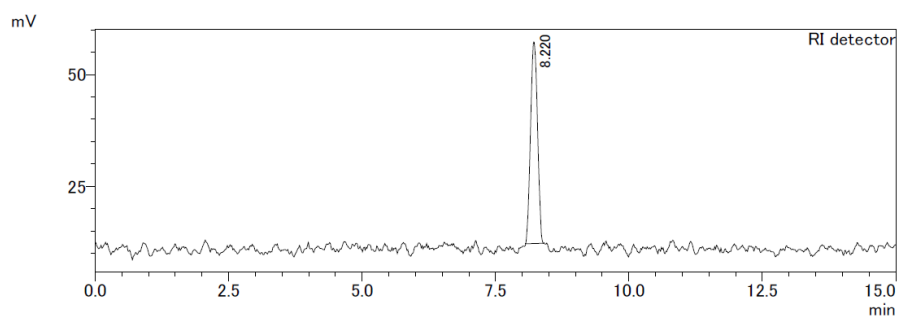


UV- and radio-HPLC of 10(ii) and [^{125}I]10(ii) [Analysis condition D]

UV detector



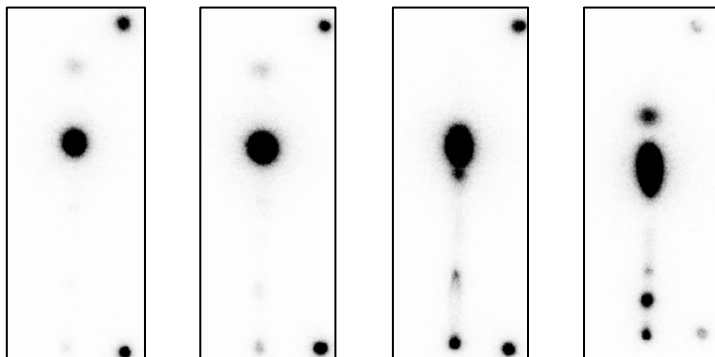
RI detector



Comparison of reaction solvents in the radiosynthesis of [¹²⁵I]12

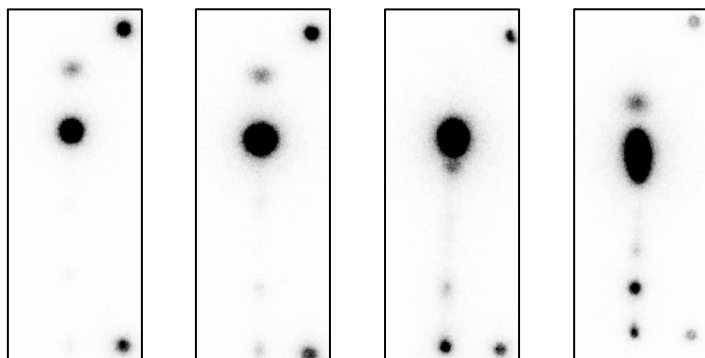
Radio-TLC of [¹²⁵I]12 after 10 min [CHCl₃ : MeOH (= 18:1)]

1. MeOH 2. EtOH 3. MeCN 4. Acetone



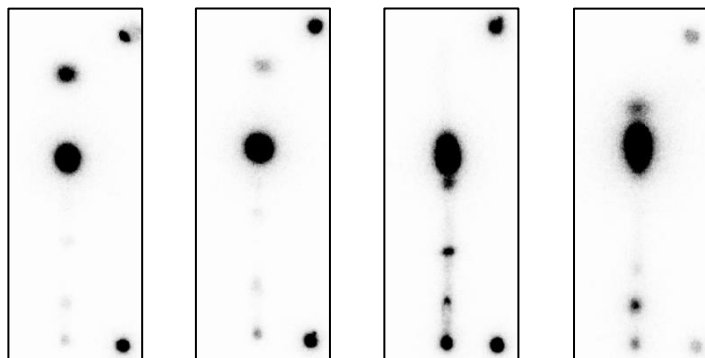
Radio-TLC of [¹²⁵I]12 after 30 min

1. MeOH 2. EtOH 3. MeCN 4. Acetone

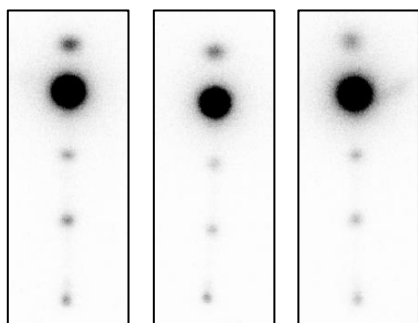


Radio-TLC of [¹²⁵I]12 after 60 min

1. MeOH 2. EtOH 3. MeCN 4. Acetone

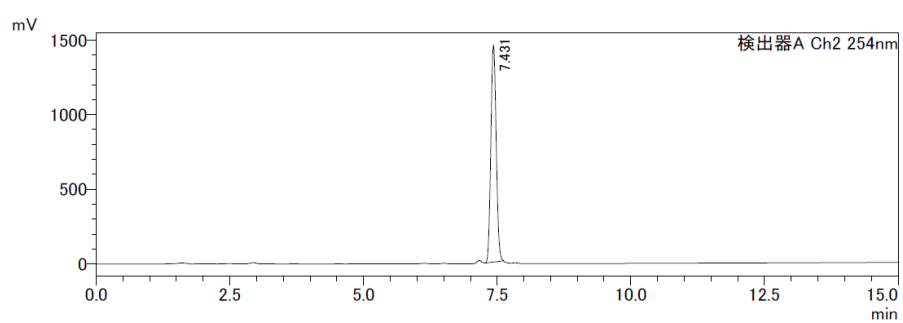


Radio-TLC of [^{125}I]12 (MeOH) without purification [CHCl_3 : MeOH (= 9:1)]

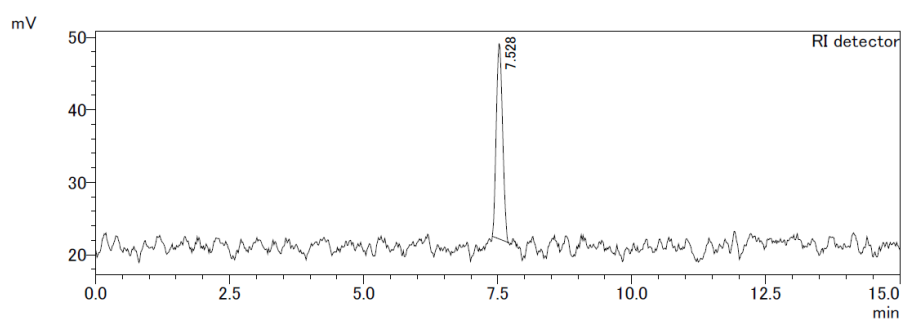


UV- and radio-HPLC of **12** and [^{125}I]12 [Analysis condition B]

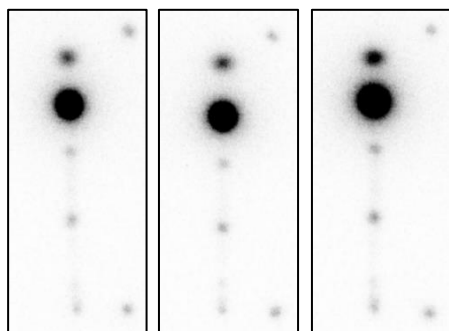
UV detector



RI detector

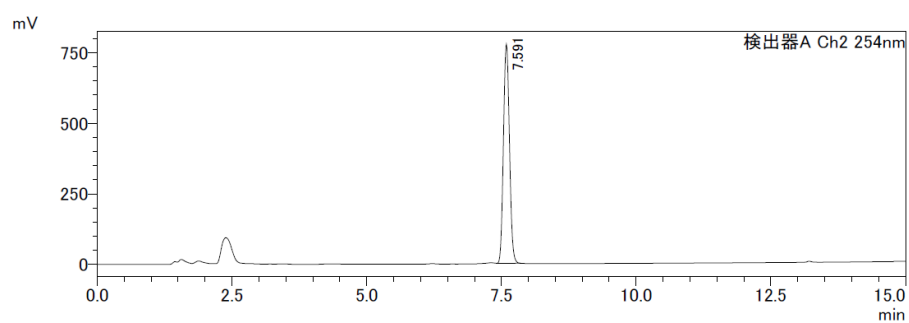


Radio-TLC of [^{125}I]14 (MeOH) without purification [CHCl_3 : MeOH (= 9:1)]

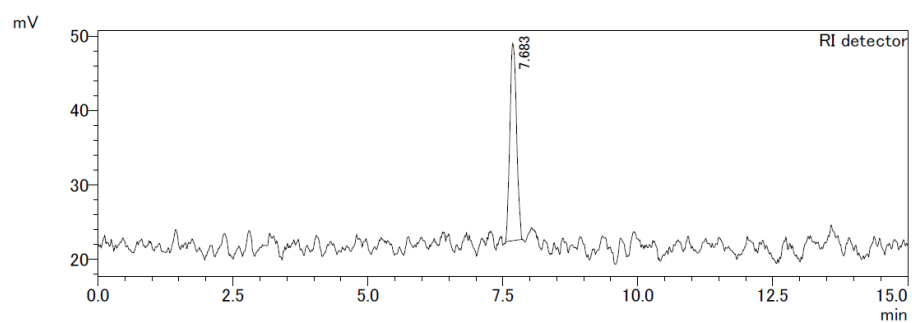


UV- and radio-HPLC of 14 and [^{125}I]14 [Analysis condition B]

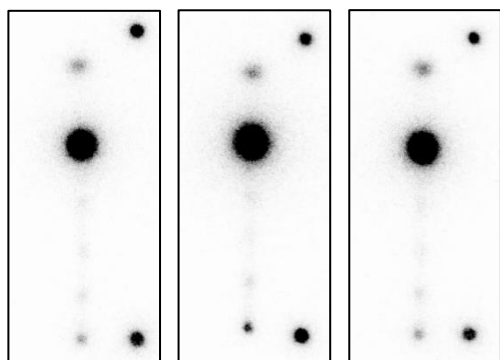
UV detector



RI detector

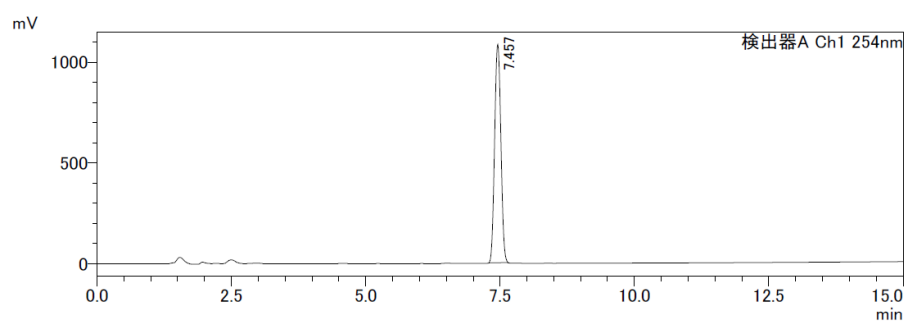


Radio-TLC of [^{125}I]12 (EtOH) without purification [CHCl_3 : MeOH (= 18:1)]

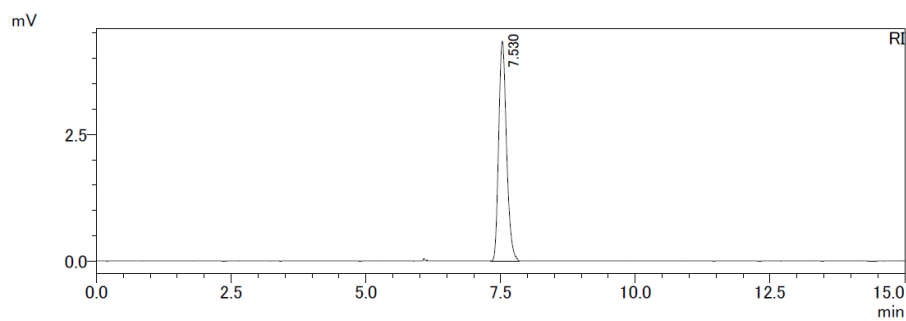


UV- and radio-HPLC of 12 and [^{125}I]12 [Analysis condition B]

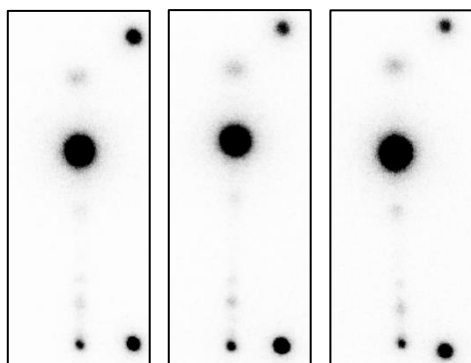
UV detector



RI detector

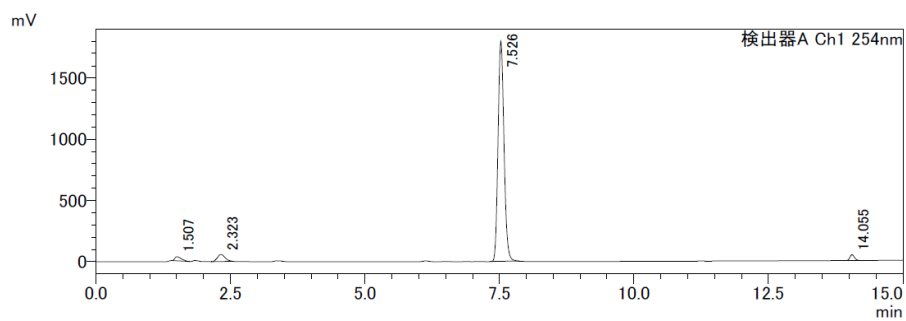


Radio-TLC of [^{125}I]14 (EtOH) without purification [CHCl_3 : MeOH (= 18:1)]

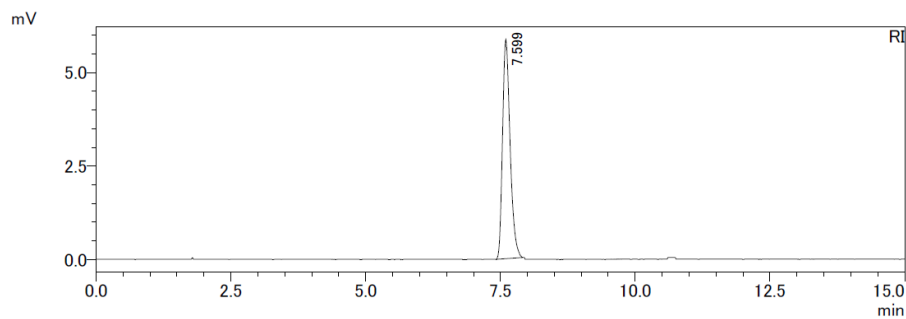


UV- and radio-HPLC of 14 and [^{125}I]14 [Analysis condition B]

UV detector



RI detector



第二節 ペプチド様分子の直接的な放射性ヨウ素標識

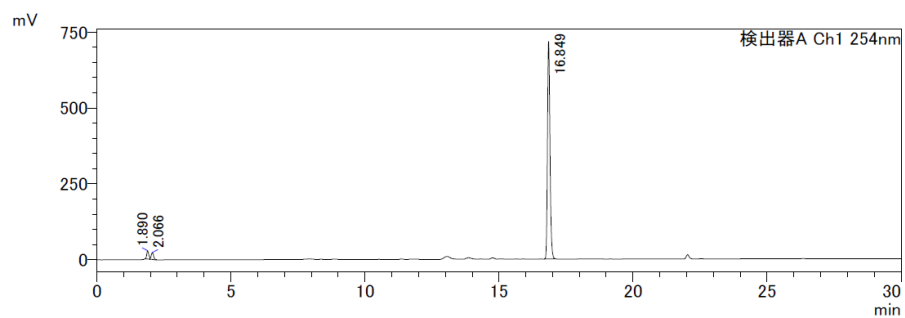
第一項 $[^{125}\text{I}]\text{IB-c(RGDyK)}$ の放射化学合成

以下, *J. Labelled Comp. Radiopharm.* **2021**, *64*, 336–345, Supporting information より引用.

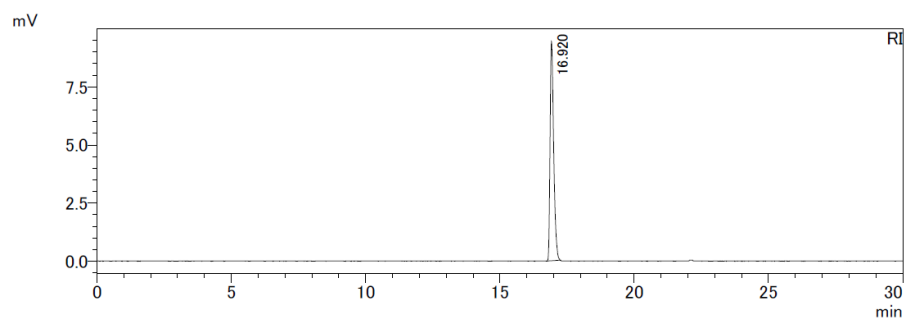
Indirect ^{125}I -labeling of c(RGDyK) using $[^{125}\text{I}]\text{14}$

UV- and radio-HPLC of **16** and $[^{125}\text{I}]\text{16}$ [Analysis condition B]

UV detector



RI detector



Direct ^{125}I -labeling of c(RGDyk) using boronic precursor 15

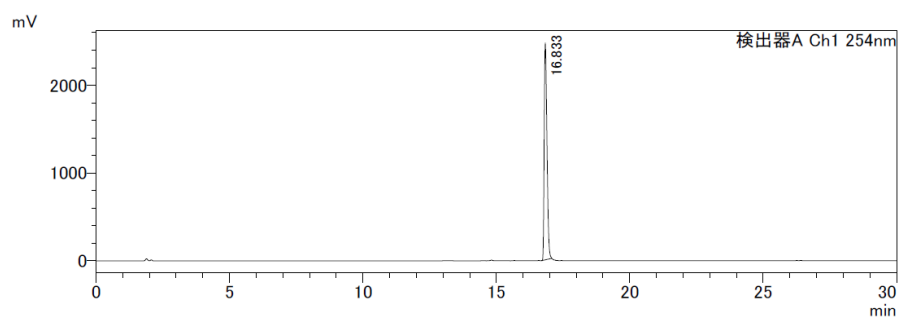
Table S1: Study for appropriate reaction conditions of radiolabeling thorough PB-c(RGDyk).

Entry	PB-c(RGDyk)	Solvent	Time (min)	Temp. (°C)	Microwave	RCC (%)
1				25 °C	-	0
2	0.2 mg	DMF	10 min	40 °C	-	5.3
3			30 min		○	11.0
4						15.3
5				25 °C	-	0
6	0.2 mg	DMSO	10 min	40 °C	-	3.5
7			30 min		○	13.4
8	0.2 mg					> 99
9	0.1 mg	MeOH	10 min	25 °C	-	> 99
10	0.05 mg					> 99

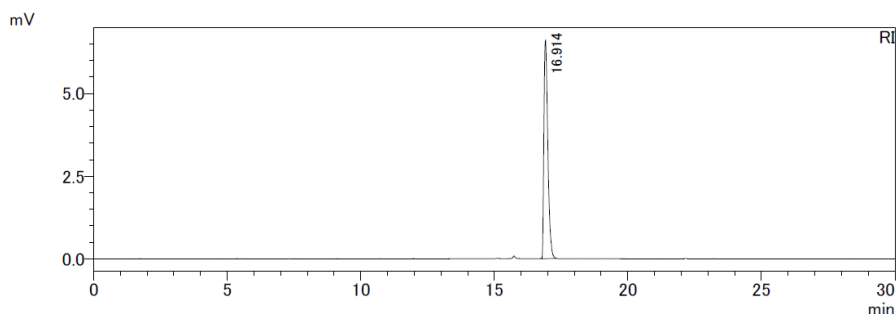
* The radiochemical conversion (RCC) was determined by radio-HPLC

UV- and radio-HPLC of **16** and [^{125}I]**16** [Analysis condition B]

UV detector



RI detector



第二節 ペプチド様分子の直接的な放射性ヨウ素標識

第二項 [¹²⁵I]IB-PS の放射化学合成

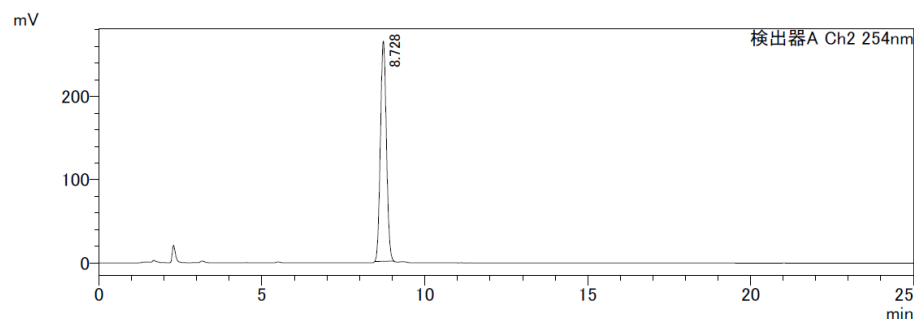
以下, *Bioorg. Med. Chem.* **2022**, *69*, 116915, Supporting information より引用.

High-performance liquid chromatography analysis condition

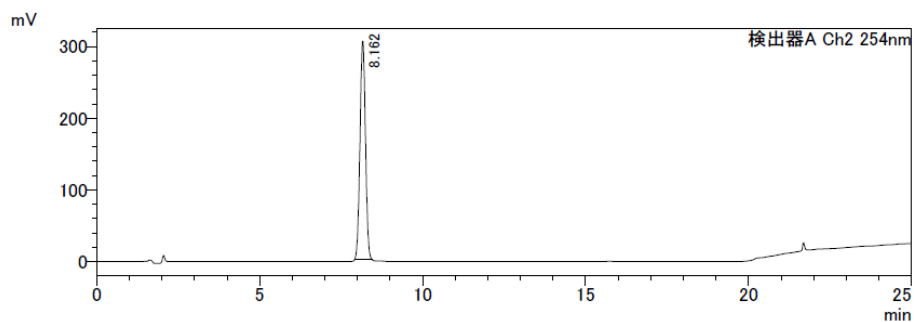
- **Column:** COSMOSIL[®] 5C₁₈-ARII (4.6 ID×150 mm)
- **Temperature:** 40 °C
- **Flow:** 1.0 mL/min
- **Phase A:** H₂O (containing 0.1% TFA)
- **Phase B:** MeCN (containing 0.1% TFA)
- **Condition F:** 25% phase B (0–15 min)
25% to 100% phase B (15–16 min)
100% phase B (16–25 min)
- **Condition G:** 65% phase B (0–15 min)
65% to 100% phase B (15–16 min)
100% phase B (16–25 min)

UV-HPLC analysis of **20** and **22**

UV-HPLC analysis of **20** [Analysis condition G]

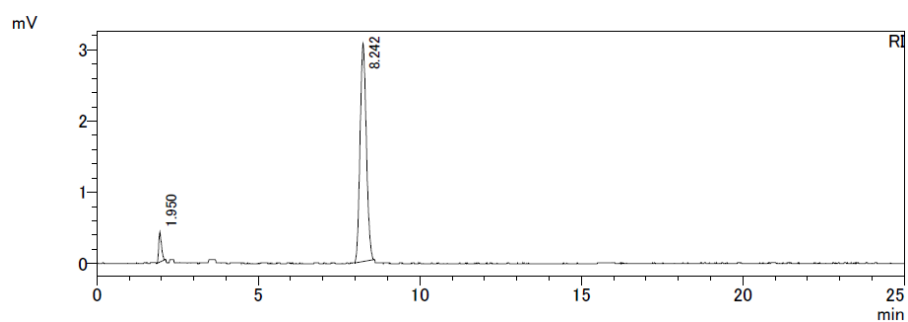


UV-HPLC analysis of **22** [Analysis condition F]



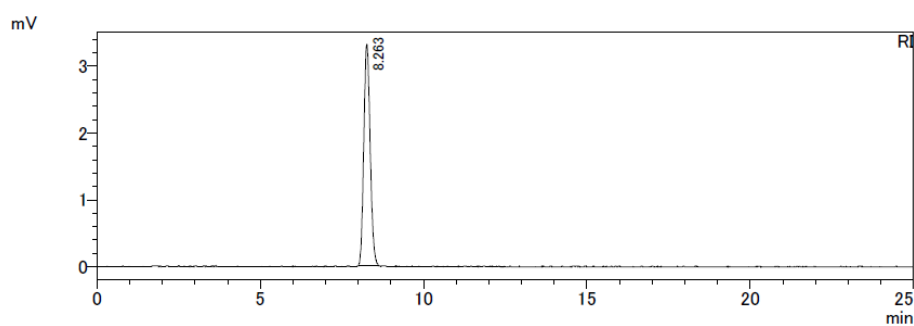
Method I (Radiosynthesis of [¹²⁵I]22)

Radio-HPLC analysis of a reaction mixture [Analysis condition F]



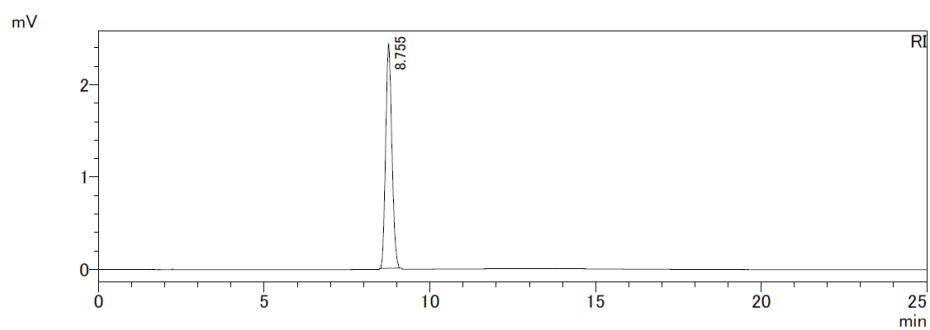
Method II (Radiosynthesis of [¹²⁵I]22)

Radio-HPLC analysis of a reaction mixture [Analysis condition F]



Method III (Radiosynthesis of [¹²⁵I]20)

Radio-HPLC analysis of a reaction mixture [Analysis condition G]



第三節 銅触媒による脱ホウ素放射性ヨウ素化反応に対する水の影響の調査 及び反応メカニズムの推定

以下, *ACS Omega* **2023**, 8, 24418–24425, Supporting information より引用.

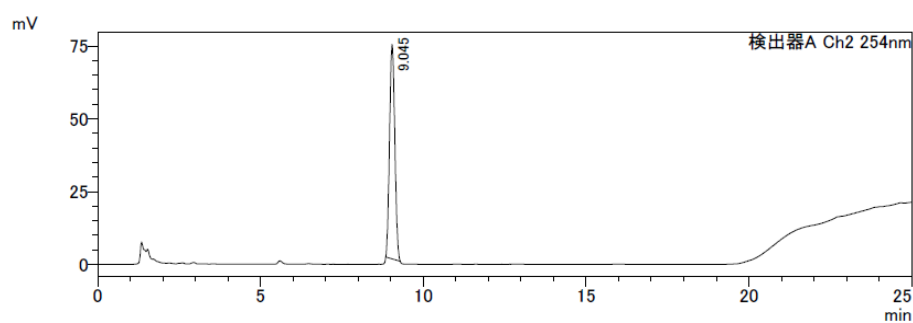
High-performance liquid chromatography analysis condition

- **Column:** COSMOSIL[®] 5C₁₈-ARII (4.6 ID×150 mm)
- **Temperature:** 40 °C
- **Flow:** 1.0 mL/min
- **Phase A:** H₂O (containing 0.1% TFA)
- **Phase B:** MeCN (containing 0.1% TFA)
- **Condition H:** 60% phase B (0–15 min)
60% to 100% phase B (15–16 min)
100% phase B (16–25 min)
- **Condition I:** 35% phase B (0–15 min)
35% to 100% phase B (15–16 min)
100% phase B (16–25 min)
- **Condition J:** 40% to 90% phase B (0–20 min)
90 % phase B (20–30 min)

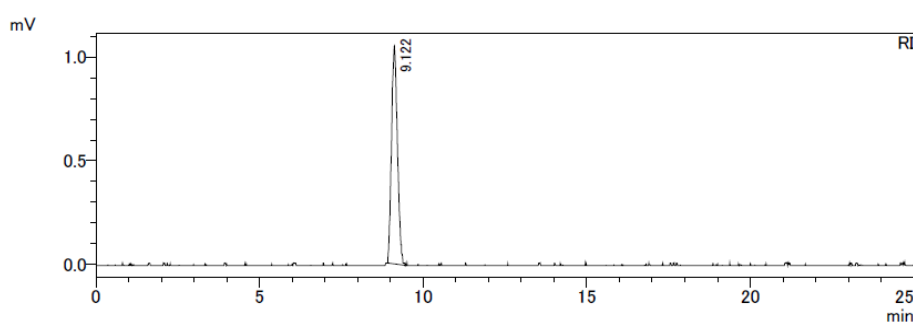
UV- and radio-HPLC chromatograms of standard samples and ^{125}I -labeled samples

UV- and radio-HPLC of **25** and [^{125}I]**25** [Analysis condition H]

UV detector

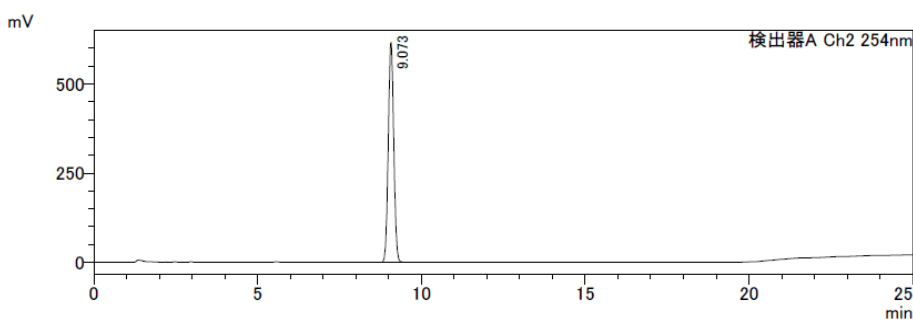


RI detector

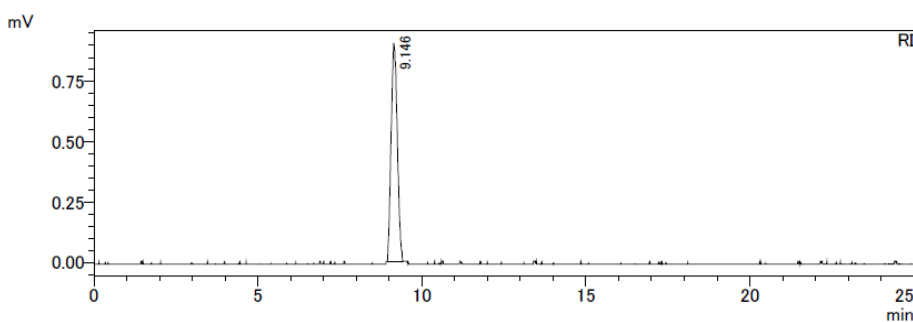


UV- and radio-HPLC of **26** and [^{125}I]**26** [Analysis condition H]

UV detector

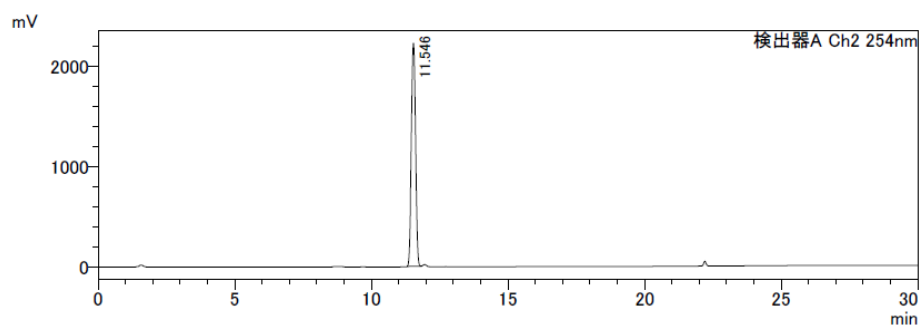


RI detector

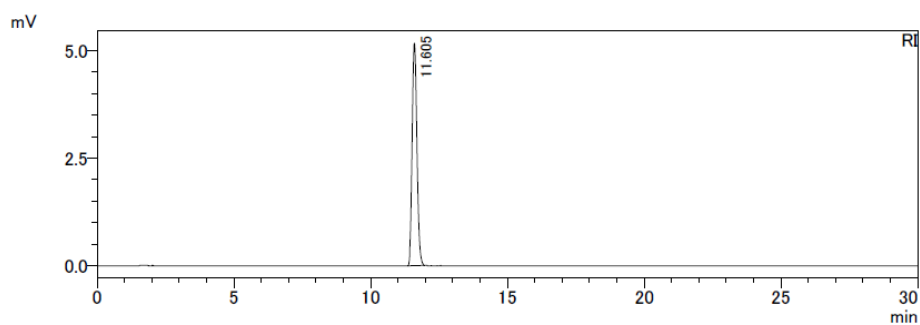


UV- and radio-HPLC of **30** and [¹²⁵I]**30** [Analysis condition J]

UV detector

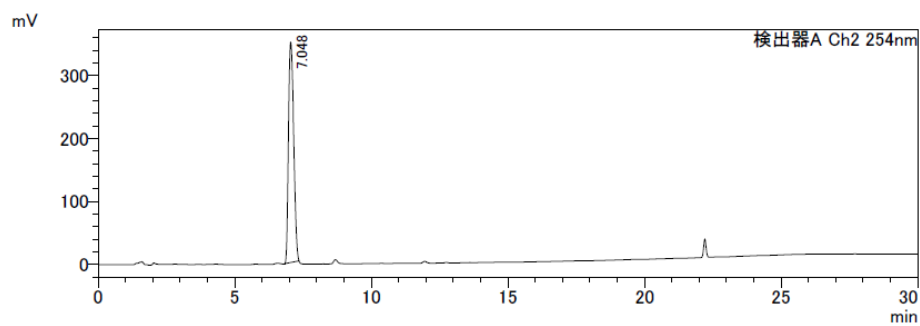


RI detector

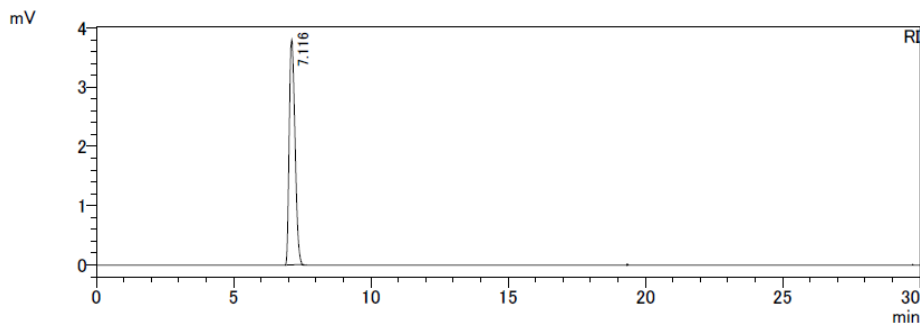


UV- and radio-HPLC of **31** and [¹²⁵I]**31** [Analysis condition J]

UV detector

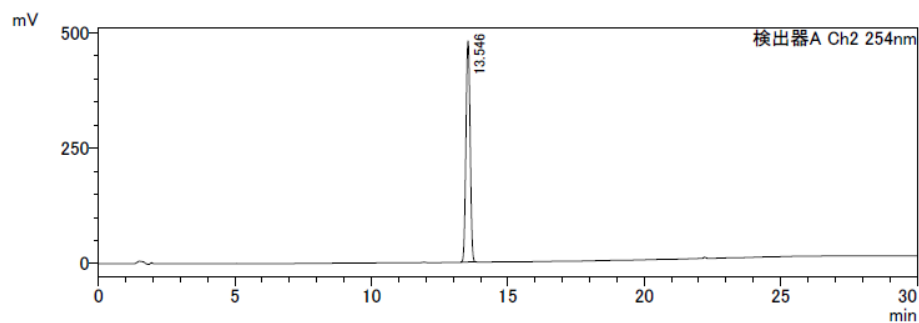


RI detector

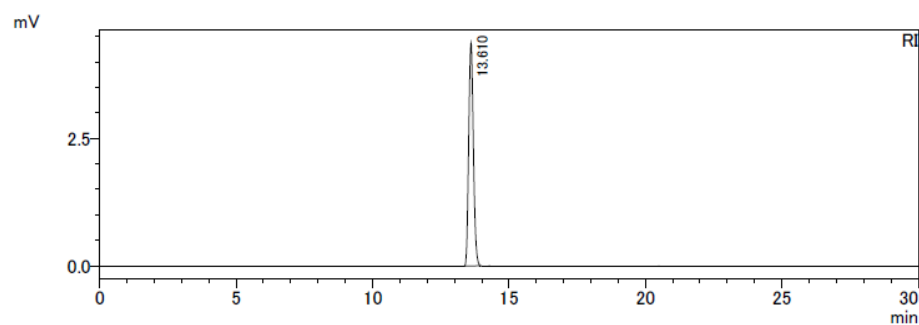


UV- and radio-HPLC of **32** and [¹²⁵I]**32** [Analysis condition J]

UV detector

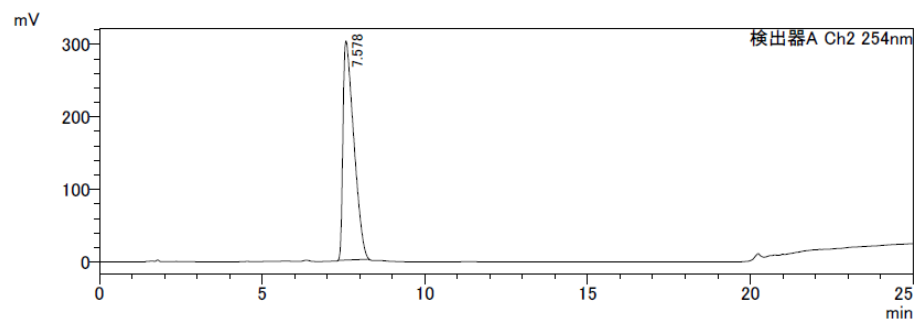


RI detector

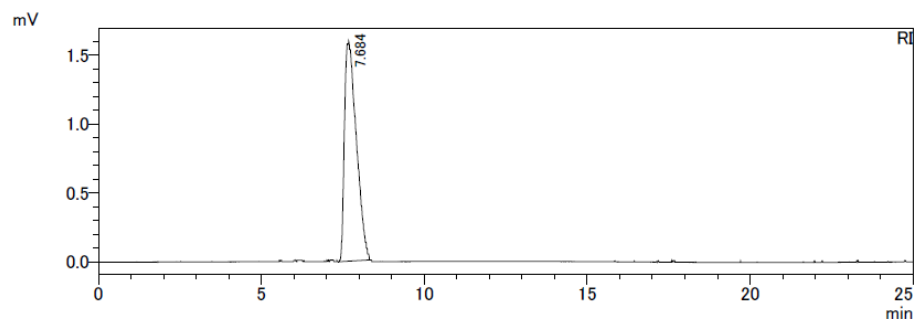


UV- and radio-HPLC of **35** and [¹²⁵I]**35** [Analysis condition I]

UV detector

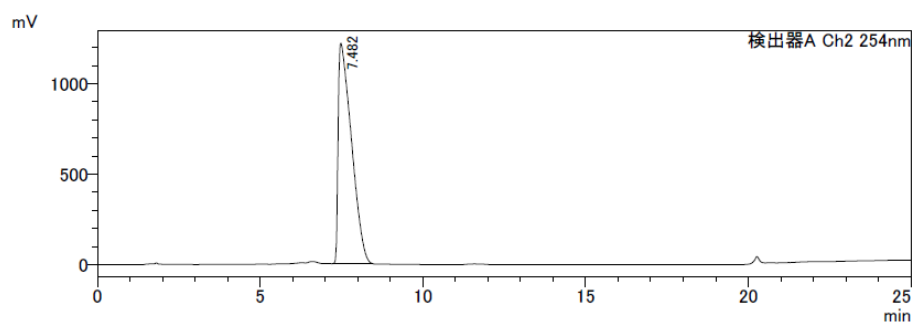


RI detector

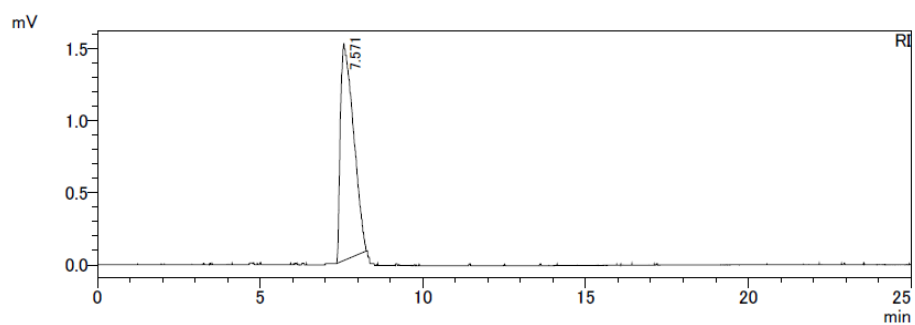


UV- and radio-HPLC of **36** and [¹²⁵I]**36** [Analysis condition I]

UV detector



RI detector

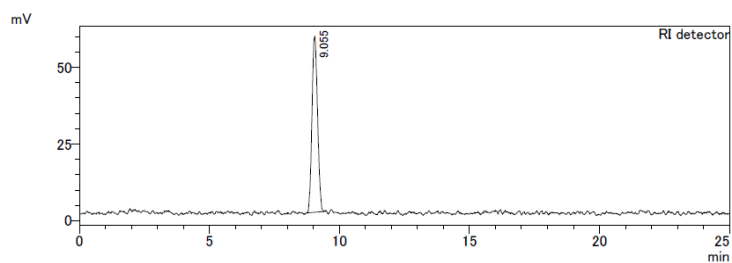
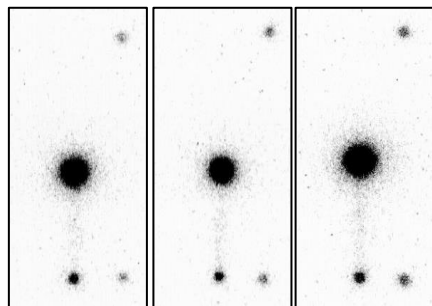


Solvent effect on copper-mediated radioiododeboronation

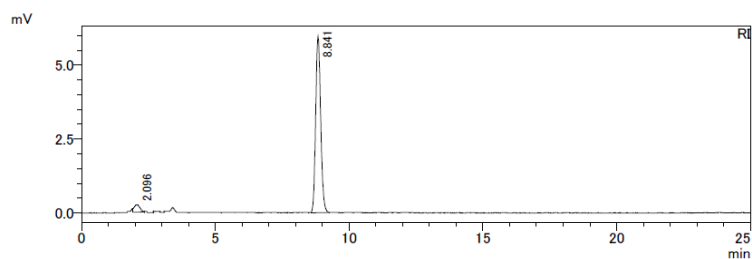
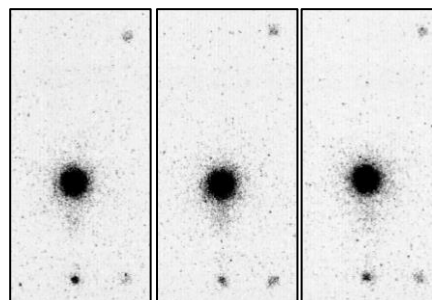
Reaction condition:

Boronic precursor: **23** (100 nmol), copper catalyst: $\text{Cu}(\text{py})_4(\text{OTf})_2$ (5 nmol), temp.: 25°C, time: 10 min.

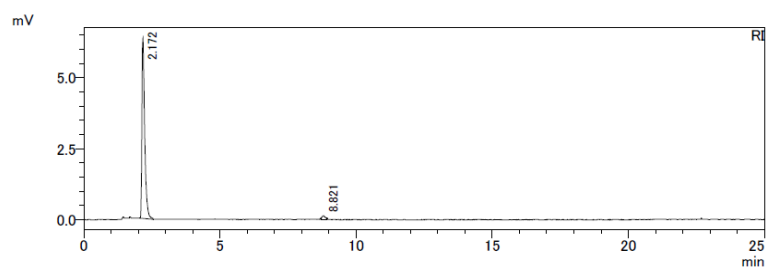
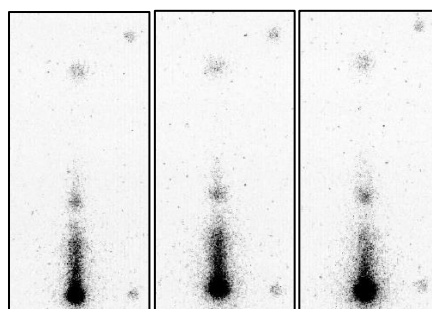
Solvent: MeOH



Solvent: EtOH

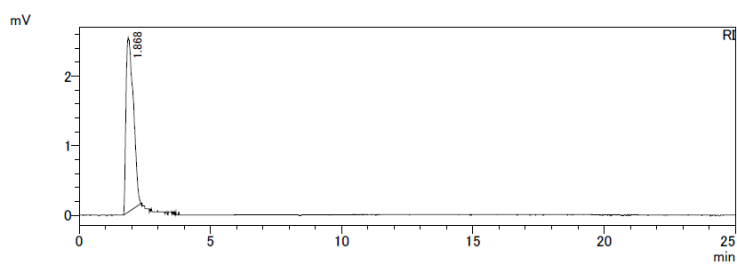
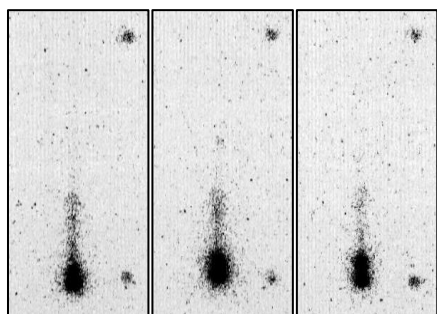


Solvent: MeCN

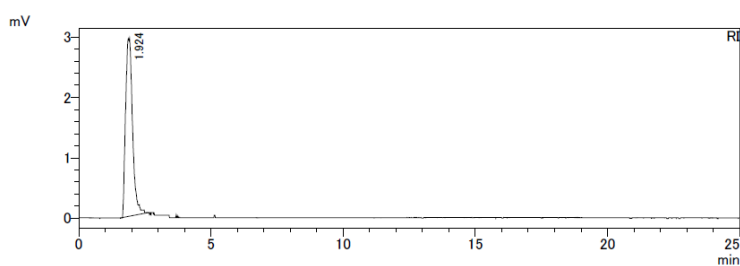
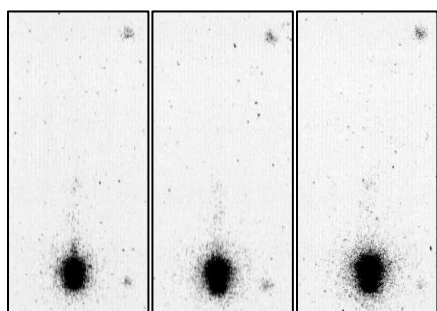


Developing solvent: hexane : CHCl_3 = 6:4

Solvent: DMF



Solvent: DMSO

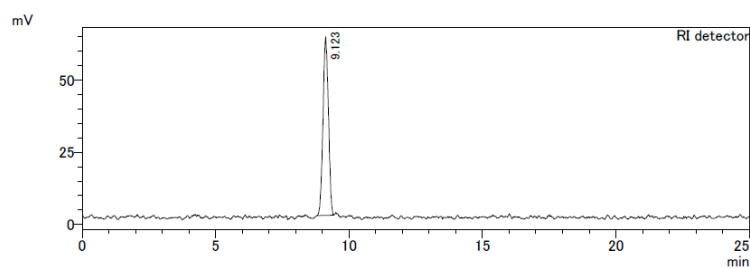
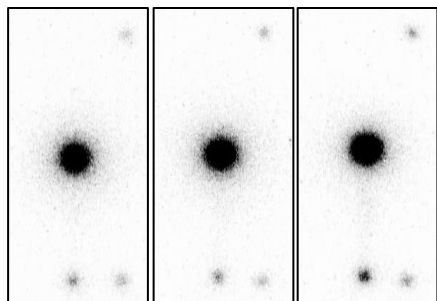


Developing solvent: hexane : CHCl_3 = 6:4

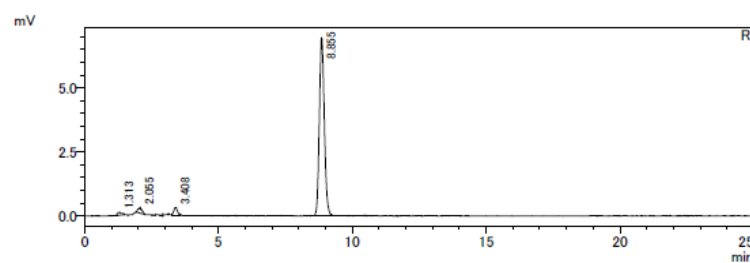
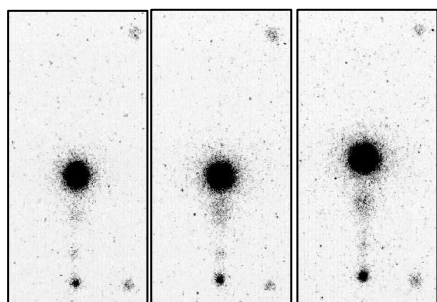
Reaction condition:

Boronic precursor: **24** (100 nmol), copper catalyst: $\text{Cu}(\text{py})_4(\text{OTf})_2$ (5 nmol), temp.: 25°C, time: 10 min.

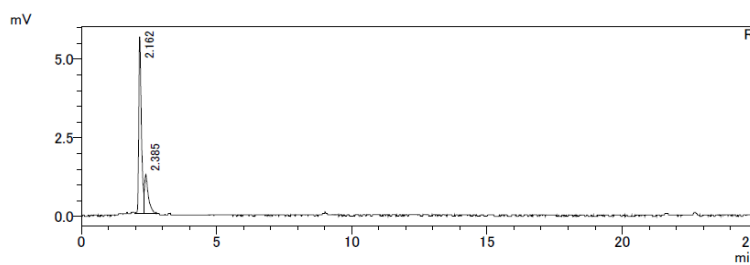
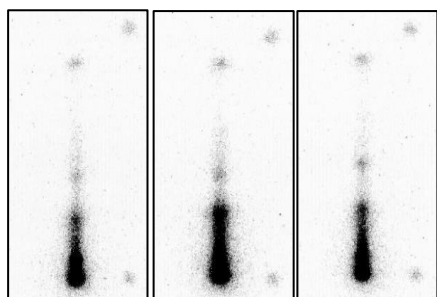
Solvent: MeOH



Solvent: EtOH

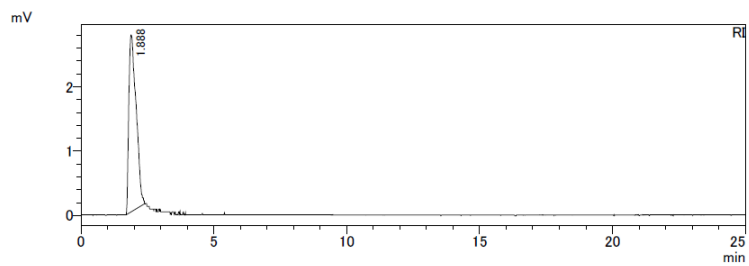
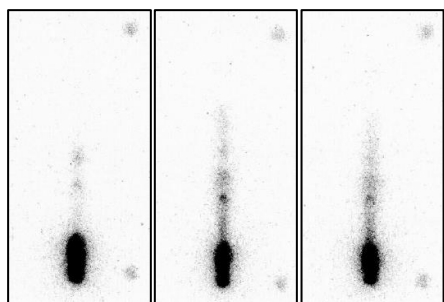


Solvent: MeCN

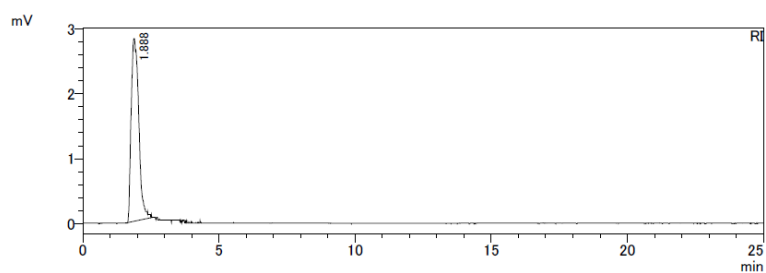
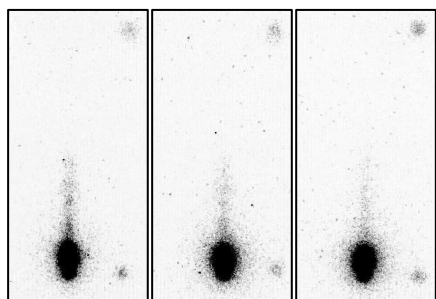


Developing solvent: hexane : CHCl_3 = 1:1

Solvent: DMF



Solvent: DMSO



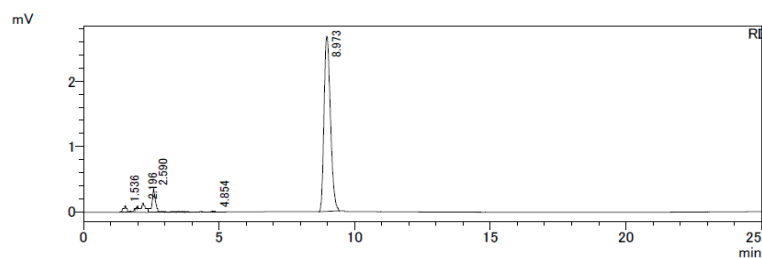
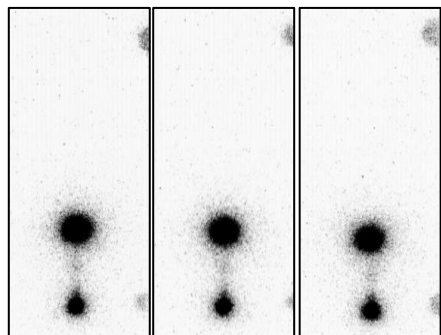
Developing solvent: hexane : CHCl_3 = 1:1

Effect of MeOH and H₂O on the labeling efficiency

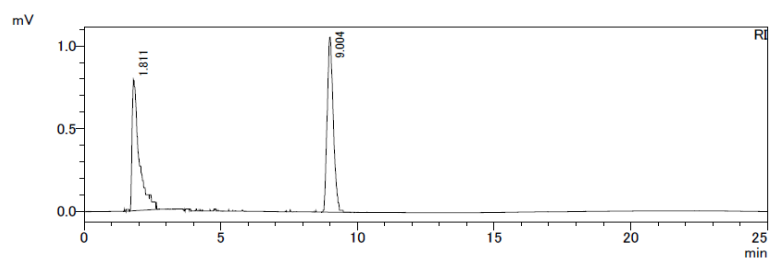
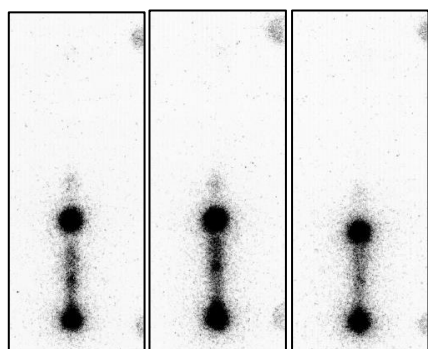
Reaction condition:

Boronic precursor: **23** (100 nmol), copper catalyst: Cu(py)₄(OTf)₂ (5 nmol), temp.: 25°C, time: 10 min.

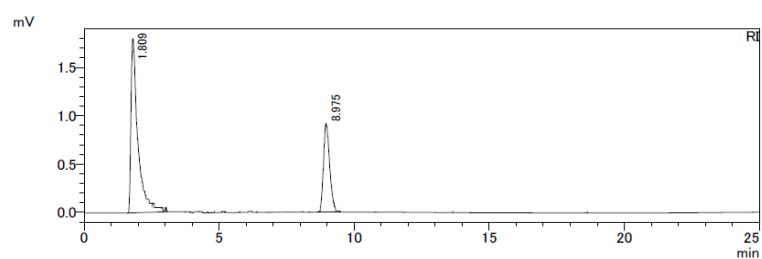
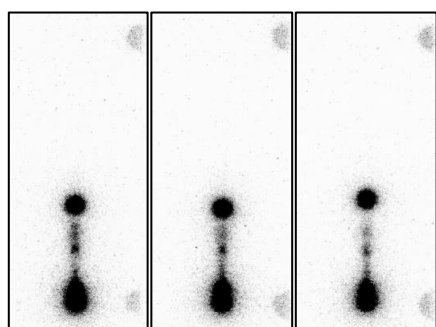
Solvent: 50% v/v MeCN/MeOH



Solvent: 50% v/v DMF/MeOH

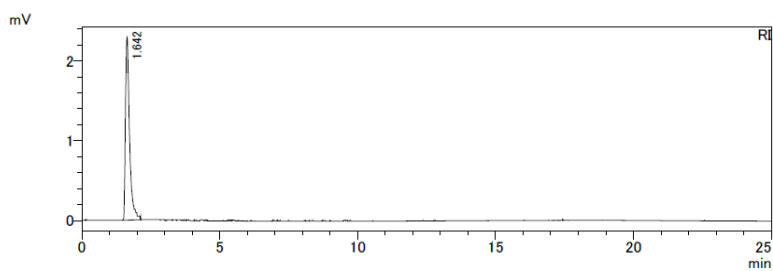
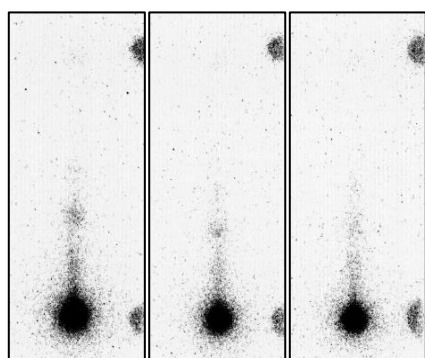


Solvent: 50% v/v DMSO/MeOH

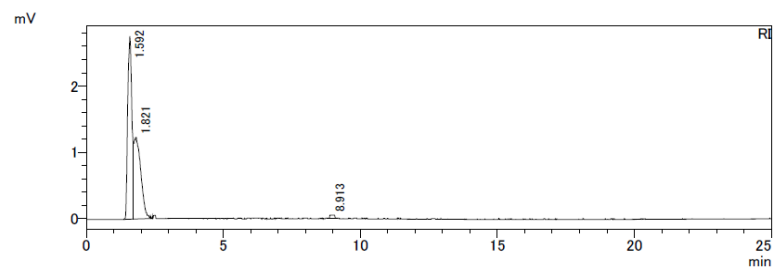
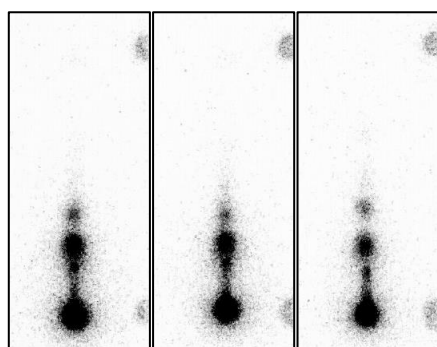


Developing solvent: hexane : CHCl₃ = 6:4

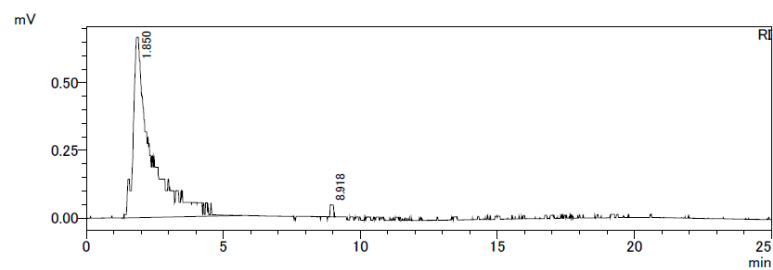
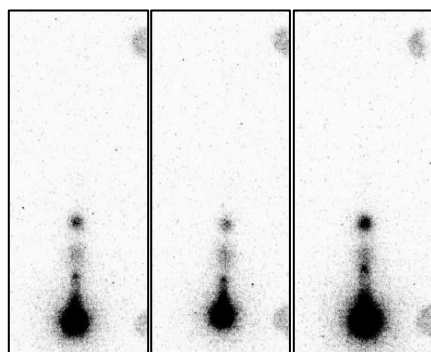
Solvent: 50% v/v MeCN/H₂O



Solvent: 50% v/v DMF/ H₂O



Solvent: 50% v/v DMSO/ H₂O



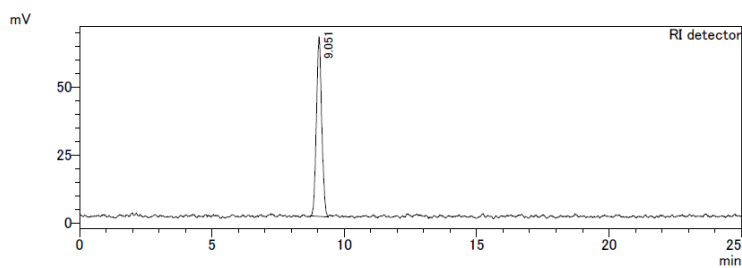
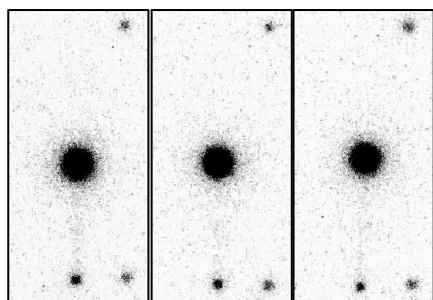
Developing solvent: hexane : CHCl₃ = 6:4

Effect of H₂O content of MeOH solvent on the labeling efficiency

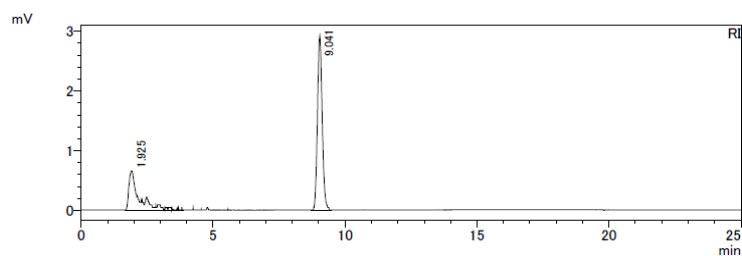
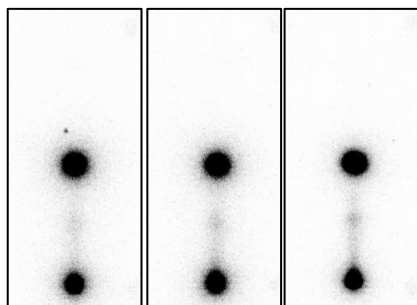
Reaction condition:

Boronic precursor: **23** (100 nmol), copper catalyst: Cu(py)₄(OTf)₂ (10 nmol), temp.: 25°C, time: 10 min.

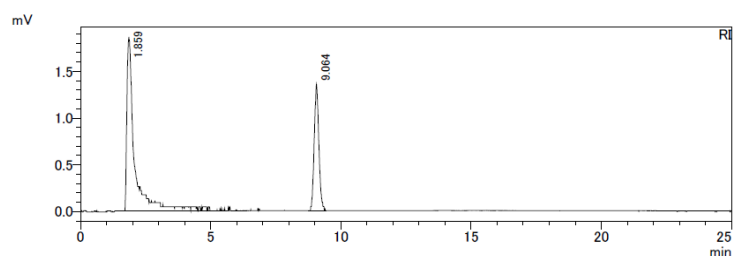
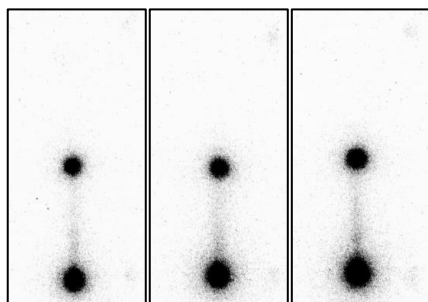
Solvent: 0% v/v H₂O/MeOH



Solvent: 20% v/v H₂O/MeOH



Solvent: 50% v/v H₂O/MeOH

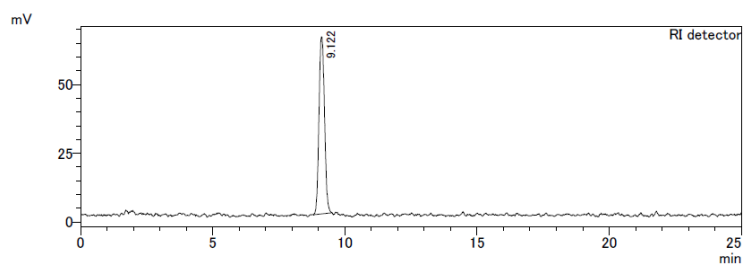
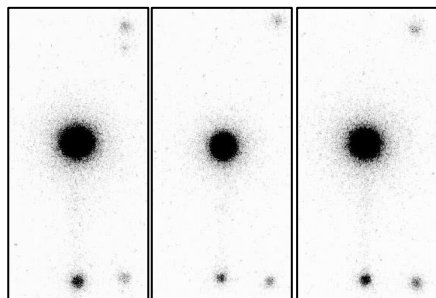


Developing solvent: hexane : CHCl₃ = 6:4

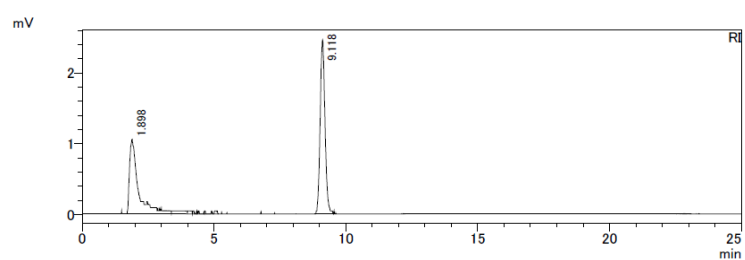
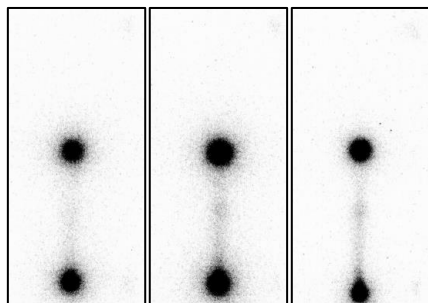
Reaction condition:

Boronic precursor: **24** (100 nmol), copper catalyst: $\text{Cu}(\text{py})_4(\text{OTf})_2$ (10 nmol), temp.: 25°C, time: 10 min.

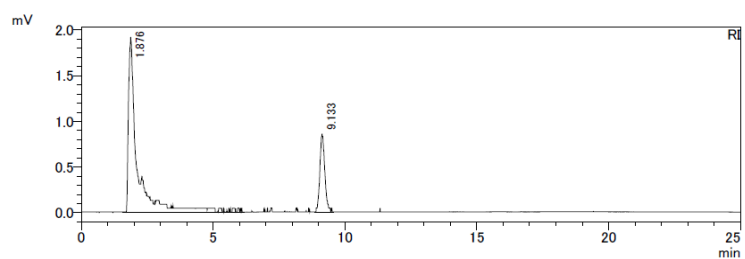
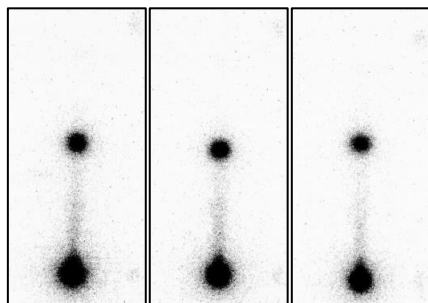
Solvent: 0% v/v H₂O/MeOH



Solvent: 20% v/v H₂O/MeOH



Solvent: 50% v/v H₂O/MeOH

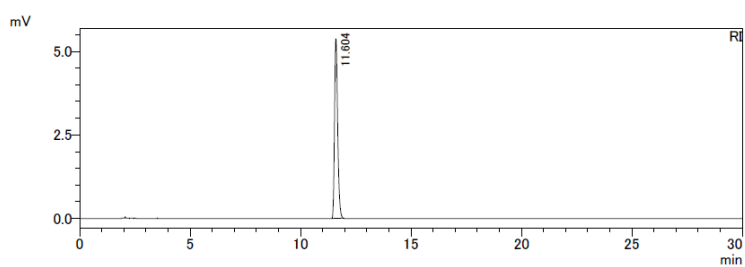
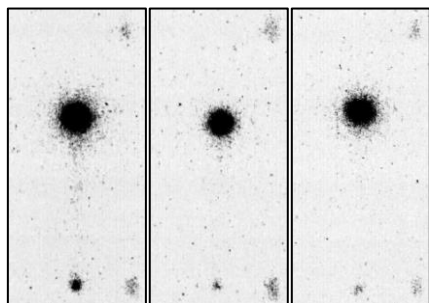


Developing solvent: hexane : CHCl_3 = 1:1

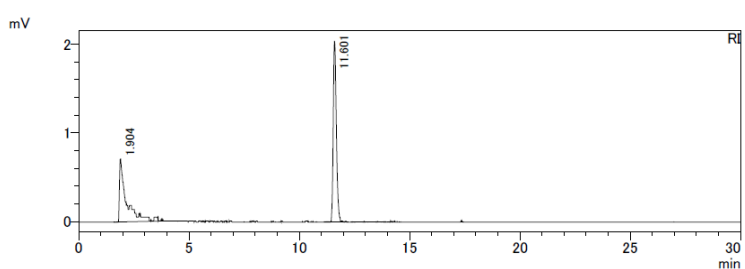
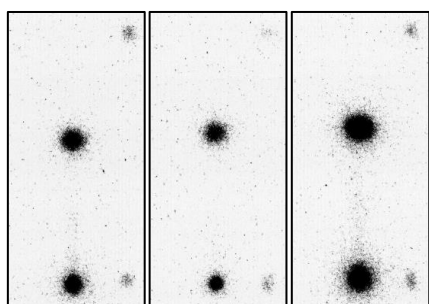
Reaction condition:

Boronic precursor: **27** (100 nmol), copper catalyst: $\text{Cu}(\text{py})_4(\text{OTf})_2$ (10 nmol), temp.: 25°C, time: 10 min.

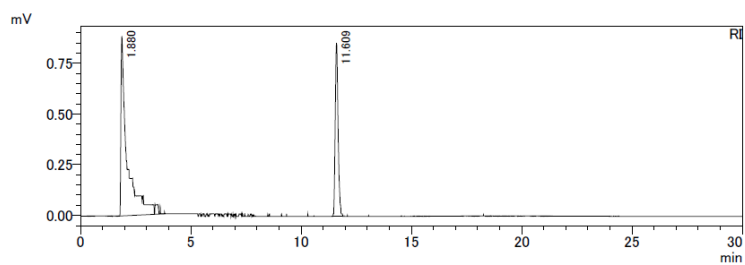
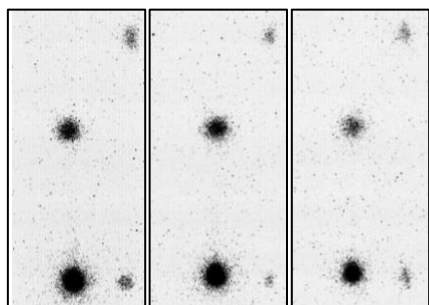
Solvent: 0% v/v H₂O/MeOH



Solvent: 20% v/v H₂O/MeOH



Solvent: 50% v/v H₂O/MeOH

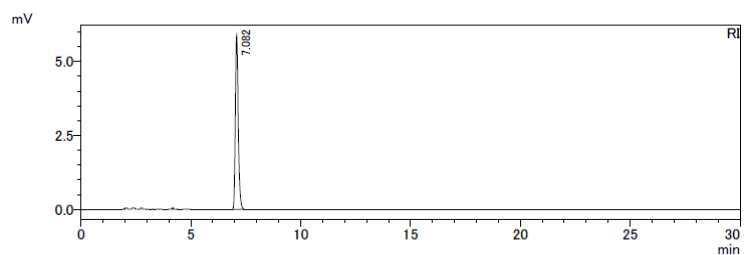
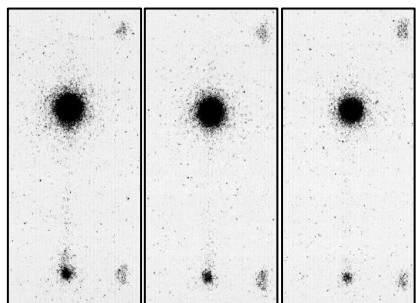


Developing solvent: hexane: CHCl_3 = 6:4

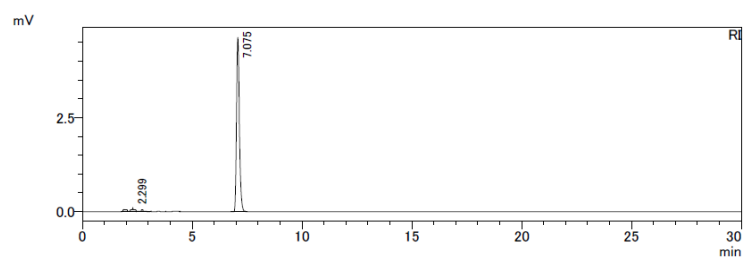
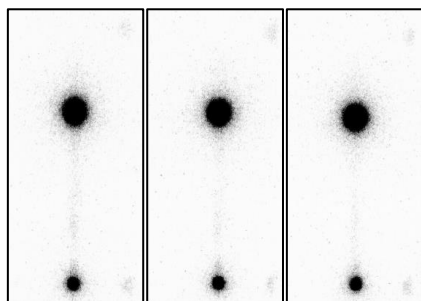
Reaction condition:

Boronic precursor: **28** (100 nmol), copper catalyst: Cu(py)₄(OTf)₂ (10 nmol), temp.: 25°C, time: 10 min.

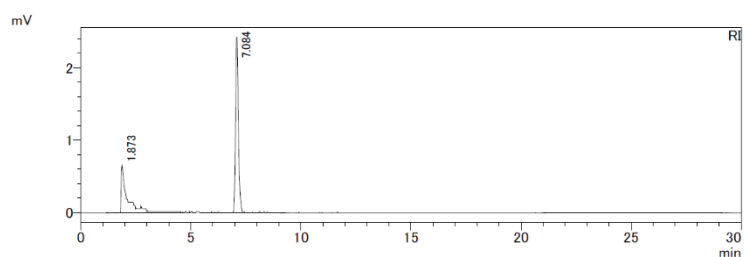
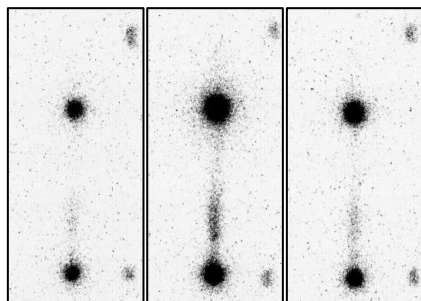
Solvent: 0% v/v H₂O/MeOH



Solvent: 20% v/v H₂O/MeOH



Solvent: 50% v/v H₂O/MeOH

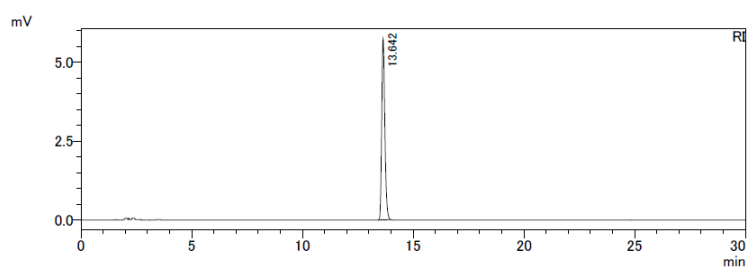
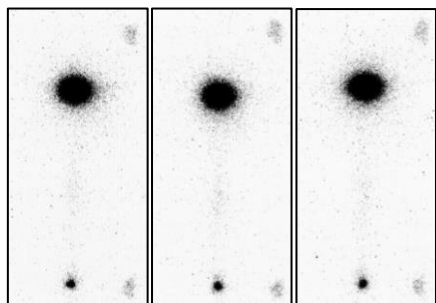


Developing solvent: CHCl₃ : EtOAc = 8:2

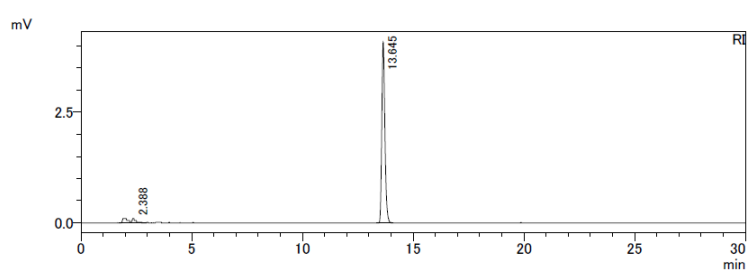
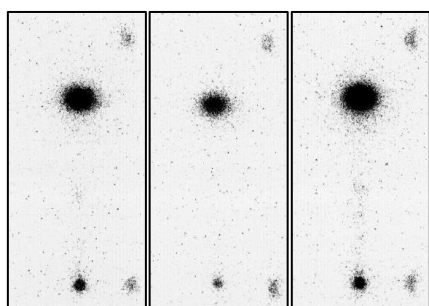
Reaction condition:

Boronic precursor: **29** (100 nmol), copper catalyst: $\text{Cu}(\text{py})_4(\text{OTf})_2$ (10 nmol), temp.: 25°C, time: 10 min.

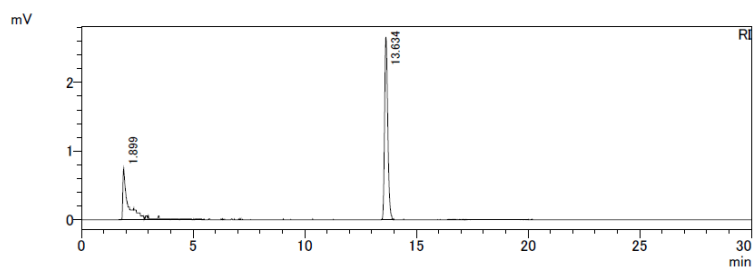
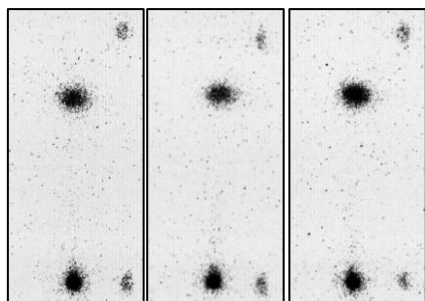
Solvent: 0% v/v $\text{H}_2\text{O}/\text{MeOH}$



Solvent: 20% v/v $\text{H}_2\text{O}/\text{MeOH}$



Solvent: 50% v/v $\text{H}_2\text{O}/\text{MeOH}$



Developing solvent: hexane : CHCl_3 = 1:1

Effect of copper catalyst amount on RCCs of [¹²⁵I]25 and [¹²⁵I]26

Table S2: Effect of copper catalyst (0–40 nmol) on RCCs of [¹²⁵I]25 and [¹²⁵I]26

Entry	Precursor	Cu(py) ₄ (OTf) ₂ (nmol)	RCC (%)*
1		0	-
2		5	20.1 ± 1.5
3	23	10	57.1 ± 3.8
4		20	83.1 ± 2.1
5		40	87.7 ± 2.8
6		0	-
7		5	14.5 ± 0.6
8	24	10	45.1 ± 2.4
9		20	72.7 ± 3.6
10		40	84.6 ± 4.5

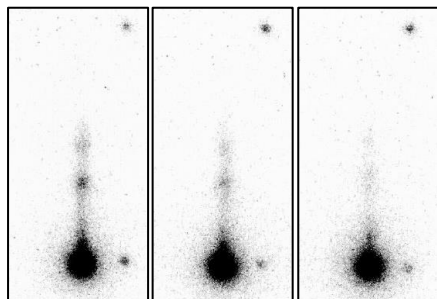
*Data are presented as the mean ± standard deviation (N = 3).

Reaction condition: precursor (**23** or **24**; 100 nmol), 20% v/v H₂O/MeOH (100 μL), 25°C/10min.

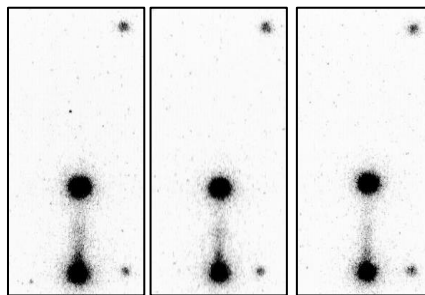
Reaction condition:

Boronic precursor: **23** (100 nmol), reaction solvent: 20% v/v H₂O/MeOH, temp.: 25°C, time: 10 min.

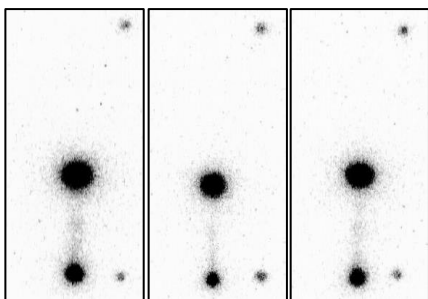
Copper catalyst: Cu(py)₄(OTf)₂ (0 nmol)



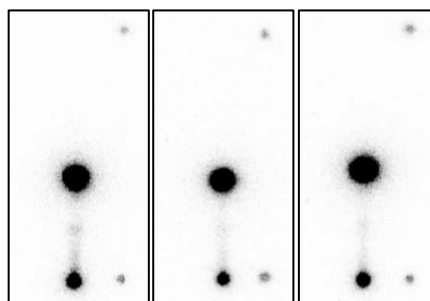
Copper catalyst: Cu(py)₄(OTf)₂ (5 nmol)



Copper catalyst: Cu(py)₄(OTf)₂ (20 nmol)



Copper catalyst: Cu(py)₄(OTf)₂ (40 nmol)

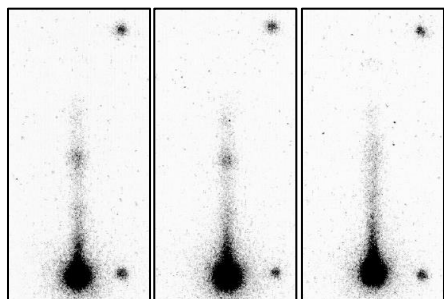


Copper catalyst: Cu(py)₄(OTf)₂ (10 nmol) [→ Page 104]

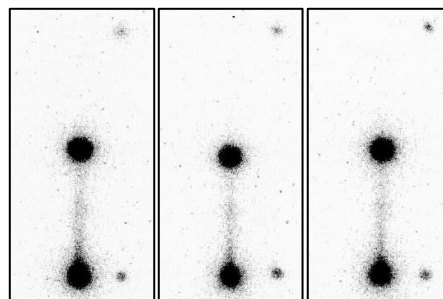
Reaction condition:

Boronic precursor: **24** (100 nmol), reaction solvent: 20% v/v H₂O/MeOH, temp.: 25°C, time: 10 min.

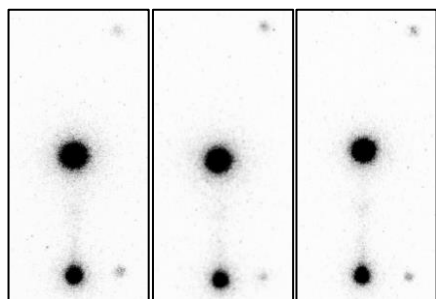
Copper catalyst: Cu(py)₄(OTf)₂ (0 nmol)



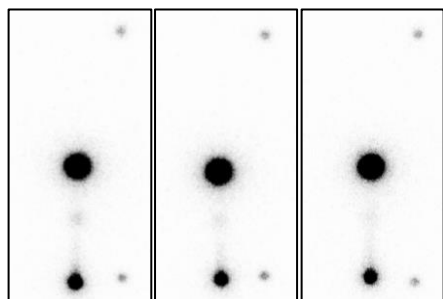
Copper catalyst: Cu(py)₄(OTf)₂ (5 nmol)



Copper catalyst: Cu(py)₄(OTf)₂ (20 nmol)



Copper catalyst: Cu(py)₄(OTf)₂ (40 nmol)



Copper catalyst: Cu(py)₄(OTf)₂ (10 nmol) [→ Page 105]

Effect of labeling reaction time on RCCs of [¹²⁵I]23 and [¹²⁵I]24

Table S3: Effect of labeling reaction time (0–60 min) on RCCs of [¹²⁵I]25 and [¹²⁵I]26

Entry	Precursor	Cu(py) ₄ (OTf) ₂ (nmol)	Time (min)	RCC (%)*
1	23	10	10	57.1 ± 3.8
2			30	89.7 ± 1.0
3			60	93.6 ± 0.8
4		20	10	83.1 ± 2.1
5			30	94.9 ± 0.3
6			60	96.4 ± 0.1
7	24	10	10	45.1 ± 2.4
8			30	78.2 ± 1.6
9			60	93.8 ± 0.3
10		20	10	72.7 ± 3.6
11			30	91.6 ± 1.4
12			60	94.0 ± 0.4

*Data are presented as the mean ± standard deviation (N = 3).

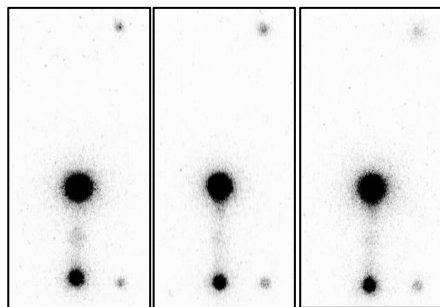
Reaction condition: precursor (**23** or **24**; 100 nmol), 20% v/v H₂O/MeOH (100 μL), 25°C.

Reaction condition:

Boronic precursor: **23** (100 nmol), reaction solvent: 20% v/v H₂O/MeOH, temp.: 25°C

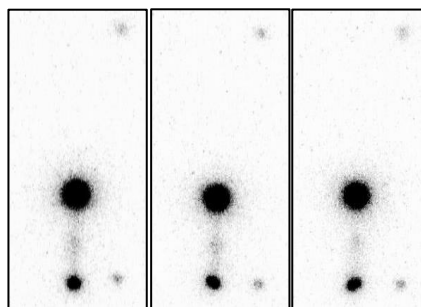
Copper catalyst: Cu(py)₄(OTf)₂ (10 nmol)

Reaction time: 30 min



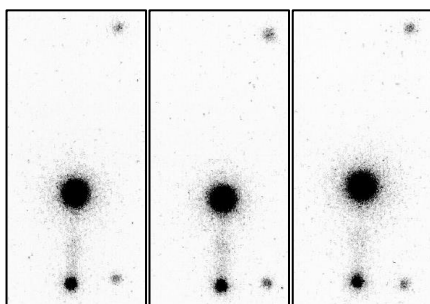
Copper catalyst: Cu(py)₄(OTf)₂ (10 nmol)

Reaction time: 60 min



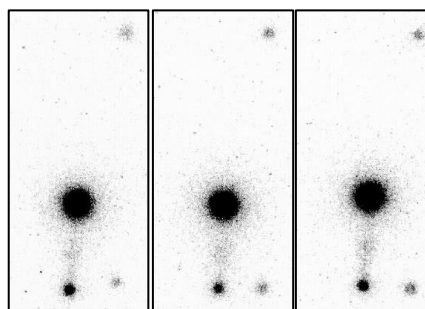
Copper catalyst: Cu(py)₄(OTf)₂ (20 nmol)

Reaction time: 30 min



Copper catalyst: Cu(py)₄(OTf)₂ (20 nmol)

Reaction time: 60 min



Copper catalyst: Cu(py)₄(OTf)₂ (10 nmol), Reaction time: 10 min [→ Page104]

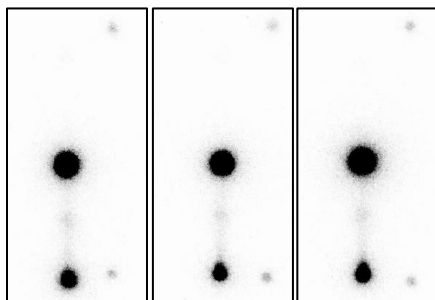
Copper catalyst: Cu(py)₄(OTf)₂ (20 nmol), Reaction time: 10 min [→ Page 110]

Reaction condition:

Boronic precursor: **24** (100 nmol), reaction solvent: 20% v/v H₂O/MeOH, temp.: 25°C

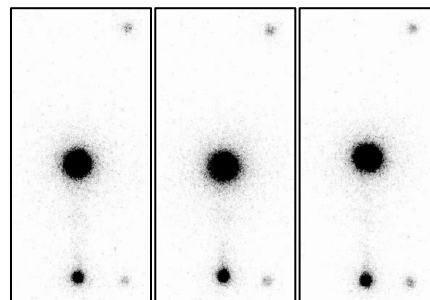
Copper catalyst: Cu(py)₄(OTf)₂ (10 nmol)

Reaction time: 30 min



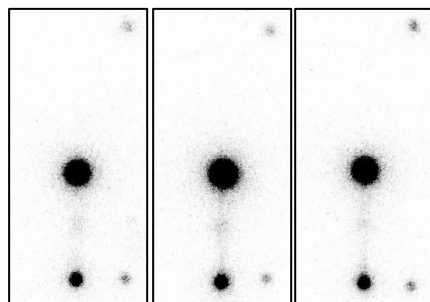
Copper catalyst: Cu(py)₄(OTf)₂ (10 nmol)

Reaction time: 60 min



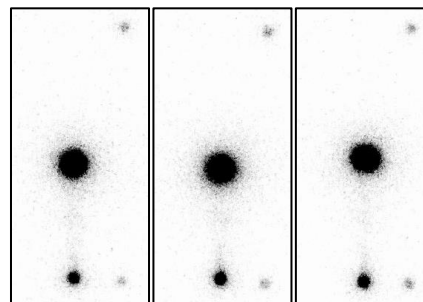
Copper catalyst: Cu(py)₄(OTf)₂ (20 nmol)

Reaction time: 30 min



Copper catalyst: Cu(py)₄(OTf)₂ (20 nmol)

Reaction time: 60 min



Copper catalyst: Cu(py)₄(OTf)₂ (10 nmol), Reaction time: 10 min [→ Page 105]

Copper catalyst: Cu(py)₄(OTf)₂ (20 nmol), Reaction time: 10 min [→ Page 111]

Effect of copper catalyst on RCCs of [¹²⁵I]35 ([¹²⁵I]*m*-IBTA) and 36 ([¹²⁵I]*p*-IBTA)

Table S4: Radiosynthesis of [¹²⁵I]35 and 36 using a copper-mediated radioiodination in MeOH or 20% v/v MeOH/H₂O.

Entry	Precursor	Solvent	Cu(py) ₄ (OTf) ₂ (nmol)	RCC (%)*	
1	33	20%v/v MeOH/H ₂ O	0	0	
2			40	30.7 ± 1.0	
3			80	57.1 ± 1.9	
4			160	80.1 ± 1.8	
5			320	89.8 ± 3.9	
6		MeOH	0	0	
7			40	87.6 ± 2.7	
8			80	98.6 ± 1.3	
9			0	0	
10			40	11.3 ± 3.0	
11		34	20%v/v MeOH/H ₂ O	80	22.6 ± 0.9
12				160	30.4 ± 2.3
13				320	45.3 ± 1.0
14			MeOH	0	0
15				40	57.3 ± 11.7
16				80	86.7 ± 4.2
17				160	98.3 ± 1.7

*Data are presented as the mean ± standard deviation (N = 3).

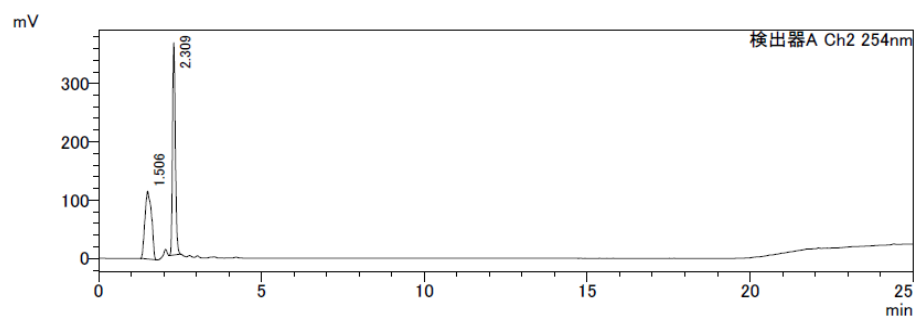
Reaction condition: precursor (**33** or **34**; 100 nmol), 25°C/10min.

Reaction condition:

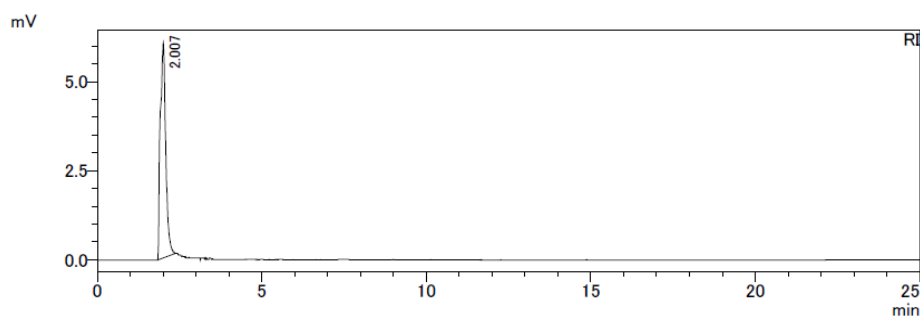
Boronic precursor: **33** (100 nmol), reaction solvent: MeOH, temp.: 25°C, time: 10 min.

Copper catalyst: Cu(py)₄(OTf)₂ (0 nmol)

UV detector

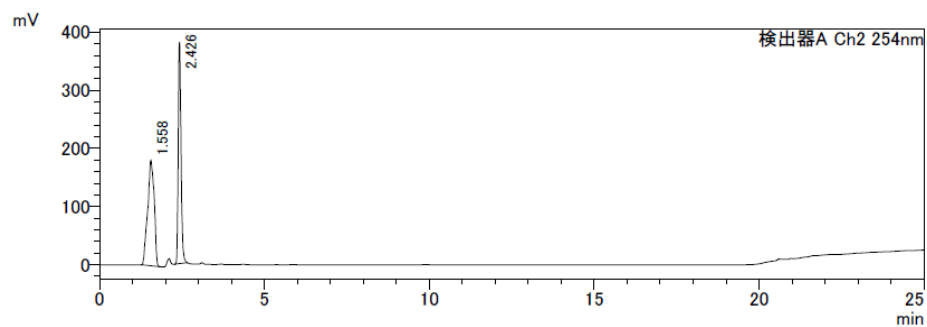


RI detector

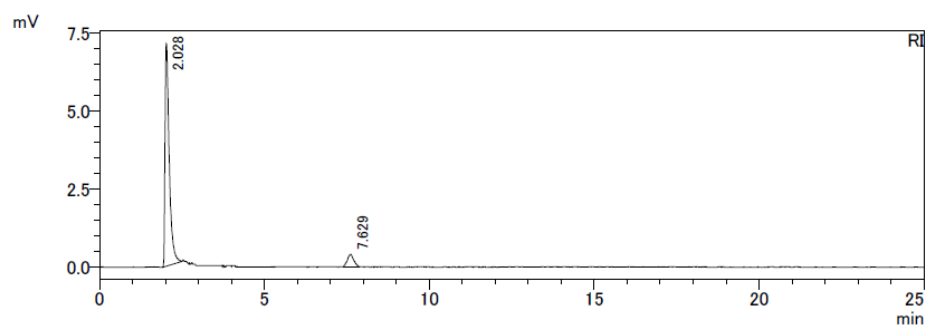


Copper catalyst: Cu(py)₄(OTf)₂ (5 nmol)

UV detector

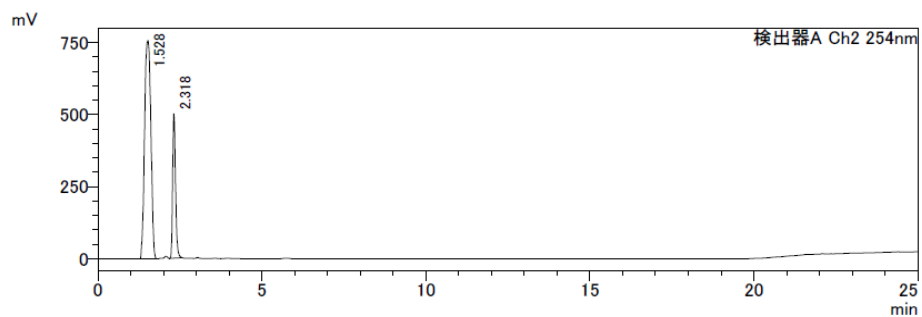


RI detector

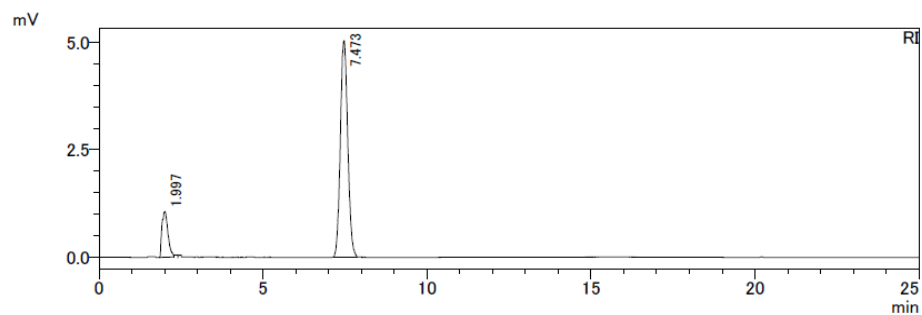


Copper catalyst: Cu(py)₄(OTf)₂ (40 nmol)

UV detector

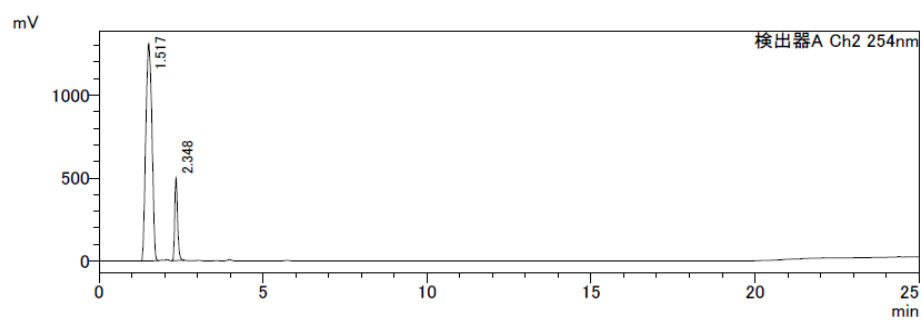


RI detector

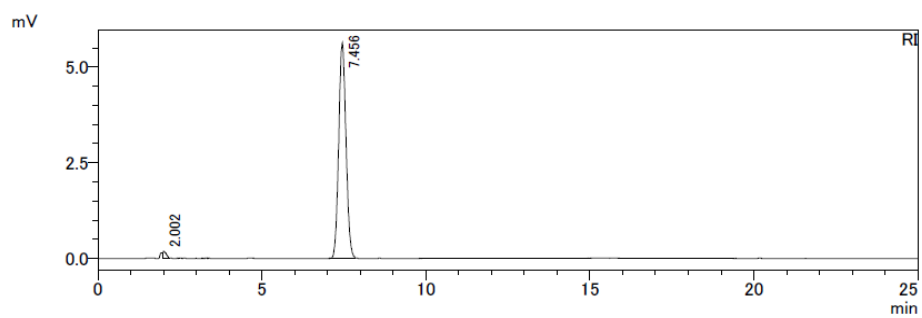


Copper catalyst: Cu(py)₄(OTf)₂ (80 nmol)

UV detector



RI detector

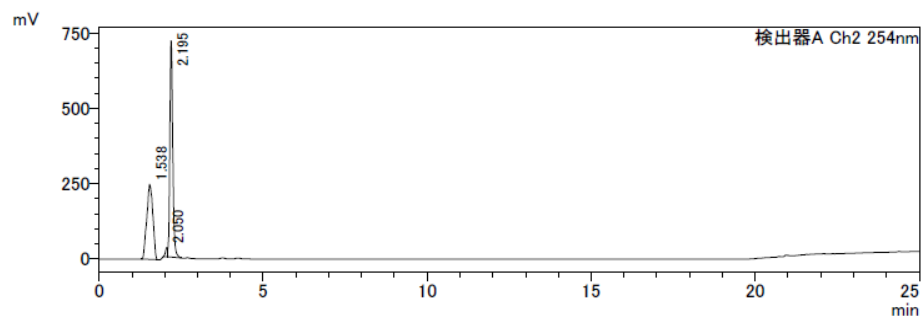


Reaction condition:

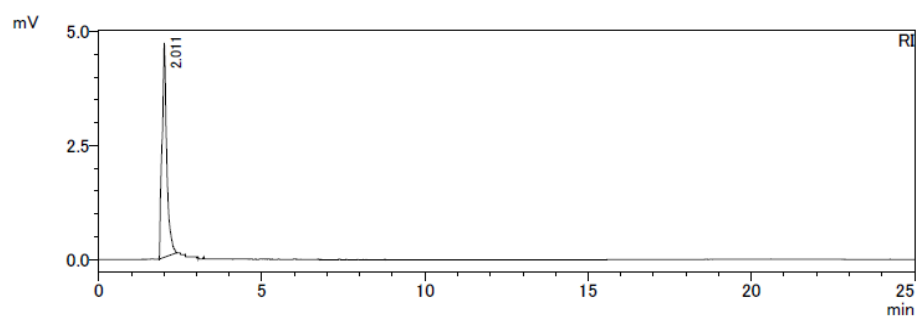
Boronic precursor: **34** (100 nmol), reaction solvent: MeOH, temp.: 25°C, time: 10 min.

Copper catalyst: Cu(py)₄(OTf)₂ (0 nmol)

UV detector

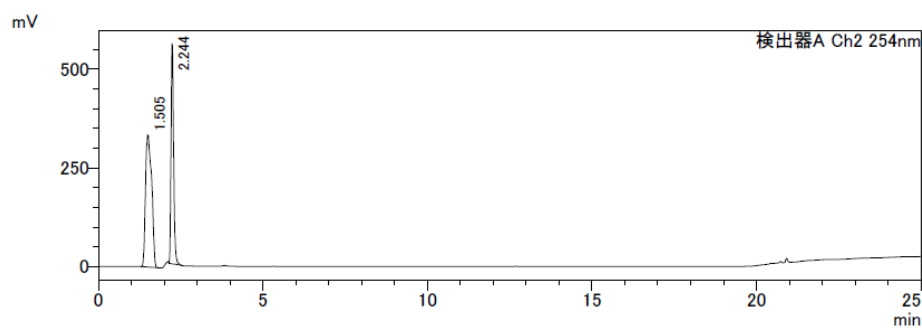


RI detector

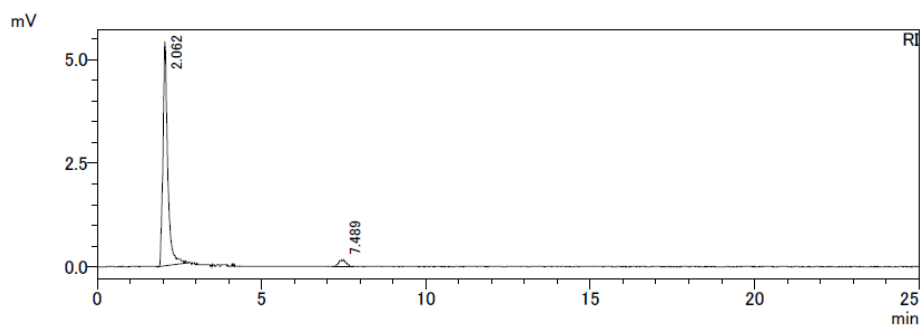


Copper catalyst: Cu(py)₄(OTf)₂ (5 nmol)

UV detector

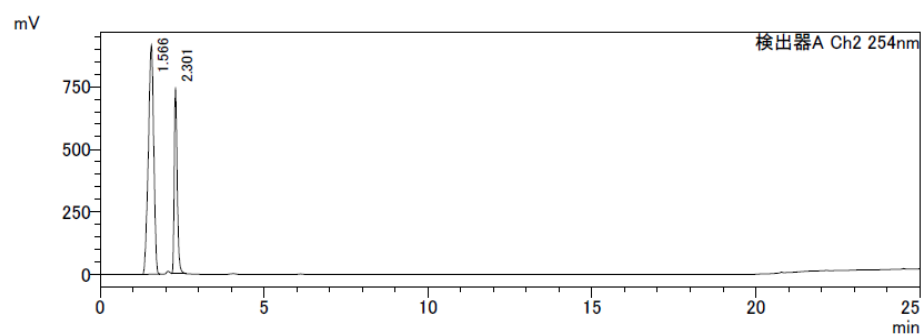


RI detector

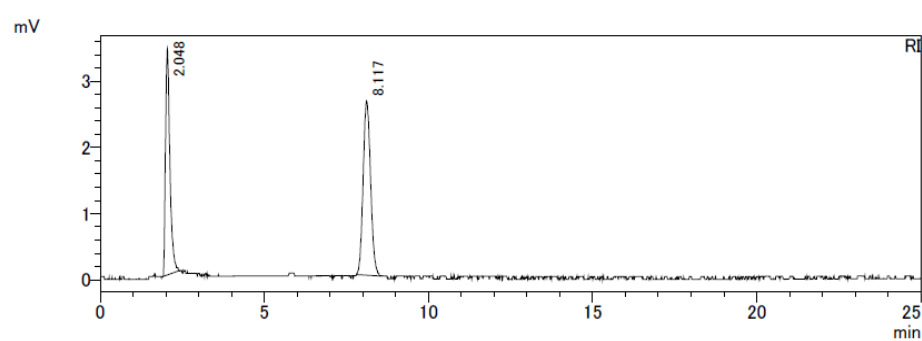


Copper catalyst: Cu(py)₄(OTf)₂ (40 nmol)

UV detector

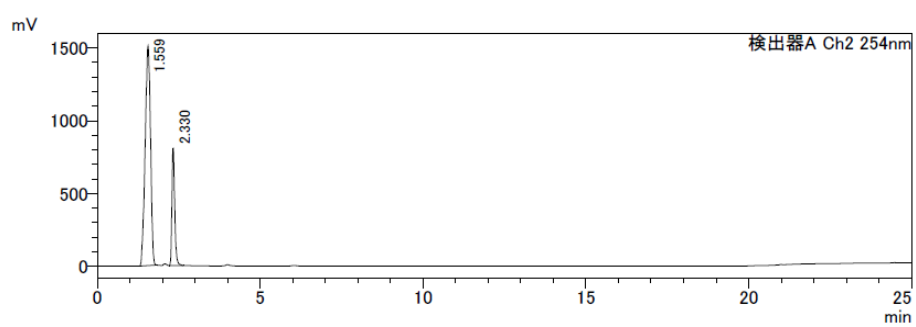


RI detector

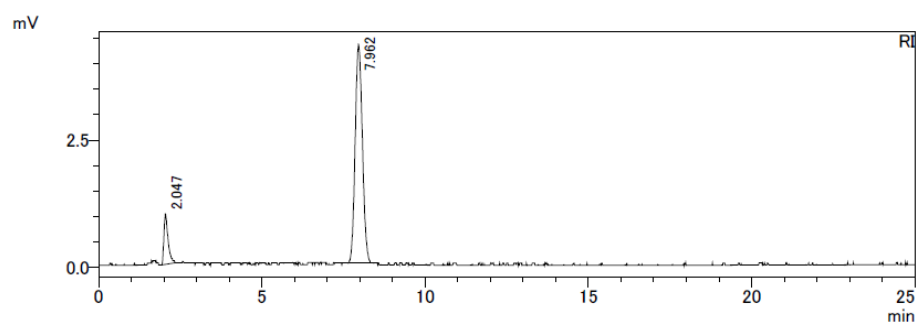


Copper catalyst: Cu(py)₄(OTf)₂ (80 nmol)

UV detector

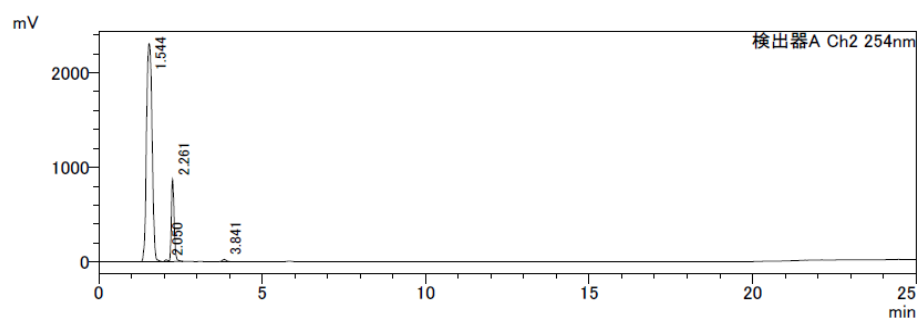


RI detector

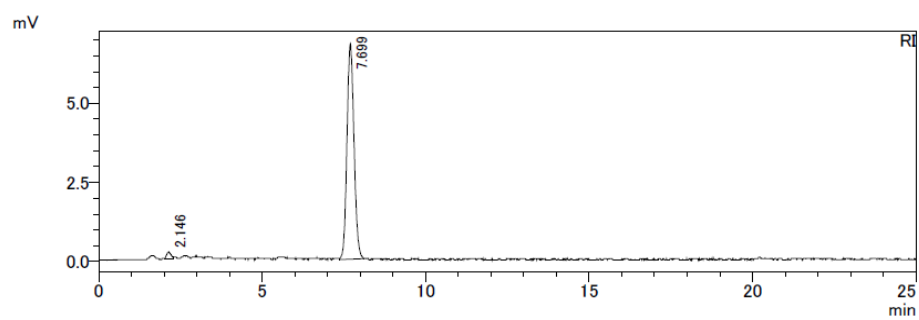


Copper catalyst: Cu(py)₄(OTf)₂ (160 nmol)

UV detector



RI detector

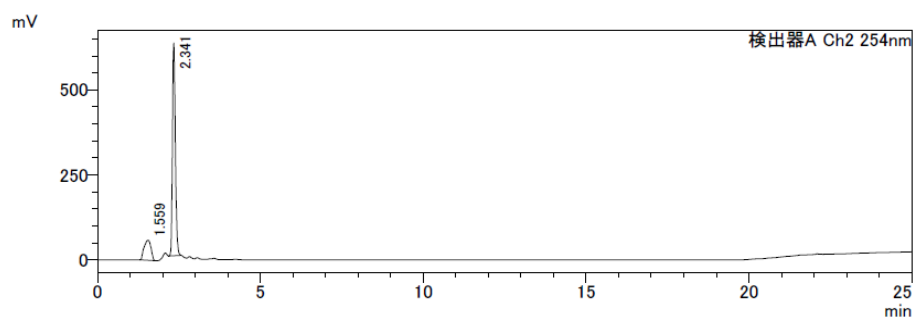


Reaction condition:

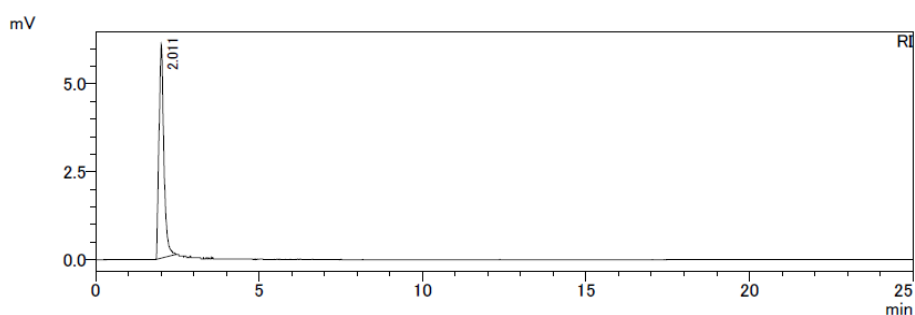
Boronic precursor: **33** (100 nmol), reaction solvent: 20% v/v H₂O/MeOH, temp.: 25°C, time: 10 min.

Copper catalyst: Cu(py)₄(OTf)₂ (0 nmol)

UV detector

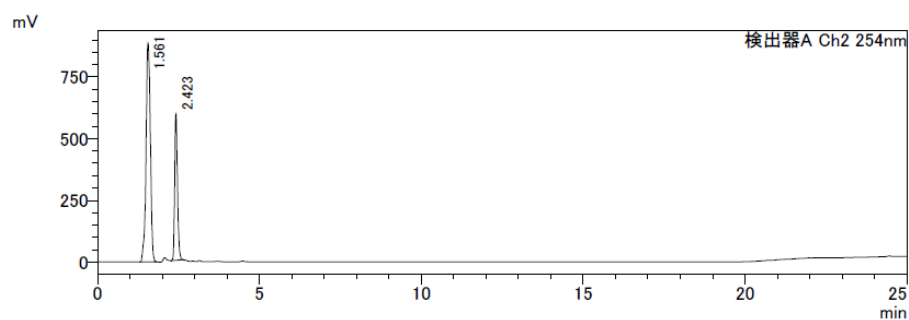


RI detector

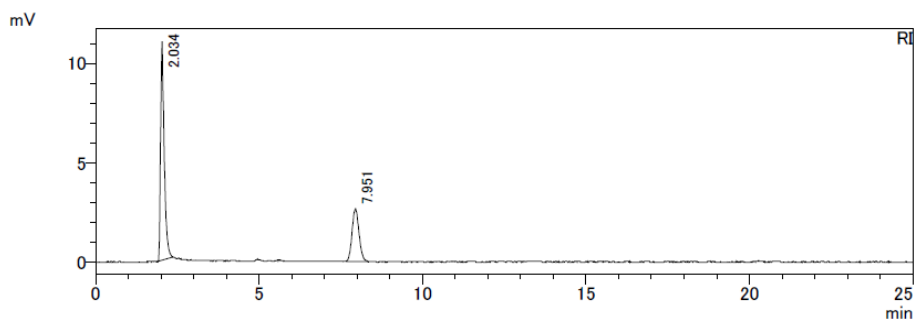


Copper catalyst: Cu(py)₄(OTf)₂ (40 nmol)

UV detector

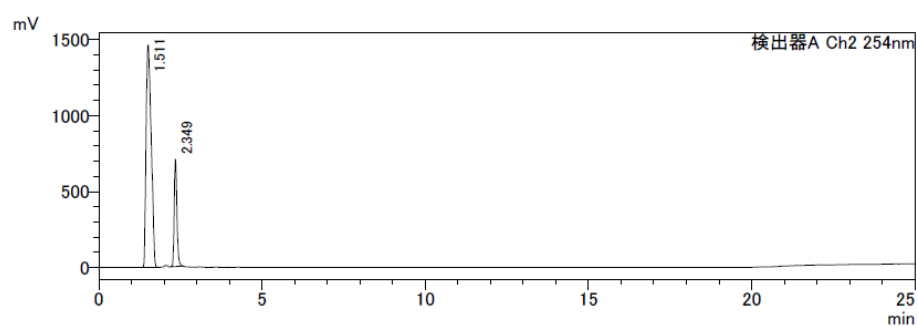


RI detector

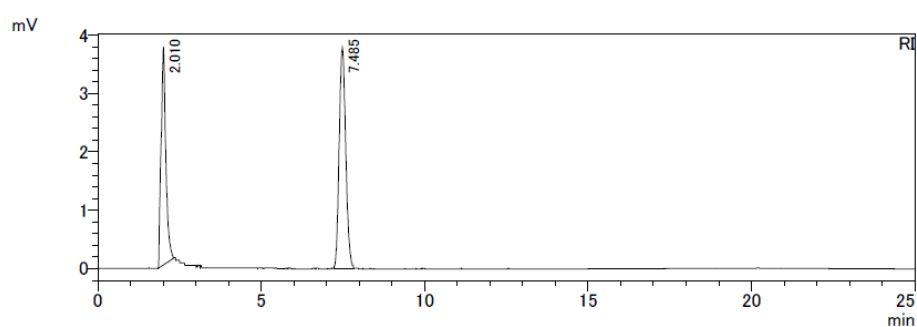


Copper catalyst: Cu(py)₄(OTf)₂ (80 nmol)

UV detector

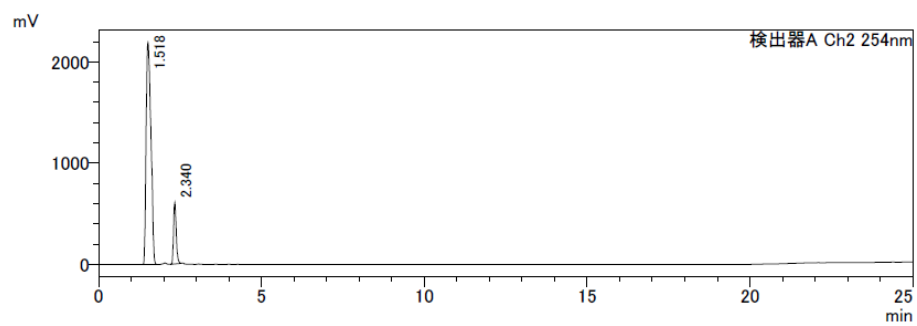


RI detector

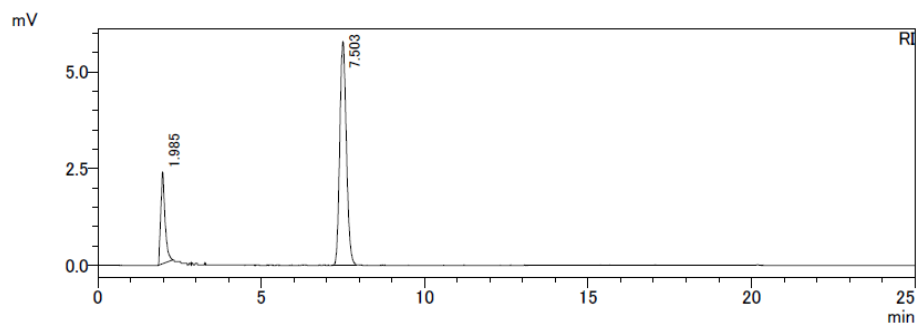


Copper catalyst: Cu(py)₄(OTf)₂ (160 nmol)

UV detector

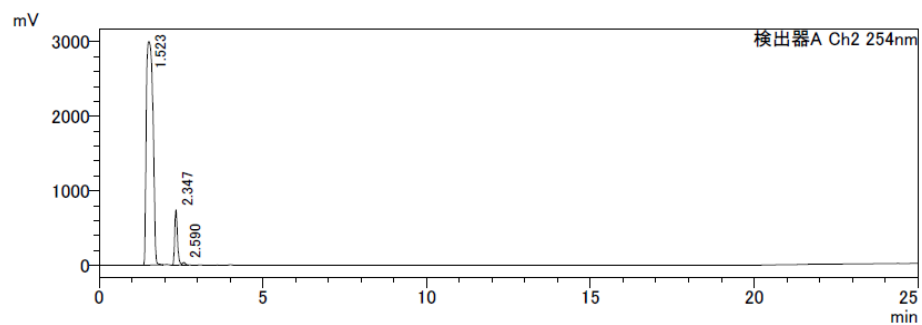


RI detector

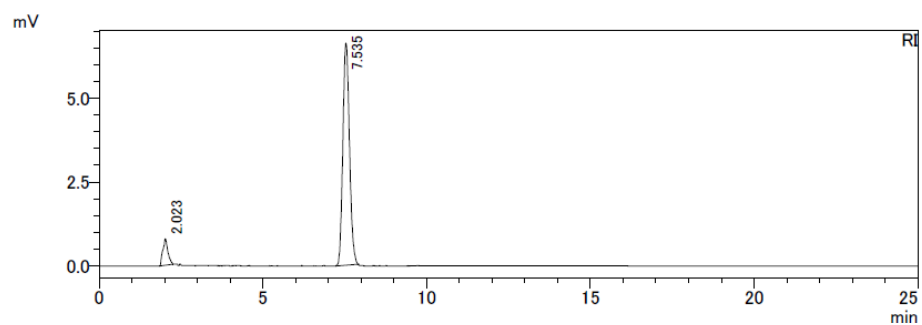


Copper catalyst: Cu(py)₄(OTf)₂ (320 nmol)

UV detector



RI detector

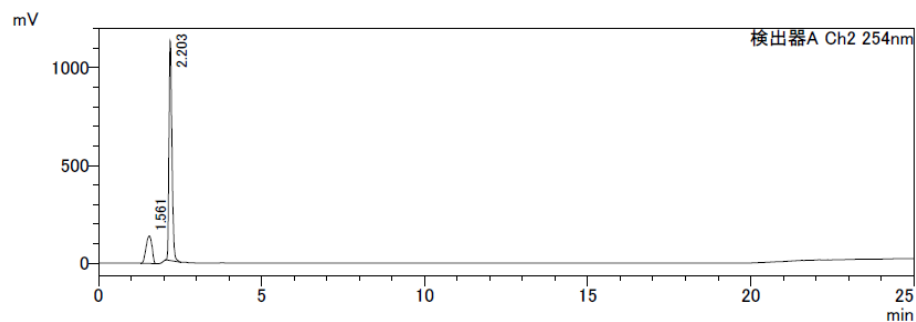


Reaction condition:

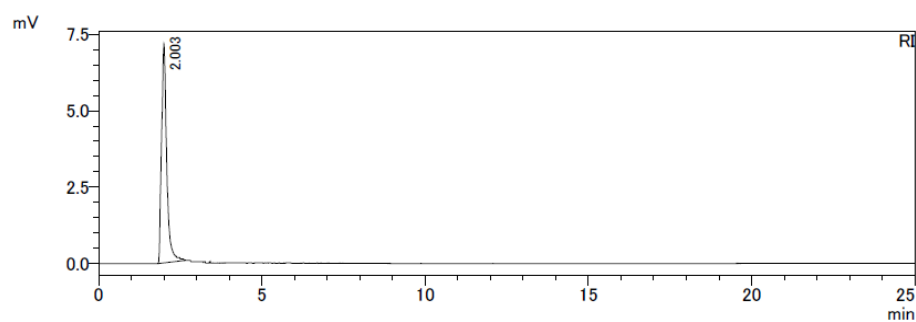
Boronic precursor: **34** (100 nmol), reaction solvent: 20% v/v H₂O/MeOH, temp.: 25°C, time: 10 min.

Copper catalyst: Cu(py)₄(OTf)₂ (0 nmol)

UV detector

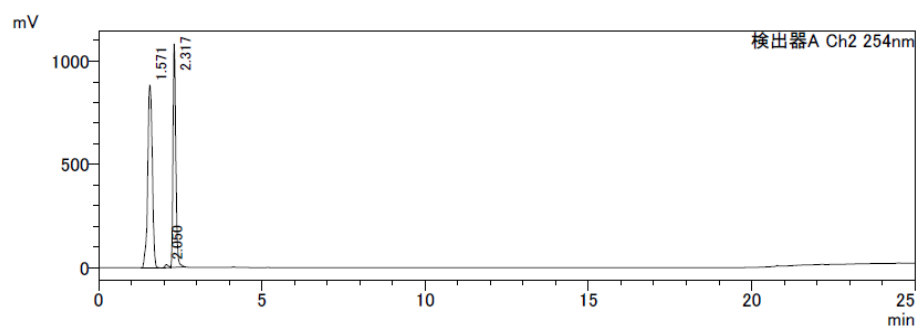


RI detector

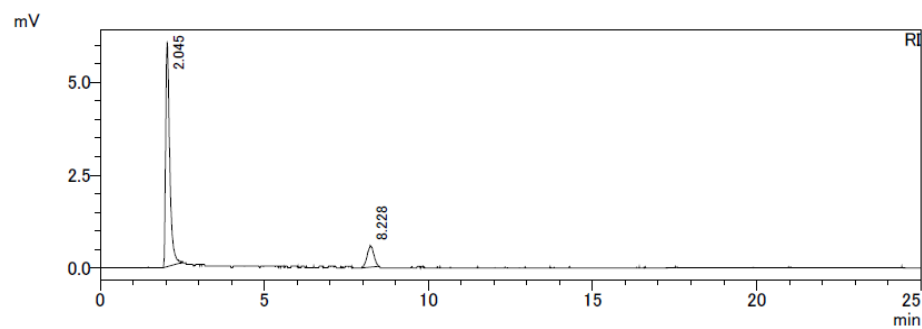


Copper catalyst: Cu(py)₄(OTf)₂ (40 nmol)

UV detector

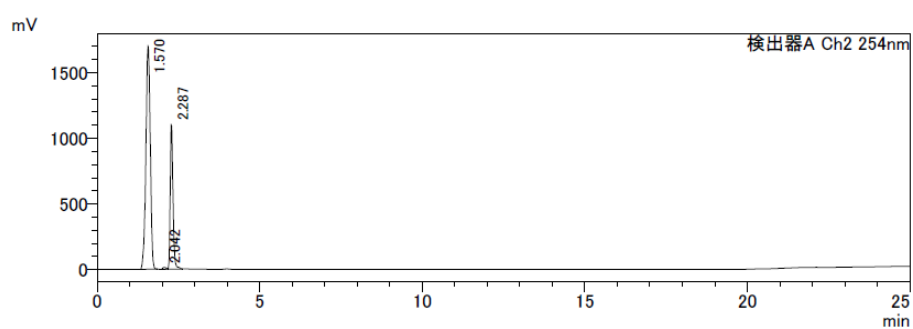


RI detector

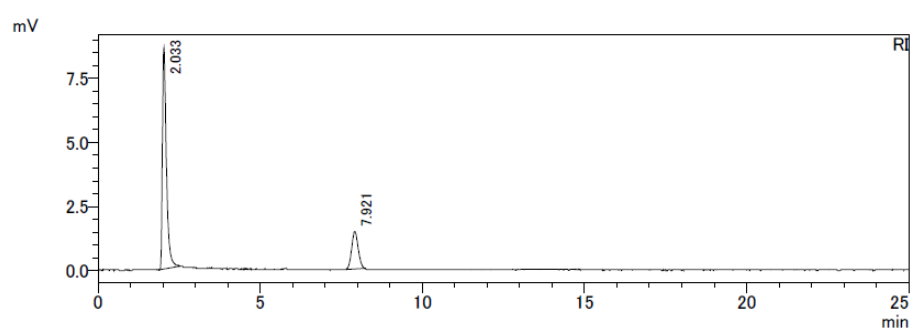


Copper catalyst: Cu(py)₄(OTf)₂ (80 nmol)

UV detector

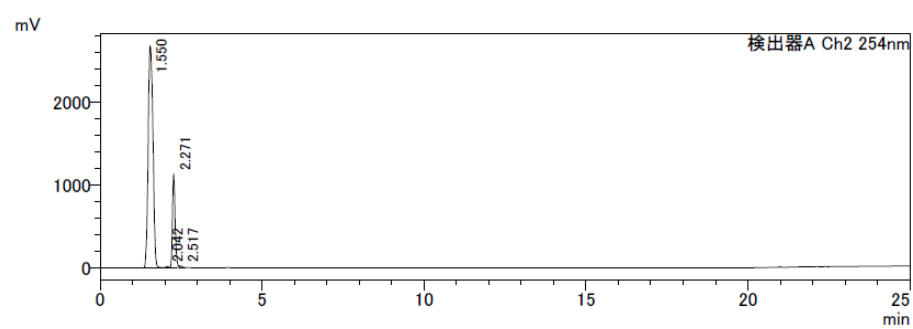


RI detector

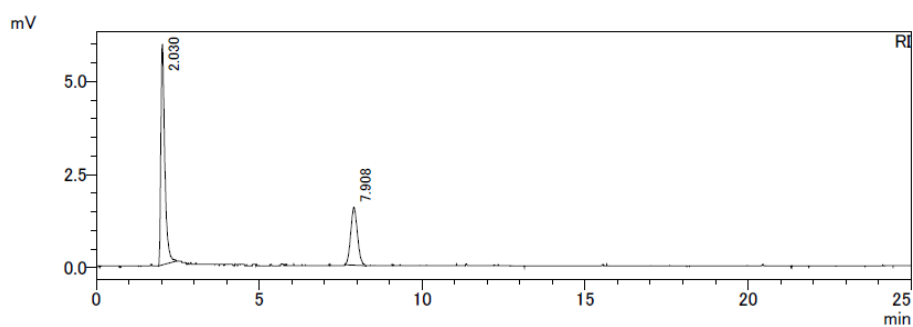


Copper catalyst: Cu(py)₄(OTf)₂ (160 nmol)

UV detector

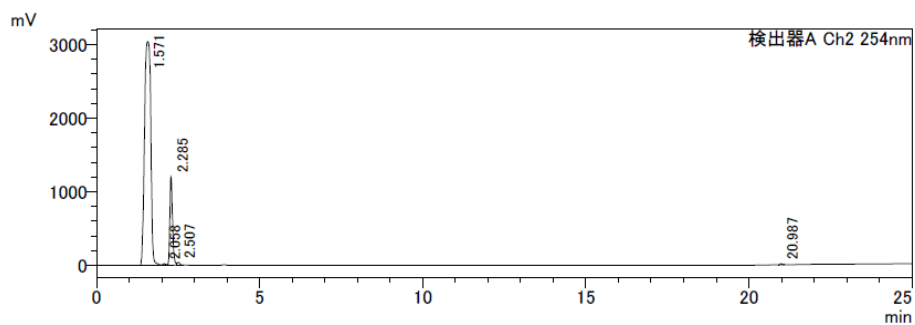


RI detector

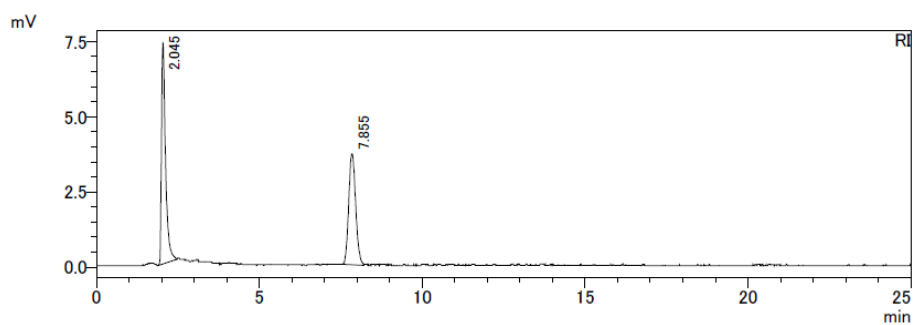


Copper catalyst: $\text{Cu}(\text{py})_4(\text{OTf})_2$ (320 nmol)

UV detector



RI detector



Effect of labeling time on RCCs of [¹²⁵I]35 and [¹²⁵I]36

Table S5: Effect of radiolabeling time (0–60 min) on RCCs of [¹²⁵I]35 and [¹²⁵I]36

Entry	Precursor	Cu(py) ₄ (OTf) ₂ (nmol)	Time (min)	RCC (%)*
1	33	80	10	57.1 ± 1.9
2			30	98.6 ± 1.3
3	34	320	10	45.3 ± 1.0
4			30	81.7 ± 0.9
5			60	94.8 ± 0.5

*Data are presented as the mean ± standard deviation (N = 3).

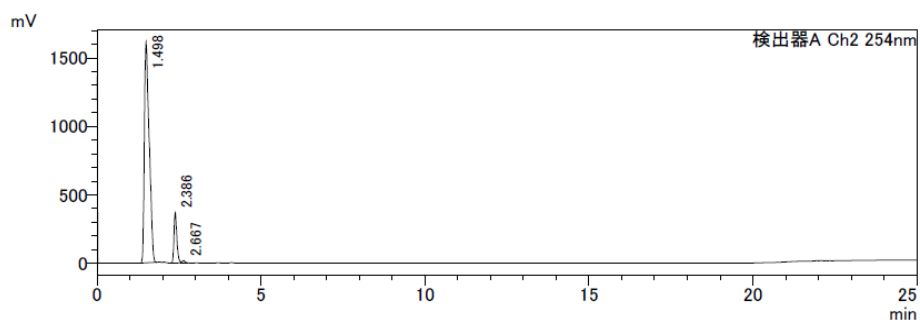
Reaction condition: precursor (**33** or **34**; 100 nmol), 20% v/v H₂O/MeOH (100 μL), 25°C.

Reaction condition:

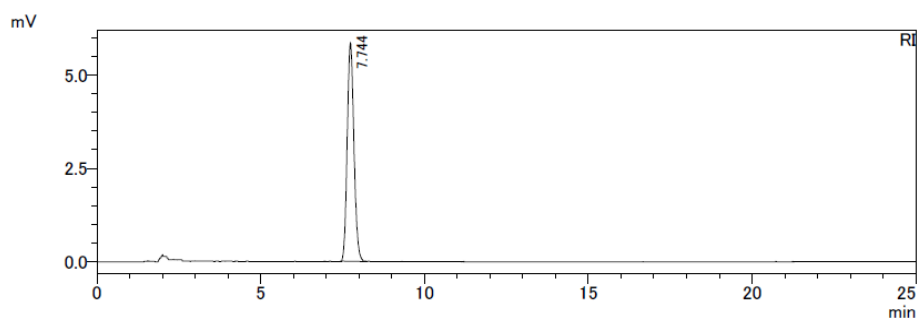
Boronic precursor: **33** (100 nmol), copper catalyst: $\text{Cu}(\text{py})_4(\text{OTf})_2$ (80 nmol), reaction solvent: 20% v/v $\text{H}_2\text{O}/\text{MeOH}$, temp.: 25°C

Reaction time: 30 min.

UV detector



RI detector

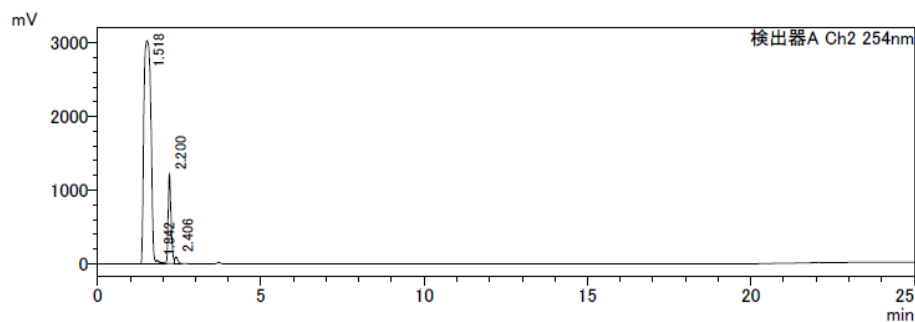


Reaction condition:

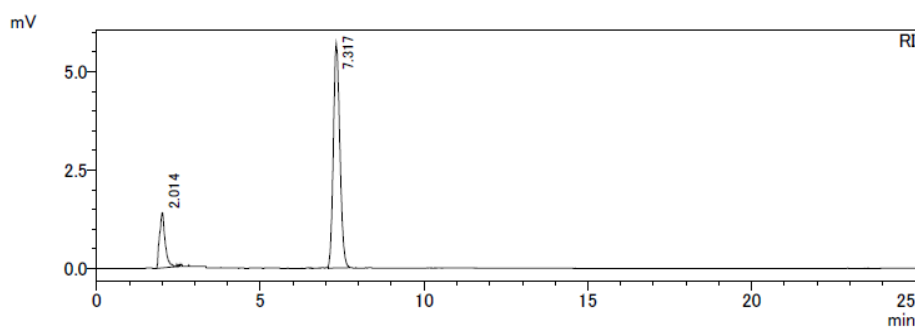
Boronic precursor: **34** (100 nmol), copper catalyst: $\text{Cu}(\text{py})_4(\text{OTf})_2$ (320 nmol), reaction solvent: 20% v/v $\text{H}_2\text{O}/\text{MeOH}$, temp.: 25°C

Reaction time: 30 min.

UV detector

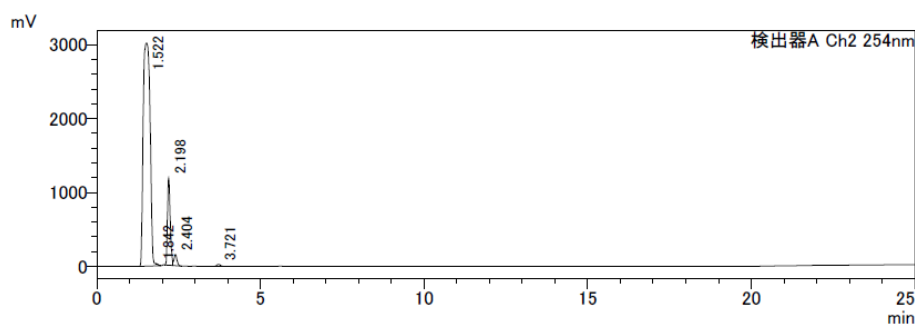


RI detector

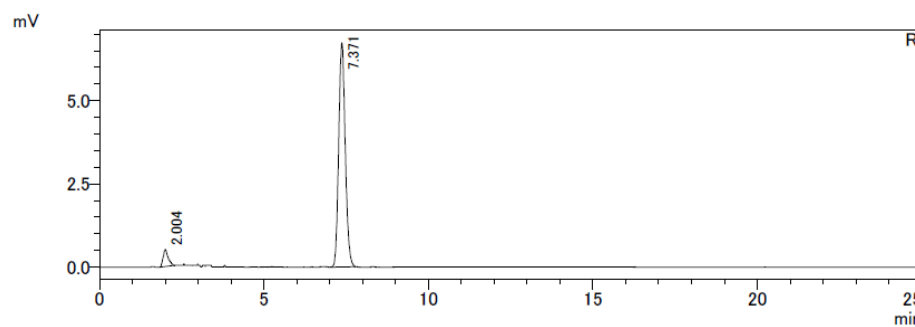


Reaction time: 60 min.

UV detector



RI detector



第二章 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

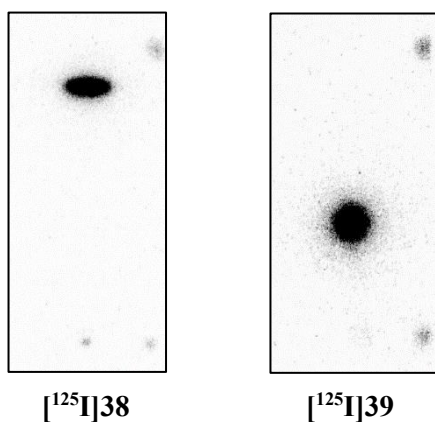
以下, *Chem. Comm.* **2024**, *60*, 714–717, Supporting information より引用.

High-performance liquid chromatography analysis condition

- **Column:** COSMOSIL[®] 5C₁₈-ARII (4.6 ID×150 mm)
- **Temperature:** 40°C
- **Flow:** 1.0 mL/min
- **Phase A:** H₂O (containing 0.1% TFA)
- **Phase B:** MeCN (containing 0.1% TFA)
- **Condition K:** 55% phase B (0–15 min)
55% to 100 % phase B (15–16 min)
100% phase B (16–25 min)
- **Condition L:** 35% phase B (0–15 min)
35% to 100 % phase B (15–16 min)
100% phase B (16–25 min)
- **Condition M:** 30% phase B (0–15 min)
30% to 100 % phase B (15–16 min)
100% phase B (16–25 min)
- **Condition N:** 25% phase B (0–15 min)
25% to 100 % phase B (15–16 min)
100% phase B (16–25 min)
- **Condition O:** 25 to 40% phase B (0–15 min)
40% to 100 % phase B (15–16 min)
100% phase B (16–25 min)
- **Condition P:** 30 to 100% phase B (0–15 min)
100% phase B (15–25 min)
- **Condition Q:** 40 to 100% phase B (0–15 min)
100% phase B (15–25 min)

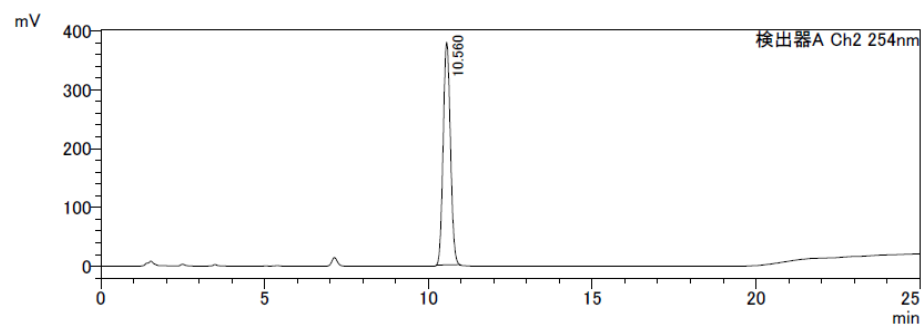
UV- and radio-HPLC chromatograms and radio-TLC traces

Radio-TLC of [^{125}I]38 and [^{125}I]39 [Hexane : EtOAc (= 1:1)]

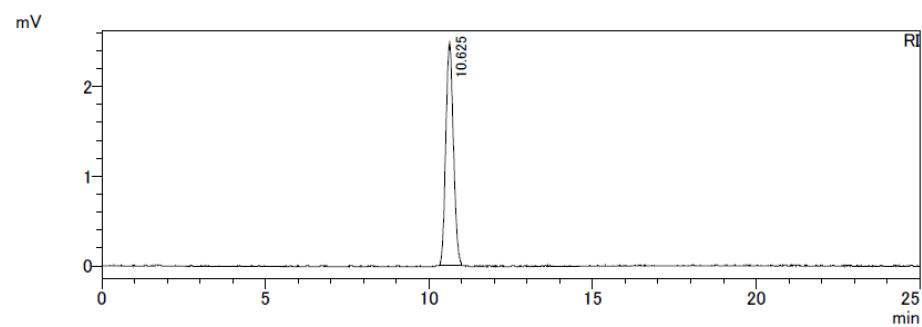


UV- and radio-HPLC of 38 and [^{125}I]38 [Analysis condition K]

UV detector

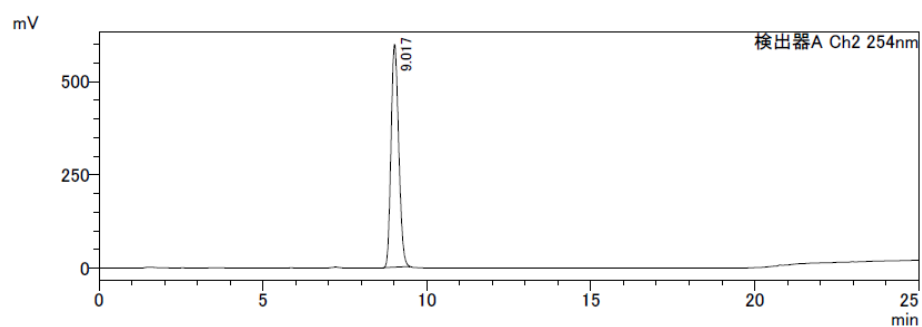


RI detector

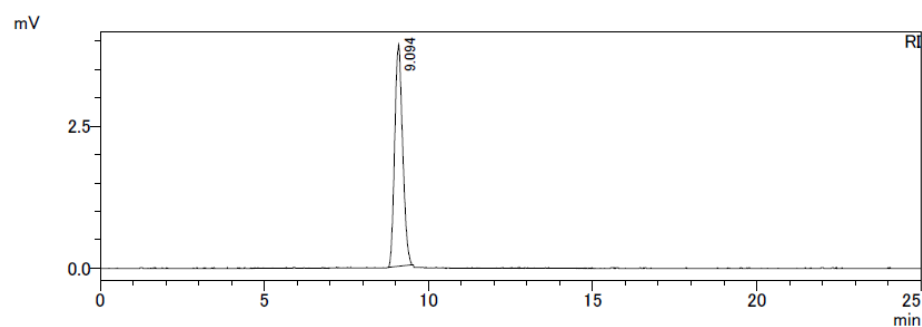


UV- and radio-HPLC of **39** and [¹²⁵I]**39** [Analysis condition K]

UV detector

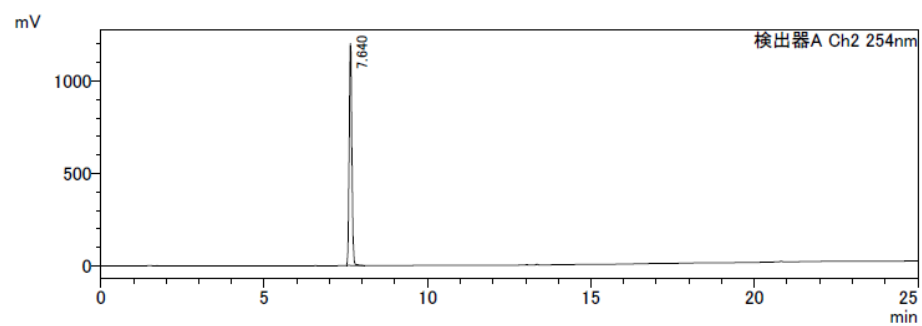


RI detector

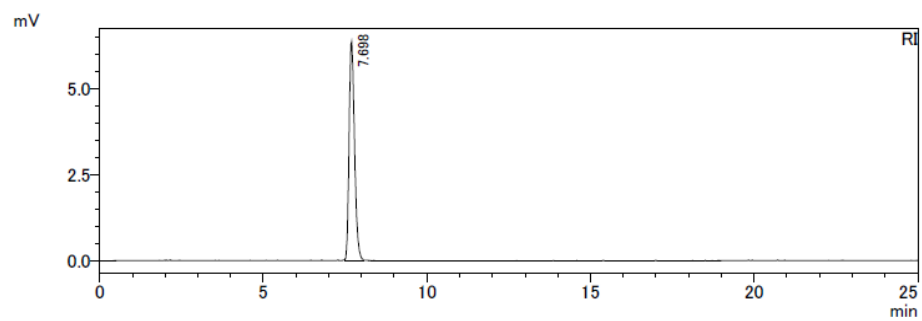


UV- and radio-HPLC of **40** and [¹²⁵I]**40** [Analysis condition P]

UV detector

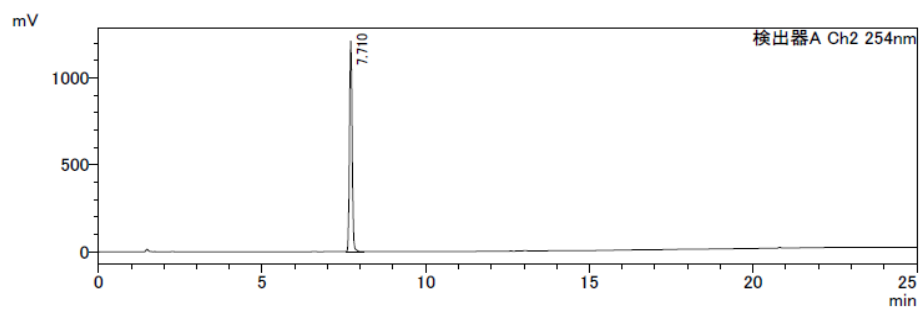


RI detector

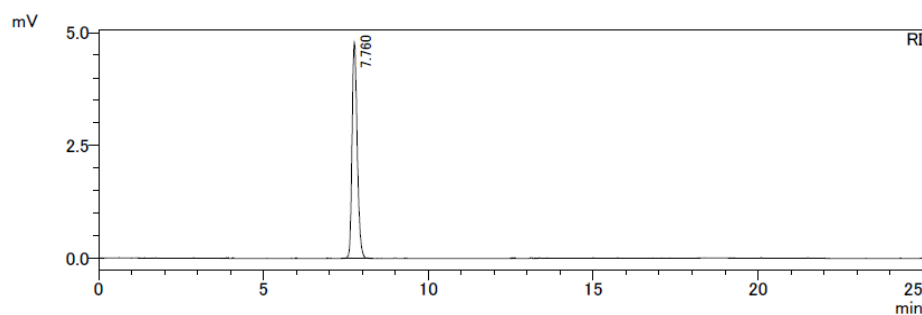


UV- and radio-HPLC of **41** and [¹²⁵I]**41** [Analysis condition P]

UV detector

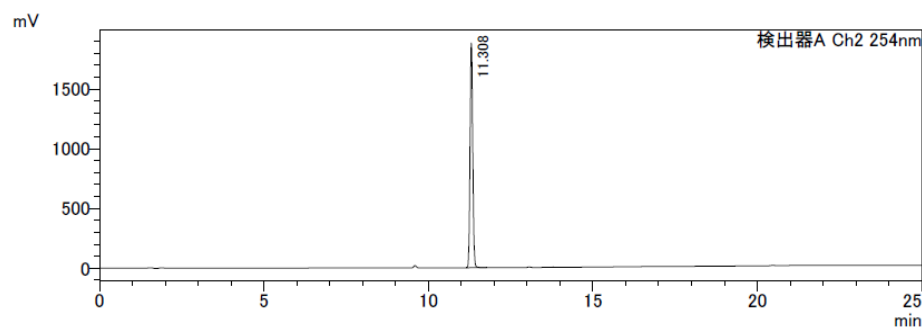


RI detector

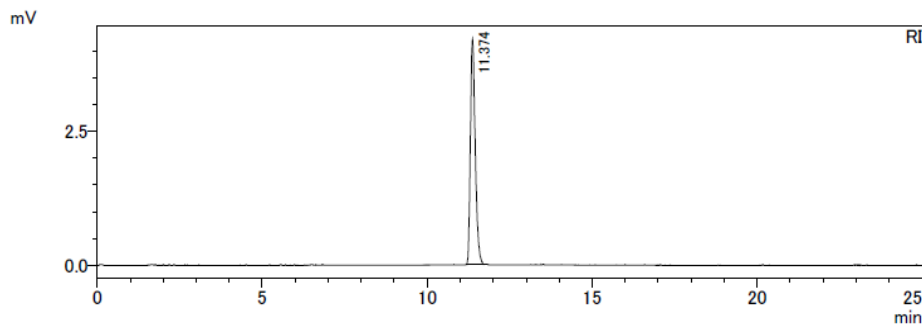


UV- and radio-HPLC of **42** and [¹²⁵I]**42** [Analysis condition Q]

UV detector

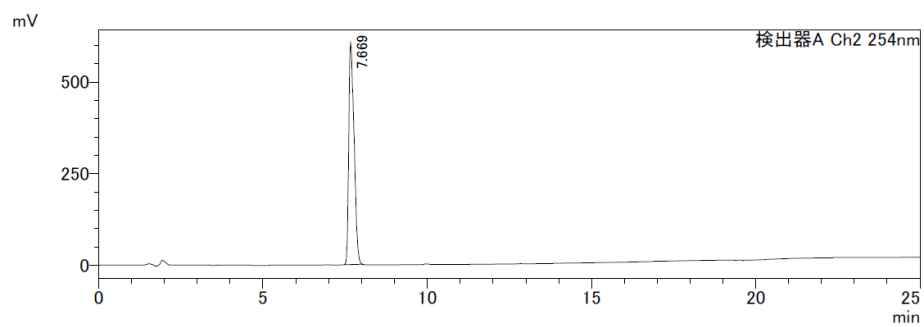


RI detector

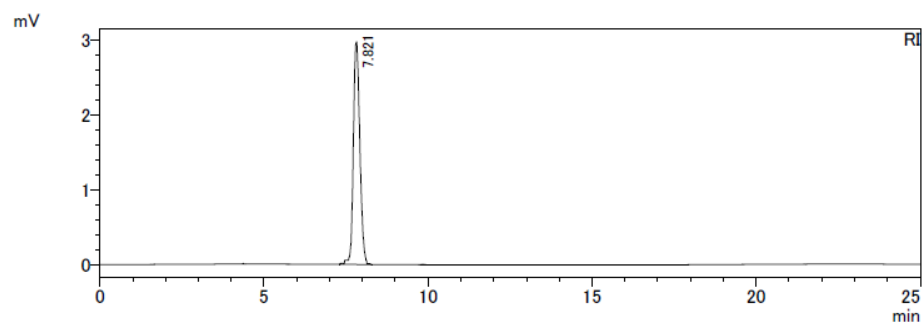


UV- and radio-HPLC of **43** and [¹²⁵I]**43** [Analysis condition Q]

UV detector

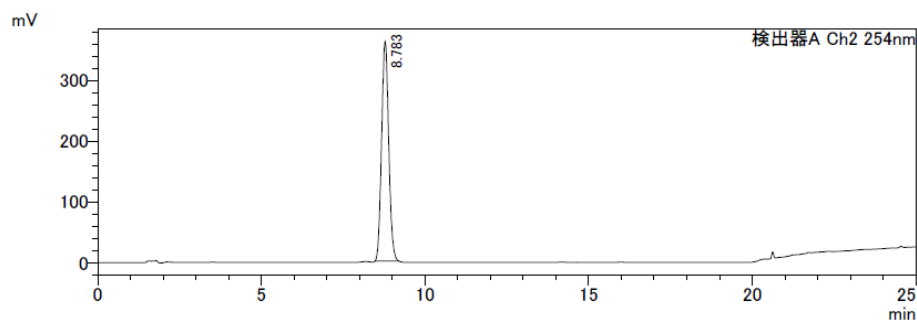


RI detector

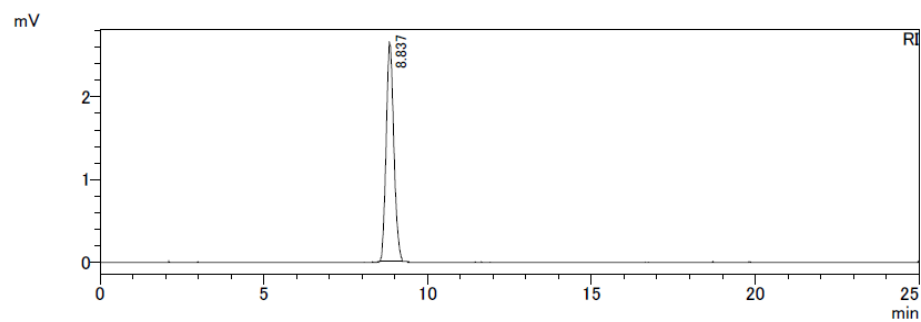


UV- and radio-HPLC of **46** and [¹²⁵I]**46** [Analysis condition N]

UV detector

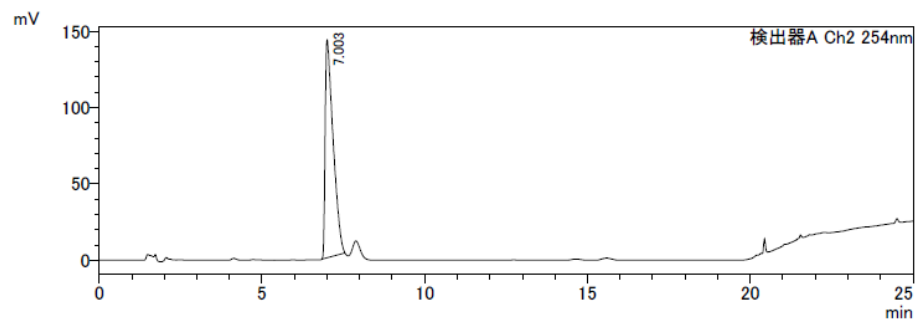


RI detector

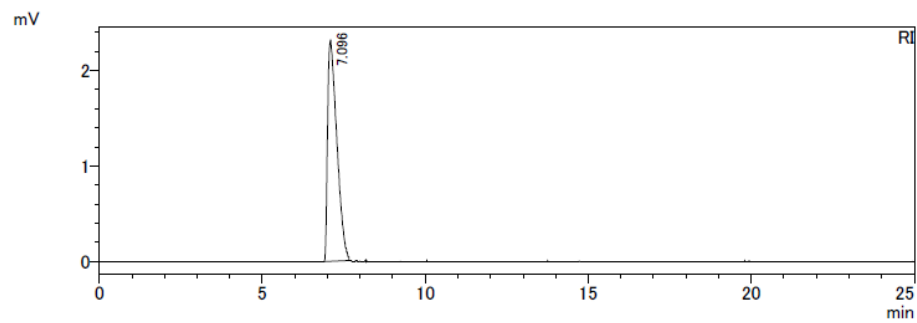


UV- and radio-HPLC of **52** and [¹²⁵I]**52** [Analysis condition M]

UV detector

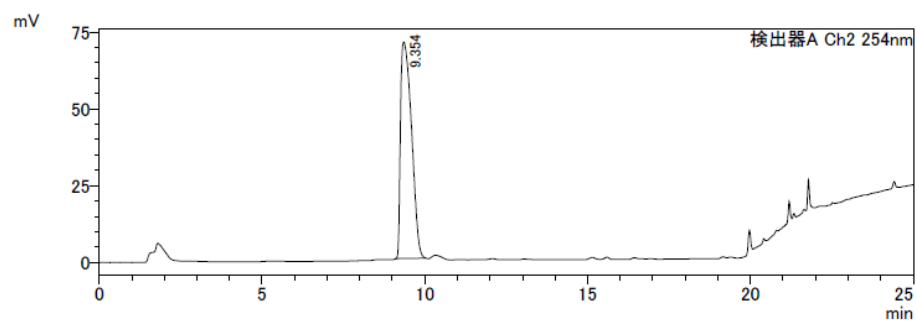


RI detector

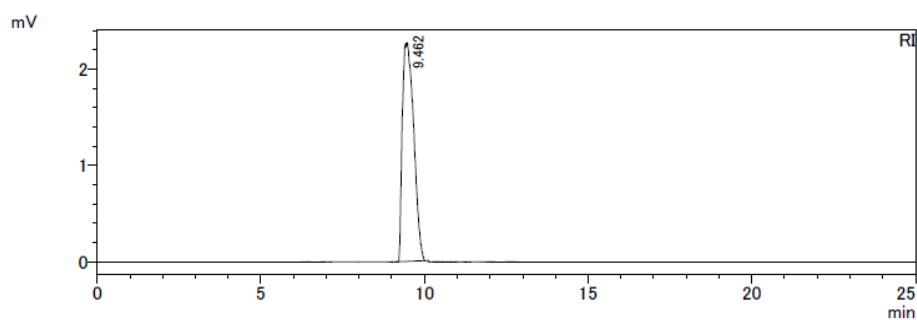


UV- and radio-HPLC of **54** and [¹²⁵I]**54** [Analysis condition O]

UV detector

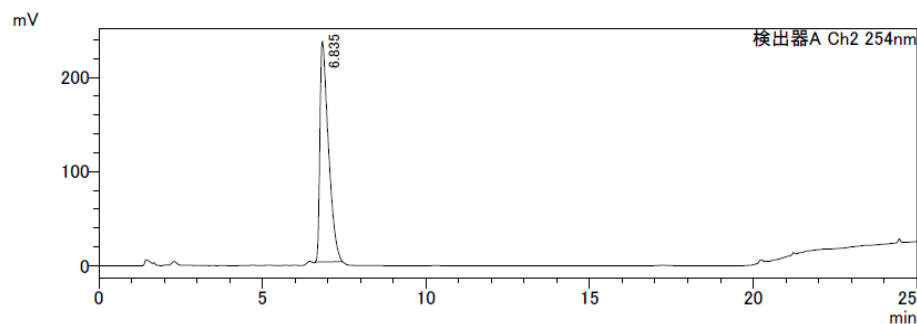


RI detector

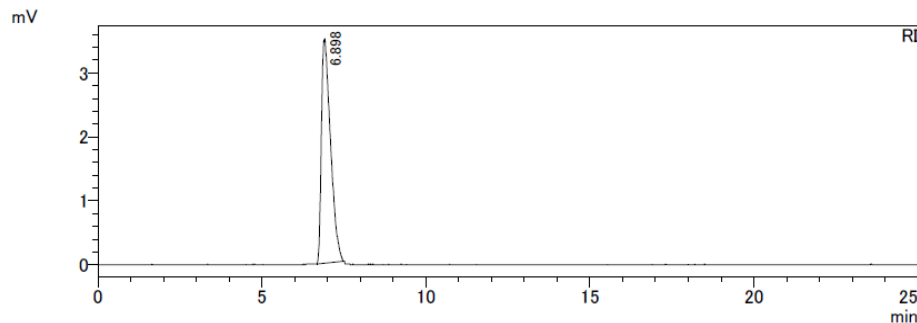


UV- and radio-HPLC of **57** and [¹²⁵I]**57** [Analysis condition L]

UV detector

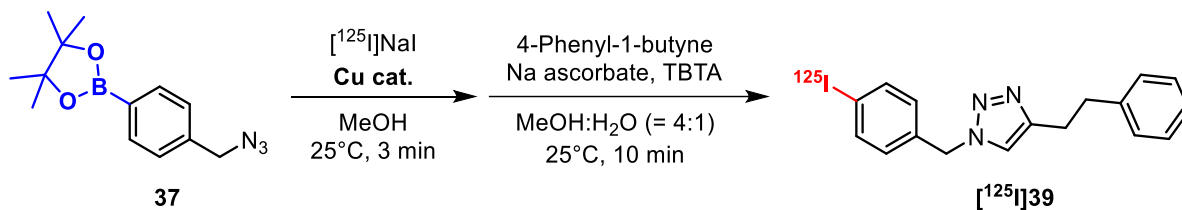


RI detector



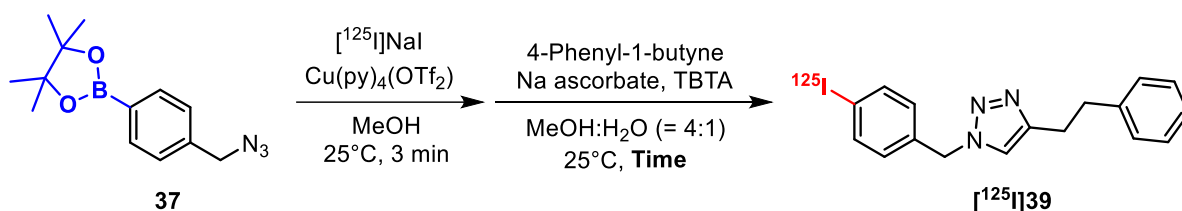
Optimization of reaction condition

Optimization of copper catalyst on the one-pot two-step radioiodination



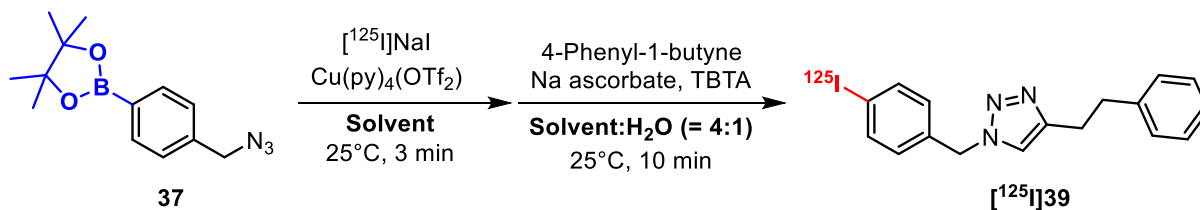
Reaction condition: $\mathbf{37}$ (100 nmol), 4-phenyl-1-butyne (200 nmol), sodium ascorbate (400 nmol), TBTA (80 nmol), Cu cat. = $\text{Cu}(\text{py})_4(\text{OTf})_2$ [py = pyridine, OTf = trifluoromethanesulfonate], $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, $\text{Cu}(\text{OTf})_2$, CuCl_2 , $\text{Cu}(\text{OMe})_2$, or $[\text{Cu}(\text{CH}_3\text{CN})]\text{PF}_6$.

Effect of CuAAC reaction time on RCCs of $[^{125}\text{I}]\mathbf{39}$



Reaction condition: $\mathbf{37}$ (100 nmol), 4-phenyl-1-butyne (200 nmol), $\text{Cu}(\text{py})_4(\text{OTf})_2$ (20 nmol), sodium ascorbate (400 nmol), TBTA (80 nmol), time = 10, 20, 30, or 60 min.

Effect of solvent on the radiosynthesis of $[^{125}\text{I}]\mathbf{39}$

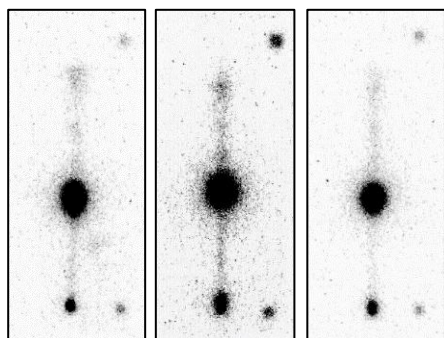


Reaction condition: $\mathbf{37}$ (100 nmol), $\text{Cu}(\text{py})_4(\text{OTf})_2$ (80 nmol), 4-phenyl-1-butyne (200 nmol), sodium ascorbate (400 nmol), TBTA (80 nmol), solvent = MeOH, EtOH, MeCN, DMF, or DMSO.

Optimization of copper catalyst on the one-pot two-step radioiodination

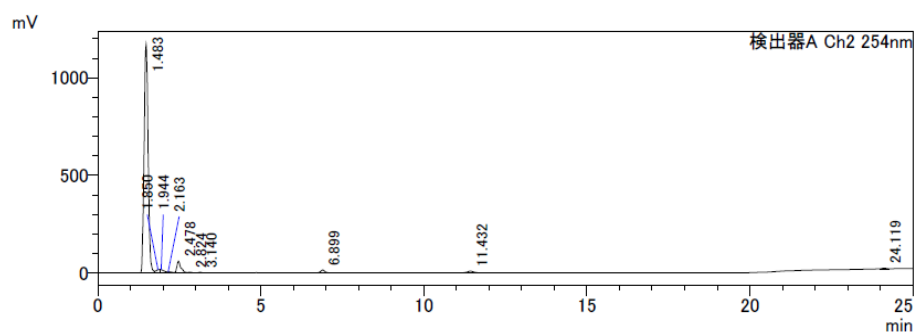
Cu catalyst: $\text{Cu}(\text{py})_4(\text{OTf})_2$ (0.8 eq.)

Radio-TLC of reaction mixture [hexane : EtOAc (= 1:1)]

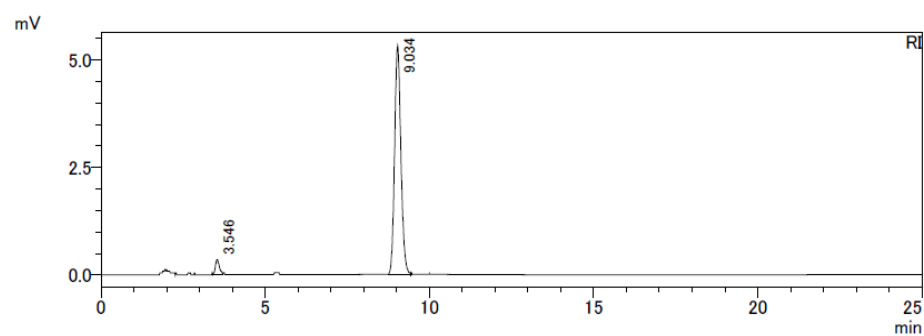


UV- and radio-HPLC of reaction mixture [Analysis condition K]

UV detector

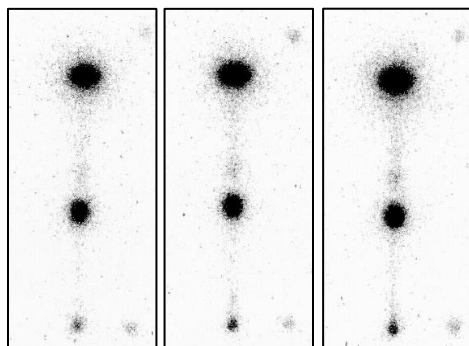


RI detector



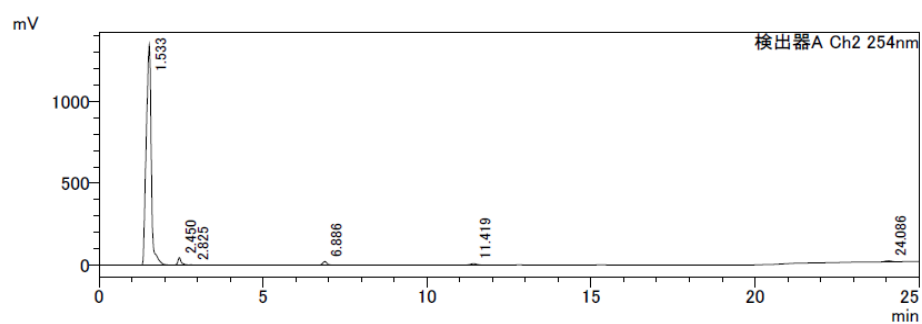
Cu catalyst: Cu(py)₄(OTf)₂ (0.2 eq.)

Radio-TLC of reaction mixture [hexane : EtOAc (= 1:1)]

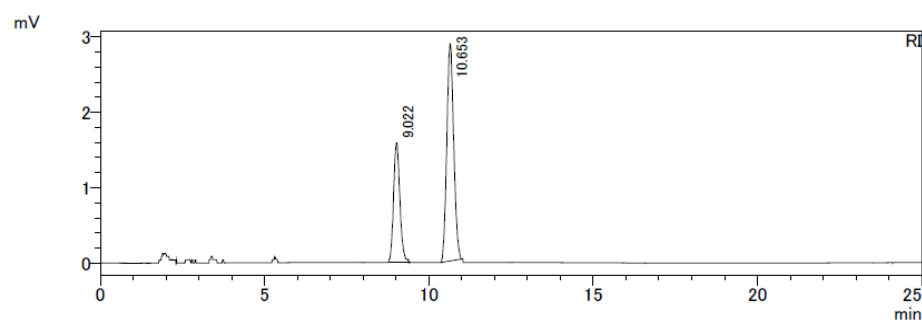


UV- and radio-HPLC of reaction mixture [Analysis condition K]

UV detector

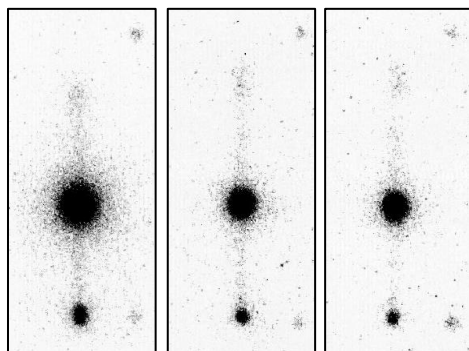


RI detector



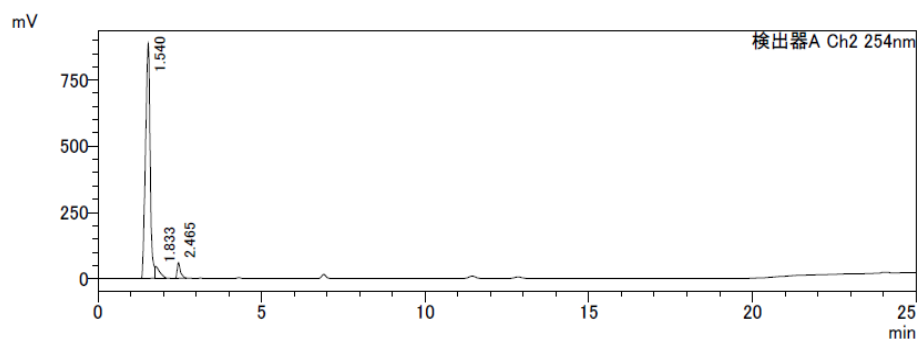
Cu catalyst: CuSO₄ (0.8 eq.)

Radio-TLC of reaction mixture [hexane : EtOAc (= 1:1)]

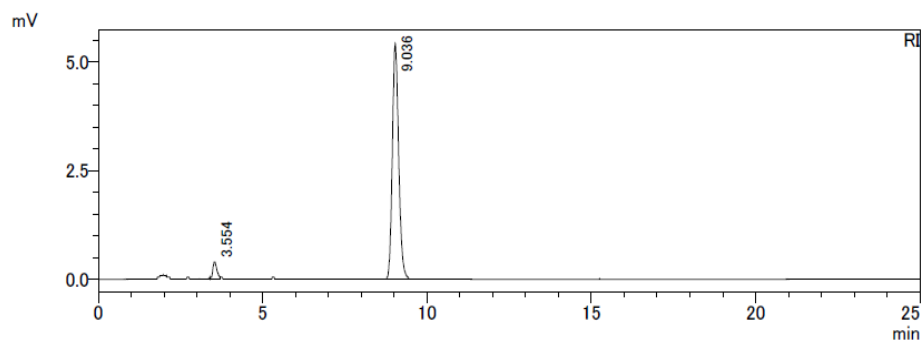


UV- and radio-HPLC of reaction mixture [Analysis condition K]

UV detector

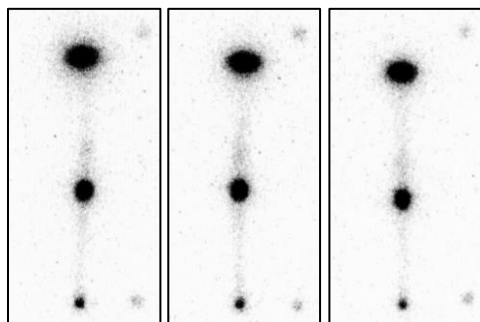


RI detector



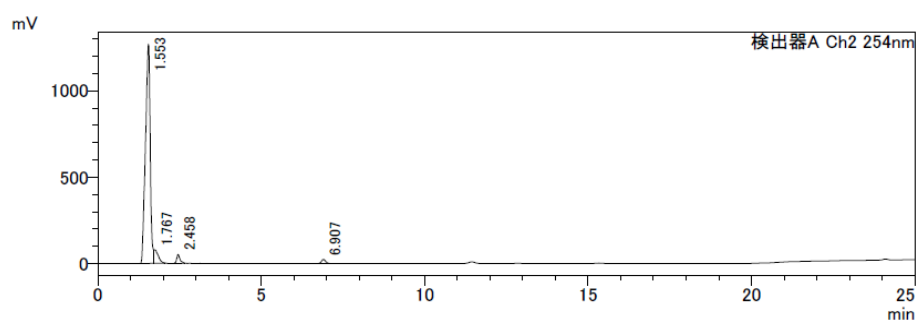
Cu catalyst: CuSO₄ (0.2 eq.)

Radio-TLC of reaction mixture [hexane : EtOAc (= 1:1)]

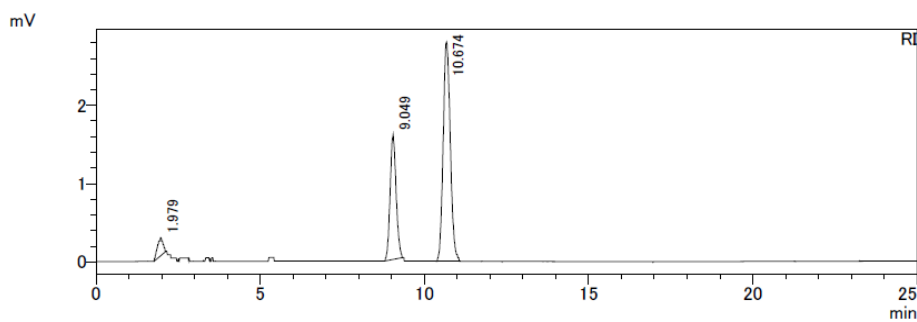


UV- and radio-HPLC of reaction mixture [Analysis condition K]

UV detector

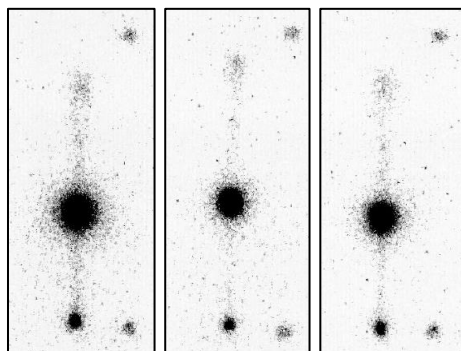


RI detector



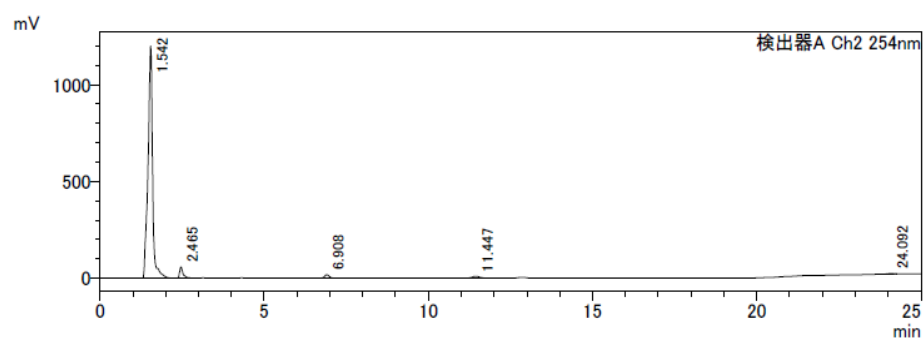
Cu catalyst: Cu(OTf)₂ (0.8 eq.)

Radio-TLC of reaction mixture [hexane : EtOAc (= 1:1)]

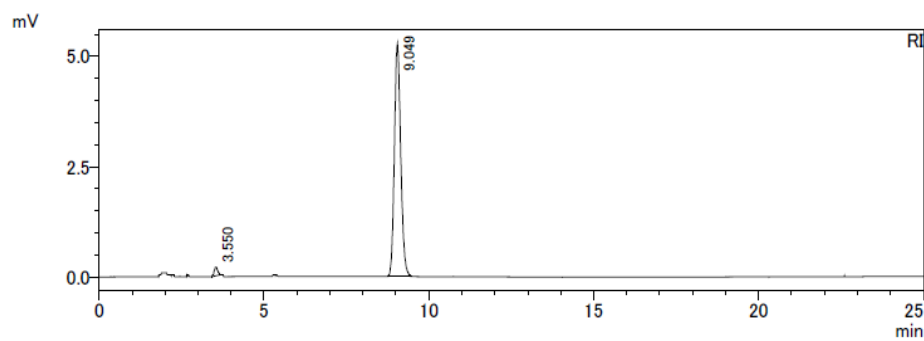


UV- and radio-HPLC of reaction mixture [Analysis condition K]

UV detector

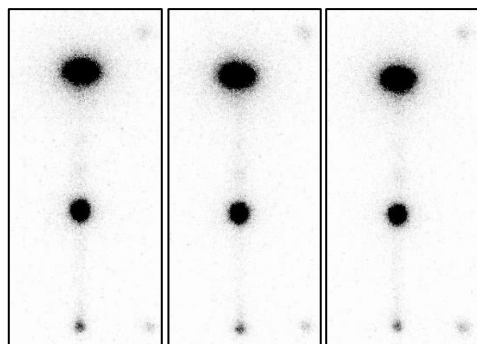


RI detector



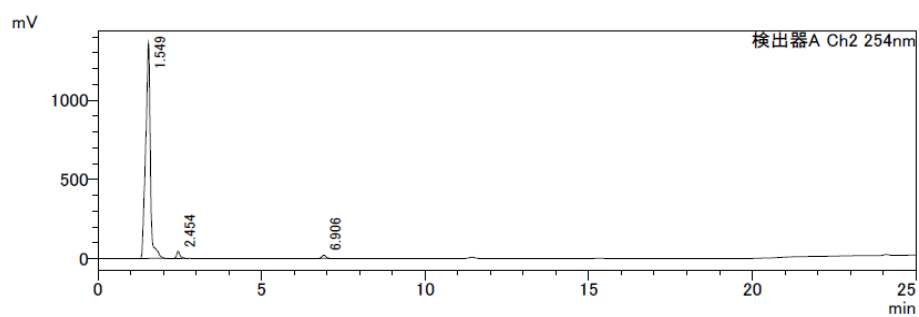
Cu catalyst: Cu(OTf)₂ (0.2 eq.)

Radio-TLC of reaction mixture [hexane : EtOAc (= 1:1)]

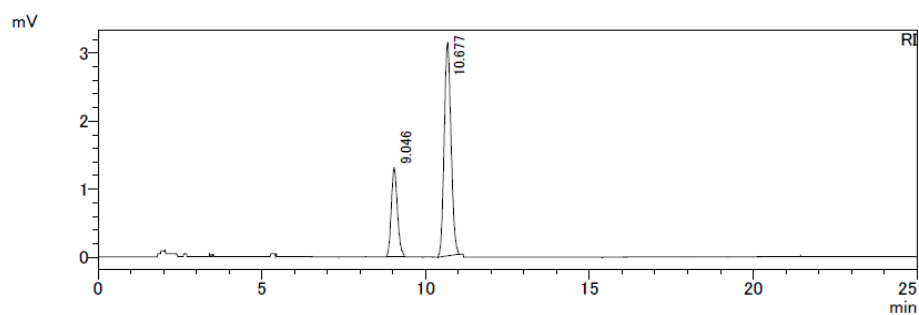


UV- and radio-HPLC of reaction mixture [Analysis condition K]

UV detector

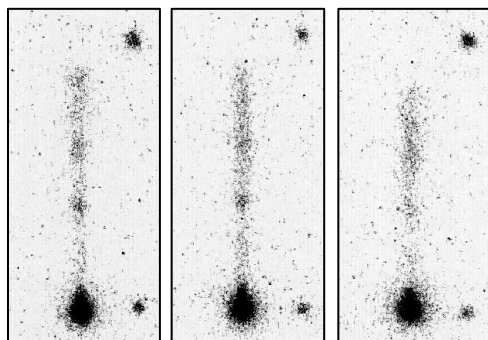


RI detector



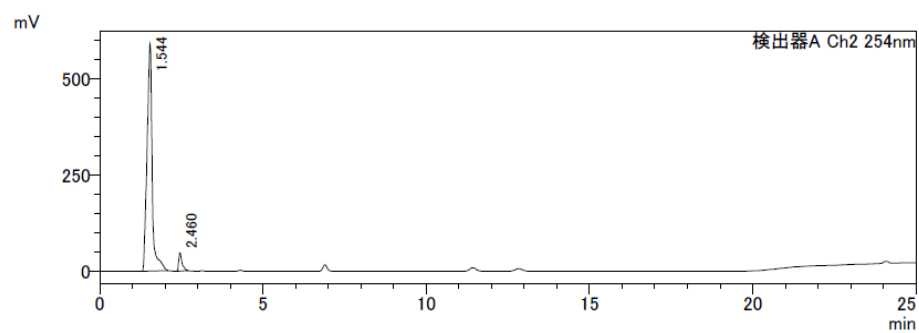
Cu catalyst: CuCl₂

Radio-TLC of reaction mixture [hexane : EtOAc (= 1:1)]

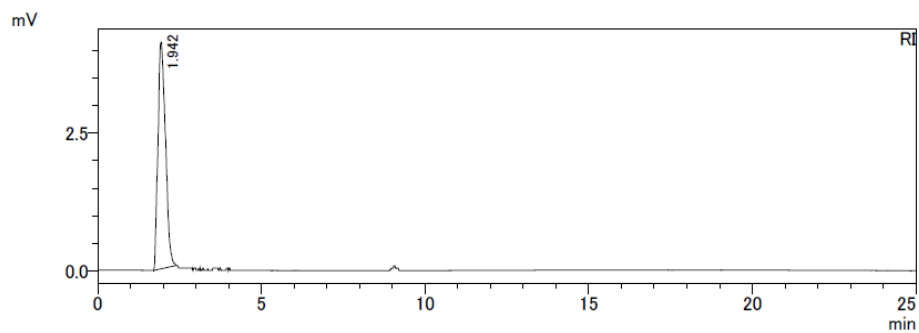


UV- and radio-HPLC of reaction mixture [Analysis condition K]

UV detector

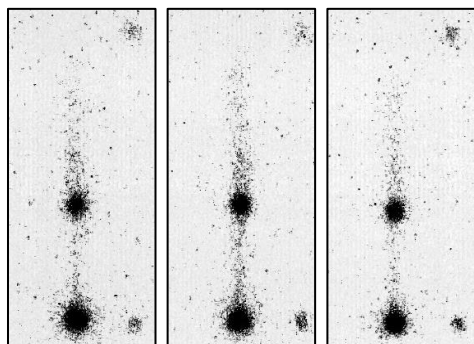


RI detector



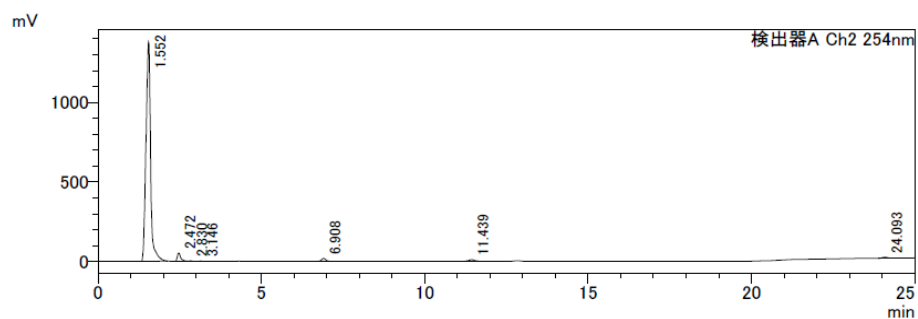
Cu catalyst: Cu(OMe)₂

Radio-TLC of reaction mixture [hexane : EtOAc (= 1:1)]

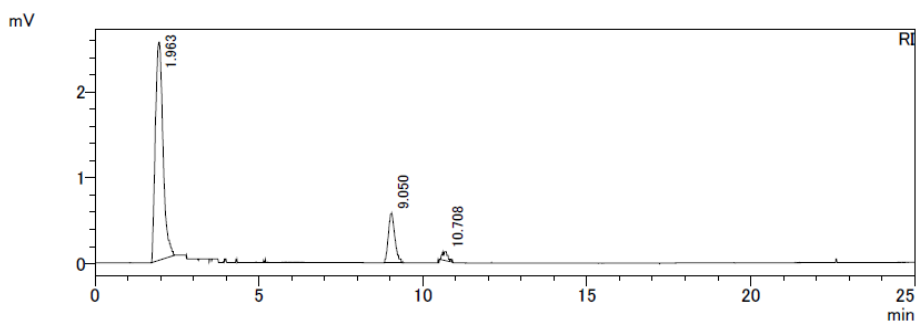


UV- and radio-HPLC of reaction mixture [Analysis condition K]

UV detector

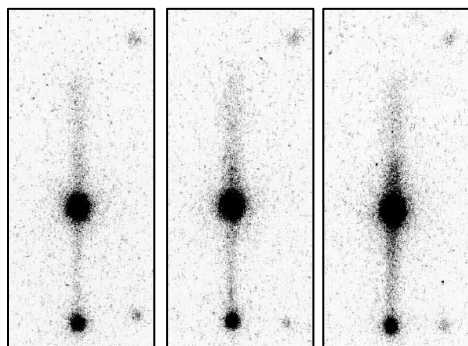


RI detector



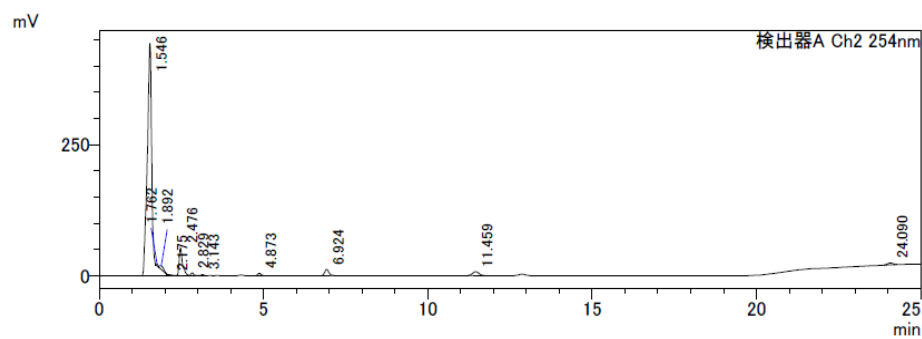
Cu catalyst: $[\text{Cu}(\text{CH}_3\text{CN})_4]\text{PF}_6$

Radio-TLC of reaction mixture [hexane : EtOAc (= 1:1)]

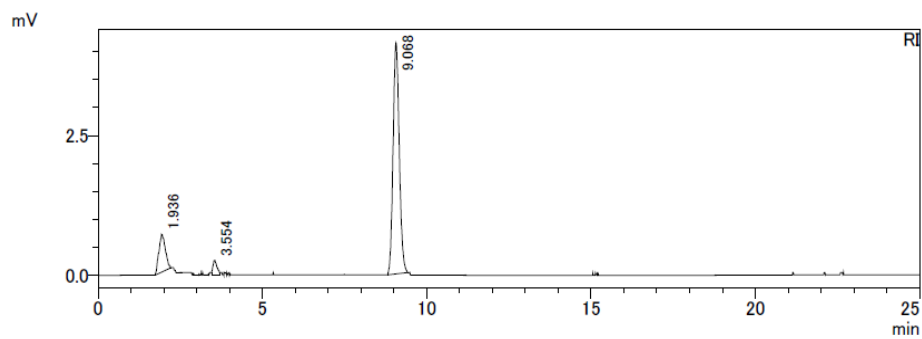


UV- and radio-HPLC of reaction mixture [Analysis condition K]

UV detector



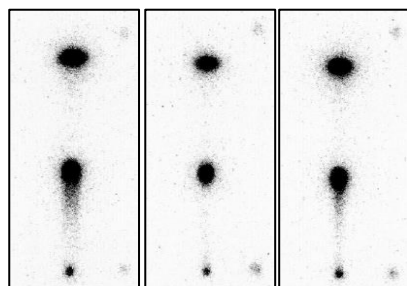
RI detector



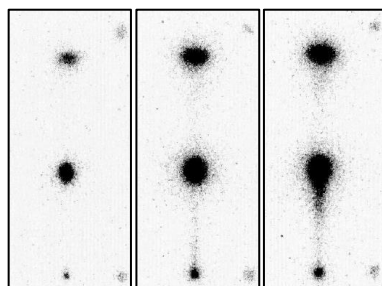
Effect of CuAAC reaction time on RCCs of [¹²⁵I]39

Radio-TLC of reaction mixture [hexane : EtOAc (= 1:1)]

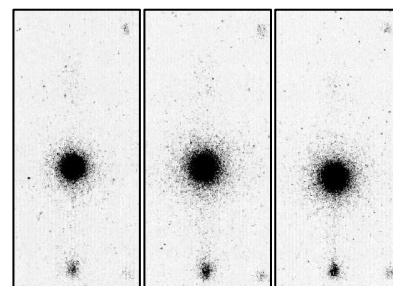
Time: 20



Time: 30

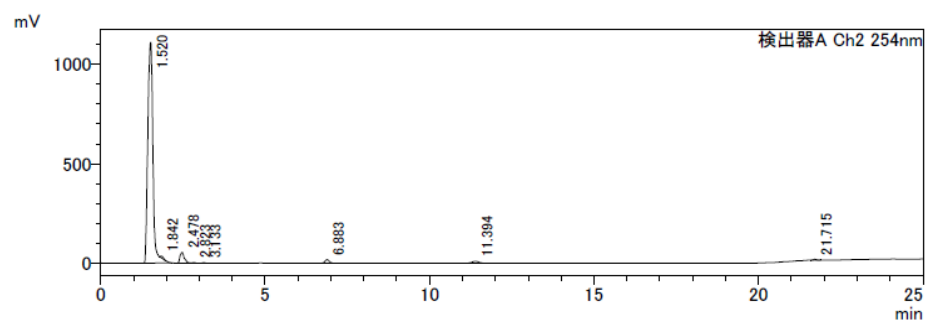


Time: 60

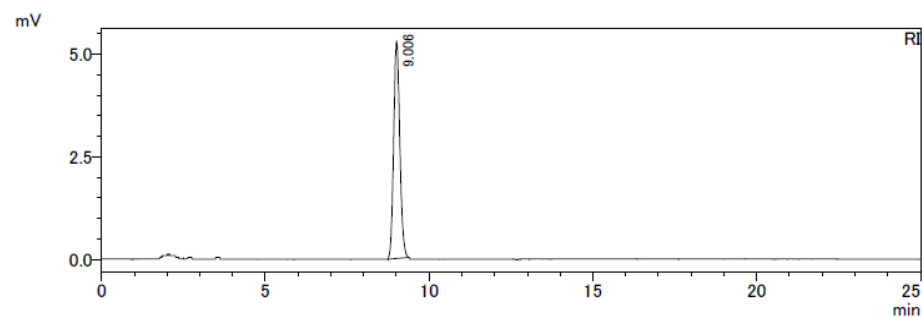


UV- and radio-HPLC of the reaction mixture after 60 min [Analysis condition K]

UV detector



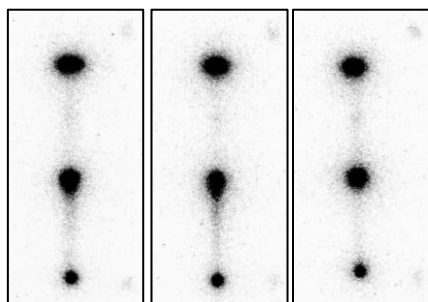
RI detector



Effect of solvent on the radiosynthesis of [¹²⁵I]39

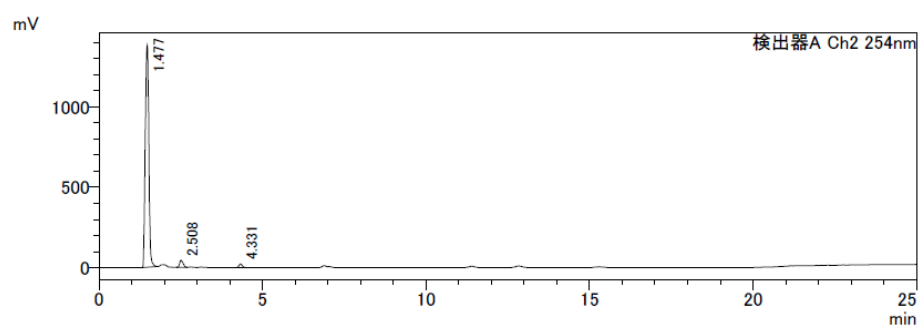
Solvent: EtOH

Radio-TLC of reaction mixture [hexane : EtOAc (= 1:1)]

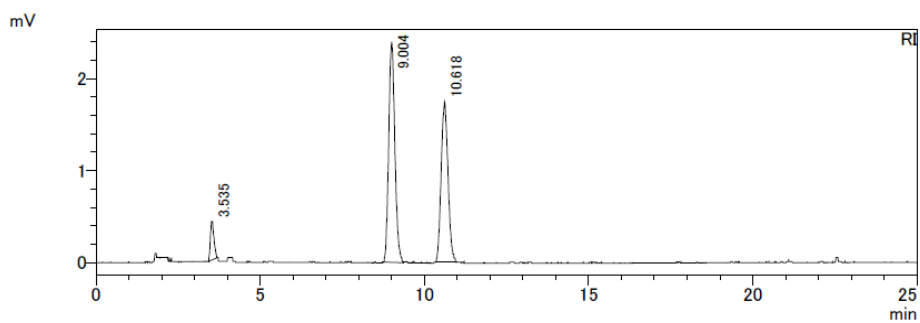


UV- and radio-HPLC of reaction mixture [Analysis condition K]

UV detector

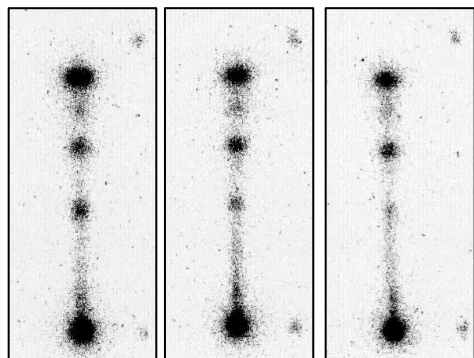


RI detector



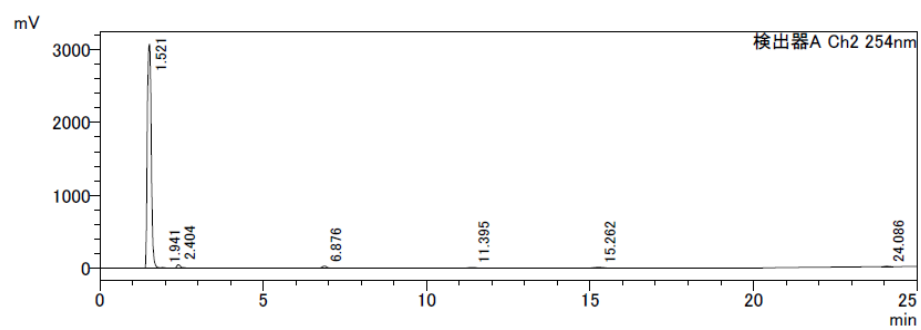
Solvent: CH₃CN

Radio-TLC of reaction mixture [hexane : EtOAc (= 1:1)]

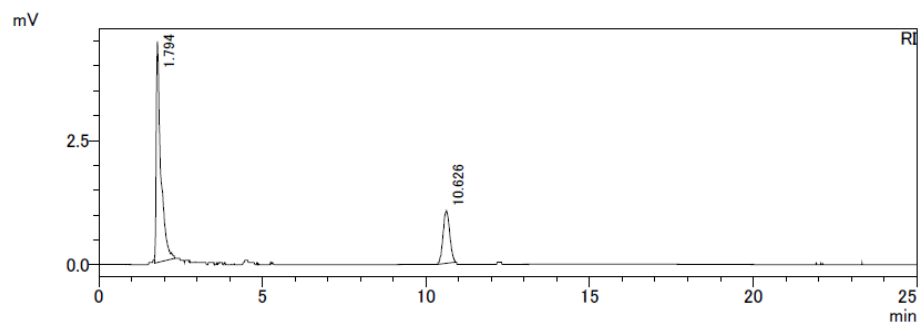


UV- and radio-HPLC of reaction mixture [Analysis condition K]

UV detector

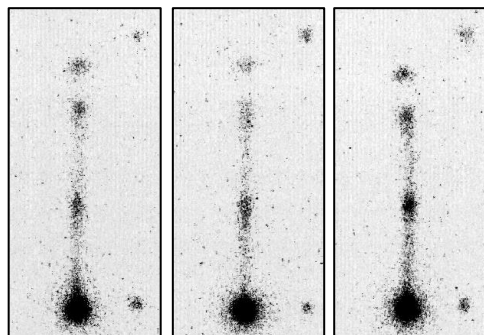


RI detector



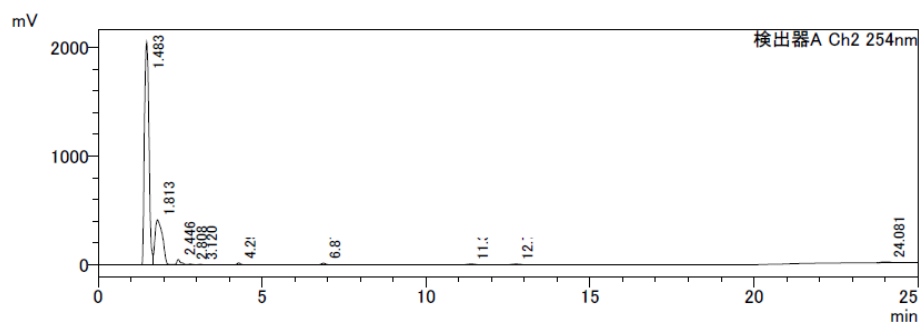
Solvent: DMF

Radio-TLC of reaction mixture [hexane : EtOAc (= 1:1)]

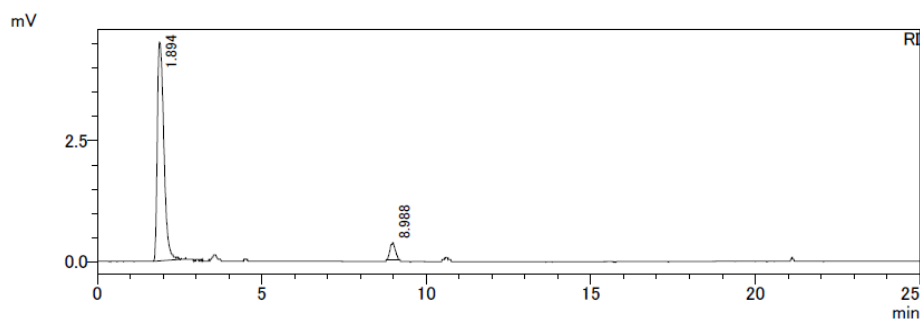


UV- and radio-HPLC of reaction mixture [Analysis condition K]

UV detector

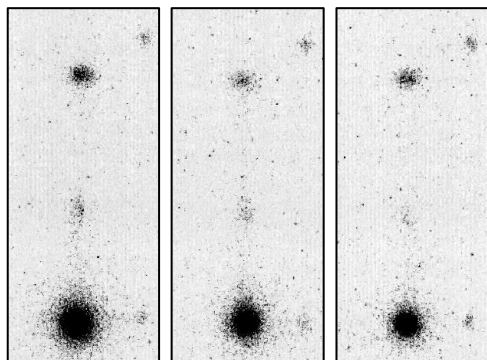


RI detector



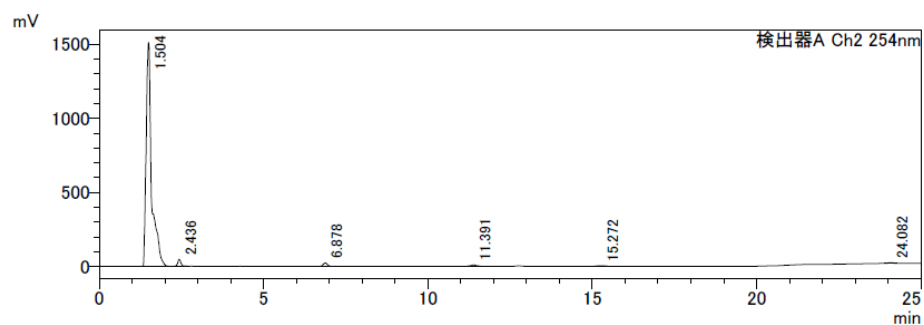
Solvent: DMSO

Radio-TLC of reaction mixture [hexane : EtOAc (= 1:1)]

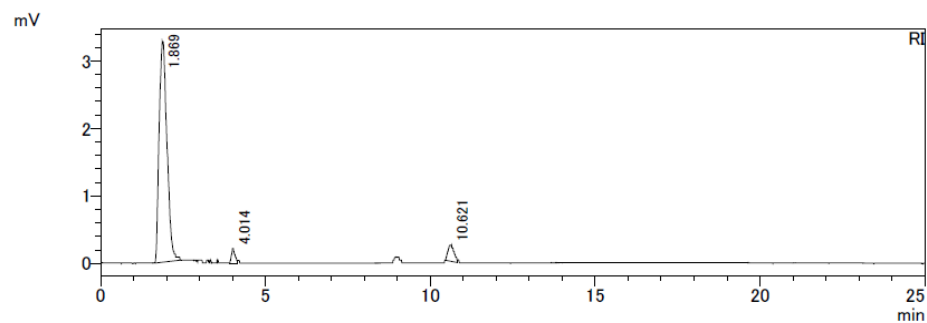


UV- and radio-HPLC of reaction mixture [Analysis condition K]

UV detector



RI detector



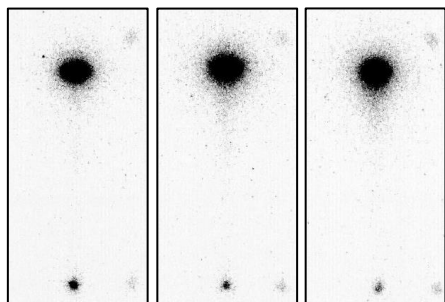
Mechanistic investigation

Confirmation of synthetic intermediates ($[^{125}\text{I}]\mathbf{38}$).

Reaction condition:

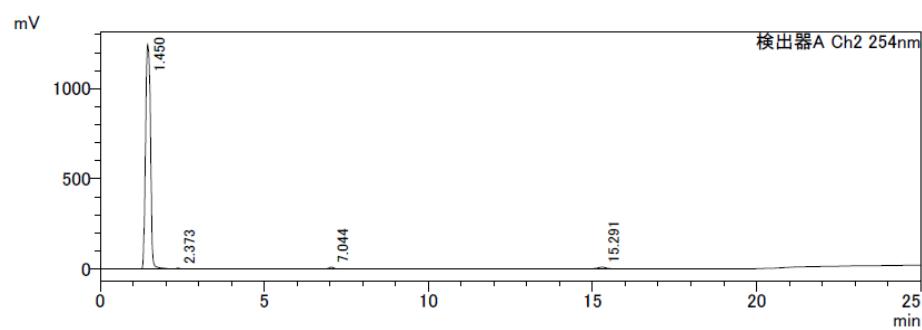
37 (100 nmol), $\text{Cu}(\text{py})_4(\text{OTf})_2$ (80 nmol), MeOH (40 μL)

Radio-TLC of reaction mixture [hexane : EtOAc (= 1:1)]

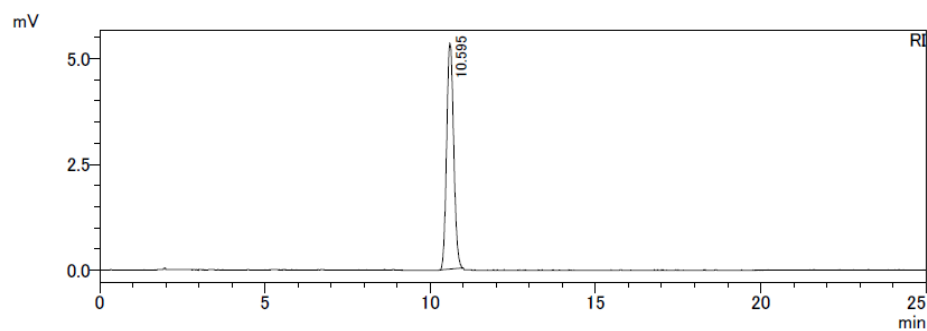


UV- and radio-HPLC of reaction mixture [Analysis condition K]

UV detector



RI detector

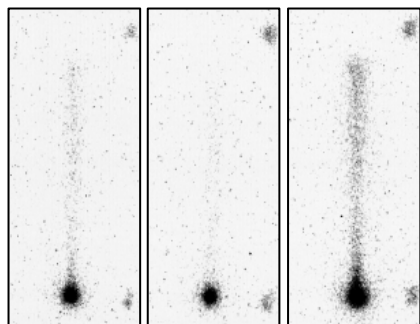


Assessment reversing the order of reactions.

Reaction condition:

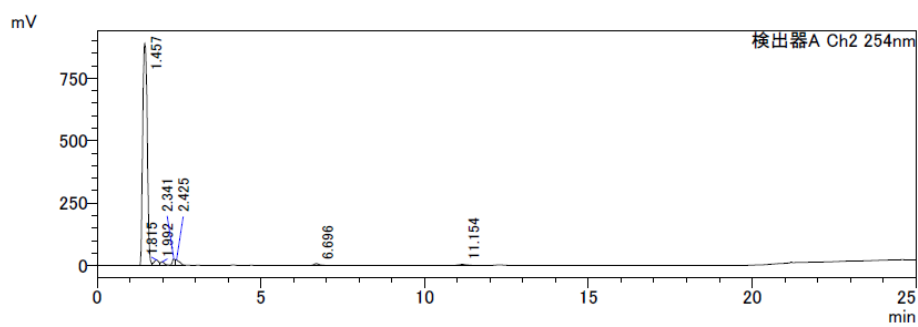
37 (100 nmol), Cu(py)₄(OTf)₂ (80 nmol), 4-phenyl-1-butyne (200 nmol), sodium ascorbate (400 nmol), TBTA (80 nmol), MeOH:H₂O (= 4:1, 100 μL).

Radio-TLC of reaction mixture [hexane : EtOAc (= 1:1)]

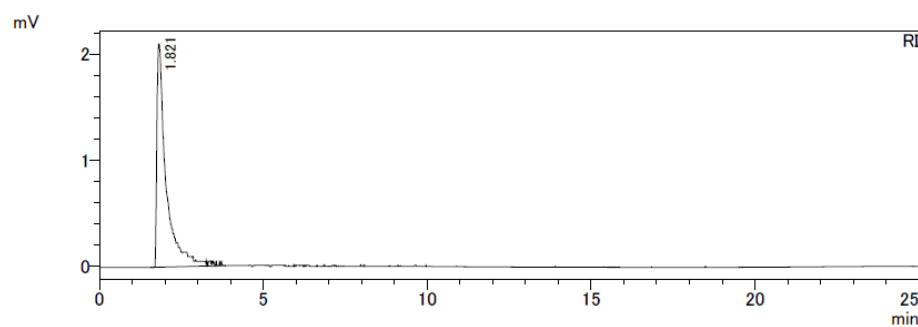


UV- and radio-HPLC of reaction mixture [Analysis condition K]

UV detector



RI detector



Radiosynthesis of [¹²⁵I]40, 41, 42, 43, 46, 52, 54, 57

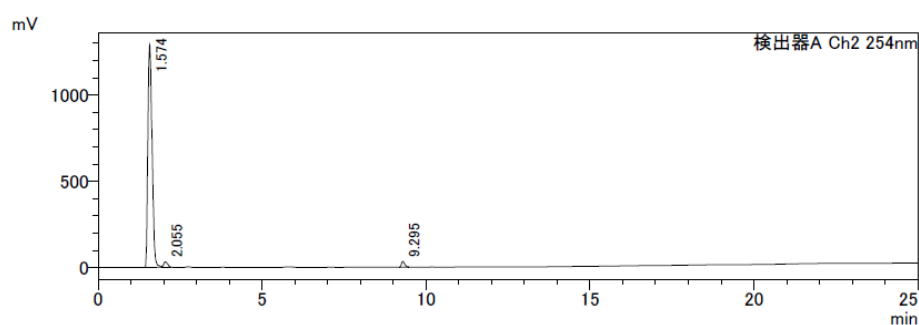
Table 6S: Synthesis of [¹²⁵I]40

Entry	Cu(py) ₄ (OTf) ₂ (nmol)	Time (min)	RCC (%)	
			[¹²⁵ I]38	[¹²⁵ I]40
1	80	10	19.2	79.0
2	80	20	0.6 ± 1.0*	96.4 ± 1.5*

*Data are presented as the mean ± standard deviation (N = 3).

UV- and radio-HPLC of the reaction mixture (Entry 2) [Analysis condition P]

UV detector



RI detector

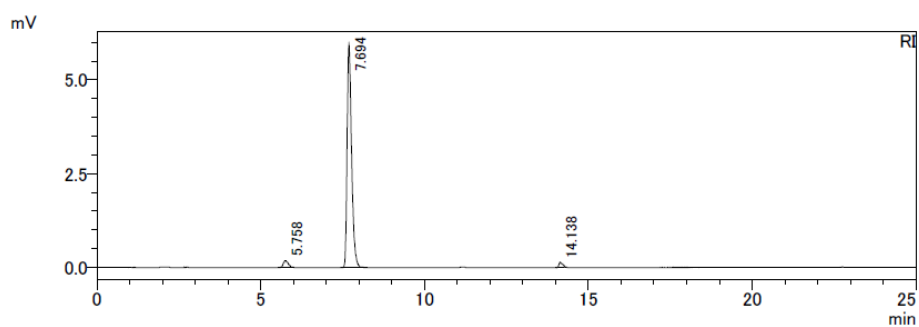


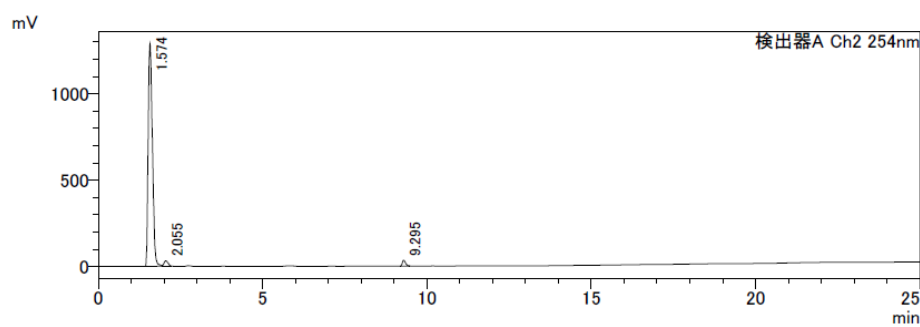
Table 7S: Synthesis of [¹²⁵I]41

Entry	Cu(py) ₄ (OTf) ₂ (nmol)	Time (min)	RCC (%)	
			[¹²⁵ I]38	[¹²⁵ I]41
1	80	10	12.8	87.2
2	150	10	3.5 ± 0.6*	96.5 ± 0.6*

*Data are presented as the mean ± standard deviation (N = 3).

UV- and radio-HPLC of the reaction mixture (Entry 2) [Analysis condition P]

UV detector



RI detector

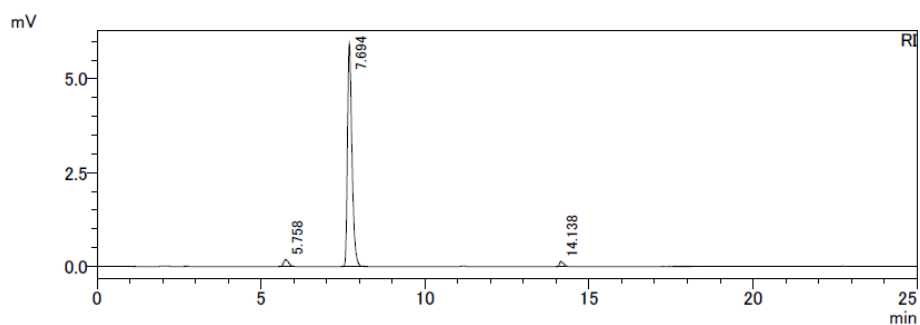


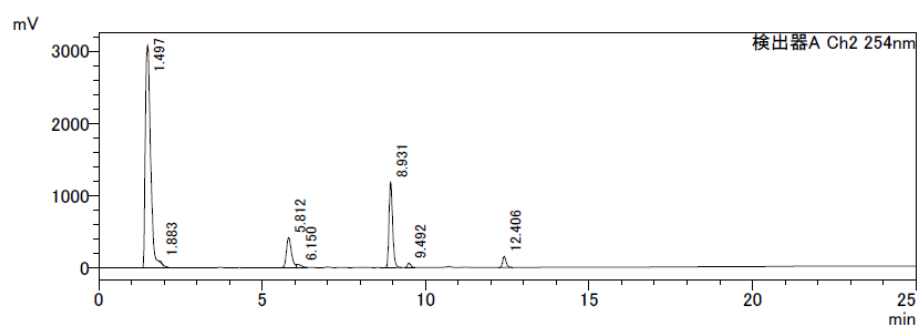
Table 8S: Synthesis of [¹²⁵I]42

Entry	Cu(py) ₄ (OTf) ₂ (nmol)	Time (min)	RCC (%)	
			[¹²⁵ I]38	[¹²⁵ I]42
1	80	10	32.6	67.4
2	80	15	4.9	95.1
3	80	20	2.4 ± 1.0*	97.6 ± 1.0*

*Data are presented as the mean ± standard deviation (N = 3).

UV- and radio-HPLC of the reaction mixture (Entry 3) [Analysis condition Q]

UV detector



RI detector

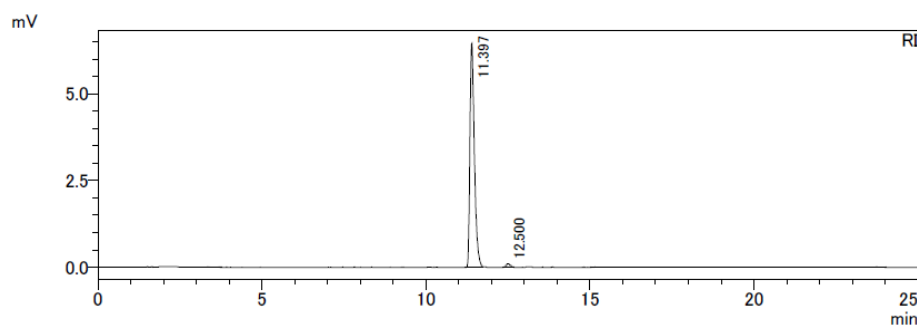


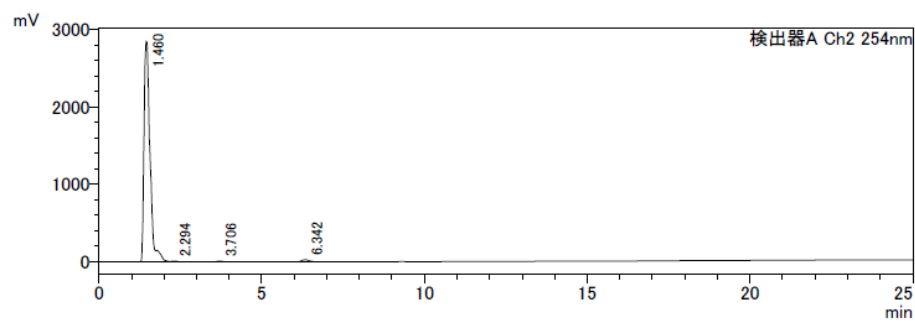
Table 9S: Synthesis of [¹²⁵I]43

Entry	Cu(py) ₄ (OTf) ₂ (nmol)	Time (min)	RCC (%)	
			[¹²⁵ I]38	[¹²⁵ I]43
1	150	20	1.7 ± 0.8*	97.6 ± 0.6*

*Data are presented as the mean ± standard deviation (N = 3).

UV- and radio-HPLC of the reaction mixture (Entry 1) [Analysis condition Q]

UV detector



RI detector

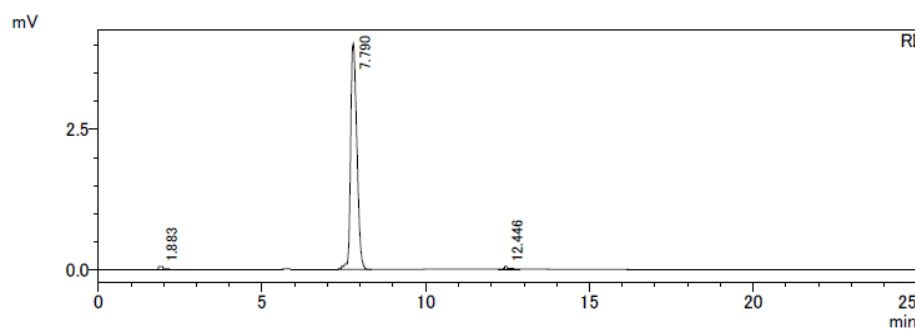


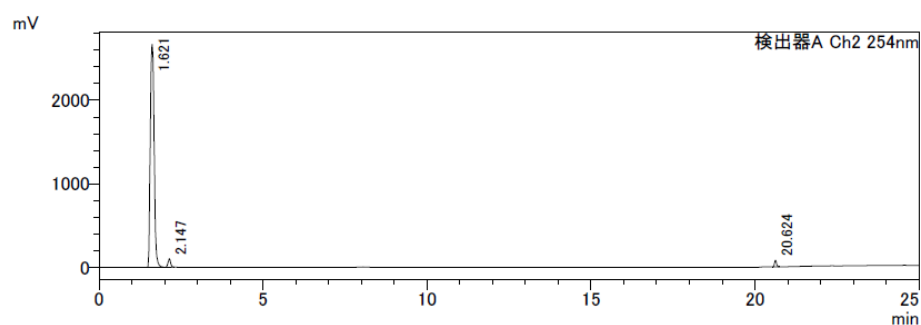
Table 10S: Synthesis of [¹²⁵I]46

Entry	Cu(py) ₄ (OTf) ₂ (nmol)	Time (min)	RCC (%)	
			[¹²⁵ I]38	[¹²⁵ I]46
1	80	10	34.7	60.2
2	80	20	7.6	82.2
3	150	20	1.0 ± 0.6*	87.8 ± 2.0*

*Data are presented as the mean ± standard deviation (N = 3).

UV- and radio-HPLC of the reaction mixture (Entry 3) [Analysis condition N]

UV detector



RI detector

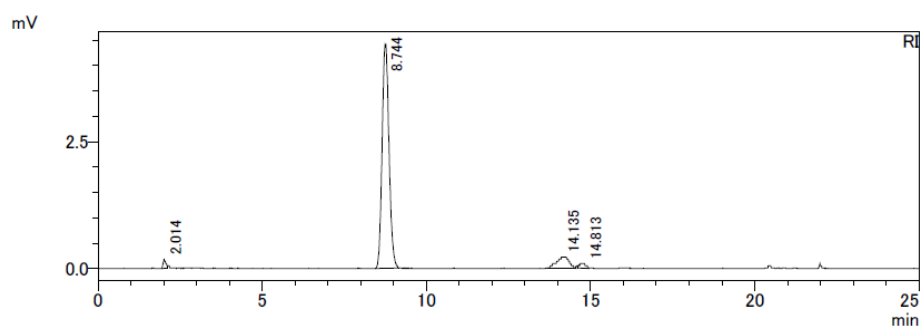


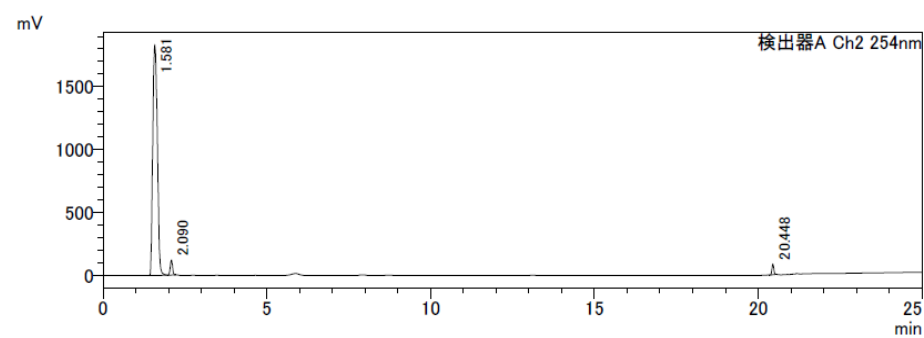
Table 11S: Synthesis of [¹²⁵I]52

Entry	Cu(py) ₄ (OTf) ₂ (nmol)	Time (min)	RCC (%)	
			[¹²⁵ I]38	[¹²⁵ I]52
1	80	10	28.6	71.4
2	80	20	27.9	72.1
3	150	20	5.1 ± 2.7*	93.3 ± 2.1*

*Data are presented as the mean ± standard deviation (N = 3).

UV- and radio-HPLC of the reaction mixture (Entry 3) [Analysis condition M]

UV detector



RI detector

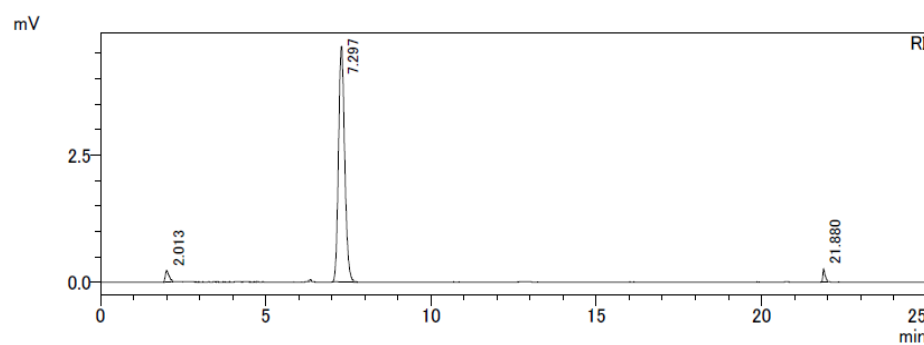


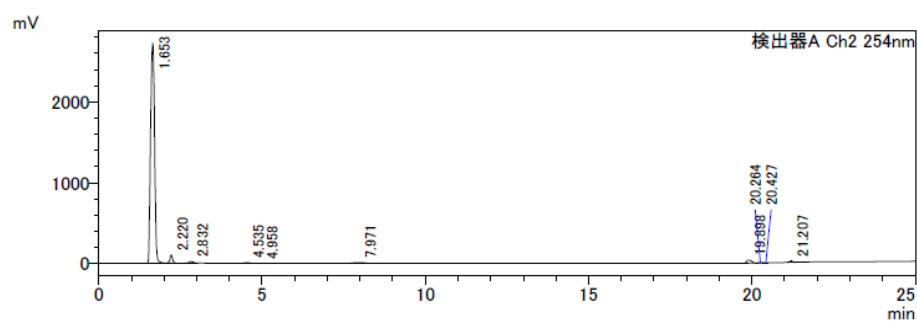
Table 12S: Synthesis of [¹²⁵I]54

Entry	Cu(py) ₄ (OTf) ₂ (nmol)	Time (min)	RCC (%)	
			[¹²⁵ I]38	[¹²⁵ I]54
1	80	10	27.9	69.5
2	80	20	15.5	81.4
3	150	20	6.6 ± 1.6*	90.9 ± 1.2*

*Data are presented as the mean ± standard deviation (N = 3).

UV- and radio-HPLC of the reaction mixture (Entry 3) [Analysis condition O]

UV detector



RI detector

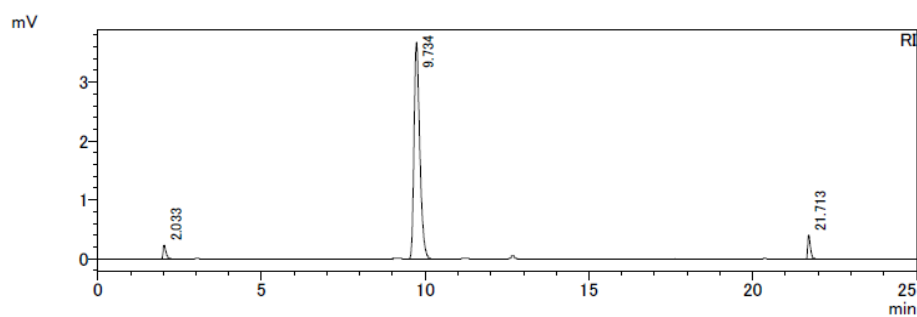


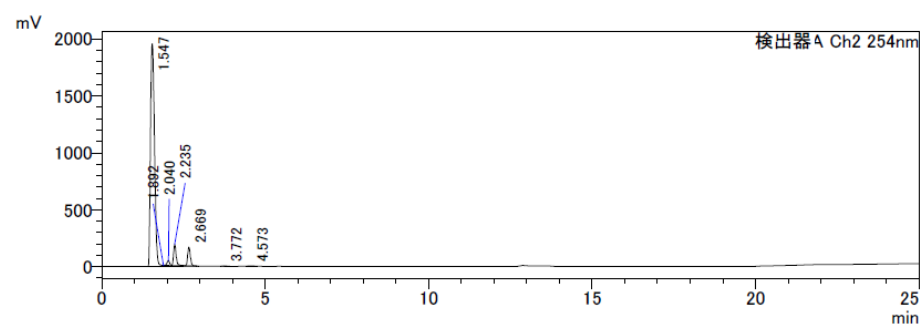
Table 13S: Synthesis of [¹²⁵I]57

Entry	Cu(py) ₄ (OTf) ₂ (nmol)	Time (min)	RCC (%)	
			[¹²⁵ I]38	[¹²⁵ I]57
1	80	10	16.1	80.6
2	80	15	7.9	89.6
3	80	20	4.6 ± 0.3*	92.7 ± 0.3*
4	100	10	23.1	75.0
5	150	10	11.9	85.4

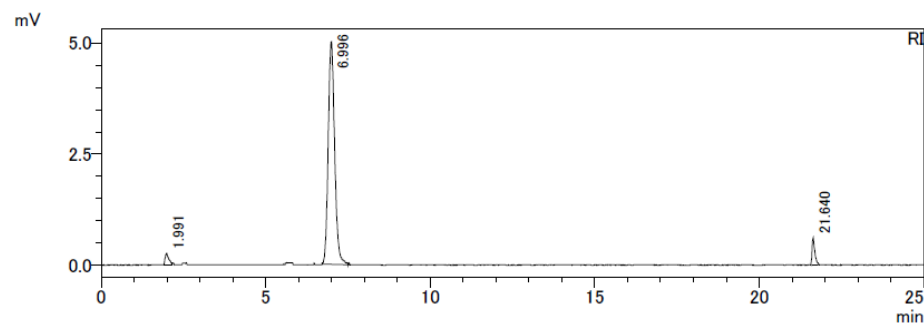
*Data are presented as the mean ± standard deviation (N = 3).

UV- and radio-HPLC of the reaction mixture (Entry 3) [Analysis condition L]

UV detector



RI detector



引用文献

1. Sgouros, G.; Bodei, L.; McDevitt, M. R.; Nedrow, J. R. Radiopharmaceutical therapy in cancer: clinical advances and challenges. *Nat. Rev. Drug Discov.* **2020**, *19*, 589–608. <https://doi.org/10.1038/s41573-020-0073-9>
2. Lindegren, S.; Albertsson, P.; Bäck, T.; Jensen, H.; Palm, S.; Aneheim, E. Realizing clinical trials with astatine-211: the chemistry infrastructure. *Cancer Biother. Radiopharm.* **2020**, *35*, 425–436. <https://doi.org/10.1089/cbr.2019.3055>
3. Guerard, F.; Maingueneau, C.; Liu, L.; Eychenne, R.; Gestin, JF.; Montavon, G. Advances in the chemistry of astatine and implications for the development of radiopharmaceuticals. *Acc. Chem. Res.* **2021**, *54*, 3264–3275. <https://doi.org/10.1021/acs.accounts.1c00327>
4. Li, F.; Yang, Y.; Liao, J.; Liu, N. Recent progress of astatine-211 in endoradiotherapy: Great advances from fundamental properties to targeted radiopharmaceuticals. *Chinese Chem. Lett.* **2022**, *33*, 3325–3338. <https://doi.org/10.1016/j.cclet.2022.03.025>
5. Kratochwil, C.; Bruchertseifer, F.; Giesel, F. L.; Weis, M.; Verburg, F. A.; Mottaghy, F.; Kopka, K.; Apostolidis, C.; Haberkorn, U.; Morgenstern, A. ²²⁵Ac-PSMA-617 for PSMA-targeted α -radiation therapy of metastatic castration-resistant prostate cancer. *J. Nucl. Med.* **2016**, *57*, 1941–1944. <https://doi.org/10.2967/jnumed.116.178673>
6. Sneddon, D.; Cornelissen, B. Emerging chelators for nuclear imaging. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2021**, *63*, 152–162. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2021.03.001>
7. Archibald, S. J.; Allott, L., The aluminium-¹⁸F fluoride revolution: simple radiochemistry with a big impact for radiolabelled biomolecules. *EJNMMI radiopharm. chem.* **2021**, *6*, 30. <https://doi.org/10.1186/s41181-021-00141-0>
8. Whetter, J. N.; Vaughn, B. A.; Koller, A. J.; Boros, E., An Unusual Pair: Facile formation and *in vivo* validation of robust Sc-¹⁸F ternary complexes for molecular imaging. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2022**, *61*, e202114203. <https://doi.org/10.1002/anie.202114203>
9. Miller, Philip W.; Long, Nicholas J.; Vilar, Ramon; Gee, Antony D. Synthesis of ¹¹C, ¹⁸F, ¹⁵O, and ¹³N radiolabels for positron emission tomography. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 8998–9033. <https://doi.org/10.1002/anie.200800222>
10. Halder, R.; Ritter, T. ¹⁸F-Fluorination: challenge and opportunity for organic chemists. *J. Org. Chem.* **2021**, *20*, 13873–13884. <https://doi.org/10.1021/acs.joc.1c01474>
11. Hall, A. J.; Haskali, M. B. Radiolabelled peptides: Optimal candidates for theranostic application in oncology. *Aust. J. Chem.* **2022**, *75*, 34–54. <https://doi.org/10.1071/CH21118>
12. Deng, X.; Zhu, X. Recent advances of S-¹⁸F radiochemistry for positron emission tomography. *ACS Omega* **2023**, *8*, 37720–37730. <https://doi.org/10.1021/acsomega.3c05594>

13. Dubost, E.; McErlain, H.; Babin, V.; Sutherland, A.; Cailly, T. Recent advances in synthetic methods for radioiodination. *J. Org. Chem.* **2020**, *85*, 8300–8310. <https://doi.org/10.1021/acs.joc.0c00644>
14. Disselhorst, J. A.; Brom, M.; Laverman, P.; Slump, C. H.; Boerman, O. C.; Oyen, W. J. G.; Gotthardt, M.; Visser, E. P., Image-quality assessment for several positron emitters using the NEMA NU 4-2008 standards in the Siemens Inveon small-animal PET scanner. *J. Nucl. Med.* **2010**, *51*, 610–617. <https://doi.org/10.2967/jnumed.109.068858>
15. Surti, S.; Scheuermann, R.; Karp, J. S. Correction technique for cascade gammas in I-124 imaging on a fully-3D, Time-of-Flight PET Scanner. *IEEE Trans. Nucl. Sci.* **2009**, *56*, 653–660. <https://doi.org/10.1109/TNS.2008.2011805>
16. Crawford, J. R.; Robertson, A. K. H.; Yang, H.; Rodriguez-Rodriguez, C.; Esquinas, P. L.; Kunz, P.; Blinder, S.; Sossi, V.; Schaffer, P.; Ruth, T. J. Evaluation of ^{209}At as a theranostic isotope for ^{209}At -radiopharmaceutical development using high-energy SPECT. *Phys. Med. Biol.* **2018**, *63*, 045025. <https://doi.org/10.1088/1361-6560/aaaa95>
17. Crawford, J. R.; Kunz, P.; Yang, H.; Schaffer, P.; Ruth, T. J. $^{211}\text{Rn}/^{211}\text{At}$ and ^{209}At production with intense mass separated Fr ion beams for preclinical ^{211}At -based alpha-therapy research. *Appl. Radiat. Isot.* **2017**, *122*, 222–228. <https://doi.org/10.1016/j.apradiso.2017.01.035>
18. Milesz, S.; Norseev, Yu. V.; Szucs, Z.; Vasaros, L. Characterization of DTPA complexes and conjugated antibodies of astatine. *J. Radioanal. Nucl. Chem. Lett.* **1989**, *137*, 365–372. <https://doi.org/10.1007/BF02162464>
19. Ludwig, R.; Fischer, S.; Dreyer, R.; Jacobi, R.; Beger, J. Complex-formation equilibria between astatine(i) and sulfur-containing chelating ligands. *Polyhedron* **1991**, *10*, 11–17. [https://doi.org/10.1016/S0277-5387\(00\)83540-8](https://doi.org/10.1016/S0277-5387(00)83540-8)
20. Turkington, T. G.; Zalutsky, M. R.; Jaszczak, R. J.; Garg, P. K.; Vaidyanathan, G.; Coleman, R. E. Measuring astatine-211 distributions with SPECT. *Phys. Med. Biol.* **1993**, *38*, 1121–1130. <https://doi.org/10.1088/0031-9155/38/8/010>
21. Oliveira M. C.; Correia J. D. G. Biomedical applications of radioiodinated peptides. *Eur. J. Med. Chem.* **2019**, *179*, 56–77. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2019.06.014>
22. Mushtaq, S.; Jeon, J.; Shaheen, A.; Jang, B.S.; Park, S.H. Critical analysis of radioiodination techniques for micro and macro organic molecules. *J. Radioanal. Nucl. Chem.* **2016**, *309*, 859–889. <https://doi.org/10.1007/s10967-015-4679-z>
23. Sadri, K.; Gandomkar, M.; Babaei, M.H.; Najafi, R.; Zakavi, S.R.; Sadat Ebrahimi, S.E. Synthesis and biodistribution studies of iodine-131 D-amino acid YYK peptide as a potential therapeutic agent for labeling an anti-CD20 antibody. *J. Label. Compd. Radiopharm.* **2009**, *52*, 289–294. <https://doi.org/10.1002/jlcr.1600>
24. Efimova, Y. M.; Wierczynski, B.; Haemers, S.; van Well, A. A. Changes in the secondary structure of proteins labeled with ^{125}I : CD spectroscopy and enzymatic activity studies. *J. Radioanal. Nucl. Chem.* **2005**, *264*, 91–96. <https://doi.org/10.1007/s10967-005-0679-8>

25. Lee, D.S.C.; Griffiths, B.W. Comparative studies of iodo-bead and chloramine-T methods for the radioiodination of human alpha-fetoprotein. *J. Immunol. Methods* **1984**, *74*, 181–189. [https://doi.org/10.1016/0022-1759\(84\)90379-X](https://doi.org/10.1016/0022-1759(84)90379-X)
26. Jeon, J.; Ma, S.-Y.; Choi, D.S.; Jang, B.-S.; Kang, J.A.; Nam, Y.R.; Yoon, S.; Park, S.H. Radiosynthesis of ¹²³I-labeled hesperetin for biodistribution study of orally administered hesperetin. *J. Radioanal. Nucl. Chem.* **2015**, *306*, 437–443. <https://doi.org/10.1007/s10967-015-4093-6>
27. Norseyev, Y.V., Nhan, D.D., Khalkin, V.A., Huan N. Q., Vasaros L. The preparation of astatine labelled tyrosine using an electrophilic reaction. *J. Radioanal. Nucl. Chem.* **1985**, *94*, 185–190. <https://doi.org/10.1007/BF02167979>
28. Visser, G. W. M.; Diemer, E. L.; Kaspersen, F. M. The nature of the astatine-protein bond. *Int. J. Appl. Radiat. Isot.* **1981**, *32*, 905–912. [https://doi.org/10.1016/0020-708X\(81\)90077-6](https://doi.org/10.1016/0020-708X(81)90077-6)
29. Mattner, F.; Mardon, K.; Katsifis, A. Pharmacological evaluation of [¹²³I]-CLINDE: A radioiodinated imidazopyridine-3-acetamide for the study of peripheral benzodiazepine binding sites (PBBS). *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging* **2008**, *35*, 779–789. <https://doi.org/10.1007/s00259-007-0645-5>
30. Al-Momani, E.; Zlatopolskiy, B.D.; Solbach, C.; Reske, S.N.; Machulla, H.-J. Synthesis of 15-(4-[¹³¹I]iodophenyl)pentadecanoic acid (p-IPPA) via tin-precursor using chloramine-T as an oxidant. *J. Radioanal. Nucl. Chem.* **2010**, *286*, 231–234. <https://doi.org/10.1007/s10967-010-0643-0>
31. Chitneni, S. K.; Reitman, Z. J.; Spicehandler, R.; Gooden, D. M.; Yan, H.; Zalutsky, M. R. Synthesis and evaluation of radiolabeled AGI-5198 analogues as candidate radiotracers for imaging mutant IDH1 expression in tumors. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2018**, *28*, 694–699. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2018.01.015>
32. Garg, P. K.; John, C. S.; Zalutsky, M. R. Preparation and preliminary evaluation of 4-[²¹¹At]astato-*N*-piperidinoethyl benzamide. *Nucl. Med. Biol.* **1995**, *22*, 467–473. [https://doi.org/10.1016/0969-8051\(94\)00134-6](https://doi.org/10.1016/0969-8051(94)00134-6)
33. Liu, W.; Ma, H.; Tang, Y.; Chen, Q.; Peng, S.; Yang, J.; Liao, J.; Yang, Y.; Li, Q.; Liu, N. One-step labelling of a novel small-molecule peptide with astatine-211: preliminary evaluation in vitro and in vivo. *J. Radioanal. Nucl. Chem.* **2018**, *316*, 451–456. <https://doi.org/10.1007/s10967-018-5780-x>
34. Vaidyanathan, G.; Pozzi, O. R.; Choi, J.; Zhao, X.-G.; Murphy, S.; Zalutsky, M. R. Labeling monoclonal antibody with α -emitting ²¹¹At at high activity levels via a tin Precursor. *Cancer Biother. Radiopharm.* **2020**, *35*, 511–519. <https://doi.org/10.1089/cbr.2019.3204>
35. Ogawa, K.; Takeda, T.; Mishiro, K.; Toyoshima, A.; Shiba, K.; Yoshimura, T.; Shinohara, A.; Kinuya, S.; Odani, A. Radiotheranostics coupled between an At-211-labeled RGD peptide and the corresponding radioiodine-labeled RGD peptide. *ACS Omega* **2019**, *4*, 4584–4591. <https://doi.org/10.1021/acsomega.8b03679>

36. Donovan, A.; Forbes, J.; Dorff, P.; Schaffer, P.; Babich, J.; Valliant, J. F. A new strategy for preparing molecular imaging and therapy agents using fluorine-rich (fluorous) soluble supports. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 3536–3537. <https://doi.org/10.1021/ja0600375>
37. McIntee, J. W.; Sundararajan, C.; Donovan, A. C.; Kovacs, M. S.; Capretta, A.; Valliant, J. F. A Convenient method for the preparation of fluorous tin derivatives for the fluorous labeling strategy. *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 8236–8243. <https://doi.org/10.1021/jo8013287>
38. Vaidyanathan, G.; Zalutsky, M. R. No-Carrier-Added Synthesis of meta-[¹³¹I]iodobenzylguanidine. *Appl. Radiat. Isot.* **1993**, *44*, 621–628. [https://doi.org/10.1016/0969-8043\(93\)90179-e](https://doi.org/10.1016/0969-8043(93)90179-e)
39. Vaidyanathan, G.; Zalutsky, M. R. 1-(meta-[²¹¹At]astatobenzyl)guanidine: synthesis via astatodemetallation and preliminary *in vitro* and *in vivo* evaluation. *Bioconjugate Chem.* **1992**, *3*, 499–503. <https://doi.org/10.1021/bc00018a006>
40. Watanabe, S.; Azim, M. A.-U.; Nishinaka, I.; Sasaki, I.; Ohshima, Y.; Yamada, K.; Ishioka, N. S. A convenient and reproducible method for the synthesis of astatinated 4-[²¹¹At]astato-*L*-phenylalanine via electrophilic desilylation. *Org. Biomol. Chem.* **2019**, *17*, 165–171. <https://doi.org/10.1039/c8ob02394h>
41. Nakagawa, C.; Toyama, M.; Takeuchi, R.; Takahashi, T.; Tanaka, H. Synthesis of [¹²³I]-iodometomidate from a polymer-supported precursor with a large excluded volume. *RSC Adv.* **2016**, *6*, 12215–12218. <https://doi.org/10.1039/c6ra00442c>
42. Akula, M. R.; Zhang, J. H.; Kabalka, G. W. [¹²³I]Iodocognex, a potent SPECT agent to map acetylcholinesterase via a boronic acid precursor. *J. Labelled Compd. Radiopharm.* **2001**, *44*, S260–S261. <https://doi.org/10.1002/jlcr.2580440191>
43. Kabalka, G. W.; Akula, M. R.; Zhang, J. Synthesis of radioiodinated aryl iodides via boronate precursors. *Nucl. Med. Biol.* **2002**, *29*, 841–843. [https://doi.org/10.1016/s0969-8051\(02\)00344-x](https://doi.org/10.1016/s0969-8051(02)00344-x)
44. Yong, L.; Yao, M.-L.; Green, J. F.; Kelly, H.; Kabalka, G. W. Syntheses and characterization of polymer-supported organotrifluoroborates: applications in radioiodination reactions. *Chem. Commun.* **2010**, *46*, 2623–2625. <https://doi.org/10.1039/b925258d>
45. Molloy, J. J.; O’rourke, K. M.; Frias, C. P.; Sloan, N. L.; West, M. J.; Pimlott, S. L.; Sutherland, A.; Watson, A. J. B. Mechanism of Cu-catalyzed aryl boronic acid halodeboronation using electrophilic halogen: development of a base-catalyzed iododeboronation for radiolabeling applications. *Org. Lett.* **2019**, *21*, 2488–2492. <https://doi.org/10.1021/acs.orglett.9b00942>
46. Shirakami, Y.; Watabe, T.; Obata, H.; Kaneda, K.; Ooe, K.; Liu, Y.; Teramoto, T.; Toyoshima, A.; Shinohara, A.; Shimosegawa, E.; Hatazawa, J.; Fukase, K. Synthesis of [²¹¹At]4-astato-*L*-phenylalanine by dihydroxyboryl-astatine substitution reaction in aqueous solution. *Sci. Rep.* **2021**, *11*, 12982. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-92476-6>
47. Chezal, J. M.; Papon, J.; Labarre, P.; Lartigue, C.; Galmier, M. J.; Decombat, C.; Chavignon, O.; Maublant, J.; Teulade, J. C.; Madelmont, J. C.; Moins, N. Evaluation of radiolabeled (hetero)-aromatic analogues of *N*-(2-diethylaminoethyl)-4-iodobenzamide for imaging and targeted

- radionuclide therapy of melanoma. *J. Med. Chem.* **2008**, *51*, 3133–3144. <https://doi.org/10.1021/jm701424g>
48. Farouk, N. Radioiodination of (*N*-diethylaminoethyl)-4-iodobenzamide (IBZA) as a new potent melanoma imaging and therapeutic agent *via* isotopic exchange reaction. *J. Radioanal. Nucl. Chem.* **2011**, *289*, 7–11. <https://doi.org/10.1007/s10967-011-1057-3>
49. Giglio, B. C.; Wang, H.; Yan, X.; Li, Z. Synthesis and initial evaluation of radioactive 5-*I*- α -methyl-tryptophan: A Trp based agent targeting IDO-1. *Med. Chem. Comm.* **2019**, *10*, 814–816. <https://doi.org/10.1039/c9md00082h>
50. Meyer, Geerd J.; Walte, Almut; Sriyapureddy, Siva R.; Grote, Michaela; Krull, Doris; Korkmaz, Zekiye; Knapp, Wolfram H. Synthesis and analysis of 2- ^{211}At -*L*-phenylalanine and 4- ^{211}At -*L*-phenylalanine and their uptake in human glioma cell cultures in-vitro. *Appl. Radiat. Isot.* **2010**, *68*, 1060–1065. <https://doi.org/10.1016/j.apradiso.2009.12.043>
51. Kuge, Y.; Katada, Y.; Shimonaka, S.; Temma, T.; Kimura, H.; Kiyono, Y.; Yokota, C.; Minematsu, K.; Seki, K.; Tamaki, N.; Ohkura, K.; Saji, H. Synthesis and evaluation of radioiodinated cyclooxygenase-2 inhibitors as potential SPECT tracers for cyclooxygenase-2 expression. *Nucl. Med. Biol.* **2006**, *33*, 21–27. <https://doi.org/10.1016/j.nucmedbio.2005.10.004>
52. Kiyono, Y.; Sugita, T.; Ueda, M.; Kawashima, H.; Kanegawa, N.; Kuge, Y.; Fujibayashi, Y.; Saji, H. Evaluation of radioiodinated (2*S*,*S*)-2-(α -(2-iodophenoxy)benzyl)morpholine as a radioligand for imaging of norepinephrine transporter in the heart. *Nucl. Med. Biol.* **2008**, *35*, 213–218. <https://doi.org/10.1016/j.nucmedbio.2007.11.006>
53. Kil, K. E.; Zhu, A.; Zhang, Z.; Choi, J. K.; Kura, S.; Gong, C.; Brownell, A. L. Development of ^{123}I IPEB and ^{123}I IMPEB as SPECT radioligands for metabotropic glutamate receptor subtype 5. *ACS Med. Chem. Lett.* **2014**, *5*, 652–656. <https://doi.org/10.1021/ml500007z>
54. Meyer, G. J.; Roessler, K.; Stoecklin, G. Reaction of aromatic diazonium salts with carrier-free radioiodine and astatine. Evidence for complex formation. *J. Am. Chem. Soc.* **1979**, *101*, 3121–3123. <https://doi.org/10.1021/ja00505a050>
55. Visser, G. W. M.; Diemer, E. L. The reaction of astatine with aromatic diazonium compounds. *Radiochem Radioanal. Lett.* **1982**, *51*, 135–141. (No DOI)
56. Wunderlich, G.; Fischer, S.; Dreyer, R.; Franke, W. G. A simple method for labeling proteins with astatine-211 *via* diazotized aromatic diamine. *J. Radioanal. Nucl. Chem. Lett.* **1987**, *117*, 197–203. <https://doi.org/10.1007/BF02165792>
57. Foster, N.I.; Dannals, R.; Burns, H.D.; Heindel, N.D. A condition variation study for radioiodination *via* triazene intermediates. *J. Radioanal. Chem.* **1981**, *65*, 95–105. <https://doi.org/10.1007/bf02516092>
58. Vivier, M.; Rapp, M.; Papon, J.; Labarre, P.; Galmier, M.-J.; Sauzière, J.; Madelmont, J.-C. Synthesis, radiosynthesis, and biological evaluation of new proteasome inhibitors in a tumor targeting approach. *J. Med. Chem.* **2008**, *51*, 1043–1047. <https://doi.org/10.1021/jm701419g>

59. Sloan, N. L.; Luthra, S. K.; McRobbie, G.; Pimlott, S. L.; Sutherland, A. A one-pot radioiodination of aryl amines *via* stable diazonium salts: preparation of ^{125}I -imaging agents. *Chem. Commun.* **2017**, 53, 11008–11011. <https://doi.org/10.1039/c7cc06211g>
60. Guerard, F.; Lee, Y.-S.; Baidoo, K.; Gestin, J.-F.; Brechbiel, M. W. Unexpected behavior of the heaviest halogen astatine in the nucleophilic substitution of arylodonium salts. *Chem. Eur. J.* **2016**, 22, 12332–12339. <https://doi.org/10.1002/chem.201600922>
61. Guerard, F.; Navarro, L.; Lee, Y.-S.; Roumesy, A.; Alliot, C.; Cherel, M.; Brechbiel, M. W.; Gestin, J.-F. Bifunctional arylodonium salts for highly efficient radioiodination and astatination of antibodies. *Bioorg. Med. Chem.* **2017**, 25, 5975–5980. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2017.09.022>
62. Navarro, L.; Berdal, M.; Cherel, M.; Pecorari, F.; Gestin, J.-F.; Guerard, F. Prosthetic groups for radioiodination and astatination of peptides and proteins: a comparative study of five potential bioorthogonal labeling strategies. *Bioorg. Med. Chem.* **2019**, 27, 167–174. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2018.11.034>
63. Matsuoka, K.; Obata, H.; Nagatsu, K.; Kojima, M.; Yoshino, T.; Ogawa, M.; Matsunaga, S. Transition-metal-free nucleophilic ^{211}At -astatination of spirocyclic arylodonium ylides. *Org. Biomol. Chem.*, **2021**, 19, 5525–5528. <https://doi.org/10.1039/d1ob00789k>
64. Maingueneau, C.; Berdal, M.; Eychenne, R.; Gaschet, J.; Cherel, M.; Gestin, J.-F.; Guerard, F. ^{211}At and ^{125}I -labeling of (hetero)aryliodonium ylides: astatine wins again. *Chem. - A Eur. J.* **2022**, 28, e202104169. <https://doi.org/10.1002/chem.202104169>
65. Cant, A. A.; Champion, S.; Bhalla, R.; Pimlott, S. L.; Sutherland, A. Nickel-mediated radioiodination of aryl and heteroaryl bromides: Rapid synthesis of tracers for SPECT imaging. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2013**, 52, 7829–7832. <https://doi.org/10.1002/anie.201302800>
66. Wilson, T. C.; McSweeney, G.; Preshlock, S.; Verhoog, S.; Tredwell, M.; Cailly, T.; Gouverneur, V. Radiosynthesis of SPECT tracers *via* a copper mediated ^{123}I iodination of (hetero) aryl boron reagents. *Chem. Commun. (Camb)*. **2016**, 52, 13277–13280. <https://doi.org/10.1039/C6CC07417K>.
67. Zhang, P.; Zhuang, R.; Guo, Z.; Su, X.; Chen, X.; Zhang, X. A highly efficient copper-mediated radioiodination approach using aryl boronic acids. *Chem. Eur. J.* **2016**, 22, 16783–16786. <https://doi.org/10.1002/chem.201604105>
68. Reilly S. W.; Makvandi M.; Xu K.; Mach R. H. Rapid Cu-catalyzed [^{211}At] astatination and [^{125}I] iodination of boronic esters at room temperature. *Org. Lett.* **2018**, 20, 1752–1755. <https://doi.org/10.1021/acs.orglett.8b00232>
69. Yan, R.; El-Emir, E.; Rajkumar, V.; Robson, M.; Jathoul, A. P.; Pedley, R. B.; Arstad, E. One-pot synthesis of an ^{125}I -labeled trifunctional reagent for multiscale imaging with optical and nuclear techniques. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2011**, 50, 6793–6795. <https://doi.org/10.1002/anie.201102072>
70. Yan, R.; Sander, K.; Galante, E.; Rajkumar, V.; Badar, A.; Robson, M.; El-Emir, E.; Lythgoe, M. F.; Pedley, R. B.; Arstad, E. A one-pot three-component radiochemical reaction for rapid assembly of ^{125}I -labeled molecular probes. *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, 135, 703–709. <https://doi.org/10.1021/ja307926g>

71. Denk, C.; Wilkovitsch, M.; Aneheim, E.; Herth, M. M.; Jensen, H.; Lindegren, S.; Mikula, H. Multifunctional clickable reagents for rapid bioorthogonal astatination and radio-crosslinking. *Chem Plus Chem* **2019**, *84*, 775–778. <https://doi.org/10.1002/cplu.201900114>
72. Li, L.; Ding, S.; Yang, Y.; Zhu, A.; Fan, X.; Cui, M.; Chen, C.; Zhang, G. Multicomponent aqueous synthesis of iodo-1,2,3-triazoles: Single-step models for dual modification of free peptide and radioactive iodo labeling. *Chem.-A Eur. J.* **2017**, *23*, 1166–1172. <https://doi.org/10.1002/chem.201605034>
73. Glaser, M.; Rajkumar, V.; Diocou, S.; Gendron, T.; Yan, R.; Sin, P. K. B.; Sander, K.; Carroll, L.; Pedley, R. B.; Aboagye, E. O.; Witney, T. H.; Arstad, E. One-pot radiosynthesis and biological evaluation of a caspase-3 selective 5-[^{123,125}I]iodo-1,2,3-triazole derived Isatin SPECT tracer. *Sci. Rep.* **2019**, *9*, 19299. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-55992-0>
74. Lu, Z.; Pham, T. T.; Rajkumar, V.; Yu, Z.; Pedley, R. B.; Arstad, E.; Maher, J.; Yan, R. A dual reporter iodinated labeling reagent for cancer positron emission tomography imaging and fluorescence-guided surgery. *J. Med. Chem.* **2018**, *61*, 1636–1645. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.7b01746>
75. Chen, Y.; Foss, C. A.; Byun, Y.; Nimmagadda, S.; Pullambhatla, M.; Fox, J. J.; Castanares, M.; Lupold, S. E.; Babich, J. W.; Mease, R. C.; Pomper, M. G. Radiohalogenated prostate-specific membrane antigen (PSMA) - based ureas as imaging agents for prostate cancer. *J. Med. Chem.* **2008**, *51*, 7933–7943. <https://doi.org/10.1021/jm801055h>
76. Hillier, S. M.; Maresca, K. P.; Femia, F. J.; Marquis, J. C.; Foss, C. A.; Nguyen, N.; Zimmerman, C. N.; Barrett, J. A.; Eckelman, W. C.; Pomper, M. G.; Joyal, J. L.; Babich, J. W. Preclinical evaluation of novel glutamate- urea- lysine analogues that target prostate-specific membrane antigen as molecular imaging pharmaceuticals for prostate cancer. *Cancer Res.* **2009**, *69*, 6932–6940. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-09-1682>
77. Maresca, K. P.; Hillier, S. M.; Femia, F. J.; Keith, D.; Barone, C.; Joyal, J. L.; Zimmerman, C. N.; Kozikowski, A. P.; Barrett, J. A.; Eckelman, W. C.; Babich, J. W. A series of halogenated heterodimeric inhibitors of prostate specific membrane antigen (PSMA) as radiolabeled probes for targeting prostate cancer. *J. Med. Chem.* **2009**, *52*, 347–357. <https://doi.org/10.1021/jm800994j>
78. Foss, C. A.; Mease, R. C.; Fan, H.; Wang, Y.; Ravert, H. T.; Dannals, R. F.; Olszewski, R. T.; Heston, W. D.; Kozikowski, A. P.; Pomper, M. G. Clin. Radiolabeled small- molecule ligands for prostate-specific membrane antigen: *in vivo* imaging in experimental models of prostate cancer. *Clin. Cancer Res.* **2005**, *11*, 4022–4028. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-04-2690>
79. Abouzayed, A.; Yim, C. B.; Mitran, B.; Rinne, S. S.; Tolmachev, V.; Larhed, M.; Rosenstroem, U.; Orlova, A. Synthesis and preclinical evaluation of radio-iodinated GRPR/PSMA bispecific heterodimers for the theranostics application in prostate cancer. *Pharmaceutics* **2019**, *11*, 358. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics11070358>
80. Kondo, Y.; Kimura, H.; Fukumoto, C.; Yagi, Y.; Hattori, Y.; Kawashima, H.; Yasui, H. Copper-mediated radioiodination reaction through aryl boronic acid or ester precursor and its application

- to direct radiolabeling of a cyclic peptide. *J. Labelled Comp. Radiopharm.* **2021**, *64*, 336–345. <https://doi.org/10.1002/jlcr.3925>
81. Kondo, Y.; Kimura, H.; Sasaki, I.; Watanabe, S.; Ohshima, Y.; Yagi, Y.; Hattori, Y.; Koda, M.; Kawashima, H.; Yasui, H.; Ishioka, N. S. Copper-mediated radioiodination and radiobromination via aryl boronic precursor and its application to $^{125}\text{I}/^{77}\text{Br}$ -labeled prostate-specific membrane antigen imaging probes. *Bioorg. Med. Chem.* **2022**, *69*, 116915. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2022.116915>
 82. King, A. E.; Brunold, T. C.; Stahl, S. S. Mechanistic study of copper-catalyzed aerobic oxidative coupling of arylboronic esters and methanol: insights into an organometallic oxidase reaction. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 5044–5045. <https://doi.org/10.1021/ja9006657>
 83. King, A. E.; Ryland, B. L.; Brunold, T. C.; Stahl, S. S. Kinetic and spectroscopic studies of aerobic copper(II)-catalyzed methoxylation of arylboronic esters and insights into aryl transmetalation to copper(II). *Organometallics.* **2012**, *31*, 7948–7957. <https://doi.org/10.1021/om300586p>
 84. Vantourout, J. C.; Miras, H. N.; Isidro-Llobet, A.; Sproules, S.; Watson, A. J. B. Spectroscopic studies of the Chan-Lam amination: a mechanism-inspired solution to boronic ester reactivity. *J. Am. Chem. Soc.* **2017**, *139*, 4769–4779. <https://doi.org/10.1021/jacs.6b12800>
 85. Bose, S.; Dutta, S.; Koley, D. Entering chemical space with theoretical underpinning of the mechanistic pathways in the Chan-Lam amination. *ACS Catal.* **2022**, *12*, 1461–1474. <https://doi.org/10.1021/acscatal.1c04479>
 86. Nishikata, T.; Yamamoto, Y.; Miyaura, N. 1,4-Addition of arylboronic acids and arylsiloxanes to α,β -unsaturated carbonyl compounds via transmetalation to dicationic palladium(II) complexes. *Organometallics.* **2004**, *23*, 4317–4324. <https://doi.org/10.1021/om0498044>
 87. Hardouin Duparc, V.; Bano, G. L.; Schaper, F. Chan-Evans-Lam couplings with copper iminoarylsulfonate complexes: scope and mechanism. *ACS Catal.* **2018**, *8*, 7308–7325. <https://doi.org/10.1021/acscatal.8b01881>
 88. Andrews, M. J.; Carpentier, A.; Slawin, A. M. Z.; Cordes, D. B.; Macgregor, S. A.; Watson, A. J. B. Mechanism of Cu-catalyzed iododeboronation: a description of ligand-enabled transmetalation, disproportionation, and turnover in Cu-mediated oxidative coupling reactions. *ACS Catal.* **2023**, *13*, 11117–11126. <https://doi.org/10.1021/acscatal.3c02839>
 89. Tan, Y.; Wu, J.; Song, L.; Zhang, M.; Hipolito, C. J.; Wu, C.; Wang, S.; Zhang, Y.; Yin, Y. Merging the versatile functionalities of boronic acid with peptides. *Int. J. Mol. Sci.* **2021**, *22*, 12958. <https://doi.org/10.3390/ijms222312958>.
 90. Tornøe, C. W.; Christensen, C.; Meldal, M. Peptidotriazoles on solid phase: [1,2,3]-triazoles by regiospecific copper(I)-catalyzed 1,3-dipolar cycloadditions of terminal alkynes to azides. *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 3057–3064. <https://doi.org/10.1021/jo011148j>
 91. Rostovtsev, V. V.; Green, L. G.; Fokin, V. V.; Sharpless, K. B. A stepwise Huisgen cycloaddition process: copper(I)-catalyzed regioselective "ligation" of azides and terminal alkynes. *Angew. Chem.*

- Int. Ed.* **2002**, *41*, 2596–2599. [https://doi.org/10.1002/1521-3773\(20020715\)41:14<2596::aid-anie2596>3.0.co;2-4](https://doi.org/10.1002/1521-3773(20020715)41:14<2596::aid-anie2596>3.0.co;2-4)
92. Tang, W.; Becker, M. L. "Click" reactions: a versatile toolbox for the synthesis of peptide-conjugates. *Chem. Soc. Rev.* **2014**, *43*, 7013–7039. <https://doi.org/10.1039/c4cs00139g>
93. Haldon, E.; Nicasio, M. C.; Perez, P. J. Copper-catalysed azide-alkyne cycloadditions (CuAAC): an update. *Org. Biomol. Chem.* **2015**, *13*, 9528–9550. <https://doi.org/10.1039/c5ob01457c>
94. Castro, V.; Rodriguez, H.; Albericio, F. CuAAC: an efficient click chemistry reaction on solid phase. *ACS Comb. Sci.* **2016**, *18*, 1–14. <https://doi.org/10.1021/acscombsci.5b00087>
95. Chan, T. R.; Hilgraf, R.; Sharpless, K. B.; Fokin, V. V. Polytriazoles as copper(I)-stabilizing ligands in catalysis. *Org. Lett.* **2004**, *6*, 2853–2855. <https://doi.org/10.1021/ol0493094>
96. Worrell, B. T.; Malik, J. A.; Fokin, V. V. Direct evidence of a dinuclear copper intermediate in Cu(I)-catalyzed azide-alkyne cycloadditions. *Science* **2013**, *340*, 457–460. <https://doi.org/10.1126/science.1229506>

謝辞

本論文の終わりに臨み、本研究を行うに際し終始御懇篤な御指導、ご鞭撻を賜りました京都薬科大学代謝分析学分野 安井裕之教授，ならびに木村寛之准教授（現，金沢大学 疾患モデル総合研究センター疾患解析プローブ・ケミカル分野 教授）に心より感謝の意を表します。

副査として本論文の審査を引き受けて頂きました京都薬科大学薬化学分野 古田巧教授，京都薬科大学薬品分析学分野 武上茂彦教授に深く感謝致します。

本研究の遂行にあたり，有益な御助言，ご協力を賜りました国立研究開発法人量子科学技術研究開発機構量子バイオ基盤研究部 RI 医療応用プロジェクト 石岡典子上席研究員，同 渡辺茂樹主幹研究員，同 大島康宏主幹研究員，同 佐々木一郎主任技術員，京都薬科大学放射性同位元素研究センター 河嶋秀和准教授，京都薬科大学共同利用機器センター 服部恭尚講師，京都医療科学大学医療科学部 屋木祐亮助教，京都薬科大学代謝分析学分野 内藤行喜助教に深く感謝致します。

研究生生活を事務方として支援して頂きました京都薬科大学 代謝分析学分野 秘書 細川美香氏に感謝致します。また，4年間の充実した研究生生活を共に過ごして頂きました京都薬科大学代謝分析学分野の卒業生並びに在学生の皆様にも心より感謝致します。

