

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患等克服研究事業（難治性疾患克服研究事業））
分担研究報告書

放射性標識脂肪酸誘導体を用いる薬効評価に関する研究

研究分担者 間賀田泰寛 浜松医科大学 メディカルフォトニクス研究センター 教授

研究要旨

中性脂肪蓄積心筋血管症治療薬として期待されるカプリン酸およびトリカプリンの生体内動態評価を可能とすることを目的として、これら化合物のC-11標識反応の開発とそのマウス体内動態に関する検討を行った。特に、これまでC-11標識体の合成が出来なかった、トリカプリンについて、 α 位標識体として、反応条件を検討することでC-11-トリカプリンを得ることが出来た。本化合物は脂溶性が高く、投与のための製剤化の工夫が必要であるため、対応する β -C-11カプリン酸の合成と合わせて、今後検討を行う。

A. 研究目的

中性脂肪蓄積心筋血管症の治療薬として中鎖脂肪酸であるカプリン酸を構成成分とする中性脂肪、トリカプリンを標的として検討が進められている。医薬品とするためにはその薬物動態追跡が必要となる。また、病態モデルを用いたトリカプリンの体内動態もまだ詳細には知られていない。そこで本研究では、ポジトロン放出核種で標識されたトリカプリンおよびカプリン酸を開発し、その体内動態を解剖法あるいはPositron Emission Computed Tomography (PET)カメラを用いて追跡すること目的として検討を行った。これまでカプリン酸の α 位をC-11標識することが出来たが、対応するトリカプリンは本標識体からの合成では、得ることが出来なかった。そこで本年度は、 β 位標識体を得ることを目的として検討を行った。

B. 研究方法

カプリン酸等の脂肪酸をポジトロン核種により標識合成を行う場合、大きく2種類の方法が考えられる。すなわち、 α 位カルボン酸をC-11標識する方法と、 β 位にC-11を導入する方法である。また、トリカプリンの合成法についてはさらにいくつかの方法が考えられるが、上記方法により脂肪酸を合成し、カルボン酸を活性化してグリセロールの水酸基とエステル化反応により導入することでトリグリセリドにする方法と、脂肪酸同様に α 位を標識することとして、あらかじめトリグリセリド体として前駆体を準備する方法とがある。これまで合成の最も容易なカルボン酸をC-11標識してカプリン酸の合成を行うことが出来た。そこで、本標識体を用いてトリカプリンの合成を二つの合成ルートから試みた（図1）。C-11-カプリン酸のカルボン酸を酸塩化物としてジグリセリドとのエステル反応を試

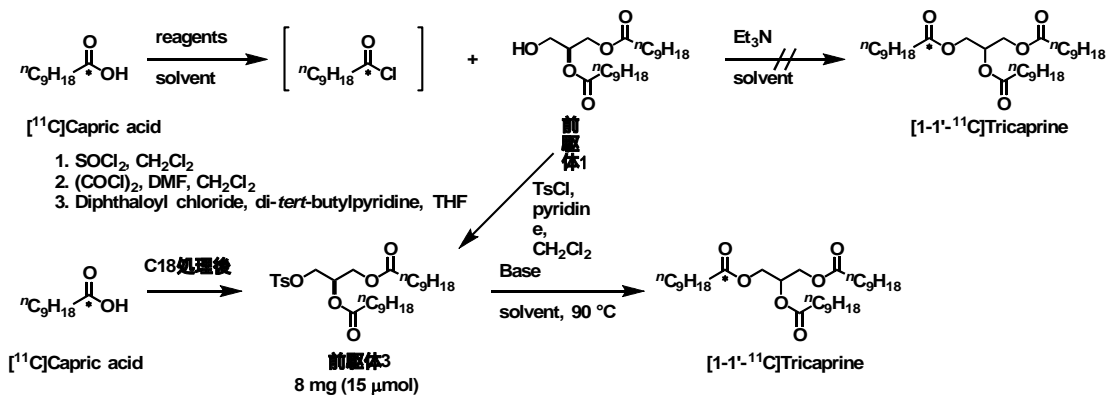


図1 -C-11-カプリン酸からのトリカプリンの合成スキーム

みたが、本反応は全く進行しなかった。次いで、ジグリセリドの水酸基を活性化した前駆体を合成し、これと C-11-カプリン酸との反応を試みた(図1)。その結果、極少量の生成物を確認することは出来たが実用量を得ることは出来なかった。そこで位標識体を用いた合成法に替えて、脂肪酸の位を C-11 標識する方法について検討することとした。

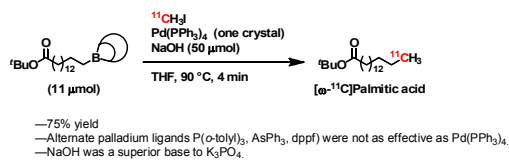
C-11 は浜松医科大学サイクロトロン施設設置のサイクロトロン、住友重機械製 HM-12 を用いることとし、自動合成装置は同じく浜松医科大学サイクロトロン施設に設置されている住友重機械製多目的合成装置を用いて種々の検討を行った。

(倫理面の配慮)

本研究に関連する動物実験は、浜松医科大学動物実験委員会にて審査を受け、承認を受けている。

C. 研究結果

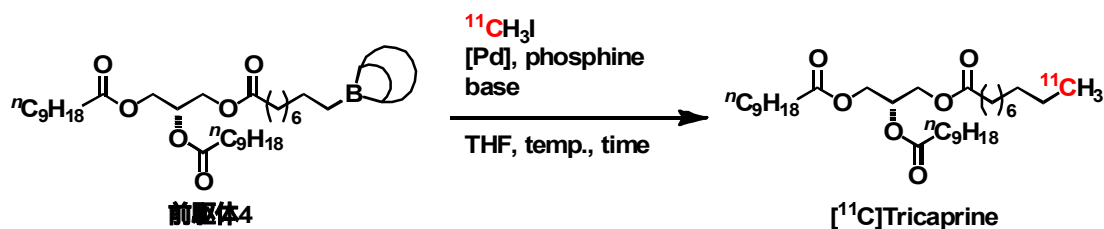
脂肪酸の位に C-11 を導入する反応は通常、sp³-sp³ 炭素結合形成反応を行うこととなり、アルキル基同志のカップリング反応となるため一般的に難しい。これまで、



Eric D.H., et al. *J.Org.Chem.*1998, 63, 1348-1351.

図2 Pd 触媒を用いる炭素 - 炭素結合反応スキーム

同様の反応として、ホウ素誘導体を前駆体に用い、パラジウムを利用したアルキル鎖のメチル化反応が報告されている(図2)。そこで本反応を利用することとし、前駆体の合成を行った。ついで既存の反応条件に従い C-11 ヨウ化メチルを用いるメチル化反応を行ったところ、反応は進行するものの、低収率であった。そこで種々反応条件を検討したところ、Pd₂(dba)₃, P(o-tolyl)₃, Cs₂CO₃ の系を用いることで、十分な変換効率で目的物を得ることが出来た(図3)。すなわち、対応するホウ素試薬を用い、テトラヒドロフラン溶媒中でサイクロトロン、自動合成装置を用いて製造された C-11-ヨウ化メチルを添加して加熱することにより付加反応を行い、HPLC にて分取精製することにより目的物を得た(図4)。また、得られた標識体の分析試験を行ったところ、不純物は認めなかった(図5)。



Entry	[Pd]	Phosphine	Base	temp., °C	time	変換率, %**
						[¹¹ C]Tricaprine
1*	Pd(PPh ₃) ₄	none	NaOH	90	10	10
2	Pd ₂ (dba) ₃	P(o-tolyl) ₃	K ₂ CO ₃	90	10	19
3	Pd ₂ (dba) ₃	P(o-tolyl) ₃	K ₂ CO ₃	120 (MW)	10	64
4	Pd ₂ (dba) ₃	P(o-tolyl) ₃	Cs ₂ CO ₃	90	10	88
5	Pd ₂ (dba) ₃	P(o-tolyl) ₃	Cs ₂ CO ₃	120 (MW)	10	67

*Eric D.H, et al .J.Org.Chem.1998

**Radiochemical Conversion analyzed by HPLC

図3 -C-11-トリカプリンの合成スキームと反応条件検討

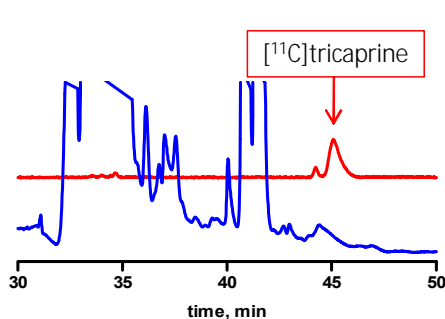


図4 -C-11-トリカプリンの分取 HPLC
 チャート (分取条件: Column; COSMOSIL AR II 10 x 250 mm, 5 um, Eluent; CH₃CN : C₂H₅OH = 85:15, Rate; 6 mL/min, UV; 210 nm)

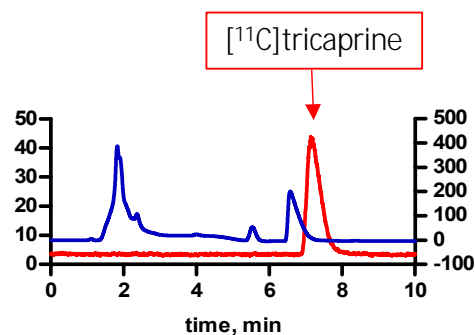


図5 -C-11-トリカプリンの分析
 HPLC チャート (分析条件: Column; XBridge 4.6 x 150 mm, 5 um, Eluent; CH₃CN : C₂H₅OH = 85:15, Rate; 1.0 mL/min, UV; 210 nm、標品を同時に重ねて分析)

本標識体のマウス体内動態検討を計画したが、トリカプリンは脂溶性が高く、C-11の高い比放射能による標識体で極微量の化学量ではあるものの、生理食塩水に溶解することは出来なかった。今後、自動合成装置を用いて可能な製剤化の方法について検討する必要があることが示された。

D. 考察

本研究班の開発目標である中鎖脂肪酸およびそのトリグリセリド体の体内動態を評価する目的で、C-11標識体の合成について検討を行っている。その結果、昨年度までにグリニア反応によるカルボン酸のC-11標識反応は定量的に進行することが示され、短時間内に十分かつ純度良く標識体を得ることが出来た。しかしながら、これを用いたC-11-トリカプリンの合成については、1

位水酸基への導入、2 位水酸基への導入のいずれについても、前駆体のステリックヒンドランスがあるものと考えられ、反応はほとんど進行しなかった。そこで、脂肪酸の 1 位を C-11 標識することとし、対応するトリグリセリド誘導体とした反応前駆体を準備して検討を行った。その結果、既知の反応条件とは異なり、 $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ 、 $\text{P}(\text{o-tolyl})_3$ 、 Cs_2CO_3 の系を用いることで、高収率で標識体を得ることが出来た。また、本反応は加熱反応であるが、この際、マイクロ波照射することで収率が高くなることが示された。しかしながら C-11-トリカブリンは脂溶性が高く、生理食塩水溶液として製剤化することが出来ないことが示された。C-11 標識体は比放射能が高いため、C-11 標識体の化学量も極微量ではあるが、何らかの製剤化の工夫が今後必要であることが示された。この際、術者の被曝回避の観点から自動合成装置を用いた製剤化が必要となる。

本反応により得られた C-11-トリカブリンに対応する C-11-カブリン酸についても、今後同様に 1 位を標識した C-11-カブリン酸を合成して、体内動態を評価するものとする。

昨年度の検討において、C-11-カブリン酸の体内動態を正常マウスを用いて検討したが、1 位の標識体であるため、細胞内における酸化により迅速に母体化合物より C-11 が脱離されると考えられ、体内動態についてもそれら代謝物、特に C-11- CO_2 の動態を多く含む可能性を否定できない。今回合成した 1 位標識体についても同様に酸化を受けることは有り得るが、1 位標識体に比較すると遅いものと考えられるので、

特にトリカブリンの体内動態について興味深い。そのためにも本化合物は脂溶性が高いことから適当な製剤化が求められる。

E. 結論

今回対象としている中鎖脂肪酸のトリグリセリドであるトリカブリンの 1 位を C-11 標識することが出来た。対応するカブリン酸についても今後合成検討を行う。また、C-11-トリカブリン、C-11-カブリン酸のマウス体内動態についても今後検討を行う。

F. 健康危険情報

該当せず

G. 研究発表

1. 論文発表
なし
2. 学会発表
なし

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし