

## 平成 20 年度 研究代表者・研究分担者・研究協力者一覧

### 研究代表者

山下 光司 静岡大学 創造科学技術大学院 (教授)

### 研究分担者

木村 元彦 静岡大学 工学部 (教授)  
戸田三津夫 静岡大学 工学部 (准教授)  
田中 康隆 静岡大学 工学部 (准教授)  
阪原 晴海 浜松医科大学 医学部 (教授)  
間賀田泰寛 浜松医科大学 光量子医学研究センター (教授)  
竹原 康雄 浜松医科大学 医学部 (准教授)  
藤江三千男 浜松医科大学 機器センター (技術専門職員)  
岡野 孝 東京慈恵会医科大学 医学部 (教授)  
三好 憲雄 福井大学 医学部 (助教)  
押川 達夫 沼津高等工業専門学校 (教授)  
本間 信行 静岡県工業技術研究所 浜松工業技術支援センター  
(主任研究員)

### 研究協力者

三浦 紀生 コニカミノルタテクノロジーセンター株式会社  
先端材料技術研究所 (シニアリサーチャー)

Arigala Uma Ravi Sanker 財団法人 医療機器センター (研究員)

Bitragunta Siva Kumar 静岡大学 工学部 物質工学科 (研究員)

於 剛 静岡大学 イノベーション共同研究センター (研究員)

青木 峻 静岡大学 大学院工学研究科 (修士課程 2 年)

杉山 雅紀 静岡大学 大学院工学研究科 (修士課程 1 年)

岡田 真吾 静岡大学 工学部 物質工学科 (4 年)

舘 健太郎 静岡大学 工学部 物質工学科 (4 年)

ガドリニウム錯体の略記およびその名前の対応表

略記	Gd錯体の名前
Gd-DTPA-DETA-D2-4Glc (OH)	Gd-DTPA-Diethylenetriamine-D-4Glc (OH)
Gd-DTPA-DETA-D2-4Gal (OH)	Gd-DTPA-Diethylenetriamine-D-4Gal (OH)
Gd-DTPA-DETA-D2-4Man (OH)	Gd-DTPA-Diethylenetriamine-D-4Man (OH)
Gd-DTPA-DETA-D2-4Glc (OAc)	Gd-DTPA-Diethylenetriamine-D-4Glc (OAc)
Gd-DTPA-DETA-D2-4Gal (OAc)	Gd-DTPA-Diethylenetriamine-D-4Gal (OAc)
Gd-DTPA-DETA-D2-4Man (OAc)	Gd-DTPA-Diethylenetriamine-D-4Man (OAc)
Gd-DTPA-EDA-D1-2Glc (OH)	Gd-DTPA-Ethylenediamine-D-2Glc (OH)
Gd-DTPA-EDA-D1-2Gal (OH)	Gd-DTPA-Ethylenediamine-D-2Gal (OH)
Gd-DTPA-EDA-D1-2Man (OH)	Gd-DTPA-Ethylenediamine-D-2Man (OH)
Gd-DTPA-DETA-AS2-2Glc (OH)	Gd-DTPA-Diethylenetriamine-AS-2Glc (OH)
Gd-DTPA-DETA-AS2-2Glc (OAc)	Gd-DTPA-Diethylenetriamine-AS-2Glc (OAc)
Gd-DTPA-EDA-AS1-1Glc (OH)	Gd-DTPA-Ethylenediamine-AS-1Glc (OH)
Gd-DTPA-AP-E1-2Glc (OH)	Gd-DTPA-aminopropanol-E-2Glc (OH)
Gd-DTPA-DETA-D2-4Glc (40Ac) (10H)	Gd-DTPA-Diethylenetriamine-D-4Glc (40Ac) (10H)
Gd-DTPA-DETA-AS1-3Glc (OH, OAc) 誘導体	Gd-DTPA-Diethylenetriamine-AS1-3Glc (OH, OAc) 誘導体
Gd-DTPA-HMTA-D2-4Glc (OH)	Gd-DTPA-Hexamethylenetriamine-D-4Glc (OH)
Gd-DTPA-Phe	Gd-DTPA-Phenylalanine
Gd-DTPA-Gly	Gd-DTPA-Glycine
Gd-DTPA-Asp	Gd-DTPA-Aspartic acid
Gd-DTPA-2-AP	Gd-DTPA-2-AP

# 1. 緒言

# 1. 緒言(3年間の計画及び2年目までの纏めと3年目の計画)

## 1-1 開発研究の要約

本開発研究は、現在実用に供されているMRI造影剤のGd-DTPA錯体(ガドリニウム-ジエチレントリアミン五酢酸錯体: Gadolinium-(Diethylenetriaminepentaacetic acid): 商品名 マグネビスト Magnevist; ガドペンテト酸メグルミン注射液として入手可能)が血管外漏出型の造影剤であるために持っている幾つかの欠点を改良して、次の様な高度な機能性を備えた造影剤を開発し、実用化を図る:

- (1) 現在の造影剤では画像化が難しい「血管造影」を可能にすること
- (2) 小さな初期がんを低濃度の造影剤で高感度で鮮明に画像化すること
- (3) 高感度で画像化できる造影剤であるために安価な普及型のMR装置により「がんを安全・安心に高感度で鮮明に画像化できるナノサイズシュガーボール dendリマー型新規MRI造影剤」を実用化する
- (4) 近年ガドリニウム錯体による発症例として知られるようになった腎性全身性線維症 Nephrogenic Systemic Fibrosis (NSF)の問題を解決するMRI造影剤の開発研究を行う。

当該開発研究課題に対して平成19年度～平成21年度の3年間にわたる厚生労働科学研究費補助金を申請致しましたところ幸いにも開発研究計画の採択を頂き、平成19年度から当該のプロジェクトを開始した。当該のプロジェクトを成功させて、医療技術のイノベーションを実現するようと言う社会ニーズの請託を受けたと肝に銘じ、当該のプロジェクトの初期の目標を達成して、次のプロジェクトに依り臨床試験を経て実用化を図り医療技術の革新を実現したいと思っ、研究を進めている。

本開発研究は、安全なMRI法によりがんの超早期発見を普遍的に実現することであり、その為に新規なシュガーボール dendリマー型MRI造影剤を開発する。がんの早期発見と早期治療との連携に依って『第3次対がん10か年総合戦略』: 研究、予防及び医療を総合的に推進することにより、がんの罹患率と死亡率の激減を目指す」という国の戦略に沿った研究であり、がんの死亡率を減少に転じさせる重要な医用材料開発研究である。

Gd-DTPAは現在最も良く使用されており、NSF問題はいずれのガドリニウム製剤に対しても指摘されているものの、通常の医薬品の事故例と比較して格段に安全な医薬品である。MRI造影剤のGd-DTPA錯体を糖に依って化学的に修飾して生体内分子認識機能を備えた血管内貯留型MRI造影剤を開発する。

当該の研究プロジェクトは、3年間で目標とする高い造影機能を有する新規なシュガーボール dendリマー型のMRI造影剤を開発し、前臨床試験の前段階までの研究目標

を達成し、引き続き実用化を目指して「がんの超早期発見を普遍的に実現する」研究に引き継ぎ、最終目標としては実用化を達成する開発研究である。

初年度の平成 19 年度の開発研究では、シュガーボール型 Gd-DTPA 錯体を調製し、ラットを用いた *in vivo* 評価を行った。従来の MRI 造影剤 (Gd-DTPA) と比較して、ラットの血管造影を長時間にわたって鮮明に描出し、血管造影の Imaging Window を広げることができた。また、ラットの肝細胞がんを明確に鮮明に描出した。

第 2 年目の平成 20 年度は、様々な、シュガーボール型 Gd-DTPA 錯体を調製し、*in vitro* 及び *in vivo* 評価を行った。従来の MRI 造影剤を用いた場合には画像の描出ができない程度の初期がん (現時点で、*in vivo* 評価により、直径 1 mm 程度のがんの描出ができる) の描出に成功した。その他、平成 20 年度は、シュガーボール型 Gd-DTPA 錯体の様々な Gd 錯体を分子設計し、それらの錯体を調製し、MRI 造影剤として *in vitro* 及び/または *in vivo* 評価を行った。

調製したシュガーボール型 Gd-DTPA を形状あるいは合成経路により大別すると、(i)鎖式あるいは環式、(ii)対称型あるいは非対称型、(iii)糖誘導体あるいは非糖誘導体、(iv)加水分解経路あるいは非加水分解経路である。これらの研究結果を該当する章において詳述するが、(i)鎖式、(ii)対称型、(iii)糖誘導体、(iv)加水分解経路に於いて、最も優れた造影効果を示した DEN-OH (緩和速度  $r_1 >= 30$  [ $s^{-1}mM^{-1}$ ] (37°C)) を発見した (因みに、マグネシウムは緩和速度  $r_1 = 3.5$  [ $s^{-1}mM^{-1}$ ] (37°C) である) が、再現性に問題があった。また、(i)鎖式、(ii)対称型、(iii)糖誘導体、(iv)非加水分解経路に於いて、優れた造影効果を示す Gd-DTPA-HMTA-D2-4Glc(OH) (緩和速度  $r_1 = 8.1$  [ $s^{-1}mM^{-1}$ ] (37°C)) を創製した。また、(i)鎖式、(ii)対称型、(iii)非糖誘導体、(iv)非加水分解経路に於いて優れた造影効果を示す Gd-DTPA-Phenylalanine (緩和速度  $r_1 = 11.0$  [ $s^{-1}mM^{-1}$ ] (37°C)) を創製した。また、(i)鎖式、(ii)対称型、(iii)非糖誘導体、(iv)非加水分解経路に於いて優れた造影効果を示す Gd-DTPA-Aspartic acid (緩和速度  $r_1 = 10.4$  [ $s^{-1}mM^{-1}$ ] (37°C)) を創製した。平成 20 年度のこれらの研究成果から、(i)鎖式、(ii)対称型、(iii)糖誘導体及び非糖誘導体混成、(iv)非加水分解経路により、非常に優れた MRI 造影剤の開発が期待される。

これらの Gd 錯体について、*in vitro* 評価の他に、*in vivo* 評価を行い、動物実験によってもマグネシウムよりも高感度で肝臓がんの造影に成功した。次の開発研究段階として、更に高感度で安全な描出が可能な新規 MRI 造影剤の開発研究のステップアップを継続する。また、前臨床前データを収集して、次のプロジェクトに依り臨床試験を実施し、実用化・製品化を目指した研究を完成する。

## 1-2 開発研究の概要

本開発研究は、現在使用されている MRI 造影剤の備えていない機能 (即ち、血管貯留性、血管造影機能や特定の臓器あるいは生体組織、がんなどの病変部の選択的造影能) を生体分子認識能を持つ糖により付与された新規な MRI 造影剤を開発する。特に

がんを安全で容易に画像化する MRI 造影剤を実用化（更には商品化）するための開発研究である。本研究で開発する MRI 造影剤は、現在実用に供されている Gd-DTPA をコア部の基本骨格として、外殻部に糖質（あるいはペプチド）をリンカーを介して 1 個～12 個備えたナノサイズシュガーボールデンドリマー構造を基本的な骨格とする MRI 造影剤であり、Gd-DTPA を血管内で運搬する DDS 型の造影剤であるとも言える。この場合、糖の種類はグルコースやガラクトース、マンノース、ラクトース等様々な種類・性質の糖が使用できる。またコア部と外殻部とのリンカーの結合様式はアミド結合やエステル結合など生体内で代謝あるいは分解される速度の異なる結合を使用し、血管造影およびがん組織を選択的に造影する安全・安心、高感度で画像化を可能にする MRI 造影剤である。

研究の流れを、次ページ Fig. 1-01 開発研究のスキームに示す。

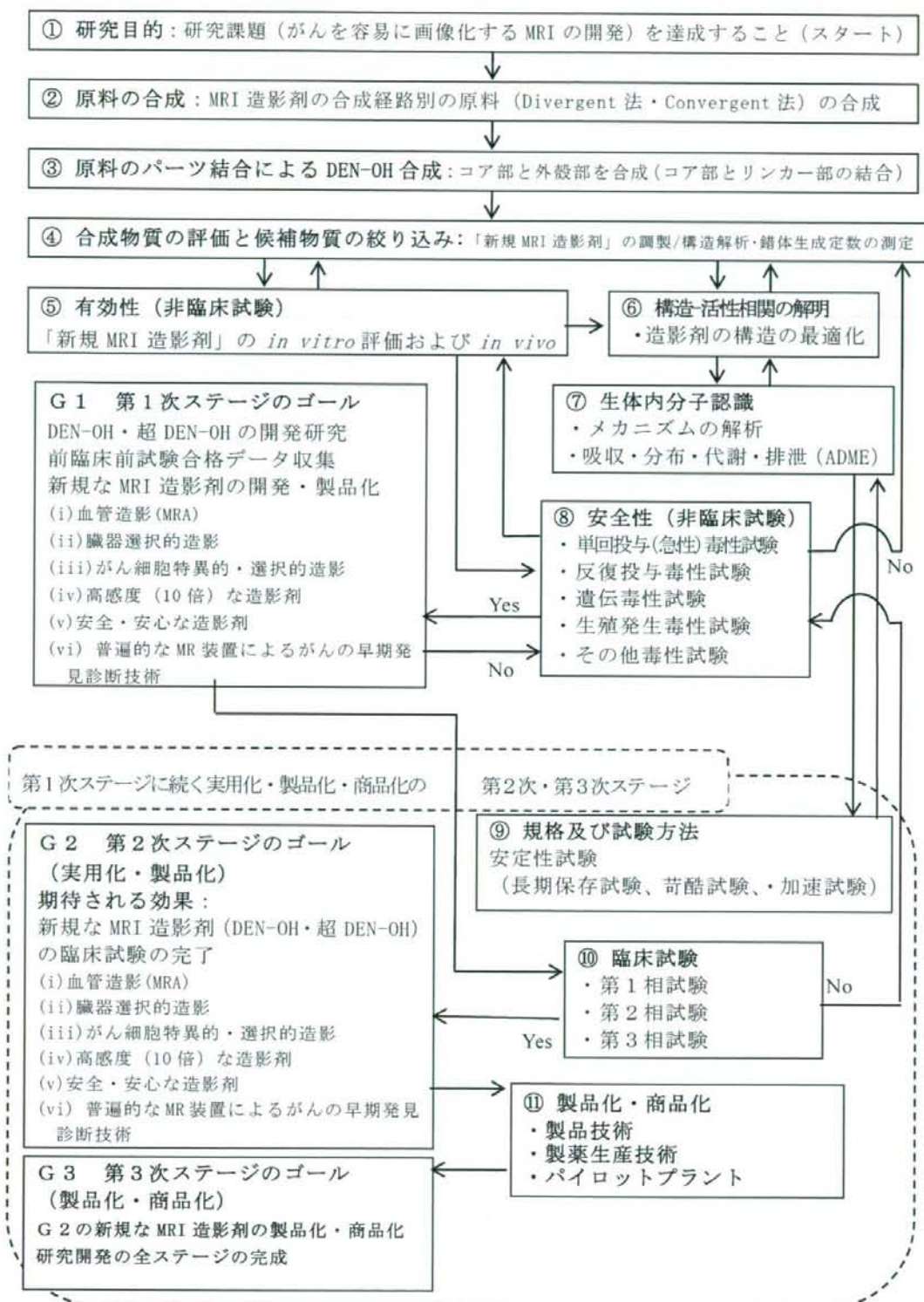


Fig. 1-01 開発研究のスキーム

### 1-3 開発研究の目的、必要性及び期待される成果

開発研究の目的は、血管造影機能、臓器選択性、がん組織造影機能を備えた新規なMRI造影剤の開発研究である。これらの画像化技術、特にがん組織の画像化技術は、死因の第1原因のがんの治療や患者のQOL改善の観点から社会的、医学・工学的に最重要課題である。本開発研究が成功すれば、MRI画像化技術は、X線（X線CT等）や放射性同位元素（PET等）を必要としない故に、医療技術的にも患者にとっても非常に安全・安心で鮮明な画像化技術を提供できる。本開発研究で開発される造影剤は非常に高い緩和率を有し高感度で生体内を画像化・可視化し画像診断ができるので、現在通常の病院に設備されているレベルのMRI装置により、普遍的に、がん組織や血管が画像化でき、がんの超早期発見・早期治療に画期的な医療技術を提供できる。



Fig. 1-02 疾病による死亡者（人口10万人当たりの死者数）の推移の傾向

### 1-4 この開発研究に関連する国内・国外における研究状況及びこの研究の特色・独創的な点

現在は、糖質を外殻に持たないGd-DTPA（マグネビスト）等のMRI造影剤が核磁気共鳴画像診断法（MRI）の主流であるが、この造影剤は、分子サイズが小さいために血管壁から漏出し易く（血管漏出型造影剤）、それ故、血管造影が難しい。また、特定の臓器や病変部をターゲティング（非特異的造影剤）できない為に、がんや血管、特定臓器等の標的箇所の鮮明なMRI画像が得られない（あるいは、得難い）。Gd-DTPAをコア部に持ち、外殻部に糖を配した大きな分子サイズのMRI造影剤は国内外において当研究室以外の報告例は少ない<sup>1-5)</sup>。当研究室では、Gd-DTPAをコア部として持ち、生体機能性物質である糖を外殻に配置することにより、血管内に留まり（血管貯留性）、臓器・組織を分子認識（組織・病変部選択性）して（特に、がん病変部を認識して）、がんなどの標的を鮮明に画像化するナノスケールのシュガーボールデンドリマー型MRI造影剤の開発に世界で初めて着手した<sup>1,6,7)</sup>。



本開発研究は、平成19年度までに、世界で初めての新規な糖デンドリマー型MRI造影剤の分子設計とその造影剤の調製ならびにその評価の基礎的な研究に成功した例である。平成19年度に厚生労働科研のプロジェクトとして採択され、「1-1 開発研究の要約」に記述した様に、平成20年度までに、DEN-OHにより、ラットを使った *in vivo* 評価により、血管造影、肝細胞がんの造影、小さな初期がんの描出に成功した。

平成20年度では、更に、安定に再現できるGd-DTPA錯体として、様々な誘導体を合成し *in vitro* 評価を行った。開発標的MRI造影剤の母核であるGd-DTPAの約3倍以上の緩和速度をミニスペックによる *in vitro* 評価で示したGd-TDPA錯体は、Gd-DTPA-HMTA-D2-4Glc(OH) (緩和速度  $r_1 = 8.1 [s^{-1}mM^{-1}]$  (37°C))、Gd-DTPA-Phenylalanine (緩和速度  $r_1 = 11.0 [s^{-1}mM^{-1}]$  (37°C))、Gd-DTPA-Aspartic acid (緩和速度  $r_1 = 10.4 [s^{-1}mM^{-1}]$  (37°C))、であった。(共同研究により、当該の新規MRI造影剤の開発を支援しているベルギーのMons大学のRobert N. Muller教授によれば、「マグネビストの  $r_1 = 3.5 [s^{-1}mM^{-1}]$  と比べて  $r_1 = 5 [s^{-1}mM^{-1}]$  程度以上の緩和速度を有するGd-DTPA錯体は十分に研究の意味がある」としている。それ故、これらの、Gd-DTPA錯体の発見はMRI造影剤の研究面で十分な価値があるので、今後も実用化に向けた開発研究を継続する。また、DEN-OHの再現研究、DEN-OHを凌ぐGd-DTPA錯体の創製は、平成21年度も継続し、平成21年度末までに、「初期がんを造影できるMRI造影剤」としての前臨床前のデータを集積する。この種のシュガーボールデンドリマー型の造影剤が実用化(更に、商品化)すれば、危険なX線や高額なPETなどによらずとも、安全・安心、普遍的に、通常のMRI装置によって血管や特定臓器、がん(特に、初期がん)組織が鮮明に画像化できる商品となる。

### 1-5 申請者がこの開発研究に関連して現在までに行った研究状況

平成19年度から採択された厚生労働科学研究費補助金および関連した医療機器センターの諸事業によるサポートを受けて、シュガーボールデンドリマー型Gd-DTPA錯体のMRI造影剤としての実用化に向けての開発研究を平成19年度～平成21年度の当該事業年度において進めている。

当研究室では、Gd-DTPAをコア部に持ち、臓器を分子認識し、血管滞留性の機能のあるナノスケールのシュガーボールデンドリマーの調製を進めている<sup>1,6,7-26)</sup>。核磁気共鳴装置を用いた *in vitro* 評価で従来のGd-DTPA錯体よりも数倍緩和率が優れ、ラットやマウス等による *in vivo* 評価では血管造影や臓器選択性が顕著に認められ、特に肝細胞がんを鮮明に画像化することに成功した。

現在までの開発研究により、分子量1,000～10,000程度のGd-DTPA-シュガーボールデンドリマー型の造影剤は、ラットの肝臓がんや血管の画像において従来のGd-DTPAよりはるかに高感度で鮮明であることが証明された (Fig. 1-03 の右の新造影剤によるMRI画像)。

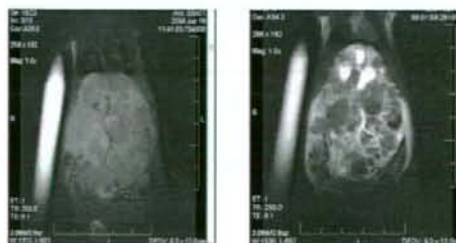


Fig. 1-03 MRI画像の比較  
造影剤: Gd-DTPA (左)、DEN-OH (右)

それ故、本開発研究が目指す造影剤は、広く、一般の病院にある普通タイプのMRI装置によりがんの画像化 (Fig. 1-03 MRI画像 (右:新造影剤DEN-OH)) が可能であるので、がんの超早期発見・早期治療に画期的な核磁気共鳴画像診断法の技術革新をもたらすことが期待される。医工連携による本開発研究成果は国内外に特許出願し<sup>2,8-15)</sup>、成果の一部は国内外の学会あるいは論文で当該のMRI造影剤、あるいは当該のMRI造影剤とがん治療とをセットにして「がんの撲滅」に関連した内容を発表し、高い評価を得ている<sup>16-26)</sup>。

## 1-6 開発研究計画・方法及び倫理面への配慮

平成19年度と平成20年度、平成21年度の研究計画・方法を、以下に具体的に箇条書および図 (Fig. 1-01 参照) にて記述する。

### ●平成19年度

- 1) エチレンジアミン類やトリアミン類により、シュガーボール dendrimer のコア部と外殻の中間部を構築する。
- 2) 各種の糖あるいは糖ラクトンを合成し、中間部とアミド結合やエステル結合により、DDS 配位子シュガーボール dendrimer 分子の配位子を合成する (例えば、Fig. 1-04) に示す Gd-DTPA-D2-12Glc(OAc) の配位子部分、等)。Dendrimer の配位子の構造解析を行う。

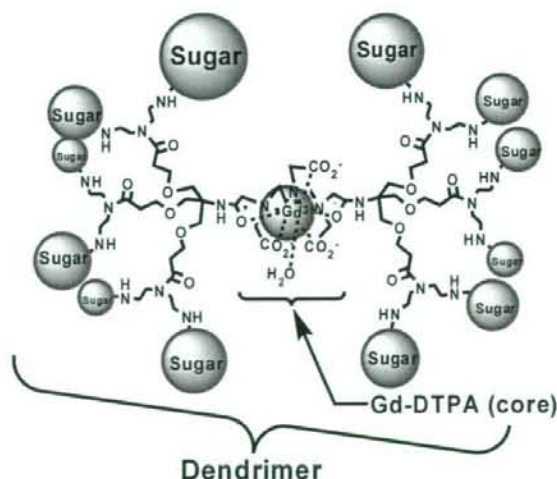


Fig. 1-04 デンドリマーコア部への Gd の配位 (Gd-DTPA-D2-12Glc(OAc)) の場合

- 3) 得られた様々な配位子に Gd(III) イオンを配位させ、新規な Gd 錯体を調製する。
- 4) Gd を配位した新規な MRI 造影剤の構造解析を行う。また、Gd 錯体の生成定数、緩和率の測定 (純水中、生理食塩水中、血清中、等)、分子認識 (動物実験によるターゲティング機能や高感度化のメカニズム) 等の機能を明らかにし、MRI 造影剤の性能を *in vitro* 評価する。

- 5) 新規な MRI 造影剤の *in vivo* 評価を行う。また、重要な Gd 錯体に対して、安全性評価を行う。
- 6) 構造-活性相関の研究や分子設計を開始する。

●平成 20 年度（開発研究のスキームは、概要の Fig. 1-01 を参照して頂きたい。）

平成 20 年度（第 2 年度目）の研究計画・方法と評価（丸数字は、Fig. 1-01 の流れ図の番号に対応する）

- 1) デンドリマーコア部の Gd-DTPA に対して外殻の糖部を対称系（例示：Fig. 1-05）あるいは非対称系とし、外殻の糖部の種類や数を変化させ、多様な結合、多様な糖、多様な分子サイズ、多様な配位形式の MRI 造影剤を調製する。（③；④）
- 2) 様々なデンドリマーコア部に配位した Gd 錯体の MRI 造影剤としての動物実験試料の Gd の定量や純度や分子量・構造を解析する。キシレノールオレンジなどの試薬やスペクトロメトリー等により定性、定量を行う。<sup>1</sup>H-及び<sup>13</sup>C-NMR や HPLC、元素分析装置、GPC、IPC、MS、複合電顕、NMR ミニスペック等大型機器を *in vitro* または構造解析に使用する。（④；⑤；⑥；⑦）
- 3) 創製したデンドリマー型 MRI 造影剤を、実用化のために *in vitro* や *in vivo* 評価（例示：Fig. 1-03）により造影機能を評価する。また、動物実験により造影機能のみでなく代謝経路や体外排出速度などを測定する（非臨床試験）。（⑥；⑦；⑧；⑨）
- 4) 新規な MRI 造影剤の安定性評価・安全性評価を行う（非臨床試験）。（⑧；⑨）平成 20 年度は、Gd-DTPA 錯体の配位子及び錯体の調製グループを強化し、新規な Gd-DTPA の対称型非対称型デンドリマーの合成を推進し、MRI 造影剤として *in vitro* 評価及び構造最適化を行う。また、分子認識のメカニズム及び、*in vivo* 評価グループも強化し、平成 20 年度の研究の進捗を図り、臨床試験に続くアプローチを行う。

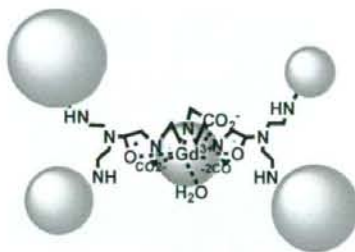


Fig. 1-05 シュガーボールデンドリマー-DEN-(OH)（構造未確定）

●平成 21 年度（開発研究のスキームは、概要の Fig. 1-01 を参照して頂きたい。）

- 1) 様々なデンドリマーコア部に配位した Gd 錯体の MRI 造影剤としての動物実験試料の Gd の定量や純度や分子量・構造を解析する。キシレノールオレンジなどの試薬や紫外・可視吸収スペクトルを使用し定量する。<sup>1</sup>H-及び<sup>13</sup>C-NMR や HPLC、元素

分析装置、GPC、IPC、MS、複合電顕、NMR ミニスペック等大型機器を使用する。(④；⑤；⑥；⑦)

- 2) 創製した dendrimer 型 MRI 造影剤を、実用化のために *in vitro* や *in vivo* 評価により造影機能を解析する。また、動物実験により造影機能のみでなく代謝経路や体外排出速度などを測定する(非臨床試験)。(⑥；⑦；⑧；⑨)
- 3) 当該開発研究の最終段階として、安全性評価(非臨床試験)、臨床試験(第1相試験～第3相試験)を行い、研究目的を達成する。創製した dendrimer 型 MRI 造影剤を、実用化のために *in vitro* や *in vivo* 評価により造影機能を解析する。また、動物実験により造影機能のみでなく代謝経路や体外排出速度などを測定する。(⑧；⑨；⑩；⑪)

#### ●倫理面の配慮

本開発研究により齎される新規 MRI 造影剤は、安全で感度が非常に高く、組織特異的・選択的であるので、使用する薬剤も非常に少量で足りる<sup>6,7-26)</sup>。また、基本的には、安全性を担保したサンプルを使用して *in vivo* 評価を行い、更に当該開発研究の最終段階で安全性試験等をパスしたサンプルを使用して臨床試験を実施する。それ故、動物実験(非臨床試験)の段階、あるいは臨床試験段階に於ける被験動物に対する配慮あるいは被験者の負担は極々軽減できる。臨床段階に進む場合及び臨床段階では、各研究機関及び当該の大学の学内の諸規則・手続きに従い被験者の同意等通常の倫理面の配慮はもちろん十分に尽くす。

### 1-7 当該開発研究の成果

平成 19 年度は、先開発の Gd-DTPA-DETA-D2-4G1c(OH) 誘導体(所謂、青島サンプル；恐らく、Gd-DTPA-Gd-DTPA-DETA-AS2-3G1c(OH, OAc) 誘導体で表記できる Gd-DTPA 錯体)の再現性に関する研究、Gd-DTPA-DETA-D2-4G1c(OH) の別途合成による、合成経路の開発に関する研究、リンカー部分と外殻部分の化学的修飾に関する研究、対称型 Gd-DTPA 錯体・非対称型 Gd-DTPA 錯体の調製、構造と造影剤効果に関する *in vitro* および *in vivo* 評価に関する研究、Gd-DTPA-DETA-D2-4G1c(OH) の研究、新規な Gd-DTPA の安全性評価に関する研究、構造-活性相関の研究と分子設計に関する研究、生体内分子への集積性に関する研究、がん組織への集積性に関する研究、等を精力的に行った。各項目の研究成果については、平成 19 年度の報告書の対応する章を参照願いたい。(但し、特許の関係で、結果の開示ができない研究については、簡単な研究内容の記述に留めた。)

平成 20 年度は、平成 19 年度の研究開発結果に基づいて、主として、4 つのパターンに分類される様々な種類の新規な MRI 造影剤の開発を行った。4 つのパターンは、「1-1 開発研究の要約」に示した項目 (i) 鎖式あるいは環式、(ii) 対称型あるいは非対称型、(iii) 糖誘導体あるいは非糖誘導体、(iv) 加水分解経路あるいは非加水分解経路) に従って分類すれば、次の 4 つのカテゴリーに相当する。

- ① 最も注力した MRI 造影剤：(i)鎖式、(ii)対称型及び非対称型、(iii)糖誘導体及び非糖誘導体、(iv)非加水分解経路
- ② 次に注力した MRI 造影剤：(i)鎖式、(ii)対称型、(iii)糖誘導体、(iv)加水分解経路)
- ③ 第3番目に注力した MRI 造影剤：(i)環式、(ii)対称型あるいは非対称型、(iii)糖誘導体、(iv)非加水分解経路
- ④ その他：(a)配位子の主鎖に置換基を導入する MRI 造影剤：(i)鎖式、(ii)非対称型、(iii)糖誘導体、(iv)非加水分解経路；(b)複合機能化 MRI 造影剤<sup>27-42)</sup>

それぞれの戦略で合成された Gd-DTPA 錯体を *in vitro* 及び/又は *in vivo* により評価した。評価結果より、①では、Gd-DTPA-HMTA-D2-4Glc(OH) (緩和速度  $r_1 = 8.1 [s^{-1}mM^{-1}]$  (37°C))、Gd-DTPA-Phenylalanine (緩和速度  $r_1 = 11.0 [s^{-1}mM^{-1}]$  (37°C))、Gd-DTPA-Aspartic acid (緩和速度  $r_1 = 10.4 [s^{-1}mM^{-1}]$  (37°C)) が優れた MRI 造影剤としての性質を有しており、平成 21 年度に研究成果を引き継いで、前臨床前データの収集を行う。②では、DEN-OH で示される Gd-DTPA 錯体誘導体が特に優れた MRI 造影効果を示した。しかし、同 Gd-DTPA 錯体の再現性は非常に難しく、平成 21 年度に構造決定を持ち越すことになった。③及び④については、特許の関係で、本報告書には、詳細な記述を行うことができない。

この章の最後に当たって、平成 14 年度～平成 16 年度に採択された財団法人しずおか産業創造機構の「地域イノベーション共同研究促進事業」による研究のサポートや JST の研究費の配分等の研究経費の支援を深謝する。

財団法人しずおか産業創造機構の「地域イノベーション共同研究促進事業」によって、次の研究課題に研究成果を上げることができた故に、平成 19 年度の厚生労働省の科学研究費補助金を申請しその申請書が採択に至る機会が与えられたと思われる。

- (1) 抗血栓性や抗菌性等の性質を持つ機能性のオリゴ糖又は多糖を用いて高度に機能化した医用材料を開発し、優れた機能を持つ医療器具製造のための独創的な研究開発
- (2) 天然には存在しない新しい糖骨格を持つ擬似糖により新しいタイプの医薬あるいは農薬を開発する萌芽的な研究
- (3) 大きな分子量を持つ樹木状分子であるデンドリマーの末端に臓器や細胞を認識する糖質を持った新しい MRI 造影剤や抗がん剤や血管の塞栓剤等、特定の部位に作用する臓器・組織選択機能等を備えた医療を支える材料の研究開発
- (4) (1)～(3)に関連して新しい展開が図られた課題である糖質、バイオ関連材料、医療、光産業、生命科学、衣料等の基礎的ないしは応用的研究開発

また、これらの研究費の支援を受けて、研究推進に寄与して頂いた多くの研究者、大学院学生や研究室の構成員の方々に感謝する。更に、研究分担者として、当該研究を平成 19 年度以前に推進してくれた学生さん達を中心とした多くの方々、更に平成 20 年度も当該研究を推進してくれた共同研究者の先生方や学生さん達、非常勤職員の

方々等々、多くの方々に深謝したい。

#### 1-8 平成20年度の研究組織に実質的に参加した特記すべき研究者

平成20年度の研究組織に明記されている共同研究者あるいは明記されていない研究者で実質的に研究に参加した特記すべき研究者は次の方々である。

- ・静岡大学の学内協力者
  - 木村元彦 教授 (静岡大学工学部)
  - 田中康隆 准教授 (静岡大学工学部)
  - 戸田三津夫 准教授 (静岡大学工学部)
  - 小川圭介 研究員 (静岡大学工学部)
- ・学外研究協力者
  - 阪原晴海 教授 (浜松医科大学医学部)
  - 間賀田泰寛 教授 (浜松医科大学光量子医学研究センター)
  - 竹原康雄 准教授 (浜松医科大学医学部)
  - 藤江三千男 技術専門員 (浜松医科大学機器センター)
  - 三好憲雄 助教 (福井大学医学部)
  - 岡野 孝 教授 (東京慈恵会医科大学医学部)
  - 押川達夫 教授 (沼津工業高等専門学校)
  - 本間信行 主任研究員 (静岡県工業技術研究所浜松工業技術支援センター)
- ・厚生労働科研費による研究者
  - Bitragunta Siva Kumar 博士
- ・医療機器センターの流動研究員
  - Valluru Krishna Reddy 博士
  - Arigala Uma Ravi Sankar 博士
- ・医療機器センターの招聘事業による外国人研究者
  - David F. Wiemer 教授 (the University of Iowa, U.S.A.)
  - Robert N. Muller 教授 (the University of Mons-Hainaut, Belgium)
- ・静岡大学 (学術研究員) イノベーション共同研究センター
  - 於剛 博士
- ・静岡大学外の海外共同研究者
  - David F. Wiemer 教授 (University of Iowa, U.S.A.)
  - Jeffrey D. Neighbors 博士 (University of Iowa, U.S.A.)
  - György Keglevich 教授 (Budapest University of Technology and Economics)
  - Robert N. Muller 教授 (University of Mons-Hainaut, Belgium)
  - Sophie Laurent 博士 (University of Mons-Hainaut, Belgium)
  - Carmen Burtea 博士 (University of Mons-Hainaut, Belgium)

これらの研究協力者の成果は、本総括研究報告書には一部のみ記載している。最終年度の報告書には全ての方を掲載できると思われる。ここでは、それぞれの方の御芳名を記して感謝したい。

## 本章の引用文献

- 1) Yu. Gang, M. Yamashita, K. Aoshima, M. Kobayashi, T. Kato, N. Kamikage, M. Takahashi, H. Takayanagi, T. Oshikawa, S. Laurent, C. Burtea, L. Vander Elst, R. N. Muller, Y. Takehara, H. Sakahara, "Studies on preparation and characterization of novel MRI contrast agents for targeting organs and blood vessels", *Heterocyclic Communications*(2007), **13**(2-3), 101-108.
- 2) M. Yamashita, M. Takahashi, H. Sakahara, Y. Takehara, Yu Gang, T. Kato, N. Kamikage, "Gadolinium-DTPA derivative complexes as contrast medium specific to hypervascular tumors", *PCT Int. Appl.* (2006), 31pp.
- 3) M. Yael, R. Ofer, Z. Yacov, L. Zvi, O. Aharon, D. Dianne, R. Yiftach, M. E. Stephan, O. Arie, R. Zvi, "Convection-enhanced drug delivery: increased efficacy and magnetic resonance image monitoring", *Cancer Research* (2005), **65**(15), 6858-6863.
- 4) C. Burtea, S. Lauren, J.-M. Colet, L. Vander Elst, R. N. Muller, "Development of new glucosylated derivatives of gadolinium diethylenetriaminepentaacetic acid for magnetic resonance angiography", *Investigative Radiology* (2003), **38**(6), 320-333.
- 5) Y.-J Fu, R.-X. Zhuo, "Studies on hepatocyte-targeting magnetic resonance imaging macromolecular contrast media", *Chemical Research in Chinese Universities* (1997), **13**(4), 336-343.
- 6) M. Takahashi, Y. Hara, K. Aoshima, H. Kurihara, T. Oshikawa, M. Yamashita, "Utilization of dendritic framework as a multivalent ligand: a functionalized gadolinium(III) carrier with glycoside cluster periphery," *Tetrahedron Letters* (2000), **41**(44), 8485-8488.
- 7) G. Yu, M. Yamashita, K. Aoshima, M. Takahashi, T. Oshikawa, H. Takayanagi, S. Laurent, C. Burtea, L. Vander Elst and R. N. Muller, "A Glycosylated Complex of Gadolinium, a New Potential Contrast Agent for MR Angiography?", *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **17**(8), 2246-2249 (2007).
- 8) 三浦紀生、山下光司、尾崎伸久、阪原晴海、竹原康雄、藤江三千男「ガドリニウム化合物及びMRI造影剤」出願番号：2008-038115、出願日：平成20年2月20日。
- 9) 三浦紀生、山下光司、小川圭介、阪原晴海、竹原康雄、藤江三千男「ガドリニウム錯体の製造方法」、出願番号：2008-038116、出願日：平成20年2月20日。
- 10) 山下光司、高橋雅樹、阪原晴海、竹原康雄、於剛、加藤辰徳、上陰那央、押川達夫、青島堅吾「ジエチレントリアミン五酢酸誘導体、ガドリニウム-ジエチレントリアミン五酢酸誘導体の錯体及びMRI造影剤並びに富血性腫瘍特異性造影剤」国際出願番号：PCT/JP2006/304409、国際出願日：平成18年3月7日、国際公開番号：WO 2006/095745 A1、国際公開日：平成18年9月14日。
- 11) 山下光司、高橋雅樹、阪原晴海、竹原康雄、押川達夫、青島堅吾「富血性腫瘍得意性造影剤」出願番号：特願 2005-062340、出願日：平成17年3月7日。
- 12) 山下光司、高橋雅樹、阪原晴海、竹原康雄、押川達夫、青島堅吾「新規なデン

ドリマーおよび造影剤」出願番号：特願 2003-99222、出願日：平成 15 年 4 月 2 日、公開番号：特開 2004-307356、公開日：平成 16 年 11 月 4 日。

- 13) 山下光司、他「ガドリニウム化合物及び MRI 造影剤」特願 2008-136139 (2008).
- 14) N. Miura, M. Yamashita, "Preparation of monosaccharide- and oligo-saccharide-containing gadolinium compounds and contrast medium for MRI", *PCT Int. Appl.* (2008), 121pp.
- 15) M. Yamashita, M. Fujie, S. Nakamura, "Phospholane oxide derivatives and antitumor agents containing them." *Jpn. Kokai Tokkyo Koho* (2008).
- 16) K. Ogawa, N. Ozaki, M. Fujie, M. Yamashita, G. Yu, K. Aoshima, M. Kobayashi, T. Kato, N. Kamikage, T. Aoki, H. Takayanagi, T. Oshikawa, Y. Takehara, H. Sakahara, S. Laurent, C. Burtea, L. Vander Elst, Robert N. Muller, "Studies on novel contrast agents for specific organs, blood vessels, and tumors", *14<sup>th</sup> European Carbohydrate Symposium*, **159**, Sept. 2-7, 2007, Luebeck, Germany.
- 17) N. Ozaki, M. Yamashita, G. Yu, S. Ito, M. Fujie, K. Ogawa, T. Aoki, S. Mizuno, M. Sugiyama, K. Aoshima, M. Kobayashi, N. Kamikage, Y. Takehara, H. Sakahara, "Synthesis and evaluation of novel Gd-DTPA-Sugar compounds as MRI contrast agents", *5<sup>th</sup> Inter-academia 2007*, Sept. 26-27, Hamamatsu, Japan.
- 18) M. Yamashita, M. Fujie, J. Yamashita, K. Ogawa, K. Aoshima, N. Ozaki, T. Aoki, Y. Takehara, H. Sakahara, and S. Nakamura, "Research on Novel Sugar Dendritic MRI Contrast Agents for Cancer and Phospho Sugar Anti-cancer Material", *4<sup>th</sup> Tumor Progression & Therapeutic Resistance Conference*, Oct. 4-5, 2007, in Philadelphia, PA. U.S.A.
- 19) M. Yamashita, T. Aoki, K. Ogawa, N. Ozaki, M. Fujie, J. Yamashita, K. Aoshima, N. Kamikage, G. Yu, T. Oshikawa, Y. Takehara, H. Sakahara, S. Laurent, C. Burtea, L. Vander Elst, R. N. Muller "Construction of DDS of Gd-DTPA Complex with Sugar Ball Dendrimer for Drawing Blood Vessels and Tumors by MRI", *ICOM2008*, 13-18 July, 2008, Rennes, France.
- 20) M. Yamashita, T. Aoki, K. Ogawa, N. Ozaki, M. Fujie, K. Reddy Valluru, G. Yu, K. Aoshima, M. Kobayashi, T. Kato, N. Kamikage, J. Yamashita, Y. Takehara, H. Sakahara, H. Takayanagi, T. Oshikawa, S. Laurent, C. Burtea, L. Vander Elst, R. N. Muller, "Studies on Novel MRI Contrast Agents Having a Sugar-Ball- Dendrimer Framework for R & D of Imaging Specific Organs, Blood Vessels, and Tumors", *24<sup>th</sup> international Carbohydrate Symposium (ICS2008)*, 27. July~1. August, 2008, Oslo, Norway.
- 21) J. Yamashita, M. Yamashita, M. Fujie, T. Niimi, K. Asai, T. Suyama, H. Totsuka, V. Krihna Reddy, S. Ito, S. Nakamura, "Medical Materials for Ultra Earlier Finding and Curing Cancers: Syntheses and Evaluation of Anhydro- and Deoxybromo-phospho Sugars or Epoxy- and Bromo-Phospholanes for Leukemia Cells", *24<sup>th</sup> international Carbohydrate Symposium (ICS2008)*,



27. July~1. August, 2008, Oslo, Norway.
- 22) M. Yamashita, M. Fujie, K. Asai, T. Suyama, J. Yamashita, S. Ito, V. Krishna Reddy, H. Totsuka, J. Yamashita, K. Ogawa, N. Ozaki, S. Nakamura, T. Aoki, N. Ozaki, G. Yu, K. Aoshima, M. Kobayashi, T. Kato, N. Kamikage, Y. Takehara, H. Sakahara, H. Takayanagi, T. Oshikawa, S. Laurent, C. Burtea, L. Vander Elst, R. N. Muller, "Research on Novel Materials for Cancer Finding and Chemotherapy at the Early Stage --- Novel MRI Contrast Agents with Sugar Ball Dendrimer Structures and Novel Ant-tumor Agents with Phospha Sugar or Phosphorus Heterocyclic Structures and Their Evaluation", *Inter-Academia 2008*, 15-18 September, 2008, Pecs, Hungary.
- 23) M. Yamashita, T. Aoki, S. Ito, K. Ogawa, N. Ozaki, M. Fujie, G. Yu, K. Aoshima, M. Sugiyama, N. Kamikage, J. Yamashita, Y. Takehara, H. Sakahara, H. Takayanagi, T. Oshikawa, S. Laurent, C. Burtea, L. Vander Elst, R. N. Muller, "Research on Cancer Finding and Chemotherapy at the Early Stage --- Syntheses and Evaluations of Novel Sugar-Ball-Dendrimer MRI Contrast Agents and Phospha Sugars by Sugar Modification", *11th Bratislava Symposium on Sacharides (IBSS)*, 21-26 September, 2008, Smolenice Castle, Slovakia.
- 24) T. Aoki, M. Yamashita, K. Ogawa, N. Ozaki, M. Fujie, M. Sugiyama, K. Aoshima, S. Mizuno, N. Kamikage, J. Yamashita, G. Yu, V. Krishna Reddy, T. Oshikawa, Y. Takehara, H. Sakahara, S. Laurent, C. Burtea, L. Vander Elst, R. N. Muller, "Synthesis and Evaluation of Chemically - Modified Novel MRI Contrast Agents with Sugars", *11th Bratislava Symposium on Sacharides (IBSS)*, 21-26 September, 2008, Smolenice Castle, Slovakia.
- 25) 山下光司、青木 峻、尾崎伸久、杉山雅紀、山下純子、藤江三千男、竹原康雄、阪原晴海、「がんの早期発見・早期治療の為に医用材料開発研究」、第39回中部化学関係学協会支部連合秋季大会(名古屋大学)、2008.11.8~11.9.
- 26) 山下光司、山下純子、藤江三千男、陶山拓也、新美大志、清藤圭太、山田 学、中村悟己、竹原康雄、阪原晴海、「がんの早期発見・早期治療を目指す医用材料ープロモ基を環構造に有する含リン複素環化合物あるいはリン糖誘導体の合成と生理活性の評価」、第35回有機典型元素化学討論会(首都大学)、2008.12.11~12.13.
- 27) S. Ito, M. Yamashita, T. Niimi, M. Fujie, V. Krishna Reddy, H. Totsuka, B. Haritha, M. Kasthuraiah, S. Nakamura, K. Asai, T. Suyama, J. Yamashita, Y. Iguchi, G. Yu, and T. Oshikawa, "Preparation and characterization of phospholanes and phospha sugars as novel anti-cancer agents", *Heterocyclic Communications*, in press (2008).
- 28) M. Fujie, S. Nakamura, H. Asai, J. Yamashita, K. Kiyofuji, M. Yamashita, "A novel phospha sugar analogue: synthesis and evaluation of 2,3-dibromo-3-methyl-1-phenylphospholane 1-oxide having potential anti-proliferative effects for human tumors" *J. Environ. Biology*, in

press (2008).

- 29) M. Fujie, S. Nakamura, K. Asai, T. Niimi, J. Yamashita, K. Kiyofuji, K. Shibata, M. Suzuki, R. Aoshima, T. Urano, M. Yamashita, "A Novel Phospho Sugar Analogue: Synthesis and Evaluation of 2,3-Dibromo-3-Methyl-1-Phenylphospholane 1-Oxide as a New Class of Potential Anti-proliferative Materials for Leukemia Cells", *Heterocyclic Communications*, in press (2009).
- 30) M. Yamashita, M. Fujie, T. Niimi, T. Suyama, K. Asai, S. Ito, V. Krishna Reddy, H. Totsuka, J. Yamashita, K. Ogawa, N. Ozaki, S. Nakamura, "Research on Cancer Finding and Chemotherapy at the Early Stage --- Epoxidation and Bromination of 2-Phospholenes for Preparation of Phospho Sugars and Their Biological Activity", *XV International Conference on Chemistry of Phosphorus Compounds (ICCP-XV)*, 25-31 June, 2008, Saint-Petersburg, Russia.
- 31) M. Yamashita, T. Aoki, K. Ogawa, N. Ozaki, M. Fujie, J. Yamashita, K. Aoshima, N. Kamikage, G. Yu, T. Oshikawa, Y. Takehara, H. Sakahara, S. Laurent, C. Burtea, L. Vander Elst, R. N. Mullerd "Construction of DDS of Gd-DTPA Complex with Sugar Ball Dendrimer for Drawing Blood Vessels and Tumors by MRI", *ICOM2008*, 13-18 July, 2008, Rennes, France.
- 32) K. Asai, M. Yamashita, S. Ito, M. Fujie, S. Nakamura, T. Suyama, Y. Iguchi, J. Yamashita, "Synthesis and Anti Cancer Bioactivity Evaluation of Some Novel Phospho Sugar Derivatives", *11th Bratislava Symposium on Saccharides (11BSS)*, 21-26 September, 2008, Smolenice Castle, Slovakia.
- 33) 山下光司、藤江三千男、浅井一秀、新美大志、マツダリ カスツライアー、陶山拓也、山下純子、井口由紀子、中村悟己、「プロモ基を有する含リン複素環化合物あるいはリン糖誘導体の合成と生理活性」、第 38 回複素環化学討論会 (広島県民文化センターふくやま)、2008.11.21~11.23.
- 34) 浅井一秀、山下光司、新美大志、藤江三千男、陶山拓也、井口由紀子、山下純子、中村悟己、「新規リン糖誘導体の合成およびがんに対する生理活性評価」、第 38 回複素環化学討論会 (広島県民文化センターふくやま)、2008.11.21~11.23.
- 35) 浅井一秀、山下光司、藤江三千男、中村悟己、陶山拓也、井口由紀子、山下純子、「新規リン糖誘導体の合成およびがんに対する生理活性評価」、第 35 回有機典型元素化学討論会 (首都大学)、2008.12.11~12.13.
- 36) M. Yamashita, M. Fujie, S. Nakamura, "Phospholane oxide derivatives and antitumor agents containing them." *Jpn. Kokai Tokkyo Koho* (2008), 23pp.
- 37) M. Yamashita, M. Fujie, T. Niimi, T. Suyama, K. Asai, S. Ito, V. Krishna Reddy, H. Totsuka, J. Yamashita, K. Ogawa, N. Ozaki, S. Nakamura, "Research on Cancer Finding and Chemotherapy at the Early Stage --- Epoxidation and Bromination of 2-Phospholenes for Preparation of Phospho Sugars and Their Biological Activity", *XV International Conference on*

*Chemistry of Phosphorus Compounds (ICPC-XV)*, 25-31 June, 2008, Saint-Petersburg, Russia.

- 38) M. Yamashita, T. Niimi, M. Fujie, V. Krishna Reddy, H. Totsuka, B. Haritha, M. Kasthuraiah Reddy, S. Nakamura, K. Asai, T. Suyama, G. Yu, M. Takahashi, and T. Oshikawa, "Highly stereoselective and stereospecific epoxidation of 2-phospholenes and N-glycosides of phospho sugars and their bioassays", *17<sup>th</sup> International Conference on Phosphorus Chemistry*, **43**, Apr. 15-19, 2007, Xiamen, China.
- 39) M. Yamashita, T. Niimi, M. Kasthuraiah, T. Suyama, K. Asai, M. Fujie, S. Nakamura, and T. Oshikawa, "Preparation of 2,3-bromides and 2,3-epoxides of phospholanes as analogues of phospho sugars and their important biological activities", *21<sup>st</sup> International Congress for Heterocyclic Chemistry*, **40**, Jul. 15-20, 2007, Sydney, Australia.
- 40) M. Yamashita, T. Niimi, M. Fujie, V. Krishna Reddy, H. Totsuka, B. Haritha, M. Kasthuraiah, S. Nakamura, K. Asai, T. Suyama, and T. Oshikawa, "Highly stereoselective and stereospecific epoxidation of 2-phospholenes to prepare bioactive phospho sugars and their N-Glycosides", *14<sup>th</sup> European Carbohydrate Symposium*, **332**, Sept. 2-7, 2007, Luebeck, Germany.
- 41) K. Asai, M. Yamashita, S. Ito, M. Fujie, S. Nakamura, T. Suyama, Y. Iguchi, J. Yamashita, "Synthesis and Anti Cancer Bioactivity Evaluation of Some Novel Phospho Sugar Derivatives", *11th Bratislava Symposium on Saccharides (11BSS)*, 21-26 September, 2008, Smolenice Castle, Slovakia.
- 42) 浅井一秀、山下光司、藤江三千男、陶山拓也、井口由紀子、山下純子、中村悟己、「新規リン糖誘導体の合成およびがんに対する生理活性評価」、第39回中部化学関係学協会支部連合秋季大会(名古屋大学)、2008.11.8~11.9.

## 2. 創製