

10. 結語

平成 20 年度までの研究では、次のことが明らかになった。

まず、平成 20 年度までに創製したシュガーボール dendrimer 型 Gd-DTPA-糖錯体を 5 つの項目 ((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)(v)に従って分類すれば、次の 4 つのカテゴリー (①~④) に分類される。(Table 10-01)

Table 10-01 MRI 造影剤の開発 分子設計カテゴリー

カテゴリー		①-1	①-2	①-3	①-4	②	③-1	③-2	④-a	④-b
i	鎖式	○	○	○	○	○	×	×	○	複合機能化 MRI 造影剤
	環式	×	×	×	×	×	○	○		
ii	対称型	○	○	×	×	○	○	×		
	非対称型	×	×	○	○	×	×	○	○	
iii	糖誘導体	○	×	○	×	○	○	○	○	
	非糖誘導体	×	○	×	○	×	×	×	×	
iv	加水分解経路	×	×	×	×	○	×	×	×	
	非加水分解経路	○	○	○	○	×	○	○	○	
v	配位子の主鎖に置換基を導入する	×	×	×	×	×	×	×	○	

- ① 最も注力した MRI 造影剤
- ② 次に注力した MRI 造影剤
- ③ 第 3 番目に注力した MRI 造影剤
- ④ その他：(a)配位子の主鎖に置換基を導入する MRI 造影剤
(b)複合機能化 MRI 造影剤

それぞれの合成戦略で創製された①~④のカテゴリーの 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 $r_1 = 8.1 [s^{-1} \cdot mM^{-1}] (37^\circ C)$)、Gd-DTPA-Phenylalanine (緩和速度 $r_1 = 11.0 [s^{-1} \cdot mM^{-1}] (37^\circ C)$)、Gd-DTPA-Aspartic acid (緩和速度 $r_1 = 10.4 [s^{-1} \cdot mM^{-1}] (37^\circ C)$) 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、Gd-DTPA-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、Gd-DTPA-DEN-OH 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。しかし、予想される化合物は非加水分解経路にて現在合成を開始した。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。以下に、①および②を中心として平成 20 年度の開発研究成果を纏める。この成果を、最終年度の平成 21 年度の開発研究に継続して前臨床前データを収集し、更に、前臨床および臨床試験の第 2 次ステージを経て、製品化・商品化の為の第 3 次ステージへ発展させる。

(1) 所謂「青島サンプル」はカテゴリー②の加水分解タイプの Gd 錯体である。当該の Gd-DTPA-糖錯体は、Gd-DTPA-DETA-D2-4Glc(OAc)の加水分解（あるいは「小川サンプル」の Gd-DTPA-DETA-D2-4Glc(OH)加水分解（但し、OAc あるいは OH 体の加水分解速度は異なる）によっても類似体は得られる）の誘導体と推測される。従って、Gd-DTPA-DETA-AS2-3Glc(OH, or OAc)誘導体あるいは Gd-DTPA-DETA-D2-nGlc(OH)と推定される。この Gd-DTPA 錯体は、今までに調製された Gd-DTPA-糖構造の dendrimer 型新規な造影剤としては、最高の血管描出能および肝細胞がん描出能を備えている。安全性評価試験（サンプル B）では特に問題はなく（下記（5）項目参照）、当該研究の現段階ではベストの造影剤である。しかし、平成 20 年度の終盤から平成 21 年度では、血管貯留性を短めに調整する問題点と構造決定、合成方法の確立、別途合成の検討、構造-活性相関、生体内分子との相互作用とその作用機序の解明、等の諸問題を解決する必要がある。

(2) 所謂「小川サンプル」Gd-DTPA-DETA-D2-4Glc(OH)は、カテゴリー①の非加水分解タイプの Gd 錯体である。糖あるいはリンカー部に反応位置選択性を与えるための保護基の導入反応及び反応性に戻すための脱保護反応を経由しないので、簡便かつ効率的な合成方法である。この「小川サンプル」調製方法を確立したことにより、様々なシュガーボール dendrimer 型 Gd-DTPA-糖錯体の設計および合成プロセスの variation と validation が可能となった。当該研究の安全性試験では、サンプル A と表記され、安全性試験は全く問題がないことが示された。この合成戦略では、糖の種類及び数、リンカー部分の化学的修飾、生体機能性分子認識サイトの導入等様々な変形が可能であるので、平成 20 年度はカテゴリー①「青島サンプル」の復刻とカテゴリー②の「小川サンプル」に顕著な進捗があり、新規に創製された様々なサンプルの *in vitro* および *in vivo* 評価を行った。

Gd-DTPA-DETA-D2-4Glc(OH)は、Glc 以外の糖に於いてもこの合成方法が応用可能である。また、このサンプルは、合成プロセスにおいて保護・脱保護なしに、短経路により高収率で化学合成され得ると言う利点に加えて、最終生成物の精製も容易且つ、高純度で Gd-DTPA-糖錯体の構造を持つ MRI 造影剤が簡便に調製可能であると言うメリットも備えている。このサンプルによる血管造影および肝細胞がん描出能は「青島サンプル」との比較において、それには及ばなかったが、ラットを用いた *in vivo* 評価に於いてかなり鮮明な MRI 画像を描出した。また、この造影剤の緩和率 (r_1) は $10.0 [s^{-1} \cdot mM^{-1}]$ であり、基本的には、 r_1 が $5.0 [s^{-1} \cdot mM^{-1}]$ 超であるので、MRI 造影剤として十分な造影効果を有する。

(3) 「青島サンプル」の非常に長い体内貯留性を改善するため、構造と活性相関を解

明する必要があった(上記(1)に記載)。カテゴリー①の Gd-DTPA-糖錯体は、*in vivo* 評価においてラットの尾静脈に造影剤を注入後 2 時間程度以内で体外排出された。また、カテゴリー①の Gd-DTPA-糖錯体の *in vitro* 評価において、媒体として生理食塩水あるいはヒトまたは牛血清、アルブミン、グロブリンなど媒体を変化させて造影効果を測定した結果、あるいは *in vivo* 評価の結果を分子計算ソフトである Molecular Operating Environment (MOE) で検討した結果は、現段階では、特許等の関係で本報告書では記述できない部分があるが、当該開発研究の目指す MRI 造影剤の構造-活性相関に関する未知データであるが、糖の分子認識機能をサポートする官能基の導入が示唆された。このことは、平成 21 年度以降の研究を推進する上において、非常に有効な情報であると言える。

(4) 平成 20 年度までの開発研究によって、例えば、Gd-DTPA-EDA-AS1-1Glc(OH) (カテゴリー①の「尾崎サンプル」) は、がん化ラットの 1 mm 程度の小さな肝細胞がんを低濃度で描出した。また、「青島サンプル」は、その低濃度の Gd-DTPA 誘導体錯体により、Gd 錯体の低濃度に於いても肝細胞がんを極々鮮明に描出した。また、その剖検サンプルと MRI 画像は見事な一致をみた。

(5) 安全性試験

(5-1) サンプル A の評価(平成 19 年度)

サンプル A は、①単回投与による急性毒性試験で特に問題のある毒性を示さず、安全な MRI 造影剤であることが示された。委託試験結果の報告書によれば、検体の雄ラットにおける単回静脈内投与による LD₅₀ 値は、2000 mg/kg 以上であると報告された。また、②反復投与毒性試験結果より、「観察期間中に一般状態の異常及び死亡例は認められず、体重変化、尿検査、器官重量及び剖検でも異常は認められなかった。」と報告された。③抗原性試験の結果では、「惹起後 30 分間及び 24 時間の観察において、試験群では呼吸困難、虚脱又は死亡が見られず、陽性対照群では全例でこれらの症状が見られ、4 例中 3 例が死亡したことから、検体は本試験において抗原性試験陰性であった。」と報告された。④変異原性試験結果では、「本試験条件下における検体の突然変異誘起性は陰性と結論した。」と報告された。

(5-2) サンプル B の評価(平成 19 年度)

安全性試験の為に平成 19 年度に調製された「青島サンプル」の複製版のサンプル B は、①単回投与による急性毒性試験では、検体投与群においては投与後 30 分以内に一般状態の悪化が認められたがその後回復し、観察期間中に死亡例は認められなかった。それ故、特に問題のある急性毒性を示さず、安全な MRI 造影剤であることが示された。試験結果の報告書によれば、「検体の雄ラットにおける単回静脈内投与による LD₅₀ 値は、2000 mg/kg 以上であると考えられた。」と報告された。また、②反復投与毒性試験結果では、「観察期間中に一般状態の異常及び死亡例は認められず、体重変化、尿検査、器官重量及び剖検でも異常は認められなかった。」と報告された。また、「血液学的検査及び血液生化学的検査の結果、網赤血球数 (RET)、アスパラギン酸アミノトランスフェ

ラーゼ (AST) 及び乳酸脱水素酵素 (LDH) が用量依存的に増加した。その他の項目では統計学的な差は認められなかった。この変化が検体投与に起因するか否かを特定することは、本試験条件のみでは困難であった。」と言う結果であった。③抗原性試験の結果では、「惹起後 30 分間及び 24 時間の観察において、試験群では呼吸困難、虚脱又は死亡が見られず、陽性対照群では全例でこれらの症状が見られ、4 例中 3 例が死亡したことから、検体は本試験において抗原性試験陰性であった。」と報告された。④変異原性試験結果では、「本試験条件下における検体の突然変異誘起性は陰性と結論した。」と報告された。

(5-3) サンプル C の評価 (平成 20 年度)

今年度の安全性試験の結果は、①急性経口毒性試験、②抗原性試験、③変異原性試験、④反復投与毒性試験とも、問題はなかった。詳しくは第 8 章を参照のこと。

(5-4) 安全性評価のまとめ

サンプル A では、特記すべき毒性は報告されなかった。また、サンプル B に於いては、サンプル A と比較すると、投与により因子に若干の変化が見られたが、特記すべき毒性とは報告されなかった。

平成 20 年度の現時点までの当該プロジェクトの進捗状況は、上述の通りである。これまでの開発研究の成果を平成 21 年度に継続し、当該プロジェクトの「がんを安全・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デンドリマー型新規 MRI 造影剤の開発研究 (H19-ナノ一般-015)」を完遂し、次の第 2 および第 3 ステージへと繋いで、「がんの超早期発見を普遍的に実現する医療技術の革新を図る。

データ集

データ集 1 学会等での発表

1-1 ICCPC-XV

(XV INTERNATIONAL CONFERENCE ON CHEMISTRY OF PHOSPHORUS COMPOUNDS)

「RESEARCH ON CANCER FINDING AND CHEMOTHERAPY AT THE EARLY STAGE

--- EPOXIDATION AND BROMINATION OF 2-PHOSPHOLENES FOR PREPARATION OF
PHOSPHA SUGARS AND THEIR BIOLOGICAL ACTIVITY」

日 付：2008/05/25-30

場 所：サンクトペテルブルグ(ロシア)

発表者：山下 光司

1-2 ICOMC (International Conference on Organometallic Chemistry)

「Construction of DDS of Gd-DTPA Complex with Sugar Ball Dendrimer
for Drawing Blood Vessels and Tumors by MRI」

日 付：2008/07/13-18

場 所：レンヌ(フランス)

発表者：山下 光司

1-3 Carbohydrate Symposium

「Studies on Novel MRI Contrast Agents Having a Sugar-Ball-Dendrimer Flame Work
for R & D of Imaging Specific Organs, Blood Vessels, and Tumor」

日 付：2008/07/26-08/02

場 所：オスロ(ノルウェー)

発表者：山下 光司

1-4 第36回日本磁気共鳴医学会

「新しいMR用 blood pool 造影剤 Gd-DTPA-D1-Glc(OH)による
肝細胞癌の信号増強効果に関する実験的研究」

日 付：2008/09/11

場 所：旭川

発表者：竹原 康雄

1-5 イノベーションジャパン 2008

「がんの早期発見・早期治療のための医用材料のイノベーション」

日 付：2008/09/16

場 所：東京

発表者：於 剛

1-6 Inter-Academia 2008

「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」

日 付：2008/09/16-19

場 所：ペーチ(ハンガリー)

発表者：山下 光司

1-7 Bratislava Symposium 11th

「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」

日 付：2008/09/21-26

場 所：ブラティスラバ(スロバキア)

発表者：山下 光司、青木 峻

1-8 第39回中部化学関係学協会支部連合秋季大会

「がんの早期発見・早期治療の為に医用材料開発研究」日 付：2008/11/09

場 所：名古屋大学(名古屋市)

発表者：山下 光司

1-9 メディカルイノベーションフォーラム 2008

「血管内貯留性MRI造影剤の調製と血管及び肝細胞がん等の描出」

日 付：2008/11/10

場 所：名鉄ホテル(浜松)

発表者：山下 光司、竹原 康雄

1-10 第38回複素環化学討論会

「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」

日 付：2008/11/22-23

場 所：ふくやま市

発表者：山下 光司

1-11 第35回有機典型元素化学討論会

「がんの早期発見・早期治療を目指す医用材料—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」

日 付：2008/12/11-13

場 所：首都大学東京(東京)

発表者：山下 光司

1-12 ナノバイオテクノロジー連携群成果報告会(内閣府)

「がんを安全・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デンドリマ
一型新規 MRI 造影剤の開発研究」

日 付：2009/01/28

場 所：日本化学未来館(東京)

発表者：山下 光司、Uma Ravi Shankar

1-13 ナノメディシン成果発表

「がんを安全・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デンドリマ
一型新規 MRI 造影剤の開発研究」

日 付：2009/02/25

場 所：(財)がん研究振興財団(東京)

発表者：山下 光司

1-14 日本化学会第 89 春季年会

「リン糖抗がん剤の開発研究」

日 付：2009/03/27-30

場 所：日本大学(船橋市)

発表者：山下 光司

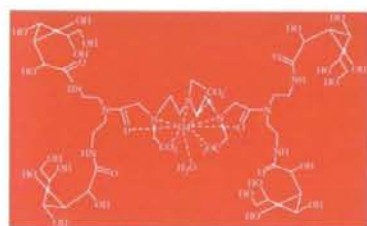
新しいMR用blood pool造影剤 Gd-DTPA-D1-Glc(OH) による肝細胞癌の信号増強効果 に関する実験的研究

竹原康雄¹, 青木 峻², 山下光司², 藤江三千男³,
村松克晃⁴, 飯原晴海⁴, 定藤規弘⁵, 竹田浩康¹
1 浜松医科大学医学部附属病院放射線部,
2 静岡大学大学院工学研究科,
3 浜松医科大学医学部機器センター,
4 浜松医科大学医学部医学科, 5 自然科学研究機構生体工学研究部

日本磁気共鳴医学会2008.9.11 岡山

目的

- Gd-DTPA-D1-Glc(OH)は、Gd-DTPAを基本骨格とし、4つのglucoseを付加したMR用造影剤であり、血管内滞留性を有するいわゆるblood-pool agentである。
- 多血性肝細胞癌の動物モデルを用いて、本造影剤の腫瘍造影効果を従来型のGd-DTPAとの比較において検討する



$C_{46}H_{84}GdN_7O_{33}$ (MW:1448.45D)

C:38.14%, H:5.85%, Gd:10.86%, N:8.70%, O:36.45%

Dendrimer DTPA-D1 Glu (OH)

方法(動物モデル)

- 雄性F344ラットにnitrosodiethylamineを飲水投与することにより多血性の肝細胞癌モデルを作成した
- すべてのがんラットには、まず最初に通常のGd-DTPA(0.1 mmol/kg, Magnevist)による造影MRIを試行し(n=11)
- 2時間以上の間隔をあけて、Gd-DTPA-D1-Glc(OH)、0.0125mmol/kgによる造影MR撮影が行われた(n=6)

方法(撮像法)

- 撮影装置は3.0T超伝導装置(Magnetom Allegra)に自家製の表面コイル(3~5inch)
- 造影前にT2強調横断像とT1強調横断像、冠状断像が撮影された。
- 造影前後、3D-VIBEによるT1強調画像冠状断像が3時相にわたり繰り返し撮影された
parameter: 3D-VIBE:TR(ms)/TE(ms):4.5/1.8, NEX:1, FOV (mm):120, matrix:256x208, partition(mm):0.7, 1時相50秒

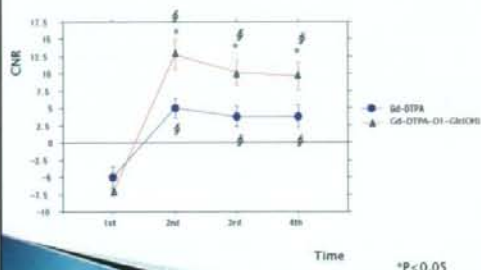
方法 病理学的検討

- 撮影後、肝臓を全摘出ホルマリン固定後パラフィン包埋
- 連続切片
- H&E染色
- factor VIIIによる免疫組織化学染色
- 多血性肝細胞癌の同定と腫瘍のnumbering
- 画像とのつき合わせ

結果

- モルベースで1/8のガドリニウム用量であるにもかかわらず、新しい造影剤は実験的多血性肝細胞癌において、腫瘍のSNRではほぼ同等(造影第1時相で 27.9 ± 5.7 vs. 29.6 ± 6.4)
- 背景肝とのSNRでは2倍以上(造影第1時相で 5.3 ± 4.5 vs. 13.1 ± 6.4 , $p < 0.05$)の良好な造影効果を呈した。

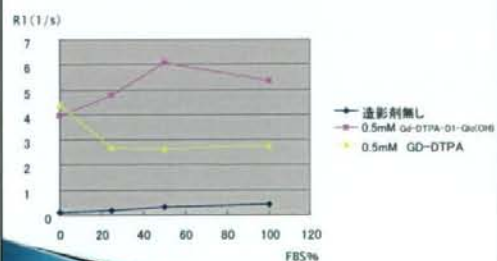
Time Course Changes of CNR of HCC



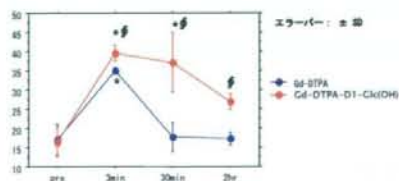
考察

- モルベースで1/8でもGd-DTPAよりすぐれた腫瘍 CNR
- 多血性腫瘍の感度が向上する可能性がある
- 造影剤低減可能
- 全肝ダイナミックスタディのImaging-windowが拡大する可能性がある
- 分子量の小ささから考えて、静脈注射後速やかに血清蛋白質と結合すると考えている

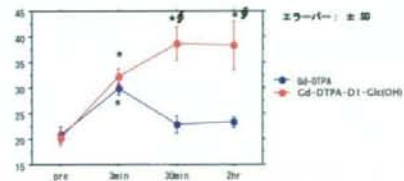
ウシ胎児血清(蛋白4.5g/dl)中における造影剤のT1緩和度(1.5T) at 17°C



Time Course Changes of SNR of the Aorta



Time Course Changes of SNR of the Liver



結論

- ・新しいMR用造影剤は、多血性肝細胞癌の動物モデルにおいて、Gd-DTPAと比較して、より低用量（モルベースで1/8）で2倍以上の強い造影効果（腫瘍/背景肝実質のコントラスト雑音比）を呈す優れた造影剤と考えられる。

謝辞

- ・本研究の一部は2005年度～文部科学研究費補助金、2007年度～厚生労働科学研究費補助金、自然科学研究機構の援助を受けた

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

Mitsuji Yamashita,^{1*} Michio Fujie,^{1,2} Kazuhide Asai,¹ Takuya Suyama,¹ Junko Yamashita,¹ Satoru Ito,¹ Valluru Krishna Reddy,¹ Hirono Totsuka,¹ Junko Yamashita,¹ Keisuke Ogawa,¹ Nobuhisa Ozaki,¹ Satoki Nakamura,² Takashi Aoki,¹ Nobuhisa Ozaki,¹ Gang Yu,¹ Kengo Aoshima,¹ Masatsugu Kobayashi,¹ Tatsunori Kato,¹ Nao Kamikage,¹ Yasuo Takehara,² Harumi Sakahara,² Hisao Takayanagi,³ Tatsuo Oshikawa,⁴ Sofie Laurent,⁵ Carmen Burtea,⁵ L. Vander Elst,⁵ Robert N. Muller⁵

¹ Graduate School of Science and Technology, Shizuoka University, Hamamatsu 432-8561, Japan

² Faculty of Medicine, Hamamatsu University School of Medicine, Hamamatsu 431-3192, Japan

³ Mitsubishi-Tokyo Pharmacy, Nihonbashi, Tokyo 103-8405, Japan

⁴ Department of Materials Chemistry, Numazu College of Technology, Numazu 410-8501, Japan

⁵ NMR Laboratory, Department of Organic Chemistry, University of Mons-Hainaut, B-7000 Mons, Belgium

tcmyama@ipc.shizuoka.ac.jp

(1) Novel MRI Contrast Agents with Sugar Ball Dendrimer Structures

(1-1) Preparation of Sugar Ball Dendrimers with Gd-DTPA-Dn-Sugar Structure

Currently one of the most often used MRI contrast agent is Gd-DTPA (Gadilium-Diethylenetriamine pentaacetic acid) complex (Fig. 1), whose molecular size is small and then the contrast agent penetrates the blood vessel. To make the MRI contrast agent remain in the blood vessels so as to make Magnetic Resonance Angiography (MRA) easily realize, sugar ball dendritic structure of Gd-DTPA was constructed. These Gd-DTPA complexes are generally represented as Gd-DTPA-Dn-Sugar. The reaction to prepare Gd-DTPA-D1(OAc and OH) is shown in Scheme 1 [1,2].

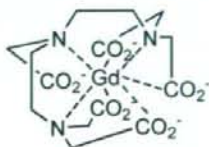
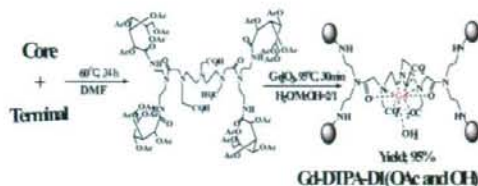


Fig. 1. Gd-DTPA.



Scheme 1. Preparation of Gd-DTPA-D1(OAc and OH)

(1-2) Evaluation of Gd-DTPA-Dn-Sugar

Gd-DTPA-D1(OAc and OH) was subjected to *in vivo* evaluation by using rats. The MRA was shown clearly as in Fig. 2 and tumors on the liver were also drawn quite clear images as shown in Fig. 3.



Fig. 2. MRA by Gd-DTPA (Left) and Dendrimer (Right).



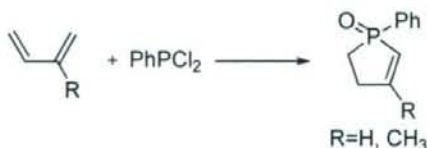
Fig. 3. MRI for tumor by Gd-DTPA (Left) and Dendrimer (Right).

These results strongly indicate that Gd-DTPA-Sugar ball dendrimer must be the good MRI contrast agent for early stage tumor detection.

(2) Phospha Sugars or Phosphorus Heterocyclic Compounds

(2-1) Preparation of Phosphorus Heterocyclic Compounds

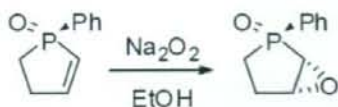
The McCormack reaction of 1,3-dienes with phosphorus chlorides (e.g., phenylphosphorus dichloride) afforded 2-phospholenes (Scheme 2), which were used as the starting materials of phospha sugar derivatives or phosphorus heterocyclic compounds.



Scheme 2. Synthesis of 2-phospholenes.

(2-2) Preparation of Phospha Sugars

2,3-Anhydrophospha sugars were prepared by an epoxidation of 2-phospholenes as shown in Scheme 3. 2,3-Dibromo-2,3-dideoxyphospha sugars were prepared by an addition reaction of bromine to 2-phospholenes as shown in Scheme 4 [3,4].



Scheme 3. Epoxidation of 2-phospholenes with sodium peroxide.



Scheme 4. Preparation of 2,3-dibromo-2,3-dideoxyphospha sugars

(2-3) Evaluation of phospha sugars by MTT method

MTT method for leukemia cell lines were carried out for in vitro evaluation of phospha sugars as the anti-tumor agents. The results are shown in Fig. 4, and the figure strongly indicate that the phospha sugars must be sued as quite active anti-tumor agents.

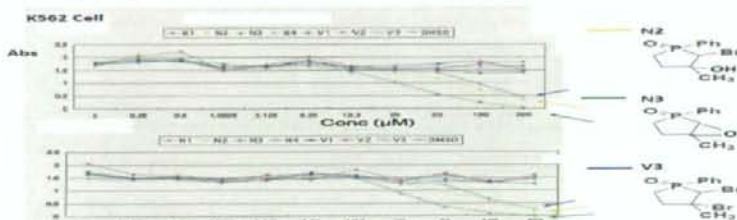


Fig. 4. MTT evaluation of phospha sugars as anti-tumor agents.

(3) Conclusion

The novel Gd-DTPA-Dn-Sugar structured MRI contrast agents could image quite small sized tumors. The novel phospha sugars could kill selectively and specifically the leukemia cells. Together with these novel medical materials, early stage findings and early stage chemotherapy should be realized.

(4) References

- [1] M. Takahashi, Y. Hara, M. Yamashita, et. a l., *Tetrahedron Lett.*, **41**, (2000) 8485-8488.
- [2] H. Lammers, M. Frederic, R. N. Muller, et.al., *Inorg. Chem.*, **36** (1997) 2527-2538.
- [3] M. Yamashita, V. K. Reddy, L. N. Rao, B. Haritha, M. Maeda, K. Suzuki, H. Totsuka, M. Takahashi, and T. Oshikawa, *Tetrahedron Lett.*, **44**, 2339 (2003).
- [4] H. Totsuka, M. Maeda, V. K. Reddy, M. Takahashi, and M. Yamashita, *Heterocyclic Commun.*, **10**, 295 (2004).

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

Mitsuji Yamashita^{1,*}, Takashi Aoki¹, Satoru Ito¹, Keisuke Ogawa¹, Nobuhisa Ozaki¹, Michio Fujie^{1,2}, Gang Yu¹, Kengo Aoshima¹, Masaki Sugiyama¹, Nao Kamikage¹, Junko Yamashita¹, Yasuo Takehara², Harumi Sakahara², Hisao Takayanagi³, Tatsuo Oshikawa⁴, Sofie Laurent⁵, Carmen Burtea⁵, L. Vander Elst⁵, Robert N. Muller⁵

¹ Graduate School of Science and Technology, Shizuoka University, Hamamatsu 432-8561, Japan

² Faculty of Medicine, Hamamatsu University School of Medicine, Hamamatsu 431-3192, Japan

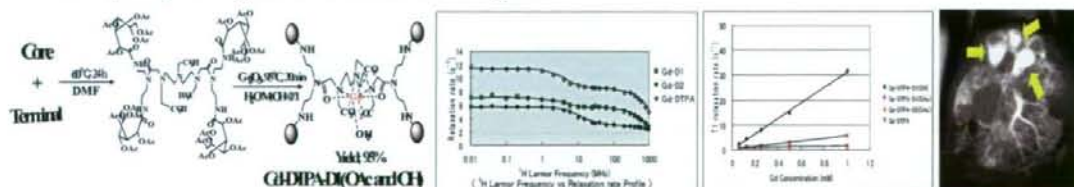
³ Mitsubishi-Tokyo Pharmacy, Nihonbashi, Tokyo 103-8405, Japan

⁴ Department of Materials Chemistry, Numazu College of Technology, Numazu 410-8501, Japan

⁵ NMR Laboratory, Department of Organic Chemistry, University of Mons-Hainaut, B-7000 Mons, Belgium
tcmyama@ipc.shizuoka.ac.jp

This paper deals with the preparation and evaluation of novel dendritic MRI contrast agents provided by sugar moieties on the outer shell of the sugar dendrimer with the core part of Gd-DTPA (Gadolinium-Di-ethylenetriaminepentaacetic acid) complexes, Gd-DTPA-D1-Glc(OH) as well as phospha sugars prepared from phosphorus heterocycles. The *in vivo* evaluation of Gd-DTPA-D1-Glc(OH) by using rats revealed that the sugar modified dendritic Gd complex described clear MR images of blood vessels and tumors.

Gd-DTPA derivatives are widely used for MRI contrast agent, however, the agent has poor potentiality for imaging specific organs, blood vessels, and tumors. To improve these properties of Gd-DTPA, sugar-ball-dendrimer derivatives of Gd-DTPA (e.g., Gd-DTPA-D1-Glc(OAc), Gd-DTPA-D1-Glc(OH), Gd-DTPA-D2-Glc(OAc)), were prepared (Scheme 1) [1]. The T1 relaxation rates of Gd-DTPA-D1-Glc(OH) vs Larmor frequency (Fig. 1) and vs Gd concentration (Fig. 2) showed good results [2]. The *in vivo* evaluation of Gd-DTPA-D1-Glc(OH) showed an excellent MR imaging of tumors on the liver of rats (Fig. 3). The preparation and evaluation of phospha sugars for leukemia cells will also be presented so as to use the phospha sugars as the anti-cancer agents.



Scheme 1. Gd-DTPA-D1-Glc(OAc). Fig. 1. ¹H Larmor frequency. Fig. 2 T1 relaxation. Fig. 3. MRI of tumors.

References

- [1] M. Takahashi, Y. Hara, M. Yamashita, et. al., *Tetrahedron Lett.*, **41**, (2000) 8485-8488.
[2] H. Lammers, M. Frederic, R. N. Muller, et. al., *Inorg. Chem.*, **36** (1997) 2527-2538.

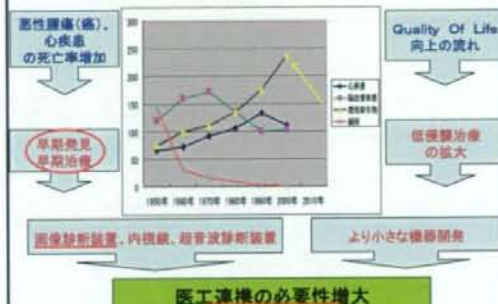
血管内滞留性MRI造影剤の調製と
血管及び肝細胞がん等の描出

メディカルイノベーションフォーラム2008

平成20年11月10日(月)10:00~19:00
浜松名鉄ホテル3F松の間(浜松市中区板屋町)

静岡大学 創造科学技術大学院 光・ナノ物質機能専攻
教授 山下 光司
浜松医科大学 付属病院 放射線部 准教授 竹原 康雄
浜松医科大学 医学部 放射線医学 教授 阪原 晴海

医療ニーズの内容変化



MRI装置と造影剤の例

(MRI装置)

(MRIシステムの概要)



Core Ligand



造影剤—ガドリニウム 製剤
Gd Complex
(毒性低減 Ligands + Gd(III)-H₂O)
(9 配座錯体 (Gd(III)-H₂O))

現状(従来)のMRI造影剤

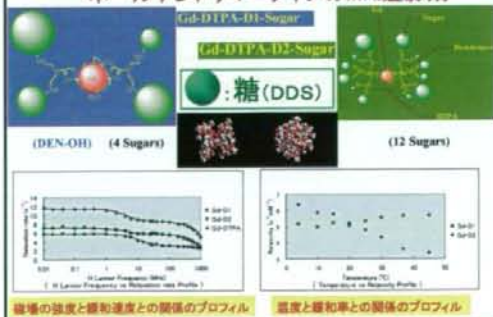


非特異的、血管外漏出性(血管滞留性に乏しい)

望ましいMRI造影剤

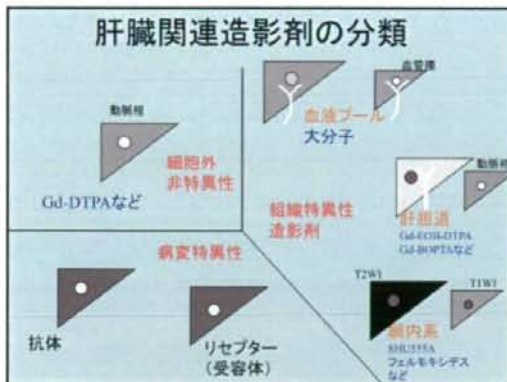
1. 造影効果が高いこと。造影効果は緩和現象によって決定。少量でもMR画像上で大きな造影効果。投与量はmmolのオーダー。
2. 安全であること。副作用が少なく、組織結合性などが無い化合物で、速やかに排泄される。保存期間中に物性変化しない。
3. 使いやすいくこと。ガドリニウム製剤は静脈内投与するために粘稠度の低い注射しやすい剤形。

Gd-DTPAをベース(コア)にしたシュガー
ボールドンドリマータイプのMRI造影剤



outline

- 特異的造影剤とは？
 - 必要性、分類
- Blood-Pool-Agents
 - 血管描出
 - 肝細胞癌、転移性肝癌
- MR造影剤による分子イメージングへの肉薄の可能性



Blood pool CMの用途

- 血管画像
 - Imaging-windowが広い
 - 一回の造影剤投与で複数箇所の撮影が可能
- 組織灌流
- 血管増生 (angiogenesis)
- 細血管の integrity
 - 腫瘍血管の脆弱性、透過性
 - 消化管出血

造影剤の比較1

Biodistribution analysis DEN-OH

DEN-OH & Gd-DTPA

- 分布
- 血清中でのT1

造影剤の比較2

	MS-325	DEN-OH
粒子数	957	1448
RI (relaxivity: normal "look")	0.6~1.4	?
血清中半減期 (半衰期: 血清)	10-15分程度	20分程度以上
Binding-protein	Albumin	?

血管造影・肝細胞がん造影(比較)

Time Course Changes of Contrast Enhancement on In-vivo MRI

In-vivo MR Imaging

S/N比の比較

Time Course Changes of SNR of the Aorta

造影剤の今後に望まれるもの

- Tumor seeking contrast agent with whole body scan
- High quality enhancement
- 薬物送達
- 遺伝子発現の可視化

施策名(施策名・担当省)

医療機器開発推進研究事業:ナノメディシン研究・厚生労働省

研究題目 がんを安全・高感度で鮮明に画像化できるナノサイズ
シュガーポール dendリマー型新規MRI造影剤の開発研究

研究担当者名(所属・氏名・連絡先)

静岡大学創造科学技術大学院ナノマテリアル部門(工学部物質工学科併任)山下光司 T/F: 053-478-1144; e-mail: tmyama@ipc.shizuoka.ac.jp

研究概要

MRI(核磁気共鳴画像診断法)は、マグネシスト(Gd-DTPA)等の造影剤を用いる最も安全な画像診断法の一つである。本研究では、MRIの持つ欠点を克服してがんの早期発見を可能にする革新的・普遍的技術を実現するために、従来の造影剤を生体機能性材料の糖により化学修飾してGd-DTPAのDDSとなる新規なMRI造影剤を開発する。当該の新規ナノ糖 dendリマー型Gd錯体は、安全性・安定性に優れ、*in vivo*評価により、従来品と比較して低濃度のドーズにより鮮明な血管造影及び富血性幹細胞がんの鮮明な画像の描出に成功した。それ故、普及型のMRI装置によりがんの早期発見を実現できる可能性が大きい。

Gd-DTPAをコアとし外殻に糖鎖を導入した新規ナノ糖 dendリマー型MRI造影剤の創製、*in vitro*及び*in vivo*評価

