

処理の段階で付加体が次第に化合物 **6** へと分解していることが示唆された。一方、トリフレート化体では、Diels-Alder 反応がそれほど進行せず、低収率であったが、先ほどとは逆の位置選択性で付加体 **8a** を高選択的に与えた。続いて、5-アルキル置換体を用いて選択性を検討したところ、位置選択性に若干の低下が見られたものの、大きな変化は見られなかった。この場合、5位のアルキル基に対して面選択性が現れ、1.2:1 から 1.6:1 程度の選択性であることが分かった。

参考文献

- 1) Kirby, G. W. *Chem. Soc. Rev.* **1977**, *6*, 1–24.
- 2) (a) Howard, J. A. K.; Ilyashenko, G.; Sparkes, H. A.; Whiting, A.; Wright, A. R. *Adv. Synth. Catal.* **2008**, *350*, 869–882. (b) Iwasa, S.; Fakhruddin, A.; Nishiyama, H. *Mini-Rev. Org. Chem.* **2005**, *2*, 157–175. (c) Tusun, X.; Lu, C.-D. *Synlett* **2012**, *23*, 1801–1804. (d) Frazier, C. P.; Bugarin, A.; Engelking, J. R.; Read de Alaniz, J. *Org. Lett.* **2012**, *14*, 3620–3623.
- 3) Hoshino, Y.; Suzuki, K.; Honda, K. *Synlett* **2012**, *23*, 2375–2380.

2.2. 本田 清、田郡大隆、上野恵子、星野雄二郎、第 57 回 香料・テルペンおよび精油化学に関する討論会、埼玉、2013.10.5-6.

ビシクロ[3.2.0]ヘプタン環の環拡大反応を用いるビシクロ[4.2.1]ノナン環の合成

【諸言】

天然にはビシクロ[4.2.1]ノナン環骨格を有する化合物が知られている。例えば *Mediterraneols* はマウス白血病細胞に抗白血病作用を示し、*Culmorin* は抗カビ作用を持つことが知られている(**Figure 1**)。

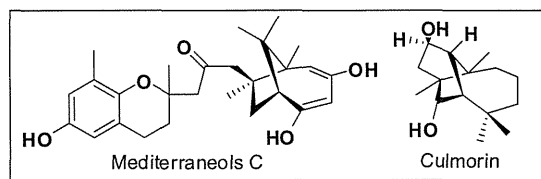
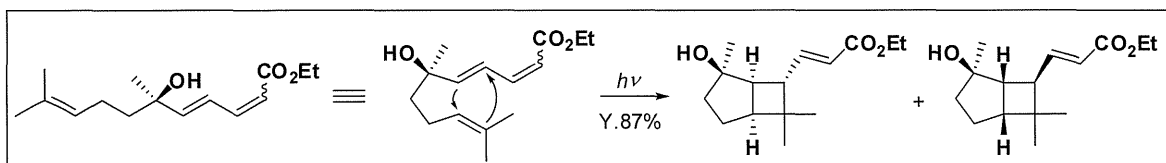


Figure 1

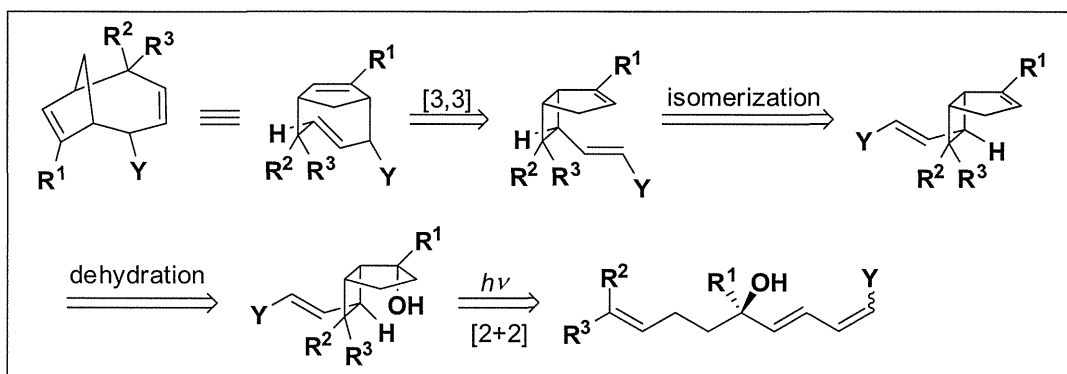
これらの化合物に共通するビシクロ[4.2.1]ノナン環骨格の合成は過去にいくつか報告されているが、工程数や収率、立体選択性に問題を有する。

当研究室では電子求引基を有するトリエン化合物に対して光照射を行い、パラレル配向の[2+2]環化付加物であるビシクロ[3.2.0]ヘプタン環骨格を構築できることを見出した(**Scheme 1**)¹⁾。



Scheme 1

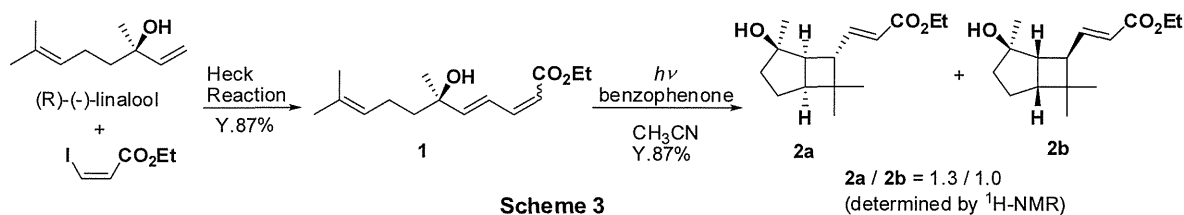
本研究では、この方法を利用してビシクロ[3.2.0]ヘプタン環骨格を構築したのち環拡大反応に *Cope* 転位を用いた、ビシクロ[4.2.1]ノナン環骨格の新規合成法について報告する。以下に逆合成を示す(**Scheme 2**)。



Scheme 2

【結果および考察】

光反応前駆体であるトリエンエステル **1** は入手容易な(*R*)-(-)-リナロールを出発物質とする、アルケニルハライドとの Heck 反応により合成した。得られたトリエン化合物に対して光源として高圧水銀灯(366 nm)を用いて光環化反応を行い生成物 **2a** および **2b** をそれぞれ光学活性体として得た(Scheme 3)。



Scheme 3

単離したそれぞれの環化物 **2a,2b** にオキシ塩化リンを用いて脱水反応を行い、目的のエンド型二重結合を有する化合物 **3a,3b** とエキソ型二重結合を有する化合物 **4a,4b** を得た(Table 1)。

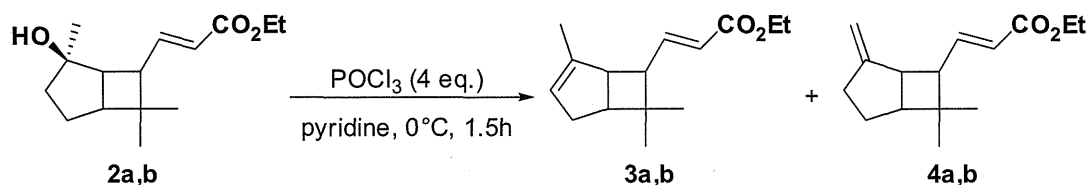


Table 1. Dehydration reaction of 2a,b

entry	S.M.	yield [%] ^{a)}
1	2a	70 (3a / 4a = 2.5 / 1.0)
2	2b	79 (3b / 4b = 2.5 / 1.0)

a) The ratio of **3** / **4** was determined by ¹H-NMR analysis

得られた環化物 **3** と **4** は極性があまり変わらず完全に分離できないため単離せず環拡大反応によるビスクロ[4.2.1]ノナン環の合成検討を行った。まず段階的に異性化のみを行ったのちに Cope 転位を進行させる方法では目的物が得られなかった。そこで、化合物 **3** の 7 位を異性化させる際と同時に Cope 転位反応に導く条件検討を行った (**Table 2**)。140°C 以上の高温条件下では分解反応が起こり、共役ジエン化合物 **7** も得られたが、非常に興味あることに塩基存在下 triglyme や DMF の極性溶媒中で 120°C 以下で加熱することにより、環拡大した化合物 **6** のみが生成した。塩基性条件のため化合物 **6** は目的化合物 **5** を経由し、二重結合の異性化が起こって生成したと考えられる。

原料に含まれていた化合物 **4** も Cope 転位反応を起こす可能性が考えられるが、興味深いことに現状の反応条件では転位はまったく起こらず、化合物 **4** は未反応のまま回収された。

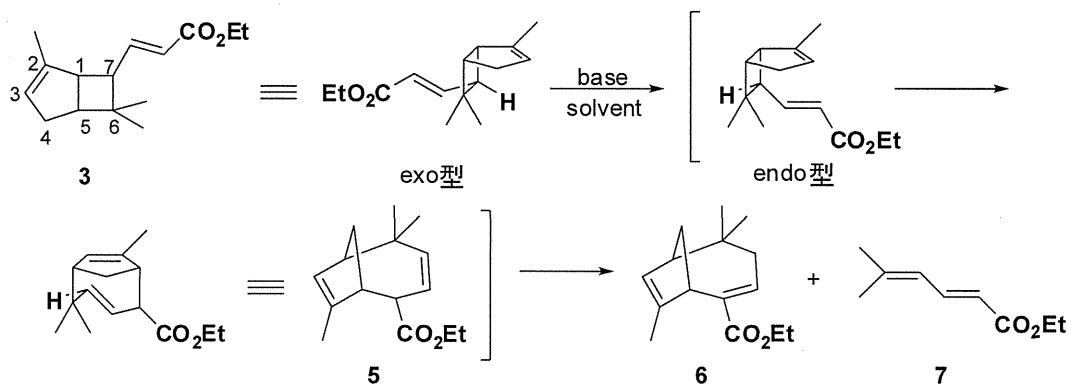


Table 2. Isomerization followed by Cope rearrangement

entry	solvent	base (eq.)	conditions (°C / h)	yield [%] ^{a)}		
				6	7	3 (recovery)
1	triglyme	K ₂ CO ₃ (1.4)	200 / 3	3	29	-
2	triglyme	DABCO (7)	140 / 24	15	32	-
3	triglyme	DBU (7)	140 / 24	52	38	-
4	triglyme	DBU (7)	120 / 24	64	-	7
5	DMF	DBU (7)	120 / 24	88	-	8
6	DMF	DBU (1.4)	120 / 24	85	-	8

a) The ratio of **6** / **3** was determined by ¹H-NMR analysis

反応温度を 120°C、溶媒に DMF を使い、塩基の量を 7 当量での反応は収率 88% を与えた (entry 5)。この反応は塩基の量を 1.4 当量まで減らしても収率は低下せずに 85% の収率で反応は進行した (entry 6)。なお、収率は原料中に含まれる化合物 **3** を基準として算出した。

【参考文献】

- 1) 本田清、青野庸平、大村一浩、星野雄二郎、井上誠一 第 58 回有機合成化学協会関東支部シンポジウム 講演要旨集 p.76 (2009)

厚生労働科学研究費補助金（第三次対がん総合戦略研究事業）
（分担）研究報告書

悪性中皮腫に対する単剤多機能抗がん治療の開発
研究分担者 青木伊知男 放射線医学総合研究所・チームリーダー

研究要旨 Nude マウスに 211H 中皮腫細胞を胸腔内投与し、中皮腫モデルを作成。高磁場 MRI により腫瘍を *in vivo* で検出した。また、磁性抗がん剤 EI236 を胸腔内投与し、腫瘍部位の胸郭前面に磁石を 2 日間設置、EI236 のがん部位集積の可視化に成功した。

A. 研究目的

磁性を持つ抗がん剤EI236は、抗がん剤そのものが、MRIにおいて信号低下をもたらす陰性造影剤として機能する。さらに磁石に対して集積するため、腫瘍近傍に磁石を設置する事で、抗がん剤を物理的に集積させることが可能であり、抗がん剤の集積を可視化しながら、治療を行うことが可能となる。これまで、磁性体を抗がん剤に結合させることで同様の目的を果たした研究が散見されるが、生体内で磁性体と抗がん剤の結合が切れ分離する可能性があるなど、問題点が残っている。一方、磁性抗がん剤EI236は、抗がん剤そのものを磁性化させることで、抗がん剤そのものを生体内において高精度で動態追跡可能と考えられる。昨年度に最適化した肺野周辺の撮像法を用いて、本年度は211H中皮腫細胞を同所移植したモデルを用いて、*in vivo*での腫瘍検出、磁石を用いた磁性抗がん剤EI236の局所集積の誘導、ならびに高磁場MRIによるその検出と評価を行うことを目的とした。

B. 研究方法

In vitro MRI実験

アガロースゲル内に磁性抗がん剤EI236を複数注入し、MRIの撮像条件によって、信号がどのように変化するか調べた。高磁場7T MRI（Biospec, AVANCE-I, JASTEC+Bruker BioSpin社製）およびマウス体幹用2chクアドラチャー・コイル（Bruker BioSpin）にて、T2強調画像、T2*強調画像を撮像した。撮像の詳細は、下記の通り。

スピンエコー法：RARE法を使用，TR/TE = 2000/20 msec; FOV = 38.4 x 19.2 mm²; Matrix

= 256 x 128; スライス厚 = 1.0 mm; RARE factor = 4; 加算回数 = 8, 呼吸同期有, 脂肪抑制有, 撮像時間 = 約8分32秒。

グラディエントエコー法：3D-Flash法を使用, TR/TE = 75/7 msec; Flip angle = 20; FOV = 38.4 x 19.2 x 14.0 mm³; Matrix = 256 x 128 x 20; 加算回数 = 4; 呼吸同期無, し秒抑制無, 撮像時間 = 7分40秒。

In vivo MRI実験

BALB/c nudeマウスに中皮腫（211H、 1.0×10^7 cells/50 μ L）を同所移植し、約2週間後に実験を開始した。投与実験開始2日前に予備的にMRI（T2強調画像）撮像を行い、腫瘍の生着と部位を観察した。EI236を200 μ L胸腔内投与し、直ちにフェライト磁石付きのジャケットをマウスに着用した。磁石の位置は、事前のMRIの位置情報を用いて腫瘍部位の近くに合わせた。投与2日後にジャケットを外し、3日後に高磁場7T MRI（Biospec, AVANCE-I, JASTEC+Bruker BioSpin社製）およびマウス体幹用2chクアドラチャー・コイル（Bruker BioSpin）にて、T1強調画像、T2強調画像、T2*強調画像を撮像した。撮像法の詳細は、*In vitro*の方法と同一である。マウスは、3% イソフルランで麻酔導入し、気管挿管を行い、人工呼吸器（CWE社製、MRI-1）に接続し、筋弛緩剤を投与した。

（倫理面への配慮）本研究は、独立行政法人放射線医学総合研究所、動物実験委員会にて承認され、麻酔薬により苦痛を最小化された。

C. 研究結果

In vitro MRI実験

アガロースゲル内に封入した磁性抗がん剤EI236は、スピンエコー法を用いたT2強調画像法では、注入部位とほぼ同じサイズの信号減少が観察された(図1右)。一方、グラディエントエコー法によるT2*強調画像法では、磁化率効果による「拡大された信号減少 (blooming effect)」が観察された(図1左)。このことから、磁性抗がん剤EI236が一定濃度以上局所に集積すると、T2強調画像法において集積した体積に近い信号減少、T2*強調画像法では、体積を大きく上回る拡大した信号欠損が生じることが示唆された。

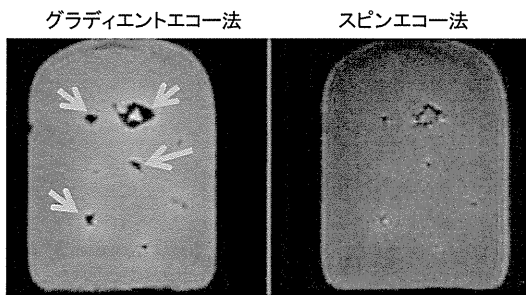


図1 アガロースゲル内に封入した磁性抗がん剤EI236のMRI。(左)グラディエントエコー法を用いたT2*強調画像。(右)スピンエコー法を用いたT2強調画像。T2*強調画像では、拡大した信号減少領域(矢印)が観察された。

In vivo MRI実験

211H中皮腫モデルに対し、EI236を胸腔内投与し磁石を2日間設置、投与3日後にMRI撮影を行った。

投与前に、T2強調画像における高信号領域として胸腔内壁に中皮腫の生着が観察された(図2左上)。また、T2*強調画像において、blooming effectによる信号欠損は観察されなかった(図2右上)。磁石による集積誘導後、T2強調画像において、中皮腫内部に顕著な信号低下が観察された(図2左下)。また、T2*強調画像において、拡大した信号欠損 (blooming effect) が顕著に観察された(図2右下)。

T2強調画像は、呼吸同期法により、体動による影響が少ない明瞭な画像が得られた。

一方、T2*強調画像は、短い繰り返し時間という撮像条件上の制約から呼吸同期法が利用出来なかったため、体動のアーティファクトの混入が見られたものの、拡大した信号欠損 (blooming effect) の評価には影響が少ないと考えられた。

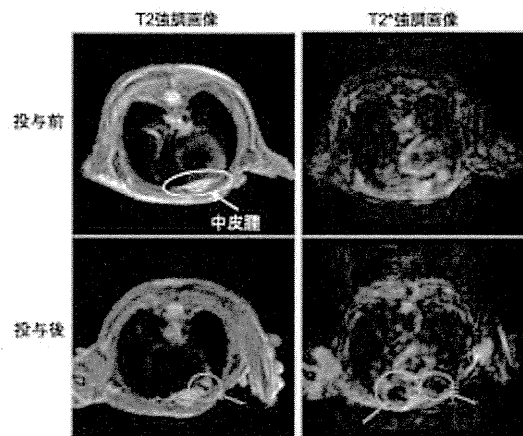


図2 中皮腫モデルマウスにおける磁性抗がん剤EI236投与3日後(磁石つきジャケットによる集積誘導2日間)のMRI。左欄はT2強調画像、右欄はT2*強調画像。上段は投与前、下段は投与・誘導後。T2強調画像において中皮腫内に顕著な信号低下が観察され、それはT2*強調画像における大きな信号欠損と一致した(青丸と矢印)。また、T2強調画像では小さな信号低下でも、T2*強調画像で大きな信号欠損を示す部位も観察された(オレンジ丸と矢印)。

D. 考察

挿管・筋弛緩剤投与による呼吸同期撮像により肺野で明瞭なT2強調画像が得られ、中皮腫モデルにおける腫瘍生着が同定できた。腫瘍近傍の皮膚上に設置した磁石(2日間)により、磁性抗がん剤EI236が中皮腫内に誘導、集積されたことが、T2強調画像およびT2*強調画像法の両方から示唆された。磁石を取り外してから1日経過していることから、これは磁石設置部位に一時的に集まっているのではなく、組織内に保持されていることが推察された。この集積結果は、

組織染色の結果ともよく一致した。

E. 結論 マウス中皮腫の同所移植モデルにおいて、磁性抗がん剤 EI236 を胸腔内投与し、腫瘍部位の胸郭前面に磁石を 2 日間設置し誘導した結果、EI236 のがん部位集積を示唆する信号変化の可視化に成功した。磁性抗がん剤 EI236 は、中皮腫に対する可視化・誘導がん治療における重要な手法になり得ると考えられた。

F. 健康危険情報 該当無し

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Hattori S, Hagihara H, Ohira K, Aoki I, Saga T, Suhara T, Higuchi M, Miyakawa T. In vivo evaluation of cellular activity in α CaMKII heterozygous knockout mice using manganese-enhanced magnetic resonance imaging (MEMRI). *Front Integr Neurosci*. 2013 Nov 11;7:76. PubMed PMID: 24273499; PubMed Central PMCID:PMC3822296.
2. Takanashi JI, Nitta N, Iwasaki N, Saito S, Tanaka R, Barkovich AJ, Aoki I. Neurochemistry in shiverer mouse depicted on MR spectroscopy. *J Magn Reson Imaging*. 2013 Nov 14. doi: 10.1002/jmri.24306. [Epub ahead of print] PubMed PMID:24243812.
3. Murayama S, Jo JI, Shibata Y, Liang K, Santa T, Saga T, Aoki I, Kato M. The Simple Preparation of Polyethylene Glycol-Based Soft Nanoparticles Containing Dual Imaging Probes. *J Mater Chem B Mater Biol Med*. 2013 in press. (IF = 6.101, 2012)
4. Takuwa H, Tajima Y, Kokuryo D, Matsuura T, Kawaguchi H, Masamoto K, Taniguchi J, Ikoma Y, Seki C, Aoki I, Tomita Y, Suzuki N, Kanno I, Ito H. Hemodynamic changes during neural deactivation in awake mice: A measurement by laser-Doppler flowmetry in crossed cerebellar diaschisis. *Brain Res*. 2013 Nov 6;1537:350-5. doi:pii:S0006-8993(13)01297-3. 10.1016/j.brainres.2013.09.023. PubMed PMID: 24076448.
5. Zhelev Z, Bakalova R, Aoki I, Lazarova D, Saga T. Imaging of Superoxide Generation in the Dopaminergic Area of the Brain in Parkinson's Disease, Using Mito-TEMPO. *ACS Chem Neurosci*. 2013 Nov 20;4(11):1439-45. PubMed PMID:24024751. (IF = 3.871, 2012)
6. Enomoto T, Kawano M, Fukuda H, Sawada W, Inoue T, Haw KC, Kita Y, Sakamoto S, Yamaguchi Y, Imai T, Hatakeyama M, Saito S, Sandhu A, Matsui M, Aoki I, Handa H. Viral protein-coating of magnetic nanoparticles using simian virus 40 VP1. *J Biotechnol*. 2013 Jun 17;167(1):8-15. doi: 10.1016/j.jbiotec.2013.06.005. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 23791947.
7. Sawada K, Horiuchi-Hirose M, Saito S, Aoki I. MRI-based morphometric characterizations of sexual dimorphism of the cerebrum of ferrets (*Mustela putorius*). *Neuroimage*. 2013 Dec;83:294-306. doi:pii: S1053-8119(13)00661-7. 10.1016/j.neuroimage.2013.06.024. PubMed PMID: 23770407. (IF = 6.252, 2012)
8. Saito S, Hasegawa S, Sekita A, Bakalova R, Furukawa T, Murase K, Saga T, Aoki I. Manganese-enhanced MRI reveals early-phase radiation-induced cell alterations in vivo. *Cancer Res*. 2013 Jun 1;73(11):3216-24. doi:10.1158/0008-5472.CAN-12-3837. Epub 2013 May 21. PubMed PMID: 23695553. (IF = 8.650, 2012)
9. Bakalova R, Zhelev Z, Aoki I, Saga T. Tissue redox activity as a hallmark of carcinogenesis: from early to terminal stages of cancer. *Clin Cancer Res*. 2013 May 1;19(9):2503-17. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-12-3726.

- Epub 2013 Mar 26. PubMed PMID: 23532887. (IF = 7.837, 2012)
10. Iida S, Imai K, Matsuda S, Itano O, Hatakeyama M, Sakamoto S, Kokuryo D, Okabayashi K, Endo T, Ishii Y, Hasegawa H, Aoki I, Handa H, Kitagawa Y. In vivo identification of sentinel lymph nodes using MRI and size-controlled and monodispersed magnetite nanoparticles. *J Magn Reson Imaging*. 2013 Dec;38(6):1346-55. doi:10.1002/jmri.24108. PubMed PMID: 23554026. (IF = 2.566, 2012)
 2. 学会発表
 1. (招待講演) 青木伊知男, 小動物用 MR イメージングで何が出来るか?, *In vivo イメージングフォーラム 2013*, コクヨホール (東京都港区), Sep 5, 2013
 2. (招待講演) 青木伊知男, 前臨床 MRI による分子イメージング研究の進展 ~機能性造影剤の開発と腫瘍への適用を中心に, 分子イメージング研究開発講演会, 九州大学大学院医学研究院, Aug 19, 2013
 3. (招待講演) 青木伊知男, 高磁場 MRI による分子イメージング研究への取り組み, 熊本大学イメージングセミナー「MRI で見えること、わかること — 磁気共鳴イメージングの先端技術と応用 —」, 熊本大学百周年記念館, May 13, 2013
 4. Visualization of Therapeutic Angiogenesis by a Polymer-Based Magnetic Resonance Contrast Agent. Jun-ichiro Jo, Ichio Aoki, Tsuneo Saga, Tabata, Yasuhiko, *Proc. Intl. Soc. Mag. Reson. Med.*, 21, 3891 - 3891, 2013-04
 5. Tissue Redox Activity as a Sensing Platform for Imaging of Cancer Based on Nitroxide Redox Cycle. Rumiana Bakalova-Zheleva, Zhivko Zhelev, Ichio Aoki, Daisuke Kokuryo, Gadjeva, Veselina, Tsuneo Saga, *Proc. Intl. Soc. Mag. Reson. Med.*, 21, 1713 - 1713, 2013-04
 6. SPIO-Loaded Unilamellar Polyion Complex Vesicles (SPIO-Cy5-PICsomes) as a High Relaxivity Contrast Agent for Tumor Detection. Daisuke Kokuryo, Anraku, Yasutaka, Kishimura, Akihiro, Tanaka, Sayaka, Mitsunobu Kano, Nishiyama, Nobuhiro, Tsuneo Saga, Ichio Aoki, Kataoka, Kazunori, *Proc. Intl. Soc. Mag. Reson. Med.*, 21, 1869 - 1869, 2013-04
 7. Preparation and MR Imaging of Giant Vesicles Containing Superparamagnetic Iron Oxide for Cell-Tracking MRI Probe. Taro Toyota, Naoto Ohguri, Kouichi Maruyama, Fujinami, Masanori, Tsuneo Saga, Ichio Aoki, *Proc. Intl. Soc. Mag. Reson. Med.*, 21, 1872 - 1872, 2013-04
 8. How Is the Fractional Anisotropy Affected by Frequency-Dependent Changes to the Eigenvalues of the Apparent Diffusion Tensor Measured with Oscillating-Gradient Spin-Echo Diffusion Tensor Imaging? Jeffrey Kershaw, Christoph Leuze, Ichio Aoki, Takayuki Obata, Iwao Kanno, Hiroshi Ito, Yamaguchi, Yuki, Handa, Hiroshi, *Proc. Intl. Soc. Mag. Reson. Med.*, 21, 3198 - 3198, 2013-04
 - H. 知的財産権の出願・登録状況
 1. 2013.5.20 「固定位置表示キットおよび位置表示固定方法」青木伊知男、城潤一郎、下村岳夫、國領大介、佐賀恒夫、独立行政法人放射線医学総合研究所、日本、特願2013-106668
 2. 2013.7.19 特許第5317279号「動物固定具」下村岳夫・青木伊知男・菅野 巖、独立行政法人放射線医学総合研究所、日本、出願日：2009.5.14、特願2009-117843

悪性中皮腫に対する単剤多機能抗がん治療の開発

研究分担者 江口 晴樹

株式会社 I H I 基盤技術研究所 応用理学研究部 主幹研究員

研究要旨：悪性中皮腫に対する治療薬として有効なペメトレキセド誘導体を第一原理計算で解析した。その結果、ペメトレキセドの分子軌道中で最もエネルギーが高い被占軌道である最高被占軌道（Highest Occupied Molecular Orbital）と最低空軌道（Lowest Unoccupied Molecular Orbital）が薬理活性に重要であることがわかり、その結果はペメトレキセドと酵素タンパク質であるセリンヒドロキシメチルトランスフェラーゼのフィッティングモデルの解析と一致した。

A. 研究目的

第一原理解析法による悪性中皮腫に対する治療薬として有効なペメトレキセド誘導体を磁性化するにあたって薬理活性に重要な部位と側鎖変更可能箇所を第一原理計算で明らかにした。

B. 研究方法

悪性中皮腫に有効な化合物に使用する磁性スクリーニング方法、量子力学に基づいて磁性をもつ新規物質の探索を行う方法（特願2005-251190・薬、薬の誘導装置および薬の設計法）に基づき悪性中皮腫に有効なペメトレキセドの磁性化に必要な電子状態の計算をおこなった。

C. 研究結果

悪性胸膜中皮腫および非小細胞肺癌に対する治療薬として使われるペメトレキセド（pemetrexed）の磁性化について検討した。ペメトレキセドは葉酸に分子構造が類似している葉酸代謝拮抗剤である。

ペメトレキセドはプリンおよびピリミジンの合成に使用される3つの酵素、すなわちチミジル酸生成酵素、ジヒドロフォレート還元酵素（DHFR）、グリシンアミドリボヌクレオチド・ホルミル基転移酵素（GARFT）を阻害することにより作用する。プリンおよびピリミジン・ヌクレオチド前駆体の合成を阻害することによって、正常な細胞および癌細胞の両方の成長および存続のために必要になるDNAとRNAの合成を阻害するとされている。PerkinElmer社

製ソフト ChemBioDraw を用い分子量、質量
分析の結果を図 2 に示す。

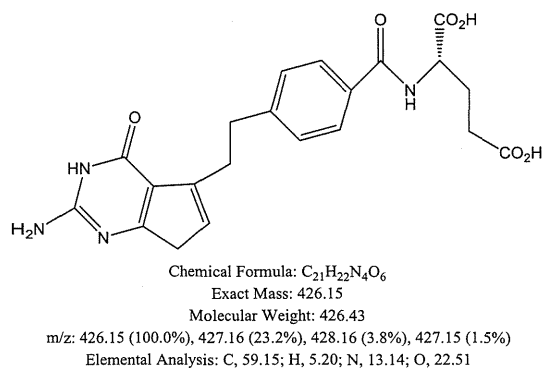


図1 ペメトレキシドの化学構造式、分子量、質量分析

第一にペメトレキシドを磁性化するにあたって、活性を落とさず磁性化可能な場所について調査をおこなった。調査の結果、ペメトレキシドがグリシンからセリンを合成する酵素であるセリンヒドロキシメチルトランスフェラーゼ (serine hydroxymethyltransferase) をターゲットとしていることが論文(Frederick Daidone, Rita Florio, Serena Rinaldo, Roberto Contestabile, Martino L. di Salvo, Francesca Cutruzzola, Francesco Bossa, Alessandro Paiardini, “*In silico* and *in vitro* validation of serine hydroxymethyltransferase as a chemotherapeutic target of the antifolate drug pemetrexed”, *European Journal of Medicinal Chemistry*, **46** (2011) 1616-1621)に記載があった。論文に *In silico* で行われたペメトレキシドと酵素タ

ンパク質であるセリンヒドロキシメチルトランスフェラーゼのフィッティングモデルの解析を検討したところ、酵素タンパク質と結合しない箇所が明らかになった。磁性化の側鎖変更可能な場所を図3の赤丸で示す。

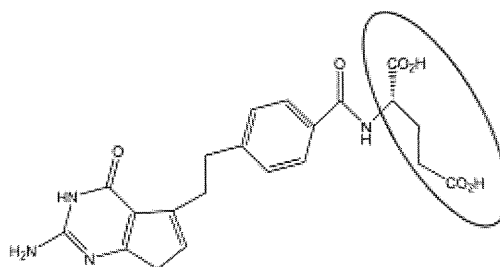


図2 ペメトレキシドの磁性化可能部位 (赤丸)

次に、アクセリルス社の電子状態解析ソフト DMol3 を用いてペメトレキシドの薬理活性上重要な場所について解析を行った。図3に電子状態の分布図をしめす。ペメトレキシドの電子密度分布は一樣に存在し、その分布図からは、薬理活性、磁性の発現に関与箇所の知見については得られなかった。

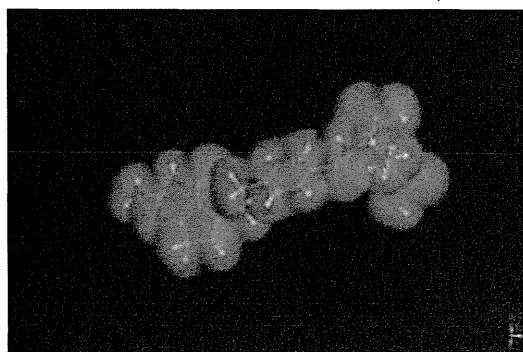


図3 ペメトレキシドの電子分布

薬理活性、磁性の発現に関与箇所を検討するため、P.M.ディーン著、コンピュータ分子薬理学、地人書館に記載のある薬物-受容体相互作用の分子理論に重要なパラメーターである静電ポテンシャルの計算をおこなった。計算結果を図4に示す。黄色は正の静電ポテンシャル、青は負の静電ポテンシャルである。解析の結果、本結果とペメトレキセドと酵素タンパク質であるセリンヒドロキシメチルトランスフェラーゼのフィッティングモデルの解析結果との相関は存在しなかった。

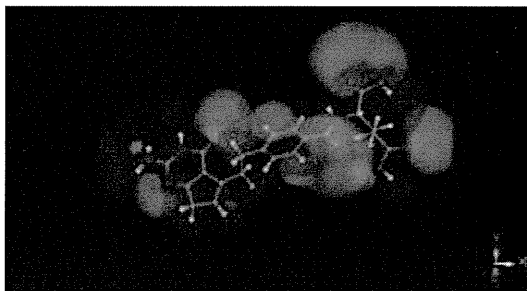


図4 ペメトレキセドの静電ポテンシャル分布

ペメトレキセドの最もエネルギーが高い被占軌道である最高被占軌道 (Highest Occupied Molecular Orbital) を計算した。以降、HOMO と略称する。図5にペメトレキセドの HOMO の等高分布図を示す。一般に HOMO のエネルギー準位が高いほど、他の分子との相互作用において電子を与え易く求核反応性 (nucleophilicity) が高くなると考えることができる。

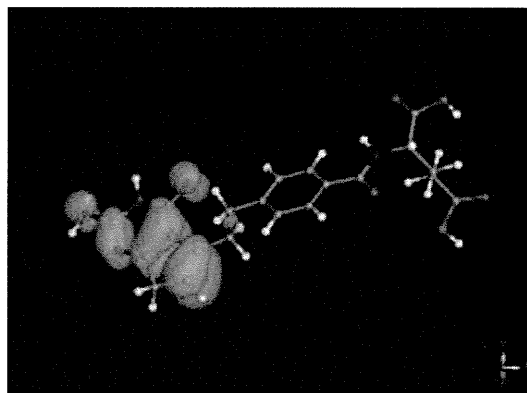


図5 ペメトレキセドの HOMO の等高分布図

次にペメトレキセドの最もエネルギーが低い空軌道を最低空軌道 (Lowest Unoccupied Molecular Orbital) を計算した。以降、LUMO と略称する。図6にペメトレキセドの LUMO の等高分布図を示す。LUMO は他の分子との相互作用において電子を受け取り易く求電子反応性 (electrophilicity) は高くなる。

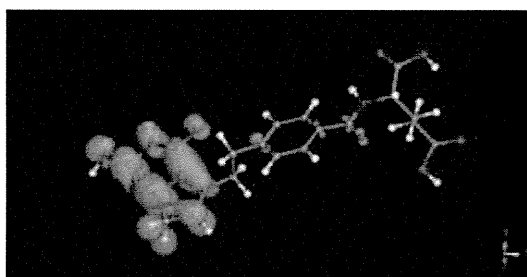


図6 ペメトレキセドの LUMO の等高分布図

ペメトレキセドの図5の電子を出す分子軌道である HOMO の位置と図6の電子を受け入れる分子軌道である LUMO の位置は、論文 (Frederick Daidone, Rita Florio, Serena Rinaldo, Roberto Contestabile,

Martino L. di Salvo, Francesca Cutruzzola, Francesco Bossa, Alessandro Paiardini, “In silico and in vitro validation of serine hydroxymethyltransferase as a chemotherapeutic target of the antifolate drug pemetrexed”, *European Journal of Medicinal Chemistry*, 46 (2011) 1616-1621) 記載のペメトレキセドと酵素タンパク質であるセリンヒドロキシメチルトランスフェラーゼが結合する位置と一致することがわかった。その位置を図7に示す。

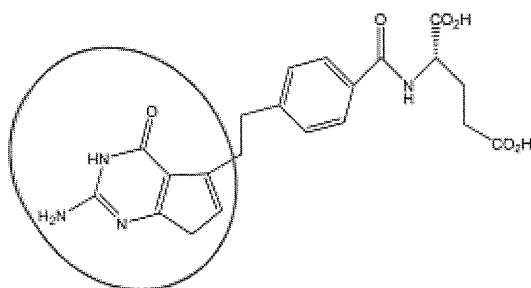


図7 ペメトレキセドの HOMO、LUMO の存在する位置 (青丸)

以上の解析より、ペメトレキセドと酵素タンパク質であるセリンヒドロキシメチルトランスフェラーゼが結合し薬理活性を発現するには、ペメトレキセドの HOMO を通して酵素タンパクへ電子を供与し、同時に LUMO を通して酵素タンパクからペメトレキセドが電子を受けとっていると考えることができる。

D. 考察

今後ペメトレキセドの磁性化する場合は、図6の青丸位置の側鎖改変は避ける必要がある。さらに、側鎖改変位置の確認を行うため酵素タンパク質であるヒドロキシメチルトランスフェラーゼ (hydroxymethyltransferase) のアミノ酸配列を一部改変した細胞シグナルに関する酵素タンパク質が数種類についても同様な解析していく必要がある。

E. 結論

ペメトレキセドの薬理活性位置を HOMO、LUMO の分布を検討することで明らかにした。さらにその位置はペメトレキセドと酵素タンパク質であるセリンヒドロキシメチルトランスフェラーゼが結合する位置と一致した。この情報をもとに、ペメトレキセドの磁性化を、登録特許 (演算装置及び局所治療薬、江口晴樹、石川義弘、特許 4279330 号、磁性体化合物のスクリーニング方法、江口晴樹、石川義弘、特許 5339777 号、EU 登録特許 DRUG, DRUG GUIDANCE SYSTEM, MAGNETIC DETECTION SYSTEM, AND DRUG DESIGN METHOD、江口晴樹、石川義弘、EP1920370B1、米国登録特許 Drug, Drug Guidance System, magnetic detection system, and drug design method、江口晴樹、石川義弘、US8,246,975 B2) に基づき設計する予定である。また設計された薬剤の薬理活性の検討には、日本国特許 評価対象化合物の活性度評価方法、江口晴樹、

石川義弘、特許 4216277 号に基づき検討する予定である。

第 90 回日本生理学会、東京、2013 年 3 月

F. 健康危険情報

(総括研究報告書に記入)

3) 江口晴樹、平田邦夫、黒谷玲子、福村英信、Singh DJ, 山本雅博、佐藤格、梅村将就、山本雅貴、佐藤衛、石川義弘、「強磁性ナノ粒子化合物を用いたドラッグ・デリバリー・システムと MRI 造影剤の研究」、第 86 回日本薬理学会年会、福岡、2013 年 3 月

G. 研究発表

1. 論文発表

全 2 件

1) 石川義弘、江口晴樹、切らずに治すがん治療薬の開発、化学工業, **4**, 3-5 (2013)

4) 江口晴樹、平田邦夫、黒谷玲子、福村英信、SINGH David J、山本雅博、佐藤格、梅村将就、山本雅貴、佐藤衛、石川義弘、「抗がん作用を有する有機強磁性体を用いた化学療法、ドラッグ・デリバリー・システム」、日本薬学会第 133 年会、日本薬学会、2013 年 3 年

2) 石川義弘、江口晴樹、磁性医薬品の開発：他業種の成熟技術の導入によるブレークスルー、PHARM TECH JAPAN, **49**, 2204-2208 (2013)

2. 学会発表

全 18 件

1) Hitoshi Iizuka, Masanari Umemura, Itaru Satou, X, Feng, Haruki Eguchi, Yoshihiro Ishikawa, “Chemotherapeutic and drug delivery system with a novel nano-magnetic particle, EI236”, 第 90 回日本生理学会、東京、2013 年 3 月

5) Haruki Eguchi, Kunio Hirata, Reiko Kurotani, Hidenobu Fukumura, David J. Singh, Masahiro Yamamoto, Itaru Sato, Masanori Umemura, Masaki Yamamoto, Yoji Nagashima, Yoshihiro Ishikawa, “Targeted drug delivery system and magnetic resonance imaging with intrinsic ferromagnetic nano-particle compound”, American Association for Cancer Research Annual Meeting 2013, Washington DC, U.S.A., April 2013

2) X. Feng, M. Umemura, H. Fukumura, I. Sato, H. Eguchi and Y. Ishikawa, “New strategy of simultaneous hyperthermo-chemotherapy using a novel nano-magnetic anti-cancer drug”,

6) Umemura M, Fukumura H, Sato I, Feng X, Hitoshi Izuka, Eguchi H, Ishikawa Y, “Application of a novel

nano-magnetic anti-cancer drug to hyperthermia”, American Association for Cancer Research Annual Meeting 2013, Washington DC, U.S.A., April 2013

7) Itaru Sato, Kenji Mitsudo, Masanori Umemura, Xianfeng Feng, Jun-ichi Baba, Hideyuki Nakashima, Mitomu Kioi, Haruki Eguchi, Yoshihiro Ishikawa and Iwai Tohnai, “Novel thermo-chemotherapy using a new magnetic anti-cancer drug”, American Association for Cancer Research Annual Meeting 2013, Washington DC, U.S.A., April 2013

8) 梅村将就、江口晴樹、石川義弘、A novel nano-magnetic particle with cytotoxic and a novel technology of designing intrinsic ferromagnetism compound, 第 7 2 回日本癌学会学術総会、横浜、2013 年 10 月

9) 岩井麻樹、梅村将就、佐藤格、永迫茜、FENG Xianfeng、星野雄二郎、井上誠一、青木伊知男、江口晴樹、石川義弘、A conventional anti-cancer drug designed artificially with ferromagnetic, EI2573M、第 7 2 回日本癌学会学術総会、横浜、2013 年 10 月

10) 江口晴樹、石川義弘、抗がん作用を有する有機磁性体の開発、日本ハイパーサー

ミア学会 第 3 0 回大会、横浜、2013 年 8 月

11) 梅村将就、江口晴樹、佐藤格、FENG Xianfeng、岩井麻樹、來生 知、光藤健司、藤内祝、石川義弘、有機磁性体有機化合物を用いた画期的化学・温熱同時療法の新たなる展開、日本ハイパーサーミア学会 第 3 0 回大会、横浜、2013 年 8 月

12) 佐藤格、光藤健司、梅村将就、來生 知、中島英行、江口晴樹、石川義弘、藤内祝、抗がん作用を有する新規磁性微粒子を用いたハイパーサーミアへの応用、日本ハイパーサーミア学会 第 3 0 回大会、横浜、2013 年 8 月

13) 石川義弘、江口晴樹、温熱治療における新規磁性抗がん剤の役割日本ハイパーサーミア学会 第 3 0 回大会、横浜、2013 年 8 月

14) 江口晴樹、黒谷玲子、福村英信、佐藤格、梅村将就、石川義弘、有機自己磁性化合物を用いた磁場誘導ドラッグ・デリバリー・システム、分子デリバリー研究会：物理と薬学のコラボレーション、東京、2013 年 10 月

15) Feng Xianfeng, Umemura Masanari, Sato Itaru, Miyajima Akiyoshi, Ohtake Makoto, Makino Ayako, Eguchi Haruki and Ishikawa Yoshihiro, Development of a new cancer-therapeutic method

using a nano-magnetic particle for malignant pleural mesothelioma, 第 91 回日本生理学会大会、鹿児島、2014 年 3 月

16) Masanari Umemura, Ayako Makino, Itaru Sato, Xianfeng Feng, Maki Iwai, Kayoko Ito, Akiyoshi Miyajima, Makoto Otake, Akane Nagasako, Kousuke Matsuo, Haruki Eguchi and Yoshihiro Ishikawa, A novel treatment for triple-negative breast cancer using intrinsic magnetized paclitaxel, AACR Annual Meeting 2014, San Diego, USA, April 2014

17) Itaru Sato, Masanari Umemura, Kenji Mitsudo, Xianfeng Feng, Hideyuki Nakashima, Mitomu Kioi, Haruki Eguchi, Iwai Tohnai and Yoshihiro Ishikawa, Development of thermochemotherapy using cisplatin and ferucarbotran (Resovist) in head and neck cancer, AACR Annual Meeting 2014, San Diego, USA, April 2014

18) 松尾光祐、福村英信、梅村将就、佐藤格、FENG Xianfeng、江口晴樹、石川義弘、齋藤知行、抗がん活性を持つ新規磁性体有機化合物を用いた温熱・化学同時療法、第 41 回日本生体電気・物理刺激研究会、横浜、2014 年 4 月

H. 知的財産権の出願・登録状況

出願特許は全 76 件。

1. 薬、薬の誘導装置及び薬の設計方法、2005-251190(2005/08/31)、江口晴樹、石川義弘
2. 評価対象化合物の活性度評価方法、2005-251189(2005/08/31)、江口晴樹、石川義弘、【日本特許登録済】特許 4216277 号
3. 薬、薬の誘導装置、磁気検出装置及び薬の設計方法、2006-177971(2006/06/28)、江口晴樹、石川義弘
4. 抗がん剤、2006-301564(2006/11/07)、江口晴樹、石川義弘、谷垣勝己、【日本特許登録済】特許 5167481 号
5. 磁性材料、磁性材料の誘導装置及び磁性材料の設計方法、2006-300604(2006/11/06)、江口晴樹、石川義弘、谷垣勝己、【日本特許登録済】特許 4774536 号
6. 薬、薬の誘導装置、磁気検出装置及び薬の設計方法、2007-056624(2007/03/07)、江口晴樹、石川義弘
7. MRI システム、2007-316941(2007/12/07)、江口晴樹、石川義弘、【日本特許登録済】特許 4279335 号 (スーパー早期審査を経て特許登録済)

8. 鉄サレン錯体、
2007-338928(2007/12/28)、江口晴
樹、石川義弘
9. 磁性を有する薬剤、薬剤の誘導シ
ステム、並びに磁気検出装置、
2008-038502(2008/02/20)、江口晴
樹、石川義弘、【日本特許登録済】
特許 5325427 号
10. 磁性を有する薬剤、薬剤の誘導シ
ステム、並びに磁気検出装置、
2008-038458(2008/02/20)、江口晴
樹、石川義弘
11. 磁性を有する薬剤、薬剤の誘導シ
ステム、並びに磁気検出装置、
2008-038476(2008/02/20)、江口晴
樹、石川義弘
12. 磁性を有する薬剤、薬剤の誘導シ
ステム、並びに磁気検出装置、
2008-105917(2008/04/15)、江口晴
樹、石川義弘
13. 磁性を有する薬剤、薬剤の誘導シ
ステム、並びに磁気検出装置、
2008-105912(2008/04/15)、江口晴
樹、石川義弘
14. 磁性体化合物のスクリーニング方
法、2008-137885(2008/5/27)、江
口晴樹、石川義弘、【日本特許登
録】特許 5339777 号
15. 抗体又は抗原の定量方法、
2008-137888(2008/5/27)、江口晴
樹、石川義弘、【日本特許登録】
特許 5408905 号
16. スイッチング素子、
2008-137895(2008/5/27)、江口晴
樹、石川義弘
17. 鉄サレン錯体、磁性を有する薬剤、
薬剤の誘導システム、並びに磁気
検出装置、
2008-125202(2008/05/12)、江口晴
樹、石川義弘
18. 薬の誘導装置、磁気検出装置、
2008-160794(2008/6/19)、江口晴
樹、石川義弘
19. 局所麻酔剤、局所麻酔剤の誘導装
置とその設計方法、
2008-297065(2008/11/20)、江口晴
樹、石川義弘
20. 鉄サレン錯体化合物、又はその誘
導装置、2008-299482(2008/11/25)、
江口晴樹、石川義弘
21. 鉄サレン錯体、
2008-298128(2008/11/21)、江口晴
樹、石川義弘、【日本特許登録済】
特許 4446489 号(早期審査を経て
特許登録済)
22. 薬、薬の誘導装置、磁気検出装置
および薬の設計方法、
2008-280773(2008/10/31)、江口晴
樹、石川義弘
23. DRUG, DRUG GUIDANCE
SYSTEM, MAGNETIC
DETECTION SYSTEM, AND
DRUG DESIGN METHOD、
PCT/JP2006/317027(2006/08/23)、

- 江口晴樹、石川義弘、(2010/10/19
ミュンヘンにあるヨーロッパ特許
庁で oral proceedings を行い特許
査定の判決)、【EU 特許登録済】
EP1920370B1
24. ACTIVITY EVALUATION
METHOD FOR EVALUATION
TARGET COMPOUND、
US11/442,478(2006/05/26)、江口
晴樹、石川義弘、【米国特許登録
済】 US7,337,073B2
25. 薬、薬の誘導装置、磁気検出装置
及び薬の設計方法、
PCT/JP2007/63011(2007/06/28)、
江口晴樹、石川義弘、【米国特許
登録済】 US8246975B2 (米国特許
庁直接説明することで特許登録)
26. IRON-SALEN COMPLEX、
US12/146,624 (2008/7/17) 、江
口晴樹、石川義弘
27. 演算装置及び局所治療薬、
2007-170909(2007.6.28)、江口晴
樹、石川義弘、【日本特許登録済】
特許 4279330 号 (スーパー早期審
査を経て特許登録済)
28. 自己磁性金属サレン錯体化合物、
2009-177112 (2009/7/29) 、江口
晴樹、石川義弘
29. 鉄サレン錯体 2008-297048、
(2008/11/21)、江口晴樹、石川義弘
30. 自己磁性金属サレン錯体化合物、
2009-177112(2009/7/29)、江口晴
樹、石川義弘
31. 鉄サレン錯体、
2009-264213(2009/11/19)、江口晴
樹、石川義弘
32. 磁石及び磁石を用いたドラッグデ
リバリー制御装置 、
2009-294451(2009/12/25)、江口晴
樹、石川義弘
33. 自己磁性金属サレン錯体化合物、
PCTIB2009/007525(2009/11/19)、
江口晴樹、石川義弘
34. 金属サレン錯体誘導体およびその
製造方法、
2010-088113(2010/4/26)、江口晴
樹、石川義弘
35. 抗脳腫瘍薬剤、
2010-102897(2010/4/28)、江口晴
樹、石川義弘
36. 磁石及び磁石を用いたドラッグデ
リバリー制御装置、
2010-126021(2010/06/01)、江口晴
樹、原正一、石川義弘
37. 金属サレン錯体誘導体及びその製
造方法、
2010-285075(2010/12/21)、江
口晴樹、石川義弘
38. 磁石および磁石を用いたドラッグ
デリバリー制御装置、
PCT/JP2010/007516(2010/12/24) 、
江口晴樹、原正一、石川義弘
39. 自己磁性金属サレン錯体化合物、
2011-030056(2011/02/15)、江口晴

- 樹、石川義弘
40. 金属サレン錯体化合物、
2011-040233(2011/02/25)、江口晴
樹、石川義弘
41. 金属サレン錯体誘導体及びその製
造方法、
PCT/JP2011/002056(2011/4/6
)、江口晴樹、石川義弘
42. 金属サレン錯体誘導体、局所麻酔
薬剤、及び抗悪性腫瘍薬剤、
2011-131239(2011/6/13)、江口晴
樹、石川義弘
43. 自己磁性金属サレン錯体化合物、
2010-539038(2011/6/8)、江口晴樹、
石川義弘
44. 新規な金属サレン錯体化合物、
2011-163621(2011/7/26)、江口晴
樹、石川義弘
45. 温熱治療用材料および温熱治療シ
ステム、2011-193270(2011/9/5)、
江口晴樹、石川義弘
46. 金属サレン錯体化合物応答性薬剤、
2011-220449(2011/10/4)、江口晴
樹、石川義弘
47. ドラッグデリバリー用のキャリア
化合物、当該キャリア化合物が薬
剤を内包する脂質膜に結合した薬
剤、及び、当該薬剤を用いたドラ
ッグデリバリーシステム、
2011-203497(2011/9/16)、江口
晴樹、石川義弘
48. 磁性組成物及びその製造方法、
2011-222354(2011/10/6)、江口晴
樹、石川義弘
49. ラジカル生成抑制剤、
2011-236486(2011/10/27)、江口晴
樹、石川義弘
50. 紫外線吸収剤及びこれを用いた化
粧料、2012-0253318(2012/2/8)、
江口晴樹、石川義弘
51. 抗脳腫瘍剤、
PCT/JP2011/002118(2011/4/11)、
江口晴樹、石川義弘
52. 蛍光色素材料およびその使用方法、
PCT/JP2011/002651(2011/5/12)、
江口晴樹、石川義弘
53. 無機化合物、無機化合物を含む薬
剤、薬剤の誘導システム、及び磁
気検出装置、並びにがん温熱治療
法装置、2012-033960(2012/2/20)、
江口晴樹、石川義弘
54. 自己磁性金属サレン錯体化合物、
PCT/JP2012/062301(2012/5/14)、
江口晴樹、石川義弘
55. 磁石および磁石を用いたドラッグ
デリバリー制御装置、
2011-547329(2012/6/22)、江口晴
樹、石川義弘、【日本特許登録済】
特許登録 5372178 号
56. 金属サレン錯体誘導体及びその製
造方法、2012-509317(2012/8/6)、
江口晴樹、石川義弘
57. 抗脳腫瘍薬剤、
2012-512639(2012/8/13)、江口晴