

- Congress, Dublin, 2012年9月5-8日
6. Tissue Redox Activity as a Sensing Platform for Magnetic Resonance Imaging of Cancer: Diagnostic and Therapeutic Aspects, Rumiana Bakalova, Zhivko Zhelev, Daisuke Kokuryo, Ichio Aoki, Veselina Gadjeva, Tsuneo Saga: 2012 World Molecular Imaging Congress, Dublin, Ireland, P096, Sep 5-8, 2012.
  7. Visualization of therapeutic angiogenesis with a polymer-based magnetic resonance imaging contrast agent, Jun-ichiro Jo, Lin Xue, Teppei Nakahara, Ichio Aoki, Tsuneo Saga, Yasuhiko Tabata, 2012 World Molecular Imaging Congress, Dublin, Sep 5-8, 2012
  8. Evaluation of lung metastatic tumor using Dextran-DTPA-Mn nanoprobe with ultra-short echo-time imaging, Daisuke Kokuryo, Jun-ichiro Jo, Tsuneo Saga, Ichio Aoki, 20th ISMRM Scientific Meeting and Exhibition, Melbourne, 1656, May 5-11, 2012
  9. Effect of Cell Membrane Water Permeability on Diffusion-Weighted MR signal: a Study using Expression-controlled Aquaporin4 Cells, Obata T, Kershaw Jeff, Kuroiwa D, Shibata S, Aoki I et al. ISMRM 20th Annual Meeting & Exhibition, Melbourne, 2012年5月05-12日
  10. Comparison of Blood-Brain-Barrier Permeable Nitroxyl Contrast Agents for Magnetic Resonance Brain RedOx Imaging, Matsumoto K, Ueno E, Nakanishi K, Yamada K, Aoki I. SFRBM's 19th Annual Meeting, San Diego, 2012年11月14-18日
  11. 脳のレドックスイメージングとマウス脳へのX線照射の影響、松本謙一郎、上野恵美、中西邦夫、関田愛子、柴田さやか、新田展大、青木伊知男、山田健一、第51回電子スピンスイエンズ学会年会、札幌、2012年11月01-03日
  12. Carbamoyl-PROXYL-enhanced MRI detects very small disruptions in brain vascular permeability induced by dietary cholesterol in mice. Tomizawa A., Ishii I., Bakalova R., Zhelev Z., Aoki I., Kitada K. 第85回日本薬理学会, March 14-16, 2012, Kyoto, Japan.
  13. 高分子造影剤を用いた血管新生治療の磁気共鳴イメージング、城潤一郎、林雪、中原鉄平、青木伊知男、佐賀恒夫、田畑泰彦、第7回日本分子イメージング学会学術集会、浜松、2012年5月24-25日
  14. 異なる磁場強度でのMRイメージングによる組織造影能の比較、國領大介、河野健司、佐賀恒夫、青木伊知男、第7回日本分子イメージング学会、浜松、P59, 2012年5月24-25日
  15. Cell-penetrating nitroxides, but not non-penetrating, are molecular sensors for imaging of cancer in vivo based on tissue redox activity, Rumiana Bakalova, Zhivko Zhelev, Veselina Gadjeva, Ichio Aoki, Daisuke Kokuryo, Tsuneo Saga, 第7回日本分子イメージング学会、浜松、P60, 2012年5月24-25日
  16. マンガン造影MRIによる脳下垂体の活性化とホルモン分泌の研究、平金真、國領大介、寺沢宏明、青木伊知男、第51回NMR討論会、愛知、2012年11月8-10日
  17. マンガン造影MRI法による中枢神経障害モデルにおける炎症反応の検出、岩本成人、寺沢宏明、青木伊知男、第51回NMR討論会、愛知、P134, 2012年11月8-10日
  18. 携帯型強磁場警報機による前臨床MRI実験エリアの安全管理、尾澤芳和、國領大介、佐賀恒夫、青木伊知男、第40回日本磁気共鳴医学会大会、京都、P-1-40, 2012年9月6-8日
  19. マンガン造影MRIによる脳下垂体の活性化とホルモン分泌の解析、平金真、國領大介、寺沢宏明、青木伊知男、第40回日本磁気共鳴医学会大会、京都、P-2-134, 2012年9月6-8日
  20. 異なる磁場高度における低分子および高分子造影剤の比較、國領大介、河野健司、佐賀恒夫、青木伊知男、第40回日本磁気共鳴医学会大会、京都、P-2-128, 2012年9月6-8日
  21. 7.0T-MRIとクライオプローブを用いたSWIによる腫瘍組織の細胞の微細構造の描出:病理組織との対比、新田展大、柴田さやか、関田愛子、尾澤芳和、佐賀恒夫、青木伊知男、第40回日本磁気共

- 鳴医学会大会、京都、2012年9月6-8日
22. In-Vivo Tracking Of Transplanted Peripheral Mononuclear Cells Labeled With Manganese Using Magnetic Resonance Imaging、小高謙一、青木伊知男、田所裕之、森谷純治、黒岩大悟、館野馨、南野徹、菊池達矢、小室一成、小島隆行、小林欣夫、佐賀恒夫、張明榮、第40回日本磁気共鳴医学会大会、京都、2012年9月6-8日
  23. Is it possible to quantify tissue microstructure with oscillating gradient spin-echo DTI?、Kershaw Jeffery、ロイツェ クリストフ、小島隆行、柴田 さやか、青木 伊知男、伊藤 浩、第40回日本磁気共鳴医学会大会、京都、2012年9月6-8日
  24. 超常磁性酸化鉄微粒子を内包したポリイオンコンプレックス型中空ナノ粒子PICsomeを用いた in vivo MR イメージング、國領大介、安楽泰孝、岸村顕広、田中さやか、狩野光伸、佐賀恒夫、片岡一則、青木伊知男、第28回日本 DDS 学会学術集会、札幌、2-C-18、2012年7月4-5日
  25. 粒径の制御された高分子ベシクルPICsomeの体内動態と生体内イメージング応用、岸村顕広、安楽泰孝、三浦裕、赤井淳、田中さやか、狩野光伸、国領大介、青木伊知男、小山博之、片岡一則、第28回日本 DDS 学会学術集会、札幌、2-C-14、2012年7月4-5日
  26. 温度応答・MR 可視化多重機能リポソーム：トランスフェリンの導入の効果、河野健司、尾崎文則、国領大介、青木伊知男、弓場英司、原田敦史、下元浩晃、青島貞人、第28回日本 DDS 学会学術集会、札幌、2-C-04、2012年7月4-5日
  27. がん免疫治療の効果増強のための DDS 型 Find me シグナルの作製、城 潤一郎、青木伊知男、佐賀 恒夫、第28回日本 DDS 学会学術集会、札幌、2012年7月4-5日
  28. がん免疫治療の効果増強を目指した DDS 型 Find me シグナルの作製、城 潤一郎、青木伊知男、佐賀 恒夫、日本バイオマテリアル学会シンポジウム、仙台、2012年11月26-27日
  29. 高分子造影剤による組織再生の磁気共鳴イメージング、城潤一郎、青木伊知男、山本雅哉、佐賀恒夫、田畑康彦、第12回日本再生医療学会、横浜、2013年3月21-23日
  30. Evaluation of highly sensitive and stealth-capable MRI nano-agents “SPI0-Cy5-PICsomes”, D. Kokuryo, Y. Anraku, A. Kishimura, S. Tanaka, M. R. Kano, N. Nishiyama, T. Saga, I. Aoki, et. al、ナノバイオファースト国際シンポジウム、東京、2013年3月5日
  31. MRI を用いたマンガン標識末梢血単核球移植の評価：脳や心臓の虚血疾患モデルを用いて、小高謙一、青木伊知男、岡田真希、由井謙二、謝琳、岡村敏充、菊池達矢、小島隆行、佐賀恒夫、その他、第1258回千葉医学会例会、千葉、2012年12月9日
  32. 定量的マンガン造影 MRI による抗がん剤に対する腫瘍細胞 viability の評価、関田 愛子、長谷川純崇、佐賀恒夫、青木伊知男、第6回バイオ関連化学シンポジウム、札幌、2012年9月6-8日
  33. In-Vivo Tracking Of Transplanted Peripheral Mononuclear Cells Labeled With Manganese Using Magnetic Resonance Imaging、小高謙一、青木伊知男、伊藤康一、森谷純治、館野馨、南野徹、田所裕之、下山一郎、小室一成、佐賀恒夫、福村利光、第10回国際幹細胞学会総会、横浜、2012年6月13-16日
  34. (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
  35. (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
  36. (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、わかることー磁気共鳴イメージングの先端技術と応用ー」、熊本大学百周年記念館、May 13, 2013
  37. 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
38. 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
  39. SPI0-Loaded Unilamellar Polyion Complex Vesicles (SPI0-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
  40. 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
  41. 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. 「核酸類ハイドロゲル状態変更方法、放射線分解ハイドロゲル、物質内包放射線分解ハイドロゲル、および放射線応答ハイドロゲルキット」城潤一郎・青木伊知男・佐賀恒夫、独立行政法人放射線医学総合研究所、日本、2012.11.28, 特願2012-259393
  2. 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
  3. 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

2012-2013年度厚生労働科学研究費補助金（第3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 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。初めにペメトレキセド化合物を中心に概略解析である磁性スクリーニングをおこなった。次に詳細な第一原理解析を行った。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についての磁性スクリーニングを行なう。さらにペメトレキセド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。

図1は、磁性化合物スクリーニングのアルゴリズムを示すフローチャートである。なお、以下で説明する処理は、第一原理計算に基づくコンピュータ・シミュレーション上で行われる。

本磁性スクリーニングの方法は、フォルスコリン誘導体をもちいてアルゴリズムの開発を行ったので、解析例としフォルスコリン誘導体を上げて説明する。最初に評価対象とするフォルスコリン誘導体を選定し、その化学式をコンピュータ・シミュレーションに入力する(ステップS1)。

続いて、フォルスコリン誘導体Aの化学式に基づいて上向きスピン(スピナップ)(波動関数 $\Phi \uparrow(\mathbf{r})$ )、下向きスピン(スピンドウン)波動関数 $\Phi \downarrow(\mathbf{r})$ 、スピナップ有効ポテンシャル $V \uparrow(\mathbf{r})$ 、スピンドウン有効ポテンシャル $V \downarrow(\mathbf{r})$ 、スピナップ電荷密度 $\rho \uparrow(\mathbf{r})$ 及びスピンドウン電荷密度 $\rho \downarrow(\mathbf{r})$ の初期値を設定する(ステップS2)。なお、 $\mathbf{r}$ は3次元空間上の座標を示す変数である。

スピナップ波動関数 $\Phi \uparrow(\mathbf{r})$ の初期値は、フォルスコリン誘導体Aを構成する各原子が孤立原子として3次元空間上に存在する場合のスピナップ波動関数 $\Phi \uparrow(\mathbf{r})$ を各原子毎に求め、このように求めたスピナップ波動関数 $\Phi \uparrow(\mathbf{r})$ を全て加算したものである。同様に、スピンドウン波動関数 $\Phi \downarrow(\mathbf{r})$ の初期値は、各原子が孤立原子として3次元空間上に存在する場合のスピンドウン波動関数 $\Phi \downarrow(\mathbf{r})$ を各原子毎に求め、全て加算したものである。また、スピナップ有効ポテンシャル $V \uparrow(\mathbf{r})$ の初期値は、フォルスコリン誘導体Aを構成する各原子が孤立原子として3次元空間上に存在する場合のスピナップ波動関数 $\Phi \uparrow(\mathbf{r})$ に基づいてスピナップ有効ポテンシャル $V \uparrow(\mathbf{r})$ を各原子毎に求め、当該各原

子毎に求めたスピナップ有効ポテンシャル $V \uparrow(\mathbf{r})$ を全て加算したものである。同様に、有効ポテンシャル $V \downarrow(\mathbf{r})$ の初期値は、各原子が孤立原子として3次元空間上に存在する場合のスピンドウン波動関数 $\Phi \downarrow(\mathbf{r})$ に基づいてスピンドウン有効ポテンシャル $V \downarrow(\mathbf{r})$ を各原子について求め、当該各原子毎に求めたスピンドウン有効ポテンシャル $V \downarrow(\mathbf{r})$ を全て加算したものである。また、スピナップ電荷密度 $\rho \uparrow(\mathbf{r})$ の初期値は、上記のように各原子毎に求めたスピナップ波動関数 $\Phi \uparrow(\mathbf{r})$ を下記演算式(1)に代入することによって求める。また、スピンドウン電荷密度 $\rho \downarrow(\mathbf{r})$ の初期値は、各原子毎に求めたスピンドウン波動関数 $\Phi \downarrow(\mathbf{r})$ を下記演算式(2)に代入することによって求める。なお、下記演算式(1)において、 $\Phi \uparrow^*(\mathbf{r})$ は、スピナップ波動関数 $\Phi \uparrow(\mathbf{r})$ の共役複素数であり、下記演算式(2)において、 $\Phi \downarrow^*(\mathbf{r})$ は、スピンドウン波動関数 $\Phi \downarrow(\mathbf{r})$ の共役複素数である。

$$\rho \uparrow(\mathbf{r}) = \sum \Phi \uparrow^*(\mathbf{r}) \Phi \uparrow(\mathbf{r}) \quad (1)$$

$$\rho \downarrow(\mathbf{r}) = \sum \Phi \downarrow^*(\mathbf{r}) \Phi \downarrow(\mathbf{r}) \quad (2)$$

次に、上記スピナップ有効ポテンシャル $V \uparrow(\mathbf{r})$ 及びスピンドウン有効ポテンシャル $V \downarrow(\mathbf{r})$ の初期値と、スピナップ電荷密度 $\rho \uparrow(\mathbf{r})$ 及びスピンドウン電荷密度 $\rho \downarrow(\mathbf{r})$ の初期値に基づいて下記Kohn Sham方程式(3)、(4)を解くことにより、フォルスコリン誘導体Aのスピナップ波動関数 $\Phi \uparrow(\mathbf{r})$ 及びスピンドウン波動関数 $\Phi \downarrow(\mathbf{r})$ と、スピナップエネルギー固有値 $\varepsilon \uparrow$ 及びスピンドウンエネルギー固有値 $\varepsilon \downarrow$ を算出する(ステップS3)。

$$\left[ -\frac{1}{2} \nabla^2 + V \uparrow\{\mathbf{r}, \rho \uparrow(\mathbf{r})\} \right] \Phi \uparrow(\mathbf{r}) = \varepsilon \uparrow \Phi \uparrow(\mathbf{r}) \quad (3)$$

$$\left[ -\frac{1}{2} \nabla^2 + V \downarrow\{\mathbf{r}, \rho \downarrow(\mathbf{r})\} \right] \Phi \downarrow(\mathbf{r}) = \varepsilon \downarrow \Phi \downarrow(\mathbf{r}) \quad (4)$$

そして、ステップS3で求めたフォルスコリン誘導体Aのスピナップ波動関数 $\Phi \uparrow(\mathbf{r})$ 及びスピンドウン波動関数 $\Phi \downarrow(\mathbf{r})$ に基づいてフォルスコリン誘導体Aのスピナップ電荷密度 $\rho \uparrow(\mathbf{r})$ 及びスピンドウン電荷密度 $\rho \downarrow(\mathbf{r})$ と、スピナップ有効ポテンシャル $V \uparrow(\mathbf{r})$ 及びスピンドウン有効ポテンシャル $V \downarrow(\mathbf{r})$ とを算出し(ステップS4)、このスピナップ電荷密度

$\rho \uparrow (r)$  及びスピンドアウン電荷密度  $\rho \downarrow (r)$  と当該スピニアップ電荷密度  $\rho \uparrow (r)$  及びスピンドアウン電荷密度  $\rho \downarrow (r)$  の前回値、つまりここでは初期値が等しいか否かを判断する (ステップ S 5)。このステップ S 5において、「NO」、すなわちスピニアップ電荷密度  $\rho \uparrow (r)$  及びスピンドアウン電荷密度  $\rho \downarrow (r)$  の前回値 (初期値) と、ステップ S 4 で求めた今回値とが等しくないと判断された場合、ステップ S 4 で求めたスピニアップ有効ポテンシャル  $V \uparrow (r)$  及びスピンドアウン有効ポテンシャル  $V \downarrow (r)$  と、スピニアップ電荷密度  $\rho \uparrow (r)$  及びスピンドアウン電荷密度  $\rho \downarrow (r)$  とを新たな初期値と設定し (ステップ S 6)、ステップ S 3 に移行して、再度 Kohn Sham 方程式 (3)、(4) を解くことにより、新たなスピニアップ波動関数  $\Phi \uparrow (r)$  及びスピンドアウン波動関数  $\Phi \downarrow (r)$  と、スピニアップエネルギー固有値  $\varepsilon \uparrow$  及びスピンドアウンエネルギー固有値  $\varepsilon \downarrow$  とを算出する。すなわち、ステップ S 5 において、スピニアップ電荷密度  $\rho \uparrow (r)$  及びスピンドアウン電荷密度  $\rho \downarrow (r)$  の前回値と今回値とが等しくなるまでステップ S 3～S 6 の処理を繰り返すことにより、Kohn Sham 方程式 (3)、(4) を満足するスピニアップ波動関数  $\Phi \uparrow (r)$  及びスピンドアウン波動関数  $\Phi \downarrow (r)$  と、スピニアップエネルギー固有値  $\varepsilon \uparrow$  及びスピンドアウンエネルギー固有値  $\varepsilon \downarrow$  とが求まる。一方、ステップ S 5 において、「YES」、すなわちスピニアップ電荷密度  $\rho \uparrow (r)$  及びスピンドアウン電荷密度  $\rho \downarrow (r)$  の前回値と今回値とが等しいと判断された場合、上記のように Kohn Sham 方程式 (3)、(4) を満足するスピニアップ波動関数  $\Phi \uparrow (r)$  及びスピンドアウン波動関数  $\Phi \downarrow (r)$  と、スピニアップエネルギー固有値  $\varepsilon \uparrow$  及びスピンドアウンエネルギー固有値  $\varepsilon \downarrow$  とに基づいて各原子に働く原子間力を算出すると共に、フォルスコリン誘導体 A の構造の最適化を行う (ステップ S 7)。つまり、ステップ S 3～S 6 の繰り返しによって求めたスピニアップ波動関数  $\Phi \uparrow (r)$  及び繰り返し計算によって求めたスピニアップ波動関数  $\Phi \uparrow (r)$  及びスピンドアウン波動関数  $\Phi \downarrow (r)$  等は、あくまで 2 次元平面上のモデルにおいて最適な値であって、実際には 3 次元空間上におけるフォルスコリン誘導体 A の構造を考慮する必要がある。

具体的には、ステップ S 7 では、フォルスコリン誘導体 A を構成する各原子を、3 次元空間上においてスピニアップ波動関数  $\Phi \uparrow (r)$  及びスピンドアウン波動関数  $\Phi \downarrow (r)$  から推測される最適な方向に所定の距離だけ移動させ、その時の各原子に働く原子間力を算出する。この時の原子間力が 0 になり、各原子が動かなくなった場合にフォルスコリン誘導体 A の構造が最適化されたと判断できる。よって、移動後の各原子に働く原子間力

を算出し、該原子間力が 0 になったか否かを判断する (ステップ S 8)。このステップ S 8 において、「NO」、すなわち原子間力が 0 ではなく、構造が最適化されていない場合、各原子の移動後の構造におけるスピニアップ波動関数  $\Phi \uparrow (r)$  及びスピンドアウン波動関数  $\Phi \downarrow (r)$  を求めると共に、当該スピニアップ波動関数  $\Phi \uparrow (r)$  及びスピンドアウン波動関数  $\Phi \downarrow (r)$  から求めたスピニアップ有効ポテンシャル  $V \uparrow (r)$  及びスピンドアウン有効ポテンシャル  $V \downarrow (r)$  と、スピニアップ電荷密度  $\rho \uparrow (r)$  及びスピンドアウン電荷密度  $\rho \downarrow (r)$  とを新たな初期値と設定し (ステップ S 9)、ステップ S 3～S 8 の処理を繰り返す。ここで、ステップ S 3 に戻るのは、各原子の移動後の構造変化によってスピニアップ波動関数  $\Phi \uparrow (r)$  及びスピンドアウン波動関数  $\Phi \downarrow (r)$  が変化するためである。また、各原子の移動後の構造は記憶されており、再度ステップ S 7 を行う時には、前回の構造から各原子を再び所定の距離だけ移動させることになる。

一方、このステップ S 8 において、「YES」、すなわち各原子に働く原子間力が 0 になり、フォルスコリン誘導体 A の構造が最適化された場合、その最適化された構造におけるスピニアップ波動関数  $\Phi \uparrow (r)$  及びスピンドアウン波動関数  $\Phi \downarrow (r)$  に基づいて、図 3 に示すようなスピン電荷密度分布を求める (ステップ S 10)。

つぎにスピン電荷密度分布に基づいて、まず評価対象として選定したフォルスコリン誘導体が磁性を有するか否かを判断する (ステップ S 11)。

ステップ S 11 において、「NO」、すなわち、評価対象として選定したフォルスコリン誘導体が磁性を有しない場合、ステップ S 1 に移行し、他のフォルスコリン誘導体を新たに選定して再度磁性評価を行う。一方、ステップ S 11 において、「YES」、すなわち評価対象として選定したフォルスコリン誘導体が磁性を有する場合、スピン電荷密度分布に基づいて強磁性かフェリ磁性かを判断する (ステップ S 12)。上述したように、スピン電荷密度分布は、スピニアップ電荷密度とスピンドアウン電荷密度との分布を示すものであるので、これらスピニアップ電荷密度及びスピンドアウン電荷密度が混在している場合は、フェリ磁性を有すると判断でき、スピニアップ電荷密度またはスピンドアウン電荷密度のどちらか一方のみが存在する場合は、強磁性を有すると判断することができる。

以上のように、本薬の設計方法によれば、様々な原子または分子で側鎖を修飾し、さらに側鎖間を任意に架橋したフォルスコリン誘導体の磁性を判定することができ、磁性を有すると判定された分子モデルを基に化合物を設計することにより、磁性を有する薬を設計することができる。よって、従来のように磁性体からなる担体 (キャリア) を

用いることなく、薬自体が有する磁性を利用して体内の患部まで薬を誘導することができる。その結果、従来における、経口投与が困難なこと、担体分子が一般的に巨大であること、あるいは薬剤分子との結合強度、親和性に技術的な問題があること等を解決することができ、副作用が少ない、薬効効果が高いドラッグ・デリバリー・システムを実現することが可能である。

上記は有機化合物としてフォルスコリンを用いて説明したが、これに限らず、他の有機化合物を用いても可能である。本報告書では、上記アルゴリズムを用いて悪性中皮腫に有効なペメトレキシドの磁性化に必要な解析をおこなった。

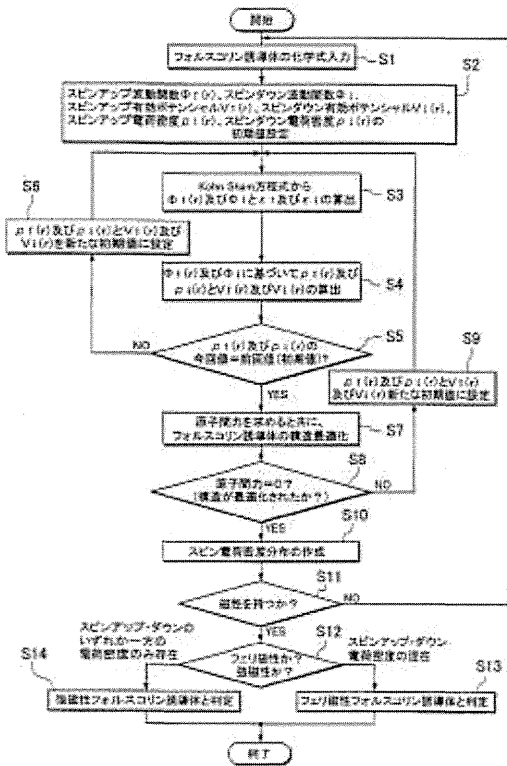


図1 磁性化合物スクリーニングのアルゴリズム

### 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シド(pemetrexed)の磁性化について検討した。ペメトレキシ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。

ペメトレキシ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な

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。

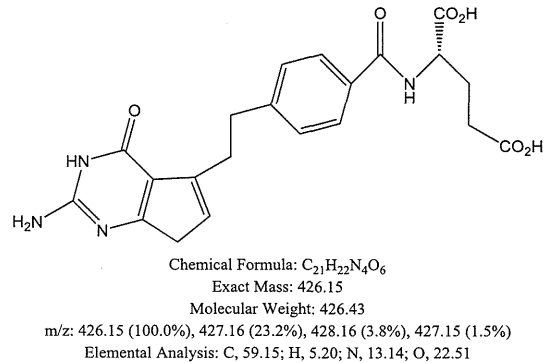


図2 ペメトレキシドの化学構造式、分子量、質量分析

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。論文中に 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。

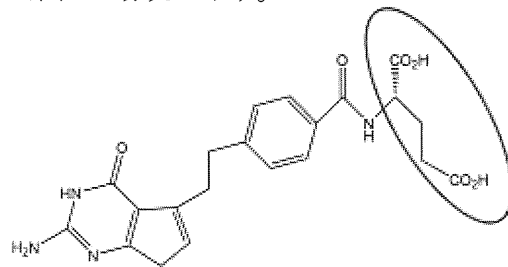


図3 ペメトレキシドの磁性化可能部位(赤丸)

次に、アクセリ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4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

は一様に存在し、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。

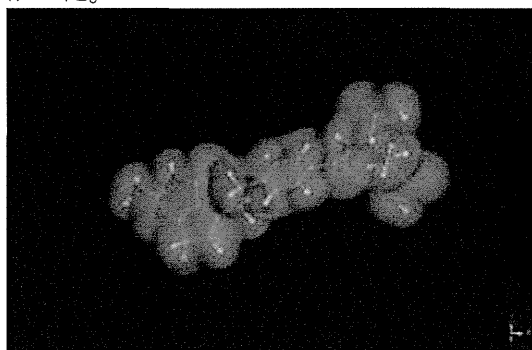


図4 ペメトレキセドの電子分布

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5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。

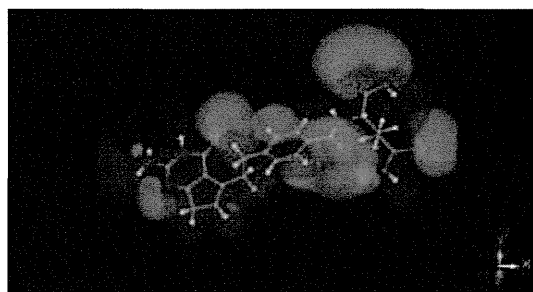


図5 ペメトレキセドの静電ポテンシャル分布

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6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。

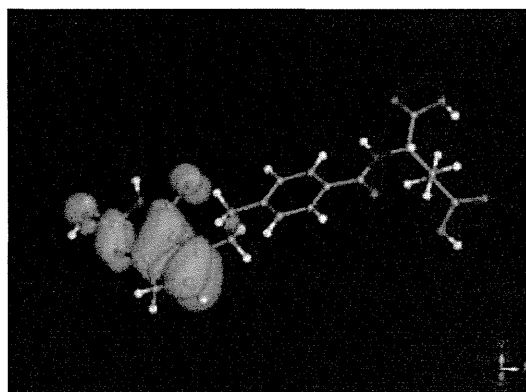


図6 ペメトレキセドのHOMOの等高分布図

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7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。

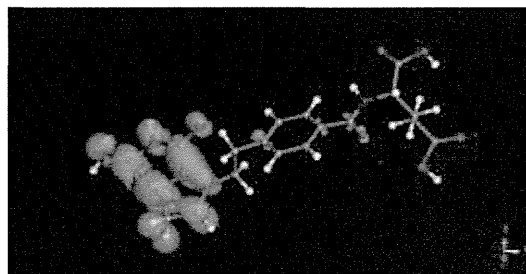


図7 ペメトレキセドのLUMOの等高分布図

ペメトレキセドの図6の電子を出す分子軌道であるHOMOの位置と図7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8に示す。

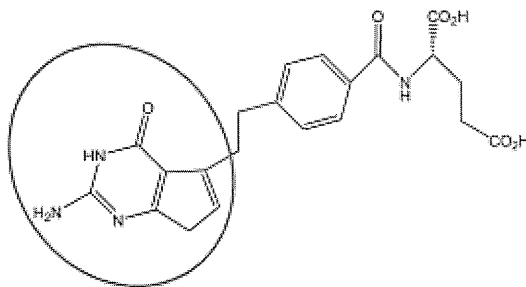




図8 ペメトレキセドの HOMO、LUMO の存在する位置 (青丸)

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。

#### F. 健康危険情報

(総括研究報告書に記入)

#### 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)

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イクスルー、PHARM TECH JAPAN, 49, 2204-2208 (2013)

##### 2. 学会発表 全22件

1) 江口晴樹、「第一原理計算による有機磁性抗がん剤の開発」、アクセルリス・ジャパン・ユーザー・グループ・ミーティング 2012、東京、2012年6月

2) Yoshihiro Ishikawa, Haruki Eguchi, "Magnetic anti-cancer compound in hyperthermic therapy", The 11th International Congress of hyperthermic Oncology, Kyoto, Aug. 2012

3) Feng X, Fukumura H. Sato I, Eguchi H, Ishikawa Y, "A new cancer treatment strategy with magnetic anti-cancer compound with hyperthermia", The 11th International Congress of hyperthermic Oncology, Kyoto, Aug. 2012

4) Itaru Sato, Kenji Misudo, Jun-ichi Baba, Masaki Iida, Hideyuki Nakashima, Toshiyuki Koizumi, Mitomu Kioi, Haruki Eguchi, Yoshihiro Ishikawa and Iwai Tohnai, "Development of oral cancer treatment using a new magnetic anticancer drug", The 11th International Congress of hyperthermic Oncology, Kyoto, Aug. 2012

5) 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

6) 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", 第90回日本生理学会、東京、2013年3月

7) 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

8) 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、日本薬学学会、2013年3年

9) 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

10) 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

11) 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

12) 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72回日本癌学会学術総会、横浜、2013年10月

13) 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72回日本癌学会学術総会、横浜、2013年10月

14) 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30回大会、横浜、2013年8月

15) 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30回大会、横浜、2013年8月

16) 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30回大会、横浜、2013年8月

17) 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30回大会、横浜、2013年8月

18) 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

19) Feng Xiangfeng, 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

20) 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

21) 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

22) 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品、  
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)、江口晴樹、石川義弘
58. 蛍光色素材料及びその使用方法、2012-518218(2012/8/13)、江口晴樹、石川義弘
59. 薬、薬の誘導装置、体内動態検知器及び薬の設計方法、2012-185940(2012/8/24)、江口晴樹、石川義弘
60. 温熱治療用発熱半導体、PCT/JP2012/072612(2012/9/5)、江口晴樹、石川義弘
61. 自己磁性金属サレン錯体、PCT/JP2012/072794(2012/9/6)、江口晴樹、石川義弘
62. 新規抗がん剤解毒剤、PCT/JP2012/073900(2012/9/19)、江口晴樹、石川義弘
63. ラジカル生成抑制剤、PCT/JP2012/074938(2012/9/27)、江口晴樹、石川義弘
64. 磁性体、及び、磁性体の製造方法、2012-273951(2012/12/14)、江口晴樹、石川義弘
65. 薬、薬の誘導装置、体内動態検知器及び薬の設計方法、2012-246307(2012/12/13)、江口晴樹、石川義弘
66. 磁性薬の適正投与形態提供システム、2012-285824(2012/12/27)、江口晴樹、石川義弘
67. 磁性体、2013-020939(2013/02/05)、江口晴樹、石川義弘
68. 持続性磁性抗がん剤、2013-088559(2013/4/19)、江口晴樹、石川義弘
69. 薬、薬の誘導装置、磁気検出装置及び薬の設計方法、2013-200483(2013/9/26) 江口晴樹、石川義弘
70. 鉄サレン錯体、2014-006299(2014/1/16)、江口晴樹、石川義弘
71. 磁性薬誘導システム、PCT/JP2007/063011(2007/6/28)、江口晴樹、石川義弘、【日本特許登録済】特許 5378792 号
72. 金属サレン錯体化合物、PCT/JP2011/079630(2011/12/21)、江口晴樹、石川義弘
73. 自己磁性金属サレン錯体化合物、PCT/JP2012/051079(2012/1/19)、江口晴樹、石川義弘
74. 自己磁性化合物、PCT/JP2013/083519(2013/12/13)、江口晴樹、石川義弘
75. 自己磁性化合物の治療パターン、PCT/JP2013/084712(2013/12/26)、江口晴樹、石川義弘
76. Drug, Drug Guidance System, magnetic detection system, and drug design method、12/306,706(2012/08/21)、江口晴樹、石川義弘、【米国特許登録】US8,246,975 B2、(有機磁性体による造影剤コンセプト特許)

#### 1. 特許取得

総特許権利取得数 15 件、その中日本 11 件、米国 3 件、欧州 1 件。

日本 11 件

- ① 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
- ② 抗がん剤、江口晴樹、石川義弘、谷垣勝己、特許 5167481 号
- ③ 磁性材料、磁性材料の誘導装置及び磁性材料の設計方法、江口晴樹、石川義弘、谷垣勝己、特許 4774536 号
- ④ MRI システム、江口晴樹、石川義弘、特許 4279335 号
- ⑤ 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、江口晴樹、石川義弘、特許 5325427 号
- ⑥ 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
- ⑦ 抗体又は抗原の定量方法、江口晴樹、石川義弘、特許 5408905 号
- ⑧ 鉄サレン錯体、江口晴樹、石川義弘、特許 4446489 号
- ⑨ 演算装置及び局所治療薬、江口晴樹、石川義弘、特許 4279330 号
- ⑩ 磁石および磁石を用いたドラッグデリバリー

制御装置、特許登録 5372178 号

⑩ 磁性薬誘導システム江口晴樹、石川義弘、特許 5378792 号

米国 2 件

① ACTIVITY EVALUATION METHOD FOR EVALUATION TARGET COMPOUND、江口晴樹、石川義弘、US7,337,073B2

② Drug, Drug Guidance System, magnetic detection system, and drug design method、江口晴樹、石川義弘、US8,246,975 B2

欧州 1 件

① DRUG, DRUG GUIDANCE SYSTEM, MAGNETIC DETECTION SYSTEM, AND DRUG DESIGN METHOD、江口晴樹、石川義弘、EP1920370B1

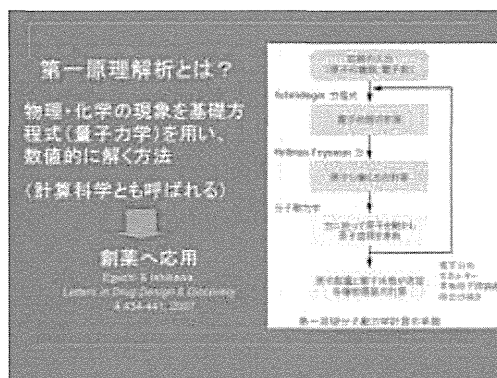
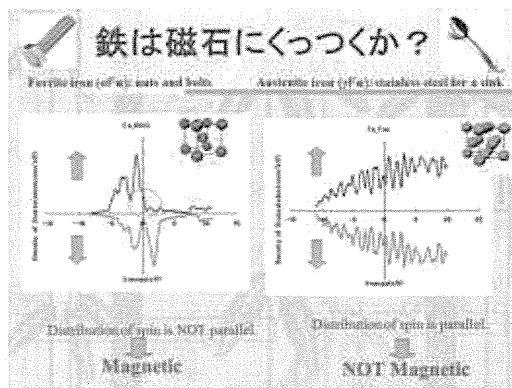
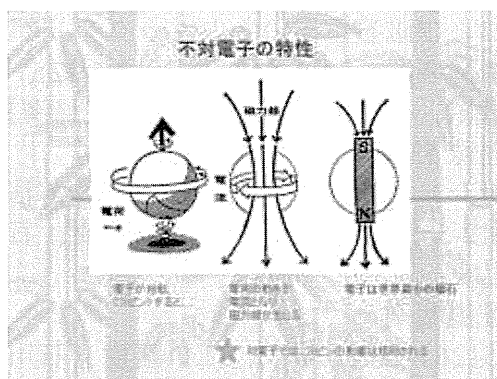
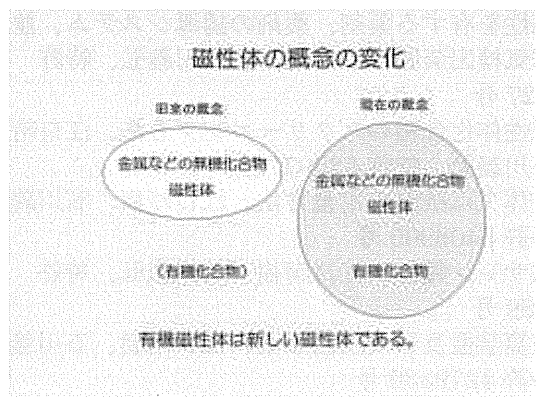
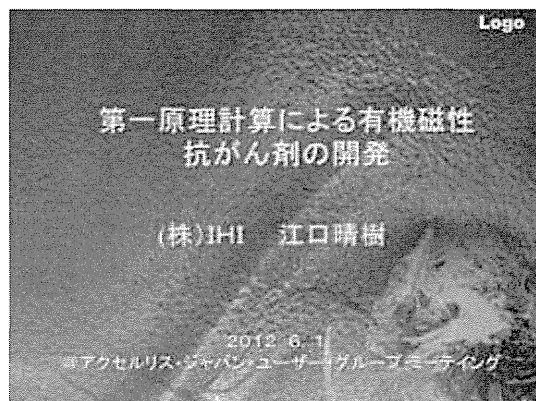
### 2. 実用新案登録

該当なし

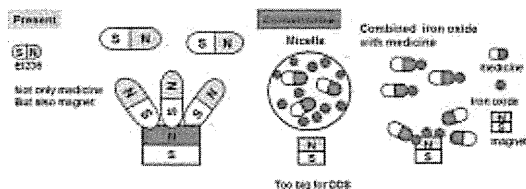
### 3. その他

1) 江口晴樹、「第一原理計算による有機磁性抗がん剤の開発」、アクセルリス・ジャパン・ユーザー・グループ・ミーティング 2012、東京、2012年6月

### 【発表原稿】



## Magnetic Targeted Drug Delivery System : Present and Conventional



Organic based molecular magnet:

1. Keep magnetic properties in even systemic circulation
2. Easy to transit of organic based molecular magnet to organs. Smaller than the micelle!

2) Yoshihiro Ishikawa, Haruki Eguchi, "Magnetic anti-cancer compound in hyperthermic therapy", The 11<sup>th</sup> International Congress of hyperthermic Oncology, Kyoto, Aug. 2012

### 【発表概要】

Magnetic anti-cancer compound in hyperthermic therapy

Yoshihiro Ishikawa<sup>1</sup> and Haruki Eguchi<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Cardiovascular Research Institute, Yokohama City University, Graduate School of Medicine, Yokohama 236-0004, Japan

<sup>2</sup>Advanced Applied Science Department, Research Laboratory, IHI Corporation, Yokohama 235-8501 Japan

### Background

Cancer cells are more sensitive to an increase in temperature than normal cells, and are known to develop apoptosis upon exposure to mild heat. This phenomenon has been commonly utilized in cancer therapy for decades. In the modern era, such hyperthermic therapy has been performed in the interval stage during the course of cancer radiation or chemotherapy. Hyperthermic therapy can be performed easily with less harmful side effect. However, therapeutic effectiveness may not be so great by itself. To improve its effectiveness, researchers have developed new technology, such as radiofrequency-based or magnetic nanoparticles-based techniques. Nevertheless, these techniques may not be very different from the conventional one because they are given in the interval stage of the conventional cancer therapy.

### Method

We have developed anti-cancer compound that is magnetic by itself.

### Results

It exhibits strong anti-cancer effect similar to cisplatin on various cancer cells while it possesses potent magnetic property at the same

time. Using this magnetic property, the drug can be delivered to the target tissue by a magnet in a controlled manner. Upon exposure to an alternating magnetic flux density, the temperature of the compound quickly can rise to 90 degree. Further, quantitation of the compound by MRI is also feasible. Using this compound, cancer chemotherapy and hyperthermic therapy can be conducted simultaneously.

### Conclusion

Finding of such magnetic anti-cancer compounds may enable us to develop new therapeutic strategy in future cancer treatment.

3) Feng X, Fukumura H. Sato I, Eguchi H, Ishikawa Y, "A new cancer treatment strategy with magnetic anti-cancer compound with hyperthermia", The 11<sup>th</sup> International Congress of hyperthermic Oncology, Kyoto, Aug. 2012

### 【発表概要】

A new cancer treatment strategy with magnetic anti-cancer compound with hyperthermia

Feng X<sup>1</sup>, Fukumura H<sup>1</sup>, Sato I<sup>1</sup>, Eguchi H<sup>2</sup>, Ishikawa Y<sup>1</sup>,

<sup>1</sup>Yokohama City University School of Medicine, Cardiovascular Research Institute,<sup>2</sup> IHI corporation

Major therapeutic strategy for cancer includes surgery, chemotherapy, and radiotherapy. Hyperthermic treatment may be included; however, it is technically difficult to increase the temperature of the target cancer tissue in an efficient manner. Here we present a new hyperthermic therapy using EI236, a novel magnetic anticancer compound. EI236 possesses not only anti-cancer, but magnetic property. Thereby, EI236 generates heat power when exposed to an alternating current magnetic field (ACMF).

A rabbit cancer model was generated by transplanting VX2 cancer cells to the thigh area. Rabbits were treated by EI236 in the presence or absence of ACMF. An indwelling catheter was inserted into the saphenous artery and used for drug injection. The size of the tumor was measured daily for 7 days. Rabbits were sacrificed after the completion of the treatment, and histopathological changes of the tumor were evaluated.



HE staining exhibited increased necrotic ratio in the group with EI236 injection, which was even greater in the group with additional ACMF. Apoptosis ratio showed similar results. MIB-1 index was decreased with EI236 injection, and was further decreased with additional ACMF.

These findings demonstrated that EI236 by itself exhibits anticancer effect, alike other anticancer compounds. However, EI236 exhibited increased anticancer property in the presence of ACMF, suggesting a novel and simultaneous treatment strategy of chemotherapeutic and hyperthermic treatment using EI236.

4) Itaru Sato, Kenji Misudo, Jun-ichi Baba, Masaki Iida, Hideyuki Nakashima, Toshiyuki Koizumi, Mitomu Kioi, Haruki Eguchi, Yoshihiro Ishikawa and Iwai Tohnai, "Development of oral cancer treatment using a new magnetic anticancer drug", The 11<sup>th</sup> International Congress of hyperthermic Oncology, Kyoto, Aug. 2012

#### 【発表概要】

**Development of oral cancer treatment using a new magnetic anticancer drug**

**Itaru Sato<sup>1</sup>, Kenji Mitsudo<sup>1</sup>, Jun-ichi Baba<sup>1</sup>, Masaki Iida<sup>1</sup>, Hideyuki Nakashima<sup>1</sup>, Toshiyuki Koizumi<sup>3</sup>, Mitomu Kioi<sup>1</sup>, Haruki Eguchi<sup>4</sup>, Yoshihiro Ishikawa<sup>2</sup> and Iwai Tohnai<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Department of Oral and Maxillofacial surgery, Yokohama City University-School of Medicine

<sup>2</sup> Department of Cardiovascular Research Institute, Yokohama City University-School of Medicine

<sup>3</sup> Department of Oral and Maxillofacial surgery, Tokyo Medical University

<sup>4</sup> IHI corporation

#### **Background**

EI236 is a new magnetic anticancer drug of nanoparticle. EI236 exhibits an effect of anti-cancer, drug delivery system (DDS) and hyper-thermic property. We evaluated the treatment efficacy of the anti-tumor effects of EI236 using rabbit's oral cancer model in vitro and in vivo.

#### **Methods**

VX2 cells were employed as a transplantable tumor in rabbits, and antitumor effects of the EI236 was measured by MTT assay. We established rabbit's VX2 tongue cancer model. Rabbits were divided into 4 groups: control group, intravenous EI236 injection (5mg/kg×7days) (iv group), intravenous EI236 + electromagnet (iv + DDS group), intravenous EI236 + electromagnet + alternating magnetic field (iv + DDS +

HT group). The size of tumors was measured daily for 7 days. Rabbits were sacrificed after the completion of the experiment, and histopathological effects on the tongue tumor were evaluated.

#### **Results**

IC50 of VX2 cells treated with CDDP was about 7.5μM, and that of VX2 cells treated with EI236 was also about 7.5μM, indicating that EI236 had an antitumor effect equal to that of CDDP. Iv + DDS group and iv + DDS + HT group showed significant decrease in tumor volume compared with control group in rabbit VX2 tongue tumor model. In particular, iv + DDS + HT group showed disappearance of the tumor cell nucleus in almost all fields.

#### **Conclusion**

EI236 shows a potency of new drug for the treatment of oral cancer.

5) 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

#### 【発表概要】

**Chemotherapeutic and drug delivery system with a novel nano-magnetic particle, EI236**

**Hitoshi Iizuka, Masanari Umemura, Itaru Satou, Fu Senpou, Haruki Eguchi, and Yoshihiro Ishikawa,**

Department of Cardiovascular Research Institute, Yokohama City University-School of Medicine  
IHI Corporation

**Purpose:** We have developed a novel magnetic anticancer drug which is designated as EI236. Its ferromagnetic property contributes to new features. 1) Anti-cancer effect 2) drug delivery system (DDS), which is delivered by a magnet to the tumor, resulting in reduced side effects 3) MRI-contrast effect, which is visualized by MRI, evaluating the drug localization and concentration. Thus, the purpose of this study is to examine these features.

**Method:** The magnetic evaluation of EI236 was confirmed by Electro Spin Resonance (ESR). Anti-tumor effect of EI236 was evaluated by MTT and TUNEL assays in mouse melanoma cells. To examine the anti-cancer effect and magnetic controlled delivery in vivo, we used a mouse model of melanoma grafted on tail. Mice were divided into 3 groups; 1) control group 2)



intravenous EI236 injection group 3) intravenous EI236 injection + electromagnet (DDS) group. Furthermore the tumor regression and MRI-contrast effect of EI236 were measured by Magnetic Resonance Imaging (MRI).

**Result:** EI236 decreased the cell proliferation and increased apoptosis in MTT and TUNEL assays. EI236 showed the magnetism at room temperature by ESR. We confirmed that application of a magnet enhanced the anti-cancer effect of EI236 in vitro and in vivo. These findings demonstrated that EI236 exhibited anti-cancer effect and DDS.

**Conclusion:** Our findings suggest that EI236 can serve as a novel magnetic anticancer drug and will assist us in developing a novel and simultaneous treatment strategy of chemotherapeutic and DDS.

6) 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", 第90回日本生理学会、東京、2013年3月

【発表概要】

## New strategy of simultaneous hyperthermo-chemotherapy using a novel nano-magnetic anti-cancer drug

Feng X<sup>1</sup>, Umemura M<sup>1</sup>, Fukumura H<sup>1</sup>, Sato I<sup>1</sup>, Eguchi H<sup>2</sup>, Ishikawa Y<sup>1</sup>

1 Yokohama City University Graduate School of Medicine, Cardiovascular Research Institute

2 IHI Corporation, Advanced Applied Science Department Research Laboratory

**Background:** Hyperthermic therapy, which kills cancer cells by increasing the temperature up to 42°C, is attempted in the treatment of advanced or difficult cases. Despite of its effectiveness, it has not been widely used. One reason is that it is technically difficult to increase temperature only in a target cancer site. To address this issue, we have developed a new therapy using a novel nano-magnetic particle, i.e., EI236. EI236 exhibits not only anti-cancer effect, but also magnetism. Because of its magnetism, this drug can generate heat by itself when it is exposed to an alternating current magnetic field (ACMF).

**Method:** To examine the anti-cancer and hyperthermal effects of EI236 *in vivo*, we used a rabbit model of VX2 cells (rabbit osteosarcoma) grafted on legs. Rabbits were divided into five groups; 1) no treatment group 2) intra-venous (iv.) EI236 injection group 3) intra-arterial (ia.) EI236 group 4) ia. Methotrexate (MTX) injection group, and 5) ia. EI236+ACMF group. The volume of tumor was measured daily, and then the samples were harvested and evaluated histologically by HE, Ki67, and TUNEL staining.

**Results:** When EI236 was injected via intra-arterial infusion, the efficacy was similar to that of MTX. When EI236 was injected and the tumor was exposed to ACMF for simultaneous chemotherapeutic and hyperthermal effects, it showed the greatest regression of tumor among all the groups examined. EI236 increased necrosis as determined by HE staining, and further increased it by ACMF. Similarly, EI236 decreased cell proliferation as determined by Ki67, and further decreased it by ACMF. Moreover EI236 increased apoptosis as determined by TUNEL staining, and further increased it by ACMF. These results indicated that the exposure of ACMF greatly enhanced the anti-cancer effect of EI236. Taken together, EI236 exhibited anti-cancer and hyperthermal effects.

**Conclusion:** These findings suggest that EI236 can assist us in developing a new strategy of simultaneous hyperthermo-chemotherapy in the future.

7) 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

【発表概要】

### Controlled drug delivery and magnetic resonance imaging with intrinsic ferromagnetic nano-particle compound

Haruki Eguchi<sup>1, 2\*</sup>, Kunio Hirata<sup>3</sup>, Reiko Kurotani<sup>4</sup>, Hidenobu Fukumura<sup>6</sup>, David J. Singh<sup>5</sup>, Masahiro Yamamoto<sup>7</sup>, Itaru Sato<sup>8</sup>, Masanari Umemura<sup>2</sup>, Masaki Yamamoto<sup>3</sup>, Mamoru Sato<sup>9</sup>, and Yoshihiro Ishikawa<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Advanced Applied Science Department, Research Laboratory, IHI Corporation, Yokohama 235-8501 Japan

<sup>2</sup>Cardiovascular Research Institute, Yokohama City University, Graduate School of Medicine, Yokohama 236-0004, Japan <sup>3</sup>RIKEN/Spring-8 Center, Research Infrastructure Group, SR Life Science Instrumentation Unit, Hyogo 679-5148, Japan

<sup>4</sup>Biochemical Engineering, Faculty of Engineering, Yamagata University, Yonezawa, Yamagata, Japan 992-8510

<sup>5</sup>Materials Science and Technology Division, Oak Ridge National Laboratory, TN 37831-6056, USA

<sup>6</sup>Department of Orthopedics, Yokohama City University, Graduate School of Medicine, Yokohama 236-0004, Japan

<sup>7</sup> Department of Chemistry of Functional Molecules, Faculty of Science and Engineering Konan University, Kobe 658-8501, Japan

<sup>8</sup>Department of Oral Surgery, Yokohama City University, Graduate School of Medicine, Yokohama 236-0004, Japan

<sup>9</sup>Department of Macromolecular Crystallography, International Graduate School of Arts and Sciences, Yokohama, 230-0045, Japan

First principles calculations, as the standard method of physics and chemistry to design functional materials, such as semiconductor, solar cell and so on, are applied to identifying the magnetic organic complex. We have found that this magnetic organic complex (EI236) exhibits anti-cancer property and, more important, possesses a magnetic property as it was readily attached to a magnet. EI236 exhibited intrinsic ferromagnetic behaviors from -268 celcius degree to 37 celsius degree and inhibited melanoma expansion in mouse tails when delivered to the melanoma lesion using a commercially available magnet. The local accumulation of the compound, as induced by the magnet, was readily visualized by magnetic resonance imaging (MRI) in mice. (n=4) Thus, EI236 acted as both an anti-cancer drug and an MRI contrast, and had pharmacological effects that could be delivered in a controlled manner. The identification of such compounds can overcome the long-standing problems of controlled drug delivery by magnetic force and may dramatically alter our concept of pharmacotherapy in the future, i.e., drug-targeting using a magnet and drug-dosing using MRI.

8) 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・システム」、日本薬学会第133年会、日本薬学学会、2013年3年

【発表概要】

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・システム

Haruki Eguchi<sup>1, 2 \*</sup>, Kunio Hirata<sup>3</sup>, Reiko Kurotani<sup>4</sup>, Hidenobu Fukumura<sup>6</sup>, David J. Singh<sup>5</sup>, Masahiro Yamamoto<sup>7</sup>, Itaru Sato<sup>8</sup>, Masanori Umemura<sup>2</sup>, Masaki Yamamoto<sup>3</sup>, Mamoru Sato<sup>9</sup>, and Yoshihiro Ishikawa<sup>2</sup>,

<sup>1</sup>Advanced Applied Science Department, Research Laboratory, IHI Corporation, Yokohama 235-8501 Japan

<sup>2</sup>Cardiovascular Research Institute, Yokohama City University, Graduate School of Medicine, Yokohama 236-0004, Japan

<sup>3</sup>RIKEN/SPring-8 Center, Research Infrastructure Group, SR Life Science Instrumentation Unit, Hyogo 679-5148, Japan

<sup>4</sup>Biochemical Engineering, Faculty of Engineering, Yamagata University, Yonezawa, Yamagata, Japan 992-8510

<sup>5</sup>Materials Science and Technology Division, Oak Ridge National Laboratory, TN 37831-6056, USA

<sup>6</sup>Department of Orthopedics, Yokohama City University, Graduate School of Medicine, Yokohama 236-0004, Japan

<sup>7</sup> Department of Chemistry of Functional Molecules, Faculty of Science and Engineering Konan University, Kobe 658-8501, Japan

<sup>8</sup>Department of Oral Surgery, Yokohama City University, Graduate School of Medicine, Yokohama 236-0004, Japan

<sup>9</sup>Department of Macromolecular Crystallography, International Graduate School of Arts and Sciences, Yokohama, 230-0045, Japan

We have found that an organic based magnetic compound (EI236) exhibits anti- cancer property and, more important, possesses a magnetic property as it was readily attached to a magnet. Identifying such the organic based magnetic compounds are determined by the first principles calculations based on structures obtained by X-ray crystallography analysis. EI236 exhibited intrinsic ferromagnetic behaviors from -268 celcius degree to 37 celsius degree and inhibited melanoma expansion in mouse tails when delivered to the melanoma lesion using a commercially available permanent magnet. The local accumulation of the compound, as induced by the magnet, was readily visualized by magnetic resonance imaging (MRI) in mice. Therefore, EI236 acted as both an anti-cancer drug and an MRI contrast, and had pharmacological effects that could be delivered in a controlled manner. The identification of such compounds can overcome the long-standing problems of controlled drug delivery by magnetic force and may dramatically alter our concept of pharmacotherapy in the future. Thus, target drug delivery, chemotherapy and MRI visual quantitation are no longer separated three therapies. EI236 realizes one therapy through targeted drug delivery, chemotherapy and MRI visual quantitation.

9) 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

【発表概要】

### Targeted drug delivery system and magnetic resonance imaging with intrinsic ferromagnetic nano-particle compound

Haruki Eguchi<sup>1, 2 \*</sup>, Kunio Hirata<sup>3</sup>, Reiko Kurotani<sup>4</sup>, Hidenobu Fukumura<sup>6</sup>, David J. Singh<sup>5</sup>, Masahiro Yamamoto<sup>7</sup>, Itaru Sato<sup>8</sup>, Masanari Umemura<sup>2</sup>, Masaki Yamamoto<sup>3</sup>, Mamoru Sato<sup>9</sup>, and Yoshihiro Ishikawa<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>Advanced Applied Science Department, Research Laboratory, IHI Corporation, Yokohama 235-8501 Japan

<sup>2</sup>Cardiovascular Research Institute, Yokohama City University, Graduate School of Medicine, Yokohama 236-0004, Japan

<sup>3</sup>RIKEN/SPring-8 Center, Research Infrastructure Group, SR Life Science Instrumentation Unit, Hyogo 679-5148, Japan

<sup>4</sup>Biochemical Engineering, Faculty of Engineering, Yamagata University, Yonezawa, Yamagata, Japan 992-8510

<sup>5</sup>Materials Science and Technology Division, Oak Ridge National Laboratory, TN 37831-6056, USA

<sup>6</sup>Department of Orthopedics, Yokohama City University, Graduate School of Medicine, Yokohama 236-0004, Japan

<sup>7</sup> Department of Chemistry of Functional Molecules, Faculty of Science and Engineering  
Konan University, Kobe 658-8501, Japan

<sup>8</sup>Department of Oral Surgery, Yokohama City University, Graduate School of Medicine, Yokohama 236-0004, Japan

<sup>9</sup>Department of Macromolecular Crystallography, International Graduate School of Arts and Sciences, Yokohama, 230-0045, Japan

First principles calculations based on structures obtained by X-ray crystallography analysis are applied to identifying the intrinsic ferromagnetic nano-particle compound. We have found that this organic based nano-particle compound (EI236) exhibits anti-cancer property and, more important, possesses a magnetic property as it was readily attached to a magnet. EI236 exhibited intrinsic ferromagnetic behaviors from -268 celcius degree to 37 celsius degree and inhibited melanoma expansion in mouse tails when delivered to the melanoma lesion using a commercially available magnet. The local accumulation of the compound, as induced by the magnet, was readily visualized by magnetic resonance imaging (MRI) in mice. (n=4) Thus, EI236 acted as both an anti-cancer drug and an MRI contrast, and had pharmacological effects that could be delivered in a controlled manner. The identification of such compounds can overcome the long-standing problems of controlled drug delivery by magnetic force and may dramatically alter our concept of

pharmacotherapy in the future, i.e., drug-targeting using a magnet and drug-dosing using MRI.

10) 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

【発表概要】

### Application of a novel nano-magnetic anti-cancer drug to hyperthermia

Umemura M<sup>1</sup>, Fukumura H<sup>1</sup>, Sato I<sup>1</sup>, Feng X<sup>1</sup>, Hitoshi Izuka<sup>1</sup>, Eguchi H<sup>2</sup>, Ishikawa Y<sup>1</sup>

1 Yokohama City University Graduate School of Medicine, Cardiovascular Research Institute

2 IHI corporation, Advanced Applied Science Department Research Laboratory

**Background:** Hyperthermic therapy is a type of cancer treatment in which body tissue is exposed to high temperature (up to 113° F). Despite its effectiveness, it has not been widely used. One reason is that it is technically difficult to increase high temperature only in a target cancer site. To address this issue, we have developed a novel nano-magnetic particle, i.e., EI236. EI236 exhibits not only anti-cancer effect, but also ferromagnetic property. Because of its magnetism, this drug can generate heat by itself when it is exposed to an alternating current magnetic field (ACMF).

**Method:** We established a rabbit model of VX2 cells (rabbit osteosarcoma) grafted on legs to examine the anti-cancer and hyperthermal effects of EI236 *in vivo*. Rabbits (n=4 for each group) were divided into five groups ; 1) no treatment group 2) intra-venous (iv.) EI236 injection group 3) intra-arterial (ia.) EI236 group 4) ia. Methotrexate (MTX) injection group, and 5) ia. EI236+ACMF group. The volume of tumor was measured daily, and then the samples were harvested and evaluated histologically by HE, Ki67, and TUNEL staining.

**Results:** The effect of EI236 was similar to that of MTX when EI236 was injected via intra-arterial infusion. Via intra-arterial infusion was more effective than iva intra-venous infusion. When EI236 was injected and the tumor was exposed to ACMF for simultaneous chemotherapeutic and hyperthermal effects, it showed the greatest regression of tumor among all

the groups examined. EI236 significantly increased necrosis as determined by HE staining, and further increased it by ACMF. Similarly, EI236 decreased cell proliferation as determined by Ki67, and further decreased it by ACMF. Moreover EI236 increased apoptosis as determined by TUNEL staining, and further increased it by ACMF. These results demonstrated that the exposure of ACMF greatly enhanced the anti-cancer effect of EI236. Taken together, EI236 exhibited simultaneous effects of anti-cancer and hyperthermia.

**Conclusion:** These results demonstrate that EI236 can provide us in developing a new strategy of simultaneous hyperthermo-chemotherapy in the future.

11) 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

【発表概要】

**Novel thermo-chemotherapy using a new magnetic anti-cancer drug**

**Itaru Sato<sup>1</sup>, Kenji Mitsudo<sup>1</sup>, Masanari Umemura<sup>2</sup>, Xianfeng Feng<sup>2</sup>, Jun-ichi Baba<sup>1</sup>, Hideyuki Nakashima<sup>1</sup>, Mitomu Kioi<sup>1</sup>, Haruki Eguchi<sup>3</sup>, Yoshihiro Ishikawa<sup>2</sup> and Iwai Tohnai<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Department of Oral and Maxillofacial surgery, Yokohama City University-School of Medicine

<sup>2</sup> Department of Cardiovascular Research Institute, Yokohama City University-School of Medicine

<sup>3</sup>IHI corporation

## Background

Radical surgery for patients with head and neck cancer can cause dysfunctions such as dysphagia, dysarthria, and mastication disorder as well as decrease quality of life. Here, a new magnetic anticancer drug (EI236) was developed giving an anti-cancer effect.

EI236 is a novel magnetic nanoparticle. EI236 has three characters; 1) anti-cancer effect, 2) Drug Delivery System (DDS) and 3) hypothermic effect in an alternating current magnetic field (ACMF). EI236 will be a new

contrast agent in magnetic resonance imaging (MRI). We evaluated the treatment efficacy of the anti-cancer effects of EI236 using rabbit's oral cancer cells in vitro and in vivo.

## Methods

The anti-cancer effect of the EI236 was measured by MTT assay using VX2 cells were employed as a transplantable tumor in rabbits. We established rabbit's VX2 tongue cancer model. Rabbits were divided into 4 groups: control group, intravenous EI236 injection (5mg/kg×7days) (i.v. group), intravenous EI236 + electromagnet (i.v. + DDS group), intravenous EI236 + electromagnet + alternating magnetic field (i.v. + DDS + HT group). The size of tumors was measured daily for 7 days. Rabbits were sacrificed after the completion of the experiment, and histopathological effects on the tongue tumor were evaluated.

## Results

IC50 of VX2 cells treated with CDDP was about 7.5μM, and that of VX2 cells treated with EI236 was also about 7.5μM, indicating that EI236 had an antitumor effect equal to that of CDDP. i.v. + DDS group and the i.v. + DDS + HT group showed significant decrease in tumor volume compared with control group in rabbit VX2 tongue tumor model. HE staining analysis demonstrated significant difference in the size of necrotic area among the 4 groups. In the control group, it was 15%. In the i.v. group, it was 28.8%. In the i.v. + DDS group, it was 50%. Further, in the i.v. + DDS + HT group, the size of necrosis was greatest and was 63.8%. In particular, iv + DDS + HT group showed disappearance of the tumor cell nucleus in almost all fields.

Ki67 positive cells were also counted in 3,000 cells for each group, and positive cell ratio was determined. The median ratio of Ki67 index was 45.8% in the control group, 25.4% in the i.v. group, 18.8% in the i.v. + DDS group, and 4.5% in the i.v. + DDS + HT group. These differences were statistically significant among four groups.

## Conclusion

The results in this study confirmed the effect of the novel nanoparticles, which was founded engineered approaches, as anti-cancer treatment.