

(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局



(43) 国際公開日
2011 年 8 月 18 日(18.08.2011)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 2011/099602 A1

- (51) 国際特許分類:
A61K 31/409 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01)
A61K 51/00 (2006.01) C07D 487/22 (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2011/053054
- (22) 国際出願日: 2011 年 2 月 14 日(14.02.2011)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:
特願 2010-029205 2010 年 2 月 12 日(12.02.2010) JP
- (71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 学校法人日本大学(NIHON UNIVERSITY) [JP/JP]; 〒1028275 東京都千代田区九段南四丁目 8 番 2 4 号 Tokyo (JP).
- (72) 発明者; および
- (75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 永瀬 浩喜(NAGASE Hiroki) [JP/JP]; 〒1028275 東京都千代田区九段南四丁目 8 番 2 4 号 学校法人日本大学内 Tokyo (JP). 高橋 元一郎(TAKAHASHI Motoichiro) [JP/JP]; 〒1028275 東京都千代田区九段南四丁目 8 番 2 4 号 学校法人日本大学内 Tokyo (JP). 石橋 直也(ISHIBASHI Naoya) [JP/JP]; 〒1028275 東京都千代田区九段南四丁目 8 番 2 4 号 学校法人日本大学内 Tokyo (JP). ▲高▼橋

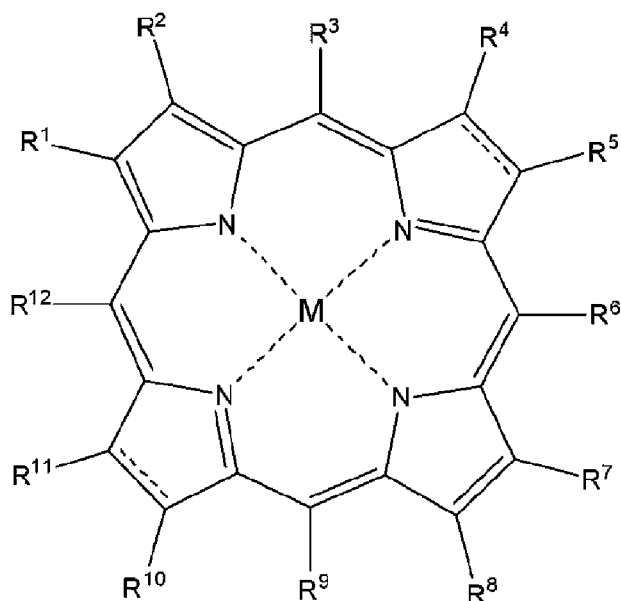
悟(TAKAHASHI Satoru) [JP/JP]; 〒1028275 東京都千代田区九段南四丁目 8 番 2 4 号 学校法人日本大学内 Tokyo (JP). 増子 亜耶(MASHIKO Aya) [JP/JP]; 〒1028275 東京都千代田区九段南四丁目 8 番 2 4 号 学校法人日本大学内 Tokyo (JP). 大月 穰(OTSUKI Joe) [JP/JP]; 〒1028275 東京都千代田区九段南四丁目 8 番 2 4 号 学校法人日本大学内 Tokyo (JP). 諏訪 和也(SUWA Kazuya) [JP/JP]; 〒1028275 東京都千代田区九段南四丁目 8 番 2 4 号 学校法人日本大学内 Tokyo (JP). 小林 大哉(KOBAYASHI Daiya) [JP/JP]; 〒1028275 東京都千代田区九段南四丁目 8 番 2 4 号 学校法人日本大学内 Tokyo (JP). 篠崎 喜脩(SHINOZAKI Yoshinao) [JP/JP]; 〒1028275 東京都千代田区九段南四丁目 8 番 2 4 号 学校法人日本大学内 Tokyo (JP).

- (74) 代理人: 小林 浩, 外(KOBAYASHI Hiroshi et al.); 〒1040028 東京都中央区八重洲二丁目 8 番 7 号 福岡ビル 9 階 阿部・井窪・片山法律事務所 Tokyo (JP).
- (81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR,

[続葉有]

(54) Title: PORPHYRIN DERIVATIVE AND USE THEREOF IN RADIATION INDUCED PHOTODYNAMIC THERAPY

(54) 発明の名称: ポルフィリン誘導体および放射線力学療法におけるその使用



(57) Abstract: An anti-tumor agent comprising a porphyrin compound represented by formula (I) and characterized in that the anti-tumor agent is used in such a manner that the irradiation with a radioactive ray is carried out when the porphyrin compound is accumulated in a tumor tissue in a mammal.

(57) 要約: 次式 I: で示されるポルフィリン化合物が哺乳動物の腫瘍組織に集積したときに放射線を照射するように用いられることを特徴とする、前記ポルフィリン化合物を含む抗腫瘍剤。

(I)



LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

- (84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT,

規則 4.17 に規定する申立て:

- 不利にならない開示又は新規性喪失の例外に関する申立て (規則 4.17(v))

添付公開書類:

- 国際調査報告 (条約第 21 条(3))

明 細 書

発明の名称：

ポルフィリン誘導体および放射線力学療法におけるその使用

技術分野

[0001] 本発明は、放射線を利用した光線力学療法及び当該療法に使用する化合物に関する。

背景技術

[0002] クロロフィル等の環状テトラピロール類は、670nm付近に吸収を有しており、単量体状態では蛍光発光が比較的強いことから、有望な光線力学的治療（photodynamic therapy（PDT））用の増感剤として期待されている。PDTは、近年、癌の治療に臨床応用されている治療法である。この治療法は、腫瘍組織に集積させた光増感剤に光を照射し、腫瘍組織を壊死に陥らせるものであり、ポルフィリン誘導体を用いた光線力学療法に関する発明の出願がなされている（特許文献1）。

PDT治療薬であるPhotofrin（フォトフリン）（登録商標）及びLaserphyrin（レザフィリン）（登録商標）は、可視光領域の光線照射を利用して既に臨床応用が行われている。また、PDT治療薬が腫瘍に集積することを利用して、光感受性物質の2-[1-hexyloxyethyl]-2-devinyl pyropheophorbide-a（HPPH）などにヨウ素等の放射性同位元素を付加し、生体内での原発腫瘍・転移腫瘍の部位をPETやMRIを利用して特定する画像診断薬としても開発されている（非特許文献：1，2，3）。さらにPhotofrinより透過性の高い長波長の吸収波長を持つポルフィリン誘導体にChlorophyllがあり、その生成物のピロフェオフォルバイドはミトコンドリア内部に取り込まれ腫瘍細胞を攻撃するのでより強力な抗腫瘍効果が期待されている（非特許文献：4，5，6）。

[0003] 他方、癌細胞にヨードや臭素化合物を取り込ませ、その元素のK吸収端（ヨードの場合33.17keV）に相当するエネルギーのX線を照射することにより発生するAuger（オージェ）電子を利用して増感効果を得る放射線治療がある。こ

れを放射線増感治療Photon Activation Therapy(PAT)という（非特許文献：7，8）。この治療法は、癌細胞にヨードや臭素化合物を取り込ませ、その元素のK吸収端に相当するエネルギーのX線を照射することにより発生するAuger電子を利用して増感効果を得る放射線治療である。

[0004] しかし、これらの薬剤を利用した放射線照射によるがん治療はいまだ実現していない。すなわち、従来のPDT治療は赤外線光を利用するため10mmほどの深部組織までしか光が到達しない。このため、皮膚、消化器、気管支といった表層の腫瘍でのみ治療が可能であった。すなわち表層の早期の原発腫瘍が対象であった。深部組織由来の癌や転移巣といったより予後不良の腫瘍に対する治療は極めて困難であった。また放射線治療は深部に到達可能であるが、周囲組織の被爆が問題であり、患者への総照射線量に上限があり、繰り返して治療することができないという問題がある。

先行技術文献

特許文献

[0005] 特許文献1：国際公開2006/005924

特許文献2：国際公開2009/105210

非特許文献

[0006] 非特許文献1：Multimodality agents for tumor imaging (PET, fluorescence) and photodynamic therapy. A possible "see and treat" approach. Pandey SK, Gryshuk AL, Sajjad M, Zheng X, Chen Y, Abouzeid MM, Morgan J, Charamisinau I, Nabi HA, Oseroff A, Pandey RK. J Med Chem. 2005 Oct 6;48(20):6286-95.

非特許文献2：Comparative positron-emission tomography (PET) imaging and phototherapeutic potential of ^{124}I -labeled methyl-3-(1'-iodobenzoyloxyethyl)pyropheophorbide-a vs the corresponding glucose and galactose conjugates. Pandey SK, Sajjad M, Chen Y, Zheng X, Yao R, Missert JR, Batt C, Nabi HA, Oseroff AR, Pandey RK. J Med Chem. 2009 Jan 22;52(2):445-55.

非特許文献3 : Compared to purpurinimides, the pyropheophorbide containing an iodobenzyl group showed enhanced PDT efficacy and tumor imaging (124I-PET) ability. Pandey SK, Sajjad M, Chen Y, Pandey A, Missert JR, Batt C, Yao R, Nabi HA, Oseroff AR, Pandey RK. Bioconjug Chem. 2009 Feb;20(2):274-82.

非特許文献4 : The role of subcellular localization in initiation of apoptosis by photodynamic therapy. Kessel D, Luo Y, Deng Y, Chang CK. Photochem Photobiol. 1997 Mar;65(3):422-6.

非特許文献5 : Comparison of photodynamic targets in a carcinoma cell line and its mitochondrial DNA-deficient derivative. Morgan J, Potter WR, Oseroff AR. Photochem Photobiol. 2000 Jun;71(6):747-57.

非特許文献6 : Mitochondria-based photodynamic anti-cancer therapy. Morgan J, Oseroff AR. Adv Drug Deliv Rev. 2001 Jul 2;49(1-2):71-86. Review.

非特許文献7 : Synchrotron radiation-based experimental determination of the optimal energy for cell radiotoxicity enhancement following photoelectric effect on stable iodinated compounds. Corde S, Joubert A, Adam JF, Charvet AM, Le Bas JF, Esteve F, Elleaume H, Balosso J. Br J Cancer. 2004 Aug 2;91(3):544-51.

非特許文献8 : Optimal photon energies for IUdR K-edge radiosensitization with filtered x-ray and radioisotope sources. Karnas SJ, Yu E, McGarry RC, Battista JJ. Phys Med Biol. 1999 Oct;44(10):2537-49.

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0007] 本発明は、放射線を利用した光線力学療法及び当該療法に使用する化合物を提供することを目的とする。

課題を解決するための手段

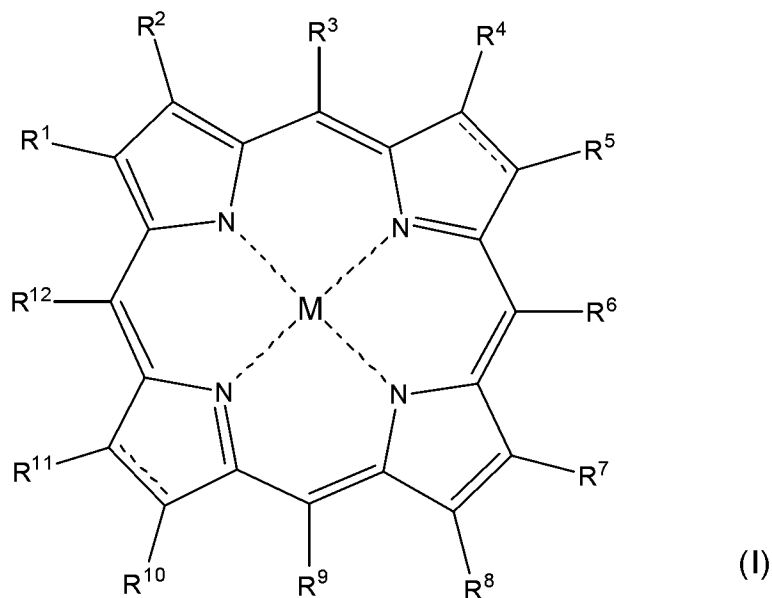
[0008] 本発明者は、上記課題を解決するため鋭意研究を行った結果、ヨウ素など

を付加したポルフィリン化合物が、低エネルギー領域のX線照射による光線力学療法に有用であることを見出し、本発明を完成するに至った。

[0009] すなわち、本発明は以下の通りである。

(1) 次式I：

[0010] [化1]



(式中、 R^1 、 R^4 、 R^7 及び R^{10} は、それぞれ独立して、水素原子、酸素原子、任意に置換されてもよい C_{1-10} アルキル、任意に置換されてもよい C_{2-10} アルケニル、任意に置換されてもよい C_{2-10} アルキニル、任意に置換されてもよい C_{6-14} アリール又は任意に置換されてもよい5~14員ヘテロアリールを表し、ここで、置換基は、酸素原子、 C_{1-6} アルキル、並びに OR^{20} 及び $COOR^{20}$ (R^{20} は、水素原子、 C_{1-6} アルキル又は C_{2-6} アルケニルを表す。) からなる群から選ばれる少なくとも1つであり、

R^2 、 R^5 、 R^8 及び R^{11} は、それぞれ独立して、水素原子、酸素原子、任意に置換されてもよい C_{1-10} アルキル、任意に置換されてもよい C_{2-10} アルケニル、任意に置換されてもよい C_{2-10} アルキニル、任意に置換されてもよい C_{6-14} アリール又は任意に置換されてもよい5~14員ヘテロアリールを表し、ここで、置換基は、酸素原子、 C_{1-6} アルキル、並びに OR^{30} 及び $COOR^{30}$ (R^{30} は、水素原子、任意に置換されてもよい C_{1-6} アルキル、任意に置換されてもよい C_{2-10} アルケニル、任意に

置換されてもよい C_{6-14} アリール、任意に置換されてもよい C_{7-20} アリールアルキル又は任意に置換されてもよい5～14員ヘテロアリールを表し、各置換基は、K殻吸収端が2 KeV以上を示す元素番号15 (P)以降の元素のうちの1つ又は複数でさらに置換されてもよい。)からなる群から選ばれる少なくとも1つであり、

R^3 、 R^6 、 R^9 及び R^{12} は、それぞれ独立して、水素原子、 C_{1-10} アルキル、 C_{2-10} アルケニル、 C_{2-10} アルキニル、 C_{6-14} アリール、 C_{7-20} アリールアルキル、5～14員ヘテロアリール、 C_{1-10} アルコキシ、 C_{2-10} アルケニルオキシ、 C_{2-10} アルキニルオキシ、 C_{6-14} アリールオキシ又は5～14員ヘテロアリールオキシを表し、前記アルキル、アルケニル、アルキニル、アリール、アリールアルキル、ヘテロアリール、アルコキシ、アルケニルオキシ、アルキニルオキシ、アリールオキシ及びヘテロアリールオキシは、任意に、 C_{1-6} アルキル、 C_{6-14} アリール、 C_{7-20} アリールアルキル、 $-(CH_2CH_2O)_n-R^{20}$ 、 $-(CH_2)_n-OR^{20}$ 及び $-(CH_2)_n-COOR^{20}$ (n は0～6の整数であり、 R^{20} は、前記と同様である。)、並びにK殻吸収端が2 KeV以上を示す元素番号15 (P)以降の元素のうちの1つ又は複数からなる群から選ばれる少なくとも1つで置換されてもよく、各置換基は、 C_{1-6} アルキル、 C_{2-6} アルケニル、又はK殻吸収端が2 KeV以上を示す元素番号15 (P)以降の元素のうちの1つ若しくは複数でさらに置換されてもよく、

R^8 及び R^9 は、飽和又は不飽和の5員環又は6員環を形成することができ、前記環は、任意に、酸素原子、 C_{1-6} アルキル及び $COOR^{20}$ (R^{20} は、前記と同様である。)からなる群から選ばれる少なくとも1つで置換されてもよく、

Mは、金属、ケイ素又は水素原子であり、前記金属は、Al、Ti、V、Cr、Mn、Fe、Co、Ni、Cu、Zn、Ga、Ge、Y、Zr、Nb、Mo、Tc、Ru、Rh、Pd、Ag、Cd、In、Sn、Sb、La、Ce、Pr、Nd、Pm、Sm、Eu、Gd、Tb、Dy、Ho、Er、Tm、Yb、Lu、Hf、Ta、W、Re、Os、Ir、Pt、Au、Hg、Tl、Pb、Bi、Po、Ac、Th、Pa、U、Np、Pu、Am、Cm、Bk、Cf、Es、Fm、Md、No及びLr から選択され、

[0011] [化2]

=====

は単結合又は二重結合を表す。)

で示されるポルフィリン化合物が哺乳動物の腫瘍組織に集積したときに放射線を照射するように用いられることを特徴とする、前記ポルフィリン化合物を含む抗腫瘍剤。

[0012] 本発明の好ましい態様において、 R^1 、 R^4 、 R^7 及び R^{10} は、それぞれ独立して、水素原子、又は任意に置換されてもよい C_{1-10} アルキルを表し、ここで、置換基は、酸素原子、 C_{1-6} アルキル、並びに OR^{20} 及び $COOR^{20}$ (R^{20} は、水素原子、 C_{1-6} アルキル又は C_{2-6} アルケニルを表す。) からなる群から選ばれる少なくとも1つが挙げられる。

[0013] また、本発明の好ましい態様において、 R^2 、 R^5 、 R^8 及び R^{11} は、それぞれ独立して、水素原子、又は任意に置換されてもよい C_{1-10} アルキルを表し、ここで、置換基は、酸素原子、 C_{1-6} アルキル、並びに OR^{30} 及び $COOR^{30}$ (R^{30} は、水素原子、任意に置換されてもよい C_{1-6} アルキル、又は任意に置換されてもよい C_{6-14} アリールを表し、各置換基は、K殻吸収端が2 KeV以上を示す元素番号15 (P) 以降の元素のうちの1つ又は複数でさらに置換されてもよい。) からなる群から選ばれる少なくとも1つが挙げられる。

[0014] さらに、本発明の好ましい態様において、 R^3 、 R^6 、 R^9 及び R^{12} は、それぞれ独立して、水素原子、任意に置換されてもよい C_{1-10} アルキル、任意に置換されてもよい C_{6-14} アリール、任意に置換されてもよい C_{6-14} アリールオキシ、又は任意に置換されてもよい5~14員ヘテロアリールを表し、各置換基は、任意に、 C_{1-6} アルキル、 C_{6-14} アリール、 C_{7-20} アリールアルキル、 $-(CH_2CH_2O)_n-R^{20}$ 、 $-(CH_2)_n-OR^{20}$ 及び $-(CH_2)_n-COOR^{20}$ (n は0~6の整数であり、 R^{20} は、水素原子、 C_{1-6} アルキル又は C_{2-6} アルケニルを表す。)、並びにK殻吸収端が2 KeV以上を示す元素番号15 (P) 以降の元素のうちの1つ又は複数からなる群から選ばれる少なくとも1つで置換されてもよく、各置換基は、 C_{1-6} アルキル、 C_{2-6} アルケニル、又はK殻吸収端が2 KeV以上を示す元素番号15 (P) 以降の元素のうちの1つ若しくは複数でさらに置換されていてもよい。

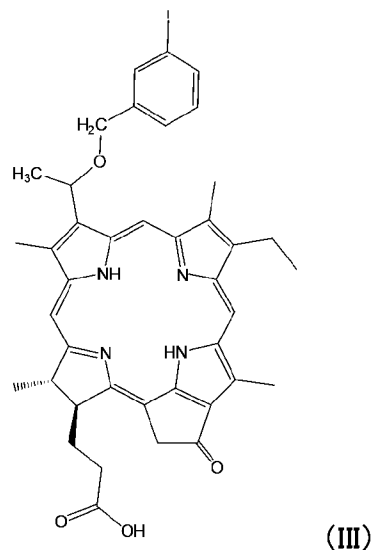
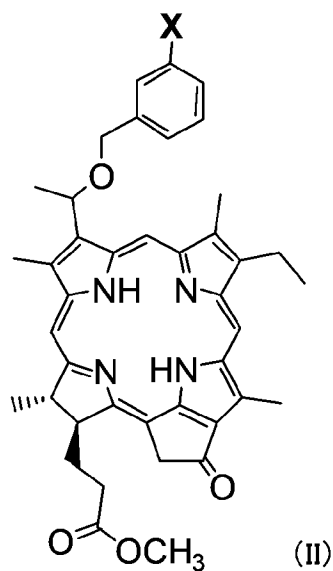
[0015] さらに、本発明の好ましい態様において、 R^8 及び R^9 は、飽和又は不飽和の5

員環又は6員環を形成することができ、前記環は、任意に、酸素原子、 C_{1-6} アルキル及び $COOR^{20}$ (R^{20} は、水素原子、 C_{1-6} アルキル又は C_{2-6} アルケニルを表す。)からなる群から選ばれる少なくとも1つで置換されていてもよい。

[0016] 本発明において、ポルフィリン化合物は、K殻吸収端が2 KeV以上を示す元素番号15 (P) 以降の元素のうちの1つ又は複数で置換された C_{6-14} アリール又は C_{7-20} アリールアルキルを含むものが好ましい。K殻吸収端が2 KeV以上を示す元素番号15 (P) 以降の元素は、例えばハロゲン、ランタノイド、Y、Tc、Ru、Ba、In、Cs、Pt、Au及びTlから選ばれる。好ましくは、ハロゲンはI又はBrである。また、好ましいランタノイドとしては、例えばGdが挙げられる。

[0017] さらに、本発明においてポルフィリン化合物としては、例えば、次式II、I II、IV、V、VI、VII、VIII、IX、X、XI、XII、XIII、XIV、XV及びXVIのいずれかで示されるものが挙げられる。

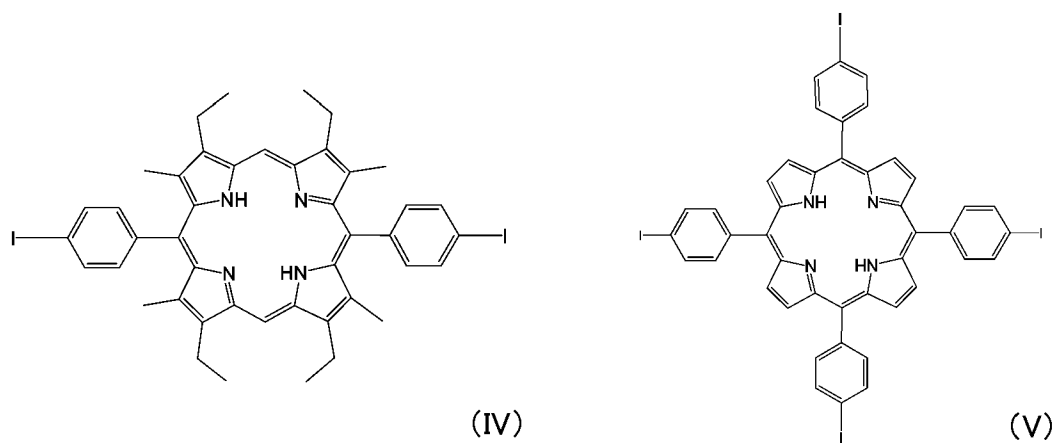
[0018] [化3]



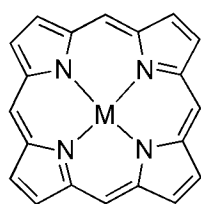
(XはI又はGdを表す。)

[0019]

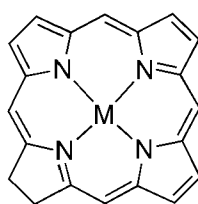
[化4]



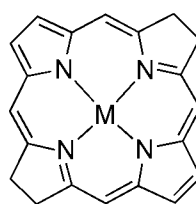
[0020] [化5]



porphyrin
(VI)



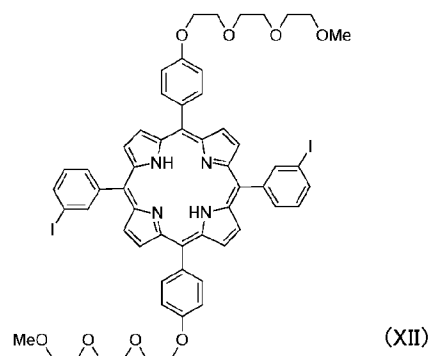
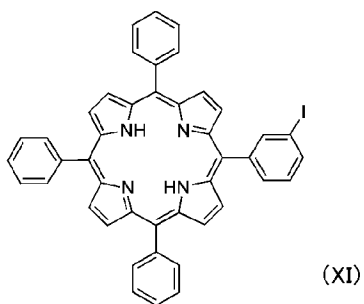
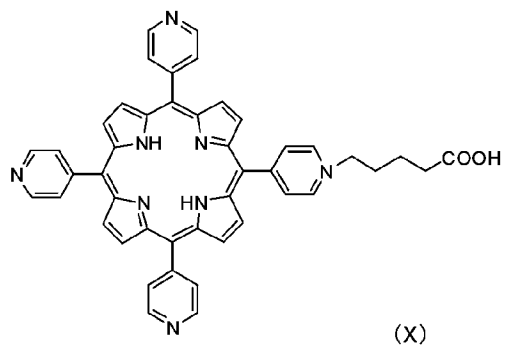
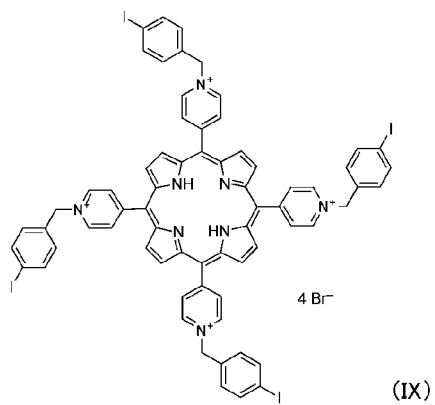
chlorin
(VII)



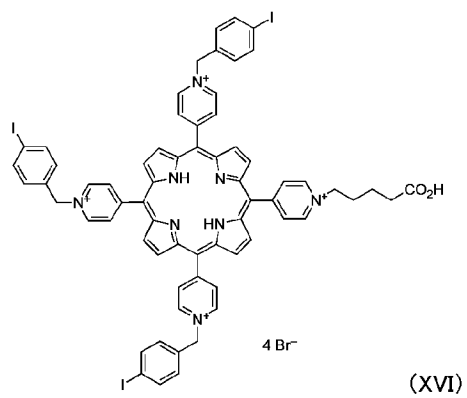
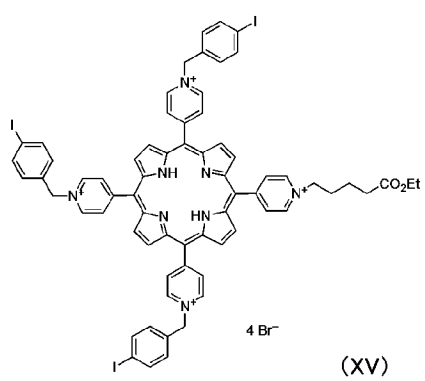
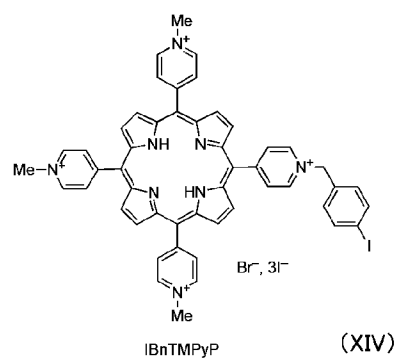
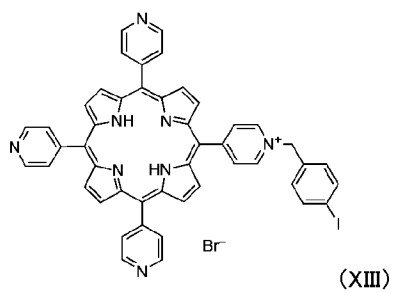
bacteriochlorin
(VIII)

[0021]

[化6]



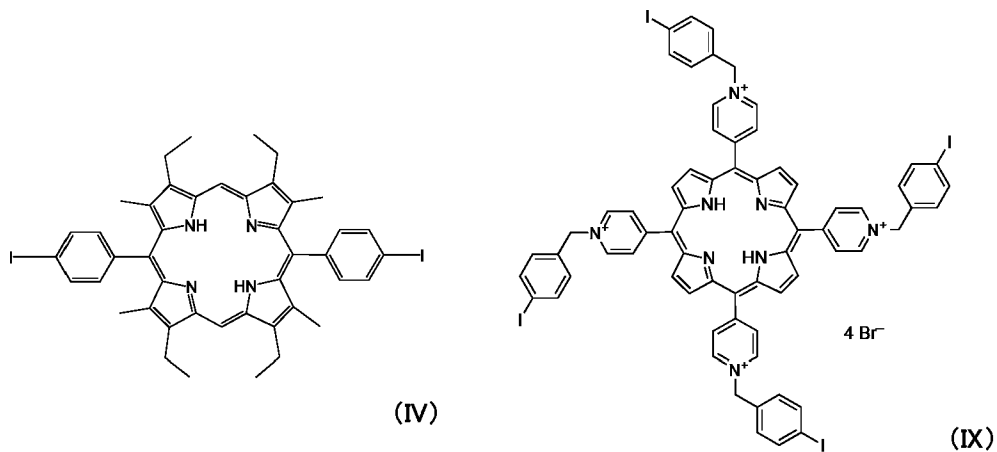
[0022] [化7]



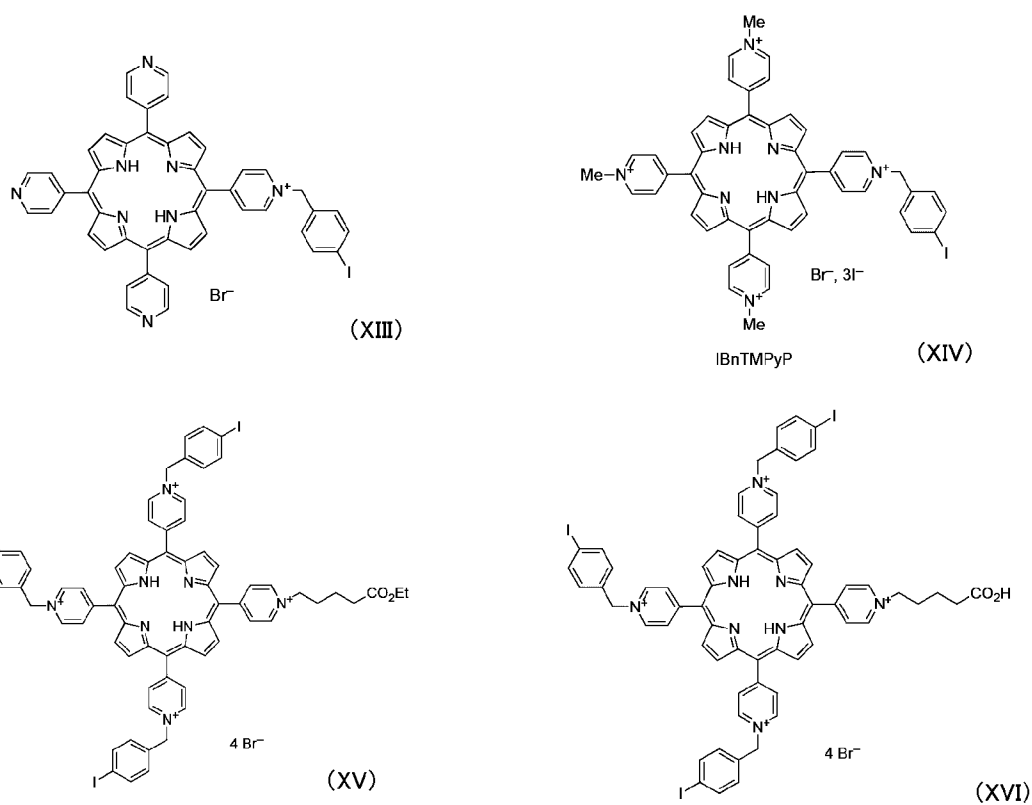
本発明において、放射線はパラメトリック単色X線であることが好ましい。

[0023] (2) さらに、本発明は、次式IV、IX、XIII、XIV、XV又はXVIで示されるポルフィリン化合物である。

[0024] [化8]



[0025] [化9]



発明の効果

[0026] 本発明により、放射線を利用した光線力学療法用ポルフィリン化合物が提供される。本発明により、一定波長のX線を用いることで低線量での深部組織腫瘍に繰り返し照射が可能になる。また、放射線感受性物質が特異的に腫瘍細胞に存在し、腫瘍の局在をMRIやPET等により確認しながら、特異的に照射治療ができるとともに、被爆の副作用を著しく低減することができる。さらに赤外線領域を利用する光力学療法では1 cmまでの表層の病変のみが治療対象であったが、放射線を用いることで通常想定される腫瘍の大きさである10 cm以下の全領域および転移部位を外科手術によらず放射線科で治療可能にする。さらに、外科領域では例えば摘出手術中の腫瘍摘出前術中照射を原発腫瘍部および転移病巣に対し可能にする。このことにより、術中腫瘍細胞の血液やリンパへの流出、あるいは腫瘍播種、転移部位からの再発を防止する効果および郭清手術による副作用の軽減といった効果を得ることができる。

[0027] また、本発明の化合物は、低エネルギーX線により深部の癌組織に対して治療に用いることが可能であり、少ない被爆線量で行なわれる治療法に対して、放射線増感治療および光力学療法治療の両者の効果を期待できる癌治療法を可能にすると考えられる。

図面の簡単な説明

[0028] [図1] HeLa細胞に対し本発明の化合物を用いて単一波長で位相の揃った低エネルギー（33.17KeV）放射線照射を行ったときの照射24時間後の細胞増殖抑制結果を示す図である。

[図2] HeLa細胞に対し本発明の化合物を用いて単一波長で位相の揃った低エネルギー（33.17KeV）放射線照射を行ったときの照射66時間後の細胞増殖抑制結果を示す図である。

[図3] HeLa細胞に対し本発明の化合物を用いて単一波長で位相の揃った低エネルギー（33.17KeV）放射線照射を行ったときの照射48時間後の細胞増殖抑制結果を示す図である。

[図4] HeLa細胞に対し本発明の化合物を用いて単一波長で位相の揃った低エネルギー（31.97KeVおよび34.37KeV）放射線照射を行ったときの照射48時間後の細胞増殖抑制結果を示す図である。

[図5] T24細胞に対し本発明の化合物を用いて単一波長で位相の揃った低エネルギー（33.17KeV）放射線照射を行ったときの照射72時間後の細胞増殖抑制結果を示す図である。

[図6] HeLa細胞及びMCF7細胞に対し本発明の化合物を用いて4MeVの白色X線を照射したときの照射72時間後の細胞増殖抑制結果を示す図である。左パネル：HeLa細胞、右パネル：MCF細胞。

[図7] MCF7細胞及びT24細胞に対し本発明の化合物を用いて33keVの白色X線を照射したときの照射72時間後の細胞増殖抑制結果を示す図である。左パネル：MCF7細胞、右パネル：T24細胞。

[図8] HeLa細胞及びT24細胞に対し本発明の化合物を用いて33keVの白色X線を照射したときの細胞のコロニー形成試験を行なった結果を示す図である。上パネル：HeLa細胞、下パネル：T24細胞。

[図9] 還元発色試薬WST-8を用いた比色定量により生細胞数を測定した結果を示す図である。

[図10] コロニー形成アッセイによる細胞生存率を評価した結果を示す図である。

[図11] 蛍光プローブ試薬APFを用いて活性酸素を測定した結果を示す図である。

発明を実施するための形態

[0029] 以下、本発明を詳細に説明する。

本発明は、放射線による光力学的治療法（PDT）、放射線増感治療Photon Activation Therapy (PAT) 及び当該治療に使用する化合物に関するものであり、ヨウド（I）等を付加したPDT用化合物（ポルフィリン等）を投与した腫瘍細胞に、ヨウ素吸収端の単一波長のX線を照射すると、腫瘍の増殖抑制を示すという知見に基づき完成されたものである。

[0030] 1. 概要

上記の通り、光力学治療法Photodynamic therapy (PDT) は、腫瘍親和性のある光感受性物質を投与して光を照射し、この光感受性物質から発生する一重項酸素が腫瘍を破壊するという作用機序に基づく治療法である。しかしながら、光感受性物質の吸収波長のピークが可視光線領域にあるため、上記PDTは深部病変に使用出来ず、投与後に遮光した室内管理が必要であるといった問題がある。そのため生体透過性を有するX線によるPDTの開発が望まれる。

[0031] そこで本発明者は、放射線増感治療Photon Activation Therapy (PAT) において使用されているヨード化合物のヨードデオキシウリジン(IUdR)に着目し、PDT化合物にヨウド等の元素を付加し、その吸収端のX線を照射することで、PDT化合物においてPAT効果とPDT効果が誘導されることを期待した。すなわち、ヨウ素吸収端の単一波長のX線を用い、ヨウド付加PDT化合物を投与した腫瘍細胞が増殖抑制を示すことを見出し、新規抗癌治療を可能にすると考え、本発明をなすに至った。

[0032] 従って本発明は、光力学療法を誘導する化合物や腫瘍集積性を示す化合物に特定の元素を付加し、その元素の吸収端を利用することにより、放射線増感作用と活性酸素等の誘導を引き起こすことを特徴とし、腫瘍病変の治療を深部組織においても可能にする技術である。

[0033] PDT治療薬にハロゲンや金属を付加し、放射線治療領域の放射線増感作用による治療の実験的試みはなされている（前記特許文献1，2）。しかし、これらの治療法において、実際に低エネルギーX線領域での治療効果が得られるかは不明である。

[0034] 本発明では、軟X線領域や低エネルギーX線領域（2 - 150 KeV）での治療が可能となり、従来の放射線治療領域の1000分の1のエネルギーでの治療を可能にする。低エネルギー領域のX線では、深部組織への透過性や表面組織でのエネルギー吸収が集中することによる表層部の放射障害が問題となるが、逆に近年開発されている波長が単一で位相の揃ったX線の利用が可能となることより、放射線を3次的にフレンネルレンズ等により短焦点に集めることが出

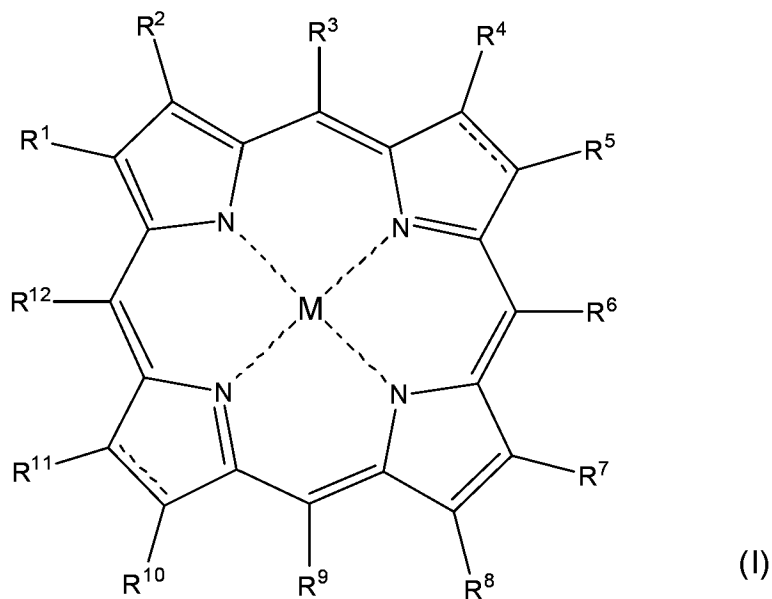
来る、また、単一の波長のX線のみを使用することで従来のX線照射での余分な波長による被爆を防ぐことが出来る。その結果、従来の治療法では極めて困難であった点を克服することが可能となった。すなわち、正常組織では被爆線量を少なくし、正常組織耐容量による総照射線量の制限を受けにくい治療が可能となる。

[0035]

2. ポルフィリン化合物

本発明において使用されるポルフィリン化合物は、光力学療法を誘導する化合物や腫瘍集積性を示す化合物であり、一般式 (I) で示される。

[0036] [化10]



上記式I中、 R^1 、 R^4 、 R^7 及び R^{10} は、それぞれ独立して、水素原子、酸素原子、任意に置換されてもよい C_{1-10} アルキル、任意に置換されてもよい C_{2-10} アルケニル、任意に置換されてもよい C_{2-10} アルキニル、任意に置換されてもよい C_{6-14} アリール又は任意に置換されてもよい5~14員ヘテロアリールを表し、ここで、置換基は、酸素原子、 C_{1-6} アルキル、並びに OR^{20} 及び $COOR^{20}$ (R^{20} は、水素原子、 C_{1-6} アルキル又は C_{2-6} アルケニルを表す。) からなる群から選ばれる少なくとも1つであり、これらの群の置換基の1つ又は複数から選択される。

[0037] 本発明において、好ましくは、 R^1 、 R^4 、 R^7 及び R^{10} は、それぞれ独立して、水

素原子、又は任意に置換されてもよい C_{1-10} アルキルを表し、ここで、置換基は、酸素原子、 C_{1-6} アルキル、並びに OR^{20} 及び $COOR^{20}$ (R^{20} は、水素原子、 C_{1-6} アルキル又は C_{2-6} アルケニルを表す。) からなる群から選ばれる少なくとも1つである。

[0038] R^2 、 R^5 、 R^8 及び R^{11} は、それぞれ独立して、水素原子、酸素原子、任意に置換されてもよい C_{1-10} アルキル、任意に置換されてもよい C_{2-10} アルケニル、任意に置換されてもよい C_{2-10} アルキニル、任意に置換されてもよい C_{6-14} アリール又は任意に置換されてもよい5~14員ヘテロアリールを表し、ここで、置換基は、酸素原子、 C_{1-6} アルキル、並びに OR^{30} 及び $COOR^{30}$ からなる群から選ばれる少なくとも1つである。 R^{30} は、水素原子、任意に置換されてもよい C_{1-6} アルキル、任意に置換されてもよい C_{2-10} アルケニル、任意に置換されてもよい C_{6-14} アリール、任意に置換されてもよい C_{7-20} アリールアルキル又は任意に置換されてもよい5~14員ヘテロアリールを表し、各置換基は、K殻吸収端が2 KeV以上を示す元素番号15 (P) 以降の元素のうちの1つ又は複数 (例えば、I又はGd) でさらに置換されてもよい。

[0039] 本発明において、好ましくは、 R^2 、 R^5 、 R^8 及び R^{11} は、それぞれ独立して、水素原子、又は任意に置換されてもよい C_{1-10} アルキルを表し、ここで、置換基は、酸素原子、 C_{1-6} アルキル、並びに OR^{30} 及び $COOR^{30}$ (R^{30} は、水素原子、任意に置換されてもよい C_{1-6} アルキル、又は任意に置換されてもよい C_{6-14} アリールを表し、各置換基は、K殻吸収端が2 KeV以上を示す元素番号15 (P) 以降の元素のうちの1つ又は複数でさらに置換されてもよい。) からなる群から選ばれる少なくとも1つである。

[0040] R^3 、 R^6 、 R^9 及び R^{12} は、それぞれ独立して、水素原子、 C_{1-10} アルキル、 C_{2-10} アルケニル、 C_{2-10} アルキニル、 C_{6-14} アリール、 C_{7-20} アリールアルキル、5~14員ヘテロアリール、 C_{1-10} アルコキシ、 C_{2-10} アルケニルオキシ、 C_{2-10} アルキニルオキシ、 C_{6-14} アリールオキシ又は5~14員ヘテロアリールオキシを表し、前記アルキル、アルケニル、アルキニル、アリール、アリールアルキル、ヘテロアリール、アルコキシ、アルケニルオキシ、アルキニルオキシ、アリールオキシ及

びヘテロアリールオキシは、任意に、 C_{1-6} アルキル、 C_{6-14} アリール、 C_{7-20} アリールアルキル、 $-(CH_2CH_2O)_n-R^{20}$ 、 $-(CH_2)_n-OR^{20}$ 及び $-(CH_2)_n-COOR^{20}$ (n は0~6の整数であり、 R^{20} は、水素原子、 C_{1-6} アルキル又は C_{2-6} アルケニルを表す。)、並びにK殻吸収端が2 KeV以上を示す元素番号15 (P) 以降の元素のうちの1つ又は複数からなる群から選ばれる少なくとも1つで置換されてもよい。また、当該置換基は、 C_{1-6} アルキル、 C_{2-6} アルケニル、又はK殻吸収端が2 KeV以上を示す元素番号15 (P) 以降の元素のうちの1つ若しくは複数でさらに置換されてもよい。

[0041] 本発明において、好ましくは R^3 、 R^6 、 R^9 及び R^{12} は、それぞれ独立して、水素原子、任意に置換されてもよい C_{1-10} アルキル、任意に置換されてもよい C_{6-14} アリール、任意に置換されてもよい C_{6-14} アリールオキシ、又は任意に置換されてもよい5~14員ヘテロアリールを表し、各置換基は、任意に、 C_{1-6} アルキル、 C_{6-14} アリール、 C_{7-20} アリールアルキル、 $-(CH_2CH_2O)_n-R^{20}$ 、 $-(CH_2)_n-OR^{20}$ 及び $-(CH_2)_n-COOR^{20}$ (n は0~6の整数であり、 R^{20} は、水素原子、 C_{1-6} アルキル又は C_{2-6} アルケニルを表す。)、並びにK殻吸収端が2 KeV以上を示す元素番号15 (P) 以降の元素のうちの1つ又は複数からなる群から選ばれる少なくとも1つで置換されてもよく、各置換基は、 C_{1-6} アルキル、 C_{2-6} アルケニル、又はK殻吸収端が2 KeV以上を示す元素番号15 (P) 以降の元素のうちの1つ若しくは複数でさらに置換されてもよい。

[0042] R^8 及び R^9 は、例えば環化反応により飽和又は不飽和の5員環又は6員環を形成することができ、前記環は、任意に、酸素原子、 C_{1-6} アルキル及び $COOR^{20}$ (R^{20} は、前記と同様である。) からなる群から選ばれる少なくとも1つで置換されてもよい。

[0043] Mは、金属、ケイ素又は水素原子であり、前記金属は、Al、Ti、V、Cr、Mn、Fe、Co、Ni、Cu、Zn、Ga、Ge、Y、Zr、Nb、Mo、Tc、Ru、Rh、Pd、Ag、Cd、In、Sn、Sb、La、Ce、Pr、Nd、Pm、Sm、Eu、Gd、Tb、Dy、Ho、Er、Tm、Yb、Lu、Hf、Ta、W、Re、Os、Ir、Pt、Au、Hg、Tl、Pb、Bi、Po、Ac、Th、Pa、U、Np、Pu、Am、Cm、Bk、Cf、Es、Fm、Md、No及びLr から選択される。

[0044] [化11]



は単結合又は二重結合を表す。

[0045] 本発明において、K殻吸収端が2 KeV以上を示す元素番号15 (P) 以降の元素は、例えばハロゲン、ランタノイド、Y、Tc、Ru、Ba、In、Cs、Pt、Au及びTlから選ばれる。

[0046] 本発明において、「ハロゲン」とは、フッ素原子(F)、塩素原子(Cl)、臭素原子(Br)又はヨウ素原子(I)を意味し、好ましくはI又はBrである。また、「ランタノイド」は原子番号57のランタンから71のルテチウムまでの15の元素、すなわちLa、Ce、Pr、Nd、Pm、Sm、Eu、Gd、Tb、Dy、Ho、Er、Tm、Yb及びLuであり、好ましくはGdである。

[0047] 本発明において、「C₁₋₁₀アルキル」、「C₁₋₆アルキル」とは、炭素数がそれぞれ1~10個、1~6個の直鎖状又は分枝鎖状の炭化水素基を意味する。このようなアルキル基としては、例えば、メチル基、エチル基、1-プロピル基、2-プロピル基、2-メチル-1-プロピル基 (i-ブチル基)、2-メチル-2-プロピル基 (t-ブチル基)、1-ブチル基、2-ブチル基、1-ペンチル基、ヘキシル基、1-メチルブチル基、2-メチルブチル基、3-メチルブチル基などが挙げられ、好ましくは、メチル基、エチル基、1-プロピル基、2-プロピル基などである。

[0048] 「C₂₋₁₀アルケニル」、「C₂₋₆アルケニル」とは、炭素数がそれぞれ1~10個、2~6個の直鎖状又は分枝鎖状の炭化水素基を意味し、二重結合を1個有する。このようなアルケニル基としては、例えばエテニル基 (ビニル基)、1-プロペニル基、2-プロペニル基 (アリル基)、1-ブテニル基、2-ブテニル基、3-ブテニル基、ペンテニル基などが挙げられる。

[0049] 「C₂₋₁₀アルキニル」とは、炭素数が2~10個の直鎖状又は分枝鎖状の炭化水素基を意味し、三重結合を1個有する。このようなアルキニル基としては、例えばエチニル基、1-プロピニル基、2-プロピニル基、1-ブチニル基、2-ブチニル基、3-ブチニル基、ペンチニル基などが挙げられる。

[0050] 「C₆₋₁₄アリール」とは、炭素数が6~14個の芳香族炭化水素基を意味し、例

えばフェニル基、1-ナフチル基、2-ナフチル基、インデニル基などが挙げられ、好ましくはフェニル基である。

[0051] 「 $C_7 \sim C_{20}$ アリールアルキル」は、 $C_7 \sim C_{12}$ アリールアルキル基であることが好ましい。アリールアルキル基の例としては、例えばベンジル、フェネチル、ジフェニルメチル、トリフェニルメチル、1-ナフチルメチル、2-ナフチルメチル、2,2-ジフェニルエチル、3-フェニルプロピル、4-フェニルブチル、5-フェニルペンチル等を挙げることができる。

[0052] 「5～14員ヘテロアリール」とは、環を構成する原子数が5～14個であり、その原子中に1～5個のヘテロ原子（窒素原子、酸素原子又は硫黄原子）を含有する芳香族基を意味する。このようなヘテロアリール基としては、例えばフリル基、チエニル基、ピロリル基、イミダゾリル基、トリアゾリル基、テトラゾリル基、チアゾリル基、ピラゾリル基、オキサゾリル基、イソオキサゾリル基、イソチアゾリル基、フラザニル基、チアジアゾリル基、オキサジアゾリル基、ピリジル基、ピラジニル基、ピリダジニル基、ピリミジニル基などが挙げられる。

[0053] 「 C_{1-10} アルコキシ」とは、 C_{1-10} アルキルの末端に酸素原子が結合した基であり、例えばメトキシ基、エトキシ基、1-プロポキシ基（n-プロポキシ基）、2-プロポキシ基（i-プロポキシ基）、2-メチル-1-プロポキシ基（i-ブトキシ基）、2-メチル-2-プロポキシ基（t-ブトキシ基）、1-ブトキシ基（n-ブトキシ基）、2-ブトキシ基（s-ブトキシ基）、1-ペンチルオキシ基、2-ペンチルオキシ基、3-ペンチルオキシ基などが挙げられる。

[0054] 「 C_{2-10} アルケニルオキシ」は、 C_{2-10} アルケニルの末端に酸素原子が結合した基を意味する。例えば、ビニルオキシ基、1-エチルエテニルオキシ基、2-プロペニルオキシ基、1-プロペニルオキシ基、イソプロペニルオキシ基、2-メチル-1-プロペニルオキシ基などが挙げられる。

[0055] 「 C_{2-10} アルキニルオキシ」は、 C_{2-10} アルキニルの末端に酸素原子が結合した基を意味する。例えば、エチニルオキシ基、1-プロピニルオキシ基、2-プロピニルオキシ基、1-ブチニルオキシ基、2-ブチニルオキシ基、3-ブチニルオ

キシ基、1-メチル-2-プロピニルオキシ基、1-エチル-2-プロピニルオキシ基などが挙げられる。

[0056] 「 C_{6-14} アリールオキシ」は、 C_{6-14} アリールの末端に酸素原子が結合した基を意味し、例えば、フェノキシ基、1-ナフチルオキシ基、2-ナフチルオキシ基などが挙げられる。

「5~14員ヘテロアリールオキシ」は、5~14員ヘテロアリールの末端に酸素原子が結合した基を意味し、例えばピリジルオキシ基、ピラジニルオキシ基、ピリミジニルオキシ基、イミダゾリルオキシ基、ピラゾリルオキシ基、キノリルオキシ基、フルフリルオキシ基等が挙げられる。

[0057] 本発明においては、一般式(I)に示す化合物が、K殻吸収端が2 KeV以上を示す元素番号15 (P) 以降の元素のうちの1つ又は複数で置換された C_{6-14} アリール又は C_{7-20} アリールアルキルを含むものであることが好ましい。K殻吸収端が2 KeV以上を示す元素番号15 (P) 以降の元素は、上記の通りである。

このような化合物としては、例えば一般式(I)に示す化合物の R^2 が任意に置換された C_{1-10} アルキルであり、置換基として例えば OR^{31} (R^{31} は、K殻吸収端が2 KeV以上を示す元素番号15 (P) 以降の元素のうちの1つ又は複数で置換された C_{6-14} アリール又は C_{7-20} アリールアルキルを表す) が挙げられる。 R^{31} の好ましい置換基は、ハロゲン (例えばI) 又はランタノイド (例えばGd) で置換されたベンジル基である。

[0058] また、一般式(I)に示す化合物の R^3 、 R^6 、 R^9 及び R^{12} の1つ又は複数は、K殻吸収端が2 KeV以上を示す元素番号15 (P) 以降の元素のうちの1つ又は複数で置換された C_{6-14} アリール又は C_{7-20} アリールアルキルでもよく、あるいは、置換されてもよい C_{6-14} アリールオキシ、置換されていてもよい5~14員ヘテロアリール (好ましくは置換されてもよいピリジル) である。当該アリールオキシ及びヘテロアリールは、 C_{1-6} アルキル、 C_{6-14} アリール、 C_{7-20} アリールアルキル、 $-(CH_2CH_2O)_n-R^{20}$ 、 $-(CH_2)_n-OR^{20}$ 及び $-(CH_2)_n-COOR^{20}$ (n は0~6の整数であり、 R^{20} は、水素原子、 C_{1-6} アルキル又は C_{2-6} アルケニルを表す。)、並びにK殻吸収端が2 KeV以上を示す元素番号15 (P) 以降の元素のうちの1つ又は複数から

なる群から選ばれる少なくとも1つで置換されてもよい。ここで、好ましい置換基として、例えばハロゲン（例えばI）で置換されたベンジル基若しくはフェニル基が挙げられるが、 $-(CH_2)_4-COOH$ 又は $-(CH_2CH_2O)_3-CH_3$ であってもよい。

[0059] また、式(I)において、

[0060] [化12]

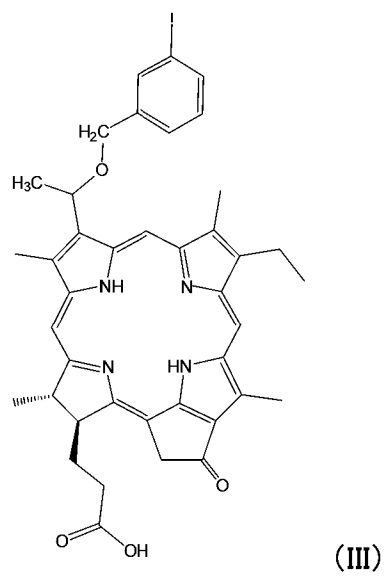
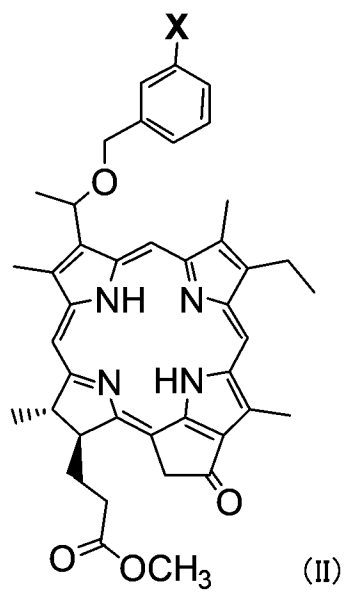
=====

は単結合又は二重結合を示すが（式Iの7位と8位、17位と18位）、単結合の場合は、7位と8位、及び17位と18位には、それぞれ R^4 及び R^5 、 R^{10} 及び R^{11} 以外に水素原子が結合している。例えば、上記位置の両者又はいずれか一方が単結合となってクロリン又はバクテリオクロリンを形成することができる。本発明においては、このようなクロリン又はバクテリオクロリンも使用することができる。

[0061] 本発明において使用される化合物としては、例えば以下の式II、III、IV、V、IX、X、XI、XII、XIII、XIV、XV及びXVIのいずれかで示される化合物が挙げられ、また、ポルフィリン骨格がVI、VII及びVIIIのいずれかで示される化合物が挙げられる。

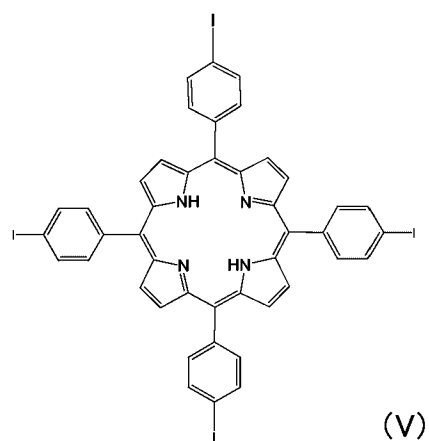
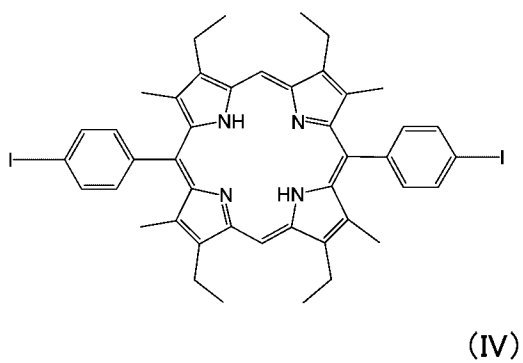
[0062]

[化13]

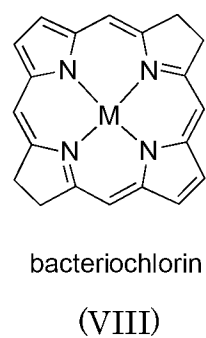
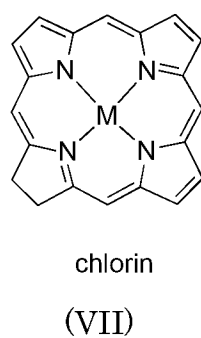
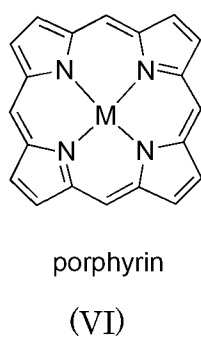


(XはI又はGdを表す。)

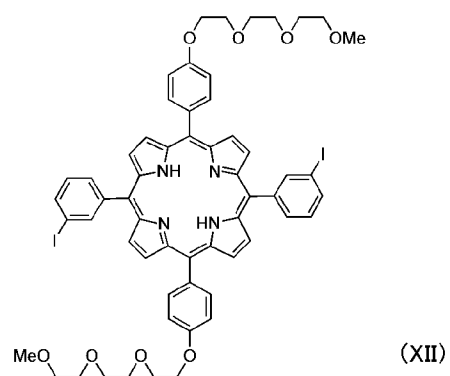
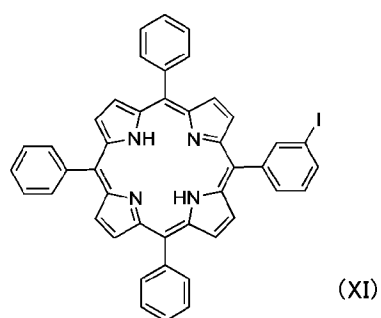
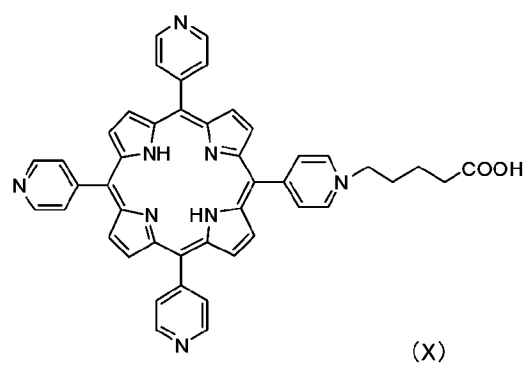
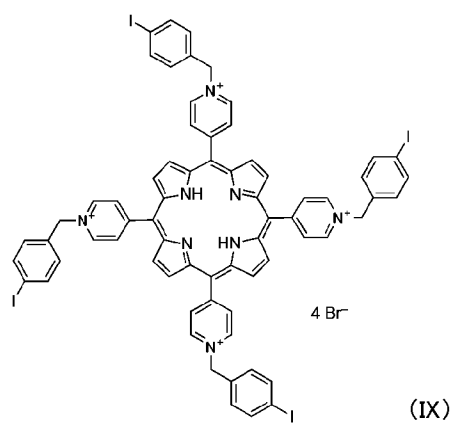
[0063] [化14]



[0064] [化15]

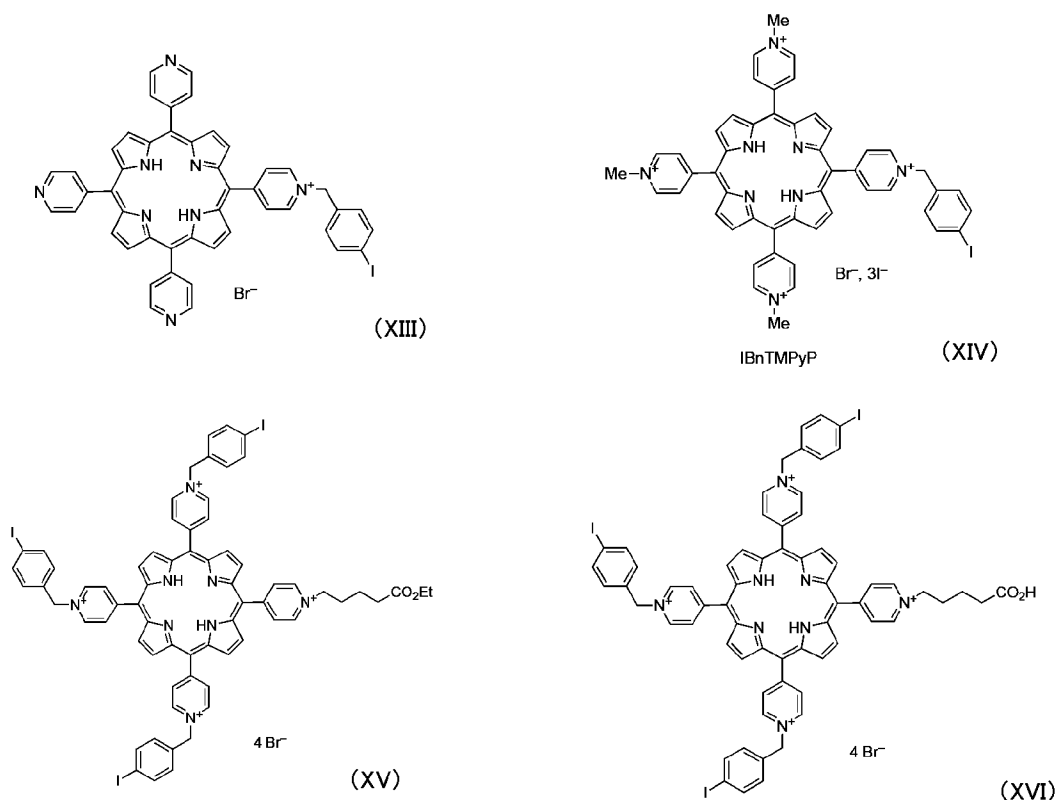


[0065] [化16]



[0066]

[化17]



なお、式XII及びXIVにおいて、「Me」とはメチル基を表し、式XVにおいて、「Et」とはエチル基を表す。

[0067] 式(I)で示される化合物（「本発明の化合物」ともいう）は、公知方法、例えばCHCl₃やCHCl₂中でアルデヒドとピロールとを酸触媒を用いて反応させ、ポルフィノーゲンを平衡的に生成させた後、酸化することにより合成することができる。あるいは、化合物は、市販品を用いてもよく、市販されている前駆化合物を用いて合成することもできる。

[0068] 上記化合物は、哺乳動物の腫瘍組織又は腫瘍細胞に集積したときに放射線を照射するように用いられる。「集積する」とは、腫瘍細胞もしくは腫瘍周辺細胞の細胞内もしくは細胞表面、又は腫瘍細胞周囲マトリックスに化合物が他の組織より高濃度に分布する状態であることを意味する。

[0069]

3. 治療方法

本発明の別の態様では、本発明の式（I）の化合物を、それを必要としている被験者に投与し、当該化合物が、哺乳動物の腫瘍組織又は腫瘍細胞に集積したときに放射線を照射する工程を含む、光子活性化療法による腫瘍の治療方法が提供される。

[0070] 当該被験者は、ヒト又は非ヒト哺乳動物である。被験者がヒトの場合は、好ましくは各種癌患者である。非ヒト哺乳動物としては、例えば、ペット、動物園の動物、家畜等であり、具体的には、ネコ、イヌ、ウマ、ウシ、ブタ、ヤギ、ヒツジ、鳥、霊長類、象又はネコ科の動物などである。

[0071] 治療の対象となる腫瘍としては特に限定されず、例えば、脳腫瘍、頭頸部癌、頸癌、顎癌、上顎癌、顎下腺癌、口腔癌（舌癌、口腔底癌、歯肉癌、頬粘膜癌、硬口蓋癌を含む）、舌下腺癌、耳下腺癌、鼻腔癌、副鼻腔癌、喉頭癌、食道癌、肺癌、乳癌、膵癌、胃癌、胆道癌、小腸または十二指腸の癌、大腸癌、膀胱癌、腎癌、肝癌、前立腺癌、子宮癌（子宮頸癌、子宮体癌を含む）、卵巣癌、甲状腺癌、咽頭癌、各種肉腫（例えば、骨肉腫、軟骨肉腫、カポジ肉腫、筋肉腫、血管肉腫、線維肉腫など）、悪性リンパ腫（ホジキン型リンパ腫、非ホジキン型リンパ腫を含む）、白血病（例えば、慢性骨髄性白血病（CML）、急性骨髄性白血病（AML）、慢性リンパ球性白血病（CLL）および急性リンパ性白血病（ALL）、リンパ腫、多発性骨髄腫（MM）、骨髄異型成症候群などを含む）、皮膚癌及びメラノーマ、神経芽細胞腫などを挙げることができる。

[0072] 本発明の化合物は、そのまま患部に適用することもできるし、あらゆる公知の方法、例えば、静脈、筋肉、腹腔内又は皮下等の注射、あるいは鼻腔、口腔又は肺からの吸入、経口投与、カテーテルなどを用いた血管内投与等により生体（対象となる細胞や臓器）に導入することもできる。さらに、本発明の化合物は、他の抗腫瘍作用を有する物質（他の抗腫瘍剤）を併用することも可能である。この場合、本発明の化合物と他の抗腫瘍剤とを同時に投与することもできるし、一方を投与後、一定時間経過後に他方を投与する方法により生体に導入することもできる。

- [0073] また、本発明の化合物は、例えば凍結乾燥等を行った後、そのまま用いてもよく、あるいは賦形剤、増量剤、結合剤、滑沢剤等公知の薬学的に許容される担体、公知の添加剤（緩衝剤、等張化剤、キレート剤、着色剤、保存剤、香料、風味剤、甘味剤等が含まれる。）などと混合することができる。
- [0074] 本発明の化合物は、経口投与又は非経口投与の態様に応じて、錠剤、カプセル剤、散剤、顆粒剤、丸剤、液剤、シロップ剤等の経口投与剤、注射剤、外用剤、坐剤、点眼剤等の非経口投与剤などの形態にすることができる。
- [0075] さらに、本発明の化合物は、溶媒和物及び光学異性体が存在する場合には、それらの溶媒和物及び光学異性体が含まれる。溶媒和物は、例えば、水和物、非水和物などを挙げることができ、好ましくは水和物である。溶媒は、例えば、水、アルコール（例えばメタノール、エタノール、*n*-プロパノール等）、ジメチルホルムアミドなどを挙げることができる。
- [0076] さらに、本発明の化合物は、酸又は塩基と薬理学的に許容される塩を形成したものでもよい。酸との塩としては、例えば、塩酸塩、臭化水素酸塩、硫酸塩、リン酸塩などの無機酸塩、あるいはギ酸、酢酸、乳酸、コハク酸、フマル酸、マレイン酸、クエン酸、酒石酸、ステアリン酸、安息香酸、メタンスルホン酸、ベンゼンスルホン酸、*p*-トルエンスルホン酸、トリフルオロ酢酸などの有機酸塩などを挙げることができる。また、塩基との塩としては、例えばナトリウム塩、カリウム塩などのアルカリ金属塩、カルシウム塩、マグネシウム塩などのアルカリ土類金属塩、トリメチルアミン、トリエチルアミン、ピリジン、ピコリン、ジシクロヘキシルアミン、*N*, *N'*-ジベンジルエチレンジアミン、アルギニン、リジンなどの有機塩基塩、あるいはアンモニウム塩などを挙げることができる。さらに、本発明の化合物は、結晶でも無結晶でもよく、また、結晶多形が存在する場合には、それらのいずれかの結晶形の単一物であっても混合物であってもよい。
- [0077] 本発明の化合物の投与量は、患者の年齢、体重、身長、性別、医学的状态、過去の医学的履歴のような因子のみならず、治療しようとする疾患の部位や程度、ターゲット部位における本発明の化合物の蓄積の程度や速度、式(1)

に示す化合物の除去速度などの因子に応じて変化させることができる。

[0078] 被験者に投与される式(I)に示す化合物の量は、X線の照射時に腫瘍細胞の損傷、細胞死又は壊死を引き起こすのに十分な量で存在する限り、特に限定されるものではない。

[0079] 例えば、投与量は、0.1mg/kg～100mg/kg、好ましくは1mg/kg～50mg/kg、より好ましくは5mg/kg～25mg/kgである。

上記化合物は、好ましくは腫瘍組織内部に均一に分配され、当該化合物の腫瘍組織集積比(Tumor-to-background ratio: T/BG ratio)は、1 : 1～500 : 1、好ましくは10 : 1～200 : 1、より好ましくは20 : 1～150 : 1である。

[0080] 本発明の化合物は、レーザー療法、陽子療法、非陽子療法、パイ中間子療法、などの療法を併用することもできる。

[0081] 上記化合物は、放射線照射前に患者に投与することができる。通常、化合物は、放射線処理の10分～96時間前、好ましくは180分～48時間前において投与することができる。化合物投与後、上記時間を経過すれば、放射線を照射して腫瘍細胞を殺傷する程度に化合物が腫瘍組織又は腫瘍細胞内に集積する。

[0082] 上記化合物が、哺乳動物の腫瘍組織又は腫瘍細胞に集積したかどうかは、公知手法、例えばポジトロン断層法(positron emission tomography; PET)、磁気共鳴画像装置(Magnetic Resonance Imaging system; MRI)等により確認することができる。

腫瘍組織内部に治療効果のある量が維持されるように、化合物は、毎日、2～6日間隔、好ましくは7日間隔、あるいは不定期間隔にて投与することができる。

[0083] 本発明において照射されるX線は、1keV～1000keVのエネルギーを有し、好ましい範囲は20keV～150keVである。

[0084] 本発明において使用される放射線は、一般に使用される放射線、例えばイオン化放射線を用いることができるが、パラメトリック単色X線であることが

好ましい。パラメトリック単色X線は、指向性が強くフレネルレンズなどでX線を集束させることができる (I. Sato, et al., Proceeding of the 5th Annual Meeting of Particle Accelerator Society of Japan and the 33th Linear Accelerator Meeting in Japan (2008) 64-68)。これにより、腫瘍へのピンポイントの照射が可能となり、より効果的に腫瘍を破壊することができる。さらに単色（単一波長）であるため、従来のイオン化放射線が白色（混合波長）であることに比べ、化合物でより吸収される吸収端のみの波長を利用できる。このことで、総被爆線量を飛躍的に減少できる。

[0085] なお、イオン化放射線は、重イオンビーム、ガンマナイフ、電子ビーム、陽子ビーム、高速中性子ビーム等から照射することができる。

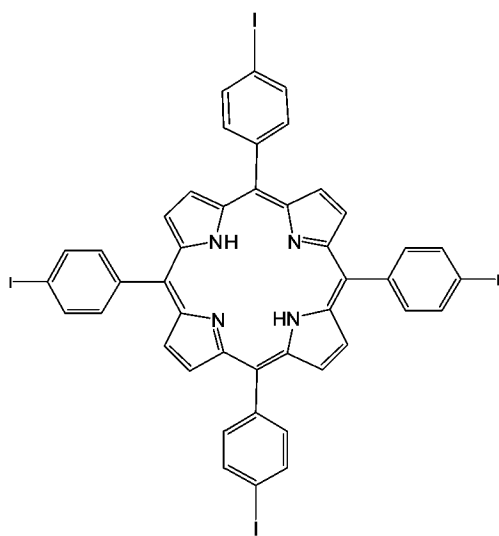
[0086] 以下、実施例により本発明をさらに具体的に説明する。但し、本発明はこれら実施例に限定されるものではない。

実施例 1

[0087] 化合物の合成

(1) 式 (V) に示す化合物

[0088] [化18]



上記化合物は以下の通り合成した。

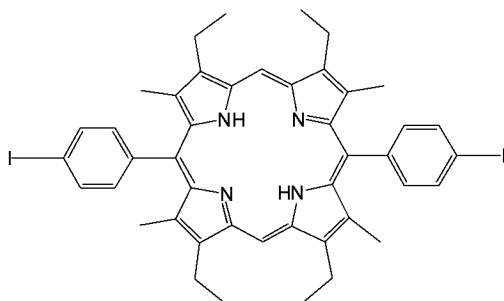
[0089] ピロール (104 μ L, 1.50 mmol) および 4-ヨードベンズアルデヒド (350 mg, 1.5 mmol) を三口フラスコにとり、容器を真空脱気後、アルゴンで容器を

満たした。この容器に CHCl_3 (150 mL)、次いで $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ (62 mL, 0.50 mmol)を加え、暗所、室温で1時間攪拌した。その後2,3-ジクロロ-5,6-ジシアノベンゾキノン (678 mg, 3.0 mmol)を加え、暗所、室温で1時間攪拌し、トリエチルアミン (69 mL)を加えた。2度のカラムクロマトグラフィー (1回目: Al_2O_3 , CHCl_3 , 1%酢酸エチル。2回目: SiO_2 , CHCl_3)を行い、得られた固体をヘキサンで洗い、ろ過して紫色固体を回収した (118 mg, 0.110 mmol, 28%)。

[0090] $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , TMS): δ (ppm) = 8.85 (8H, s, β), 8.11, (8H, d, $J = 8.3$ Hz, PhH), 7.94 (8H, d, $J = 8.3$ Hz, PhH), -2.89 (2H, s, NH). LDI-MS: $m/z = 1117.9$ ($[\text{M}]^+$). TLC (SiO_2 , CHCl_3): $R_f = 0.84$

(2) 式 (IV) に示す化合物

[0091] [化19]



ビス(4-メチル-3-エチル-2-ピロール)メタン (446 mg, 2.0 mmol) と4-ヨードベンズアルデヒド (464 mg, 2.0 mmol) を三口フラスコにとり、容器を真空脱気後、アルゴンで満たした。この容器に CH_2Cl_2 (350 mL)を加え、トリフルオロ酢酸 (ピペットで9滴)を加え、暗所、室温で20時間攪拌した。その後クロラニル (739 mg, 3.00 mmol)を加え、暗所、室温で6時間還流した後、トリエチルアミン (4 mL)を加えた。反応溶液を50 mLまで濃縮した後、フロリジルを10 g加えて溶媒を留去した。得られた粉末を SiO_2 カラムの上部に入れ、カラムクロマトグラフィー (SiO_2 , CHCl_3)を行い、分離した生成物をメタノールで洗ってろ過し、紫色固体を得た (254 mg, 0.29 mmol, 29%)。

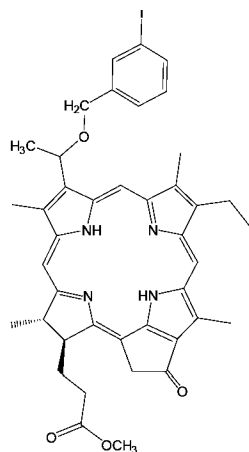
[0092] $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): δ (ppm) = 10.23 (2H, s, meso), 8.10 (4H, d, $J = 8.2$ Hz, PhH), 7.83 (4H, d, $J = 8.2$ Hz, PhH), 4.02 (8H, q, $J = 7.7$ Hz, CH_2),

2.53 (12H, s, CH₃), 1.77 (12H, t, J = 7.7 Hz, CH₃), -2.48 (2H, s, NH).

LDI-MS: m/z = 883.2 ([MH]⁺). TLC (SiO₂, CH₂Cl₂): R_f = 0.27.

(3) 式 (II) (X=I) に示す化合物 (531化合物)

[0093] [化20]



Chemical Formula: C₄₁H₆₁N₉O₄
Molecular Weight: 782.709

上記化合物531は以下の通り合成した

メチルフェオフォルビドAは、例えば和光純薬等より購入可能である。メチルフェオフォルビドA 500mg (和光純薬) をコリジン100mLに溶解させ、窒素雰囲気下で2時間加熱還流を行った。反応後、減圧蒸留によりコリジンを除去し、残渣をアルミナカラムに乗せ、塩化メチレンで分離精製した。溶出してきた目的分画を集め、減圧蒸留にて塩化メチレンを除去した後、残渣をメタノール/塩化メチレンで再結晶することでメチルピロフェオフォルビドAを合成した (455mg、収率91%)。メチルピロフェオフォルビドA 100mgを30%臭化水素/酢酸2mLに加え、室温で2時間攪拌した。反応後、真空ポンプを用い減圧蒸留にて溶媒を除去し、残渣をm-ヨードベンジルアルコール5mLに溶解し、さらに脱水塩化メチレン10mL と無水炭酸カリウム40mgを加えた。反応溶液を窒素雰囲気下、室温で45分間攪拌し、反応後、塩化メチレン200mLを加えて分液ロートに移し、飽和炭酸水素ナトリウム100mLを加えて分液した。有機層を回収後、水200mLで分液を2回繰り返した。有機層を回収し、硫酸ナトリウム

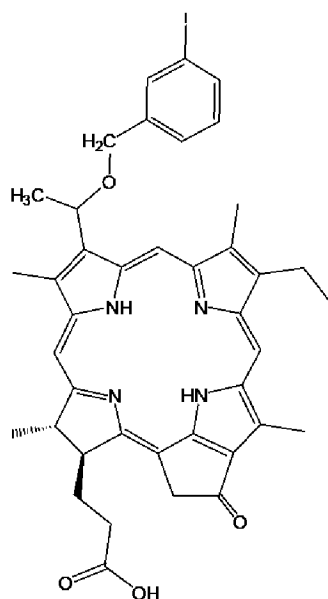
を加え乾燥させた。減圧蒸留で溶媒を除去し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーにかけ、20%ヘキサン/酢酸エチルにて*m*-ヨードベンジルアルコールを除き、有機層を50%ヘキサン/酢酸エチルで回収した。回収した有機層を減圧蒸留にて溶媒を除去することで化合物531を115mg、収率80%で得た。

^1H NMR (CDCl_3): δ 9.76, 9.55 and 8.56 (all s, 1H, meso-H), 7.76 (s, 1H, ArH), 7.64 (d, $J = 6.8$, 1H, ArH), 7.30 (d, $J = 8.0$, 1H, ArH), 7.05 (t, $J = 8.2$, 1H, ArH), 6.00 (q, $J = 6.9$, 1H, 3^1-H), 5.28 (d, $J = 19.8$, 1H, 13^2-CH_2), 5.13 (d, $J = 19.8$, 1H, 13^2-CH_2), 4.70 (d, $J = 12.0$, 1H, OCH_2Ar), 4.56 (dd, $J = 3.2, 11.6$, 1H, OCH_2Ar), 4.48–4.53 (m, 1H, 18-H), 4.30–4.33 (m, 1H, 17-H), 3.72 (q, $J = 8.0$, 2H, $8\text{-CH}_2\text{CH}_3$), 3.69, 3.61, 3.38 and 3.21 (all s, all 3H, for $17^3\text{-CO}_2\text{CH}_3$ and $3 \times \text{ring CH}_3$), 2.66–2.74, 2.52–2.61, and 2.23–2.37 (m, 4H, 17^1 and 17^2-H), 2.18 (dd, $J = 2.8$, 6.4, 3H, 3^2-CH_3), 1.83 (d, $J = 8.0$, 3H, 18-CH_3), 1.72 (t, $J = 7.6$, 3H, $8\text{-CH}_2\text{CH}_3$), 0.41 (brs, 1H, NH), –1.71 (brs, 1H, NH). HRMS for $\text{C}_{41}\text{H}_{43}\text{N}_4\text{O}_4$ 1: 782.2329 (calcd), 783.2407 (found, MH^+).

(4) 式(III)に示す化合物 (717化合物)

[0094]

[化21]



Chemical Formula: $C_{40}H_{41}N_4O_4$
Molecular Weight: 768.682

上記化合物717は以下の通り合成した

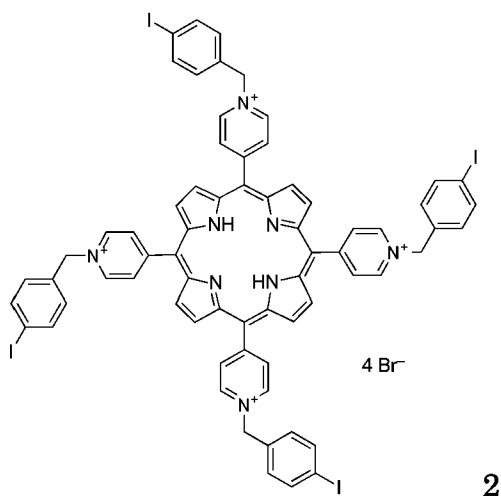
200mgの化合物531をTHF 25mL とメタノール8mLの混合溶媒に溶解し、水酸化リチウム400mgと水12mLを加え、アルゴン雰囲気下、室温で2時間攪拌した。反応溶液を2%酢酸水溶液で中和し、塩化メチレン100mLで分液、抽出した。有機層を回収し、さらに水100mLで2回分液した。有機層を回収し、硫酸ナトリウムを加え乾燥させ、塩化メチレンを減圧蒸留にて濃縮し、ヘキサンにて再沈殿を行い、化合物717を185mg、収率95%で得た。

[0095] $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) : δ 9.72, 9.44 and 8.53 (all s, 1H, meso-H); 7.74 (s, 1H, ArH); 7.61 (d, $J=8.0$, 1H, ArH); 7.28 (m, 1H, ArH); 7.03 (m, 1H, ArH); 5.95 (q, $J=6.8$, 1H, 3^1-H); 5.25 (d, $J=20.0$, 1H, 13^2-CH_2); 5.10 (d, $J=20.0$, 1H, 13^2-CH_2); 4.65 (dd, $J=4.0, 12.0$, 1H, OCH_2Ar); 4.50 (m, 2H, OCH_2Ar & 18-H); 4.28 (d, $J=7.6$, 1H, 17-H); 3.67 (q, $J=7.6$, 2H, $8\text{-CH}_2\text{CH}_3$); 3.58, 3.34 and 3.18 (all s, all 3H, for $3 \times \text{ring CH}_3$); 2.55–2.72 and 2.20–2.35 (m, 4H, 17^1 and 17^2-H); 2.15 (m, 3H, 3^1-CH_3); 1.78 (d, $J=7.6$, 3H, 18-CH_3); 1.68 (t, $J=7.2$, 3H, $8\text{-CH}_2\text{CH}_3$); 0.02 (brs, 1H, NH); –1.70 (brs, 1H, NH). HRMS for $\text{C}_{40}\text{H}_{41}\text{N}_4\text{O}_4$: 768.2174 (Calculated); 769.2207

(Found, MH⁺).

(5) 式IXに示す化合物

[0096] [化22]



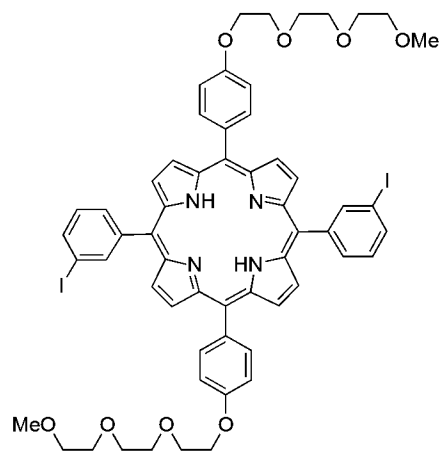
80 ° Cに加熱した5, 10, 15, 20-tetrapyridylporphyrin (30 mg, 0.049 mmol) のDMF溶液 (15 mL) にp-iodobenzyl bromide (1.9 g, 6.4 mmol)を加え、アルゴン下で2時間還流した。この赤褐色懸濁液を室温まで冷まし、ジエチルエーテル (50 mL) を加えた。沈殿を遠心分離で集め、クロロホルムとメタノールで洗い、目的物2(式IX)を得た (57 mg, 0.032 mmol, 65%)。

[0097] ¹H-NMR (DMSO-d₆): δ (ppm) =9.65 (8H, d, J = 5.5 Hz, o-Py), 9.21 (8H, bs, β), 9.02 (8H, d, J = 6.4 Hz, m-Py), 8.02 (8H, d, J = 8.3 Hz, m-benzyl), 7.72 (8H, d, J = 8.3 Hz, o-benzyl), 6.18 (8H, s, CH₂), -3.13 (2H, bs, NH). LDI-MS: m/z = 1051 (C₅₄H₃₇I₂N₈ [M-2(Ph-CH₂-I)-H]⁺). ES-HRMS :m/z calcd for C₆₈H₄₉I₄N₈ [M-H]³⁺, 495.0086; found, 495.0070; calc for C₆₁H₄₄I₃N₈ [M- Ph-CH₂-I]³⁺, 423.0274; found, 423.0262.

(6) 式XIIに示す化合物

[0098]

[化23]



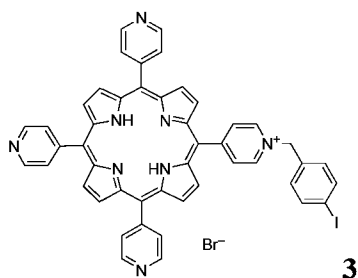
1

3-iodophenyldipyrromethane (0.80 mg, 2.3 mmol)と4-(1,4,7,10-tetraoxaundecyl)benzaldehyde (620 mg, 2.3 mmol)のクロロホルム溶液 (230 mL)をアルゴンで25分脱気し、BF₃OEt₂ (28.5 μ L, 0.23 mmol)を加え1時間撹拌した。p-クロラニル(841 mg, 3.4 mmol)を加え、さらに23時間撹拌した後、トリエチルアミン (28.5 μ L, 0.20 mmol)を加え、さらに20分撹拌した。褐色溶液を10 mL程度まで濃縮し、フロリジル(10 g)を加え、溶媒を留去して得られた褐色粉末をシリカゲルの上に敷き、クロロホルム:メタノール= 50:1で溶出した。溶媒を留去して得られた紫色固体をメタノールで洗い、目的物を得た (30 mg, 0.022 mmol, 2%)。

[0099] ¹H-NMR (CDCl₃): δ (ppm) = 8.89 (4H, d, J = 4.6 Hz, β), 8.81 (4H, d, J = 4.6 Hz, β), 8.59 (2H, s, phenyl), 8.18 (2H, d, J = 6.9 Hz, phenyl), 8.11 (6H, t, J = 8.4 Hz, phenyl), 7.48 (2H, t, J = 7.6 Hz, phenyl), 7.30 (4H, d, J = 8.4 Hz), 4.43 (4H, t, J = 4.6 Hz, CH₂), 4.06 (4H, t, J = 5.3 Hz, CH₂), 3.89 (4H, t, J = 4.6, CH₂), 3.79 (4H, t, J = 6.1 Hz, CH₂), 3.74 (4H, t, J = 4.6 Hz, CH₂), 3.62 (4H, t, J = 4.6 Hz, CH₂), 3.42 (6H, s, CH₃), -2.81 (2H, s, NH). APCI-HRMS: m/z calcd for C₅₈H₅₆I₂N₄O₈[MH]⁺, 1191.2221; found, 1191.2222. TLC (クロロホルム : メタノール = 20 : 1): R_f = 0.17.

(7) 式XIIIに示す化合物

[0100] [化24]

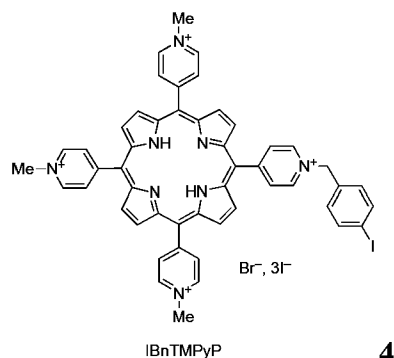


80 ° Cに温めた5, 10, 15, 20-tetrapyridylporphyrin (92 mg, 0.13 mmol) クロロホルム/エタノール(30 mL, 3/1)溶液にp-iodobenzyl bromide (533mg, 1.8 mmol)を加え、アルゴン下で2時間還流した。この褐色溶液を直接カラムクロマトグラフィー (SiO₂, クロロホルム/メタノール=4/1-2/1)にかけ、目的物3(式XIII)を得た (48 mg, 0.052 mmol, 40%)。

[0101] ¹H-NMR (CDCl₃/CD₃OD): δ (ppm) =9.51 (2H, d, J = 6.4 Hz, m-Py), 9.43 (6H, d, J = 5.5 Hz, o-Py), 8.96 (8H, bs, β), 8.89 (2H, d, J = 6.4 Hz, o-Py), 8.27 (6H, d, J = 5.5 Hz, m-Py), 8.01 (2H, d, J = 8.3 Hz, m-benzyl), 7.63 (2H, d, J = 8.3 Hz, o-benzyl), 6.20 (2H, s, CH₂). ESI-HRM S:m/z calcd for C₄₇H₃₂IN₈ [M]⁺, 835.1795, found, 835.1779.

(8) 式XIVに示す化合物

[0102] [化25]



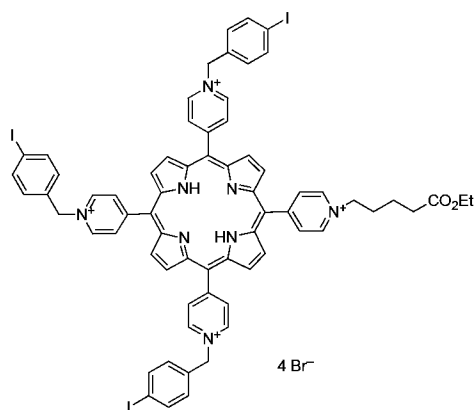
80 °Cに温めたポルフィリン3 (式XIII) (26 mg, 0.028 mmol)のDMF溶液 (15 mL) に ヨードメタン(2.1 mL, 34 mmol)を加え、アルゴン下、100 ° Cで2

時間攪拌した。この褐色溶液を室温まで冷まし、ジエチルエーテル (70 mL) を加え、生じた沈殿を遠心分離で分け、クロロホルムで数回洗い、目的物4 (式XIV) を得た (31 mg, 0.023 mmol, 82%)。

[0103] $^1\text{H-NMR}$ (DMSO-d_6): δ = 9.64 (2H, d, J = 6.4 Hz, m-Py), 9.49 (6H, d, J = 6.4 Hz, m-Py,), 9.26 (2H, bs, β), 9.20 (6H, bs, β), 9.04 (2H, d, J = 7.3 Hz, o-Py), 9.00 (6H, d, J = 6.4 Hz, o-benzyl), 8.02 (2H, d, J = 8.3 Hz, m-benzyl), 7.74 (2H, d, J = 8.3 Hz, o-benzyl), -3.12 (2H, bs, NH). ESI-HRMS: m/z calcd for $\text{C}_{43}\text{H}_{35}\text{N}_8$ $[\text{M}-(\text{Ph-CH}_2\text{-I})-\text{Br-3I}]^+$, 663.2985; found, 663.2967; calcd for $\text{C}_{50}\text{H}_{41}\text{I}_1\text{N}_8$ $[\text{M-Br-3I}]^{2+}$, 440.1250; found, 440.1217; calcd for $\text{C}_{42}\text{H}_{32}\text{N}_8$ $[\text{M-2CH}_3\text{-2(C}_7\text{H}_6\text{I)-Br-3I}]^{2+}$, 324.1375, found, 324.1361.

(9) 式XVに示す化合物

[0104] [化26]



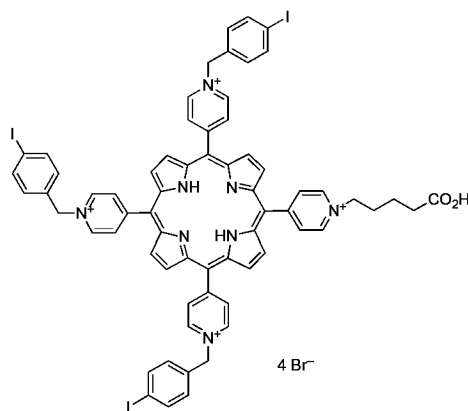
80 ° Cに温めた5-(N-(4-(ethoxycarbonyl)butyl)pyridinium)-10,15,20-triiodopyridylporphyrin bomide (31 mg, 0.037 mmol)のDMF溶液 (15 mL)にp-iodobenzylbromide (1.4 g, 4.6 mmol)を加え、アルゴン下で1.5 時間還流した。この褐色溶液を室温まで冷まし、ジエチルエーテル (100 mL)を加え、生じた沈殿を遠心分離で分け、クロロホルムで数回洗い、目的物5 (式XV) を得た (36 mg, 0.021 mmol, 57%)。

[0105] $^1\text{H-NMR}$ (DMSO-d_6): δ (ppm) =9.66 (6H, d, J = 6.4 Hz, m-Py), 9.58 (2H,

d, $J = 6.4$ Hz, m-Py), 9.23 (8H, bs, β), 9.03 (8H, m, o-Py), 8.02 (6H, d, $J = 8.3$ Hz, o-benzyl), 7.73 (6H, d, $J = 8.3$ Hz, m-benzyl), 6.19 (6H, s, CH_2), 4.99 (2H, t, $J = 7.8$ Hz, CH_2), 4.15 (2H, q, $J = 7.3$ Hz, CH_2), 2.57 (2H, q, $J = 7.8$ Hz, CH_2), 2.31 (2H, q, $J = 7.3$ Hz, CH_2), 1.87 (2H, q, $J = 7.3$ Hz, CH_2), 1.26 (2H, t, $J = 7.3$ Hz, CH_3), -3.12 (2H, bs, NH). ESI-HRMS: m/z calcd for $\text{C}_{61}\text{H}_{49}\text{I}_2\text{N}_8\text{O}_2[\text{M}-\text{C}_7\text{H}_6\text{I}-3\text{Br}]^+$, 1179.2068, found, 1179.2063; calcd for $\text{C}_{54}\text{H}_{44}\text{IN}_8\text{O}_2[\text{M}-2(\text{C}_7\text{H}_6\text{I})-\text{H}-2\text{Br}]^+$, 963.2632, found, 963.2606.

(10) 式XVIに示す化合物

[0106] [化27]



ポルフィリン5 (式XV) (30 mg, 0.017 mmol)の1 N HCl水溶液 (3.5 mL)を1.5 時間還流した。溶媒を留去して生じる緑色固体をアセトンとクロロホルムで洗い、目液物6 (式XVI) を得た (25 mg, 0.015 mmol, 88%)。

[0107] $^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD): δ (ppm) = 9.49 (8H, t, $J = 6.4$ Hz, m-Py), 9.15 (8H, bs, β), 8.98 (8H, t, $J = 6.4$ Hz, o-Py), 8.01 (6H, d, $J = 8.3$ Hz, o-benzyl), 7.63 (6H, d, $J = 7.3$ Hz, m-benzyl), 6.18 (6H, s, CH_2), 5.03 (2H, t, $J = 7.3$ Hz, CH_2), 2.53 (2H, t, $J = 7.3$ Hz, CH_2), 2.40 (2H, q, $J = 7.3$ Hz, CH_2), 1.94 (2H, q, $J = 7.3$ Hz, CH_2). ESI-HRMS: m/z calcd for $\text{C}_{52}\text{H}_{41}\text{IN}_8\text{O}_2^+ [\text{M}-2(\text{C}_7\text{H}_6\text{I})-4\text{Br}-\text{H}]^+$, 935.2313; found, 935.2308.

実施例 2

[0108] 細胞増殖抑制試験

粉末の531又は717化合物を5mg取り2mlチューブに入れた。溶媒としてDimethyl sulfoxide minimum 99.5% GC(DMSO)で溶いて10mg/mlとした。これをダルベッコ変法イーグル培地(DMEM)やMEM培地(MEM)などで希釈し終濃度を100 μ g/mlおよび10 μ g/mlとした。

[0109] HeLa細胞株(ヒト子宮頸がん細胞株human cervical adenocarcinoma)やT24細胞株(ヒト膀胱がん細胞株human bladder transitional-cell carcinoma)などを96穴プレート、12穴プレート又は6穴プレートに任意の細胞数で播種し、531化合物が溶解した培地にて24~48時間細胞培養を行い、細胞に531を取り込ませた。

十分な数の細胞が培地に接着したことを確認した後に、プレートにパラメトリック単色X線あるいは白色X線を照射した。照射後、24時間以上の任意の時間培養した後に、細胞をトリプシンではがしトリパンブルーで染色し、生細胞のみをカウントした。

[0110] また、10cm径の培養皿(dish)に細胞を播種し、531化合物を溶解した培地で任意の時間培養し、細胞に531を取り込ませた。

[0111] 十分な数の細胞が培地に接着したことを確認した後に細胞をトリプシンではがし、任意の細胞数を2ml チューブに培地とともに浮遊させた。このチューブにパラメトリック単色X線あるいは白色X線を照射した。照射後、細胞を6穴プレートなどに播種し、十分な数の細胞が培地に接着したことを確認した後にトリプシンではがし、トリパンブルーで染色し生細胞のみをカウントした。

[0112] 任意の細胞数(100~1000個)を10cm dishに播種し任意の終濃度となるように531、717を溶解した培地で培養した。細胞が生着したことを確認した時点でパラメトリック単色X線あるいは白色X線を照射した。

[0113] その後、コロニーの形成を確認した時点でcolony formation assayを行った。

[0114]

パラメトリックX線照射方法

日本大学量子科学研究所電子線利用研究施設（LEBRA、Laboratory for Electron Beam Research and Application）において、線形加速器（LINAC）で加速された電子ビームを、パラメトリックX線（PXR、Parametric X-ray）の光源として使用した。PXRは、相対論的な速度の荷電粒子が結晶のような周期構造を持つ物質に入射したときに生じる電磁放射現象を利用して作製した。PXRは結晶に入射する電子線の入射角によって発生するX線の波長が一義的に定まるため、幅広い波長範囲で任意のX線波長を選択することが可能である。

[0115] LEBRAでは、線形加速器によって100 MeVに加速した電子をシリコン（Si）単結晶に照射してPXRを発生させた。波長角度依存性のあるX線ビームを常に同一光路に導くことで、LEBRA-PXRの可変波長範囲は5～36 KeV（2.48～0.344 Å）であり、理論的には22Ti（K吸収端：4.965 KeV）から55Cs（K吸収端：35.968 KeV）までの元素のK吸収端で解析できる。また、L, M, N, 吸収端を利用すればさらに高位の元素を解析できる。

[0116] LEBRA-PXRは、LINACで加速した電子線の使用により、マイクロマクロパルス構造を有するため、実際にX線が照射されている実照射時間はシャッター開放時間の約1/10万であることを意味している（例、露光時間は60分、実照射時間は36ミリ秒）。LEBRA-PXRのX線ビームは $1/\gamma$ の角度発散を有するため、光源（約0.5 mm（V）×1 mm（H））から7 m下流のX線取り出し口におけるビームサイズがφ70 mm以上（E = 17.5 keV）のX線照射視野となり、特別な光学素子を用いてX線ビームを走査させることなく照射できる。

[0117] 本実験ではヨウドのK吸収端33.17 KeVの照射を行った。

[0118] 結果を図1～5に示す。

[0119] 図1, 2, 4, 5の結果はダネットの多重比較で解析した。図3の結果はt検定で解析した。

[0120] 図1では、5000個のHeLa細胞を96穴プレートに播種し、531を3 μg/mlの濃

度で投与した群及び非投与群（531非投与照射群）を作製し、これらを24時間培養した。その後ヨード元素のK吸収端である33.17keVのパラメトリックX線を1時間（実照射時間は36ミリ秒）照射した。この際531投与群はさらに鉛版の下にアルミ板を置いた遮蔽の有無で2群（531投与遮蔽群、531投与照射群）に分けて行なった。

[0121] 照射後24時間培養し、WST-8 assayにより高感度水溶性ホルマザンを生成する新規テトラゾリウム塩WST-8を発色基質として、ホルマザンの450 nmの吸光度を直接測定することにより、生細胞数を、細胞数と生成するホルマザンの量は直線的な比例関係にあることより計測した。

[0122] 図1において、棒グラフは、左より531投与遮蔽群、531非投与照射群および531投与照射群である。531投与照射群は、531投与遮蔽群に比べ12%生細胞数が有意に減少し（ $P=0.985$ ）、531非投与照射群に比べ9%生細胞数が減少した（ $P=0.903$ ）。

[0123] 図2では、5000個のHeLa細胞を96穴プレートに播種し、531を3 μ g/mlの濃度で投与した群及び非投与群（531非投与照射群）を作製し、これらを24時間培養した。その後ヨード元素のK吸収端である33.17keVのパラメトリックX線を1時間照射した、この際531投与群はさらに鉛版の下にアルミ板を置いた遮蔽の有無で2群（531投与遮蔽群、531投与照射群）に分けて行なった。照射後66時間培養し、トリパンブルーで染色し顕微鏡下で生細胞数を計測した。

[0124] 図2において、棒グラフは、左より531投与遮蔽群、531非投与照射群および531投与照射群である。531投与照射群は、531投与遮蔽群に比べ44%生細胞数が減少し（ $P=0.467$ ）、531非投与照射群に比べ56%生細胞数が減少した（ $P=0.181$ ）。

[0125] 図3では、10000個のHeLa細胞を12穴プレート2枚に播種し、各プレートのランダムな4穴ずつに531をそれぞれ0 μ g/ml、3 μ g/ml又は6 μ g/mlの濃度で投与した3群を作製し、48時間培養した。その後ヨード元素のK吸収端である33.17keVのパラメトリックX線を、用意したプレート1枚に1時間照射し、他

の一枚は照射同一条件で照射位置に一時間静置したが照射は行なわなかった。その後それぞれのプレートを48時間培養して生細胞数をトリパンブルーで染色し、顕微鏡下で生細胞数を数えた。

[0126] 図3において、棒グラフは左から順に、

531 非投与非照射群、

3 μ g/ml 531 投与非照射群、

6 μ g/ml 531 投与非照射群、

531 非投与照射群、

3 μ g/ml 531 投与照射群、および

6 μ g/ml 531 投与照射群である。

[0127] 531 非投与時に生細胞数は照射により74%に減少 ($P=0.121$)、3 μ g/ml 531 非投与時に生細胞数は照射により62%に減少 ($P=0.275$)、6 μ g/ml 531 非投与時に生細胞数は照射により50%に減少した ($P=0.05$)。つまり濃度依存性に生細胞数が減少した。

[0128] 図4では、10000個のHeLa細胞を12穴プレートに播種し、531を6 μ g/mlの濃度で加え24時間培養した。その後、ヨード元素のK吸収端 (33.17keV) より1.2KeV低い31.97KeV及び1.2KeV高い34.37KeVのエネルギーを照射野の中心に設定し、これらの2群に対してPXR照射を1時間行なった。照射後に、48時間培養して生細胞数をトリパンブルーで染色し、生細胞数を顕微鏡下で数え、非照射群と比較した。

その結果、6 μ g/ml 531 投与非照射群に比べ31.97KeV照射群は27%生細胞数が減少し ($P=0.543$)、34.37KeV照射群は47%細胞数が減少した ($P=0.220$)。

[0129] 図5では、40000個のT24細胞を6穴プレートに播種し、531を6 μ g/mlの濃度投与群及び非投与群 (531 非投与照射群) を作製し、これらを24時間培養した。その後ヨード元素のK吸収端である33.17keVのパラメトリックX線を1時間照射した。この際、非投与群はさらに鉛版の下にアルミ板を置いた遮蔽の有無で2群 (非投与遮蔽群、非投与照射群) に分けて行なった。照射後7

2時間培養し、トリパンブルーで染色して顕微鏡下で生細胞数を計測した。

[0130] 図5において、棒グラフは、左より非投与遮蔽群、非投与照射群および6 $\mu\text{g/ml}$ 531投与照射群である。

[0131] 非投与照射群は非投与遮蔽群に比べ42%生細胞数が減少し ($P=0.520$)、照射群では531投与により84%生細胞数が減少した ($P=0.440$)。

[0132]

これらの結果をまとめると、ヨウドのK吸収端である33.17 KeVのPXRを36ミリ秒の実照射時間で照射する実験により、ポルフィリン誘導体にヨウドを付加した化合物の投与を行ったヒト子宮頸がん細胞株および膀胱癌細胞株は、照射後48時間から66時間の培養後に有意な生細胞数の減少を起した。また、32 KeVに比べK殻吸収端より高くなることで細胞数が減少が強くなる傾向が認められた。

[0133] 従って、本発明の方法は、低エネルギー単一波長のX線を用いて、吸収端付近を利用したポルフィリン誘導体によるがん細胞の生細胞数の減少を導くことで、がん細胞の細胞死を導くことができるため、極めて有用であることが示された。

実施例 3

[0134] 細胞増殖抑制試験

<WST-8>

T24細胞株(ヒト膀胱癌細胞株human bladder transitional-cell carcinoma)、MCF7細胞株(ヒト乳癌細胞株human mammary gland adenocarcinoma)などを96wellプレートに500個/wellの細胞数を播種した。

[0135] 24時間細胞培養を行い十分数の細胞が培地に接着したことを確認し531化合物、717化合物、HPPH-Gd化合物(式IIIにおいてXがGdの化合物)(特開2004-26828(P2004-26828A))が溶解した培地を終濃度が3 $\mu\text{g/ml}$ になるように添加した。

[0136] 24時間細胞培養を行い、細胞にこれらの化合物を取り込ませた。その後、培地を化合物なしの新鮮な培地に交換し、4MeVの白色X線(吸収線量で2Gy)

を、MEVATRON M2/6740 (Toshiba Medical Systems Co., Tochigi, Japan) を線源として、あるいは33KeVの白色X線（吸収線量で2Gy）を、MBR-1520R-3 (Hitachi Medical Co., Tokyo, Japan) を線源として照射した。72時間後にWST-8 assayにより生細胞数を計測した。

<colony formation assay>

HeLa(ヒト子宮頸癌細胞株human cervical adenocarcinoma)、T24細胞株(ヒト膀胱癌細胞株human bladder transitional-cell carcinoma)などを12wellプレートに5000～10000個/wellの細胞数で播種した。

- [0137] 48～72時間細胞培養を行なって十分な数の細胞が培地に接着したことを確認し、531化合物が溶解した培地を終濃度が3～6 μ g/mlになるように添加した。

24時間細胞培養を行い、細胞にこれらの化合物を取り込ませた。その後、培地を化合物なしの新鮮な培地に交換し、33KeVの白色X線（吸収線量で2～6Gy）を、MBR-1520R-3 (Hitachi Medical Co., Tokyo, Japan) を線源として照射した。

- [0138] 照射直後に細胞をトリプシンではがしトリパンブルーで染色し生細胞を1000個/plateずつ10cm dishに播種した。

- [0139] 7～17日細胞培養を行いコロニーの形成を確認した時点でcolony formation assayを行った。

<結果>

結果を図6～8に示す。

- [0140] X線照射により、531、717又はHPPH-Gdが培地に添加された細胞は、コロニー数又は生細胞数の減少が認められた。

実施例 4

- [0141] 還元発色試薬WST-8を用いた比色定量による生細胞数の評価

還元発色試薬WST-8 [2-(2-methoxy-4-nitrophenyl)-3-(4-nitrophenyl)-5-(2, 4-disulfophenyl)-2H-tetrazolium, monosodium salt] を用いて、以下の通り実験を行なった。

<実験手法>

- (i) 96wellプレートに細胞 (T24) を5000cells/well播種。
- [0142] (ii) 24時間後にポルフィリン誘導体(717)を $3\mu\text{g/ml}$ になるように添加。
- [0143] (iii) 24時間後に培地を吸引し5Gyの白色X線を照射。
- [0144] (iv) 48時間後にWST-8により生細胞数の評価。

<結果>

結果を図9に示す。

- [0145] 培地のみのコントロール群に比較して717を添加した群で有意に生細胞数の低下が確認された。
- [0146] 従って、ポルフィリン誘導体にX線を照射すると放射線増感作用が得られることが示された。

実施例 5

- [0147] Colony formation assayによる細胞生存率の評価

<実験手法>

- (i) 10cm dishに細胞 (T24) を1000cells/dish播種。
- [0148] (ii) 24時間後にポルフィリン誘導体(717)を $3\mu\text{g/ml}$ になるように添加。
- [0149] (iii) 24時間後に培地を吸引し白色X線を照射。
- [0150] (iv) 7~9日後に固定しディフ・クイック染色によりコロニー数の評価。

<結果>

結果を図10に示す。

- [0151] 培地のみ、及びDMSOを添加した培地(DMSO終濃度0.1%)のコントロール群に比較して、717を添加した群で生存率低下が確認された。T24では2Gyという低線量の照射でコロニーが形成されなくなった。
- [0152] 従って、ポルフィリン誘導体にX線を照射すると増殖能が抑制されることが考えられた。

実施例 6

- [0153] 蛍光プローブ試薬Aminophenyl Fluorescein(APF)による活性酸素の測定

APFは中性水溶液中でほとんど蛍光を持たないが、これらのプローブが強い

活性を持つ活性酸素種と反応すると強蛍光性化合物であるフルオレセインが生成し、蛍光強度の増大が観測される。

[0154] そこで、本発明の化合物を添加してX線を照射した群において活性酸素が生じるかどうかを調べるため、以下の実験を行なった。

<実験手法>

(i) 96well plateに培地、培地にポルフィリン誘導体 (HPPH-Gd、717) および0.1%DMSOを3 μ g/mlになるように添加。

[0155] (ii) Aminophenyl Fluorescein (APF) を5 μ Mになるように添加。

[0156] (iii) 5Gyの白色X線を照射。

[0157] (iv) 暗所で37°C、30分間インキュベーション。

[0158] (v) 励起波長485nm、蛍光検出535nmで発光測定

<結果>

結果を図11に示す。

[0159] 図11において、上パネルはT24細胞、下パネルはMCF細胞について、活性酸素の生成量を示した図である。

[0160] T24細胞を含む培地(MEM)、MCF7細胞を含む培地(RPMI1640)、及びDMSOを添加した培地(DMSO終濃度0.1%)のコントロール群よりも、717化合物又はHPPH-Gdを培地に添加した群において、より発光の増加が確認された。

[0161] すなわち、717又はHPPH-Gd化合物を含有する試験群にX線を照射すると活性酸素が発生することが確認された。

[0162] 従って、ポルフィリン誘導体の放射線増感作用は活性酸素の発生に基くものであると考えられた。

産業上の利用可能性

[0163] 本発明により、放射線を利用した光線力学療法、及び当該療法に使用される化合物が提供される。本発明によれば、従来行われていた癌の診断とともに、同一診断薬剤化合物を用いて診断と治療をセットにして行うことができる。また低エネルギーの単一波長を用いてさらに術中に腫瘍細胞を照射した後外科手術を行うことで、腫瘍細胞の残存、癌の再発を予防できる治療

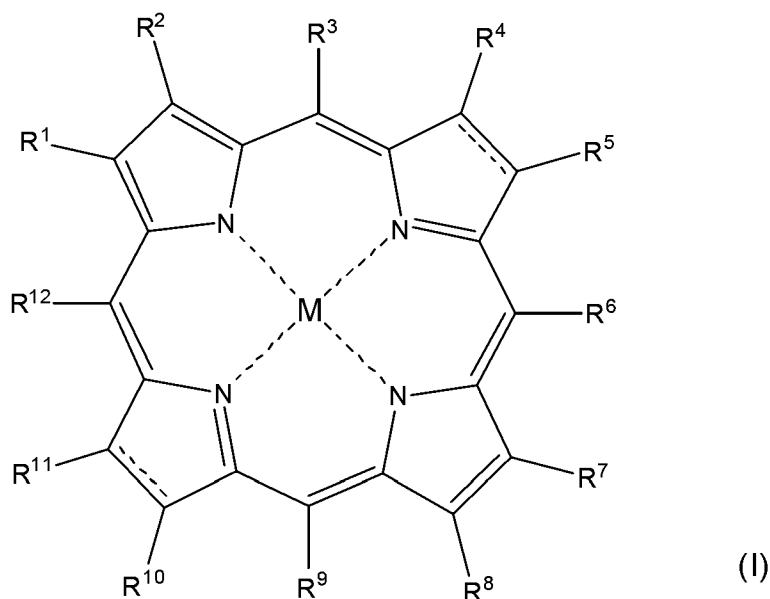
法を提供することができる。

請求の範囲

[請求項1]

次式I：

[化28]



(式中、 R^1 、 R^4 、 R^7 及び R^{10} は、それぞれ独立して、水素原子、酸素原子、任意に置換されてもよい C_{1-10} アルキル、任意に置換されてもよい C_{2-10} アルケニル、任意に置換されてもよい C_{2-10} アルキニル、任意に置換されてもよい C_{6-14} アリール又は任意に置換されてもよい5～14員ヘテロアリールを表し、ここで、置換基は、酸素原子、 C_{1-6} アルキル、並びに OR^{20} 及び $COOR^{20}$ (R^{20} は、水素原子、 C_{1-6} アルキル又は C_{2-6} アルケニルを表す。) からなる群から選ばれる少なくとも1つであり、

R^2 、 R^5 、 R^8 及び R^{11} は、それぞれ独立して、水素原子、酸素原子、任意に置換されてもよい C_{1-10} アルキル、任意に置換されてもよい C_{2-10} アルケニル、任意に置換されてもよい C_{2-10} アルキニル、任意に置換されてもよい C_{6-14} アリール又は任意に置換されてもよい5～14員ヘテロアリールを表し、ここで、置換基は、酸素原子、 C_{1-6} アルキル、並びに R^{30} 及び $COOR^{30}$ (R^{30} は、水素原子、任意に置換されてもよい C_{1-6} アルキル、任意に置換されてもよい C_{2-10} アルケニル、任意に置換されてもよい C_{6-14} アリール、任意に置換されてもよい C_{7-20} アリールアルキル又は任

意に置換されてもよい5～14員ヘテロアリールを表し、各置換基は、K殻吸収端が2 KeV以上を示す元素番号15 (P) 以降の元素のうちの1つ又は複数でさらに置換されてもよい。) からなる群から選ばれる少なくとも1つであり、

R^3 、 R^6 、 R^9 及び R^{12} は、それぞれ独立して、水素原子、 C_{1-10} アルキル、 C_{2-10} アルケニル、 C_{2-10} アルキニル、 C_{6-14} アリール、 C_{7-20} アリールアルキル、5～14員ヘテロアリール、 C_{1-10} アルコキシ、 C_{2-10} アルケニルオキシ、 C_{2-10} アルキニルオキシ、 C_{6-14} アリールオキシ又は5～14員ヘテロアリールオキシを表し、前記アルキル、アルケニル、アルキニル、アリール、アリールアルキル、ヘテロアリール、アルコキシ、アルケニルオキシ、アルキニルオキシ、アリールオキシ及びヘテロアリールオキシは、任意に、 C_{1-6} アルキル、 C_{6-14} アリール、 C_{7-20} アリールアルキル、 $-(CH_2CH_2O)_n-R^{20}$ 、 $-(CH_2)_n-OR^{20}$ 及び $-(CH_2)_n-COOR^{20}$ (n は0～6の整数であり、 R^{20} は、前記と同様である。)、並びにK殻吸収端が2 KeV以上を示す元素番号15 (P) 以降の元素のうちの1つ又は複数からなる群から選ばれる少なくとも1つで置換されてもよく、各置換基は、 C_{1-6} アルキル、 C_{2-6} アルケニル、又はK殻吸収端が2 KeV以上を示す元素番号15 (P) 以降の元素のうちの1つ若しくは複数でさらに置換されてもよく、

R^8 及び R^9 は、飽和又は不飽和の5員環又は6員環を形成することができ、前記環は、任意に、酸素原子、 C_{1-6} アルキル及び $COOR^{20}$ (R^{20} は、前記と同様である。) からなる群から選ばれる少なくとも1つで置換されてもよく、

Mは、金属、ケイ素又は水素原子であり、前記金属は、Al、Ti、V、Cr、Mn、Fe、Co、Ni、Cu、Zn、Ga、Ge、Y、Zr、Nb、Mo、Tc、Ru、Rh、Pd、Ag、Cd、In、Sn、Sb、La、Ce、Pr、Nd、Pm、Sm、Eu、Gd、Tb、Dy、Ho、Er、Tm、Yb、Lu、Hf、Ta、W、Re、Os、Ir、Pt、Au、Hg、Tl、Pb、Bi、Po、Ac、Th、Pa、U、Np、Pu、Am、Cm、Bk、Cf、Es、Fm、M

d、No及びLr から選択され、

[化29]



は単結合又は二重結合を表す。)

で示されるポルフィリン化合物が哺乳動物の腫瘍組織に集積したときに放射線を照射するように用いられることを特徴とする、前記ポルフィリン化合物を含む抗腫瘍剤。

[請求項2]

R^1 、 R^4 、 R^7 及び R^{10} は、それぞれ独立して、水素原子、又は任意に置換されてもよい C_{1-10} アルキルを表し、ここで、置換基は、酸素原子、 C_{1-6} アルキル、並びに OR^{20} 及び $COOR^{20}$ (R^{20} は、水素原子、 C_{1-6} アルキル又は C_{2-6} アルケニルを表す。) からなる群から選ばれる少なくとも1つである、請求項1に記載の抗腫瘍剤。

[請求項3]

R^2 、 R^5 、 R^8 及び R^{11} は、それぞれ独立して、水素原子、又は任意に置換されてもよい C_{1-10} アルキルを表し、ここで、置換基は、酸素原子、 C_{1-6} アルキル、並びに OR^{30} 及び $COOR^{30}$ (R^{30} は、水素原子、任意に置換されてもよい C_{1-6} アルキル、又は任意に置換されてもよい C_{6-14} アリールを表し、各置換基は、K殻吸収端が2 KeV以上を示す元素番号15 (P) 以降の元素のうちの1つ又は複数でさらに置換されてもよい。) からなる群から選ばれる少なくとも1つである、請求項1又は2に記載の抗腫瘍剤。

[請求項4]

R^3 、 R^6 、 R^9 及び R^{12} は、それぞれ独立して、水素原子、任意に置換されてもよい C_{1-10} アルキル、任意に置換されてもよい C_{6-14} アリール、任意に置換されてもよい C_{6-14} アリールオキシ、又は任意に置換されてもよい5~14員ヘテロアリールを表し、各置換基は、任意に、 C_{1-6} アルキル、 C_{6-14} アリール、 C_{7-20} アリールアルキル、 $-(CH_2CH_2O)_n-R^{20}$ 、 $-(CH_2)_n-O$ R^{20} 及び $-(CH_2)_n-COOR^{20}$ (n は0~6の整数であり、 R^{20} は、水素原子、 C_{1-6} アルキル又は C_{2-6} アルケニルを表す。)、並びにK殻吸収端が2 KeV以

上を示す元素番号 1 5 (P) 以降の元素のうちの 1 つ又は複数からなる群から選ばれる少なくとも 1 つで置換されてもよく、各置換基は、 C_{1-6} アルキル、 C_{2-6} アルケニル、又はK殻吸収端が 2 KeV以上を示す元素番号 1 5 (P) 以降の元素のうちの 1 つ若しくは複数でさらに置換されてもよい、請求項 1 ~ 3 のいずれか 1 項に記載の抗腫瘍剤。

[請求項5] R^8 及び R^9 は、飽和又は不飽和の5員環又は6員環を形成することができ、前記環は、任意に、酸素原子、 C_{1-6} アルキル及び $COOR^{20}$ (R^{20} は、水素原子、 C_{1-6} アルキル又は C_{2-6} アルケニルを表す。) からなる群から選ばれる少なくとも 1 つで置換されてもよい、請求項 1 ~ 4 のいずれか 1 項に記載の抗腫瘍剤。

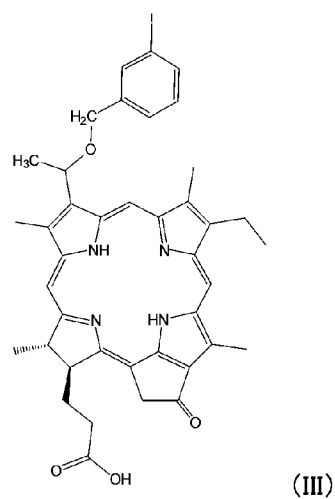
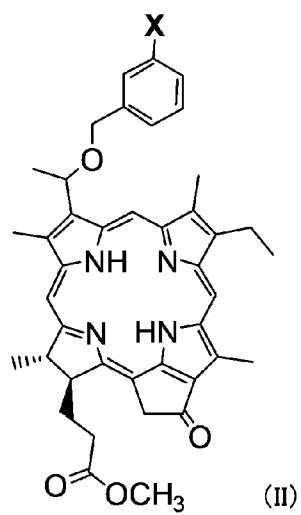
[請求項6] ポルフィリン化合物は、K殻吸収端が 2 KeV以上を示す元素番号 1 5 (P) 以降の元素のうちの 1 つ又は複数で置換された C_{6-14} アリール又は C_{7-20} アリールアルキルを含むものである、請求項 1 ~ 5 のいずれか 1 項に記載の抗腫瘍剤。

[請求項7] K殻吸収端が 2 KeV以上を示す元素番号 1 5 (P) 以降の元素が、ハロゲン、ランタノイド、Y、Tc、Ru、Ba、In、Cs、Pt、Au及びTlから選ばれるものである請求項 1 ~ 4 のいずれか 1 項に記載の抗腫瘍剤。

[請求項8] ハロゲンがI又はBrである請求項 7 に記載の抗腫瘍剤。

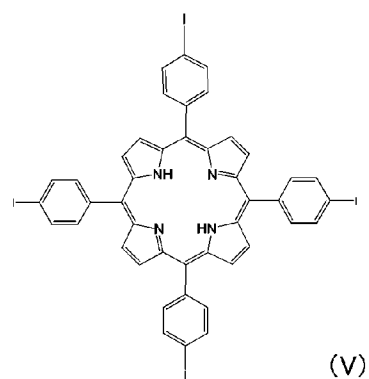
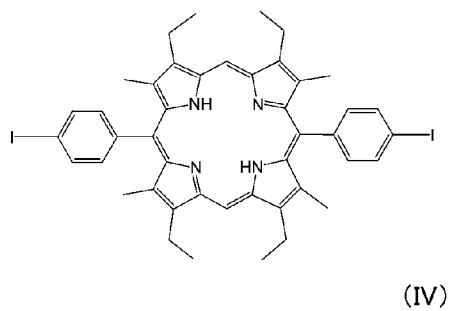
[請求項9] ポルフィリン化合物が、次式II、III、IV、V、VI、VII、VIII、IX、X、XI、XII、XIII、XIV、XV及びXVIのいずれかで示されるものである請求項 1 に記載の抗腫瘍剤。

[化30]

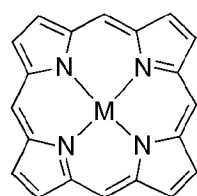


(XはI又はGdを表す。)

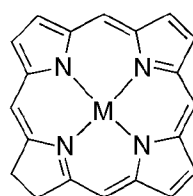
[化31]



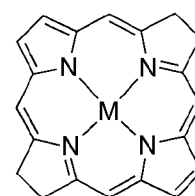
[化32]



porphyrin
(VI)

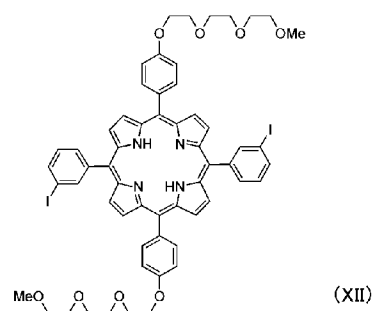
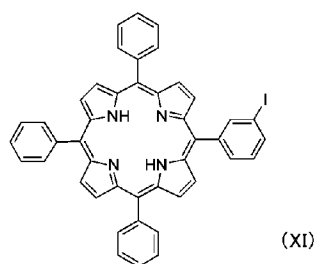
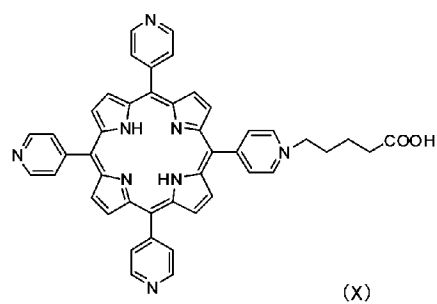
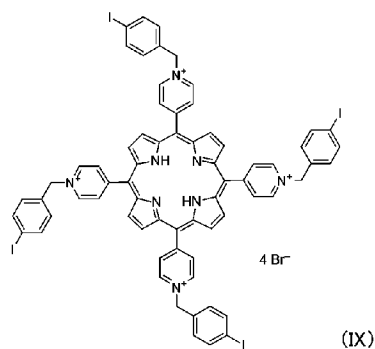


chlorin
(VII)

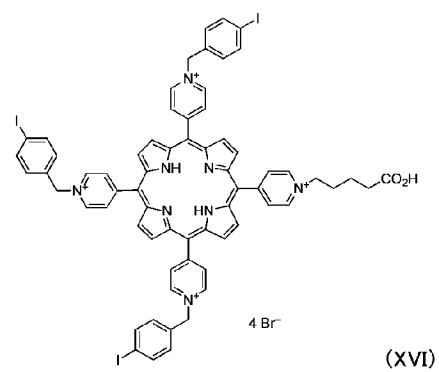
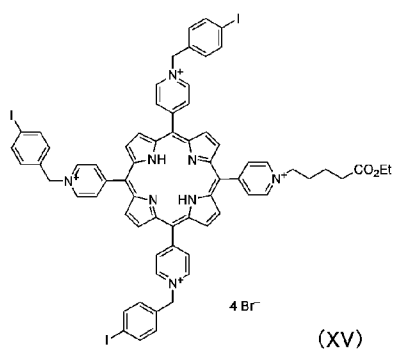
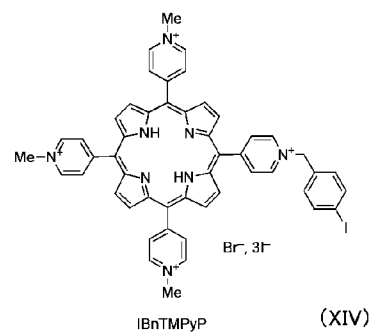
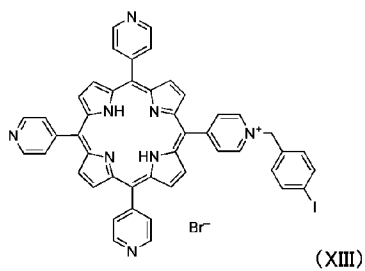


bacteriochlorin
(VIII)

[化33]



[化34]



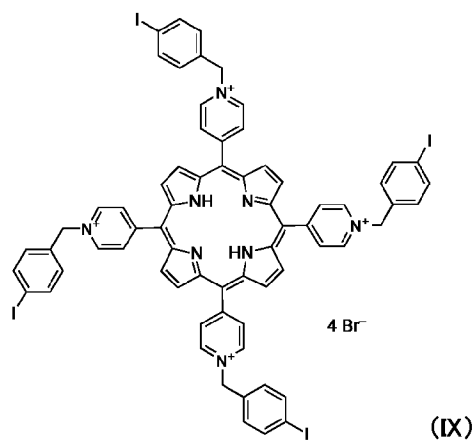
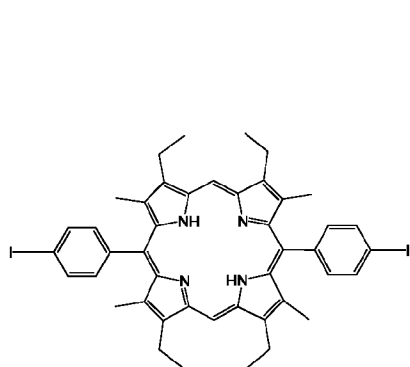
[請求項10]

放射線がパラメトリック単色X線である請求項1～9のいずれか1項に記載の抗腫瘍剤。

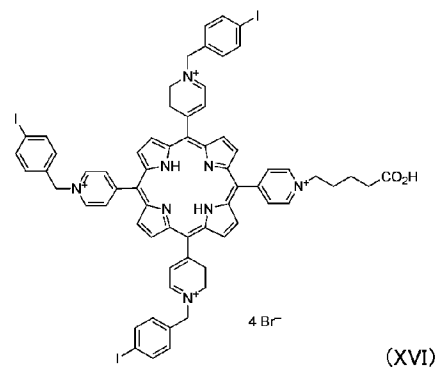
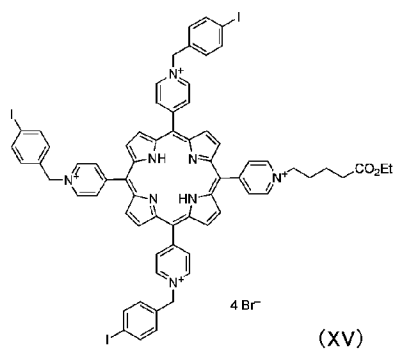
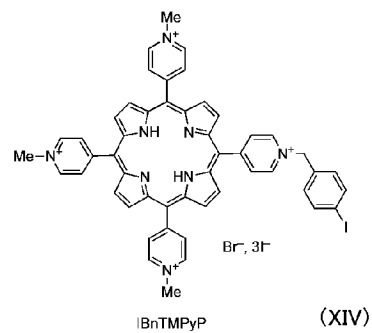
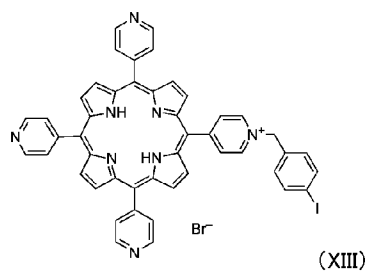
[請求項11] 次式IV、IX、XIII、XIV、XV又はXVIで示されるポルフィリン化合物

。

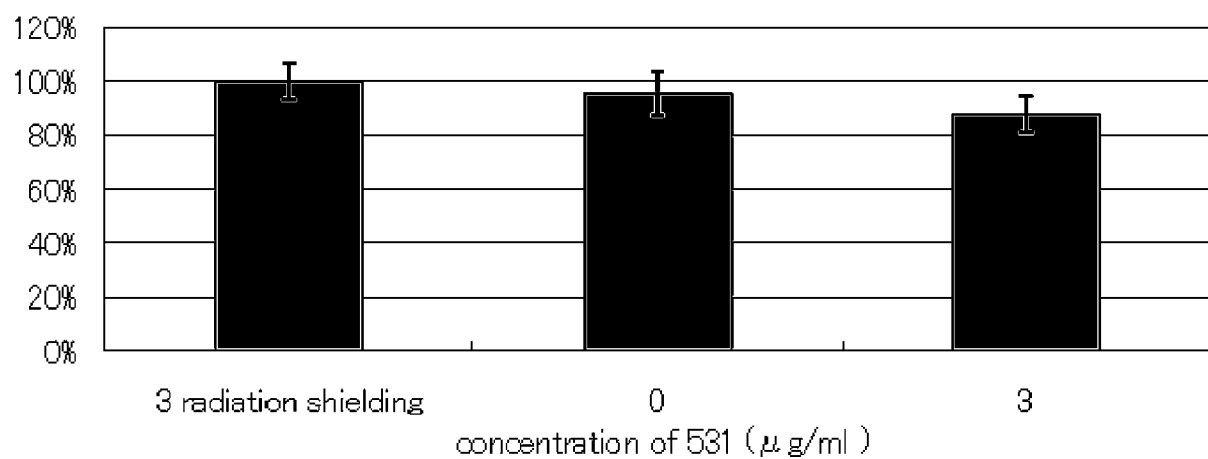
[化35]



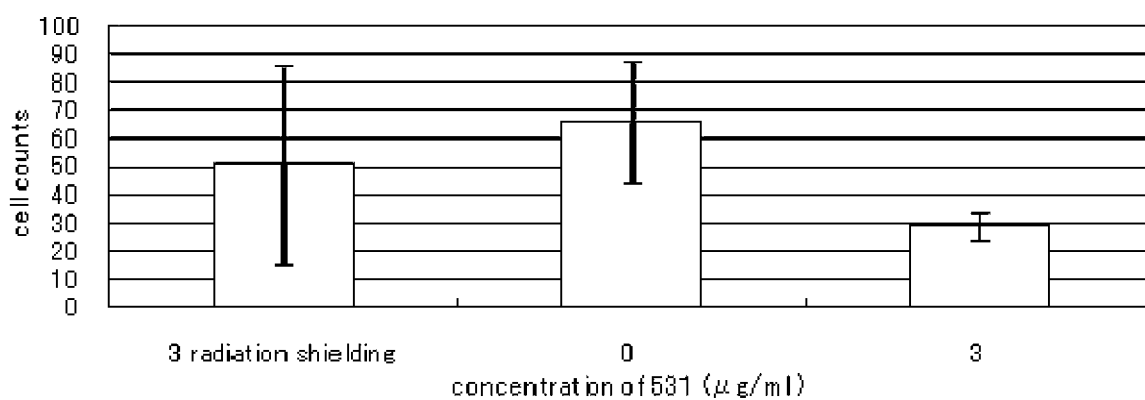
[化36]



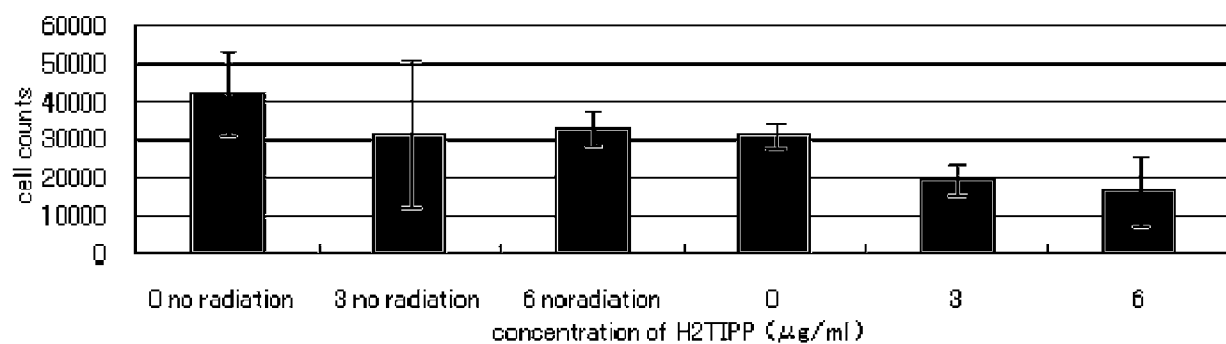
[図1]

Hela PXR 33.17keV 1hr 24hrs cultured_{plate1}

[図2]

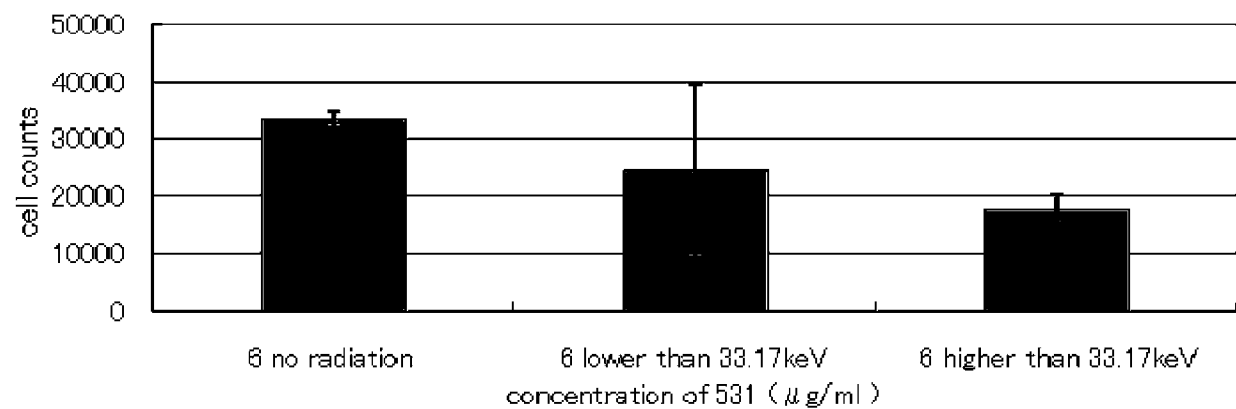
Hela PXR 33.17keV 1hr 66hrs cultured_{plate3}

[図3]

Hela PXR 33.17keV 1hr 48hrs cultured
12 well plate

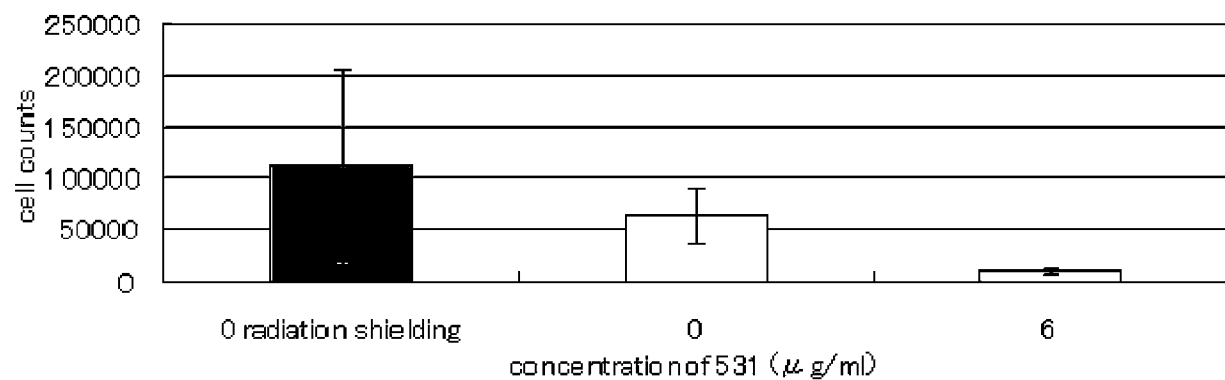
[図4]

Hela PXR beyond 33.17keV 1hr 48hr cultured
12 well plate

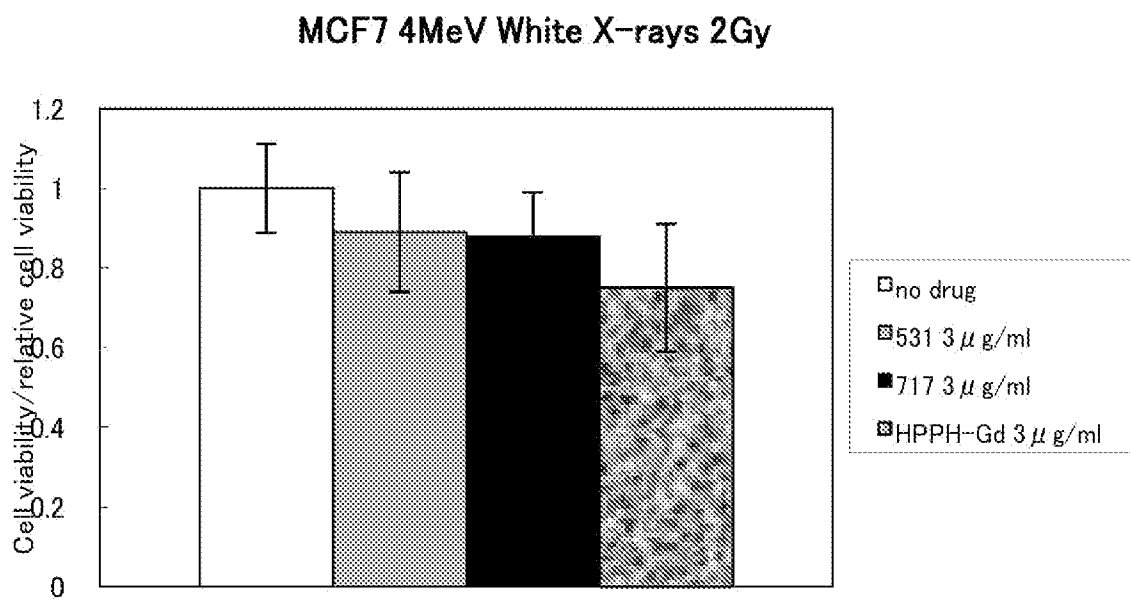
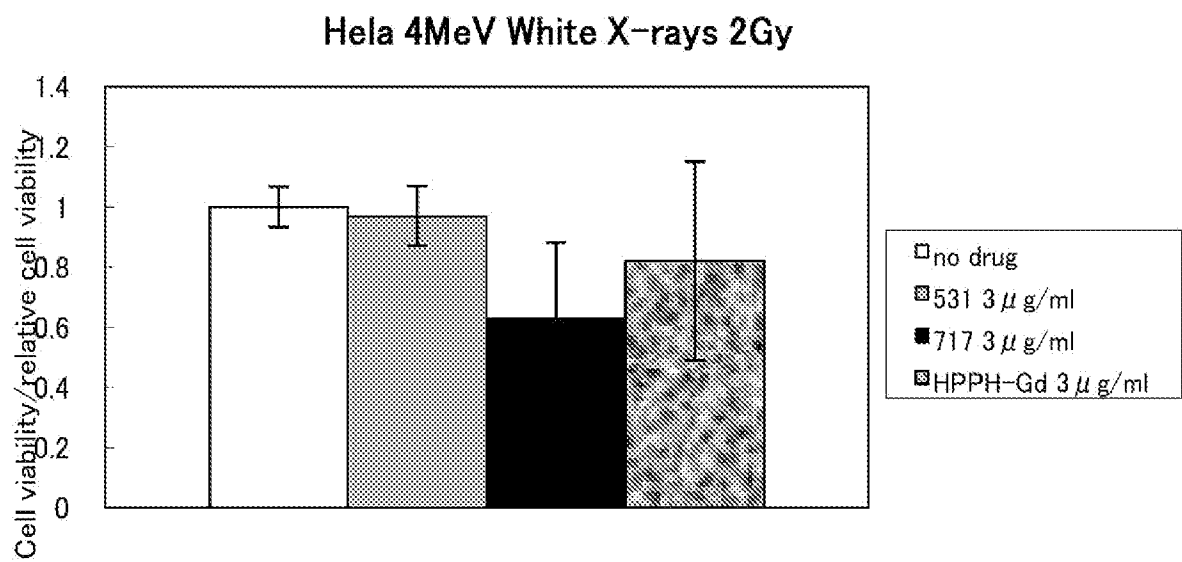


[図5]

T24 PXR 33.17keV 1hr 72hrs cultured
6 well plate

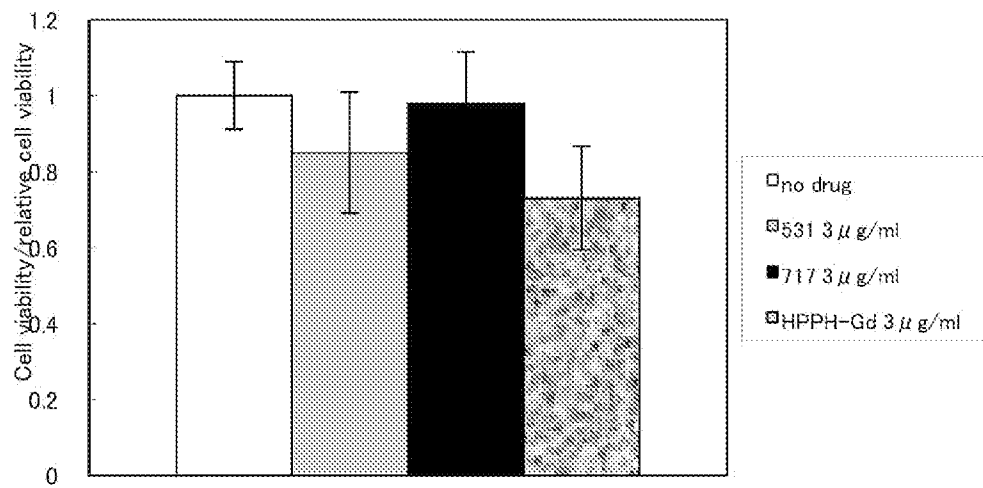


[図6]

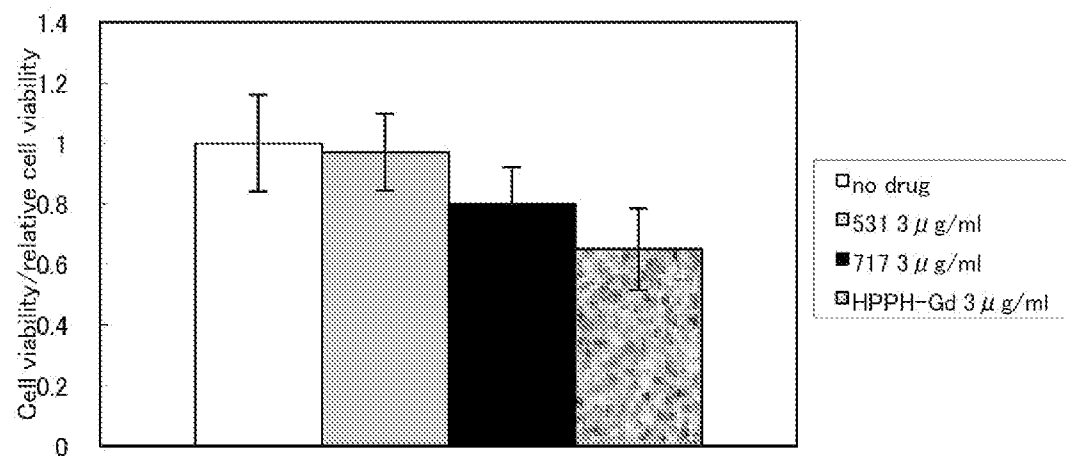


[図7]

MCF7 33keV White X-rays 2Gy

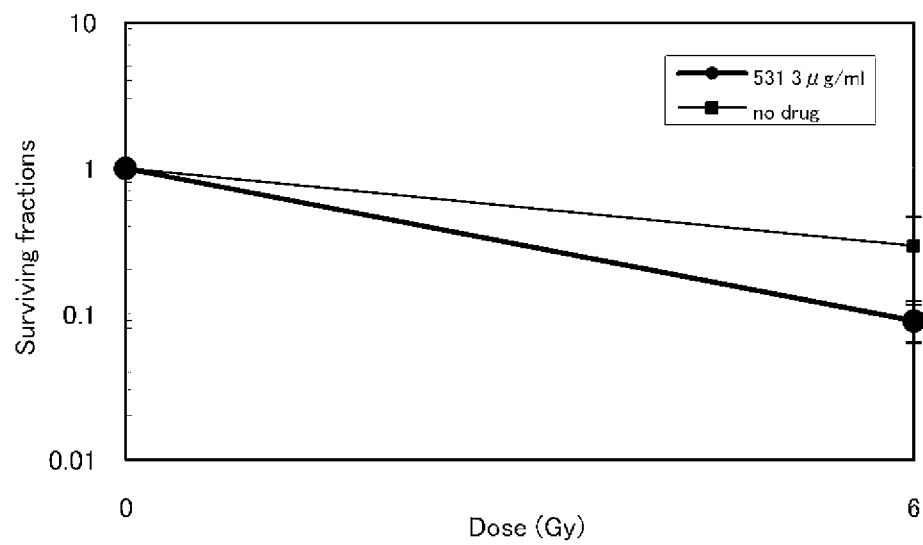


T24 33keV White X-rays 2Gy

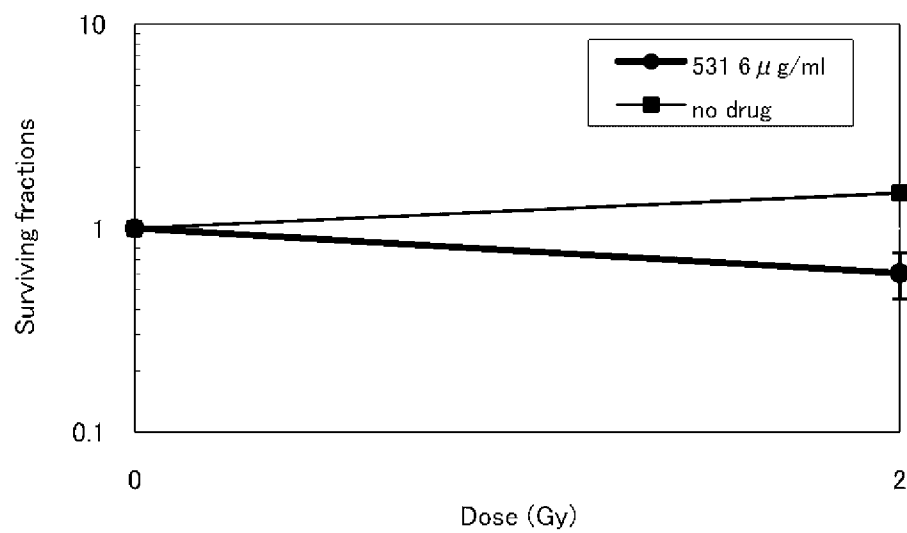


[8]

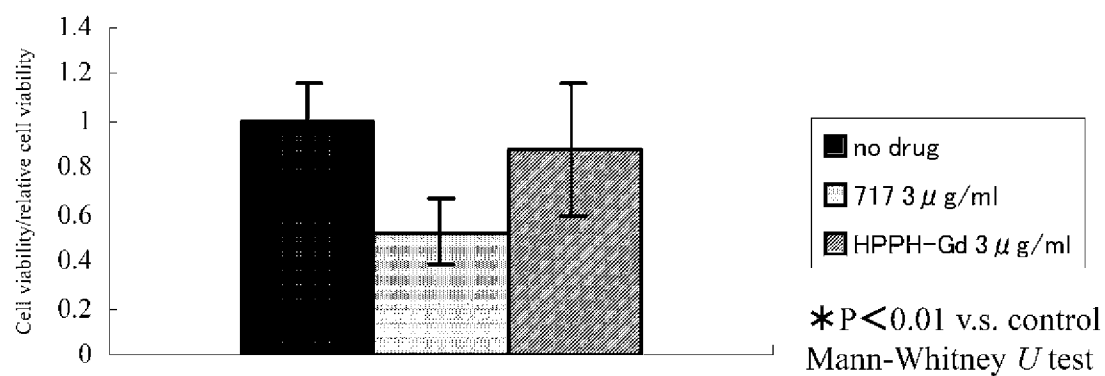
White X-rays
Hela
colony formation assay



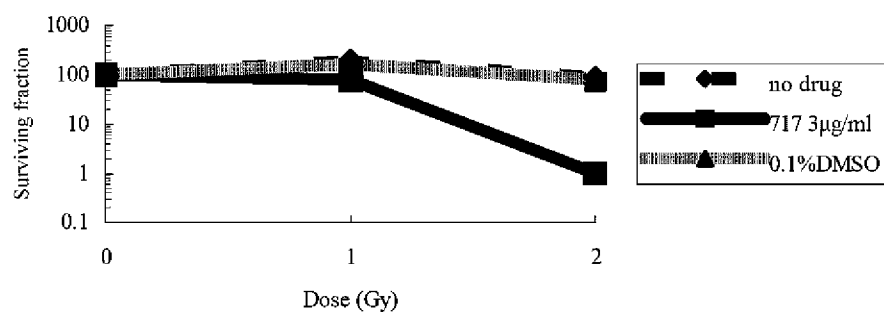
White X-rays
T24
colony formation assay



[図9]

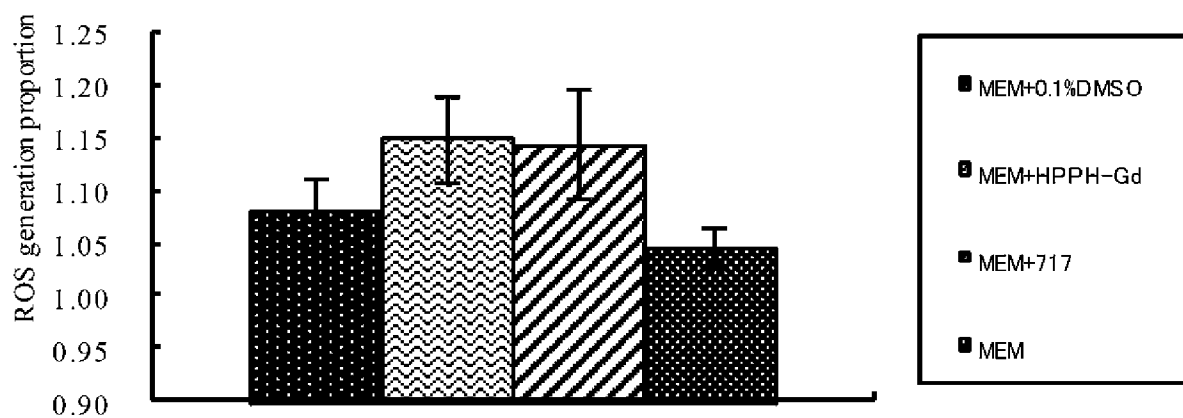
T24 33keV White X-rays 5Gy

[図10]

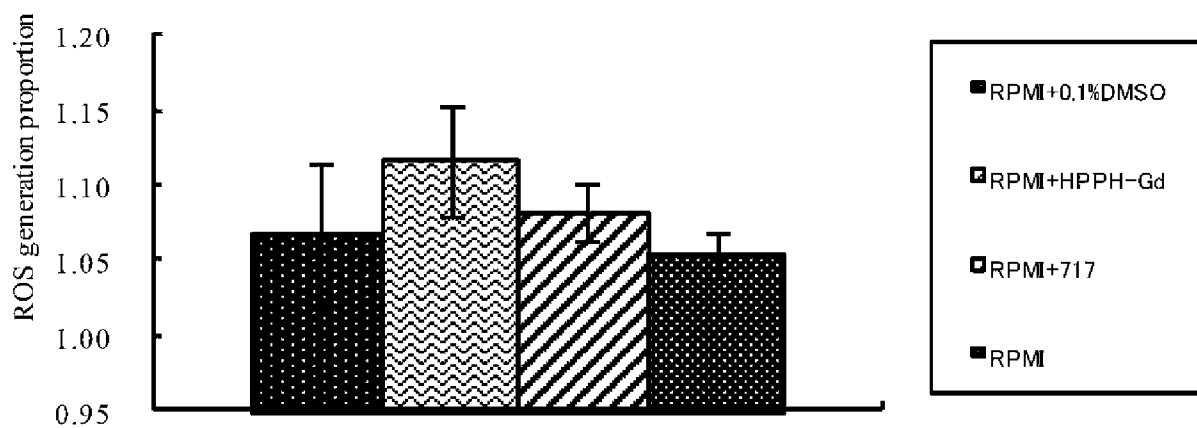
T24 colony formation assay

[図11]

ROS generation with porphyrin detected by APF
After 5Gy irradiation



ROS generation with porphyrin detected by APF
After 5Gy irradiation



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2011/053054

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K31/409(2006.01)i, A61K51/00(2006.01)i, A61P35/00(2006.01)i,
C07D487/22(2006.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61K31/409, A61K51/00, A61P35/00, C07D487/22

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Jitsuyo Shinan Koho	1922-1996	Jitsuyo Shinan Toroku Koho	1996-2011
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2011	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2011

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CA/REGISTRY/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN) ,
JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamII)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X Y A	Picard, N., et al, Bromines on N-allyl position of cationic porphyrins affect both radio- and photosensitizing properties, Photochemical & Photobiological Sciences, 2009, Vol.8, pp.224-232	1-8,10 1-10 11
X Y A	Takahashi, J., et al, Characterization of reactive oxygen species generated by protoporphyrin IX under X-ray irradiation, Radiation Physics and Chemistry, 2009, Vol.78, pp.889-898	1-5,10 1-10 11
X Y A	JP 5-194268 A (Tama Biochemical Co., Ltd.), 03 August 1993 (03.08.1993), claim 1; examples 1, 2; paragraphs [0003] to [0006], [0013] (Family: none)	1-5,10 1-10 11



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
21 April, 2011 (21.04.11)

Date of mailing of the international search report
10 May, 2011 (10.05.11)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2011/053054

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X Y A	Luksiene, Z., et al, Radiosensitization of tumors by porphyrins, Cancer Letters, 2006, Vol.235, pp.40-47	1-5, 10 1-10 11
X Y A	O'Hara, J.A., et al, Potentiation of radiation-induced cell kill by synthetic metalloporphyrins, International Journal of Radiation Oncology, Biology, Physics, 1989, Vol.16, pp.1049-1052	1-5, 10 1-10 11
Y A	Pandey, S.K., et al, Multimodality Agents for Tumor Imaging (PET, Fluorescence) and Photodynamic Therapy. A Possible "See and Treat" Approach, Journal of Medicinal Chemistry, 2005, Vol.48, pp.6286-6295	1-10 11
Y A	JP 2006-232843 A (Health Research Inc.), 07 September 2006 (07.09.2006), claims 1 to 3; paragraph [0016] & US 2006/0198783 A1 & EP 1698350 A1	1-10 11
A	JP 2008-506675 A (Psimei Pharmaceuticals PLC.), 06 March 2008 (06.03.2008), entire text & WO 2006/005924 A1 & US 2008/0039436 A1 & EP 1773324 A	1-11
A	Ljungdahl, T., et al, Solvent and Base Dependence of Copper-Free Palladium-Catalyzed Cross-Couplings between Terminal Alkynes and Arylic Iodides: Development of Efficient Conditions for the Construction of Gold(III)/Free-Base Porphyrin Dimers, Journal of Organic Chemistry, 2006, Vol.71, pp.1677-1687	11

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (I P C))

Int.Cl. A61K31/409 (2006.01)i, A61K51/00 (2006.01)i, A61P35/00 (2006.01)i, C07D487/22 (2006.01)i

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (I P C))

Int.Cl. A61K31/409, A61K51/00, A61P35/00, C07D487/22

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	1 9 2 2 - 1 9 9 6 年
日本国公開実用新案公報	1 9 7 1 - 2 0 1 1 年
日本国実用新案登録公報	1 9 9 6 - 2 0 1 1 年
日本国登録実用新案公報	1 9 9 4 - 2 0 1 1 年

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

CA/REGISTRY/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN), JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamII)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
X Y A	Picard, N., et al, Bromines on N-allyl position of cationic porphyrins affect both radio- and photosensitizing properties, Photochemical & Photobiological Sciences, 2009, Vol.8, pp. 224-232	1-8, 10 1-10 11
X Y A	Takahashi, J., et al, Characterization of reactive oxygen species generated by protoporphyrin IX under X-ray irradiation, Radiation Physics and Chemistry, 2009, Vol.78, pp.889-898	1-5, 10 1-10 11

☒ C 欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)
「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

2 1 . 0 4 . 2 0 1 1

国際調査報告の発送日

1 0 . 0 5 . 2 0 1 1

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (I S A / J P)

郵便番号 1 0 0 - 8 9 1 5

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

岡山 太一郎

4 P

3 8 4 3

電話番号 0 3 - 3 5 8 1 - 1 1 0 1 内線 3 4 9 2

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
X Y A	JP 5-194268 A (タマ生化学株式会社) 1993.08.03, 請求項1、実施例1, 2、【0003】－【0006】、 【0013】段落 (ファミリーなし)	1-5, 10 1-10 11
X Y A	Luksiene, Z., et al, Radiosensitization of tumors by porphyrins, Cancer Letters, 2006, Vol.235, pp.40-47	1-5, 10 1-10 11
X Y A	O'Hara, J. A., et al, Potentiation of radiation-induced cell kill by synthetic metalloporphyrins, International Journal of Radiation Oncology, Biology, Physics, 1989, Vol.16, pp.1049-1052	1-5, 10 1-10 11
Y A	Pandey, S. K., et al, Multimodality Agents for Tumor Imaging (PET, Fluorescence) and Photodynamic Therapy. A Possible "See and Treat" Approach, Journal of Medicinal Chemistry, 2005, Vol.48, pp.6286-6295	1-10 11
Y A	JP 2006-232843 A (ヘルス リサーチ インコーポレイテッド) 2006.09.07, 請求項1－3, 【0016】段落 & US 2006/0198783 A1 & EP 1698350 A1	1-10 11
A	JP 2008-506675 A (サイメイ ファーマスーティカルズ ビーエルシ ー) 2008.03.06, 全文 & WO 2006/005924 A1 & US 2008/0039436 A1 & EP 1773324 A	1-11
A	Ljungdahl, T., et al, Solvent and Base Dependence of Copper-Free Palladium-Catalyzed Cross-Couplings between Terminal Alkynes and Arylic Iodides: Development of Efficient Conditions for the Construction of Gold(III)/Free-Base Porphyrin Dimers, Journal of Organic Chemistry, 2006, Vol.71, pp.1677-1687	11