

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第6730319号
(P6730319)

(45) 発行日 令和2年7月29日 (2020.7.29)

(24) 登録日 令和2年7月6日 (2020.7.6)

(51) Int. Cl.

F I

C O 7 D 487/22 (2006.01)
A 6 1 K 31/409 (2006.01)
A 6 1 K 41/00 (2020.01)
A 6 1 K 49/06 (2006.01)
A 6 1 K 49/00 (2006.01)

C O 7 D 487/22 C S P
A 6 1 K 31/409
A 6 1 K 41/00
A 6 1 K 49/06
A 6 1 K 49/00

請求項の数 22 (全 32 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2017-557940 (P2017-557940)
(86) (22) 出願日 平成28年5月6日 (2016.5.6)
(65) 公表番号 特表2018-515498 (P2018-515498A)
(43) 公表日 平成30年6月14日 (2018.6.14)
(86) 国際出願番号 PCT/IB2016/052606
(87) 国際公開番号 W02016/178191
(87) 国際公開日 平成28年11月10日 (2016.11.10)
審査請求日 平成31年4月19日 (2019.4.19)
(31) 優先権主張番号 108447
(32) 優先日 平成27年5月7日 (2015.5.7)
(33) 優先権主張国・地域又は機関
ポルトガル (PT)

(73) 特許権者 517330793
ルジチン ソシエダージ アノニマ
ポルトガル, 3045-016 コインブ
ラ, サン マルティーニョ ド ビスポ,
エジフィショ ブルーファーマ
(73) 特許権者 511102309
ユニベルシダージ デ コインブラ
UNIVERSIDADE DE COI
MBRA
ポルトガル ペー-3004-531 コ
インブラ レイトリアーパソ ダス エス
コーラス

最終頁に続く

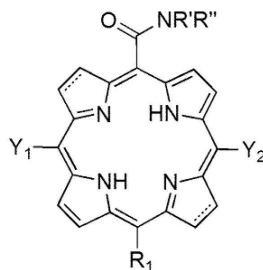
(54) 【発明の名称】 カルボキサミドハロゲン化ポルフィリン、即ちクロリン及びバクテリオクロリンの低分子量誘導体と、それらの応用

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

式：

【化 1】



式 (I)

10

のバクテリオクロリン誘導体若しくはクロリン誘導体であるカルボキサミドハロゲン化ポルフィリン誘導体、又はその薬学的に許容される塩：

(ここで、

【化 2】

20

は炭素と炭素の単結合又は炭素と炭素の二重結合を表し、但し、少なくとも一つの

【化 3】



は炭素と炭素の単結合を示し、

Y_1 、 Y_2 はそれぞれ独立して水素、炭素原子が六つ以下のハロゲン化アルキル若しくはハロゲン化シクロアルキル、又はハロゲン化フェニルから選択され、ここで、前記ハロゲンは独立して F、Cl 及び Br から選択され、但し、前記アルキル、前記シクロアルキル又は前記フェニルの少なくとも一つの位置はハロゲン化されており、但し、 Y_1 、 Y_2 の少なくとも一つは炭素原子が六つ以下のハロゲン化アルキル若しくはハロゲン化シクロアルキル、又はハロゲン化フェニルであり、ここで、前記ハロゲンは独立して F、Cl 及び Br から選択され、但し、前記アルキル、前記シクロアルキル、又は前記フェニルの少なくとも一つの位置はハロゲン化されており、

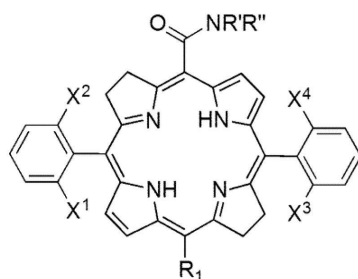
R_1 は H、I、Cl、Br 又は $-CONR'R''$ から選択され、

R' 及び R'' は独立して水素、炭素原子が六つ以下のアルキル、シクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、アルコール、第一級アミン、第二級アミン、第三級アミン、正電荷を帯びた第四級アミン、カルボン酸、エーテル又はエステルから選択される。)

【請求項 2】

式：

【化 4】



式 (II)

である請求項 1 に記載のカルボキサミドポルフィリン誘導体、又はその薬学的に許容される塩：

ここで、

X^1 、 X^2 、 X^3 、 X^4 はそれぞれ独立してハロゲン (F、Cl、Br) 原子及び水素原子から選択され、但し、少なくとも X^1 及び X^3 はハロゲンであり、

R_1 は水素であり、

R' 及び R'' は独立して水素、炭素原子が三つ以下のアルキル、シクロプロピル、アルコール、第一級アミン、第二級アミン、第三級アミン、正電荷を帯びた第四級アミン、カルボン酸、エーテル又はエステルである。

【請求項 3】

式 (I I) において、

X^1 及び X^3 はフッ素原子であり、

X^2 及び X^4 は水素原子であり、

R_1 は水素であり、

R' 、 R'' は独立して水素、炭素原子が三つ以下のアルキルから選択される、請求項 2 に記載のカルボキサミドポルフィリン誘導体。

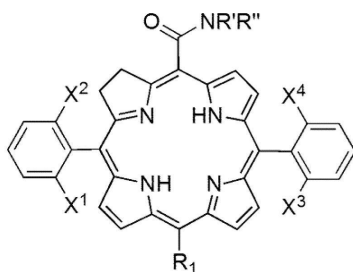
【請求項 4】

式 (I I) において、
 X^1 、 X^2 、 X^3 及び X^4 はフッ素原子であり、
 R_1 は水素であり、
 R' は水素であり、
 R'' はメチルである、請求項 2 に記載のカルボキサミドポルフィリン誘導体。

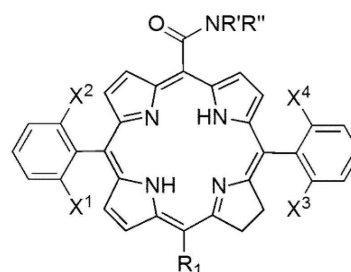
【請求項 5】

前記クロリンは、式：

【化 5】



式 (IIIa)



式 (IIIb)

である、請求項 1 に記載のカルボキサミドポルフィリン誘導体：

ここで、 X^1 、 X^2 、 X^3 、 X^4 はそれぞれ独立してハロゲン (F、Cl、Br) 原子及び水素原子から選択され、但し、少なくとも X^1 及び X^3 はハロゲンであり、

R_1 は水素であり、

R' 、 R'' は独立して水素、炭素原子が三つ以下のアルキル、シクロプロピル、アルコール、第一級アミン、第二級アミン、第三級アミン、正電荷を帯びた第四級アミン、カルボン酸、エーテル又はエステルから選択される。

【請求項 6】

式 (I I I a) 又は式 (I I I b) において、

X^1 及び X^3 はフッ素原子であり、

X^2 及び X^4 は水素原子であり、

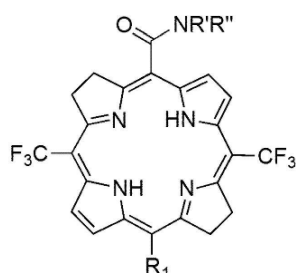
R_1 は水素であり、

R' 、 R'' は独立して水素、炭素原子が三つ以下のアルキルから選択される、請求項 5 に記載のカルボキサミドポルフィリン誘導体。

【請求項 7】

式：

【化 6】



式 (XV)

である請求項 1 に記載のカルボキサミドポルフィリン誘導体、又はその薬学的に許容される塩：

ここで、

R_1 は H、Cl、Br 又は $-\text{CONR}'\text{R}''$ から選択され、
 R' 及び R'' は独立して水素、炭素原子が六つ以下のアルキル、シクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、アルコール、第一級アミン、第二級アミン、第三級アミン、正電荷を帯びた第四級アミン、カルボン酸、エーテル又はエステルから選択される。

【請求項 8】

式 (XV) において、

R_1 は水素であり、

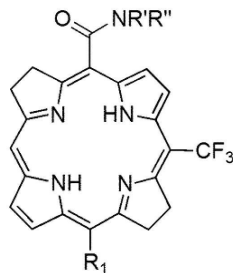
R' は水素であり、

R'' はメチルである、請求項 7 に記載のカルボキサミドポルフィリン誘導体。

【請求項 9】

式：

【化 7】



式 (XVI)

である請求項 1 に記載のカルボキサミドポルフィリン誘導体、又はその薬学的に許容された塩：

ここで、

R_1 は H、Cl、Br 又は $-\text{CONR}'\text{R}''$ から選択され、

R' 及び R'' は独立して水素、炭素原子が六つ以下のアルキル、シクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、アルコール、第一級アミン、第二級アミン、第三級アミン、正電荷を帯びた第四級アミン、カルボン酸、エーテル又はエステルから選択される。

【請求項 10】

式 (XVI) において、

R_1 は水素であり、

R' は水素であり、

R'' はメチルである、請求項 9 に記載のカルボキサミドポルフィリン誘導体。

【請求項 11】

癌又は悪性腫瘍、骨髄腫、乾癬、黄斑変性を含むがそれに限定されない過剰増殖性疾患の治療における使用のための請求項 1 ～ 10 に記載のカルボキサミドポルフィリン誘導体。

【請求項 12】

ウイルス、バクテリア、リケッチア、マイコプラズマ、原生動物、菌類を含むがそれに限定されない微生物に起因する感染症、又は、一般に微視的な多細胞の無脊椎動物、若しくは非常に小さい多細胞の無脊椎動物を含むがそれに限定されない寄生体、又はその卵若しくは若年形に起因する感染症の治療に使用するための請求項 1 ～ 10 に記載のカルボキサミドポルフィリン誘導体。

【請求項 13】

狭窄症、アテローム斑、又は心臓の不整脈を含むがそれに限定されない循環器疾患の治療における使用のための請求項 1 ～ 10 に記載のカルボキサミドポルフィリン誘導体。

【請求項 14】

色素沈着過剰、皮膚のライトニング、皮膚のホワイトニング、ピーリングを含むがそれに限定されない皮膚の色素沈着症及び皮膚の再生の治療における化粧用途のための、請求

10

20

30

40

50

項 1 ～ 1 0 のいずれか 1 項に記載のカルボキサミドポルフィリン誘導体。

【請求項 1 5】

請求項 1 ～ 1 0 のいずれか 1 項に記載の前記誘導体の少なくとも 1 種と、薬学的に許容されるキャリアとを含む医薬組成物。

【請求項 1 6】

前記キャリアは皮膚に一時的に浸透し、前記医薬組成物は様々な皮膚層を通して浸透可能である、請求項 1 5 に記載の医薬組成物。

【請求項 1 7】

皮内治療及び経皮治療における使用のための請求項 1 5 又は 1 6 に記載の医薬組成物。

【請求項 1 8】

過剰増殖性異常及び／又は癌及び／又はバクテリア性感染及び／又はウイルス性感染及び／又は真菌性感染及び／又は循環器疾患及び／又は皮膚の色素沈着異常又は皮膚の若返り術における使用のための請求項 1 5 に記載の医薬組成物。

【請求項 1 9】

過剰増殖性異常のセラノスティックにおける使用のためであって、ここで、標的組織と関連づけられている請求項 1 ～ 1 0 に記載の前記誘導体の少なくとも 1 種は画像処理技術によって視覚化されている、請求項 1 5 に記載の医薬組成物。

【請求項 2 0】

画像処理技術は、請求項 1 ～ 1 0 に記載の前記誘導体を十分なエネルギーの光に暴露してそれと同じものを蛍光発光させる磁気共鳴画像処理 (MRI) を含む、請求項 1 5 に記載の医薬組成物。

【請求項 2 1】

画像処理技術は、請求項 1 ～ 8 に記載の前記誘導体をピコ秒又はナノ秒の持続期間、十分なエネルギーの光のパルスに暴露して、化合物に光音響波を放たせる、請求項 1 5 に記載の医薬組成物。

【請求項 2 2】

請求項 1 5 に記載の医薬組成物と、被験者に対する当該組成物の光線力学的治療／投与に関する指示とを含むキット。

【発明の詳細な説明】

【発明の詳細な説明】

【0 0 0 1】

(技術分野)

本出願は、新規な低分子量のカルボキサミドハロゲン化ポルフィリンの誘導体、即ちクロリン誘導体及びバクテリオクロリン誘導体と、それらの製造工程と、光線力学的治療法におけるそれらの使用に関する。

【0 0 0 2】

(背景技術)

光線力学的治療法 (PDT) は臨床的に承認された治療法であって、光増感性分子の投与と、標的組織の中での光増感性分子の蓄積と、その後の光増感剤によって選択的に吸収される光の照射とに基づくものである。この選択性は光線治療領域 (650 ～ 850 nm) において光を吸収する光増感剤を使用することで改善され、その領域では組織がより深い光学上の侵入深さ (例えば 750 nm で $\delta = 2.3$ mm) を有する (1)。光の吸収は電氣的に励起状態の光増感剤を電子遷移反応によって基質分子と反応させて、スーパーオキシアニオン及びヒドロキシラジカルを形成させるか (タイプ I 反応)、又は、そのエネルギーを、一重項酸素を生成する基底状態の分子状酸素に遷移させる (タイプ II 反応)。これらの光生成活性酸素種 (ROS) は PDT に効果的な抗癌処置を施す生物学的機構を誘発する (2)。

【0 0 0 3】

過剰増殖性異常の治療における PDT のパラダイムは、光線治療領域における光の高い吸収性と高い ROS 量子収率 (Φ_{ROS}) とを有する安定した色素が、より優れた光増感

10

20

30

40

50

剤であるべきことにある。さらに、PDTの発展は、グラム陰性菌を標的とする光増感剤が光増感剤中に少なくとも一つの正電荷を有する必要性があることを導いた(3)。そのような光増感剤は、通常、分子量が600Daを超えるポルフィリン誘導体(クロリン又はバクテリオクロリン)である。ミクロモルの濃度の光増感剤と約10J/cm²の光量とを使用して5～6倍のバクテリア懸濁液の光線力学的な不活性化が達成されたが(4)、臨床的な応用への移行は不成功に終わった。バクテリア懸濁液の光線力学的な不活性化を臨床的な設定に移行することに失敗したのは、おそらく、赤外光を吸収する光増感剤の大きなサイズと、生物膜中での迅速な拡散とバクテリアによる摂取とに要求される小さな分子サイズとの間の相反にあるであろう。同じような難しさは、皮膚疾患の局所療法へのPDT光増感剤の移行においても見受けられる。ポルフィマーナトリウム(商品名・フォトフリン(Photofrin登録商標))等の光増感剤及びテモポルフィン(フォスキャン(Foscan登録商標))等の光増感剤は静脈内投与を使用した癌の表示として承認を得たが、局所適用は臨床へと移行されてはいない(5)。重ねて、光増感剤を局所適用して治療効果を引き出すことに失敗したのは、おそらくそのような光増感剤が角質層と呼ばれる皮膚の外層を通り抜けてそれらの標的に到達することの難しさに関係するであろう。角質層は外因性分子の経皮浸透に対する主な障壁である。

【0004】

局所適用後に皮膚を通り抜ける薬剤の最も好ましい最大流量(J_{max})は、薬剤(6)の分子量(MW)によって厳密に制限されている(6)。

$$\log J_{max} = -3.90 - 0.0190 MW.$$

【0005】

例えば、MW=600Da又は700Daの薬剤は、それぞれ $J_{max} = 5 \times 10^{-16} \text{ mol} / (\text{cm}^2 \text{ h})$ 又は $6 \times 10^{-18} \text{ mol} / (\text{cm}^2 \text{ h})$ を有していなければならない。これらの計算は、600Daを超える分子量における適度の増加は、光増感剤の経皮流量の劇的な減少につながる可能性があることを示している。実際面では、700Daの光増感剤は、600Daの光増感剤と比較して、皮下標的における治療濃度に達するまでに100倍長くかかる虞がある。局所適用される薬剤が適合しなければならない他の臨界特性は、角質層の脂質領域内での適切な溶解性であり、その結果、この領域を通る拡散が許容されるが、それでも上皮の生存組織への分配を可能にするのに十分な親水性を有する。この決定要因に適合する薬剤のn-オクタノールと水との分配係数($\log P_{ow}$)は1と3の間である(7)。

【0006】

PDTの局所適用及びバクテリアの光不活性化に理想的な光増感剤は、分子量MW<700Daを有しており、 $\log P_{ow}$ が1と3の間であり、650nmと850nmの間で高分子吸収係数が $\epsilon > 30000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ であり、ROS量子収率が $\Phi_{ROS} > 0.3$ でなければならない。さらに、光増感剤の光安定性は、PDTの成功においても重大である(8)。光増感剤の光安定性は、化学触媒のターンオーバーと比較することができ、それは触媒(即ち光増感剤)が不活性化される(即ち、光分解する)前に1モル当たりの触媒が変換することのできる基質のモル数(即ち、生じたROSの数)に関係している。

【0007】

癌のPDTに最も広く使用される2種の光増感剤が、ポルフィマーナトリウム(商品名・フォトフリン(Photofrin登録商標))とテモポルフィン(商品名・フォスキャン(Foscan登録商標))である。ポルフィマーナトリウムは、ポルフィリン単位が八つまでのエーテル結合とエステル結合によって形成されるオリゴマーの混合物であり、水溶液に比較的溶け易く、 $\log P_{ow}$ は約0である。ポルフィマーナトリウムは単一の分子の実体ではなく、特有の分子量を有するものではないが、最小の二量体の分子量は1000Daを超える。テモポルフィン、親油性の高い5, 10, 15, 20-テトラ(m-ヒドロキシフェニル)クロリンであり、分子量は680Daであり、生理的pHで $\log P_{ow} = 5.5$ である。ポルフィマーナトリウムの一重項酸素の量子収率及びテ

モポルフィンの一重項酸素の量子収率はそれぞれ0.36及び0.43である(8)。赤色領域におけるそれらの最大吸収ピークは、ポルフィマーナトリウムでは $\lambda_{max} = 630 \text{ nm}$ でモル吸収係数は $\varepsilon_{630} = 11700 \text{ cm}^{-1}$ であり、テモポルフィンでは $\lambda_{max} = 650 \text{ nm}$ で $\varepsilon_{650} = 29600 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ である。これらは比較的光安定性があり、ポルフィマーナトリウム及びテモポルフィンについて、光分解の量子収率はそれぞれ $\Phi_{pd} = 5.5 \times 10^{-5}$ 及び $\Phi_{pd} = 3.3 \times 10^{-5}$ である。ポルフィマーナトリウム又はテモポルフィンをCT26(マウス結腸線癌)細胞で培養し、洗浄した後、 1 J/cm^2 の光量を送るためにそれら細胞の赤色吸収バンドに適合した波長のレーザー光を照射した結果、培養(IC50 = $18 \mu\text{M}$)中の細胞の50%を死滅させるためには、濃度が $18 \mu\text{M}$ (ポルフィリン単位の分子量に基づいて評価)のポルフィマーナトリウムが必要であり、一方で、テモポルフィンに関しては、同じ光量で同じ毒性に達するためには、 $0.2 \mu\text{M}$ (IC50 = $0.2 \mu\text{M}$)の濃度が必要であった(8)。

10

【0008】

ポルフィマーナトリウムの特性は、ポルフィマーナトリウムの極めて高い分子量と、親水性と、光線治療領域における少量の光吸収性との理由により、生物学的障壁、即ち皮膚浸透には不適切である。テモポルフィンは分子量の問題を部分的に解消するものの、経皮的送達に対しては高親油性であり、光線治療領域の境界でのみ光を吸収する。これらの臨床的に承認された光増感剤が生物学的障壁、即ち皮膚障壁に浸透することの難しさは、PDTに必要な光毒性に達成して良い治療効果を提供するために生物学的標的においてこれらの光増感剤には比較的高い濃度が要求されることによって悪化する。

20

【0009】

PDTに対する光増感剤の理想的な特性を、単一の分子内で局所適用のための薬剤の理想的な特性と組み合わせることは、PDTの光増感剤の初期の使用において評価されなかった。生物学的障壁を通して迅速に拡散する能力は、例えば、皮膚疾患の治療において局所適用される光増感剤の皮下の輸送又は経皮的輸送、バクテリアの光不活性化に関する生物膜内での光増感剤の浸透、爪真菌症等の真菌症の治療のために爪を通り抜いた光増感剤の拡散の成功にとって不可欠である。生物学的障壁を通り抜いた迅速な拡散は、真核生物の外膜、又は細菌細胞の膜を通り抜ける浸透等の、生物学的標的における光増感剤の迅速な蓄積にも不可欠である。そのような迅速な拡散は光増感剤の投与と標的の照射の間の時間を短くし、これは光線力学的療法の多くの応用において有利であって、標的に向かって光毒性を増大させる。式(I)に示すハロゲン化ポルフィリン、特にバクテリオクロリン及びクロリンの少なくとも一つのメソ位におけるカルボキサミド基が、ROSの生成を損なうことなくそのようなバクテリオクロリン誘導体又はクロリン誘導体の両親媒性及び光安定性に寄与し、光増感剤の分子量に対するそのような寄与によって、生物学的障害を通り抜ける拡散が害されることがないことは、当業者によって予測されるものではないであろう。

30

【0010】

本発明は、理想的な光増感剤のための全ての基準に適合し、能率的に生物学的障壁に浸透する、過剰増殖疾患のPDTのため、及び/又はバクテリア又はウイルス又は菌類の光不活性化のための初めての光増感剤を開示する。本発明はまた、そのような光増感剤の合成工程を開示し、実施例によって、癌細胞を死滅させてバクテリアを不活性化するためのこれら光増感剤の使用を示している。本発明のさらなる実施態様において、ここで説明する光増感剤は過剰増殖性組織のセラノスティックに使用される。セラノスティックは画像誘導療法の一態様であり、ここでは生物学的標的を視覚化するために同じ化合物が使用され、所望の治療効果が得られる。

40

【0011】

(本発明の要約)

本発明の目的は、新規なカルボキサミドハロゲン化ポルフィリン誘導体、特にバクテリオクロリン及びクロリンを提供することであり、それらは生物膜に存在する場合であってもバクテリアを死滅させるために効率よく使用することができ、さらには局所適用される

50

場合であっても腫瘍細胞を死滅させるために効率良く使用することができ、菌類を死滅させてウイルスを不活性化するために効率良く使用できる。十分に能率的な経皮的輸送に達成するため、又は生物膜に浸透するための現行のPDT光増感剤の短所の観点から、本発明は、低分子量と、光線治療領域における高い吸収性と、高い光安定性と、ROS光生成の高い量子収率と、適切な両親媒性と、生体適合性とを兼ね備えており、低コストの原料から大量に製造することのできる新規なポルフィリン誘導体、特にバクテリオクロリン及びクロリンを提供する。

【0012】

本発明の他の目的は、光線力学的治療法において使用される医薬を提供することであり、ここで標的は、血管内皮細胞組織、血管新生組織、眼に存在する血管新生組織、腫瘍の奇形血管壁、固形腫瘍、皮膚の腫瘍、頭の腫瘍、首の腫瘍、眼の腫瘍、消化管の腫瘍、肝臓の腫瘍、胸の腫瘍、前立腺の腫瘍、肺の腫瘍、非固形腫瘍、造血組織及びリンパ系組織のうちの一つの悪性細胞、脈管系の損傷、罹患骨髄疾患、及び、自己免疫性及び炎症疾患のうちの一つの疾患である異常細胞からなる群から選択される。

10

【0013】

本発明のさらなる目的は、乾癬、尋常性座瘡及び酒さ等の皮膚疾患、機能性子宮出血等の婦人疾患、コンジロームウイルス等の泌尿器系疾患、再狭窄等の心血管疾患及びアテローム斑の治療のため、爪真菌症等の真菌感染症の治療、多剤耐性バクテリアを含むバクテリア又はウイルスの光力学的破壊、脱毛及び化粧品、器官又は組織の移植後の免疫応答の抑制のための医薬を提供することである。ここに開示された光線力学的療法を使用した細胞の表層の除去は、下部の皮膚層の新しい細胞の成長を刺激して、その結果、皮膚外観の表面的な値が改善される。

20

【0014】

本発明の他の目的は、局地的な光線力学的治療による、心筋細胞等の細胞の選択的破壊からなる心臓の不整脈のためと、心臓の生理的リズムの回復のための医薬を提供することである。

【0015】

最後に、本発明のさらなる目的は、新規なカルボキサミドポルフィリン誘導体、特にバクテリオクロリン及びクロリンを使用した増殖過剰組織の診断方法を提供することである。但し、これらの化合物はそのような組織に選択的に蓄積し、診断目的に求められる付加的な特性は、そのような化合物の極めて微量の明確な検出である。これらの化合物は、赤色領域及び赤外線領域において極めて明確な吸収バンドを有しており、それらの領域において組織は最も透明である。これらの化合物の選択的励起は、生物学的分子が発光しない波長での明確な蛍光発光を伴う。蛍光発光の検出は、高感度の装置で行うことができ、バクテリオクロリン及びクロリンのサブナノモル量は生物学的媒体において測定することができる。光線診断及び光線治療のための放射源は制限されていないが、所望の波長範囲における強度の光線を選択的に利用することができることから、レーザー光が好ましい。化合物が診断のための蛍光発光を放出し、治療のための殺細胞効果を及ぼすためには、光線は十分な強度を有する必要がある。さらに、フッ素化クロリン又はバクテリオクロリンが利用される場合、フッ素MRI（磁気共鳴画像処理）によって、身体の小さな領域におけるこれらの化合物の蓄積を検出し、身体からその隙間において形成された代謝物を追うことができる。さらに、励起用としてパルスレーザーを使用する場合、それに続く無放射崩壊工程によって、光音響波を生成する熱が放出され、そのような波は、増殖過剰性疾患の診断に対してさらなる重要な情報を提供する光音響的断層撮影法によって検出することができる。

30

40

【0016】

他の目的及び技術的特徴は、一例として挙げるのであってそれに限定されることにならない以下の記載から明らかである。

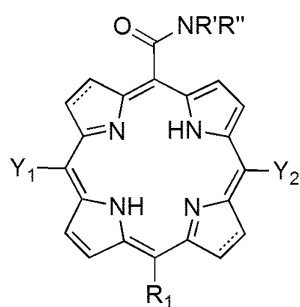
【0017】

本発明は、カルボキサミドポルフィリン誘導体、特に、式

50

【0018】

【化1】



式(I)

10

【0019】

のバクテリオクロリン又はクロリン、又はこれらの薬学的に許容される塩に係るものであり、ここで、

【0020】

【化2】

【0021】

は炭素と炭素の単結合、又は炭素と炭素の二重結合を表し、但し、少なくとも一つの

20

【0022】

【化3】

【0023】

は炭素と炭素の単結合を表しており、

Y_1 、 Y_2 はそれぞれ独立して、水素、ハロゲン化アルキル、又は炭素原子が六つ以下のハロゲン化シクロアルキル、又はハロゲン化フェニルから選択され、ここで、ハロゲンは独立してF、Cl及びBrから選択され、但し、アルキル、シクロアルキル、又はフェニルの少なくとも一つの位置がハロゲン化されており、 Y_1 、 Y_2 の少なくとも一つが水素ではない、即ち、 Y_1 、 Y_2 の少なくとも一つが、炭素原子が六つ以下のハロゲン化アルキル又はハロゲン化シクロアルキル、又はハロゲン化フェニルであり、ここで、ハロゲンは独立してF、Cl及びBrから選択され、但し、アルキル、シクロアルキル又はフェニルの少なくとも一つの位置がハロゲン化されており、

30

R_1 はH、I、Cl、Br又は $-CONR'R''$ から選択され、

R' 及び R'' は独立して水素、炭素原子が六つ以下のアルキル、シクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、アルコール、第一級アミン、第二級アミン、第三級アミン、正電荷を帯びた第四級アミン、カルボン酸、エーテル又はエステルから選択される。

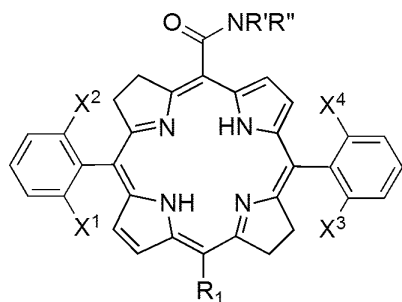
【0024】

従って、式(I)の化合物は、式

【0025】

40

【化 4】



式 (II)

10

【0026】

のバクテリオクロリン又はその薬学的に許容される塩であってもよく、ここで、 X^1 、 X^2 、 X^3 、 X^4 はそれぞれ独立して、ハロゲン (F、Cl、Br) 原子及び水素原子から選択され、但し、少なくとも X^1 及び X^3 はハロゲンであり、 R_1 はH、F、Cl、Br又は $-\text{CONR}'\text{R}''$ から選択され、 R' 及び R'' は独立して水素、炭素原子が六つ以下のアルキル、シクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、アルコール、第一級アミン、第二級アミン、第三級アミン、正電荷を帯びた第四級アミン、カルボン酸、エーテル又はエステルである。

【0027】

20

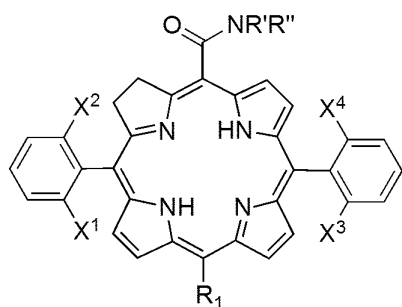
本発明の特に好ましい化合物は、式 (II) のカルボキサミドバクテリオクロリンを含み、ここで、 X^1 、 X^2 、 X^3 、 X^4 はフッ素原子であり、 R_1 は水素であり、 R' は水素であり、 R'' はメチルである。

【0028】

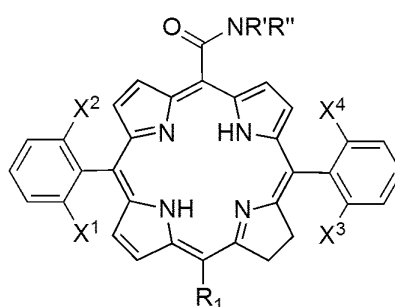
あるいは、式 (I) の化合物は、式

【0029】

【化 5】



式 (IIIa)



式 (IIIb)

30

【0030】

のクロリン又はその薬学的に許容される塩であってもよく、ここで、 X^1 、 X^2 、 X^3 、 X^4 はそれぞれ独立してハロゲン (F、Cl、Br) 原子及び水素原子から選択され、但し、少なくとも X^1 及び X^3 はハロゲンであり、 R_1 はH、F、Cl、Br又は $-\text{CONR}'\text{R}''$ から選択され、 R' 及び R'' は独立して水素、炭素原子が六つ以下のアルキル、シクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、アルコール、第一級アミン、第二級アミン、第三級アミン、正電荷を帯びた第四級アミン、カルボン酸、エーテル又はエステルから選択される。

40

【0031】

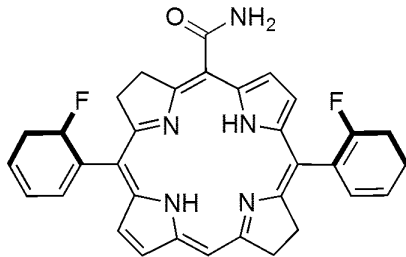
X_1 が X_2 と異なる場合及び／又は X^3 が X^4 と異なる場合、式 (II) 又は式 (III) の化合物は、フェニルと巨大環の単結合との周りでの束縛回転のためにアトロプ異性体を有する。そのような場合、アトロプ異性体は巨大環によって定義される平面のそれぞ

50

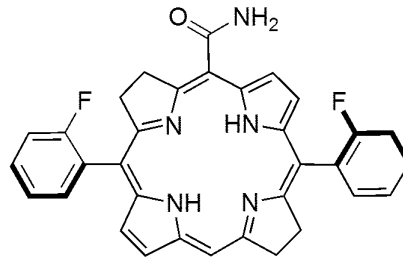
れの側のより重い原子の数によって区別することができる。式 I V は、巨大環平面の同じ側（アトロプ異性体 $\alpha\alpha$ ）、または巨大環平面の異なる側（アトロプ異性体 $\alpha\beta$ ）の、二つのフッ素原子の存在によって区別されるバクテリオクロリン誘導体の二つのアトロプ異性体を示している。

【0032】

【化6】



式(IV $\alpha\alpha$)



式(IV $\alpha\beta$)

10

【0033】

ここで、太線は、太線の原子と、それに付加した基は、巨大環によって定義される平面の上側に存在するように立体的に制限されている。

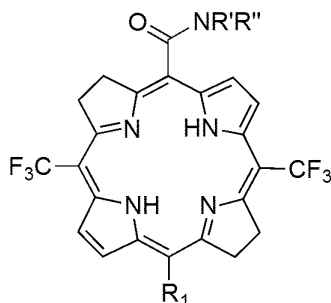
【0034】

式 (I) の化合物は、式

20

【0035】

【化7】



式(XV)

30

【0036】

のバクテリオクロリン又はその薬学的に許容される塩であってもよい。ここで、 R_1 は H、I、Cl、Br 又は $-CONR'R''$ から選択され、 R' 及び R'' は独立して水素、炭素原子が六つ以下のアルキル、シクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、アルコール、第一級アミン、第二級アミン、第三級アミン、正電荷を帯びた第四級アミン、カルボン酸、エーテル又はエステルから選択される。

【0037】

本発明の特に好ましい化合物は、式 (XV) のカルボキサミドバクテリオクロリンを含み、ここで、 R_1 は水素であり、 R' は水素であり、 R'' はメチルである。

40

【0038】

本発明はまた、本明細書に記載の有効量の化合物と薬学的に許容されるキャリアとを含む医薬組成物を提供する。

【0039】

本発明の医薬組成物における活性成分の実際の投与量レベル及び投与の経時変化は、特定の患者、組成物及び投与の態様に対して所望の治療効果が得られるのに有効な活性成分の量が得られるように、患者に対して毒性（又は許容できない毒性）でない限り異なってもよい。

【0040】

50

使用にあたっては、本発明に係る少なくとも1種の化合物は、医薬キャリアとしてそれを必要とする患者に対して静脈、筋肉内、皮下、病変内、又は脳室内注射によって、又は経口投与又は局所適用によって投与される。本発明に従い、本発明の化合物は単独で投与されてもよく、あるいは第2の異なる治療と併せることで投与されてもよい。

【0041】

「併せること」によってとは、一緒、実質的には同時、又は連続的であることを意味している。

【0042】

ここで使用する「薬学的な有効量」とは、適切な医学的判断において、治療すべき状態を著しく積極的に変更するには十分に多いが、深刻な副作用を（妥当な受益度／危険度の割合で）回避するには十分に少ないことを意味する。本発明の化合物の薬学的な有効量は、達成すべき特定の目的、治療する患者の年齢及び身体状態、基礎疾患の重要度、治療期間、同時療法の性質、及び使用する特定の化合物によって異なってもよい。例えば、子供又は新生児に投与される本発明の化合物の治療上の有効量は、適切な医学的判断に従って比例的に減少させてもよい。このように、本発明の化合物の有効量は、最少量で所望の効果が与える。さらに、光線力学的療法によって、薬学的な組成物又は化合物の「薬学的な有効量」は、治療結果を得るために必要な光量及び酸素等の他の要因に部分的に依存している。このように、被験者又は患者を治療する場合には、光の「有効量」及び酸素の量があってもよい。薬剤、光及び酸素の「薬学的な有効量」の決定に寄与する他の重要な要因には、薬剤から光までの間隔（薬剤の投与と組織の照射との間の時間）が含まれる。薬剤から光までの間隔は重要である。なぜなら、例えば50mg/kgの高い投与量の薬剤を投与して1週間後に組織を500J/cm²の光量で照射することは、0.01mg/kgの薬剤の投与量を使用することと投与してから10分後に0.1J/cm²の光量で組織を照射することと同様に能率が悪い、あるいは効果がない。薬剤の投与と照射との間の有機体による薬剤の除去（代謝）は、薬剤から光までの間隔が増加する（長くなる）場合には、治療の効果を減少させることがある。しかしながら、薬剤から光までの間隔の増加は、より選択的な治療と、より少ない副作用につながる可能性がある。このように、少なくともこれらの理由により、薬剤から光までの間隔は、本発明の組成物の「薬学的な有効量」を決定するときに考慮すべき重要な要因である。

【0043】

上で論じた薬剤、光、酸素の「効果的な量」と、薬剤から光までの間隔の決定の影響の要因に加えて、当業者は光のフルエンス率（どのくらいの量の光子が単位時間当たり、単位領域あたりに輸送されるか）を考慮してもよい。フルエンス率は重要である。なぜなら、多すぎる光子の速すぎる輸送は、組織中の酸素を激減させて、治療を非能率的又は非効果的にさせることがあるためである。

【0044】

本発明の明白な実用面での利点は、化合物が静脈内、筋肉内、皮下、経口、病変内、又は脳室内の注射の経路によって、又はクリーム又はゲル等の局所適用によって、従来の方法で投与されてもよいことである。投与の経路により、本発明の化合物を含む活性成分は、化合物を不活性化することがある酵素、酸又は他の自然条件から化合物を保護するために、材料中で被覆されることが要求されてもよい。本発明の化合物を非経口的な投与以外によって投与するために、化合物を、不活性化を防止するため、あるいは溶解を向上させるための材料によって被覆するか、又はその材料とともに投与することもできる。

【0045】

本発明はまた、式(I)の誘導体の少なくとも1種、又はその薬学的に許容される塩を含む医薬組成物と、医薬的に許容させるキャリアとに関し、これらは様々な皮膚層を通して医薬組成物が浸透できるように、皮膚を一時的に浸透性にする。

【0046】

本発明の他の目的は、ここに記載の異常又は疾病の治療に使用するための医薬の製造における、ここに記載の化合物の使用である。

【0047】

本発明の他の目的は、ここに記載の化合物の使用であって、ここに記載の疾患又は疾病の治療において使用するための医薬の製造である。

【0048】

本発明の他の目的は、ここに記載の化合物の使用であって、ここに記載の疾患又は疾病の治療に使用することである。

【0049】

ここでの可変部分の定義における化学基の一覧の列举には、一つの群又は列举された群の組み合わせとしての可変部分の定義も含まれる。ここでの可変部分に関する実施態様の列举には、一つの実施態様又は他の実施態様又はそれらを部分的に組み合わせたものが含まれる。ここでの実施態様の列举には、一つの実施態様として、又は他の実施態様又はそれらを部分的に組み合わせたものが含まれる。

10

【0050】

本発明はまた、過剰増殖性異常及び／又は癌及び／又はバクテリア性感染及び／又はウイルス性感染、若しくは菌類の感染の治療における、上述した誘導体又はその薬学的に許容される塩と、それと同様のものを少なくとも1種含む薬学的組成物の使用に関する。さらには、皮内治療及び経皮治療における薬学的組成物の使用である。

【0051】

本発明はまた、過剰増殖性異常のセラノスティックにおける上述した誘導体又はその薬学的に許容される塩の少なくとも1種を含む薬学的組成物の使用に関し、ここで、請求項1～9に記載の標的組織と関連する少なくとも1種の誘導体は、画像処理技術によって視覚化され、場合によって前記誘導体の照射によって標的組織内において所望の治療効果を引き出す。画像処理技術に磁気共鳴画像処理(MRI)が含まれる場合、式(I)の誘導体又はその薬学的に許容される塩に対し、それらが蛍光を発するのに十分なエネルギーの光を暴露するか、又は、式(I)の誘導体又はその薬学的に許容される塩に、ピコ秒又はナノ秒の期間、十分なエネルギーの光パルスを暴露することで、化合物に光音響波を発射させる。

20

【0052】

注目すべきことは、式(I)のバクテリオクロフィン又はクロフィンの分子量は、425 Daと700 Daとの間であり、それらは両親媒性であり、ほとんど水素結合を形成せず、また、それらは角質層等の生物学的障壁を通して、又は生物膜を通して、効率良く拡散してもよい。これらの誘導体の技術的特徴の一つに、それらの低い分子量と、結果としての保護的な生物学的障壁を通り抜ける流量の増加がある。他の技術的利点は、光線力学的領域において高い吸収性であり、高い量子収率でROSを生成する能力が知られている巨大環状のバクテリオクロリン又はクロリンの維持にある。さらに他の利点は、還元されたポルフィリン誘導体の光安定性を高め、脂質領域内の溶解性を、生物学的キャリア及び薬学的キャリアによる生体適合性によって均衡に保つ置換基の存在にある。式(I)のバクテリオクロリン又はクロリンのさらなる技術的特徴は、それらの蛍光発光が著しいこと、即ち、蛍光発光の量子収率が0.1よりも高く、これにより標的において無侵襲的な可視化が可能となる。この視覚化は望ましい特性である。なぜなら、それによって標的の視覚化が可能となり、例えば、光増感剤の取り囲む組織に対する標的の割合が高い場合、治療を開始するために最適なタイミングが可能となる。式(I)のバクテリオクロリン又はクロリンのセラノスティックな使用は、フッ素磁気共鳴映像処理(MRI)によってそれらがフッ素原子を含む場合、又は、光音響トモグラフィ(PAT)によって、パルスレーザー光の下で光音響波を発する場合にも利用できる。

30

40

【0053】

ここで「保護的な生物学的障壁」は、身体における分子種及び超分子種の拡散に対する障壁として、例えば、皮膚、より具体的には角質層、消化器官の障壁、そしてさらには眼の障壁、爪の障壁、細胞及びバクテリアの外膜の障壁、そしてさらには微生物によって作られる生物膜として理解されるべきである。カルボキサミドハロゲン化ポルフィリン誘導

50

体、特にバクテリオクロリン及びクロリンは、能率的に生物学的膜に浸透することができ、急速に、悪性細胞、前記生物学的障壁によって保護されるバクテリア又は菌類に対して高い光毒性を有する光増感剤となることができることは、当業者は予期できないであろう。

【0054】

(図面の簡単な説明)

ここでの開示を限定することなく、より分かり易い理解のために、本願は添付図面に示す実施態様を示している。

【0055】

図1：A) 式(V)、(VI)、(VII)及び(VIII)の分子構造。B) 式(XI)、(XII)、(XIII)及び(XIV)の分子構造。 10

【0056】

図2：式(IX)、(Xa)及び(Xb)の分子構造。

【0057】

図3：エタノール及びDMSO中の式(IX)の分子の吸収スペクトル。

【0058】

図4：ジクロロメタン中の式(XIV)の分子の吸収スペクトル。

【0059】

図5：4 J/cm²又は10 J/cm²で照射した後の、プロピオニバクテリウムアクネス(*Propionibacterium acnes*)に対する式(IX)の分子の光毒性。 20

【0060】

図6：放射(1 J/cm²)後の癌株A549及びCT26に対する式(IX)の分子の光毒性。

【0061】

図7：皮下移植されたCT26腫瘍を有するマウスのカプランマイヤー生存曲線であり、ここで実線は未処理のコントロール群を表し、破線は式(IX)の分子0.3 mg/kgで処理された群を表し、点線は式(IX)の分子0.15 mg/kgで処理された群を表す。

【0062】

図8：皮膚の表面に対して垂直にカットした皮膚サンプルを、式(IX)の分子を含む局所製剤に対して培養時間30分、60分及び90分で暴露した共焦点顕微鏡であって、ここで、明るい領域は皮膚における光増感剤の蛍光発光を示している。 30

【0063】

(実施形態の説明)

図面を参照して、ここでは選択的な実施形態をより詳細に説明するが、これらは本願の範囲を限定するものではない。

【0064】

A. 前駆体化合物

A. 1. 5, 15-ビス-(2, 6-ジフルオロフェニル)ポルフィリン前駆体

5, 15-ビス-(2, 6-ジフルオロフェニル)ポルフィリン(図1中、式V)を5, 15-ジフェニルポルフィリンの調製方法を変更して調製した(9a)。市販の2, 2'-ジピロメタン及び2, 6-ジフルオロベンズアルデヒドとの等モル混合物をトリフルオロ酢酸(TFA)の存在下で反応させた。2, 3-ジクロロ-5, 6-ジシアノ-1, 4-ベンゾキノン(DDQ)での酸化、ワークアップ及び精製の後、マルチグラムグラムスケール(~5 g)でVを収率35%で得た。Vの特徴は次の通りである。¹H NMR: (400 MHz, CDCl₃) δ ppm: -3.05 (s, 2H, -NH); 7.55-7.79 (t, 4H, Ar-H); 7.98-8.05 (m, 2H, Ar-H); 9.03 (d, J=4.4 Hz, 4H, β-H); 9.41 (d, J=4.5 Hz, 4H, β-H); 10.32 (s, 2H, メソ-H); MS (ESI-FIA-TOF): m/z 計算(C₃₂H₁₉F₄N₄) [M+H]⁺ 535.1540; 実測: 535.1536 40 50

[M+H]⁺。

【0065】

ジクロロメタン：メタノール1：1の混合物中で、5，15-ビス（2，6-ジフルオロフェニル）ポルフィリンと酢酸亜鉛（Zn(OAc)₂）との錯体形成反応によって〔5，15-ビス（2，6-ジフルオロフェニル）ポルフィリナト〕亜鉛（II）（式VI）を調製した。出発原料が完全に消失するまでマグネティックスターラーで攪拌しながら溶液を加熱した。溶液を水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させて、それから回転エバポレーターで濃縮した。4.3gの単離された生成物を99%の収率で得た。単離された生成物のNMRは次の通りである。¹H NMR：（400MHz，CDCl₃）δ ppm：7.41-7.45（t，4H，Ar-H）；7.81-7.86（m，2H，Ar-H）；9.13（d，J=4.3Hz，4H，β-H）；9.50（d，J=4.5Hz，4H，β-H）；10.37（s，2H，メソ-H）。

【0066】

ジクロロメタン（DCM）（100±20mL）中に溶解したN-ブロモスクシンイミド（NBS）（298mg±10mg）を、DCM（400±50mL）中の〔5，15-ビス（2，6-ジフルオロフェニル）ポルフィリナト〕亜鉛（II）とピリジン（1.35±0.5mL）との混合物1gに、-6℃で滴下させながら加える反応によって、〔5-ブロモ-10，20-ビス（2，6-ジフルオロフェニル）ポルフィリナト〕亜鉛（II）（式VII）を合成した。1時間後に反応を完了し、水を加え（50±20mL）、塩酸溶液0.1M（3回）と水（3回）とで有機層を続けて洗浄した。溶媒を気化させて、シリカゲル（DCM／ヘキサン）を用いたカラムクロマトグラフィーによって精製した。〔5-ブロモ-10，20-ビス（2，6-ジフルオロフェニル）ポルフィリナト〕亜鉛（II）を収率70±5%（790±40mg）で得た。¹H NMR：（400MHz，CDCl₃）δ ppm：7.34-7.38（m，4H，Ar-H）；7.76-7.79（m，2H，Ar-H）；8.33（s，4H，β-H）；9.26（d，J=4.5Hz，2H，β-H）；9.70（d，J=4.7Hz，2H，β-H）；10.13（s，1H，メソ-H）。

【0067】

アミノカルボニル反応によって5-メチルアミド-10，20-ビス（2，6-ジフルオロフェニル）ポルフィリン（式VIII）を合成した。攪拌棒を含むオートクレーブの鋼性反応装置に、〔5-ブロモ-10，20-ビス（2，6-ジフルオロフェニル）ポルフィリナト〕亜鉛（II）4.0g（5.9mmol）、酢酸パラジウム（Pd(OAc)₂）66.0mg（0.3mmol）、トリフェニルホスフィン155.0mg（0.6mmol）、トリメチルアミン0.8mL（5.9mmol）、テトラヒドロフラン（THF）中の2Mメチルアミン溶液14.6mL（29.5mmol）、及び乾燥THF60.0mLを装填した。反応装置を閉じて、5barの一酸化炭素を充填させた。混合物を70℃で攪拌し、反応を15時間継続した。反応混合物を丸底フラスコに移し、回転エバポレーターで溶媒を除去した。未反応物をDCM中に溶解させて、TFA（10mL）を加えた。反応混合物を室温で2時間攪拌した。飽和した重炭酸ナトリウム溶液と蒸留水とを使用して液液抽出によるワークアップを行った。無水硫酸ナトリウムで有機層を乾燥させて、濾過し、最終的に回転エバポレーターで溶媒を除去した。カラムクロマトグラフィー（シリカゲル，DCM：酢酸エチル，20：1）の後、2.45gの単離された生成物を収率70%で得た。単離された生成物のNMR及びMSは次の通りである。¹H NMR：（400MHz，（CD₃）₂CO）δ ppm：-3.14（s，2H，-NH）；3.56（d，J=4.2Hz，3H，-CH₃）；7.63（t，J=8.2Hz，4H，Ar-H）；8.04-8.11（m，2H，Ar-H）；8.49（bs，1H，-NH）；9.09（m，4H，β-H）；9.63（d，2H，J=4.5Hz，β-H）；9.56（d，2H，J=4.7Hz，β-H）；10.60（s，1H，メソ-H）。MS（ESI-FIA-TOF）：m/z計算：C₃₄H₂₂F₄N₅O：592.1760；実測：592.1751 [M+H]⁺。

【0068】

A2. 5, 15-ビス-(トリフルオロメチル)ポルフィリン前駆体

上述した方法(9b)を使用して、[5, 15-ビス-(トリフルオロメチル)ポルフィリナト]亜鉛(II)(図1中、式XI)を合成した。XIの特徴は次の通りである。

^1H NMR: (400 MHz, THF- d_8) δ ppm: 9.67 (d, $J=4.0$, β -H); 9.88 (bs, β -H); 10.57 (s, 2H, メソ-H)。

【0069】

ジクロロメタン中に溶解したN-ブロモスクシンイミド(NBS)を、ジクロロメタン中の[5, 15-ビス-(トリフルオロメチル)ポルフィリナト]亜鉛(II)とピリジンとの混合物に、 -6°C で滴下しながら加える反応によって、[5-ブロモ-10, 20-ビス-(トリフルオロメチル)ポルフィリン]亜鉛(II)(式XII)を合成した。1時間後に反応を完了し、水を加え、塩酸溶液0.1M(3回)と水(3回)とで有機層を続けて洗浄した。溶媒を乾燥するまで気化させて、化合物を次の反応ステップで使用した。

【0070】

アミノカルボニル反応によって5-メチルアミド-10, 20-ビス-(トリフルオロメチル)ポルフィリン(式XII)を合成した。攪拌棒を含むオートクレーブの鋼性反応装置に、[5-ブロモ-10, 20-ビス-(トリフルオロメチル)ポルフィリナト]亜鉛(II)、酢酸パラジウム、トリフェニルホスフィン、トリエチルアミン、メチルアミン及び乾燥したTHFを装填した。反応装置を閉じて、10 barまでの一酸化炭素を充填させた。混合物を 70°C で攪拌し、反応を15時間継続した。反応混合物を丸底フラスコに移し、回転エバポレーターで溶媒を除去した。未反応物をジクロロメタン中に溶解させて、トリフルオロ酢酸を加えた。反応混合物を室温で2時間攪拌した。飽和した重炭酸ナトリウム溶液と蒸留水とを使用して、液液抽出によるワークアップを行った。無水硫酸ナトリウムで有機層を乾燥させて、濾過し、最終的に回転エバポレーターで溶媒を除去した。カラムクロマトグラフィー(シリカゲル、ジクロロメタン:ヘキサン)後、生成物を単離した。XIIIの特徴は次の通りである。 ^1H NMR: (400 MHz, THF- d_8) δ ppm: -2.84 (s, 2H, $-\text{NH}$); 3.56 (d, $J=4.2$ Hz, 3H, $-\text{CH}_3$); 8.72 (bs, 1H, $-\text{NH}$); 9.66 – 9.68 (m, 4H, β -H); 9.80 (bs, 4H, β -H); 10.62 (s, 1H, メソ-H)。

【0071】

B. 材料及び方法

元素分析はLeco TruSpec CHNSの元素分析装置で行った。 ^1H -NMRと ^{19}F -NMRとスペクトルとをBrucker社製Advance 400 MHzで記録した。2DCOSY及びNOESY実験を使用して、 ^1H アサイメントを作成し、Micromass Autospecの質量分光計を使用して、ESI-FIA TOF高分解能質量分光データを得た。ダイオードアレイ(モデルSPD20 AV)が搭載されたHPLC Shimadzu Prominence。半分取カラムInertsil-PHENYLで 743 nm 、 23°C で分離を続けた($250\times 10\text{ mm}$; $5\text{ }\mu\text{m}$)。

【0072】

光学吸収: Agilent Cary 5000 UV-Vis-NIR分光計を用いてモル吸収係数を決定するときと、Shimadzu UV-2100分光計を用いたルーチン測定において、UV-Vis-NIR光学吸収を記録した。 300 nm から 800 nm までの波長における吸収スペクトルを記録した。

【0073】

蛍光発光: Horiba-Jobin Fluoromax 4からなり、サンプルを励起するために使用され、光ファイバーによってサンプルホルダーに接続されている自作の機構で蛍光発光スペクトルを記録した。サンプルホルダー内には、Avasoft 7.7.2. が搭載されたAvantesモデルSensLineへと発光光を運ぶために、励起ファイバーに対して垂直に、光ファイバーが接続されている。励起スリットを 2 mm に設

定し、平均数3で、積分時間を3秒とした。光路長が1 cmの標準キュベットを使用して、200 nmから1100 nmまでのスペクトルを得た。サンプルの統合した蛍光発光を、公知の Φ_F を有する参照の蛍光化合物の統合した蛍光発光と比較して、蛍光量子収率(Φ_F)を得た。

【0074】

蛍光寿命：サンプルを励起するための光パルス生成するLEDと、サンプルホルダーと、検出器と光学系とからなる自作の装置で蛍光寿命を決定した。励起波長を373 nmに設定し、発光を737 nmで得た。チャンネルあたり28.5 psの時間的尺度を有する1024チャンネルを使用して信号を得た。

【0075】

過度吸収：Hewlett-PackardのINfiniumオシロスコープと、励起源をNd:YAGレーザーとするSpectra-PhysicsのQuanta-Ray GCR-130とを用いて、Applied PhotophysicsのLKS.60レーザーフラッシュフォトリス分光計で三重項と三重項の過度吸収を記録した。パルス励起を355 nmに設定した。

【0076】

一重項酸素の量子収率：Nd-YAGレーザーSpectra-Physics Quanta-Ray GCR-130を使用して、室温で実験を行った。溶液を355 nmで励起して、Hamamatsu R5509-42の光電子増倍管で一重項酸素の燐光を1270 nmで得て、600ラインの等級付けを有するモノクロメーターで波長を選択した後、液体窒素チャンバー内で193 Kに冷却した。一重項酸素の発生体の参照としてフェナレノンを使用した。散乱及び蛍光発光を回避するために、放射の際にはNewportのフィルターモデル10LWF-1000-Bを使用した。

【0077】

光音響熱量測定：正面照射光音響セルとEKSPLAND:YAGによってポンピングされたEKSPLOPOのモデルPG-122を使用して、時間分解光音響熱量測定によって電子励起後に放出された熱エネルギーを測定した。2.25 MHzのPanametrics変換器を使用して信号の検出を行った。励起は690 nmであり、光音響熱力測定の参照としてアズレンを使用した。

【0078】

n-オクタノール：BPS部分率：等体積で混合したn-オクタノール中の光増感剤と、リン酸緩衝液(PBS)中の光増感剤との平衡濃度を決定するために、振とうフラスコ法の変形を用い、同じ光増感剤の代表的な蛍光バンドと検量線とを使用した。

【0079】

光脱色の実験を、メタノール：PBS(3:2)中と有機溶媒中とで行った。749 ± 3 nmでOmicron Laser ageから放射するCWレーザーを使用して、1 cmの光路長を有するキュベット内で溶液を照射した。全出力は212 mW又は244 mWであった。照射数分から数時間までの時間間隔で、それぞれの化合物についての吸収を得た。

【0080】

バクテリアに対する光毒性を、適切な波長の光を使用してプロピオニバクテリウムアクネス(P. acnes)(ATCC(登録商標)6919-Remel, Lenexa, KS, 米国)をin vitroで評価した。P. acnesバクテリアを、補強クロストリジウム培地(Oxoid, Basingstok, 英国)で、嫌気雰囲気下、37°Cで培養した。嫌気条件の発生(Anaerocult A, Merck, ダルムシュタット、ドイツ)のための小袋を有する嫌気ジャーを使用して、嫌氣的な成長条件を得た。培養液でP. acnes懸濁液を希釈して、約 1×10^7 CFU/ml(ミリリットル当たりのコロニー形成ユニット)に相当する、620 nmで1.3の光学的濃度とした。希釈された懸濁液を13000 rpmで10分間遠心分離して、PBS中で再度懸濁した。試験化合物の保存溶液をPEG 400:DMSO(プロピレングリコール400:ジメチルス

10

20

30

40

50

ルホキシド) (55:45) 中に溶解させて、PBSを使用して適切な濃度になるまで希釈した。P. acnesを含む試験化合物の培養を、透明な平底を有するDBFalconの黒96ウェルプレート(Franklin Lakes, NJ, 米国)内で、光がない条件下で30分間行った。培養時間の後、バクテリオクロリンを励起するのに適しており、全光量が 4 J/cm^2 又は 10 J/cm^2 である、Marubeni (モデルL740-66-60-550)からの、FWHM=25nmを有し740nmで放射が最大であるLED光でプレートを照射した。照射の後、それぞれのウェルの内容物を13000rpmで10分間遠心分離し、培養液中で再度懸濁した。嫌気雰囲気下、P. acnesを含むプレートを37℃で24時間培養した。培養時間の後、P. acnesの生存能力を評価した。プレートウェル内のバクテリア懸濁液を培養液で希釈して、強化クロストリジウム寒天(Oxoid, Basingstoke, 英国)を含むペトリ皿に接種した。嫌気雰囲気下で、ペトリ皿を37℃で少なくとも72時間培養した。

10

【0081】

癌細胞株に対する光毒性について、A549 (ヒトの肺腺癌) 及びCT26 (マウス結腸腺癌) 細胞株を使用して、*in vitro*で評価した。熱失活したウシ胎児血清10%と、ペニシリン1%が補充されたダルベッコ改変イーグル培地(DMEM)中で細胞を培養した。平底の96ウェルプレートで、それぞれ密度20000/ウェル及び15000/ウェルの密度の細胞を培養した。翌日、試験化合物の希釈溶液を調製し(1mMストック)、30分培養するために細胞に加えた。

【0082】

媒体中のPEG400:DMSO (55:45) 濃度は1%を超えなかった。ウェルをPBSで2回洗浄し、30分間の培養後、上述したLED光を用いて照射した。光量は 1 J/cm^2 であった。照射後に媒体をきれいな媒体に置き換えて、プレートを24時間培養し、マイクロプレート分光光度計(SynergyHT Biotek)を使用したレサズニン方法によって、その時間での細胞の生存能力を算定した。

20

【0083】

腫瘍を有するメスのBALB/cマウスの光線力学的治療法について、国立家畜機関(DGVA承認0420/000/000/2011)によって実証した。体重が18~20gのマウス(Charles River研究所、バルセロナ、スペイン)を、飲用水を自由に利用できるようにしながら標準的な実験食で飼育した。350,000CT26細胞(CRL-2638 (登録商標), ATCC-LCG標準、バルセロナ、スペイン)を0.1mlのPBSに取り入れて、それぞれの細胞をそれぞれのマウスの右脚に皮下接種することで腫瘍モデルを確立した。*in vivo*でPDTのために使用した光源は、コントローラ1201-08P及びレーザーヘッド1201-08D(Omicron, Rodgau, ドイツ)を有するモデルLDM750.300.CWA.L.Mの特注ダイオードレーザーであり、固定された発散レンズである直径2mmのモデルFD(Medlight, Ecublens, スイス)を含む光ファイバーにつながられている。

30

【0084】

皮膚透過性について、ベンジルアルコール(23%)、コリフォルE L (17%)、トランスクトール(50%)及び水(10%)を含む局所製剤を使用して評価した。この製剤に加えた光増感剤は、加える前の質量の1.85%に相当し、加えたゲル化剤(アエロジル200)は加える前の質量の5%に相当する。はじめに、光増感剤をトランスクトール中に溶解させて、3分間の攪拌及び5分間の超音波に曝した。それからベンジルアルコールとコリフォルE Lとの混合物を加えた。直後にIKAミキサー内で200rpm、5分間混合し、10分間、水を1滴ずつ滴下した。最後に、ゲル化剤であるアエロジル200を加えてミクロ乳濁ゲルを得た。月齢5ヵ月のブタから採取したサンプルを使用して、ブタの皮膚における皮膚浸透実験を行った。浸透実験を行う前に、毛とその下にある脂肪質層とを除去した。

40

【0085】

C. 化合物の特性

50

化合物の吸光度を μM の範囲のさまざまな濃度で測定し、すべての場合についてランベルト・ベールの法則にならって観察した。なお、調べた範囲では、赤外線領域における最大吸収波長 (λ_{max}) は変化しなかった。これは、たいていはモノマーとして調べた溶媒中にそれらの濃度で存在する、分子間の無視できるほどの集合体を示している。表 1 に、式 (I) の典型的なカルボキサミドハロゲン化バクテリオクロリン誘導体の、エタノール中での赤外線モル吸収係数 (ϵ_{max}) と最大波長を示す。同じ表に、大気及び N_2 飽和溶液中の三重項の寿命 (τ_{T})、蛍光寿命 (τ_{s})、蛍光発光の量子収率 (Φ_{F})、三重項状態の形成 (Φ_{T})、及びエタノール中での一重項酸素の精製 (Φ_{Δ})、及びメタノール：PBS (3 : 2) 中での光分解の量子収率 (Φ_{pd}) を示す。三重項減衰は明らかに単一指数的であり、空気飽和エタノール中で、三重項の寿命は 200 ナノ秒から 300 ナノ秒の範囲であった。そのような値は、電荷移動相互作用による光増感剤の三重項状態から分子状酸素への拡散律速エネルギー遷移と一致する (8)。光脱色実験における試験化合物の吸収強度は、照射時間の関数として単一指数的に減衰した。

【0086】

表 1：エタノール中の式 IX のカルボキサミドバクテリオクロリンの光物理学的特性と光化学的特性、及びメタノール：PBS (3 : 2) 中の光分解の量子収率、並びにバクテリア ($2\mu\text{M}$ で培養し、 $10\text{J}/\text{cm}^2$ で照射した *P. acnes*) 培養中及び癌細胞 ($1\text{J}/\text{cm}^2$ で照射した A549 及び CT26) 培養中の光生物学的特性。

【0087】

【表 1】

λ	$\varepsilon(\lambda) /$	τ_{S}	Φ_{F}	τ_{T}	$\tau_{\text{T}}(\text{N}_2)$	Φ_{Δ}	Φ_{T}	Φ_{pd}	Log	log CFU	IC50 / nM	
nm	10^3	ns		(大気)	μs			$/ 10^{-4}$	P_{OW}	<i>P. Acnes</i>	A549	CT26
	$\text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$			ns								
734	69	3.2	0.20	210	71 ± 5	0.38	0.45	1.5	2.9	9	2.5	5.8

【0088】

カルボキサミドポルフィリン誘導体、特に式 (I) のバクテリオクロリン及びクロリンの典型的な光物理学的特性及び光生物学的特性は、PDT において使用される現行の光増感剤の前述の欠点を改善する。特に、式 (I) の分子は低分子量を有することができ、生物膜によって高流量に達する場合がある。表 1 に示した光毒性を得るために用いた培養時間はわずか 30 分である一方で、上で論じたポルフィマーナトリウム及びテモポルフィンの IC50 値を得るために、18 時間の培養時間が費やされた。その上、式 (I) のバクテリオクロリン又はクロリンの IC50 値は、ポルフィマーナトリウム又はテモポルフィンの IC50 値よりも数倍低くすることができ、このことは、式 (I) のバクテリオクロリン又はクロリンは、何倍も低い濃度で臨床的に承認される光増感剤と同じ光毒性に達することを意味している。このことは、そのような光増感剤が保護的な生物学的障壁と接触してから短い期間で治療効果を引き出すのに必要な濃度に達することを可能にしている。その上、カルボキサミド基は生体適合性に対する適切な両親媒性と生物学的障壁の通り抜けを導入する、すなわち、 $\log P_{\text{OW}}$ を 1 と 3 との間とする。置換基においてハロゲン原子とともにメソ位にあるこの置換基は、式 (I) のポルフィリンの光安定性を高めることに寄与し、これは臨床的に承認された光増感剤の光安定性に匹敵する。

【0089】

光安定性の共役性、光線力学的治療法の領域における高い吸収性、ROS の高い収率及び両親媒性は、式 (I) のポルフィリン誘導体に対し、バクテリア及び癌細胞に対して高い光毒性を有するという他の有利な技術的特徴を提供する。表 1 は、 $2\mu\text{M}$ の濃度の *P. acnes* コロニーで培養し、 $10\text{J}/\text{cm}^2$ の光で照射し、その光の赤色の吸収バンドがバクテリア性 CFU の数を 9 倍減少させるといふ、式 (I) に係る光増感剤の例を示す。腫瘍細胞に対する光毒性は同様に素晴らしいものである。光量が $1\text{J}/\text{cm}^2$ の下、i

in vitro (IC50) で 50% を超える癌細胞の数を死滅させる光増感剤の投与量は 10 nM 未満である。

【0090】

式 (I) のポルフィリン誘導体、特にバクテリオクロリン又はクロリンが保護する生物障壁を超えて標的に対し迅速に拡散する能力は、光線治療領域の光で照射する場合、それらの高い光毒性と結びつき、それらのバクテリオクロリン又はクロリンは、本発明に記載の 1 種又は複数のポルフィリン誘導体の主な活性薬剤を示す、ヒト又は動物が使用するための抗てんかん性及び／又は抗菌性及び／又は抗ウイルス性及び／又は抗真菌性の薬剤として特に適している。この種の特に PDT において使用される医薬は、1 種以上の薬学的に許容される添加剤を含んでいてもよい。PDT において、本発明に記載の 1 種以上の化合物を含む薬学的な製剤は、被験者に対して局所的に、経口で、又は全身に投与されてもよく、数時間（薬剤から光の間隔）後、標的組織はポルフィリン誘導体、好ましくはバクテリオクロリン又はクロリンによって吸収される光によって照射される。局所製剤に存在する光増感剤の割合は、0.01% から 15% ままで変動してもよい。局所的に投与される、光増感剤を活性化するために使用される光量もまた変動してもよく、 $1 \text{ J} / \text{cm}^2$ と $100 \text{ J} / \text{cm}^2$ との間の量が要求されてもよい。これらの光量は光線力学的領域における光増感剤の吸収バンドに適合する光源によって送られてもよいが、但し、これらの光源は、 $250 \text{ mW} / \text{cm}^2$ に近い熱的効果より低い放射照度を有する。あるいは、光は局所製剤が投与される領域での暴露での使用を含め、長期間にわたって与えられてもよい。PDT において使用される光増感剤の体系的な投与は薬学的に許容されるキャリアによって作られ、0.1 マイクロモル/kg から 10 マイクロモル/kg の体質量までの範囲の光増感剤の量が得られる。投与後 5 日の薬剤投与に付随する薬剤から光の間隔後、光量は標的へと送られる。照射された光増感性分子によって生成される活性酸素種は、続いて起こる細胞及び／又はバクテリア及び／又はウイルスの死に至らせる化学的過程及び生物学的過程を誘発する。

【0091】

本発明の化合物はまた、光線力学的治療領域において、高い量子収率で蛍光を発してもよい。表 1 に $\Phi_F = 0.20$ を有する光増感剤の例を示す。この典型的な蛍光発光は標的組織中の化合物の存在を検出するために使用され、本発明の化合物を過剰増殖性疾患の診断に使用する可能性を提供する。

【0092】

本発明の化合物はまた、高い量子収率を有する無放射過程によってエネルギーを放つ。表 1 に、 $\Phi_F = 0.20$ 及び $\Phi_T = 0.45$ を有する光増感剤の例を示しており、これらは $\Phi_{ic} = 0.35$ の内部転換量子収率を有していなければならない。一重項状態の 3.2 ns 寿命で失われる熱エネルギーは、強度の光音響波を放つ速い熱弾性膨張を生成する。上述した光音響熱量測定用と同じように、光音響波を検出するために超音波変調器を使用することができる。あるいは、血管疾患又は過剰増殖性疾患の診断において、それらを光音響学的トモグラフィーによって検出することもできる。

【0093】

D. 化合物の調製方法の説明

本発明の他の目的は、上述した誘導体の調製方法にある。

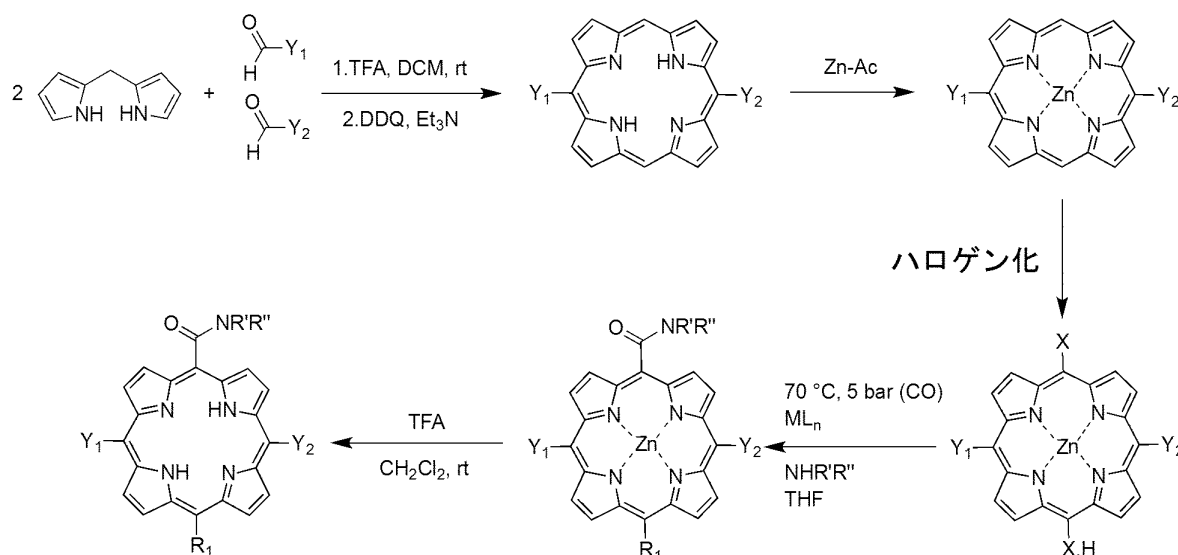
【0094】

不活性雰囲気下、DCM 中で、TFA を触媒として使用して、ハロゲン化アルデヒドを有する市販の 2, 2'-ジピロロメタンの濃縮環化法を変更することによって、非対称の 5, 15-二置換ポルフィリンを調製し (10)、DDQ を酸化剤として、ポルフィリノーゲンに対応するポルフィリンへの酸化のステップを続けた。次のステップは DCM/メタノール (1:1) 溶液中での酢酸亜鉛を用いた 5, 15-二置換ポルフィリンの金属化と、続く 10-ポルフィリン位置又は 10, 20-ポルフィリン位置のモノハロゲン化又はジハロゲン化を包含する。ポルフィリネート亜鉛 (II) 錯体を NBS で臭素化し、N-クロロスクシンイミド (NCS) で塩素化し、ビス (トリフルオロアセトキシ) ヨード

ベンゼン又は2, 6-ジクロロ-1-フルオロピリジニウムトリフラートでヨウ素化した(9a)。アミノカルボニル反応はハロゲン化アリール又はアリールトリフラート及びアミンからカルボキサミドの調製をするための標準的な工程であるが、ポルフィリンのアミノカルボニル化は一般的ではない(12)。低い圧力の一酸化炭素(1~10 bar)と50~100℃の温度で、塩基の存在下、遷移金属錯体(ML_n)触媒を使用しながら、メチルアミンによって、カルボキサミドポルフィリンを対応するハロゲン化前駆体、好ましくは臭素化された前駆体のアミノカルボニル化によって調製した。金属はモリブデン、クロム、ニッケル、又は、優先してパラジウムから選択することができる。遷移金属錯体中の配位子は、1, 2-ビス(ジフェニルホスフィノ)エタン(DPPE)、4, 5-ビス(ジフェニルホスフィノ)-9, 9-ジメチルキサンテン(キサントフォス)、1, 2-ビス(ジフェニルホスフィノ)プロパン(DPPP)、1, 2-ビス(ジフェニルホスフィノ)ブタン(DPPB)、2, 2'-ビス(ジフェニルホスフィノ)-1, 1'-ビナフチル(BINAP)、ビス-[2-(ジフェニルホスフィノ)フェニル]エーテル(DPEPhos)、2-ジ-tert-ブチルホスフィノ-2', 4', 6'-トリイソプロピルピフェニル(*t*-BuXpho)、トリ-n-アルキルホスフィン、又は、優先してトリフェニルホスフィン(PPh_3)から選択することができる。塩基は無機物であってもよく、炭酸塩、リン酸塩、フッ素化塩から選択することができる。塩基は有機物であってもよく、アミン、優先してトリエチルアミンから選択することができる。溶媒は、トルエン、ジオキサン、N-メチル-2-ピロリドン(NMP)、ジメチルホルムアミド(DMF)、DCM又はTHFから選択することができる。あるいは、CO源、即ち($M(CO)_n$)を使用してもよく、ここでMはMo又はCoである。概略的に、ポルフィリン前駆体の調製は次のように説明することができる。

【0095】

【化8】



【0096】

ここで、 Y_1 、 Y_2 はそれぞれ独立して水素、炭素原子が六つ以下のハロゲン化アルキル、又はハロゲン化シクロアルキル、又はハロゲン化フェニルから選択され、ここで、ハロゲンは独立してF、Cl及びBrから選択され、但し、アルキル、シクロアルキル又はフェニルの少なくとも一つの位置はハロゲン化されており、 Y_1 、 Y_2 の少なくとも一つは水素ではなく、 R_1 はH、F、Cl、Br又は $-CONR'R''$ から選択され、 R' 及び R'' は独立して水素、炭素原子が六つ以下のアルキル、シクロプロピル、シクロブチル、アルコール、第一級アミン、第二級アミン、第三級アミン、正電荷を帯びた第四級アミン、カルボン酸、エーテル又はエステルから選択される。

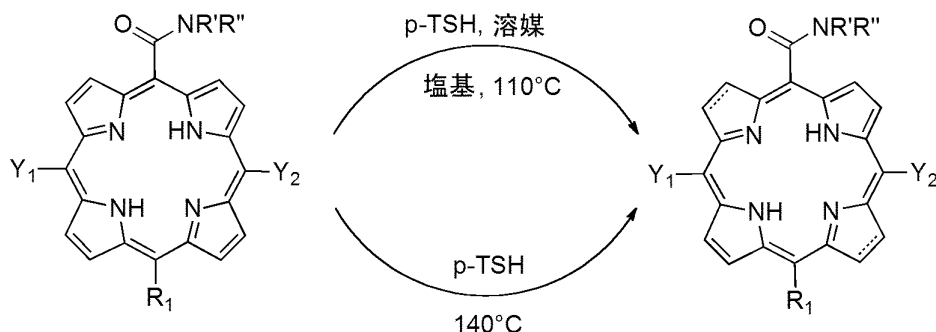
【0097】

カルボキサミドハロゲン化ポルフィリン前駆体は、それから、還元されたバクテリオク

ロリン又はクロリンを得るために使用される。還元は、水素源としてヒドラジドを使用した、好ましくは *p*-トルエンスルホニルヒドラジド (*p*-TSH)、無機の塩基又はヒンダード有機塩、を使用した、DMF、トルエン、キシレン、ピリジン及びピコリンから選択される溶媒中での、PCT/E P 2 0 0 5 / 0 1 2 2 1 2 に記載の変更を使用した、ジイミド還元方法に基づくものである。還元はまた、溶媒の不存在下且つ塩基の不存在下、PCT/P T 2 0 0 9 / 0 0 0 0 5 7 に記載の方法を変更したものとしてもよい。カルボキサミドポルフィリンから対応するバクテリオクロリン又はクロリンへの還元は次のように説明してもよい。

【0098】

【化9】



【0099】

ここで、

【0100】

【化10】

【0101】

は炭素と炭素との単結合、又は、炭素と炭素の二重結合を表し、但し、少なくとも一つの

【0102】

【化11】

【0103】

は炭素と炭素の単結合を表している。

【0104】

(実施例)

ここで、本発明は次の図面を参照しながら、次の限定しない実施例においてより詳細に説明される。

【0105】

実施例1. 5-メチルカルボキサミド-10, 20-ビス-(2, 6-ジフルオロフェニル)クロリンの調製のための手順

5-メチルカルボキサミド-10, 20-ビス-(2, 6-ジフルオロフェニル)ポルフィリン(VIII)(100±10mg)と*p*-トルエンスルホニルヒドラジド(504±10mg)との反応を、炭酸カリウム(374±10mg)及びピリジン(15mL)あるいは、溶媒を使用せずに、不活性雰囲気下、100℃と150℃の間で2時間加熱しながら反応させることによって、5-メチルカルボキサミド-10, 20-ビス-(2, 6-ジフルオロフェニル)クロリンの合成を行った。室温まで冷却した後、DCM(約50mL)を加え、有機相を塩酸溶液(0.1M)(3回)及び水(3回)で洗浄した。有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥させて、濾過し、それから濃縮させた。固体を酢酸エチル(20mL)中に溶解させて、酢酸エチル(5mL)中のクロアニル溶液(0.6当量)を加えた。最終の溶液を45℃で攪拌し続けた。バクテリオクロリン(約740nm)のUV-Vis吸収ピークが消失したときに反応を停止した。溶媒を気化させて粗生成物をDCM(50mL)中に溶解させて、それから重炭酸ナトリウムの飽和溶液、蒸留水

10

20

30

40

50

で洗浄し、それから無水硫酸ナトリウムで乾燥させた。溶媒を気化させて、シリカゲル（DCM）を用いたカラムクロマトグラフィーによって精製した。図2に示す二つの異性体（式Xa及びXb）を含む5-メチルカルボキサミド-10,20-ビス-(2,6-ジフルオロフェニル)クロリンを収率 $80 \pm 5\%$ ($80 \pm 5\text{mg}$)で得た。単離された生成物のNMR及びMSは次の通りである。

【0106】

式Xa:

$^1\text{H-NMR}$: (400MHz , $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$) δ (ppm): -1.89 (s, 1H, NH); -1.59 (s, 1H, NH); 3.34 (d, $J=4.6\text{Hz}$, 3H, CH_3); $4.33-4.37$ (m, 2H, $\beta\text{-H}$); $4.76-4.80$ (m, 2H, $\beta\text{-H}$); $7.49-7.55$ (m, 4H, Ar-H); $7.89-7.99$ (m, 2H, Ar-H); 8.29 (bs, 1H, NH); 8.44 (d, $J=4.4\text{Hz}$, 1H, $\beta\text{-H}$); 8.48 (d, $J=4.4\text{Hz}$, 1H, $\beta\text{-H}$); 8.82 (d, $J=4.2\text{Hz}$, 1H, $\beta\text{-H}$); 8.99 (d, $J=4.5\text{Hz}$, 1H, $\beta\text{-H}$); 9.06 (d, $J=4.2\text{Hz}$, 1H, $\beta\text{-H}$); 9.25 (s, 1H, メソ-H); 9.27 (d, $J=4.5\text{Hz}$, 1H, $\beta\text{-H}$)。

$^{19}\text{F-NMR}$: (376.5MHz , $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$) δ ppm: -110.47 (s, 2F, Ar-F); -111.53 (s, 2F, Ar-F)。

MS ESI-TOF: ($\text{C}_{34}\text{H}_{24}\text{F}_4\text{N}_5\text{O}$)として計算 $[\text{M}+\text{H}]^+$: 594.1911 、実測 $[\text{M}+\text{H}]^+$: 594.1911 。

【0107】

式Xb:

$^1\text{H-NMR}$: (400MHz , $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$) δ (ppm): -1.79 (s, 1H, NH); -1.63 (s, 1H, NH); 3.37 (d, $J=4.6\text{Hz}$, 3H, CH_3); $4.33-4.37$ (m, 2H, $\beta\text{-H}$); $4.68-4.72$ (m, 2H, $\beta\text{-H}$); $7.50-7.56$ (m, 4H, Ar-H); $7.90-8.04$ (m, 3H, Ar-H+NH); 8.46 (d, $J=4.4\text{Hz}$, 1H, $\beta\text{-H}$); 8.52 (d, $J=4.2\text{Hz}$, 1H, $\beta\text{-H}$); 8.83 (d, $J=4.6\text{Hz}$, 1H, $\beta\text{-H}$); 8.97 (d, $J=4.6\text{Hz}$, 1H, $\beta\text{-H}$); 9.05 (d, $J=4.3\text{Hz}$, 1H, $\beta\text{-H}$); 9.37 (d, $J=4.4\text{Hz}$, 1H, $\beta\text{-H}$); 10.05 (s, 1H, メソ-H)。

$^{19}\text{F-NMR}$: (376.5Hz , $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$) δ ppm: -110.47 (s, 2F, Ar-F); -111.52 (s, 2F, Ar-F)。

MS ESI-TOF: ($\text{C}_{34}\text{H}_{24}\text{F}_4\text{N}_5\text{O}$)として計算 $[\text{M}+\text{H}]^+$: 594.1911 、実測 $[\text{M}+\text{H}]^+$: 594.1912 。

【0108】

実施例2. 5-メチルカルボキサミド-10,20-ビス-(2,6-ジフルオロフェニル)バクテリオクロリンの調製のための手順

固体状態方法:

p-トルエンスルホンヒドラジド ($2.52 \pm 0.05\text{g}$)と5-メチルカルボキサミド-10,20-ビス-(2,6-ジフルオロフェニル)ポルフィリン ($0.2 \pm 0.05\text{g}$)との反応を $6 \times 10^{-1}\text{bar}$ 未満の圧力で、60分間加熱 ($140 \pm 1^\circ\text{C}$)しながら行って、5-メチルカルボキサミド-10,20-ビス-(2,6-ジフルオロフェニル)バクテリオクロリン (IX)を合成した。室温まで冷却した後、反応粗生成物を溶解させて、クロマトグラフィーによって精製した。5-メチルカルボキサミド-10,20-ビス-(2,6-ジフルオロフェニル)バクテリオクロリンを $80 \pm 5\%$ の収率 ($160 \pm 20\text{mg}$)で得た。

【0109】

溶媒方法: 不活性雰囲気下、3時間加熱 ($110 \pm 2^\circ\text{C}$)しながら、p-トルエンスルホンヒドラジド ($12.5 \pm 0.05\text{g}$)と5-メチルカルボキサミド-10,20-

ビス（２，６－ジフルオロフェニル）ポルフィリン（ 1 ± 0.05 g）、炭酸カリウム（ 4.6 ± 0.05 g）、２－メチルピリジン（ 20 mL）及びトルエン（ 40 mL）の反応を行うことによって、５－メチルカルボキサミド－１０，２０－ビス－（２，６－ジフルオロフェニル）バクテリオクロリン（IX）を合成した。室温まで冷却した後、DCM（約 400 mL）を加えて、続けて塩酸溶液（ 0.1 M）（３回）、水（３回）、水酸化ナトリウム（ 0.05 M）（３回）及び水（３回）で洗浄した。有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥させて、濾過し、それから濃縮した。溶媒を気化させてクロマトグラフィーによって精製した。５－メチルカルボキサミド－１０，２０－ビス－（２，６－ジフルオロフェニル）バクテリオクロリンを $75 \pm 5\%$ の収率（ 750 ± 50 mg）で得た。

【0110】

エタノール及びDMSO中のIXの吸収スペクトルを図３に示す。単離された生成物のNMR，MS及びEAは次の通りである。

【0111】

$^1\text{H-NMR}$ ：（ 400 MHz， $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ ） δ （ppm）： -1.52 （s， 1 H，NH）； -1.56 （s， 1 H，NH）； 3.30 （d， $J=4.7$ Hz， 3 H， CH_3 ）； $4.11-4.16$ （m， 4 H， β -H）； $4.43-4.45$ （m， 2 H， β -H）； $4.53-4.57$ （m， 2 H， β -H）； $7.44-7.48$ （m， 4 H，Ar-H）； $7.81-7.90$ （m， 3 H，Ar-H+NH）； $8.14-8.16$ （m， 1 H， β -H）； $8.22-8.23$ （m， 1 H， β -H）； $8.63-8.65$ （m， 1 H， β -H）； $8.78-8.80$ （m， 1 H， β -H）； 8.94 （s， 1 H，メソ-H）。

$^{19}\text{F-NMR}$ ：（ 376.5 MHz， $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ ） δ ppm： -110.70 （s， 2 F，Ar-F）； -111.76 （s， 2 F，Ar-F）。

MS ESI-FIA-TOF：（ $\text{C}_{34}\text{H}_{26}\text{F}_4\text{N}_5\text{O}$ ）として計算 $[\text{M}+\text{H}]^+$ ： 596.2066 、実測 $[\text{M}+\text{H}]^+$ ： 596.2057 。

元素分析（ $\text{C}_{34}\text{H}_{26}\text{F}_4\text{N}_5\text{O} \cdot 1/2(\text{H}_2\text{O})$ ）として計算 C 67.37、H 4.33、N 11.58、実測 C 67.37、H 4.13、N 10.99。

【0112】

実施例３． ５－メチルカルボキサミド－１０，２０－ビス－（トリフルオロメチル）バクテリオクロリンの調製のための手順

実施例２に記載の溶媒方法の合成条件及び精製条件を使用して、５－メチルカルボキサミド－１０，２０－ビス－（トリフルオロメチル）バクテリオクロリン（式XIV）の合成を行った。ジクロロメタン中のXIVの吸収スペクトルを図４に示す。単離された生成物のNMR特性は次の通りである。

【0113】

$^1\text{H-NMR}$ ：（ 400 MHz， CDCl_3 ） δ ppm： -1.00 （s， 1 H，NH）； -1.07 （s， 1 H，NH）； 3.30 （d， $J=4.7$ Hz， 3 H， CH_3 ）； $4.44-4.48$ （m， 2 H， β -H）； $4.52-4.55$ （m， 2 H， β -H）； $4.61-4.65$ （m， 2 H， β -H）； 8.05 （bs， 1 H，-NH）； $8.75-8.76$ （m， 1 H， β -H）； $8.84-8.86$ （m， 1 H， β -H）； 8.96 （bs， 2 H， β -H+メソ-H）； $9.03-9.05$ （m， 1 H， β -H）。

【0114】

実施例４． 光照射後のプロピオニバクテリウムアクネスに対するin vitroでの光毒性

この実施例では、光照射後の、式IXのカルボキサミドバクテリオクロリンのin vitroでの光毒性の評価と、尋常性座瘡の治療におけるPDT適用についてのそれらの可能性を説明する。材料及び方法の節における記載に従って光毒性を測定した。IXのn-オクタノール：PBS分配率は $P_{ow} = 2.9 \pm 0.5$ である。このカルボキサミドバクテリオクロリンに適切な製剤はPEG400：DMSO（55：45）である。試験化合物の光毒性は、未処理コントロールに対するプロピオニバクテリウムアクネスの生存能力

10

20

30

40

50

の阻害に比例し、図5に示すように、 4 J/cm^2 と 10 J/cm^2 の光量の光増感剤の濃度の関数であるCFU還元の形である。

【0115】

実施例5. 光照射後のA549癌細胞株とCT26癌細胞株に対する*in vitro*での光毒性

この実施例では、光放射後の式IXのカルボキサミドバクテリオクロリンの*in vitro*での光毒性の評価と、癌のPDTに関する可能性について説明する。使用した製剤は実施例4のものと同様である。暗室で30分間培養した、A549細胞株又はCT26細胞株を含む試験化合物は、 $40\text{ }\mu\text{M}$ までは毒性の兆候を示さなかった。材料及び方法の節の記載に従って光毒性を測定した。試験化合物の光毒性は、30分間培養し、続いてPBSで洗浄し、培養液を加え、 1 J/cm^2 の光量で照射した試験化合物の様々な濃度に対する細胞の生存割合で算定した。図6は、光増感剤の濃度が 50 nM に達する場合、ほぼすべての細胞が死滅することを示している。

【0116】

実施例6. BALB/Cマウスに移植されたCT26皮下腫瘍に対する*in vivo*での抗腫瘍PDTの有効性

この実施例では、右脚に移植されたCT26皮下腫瘍を有するマウスのPDTを説明している。腫瘍の最大直径が 5 mm に達したときに、血管のプロトコルを使用して、式IXのカルボキサミドバクテリオクロリンで腫瘍を処理した。処理プロトコルは、コリフォルムEL：エタノール：NaCl 0.9%（0.6：3：96.4，v/v/v）からなる製剤中の式IXの光増感剤の特定量の静脈内注射と、続く15分後の $749\pm 3\text{ nm}$ のレーザー光による腫瘍の照射にある。材料及び方法の節に、この処理において使用した動物モデルとレーザーと光ファイバーとを説明する。1. 33 cm^2 の領域を、腫瘍と同心状に照射して、放射照度が 130 mW/cm^2 の光量 40 J/cm^2 を送るために、光ファイバーを腫瘍表面に治して垂直に置いた。サンプルの純度を考慮して、投与された式IXのカルボキサミドバクテリオクロリンの投与量を計算した。PDTの後、マウスの腫瘍の最大直径が 15 mm に達するまで、治療に対するマウスの応答を評価するために、マウスについて追跡した。この点（人道的な終点）において、動物は犠牲になった。有効性の結果を Kaplan-Meier 生存曲線として図7に示す。この実施例ではこの研究において開示された光増感剤の光毒性は極めて高いことを示している。実に、 0.3 mg/kg の光増感剤の投与量は非常に毒性を有するので、72時間未満の後PDT処理に対して、急性反応で動物は死亡した。他の処理群における 0.15 mg/kg の光増感剤の投与量が高い耐性を有する。照射された領域における局所反応は、PDTの数日後、急性の炎症反応の発現に関連した浮腫及び紅斑を示し、腫瘍の破壊と壊疽性疥癬の形成とが付随して生じた。一旦壊疽性疥癬が分解されると、腫瘍は完全な退行を有するのが見られ、100%の治療が達成された。他方で、コントロール群（未処理群）では腫瘍は連続的に成長し、すべての動物が腫瘍の接種27日以内に死亡した。 0.15 mg/kg の光増感剤の量で処置された群の生存曲線は、未処理のコントロール群の生存曲線とは投影的に異なり、19日間の生存曲線中央値を示した（Log Rank 試験、 $p<0.05$ ）。

【0117】

実施例7. 皮膚の透過

この実施例はブタの皮膚における式IXのカルボキサミドバクテリオクロリンの透過について説明している。局所製剤及び動物モデルは材料及び方法の節に記載されたものである。局所製剤と皮膚との所定時間接触（培養時間）後の皮膚中の光増感剤の量と、皮膚への浸透深さを評価した。

【0118】

様々な培養時間後の皮膚における式IXのカルボキサミドバクテリオクロリンの量の評価は、次のステップを含むものであった。（i）30分、60分、120分の培養時間について6回の独立した測定を行うための、子ブタの皮膚 1 cm^2 の領域での 0.3 ml の製剤の適用。（ii）培養時間の終了時の皮膚表面の清浄。（iii）小さな断片への皮

膚の切断と、分散装置を利用したジクロロメタン2 ml 中での浸軟。(i v) ジクロロメタン10 ml を使用した、ファルコンチューブ内での6時間の抽出。(v) エタノールを使用した5倍希釈。体積200 μ l の試験溶液を三組の96のウェルプレートに加え、Biotek (カリフォルニア、米国) のSynergy HTマイクロプレートを使用し、508/20 nmの励起フィルターと760/35 nmの放射フィルターによって、検量線に関する蛍光強度を検出した。同じ清浄方法で得られたブランクの信号をサンプルの信号から引き、それぞれのサンプル中の光増感剤の濃度を検量線とともに得た。結果をまとめたものを表2に示す。皮膚に対する光増感剤の流動は1.5時間で $J_{max} = 4 \times 10^{-8} \text{ mol} / (\text{cm}^2 \text{ h})$ に達し、これは $MW = 594 \text{ Da}$ を有する光増感剤にとって驚くほど高い。この実施例は、この研究におけるハロゲン化クロリン及びバクテリオクロリンの低分子量のカルボキサミド誘導体が、特に生物膜を通り抜けることができることを開示している。

10

【0119】

様々な培養時間後の、皮膚における式IXのカルボキサミドバクテリオクロリンの透過の深さの評価は次のステップを含むものであった。(i) 製剤で30分間、60分間、120分間培養した組織の生検を集めてドライアイス中で凍らせた。(ii) 凍った組織をティッシュテックO. C. T. を有するホルダーに載せた。化合物(サクラファインテック、ヨーロッパB. V、ズーダーワウデ、オランダ)をクライオスタットの中で厚さ25 μ mの薄片に切断した。(iii) 皮膚の薄片を顕微鏡のスライドに集めて、顕微鏡用に凍らせた。バクテリオクロリンの共焦点蛍光を、 $\times 63$ の油浸対物レンズ(プランアポクロマート、1.4 NA; カールツァイツ)で、 $\lambda_{ex} = 514 \text{ nm}$ 、 $\lambda_{em} \geq 650 \text{ nm}$ を使用して、レーザー出力を5%、倍率を40 $\times$ として、LSM510メタ(カールツァイツ、イエナ、ドイツ)共焦点顕微鏡を用いて行った。図8に、様々な培養時間後の皮膚における光増感剤の蛍光発光イメージを図示している。皮膚を用いた製剤の培養を除いて同じ条件で実施したコントロール群では蛍光発光が見られず、図8に示す条件では、完全に黒色であった。培養時間が長くなるほど皮膚への光増感剤の浸透はより深くなり、90分で40 μ mの深さに達して上皮のほとんどをカバーすることがある。この実施例は、この研究において開示のハロゲン化クロリン及びバクテリオクロリンの低分子量のカルボキサミド誘導体は、特に、生物組織を拡散し、それらの標的に素早く到達することができることを示している。

20

30

【0120】

表2. 様々な培養時間後の、皮膚における式IXのカルボキサミドバクテリオクロリンの量。

【0121】

【表 2】

実験	培養時間 (分)	濃度 (M)	濃度平均 (M)	質量 ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)
#1	30	7.26E-07	9.09E-07	5.41 ± 1.33
#2	30	7.26E-07		
#3	30	4.97E-07		
#4	30	8.35E-07		
#5	30	6.68E-07		
#6	30	2.00E-06		
#1	60	1.06E-06	3.34E-06	19.9 ± 5.12
#2	60	2.73E-06		
#3	60	9.14E-07		
#4	60	4.20E-06		
#5	60	5.40E-06		
#6	60	5.73E-06		
#1	120	3.35E-06	6.26E-06	37.2 ± 7.45
#2	120	2.18E-06		
#3	120	6.16E-06		
#4	120	7.03E-06		
#5	120	8.53E-06		
#6	120	1.02E-05		

10

20

【0122】

もちろん、本実施形態は本明細書に記載の実施形態及び実施例に限定されるものではなく、この分野における平均的な知識を有する者は請求項に記載の主な思想から逸脱するおとなく、多くの可能な変更を予測することができる。

【0123】

(引用文献)

1. A.N. Bashkatov, E. A. Genina, V. I. Kochubey, V. V. Tuchin, Optical properties of human skin, subcutaneous and mucous tissues in the wavelength range from 400 to 2000 nm. J. Phys. D: Appl. Phys. 38, 2543-2555 (2005).
2. P. Agostinis, K. Berg, K. A. Cengel, T. H. Foster, A. W. Girotti, S. O. Gollnick, S. M. Hahn, M. R. Hamblin, A. Juzeniene, D. Kessel, M. Korbelik, J. Moan, P. Mroz, D. Nowis, J. Plette, B. C. Wilson, J. Golab, Photodynamic therapy of cancer: An update CA Cancer J. Clin 61, 250-281 (2011).
3. M. R. Hamblin, T. Hasan, Photodynamic therapy: a new antimicrobial approach to infectious disease? Photochem. Photobiol. Sci. 3, 436-450 (2004).
4. L. Huang, M. Krayner, J. G. Roubil, Y. Y. Huang, D. Holten, J. S. Lindsey, M. R. Hamblin, Stable synthetic mono-substituted cationic bacteriochlorins mediate selective broad-spectrum photoinactivation of drug-resistant pathogens at nanomolar concentrations. J. Photochem. Photobiol. B: Biol. 141, 119-127 (2014).
5. N. Dragicevic-Curic, S. Winter, M. Stupar, J. Milic, D. Krajisnik, B. Gitter. A. Fahr, Temoporfin-loaded liposomal gels: Viscoelastic properties and in vitro skin penetration, Int. J. Pharm. 373, 77-84 (2009).
6. B. M. Magnusson, Y. G. Anissimov, S. E. Cross, M. S. Roberts, Molecular size as the main determinant of solute maximum flux across the skin. J. Invest. Dermatol. 122, 993-999 (2004).

30

40

50

7. H.A. Benson, Transdermal drug delivery: penetration enhancement techniques, Curr. Drug Deliv. 2, 23-33 (2005).

8. L.G. Arnaut, M. M. Pereira, J. M. Dabrowski, E. F. Silva, F. A. Schaberle, A. R. Abreu, L. B. Rocha, M. M. Barsan, K. Urbanska. G. Stochel, C. M. Brett, Photodynamic therapy efficacy enhanced by dynamics; the role of charge transfer and photostability in the selection of photosensitizers. Chem. Eur. J. 20, 5346-5357 (2014).

9 a. S.G. Dimagno, V. S. Y. Lin, M. J. Therien, Facile elaboration of porphyrins via metal-mediated cross-coupling, J. Org. Chem. 58, 5983-5993 (1993).

9 b. D. Fan, M. Taniguchi, Z. Yao, S. Dhanalekshmi, J. S. Lindsey, 1,9-Bis(N,N-dimethylaminomethyl)dipyrromethans in the synthesis of porphyrins bearing one of two meso substituents. Tetrahedron 61, 10291-10392 (2005).

10. J.S. Lindsey, I. C. Schreiman, H. C. Hsu, P. C. Kearney, A. M. Marguerettaz, Rothemund and Adler-Longo reactions revisited: Synthesis of tetraphenylporphyrins under equilibrium condition, J. Org. Chem. 52, 827-836 (1987).

11. A. Adler, L. Sklar, F. R. Longo, J. D. Finarelli, M. G. Finarelli, A mechanistic study of the synthesis of meso-tetraphenylporphyrin, J. Heterocycl. Chem. 6, 669-678, (1968).

12. M. Ptaszek, D. Lahaye, M. Krayner, C. Muthiah, J. S. Lindsey, De novo synthesis of long-wavelength absorbing chlorin-13, 15-dicarboximides, J. Org. Chem. 75, 1659-1673 (2010).

【図面の簡単な説明】

【0124】

【図1】 A) 式(V)、(VI)、(VII)及び(VIII)の分子構造。 B) 式(XI)、(XII)、(XIII)及び(XIV)の分子構造。

【図2】 式(IX)、(Xa)及び(Xb)の分子構造。

【図3】 エタノール及びDMSO中の式(IX)の分子の吸収スペクトル。

【図4】 ジクロロメタン中の式(XIV)の分子の吸収スペクトル。

【図5】 4 J/cm^2 又は 10 J/cm^2 で照射した後の、プロピオニバクテリウムアクネス (Propionibacterium acnes) に対する式(IX)の分子の光毒性。

【図6】 放射 (1 J/cm^2) 後の癌株 A549 及び CT26 に対する式(IX)の分子の光毒性。

【図7】 皮下移植された CT26 腫瘍を有するマウスのカプランマイヤー生存曲線であり、ここで実線は未処理のコントロール群を表し、破線は式(IX)の分子 0.3 mg/kg で処理された群を表し、点線は式(IX)の分子 0.15 mg/kg で処理された群を表す。

【図8】 皮膚の表面に対して垂直にカットした皮膚サンプルを、式(IX)の分子を含む局所製剤に対して培養時間 30 分、60 分及び 90 分で暴露した共焦点顕微鏡であって、ここで、明るい領域は皮膚における光増感剤の蛍光発光を示している。

【図 1】

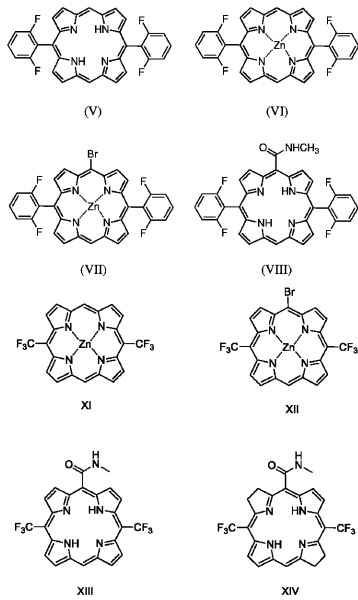


Figure 1

【図 2】

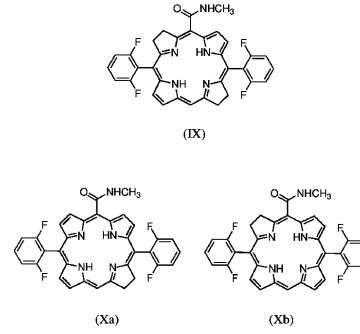
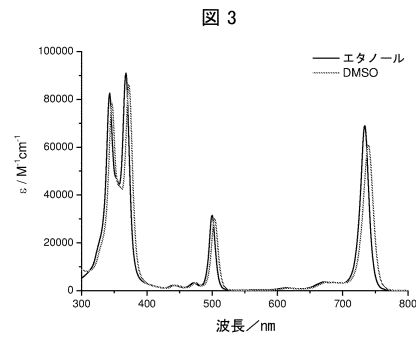
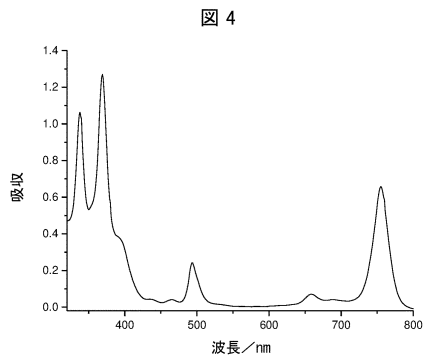


Figure 2

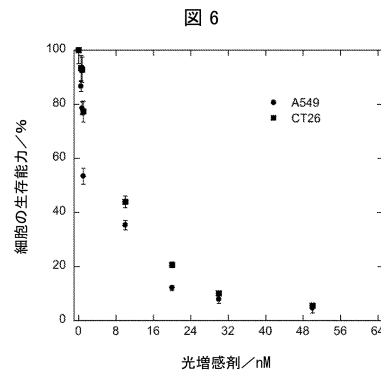
【図 3】



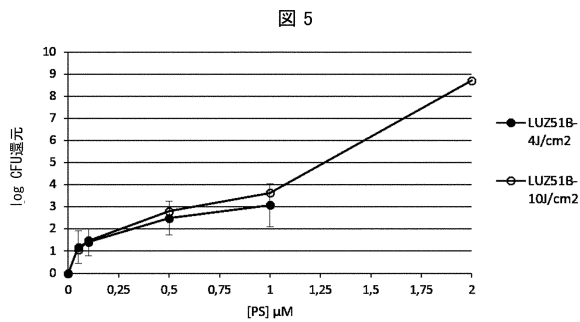
【図 4】



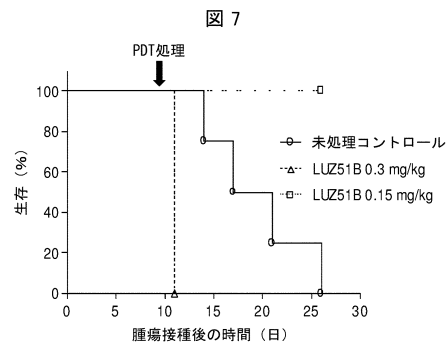
【図 6】



【図 5】

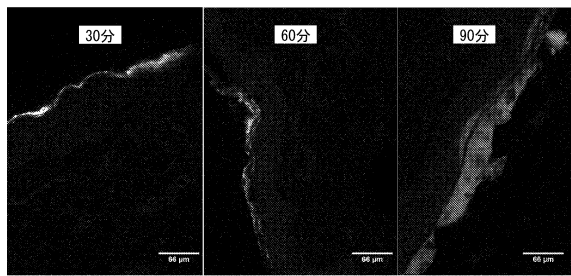


【図 7】



【図 8】

図 8



フロントページの続き

(51)Int.Cl.			F I
<i>A 6 1 K</i>	<i>8/49</i>	<i>(2006.01)</i>	<i>A 6 1 K</i> <i>8/49</i>
<i>A 6 1 P</i>	<i>35/00</i>	<i>(2006.01)</i>	<i>A 6 1 P</i> <i>35/00</i>
<i>A 6 1 P</i>	<i>19/00</i>	<i>(2006.01)</i>	<i>A 6 1 P</i> <i>19/00</i>
<i>A 6 1 P</i>	<i>17/06</i>	<i>(2006.01)</i>	<i>A 6 1 P</i> <i>17/06</i>
<i>A 6 1 P</i>	<i>27/02</i>	<i>(2006.01)</i>	<i>A 6 1 P</i> <i>27/02</i>
<i>A 6 1 P</i>	<i>31/12</i>	<i>(2006.01)</i>	<i>A 6 1 P</i> <i>31/12</i>
<i>A 6 1 P</i>	<i>31/04</i>	<i>(2006.01)</i>	<i>A 6 1 P</i> <i>31/04</i>
<i>A 6 1 P</i>	<i>31/00</i>	<i>(2006.01)</i>	<i>A 6 1 P</i> <i>31/00</i>
<i>A 6 1 P</i>	<i>33/02</i>	<i>(2006.01)</i>	<i>A 6 1 P</i> <i>33/02</i>
<i>A 6 1 P</i>	<i>33/00</i>	<i>(2006.01)</i>	<i>A 6 1 P</i> <i>33/00</i>
<i>A 6 1 P</i>	<i>33/14</i>	<i>(2006.01)</i>	<i>A 6 1 P</i> <i>33/14</i>
<i>A 6 1 P</i>	<i>9/00</i>	<i>(2006.01)</i>	<i>A 6 1 P</i> <i>9/00</i>
<i>A 6 1 P</i>	<i>9/10</i>	<i>(2006.01)</i>	<i>A 6 1 P</i> <i>9/10</i>
<i>A 6 1 P</i>	<i>17/00</i>	<i>(2006.01)</i>	<i>A 6 1 P</i> <i>17/00</i>
<i>A 6 1 Q</i>	<i>19/00</i>	<i>(2006.01)</i>	<i>A 6 1 Q</i> <i>19/00</i>
<i>A 6 1 Q</i>	<i>19/02</i>	<i>(2006.01)</i>	<i>A 6 1 Q</i> <i>19/02</i>
<i>A 6 1 Q</i>	<i>19/08</i>	<i>(2006.01)</i>	<i>A 6 1 Q</i> <i>19/08</i>

(74)代理人 110000338

特許業務法人HARAKENZO WORLD PATENT & TRADEMARK

- (72)発明者 ペレイラ ナシメント コスタ, ゴンサーロ
ポルトガル, 3 0 4 5 - 0 1 6 コインブラ, サン マルティーニョ ド ビスポ, ファ. ダ バ
イエル, エジフィショ ブルーファーマ, ルジチン
- (72)発明者 フェレイラ ゴンサルヴェス, ヌノ パウロ
ポルトガル, 3 0 4 5 - 0 1 6 コインブラ, サン マルティーニョ ド ビスポ, ファ. ダ バ
イエル, エジフィショ ブルーファーマ, ルジチン
- (72)発明者 ペレイラ モンテイロ, カルロス ジョルジ
ポルトガル, 3 0 4 5 - 0 1 6 コインブラ, サン マルティーニョ ド ビスポ, ファ. ダ バ
イエル, エジフィショ ブルーファーマ, ルジチン
- (72)発明者 ヘイス デ アブレウ, アルトゥル カルロス
ポルトガル, 2 6 2 5 - 1 9 5 ポーヴォア デ サンタ イリア, ファ. エドゥアルド ヴェイ
ガ アラウホ ジュニア ロッテ 1 1 2
- (72)発明者 フェラーズ カルドーゾ ソアレス, エルデール ターオ
ポルトガル, 4 4 4 5 - 4 9 9 エルメジンデ, ファ. デ ルアンダ 8 9 3 オーデーテーオー
- (72)発明者 ボルヘス ロッチャ, ルイス ガブリエル
ポルトガル, 3 0 4 5 - 0 1 6 コインブラ, サン マルティーニョ ド ビスポ, ファ. ダ バ
イエル, エジフィショ ブルーファーマ, ルジチン
- (72)発明者 シャベレ, ファビョ アントーニョ
ポルトガル, 3 0 4 5 - 0 1 6 コインブラ, サン マルティーニョ ド ビスポ, ファ. ダ バ
イエル, エジフィショ ブルーファーマ, ルジチン
- (72)発明者 ミゲウンス ペレイラ, マリア
ポルトガル, 3 0 0 4 - 5 3 5 コインブラ, ユニベルシダッド デ コインブラ, デパータメン
ト デ キミカ, ファ. ラーガ
- (72)発明者 ダ シルヴァ アルナウト モレイラ, ルイス ギレルメ
ポルトガル, 3 0 0 4 - 5 3 5 コインブラ, ユニベルシダッド デ コインブラ, デパータメン
ト デ キミカ, ファ. ラーガ

審査官 伊藤 佑一

- (56)参考文献 米国特許出願公開第2011/0250143 (US, A1)
国際公開第2003/057176 (WO, A1)
特表2013-503895 (JP, A)
特表2013-532664 (JP, A)

- (58)調査した分野(Int.Cl., DB名)
C07D
CAplus/REGISTRY (STN)