

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

**特表2005-526863
(P2005-526863A)**

(43) 公表日 平成17年9月8日(2005.9.8)

(51) Int.Cl.⁷**C09B 23/00
A61K 31/403
A61K 38/00
A61K 49/00
A61K 51/00**

F 1

**C09B 23/00
A61K 31/403
A61K 49/00
A61P 9/10
A61P 35/04**

テーマコード(参考)

**2G043
2G054
2G059
4C061
4C084**

審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 26 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2003-535708 (P2003-535708)
 (86) (22) 出願日 平成14年10月7日 (2002.10.7)
 (85) 翻訳文提出日 平成16年6月15日 (2004.6.15)
 (86) 國際出願番号 PCT/US2002/032022
 (87) 國際公開番号 WO2003/032902
 (87) 國際公開日 平成15年4月24日 (2003.4.24)
 (31) 優先権主張番号 09/981,271
 (32) 優先日 平成13年10月17日 (2001.10.17)
 (33) 優先権主張国 米国(US)

(71) 出願人 595181003
 マリンクロッド・インコーポレイテッド
 M a l i n c r o d t I N C.
 アメリカ合衆国、63134 ミズーリ州
 、セントルイス、マクドネル ブールバー
 ド675、ピー・オー・ボックス 584
 O
 (74) 代理人 100062144
 弁理士 青山 葵
 (74) 代理人 100067035
 弁理士 岩崎 光隆
 (74) 代理人 100064610
 弁理士 中嶋 正二
 (74) 代理人 100072730
 弁理士 小島 一晃

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】腫瘍標的光学診断用—光学治療用成分

(57) 【要約】

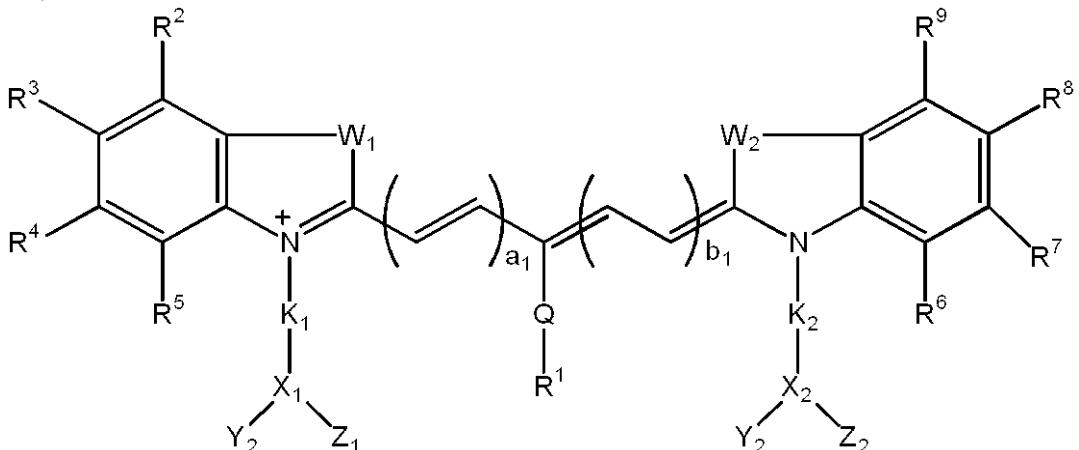
新規な腫瘍特異性光学治療用および光学診断用成分を開示する。本発明の化合物は、可視化のためのカルボシアニン染料、光動力学的処置のための光増感剤、プローブの部位特異的送達のための腫瘍レセプター-探求(渴求)ペプチド、および病変組織に対する光毒性成分とからなる。これらの要素の組み合わせにより、効率のよい患者のケアマネジメントのために、各成分のユニークかつ有効な性質の利点が最大化される。

【特許請求の範囲】

【請求項1】

一般式 1

【化 1】



^{1~6} R^{1~7}; C₅-C_{3~0} アリールからなる群から選択され; Qは単結合であるか、または-O-、-S-、-Se-、および-NR^{1~8}からなる群から選択されるものであり; a₁およびb₁は、独立して0から5まで変化し; R¹ないしR^{1~3}、およびR^{1~8}は、独立して、水素、C₁-C_{1~0}アルキル、C₅-C_{2~0}アリール、C₁-C_{1~0}アルコキシル、C₁-C_{1~0}ポリアルコキシアルキル、C₁-C_{2~0}ポリヒドロキシアルキル、C₅-C_{2~0}ポリヒドロキシアリール、C₁-C_{1~0}アミノアルキル、シアノ、ニトロ、ハロゲン、糖類、ペプチド、-CH₂(CH₂OCH₂)_b-CH₂-OH、-(CH₂)_a-CO₂H、-(CH₂)_a-CONH-Bm、-CH₂-(CH₂OCH₂)_b-CH₂-CONH-Bm、-(CH₂)_a-NHCO-Bm、-CH₂-(CH₂OCH₂)_b-CH₂-NHCO-Bm、-(CH₂)_a-OHおよび-CH₂-(CH₂OCH₂)_b-CO₂Hからなる群から選択され; R^{1~4}ないしR^{1~7}は、独立して、水素、C₁-C_{1~0}アルキル、C₅-C_{2~0}アリール、C₁-C_{1~0}アルコキシル、C₁-C_{1~0}ポリアルコキシアルキル、C₁-C_{2~0}ポリヒドロキシアルキル、C₅-C_{2~0}ポリヒドロキシアリール、C₁-C_{1~0}アミノアルキル、糖類、ペプチド、-CH₂(CH₂OCH₂)_b-CH₂-(CH₂)_a-CO-、-(CH₂)_a-CONH-、-CH₂-(CH₂OCH₂)_b-CH₂-CONH-、-(CH₂)_a-NHCO-、-CH₂-(CH₂OCH₂)_b-CH₂-NHCO-、-(CH₂)_a-O-、および-CH₂-(CH₂OCH₂)_b-CO-からなる群から選択され; BmおよびDmは独立して、生物活性なペプチド、タンパク質、細胞、抗体、抗体フラグメント、糖類、糖ペプチド、ペプチド擬似体、薬物、擬似薬、ホルモン類、金属キレート化剤、放射活性または非放射活性金属コンプレックス類、エコー源性成分、光学活性分子、および光学治療成分からなる群から選択されるものであり; aおよびcは独立して1から20まで変化し; bおよびdは独立して1から100まで変化するものである。
のシアニン染料バイオコンジュゲートを有する、化合物。

【請求項2】

式中、W₁およびW₂は、独立して-C(CH₃)₂、-C((CH₂)_aOH)CH₃、-C((CH₂)_aOH)₂、-C((CH₂)_aCO₂H)CH₃、-C((CH₂)_aCO₂H)₂、-C((CH₂)_aNH₂)CH₃、-C((CH₂)_aNH₂)₂、-C((CH₂)_aNR^{1~2}R^{1~3})₂、-NR^{1~2}、および-S-からなる群から選択され; Y₁およびY₂は、水素、腫瘍特異性成分、-CONH-Bm、-NHCO-Bm、-(CH₂)_a-CONH-Bm、-CH₂-(CH₂OCH₂)_b-CH₂-CONH-Bm、-(CH₂)_a-NHCO-Bm、-CH₂-(CH₂OCH₂)_b-CH₂-CONH-Bm、-(CH₂)_a-NR^{1~2}R^{1~3}、および-CH₂(CH₂OCH₂)_b-CH₂NR^{1~2}R^{1~3}からなる群から選択され; Z₁およびZ₂は独立して水素、光学治療成分、-CONH-Dm、-NHCO-Dm、-(CH₂)_a-CONH-Dm、-CH₂-(CH₂OCH₂)_b-CH₂-CONH-Dm、-(CH₂)_a-NHCO-Dm、-CH₂-(CH₂OCH₂)_b-CH₂-NHCO-Dm、-(CH₂)_a-NR^{1~2}R^{1~3}、および-CH₂(CH₂OCH₂)_b-CH₂NR^{1~2}R^{1~3}からなる群から選択され; K₁およびK₂は、独立してC₁-C_{1~0}アルキル、C₅-C_{2~0}アリール、C₁-C_{2~0}アルコキシル、C₁-C_{2~0}アミノアルキル、-(CH₂)_a-CO-、-(CH₂)_a-CONH、-CH₂-(CH₂OCH₂)_b-CH₂-CO-NH-、-(CH₂)_a-NHCO-、-CH₂-(CH₂OCH₂)_b-CH₂-NHCO-、および-CH₂-(CH₂OCH₂)_b-CO-からなる群から選択され; X₁およびX₂は、各単結合であるか、または独立して窒素、-CR^{1~4}-、-CR^{1~4}R^{1~5}、および-NR^{1~6}R^{1~7}からなる群から選択され; Qは単結合であるか、または-O-、-S-、および-NR^{1~8}からなる群から選択されるものであり; a₁およびb₁は、独立して0から3まで変化し; Bmは2ないし30アミノ酸ユニットを含む生物活性なペプチド、タンパク質、抗体フラグメント、モノ-およびオリゴ-サッカライド類からなる群から選択され; Dmは、光増感剤、光学活性分子、および光学治療成分からなる群から選択されるものであり; aおよびcは独立して1から10まで変化し; bおよびdは独立して1から100まで変化するものである。

10

20

30

40

50

立して 1 から 30 まで変化するものである、請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 3】

式中、各 W_1 および W_2 が $-C(CH_3)_2$ であり；各 K_1 および K_2 が $-CH_2$
 $_4CO-$ であり；各 Q 、 X_1 および X_2 が単結合であり；各 R^1 ないし R^9 、 Y_1 お
 よび Z_1 が H であり； Y_2 が腫瘍特異性成分であり；そして Z_2 が光学治療成分である、請
 求項 2 に記載の化合物。

【請求項 4】

式中、該腫瘍特異性成分が、2 ないし 30 アミノ酸ユニットを含む生物活性なペプチド
 である、請求項 3 に記載の化合物。

【請求項 5】

式中、該腫瘍特異性成分が、オクトレオテートおよびポンベシン(7-14)である、
 請求項 4 に記載の化合物。

【請求項 6】

式中、該光学治療成分が、光増感剤である、請求項 3 に記載の化合物。

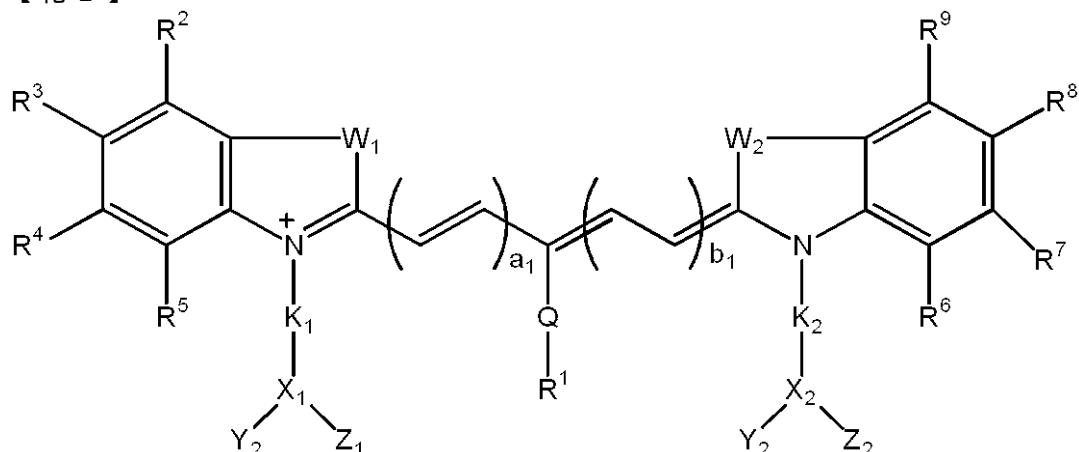
【請求項 7】

式中、該光増感剤が、2-[1-ヘキシリオキシエチル]-2-デビニルピロフェオフ
 オルパイド-a である、請求項 6 に記載の化合物。

【請求項 8】

診断および治療操作を実施する方法であって、一般式 1

【化 2】



式中、 W_1 および W_2 は、同一または異なることができ、 $-CR^{1-0}R^{1-1}-$ 、 $-O-$ 、
 $-NR^{1-2}-$ 、 $-S-$ 、および $-Se-$ からなる群から選択され； Y_1 、 Y_2 、 Z_1 、お
 よび Z_2 は、独立して水素、腫瘍特異性成分、光学治療性成分、 $-CONH-Bm$ 、 $-N$
 $HCO-Bm$ 、 $-(CH_2)_a-CONH-Bm$ 、 $-CH_2-(CH_2OCH_2)_b-C$
 $H_2-CONH-Bm$ 、 $-(CH_2)_a-NHCO-Bm$ 、 $-CH_2-(CH_2OCH_2)$
 $_b-CH_2-NHCO-Bm$ 、 $-(CH_2)_a-N(R^{1-2})-(CH_2)_b-CON$
 $H-Bm$ 、 $-(CH_2)_a-N(R^{1-2})-(CH_2)_c-NHCO-Bm$ 、 $-(CH_2)$
 $_a-N(R^{1-2})-CH_2-(CH_2OCH_2)_b-CH_2-CONH-Bm$ 、 $-(C$
 $H_2)_a-N(R^{1-2})-CH_2-(CH_2OCH_2)_b-CH_2-NHCO-Bm$ 、
 $-CH_2-(CH_2OCH_2)_b-CH_2-N(R^{1-2})-(CH_2)_a-CONH-Bm$
 $-(CH_2)_b-CH_2-(CH_2OCH_2)_b-CH_2-N(R^{1-2})-(CH_2)_a-CH_2$
 $-CONH-Bm$ 、 $-CH_2-(CH_2OCH_2)_b-CH_2-N(R^{1-2})-CH_2-(CH_2OC$
 $H_2)_d-CONH-Bm$ 、 $-CH_2-(CH_2OCH_2)_b-CH_2-N(R^{1-2})-$
 $CH_2-(CH_2OCH_2)_d-NHCO-Bm$ 、 $-CONH-Dm$ 、 $-NHCO-Dm$
 $-(CH_2)_a-CONH-Dm$ 、 $-CH_2-(CH_2OCH_2)_b-CH_2-CON$
 $H-Dm$ 、 $-(CH_2)_a-NHCO-Dm$ 、 $-CH_2-(CH_2OCH_2)_b-CH_2$
 $-NHCO-Dm$ 、 $-(CH_2)_a-N(R^{1-2})-(CH_2)_b-CONH-Dm$ 、 $-(CH_2)_a-N(R^{1-2})-(CH_2)_c-NHCO-Dm$ 、 $-(CH_2)_a-N(R^{1-2})-$

10

20

30

40

50

$\text{C}^{1-2}\text{H}_2 - (\text{CH}_2\text{OCH}_2)_b - \text{CH}_2 - \text{CONH-Dm}$ 、 $- (\text{CH}_2)_a - \text{N}(\text{R}^{1-2}) - \text{CH}_2 - (\text{CH}_2\text{OCH}_2)_b - \text{CH}_2 - \text{NHCO-Dm}$ 、 $- \text{CH}_2 - (\text{CH}_2\text{OCH}_2)_b - \text{CH}_2 - \text{N}(\text{R}^{1-2}) - (\text{CH}_2)_a - \text{CONH-Dm}$ 、 $- \text{CH}_2 - (\text{CH}_2\text{OCH}_2)_b - \text{CH}_2 - \text{N}(\text{R}^{1-2}) - (\text{CH}_2)_a - \text{NHCO-Dm}$ 、 $- \text{CH}_2 - (\text{CH}_2\text{OCH}_2)_b - \text{CH}_2 - \text{N}(\text{R}^{1-2}) - \text{CH}_2 - (\text{CH}_2\text{OCH}_2)_d - \text{CONH-Dm}$ 、 $- \text{CH}_2 - (\text{CH}_2\text{OCH}_2)_b - \text{CH}_2 - \text{N}(\text{R}^{1-2}) - \text{CH}_2 - (\text{CH}_2\text{OCH}_2)_d - \text{NHCO-Dm}$ 、 $- (\text{CH}_2)_a - \text{NR}^{1-2}\text{R}^{1-3}$ 、および $- \text{CH}_2 - (\text{CH}_2\text{OCH}_2)_b - \text{CH}_2 \text{NR}^{1-2}\text{R}^{1-3}$ からなる群から選択され； K_1 および K_2 は、独立して $\text{C}_1 - \text{C}_{3-0}$ アルキル、 $\text{C}_5 - \text{C}_{3-0}$ アリール、 $\text{C}_1 - \text{C}_{3-0}$ アルコキシリル、 $\text{C}_1 - \text{C}_{3-0}$ ポリアルコキシリアルキル、 $\text{C}_1 - \text{C}_{3-0}$ ポリヒドロキシリアルキル、 $\text{C}_5 - \text{C}_{3-0}$ ポリヒドロキシリアルリール、 $\text{C}_1 - \text{C}_{3-0}$ アミノアルキル、糖類、ペプチド、 $- \text{CH}_2 - (\text{CH}_2\text{OCH}_2)_b - \text{CH}_2 - (\text{CH}_2)_a - \text{CO} -$ 、 $- (\text{CH}_2)_a - \text{CONH} -$ 、 $- \text{CH}_2 - (\text{CH}_2\text{OCH}_2)_b - \text{CH}_2 - \text{CONH} -$ 、 $- (\text{CH}_2)_a - \text{NHCO} -$ 、 $- (\text{CH}_2)_a - \text{O} -$ 、および $- \text{CH}_2 - (\text{CH}_2\text{OCH}_2)_b - \text{CO} -$ からなる群から選択され； X_1 および X_2 は、各単結合、または独立して窒素、糖類、 $- \text{CR}^{1-4} -$ 、 $- \text{CR}^{1-4}\text{R}^{1-5} -$ 、 $- \text{NR}^{1-6}\text{R}^{1-7}$ ； $\text{C}_5 - \text{C}_{3-0}$ アリールからなる群から選択され； Q は単結合であるか、または $- \text{O} -$ 、 $- \text{S} -$ 、 $- \text{Se} -$ 、および $- \text{NR}^{1-8}$ からなる群から選択されるものであり； a_1 および b_1 は、独立して0から5まで変化し； R^1 ないし R^{1-3} 、および R^{1-8} は、独立して、水素、 $\text{C}_1 - \text{C}_{1-0}$ アルキル、 $\text{C}_5 - \text{C}_{2-0}$ アリール、 $\text{C}_1 - \text{C}_{1-0}$ アルコキシリル、 $\text{C}_1 - \text{C}_{1-0}$ ポリアルコキシリアルキル、 $\text{C}_1 - \text{C}_{2-0}$ ポリヒドロキシリアルキル、 $\text{C}_5 - \text{C}_{2-0}$ ポリヒドロキシリアルリール、 $\text{C}_1 - \text{C}_{1-0}$ アミノアルキル、シアノ、ニトロ、ハロゲン、糖類、ペプチド、 $- \text{CH}_2 - (\text{CH}_2\text{OCH}_2)_b - \text{CH}_2 - \text{OH}$ 、 $- (\text{CH}_2)_a - \text{CO}_2\text{H}$ 、 $- (\text{CH}_2)_a - \text{CONH-Bm}$ 、 $- \text{CH}_2 - (\text{CH}_2\text{OCH}_2)_b - \text{CH}_2 - \text{CONH-Bm}$ 、 $- (\text{CH}_2)_a - \text{NHCO-Bm}$ 、 $- \text{CH}_2 - (\text{CH}_2\text{OCH}_2)_b - \text{CH}_2 - \text{NHCO-Bm}$ 、 $- (\text{CH}_2)_a - \text{OH}$ および $- \text{CH}_2 - (\text{CH}_2\text{OCH}_2)_b - \text{CO}_2\text{H}$ からなる群から選択され； R^{1-4} ないし R^{1-7} は、独立して、水素、 $\text{C}_1 - \text{C}_{1-0}$ アルキル、 $\text{C}_5 - \text{C}_{2-0}$ アリール、 $\text{C}_1 - \text{C}_{1-0}$ アルコキシリル、 $\text{C}_1 - \text{C}_{1-0}$ ポリアルコキシリアルキル、 $\text{C}_1 - \text{C}_{2-0}$ ポリヒドロキシリアルキル、 $\text{C}_5 - \text{C}_{2-0}$ ポリヒドロキシリアルリール、 $\text{C}_1 - \text{C}_{1-0}$ アミノアルキル、糖類、ペプチド、 $- \text{CH}_2 - (\text{CH}_2\text{OCH}_2)_b - \text{CH}_2 - (\text{CH}_2)_a - \text{CO} -$ 、 $- (\text{CH}_2)_a - \text{CONH} -$ 、 $- \text{CH}_2 - (\text{CH}_2\text{OCH}_2)_b - \text{CH}_2 - \text{CONH} -$ 、 $- (\text{CH}_2)_a - \text{NHCO} -$ 、 $- \text{CH}_2 - (\text{CH}_2\text{OCH}_2)_b - \text{CH}_2 - \text{NHCO} -$ 、 $- (\text{CH}_2)_a - \text{O} -$ 、および $- \text{CH}_2 - (\text{CH}_2\text{OCH}_2)_b - \text{CO} -$ からなる群から選択され； Bm および Dm は独立して、生物活性なペプチド、タンパク質、細胞、抗体、抗体フラグメント、糖類、糖ペプチド、ペプチド擬似体、薬物、擬似薬、ホルモン類、金属キレート化剤、放射活性または非放射活性金属コンプレックス類、エコー源性成分、光学活性分子、および光学治療成分からなる群から選択されるものであり； a および c は独立して1から20まで変化し； b および d は独立して1から100まで変化するものである。
 のシアニン染料バイオコンジュゲートの組成物の有効量を個体に投与し、それから診断および治療を実施することを含む、方法。

【請求項9】

請求項8に従う診断および治療操作を実施する方法であって、式中、 W_1 および W_2 は、独立して $- \text{C}(\text{CH}_3)_2$ 、 $- \text{C}((\text{CH}_2)_a\text{OH})\text{CH}_3$ 、 $- \text{C}((\text{CH}_2)_a\text{OH})_2$ 、 $- \text{C}((\text{CH}_2)_a\text{CO}_2\text{H})\text{CH}_3$ 、 $- \text{C}((\text{CH}_2)_a\text{CO}_2\text{H})_2$ 、 $- \text{C}((\text{CH}_2)_a\text{NH}_2)\text{CH}_3$ 、 $- \text{C}((\text{CH}_2)_a\text{NH}_2)_2$ 、 $- \text{C}((\text{CH}_2)_a\text{NR}^{1-2}\text{R}^{1-3})_2$ 、 $- \text{NR}^{1-2}$ 、および $- \text{S} -$ からなる群から選択され； Y_1 および Y_2 は、水素、腫瘍特異性成分、 $- \text{CONH-Bm}$ 、 $- \text{NHCO-Bm}$ 、 $- (\text{CH}_2)_a - \text{CONH-Bm}$ 、 $- (\text{CH}_2)_a - \text{NHCO-Bm}$ 、 $- \text{CH}_2 - (\text{CH}_2\text{OCH}_2)_b - \text{CH}_2 - \text{CONH-Bm}$ 、 $- (\text{CH}_2)_a - \text{NHCO-Bm}$ 、 $- \text{CH}_2 - (\text{CH}_2\text{OCH}_2)_b - \text{CH}_2 - \text{NHCO-Bm}$ 、 $-$

10

20

30

40

50

(C₂H₂)_a-NR¹₂R¹₃、および-C₂H₂(C₂H₂OCH₂)_b-C₂H₂NR¹₂R¹₃からなる群から選択され；Z₁およびZ₂は独立して水素、光学治療成分、-CO-NH-Dm、-NHC-O-Dm、-(C₂H₂)_a-CONH-Dm、-C₂H₂-(C₂H₂OCH₂)_b-C₂H₂-CONH-Dm、-(C₂H₂)_a-NHC-O-Dm、-C₂H₂-(C₂H₂OCH₂)_b-C₂H₂-NHC-O-Dm、-(C₂H₂)_a-NR¹₂R¹₃、および-C₂H₂(C₂H₂OCH₂)_b-C₂H₂NR¹₂R¹₃からなる群から選択され；K₁およびK₂は、独立してC₁-C₁₀アルキル、C₅-C₂₀アリール、C₁-C₂₀アルコキシリル、C₁-C₂₀アミノアルキル、-(C₂H₂)_a-CO-、-(C₂H₂)_a-CONH、-C₂H₂-(C₂H₂OCH₂)_b-C₂H₂-CONH-、-(C₂H₂)_a-NHC-O-、-C₂H₂-(C₂H₂OCH₂)_b-C₂H₂-NHC-O-、および-C₂H₂-(C₂H₂OCH₂)_b-CO-からなる群から選択され；X₁およびX₂は、各単結合であるか、または独立して窒素、-CR¹₄-、-CR¹₄R¹₅、および-NR¹₆R¹₇からなる群から選択され；Qは単結合であるか、または-O-、-S-、および-NR¹₈からなる群から選択され；a₁およびb₁は、独立して0から3まで変化し；Bmは2ないし30アミノ酸ユニットを含む生物活性なペプチド、タンパク質、抗体フラグメント、モノ-およびオリゴ-サッカライド類からなる群から選択され；Dmは、光増感剤、光学活性分子、および光学治療成分からなる群から選択されるものであり；aおよびcは独立して1から10まで変化し；bおよびdは独立して1から30まで変化するものである、シアニン染料バイオコンジュゲートの組成物の有効量を個体に投与することを含む方法。
10
20

【請求項 10】

式中、各W₁およびW₂が-C(C₂H₃)₂であり；各K₁およびK₂が-(C₂H₂)₄CO-であり；各Q、X₁およびX₂が単結合であり；各R¹ないしR⁹、Y₁およびZ₁がHであり；Y₂が腫瘍特異性成分であり；そしてZ₂が光学治療成分である、シアニン染料バイオコンジュゲートの組成物の有効量を個体に投与することを含む、請求項9に従う診断および治療操作を実施する方法。

【請求項 11】

式中、該腫瘍特異性成分が、2ないし30アミノ酸ユニットを含む生物活性なペプチドである、シアニン染料バイオコンジュゲートの組成物の有効量を個体に投与することを含む、請求項10に従う診断および治療操作を実施する方法。
30

【請求項 12】

式中、該腫瘍特異性成分が、オクトレオテートおよびポンベシン(7-14)である、シアニン染料バイオコンジュゲートの組成物の有効量を個体に投与することを含む、請求項11に従う診断および治療操作を実施する方法。

【請求項 13】

式中、該光学治療成分が光増感剤である、シアニン染料バイオコンジュゲートの組成物の有効量を個体に投与することを含む、請求項10に従う診断および治療操作を実施する方法。

【請求項 14】

式中、該光増感剤が、2-[1-ヘキシリオキシエチル]-2-デビニルピロフェオフオルバイド-aである、シアニン染料バイオコンジュゲートの組成物の有効量を個体に投与することを含む、請求項13に従う診断および治療操作を実施する方法。
40

【請求項 15】

該操作が、300-1300nmの波長領域の光を利用するものである、請求項8の方法。

【請求項 16】

該診断操作が光学的断層撮影法である、請求項8の方法。

【請求項 17】

該診断操作が蛍光内視鏡法である、請求項8の方法。

【請求項 18】

50

該操作が、さらに造影および治療の段階を含み、該造影および治療が、吸収、光散乱、光音響分光法および音響蛍光法からなる群から選択されるものである、請求項 8 の方法。

【請求項 19】

該操作が、アテローム性ブラークおよび血塊を診断および処置するためのものである、請求項 8 の方法。

【請求項 20】

該操作が局所化治療を付与することを含む、請求項 8 の方法。

【請求項 21】

該治療操作が、光動力学的療法を含む、請求項 8 の方法。

【請求項 22】

該治療操作が、微少転移の検出および処置のための、レーザー介助手術（L A G S）を含む、請求項 8 の方法。

【発明の詳細な説明】

【発明の詳細な説明】

【0001】

本発明は、診断および治療での使用のための新規な染料・バイオコンジュゲート、特に生物活性のある分子のシアニン染料バイオコンジュゲートの新規な組成物に関する。

【0002】

背景技術

癌は、予見し得る将来にわたって第 1 の死因であり続けるであろうが、腫瘍の早期検出は患者の予後を改善するであろう (R. T. Greenlee et al., Cancer statistics, 2000, C A Cancer J. Clin., 2000, 50, pp. 7-33)。癌診断法は、近年その進歩が顕著であるにもかかわらず、臨床医はいまだに触知可能な腫瘍の塊の存在によっている。しかしながら、早期医療介入には多くの利点があるので、この点で既に折合いがつけられつつある。

【0003】

光学診断および / または光学治療は、癌患者の管理を改善する多大の可能性を有する [D. A. Benaron and D. K. Stevenson, Optical time-of-flight and absorbance imaging of biologic media, Science, 1993, 259, pp. 1463-1466; R. F. Potter (Series Editor), Medical optical tomography: functional imaging and monitoring, SPIE Optical Engineering Press, Bellingham, 1993; G. J. Tearney et al., In vivo endoscopic optical biopsy with optical coherence tomography, Science, 1997, 276, pp. 2037-2039; B. J. Tromberg et al., Non-invasive measurements of breast tissue optical properties using frequency-domain photon migration, Phil. Trans. Royal Society London B, 1997, 352, pp. 661-668; S. Fantini et al., Assessment of the size, position, and optical properties of breast tumors in vivo by non-invasive optical methods, Appl. Opt., 1998, 37, pp. 1982-1989; A. Pelegrin et al., Photoimmunodiagnosis with antibody-fluorescein conjugates: in vitro and in vivo preclinical studies, J. Cell Pharmacol., 1992, 3, pp. 141-145]。これらの操作は、所望の効果を導くために可視または近赤外光線を使用する。光学的検出および光学治療のいずれもが、臨床用装置および生物医学的研究において安全かつ有効であることが示されている [B. C. Wilson, Optical properties of tissues, Encyclopedia of Human Biology, 1991, 5, 587-597; Y-L. He et al., Measurement of blood volume using indocyanine green measured with pulse-spectrometry: Its reproducibility and reliability, Critical Care Medicine, 1998, 26, pp. 1446-1451; J. Caesar et al., The use of Indocyanine green in the measurement of hepatic blood flow and as a test of hepatic function, Clin. Sci., 1961, 21, pp. 43-57; R. B. Mujumdar et al., Cyanine dye labeling reagents: Sulfoindocyanine succinimidyl esters, Bioconjugate Chemistry, 1993, 4, pp. 105-111; U.S. Patent No. 5,453,505; Eric Hohenschuh, et al., Light imaging contrast agents, WO 98/48846; Jonathan Turner, et al., Optical diagnostic agents for the diagnosis of neurodegenerative diseases by means of near infra-red radiat

10

20

30

40

50

ion, WO 98/22146; Kai Licha, et al., In-vivo diagnostic process by near infrared radiation, WO 96/17628; Robert A. Snow, et al., Compounds, WO 98/48838].

【0004】

染料は、光学的検出および光学的治療において、信号検出および / または組織の光感受性を強めるのに重要である。従来の研究で、ある種の染料は腫瘍中に局在化でき、小型の腫瘍検出および治療のための強力なプローブとして役立つことが示されている(D. A. Bel Inier et al., Murine pharmacokinetics and antitumor efficacy of the photodynamic sensitizer 2-[1-hexyloxyethyl]-2-devinyl pyropheophorbide-a, J. Photochem. Photobiol., 1993, 20, pp. 55-61; G. A. Wagnieres et al., In vivo fluorescence spectroscopy and imaging for oncological applications, Photochem. Photobiol., 1998, 68, pp. 603-632; J. S. Reynolds et al., Imaging of spontaneous canine mammary tumors using fluorescent contrast agents, Photochem. Photobiol., 1999, 70, pp. 87-94)。しかしながら、これらの染料を、悪性組織中に優先的に局在化させることはできない。

【0005】

染料を大型のバイオ分子とコンジュゲートさせることによる、悪性組織への染料の特異性を改善する努力がなされてきた(A. Pelegrin, et al., Photoimmunodiagnosis with antibody-fluorescein conjugates: in vitro and in vivo preclinical studies, J. Cell Pharmacol., 1992, 3, pp. 141-145; B. Ballou et al., Tumor labeling in vivo using cyanine-conjugated monoclonal antibodies, Cancer Immunol. Immunother., 1995, 41, pp. 257-263; R. Weissleder et al., In vivo imaging of tumors with protease-activated near-infrared fluorescent probes, Nature Biotech., 1999, 17, pp. 375-378; K. Licha et al., New contrast agents for optical imaging: Acid-cleavable conjugates of cyanine dyes with biomolecules, Proc. SPIE, 1999, 3600, pp. 29-35)。腫瘍の探索、診断、および治療機能の役割を組合せ得る染料の開発は、いくつかの理由で非常に困難なものであった。現時使用されている染料は、細胞の脂肪膜を透過する染料の脂肪親和性に通常依存する、非特異的メカニズムによって腫瘍中に局在化する。これらの脂肪親和性染料は、正常組織から消失するのに数時間ないし数日を要し、また正常組織に対する腫瘍中の比率はいつも低い。さらに、深部組織の造影の場合に必要になる光動力学的特性を蛍光照射と組み合わせることには、染料の光感受性効果または蛍光定量収率 (quantum yield) のいずれかを調和させなければならない分子が必要となる。光学治療剤の光感受性は、該治療剤の励起状態から周囲の分子または組織へのエネルギー移動に依存するが、他方蛍光照射は励起エネルギーが光の態様で照射されることを必要とする(T. J. Dougherty et al., Photoradiation therapy II: Cure of animal tumors with hematoporphyrin and light, Journal of National Cancer Institute, 1978, 55, pp. 115-121)。それ故、高効率の光感受性の腫瘍処置剤を提供する、最適の腫瘍標的化能を有する化合物および組成物が必要とされている。そのような治療剤は、腫瘍に対する増強された特異性を示し、また光検出に対する優れた光物理学的特性をも有するものであろう。

前記各文献は、その全部を参照して明示的に本明細書の一部とする。

【0006】

本発明の要約

本発明は、カルボシアニン染料のバイオコンジュゲートのための組成物に関する。このバイオコンジュゲートは、3種の構成成分：1)腫瘍特異性成分、2)光増感剤(光学治療用成分)、および、3)光学診断用成分、からなる。本発明のバイオコンジュゲートは、カルボシアニン染料構造の多数の結合ポイントを利用して、同一分子内に、1つまたはそれ以上の標識化レセプターおよび / または光感受性基を導入するものである。本発明の組成物は、各種の生物医学的適用において使用され得る。

【0007】

本発明は、本発明のシアニン染料バイオコンジュゲートの組成物の有効量を各個体に投与することによる、診断および治療操作を実施するための方法にも関する。本発明の方法

10

20

30

40

50

は、各種の生物医学的適用、例えば、腫瘍のイメージ化、抗癌剤の腫瘍標的化、およびレーザー介助手術の実施等、において使用され得る。

[0 0 0 8]

図面の簡単な説明

図1は、本発明化合物の代表的構造を示す。

図2は、各種腫瘍を有するラットに、インドシアニングリーンを注射後2分および30分において撮影したイメージを示す。

図3は、サイテートの投与後1分および45分において撮影した、CA20948腫瘍を有するラットの蛍光イメージを示す。

図4は、サイテートの投与後27時間で撮影した、CA20948腫瘍を有するラットの蛍光イメージである。

図5は、サイテートの投与後27時間における、CA20948腫瘍を有するラットからの摘出組織および器官の蛍光イメージを示す。

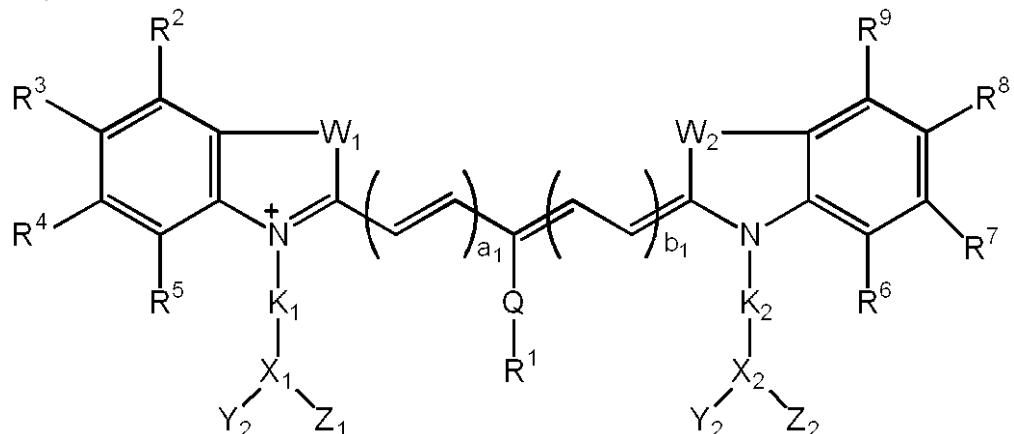
図6は、ポンベシネットの投与後22時間における、AR42-J腫瘍を有するラットの蛍光イメージである。

【 0 0 0 9 】

発明の詳細な説明

本発明は、一般式 1

【化 1】



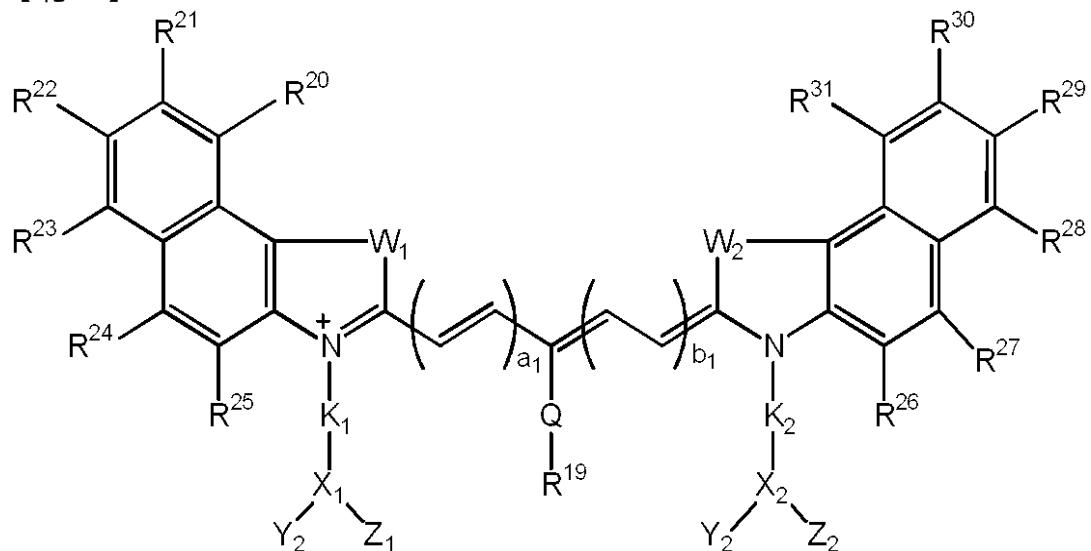
一般式 1

²) - C H ₂ - (C H ₂ O C H ₂) _b - C H ₂ - C O N H - D m、 - (C H ₂) _a - N (R ¹ ₂) - C H ₂ - (C H ₂ O C H ₂) _b - C H ₂ - N (R ¹ ₂) - (C H ₂) _a - C O N H - D m、 - C H ₂ - (C H ₂ O C H ₂) _b - C H ₂ - N (R ¹ ₂) - (C H ₂) _a - N H C O - D m、 - C H ₂ - (C H ₂ O C H ₂) _b - C H ₂ - N (R ¹ ₂) - C H ₂ - (C H ₂ O C H ₂) _d - C O N H - D m、 - C H ₂ - (C H ₂ O C H ₂) _b - C H ₂ - N (R ¹ ₂) - C H ₂ - (C H ₂ O C H ₂) _d - N H C O - D m、 - (C H ₂) _a - N R ¹ ₂ R ¹ ₃、および - C H ₂ (C H ₂ O C H ₂) _b - C H ₂ N R ¹ ₂ R ¹ ₃ からなる群から選択され； K ₁ および K ₂ は、独立して C ₁ - C ₃ ₀ アルキル、 C ₅ - C ₃ ₀ アリール、 C ₁ - C ₃ ₀ アルコキシリル、 C ₁ - C ₃ ₀ ポリアルコキシリアルキル、 C ₁ - C ₃ ₀ ポリヒドロキシリアルキル、 C ₅ - C ₃ ₀ ポリヒドロキシアリール、 C ₁ - C ₃ ₀ アミノアルキル、糖類、ペプチド、 - C H ₂ (C H ₂ O C H ₂) _b - C H ₂ - (C H ₂) _a - C O -、 - (C H ₂) _a - C O N H -、 - C H ₂ - (C H ₂ O C H ₂) _b - C H ₂ - C O N H -、 - (C H ₂) _a - N H C O -、 - C H ₂ - (C H ₂ O C H ₂) _b - C O - からなる群から選択され； X ₁ および X ₂ は、各単結合、または独立して窒素、糖類、 - C R ¹ ₄ -、 - C R ¹ ₄ R ¹ ₅、 - N R ⁶ R ¹ ₇； C ₅ - C ₃ ₀ アリールからなる群から選択され； Q は単結合であるか、または - O -、 - S -、 - S e -、および N R ¹ ₈ からなる群から選択されるものであり； a ₁ および b ₁ は、独立して 0 から 5 まで変化し； R ¹ ないし R ¹ ₃、および R ¹ ₈ は、独立して、水素、 C ₁ - C ₁ ₀ アルキル、 C ₅ - C ₂ ₀ アリール、 C ₁ - C ₁ ₀ アルコキシリル、 C ₁ - C ₁ ₀ ポリアルコキシリアルキル、 C ₁ - C ₂ ₀ ポリヒドロキシリアルキル、 C ₅ - C ₂ ₀ ポリヒドロキシアリール、 C ₁ - C ₁ ₀ アミノアルキル、シアノ、ニトロ、ハロゲン、糖類、ペプチド、 - C H ₂ (C H ₂ O C H ₂) _b - C H ₂ - O H、 - (C H ₂) _a - C O ₂ H、 - (C H ₂) _a - C O N H - B m、 - C H ₂ - (C H ₂ O C H ₂) _b - C H ₂ - C O N H - B m、 - (C H ₂) _a - N H C O - B m、 - C H ₂ - (C H ₂ O C H ₂) _b - C H ₂ - N H C O - B m、 - (C H ₂) _a - O H および - C H ₂ - (C H ₂ O C H ₂) _b - C O ₂ H からなる群から選択され； R ¹ ₄ ないし R ¹ ₇ は、独立して、水素、 C ₁ - C ₁ ₀ アルキル、 C ₅ - C ₂ ₀ アリール、 C ₁ - C ₁ ₀ アルコキシリル、 C ₁ - C ₁ ₀ ポリアルコキシリアルキル、 C ₁ - C ₂ ₀ ポリヒドロキシリアルキル、 C ₅ - C ₂ ₀ ポリヒドロキシアリール、 C ₁ - C ₁ ₀ アミノアルキル、糖類、ペプチド、 - C H ₂ (C H ₂ O C H ₂) _b - C H ₂ - (C H ₂) _a - C O -、 - (C H ₂) _a - C O N H -、 - C H ₂ - (C H ₂ O C H ₂) _b - C H ₂ - C O N H -、 - (C H ₂) _a - N H C O -、 - C H ₂ - (C H ₂ O C H ₂) _b - C H ₂ - N H C O -、 - (C H ₂) _a - O -、および - C H ₂ - (C H ₂ O C H ₂) _b - C O - からなる群から選択され； B m および D m は独立して、生物活性なペプチド、タンパク質、細胞、抗体、抗体フラグメント、糖類、糖ペプチド、ペプチド擬似体 (peptidomimetics)、薬物、偽薬 (drug mimics)、ホルモン類、金属キレート化剤、放射活性または非放射活性金属コンプレックス類、エコー源性成分 (echogenic agents)、光学活性分子、および光学治療成分 (光増感剤、photosensitizers) からなる群から選択されるものであり； a および c は独立して 1 から 20 まで変化し； b および d は独立して 1 から 100 まで変化するものである。
 を有するシアニン染料を含む、新規な組成物に関する。

【 0 0 1 0 】

本発明は、また、一般式 2

【化2】



10

一般式2

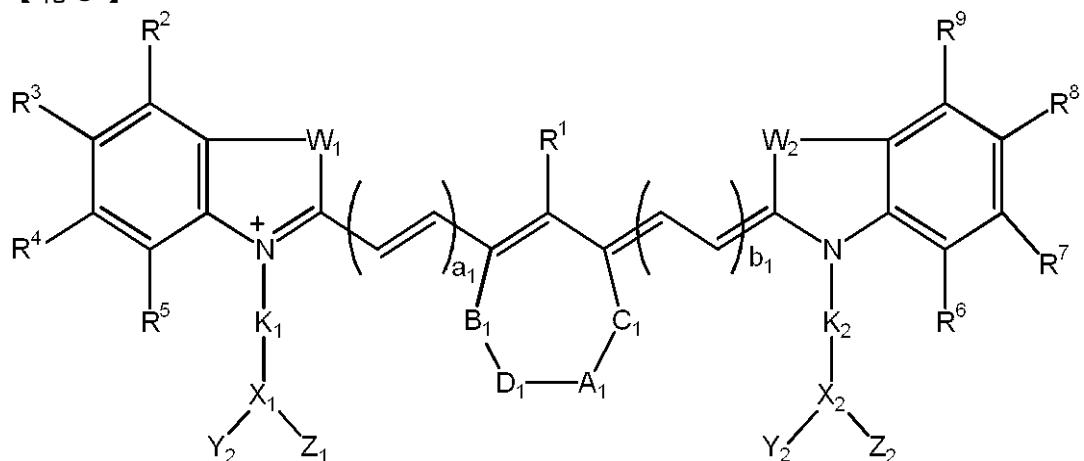
式中、W₁、W₂、Y₁、Y₂、Z₁、Z₂、K₁、K₂、Q、X₁、X₂、a₁、およびb₁は、一般式1におけると同一の意味に定義されており；そしてR¹⁹ないしR³¹は、一般式1におけるR¹ないしR⁹と同一の意味に定義されている、
を有するカルボシアニン染料を含む、新規な組成物にも関する。

20

【0011】

本発明は、また、一般式3

【化3】



30

一般式3

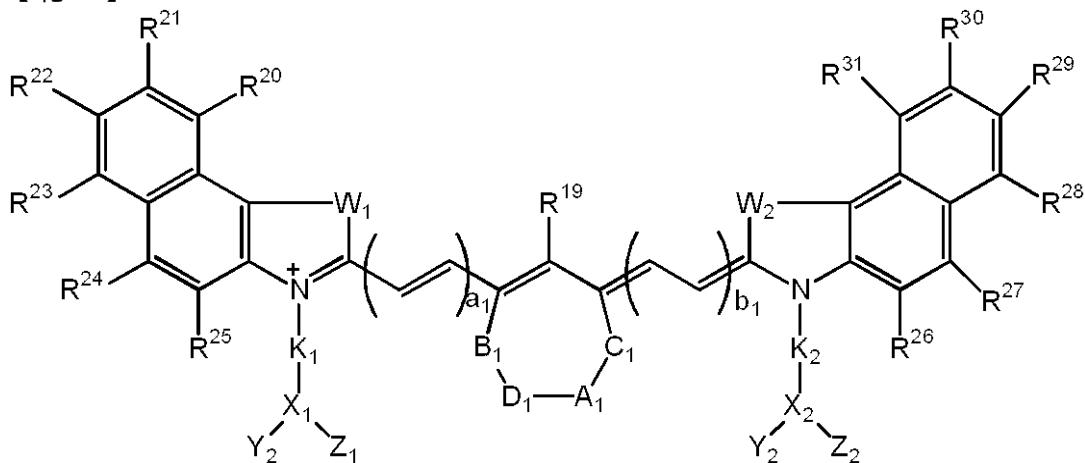
式中、A₁は単結合または二重結合であり；B₁、C₁、およびD₁は、独立して、-O-、-S-、-Se-、-P-、-CR¹⁰R¹¹、-CR¹¹、アルキル、NR¹²、
および-C=Oからなる群から選択されるものであり；A₁、B₁、C₁、およびD₁は
一緒にになって、場合により1またはそれ以上の酸素、窒素、または硫黄原子を含有する6
ないし12員炭素環または6ないし12員複素環式環を形成していることもでき；そして
W₁、W₂、Y₁、Y₂、Z₁、Z₂、K₁、K₂、X₁、X₂、a₁、b₁およびR¹
ないしR³²は、一般式1におけると同一の意味に定義されている、
を有するカルボシアニン染料を含む、新規な組成物にも関する。

40

【0012】

本発明は、また、一般式4

【化4】



10

20

30

40

50

一般式4

式中、 A_1 、 B_1 、 C_1 、および D_1 は、一般式3における同一の意味に定義されており； W_1 、 W_2 、 Y_1 、 Y_2 、 Z_1 、 Z_2 、 K_1 、 K_2 、 X_1 、 X_2 、 a_1 、および b_1 は、一般式1における同一の意味に定義されており；そして R^{19} ないし R^{31} は、一般式1における R^1 ないし R^9 と同一の意味に定義されている、を有するカルボシアニン染料を含む、新規な組成物にも関する。

【0013】

本発明のバイオコンジュゲートは、同一分子内に、1つまたはそれ以上の標識化レセプターおよび/または光感受性基を導入するために、カルボシアニン染料構造の多数の結合ポイントを利用するものである。より詳しくは、本発明の組成物は、それらの特異的性質により選択された、3種の構成成分からなる。構成成分の一つである、腫瘍特異性成分は、腫瘍を標的とするためのものである。第2の構成成分は、光増感剤であり得るが、光学治療用成分である。第3の構成成分は、光学診断用成分である。

【0014】

腫瘍標的化成分の例としては、生物活性のあるペプチド類、例えば、オクトレオテート(octreotate)およびポンベシン(7-14)があり、それらは、神経内分泌細胞(neuroendocrine)腫瘍内の過剰発現レセプター群を標的とする。光学治療用成分の例としては、2-[1-ヘキシリオキシエチル]-2-デビニルピロフェオフォルバイド-a(HPPH、図1D、T=OH)がある。光学診断用成分の例としては、カルボシアニン染料があり、それらは高い赤外分子吸収能(absorbtivities)を有する(図1A-C)。本発明は、これらの各成分を最適効果のために1分子内で、それらの有利点を組み合わせて提供するものである。

【0015】

これらの小型染料バイオ分子コンジュゲートには、非特異性染料やプローブまたは光感受性分子の大型バイオ分子へのコンジュゲーションのいずれと比べても、いくつかの利点がある。これらのコンジュゲートは、腫瘍の位置特定が増強されその可視化が速やかとなっているので、診断および治療のいずれにおいても有利である。これらの成分は、血液および非標的組織から急速に消失するので、集積や毒性についての心配が少ない。例えば、レセプター群あるいは標的化成分群の同定のような、新しい標的の一體的スクリーニングのため、また、最小の構造改変により本コンジュゲート群の薬物動態への影響能力をみるために、多種類の高純度化合物を容易に合成できる。

【0016】

本発明の組成物は、各種の生物医学的適用において有用である。これらの適用の例には、それらに限定されるものではないが：腫瘍の検出、造影、および処置；器官の断層法造影；器官機能のモニタリング；冠血管造影(撮影)法、蛍光内視鏡法、レーザー介助手術の実施；および光音響分光法および音響蛍光法の実施、等が含まれる。

【0017】

上記の各生物医学的適用のいくつかを達成する具体的実施態様を以下に記載する。本発明の染料は、当業者によく知られた方法で調製される。

【0018】

2種類の実施態様において、本発明のバイオコンジュゲートは、式1または式2を有する；ただし、式中、W₁およびW₂は、同一または異なることができ、-C(CH₃)₂、-C((CH₂)_aOH)CH₃、-C((CH₂)_aOH)₂、-C((CH₂)_aCO₂H)CH₃、-C((CH₂)_aCO₂H)₂、-C((CH₂)_aNH₂)CH₃、-C((CH₂)_aNH₂)₂、-C((CH₂)_aNR¹²R¹³)₂、-NR¹²、および-S-からなる群から選択され；Y₁およびY₂は、独立して、水素、腫瘍特異性成分、-CONH-Bm、-NHC-O-Bm、-(CH₂)_a-CONH-Bm、-CH₂-(CH₂OCH₂)_b-CH₂-CONH-Bm、-(CH₂)_a-NHC-O-Bm、-CH₂-(CH₂OCH₂)_b-CH₂-NHC-O-Bm、-(CH₂)_a-NR¹²R¹³、および-CH₂(CH₂OCH₂)_b-CH₂NR¹²R¹³からなる群から選択され；Z₁、およびZ₂は、独立して水素、光学治療性成分、-CONH-Dm、-NHC-O-Dm、-(CH₂)_a-CONH-Dm、-CH₂-(CH₂OCH₂)_b-CH₂-CONH-Dm、-(CH₂)_a-NHC-O-Dm、-CH₂-(CH₂OCH₂)_b-CH₂-NHC-O-Dm、-(CH₂)_a-NR¹²R¹³、および-CH₂(CH₂OCH₂)_b-CH₂NR¹²R¹³からなる群から選択され；K₁およびK₂は、独立してC₁-C₁₀アルキル、C₅-C₂₀アリール、C₁-C₂₀アルコキシル、C₁-C₂₀アミノアルキル、-(CH₂)_a-CO-、-(CH₂)_a-CONH₂-(CH₂OCH₂)_b-CH₂-CONH-、-(CH₂)_a-NHC-O-、-(CH₂OCH₂)_b-CH₂-NHC-O-、および-CH₂-CONH₂-(CH₂OCH₂)_b-CO-からなる群から選択され；X₁およびX₂は、各単結合または独立して窒素、-CR¹⁴-、-CR¹⁴R¹⁵、および-NR¹⁶R¹⁷からなる群から選択され；Qは単結合であるか、または-O-、-S-、およびNR¹⁸からなる群から選択されるものであり；a₁およびb₁は、独立して0から3まで変化し；Bmは独立して、2ないし30アミノ酸ユニットを含有する生物活性なペプチド、タンパク質、抗体フラグメント、モノ-およびオリゴサッカライド類からなる群から選択され；Dmは、光増感剤、光学活性分子、および光学治療成分からなる群から選択されるものであり；aおよびcは独立して1から20まで変化し；bおよびdは独立して1から100まで変化するものである。
10
20
30

【0019】

他の2種類の実施態様では、本発明のバイオコンジュゲートは、式3または式4を有する；ただし、式中、W₁およびW₂は、同一または異なることができ、-C(CH₃)₂、-C((CH₂)_aOH)CH₃、-C((CH₂)_aOH)₂、-C((CH₂)_aCO₂H)CH₃、-C((CH₂)_aCO₂H)₂、-C((CH₂)_aNH₂)CH₃、-C((CH₂)_aNH₂)₂、-C((CH₂)_aNR¹²R¹³)₂、-NR¹²、および-S-からなる群から選択され；Y₁およびY₂は、独立して、水素、腫瘍特異性成分、-CONH-Bm、-NHC-O-Bm、-(CH₂)_a-CONH-Bm、-CH₂-(CH₂OCH₂)_b-CH₂-CONH-Bm、-(CH₂)_a-NHC-O-Bm、-CH₂-(CH₂OCH₂)_b-CH₂-NHC-O-Bm、-(CH₂)_a-NR¹²R¹³、および-CH₂(CH₂OCH₂)_b-CH₂NR¹²R¹³からなる群から選択され；Z₁、およびZ₂は、独立して水素、光学治療性成分、-CONH-Dm、-NHC-O-Dm、-(CH₂)_a-CONH-Dm、-CH₂-(CH₂OCH₂)_b-CH₂-CONH-Dm、-(CH₂)_a-NHC-O-Dm、-CH₂-(CH₂OCH₂)_b-CH₂-NHC-O-Dm、-(CH₂)_a-NR¹²R¹³、および-CH₂(CH₂OCH₂)_b-CH₂NR¹²R¹³からなる群から選択され；K₁およびK₂は、独立してC₁-C₁₀アルキル、C₅-C₂₀アリール、C₁-C₂₀アルコキシル、C₁-C₂₀アミノアルキル、-(CH₂)_a-CO-、-(CH₂)_a-CONH₂-(CH₂OCH₂)_b-CH₂-CONH-、-(CH₂)_a-NHC-O-、-(CH₂OCH₂)_b-CH₂-NHC-O-、および-CH₂-CONH₂-(CH₂OCH₂)_b-CO-からなる群から選択され；X₁およびX₂は、各単結合または独立して窒素、-CR¹⁴-、-CR¹⁴R¹⁵、および-NR¹⁶R¹⁷からなる群から選択され；Qは単結合であるか、または-O-、-S-、およびNR¹⁸からなる群から選択されるものであり；a₁およびb₁は、独立して0から3まで変化し；Bmは独立して、2ないし30アミノ酸ユニットを含有する生物活性なペプチド、タンパク質、抗体フラグメント、モノ-およびオリゴサッカライド類からなる群から選択され；Dmは、光増感剤、光学活性分子、および光学治療成分からなる群から選択されるものであり；aおよびcは独立して1から20まで変化し；bおよびdは独立して1から100まで変化するものである。
40
50

、 - C H₂ - (C H₂ O C H₂)_b - C H₂ - N H C O - 、 および - C H₂ - (C H₂ O C H₂)_b - C O - からなる群から選択され； X₁ および X₂ は、 各単結合または独立して窒素、 - C R¹₄ - 、 - C R¹₄ R¹₅ 、 および - N R¹₆ R¹₇ からなる群から選択され； Q は単結合であるか、 または - O - 、 - S - 、 および N R¹₈ からなる群から選択されるものであり； a₁ および b₁ は、 独立して 0 から 3 まで変化し； A₁ は単結合または二重結合であり； B₁ 、 C₁ 、 および D₁ は、 独立して、 - O - 、 - S - 、 - C R¹₁ 、 アルキル、 N R¹₂ 、 および - C = O からなる群から選択されるものであり； A₁ 、 B₁ 、 C₁ 、 および D₁ は一緒になって、 場合により 1 またはそれ以上の酸素、 窒素、 または硫黄原子を含有する 6 ないし 12 員炭素環または 6 ないし 12 員複素環式環を形成していることもでき； a₁ および b₁ は独立して 0 から 3 まで変化し； B m は、 2 ないし 30 10 アミノ酸ユニットを含有する生物活性なペプチド、 タンパク質、 抗体フラグメント、 モノ - およびオリゴサッカライド類からなる群から選択されるものであり； 生物活性なペプチド、 タンパク質、 抗体フラグメント、 モノ - およびオリゴサッカライド類； D m は、 光増感剤、 光学活性分子、 および光学治療成分からなる群から選択され； a および c は独立して 1 から 20 まで変化し； b および d は独立して 1 から 100 まで変化するものである。

【 0020 】

本発明のある実施態様では、 これらの染料 - バイオ分子コンジュゲートは光学的断層撮影法、 内視鏡法、 光音響分光法および音響蛍光法 (sonofluorescent) の各適用において、 肿瘍並びに他の異常の検出および処置に有用である。 これらの方法は、 300 - 1300 nm の波長領域の光を使用する。 例えば、「光学的摘出術」とも称される光学干渉性 [optical coherence tomography(OCT)] は、 組織のミクロ構造の高解像断面造影を可能とする、 光学的造影技術である。 OCT 方法は、 約 1280 nm の波長を利用する。

【 0021 】

本発明を多様な面からみると、 本発明の染料 - バイオ分子コンジュゲートは、 これらのコンジュゲートの血中クリアランスプロファイルをモニターして、 肿瘍並びに他の病理組織の存在または不存在を検出することによる局所化治療に、 腹腔鏡検査法で、 肿瘍、 例えば、 ソマトスタチンサブタイプ 2 (SST-2) 陽性腫瘍のミクロ転移を検出および処置することによる、 レーザー補助ガイド手術 (LAGS) に、 さらに、 アテローム性プラーケや血塊の診断に、 有用である。

【 0022 】

別の実施態様において、 治療操作は、 バイオコンジュゲートにポルフィリンまたは光動力学的治療成分を結合させること、 および次いで異常部位を検出し処置するために適切な波長の光を投与することを含む。

【 0023 】

本発明の組成物は、 経腸または非経腸投与用に製剤化することができる。 これらの製剤は、 意図する投与形態に適した常用の医薬坦体および賦形剤とともに、 本発明の染料 - バイオ分子コンジュゲートの有効量を含有する。 例えば、 当業者によく知られているように、 非経腸製剤では、 本発明のコンジュゲートの滅菌水溶液または懸濁液を含有させるのが有利であり、 直接注射してもよく、 または大容積の全身投与用の非経腸投与用組成物または賦形剤と混合させてもよい。 これらの製剤には、 医薬的に許容され得る緩衝剤および / または塩化ナトリウムのような電解質を含有させててもよい。

【 0024 】

経腸投与用製剤には、 当技術分野でよく知られているように、 多様な変化があり得る。 一般に、 それらの製剤は、 本発明の染料 - バイオ分子コンジュゲートの有効量を含有する水溶液、 水性懸濁液、 または乳化液である。 それらの経腸投与用製剤には、 緩衝剤、 表面活性剤、 揺変性成分 (thixotropic agents) 、 および同様物を含有させてもよい。 経口投与用組成物には、 芳香剤や他の感覚受容性品質増強成分を含めることもできる。

【 0025 】

診断用に用いる本発明のカルボシアニン染料 - バイオコンジュゲート組成物は、 所望の

10

20

30

40

50

効果を達成するために有効な用量で投与する。そのような用量は、採用する個々のコンジューゲート、造影操作の対象である器官や組織、使用する造影装置、その他に応じて広範に変化し得る。これらの組成物を、全身的または局所的のいずれかにより、造影しようとする器官や組織に対して投与し、そして患者を造影および/または治療操作にかける。

【0026】

本発明は、さらに以下の実施例中で詳述されるが、それらは例示のために提示するものであり、いかなる意味においても本発明の範囲を限定することを意図したものではない。

【0027】

実施例1

インドシアニンビスプロパン酸染料(図1A、n=1)の合成

10

1,1,2-トリメチル-[1H]-ベンツ[e]インドール(9.1g、43.58mmol)と3-ブロモプロパン酸(10.0g、65.37mmol)の1,2-ジクロロベンゼン(40ml)中混合液を、110°で12時間加熱した。この溶液を周辺温度まで冷ました。得られた赤色の残渣を濾取し、アセトニトリル：ジエチルエーテル(1:1v/v)混合液で洗浄した。得られた固体物を周辺温度で減圧乾燥し、明褐色の粉末10g(64%)を得た。

【0028】

この固体物の一部(6.0g; 16.56mmol)、グルタコナルデヒドジアニライド塩酸塩(Lancaster Synthesis, Windham, NH)(2.36g、8.28mmol)、および酢酸ナトリウム3水和物(2.93g、21.53mmol)を、エタノール(150ml)中で90分間還流させた。溶媒を蒸発させたのち、2N HCl水40mlを残渣に加えた。混合物を遠心分離し、上澄み液を傾斜した。上澄み液が無色に近くなるまでこの操作を繰り返した。水約5ml:アセトニトリル(3:2v/v)混合液を固体残渣に加え、そして凍結乾燥して暗緑色のフレーク2gを得た。この化合物の純度は、当業者によく知られているようにして、¹H-核磁気共鳴(¹H-NMR)、および、液体クロマトグラフィー/マススペクトル分析法(LC/MS)により確認した。

【0029】

実施例2

インドシアニンビスヘキサン酸染料(図1A、n=4)の合成

20

1,1,2-トリメチル-[1H]-ベンツ[e]インドール(20g、95.6mmol)と6-ブロモヘキサン酸(28.1g、144.1mmol)の1,2-ジクロロベンゼン(250ml)中混合液を、110°で12時間加熱した。この緑色溶液を周辺温度まで冷まし、生成した褐色の固体沈殿を濾取した。この固体物を、1,2-ジクロロベンゼンおよびジエチルエーテルで洗った後、得られた褐色粉末(24g、64%)を周辺温度で減圧乾燥した。この固体物(4.0g; 9.8mmol)グルタコナルデヒドジアニルモノ塩酸塩の一部(1.4g、5mmol)と酢酸ナトリウム3水和物(1.8g、12.9mmol)のエタノール(80ml)溶液を1時間還流した。溶媒を蒸発させた後、残渣に2N HCl水溶液20mlを加えた。混合物を遠心分離し、上澄み液を傾斜した。上澄み液が無色に近くなるまでこの操作を繰り返した。水約5ml:アセトニトリル(3:2v/v)混合液を固体残渣に加え、そして凍結乾燥して暗緑色のフレーク2gを得た。この化合物の純度は、¹H-NMRおよびLC/MSにより確認した。

【0030】

実施例3

ペプチド類の合成

40

本発明のペプチド類は、ある場合には多少の変更を加えて、同様の操作で調製した。

オクタペプチドであるオクトレオテートは、D-Phe-Cys'-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Cys'-Thrのアミノ酸配列(配列番号1)を有する。ただし、Cys'は、2個のシステインアミノ酸間に分子内ジスルフィド結合が存在することを意味する。オクトレオテートは、市販のApplied Biosystems社製ペプチドシンセサイザ

50

ー (Model 432A SYNERGY Peptide Synthesizer) を使用して、自動化フルオレニルメトキシカルボニル (Fmoc) 固相ペプチド合成により調製した。第1のペプチドカートリッジには、25 μmoleスケールで Fmoc - Thr をプレロードした Wang レジンを含有させた。次のカートリッジには、下記アミノ酸 : Cys (Acm)、Thr (t-Bu)、Lys (Boc)、Trp (Boc) および Tyr (t-Bu) に対する側鎖保護基を有する Fmoc - 保護アミノ酸を含有させた。これらのアミノ酸カートリッジをペプチドシンセサイザーに入れ、標準操作に従って、C - から N - 末端位に向かって生成物を合成した。カップリング反応は、各 75 μmole の保護アミノ酸を用い、2-(1H-ベンゾトリアゾール-1-イル)-1,1,3,3-テトラメチルウロニウムヘキサフルオロホスフェート (HBTU) / N - ヒドロキシベンゾトリアゾール (HOBT) の存在下に実施した。各 Fmoc 保護基は、20% ピベリジンのジメチルホルムアミド溶液により除去した。
10

【0031】

合成を完了した後、チオール基をタリウムトリフルオロ酢酸により環化し、生成物を、トリフルオロ酢酸 : 水 : フェノール : チオアニソール (85:5:5:5^{v/v}) 含有の裂開混合物により、6時間かけて固体支持体から裂開させた。t - ブチルメチルエーテルによりペプチドを沈殿させ、水 : アセトニトリル (2:3^{v/v}) により凍結乾燥した。ペプチドを HPLC により精製し、LC/MS により分析した。

オクトレオチド (Octreotide)、(D-Phe-Cys'-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Cys'-Thr-OH (配列番号2))、(ただし、Cys'は2個のシステインアミノ酸間に分子内ジスルフィド結合が存在することを意味する)、をオクトレオテートの調製と同一の操作 (無修正) で調製した。
20

【0032】

ポンベシン類似体を、同じ操作 (ただし、タリウムトリフルオロ酢酸による環化は省略して) によって調製した。側鎖の脱保護基、および、レジンからの裂開を、各 50 μl のエタンジチオール、チオアニソールおよび水、さらに 850 μl のトリフルオロ酢酸により実施した。2種の類似体 : Gly-Ser-Gly-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-Met-NH₂ (配列番号3) および Gly-Asp-Gly-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-Met-NH₂ (配列番号4) を調製した。
30

【0033】

コレシストキニンオクタペプチド類似体を、オクトレオテートについて記載した通り (環化段階は除いて) にして調製した。3種の類似体 : Asp-Tyr-Met-Gly-Trp-Met-Asp-Phe-NH₂ (配列番号5) ; Asp-Tyr-Nle-Gly-Trp-Nle-Asp-Phe-NH₂ (配列番号6) ; および D-Asp-Tyr-Nle-Gly-Trp-Nle-Asp-Phe-NH₂ (配列番号7) (ただし、Nle はノルロイシンである) を調製した。

ニューロテンシン (Neurotensin) 類似体 (D-Lys-Pro-Arg-Arg-Pro-Tyr-Ile-Leu (配列番号8)) を、オクトレオテートについて記載した通り (環化段階は除いて) にして調製した。
40

【0034】

実施例4

ペプチド - 染料コンジュゲート (図1B、n = 1、R₁ = オクトレオテート、R₂ = R₁ または OH) の合成

下記方法は、オクトレオテート - シアニン染料コンジュゲート類の合成法である。同様の操作が、他のペプチド - 染料コンジュゲート類の合成にも使われた。

オクトレオテートは、実施例3に記載のようにして、ただし、ペプチドを固体支持体から裂開されることなく、また、Phe の N - 末端 Fmoc 基を残して、調製した。チオール基は、タリウムトリフルオロ酢酸で環化し、Phe を脱保護して遊離アミンを遊離させた。
50

【0035】

ビスエチルカルボキシメチルインドシアニン染料(53mg、75μmoles)を、0.2M HBTU/HOBtのDMSO溶液(375μl)と、0.2MジイソプロピルエチルアミンのDMSO溶液(375μl)の混合物からなる活性化試薬に加えた。活性化は、約30分内に完了した。それから、このレジン・結合ペプチド(25μmoles)を上記染料に加えた。カップリング反応は、周辺温度で3時間かけて実施した。混合物を濾過し、固体残渣をDMF、アセトニトリルおよびTHFで洗浄した。緑色残渣を乾燥後、ペプチドをレジンから裂開し、そして各側鎖保護基をトリフルオロ酢酸：水：チオアニソール：フェノール(85:5:5:5^{v/v})混合物により除去した。このレジンを濾過し、冷t-ブチルメチルエーテル(MTBE)を用いて染料・ペプチドコンジュゲートを沈殿させた。当該コンジュゲートをアセトニトリル：水(2:3^{v/v})に溶解し、凍結乾燥した。

10

【0036】

生成物をHPLCで精製し、モノオクトレオテート-ビスエチルカルボキシメチルインドシアニン染料(サイテート(Cytate)1、80%、n=1、R₂=OH)、および、ビスオクトレオテート-ビスエチルカルボキシメチルインドシアニン染料(サイテート2、20%、n=1、R₁=R₂)を得た。

20

このモノオクトレオテートコンジュゲートは、反応時間を2時間に減らすことにより、ビスコンジュゲートとの対比で殆ど排他的に(>95%)得られる。しかしながら、このようにすると、不完全反応となるので、非-染料コンジュゲートペプチドによるレセプターの飽和を避けるために、染料コンジュゲートから、遊離のオクトレオテートを注意深く分離しなければならない。

20

【0037】

実施例5

ペプチド-染料コンジュゲート(図1B、n=4、R₁=オクトレオテート、R₂=R₁またはOH?)の合成

オクトレオテート-ビスペンチルカルボキシメチルインドシアニン染料を、若干の修飾を加え、実施例4に記載のようにして、調製した。ビスペンチルカルボキシメチルインドシアニン染料(60mg、75μmoles)を、0.2M HBTU/HOBtと、0.2MジイソプロピルエチルアミンのDMSO溶液からなる活性化試薬400μlに加えた。活性化は、約30分内に完了し、レジン・結合ペプチド(25μmoles)をこの染料に加えた。反応は、周辺温度で3時間かけて実施した。混合物を濾過し、固体残渣をDMF、アセトニトリルおよびTHFで洗浄した。緑色残渣を乾燥後、ペプチドをレジンから裂開し、そして各側鎖保護基をトリフルオロ酢酸：水：チオアニソール：フェノール(85:5:5:5^{v/v})混合物により除去した。このレジンを濾過し、冷t-ブチルメチルエーテル(MTBE)を用いて染料・ペプチドコンジュゲートを沈殿させた。当該コンジュゲートをアセトニトリル：水(2:3^{v/v})に溶解し、凍結乾燥した。生成物をHPLCで精製し、オクトレオテート-1,1,2-トリメチル-[1H]-ベンゾ[e]インドールプロパン酸コンジュゲート(10%)、モノオクトレオテート-ビスペンチルカルボキシメチルインドシアニン染料(サイテート3、60%、n=4、R₂=OH)、および、ビスオクトレオテート-ビスペンチルカルボキシメチルインドシアニン染料(サイテート4、30%、n=4、R₁=R₂)を得た。

30

40

【0038】

実施例6

固相法によるペプチド-染料-光学治療コンジュゲート(図1B、n=4、R₁=オクトレオテート、R₂=HPPH)の合成

ビスペンチルカルボキシメチルインドシアニン染料(サイヘクス(cyhex)、60mg、75μmoles)のジクロロメタン溶液を、シアヌール酸フッ化物(21mg、150mmoles)とピリジン(12mg、150mmoles)の存在下、30分間反応させて酸無水物を生成させた。2-[1-ヘキシリオキシエチル]-2-デビニルピロフ

50

エオフォルバイド - a (pyropheophorbide-a) (HPPH、図1D、T = -NH₂H₄NH₂)の1モル等量を、上記無水物に加え、遊離カルボン酸基を有する上記サイヘクス - HPPHコンジュゲートを形成させた。この中間体を、0.2M HBTU/HOBtのDMSO溶液(400μl)と0.2MジイソプロピルエチルアミンのDMSO溶液(400μl)からなる活性化試薬に加えた。カルボン酸の活性化は、約30分内に完了した。レジン - 結合ペプチド(オクトレオテート、25μmole)を、実施例4に記載したようにして調製し、混合物に加えた。反応は、周辺温度で8時間かけて実施した。混合物を濾過し、固体残渣をDMF、アセトニトリルおよびTHFで洗浄した。濃色残渣を周辺温度で乾燥後、ペプチド誘導体をレジンから裂開し、そして各側鎖保護基をトリフルオロ酢酸：水：チオアニソール：フェノール(85:5:5:5^{v/v})混合物により除去した。このレジンを濾過し、冷t - プチルメチルエーテル(MTBE)を用いて染料 - ペプチドコンジュゲートを沈殿させた。当該コンジュゲートをアセトニトリル：水(2:3^{v/v})中で凍結乾燥した。
10

【0039】

実施例7

液相法によるペプチド - 染料 - 光学治療コンジュゲート(図1B、n = 4、R₁ = オクトレオチド、R₂ = HPPH)の合成

誘導体化したHPPHエチレンジアミン(図1D、T = -NH₂H₄NH₂; 1.1モル等量)およびリジン(トリチル)⁴オクトレオチド(1.2モル等量)を、サイヘクスのビス(ペンタフルオロフェニル)エステル(1モル等量)のDMF溶液に加えた。混合物を周辺温度で8時間、攪拌した後、冷t - プチルメチルエーテルを加えてペプチドコンジュゲートを沈殿させた。粗生成物を高速液体クロマトグラフィー(HPLC)により精製した。
20

【0040】

実施例8

固相法によるペプチド - 染料 - 光学治療コンジュゲート(図1C、n = 4、R₁ = K⁰-オクトレオテート、R₂ = HPPH、R₃ = OH)の合成

直交位で(Orthogonally)保護されたFmoc - リジン(Mtt)⁰オクトレオテートを、実施例3および4に記載したようにして固体の支持体上で調製した。このFmoc - リジン(Mtt)⁰のFmoc基を固体の支持体から、20%ピペリジンのDMF溶液により除去した。HPPH(図1D、T = -OH)を予めHBTUで活性化して、リジンの遊離アミノ基とカップリングさせた。
30

【0041】

実施例9

インドシアニングリーンによる腫瘍セルラインの造影

非侵襲性インビボ蛍光造影装置を採用して、動物モデルにおける腫瘍検出のために開発した本発明の造影剤について、3つの異なるラット腫瘍セルライン中のインドシアニングリーン(ICG)の効力を評価した。LaserMax Inc.社の表示能力が波長780nmおよびパワー40mWのレーザーダイオードを使用した。検出器は、Rodenstock 10mm F2レンズ(stock #542.032.002.20)を装備した、Princeton Instruments社製モデルRT-E / CCD - 1317 - K / 2 CCDカメラとした。CCDインプットレンズの前部に、造影剤から照射した蛍光線のみがイメージ化されるように、830nm干渉レンズ(CVI Laser Corp.社製, part # F10-830-4-2)を装着した。
40

【0042】

ソマトスタチン(SST-2)レセプターに富む、3つの腫瘍セルライン、DSL6/A(脾臓の)、Dunning R3327-H(前立腺の)、およびCA20948(脾臓の)を、固体インプラント技法で雄ルイスラットの左横腹領域中に誘入させた(Achile fu et al., Invest. Radiology, 2000, pp. 479-485)。インプラント9日後には、触知可能な塊が検出された。

【0043】

各動物は、キシラジン (xylazine) : ケタミン (ketamine) : アセプロマジン (acepromazine) (1.5 : 1.5 : 0.5^{v/v}) の 0.8 ml / kg 筋肉注射により麻酔した。左横腹を切開して腫瘍および周辺の表面領域を露出させた。ヘパリン処理生理食塩水を含有する 2 つのシリソジに連結した、ストップコック装着 21 - ゲージバタフライ針を、ラットの尾静脈中に設置した。ICG 投与に先立って、静脈の開放性をチェックした。各動物に、ICG の生理食塩水 0.42 mg / ml 溶液を 0.5 ml の用量で投与した。

【0044】

ソマトスタチン (SST-2) レセプターに富む 2 つのセルライン、DSL6/A (臍臓の) および Dunnning R3327-H (前立腺の) は、時間とともに該成分の腫瘍中へのゆっくりとした充満を示した。ICG の投与 2 分後および 30 分後に撮像した。それぞれの場合に合理的なイメージが得られた。第 3 のライン、CA20948 (臍臓の) のみ、注射 30 分後には消失した程度の軽度かつ一過性の充満を示した。これは、他の 2 つのラインと対比して、この腫瘍ラインへの ICG の非 - 特異性局所化は全くなかったことを示し、それはこの型の腫瘍では血管の構造がすこぶる異なっていたこと (図 2) を示唆している。最初の 2 つの腫瘍ライン (DSL6/A および R3327-H) では、やはりソマトスタチン (SST-2) レセプターに富む CA20948 のように血管新生が高度でなかった。従って、CA20948 腫瘍モデル中の染料の検出および持続は、レセプター - 媒介特異性の重要なインデックスである。

【0045】

実施例 10

10

ラットの臍臓腺房カルシノーマ (CA20948) のサイテート 1 による造影

ペプチドである、オクトレオテートが、ソマトスタチン (SST-2) レセプター群標的性であることは知られている。それ故、シアノ - オクトレオテートコンジュゲート、サイテート 1 を、実施例 4 に記載のようにして調製した。臍臓の腺房カルシノーマ、CA20948 を、実施例 9 に記載のようにして雄ルイスラット内に導入した。

【0046】

各動物を、キシラジン : ケタミン : アセプロマジン (1.5 : 1.5 : 0.5^{v/v}) の 0.8 ml / kg 筋肉注射により麻酔した。左横腹を切開して腫瘍および周辺の表面領域を露出させた。ヘパリン処理生理食塩水を含有する 2 つのシリソジに連結した、ストップコック装着 21 - ゲージバタフライ針を、ラットの尾静脈中に設置した。バタフライ装置を経由するサイテート 1 の投与に先立って、静脈の開放性をチェックした。各動物に、サイテート 1 の 25% (^{v/v}) ジメチルスルホキシド / 水 1.0 mg / ml 溶液を 0.5 ml の用量で投与した。

30

【0047】

CCD カメラ装置を使用して、腫瘍中の染料の局所化を観察した。通常、動物のイメージを、造影剤の注射前に撮影し、そして、この注射前イメージを継いで注射後イメージから控除 (ピクセル毎に) してバックグラウンドを消去した。しかしながら、このバックグラウンド控除は、動物が試料領域から除去され、後に注射数時間後を経て撮像のために戻されたような場合には行わなかった。これらのイメージは、CA20948 ラット腫瘍モデル中に存在する (SST-2) レセプター群に対するサイテート 1 の特異性を示した。

40

【0048】

サイテート 1 の投与 1 分後において、その蛍光イメージは、該動物の左横腹中に腫瘍が存在することを示唆した (図 3a)。投与 45 分後において、そのイメージは、左および右横腹中および尾中に緑色と黄色の領域を示した。しかしながら、左横腹中には暗青色 / 青緑色の領域があった (図 3b)。このコンジュゲートの投与 27 時間後には、左横腹だけが青色 / 青緑色の蛍光領域を示した (図 4)。

【0049】

サイテート 1 を注射し、造影した CA20948 ラットから各器官を除去した。コンジュゲートの高い取り込みが、臍臓、副腎、および腫瘍組織中で観察された。顕著に低い取り込みが心臓、筋肉、脾臓および肝臓中で観察された (図 5)。これらの結果は、同じラ

50

ットモデル系において放射線標識化オクトレオテートを用いて得られた結果と相関している (M. de Jong, et al. Cancer Res. 1998, 58, 437-441)。

【0050】

実施例 11

ラットの膵臓腺房カルシノーマ (AR42-J) のポンベシネットによる造影

AR42-J セルラインを、外分泌性 (exocrine) ラット膵臓腺房カルシノーマから誘導した。これは継続培養で生育するか、または、胸腺欠損ヌードマウス、SCIDマウス中、またはルイスラット中、インビロで維持することができるものである。このセルラインは、コレリストキニン (CCK) を含む各種ホルモンレセプター群、上皮成長因子 (EGF)、脳下垂体のアデニル酸シクラーゼ活性化ペプチド (PACAP)、ソマトスタチン (sst₂) およびポンベシンを発現することができるので、インビトロのレセプター・アッセイには特に魅力的なものである。10

【0051】

このモデル、雄ルイスラット中に、実施例 9 に記載したのと同様のやり方で、AR42-J セルラインの固体腫瘍材料をインプラントした。インプラント 7 日後に触知可能な塊が存在し、塊がほぼ 2 ないし 2.5 g になったとき (インプラント 10 - 12 日後)、動物についての造影研究を始めた。

【0052】

図 6 は、この腫瘍モデルについて、ポンベシネットの注射 22 時間後に得られたイメージを示す。ポンベシネットの取り込みは、サイテート 1 の取り込みについて実施例 10 に記載したのと同様であり、該腫瘍中のバイオコンジュゲートの特異的局所化を伴うものであった。20

【0053】

実施例 12

ラットの膵臓腺房カルシノーマ (CA20948) のサイテート 1 による蛍光内視鏡法造影

蛍光内視鏡法は、腫瘍、または生体のその他各腔所の病理状態に適している。それは極めて鋭敏であり、殊に肺や胃腸 (GI) 系内の小さな癌性組織の検出に用いられる。蛍光内視鏡法の方法および操作は、よく文献に記載されている [Tajiri H., et al. Fluorescent diagnosis of experimental gastric cancer using a tumor-localizing photosensitizer. Cancer Letters (1997) 111, 215-220; Sackmann M. Fluorescence diagnosis in GI endoscopy. Endoscopy (2000) 32, 977-985, 並びにそれらの中の各参照文献]。30

【0054】

蛍光内視鏡法は、普通の内視鏡のワーキングチャンネルを通して挿入した小型の光学纖維プローブを備えている。このプローブ内のいくつかの纖維が、780 nm における励起光を伝達し、その他のものは、注入された光学プローブからの蛍光を、830 nm において検出する。

【0055】

要約すれば、このソマトスタチンレセプターを過剰発現している CA20948 ラット膵臓の腫瘍細胞を、ルイスラットの粘膜下に注入する。該腫瘍を、2 週間、生育するに任せる。該ラットを、次にキシラジン : ケタミン : アセプロマジン (1.5 : 1.5 : 0.5^{v/v}) の 0.8 ml / kg 筋肉注射により麻酔する。サイテートをラットの尾静脈中に注射し、注射 60 分後に内視鏡を GI 管中に挿入する。サイテートは CA20948 中に局在化するので、腫瘍中の蛍光強度はその周辺の正常組織におけるより遙かに高い。このようにして、腫瘍の相対的な位置を、コンピュータースクリーン上のイメージを観察することにより決定する。40

【0056】

実施例 13

ラットの膵臓腺房カルシノーマ (CA20948) のサイテート 1 による光音響分光法造影

10

20

30

40

50

光音響分光技法は、光学的と音響的造影を組み合わせたもので、病理組織のより良好な診断を可能とする。好ましい音響造影法は、動物に音波を放射することによりイメージを得るウルトラソノグラフィーである。このウルトラソノグラフィーと光学的との2元的断層撮影法は、深部組織中の病理状態（例えば、腫瘍）のイメージ化と位置特定を可能とする。イメージ化を増強するために、サイテートを超音波造影剤中に導入する。造影剤として使用される、ガス類を生体許容性シェル中にカプセル化する方法が文献に記載されている [Mizushige K., et al. Enhancement of ultrasound-accelerated thrombolysis by echo contrast agents: dependence on microbubble structure. Ultrasound in Med. & Biol. (1999), 25, 1431-1437]。

【0057】

10

要約すれば、パーカルオロカーボンガス（例えば、パーカルオロプロタン）を、7 mg / ml のサイテート：ジパルミトイルホスファチジルコリン：ジパルミトイルホスファチジル酸、およびジパルミトイルホスファチジルエタノールアミン - PEG 5,000 (1 : 7 : 1 : 1 mol e %) を含有する、通常の生理食塩水：プロピレングリコール：グリセロール (7 : 1.5 : 1.5 v/v/v) 混合液中に吹き込む。このCA20948腫瘍を有するラットに、1 ml の微少気泡を注射し、腫瘍中に該成分が蓄積するに任せることとする。実施例9-11に記載しているようにして、780 nmにおいて近赤外染料を励起し、830 nmにおける放射光を検出することにより光学映像を得る。ウルトラソノグラフィーは、文献に記載されているように、ラットの局所化した腫瘍領域に音波を放射し、反射した音波を検出することにより実施する [Peter J. A. Frinking, Ayache Bouakaz, John Kirkhorn, Folkert J. Ten Cate and Nico de Jong. Ultrasound contrast imaging: current and new potential methods. Ultrasound in Medicine & Biology (2000) 26, 965-975]。

20

【0058】

実施例14

サイテート - PDT成分バイオコンジュゲートによる、ラットの脾臓腺房カルシノーマ(CA20948)の光動力学的治療(PDT)および局所化治療

光動力学的治療のための方法は、文献 [Rezzoug H., et al. In Vivo Photodynamic Therapy with meso-Tetra (m-hydroxyphenyl)chlorin (mTHPC): Influence of Light Intensity and Optimization of Photodynamic Efficiency. Proc. SPIE (1996), 2924, 181-186; Stranadko E., et al. Photodynamic Therapy of Recurrent Cancer of Oral Cavity, an Alternative to Conventional Treatment. Proc. SPIE (1996), 2924, 292-297] によく記載されている。ペプチド - 染料 - 光学治療バイオコンジュゲートの溶液 (15% DMSO水の5 μmol / mL溶液、0.5 mL) を、実施例7に記載しているようにして調製し、腫瘍を有するラットの尾静脈中に注射する。ラットは、注射24時間後に、実施例9-11に記載しているようにして造影し、腫瘍の位置を特定する。腫瘍領域の位置が一度特定されれば、該腫瘍に700 nm（これは、PDTに効果を与えるコンジュゲートの成分である、HPPHの最大吸収波長に相当する）の光を照射する。照射エネルギーは、160 mW / cm²において10 J / cm²である。レーザー光は、光学纖維を通じて送られ、腫瘍に向けられる。ラットを7日間観察し、腫瘍容積のいかなる減少もノートする。該腫瘍がなお存在しているなら、2回目の照射投与を、もはや腫瘍が触知できなくなるまで、上記したようにして繰り返す。

30

40

【0059】

局所化治療には、サイテートの診断量 (0.5 mL / 0.2 Kg ラット) を、腫瘍を有するラットの尾静脈に注射し、実施例9-11に記載しているようにして光学イメージを得る。実施例7に記載のようにして、ペプチド - 染料 - 光学治療 - バイオコンジュゲートの溶液 (15% DMSO水の5 μmol / mL溶液、1.5 mL) を調製し、腫瘍中に直接注射する。腫瘍は上記したように照射する。

【0060】

実施例15

50

アテローム性pla-queおよび血塊についての光学診断

アテローム性pla-queおよび随伴する血塊を標的とするため、ペプチド・染料・バイオコンジュゲートの溶液を、実施例7に記載のようにして調製する。バイオコンジュゲートの注射、およびそれに続くpla-queおよび血塊の位置特定操作および診断操作を、実施例14に記載のようにして実施する。

【0061】

本発明の好ましい実施態様の詳細を参照して本発明を開示してきたが、本発明の精神内でかつ添付請求の範囲内で修飾は当業者に容易になされ得るであろうことを予期するものであるから、それらの開示は限定的意味のものではなく、むしろ例示的意味を意図したものと理解さるべきである。

【図面の簡単な説明】

【0062】

【図1】本発明化合物の代表的構造を示す。

【図2】各種腫瘍を有するラットに、インドシアニングリーンを注射後2分および30分において撮影したイメージを示す。

【図3】サイテートの投与後1分および45分において撮影した、CA20948腫瘍を有するラットの蛍光イメージを示す。

【図4】サイテートの投与後27時間で撮影した、CA20948腫瘍を有するラットの蛍光イメージである。

【図5】サイテートの投与後27時間における、CA20948腫瘍を有するラットからの摘出組織および器官の蛍光イメージを示す。

【図6】ボンベシネートの投与後22時間における、AR42-J腫瘍を有するラットの蛍光イメージである。

10

20

【図1】

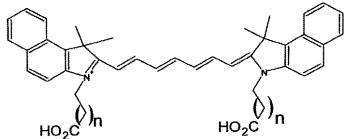


FIG. 1A

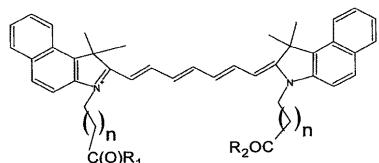


FIG. 1B

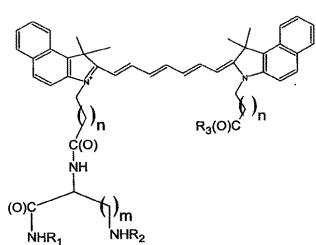


FIG. 1C

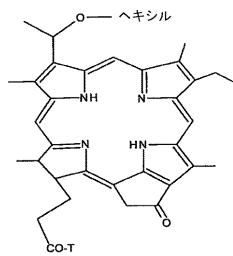


FIG. 1D

【図2】



FIG. 2C
ICG注射
2分後

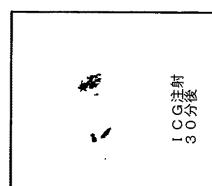


FIG. 2F
ICG注射
30分後



FIG. 2B
ICG注射
2分後

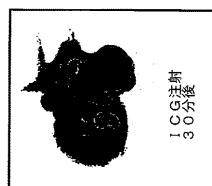


FIG. 2E
ICG注射
30分後



FIG. 2A
ICG注射
2分後

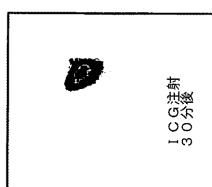


FIG. 2D
ICG注射
30分後

10

【図3A】



FIG. 3A

【図4】

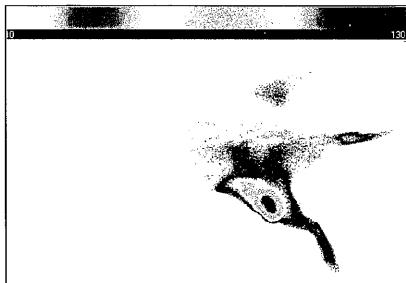


FIG. 4

【図3B】

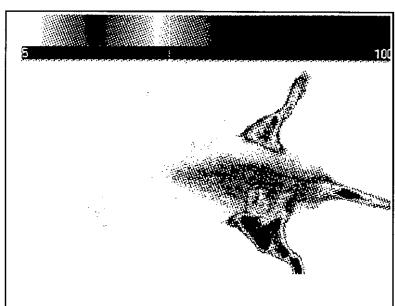


FIG. 3B

【図5】

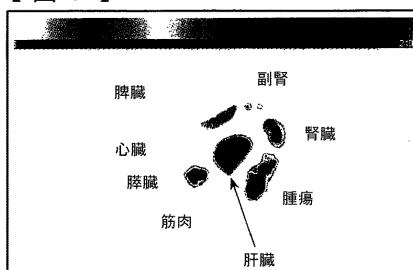


FIG. 5

【図6】

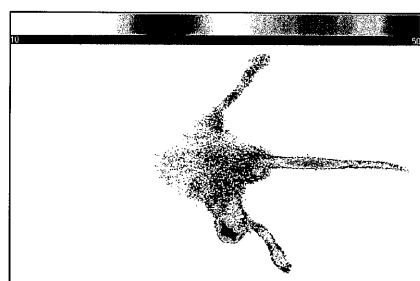


FIG. 6

【手続補正書】

【提出日】平成16年7月1日(2004.7.1)

【手続補正1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】配列表

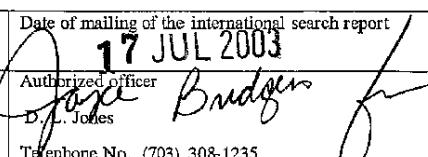
【補正方法】変更

【補正の内容】

【配列表】

2005526863000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US02/32022
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
IPC(7) : A61B 10/00, 5/00, 8/00 US CL : 424/9.61		
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) U.S. : 424/1.11, 1.65, 9.1, 9.3, 9.6, 9.61		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) biosis, medline, uspatfull, embase, caplus, east		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X --- Y	US 5,665,328 A (HORAN et al) 09 September 1997 (09.09.1997), see entire document, especially, abstract; column 9, lines 10-50; columns 15-16, Compound 5; column 23, 'Radio-Imaging'; column 24, 'Radio-Isotope Labeling' and 'Magnetic Resonance Imaging'; column 25, 'Isotopic Therapeutic Applications'; column 27, 'Delivery of Photodynamic Compounds for Therapeutic Action'; and columns 31-33, Table II Compounds.	1, 2, 8, 9, 15-18, 20, and 21 ----- 3-7, 10-14, 19, and 22
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C.		<input type="checkbox"/> See patent family annex.
* Special categories of cited documents:		"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
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance		"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
"B" earlier application or patent published on or after the international filing date		"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
"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)		"&" document member of the same patent family
"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		
Date of the actual completion of the international search 31 January 2003 (31.01.2003)	Date of mailing of the international search report 17 JUL 2003	
Name and mailing address of the ISA/US Commissioner of Patents and Trademarks Box PCT Washington, D.C. 20231 Facsimile No. (703)305-3230	Authorized officer D.L. Jones  Telephone No. (703) 308-1235	

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 1998)

フロントページの続き

(51)Int.Cl. ⁷	F I	テーマコード(参考)
A 6 1 P 9/10	C 0 7 D 209/60	4 C 0 8 5
A 6 1 P 35/04	C 0 7 K 7/06	Z N A 4 C 0 8 6
C 0 7 D 209/60	G 0 1 N 21/00	A 4 C 2 0 4
C 0 7 K 7/06	G 0 1 N 21/17	6 2 0 4 H 0 4 5
G 0 1 N 21/00	G 0 1 N 21/64	F 4 H 0 5 6
G 0 1 N 21/17	G 0 1 N 21/78	C
G 0 1 N 21/64	A 6 1 K 37/02	
G 0 1 N 21/78	A 6 1 K 49/02	Z
// A 6 1 B 1/00	A 6 1 B 1/00	3 0 0 D

(81)指定国 AP(GH,GM,KE,LS,MW,MZ,SD,SL,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,MD,RU,TJ,TM),EP(AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,IE,IT,LU,MC,NL,PT,SE,SK,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BR,BY,BZ,CA,CH,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DK,DM,DZ,EC,EE,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,HR,HU,ID,IL,IN,IS,JP,KE,KG,KP,KR,KZ,LC,LK,LR,LS,LT,LU,LV,MA,MD,MG,MK,MN,MW,MX,MZ,N0,NZ,OM,PH,PL,PT,RO,RU,SD,SE,SG,SI,SK,SL,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VN,YU,ZA,ZM,ZW

(72)発明者 サミュエル・アイ・アチレフ

アメリカ合衆国6 3 0 4 4 ミズーリ州セント・ルイス、サン・セビリア・コート3 4 2 4番

(72)発明者 ラガバン・ラジャゴパラン

アメリカ合衆国4 4 1 2 2 オハイオ州ウッドミア・ビレッジ、アパートメント2 2 0、シャグリン
・ブルバード2 8 8 2 0番

(72)発明者 ジョゼフ・イー・ブガジュ

アメリカ合衆国6 3 3 0 3 ミズーリ州セント・チャールズ、ケッタリング・ドライブ2 9 1 6番

(72)発明者 リチャード・ビー・ドーシー

アメリカ合衆国6 3 1 4 6 ミズーリ州セント・ルイス、ニーハウス・レイン1 1 9 7 7番

F ターム(参考) 2G043 AA03 BA16 DA01 EA01 EA15 FA01 KA02 KA05 KA09 LA03
 2G054 AA08 AB05 BB08 CA23 CE02 EA03 EB01 FA32 GA04 GB02
 2G059 AA06 BB12 DD01 EE01 EE07 EE16 FF01 FF12 HH01 HH02
 HH06 KK04
 4C061 BB08 WW17
 4C084 AA02 AA07 BA01 BA09 BA17 BA18 BA19 BA23 BA32 CA59
 MA66 NA05 NA14 NA15 ZA452 ZB262 ZC752
 4C085 HH03 HH11 JJ01 KA08 KA10 KA11 KA26 KA29 KA36 KB56
 KB78 KB82 LL18
 4C086 AA01 AA02 AA03 BC10 BC39 BC70 BC84 BC95 GA07 GA09
 GA10 MA01 MA04 MA66 NA05 NA14 NA15 ZA45 ZB26 ZC75
 4C204 BB01 CB13 DB03 DB13 FB23 FB24 GB01 GB02
 4H045 AA10 AA30 BA15 BA16 CA40 DA30 EA20 EA50 FA34 GA01
 GA21
 4H056 CA01 CC02 CC08 CE03 CE06 DD03

专利名称(译)	肿瘤靶向光学诊断 - 光学治疗成分		
公开(公告)号	JP2005526863A	公开(公告)日	2005-09-08
申请号	JP2003535708	申请日	2002-10-07
[标]申请(专利权)人(译)	马林克罗特公司		
申请(专利权)人(译)	马连杆有限公司		
[标]发明人	サミュエル・アイ・アチレフ ラガバン・ラジヤゴパラン ジョゼフ・イー・ブガジュ リチャード・ビードーショー		
发明人	サミュエル・アイ・アチレフ ラガバン・ラジヤゴパラン ジョゼフ・イー・ブガジュ リチャード・ビードーショー		
IPC分类号	G01N21/64 A61B1/00 A61K31/403 A61K38/00 A61K41/00 A61K49/00 A61K51/00 A61P9/10 A61P35/04 C07D209/60 C07K7/06 C09B23/00 C09B23/01 C09B23/02 C09B23/04 C09B23/06 C09B23/08 G01N21/00 G01N21/17 G01N21/78		
CPC分类号	A61K49/0032 A61K41/0057 A61K49/0034 A61K49/0052 A61K49/0056 C09B23/0066 C09B23/0075		
FI分类号	C09B23/00.L A61K31/403 A61K49/00.Z A61P9/10 A61P35/04 C07D209/60 C07K7/06.ZNA G01N21/00.A G01N21/17.620 G01N21/64.F G01N21/78.C A61K37/02 A61K49/02.Z A61B1/00.300.D		
F-TERM分类号	2G043/AA03 2G043/BA16 2G043/DA01 2G043/EA01 2G043/EA15 2G043/FA01 2G043/KA02 2G043/KA05 2G043/KA09 2G043/LA03 2G054/AA08 2G054/AB05 2G054/BB08 2G054/CA23 2G054/CE02 2G054/EA03 2G054/EB01 2G054/FA32 2G054/GA04 2G054/GB02 2G059/AA06 2G059/BB12 2G059/DD01 2G059/EE01 2G059/EE07 2G059/EE16 2G059/FF01 2G059/FF12 2G059/HH01 2G059/HH02 2G059/HH06 2G059/KK04 4C061/BB08 4C061/WW17 4C084/AA02 4C084/AA07 4C084/BA01 4C084/BA09 4C084/BA17 4C084/BA18 4C084/BA19 4C084/BA23 4C084/BA32 4C084/CA59 4C084/MA66 4C084/NA05 4C084/NA14 4C084/NA15 4C084/ZA452 4C084/ZB262 4C084/ZC752 4C085/HH03 4C085/HH11 4C085/JJ01 4C085/KA08 4C085/KA10 4C085/KA11 4C085/KA26 4C085/KA29 4C085/KA36 4C085/KB56 4C085/KB78 4C085/KB82 4C085/LL18 4C086/AA01 4C086/AA02 4C086/AA03 4C086/BC10 4C086/BC39 4C086/BC70 4C086/BC84 4C086/BC95 4C086/GA07 4C086/GA09 4C086/GA10 4C086/MA01 4C086/MA04 4C086/MA66 4C086/NA05 4C086/NA14 4C086/NA15 4C086/ZA45 4C086/ZB26 4C086/ZC75 4C204/BB01 4C204/CB13 4C204/DB03 4C204/DB13 4C204/FB23 4C204/FB24 4C204/GB01 4C204/GB02 4H045/AA10 4H045/AA30 4H045/BA15 4H045/BA16 4H045/CA40 4H045/DA30 4H045/EA20 4H045/EA50 4H045/FA34 4H045/GA01 4H045/GA21 4H056/CA01 4H056/CC02 4H056/CC08 4H056/CE03 4H056/CE06 4H056/DD03		
代理人(译)	小岛 一晃		
优先权	09/981271 2001-10-17 US		
其他公开文献	JP2005526863A5		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

公开了新的肿瘤特异性光学治疗和光学诊断组件。光勘探(渴望)肽患病组织, 和 - 本发明中, 肿瘤受体簇花青染料, 光敏剂用于光动力治疗, 所述探针为可视化的位点特异性递送的化合物从有毒成分和这让。这些因素的结合使每种成分的独特和有效性质的益处最大化, 以有效地进行患者护理管理。

(51) Int. Cl. ⁷	F 1	テーマコード (参考)
C09B 23/00	C09B 23/00	L 2G043
A61K 31/403	A61K 31/403	2G054
A61K 38/00	A61K 49/00	Z 2G059
A61K 49/00	A61P 9/10	4C061
A61K 51/00	A61P 35/04	4C084
		審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 26 頁) 最終頁に
(21) 出願番号	特願2003-535708 (P2003-535708)	(71) 出願人 595181003 マリンクロッド・インコーポレイテッド Mallinckrodt INC. アメリカ合衆国、63134 ミズーリ 、セントルイス、マクドネル ブール ド675、ビー・オー・ボックス 51 O
(36) (22) 出願日	平成14年10月7日 (2002.10.7)	
(35) 諸説文提出日	平成16年6月15日 (2004.6.15)	
(36) 國際出願番号	PCT/US2002/032022	
(37) 國際公開番号	W02003/032902	
(37) 國際公開日	平成15年4月24日 (2003.4.24)	
(31) 優先権主張番号	09/981,271	
(32) 優先日	平成13年10月17日 (2001.10.17)	(74) 代理人 100082144 弁理士 青山 孜
(33) 優先権主張国	米国 (US)	(74) 代理人 100067035 弁理士 岩崎 光隆
		(74) 代理人 100064610 弁理士 中嶋 正二
		(74) 代理人 100072730 弁理士 小島 一晃

最終頁に