

厚生労働科学研究委託費（革新的がん医療実用化研究事業）

委託業務成果報告（業務項目）

難治性固形がんにも有効なPARG阻害剤の実用化研究(新規PARG阻害剤の開発)：PARG阻害剤の最適化とCMC研究
およびバックアップ化合物の探索

担当責任者 松野研司 岡山大学大学院 医歯薬学総合研究科 准教授

研究要旨

リード化合物MO2282誘導体から臨床開発化合物の取得を目指した。MO2282誘導体が難溶性化合物であるため、溶解性向上を目的とした誘導体設計・合成を実施した（リード化合物のプロドラッグ化および親水性置換基導入など）。その結果、強力なPAR集積作用および細胞障害活性を示すMO2455を見出した。本化合物は、ヒトxenograftヌードマウスモデルで有意な抗腫瘍効果が認められ、肝ミクロソームin vitroクリアランス値も比較的小さく、CYP阻害なども認められなかったことから、開発候補化合物として位置づけた。現在、in vivo毒性試験（2週間連投@マウス）が進行中である。

また、MO2455のCMC研究を実施した。よりスケールアップ合成に適した新合成ルートを開拓し、総収率を2倍向上させることに成功した。本方法により外注によるスケールアップ製造を実施し、50gスケールでMO2455を取得することに成功した。スケールアップ製造研究において、MO2455に結晶多形が存在することが明らかとなったが、精製法および塩形の検討により品質をコントロールする方向性を見出した。

A．研究目的

難治性固形がんにおいては化学療法及び放射線療法抵抗性のがん幹細胞が治療抵抗性及び再発の要因と考えられている。新規薬剤の開発により、化学療法及び放射線療法の有効性をがん幹細胞について飛躍的に向上させることは、がん幹細胞のシグナル伝達系を標的とする多くの分子標的薬の開発と同様に重要である。がん幹細胞は、他のがん細胞に比較してDNA修復応答系が異なることがDNA損傷に対して抵抗性の要因となることが示されている。これはDNA修復応答経路を標的とした治療法の開発が、がん幹細胞をより選択的に阻害する可能性を示唆している。

DNA修復応答に関わるポリ(ADP-リボース)の主な分解酵素ポリ(ADP-リボース)グリコヒドロラーゼ(PARG)の機能阻害がES細胞やがん幹細胞マーカー陽性がん細胞株において化学療法剤の致死作用を増強するなどがん幹細胞においてPARG阻害による化学療法・放射線療法の効果増強機序の知見が既に集積している。PARGは抗がん剤標的候補として国外で注目されつつあるが、臨床応用に有効な阻害剤は開発されていない。また、PARG阻害剤は抗がん剤としての創薬開発は本邦では皆無であり、化学療法及び放射線療法の増感剤としての実用化の研究開発の必要性が高い。そこで本研究班では、PARG阻害剤の化学療法及び放射線療法の増感剤としての実用化に向けて、分子設計の手法を用いて臨床開発候補化合物の開発と薬力学的マーカー、効果予測(薬効)マーカーを平行して検討し、有効ながん種を特定を行ってきた。さらに、H23-25年度の厚労科研究費「がん幹細胞を標的とした化学療法及び放射線療法のPARG阻害剤による効果増強法の実用化研究」によりPARG阻害剤の開発研究を行ってきた。独自のスクリーニング系による探索の結果、構造の異なる4種類の

リード化合物を得た。このうち、最も有望なMO2282の構造最適化を分子設計の手法を駆使して進め、in vivo xenograftモデルにおいて有意な抗腫瘍効果を示す化合物を取得している。また臨床応用可能な薬効予測マーカー候補(BRCA1等)を数種同定している。

本研究事業においては、今後3年間の研究期間において、世界初となるPARG阻害剤の治験開始(phase 0/1)を目指す。すなわち、臨床試験候補化合物の選定に向けた開発研究を実施(H26年度)後、治験移行を目的とした非臨床試験(GLP)および原薬スケールアップ製造研究(CMC)を実施する(H27年度)。併せて、薬力学的マーカーおよび効果予測マーカーの同定により有効ながん種を特定し(H26年度)、各マーカーを臨床試験において測定する系を確立する(H27年度)。臨床試験を効率的に進める段階に到達した後、特定のがん種を対象としたphase 0/1試験を開始する(H28年度)。

B．研究方法

プロジェクトの総合推進

プロジェクトを効率よく滞りなく推進するため、月に1回の頻度でFace to Face meeting又はWEB会議を催した。また研究進捗の確認では、PDCA管理を導入し、月毎にPDCA管理票への入力を各研究者に求め、タイムリーな情報共有を図った。

PARG阻害剤の構造最適化による臨床開発化合物の取得

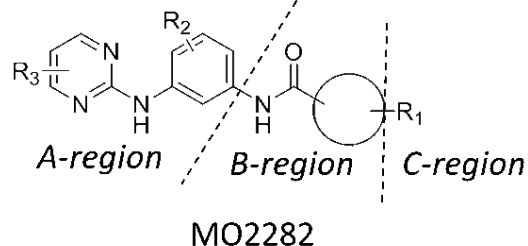
a．リード化合物の最適化とCMC研究

すでに我々が見出している4種類のリード化合物のうち、ヒトxenograftヌードマウスモデルで有意な抗腫瘍効果が認められたMO2282誘導体から臨床開発化合物

候補の取得を目指し、MO2282の各部分（A～C部分）を変換した化合物を合成し、PAR集積作用（cell-based assay）細胞障害活性、ヒトxenograftヌードマウスモデルで評価した。開発候補化合物として位置づけたMO2455は、肝ミクロソームin vitroクリアランス、CYP阻害評価を実施した。現在、in vivo毒性試験（2週間連投@ラット）が進行中である。

また、GLP（&信頼性基準）準拠の非臨床試験（毒性&薬理試験）およびcGMP原薬合成に向けたMO2455のCMC研究を実施した。

さらにMO2455は、比較的難溶性の化合物であるため、静脈注射投与可能な製剤処方を検討した。平行して、溶解性向上を目的とした誘導体設計・合成を実施した。



C. 研究結果

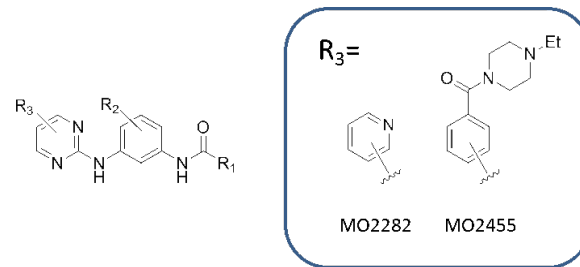
プロジェクトの総合推進

プロジェクトを効率よく滞りなく推進するため、月に1回の頻度でFace to Face meeting又はWEB会議を催し、研究代表者及び他の分担研究者の情報を共有するとともに、方向性と手段について頻回に打ち合わせを行った。会議においては、各研究者の研究進捗の確認、データの検証、今後の方針について協議した。さらに、不定期に電話会議やメールで各研究者と連絡を密にとり、研究班における研究調整を行った。

PARG 阻害剤の構造最適化による臨床開発化合物の取得

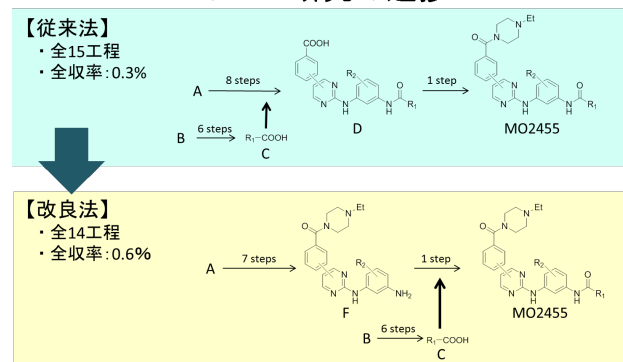
a. リード化合物の最適化とCMC研究

すでに我々が見出している4種類のリード化合物のうち、ヒトxenograftヌードマウスモデルで有意な抗腫瘍効果が認められたMO2282誘導体から臨床開発化合物候補の取得を目指した。すなわちMO2282の各部分を変換した化合物を合成し、PAR集積作用（cell-based assay）および細胞障害活性を評価した。その結果、強力なPAR集積作用および細胞障害活性を示すMO2455を見出した。本化合物は、ヒトxenograftヌードマウスモデルで有意な抗腫瘍効果が認められ、肝ミクロソームin vitroクリアランス値も比較的小さく、CYP阻害なども認められなかったことから、開発候補化合物として位置づけた。現在、in vivo毒性試験（2週間連投@ラット）が進行中である。



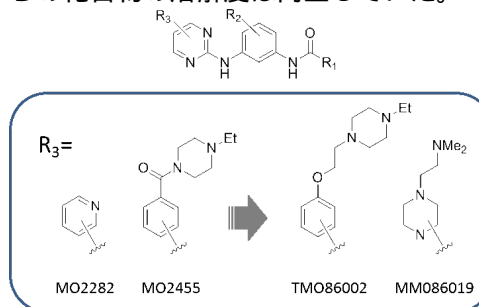
次に、次年度に予定しているGLP（&信頼性基準）準拠の非臨床試験（毒性&薬理試験）およびcGMP原薬合成に向けたMO2455のCMC研究を実施した。その結果、現在のイタリカミストリールルートは、スケールアップ合成には適していないことが判明したため、別合成ルートを開拓した。新合成ルート（14工程）は、旧来法と比べてステップ数が1工程短く、また総収率（0.6%）を2倍向上させることに成功した。これらの成果をもとに、外注によるスケールアップ製造を実施し、50gスケールでMO2455を取得することに成功した。本スケールアップ製造研究において、MO2455に結晶多形が存在することが明らかとなったが、精製法および塩形の検討により品質をコントロールする方向性を見出した。

MO2455のCMC研究の進捗



改良法によるスケールアップ合成実施中

またMO2455は、比較的難溶性の化合物であるため、溶解性向上を目的とした誘導体設計・合成を実施した。まず、親水性置換基を導入した化合物（25化合物合成）による物性改善を図ったところ、溶解度は明らかに向上し強い細胞増殖阻害活性を示したものの、強いPARG阻害活性を有する化合物は見出されなかった。一方、リード化合物のプロドラッグ化に関しては、リン酸や各種アミノ酸を導入した化合物の合成に成功し、これらの化合物の溶解度は向上していた。



b. バックアップ化合物の探索研究

MO2282以外の3種類のリード化合物からの合成展開に加え、我々が確立したPAR集積を指標とするhigh throughputのcell-based assay系を用いた探索研究により、バックアップ化合物の探索研究も平行して実施した。次年度以降も継続してバックアップ化合物を探索する。

(倫理面への配慮)

本研究は生体由来成分を使用しないため、本研究の遂行に人権保護に係る法令上の問題はない。

D. 考察

MO2282誘導体が難溶性化合物であるため、溶解性向上を目的とした誘導体設計・合成を実施したが、活性と物性の両立が困難な中、強力なPAR集積作用および細胞障害活性を示すMO2455を見出した。本化合物は、ヒトxenograftヌードマウスモデルで有意な抗腫瘍効果が認められ、肝ミクロソームin vitroクリアランス値も比較的小さく、CYP阻害なども認められなかったことから、開発候補化合物として位置づけた。現在、in vivo毒性試験(2週間連投@ラットiv)が進行中であるが、現時点では、高用量(5 mg/kg/day)において、一般行動での異常(中毒症状等)、体重及び摂餌量の減少は認められていないことから、医薬品としての開発可能性が高いと考えられる。

また、MO2455のCMC研究によりスケールアップ合成に適した新合成ルートを開拓した。総収率を2倍向上させ、安定的にスケールアップ製造が可能であることを実証したが、純度向上の影響のためかMO2455に結晶多形が出現した。結晶多形の問題は、開発研究においていずれは直面する課題ではあるが、一般的に結晶多形をコントロールするには、長期間の試行錯誤による検討が必要となる。今回、精製法および塩形の検討により品質をコントロールする方向性を早期に見出したことは、本プロジェクトの進展に大きく寄与できたと考えられる。

E. 結論

リード化合物MO2282誘導体から臨床開発化合物の取得を目指した。MO2282誘導体が難溶性化合物であるため、溶解性向上を目的とした誘導体設計・合成を実施した(リード化合物のプロドラッグ化および親水性置換基導入など)。その結果、強力なPAR集積作用および細胞障害活性を示すMO2455を見出した。本化合物は、ヒトxenograftヌードマウスモデルで有意な抗腫瘍効果が認められ、肝ミクロソームin vitroクリアランス値も比較的小さく、CYP阻害なども認められなかったことから、開発候補化合物として位置づけた。現在、in vivo毒性試験(2週間連投@マウス)が進行中である。また、MO2455のCMC研究を実施した。よりスケールアップ合成に適した新合成ルートを開拓し、総収率を2倍向上させることに成功した。本方法により外注によるスケールアップ製造を実施し、50gスケールでMO2455を

取得することに成功した。スケールアップ製造研究において、MO2455に結晶多形が存在することが明らかとなったが、精製法および塩形の検討により品質をコントロールする方向性を見出した。

F. 健康危険情報
なし

G. 研究発表
なし

H. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得
新規抗がん剤 (特許出願予定)
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし