

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 阻害剤溶解補助剤としてのシクロデキストリン有用性評価

研究分担者 入江徹美 熊本大学 大学院生命科学部 薬剤情報分析学分野 教授

研究要旨

難治性固形がんの有用な治療薬候補として期待されるとしてポリ(ADP-リボース)分解酵素 (PARG) 阻害剤 MO2282 誘導体はいずれも溶解性が低く、製剤化・臨床応用を目指す上で化合物の難溶性がボトルネックとなっている。本研究では *in vivo* で投与可能な 1mg/mL まで改善することを目標に溶解補助剤としてのシクロデキストリンの有用性評価を行った。その結果、現在上市されている医薬品においても溶解補助剤として使用されている 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin (HPBCD) を用いることで、MO2282 誘導体である MO2455 の溶解性を 7mg/mL 程度まで改善できることを見出した。また、HPBCD を用いて作成した MO2455 溶液は日数が経過しても化学的に安定かつ細胞傷害活性を保持した状態で、溶解性も低下しない可能性が示唆された。本研究により、HPBCD を用いることで当初の目標であった 1 mg/mL を大きく上回る濃度の PARG 阻害剤溶液を作成することに成功し、PARG 阻害剤の製剤化にあたり、重要な知見が得られた。

A.研究目的

DNA 修復応答に重要なポリ(ADP-リボース)分解酵素 (PARG) の阻害が、がん幹細胞マーカー陽性細胞株に対し DNA 修復応答の阻害を中心とする作用点から細胞死を誘導する。従って PARG は、がん治療、特に難治性固形がんの標的分子として大きな期待がもたれる。これまでに申請者らは PARG 阻害剤スクリーニング系を構築し、構造の異なる 4 種類のヒット化合物を得、その構造最適化を実施した。その中で MO2282 誘導体は、PARG 阻害のみならず cell-based 評価系において強い PAR 集積、アポトーシスを誘導し、*in vivo xenograft* モデルにおいても、有意な抗腫瘍活性を示した。しかしながら、MO2282 誘導体はいずれも溶解性が低く、製剤化・臨床応用を目指す上で化合物の難溶性がボトルネックとなっている。

環状オリゴ糖シクロデキストリン (CD) は、分子内に疎水性の空洞を有する単分子的ホスト分子である。CD の空洞にゲスト分子が取り込まれて包接複合体を形成すると、ゲスト分子の物理化学的性質

は様々に変化する。この分子カプセルと呼ばれる CD の超分子的な包接現象は、特に医薬品開発においては、製剤特性の改善や drug delivery system の構築などに広く応用してきた。

そこで本研究では、各種 MO2282 誘導体の溶解性を *in vivo* で投与可能な 1mg/mL まで改善することを目標に溶解補助剤としての CD の有用性評価を行った。

B.研究方法

MO2282 誘導体 (MO2282, MO2455-mesylate, MO2455) の各種条件下における溶解度を吸光光度法により評価した。

C.研究結果

1) MO2282 の溶解性に対する酸・塩基の影響

現在上市されている医薬品においても溶解補助剤として使用されている 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin (HPBCD) を用い、酸性溶液または塩基性溶液における MO2282 の溶解性を比較した結果、

酸性溶液に対し、MO2282 はよく溶解した。各種酸性溶液（酢酸、酒石酸、クエン酸）に対する溶解度を測定したところ、ギ酸（0.5M HPBCD）に対する溶解度が最も大きく、最大濃度は 0.864 mg/mL であった。

2) MO2455-mesylate の溶解性に対する HPBCD の影響

MO2455-mesylate を各濃度（0 - 0.1 M）の HPBCD 水溶液を用いて溶解した。その結果、HPBCD は濃度依存的に MO2455-mesylate の溶解度を増大させた（図 1）。0.1 M HPBCD 水溶液に対する MO2455-mesylate の溶解度は 1.41 mg/mL であった。また、このときの溶液の pH は 3 付近であり、NaOH により pH を中性に近づけたところ、白色の沈殿物が生じた。

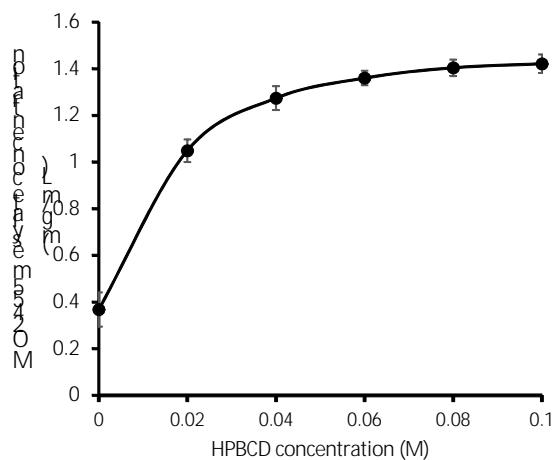


図1 HPBCDによるMO2455-mesylate溶解度改善効果

3) MO2455 の溶解性に対する HPBCD の影響

MO2455 を各濃度（0 - 0.3 M）の HPBCD 溶液を用いて溶解した。0.1 M, 0.2 M, および 0.3 M HPBCD 溶液に対する MO2455 の溶解度はそれぞれ 4.21, 6.73, および 7.22 mg/mL となり、HPBCD は濃度依存的に MO2455 の溶解度を増大させた。

4) MO2455 溶液保存時の溶解度変化

MO2455 10mg に対して 0.3 M HPBCD を 1 mL で溶解し、作成した溶液を冷所(4 ℃)にて保存した。

18 日経過後の溶液の MO2455 濃度は 6.65 mg/mL であった。また LC/MS/MS による測定および MTT assay による細胞傷害活性測定を実施し、MO2455 が分解していないことおよび細胞傷害活性が保持されていることを確認した。

D. 考察

本研究では、各種 MO2282 誘導体の溶解性を *in vivo* で投与可能な 1mg/mL まで改善することを目標に各種条件下での検討を実施した。

MO2282 はギ酸（0.5M HPBCD）を用いることで、0.864 mg/mL まで溶解性が改善したが、目標である 1 mg/mL は達成できなかった

そこで次に MO2455-mesylate を用いて実験を行った。その結果、0.1 M HPBCD を用いることで MO2455-mesylate の溶解度を 1.41 mg/mL まで改善することが可能であった。しかし、このときの pH が 3 付近であったため、生体への投与可能な製剤の調製を想定し、pH を中性に調整したところ、白色の沈殿物が生じた。したがって、MO2455-mesylate 溶液の製剤化は困難であると考えられた。

そこで次に MO2455 を用いた検討を実施した。その結果、MO2455 は 0.3 M HPBCD を用いることで溶解度を 7.22 mg/mL まで増大させることができた。さらに、この溶液は作成後 18 日目までは目標以上の濃度および活性を保持していることが明らかとなった。以上の結果より、は HPBCD を用いることで *in vivo* 評価系で投与可能な MO2455 溶液を作成可能であることが示唆された。

E. 結論

本研究により、HPBCD を用いることで当初の目標であった 1 mg/mL を大きく上回る濃度の MO2282 誘導体である MO2455 溶液を作成することに成功し、PARG 阻害剤の製剤化にあたり、重要な知見が得られた。今後、HPBCD 以外の CD 誘導体を中心に、より生体適合性が高い、PARG 阻害剤の溶解補助剤として最適な化合物の探索を継続する予定である。

F.健康危険情報

該当なし

G.研究発表

(発表雑誌名巻号・頁・発行年なども記入)

1.論文発表

Matsuo M, Shraishi K, Irie T et al.
Effects of intracerebroventricular
administration of
2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin in a patient
with Niemann-Pick Type C disease, *Mol
Genet Metab Rep.*, 2014, 87, 26-41.

Umezaki Y, Irie T, Hirayama F et al.
Preparation of hydrophilic
C60(OH)10/2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin
nanoparticles for the treatment of a liver
injury induced by an overdose of
acetaminophen, *Biomaterials*, 2015, 45,
115-123

Soga M, Irie T, Era T et al.
Preparation of hydrophilic HPGCD
Outperforms HPBCD as A Potential
Treatment for Niemann-Pick Disease Type
C During disease Modeling with iPS Cells,
Stem Cells, in press

Maeda Y, Irie T, Arima H et al.
Effects of Cyclodextrins on
GM1-gangliosides in Fibroblasts from
GM1-gangliosidosis Patients, *J Pharm
Pharmacol.*, in press

Tanaka Y, Yamada Y, Irie T et al.
Efficacy of 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin
in Niemann-Pick disease type C model
mice and its pharmacokinetic analysis in a
patient with the disease, *Biol Pharm Bull.*,
in press

2.学会発表

石塚洋一、田中雄太、入江徹美 他

Niemann-Pick 病 C 型治療薬

2-Hydroxypropyl- β -cyclodextrin の病態モデ
ルにおける安全性評価

第 9 回 トランスポーター研究会年会 (名古屋,
6/14-15, 2014)

近藤悠希、石塚洋一、入江徹美 他

Niemann-Pick 病 C 型治療薬

2-Hydroxypropyl- β -cyclodextrin の有効性に
関する Translational Research

第 9 回 トランスポーター研究会年会 (名古屋,
6/14-15, 2014)

深浦まど香、近藤悠希、入江徹美 他

Niemann-Pick 病モデルマウスを用いた
HPBCD 脳室内投与の有効性・安全性評価、
第 56 回日本先天代謝異常学会総会 (仙台,
11/13-15, 2014)

石塚洋一

有効性・安全性に優れる新規 Niemann-Pick 病
C 型治療薬の開発を目指した TR - rTR
第 8 回次世代を担う若手医療薬科学シンポジウ
ム (熊本, 11/15-16, 2014)

白石広葵、石塚洋一、入江徹美 他

Niemann-Pick 病 C 型患児と病態モデルマウス
における 2-Hydroxypropyl- β -Cyclodextrin の
体内動態解析

第 31 回 日本薬学会九州支部大会(福岡, 12/6-7,
2014)

徳丸博子、近藤悠希、入江徹美 他

Niemann-Pick 病 C 型に対する各種
Cyclodextrin 誘導体の有効性・安全性 In Vitro
評価

第 31 回 日本薬学会九州支部大会(福岡, 12/6-7,
2014)

H . 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし