

研究報告書

一般課題：A
(平成28年度)

平成 30年 3月 31日

公益財団法人 がん研究振興財団

理事長 堀田 知光 殿

研究施設 国立研究開発法人理化学研究所
ライフサイエンス技術基盤研究センター

住 所 兵庫県神戸市中央区港島南町 6-7-3

研究者氏名 土居 久志



(研究課題)

抗腫瘍活性を持つ RLC140050 の開発と ^{18}F -標識 PET プローブの合成

平成29年1月25日付助成金交付のあった標記一般課題：Aについて研究が終了致しましたのでご報告いたします

研究の背景と目的

SN-38 は優れた抗がん活性（トポイソメラーゼ I 阻害活性）を持つが、水に不溶のため臨床使用はできなかった。そのため、実際の臨床では、溶解性を改善した SN-38 のプロドラッグであるイリノテカンが使用されている。しかしながら、生体内でのイリノテカンの SN-38 への変換率は 10%以下と低く、また、SN-38 の肝臓代謝物が肝胆道を経て腸管炎症（深刻な下痢）を引き起こす問題がある。本研究では、SN-38 が持つ魅力的な抗がん活性はそのままに、難水溶性および代謝経路の改善を目指して、陽電子放射断層画像撮影（PET）を機軸とした創薬化学的観点を踏まえて、SN-38 の 10 位ヒドロキシ基の構造修飾を手がかりとした新規誘導体の開発を行うこととした。

研究結果

新規誘導体の開発にあたっては、図 1 に示したように、10-*O*-安息香酸置換、および、10-*O*-アルキル置換を機軸とした 13 種類の SN-38 誘導体の合成に取り組んだ^[1,2]。なお、本構造修飾におけるフッ素の導入は、化合物に適度な極性を持たせるとともに、将来の PET イメージングへの展開を意図したものである。

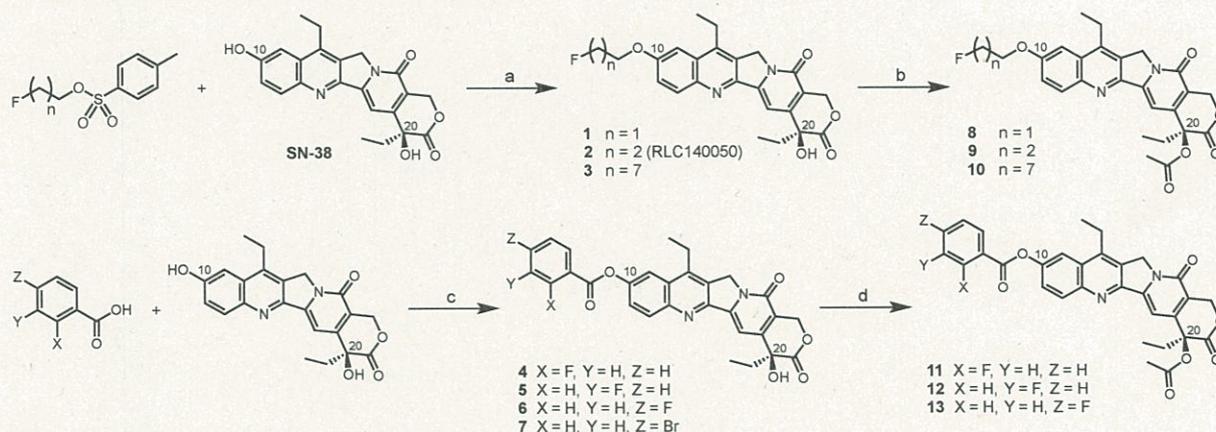


図 1. SN-38 誘導体の合成

a) $(n\text{-C}_4\text{H}_9)_4\text{NOH}$, DMF, 70 °C, 15–33%; b) $(\text{CH}_3\text{CO})_2\text{O}$, DMAP, pyridine, RT, 18–68%; c) 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimide hydrochloride, DMAP, THF/DMF or THF/DMSO, RT, 7–22%; d) $(\text{CH}_3\text{CO})_2\text{O}$, DMSO, 85 °C, 11–94%.

化学合成は問題なく完了した。続いて、上記の 13 種類の新規誘導体の溶解度を解析した結果、化合物番号 2（コード名：RLC140050）は SN-38 と比べて見事に溶解性が改善していた。例えば、リン酸緩衝生理食塩水（PBS）に対する溶解度は、SN-38 の 6.8 μM と比べて、2 は 116.6 μM であった（表 1）^[1,2]。そこで、低分子有機化合物の可溶化剤として、またドラッグデリバリーとしても有効なリポカリン型プロスタグランジン D 合成酵素（1.0 mM の L-PGDS-リン酸緩衝生理食塩水。以下、L-PGDS 混合溶液と記述）を添加した溶解度試験を行った。その結果、SN-38 の 156 μM 溶解度に対して、2 は 1445 μM となり、さらに溶解度が向上した（表 1）^[1,2]。

次に、ヒト大腸癌細胞（Colo201）およびヒト前立腺癌細胞（PC-3）を用いた *in vitro* 細胞毒性試験を行ったところ、2 は SN-38 と同等の細胞毒性を示した^[1,2]。さらに、PC-3 担癌マウスに対する *in vivo* 抗腫瘍実験を行った結果、驚いたことに、2 の L-PGDS 混合溶液（2/L-PGDS）は、SN-38 の L-PGDS 混合溶液（SN-38/L-PGDS）よりも高い抗腫瘍効果を示した^[1,2]。

表 1. SN-38 及び 10-*O*-置換 SN-38 誘導体 1-13 の溶解度^[a]

化合物	PBS (溶解度 ^[b] : μM)				L-PGDS-containing PBS ^[c] (溶解度 ^[d] : μM)			
	溶解時間				溶解時間			
	1 h	3 h	6 h	12 h	1 h	3 h	6 h	12 h
SN-38	-	6.6	6.9	6.8	79	110	138	156
1	18.8	23.6	27.3	29.3	249	343	419	461
2	60.8	83.4	104.2	116.6	1077	1222	1394	1445
3	-	-	-	-	447	617	683	727
4	12.0	14.4	14.6	15.8	196	337	525	821
5	13.2	17.7	20.6	23.3	422	615	837	1108
6	-	6.9	8.2	8.6	213	318	449	604
7	-	-	-	-	75	198	399	654
8	-	-	-	-	205	210	215	218
9	6.4	7.1	7.9	9.3	673	623	583	566
10	-	-	-	-	452	533	554	585
11	-	-	-	-	34	75	132	230
12	-	-	-	-	60	116	176	278
13	-	-	-	-	32	42	54	77

[a]各化合物を 37°Cのそれぞれの溶液に混同し、1, 3, 6, and 12 時間後に溶解度を測定した。[b]溶解度は小数点大 1 位で表示した。[c]溶液には、1.0 mM の L-PGDS-リン酸緩衝生理食塩水を使用した。[d]溶解度は四捨五入して整数で表示した。溶解性が悪いものは “-” で表示した。

具体的には、腫瘍体積が 250 mm³に達した日から、2/L-PGDS と SN-38/L-PGDS (投与量はそれぞれ 2.0 mg/kg) を 2 日に 1 回の計 8 回 (図 2 : 赤丸と青丸)、あるいは 4 日に 1 回の計 4 回 (図 2 : 輪郭赤丸と輪郭青丸) を尾静脈に投与した。大変興味深いことに、2/L-PGDS の 2 日に 1 回の投与群 (赤丸) では、投与後 12 日間は腫瘍の成長は完全に抑制されていた。しかしながら、体重減少の割合が規定値の 80%を下回ったため、それ以降の投与は中止した。一方で、SN-38/L-PGDS の 2 日に 1 回の投与群 (青丸) は、PBS だけを投与した対照群 (黒丸) と比べて、25 日後の腫瘍成長阻害率は 47%であった。これらの結果を踏まえて、投与回数を減らした 4 日に 1 回の計 4 回の投与法に改めた。その結果、SN-38/L-PGDS の 4 日に 1 回の投与群 (輪郭青丸) の腫瘍成長阻害率は、25 日後に 41%となった。驚くべきことに、2/L-PGDS 4 日に 1 回の投与群 (輪郭赤丸) では、その腫瘍成長阻害率は極めて効果の高い 70%となった。なお、投与開始 15 日目では、4 日に 1 回の 2/L-PGDS (投与量 : 2.0 mg/kg) 投与群と 2 日に 1 回の SN-38/L-PGDS (投与量 : 2.0 mg/kg) 投与群の体重減少は同程度であった。以上の結果、溶解性およびヒト前立腺癌(PC-3)に対する抗腫瘍活性に関して、新規 SN-38 誘導体である 2 の有効性が確認できた^[1,2]。上記の結果に関しては、2017 年に *Chem Med Chem* 誌に学術論文として発表した (Doi, H., et al. *ChemMedChem* 12, 1715-1722, 2017)。

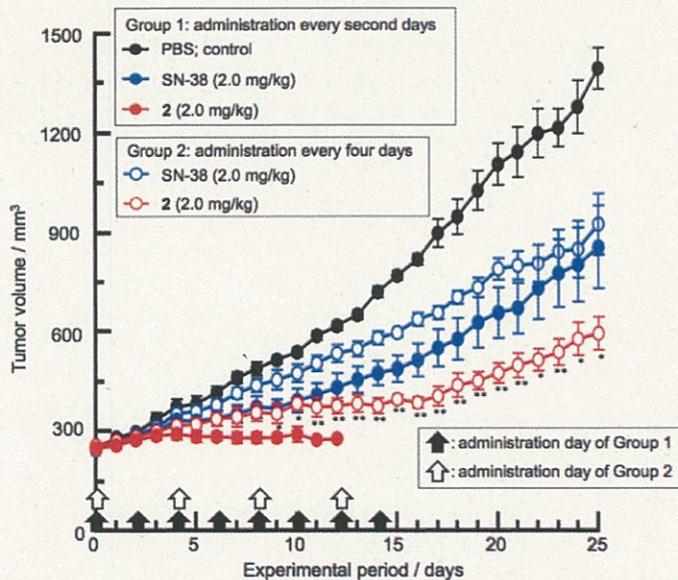


図 2. SN-38 と 2 のびヒト前立腺癌(PC-3) 担癌マウスを用い抗腫瘍活性実験

上記の研究結果を踏まえて、続いて、生体内の薬物動態を可視化できる PET イメージング研究への展開を目指すこととした。現在、2 に関しては、その ^{18}F -標識化体の合成にも成功し(図 3)、本 PET プローブを用いた小動物 PET イメージングを実施しているところである。本プローブの PET イメージング結果に関しては、SN-38 の薬物動態と比較検討し、それらの結果を学会ならびに論文論文等で発表していく予定である。

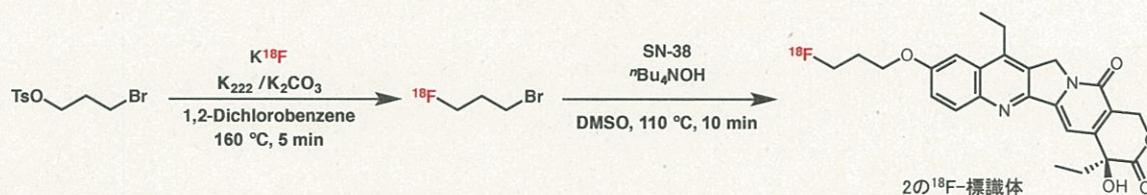


図 3. 2 (RLC140050) の ^{18}F -標識体の合成

謝辞

本研究を推進するにあたり研究助成のご支援を賜りました公益財団法人がん研究振興財団に深く感謝申し上げます。

【論文発表】

[1] Hisashi Doi, Tatsuya Kida, Kosuke Nishino, Masatoshi Nakatsuji, Shiho Sakamoto, Shota Shimizu, Yoshiaki Teraoka, Yasuhisa Tamura, Yosky Kataoka, Takashi Inui, “Solubility-Improved 10-*O*-Substituted SN-38 Derivatives with Antitumor Activity”, *ChemMedChem*, 2017, 12, 1715-1722.

【学会発表】

[2] Tatsuya Kida, Kosuke Nishino, Masatoshi Nakatsuji, Shiho Sakamoto, Shota Shimizu, Yoshiaki Teraoka, Yasuhisa Tamura, Yosky Kataoka, Takashi Inui, Hisashi Doi, “Solubility-Improved 10-*O*-Substituted SN-38 Derivatives with Antitumor Activity”, The 4th RIKEN / Karolinska Institutet / SciLifeLab Joint Symposium, November 16-17, 2017, Integrated Research Center of Kobe University, Convention Hall.