

川井準也は、「クマリン骨格を有する選択的 MTHFD2 阻害薬の合成研究」というタイトルで、以下の研究を行った。

ミトコンドリアに存在する葉酸代謝酵素である MTHFD2 は、1C ユニット（ギ酸）生成サイクルの重要な因子として核酸生合成に関わっている (Fig. 1)。近年、癌組織における MTHFD2 の高発現と癌の悪性度との相関が報告されたことから、

MTHFD2 は癌の予後不良因子であり、その阻害剤は抗癌剤として有用な可能性が示唆されている。正常細胞への発現が少ない MTHFD2 に対し、アイソザイムである MTHFD1 は正常細胞の細胞質にも広く発現しているが、既存の MTHFD2 阻害剤はすべて MTHFD1 の阻害活性も有することが知られていた。川井は副作用回避の観点から MTHFD1 阻害活性を乖離した薬剤が有用であると考え、選択的 MTHFD2 阻害薬の獲得を目指し、研究に着手した。

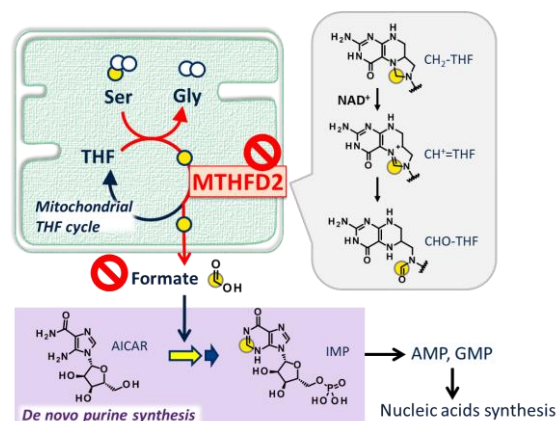


Fig. 1 葉酸代謝経路における MTHFD2 の役割

① クマリン骨格を有するリード化合物の獲得

既知阻害剤とは異なる骨格を得るために、川井は HTS による阻害剤の探索を実施した。これにより MTHFD2 の葉酸ポケットを占有し、中程度の阻害活性 ($IC_{50} = 8.3 \mu M$) および MTHFD2 選択性 (>12 倍) を有するヒット化合物 **1** を見出した。複合体 X 線構造解析により、MTHFD2 選択性発現の主要因は MTHFD2 のみが有する Asn87 と化合物のアミド部位との相互作用であると考察した。さらに川井は SAR 情報を取得し、化合物 **1** の末端酸性基の重要性を見出すとともに、X 線構造情報を活用した母核の変換を行うことで、ヒット化合物より阻害活性やリガンド効率の向上した、クマリン骨格を有する初期リード化合物 **41** を獲得した (Fig. 2)。

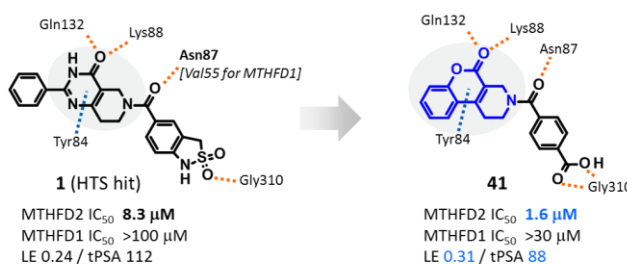


Fig. 2 ヒット化合物 **1** からの初期リード化合物 **41** の獲得

② Structure-based drug design による高活性な MTHFD2 阻害薬の獲得

川井は複合体の結晶構造を精査し、化合物 **41** のクマリン部位の修飾により阻害活性のさらなる向上が可能だと考えた。そこでまず遠隔位の相互作用を狙い、クマリン 8 位に塩基性置換基を導入したところ、阻害活性が大きく向上

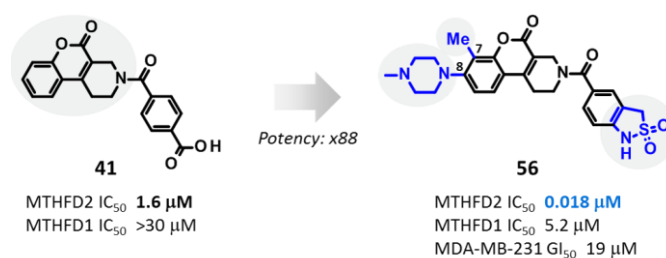


Fig. 3 クマリン部位修飾による化合物 **56** の獲得

することが分かった。さらに川井は芳香環上のメチルスキャンを行い、7位へのメチル基導入による阻害活性向上効果を見出した。これらの知見を合わせることで、高活性かつ高いイソザイム選択性を有し、ヒト乳癌由来の細胞株である MDA-MB-231 細胞に対して弱いながらも増殖阻害活性を示す、化合物 **56** を獲得することができた (Fig. 3)。

③ In vivo で抗腫瘍効果を示す MTHFD2 阻害薬の獲得

化合物 **56** は膜透過性が非常に低いという課題があり、このため細胞増殖阻害活性が弱かった。川井は膜透過性の低い原因がスルタムの高い酸性度 (pK_a 5.7) にあると考え、スルタムを別の構造へと変換することで課題の解決を図った。酸性度の低いスルホンアミドを採用したところ、酵素阻害活性は減弱するものの膜透過性が大幅に向上し、その結果、細胞増殖阻害活性はむしろ向上するという重要な知見を見出した。川井はスルホンアミド周辺の置換基効果を詳細に検討し、高い活性と膜透過性の維持にはスルホンアミドのオルト位に電子求引基が必要であるという帰結を導き出し、化合物 **79** を獲得した。さらにピペラジニル基の最適化を行い、最も高活性かつ MTHFD1 に対して 90 倍の選択性を有する化合物 **87** (DS18561882) の獲得に成功した (Fig. 4)。

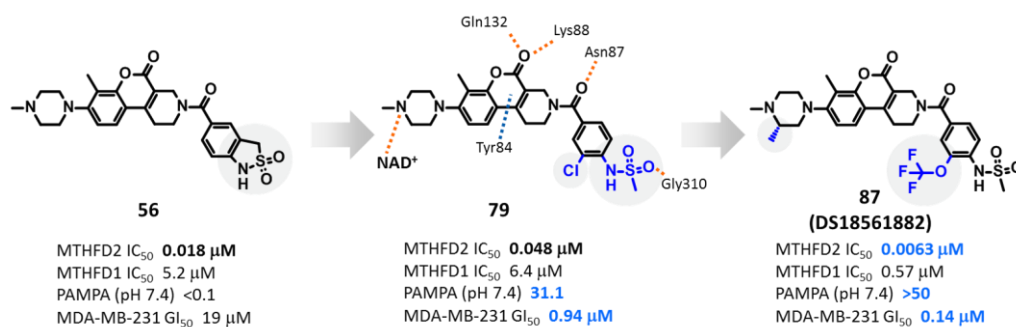


Fig. 4 スルホンアミドへの変換による化合物 **79**, **87** (DS18561882) の獲得

化合物 **79** では補酵素 NAD⁺を含む三者複合体の X 線結晶構造を取得しており、クマリン 8 位のピペラジニル基は実際には NAD⁺のリン酸部位と相互作用していたことを示した (Fig. 5)。

得られた化合物 **79** および DS18561882 は、良好な *in vitro* ADME パラメータを有するとともに十分な経口吸収性を有していた。そこで MDA-MB-231 株を移植したマウス xenograft モデルにて抗腫瘍活性を評価したところ、

DS18561882 の 300 mg/kg, BID 投与群にて、体重減少をすることなく、腫瘍増殖をほぼ完全に抑制することを確認した (Fig. 6)。

川井は独自に見出した選択的阻害剤を用いることで、MTHFD2 阻害剤の経口投与による抗腫瘍効果を初めて明らかにした。

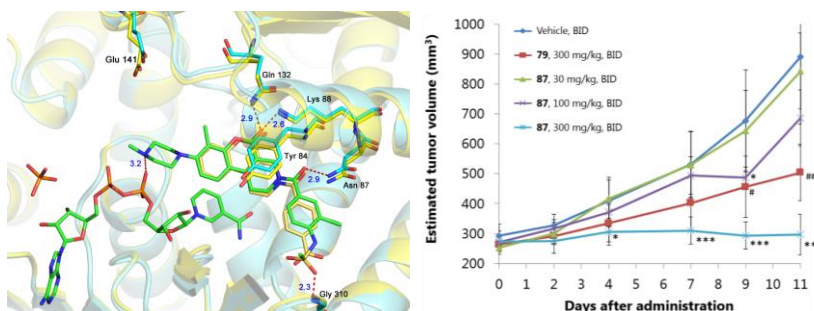


Fig. 5 (左) 化合物 **79**/NAD⁺/MTHFD2 の複合体結晶構造

Fig. 6 (右) 化合物 **79**, **87** (DS18561882) の抗腫瘍効果

以上の業績は、創薬化学における課題解決事例として有用な知見であるとともに、MTHFD2 を標的とする今後の薬剤開発に大きく貢献するものであり、博士 (薬科学) の学位論文として合格と認められる。