

外97-7

早稲田大学大学院理工学研究科

博士論文概要

論文題目

優れた抗リウマチ剤の開発を目的とした
メトトレキサートの誘導体合成及び構造
活性相関の研究

申請者

松岡

宏治

Hiroharu

Matsuoka

1997年 6月

メトトレキセ-ト (MTX, 図 1) は、約 50 年前に合成され、以来、白血病の治療薬として長く使用されてきた。また、その後の研究により MTX は葉酸代謝拮抗作用に基づき白血病の他に慢性関節リウマチ、乾癬などの自己免疫疾患に対しても優れた治療効果を有することが証明された。しかしながら、MTX 服用により生じる副作用は重篤であるため、近年米国において MTX のリウマチ治療における用法、用量の詳細な検討がなされた。その結果、間歇投与により副作用はある程度は制御されたものの、肝障害、間質性肺炎、骨髄抑制などの重篤な副作用が依然として発現しリウマチに対する臨床適応には大きな制約がある。著者は MTX の有する副作用を大幅に低減することができれば、安全かつ優れた画期的な抗リウマチ剤の創製に結びつくと考えた。本研究は MTX の主作用と副作用に関する構造活性相関を分析し、得られた予測に基づいての誘導体合成研究をまとめたものである。

第一章では、対象疾患となるリウマチの病態と治療薬の現況を説明し、その中における MTX の誘導体合成研究の位置づけを明らかにした。

第二章では、誘導体の活性向上のための仮説、即ち「MTX と標的酵素 (DHFR; dihydrofolate reductase) との間に存在する疎水空間 (図 1) をベンゼン環上の置換基で埋めることにより酵素との親和性を向上させることが出来る。」を示し、それに基づいた誘導体を合成し生物学的試験を行った。その結果、インドリン骨格を有し *In Vivo*, *In Vitro* ともに MTX を上回る活性を示す有望化合物 MX-2 (図 3) が見出されたとともに、仮説の妥当性が実証された。

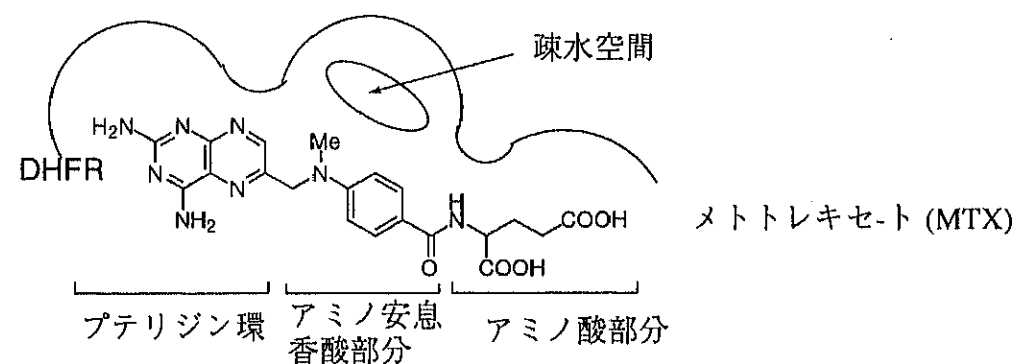


図 1 メトトレキセ-トと DHFR

第三章では、MTX 服用による副作用の主な原因として FPGS (folylpolyglutamy synthase) の触媒作用により MTX のグルタミン酸の γ 位に生じるポリグルタメーション (図 2) の重要性を明らかにした。そして、ポリグルタメーションを抑制することにより副作用低減が可能となることを示した。さらに、過去に報告された MTX 誘導体のポリグルタメーションを抑制に関する仮説、即ち「MTX のグルタミン酸部分の γ 位に COOH 基を持たない誘導体はポリグルタメー

ションを受けない。」を示し、仮説に基づき合成した化合物が実際にポリグルタメーションを受けないことを示した。さらに、それらの中で *In Vivo* において薬理作用を発揮するリード化合物 MX-33 (図 3) を見出すことが出来た。

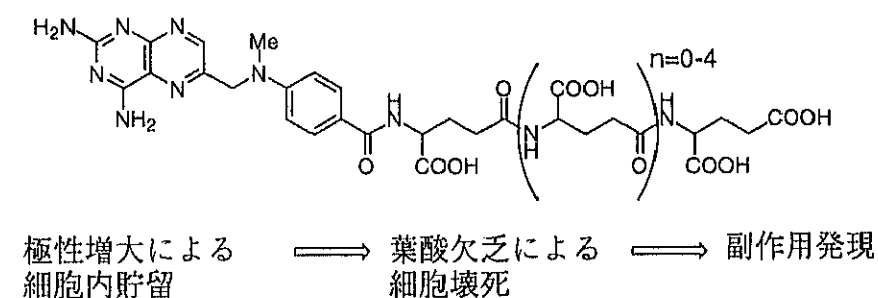


図 2 MTX ポリグルタメ-ションと副作用

第四章では、前章で見出された MX-33 の活性をさらに向上させるために MX-33 と DHFR との三次元モデルを構築し構造的考察を行った後に、次のような仮説を立てた、即ち、「MX-33 におけるインドリン環のメチレン部のベンゼン環側が DHFR の外側に曝されていると推定された。従って、この部分へのヘテロ原子 (酸素、硫黄) の挿入は、ヘテロ原子の孤立電子対と溶媒の水分子との相互作用により DHFR に対する結合エネルギーが有利になり、結合及び阻害活性の増強を図ることが出来る。」

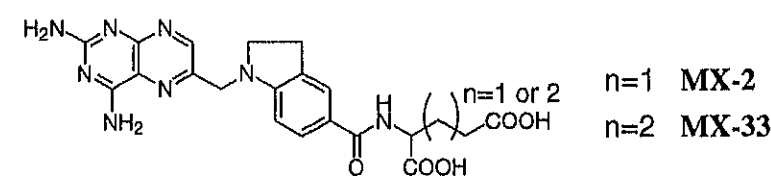


図 3 MTX 誘導体

この仮説に基づき、ベンゾオキサジン骨格を有する MX-46 (図 4) とベンゾチアジン骨格を有する MX-68 (図 4) を合成した。これら両化合物は *In Vitro* の滑膜細胞試験において MX-33 を 3-5 倍程度凌駕し、*In Vivo* 試験においても十分な効果を示した。さらに、DHFR の結晶構造を基にした MX-68 との Docking Study においても予想通り MX-68 の硫黄原子は溶媒 (水) 側に曝されており、水との相互作用によりエネルギー的に有利であることが示唆され、薬効、構造の両面から、この仮説は実証された。

また、MX-46 と MX-68 を比較すると薬効と初期毒性試験ともに MX-68 の方が優れており、現在、MX-68 は更に詳細な前臨床試験が展開され近々臨床試験が行なわれる予定である。MX-68 は MTX と比較し副作用がより軽減された安全性の高い画期的な抗リウマチ剤として期待される。

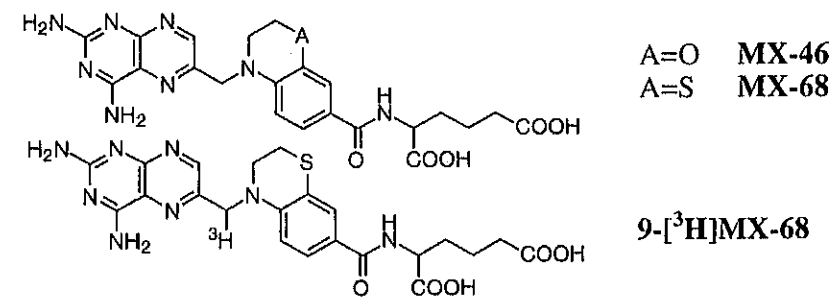


図4 MTX 誘導体

第五章では、前臨床試験において生体内における厳密な薬物動態（吸収、分布、代謝、排泄）の把握を目的として MX-68 の9位にトリチウムで標識した化合物（図4）を合成した。この合成ルートは、他の MTX 誘導体の合成にも利用可能であり応用範囲が広いルートと考える。

第六章では、全体を総括した。