

熱力学的パラメーターとドラッグデザイン

小沢 知永, 岡崎 浩輔

(受取日: 2011年1月24日, 受理日: 2011年3月7日)

Current Topics on the Relationships Between the Thermodynamics Parameters and Drug Design

Tomonaga Ozawa and Kosuke Okazaki

(Received Jan. 24, 2011; Accepted Mar. 7, 2011)

This review discusses current topics on the experimental and theoretical parameters of thermodynamics and drug design. Freire reported that change in the interaction enthalpy (ΔH) measured with isothermal titration calorimeter (ITC) could provide valuable information for drug design. Kitaura and his coworkers developed the fragment molecular orbital (FMO) method for quantum-chemical calculation of large molecules such as proteins. The FMO method has been applied to studies of whole protein and protein-ligand interactions. CH/ π hydrogen bond is a weak interaction similarly to CH/O, OH/ π , and NH/ π . However, recent studies have elucidated that the CH/ π hydrogen bond exists in many biomolecules and they play an important role in recognition between protein and ligand. Recently we calculated the interaction energies for complexes between LCK protein and three inhibitors (staurosporine **1**, and our compounds **2** and **3**) with the FMO method. In every case a number of CH/ π hydrogen bonds have been disclosed in the binding pocket. In the compound **2**, NH/ π and CH/O hydrogen bonds have been observed as well. In order to increase the potency for LCK protein the aniline ring of the compound **2** was replaced with 2,6-dimethyl aniline in the compound **3**. A ten-fold increase in the potency has been achieved for **3** over **2**. We suggest that to pay attention to the weak hydrogen bonds is useful in the systematic drug design.

Keywords: isothermal titration calorimetry (ITC), drug design, weak molecular interaction, CH/ π hydrogen bond, an ab initio fragment molecular orbital method (FMO)

1. 創薬研究について

医薬品は主にタンパク質に作用し、病気の治療・予防に有効な化学物質である。人類は太古の昔より病気と戦ってきた。その道具の1つとして植物に含まれる成分が使われてきた。その中で有効な薬理作用を持ち現在でも医療現場で使われ続けている物質としてアトロピン、強力な鎮痛作用を有するモルヒネなどを挙げる事が出来る。科学技術の進歩により人体の仕組みが明らかになると、病気の発症機構に基づく薬の開発が可能となった。薬は天然物由来から合成化合物が中心となった。代表的な薬の例としてはH2ブ

ロッカー「シメチジン」がある。この薬は手術中心であった胃潰瘍の治療を内服薬中心の治療に変えた点で画期的であった。

創薬研究は周辺科学、例えば、有機合成化学、薬理学、分子生物学、薬物動態学、製剤学、遺伝学、生理学、分析化学、分光学、構造生物学、理論化学等の進展を巧みに取り入れながら発展し続けてきた。薬は人類の健康に貢献することから諸科学の応用分野としても注目を集めている。2000年にヒトゲノムのドラフトが発表され、ゲノム創薬時代に突入したといわれるようになった。遺伝子を網羅的に検索できるようになり疾患関連遺伝子、標的タンパク質を

意識して創薬を進めることが可能になった。また、ロボットにより大量の化合物評価を可能にしたハイスループットスクリーニング (HTS), コンビナトリアルケミストリー, X線結晶解析・NMRによるタンパク質の立体構造解析, コンピュータの高速化と計算手法の開発による, 構造活性相関解析等が創薬研究に有用な情報を提供するようになった。¹⁾

ではこれらの技術開発により医薬品開発が容易になったのだろうか? 製薬工業会の最近の調査によると, 基礎研究で合成された化合物が薬になる確率は約2万分の1であり, その確率は年々低下する傾向にある。²⁾ 世界的にも承認され市場に出る医薬品の数は減少傾向が続いている。

2. ドラッグデザインと熱測定 (ITC)

医薬品開発ではまず弱い活性を示す複数のシード (種) 化合物を見出し, その中から標的に選択性があり, 化学構造の変換により活性改善が期待できる化合物をリード化合物として選択する。リード化合物は, 作用の強度と選択性・体内動態・毒性等の観点では医薬品としては, まだまだ不完全である。これらの点を改良し, より性質の優れた医薬品候補化合物を創り出すためにリード化合物の構造を変換する段階がリード最適化である。この時は活性だけでなく, 体内動態・物性・安全性等を総合的に検討しながら研究が進められる。このシード・リード化合物が本質的に持つ性質は構造変換を行っても保持されることが多く, 医薬品として相応しくない性質を持つ化合物を選択してしまうと, 医薬品を得る事が出来ない。つまり, 膨大な数の化合物を合成しても, 徒労に終わってしまう。

リード化合物の選択あるいは構造最適化において, 化合物と標的タンパク質の結合の強さ (活性) は最も重視される項目である。これは化合物の標的タンパク質への結合性 (Binding assay) や, 生化学反応への効果 (Function assay) により評価される。HTSによる化合物探索は通常, 活性の強さを最優先して行われる。ところがHTS中心の創薬は必ずしも, 望んだ結果を生まなかった。その理由として活性以外への項目に関する考慮が足りなかった事が原因として挙げられている。こういった反省から, 医薬品らしさの指標としてRule of 5³⁾ が提唱されるようになった

Table 1 Rule of 5 by Lipinski.

-
1. 水素結合ドナー (NH, OH) が5個以上
 2. 分子量が500以上
 3. LogPが5以上
 4. 水素結合性アクセプターが10以上
- 上記4つの中で2つ以上に該当すると医薬品としての成功確率は低い。
-

(Table 1)。このRuleはあくまでも経験値であり, Ruleを満足しているからといって医薬品候補化合物としての性質を保持している事にはならない。創薬研究の初期から物性や毒性を考慮した実験も組み込まれるようになって来た。このように医薬品を目指して化合物の合成展開を行っていく過程において各種の技術が取り入れられている。しかしながらリード化合物の選択, および構造最適化の方向性は, 創薬化学者 (メディシナルケミスト) の“勘”や“経験”にいまだに頼るところが多いのが現状である。

Freireによって発表された等温滴定型熱量計 (ITC) による, 既存医薬品の分析は, 化合物とタンパク質のエンタルピー変化 (ΔH) の観点から化合物の改良の流れを見えるという点で, 非常に興味深いものであった。⁴⁾ 少々長くなるが, その理由を説明する。有望な創薬標的タンパク質が見つかるとう世界中の製薬企業がそのタンパク質に作用する化合物の創薬研究を行う。その競争に打ち勝ち, 最初に承認され世に出た化合物はファーストインクラスの薬と呼ばれ, 対象疾患の治療に貢献する。その後, 最初に出た薬と同等もしくは優れているとされる2番手, 3番手以降の薬が承認されて世に出て行く。多くの場合, 後から承認, 上市される薬は当然のことながら, ファーストインクラスの弱点を克服した薬になっている。そして, それらの中からベストインクラスと呼ばれ対象疾患治療の標準的薬剤が生まれる。ベストインクラスの薬は活性面だけでなく, 副作用・薬物動態・安全性も優れたものでなければならない。こういった薬を創製する為には, 活性を上げつつ, 物性を改善し, 毒性のリスクを回避しながら, 化合物の構造展開を行う必要がある。つまり, 創薬研究者は同時に複数のパラメーターを見ながら研究を進めなければならない。このような状況において ΔH という1つのパラメーターで化合物改良の流れを評価したFreireの報告は大きな驚きであった。

すでにご存知の方も多いかもしれないが彼の研究の概略を記す。HIVプロテアーゼ阻害薬は, HIVウイルスの増殖を抑えることにより, エイズの発症を抑えることが出来る。この薬の普及により多くの先進国ではエイズは死に到る病ではなくなりつつある。初期のHIVプロテアーゼ阻害剤に比べて最近発売された物は完成度が高くなっている。これまでに市販された薬に対してHIVプロテアーゼとの相互作用をITCで測定し熱力学的パラメーター (ΔG , ΔH , ΔS) を決定した。そしてこれらのパラメーターと薬の発売順を比較した。そうするとタンパク質と化合物の親和性を表す ΔG は当然新しい薬になるほど, 安定な値を示した。さらに ΔH による安定性も薬の発売された順と相関した。つまり後から発売される薬ほど, 活性も強く有害反応の少ない良い薬だとすると, ΔH の活性に占める割合を, 大きくすることが良い薬を創る条件だということを意味する。高脂血症治

療薬として複数の薬が使用されている HMG-CoA 阻害剤に対しても同様の結果が得られている。このようにまだ例は少ないが ΔH が創薬研究の重要な指標になる可能性が示唆されたこともあり、創薬研究で熱測定特に ITC への注目が高まっている。

ではなぜ ΔH の割合が大きい程、薬としての完成度が高いのであろうか？単純化すると ΔH は化合物とタンパク質の相互作用、 ΔS はタンパク質の結合部位からの水の除去、コンフォメーションの効果等によるものである。言い換えると ΔH は標的タンパク質との選択的な相互作用、 ΔS は必ずしも標的タンパク質に依存しない項と考えることが出来る。つまり標的タンパク質に対して ΔG のうち ΔH の割合が大きければそのタンパク質に対する選択性が高くなることが想定される。一方 ΔS の割合が大きいと標的タンパク質のみでなく他のタンパク質に結合する可能性も大きくなり、それが結果的に有害反応に結びつくとも考えることも出来る。実際問題として、薬の主作用、有害反応の関係はこんなに単純ではないが、ドラッグデザインを進めていく上での作業仮説として ΔH の寄与を大きくするというのは、判り易く有用な概念である。

3. フラグメント分子軌道法 (FMO 法)

計算化学において ΔH は ΔS と比較すると圧倒的に扱いやすい量である。 ΔH には化合物とタンパク質それぞれの脱水和の項や、化合物とタンパク質の結合による水和構造の変化等の項も影響するが本稿では化合物とタンパク質との相互作用に限定して考える。分子あるいはその複合体のエネルギーを求める方法として、分子力学法 (MM 法) と分子軌道法 (MO 法) がある。⁵⁾ MM 法では分子を表現するポテンシャル関数は、パラメーターにより規定され、分子の幾何学配置やエネルギーを求める事ができる。膨大な研究成果の積み重ねによりその精度の向上は著しい。MO 法は量子力学に基盤を置きシュレディンガーの波動方程式を近似的に解く方法である。MO 法の代表的な手法である *ab initio* 法は、実験から得られる数値データを用いずに計算を行う。超高精度 *ab initio* 計算は有機低分子の物性に対して、ほぼ実験値と一致する結果を与えるこの事実は、その精度の高さを示している。しかしながらタンパク質のような巨大分子に対して現実的な計算時間での MO 法の適用は不可能だと考えられてきた。このような現状を打破すべく主に日本人を中心にタンパク質への MO 法適用のための方法論への挑戦が行われた。その成果として、諸熊らの ONIOM,⁶⁾ 北浦らの FMO,⁷⁻¹⁰⁾ 佐藤らの ProteinDF^{11,12)} の方法論が考案され、応用研究にも使用され始めている。

我々はフラグメント分子軌道法 (FMO) を創薬研究に適用することを計画した。FMO 法の特徴は Table 2 に示した、

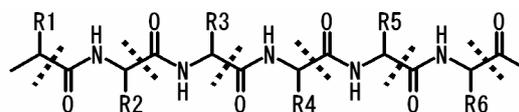


Fig.1 Fragmentation in the FMO scheme.

Table 2 The feature of FMO method.

1. フラグメント分割以外の部分は、既存のMO法スキームを使用している。つまりMM法では困難な分極や、電荷移動、励起状態への適用も可能である。
2. フラグメントに分割はしているが、多体効果も取り込んでおり、通常のMO法と同等の結果が期待できる。
3. フラグメント間相互作用が計算できる。つまりリガンドと特定のアミノ酸の相互作用を見積もる事が出来る。
4. フラグメント化することにより計算が高速になりかつ、アルゴリズム的に並列コンピュータでの処理に向いている。

この中で特に3に注目した。またフラグメントの分割の仕方を Fig.1 に記した。フラグメント間の相互作用はリガンドを1つのフラグメントとして考えると、リガンドとアミノ酸毎の相互作用を計算できることを意味する。つまりFMO法はリガンドとタンパク質全体との相互作用 (ΔH の主用要素) とともに、リガンドが個別のアミノ酸とどのように相互作用をしているかを評価できる、つまりドラッグデザインの方向性を示す事が可能になる。フラグメント間同士の相互作用が計算できるのは先に挙げた3つの方法論ではFMO法のみである。リガンドとアミノ酸の相互作用ならMM法でも計算は可能であるが、我々は非古典的水素結合 (MM法のパラメーターが十分に整備されてない) 特に、CH/ π 水素結合も含めて評価したかったので、FMO法を使用した。

4. CH/ π 水素結合

CH/ π 水素結合は炭素に付いた水素と芳香環に代表される π 電子との間に働く引力的な相互作用であり、その強さは1つあたり、1.5~2.5 kcal mol⁻¹ である。¹³⁻¹⁵⁾ 以前よりクロロホルムとベンゼンを混ぜると発熱することが知られていた。この現象は塩素の電子吸引力によりクロロホルム水素の酸性度が強くなりベンゼンの π 電子との間に引力が働くためと解釈されている。1980年代になり西尾、廣田らは酸性度が強くない通常のアルキル炭素に付いた水素と芳香環の間にも引力的な相互作用があり、分子のコンフォメーションに重大な影響を及ぼしていることを示した (Fig.2)。その研究には主にX線結晶解析やIR, NMRといった分光学的な手法が使用された。その後、有機低分子の分野では高

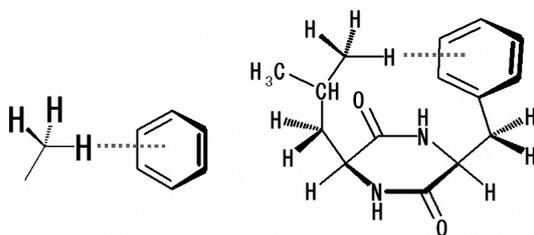


Fig.2 Examples of CH/π interactions. The right one was proposed in L. E. MacKenzie, *J. Am. Chem. Soc.* **93**, 3818 (1971).

Table 3 The feature of the CH/π hydrogen bond.

1. 有機化合物, タンパク質には必ずCHが存在し, 芳香環に代表されるπ電子も多く存在する。つまり実際の系においては, 1つあたりの相互作用は弱くても協同的に働くことにより, 全体としては大きな寄与をする。
2. CH/πに関与するグループは長鎖のアルキルや芳香環であるため一定の対象性や広がりを持つので, 相互作用に関係する確率が高くエントロピー的にも有利である。
3. CH/πの源は分散力であるので水溶液中でも有効に働く。

精度量子計算, 結晶構造データベース解析等の研究によりCH/π水素結合の理解が進んだ。一方, タンパク質の分野ではタンパク質結晶データベース (PDB) の調査を中心に研究が進み, 有機低分子と同様にCH/π水素結合が単独であるいは水素結合と協同する形でタンパク質の構造維持や, リガンドの認識に重要な寄与をしている事が明らかになってきた。タンパク質において実験的にCH/π水素結合を捕らえるのはX線結晶解析が中心であったが, 最近ではNMRのカップリング定数からCH/πを観測したという報告もなされた。¹⁶⁾ CH/πの特徴をTable 3にまとめる。アミノ酸の構造を考えるとCHドナーとなる脂肪族アミノ酸が多く存在する, また極性アミノ酸にもメチレンがあるのでCHドナーを保持している。CHアクセプターとなる芳香族アミノ酸も4種類存在する。一方リガンド側であるが, 多くの薬は芳香環を持つ。以上のことからCH/π水素結合はリガンドとタンパク質の相互作用において無視できない重要な相互作用である。

次の項で, FMO法を用いてタンパク質とリガンドの相互作用の詳細を解析しながら進めたドラッグデザインの例を紹介する。¹⁷⁾

5. 相互作用を調べながら進めたドラッグデザイン

LCKは免疫系に関連するT細胞に存在するプロテインキナーゼ (タンパク質をリン酸化して細胞内にシグナルを伝

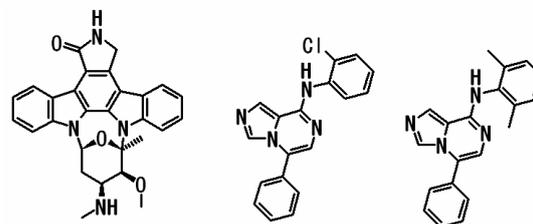


Fig.3 Calculated compounds.

Table 4 Interaction energies between LCK and **1** (in kcal mol⁻¹).

	E_{MP2}^a	E_{HF}^b	ΔE_{MP2-HF}^c
Tyr318	-19.4	-13.6	-5.8
Asp382	-15.1	-11.2	-3.9
Gly252	-11.1	-6.9	-4.2
Met319	-11.0	-8.3	-2.7
Asn369	-10.9	-7.6	-3.2
Asp326	-8.3	-7.1	-1.1
Glu288	-7.4	-6.3	-1.1
Leu371	-6.4	0.7	-7.1
Val259	-6.4	-0.7	-5.7
Leu251	-5.4	1.0	-6.4

^a Interaction energy calculated at the MP2/6-31G level.

^b Interaction energy calculated at the HF/6-31G level.

^c $E_{MP2} - E_{HF}$.

達する)であり, その阻害剤は抗癌剤や免疫抑制剤になる可能性がある。この阻害剤の開発においてタンパク質とリガンド複合体の構造解析データに対して, FMO計算を行いドラッグデザインの指針を得ることを目指した。ちなみにプロテインキナーゼはヒトでは約500種類存在し, 有望な創薬標的群である。代表的な医薬品としてはある種の白血病の特効薬であるイマチニブが有名である。

Fig.3には今回計算した化合物の構造を示した。まずキナーゼの代表的な阻害剤であるスタウロスポリン (**1**)とLCKの複合体のFMO計算を行った。その結果をFig.4, Table 4に示す, このTableは**1**とLCKの個別のアミノ酸との相互作用エネルギーを示している (単位はkcal mol⁻¹)。大まかに言って E_{MP2} は静電力和分散力を見積もれるMP2法で求めた相互作用エネルギー, E_{HF} は静電力を主に見積もるHF法で求めた相互作用エネルギーである。 ΔE_{MP2-HF} は, 分散力の寄与の目安として使用する。Table 4から**1**はTyr318とAsp382と強い相互作用を持つことが分かる。これらを原子レベルの相互作用に対応させると, **1**の環状アミドNHとGlu317カルボニル酸素との水素結合 (FMOはα位の炭素で切断するため, *i*番目のアミノ酸のカルボニル基は*i*+1

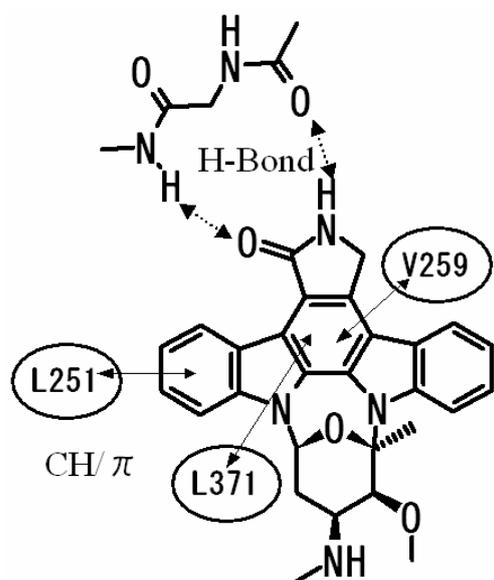


Fig.4 Interaction mode between LCK and the compound 1 in Fig.3.

番目のアミノ酸に割り当てられる) ならびに, **1** の環状アミドカルボニル酸素とMet319のアミドNHの水素結合になる。これらの水素結合は多くのキナーゼ阻害剤に共通に見られる水素結合であり, キナーゼの天然のリガンドであるATPのアデニンが形成する水素結合をミミックしている。Gly252との相互作用は**1**のグリコシル部分とGly252に形成される2つのCH/O水素結合に由来すると考えられる。Asp382, Asn369, Asp326, Glu286との相互作用は**1**のモノメチルアミンとの静電相互作用と考えられるが, 実際の水溶液中ではこのエネルギーは水の誘電率により大きく減弱する。**Table 4**の下側にある3つのアミノ酸 (Leu371, Val259, Leu251) に注目する。 E_{HF} の項を見ると, それより上のアミノ酸とは異なりその値は反発か小さな安定化にしかかってない。つまり静電力の寄与は無く, 分散力で主に結合していることを意味する。実際にこれらのアミノ酸の主鎖は**1**と水素結合を形成していない。梅沢, 西尾らが作成したCHPIプログラムで解析するとこれらのアミノ酸と**1**との間にCH/ π 水素結合が観測される。¹⁸⁾ これらのことから, Leu371, Val259, Leu251の相互作用はCH/ π 水素結合に拠ると考える事ができる。以上をまとめると**1**は (1) アミド部分の水素結合 (2) グリコシル部分のCH/O水素結合 (3) 芳香環部分のCH/ π 水素結合によりLCKに結合していることが分かる。プロテインキナーゼのアミノ酸相同性は高くかつ, **1**は多くの種類のキナーゼに結合することからCH/ π 水素結合はキナーゼ阻害剤に必須の相互作用で

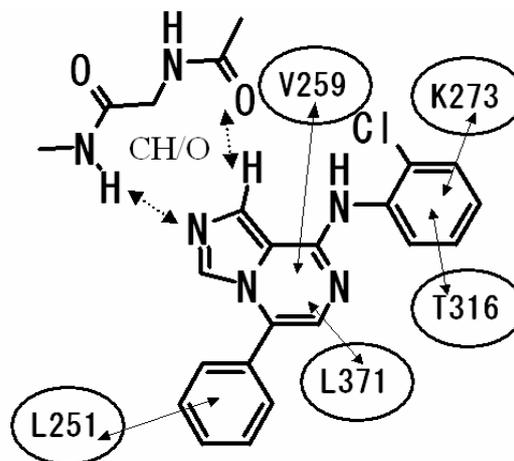


Fig.5 Interaction mode between LCK and the compound 2 in Fig.3.

Table 5 Interaction energies between LCK and **2** (in kcal mol⁻¹).

	E_{MP2}^a	E_{HF}^b	ΔE_{MP2-HF}^c
Met319	-9.7	-6.0	-3.7
Tyr318	-9.7	-6.1	-3.6
Thr316	-7.8	-3.1	-4.7
Glu288	-6.9	-4.7	-2.2
Lys273	-6.7	-2.3	-4.5
Gly252	-4.7	-3.7	-1.1
Leu371	-4.3	0.9	-5.2
Leu251	-2.5	0.5	-3.0
Lys269	-2.2	-2.2	0.0
Val259	-2.0	1.6	-3.6

^a Interaction energy calculated at the MP2/6-31G level.

^b Interaction energy calculated at the HF/6-31G level.

^c $E_{MP2} - E_{HF}$

あると推測される。

化合物**2**を, リード化合物として選択した。リード化合物の標的タンパクとの複合体の構造情報はそれに続くドラッグデザインに大きな情報を与える。**2**とLCKの複合体の構造はSPring-8の創薬産業ビームラインを使用し, 得ることが出来た。その複合体構造に対してFMO計算を行った。その結果を**Fig.5**, **Table 5**に示す。まず**2**はMet319と大きな相互作用エネルギーを持つ。これは**2**のイミダゾピリミジン環のイミダゾール窒素とMet319のアミドのNHとの水素結合である。次に大きい相互作用はTyr318との相互作用であるが**2**は**1**で見られたような水素結合ドナーを持たない, また**2**とTyr318の側鎖の距離は離れており, 相互作用

Table 6 The change of interaction energies from **2** to **3** (in kcal mol⁻¹).

	3	2	Difference
Lys273	-12.7	-6.7	-6.0
Met319	-9.6	-9.7	0.1
Tyr318	-8.8	-9.7	0.9
Thr316	-7.8	-7.8	0.0
Gly252	-5.8	-4.7	-1.1
Leu371	-4.3	-4.3	0.1
Val259	-2.6	-2.0	-0.6
Leu251	-2.4	-2.5	0.0

をすることは考えにくい。一方イミダゾピリミジン環のイミダゾールの炭素に付いた水素がカルボニル酸素と 2.38 Å と非常に接近していることから、**2**はTyr318 とCH/O水素結合により相互作用していると考えられる。

Thr316の側鎖の水酸基は**2**のアニリンNHと水素結合形成し、かつThrのメチル基が**2**のクロロベンゼン環とCH/ π 水素結合で相互作用している。クロロベンゼン環はLys273ともNH/ π , CH/ π 水素結合による安定化を受けている。さらにLeu371, Leu251, Val259も**2**と分散力を主とした相互作用を持つことが分かる。Leu371とVal259は中心イミダゾピリミジン環と、Leu251はベンゼンと相互作用している。**2**の相互作用に関してまとめると(1)水素結合とCH/O水素結合によるMet319とTyr318との相互作用(2)クロロベンゼンのNH/ π , CH/ π 水素結合に相互作用(3)中心環とベンゼン環のCH/ π 水素結合による安定化となる。

2は**1**や他のカイネース阻害剤に見られる水素結合ドナーを中心環に持たないが、CH/O水素結合により代替できていることがFMO計算から判明した。

2のLCKへの阻害活性はIC₅₀で220nMであり、更に構造変換により活性向上を目指した。そこで2つのCH/ π とNH/ π により安定化されているクロロベンゼンに着目してドラッグデザインを行った。CH/ π 水素結合を更に強くすることを狙いクロロベンゼンの置換基変換を行うことにした。CH/ π の置換基効果による研究によると、芳香環上の電子密度を大きくすると、CH/ π は強くなる。つまり電子供与性置換基の方がCH/ π には有利になるということである。電子供与性はNH₂ > Me > OH > Br > Cl > F > CN > NO₂の順である。電子供与系の置換基として化合部の物性を考慮してMe基を、さらにコンフォメーションの固定も狙い2つのMe基をオルト位に導入した**3**をデザインした。

3を実際に合成しLCKへの阻害活性を測定したところ28nMであり約10倍の活性向上に成功した。**3**のLCKとの複合体構造解析が成功したので、FMO計算を行い、置換基変換の効果を検証した。複合体の解析結果から**3**は**2**と同じ場

所に結合していた。FMO計算によると、Lys273との相互作用のみが目立つ変化をしていた(**Table 6**)。**3**では**2**に比べてLys273との相互作用が強くなっていた。つまり狙い通りCH/ π とNH/ π が置換基変換により強くなったことを意味する。

まとめの意味で化合物**1** → **2** → **3**の過程で熱測定がどのように使えるか考えてみる。まずは結晶解析用のタンパク質の精製過程において、最適なバッファの探索や、タンパク質の安定性の評価にDSCが威力を発揮する。**1**や**2**の段階はリード化合物、リード化合物の選択であり、後の創薬プロセスに大きな影響を与える。ITCで先行化合物、リード化合物の ΔH , ΔS を求め、なるべく ΔH の寄与が大きい化合物を選択するのは合理的リード選択方法となるであろう。**2** → **3**の段階はリード最適化である、ITCの測定により置換基変換のより詳細な効果が明らかになり、ドラッグデザインへのフィードバックが出来るであろう。また、最適化の段階で常に活性に及ぼす ΔH , ΔS の効果を調べていくことは最適化を正しい方向に向けていくための重要な“道しるべ”になるであろう。このように熱測定はドラッグデザインに役立つ情報を数多く与える。しかしながら、現在の創薬標的の多くは単離精製が難しい膜タンパク質であり、こういった系にも適用できる熱測定法の開発が待たれている。また多くの測定結果を収集しそれを整理し、そこから ΔH , ΔS に関する官能基の特徴のような知識が導き出される事も期待される。

熱測定は直接 ΔH , ΔS を決定できる方法であるので、創薬プロセス全体への活用も期待されています。今後も応用分野として創薬を想定した研究が進むことを期待しています。

要 旨

本総説では熱力学的パラメーターとドラッグデザインに関する最新トピックについて紹介する。Freireらは等温滴定量熱計(ITC)により決定されるタンパク質とリガンドの相互作用エンタルピーがドラッグデザインに重要な情報を与える事を報告した。北浦らはタンパク質のような巨大な分子にも量子力学計算を可能にするフラグメント分子軌道(FMO)法を開発した。FMO法はタンパク質とリガンドの相互作用研究に利用されている。CH/ π 水素結合はCH/O, OH/ π , NH/ π と同じく弱い相互作用である。CH/ π 水素結合は生体高分子で数多く見られ、タンパク質とリガンドの分子認識に重要な寄与をしていることが明らかになってきた。我々はLCKタンパクと3つの阻害剤(スタウロスポリン：**1**, 自社化合物：**2**, **3**)の複合体構造解析の結果に対してFMO計算を行った。どの複合体においても多く

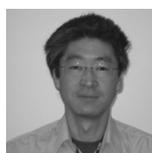
のCH/ π 水素結合が観測された。**2**ではCH/ π に加えてCH/O, NH/ π といった相互作用も観測された。**2**のCH/ π 水素結合を強くして、活性向上を狙う目的で**2**のアニン部分の2,6位にメチル基を導入した化合物**3**をデザインし合成した。**3**の活性は**2**に比べ約10倍向上した。この結果はCH/ π 等の弱い水素結合はドラッグデザインに考慮すべき相互作用であることを示している。

文 献

- 1) 長野哲夫, 夏莉英昭, 原博 編, 創薬化学, 東京化学同人 (2004).
- 2) 製薬協 DATA BOOK 2010 (2010).
- 3) C. A. Lipinski, F. Lombardo, B. W. Dominy, and P. J. Feeney, *Adv. Drug Delivery Rev.* **22**, 3 (1997).
- 4) J. E. Ladbury, G. Klebe, and E. Freire, *Nature Reviews Drug Discovery* **9**, 23 (2010).
- 5) 日本化学会編 実験化学講座 12, 計算化学, 丸善株式会社 (2004).
- 6) K. Morokuma, *Philos Transact A Math Phys Eng Sci.* **360**, 1149 (2002).
- 7) D. G. Fedorov, K. Kitaura, *The Fragment Molecular Orbital Method: Practical Application to Large Molecular Systems*. CRC Press; New York, (2009).
- 8) D. G. Fedorov, and K. Kitaura, *J. Phys. Chem. A.* **111**, 6904 (2007).
- 9) フラグメント分子軌道法の概要.
http://www.cbi.or.jp/cbi/jigyuu/FMO_gaiyo.pdf
開発者である北浦が作成した資料. FMOの基本からタンパク質への応用まで述べられている.
- 10) 佐藤文俊, 中野達也, 望月祐志 編著, プログラムで実践する生体分子量子化学計算, 森北出版株式会社 (2008).
- 11) 柏木浩, 佐藤文敏 監修, タンパク質量子化学計算 ProteinDFの夢と現実, アドバンスソフト (2004).
- 12) N. Nishino-Uemura, T. Hirano, and F. Sato, *J Chem Phys.* **127**, 184106 (2007).
- 13) M. Nishio, Y. Umezawa, K. Honda, S. Tsuboyama, and H. Suezawa, *Cryst. Eng. Commun.* **11**, 1757 (2009).
- 14) 西尾元宏 著, 新版有機化学のための分子間力入門 講談社サイエンティフィック (2008).
- 15) 西尾のHP <http://www.tim.hi-ho.ne.jp/dionisio/>
CH/ π を中心に弱い相互作用に関する論文がカテゴリー別に, まとめられている.
- 16) M. J. Plevin, D. L. Bryce, and J. Boisbouvier, *Nat. Chem.* **2**, 466 (2010).
- 17) T. Ozawa, E. Tsuji, M. Ozawa, C. Handa, H. Mukaiyama, T. Nishimura, S. Kobayashi, and K. Okazaki, *Bioorg. Med. Chem.* **16**, 10311 (2008).
- 18) “イノベーション基盤シミュレーションソフトウェアの研究開発”で開発されているBioStationに内蔵され, ダウンロードして使用する事が可能である.
<http://www.ciss.iis.u-tokyo.ac.jp/riss/project/molecule/>



小沢 知永 Tomonaga Ozawa
キッセイ薬品工業 (株) 創薬研究部 創薬基盤研究所, Kissei Pharmaceutical Co., Ltd., E-mail: tomonaga_ozawa@pharm.kissei.co.jp
研究テーマ: In-silico ドラッグデザイン, 弱い相互作用のドラッグデザインへの応用
趣味: ジョギング



岡崎 浩輔 Kosuke Okazaki
キッセイ薬品工業 (株) 創薬研究部 創薬基盤研究所, Kissei Pharmaceutical Co., Ltd.
研究テーマ: ドラッグデザイン全般
趣味: 音楽鑑賞