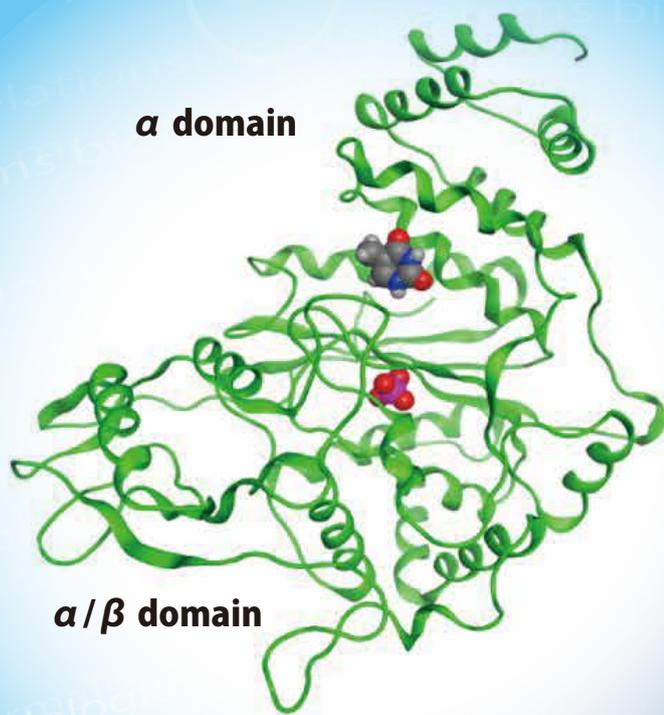


# CBI 学会誌



**Homology Model of  
Human Thymidine Phosphorylase**



**第 7 卷第 1 号**  
**2019 年 3 月 1 日発行**

## 巻頭言

## 不易と流行を考える

神沼 二眞

NPO 法人サイバー絆研究所

脱皮をめざすこの雑誌への寄稿を依頼されましたことは、大変名誉なことですが、また難しい役割だとも認識しております。私が今日の CBI 学会に至る研究者のコミュニティについて考えたのは 1970 年末、いまから 40 年前のことでした。その後の発起人会は名のある専門家たちからの批判（バッシング）の嵐でした。それでも現在の会の前身にあたる研究会の立ち上げに踏み切れたのは、当時三共におられた吉本昌文氏ら、製薬会社の研究者の強いサポートがあったことと、自分のチームの優れた若手研究者の支えがあったことによります。しかし省みて、そうした無謀な試みが 20 年後になんとか学会に発展できたのは、そのスタートが日本の経済が絶頂期に近づいていた時期だったからではないかと考えるようになりました。つまり発足のタイミングがよかったということです。

CBI 学会の活動は、この数年大変な活況を呈しています。これは大変喜ばしいことですし、その裏の世話人や事務局のご苦労が大変なものだとも察せられます。私は、一般に研究集会を開催したとき、参加者が延びない理由が 2 つあることに気がつきました。企画がよくないか、あるいは（参加者の視点からは）先を行き過ぎているかです。私は体験から、後者のような催しも必要ではないかと考えています。その理由は、将来に対する不安です。そのひとつは顕著になっている日本の（経済）力の衰退、もうひとつは、少子超高齢化社会への突入です。そうした潮流は、日本の科学技術の衰退、端的に言えば国際的な競争力の低下と表裏をなしています。相当の分野で、中国の後塵を拝するようになるのは時間の問題だとされています。

変化の波に見舞われているのは、我が国だけではありません。米国ですら中国の台頭に大変な危機感をもち、1980 年代の日本叩き以上の戦略的な攻撃をしかけるようになりました。日本が自分たちの直面している課題を直視して、対応策を考える必要があることは明らかです。いろいろありますが、CBI 学会の関心領域であるヘルスケア（医療サービス全体）と薬づくりに焦点を合わせるなら、我が国で必要なのは、いわゆる Translational Research に関わる ICT 人材の養成と、参加型ヘルスケアの推進ではないかと考えます。前者の課題でとくに重要なのは職の機会の開拓であり、後者では、生活者あるいは患者自らがヘルスケアに参加できるように支援する ICT を活用した（共創の）プラットフォーム（Ecosystem）を構築することです。

私は、そうした課題に挑むべきは、我々のような退職あるいは準退職の世代ではないかと考えています。なぜなら評価を気にしなければならぬ働き盛りや若手世代にとって、こうした挑戦はリスクが高過ぎるからです。ただし、こうした挑戦には働き盛りの世代や若手世代の助力がどうしても必要です。現在、私も関係している NPO 法人であるサイバー絆研究所は、この課題に挑戦しております。このような動きに CBI 学会の皆様も関心を寄せていただけたら幸いです。

# 目次

(1) 巻頭言 「不易と流行を考える」 神沼 二真 (NPO 法人サイバー絆研究所) ※ <sup>1</sup> .....	1
(2) ミニ特集	
「医療過誤の要因となる “医薬品の薬名・外観の類似性” の客観的な評価指標」	
佐藤 宏樹、澤田 康文 (東京大学大学院薬学系研究科 育薬学講座) ※ <sup>2</sup> .....	3
(3) シリーズ 医薬品誕生秘話	
「ロンサーフ開発物語」 多田 幸雄 (CBI 学会) ※ <sup>3</sup> .....	13
(4) シリーズ もっと聞きたいもっと知りたい話 第 400 回 CBI 学会講演会	
「ポストガイドライン時代における薬物相互作用 (DDI) 解析への取り組み」	
前田 和哉 (東京大学大学院薬学系研究科) ※ <sup>4</sup> .....	40
(5) ホットトピックス	
「コンピュータで探る免疫系の分子機構 : 分子動力学計算による	
強皮症の遺伝的リスクの研究」 石川 岳志 (鹿児島大学 学術研究院) ※ <sup>5</sup> .....	44
(6) CBI ジャーナル便り (16) .....	46
(7) 講演会報告・予告 .....	49
(8) 研究会報告—第 1 回若手の会講演会 .....	53
(9) 委員会報告 .....	54
(10) 編集後記 .....	57

※<sup>1</sup> 学会誌新規発刊に際して、CBI 学会の生みの親、育ての親でおられる神沼二真先生に寄稿して頂きました。

※<sup>2</sup> CBI 学会 2018 年大会においてプレナリー講演された澤田康文先生より、ご寄稿頂きました。

※<sup>3</sup> 長年製薬企業で研究に携われた多田幸雄先生から、医薬品開発の貴重なお話を詳細にご紹介頂きました。

※<sup>4</sup> 昨年 12 月に開催した創薬研究会の講演内容を、世話人のお一人である前田和哉先生より、詳しい解説をして頂きました。

※<sup>5</sup> ホットトピックスでは各分野の最新の文献を紹介していきます。今号では石川岳志先生より、第 1 分野からの文献についてご寄稿頂きました。

## 三二特集

### 医療過誤の要因となる“医薬品の名称・外観の類似性”の客観的な評価指標

佐藤 宏樹、澤田 康文

東京大学大学院薬学系研究科 育薬学講座

#### (1) はじめに

科学・医療の進歩に伴う薬物療法の高度化の一方で、投薬・服薬ミスによる被害が大きな社会問題となっている。米国においては、医療ミス全体による経済損失は逸失利益も含めると年間 500 億ドル (5 兆円) にものぼるとの調査結果があり、また医療ミスにせめる投薬ミスの割合は 20% 程度と推定されている。そして、投薬ミスの最大の原因は薬の取り違いであり、全投薬ミスの 25% は医薬品名の取り違いに、33% が包装や外観の類似による取り違いにより生じているとされている<sup>1)</sup>。本邦においては、投薬ミスによる社会的損失に関する信頼のおける調査結果はないものの、公益財団法人 日本医療機能評価機構の行う薬局ヒヤリ・ハット事例収集・分析事業の 2017 年年報によると、2017 年に報告された調剤に関するヒヤリ・ハット事例 3,823 件中、薬剤取り違いは 853 (22.3%) に及んでいる<sup>2)</sup>。一方、患者が服薬する際に名称や外観が類似していることに起因する服薬ミスについての実態は明らかになっていないものの、専門家でない患者・家族による取り違いは医療者によるもの以上に発生していると推測される。

このような医薬品の名称・外観の類似による取り違いによる投薬・服薬ミスを防止するためには、類似度の高い組を前もって認識し、注意喚起や名称・包装変更を行うことが重要である。また、医薬品の開発段階から既存の医薬品と類似した名称をつけない、外観の類似した包装を作らないなどの取り組みがなされるべきである。これらを実現するためには、定量的な指標に基づき取り違いリスクを評価する必要がある。

そこで本コラムでは、名称類似と外観類似に関して、我々の取り組みを中心に紹介したい。

#### (2) 医薬品の名称類似

##### 名称類似による投薬・服薬ミスを回避する従来の取り組み

医薬品の名称類似が誘発したと考えられる医薬品の取り違いでは、深刻な事故に至ったケースも少なからず存在する。例えば、「サクシゾン」(抗炎症薬)と間違えて「サクシン」(筋弛緩薬)を処方したことによる患者死亡事故や、「タキソール」(抗悪性腫瘍薬)を投与すべきところ間違えて「タキソテール」(抗悪性腫瘍薬)を投与した事故、「ウテメリン」(子宮収縮抑制薬)と間違い「メテナリン」(子宮収縮薬)を処方し胎児が流産した事故、「テオドール」(喘息治療薬)と間違えて「テグレートール」(抗てんかん薬)を調剤してしまった事例等が報告されている。

このような投薬ミスを回避するために、病院・診療所や保険薬局などの多くの医療機関で

は、医薬品名入力時に先頭 3 文字の入力を必須にして表示候補を減らし選択ミスが減らす等の対策が行われている。また調剤の場面では、名称が類似した医薬品の組み合わせの棚を離す、注意表示を行う等の対策も行われている。しかしながら、医薬品の名称類似による取り違えは今なお頻繁に発生しており、製薬企業からもたびたび注意喚起がなされている<sup>3)</sup>。その一例を表 1 に示した。

表 1. 製薬企業から注意喚起されている名称類似による取り違え例

商品名 1 (薬効)	商品名 2 (薬効)	FC#	vwhtfrag <sup>*</sup>
テオドール (気管支拡張薬)	テグレートール (抗てんかん薬)	変更不要	0.6727
セロクエル (抗精神病薬)	セロクラール (脳循環改善薬)	要変更	0.6727
ノルバデックス (抗乳癌薬)	ノルバスク (降圧薬)	要変更	0.6025
マイスリー (睡眠導入薬)	マイスタン (抗てんかん薬)	要変更	0.5700
エクセグラン (抗てんかん薬)	エクセラージェ (消化酵素薬)	変更不要	0.5387
デュファストン (プロゲステロン薬)	フェアストン (抗乳癌薬)	変更不要	0.4973
ユリーフ (抗排尿障害薬)	ユリノーム (尿酸排泄薬)	変更不要	0.4961
ザイティガ (抗前立腺癌薬)	ザルティア (抗排尿障害薬)	変更不要	0.3365
リクシアナ (抗凝固薬)	リフキシマ (抗菌薬)	変更不要	0.2465

#「新規承認医薬品名称類似回避フローチャート(改定)」<sup>4)</sup>を用いて判断した結果。要変更、要検討、変更不要の3段階で判断される。

※我々の構築した薬名類似度評価指標における指標値<sup>5)</sup>。0.28 よりも大きいと取り違えが生じる可能性が予測される。

したがって、名称類似に起因する取り違えによる投薬・服薬ミスをなくすためには、既存の医薬品の名称と類似した医薬品名をつけることを避けるといった根本的な対策が必要となる。そのような取り組みとして、新医薬品の命名に関しては、「新規承認医薬品名称類似回避フローチャート(改定)」<sup>4)</sup>が用いられている。これは、類似性を表す複数の特徴量を用いて、フローチャート形式で判断するものである。用いられている特徴量としては、一方の名称を他方に変換するために必要な編集操作の最少回数(edit)、名称の先頭文字列の一致数(head)、2つの名称の文字列長の差(dlen)、文字列を1文字単位でベクトル化したときのベクトルのなす角の余弦(cos1、コサイン類似度)、先頭2文字と末尾2文字で形成した文字列のコサイン類似度(htco)がある。しかしながら、これらは複数の指標をフローチャート形式で判断する必要がある、類似性の大小は不明であるほか、名称類似による取り違えに対して注意喚起されている組み合わせであっても、変更不要と判断されるものが多い(表1)。また、

これらはあくまで特徴量であり、実際に医療現場で起こる取り違えとどの程度相関するかについては不明である。

### 新規薬名類似度指標の提案

そこで我々は、一つの指標で類似性を数値化し、かつ、取り違えのリスクを判断できる閾値をもった類似度指標 **vwhtfrag** を構築した<sup>5)</sup>。この新規指標は、類似性を総合的に判断できるとともに、実際に取り違えが起こった医薬品名の組み合わせを用いて最適化と検証を行い、取り違えが起りやすくなる「閾値」を設定した指標である。

本指標では、類似度は 2 つの名称の共通文字列部分が多いほど高くなると考えられることから、断片パターン指標（文字列の断片パターンの一致割合を示す指標）を基礎とした。その上で、先頭と末尾の一致がより重要であることから、それ以外の中央部分が一致している場合のスコアを軽くするための係数 **A** ( $0 < A \leq 1$ )、文字の一致が断片的である場合より、連続して一致している文字数が長いほどスコアを高くするための係数 **B** ( $0 < B \leq 1$ ) を導入した。さらに、医薬品の名称のほとんどはカタカナであるため、濁音・半濁音とその清音（例えば、バ・パとハ）や、視覚的に類似したカタカナの組み合わせ（ナとメ、ソとン、シとツなど 21 対）は **C** 文字分の一致が見られたとする係数 **C** ( $0 \leq C \leq 1$ ) を導入した。

構築した指標（**vwhtfrag**; Visually Weighted-Head and Tail-weighted FRAGMENTary pattern-based measure）の具体的な計算手法を図 1 に示す。まず、2 つの薬名の中から共通文字列の組を抽出するが、視覚的に類似したカタカナは **C** 文字分の一致とみなす。そして、各組の一致文字列長から係数 **B** を減じた値に、さらに中央部分（先頭・末尾以外）の一致では係数 **A** を乗じる。これを全ての共通文字列の組について加算し、両薬名の文字列長の平均値で除して正規化することで求めることができる。

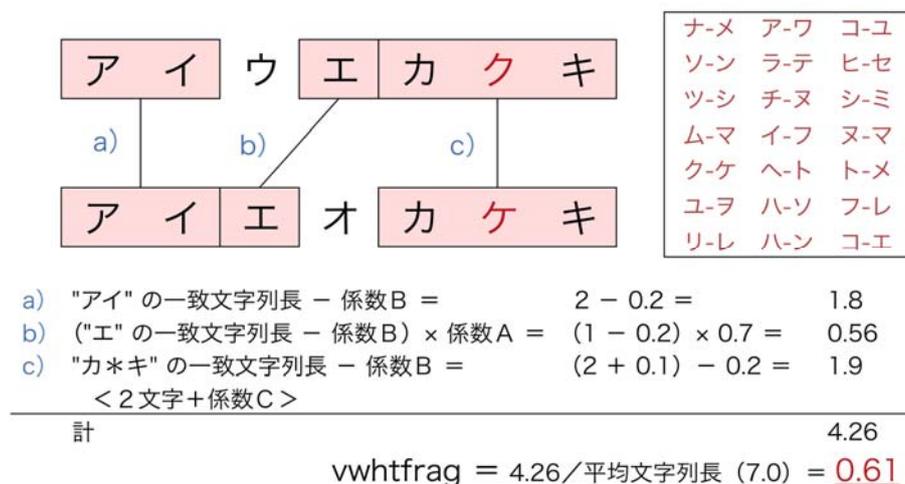


図 1. vwhtfrag による薬名類似度の計算方法例

係数 **A**: 中央部分の一致に関して、スコアを軽くする ( $0 < A \leq 1$ )。この例では 0.7

係数 **B**: 連続数が短いほど、スコアを軽くする ( $0 < B \leq 1$ )。この例では 0.2

係数 **C**: 形状類似文字の組み合わせを **C** 文字分の一致とみなす ( $0 \leq C \leq 1$ )。この例では 0.1

構築した指標に対し、実際に取り違えが起こった類似医薬品名の組み合わせ（正例）と、無作為に発生させた医薬品名の組み合わせ（負例）を用いて最適化を行った。取り違えの起こった医薬品名の組み合わせの検出の感度（sensitivity）と特異度（specificity）の相乗平均が最も高くなるよう、前述の係数 A、B、C と閾値（それ以上大きくなると取り違えが起こることを示す値）を決定した（図2）。その結果、係数を  $A=0.45$ 、 $B=0.15$ 、 $C=0.00$  とし、閾値を  $0.28$  と設定した場合、取り違えが起こるか否かを最もよく判断できると考えられた。

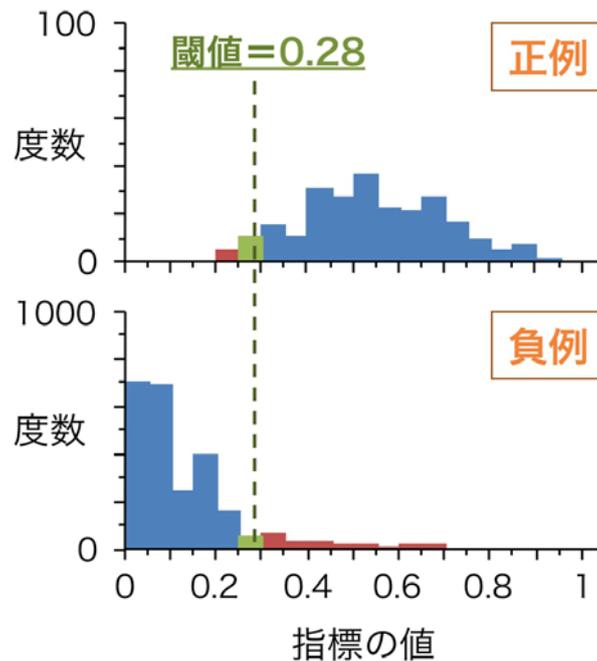


図2. vwhtfrag による取り違え例の判別力

正例：実際に取り違えが起こった類似医薬品名の組み合わせ

負例：無作為に発生させた医薬品名の組み合わせ

vwhtfrag で係数を  $A=0.45$ 、 $B=0.15$ 、 $C=0.00$  とし、閾値を  $0.28$  と設定した場合に、感度・特異度が最もよく正例と負例を判別できる。

実際に取り違えが起こり、注意喚起されている医薬品名の組み合わせについて、vwhtfrag を計算したものを表1に示したが、閾値である  $0.28$  よりも大きい値である。

さらに、vwhtfrag は人が感じる類似度（主観的類似度）とよい相関を示す指標でもある。非医療従事者および薬剤師を対象に、医薬品名の組み合わせごとに、どれくらい似ているか（主観的類似度）を5段階のリッカート・スケール（1～5点）で評価した報告<sup>6)</sup>から、医薬品名の組み合わせの主観的類似度データを抽出し、それぞれの組み合わせに対して構築した vwhtfrag の値を算出し、プロットしたものを図3に示す。vwhtfrag は主観的類似度と良好な相関を示している。

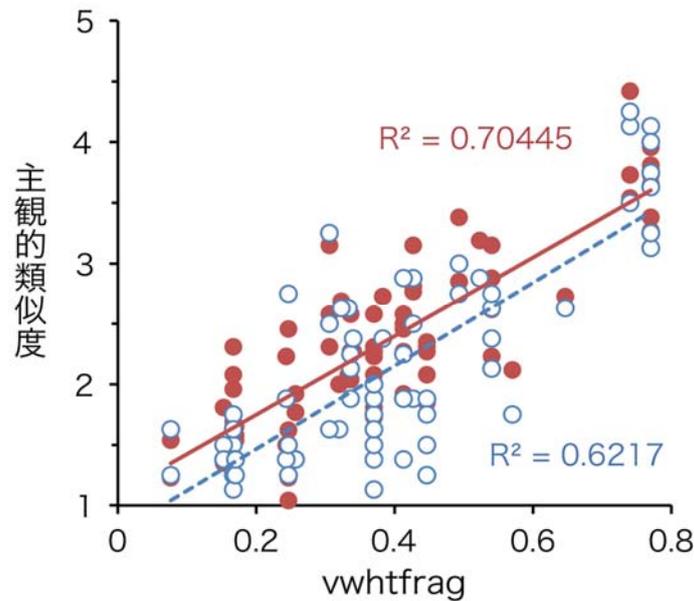


図 3. vwhtfrag と主観的類似度との相関

医薬品の組み合わせについて、非医療従事者（●）および薬剤師（○）が評価した主観的類似度<sup>6)</sup>と vwhtfrag の値は、良好な相関関係にある。

#### 新規薬名類似度指標の活用と取り違い防止対策

構築した指標は、既存医薬品と類似性の高い名称をつけないための評価基準の一つとして活用できると考えられる。製薬企業が新規医薬品の名称を決定する際に、本指標を用いて既存の医薬品名と類似度の高くない名称を採用することで、取り違いの原因となる類似した名称の医薬品が上市されるのを回避することが可能となるだろう。

また、医療現場での取り違い防止対策でも、医療機関内で採用されている医薬品のすべての組み合わせについて類似度を計算し、類似度の高い医薬品名をリストアップし注意喚起するとともに、医薬品棚の配置を隣り合わせに置かないようにするようなことを、取り違いが発生する前に予め行うことが可能となる。

我々は研究成果の社会還元のため、医薬品名を入力するだけで指標の値を表示するサービス「ルクライ（薬名類似度検索システム）」を現在無料公開している（<http://www.rukurai.jp/>）。製薬企業や医療者にはぜひ活用してもらい、意見などをいただきたい。

### （3）医薬品の外観類似

#### 外観類似による取り違いを防止の現状

医薬品の名称類似による医薬品の取り違いと同様に、医薬品の外観類似に起因する医薬品の取り違いも重大な問題である。汎用されている包装形態である PTP シートに関して例を挙げると、クラリス錠 200（抗菌薬）の処方のところリーマス錠 200（抗躁薬）を誤調剤したり、オルメテック錠 20 mg（降圧薬）の処方のところジルテック錠 10（降圧薬）を誤調剤し

たといった薬剤師の調剤ミスが報告されている。前者は両剤とも金色のシートに白色の錠剤であり、後者は両剤とも水色のシート、白色の錠剤であった。また、外観類似による取り違えは、患者が服用する場面でも発生する。例えば、ダオニール錠 2.5 mg（血糖降下薬）とアモバン錠 7.5（睡眠薬）を処方されていた患者が、朝食後にダオニール錠を服用すべきところアモバン錠を服用しそうになったり、就寝前にアモバン錠を服用すべきところダオニール錠を服用しそうになった例が報告されている。両剤は金色のシートに白色の錠剤である。

このような外観類似による取り違えを防止するためには、類似度の高い組を前もって認識し、注意喚起や包装変更を行うことが重要である。また、医薬品の開発段階から既存の医薬品と外観の類似した包装を作らない取り組みがなされるべきである。これらを実現するためには、定量的な指標に基づき取り違えリスクを評価することが必要だと考えられる。

しかし、外観の要素が類似度に与える影響を定量的に評価した研究はこれまで行われておらず、類似性を評価する指標も構築されていなかった。我々は、PTP シートに関して、その外観の類似性を左右する外観要素を抽出し、主観的類似度に与える影響を定量的に検討し、薬剤師が似ていると感じるシートを予測できる外観類似度指標を構築した。

### 類似性に影響する要素

指標を構築するにあたり、まずは薬剤師を対象としたウェブアンケートにより外観が似ていると感じる PTP シートの組み合わせを収集し、その組み合わせについて特に類似に影響すると考えられる外観要素をたずねた<sup>7)</sup>。その結果、有効成分の異なる医薬品の組み合わせとして 258 組が収集された。代表的なものを図 4 に示す。

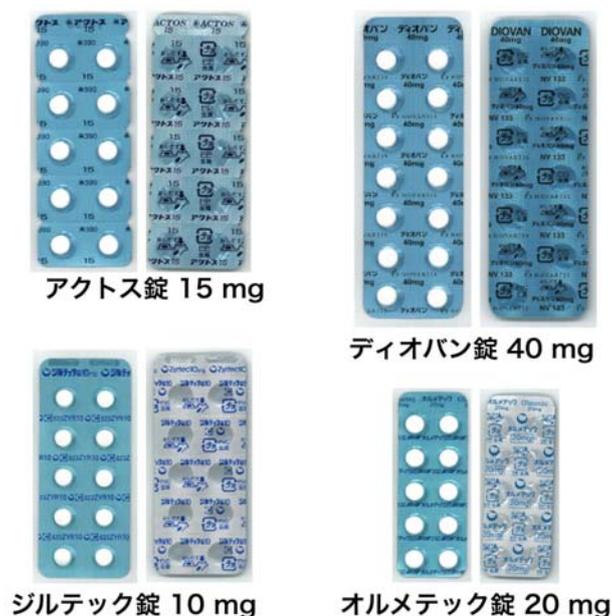


図 4. 外観の類似した PTP シートの例  
アンケート調査時点の写真

類似に影響すると考えられる外観要素としては、PTP シートの表面の色が最も多く選択され、続いて錠剤の色、錠剤の形、印字色の順に選択された割合が高く、色に関する要素の影響が大きいことが明らかとなった。

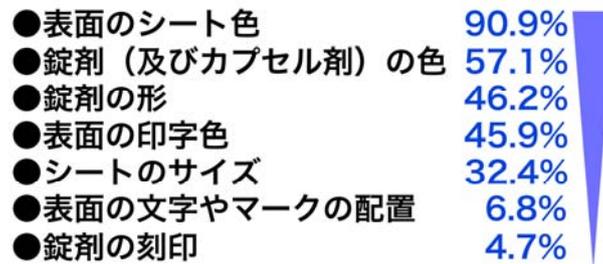


図 5. 類似に影響する PTP シートの外観の要素

### PTP シートの色が外観類似度へ及ぼす影響

そこで、シート、錠剤、印字の 3 つの部位の色について、色の違い（色差）と類似度との関係を調べるため、非医療従事者を対象にシート画像の組み合わせの類似度をたずねる臨床試験を実施した<sup>8)</sup>。色相、明度、彩度を変更し作成したシート画像の各部位の色が異なる組み合わせを液晶画面上に表示し、主観的類似度（0～10 の連続スケール）をたずねた。その結果、PTP シートの主観的類似度は、3 つの部位の色差が大きいほど直線的に低下した（図 6）。

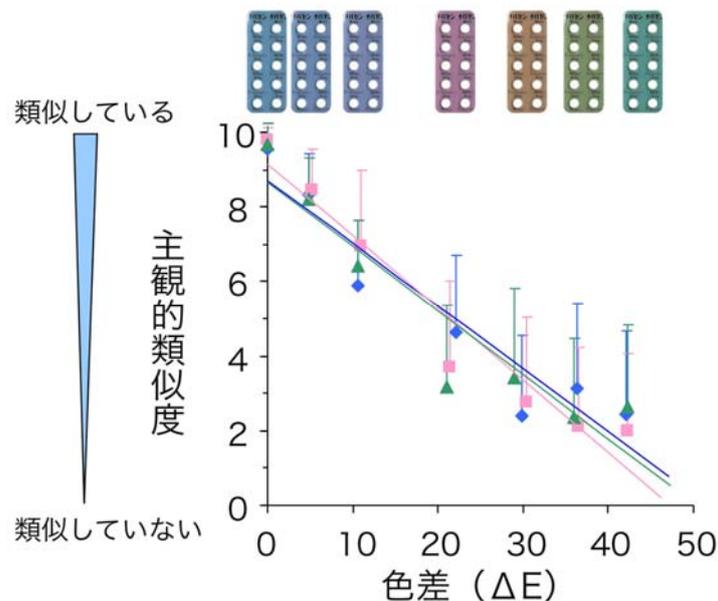


図 6. PTP シートの組み合わせの表面のシート色の色差と主観的類似度の関係  
シート表面の色の色差が大きくなるほど、直線的に主観的類似度（n=26、平均+標準偏差）が低下している。

また、PTP シートのサイズと錠剤および印字の面積の違いが外観類似へ及ぼす影響を同様に調査した<sup>9)</sup>。PTP シートの主観的類似度は、シートサイズが異なる組み合わせでは縦と横の拡大倍率が大きくなるほど低下し、錠剤や印字のサイズ、印字の量を変更した組み合わせでは、シート全体に対する錠剤もしくは印字の面積割合の比が大きくなるほど低下した。

### PTP シートの外観類似度指標の構築

試験より得られた色差、シートサイズ、錠剤と印字の面積の主観的類似度に対する影響を考慮した外観類似度指標を構築した。シート色、錠剤色、印字色の色差が大きくなるほど、また、シートのタテ長とヨコ長の比、錠剤の面積比が大きくなるほど主観的類似度が低下するという前述の臨床試験結果をもとに、図 7 のような外観類似度指標とした。

#### 外観類似度指標 =

- 係数 A × シート色の色差
- 係数 B × 錠剤色の色差
- 係数 C × 印字色の色差
- 係数 D × シートの縦の長さの比 × 横の長さの比
- 係数 E × 錠剤の面積比

図 7. PTP シートの外観類似度指標

この指標について、前述のアンケートで収集した似ている PTP シートの組み合わせ(正例)と、ランダムに作成した組み合わせ(負例)の外観類似度を比較し、感度(sensitivity)と特異度(specificity)の相乗平均が最も高くなるような閾値を求めた(図 8)。その結果、閾値を -10.7 とした場合、似ていると感じられる PTP シートの組み合わせを最適に判別できた。

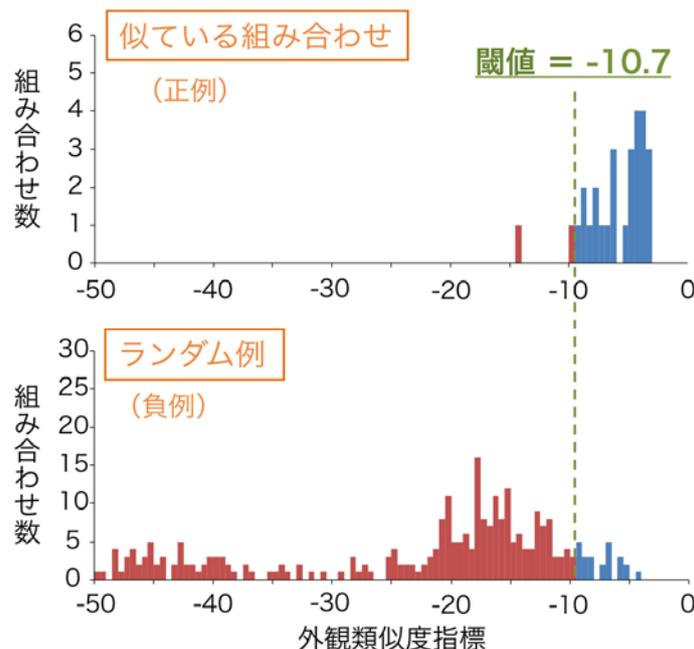


図 8. 外観類似度指標による似ている PTP シート例の判別力

## (4) 薬名類似度指標・外観類似度指標への機械学習の活用による新展開

薬名類似と機械学習

現時点の類似度指標は、医薬品名のカタカナ部分（商標部分）を対象にしたものである。しかし、実際の医薬品取り違い例を見てみると、医薬品の販売名にはカタカナ部分以外にも剤形、規格単位などの類似性や、さらに薬効・診療領域、使用頻度、先発・後発の関係、製造販売元など様々な類似要素が存在する。そこで、これら類似要素を含んだ薬剤名のデータセットと、臨床現場から収集した取り違い例のデータセットを用い、機械学習の手法等により、より精度の高い名称類似性と、取り違いのリスクを予測するシステムの構築を試みている（図9）。別の機会に成果を公表したい。

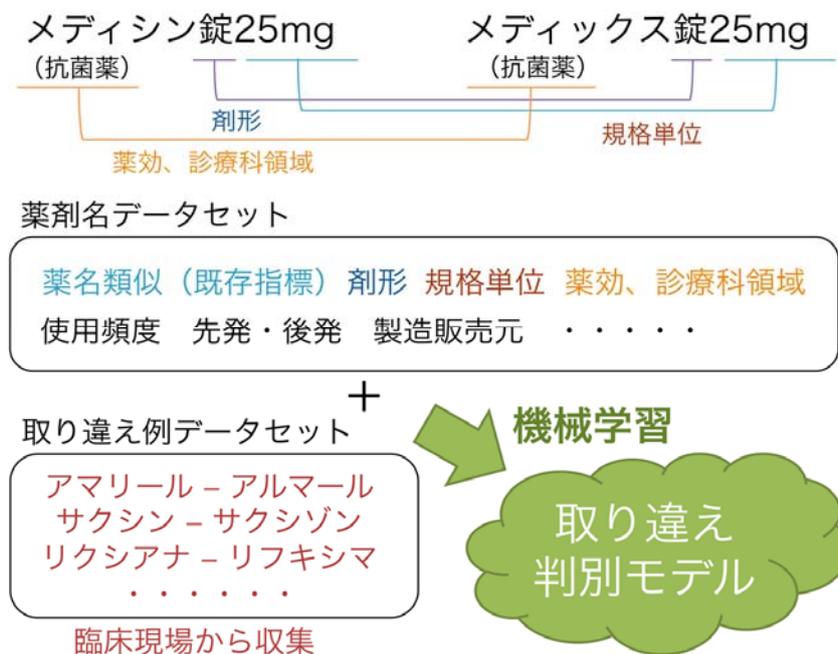


図9. 機械学習を用いた名称類似による取り違いリスク予測システム

外観類似度と機械学習

同様に、構築した外観類似度指標には、PTP シートのデザイン性（印字やマーク、ラインなどの配置）を考慮していないといった課題が残っている。そこで、画像認識技術やディープラーニングの手法により PTP シートのデザイン性を特徴量化するとともに、臨床現場から収集した取り違い例のデータセットを用い、機械学習の手法等により、より精度の高い外観類似性と、取り違いのリスクを予測するシステムの構築を試みている（図10）。別の機会に成果を公表したい。

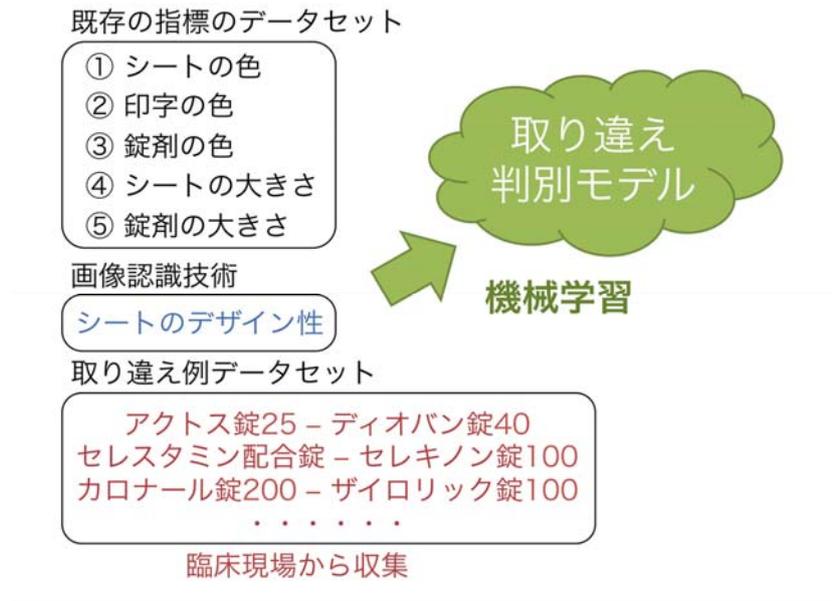


図 10. 機械学習を用いた外観類似による取り違いリスク予測システム

(5) おわりに

投薬・服薬ミスという重大な問題を招きうる医薬品の名称・外観の類似性を評価するだけにとどまらず、医療ミスなど人の認知・行動の関わる分野においても、機械学習や人工知能の技術のもととなる情報計算学 (Informatics) は大きな役割を果たすと考える。

- 1) Berman A., J Med Syst. 28: 9-29, 2004.
- 2) [http://www.yakkyoku-hiyari.jcqh.c.or.jp/pdf/year\\_report\\_2017.pdf](http://www.yakkyoku-hiyari.jcqh.c.or.jp/pdf/year_report_2017.pdf)
- 3) <https://www.pmda.go.jp/safety/info-services/medical-safety-info/0178.html>
- 4) <https://www.ruijimeisho.jp/FlowChart/flowchart.pdf>
- 5) 大谷ら, 薬学雑誌. 126: 349-356, 2006.
- 6) Yamada et al., Cognitive studies. 13: 80-95, 2006.
- 7) 玉木ら, 薬学雑誌. 138: 1305-1312, 2018.
- 8) 玉木ら, 日本医療薬学会年会講演要旨集. 21: 141, 2011.
- 9) 玉木ら, 日本医療薬学会年会講演要旨集. 22: 335, 2012.

## 世界初のフルオロチミジン系抗悪性腫瘍剤：ロンサーフ™ 開発物語 創薬編：論理的 *in silico* 創薬による新薬創製

多田幸雄

CBI 学会

〒108-0028 東京都港区芝浦3丁目1番1号 キョウワクリエイト第一ビル3階

E-mail: tada@cbi-society.org

### 1 はじめに

現在、日本で治療に用いられている癌の薬は 100 種類近くあり、細胞障害性抗悪性腫瘍剤としては、代謝拮抗剤、アルキル化剤、抗癌性抗生物質、微小管阻害薬、その他白金製剤、トポイソメラーゼ阻害剤などがあり、近年、これらに分子標的治療薬が加わった。ところで、代謝拮抗剤は明確な標的分子と作用機序を持つことから、分子標的治療薬の一つと言えないこともない。

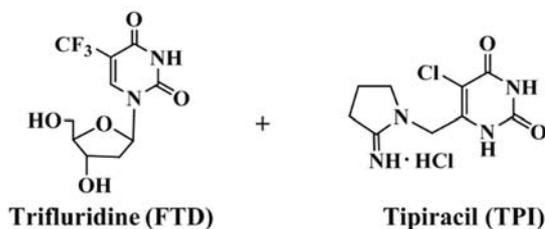


図 1. ロンサーフ™ (Trifluridine/Tipiracil)

ロンサーフ™ は Trifluridine (FTD) と Tipiracil (TPI) の配合剤であり、世界初のフルオロチミジン系抗悪性腫瘍剤として、2014 年に日本で、2015 年に FDA に承認された (図 1)。本稿では *in silico* 創薬技術として Structure-based drug discovery (SBDD) と Quantitative structure-activity relationship (QSAR) を用いて、論理的にリード化合物を見出し、構造最適化を行って、臨床試験移行化合物を決定するまでの創薬過程について述べたい。

### 2 核酸系代謝拮抗剤開発の歴史

核酸系代謝拮抗剤は、標的分子として核酸代謝酵素を阻害することと、DNA もしくは RNA 合成酵素の基質となり、DNA もしくは RNA に取り込まれることで制癌作用を発現する。古くから臨床で用いられている核酸系代謝拮抗剤には、プリン塩基類として 8-Azaguanine、6-Mercaptopurine、フッ化ピリミジン類として 5-Fluorouracil (5-FU)、5-Fluorodeoxyuridine、シトシン類として Cytosine arabinoside (Ara-C) があり、これらを基本化合物として、プロドラッグを含めてこれまでに数多くの誘導体が研究開発されて来た (図 2) [1]。

6-Mercaptopurine の誘導体として 1957 年に 6-Thioinosine、Ara-C 誘導体として 1975 年に Ancitabine、1982 年に Enocitabine、1992 年に Cytarabine ocphosphate、1999 年に Gemcitabine が市販されている。また、正常細胞に比べて、化学的に誘発したラット肝癌細胞は多くの uracil を要求することから uracil の誘導体が研究され、1957 年にフッ化ピリミジン系代謝拮抗剤として 5-FU が初めて合成された [2]。その後、基礎および臨床における広範な研究により、5-FU は抗悪性腫瘍効果が確認され固型癌にも有効性を示した [3]。

5-FU は thymidine phosphorylase (TP) により fluorodeoxyuridine (FUdR) となり、次いで thymidine kinase により fluorodeoxyuridine monophosphate (FdUMP) となる。この FdUMP が、deoxyuridine monophosphate (dUMP) から deoxythymidine monophosphate (dTMP) への反応を触媒する thymidylate synthase (TS) を阻害することで、thymidine nucleotide pool を減少させる。また、5-FU の代謝物 fluorouridine triphosphate (FUTP) が RNA に取り込まれることで 5-FU は抗腫瘍活性を発現する (図 3)。

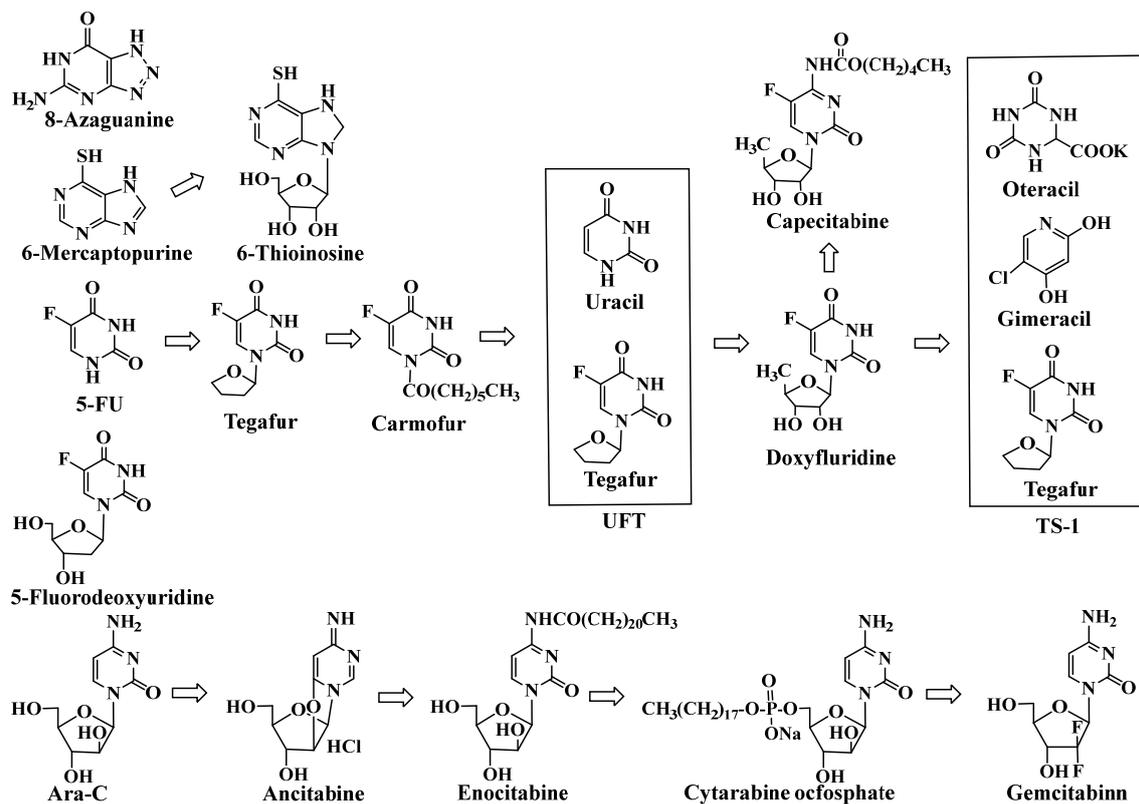


図 2. 本邦で市販された核酸系代謝拮抗剤開発の流れ

5-FU は、本邦では 1967 年に発売され癌治療に広く用いられている。しかし、5-FU は代謝分解酵素 dihydropyrimidine dehydrogenase (DPD) により速やかに代謝され、その抗腫瘍活性を失うことが治療の制限の一つとなっている。これを改善する目的で 5-FU のプロドラッグの研究が盛んに行われた。

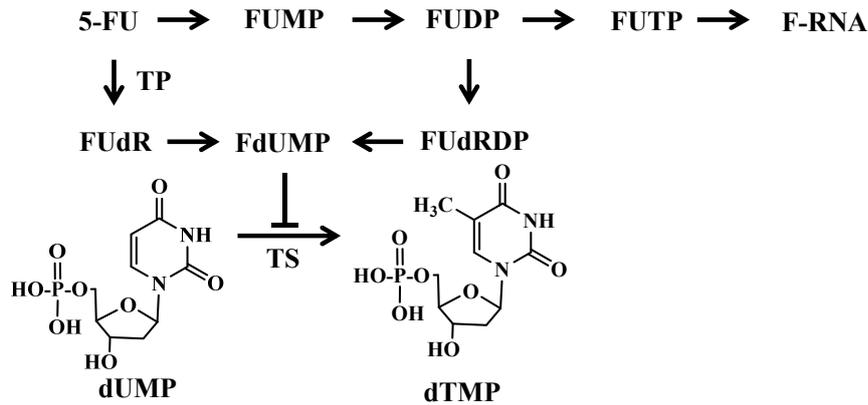


図 3. 5-FU の抗腫瘍活性の作用機序

それまでの制癌剤はすべて注射剤であったが、1974 年に経口剤として 5-FU のプロドラッグである Tegaful が開発された。Tegaful は主に肝臓の cytochrome P450 で徐々に代謝されて 5-FU となることで、経口投与での治療を可能にしている。Tegaful の成功を契機に、経口フッ化ピリミジン系代謝拮抗剤の研究が盛んになり、1981 年に Carmofur、1983 年に UFT、1986 年に Doxyfluridine、1999 年に TS-1 が開発された。

UFT は Tegaful に uracil が配合された薬剤である。uracil は抗腫瘍効果増強の modulator として、effector である 5-FU が DPD により代謝されるのを阻害する。さらに TS-1 は、DPD を阻害する modulator としての Gimeracil に加えて、腸管におけるリン酸化を阻害して副作用を軽減する Oteracil が配合された薬剤である。一方、核酸系代謝拮抗剤の一つとして 5-Fluorodeoxyuridine があるが、これまでに市販には至った誘導体はない。

### 3 Trifluridine (FTD) の抗悪性腫瘍剤としての可能性

Trifluridine (FTD) は、古くから核酸系代謝拮抗剤としての可能性が示唆されていたが、本邦では臨床に用いられることもなく、その誘導体も臨床試験に留まっている。FTD は 1962 年に初めて合成され [4]、静注による第 I 相、第 II 相臨床試験が実施されたが、血中半減期が 18 分と極めて短く有効性は確認されなかった [5]。その後、乳癌と結腸癌について 2.5mg/kg/day を分割して 3 時間毎に 8~13 日間投与する臨床試験が実施され、有効性が確認された。しかし、再発が速いことと骨髄毒性のため開発は中止された [6]。

FTD の抗悪性腫瘍剤としての作用機序を図 4 に示す。FTD は thymidylate kinase によりリン酸化されて、一リン酸化体  $\text{F}_3\text{dTMP}$ 、二リン酸化体  $\text{F}_3\text{dTDP}$ 、三リン酸化体  $\text{F}_3\text{dTTP}$  となる。 $\text{F}_3\text{dTMP}$  は、TS の Tyr 146 に結合してその活性を阻害し、dUMP から dTMP の合成を阻害する [7]。また、同時に  $\text{F}_3\text{dTTP}$  は DNA 合成酵素により DNA に取り込まれ、様々な DNA の機能障害を生じることで抗腫瘍効果を発現していると考えられている。従って、FTD は抗悪性腫瘍剤としての可能性は高いと考えられていた。

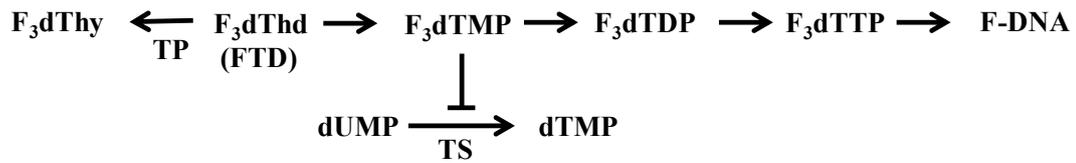


図 4. FTD (F<sub>3</sub>dThd) の作用機序と thymidine phosphorylase (TP) による代謝

#### 4 FTD のプロドラッグの検討

投与された FTD は、TP により速やかに活性のない 5-trifluorothymine (F<sub>3</sub>Thy) に代謝されるため、臨床効果は不満足なものであった (図 4)。そこで、これを改善する目的で FTD のプロドラッグが検討された。

FTD の uracil 環の N3 位、糖部分の O3'位、O5'位への種々置換基の導入が検討され、FTD のプロドラッグとして O3'位にベンジル基を導入した FTC-092 が合成された。固型癌 S-180 を移植したマウスにおける FTC-092 の治療係数 (LD<sub>10</sub>/ED<sub>50</sub>) は、FTD のみならず Tegafur および 5-FU の 3 倍以上で、4.39 であった (表 1) [8]。しかし、第 I 相臨床試験において、グルクロンサン抱合による不活性化などにより FTC-092 から FTD への変換が不十分で、治療に十分な FTD の血中濃度が得られず開発は中止となった。

表 1. FTC-092 の固型癌 S-180 を移植したマウスにおける治療効果 (LD<sub>10</sub>/ED<sub>50</sub>)

Drug	Sarcoma 180 (solid type)		
	ED <sub>50</sub>	LD <sub>50</sub>	Therapeutic index (LD <sub>50</sub> / ED <sub>50</sub> )
	(mg/kg daily)	(mg/kg)	
<b>FTC-092</b>	<b>13.3</b>	<b>58.4</b>	<b>4.39</b>
<b>FTD</b>	<b>64.1</b>	<b>108.9</b>	<b>1.7</b>
<b>Tegafur</b>	<b>122</b>	<b>165.1</b>	<b>1.35</b>
<b>5-FU</b>	<b>28</b>	<b>46.1</b>	<b>1.65</b>

#### 4 FTD の modulator としてヒト TP (HTP) 阻害剤の開発

FTD は TP により速やかに代謝されるので、TP を阻害すれば FTD は本来の抗悪性腫瘍効果を発現できるものと考え、TP の阻害剤を開発することにした。これは Tegafur に 5-FU を分解する DPD の阻害剤を配合した UFT および TS-1 と同じく modulator の考え方を踏襲したものである。一方、ヒト TP (HTP) は platelet derived endothelial cell growth factor (PD-ECGF) と同一であり、血管新生因子の一つである [9]。従って、HTP を阻害することは癌の増殖や転移に関わる血管新生を阻害することに繋がる。

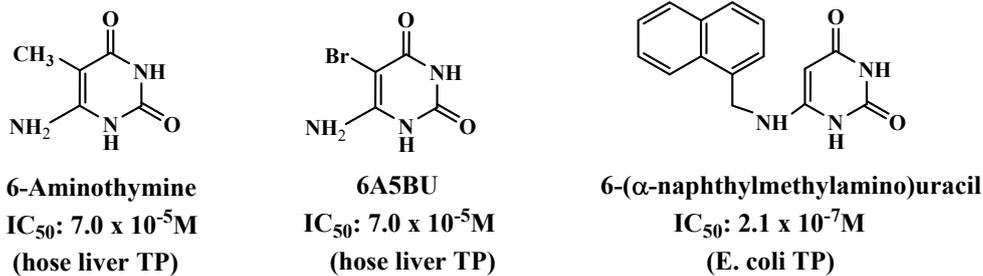


図 5. 当初に報告されていた主な TP 阻害化合物

TP 阻害剤の研究は 1960 年代後半から uracil 誘導体を中心として始められた。我々が HTP 阻害剤の開発に着手した当初、報告されていた主な TP 阻害剤には、ベンチマークとしても用いられていた 6-aminothymine や 6-amino-5-bromouracil (6A5BU)、および阻害活性の強い 6-( $\alpha$ -naphthylmethylamino)uracil があつた (図 5) [10, 11]。我々は、TP 阻害剤に関するメデイシナルメケミストリーの知識を基に、約 500 化合物を合成し uracil 誘導体だけでなく幅広く化合物を検討した。しかし、阻害活性の強い新たな HTP 阻害剤を見出すことはできなかつた。そこで、標的タンパクである HTP の 3 次元構造を基に化合物を設計する SBDD を実行することにした。

## 5 HTP の 3 次元モデルの構築

SBDD を実行するため HTP の 3 次元モデルを以下の方法で構築した。HTP のモデリングを行った 1993 年当時、TP の X 線結晶解析として、唯一大腸菌の TP/thymine/sulfate 複合体の結晶構造 (PDB code 1TPT : 分解能 2.8 Å) が報告されていた [12]。しかし、1TPT は C $\alpha$  座標データのみであったので、まずはじめに大腸菌 TP のバックボーンを構築した [13]。次に、これをテンプレートとして、ホモロジーモデリングの方法により HTP/thymine/phosphate 複合体および HTP/thymidine/phosphate 複合体の 3 次元モデルを構築した (図 6A, B)。

- (1) 大腸菌 TP (1TPT) の Gly と Pro 以外のアミノ酸を全て Ala に変換した。
- (2) N 末端からアミノ酸一個ごとにバックボーン (-CONH-) を伸長し、C $\alpha$  を拘束下、分子力学計算 (QUANTA3.2/CHARMm) により、伸長したバックボーンの構造最適化を行った [14]。これを C 末端のアミノ酸まで繰り返して大腸菌 TP 全体のバックボーンを構築した。
- (3) 得られたバックボーンを C $\alpha$  拘束下、分子力学計算 (QUANTA3.2/CHARMm) により大腸菌 TP 全体の構造最適化を行い、3 つのアミノ酸 Ala、Gly および Pro からなる大腸菌 TP の 3 次元モデル (1TPT/Ala, Gly, Pro) を構築した。
- (4) 大腸菌 TP モデル : 1TPT/Ala, Gly, Pro をテンプレートとして、ホモロジーモデリングの方法により、HTP (Leu33-Gln482) /thymine/phosphate (図 6A) および HTP (Leu33-Gln482) /thymidine/phosphate (図 6B) の 3 次元複合体モデルを構築した。

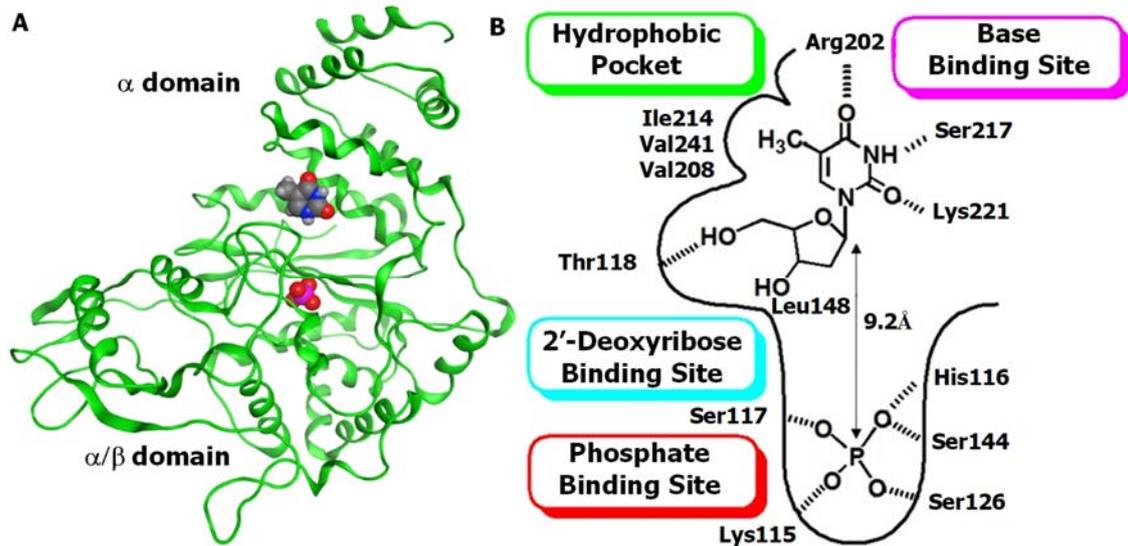


図 6. HTP の 3 次元複合体モデル (Leu33–Gln482)

- (A) HTP/Thymine/Phosphate 3 次元複合体モデル (open コンフォメーション)  
 (B) HTP/Thymidine/Phosphate 3 次元複合体モデル (open コンフォメーション)  
 の活性部位模式図

図 6B に示した HTP 活性部位の Arg202、Ser217、Lys221 (塩基結合サイト)、Val208、Ile214、Val241 (疎水性ポケット)、Thr118、Leu148 (糖結合サイト)、および Ser117、Lys115、His116、Ser144、Ser126 (リン酸結合サイト) は TP の活性発現に重要なアミノ酸であり、大腸菌で全て保存されている。大腸菌 TP (Leu1–Glu440) と HTP (Met1–Gln482) のアミノ酸配列相同性は 40.5% と高いため [15]、得られた HTP のホモロジーモデルの精度は、阻害剤の分子設計に利用するに十分であると考えた。

## 6 HTP/thymidine/phosphate の 3 次元モデルと反応機構

HTP モデルの構造は、小さい  $\alpha$  ドメイン (33–97、194–224) と大きな  $\alpha/\beta$  ドメイン (111–185、229–482) から構成されており (図 6A)、活性部位はこれら二つのドメイン間の窪みにある。図 6B に示したように、塩基結合サイト (Arg202, Ser217, Lys221) は  $\alpha$  ドメインに、リン酸結合サイト (Ser117, Lys115, His116, Ser144, Ser126) は  $\alpha/\beta$  ドメインに存在する。thymidine の C1' とリン酸との距離は 9.2Å もあり、リン酸が C1' を求核攻撃するには距離が遠過ぎる (図 6B)。従って、酵素活性を発現するために、HTP は  $\alpha$  ドメインと  $\alpha/\beta$  ドメインが互いに近づく変化、即ち open コンフォメーション (不活性型) から closed コンフォメーション (活性型) に変化すると考えられる。従って、HTP 阻害剤のデザインには closed コンフォメーションの構造も必要となる。しかし、pyrimidine nucleoside phosphorylase (PYNP) の closed コンフォメーションの X 線結晶解析 (PDB code 1BRW; HTP とのアミノ酸配列相

同性 40.5%) が 1998 年に報告されるまで、closed コンフォメーションのホモロジーモデリングの実行は待たざるを得なかった [16]。そこで、 $\alpha$ ドメインと $\alpha/\beta$ ドメインを繋げている 3 本のヒンジ部分 (98–110, 186–193, 225–228) のねじれ角 ( $\phi$ ,  $\varphi$ ) を調整して、グラフィカルではあるが closed コンフォメーションモデルを作成した。この closed モデル (活性型) の精度は高くないことを承知の上で、阻害剤デザインに活用した。

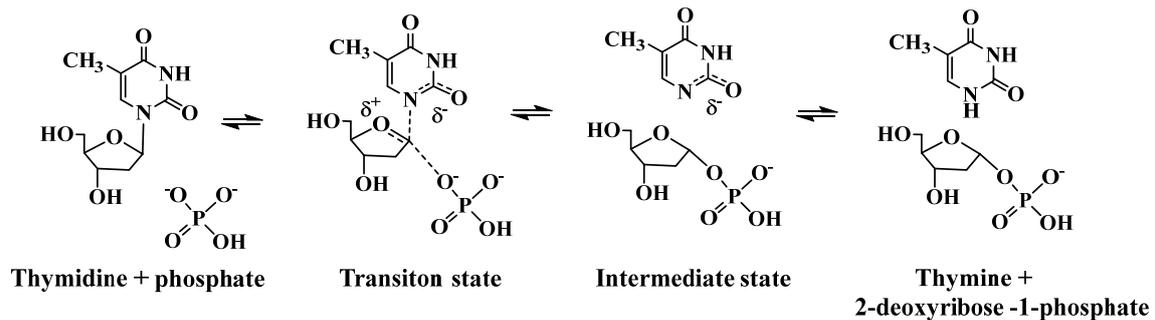


図 7. HTP による Thymidine 代謝の反応機構

ところで、HTP による thymidine 代謝の反応機構は図 7 に示した様に、リン酸が thymidine の C1' を求核攻撃し遷移状態を経て、中間状態の thymine アニオンが His116 からプロトンを受け取って thymine と 2-deoxyribose-1-phosphate が生成する。その反応機構は、二基質反応として大腸菌TPでは最初にリン酸が、次いで thymidine が結合し、反応が終了した後 thymine、2-deoxyribose-1-phosphate の順に離脱する定序 Bi Bi 機構とされていた [17]。一方、マウス肝TPでは、必ずしもリン酸が最初に結合するとは限らないランダムBi Bi 機構であるとの報告もあった [18]。従って、反応機構を確定することはできなかった。反応機構によっては存在しない場合もあるリン酸には依存せずに、基質である thymidine が HTP の open コンフォメーション (不活性型) に結合し、closed コンフォメーション (活性型) に移行する過程を阻害する化合物をデザインすれば良いと考えた。

## 7 Fragment-based drug discovery (FBDD) の考え方とリガンド効率に基づいたリード化合物の選定

それまでに合成した化合物と阻害活性が報告されていた化合物の中から、FBDD の考え方とリガンド効率に基づいて SBDD の端緒となるリード化合物を選び出した。

### 7-1 FBDD とリガンド効率の考え方

SBDD の端緒となるリード化合物の決定には、Fragment-based drug discovery (FBDD) の考え方をを用いた。現在では、FBDD は分子量 300 以下のフラグメントと呼ばれる化合物のライブラリーを用いる Fragment Screening (FS) によりリード化合物やリード化合物を見出す方法として一般化している。この FBDD の概念は 1980 年代の初めに提唱されている [19,

20]。また、フラグメントが標的タンパク内で安定に存在できるサイトを探し出す GRID というプログラムも開発されている [21]。FBDD の基本的な考え方は、活性は弱くても標的タンパクのポケットに確実に結合しているフラグメンをフラグメントコアとして、隣接するポケットに結合しているフラグメントと繋いだり (fragment linking)、隣接するポケットまでフラグメントコアを伸長する (fragment growing) ことで、より活性の強い化合物を創り出すというものである [22]。

ところで、リガンドとタンパクとの結合における Gibbs の結合自由エネルギー変化 ( $\Delta G$ ) を直接計算で求めるのは難しいけれども、相対的な結合自由エネルギーの変化 ( $\Delta\Delta G$ ) は分子動力学計算による自由エネルギー摂動法で算出できるという報告が 1986 年になされた [23]。それ以降、分子設計の際に化合物の構造変化に起因する結合親和性の変化を Gibbs の結合自由エネルギー変化として扱うことができるようになった。

結合自由エネルギー変化 ( $\Delta G$ ) はエンタルピー変化 ( $\Delta H$ ) とエントロピー変化 ( $-T\Delta S$ ) の和で表される (式 1)。この  $\Delta G$  は解離定数 ( $K_d$ ) と気体定数 ( $R$ ) および絶対温度 ( $T$ ) から算出することができる。また、解離定数の代わりに阻害活性を表す  $IC_{50}$  を用いれば  $T=298$  における  $\Delta G$  (kcal/mol) を、式 (2) から求めることができる。この式 (2) は  $IC_{50}$  が 1000 倍変化しても、 $\Delta G$  は高々  $-4.08$  kcal/mol しか変化しないこと ( $\Delta\Delta G = -4.08$  kcal/mol) を意味している。

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S \quad (1)$$

$$\Delta G = -RT \ln K_d$$

$$\Delta G \text{ (kcal/mol)} \approx 1.36 \log IC_{50} \quad (T=298) \quad (2)$$

一方、1984 年に「原子ごとの結合自由エネルギー変化」という概念が提案された [24]。そして、重原子数 ( $N$ ) あたりの結合自由エネルギー変化 ( $\Delta G$ ) として、Ligand efficiency (LE) が定義され、FBDD におけるフラグメントのリガンド効率の指標とされている [25]。この他にも種々の指標が提案されているが、ここでは式 (3) に示した、 $IC_{50}$  と分子量で定義された Binding efficiency index (BEI) をリガンド効率の指標として用いることにした [26]。

$$LE = \Delta G/N \quad (N: \text{重原子数})$$

$$BEI = -\log IC_{50} / MW \text{ (kDa)} \quad (3)$$

この BEI はリード化合物やリード化合物の選定や、化合物最適化の指標として利用できる。例えば、ひとつの理想的な化合物として、 $IC_{50}$  が 1.0nM で分子量が 300 である化合物の BEI は 30.0 となり、BEI が大きい程、分子内に活性に関与しない余計な部分が少なくなることになる。リード化合物の最適化の過程においては、必要以上の分子量の増加が疎水性の増大を招き、水溶解性の低下など物性を悪くすることに繋がり易いので、常に BEI を小さくした

い様に化合物の展開を図ることが重要である。

## 7-2 FBDD の考え方と BEI に基づいたシード化合物の選定

図 6B に示した HTP/Thymidine/Phosphate 3 次元複合体モデルにおいて、thymidine の 2 位 (C=O)、3 位 (NH)、4 位 (C=O) の -CO-NH-CO- 部位はそれぞれ、HTP の塩基結合サイトにある Lys221、Ser217、Arg202 と水素結合を形成しており、これらの 3 本の水素結合は基質である thymidine を HTP の活性部位に繋ぎ留める非常に重要な役目を担っていると見なした。そこで、化合物が HTP の Lys221、Ser217、Arg202 との水素結合を形成できるか否かに着目して、これまでに合成した約 500 化合物および阻害活性が報告されている化合物を見直した。その結果、活性は弱いがりガンド効率の良い uracil (**1**) ( $IC_{50}=7.6 \times 10^{-5} M$ ,  $BEI=36.7$ ) をフラグメントコアとした。次いで、thymidine の塩基部分でもあり、更にリガンド効率の良い thymine (**4**) ( $IC_{50}=1.8 \times 10^{-6} M$ ,  $BEI=45.5$ ) をシード化合物とした。この thymine (**4**) は極めて無駄な構造のない理想的なシード化合物であると言える。

## 8 シード化合物 : thymine (**4**) からリード化合物 (**10**) の創製

3 本の水素結合を形成するシード化合物 : thymine (**4**) の -CO-NH-CO- 部位の N3 位には置換は導入できないので、N1 位への置換基導入の可能性、次に C5 位の置換基の最適化、最後に C6 位の置換基を検討し、リガンド効率の良い水溶性に問題のないリード化合物 (**10**) を創製した。

### 8-1 シード化合物 : thymine (**4**) の N1 位への置換基導入の可否

図 6B の HTP/thymidine/Phosphate 複合体モデルで示した様に、HTP の活性部位は一方だけに開いた形で、深さ約 10Å のトンネル状の空間を持ち、その底にリン酸、入口付近に thymidine が結合している。従って、thymidine を thymine (**4**) で置き換えた場合、N1 位からリン酸の方向には種々の置換基を収めるに十分な空間があると考えた。

しかし、HTP は open から closed コンフォメーションへ変化するため、N1 位置置換基の適切な長さは分からなかった。また、反応機構が不明であったので、リン酸の有無も明確ではなかった。そこで、リン酸が存在する場合は  $R=NH_2$  がリン酸と、存在しない場合には  $R=COOH$  がリン酸結合サイトにあるアミノ酸 (Lys115, His116, Ser117, Ser126, Ser126) と水素結合を形成すると想定し、N1 位に置換基 :  $(CH_2)_n-R$  ( $R=NH_2$  or  $COOH$ ,  $n=2-8$ ) を持つ化合物を検討した。しかし、全ての化合物で阻害活性は無かった ( $IC_{50} > 1 \times 10^{-3} M$ ) (図 8A)。

この結果と、uracil と thymine には阻害活性があるけれど 1-methyuracil および 1-methylthymine には殆ど阻害活性がないということから [27]、N1 位は無置換が望ましいと考えた。しかし、その後も、HTP の open コンフォメーションをターゲットにしたと思われる、末端にリン酸基を有する 8 個のメチレン鎖を N1 位に配した化合物が検討されているが、弱い阻害活性しか示していない (図 8A) [28, 29]。これらの N1 位に置換基を持つ誘導

体に阻害活性がなかった原因として、Leu148 (thymidine と uridine を C1' の OH 基の有無で区別している) もしくは His116 (HTP の反応に関与している) との立体障害があるのではないかと推察した。

そこで、Molecular Operating Environment (MOE) [30] を用いて HTP の活性部位の GRID 解析を行った [21] (図 8B)。図中の赤色の網目部分は水素結合受容基の存在が、青色の網目部分は水素結合供与基の存在が、灰色の網目部分は疎水性基の存在が望ましいサイトを表している。この GRID 解析の結果では、N1 位からリン酸結合部位の方向には疎水性基の存在が望ましいサイトは広がっていないことが分かった。このことから N1 位は無置換が望ましいと言える。

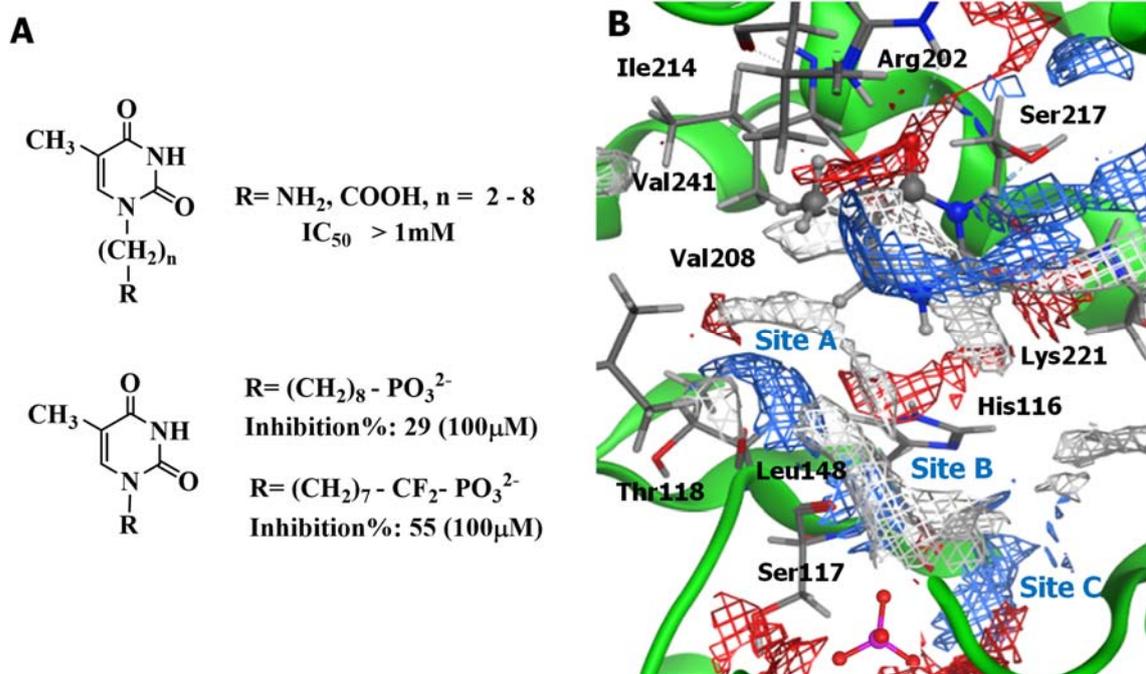


図 8. Thymine の N1 位置換誘導体および HTP 活性部位の GRID 解析

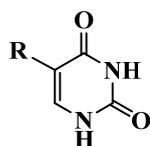
- (A) N1 位に、 $\text{NH}_2$  基、 $\text{COOH}$  基、または  $\text{PO}_3^{2-}$  基を末端に有するメチレン基を配した化合物
- (B) GRID 解析: それぞれの網目部分は、水素結合受容基の存在が望ましいサイト (赤色)、水素結合供与基の存在が望ましいサイト (青色)、疎水性基の存在が望ましいサイト (灰色) を表す

## 8-2 シード化合物：thymine (4) の C5 位置換基の最適化

シード化合物：thymine (4) の C5 位置換基が結合する疎水ポケット (図 6B, 8B) の大きさに制限があると考え、uracil (1) の水素原子を基準に C5 位置換基 R の体積増分 ( $\Delta V$ ) をパラメータとして C5 位置換基の最適化を行った (表 2)。

表 2. 置換基の大きさを指標にした Thymine (4) の C5 位置換基の最適化

Compd	R	$\Delta V(\text{\AA}^3)$	$IC_{50}(\mu\text{M})$	$\Delta\Delta G$	BEI
1	H	–	76	–	36.7
2	F	5.4	26	–0.64	35.2
3	Cl	13.9	0.1	–3.93	47.8
4	CH <sub>3</sub>	16.9	1.8	–2.22	45.6
5	Br	17.8	3.8	–1.75	28.4
6	NO <sub>2</sub>	24.3	4.8	–1.64	33.9
7	I	25.6	6.0	–1.51	21.9
8	CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	31.0	> 100	–	–
9	CF <sub>3</sub>	32.4	> 100	–	–



基質である thymidine と同じく C5 位が CH<sub>3</sub> 基 ( $\Delta V=16.9$ ) である thymine (4) の阻害活性は  $IC_{50}=1.8\mu\text{M}$  で、CH<sub>3</sub> 基より少し小さい Cl 基 ( $\Delta V=13.9$ ) を有する 5-chlorouracil (3) の阻害活性は  $IC_{50}=0.1\mu\text{M}$  で最も強かった。また、その BEI も 47.8 と最も大きかったので、5-chlorouracil (3) をリード化合物をデザインするためのアンカー化合物とした。

この 5-chlorouracil (3) の阻害活性は、Cl 基が疎水ポケットに結合することによって uracil (1) より 760 倍強くなっている。この uracil (1) と 5-chlorouracil (3) 間の結合自由エネルギーの変化 ( $\Delta\Delta G=-3.93\text{ kcal/mol}$ ) は、Cl 基が疎水ポケットと疎水性相互作用した結果であると見なせる。

## 8-3 アンカー化合物：5-chlorouracil (3) の C6 位への置換基導入によるリード化合物：6-aminomethyl-5-chlorouracil (10) の創製

リード化合物創製を目指して、アンカー化合物：5-chlorouracil (3) の C6 位への置換基導入を検討した。図 8B に示した GRID 解析の結果を見ると、疎水性基の存在が望ましいサイト (灰色の網目部分) は N1 位ではなく、C6 位近傍からリン酸結合サイトに架けて広がっている。従って、C6 位であれば、Leu148 や His116 との立体障害を避けてリン酸結合サイト近傍まで置換基を伸ばせると考えた。また、C6 位からリン酸結合サイトに至る空間には Thr118 および Ser117 のバックボーン C=O 基と、リン酸に起因する水素結合供与基の存在が望ましいサイト (青色の網目部分：Site A, SiteB, SiteC) が広がっている。そこで、フラグメントとしてアンモニウムイオ ( $\text{NH}_4^+$ ) を用いて、分子力学計算 (QUANTA3.2/CHARMm) により、各 Site A、B、C において  $\text{NH}_4^+$  が安定に存在できる場所を求めた [14]。その結果を図 9A に示した。

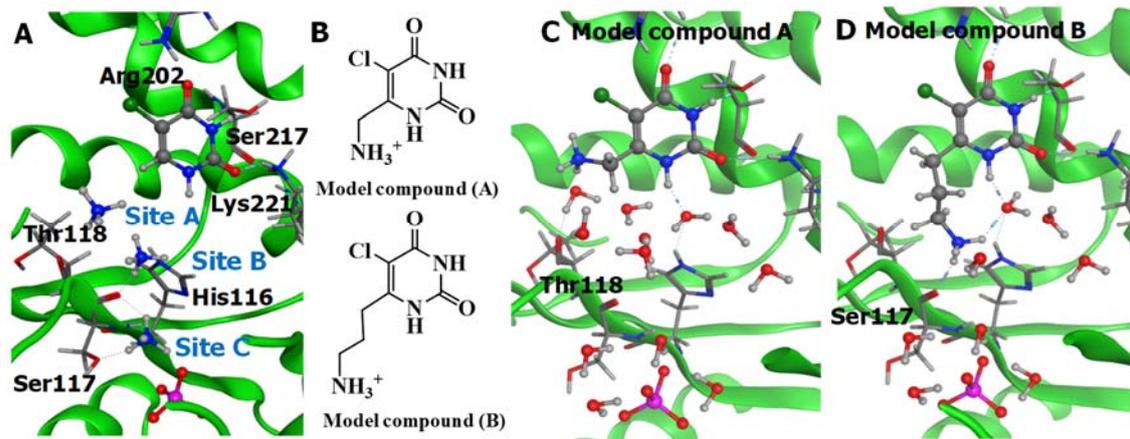


図 9. C6 位置換基の分子設計の考え方とモデル化合物

- (A) サイト A、B、C における  $\text{NH}_4^+$  が安定に存在できる位置  
 (B) モデル化合物 (A, B)  
 (C) モデル化合物 (A) の  $\text{NH}_3^+$  基は水分子を介して Thr118 のバックボーン C=O 基と水素結合を形成している  
 (D) モデル化合物 (B) の  $\text{NH}_3^+$  基は直接 Ser117 のバックボーン C=O 基と直接水素結合を形成している

そこで、Site A および Site B の  $\text{NH}_4^+$  と C6 位をメチレン鎖で繋いだモデル化合物 (A) および (B) を考えた (図 9B)。リン酸に依存しない化合物を考えているので、Site C のリン酸と水素結合している  $\text{NH}_4^+$  は対象から外した。次に、QUANTA3.2/CHARMm を用いて水分子を付加し、モデル化合物 (A) および (B) と HTP/Phosphate とのドッキングシミュレーションを行った [14]。モデル化合物 (A) の  $\text{NH}_3^+$  基は 1 個の水分子を介して Thr118 のバックボーン C=O 基と水素結合を形成している (図 9C)。一方、モデル化合物 (B) の  $\text{NH}_3^+$  基は Ser117 バックボーン C=O 基と直接水素結合している (図 9D)。closed コンフォメーション (活性型) では、塩基部分が結合している  $\alpha$  ドメインと Thr118、Ser117 のある  $\alpha/\beta$  ドメインが近づくので、モデル化合物 (A) の  $\text{NH}_3^+$  基は Site B に、モデル化合物 (B) の  $\text{NH}_3^+$  基は、Ser117 とリン酸との水素結合が可能になる Site C に、それぞれ移行すると予測した。

そこで、モデル化合物 (A, B) のアイデアを反映し、化合物の合成展開を可能とするリード化合物が必要となる。ところで、C6 位に  $\text{NH}_2$  基を持つ 6-amino-5-chlorouracil ( $\text{IC}_{50} = 15\mu\text{M}$ ) は  $\text{BEI} = 30.0$  であり阻害活性として悪くはないが、融点が  $300^\circ\text{C}$  以上と高く水溶解性が高くなかった [31]。従って今後の化合物展開において、経口薬としての水溶解度の限界値： $10\mu\text{g}/\text{mL}$  を下回る懸念があったため、リード化合物として 6-amino-5-chlorouracil を選ばなかった。

$$\log S = -\log P - 0.01 \text{ mp} + 0.5 \quad (4)$$

水溶解性に関する経験式 (4) が示すように、疎水性 ( $\log P$ ) と融点 (mp) が高い程、水溶解性 ( $\log S$ ) は低下することが知られている [32]。そこで、融点が下がることを期待して、自由回転するメチレン基を間に挟んだ  $\text{NH}_2\text{CH}_2$  基を C6 位に導入した 6-aminomethyl-5-chlorouracil (10) を合成した。この化合物 (10) の融点は  $210^\circ\text{C}$  と低下し、水溶解性の問題もはなくなった。阻害活性は  $\text{IC}_{50} = 23\mu\text{M}$  でアンカー化合物 : 5-chlorouracil (3) より低下したが  $\text{BEI} = 28.9$  でリガンド効率は悪くはなかったので、この 6-aminomethyl-5-chlorouracil (10) をリード化合物とした (図 10)。

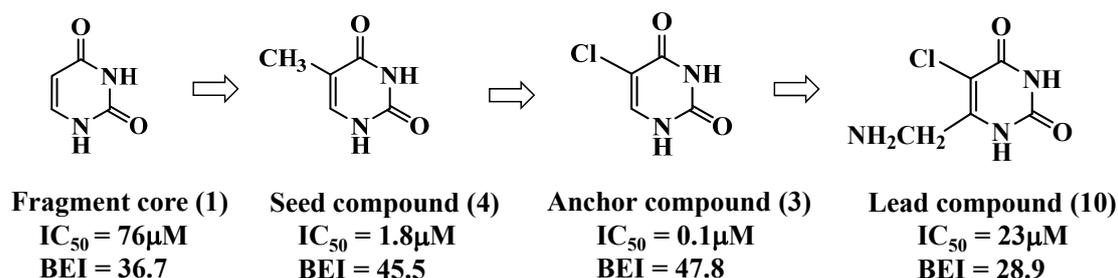


図 10. フラグメントコア (1) からリード化合物 (10) への化合物展開

リード化合物 (10) の  $\Delta G$  は式 (2) より  $-6.31\text{ kcal/mol}$  と計算される。目標とする阻害活性を  $\text{IC}_{50} = 10\text{ nM}$  とすると、その  $\Delta G$  は  $-10.88\text{ kcal/mol}$  となる。従って、この差  $\Delta\Delta G = -4.57\text{ kcal/mol}$  の結合自由エネルギーの変化を生む化合物を目指すことになる。水素結合が形成されると、エンタルピー ( $\Delta H$ ) は約  $-3\sim-5\text{ kcal/mol}$  変化するが、水素結合は自由度を失わせるなどのエントロピー/エンタルピー補償があるため、結合自由エネルギーの変化 ( $\Delta G$ ) としては  $-1\text{ kcal/mol}$  程度となる。従って、 $\text{IC}_{50} = 10\text{ nM}$  の阻害活性を実現するには水素結合以外に、アンカー化合物 (3) で見られた Cl 基による結合自由エネルギー変化 ( $\Delta\Delta G = -3.93\text{ kcal/mol}$ ) に相当する疎水性相互作用が必要であると考えた。

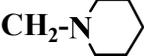
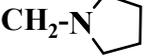
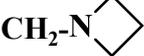
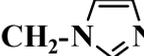
## 9 Hansch-Fujita (Classical QSAR) 法を用いたリード化合物 (10) の最適化

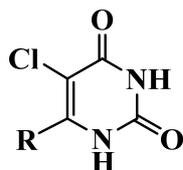
モデル化合物 (A, B) に対応する化合物をデザインするために、疎水性相互作用および水素結合に関わる、分配係数 ( $\log P$ ) および窒素原子の電荷 ( $N_{\text{charge}}$ ) をパラメータとして、自由エネルギー相関解析法である Hansch-Fujita (Classical QSAR) 法を用いた。

### 9-1 モデル化合物 (A) に対応する化合物の検討

$\text{NH}_3^+$ 基が水分子を介して Thr118 のバックボーン C=O 基との水素結合の形成を想定しているモデル化合物 (A) (図 9C) に対応する化合物 (10-20) を合成した (表 3) [31]。これらの化合物の有するアルキルアミノ基は、 $\text{pKa}$  が大きく生理的 pH では 4 級化していると考えられる。

表 3. モデル化合物 (A) に対応する化合物の物性 (CLOGP,  $N_{\text{charge}}$ ) と阻害活性 ( $IC_{50}$ )

Compd	R	CLOGP	$N_{\text{charge}}$	$IC_{50}$
10	$CH_2NH_2$	-1.055	-0.019	$2.3 \times 10^{-5} M$
11	$CH_2NHCH_3$	-0.639	-0.063	$1.2 \times 10^{-5} M$
12	$CH_2NHCH_2CH_3$	-0.110	-0.074	$2.0 \times 10^{-5} M$
13	$CH_2NHCH(CH_3)_2$	0.199	-0.074	$3.2 \times 10^{-5} M$
14	$CH_2NH(CH_2)_2CH_3$	0.419	-0.071	$2.1 \times 10^{-4} M$
15	$CH_2N(CH_3)_2$	-0.173	-0.080	$2.1 \times 10^{-5} M$
16	$CH_2NH(CH_2CH_3)_2$	0.885	-0.081	$3.4 \times 10^{-4} M$
17	$CH_2-N$ 	1.020	-0.086	$1.2 \times 10^{-4} M$
18	$CH_2-N$ 	0.461	-0.092	$2.2 \times 10^{-6} M$
19	$CH_2-N$ 	-0.098	-0.112	$2.6 \times 10^{-6} M$
20	$CH_2-N$ 	-0.644	-0.109	$1.0 \times 10^{-6} M$



ここで、阻害活性 ( $IC_{50}$ ) と化合物の物性との相関を解析した。化合物の疎水性パラメータとして、Bio-Loom [33] によるオクタノール-水分配係数 ( $\log P$ ) の計算値 CLOGP を用いた。一方、 $NH_2$  基の塩基性パラメータとして  $pK_a$  を考えたが、実測は簡単ではなく、また精度の高い計算値が得られなかったため、代わりに  $pK_a$  値に相関すると考えられる、量子化学計算 (PM3 法) により求めた窒素原子の電荷 ( $N_{\text{charge}}$ ) を用いた [34]。CLOGP と  $N_{\text{charge}}$  をパラメータとして重回帰分析を行うと QSAR 式 (5) が得られた。QSAR 式における、括弧内の  $n$  は化合物数、 $r$  は相関係数、 $s$  は標準偏差を表す。

$$\log(1/IC_{50}) = -1.03 \text{ CLOGP} - 23.7 N_{\text{charge}} + 2.87 \quad (5)$$

$$(n = 11, r = 0.863, s = 0.460)$$

QSAR 式 (5) は化合物の疎水性が低い程、窒素原子の負電荷の絶対値が大きい程、阻害活性が強くなることを表している。疎水性が低い方が望ましいという解析は一般的でないが、HTP の基質である thymidine の  $\log P$  は -1.94 でかなり疎水性が低いことを考え合わせると有り得ると考えた。また、阻害活性の強い化合物 (18-20) では窒素原子の負電荷の寄与が大きいことも分かる。

## 9-2 モデル化合物 B に対応する化合物の検討

次に、 $NH_3^+$  基が Ser117 のバックボーン C=O 基と直接水素結合を形成しているモデル化合物 (B) (図 9D) に対応する化合物として QSAR 式 (5) に基づいて、より負電荷の大き

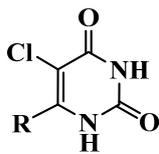
い imino (=NH) 基を導入した化合物 (21–28) を合成した [35]。QSAR 式 (5) を用いた予測では、全ての化合物が高活性であった。しかし、2 化合物 (23, 28) は予測に反して低活性であった (表 4)。そこで、低活性であった 2 化合物 (23, 28) には擬変数  $I=1$  を、その他の化合物 (10–22, 24–27) には  $I=0$  を与えて重回帰分析を行うと QSAR 式 (6) が得られた。この式 (6) の阻害活性を低下させている擬変数  $I$  は、HTP の構造が closed コンフォメーションになることで生じる立体障害の有無を表していると考えた。この解析結果は、一連の化合物は closed コンフォメーション (活性型) と相互作用して阻害活性を発現している証拠の一つと推測される。

$$\log(1/IC_{50}) = -0.443 \text{ CLOGP} - 12.9 \text{ N}_{\text{charge}} - 0.813 I + 3.68 \quad (6)$$

(n = 19, r = 0.807, s = 0.748)

表 4. モデル化合物 (B) に対応する化合物の物性と阻害活性

Compd	R	CLOGP	N <sub>charge</sub>	IC <sub>50</sub>
21	CH <sub>2</sub> SC(=NH)NH <sub>2</sub>	-1.005	-0.199	3.5 x 10 <sup>-7</sup> M
22	CH <sub>2</sub> SC(=NH)NHCH <sub>3</sub>	-0.249	-0.202	1.5 x 10 <sup>-7</sup> M
23	CH <sub>2</sub> SC(=NC <sub>2</sub> H <sub>5</sub> )NHC <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	0.678	-0.165	2.5 x 10 <sup>-5</sup> M
24	CH <sub>2</sub> NHC(=NH)CH <sub>3</sub>	-0.609	-0.166	1.5 x 10 <sup>-6</sup> M
25	CH <sub>2</sub> NHC(=NH)NH <sub>2</sub>	-1.885	-0.206	2.7 x 10 <sup>-7</sup> M
26	CH <sub>2</sub> N(CH <sub>3</sub> )C(=NH)NH <sub>2</sub>	-1.419	-0.245	3.0 x 10 <sup>-8</sup> M
27	CH <sub>2</sub> NHC(=NH)NHCH <sub>3</sub>	-1.136	-0.206	9.0 x 10 <sup>-8</sup> M
28	CH <sub>2</sub> NHC(=NC <sub>2</sub> H <sub>5</sub> )NHC <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	0.405	-0.231	3.1 x 10 <sup>-5</sup> M



## 10 最高血中濃度の改善と臨床移行化合物の決定

Imino 基の導入で阻害活性は強くなったが最高血中濃度が大きく低下した。QSAR 解析に基づく阻害活性は少し低下する懸念はあったが、化合物の疎水性を上げることで経口吸収の改善を試み、最終的に前臨床試験における安全性試験の結果により臨床移行化合物を決定した。

### 10-1 阻害活性の向上に伴う最高血中濃度の低下とその改善

ここで、化合物 (18, 20, 21, 25, 27) のマウス経口投与 (0.17mmol/kg: FTD 50mg/kg に相当量) における、最高血中濃度 (C<sub>max</sub>) を測定した (表 5)。Imino 基の導入で大きく阻害活性が向上した化合物 (21, 25, 27) の C<sub>max</sub> は、それぞれ 7.4μM、3.1μM、5.0μM と低かった。この C<sub>max</sub> を疎水性 (CLOGP) と窒素原子の負電荷 (N<sub>charge</sub>) で解析すると QSAR 式 (7) が得られた (表 6)。この QSAR 式 (7) は数少ない 5 化合物に対して 2 個のパラメータで解析しているので、統計的には有意でないけれども、C<sub>max</sub> を高めるには疎水性が高く、負電荷の小さい化合物が望ましいことを示している。この QSAR 式 (7) は、阻害活性に関する QSAR

式 (5,6) とは、CLOGP と  $N_{\text{charge}}$  の係数の正負が逆で、疎水性と負電荷に関して全く相反している。

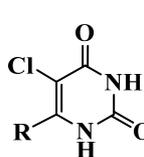
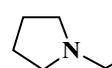
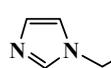
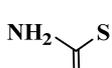
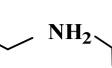
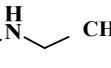
表 5. 化合物 (18, 20, 21, 25, 27) のマウス経口投与の最高血中濃度 ( $C_{\text{max}}$ )

Compd	$C_{\text{max}}(\mu\text{M})$
18	100
20	17
21	7.4
25	3.1
27	5.0

$$C_{\text{max}} = 5.10 \text{ CLOGP} + 66.7 N_{\text{charge}} + 22.0 \quad (7)$$

(  $n = 5$ ,  $r = 0.719$ ,  $s = 9.26$  )

表 6. 化合物 (18, 20, 21, 25, 27) の物性と阻害活性およびマウスにおける最高血中濃度

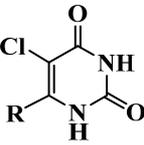
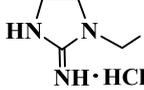
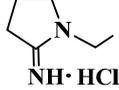
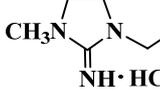
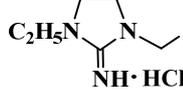
Compd	18	20	21	25	27
					
R					
CLOGP	-0.345	-0.795	-0.641	-1.953	-1.197
$N_{\text{charge}}$	-0.096	-0.104	-0.161	-0.203	-0.240
$\text{IC}_{50}(\mu\text{M})$	2.2	1.0	0.35	0.27	0.07
$C_{\text{max}}(\mu\text{M})$	100	17	7.4	3.1	5.0

$C_{\text{max}}$  を下げる原因ではあるが、阻害活性に大きく関与している負電荷の大きい imino 基はそのままに、 $C_{\text{max}}$  が高い化合物 (18) の構造を参考にして、疎水性を高めた環状の化合物 (29-32) を合成した [35] (表 7)。化合物 (29, 30) の  $C_{\text{max}}$  は  $12\mu\text{M}$ 、 $11\mu\text{M}$  で少し改善されたが、より疎水性の高い化合物 (31, 32) の  $C_{\text{max}}$  は低下した。これらの化合物 (21, 25, 27, 29-32) に関して得られた QSAR 式 (8) は、CLOGP に関して上に凸の 2 次式であるので CLOGP の最適値が求めることができ、 $\text{CLOGP}_{\text{opt}} = -0.923$  となる。このことは imino 基を有する限り、疎水性を上げて化合物 (29, 30) の  $C_{\text{max}}$  ( $12\mu\text{M}$ 、 $11\mu\text{M}$ ) 以上は望めないことを示している。従って、化合物 (29, 30) の  $C_{\text{max}}$  は決して高くはないが  $10\mu\text{M}$  以上はあったということで、この 2 化合物 (29, 30) を次の in vivo 試験に供した。

$$C_{\text{max}} = -4.43 \text{ CLOGP}^2 - 8.18 \text{ CLOGP} + 39.9 N_{\text{charge}} + 12.3 \quad (8)$$

(  $n = 7$ ,  $r = 0.795$ ,  $s = 3.47$  )

表 7. マウスにおける最高血中濃度 ( $C_{max}$ ) の改善を目指した化合物 (29–32)

Compd	29	30	31	32
				
<b>CLOGP</b>	-0.925	-0.366	-0.049	0.480
<b>N<sub>charge</sub></b>	-0.183	-0.157	-0.152	-0.171
<b>IC<sub>50</sub>(nM)</b>	13	35	46	360
<b>C<sub>max</sub>(μM)</b>	12	11	3.1	1.8

ここで、目標としていた阻害活性に最も近かった化合物 (29) ( $IC_{50}=13\text{nM}$ ) の  $\Delta G$  は、式 (2) より  $-10.73\text{ kcal/mol}$  と計算され、リード化合物 (10) の  $\Delta G$  は  $-6.31\text{ kcal/mol}$  であるので、結合自由エネルギーの変化 ( $\Delta\Delta G$ ) は  $-4.42\text{ kcal/mol}$  となる。この  $\Delta\Delta G$  は、化合物 (29) の C6 位置換基が、エントロピー変化 ( $-T\Delta S$ ) として Leu145 と Ser117 の周りの疎水サイト (図 8B) にある水分子を脱溶媒和したことと、エンタルピー変化 ( $\Delta H$ ) として正に荷電した imino ( $=\text{NH}_2^+$ ) 基が水素結合を形成することで得られた結合自由エネルギーの変化であると考えられる。

### 10-2 化合物 (29, 30) のマウスにおける FTD 血中濃度の上昇効果と制癌効果の増強

阻害活性が  $IC_{50} = 13\text{nM}$ ,  $35\text{nM}$  と強く、 $C_{max} > 10\mu\text{M}$  であった 2 化合物 (29, 30) について、担癌 (AZ521 ; ヒト胃癌) ヌードマウスにおける FTD の血中濃度を測定した (表 8)。

表 8. 化合物 (29, 30) による担癌 (AZ521) ヌードマウスにおける FTD の血中濃度

Group	FTD	+ Compd (mg/kg)	FTD	
			$C_{max}(\mu\text{M})$	$AUC_{0-8}(\mu\text{Mh})$
FTD alone	50	—	8.2	7.2
FTD + 29	50	43.2	17.9	14.6
FTD + 30	50	47.1	21.8	22.4

FTD の単独投与 ( $50\text{mg/kg}$ ) では FTD の血中濃度は  $C_{max} = 8.2\mu\text{M}$ 、 $AUC_{0-8} = 7.2\mu\text{Mh}$  であったが、等モルの化合物 (29, 30) を加えると、それぞれ  $C_{max} = 17.9\mu\text{M}$ 、 $AUC_{0-8} = 14.6\mu\text{Mh}$ 、と  $C_{max} = 21.8\mu\text{M}$ 、 $AUC_{0-8} = 22.4\mu\text{Mh}$  となり、化合物 (29) では約 2 倍、化合物 (30) では約 3 倍に、FTD の濃度を上昇させた。

さらに、担癌 (CO-3 ; ヒト大腸癌) ヌードマウスにおける制癌効果 (Inhibitoin rate; IR) を調べた結果、化合物 (29) より化合物 (30) の方が FTD の制癌効果を増強した (表 9)。以上、FTD の血中濃度の上昇効果と制癌効果増強の結果から、化合物 (30) を前臨床移行候

補化合物の一つに選んだ。

表 9. 化合物 (29, 30) の担癌 (CO-3) ノードマウスにおける制癌効果の増強

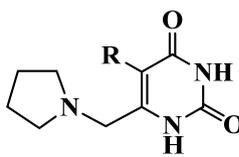
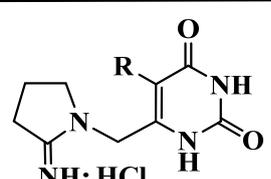
Group	FTD	+ Compd (mg/kg)	IR (%)
FTD alone	50	–	8.2
FTD + 29	50	43.2	17.9
FTD + 30	50	47.1	21.8

### 10-3 前臨床試験の安全性試験に基づく臨床試験移行化合物の決定

前臨床移行化合物を決めるに際して、化合物 (18) で代表される HTP と水分子を介して水素結合を形成している、モデル化合物 (A) に対応する化合物と、化合物 (30) で代表される HTP と直接水素結合を形成しているモデル化合物 (B) に対応する化合物として、2つのタイプの異なる化合物を選ぶ事とした。

そこで、化合物 (18) と化合物 (30) の uracil 部位の C5 位置換基として、Cl 基以外を再検討した (表 10)。その結果、Br 基で阻害活性が強くなり、BEI は Cl 基とほぼ同等であった化合物 (33) と、阻害活性は Br 基や I 基と同等で、BEI の良い化合物 (30) の 2 化合物を前臨床移行化合物とした。

表 10. 化合物 (18) と化合物 (30) の Uracil 部分の C5 位置換基の最適化

Compd	R	IC <sub>50</sub>	BEI
	Cl (18)	2.2 x 10 <sup>-6</sup> M	24.6
	Br (33)	5.1 x 10 <sup>-7</sup> M	23.0
	Cl (30)	3.5 x 10 <sup>-8</sup> M	30.7
	CH <sub>3</sub>	1.2 x 10 <sup>-7</sup> M	31.1
	Br	3.0 x 10 <sup>-8</sup> M	26.2
	I	3.0 x 10 <sup>-8</sup> M	22.5

前臨床試験において、マウスに、同量 (0.169mmol/kg) の化合物 (30) または化合物 (33) 、と FTD を同時に経口投与した時の化合物 (30) と化合物 (33) の C<sub>max</sub> と AUC<sub>0-8</sub> には大きな差があった (表 11)。化合物 (33) は C<sub>max</sub> と AUC<sub>0-8</sub> 共に良好であったけれども、安全性試験において神経毒が見られた。一方、化合物 (30) には神経毒は見られなかった。従って、化合物 (30) を Tipiracil (TPI) として、臨床試験移行化合物に決定した [36, 37]。

表 11. 化合物 (30, 33) のマウスにおける  $C_{max}$  と  $AUC_{0-8}$ 

Compd	$C_{max}$ ( $\mu$ M)	$AUC_{0-8}$ ( $\mu$ Mh)
30	11	17
33	80	130

## 11. 創薬遂行時の課題に関する事後考察

創薬を遂行していた時点で課題であった、HTP の closed コンフォメーション (活性型) の構造や HTP の反応機構における遷移状態構造に関して、2000 年以降になって報告がなされたので、これらについて考察を加えた。また、レトロスペクティブではあるが HTP の活性部位の水分子の解析を行った。

### 11-1 Closed コンフォメーション (活性型) の構造と TPI (30) の zwitterion 構造

2004 年になって、HTP に関して血管新生阻害の研究を進めていた AstraZeneca のグループにより、HTP/TPI (30) 複合体の X 線結晶解析が報告された (PDB code: 1UOU) [38]。予想通り TPI (30) は HTP の closed コンフォメーションに結合しており、uracil 環の -CONHCO- は Lys221、Ser217、Arg202 と 3 本の水素結合を形成していた (図 11)。

また予想した通り、imino ( $=NH_2^+$ ) 基は Ser117 の C=O 基と水素結合を形成していたが、もう一方の水素結合の相手はリン酸ではなく、リン酸結合サイトに存在している水分子であった。HTP/TPI 複合体のステレオ図 (図 11) には、X 線結晶解析では存在しなかったリン酸の存在すべき場所が示されている。そこで、水分子がリン酸の代りに TPI (30) の水素結合の相手になっていることから、リン酸がある場合にも、リン酸がない場合と同様な様式で TPI (30) は HTP と相互作用すると考えられる。従って結果論ではあるが、反応機構が定序 Bi Bi 機構もしくはランダム Bi Bi 機構のどちらであっても、TPI (30) は阻害活性を発現できる構造であったと言える。

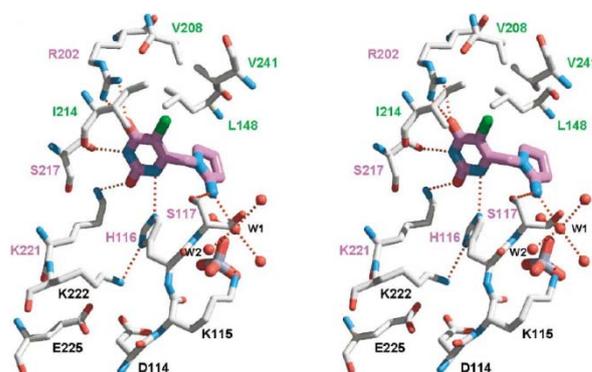


図 11. HTP/TPI (30) 複合体のステレオ図 (PDB code: 1UOU) [38]

※図 11 の引用掲載は出版社の許可を得ています

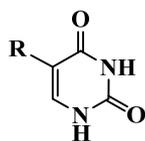
一方、AstraZeneca のグループは、C5 位が Cl 基である TPI (30) の uracil 環 N1 位の pKa 実測値 (論文としては未発表) が 6.05 ということから、N1 位はアニオンとなり TPI (30) は zwitterion 構造を取っていると推定している。TPI (30) が zwitterion であれば、反応機構においてプロトドナーである His116 との強い相互作用が想定される。従って、TPI (30) がこの zwitterion 構造を取れることが、その強い阻害活性の原因であるとしている。

ところで、C5 位に様々な置換基有する uracil 誘導体の実測 pKa の報告があり (表 12) [39]、pKa と Hammett 則の置換基定数 (メタ位)  $\sigma_m$  との相関は QSAR 式 (9) で示され、C5 位の電子吸引性基が大きい置換基程、pKa を下げている。ここで、N1 位の pKa を 6.05 とすると、QSAR 式 (9) から、C5 位置換基は  $\sigma_m = 0.64$  となり、Cl 基の  $\sigma_m = 0.37$  とはかけ離れた値になる。また、NO<sub>2</sub> 基は疎水ポケットに対して少し大き過ぎるかも知れないが、5-nitorouracil (6) は pKa = 5.30 であるにも拘らず、阻害活性は CH<sub>3</sub> 基 ( $\sigma_m = -0.07$ ) の thymine (4) より低く、IC<sub>50</sub> = 4.8 μM であった (表 2)。

Imino (=NH<sub>2</sub><sup>+</sup>) 基が TPI (30) の zwitterion 構造に寄与している可能性は考えられるが、本当に HTP の活性部位において TPI (30) が zwitterion 構造を取っているかどうかを知りたいと思われた。そこで、水素原子まで見ることが出来る中性子結晶構造解析により zwitterion 構造を確認しようと試みたが成功に至っていない。

表 12 C5 位に様々な置換基有する uracil の実測 pKa と Hammett  $\sigma_m$

R	pKa	$\sigma_m$
CH <sub>3</sub>	9.75	-0.07
CH <sub>2</sub> OH	9.27	0.00
CHO	6.84	0.35
CO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	9.01	-0.10
H	9.42	0.00
F	7.93	0.34
Cl	7.92	0.37
Br	7.91	0.39
I	8.13	0.35
O <sup>-</sup>	11.24	-0.47
NO <sub>2</sub>	5.30	0.71



$$\text{pKa} = -4.59 \sigma_m + 9.21 \quad (9)$$

$$(n = 11, r = 0.962, s = 0.507)$$

## 11-2 HTP の遷移状態の解析

遷移状態の電荷および形状に似せた遷移状態類似体は、基質類似体に比べて 10<sup>6</sup> 以上も結合親和性が強いとされている。従って、遷移状態構造の解明は TP 阻害剤デザインの有用な情報となる。しかし、創薬遂行時点では遷移状態構造を参考に阻害剤のデザインすることはできなかった。2003 年になって、HTP に関して速度論的同位体効果 (KIEs) を基に量子化

学計算 (BILYp/631G\*) を用いて  $S_N2$  様の thymidine 遷移状態モデルが報告された [40]。その報告は、TPI (30) は TP の遷移状態類似体であるとの報告 [41] に対して、imino ( $=NH_2^+$ ) 基を持つ iminopyrrolidine 環は TP の遷移状態の oxacarbenium 類似体としてではなく、リン酸の「キレーター」であるとしている。その理由は、purine nucleotide phosphorylase (PNP) の阻害剤 Immucillin-G ( $K_i = 30\text{pM}$ ) は  $K_m/K_i = 5,400,000$  であるのに対して、HTP の阻害剤である TPI (30) ( $K_i = 20\text{nM}$ ) は  $K_m/K_i = 3,000$  でしかないことを挙げている。

一方、同じく量子化学計算 (RHF/3-21G(d)) を用いて  $S_N1$  様の thymidine 遷移状態モデルも報告されている [42]。従って、現在も遷移状態が明確にされているとは言えない。また、遷移状態類似体と主張する阻害活性の報告はあるが [43]、その阻害活性は  $IC_{50} = 17\text{nM}$  であり、Immucillin-G と同程度の高い  $K_m/K_i$  値を有する阻害剤は未だ報告されていない。

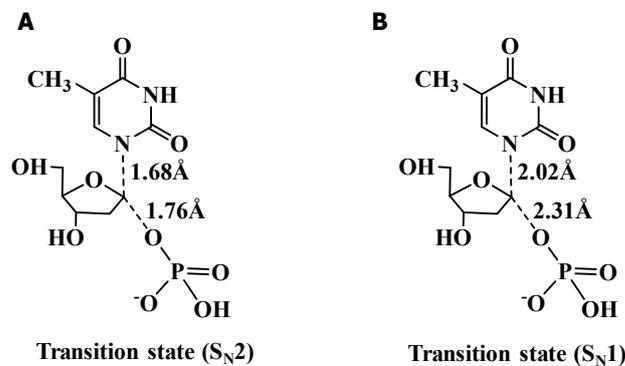


図 12. HTP 遷移状態モデル (A)  $S_N2$ 、(B)  $S_N1$

### 11-3 WaterMap による HTP の活性部位の水分子の解析

5-chlorouracil (3) の 6 位に導入した 2-iminopyrroldinylmethyl 基が、活性部位に存在していた水分子を脱溶媒和したことで結合親和性を向上させたと推定される。しかし、果たして脱溶媒和した水分子は適切であったか、また、脱溶媒和した方が望ましい水分子がまだ残っていないかなど、水分子に関しては何も情報のない中で分子設計を実行せざるを得なかった。そこで、シュレーディング社の協力の下、WaterMap [44] を用いて HTP の水とサイトの検出と水分子の自由エネルギー解析を行った。

TPI/HTP 複合体の X 線結晶解析 (PDB code: 1UOU) において、各水分子の脱溶媒和自由エネルギー ( $\Delta G = \Delta H - T\Delta S$ ) を、横軸に  $\Delta H$ 、縦軸に  $-T\Delta S$  として、図 13A に示した。脱溶媒和することが有利な水は、 $\Delta G > 0$  の高エネルギーの水分子である。一方、 $\Delta G < 0$  の水分子は、脱溶媒和にエネルギーを必要とするため不利となる。また、 $\Delta H < 0$  の水分子は電荷をもつアミノ酸の近傍で周辺の水より強くタンパクと相互作用している。一方、 $\Delta H > 0$  の水分子は、疎水性のアミノ酸の近傍で周辺の水より弱くタンパクと相互作用している。従って、高エネルギーで疎水性サイトにあり、比較的エンピーの寄与の小さい水分子 ( $\Delta G > 0$ ,  $\Delta H > 0$ ,  $-T\Delta S < 2$ ) の脱溶媒和は低リスクで大きな活性への寄与が望める。一方、高エネルギーでもエントロピーの寄与が大きい水分子 ( $\Delta G > 0$ ,  $-T\Delta S > 3$ ) の脱溶媒和も大きな活性

への寄与が望めるがリスクは高いと考えられる。

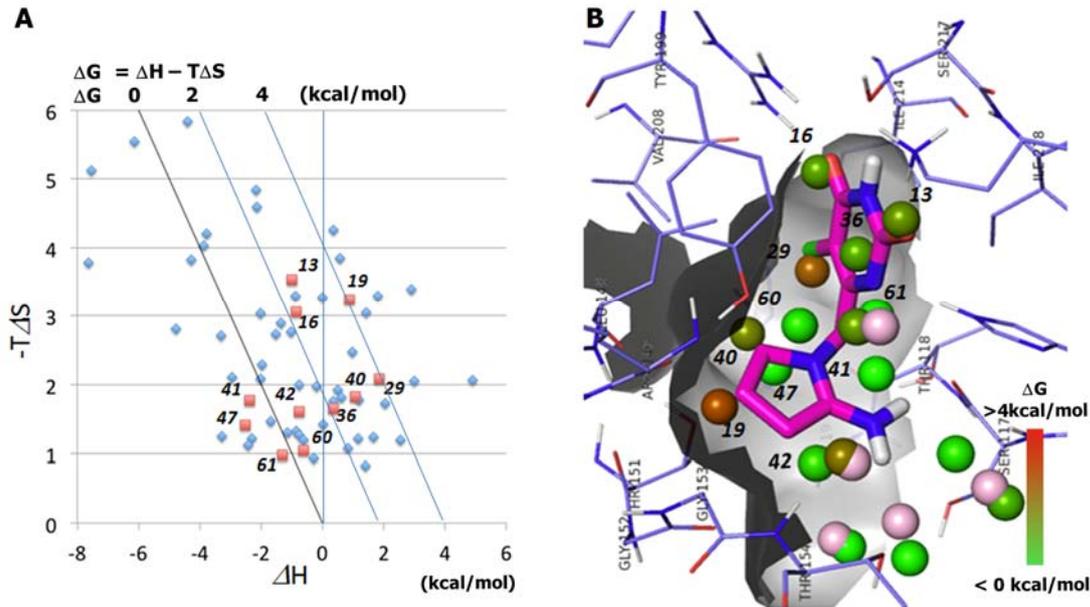


図 13. WaterMap による解析 (データ提供: シュレーディングガー株式会社)

(A) 赤■: TPI が脱溶媒和した水分子、青◇: 脱溶媒和されていない水分子

(B) TPI 結合部位近傍の水分子の脱溶媒和自由エネルギー ( $\Delta G$ )

TPI の分子が脱溶媒和したと考えられる 11 個の水分子は赤■で、他の水分子は青◇で示した (図 13A)。脱溶媒和した水分子の内 8 個の水分子 (13, 16, 19, 29, 36, 40, 42, 60) は、 $\Delta G > 0$  の高エネルギーの水であった。脱溶媒和しない方が望ましい  $\Delta G < 0$  の 3 個の水分子 (41, 47, 61) も TPI によって脱溶媒和されているが、ここでのエネルギーロスは他の脱溶媒和エネルギーで十分に補償されていると考えられる。

$\Delta G > 2\text{kcal/mol}$  の水分子 (13, 16, 19, 29, 36, 40) に関して、 $\Delta H > 0$  の水分子 (19, 29, 36, 40) は、GRID 解析 (図 8B) で示した疎水性サイトに存在していた。水分子 (19, 40) は TPI の pyrrolidine 環部位の  $\text{CH}_2$  基が、水分子 (29) は uracil 部位の 5 位 Cl 基が、水分子 (36) は uracil 環がそれぞれ脱溶媒和した水と考えられる。また、Arg202 および Lys221 近傍にあった  $\Delta H < 0$  の水分子 (13, 16) は uracil 部位の  $\text{C}=\text{O}$  基が脱溶媒和した水である。

図 13B に、TPI 結合部位近傍の水分子の脱溶媒和自由エネルギー ( $\Delta G$ ) を、緑から赤色の球 (0~4 kcal/mol) で示した。X 線結晶解析で見出されている水分子をピンク色の球で示した。水分子 (43) の近傍に TPI では脱溶媒和されていない脱溶媒和自由エネルギー ( $\Delta G$ ) が高い水分子の存在を確認できる。従って、この水分子も脱溶媒和できる化合物をデザインすることができれば、更なる阻害活性の向上が期待される。

以上の様に、標的分子の活性部位に存在する水の中で、自由エネルギー解析に基づいて脱溶媒和すべき水分子を選び出せることは、論理的創薬の確度を大きく高めることができると考えられる。

## 12 おわりに

論理的 *in silico* 創薬の実践として、標的タンパクである HTP の 3 次元構造を構築し、FBDD の考え方に基づいてリード化合物を見出し、阻害活性と化合物の物性との相関解析に基づいて、リード化合物から構造最適化により Thipiracil (TPI) を創製するに至った [45]。それまでに合成した約 500 個の化合物より得られた情報を基に、SBDD を開始してから半年、約 50 個の化合物の合成で Thipiracil (TPI) に至ったことは、論理的 *in silico* 創薬の成功例の一つと言えるかと思う。しかし、実際にロンサーフ™ の創製に用いた創薬の知識と技術は十分とは言えなかった。現在の様に最初からベストインクラスを目指して、等温滴定型カロリメトリー(ITC) 等を用いて、自由エネルギーの視点からエンタルピーとエントロピーの変化 ( $\Delta H, -T\Delta S$ ) に基づいて、創薬を実践できた訳ではなかった [46–49]。また、uracil 環の N1 位の  $pK_a$  は阻害活性との関係はないと考え、N5 位置換基に関して Hammett  $\sigma$  に代表される置換基の電子的効果は考慮しなかった。また、化合物の  $pK_a$  も実測しなかったため、TPI の zwitterion 構造の可能性には考えが至らなかった。

しかしながら、TP 阻害剤は 1960 年代から研究されていたにも拘らず、阻害活性の強い化合物は開発されていなかった (図 5)。また、現在に至るまで TPI (30) を越える HTP 阻害剤は開発されていない [50]。そこで、首尾よく TPI の創製に至ったいくつかの要因を列記してみたいと思う。

- (1) 精製度の高い HTP を用いたアッセイ系が弱い阻害活性 ( $IC_{50} < 100 \mu M$ ) データを保証した。

例えば、低活性な uracil ( $IC_{50} = 76 \mu M$ ,  $\Delta G = -5.60 \text{ kcal/mol}$ ) の数値データがあったことで、5 位への Cl 基の導入による疎水性相互作用は  $\Delta\Delta G = -3.92 \text{ kcal/mol}$  であることが分かり、6 位への置換基導入を検討する際に、阻害活性を上げるに必要な疎水性相互作用のエネルギーを見積もることが出来た。

- (2) 構築した HTP の 3 次元モデルは SBDD に利用できるまでの信頼性があった。  
結果的に、構築した HTP の 3 次元モデル: open (不活性型) / closed (活性型) の妥当性は、後の X 線結晶解析結果で確認された。

- (3) *In silico* FBDD を可能にした GRID 解析の考え方

GRID 解析により HTP 活性部位の水素結合サイトと疎水性サイトを予測できたことで、化合物設計の方針を明確に示すことができた。

- (4) 水溶解性の問題がなく、合成的にも構造展開し易いリード化合物を見出した。
- (5) 化合物の疎水性 ( $\log P$ ) として計算値と実測値を用いた。

阻害活性と経口吸収に関わる化合物の疎水性のパラメータである  $\log P$  の値を正確に知ることは重要である。しかし、 $\log P$  の計算値 CLOGP の精度は決して高くないので、Thin-layer chromatography (TLC) 法により実測した全化合物の  $\log P$  を QSAR 解析結果などの考察に用いた [51]。

(6) 自由エネルギー相関解析である QSAR 解析を SBDD と相補的に用いた。

QSAR 解析は、化合物側の物性パラメータのみで活性との相関を解析するので、正しいとは限らない標的タンパク側の構造情報に惑わされないという利点を生かして、SBDD に基づいた予測との整合性を確認した。

その他にも要因はいろいろと考えられるが、プロジェクトが数々の課題に対峙した際に、各々のメンバーが専門とする観点から解決策を提案し、労を惜しまない努力の積み重ねがプロジェクトの成功に繋がったことは間違いない。例えば、imino (=NH<sub>2</sub><sup>+</sup>) 基を有する化合物の最高血中濃度 (C<sub>max</sub>) が極めて低いという結果が出た時に、陽電荷を持つ化合物は腸管に留まり易い傾向があるとのコメントに対して、その明るる日には、当該化合物の腸管内濃度が測定されていたということがあった。

以上、ロンサーフ<sup>TM</sup>の創薬過程について述べたが、新薬の承認に至るまでには、創薬以上に長い期間と高いハードルの臨床試験が待っている。ロンサーフ<sup>TM</sup> 開発物語の臨床試験に関する開発編は CBI 学会誌の次号に掲載の予定。

## 謝辞

ロンサーフ<sup>TM</sup>のプロジェクトに関わった全ての方々に深謝致します。誰一人欠けても新薬に到達することはなかったことは確かです。また、1986年にCBI学会研究講演会で講演された折、GRID解析を用いた *in silico* FBDDによる分子設計のやり方を教えて頂いた Peter Goodford 教授 (オックスフォード大学) に深謝致します。

## 参考文献

- [1] 遠藤良夫, 佐々木琢磨, ヌクレオシド系核酸拮抗剤の作用機序と耐性化, 金沢大学十全医学会雑誌, **2006**, *115*, 51–55.
- [2] Duschinsky, R.; Shunitzer, R. J.; Heidelberger, C. The synthesis of 5-fluoropyrimidines. **1957**, *J. Am. Chem. Soc.* *79*, 4559–4560.
- [3] Heidelberger, C.; Ansfield, F. J. Experimental and clinical use of fluorinated pyrimidines in cancer chemotherapy. *Cancer Res.* **1963**, *23*, 1226–1243.
- [4] Dexter, D. L.; Wolberg, W. H.; Ansfield, F. J.; Helson, L.; Heidelberger, C. The clinical pharmacology of 5-trifluoromethyl-2'-deoxyuridine. *Cancer Res.* **1972**, *32*, 247–253
- [5] Heidelberger, C.; Persons, D.; Remy, D. C. The synthesis of 5-trifluoromethyluracil and 5-trifluoromethyl-2'-deoxyuridine. **1962**, *J. Am. Chem. Soc.* *84*, 3597–3598.
- [6] Ansfield, F. J.; Ramirez, G. Phase I and phase II studies of 2'-deox-5-(trifluoromethyl)-uridine (NSC-75520). *Cancer Chemother. Rep.* **1971**, *55*, 205–208.
- [7] Langen, P.; Erzold, G.; Brawolff, D.; Preussel, B. Inhibition of thymidine phosphorylase by 6-aminothymine and derivatives of 6-aminouracil. *Biochem. Pharmacol.* **1967**, *16*, 1833–1837.

- [8] Takeda, S.; Yamashita, J.; Saito, H.; Uchida, J.; Satake, H. et al. Antitumor activity of FTC-092, a masked 5-trifluoromethyl-2'-deoxyuridine derivative, *Cancer Chemother. Pharmacol.* **1991**, *29*, 122–126.
- [9] Miyazono, K.; Okabe, T.; Urabe, A.; Takaku, F.; Heldin, C.H. Purification and properties of an endothelial cell growth factor from human platelets. *J. Biol. Chem.* **1987**, *267*, 4098–4103.
- [10] Furukawa, T.; Yoshimura, A.; Sumizawa, T.; Haraguchi, M.; Akiyama, S. et al. Angiogenic factor. *Nature* **1992**, *356*, 668.
- [11] Baker, B. R.; Hopkins, S. E.; Irreversible enzyme inhibitors. CLXVII. Thymidine phosphorylase. X. On the nature and dimensions of the hydrophobic bonding region. II. *J. Med. Chem.* **1970**, *13*, 87–89.
- [12] Walter, M. R.; Cook, W. J.; Cole, L. B.; Short, S. A.; Koszalka, G. W. et al. Three-dimensional structure of thymidine phosphorylase from *Escherichia coli* at 2.8Å resolution. *J. Biol. Chem.* **1990**, *265*, 14016–14022.
- [13] Correa, P. E.; The building of protein structure from  $\alpha$ -carbon coordinates. *PROTEINS*, **1990**, *7*, 366–377.
- [14] Momany, F. A.; Rone, R. Validation of the general purpose QUANTA3.2/CHARMm force field. *J. Comput. Chem.* **1992**, *13*, 888–900.
- [15] Barton, G. J.; Ponting, C. P.; Spraggon, G.; Finnis, C.; Sleep, D. Human platelet-derived endothelial cell growth factor is homologous to *Escherichia coli* thymidine phosphorylase. *Protein Sci.* **1992**, *1*, 688–690.
- [16] Pugmire, M. J.; Ealick, S.E. The crystal structure of pyrimidine nucleoside phosphorylase in a closed conformation. *Structure* **1998**, *6*, 1467–1479.
- [17] Schwartz, M. Thymidine phosphorylase from *Escherichia coli*. Properties and kinetics. *Eur. J. Biochem.* **1971**, *21*, 191–198.
- [18] Iltzsch, M. H.; el Kouni, M. H.; Cha, S. Kinetics studies of thymidine phosphorylase from mouse liver. *Biochemistry*, **1985**, *24*, 6799–6807.
- [19] Jencks, W. P. On the attribution and additivity of binding energies. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **1981**, *78*, 4046–4050.
- [20] Andrews, P. R.; Craik, D. J.; Martin, J. L. Functional group contribution to drug-receptor interaction. **1984**, *27*, 1648–1657.
- [21] Goodford, P. J. A computational-procedure for determining energetically favorable binding-sites on biologically important macromolecules. *J. Med. Chem.* **1985**, *28*, 849–857.
- [22] Blundell, T. L.; Patel, S. High-throughput X-ray crystallography for drug discovery. *Curr. Opin. Pharmacol.* **2004**, *4*, 490–496.
- [23] Wong, C. F.; McCammon, Dynamics and design of enzyme and inhibitor. *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, *108*, 3830–3832.

- [24] Kuntz, L. D.; Chen, K.; Sharp, K. A.; Kollman, P.A. The maximal affinity of ligand. *Proc. Natl. Sci. USA*. **1999**, *96*, 9997–10002.
- [25] Hopkins, A. J.; Groom, C. R.; Alex, A. Ligand efficiency: A useful merit for lead selection. *Drug Discovery today* **2004**, *9*, 430–431.
- [26] Abad-Zapatero, C.; Metz, J.T. Ligand efficiency indices as guideposts for drug discovery., *Drug Discovery Today* **2005**, *10*, 464–469.
- [27] Niedzwicki, J. G.; Kouni, M. H.; Chu, S. H.; Cha, S. Structure-activity relationship of ligands of the pyrimidine nucleoside phosphorylases. *Biochem. Pharmacol.* **1983**, *32*, 399–415.
- [28] Esteban-Gamboa, A.; Balzarini, J.; Esnouf, R.; Clecq, E. D.; Camarase, M. et al. Design, synthesis, and enzymatic evaluation of multisubstrate analogue inhibition of *Escherichia coli* E thymidine phosphorylase. *J. Med. Chem.* **2000**, *43*, 971–983.
- [29] Diab, S. A.; Schutter, C. D.; Muzard, M.; Plantier-Royon, R.; Pfund, E. luorophosphorylated nucleoside derivatives as new series of thymidine phosphorylase multisubstrate inhibitor. *J. Med. Chem.* **2012**, *55*, 2758–2768.
- [30] Molecular Operating Environment (MOE) 2011.10. Chemical Computing Group, Montreal, Canada.
- [31] Yano, S.; Kazuno, H.; Suzuki, N.; Emura, T.; Wierzba, K. et al. Synthesis and evaluation of 6-methylene-bridged uracil derivatives. Part 1: discovery of novel orally active inhibitors of human thymidine phosphorylase. *Bioorg. Med. Chem.* **2004**, *12*, 3431–3441.
- [32] Yalkowsky, S. H.; Morozowich, W. In *Drug Design*; Ariens, E. J. Ed.; Academic Press: New York, 1980; Vol. 9, 148–156.
- [33] Bio-Loom for Windows, V. 1.5, BioByte Corporation, Claremont, CA, USA
- [34] Stewart, J. J. P. Optimization of parameters for semiempirical methods II. Applications *J. Comput. Chem.* **1989** *10*, 221–264
- [35] Yano, S.; Kazuno, H.; Sato, T.; Suzuki, N.; Emura, T. et al. Synthesis and evaluation of 6-methylene-bridged uracil derivatives. Part 2: optimization of inhibitors of human thymidine phosphorylase and their selectivity with uridine phosphorylase. *Bioorg. Med. Chem.* **2004**, *12*, 3443–3450.
- [36] Suzuki, N.; Ito, M.; Takechi, T. Discovery and development of trifludine/tipiracil (Lonsurf<sup>TM</sup>). In *Successful drug discovery*. Fischer, J.; Klein, C.; Chider, W. E. Eds. Wiley-VCH, Weinheim, **2018**, Vol 3, 417–441.
- [37] Fukushima, M.; Suzuki, N.; Emura, T.; Yano, S.; Kazuno, H. et al. Structure and activity of specific inhibitors of thymidine phosphorylase to potentiate the function of antitumor 2'-deoxyribonucleosides. *Biochem. Pharmacol.* **2000**, *59*, 1227–1236.
- [38] Norman, R. A.; Barry, S. T.; Bate, M.; Breed, J.; Colls, J. G. et al. Crystal structure of human thymidine phosphorylase in complex with a small molecule inhibitor. *Structure* **2004**, *12*, 75–

84.

- [39] Privat, E. J.; Sowers, L. C. A proposed mechanism for the mutagenicity of 5-formyluracil. *Mutat. Res.* **1996**, *354*, 154–156.
- [40] Birck, M. R. ; Schramm, V. L . Nucleophilic participation in the transition state for human thymidine phosphorylase. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 2447–2453.
- [41] Price, M.L.; Guida, W. C.; Jackson, T. E.; Nydick, J. A.; Gladstone, P. L. et al. Design of novel *N*-(2,5-dioxo-1,2,3,4-tetrahydro-thieno[3,2-*d*] pyrimidin-7-yl)-guanidines as thymidine phosphorylase inhibitors, and flexible docking to a homology model. **2003**, *13*, 107–110.
- [42] Mendieta, J.; Martin-Santamaria, S.; Priego, E.; Balzarini, J.; Camarasa, M. et al. Role of histidine-85 in the catalytic mechanism of thymidine phosphorylase as assessed targeted molecular dynamics simulation and quantum mechanical calculation. *Biochemistry* **2004**, *43*, 405–414.
- [43] Jain, H. V.; Rasheed, R.; Kalman, T.I. The role of phosphate in the action of thymidine phosphorylase inhibitors: Implication for the catalytic mechanism. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2004**, *20*, 1648–1651.
- [44] Schrödinger Release 2012-2: WaterMap, Schrödinger, LLC, New York, NY, 2012.
- [45] Tada, Y.; Kazuno, H.; Sato, T.; Suzuki, N.; Emura, T. et al. Molecular modeling study of the thymidine phosphorylase inhibitor by SBDD and classical QSAR analysis. *CBIJ.* **2017**, *17*, 19–29.
- [46] Freire, E. Do enthalpy and entropy distinguish first in class from best in class? *Drug Discov. Today* **2008**, *13*, 869–874.
- [47] Edink, E.; Jansen, C.; Leurs, R.; de Esch, I. J. P. The heat is on: thermodynamic analysis in fragment-based drug discovery. *Drug Discov. Today Technol.* **2010**, *3*, e189–e201.
- [48] Reynolds, C. H.; Holloway, M. K. Thermodynamics of ligand binding and efficiency. *ACS. Med. Chem. Lett.* **2011**, *2*, 433–437.
- [49] Bissantz, C.; Kuhn, B.; Stahl, M. A medicinal chemist's guide to molecular interaction. *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 5061–5084.
- [50] Sperotto, N.; Deves, R. C.; Rodrigues-Junior, V. S. ; Ev Neves, C. et al. Design of novel inhibitors of human thymidine phosphorylase: synthesis, enzyme inhibition, in vitro toxicity, and impact on human glioblastoma cancer. *J. Med. Chem.* **2019**, *62*, 1231–1245.
- [51] Tada, Y.; Yamawaki, I.; Ueda, S.; Matsumoto, H.; Matsuura, N. et al. Optimal lipophilicity of sulfonium *p*-toluenesulfonates as anti-allergic drug. **2012**, *CBIJ.* *12*, 25–38.

## シリーズ もっと聞きたいもっと知りたい話

### 第 400 回 CBI 学会 講演会

#### 「ポストガイドライン時代における薬物相互作用 (DDI) 解析への取り組み」

昨年 12 月に開催された第 400 回 CBI 学会 講演会「ポストガイドライン時代における薬物相互作用 (DDI) 解析への取り組み」の講演内容を、世話人のお一人である前田 和哉先生（東京大学大学院薬学系研究科）に解説をして頂きました。

※本講演会は 2018 年 12 月 19 日（水）東京大学山上会館にて開催されました。開催概要は講演会報告をご参照ください。



本講演会では、日本版ガイドラインの最終化がされたことから話題となっている薬物相互作用をテーマとして取り上げた。規制文書としてのガイドラインが出来上がったからといって、薬物相互作用の予測は全て完璧にこなせるというわけではなく、まだまだ考えるべき課題が山積している。それ故、定期的に研究の進歩を共有しながら、新しい方向性を模索する必要があると考えられる。ここでは、薬物相互作用の予測を考える際に、ガイドラインには明記されていないが重要であるトピックのうち 3 つを重点的に取り上げ、議論する場とした。

- ①代謝酵素・トランスポーターの寄与率の予測
- ② PBPK モデル vs. 簡易モデル
- ③内在性バイオマーカーに基づく DDI リスク予測

いずれのトピックも今後のより精緻な薬物相互作用予測においては重要な課題ではあるが、その予測のための方法論はいずれも発展途上であり、まだコンセンサスがとられていない。従って、個々人それぞれの立場・意見があることから、今の段階では、どれが正解ということではなく、こういうオープンな場でいろんな意見を戦わせ、講演のみならず議論も十分に行うことは、次の課題の共有や克服に向けてのアイディアを出しあういい機会であると考えられる。ここでは、その雰囲気をご本稿で皆様にご紹介できれば幸いである。

Topic 1 では、「代謝酵素・トランスポーターの寄与率の予測」と題して、相互作用リスクの定量的予測において、血中の薬物暴露 (AUC) の上昇率を決定づけるパラメータの一つである、標的とする分子が薬物のクリアランス全体に占める寄与率を求める方法論について議論を行った。

東京大学の前田は、CYPs を介した相互作用における基質薬物の  $f_m$  (寄与率) および阻害薬の  $K_i$  値の決定にあたって、現在用いられている方法論 (*in vitro*, *in vivo*) における課題をまとめると共に、親化合物の血中濃度変動に関する臨床 DDI 試験データのみではクリアできない  $f_m$ ,  $K_i$  の同時決定の問題について、代謝物の血中濃度変動に関するデータを加味することで実現可能とした実例を示した。さらに本方法論を適用する際に問題となる代謝物の薬物動態パラメータに関するデータが乏しく、数理モデル解析の際にフリーにせざるを得ないパラメータが多数存在するため、従来から用い

られているパラメータ最適化手法では、同時最適化は困難であり、東工大の小長谷先生らの開発された cluster Newton method を導入することにより初めて実現化できたことを発表した。

一方、理化学研究所の杉山先生は、特定のトランスポーター分子種が膜透過全体に占める寄与率を求める方法論について、主に幅広い有機アニオン類を基質とする OATP (organic anion transporting polypeptide) 類の基質について、OATP1B1, OATP1B3 を介した取り込みおよび受動拡散による膜透過クリアランスを分離評価するための方法論に関する現状と課題を発表された。実際、OATP1B1 の遺伝子多型や OATPs を介した薬物間相互作用による基質薬物の AUC 上昇率が基質によって異なるのは、上記のパラメータが薬物により異なることに由来すると考えられ、これらの正確な見積もりが、トランスポーター機能変動時の薬物動態の変動を定量的にとらえるために必須であることを示した。特に、passive-to-active transport ratio に相当する  $R_{dir}$  値や、肝臓内の薬物の振り分けを決定づける  $\beta$  値の見積もりが今後の課題になるとの見解を示した。

千葉大学の樋坂先生は、日本の DDI ガイドライン策定に長年携わってきた立場から、ガイドラインの策定により、



DDI の評価においてどこに注目すべきであるかといった留意点が整理されたり、臨床 DDI 試験においても、遺伝子多型による事前層別化の必要性やカクテル試験の活用など、新たな研究デザインを提示することができた点で、ガイドラインの果たす役割は大きいとした。一方で、定量的な DDI リスクの予測については、必ずしも満足のいくレベルには達しておらず、今後も最適ナリスク評価法を科学的に追及していく必要があることを話された。それらを踏まえて、これまでに自らが開発した簡便な相互作用リスク評価法である PISCS (Pharmacokinetic Interaction Significance Classification System) の拡張として、薬物相互作用リスクを臨床データと *in vitro* データの両方を全て一気に投入して、

全体に対する最適化を行うことで、網羅的に各薬物の対象代謝酵素に対する寄与率や阻害率を同時に推定する方法論や、消化管と肝臓の CYP3A, P-gp の寄与の切り分けを簡便に行う方法、主要 5 CYP 分子種の寄与率の同時切り分け法等情報科学を駆使した新たな手法を紹介された。

ここでは、特に評価された寄与率の *in vitro-in vivo* 間の乖離が代謝・トランスポーターの両方で観察されており、この乖離のメカニズムの解明や、今後どのようにして非臨床段階において、ヒト個体レベルでの寄与率を明確にし、薬物相互作用のリスク評価をより正確にしていくか? といった話題が占めた。ただ、寄与率の正しい評価ができない限りにおいては、薬物相互作用の定量的予測は不可能である点では一致しており、どのようにして正しい値を評価するかについて、より多くの臨床データ集積の必要性と共に、それぞれの *in vitro/in vivo* 評価法の検証・最適化が必要になるという印象であった。

Topic 2 では、「PBPK モデル vs. 簡易モデル」と題して、static model による簡易的な DDI リスク評価法と、dynamic model による生理学的薬物速度論 (PBPK) モデルを用いたより詳細に踏み込んだ評価法の事例を示したうえで、現在できるようになったことおよび今後の課題について 3 名の先生方に話題提供をいただいた。

中外製薬の加藤先生は、CYP3A4 誘導を *in vitro* 試験の結果に基づき簡便に評価するための方法論 (relative factor (RF) 法) を考案され、これまでにガイドラインなどで公表されてきた複数の方法と予測精度を比較することで、自身の方法において、 $EC_{50}$ ,  $E_{max}$  の定量的評価を求めない点での簡便さ、有用性について講演された。また、後半では、CYP3A4 誘導

薬併用時の被相互作用薬の評価として、内在性化合物の挙動と CYP3A 基質薬物の AUC 変動との関連性について検討を実施したところ、rifampicin による肝臓、小腸の固有クリアランスの変動率はほぼ同等であることを見出し、同じ転写因子 (PXR) による誘導であることが共通性を持たせている可能性があることを示唆していた。

小野薬品工業の浅海先生は、rifampicin が持つ薬物動態に与える多面的な作用、すなわち CYPs および OATP1B1 に対する誘導効果、OATP1Bs に対する阻害効果、自身の OATP1Bs による肝取り込みを介した濃縮、自身のクリアランス機構誘導による反復投与時の薬物動態変動など複数の要因を全て加味した PBPK モデルを、複数の臨床 DDI 試験データを活用して論理的に構築した事例を話された。これまで、それぞれをバラバラに説明する数理モデルの提案は行われていたが、これだけ多くの事象を一気に説明可能なモデル構築はあまり例がなく、段階を追ったモデル構築 strategy も含めて非常に興味深かったと考えられる。

第一三共の奥平先生からは、PBPK モデルを活用した解析が、臨床 DDI 試験デザインの refinement に対してどのような貢献がなされてきたかについて、文献情報を元にして情報をまとめて報告された。特に、患者等 special population における DDI リスク予測において考慮すべき点を中心に紹介された。例えば、健常成人における DDI 試験の結果をもとにして、がん患者における DDI リスクを予測できるかについて、健常成人とがん患者における薬物動態を支配するパラメータの変動に加えて、炎症反応に基づく代謝酵素・トランスポーター・結合たんぱく質の発現変動が起こることをも加味する必要があることを示唆する報告の紹介や、抗血小板薬の PBPK モデルによる DDI リスク評価において、肝障害患者において、CYP3A 阻害薬との DDI リスクがさらに増強されることをシミュレーションにより示した事例を紹介され、複合要因が絡む際の PBPK モデルによる DDI リスク予測の展望と課題についてサマリーされた。

このセクションでは、PBPK モデルのような阻害率の経時変化を考慮したより現実に近いモデルの活用が精緻な予測に貢献することは確かである。しかしモデルを作成する際に、多数のモデルパラメータを恣意性なく最適化する必要があり、そのユニバーサルな方法論の確立ができていないことから、誰にでもすぐに取り扱うことができない状況にある。今後、標準的なプロトコール作成や十分な検証法の確立がカギを握っているといえる。一方、前臨床段階におけるデータの少ない段階においては、簡便なモデルによる大雑把な化合物特性の分類もまた創薬においては求められており、開発段階の情報量の違いに併せる形で、そのステージにあった予測法を模索していく必要性が考えられた。

Topic 3 では、「内在性バイオマーカーに基づく DDI リスク予測」と題して、最近注目を集める内在性化合物の挙動を観察することで、新薬の相互作用薬としてのリスク評価を実施する方法論の構築の現状について議論がされた。

最初に理化学研究所の杉山先生から、内在性バイオマーカーを用いた DDI リスク評価の有用性について概要をお話になった。特に現行の DDI ガイドラインにおいては、static model の結果に基づき臨床 DDI 試験の必要性が議論されているが、非常に多くの false-positive な予測がある中で、本来不必要な臨床 DDI 試験が執り行われうる現状を打破するために、内在性バイオマーカーの挙動を観察することで、*in vivo* での各代謝酵素・トランスポーターの機能変動を定量的にとらえる有用性を示された。さらに、その変動を PBPK モデル解析を通じて、薬物の DDI リスクの定量的な評価へとつなげる研究が進行中であることが実例と共に示された。

東京大学の楠原先生からは、腎トランスポーターの内在性バイオマーカーの探索に関する現状の発表がなされた。古くは、MATEs のマーカーとしての N-methylnicotinamide に



始まり、OAT1, OAT3プローブとしての taurine, 6 $\beta$ -hydroxycortisol/GCDCA-S 等複数のプローブが探索されつつあり、これらを用いて DDI 試験時における阻害薬による各トランスポーターの阻害の有無や阻害強度を推定可能である臨床事例が複数取り上げられた。

一方、横浜薬科大学の吉門先生は、肝トランスポーターに関する内在性バイオマーカーの探索に関する現状をお話になり、特に OATPs の内在性基質の CP-1 (coproporphilin-1) が、日内変動も少なくベースラインの安定性に優れたバイオマーカーになることを示した。さらに、PBPK モデルを構築し、CP-1 の阻害薬共存下での変動を定量的に推定可能とした自身の研究を説明され、*in vitro* データに基づき阻害薬の  $K_i$  値の基質依存性を考慮した補正をかけることで、CP-I の濃度変動のデータを基にして、各種スタチンの血中濃度上昇率の定量的評価に極めて良い精度で成功した実例をお話になった。今後、レギュレーションに働きかけることで、これらのマーカー変動による DDI リスク評価の標準化法を提案したいとの展望が示された。

ここでは、内在性基質の動態変動を定量的にとらえることで、非侵襲的に各種代謝酵素・トランスポーターといった薬物動態を支配する因子を *in vivo* phenotyping するアプローチに関する最新の状況が多数発表された。最終的には、内在性基質の変動データのみから、個々の動態特性の異なる薬物について、ユニバーサルな方法で PBPK モデルを介して体内動態の変動を定量的に予測することにリンクする必要がある。実際、一部のスタチンについては、CP-I の血中濃度変動データを用いて、実薬の相互作用リスクの予測がかなり良好に成立することが実現化されていることも発表された。今後、ガイドラインレベルの確立した手法に昇華させるためには、阻害薬の種類や投与量のバリエーションを増やしても頑健に予測が成立することを実証するための臨床情報の集積が求められる。実際に内在性基質評価に関する企業コンソーシアムも立ち上がりつつあることから、実利用までの道りはそう遠くないのを実感することができた。

以上、現状で DDI 評価において考慮すべき課題や今後の展望について最新のトピックスが議論された。この領域は、まだまだ発展途上で、常に新たな論文が公表され続けており、今後も定期的に継続して新たな手法や評価法について catch-up していく必要性を強く感じた講演会であった。

(前田 和哉 (東京大学大学院薬学系研究科))



Hot!!!

TOPICS

～最新文献の紹介：第 1 分野～

コンピュータで探る免疫系の分子機構：

分子動力学計算による強皮症の遺伝的リスクの研究

石川 岳志

鹿児島大学 学術研究院 理工学域工学系 化学生命・化学工学専攻

S. Kongkaew; T. Rungrotmongkol; C. Punwong; H. Noguchi; F. Takeuchi; N. Kungwan; P. Wolschann; S. Hannongbua; Interactions of HLA-DR and Topoisomerase I Epitope Modulated Genetic Risk for Systemic Sclerosis. *Scientific Reports*, **2019**, *9*, 745.

昨年、免疫チェックポイント分子の発見とがん免疫療法への応用にノーベル生理学賞が授与されたことは、記憶に新しい。これを契機に、免疫分野の研究はさらに活発となり、その複雑な分子機構も今後は急速に解明されていくことであろう。一方、分子動力学 (MD) 計算は、生体分子の動的挙動や相互作用を微視的に理解する優れた研究手段であるが、免疫系の分子機構を対象にした MD 計算の報告例は、それほど多くないように思われる。本稿ではその少ない例の一つとして、免疫応答の初期段階で中心的な役割を担うヒト白血球型抗原 (HLA) 分子とペプチドとの相互作用を、MD 計算によって解析した論文を紹介する。

HLA は特徴的なペプチド収容溝を持ち、ここに外来微生物由来のペプチド断片を結合し T 細胞受容体 (TCR) と複合体を形成することで、抗原提示が成立し免疫応答が開始される (図 1)。しかし、HLA が自己のペプチドを結合し、TCR と複合体を形成するようなことがあれば、自己免疫疾患の原因となる可能性がある。実際に自己免疫疾患の一つである強皮症は、多型性を有する HLA 遺伝子と、有意な相関を示していることが知られている。そこで Chulalongkorn 大学の S. Kongkaew 博士らは、強皮症と相関している HLA-DRB1\*08:02、RDB1\*11:01、DRB1\*11:04、相関の無い DRB1\*01:01、そして相関が疑われている DRB5\*01:02 に関して、単体および強皮症の原因と考えられる自己ペプチド (トポイソメラーゼ I の 349-368) との複合体の MD 計算を実行し、その分子機構を議論した。

まず、HLA 単体と複合体のトラジェクトリーを比較したところ、複合体の方がペプチド収容溝の構造揺らぎが小さく、両サイドのヘリックス間の距離も短くなっていることがわかった。つまり、HLA 単体では収容溝が開いているが、ペプチドが結合することで収容溝が閉じ、この部分の立体構造が安定化するという分子機構が明らかとなった。次に、MM-PBSA 法、MM-GBSA 法、そして QM/MM-GBSA 法によって、HLA と自己ペプチドとの結合自由エネルギーが算出された。この際 QM/MM-GBSA 法では、自己ペプチドのうち 9 残基が QM 領域として扱われ、SCC-DFTB 法が適用された。その結果を表 1 に示す。強皮症と相関している 3 種の HLA (DRB1\*08:02、DRB1\*11:01、DRB1\*11:04) は、相関の無い HLA (DRB1\*01:01) よりも低い結合自由エネルギーとなっている。これは、自己免疫疾患である強皮症が、HLA と自己ペプチドとの結合により引き起こされることを考えると、自然な結果といえる。より興味深いのは、相関が疑われている DRB5\*01:02 が、これらの HLA とほぼ同等の結合自由エネルギーを示したことである。つまり、HLA-DRB5\*01:02 は相関が確認さ

れている 3 種の HLA と同等の遺伝的リスクを有していることが、MD 計算から示唆されたことになる。論文ではこれ以外にも、残基ごとのエネルギー分割、水素結合解析、溶媒効果の議論などが行われているので、興味のある方は是非、原著を参照して頂きたい。

本稿では、免疫系を対象にした MD 計算の例として、自己免疫疾患である強皮症に関する論文を紹介させて頂いた。冒頭に述べたとおり、免疫は今後最も盛んに研究される生命科学分野の一つである。MD 計算をはじめとする分子シミュレーションが、その複雑な分子機構の解明に大きく貢献することが期待される。

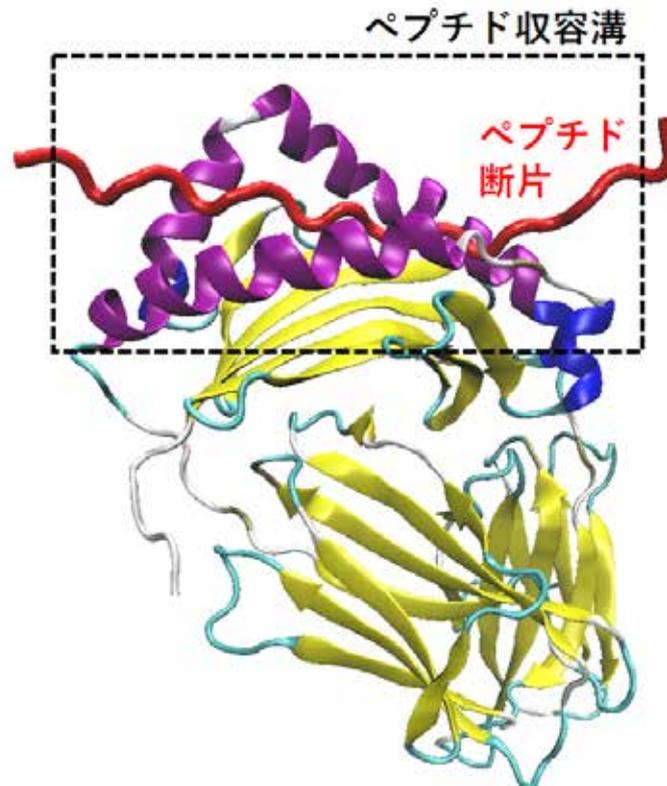


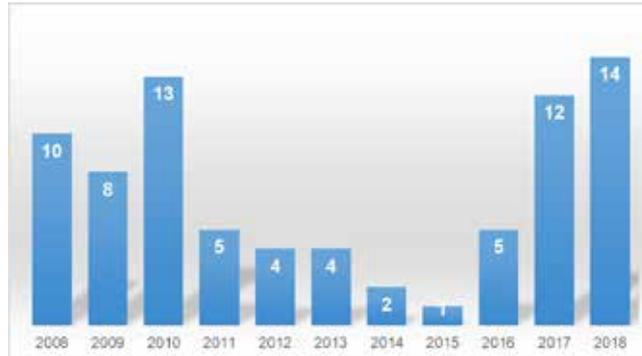
図 1: HLA-DR とペプチド断片の複合体 (PDB:1FV1)。2 つのヘリックスから構成されるペプチド収容溝にペプチド断片 (赤) を結合し抗原提示が行われる。

表 1 : MD 計算によって得られた 5 種の HLA と自己ペプチドとの結合自由エネルギー (kcal/mol)  
(原著論文の Table1 からの抜粋)

	DRB1*08:02	DRB1*11:01	DRB1*11:04	DRB5*01:02	DRB1*01:01
$\Delta G_{MM-PBSA}$	$-52.7 \pm 3.3$	$-47.0 \pm 1.2$	$-47.8 \pm 3.5$	$-51.2 \pm 2.7$	$-40.9 \pm 2.1$
$\Delta G_{MM-GBSA}$	$-53.6 \pm 1.4$	$-53.4 \pm 0.6$	$-51.1 \pm 1.7$	$-57.6 \pm 2.7$	$-40.1 \pm 1.2$
$\Delta G_{QM/MM-GBSA}$	$-33.4 \pm 1.4$	$-36.5 \pm 0.6$	$-33.2 \pm 1.8$	$-37.5 \pm 2.3$	$-21.2 \pm 1.7$

### ◆ CBI ジャーナル採択数の増加

最近の CBI 学会年次大会の参加者の増加と歩調を合わせるように、CBI ジャーナルの採択数も増加しています。研究者の皆様の投稿に感謝いたします。CBI ジャーナル編集部としても、学位審査のために迅速な査読・出版を行ったり、妥当な計算方法であれば計算結果のみの論文でも受け付ける方針としたり、後述のように AI 分野を新設するなど、既存の有名ジャーナルとの差別化を図り、現場の計算研究者に寄り添うジャーナルを目指していきたいと考えています。今後も積極的な投稿をお待ちしております。



### ◆ Editorial Manager 運用開始

CBI ジャーナルの新しい Web ベースの編集システムである Editorial Manager (EM) について、昨年 11 月から導入に向けて編集委員でテストを行っておりましたが、1 月から正式に運用を開始しました。導入によって、査読の省力化、効率化が図れますので、より多くの投稿に迅速に対応できるようになると期待しています。

### ◆ 新しい第 5 分野 AI 技術とその応用 (AI technologies and their applications) の新設

昨年までの第 5 分野である上記に属さない先進的研究 (Emerging new technology) を第 6 分野に変更し、第 5 分野に AI 技術とその応用 (AI technologies and their applications) を新設しました。AI 及びその要素技術である機械学習は、すでに他の分野でも様々な応用に利用されており、重複しているという意見もあります。しかし、最近、AI を全面に出した手法開発や解析について、既存の有名ジャーナルにおいて、どの雑誌に投稿すれば良いのかわからないという声を耳にします。CBI ジャーナル編集部では、CBI 学会における「境界領域を積極的に育てる」というポリシーを鑑みて、あえて AI に関する分野を独立させ、広く AI 研究を志す研究者が論文を投稿しやすいようにしました。

### ◆ 投稿規定の改定の新設

Editorial Manager の運用開始に合わせて、投稿規定の改定も行いました。大きな変更点としては、将来的に海外からの投稿も増えることを想定して日本語要旨を必須としないことにしました。また、論文の種類として、Preface と Editorial を追加しました。これらを加えることにより、ジャーナル編集部からの発信を強化したいと考えています。

### ◆ Editorial Manager ウェルカム画面のデザイン

Editorial Manager のウェルカム画面は、国立医薬品食品衛生研究所の沖山佳生先生にデザインして頂きました。本ページでもデザインの一部を使わせて頂いております。全デザインは、Editorial Manager にてぜひご確認ください。



<https://www.editorialmanager.com/cbij/default.aspx>

## CBI ジャーナル新掲載論文

## ◆ Original

## フラグメント分子軌道法におけるフラグメント間相互作用エネルギー行列のランダム行列理論

山中 雅則

日本大学理工学部物理学科

要旨：フラグメント分子軌道法におけるフラグメント間相互作用エネルギー行列（IFIE 行列）の統計的性質をランダム行列理論によって解析した。IFIE 行列の固有値、固有ベクトル、その尖度、アンフォールドされた固有値間隔分布を対応するランダム行列と比較した。固有値分布の概形はウィグナー分布に一致しないが、ウィグナー分布の制限から外れる固有値は4個だけであった。固有ベクトルの尖度は局在側に乖離するものが多い。アンフォールドされた最近接固有値間隔分布はガウス型直行集団の解析値に、次近接固有値間隔分布はガウス型シンプレクティック集団の解析値と無矛盾であった。ランダム行列理論の尖度に基づいて、強く相互作用するフラグメントのクラスター解析を行った。第1固有ベクトルの有意な成分の分布は2値分布となり、相互作用するフラグメントが、主成分分析の意味でほぼ同じ重みで相互作用していることを表している。第2、第3、第4固有ベクトルは第1固有ベクトルの部分集合となっていること、尖度がランダム行列から大きく乖離した固有ベクトルが更にそれらのベクトルの部分集合となっているなど、相互作用クラスターの階層構造の分類を詳細に行った。

2018 年 11 月 22 日公開

[https://www.jstage.jst.go.jp/article/cbij/18/0/18\\_123/\\_article/-char/en](https://www.jstage.jst.go.jp/article/cbij/18/0/18_123/_article/-char/en)

## ◆ Original

ヒト $\beta_3$  ホモマー GABAA 受容体のプロポフォール結合部位におけるバルビツル対掌体の分子識別行列理論

瀬戸 倫義、小谷野 賢

日本大学理工学部物理学科

要旨：静脈麻酔薬バルビツルは GABA<sub>A</sub> 受容体 (GABA<sub>A</sub>R) に作用し、GABA<sub>A</sub>R は覚知消失の主要な標的チャネルである。バルビツルは対掌体によって作用副作用が異なり、安全な麻酔薬の開発には対掌体の作用メカニズムの解明が必要である。しかし、GABA<sub>A</sub>R 結合部位における対掌体バルビツルの分子識別メカニズムは未解決の問題として残っている。本研究は分子ドッキングにより GABA<sub>A</sub>R における対掌体の分子認識メカニズムを解明した。Amobarbital, (R)-, (S)-pentobarbital, (R)-, (S)-isobarbital は GABA<sub>A</sub>R の M2-M2' Transmembrane domain (TMD)、すなわち propofol 結合部位に結合することがわかった。(R)-, (S)-pentobarbital は 2.9 kcal mol<sup>-1</sup> の結合エネルギー差で対掌体識別していた。両者は barbital 環が主たる結合力となって結合し、不斉炭素に結合する methyl 基、propyl 基の適合性立体障害) が結合強度を修飾し、構造識別をすることが判明した。

2018 年 11 月 28 日公開

[https://www.jstage.jst.go.jp/article/cbij/18/0/18\\_154/\\_article/-char/en](https://www.jstage.jst.go.jp/article/cbij/18/0/18_154/_article/-char/en)

## ◆ Original

## 日本における分子ロボティクスの責任あるイノベーション行列理論

吉澤 剛<sup>1</sup>、リニー・ファン・エスト<sup>2,3</sup>、吉永 大祐<sup>4</sup>、田中 幹人<sup>4</sup>、標葉 隆馬<sup>5</sup>、小長谷 明彦<sup>6</sup><sup>1</sup> 大阪大学大学院医学系研究科、<sup>2</sup> ラテナウ研究所、<sup>3</sup> アイントホーフェン工科大学、<sup>4</sup> 早稲田大学大学院政治学研究科、<sup>5</sup> 成城大学文芸学部、<sup>6</sup> 東京工業大学情報理工学院

要旨：分子ロボティクスは環境の変化に適応し、自己組織化、進化できる人工的な分子システムの創成を目的とした学術領域である。本稿では分子ロボティクス技術の分野で責任ある研究・イノベーションをどのように促進するかについて検討する。そのためにまず、遺伝子組換え技術やナノテクノロジー、合成生物学やゲノム研究などの先進技術の日本における初期発展段階での社会的反応から教訓を得た。それは《適切な》専門家・ステークホルダーの発見と巻き込み、規制の更新、科学コミュニケーションにおける科学者および市民の巻き込みである。分子ロボティクスの社会的側面に関する学術的・社会的議論の現状として文献レビューや未来ワークショップ、シナリオワークショップを実施した。そこでは幾多の倫理的・社会的・政治的・文化的課題を提起し、次の数十年で起こる望ましい／望ましくないシナリオを描いた。Twitter のテキストマイニング分析では、幅広い市民において分子ロボティクスについての意識や関心、知識がまだ限定的であることを明らかにした。結論として、分子ロボティクスが責任あるイノベーションを可能にするには、分子ロボティクスの発展のスピードを掌握すること、技術的潮流を監視すること、テクノロジーアセスメントのための安定的な知識基盤を確立すること、そして分子ロボティクス研究者と社会学者との持続可能な相互関係を構築することである。

2018 年 12 月 1 日公開

[https://www.jstage.jst.go.jp/article/cbij/18/0/18\\_164/\\_article/-char/en](https://www.jstage.jst.go.jp/article/cbij/18/0/18_164/_article/-char/en)

## ◆ Original

## 分子生物学上のデータ取り扱いにおける客観性

小西 智一

秋田県立大学大学院生物資源科学

要旨：分子生物学が始まったころには、科学的な客観性が問題になることはあまりなかっただろう。しなしながら、相対主義がこの分野のいくつかの領域を侵しつつあり、分析結果の客観性を損ねている。その現状を、いくつかのケースを検証しながら紹介する。

2018 年 12 月 7 日公開

[https://www.jstage.jst.go.jp/article/cbij/18/0/18\\_173/\\_article/-char/en](https://www.jstage.jst.go.jp/article/cbij/18/0/18_173/_article/-char/en)

# 講演会 記録・予告

## 第 399 回 CBI 学会 講演会

### 「RNA を標的とした低分子創薬研究」

日時：2018 年 11 月 14 日（水）13:30-17:40

場所：東京工業大学キャンパスイノベーションセンター（CIC 田町）

世話人：前野 恭一（アステラス製薬（株））、近田 千春（オープンアイジャパン（株））、高土居 雅法（杏林製薬（株））

プログラム：

- (1) 13:35 - 14:20 「pre-mRNA スプライシングを低分子化合物で操作して遺伝病を治そう！」  
萩原 正敏（京都大学大学院医学研究科）
- (2) 14:20 - 15:05 「哺乳類細胞における小分子応答性人工リボスイッチの開発」  
横林 洋平（沖縄科学技術大学院大学）
- (3) 15:20 - 16:05 「RNA を標的とした低分子創成の実際」  
中谷 和彦（大阪大学産業科学研究所）
- (4) 16:05 - 16:50 「RNA 部分構造の抽出および NMR 法による低分子化合物との相互作用解析」  
河合 剛太（千葉工業大学）
- (5) 16:50 - 17:35 「シンプルな mRNA 部分構造に対する中低分子創薬の理論と実際」  
中村 慎吾（株式会社 Veritas In Silico）

開催報告：

2018 年 11 月 14 日に東京工業大学キャンパスイノベーションセンターで開催した第 399 回 CBI 学会研究講演会について報告する。「RNA を標的とした低分子創薬研究」と題し、アカデミアとベンチャー企業から計 5 名の講師にご講演頂いた。

萩原正敏先生（京都大学大学院医学研究科）からは、スプライシングに影響を与える低分子化合物がスクリーニングできる技術を紹介いただき、その技術を用いて遺伝性難病を治療できる低分子化合物探索の状況、また探索の結果見つかった低分子化合物の臨床試験の状況をお話し頂いた。筋ジストロフィーやライソゾーム病に対しての治療候補薬は既にいくつか臨床試験進行中であり、創薬可能性に満ちた前向きな講演をいただいた。

横林洋平先生（沖縄科学技術大学院大学 核酸科学・工学ユニット）からは、小分子に反応して遺伝子発現を制御する人工リボスイッチについてお話し頂いた。リボスイッチは、小分子に反応して遺伝子発現を制御する遺伝子スイッチで、哺乳類細胞の中で作用するリボスイッチを見つけるのは非常に難しい。横林先生は、独自開発された大規模なスクリーニングが可能な測定技術を用いることで、RNA 配列と小分子の組み合わせを見つけた。その技術を展開し、製薬会社との合同研究を積極的に進めているとのことだった。

中谷和彦先生（大阪大学 産業科学研究所）からは、一部の DNA ミスマッチ部分に結合する低分子を発見したことにより、ハンチントン病の治療候補薬を見つけることができたということ、また、脊髄小脳変性症の原因配列部分に結合する低分子についてお話し頂いた。核酸をターゲットとした低分子創薬は、選択性について疑問視されることが多い。しかし、わずかな DNA 配列の違いによっても低分子の結合が変わってしまうという過去の経験から、選択性は出せると強く語っていただいた。



河合剛太先生（千葉工業大学）からは、RNA の部分的な構造予測ができるオリジナルのプログラムの紹介、また、RNA と低分子化合物との相互作用を NMR で解析する手法をお話頂いた。予測した RNA の構造から低分子化合物をデザインし、またデザインした低分子と RNA との結合を解析することができる、研究の中核となる重要な技術の紹介であった。

中村慎吾先生（株式会社 Veritas In Silico）からは、Veritas In Silico 社内での低分子化合物創薬理論と科学的背景、ならびに実際の創薬のステップをお話頂いた。mRNA 部分構造に対する低分子創薬が、現実となりつつあるということ力を強く語って下さった。

当日 130 席ほど用意した会場は満席となり、活発なディカッションも行われ、大盛況のうちに終わることができた。ご講演いただいた先生方、ご助力いただいた方々に、この場をお借りして深くお礼申し上げます。

（高土居雅法（杏林製薬株式会社））



萩原正敏先生



横林洋平先生



中谷和彦先生



河合剛太先生



中村慎吾先生

## 第 400 回 CBI 学会 講演会

### 「ポストガイドライン時代における薬物相互作用 (DDI) 解析への取り組み」

日時：2018 年 12 月 19 日（水）10:30 - 17:40

場所：東京大学山上会館 2 階 大会議室（東京都文京区本郷 7-3-1）

世話人：杉山 雄一（理化学研究所杉山特別研究室）、前田 和哉（東京大学大学院薬学系研究科）、樋坂 章博（千葉大学大学院薬学研究院）

プログラム：

- (1) 10:30 - 10:40 本講演会の狙い、形式について

前田 和哉（東京大学大学院薬学系研究科）

< Topic 1: 代謝酵素・トランスポーターの寄与率の予測 >

- (2) 10:40 - 11:10 「CYP を介する DDI における  $f_m$  および  $K_i$  値の推定法」

前田 和哉（東京大学大学院薬学系研究科）

- (3) 11:10 - 11:40 「トランスポーターを介する DDI における  $f_{transporter}$  および  $K_i$  値の推定法」

杉山 雄一（理化学研究所杉山特別研究室）

- (4) 11:40 - 12:10 「ガイドライン作成に関わって - ガイドラインでできたこと・できなかったこと -」

樋坂 章博（千葉大学大学院薬学研究院）

- (5) 13:10 - 13:30 ミニラウンドテーブルディスカッション 1

「DDI 予測において代謝酵素・トランスポーターの寄与率を予測することの重要性」

杉山 雄一（理化学研究所杉山特別研究室）、前田 和哉（東京大学大学院薬学系研究科）、

樋坂 章博（千葉大学大学院薬学研究院）

< Topic 2: PBPK モデル vs. 簡易モデル >

- (6) 13:30 - 14:00 「酵素誘導の簡易モデルによる予測」

加藤 基浩（中外製薬株式会社）

- (7) 14:00 - 14:30 「代謝酵素およびトランスポーターの誘導・阻害を考慮した  
PBPK モデル～リファンピシンを題材に～」

浅海 竜太 (小野薬品工業株式会社)

- (8) 14:30 - 15:00 「DDI 評価における PBPK モデルの活用と課題」

奥平 典子 (第一三共株式会社)

- (9) 15:00 - 15:20 ミニラウンドテーブルディスカッション 2

「PBPK モデル vs. 簡易モデル活用の Pros & Cons」

加藤 基浩 (中外製薬株式会社)、樋坂 章博 (千葉大学大学院薬学研究院)、浅海 竜太 (小野薬品工業株式会社)、奥平 典子 (第一三共株式会社)

< Topic 3: 内在性バイオマーカーに基づく DDI リスク予測 >

- (10) 15:40 - 15:55 「イントロダクション」

杉山 雄一 (理化学研究所杉山特別研究室)

- (11) 15:55 - 16:25 「臨床ステージで行う内在性バイオマーカーに基づく DDI リスク評価

～腎トランスポーターを中心に～」

楠原 洋之 (東京大学大学院薬学系研究科)

- (12) 16:25 - 16:55 「臨床ステージで行う内在性バイオマーカーに基づく DDI リスク評価

～肝トランスポーターを中心に～」

吉門 崇 (横浜薬科大学薬学部)

- (13) 16:55 - 17:40 ミニラウンドテーブルディスカッション 3

「内在性バイオマーカーに基づく DDI リスク予測の展望と課題」

杉山 雄一 (理化学研究所杉山特別研究室)、楠原 洋之 (東京大学大学院薬学系研究科)、吉門 崇 (横浜薬科大学薬学部)

開催報告 :

これまで、数回にわたり薬物相互作用の評価法に関する CBI 学会講演会を開催してきたが、今回は、本年 7 月に日本における薬物相互作用ガイドラインが最終化されたこと、また ICH の topics として今後ガイドラインの国際的なハーモナイゼーションが始まることを受けて、今一度、薬物相互作用の予測に関する現状と課題に関する話題を取り上げるシンポジウムを企画した。ガイドラインは、あくまで規制文書であることから、原則論・一般論以上の踏み込んだ記載は、かえって創薬における自由度を奪う可能性があることも踏まえて、最低限の記載にとどまっているが、実際の薬物相互作用の定量的評価には、最新のサイエンスを以てしても解決に至っていない課題

が依然として存在する。今回の記念すべき第 400 回の講演会では、ガイドラインを超えて特に重要な課題となる 3 つのトピックに焦点を絞って、産学の演者の先生より講演をいただいた。年末の多忙な時期にもかかわらず 116 名の方に参加いただけたことを見ても、薬物相互作用のリスク評価に対して関心の高さがうかがえる。

(前田 和哉 (東京大学大学院薬学系研究科))



※この内容の詳細は、コラム「シリーズ もっと聞きたいもっと知りたい」で紹介されています。



## 今後の講演会 予定

### 第 404 回 CBI 学会講演会

#### 「メディシナルケミストリーにおける AI の活用」

日時：2019 年 3 月 26 日（火）13:20-17:40

場所：東京大学山上会館 2 階 大会議室（東京都文京区本郷 7-3-1）

世話人：大川 和史（旭化成ファーマ株式会社）、相良 武（大鵬薬品工業（株））、大槻 幸恵（大鵬薬品工業（株））、狩野 敦（（株）モルシス）、石川 誠（日産化学工業（株））

### 第 405 回 CBI 学会講演会

#### 「モバイルヘルスケアの展望」

日程：2019 年 5 月 10 日（金）

場所：東京工業大学キャンパスイノベーションセンター（CIC 田町）

### 第 406 回 CBI 学会講演会

#### 「量子コンピュータの実用展開 ～ソフトおよびミドルウェア開発の現状～」

日程：2019 年 5 月 17 日（金）

場所：グランフロント大阪 ナレッジキャピタル



# 研究会報告

## 第 1 回 CBI 若手の会講演会

日時：2018 年 12 月 17 日（月）14:00-17:20

場所：（関東）東京工業大学キャンパスイノベーションセンター リエゾンコーナー 508AB（東京都港区芝浦 3-3-6）

（関西）都市活力研究所 セミナールーム（大阪市北区大深町 3-1 グランフロント大阪 タワー C-702）

※関東会場と関西会場は TV 会議で接続

プログラム：

- (1) 14:00-14:10 開会挨拶
- (2) 14:10-14:50 講演 1 芹沢貴之氏（旭化成ファーマ）
- (3) 14:50-15:30 講演 2 堀内新一朗氏（国立医薬品食品衛生研究所）
- (4) 15:40-16:20 講演 3 安尾信明氏（東京工業大学）
- (5) 16:20-17:10 フリーディスカッション
- (6) 17:10-17:20 閉会挨拶

開催報告：

12 月 17 日に、「第一回 CBI 若手の会講演会」を東京会場（東京工業大学田町キャンパス 5 階）で開催し、3 名の講演者を招きご講演いただきました。同時に大阪会場（都市活力研究所）ともネットをつなぎ、同時中継を行いました。当日は、大阪 6 人、東京 15 人の合計 21 人の参加者にお集まり頂きました。

講演者は、先日の CBI 学会大会にてポスター賞を受賞した 3 名の研究者の方：芹沢貴之さん（旭化成ファーマ）、堀内新一朗さん（国立医薬品食品衛生研究所）、安尾信明さん（東京工業大学）です。ポスター発表では聞けなかったホットな話題を提供頂きました。今回、若手の会ならではの試みとして、発表者一人ひとりに自己紹介の時間を作って頂き、“研究者の顔が見える”講演会を心がけました。若手発表者ご自身のアピールの場として、会場にいる同世代の研究者との相互作用のキッカケとなればと思っています。

また、今回のイベントでは大阪会場と Skype でつないだことにより、多様な質疑応答が起こり、議論がより深まりました。オープンディスカッションの時間では、東京と大阪会場が交互にプレゼンターとなった話題提供を行い、今後の若手の会の企画案などについて話し合うことができました。若手の会として、今後も様々なイベントを企画していきます。ぜひ、若手の会の HP（<https://wakate.cbi-society.info/wakate/>）をご覧ください。

（池田和由（慶應義塾大学））



# 委員会報告

## 創薬研究会運営委員会

---

### 第 37 回創薬研究会運営委員会

日時：2019 年 1 月 31 日 (木) 10:30-12:00

場所：キャンパスイノベーションセンター東京 2 階多目的室 4 (東京工業大学・田町、東京都港区芝浦 3-3-6)

議題：(1) 報告事項

- 1) 窓口ご担当者の変更について
- 2) 第一回 CBI 若手の会講演会について
- 3) 研究講演会・関西部会での取材ポリシーについて
- 4) 講演会無断キャンセルの現状について
- 5) 2019 年大会プログラム案について

(2) 討議事項

- 1) 企画に関するグループ討議

## 特定非営利活動法人 情報計算化学生物学会 臨時総会

---

日時：2018 年 12 月 18 日 (火) 18:10-18:15

場所：AP西新宿 S 会議室 (東京都新宿区西新宿 7-2-4 新宿喜楓ビル 6F)

議題：第 1 号議案 定款変更の件

日時：2019 年 1 月 29 日 (火) 18:00-18:35

場所：東京工業大学キャンパスイノベーションセンター 501AB (東京都港区芝浦 3-3-6)

議題：第 1 号議案 定款変更の件

第 2 号議案 2019 年度事業計画書及び活動予算書の件

第 3 号議案 2020 年度事業計画書及び活動予算書の件

## 特定非営利活動法人 情報計算化学生物学会 理事会

---

日時：2018 年 12 月 18 日 (火) 18:15-18:20

場所：AP西新宿 S 会議室 (東京都新宿区西新宿 7-2-4 新宿喜楓ビル 6F)

審議事項：主たる事務所の移転年月日決定に関する件

## 関西部会運営委員会

---

日時：2019 年 1 月 18 日 (金) 10:00-12:00

場所：グランフロント大阪 都市活研セミナールーム (ナレッジキャピタル 北館タワー C 7 階)

議題：(1) 次回 (2019 年 5 月) の CBI 学会関西部会講演会について

(2) 次々回以降の講演会の開催について

(3) その他

## 2019 年大会拡大実行委員会

---

### 第 2 回 2019 年大会拡大実行委員会

日時：2018 年 11 月 19 日 (月) 10:00-12:00

場所：東京工業大学キャンパスイノベーションセンター 2 階多目的室 4 (東京工業大学・田町、東京都港区芝浦 3-3-6)

- 議題：(1) 基調講演、招待の講師選定について  
(2) 出展、スポンサーの情報について

## 2019 年大会プログラム委員会

---

日時：2019 年 1 月 22 日 (火) 15:00-17:00

場所：東京工業大学キャンパスイノベーションセンター 2 階多目的室 4 (東京工業大学・田町、東京都港区芝浦 3-3-6)

- 議題：(1) プログラム委員の自己紹介  
(2) 2019 年大会の開催概要  
(3) 2018 年大会の報告  
(4) フォーカストセッションについて  
(5) チュートリアル・市民講座について  
(6) ポスター発表について

## CBI 学会誌編集委員会

---

日時：2018 年 12 月 21 日 (金) 18:00-20:00

場所：東京工業大学キャンパスイノベーションセンター 506 (東京工業大学・田町、東京都港区芝浦 3-3-6)

- 議題：(1) 学会誌編集使用のソフトについて  
(2) テンプレートについて  
(3) 今後の発刊計画について  
(4) 原稿の依頼について

## 執行部会

---

### 第 45 回執行部会

日時：2018 年 11 月 29 日 (木) 18:10-19:20

場所：A P 西新宿 J+K 会議室 (東京都新宿区西新宿 7-2-4 新宿喜楓ビル 4F)

- 議題：(1) 報告事項
- 1) 若手の会について
  - 2) 執行部メンバーについて (新規、所属変更)
  - 3) 第 2 回「D2K サイエнтиスト緊急養成研究集会」「腸内細菌と健康と疾病研究の動向と ICT 人材の育成」(日本バイオインフォマティクス学会主催、ICA (NPO 法人サイバー絆研究所) 共催) への後援について
  - 4) 講演会参加領収書発行、キャンセルポリシーおよび決済後の種別変更不可の文言掲示について
  - 5) 計算毒性学研究会主査より新任幹事承認の報告
- (2) 討議事項
- 1) 学会誌編集、運営者の名称について
  - 2) プライバシーポリシー
  - 3) 講演会・大会での取材ポリシー (HP 掲載事項、対応内部規定、講演会・大会での取材申請書・許可書 (案))
  - 4) 2018 年大会決算

- 5) 事務所移転と経費について
- 6) NPO 定款変更(事業追加、所在地変更)の手続きについて

## 第 46 回執行部会

日時: 2018 年 12 月 18 日(火) 18:20-20:00

場所: AP 西新宿 S 会議室(東京都新宿区西新宿 7-2-4 新宿喜楓ビル 4F)

議題: (1) 報告事項

- 1) プライバシーポリシーの掲載について
- 2) 第一回若手の会講演会(12 月 17 日)について
- 3) 2019 大会で市民講座開催

(2) 討議事項

- 1) 講演会・大会での取材ポリシーについて
- 2) 講演会参加登録についての現状
- 3) 研究講演会および年次大会講師交通費支払い方法の変更について
- 4) 定款変更認証申請(事業追加)に伴う、事業計画書、活動予算書の審議
- 5) 分子ロボットより依頼の eBook 出版について

## 第 47 回執行部会

日時: 2019 年 1 月 29 日(火) 18:35-18:50

場所: 東京工業大学キャンパスイノベーションセンター 501AB(東京工業大学・田町、東京都港区芝浦 3-3-6)

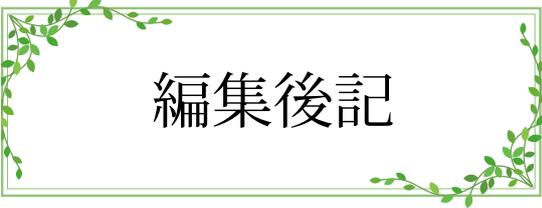
議題: (1) 報告事項

- 1) ICA(サイバー絆研究所)のセミナー、シリーズ「D2K サイエнтиストを緊急に養成すべき疾患領域」第 3 回「D2K サイエнтиスト養成研究集会」「脳計測の進歩と疾患への対処」の後援について
- 2) 「幹細胞を用いた化学物質リスク情報共有化コンソーシアム scChemRISC シンポジウム」の会告配信、会員へメール配信について
- 3) 2019 年大会講師選定状況について

(2) 討議事項

- 1) プライバシーポリシー英語版について





## 編集後記

本学会では昨年末、CBI 学会誌編集委員会が設置され、会員誌は本号（2019 年 1 号）からコラムを大幅に増やして、一新しました。巻頭言から始まり、ミニ特集、シリーズ「医薬品誕生秘話」、シリーズ「もっと聞きたいもっと知りたい話」、そしてホットトピックスと読み物を加えました。また、目次には編集委員会による各コラムの簡単な紹介コメントを記しました。今後、さらに新コラム「ソフトの動向」を増やすなど、少しずつ「日々改善」の姿勢で編集発行して行く予定です。本会員誌へのご意見、ご希望をお待ちしています。(T. M.)

### \* お知らせ \*

編集後記に触られています、**「ソフトの動向」**が次号から新規コラムとして加わります。これは、新規あるいはバージョンアップなど、ソフトが新たにリリースされた際に会員の皆様にお伝えすることを趣旨としており、記載項目は基本的にソフト名、発行機関名、リリースした年月、新規かバージョンアップかの区別、および紹介 web ページの URL に限らせて頂きます。原稿は会員参加型で、本学会の会員の方からの寄稿をお待ちしています。なお、掲載の採否は、編集委員会で決定します。詳細は事務局（[gakkaishi@cbi-society.org](mailto:gakkaishi@cbi-society.org)）まで、タイトルに「ソフトの動向」と記載し、ご連絡ください。

---

## CBI 学会誌 第 7 卷 第 1 号

2019 年 3 月 1 日発行

CBI 学会誌編集委員会：水間 俊、高岡 雄司

制作：小澤 陽子 塚田 優子 藤田 真澄 塩塚 真理 牛尾 律子 小宮山 直美

発行：CBI 学会

---

本著作物の著作権は著者にあり、CBI 学会は、本著作物に関する冊子および電子媒体による複製、配布、改変、再出版の権利を持つ。

