



構造活性相関部会・ニュースレター <1 April, 2015>

SAR News No.30

「目次」

//// Perspective/Retrospective ////

難治性掻痒症治療薬 ナルフラフィンの研究開発

長瀬 博、沓村憲樹 … 2

糖尿病治療薬テネリグリプチンの創製

~DPP-4 の S2 拡張サイトに作用する阻害剤の創製研究~

赤星文彦、鍋野海香 … 8

痛風・高尿酸血症治療薬フェブキソスタットの創薬研究を振り返って

近藤 史郎 … 16

//// SAR Presentation Award ////

2015 年度選考結果について … 24

受賞コメント … 25

授賞講演要旨 … 27

//// Activities ////

<会告>

構造活性フォーラム 2016

「分子標的薬の創生やゲノム創薬における目のつけどころ」 … 33

第 44 回構造活性相関シンポジウム：第 31 回農薬デザイン研究会（共同開催） … 35

3rd International Symposium for Medicinal Sciences … 37

<部会役員人事> … 38

//// Perspective/Retrospective ////

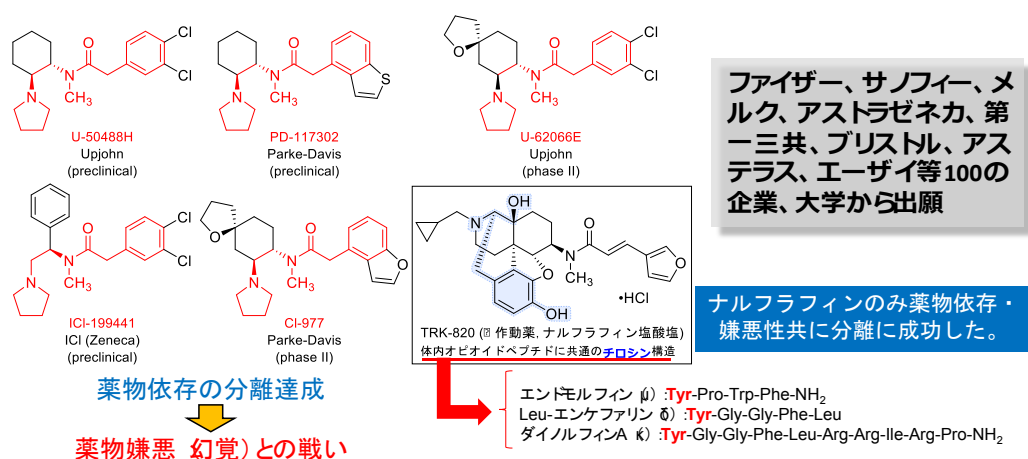
難治性掻痒症治療薬 ナルフラフィンの研究開発

筑波大学国際統合睡眠医科学研究機構 長瀬 博・杳村憲樹

1. はじめに

人類は有史以来、オピオイド、特にモルヒネを、鎮痛薬として使用してきたが、その強力な鎮痛作用と共に薬物依存が問題となっていた。19世紀にモルヒネの構造が決定されると、その構造を化学修飾し、依存性を分離する試みが数多くなされてきたが、企業、研究者達のそのような努力にもかかわらず依存性の分離は達成されなかった。1975年には内因性のオピオイドペプチドが20種類以上発見され、これらのペプチドは内因性物質であるため依存性はないと期待されたことから、数百以上におよぶ類似のオピオイドペプチドが合成された。しかし、多くの研究者の期待に反し、これらのペプチドにも依存性があることがわかり、一時、オピオイドの研究は収束しかけた。一方、それまでの研究から、このオピオイドが作用する受容体が1つでは、多種多様な薬理作用が説明不可能となり、オピオイド受容体として3つのタイプ(μ 、 δ 、 κ)が提案されるようになった。さらに、薬物依存性が主に μ 受容体タイプを介して発現することが報告され、 μ 以外の受容体、特に κ 受容体作動薬に依存性のない鎮痛薬として大きな期待がかかるようになり、熾烈な κ 作動薬の開発競争が開始された。

このような κ 作動薬の開発競争の中で、アップジョン社(当時)がU-50488Hを他社に先駆けて発表し[1]、続いて世界中で100社以上の製薬会社や非常に多くの研究機関の研究グループがこのU-50488Hの構造を模倣した誘導体の研究開発に着手した(図1)。その結果、これらの類似構造を有する κ 作動薬には確かに依存性が無いことが確認できたが、その代わり依存性とは逆の作用、すなわち、薬物嫌悪性(重篤な幻覚、幻聴が発現)といった精神作用を伴うことが次第に分かってきた。具体的な例を挙げると、アップジョン社の κ 作動薬を投与した患者の一人がナイフを枕の下に隠し持っていた。臨床医が理由を尋ねると、患者は「窓の下に私を殺そうとする連中がいて、殺す相談をしている。ドアの向こうにも2~3人がいて同様の相談をしている。だから、自分の身を守るためナイフを持っている。」と答えたという。このように恐怖を感じるような幻覚、幻聴を経験するため、投薬を拒否する患者も多い。このような重篤な副作用のため、U-50488Hを模倣した化合物はいずれも臨床開発後期段階にまでステージアップすることはできなかった。



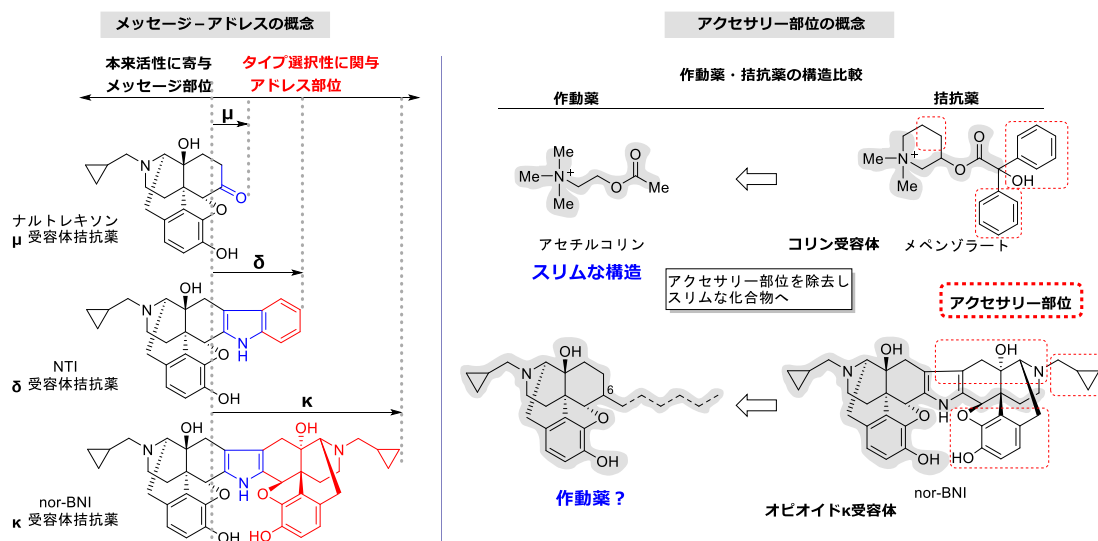
臨床段階に入ったものもあるが後期には進めず：類似構造＝薬理的性質も類似

図1. 世界中で開発された U-50488H 誘導体の構造とナルフラフィンの構造との比較

そのような状況下、筆者らは U-50488H とは異なる独自の基本骨格を考え出して世界で初めて薬物依存性・薬物嫌悪性が分離された、鎮痛作用の強力な κ 作動薬、ナルフラフィン (TRK-820) の創出に成功した。このように理想的な κ 作動薬が得られたので、当初、術後疼痛を適用に臨床試験を実施した。しかし、この適用においては、鎮痛作用が発現する用量では鎮静作用 (眠気、ふらつき) との分離が困難であったため、鎮痛薬としての適用を断念することとなった。丁度その頃、麻酔科の医師から「モルヒネの常用患者に激しい痒みを訴える人が多い。」という情報を入手した。さらに、腎透析の患者は重篤な痒みを訴えるが、その痒みを抑える薬は存在しないことも分かった。そこで、筆者らはこの痒みを適用として臨床試験を実施し、『世界初の依存性のない止痒薬』を世に出すことができた。以下に筆者らの研究開発の詳細について述べる。

2. δ 、 κ 拮抗薬の設計

1970 代後半、オピオイド受容体には μ 、 δ 、 κ の 3 つのタイプが提案され、依存性は μ 受容体に起因する傍証も得られていた。そこで、各受容体タイプの薬理作用を解明するために δ や κ 受容体を選択性の高い拮抗薬の開発が期待されていた。その頃、筆者は、ミネソタ大学の Portoghesi 研究室において、 δ 、 κ 拮抗薬の創出を検討していたが、上記歴史的背景からの考察と内因性オピオイドペプチドの構造を基にして、遂に規範となるオピオイド分子の特徴を見いだした。すなわち、3 つのタイプに結合する薬物は活性発現に必須の共通部分を有しており (メッセージ部位)、さらに各受容体タイプに対する選択性発現に関与する部分 (アドレス部位) を併せ持つことである。筆者らはこれらの概念を『メッセージ-アドレスの概念』と称し、この概念に従って、 μ 受容体に作用する化合物のアドレス部位が最も小さく、次に δ 受容体、最も大きなアドレス部位を持つ化合物が κ 受容体を選択性を発現するという仮説を立てた。そして μ 受容体を選択的な拮抗薬であるナルトレキソンをメッセージ部位として適用し、アドレス部位の構造を適切に設計することで、 κ 選択的拮抗薬 nor-BNI (Norbinaltorphimine) や δ 選択的拮抗薬 NTI (Naltrindole) [2] の創出に成功した (図 2)。これ以降、世界中でこれらの拮抗薬が利用されるようになり、オピオイド受容体の 3 つのタイプ各々の本格的な研究が開始された。実際、多くの薬理学者がバイブルのようにして使用している『Goodman-Gilman の薬理書』において、nor-BNI と NTI は選択的 κ 及び δ 拮抗薬として引用されており、特に当時の論文では、「nor-BNI や NTI を用いて選択性を議論しない論文は受理されない。」とまで言われるほど代表的な拮抗薬としての評価を受けた。



3. κ 受容体作動薬の設計・合成

筆者はミネソタから帰国後、東レ株式会社において、 κ 選択的作動薬の設計を行うことにした。その際に心がけたことは、決して他社が実施しているアップジョン社の化合物の真似をしないということである。さらに、筆者らはオピオイドの構造に関して「内因性オピオイドの部分構造を有しないものは真のオピオイドではない。」という信念があった。

実際、U-50488H はアップジョン社が向精神薬の創出を目的として実施した *in vitro* スクリーニングからヒットした化合物であり、オピオイド κ 作動薬の創出を目的としたスクリーニングから得られたものではなかった。そのため、向精神薬に由来する副作用である幻覚、幻聴の発現が U-50488H の副作用として発現することは予想され得るものである。以上の背景から、内因性オピオイドの構造上の特徴である「チロシン部分構造」を含む κ 受容体拮抗薬 nor-BNI に着目し、この構造から κ 作動薬の構造に変換する試みを行った。

拮抗薬を作動薬へと導くにあたり、拮抗薬と作動薬の構造上の特徴の違いを利用した。すなわち、多くの受容体リガンドにおいて作動薬は受容体結合後、受容体の構造変化を引き起こすため、拮抗薬と比較してスリムな構造を有しており、一方、拮抗薬はリガンド結合後の受容体の構造変化を阻害するような部分（多くは脂溶性のアクセサリー部位）を有していることに着目した。そして、拮抗薬からアクセサリー部位を除去すれば作動薬が得られるという単純な発想に基づき、nor-BNI の構造をスリム化し、モルヒナン骨格の 6 位から 6 炭素の長さ程度の適切な側鎖を伸ばすという薬物設計を行った（図 2、図 3）。さらに、ナルトレキソンを母核としてエーテル結合を介して 6 炭素長の側鎖を結合させた化合物を合成した。この化合物の鎮痛効果を基に、*in vivo* スクリーニングを行った結果を図 3 に示す。この結果、エーテル化合物（図 3 左上）に鎮痛作用が認められ、筆者らの基本設計が正しいという確信が得られた。これに対し、アミノ化合物では活性が極端に低下した。この結果は、その極性の高さ（例えば中枢移行性に影響）によるものではないかと仮定し、極性を下げるため、アミド、さらにはメチルアミド体へと変換した結果、飛躍的な活性増強が認められた。そして不飽和結合の導入によって側鎖コンフォメーションを固定し、拮抗薬に戻らない程度の脂溶性置換基（末端アリアル）を導入することで持続性を含めた薬効改善を達成し、さらに、副作用、毒性、動態を総合した薬物プロファイルの最適化を経て TRK-820（ナルフラフィン塩酸塩）に到達することができた [3]。得られたナルフラフィン塩酸塩は、精神依存性、薬物依存性を小動物で評価できる Conditioned Place Preference (CPP) 試験で、期待通りモルヒネ様の依存性を示さないばかりか、U-50488H の呈する薬物嫌悪性も示さないことを確認できた。

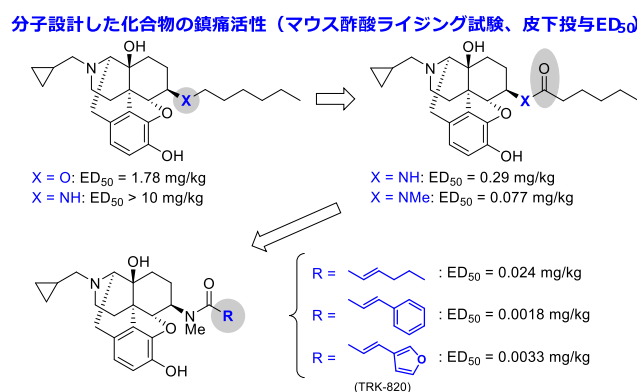


図 3. オピオイド κ 作動薬の構造活性相関

4. 術後疼痛治療薬としての開発

ナルフラフィン塩酸塩は、オピオイドとしては初めて依存性と嫌悪性の両方の分離に成功したので、強力な鎮痛薬としての期待が高く、最初の臨床試験は術後疼痛を適用として実施した。そして、薬効確認の第 2 相において、確かに、用量を上げていくとモルヒネと同等といってよい

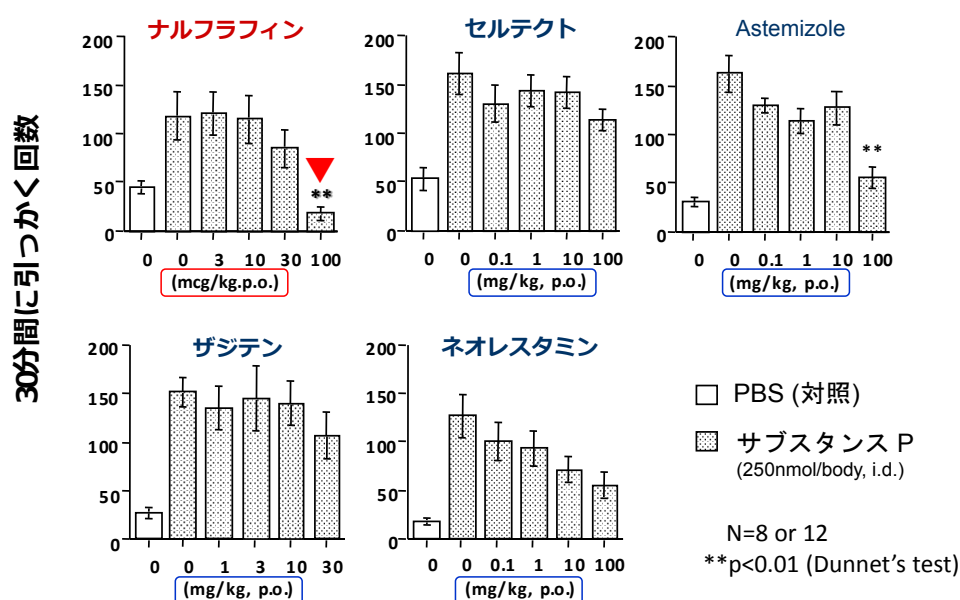
鎮痛作用が認められたが、鎮痛発現用量で鎮静作用（眠気、ふらつき）が強く発現したため、安全域が狭すぎて実用には耐えないとの結論となり、術後疼痛への適用を断念することとなった。

しかし、世界で初めて依存性・嫌悪性を分離した κ 作動薬の創出に成功し、その強力な作動活性も確認できたので、筆者はこのナルフラフィンをこのまま放棄するにはいかにも残念であると考え、他の適用を鋭意検討した。その過程で以下に述べる止痒作用を発見し、また、腎透析の患者の重篤な痒みに対しては適切な薬がなく患者が我慢するしかなかったという情報も得られたので、その重篤な痒みを適用として臨床試験を実施した。次章では、その詳細について詳述する。

5. 難治性そう痒症治療薬としての展開

筆者らが鎮痛薬としての開発を断念し、その後の展開を臨床医の先生と議論していたとき、臨床医の先生から、「モルヒネ等の μ 受容体作動薬の副作用として強い搔痒が引き起こされる場合がある。」「ナルフラフィン塩酸塩の治験においては搔痒を訴える患者が居ない。」という貴重な情報を入手した。また、薬理学的には薬物依存性に対する嫌悪性など、 μ 受容体作動薬と κ 受容体作動薬は相反する作用を示すことが多い点を考慮すると、「 μ 作動薬のモルヒネが痒みを発現するのであれば、 κ 作動薬のナルフラフィンは止痒効果が期待できる」と発想した。また当時、痒みを評価する動物モデルが無く困っていたが、タイミング良く倉石らにより小動物で止痒作用を評価するマウスのモデルが報告された [4]。早速、このモデルでナルフラフィン塩酸塩の効果を評価した結果、既存薬に比較して顕著な効果が確認された（図 4）。さらに、抗ヒスタミン薬が効きにくいモデル（ヒスタミン誘発の痒み）でも有効性を示すことがわかり、これらの動物実験の結果を臨床医の医師に報告したところ、この効果を非常に評価して頂いた。当時は筆者自身、重篤な痒み（我慢できない、夜眠れない痒み）の存在に気がつかなかったが、逆に腎透析の専門医である熊谷先生から「いかに患者が悩んでいるか、家族もその患者の痒みのため、夜間の睡眠を妨害されているか、さらには臨床医も患者からの訴えが頻繁で困っている。」等の重篤性

マウスモデルにおいて、抗ヒスタミン薬よりもナルフラフィンの方が、引っ掻き抑制効果が強い。



Togashi, Y. and Nagase, H. et al. *Eur. J. Pharmacol.*, **435**, 259-264 (2002).

図 4. マウスにおける止痒効果（既存薬とナルフラフィンの効果の比較）

を聞かされ説得された形になった。そこで、オープン試験にて 6 名の重篤な痒みを有する患者を対象に臨床試験を実施した結果、6 名全員の痒みが消失した。この結果には筆者らも臨床医の先生も感動し、早速、プラセボを対照に二重盲検法試験を行った。

二重盲検試験は熊谷、高森先生らにより行われ、患者の痒みに対するプラセボとの比較試験において圧倒的な優位さが確認された [5-7]。さらに、1 年間の長期試験においても、懸案されていた依存性をはじめとしたその他の副作用について問題が無いことがわかり、2009 年 1 月、遂に経口搔痒症改善剤「レミッチ®カプセル 2.5 μg 」(“remove itch”の意味で命名)の国内における製造販売承認を取得、同 3 月の薬価収載を経て、販売を開始することができた(製造販売元：東レ株式会社、販売元：鳥居薬品株式会社、提携：日本たばこ産業株式会社)。

さらに、2015 年には肝臓の痒みにも適用が拡大され、痒み治療として広く用いられるようになった。今後はさらに、重篤なアトピー性皮膚炎等に代表される痒みにも適用が期待されており、『痒み』に悩まされている多くの患者の福音となることを祈念している。

6. 痒みの機序の解明（痒いと引っ掻く理由の解明）

全身投与可能な κ 作動薬が使用可能になったため、痒みに対する κ 作動薬関与の解明が飛躍的に進展した。古来、痒みは痛みが軽減した際に発生する現象と考えられており、痛みと痒みは同じ伝達経路によって伝わると言われていた。しかし、痒みの研究が進むにつれて、実はその伝達経路は異なっており、末梢から脊髄を通り脳の感覚野に伝わる上向性の神経回路の 2/3 が痛み伝達に、1/3 が痒み伝達に使用されていることが報告された。一方、我々が無意識に行う痒い時の引っ掻き行動の理由（機序）は長い間理解されないままであった。最近になり、ピッツバーグ大学の S. Ross らは脊髄に存在する B5-I ニューロンを発見し、これが痒みに関与するという可能性を提唱した。そして、ナルフラフィンが市場に出たことを契機に、ナルフラフィンを利用してその関与を証明しようと、筆者らに共同研究を求めてきた。この共同研究の結果、遂に痒いと引っ掻くという行動原理を解明することができた [8]。すなわち、痒みによる引っ掻き行動により発生する痛み、あるいは冷却による刺激が脊髄に伝わり、B5-I ニューロンを刺激して、内因性の κ オピオイドペプチドであるダイノルフィンを放出させる。このダイノルフィンが痒み伝達経路を遮断するという機序である。実際、B5-I ニューロンのノックアウトマウスは極度の痒みを感じることで、そしてこの極度の痒みはナルフラフィンの脊髄投与により軽減されることを証明した。勿論 Ross らは、ナルフラフィンの全身投与によって種々の痒みを軽減できることも報告している。

以上のように、全身投与可能な低分子が入手できるようになると、痛みと比較して今まで研究が進んでいなかった痒みに関する研究が進み、その未知なる機序の解明、そして種々の痒みの治療が可能になると期待できる。例えば最近、痒みを体の危険信号と捉えて治療する動きも始まった。痛みというものは体の危険信号であるということは広く知られており、痛みが発生した臓器の治療に繋がっている。それに対し、最近まで痒みというものの体の危険信号であるという認識は意外に少なく、これが体の治療に繋がることはほとんど無かった。そのため、痒みは発するが痛みの発生には鈍い腎臓や肝臓は、痛みを感じた時は既に手遅れになる場合が多かった。しかし、レミッチ®カプセル 2.5 μg の治療対象として腎臓、肝臓の痒みが承認され、それらの臓器の痒みは危険信号であるという認識が広まりつつある。今後それらの信号を検知し、適切な治療ができれば、結果的に病症が腎透析や肝硬変、肝癌等の重篤なステージに移行するのを予防できる可能性が高くなると思われる。

7. おわりに

オピオイドから依存性を分離するという多くの試みの中で、いち早く κ 作動薬に依存性が無いことがわかり、世界中でその鎮痛薬としての開発が行われた。しかし、アップジョン社の U-50488H をはじめとする誘導体は逆に嫌悪性がひどく、薬としての開発が困難であった。そのような開発競争の中、筆者らは U-50488H とは全く構造の異なる κ 作動薬を設計・合成することにより、依存性・嫌悪性ともに分離した化合物（ナルフラフィン塩酸塩）を難治性搔痒症の治

療薬として上市することに成功した。鎮痛薬としてではなく止痒薬としてではあるが、依存性が分離されたオピオイドを世界で初めて世に出すことができたことは、オピオイド薬物から依存性を分離しようとしてきた長い戦いの歴史を鑑みると、非常に意義深いことであったと思われる。さらに、腎透析の患者の痒みは治療対象として認識されず、患者はただ我慢するしかなかったが、ナルトラフィンが市販されて以降、このような難治性の痒みが治療対象として臨床医に認められることとなり、積極的に治療が行われるようになった。このように、今まで治療薬がない病気を治療できるようになったこと、そしてその結果、多くの患者から感謝の言葉を頂けたことは筆者らにとって無上の喜びとなった。

現在までに活性既知の内因性ペプチドは数多く報告されているが、その低分子、特に作動薬の設計・合成は実に困難である。筆者らは現在、筑波大学国際統合睡眠医科学研究機構（WPI-IIIIS）において、その困難に挑戦を続けており、つい最近ではオレキシン受容体に対する世界初の低分子作動薬の設計・合成に成功した [9]。この作動薬は、水溶性と血液脳関門透過性を有しており全身投与が可能である。そしてオレキシンに代わって覚醒時間の延長作用を示し、長年、効果的な薬物が無かった睡眠病、ナルコレプシーの治療効果もあることを確認している。このような成果を基に、非常に困難であるとされている大学発の創薬に向け、今後も鋭意検討を継続していく所存である。

参考文献

- [1] Lahti, R. A., VonVoigtlander, P. F., Barsuhn, C. Properties of a selective kappa agonist, U-50,488H, *Life Sci.*, **31**, 2257-2260 (1982).
- [2] (a) Portoghese, P. S., Lipkowski, A. W., Takemori, A. E. Binaltorphimine and nor-binaltorphimine, potent and selective κ -opioid receptor antagonists, *Life Sci.*, **40**, 1287-1292 (1987). (b) Portoghese, P. S., Sultana, M., Takemori, A. E. Naltrindole, a highly selective and potent non-peptide δ opioid receptor antagonist, *Eur. J. Pharmacol.*, **146**, 185-186 (1988). (c) Portoghese, P. S., Sultana, M., Nagase, H., Takemori, A. E. Application of the message-address concept in the design of highly potent and selective non-peptide δ opioid receptor antagonists, *J. Med. Chem.*, **31**, 281-282 (1988).
- [3] Kawai, K., Hayakawa, J., Miyamoto, T., Imamura, Y., Yamane, S., Wakita, H., Fujii, H., Kawamura, K., Matsuura, H., Izumimoto, N., Kobayashi, R., Endo, T., Nagase, H. Design, synthesis, and structure-activity relationship of novel opioid κ -agonists, *Bioorg. Med. Chem.*, **16**, 9188-9201 (2008).
- [4] Kuraishi, Y., Nagasawa, T., Hayashi, K., Satoh, M. Scratching behavior induced by pruritogenic but not algesiogenic agents in mice, *Eur. J. Pharmacol.*, **275**, 229-233 (1995).
- [5] 熊谷裕生, 林松彦, 猿田享男, 維持血液透析患者のかゆみにおける内因性オピオイドの関与, *臨床薬理*, **31**, 457-458 (2000).
- [6] Kumagai, H., Utsumi, J., Saruta, T. Prospects for a novel kappa-opioid receptor agonist, TRK-820, in uremic pruritus, In: Yosipovitch G, Ed. by Itch. Basic Mechanisms and Therapy, New York, Marcel Dekker, 279-286 (2004).
- [7] 熊谷裕生, 丸山資郎, 高森建二, 鈴木洋通, 透析患者のかゆみに対する κ -アゴニスト TRK-820. 透析治療における新しい薬物, *臨床透析*, **22**, 763-772 (2006).
- [8] Kardon, A. P., Polgár, E., Hachisuka, J., Snyder, L. M., Cameron, D., Savage, S., Cai, X., Karnup, S., Fan, C. R., Hemenway, G. M., Bernard, C. S., Schwartz, E. S., Nagase, H., Schwarzer, C., Watanabe, M., Furuta, T., Kaneko, T., Koerber, H. R., Todd, A. J., Ross, S. E. Dynorphin acts as a neuromodulator to inhibit itch in the dorsal horn of the spinal cord, *Neuron*, **82**, 573-586 (2014).
- [9] Nagahara, T., Saitoh, T., Kutsumura, N., Irukayama-Tomobe, Y., Ogawa, Y., Kuroda, D., Gouda, H., Kumagai, H., Fujii, H., Yanagisawa, M., Nagase, H. Design and synthesis of non-peptide, selective orexin receptor 2 agonists, *J. Med. Chem.*, **58**, 7931-7937 (2015).

糖尿病治療薬テネリグリブチンの創製 ～DPP-4 の S₂ 拡張サイトに作用する阻害剤の創製研究～

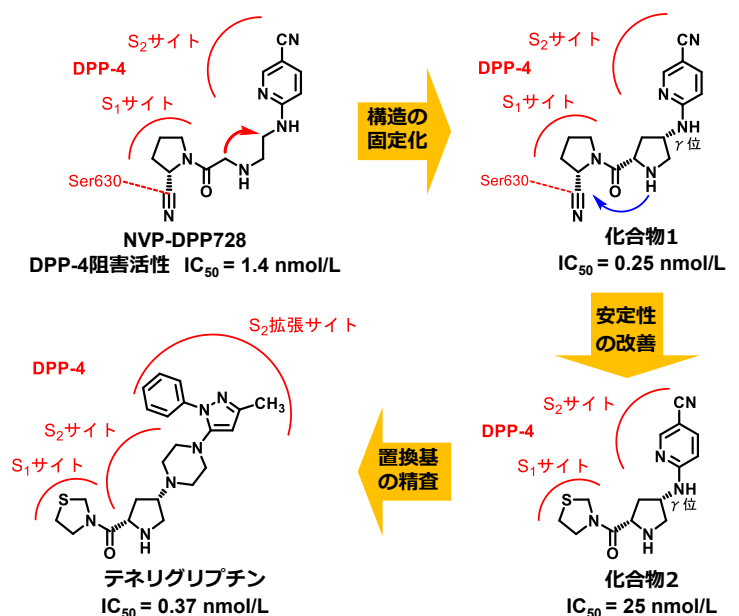
田辺三菱製薬(株) 赤星文彦、鍋野海香

1. はじめに

ジペプチジルペプチダーゼIV (DPP-4) 阻害剤は、低血糖を起こさずに食後高血糖を是正できることから、既存薬にはない、新たな価値を有する経口糖尿病治療薬になり得ると考えた。そこで我々は、阻害活性が強く、作用持続時間が長い、1日1回服用型の DPP-4 阻害剤の創製を目指した。

研究開始時、1日2～3回服用型の DPP-4 阻害剤として NVP-DPP728 が臨床開発されていた。当時、NVP-DPP728 の活性発現構造が報告されていたが[1]、そこには 5-シアノ-2-ピリジル基は DPP-4 の S₂ サイトに相互作用していると考察されていた。これが正しければ NVP-DPP728 は直線状に伸びた立体配座ではなく、5-シアノ-2-ピリジル基が S₂ サイトに入るために折れ曲がった立体配座をとって、阻害活性を発現していると考えられる。そこで我々は、化合物 1 のように環状構造のプロリン骨格を用いて 5-シアノ-2-ピリジル基の位置を固定化させ、S₂ サイトとの相互作用を容易にすることにより、DPP-4 阻害活性を 6 倍向上させることに成功した[2]。しかし、化合物 1 は、プロリン窒素とピロリジン 2 位のシアノ基が反応するため、溶液中で不安定であり、阻害作用の持続性が不十分であった。この化学安定性の改善には、不安定要因のシアノ基を削除する必要があると考えた。2-シアノピロリジンをチアゾリジンに変換した化合物 2 は、化学安定性が改善したが、今度は阻害活性が 1/100 に減弱した[3]。減弱した活性を補うためにプロリン γ 位の置換基を精査し[4-6]、強い阻害活性の発現には、DPP-4 の S₂ 拡張サイトへの結合が重要なことを解明した。この知見を突破口とし、最適な構造を追求し続けた結果、DPP-4 阻害活性が強く、作用持続性に優れた、プロリンチアゾリジン骨格を有する唯一の市販 DPP-4 阻害剤となるテネリグリブチンを見出した[7]。

テネリグリブチンの創製研究において、DPP-4 の S₂ 拡張サイトの発見が新たな合成展開の起点になった。本稿では、この S₂ 拡張サイトの特徴を示し、S₂ 拡張サイトに関する構造活性相関、類縁酵素に対する選択性、他剤との結合様式の比較について述べたい。



2. 『S₂ 拡張サイト』とは

プロテアーゼの活性部位において、その結合サイトの名称は基質ペプチドにより定義されている[8]。基質ペプチドのアミノ酸は切断部から順番に名付けられている(-P₃-P₂-P₁-P'₁-P'₂-P'₃-, P₁とP'₁間が切断点)。それらのアミノ酸が認識される結合サイトは、基質に相応して名付けられている(S₃, S₂, S₁, S'₁, S'₂, S'₃)。DPP-4は、N末から2番目のアミド結合を分解するプロテアーゼであることから、N末側の結合サイトはS₂サイトまでしか存在しない。S₂拡張サイトは、我々が定義した結合サイトであり[6, 9]、主に Val207、Ser209、Phe357、Arg358 の4つのアミノ酸残基から構成されている。このサイトの特徴は、DPP-4の基質であるGLP-1等の結合には関与せず、阻害剤のみが結合し、強い阻害活性の発現に寄与する。上市されているDPP-4阻害薬の中では、テネリグリブチンの他、シタグリブチン[10]及びアナグリブチン[11]がS₂拡張サイトに結合することがX線結晶構造解析から明らかになっている。また、S₂拡張サイトは阻害活性のみならず、DPP-4の類縁酵素に対する高い選択性にも寄与すると考えられている。

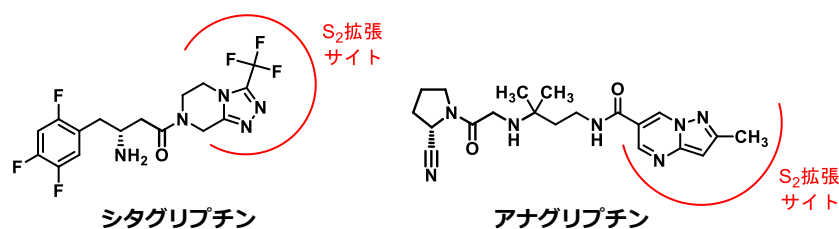


図 2. シタグリブチンとアナグリブチンの構造式

2.1 テネリグリブチンと DPP-4 の結合様式

X線結晶構造解析より明らかになったテネリグリブチンとヒトDPP-4の結合様式を図3に示す[7]。チアゾリジンはS₁サイトの疎水的なポケットに結合し、カルボニル基はAsn710と水素結合を形成する。プロリン部位はS₂サイトのGlu205及びGlu206と静電的な水素結合を形成する。S₂拡張サイトにおいては、ピペラジン環がPhe357側鎖とCH- π 相互作用、ピラゾール環がPhe357側鎖と π - π 相互作用、末端のフェニル環がVal207の主鎖カルボニル基と弱い水素結合、及びArg358やSer209の側鎖と疎水的な相互作用を形成する。

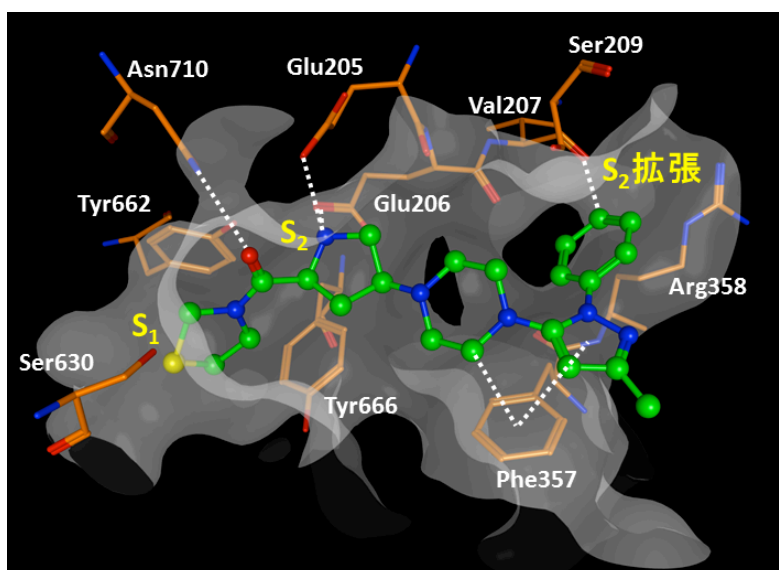


図 3. テネリグリブチンとヒトDPP-4の複合体X線構造

2.2 S₂ 拡張サイトが阻害活性に及ぼす効果

S₂ 拡張サイトが阻害活性に及ぼす効果を明らかにするために、テネリグリプチンと DPP-4 の各アミノ酸残基との相互作用エネルギーを見積もった。計算方法は、X 線複合体構造 (PDBID: 3VJK) を用いて分子動力学計算を行い、得られた構造に MM-GBSA 法 [12] を適用した (図 4)。この解析から、S₂ 拡張サイトにおける最重要アミノ酸残基は Phe357 であることが明らかになった。また、Phe357 に加え、Ser209 とのファンデルワールス相互作用の寄与も顕著である。Arg358 は、テネリグリプチンが正電荷を持つために静電的反発を示すと考えられるが、ファンデルワールス相互作用の寄与が認められた。DPP-4 が基質や阻害剤を認識するために、S₁ 及び S₂ サイトが重要であることは明らかであるが、S₂ 拡張サイトの Phe357 には、S₁ サイトの Tyr662 や Tyr666、S₂ サイトの Glu205 と同程度のエネルギー的寄与がある。後述の構造活性相関からも説明される通り、S₂ 拡張サイトとの結合はテネリグリプチンの阻害活性向上に重要であった。

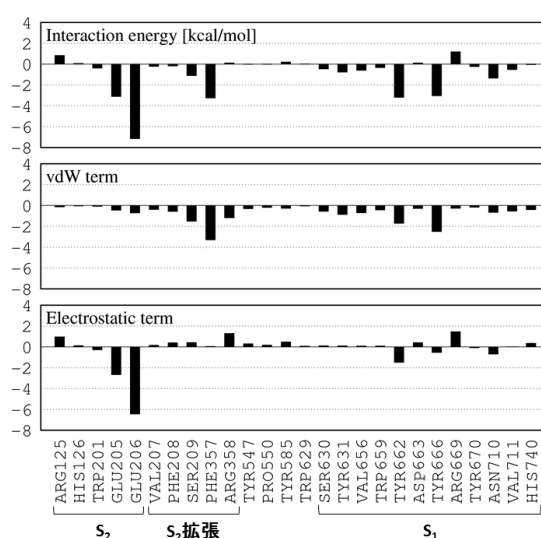


図 4. テネリグリプチンと DPP-4 の周辺アミノ酸残基との相互作用エネルギー
中段はファンデルワールス相互作用、下段は静電相互作用 (脱溶媒の寄与を含む)
を示し、上段は 2 つの相互作用の和を示す。

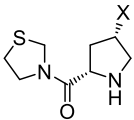
3. S₂ 拡張サイトに関する構造活性相関

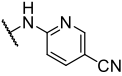
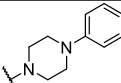
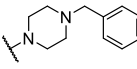
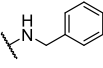
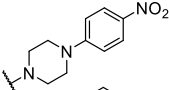

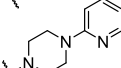

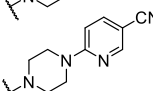
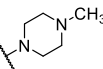
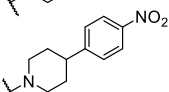
3.1 プロリン γ 位上の置換基変換

プロリン γ 位上の置換基変換とヒト DPP-4 阻害活性の相関を表 1 に示す [4, 5]。まず、無置換の化合物 **3** は 5-シアノ-2-ピリジル体 **2** に比べて阻害活性が 1/20 に減弱した。また、ベンジル基に置換すると化合物 **2** よりも DPP-4 阻害活性が減弱した (化合物 **4**)。その一方でピペリジン、モルホリン、N-メチルピペラジンに置換すると活性が維持または向上した (化合物 **5**, **6**, **7**)。プロリン γ 位上のピペリジン、モルホリン、ピペラジンは S₂ 拡張サイトを構成する Phe357 と CH-π 相互作用を形成するものと考えられる。この中から置換基導入が容易なピペラジンを選択して活性の向上を目指した。ピペラジン上にフェニル基を導入すると活性が向上したが (化合物 **8**)、ベンジル基のようなフレキシブルな芳香環を導入しても活性には影響しない (化合物 **9**)。化合物 **8** の活性向上は、ピペラジンに直接結合することで固定化された芳香環が Phe357 と π-π 相互作用を形成するためと考えている。さらにフェニル基のパラ位にニトロ基を導入すると活性が大きく向上し、端緒化合物である NVP-DPP728 と同程度の阻害活性を示した (化合物 **10**)。また、2-ピリジル基に置換しても活性が向上し (化合物 **11**)、5-シアノ-2-ピリジル基に置換するとさらに活性が向上した (化合物 **12**)。ピペラジンをピペリジンに変換しても活性が維持された (化合物

13)。これは、化合物 **10** と同様にピペリジン上のフェニル基が Phe357 と π - π 相互作用を形成することを示唆している。

表 1. プロリン γ 位上置換基の最適化



compound	X	DPP-4 inhibition IC ₅₀ (nmol/L)	compound	X	DPP-4 inhibition IC ₅₀ (nmol/L)
2		25	8		11
3	H	540	9		31
4		180	10		1.6
5		48	11		2.7
6		14	12		1.6
7		58	13		2.3

3.2 ピペラジン上の芳香環の最適化

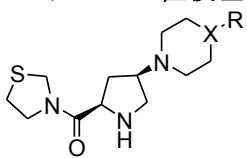
プロリン γ 位上のピペラジンまたはピペリジン上に二環式複素環を置換した化合物の DPP-4 阻害活性を表 2 に示した[6, 7]。2-キノリル体 **14** は 2-ピリジル体 **11** と同等の活性を有していたが、4-キノリル体 **15** は活性が大きく向上し、2-トリフルオロメチル-4-キノリル体 **16** はさらに強い活性を示した。化合物 **16** と DPP-4 の複合体 X 線結晶構造解析の結果[6]、4-キノリル基は S₂ 拡張サイトの Phe357 との π - π 相互作用に加え、Arg358 のグアニジウム基との CH- π 相互作用を有しており、さらにトリフルオロメチル基が Tyr585 と水素結合を形成していた。2-キノリル体 **14** と 4-キノリル体 **15** の阻害活性の差は Arg358 との相互作用によるものと考えている。

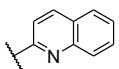
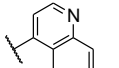
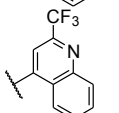
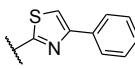
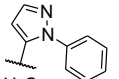
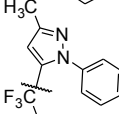
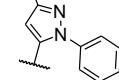
連結環である 4-フェニル-2-チアゾリル体 **17** の活性は 2-キノリル体 **14** よりも減弱した。その一方、1-フェニル-5-ピラゾリル体 **18** は 4-キノリル体 **15** と同等の活性を示し、さらに 3-メチル-1-フェニル-5-ピラゾリル基が置換したテネリグリブチンは強力な DPP-4 阻害活性を有していた。この活性向上は、前項で述べたように Phe357、Val207、Ser209、Arg358 によって構成された S₂ 拡張サイトとの相互作用によるものである[7]。また、これら連結環の結果から、S₂ 拡張サイトにおいては、ピペラジン-芳香環から直線的に置換基を伸長するよりも、置換基を屈曲させてファンデルワールス相互作用を有する Ser209 や Arg358 のポケットに結合させることが、活性向上に大きく効果を及ぼすことが示された。

さらにテネリグリブチンのピペラジンをピペリジンに置換したところ 1/20 に及ぶ活性の低下

を招いた(化合物 **19**)。この原因を明らかにするために、ピペラジン体 **19** と DPP-4 の複合体 X 線結晶構造解析を行い、テネリグリブチンと比較検討した[7]。その結果、化合物 **19** とテネリグリブチンは S_1 サイトならびに S_2 サイトとの相互作用は同じであるが、化合物 **19** のフェニル基は、テネリグリブチンのフェニル基の置換方向と異なるために Ser209 や Arg358 のポケットに相互作用できず、阻害作用が低下したものと推察された。

表 2. ピペラジン上置換基の最適化



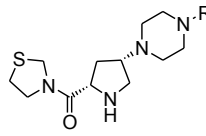
compound	X	R	DPP-4 inhibition IC ₅₀ (nmol/L)
14	N		2.2
15	N		0.95
16	N		0.37
17	N		4.5
18	N		0.94
テネリグリブチン	N		0.37
19	CH		5.6

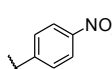
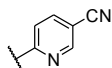
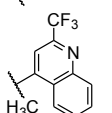
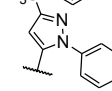
4. DPP-4 の類縁酵素への阻害作用

4.1 DPP-4 阻害活性の選択性

DPP-4 と高い相同性を有する類縁酵素 DPP-8、DPP-9 の生理的機能は今のところ明確にされていないが、ラットおよびイヌを用いた試験では DPP-8 または DPP-9 の阻害により、いくつかの毒性を示すことが報告されている[13]。そこで、一連のプロリルチアゾリジン化合物の DPP-4 選択性を調べるために DPP-8 及び DPP-9 の阻害活性を測定した(表 3) [6, 7]。ピペラジン上の芳香環が単環の化合物 **10**, **12** は DPP-8 に対して 8 倍、25 倍の DPP-4 選択性しか示さない。一方、キノリル基を有する化合物 **16** は DPP-8 に対して 200 倍の DPP-4 選択性を有していた。さらに 3-メチル-1-フェニル-5-ピラゾリル基を有するテネリグリブチンは DPP-8、DPP-9 に対して 700 倍以上の DPP-4 選択性を有することがわかった。このようにピペラジン上置換基の大きさや方向により選択性が大きく変動したことから、この置換基と相互作用する DPP-4 の結合サイト(S_2 拡張サイト)は DPP-8、DPP-9 のそれとは大きく異なることが示唆された。

表 3. DPP-8 と DPP-9 に対する DPP-4 阻害活性の選択性



compound	R	Inhibitory activity IC ₅₀ (nmol/L) on human enzymes		
		DPP-4	DPP-8	DPP-9
10		1.6	12	30
12		1.6	40	110
16		0.37	72	110
テネリグリブチン		0.37	260	540

4.2 DPP-4 と類縁酵素の結合サイトの相違

Rummeley らの DPP-8、DPP-9 の 3 次元構造の予測から [14]、DPP-4 の S₂ 拡張サイトを形成する Phe357 はその阻害剤と CH- π や π - π 相互作用を形成するが、DPP-8 や DPP-9 にはその相互作用がないこと、Ser209 に相当するアミノ酸残基が DPP-8 や DPP-9 にはないこと、Arg358 に相当するアミノ酸残基は DPP-8 では Asp435、DPP-9 では Asp425 であり酵素分子内で異なることが推定されている。これらの結果から DPP-8 及び DPP-9 には S₂ 拡張サイトのファンデルワールス相互作用に関与する部位が存在しないことが示唆されている。従って、S₂ 拡張サイトの相互作用を有効に利用することにより、DPP-4 の阻害活性に併せて選択性も向上させることが可能だと考えられる。

5. シタグリブチン及びアナグリブチンとの結合様式の比較

シタグリブチンと DPP-4 の複合体 X 線構造 (PDBID: 1X70) [10] から、基質ペプチドから合成展開されたテネリグリブチンと社内ライブラリーのスクリーニングにより見出された化合物から合成展開されたシタグリブチンが S₁、S₂、S₂ 拡張サイトを用いた同様の結合様式であることがわかった。図 5 に示すように S₂ 拡張サイトにはトリアゾロピペラジンが結合していた。このトリアゾロピペラジンをチアゾリジンに置換した化合物では活性が 1/7 に減弱しているが [9]、これは Phe357 との π - π 相互作用がなくなったことによるものと推察される。

一方、最近 DPP-4 との複合体 X 線構造が報告されたアナグリブチン (PDBID: 3WQH) [11] は、テネリグリブチンと同様に NVP-DPP728 のような化合物から合成展開されており、Ser630 との共有結合 (複合体 X 線構造では遷移状態) と S₁、S₂、S₂ 拡張サイトに結合していることが特徴である (図 5)。S₂ 拡張サイトに結合するピラゾロピリミジンは、Ser209 周辺には位置せず、Tyr585 の方向に位置していた。そして、ピラゾロピリミジンに連結しているカルボニル基が Arg358 と水素結合を形成していた。いずれにしても、S₂ 拡張サイトに結合する 3 化合物ともが Phe357 と π - π 相互作用を形成しており、Phe357 がこのサイトの中で最も重要なアミノ酸残基であることが理解できる。

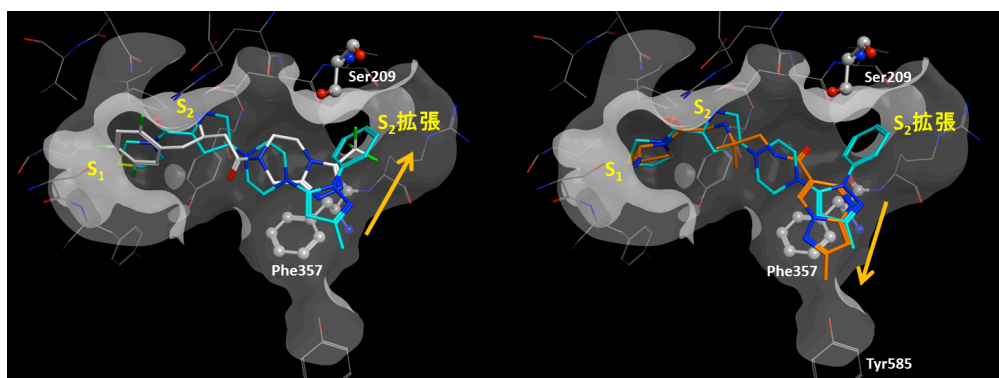


図 5. DPP-4 との結合モードの比較

(左) テネリグリプチン (水色) シタグリプチン (白)
 (右) テネリグリプチン (水色) アナグリプチン (橙)

6. まとめ

DPP-4 の S_2 拡張サイトは、GLP-1 等の基質の結合には関与していない部位である。テネリグリプチンは、この S_2 拡張サイトを有効に使うことにより創製されている。DPP-4 との複合体 X 線結晶構造解析から、 S_2 拡張サイトに結合する DPP-4 阻害剤は、テネリグリプチン、シタグリプチン、アナグリプチンの 3 剤が知られているが、それらの結合様式はそれぞれ特徴的であった。また、 S_2 拡張サイトとの結合においては Phe357 との相互作用が最も重要な役割を果たすことが明らかになっている。この S_2 拡張サイトを効果的に用いれば、強い阻害活性と類縁酵素に対する高い選択性を併せ持つ DPP-4 阻害剤を創製することが可能である。

参考文献

- [1] Hughes, T.E., Mone, M.D., Russell, M.E., Weldon, S.C., Villhauer, E.B. NVP-DPP728 (1-[[[2-[(*S*-cyanopyridin-2-yl)amino]ethyl]amino]acetyl]-2-cyano-(*S*)-pyrrolidine), a slow-binding inhibitor of dipeptidyl peptidase IV, *Biochemistry*, **38**, 11597–11603 (1999).
- [2] Sakashita, H., Kitajima, H., Nakamura, M., Akahoshi, F., Hayashi, Y. 1-((*S*)- γ -Substituted prolyl)-(S)-2-cyanopyrrolidine as a novel series of highly potent DPP-IV inhibitors, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **15**, 2441–2445 (2005).
- [3] Sakashita, H., Akahoshi, F., Kitajima, H., Tsutsumiuchi, R., Hayashi, Y. [(*S*)- γ -(Arylamino)prolyl]thiazolidine compounds as a novel series of potent and stable DPP-IV inhibitors, *Bioorg. Med. Chem.*, **14**, 3662–3671 (2006).
- [4] Sakashita, H., Akahoshi, F., Yoshida, T., Kitajima, H., Hayashi, Y., Ishii, S., Takashina, Y., Tsutsumiuchi, R., Ono, S. Lead optimization of [(*S*)- γ -(arylamino)prolyl]thiazolidine focused on γ -substituent: Indoline compounds as potent DPP-IV inhibitors, *Bioorg. Med. Chem.*, **15**, 641–655 (2007).
- [5] Yoshida, T., Sakashita, H., Akahoshi, F., Hayashi, Y. [(*S*)- γ -(4-Aryl-1-piperazinyl)-L-prolyl]thiazolidines as a novel series of highly potent and long-lasting DPP-IV inhibitors, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **17**, 2618–2621 (2007).
- [6] Yoshida, T., Akahoshi, F., Sakashita, H., Sonda, S., Takeuchi, M., Tanaka, Y., Nabeno, M., Kishida, H., Miyaguchi, I., Hayashi, Y. Fused bicyclic heteroaryl piperazine-substituted L-prolylthiazolidines as highly potent DPP-4 inhibitors lacking the electrophilic nitrile group, *Bioorg. Med. Chem.*, **20**, 5033–5041 (2012).
- [7] Yoshida, T., Akahoshi, F., Sakashita, H., Kitajima, H., Nakamura, M., Sonda, S., Takeuchi, M., Tanaka, Y., Ueda, N., Sekiguchi, S., Ishige, T., Shima, K., Nabeno, M., Abe, Y., Anabuki, J., Soejima, A., Yoshida, K., Takashina, Y., Ishii, S., Kiuchi, S., Fukuda, S., Tsutsumiuchi, R., Kosaka,

- K., Murozono, R., Nakamaru, Y., Utsumi, H., Masutomi, N., Kishida, H., Miyaguchi, I., Hayashi, Y. Discovery and preclinical profile of teneligliptin (3-[(2*S*,4*S*)-4-[4-(3-methyl-1-phenyl-1*H*-pyrazol-5-yl)piperazin-1-yl]pyrrolidin-2-ylcarbonyl]thiazolidine): A highly potent, selective, long-lasting and orally active dipeptidyl peptidase IV inhibitor for the treatment of type 2 diabetes, *Bioorg. Med. Chem.*, **20**, 5705–5719 (2012).
- [8] Schechter, I., Berger, A. On the size of the active site in proteases I. Papain, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **27**, 157–162 (1967).
- [9] Nabeno, M., Akahoshi, F., Kishida, H., Miyaguchi, I., Tanaka, Y., Ishii, S., Kadowaki, T. A comparative study of the binding modes of recently launched dipeptidyl peptidase IV inhibitors in the active site, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **434**, 191–196 (2013).
- [10] Kim, D., Wang, L., Beconi, M., Eiermann, G.J., Fisher, M.H., He, H., Hickey, G.J., Kowalchick, J.E., Leiting, B., Lyons, K., Marsilio, F., McCann, M.E., Patel, R.A., Petrov, A., Scapin, G., Patel, S.B., Roy, R.S., Wu, J.K., Wyvratt, M.J., Zhang, B.B., Zhu, L., Thornberry, N.A., Weber, A.E. (2*R*)-4-oxo-4-[3-(trifluoromethyl)-5,6-dihydro[1,2,4]triazolo[4,3-*a*]pyrazin-7(8*H*)-yl]-1-(2,4,5-trifluorophenyl)butan-2-amine: a potent, orally active dipeptidyl peptidase IV inhibitor for the treatment of type 2 diabetes, *J. Med. Chem.*, **48**, 141–151 (2005).
- [11] Watanabe, Y.S., Yasuda, Y., Kojima, Y., Okada, S., Motoyama, T., Takahashi, R., Oka, M., Anagliptin, a potent dipeptidyl peptidase IV inhibitor: its single-crystal structure and enzyme interactions, *J Enzyme Inhib Med Chem.*, **30**, 981–988 (2015).
- [12] Massova, I., Kollman, P.A., Combined molecular mechanical and continuum solvent approach (MM-PBSA/GBSA) to predict ligand binding, *Perspect Drug Discov. Des.*, **18**, 113–135 (2000).
- [13] Lankas, G.R., Leiting, B., Roy, R.S., Eiermann, G.J., Beconi, M.G., Biftu, T., Chan, C.C., Edmondson, S., Feeney, W.P., He, H., Ippolito, D.E., Kim, D., Lyons, K.A., Ok, H.O., Patel, R.A., Petrov, A.N., Pryor, K.A., Qian, X., Reigle, L., Woods, A., Wu, J.K., Zaller, D., Zhang, X., Zhu, L., Weber, A.E., Thornberry, N.A. Dipeptidyl peptidase IV inhibition for the treatment of type 2 diabetes: potential importance of selectivity over dipeptidyl peptidases 8 and 9, *Diabetes*, **54**, 2988–2994 (2005).
- [14] Rummey, C., Metz, G. Homology models of dipeptidyl peptidases 8 and 9 with a focus on loop predictions near the active site, *Proteins*, **66**, 160–171 (2007).

//// Perspective/Retrospective ////

痛風・高尿酸血症治療薬フェブキソスタットの 創薬研究を振り返って

帝人株式会社 近藤研究室 近藤 史郎

1. はじめに

2011年3月に新しい痛風・高尿酸治療薬として、フェブキソスタット(図1)が国内で承認された。尿酸合成阻害剤としては約40年ぶりの新薬である。今でこそ痛風について、その病態や原因物質となるプリン体などの話題がテレビや雑誌に紹介され、病気の知名度が高くなったが、研究を提案した1980年代にはあまり知られてなく市場も小さかった。食習慣の欧米化で近い将来、高尿酸血症や痛風患者が増えることを予測して、期待できる創薬領域としてアピールしたものの社内の賛意はあまり得られず、一人で細々と研究を開始せざるを得ない状況であった。当時は、Combinatorial Chemistry や SBDD などの技術もなく、限られた合成工数と、古典的な Medicinal Chemistry の手法の中で薬物設計を展開してきた。そのような時代にどのような考え方でどのような化合物を目指したのかというプロセスには、現在の創薬においても通ずる部分があるかもしれないので、当時の探索研究の考え方や手法を紹介したい。

2. 探索テーマの設定とリード化合物の探索

2.1 探索テーマの設定と課題

痛風の基礎疾患となる高尿酸血症の治療薬は、尿酸排泄促進剤と尿酸合成阻害剤に大別されるが、研究着手した当時は、キサンチンオキシドレダクターゼ(XO)を阻害してキサンチンやヒポキサンチンからの尿酸の生合成を阻害するアロプリノール[1]が市場の大半を占めていた。

尿酸合成阻害剤は世界的にもアロプリノール1剤しかなかったため、これに代わりうる薬剤を出せば市場性があると考え、本プロジェクトを提案した。しかし、アロプリノールが1960年代に上市された後、1970年代から80年代にかけて、多数の研究者がより強い合成阻害剤を目指して研究を行った結果、酵素阻害作用はアロプリノールより数十倍から100倍ほど高い後続化合物が複数見出されたが、その中で上市に至ったものはなかったという現実があった。後続化合物が上市に至らなかった理由は不明であったが、いろいろ調査した結果、多くの研究者がアロプリノールの真の活性を見落としていたことが一つの要因として考えられた。

詳細は省略するが、アロプリノールは基質となるヒポキサンチンの構造異性体で、通常のXO阻害評価試験では、その作用強度(IC₅₀)は約1.7 μMと決して強くない。しかし、アロプリノール自身が細胞内のXOによって代謝されオキシプリノールになると、還元型XOに極めて強く結合し、そのK_d値は1 nMと推測されていることが判明した(図2) [2,3]。

後続の化合物は強いものでは10 nM程度のIC₅₀を有していたが、それでもアロプリノールの真の阻害活性に比べると10倍ほど弱く、そのため尿酸低下作用を発揮できなかったと考えられた。したがって、目指すべきXO阻害剤のIC₅₀として1 nMかそれ以上の阻害活性を達成させることを

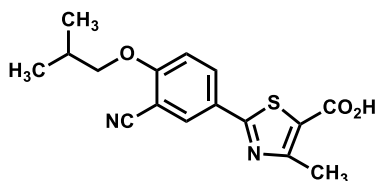


図1. フェブキソスタット

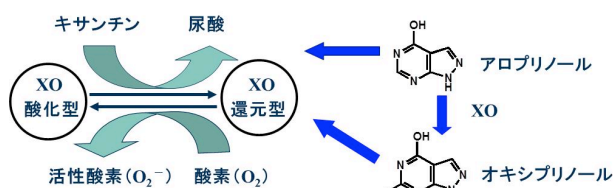


図2. アロプリノールの作用点

目標とした。また、多くの後続化合物がプリン塩基を利用した構造を持っており、副作用のため用量を上げられなかったことも一つの要因として考えられたため、非プリン骨格、かつ酸性から中性の化合物で 1 nM を超える薬剤を目指すことにした。

2.2 化合物プロファイルの設定

アロプリノールの活性本体が判明したものの、薬力学的な解析を進めると、絶望的な気分になった。アロプリノールは基質の構造異性体で分子量が 136 と非常に小さい。吸収率も 80%以上と考えられていた。さらに活性本体のオキシプリノールの体内半減期が非常に長く、一番短い報告でも 17 時間であった。仮に、1 nM という阻害活性が達成できたとしても、分子量が 500、吸収率 80%、半減期 3 時間の薬剤なら、単純に計算すると 20 倍以上の投与量が必要になる。アロプリノールの臨床用量が 100 mg から 300 mg であるから、新薬は 2,000 mg から 6,000 mg が必要となる。そんな新薬を出しても誰も使ってくれない。

さらに、添付文書では承認当時の副作用発症率が 4.1%と非常に低いことが報告されており、理想的な慢性疾患の治療薬であった。欠点があるとするならば、稀に重篤な副作用が報告されていること、特に代謝物オキシプリノールが腎排泄性のため、腎不全患者で血中濃度が高まることであった。

ただでさえ当時の痛風薬市場が小さく、また X0 阻害というコンセプトに新鮮味がなく、社内の評判が悪かったため、このような状況分析の結果は誰にも言えなかった。しかし、オキシプリノールを経口投与しても尿酸低下作用はほとんど認められないことから、オキシプリノールは吸収性（細胞膜透過性）が非常に低いことが推察された。すなわち、オキシプリノールが酵素を強力に阻害するとしても、「一旦細胞外に出てしまえば、細胞内にある X0 の阻害作用を発揮することはない、基本的にはアロプリノール本体の半減期（約 3 hr）に依存する」と仮定した。そうすると、吸収率 90%、分子量 400、半減期 6 hr の化合物を合成すれば同等の投与量で薬効が期待されると考えられた。

そこで、気を取り直して以下のような目標設定を行った。

- ① X0 阻害活性は IC_{50} として 1nM かそれ以下で、分子量は 400 以下
- ② プリン構造を使わず、核酸代謝への影響が少ない化合物
- ③ 腎排泄性を 50%程度に抑えた化合物
- ④ 経口吸収率は 90%以上で、血中半減期は 6 時間以上
- ⑤ 不斉中心を持たない
- ⑥ 大量流通している調達容易な原料を使って、6 ステップ以内の合成プロセス
- ⑦ 融点は 200℃程度で安定な化合物

上記条件のうち、経口吸収率や腎排泄性は当時の探索評価技術では確認の方法がなかったが、LogP を 2~4 に設定しておけば概ねクリアできるだろうと考えていた。しかし半減期に大きく影響を与える薬物代謝は予想の手段がなく、かつ血中動態や代謝物を測定することは 1980 年代当時では大変な作業であった。まして、ヒト代謝酵素なども売られていなかったもので、ヒトにおける薬物動態は推測のしやうがなかった。

ひたすら過去の医薬品の代謝物マップを眺めつつ、どのような置換基や部位が代謝されるのかを演繹するしか方法がなかった。薬物の代謝では、メチル基やアセチル基の転移酵素や還元酵素以外では、チトクロム P450 による酸化的代謝の寄与が大きい。酸化的代謝を抑えるためには、代謝されやすい部位の電子密度を軽減するか、立体障害を利用することが有効と考えた。また、融点が 200℃以上という目標設定には明確な根拠はないが、当時ほかのプロジェクトで融点が低い化合物の製剤安定性が問題になっていたため、200℃以上あれば間違いなく安定性が確保されると思い目標に加えた。

これらの目標は自分自身にも厳しいクライテリアであり、またプロジェクトに対する周囲の見方も厳しかったため、探索期間を 2 年に限定して 1989 年から合成を開始した。

2.3 リード化合物の選定とデザインの禁則

まず、他の核酸代謝酵素への影響を排除するため、プリンのような含窒素縮合環を排除することにした。過去に合成された X0 阻害剤を解析すると、必ずしも縮合環である必要はなく、むしろプリン骨格の 9 位に相当する位置にベンゼン環を持つ化合物が比較的高活性を有していた。そこで 5 員環とベンゼン環を単結合で結ぶデザインでいくつかの母核を合成した。一つ一つ母核を作るため、大きく時間を費やしてしまったが、2-フェニル-5-チアゾールカルボン酸に弱いながらも 730nM ほどの X0 阻害活性を認め、これをリード母核に設定した。また、限られた合成人員（本人のみ）と薬らしい構造の観点から以下のような禁則を作って化合物デザインを限定した。

●安全性の面から

- ・塩基性窒素を使わない・・・中枢移行性の回避
- ・ハロゲンの数は 3 個以内（可能なら 1 個以内）・・・肝毒性など
- ・抗炎症、高脂血症薬（フィブラート系薬剤）などの部分構造を排除・・・肝毒性など

●薬物動態、物性の面から

- ・代謝されやすい構造を排除・・・転移酵素の基質、電子リッチなメチル、メチレンなど（特にカルボン酸や水酸基、アミノ基などの極性官能基から数 Åにある脂溶性基）
- ・カルボン酸、アミド結合はそれぞれ 1 つ以内・・・膜透過性
- ・4 級炭素のような嵩高い構造を使用しない・・・膜透過性
- ・共役的な 3 環化合物は不可・・・溶解速度、分散性
- ・ケミカルに反応性の高い構造の排除・・・易代謝性、安定性

これらの禁則は決して明確な根拠はなく、独りよがりの論理であるが、多くの医薬品の代謝物や毒性事象を解析して自ら導いた考え方であった。のちにリピンスキールール[4]が登場して drug-likeness という言葉が話題を呼ぶが、上記の自主禁則は、それに先行し、かつ、厳しい規準であったと思う。

3. 構造活性相関

3.1 モノ置換フェニルチアゾールカルボン酸の構造活性相関

初期のモノ置換フェニルチアゾールカルボン酸誘導体の一部の構造活性相関を表 1 に示す。置換基の導入により、大きく活性が向上し、目標の 1 nM を超える化合物も早々と得られた。

ベンゼン環の 4 位に電子供与性基を導入すると無置換体に比べて阻害活性がやや向上した。一方、ニトロ基やトリフルオロメチル基のような電子吸引性基を 3 位に導入すると活性が大きく向上した。3-ニトロ基 (5) では IC_{50} 値が 14 nM であり、無置換体 (1) に比べ 52 倍、3-トリフルオロメチル基 (7) では IC_{50} 値が 0.63 nM と極めて高い酵素阻害活性を示し、無置換体の 1160 倍となった。非常に面白いことに、これらの電子吸引性基を 4 位に導入すると、活性は大きく低下し、無置換体と同程度の活性であった。カルボキシル基は系中で電子供与基として働くと考えられ、4 位置換体 (10) は IC_{50} 値が 3.2 nM と無置換体に比べ 228 倍の活性を示し、3 位置換体 (9) との差も 100 倍であった。

ベンゼン環の電子密度が活性に影響を与えることは良く見られることである。特に酵素阻害剤は比較的顕著な構造活性相関が得られることが多い。しかし、本化合物のように置換基の位置によってこれほど劇的に変化することは、酵素の構造の厳密さをあらためて感じさせられた。何とかその要因を突き止めようと、いろいろ調査してみると、X0 は補酵素としてモリブドプテリンを必要とする酵素であり、基質のヒポキサンチンが酸化される反応場の近くにモリブデンと、それに配位するプテリン誘導体が存在することが分かった。おそらく本化合物群はこのプテリン誘導体との π - π 相互作用で大きく活性が変化するのではと考えた。

すなわち、2-フェニル-5-チアゾールカルボン酸のベンゼン環上に電子雲が広がるものの、置換基の導入により、ベンゼン環の各炭素の荷電に強弱が生まれる。一方、プテリン誘導体も窒素原子の影響を受けて複素環上の荷電に強弱が発生し、両者がうまく重なることで強い相互作用を

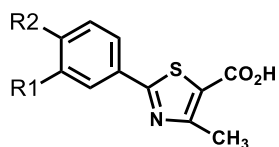


図 3. フェニルチアゾール誘導体

表 1. モノ置換フェニルチアゾールの構造活性相関

No.	R1	R2	XO 阻害作用 IC ₅₀ (nM)
1	H	H	730
2	H	CH ₃	540
3	H	iso-PrO	28
4	iso-PrO	H	67
5	NO ₂	H	14
6	H	NO ₂	900
7	CF ₃	H	0.63
8	H	CF ₃	310
9	CO ₂ H	H	320
10	H	CO ₂ H	3.2
11	benzoyl	H	120
12	H	benzoyl	6.0
13	H	4-CH ₃ -benzoyl	3.3
14	CONHPh-4-Cl	H	150
15	H	CONHPh-4-Cl	0.38
16	H	CON(CH ₃)Ph-4-Cl	500
17	H	Cyclohexylmethyloxy	15
18	H	Cyclohexylpropyloxy	3.2
19	H	4-F-benzyloxy	31
20	H	4-Cl-benzyloxy	17
アロプリノール			1700

生じるのではと考えた。当時はまだコンピュータの計算速度が遅く、一つの化合物を解析するのに一晩かかったが、何とか数化合物の分子軌道計算をして電子密度を算出し、プテリン誘導体との相互作用を示唆することができた (図 4)。

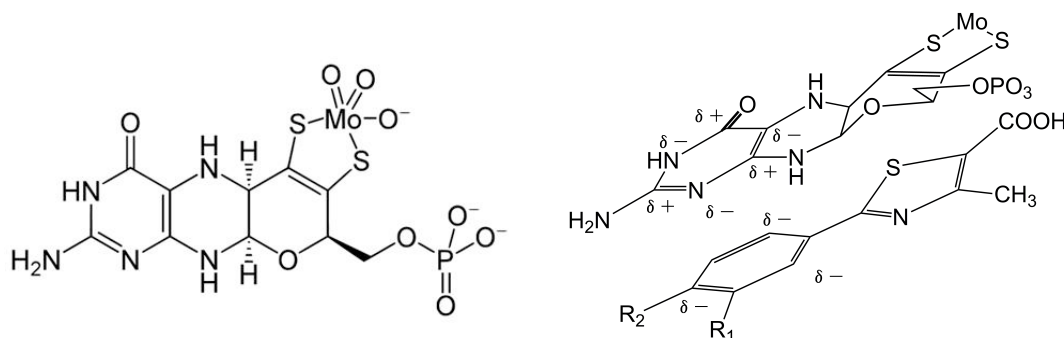


図 4. モリブドプテリンと薬物の相互作用想定図

また、ベンゾイル基のような大きな置換基の場合は電子吸引性基でありながら、4 位置換体 (12) が 3 位置換体 (11) より 20 倍高活性となり、ベンゼン環上の電子状態による相互作用とは別に、新たな作用点が考えられた。また、4 位にアミドを導入すると活性は向上し、4-(4'-クロロフェニル) アミノカルボニル体 (15) の IC_{50} が 0.38 nM と最高活性を示し、無置換体に比べ約 2000 倍近く活性が向上したことから、第 2 の作用点との相互作用が活性に大きく影響することも示唆された。ただし、一般的に *in vitro* の系では化合物の脂溶性を上げると活性の向上が見られることが多い。酵素阻害評価系は、基本的に目的の酵素と緩衝液だけで構成されているので、脂溶性の高い化合物は水中にいるよりも酵素表面に集まりやすく、見かけ上、活性が上昇することも多い。生体内では、高脂溶性化合物はアルブミンを始め、他のタンパクにも分散するし、また代謝も早くなる。高脂溶性化合物の *in vitro* 評価結果は慎重に解釈する必要がある。

3.2 ジ置換フェニルチアゾールカルボン酸への転換と *in vivo* 尿酸低下作用

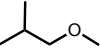
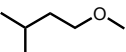
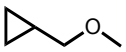



モノ置換誘導体を数十化合物ほど合成したところで、一気に 1,000 倍以上の阻害活性向上を果し、目標を超える化合物がいくつか得られた。早速、マウスを用いて *in vivo* 尿酸低下作用を確認した。そのうちのいくつかはアロプリノールを超える薬効を示すだろうと考えたが、期待に反し、いずれも尿酸低下作用は極めて弱かった。アロプリノールが 0.5 mg/kg で血清尿酸値を 70% 程度抑えるのに対し、強いものでも 10 倍の投与量を要した。アロプリノールの大きな壁を感じるとともに、1 nM 程度あれば薬効が出るという仮説が怪しくなった。すでに約束の 2 年間の過ぎようとしており、手詰まり感を感じing中で、何とか薬物動態を知りたいと考えた。

当時の HPLC の感度では、一つの化合物の血中濃度推移を測定するためには数十匹のマウスの全血採血が必要であった。また、評価系の確立及び実際の測定で 2-3 ヶ月の時間が必要であった。とても自分で測定する時間もなく、また他部署にお願いするほどの根拠もなかった。

ふと思いついて、薬物を投与した後、尿酸値を測定するために調製した血清には薬物が含まれているから、血清の酵素阻害活性を評価すれば、薬物濃度を推定することができないだろうか。と評価研究者に相談した。すぐに検討したところ、 10^{-7} M より強い化合物なら、僅かな血清で大まかな血中濃度を測定できることが分かった。この濃度は活性代謝物も含めての濃度になるが、尿酸値と血中濃度を同時に測定でき、基礎的な PK/PD 解析には十分であった。投与量や時間推移を検討したところ、 IC_{50} 値の 100 倍から 300 倍の血中濃度があれば尿酸低下作用が発揮されることが明らかになった。我々の化合物には脂溶性の高いカルボン酸誘導体が多く、これらはおそらくタンパク結合性が高いため、薬効を発揮するには、 IC_{50} 値の 100 倍以上の濃度が必要だろうと考えられた。

多くの活性化合物は投与後 2 時間で血中濃度が消失していたが、3-ニトロ誘導体が、吸収性が悪いものの、非常に長く血中に存在することが明らかとなった。そこで、3-ニトロ誘導体の 4 位にイソプロピルオキシ基 (21) を導入して脂溶性をあげてみた。電子効果が打ち消されてしまい、

表 2 ジ置換フェニルチアゾールカルボン酸の尿酸低下作用

No.	R1	R2	XO 阻害作用 IC ₅₀ (nM)	尿酸低下作用 (経口投与 2 時間後, %)	
5	NO ₂	H	14	1.0 mg/kg NE	
				5.0 mg/kg	73.7
21	NO ₂	iso-PrO	0.57	0.3 mg/kg	72.7
				1.0 mg/kg	90.0
22	NO ₂	EtO	0.36	0.3 mg/kg	57.1
				1.0 mg/kg	71.4
23	NO ₂		1.4	0.3 mg/kg	70.6
				1.0 mg/kg	82.4
24	NO ₂		0.67	0.3 mg/kg	52.9
				1.0 mg/kg	58.8
25	NO ₂		2.4	0.3 mg/kg	61.9
				1.0 mg/kg	76.2
26	NO ₂		1.8	0.3 mg/kg	68.4
				1.0 mg/kg	78.9
27	NO ₂		1.6	0.3 mg/kg	58.8
				1.0 mg/kg	76.5
28	NO ₂		1.8	0.3 mg/kg	64.7
				1.0 mg/kg	94.1
アロプリノール			1700	0.3 mg/kg	36.4
				0.5 mg/kg	68.2

阻害活性が低下すると思ったが、意外にも阻害活性が上昇するとともに、劇的に尿酸低下作用が強くなり、初めてアロプリノールを超える薬効を示した化合物にたどり着いた。2 度、3 度再現性を見たが、その効力に間違いはなかった。その後は 3-ニトロ、4-アルコキシ基の組み合わせで続々と尿酸低下作用がアロプリノールを超え、10 化合物以上の開発候補が得られた（表 2）。これまでの自分自身の創薬研究の中で最も自信と充実を感じた 2 か月間であった。

3.3 創薬研究の落とし穴と一発逆転

しかし、その幸福な時間はあっさり崩れ去った。ニトロ誘導体ということで変異原性に若干の不安があったが、Ca 拮抗剤などではニトロ基を有する化合物が多いので、いくつかは陽性反応があるとしても、10 以上の候補化合物があれば大丈夫だろうと考えていた。しかし AMES テストを実施するといずれも非常に強い変異原性を示した。慢性疾患の治療薬として、この欠点は致命的であった。ニトロ基を他の官能基に置換えれば AMES 試験は陰性であったが、薬効も大きく落ちた。打つ手がなくなり、すでに約束の 2 年間で過ぎてしまっていたため、プロジェクトをたたむつもりでいた。しかし今後のためにも、変異原性のメカニズムを知っておかなければと考え、

いろいろ調べてみた。明確な経路は明らかでないものの、ニトロ基が還元され、以下のように代謝されてニトロニウムイオンが生成し、これが DNA に障害を与えることが推察された (図 5)。

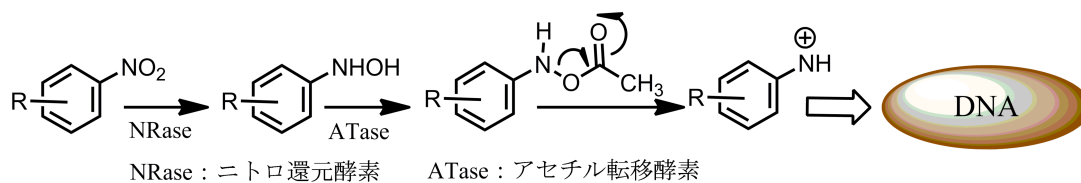


図 5. ニトロ基による DNA 障害のメカニズムの一例

これらの代謝反応も、体内の酵素がニトロ基を認識して行っている。だとしたら、ニトロ基の周辺の立体障害を大きくしたら、ニトロ基の代謝を回避できるのではと考えた。すでに 4 位に嵩高い官能基も入れていたが、自由回転可能な炭素原子と嵩高い分岐を入れるデザインをして、二つの化合物を最後のつもりで合成した (図 6)。すると見事に変異原性が消失した。あらためて生体の巧妙さ、複雑性に感服したが、プロジェクトは復活した。

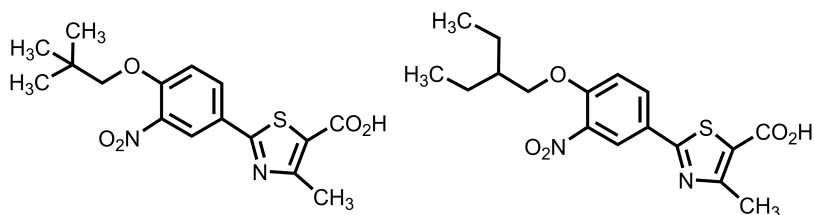


図 6. 変異原性を回避するための化合物

ニトロ基でも有力な開発候補になると考えられたが、プロジェクトのメンバーが増えたこともあり、より安全で高活性な化合物の探索を継続した。その結果、シアノ基でも活性や動態が維持、改善されることがわかり、最終的にシアノ基を有するフェブキシソスタットを選択した。

フェブキシソスタットの誕生後、かなり後になるが、阻害剤と X0 の共結晶解析が実現すると、活性中心の近傍のポケットには良くはまっているものの、先に述べたようなモリブドプテリンと

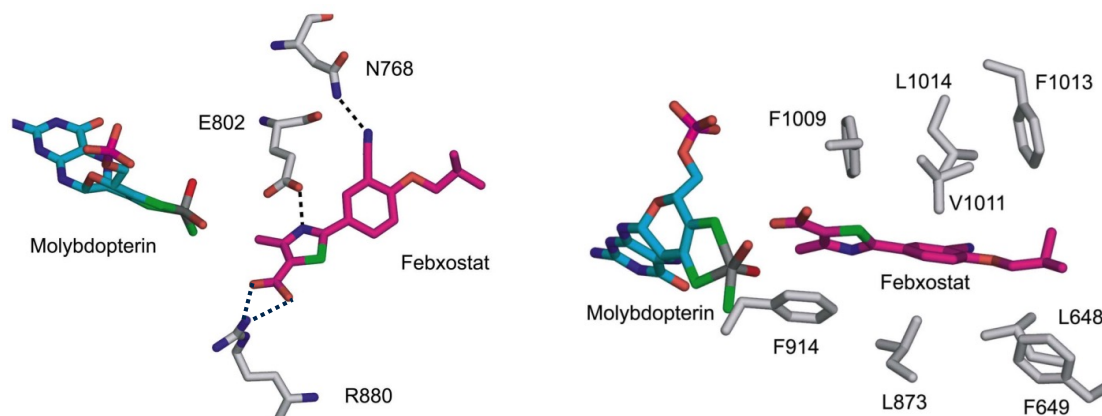


図 7. フェブキシソスタットと X0 の共結晶解析

の相互作用は見られなかった[5]。想定した π - π 相互作用ではなく、ロイシンやバリンとの π - σ 相互作用であることが明らかとなった。置換基の位置による活性の大きな変化は未だ説明がつかない。

4. 終わりに

フェブキシソスタットはその後、種々の動物モデルで薬効が確認され[6,7]、安全性試験や品質試験の基準なども満足し、臨床試験に進んだ。ヒトにおいても明確な尿酸低下作用が確認され、1日1回、40 mgの服薬で治療目標の血漿尿酸値6 mg/dLを多くの患者さんで達成できるようになった。

あらためて振り返ってみると当初いろいろ設定したクライテリアはほぼ達成されている。酵素阻害作用は IC_{50} が0.6 nMと1 nMを切っており、また分子量は316で目標の400を大きく下回ることができた。LogPも実測値としてpH7で2.2ほどで、ヒトの半減期も7時間以上あることが確認された。放射能を用いたヒト尿糞バランス試験ではほぼ半分ずつ排泄されて、軽度から中等度の腎障害のある患者さんでも投与量の調節は必要ないとされた。融点も208℃で安定な結晶であり、原薬製造や製剤・品質試験でも有利であった面は多いと思われる。

創薬研究では活性目標をクリアし、治療コンセプトを検証することが第一義であることは言うまでもない。しかし薬剤として開発する以上、動態や物性、安全性など多くの面で合格点でないといけない。当時の化合物プロファイルの設定は極めて感覚的で、明確な根拠を作れなかったが、現在はいろいろな評価方法や推測手段が可能になっている。今後少しでも精度が高く、かつ論理的、合目的な目標を構築していきたい。

謝辞

本プロジェクトの実施にあたり、アロプリノールの作用の本質に関するご助言とともに、XO阻害剤の研究に関し、多大なご指導、ご助言をいただいた日本医科大学名誉教授の西野武士先生、及び准教授の岡本研先生に深く感謝申し上げます。また、探索研究初期の厳しい状況の中で、当初から薬効評価をしていただいた故土本雅弘博士に感謝申し上げます。

参考文献

- [1] Elion, G. B., Callahan, S., Nathan, H., Bieber, S., Rundles, R. W. & Hitchings, G. H. Potentiation by inhibition of drug degradation: 6-substituted purines and xanthine oxidase, *Biochem. Pharmacol.* **12**, 85–93 (1963).
- [2] Massey, V., Komai, H., Palmer, G. & Elion, G. B. On the mechanism of inactivation of xanthine oxidase by allopurinol and other pyrazolo [3, 4-d] pyrimidines, *J. Biol. Chem.* **245**, 2837–2844 (1970).
- [3] Massey, V., & Edmondson, D. On the mechanism of inactivation of xanthine oxidase by cyanide, *J. Biol. Chem.* **245**, 6595–6598 (1970).
- [4] Lipinski, C. A., Lombardo, F., Dominy B. W. Feeney, P. J. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings, *Adv. Drug. Delivery Rev.* **23**, 3–26 (2001).
- [5] Okamoto, K., Eger, B.T., Nishino, T., Kondo, S., Pai, E.F., Nishino, T. An extremely potent inhibitor of xanthine oxidoreductase: crystal structure of the enzyme-inhibitor complex and mechanism of inhibition, *J Biol Chem.* **278** (3), 1848–55 (2003).
- [6] Komoriya, K., Osada, Y., Hasegawa, M., Horiuchi, H., Kondo, S., Couch, R.C., Griffin, T.B. Hypouricemic effect of allopurinol and the novel xanthine oxidase inhibitor TEI-6720 in chimpanzees, *Eur J Pharmacol.* **250** (3), 455–60 (1993).
- [7] Osada, Y., Tsuchimoto, M., Fukushima, H., Takahashi, K., Kondo, S., Hasegawa, M., Komoriya, K. Hypouricemic effect of the novel xanthine oxidase inhibitor, TEI-6720, in rodents, *Eur J Pharmacol.* **241** (2–3), 183–8 (1993).

//// SAR Presentation Award ////

< SAR Presentation Award について >

「SAR Presentation Award」は、構造活性相関シンポジウムにおける若手研究者の発表を奨励し、構造活性相関研究の発展を促進するため、2010 年度に創設された。当初は応募制として審査対象講演の募集を行った。2012 年度からは、正式名称を「構造活性相関シンポジウム優秀発表賞」(英語表記 SAR Presentation Award)と定め、構造活性相関シンポジウムにおける 45 歳以下の発表者(登壇者)による全ての一般講演(口頭発表)を選考対象とすることとした。

< 2015 年度選考結果について >

第 43 回構造活性相関シンポジウム「優秀発表賞」受賞者の選考については、審査員から提出頂いた審査票の集計結果をもとに、去る 1 月 5 日(火)に大阪大学中之島センターで開催された平成 27 年度第 4 回常任幹事会において、別途定めた評価基準にもとづいて協議が行われ、選考対象講演のうち、評点が上位の 3 名を受賞候補者として選出した

2015 年度構造活性相関シンポジウム優秀発表賞

長門石 暁 (東京大学大学院 工学系研究科)

清田 泰臣 (北里大学 薬学部)

佐山 美紗 (東京大学大学院 薬学系研究科)

受賞者の発表は本ニュースレターにおける誌上発表とし、受賞者には別途部会長名で授賞通知を送付するとともに受賞の諾否を確認し、表彰状と副賞(図書券)を贈呈した。なお、審査にあたっての観点と評価基準を以下に付す。

審査の観点と評価基準:

(5:大変優れている 4:優れている 3:良い 2:改善が必要である 1:大いに改善が必要である)

- a) 講演要旨: 講演要旨は発表内容を反映して適切に作成されているか。
- b) 講演資料: スライドは専門領域の異なる参加者にも分りやすく、見易く、かつ発表時間に見合って適切に作成されているか。
- c) 研究のねらい: 研究の背景と目的、先行研究との関係、研究の新規性あるいは有用性が明確になっているか。
- d) 論理構成の合理性: 研究方法が適切であるか、適切な文献資料、データに基づいて議論が進められているか。考察・結論は妥当か。
- e) 質疑応答: 質問等に対し、的確な応答・議論がなされたか。活発な討論がなされたか。
- f) 総合評価 : a)~e)を総合的に評価する。

2015 年度審査員(50 音順、敬称略):

赤松 美紀、伊藤 篤史、大田 雅照、粕谷 敦、加藤 博明、川下 理日人、合田 浩明、篠原 康雄、砂田 真志、高橋 典子、竹田一志鷹 真由子、中川 好秋、服部 一成、広野 修一、藤原 英明、本間 光貴、前田 美紀、丸岡 博、横山 祐作

< 受賞者コメント >

KOE11

氏 名 長門石 暁（ながといし さとる）

所 属 東京大学大学院 工学系研究科

演 題 Biophysical cross-validation in fragment screening of fluorinated chemical library toward FBDD using SPR, ITC and ^{19}F NMR

この度、第 43 回構造活性相関シンポジウム優秀発表賞をいただくことになりました。まことにありがとうございました。心より御礼申し上げます。

私共の研究は、薬剤探索とその分子設計のために、*in vitro* での“物理化学的解析”を駆使し、速度論的解析 (SPR 測定) や熱力学的解析 (ITC 測定) から蛋白質と低分子化合物間の相互作用に関する定量的な議論を試みております。本発表では、低分子化合物ライブラリーとして近年注目されているフラグメント化合物を用いて、SPR, ITC、さらに NMR を活用し、ヒット化合物の選抜を試みております。このフラグメントにはフッ素が含有しているため、 ^{19}F NMR 測定が可能です。フラグメント化合物は、その分子サイズが平均 200Da 程度と非常に小さいため、高い検出感度を要求されます。さらにその小ささから、*in silico* でのドッキングシミュレーションでは、しばしば結合サイトや結合様式の探索を困難にしております。私共は *in vitro* での物理化学的アプローチとその定量的解析から、フラグメント化合物の特異的結合を探索・議論し、新規なヒット化合物を取得しました。今後、より高親和性を示す化合物の創成を目指して、SPR, ITC そして NMR それぞれから異なるヒット化合物を選抜し、そのリンキングや伸長への展開を目指して参ります。今後とも先生方のご指導を何卒宜しくお願い致します。

最後に、本研究を進める上で多大なご助言を頂きました、生物研・加藤先生、ナード研・梶田様、キシダ化学・秋山様、ペプチドリーム・金井様、古谷様に深く御礼申し上げます。そして御指導を賜りました津本浩平教授に改めてここに感謝申し上げます。

KOJ06

氏 名 清田 泰臣（きよた やすおみ）

所 属 北里大学 薬学部

演 題 A method for annotating chemical feature around protein toward ligand-binding-site prediction, based on 3-dimensional distribution function

この度は、第 43 回構造活性相関シンポジウムの優秀発表賞に選んでいただけましたこと、大変光栄に存じます。評価をしてくださいました先生方、また日本薬学会構造活性相関部会の諸先生方に、この場を借りて厚く御礼申し上げます。また、本研究を進めるにあたってご指導を賜り、様々な場面で支えていただきました竹田一志鷹真由子教授、そして北里大学薬学部生物分子設計学教室の皆様にご心より感謝申し上げます。本研究で発表した手法は、近年需要が高まってきた、タンパク質周りの水和構造予測法のために開発した手法でした。この手法では、3D-RISM 理論で得られる 3 次元分布関数を基にして、その確率分布に従った乱数を発生させ、水和構造を作成するというプロトコルを用いました。その結果として、安定かつ高速に、水和構造を予測する手法が開発できたと考えております。このプロトコルは、3 次元分布関数さえ得られれば、様々な分子に対しても応用が可能になります。現在は、データベースに依存せずリガンド結合部位の予測が可能になるよう、手法を改善させることを考えております。今回の受賞を励みに、より一層の努力をして、薬学の発展につながるよう頑張る所存ですので、今後ともご指導のほど、よろしく願いいたします。

KOJ07

氏 名 佐山 美紗 (さやま みさ)

所 属 東京大学大学院 薬学系研究科

演 題 **Structural Expansion of the Lipid Ligand Lysophosphatidylserine Based on the Model of Hydrophobic Binding Pocket of G-protein-coupled Receptor GPR34/LPS1**

この度は、SAR Presentation Award に本発表をご選定頂き、ありがとうございます。本発表の内容は、脂質リガンドとその受容体との複合体構造モデリングを活用した構造活性相関研究です。対象の受容体は免疫系への関与が示唆されており、本研究を利用して得たリガンドを用いて、受容体機能解明が進むことを期待します。

私自身は、大和田智彦教授のご指導のもとで、化合物の有機合成と複合体の構造モデリングに携わっています。化合物の活性評価は東北大学大学院薬学系研究科の青木淳賢教授のグループに行っており、また、計算に関しては、産業技術総合研究所の広川貴次先生にご指導頂きながら進めました。この場を借りて深く感謝申し上げます。

薬を学ぶ中で、ある化学構造を持つ薬がなぜ特定の作用を持つのか、なぜその化学構造でなければならないのかに興味を持ちましたが、構造活性相関研究によりその疑問にアプローチできることにやりがいを感じます。また、計算による構造活性相関のモデル化と、実験による検証というサイクルをまわして、薬を創ることに携わりたく、実際に脂質受容体という興味深い標的に対して化合物を創製できるのはまたとない機会であると思っています。

今後も、化学構造と薬の作用の関係を知らず、創薬に貢献できることを目指したいと思います。その中で今回の受賞は研究の励みになり、非常に光栄で価値あることに思います。構造活性相関部会に改めて感謝申し上げます。

KOE11

Biophysical cross-validation in fragment screening of fluorinated chemical library toward FBDD using SPR, ITC and ^{19}F -NMR

(Sch. of Eng., Univ. of Tokyo¹, DDI, Univ. of Tokyo², Nard Institute, Ltd.³, Nat. Inst. of Agrobiol. Sci., NIAS⁴, Kishida Chemical Co., Ltd.⁵, PharmaDesign, Inc.⁶, Inst. of Med. Sci., Univ. of Tokyo⁷)

○Satoru Nagatoishi^{1,2}, Sou Yamaguchi¹, Keita Kajita³, Etsuko Katoh⁴, Hiroyuki Akyama⁵, Satoru Kanai⁶, Toshio Furuya⁶, Tsumoto Kouhei^{1,2,7}

Abstract

Fluorine is frequently used in the pharmaceutical industry and fluorine NMR-based spectroscopy (^{19}F -NMR) can become a useful tool for hit validation in primary screening of drug discovery. In the primary screening, fragment-based drug discovery (FBDD) has emerged as one of the successful approaches to design high-affinity ligands for target proteins of therapeutic interest. The fragment bindings can be detected using sensitive biophysical techniques such as NMR, surface plasmon resonance (SPR), or isothermal titration calorimetry (ITC). Here, the FBDD was performed using a chemical library containing a fluorine atom or a trifluoromethyl group. We have used the extracellular signal-regulated kinase 2 (ERK2) as a model target protein. We concluded that the cross-validation of ^{19}F -NMR, SPR and ITC methods are a powerful tool in the early stages of FBDD.

1. Introduction

Fluorine containing compounds have had a profound impact on the development of drugs for the modern pharmaceuticals market. [1]. Fluorine is frequently used in the pharmaceutical industry and approximately 20% of all drugs contain fluorine atoms and widely used in the lead optimization phase of drug discovery. Recently, ^{19}F -NMR has emerged as an efficient tool for performing binding assays. The chemical shift or intensity change of fluorine NMR is especially a powerful marker of the fluorine local environment. This method can become a useful tool for hit validation in primary screening of drug discovery.

Fragment-based drug discovery (FBDD) has emerged as one of the successful approaches to design high-affinity ligands for target proteins of therapeutic interest. The interactions between the fragments and a target protein are relatively weak with submillimolar affinity. It is expected that these weak binders provide

a starting point for the development of inhibitors with submicromolar affinity. In small compound screening, the selection of specific binders to a target protein is important point to obtain the true hit compounds from the compound library. A variety of experimental techniques, including X-ray crystallography, NMR, surface plasmon resonance (SPR), isothermal titration calorimetry (ITC), and differential scanning fluorimetry, have proven to be very useful in determining binding affinities, binding poses and binding specificities of fragments to target proteins [2] (Figure 1).

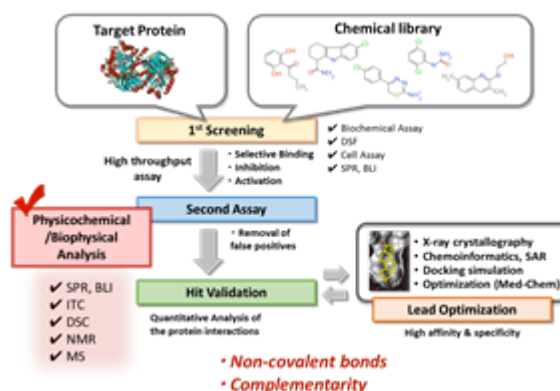
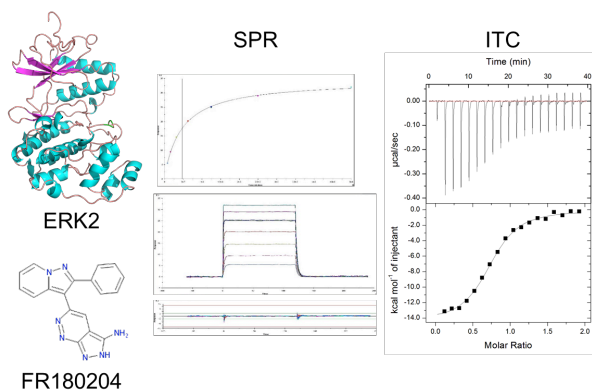


Figure 1. Flow chart of small-molecule screening with biophysical approaches in drug discovery

Here, the FBDD was performed using a chemical library containing a fluorine atom. We have used the extracellular signal-regulated kinase 2 (ERK2) as a model target protein. ERK2 binds to an inhibitor (FR180204) and shows binding responses in SPR and ITC (Figure 2). We performed ^{19}F -NMR, SPR and ITC analysis to obtain the hit compounds binding specifically to ERK2. ^{19}F -NMR and SPR are suitable to use in the primary screening due to the high sensitivity in the NMR signal and the exclusion of

false positive signals in the SPR response, respectively. ITC was used to validate



thermodynamically the ERK2 binding in hit candidates of NMR and SPR.

Figure 2. SPR and ITC profiles of ERK2 binding to FR180204

2. Results & Discussion

2-1. ^{19}F NMR-based screening

The ^{19}F signal changes of each fragment compounds have been determined and the mixtures of 24-25 compounds which chemical shift are well resolved have been prepared before the screening. ^{19}F NMR-based fragment screenings were performed on Bruker AV500 equipped with 5-mm BBFO probe at 298 K. The fluorine containing fragment compounds (418 compounds) were tested with ^{19}F R_2 filter experiment with Carr-purcell-Meiboom-Gill scheme in the absence and presence of ERK2. When the fragment compounds interact with ERK2, the signals of the compound are significantly reduced in intensity in the presence of ERK2. Typical ^{19}F NMR fragment screening results are shown in Figure 3. From the results of ^{19}F NMR-based fragment screenings, the signals of 27 compounds were reduced its signal intensity (> 30%).

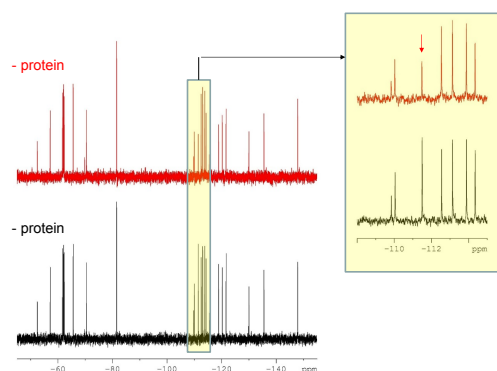


Figure 3. ^{19}F NMR fragment screen spectra

2-2. SPR screening

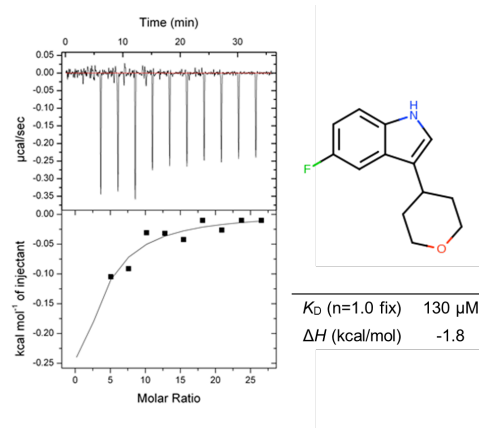
Fragment screening of ERK2 was conducted in a

Biacore T200 instrument (GE Healthcare) using a CM5 sensor chip at 298 K. ERK2 was captured by the anti-His antibody. The fragments were injected at 100 μM . The positive control experiment was performed periodically to confirm the stability of the protein on the sensor chip by injecting FR180204. The binding responses were normalized with respect to FR18024 and buffer. Only fragments with binding response levels above 3SD and below 100% to that of FR18024 were selected the hit candidates. In comparison with the hit candidates of ^{19}F NMR, four compounds were selected for the true hit candidates.

2-3. ITC validation

ITC is broadly considered the gold standard for the quantitative description of protein–ligand interactions. Detailed calorimetric analysis of hit candidates from NMR and SPR was conducted in a iTC200 instrument (GE Healthcare) at 298 K. ERK2 at 20 μM was titrated with fragments (2 mM) in 25 mM HEPES, 150 mM NaCl, 10 mM MgCl_2 , 1 mM DTT, and 5% DMSO at pH 7.5. The results demonstrated that one compound in four hit candidates was determined as shown in Figure 4. This compound showed a exothermic binding to ERK2 with submillimolar affinity ($K_D=130 \mu\text{M}$).

Figure 4. ITC profile of a hit compound



3. Conclusion

We performed the FBDD to obtain the hit compounds as inhibitor of ERK2 using fragment library containing a fluorine atom. From the cross-validation of ^{19}F -NMR, SPR and ITC methods, one hit compound was determined.

Reference

- [1] E.P. Gillis, K. J. Eastman, M. D. Hill, D. J. Donnelly, N. A. Meanwell, *J. Med. Chem.* (2015) DOI: 10.1021/acs.jmedchem.5b00258.
- [2] A. Kobe, J. M. Caaveiro, S. Tashiro, D. Kajihara, M. Kikkawa, T. Mitani, Tsumoto K, *J. Med. Chem.* (2013) 56, 2155-2159.

KOJ06

A method for annotating chemical feature around protein toward ligand-binding-site prediction, based on 3-dimensional distribution function

(School of pharmacy, Kitasato University)

○Yasuomi Kiyota, Mayuko Takeda-Shitaka

Abstract

The 3D-RISM theory can calculate the density distribution function of small ligands around protein, directly and analytically. We have developed the method which can transform the atomic distribution functions as the result of 3D-RISM calculation into a molecular distribution function and also developed the new sampling method to small ligands or pharmacophores for determining the binding position. By means of this strategy, the method can be used to predict the binding pockets or select docking pose based on the 3-dimensional distribution function. We applied this method to the peroxisome proliferator-activated receptor alpha with the known agonist for determining the binding spot of its pharmacophore, the carboxylate group.

1. Introduction

In current drug discovery or drug design studies, many protein-ligand complexes are available by effort and development of the structural biology. Their experimental structures are used to design and discover the ligands which have novel binding pockets or undetermined docking poses. In the usual method to investigate above problem, most analyses are based on the structural alignments of complexes and docking simulations between the protein and ligands. However, this methodology needs high computational cost and large number of structure samples. On the other hand, we developed a new method based on the 3-dimensional distribution functions (DFs) with Inversed-transformed Monte-Carlo, recently [1]. This method can reproduce the conformation of hydration structure from 3-dimensional DF by low computational cost, comparing with usual simulation.

The 3D-RISM theory can calculate not only water but also small ligands, directly and analytically [2]. As

the results of calculation, the 3D-RISM theory can obtain the 3-dimensional DFs. However, the DF is difficult to image the molecular shape. Additionally, the DF obtained from 3D-RISM theory is defined as an atomic function, then it is not ensure that one molecule locate the position where the peak appears. Therefore, we developed the calculation method which can transform the atomic DFs into a molecular DF, firstly. Secondly, we extended the new sampling method to small ligands or pharmacophores for determining the binding position. In this study, we applied this method to the peroxisome proliferator-activated receptor alpha (PPAR α) with the known agonist for determining the binding spot of its pharmacophore, the carboxylate group.

2. Method

The framework of 3D-RISM calculation is constructed from 3D-RISM equation (eq.(1)) and its closure equation, which is called KH equation (eq.(2)) [3]. The superscripts “u” and “v” denote “solute” and “solvent”, then the 3-dimensional DF of ligand and water around protein is denoted as $g_{\gamma}^{uv}(\mathbf{r})$. “ γ ” denotes a solvent site, or an atom species in the ligand,.

$$h_a^{uv}(\mathbf{r}) = \sum_{v'} \sum_b \int c_b^{uv'}(\mathbf{r}') * \left(\omega_{ba}^{v'v}(|\mathbf{r}' - \mathbf{r}|) + \rho^v h_{ba}^{v'v}(|\mathbf{r}' - \mathbf{r}|) \right) d\mathbf{r}' \quad (1)$$

$$g_{\gamma}^{uv}(\mathbf{r}) = \begin{cases} \exp(d_{\gamma}^{uv}(\mathbf{r})) & \text{for } d_{\gamma}^{uv}(\mathbf{r}) \leq 0 \\ 1 + d_{\gamma}^{uv}(\mathbf{r}) & \text{for } d_{\gamma}^{uv}(\mathbf{r}) > 0 \end{cases} \quad (2)$$

where $d_{\gamma}^{uv}(\mathbf{r}) = -\beta u_{\gamma}^{uv}(\mathbf{r}) + h_{\gamma}^{uv}(\mathbf{r}) - c_{\gamma}^{uv}(\mathbf{r})$

For understanding the location of binding site, the potential of mean force which can be calculated from 3-dimensional DFs is a good indicator. These approaches have been successfully applied to measure

the affinity or selectivity of solvent around protein. In the previous works, we define the function which is called as distribution center (DC) in eq.(3) for estimating the potential of mean force as ligand affinity[4].

$$f_{DC}(\mathbf{r}) \equiv \begin{cases} \frac{1}{V_{box}(\mathbf{r})} \left(\prod_{\gamma} \int_{V_{box}(\mathbf{r})} g_{\gamma}(\mathbf{r}') d\mathbf{r}' \right)^{1/N} & \text{for } V_{box}(\mathbf{r}) = V_{box} - V_{protein}(\mathbf{r}) \leq V_{ligand} \\ 0 & \text{for } V_{box}(\mathbf{r}) = V_{box} - V_{protein}(\mathbf{r}) > V_{ligand} \end{cases} \quad (3)$$

In this function, \mathbf{r} denotes the center of box, N is the total number of sites of ligand molecule. V_{box} denotes the volume of the box which is based on the effective radius of a ligand shape. $V_{protein}(\mathbf{r})$ is the excluding volume of the protein in the box. Therefore, $(V_{box} - V_{protein}(\mathbf{r}))$ indicates the space where the ligand can enter.

To aim at visualization of the binding spot, we also defined the cumulative distribution function from DC which is written as below, according to the general methodology of Inversed-transformed Monte-Carlo method.

$$\int_{V_{cell}} f_{CD}(\mathbf{r}) |_{f_{CD}(\mathbf{r}) \geq 2} d\mathbf{r} = Q \quad (4)$$

$$P(x, y, z) \equiv \frac{1}{Q} \int_0^x \int_0^y \int_0^z f_{CD}(\mathbf{r}) |_{f_{CD}(\mathbf{r}) \geq 2} dx' dy' dz' = s \quad (5)$$

In eq.(5), the integration is performed over the system, and the range of $P(x,y,z)$ is from 0 to 1. Therefore, coordinates of the binding spot is obtained from uniform random number s , whose range is also from 0 to 1. One spot sampled at a time by using a random number until filling up the selected region.

3. Results and Discussion

We performed the calculation of the function DC based on eq. (3) to estimate the affinity of carboxylate group around the PPAR α (PDB ID: 1K7L). The result is shown in Fig. 1(a) with the threshold $f_{DC} \geq 2.5$ and demonstrates that the function DC can distribute the correct binding site. After obtaining the function DC, we predicted the

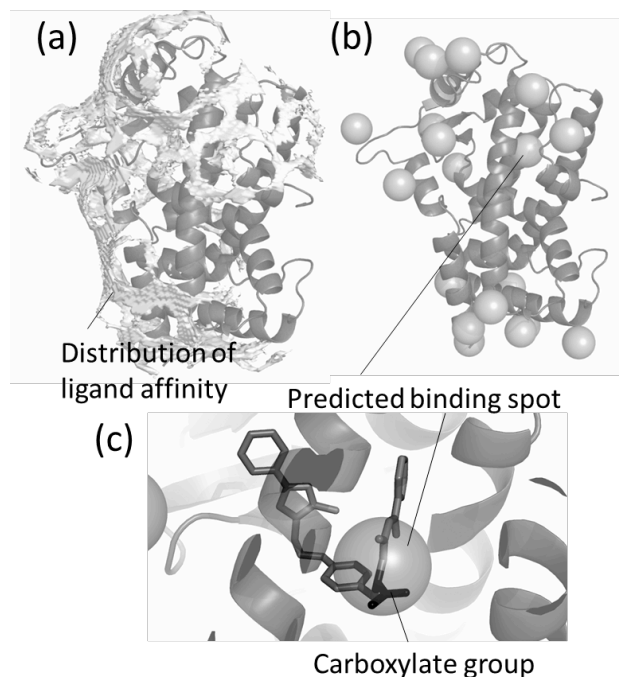


Figure 1. Binding spots prediction around PPAR α (PDB ID: 1K7L) with its pharmacophore, carboxylate group. (a) The distribution of pharmacophore affinity which is obtained from 3D-RISM calculation. (b) The binding spots prediction based on the pharmacophore affinity. (c) Comparison between predicted spot and carboxylate group of known agonist inside the binding pocket.

binding spots from the distribution (Fig. 1(b)). The predicted binding spots appear on hydrophilic and positive-charged surface as expected. The range of RMS error between predicted and correct spots is roughly from 0.5 Å to 1.0 Å (Fig. 1(c)) because of the grid resolution. We consider that this methodology can be useful to determine the novel binding pockets or docking poses.

References:

- [1] Chiba, S.; Kiyota, Y.; Takeda-Shitaka, M.; **2015**, *SAR2015*, KP06.
- [2] Kiyota, Y.; Takeda-Shitaka, M.; *J. Phys. Chem. B.*, **2014**, 118, 11496.
- [3] Kovalenko, A.; Hirata, F.; *J. Chem. Phys.*, **1999**, 110, 10095.
- [4] Kiyota, Y.; Yoshida, N.; Hirata, F.; *J. Chem. Theory Comput.*, **2011**, 7, 3803.

KOJ07

Structural Expansion of the Lipid Ligand Lysophosphatidylserine Based on the Model of Hydrophobic Binding Pocket of G-protein-coupled Receptor GPR34/LPS₁

(Graduate School of Pharmaceutical Sciences, The University of Tokyo¹, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Tohoku University², National Institute of Advanced Industrial Science and Technology³)

○Misa Sayama¹, Sejin Jung¹, Sho Nakamura¹, Masaya Ikubo¹, Yuko Otani¹, Akiharu Uwamizu², Takayuki Kishi², Asuka Inoue², Kumiko Makide², Junken Aoki², Takatsugu Hirokawa³, Tomohiko Ohwada¹

Abstract

Lysophosphatidylserine (LysoPS) is a kind of lysophospholipids generated from plasma membrane lipid, phosphatidylserine. Our group showed that orphan G-protein-coupled receptors (GPCRs), P2Y₁₀/LPS₂ and GPR174/LPS₃ specifically recognize LysoPS, in addition to the previously reported GPR34/LPS₁. These receptors are suggested to control immune system, but their detailed biological roles are still unknown. To create active and/or subtype-selective agonists as useful tools to study the functions of these receptors, we have synthesized many LysoPS analogues focusing on its modularized structure consisting of a polar head of phosphoserine, a hydrophobic tail of fatty acid and a glycerol linkage. In this study, we focused on the fatty acid moiety of 2-deoxy-LysoPS analogues, which lack a hydroxyl group on the glycerol moiety. We introduced benzene rings to the fatty acid moiety to get highly active 2-deoxy-LysoPS analogues toward GPR34 and P2Y₁₀. Especially, we found that modification of the fatty acid moiety had a great impact on GPR34 activation, although P2Y₁₀ was activated rather consistently by 2-deoxy-LysoPS analogues with various fatty acid surrogates. We could potentiate almost inactive 2-deoxy-LysoPS analogues by structural expansion of the fatty acid moiety to get GPR34 agonists with submicromolar activity.

Thus, the fatty acid surrogates of the 2-deoxy-LysoPS analogues are assumed to interact effectively with GPR34. To find the receptor moieties responsible for such effective hydrophobic interactions, we constructed a plausible GPR34-agonist binding model, which will guide us to further structural expansion. Homology models of GPR34 were constructed and a GPR34 agonist with a rigid fatty acid surrogate containing benzenes was docked into the receptor

models. After the evaluation of robustness of the binding models by using molecular dynamics simulations, the GPR34-agonist binding models were found to be consistent with the experimentally obtained structure-activity relationship data.

In the model, the terminal of the fatty acid surrogate of GPR34 agonist was placed between transmembrane helices of the receptor. Therefore, it is supposed that an elongated hydrophobic tail could protrude from the receptor to reach the membrane region. An additional group attached to the ligand terminal would not decrease the ligand activity because such groups would be placed outside the receptor. Thus, we designed, synthesized and evaluated the activity of such compounds, and found that they actually maintained high agonistic activity against GPR34, supporting the plausibility of our binding model. Thus the receptor-ligand binding model suggested further ways to design more intelligent LysoPS derivatives.

1. GPCRs Specifically Activated by Lysophosphatidylserine

GPCRs are membrane receptors activated by various molecules like biogenic amines, hormones, odorants and lipids. As GPCRs transduce signals through plasma membrane and they are involved in many pathological states, GPCRs are one of the major therapeutic targets.

Recently our group developed a novel assay system, TGF α shedding assay¹, to evaluate the activation of wide range of GPCRs. The system can detect activation/deactivation of GPCRs, which were difficult to be observed by the conventional methods and this assay system clearly showed that three orphan GPCRs, P2Y₁₀/LPS₂, GPR174/LPS₃ and A630033H20/LPS_{2L} to be activated specifically by LysoPS, a kind of lipid ligands. As human

A630033H20 is the product of a truncated nonfunctional pseudo gene, at least three receptors, P2Y10 and GPR174 in addition to the previously reported GPR34/LPS₁² respond to LysoPS in human. LysoPS is a kind of lysophospholipids, which is generated by enzymatic hydrolysis of membrane lipid, phosphatidylserine. Several studies suggested LysoPS receptors' function in immune system, but their detailed roles are still unknown. Potent and subtype-selective ligands will be useful chemical tools to elucidate these receptors' functions. Thus, we have synthesized such ligands, focusing on a modularized structure of LysoPS: a polar phosphoserine moiety, a hydrophobic fatty acid moiety and a glycerol linkage (Figure 1).³ We previously found that each moiety can be modified individually and optimized moieties can be connected to yield highly active and selective agonists. In this study, we focus on derivatization of fatty acid moiety (Figure 2).

LysoPS (18:1): Endogenous pan-agonist

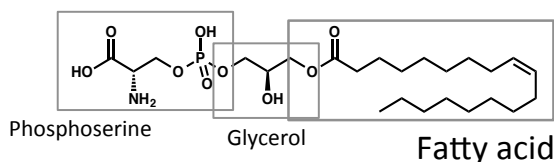


Figure 1. Modular structure of LysoPS

2. Study of Structure-Activity Relationship about Fatty Acid Moiety of 2-Deoxy-LysoPS

We focused on 2-deoxy-LysoPS analogues that lack the hydroxyl group on the glycerol moiety for synthetic versatility. Various fatty acid moieties were attached to the phosphoserine-glycerol moiety.

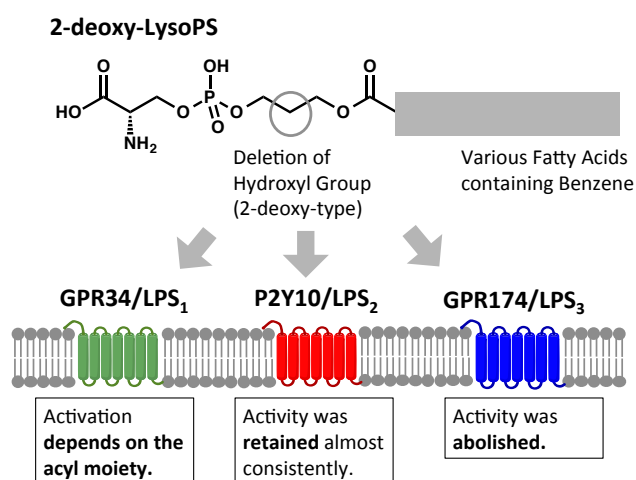


Figure 2. 2-Deoxy-LysoPS and its activity toward three LysoPS receptors

GPR34 activation depended on the shape of the fatty acid moiety, while P2Y10 was activated rather consistently and GPR174 was not activated by 2-deoxy-LysoPS analogues with various fatty acid surrogates. The

GPR34 agonistic activity of 2-deoxy-LysoPS having oleic acid was very weak, but the analogue containing three benzenes in its fatty acid moiety showed subnanomolar activity. Thus, we could potentiate LysoPS analogues toward GPR34 by modification of the fatty acid moiety. The fact that structural change in the fatty acid moiety is linked to activity toward GPR34 suggests that the fatty acid moiety of 2-deoxy-LysoPS analogues is strictly recognized by GPR34.

3. Prediction of Hydrophobic Binding Site

We next focused on how the hydrophobic moiety of 2-deoxy-LysoPS analogues is recognized by GPR34. The plausible model will help our further design of LysoPS analogues.

GPCRs are membrane receptors with seven transmembrane helix domains. We constructed GPR34 homology models using P2Y12⁴, phylogenetically close to GPR34, as a structural template. Docking studies of 2-deoxy-LysoPS analogues, having fatty acids effective for GPR34 activation, were conducted. The obtained binding models were optimized by molecular dynamics simulation and validated with the experimental structure-activity relationship.

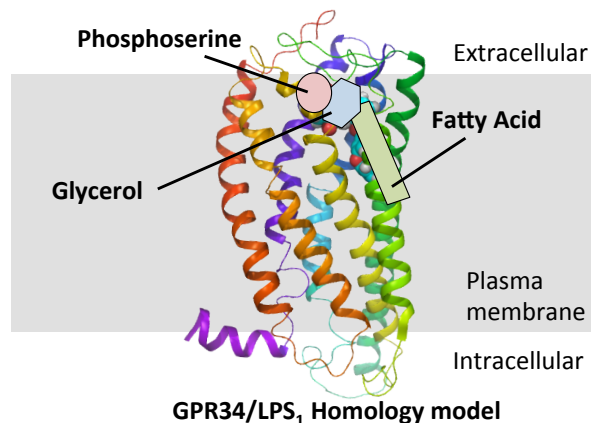


Figure 3. A proposed model of GPR34/LPS₁ and 2-deoxy-LysoPS analogue complex

In the plausible model, the acyl moiety was placed between transmembrane helices (Figure 3) and it was suggested that the LysoPS analogues with elongated acyl moieties would be similarly active toward GPR34. Such analogues were synthesized and biologically evaluated to actually have GPR34 agonistic activity. Thus, the obtained model was shown to be useful in designing more intelligent analogues.

1. Inoue, A. *et al. Nat. Methods*, **2012**, 9, 1021.
2. Sugo, T. *et al. Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **2006**, 341, 1078.
3. Ikubo, M. *et al. J. Med. Chem.*, **2015**, 58, 4204.
4. Zhang, J. *et al. Nature*, **2014**, 509, 119.

///// Activities /////

<会告>**構造活性フォーラム 2016**

「分子標的薬の創生やゲノム創薬における目のつけどころ」

主催：日本薬学会構造活性相関部会

協賛：日本化学会、有機合成化学協会、日本農芸化学会、日本農薬学会（申請中）、日本分析化学会（申請中）

会期：2016 年 6 月 24 日（金）

会場：淡路夢舞台国際会議場（〒656-2306 兵庫県淡路市夢舞台 1 番地）

フォーラムホームページ： <http://www.genome.tokushima-u.ac.jp/furum2016/>

開催趣旨： 近年の創薬の進め方の進展には目を見張るものがある。特に分子標的薬の創生やゲノム創薬が積極的に推進されるようになり、かつ創生された医薬品の臨床現場での有効性が注目を集めている。今回のフォーラムでは、分子標的薬の創生やゲノム創薬、あるいはユニークなモデル生物を用いた創薬研究を進めておられる、製薬企業やアカデミアの研究者にそれぞれのアプローチを紹介いただくとともに、今後の課題などについて出席者と議論、情報交換することを目的とする。

プログラム：

講演 1. 「キナーゼ創薬における構造活性相関の活用：キナーゼ選択性プロファイリングを用いたターゲットホッピング」

澤 匡明（カルナバイオサイエンス株式会社）

講演 2. 「ゲノム創薬の実例（バイオリジストの視点から）：ALK 阻害剤アレクチニブ創製/開発を例にして」

青木 裕子（中外製薬株式会社）

講演 3. 「相互作用阻害によるがん抑制因子の再活性化を利用した難治性乳がんに対する新規治療薬の開発」

片桐 豊雅（徳島大学・先端酵素学研究所）

講演 4. 「カイコの感染モデルを用いた新規抗生物質の発見」

関水 和久（帝京大学・医真菌研究センター）

パネルディスカッション「分子治療薬創生とゲノム創薬」

大田 雅照（中外製薬株式会社）

参加登録および申込締切日： 当日参加受付はありません。6 月 3 日（金）までに、フォーラムホームページから事前参加登録をお願いいたします。参加登録後、6 月 10 日までに銀行口座

振り込みをお願いいたします。なお、お振込みの際には「ご所属とご氏名」を振込人として下さい。領収書は当日受付デスクでお渡しいたします。

参加費：（薬学会会員・非会員ともに）一般 5,000 円、学生無料

懇親会： 18 時 15 分から、2 階レセプションホール B 横のホワイエにて

懇親会費：（薬学会会員・非会員とも）一般、学生 5,000 円

問合先： 構造活性フォーラム 2016 篠原 康雄（実行委員長）、山本 武範（事務局）

〒770-8503 徳島市蔵本町 3 丁目 18 徳島大学先端酵素学研究所蛋白質発現分野 内

Tel: 088-633-9148, Fax: 088-634-6425, E-mail: forum2016@tokushima-u.ac.jp

///// Activities /////

<会告>

第44回構造活性相関シンポジウム：第31回農薬デザイン研究会との共同開催

主催： 日本薬学会構造活性相関部会，日本農薬学会農薬デザイン研究会

会期： 2016年11月16日（水）－2016年11月17日（木）

会場： 京都大学医学部創立百年記念施設 芝蘭会館
 (〒606-8315 京都市左京区吉田近衛町 京都大学医学部構内)
<http://www.med.kyoto-u.ac.jp/shiran/>

日程：

11月16日（水）特別講演，招待講演，一般講演，ポスター発表，一般講演
 合同懇親会

11月17日（木）招待講演，一般講演

特別講演：

11月16日（水）Isabelle Billas 博士 (IGBMC, France)
 (仮題)「A Structural View of Allosteric Control of Transcription by Steroid Nuclear Receptors」

招待講演：

1. 奥野恭史先生（京都大学大学院医学研究科）
 (仮題)「スパコン・ビッグデータ時代の創薬」
2. 石川智久先生（個別化医療研究所）
 「薬物トランスポーターの新しい構造活性相関解析法の開発と臨床・創薬への応用」
3. 福西快文先生（産業技術総合研究所）
 (仮題)「分子設計ソフトウェア myPresto による広範囲なツール提供：-精密分子設計の前段階-」
4. 谷野圭持先生（北海道大学大学院）
 (仮題)「シストセンチュウふ化促進物質の全合成」
5. 渡邊秀典先生（東京大学大学院・農学生命科学研究科）
 (仮題)「植物病害虫に関わる生物活性天然物の合成」
6. 池口満徳先生（横浜市立大学・生命医科学研究科）
 「分子動力学シミュレーションとX線溶液散乱法の連携によるタンパク質動的構造解析」
7. 寺田 透先生（東京大学大学院農学生命科学研究科）
 「分子シミュレーションで探るタンパク質-リガンド間相互作用」

発表登録・参加申込など：

発表申込締切日：7月29日（金）

講演要旨締切日：9月16日（金）

参加申込締切日：10月14日（金）

参加申込方法などの詳細に関しては決まりしだい，順次シンポジウムホームページにてお知らせします (http://www.nupals.ac.jp/~sar_symp2016/)

参加登録費： [一般]予約 8,000 円 (当日 10,000 円)、[学生]予約 2,000 円 (当日 3,000 円)

懇親会参加費： [一般]予約 7,000 円、[学生]予約 3,000 円

問い合わせ先：

「第 44 回構造活性相関シンポジウム・第 31 回農薬デザイン研究会実行委員会」 中川 好秋
〒606-8502 京都市左京区北白川追分町
京都大学大学院農学研究科応用生命科学専攻
e-mail: naka@kais.kyoto-u.ac.jp
URL: http://www.nupals.ac.jp/~sar_symp2015/

//// Activities ////

<会告>

3rd International Symposium for Medicinal Sciences

主催: 日本薬学会

会期: 2017年3月26日(木) 時間 未定
日本薬学会第137年会(仙台)の会期中
年会の会期は3月24日(火)~27日(金)

会場: 仙台国際センター会議棟
(〒980-0856 仙台市青葉区青葉山無番地、Tel. 022-265-2211)

主題: 新しい創薬ツール

将来を担う若手創薬研究者にとって、研究に直接役立つ創薬ツールに焦点を絞って、出来れば今後大きく発展しうるツールを取りあげたいと考えております。
現在具体的な案として考慮中のテーマを以下に挙げます。

- 1) AIを使った創薬
- 2) 創薬に特化したスーパーコンピューターの開発とそれを利用した創薬
- 3) Bio Informatics 技術を応用した創薬開発
- 4) クリックケミストリー

しかし、これ等の企画は検討中の課題ですので、部会員の皆様から企画の提案をしていただければ、真剣に検討いたします。上記の案以外にも興味あるテーマがありましたら、下記の連絡先までどしどしお寄せ下さい。

連絡先: 〒150-0002 渋谷区渋谷 2-12-15 公益社団法人 日本薬学会
3rd International Symposium for Medicinal Sciences 担当 横山祐作
E-mail: yokoyama@pharm.toho-u.ac.jp

部会役員人事

平成 28 年度から副部会長と庶務幹事が交代いたします。新役員は以下の通りです。

副部会長 岡島 伸之（株式会社 CAC クロア）

庶務幹事 竹田一志鷹 真由子（北里大学）

会計幹事 前田 美紀（農業・食品産業技術総合研究機構）

構造活性相関部会の沿革と趣旨

1970年代の前半、医薬品を含む生理活性物質の活性発現の分子機構、立体構造・電子構造の計算や活性データ処理に対するコンピュータの活用など、関連分野のめざましい発展にともなって、構造活性相関と分子設計に対する新しい方法論が世界的に台頭してきた。このような情勢に呼応するとともに、研究者の交流と情報交換、研究発表と方法論の普及の場を提供することを目的に設立されたのが本部会の前身の構造活性相関懇話会である。1975年5月京都において第1回の「懇話会」（シンポジウム）が旗揚げされ、1980年からは年1回の「構造活性相関シンポジウム」が関係諸学会の共催の下で定期的開催されるようになった。

1993年より同シンポジウムは日本薬学会医薬化学部会の主催の下、関係学会の共催を得て行なわれることとなった。構造活性相関懇話会は1995年にその名称を同研究会に改め、シンポジウム開催の実務担当グループとしての役割を果たすこととなった。2002年4月からは、日本薬学会の傘下組織の構造活性相関部会として再出発し、関係諸学会と密接な連携を保ちつつ、生理活性物質の構造活性相関に関する学術・研究の振興と推進に向けて活動している。現在それぞれ年1回のシンポジウムとフォーラムを開催するとともに、部会誌のSAR Newsを年2回発行し、関係領域の最新の情勢に関する啓蒙と広報活動を行っている。

本部会の沿革と趣旨および最新の動向などの詳細に関してはホームページを参照頂きたい。

(http://bukai.pharm.or.jp/bukai_kozo/index.html)

編集後記

日本薬学会構造活性相関部会誌 SAR News 第 30 号をお届けいたします。今号は、製薬企業において、創薬の実績をあげられた先生方に Perspective/Retrospective を三本ご寄稿いただきました。薬の開発については様々な理由により、ご執筆いただくことに制限があるケースが少なくないですが、快くご執筆を下さいました先生方に深く感謝申し上げます。編集委員会は各先生とやり取りをいたしますが、どの先生からでも「経験」を伝えたいという熱意をひしひしと感じました。当時の創薬マインドを語ることで、読者の未来への糧となるようにとのお気持ちが溢れていると思います。

編集委員会メンバーが入れ替わりしました。長らく本誌の編集委員をお務めくださいました北里大学の竹田一志鷹 真由子さんが退任されました。竹田一志鷹さんは庶務幹事に着任されます。また、編集長としても長きにわたりお務めいただきました第一三共（株）の粕谷 敦さんもご退任されました。粕谷さんからは編集ポリシーとして SAR News の品質というお言葉を伺うことが多く、新編集部でもその気概を継続して参りたいと思っております。お二人の今までのご貢献に深謝いたします。新しい編集員として本号から北里大学の清田泰臣さん、科研製薬(株)の河合健太郎さん、味の素(株)の田上宇乃さんに加わっていただきました。よろしくお願いいたします。（編集委員会）

SAR News No.30 平成 28 年 4 月 1 日

発行:日本薬学会 構造活性相関部会長 高木 達也

SAR News 編集委員会

(委員長) 飯島 洋、小田 晃司、河合 健太郎、清田 泰臣、田上 宇乃、幸 暉

*本誌の全ての記事、図表等の無断複写・転載を禁じます。