

平成 30～令和 2 年度厚生労働科学研究費補助金
(医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス政策研究事業)
総合研究報告書 (H30-医薬-一般-004)
危険ドラッグ及び関連代謝物の有害作用解析と乱用実態把握に関する研究

分担研究報告書 [3 年間のまとめ]

コンピュータシミュレーションによる有害性予測法の開発

研究分担者 栗原正明 (国際医療福祉大学 薬学部)

研究協力者 湯山円晴 (国際医療福祉大学 薬学部)

【研究概要】

[研究テーマ：コンピュータシミュレーションによる有害性予測法の開発]

[緒言] 危険ドラッグ及び関連化合物を速やかに規制するためには、それらの迅速な評価法開発が重要である。有効な評価法の一つとしてインシリコ活性予測法が挙げられる。本研究では、コンピュータを用いた化学計算によるインシリコ評価法を用いて危険ドラッグの活性予測を行い、危険ドラッグの規制、特に包括指定の範囲を決める等のデータを供するための新規評価法の開発を行うことを目的とする。

[方法] QSAR：活性既知のフェンタニル類縁化合物を用いて 2D-QSAR 式の構築を行った。QSAR 式算出には PLS 法及び GA-MLR 法を適用した。

ドッキングスタディ：活性既知のフェンタニル類縁化合物を用いてオピオイド μ 受容体とのドッキングを行い、予測活性値と実測活性値の相関を検討した。

[結果] QSAR に関して GA-MLR 法を用いた場合、 $R^2=0.98$ 、 $XR^2=0.82$ という比較的高い相関を示す QSAR 式が得られた。また、ドッキングスタディに関しては評価関数として Alpha HB を用いた際、実測活性値と予測活性値の間に最も高い相関 ($R^2=0.49$) が見られた。

[考察] QSAR 及びドッキングスタディ法の両手法において実測活性値と予測活性値の間に相関が確認された。今後、評価化合物を増やして検討を行うことにより、フェンタニル類縁化合物包括規制への展開が期待される。

[結論] 本研究より、インシリコ活性予測が危険ドラッグの有害性予測に適用できる可能性が示唆された。さらに評価化合物を増やし、計算条件の見直しを図ることで包括指定の範囲を決める等のデータを供することにつながると期待される。

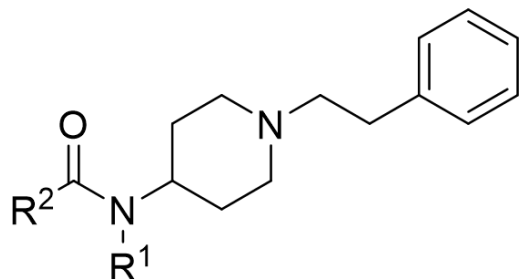
緒言

違法ドラッグが依然として大きな社会問題となっている。それに伴い、違法ドラッグの速やかな規制が求められており、そのための迅速な評価法開発が急務となっている。迅速な評価法構築を支援するツールとして、インシリコ活性予測法が有効である。本研究では、コンピュー

タを用いた化学計算によるインシリコ活性予測を行い、危険ドラッグの規制、特に包括指定の範囲を決めるデータを供することを目的とした。

1) QSAR によるオピオイド μ 受容体リガンドの活性予測 (1 年目)

活性既知のフェンタニル類縁化合物 8 種類 (Table 1) を用いて PLS 法及び GA-MLR 法による QSAR 式の算出を行った。(Fig. 1a, 1b)



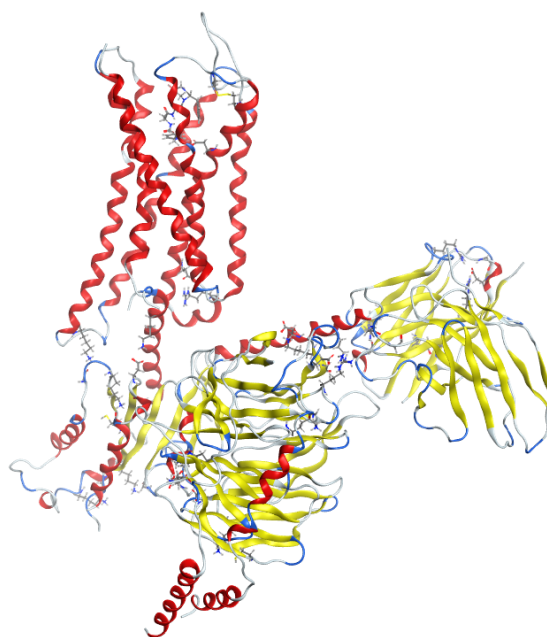
フェンタニル類縁化合物

決定係数 R^2 に関しては PLS 法で 0.86、GA-MLR 法で 0.98 となり、両手法とも高い値となった。しかし、 R^2 の補正值である XR^2 に関しては PLS 法で 0.006、GA-MLR 法で 0.83 となり、PLS 法による数値が大きく変動した。 R^2 と XR^2 がともに高い数値を示したことから、GA-MLR 法による QSAR 式算出が妥当であると示唆された。

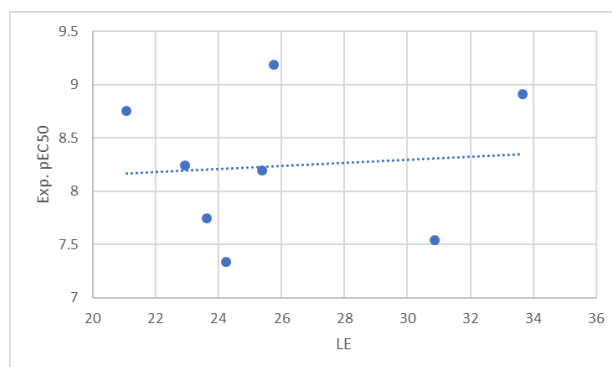
2) ドッキングスタディによるオピオイド μ 受容体リガンドの活性予測 (2年目)

活性既知のフェンタニル類縁化合物 8 種類を用いてドッキングスタディによる予測活性値と実測活性値の間の相関を確認した。

ドッキングの結果算出される評価関数-S をリガンドの重原子数で除した値を予測活性値 (LE) として用い、実測活性値との相関を確認したところ、 R^2 は 0.081 という結果になり、高い相関は見られなかった。今後の検討において、スコアリング関数変更等の異なる計算条件設定を行う必要性が示唆された。



オピオイド μ 受容体 (6DDE)



実測活性値と補正予測活性値 LE の相関

3) 各種条件変更後ドッキングスタディによるオピオイド μ 受容体リガンドの活性予測 (3年目)

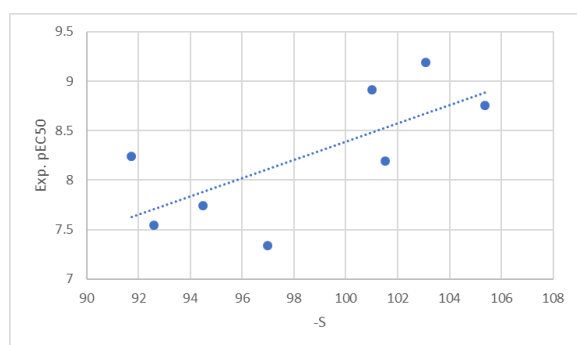
引き続き活性既知のフェンタニル類縁化合物 8 種類を用いてドッキングスタディによる予測活性値と実測活性値の間の相関を確認した。

ドッキングの結果算出される評価関数-S を実測活性値とプロットし、両者の相関を検討した。

なお、本年度はスコアリング関数を変更し、

affinity、Alpha HB、GB/VI、None、London dG の 5 種類を使用した。また、リガンド結合部位として Dummy site を設定する等の各種条件見直しを行った。

その結果、Alpha HB を用いた時に最も高い相関が得られた。(R²=0.49) このことから、今後ドッキングで活性予測を行う際はスコアリング関数に Alpha HB を適用することで良好な相関が得られる可能性が示唆された。



実測活性値と予測活性値-S の相関
(Alpha HB)

【総括】

QSAR 及びドッキングスタディの適用により、活性既知化合物における実測活性値と予測活性値の間にある程度の相関が確認された。今後、評価化合物を増やして検討を行うことにより、フェンタニル類縁化合物包括規制への展開が期待される。

【研究業績】

1. 論文発表

- 1) 栗原正明
in silico 創薬におけるスクリーニングの高速化・高精度化技術
in silico 計算毒性評価のための QSAR 手法の活用法
技術情報協会, 2018.1.31, 261-267
- 2) Eto R, Misawa T, Noguchi-Yachide T, Ohoka N, Kurihara M, Naito M, Tanaka M, Demizu Y.

Design and synthesis of estrogen receptor ligands with a 4-heterocycle-4-phenylheptane skeleton.

Bioorg Med Chem. 2018, 26, 30060-9.

- 3) K. Okitsu, T. Hattori, T. Misawa, T. Shoda, M. Kurihara, M. Naito, Y. Demizu
Development of a small hybrid molecule that mediates degradation of His-tag fused proteins
J Med Chem. 2018, 61, 576-582.
- 4) Tsuji G, Hattori T, Kato M, Hakamata W, Inoue H, Naito M, Kurihara M, Demizu Y, Shoda T.
Design and synthesis of cell-permeable fluorescent nitrilotriacetic acid derivatives.
Bioorg Med Chem. 2018, 26, 5494-5498.
- 5) Misawa T, Tsuji G, Takahashi T, Ochiai E, Takagi KI, Horie K, Kakuda S, Takimoto-Kamimura M, Kurihara M, Demizu Y.
Structural development of non-secosteroidal vitamin D receptor (VDR) ligands without any asymmetric carbon.
Bioorg Med Chem. 2018, 26, 6146-6152.
- 6) Ohoka N, Tsuji G, Shoda T, Fujisato T, Kurihara M, Demizu Y, Naito M.
Development of Small Molecule Chimeras That Recruit AhR E3 Ligase to Target Proteins
ACS Chem Biol., **2019**, 14, 2822-2832
- 7) Yuyama M, Ito T, Arai Y, Kadowaki Y, Iiyama, N, Keino A, Hiraoka Y, Kanaya T, Momose Y, Kurihara M.
Risk Prediction Method for Anticholinergic Action Using Auto-quantitative Structure-Activity Relationship and Docking Study with Molecular Operating Environment
Chem Pharm Bull, 2020, 68(8), 773-778
- 8) 高橋祐次, 小島肇夫, 栗原正明, 笠原利彦, 若栗 忍, 萩野滋延, 本山径子
急性経口毒性を予測するための in vitro 細胞毒性試験
AATEX-JaCVAM, 9(1), 1-34, 2020
- 9) Shoda T, Ohoka N, Tsuji G, Fujisato T, Inoue H, Demizu Y, Naito M, Kurihara M.
Targeted Protein Degradation by Chimeric Compounds using Hydrophobic E3 Ligands and Adamantane Moiety.

Pharmaceuticals (Basel). 2020, 13(3). pii: E34.
doi: 10.3390/ph13030034.

2. 学会発表

1) QSAR 及びドッキングスタディによるカンナビノイド受容体リガンドの活性評価；
湯山円晴, 松崎汐里, 原田裕章, 金谷貴行,
栗原正明
日本薬学会 139 年会 (2019/03/21-23, 千葉)

2) 構造類似性に基づいたインシリコ変異原性予測法の開発
荒井裕美子, 湯山円晴, Jose CILOY, 金谷貴行, 本間正充, 栗原正明
日本薬学会 139 年会 (2019/03/21-23, 千葉)

3) QSAR 式を用いた抗コリン作用のリスク予測法の構築
伊東 岳, 飯山夏海, 慶野綾子, 平岡優里菜, 井出悠太郎, 荒井裕美子, 湯山円晴, 門脇有希, 杉山奈津子, 加藤芳徳, 前澤佳代子, 倉本敬二, 栗原正明, 百瀬泰行
第 29 回医療薬学会年会 (2019/11/2-4, 福岡)

4) 湯山円晴, 門脇有希, 荒井裕美子, 阿久津友規, 玉澤宏仁, 金谷貴行, 船田正彦, 栗原正明
QSAR 及びドッキングスタディによるオピオイド μ 受容体リガンドの活性評価
日本薬学会第 140 年会 (2020/03/26-28, 京都)

5) 門脇有希, 湯山円晴, 荒井裕美子, 阿久津友規, 玉澤宏仁, 飯山夏海, 慶野綾子, 平岡優里奈, 伊藤 岳, 金谷貴行, 百瀬泰行, 栗原正明
定量的構造活性相関 (QSAR) を用いた抗コリン作用のリスク予測法の構築
日本薬学会第 140 年会 (2020/03/26-28, 京都)

6) 湯山円晴, 伊東岳, 門脇有希, 荒井裕美子, 飯山夏海, 慶野綾子, 平岡優里奈, 金谷貴行, 百瀬泰行, 栗原正明
QSAR 及びドッキングスタディによる抗

コリン作用のリスク予測法構築
第 64 回日本薬学会関東支部大会
(2020/09/19, 東京)

7) 湯山円晴, 伊東岳, 荒井裕美子, 金谷貴行, 百瀬泰行, 栗原正明
QSAR 及びドッキングスタディを用いた抗コリン作用による LUTS のリスク予測
第 48 回構造活性相関シンポジウム
(2020/12/10, オンライン)

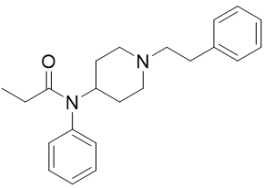
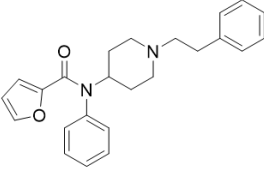
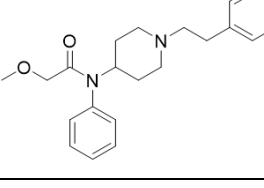
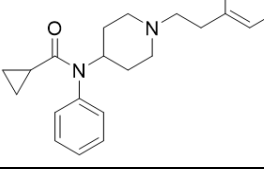
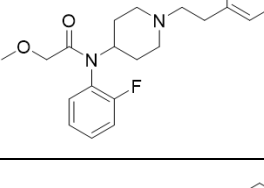
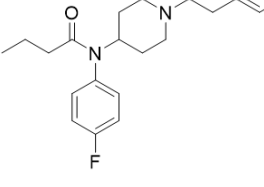
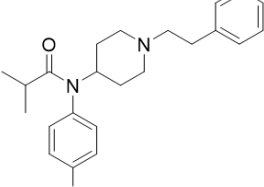
3. 知的財産権の出願・登録状況

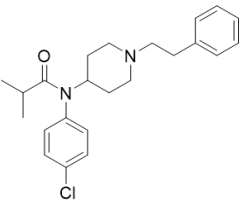
特許取得：特になし

実用新案登録：特になし

その他：特になし

Table 1

	化合物名	構造	pEC ₅₀
1	Fentanyl		7.5406
2	N-phenyl-N-(1-(2-phenylethyl)piperidin-4-yl)furan-2-carboxamide		9.1904
3	2-methoxy-N-(1-(2-phenethyl)piperidin-4-yl)-N-phenylacetamide		7.7423
4	N-(1-phenethylpiperizin-4-yl)-N-phenylcyclopropanecarboxamide		8.9101
5	N-(2-Fluorophenyl)2-methoxy-N-(1-(2-phenylethyl)piperidin-4-yl)acetamide		8.752
6	N-(4-fluorophenyl)-N-(1-phenethylpiperidin-4-yl)butyramide		8.2426
7	N-(4-fluorophenyl)-N-(1-phenethylpiperidin-4-yl)isobutyramide		8.1918

8	N-(4-chlorophenyl)-N-(1-phenylpiperidin-4-yl)isobutyramide		7.3344
---	--	---	--------

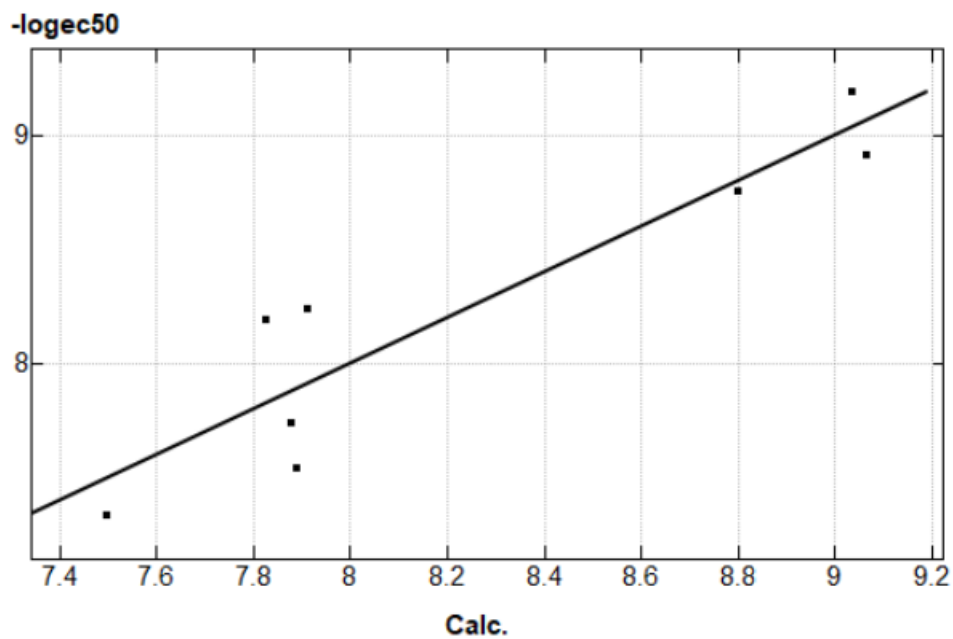


Fig. 1a. PLS 法による QSAR 式：縦軸：実測活性値, 横軸：予測活性値

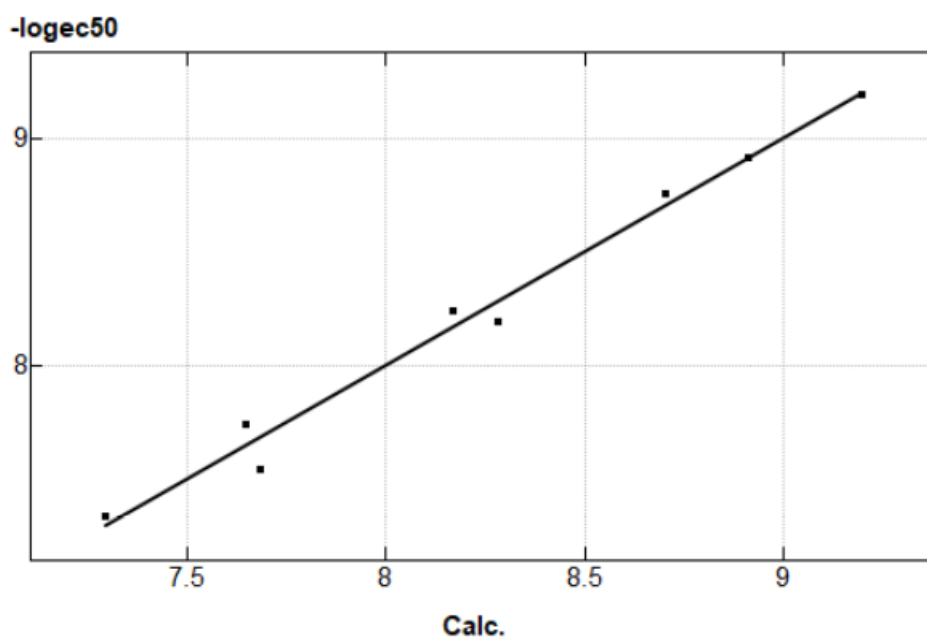


Fig. 1b. GA-MLR 法による QSAR 式：縦軸：実測活性値, 横軸：予測活性値