

1. De novo デザイン概要

De novo デザインは、de novo (新たに、最初から) という言葉が持つ意味そのままに、新規薬物(リード候補化合物)群を零から組み立てて創出するアプローチの総称である。デザインの言葉が示すように、de novo デザインの目的は構造-活性相関解析を行うのではなく、むしろ構造-活性相関の情報を活用しつつ新たな薬物のデザイン(特に創出)を行う事にある。

De novo デザインは1990年代初頭に急速に立ち上がってきたアプローチであり、その殆どはドラグレセプター理論に基づくグラフィカルなアプローチを基本として展開される三次元 de novo デザインである。この理由として幾つかの理由が考えられる。一つは、従来の構造-活性相関手法が相関解析主体のアプローチで、新規リード化合物の創出を専門/得意とするものではないこと。ドラグレセプター理論に基づくグラフィカルなアプローチは化合物構造に関する自由度が他の構造-活性相関手法と比較して高く、新たな化合物の創出に適している事。また、この種のアプローチは技術的にほぼ完成の域に迫り、目標とすべき新たなターゲットが必要であった事。さらに、新規リード化合物の発見が時代的な要求となり構造-活性相関分野にもその要求が高まってきた事等が考えられる。

著者はこの de novo デザインと同じ目的を持つアプローチをパターン認識法を用いて“リード候補化合物再構築(Lead Re-construction)”として1985年に発表しているが、この時代には de novo デザインという言葉は無かった。また、創出構造式も二次元構造式であるのでこのアプローチは二次元 de novo デザインと命名し、前記 de novo デザインは三次元 de novo デザインとして区別する。二次元/三次元の言葉が無いときは三次元 de novo デザインを示すものと考えていただきたい。

現在、de novo デザインと同様に新規リード化合物の発見を目的とするコンビナトリアルケミストリ/HTS(第 4 章)がコンピュータの世界でも急速に展開されている。両手法とも、実用レベルで議論されるようになったのはここ十年以内のことである。ルーツや技術的な背景は全く異なるが、リード候補化合物創出とリード化合物発見という同じような目的を持つアプローチがほぼ同一時期に展開されてくるのは、時代的要求が強いものと考えられる。

1.1 De novo デザイン実施上での特徴

De novo デザインでは構造-活性相関(レセプターサイトでのドッキング情報が主体)から得られた情報を活用しつつ薬物の創出に必要な道具(部分構造等)の調達を行う。以下に de novo デザインの特徴を三つの観点から簡単にまとめる。

① 化合物創出における自由度との戦い

De novo デザインの本質は新規化合物の創出にある。化合物の創出には、回転、並進、トーション、直進、といった化合物の動きに関する自由度、原子／結合の種類や数の自由度、官能基の変化や置換位置に関する自由度、環状および鎖状構造に関する自由度まで無限に等しい組み合わせが存在する。このような無限の可能性を持つ化合物創出から、リード候補化合物という目標に向けて舵取りすることは極めて難しい。通常レベルの解析で数千～数万化合物が創出されることは珍しくはない。また、同じレセプターサイトの情報を用いたとしても、用いたオプションの違いや de novo デザイン手法の違いにより、最終的に創出される化合物群の構造式には大きな差異の出ることも大きな特徴の一つである。

この自由度減少に関する技術の工夫と、創出化合物中における活性化化合物群（リード候補化合物）の割合を高める技術の工夫こそ de novo デザインシステムの醍醐味である。単純に創出化合物数の指定や、生成原子数および組み合わせフラグメント数に制限を与える対症療法的なアプローチではなく、より本質的な対策が望まれる。

② De novo デザインによる新規創出化合物群の特徴

De novo デザインで創出される化合物の殆どが活性未知及び合成未知化合物である。従って、薬理活性を確定するには改めて合成し、スクリーニングする事が必要となる。一般的に、構造が大きく異なる化合物群を多数合成することは大変な作業量と時間を必要とする。メディシナルケミストリー分野の合成研究者が従来から行ってきた探索／誘導型の合成では同族体の合成が主体である。従って、個々の合成が他の合成に密接に関係しており、たとえ一つの化合物で薬理活性が出なくとも、その情報は次の合成に役立ってきた。しかし、構造式の差異が大きい時は化合物の合成手法上での独立性が高く、従って合成化合物に薬理活性が見られない時の合成は他の化合物の合成にフィードバック出来ない全くの無駄な作業となる。この点で de novo デザインで創出された化合物群は他の構造－活性相関手法で得られる化合物群よりも高い確率でリード候補化合物群を含む事が必要である。つまり、de novo デザインの信頼性を高める為には単にリード候補化合物創出の精度向上のみならず、創出された化合物の活性評価をして、それらの創出化合物群の信頼性を向上させるための機能が必要である。しかも、この薬理活性評価機能は構造の異なる化合物群でも扱う事が可能で、且つ強力なものが需要である。残念ながらこのような要求を満たす機能を持つ de novo デザインは現時点で存在しない。今後の展開が待たれる。

③ Lead Generation における de novo デザインとコンビナトリアルケミストリ／

HTS との関係

De novo デザインは採用するアルゴリズムにもよるが、全く新たな構造式を導き出せる点で、コンビナトリアルケミストリ/HTS を除けば、Lead Generation に最も近いアプローチといえる。しかし、コンビナトリアルケミストリ/HTS が実験による評価を伴う絶対的なアプローチを取るのに対し、de novo デザインはあくまでもコンピュータによる合理的なリード候補化合物創出であり、活性評価機能は伴わない。従って、de novo デザインはコンピュータによるドラッグデザイン中、最も lead generation に近いアプローチとして展開されてきたが、今後はコンビナトリアルケミストリ/HTS との住み分けが必要になる。この場合、de novo デザインはリード候補化合物ライブラリの構築手段としての役割を、一方コンビナトリアルケミストリ/HTS はリード候補化合物の発見/実証といった役割分担になる。従って、de novo デザインはコンビナトリアルケミストリ/HTS の前処理としての役割が中心となる。この場合、本来の de novo デザインとは目的が若干異なることから、よりコンビナトリアルケミストリ/HTS に特化した仕様や機能が必要となる。

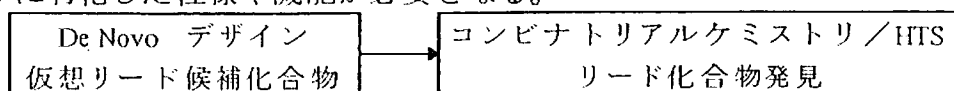


図 . De Novo デザインとコンビナトリアルケミストリ/HTS との関係

1.2 De novo デザインの基本

1.2.1 De novo デザインに対する二種類のアプローチ

De novo デザインは様々なアルゴリズムに基づいて実施されているが、これらのアプローチは化合物の組立方式の違いにより大きく二種類に分類される。一つは創出化合物の雛形となる簡単な出発構造式を設定し（場合によっては設定せずに零から始める）、その構造式に順次一原子あるいは小さな構造単位を付加しつつ新規化合物を築き上げる、成長型のアプローチ (GrowMol システム^{*1)}, LEGEND システム^{*2)}, MCDNLG システム^{*3)})。もう一つは化合物を組み立てる部品群を最初に揃え、その部品同志の組み合わせや部品間の補完作業により化合物群を一気に組み立てる、組立型のアプローチ (Ludi システム^{*4)}, NewLead システム^{*5)}, PRO_LIGAND^{*6)}) である。いずれの方式もレセプターサイトでのリガンド化合物のドッキングを前提としている。以上の二種類のアプローチに加え、新規リガンド候補化合物を三次元データベースから直接求めるアプローチ (DOCK システム^{*7)}) もあるが、ここでは De novo デザインの流れの中で捕らえることにする。

* 1 : R.S.Bohacek and C. McMartin, J. Am. Chem. Soc., 116, 5560-5571 (1994).

* 2 : Y. Nisshibata and A. Itai, J. Med. Chem., 36, 2921-2928 (1993).

- * 3 : Gehlhaar et al., J. Med. Chem., 38, 466 (1995).
- * 4 : H. -J. Bohm, J. Comp. -Aided Mol. Design, 6, 593-606 (1992).
- * 5 : V. Tschinke and N. C. Cohen, J. Med. Chem., 36, 3863- (1993).
- * 6 : Murray et al.,
- * 7 : Meng, E.C.; Shoichet, B.K.; Kuntz, I.D., J.Comp. Chem. 13, 505-524 (1992).

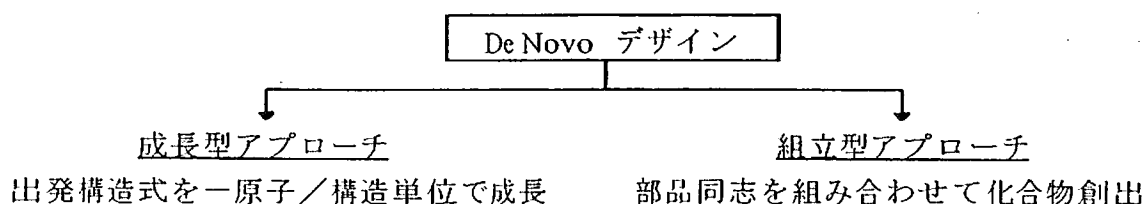


図 . De Novo デザインにおける二種類のアプローチ

先にも述べたように de novo デザインでは、新たに創出された化合物群中の活性化合物含有率を高めるために可能な限りの必要条件を満たしたアプローチが考案され、実用化されている。しかし、自分が生成した化合物群がリード候補化合物であるという評価（充分条件）を行う強力な機能を備えたシステムは無い。多くの場合、この評価は創出された化合物の三次元的な安定構造の計算やレセプターサイトへのフィッティング度合いや単なる物性値の評価等で代用されており、薬理活性と直結した評価は行っていない。De novo デザインにて創出された化合物群中のリード候補化合物の割合を高めるには薬理活性と直結した強力な評価システムが必要である。

De novo デザインは三次元化合物データベースと連携される事が多いが、この時の目的は構造の全く異なる化合物群を合成しなければならないという de novo デザインが持つ合成問題を軽減する事である。通常の三次元化合物データベースの利用目的である新規リード候補化合物の探索は行わない。

1.2.2 成長型および組立型アプローチの違いと特徴

成長型及び組み立て型ともに多数のバリエーションを持つが、全体的な特徴としては、成長型は段階的に化合物を組み上げるためにきめ細かな化合物の創出が可能であり、創出化合物数も多い。一方、組立型は部品が限定されるために創出される化合物数は成長型に比べると少なくなる。この基本的な特徴の差異は派生的に以下のような特徴を引き起こすことになる。成長型は組立型と比較した場合化合物構造式の生成に時間がかかり、かつ創出構造式中には化学的に非現実的なものも多数含まれる。一方で組立型は化合物創出時間が短く、非現実的な構造式も少ないが可能性を尽くすという観点からは成長型にかなわない。これらの長所/短所を踏まえた上で両アプローチを論じたい。

①成長型のアプローチ

基本構造式を用いて化合物を成長させるアプローチでは基本構造式が限定されるため、骨格まで異なる新規リード候補化合物を創出する事は事実上不可能である。一方、基本構造式としてその薬理活性分野で実績のある基本構造を用いるならばデザイン失敗の可能性は小さくなる。

成長型のアプローチでも出発構造式の単位を小さくする、あるいは出発構造式を指定せずに零から構造式を組み立てる事は可能である。しかし、成長型による化合物創出は原理上組立型のアプローチと比較して化合物創出の自由度が高く、生成化合物中における薬理活性化合物の含有率は出発化合物のサイズに反比例することは避けられない。

②組立型のアプローチ

組立型のアプローチでは基本骨格も含めて変化させるので構造式の全く異なる化合物群を創出する事が可能である。この意味でデザインが成功したときのインパクトは大きい。しかし、構造の自由度が高い反面でリード候補化合物である可能性は成長型と比べ、相対的に低くなる。

組立型では最初にレセプターサイト表面上、あるいはポケットに構造式組立の部品（出発フラグメント）を配置しなければならない。一般的に、最初のフラグメントの決定にはレセプターサイトとの水素結合性や静電結合性等を考慮する。このため、最初にバラ蒔かれる部品はこれらの特性を十分意識した構造を持つ。この部品として一般的にはファーマコフォア的なものが多用される。

最初に設定された部品間をつないで一つの過特徴する事が必要である。この部品間を結合する部品をスペーサーあるいはコネクターと呼ぶ。システムによりこのスペーサーの種類が異なるが、一般的には離れた距離をつなく直鎖状スペーサー、空間の占有を目指す環状スペーサー、縮合環を形成するスペーサーや、成長型と同様な原子単位のスペーサー等を備える。実際にスペーサーを用いて部品同志をつなく場合には三次元的な配向性等を考慮しつつ行う必要があり、この要求を満たすべく様々なアルゴリズムを用いて結合が行われている。

1.2.3 De novo デザインの作業

図 に典型的な de novo デザイン作業の流れ図を示す。

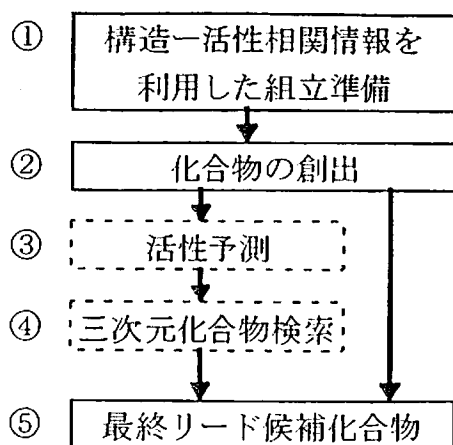


図 . De Novo デザインの作業の流れ

①レセプターサイトの情報を利用し、その後の化合物構築の準備をする。
 ②この準備が整えば、決められたアルゴリズムに従って化合物を組み立てる。
 ③創出された化合物群について、薬理活性を予測する。
 ④創出された化合物を三次元化合物データベースから取り出して来る。なお、この③および④過程はシステムにより実施されたり、されなかったりする。また、独立して実施される事もある。
 ⑤以上の過程を経て、最終的なリード候補化合物が決定される。

以下、この順に従って de novo デザインの概要を簡単に説明する。

①レセプターサイトの情報を利用した化合物組立の準備

化合物の創出は、組立のための条件が揃えば機械的に実行される。この時、ドラッグデザインを目的とした組立である限り、組み立てられる化合物はリード候補化合物である事が期待される。このリード候補化合物であるという保証を取り付けるために、レセプターサイトに関する情報（特に三次元形状情報）の利用や適用が行われる。現在、de novo デザインで利用される構造-活性相関情報はレセプターサイトでのリガンド化合物のドッキング過程で得られる情報を用いている。この組立準備にもシステム間で多用なアプローチが存在する。ここでは個々のアプローチについて論じるのではなく、一般的な概論を述べる。

・レセプターサイトの形状情報の取得

De novo デザインで創出される化合物群はレセプターサイトにピッタリ当てはまる事を目標とする。従って、レセプターサイトの形状情報が必要である。理想は、X線回折データから得られた座標データを利用する事である。しかもリガンド化合物を取り込んだ状態のものであれば更に望ましい。しかし、現実的にはレセプターサイトの座標データが得られる例は極めて少ない。このために、de novo デザインではX線回折の座標データの代わりにレセプターマッピングから得られる仮想のレセプター情報を用いる事が多い。しかし、de novo デザインは化合物構造式創出時の自由度が非常に高いという特徴から考えるならば、活性化合物の創出確率を高めるためにはレセプターサイトだけでも実データを利用する事が望ましい。

・出発構造式や出発フラグメントの決定方法

ドラッグレセプター理論による構造-活性相関でも同じであるがレセプター

サイトとリガンド化合物との相互作用として最も重要なものとして水素結合に関する情報、静電的結合に関する情報等がある。出発構造式やフラグメントの決定、位置決めにはこれらの情報が利用される。また、酵素内に存在する開裂部位 (cleft) を探索し、この開裂部位にフィットするようにリガンド化合物を導入するアプローチ (CAnGAROO:Cleft Analysis by Geometry based Algorithm Regardless Of the Orientation) *1) も展開されつつある。

* 1 : V. Gillet, A.P. Johnson, P. Mata, S. Sike, P. Williams, J. Comput.-Aided Mol. Design, 7 (1993) 127.

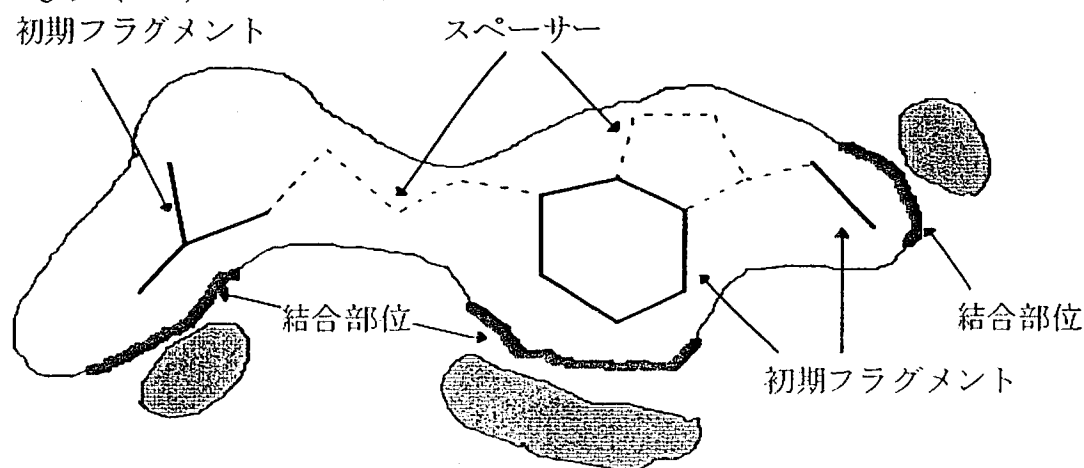


図 . 組立方式によるリガンド化合物群の決定

成長型のアプローチ： 化合物創出に先立ち出発構造 (seed) をレセプターサイト上のポケットに配置しなければならない。この出発構造式の配置はレセプターサイトにおける水素結合情報や静電結合情報を基本として決定される。従って出発構造式は水素結合や静電結合で重要な働きをする官能基群を備えていることが必要となる。このような要件が揃っていない場合、出発化合物の位置決めが困難であり、決定されたとしてもその信頼性に問題点が生じてくる。出発構造式自体の決定は自由であるが、一般的には過去の構造-活性相関情報や薬理活性情報に基づいて決定されることが多い。

組立型のアプローチ： 最初にレセプターサイトの水素結合及び静電結合情報に基づいて組立の基本となる複数の出発フラグメントをレセプターサイトの表面、あるいはポケット内に設定する。システムによってはこれらの初期フラグメント複数から構成されるより大きなフラグメントをライブラリから探し出して置換するアプローチも取るものもある。

②化合物の創出

化合物組立で利用する部品が決定されれば丁度分子模型を作り上げるよう

に三次元化合物をコンピュータ内で構築する事が出来る。

成長型アプローチ： 初期構造式が設定された状態で置換可能な位置に順次原子あるいは簡単な官能基を結合し、化合物を成長させて行く。レセプターサイトの空きスペースが無くなった時点でその方向の成長を止める。空きスペースのある別の部位から新たに原子/官能基を発生させる。この手順を繰り返すことで化合物構造式を構築する。作業の終点は発生する原子/官能基数に制限を与えるか、空きスペースが無くなった時点を取る。

構造式の成長は、その過程で原子や結合の種類、環/直鎖の決定、成長の方向性の決定、レセプターサイトの水素供与/受容体、静電(+/-)情報との整合性チェックを行いながら実施する事が必要である。

組立型アプローチ： 本アプローチでは①の段階で決定されたレセプターサイト上、あるいはポケットに配置された複数の初期フラグメント同志を結合し、一つの化合物にする事が必要である。この初期フラグメント間をつなぐものがスペーサーあるいはコネクターと呼ばれる。スペーサーには様々な種類があるが図 1 に直鎖スペーサーによるフラグメント間の連結事例が、図 2 にはリングスペーサーによる縮合環形成の事例を示す。

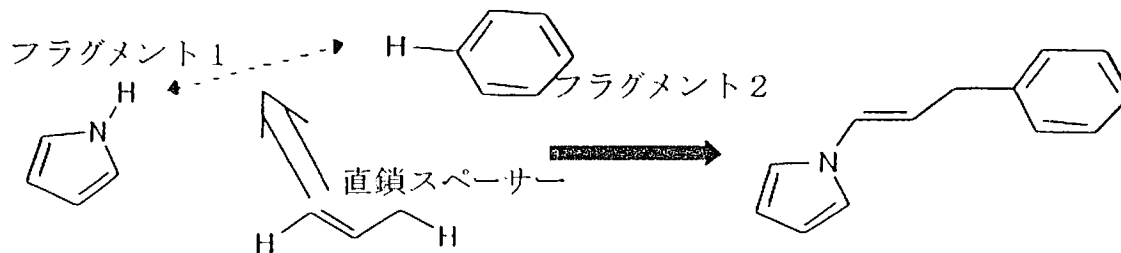


図 1 直鎖スペーサーによるフラグメント同志の結合 (文献4より抜粋)

直鎖スペーサーは二つのフラグメント同志をつなぐ事に利用される。フラグメント間の距離データをもとに適切なサイズのスペーサーをライブラリ中から取り出す。図 1 は二次元平面であるため単なる直線状の距離で片づくが、三次元では高低の要素が入り、フラグメントの結合部位の方向性の問題も大きくなり困難性が増大する。当初はフラグメントとして構造が固定された部分構造が用いられたが、結合軸に沿った回転を許すことでフラグメントの一方から他方がけて空間を探索しながら相手結合フラグメントを探すツィーク (tweak) アルゴリズム^{*6)} 等の利用によるアプローチ等が提案されている。

* 6 : A.R. Leach and S.R. Kilvington, J. Comp. Aided Mol. Design, 8, 283-298 (1994).

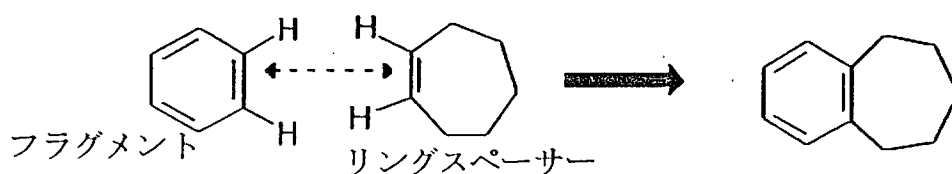


図 . リングスペーサーによる縮合環骨格の形成

リングスペーサーはフラグメントの空間的な占有や縮合環の形成、側鎖がある時はその固定等の目的で利用される。

③創出化合物の活性評価

当初リガンド化合物は多数創出される。また、フラグメントやスペーサーの数や種類の差異により、創出される化合物群の構造式は大きく変化する。この、多数で変化の大きな化合物群を構造-活性相関の観点からフィルターにかけて絞り込む必要がある。この評価基準として現在は創出された化合物のレセプターサイトでのフィッティング度を用いる。この計算式等多数提案されているが、手法としては力場計算の利用が一般的である。また、レセプターサイトの形状が不明の時は、単なる歪みエネルギーの比較だけで済ませてしまう事もある。

いずれの手法も基本的にはレセプターサイトとのフィッティング度合いを基準としており、薬理活性そのものを対象として評価するものではない。この点で化合物絞り込みの弱さの克服が今後の課題となる。

④三次元化合物検索

De novo デザインで創出された化合物を検索ターゲットとして三次元化合物データベースから化合物を取り出すアプローチが試みられている。この段階で三次元化合物検索する理由は、De novo デザインで創出される化合物群は構造式の変化が大きい事、また殆どの化合物は未合成化合物であることによる。創出された化合物がデータベース中に存在するならば、合成上の問題は解決される。検索で取り出された化合物が目標とする薬理活性テストがされていなければ早速スクリーニングを行う事が可能である。De novo デザインの結果を効率

良く実のあるものにするには、この化合物検索が重要な役割を果たす。

2. De novo デザインの適用事例

2.1

2.2 パターン認識を適用する二次元 De novo デザイン事例

パターン認識を活用することで新規リード候補化合物群を創出する事が可

能である。本アプローチは著者が“リード候補化合物再構築 (Lead Reconstruction)”として発表したもので、ドラグレセプター理論による三次元 De novo デザインが展開される前に既に実用化していたものである。ここではこのリード候補化合物再構築の実施例を簡単にまとめる。

2.2.1 リード候補化合物再構築による新規キノロンおよび 1,8-ナフチリジン誘導体の創出

本実験で用いた例は化合物の基本骨格としてキノロンおよび 1,8-ナフチリジンを用い、化合物をデザイン (創出) するのに用いる置換基群をパターン認識による解析で利用される部分構造パラメータから取り出すものである。パターン認識法の章で説明した部分構造パラメータから得られる部分構造情報を De novo デザインにおける化合物組立用パーツとして利用する。本アプローチでは基本骨格が固定され、この基本骨格上の置換基 (即ち、部分構造) が変化することで新規リード候補化合物群を創出する。従って、アプローチとしては三次元 De novo デザインの成長型アプローチに類似している。なお、本アプローチは二次元 De novo デザインと称するように、創出される化合物群は二次元化合物である。以下に実験の目的および手続きを簡単にまとめる。

実験の目的：抗菌活性新規リード候補 (既知) 化合物を構築する。

実験手続き：①キノロンおよび 1,8-ナフチリジン誘導体の抗菌活性データを用いて、ADAPT システム上で判別関数を求めておく。この判別関数は創出されたリード候補化合物の活性予測に利用される。

②部分構造パラメータのみを用いて、①同様に判別関数を求める。

③部分構造パラメータから得られた部分構造情報を用いて、基本骨格と組み合わせることで新規リード候補化合物を創出する。

④創出された化合物群を、①で予め求めておいた判別関数を用いて活性予測する。

⑤活性と評価された化合物群を最終リード候補化合物とする。

2.2.2 リード候補化合物再構築実験の実施

目標薬理活性は抗菌活性であり、解析用に用いたデータはキノロンおよび 1,8-ナフチリジン誘導体である。このデータの詳細に関しては第 4 章のパター

ン認識法の実験例にて詳しく示してある。

①活性予測用判別関数の取得

このデータを用いて抗菌活性の有無に従って100%分類できる判別関数を求めるが、この判別関数は第 4 章のパターン認識法の実験にて取り出された五個のパラメータからなる判別関数を用いた。この判別関数は細かな化合物構造式に強く依存しないパラメータのみにて構成されているのが特徴である。

②部分構造パラメータのみを用いた判別関数の創出

同じデータセットを用いて部分構造パラメータのみで新たに判別関数を求める。この判別関数の目的は部分構造情報を取得することであり、可能な限り高い分類率や予測率を得る事ではない。従って、統計解析上での信頼性が保証されているならばここで求める判別関数は分類/予測率の高さを要求されない。

この部分構造パラメータのみを用いた解析で得られた最終判別関数を表 1 に示す。最終的に九個のパラメータが選択されている。なお、表中+/-の符号は判別関数の係数の符号を示している。また、判別関数を決定する過程で解析母集団から一化合物が分類を妨げるインライヤーとして取り出され、総計 56 化合物が解析母集団として利用された。

表 1. 部分構造パラメータのみによる最終判別関数

1.	-	部分構造	SS1	に対するパス計算
2.	+	部分構造	SS2	に対するパス計算
3.	+	最大 (+)	σ チャージ	SS8
4.	-	最大 (+)	σ チャージ	SS9
5.	+	最大 (+)	σ チャージ	SS10
6.	-	最大 (-)	σ チャージ	SS2
7.	+	最大 (-)	σ チャージ	SS10
8.	+	部分構造	SS3	に対する分子屈折率
9.	-	部分構造	SS5	の出現回数

クラス 1 : 活性化合物 27 化合物
クラス 2 : 非活性化合物 29 化合物 総計 56 化合物

表 1 にはこの判別関数を用いて様々なパターン認識法による分類結果が示されている。この表から、線形学習機械法では 100%の分類率を達成し、その他のパターン認識法でも良好な分類率を達成している事がわかる。

表 . 九個の部分構造パラメータによる分類率

パターン認識法	クラス 1 (活性)	クラス 2 (非活性)	トータル
線形学習機械法	100.0%	100.0%	100.0%
線形判別分析 (最小二乗)	100.0%	96.6%	98.2%
線形判別分析 (シンプレックス法)	100.0%	93.1%	96.4%
BAYES 線形判別分析	85.2%	86.2%	85.7%
最近隣法 (K=1)	92.6%	82.8%	87.5%

③部分構造情報の取り出しと新規リード候補化合物の再構築

先の判別関数に残った部分構造パラメータが抗菌活性情報に従って化合物群を分類する重要な働きをする。特に、これらの部分構造パラメータのうち、その係数の符号が正のパラメータが抗菌活性を強化するのに貢献する。従って、最終判別関数のパラメータ群から正の符号を持つ部分構造パラメータを取りだすと、その部分構造パラメータを創出する基本となった部分構造が抗菌活性の強化に重要な働きをする事になる。

表 に、最終的に選択された部分構造パラメータを表記する。これらの部分構造パラメータのうち、2、3、5、7、8のパラメータの係数が正である。これらのパラメータが代表する部分構造は重複を除くと、SS2、SS8、SS10、SS3 の四種類である。これら四種類の部分構造式を図 に示す。

図中 X データ示される原子は水素以外の原子を示し、この X 原子にて基本骨格や他の部分構造と結合する。

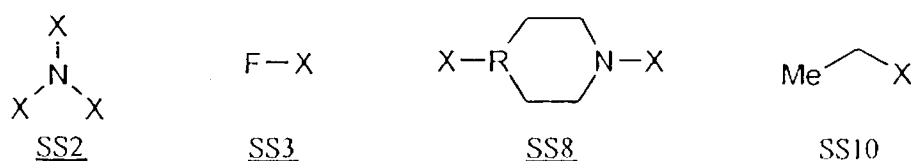


図 . 判別関数が正の符号を持つ部分構造パラメータに用いられた部分構造式

これらの部分構造が活性を強化するのに重要な働きをする。従って、これらの部分構造と Quinolone および 1,8 - Naphthylidene とを組み合わせる再構築された化合物群は新規の抗菌活性化合物の候補となる。この組み合わせにより構築された二十化合物の構造式を図 に示す。なお、化合物の再構築にあたり、構築される化合物が化学的に不都合な組み合わせはあらかじめ除いてある。

図 . 新規抗菌活性リード候補化合物群

図中、上二行 (410~419) は Quinolone 基本骨格を用いて再構築されたもので、下二行 (420~429) は 1,8 - Naphthylidene 基本骨格を用いて構築された。

④再構築された化合物群の判別関数による薬理活性予測

最終的にこれらの創出化合物群を新規リード候補化合物とする確認として先に①の手続きで求めておいた判別関数を用いて活性予測を行った。前記 20 化合物はこの活性予測においても活性と判断されている。

⑤抗菌活性リード候補化合物のまとめ

図 に示された二十化合物は総て抗菌活性が有りと判断された。これらの化合物群から今回の解析がもたらす意味について考える。

426 番の化合物は三員環と六員環が縮合しており合成的に難しい。しかし、四員環が縮合したものはさほど困難ではない。ここで、判別関数（パターン認識法の章で求めた）中に基本環数が多いことが活性に寄与するというパラメータが存在したことを思い出して欲しい。従って、環を構成する事が重要であり、環のサイズが問題ではないことを意味している。つまり三員環として捕らえるのではなく、環が Quinolone の 6、7 位に縮合すると情報を理解すれば良い。三員環は単なる組み合わせの産物にしか過ぎない。結論として、環が 6、7 位に縮合し、合成し易い 4～7 員環が適当であろう。

また、414、416、418 および 419 番の化合物群は Ofloxacin に近い特殊な構造を持つが、Quinolone 基本骨格の 1 位と 7 位をブリッジした例はない。しかも一般的に 1 位に結合する原子はエチルか三員環が望ましいとされている事から、418 と 419 がより望ましい構造をしていると類推される。さらにこの二化合物を合成的な観点から考えると 7 位に窒素のある 418 の方が好ましいと考えられ、最終的に合成するのは 418 が優先するものと考えられる。さらに、Ofloxacin との類似性を考えるならば、Quinolone の 8 位からピペリジン上に結合を発生させて新たな六員環を形成させれば更に Ofloxacin に近づく事になると同時に、パターン認識法の章でも述べたように、判別関数で示される基本環の数も飛躍的に増大する事がわかる。

ここでまとめた事実は考え方としてのほんの一例である。筆者の独断や偏見もかなり盛り込まれている。しかし、少なくともリード候補化合物再構築 (De novo デザインも含む) の結果を単に鵜呑みにして合成するのではなく、研究者が持つノウハウを考慮することでより大きな成果に結びつく可能性を高められる。構造-活性相関から構造式として答えを期待するものではなく、研究者の発想を支援する、あるいは研究者のノウハウを解析結果に織り込むことでより信頼性の高い結果に導くことが可能となる。

2.2.3 リード候補化合物再構築のまとめ、および考え方

パターン認識法による二次元 De novo デザインについてまとめた。得られる構造式の二次元/三次元という差を除けば、三次元 De novo デザインと異なる

点は化合物組立の為の部分構造パーツをパターン認識法で求めるか、ドラグレセプター理論におけるフィッティング情報から求めるかの違いである。

リード候補化合物再構築 (De novo デザインも含む) で求めた構造式は、構造-活性相関に関する情報を構造式に置き換えることで自動構築されたもので、合成や化学的観点から求められた化合物ではない。従って、合成が困難、あるいは不可能な化合物群も発生する。このような事実を見て De novo デザインは意味がないと判断するのは早計であり、構造-活性相関に対するアプローチの本質を見失っているといえる。

リード候補化合物再構築 (De novo デザインも含む) に限らないが、構造-活性相関に求めるべき事は構造式そのものではなく、その考え方や基本概念である。構造式そのものを求めれば、構造-活性相関の解析結果を十分に活用することは困難であり、単に新規リード候補化合物群を発見したか否かの単純な当たり/外れの問題に帰結してしまう。構造-活性相関に、薬理活性メカニズムに関する本質を求めるならば、例え一つの構造式で失敗しても、その周辺化合物群への展開が可能であるし、更なる展開も可能である。De novo デザインで創出される化合物構造式を単純に信じて合成するのではなく、これらの創出された化合物群の傾向や概念を学びとる事が出来れば De novo デザインの活用は完璧と言えよう。

3. De novo デザイン実施上での留意点

①創出化合物の構造的な差異の大きさ

De novo デザインの難しさは創出される化合物構造式の差異が大きいことであり、これが他の構造-活性相関手法と比較した場合の強みである。この特性は、三次元化合物の創出は無限の可能性を持つ、極めて自由度の高い作業である事に起因する。考えられるあらゆる制限を加えて自由度を減少したとしても、創出される化合物の構造式は大きく異なるのが本アプローチの特徴である。実際に、例え同じレセプターサイトの情報を用いても、個々のアプローチの違い、初期構造式の違い、組立部品の違い、三次元的配向の違いにより創出される構造式の差異は他の構造-活性相関手法と比較して極めて大きい。但し、構造の差異の大きさは新規リード候補化合物の探索という本来の目的からは望ましい特徴である。De novo デザインを行う時にはこのような事実を考慮しつつ、創出された化合物群の信頼性を検討しなければならない。

②“組み合わせの爆発”による創出化合物数の爆発の問題

本アプローチの宿命として創出化合物数が膨大になるという問題点がある。この問題を解決する手続きには、化合物創出時に制限を加えるアプローチと創出された化合物群を何らかの基準により選択して化合物数を減少するアプロ

一チとがある。このどちらを採用するか、あるいは両方の手続きを取るかはシステムの設計思想に依存する。

既に何度も述べているが、三次元的な空間を原子や結合で満たして行く事は自由度が非常に高い作業であり。この自由度を構造-活性相関の観点から如何に減少させるかが De novo デザインのポイントである。この自由度の減少が達成されなければ、前項で述べた構造式の差異の問題の他に、創出される化合物数が膨大な数になるという問題も生じる。また、意味のない自由度の減少では、化合物数を減少できても薬理活性を持つ化合物数の割合も大幅に減少する。例えば、比較的単純な直鎖スペーサー一つにしても、初期フラグメント間の距離、直鎖部分の構成内容（原子数、原子種、結合種、分岐度、方向性、他）等、どの一つを取っても無限の可能性がある。コンピュータ上で実現出来るのはこのほんの一部にしかすぎない。

創出された化合物群を選択するアプローチには選択基準として様々な基準が設けられている。歪みエネルギー、LogP、分子量、MR、他の様々な制限事項を設定することで化合物を絞り込む。しかしこのような絞り込みは次項でも述べるが単なる数減らしの意味合いが強く、構造-活性相関に根ざしたリード候補化合物選択を行っているわけではない。

③創出化合物群の薬理活性との相関

現在の De novo デザインの殆どはレセプターサイトにおけるリガンド化合物のフィッティングを前提として展開されている。従って、薬理活性を持つか否かの保証はレセプターサイトにおける化合物のフィッティング程度に依存する。

この化合物の三次元空間へのフィッティング度を評価するために様々な計算式が提唱されているが、この評価はあくまでもフィッティング程度との相関であり、薬理活性との直接的な相関ではない。つまり、現在の De novo デザインは活性を発現するのに必要な条件を満たす工夫はなされているが、活性を確認するための十分条件の手続きは軽く見られる傾向がある。この点で De novo デザインは靴の下から搔くという感を免れない。

De novo デザインの研究発表では創出された化合物群中に既存薬物、あるいはその類似化合物が存在するか否かで手法の有効性を証明する。しかし、De novo デザインの真の目的である新規リード化合物の発見を考えた場合、既存の薬物群と構造式が大きく異なる化合物群に対する薬理活性の保証が強くなければ、単なる化合物の羅列に終始する可能性が高い。単にリード候補化合物群を創出するのみならず、創出された化合物群の薬理活性を正確に把握してリード候補化合物の存在確率を高める工夫こそ De novo デザインに必要である。構造変化の大きな化合物群の合成が誘導体を合成する場合と比較して極めて

困難であることを考慮するならば、実際に合成を行う研究者の理解を得ることは出来ない。著者はこの点での改良が De novo デザインの最大の急務であると考える。

4. まとめ

De Novo デザインは構造-活性相関としては珍しく、リード候補化合物創出を目的としたアプローチであり、従来の相関メカニズムの追求を主眼としたアプローチとは一線を画したアプローチである。むしろ、ドラグレセプター理論によるアプローチで入手した構造-活性相関情報を積極的に利用して新規リード候補化合物を創出するという、ドラグレセプター理論の発展型と言える。

De Novo デザインで創出される化合物は多数であり、その構造式も変化に富むという特徴は新規リード候補化合物の発見には最適である。しかし、実際に合成する立場に立つとあまりにも変化が大きいことに何を合成したらよいか判断に困るという側面も生じる。従来の少数精鋭型を前提として組み立てられたスクリーニングシステムには馴染みにくいのが現状であり、この点での改良が今後の大きな課題である。

研究者は“科学は実験に始まり、実験に終わる”と信じている。実験による実証を柱としたコンビナトリアルケミストリ/HTS が同じリード化合物発見を目指すならば、仮説による推測に基づく De Novo デザインは説得力に乏しく、陰が薄れてしまう。この点で今後の De Novo デザインは、より研究者に説得力のある推測と、理論の確立が急務である。

本手法はむしろ最近注目されているコンビナトリアルケミストリ/HTS と組み合わせる事がよりよい結果をもたらすものと考ええる。勿論この場合はコンビナトリアルケミストリ/HTS の特性にフィットする特性を取り込んだ形での De Novo デザインが必要である。既に、De Novo デザイン的アプローチを取る化合物ライブラリの創出機能は幾つかのシステムにより提供されている。