

第一原理計算による有機機能材料の解析

Analysis of Organic Functional Materials by First Principles Calculations

江口 晴 樹 技術開発本部基盤技術研究所応用理学研究部 主幹 博士 (工学)

石川 義 弘 横浜市立大学大学院医学研究科 教授 医学博士

ニュージャージー州立大学医学部客員教授・同大学附属病院指導医

物理化学で標準的に使われている第一原理計算を有機機能材料分野に適用した。最初に自律神経調整薬、フォルスコリン誘導体の活性評価を行い、負の静電ポテンシャルが薬剤探索の期間短縮に重要であることを明らかにした。次に、磁場誘導ドラッグ・デリバリー・システムに用いる有機磁性体の解析と実証実験を行った。本解析で見いだしたEI236は、磁場誘導可能な抗がん剤として機能するだけでなくMRI造影剤としても機能する。第一原理計算による材料解析技術は、有機機能材料の分野にも適用可能である。

First principles calculations, such as the standard method of designing functional materials, are applied to an organic functional material. Firstly, activity evaluations of an autonomic nerve controlled drug, such as forskolin derivatives, can be predicted by the distribution of the negative electrostatic potential of each derivative. The method can dramatically shorten drug screening time. Secondly, an organic magnetic material for the magnetic targeted drug delivery system is identified through first principles calculations. Our identified compound, such as EI236, acts as both an anti-tumor drug and an MRI contrast medium, and has pharmacological effects that can be delivered in a controlled manner. Therefore, materials analysis technology using first principles calculations can be also applied to organic functional materials.

1. 緒 言

すべての原子は原子核とそれを取り巻く電子から構成されており、材料の性質は電子の分布とそのエネルギー状態で決定される。そのため、電気を通す、または光を発する有機機能材料などの特殊な機能をもった材料開発では、それらの機能を十分に発揮させるため原子レベルから材料設計を行うことが重要である。したがって、従来の経験的な方法に代わり量子力学が有効なツールとなる。なぜなら、材料の電気的特性、磁性、光学特性などを支配する原理は原子レベルの世界を記述できる量子力学だからである。

上記の方法は物理化学の世界では標準になっている第一原理計算と呼ばれ、実験パラメータなどを一切参照せずに物質の特性を解析する方法である。しかし、量子力学の基本方程式であるシュレディンガー方程式を直接解くことは困難であるため近似法を用いる必要がある。私たちが身近に接する材料は1モル程度の数(たとえば 10^{23} 個)の原子核とそれを取り囲む電子から構成され、物質構造や性質はこれらの電子の運動状態によって支配される。しかし、 10^{23} 個の原子を取り巻く電子状態をすべて知る必要はない。シュレディンガー方程式に近似を導入することによって、注目する電子とそれ以外の全電子とすべての原子

核がつくる場を考えることができる。これは、密度汎関数法と呼ばれ、1998年にW. Kohnがこの理論の提唱と発展でノーベル化学賞を受賞している。当社ではこのような機能材料の探索と改良を効率的に行うため、密度汎関数法に基づく第一原理計算に基づき硬質材料の設計、次に熱電材料、発光素子、光触媒に取り組んできた。本方法はもともと無機機能材料と呼ばれている分野を中心に使われている方法であったが、コンピュータの能力向上とアルゴリズムの高速化によって最近では計算する原子数が多い有機機能材料の分野でも使われるようになり始めた。本稿では有機機能材料分野の解析の一例としてコンピュータ解析の導入が最も進んでいる創薬分野への適用について述べる。

新薬開発プロセスにおいては、迅速かつ低コストで、薬候補化合物の検索をしていくことが鍵である。特に、特定のリードコンパウンド(新薬)がすでに存在する場合、それを基に多数の類似化合物を合成し、その活性をさらに比較検討することによって、より効果の高い化合物(改良新薬)を決定していくことになる。製薬企業にとって、改良新薬の開発は、独自の新薬の開発よりは低リスクであるが、多大なる開発コストが必要になる。これは現在の改良新薬スクリーニングにおいて、数百におよぶ改良新薬の候補化合物を実際にスクリーニングしなければならないか

らである。そこで、数百におよぶ改良新薬候補化合物を、共通特性に応じて 10 分の 1 以下に短縮できれば、スクリーニングの速度は 10 倍に加速されると考えられる。したがってその共通特性をどのような解析方法によって決定するか、あるいはそのような解析方法が存在するかという問題があった。これらの問題を解決するため第一原理計算を用いて酵素蛋白を制御する化合物であるフォルスコリン誘導体の活性評価の解析を行った。

次に、磁場誘導によるドラッグ・デリバリー・システム (DDS) に必要な有機磁性体の探索と発見した有機磁性体の評価試験を実施した。薬の投与においては、体全体すなわち患部だけではなく健全なところにも作用するため副作用が発生する可能性がある。この問題の解決策の一つとして、薬を患部にだけ選択的に運搬して作用させる手法、DDS がある。DDS が実現すれば、現在は副作用が大きくて使用が難しい薬も、安全に使用できる可能性が高まり、さらに薬剤を患部へ効果的に運び、かつ薬剤濃度を局所的に高めることで薬理効果を向上することができる。磁場誘導による DDS の研究は古く約 30 年前から行われている。従来の DDS は薬と担体であるキャリア (例えば、ナノサイズの微粒子に薬を混合したもの) のシステムであるが、分子サイズの巨大化、あるいはキャリアと薬との結合性や親和性に問題があった。そこで、キャリアを使わず、かつ薬効を落とさない DDS を検討し、有機磁性薬について解析的検証と新規候補剤の分子設計を試みた。可能性が出てきたのでその成果について報告する。

2. 自律神経調節薬 (フォルスコリン誘導体) の活性評価⁽¹⁾

フォルスコリンはインド地方にあるシソ科の植物である。古代ヒンズー医学書には心臓病、呼吸疾患、腹痛、排尿病、また不眠やひきつけなどの中枢神経系の病気にも効果があるとされている。近年になってこの生薬はアデニル酸シクラーゼと呼ばれる酵素蛋白質に結合することで活性化する⁽²⁾ ことが分かってきた。石川ら⁽³⁾ は、フォルスコリンの生理活性の向上と疎水性から親水性へ性質を変えるため側鎖修飾を行い、それらを「心不全治療薬」、「やせ薬」などへの開発を行っている。従来の方法は酵素蛋白とその制御化合物の相互作用を古典的な方法 (多数の化合物をランダムに合成し、それを酵素反応実験でスクリーニング) で検索することを行い、得られた計算結果をもとに、コンピュータで立体構造を解析し、化合物と酵

素蛋白とのフィッティング・シミュレーション (ドッキング・シミュレーションとも呼ばれる) によって、リードコンパウンド (新薬) の決定を行ってきた。

ところがこれらの方法では、初期リードコンパウンドの決定は行えるが、そこからさらに複数の類似化合物の合成を行い、より有効な化合物 (改良新薬) を検索するプロセスは極めて困難である。これは現在の創薬プロセスの共通問題点であり、標的酵素蛋白を効果的に制御し得る化合物は、どのような化学的あるいは構造的共通特性があるかを検討する方法の開発が必要とされている。

これに対して、標的酵素蛋白の結晶立体構造を利用したコンピュータ・フィッティングの技術が浸透しつつあるが⁽³⁾、これは立体構造からの解析であり、かならずしも正確な予測が可能ではない。なぜなら標的酵素蛋白と目的化合物の相互作用の近似が十分でないからである。したがって改良新薬の開発においては、コンピュータ・フィッティングの有効性が限定されるという欠点がある。改良新薬の候補化合物を同定するに当たっては、従来と異なった手法の導入が必要とされている。

従来法では種類の異なるアデニル酸シクラーゼを選択的に刺激し活性化することで自律神経を調節するためのフォルスコリン側鎖の同定は可能であるが、側鎖修飾の種類解析には不適であった。そこで化学的な側鎖修飾が異なる場合、これらの間にどのような共通性があるのかを第一原理計算で行った。静電ポテンシャルの分布、HOMO (Highest Occupied Molecular Orbital) と LUMO (Lowest Unoccupied Molecular Orbital) の波動関数分布、福井関数の分布を調べた結果、静電ポテンシャルがフォルスコリン誘導体の薬理活性に大きく影響を及ぼしていることが明らかになったので報告する。

本研究で用いた第一原理計算はすべて密度汎関数法によるものである。電子とイオンの相互作用についてはすべての電子を考慮する全電子法 (All electron method) を用いている。波動関数はスピン分極型の線形結合型の原子軌道 (Linear Combination of Atomic Orbitals: LCAO) で分極関数を追加した 2 重数値基底関数 (Double Numerical basis-set including Polarization function: DNP) を使用し、計算精度を損なうことなく計算速度の高速化をするため上記基底関数のカットオフは 0.4 nm に設定している。交換相互作用項は、Becke, Lee, Yang, Parr^{(4),(5)} によるものを用い、使用ソフトはアクセルリス社の DMol3⁽⁶⁾ を用いた。

計算を行ったフォルスコリン誘導体の化学構造式を第 1 表に示す。アデニル酸シクラーゼは構造と機能が異なる 9 種類のサブタイプが存在し肺の自律神経の制御に関係している酵素蛋白を II 型アデニル酸シクラーゼと呼び、それを選択的に刺激し活性化^{きゆう}する化合物として FD1 と FD2 を解析した。同様に嗅覚の自律神経の制御に関係している III 型アデニル酸シクラーゼを刺激し活性化する化合物としては FD3 と FD4, 心筋の自律神経の制御に関係している V 型アデニル酸シクラーゼを刺激し活性化する化合物としては FD5 と FD6 を解析した。

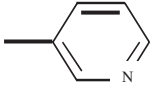
9 種類あるサブタイプのアデニル酸シクラーゼの中から特定のものを識別し酵素反応を起こすフォルスコリン誘導体の活性度, すなわち特異性を調べるため, フォルスコリン誘導体の静電ポテンシャルを計算した。静電ポテンシャルは負の電荷と正の電荷で表される。たとえば, 正の電荷部分をもつフォルスコリン誘導体は負の電荷部分をもつアデニル酸シクラーゼと結合する。

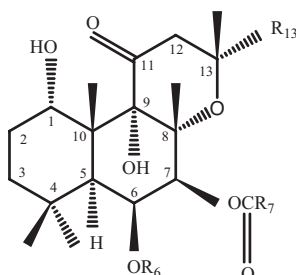
静電ポテンシャルの等電位面を第 1 図に示す。正の等

電位ポテンシャルは青色, 負の等電位ポテンシャルは黄色であらわされている。図示した電位面は正の等電位ポテンシャルは -5.880×10^{-4} eV, 負の等電位ポテンシャルは -5.880×10^{-4} eV である。

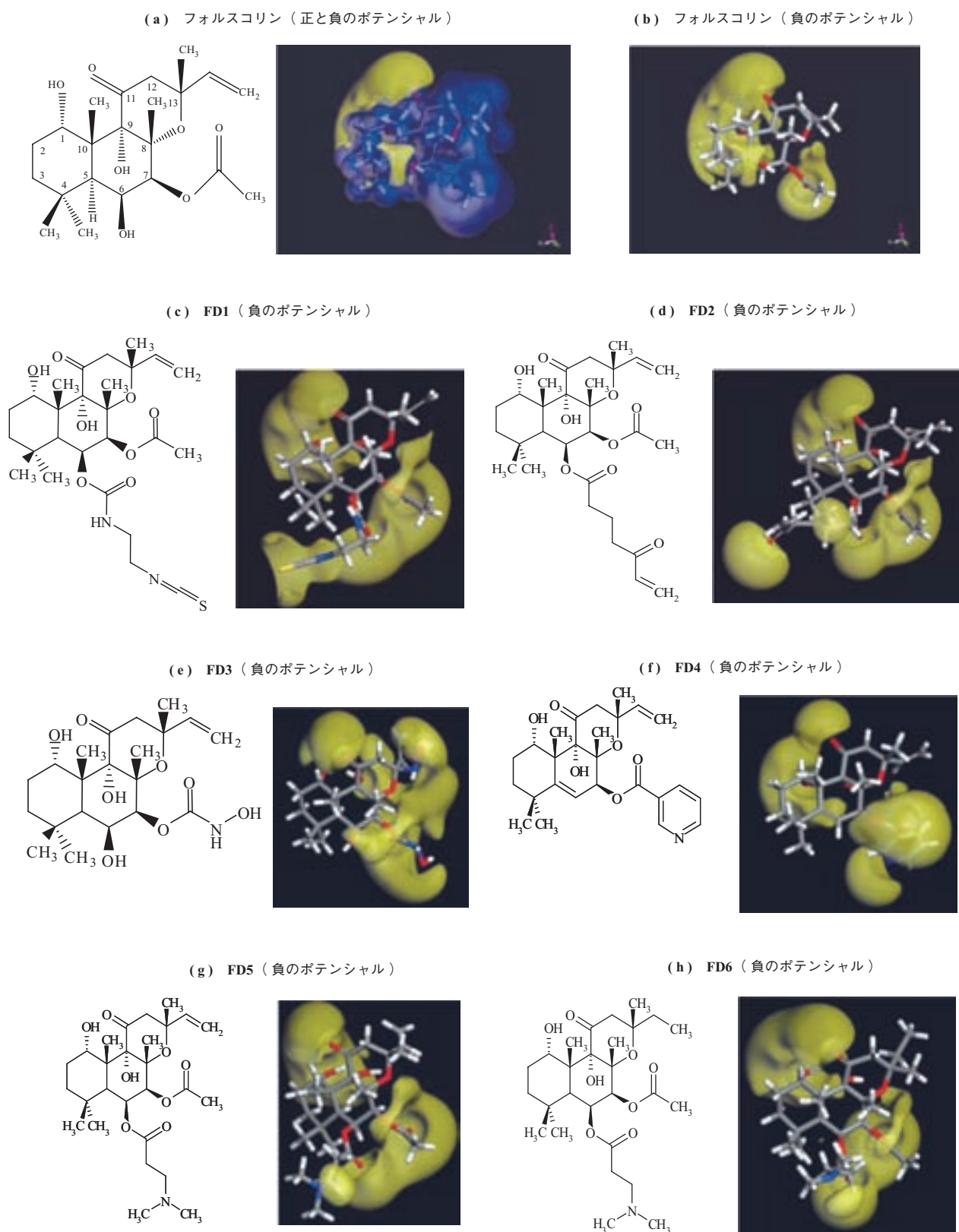
第 1 図 - (a) にあるように計算したすべてのフォルスコリン誘導体の正の静電ポテンシャルは分子全体に広がるのが特徴であり, 負の静電ポテンシャルは二つの領域に分かれているのが特徴である。正の静電ポテンシャルについてはどのフォルスコリン誘導体についても同じであった。これは正の静電ポテンシャルがアデニル酸シクラーゼの選択性に影響を与えていないことを示唆する。しかし, 負の静電ポテンシャルについては大きく異なることが明らかになった (第 1 図 - (c) ~ (h))。たとえば, II 型のアデニル酸シクラーゼを刺激する FD1 と FD2 の負の静電ポテンシャルは第 1 図 - (c), - (d) にある C6, C7 (第 1 図 - (a) の化学構造式の 6 員環の内側にある数字を指す) の裏側に広がっているのが特徴である。しかし, C7 部分の表側に少し分布しているのも特徴である。これは, II

第 1 表 フォルスコリン誘導体の化学構造式
Table 1 Chemical structure of forskolin and its derivatives

化合物名	位 置			選択性
	R ₆	R ₇	R ₁₃	
Forskolin	H	CH ₃	CH=CH ₂	無
FD1	CONHCH ₂ CH ₂ NCS	CH ₃	CH=CH ₂	Type II AC
FD2	COCH ₂ CH ₂ CH ₂ COCH=CH ₂	CH ₃	CH=CH ₂	Type II AC
FD3	H	NHOH	CH=CH ₂	Type III AC
FD4	5,6-dehydroxy		CH=CH ₂	Type III AC
FD5 NKH477	COCH ₂ CH ₂ N(CH ₃) ₂	CH ₃	CH=CH ₂	Type V AC
FD6	COCH ₂ CH ₂ N(CH ₃) ₂	CH ₃	CH ₂ CH ₃	Type V AC



(注) 本文使用したフォルスコリン誘導体の側鎖の R₆, R₇, R₁₃ の略語は表に示しているとおりである。
 FD1, 6-[N-(2-isothiocyanatoethyl) aminocarbonyl] forskolin;
 FD2, 6-(4-acrylbutyryl) forskolin;
 FD3, 7-deacetyl-7-hydroxamylforskolin;
 FD4, 5,6-dehydroxy-7-deacetyl-7-nicotinoylforskolin;
 FD5, 6-[3-(dimethylamino) propionyl] forskolin (NKH477);
 FD6, 6-[3-(dimethylamino) propionyl] -14 15-dihydroforskolin.
 R₆, R₇, R₁₃ の各位置は表の下の化学構造式のとおりである。



第 1 図 フォルスコリンとその誘導体の静電ポテンシャル図
 Fig. 1 Isosurface of electrostatic potential of forskolin and its derivatives

型アデニル酸シクラーゼの正の静電ポテンシャルと FD1 と FD2 の C6, C7, R₇ の裏側と相互作用していることを意味している. III 型のアデニル酸シクラーゼを刺激する

FD3 と FD4 は第 1 図 -(e), -(f) にあるように負の静電ポテンシャルは C7 の全体を覆うように広がっている. これは III 型アデニル酸シクラーゼの正の静電ポテンシャル

が FD3 および FD4 の C7 の位置と相互作用していることを意味している。V 型のアデニル酸シクラーゼを刺激する FD5 と FD6 の負の静電ポテンシャルは第 1 図 - (g), - (h) にあるように C8 と C7 の裏側に大きく広がり, C6 の位置には広がりが無い。したがって V 型アデニル酸シクラーゼの正の静電ポテンシャルは FD5 と FD6 の C7, C8 と相互作用をすることを意味する。

これらの結果, フォルスコリン誘導体の負の静電ポテンシャルは各サブタイプ型のアデニル酸シクラーゼの正の静電ポテンシャルと相互作用することでその特異性をもつことが分かった。本評価に費やした時間は 3 か月であり, 従来法⁽³⁾の 5 年と比較してフォルスコリン誘導体の活性評価時間を大幅に短縮した。

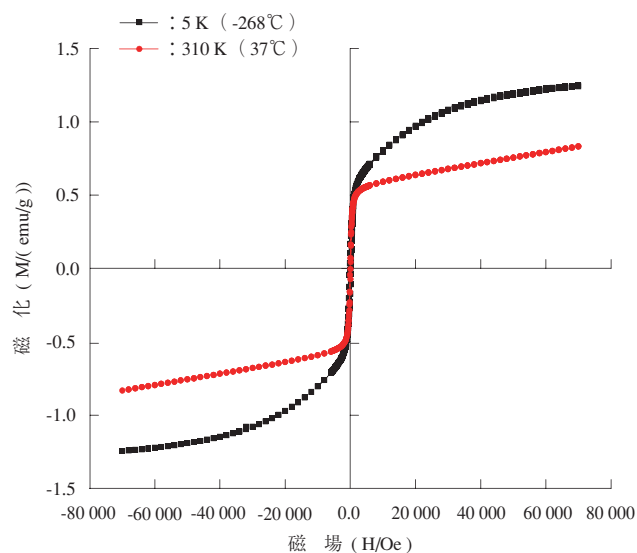
3. 磁場誘導ドラッグ・デリバリー・システムに用いる有機磁性体の解析と実証実験⁽⁷⁾

世の中に存在する物質は原子から構成され, その原子は原子核と電子からなる。その電子一つはこまのように回転しており, 左回りの時は上が N 極, 下が S 極 (これを上向きスピン電子状態という), そして右回りの時は上が S 極, 下が N 極 (これを下向きスピン電子状態という) となる。したがって電子 1 個単独で存在する場合は磁石としての機能をもつ。しかし, 共有結合等のように, 上向きスピン電子と下向きスピン電子の二つの電子がそろった場合は電子がもつ磁石の性質を打ち消し合うことになり磁石としての性質を失う。多くの有機化合物は, 共有結合を中心に構成されているため, 上向きスピン電子と下向きスピン電子はそろい, 結果として電子の磁石としての性質は失われ, 磁石にくっつかなくなる。たとえば, 我々の身近にあるプラスチック材料などが磁石にくっつかないのはこの理由である。したがって, 磁石にくっつくような有機化合物を設計するにはスピン電子の電子状態を制御する必要がある。具体的には, 物理の言葉では同じ方向のスピン電子のみを局所的にそろえる。化学の言葉ではラジカル電子を分子中に安定に存在させることが有機磁性体の設計の指導原理である。我々は第一原理計算によって対を組まない電子 (すなわち安定ラジカル電子) をコンピュータによって数える方法⁽⁸⁾を開発した。本方法を用いて有機磁性体の探索を行い, 超伝導量子干渉素子 (SQUID: Superconducting Quantum Interface Devices) を, Quantum Design 社 (アメリカ) の MPMS (Magnetic Property Measurement System) を用いて「磁場-磁化曲

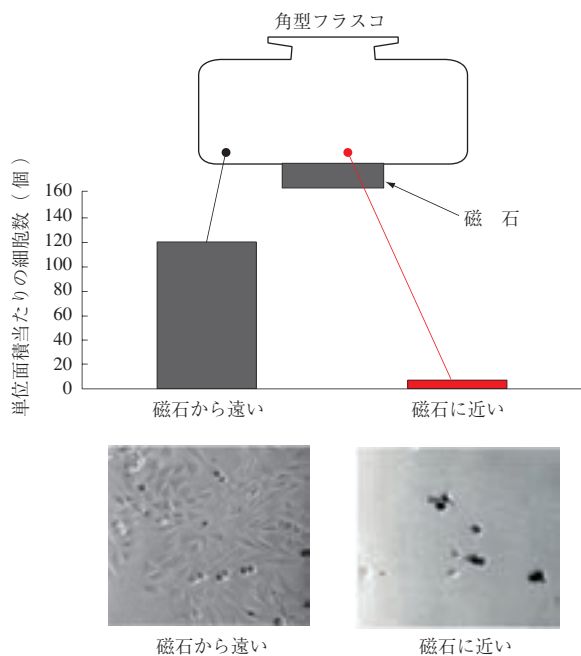
線」を測定したところ DNA 切断剤と呼ばれる抗がん剤の中に $-268 \sim 37^{\circ}\text{C}$ まで強磁性体の特徴であるヒステリシスループをもつ有機磁性体 (EI236)⁽⁹⁾を見いだした (第 2 図)。磁場誘導 DDS の可能性が出てきたので, EI236 を用いて次の生化学実験を行った。

ラットの筋肉のがん細胞である L6 細胞が 30% 培養容器の培養面を覆う (コンフルエント) の状態になった時に EI236 の粉末を均等にふりかけた後, フラスコ横底面にネオジウム永久磁石を設置し 48 時間後に培地の状態を観察した。第 3 図の上側はラット L6 細胞の培地がある角型フラスコに棒磁石を接触させた状態を示している。次いで, 48 時間後角型フラスコ底面の一端から他端までを撮影し, 細胞数を算出した結果を第 3 図の中央に示す。第 3 図の中央における磁石に近いとは, 角型フラスコ底面における磁石端面を示し, 磁石から遠いとは, 角型フラスコ底面において磁石端面と反対側にある領域を示す。第 3 図に示すように, 磁石から近いでは EI236 が引き寄せられて EI236 の濃度が増し抗がん作用によって細胞数が遠位よりも極端に低いことが分かる。したがって, EI236 は磁石を用いて誘導が可能で, 磁石近位の部分の薬剤濃度を高くすることでがん細胞の増殖を防ぐことが可能であることが分かった。

次に, 薬剤を動物に投与して MRI で撮影を行った。第 4 図は, 9 週齢のメスのラット (日本 SIC 製 ddy) 用い, これに, 磁性をもつ EI236 を溶液に溶解したもの (濃度 5 mg/ml) を皮下注射によって投与した後, 脂肪, ガドリウム造影剤などで高信号が得られる撮影モードである T1



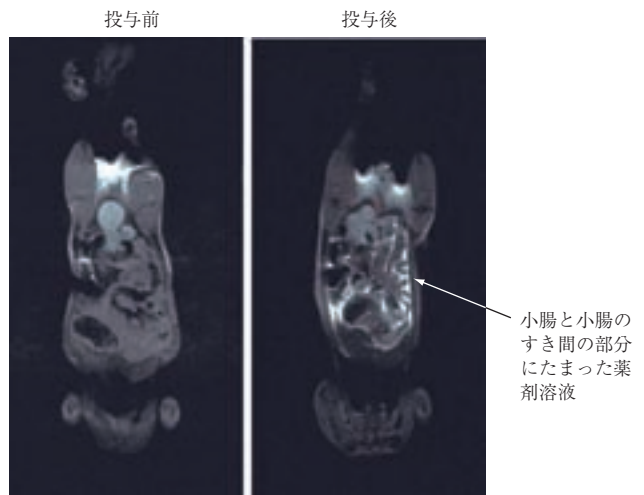
第 2 図 EI236 の「磁場-磁化」曲線測定結果
Fig. 2 Magnetic field versus magnetization curve of EI236



第3図 がん細胞（L6細胞）の磁場誘導実験
Fig. 3 Magnetic target experiment of cancer cell (L6)

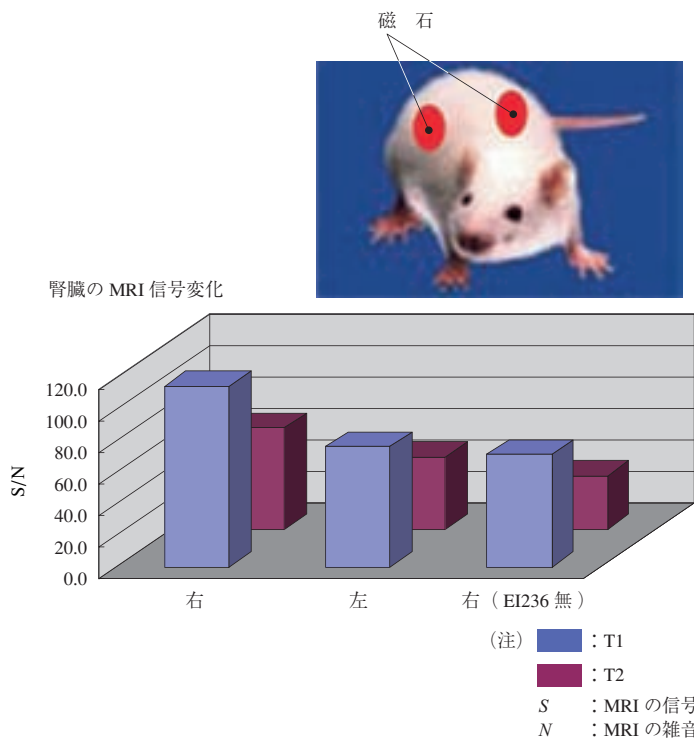
強調のMRI画像である。EI236を投与すると投与前に比べて臓器と臓器のすき間や腹腔膜に沿って造影効果が見られた。矢印の部分は小腸と小腸の隙間の部分に溜まった有機磁性体であり、本EI236が体内で白く光る陽性造影剤であることが分かった。

さらに、磁場でEI236の簡易磁場誘導実験を動物で行っ

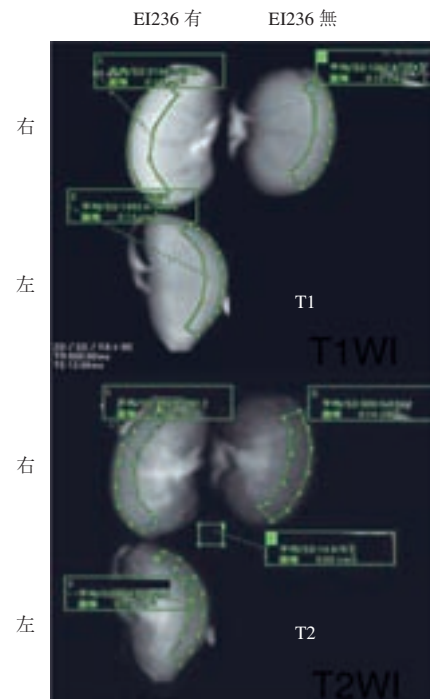


第4図 EI236のMRI造影効果確認試験
Fig. 4 MRI imaging of EI236
(left hand side: before administration, right hand side: after administration)

た。上記と同様のラットの下大静脈から濃度5mg/mlで0.2ml静注し10分後、ラットから腎臓を摘出しMRI造影実験を行った。第5図に腎臓のMRI造影剤実験結果をしめす。T1強調画像で見たところ、右側の腎臓のT1強調のMRI信号は左側と比較して約35%程度増加しており、ネオジウム永久磁石を当てた右側の腎臓にEI236が集積していることが分かった。一方、血液、関節液などで高信号が得られるMRI撮影モードであるT2強調画像で



第5図 EI236のMRI造影効果確認試験（腎臓のMRI信号変化）
Fig. 5 MRI imaging of EI236 (MRI signal change of kidney)



は、MRI 信号の変化は見られなかった。

4. 結 言

第一原理計算による有機機能材料分野の解析の一例として創薬分野への適用を行った。

自律神経調節薬（フォルスコリン誘導体）の活性評価については、フォルスコリン誘導体のアデニル酸シクラーゼのサブタイプ特異性が正の静電ポテンシャルではなく負の静電ポテンシャルにあることを見いだした。本方法を用いれば、アデニル酸シクラーゼの各サブタイプを選択的に刺激し活性化する薬剤、すなわち自律神経調節薬のスクリーニングが従来の5年から約3か月に短縮されることを明らかにした。

また磁場誘導ドラッグ・デリバリー・システムに用いる有機磁性体の解析と実証実験では、第一原理計算に基づき強磁性体を見いだす独自の評価法⁽⁸⁾を考案した。次にその評価法を用いることでEI236を見だし、実証実験の結果EI236は37℃においても強磁性体的性質をもっていることを明らかにした。さらに生化学実験を行ったところ、EI236は、磁場誘導DDSが可能な抗がん剤として機能し、さらにMRI造影剤としても使用の可能性があることが分かった。最近では、上記のような有機磁性薬の探索だけではなく、市販薬の側鎖を改変することによって磁性をもたせることにも成功している。

第一原理計算による材料解析技術は、コンピュータ解析の導入が最も進んでいる創薬分野にも適用可能であることを実証した。

— 謝 辞 —

東北大学大学院理学研究科物理学専攻 電子物理学講座 ナノネットワーク固体物理研究室 谷垣勝己教授には「磁場—磁化」曲線の測定、横浜市立大学医学部循環制御医学研究室的皆さんには生化学実験についてご協力をいただいたことをここに記し、深く感謝します。

参 考 文 献

- (1) H. Eguchi, K. Iwatsubo and Y. Ishikawa : Isoform-Selective Regulation of Adenylyl Cyclase by Forskolin Derivatives Prediction of Selectivity by Computer-Based Analysis Letters in Drug Design & Discovery Vol. 4 (2007) pp. 434 – 441
- (2) Y. Ishikawa and C. J. Homcy : The adenylyl cyclases as integrators of transmembrane signal transduction Circ. Res. Vol. 80 (1997) pp. 297 – 304
- (3) T. Onda, Y. Hashimoto, M. Nagai, H. Kuramochi, S. Saito, H. Yamazaki, Y. Toya, I. Sakai, C. J. Homcy, K. Nishikawa and Y. Ishikawa : Type-specific regulation of adenylyl cyclase Selective pharmacological stimulation and inhibition of adenylyl cyclase isoforms J Biol Chem Vol. 276 (2001) pp. 47 785 – 47 793
- (4) A. D. Becke : Density-functional exchange-energy approximation with correct asymptotic behavior Phys. Rev. A Vol. 38 (1988) pp. 3 098 – 3 100
- (5) C. Lee, W. Yang and R. G. Parr : Development of the Colle-Salvetti correlation-energy formula into a functional of the electron density Phys. Rev. B Vol. 37 (1988) pp. 786 – 789
- (6) B. Delley : An all-electron numerical method for solving the local density functional for polyatomic molecules J Chem Phys Vol. 92 (1990) pp. 508 – 517
- (7) Haruki Eguchi, Koji Otsu, Reiko Kurotani and Yoshihiro Ishikawa : Identification of Magnetic anti-tumor drug –its usage in drug delivery and MRI– Proceedings of 52nd Conference on Magnetism and Magnetic Materials (2007. 11) p. 307
- (8) IHI : 特願 2007-170909 (現在スーパー早期審査中) 江口晴樹, 石川義弘
- (9) IHI : 特願 2007-338928 江口晴樹, 石川義弘