

## ミニレビュー

## ネオニコチノイド系殺虫剤の分子 similarity と構造活性相関

中山 章

日本曹達株式会社小田原研究所

(平成 10 年 5 月 20 日受理)

Molecular Similarity and Structure-Activity Relationship of  
Neonicotinoid Insecticides

Akira NAKAYAMA

Odawara Research Center, Nippon Soda Co., Ltd., 345 Takada, Odawara, Kanagawa 250-0216, Japan

## はじめに

分子の類似性 (similarity) という概念は薬物の構造活性相関やドラッグ・デザインにおいて極めて重要な意味を持つ。農薬、医薬など生理活性物質の構造類似性を考える上で重要なのは生体の分子認識における類似性であり、それは我々が構造式から想起する類似性とは必ずしも一致しない。こうした生物にとっての分子の類似性を定量的に記述することができれば、「生物にとって似ている化合物は似た活性を示す」こと、すなわち “bioisosterism” の関係の理解を助けるだけでなく、薬物の構造活性相関を調べる上でも大きな手掛かりとなるはずである。筆者らは、こうした観点から similarity index と呼ばれる指標に着目し、分子の類似性に基づく構造活性相関について研究してきた<sup>1)</sup>。本稿ではネオニコチノイド系殺虫剤への応用について筆者らの最近の研究事例を概説する。なお、分子 similarity 全般にわたる解説は成書を参照されたい<sup>2)</sup>。

## 構造類似性指数 (similarity index)

1980 年に Carbó ら<sup>3)</sup> によって提唱された分子の電子密度分布の類似性を表す similarity index はその後、Hodgkin と Richards により静電ポテンシャルの類似性の定量的な指標に発展され、式(1)が定義された<sup>4)</sup>。

$$R_{AB} = \int \epsilon_A \epsilon_B d\tau / \left( \int \epsilon_A^2 d\tau \int \epsilon_B^2 d\tau \right)^{1/2} \quad (-1 \leq R_{AB} \leq 1) \quad (1)$$

式(1)で  $\epsilon_A$ ,  $\epsilon_B$  はそれぞれ分子 A, B の周りの任意の点における静電ポテンシャルである。二つの分子を何らかの方法で重ね合わせた後、分子表面から 3~5 Å 程度の空間につ

いて適当な間隔の格子点を定め、各格子点上の静電ポテンシャルから index 値を求める (Fig. 1(a))。式(1)で定義される index  $R_{AB}$  は -1 から +1 の範囲の値をとり、二つの分子 A, B の分子静電ポテンシャルの分布の類似性が高いほどその値は大きく、両者が全く同じポテンシャル分布を示すとき +1 の値を与えることになる。また、電子密度や静電ポテンシャルの類似性を評価するために定義された式(1)の表記が分子の形状類似性の定量的な尺度としても有効であることが提唱され、Meyer と Richards は式(2)で定義される shape-similarity index を提出した<sup>5)</sup>。

$$S_{AB} = C / (T_A T_B)^{1/2} \quad (0 \leq S_{AB} \leq 1) \quad (2)$$

式(2)で  $T_A$ ,  $T_B$  はそれぞれ、二つの分子 A, B の体積 (分子内の格子点の数) を表し、 $C$  は分子 A, B を重ね合わせたときに両者が共有する部分の体積である (Fig. 1(b))。分子 A, B が完全に重なり合うとき  $S_{AB}$  は最大値 (+1) をとり、共有部分が無いとき 0 を与える。また、分子の静電的および形状類似性を一つの index で評価する目的で、筆者らは前記の二つの index  $R_{AB}$  と  $S_{AB}$  の積として定義される新しい index  $RS_{AB}$  を導入した (式(3))<sup>6)</sup>。

$$RS_{AB} = R_{AB} S_{AB} \quad (-1 \leq RS_{AB} \leq 1) \quad (3)$$

Similarity index の定義より明らかなように、分子の重ね合わせが similarity を調べる上で重要なプロセスとなる。二つの分子の対応する原子同志を最小自乗法により重ね合わせる、いわゆる atom-to-atom のフィッティングが一般的によく行われる。一方、分子の最適重ね合わせを求める手段としても、上記の similarity index は極めて有用である。すなわち、 $R_{AB}$  や  $S_{AB}$  の値が最大になるように二つの分子

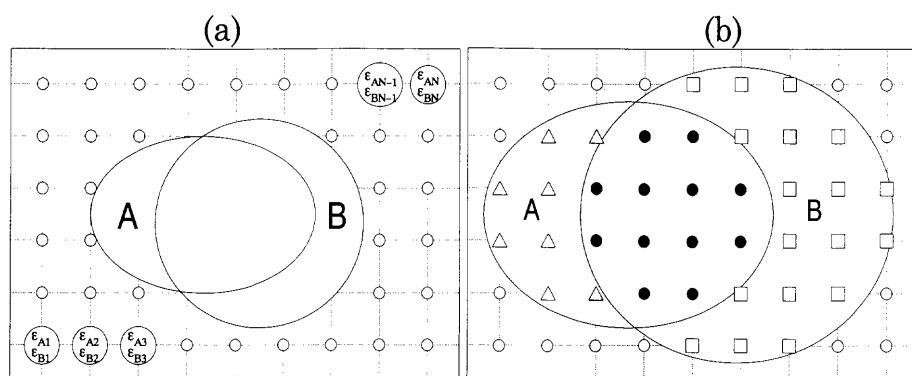


Fig. 1 Schematic representations to define the similarity indices of molecules A and B when they are superimposed. (a) Electrostatic potentials ( $\epsilon_{Ai}$  and  $\epsilon_{Bi}$ ) at each grid point  $i$  around molecules A and B, respectively. (b) Grid points inside and/or outside of molecules A and B to define the shape similarity.

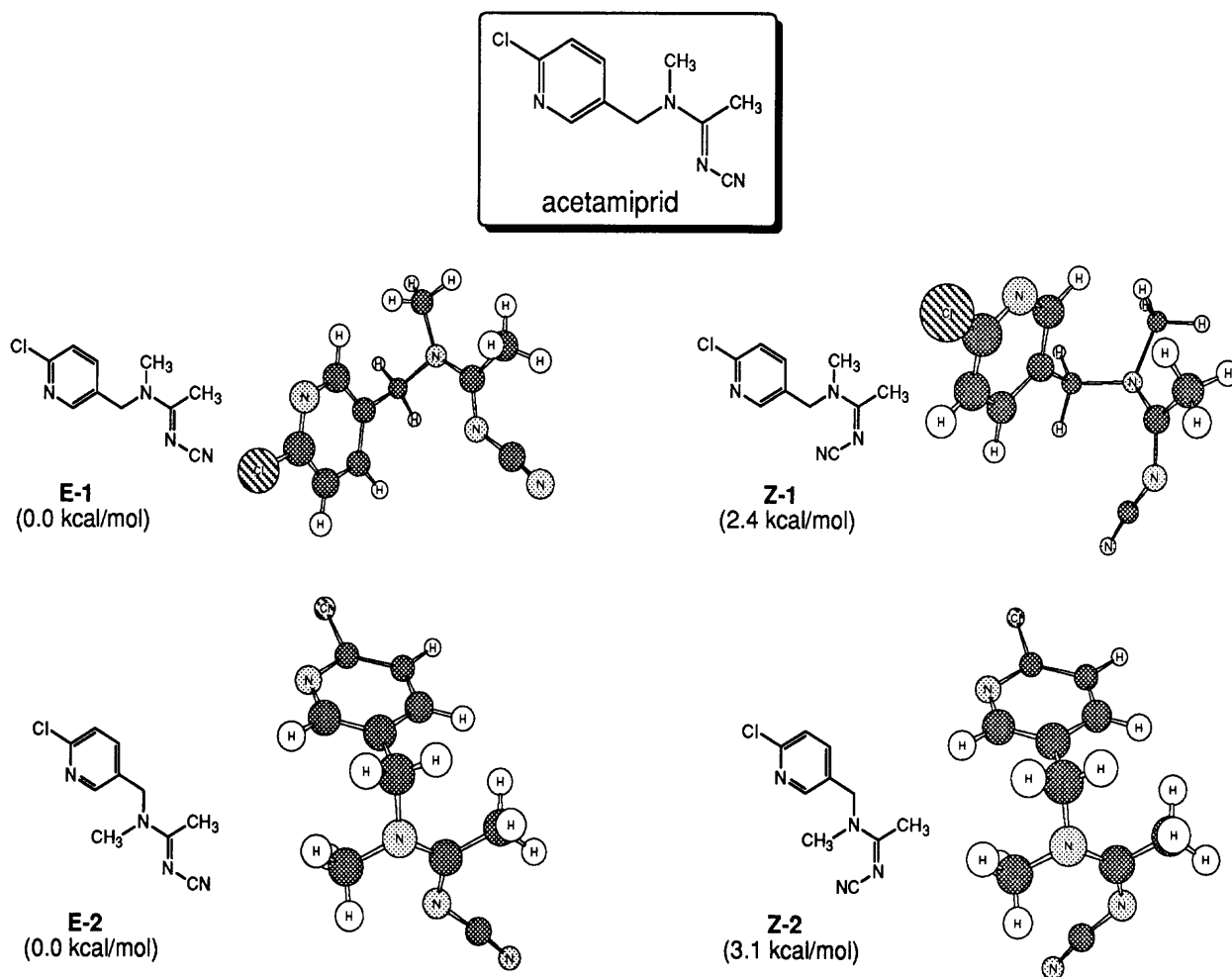


Fig. 2 Four conformers of acetamiprid obtained by the conformational analysis. The values in the parentheses are the relative energy of each conformer calculated by PM3 method.

を重ね合わせることで、分子の周りの静電ポテンシャルの分布や分子の形状が最も類似した重なりモデルを得ることができる。一つの分子を固定し、もう一方を少しずつ動かしながら similarity index 値が最大になる相対位置を探索する手法として、simplex 法<sup>7)</sup>がよく用いられる。

#### 殺虫剤アセタミプリドの立体化学と 活性コンフォメーション<sup>8)</sup>

アセタミプリド (acetamiprid)<sup>9)</sup> は日本曹達 (株) が開発した新規殺虫剤であり、ニコチン性アセチルコリン受容体 (nAChR) のアゴニストとして作用するいわゆるネオニコチノイド系殺虫剤の一つである。このものの NMR スペク

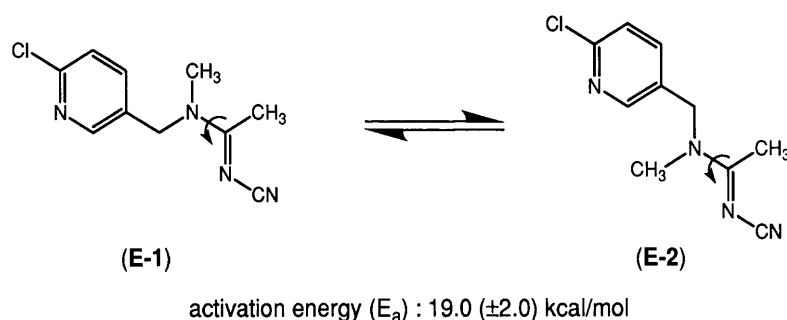


Fig. 3 Slow exchange of two stable conformers in acetamidiprid, and the activation energy ( $E_a$ ) of this exchange estimated from the dynamic NMR analysis.

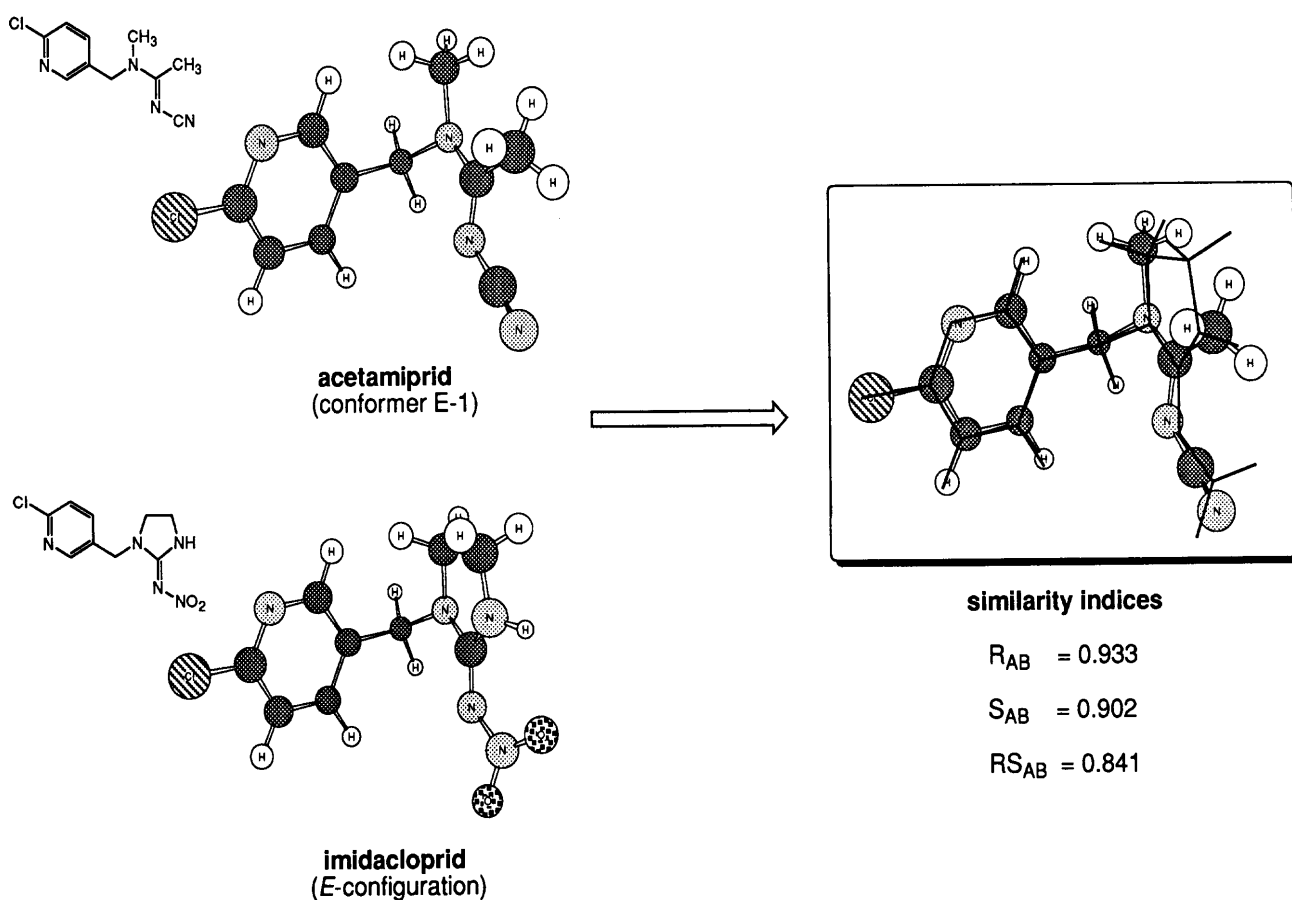


Fig. 4 Optimized superimposition of acetamidiprid and imidacloprid. The values of the similarity indices to maximize  $RS_{AB}$  are shown with the superimposed model.

トルを測定すると、溶液中で2種類の異なる構造が存在する。そこで、半経験的分子軌道法計算(PM3法)<sup>10)</sup>によるコンフォメーション解析を行うと、シアノイミノ基の幾何異性(E, Z)とアミノ基部分の立体配座による四つのコンフォマーが得られ、E型の二つの構造がより安定であると予想された(Fig. 2)。さらにNOEや遠隔カップリングおよびdynamic NMRなど詳細なNMR解析の結果を総合すると、アセタミプリドのシアノイミノ部分の幾何異性はE型で、アミノ基のC-N結合の回転により生じる二つのコンフォマー(E-1, E-2)が溶液中で遅い交換をしていること

が明らかになった(Fig. 3)。そこで、いずれのコンフォマーが活性コンフォメーションかを推定するために、類似の作用性を示す既知のネオニコチノイド系殺虫剤イミダクロプリド(imidacloprid)<sup>11)</sup>との構造類似性を調べた。イミダクロプリドは環構造をもつ比較的rigidな化合物で、ニトロイミン部分の幾何異性(E型)もX線結晶構造解析により明らかにされている<sup>12)</sup>。従って、このものとsimilarityの高い構造がアセタミプリドの活性コンフォメーションであると考えたからである。

イミダクロプリドの構造をPM3法で最適化し、アセタ

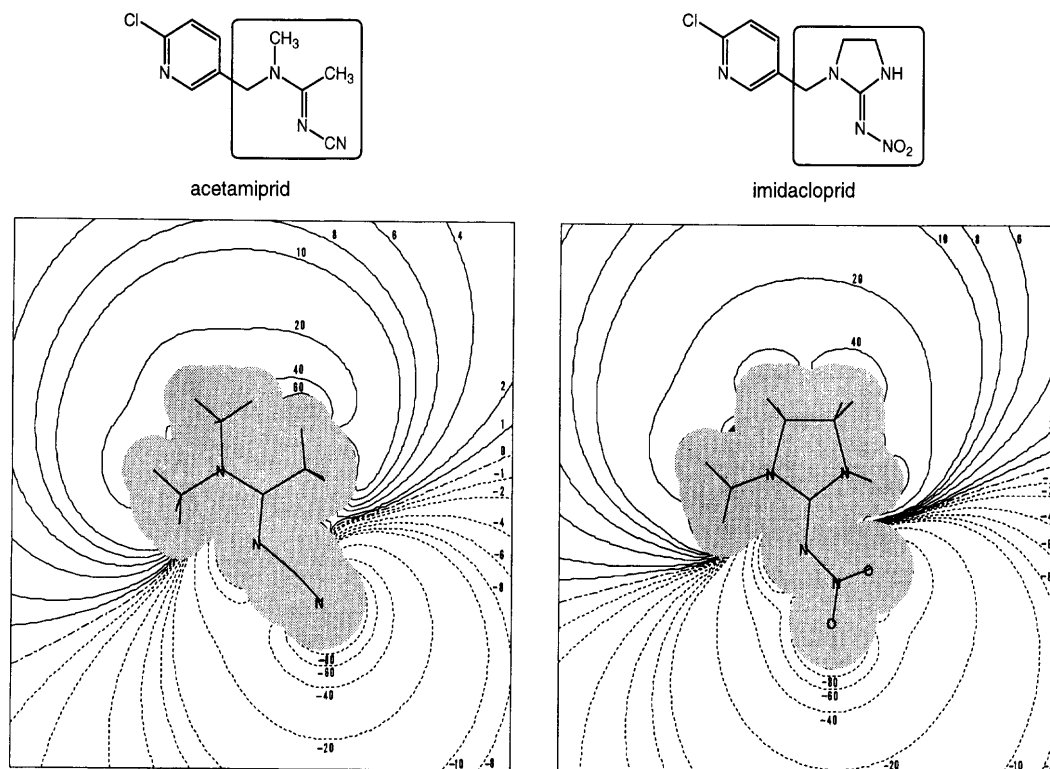


Fig. 5 Molecular electrostatic potentials of acetamiprid (left) and imidacloprid (right). Contour values are in unit of  $10^{-3}$  au.

ミプリドの各コンフォーマーとの構造比較を行ったところ、Fig. 4に示すように前記のコンフォーマーE-1がイミダクロプリドとよく重なり合うことがわかった。また、両化合物のピリジン環を除く部分について分子の周りの静電ポテンシャルの分布を比較すると、両者は静電的にもよく類似している (Fig. 5)。そこで、前述の三つの similarity index ( $R_{AB}$ ,  $S_{AB}$ ,  $RS_{AB}$ ) がそれぞれ最大になる重なりモデルを simplex 法で求めると、いずれの index を指標に最適化しても Fig. 4とほとんど同じ重なりモデルに収束することがわかった。このことは、静電的類似性を最大にする重ね合わせは立体的な類似性も満足することを示しており、これら二つの分子は Fig. 4に示した重なりするとき静電的にも立体的にも互によく類似していると考えることができる。

以上の結果から、アセタミプリドとイミダクロプリドは、静電的および立体的性質のいずれについても高い類似性を持つ分子として生体に認識され、同質の殺虫作用を示す、いわゆる“bioisoster”の関係にあることが理解される。また、イミダクロプリドとの構造類似性から、コンフォーマーE-1に近い構造がアセタミプリドの活性コンフォメーションであると推定した。なお、その後のX線結晶構造解析から、アセタミプリドの結晶中での構造もコンフォーマーE-1であることが確認された<sup>13)</sup>。

#### ネオニコチノイド系殺虫剤の分子 similarity と レセプター結合活性の関係<sup>14)</sup>

アセタミプリドとイミダクロプリドはいずれも nAChR

のアゴニストであり、両者の間には高い構造類似性が見られることを上に示した。そこで、これらを含む一連のネオニコチノイド系殺虫剤の活性の強さと分子 similarity の間の定量的な関係を調べた。ネオニコチノイド系殺虫剤は一般に、ニトロイミン、ニトロメチレン、シアノイミンなどの極性基を持つ環状または非環状のアミノメチル基部分とピリジンなどの芳香環部分が結合した構造を有している (Fig. 6)。両部分構造に種々のバリエーションを持つ化合物群のミツバチの nAChR に対する結合親和性 ( $pK_i$ )<sup>15)</sup> を生物活性の指標として、分子 similarity との相関性を解析した。

まず、芳香環部を6-クロル-3-ピリジル基に固定した1~11について、最も高いレセプター結合親和性を示した化合物(1)を対照分子に選んだ。そして、他の化合物のモデルを simplex 法により shape-similarity index ( $S_{AB}$ ) が最大になるように対照分子に重ね合わせ、静電的 similarity index ( $R_{AB}$ ) を算出した。その結果、環状アミン構造を持つ1~9の  $pK_i$  と  $R_{AB}$  の間には有意な正の相関 ( $r=0.94$ ) が認められ、非環状アミン型のアセタミプリド(10)も環状アミン類の相関式にほぼフィットした。一方、非環状のニトロメチレン誘導体ニテンピラム(11)<sup>16)</sup> は相関式から予想されるより  $pK_i$  値が低く、その原因として互変異性構造の寄与などが考えられた。

次に、アミン部分を化合物1のタイプに固定した八つの化合物 (1, 12~18) について芳香環部の分子 similarity を調べた。ここでも最も活性の高い6-クロル-3-ピリジル体

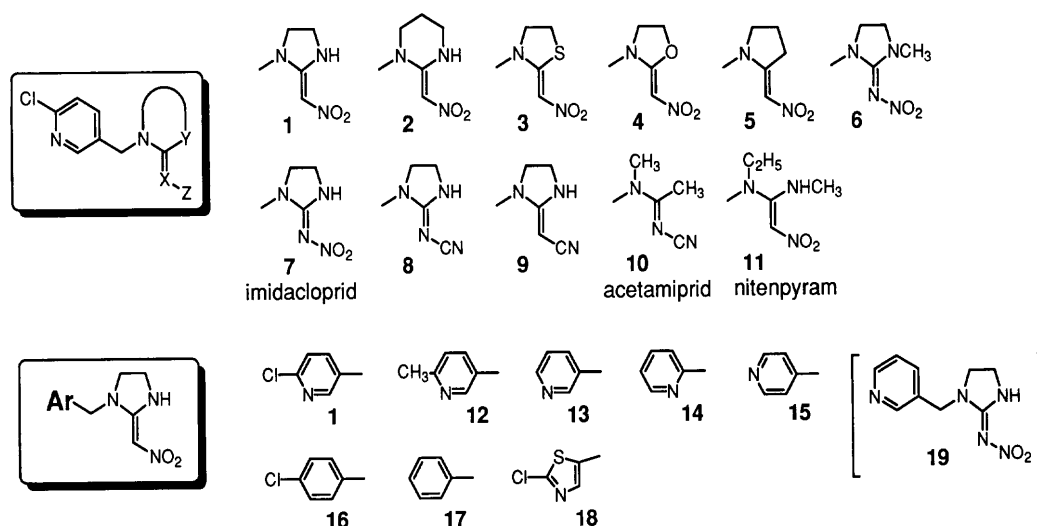
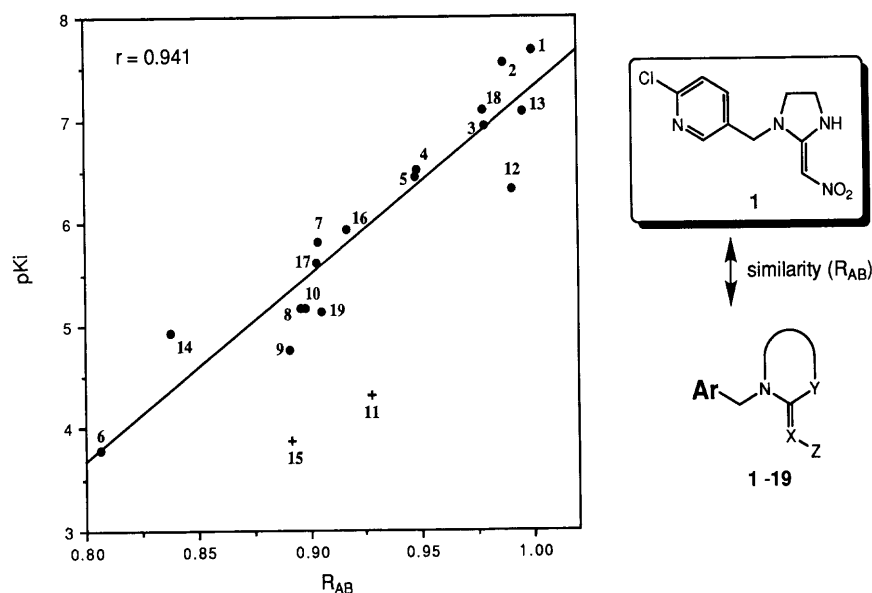


Fig. 6 Structures of neonicotinoid insecticides subjected to the molecular similarity analysis.

Fig. 7 Correlation between electrostatic similarity ( $R_{AB}$ ) and receptor-binding activity ( $pK_i$ ) for the whole molecule. The correlation coefficient ( $r=0.941$ ) and the regression line were derived from the data excluding compounds **11** and **15**.

(**1**)のモデル化合物を対照分子とし、最適重ね合わせにおける静電的 similarity index ( $R_{AB}$ )を求めると、やはり  $pK_i$  と  $R_{AB}$  の間には有意な相関 ( $r=0.92$ )が見られた。しかし、4-ピリジル体(**15**)は相関式から外れる例外となり、ピリジン環窒素の位置特異的な活性への効果を similarity index だけで十分に説明するのは難しいと思われた。

最後に、アミン部分と芳香環部分の双方にバリエーションを持つ 19 化合物について、化合物 **1** を対照とする similarity index を前記と同様の方法で求め、 $pK_i$  と  $R_{AB}$  の関係をプロットしたところ、先の二つの例外化合物 (**11**, **15**)を除くと良好な相関関係が得られた (Fig. 7, 式(4))。

$$pK_i = 18.16 (\pm 3.61) R_{AB} - 10.87 \quad (4)$$

$$n = 17, r = 0.941, s = 0.382, F_{1,15} = 115.112$$

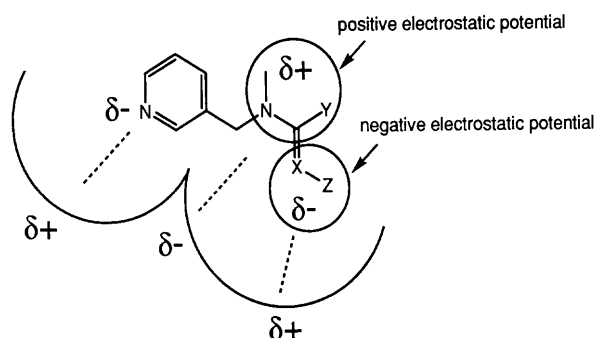


Fig. 8 A hypothetical model of molecular recognition of neonicotinoid insecticides at nAChR.

以上の結果から、最も活性の高い化合物との静電ポテンシャルの類似性が活性の強さと定量的に相関することがわかった。このことは分子の周りの静電ポテンシャルの分布

が nAChR での分子認識において極めて重要であることを示唆している。また、分子の形状類似性をもとに二つの分子を重ね合わせるにより有意な静電的パラメータ ( $R_{AB}$ ) が導かれたことから、分子の立体的な類似性も受容体への結合にとって少なからず重要な役割を果たしていると推定される。上記の解析から描かれる nAChR での分子認識のモデルを Fig. 8 に模式的に示した。

### 分子 similarity を用いた 3 次元 QSAR<sup>17,18)</sup>

前節で述べたように、similarity index は構造の異なる二つの化合物の類似性や活性コンフォメーションを推定するのに有効だけでなく、定量的構造活性相関 (QSAR) の記述子としても有用であることが示された。しかし、先の解析は最も活性の高い対照化合物に対する分子 similarity のみを用いたものであり、解析対象化合物総ての間の類似性を考慮した QSAR を行えばさらに予測性の高い QSAR モデルが得られると考えた。また、-1 または 0 から +1 の範囲に規格化された値をとる Richards らの similarity index は QSAR の記述子としては必ずしも適当とはいえない。そこで、similarity index 自体の定義を見直してみることにした。

静電的 similarity index  $R_{AB}$  を求めるときの二つ分子 A, B の周りの静電ポテンシャル  $EA$ ,  $EB$  はそれぞれ、 $N$  個の格子点上の静電ポテンシャル ( $\epsilon_{Ai}$ ,  $\epsilon_{Bi}$ ) のベクトルとして、

$$EA = (\epsilon_{A1}, \epsilon_{A2}, \epsilon_{A3}, \dots, \epsilon_{Ai}, \dots, \epsilon_{AN}),$$

$$EB = (\epsilon_{B1}, \epsilon_{B2}, \epsilon_{B3}, \dots, \epsilon_{Bi}, \dots, \epsilon_{BN})$$

と表される (Fig. 1(a))。このベクトルを用いて式(1)を書き換えると式(5)となり、 $R_{AB}$  はベクトルの余弦、すなわち  $EA$ ,  $EB$  の“方向”を表すパラメータといえる。そこで、ベクトルの方向 ( $\cos \theta$ ) と大きさ ( $|EA|$ ,  $|EB|$ ) 双方を考

慮し、ベクトルの内積として定義される新しい index  $IR_{AB}$  を導入した (式(6))。これには -1 から +1 という index 値の範囲の制約はない。

$$R_{AB} = EA \cdot EB / |EA| |EB| = \cos \theta \quad (-1 \leq R_{AB} \leq 1) \quad (5)$$

$$IR_{AB} = EA \cdot EB = |EA| |EB| \cos \theta \quad (6)$$

分子の形状類似性  $S_{AB}$  は格子点  $i$  が分子 A, B それぞれの van der Waals 表面の内側にあるとき 1、それ以外るとき 0 を値とする格子値 ( $S_{Ai}$ ,  $S_{Bi}$ ) のベクトル  $SA$ ,  $SB$  を用いて式(7)のように表記され (Fig. 1(b))、内積に変換した index  $IS_{AB}$  (式(8)) を新しい shape-similarity index として定義した。

$$S_{AB} = SA \cdot SB / |SA| |SB| = \cos \theta \quad (0 \leq S_{AB} \leq 1) \quad (7)$$

$$SA = (S_{A1}, S_{A2}, S_{A3}, \dots, S_{Ai}, S_{AN}),$$

$$SB = (S_{B1}, S_{B2}, S_{B3}, \dots, S_{Bi}, S_{BN})$$

$$IS_{AB} = SA \cdot SB = |SA| |SB| \cos \theta \quad (8)$$

これらの新しい similarity index を用いてネオニコチノイド系殺虫剤の 3 次元 QSAR を検討した。前節の解析で示した一般式で芳香環部を 6-クロル-3-ピリジルに固定した 12 の化合物について、それら総ての間の similarity を計算すると、 $IR_{AB}$  と  $IS_{AB}$  の行列 (similarity matrix) が得られる。この行列中の similarity index と nAChR への結合活性 ( $pK_i$ )<sup>15)</sup> の関係を CoMFA 法<sup>19)</sup> などでもよく用いられる partial least squares (PLS) 法<sup>20)</sup> で解析した。その結果、 $IR_{AB}$  と  $IS_{AB}$  を記述子とする有意な相関式(9)を得た (Fig. 9)。式中、 $A$  は最適コンポーネント数、 $q$  は leave-one-out 法による予測的相関係数である。

$$pK_i = 8.862 + [IR_{AB} \text{ and } IS_{AB} \text{ terms}] \quad (9)$$

$$n = 12, A = 3, r = 0.945, q = 0.677, s = 0.477, F = 22.340$$

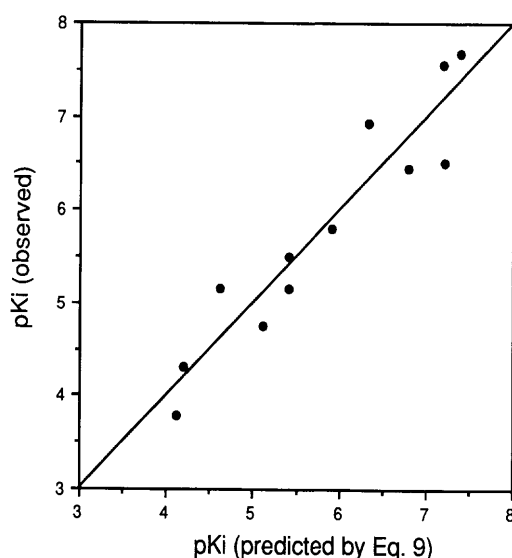
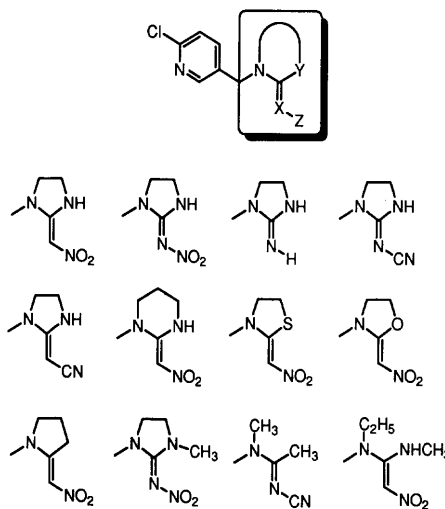


Fig. 9 Correlation between the  $pK_i$  values observed and predicted by Eq. 9.



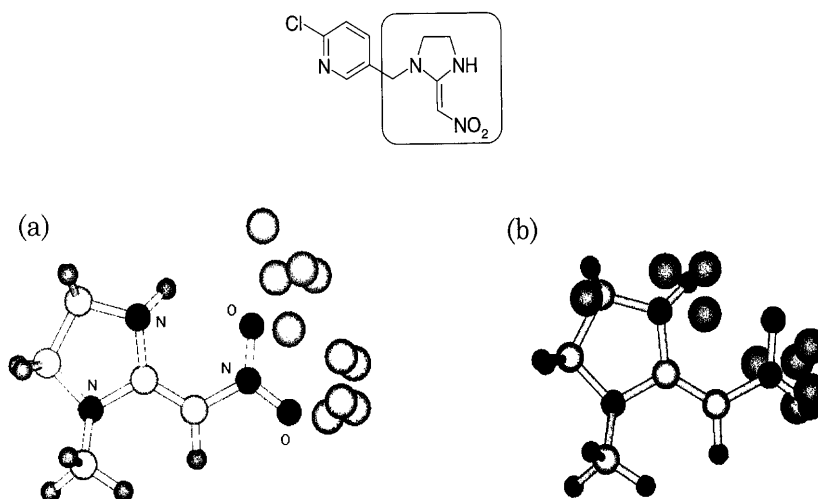


Fig. 10 Spherical representations of structural requirements for the receptor-binding activity. (a) Preferable regions for negative electrostatic potentials. (b) Forbidden regions for molecular shape.

式(9)は解析化合物総ての間の similarity の情報を含む QSAR モデルであり、一つの対照化合物との similarity のみを考慮する解析法に比べ、未知化合物の活性予測においても高い信頼性が期待できる。なお、 $IR_{AB}$  と  $IS_{AB}$  の一方だけをを用いた解析では有意な相関は得られず、静電的性質と分子の形状双方における類似性が活性発現にとって重要と考えられた。

上記の QSAR モデルは分子の周りの空間の格子点における静電ポテンシャルや立体因子のベクトルから導かれるものである。従って、解析結果から逆算すると、活性に寄与する格子点の情報を抽出することができる。Fig. 10(a)の10個の球は負の静電ポテンシャルが最も活性を増強する格子点の位置を示しており、ニトロ基やシアノ基のような電子求引基により誘起される負の静電ポテンシャルが高い活性に寄与することがわかる。また、分子の一部がその位置に存在すると活性が低下する、いわゆる立体的禁制領域を Fig. 10(b)に示した。高活性の化合物は禁制領域を避ける位置を占めるのに対し、活性の低い化合物は禁制領域の格子点と接触することになる。このように活性に関与する分子 similarity の情報を視覚的に理解することができ、いわゆる3次元 QSAR の一つの手法としても similarity 行列による PLS 法解析は有効であることが示された。

### おわりに

以上、分子 similarity の観点からネオニコチノイド系殺虫剤の構造活性相関について述べた。ここで用いた similarity index は分子の静電的および立体的類似性を測る物差しの一つであり、種々のネオニコチノイドの bioisosterism や構造活性相関を調べる物差しとしての使い方を紹介した。多くの薬物、特に農薬においては作用点となるレセプターや酵素の構造が不明な場合がほとんどであり、薬物側の

“similarity”や“dissimilarity”が作用点での分子認識を探る有効な手掛かりとなる。分子 similarity の手法は「生物にとって似ている」ことを定量化する尺度の一つであり、構造活性相関の記述子としてだけでなく、リード化合物の発見につながるドラッグ・デザインのツールとして発展させたいと考えている。

最後に、有益な助言と情報を戴いた京都大学・藤田稔夫名誉教授、赤松美紀助教授、Oxford 大学・W. G. Richards 教授、また、共同研究者の助川正之氏ならびに日本曹達(株)の各位に心から謝意を表します。

### 引用文献

- 1) 中山 章: *JCPE News Lett.* **7**, 38 (1996)
- 2) M. A. Johnson & G. M. Maggiora, eds.: “Concepts and Applications of Molecular Similarity,” Wiley, New York, 1990
- 3) R. Carbó, L. Leyda & M. Arnau: *Int. J. Quantum Chem.* **17**, 1185 (1980)
- 4) E. E. Hodgkin & W. G. Richards: *Int. J. Quantum Chem. Quantum Biol. Symp.* **14**, 105 (1987)
- 5) A. Y. Meyer & W. G. Richards: *J. Comput. Aided Mol. Design* **5**, 427 (1991)
- 6) 助川正之・中山 章: 第23回構造活性相関シンポジウム講演要旨集, p. 258, 1995
- 7) W. Lindberg, J. A. Persson & S. Wold: *Anal. Chem.* **55**, 643 (1983)
- 8) A. Nakayama, M. Sukekawa & Y. Eguchi: *Pestic. Sci.* **51**, 157 (1997)
- 9) 高橋英光・高草伸生・鈴木順次・岸本 孝: 農薬誌 **23**, 193 (1998)
- 10) J. J. P. Stewart: MOPAC Ver. 6, Quantum Chemistry Program Exchange, No. 455
- 11) K. Shiokawa, S. Tsuboi, K. Iwaya & K. Moriya: *J. Pesticide Sci.* **19**, 329 (1994)
- 12) L. Born: *Pflanzenschutz-Nachr. Bayer* **44**, 137 (1991)
- 13) 助川正之・岸本 孝・中山 章・田中孝清・大橋裕二: 日

- 本農薬学会第 22 回大会講演要旨集, p. 40, 1997
- 14) A. Nakayama & M. Sukekawa: *Pestic. Sci.* **52**, 104 (1998)
- 15) M. Tomizawa & I. Yamamoto: *J. Pesticide Sci.* **18**, 91 (1993)
- 16) I. Minamida, K. Iwanaga, T. Tabuchi, I. Aoki, T. Fusaka, H. Ishizuka & T. Okauchi: *J. Pesticide Sci.* **18**, 41 (1993)
- 17) 助川正之・中山 章: 第 24 回構造活性相関シンポジウム講演要旨集, p. 249, 1996
- 18) M. Sukekawa & A. Nakayama: *J. Pesticide Sci.* submitted
- 19) W. Lindberg, J. A. Persson & S. Wold: *Anal. Chem.* **55**, 643 (1983)
- 20) R. D. Cramer III, D. E. Patterson & J. D. Bunce: *J. Am. Chem. Soc.* **110**, 5959 (1988)

**略 歴**

中山 章

生年月日: 1951 年 4 月 27 日

最終学歴: 東京工業大学大学院総合理工学研究科修士課程

趣 味: 徘徊 (ハイキング, ウォーキング), テニス