

構造活性相関分析

森口 郁生

はじめに

これまでに数多くの薬物が合成され、あるいは天然物から抽出され、その生理活性が測定されて、それらのデータから薬物分子の構造と活性との間になんらかの相関が存在することが経験的に認められている。従来主として個人的な力量によりこれらの経験則や生体機能に関する知見にもとづき試行錯誤によって新薬開発が行われてきた。

しかしながら新薬に要求される効果や安全性の基準は年々高くなり、一方薬物の構造と活性に関する情報の蓄積はかなりの量となっている。ここに、コンピュータの力をかりて多数の薬物のデータを定量的に解析し、より精密な構造活性相関モデルを合理的に作り出す必要が生じてくる。

そのためには、まず薬物分子の構造上の特徴を数量化し、測定された生物活性とともにコンピュータに入力し、あらかじめプログラム化されたアルゴリズムにしたがって演算を行ない、算出された相関式(と求められた統計量)を出力するといった手順が基本的には踏まれる。

生体内の薬効発現の過程を完全にブラックボックスとして、投与薬物の構造と観測された活性とを短絡して有用な相関情報が期待できるのは、生体側の要因を一定とみなし得る特定の状況に限られ、より多くの場面で意味のある構造活性相関を

得るためには、薬効の発現に関連した過程に影響を与える要因についての基本的な理解が必要となる。薬効発現の過程は、細部については不明の点が多いが、ごく大まかには薬物が投与部位から作用部位まで移行する輸送過程と、作用部位における生体側の受容体などの相互作用の2つの面が考慮される。

1. 薬効発現に関連した要因

1.1 輸送過程に関連した要因

吸収を含めた膜透過と、作用部位への到達までに遭遇する生体成分との相互作用とがその主な内容となる。生体膜はリン脂質の二重層から成り、脂溶性の大きな薬物は透過されやすい。ただし水溶性の小分子が通過できる細孔や溝があり、また解離型分子が生体成分とイオン対を形成して透過されることもある。アミノ酸や核酸構成塩基などの生体必要成分と類似した構造をもつ薬物分子は能動的に透過される。

生体成分との相互作用では、血清タンパク、組織のタンパクや脂質、皮下脂肪等への結合、蓄積が考慮され、これも通常脂溶性の大きい薬物ほどとり込まれやすい。経口投与の場合は、胃酸、消化酵素、腸内細菌等による分解、および消化管壁や肝臓での代謝、胆汁中排泄などの“初回通過効果”も考慮すべき要因である。

1.2 薬物-受容体相互作用に関連した要因

作用部位における薬物分子の標的は通常受容体

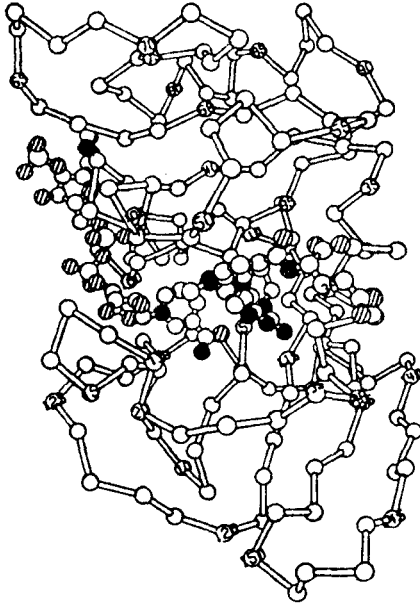


図1 メトトレキサート, NADPHとジヒドロ葉酸還元酵素(主鎖のみ図示)との複合体[6](窒素原子は●, 酸素原子は●で示す)

(または酵素)である。受容体の構造に関する研究は最近急速に進み、たとえば、アセチルコリン受容体は膜内在性タンパク質で、分子量4万~6.5万の4つのサブユニットからなり、各サブユニットについてN末端から54番目までのアミノ酸配列が決定されている[10]。さらに抗腫瘍薬のメトトレキサートについては、標的酵素であるジヒドロ葉酸還元酵素との複合体が結晶で得られ、X線解析によりその三次元構造が明らかにされた(図1[6])。

薬物の受容体への結合のdriving forceは、水素結合などを含めた静電的結合と疎水結合であろう。酵素による基質の捕捉と酵素分子内の触媒反応部位への移送に動的な水素結合が主役を演じていることが、カルボキシンペプチダーゼA(分子量3.5万)について筆者の研究室で中川と梅山[8]により量子化学的に明らかにされたが、薬物-受容体相互作用においてもこのような機構が類推される。

したがって、薬物分子中の極性機能基の特定の

空間配置と、これを受容体にうまくフィットさせるための疎水基の適当な形、大きさが必要となる。ただし受容体の構造は固定的なものではなく、薬物の結合によって構造変化をおこす induced fit モデルが提唱されており、また薬物分子もコンホメーションをある程度変化できるものが多く、事情はかなり複雑である。さらに薬物分子が受容体と結合したのち生理活性を発現させるための反応性が重要であることは言うまでもない。

2. 構造に関するパラメータ [3]

2.1 疎水性のパラメータ

上述のように、薬物の分子全体または部分構造の疎水性(脂溶性)は、輸送過程や受容体との相互作用において重要な因子である。疎水性のパラメータとして最も広く用いられているものは、Hansch, 藤田らによって提唱されたオクタノール/水の分配係数の対数値 $\log P$ である。また、多数の化合物の $\log P$ の実測値から、疎水性置換基定数 π , および構造フラグメントの $\log P$ への寄与値である疎水性フラグメント定数 f が算出され、化学構造から $\log P$ 値を自動的に計算するプログラムも走っている[11]。

他に、疎水性を分子の van der Waals 体積や表面積と極性原子団の効果に分離したパラメータもある。

2.2 電子効果のパラメータ

一連の誘導体を扱う場合、置換基の電子効果の手軽なパラメータとして、芳香族の場合 Hammett の定数 σ , 脂肪族の場合 Taft の定数 σ^* が広く用いられている。 σ にはいくつかの変種があり、それらを整理した F (フィールド定数), R (共鳴定数) も用いられる。また水素結合性に関するダミー変数(特定の性質、構造などの有無について、有のとき1, 無のとき0をとる変数)も簡便である。

分子構造に関し制約なく使えるものとしては、分子軌道法で算出される電子密度, 全エネルギー,

軌道エネルギー(HOMO, LUMO)などがある。分子軌道法には近似のとり方でいくつかの方法があり、非経験的な *ab initio* 法が最も信頼できる。ただしコンピュータの容量や演算時間の制約から、半経験的方法(CNDO/2, MINDO/3, PCILO, EHMO など)が用いられることも多いが、たとえば CNDO/2 法では電子密度は比較的信用できるがコンホメーションエネルギーはまったくだめであるというように、用いる方法の長短をよくわきまえておく必要がある。

2.3 立体効果のパラメータ

薬物が受容体と結合する場合、受容体にうまくフィットする構造が必要である。また薬物分子の安定コンホメーションと活性コンホメーションが異なるとき、活性コンホメーションへの変化を阻害するような立体障害があってはならない。前者は分子の全体的な形状と機能基の配向に関する一定条件の要請であり、後者は特定の部分構造に関し長さ、幅等の制約である。このように、立体効果にはさまざまな内容があり、おこり得る状況を推測して適当なパラメータを選択しなければならない。

反応部位に隣接した置換基による接近妨害効果には、距離に対し感度のよい Taft の立体効果定数 E_s が用いられ、部分構造のサイズの効果については、置換基の寸法を長さおよび上下左右の幅で表わした Verloop らの STERIMOL 定数がある。

そのほか、分子や置換基の大きさについては van der Waals 体積 V_w 、分子屈折率 MR があり、また結合の枝分れに関するパラメータとして molecular connectivity χ が知られている。

2.4 パラメータの選択

上述のように、薬物分子の構造の特徴に関し複数のパラメータを用いて解析が行なわれるが、同時に使用するパラメータの間には互いに依存性が低いこと、パラメータの数に比べ薬物の数が十分に多いこと(通常5倍以上)が望ましく、また

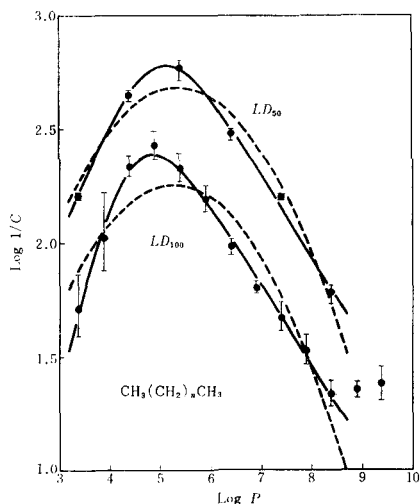


図2 アルカン類の疎水性(log P)とマウスにおける LD_{50} (50%致死量)および LD_{100} (100%致死量)との関係に対する二直線性モデル(—)および放物線モデル(---)のあてはめ[5]

コンピュータにより自動選択を行なう場合、科学的に矛盾のある組合せは排除するような人手によるチェックが必要である。

相関モデルには、一般にパラメータの線形結合が用いられるが、図2のようにパラメータの寄与が非線形の場合には、そのパラメータに関し放物線(1)または二直線性モデル(bilinear model)[5](2)が使用される。(1)式のほうが計算が容易で一般的である。

$$\log(1/C) = a \log P - b(\log P)^2 + \dots \quad (1)$$

$$\log(1/C) = a \log P - b \log(\beta \cdot 10^P + 1) + \dots \quad (2)$$

3. 活性の取り扱い

薬物活性は、一般に作用、副作用などの種類および活性の強さで表現される。活性の種類解析は、通常独立した群の識別の問題に帰着する。活性の強さは、測定の信頼度に応じ連続変量または等級クラスとして扱われる。連続変量の場合は通常標準的な生理活性を与える薬物量(最小有効濃度、50%有効量、50%致死量など)をモル(C)で表わし、その逆数の対数($\log(1/C)$)を目的変数として使用する。等級クラスの場合は、順序のあ

る群の識別の問題として扱われる。

4. 相関の解析

4.1 重回帰分析

薬物の活性が連続変量で表わされる場合には、重回帰分析が効果的に用いられている。重回帰分析を使用し、パラメータ(説明変数)に特徴をもたせているものに Hansch 法および Free-Wilson 法が知られている。

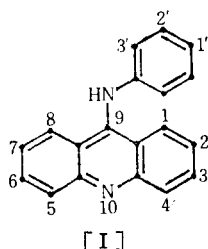
Hansch 法 [3] では、標準的な相関モデルとして次のような重回帰式 (Hansch-藤田式) を用いている。

$$\log(1/C) = -a(\log P)^2 + b \log P + \rho\sigma + \delta E_s + \gamma I + e \quad (3)$$

式中 P は前述のオクタノール/水の分配係数、 σ は Hammett 定数、 E_s は Taft の定数であり、それぞれ薬物の疎水性、電子効果、および立体効果を表わし、その他の要因はダミー変数 I として用いる。

これらのパラメータは、適宜削除したり、他の適当なパラメータと置き換えたり、他のパラメータを追加したりして、状況に応じ改変される。

例として、昨年急死した Cain らの抗腫瘍性薬物に関するデータを Hansch らが解析した結果 [1] を紹介する。用いられたデータは、数百個の σ -アニリノアクリジン [I] の置換体について、急性毒性と実験的白血病マウスの延命効果を測定したもので、これらの薬物の中には現在臨床試験が進行中の NSC 249992 が含まれている。



まず10%致死量 LD_{10} について (4) 式が得られた。

$$\begin{aligned} \log(1/LD_{10}) = & -0.07 \sum \pi - 0.76 \sum \sigma - 1.13 R_{BS} \\ & - 0.56 MR_1 - 0.24 MR_2 - 0.59 MR_3 \\ & - 0.12 MR_3^2 - 0.89 E_{s(3')} - 0.61 E_{s(3'')}^2 \\ & - 0.51 I_{3,6} + 0.43 I_{NO_2} + 0.50 I_{NH_2} + 3.57 \quad (4) \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} n = 643 ; r = 0.771 ; s = 0.362 ; \text{ideal } MR_3 \\ = 2.51 ; \text{ideal } E_{s(3')} = -0.73 \end{aligned}$$

原報には偏回帰係数の95%信頼限界が付記されているが、すべて有意である。式中 π は疎水性置換基定数で、 Σ は全置換基についての総和を意味し、 R_{BS} は 1'-ベンゼンスルホンアニリドのパラ位の置換基の共鳴定数で Hammett 定数の総和 $\Sigma \sigma$ とともに電子効果を表わす。 MR_1, MR_2, MR_3 はそれぞれ 1, 2, 3 の位置の分子屈折で、3'-置換基の Taft の E_s 定数および 3, 6-ジ置換体に対してのダミー変数 $I_{3,6}$ とともに立体効果を表わす。ダミー変数 I_{NO_2} は 3- NO_2 基の有無について、 I_{NH_2} は 3- NH_2 基の有無についてのパラメータである。

次に白血病移植マウスの生存日数を50%延長する薬物量 D_{50} については(5)式が得られた。

$$\begin{aligned} \log(1/D_{50}) = & -0.14 \sum \pi - 0.01 \sum \pi^2 - 1.08 \sum \sigma \\ & - 1.25 R_{BS} - 0.32 MR_2 + 1.04 MR_3 - 0.25 \\ & MR_3^2 - 0.77 I_{3,6} - 1.68 E_{s(3')} - 1.60 E_{s(3'')}^2 \\ & + 0.78 I_{NO_2} + 0.70 I_{DAT} + 0.50 I_{BS} + 3.73 \quad (5) \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} n = 509 ; r = 0.878 ; s = 0.323 ; \text{ideal } \sum \pi = -6.04 ; \\ \text{ideal } MR_3 = 2.09 ; \text{ideal } E_{s(3')} = -0.53 \end{aligned}$$

式中 I_{DAT} は 3,3-dialkyltriazene 基の有無について、また I_{BS} は 1'- $NHSO_2C_6H_5$ 基の有無についてのダミー変数である。

これらの式から、抗腫瘍性が DNA の 2 重鎖の塩基対の間へのアクリジン部分の intercalation による結合とアリン部分の特定の配置に由来すること、ならびに(4)、(5)両式の類似から抗腫瘍性と急性毒性とが表裏一体の関係に近いことが推察されるが、詳細は原報を参照していただきたい。

Free-Wilson 法 [3] は一連の誘導体薬物のデータ解析に簡便な方法で、置換基の位置および種類ごとにその有無に対し 1 または 0 をとるダミー変数を対応させ、 $\log(1/C)$ などの活性測定値を目的変数として最小二乗法により各ダミー変数の係数を求め、活性への寄与値とする。ただし、解が

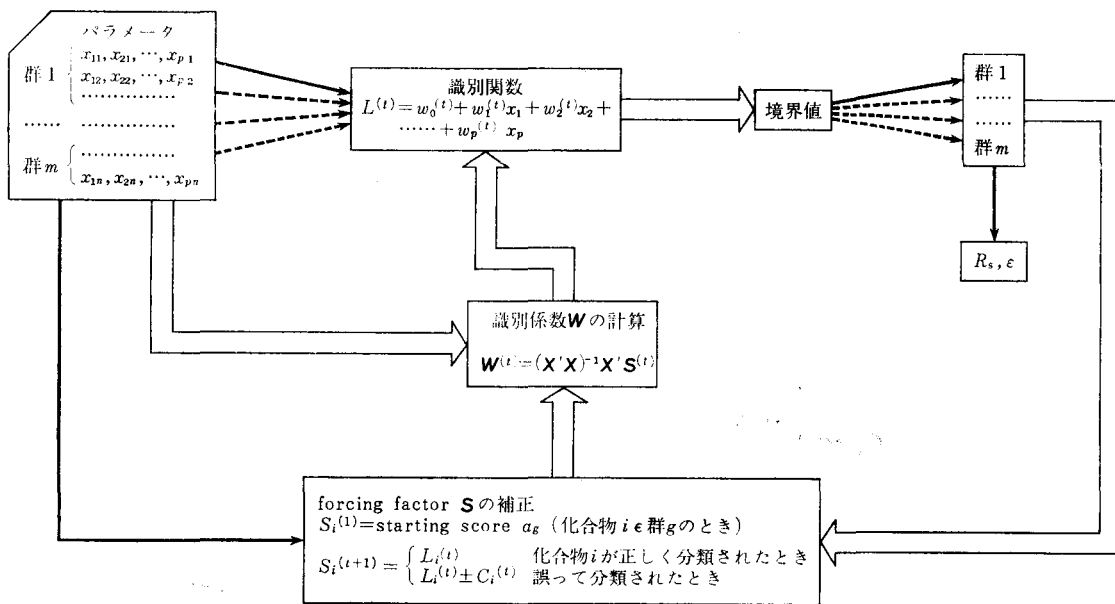


図 3 ALS の手順

不定とならないように、置換位置ごとに寄与値の総和を0とする条件(対称式と呼ぶ)をつけ加える。

各置換位置ごとに、その位置に関係したダミー変数がすべて0をとる場合にも1個の置換基を対応させれば、上述の対称式は不要となり、ダミー変数のみを説明変数とした重回帰分析、または数量化I類と同等となる。

Free-Wilson法は、置換基の効果の内容が不明のときでも適用できるが、得られた相関モデルの物理的な意味が不明で予測範囲が狭くなる。

4.2 パターン識別法

観測された活性の種類や強さの等級を外部基準として、識別関数のような数式モデルを求め、これを用いて構造パターンを複数個の群に分類するために、判別分析(線形、正準、許容など)、線形学習機械[3]、SIMCA (statistical isolinear multiple component analysis)[2]、適応最小二乗法などが用いられる。

その中で、本稿では構造活性相関モデルを明確に表出する適応最小二乗法および線形判別分析の

適用について紹介する。

適応最小二乗法(adaptive least-squares, ALS)[4]は群に順序があるときのパターン識別法として筆者らが提唱したもので、薬物の活性が等級で示される場合の構造活性相関解析法として用いられている。方法の手順を図3に示すが、まずあらかじめ各群に初期得点を与え、クラス分けの境界値は初期得点の midpoint に固定する。群 g の初期得点 a_g は通常 ridit を利用して次のように定める。

$$a_g = 4[\text{ridit}] - 2 = 4 \left[\sum_{j=1}^{g-1} n_j + n_g / 2 \right] / n - 2 \quad (8)$$

ただし n_j, n_0 はそれぞれ群 j , 群 g に属する薬物数、 n は総薬物数である。

第1回目の計算は、初期得点を forcing factor (目的変数)とした通常の最小二乗法(OLS)と同じである。第2回目以降は、得られた識別関数の値(識別得点)によるクラス分けの結果、薬物 i が正しく分類されたときはその識別得点を次の forcing factor $S_i^{(t+1)}$ に使い、誤って分類され

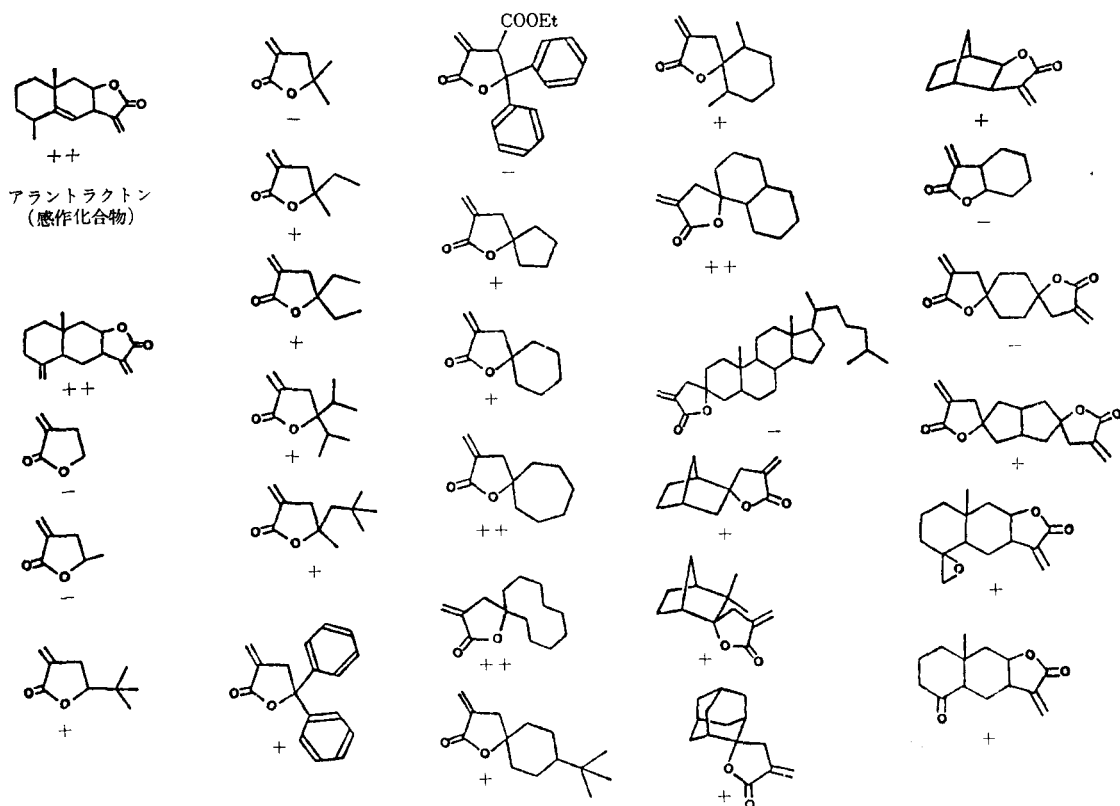


図 4 α -メチレン- γ -ブチロラクトン類の構造とアラントラクトン感作モルモットに対するアレルギー性接触皮膚炎の誘起性

たときはその識別得点に修正項 $C_i^{(t)}$ を用いて補正を行ない $S_i^{(t+1)}$ として、最小二乗計算により次回の識別関数を求める。

誤分類のさいの補正は forcing factor が初期得点に近づく方向に行なわれ、修正項には通常次式の値を用いる。

$$C_i^{(t)} = \gamma / [\delta_i^{(t)} + \alpha]^2 + \beta \quad (9)$$

式中 $\delta_i^{(t)}$ は t 回目の計算で誤分類された薬物 i の識別得点と本来の領域の境界値との隔たり (絶対値)、また α, β, γ は定数で、 α は 0.40~0.45、 β は 0.04~0.16、 γ は 0.1 程度るとき leave-one-out 計算による予測成績が良好である。なおこれらの定数値は、解析に用いるデータのみかけの誤差分布の特徴によって変動させることを現在検討しているが、後述の適用例では $\alpha=0.45$ 、 $\beta=\gamma=0.10$ に固定したときの結果を示す。

繰返し計算は通常20回まで行ない、識別成績に関し Spearman の順位相関係数 R_s 数が最大となるものの中でみかけの誤差分散 ϵ が極小値を与える識別関数を採択している。 ϵ には、初期得点と識別得点との差の2乗の単純平均値あるいは Huber 型のロバスト平均値を使用している。

線形判別分析(LDA)[3]は、よく知られた方法で説明は省略するが、前提としてデータの正規性と等分散性を必要とする。しかし現実の構造活性データでは、この前提が満たされることはほとんどない。等分散性を必要としない変法もあるが、適用が2群に限られたり、予測成績が劣ったりする。

ALS および LDA の簡単な適用例として、図4に示す29種の薬物の、アラントラクトン感作モルモットに対するアレルギー性接触皮膚炎の誘起

表 1 構造-活性データの leave-one-out による予測成績 [4]

構造-活性データ	化合物数	パラメータ数	活性群	ALS		LDA		OLS	
				誤分類数	R _S	誤分類数	R _S	誤分類数	R _S
マイトマイシン誘導体 ^a (固形腫瘍)	16	4	3	4(0)	0.833	5(0)	0.601	6(1)	0.493
(腹水腫瘍)	14	4	3	2(0)	0.876	5(0)	0.667	2(0)	0.876
ステロイド類 ^b (ES) ^c	100	3	4	5(0)	0.995	8(2)	0.937	7(0)	0.992
(PG) ^d	100	13~16	4	18(1)	0.923	21(2)	0.909	24(2)	0.895
(AND) ^e	100	12,14	4	25(0)	0.893	25(0)	0.887	29(0)	0.863
(MIN) ^f	100	12,14	4	20(1)	0.855	28(5)	0.765	21(3)	0.826
(GLU) ^g	100	12,14	4	25(1)	0.864	32(1)	0.823	37(1)	0.786
多様な構造をもつ薬物(肝障害)	98	10	2	10	0.574	11	0.521	11	0.521
(血液障害)	98	10,11	2	4	0.798	8	0.554	8	0.554
ジアリルメタン誘導体 ^h [D,H]/[C]	80	9,11	2	6	0.848	10	0.756	10	0.756
[H,C]/[D]	80	3	2	3	0.896	5	0.810	5	0.810
[C,D]/[H]	80	8~10	2	7	0.812	12	0.672	12	0.675
ベンゾグアナミン誘導体(抗潰瘍)	34	4	3	12(0)	0.670	12(0)	0.712	14(0)	0.601
フェニルグアニジン誘導体(抗高血圧)	56	7	3	13(0)	0.806	15(1)	0.732	18(0)	0.718

^a 抗腫瘍性 ^b 受容体との結合性 ^c 卵胞ホルモン受容体 ^d 黄体ホルモン受容体 ^e 男性ホルモン受容体

^f 鉱質コルチコイド受容体 ^g 糖質コルチコイド受容体 ^h 抗コリン作動薬[C], 抗うつ薬[D], 抗ヒスタミン薬[H]の識別

性の解析 [7] を紹介する。

活性は3等級で示され、感作化合物との構造の差が関係していることが直観的に見てとれる。パラメータには分子の van der Waals 体積 V_w (水素原子を省略), 極性をもつ酸素原子の数 N_{ox} , および4位の側鎖の β' 原子 (アラントラクトンでは4級飽和炭素原子) のトポロジー的な指標として1次の atomic connectivity ${}^1\chi_{\beta'}$ が有効で、これらはすべてアラントラクトンの値との差の絶対値を用いた。

ALS による相関モデル(識別関数)は(10)式で示された。

$$L = -1.355|\Delta V_w| - 0.643|\Delta N_{ox}| - 0.939|{}^1\chi_{\beta'}| + 1.415 \quad (10)$$

$$n = 29 (3 \text{ 群}); n_{\text{mis}} = 2(0); R_S = 0.913$$

n_{mis} は誤分類数で、() 中の数字は2等級以上の誤分類数を示す。

ALS では識別関数が群の数に関係なく1つだけ作られるので、相関モデルは明快で、感作化合物との構造上の差異が大きいほど活性が減少する様子がよく示されている。

LDA による識別関数は次の3式で示された。

$$\text{高活性群: } L_1 = 1.286|\Delta V_w| + 0.824|\Delta N_{ox}| + 2.653|{}^1\chi_{\beta'}| - 2.165$$

$$\text{中活性群: } L_2 = 5.079|\Delta V_w| + 2.857|\Delta N_{ox}| + 5.896|{}^1\chi_{\beta'}| - 3.376$$

$$\text{低活性群: } L_3 = 12.916|\Delta V_w| + 6.385|\Delta N_{ox}| + 11.117|{}^1\chi_{\beta'}| - 14.922 \quad (11)$$

$$n = 29 (3 \text{ 群}); n_{\text{mis}} = 4(0); R_S = 0.832$$

LDA では3つの式を用いるにもかかわらず識別ミスは4個で、しかも高活性群に属する5個の薬物のうち3個が誤分類される。また leave-one-out による予測結果も、誤分類は ALS の4個 ($R_S = 0.816$) に対し LDA では6個 ($R_S = 0.717$) と劣っている。

識別において ALS がすぐれているのは、識別関数の学習方式から考えて当然のことであるが、修正項(9)式は識別性ではなく予測性がよくなるように経験的に定められており、本例以外でも多くのデータにおいて、ALS の予測性は LDA や OLS にくらべてすぐれている。表1は多数の構造活性データについての leave-one-out による

表 2 大幅な leave-out による予測成績^a

	乱数データ ^b		構造-活性データ ^c		
	ALS	LDA	ALS	LDA	OLS
識別	0.691	0.611	0.898	0.864	0.840
leave-one-out	0.431	0.396	0.840	0.791	0.781
5% leave-out ^d	0.427	0.411	0.824	0.790	0.782
10% leave-out ^d	0.427	0.398	0.816	0.787	0.783
20% leave-out ^d	0.432	0.374	0.798	0.769	0.768
33% leave-out ^d	0.413	0.358	0.777	0.751	0.752
5-33% leave-out の平均	0.425	0.385	0.804	0.774	0.771

a. R_s の平均値[4] b. 正規乱数およびポアソン乱数から、OLS を利用して作成した4組の仮想データ
c. 表1 d. 10通りの分け方を乱数を利用してランダムに定め、得られた10個の R_s 値を平均した。

予測成績であり、また表2は乱数より作成した4組の仮想データおよび表1に示した実際のデータについて、5~33%という大幅な leave-out による予測結果の R_s 値の平均を示したものであるが、いずれも ALS を用いた場合の予測が最もよい。[4]

以上のほかにも、いくつかの手法が構造活性相関の解析に用いられているが、紙数の関係で省略した。相関分析を成功に導くためには、必要な情報を洩れなく含んだ質のよいデータの使用と、薬効発現の実態を考慮した適切なパラメータの選択が重要であることを強調したい。最近のコンピュータ技術の急速な進歩は構造活性相関解析の適用領域をいちじるしく拡大し[9]、特にグラフィックを利用した直観的で interactive な方法は、コンピュータの視野の狭さ(?)をカバーした期待のもてる方式であろう。

参 考 文 献

[1] Denny, W. A. et al.: Potential Antitumor Agents. 36. Quantitative Relationships between Experimental Antitumor Activity, Toxicity, and Structure for the General Class of 9-Anilinoacridine Antitumor Agents. *J. Med. Chem.*, Vol. 25, No. 3(1982),

276-315

- [2] Dunn, III, W. J. and Wold, S.: Structure-Activity Study of β -Adrenergic Agents Using the SIMCA Method of Pattern Recognition. *J. Med. Chem.*, Vol. 21, No. 9(1978), 922-930
- [3] 構造活性相関懇話会編: 薬物の構造活性相関, 化学の領域増刊, 122号, 南江堂, 東京, 1979
- [4] 構造活性相関懇話会編: 薬物の構造活性相関(II), 化学の領域増刊, 印刷中, 南江堂, 東京
- [5] Kubinyi, H.: Quantitative Structure-Activity Relationships. 7. The Bilinear Model, a New Model for Nonlinear Dependence of Biological Activity on Hydrophobic Character. *J. Med. Chem.*, Vol. 20, No. 5 (1977), 625-629
- [6] Matthews, D. A. et al.: Dihydrofolate Reductase from *Lactobacillus casei*. X-Ray Structure of the Enzyme-Methotrexate-NADPH Complex. *J. Biol. Chem.*, Vol. 253, No. 19(1978), 6946-6954
- [7] 森口郁生, 小松克一郎: α -メチレン- γ -ブチロラクトン類のアレルギー作用, 日本薬学会第102年会講演要旨集, 1982, 391
- [8] Nakagawa, S. and Umeyama, H.: Enzymic Dynamics and Molecular Orbital Study on the Roles of Arginines in Carboxypeptidase A, a Sliding Mechanism. *J. Am. Chem. Soc.*, Vol. 100, No. 24(1978), 7716-7725
- [9] Olson, E. C. and Christoffersen, R. E. (ed.): *Computer-Assisted Drug Design*. ACS Symp. Ser. 112, American Chemical Society, Washington, D. C., 1979
- [10] Raftery, M. A. et al.: Acetylcholine Receptor: Complex of Homologous Subunits. *Science*, Vol. 208, 27 June 1980, 1454-1457
- [11] 吉本昌文: 薬効の解析と薬の設計. ファルマシアレビュー No. 9 創薬をめざす化学, 日本薬学会, 東京, 1982, 70-85