

3D04

## ノイラミニダーゼに対するシアル酸誘導体の 阻害メカニズムに関する理論的研究: LERE-QSAR

(九大先導研) ○比多岡 清司、吉澤 一成

### Theoretical Studies on Inhibition Mechanism of Sialic Acid Analogues against Neuraminidases: LERE-QSAR Approach

(IMCE, Kyushu Univ.) ○Seiji Hitaoka, Kazunari Yoshizawa

#### 【序論】

インフルエンザの治療には、ウイルスの増殖・遊離を担う酵素であるノイラミニダーゼ (NA) を選択的に阻害する目的で開発された zanamivir (Relenza) や oseltamivir (Tamiflu) が代表的な抗インフルエンザ剤として広く使用されている。しかしながら、特に Tamiflu 服用後の精神・神経症状の副作用が報告されており、これら NA 阻害剤のヒトに対する影響が懸念される。その原因の一つとして、ヒト・ノイラミニダーゼ (human NA: hNEU) への影響が指摘され、抗インフルエンザ剤の hNEU に対する阻害効果の検討が行われてきた。現在、ヒトにおいては細胞内局在性や基質特異性の異なる 4 種類のヒト・ノイラミニダーゼ (hNEU1-4) が同定されているが、このうち 3 次元立体構造が解明されているのは hNEU2 のみである。その構造的特徴はインフルエンザウイルスの NA と比較的類似しているため、NA 阻害剤の hNEU2 に対する作用メカニズムをインフルエンザ NA と対照させて理解することは、高い選択性と副作用の少ない新規 NA 阻害剤の開発につながると考えられる。

本研究では、hNEU2 と抗インフルエンザ剤を含む一連のシアル酸誘導体の複合体について、非経験的フラグメント分子軌道 (fragment molecular orbital: FMO) 法等による分子科学計算ならびにその結果に基づく自由エネルギー変化の線形表現 (linear expression by representative energy terms-quantitative structure-activity relationship: LERE-QSAR) 解析 [1] から、複合体形成に伴う全自由エネルギー変化の変動を支配する相互作用様式ならびにその変動に対するシアル酸誘導体の各部分構造の寄与を原子・電子レベルで定量的に明らかにすることを目的とした。

#### 【方法】

Chavas ら [2] により報告されている抗インフルエンザ剤を含む一連のシアル酸誘導体の hNEU2 に対する阻害活性データに基づき、本研究では Relenza や Tamiflu を含む合計 7 化合物を使用した。欠落アミノ酸残基が最小である X 線結晶解析構造 (PDB code: 1VCU) を各化合物の初期構造として使用し、分子動力学 (MD, AMBER) 計算により各複合体構造を構築した。得られた複合体構造に対して、FMO (MP2/6-31G) 計算、Poisson-Boltzmann (PB) 計算および量子化学的分極連続体モデル (SCRF-CPCM/HF/6-31+G(d,p)) 計算を実行し、結合自由エネルギー ( $\Delta G_{\text{bind}} = \Delta E_{\text{bind}}^{\text{HF}} + E_{\text{corr}}$ ;  $\Delta E_{\text{bind}}^{\text{HF}}$  および  $E_{\text{corr}}$  は、静電的結合相互作用エネルギーおよび分散相互作用エネルギーをそれぞれ表す)、水和自由エネルギー変化 ( $\Delta G_{\text{sol}}$ ) および解離自由エネルギー変化 ( $\Delta G_{\text{diss}}$ ) をそれぞれ得た。これら代表エネルギー項を用いて、LERE-QSAR 式 ( $\Delta G_{\text{obs}} = \gamma_1 (\Delta E_{\text{bind}}^{\text{HF}} + E_{\text{corr}} + \langle \Delta G_{\text{sol}}^{\text{pol}} \rangle) + \gamma_2 \Delta G_{\text{diss}}^{\text{pol}} + \text{const}$ ) を構築し、実測値 ( $\Delta G_{\text{obs}}$ ) の予測ならびにその変動を支配する相互

作用エネルギーの同定を行った。  $\Delta G_{\text{sol}}$  および  $\Delta G_{\text{diss}}$  については、極性項 ( $\Delta G_{\text{sol}}^{\text{pol}}$ ,  $\Delta G_{\text{diss}}^{\text{pol}}$ )に加えて、非極性項 ( $\Delta G_{\text{sol}}^{\text{nonpol}}$ ,  $\Delta G_{\text{diss}}^{\text{nonpol}}$ )の寄与もあるが、これら非極性項の化合物間の変動は極性項のそれと比べてきわめて小さいため、  $\Delta G_{\text{sol}} \approx \Delta G_{\text{sol}}^{\text{pol}}$  および  $\Delta G_{\text{diss}} \approx \Delta G_{\text{diss}}^{\text{pol}}$  としてそれぞれ評価した。 また、  $\Delta G_{\text{sol}}^{\text{pol}}$  は阻害剤の結合部位以外の微小な構造変化に対して敏感であるため、この効果を MD より得られるダイナミクストラジェクトリから統計平均値 ( $\langle \Delta G_{\text{sol}}^{\text{pol}} \rangle$ )として算出することで考慮した。 なお、  $\gamma_1$  および  $\gamma_2$  は回帰分析より得られる線形定数である。

### 【結果および考察】

一連のシアル酸誘導体と hNEU2 の複合体形成に伴う実測の  $\Delta G_{\text{obs}}$  の変動を、物理化学的な意味づけとともに説明可能な統計的に有意である LERE-QSAR 式を得ることができた。

$$\Delta G_{\text{obs}} = 0.0476 (\Delta E_{\text{bind}}^{\text{HF}} + E_{\text{corr}} + \langle \Delta G_{\text{sol}}^{\text{pol}} \rangle) + 0.0976 \Delta G_{\text{diss}}^{\text{pol}} - 2.25$$

$$n = 7, r = 0.985, s = 0.237 \text{ kcal/mol}, F = 65.5$$

図 1 は、  $\Delta G_{\text{obs}}$  の変動に対する各エネルギー項の寄与を示す。 高い化学的精度において、計算値 ( $\Delta G_{\text{calc}}$ )は  $\Delta G_{\text{obs}}$  をきわめて良好に再現している。 Compound 7 (Tamiflu)の  $\Delta G_{\text{diss}}^{\text{pol}}$  は他と比べてわずかに大きい。これは Tamiflu が有する amino 基の結合と非結合状態における解離自由エネルギー差を反映している。  $E_{\text{corr}}$  の寄与は小さく、この項を除外した相関式が良好に成立することを確認している。一方で、  $\Delta E_{\text{bind}}^{\text{HF}}$  と  $\langle \Delta G_{\text{sol}}^{\text{pol}} \rangle$  の各々の寄与は大きいものの、両者の間には良好な逆相関関係が成立する結果として ( $r = -0.969$ )、静電相互作用エネルギー ( $\Delta E_{\text{bind}}^{\text{HF}} + \langle \Delta G_{\text{sol}}^{\text{pol}} \rangle$ )の寄与は比較的小さくなる。しかしながら、この寄与は  $E_{\text{corr}}$  の寄与と比べて大きい。静電相互作用エネルギーが  $\Delta G_{\text{obs}}$  の変動に対して支配的であることが示唆される。ここで、  $\Delta E_{\text{bind}}^{\text{HF}}$  の寄与が  $\langle \Delta G_{\text{sol}}^{\text{pol}} \rangle$  の寄与よりも相対的に大きいことから、特に  $\Delta E_{\text{bind}}^{\text{HF}}$  の寄与が支配的となる。したがって、一連のシアル酸誘導体と hNEU2 の複合体形成に伴う実測の全自由エネルギー変化の変動に対して、両分子間における静電的結合相互作用が最も支配的な役割を果たしている。

以上の LERE-QSAR 解析の結果に加えて、Tamiflu のヒト (hNEU2)およびインフルエンザウイルス (N1-NA)のノイラミニダーゼに対する結合選択性の違いについても、シアル酸誘導体をフラグメント分割した詳細な結合相互作用エネルギー解析から当日議論を行う。

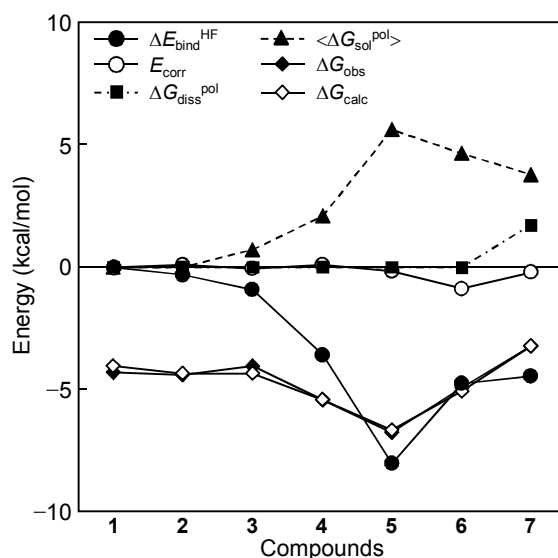


図 1. シアル酸誘導体と hNEU2 の複合体形成に伴う各エネルギー項の変動 (compound 1 を基準として表す)

- [1] Hitaoka, S; Chuman, H. *J. Pestic. Sci.* **2013**, 38, 60–67.
- [2] Chavas, L. M. G.; Kato, R.; Suzuki, N.; von Itzstein, M.; Mann, M. C.; Thomson, R. J.; Dyason, J. C.; McKimm-Breschkin, J.; Fusi, P.; Tringali, C.; Venerando, B.; Tettamanti, G.; Monti, E.; Wakatsuki, S. *J. Med. Chem.* **2010**, 53, 2998–3002.