

## Solvent Dipole Ordering の創薬への応用研究

(近畿大学) ○中村真也、木村翔拓、北吉駿、仲西功

## Practical research of Solvent Dipole Ordering for Drug Discovery

(Kindai Univ.) ○Shinya Nakamura, Shotaku Kimura, Hayao Kitayoshi, Isao Nakanishi

## 【序】

生体分子をとりまく溶媒である水分子は、バルク状態では自由に配向しているため、時間平均をとるとその双極子は一定の方向性を持たない。しかし生体分子周辺、特にタンパク質のリガンド結合サイトにおいては、水素結合などの影響により配向が固定され、一定の方向性を持つ現象が知られており、Solvent Dipole Ordering(SDO)と呼ばれている<sup>[1]</sup>。この SDO が強い領域は、リガンドの形状をよく再現することが見いだされ<sup>[2]</sup>、SDO の形状を擬似分子に置き換えることで、その体積との類似度から化合物スクリーニングを行う SDOVS 法<sup>[3]</sup>がすでに開発されている。現状の SDOVS 法では、SDO の強さが一定以上の領域のみが使用されその向きや強弱の情報自体に関しては利用がなされておらず、擬似分子に関しても  $sp^3$  炭素のみで構築されている。本発表では、SDOVS を Protein Kinase CK2(以下 CK2)の阻害剤探索に適用した例<sup>[4]</sup>をもとに、タンパク質の構造が与える影響や擬似分子の作成法について検討した結果とさらなる改良点について議論を行う。

## 【実験】

CK2 とリガンドとの複合体構造を立体構造データベース PDB からダウンロードした。リガンドの違いによる影響を検討するため、ATP アナログ複合体(PDBID: 1JWH)および構造的に小さいニコチン酸との複合体(PDBID: 3WAR)を用いた。各複合体について MOE を用いて Protonate3D により荷電状態を決定後、リガンドを除きアポタンパク質構造を作成した。AMBER を用いて tLEaP により周囲  $10\text{\AA}$  に水分子を配置した周期境界条件を設定した。

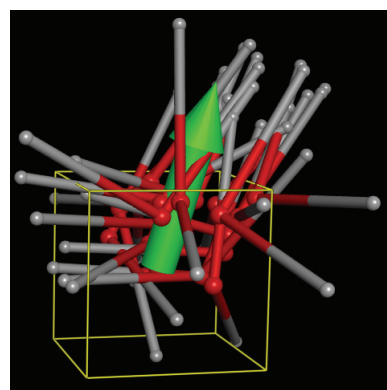


図1. SDO の算出模式図

次に PMEMD により水素原子の位置、水分子の位置の構造最適化を行ったのち、タンパク質構造を固定して水分子のみの分子動力学計算を行った。昇温  $100\text{ps}$ 、平衡化  $500\text{ps}$  の計算の後、 $2\text{ns}$  のサンプリング計算から  $400$  構造をスナップショット構造として抽出した。この水分子の挙動に対し、in-house のツールによりリガンド結合部位で SDO 解析を行った。なお SDO 解析は、図1の例のように、各辺  $1\text{\AA}$  のグリッドに分割した領域に入った全スナップショットの水分子から得た双極子の強度を算出し、水分子1個の双極子の強度に対する相対値をその領域の SDO 値と定義した。

SDO 解析の結果に対して、SDO 値が  $0.7$  以上となる領域を充てんするような擬似分子を2種の条件で各  $100$  分子発生させた。一方の条件は従来法として  $sp^3$  炭素のみのもの、もう一方は新規法として、 $sp^3$  炭素、 $sp^2$  炭素、 $sp$  炭素、ベンゼン環を任意の割合で発生するものを検討した。本研究における発生割合は既存 CK2 阻害剤から概算したもので設定した。得られた擬似分子群を用いて、既知 CK2 化合物  $32$  個(既知阻害剤および SDOVS ヒット化合物)との体積の類似度(Shape Tanimoto: ST)を算出し、ヒット化合物を抽出できるか検討した。

表 1. 各 ST の基準値における既知 CK2 阻害化合物 32 個の検出数

条件	構造	擬似分子	ST>0.6	ST>0.7	ST>0.8
(a)	1JWH	従来法	32	31	12
(b)	3WAR	従来法	32	24	11
(c)	1JWH	新規法	32	32	20

### 【結果と考察】

CK2 阻害剤の SDOVS 実施時<sup>[4]</sup>の条件を再現した条件(a)、タンパク質構造を変更した条件(b)、擬似分子作成法を変更した条件(c)で一定の類似度の基準値を設定し、既知阻害剤を抽出できるか確認したものを表 1 に示す。また、擬似分子による検出例を図 2 に示す。SDOVS 実施時の条件は体積類似度 ST>0.7 を条件に抽出したものであるため再現できたかを確認したところ、32 個中 1 個のみが条件を満たさなかったが、この化合物との類似度が 0.699 であったことから本質的な差ではないと判断した。

構造に 3WAR を用いて解析した(b)では、同基準値 ST>0.7 での検出率が低下していた。これは 3WAR のリガンドが小さく induced-fit により結合サイトの空間が小さくなっていることに起因すると考えられるが、ST>0.6 では全例が検出できていることから、結合サイトの flexibility に応じて基準値を設定する必要があると判断される。

一方擬似分子作成を変更した(c)では、基準値を ST>0.8 と厳しくしても半数以上が検出できた。これはベンゼン環等の平面性の高い構造が発生できるようになったことで、実際の化合物の形状により近い擬似分子が得られたと考えられ、基準値をより厳しくして効率的に探索が行えることが期待できる。特に本研究で用いたキナーゼの ATP 結合サイトなどの平面性の高いポケットでは効果が高いと考えられる。

先に述べたように、これら擬似分子は SDO 値の高い領域の形状を再現するものであり、SDO の向きや強弱は情報として活用できていない。現在は擬似分子の部分構造を、SDO を再現するようなものに置換あるいは発生するなど、使用する化合物データベースに依存しない DeNovo デザイン的構築法について検討中である。

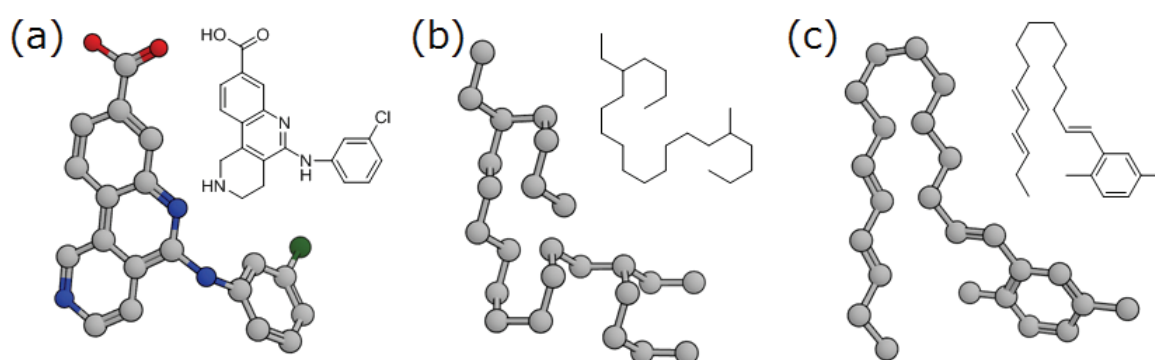


図 2. 擬似分子による検出例 (a) 既存阻害薬 CX-4945、(b)従来法[ST:0.76]、(c)新規法[ST:0.81]

### 【参考文献】

- [1] Nakasako, *et. al.*, *J. Comput. Chem.*, **23**, 1323-1336 (2002).
- [2] Kitaura, *et. al.*, *J. Comput. Chem.*, **31**, 791-796 (2010).
- [3] Kitaura, *et. al.*, *J. Comput. Chem.*, **31**, 2714-2722 (2010).
- [4] Nakanishi, *et. al.*, *Eur. J. Med. Chem.*, **96**, 396-404 (2016).