

リガンドタンパク質複合体構造探索のための 新規計算手法の開発と創薬への応用

Kowit HENGPHASATPORN*

Development of Novel Computational Methods for Ligand-protein Complex Structure Exploration and Application in Drug Discovery

Kowit HENGPHASATPORN*

The COVID-19 pandemic, caused by SARS-CoV-2, has had severe respiratory health impacts. This study aimed to design organoselenium-based inhibitors targeting the SARS-CoV-2 main protease (Mpro). Distance-based selection molecular dynamics (DS-MD) simulations revealed plausible binding pathways of ebselen, a synthetic organoselenium drug, within the Mpro catalytic site. Ebselen interacted with H41 and C145 through a π - π T-shaped and π -sulfur arrangement, respectively. Ligand-based drug design using QSAR models (GFA-MLR, RF, and ANN) predicted biological activity, with the QSAR-ANN model achieving $r^2 > 0.98$ and RMSEtest of 0.21. Integrating ANN with DS-MD insights facilitated the rational design of ebselen derivatives with favorable predicted IC50 values and drug-like properties. This synergistic approach merges ligand- and structure-based drug design to guide experimental validation.

1. 背景

近年、創薬研究は急速に進展しており、特に新型コロナウイルスや薬剤耐性の問題への対応が喫緊の課題となっている。従来の計算手法では、標的タンパク質の結合パターンを正確に理解し、新しい阻害剤を開発することが難しく、原子レベルでの理解が不足している。この背景から、従来の計算機を用いた創薬手法の問題を解決し、効率的かつ革新的な新規阻害剤の開発手法を模索する必要がある。

本研究の狙いは、従来の計算機を用いた創薬手法の問題点を克服し、新たな創薬ツールを開発することである。具体的には、Distance-based Selection Molecular Dynamics (DS-MD) [1]を提案し、これを用いて新型コロナウイルスのメインプロテアーゼ (Mpro) に対する阻害剤の開発を行う。

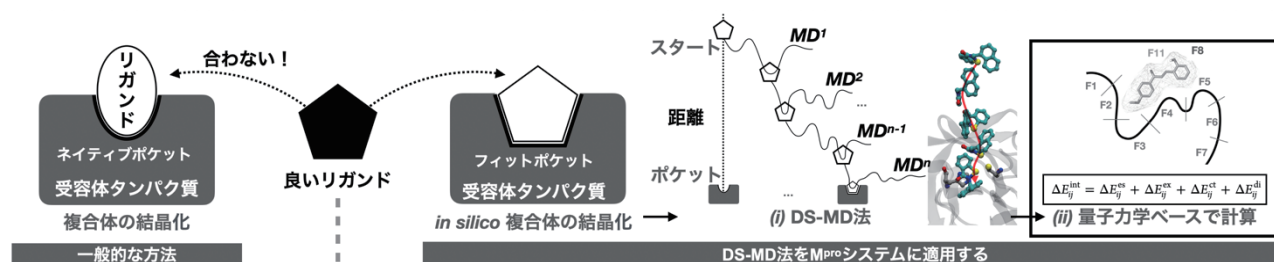


図1 Workflow of this study.

2. 研究計画

本研究では、DS-MDを用いた新規阻害剤とタンパク質複合体構造を提案し、新たな創薬設計戦略として活用することを目的とした(図1)。セルベースアッセイとプロテアーゼ活性アッセイにより、SARS-CoV-2のメインプロテアーゼ(Mpro)に対する阻害効果が確認された化合物について、タンパク質との複合体構造をin silicoで構築した。

量子化学計算を用いて化合物の三次元構造を生成し、構造を最適化した。受容体の初期構造として、蛋白質構造データバンクから取得したMproの共結晶構造(PDB ID: 6W63)を使用した。DS-MDを拡張し、新たに開発したプログラムを用いてリガンド結合経路をサンプリングし、阻害剤とタンパク質の複合体構造を効率的に構築した。DS-MDでは、短時間MDシミュレーションの重要な初期構造を選択するために、リガンドとターゲットタンパク質の結合部位との重心距離を指定

2025年3月16日 受理

* 豊田理研スカラー

筑波大学計算科学研究センター

した。その結果、短時間 MD シミュレーションで生成されたスナップショットは次のサイクルの初期構造としてランク付けされ、選択された。開発したソフトウェアの検証にはいくつかの試行錯誤が必要であった。DS-MD の 1 回のシミュレーションコストは 50 ns (1 個の初期構造×100 ps MD シミュレーション×50 サイクル) であった (図 2)。

さらに、MD シミュレーションを実施し、リガンド結合ダイナミクスと安定性を主成分分析および MM/GBSA 法による結合エネルギー計算で評価した。MD 計算で得られた代表構造を基に、ドッキングリポジショニング (承認薬の新たな用途を決定する戦略) を実施した。また、タイの実験グループとの国際共同研究を通じて、SARS-CoV-2 に対する既承認薬の阻害効果を *in vitro* および *in vivo* 実験で確認することができた。

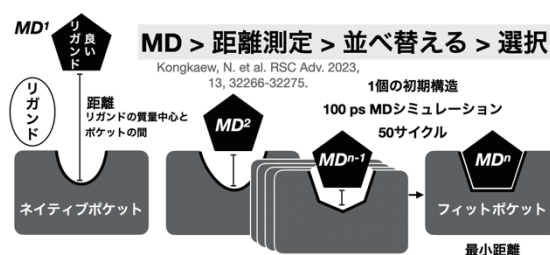


図 2 距離・分子動力学シミュレーションコンセプト。

3. 結果

新規 SARS-CoV-2 阻害剤は、SI で説明した DS-MD によって得られた E01/Mpro 複合体を基に設計された。Fig. 3a は、dS(C145)-Se(E01) に基づいて見出された E01 の活性部位への結合経路を示している。また、DS-MD の軌道を用いてマルコフ状態モデル[16]に基づき算出した二次元自由エネルギープロファイル (2D-FEL) は、配座空間における本リガンドの相対自由エネルギー (kBT) を示している (Fig. 3b)。その結果、局所的最小状態 (LMS, -3.99 kcal/mol) における E01 の結合相互作用は、全体最小状態 (GMS, -15.80 kcal/mol) に比べて約 5 倍弱いことが明らかとなった (Fig. 3c)。

興味深いことに、GMS において E01 の結合を強化する主な相互作用は、M49 との硫黄- π 相互作用であった。さらに、E01 のベンゼン環の存在により、触媒残基 H41 との間で π - π スタッキング相互作用が形成された。疎水性相互作用に関与する重要な残基として、M49, H41, C145, H164, M165, H168 が確認された (Fig. 3)。GMS における E01/Mpro 複合体の構造を基に、フェニル基をベンジル基に置換した新規有機セレン誘導体を設計した。さらに、ベンゾイソセレンアゾール環の R1 位およびベンジル環の R2, R3 位に多様な官能基を導入した。

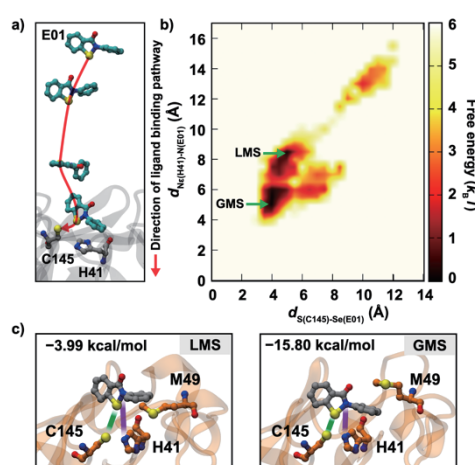


図 3 The path of E01 compound binding to Mpro.

4. 今後の展望

本研究では、強力な共有結合阻害剤の結合メカニズムを解明するために、DS-MD を適用し、エブセレン E01 が Mpro の触媒部位における結合経路および立体配座を検討した。その結果、E01 は活性部位に効果的に結合し、H41 の近傍に位置しながら、ベンゾイソセレンアゾール環による π - π T 字型相互作用と、C145 との硫黄- π 相互作用を形成することが確認された。さらに、統合型 ANN モデルと DS-MD 技術を活用することで、E01 構造を基にした新規化合物の設計が可能となった。特に、ハロゲン原子の導入と、2 つの環を結ぶリンケージの延長により、結合相互作用が強化され、結合ポケットへの適合性が向上した。

5. 謝辞

本研究は、公益財団法人豊田理化学研究所の豊田理研スカラー助成の支援を受けて実施されました。関係者の皆様に心より感謝申し上げます。また、学際的な若手研究者交流会では、豊田理研スカラー助成を受けた多くの研究者と意見を交わす機会を得ることができ、共同研究の発展につながりました。このような貴重な交流の場を提供していただいたことに、深く感謝いたします。

REFERENCE

- 1) N. Kongkaew, *et al.*, *RSC Advances*, **13** (2023) 32266-32275.