

| | |
|---------|---|
| 氏名（本籍） | 河田（池森） 恵（茨城県） |
| 学位の種類 | 博士（薬学） |
| 学位記番号 | 甲 第155号 |
| 学位授与年月日 | 平成26年3月17日 |
| 学位授与の条件 | 学位規則第4条第1項該当者 |
| 学位論文の題名 | 天然物 f152A1 由来マルチキナーゼ阻害剤 E6201 の阻害活性 発現と選択性に関する理論化学研究 |
| 論文審査委員 | 主査 伊藤 彰近 副査 宇野 文二 副査 大山 雅義 |

論文内容の要旨

E6201 [(3S,4R,5Z,8S,9S,11E)-14-(ethylamino)-8,9,16-trihydroxy-3,4-dimethyl-3,4,9,10-tetrahydro-1H-2-benzoxacyclotetradecine-1,7(8H)-dione)]は天然物 f152A1 をリードとして得られた抗腫瘍性 14 員環マクロライド誘導体である。その構造活性相関研究からこの大環状構造がキナーゼ阻害活性に重要であることが判明した。そこで、私はこれらの化合物が有するキナーゼ阻害活性に重要な要素を解明するため、計算化学的手法を用いて化合物の構造に注目した解析と、標的タンパク質であるキナーゼとの結合状態に注目した解析を行った。その結果、活性発現に重要だと考えられる活性コンフォメーションを明らかにし、結合モデル解析から、結合様式の予測とキナーゼ選択性に関する新規な知見を得ることができたので、報告する。

1. 天然物 f152A1 とその類縁化合物のコンフォメーション解析に基づく構造活性相関

我々は f152A1 の 14 員環構造に注目し、分子動力学計算によるコンフォメーション解析を行った。得られた構造は、エネルギー安定化計算を行った後、14 員環のトーションアングルで分類した。その結果、TNF α 阻害活性を有する化合物は、エネルギー最安定コンフォメーションとして、8 位の OH 基と 2 位のカルボニル基が分子内水素結合を形成した M1(8)コンフォメーションを取る事が判明し、このコンフォメーションが活性コンフォメーションであるという仮説を得た。

また、f152A1 と ERK2 キナーゼとの共結晶解析（未発表）の結果、ERK2 活性部位の Cys 残基とエノン部分で共有結合を形成することが明らかになった。そこで、マイケル付加反応が阻害活性発現に重要な役割を担うと考え、エノン部分の分子軌道エネルギー解析を行った。その結果、TNF α 阻害活性を発揮するためには、(L+1)UMO 軌道がエノン部分に局在化することが重要であるという結論に達した。

2. 天然物 f152A1 とその類縁化合物の標的キナーゼとの相互作用に関する解析

次に、キナーゼとの親和性と選択性を考察するために、ERK2、MEK1、MEKK1 とのドッキングシミュレーション計算を行った結果、エネルギー安定な複合体モデルを得ることができた。結合モデル内で、化合物が、M1(8)コンフォメーションで存在すること、これらの化合物が、結合部位に Cys 残基を持たない MEK1、MEKK1 キナーゼにも阻害活性を示すことから、この活性コンフォメーションの取りやすさが阻害活性発現に重要であるという結論に至った。また、結合モデルの解析から、4位メチル基の導入が、キナーゼの選択性を得るために重要であることが示唆された。

3. E6201 のキナーゼ阻害活性発現と選択性に関する解析

E6201 のコンフォメーション解析と ERK2、MEK1、MEKK1 キナーゼとのドッキングシミュレーション解析から、前述と同様、エネルギー最安定である M1(8)コンフォメーションで、各キナーゼと安定な結合モデルを形成するという結果が得られた。更に、抗癌作用発現に重要だと考えられる c-SRC、LCK キナーゼとのドッキングシミュレーションからは、活性発現に重要だと考えられる部位と4位メチル基が有効な相互作用を形成していることが確認できた。すなわち、E6201 は、エネルギー最安定コンフォメーションで各種キナーゼと結合し、適切な相互作用を形成することで、キナーゼ阻害活性を発揮すると考えられる。

論文審査の結果の要旨

申請者は、創薬研究のリード化合物候補でありながら、その合成的な構造展開が困難であった天然物 f152A1 の、細胞周期や細胞増殖を調整する ERK2 及びそれを活性化する MEK1、MEKK1 に対する阻害活性に着目し、理論計算を利用した創薬研究を実施した。まず、f152A1 のコンフォメーション解析により、7位のカルボニル基と8位の水酸基とが分子内で水素結合したコンフォメーション M1(8)が最も安定であり、ERK2、MEK1、MEKK1 とのドッキングシミュレーションの結果から、コンフォメーション M1(8)の取りやすさが活性発現に対して重要な要因であることを見出した。さらに、f152A1 の誘導体で4位にメチル基を有する E6201 と、細胞分裂、血管形成と生存等の多様なプロセスを制御している c-SRC 並びに Lck キナーゼとのドッキングシミュレーションの結果から、4位のメチル基が ATP 結合部位にある疎水性ポケットをより効果的に占有し、キナーゼ阻害活性の発現と選択性の獲得に重要な役割を果たしていることを見出した。以上、本研究では理論計算化学を用いた効果的な創薬研究を行い、天然物である f152A1 に比較して、代謝安定性だけでなくキナーゼ選択性や抗ガン活性等が改善された優れた化合物である臨床開発品 E6201 を得ることに成功しており、博士(薬学)論文として価値あるものと認める。