

平成 26 年 6 月 17 日現在

機関番号：24303

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2011～2013

課題番号：23659012

研究課題名(和文) C-H...O相互作用の基礎と医薬化学への応用

研究課題名(英文) Basic and applied research of CH-O interaction

研究代表者

鈴木 孝禎 (Suzuki, Takayoshi)

京都府立医科大学・医学(系)研究科(研究院)・教授

研究者番号：90372838

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円、(間接経費) 840,000円

研究成果の概要(和文)： 医薬品 タンパク質複合体のX線結晶構造の調査の結果、X線構造300個中106個の例で短いC-H-O距離がみられ、CH-O水素結合の存在が示唆された。上記の調査の中で見られた短いCH-O距離をもつ一つの酵素 阻害薬複合体に着目し、C-H-O水素結合の数が少なくなると予想される化合物の合成、酵素阻害活性評価を行ったところ、予想されるC-H...O水素結合数と阻害活性には正の相関が見られ、C-H-O水素結合が阻害活性に影響する可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)： Initially, we surveyed the published data of X-ray crystal structures of proteins complexed with small molecule ligands containing amino groups. It revealed that there are many examples of distance shorter than the sum of van der Waals radii of hydrogen and oxygen between the C-H proton of the ligand and the oxygen of the protein. The results of the survey suggest the existence of CH-O hydrogen bonds in protein-ligand binding. Next, we attempted to demonstrate experimentally the importance of CH-O hydrogen bonds in protein-ligand binding. We focused on an enzyme-inhibitor complex. We synthesized compounds that lack C-H groups. The derivatives showed enzyme inhibition weaker than the parent compound indicating the significance of CH-O hydrogen bonds in the enzyme-inhibitor binding.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：薬学・化学系薬学

キーワード：水素結合 タンパク質 リガンド 酵素 阻害剤

1. 研究開始当初の背景

多くの医薬品は、病気の原因となるタンパク質に結合して効力を発揮する。したがって、ドラッグデザインでは、水素結合などの医薬品-タンパク質間の化学的な非共有結合性相互作用が考慮される。これまでに非共有結合性の相互作用として、NH-O 水素結合、OH-O 水素結合などが報告されており、それらの非共有結合性相互作用は、生理活性物質-生体高分子間の結合に重要な役割を果たすこともよく知られている。非共有結合性相互作用の中でも CH-O 水素結合は、OH-O 水素結合や NH-O 水素結合に比べ一般に弱い結合として知られている。そのため、CH-O 水素結合はドラッグデザインの際に全く考慮されてこなかった。しかし、計算化学により、 R_3N^+ のような陽電荷に隣接する CH 基は電子求引効果によりプロトン供与性が高まること、それにより N^+CH-O 水素結合は NH-O 水素結合や OH-O に匹敵する強い相互作用となり得ることが示唆されていた。

2. 研究の目的

CH-O 水素結合は、OH-O 水素結合や NH-O 水素結合に比べ弱い相互作用として知られており、触媒や医薬品の分子設計の際にも、ほとんど無視されている相互作用である。しかし、未だ十分な研究が行われていないものの、 R_3N^+ のような陽電荷に隣接した C-H 基と酸素原子間の相互作用は、化学計算により、OH-O 水素結合や NH-O 水素結合に匹敵する強い水素結合であることが示唆されている。しかしながら、現在まで、タンパク質リガンド間における CH-O 水素結合の重要性を示した例は無い。そこで、本研究では、生物活性物質タンパク質複合体の X 線結晶構造の調査、および N^+CH-O 水素結合を利用した酵素阻害薬の設計・合成・評価を行いその重要性を示すことを目的とした。

3. 研究の方法

(1) プロテインデータバンク (PDB) に X 線共結晶構造が報告されているアミン含有生物活性物質-タンパク質複合体を調査し、短い CH-O 距離 (H と O のファンデルワールス半径の和である 2.72 Å 以下) をもつものがあるかどうかを調査した。

(2) (1) の調査の中で見られた短い CH-O 距離をもつ一つの酵素-阻害薬複合体に着目し、CH-O 水素結合の数が少なくなると予想される化合物の合成、酵素阻害活性評価を行うことで、予想される CH-O 水素結合数と阻害活性に相関が見られるかどうかを調べた。

4. 研究成果

(1) プロテインデータバンクで公開されているアミン含有生物活性物質-タンパク質複合体の X 線結晶構造を調査し、短い CH-O 距離 (H と O のファンデルワールス半径の和である 2.72 Å 以下) を有するものを調べた。その

結果、今回対象とした X 線構造 300 個中 106 個の例で短い CH-O 距離がみられた (図 1 にその一例を示す)。この X 線結晶構造の調査結果から、生物活性物質-タンパク質間には、CH-O 水素結合が存在することが示唆された。

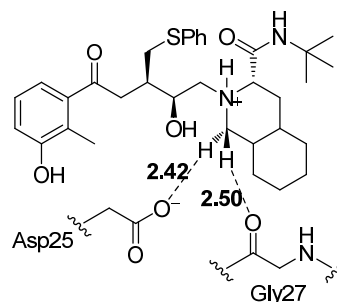


図 1. ネルフィナビルと HIV プロテアーゼ間に見られる短い CH-O 間の距離

上記の 106 個の例について、H と O の距離 d_2 および CH-O の角度 θ のをヒストグラムにまとめた (表 1)。

表 1. H と O の距離 d_2 および C-H...O の角度 θ

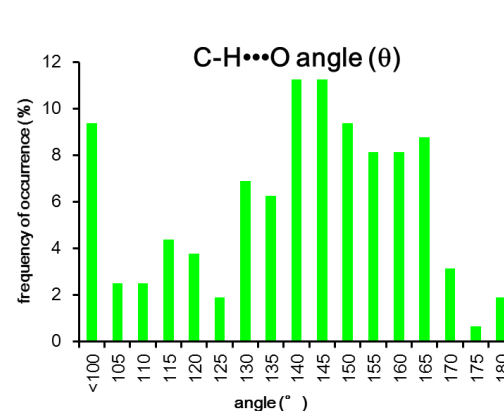
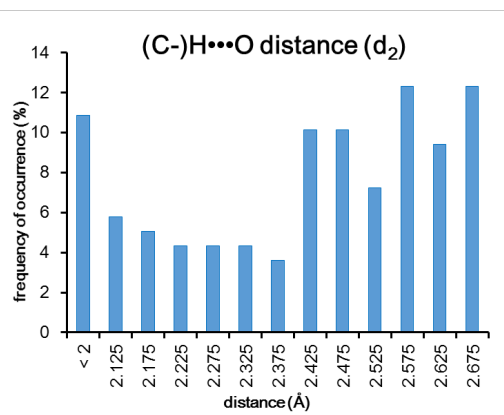


表 1 から、2.72 Å よりも大幅に短い CH-O 距離が多数あることが分かり、CH-O 水素結合は、ある程度強い相互作用であると考えられた。また、CH-O の角度が 140 度以上のものが多いことから CH-O 水素結合は NH-O 水素結合や OH-O 水素結合のように直線性が高い傾向にあることが予想された。

(2) つぎに、CH-O 水素結合の重要性を実験的に検証するために、G9a-like protein (GLP) とその阻害薬 1a の共結晶構造に着目した。上記の調査から阻害薬 1a のジメチルアミノ基の CH 基は、周辺のアミノ酸残基と CH-O 水素結合を形成すると予想された (図 2)。

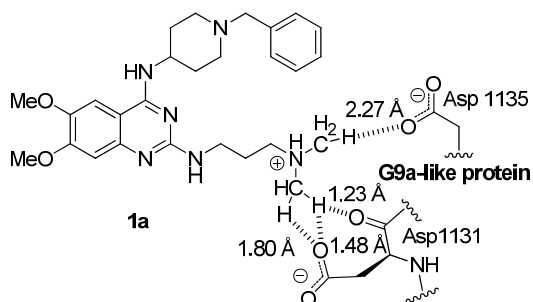


図 2. 化合物 1a と GLP 間に見られる短い CH-O 間の距離

そこで、ジメチルアミノ体 1a の NC-H 基の数を減らした類縁体、モノメチル体 1b、アミン体 1c、および窒素原子を CH に置換したイソプロピル体 1d を設計し、化合物 1a-1d の酵素阻害活性を評価することにした。ジメチルアミノ体 1a は 4 個の CH-O 水素結合形成が予想され (図 2)、モノメチル体 1b は 3 個の CH-O 水素結合形成が予想され (図 3)、アミン体 1c は CH-O 水素結合の形成は予想されないが静電的相互作用と NH-O 水素結合の形成が予想される (図 3)。イソプロピル体 1d はこれらの相互作用形成は予想されない。もし、阻害活性が 1a > 1b > 1c > 1d の順となれば、NC-H 基の減少および窒素原子の欠如に伴い活性が低下していると考えることができ、化合物 1a と GLP 複合体における N⁺-CH-O 水素結合の重要性を検証できる。

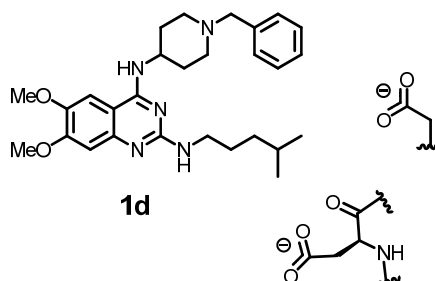
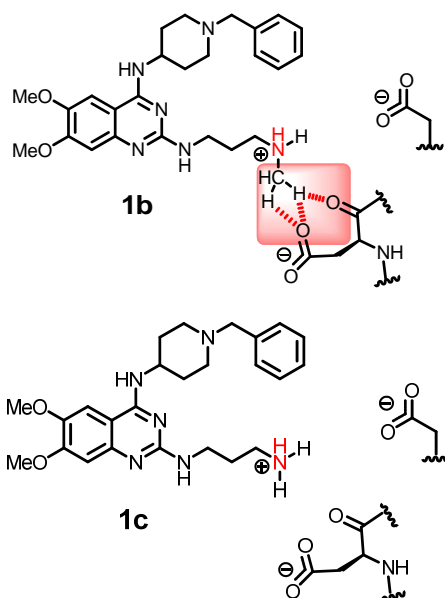
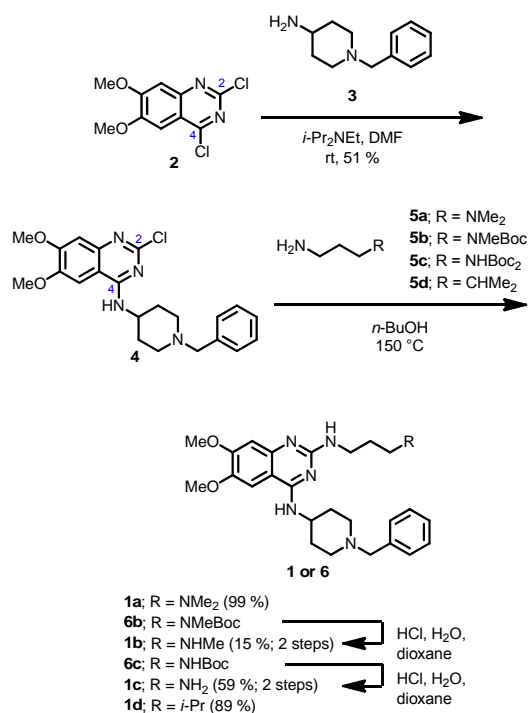


図 3. 予想される化合物 1b-1d と GLP の結合様式

化合物 1a-1d は、以下に示すスキーム 1 の合成ルートに従って合成した。まず、2 の 4 位に 3 を芳香族求核置換反応により導入し 4 を合成した。つぎに、4 の 2 位に対応するアミンを導入し、1 もしくは 6 に導いた。6 の Boc 基を脱保護し、目的の 1b,1c へと誘導した。

スキーム 1



化合物 1a-1d の GLP 阻害活性評価を行った結果、ジメチルアミノ体 1a、モノメチルアミノ体 1b、アミン体 1c の順に IC₅₀ 値が大きくなった。一方、イソプロピル体 1d は 100μM の高い濃度でも活性を示さなかった。1a-1d の GLP 阻害活性評価結果から、C-H 基の減少および窒素原子の欠如により、1b-1d の阻害活性が低下したと考えられた。

以上の(1)および(2)の結果から、N⁺-CH-O 水素結合が、生物活性物質-タンパク質間結合に重要な役割を果たしている可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等
(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔学会発表〕(計 6件)

Hiroki Ozasa, Takayoshi Suzuki, Shohei Hamada, Koshiki Mino, Hidehiko Nakagawa, Tamio, Mizukami, Naoki Miyata. The Importance of CH-O Hydrogen Bonds in Protein-Ligand Binding. AIMECS11, 2011年12月1日、京王プラザホテル

小笹弘貴、鈴木孝禎、浜田翔平、三野光識、中川秀彦、水上民夫、宮田直樹、ヒストン脱メチル化酵素JMJD2の阻害薬認識におけるCH-O水素結合の重要性、創薬懇話会2011、2011年7月6日、ダイヤモンド瀬戸内マリンホテル

小笹弘貴、鈴木孝禎、浜田翔平、三野光識、中川秀彦、水上民夫、宮田直樹、ヒストン脱メチル化酵素の阻害薬認識におけるCH-O水素結合の重要性、第57回日本薬学会東海支部総会・本会、2011年7月9日、金城学院大学

鈴木孝禎、エピジェネティクス機構を分子標的とする治療薬の進展、第25回インターフェックス ジャパン / 第6回 ファーマ ジャパン ~ 医薬品原料 国際展 (招待講演)、2012年06月28日、東京ビッグサイト

中島佑介、伊藤幸裕、鈴木孝禎、生物活性物質-タンパク質間における CH-O 水素結合の重要性、日本薬学会第134年会、2014年3月28日、熊本大学

Takayoshi Suzuki, Discovery of Histone Lysine Demethylase Inhibitors, XXII National Meeting on Medicinal Chemistry (NMMC2013), Sep. 11, 2013, Rome

〔図書〕(計 1件)

鈴木孝禎、次世代エピジェネティックドラッグ開発の最前線 遺伝子医学MOOK 25 エピジェネティクスと病気 2013, pp 260-265.

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.f.kpu-m.ac.jp/y/chemistry/publications.html>

6. 研究組織

(1)研究代表者

鈴木孝禎 (Suzuki, Takayoshi)
京都府立医科大学・大学院医学研究科・教授
研究者番号：90372838