

量子化学的計算手法による人参薬効成分 ：Ginsenoside 類などの薬効機構の解明

申請代表者 立川 仁典 横浜市立大学大学院生命ナノシステム科学研究科 教授
所内共同研究者 梅壽 雅人 民族薬物研究センター 国際共同研究部 特命准教授
(現 民族薬物研究センター 国際共同研究分野)

【報告セミナー要旨】

我々は、創薬開発において近年頻繁に利用されている量子化学的計算手法を、和漢薬有効成分の解析に応用し、その分子構造と生理活性との相関を分子レベルで明らかにすることを目的として研究を実施している [1]。

人参は和漢薬の中でも重要な生薬であり、薬効成分の同定、生体における効能・効果が研究されている。なかでも人参の主な薬効成分とされている Ginsenoside 類は、4つのタイプ (Protopanaxadiol type (M1), Protopanaxatriol type (M4), Ocotillol type, Oleanolic acid type) に分類され、そのタイプにより異なる生理活性を示すことが知られている。たとえば図1に示す神経芽細胞腫細胞においては、Protopanaxadiol-type (M1) は樹状突起の伸長を促す活性を有するが、他3つのタイプではそのような伸長活性はない [2]。そこで本年度は、未だ解明されていない Ginsenoside 類化合物と類似の Steroid sapogenin 分子 (Diosgenin, Sominone, Denosomin) の活性差異を、量子化学計算および Docking モデル (AutoDock) を用いて解析した。

Ginsenoside 類化合物について、半経験的分子軌道 PM3 法を用いて構造最適化計算を行い、エネルギー、構造、電荷分布、双極子といった物理量と薬効活性との相関を検討した。その中で、各分子の伸長活性と双極子の相関を図1に示す。図1より、M1だけでなく、Ginsenoside 類と類似の Steroid sapogenin 分子においても、双極子が3 Debye より大きい分子に活性が見られた。これは、双極子のクーロン力による長距離の分子認識能が薬効を高めていることを示唆している。さらに、Diosgenin との相互作用が確認されているタンパク質 (MARRS) について、上記化合物との AutoDock による解析を行った (図2)。この解析により、結合部位は MARRS のビタミンD3結合部分と同様であることが示唆された。さらにこの部位との結合エネルギーの強さが、活性と相関することも見出した。以上のことから、和漢薬薬効活性の解析においても、量子化学的計算手法が有効であることが解った。

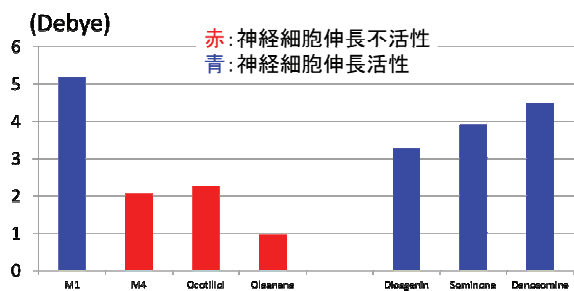


図1. Ginsenoside 類化合物および類似分子における伸長活性と双極子の相関。

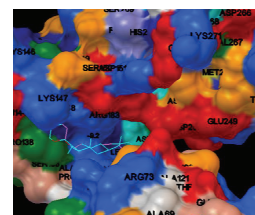
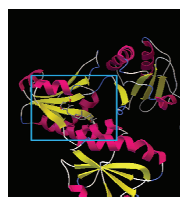


図2. MARRSとDiosgeninのAutoDockによる解析結果 (右図は左図の青枠内を拡大)。

References: [1] M. Tada, T. Nagasima, T. Udagawa, M. Tachikawa, and H. Sugawara, J. Mol. Str. (THEOCHEM), 89, 7149-7153 (2009). [2] C. Tohda, *et al.*, Jpn. J. Pharmacol., 90, 254-262 (2002).

■背景・目的

我々は、創薬開発において近年頻繁に利用されている量子化学的計算手法を、和漢薬有効成分の解析に応用し、その分子構造と生理活性との相関性を明らかにすることを最終的な目的として研究を実施している。平成23年度の共同研究課題「量子化学的計算手法による人參薬効成分：Ginsenoside類などの薬効機構の解明」においては、重要な生薬である人參の主たる薬効成分であるトリテルペンサポニン（Ginsenoside類など）と、類似のステロイドサポゲニンに着目した。具体的には、量子化学的計算手法を駆使することにより、それらの生理活性（神経細胞伸長・アルツハイマー治癒）と分子構造や部物理量との相関性を明らかにし、その薬効機構の相関性を解析した（図1）。

人參は和漢薬の中でも重要な生薬であり、薬効成分の同定、生体における効能・効果の研究が行われてきた。なかでも、人參の主なる薬効成分とされているトリテルペンサポニン：Ginsenoside類は、これまで数十種類以上の化合物の構造が明らかにされ、大きく4つのタイプに分類されている（Protopanaxadiol-type, Protopanaxatriol-type, Ocotillol-type, Oleanane-type）。これら4つのタイプのGinsenoside類は、その炭素骨格構造は類似しているが、異なる生理活性を示すことがある。たとえば、神経芽細胞腫SK-N-SH細胞において、Protopanaxadiol-typeは樹状突起の伸長を促す活性を有するが、ほかの3つのタイプでは樹状突起の伸長は報告されていない（表1）（Tohda et al. *Jpn. J. Pharmacol.* 2002）。

このような、Ginsenoside類におけるタイプ別の活性差異を、有効成分の分子構造に注目して解析することは意義のあることだと考えるが、分子構造の解析に利用される量子化学的計算の手法を用いたGinsenoside類の解析はほとんど行われていない。実際、分子の様々な特性を数値計算の手法で解析する量子化学的計算手法は、創薬開発においては既に頻繁に利用されている。我々はGinsenoside類の4つのタイプと、類似のステロイドサポゲニン分子を、量子化学的計算手法を用いて解析し、それぞれのタイプにおける特徴を明らかにすることを目的とした。さらに、それらのタイプ別の特徴を比較して上記のような生理活性と分子構造の相関性を明らかにすることを目指した。

表1 Ginsenoside類とその他の薬効分子における生理活性

| 名称 | Ginsenoside類 | | | | Diosgenin | Sominone | Denosomine |
|--------------|------------------|----|-----------|----------|-----------|----------|------------|
| | M1 | M4 | Ocotillol | Oleanane | | | |
| 神経細胞伸長活性化[2] | ○ ^[1] | × | × | × | ○ | ○ | ○ |
| アルツハイマー治癒[2] | ○ | × | × | × | ○ | ○ | — |

[1] Tohda C, Matsumoto N, Zou K, Meselhy MR, Komatsu K. Axonal and dendritic extension by protopanaxadiol-type saponins from ginseng drugs in SK-N-SH cells. *Jpn J Pharmacol.* 2002 Nov;90(3):254-62.

[2] Matsuya Y, Yamakawa Y, Tohda C, Teshigawara K., Yamada M. and Nemoto H. *Org. Lett.* 2009, 11, 3970-3973

■結果・考察

上記の研究目的をふまえて、量子化学的計算手法を和漢薬有効成分の解析に応用し、その分子構造と生理活性との相関性を明らかにするために以下のような項目を検討した。

- ① 人參の薬効成分トリテルペンサポニン：Ginsenoside類の4つのタイプと、類似のステロイドサポゲニンに対して、分子構造、特徴、生理活性などを調査し、実際に量子化学計算を実施する分子群を選択した（図1）。

計算を実施した分子：Ginsenoside類「M1, M4, Ocotillo, Oleanane」、類似のステロイドサポゲニン「Diosgenine, Somenone, Denosomine」。類似のステロイドサポゲニンとして選択したDiosgenineなどの分子については、その相互作用相手であるタンパク質が同定されているため、生理活性の類似性を考慮して計算対象分子とした。

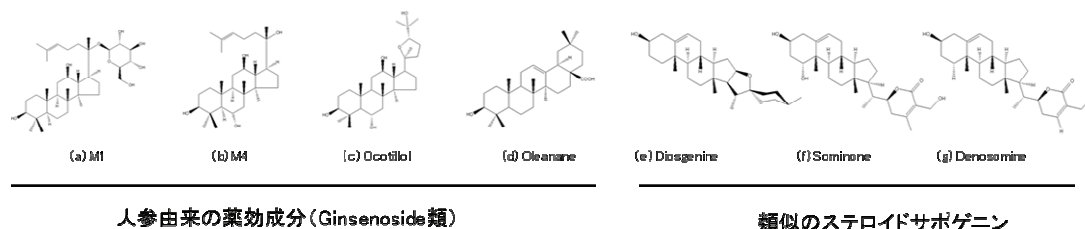


図1 量子化学計算対象分子

② ①で選択した分子の化学構造データをもとに、MOPACなどの量子化学計算パッケージを利用して、それぞれの分子について構造最適化計算を実施した(図2)。

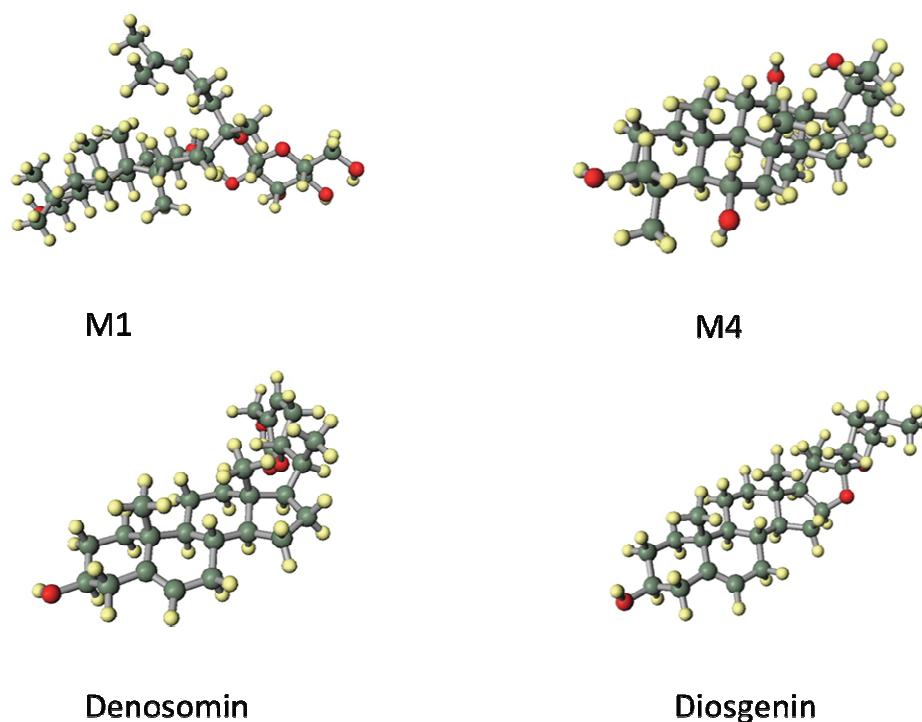


図2 量子化学計算による最適化構造

③ ②で構造最適化を実施したそれぞれの分子において、より精密な量子化学計算を実施し(場合によっては溶媒効果なども考慮する)、分子の電子分布、双極子モーメントなどの情報を得た。その結果、分子の各原子核に由来する電子分布については、どのタイプの分子においても違いがなく生理活性との相関は見られなかった(図3)。一方、分子全体での電荷の偏りを表す「双極子モーメント」の計算結果では、双極子の値が3 Debye以上の分子において生理活性があるとの結果が得られた(図4)。

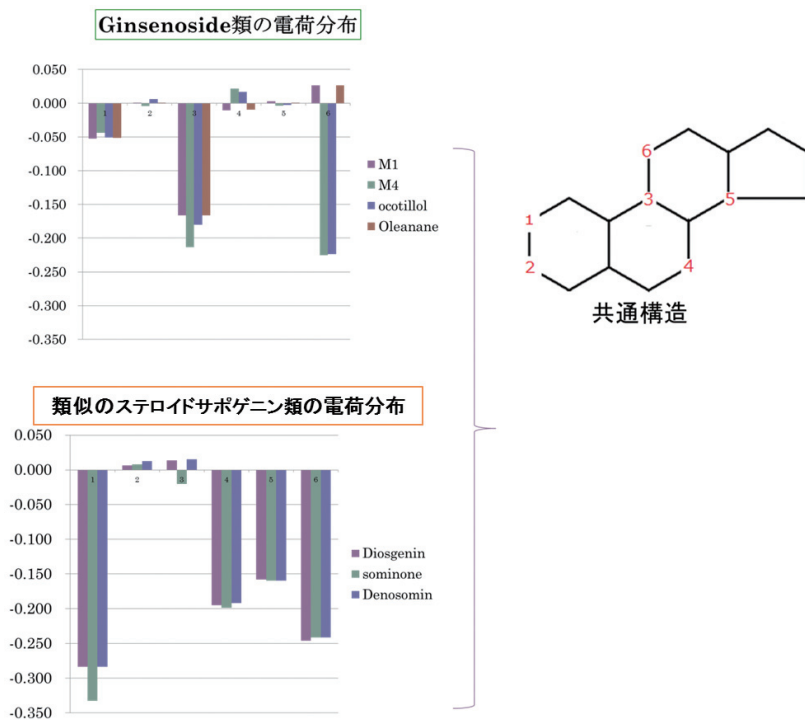


図3 各分子の共通構造部分における電子分布。共通構造の原子番号順にグラフにおいてその電荷分布を表示している

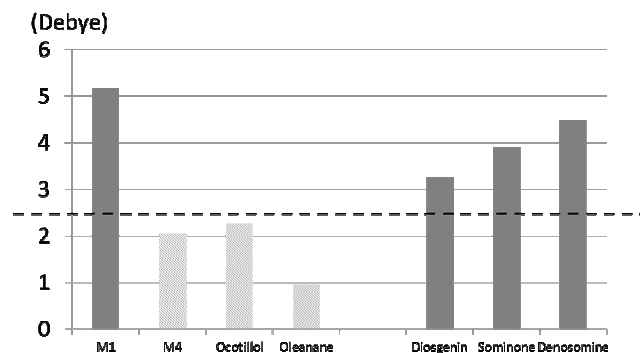


図4 双極子モーメントの比較。黒いバーは生理活性のある分子している

- ④ 類似のステロイドサポゲニン分子である Diosgenine において、相互作用タンパク質として同定されている MARRS (membrane-associated, rapid response steroid-binding) に対し、Ginsenoside 類分子についてもその結合形式を計算するシミュレーションを実施した。その結果、どの分子においても MARRS の同じ部分で結合することが判明した (図5)。また、シミュレーション結果で結合エネルギーが大きい順に並べると、「M1, Diosgenine, Somnone, Denosomin」となり、神経細胞伸長活性が確認された分子が上位となった。

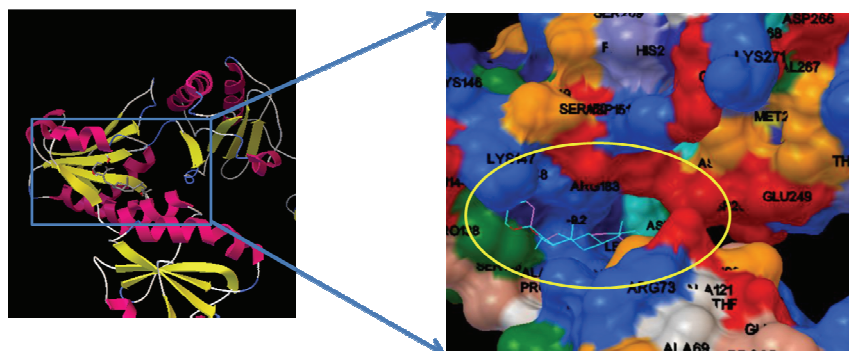


図5 MARRS と Diosgenin の結合シミュレーション結果

これらの結果より、Ginsenoside類と類似のステロイドサボゲニンの生理活性には、分子全体での電荷の偏りである双極子モーメントが関係していることが推測される。双極子モーメントは近距離ではなく中長距離の分子間で働く相互作用であるため、タンパク質とリガンドの結合前の相対的位置決定や、結合後のタンパク質内の結合部位と離れた部位の変化の誘発などが、Ginsenoside類と類似のステロイドサボゲニンの生理活性発現に関連している可能性が考えられる。このことは、タンパク質とリガンドの結合シミュレーションにおいて、生理活性を有する分子と無い分子が異なるタンパク質結合部位ではなく、同じ結合部位で結合する結果とも矛盾しない。

■結論

Ginsenoside類の4タイプ (Protopanaxadiol-type, Protopanaxatriol-type, Ocotillol-type, Oleanane-type) の化合物と、類似のステロイドサボゲニンの分子について、MOPAC等を利用した量子化学的計算を実施した。電荷分布・双極子モーメントなどの物理化学的特徴を検討した結果、双極子モーメントと生理活性に正の相関関係があることが明らかになった。さらに、Diosgenineの結合タンパク質として同定されたMARRSとの結合シミュレーションの結果、生理活性を有する分子において結合親和力が高く、タンパク質の同じ部位で結合していることが示唆された。

上記の結果は、2011年日本コンピュータ化学会秋季年会で発表し、現在、論文投稿準備中である。