

1P097

求核剤と α, β 不飽和カルボニル化合物の反応計算による急性毒性の解釈
 (国立環境研究所) ○古濱彩子, 青木康展, 白石寛明

【序】化学物質の構造の特徴から、その物質の生理的作用を定量的に予測する定量的構造活性相関(QSAR)は、工業原材料となる化学物質の生態毒性(化学物質が魚類や甲殻類など環境中に棲息する生物に及ぼす毒性)予測に応用されている[1]。脂肪族炭化水素のように生体分子との反応性が低い物質での魚類の半数致死濃度等の急性毒性値は、化学物質の疎水性を反映するオクタノール・水分配係数(LogP)との相関が高く、Neutral Organics等の名称で呼ばれるクラスに分類される。このクラスの化学物質の毒性は、疎水部分が生体膜へ浸透し、麻酔作用を発揮することで説明され、LogPを記述子として用いた回帰QSAR式が提案されている。しかしながら、生体分子との反応性が高い構造を有する化学物質については、LogPによって毒性を説明することは容易ではない。図1に示すようにマイケル付加反応を起こす α, β 不飽和カルボニル基を持つ化学物質(α, β 不飽和カルボニル化合物)はLogPとの相関はほとんど無く、Neutral Organics(点線)よりも強い毒性を持つ。予測精度を向上するには、化学物質と生体分子の反応性や相互作用を規定するどのような要因が毒性の強さを決定するかを解明し、反応に起因する毒性を表現する記述子を提案することが必要である。

α, β 不飽和カルボニル化合物とチオール基を含む生体分子のグルタチオン(GSH)との求核反応の速度定数は毒性値(濃度:EC₅₀)と高い相関があるという実験報告[2]を踏まえると、反応速度定数を規定するポテンシャルエネルギー曲面の物理量と毒性には相関性があることが期待される。そこでGSHの求核部分を持つ基本構造CH₃SHとGSH内の官能基や周囲の水分子からなる分子系を構築し、この求核剤分子系と化学物質の反応の活性化や安定化のエネルギーと毒性値との間に適切な相関が表れる条件を明らかにすることとした。

今回は、もっとも単純な分子系として、 α, β 不飽和カルボニル化合物のエネルギー極小構造及びこれらの物質とCH₃SHとの遷移状態構造に注目し、ポテンシャルエネルギーや分子振動数と魚類急性毒性値の半数致死濃度LC₅₀(単位 mM。KATEのQSAR式構築に利用)の相関について検討した。

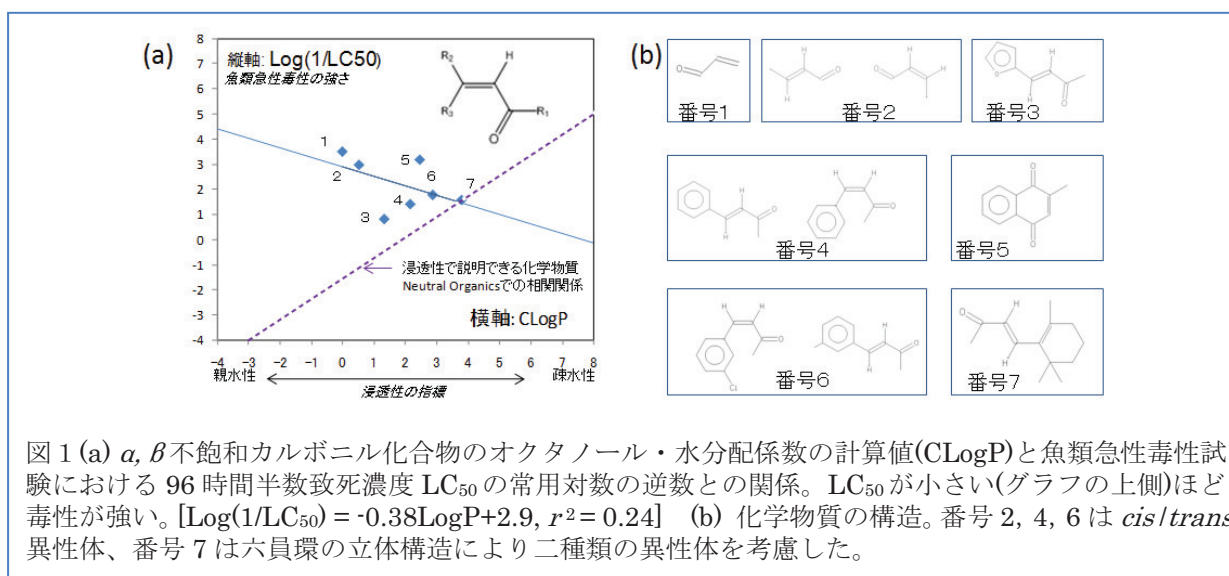
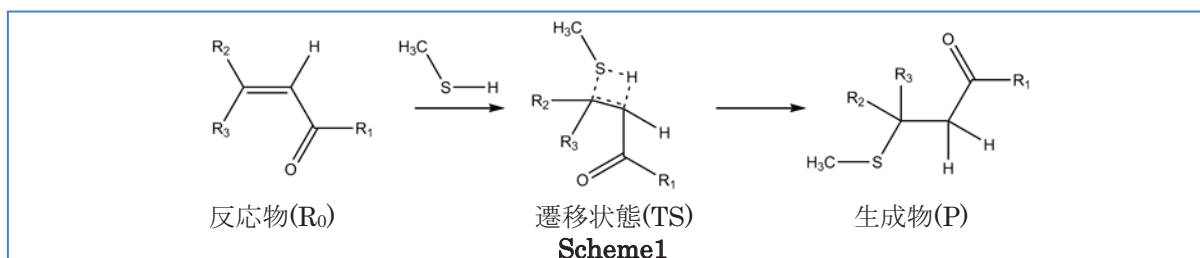


図1 (a) α, β 不飽和カルボニル化合物のオクタノール・水分配係数の計算値(CLogP)と魚類急性毒性試験における96時間半数致死濃度LC₅₀の常用対数の逆数との関係。LC₅₀が小さい(グラフの上側)ほど毒性が強い。[Log(1/LC₅₀) = -0.38LogP + 2.9, r² = 0.24] (b) 化学物質の構造。番号2, 4, 6はcis/trans異性体、番号7は六員環の立体構造により二種類の異性体を考慮した。

【方法】初期構造は線形識別子 SMILES を基にソフトウェア CORINA により三次元構造を立ち上げた。構造異性体の混合物を試料として、毒性試験が行われている物質については異性体ごとに各物質のエネルギー極小構造をもとめた。更に図 1b 番号 1~3 の化学物質について、scheme 1 に示す反応の遷移状態(TS)と生成物(P)の構造とエネルギーを算出した。計算は Turbomole と Gaussian03 を用いて、B3LYP/6-31G**レベルで実施した。



【結果と考察】反応物(R₀)と CH₃SH が反応し、生成物(P)を生成するには、Scheme1 の遷移状態(TS)の構造を取ることが妥当であることを固有反応座標計算により確認した。

エネルギー値と Log(1/LC₅₀)の関係(表 1)を比較すると、Log(1/LC₅₀)が大きい、即ち毒性が強い物質ほど、生成物の安定化エネルギー(E_p)は低い傾向があった。一方、Scheme1 の反応の活性化エネルギー(ΔE)は、物質 1~3 の中で毒性が一番強いアクロレイン(番号 1)が一番高い値になった。

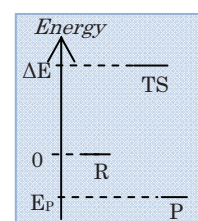
実験では毒性が強い化学物質ほど求核剤 GSH と化学物質の反応速度定数が大きく [2]、また、強毒性のアクロレインは GSH との反応性が非常に高い [3] と報告されている。この知見から、アクロレインは他の α, β 不飽和カルボニル化合物よりも GSH の求核部分チオール基との反応障壁と活性化エネルギーや生成物の安定化エネルギーは低いと考えられる。今回採用した分子系での計算で得られた E_p は実験の結果と合致するが、GSH の ΔE の特徴を記述するには求核剤の基本構造 CH₃SH だけでは十分ではない。遷移状態の記述には、求核部分と他の官能基や周囲の水分子の静電的・バルクな効果やケト・エノール互変異性を考慮に入れた反応 Scheme 等の他の要因の考慮が必要だと考えられる。

なお、反応過程で影響を及ぼすカルボニル O=C 伸縮振動数は、番号 5 の化学物質以外は、毒性の強さと高い正相関の関係があった。ナフトキノンの構造を持つ番号 5 は通常のマイケル付加反応とは違う反応機構を示すと考えると、カルボニル O=C 伸縮振動数は反応の指標の記述子の候補として期待できる。

表 1 α, β 不飽和カルボニル化合物と Scheme1 の反応の活性化エネルギー(ΔE)と生成物の相対エネルギー(E_p) (単位: kcal/mol)* 及び毒性値 Log(1/LC₅₀)

図 1b の化学物質	ΔE	E _p	Log(1/LC ₅₀)
番号 1	45.8	-17.1	毒性: 強 3.5
番号 2 (<i>cis</i> -isomer)	45.1	-14.2	3.0
番号 2 (<i>trans</i> -isomer)	45.3	-12.5	3.0
番号 3	39.2	-8.8	毒性: 弱 0.8

*CH₃SH と化学物質が無限遠をエネルギー基準値とした。ゼロ点振動エネルギー補正を含む。



Note and references: [1] 国立環境研究所環境リスク研究センターでは生態毒性予測システム KATE <<http://kate.nies.go.jp>>の開発・公開を行っている。KATE は化学物質の部分構造から魚類急性毒性試験における半数致死濃度及び甲殻類遊泳阻害試験における半数影響濃度を予測するシステムであり、構築に当たっては、環境省が実施した生態毒性試験結果および米国環境保護庁のファットヘッドミノール・データベースの魚類急性毒性試験結果を参照データとして利用した。[2] A. Böhme, D. Thaens, A. Paschke, and Gerrit Schüürmann, *Chem. Res. Toxicol.*, **2009**, *22*, 742–750.[3] 例えば T.W. Schultz, J.W. Yarbrough, and E.L. Johnson, *SAR QSAR Environ. Res.*, **2005**, *16*, 313–322.