

毒性予測を目指した α, β 不飽和カルボニル化合物と 生体分子モデルの量子化学計算

(国立環境研究所) ○古濱彩子、青木康展、白石寛明

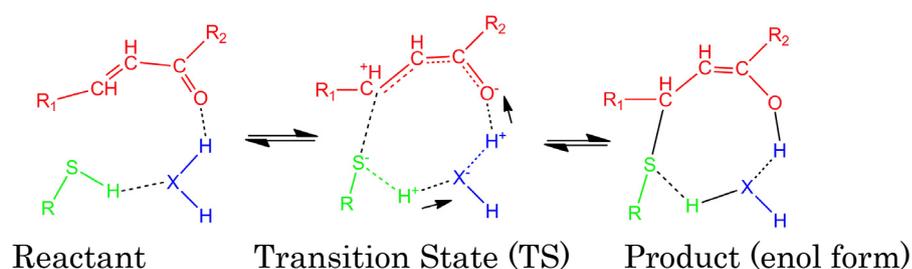
【序】魚類など環境中に棲息する生物への化学物質の影響評価には、生態毒性試験[1]の結果が用いられており、化学物質審査規制法における基準となっている。しかし、現実には化学物質は数万種類以上存在するため、すべての物質に対して試験を実施することは時間・コストの面で困難であり、毒性を構造から予測する定量的構造活性相関(QSAR)の開発がすすめられている[2]。QSARの実用化に向け予測性(predictivity)や頑健性(robustness)を改善するためには、化学物質と生体分子の間の反応機構に基づいた予測をすることが必要である。毒性予測の分野で量子化学計算の活用も進められてはいるが、反応経路や寄与する要因の解明は未発達な段階である。

近年、Shultzら[3]はシステインのチオール(SH)基を含む生体分子グルタチオン(GSH)と α, β 不飽和カルボニル基を含む化学物質の実験により、化学物質とGSHの反応速度と急性毒性の強さとの間に相関があることを示した。 α, β 不飽和カルボニル化合物は生体分子の求核部分とマイケル付加反応を起こし、毒性の発現に寄与すると考えられることから、GSHと化学物質の反応性による毒性予測法を提案した。また、Schwöbelら[4]は、QSARによるGSHと化学物質の反応速度の推算を、密度汎関数法で求めたCH₃SHと α, β 不飽和カルボニル化合物各1分子とのマイケル付加反応の活性化エネルギー等を記述子として提案した。

本研究では、反応で触媒の役割を果たす水分子に注目し、 α, β 不飽和カルボニル化合物と生体内の求核的な構造部分との反応過程に関する量子化学計算を行った。得られた活性化エネルギーや反応エネルギーと、生態毒性の指標である96時間魚類50%致死濃度(LC₅₀)の相関から、どのような反応機構が魚類への急性毒性の発現に寄与するのかを検討した。

【方法】Esterbauerらが示した生体内のSH基とアクロレインの反応経路[5]を基に、Scheme 1で示すような酸と塩基の役割をする物質(H₂X)を含む反応障壁の見積を行った。H₂Xは酸や塩基の役割をする分子であり、溶媒の水分子H₂Oやペプチド内のアミノ基などを想定した。また、求核剤RSHはタンパク質内のシステイン残基をモデル化しており、GSHやCH₃SHとして扱った。

Scheme 1 マイケル付加反応のモデル



GSHはX線構造 [6]を初期値としてエネルギー極小構造を求めた。図1で示した化学物質の三次元構造は、ソフトウェア CORINA で立ち上げた初期構造から量子化学計算によって決定した。Transition State (TS) 探索では、Scheme1で示した反応経路を仮定し、固有反応座標計算を基にエネルギー極小構造である反応物と生成物を

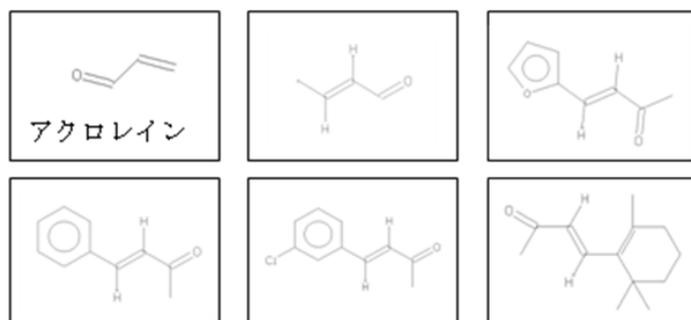


図1 計算対象とする α, β 不飽和カルボニル化合物

求めた。量子化学計算プログラム Gaussian03 および Gaussian09 によって、B3LYP/6-31G(d,p)法の計算を実施した。溶媒効果の見積もりには PCM 法を用いた。エネルギー値の評価の際には零点振動エネルギーの補正を行った。

【結果・考察】アクロレインと GSH の TS 検索を scheme 1 の H_2X 無しと H_2O (水分子) の場合の結果を比較した所、反応に水分子が関与すると反応障壁が低くなることが示された。次に図1の化合物と CH_3SH の TS 検索を水1分子が介した反応を仮定して計算を行った。図2で示すように、毒性値が高い(横軸の値が高い)ほど、遷移状態のエネルギー障壁や生成物の安定化エネルギーは低く、反応が進みやすいという関係があることがわかった。この結果は、毒性の高い分子ほど、反応が進みやすく、反応物が生成物よりも安定に存在することを示すものであり、GSHの反応速度と毒性の相関の実験結果 [3]の傾向と一致した。

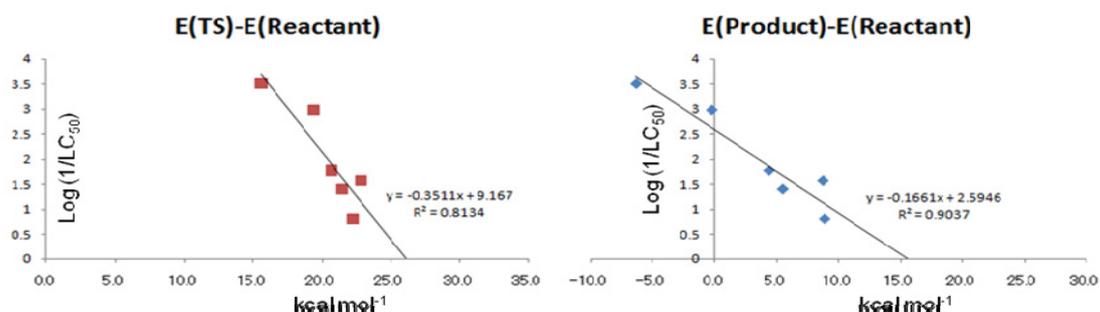


図2 魚類急性毒性値(96hr LC_{50})とエネルギー値の相関

昨年度の本討論会 [7]では、scheme 1 の H_2X が無い場合には毒性値が高いほど反応障壁が高くなる結果を報告した。以上から、実験で得られる反応速度を理論計算で予測するには、少なくとも露わな水1分子のプロトン移動反応を考慮に入れる生体分子モデルが必要である。

- [1] 化学物質の生態影響試験について <http://www.env.go.jp/chemi/sesaku/seitai.html> [2] OECD (Q)SAR project http://www.oecd.org/document/23/0,2340,en_2649_34373_33957015_1_1_1_1,00.html [3] T.W. Schultz, J.W. Yarbrough, E.L. Johnson, *SAR QSAR Environ. Res.*, **2005**, *16*, 313–322. [4] J.A.H. Schwöbel, S.J. Enoch, J. C. Madden, M.T.D. Cronin, *Workshop QSARs in Environ. Heal. Sci.*, **2010**, Montreal Canada (*SAR QSAR Environ. Res.* submitted.). [5] H. Esterbauer, R.J. Schaur, H. Zollner, *Free Rad. Bio. Med.*, **1991**, *11*, 81-128. [6] C.H. Gorbitz, *Chem. Biochem.*, **1987**, *41*, 362-366. [7]分子科学総合討論会 **2009**, 名古屋 **1P097**