

図 1-4 LogP , VDW , PPAR 活性で予測した NOEL と実験値との関係

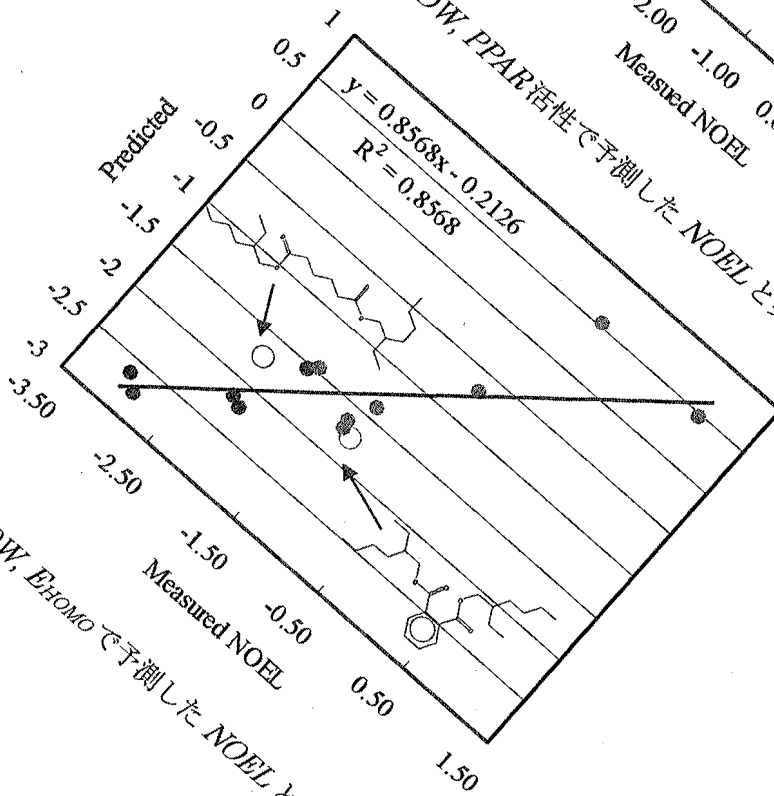


図 1-5 LogP , VDW , E_{homo} で予測した NOEL と実験値との関係

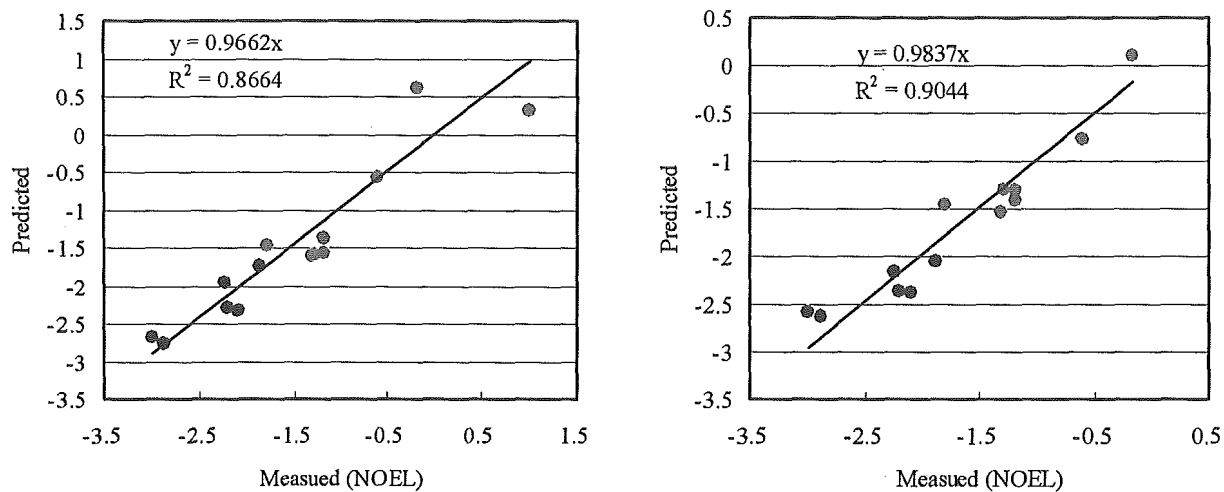


図 1-6 毒性作用機序モデルの予測結果 (左図：全物質、右図：PFOS を除いた場合)

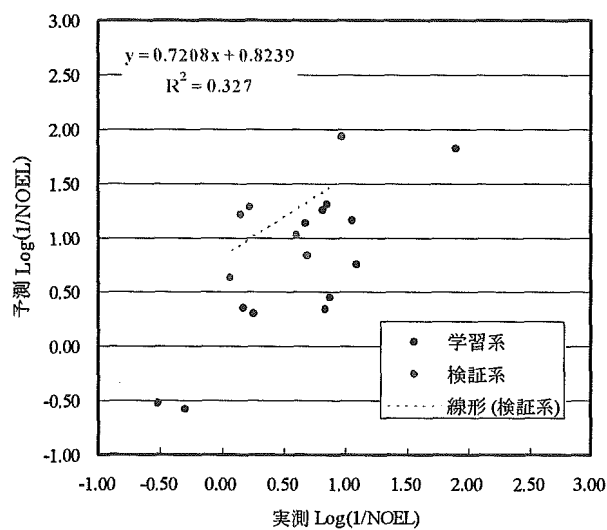


図 1-7 検証系化合物を用いた場合の予測結果

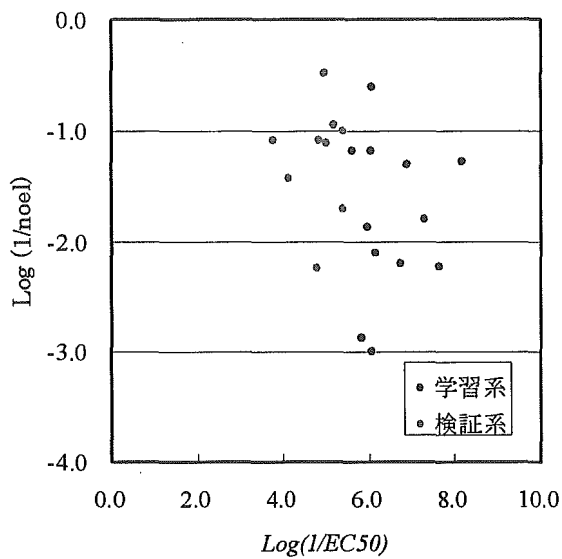


図 1-8 Assyas と NOEL の関係

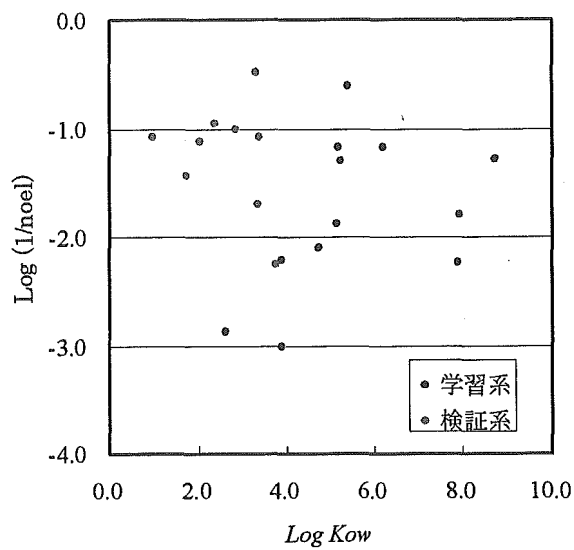


図 1-9 LogP と NOEL の関係

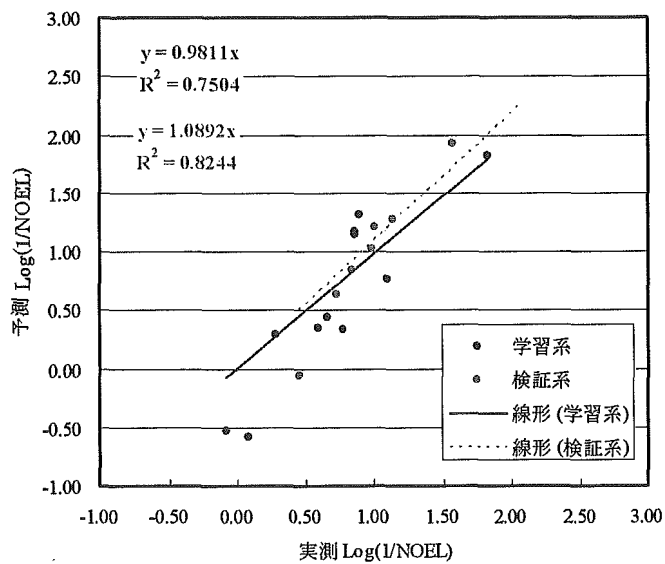


図 1-10 学習系、検証系の全化合物で
QSAR を構築した場合の予測結果

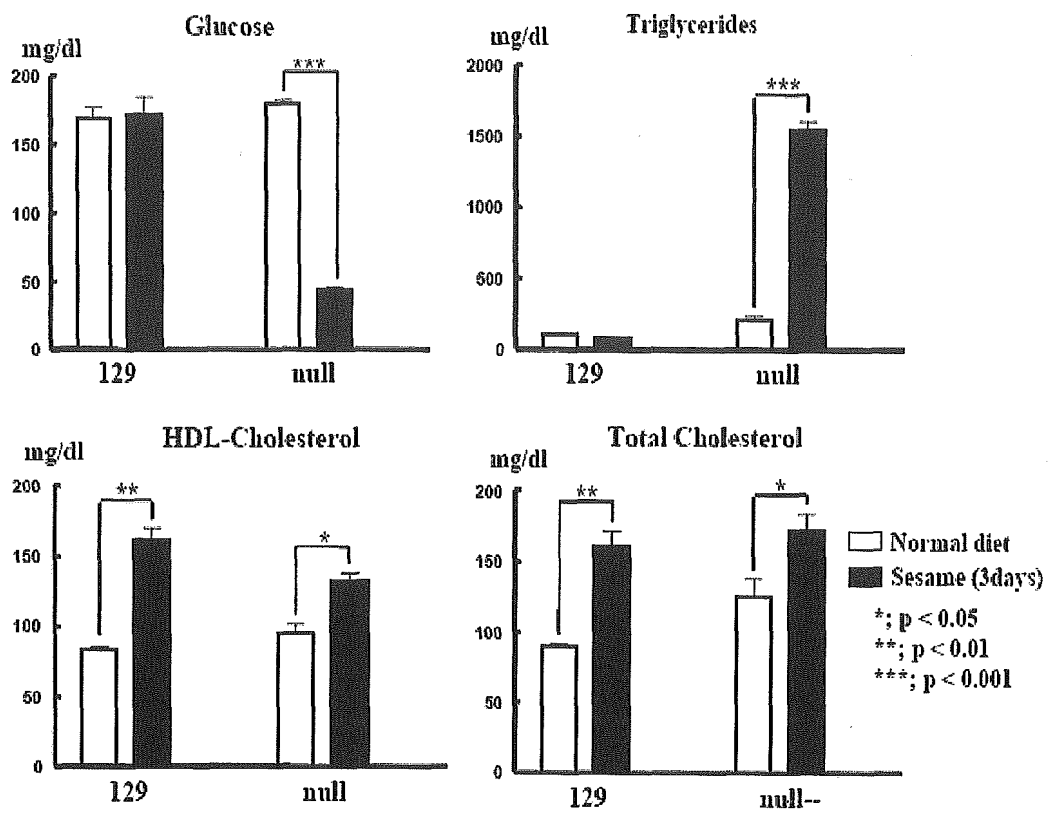


図 2-1, 野生型マウス(129)と PPAR α ノックアウトマウス(null)の、ゴマ食 3 日後の血清成分の比較

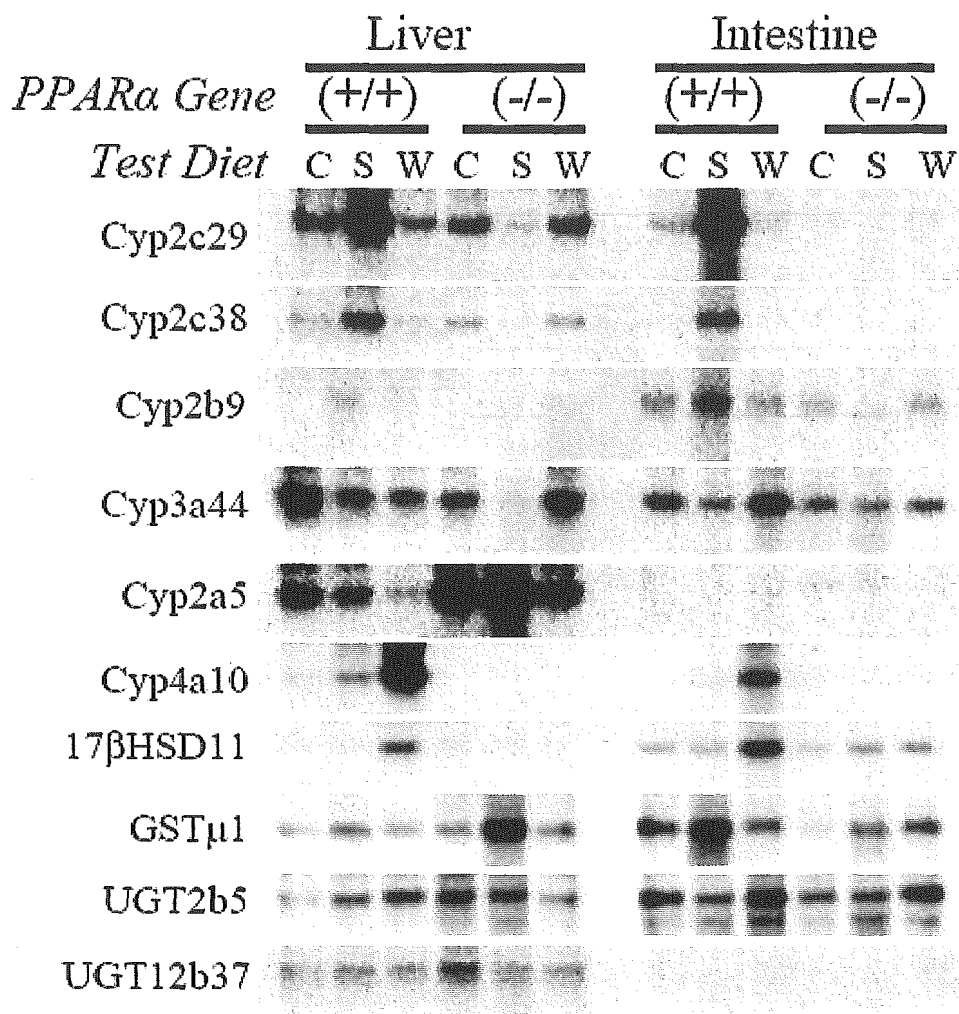


図 2-2. 野生型マウスと PPAR α ノックアウトマウスの、ゴマ食 3 日後の肝臓と小腸における遺伝子発現のノーザンブロットによる確認。C は正常食、S はゴマ、W は PPAR α 特異的アゴニスト Wy14,643 を示す。

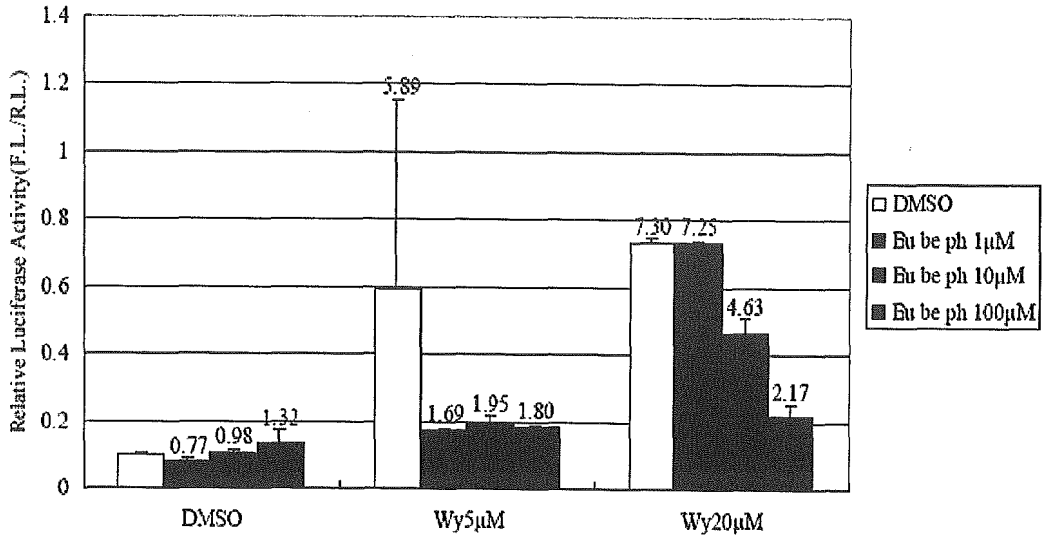


図 2-3, BBP の PPAR α アンタゴニスト活性の検出

平成 17 年度厚生労働科学研究費補助金
(化学物質リスク研究事業)
分担研究報告書

化学物質リスク評価における定量的構造活性相関に関する研究

分担研究者 広野 修一 北里大学・薬学部・教授

研究要旨

ペルオキシソーム増殖剤応答性受容体 (PPAR) のサブタイプである PPAR α は、肝臓における脂肪酸の代謝や中性脂質の代謝に関連する遺伝子の発現を制御している。現在、プラスチック可塑剤、農薬などの化合物が、齧歯類において PPAR α を介して酵素誘導、肝臓 DNA 合成、肝臓肥大、肝臓ガンを誘発することが知られている。従って PPAR α に対する結合活性を予測できれば、化学物質の人体に対するリスクを予測する際に非常に有用である。このことから、我々は、新規リガンドのヒト PPAR α への結合に関する活性予測を行うための三次元定量的構造活性相関解析(3D-QSAR)モデルを作成する事を目的として研究を行っている。2004 年度はヒト PPAR α 結合活性が既知のリガンドを用いて 3D-QSAR モデルを作成した。2005 年度は、作成した 3D-QSAR モデルを使って、肝毒性を示す化合物の PPAR α に対する活性予測を行った。さらにこれらの化合物が代謝されて生成される化合物に対しても PPAR α の活性予測を行った。その結果を PPAR α に対する活性実験と比較したところ、活性の大きさをほぼ正しく予測できることがわかった。本研究で、新規リガンドの PPAR α 結合活性を予測することができる 3D-QSAR モデルが構築できたと考えられる。

A. 研究目的

ヒト PPAR α のリガンド結合ドメイン(LBD) と PPAR α アゴニストである GW409544 の複合体(PDB code:1k7l)の立体構造情報を使って、肝毒性を示す化合物の結合配座及び PPAR α -リガンド複合体の立体構造を作成し、2004 年度に作成した 3D-QSAR モデルを使って PPAR α に対する活性予測を行う。

B. 研究方法

肝毒性を生じる化合物 (表 1) は学習系リガンドに共通に存在して見られるカルボン酸を持たない。共通の官能基がない場合には、学習系リガンドの時に用いた FlexS はあまり適していない。そこで、当研究室で開発されている結合配座推定手法を利用した。初めに、高温分子動力学法を利用した配座解析プログラム

CAMDAS を使ってエネルギー極小配座集団を生成した。

1	(1,3-Dimethylbutyl)-N'-phenyl-p-phenylene diamine
2	1H,1H-Perfluorooctanol
3	1H,1H,2H,2H-Perfluorooctanol
4	diphenyl 2-ethylhexyl phosphate
5	p-tert-Octylphenol
6	Nonylphenol
7	dibutyl adipate
8	2,4-D-tert-butyl phenol
9	diheptyl phthalate
10	butyl benzyl phthalate
11	diethyl phthalate
12	di (2-ethylhexyl) adipate
13	dibutyl phthalate
14	diethylhexyl phthalate

表 1 肝毒性を生じる化合物群

次に、PPAR α -GW409544 複合体の実験構造から取り出した GW409544 の結合配座を参照分

子として、先に得られた配座集団を SUPERPOSE プログラムを使って重ね合わせた。SUPERPOSE プログラムは、リガンド構造の官能基に半径 1 Å の球を割当てた二つの配座を、同一特性の球がお互いに重なるように回転、並進運動させて、共通特性の官能基が重なるアライメントを生成するものである。この方法を使って化合物ごとに結合配座候補を抽出した。これらの配座から PPAR α LBD-リガンド複合体構造を作成し、エネルギー極小化計算を行って構造を最適化した。そして、エネルギー極小化後の複合体のエネルギーの低い複合体モデルのリガンドの配座を結合配座とした。この結合配座と GW409544 とのアライメントを用いて昨年度作成した CoMFA モデル (図 1) を使って、各化合物の PPAR α 活性を計算した。

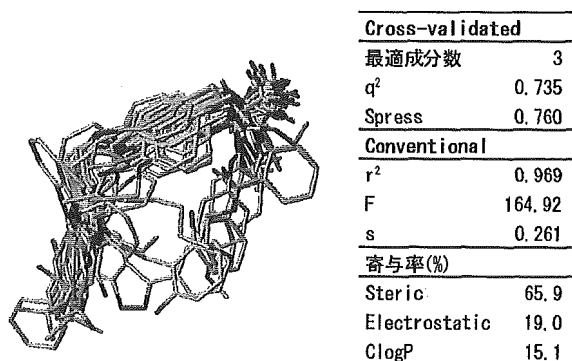


図1 結合配座とそのアライメント及び統計結果
(活性値 = 3.582 + (0.363) * CLOGP)

(倫理面への配慮)

既存の X 線結晶解析データを用い、コンピュータによる解析を行うため、倫理的に問題となるようなことはない。

C. 研究結果

CoMFA 式による肝毒性を生じる化合物の PPAR α に対する活性予測の結果を表 2 に示す。計算から化合物はいずれも PPAR α 活性をある程度有することが予測された。この結果を実験結果と比較したものが図 2 である。

	ClogP	計算値
1 (1,3-Dimethylbutyl)-N'-phenyl-p-phenylene diamine	5.41	6.16
2 1H,1H-Perfluorooctanol	2.04	4.91
3 1H,1H,2H,2H-Perfluorooctanol	1.44	4.42
4 Diphenyl 2-ethylhexyl phosphate	5.24	6.86
5 p-tert-Octylphenol	5.16	5.63
6 Nonylphenol	6.21	6.03
7 Dibutyl adipate	3.90	6.06
8 2,4-D-tert-butyl phenol	5.13	5.98
9 Diheptyl phthalate	7.91	7.29
10 butyl benzyl phthalate	3.88	6.72
11 Diethyl phthalate	2.62	5.82
12 Di (2-ethylhexyl) adipate	7.87	7.66
13 Dibutyl phthalate	4.73	6.15
14 Diethylhexyl phthalate	8.71	8.18

表2 肝毒性を生じる化合物に対する PPAR α 活性予測値 (Cell-Based transactivation Assays: log(1/EC₅₀))

7化合物(強:ピンク(5,1,9,6,4)、低い:青(2,3))は活性の強弱が実験結果と計算結果間で一致した(5は実験による誤差が大きい)。一方、6化合物(黄色;7,13,8,11,12,10)は実験では活性が弱いと出たにも関わらず、計算では活性があると予測された。

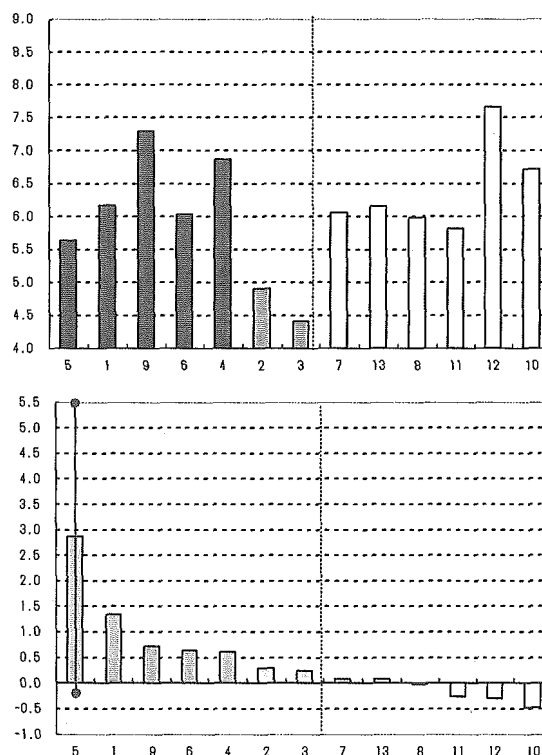


図2 上図 CoMFAモデルによる予測値
Cell-Based transactivation Assays:
log(1/EC₅₀)
下図 実験による活性値の規格値
Relative Luciferase Activity Assays
(F.L./R.L.)をDMSOとWy14643(基準化合物)で規格化した値 5は誤差が大きい(赤線)

この要因として、エステラーゼ酵素によって代謝される可能性が挙げられる。親化合物が代謝され代謝化合物に変わってしまうために、実験と予測間で異なったのではないかと考えられた。そこで、表2の化合物の中で代謝を受ける可能性がある化合物を調べた。その結果、7、9、10、11、12、13が代謝を受けると考えられた(表3)。そこで、これらの化合物が代謝を受けた後に生成されると考えられる化合物に対して、PPAR α 活性を計算した。

親リガンド	代謝によって生成すると考えられるリガンド
7	monobutyl adipate
9	monoheptyl phthalate
10	mono-butyl phthalate
11	phthalic acid monoethyl ester
12	mono-2-ethylhexyl adipate
13	mono-butyl phthalate
14	mono2-ethylhexyl phthalate

表3 代謝を受けて生じると思われる化合物

代謝を受けない化合物と受ける化合物を分けて計算結果をグラフにまとめた(図3、4)。

図3は代謝を受けない化合物に対するPPAR α 活性の予測と実験の結果を並べたものである。8を除いて、活性の強弱(強:赤、弱:青)をほぼ正しく分類することができたことがわかる(表4)。

図4は、代謝を受ける化合物に対する代謝前の親化合物と代謝後に生成される化合物のPPAR α の活性予測の結果である。この図から、代謝後に生成する化合物は親化合物よりPPAR α 活性が弱いことが予測された。実験は細胞系によるものであるため、実験による活性結果が低かったのはその化合物が代謝されたためではないかと思われる。

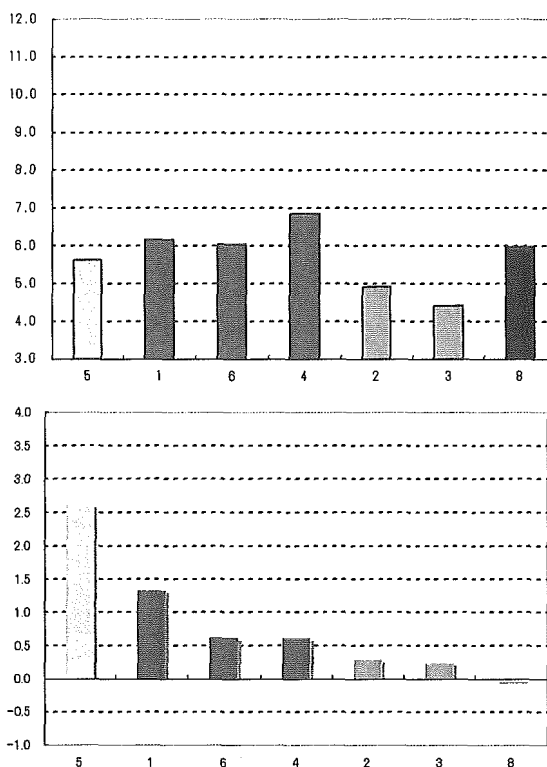


図3 代謝を受けないリガンド

上図 CoMFAモデルによる予測値
Cell-Based transactivation Assays:
 $\log(1/EC_{50})$

下図 実験による活性値の規格値
Relative Luciferase Activity Assays
(F.L./R.L.)をDMSOとWy14643(基準化合物)で規格化した値

化合物番号	5	1	6	4	2	3	8
実験	+	+	+	+	-	-	-
計算	+	+	+	+	-	-	+

表4 代謝を受けない化合物に対する実験と予測結果の比較

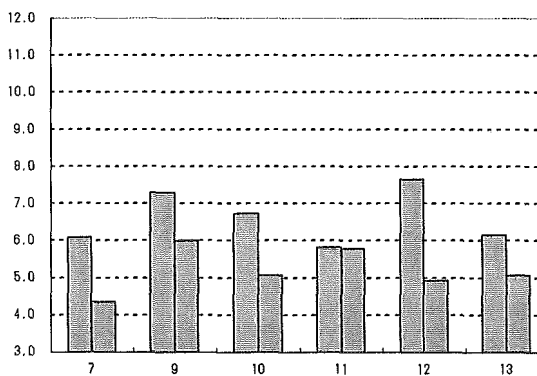


図4 代謝を受ける化合物のPPAR α 活性の予測値

■ 代謝前の親化合物
■ 親化合物の代謝後に生成される化合物

さらに、代謝生成によって生じる最終化合物の中で、PPAR α 活性が測定されている化合物に対して、同様にPPAR α の活性値を計算し、実験値と比較した(図5)。その結果、活性順位を正しく求めることができた(表5)。

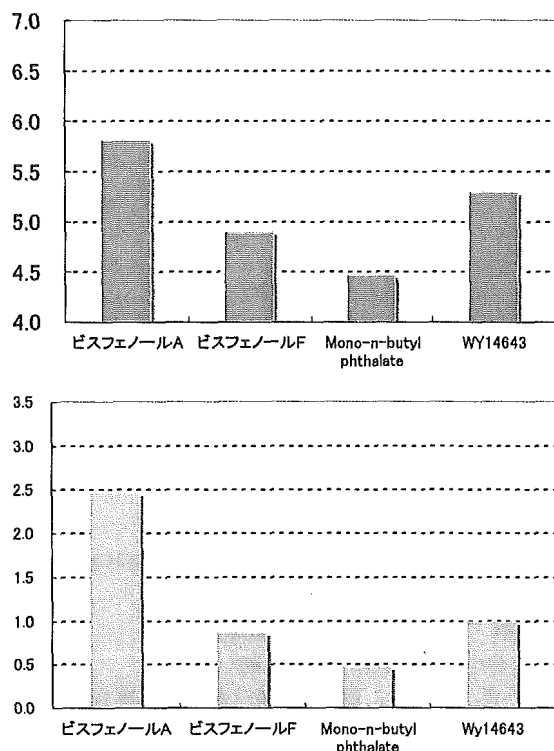


図5 代謝リガンド

上図 CoMFAモデルによる予測値
Cell-Based transactivation Assays:
log(1/EC₅₀)

下図 実験による活性値の規格値
Relative Luciferase Activity Assays
(F.L./R.L.)をDMSOとWy14643(基準化合物)で
規格化した値

	実験	計算
WY14643	++++	++++
ビスフェノールA	+++	+++
ビスフェノールF	++	++
Mono-n-butyl phthalate	+	+

表5 代謝化合物に対する実験と予測結果の比較

D. 考察

本研究で求めたPPAR α リガンドとPPAR α LBD

との複合体モデルから得られた、PPAR α との結合に関与するPPAR α リガンドの官能基の三次元空間配置(三次元ファーマコフォア)とCoMFAモデルを用いることにより、コンピュータ上での工業材料に用いられる化合物のPPAR α に関する活性予測を比較的容易に行うことができるようになるものと思われる。

E. 結論

PPAR α 活性の既知のリガンドから作成した三次元定量的構造活性相関モデル(CoMFAモデル)を使って肝毒性を示す化合物の活性の強弱を代謝も含めて予測することがほぼ可能であることがわかった。

本研究で用いた実験結果はいずれも、明治薬科大学の本島先生によるデータを頂いたものである。

F. 健康危機情報

G. 研究発表

1. 論文発表

Hirono S, Nakagome I, Imai R, Maeda K, Kusuhara H, and Sugiyama Y Estimation of the Three-Dimensional Pharmacophore of Ligands for Rat Multidrug-Resistance-Associated Protein 2 using Ligand-Based Drug Design Techniques *Pharm. Res.* 22(2) 260-269 (2005)

Katsuki M, Chuang V T G, Nishii K, Kawahara K, Nakayama H, Yamaotsu N, Hirono S and Otagiri M. Use of Photoaffinity Labeling and Site Directed Mutagenesis for Identification of Key Residue Responsible for Extraordinarily High Affinity Binding of UCN-01 in Human Alpha 1-Acid Glycoprotein *J. Biol. Chem.* 280(2) 1384-1391 (2005)

Oda A, Yamaotsu N, and Hirono S New AMBER Force-Field Parameters of Cytochrome P450s

Determined by Quantum Chemical Calculations of Simplified Models *J. Compt. Chem.* 26(8) 818-826 (2005)

Yumiko Osa, Yuka Hikima, Yoko Sato, Koichi Takino, Yoshihiro Ida, Hirono S, and Hiroshi Nagase Convenient Synthesis of Oxazolidinones by the Use of Halomethyloxirane, Primary Amine, and Carbonate Salt *J. Org. Chem.*, 70(14), 5737-5740 (2005)

S.-F. Ma, M. Anraku, Y. Iwao, K. Yamasaki, U. Kragh-Hansen, N. Yamaotsu, S. Hirono, T. Ikeda, M. Otagiri Hydrolysis of Angiotensin II Receptor Blocker Prodrug Olmesartan Medoxomil by Human Serum Albumin and Identification of Its Catalytic Active Site *Drug Metab. Dispos.* 33(12) 1911-1919 (2005)

Gouda H, Sunazuka T, Ui H, Handa M, Sakoh Y, Iwai Y, Hirono S, and Omura S Stereostructure of luminamicin, an anaerobic antibiotic, via molecular dynamics, NMR spectroscopy, and the modified Mosher method *Proc.Natl.Acad.Sci.USA*, 102(51) 18286-18291 (2005)

Oda A, Tsuchida K, Takakura T, Yamaotsu N, Hirono S Comparison of Consensus Scoring Strategies for Evaluating Computational Models of Protein-Ligand Complexes *J.Chem. Inf. Model.*, 46 (1) 380 -391 (2006)

Tsuchida K, Chaki H, Takakura T, Kotsubo H, Tanaka T, Aikawa Y, Shiozawa S, Hirono S Discovery of Nonpeptidic Small-Molecule AP-1 Inhibitors: Lead Hopping Based on Three-Dimensional Pharmacophore Model *J.Med.Chem.* 49(1) 80-91 (2006)

Yaguchi S., Fukui Y., Koshimizu I., Yoshimi H., Matsuo T., Gouda H., Hirono S., Yamazaki K.,

Yamori T. A novel phosphatidylinositol-3-kinase inhibitor, ZATK474, with potent antitumor activity and low toxicity *J. the National Cancer Institute*, in press (2006)

Gouda H, Sunazuka T, Yoshida K, Sugawara A, Sakoh Y, Omura S, and Hirono S Three-dimensional solution structure of EM703 with potent promoting activity of monocyte-to-macrophage differentiation *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, in press (2006)

2. 学会発表

中込 泉、山乙教之、広野修一 PPAR α リガンドに対する三次元定量的構造活性相関解析 構造活性相関シンポジウム(大阪) 2005.11.16 [第33回構造活性相関シンポジウム講演要旨集 p.147-150 2005.11]

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定も含む。)

1. 特許取得
なし

2. 実用新案登録
なし

3. その他

平成17年度厚生労働科学研究費補助金

(化学物質リスク研究事業)

分担研究報告書

化学物質の代謝活性化の予測モデルに関する研究

分担研究者 山添 康 東北大学大学院薬学研究科 薬物動態学分野教授

研究要旨：環境物質、農薬、医薬品などの体内動態に係わる薬物代謝酵素の基質特異性について調べ、構造活性相関の観点から解析してヒト CYP1A2 の基質特異性と代謝反応部位を予測する手法を開発した。

A. 研究目的

生体内での代謝変換の知見は、化学物質の安全性評価のための重要な情報である。ヒト環境中には多数の化学物質が含まれ、毎日多くの化学物質に我々は接触しており、また食事成分として意図的および非意図的に取り込んでいる。これら多数の化学物質の安全性を、従来手法で短期間に評価することは難しく、コストも膨大な額になる。現在添加物香料のような微量物質について簡略化のルール作りが進められている。現在のルールにも代謝経路の有無についての項目があり、安全性評価の指標の1つとなっている。

過去10年間に医薬品を中心に代謝に関する情報の流れに大きな変化があった。従来実験動物で得られた代謝情報をヒトに外挿して代謝が評価されていた。しかし代謝酵素の研究が進展してヒトと実験動物の種差が明瞭になり、ヒトにおける代謝はヒト由来の試料を用いて評価することが前提となった。同様の種差は医薬品だけでなく多くの化学物質にも当てはまる。この問題を乗り越えるためヒト酵素発現系で得られた代謝情報をデータベース化して、これを基に単一酵素ごとに基質特異性を明らかにして、この情報から未評価化

化学物質の代謝特性を予測する系を開発することを試みた。

化学物質の安全性評価において癌原性や遺伝毒性は化学物質の構造と代謝に深く関わっている。本研究ではこれら試験に深く関わるチトクロームP450のCYP1A2を取り上げ、解析した。

B. 研究方法

化学物質の代謝情報

ヒト CYP1A2 の発現系試料を用いて測定された代謝データを収集した。ヒト CYP1A2 の発現系には酵母細胞、昆虫細胞など宿主には違いがあり、補酵素からの電子伝達する NADPH-cyt. P450 還元酵素の発現レベルにも差がみられる。しかしながら今回のデータ収集ではこれらを区別せず、基質特性情報として得られたものをリストした。

化学物質の代謝についての情報精度にもかなりの違いが見られる。主代謝物のみを測定対象としたデータと副生成物を含めた定量データを含む論文もあったが、今回は必要事項の抜き出しに必要な項目のみを採用した。

データの収集は Medline を用い、PubMed 検索で該当する文献を選択した。

検索項目は、基本的に CYP1A, human liver としたが、化合物によっては該当する論文が選択されないため、

阻害薬物等の情報を付加して収集した。

C. 研究結果

得られた化学物質情報を下に示す。

Substrate	Product	CYP form1
7, 8-Dihydroxy-7, 8-dihydrobenz o[a]pyrene	9, 10-oxide	CYP1A1
3-Methylcholanthrene		CYP1A
Almotriptan		CYP3A4
Atrazine	iPr-OH	CYP1A2
Benzo[a]pyrene	3-hydroxylation	CYP1A
Benzo[a]pyrene	7, 8-oxide	CYP1A
Benzo[a]pyrene	6-OH	CYP1A
Benzo[c]phenanthrene		CYP1A2
Clozapine		CYP1A2
Coumarin	coumarin 3, 4-epoxide	CYP1A1/2
Cyclobenzaprine	N-demethylation	CYP1A2
Daidzein		CYP1A2
DMXAA	6-methylhydroxylation	CYP1A2
Fluvoxamine		CYP1A2
Furafylline	inf mechanism	CYP1A2
Imipramine		CYP1A2
JANEX-1	O-demethylation	CYP1A2
Lidocaine	N-DE	CYP1A2
Lisofylline	pentoxifylline	CYP1A2
PhIP	N-OH	CYP1A2
Primaquine		CYP1A2
Promazine	5-sulphoxidation	1A1>2B6>1A2 2C19>2B6>1A1
Promazine	N-demethylation	>1A2
Ropivacaine	3-OH-ropivacaine	CYP1A2
Ropivacaine	4-OH-ropivacaine	CYP3A4
Ropivacaine	2-OH-methyl-ropivacaine	CYP3A4
Ropivacaine	2', 6'-pipercoloxylidide	CYP3A4
Rutaecarpine	inh	CYP1A2

S 16020	Unknown	CYP1A2
Sanguinarine	inh mechanism	CYP1A2
Tacrine	7-OH	CYP1A2
Tanshinone IIA	inf	CYP1A2
Terbinafine	DHDiol	CYP1A2
Terbinafine	N-DM	CYP1A2
Thalidomide	5, 5' -OHs	CYP1A
Theophylline	demethylation	CYP1A2
Theophylline	hydroxylation	CYP1A2
Tizanidine	ring Ox	CYP1A2
Verlukast	epoxidation	CYP1A1
Zaleplon	N-DE	CYP3A4
Zolmitriptan	N-demethylation	CYP1A2
Zolpidem	alcohol deriv	CYP1A2

ここでCYPform1は主代謝酵素として報告されている分子種で、化学物質によってはCYP1A2が主酵素でなく、むしろ副次的に関与する場合、リストには他の分子種のみが記載されているものも加えた。

予測に当たっての基本的考え方

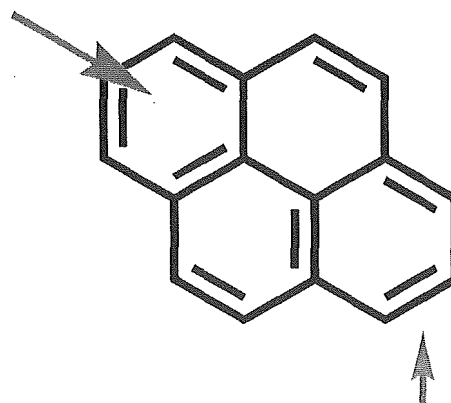
チトクロームP450の酸化反応は、基質の一部が酵素の特定部位に接触して捕捉されることではじまる。ついで、ヘム近傍の環境に合うコンフォメーションを採ったときに酵素内に固定され酸化を受ける。最初に接触する部位をtrigger siteと呼ぶ。他のP450分子種では基質構造内に基質の構造を酸化部位とオープン空間にはいる部位に分けるpinching pointと呼ぶ箇所がある。CYP1A2ではtrigger siteが平板状でその直線上にpinching pointがあると予測されるため、pinching pointの決定は不必要となる。代表的な約10種の物質についてこの原則を適用して酸化部位とtrigger siteの関係を調べた結果、酸化部位は特定範囲の距離を中心に分布することが明らかとなった。この距離はベンゼン環3個分に相当する。

この段階で、trigger pinching oxidizing各部位の同一平面性が必要な要素であることが判明したので、

これらを統一的に扱うルールとしてpyrene ruleを考案した。

Pyrene ruleについて

下図のpyreneは4環性の平面分子である。ここでCYP1A2に基質は赤字矢印の部位がtrigger siteに捕捉されると考える。平面性が重要な要素である。空間上下左右の構造が一定の条件を満たすと、緑矢印の酸化部位がヘム近傍に向かって配位して固定されると考える。これら2部位の間をさらに固定する必要があり、上下環いずれかの炭素がpinching pointを兼ねる。



このように考えると、被検化合物をpyreneと重ねることによって適合性を調べることが可能となる。

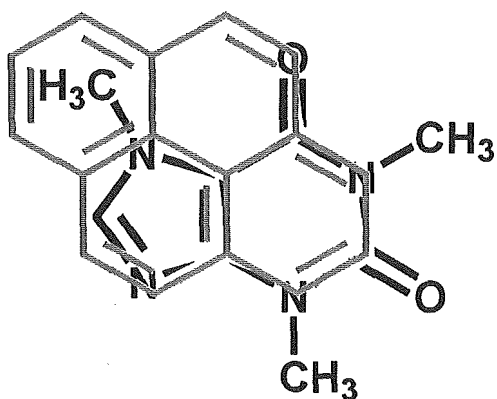
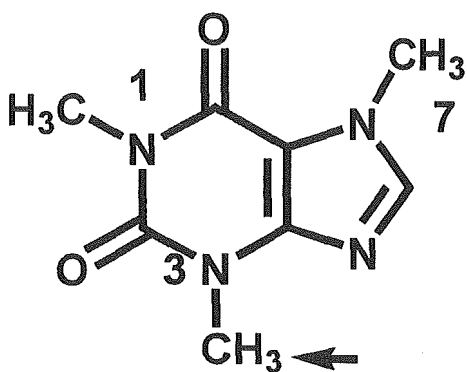
基本的には3環にわたって重なる部位の多い物質は

ど、適合性があると考えられる。

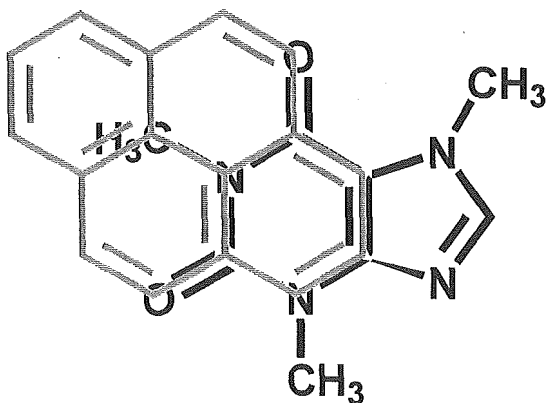
へムは緑の矢印下方から接近するので側鎖がこの下方2炭素までの範囲にあれば基質となる。

容可能である。しかしさらに延長できない。また左下に pyrene 下端を超えて伸張はできない。Trigger 部位の上は比較的余裕がある。

Caffeine の酸化反応



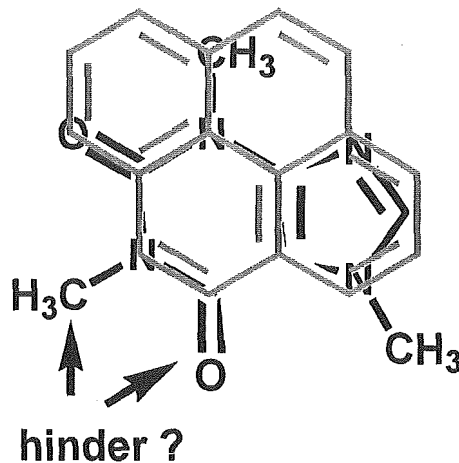
N3-methyl 基の酸化が優先する。N-7methyl 基が何とか trigger site の役目をカバーしている。



上図の配置では trigger 部位に入る部分が少なく、trigger site の平面性を保持できないと考えられる。

酸化部位右側はベンゼン環 1 個分の余裕があり、pyrene 下方の naphthalene 部は anthracene になっても収

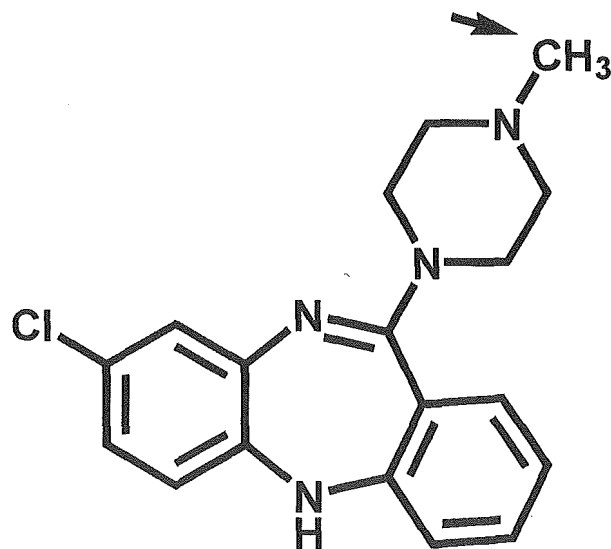
また5員環上の7-メチル基が配置に邪魔となる。



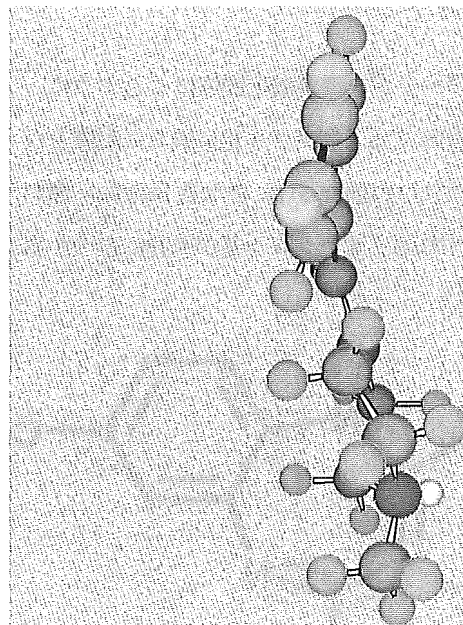
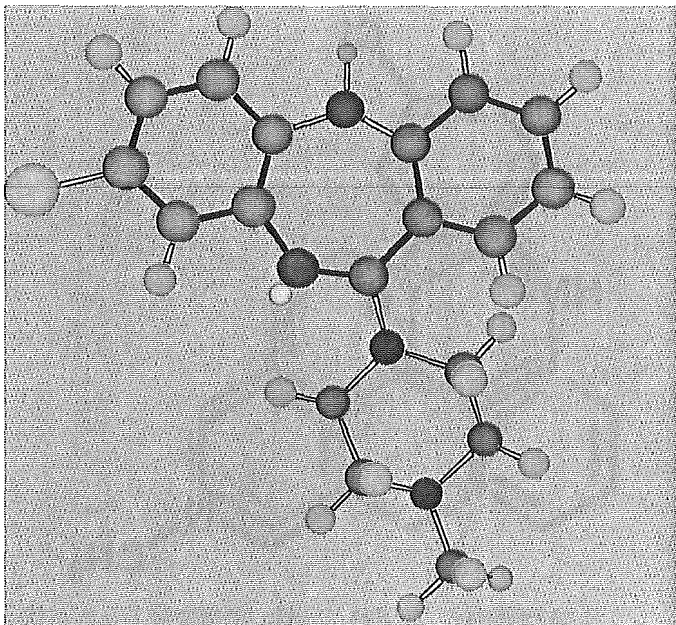
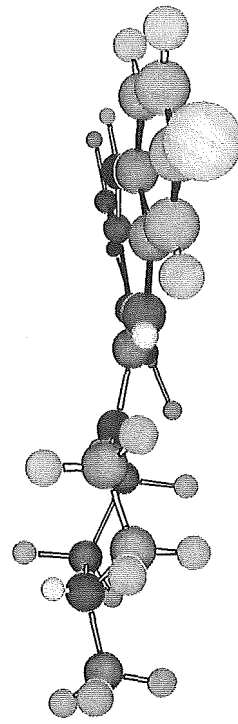
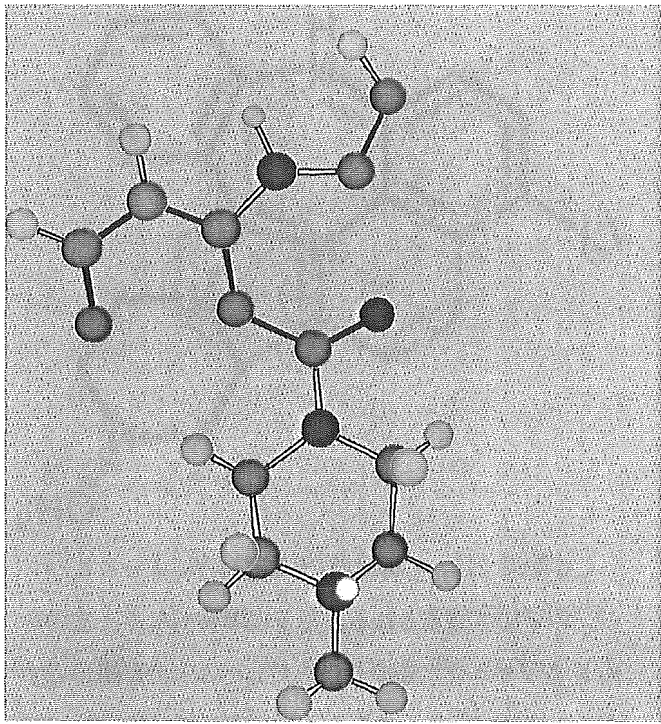
N-7-methyl 基の酸化は左下に来る carbonyl 基の障害を受ける。

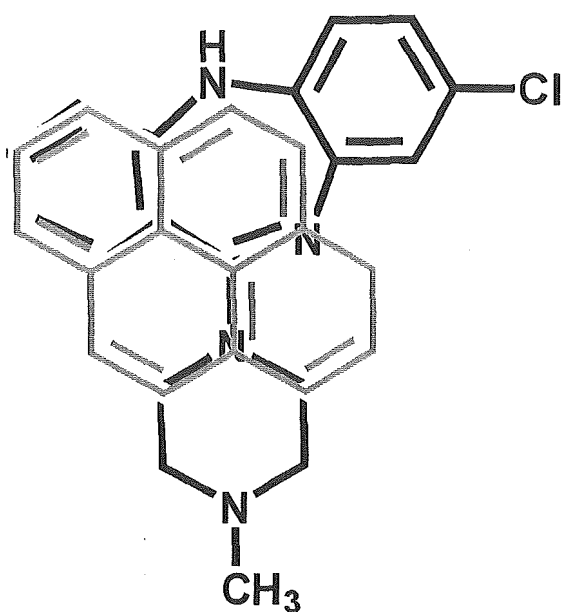
結果的に最上図に示した配置で N-3-methyl 基の酸化が優先すると判断する。

Clozapine の CYP1A2 による代謝



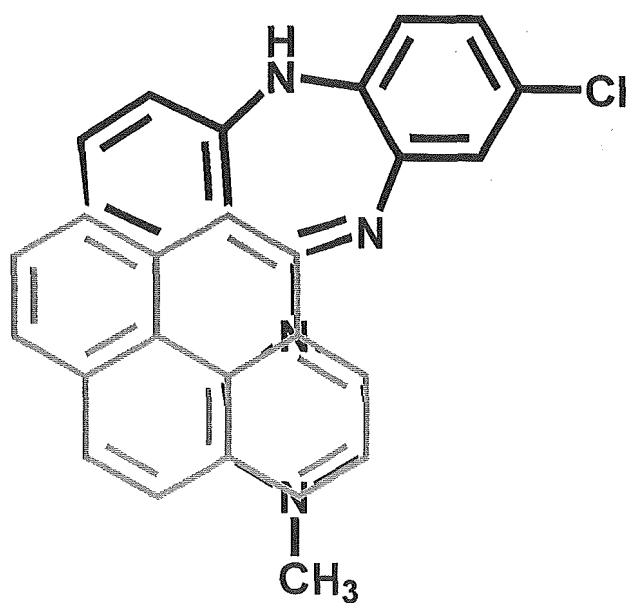
この物質は連続する3環の向きによって、この3環で作る平面に対してピペラジン環が手前あるいは奥に配置される。結果的に N-メチル基も奥あるいは手前に移動する。酸化は trigger 平面の手前で、最下部におこる。



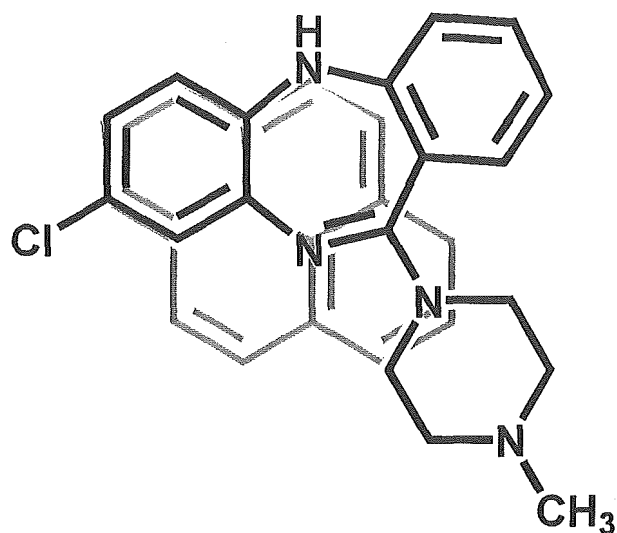


上図の配置では、trigger site への配位が可能である。しかしピペラジンの位置が適さない。またクロルベンゼン基が天井にぶつかる可能性がある。この配置は不可となる。

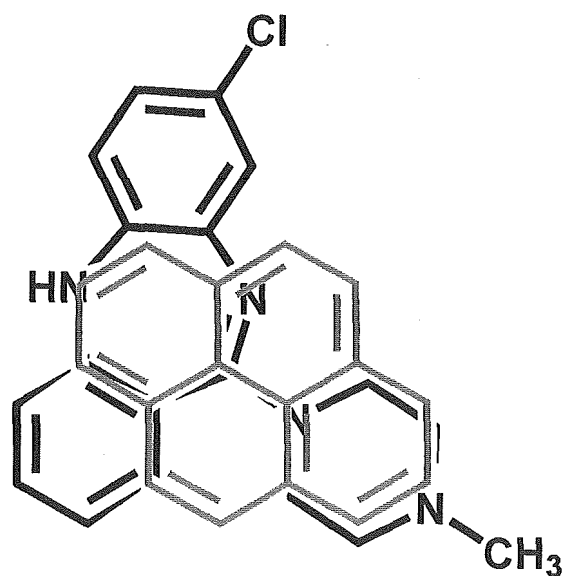
この配置で、ピペラジン環が酸化部位にくるように、pyrene を下に配置すると脱メチル化に適した配置となる(下図)。ただし trigger site となる benzene 環が pyrene からはずれる。またクロル基が天井にぶつかる可能性が高い。



7員環の2重結合等で含窒素環との平面性が保たれると考えると次の配置が適する。



この配置では、7員環のCN2重結合によってピペラジンの平面が固定される。左下に障害もなく、このためN-脱メチル化に適する。ただしヘムとの距離が近すぎる可能性がある。また右上ベンゼン環は限度いっぱいと考えられる。



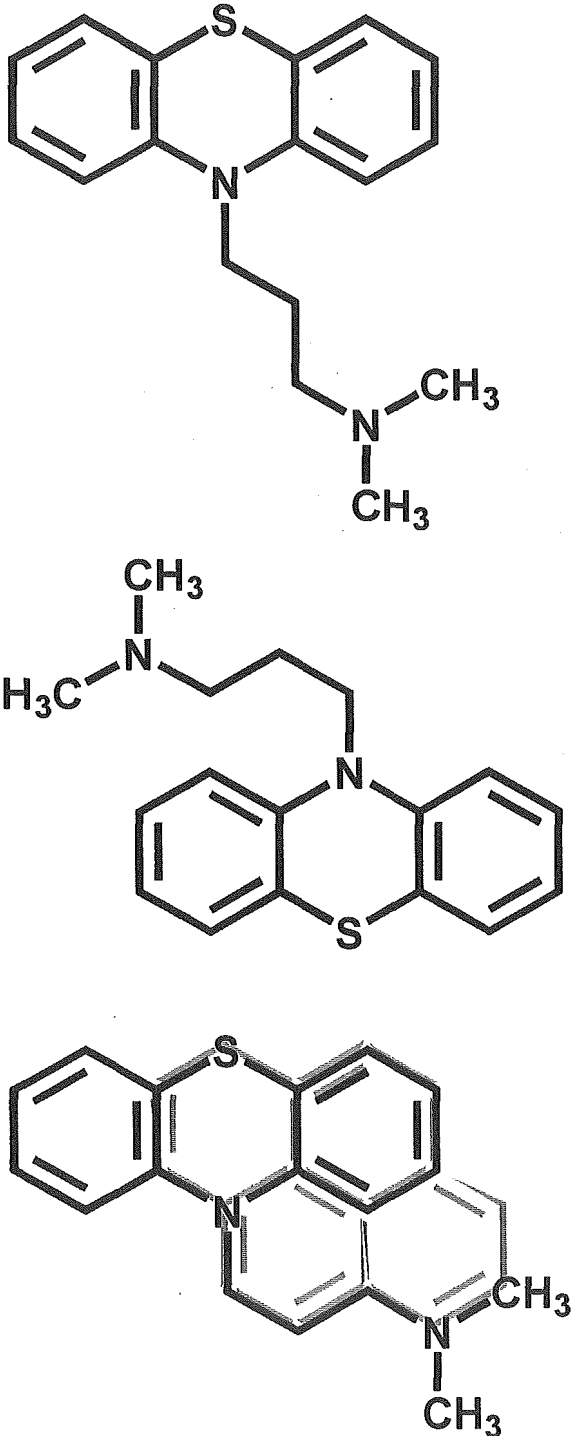
上図の配置は、左下のベンゼン環が障害となる可能性がある。この点以外は最適な配置と考えられる。Pyrene 則を適用した trigger site と酸化部位の距離が、この配置で最適となる。しかしヘムが上下に移動可能と考えれば上の配置も可能となる。

したがって最後から2番目の配置でN-脱メチル化が起こると判断できる。

クロルベンゼンおよびベンゼン環の酸化は立体障害があり、確率が低いと予想される。

Perazine の代謝

Perazine は CYP1A2 によって N- 脱メチル化され、一部は S-酸化される。この化合物では N-dimethylpropyl 側鎖が基質認識に関わると考える。このため右下の配置を採ると考えると pyrene 則を適用できる (下図)。

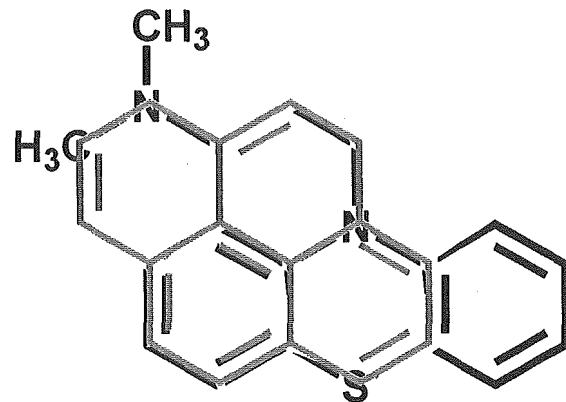


脱メチル化の配置

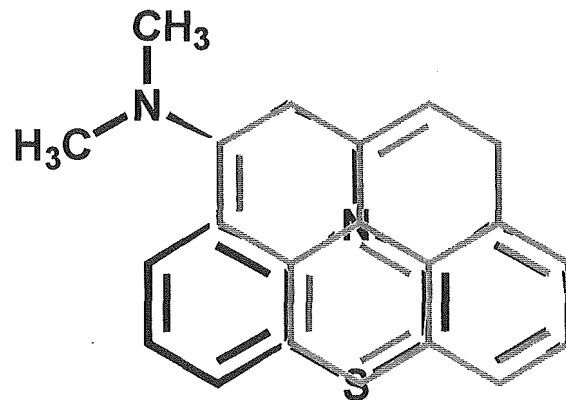
trigger のあと側鎖が平面上に並んだコンフォーマーが酵素に捕捉されると考える。下の S-酸化と 3-水酸化は側鎖の自由度が大きいことから平面上配置を採る

確率が低い。しかし並んだ配置を採ると残りの構造が平面なためある程度進行する。

逆に側鎖が trigger されると硫黄の酸化と 3-水酸化反応が起こる。ジメチルアミノ基が、ベンゼン環とともに trigger 部位を形成した場合、硫黄の酸化が起こる。この配置は、手前下の障害が少ないので可能となる。しかしベンゼン環の 3 位酸化反応は trigger の確率が一番少ないことと左下の障害のためゆっくりしか進行しないと考える。



S-酸化の配置



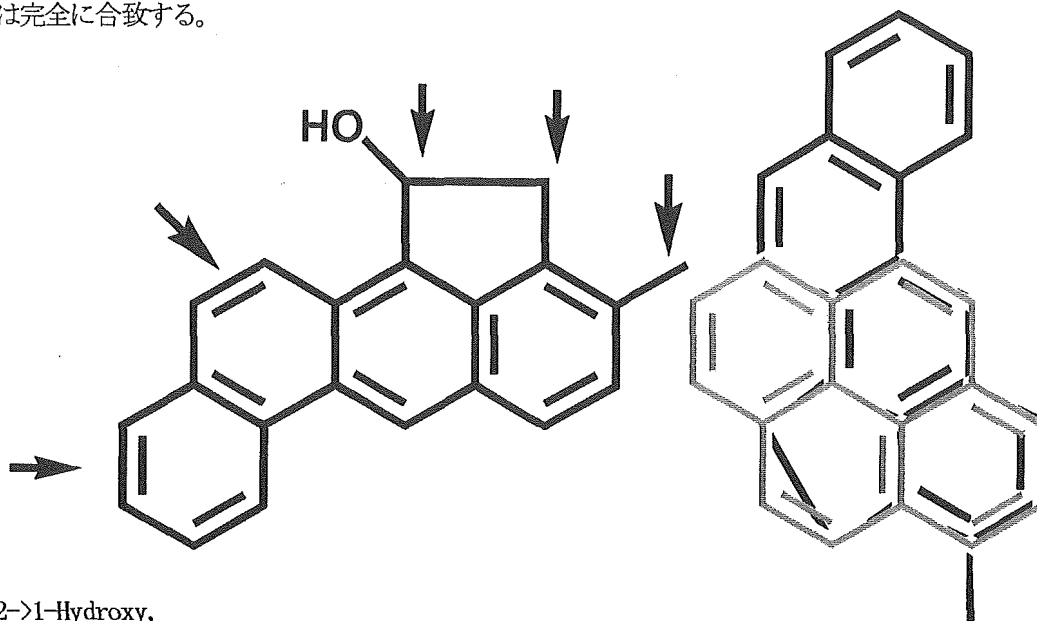
minor 3-hydroxylation の配置

3-Methylcholanthrene の場合

ヒト酵素について情報が不明であるが、ラットでは 1 位および 2 位が水酸化され、末端環の 9, 10 および 11, 12 が酸化によってエポキシドに変換される。3 位メチル基の水酸化も生成する。PAH で処置したラットの肝ミクロソームでは圧倒的に 2 位酸化が進行する。

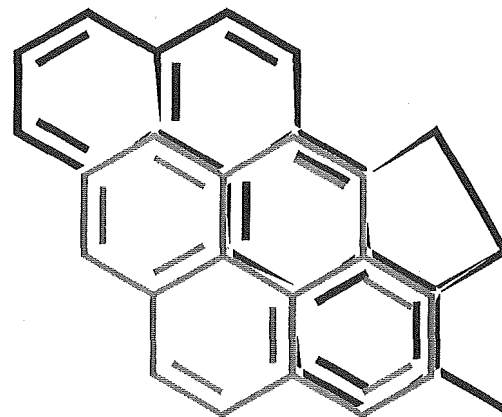
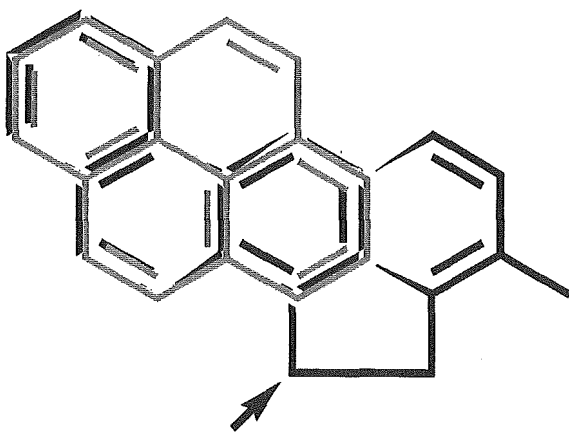
Pyrene 則を適用すると 1 水酸化は下方右側が限度であるが、5 員環が酸化部位にはまる。アレンオキシド

は完全に合致する。



2→1-Hydroxy,

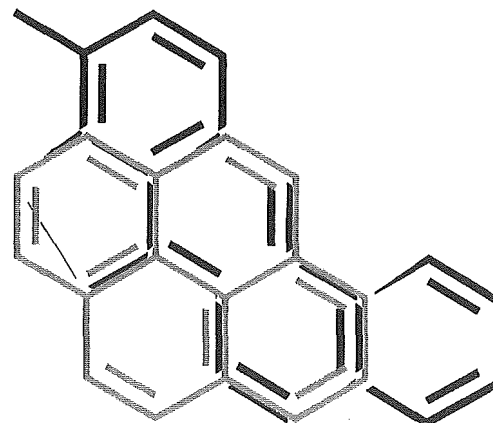
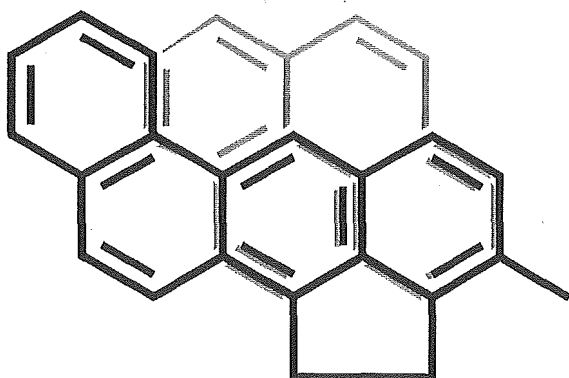
3-hydroxy, 9, 10-, 11, 12-oxides が生成する。



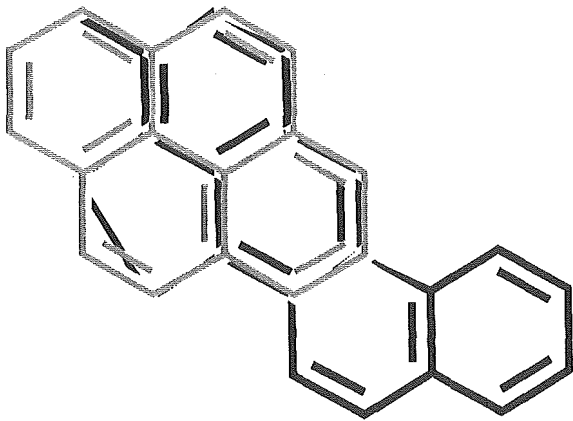
1、2-酸化に比べ、3位は配置しやすく、上の配置で3-methyl hydroxylation が適する。

Fitting for 2-hydroxylation

右下にトルエン環が来る。サイズが大きく限度いっぱいと考え。

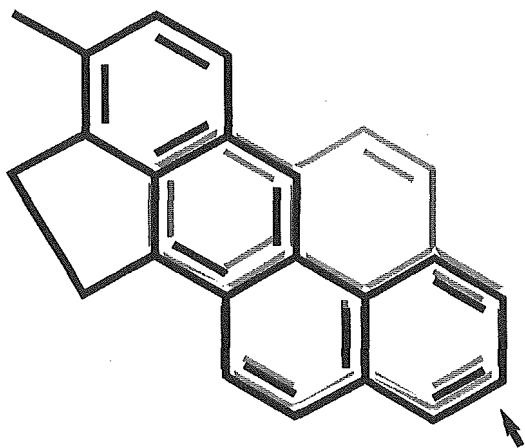


酸化部位の左下に酸化部位以外の基を配置できないので、1-hydroxylation はうまく適合しない。



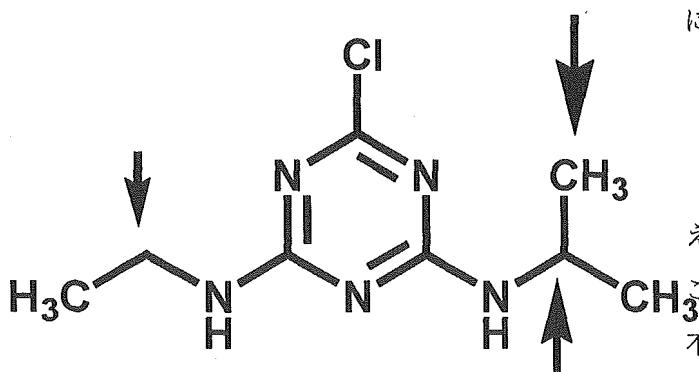
11, 12 oxide 生成反応は、前ページの配置で可能となる。上の配置は適合しない。

一方 9, 10-oxide 生成反応は下図の配置で pyrene 則に適合する。



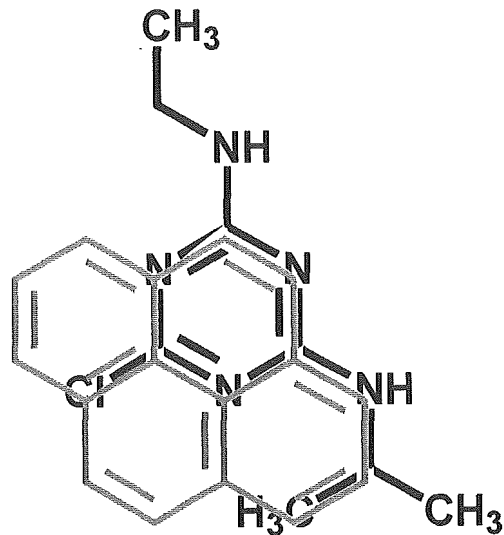
9, 10-oxide 生成部位

Atrazine の酸化代謝

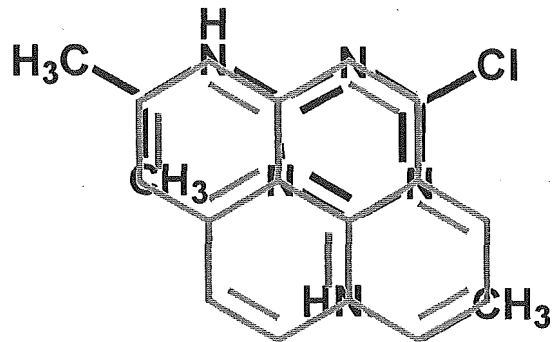


Atrazine

この物質は、矢印の部位が CYP1A2 によって酸化される。



イソプロピル基もエチル基も Pyrene 則に当てはまる配置をとることが可能である。クロル原子があることよって trigger されやすい配置になっていると考えられる。



上図のようにクロル原子が関与しないで pyrene 則に当てはめることも可能で、特にエチル基が酸化される場合には適合は位置となる。Atrazine の trigger は弱い、トリアジン環が固定された場合、上の配置で主に脱アルキル化が進行すると予想できる。

Pimobendan の酸化反応

Pimobendan は平面性を保持しやすい性質を持つと考えられる。Pyrene 則を適用すると 3カ所が予想できる。ここで左下の配置は酸化部位の先に長い基があるため不可となる。右上はうまく適合しているが、酸化部位がアミド構造のため不活性である。

唯一右下の構造は酸化部位にメトキシ基が配置される。