

研究ノート

ベンゾシクロヘプタオキサジン類およびクロルクロマジン類の古典的定量構造活性相関および Protein-Ligand Docking 相互作用

Quantitative Structure-Activity Relationship and Protein-Ligand Docking Interaction on Benzocycloheptaoxazines and Chlorpromazines

栗原 照夫^{*1}・榊原 寿子^{*1}・野口 祥太^{*1}・若林 英嗣^{*2}

KURIHARA, Teruo^{*1}; SAKAKIBARA, Toshiko^{*1}; NOGUCHI, Shota^{*1};

WAKABAYASHI, Hidetsugu^{*2}

26 種のベンゾシクロヘプタオキサジン類および 20 種のクロルクロマジン類の正常細胞およびガン細胞に対する 50%細胞障害活性濃度(CC₅₀;μM)が報告されている。最初にこれら化合物の CC₅₀ と電子状態との古典的構造活性相関(Classical Quantitative Structure-Activity Relationship:Classical QSAR)を検討し、良好な相関式を求めた。その後、ベンゾシクロヘプタオキサジン類はシクロオキシナーゼ-2 (COX-2) と、クロルクロマジン類は d(CGTAGATCTACG)₂ 分子とのリガンド-ドッキング係数を計算ソフト Genetic Optimisation for Ligand Docking (GOLD)を用いて算出し、薬理作用発現解明の手掛かりとした。

1. 序論

以前、野副と石川・若林グループ(城西大学)はベンゾシクロヘプタオキサジンを合成し、この化合物は特異な複素環交換反応を行うことを見出し多種の化合物を合成した。¹⁻¹⁸⁾ また、シクロヘプタ[b]フラン-2-オン類とビニールエーテル類との新規な反応により様々なアズレン誘導体を報告した。さらに、アズレン類の過ブロム化反応により一段階でアズレンキノン類を与える新

^{*1}城西大学理学部化学科物理有機化学研究室；^{*2}城西大学理学部化学科天然物有機化学研究室

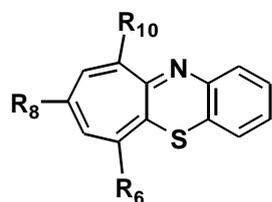
い反応を見出し様々な誘導体を報告した。¹⁹⁻³¹⁾しかし、これらの化合物の系統的な薬理活性試験は行われていなかったため、坂上(明海大学)一本橋(明治薬科大学)一若林(城西大学)のグループはアズレン類³²⁾、トロポロン類³³⁾、トリハロアセチルアズレン類³⁴⁾およびアズレンキノン類³⁵⁾のヒト正常細胞およびヒトガン細胞の CC_{50} を測定し報告している。また、これら CC_{50} と classical QSAR は栗原・若林(城西大学)一坂上(明海大学)一本橋(明治薬科大学)一Molnar(ハンガリー)のグループが研究し、比較的良好な相関式を報告した。³⁶⁻³⁸⁾

一方、フェノチアジン、ベンゾ[a]フェノチアジン、ベンゾ[c]アクリジン類は抗腫瘍性または抗ガン活性等の生化学的活性が報告されている。また、これらの化合物の電子状態と薬理作用との Classical QSAR についても報告した。³⁹⁻⁴⁰⁾

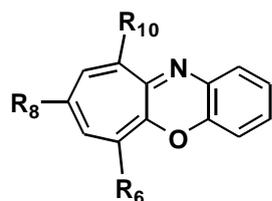
この研究ノートでは 26 種のベンゾシクロヘプタオキサジン類および 20 種のフェノチアジン類の電子状態と CC_{50} との Classical QSAR を議論し、さらに COX-2 との Protein-Ligand Docking Fitness を Genetic Optimisation for Ligand Docking(GOLD)⁴¹⁾ ソフトを用いて検討し、薬理作用発現の手掛かりを見つけ出すことを目的とした。また、クロルプロマジンを含むフェノチアジン類の薬理作用についても GOLD ソフトを用いて d(CGTAGATCTACG)₂ 分子との相互作用を検討した。その結果、生体関連化合物との相互作用についてある程度の知見が得られた。

2. 計算方法

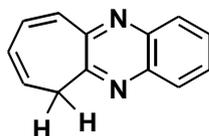
26 種のベンゾシクロヘプタオキサジン類 [1-26] を Figure 1 に示す。また、20 種のフェノチアジン類[27-46] を Figure 2 に示す。これら 46 種の化合物をハミルトニアン AM1 法または PM3 法(win MOPAC version 3.9, Fujitsu LTD) により気相中と水溶液中での構造最適化を行った。また、9 種のベンゾ[a]フェノチアジン類および 12 種のベンゾ[c]アクリジン類についても検討したが、今回は省略する。水溶液中の計算は Conductor-Like Screening Model Orbital (COSMO)で行い、パラメーターは標準値 (NSPA=60, dielectric constant = 78.4 at 25°C) を用いた。また、静電ポテンシャル(ESP) 計算も行い、4 種の双極子モーメント (μ) を算出した。即ち、気相中および水溶液中の双極子モーメント (μ_g , μ_w) と ESP 計算による双極子モーメント (μ_{ESP-G} , μ_{ESP-W}) である。COX-2 (PDB ID:ICVU) および d(CGTAGATCTACG)₂ (PDB ID:119D) は Protein Data Bank より構造をダウンロードし、119D は PM3 法で MOZYME を用いて構造最適化を行った。COX-2 はダウンロードした構造をそのまま用いた。これらの作業には Chem 3D Pro Ver.5.0, CAChe Pro Ver.6.1 を併用した。計算は DEL XPS DXG061 パソコンを用いた。



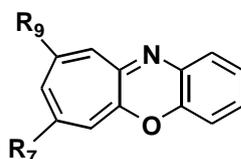
- 1: $R_6, R_8, R_{10} = H$
 2: $R_6, R_8 = Br; R_{10} = H$
 3: $R_6, R_8, R_{10} = Br$



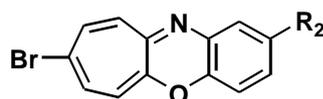
- 6: $R_6, R_8, R_{10} = H$
 7: $R_6 = Br; R_8, R_{10} = H$
 8: $R_6, R_8 = Br; R_{10} = H$
 9: $R_6, R_8, R_{10} = Br$
 10: $R_6, R_{10} = H; R_8 = Br$
 13: $R_6, R_{10} = H; R_8 = iPr$
 15: $R_6, R_8, R_{10} = Br$
 16: $R_8 = OAc; R_6, R_{10} = H$
 17: $R_6 = OAc, R_8 = Br, R_{10} = H$



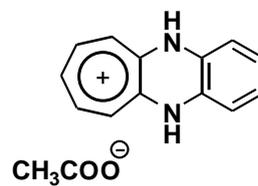
4



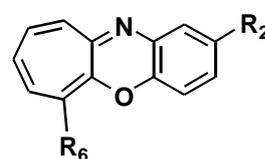
- 11: $R_7 = Br, R_9 = H$
 12: $R_7 = H, R_9 = Br$
 14: $R_7 = H, R_9 = iPr$
 18: $R_7 = H, R_9 = OAc$



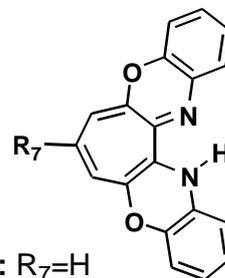
- 22: $R_2 = Me$
 23: $R_2 = Cl$



5



- 19: $R_2 = Me, R_6 = H$
 20: $R_2 = Me, R_6 = Br$
 21: $R_2 = Cl, R_6 = Br$



- 24: $R_7 = H$
 25: $R_7 = Br$
 26: $R_7 = iPr$

Fig. 1. Structure of 26 benzocycloheptaoxazines [1-26]

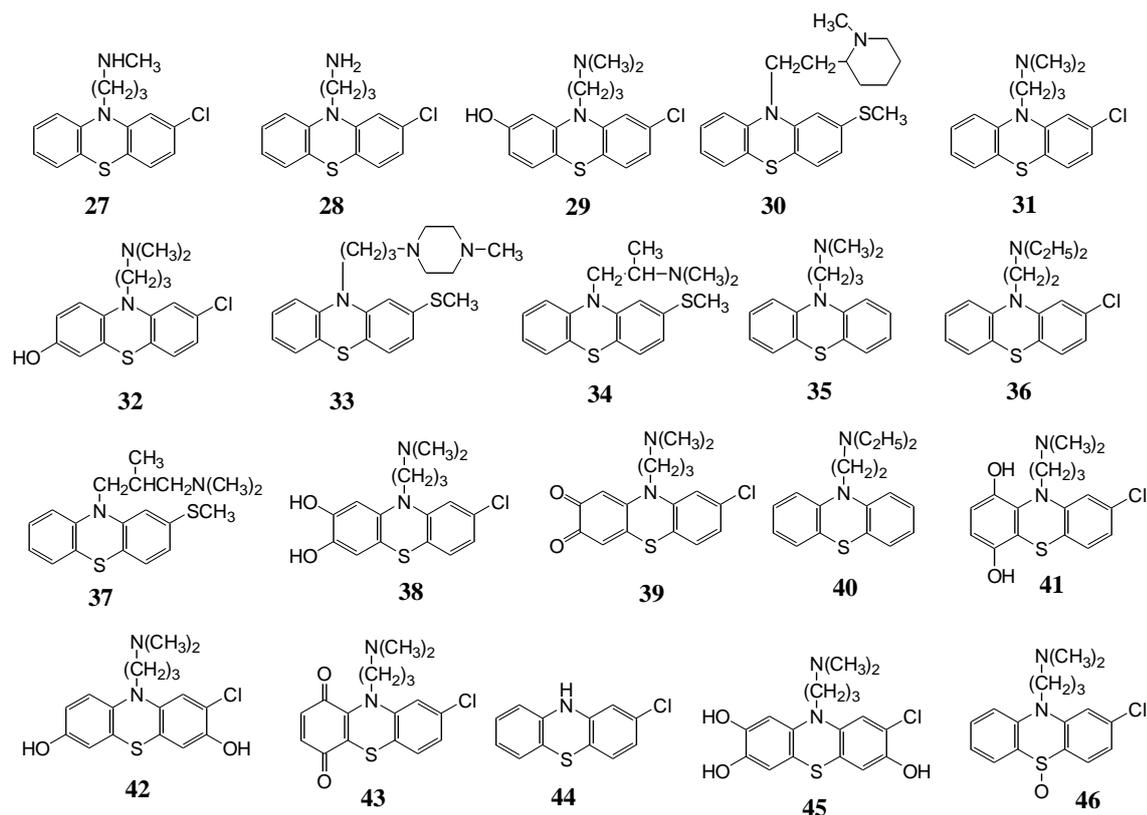


Fig.2. Structure of Phenothiazones [27-46]

3. 結果と考察

3.1 ベンゾシクロヘプタオキサジン類 [1-25]の古典的構造活性相関

先ず、ベンゾシクロヘプタオキサジン類 [1-25]の投与によるヒト正常細胞 (HGF, HPLF, HPC) 3種とヒトガン細胞 (HSC-2, HSC-3, HSC-4, HL-60) 4種の CC_{50} を MTT 試薬で染色して吸光度を測ることにより、求めた。結果を Table 1 に示した。ここで TS 値は腫瘍選択的細胞障害活性を表している。TS 値は値が大きいほど毒性選択性が高く、正常細胞に対する毒性が無く、ガン細胞に対する毒性が強いことを示す。従って、抗ガン効果が期待できる。逆に、TS 値が小さいと正常細胞に対して毒性が強い。ガン細胞に対する毒性が弱いので、抗ガン効果は期待できないことを表している。

Hansch-Fujit⁴²⁾ は Classical QSAR 式を提案している。QSAR 式は概略すると

$$\text{薬理活性} = \text{疎水性項} + \text{電子的項} + \text{立体項}$$

で表すことができる。疎水性項は水-オクタノール系での分配係数 LogP で求められるが、堀⁴³⁾ らは LogP の代わりにある化合物の気相中と水溶液中との全エネルギーの差 dGW を用いることを提案した。今回の研究でも dGW を用いた。Table 1 に示した CC_{50} 値の内、 $CC_{50} > 500.0$ と大きい化合物は除き、比較的データのばらつきがない、正常細胞 HGF とガン細胞 HSC-3 に対して Classical QSAR 解析を行い、相関式を導き出した。ここでは dGW を $\Delta\Delta H_f$ で表現した。

Table 1. Cytotoxic activity of benzocycloheptaoxazines against human normal and tumor cells

Compound	Cytotoxic activity (CC ₅₀ : μ M)							
	Human tumor cell lines				Normal human cells			
	HSC-2	HSC-3	HSC-4	HL-60	HGF	HPC	HPLF	TS
1	486.1	449.2	>500.0	149.1	> 500.0	>500.0	499.6	1.3
2	87.9	51.5	60.2	9.6	23.2	77.2	24.4	0.8
3	11.1	13.5	18.5	15.1	63.9	87.2	95.2	5.6
4	25.3	36.8	46.7	13.7	73.6	84.2	177.6	3.7
5	>500.0	449.3	>500.0	406.2	> 500.0	>500.0	>500.0	1.1
6	264.5	202.3	328.8	42.7	349.0	369.7	379.8	1.7
7	37.2	16.3	75.6	12.7	74.8	97.4	106.9	2.6
8	267.4	165.6	319.7	231.4	451.3	397.2	414.0	1.7
9	28.6	47.0	34.8	27.4	406.9	383.6	500.0	12.5
10	90.0	90.0	142.2	34.5	278.1	310.8	176.0	2.9
11	83.3	57.2	123.2	10.7	126.7	128.9	190.4	2.2
12	71.8	53.7	91.9	36.9	71.2	69.2	156.1	1.6
13	51.3	38.3	79.4	18.0	298.1	263.1	310.9	6.2
14	109.2	70.9	158.5	27.8	173.7	273.1	232.4	2.5
15	84.0	63.1	174.1	22.4	301.1	360.0	376.7	4
16	18.9	15.2	25.6	6.6	11.3	41.1	39.3	1.8
17	57.1	43.4	84.5	11.0	356.3	144.4	179.9	4.6
18	209.6	140.8	352.5	58.3	> 500.0	>500.0	>500.0	2.6
19	91.9	65.9	134.7	19.8	157.1	230.1	186.1	2.4
20	16.4	13.3	26.0	6.1	167.7	103.1	149.9	9.1
21	25.2	21.5	47.9	13.8	124.9	358.6	449.6	11.5
22	100.0	62.0	179.8	141.0	136.4	338.8	284.4	2.1
23	72.1	60.4	236.8	20.8	346.7	366.6	418.6	3.9
24	>500.0	442.8	>500.0	326.4	> 500.0	>500.0	>500.0	1.1
25	444.5	344.0	430.5	67.6	> 500.0	>500.0	>500.0	1.6
26	>500.0	450.3	>500.0	148.2	> 500.0	>500.0	>500.0	1.3

ガン細胞 HSC-3 の CC₅₀ に対して、気相中と水溶液中との全エネルギーの差 $\Delta\Delta H_f$, 気相中の HOMO エネルギー($E_{\text{HOMO-G}}$)および ESP 計算で求めた水溶液中の Dipole moment ($\mu_{\text{ESP-W}}$)を Classical QSAR パラメーターとして多重回帰分析を行い、次の相関式を導きだした。個々の QSAR パラメーターを用いて多重回帰分析を行うと、 r^2 および F 値も小さく、従って、上記のパラメーターを用いた。解析に用いた 5 個の化合物は任意に選んだ。

$$CC_{50} = 3168.82 + 1.31 \times \Delta\Delta H_f + 354.95 \times E_{\text{HOMO-G}} - 77.8 \times \mu_{\text{ESP-W}} \quad (\text{式 1})$$

$$n = 5 (4, 6, 18, 23, 24), r^2 = 0.998, F = 220.51.$$

また、正常細胞 HGF の CC₅₀ に対しては、気相中と水溶液中との全エネルギーの差 $\Delta\Delta H_f$, 気相中の HOMO エネルギー($E_{\text{HOMO-G}}$)および気相中の Dipole moment (μ_G)を Classical QSAR パラメーターとして多重回帰分析を行い、次の相関式を導きだした。

$$CC_{50} = -1066.20 + 1.46 \times \Delta\Delta H_f - 121.12 \times E_{\text{HOMO-G}} + 110.53 \times \mu_G \quad (\text{式 2})$$

$$n = 5 (7, 15, 17, 19, 22), r^2 = 0.999, F = 2121.0.$$

Table 2. QSAR parameters of benzocycloheptoxazines derivatives.

Compound No.	$\Delta\Delta H_f$ (kJ/mol)	HOMO (eV)		LUMO (eV)		Dipole moment (in Debye units)			
		in gas phase	in water	in gas phase	in water	μ_G	μ_{ESP-G}	μ_W	μ_{ESP-W}
1	24.51	-7.61	-7.83	-0.81	-1.06	1.26	2.65	1.52	2.96
2	21.96	-7.95	-8.09	-1.31	-1.47	1.63	1.99	1.72	2.28
3	21.58	-8.08	-8.16	-1.50	-1.62	2.24	3.19	2.20	3.35
4	26.65	-8.72	-8.85	-0.94	-1.18	0.56	1.04	0.45	0.97
6	24.68	-7.99	-8.20	-0.84	-1.07	1.08	2.33	0.90	2.22
7	24.38	-8.16	-8.34	-1.04	-1.24	0.67	1.07	0.25	0.88
8	23.14	-8.34	-8.47	-1.23	-1.37	1.68	1.90	1.03	1.33
9	23.13	-8.46	-8.56	-1.38	-1.48	1.83	2.31	1.23	1.81
10	23.98	-8.18	-8.33	-1.03	-1.19	1.31	1.56	0.77	1.25
11	24.12	-8.19	-8.35	-1.08	-1.23	0.64	0.67	0.23	0.66
12	22.99	-8.18	-8.33	-1.12	-1.30	1.64	2.33	0.93	1.80
13	24.73	-7.91	-8.17	-0.79	-1.07	1.45	2.64	1.31	2.56
14	24.66	-7.92	-8.19	-0.81	-1.10	1.24	2.51	1.11	2.43
15	44.23	-8.04	-8.30	-0.93	-1.20	1.93	2.97	1.84	2.94
16	41.93	-7.99	-8.27	-0.90	-1.17	1.97	2.90	2.00	2.93
17	42.41	-8.21	-8.42	-1.12	-1.35	2.56	3.32	2.19	3.09
18	42.44	-8.03	-8.32	-0.96	-1.26	1.55	3.01	1.61	2.98
19	25.00	-7.95	-8.18	-0.81	-1.07	0.77	2.04	0.61	1.96
20	24.58	-8.12	-8.32	-1.01	-1.24	0.75	0.92	0.28	0.63
21	23.58	-8.29	-8.40	-1.21	-1.33	1.74	2.94	1.27	2.59
22	24.16	-8.14	-8.31	-1.00	-1.19	1.55	1.63	0.97	1.25
23	23.46	-8.31	-8.39	-1.19	-1.28	1.39	2.54	1.02	2.32
24	29.41	-7.52	-7.76	-1.04	-1.24	1.14	1.57	0.70	1.21
25	28.36	-7.67	-7.85	-1.24	-1.41	2.49	3.79	1.50	2.96
26	32.04	-7.46	-7.97	-1.00	-1.24	1.10	1.75	0.80	1.52

前述したように、QSAR パラメーターとして、 $\Delta\Delta H_f$ HOMO および LUMO エネルギー、4 種の双極子モーメントの値を採用した。ベンゾシクロヘプタオキサジン類の $\Delta\Delta H_f$ の値は次の順に増加している。[3] ($\Delta\Delta H_f = 21.58$ kJ/mol) < [2] (21.96 kJ/mol) < [12] (22.99 kJ/mol) < [9] (23.13 kJ/mol) < [8] (23.14 kJ/mol) < [23] (23.46 kJ/mol)。また、気相中の HOMO エネルギー (E_{HOMO-G}) は次の順に不安定化している。[26] (-7.46 eV) < [24] (-7.52 eV) < [1] (-7.61 eV) < [25] (-7.67 eV) < [14] (-7.92 eV)。更に、水溶液中の ESP/PM3 計算での双極子モーメント(μ_{ESP-W})は次の順に大きな値となる。[20] (0.63 D) < [11] (0.66 D) < [7] (0.88 D) < [4] (0.97 D)。一方、[20]の HSC-3 細胞に対する CC_{50} 値は最も小さく、($CC_{50} = 13.3$ μ M), ついで [3] (13.5 μ M), [16] (15.2 μ M) and [21] (21.5 μ M)。これらの個々の QSAR パラメーター値と CC_{50} との相関を見つけることは出来なかった。

正常細胞 HFG に対しての Classical QSAR は HSC-3 細胞に用いたパラメーター、 $\Delta\Delta H_f$, E_{HOMO-G} および μ_{ESP-W} を用いても良い相関式を見出せなかった。そこで、 μ_{ESP-W} の代わりに気相中の双極子モーメント μ_G を用いた。気相中の μ_G は次の順に大きな値となっている。[4] (0.56 D) < [11] (0.64 D) < [7] (0.67 D) < [20] (0.75 D) < [18] (0.77D) < [14] (1.24 D)。式 2 を用いて期待値と実測値を比較すると、化合物 [24-26] の CC_{50} の実測値は 500.0 μ M 以上であるが、計算からはそれぞれ、60.1 μ M, 323.1 μ M, 77.4 μ M と予想される。他にも期待値と実測値とが離反する化合物があり、Classical QSAR の限界を示していると考えられる。

Table 3. Observed and estimated cytotoxic activity of benzocycloheptoxazines.

Compound	Cytotoxic activity (CC ₅₀ : μ M)			
	Human tumor cell lines		Normal human cells	
	HSC-3		HGF	
	obs.	estim.	obs.	estim.
1	449.2	269.7	500.0	184.4
2	51.5	196.9	23.2	148.9
3	13.5	69.4	63.9	296.4
4	36.8	35.1	73.6	143.3
6	202.3	193.1	349.0	194.3
7	16.3	235.3	74.8	76.1
8	165.6	136.2	451.3	187.4
9	47.0	54.9	406.9	247.9
10	90.0	199.7	278.1	132.2
11	57.2	243.5	126.7	34.9
12	53.7	154.5	71.2	216.0
13	38.3	194.8	298.1	219.5
14	70.9	200.9	173.7	206.0
15	63.1	145.8	301.1	300.3
16	15.2	160.6	11.3	283.5
17	43.4	70.2	356.3	357.1
18	140.8	140.8	500.0	301.1
19	65.9	229.2	157.1	158.0
20	13.3	270.8	167.7	54.6
21	21.5	54.3	124.9	298.0
22	62.0	215.6	136.4	134.2
23	60.4	68.4	346.7	255.8
24	442.8	445.7	500.0	60.1
25	344.0	253.6	500.0	323.1
26	450.3	443.8	500.0	77.4

3.2. フェノチアジン類[27-46]の古典的構造活性相関

フェノチアジン類 [27-46] の電子状態と最適化構造を PM3 法で計算した。PM3 法での最適化構造はわずかに非平面構造である。N10-S5 軸に対して二つのベンゼン環は約 $165. \pm 5^0$ であった。気相中では C5a-S5-C4a-C4 の二面角は $161-173^0$ となり、C9a-N10-C10a-C1 の二面角は $161-170^0$ となった。しかし、化合物 [46] は非平面構造をとる。また、水溶液中でもほぼ同じ構造であった。気相中、化合物 [31] の N10 位とプロピレン窒素原子の距離は 5.071 \AA であり、化合物 [30] と [33] ではその距離はそれぞれ 4.434 \AA と 4.390 \AA であり、活性の無い、二つのメチレン基と N10 位との距離は 3.859 \AA となっている。N10 位と側鎖末端窒素原子間の距離が薬理活性に関与している。*E. coli* K12 に対する 20 種のフェノチアジン類 [27-46] の Antibacterial activity (MIC 値) が報告されており、MIC と電子状態との QSAR を検討した。QSAR パラメーターとして、 $\Delta\Delta H_f$ HOMO および LUMO エネルギー、4 種の双極子モーメントの値を採用した。フェノチアジン類の $\Delta\Delta H_f$ の値は次の順に増加している。[44] ($\Delta\Delta H_f = 42.33 \text{ kJ/mol}$) < [36] (48.33 kJ/mol) < [34] (50.38 kJ/mol) < [31] (53.85 kJ/mol) < [35] (54.16 kJ/mol) < [27] (54.89 kJ/mol)。また、気相中の HOMO エネルギーは

次の順に不安定化している。 [30] (-7.78 eV) < [34] (-7.89 eV) < [36] = [37] (-7.94 eV) < [45] (-7.95 eV) < [38] (-7.96 eV)。更に、気相中の ESP/PM3 計算では次の順に大きな値となる。[43] (0.65 D) < [27] (0.73 D) < [35] (0.85 D) < [31] (1.07 D) < [33] (1.40 D) < [45] (1.54 D)。一方、[1]の *E. coli* K12 に対する MIC 値は最も小さく、(MIC = 0.47 x 10⁻⁴M), ついで [2] (0.73 x 10⁻⁴M), [3] (0.90 x 10⁻⁴M) and [4] (1.90 x 10⁻⁴M)。これらの antibacterial activity は個々の QSAR パラメーター値は相関が見つけることは出来なかった。

Table 4. QSAR parameters of phenothiazines [27-46]

Compound No.	MIC	M.W.	ΔH_f (in kJ/mol)				$\Delta\Delta H_f$ / M.W.	$E_{H(g)}$	$E_{H(w)}$	$E_{L(g)}$	$E_{L(w)}$	Dipole moments (in Debye units)			
			in gas	in water	$\Delta\Delta H_f$	$\Delta\Delta H_f$ / M.W.						μ_G	μ_{ESP-G}	μ_W	μ_{ESP-W}
27	0.47	304.84	203.12	148.23	54.89	0.18	-8.06	-8.58	-0.46	-0.75	0.73	0.48	1.11	0.66	
28	0.73	290.81	217.61	159.27	58.34	0.20	-8.00	-8.57	-0.41	-0.75	1.99	1.04	3.12	2.38	
29	0.90	334.86	4.75	-70.99	75.75	0.23	-7.99	-8.53	-0.44	-0.74	1.60	1.11	2.21	1.75	
30	1.90	370.57	210.27	136.91	73.35	0.20	-7.78	-8.62	-0.29	-0.84	4.54	2.49	7.26	5.74	
31	2.00	318.86	194.31	140.46	53.85	0.17	-8.05	-8.58	-0.45	-0.75	1.07	0.82	1.45	1.05	
32	2.42	334.86	8.51	-67.23	75.75	0.23	-8.03	-8.52	-0.46	-0.75	1.88	0.89	3.10	2.16	
33	2.50	385.58	237.68	147.30	90.38	0.23	-7.99	-8.62	-0.41	-0.82	1.40	0.88	2.61	2.25	
34	3.00	284.42	229.85	179.46	50.38	0.18	-7.89	-8.55	-0.22	-0.62	2.05	1.32	2.96	2.26	
35	3.09	284.42	221.85	167.69	54.16	0.19	-7.97	-8.58	-0.26	-0.62	0.85	0.41	1.62	1.02	
36	3.10	332.89	164.19	115.86	48.33	0.15	-7.94	-8.52	-0.42	-0.77	2.20	1.19	3.26	2.39	
37	3.50	328.47	55.07	-12.85	67.92	0.21	-7.94	-8.65	-0.23	-0.62	1.76	1.13	2.98	2.47	
38	3.60	350.86	-174.74	-263.10	88.36	0.25	-7.96	-8.46	-0.45	-0.74	1.73	1.17	2.40	1.86	
39	3.87	348.85	-26.60	-128.00	101.40	0.29	-8.83	-8.79	-1.81	-1.92	5.19	5.10	8.25	8.30	
40	4.30	298.45	203.94	147.63	56.31	0.19	-8.00	-8.70	-0.25	-0.63	2.93	1.70	5.18	4.34	
41	5.60	350.86	-139.16	-233.50	94.34	0.27	-8.01	-8.67	-0.48	-0.78	3.19	1.64	4.94	3.62	
42	5.70	350.86	-172.06	-270.89	98.83	0.28	-7.98	-8.45	-0.46	-0.74	1.78	0.92	2.67	1.89	
43	6.40	348.85	-5.04	-99.86	94.82	0.27	-8.32	-8.60	-1.91	-1.91	0.65	0.41	2.73	2.48	
44	16.00	233.72	222.70	180.37	42.33	0.18	-8.06	-8.60	-0.48	-0.74	1.98	1.24	3.47	2.82	
45	22.50	366.86	-353.70	-467.70	114.00	0.31	-7.95	-8.40	-0.46	-0.74	1.54	0.62	2.57	1.71	
46	24.30	334.86	86.37	-26.50	112.88	0.34	-8.74	-8.84	-0.57	-0.72	3.60	2.92	6.26	5.75	

$\Delta\Delta H_f$, HOMO エネルギー ($E_{H(G)}$) と気相中での双極子モーメント(μ_G) を QSAR パラメーターとした。その結果。次の相関式が得られた。

$$MIC = -153.53 + 0.03 \times \Delta\Delta H_f - 18.63 \times E_{H(G)} + 3.30 \times \mu_G \quad (式 3)$$

$$n = 5 (1, 9, 10, 17, 20), r^2 = 0.999, F = 7118.53$$

式 3 を用いた MIC の予想値と実測値を Table. 5 に示した。*E. coli* K12 に対する予想値は比較的良好な関係を導くことが出来た。

式 1 から式 3 において QSAR パラメーターとして、疎水性項には $\Delta\Delta H_f$, 電子項には気相中の HOMO エネルギーと双極子モーメントを用いると、比較的良好な相関式が得られた。これは、薬理作用の発現は双極子—双極子相互作用と化合物の電子供与性が重要であることを示唆している。

Table 5. Observed and estimated MIC of phenothiazines [27-46]

Compound No.	MIC		$\Delta\Delta H_f$	$E_{H(G)}$	μ_{ESP-G}
	obs.	estim.			
27	0.47	0.39	54.89	-8.06	0.48
28	0.73	2.01	58.34	-8.00	1.04
29	0.90	2.98	75.75	-7.99	1.11
30	1.90	5.29	73.35	-7.78	2.49
31	2.00	1.54	53.85	-8.05	0.82
32	2.42	2.64	75.75	-8.0	0.89
33	2.50	2.85	90.38	-7.99	0.88
34	3.00	0.96	50.38	-7.89	1.32
35	3.09	-1.41	54.16	-7.97	0.41
36	3.10	1.12	48.33	-7.94	1.19
37	3.50	1.88	67.92	-7.94	1.13
38	3.60	3.48	88.36	-7.96	1.17
39	3.87	34.12	101.40	-8.83	5.10
40	4.30	4.52	56.31	-8.00	1.70
41	5.60	6.49	94.34	-8.01	1.64
42	5.70	3.28	98.83	-7.98	0.92
43	6.40	6.39	94.82	-8.32	0.41
44	16.00	2.82	42.33	-8.06	1.24
45	22.50	2.37	114.00	-7.95	0.62
46	24.30	24.30	112.88	-8.74	2.92

4.1 ベンゾシクロヘプタオキサジン類 [1-25]と COX-2 との Protein-Ligand Docking

シクロオキシナーゼ (COX) はアラキドン酸から Prostaglandin を合成する酵素である。

COX には COX-1, COX-2, COX3 の 3 種類が存在する。COX-2 は誘導型の酵素で、正常な生理的条件下では、大部分の組織で発現量は非常に低い、炎症が発生すると、マクロファージ、繊維芽細胞、滑膜細胞などに COX-2 の遺伝子の発現が誘導される。

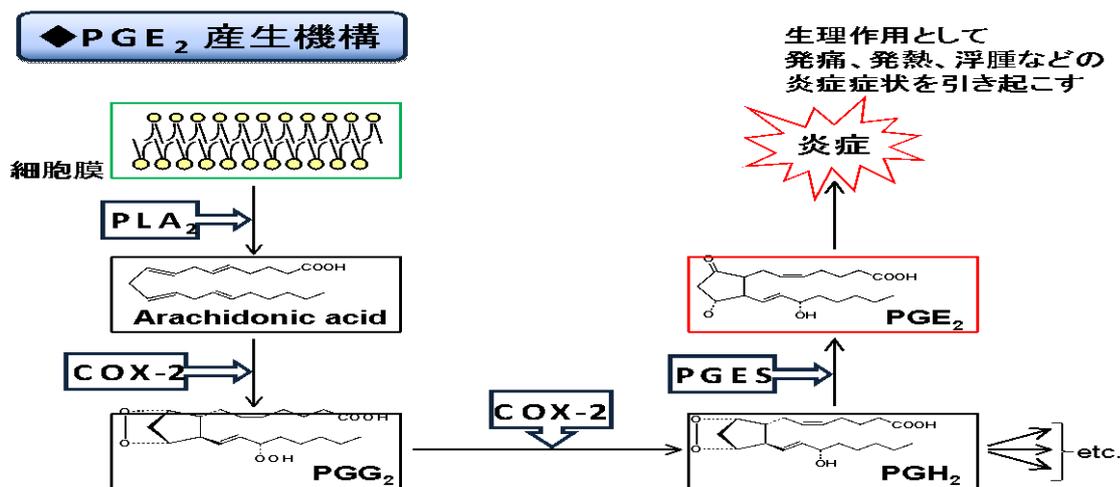


Fig.3 PGE2 産生までの経路

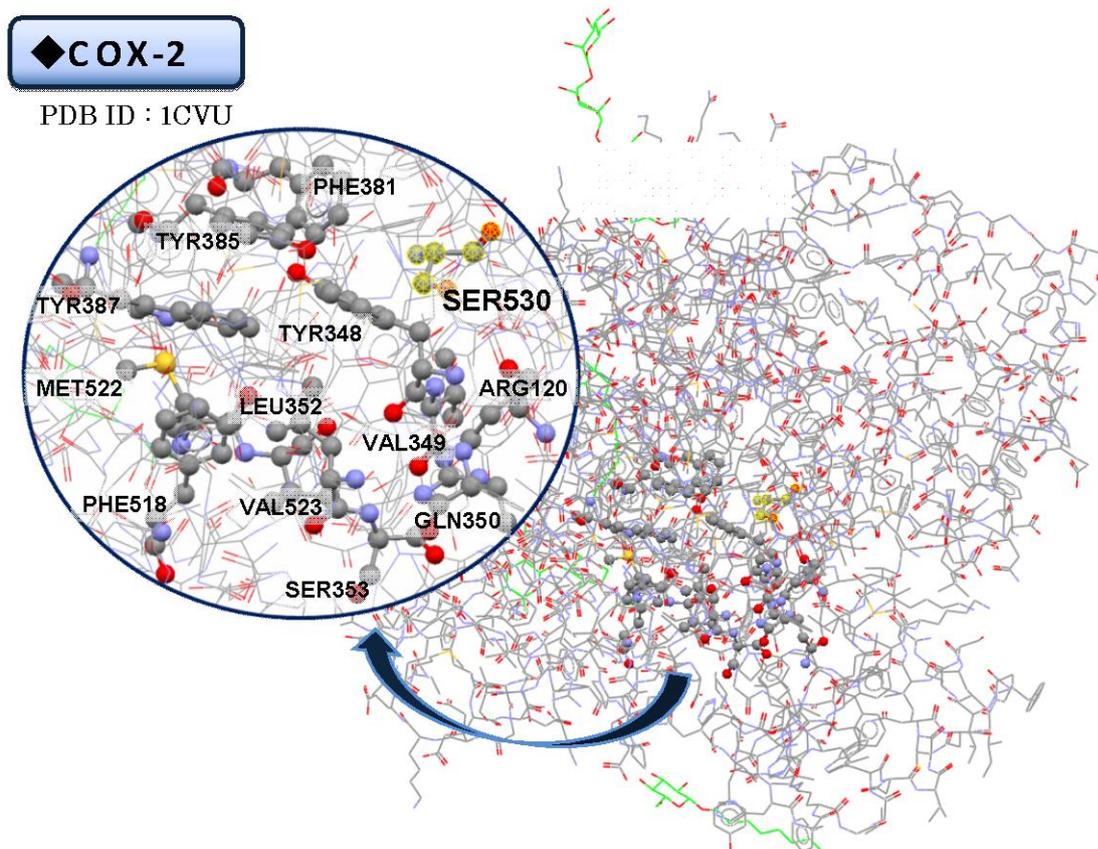


Fig.4 COX-2 の活性部位

アラキドン酸が COX-2 により PGG₂, PGH₂ に変換される活性部位の周辺のあるアミノ酸は 120 番目のアルギニン, 348 番目のチロシン, 349 番目のバリン, 350 番目のグルタミン, 352 番目のロイシン, 353 番目のセリン, 381 番目のフェニルアラニン, 385 番目のチロシン, 387 番目のトリプトファン, 518 番目のフェニルアラニン, 522 番目のメチオニン, 523 番目のバリン, 530 番目のセリンである。今回は活性部位のほぼ中心にある 53 番目のセリンを活性中心に置いて, ベンゾシクロヘプタオキサジン類 [1-25] を 10 Å の範囲で Protein-Ligand Docking Fitness を算出した。Goldscore fitness は次のように求められ, Fitness 値の大きいほど, Docking しやすいことをあらわしている。

$$\text{Fitness} = S(\text{hb_ext}) + 1.3750 \times S(\text{vdw_ext}) + 1.0000 \times (S(\text{vdw_int}) + S(\text{tor}))$$

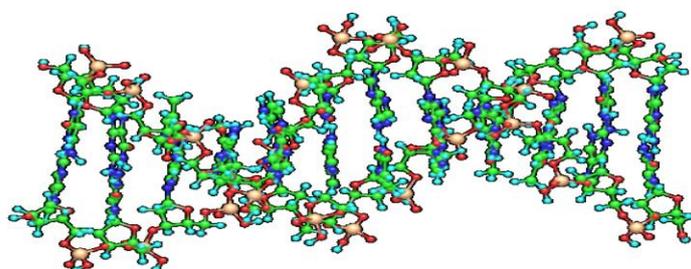
ここで, $S(\text{hb_ext})$ は分子間の水素結合エネルギー, $S(\text{vdw_ext})$ は分子間のファンデルワール力のエネルギーを表し, $S(\text{vdw_int})$ は分子内のファンデルワール力のエネルギーを表し, $S(\text{tor})$ はねじれによる歪エネルギーを表している。

Comp. No	Fitness	S(hb_ext)	S(vdw_ext)	Cytotoxic Activity (CC ₅₀ : μM)	
				Normal human cell	Human tumor cell line
				HGF	HSC-3
26	65.05	0.26	47.18	> 500.0	450.3
6	38.27	1.93	26.43	349.0	202.3

この活性部位でのアラキドン酸の Fitness 値は 71.33 と大きな値であり、Protein-Ligand Docking が Fit していることを表している。化合物 [1~26]の内、Fitness 値の最大値を示す化合物は [26] であり、最小値は化合物 [6]であった。また、分子間のファンデルワール力エネルギーが大きく寄与している。しかし、CC₅₀ 値との関係は逆であり明確ではなかった。

4.2 ベンゾシクロヘプタオキサジン類 [31, 35, 36, 40, 44, 27, 28] と d(CGTAGATCTACG)₂ [47] との Protein-Ligand Docking

[47] を Protein Data Bank (ID: 119D) より、構造を Download し、CAshe により水素原子の付加、水分子の除去を行った。その後、PM3-MOZYME 法で構造最適化を行った。



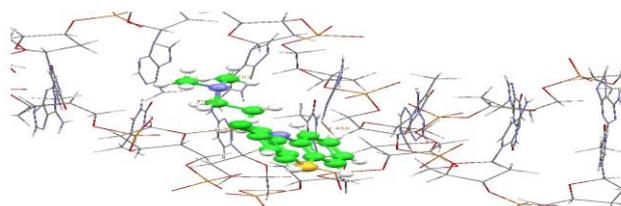
クロルプロマジン類の N-10 位を [47] の各 dCMP, GMP, dAMP, dTMP の活性がよそうされる部位に Docking させ、Fitness から活性中心部位を特定した。最も大きな値を示したのは、5dGMP の

C-2 位であったことから、活性中心部位は 5dGMP であると考えられる。この部位を中心に 10 Å の範囲で検索した。

Table 6. Goldscore fitness of chlorpromazines

Ligand No.	Fitness	S(hb_ext)	S(vdw_ext)	S(hb_int)	S(vdw_int)
31	55.48	0.00	47.90	0.00	-10.38
35	52.22	0.00	45.01	0.00	-9.66
36	49.60	0.00	44.12	0.00	-11.07
40	48.19	0.00	43.82	0.00	-12.06
44	49.07	0.00	35.69	0.00	0.00
27	54.71	0.00	47.53	0.00	-10.64
28	50.68	0.00	42.77	0.00	-8.28

最も大きな値を示した化合物は [31] であり、次に大きな値を示したのは [27] と [35] であった。[31] の構造と [40] の構造は、側鎖末端 N に付くメチレン基の数が違っている。分子間および分子内水素結合の値はいずれも 0.00 であり、分子間のファンデルワールスエネルギーの大きさが Fitness 値に影響を与えていることから、リガンドは分子間のファンデルワールスエネルギーをおおきくすることで、よりや薬理活性が高い化合物を設計できる事を示唆している。



クロルプロマジン [31] は螺旋構造の間に沿うように Docking している。また、環 C-2 位の塩素原子から Pocket に入り込んでいるように見える。さらに、メチレン基が塩基対の水素結合を遮断している。

5. 結語

薬理作用を有する化合物の Classical QSAR でもある程度の情報が得られるが、薬理作用の発現に関しては、バイオインフォマテックスの手法を駆使する必要性が求められているので、今後そ

の方向で検討したい。

引用文献

- 1 Nozoe T: *Heterocycles* 30:1263-1306 (1990).
- 2 Nozoe T, Asao T and Takahashi K: *Bull Chem Soc Jpn* 34: 146-150 (1961).
- 3 Shindo K, Ishikawa S and Nozoe T: *Bull Chem Soc Jpn* 58: 165-171 (1985).
- 4 Nozoe T, Shindo K and Ishikawa S: *Chem Lett.*, 1593-1596 (1988)
- 5 Shindo K, Ishikawa S and Nozoe T: *Bull Chem Soc Jpn* 62: 1158-1166 (1989).
- 6 Kurihara T, Shindo K, Ishikawa S and Nozoe T: *Bull Chem Soc Jpn* 64: 2668-2676 (1991).
- 7 Nozoe T, Kitahara Y, Takase K and Sasaki M *Proc Japan Acad* 32: 349-352 (1954).
- 8 Nozoe T, Okai H and Someya T: *Bull Chem Soc Jpn* 51: 2185-2186 (1978).
- 9 Nozoe T and Someya T: *Bull Chem Soc Jpn* 51: 3316-3319 (1978).
- 10 Nozoe T, Okai H, Wakabayashi H and Ishikawa S: *Chem Lett.*, 1589-1592 (1988).
- 11 Nozoe T, Someya T and Okai H.: *Bull Chem Soc Jpn* 52: 1156-1158 (1979).
- 12 Someya T, Okai H, Wakabayashi H and Nozoe T: *Bull Chem Soc Jpn* 56: 2756-2761 (1983).
- 13 Nozoe T, Okai H, Wakabayashi H and Ishikawa S: *Chem Lett.*, 1145-1148 (1984).
- 14 Wakabayashi H, Ishikawa S, Okai H and Nozoe T: *Bull Chem Soc Jpn* 58: 2840-2843 (1985).
- 15 Nozoe T, Okai H, Wakabayashi H and Ishikawa S.:*Bull Chem Soc Jpn* 62: 2307-2314 (1989).
- 16 Nozoe T, Wakabayashi H and Ishikawa S.: *Heterocycles* 29: 1005-1012 (1989).
- 17 Nozoe T, Shindo K, Wakabayashi H and Ishikawa S: *Heterocycles* 29: 1459-1464 (1989).
- 18 Wakabayashi H, Kurihara T, Ishikawa S, Okada J and Nozoe T.:*Bull Chem Soc Jpn* 64: 2131-2139 (1991).
- 19 Wakabayashi H, Matsumaru S, Kurihara T, Yasumami M: *Heterocycles* 56: 73-80 (2002).
- 20 Wakabayashi H, Kurihara T, Shido K, Tsukada M, Yang, Paw-Wang, Yasumami M, Nozoe T: *J. Chinese Chem. Soc (Taipei).*, 45,391-400 (1998).
- 21 Yang Paw-Wang, Chen, Jhy-An, Wakabayashi H, Shindo K, Kurihara T, Wu, Chi-Phi, Yasumami M, Nozoe T: *J. Chinese Chem Soc (Taipei).*, 44, 5-7 (1997).
- 22 Wakabayashi H, Takano A, Shindo K, Yasumami M, Chen, Jhy-An, Nozoe T, Yang, Paw-Wang, Nozoe T: *J. Chinese Chem Soc (Taipei).*, 43, 301-304 (1996).
- 23 Nozoe T, Shindo K, Kurihara T, Uzawa J: *Chem Lett.*, 687-8 (1995).
- 24 Takeshita H, Yan, Yong Zhe, Kato N, Mori A, Wakabayashi H, Nozoe T: *Tetrahedron Lett.*,36, 5199-5202 (1995).
- 25 Nozoe T, Wakabayashi H, Shindo K, Yasumami M: *Chemi Lett.*, 439-440 (1995).
- 26 Nozoe T, Wakabayashi H, Shindo K: *Chem Lett.*, 27-28 (1995).
- 27 Nozoe T, Wakabayashi H, Shindo K, Kurihara T, Ishikawa S, Kageyama M: *Chemistry Lett.*, 25-26 (1995).

- 28 Lin, Yun Shan, Tsai, PaiFeng, Chen, Fa Chin, Wakabayashi H: *Huaxue*, 50, 133-140 (1992).
- 29 Wakabayashi H, Yang Paw Wang, Wu, Chi Phi, Shindo K, Ishikawa S, Nozoe T: *Heterocycles*, 34, 429-434 (1992).
- 30 Takagi K, Mizuno J, Joyama T, Tsuji T, Wakabayashi H, Nozoe T: *Chem. Express*, 7, 25-28 (1992).
- 31 Lin, Yun Shan, Tsai, PaiFeng, Chen, Fa Ching, Wakabayashi H: *Huaxue*, 48, 303-308 (1990).
- 32 Wkabayashi H, Hashiba K, Yokoyama K, Hashimoto K, Kikuchi H, Nishikawa H, Kurihara T, Satoh K, Shioda S, Saito S, Kusano S, Nakashima H, Motohashi N, Sakagami H: *Anticancer Res.*, 23, 4747-4755 (2003).
- 33 Wakabayashi H, Yokoyama K, Hashiba K, Hashimoto K, Kikuchi H, Nishikawa H, Kurihara T, Satoh K, Shioda S, Muto S, Terakubo S, Nakashima H, Motohashi N and Sakagami H: *Anticancer Res* 23: 4757-4764 (2003).
- 34 Sekine T, Takahashi J, Nishishiro M, Arai A, Wakabayashi H, Kurihara T, Masaki H, Hashimoto K, Kikuchi H, Katayama T, Kanda Y, Kunii S, Motohashi N, Sakagami H: *Anticancer Res.*, 27, 133-144 (2007).
- 35 Wakabayashi H, Nishishiro M, Arikawa S, Hashimoto K, Kikuchi H, Nishikawa H, Kurihara T, Terakubo S, Shoji Y, Nakashima H, Motohashi N, Skagami H: *Anticancer Res.*, 25, 305-312 (2005).
- 36 Kurihara T, Mine H, Satoh Y, Wkabayashi H, Motohashi N, Sakagami H: *In Vivo*, 20, 391-396 (2006).
- 37 Kurihara T, Noguchi M, Noguchi T, Wkabayashi H, Motohashi N, Sakagami H: *In Vivo*, 20, 385-390 (2006).
- 38 Kurihara T, Satoh R, Miyagawa T, Wakabayashi H, Motohashi N, Sakagami H: *In Vivo*, 21, 715-720 (2007).
- 39 Chakrabarty AN, Molnar J, Dastidar SG and Motohashi N (eds.) (1998) *Non Antibiotics*. NISCOM, New Delhi, India, pp. 100-113.
- 40 Motohashi N (eds.) (2008) *Bioactive Heterocycles VI*, Springer, pp. 253-279.
- 41 GOLD 2006 CCDC Software Ltd.
- 42 Hansch C, Fujita T: *J. Am. Chem. Soc.*, 86, 1616 (1964).
- 43 Ohkura K, Hori H: *Bioorg Med Chem*, 7, 309-314 (1998).

(Received Feb, 20, 2009)