[薬学雑誌
YAKUGAKU ZASSHI
108 (4) 325—330 (1988)]

Fusaric Acid(5-Butylpyridine-2-carboxylic Acid) アザアナログの代謝¹⁾

鷺 又市,^a 中川喜雄,^a 水柿道直,^b 山中 宏,^{*,a}

石橋正兀,^c 高山秀樹,^c 宮崎 浩^d

東北大学薬学部,^a 東北大学医学部附属病院薬剤部,^b 日本化薬(株)総合研究所,^c

日本化薬(株)経営企画室^d

Studies on the Metabolisms of Fusaric Acid(5-Butylpyridine-2-carboxylic Acid) Aza-Analogues¹⁾

MATAICHI SAGI,^a YOSHIO NAKAGAWA,^a MICHINAO MIZUGAKI,^b

HIROSHI YAMANAKA,^{*,a} MASATAKA ISHIBASHI,^c

HIDEKI TAKAYAMA,^c and HIROSHI MIYAZAKI^d

Pharmaceutical Institute, Tohoku University,^a Aobayama, Sendai, Miyagi, 980, Japan,

Department of Pharmaceutical Sciences, Tohoku University Hospital,^b 1-1, Seiryō-

machi, Sendai, Miyagi, 980, Japan, Research Laboratories of Pharmaceutical

Group, Nippon Kayaku Co. Ltd.,^c Shimo, Kita-ku, Tokyo, 115, Japan, and

Corporate Planning Office, Nippon Kayaku Co. Ltd.,^d

Fujimi, Chiyoda-ku, Tokyo, 102, Japan

(Received September 11, 1987)

In order to estimate the generality of the chain elongation reaction observed on the metabolism of fusaric acid (5-butylpyridine-2-carboxylic acid) in rat liver, the metabolism of the following heteroaromatic carboxylic acids, 5-alkylpyrimidine-2-carboxylic acid (3a—d), 2-alkylpyrimidine-5-carboxylic acid (4a—d), 6-pentylpyridazine-3-carboxylic acid (5), and 5-pentylpyrazine-2-carboxylic acid (6), was investigated.

Although 4a—d, 5, and 6 did not undergo the chain elongation, in the metabolites of 3a—d collected from the rat urine, pyrimidine-2-propionic acids, pyrimidine-2-acrylic acids, pyrimidine-2-(3-hydroxypropionic)acids, and pyrimidine-2-(3-oxopropionic)acids were detected together with the ω -oxidation products by gas chromatography-mass spectrometry technique.

This is a rare example of chain elongation in drug metabolism as well as the case of 5-alkylpyridine-2-carboxylic acids.

Keywords—chain elongation; heteroaromatic carboxylic acid; 5-alkylpyrimidine-2-carboxylic acid; pyrimidine-2-propionic acid; fusaric acid; GC-MS

1976 年著者らの一人宮崎は降圧薬としての fusaric acid (5-butylpyridine-2-carboxylic acid, **1**) の誘導体を開発する過程で, **1** の ω -クロロ置換体 [5-(4-chlorobutyl)pyridine-2-carboxylic acid, **2**] をラットに経口投与する

Chart 1

と、5位のアルキル側鎖が ω -酸化を受けるのみならず、2位カルボキシル基の部分で脂肪酸生成経路に類似する chain elongation (炭素鎖伸長) 反応を受けた代謝物が生成する事実を見い出した。²⁾ その後、この代謝は **1** のものについても起こること、及び **1** の5位アルキル基の炭素鎖の違いが代謝物の生成比に影響を及ぼすことが認められた。³⁾

今回著者らは、Chart 1 に示すこの新しい薬物代謝経路の一般性、すなわち、chain elongation 反応がピリジン-2-カルボン酸以外の含窒素複素芳香 6 員環カルボン酸についても起こり得るものか否かを検討する目的で、**1** に対応する各種ジアジンカルボン酸の代謝について実験を行ったので、その結果について報告する。

実験の部

試料 検討した含窒素複素芳香 6 員環カルボン酸は次のとおりである。すなわち、5-alkylpyrimidine-2-carboxylic acids (**3a—d**),⁴⁾ 2-alkylpyrimidine-5-carboxylic acids (**4a—d**),⁴⁾ 6-pentylpyridazine-3-carboxylic acid (**5**)⁵⁾ 及び 5-pentylpyrazine-2-carboxylic acid (**6**)⁵⁾ を用いた。実験にあたっては、いずれもナトリウム塩の水溶液として経口投与した。

代謝成績体の捕集 体重約 200 g 前後のウィスター系雄性ラットに前記カルボン酸 (20 mg/kg, 1 N NaOH 水溶液を加えて溶解し、AcOH で pH 7.0 に調整する) を経口投与し、24 時間尿を採集する。AcOH で pH 3.0—5.0 に調整したのち、アンバーライト CG-400 (タイプ I, アセテート型) で処理し、次いで 4 M AcOH で代謝物を溶出する。溶出液を減圧下乾固し、残渣を 5% HCl-MeOH (w/v) 又は少量の SOCl₂ を含む MeOH と 2 時間加熱還流し、カルボン酸をメチルエステルに誘導する。反応液に K₂CO₃ 水溶液を加えてアルカリ性としたのち、減圧下 MeOH を留去し、残渣をエーテルで抽出する。エーテルを留去し、得られる残渣を分析の試料とする。

ガスクロマトグラフィ—マススペクトロメトリー (GC-MS) 装置: 島津 LKB-9000S にデータ処理装置 (島津 GC-MS Pack 300) を連結して使用した。カラム: 1.5% 又は 3% OV-17 (クロモソープ W-HP, 80—100 メッシュ) 2 mm i.d. × 2 m (ガラス), カラム温度: 140—230°C (3°C/min で昇温), 注入口及び検出器温度: 280°C, イオン源温度: 280°C, イオン化電圧: 70 eV, トラップ電流: 60 μ A。

実験結果

Fig. 1 に 5-butylpyrimidine-2-carboxylic acid (**3b**) から得られた代謝物のマスキロマトグラムを示す。5 位側鎖については未変化体、 ω -酸化体又は β -酸化体が、また 2 位側鎖については未変化体及び 4 種類の chain elongation 成績体が考えられ、相当する代謝物の [M]⁺ 又はそのフラグメントイオンの m/z で掃引した結果、total ion monitoring 上 6 個のピーク (A—F) が認められ、それぞれ m/z 194 (A), 238 (B), 252 (C), 266 (D), 264 (E) 及び 282 (F) の分子イオンを持つ **3b** の代謝成績体由来のものと推定された。なお total ion monitoring 上 A—F の他、scan No. 72 及び 90 にピークが認められ、前者は馬尿酸のメチルエステルに相当し、また後者は構造が不明であった。

ピーク A についてはそのマススペクトル (Fig. 2) において [M]⁺ が m/z 194 に、[M—OMe]⁺ が m/z 163 に、またマクラフティ転位を伴った [M—COOCH₃]⁺ が m/z 136 に観察され、更に標品のマススペクトルが一致することから、未変化体のメチルエステル (**7**) に基づくピークであると確認した。

ピーク B については、Fig. 3 に示すそのマススペクトルに [M]⁺ m/z 238 の他 [M—OMe]⁺ m/z 207, [M—COOMe]⁺ m/z 179 の存在が認められる。これらのフラグメンテーションと矛盾しない構造としては、5 位のブチル基が ω -酸化を受けただけの構造 (**8**) と 5 位のブチル基が β -酸化を受けた上、2 位カルボキシル基の部分に chain elongation 反応が起こった飽和体の構造 (**8'**) とが考えられるが、合成標品が無いので、そのいずれかを決定することはできなかった。

次いでピーク C については、[M]⁺, [M—OMe]⁺ 及び [M—COOMe]⁺ が各々 m/z 252, 221, 及び 193 に認められることより、代謝成績体は 5 位のブチル基が β -酸化を受けた 2 位 β -ケト体 (**9**) と考えられる (Fig. 4)。

次にピーク D については、Fig. 5 に示すそのマススペクトルに [M]⁺, [M—OMe]⁺, [M—COOMe]⁺, [M—OHCH₂COOMe]⁺ 及び [M—CH₂=C(OMe)—OMe]⁺ が各々 m/z 266, 235, 207, 193 及び 161 として観察されることより、本代謝成績体は 5 位のブチル基が ω -酸化を受けた 2 位飽和体 (**10**) であると考えられる。

またピーク E 及び F については、上記と同様そのフラグメンテーションパターンから、代謝成績体は各々 **11**

Fig. 1. Mass Chromatogram of the Methyl Esters of the Metabolites Obtained from 5-Butylpyrimidine-2-carboxylic Acid (**3b**)

Fig. 4. Electron-ionization Mass Spectrum of Peak C in Fig. 1

Fig. 2. Electron-ionization Mass Spectrum of Peak A in Fig. 1

Fig. 3. Electron-ionization Mass Spectrum of Peak B in Fig. 1

Fig. 5. Electron-ionization Mass Spectrum of Peak D in Fig. 1

Fig. 6. Electron-ionization Mass Spectrum of Peak E in Fig. 1

Fig. 7. Electron-ionization Mass Spectrum of Peak F in Fig. 1

Fig. 8. Mass Chromatogram of the Methyl Esters of the Metabolites Obtained from 6-Pentylpyridazine-3-carboxylic Acid (5)

Fig. 9. Mass Chromatogram of the Methyl Esters of the Metabolites Obtained from 5-Pentylpyrazine-2-carboxylic Acid (6)

及び **12** の構造と考えられる (Fig. 6, 7).

次に **3b** の 5 位側鎖同族体 (**3a, c, d**) を基質として、同様の手法で代謝成績体を比較検索した。その結果 Table I に示すごとく、5 位側鎖が C_3H_7 , C_4H_9 ,

C_5H_{11} , C_6H_{13} のいずれの場合においても chain elongation 反応に基づく代謝物が検出された。

これに対し、対応するピリダジンカルボン酸 (**5**) 及びピラジンカルボン酸 (**6**) においては Fig. 8 及び 9 に示すように、Fig. 1 の場合と同様予想される代謝物の $[\text{M}]^+$ 又は、そのフラグメントイオンの m/z で掃引した結果、chain elongation 反応に基づく成績体は見い出されず、両者 (**5, 6**) からそれぞれ未変化体 (**13, 15**) 及び ω -酸化

TABLE I. Summary of *in vivo* Metabolites of the Methyl Esters of 5-Alkylpyrimidine-2-carboxylic Acid (**3a—d**) Detected by GC-MS

Substrate	Position 5	Position 2				
		COOMe	(CH ₂) ₂ -COOMe	CH=CHCOOMe	COCH ₂ -COOMe	CHCH ₂ COOMe OH
C_3H_7 - 3a	C_3H_7 MeOOCCH ₂ MeOOC	+	+			
C_4H_9 - 3b	C_4H_9 MeOOC(CH ₂) ₃ MeOOCCH ₂	+	+	+		+
C_5H_{11} - 3c	C_5H_{11} MeOOC(CH ₂) ₄ MeOOC(CH ₂) ₂ MeOOC	+		+	+	
C_6H_{13} - 3d	C_6H_{13} MeOOC(CH ₂) ₅ MeOOC(CH ₂) ₃ MeOOCCH ₂	+				

Abbreviations: +, detected; ±, not identified.

成績体 (**14**, **16**) が検出されたに過ぎなかった。また **3a—d** の位置異性体である **4a—d** についても, chain elongation 反応の関与を示す代謝物は観察されなかった。

考 察

以上の解析にあたっては, それぞれの化合物について lithium aluminum tetradeuteride による還元的重水素標識等の誘導体化は行っていないが, すでに **1** 及び **2** において詳細に検討した際の知見^{2,3,8)}に基づいた結論であり, 各々の代謝物の構造に矛盾はない。

なお本論文は, 含窒素複素芳香 6 員環カルボン酸における chain elongation の一般性を基質特異性の面から検討したものであり, 定量実験は実施しなかった。

一方, 以上の結果から次のことが明らかである。

1) これまでに例を見ない **1**, **2** の chain elongation 反応を伴う薬物代謝様式は, ピリジンを母核とする物質に限定されるのではなく, 少なくとも環内窒素原子の α 位にカルボキシル基を持つ類似構造の化合物について起こり得るものである。

2) このことが起こるためには, 基質の構造としてカルボキシル基が含窒素複素芳香環の α 位に結合していることが必要条件であるといえるが, これが十分条件ではないことは **5** 及び **6** において chain elongation 反応が認められないことから明らかである。

十分な構造要因を確定するためには, 更に詳細な検討が必要である。

3) 5-アルキルピリミジン-2-カルボン酸 (**3a—d**) についての結果から判断すれば, **3b**, **c** のように 2 位 α-不飽和体, 2 位 β-ケト体及び 2 位 β-ヒドロキシル体の代謝中間体が認められる場合もあり, またすべての基質について 2 位飽和体が検出されているので, **3a—d** における chain elongation 反応は, 脂肪酸の生合成経路と同様に進行するものと考えるのが妥当である。

引 用 文 献

- 1) 山中 宏, 水柿道直, 坂本尚夫, 鷲 又市, 中川喜雄, 高山秀樹, 野上 尚, 石橋正兀, 宮崎 浩, 市川 紘, 第 14 回薬物代謝と薬効・毒性シンポジウム, 福岡, 1982 年 11 月, p. 35.

- 2) H. Miyazaki, H. Takayama, Y. Minatogawa, K. Miyano, *Biomed. Mass Spectrom.*, **3**, 140 (1976).
- 3) 高山秀樹, 湊川文子, 石橋正兀, 宮崎 浩, 第9回薬物代謝と薬効・毒性シンポジウム, 熊本, 1977年11月, p. 97.
- 4) H. Yamanaka, M. Mizugaki, M. Sagi, K. Edo, H. Miyazaki, H. Takayama, Y. Minatogawa, *Heterocycles*, **12**, 1323 (1979).
- 5) H. Yamanaka, M. Mizugaki, T. Sakamoto, M. Sagi, Y. Nakagawa, H. Takayama, M. Ishibashi, H. Miyazaki, *Chem. Pharm. Bull.*, **31**, 4549 (1983).
- 6) 湊川文子, 高山秀樹, 浜野弘明, 宮崎 浩, 梅沢浜夫, 第7回薬物代謝と薬効・毒性シンポジウム, 札幌, 1975年10月, p. 59.