薬物代謝酵素 p450 の基質特異性予測

吉村 勉

Tsutomu YOSHIMURA

薬物代謝酵素 p450 による代謝反応は、その多様性から予測が困難とされてきたが、その理由として p450 には複数の分子種が存在し、各分子種の基質特異性がオーバーラップしている為に、ミクロソーム等を用いて p450 全体の反応を見てしまうと基質特異性が非常に低くかつ反応も多様であると見なされてしまっていたという経緯がある。幾つかの p450 分子種に関しては、その基質特異性、一部アミノ酸を置換した組換え体の触媒活性、バクテリア p450 の結晶 X 線回折結果等の類推から、反応中心付近の環境が明らかにされつつあり、各 p450 分子種の基質特異性について予測可能なレベルになってきているのではないかと実感している。

CYP1A1 は benzo[a]-pyrene や 7,12-dimethoxybenz[a]-anthracene を代表とする多環芳香族炭化水素 (PAH), CYP1A2 は PAH およびヘテロ環を有するアミンやアミド化合物の代謝に主に関与することがよく知られているが、Lewis^{1,2)} らは、化合物の分子軌道 HOMO と LUMO のエネルギーの差と分子の扁平率から算出した値を基に、CYP1 の基質となるか CYP2, CYP3 の基質になるか振り分けている。

CYP3A4 は、周知のごとくヒト肝において最も含有率の高い分子種であるとともに、テストステロン(分子量: 288)、ニフェジピン(分子量: 346)をはじめシクロスポリン(分子量: 1203)やタクロリムス(分子量: 822)のような比較的大きな分子量を持つ化合物など多様な化合物群の代謝に関与し、医薬品の内約 3 割³⁾が CYP3A により代謝を受けると報告されている。また、分子量 200 以下の比較的小きな化合物は、CYP2E で代謝されることが多いので、Lewis らは CYP2, CYP3 の基質に関して、比較的大きな化合物であれば CYP3A に振り分け、中間の大きさの化合物については、CYP2A, B, C, D に振り分けている。

CYP2A の基質の特徴としては、ケトン、ニトロソアミンを有する比較的低分子量であること、CYP2B では V 字型の分子形状を有することをあげている^{1,2)}。CYP2D6 に関しては、化合物の構造と代謝反応との関係が比較的早くから検討されており、塩基性の窒素から 5~7 Å の部位が代謝部位であるといわれてきた。C-C, C-N 結合の距離は約 1.5 Å であるから、直鎖で考えれ

ば塩基性の窒素から数えて 6~8 番目の原子付近が代謝部位となる。また、CYP2C9 に関しては、弱酸性化合物で代謝部位から 5~7 Å 付近に酵素と水素結合できる構造を有するといわれている。

Lewis らのデシジョンツリーに従うと、CYP2A, B, C, D に関しては、化合物が弱酸性なら CYP2C, 弱塩基性物質なら CYP2D, 中性なら CYP2A, B に振り分け、CYP2A, B については脂溶性 (log P) が高ければ CYP2B, 低ければ CYP2A に振り分けている^{1,2)}。上記の振り分けは、例外や複数の分子種の基質となる化合物もあることを踏まえて、大まかな目安と考えたほうがよいが、創薬の初期段階で合成展開の戦略に示唆を与えるという意味で有用である。

CYP2D6 に関しては、メトプロロール、メフェニトインやフレカイニドのように、不斉中心を有する化合物のうち一方の鏡像異性体のみが選択的に親和性を持つ場合があることが報告されている。他の p450 分子種に関しても立体特異的な代謝反応(たとえば CYP2C9 による S-ワーファリンの 7 位水酸化)が知られており、鏡像異性体も識別するには、酵素の鍵穴の形を類推する際に、鍵にあたる基質化合物群の三次元的な構造も取り入れる必要がある。de Groot らは CYP2D6 に関して、化合物の三次元立体配置を組み込んだモデルを提唱しており、40 の基質データを用いて反応部位から塩基性窒素の距離を細分化し、5, 7, 10 Å の 3 群に分け、前 2 者の塩基性窒素は 301 番目のアスパラギン酸、3 番目は 216 番目のグルタミン酸と相互作用するとしている⁴⁾。キニジンのように CYP2D6 を阻害するが CYP3A4 で代謝されるような化合物もあるが、基質あるいは阻害剤と酵素がどのような配置で結合し、反応部位がどこなのか予測できれば構造から阻害剤となるか否かは判断可能と思われる。同様な解析は、水素結合を介する相互作用を指標として CYP2C9 の基質に関しても可能である。また、多くの CYP について、活性中心付近のフェニルアラニンが基質の芳香環と疎水結合を介する相互作用 (π - π stacking) があるといわれており、これも基質の酵素への配向を規定する重要な因子といえる。

現在では、薬物相互作用の可能性からも、創薬初期の段階から p450 に対する阻害能を検討するようになってきている。検体自身の代謝反応において酵素との結合は律速とはならないこと(すなわち、検体の K_m は K_s とほぼ等しいこと)、阻害様式は競合阻害であることを仮定すれば、基質添加濃度、基質の K_m 値、検体添加濃度は既知のはずだから、阻害%が得られれば検体の酵素

への親和性の度合いを推定できる。

手持ちの化合物群のデータを用いて、文献報告のモデルを改変することにより固有のモデルを作成すれば、予測の確度が向上することは容易に想像できる。無論、代謝のデータが蓄積される前にベストの化合物が発見されれば創薬研究全体としては喜ばしい事であるが、通常、測定点(合成検体数)は十分あるので、体内動態研究者の活躍の余地はまだまだあるのではないかなどと思っている。

文 献

- 1) Lewis DFV, Eddershaw PJ, Dickins M, Tarbit MH and Goldfarb PS.: Structural determinants of cytochrome P450 substrate specificity, binding affinity and catalytic rate. *Chem. Biol. Interact.* **115**: 175-199 (1998).
- 2) Lewis DFV, Dickins M, Eddershaw PJ, Tarbit MH and Goldfarb PS.: Cytochrome P450 substrate specificities, substrate structural templates and enzyme active site geometries. *Drug Metab. & Drug Inter.* **15**: 1-49 (1999).
- 3) Rendic S and Di Carlo FJ.: Human cytochrome p450 enzymes: A status report summarizing their reactions, substrates, inducers, and inhibitors. *Drug Metab. Rev.* **29**: 413-580 (1997).
- 4) de Groot MJ, Ackland MJ, Horne VA, Alex AA and Jones BC.: Novel approach to predicting p450-mediated drug metabolism: Development of a combined protein and pharmacophore model for CYP2D6. *J. Med. Chem.* **42**: 1515-1524 (1999).

(エーザイ(株)薬物動態室)