ミニレビュー

薬物の代謝速度と生理活性に
及ぼす同位体効果

栗原紀夫

いろいろな薬物たとえば医薬・農薬等の生理活性は、生物体内の代謝によって解毒されたり、活性化されたりする。したがって代謝の反応速度に違いが出ると、活性にも違いが出てくる。このような例について同位体効果と関連するもの二、三を紹介する。

代謝による活性化とその速度の同位体効果についての有名な例はクロロホルムの肝毒性についての研究であろう¹⁾。代謝によりホスゲンが生じこれが毒性を示すこと、重水素化クロロホルムでは肝毒性が低いこと、これは酸化的代謝反応によるホスゲン生成が同位体効果によって抑えられることなどを鮮やかに示した研究である。

代謝により解毒される例、これを同位体効果により抑えることにより見かけの活性が高まる例はいくつか知られている。

methoxychlor は DDT の類縁体であり、DDT のベンゼン環上の塩素の代りに methoxyl 基が結合しているものである。methoxyl 基が酸化的に代謝されることにより、DDT よりも解毒・排泄されやすく、環境中での残留性は比較的少ない。

この methoxyl 基を重水素 ($D=^2H$) 化した CD_3 基に変えると、いくつかの類縁体 (むしろ isotopomer と呼ぶべきもの: それぞれ $[d_6]$, $(R)-[d_3]$, $(S)-[d_3]$, および非標識の $[d_0]$) が得られる²⁾。ここで、 (R) , (S) という区別が

$[d_6]$: $R_1=R_2=CD_3$; $(R)-[d_3]$: $R_1=CD_3$, $R_2=CH_3$;
 $(S)-[d_3]$: $R_1=CH_3$, $R_2=CD_3$; $[d_0]$: $R_1=R_2=CH_3$

methoxychlor の構造式

生じるのは methoxyl 基が一方のみ重水素化されていると分子が非対称になり、いわゆるキラルな化合物となるからである。

これらの殺虫活性は次のようになり³⁾、重水素が入ることにより殺虫活性が高くなること、また $[d_3]$ 体の場合そのラベルのキラルな位置によっても殺虫活性の程度が違うことがわかる。

殺虫活性:

$$[d_6] > (R)-[d_3] > (S)-[d_3] > [d_0] \text{ 体}$$

昆虫での代謝反応速度の測定は困難であったが、ラットの肝ミクロソームを用いて速度を調べると、次⁴⁾のように、上とまったく逆になり、これらの重水素体などの殺虫活性の違いは代謝解毒反応の速度に関係していることが推定される。

代謝速度:

$$[d_6] < (R)-[d_3] < (S)-[d_3] < [d_0] \text{ 体}$$

実際、この殺虫剤の本質的な作用部位である昆虫中枢神経軸索に対する作用を調べると³⁾、これら isotopomer 間での差はまったくなく、代謝解毒の反応速度の違いを生む決め手であろうという考えを裏付けている。

一方、ラットを薬剤 (フェノバルビタール; PB など) で処理してあるかどうかにより、ミクロソームでの反応の特徴が違っていることもわかってくる。すなわちミクロソームの起源によって生成物のキラル異性体間の組成が異なる。これは、たとえば PB によってある種の (もともとなかった) シトクローム P450 が誘導されて生じてくること、それらの立体選択性もともと存在していた P450 と違っている⁵⁾ ことからすれぼうなずけるが、これを証明するために、4 種の P450 (CYP2C6, 2A1, 2B1, 2B2) をラット肝から精製しその代謝反応性を調べた。結果は次のようになる⁶⁾。

	$K_m (\mu M)$	$(S)/\{(R)+(S)\} (\%)$
CYP2C6	0.36	95 - 100
CYP2A1	0.38	95 - 100
CYP2B1	1.07	36 - 40
CYP2B2	2.34	42 - 46

すなわち (R) , (S) をよく区別できる酵素とそれほどでもないものとに分かれる。しかも基質 methoxychlor に対する親和性がかなり異

なる。一般に K_m 値が小さいほど、基質親和性が高いと考えられるので、今の場合、異性体を区別できる酵素の方が基質親和性が高いといえる。

PB 誘導のラットの肝ミクロソームでの反応では、基質の濃度が高くなっていくにつれて生成物の異性体組成が変わってくるのが観察された⁷⁾が、これは基質低濃度のときは、基質親和性の高い酵素がまず反応に関与し、これが異性体組成比の高い生成物を与えるのに反し、基質濃度が高くなると選択性が低く基質親和性が低い酵素が反応に関与するとして解釈できる。

立体選択性と重水素同位体効果とが相乗的に効く場合と、たがいに相殺する場合とがある。相乗的になる場合は非標識体の反応で立体選択性があまりはっきり観察しにくいときにもこれをはっきりさせることがあり得る。

ミクロソーム標品を用いてこの代謝反応を行い、これに特定のシトクローム P450 の抗体 (anti-CYP) を添加して、反応の状態の変化を調べる実験を行ったときに、基質を $[d_3]$ 体とすると、そのような効果を見ることができ⁸⁾。

ところで、上の例のような同位体効果の利用では問題にならないが、反応速度同位体効果を厳密に測定して、これを反応の機構解明に用いようとするときには、いわゆる本質的同位体効果の値を求める必要がある⁹⁾。酵素反応をはじめ、生体内の反応では酵素が実際に触媒するステップ以外の部分が遅いとき、見かけの同位体効果の値 (通常の測定値) は本質的同位体効果の値よりもはるかに小さい場合が多い。

酵素反応などにおける本質的同位体効果の値 (Dk) の求め方については以前に本誌に紹介したことがある¹⁰⁾ので、それを参考にさせていただきたいが、要は同じ反応を同じ条件下で、重水素の見かけの同位体効果の値 ($^D(V/K)$) とトリチウム (3H) の値 ($^T(V/K)$) を測定し、これから次の式により算出する⁹⁾。

$$\frac{\{^D(V/K) - 1\}}{\{^T(V/K) - 1\}} = (^Dk - 1) / (^Dk^{1.44} - 1)$$

ただこれには高度にかつ選択的に特定位置をトリチウムで標識した基質が必要であるため測定例の報告は多くない¹¹⁾。ちなみにミクロソームによる methoxychlor 脱メチル反応については 3H を用いてこのような測定を行っている

る¹²⁾。得た値に基づく、この反応の本質的同位体効果の値は 12 - 14 という大きい値になることがわかり、この脱メチル反応の機構はラジカル的な経過をたどり、反応の遷移状態は非常に対称性のよい形であることが推定され、これまで言われていたシトクローム P 450 依存反応の機構と矛盾しないことがわかっている。

Key Words : metabolic demethylation, cytochrome P450, deuterium isotope effect, tritium isotope effect, chiral pesticide metabolism

文 献

- 1) Pohl, L. R. : "Reviews in Biochemical Toxicology", Vol. 1, eds. Hodgson et al., pp. 79-107, Elsevier, New York (1979)
- 2) Ichinose, R. et al. : *Agric. Biol. Chem.*, **50**, 1331-1332 (1986)
- 3) Okimoto, H. et al. : *Comp. Biochem. Physiol.*, **106c**, 119-123 (1993)
- 4) Ichinose, R. and Kurihara, N. : *Biochem. Pharmacol.*, **36**, 3751-3756 (1987)
- 5) Guengerich, F. P. : "Mammalian Cytochromes P-450", Vol. 1, ed. Guengerich, F. P., pp. 1-54, CRC Press, Boca Raton, FL. (1987)
- 6) Kishimoto, D. et al. : *Pestic. Biochem. Physiol.*, **51**, 12-19 (1995)
- 7) Kurihara, N. and Oku, A. : *ibid.*, **40**, 227-235 (1991)
- 8) Kishimoto, D. and Kurihara, N. : *ibid.*, submitted (1996)
- 9) Northrop, D. : "Isotope Effects on Enzyme-Catalyzed Reactions", eds. Cleland, W. W., O'Leary, M. H., and Northrop, D., pp. 122-152, University Park Press (1977)
- 10) 栗原紀夫 : *Radioisotopes*, **35**, 196-200 (1986)
- 11) Hanzlik, R. P. and Ling, K.-H. J. : *J. Org. Chem.*, **55**, 3992-3997 (1990) 等
- 12) Ichinose, R. and Kurihara, N. : *J. Pestic. Sci.*, **11**, 231-236 (1986)

(京都大学放射性同位元素総合センター)