

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 6 年 6 月 8 日現在

機関番号：34311

研究種目：学術変革領域研究(B)

研究期間：2020～2022

課題番号：20H05741

研究課題名（和文）重水素化医薬品設計のための薬物代謝酵素が関与する KIEの予測法・評価法の開発

研究課題名（英文）Development of prediction and evaluation methods of KIE involving drug-metabolizing enzymes for deuterated drug design

研究代表者

前川 京子 (Maekawa, Keiko)

同志社女子大学・薬学部・教授

研究者番号：70270626

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 24,700,000円

研究成果の概要（和文）：デューテトラベナジンをはじめとする重医薬品は、重水素に由来する速度論的同位体効果（KIE）により薬物代謝酵素P450の反応を制御し、用法・用量の改善や副作用の軽減に寄与する。しかし、各P450分子種の反応機構と基質認識部位の構造に基づき、KIEを論理的に予測できる方法論は存在しない。本研究では、領域内の研究者が合成した選択的重水素化医薬品を用いて、*in vitro*及び*in vivo*でP450 KIEを定量的に評価し、重水素化がもたらすP450と医薬品との相互作用様式の変化を解析した。モデル医薬品を用いた実践的検討よりKIEの評価及び予測にあたり考慮すべき事項を明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまでのP450が関与するKIEの研究はトライアル&エラーの報告が多く、反応経路や反応機構、各P450分子種の基質認識部位の構造上の特徴に基づいたKIEの予測法は確立できていなかった。本研究では、数種の重水素医薬品のP450 KIEの特徴を酵素反応速度論的、生物物理学的に系統的に解析し、重水素医薬品を効率的に開発するための検討事項や開発の成否に関して考慮すべき事項を明らかにした。得られた知見は、重水素医薬品の開発、及び評価の指針として有用である。新元素としての重水素の本質を解き明かす本研究班において、効率的な重水素医薬品の開発に向けての基盤を作ることに貢献した。

研究成果の概要（英文）：Deuterated drugs such as deutetrabenazine attenuate the metabolic reaction by drug-metabolizing enzymes P450 through kinetic isotopic effects (KIE), leading to the preferable dosage and administration and the reduced side effects. However, there is no methodology to predict KIE logically based on the reaction mechanisms of each P450 species and structures of P450 substrate recognition site. In this study, we quantitatively evaluated *in vitro* and *in vivo* P450 KIE using selectively deuterated drugs synthesized by researchers in our group, and investigated effects of deuteration on the binding and interaction between P450 and drugs. Our practical study using model drugs clarified the matters to be considered when evaluating and predicting KIE.

研究分野：メタボロミクス

キーワード：速度論的同位体効果 薬物代謝酵素 重水素医薬品

## 様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

近年、医薬品開発効率の低下や薬価制度改革に伴う新薬創出等加算の見直しを背景に、製薬企業を取り巻く環境は大きく変化しており、効率的かつ新たなアプローチで新薬を開発するための技術的ブレークスルーが求められている。水素 (H) を重水素 (D) に置換した重水素医薬品は、一次速度論的同位体効果 (primary kinetic isotope effect, 1 次 KIE) により通常の軽水素医薬品とは異なる薬物動態を示すことから、用法・用量の改善や副作用の軽減につながる新たな低分子医薬品候補として注目されている。FDA が世界で初めてハンチントン舞蹈病治療薬として承認した重水素医薬品デューテトラペナジンは、軽水素体のテトラペナジンと比較して、少ない投与量・投与回数で持続した血中濃度を達成した。これは、1 次 KIE の結果、薬物代謝酵素 CYP2D6 による活性代謝物の O 脱メチル化反応速度が低下したためである。

一方で、重水素体が必ずしも大きな KIE を有するとは限らず、トライアル&エラーの報告が多い。薬物代謝酵素 cytochrome P450 (P450) に関して大きな 1 次 KIE を獲得するための重要要因は、C-H (C-D) 結合の切断の段階が酵素反応機構の律速段階となることである。これまでに、P450 による酸化反応のうち、エーテルやアミドの脱アルキル化反応は、この段階が律速となり、大きな 1 次 KIE が得られる可能性が高いこと、一方で N-脱アルキル化反応、及び芳香環の水酸化反応は、1 次 KIE が認められにくいことが報告されている (Guengerich FP et al., J Labelled Comp Radiopharm. 2013 ; 56: 428-431. )。しかし、同じ触媒反応でも、P450 分子種により基質結合様式が異なることから、既報の法則のみでは、1 次 KIE の予測は不完全である。また、重水素化により *in vitro* で大きな KIE が観察されたとしても、代謝に関わる P450 分子種の変更を伴うような metabolic switch がおこると、*in vivo* では代謝が正常化され KIE が認められないこともありうる。このように P450 が関与する KIE には、各分子種の広い基質特異性ゆえに、通常の酵素反応とは異なる要因が関与することが予想される。すなわち、P450 の多様性と各分子種の広い基質特異性を考慮した上で、大きな 1 次 KIE が認められる反応には、どのような構造的及び代謝的な特徴があるのか、をさらに追究していく必要がある。

### 2. 研究の目的

本研究では、効率的な重水素医薬品の設計に向けて、各 P450 分子種の KIE の特徴を *in vitro*、及び *in vivo* で明らかにすることを目的とする。

(1) 計画研究の研究者らが合成した選択的重水素医薬品を用い、*in vitro* 酵素反応速度論的解析により、KIE を定量的に評価する。

(2) 結晶構造解析、及び生物物理学的相互作用解析により、重水素医薬品と非置換医薬品 (軽水素医薬品) の間で、P450 との結合様式の違いを示し、KIE の機序を解明する。

(3) *in vitro* 試験の結果、大きな KIE が認められた重水素医薬品を対象に、*in vivo* の薬物動態試験を行い、*in vitro* KIE の変動が *in vivo* の血中濃度や薬理作用に及ぼす影響を解析する。

これらの結果を総合し、P450 代謝が関与する重水素医薬品を効率的に開発するための検討事項や考慮すべき事項を明らかにし、KIE の予測法・評価法、及び重水素化の設計指針を提案する。

### 3. 研究の方法

(1) 単独 P450 酵素発現系、または肝ミクロソームを用いた各種重水素医薬品の *in vitro* KIE の評価

研究班の共同研究者から、図 1 に示す 4 種の重水素医薬品の供与を受けた。各医薬品を代謝する主要な P450 分子種をバキュロウイルス昆虫細胞系に NADPH-P450 還元酵素 (POR) や Cytochrome b5 (b5) と共に発現させた supersomes (Corning, NY, USA) もしくは肝ミクロソーム (HLM, Corning, NY, USA) を酵素として用いた。重水素体と軽水素体を別々の反応系で非競合的に代謝させる non-competitive intermolecular 法、または重水素体と軽水素体を同じ反応系で競合的に代謝させる competitive intermolecular 法により酵素反応を行った。代謝物の生成量を高速液体クロマトグラフ-高分解能質量分析計 (UltiMate 3000 HPLC-Q Exactive システム, Thermo Scientific™, Massachusetts, USA) を用いた single ion monitoring (SIM) 法により定量し、ミカエリスメンテンプロットよりそれぞれの反応の  $K_m$  値、 $V_{max}$  値、intrinsic clearance 値 ( $V_{max}/K_m$ ) を求めた。酵素反応速度論的パラメーター値の統計学的有意差の検定には、 $t$  検定を用いた。*in vitro* KIE は、 $DV = \frac{H V_{max}}{D V_{max}} \cdot \frac{D(V/K)}{H(V/K)} = \frac{(H V_{max}/H K_m)}{(D V_{max}/D K_m)}$  により評価した。それぞれの医薬品における酵素反応条件の詳細は下記の通りである。

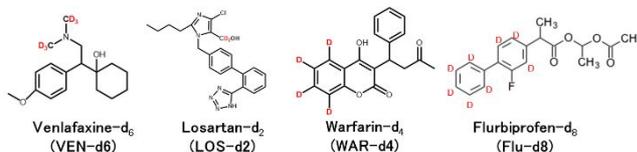


図1 KIEの評価に用いた重水素医薬品

Venlafaxine-d<sub>6</sub> (VEN-d6) 及び軽水素体 Venlafaxine (VEN) は、反応溶液中の終濃度が 5 ~ 375  $\mu\text{M}$  となるように調製し、CYP3A4 supersome (5 pmol) を用いて NADPH generation system の存在下、37 度で 20 分間、酵素反応を行った。反応停止後、内部標準物質を添加し、生成した N-desmethylvenlafaxine (NDV) を定量した。さらに metabolic switch の影響を確認するため、10  $\mu\text{M}$

及び 100  $\mu\text{M}$  の VEN-d6 及び VEN を CYP3A4 (5 pmol) CYP2C19 (5 pmol) CYP2D6 (2 pmol) ヒト肝ミクロソーム (50 pmol) と 10 分反応させ、生成した NDV、*O*-desmethylvenlafaxine (ODV), *N,O*-desmethylvenlafaxine (NODDV) を定量した。

Losartan-d<sub>2</sub> (LOS-d2) 及び軽水素体 Losartan (LOS) は、反応溶液中の終濃度が 0.2 ~ 20  $\mu\text{M}$  となるように調製し、CYP2C9 supersome (10 pmol) または HLM (50 pmol) を用いて NADPH generation system の存在下、37 度で 10 分間酵素反応を行った。反応停止後、内部標準物質を添加し、生成した E-3179、E-3174 を定量した。

( $\pm$ ) Warfarin-d4 (WAR-d4) 及び軽水素体 Warfarin (WAR) は、反応溶液中の終濃度が 0.2 ~ 20  $\mu\text{M}$  となるように調製し、CYP2C9 supersome (5 pmol) を用いて NADPH generation system の存在下、37°C で 15 分間、酵素反応を行った。反応停止後、内部標準物質を添加し、生成した 7-hydroxywarfarin (7-OH WAR) 6-hydroxywarfarin (6-OH WAR) を定量した。

Flurbiprofen-d<sub>8</sub> (Flu-d8) 及び軽水素体 Flurbiprofen (Flu) は、反応溶液中の終濃度が 1.0 ~ 50  $\mu\text{M}$  となるように調製し、CYP2C9 supersome (2.5 pmol) を用いて NADPH generation system の存在下、37°C で 10 分間、酵素反応を行った。反応停止後、内部標準物質を添加し、生成した 4-hydroxyflurbiprofen (4-OH Flu) を定量した。

## (2) CYP2C9 と重水素医薬品との X 線結晶構造解析、及び生物物理学的相互作用解析

大腸菌により発現・精製した CYP2C9 と LOS-d2 との結晶化は既報 (Maekawa K et al., Biochemistry. 2017;56:5476-5480.) に従い実施した。結晶化剤は、PEGRx1 (Hampton research, Aliso Viejo, CA, USA) の No.46 (0.1 M Sodium citrate tribasic dihydrate, pH=5.0, 18% w/v Polyethylene glycol 20,000) を用いて sitting-drop 蒸気拡散法にて行った。回折データはつくば放射光にて収集した。位相の決定は、すでに解析済みの CYP2C9 の構造 (PDB ID:1R9O) をサーチモデルとし、分子置換法により行った。

等温滴定型カロリメトリー (Isothermal Titration Calorimetry, ITC) による精製 CYP2C9 と重水素医薬品との相互作用解析は、MicroCal PEAQ-ITC Automated システム (Malvern Panalytical) を用いて行った。精製 CYP2C9 は透析により ITC running buffer にバッファー交換した後、CYP2C9 濃度を 15  $\mu\text{M}$ 、リガンド WAR-d4、WAR を 4 mM とした。または CYP2C9 濃度を 30  $\mu\text{M}$ 、リガンド LOS-d2、LOS を 450  $\mu\text{M}$  とした。リガンド滴下量、滴下間隔、Duration 時間、Injection 回数、reference power、initial delay、攪拌スピードはそれぞれの条件で最適化し、測定温度は 25°C に設定した。

## (3) ラットを用いた LOS, LOS-d2 の単回経口投与による薬物動態試験

雄性 SD ラット (8-9 週令) を 2 群に分け (1 群 5 匹) 絶食条件下で LOS または LOS-d2 を 10 mg/kg で強制経口投与した。投与後 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 6, 12, 24 時間に血漿を採取し、軽水素体投与群では、LOS, E3174, E3179 を、重水素体投与群では LOS-d2, E3174, E3179-d1 を、LC-MS/MS を用いて定量した。血漿中薬物濃度の個別値を用いて、薬物動態解析ソフトウェア Phoenix WinNonlin (Ver.8.2., Certara) のノンコンパートメントモデル解析により血漿中薬物濃度の薬物動態パラメーター ( $C_{\text{max}}$ ,  $t_{\text{max}}$ ,  $t_{1/2}$ ,  $K_{\text{el}}$ ,  $\text{AUC}_{\text{last}}$ ,  $\text{AUC}_{\text{inf}}$ ) を算出した。

## 4. 研究成果

### (1) 単独 P450 酵素発現系、または肝ミクロソームを用いた各種重水素医薬品の *in vitro* KIE の評価

#### VEN-d6

VEN-d6 は、CYP2D6 supersome により主に ODV-d6 に、一部 4-hydroxy VFN-d6 (OHV-d6) NDV-d3、NODDV-d3 に代謝された。CYP2D6 supersome と HLM による VEN-d6 の代謝プロファイルが類似していたことから、肝臓での主要な代謝経路は CYP2D6 による ODV-d6 生成と考えられた。また CYP3A4 及び CYP2C19 supersome により主に NDV-d3 に、一部は ODV-d6、NODDV-d3 に代謝された。CYP3A4 による NDV 生成における KIE を non-competitive intermolecular 法 (図 2a) と competitive intermolecular 法 (図 2b) により評価した。non-competitive intermolecular 法で認められた  $V_{\text{max}}$  における比較的大きい KIE ( $^D V = 6.26$ ) は、competitive intermolecular 法では顕著に減弱した ( $^D V = 1.29$ )。これは、competitive intermolecular 法では、VFN-d6 からの NDV-d3 生成が、VFN との競争条件下にあっても阻害されなかったためと考える。intrinsic clearance における KIE は、Non-competitive intermolecular 法、及び Competitive intermolecular 法の両方でほとんど観察されず ( $^D(V/K) < 2.0$ ) *N*-メチル基の重水素化は、VEN から NDV

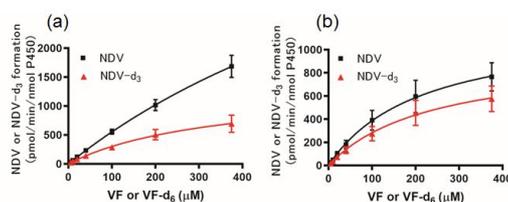


図2 CYP3A4によるVEN *N*-脱メチル化反応におけるKIEの評価  
(a) Non-competitive intermolecular法、(b) Competitive intermolecular法

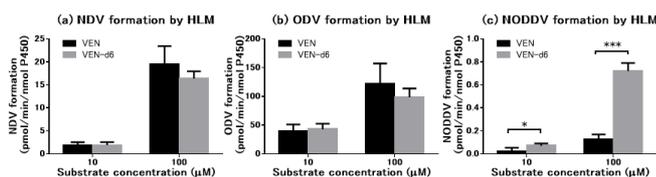


図3 HLMによるVEN及びVEN-d6の代謝プロファイルの比較

への代謝速度にはほとんど影響を及ぼさないと考えられた。さらに、HLM を用いて non-competitive intermolecular 法により NDV、ODV、NODDV への代謝プロファイルと比較したところ、VEN-d6 から NODDV-d3 への代謝が、VEN から NODDV への代謝と比較して有意に増加しており (図 3c) metabolic switch が示唆された。以上の結果より、VEN では、異なる部位が代謝される複数の代謝経路に数種の P450 が関与しており、薬理活性を有する VEN または ODV の血中濃度を、重水素化により持続させるように変化させることは難しいと考えられた。

#### LOS-d2

LOS-d2 は、主に CYP2C9 により E-3179-d1 を経て、E-3174 に代謝された。CYP2C9 supersome 及び HLM を用いて non-competitive intermolecular 法により E3174 生成の KIE をミカエリスメンテンプロットから評価した (図 4)。LOS-d2 を基質とした場合、LOS を基質とした場合と比較して、E3174 への代謝速度は、CYP2C9 supersome 及び HLM のいずれを用いた場合でも約 1/5 程度に有意に低下した。その結果、intrinsic clearance における KIE は、CYP2C9 では  $D(V/K) = 6.18$ 、HLM では  $D(V/K) = 9.57$  となり顕著な KIE が認められた。E-3174 は抗高血圧作用を示す活性代謝物であることから重水素化による E-3174 生成における顕著な KIE は薬効発現には望ましくないことが予想される。一方で、ヒドロキシ基の位に重水素を導入すると大きな KIE を得られる可能性があることや、VEN とは異なり LOS のように重水素化置換部位がその基質の主要な代謝経路である場合、metabolic switch の影響が少ないことが期待できるなど、有用な知見を得ることができた。

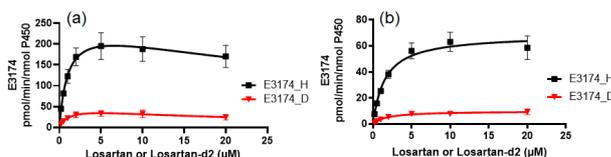


図4 CYP2C9、及びHLMによるLOS酸化反応におけるKIEの評価 (a) CYP2C9, (b) HLM

#### WAR-d4

WAR-d4 は、CYP2C9 により 7-OH WAR-d3 と 6-OH WAR-d3 に代謝されたが、7位水酸化が主経路であった。CYP2C9 supersome を用いて non-competitive intermolecular 法により7位水酸化反応の KIE を評価した (図 5)。WAR-d4 を基質とした場合、WAR を基質とした場合と比較して、7位水酸化反応の  $K_m$  値及び  $V_{max}$  値は共に約 1/2 に低下した。その結果、 $V_{max}$  における KIE は、 $DV = 2.32$ 、intrinsic clearance における KIE は  $D(V/K) = 1.20$  となり、 $V_{max}$  にのみ 2 倍程度の KIE が認められた。Nelson SD ら (DMD 31:1481-1498, 2003) によると、ratio of catalysis が無視できるほど小さい場合は  $V_{max}$  における KIE が理論上の KIE の最高値 (9) に近づく。一方, commitment to catalysis が無視できるほど小さい場合は intrinsic clearance における KIE が理論上の KIE の最高値に近づく。WAR-d4 では、 $V_{max}$ 、及び intrinsic clearance のいずれの KIE も顕著でなかったことから、基質から H の引き抜きの段階が酵素反応の律速段階ではないことが示唆された。芳香環水酸化反応の反応上の特性から、代謝部位の水素のみを重水素に置換しても KIE は認められにくいことが既に報告されていたが、今回の結果から、芳香環の全ての水素を重水素に置換しても KIE は顕著ではないことが明らかになった。

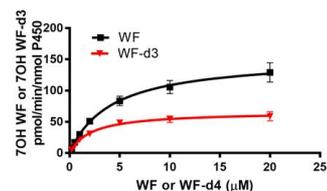


図5 CYP2C9によるWAR 7位水酸化反応におけるKIEの評価

#### Flu-d8

Flu-d8 は、CYP2C9 により 4-OH Flu-d7 に代謝された。CYP2C9 supersome を用いて non-competitive intermolecular 法により4位水酸化反応の KIE を評価した (図 6)。Flu-d8 を基質とした場合、Flu を基質とした場合と比較して、4位水酸化反応の  $K_m$  値はわずかに増加したが、 $V_{max}$  値はほぼ変わらず、両基質から得られた4位水酸化反応のミカエリスメンテンプロットは、ほぼ一致した。その結果、 $V_{max}$  における KIE は、 $DV = 0.91$ 、intrinsic clearance における KIE は  $D(V/K) = 1.24$  となり、KIE は認められなかった。WAR-d4 と同様、Fur の芳香環の全ての水素を重水素に置換しても芳香環水酸化反応の KIE は認められなかった。Guengerich FP らは以前、 $K_{cat}$  と non-competitive intermolecular KIE の間には負の相関 ( $r^2 = 0.62$ ) があると報告 (J Labelled Comp Radiopharm. 2013; 56(9-10): 428-431.) しているが、この報告に矛盾せず Flu の4位水酸化反応は、代謝回転数が比較的大きい反応であった。しかし、後に Guengerich FP らは、CYP21A2 とプロゲステロンの例のように早い代謝回転数を有する反応であっても、基質から H の引き抜きが律速となり大きな KIE を認める場合があることを報告 (Methods Enzymol. 2017; 596: 217-238) している。

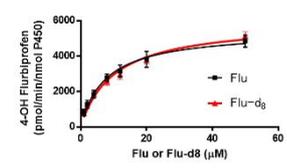


図6 CYP2C9によるFlu 4位水酸化反応におけるKIEの評価

## (2) CYP2C9 と重水素医薬品との X 線結晶構造解析、及び生物物理学的相互作用解析

重水素医薬品の中で最も顕著な *in vitro* KIE が認められた LOS-d2 をリガンドとして、CYP2C9 との結合様式を X 線結晶構造解析により明らかにした(図 7)。既報の LOS をリガンドとした構造 (PDB ID:1R9O) と同様、本構造において LOS-d2 は、代謝部位のイミダゾール基の側鎖部位ではなく、ピフェニル基をヘム鉄にむけた構造をしており、代謝物非産生的な結合であった(図 7a)。得られた構造は、1R9O とほぼ重ね合わせられ、結合しているリガンド (LOS vs. LOS-d2) やそれを取り巻くアミノ酸残基の構造に顕著な違いは見られなかった。一方で 1R9O の結晶化で用いられた結晶化剤 (Wizard I, No.21, pH=7.5) は、今回使用した結晶化剤 (PEGRX1, No.46, pH5.0) とは異なっているため、同じ結晶化条件 (PEGRX1, No.46, pH5.0) で詳細な比較を行った。B helix と C helix の間に位置する Arg108 と LOS-d2 または LOS との水素結合部位に両結晶構造間でわずかに差が観測された(図 7b)。Arg108 は、ジクロフェナクや Flu 等の酸性基質を CYP2C9 の活性中心に保持するのに重要な役割を果たしている (Wester MR et al., JBC Vol. 279, pp. 35630-35637, 2004)。

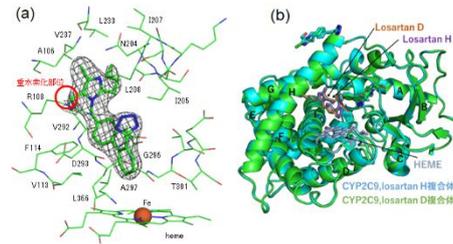


図7 CYP2C9とLOS-d2のX線結晶構造解析  
(a) CYP2C9-LOS-d2複合体の活性中心  
(b) CYP2C9-LOS-d2複合体とCYP2C9-LOS複合体の重ね合わせ

ITC を用いた CYP2C9 とリガンドとの相互作用解析において、LOS-d2 及び LOS はいずれも  $G < 0$ ,  $H < 0$ ,  $-T \Delta S > 0$  の熱力学的プロファイルを示すエンタルピー駆動型の結合であり、強固な水素結合のネットワーク形成に構造変化を伴う相互作用パターンが考えられた。CYP2C9 と LOS-d2 及び LOS の  $K_D$  値は、それぞれ 17.3  $\mu\text{M}$ , 15.5  $\mu\text{M}$  であり、両者に有意差は認められなかった。一方で LOS-d2 との結合では LOS と比較して  $H$  が有意に低下し、 $-T \Delta S$  が有意に増加したことから、CYP2C9 と LOS-d2 との結合では、LOS との結合と比較して、エンタルピー変化が結合に不利になる一方で、エンタルピー変化が結合に有利になることで  $G$  を同等に保ち、結合親和性が同程度になることが示唆された。

## (3) ラットを用いた LOS, LOS-d2 の単回経口投与による薬物動態試験

重水素医薬品の中で最も顕著な *in vitro* KIE が認められた LOS-d2 の *in vivo* KIE を評価するため、ラット単回経口投与と試験を実施し、基質及び代謝物の血漿中濃度及び薬物動態パラメーターを評価した。ラット単回経口投与後の LOS-d2 及び E-3174 の血漿中濃度推移を Fig. 8 に示す。LOS 投与群と LOS-d2 投与群間で、基質の血漿中濃度推移にはほとんど差がなく、算出したパラメーターにも有意な差は認められなかった。一方、LOS-d2 投与群の E-3174 の血漿中濃度は、LOS 投与群と比較して有意に減少し、 $C_{\text{max}}$ ,  $\text{AUC}_{\text{last}}$ ,  $\text{AUC}_{\text{inf}}$  が有意に減少した。E-3174 の血漿薬物濃度推移は、肝ミクロソームにおける LOS-d2 から E-3174 への代謝実験から認められた顕著な *in vitro* KIE と矛盾しない結果であり、*in vivo* においても LOS-d2 から E-3174 への代謝には顕著な KIE が認められることが示された。LOS の代謝において、E-3179 を介する E-3174 への代謝が主要な代謝経路であるが、*in vivo* では LOS と LOS-d2 の血漿中濃度に差がなかった。この理由は不明であるが、LOS から E-3179 への代謝速度と E-3179 から E-3174 への代謝速度の違いを反映している可能性が考えられる。E-3179 の血漿中濃度推移について現在評価中である。また、肝ミクロソームを用いた *in vitro* の代謝実験において、P450 が関与する metabolic switch は認められなかったことから、グルクロン酸抱合体への代謝経路への metabolic switch が起きた可能性が示唆される。LOS はプロドラックであり、代謝物の E-3174 が強い抗高血圧作用を有することから重水素化による臨床上の有用性は少ないと考えられた。一方で、抗炎症作用と抗高血圧作用を有する E-3179-d1 の血漿中濃度推移に関しては、今後の更なる検討が必要である。

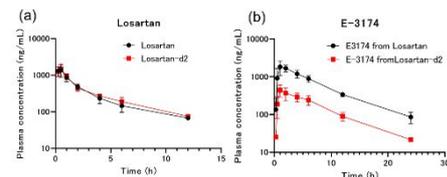


図8 ラット単回経口投与によるLOS-d2の薬物動態試験  
(a) LOS及びLOS-d2の血漿中濃度推移  
(b) E-3174の血漿中濃度推移

## (4) まとめ

P450 KIE の予測及び評価にあたり考慮すべき事項や重水素化の設計指針を下記、提案する。

*In vitro* KIE の評価には、competitive intermolecular 法と non-competitive intermolecular 法が一般に使用される。代謝環境を等しくできる点で competitive intermolecular 法は優れているが、重水素体合成時に混入する軽水素体の量が無視できない場合、結果の解釈には注意を要する。また、同一の P450 分子種が関与する逐次反応において重水素医薬品が代謝される場合、competitive intermolecular 法では軽水素体の反応がより強く阻害される場合がある。

芳香環水酸化反応では P450 KIE は認められず、水酸基の位のメチル水酸化反応では *in vitro* KIE が認められる結果を得た。しかし、この前提として重水素化部位の代謝が当該医薬品の代謝において主要な消失経路であることが必要である。また *in vitro* KIE の評価では、目的に応じて代謝物の生成量だけでなく親医薬品の残存量を確認し、metabolic switch の影響を第一相酵素のみならず第二相酵素により評価することも重要である。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Itoga Moeko, Yamanishi Masako, Udagawa Taro, Kobayashi Ayane, Maekawa Keiko, Takemoto Yoshiji, Naka Hiroshi	4. 巻 13
2. 論文標題 Iridium-catalyzed $\alpha$ -selective deuteration of alcohols	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Chemical Science	6. 最初と最後の頁 8744 ~ 8751
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1039/d2sc01805e	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Uchiyama Hiromasa, Ban Kazuho, Nozaki Shiho, Ikeda Yui, Ishimoto Takayoshi, Fujioka Hiroyoshi, Kamiya Mako, Amari Ryugo, Tsujino Hirofumi, Arai Masayoshi, Yamazoe Sachi, Maekawa Keiko, Kato Takuma, Doi Mitsunobu, Kadota Kazunori, Tozuka Yuichi, Tomita Naohito, Sajiki Hironao, Akai Shuji, Sawama Yoshinari	4. 巻 14
2. 論文標題 Impact of multiple H/D replacements on the physicochemical properties of flurbiprofen	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 RSC Medicinal Chemistry	6. 最初と最後の頁 2583 ~ 2592
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1039/d3md00357d	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計8件（うち招待講演 0件/うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Chisato Takahashi, Ayane Kobayashi, Miyuki Wakamatsu, Kaede Inoue, Yuki Kitajima, Motoyasu Adachi, Yoshinari Sawama, Keiko Maekawa
2. 発表標題 Impact of Substrate Deuteration on Warfarin Metabolism Involving CYP2C9
3. 学会等名 2023年 ICCP450/JSSX国際合同大会（国際学会）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Keiko Maekawa, Yuki Kitajima, Chisato Takahashi, Muneshige Tokugawa, Hiroshi Naka
2. 発表標題 Kinetic deuterium isotope effects of deuterium-modified Venlafaxine in cytochrome P450 oxidation reactions
3. 学会等名 2023年 ICCP450/JSSX国際合同大会（国際学会）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 西尾 彩花、山副 紗知、小林 文音、高橋 知里、徳川 宗成、澤間 善成、奈良岡 あすか、中 寛史、安達 基泰、前川 京子
2. 発表標題 重水素化医薬品の代謝におけるCYP2C9と薬物との相互作用及びKIEの評価
3. 学会等名 日本薬学会第144年会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 北島 由紀、高橋 知里、中 寛史、前川 京子
2. 発表標題 ベンラファキシンの代謝におけるCYP3A4が関与するKIEの酵素反応速度論的評価
3. 学会等名 第1回 若手重水素研究会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Keiko Maekawa, Yuki Kitajima, Chisato Takahashi
2. 発表標題 Development of deuterated drugs and future perspective
3. 学会等名 日本薬物動態学会第37回年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 井川 佑美、若松 三友紀、高橋 知里、安達 基泰、前川 京子
2. 発表標題 等温滴定型カロリメトリーを用いた薬物代謝酵素P450と薬物との相互作用測定法の構築
3. 学会等名 日本薬学会第143年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 小林 文音、北島 由紀、大平 真理、瀬古 寿々菜、高橋 知里、糸賀 萌子、奈良岡 あすか、中 寛史、前川 京子
2. 発表標題 重水素化ロサルタン代謝実験による速度論的同位体効果の評価
3. 学会等名 日本薬学会第143年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 前川 京子
2. 発表標題 重医薬品の開発動向 - 将来への期待と課題 -
3. 学会等名 日本薬学会第143年会
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

重水素学学問創出プロジェクト <a href="https://deut-switch.pharm.kyoto-u.ac.jp/">https://deut-switch.pharm.kyoto-u.ac.jp/</a> 重水素学学問創出プロジェクト <a href="https://deut-switch.pharm.kyoto-u.ac.jp/">https://deut-switch.pharm.kyoto-u.ac.jp/</a>
--

6. 研究組織			
	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	安達 基泰  (Adachi Motoyasu)  (60293958)	国立研究開発法人量子科学技術研究開発機構・量子生命科学研究所・上席研究員   (82502)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	中 寛史  (Naka Hiroshi)		
研究協力者	澤間 善成  (Sawama Yoshinari)		
研究協力者	石元 孝佳  (Ishimoto Takayoshi)		
研究協力者	高橋 知里  (Takahashi Chisato)		
研究協力者	徳川 宗成  (Tokugawa Muneshige)		

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関