

## Screening of Potential Anticancer Compounds from Marketed Drugs: Aripiprazole, Haloperidol, Miconazole, and Terfenadine Inhibit Cytochrome P450 2J2

Kwang-Hyeon Liu\*

College of Pharmacy and Research Institute of Pharmaceutical Sciences, Kyungpook National University, Daegu 702-701, Korea

Received August 25, 2011 / Revised November 11, 2011 / Accepted November 16, 2011

Cytochrome P450 2J2 (CYP2J2) plays important roles in the metabolism of endogenous metabolites such as arachidonic acid as well as therapeutic drugs. CYP2J2 is overexpressed in human cancer tissues and cancer cell lines, as well as in epoxyeicosatrienoic acids (EETs) and CYP2J2-mediated metabolites, and prevent apoptosis of cancer cells. This study aimed to screen marketed drugs for inhibitory potential on CYP2J2 isoforms using human liver microsomes. The initial screen isolated 4 compounds, from 120 marketed drugs, that inhibited the CYP2J2-mediated astemizole *O*-demethylation more than 50% in the following order: haloperidol (75%) > terfenadine (56%) > aripiprazole (55%) > miconazole (52%). Miconazole strongly inhibited CYP2J2-mediated ebastine hydroxylation ( $IC_{50}=11.2 \mu M$ ) and terfenadine hydroxylation ( $IC_{50}=2.2 \mu M$ ), and terfenadine also inhibited CYP2J2-mediated ebastine hydroxylation ( $IC_{50}=13.6 \mu M$ ) in a dose dependent manner. The present data suggest that these drugs are potential candidates for further evaluation for their anti-cancer activities.

**Key words** : Anti-cancer activity, CYP2J2, drug-interaction, miconazole, screening

## 서 론

Cytochrome P450 2J2 (CYP2J2)는 인체의 항상성 유지에 관여하는 아라키돈산의 에폭시에이코사트리엔산(epoxyeicosatrienoic acid, EET)으로의 대사를 매개하는 효소로 알려져 있는 인체주요 약물대사효소 중 하나이다[23]. CYP2J2에 의해서 생성된 아이코사노이드류는 항염증, 신장 기능 조절, 혈압 조절, 혈소판 응집 억제 및 심근 허혈로부터 심장보호와 같은 다양한 생물학적 활성을 가지고 있다[1,12,18]. CYP2J2는 다른 시토크롬 P450 효소와는 달리 주로 심장에서 발현되는 효소로 알려져 있고, 이외에도 소장이나 간, 신장, 대장, 췌장 및 폐 등에도 소량 분포하는 것으로 보고되었다[23,26]. 최근 연구 결과에 의하면, CYP2J2는 아라키돈산과 같은 내인성 대사체뿐만 아니라, 아스테미졸(astemizole), 에바스틴(ebastine)과 같은 항히스타민제 약물 및 항응고제인 아픽사반(apixaban)의 대사에 관여하는 것으로 알려져 있다[14,15,20,22]. 일반적으로, 임상 약물이 체내에서 적절한 효능을 나타내기 위해서는 정상적인 약물대사효소의 활성이 요구된다. 즉, 인체 내에서 약물대사와 관련이 있는 약물대사효소의 활성 변화는 약물의 체내 동태를 변화시켜 약효를 크게 감소시키거나 심한 경우 약물이상반응을 초래하기도 한다. 그러므로, 약물대사효소의 활성에 영향을 주는 요인을 규명하여, 약물반응을 예측함으로써 약물에 의한 부적절한 반

응을 방지하는 것이 중요하다.

한편, CYP2J2가 인체 종양 조직 및 종양 세포에서 과발현되어 있음이 몇몇 연구진에 의해 보고되어 왔다[2,5]. 이들 연구진은 CYP2J2가 종양 조직 주위의 정상조직 및 정상세포에서는 거의 발견되지 않음을 확인하였고, CYP2J2의 발현을 증가시키거나, CYP2J2의 대사산물인 EET를 배양중인 암세포주에 첨가할 경우 암세포의 증식이 증가하는 것을 확인하였다[2,5]. 이어서 미국 Zeldin 박사 연구팀에 의해 CYP2J2 과발현으로 인한 EET의 증가가 종양 세포에서 암전이 촉진 유전자의 과발현과 저해 유전자의 발현 감소를 가져옴이 규명됨으로써, CYP2J2는 새로운 항암제 개발을 위한 표적 단백질로 연구가 활발히 진행되고 있다[3,6].

현재까지 CYP2J2 단백질의 구조는 규명되지 않아, 효소 활성부위의 3차원 구조나 기질 특이성에 대한 정보는 부족한 실정이다. 그러나, 최근 한 연구진은 기존에 구조가 알려져 있는 CYP2A6, CYP2B4, CYP2C8, CYP2C9 및 CYP2D6의 3차원 구조에 근거하여, CYP2J2 단백질의 3차원 구조 모델을 제안하였다[10,11]. 또한 CYP2J2 저해제 스크리닝을 통하여 터페나딘(terfenadine)의 알코올 그룹의 산화에 의해 생성된 terfenadone 화합물이 CYP2J2 효소에 의해 매개되는 에바스틴 대사 활성을 강력하게 저해함을 보고하였다( $IC_{50}=0.7 \mu M$ ) [10]. 또한 구조-활성 상관성 연구를 통하여, terfenadone보다 더 큰 저해 활성을 가진 화합물 2~3종을 추가로 발굴하여 보고한 바 있다. 그러나, CYP2J2 활성 저해제에 대한 연구는 CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, 및 CYP3A와 같은 다른 시토크롬 P450 효소들에 비하면 아직

## \*Corresponding author

Tel : +82-53-950-8567, Fax : +82-53-950-8557

E-mail : dstlkh@knu.ac.kr

극소수에 불과한 실정이다.

따라서, 본 연구에서는 CYP2J2 효소 활성에 저해능을 보이는 화합물을 발굴하기 위하여, 현재 시판중인 약물 중 120종을 대상으로, 인체 CYP2J2 효소 활성 저해능을 평가하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 시약 및 재료

CYP2J2 효소 활성 측정에 필요한 CYP2J2 기질약물 및 대사체인 astemizole, *O*-desmethyl astemizole, ebastine, hydroxyebastine 및 terfenadine은 TRC (North York, Canada)에서 구매하여 사용하였다. NADP, glucose-6-phosphate, glucose-6-phosphate dehydrogenase 및 CYP2J2 효소 활성 저해능 평가를 위한 약물 120종(Table 1)은 Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA)에서 구매하여 사용하였다. 인체 간 마이크로솜(H161)과 terfenadine alcohol은 BD Gentest (Woburn, MA)에서 구입하였다. 기타 본 연구에 이용된 시약은 모두 실험

함에 이용 가능한 최상급을 구입하여 사용하였다.

### 약물 스크리닝을 통한 CYP2J2 활성 저해제 탐색

120종 약물의 CYP2J2 효소 활성도 억제에 대한 연구는 CYP2J2의 기질 약물인 astemizole로부터 생성되는 CYP2J2 매개 대사체인 *O*-desmethyl astemizole의 생성 속도를 측정함으로써 평가하였다[15,25]. 즉, astemizole (10  $\mu$ M) 만을 혹은 astemizole과 함께 억제제로 약물(50  $\mu$ M)을 0.25 mg/ml의 인체 마이크로솜을 함유하고 있는 100 mM 인산 완충액(pH 7.4)에 넣고 37°C에서 5분간 배양하였다. 이후 NADPH 재생성계(3.3 mM glucose-6-phosphate, 1.3 mM NADP, 3.3 mM MgCl<sub>2</sub> 및 1.0 unit/ml glucose-6-phosphate dehydrogenase)를 첨가함으로써 반응을 시작하고, 15분간의 반응 후 각 tube를 얼음 위에 놓고 내부표준물질로서 0.5  $\mu$ M terfenadine을 포함하고 있는 아세토니트릴 40  $\mu$ l를 첨가하여 반응을 정지시켰다. 반응 정지 후, 원심분리기에서 5 분간 원심분리(20,000 $\times$  g) 한 후 상층액을 직접LC/MS/MS 시스템에 주입하였다.

Table 1. List of compounds used in this study

No.	Compound	No.	Compound	No.	Compound	No.	Compound
1	Acetaminophen	31	Dobutamine	61	Lamotrigine	91	Primidone
2	Albendazole	32	Domperidone	62	Lansoprazole	92	Procaine
3	Alprazolam	33	Doxepin	63	Levomepromazine	93	Propofol
4	Amiodarone	34	Ebastin	64	Losartan	94	Pyrazinamide
5	Amitriptyline	35	Enoxacin	65	Lovastatin	95	Rebamipide
6	Amlodipine	36	Etoricoxib	66	Maprotiline	96	Resveratrol
7	Amodiaquin	37	Famotidine	67	Mebendazole	97	Ricobendazole
8	Amoxicilline	38	Fenbendazole	68	Meloxicam	98	Risperidone
9	Aripiprazole	39	Fenoprofen	69	Methimazole	99	Rosuvastatin
10	Atenolol	40	Fexofenadine	70	5-Methoxypsoralen	100	Rotenone
11	Berberine	41	Flubendazole	71	8-Methoxypsoralen	101	Simvastatin
12	Bufuralol	42	Flufenamic acid	72	Metoprolol	102	Sulfacetamide
13	Bupropion	43	Flunarizine	73	Miconazole	103	Sulfamethoxazole
14	Carbamazepine	44	Fluphenazine	74	Midazolam	104	Sulfaphenazole
15	Ciclobendazole	45	Fluvastatin	75	Nalidixic acid	105	Sulindac
16	Cisapride	46	Flurbiprofen	76	Naloxone	106	Suprofen
17	Chlorpropamide	47	Furosemide	77	$\alpha$ -Naphthoflavone	107	Tadalafil
18	Chlorzoxazone	48	Glipizide	78	Naproxen	108	Terfenadine
19	Chlorpromazine	49	Glibenclamide	79	Nimesulide	109	Theophylline
20	Clebopride	50	Haloperidol	80	Norfloxacin	110	Thioridazine
21	Clozapine	51	Harmol	81	Nortriptyline	111	Ticlopidine
22	Clopidogrel	52	Ibuprofen	82	Omeprazole	112	Tolbutamide
23	Desipramine	53	Ilaprazole	83	Perphenazine	113	Torsemide
24	Dextromethorphan	54	Imipramine	84	Pimozide	114	Tranlycypromine
25	Dextrorphan	55	Indigo	85	Pindolol	115	Trimethoprim
26	Dibucaine	56	Indole	86	Pirenzepine	116	Troleandomycin
27	Diclofenac	57	Indomethacin	87	Piroxicam	117	Thymol
28	Diltiazem	58	Isatin	88	Pitavastatin	118	Verapamil
29	Diphenylhydantoin	59	Isoxicam	89	Praziquantel	119	Vioxx
30	Diphenhydramine	60	Ketoprofen	90	Prednisolone	120	Zonisamide

Aripiprazole, haloperidol, miconazole 및 terfenadine의 CYP2J2 저해능 평가

120종 약물의 CYP2J2 효소 활성화 억제 연구를 통하여 저해능이 확인된 화합물(aripiprazole, haloperidol, miconazole 및 terfenadine)에 대하여, CYP2J2 활성 억제 상수(IC<sub>50</sub>)를 구하는 실험을 수행하였다. 즉, CYP2J2의 기질 약물인 astemizole, ebastine 및 terfenadine로부터 생성되는 CYP2J2 매개 대사체인 *O*-desmethyl astemizole, hydroxyebastine 및 terfenadine alcohol의 생성 속도를 측정하여 억제상수를 측정하였다[7,12-15,25]. 즉, 3종의 CYP2J2 기질 약물 중 하나만을(10 µM astemizole, 5 µM ebastine, or 5 µM terfenadine) 혹은 기질약물 한 종과 함께 억제제로 약물(0~200 µM)을 같이 0.25 mg/ml의 인체 마이크로솜을 함유하고 있는 100 mM 인산 완충액(pH 7.4)에 넣고 37°C에서 5분간 배양하였다. 이후 NADPH 재생성계(3.3 mM glucose-6-phosphate, 1.3 mM NADP, 3.3 mM MgCl<sub>2</sub> 및 1.0 unit/ml glucose-6-phosphate dehydrogenase)를 첨가함으로써 반응을 시작하고, 15분간의 반응 후 각 tube를 얼음 위에 놓고 내부표준물질(2 µM terfenadine (*O*-desmethyl astemizole 및 hydroxyebastine 분석 시), 4 µM chlorpropamide (terfenadine alcohol 분석 시))을 포함하고 있는 아세트니트릴 40 µl를 첨가하여 반응을 정지시켰다. 반응 정지 후, 원심분리기에서 5 분간 원심분리(20,000× g) 한 후 상층액을 직접 LC/MS/MS 시스템에 주입하였다.

LC/MS/MS 분석

*O*-Desmethyl astemizole, hydroxyebastine, terfenadine al-

cohol 및 내부표준물질을 분리하기 위해 Phenomenex 사의 Luna C18 컬럼(2×50 mm, 3 µm)을 사용하였고, 이동상은 water:acetonitrile (50:50, v/v)에 0.1% formic acid를 첨가하여 사용하였다. 이 때 이동상의 유속은 0.2 ml/min으로 유지하였으며, 탠덤질량분석기(QTrap 4000 LC/MS/MS system, Applied Biosystems, Foster City, CA, USA)를 이용하여 검출하였다. 탠덤질량분석시 이온소스는 전기분무법(electrospray, positive mode)을 사용하였고, 이온화 전압은 5.5 kV, 탈용매화 온도는 550°C, 오리피스 및 링 전압은 각각 80 V 및 400 V로 조정하였다. 질소가스 흐름 속도의 분무가스는 1.04 l/min, 커튼가스는 1.44 l/min 및 보조가스는 4.0 l/min으로 조정하였고, 충돌가스(질소) 에너지 값(collision energy)은 35 (*O*-desmethyl astemizole), 42 (hydroxyebastine, terfenadine), 36 (terfenadine alcohol), 및 25 eV (chlorpropamide) 이었다. 분석 물질의 정량을 위하여 MRM (multiple reaction monitoring) 정량 모드를 이용하였고, *O*-desmethyl astemizole, hydroxyebastine, terfenadine alcohol, chlorpropamide, 및 terfenadine의 선택 질량으로서 각각 *m/z* 445>204, 486>167, 488>452, 227>175, 및 472>436를 사용하였다. 데이터 분석을 위해서는 Analyst software (version 1.4)를 사용하였다.

데이터 해석

CYP2J2 동효소에 특이한 기질 약물로부터 대사체 생성에 대한 저해제의 CYP2J2 활성 억제에 대한 경수(IC<sub>50</sub>)는, 스크리닝 단계에서 저해능을 보인 화합물(aripiprazole, haloperidol, miconazole 및 terfenadine)의 농도를 달리하면서

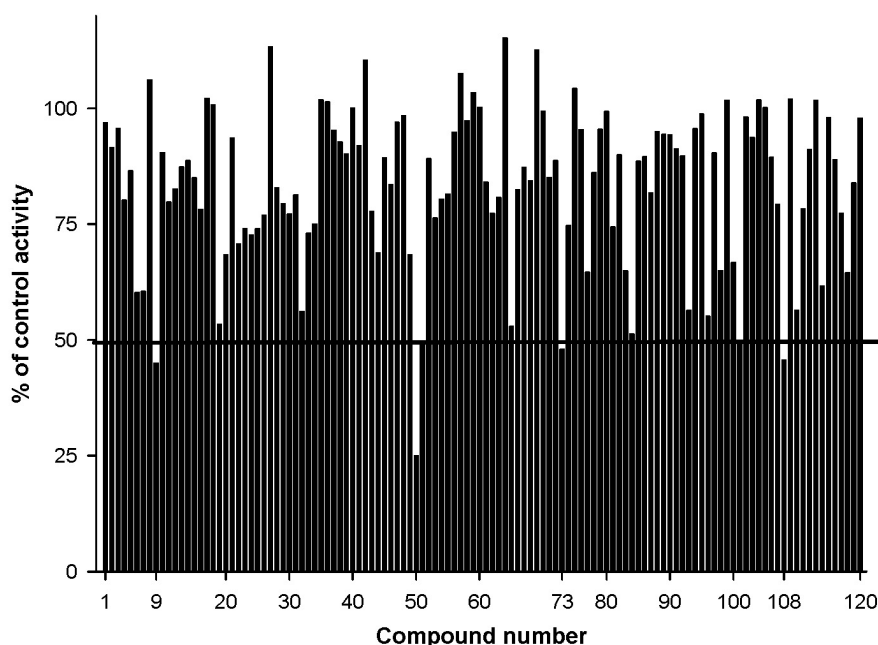


Fig. 1. Inhibitory effects of 120 marketed drugs (50 µM) on CYP2J2-mediated astemizole *O*-demethylation activity [aripiprazole (#9), haloperidol (#50), miconazole (#73), and terfenadine (#108)]. The data are the averages of triplicate experiments.

(0~200  $\mu\text{M}$ ), 효소 활성 저해 연구를 수행 후 약동학 분석 프로그램인 WinNonlin (Version 2.0, Pharsight, Apex)을 이용하여 비선형 최소자승 회귀분석법을 이용하여 산출하였다[8].

### 결과 및 고찰

최근 CYP2J2 단백질이 정상조직에 비해 종양조직에 과발현되어 있음이 보고된 이후, CYP2J2 단백을 표적으로 하는 표적 항암제에 대한 연구가 일부 연구자에 의해 활발히 진행

되고 있다[2,3,5,6,19,26]. Lafite 등은 CYP2J2 효소 활성에 저해능을 보이는 화합물을 terfenadine 유도체로부터 발굴하였으며[10,11], Chen 등은 이 화합물들이 종양세포의 증식을 억제하고, 세포사멸을 유도함을 규명한 바 있다[2,3]. 그러나, 현재까지 CYP2J2 효소 활성을 억제한다고 알려진 물질은 terfenadone 유도체 몇 종을 포함하여 극소수에 불과한 실정이다. 따라서, 본 연구에서는 현재 시판중인 약물을 대상으로 인체 CYP2J2 효소 활성에 저해능을 보이는 화합물을 발굴함으로써, 표적 항암제 후보물질 개발에 이용될 수 있는 유효물질 (Hit)을 도출하고자 하였다.

Table 2. Effects of aripiprazole, haloperidol, miconazole, and terfenadine on CYP2J2 activity of human liver microsomes

Substrate	IC <sub>50</sub> ( $\mu\text{M}$ )			
	Aripiprazole	Haloperidol	Miconazole	Terfenadine
Astemizole	58.8	14.5	140.3	50.2
Ebastine	79.0	141.7	11.2	13.6
Terfenadine	> 200	141.2	2.2	-

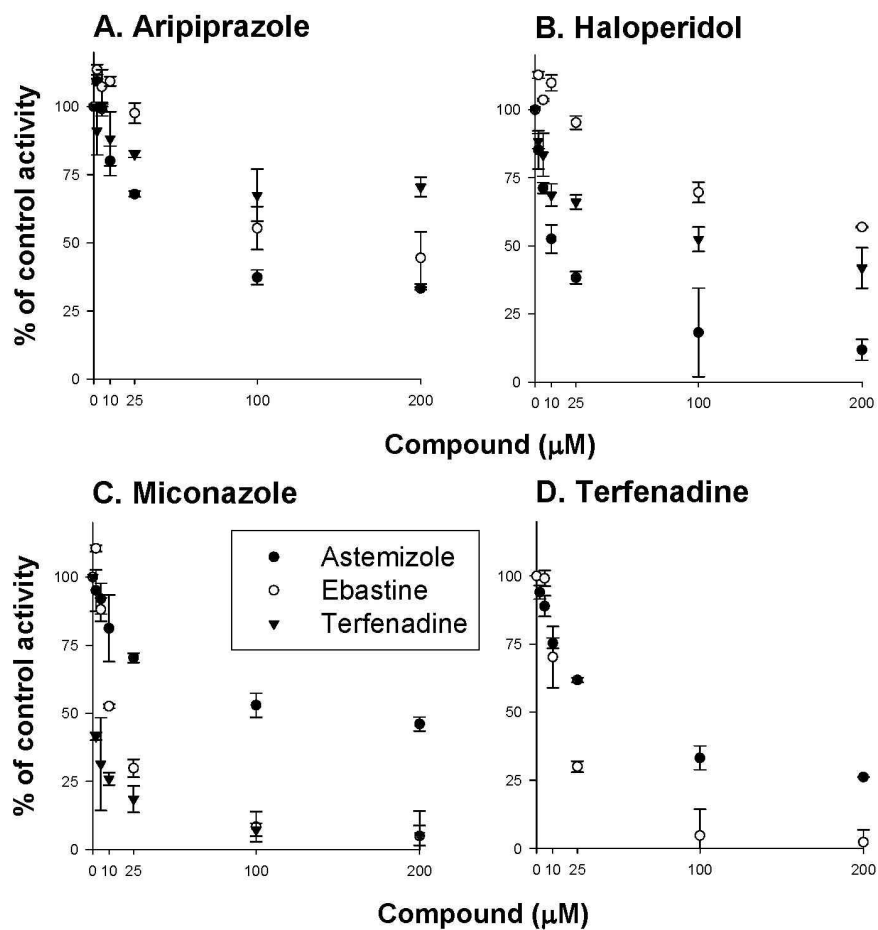


Fig. 2. Inhibitory effects of aripiprazole (A), haloperidol (B), miconazole (C), and terfenadine (D) on CYP2J2 activity. The activities assessed were astemizole *O*-demethylation (●), ebastine hydroxylation (○), and terfenadine hydroxylation (▼). The data are the averages of triplicate experiments.

시판중인 약물 120종을 대상으로 CYP2J2 동효소 저해 활성을 평가한 결과, 50  $\mu\text{M}$  농도에서 4종의 약물(aripiprazole, haloperidol, miconazole 및 terfenadine)이 *O*-desmethyl astemizole 형성을 50% 이상 저해하는 것으로 나타났다(Fig. 1). 또한, astemizole을 기질로 사용하였을 경우 이들 4종의 약물은 농도 의존적으로 CYP2J2 활성을 저해하였는데, haloperidol이 가장 높은 저해능( $\text{IC}_{50}=14.5 \mu\text{M}$ )을 보였고, terfenadine, aripiprazole, 및 miconazole( $\text{IC}_{50}=140.3 \mu\text{M}$ )의 순으로 저해능이 감소하였다(Table 2, Fig. 2).

이들 약물의 CYP2J2 효소 저해 활성의 기질특이성을 조사하기 위하여, CYP2J2의 다른 기질약물인 ebastine 및 terfenadine을 대상으로 저해능을 재평가하였다. 그 결과, astemizole에서 가장 큰 저해능을 보였던 haloperidol은 CYP2J2 매개 ebastine 및 terfenadine 대사를 매우 약하게 저해하였으며( $\text{IC}_{50}>100 \mu\text{M}$ ), 가장 약한 저해능을 보였던 miconazole은 CYP2J2 매개 ebastine 및 terfenadine 대사를 오히려 크게 억제하는 것으로 나타났다( $\text{IC}_{50}<15 \mu\text{M}$ ). Terfenadine 역시 astemizole 대사보다는 ebastine 대사를 약 4배 정도 크게 저해하였는데, terfenadine의 CYP2J2 매개 ebastine hydroxylation 활성 저해능( $\text{IC}_{50}=13.6 \mu\text{M}$ )은 이전에 보고되었던 값( $\text{IC}_{50}=8.1 \mu\text{M}$ )과 유사하였다[10]. 본 연구에서 관찰된 기질 특이적 약물 대사효소 활성 저해는 CYP2J2와 유사한 동종의 시토크롬 P450 동효소에서도 일반적으로 관찰할 수 있는 현상이다. 예로서, CYP2B6의 선택적 저해제인 thio-TEPA는 efavirenz 8-hydroxylation 활성보다 bupropion hydroxylation 활성을 5배 이상 크게 저해함이 보고되었다[9]. 또한, 대표적인 CYP3A 동효소 선택적 저해제인 ketoconazole 역시 기질에 따라 10 배 또는 100배 이상의 차이를 보인다는 것이 보고되기도 하였다[21,24].

한편, miconazole은 CYP2J2 매개 ebastine ( $\text{IC}_{50}=11.2 \mu\text{M}$ ) 및 terfenadine hydroxylation ( $\text{IC}_{50}=2.2 \mu\text{M}$ )을 강력하게 저해하였다. Niwa 등의 연구결과에 의하면, miconazole은 CYP1A2, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, CYP2E1, 및 CYP3A4 효소 활성을 모두 억제하였다[16,17]. 이러한 연구 결과로 보아, miconazole은 CYP 동효소 비선택적 저해제인 1-aminobenzotriazole나 SKF-525A 처럼[4] 사용될 가능성이 있을 것으로 판단된다. 그러나, metyrapone이 비선택적 CYP 동효소 저해제로 사용되기 위해서는, 추가 연구를 통하여 miconazole의 CYP 동효소 저해 기전이 규명되어야 한다.

최근 terfenadone 유도체들이 세포사멸 촉진 및 종양 세포의 성장 억제 등과 같은 다양한 기전을 통하여 표적 항암제 후보물질로 사용될 수 있다는 결과가 보고되고 있다. 따라서 본 연구를 통하여 CYP2J2 저해능이 발견된 약물의 경우에도, 유사한 골격을 가진 화합물 합성을 통한 구조-활성 상관성 연구를 통하여 CYP2J2 효소 활성 저해능이 우수한 유효물질의

발굴이 가능할 것으로 판단된다. 그러나, 이를 위해서는 상기 화합물에 대한 다른 CYP 동효소 활성 저해능 평가 및 세포 독성 평가 등과 같은 추가 실험이 더 필요할 것이다.

## 감사의 글

본 연구는 2011학년도 경북대학교 신입교수정착연구비에 의하여 연구되었음.

## References

1. Capdevila, J. H., J. R. Falck, and R. C. Harris. 2000. Cytochrome P450 and arachidonic acid bioactivation: Molecular and functional properties of the arachidonate monooxygenase. *J. Lip. Res.* **41**, 163-181.
2. Chen, C., G. Li, W. Liao, J. Wu, L. Liu, D. Ma, J. Zhou, R. H. Eblekai, M. L. Edin, D. C. Zeldin, and D. W. Wang. 2009. Selective inhibitors of CYP2J2 related to terfenadine exhibit strong activity against human cancers *in vitro* and *in vivo*. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **329**, 908-918.
3. Chen, C., X. Wei, X. Rao, J. Wu, S. Yang, F. Chen, D. Ma, J. Zhou, R. T. Dackor, D. C. Zeldin, and D. W. Wang. 2011. Expression of cytochrome P450 arachidonic acid epoxigenase 2J2 in human tumor tissues and cell lines. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **336**, 344-355.
4. Emoto, C., S. Murases, Y. Sawada, and K. Iwasaki. 2005. *In vitro* inhibitory effect of 1-aminobenzotriazole on drug oxidations in human liver microsomes: a comparison with SKF-525A. *Drug Metab. Pharmacokinet.* **20**, 351-357.
5. Jiang, J. G., C. L. Chen, J. W. Card, S. Yang, J. X. Chen, X. N. Fu, Y. G. Ning, X. Xiao, D. C. Zeldin, and D. W. Wang. 2005. Cytochrome P450 2J2 promotes the neoplastic phenotype of carcinoma cells and is up-regulated in human tumors. *Cancer Res.* **65**, 4707-4715.
6. Jiang, J. G., Y. G. Ning, C. Chen, D. Ma, Z. J. Liu, S. Yang, J. Zhou, X. Xiao, X. A. Zhang, M. L. Edin, J. W. Card, J. Wang, D. C. Zeldin, and D. W. Wang. 2007. Cytochrome P450 epoxigenase promotes human cancer metastasis. *Cancer Res.* **67**, 6665-6674.
7. Kang, W., K. H. Liu, J. Y. Ryu, and J. G. Shin. 2004. Simultaneous determination of ebastine and its three metabolites in plasma using liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. B.* **813**, 75-80.
8. Kim, H., Y. J. Yoon, J. H. Shon, I. J. Cha, J. G. Shin, and K. H. Liu. 2006. Inhibitory effects of fruit juices on CYP3A activity. *Drug Metab. Dispos.* **34**, 521-523.
9. Kim, H., K. B. Kim, H. Y. Ku, S. J. Park, H. Choi, J. K. Moon, B. S. Park, J. H. Kim, S. S. Yea, C. H. Lee, H. S. Lee, J. G. Shin, and K. H. Liu. 2008. Identification and characterization of potent CYP2B6 inhibitors in Woohwangcheongsimwon suspension, an herbal preparation used in the treatment and prevention of apoplexy in Korea and China. *Drug Metab. Dispos.* **36**, 1010-1015.

10. Lafite, P., S. Djols, D. Buisson, A. C. Macherey, D. C. Zeldin, P. M. Dansette, and D. Mansuy. 2006. Design and synthesis of selective, high-affinity inhibitors of human cytochrome P450 2J2. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **16**, 2777-2780.
11. Lafite, P., F. André, D. C. Zeldin, P. M. Dansette, and D. Mansuy. 2007. Unusual regioselectivity and active site topology of human cytochrome P450 2J2. *Biochemistry* **46**, 10237-10247.
12. Lee, S. S., H. E. Jeong, K. H. Liu, J. Y. Ryu, T. Moon, C. N. Yoon, S. J. Oh, C. H. Yun, and J. G. Shin. 2005. Identification and functional characterization of novel CYP2J2 variants: G312R variant causes loss of enzyme catalytic activity. *Pharmacogenet Genom* **15**, 105-113.
13. Lee, C. A., D. Neul, A. Clouser-Roche, D. Dalvie, M. R. Wester, Y. Jiang, J. P. Jones, S. Freiwald, M. Zientek, and R. A. Totah. 2010. Identification of novel substrates for human cytochrome P450 2J2. *Drug Metab. Dispos.* **38**, 347-356.
14. Liu, K. H., M. G. Kim, D. J. Lee, Y. J. Yoon, M. J. Kim, J. H. Shon, C. S. Choi, Y. K. Choi, Z. Desta, and J. G. Shin. 2006. Characterization of ebastine, hydroxyebastine, and carebastine metabolism by human liver microsomes and expressed cytochrome P450 enzymes: major roles for CYP2J2 and CYP3A. *Drug Metab. Dispos.* **34**, 1793-1797.
15. Matsumoto, S., T. Hiramata, H. J. Kim, K. Nagata, and Y. Yamazoe. 2003. In vitro inhibition of human small intestinal and liver microsomal astemizole O-demethylation: different contribution of CYP2J2 in the small intestine and liver. *Xenobiotica* **33**, 615-623.
16. Niwa, T., T. Shiraga, and A. Takagi. 2005. Effect of antifungal drugs on cytochrome P450 (CYP) 2C9, CYP2C19, and CYP3A3 activities in human liver microsomes. *Biol. Pharm. Bull.* **28**, 1805-1808.
17. Niwa, T., S. Inoue-Yamamoto, T. Shiraga, and A. Takagi. 2005. Effect of antifungal drugs on cytochrome P450 (CYP) 1A2, CYP2D6, and CYP2E1 activities in human liver microsomes. *Biol. Pharm. Bull.* **28**, 1813-1816.
18. Node, K., Y. Huo, X. Ruan, B. Yang, M. Spiecker, K. Ley, D. C. Zeldin, and J. K. Liao. 1999. Anti-inflammatory properties of cytochrome P450 epoxygenase-derived eicosanoids. *Science* **285**, 1276-1279.
19. Park, J. H., Q. Wu, K. H. Yoo, H. I. Yong, S. M. Cho, I. S. Chung, and N. I. Baek. 2011. Cytotoxic effect of flavonoids from the roots of *Glycyrrhiza uralensis* on human cancer cell lines. *J. Appl. Biol. Chem.* **54**, 67-70.
20. Shon, J. H., C. W. Yeo, K. H. Liu, S. S. Lee, I. J. Cha, and J. G. Shin. 2010. Itraconazole and rifampin alter significantly the disposition and antihistamine effect of ebastine and its metabolites in healthy participants. *J. Clin. Pharmacol.* **50**, 195-204.
21. Venkatakrishnan, K., L. L. von Moltke, and D. J. Greenblatt. Effects of the antifungal agents on oxidative drug metabolism: clinical relevance. *Clin. Pharmacokinet.* **38**, 111-180.
22. Wang, L., D. Zhang, N. Raghavan, M. Yao, L. Ma, C. E. Frost, B. D. Maxwell, S. Y. Chen, K. He, T. C. Goosen, W. G. Humphreys, and S. J. Grossman. 2010. In vitro assessment of metabolic drug-drug interaction potential through cytochrome P450 phenotyping, inhibition, and induction studies. *Drug Metab. Dispos.* **38**, 448-458.
23. Wu, S., C. R. Moomaw, K. B. Tomer, J. R. Falck, and D. C. Zeldin. 2006. Molecular cloning and expression of CYP2J2, a human cytochrome P450 arachidonic acid epoxygenase highly expressed in heart. *J. Biol. Chem.* **271**, 3460-3468.
24. Yale, S. H. and I. Glurich. 2005. Analysis of the inhibitory potential of Ginkgo biloba, Echinacea purpurea, and Serenoa repens on the metabolic activity of cytochrome P450 3A4, 2D6, and 2C9. *J. Altern. Complement Med.* **11**, 433-439.
25. Yoon, Y. J. and K. H. Liu. 2011. Potential of hydroxyebastine and terfenadine alcohol to inhibit the human cytochrome P450 2J2 isoform. *J. Korean Soc. App. Biol. Chem.* **54**, in press.
26. Zeldin, D. C., J. Foley, J. E. Boyle, C. R. Moomaw, K. B. Tomer, and C. Parker. 1997. Predominant expression of an arachidonate epoxygenase in islets of Langerhans cells in human and rat pancreas. *Endocrinology* **138**, 1339-1346.

초록 : 시판 약물의 시토크롬 2J2 약물대사효소 저해능 탐색

류광현\*

(경북대학교 약학대학)

CYP2J2는 치료약물 및 아라키돈산과 같은 내인성 화합물의 대사에 중요한 역할을 수행하고 있는 효소이다. 최근, CYP2J2 단백질이 인체 종양 조직이나 종양 세포주에 과발현되어 있고, CYP2J2 효소의 작용에 의해 생성된 에폭시에이코사트리엔산(EETs)이 세포사멸을 방지한다는 것이 보고되었다. 본 연구는 시판중인 약물 120종을 대상으로 시토크롬 2J2 동종효소에 저해능을 가지는 화합물을 발굴하고자 하였다. 인체 간 마이크로솜 시료에 아스테미졸과 NADPH 재생성계 및 약물(50  $\mu$ M)을 첨가한 후 15분간 반응시켜 생성된 대사물을 LC/MS/MS를 이용하여 분석하여 시토크롬 2J2 동종효소 활성의 변화를 평가하였다. 그 결과 할로페리돌, 터페나딘, 아리피프라졸, 미코나졸의 순으로 CYP2J2 효소 활성 저해능을 보였다. 미코나졸은 CYP2J2에 의해 매개되는 에바스틴 ( $IC_{50}=11.2 \mu$ M) 및 터페나딘( $IC_{50}=2.2 \mu$ M) 대사를 강력하게 저해하였다. 터페나딘 또한 CYP2J2 매개 에바스틴 대사를 농도 의존적으로 저해하였다( $IC_{50}=13.6 \mu$ M). 향후, 이들 약물을 대상으로 한 항암 활성 평가가 필요할 것으로 판단된다.