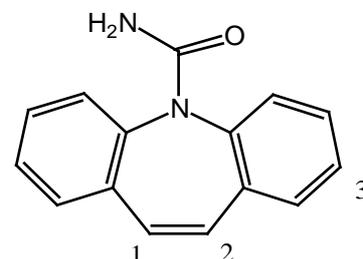


## CYP3A4 における基質酸化部位特異性について

(千葉大院薬、\*千葉大医) 畑晶之、田中良和、京田直子、  
刑部泰輔、幸瞳、石井伊都子、北田光一\*、星野忠次、根矢三郎

[はじめに] シトクロム P-450 (CYP) は薬物代謝酵素として広く知られている酵素であり、芳香族及び脂肪族の基質に対し酸素原子添加を行う酵素である。ヒトにおける薬物代謝には数種類の CYP が関与するとされているが、中でも CYP3A4 は現在臨床使用され、CYP で代謝される医薬品の半数以上の代謝に関与するといわれており、非常に重要な酵素である。この酵素は抗てんかん薬カルバマゼピン (CBZ) に対しアゼピン環 (図の結合 1-2) のエポキシ化のみを行う。しかし、エポキシ化体を含め、考えられる酸化体につき量子化学計算を行ってみると、エポキシ化体のポテンシャルエネルギーは芳香環水酸化体よりも約 30 kcal/mol 高いことがわかった。なぜ CYP3A4 はポテンシャルエネルギー的に不安定なエポキシ化体のみを生成するのであろうか？本研究では CYP3A4 による CBZ の代謝において、このような基質酸化部位特異性が生じる理由を分子力場計算及び密度汎関数法計算により明らかにすることを試みた。



[方法] ホモロジーモデリングにより構築された CYP3A4 の活性部位に CBZ を配置し、酵素の周囲に水分子を発生させて分子力場計算を行った。計算プログラムは AMBER6.0 である。得られた構造より基質、ヘム、Cys442 および基質と相互作用する残基を抜き出して量子化学計算を行うためのモデル化合物を構築し、構造変化に伴うポテンシャルエネルギー変化を求めた。計算には密度汎関数法を用い、交換項には Becke の式を、相関項には Lee-Yang-Parr の式を採用した。基底関数系は 3-21G\*\*である。また、全体の電荷を 0 とし、二重項と四重項の二通りのスピン多重度を考慮した。計算プログラムは Gaussian98 である。

[結果] はじめに、CYP3A4 による CBZ エポキシ化反応メカニズムを求めた。その結果、この反応はヘムに配位している酸素原子が二重結合 (図の 1, 2) の 2 つの炭素原子と逐次的に結合する二段階反応であることがわかった。律速段階は酸素原子と炭素原子との最初の結合生成反応で、その活性化エネルギーは二重項で 13.8 kcal/mol、四重項で 22.6 kcal/mol であった。次に、CYP3A4 が CBZ の芳香環に対し水酸化を行うと仮定した場合の反応について考えた。CYP による芳香環水酸化にはいくつかの経路が提出されているが、本研究ではエポキシ化体を経由する経路を採用し、エポキシ化体生成反応の律速段階における構造変化およびポテンシャルエネルギー変化を求めた。ヘムに配位している酸素原子が図の 3 と最初に結合した場合、活性化エネルギーは二重項で 22.9 kcal/mol、四重項で 28.3 kcal/mol であり、結合 1-2 の部分がエポキシ化される場合に比べ、高いことがわかった。このことは、CYP3A4 による CBZ 代謝においてはアゼピン環のエポキシ化反応の方が芳香環水酸化よりも起こりやすいことを示しており、エポキシ化体のみが生成する理由であると考えられる。

はた まさゆき、たなか よしかず、きょうだ なおこ、おさかべ たいすけ、ゆき ひとみ、  
いしい いつこ、きただ みつかず、ほしの ちゅうじ、ねや さぶろう