

半経験的分子軌道法による選択的セロトニン再取り込み阻害薬の異性化反応の研究

小田井 圭¹

Theoretical Study of Isomerization Reaction of Selective Serotonin Reuptake Inhibitor by Semi-Empirical Molecular Orbital Method

Kei Odai¹

あらまし：フルボキサミンは、選択的セロトニン再取り込み阻害薬（SSRI: Selective Serotonin Reuptake Inhibitors）の一種である。薬として効果があるのは、分子中の CN 結合部がトランス型の構造である。本研究ではフルボキサミンのトランス（E-isomer）-シス（Z-isomer）の異性化過程を半経験的分子軌道法により求めた。得られた 3 つの反応座標とそれぞれのトランス型分子の励起エネルギー計算を行い、実験値と比較した。

Abstract: Fluvoxamine, a selective serotonin reuptake inhibitor (SSRI), is used as antidepressant/ anxiolytic. Clinically effective fluvoxamine is in its trans (E) form. The purpose of our research is to clarify its trans-cis isomerization process. In this study, the isomerization process from trans (E-) isomer to cis (Z-) isomer of fluvoxamine was determined by semi-empirical molecular orbital method. It will be reported the Intrinsic Reaction Coordinate (IRC). The excitation energies obtained by the calculation will be compared with the experimental value.

キーワード：フルボキサミン，半経験的分子軌道法，異性化，遷移状態，光吸収

Keywords: fluvoxamine, semi-empirical molecular orbital method, isomerization, transition state, photoabsorption

1. はじめに

フルボキサミン (fluvoxamine) は、うつ病の改善のための抗うつ薬であり、選択的セロトニン再取り込み阻害薬 (SSRI) の一種である。「うつ病」状態では、脳内のシナプス間隙 (synaptic cleft) のセロトニン濃度がうつ病でない人よりも低いため、セロトニン受容体への作用が起こりにくくなった状態にある。通常、シナプス間隙中に浮遊するセロトニン (5-HT) は、シナプス前ニューロン部分にあるセロトニントランスポーター (SERT) というタンパク質により回収 (再取り込み) されて再利用されるので、SERT が働くことによりシナプス間のセロトニン濃度が更に下がることになる。SSRI という薬は、SERT に選択的に作用することで、セロトニンの再取り込みを阻害する (図 1)。SSRI がセロトニンに先回りして SERT に結合することで穴をふさぐイメージである。その結果、シナプス間隙中のセロトニン濃度が高まり「うつ状態」が解消される。また、SSRI はセロトニン系の神経だけに選択的に作用するため、比較的副作用の少ない薬といわれている。国内では1999年から販売が開始され、抗うつ薬として第3世代に分類される。

一方の SERT はセロトニン神経系の一部であり、セロトニン再取り込みだけでなくコカインなどの取

¹ 国士舘大学理工学部

¹ School of Science and Engineering, Kokushikan University

Email: odaik@kokushikan.ac.jp

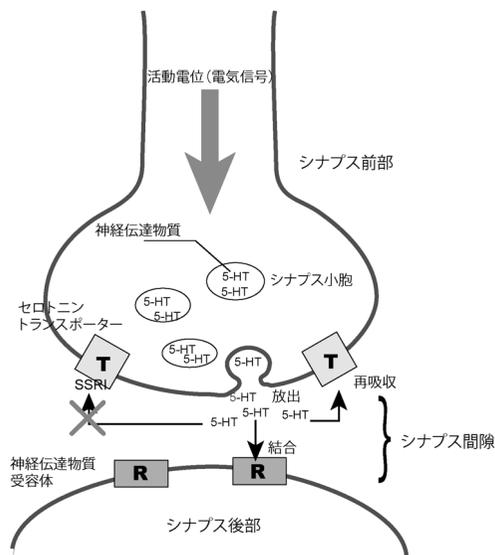


図1 シナプス結合部位 5-HTは神経伝達物質であるセロトニン分子を表す。活動電位である電気信号がシナプス前部より、シナプス小胞から伝達物質として放出される。伝達物質はシナプス後部にある受容体(R)に受容されることで、電気信号が次の神経細胞に伝わる。放出された伝達物質はシナプス前部にあるトランスポーター(T)を通して吸収されて再利用される。

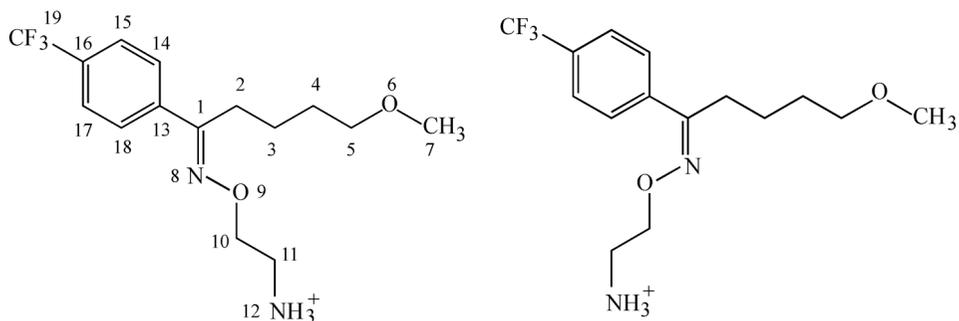


図2 フルボキサミン分子 (左)トランス(E)型, (右)シス(Z)型 CN二重結合(1-8)部位に対して, O9とベンゼン環のC13がトランス-シスを形成する。

り込みや様々な感情や病気に関係していることから医学的研究が進んでいる。その3次元構造は2016年4月に公開されたばかりである[1]。

2002年にNMRとmass spectrometry (MS)の解析で、水溶液中でのフルボキサミンの光異性化が報告された[2]。薬としてのフルボキサミンはCN結合部においてトランス型(E-isomer)であるが、UVB(290–320[nm])を照射することで薬効の無いシス型(Z-isomer)が生成する(図2)。本研究の目的は、水溶液中のフルボキサミンの異性化過程を分子軌道法により求め、水溶液中での安定構造を決定することである。得られた構造は今後、分子動力学法による計算で、フルボキサミンがSERTへ結合する過程を検討するために必要となるフルボキサミン分子の初期構造として使うことができる。本報では、フルボキサミンの異性化過程を理論的に明らかにするための最初の取り組みとして、その反応座標を半経験的分子

軌道法を用いて求めたので報告する。

2. 計算方法

2.1 遷移状態探索

計算に使用するモデル構造として、最初にフルボキサミンのトランス型およびシス型の異性体を1つずつ作成した。分子内ではほぼ自由に回転できると考えられる一重結合は8本存在する (CF_3 , NH_3 , CH_3 を除く)。それぞれに対して、0, 120, 180, 240度振ることで得られる構造 ($8^4=4096$ 種類) をすべて計算の初期構造とする。ただし、分子内立体障害を持った構造を取り除くと、初期構造モデルの数はトランス型が663, シス型が1796であった。これら全ての初期構造モデルについてAM1法による全原子最適化計算を実施し、安定構造を求めた。使用したプログラムはMOPAC2009[3]である。

得られた全ての安定化構造に対して、振動数計算を実施して虚の振動数がない(基底状態である)ことを確認した後、類似構造を排除した。その結果、基底状態として考えられる独立した構造はトランス型が184, シス型が1021であった。

その中から、ねじれ構造をもちうる(回転できる)一重結合8本について、トランス型とシス型と両方で同じ構造を持ったペアを作成した。その結果、85組のマッチングができた。この組み合わせでトランス型を反応物(reactant)として、シス型を生成物(product)として鞍点(saddle point)計算を実施した。それにより得られた85個の遷移状態候補について、更に鞍点最適化計算を実施して遷移状態構造を求めた。得られた構造に対して振動解析計算を行い、虚の振動数が1つ(遷移状態)であることを確認した。

2.2 反応座標計算

遷移状態構造から固有反応座標(IRC: Intrinsic Reaction Coordinate)計算を実施した結果、3つの異性化反応過程が見つかった(図3)。それぞれをType A, Type B, Type Cと名付けて報告する。

2.3 吸収波長計算

得られた3つの反応物(トランス型)についてその吸収波長計算をMOS-Fプログラム[4]のINDO/S法で実施し、実験値と比較した。

3. 計算結果

得られた3つの反応座標をType A, Type B, Type Cとして図3に示す。図中には反応物(トランス型), 遷移状態, 生成物(シス型)の構造も合わせて示す。各遷移状態のポテンシャルエネルギーを0[kcal/mol]としてプロットしてある。エネルギー的に一番安定な遷移状態構造はType Aのものであり、そのエネルギーに対してType Bの遷移状態構造が+0.42[kcal/mol], Type Cの遷移状態構造が+2.69[kcal/mol]であった。遷移状態では、C1-N8-O9原子の配置がほぼ直線になるとともに、CN結合長が短くなっていることが分かった。CN結合は遷移状態では二重結合と三重結合の中間程度の距離になっている(表1)。これは、トランス構造からシス構造へ異性化する際に、ペダルのようにCN二重結合を

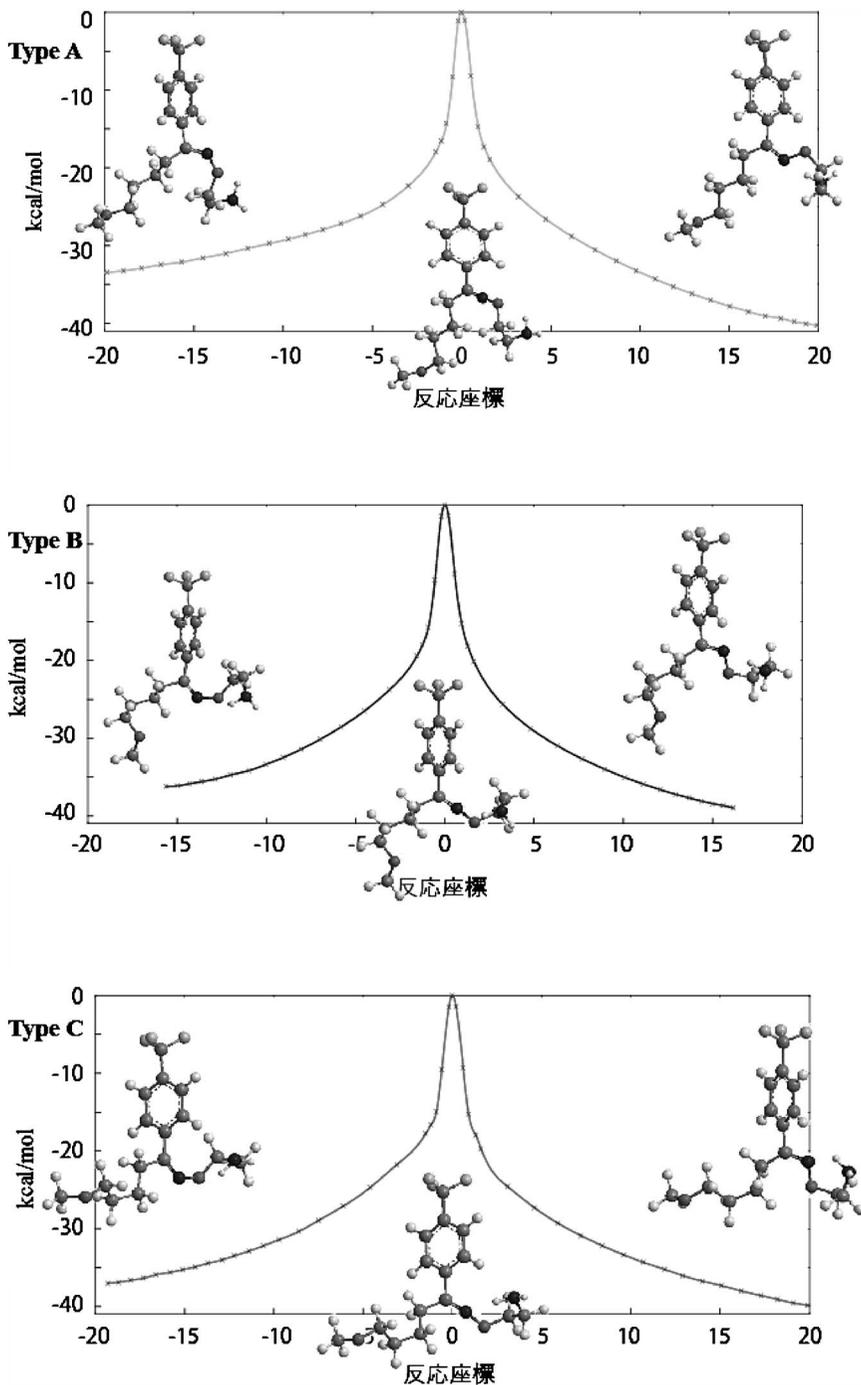


図3 3つの遷移状態に対する反応座標 得られた3つの遷移状態の固有反応座標とそれぞれの分子構造. 反応座標0の値の部分で遷移状態を表す. 図の左側がシス型(Z), 右側がトランス型(E)に対応する. トランス型(E)からシス型(Z)への異性化過程は, 右側から左側へエネルギー曲線を辿る経路となる. 縦軸はポテンシャルエネルギーを表す.

表1 各反応座標における各構造でのCN結合長

	Bond length of C=N [\AA]		
	cis	transition state	trans
Type A	1.301	1.252	1.310
Type B	1.308	1.252	1.306
Type C	1.302	1.251	1.308

遷移状態では結合長が短くなり、三重結合性に近い値になっていた。

表2 3つのトランス型の励起エネルギーと振動子強度

Type A		Type B		Type C	
Transition energy [nm]	Oscillator strength	Transition energy [nm]	Oscillator strength	Transition energy [nm]	Oscillator strength
275.5	0.001	275.8	0.003	273.7	0.002
260.9	0.023	272.1	0.034	259.9	0.021
240.9	0.506	241.1	0.466	232.4	0.355

Type A~Type Cのトランス型分子の励起エネルギーとその振動子強度をMOS-FプログラムのINDO/S法により計算した。

回転軸にして片側（例えば-OCC-NH₃⁺側）が回転するのではなく、途中でC1-N8-O9がほぼ一直線になるようにO9原子の位置がずれていくようなイメージである。

本計算は真空中での計算であるが、活性化エネルギーを見ると、どの反応座標経路でも約40[kcal/mol]であることから、水溶液中で熱振動などによる異性化は考えにくい。薬をただ水に溶かしただけで、薬効の無いシス型に変化する恐れはないと予想できる。

最後に、Type A~Type Cのトランス型分子の光吸収波長を計算した結果を表2に示す。各Typeとも同じような結果が得られた。振動子強度 (Oscillator strength) を見ると、第一励起、第二励起ではなく第三励起が最も起こり得る光吸収であることが分かる。計算で得られた第三励起のエネルギーは232~241[nm]なので、実験で照射されたUVB (290-320[nm])のエネルギーより若干低めの値であった。計算には水溶液中の効果が考慮されていないからではないかと考える。

4. まとめと今後の課題

セロトニンがSERTに再取り込みされる過程およびSSRIがそれを阻害する様子は実験では観察することが出来ない。SERTの3次元構造が得られた現在、それらの過程は分子動力学計算により得られる可能性がある。本報では、その分子動力学計算に必要となるSSRIの代表としてフルボキサミン分子の初期構造(トランス型)を、半経験的分子軌道法により決めた。今回の計算では、Type Aのトランス型がエネルギー的にも吸収波長計算でも妥当なものであると考える。ただ、計算が半経験的分子軌道法であることと水溶液中の環境が計算で考慮されていないことが問題点として挙げられる。今後は、非経験的分子軌道法が扱えるソフト Gaussian を用いてより詳細な計算を行うとともに、Gaussian で扱えるNMRの化学シフト値を実験値[5]と比較して、妥当なトランス型構造を提案したい。

謝 辞

本研究の計算は、故 杉本徹先生（関東学院大学）のご協力を頂いた。また、生物学的側面に関しては伊藤悦朗先生（早稲田大学）にディスカッションをお願いした。感謝の意を申し上げる。

参 考 文 献

- [1] Coleman, J. A., *et al.* X-ray structures and mechanism of the human serotonin transporter, *Nature* **532**, pp334–339 (2016).
- [2] G. Miolo, *et. al.* Photoisomerization of fluvoxamine generates an isomer that has reduced activity on the 5-hydroxytryptamine transporter and does not affect cell proliferation, *Eur. J. Pharmacol.* **450**, pp223–229, (2002).
- [3] MOPAC2009, James J. P. Stewart, Stewart Computational Chemistry, Colorado Springs, CO, USA, [HTTP://OpenMOPAC.net](http://OpenMOPAC.net) (2008).
- [4] Azuma Matsuura, MOS-F 5.0A, Fujitsu Ltd., Tokyo, Japan, (2001).
- [5] R. Deubner, U. Holzgrabe: Quantitative ¹H NMR spectroscopic determination of the E/Z isomer ratio of the antidepressant drug fluvoxamine for use in pharmaceutical analysis, *Magn. Reson. Chem.* **40**, pp762–766, (2002).