

論文の内容の要旨

氏名：森 上 賢 治

博士の専攻分野の名称：博士（薬学）

論文題名：計算化学的手法を用いた分子の物性予測：(1) 蛋白質結晶中のカウンターイオンの位置特性 (2) 7員環構造を持つ低分子医薬の軸不斉

1. 序論

分子、分子集団の立体構造やその動きやすさは、生理活性や物性に大きな影響を与える。したがって、分子、分子集団の立体構造情報から、その物性や機能を推算できれば分子設計において重要な情報を得ることができる。立体構造ならびにその動きやすさに起因する物性や現象を計算により予測する方法として、分子動力学 (MD) 法やモンテカルロ (MC) 法が知られている。生体高分子への応用として、リゾチーム結晶内のカウンターイオンの物性を MD 計算により推定し、実験結果と比較するという研究¹を実施した。この研究における MD 計算はプログラム PRESTO²に上記計算に必要な機能を追加することによって実施した。

そして、低分子医薬への応用として、チエノトリアゾロジアゼピン (TTDZ) 化合物が有する 7 員環構造、その動きやすさに起因する軸不斉の問題に MC 法を適用した³。

軸不斉とは、回転可能な結合の周囲に立体障害など回転を妨げる要因がある場合に、回転軸周りに起こる立体的な不斉のことをいう。図 1 の化合物では二つのベンゼン環の間の結合軸まわりに、そのオルト位の置換基の立体障害に起因する軸不斉がおり、軸不斉体 aS と aR が存在する。

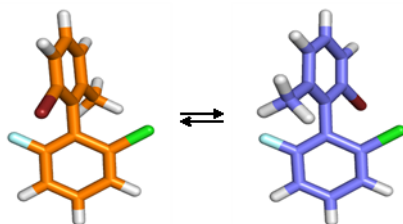


図 1 軸不斉の例

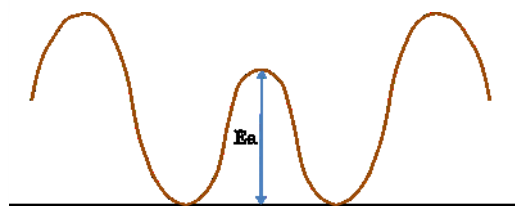


図 2 結合軸まわりの回転障壁と活性化エネルギー

図 1 のケースでは結合軸を回転させた時のエネルギー障壁の高さ E_a (図 2) を計算すれば二つの軸不斉体 aS ・ aR 間の遷移速度が推算できる。 E_a が大きいと aS ・ aR 間の遷移が非常に遅い化合物は、通常の立体異性体と同様、安定なコンフォメーションを分離することができ、各コンフォメーションは異なる生理活性や物性を持つことが多々ある。

本研究の対象である TTDZ 骨格には柔軟な 7 員環があり、図 3 に示した 4 つの結合の回転が関与する aS と aR の二つの安定コンフォメーションが存在する。TTDZ 化合物をリード化合物とした低分子医薬研究において、高活性化化合物は aS と aR の間の遷移が遅く軸不斉を示すのではと懸念されたので、軸不斉の度合いの予測が必要となった。回転軸が一つの化合物 (図 1) の場合は容易に遷移状態とそのエネルギー障壁が計算可能であるが、TTDZ 骨格のように 4 つの結合の回転が遷移に関与する場合は、その遷移状態およびエネルギー障壁の推定は難しくなる。そこで本研究では MC 法を用いて aS と aR の間の遷移を網羅的に調べた。まず、TTDZ 骨格の軸不斉に関与する 4 つの二面角を網羅的に変化させ、化合物がとりうるコンフォメーションについてそのポテンシャルエネルギー (PE) 曲面を定義した。この PE 曲面をなるべく高い精度で求めるため、量子化学計算を用いた。次にこの PE 曲面を利用して aS から aR (あるいはその逆) に遷移する頻度、軌跡を MC 法によって推算した。MC 計算においては、すでに量子化学計算で求められた PE 曲面のエネルギー値を参照して計算を実行させることにより、高速化を図った。

2. 手法

2.1. TTDZ 化合物のコンフォメーションの網羅的発生

7 員環を有する TTDZ 化合物 1 および 2 (図 3) について、遷移に関与する二面角 $\phi_1 \sim \phi_4$ を、 ϕ_1 は -60 度から 60 度、 ϕ_2 、 ϕ_3 は -75 度から 75 度、 ϕ_4 は 0 度から 345 度と、 15 度刻みで変化させ、網羅的にコンフォメーションを発生させた。各化合物について $26136 (=9 \times 11 \times 11 \times 24)$ の初期コンフォメーションを得た。

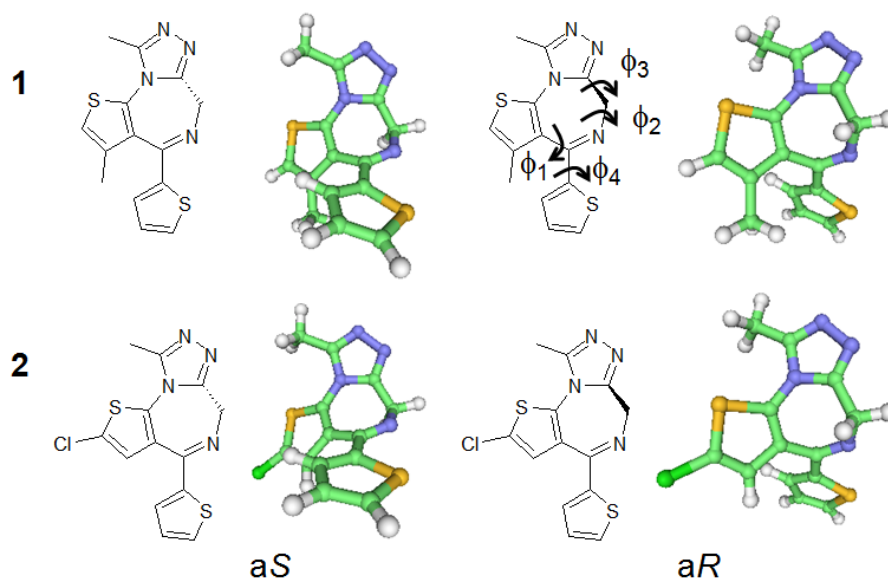


図 3 TTDZ 化合物の化学構造と軸不斉体 *aS*、*aR* のコンフォメーション

2.2. PE 曲面の算出

26136 個の初期コンフォメーションについて、二段階の量子化学計算により、二面角 $\phi_1\sim\phi_4$ で定義されるコンフォメーションのエネルギーを計算し、各化合物の PE 曲面を生成した。第一段階では、計算速度が速い半経験的分子軌道法 (MOPAC AM1) を用いて、 $\phi_1\sim\phi_4$ の二面角を固定し、その他の部分を構造最適化し、エネルギー $E_{AM1}(\phi_1, \phi_2, \phi_3, \phi_4)$ を求めた。構造最適化の結果、各化合物共に約 13000 コンフォメーションが 7 員環構造を形成し、それ以外は正常な構造とはならなかった。13000 コンフォメーションについて、二面角 $\phi_1\sim\phi_4$ を固定せずに構造最適化したときの最安定のコンフォメーションの $E_{AM1}(\min)$ とのエネルギー差 $\Delta E_{AM1}(=E_{AM1} - E_{AM1}(\min))$ を求め、 ΔE_{AM1} が 80 kJ/mol 以上の約 3000 コンフォメーションは遷移の際に通過しないと考えた。第二段階では、上記 3000 コンフォメーションを除いた約 10000 コンフォメーションに対して、非経験的分子軌道法 (Gaussian HF/6-31G(d)) を用いて、 $\phi_1\sim\phi_4$ の二面角を固定し、その他の部分を構造最適化し、二面角 $\phi_1\sim\phi_4$ で定義されるコンフォメーションにおけるエネルギー $E_{HF}(\phi_1, \phi_2, \phi_3, \phi_4)$ を求めた。二面角 $\phi_1\sim\phi_4$ を固定せずに構造最適化したときの最安定のコンフォメーションは 2 個の対称なコンフォメーションであり、これらは軸不斉体 *aS*、*aR* に対応する (図 3)。10000 コンフォメーションにおけるエネルギー E_{HF} と最安定コンフォメーションの $E_{HF}(\min)$ との差 $\Delta E_{HF}(=E_{HF} - E_{HF}(\min))$ を算出し、PE 曲面を定義した。

2.3. *aS* 体・*aR* 体間の遷移の MC 計算

MC 法では、(1)新しいコンフォメーションをランダムに選択する、(2)そのコンフォメーションにおけるエネルギー値から新しいコンフォメーションに移動するか、そのまま元のコンフォメーションに留まるかを決定する、というステップを繰り返す。新しいコンフォメーションは隣接するコンフォメーション (元のコンフォメーションから二面角 $\phi_1\sim\phi_4$ のどれか 1 個または 2 個が 15 度変化したコンフォメーション) から一つをランダムに選択した。新しいコンフォメーションのエネルギーは、すでに算出された PE 曲面のエネルギー値 $\Delta E_{HF}(\phi_1, \phi_2, \phi_3, \phi_4)$ を参照することにより、1 ステップごとに量子化学計算を行う手間を省き、計算時間の短縮を図った。新しいコンフォメーションに移動する基準は、メトロポリス法に従い、新しいコンフォメーションのエネルギー ΔE_{new} を元のコンフォメーションのエネルギー $\Delta E_{current}$ と比較し、(1)低い場合、あるいは、(2) $e^{-(\Delta E_{new} - \Delta E_{current})/RT}$ の値がランダムに発生させた 0~1 の値より大きい場合、移動するとした。MC 計算は各化合物について 500K~900K の温度範囲で 50K 刻みで実施し、各温度毎に条件を変えた 10 個の 10^{11} ステップの MC 計算を実施した。各 MC 計算において求められた分子のコンフォメーション変化の軌跡において、*aS*・*aR* 間の遷移が何回起きていたかの回数 n_{trans} を数え上げた。

2.4. *aS* 体・*aR* 体遷移の活性化エネルギー E_a の推算

MC 計算における aS ・ aR 間の遷移の回数 n_{trans} から、式 $n_{\text{trans}} = A'e^{-E_a/RT}$ により遷移の活性化エネルギー E_a を算出した。一方、NMR 測定における化合物 **1** と **2** のメチレンプロトンのケミカルシフトの差 $\Delta\nu$ とコアレッセンス温度 T_c の測定から実験的な遷移の自由エネルギー ΔG を求めて、計算による活性化エネルギー E_a と比較した。

3. 結果

3.1. PE 曲面の算出

手法 2.2 に述べたやり方で PE 曲面を算出した。PE 曲面は遷移に関わる 4 つの二面角 $\phi_1 \sim \phi_4$ とそのエネルギー ΔE_{HF} の 5 つのパラメータからなり、これを表示するのは難しい。そこで、4 つの二面角 $\phi_1 \sim \phi_4$ を主成分分析により 2 次元化し、 ΔE_{HF} は記号を使って表示した (図 4)。

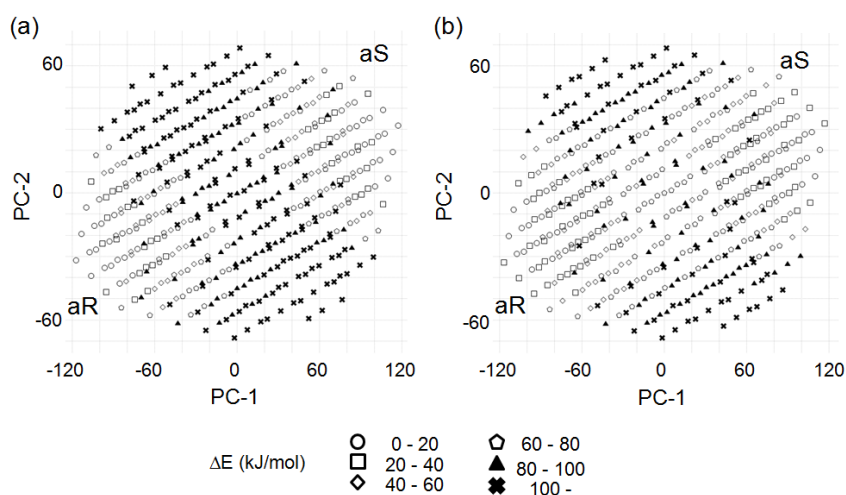


図 4 PE 曲面の 2 次元表示。(a) 化合物 **1**、(b) 化合物 **2**

化合物 **1** と化合物 **2** の PE 曲面を比較すると、化合物 **1** では aS から aR への遷移の際にエネルギーの高い \times 印や \blacktriangle 印の領域を通らなければならないが、化合物 **2** の場合は比較的エネルギーの低い領域を通ることができるので、軸不斉体 aS ・ aR 間の遷移が起こりやすいであろうことが推測された。

$\Delta E_{\text{HF}}(\phi_1, \phi_2, \phi_3, \phi_4)$ は $\Delta E_{\text{AM1}}(\phi_1, \phi_2, \phi_3, \phi_4)$ とよく相関し、相関式は、化合物 **1** が $\Delta E_{\text{HF}} = 1.96 \Delta E_{\text{AM1}}$ ($r^2 = 0.75$)、**2** が $\Delta E_{\text{HF}} = 1.84 \Delta E_{\text{AM1}}$ ($r^2 = 0.64$)であった。半経験的分子軌道法で求めた ΔE_{AM1} では、遷移の障壁を過小評価することが分かった。

3.2. MC 計算による軸不斉体間遷移の活性化エネルギー E_a の推算

手法 2.3、2.4 に述べたやり方で、MC 計算により、軸不斉体間遷移の活性化エネルギー E_a を推算した。化合物 **1** の 500K および 550K においては MC 計算中に観測された遷移が非常に少なく、統計値としての信頼性が低いため解析から除外した。MC 計算の温度 T の逆数を X 軸に、遷移回数 n_{trans} の対数を Y 軸にプロットすると、化合物 **1**、**2** 共に図 5 に示したように直線となり、アレニウス性が成立していた。式 $n_{\text{trans}} = A'e^{-E_a/RT}$ により化合物 **1** および **2** の遷移の活性化エネルギー E_a を算出すると、それぞれ 89kJ/mol、60kJ/mol となった。一方、NMR 実験より得られた化合物 **1** および **2** の軸不斉体間の遷移の自由エネルギー ΔG は、それぞれ $>81\text{kJ/mol}$ 、 63kJ/mol となり、計算による遷移の活性化エネルギーと一致は良好であった。

軸不斉体間遷移が少数の遷移状態のみを経由するのか、複数経路を経ているかを検討するため、600K および 800K における全ての aS ・ aR 間遷移の軌跡を解析した。その結果、600K では約 40%、800K では約 50%が遷移状態近辺を通らずに遷移していた。図 6 に化合物 **1** の

600K における aS と aR の間の遷移の軌跡の代表例を示す。遷移状態は図 6 の中心の $PC-1=PC-2=0$ の点である。実線の軌跡は遷移状態を経由しているが、点線および破線の軌跡は中心の遷移状態を経由していなかった。

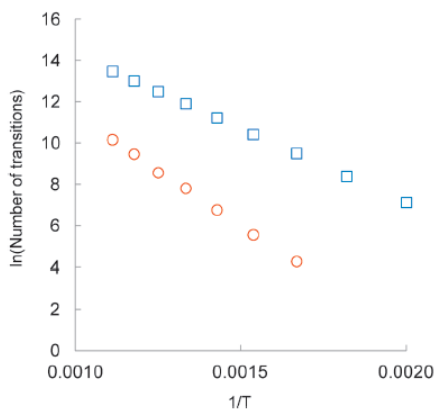


図 5 aS - aR 遷移回数の温度依存性
○ : 化合物 1 □ : 化合物 2

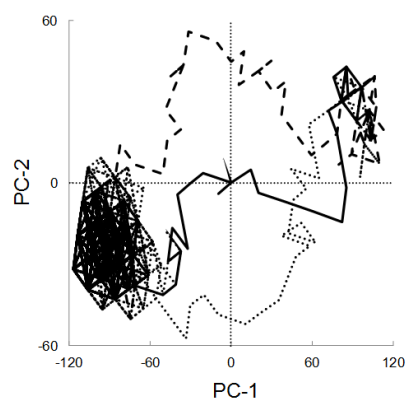


図 6 化合物 1 の 600K における遷移の軌跡の代表例

4. 結論

本研究では、分子、分子集団の立体構造情報から、その物性や機能を推算する手法である MD 法、MC 法を、生体高分子、低分子医薬の物性予測に適用した。低分子医薬に関しては、複数の二面角の変化によってコンフォメーション変化する 7 員環構造を有する TTDZ 化合物 **1** および **2** について、その軸不斉体 aS - aR 間の遷移の活性化エネルギーを推算する方法を検討した。遷移に関与する 4 つの二面角をパラメータとする PE 曲面を量子化学計算を用いて事前に求めておくことにより、軸不斉体間の遷移の MC 計算を精度よく高速に実施した。MC 計算は 500K から 900K の温度範囲で実施し、遷移回数の温度依存性から遷移の活性化エネルギーを推算し、化合物 **1** が 89kJ/mol、**2** が 60kJ/mol となった。この値は NMR 実験より求めた化合物 **1** の遷移の自由エネルギー >81kJ/mol、**2** の 63kJ/mol とよく一致した。このことから、新規分子の軸不斉遷移のエネルギー障壁の定量的な予測に本方法が使える可能性が示された。また、遷移現象を計算化学的に推定する場合、通常は少数の遷移状態を通る遷移経路のみを考慮するが、本研究における aS - aR 遷移の軌跡の解析から、様々な遷移経路を網羅的に検討すべきことが示唆された。