

課題名 (タイトル) :

機能性分子の揺らぎと量子化学に関する理論的研究

利用者氏名 : ○畠山 允*, 緒方 浩二*, 坂本 裕紀*, 宮崎 敦子*, 栗田 康夫*, 諫田克哉*, ワン
 ユエンチン*,

所属 : *産業連携本部 イノベーション推進センター中村特別研究室

1. 本課題の研究の背景、目的、関係するプロジェクトとの関係

本研究課題では、原理解明が期待されている種々の機能性分子について、その量子化学と揺らぎ特性の解析に取り組んできた。具体的には、(1) “光合成の水分解中心 Mn_4Ca クラスタに関する反応中間体の構造予測” (担当; 畠山)、(2) “分子シミュレーションによる創薬支援システムの開発” (担当; 緒方)、(3) “ニッケル水酸化物表面の電子状態解析” (担当; 坂本)、を実施した。

1. 1. 光合成の水分解中心 Mn_4Ca クラスタに関する反応中間体の構造予測

本課題では、植物や光合成細菌の水分解中心 Mn_4Ca クラスタについて、その反応中間状態 S_3 (添字; 酸化当量の蓄積数) の理論計算および実験グループとの共同研究を進めてきた。

Mn_4Ca クラスタは、光合成初期過程の光誘起電荷分離においてタンパク外への電子正孔排出を担う反応中心であり、電子正孔の酸化力を利用して水分解・酸素発生反応を駆動する (図 1a)。その機能解明に向けて、 Mn_4Ca クラスタの構造および電子状態の解明が期待されている。 Mn_4Ca クラスタの安定状態 S_1 については結晶構造 (PDB-ID ; 4UB6) が既に解明されているが、結晶化困難な中間状態 S_0, S_2, S_3, S_4 については、いまだ実験・理論両面からの研究が続いている (図 1b 参照)。

Mn_4Ca クラスタの各中間状態のうち、 S_3 についての研究が近年活発となってきている。これは S_3 が実験で解析可能な最高酸化状態であるためであり、 S_3 の解析を通してそれ以降の実験困難な反応過程 (活性状態 S_4 の形成および酸素発生反応) を解明せんとする活動が報告されている。 S_3 にはこれまで 2 つの構造モデルが提案されており、それぞれ、安定

状態 S_1 にみられる歪んだ椅子型構造 (図 1c) を S_3 においても保つモデルと保たないモデル (図 1d) である。後者の保たないモデルには理論計算から具体像が提案されており、 Mn_4Ca クラスタに追加の水分子が結合しクラスタ内に入り込む形である。これにより、 S_3 までの正孔蓄積によって酸化した Mn が高配位環境となって安定化される。一方で、前者の椅子型を保つモデルには理論計算からの検証が無く、唯一最近の時間分解 X 線結晶構造解析がその可能性を示唆しているのみである (*Nature*, 2016, 540, 453-457)。

今回我々は、X 線結晶構造の解析グループと共同で、 S_3 の新規構造を検討した。

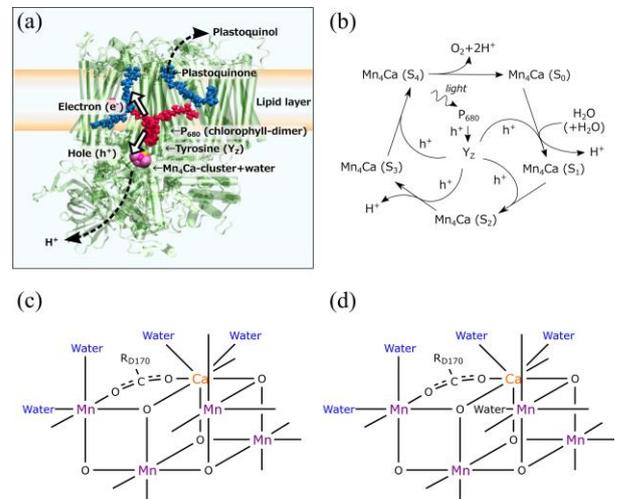


図 1. (a) 光合成初期過程の光誘起電荷分離とそれを担うタンパク複合体の模式図、(b) Mn_4Ca クラスタの酸化状態変化、(c) Mn_4Ca クラスタの歪んだ椅子型構造、(d) 先行研究による S_3 モデル

1. 2. 分子シミュレーションによる創薬支援システムの開発

医薬品の開発において計算機は一つの有用なツールとして使われつつある。特に、ヒット化合物の探索など工程においては、ドッキングなどのソフト

ウェアが使用されており、その効果が示されている。

分子動力学シミュレーションの創薬への応用においては、結合自由エネルギーなどの値が計算されているが、ドッキングなどのソフトに比べるとコストパフォーマンスが悪く、創薬の工程として組み込まれるまでに至っていないのが現状である。しかし、計算機の発達とともに、その精度も向上しており、実際の化合物を合成する手間などが省けることを考えると、実験の部分を実シミュレーションにより置き換えることにより、創薬を加速させることが可能である。

そこで、本研究においては、創薬において、一つに指標として用いられている水オクタノール分配係数($\log P_{ow}$)を計算機シミュレーションにより予測する試みを行い、その結果について報告を行う。昨年度の申請においても、比較的小さな化合物に関して $\log P_{ow}$ を求めることを行ったが、本申請においては、実際の薬物の $\log P_{ow}$ を求め、実験値と比較した結果について報告する。

1. 3. ニッケル水酸化物表面の電子状態解析

光合成に関する研究には、太陽光のエネルギー(波長)で水をする触媒の開発を通じた、人工光合成技術の実現が期待されている。

この技術開発のボトルネックとなっているのが、水分子を分解して酸素を発生する反応である。この反応を行うための電極(電気化学触媒)材料として、従来は白金のような貴金属が使用されてきた。しかし、近年、これに変わる材料として、ニッケル水酸化物($\text{Ni}(\text{OH})_2$; 図 2) 由来の物質が提案されている。ニッケル水酸化物を電気化学触媒として使う利点は、(1) 反応に必要な活性化エネルギーに相当する電圧(過電圧)が比較的低く、可視光(680nm 程度)から得られるエネルギーの範囲に収まることが期待されること(2) 従来使われてきた白金のような貴金属に比べると埋蔵量が多く入手しやすいこと、が挙げられる。

一方で、ニッケル水酸化物の有用性に関する報告は実験事実として報告されているものの、その電子状態が反応性にいかに寄与しているかは現状では明らかとなっていない。そこで本研究では、 $\text{Ni}(\text{OH})_2$ を題材とし、この材料がなぜ酸素発生のための陽極

材料として有用であるのかを、第一原理計算を通して議論することを目的とした。

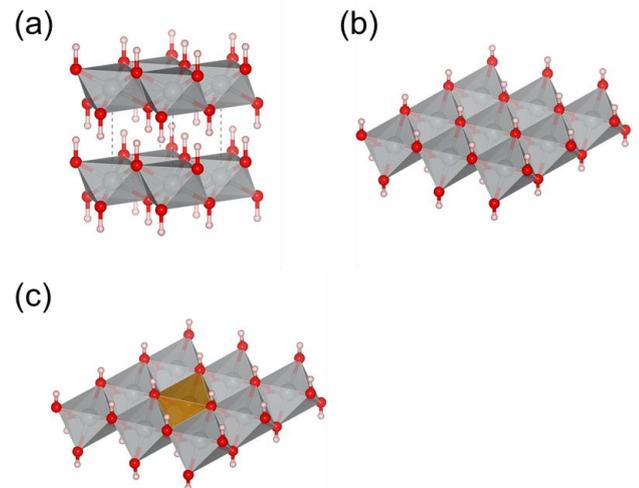


図 2. ニッケル水酸化物の構造 ; (a) $\text{Ni}(\text{OH})_2$ のバルク構造、(b) $\text{Ni}(\text{OH})_2$ の単相構造、(c) Fe 原子をドーピングした $\text{Ni}(\text{OH})_2$ 単相構造 (灰色多面体 ; Ni 配位圏、金色多面体 ; Fe 配位圏)

2. 具体的な利用内容、計算方法

2. 1. 光合成の水分解中心 Mn_4Ca クラスターに関する反応中間体の構造予測

課題 (A) “光合成の水分解中心 Mn_4Ca クラスターに関する構造予測”では、MPC、ACSL および ACSG に導入されている Gaussian09 を利用し、QM/MM による構造最適化を行った。

QM/MM モデルは安定状態 S_1 の結晶構造 (PDB:4UB6) から構築した。モデル全形は Mn_4Ca クラスターの Ca から半径 40\AA 以内の全原子・分子 (原子数 ; 約 33000) とし、 Mn_4Ca クラスターとその第一・第二配位圏を QM 領域 (原子数 ; 約 250) とした。QM 領域は DFT-wB97XD で扱い、その基底関数には二倍基底 (6-31G(d);H,C,N,O,Cl、LanL2DZ ; Mn,Ca) を用いた。MM 領域は Amber 力場で考慮した。QM 領域は MM 領域の原子電荷で分極させた。

Mn_4Ca クラスターの配位水 W_1, W_2, W_3, W_4 にはそれぞれ異なる電荷状態 ($\text{H}_2\text{O}/\text{OH}\cdot$) を考慮した。これは、中間状態 S_3 への遷移に水の脱プロトン化が実験的に知られているためである。これにより、QM 領域の電荷が異なるモデル複数個をそれぞれ計算した。

2. 2. 分子シミュレーションによる創薬支援システムの開発

水オクタノール分配係数($\log P_{ow}$)は各化合物の水とオクタノールに対する自由エネルギーを求め、それらの値から算出した。自由エネルギー計算は Bennett Acceptance Ratio (BAR)法 (Bennett, *J. Comput. Phys.*, **22**, 245, 1976) を用いた。ここで、自由エネルギー計算の値は、化合物のパラメータ、特に、各原子に割り振られた点電荷の値によって大きく左右される。したがって、本課題に於いては、化合物の点電荷を真空、オクタノール、更に、水の比誘電率を与えることにより、それぞれの溶媒に対する点電荷を用いることを行い、自由エネルギー計算を行う試みを行った。自由エネルギー計算は実際に市販されている 17 種類の化合物を用いて行い、その値から $\log P_{ow}$ の値を導出し、パラメータの評価を行った。

2. 3. ニッケル水酸化物表面の電子状態解析

ニッケル水酸化物には β -Ni(OH)₂ (図 2(a)) と呼ばれる結晶性の高い構造が知られている。しかし近年の実験により、この相は酸素発生反応に対する活性は極めて低く、実際に効率的な酸素発生反応を担うのは、 β -Ni(OH)₂ のシート間の距離が 7 Å 以上離れた構造で、さらに一部のニッケルが鉄原子に置換された構造であることが明らかとなってきている。

そこで、結晶構造のはっきりしているバルクの β -Ni(OH)₂ に加え、反応の起きる表面のモデルとして、単層の Ni(OH)₂ シート (図 2(b))、さらにそのニッケル原子の一部が鉄に置き換わった構造 (図 2(c)) の電子状態を計算・比較した。

計算には PBE 汎関数を使用し、ニッケルおよび鉄の 3d 軌道への局在電子に対する補正項である Hubbard-*U* パラメータは 5.5eV (Ni), 3.3eV (Fe) とした。以上のすべての計算には、平面波基底を用いた密度汎関数法 (DFT) 計算コードである Quantum Espresso パッケージを用いた。

3. 結果

3. 1. 光合成の水分解中心 Mn₄Ca クラスターに関する反応中間体の構造予測

Mn₄Ca クラスターの間状態 S₃ に関して、歪んだ椅子型構造を保ったモデルを QM/MM 計算から見出した。具体的には、S₃ への遷移において Mn ではなくクラスター近傍の環状側鎖含有アミノ酸が酸化・ラジカル化したモデルを見出し、そこでは椅子型構造が安定に保たれることを明らかにした。詳細は現在、論文投稿準備中である。

酸化アミノ酸を含む椅子型構造の新 S₃ モデルについて、既知の S₃ 理論モデル (クラスター内に水が新しく入り込み椅子が崩れた構造) とのエネルギー差および EXAFS 実験結果との比較を検討した。その結果、新旧 2 つのモデルのエネルギー差は Mn₄Ca クラスターの電荷と水配位子の脱プロトン化状態に依存し、椅子型構造の新モデルのほうが安定になりうる場合があること、また新モデルのほうが EXAFS とよく一致することを見出した。Mn₄Ca クラスターが電荷中性の状態では、水が入り椅子が崩れたモデルがエネルギー最安定であった。これは、電荷中性条件に注目した先行研究と同様の結果であった。一方で Mn₄Ca クラスターが帯電した状況では、その電荷量が大きいほど椅子を保ったモデルのほうがより低いエネルギーを示した。これらの結果は S₃ 状態に至る経緯とも無矛盾であった。S₃ 状態は光酸化色素から Mn₄Ca クラスター近傍への正孔移動によって起こり (図 1 参照)、正孔は正の電荷をもつため、事前に正電荷を帯びていた部位への正孔移動はエネルギー的に不利となる。我々の計算結果もこれを支持し、Mn₄Ca クラスターが正に帯電した状況では、Mn₄Ca クラスターよりも周囲アミノ酸のほうが正孔に選ばれることを示した。

Mn₄Ca クラスターが帯電したモデルはこれまでの先行研究でほとんど注目されてこなかったが、電荷量やクラスター配位水の脱プロトン化状態には未解明な点が多い。また、そもそも Mn₄Ca クラスターの S_i 状態変化と Kok サイクルには本質的に電荷変化を伴う過程があり (図 1b; S₁→S₂)、S₃ を電荷中性に限定する本質的な理由は無いといえる。これらの点から、Mn₄Ca クラスターとその周辺の電荷状態および安定構造にはより一層の解析が必要と期待される。

3. 2. 分子シミュレーションによる創薬支援システ

Δの開発

点電荷を求める際の誘電率を変化させて $\log P_{ow}$ の計算を行った。その結果、実験値との相関が一番良い組み合わせは、水に対する自由エネルギーを求める時は、水の環境で化合物の点電荷を求め、更に、オクタノールに対する自由エネルギーを求める時は、真空の環境で化合物、及び、オクタノールの点電荷を求めたものであった。この組み合わせにおける R 、及び、 R^2 の値は、それぞれ 0.95 と 0.90 であった。これらの値から、実験値と計算値の $\log P_{ow}$ の値は強い相関があると言える。また、化合物の $\log P_{ow}$ の値の誤差の根二乗平均と単純平均の値はそれぞれ 2.65 と 2.52 であった。これらの値は比較的小さいサイズの化合物の結果と比較すると幾分大きな値を示していることがわかる。図 XXX に記した漸近線から、その傾きは 1 以下であることがわかる。また、水、及び、オクタノールの自由エネルギーを詳細に解析した結果、オクタノールに対する自由エネルギーの誤差が大きな値を示していることが分かった。このことから、 $\log P_{ow}$ の誤差は、オクタノールに対する自由エネルギーの誤差が影響したと考えられる。しかし、図 XXX に示すように計算で得られた値は実験値と強い相関を示していることから、薬物を $\log P_{ow}$ を基に並べた時に、その順序は実験の値と似たような結果になることを示している。従って、薬物の $\log P_{ow}$ の比較を行う上で、本方法は非常に有用であることがわかる。

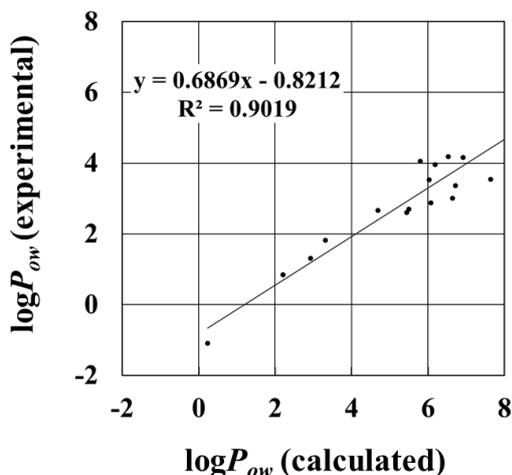


図 X. 計算値と実験値の相関

3. 3. ニッケル水酸化物表面の電子状態解析

まず、バルクの β -Ni(OH)₂ および単層の Ni(OH)₂

シートのバンド構造を計算し、さらに各バンドの 1 電子波動関数を可視化した。その結果、最上位の価電子バンドに大きな変化は見られなかった。一方、バルクの状態では層に対して垂直な方向の軌道（酸素の 2p_z 軌道）同士の相互作用が強く、これが結晶の安定性に寄与する一方で、反応性の低下に関わっている可能性が示唆された。

また、単層の Ni(OH)₂ シートにおいて、一部のニッケルが鉄に置き換わった構造も計算を行った。ここで、系の単位当たりの電子数を変化させて計算を行った結果、ニッケルではなく、鉄の 3d 軌道が、水との電子の授受を担っている可能性が強く示唆される結果を得た。さらに、スピン密度分布について解析したところ、ニッケルでは、原子核から配位子へ向く方向の軌道（3d 軌道の e_g 軌道）が主にスピン密度に寄与しているが、鉄においては、t_{2g} 軌道、e_g 軌道のいずれもがスピン密度に寄与していることが示唆された。

4. まとめ

幾つかの機能性分子について、その量子化学と揺らぎ特性を明らかにした。引き続き、計算化学による貢献を展開していく。

4. 1. 光合成の水分解中心 Mn₄Ca クラスターに関する反応中間体の構造予測

Mn₄Ca クラスターの間状態 S₃ に関して、歪んだ椅子型構造を保った構造を QM/MM 計算から見出した。同種の構造を指摘していた X 線結晶構造解析のグループと共同し、解析に取り組んだ。

4. 2. 分子シミュレーションによる創薬支援システムの開発

実際に市販されている 17 種類の薬物に関して、計算によって算出した $\log P_{ow}$ の値は実験値と強い相関を観察することが出来た。しかし、若干実験値との誤差が大きく、これらの誤差は、水、または、オクタノールに対する自由エネルギーの計算において生じた誤差によるものであることが確認された。しかし、計算値の $\log P_{ow}$ は実験値と強い相関を示していることから、薬物の $\log P_{ow}$ を比較する際に有用な方法であることが示された。

を進めていきたい。

4. 3. ニッケル水酸化物表面の電子状態解析

本研究では、構造が決定しているバルクの β -Ni(OH)₂ をスタートとして、段階的に実際の酸素発生表面表面のモデルに近づけていき、電子状態を比較した。通常、このような電子状態計算においては、状態密度 (DOS) と総エネルギーを中心とした議論が行われる。本研究では、上記に加え、これらのバンド構造を求め、それらバンドに対して分子軌道法の観点から考察を加えた。

- (1) ニッケル水酸化物と、反応物である水や水酸化物イオンとの相互作用の解析
- (2) ニッケル水酸化物と同様に、酸素発生反応にたいする活性が実験的に報告されているコバルト水酸化物の電子状態の解析

まず、(1) については、先に述べた単層のニッケルのみ、あるいは鉄を含む Ni(OH)₂ シートと水分子を含めた系を計算対象として、そこでの電子状態について議論したいと考えている。また、(2) については、今年度、ニッケル水酸化物に対して行ったのと同様の解析をコバルト水酸化物に対して行う予定である。

5. 今後の計画・展望

5. 1. 光合成の水分分解中心 Mn₄Ca クラスターに関する反応中間体の構造予測

Mn₄Ca クラスターの電荷によって安定構造が変わる結果が得られたため、妥当な電荷状態の理論予測に取り組む予定である。具体的には、Mn₄Ca クラスター電荷変化として水配位子配位子の脱プロトン化に注目し、タンパク外へのプロトン放出がエネルギー的に不利となりはじめる水脱プロトン化状態からクラスターの電荷を考察する。水の脱プロトン化は、酸素発生反応前の Mn₄Ca クラスター酸化に伴って起こることが既に知られており、反応に関わる酸性アミノ酸とその pKa について議論が続いている。QM/MM の都合上、Mn₄Ca クラスター近傍で起こる脱プロトン化の初期過程に注目し、クラスター配位水から近傍アミノ酸へのプロトン移動とエネルギー変化を追跡する。

5. 2. 分子シミュレーションによる創薬支援システムの開発

医薬品開発において薬物の膜透過性は $\log P_{ow}$ と同じように自由エネルギーから計算することが出来る。しかし、 $\log P_{ow}$ と同じように化合物の点電荷が膜透過性に非常に影響を及ぼすことが考えられる。この膜透過性に関しても、最適な点電荷を定める試みを行い、計算機シミュレーションが実験値を再現することが出来れば、創薬をさらに加速させることが期待される。

5. 3. ニッケル水酸化物表面の電子状態解析

本研究について、今後は以下の点に着目して研究

平成 28 年度 利用研究成果リスト (list of research progress in 2015 utilizing HOKUSAI or RICC)

【論文、学会報告・雑誌などの論文発表】 (list of publications)

1. Kanie, O., Shioiri, U., Ogata, K., Uchida, W., Daikoku, S., Suzuki, K., Nakamura, S., Ito, Y., Diastereomeric resolution leading to chirality determination based on gas-phase energetics of coordinated sodium rapture. *Sci. Rep.*, **6**, 24005, 2016.
2. Hatakeyama, M., Ogata, K., Fujii, K., Yachandra, V. K., Yano, J., Nakamura, S., Structural Changes in the S₃ State of the Oxygen Evolving Complex in Photosystem II. *Chem. Phys. Lett.*, **651**, 243-250, 2016.

【国際会議、学会などでの口頭発表】

1. 坂本裕紀、畠山允、緒方浩二、中村振一郎；第6回CSJ化学フェスタ（東京）、2016.
2. Yuki Sakamoto, Shinichiro Nakamura; 2017 International Conference on Artificial Photosynthesis, 京都、2017（予定）
3. 坂本裕紀、中村 振一郎；日本化学会第97春季年会（横浜）、2017（予定）.