

令和 6 年 10 月 9 日現在

機関番号：10101
研究種目：国際共同研究加速基金（国際共同研究強化(A））
研究期間：2019～2023
課題番号：18KK0394
研究課題名（和文）赤外円二色性とラマン光学活性による中分子・極性分子の高精度構造解析法の開発

研究課題名（英文）Development of Structural Analysis Method for Middle-Sized and Polar Molecules by VCD and ROA

研究代表者
谷口 透（Taniguchi, Tohru）

北海道大学・先端生命科学研究院・准教授

研究者番号：00587123
交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 12,000,000円
渡航期間： 6ヶ月

研究成果の概要（和文）：新規分子の構造解析は研究全体のボトルネックとなりうる段階であり、特に極性分子や中分子に対して実用的な解析法は限られている。我々はVCD（赤外円二色性）を用いた各種分子の構造解析を達成してきた。本国際共同研究ではVCD分光法と相補的なROA（ラマン光学活性）も用いて、スペクトルの理論計算ひいては構造解析をより正確かつ汎用的に行う方法の開発に従事した。ROA研究を通じて、測定対象の分子と溶媒の相互作用をより厳密に考慮するスペクトル計算を実施するとともに、本法をVCD分光分析にも適用することによって信頼性と適用範囲が広い構造解析法の開発を行った。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、溶媒と強固に相互作用する親水性官能基を有する分子群や、中分子のように構造が柔軟な分子など、従来の計算手法に基づく分光構造分析では解析困難だった各種分子群について、全体構造・部分構造を決定する新たな方法論を示した。本研究成果によって、各種分子の構造決定というボトルネックが大幅に解消されることが見込まれる。さらに、薬剤分子などの安定コンフォメーションの解析にも有効であることから、より活性の高い薬剤の開発などにも資すると期待される。

研究成果の概要（英文）：Structural determination of novel molecules has often been a bottleneck of various research. Structures of polar molecules and middle-sized molecules are especially difficult to analyze by conventional techniques. In this work, we used vibrational circular dichroism and Raman optical activity spectroscopies to establish a versatile method to analyze molecular stereochemistry and conformation in a solution-state. We showed that this approach is applicable to various molecules such as sugars and lipids.

研究分野：キラル化学

キーワード：VCD ROA 理論計算 構造解析 糖 脂質 キラリティー コンフォメーション

1. 研究開始当初の背景

既存の医薬品の多くは低分子医薬品（アスピリンなどに代表される分子量 500 以下の分子）と高分子医薬品（インスリンなどに代表されるペプチド・タンパク質・核酸など分子量 2000 以上の分子）に大別される。これら低分子・高分子に次ぐ生体機能分子として、中分子（分子量 500～2000 程度）が注目されている。有機合成手法や生成遺伝子操作技術の進歩に伴って、新規構造を有する中分子の大量取得も可能になりつつあり、医薬・農薬を指向した中分子研究は今後さらに盛んになると予想される。しかし、新規分子の取得に伴う構造決定は依然として、研究のボトルネックとなりうる段階であり、特に立体配置の決定は多大な時間と労力を要する。以上のような背景から、中分子の構造決定に対して実用的な手法の開発が求められている。

我々はこれまで、赤外円二色性（vibrational circular dichroism ; VCD）分光法（図 1a）を用いて、試料分子の実測 VCD スペクトルと、DFT（密度汎関数法）で計算した理論スペクトルを比較するだけで構造決定する簡便な構造解析法を確立してきた（図 1b）。本法の利用によって、国内外の合成化学者・天然物化学者との共同研究を通じて、他の分析法では決定困難な各種分子の構造を解明し、諸研究の発展に貢献してきた。本法は特に疎水性低分子において高い精度で適用可能である。基課題「赤外円二色性の理論計算とラベル化による中分子・極性分子の新たな構造解析法の開発」ではさらに、VCD 計算条件の最適化による、中分子（高極性・構造柔軟な分子など各種）の実用的な構造決定法の開発、および 1900~2400 cm^{-1} 領域に吸収を示す VCD 発色団の導入（ラベル化）によるラベル位周辺の構造情報の抽出観測および構造決定法の開発を計画した。

しかしながら、依然として本法が信頼性高く適用できる分子は疎水性の高い分子であり、溶媒と強固に相互作用する親水性官能基を有する分子群は計算に不適だった。また、中分子のように構造が柔軟な分子についても、VCD 以外の分光法によってスペクトル計算の妥当性を厳密に評価する系を確立して、計算方法の最適化に向けたフィードバックが可能となるような新たな研究手法の検討が必要だった。

2. 研究の目的

そこで本研究では、実験・計算の両方において新たな手法を用いる事による、信頼性と適用範囲において優れた構造決定法の開発を目的とした。実験面においては、VCD 分光法に加えてラマン光学活性（Raman optical activity ; ROA）分光法を用いた。また計算手法としては、測定対象分子と相互作用する溶媒分子をあらわに考慮する計算（QM/MM 計算など）を実施した。

3. 研究の方法

ROA はキラル分子の左右円偏光に対するラマン散乱強度の差を測定する分光法であり、VCD と相補的である（図 1a）。VCD と ROA の計算手順はほぼ共通しており、VCD・ROA の両手法で実測・計算スペクトルの一致を確認することで計算の妥当性を検証できるとともに、構造決定の信頼性を向上できる。

ROA 分光器は世界に 10 台程度しか普及していないことから、まずロイヤルメルボルン工科大学との国際共同研究を 2019 年に開始した。しかしながら、コロナウイルスの影響による海外出張制限に伴い、共同研究先の研究室も長期にわたって閉鎖された末に、ROA 分光器に不具合が生じたことから共同研究が長期にわたって停滞した。ROA 分光法における共同研究を模索する間、新たな計算法を用いた VCD 研究を進めた。

2022 年に渡航制限が緩和されたことを受け、ロイヤルメルボルン工科大学の共同研究者とも協議の上、新たにチェコ共和国プラハの有機化学・生化学研究所（IOCB）との共同研究を開始した。IOCB にはオロモウツ大学の研究者が構築した custom-built の高感度 ROA 分光器が導入されており、ロイヤルメルボルン工科大学で測定済みの試料についてもデータのばらつきを抑えるために全ての ROA スペクトルを測定し直すこととした。

4. 研究成果

ラベル化を用いた VCD 分光法に関する研究ではまず、1900~2400 cm^{-1} 領域に吸収を示す発色団に関する基本的知見を得た。特に、キラルなビナフチル骨格に対して、ニトリル（ $\text{-C}\equiv\text{N}$ ）、イソニトリル（ $\text{-N}\equiv\text{C}$ ）、アルキン（ $\text{-C}\equiv\text{CH}$ ）、アジド（ -N_3 ）基を二つずつ導入した化合物 **2-5** を

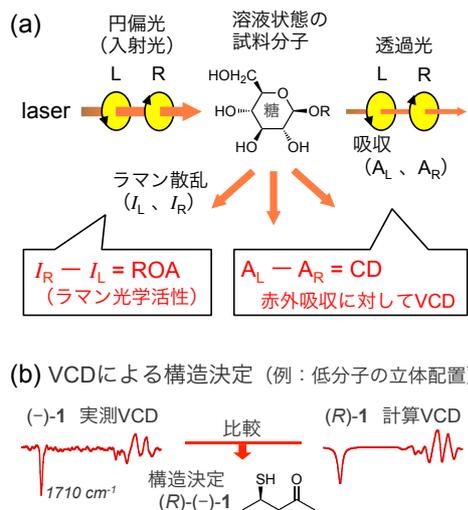
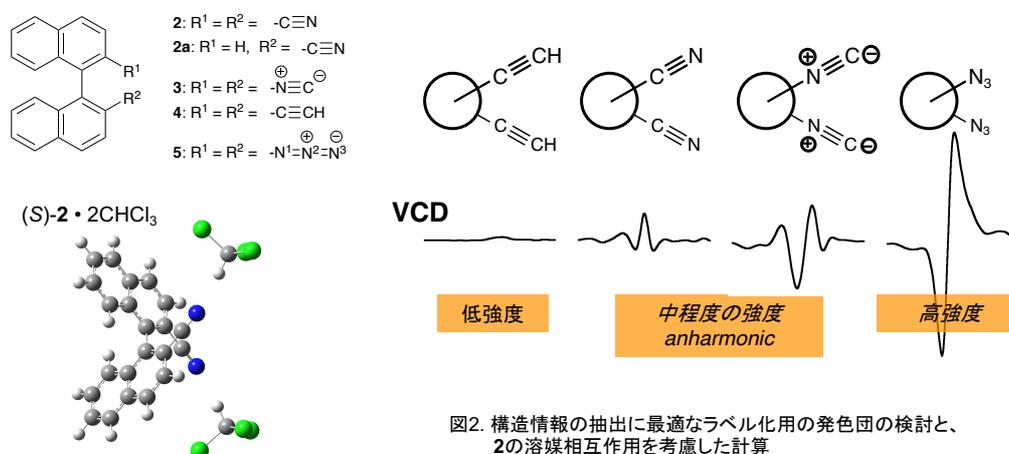


図1. (a) 左円偏光と右円偏光に対する吸収の差を赤外領域で測定するのがVCDであり、ラマン散乱強度の差を測定するのがROAである。
(b) VCDによる構造決定例。（例：低分子の立体配置）

合成した (図 2)。これらの分子をクロロホルム (CHCl_3) に溶解し、VCD を測定した。ニトリルとイソニトリルを有する **2** と **3** では中程度の強度の VCD が、アルキンを有する **4** では非常に弱い VCD が、そしてアジドを有する **5** では極めて大きな VCD が観測された。強い VCD シグナルを示す分子については、より少ないサンプル量で構造決定が可能である。また VCD シグナル形状に着目すると、アジドでは容易に解釈可能なツインピーク型のシグナルだった。これに対して、ニトリルとイソニトリルは複雑なシグナル形状を示した。これはニトリルとイソニトリルが $1900\sim 2400\text{ cm}^{-1}$ 領域特有の anharmonic な振動を示すためであることが推測された。観察された VCD スペクトルを解釈することによって構造情報を得られるかどうかを検討するために、**2**~**5** についてスペクトル理論計算を実施した。**5** が示す実測 VCD 形状は調和振動子近似の理論計算によって容易に再現可能であったことから、実測スペクトルと理論計算スペクトルを比較することでアジド基を有する分子の立体配置を予備知識なしに決定できることを見出した。一方、**2** についてはニトリル官能基に溶媒クロロホルムが配位した構造について調和振動子近似ならびに非調和振動子効果を取り入れた計算を実施したところ、良好な理論 VCD スペクトルを得ることができた。本結果は、溶媒を考慮する重要性の一端を示すとともに、 $1900\sim 2400\text{ cm}^{-1}$ 領域の VCD シグナルを用いた構造解析における指針を示すものだった。すなわち、 $1900\sim 2400\text{ cm}^{-1}$ 領域のシグナルには、強度の大きさのみならず、anharmonic 効果が比較的少ない発色団を使用するとスペクトル解釈ひいては構造解析が容易である (Taniguchi, T. et al. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2021**)。



アジド基はクリックケミストリー用の官能基として生命科学で汎用されているものの、解析対象分子への導入が難しい場合もある。また、コンフォメーション分析の用途として VCD を用いる場合には、アジド基によるコンフォメーションへの影響を追加で検討する必要がある。汎用性の高い発色団をさらに探索する上で、次に炭素-重水素結合 (C-D) の発色団としての利用を検討した。重水素が導入された生物活性分子は、化学的手法・酵素的な手法・生化学的手法など様々な方法によって入手可能である。本研究では糖をモデル分子として選択し、グルコース、ガラクトース、マンノース、フコースなど各種の単糖の 1 位に重水素メトキシ基 (OCD_3) を *S* または *R* の立体配置にて導入した分子を合成した。これらの分子を H_2O あるいは DMSO に溶解して $1900\sim 2400\text{ cm}^{-1}$ 領域の VCD を測定したところ、1 位の立体配置が *S* の場合には糖の種類に関わらず、 CD_3 の対称伸縮振動 (ν_s) に由来する VCD シグナル ($\sim 2060\text{ cm}^{-1}$) が正、非対称伸縮振動 (ν_{as}) に由来する VCD シグナル ($\sim 2210\text{ cm}^{-1}$) が負となることを見出した。一方で、*R* の場合には $\nu_s\text{CD}_3$ の VCD シグナルが負、 $\nu_{as}\text{CD}_3$ の VCD シグナルが正となることを見出した (図 3)。この結果より、1 位の立体配置のみが異なるジアステレオマー対であっても、 OCD_3 基は近傍のただ一つの立体配置 (1 位) のみを顕著に反映し、ほぼ鏡像の VCD シグナルを示すことを見出した。

実際の構造解析は対象分子の構造に対する予備知識がない状態で実施するものであり、糖以外の様々な構造に対しても構造解析が可能かどうかを検証する必要がある。そこで、観測された C-D 伸縮振動由来の VCD シグナルを元に糖の 1 位の立体配置が可能かどうかを、理論計算を用いて検討した。重水素化された糖の VCD スペクトル計算において、溶媒分子との相互作用をあらわに考慮する調和振動子近似の QM/MM 計算を実施した (図 3)。この結果、実験的に観測された C-D 伸縮振動由来の VCD の位置と符号は理論計算でも再現可能であったことから、実測スペクトルと理論スペクトルを比較することによって、1 位の立体配置の予備知識なしに *S* または *R* と決定できることを見出した。

より複雑な糖についても OCD_3 基を導入し、1 位の立体配置を抽出・観測できることを実証した。例えば、10 個の不斉炭素を有するゲンチオピオース ($\beta 1\text{-6}$ 結合を有するグルコース 2 糖) への本手法の適用においては、そのうちの 1 個の不斉炭素のキラリティーの情報を抽出・観測することができた。以上より本研究では重水素ラベル化を併用した VCD 分光法によって、分子の

局所構造（本研究の場合には糖の1位のキラリティー）を決定できることを示した（Zubir, M. Z. M. et al. *Org. Biomol. Chem.* **2022**）。

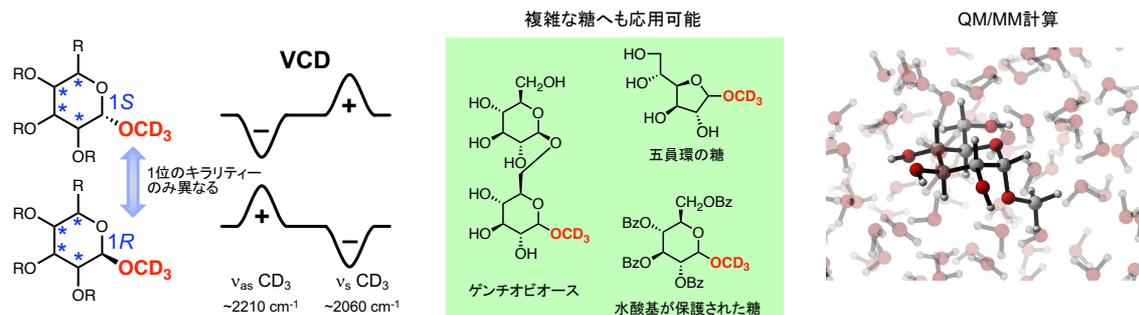


図3. 重水素ラベル化を用いたVCD分光法による構造情報抽出とQM/MM計算

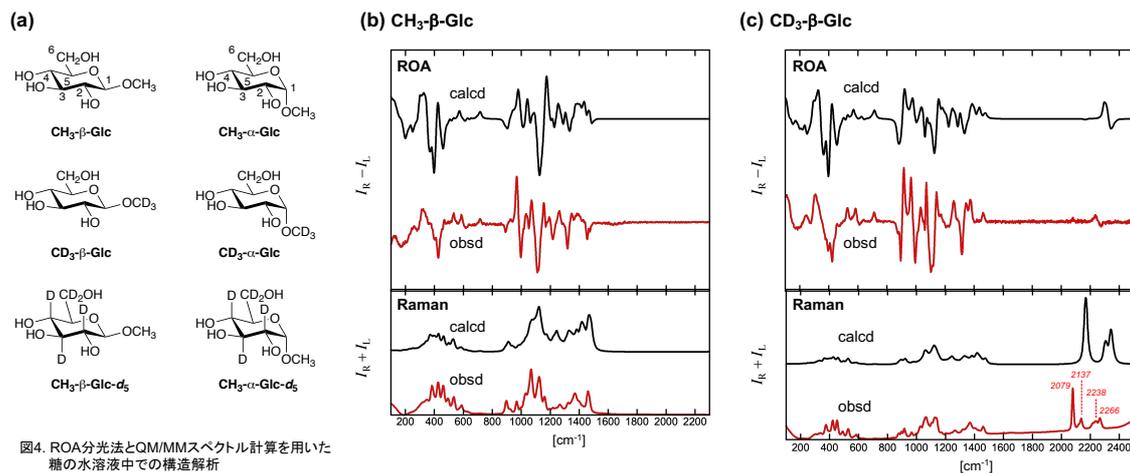
上記以外にも我々はカルボジイミド（Taniguchi, T. et al. *J. Am. Chem. Soc.* **2018**）やアレン（Taniguchi, T. et al. *Org. Biomol. Chem.* **2023**）など $1900\sim 2400 \text{ cm}^{-1}$ 領域に吸収を示す官能基について VCD の研究を進めてきた。この波数領域では VCD はほとんど研究されていないことから、一連の研究の成果を次の二報にまとめた（Taniguchi, T. *Synlett* **2023**; Taniguchi, T. et al. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2023**）。

上記研究では重水素ラベリングによる糖の VCD 構造解析研究の有用性が示されるとともに、溶媒分子との相互作用を厳密に考慮する QM/MM 計算の有効性の一端が示された。その一方で、QM/MM 計算の信頼性の検証に用いたのは $1900\sim 2400 \text{ cm}^{-1}$ 領域の (C-D 伸縮振動領域の) VCD スペクトルのみであり、他の波数領域については溶媒 (H_2O あるいは DMSO) 由来の赤外吸収のために検証ができなかった。そこで次に、ROA 分光法を用いた。 H_2O を溶媒として用いる場合、 H_2O がラマン散乱をほとんど示さないことから ROA 分光法によって広い波数領域での実測スペクトルと計算スペクトルの比較、ひいては理論計算条件の最適化が可能である。また本研究を通じて、重水素ラベリングの ROA 分光法における有用性についても検証した。

本研究では VCD 研究でも用いた $\text{CD}_3\text{-}\beta\text{-Glc}$ と $\text{CD}_3\text{-}\alpha\text{-Glc}$ に加えて、非ラベル化体 $\text{CH}_3\text{-}\beta\text{-Glc}$ と $\text{CH}_3\text{-}\alpha\text{-Glc}$ 、ならびに共同研究者によって合成された $\text{CH}_3\text{-}\beta\text{-Glc-}d_5$ と $\text{CH}_3\text{-}\alpha\text{-Glc-}d_5$ について検討した (図 4a)。これらの各分子について ROA スペクトルを $100\sim 2500 \text{ cm}^{-1}$ の波数領域で測定し、各種条件によって計算した QM/MM 理論スペクトルと比較した。実測スペクトルと理論スペクトルは定量的に比較し、その一致度を検証した。この結果、糖部分の計算条件 (QM 部分) を B3LYP/spAug-cc-pVDZ に設定し、溶媒の計算条件 (MM 部分) を Amber に設定することで実測スペクトルに見られるシグナルを概ね一対一で対応づけ可能な理論スペクトルが得られることを見出した。 $\text{CH}_3\text{-}\beta\text{-Glc}$ についての結果を図 4b に示す。 400 cm^{-1} 付近でのみ顕著な不一致が見られているものの、構造解析に十分な精度である。重水素化体 $\text{CD}_3\text{-}\beta\text{-Glc}$ においても 400 cm^{-1} 付近以外では一対一で対応づけられる実測スペクトルと理論スペクトルが得られたことから、重水素化体についても構造解析が可能であることを見出した (図 4c)。

ニトリルやイソニトリルの項目で述べた通り、 $1900\sim 2400 \text{ cm}^{-1}$ 領域では anharmonic 効果が顕著に現れることがある。 $\text{CD}_3\text{-}\beta\text{-Glc}$ の ROA スペクトルの $1900\sim 2400 \text{ cm}^{-1}$ 領域においては、実測スペクトルと調和振動子近似理論スペクトルに見出されるシグナルは一対一で対応づけ可能だったものの、顕著な波数 (横軸) の違いが見られた。またラマンスペクトルにおいても、理論スペクトルでは3本のバンドが予想されただけであるのに対して、実測スペクトルでは少なくとも4本のシグナルが観察された。調和振動子近似の理論計算のみでも構造決定は可能であるものの、 $1900\sim 2400 \text{ cm}^{-1}$ 領域の振動シグナルの性質についてさらなる詳細を解析すべく、非調和振動子効果も取り入れた理論計算を実施した。この結果、観測された anharmonic 効果をより再現する理論スペクトルが得られた。これにより、いくつかの anharmonic シグナルについてはその振動の性質をより詳細に理解することが可能となった。

本研究で扱った $\text{CD}_3\text{-}\beta\text{-Glc}$ 、 $\text{CD}_3\text{-}\alpha\text{-Glc}$ 、 $\text{CH}_3\text{-}\beta\text{-Glc-}d_5$ 、 $\text{CH}_3\text{-}\alpha\text{-Glc-}d_5$ の ROA スペクトルの検討ではさらに、C-D 伸縮振動領域の ROA シグナルの利用によって測定対象分子の重水素化部位の立体配置ならびにコンフォメーションを解析しうることを見出した (論文投稿中)。



分子のスペクトルをより詳細に計算する手法についての知見を得たことから、VCD などのスペクトル計算法を各種分子に適用した。解析対象とした分子には、極めて柔軟な酸化脂質なども含まれている (Taniguchi, T. *Chem. Commun.* **2022**)。その他にも共同研究を通じて、各種天然物・合成化合物の構造を決定した (Koshino S. et al. *Chem.-Eur. J.* **2020**; Morishita, Y. et al. *Org. Biomol. Chem.* **2020**; Murakami, H. et al. *Org. Lett.* **2020**; Tani, H. et al. *ACS Omega* **2020**; Morishita, Y. et al. *Org. Lett.* **2020**; Moosmann, P. et al. *Org. Lett.* **2021**; Koshino S. et al. *Chem.-Eur. J.* **2021**; Umekubo, N. et al. *Asian J. Org. Chem.* **2021**; Mizuno, S. et al. *Results Chem.* **2022**; Mondal, S. et al. *Org. Lett.* **2022**; Bondzić, B. P. et al. *Chem. Eur. J.* **2023**; Pan, C. et al. *J. Antibiot.* **2024**)。

本研究では、溶媒と強固に相互作用する親水性官能基を有する分子群や、中分子のように構造が柔軟な分子など、従来の計算手法に基づく分光構造分析では解析困難だった各種分子群について、全体構造・部分構造を決定する新たな方法論を示した。本研究成果によって、各種分子の構造決定というボトルネックが大幅に解消されることが見込まれる。さらに、薬剤分子などの安定コンフォメーションの解析にも有効であることから、より活性の高い薬剤の開発などにも資すると期待される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Zubir Mohamad Zarif Mohd, Maulida Nurul Fajry, Abe Yoshihiro, Nakamura Yuta, Abdelrasoul Mariam, Taniguchi Tohru, Monde Kenji	4. 巻 20
2. 論文標題 Deuterium labelling to extract local stereochemical information by VCD spectroscopy in the C-D stretching region: a case study of sugars	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Organic & Biomolecular Chemistry	6. 最初と最後の頁 1067 ~ 1072
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/d1ob02317a	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Taniguchi Tohru, Mutmainah, Takimoto Shu, Suzuki Takahiro, Watanabe Soichiro, Matsuda Fuyuhiko, Umezawa Taiki, Monde Kenji	4. 巻 21
2. 論文標題 Scope and limitations of absolute configuration determination of allenic natural products using the C=C stretching VCD signal	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Organic & Biomolecular Chemistry	6. 最初と最後の頁 569 ~ 574
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/d2ob01520j	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Taniguchi Tohru	4. 巻 -
2. 論文標題 Vibrational Circular Dichroism Studies on Axially Chiral Carbodiimides and Allenes	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Synlett	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1055/a-2071-4411	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Tohru Taniguchi, Mohamad Zarif Mohd Zubir, Nobuyuki Harada, Kenji Monde	4. 巻 23
2. 論文標題 Exploration of Chromophores for VCD Couplet in Biomolecularly Transparent Infrared Region	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Phys. Chem. Chem. Phys.	6. 最初と最後の頁 27525-27532
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/d1cp04074j	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 3.Mohamad Zarif Mohd Zubir, Nurul Fajry Maulida, Yoshihiro Abe, Yuta Nakamura, Mariam Abdelrasoul, Tohru Taniguchi, Kenji Monde	4. 巻 20
2. 論文標題 Deuterium labelling to extract local stereochemical information by VCD spectroscopy in the C-D stretching region: a case study of sugars	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Org. Biomol. Chem.	6. 最初と最後の頁 1067-1072
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/d1ob02317a	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Taniguchi Tohru, Agbo Davidson Obinna	4. 巻 25
2. 論文標題 Vibrational circular dichroism spectroscopy in the C-D, X Y, and X=Y=Z stretching region	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Physical Chemistry Chemical Physics	6. 最初と最後の頁 28567 ~ 28575
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/d3cp04287a	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計6件 (うち招待講演 3件 / うち国際学会 2件)

1. 発表者名 Tohru Taniguchi
2. 発表標題 Molecular Structural Analysis Using VCD in the 2400-1900 cm ⁻¹ Region
3. 学会等名 7th Vibrational Optical Activity Conference (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 谷口 透
2. 発表標題 重水素化分子のキララ分光分析
3. 学会等名 日本薬学会第143回年会 (招待講演)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 谷口 透
2. 発表標題 円二色性・赤外円二色性による立体構造決定の実践例と注意点
3. 学会等名 第31回ケムステVシンポジウム（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 谷口 透、井田南加、AGBO Davidson Obinna、門出 健次
2. 発表標題 VCD分光法を駆使した柔軟な酸化脂質とそのフッ素化体の立体構造解明
3. 学会等名 第64回天然有機化合物討論会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 中村裕太、谷口透
2. 発表標題 ラマン光学活性（ROA）を用いたヌクレオシドの構造解析法の開発
3. 学会等名 化学系学協会北海道支部2021年冬季研究発表会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Tohru Taniguchi, Mohamad Zarif Mohd Zubir, Davidson Obinna Agbo, Kenji Monde
2. 発表標題 Use of Vibrational Circular Dichroism in the Biomolecularly Transparent Region for Structural Analysis
3. 学会等名 Chirality2023 (国際学会)
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
主たる渡航先の主たる海外共同研究者	ポーシュ ピーター (Bour Petr)	ブラハ有機化学・生化学研究所・分光学グループ・教授	
主たる渡航先の主たる海外共同研究者	ブランチ ユアン (Blanch Ewan)	王立メルボルン工科大学・化学科・教授	

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
その他の研究協力者	カピタン ヨセフ (Kapitan Josef)	オロモウツ大学・光学科・教授	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------

チェコ	プラハ有機化学・生化学研究所	オロモウツ大学		
オーストラリア	王立メルボルン工科大学			