

様式 C-19 (記入例)

科学研究費補助金研究成果報告書

平成 22 年 5 月 31 日現在

研究種目：特定領域研究

研究期間：2006～2009

課題番号：18066008

研究課題名（和文） 溶液内素過程の化学反応ダイナミクス

研究課題名（英文） Free Energy Surfaces and Dynamics of Chemical Reactions in Solution

研究代表者

加藤 重樹 (KATO Shigeki)

京都大学・大学院理学研究科・教授

研究者番号：20113425

研究成果の概要（和文）：研究では、溶液内やタンパク質における化学反応を自由エネルギー面に基づいて調べるための方法論の開発と応用を行った。まず自由エネルギー面に基づいて化学反応を議論する為、RISM-SCF 法、LRFE-SCF 法、RISM-MP2 法などを開発した。次に、気相・液相中における光励起緩和過程のメカニズムを調べることを目的として、最低エネルギー円錐交差(conical intersection)の配置をMS-CASPT2 レベルで直接定量的に求めるための方法を開発した。最後に、電子分極の効果を顕に含むタンパク質の一般分子力場を charge response kernel (CRK)に基づいて構築し、それを Met-Enkephalin 分子の統計分布などに応用した。さらに、CRK に基づいた分子動力学計算を行い、通常の液体とイオン液体の動的な性質の違いについて議論を進めた。

研究成果の概要（英文）：Method development and applications have been made for studying chemical reactions in solution and protein environments. New theoretical methods have been developed called LRFE-SCF, RISM-MP2, and QM/MM-MF methods. To elucidate the mechanism of photochemical processes in condensed phase, we proposed a new computational framework for locating minimum energy conical intersection based on non-equilibrium free energy surfaces. We also developed a new molecular mechanical force field for proteins using charge response kernel (CRK) and applied it to the study of electronic polarization effects on proteins and ionic liquids.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006年度	7,400,000		7,400,000
2007年度	83,00,000		83,00,000
2008年度	13,00,000		13,00,000
2009年度	5,500,000		5,500,000
年度			
総計	34,200,000	0	34,200,000

研究分野：化学

科研費の分科・細目：基礎科学・物理化学

キーワード：理論化学、化学反応、ダイナミクス、溶液、励起状態、酵素反応

科学研究費補助金研究成果報告書

1. 研究開始当初の背景

化学は様々な分子や物質を創出し、それらの本質を解明すると共に、人類の生活に応用しその発展を担ってきた。これまでは第2周期の元素を中心とした分子集団や物質を主な研究対象としていたが、最近はずべての元素を含む分子、物質に研究の対象が広がり、超分子、ナノスケールの分子および分子集団、生体分子などが研究の主要な対象となっている。それらの研究を進展させるためには、微視的視点からの本質の解明、統一的な見方や法則性の発見、一貫した基礎概念と基礎法則からの理解が不可欠であると考えられた。従って、大きな分子および分子集団の理論計算を行うための量子化学・電子状態理論の確立に加え、統計理論的視点からの研究が必要であり、それらをカバーする「実在系の分子理論」が必要とされていた。

2. 研究の目的

溶液や生体などの凝集系における化学反応を取り扱うためには、反応場としての溶媒やタンパク質の熱揺らぎの効果を取り入れた反応の自由エネルギー面の構築が不可欠であり、更に、溶質分子や反応部位に対する反応場の揺らぎに起因するダイナミックな応答を記述する動力学的方法の確立が必要である。本研究では、複雑な溶液、生体内反応の動力学に対して見通しの良い描像を与える反応経路ハミルトニアンを *ab initio* 電子状態計算に基づいて構築する理論的方法を進展させ、溶液内光化学反応や生体内反応、特にプロトン移動や電子移動反応のダイナミクスを明らかにすることを目的としている。具体的には、溶液内光化学反応を取り扱うためには、異なる電子状態に対応する自由エネルギー面の交差点における溶質および溶媒和構造とエネルギーを求めるため、非平衡溶媒和状態における自由エネルギーを求める方法を確立する。更に、この交差点を通る反応座標を求め、それを用いて反応経路ハミルトニアンを構築し、反応の量子ダイナミクスを調べる。生体内での化学反応では、溶液内反応について提案してきた線形応答自由エネルギー面を蛋白質場に拡張し、QM/MM法に基づいて自由エネルギー面を求める方法を確立し、タンパク質内反応のダイナミクスを取り扱う。具体的には、核酸塩基分子の溶液内における光化学ダイナミクス、ユビキノールの *proton coupled electron transfer*、鉄・硫黄タンパク質の酸化還元反応など実験的に興味を持たれている問題について電子状態理論に基づく実体的なモ

デルを構築することを通じて、ダイナミクスを明らかにする。また、本研究で開発した方法を用い遷移金属触媒反応や酵素反応などの本領域 A01 班のメンバーと共通する課題について共同研究を行う。

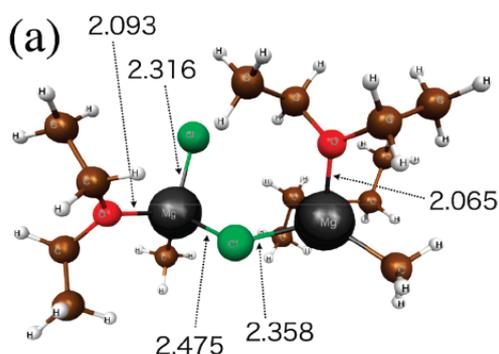
3. 研究の方法

本研究課題に関連して、(1) RISM-SCF法についての新しい方法の開発、(2) 溶液内化学反応の機構とダイナミクス、(3) QM/MM法を用いた複雑分子系の自由エネルギー面上での反応経路の決定法の開発と酵素反応への応用、および (4) *charge response kernel*法を用いた分極可能場モデルの開発と分子シミュレーションについて研究を行った。(1)では、先ず、溶質・溶媒間の短距離相互作用を記述するため、溶媒分子の相互作用点上に有効ポテンシャルを定義し、それを用いて溶質・溶媒電子間交換相互作用を表す方法の開発を行った。更に、3次元RISM-SCF法を用いて水溶液中でのpyrroleとindoleのRydberg励起状態のエネルギー準位に対する溶質・溶媒電子間の交換相互作用の役割について解析を行った。(2)では、溶液内での*proton-coupled electron transfer*反応の機構とダイナミクスを取り扱うため、反応の自由エネルギー面を溶媒からの外部ポテンシャルを用いて表現する方法の提案を行い、反応速度を量子動力学法により評価する方法の定式化を行った。この方法をアセトニトリル中でのubiquinolとphenoxy radical間の反応に適用し、異常な速度同位体効果を示す理由について考察を行った。(3)の課題では、chalcone isomeraseの酵素反応を取りあげ、実験的に示唆されている2つの反応経路を比較し、活性化エネルギーを見積もった。(4)では、MP2法に基づくCRKモデルを構築する方法を開発し、アセトニトリル、メチレンクロライド、アセトン液体の低周波数領域での赤外とラマンスペクトルを分子動力学法により計算し、スペクトルの形状を決める上での電子分極の役割について論じた。

4. 研究成果

(1) ジエチルエーテル中 Grignard 反応のメカニズム : RISM-MP2 法による理論的研究

Grignard 試薬である CH_3MgCl および CH_3MgBr のジエチルエーテル溶液中での平衡およびアセトンとの反応について理論的に調べた。溶液中における反応自由エネルギー曲面の計算には、Reference interaction site model self-consistent field with 2nd-order Moller-Plesset perturbation (RISM-MP2)法を用いた。この方法は、従来の RISM-SCF 法を拡張したものであり、動的電子相関の効果を 2 次の摂動論のレベルで取り込んでいる。また、森によって開発された RISM-MP2 法の解析的自由エネルギー微分を用いて、自由エネルギー面上における構造最適化を行った。ジエチルエーテル溶媒は金属マグネシウムに非常に強く配位するため、反応基質に加え、マグネシウムに配位する溶媒まで量子化学計算に含めるクラスターモデルを採用した。溶媒のマグネシウムへの配位エネルギーは MP2 レベルで 50 kcal/mol、Hartree-Fock



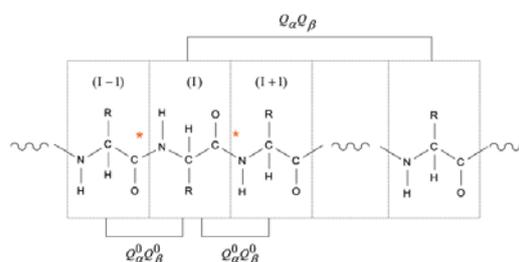
レベルで 40 kcal/mol 程度と非常に大きいため、これらの溶媒分子は量子化学的に取り扱う必要がある。溶液中での平衡を調べたところ、従来考えられていた cyclic dimer よりも linear dimer の方がより安定であり、monomer pair と同程度の割合で溶液中に存在することが示唆された。

Grignard 試薬とアセトンの反応については、monomer, linear dimer, cyclic dimer を経由する反応経路を調べた。その結果、反応エネルギーバリアは linear dimer を経由する経路で最も低くなることが分かった。

(2) Charge Response Kernel (CRK) を用いたタンパク質の分極可能分子力場の構築

電子分極の効果を分子力場を含めるための方法の一つとして Charge Response Kernel (CRK) モデルがある。本研究では、ポリペプチドやタンパク質を記述するための分極可能分子力場を CRK モデルに基づいて構築した。20 種類のアミノ酸残基に対して MP2

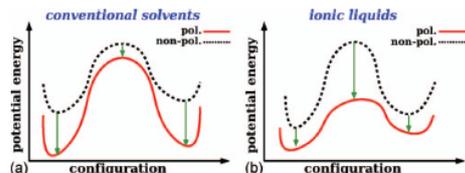
レベルの電子状態計算を行い、対応する CRK 行列 (部分電荷の外場に対する応答を記述する行列) を精度良く求めた。こうして得られた各アミノ酸の CRK 行列を、既存の AMBER99 (non-polarizable) force field の非静電的ポテンシャル項と組み合わせることによって、タンパク質の分極可能力場を構築した。その際、2 面角のパラメタについて再調整を行った。得られた分極可能



力場を用い、溶液中における alanine tetra-penta peptide の分子動力学計算を行った。また、赤外スペクトルを計算し、実験結果との比較を行った。さらに、Met-Enkephalin 分子の水中における自由エネルギー計算を行い、extended form と compact form を結ぶ自由エネルギーバリアが電子分極によって低下することを示した。

(3) 通常液体とイオン液体における電子分極効果の系統的研究

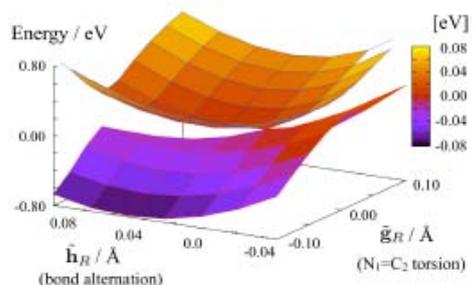
定性的に異なる液体に対して、電子分極がどのような影響を与えるかを系統的に調べた。ここではプロトン性溶媒として水とメタノール、非プロトン性溶媒としてアセトニトリル、イオン液体としてイミダゾール系のものを扱った。電子分極を含める方法としては Charge Response Kernel (CRK) モデルを用いた。中性分子から成る溶媒 (水など) の分子動力学 (MD) 計算では、電子分極を含めると分子の運動が遅くなった。これは局所的な双極子相互作用や水素結合が電子分極のない場合に比べて強くなるためと理解出来る。一方で、イオン液体の MD 計算では、電子分極を含めるとイオンの運動が速くなった。これは、イオン上の部分電荷が電子分極によって配置することにより、局所的な電荷の中性化が進むためと考えられる。この現象をより詳しく見るため、電子分極のエネルギーを分子ごとに実効的に分解し、その統計分布をプロットし、局所的なポテンシャル曲面が電子分極によってどのように変化するかを調べた。その結果、中性分子からなる溶媒では、ポテンシャルの低い部分が電子分極でより安定化され、分子運動のエネルギー障壁が正味でより高くなること、一方イオン液体の場合に



は、ポテンシャルの高い部分が電子分極で安定化され、イオン運動のエネルギー障壁が正味でより低くなることが分かった。これは、分子動力学計算で見た分子・イオンの加速・減速のパターンと定性的によく一致している。

(4) 溶液中円錐交差を MS-CASPT2 レベルで求める方法の開発とプロトン化シッフ塩基への応用

溶液中の光化学反応では、溶媒の配置によって溶質の MECI の位置は統計的に揺らい



でいる。本研究では、そのような統計的に揺らぐ MECI を、各電子励起状態に付随する非平衡自由エネルギー曲面間の MECI を通じて特徴づけることで、溶液中励起分子の失活過程を調べた。励起状態では動的電子相関の効果が非常に大きい場合があるため、ここでは MS-CASPT2 レベルで非平衡自由エネルギー曲面間の MECI を求めるための方法を開発した。

また解析的な自由エネルギー微分と interstate coupling vector を導出した。次に、この方法をメタノール中プロトン化シッフ塩基の cis-trans 光異性化反応に適用した。その結果、動的電子相関によって S1 状態のポテンシャル面が大きく下がること、溶液中では末端 CN2 重結合がねじれることによって MECI が強く安定化されること(気相中では不安定)などが分かった。

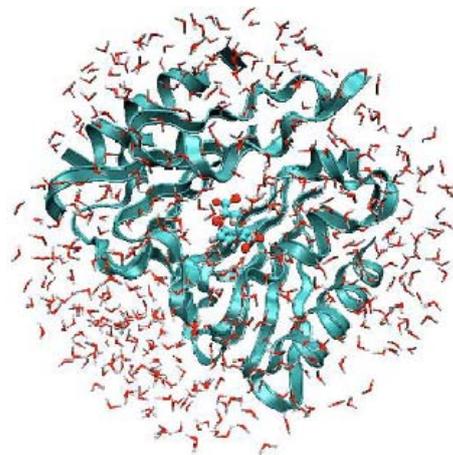
(5) QM/MM 自由エネルギーの変分法・摂動法による定式化と解析的自由エネルギー微分

量子化学で使われている一般的な溶媒和モデル (PCM や RISM-SCF など) では、溶質の

波動関数は溶媒が作る平均静電場のもとで計算されている(「平均場埋め込みの近似」)。本研究では、この近似をダイレクトに QM/MM に拡張する方法を変分法または摂動法の枠組みで定式化した。変分法では、適切な QM/MM 自由エネルギー汎関数を考え、それを最小化することで統計的に最適な試行波動関数を決定した。摂動法では、上で得た変分法の結果が溶質・溶媒静電相互作用をセルフコンシステント状態まわりに 1 次まで打ち切る近似に対応することを示した。溶質波動関数の統計的な揺らぎは、展開を 2 次まで行うことで含めることが出来る。特に、溶媒の揺らぎについてガウス揺らぎのモデルを導入すると、波動関数の揺らぎが自由エネルギーに与える寄与を解析的に書き下すことが出来る。例として、上の方法を水溶液中メンシュトキン反応の自由エネルギープロファイルの計算に用い、具体的な計算について説明した。また、波動関数の揺らぎの効果は、この反応では非常に小さく (1 kcal/mol 以下)、無視出来るレベルであることが分かった。これは、平均場埋込の近似で求めた波動関数が、気相からの平均的な歪みを既に取り込んでいるためと考えられる

(6) QM/MM 線形応答自由エネルギー法と酵素中 Claisen 反応への応用

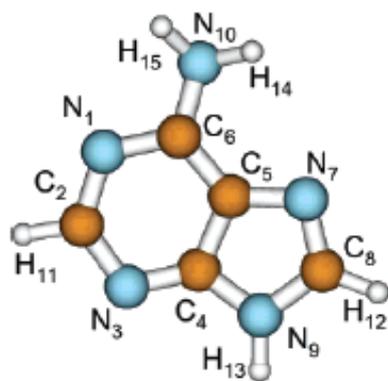
線形応答近似に基づく QM/MM 自由エネルギーを導入し、その自由エネルギー面上で系の構造最適化を行うための方法を開発した。2 種類の線形応答自由エネルギーを考え、その精度を比較した。QM 領域の波動関数は MM 領域の静電・Lennard-Jones 相互作用の応答とセルフコンシステントになるように決められている。計算で必要になる共分散行列 (MM 領域が作る場の揺らぎを特徴づける行列) は分子動力学計算によって求めた。



同様に、解析的な自由エネルギー微分も分子動力学計算のデータから計算した。この方法を水溶液中の Menshutkin 反応と Claisen 反応に応用し、過去の結果と比較した。その結果、2種類の線形応答自由エネルギーのうち Type II と呼ばれるものがより高い精度を与えることが分かった。次に、この方法を Chorismate mutase 中の Claisen 転移反応に適用し、活性化自由エネルギーおよび速度論的同位体効果を計算したところ、実験値と良い一致を得ることが出来た。水中・酵素中における活性化バリアの比較から、酵素中では基質の構造に制約がかかっており、これが酵素の触媒作用につながっていることが分かった。

(7) 励起状態 9H-アデニンの円錐交差に対する溶媒効果：極性溶媒中での無輻射遷移のメカニズム

電子基底および励起状態に付随する自由エネルギー曲面の平衡配置および円錐交差 (conical intersection) を水中・アセトニトリル中の 9H-アデニンに対して計算し、無輻射遷移のメカニズムを調べた。円錐交差は線形応答自由エネルギーに基づく直接探索法を用いて決定した。線形応答自由エネルギーは RISM-SCF/MP2 法を用いて計算した。計算の結果、水中では La 状態と Lb 状態間の円錐交差は自由エネルギー面上の幅広い領域に渡って存在し、それらの間の



vibronic coupling が強いことが分かった。一方で、 $n\pi$ 状態は溶液中の平面構造で大きくブルーシフトしており、この状態への非断熱遷移は抑制されることが示された。気相および液相中における $\pi\sigma^*$ 状態チャネルの重要性についても調べた。これらの計算結果に基づいて、「励起状態 9H-アデニンが気相中よりも極性溶媒中でより速く失活する」という実験結果を説明した。

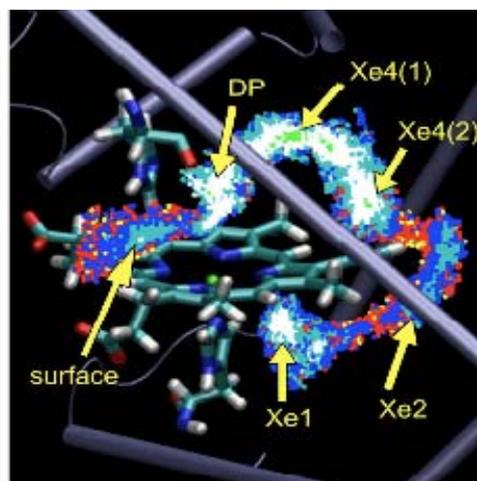
(8) proton-coupled electron transfer の

反応速度論と溶液中ユビキノール錯体への応用

プロトンと電子が協同的に移動することによって、系全体の反応エネルギーバリアを下げるような反応が知られている (proton-coupled electron transfer, PCET)。例えば、生体分子内の反応では、(i) 反応基質から隣接するアミノ酸残基へのプロトン移動と、(ii) 反応基質の π 共役系から別の π 共役系への長距離電子移動、がカップルして起こる反応などが知られている。しかし、実験的な困難から、反応の詳細はよく分かっていない場合が多い。本研究では、そのような PCET 反応の最も簡単な例として、アセトニトリル中ユビキノール・フェノキシル錯体間の PCET 反応を調べた。まず反応速度を計算するための理論を溶液中の Golden rule からスタートして作り、それを RISM-SCF 法による自由エネルギー計算と組み合わせて評価した。その結果に基づいて、実験で調べられている類似の反応 (アセトニトリル中ユビキノール・ポリピリジル錯体の PCET 反応) で見られる逆転した速度論的同位体効果について議論した。

(9) ミオグロビン中リガンド拡散経路の分子動力学計算による研究

ミオグロビン中一酸化炭素(CO)分子の拡散経路をメタダイナミクス法によって調べた。



メタダイナミクス法はアンブレラサンプリングの一種であり、分子動力学計算の途中で動的にガウス関数型のバイアスポテンシャルを加えていき、自由エネルギー計算を行うものである。この方法によって、はじめに CO が存在している distal pocket (DP) から、histidine gate 近くのタンパク質表

面、あるいは proximal xenon trapping site (Xe1)に至る経路に沿う自由エネルギー変化（存在確率分布）を得ることが出来た。得られた自由エネルギーバリアの値は、ほかの方法で得られていた値よりも小さなものであった。さらに、木寺らによって提案された線形応答近似に基づくタンパク質の運動解析の方法を用いて、リガンドとタンパク質全体の運動の相関を調べた。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 15 件)

- ① H. Nakano, T. Yamamoto, and S. Kato, "A wave-function based approach for polarizable charge model: Systematic comparison of polarization effects on protic, aprotic, and ionic liquids", *Journal of Chemical Physics*, 査読有、**113**, 2010, 044106
- ② S. Aono, N. Minezawa, and S. Kato, "Electronic spectra of coumarin 151 in polar solvents: Linear response free energy approach", *Chemical Physics Letters*, 査読有、**492**, 2010, 193-197
- ③ Y. Nishihara, S. Hayashi, S. Kato, "Protein collective motion coupled to ligand migration in myoglobin", *Biophysical Journal*, **98**, 2010, 1649-1657
- ④ T. Mori and S. Kato, "Grignard reagents in solution: Theoretical study of equilibria and the reaction with a carbonyl compound in diethyl ether solvent", *Journal of Physical Chemistry A*, 査読有、**113**, 2009, 6158-6165
- ⑤ T. Mori and S. Kato, "Dynamic electron correlation effect on conical intersections in photochemical ring-opening reaction of cyclohexadiene: MS-CASPT2 study", *Chemical Physics Letters*, 査読有、**476**, 2009, 97-100
- ⑥ M. Isegawa and S. Kato, "Polarizable force field for protein with charge response kernel", *Journal of Chemical Theory and Computation*, 査読有、**5**, 2009, 2809-2821
- ⑦ J. Tsutsumi, H. Yoshida, R. Murdey, S. Kato, and N. Sato, "An accurate calculation of electronic contribution to static permittivity tensor for organic molecular crystals on the basis of the charge response kernel theory", *Journal of Physical Chemistry A*, 査読有、**113**, 2009, 9207-9212
- ⑧ Y. Nishihara, S. Hayashi, and S. Kato, "A search for ligand diffusion pathway in myoglobin using a metadynamics simulation", *Chemical Physics Letters*, 査読有、**464**, 2008, 220-225
- ⑨ T. Yamamoto and S. Kato, "Ab initio calculation of proton-coupled electron transfer rates in the external-potential representation: A ubiquinol complex in solution", *Journal of Chemical Physics*, 査読有、**126**, 2007, 224513(15pages)
- ⑩ M. Higashi, S. Hayashi, and S. Kato, "Geometry optimization based on linear response free energy with quantum mechanical/molecular mechanical method: Applications to Menshutkin-type and Claisen rearrangement reactions in aqueous solution", *Journal of Chemical Physics*, 査読有、**126**, 2007, 144503 (10 pages)
- ⑪ M. Higashi, S. Hayashi, and S. Kato, "Transition state determination of enzyme reaction on free energy surface: Application to chorismate mutase", *Chemical Physics Letters*, 査読有、**437**, 2007, 293-297
- ⑫ T. Mori and S. Kato, "Analytical RISM-MP2 free energy gradient method: Application to the Schlenk equilibrium of Grignard reagent", *Chemical Physics Letters*, 査読有、**437**, 2007, 159-163
- ⑬ S. Yamazaki and S. Kato, "Solvent effect on conical intersections in excited state 9H-adenine: Radiationless decay mechanism in polar solvent", *J. Am. Chem. Soc.*, 査読有、**129**, 2007, 2901-2909
- ⑭ N. Minezawa and S. Kato, "An efficient implementation of three-dimensional reference interaction site model self-consistent-field method: Application to solvatochromic shift calculations", *Journal of Chemical Physics*, 査読有、**126**, 2007, 054511 (15 pages)
- ⑮ T. Yonehara and S. Kato, "Quantum dynamics study on multichannel dissociation and isomerization reactions of formaldehyde", *Journal of Chemical Physics*, 査読有、**125**, 2006,

084307(10 pages)

〔学会発表〕(計3件)

(1) 山本武志、” QM/MM法に基づく化学反応の自由エネルギー計算と反応経路の探索”、IMSスーパーコンピュータワークショップ、2010.1.13、分子科学研究所(名古屋)

(2) 山本武志、” Some numerical quests for accurate quantum dynamics in gas and condensed phases”、The 69th Okazaki Conference on “New Frontier in Quantum Chemical Dynamics”、2010.2.21、分子科学研究所(名古屋)

(3) 加藤重樹、” Free Energy Surfaces and Dynamics of Chemical Reactions in Solution and Biological Systems”、Theory and Applications of Computational Chemistry 2008、2009.9.29、中国・上海

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

○出願状況(計0件)

○取得状況(計0件)

内外の別：

〔その他〕

6. 研究組織

(1) 研究代表者

加藤 重樹 (KATO Shigeki)
京都大学・大学院理学研究科・教授
研究者番号：20113425

(2) 研究分担者

山本 武志 (YAMAMOTO Takeshi)
京都大学・大学院理学研究科・助教
研究者番号：30397583