

令和元年5月24日現在

機関番号：25403

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K17856

研究課題名(和文) 金属酵素の反応活性と動的構造変化の理論的研究

研究課題名(英文) Theoretical study on reactivity and dynamical structural changes of metalloproteins

研究代表者

齋藤 徹 (Saito, Toru)

広島市立大学・情報科学研究科・講師

研究者番号：80747494

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：金属酵素が触媒する物質変換反応を理論計算を用いて解明するためには、ボトルネックとなる量子化学計算のコストを削減する必要がある。本研究では、半経験的分子軌道法のパラメータを独自に改良することで、精度を損なうことなく計算時間を大幅に短縮することに成功した。反応経路探索のみならず、スピン間の磁氣的相互作用、結合解離エネルギー、反応障壁、反応エネルギーなどの計算に有用であることが示された。したがって本アプローチは代謝部位予測などの簡便なスクリーニング法として適用可能である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

遷移金属を含む酵素(金属酵素)の特異な触媒反応を理解し、新物質・材料の開発に応用することは大変意義深い。計算化学は実験的手法の相補的な方法論として用いられてきたが、反応活性と動的構造変化の影響を調べるための有効な手だてがなかった。本研究では既存の半経験的分子軌道法のパラメータセットを改善することにより、計算精度を損なわずに計算時間の大幅な短縮を実現できた。この計算は汎用プログラム Gaussian, Mopac のインプットファイルを書き換えるだけで実行できる。高度なプログラミング技術を必要としないことから、理論、実験を問わず大きな波及効果が期待される。

研究成果の概要(英文)：Further reduction of computational cost would achieve a rational design of catalysts on the basis of computational findings. To this end, we proposed a reparameterization variant of PM6, namely rPM6, aiming at improving the accuracy for quasi-degenerate (open-shell) systems without degrading its accuracy for general-purpose applications. We showed its applicability to transition state search for C-H and C=C bond oxidation reactions. Quantitative assessments of rPM6 were also presented concerning magnetic exchange coupling constants and thermochemical properties (bond dissociation energies, barrier heights and reaction energies). Thus, it per se might be used as an initial screening method in predicting site of metabolism.

研究分野：物理化学、計算化学

キーワード：半経験的分子軌道法 開殻分子 金属酵素

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

遷移金属を含む酵素(金属酵素)は中心金属の価数、スピン状態等を巧妙に変えることで、物質変換反応を行う。そのからくりを理解することができれば、新物質・材料の開発は大きく進展すると考えられる。量子力学(QM)計算を始めとする計算化学による分子レベルでの解析は、詳細な電子状態、構造(プロトン化状態、不安定中間体など)に関する有益な情報を与えるため、実験的手法の相補的な方法論として期待されている。特に反応中心をQM、周囲の場を分子力学(MM)で扱うQM/MM法は頻用されているが、動的構造変化の影響を考慮するためには分子動力学(MD)法と組み合わせたQM/MM MD法が必須となる。しかし、金属酵素の活性部位は強相関電子系であり、既存の密度汎関数理論(DFT)などをQM計算にあてるアプローチでは実行が非常に困難である。つまり「高い計算精度」と「計算時間の短縮」という、相反する要請を解決できるQM計算法が求められている。

### 2. 研究の目的

この問題を克服すべく、経験的パラメータの導入により計算時間を削減できる半経験的量子力学計算(SQM)法に着目する。既存のSQM法は強相関電子系を対象として設計されておらず、金属酵素やその生体模倣触媒に対する計算精度が乏しい。そこで、遷移金属元素を含む70種の元素のパラメータが設計されているPM6に着目し、パラメータを金属酵素やその模倣錯体を計算に相応しいものへと再最適化する。得られたパラメータセットを用いたSQM計算が遷移状態探索や物理化学パラメータの計算に有用であることを示すことで、計算精度を損なわずに計算時間の大幅な短縮を目指す。これにより、DFT計算では実行することが非常に困難であった、網羅的検証による反応部位予測やQM/MM MD計算を実行可能とする。

### 3. 研究の方法

金属酵素やその模倣金属錯体の計算に主に含まれるH, C, N, O, F, P, S, Cl, Mn, Feのパラメータを再最適化する。具体的には電子構造に関するパラメータ( $U, \beta, \zeta$ )及び分子構造に関するdiatomic core-core parametersを最適化した。非金属元素については、メチレン、ベンザインといったベンチマーク計算に頻用される分子に加え、基本的な閉殻分子の構造パラメータと一重項-三重項エネルギー差などをトレーニングセットとした。通常の計算に対する精度を維持すべくGMTKN30データベースもトレーニングセットに加えた。金属元素Mn, Feについては、DFTから得られた様々な価数、配位構造を持つ金属錯体の構造パラメータをトレーニングセットとした。

再最適化されたパラメータによるPM6 (rPM6)を、(1)単核および多核金属錯体による酸化反応の遷移状態探索、(2)スピン間の磁氣的相互作用、(3)結合解離エネルギー、(4)反応障壁・反応エネルギーなどの計算に適用し、精度の検証を行った。

### 4. 研究成果

#### (1) 単核及び多核金属錯体による酸化反応の遷移状態探索の是正

反応経路探索でボトルネックとなるのは遷移状態(TS)探索であり、密度汎関数理論(DFT)のような第一原理計算ではエネルギーの二次微分(Hessian)計算に多くの計算時間を要する。構造パラメータを改善させることで、電子構造やフロンティア軌道も是正できたことが示された。活性種の電子構造を見ると、PM6から得られたLUMOは配位子上に現れており、rPM6はDFTと同様、metal-oxo上に現れていた。この違いは反応性に大きく影響する。既存のPM6法を用いて、金属酵素の活性部位やその模倣錯体による酸化反応のTS探索を試みたとしても正しいTS構造が得られないことが多かった。一方、rPM6を用いてcytochrome P450のCpd I、メタンモノオキシゲナーゼの活性部位などの様々なC-H結合の水酸化、C=C結合のエポキシ化反応のTS探索に適用したところ、ほとんどの場合においてDFTから得られるTS構造を再現できた(図1参照)。

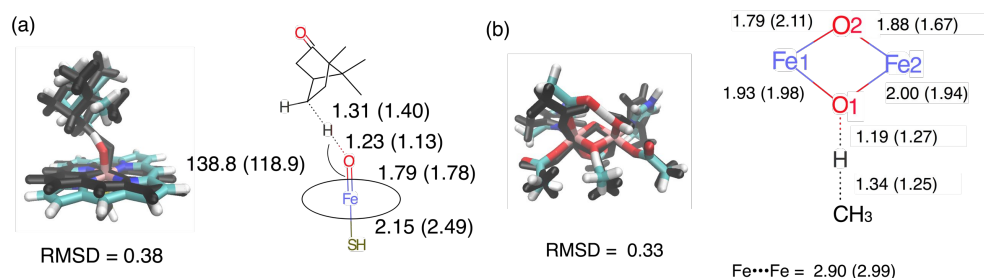


図1: (a) Cpd Iによるcamphorの水素引き抜き過程 (b) sMMOによるCH<sub>4</sub>の水素引き抜き過程の遷移状態 (括弧内はUB3LYP/def2-SVPの結果)

## (2) スピン間の磁氣的相互作用の是正

高原子価複核あるいは多核 metal-oxo 種は酸化反応の活性種となりうる。磁氣的相互作用を理解することは、それらの詳細な電子構造(価数、スピン状態)やプロトン化状態を予測する一助となりうる。ここでは、Mn(III)Mn(IV)O<sub>2</sub> を有する錯体(CSD ref. code: FEBKUS)をはじめとする Mn 及び Fe 複核錯体の有効交換積分値( $J$ )の算出を行い、既存の PM6 や PM7 計算結果と比較した。図 2 に示すように、実験値からのずれは PM6 > PM7 > rPM6 の順に小さくなっており、平均絶対誤差は 373, 119, 19 cm<sup>-1</sup> であった。反応性と同様、構造パラメータの是正によりスピン間相互作用も大きく改善できていることが示された。

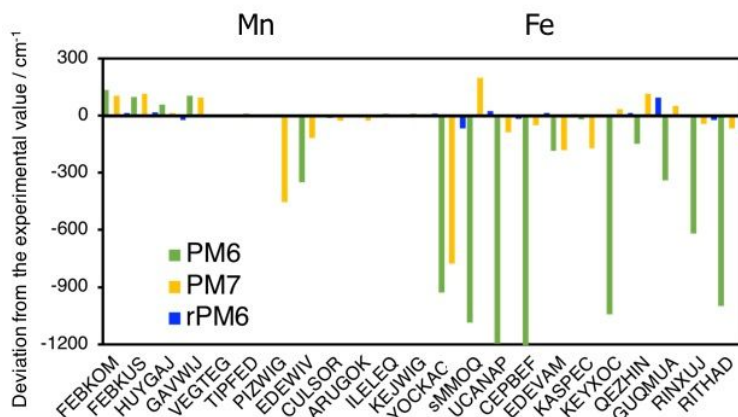


図 2: Mn, Fe 複核錯体の  $J$  値の実験値からの誤差

## (3) 結合解離エネルギー(BDE)の是正

結合解離反応を精度よく計算するためには、生成するラジカル種の構造も正しく記述する必要がある。比較的大きな芳香族化合物を含む分子の C-H や O-H 結合の結合解離反応からなるテストセット BDE200 を提案した。rPM6 や既存の SQM 法を用いて結合解離エネルギーを計算したところ、実験値との平均絶対誤差は PM3 (22.4 kcal/mol) > AM1 (21.3 kcal/mol) > PM6 (19.2 kcal/mol) > PM7 (17.7 kcal/mol) > rPM6 (9.5 kcal/mol) の順になった。B3LYP の結果(6.9 kcal/mol)と比較すると若干計算誤差は大きいものの、rPM6 は既存の手法の結果を大きく改善できている。

## (4) 反応障壁、反応エネルギーの是正

Mn(V)=O 種による C-H 結合のフッ素化反応、C=C 結合のエポキシ化反応に PM6, PM7, rPM6 を適用した結果について述べる。(1)で述べたように既存の PM6 や PM7 では半数の遷移状態を正しく求められなかったが、rPM6 では全て求めることができた。また、PM6 と PM7 は本来発熱反応であるはずのこれらの反応を吸熱的であると予想してしまう。これに対し、rPM6 では発熱反応であることが示された。つまり、反応エネルギーを定性的かつ定量的に見積もることができることが明らかとなった。反応障壁に関しては DFT を用いても誤差が大きいことから定量性に関する検証は難しい。一方、P450 による基質の C-H 結合活性化反応に見られるように、反応障壁と反応部位の BDE に良い相関があることはよく知られている。P450 による ethylbenzene、toluene など 15 個の基質の C-H 結合活性化反応の反応障壁と BDE を計算し、図 3 に示すような非常に良い相関関係が得られた。

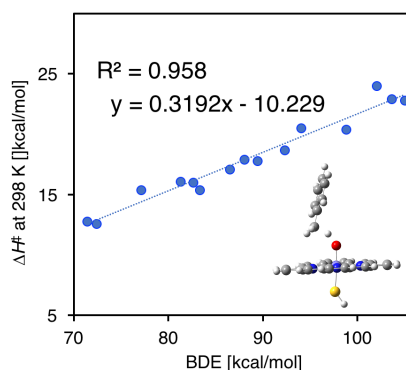


図 3: P450 モデル錯体による C-H 引き抜き反応の BDE と反応障壁の関係

## 5 . 主な発表論文等

### [雑誌論文](計 9 件)

1. T. Kawakami, K. Miyagawa, S. Sharma, T. Saito, M. Shoji, S. Yamada, S. Yamanaka, M. Okumura, T. Nakajima, K. Yamaguchi, “UNO DMRG CAS CI calculations of binuclear manganese complex  $Mn(IV)_2O_2(NHCHCO_2)_4$ : Scope and applicability of Heisenberg model”, *J. Comput. Chem.* 40, 333-341 (2019), 査読有
2. T. Saito, M. Fujiwara, Y. Takano, “Quantitative assessment of rPM6 for fluorine- and chlorine-containing metal complexes: Comparison with experimental, first-principles and other semiempirical results”, *Molecules*, 23, 3332 (2018) (Feature Paper), 査読有
3. 北河康隆、齋藤徹、山口兆、” 近似スピン射影法の開発と多核遷移金属錯体の電子状態・分子構造・物性解明への展開”, *Bull. Jpn. Soc. Coord. Chem.* 71, 57-68 (2018), 査読有
4. T. Saito, Y. Takano, “Transition State Search Using rPM6: Iron- and Manganese-catalyzed Oxidation Reactions as a Test Case”, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* 91, 1377-1389 (2018), 査読有
5. T. Saito, Y. Takano, “rPM6 parameters for phosphorous and sulphur-containing open-shell molecules”, *Mol. Phys.* 116, 602-610 (2018), 査読有
6. Y. Morimoto, Y. Takagi, T. Saito, T. Ohta, T. Ogura, N. Tohnai, M. Nakano, S. Itoh, “A Bis( $\mu$ -oxido)dinickel(III) Complex with a Triplet Ground State”, *Angew. Chem. Int. Ed.* 57, 7640-7643 (2018), 査読有
7. T. Saito, Y. Takano, “rPM6 Parameters for Manganese and Application to Transition State Search for Oxidation Reactions of Cyclohexene by Manganese(IV)-Oxo Species”, *Chem. Lett.* 46, 1567-1569 (2017), 査読有
8. T. Saito, Y. Kitagawa, T. Kawakami, S. Yamanaka, M. Okumura, Y. Takano, “Assessment of Semi-empirical Molecular Orbital Calculations for Describing Magnetic Interactions”, *Polyhedron*, 136, 52-57 (2017), 査読有
9. T. Saito, Y. Kitagawa, Y. Takano, “Reparameterization of PM6 Applied to Organic Diradical Molecules”, *J. Phys. Chem. A* 120, 8750-8760 (2016), 査読有

### [学会発表](計 18 件)

1. T. Saito, Y. Kitagawa, T. Kawakami, S. Yamanaka, M. Okumura, “Assessment of Semi-empirical Molecular Orbital Calculations for Describing Magnetic Interactions”, ICMM 2016, 2016年9月6日, Sendai International Center.
2. 齋藤徹、北河康隆、鷹野優, “開殻分子に対する半経験的分子軌道法の評価と改善”, 第10回分子科学討論会, 2016年9月14日, 神戸ファッションマート.
3. T. Saito, Y. Takano, “Development and Applications of Theoretical Method for Chemical Reactions Involving Open-shell Molecules”, 2016年日本化学会中国四国支部大会, 2016年11月6日, 香川大学 (若手特別講演).
4. T. Saito, Y. Takano, “Reparameterization of PM6 Applied to Through-bond and Through-space Magnetic Interactions”, The 57<sup>th</sup> Sanibel Symposium, 2017年2月20日, The King and Prince Beach and Golf Resort, GA, USA.
5. T. Saito, Y. Takano, “Modification of Semiempirical Molecular Orbital Theory for Computing Diradical Species”, 日本化学会第97春季年会, 2017年3月16日, 慶應義塾大学日吉キャンパス.
6. T. Saito, Y. Takano, “Reparameterization of PM6 Parameters for Manganese and Applications to Binuclear Manganese Complexes”, The 11<sup>th</sup> Triennial Congress of the World Association of Theoretical and Computational Chemists, 2017年8月29日, Munich, Germany.
7. 齋藤徹、鷹野優, “半経験的分子軌道法を用いた生体模倣金属錯体の計算”, 錯体化学会第67回討論会, 2017年9月18日, 北海道大学
8. 齋藤徹、鷹野優, “開殻分子系の高効率な遷移状態探索と酸化反応への適用”, 第50回酸化反応討論会, 2017年11月11日, 神奈川大学
9. T. Saito, Y. Takano, “Applications of the Semi-empirical rPM6 Method to Chemical Reactions Catalyzed by Transition Metal Containing Complexes”, 日本化学会第98春季年会, 2018年3月20日, 日本大学船橋キャンパス
10. T. Saito, Y. Takano, “Transition State Search Using rPM6 Method: Applications to Oxidation Reactions Catalyzed by Transition Metal Complexes”. The 43<sup>rd</sup> International Conference on Coordination Chemistry (ICCC2018), 2018年8月2日, Sendai International Center.
11. 齋藤徹、鷹野優, “計算化学による含フッ素医薬品の設計”, フルオラス科学研究会第11回シンポジウム, 2018年9月21日, 広島市立大学サテライトキャンパス
12. T. Saito, “Applications of rPM6 to Catalytic Oxidation Reactions”, International Congress on Pure & Applied Chemistry Langkawi, 2018年10月30日, Langkawi, Malaysia (Invited).
13. 齋藤徹、鷹野優, “半経験的分子軌道法 rPM6 の複核遷移金属錯体への適用”, 日本コンピュータ化学会 2018 秋季大会, 2018年11月3日, 弘前大学
14. 齋藤徹、鷹野優, “半経験的分子軌道法による遷移金属錯体の計算”, 2018年日本化学会中

国四国支部大会, 愛媛大学

15. T. Saito, H. Kambara, Y. Takano, “Quantitative Assessment of Reparameterized PM6 (rPM6) for Hydrogen Atom Transfer Reactions”, The 59<sup>th</sup> Sanibel Symposium, The King and Prince Beach and Golf Resort, GA, USA.
16. 齋藤徹, “計算化学による金属酵素と生体模倣触媒の研究”, 2018 年日本生物物理学会北海道支部例会, 2019 年 3 月 14 日, 北海道大学 (招待講演)
17. 齋藤徹、鷹野優, “半経験的分子軌道法の定量性の検証”, 日本化学会第 99 春季年会, 2019 年 3 月 19 日, 甲南大学岡本キャンパス
18. T. Saito, “Semiempirical Quantum Chemical Calculations on Quasi-Degenerate Systems”, Symposium on Electronic Structure and Dynamics of Complex Systems, 2019 年 4 月 27 日, Beijing Normal University, China (Invited).

〔図書〕(計 1 件)

1. Y. Kitagawa, T. Saito, K. Yamaguchi, “Approximate spin projection for broken-symmetry method and its application” in Symmetry (Group Theory) and Mathematical Treatment in Chemistry, IntechOpen, (2018) (ISBN: 978-1-78923-315-5).

〔その他〕

広島市立大学 教員総覧

<http://rsw.office.hiroshima-cu.ac.jp/Profiles/14/0001323/profile.html>

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。