

令和 6 年 6 月 6 日現在

機関番号：17601
研究種目：基盤研究(C)（一般）
研究期間：2021～2023
課題番号：21K05187
研究課題名（和文）分子シミュレーションとデータ科学手段の連携による多糖誘導体キラル分離機構の解明

研究課題名（英文）Study of chiral recognition on polysaccharide derivatives using molecular simulation combined with data analysis method

研究代表者
湯井 敏文（Yui, Toshifumi）

宮崎大学・工学部・教授

研究者番号：50230610
交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：医薬品に代表されるキラル化成品の開発・合成・製造過程において光学異性体の分析・分離操作は重要である。多糖類誘導体をキラルセクターとしてシリカゲル担体にコーティングしたキラル充填剤が開発され、セルロース誘導体をベースとしたキラルセクターに加え、アミロース誘導体 amylose tris(3,5-dimethylphenylcarbamate) (ADMPC) を固定相とするキラルカラムも実用化されている。本研究は、ADMPCを対象としたキラル認識・分離のシミュレーション研究を行った。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本申請研究手段はキラル認識を多様な結合状態の集合と捉え、実際に発生する分離現象に可能な限り近づけたシミュレーションを目指す。特に、クロマトグラム分離ピークに対応する計算結果の「見える化」に成功した。本シミュレーション手段は汎用性が高く、計算対象ごとに計算手続きを再設計する必要が無く、共通の計算手続きのもと、種々の多糖誘導体やキラル分子に対応可能である。1) 複数のキラル分子に対して共通の計算手段より求めた体系的な計算結果が得られデータ駆動型解析と相性が良いこと、2) 将来、溶出パターン予測や溶媒やカラム選択等に利用しうるHPLCキラル分離システム補助ソフトウェアの開発が期待される。

研究成果の概要（英文）：Analysis and separation of optical isomers are important in the development, synthesis and manufacturing of chiral chemical products such as pharmaceuticals. Chiral packing materials have been developed in which polysaccharide derivatives are coated on silica gel supports as chiral selectors, and in addition to chiral selectors based on cellulose derivatives, chiral columns using the amylose derivative amylose tris(3,5-dimethylphenylcarbamate) (ADMPC) as (3,5-dimethylphenylcarbamate) (ADMPC), an amylose derivative, as the stationary phase. In this study, we conducted a simulation study of chiral recognition and separation using ADMPC.

研究分野：高分子固体構造

キーワード：キラル分離 多糖誘導体 分子シミュレーション 操舵分子動力学計算法 分子力学パラメータ

様式 C-19、F-19-1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

1960年初頭、鎮静・催眠薬として世界中十か国で販売・使用されたサリドマイドが、妊娠初期の妊婦の胎児に催奇形を発生させた薬害事件をきっかけに、かつてはラセミアで市場に出されていた薬剤に対するエナンチオマーの生理活性やキラル分離に関心が集まるようになった。生体高分子をキラル分離の固定相に応用する試みのなかで、岡本佳男(名古屋大学)によって開発されたセルロース誘導体キラルカラム充填剤が最も成功をおさめた。現在、種々のベンゾエート系(1)やフェニルカルバメート系(2)セルロース誘導体が(株)ダイセルによって開発・商品化されるに至っている。(図1)セルロースを含めた多糖類は、一般に、立体規則性高分子に相当するだけでなく、自己組織化により溶液中ではロッド状形態、固体構造中では規則性らせん構造を形成する。セルロース分子鎖は、 β -シートのような波型分子形態をとるが、誘導体化によって(アセチル化を除き)左巻きのらせんキラリティをもつ2.5~3回らせん構造を形成する。らせんから外側に突き出したかさ高い置換基がらせん認識場として機能すると推測されるが、これは、「鍵と鍵穴」で表現される一義的な酵素による基質認識モデルとは異なる。移動相の影響下、固定相に対してキラル分子が多様な結合状態を形成し、かつ吸着・脱離を繰り返す動的なキラル認識を描写する分子論的モデルは提案されていない。

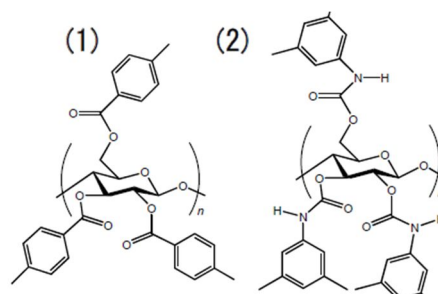


図1. Cellulose tris(4-methylbenzoate) (CTMB)、Cellulose tris(3,4-dimethylphenylcarbamate) (CTDPC).

2. 研究の目的

市販のキラルカラム充填剤に使用されるセルロース誘導体 (cellulose tris(4-methylbenzoate) (CTMB) と cellulose tris(3,5-dimethylphenyl carbamate) (CTDPC)) およびアミロース誘導体 (amylose tris(3,5-dimethylphenyl carbamate) (ADMPC)) を対象として、実際の HPLC 分離実験データから明確なキラル分離を示す分子種をモデル分子として選択し、キラル分離現象を再現する多糖誘導体配置デザイン (充填剤モデル) や探索手段等のシミュレーションモデル、およびシミュレーション計算条件を確立する。モデルデザインや計算条件がキラル分離モードに対して与える影響を体系的に求め、主要変数を抽出し、キラル分子認識機構の分子モデルを提案する。これら学術的な目標を達成後、応用面での展開として、シミュレーション解析結果と既存の文献や分離データベース情報を連携させデータ駆動型解析を実施する。これより、計算とデータを融合させた半経験的なアプローチによる溶出順序や分離能、およびセルロース誘導体の側鎖置換基デザインや分子鎖の集合状態による分離挙動の予測手段を確立し、計算機 (*in silico*) 上でのキラル分子の絶対構造予測手段や新規多糖誘導体カラム充填剤の分子設計・材料設計の可能性を探る。

3. 研究の方法

多糖誘導体の複数分子鎖で構成される充填剤モデルの内部空間に、分子鎖軸に沿ってキラル分子を移動させる操舵分子動力学 Steered Molecular Dynamics (SMD) 計算を実施した。キラル固定相として、重合度 16~32 の糖類誘導体を配置したキラルセクターモデルをデザインする。図2にセルロース誘導体キラルセクターモデルの典型例として4本を逆平行に配置したモデルを示す。SMD 計算により分子鎖軸方向にキラル分子を一定速度で移動させた(図2)。定温(300 K)・定圧(1 bar)の条件下で、キラル分子に力の定数 50.0 kcal/Å² の外力を印加し、一定速度(1.2~10.0 /ns)でキラルセクターモデル内を移動させる SMD 計算を 100 回実施し、キラル分子の移動に要する非平衡仕事量 (W) の分布を求めた。この W 値分布をガウス分布に変換し、以下の定義に従って、ガウス分布ピークの W 値 (W_{R1} 、 W_{R2}) および半減値 ($W_{0.5h1}$ 、 $W_{0.5h2}$) から分離度 R 、分離係数 α を求めた。

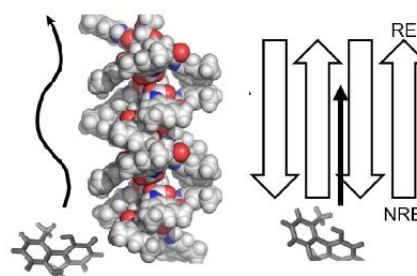


図2. セルロース誘導体 (CTDPC) のらせん構造とキラル分子の移動 (左) 4本の逆平行分子鎖によるキラルセクターモデル (右).

$$R = 1.18 \times \left(\frac{W_{R2} - W_{R1}}{W_{0.5h1} + W_{0.5h2}} \right), \quad \alpha = \frac{W_{R2}}{W_{R1}}$$

キラル分子モデルとして、Tröger's base (1)、*N,N'*-diphenyl-1,2-cyclopropanedicarboxamide (2)、3,3'-dimethylbiphenol (3)、2,2,2-trifluoro-1-phenylethanol (4) の4種類に加え、非常に高いキラル分離能が報告されている thiocarbonyl-3-benzyl-5-phenyl-4,5-

dihydro(1H)pyrazole の誘導体である 3 種類のピラゾール化合物を採用した。この際、各種キラル分子の結合回転角パラメータを決定した。これら MD 計算には AMBER18 ソフトウェアを使用した。パラメータ決定のために、量子化学 (QM) 計算は MP2/aug-cc-pVTZ// MP2/6-31G(d) レベルで Gaussian 09 により実施した。分子力学 (MM) 計算は、キラル分子の初期パラメータとして汎用 GAFF を適用し、機械学習フレームワーク DEAP によりパラメータを改良した。

4. 研究成果

(1) 契機となる計算結果

初期の計算においてエナンチオマー間の相互作用の差はごく僅かとなるため、両者で得られた W 値分布の違いが、キラリティの差を反映するのかが判断できなかった。改めて計算精度に影響するキラル分子やキラルセクター分子の分子力場パラメータを慎重に改良し、2 種のエナンチオマー間で等価なポテンシャルエネルギーが得られることを確認した。

次に、L-グルコース骨格で構成される仮想的なセルロース誘導体の鏡像体 (右巻き 3 回らせん構造) の充填剤モデルを構築し、キラル分子 (1) に対して同じ条件で SMD 計算を実施した。その結果、本来の D-グルコース骨格で構成されるセルロース誘導体の場合とは逆の分離モードが得られた (図 3)。このことは、提案する分子シミュレーション手段がキラル認識に伴う分離現象を再現することの決定的な証左となった。その後の研究方針として、SMD 計算手段の改良や条件の最適化を行い、汎用性が広く、再現性の良い、シミュレーション手段の開発に着手した。

(2) セルロース誘導体キラルセクターのキラル分離計算と標準計算プロトコルの確立

当初予定に従って、計算手段を検討することにより安定したキラル分離を目指したが、種々の試行錯誤にも関わらず最終目標であるピークの完全分離であるベースライン分離が得られなかった。そのため、異なるキラル分離結果の比較が可能となり、かつ計算時間の効率化を目標に標準的なシミュレーションプロトコルを確立した。その結果、従来方法のキラル分子を一方向に移動させるスキャン方向からキラルセクターモデル両端を任意の回数、往復するスキャン方法に計算手段に変更した。これより、キラル分子のスキャン移動距離が調節可能となり、キラルセクターモデルを変更せずに移動距離の延長が可能となった。キラル分子の初期配置による影響を低減するために、キラル分子中心に設定した三つのオイラー角をランダムに回転させ、初期配向の異なるキラル分子の初期配置を生成した。以後のキラル分子の移動において、キラル分子とキラルセクター表面との多様な原子間接触が発生することを期待した。図 3 に示すように、当初、 W 値分布を棒グラフで表現したが、微小なピーク位置の違いの評価や分離パラメータ計算のために、 W 値分布をガウス曲線で近似した。以上のプロトコルに従って、モデルキラル分子のランダムな 100 個初期配向を生成させ、速度 5 /ns のもとでセルロース分子鎖末端間を 2 往復 (総移動距離 240) させた。最も大きな分離を与えた CTMB による (3) と CTDPCC による

(2) の分離結果を図 4 に示す。分離パラメータの例として、CTMB を対象とした分離計算より得られた各種モデルキラル分子の計算条件に対する分離度 (R) を表 1 に、Scheme 1 にモデルキラル分子の化学構造を示す。

総移動距離を延ばすことによって分離度が改善することを期待したが、ピーク間隔だけでなくピーク幅も拡大してゆき、ピーク半値幅に影響される分離度の改善は限定的であった。キラル分子の移動速度と分離度の関係も一定の傾向が見られず、キラル分子によっては速度を速くすることで分離度が増大する事例も見られた。CTDPCC キラルセクターモデルにおいても一定の傾向が観察されなかった。

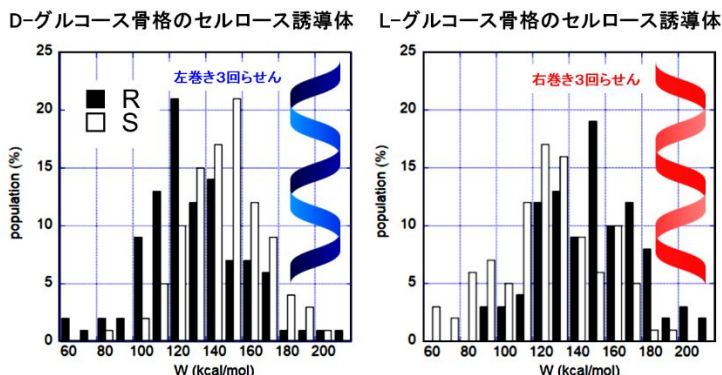


図 3. エナンチオマーの関係にあるキラルセクター (CTDPCC) によるキラル分子の分離挙動。

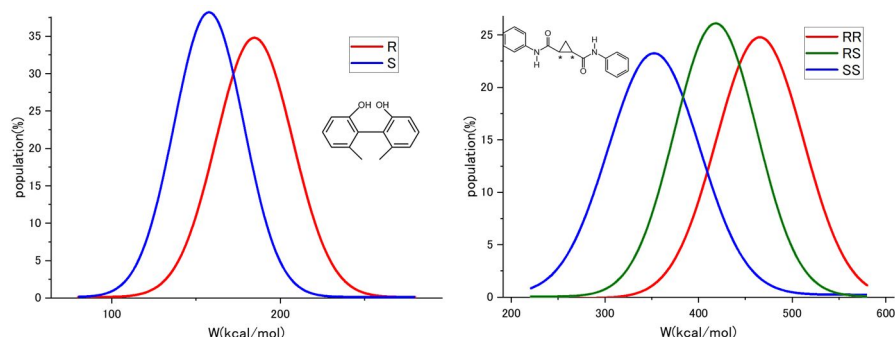
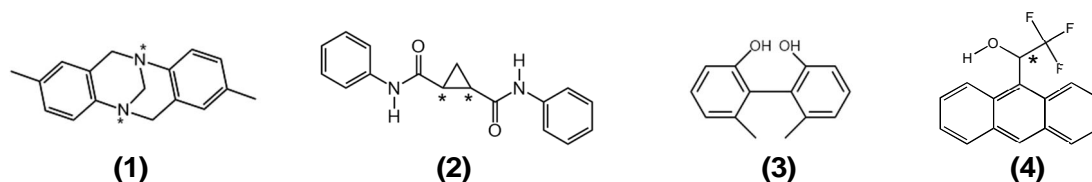


図 4. シミュレーションプロトコルによって求めた CTMB (左) と CTDPCC (右) によるキラル分離プロファイル。

表 1 . CTMB キラルセクターにおけるキラル分離の分離度に対する計算条件の影響

重合度	移動速度 (/ns)	総移動距離 ()	モデルキラル分子			
			1	2	3	4
12	10.0	1、200	0.09	0.19	0.27	0.30
12	5.0	1、200	0.20	0.15	0.31	0.34
12	5.0	240	0.13	0.05	0.20	0.25
24	5.0	480	0.17	0.17	0.31	0.26

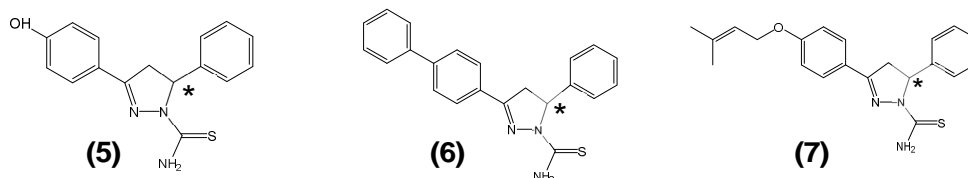


Scheme 1. モデルキラル分子 .

実際のキラル分離のように移動距離の増大にともなう分離度の改善が得られないため、本計算システムでは再現されない実際のキラル分離に存在する要因が推定された。本計算システムでは溶媒分子が考慮されないために、それが原因と推定された。キラル分子はキラルセクター表面に接触した状態を維持しながら移動してゆくが、実際のキラル分離においては、キラル分子はセクター表面との接触と移動相である溶媒への拡散を繰り返しながら分離が進行すると推定される。キラルセクター周囲に溶媒分子を配置した計算モデルの試みは、キラル分子は速やかにセクター表面から溶媒中に拡散し、分離計算が実行できなかった。

(4) ピラゾール系化合物の分離力場パラメータ開発とキラル分離計算

平行して実施した本研究の応用展開として、薬剤関連分子でありかつ高い分離度を示すと報告されている3種のピラゾール化合物 (Scheme 2) に注目し、CTDPC キラルセクターモデルとして上記のプロトコルに従ってキラル分離計算を行った。



Scheme 2. ピラゾール系化合物 .

これらの分子は内部自由回転部位を複数持つ化合物であることから、高精度の分子力場パラメータを開発することで、シミュレーションの高精度化を図った。モデル分子の結合回転角を変化させた構造に対して高精度な QM エネルギープロファイルと MM エネルギープロファイルを比較した。QM と MM エネルギー差の総和を評価関数と設定することで、遺伝的アルゴリズムにより、ピラゾール環構造に関する GAFF パラメータについて、QM 最適化構造を再現するように改良した。モデル分子を元に作成したピラゾール化合物 3 種を対象としたキラル分離シミュレーションを実施した。得られた β 値分布から分離係数と実測値の分離係数を比較した。すべてのピラゾール化合物において、明確なキラル分離挙動が得られなかったが、CTDPC に対して相対的に良好な分離結果が得られた、実際の測定データでは、すべてのピラゾール化合物の R 体が先に溶出するが、1 種のみが溶出順序と一致した。実際の化合物は極めて大きな分離度を与えるにも関わらず、明確な分離結果が得られなかった理由として、上記のモデル分子と比較してこれらピラゾール化合物は相対的に分子サイズが大きいいため、キラルセクターモデルの分子鎖間間隔等、分子サイズに合わせたセクターモデルデザインの再検討が必要であると推定した。

表 2 . ピラゾール系化合物の分離計算結果

キラル分子	CTMB		CTDPC		実験値 (CTMB)
	分離度 (R)	分離係数 (α)	分離度 (R)	分離係数 (α)	
5	0.05	1.04	0.07	1.03	34.0
6	0.02	1.01	0.06	1.10	89.8
7	0.08	1.05	0.00	1.00	73.2

(5) アミロース誘導体キラルセクターのキラル分離計算

セルロース誘導体と同様にアミロースフェニルカルバメート誘導体についてもキラル分離能が知られ、なかでもAMDPC 誘導体 (図5) が優れた光学分割能を示し、市販キラルセクターカラム充填剤として市販されている。アミロース誘導体の不斉識別能は、セルロースのそれとは大きく異なり、これらは全般に相補的な関係にある。AMDPC 分子鎖は結晶構造中で左巻4回らせん構造を形成することが知られている。ADMPC 分子鎖4本を逆平行、正方柱状に配置したキラルセクターモデルを設定した (図6)。キラル分子のサイズに応じて分子鎖間隔 (d) を調節した。このセクターモデルの中心部空洞にキラル分子を通過させる分離シミュレーションを実施した。表3に3種のモデルキラル分子について得られた分離度 (R) を比較する。キラル分子 (1) と (3) については $d=2.1 \text{ \AA}$ 、(2) については $d=2.2 \text{ \AA}$ のキラルセクターモデルを適用した。DP=16のADMPCキラルセクターモデルに対して、キラル分子 (1) と (3) の分離挙動ではキラル分子移動速度を遅くすることで R 値が増大したが、キラル分子 (2) では減少した。一方、セルロース誘導体セクターモデルの場合と異なり、往復スキャン回数を増加させても分離度が改善される、一方向に連続的にキラル分子を移動させることで分離能が改善した。このようなセルロース誘導体との違いは、ADMPC分子鎖がより大きならせん形態となることが理由と推定される。

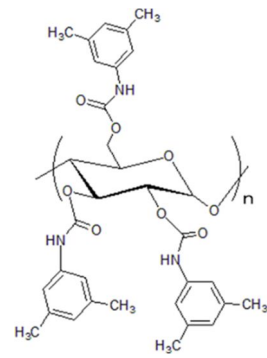


図5 . amylose tris(3, 5-dimethylphenylcarbamate) (ADI)

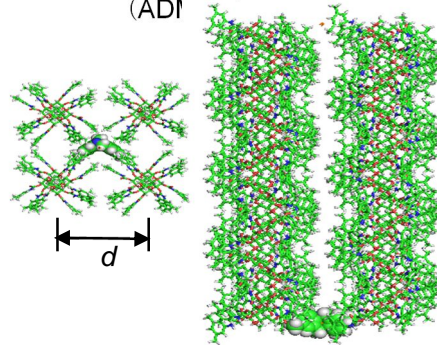


図6 . アミロース誘導体 (ADMPC) のキラルセクターモデル .

表3 . ADMPCキラルセクターにおけるキラル分離の分離度に対する計算条件の影響

重合度	移動速度 (/ns)	モデルキラル分子		
		1	2	4
16	2.50	0.09	0.08	0.04
15	1.25	0.15	0.06	0.06
32	1.25	0.34	0.10	0.20

5 . 今後の方針

研究期間内で安定かつ明確な分離モードを与えるキラル分離計算結果を確立するに至らなかった。そのため、広範囲のキラル分子を対象とした組織的な計算とデータ駆動型解析への移行ができなかった。セルロース誘導体で確立した計算プロトコルがアミロース誘導体に対して有効でないことも示された。想定される今後の方針として、キラル分離計算システムにおいてキラル分離がどのようにして生じるかを原子間相互作用レベルで解析し、分離能を改善する計算手段の指針を得る。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1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 Noda Kotaro, Uto Takuya, Yui Toshifumi	4. 巻 79
2. 論文標題 Molecular Dynamics Simulation Study of Chitosan?Zinc Chloride Complex Model	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Journal of Fiber Science and Technology	6. 最初と最後の頁 24 ~ 31
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.2115/fiberst.2023-0004	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 -

〔学会発表〕 計8件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 武元佑樹, 宇都卓也, 湯井敏文
2. 発表標題 セルロース誘導体におけるキララル分離のシミュレーション研究
3. 学会等名 2022年繊維学会年次大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 武元佑樹, 宇都卓也, 湯井敏文
2. 発表標題 セルロース誘導体によるキララル認識
3. 学会等名 化学関連支部合同九州大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 米倉健太, 宇都卓也, 湯井 敏文
2. 発表標題 アミロース誘導体によるキララル認識に関する分子シミュレーション研究
3. 学会等名 化学関連支部合同九州大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 米倉健太、宇都卓也、湯井 敏文
2. 発表標題 セルロース誘導体キラルセクターにおけるキラル認識
3. 学会等名 セルロース学会第29回年次大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 武元 佑樹、宇都 卓也、湯井 敏文
2. 発表標題 多糖誘導体によるキラル分離のシミュレーション研究
3. 学会等名 2021年繊維学会年次大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 武元 佑樹、宇都 卓也、湯井 敏文
2. 発表標題 多糖誘導体キラルセクターにおけるキラル認識に関する研究
3. 学会等名 第58回化学関連支部合同九州大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 武元佑樹, 宇都卓也, 湯井敏文
2. 発表標題 多糖誘導体によるキラル分離のシミュレーション研究
3. 学会等名 セルロース学会第 28 回年次大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 岩本成瑠, 宇都卓也, 湯井敏文
2. 発表標題 フェニルカルバメート多糖誘導体における キラル認識
3. 学会等名 セルロース学会第 28 回年次大会
4. 発表年 2021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
研究分担者	宇都 卓也 (Uto Takuya) (60749084)	宮崎大学・工学部・准教授 (17601)	

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
---------	---------