

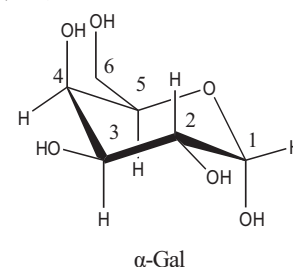
## 理論計算手法の検討

(<sup>1</sup>豊橋技科大院工、<sup>2</sup>横浜市大生命ナノシステム) ○松原 正陽<sup>1</sup>、及川 雅人<sup>2</sup>、後藤 仁志<sup>1</sup>

## 【緒言】

糖タンパク質や糖脂質として存在する糖鎖は、生体内において様々な役割を持っている。細胞上の糖鎖認識機構においては糖鎖配列の僅かな違いが判別されており、その機能は単に各糖残基の環の安定な配座だけで説明できるとは限らない。そこで、六員環上の水酸基の配向や糖鎖残基間の水素結合構造を明らかにする比較的簡単な解析手法の確立が望まれている。

一般に糖の立体配座解析には NMR 法が用いられ、特に及川等は立体構造に起因する情報の一つである 2 結合  $^{13}\text{C}$ - $^1\text{H}$  スピン-スピン結合定数 ( $^2J_{CH}$ ) がその組み合わせから特定の糖を同定できることを示した[1]。また、NMR- $^2J_{CH}$  値は関連する置換基の配向に強く依存していることが理論計算から明らかにされつつある[2]。そこで、NMR- $^3J_{HH}$  値に加えて NMR- $^2J_{CH}$  値を用いれば、糖の環配座だけでなく隣接する水酸基の向きや関連するねじれ角を観測することも可能となるため、糖や糖鎖が関わる生理活性に直結する解析手法の確立が期待できる。そこで我々は、NMR- $^2J_{CH}$  を置換基の立体構造に関係づけた Karplus 式のような経験的關係式を検討するため、 $\alpha$ -ガラクトース ( $\alpha$ -Gal) を手始めに、理論計算に基づいて様々な糖に対する立体配座解析を行っている。



今回の研究では、配座探索プログラム CONFLEX6[3]による  $\alpha$ -Gal の配座探索の結果得られたいくつかの配座異性体に対して Gaussian03[4]による NMR 計算を適用し、理論計算と配座解析から導かれた結合定数  $J$  値を実験値と比較することによって、理論計算の精度を検証するとともに、水溶液中で優位に存在する糖の詳細な立体配座解析を試みる。また、 $\beta$ -グルコース ( $\beta$ -Glc)、 $\beta$ -マンノース ( $\beta$ -Man) に対しても同様の検証を行う。

## 【方法】

CONFLEX/MMFF94s[2]によって得られた  $\alpha$ -Gal の安定な配座異性体に対し、Gaussian03 を用いて密度汎関数理論 (DFT) 法を用いて構造最適化を行い、その最適化構造に対して NMR 理論計算を行った。ここで、NMR 理論計算は適用した DFT 法によって予測精度や計算時間が異なるため、いくつかの基底関数と DFT 法の組み合わせで構造最適化と NMR 理論計算を行った。その結果、B3PW91/6-311+G(2d,p)//B3PW91/6-31+G\*\*が比較的効率よく高い精度で NMR- $^2J_{CH}$  を予測することができた。この結果に従って、CONFLEX で得られた安定な 20 種類の配座について、この組み合わせを使って構造最適化を行い、 $J$  値を求めた。また、気相モデルに加えて、水溶液モデルとして IEF-PCM (PCM) と Isodensity PCM (IPCM) モデルによる計算を行った。また、 $\beta$ -Glc と  $\beta$ -Man の配座異性体についても、同様な解析を行った。

NMR- $^2J_{CH}$ 、 $^3J_{HH}$  値の実験値と理論値を比較するため、気相モデルと水溶液モデルのそれぞれの各配座異性体の配座エネルギーからボルツマン分布側に基づく存在比を求め、その存在比で重み付けした  $J$  値の理論平均値を求めた。また、より高エネルギー領域にある配座異性体について、より実験値を再現できる立体構造を検討した。

## 【結果と考察】

$\alpha$ -Gal の 20 種類の配座異性体について、水溶液モデルによる DFT 計算を行い、それらの各配座エネルギーを用いてボルツマン分布側に基づく NMR- $^2J_{CH}$  と  $^3J_{HH}$  値の理論平均値を求めた。その結果、実験値

に対する RMSD はそれぞれ 1.5Hz と 1.2Hz であった (Fig.1). この結果は、気相中の多配座解析による理論平均値や、水溶液モデルにおける最安定配座よりも実験値を再現した。

ところが, Fig. 1 より明らかなように,  ${}^2J_{C_4,H_5}$  と  ${}^3J_{H_2,H_3}$  だけが, 実験値と大きく異なり, その差は 2~3 Hz であった. そこで 20 種類の配座異性体の  $J$  値と立体構造の関係を詳細に調べたところ, MMFF94s において 13 番目に安

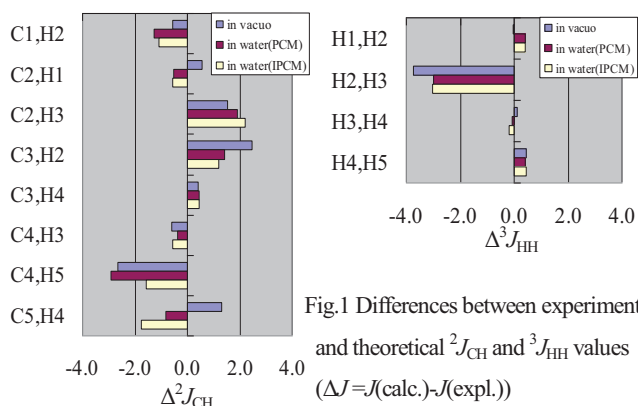


Fig.1 Differences between experimental and theoretical  ${}^2J_{CH}$  and  ${}^3J_{HH}$  values ( $\Delta J = J(\text{calc.}) - J(\text{expl.})$ )

Table.1 Experimental and theoretical  ${}^2J_{CH}$  and  ${}^3J_{HH}$  values for  $\alpha$ -Gal conformers in higher energy region

Expl.	$\Delta E$		${}^2J_{C,H}$								RMSD	${}^3J_{H,H}$					RMSD
	in vacuo kcal/mol	in water kcal/mol	C1,H2	C2,H1	C2,H3	C3,H2	C3,H4	C4,H3	C4,H5	C5,H4		H1,H2	H2,H3	H3,H4	H4,H5		
average <sup>*1</sup>	---	---	-1.7	-1.5	-3.5	-4.8	-4.1	0.8	2.7	0.7	1.46	4.0	8.0	3.2	1.7	1.20	
${}^4C_1$ cccc tg t	3.74	3.55	-1.5	-0.3	-4.8	-3.4	-5.1	0.7	4.8	1.6	1.18	3.4	8.0	3.8	1.5	1.25	
${}^4C_1$ rrcg tg g <sup>-</sup>	3.14	2.50	-1.6	-1.6	-4.6	-4.8	-5.0	0.5	4.8	1.5	0.84	3.9	8.6	3.7	1.5	0.91	

\*1 average of 20 conformers in water (using PCM) based on Boltzmann distribution law

定な配座 ( ${}^4C_1$  cccc tg t; Fig.2 左) のように, O6 が O5 に対して trans, C4 に対して gauche (tg), および 4-OH が環に対して外側に向く (clockwise: c) 時に  ${}^2J_{C_4,H_5}$  値が実験値に近づくことが分かった. そこで, これらと同じ構造を持つ配座異性体を MMFF94s の高エネルギー領域から選択し, 同様な計算を適用したところ,  ${}^2J_{C_4,H_5}$  の実験値を再現できる配座があることが分かった. 特に, MMFF94s で 77 番目の配座異性体 ( ${}^4C_1$  rrcg tg g<sup>-</sup>; Fig.2 右) において, NMR- ${}^2J_{CH}$  と  ${}^3J_{HH}$  の実験値に対する RMSD はそれぞれ 1 Hz 以下であった

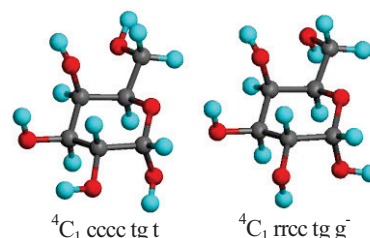


Fig.2  $\alpha$ -Gal conformers which  ${}^2J_{CH}$  close in value to experimental

(Table.1). しかし, どの組み合わせで適用しても, その配座エネルギーが 2.50 kcal/mol 以下になることはなく,  $J$  値の理論平均値に有意に寄与することはなかった. その立体構造は, Fig. 2 右に示したように, すべての水酸基が環に対して外側を向いているため, 分子内で強い水素結合を形成していない. つまり, NMR 理論計算がこの配座の立体構造に対して十分に高い精度でその  $J$  値を再現できているとすれば, NMR で観測している  $J$  値に対するこの配座の寄与は大きいはずであり, それは, 糖の水酸基に溶媒として配位した水分子との間の水素結合の形成によって大きく安定したと考えてもよいだろう. このことから, 媒体近似に基づく溶媒効果を考慮した理論計算において, 分子内水素結合に対して溶媒との分子間水素結合は過小評価されていると言える. また, この問題を避けるには, 例えば, 明示的に水分子を配位させる方法[5]が考えられるが, 水分子の配置に対する任意性は避けることはできないし, またこのケースとは逆に, 分子内水素結合が優位な配座を正確に評価することが難しくなるだろう.

$\beta$ -Glc の 20 種類の配座異性体について同様の計算を行ったところ, 水溶液中での NMR- ${}^2J_{CH}$  と  ${}^3J_{HH}$  値の理論平均値は, 実験値に対する RMSD で, それぞれ 1.0Hz と 2.1Hz であった. これも  $\alpha$ -Gal と同様に, 水溶液モデルにおける多配座解析によって実験値に近づくものの, いくつかの  $J$  値は 2Hz 以上も実験値と異なっていた.  $\beta$ -Man についても, 現在解析中ではあるが, 同様の傾向が見られる.

## 参考文献

- [1] M. Oikawa, S. Adachi, S. Kusumoto, *Organic Lett.*, 2005, 7; 661-664.
- [2] Thomas E. Klepach, Ian Carmichael, and Anthony S. Serianni, *J. Am. Chem. Soc.* 2005, 127; 9781-9793
- [3] CONFLEX6, H. Goto, S. Obata, T. Kamakura, N. Nakayama, K. Ohta; Conflex Corp., Tokyo, 2006.
- [4] Gaussian 03, Revision E.01, M. J. Frisch, et al., Gaussian, Inc., Wallingford CT, 2004.
- [5] F. A. Momany, M. Appell, G. Strati, J. L. Willett, *Carbohydr. Res.* 2005, 340; 1638-1655