

平成 27 年度 修士論文

密度汎関数理論による 3-Deoxyglucosone から
3, 4-Dideoxyglucosone-3-ene への反応機構
に関する研究

三重大学大学院工学研究科
博士前期課程分子素材工学専攻
葛本 智淳

目次

1 緒言	1
1-1 腹膜透析と腹膜透液	1
1-1-1 腹膜透析	
1-1-2 腹膜透析液	
1-1-3 腹膜透析液の滅菌	
1-1-4 Glucose Degradation Products(GDP)の細胞傷害性	
1-1-5 GDP 産生経路	
1-2 計算化学シミュレーション	5
1-2-1 密度汎関数法	
1-2-2 基底関数	
1-2-3 構造最適化	
1-2-4 振動計算	
1-2-5 熱力学パラメータ	
1-2-6 平衡定数	
1-2-7 溶媒	
1-2-8 電荷分布	
2 目的	9
3 方法	10
3-1 使用したソフトウェア	10
3-2 構造最適化	10
3-1-1 分子の設計	
3-1-2 Z-matrix 作成補助ソフト Avogadro	
3-1-3 Gaussian09 を用いた構造最適化	
3-1-4 振動計算	
3-3 溶媒和モデル SCRF(CPCM)	18

3-3-1 溶媒和	• • • • • 18
3-4 滅菌時の温度、圧力の組み込み	• • • • • 20
3-4-1 温度と圧力	
3-4-2 熱力学パラメータ	
3-5 計算結果の可視化	• • • • • 21
3-5-1 3D 分子構造表示ソフト Jmol	
3-5-2 可視化専用ファイルの作成	
3-6 結合長	• • • • • 24
3-6-1 原子の混成軌道と分子間の距離	
3-6-2 各原子の電荷	
3-7 遷移状態	• • • • • 24
3-7-1 遷移状態の求め方	
3-7-2 活性化自由エネルギー ΔG^\ddagger	
3-7-3 Internal Reaction Coordinate (IRC) calculation	
4 結果	• • • • • 28
4-1 構造最適化	• • • • • 28
4-1-1 3-DG (3-deoxyglucosone) の安定構造 (構成原子の電荷と振動)	4-1-2
振動	
4-1-2 3-DA (3-deoxyaldose-2-ene) の安定構造 (構成原子の電荷と振動)	
4-1-3 3,4-DGE(3,4-dideoxyglucosone-3-ene)の安定構造 (構成原子の電荷と	
振動)	4-1-4 3-DG から 3-DA への keto-enol 変換
4-1-5 3-DG から 3,4-DGE への脱水過程	
4-1-6 3,4-DGE を構成する原子の結合長との類似性	
4-2 熱力学パラメータ	• • • • • 45
4-2-1 3-DG/3-DA/3,4-DGE 間の ΔG	
4-2-2 平衡定数	
4-3 遷移状態	• • • • • 46
4-3-1 構造	

4-3-2 熱力学パラメータ	
4-3-3 エネルギーダイアグラム	
5 考察 51
5-1 安定構造 51
5-2 3-DG のプロトン化、脱プロトン化時の変化 51
5-2-1 電荷分布	
5-2-2 3-DG から 3-DA への keto-enol 変換	
5-2-3 3-DG から 3,4-DGE への脱水経路	
5-3 熱力学パラメータ 58
5-4 遷移状態 59
5-4-1 IRC 計算	
5-4-2 反応機構	
5-4-3 エネルギーダイアグラム	
6 結論 62
7 今後の展望 63
8 参考文献 64
9 謝辞 66

1 緒言

1-1 腹膜透析と腹膜透析液

1-1-1 腹膜透析

腎不全とは本来腎臓が担っている体内の老廃物や水分を尿として排出するという機能が低下し、体内に老廃物や水分が蓄積されていく。人工的に老廃物を取り除くためには透析という方法がある。透析療法には大きく分けて2種類あり、血液透析と腹膜透析である。血液透析は体外に血液を取り出し、微小な孔をもつ半透膜の中空糸透析膜に血液を流し、膜を介して対向流で流す透析液との間で、小分子の老廃物や水分を取り除く療法である。

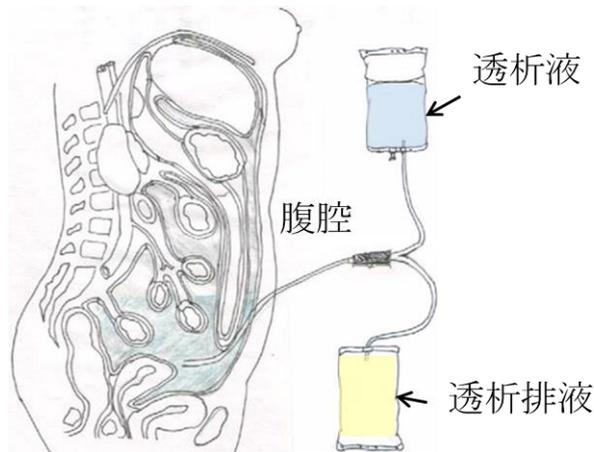


Fig1-1 腹膜透析

腹膜透析は腹腔に透析液を入れ、腹膜を半透膜代わりとして利用する(Fig1-1)。この際、体内の余分な水分を浸透圧差の原理により透析液側へ移すため、高濃度のグルコース(血中正常糖濃度の訳 10~20 倍)が使用されている。1回の貯留は約2時間、貯留時間は6~8時間であり、1日3~4回注排液を行う。

血液透析では、週3日4~5時間ほど病院内のベッドにいる必要がある。対して腹膜透析は、腹腔に透析液を入れる作業は自分でできるので、日常生活をしたまま透析を続行できる。前者は間欠的、後者は持続的療法である。

しかし、腹膜透析液の生体適合性により長期間腹膜透析を続けると、やがて腹膜が劣化し変質してしまう。腹膜硬化症などの発病により、血液透析に切り替えなければならぬ場合もあり、腹膜透析にとってこれが主なデメリットである。

1-1-2 腹膜透析液

腹膜透析に用いる透析液は、1.5～4.0w/v%のグルコース水溶液を用意し、その中に NaCl、 $C_3H_5NaO_3$ 、 $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ 、 $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ を溶かしたものである。また、グルコースは弱酸の環境下で一番安定して存在するので、腹膜透析液も pH5.0～6.0 付近に調整されている。

表 1-1 腹膜透析液の組成^[1]

glucose ($C_6H_{12}O_6$)	2.50
NaCl	0.555
$C_3H_5NaO_3$	0.448
$CaCl_2 \cdot 2H_2O$	0.0183
$MgCl_2 \cdot 6H_2O$	0.00508
pH	5.0～6.0

以上の理由で 2000 年頃までは酸性透析液を用いていたが、現在ではグルコース水溶液のみ酸性とし、電解質溶液と別に滅菌保存する二液又は三液混合システムが用いられるようになった。

1-1-3 腹膜透析液の滅菌

腹膜透析液は体内へ入れるため、滅菌が必要である。滅菌方法として高圧蒸気滅菌が用いられている^[2]。121℃、2.0atm という条件下で約 20 分間加熱されるため、グルコースの一部が分解してしまう。

1-1-4 グルコース分解産物 (Glucose Degradation Products : GDPs)の細胞傷害性

グルコースが分解し産生されるものをグルコース分解産物 (Glucose Degradation Products : GDPs)と呼ぶ。GDPs の中には細胞傷害性の高いものもあり、少量でありながら長期間それにさらされると腹膜損傷の誘因又は原因となる。

GDP 自体はグルコースの分解産物全体をしめし、主なものとして、

3-deoxyaldose-2-ene (3-DA)

3-deoxyglucosone (3-DG)

3,4-dideoxyglucosone-3-ene (3,4-DGE)

glyoxal (GO)

methylglyoxal (MG)

formaldehyde (FoA)

5-hydroxymethyl-2-furaldehyde (5-HMF)

などがあげられる。このうち MG や FoA、3,4-DGE は特に細胞傷害性が高い。

グルコース溶液の pH を高くし高圧蒸気滅菌を行うとグルコースは retro-aldol 反応によって小分子へ分解され、MG や FoA が生成する(Fig1-2)^[3]。このためグルコースは高 pH の条件化におくことができない。

しかし、pH の低い条件下で滅菌を行うと glucose が脱水し、GDPs が生産される (Fig1-2)。

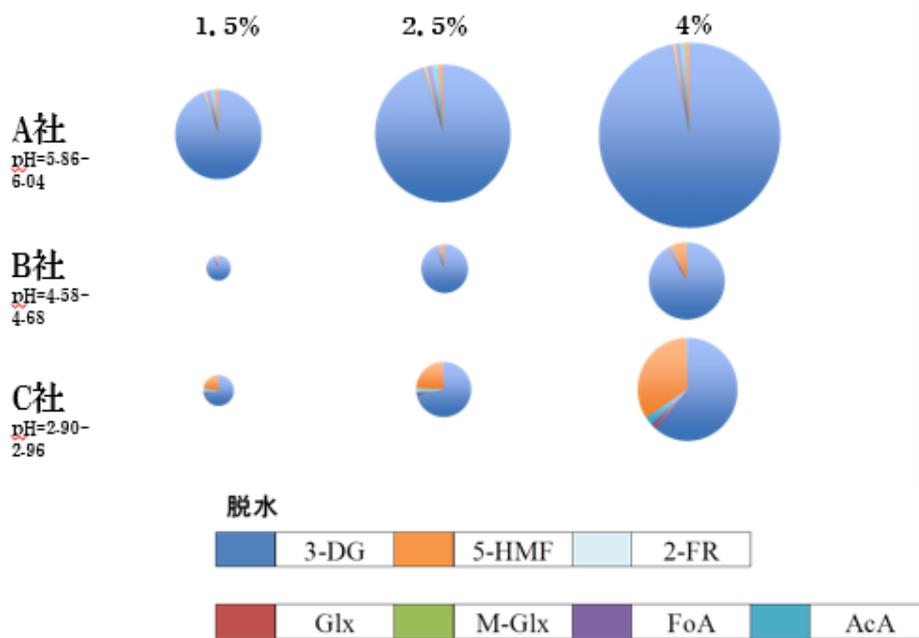


Fig1-2 市販腹膜透析液の GDPs

高圧蒸気滅菌の条件下では pH が高いほうが GDPs の生産量が多くなる。またグルコース濃度が高いと GDPs の生産量は多くなる^{[4][5][6]}。腹膜透析液の 3-DG と 3,4-DGE の濃度を比較すると 3,4-DGE は 3-DG よりも低濃度だった。^[6]

1-1-5 GDPs 産生経路

様々な文献から GDPs の産生経路が記されており、まとめると以下のようなになる。

glucoseの反応経路図

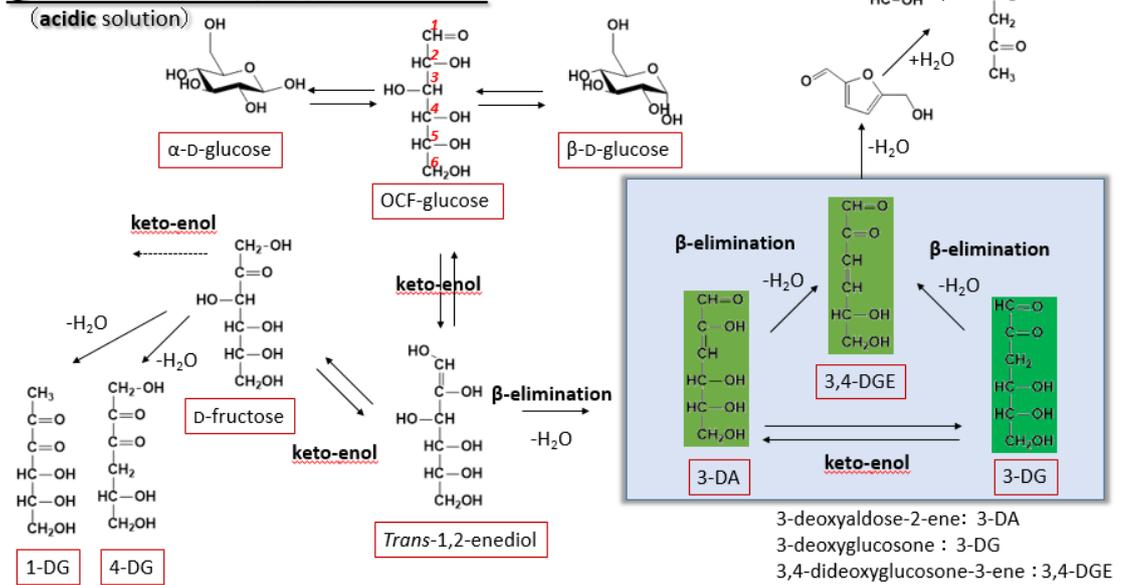


Fig1-3 グルコースの分解経路

グルコースは pH が 5.0-6.0 当たりで安定して存在する。そのため、高温蒸気滅菌 (394.15K, 2.0atm, low pH) という環境におかれ、そのため上の図のように glucose の一部が細胞毒性を持つ分子に分解される。まず、glucose は三つ構造をとることができ、α-glucose、β-glucose そして開環型 glucose (open chain form of glucose: OCF-glucose) である^[7]。割合は α が 38%、β が 62% で大半を占めている。OCF-glucose は 1% 以下と量こそ少ないが還元末端にアルデヒド基を持っているので反応性が高い。ここからは 2 つの経路をもつ。一つは開環上グルコースへ戻る経路。二つの OH 基、その間に二重結合をもつことから、1,2-enediol と呼ばれる。ここからさらに反応が進んで、OCF-glucose に戻る反応 keto-enol の平衡の関係で C1、C2 には OH 基、C1-C2 には二重結合が生成される^[7]。

一番目の炭素 (C1) にカルボニルが生成するもの。次は keto-enol の平衡によって C3 にカルボニル基が移動し、D-fructose を生成するもの、最後は β-elimination によって C3 から OH 基が脱離し、C2-C3 に二重結合が生成するものである。この分子は 3-DA (**3-deoxyaldose-2-ene**) と呼ばれる。そして 3-DA から keto-enol の平衡の関係で、keto 型の分子 3-DG: **3-deoxyglucosone** へ移動する^[8]。ここからさらに β-elimination により、C4 から OH 基が外れて、C3-C4 に二重結合が形成される。この分子は 3,4-DGE : **3,4-dideoxyglucosone-3-ene** とよばれ、強い細胞毒性をもつ。そしてこの分子もまた分解され、環状構造を持つ 5-HFM になる。^[7] またこれも分解されギ酸とレブリン酸になる。

このままだと透析液の pH が低く、そのまま人体に入れるわけにはいかない。これを

回避するために透析バッグは二つの部屋に分けられ、透析液側で pH が低く、もう一つには滅菌処理後中和するための溶液が用意されている。使用直前にまぜて pH を中性に近づける。

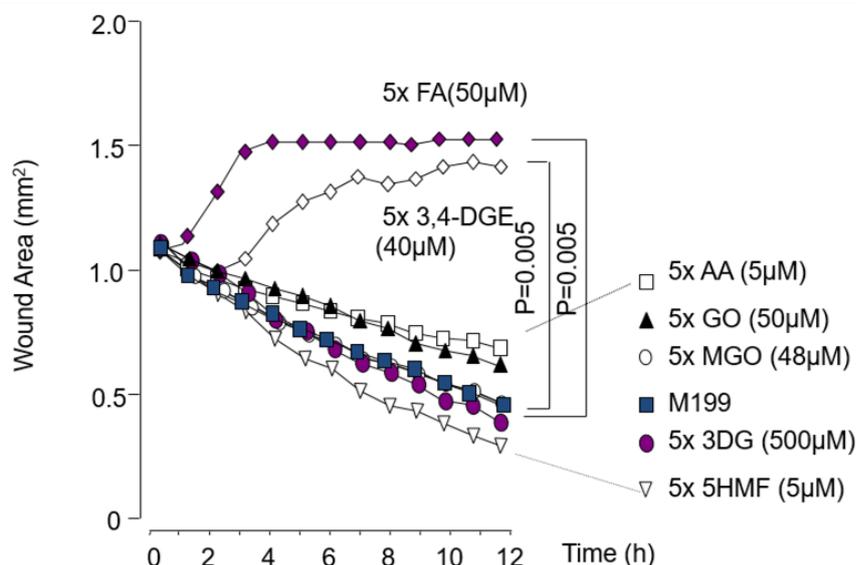


図 1-4 各 GDP を添加したヒト腹膜中皮細胞の創傷治癒アッセイ^[9]

細胞を培養したシャーレを細い棒などでひっかけ、シャーレ上に創傷を作る。腹膜中皮細胞は創傷治癒の働きがあるので創傷部分に遊走し、創傷部分を細胞が埋める。しかし、細胞傷害性の高いホルムアルデヒドと 3,4-DGE を添加すると時間がたっても創傷部分が埋められておらず、創傷治癒ができない。

1-2. 計算化学シミュレーション

1-2-1. 密度汎関数法

計算機シミュレーションをする際に密度汎関数法 (Density Functional Theory : DFT) を利用した。これは分子の状態を電子密度 ρ により記述できるとする理論である。Hartree-Fock (HF) 理論では電子相関の影響を無視しているが、DTF 理論では一部含んだ結果を得られる。

1-2-2. 基底関数

Linear combination of atomic orbitals method (LCAO 法) では分子軌道は原子軌道の線形結合で近似される。

$$\Psi_i = \sum_{\mu=1}^N C_{\mu i} \phi_{\mu}$$

Ψ : 分子軌道

C : 分子軌道係数

ϕ : 原子軌道

$C_{i\mu}$ とは、 i 番目の分子軌道における μ 番目の原子軌道の寄与を表す分子軌道係数である。ここで原子軌道を基底関数で近似を行う。この際用いるガウス関数は $\exp(-\alpha r^2)$ と指数の形で表される。 α は分子のサイズを表す定数である。

今回用いた基底関数は「6-311++G**」というものである。

1-2-3. 構造最適化

ふたつの粒子からなる波動関数は解析的に解けるが、それが三者以上のものが互いに影響を及ぼしているようなモデルでは解析的に解けず、構造を知ることができない。そのうえ設計された分子モデルは必ずしも安定構造であるとは言えない。そこで計算機を利用して原子の位置を微妙に動かし、よりエネルギーの低い構造を求めて繰り返し計算していくことで

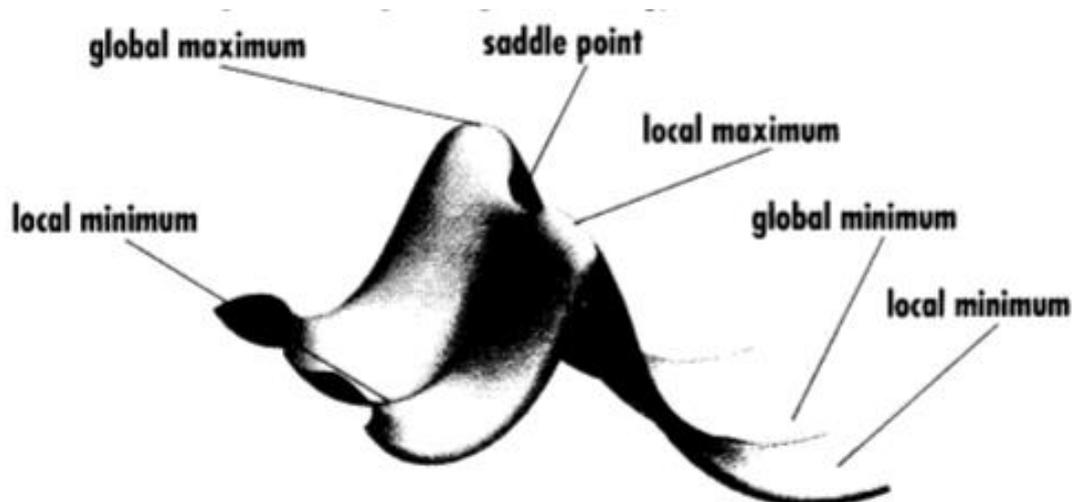


図 1-5 エネルギー曲面

エネルギー曲面における最小値を見つけることを構造最適化という。鞍点(saddle point)は一方向のみ最大値を持ち、他の方向へは最小値を持つ点であり、遷移状態を表す。繰り返し計算を行いその結果のエネルギーを微分し、傾きが 0 の点を定留点と呼ぶ。

1-2-4 振動計算

構造最適化した分子の状態をもとに計算する。ここから極小値か遷移状態かがわかる。すべて振動数が実数だと極小値であり、一方向の振動数のみが虚数で、他のものは実数だと遷移状態である。

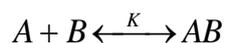
虚数の振動数が N 個ある場合はその数に合わせて第 N 次鞍点と呼ばれる。

1-2-5 熱力学パラメータ

構造最適化が完了した分子の振動計算を行うと、その分子の電子状態から熱力学パラメータが出力される。

1-2-6 平衡定数

以下の反応を考える。



このとき平衡定数 K は以下の様に定義する。

$$K = \frac{[AB]}{[A][B]}$$

また平衡定数 K を用いると、 ΔG は下記の式であらわされる。

$$\Delta G = RT \ln K$$

1-2-7 溶媒

Gaussian09 で計算を行うと気相の分子の電子状態が計算される。溶媒中にある分子は溶媒からの影響を受けるために、気相の分子と溶媒中の電子状態は異なるものになる。そこで溶媒の影響を考慮するためには、目的の分子の周りに溶媒の分子を書き加えて計算する方法が考えられる。しかしそれでは計算コストが膨大になるので、溶媒分子の特徴を持つ反応場を用意し、その中で目的の分子を計算するという方法を用いる。

1-2-8 電荷分布

構造最適化の計算の結果から、それぞれの原子が持っている電子や結合に使われている電子などが計算される。そこから各原子が持つ電荷が Mulliken atomic charge として出力される。

2 目的

腹膜透析液は高濃度グルコース含む電解質溶液だが、高圧蒸気滅菌を行う際にグルコースの一部が分解されグルコース分解産物 (Glucose Degradation Products: GDPs) が産生される。その中には 3,4-dideoxyglucosone-3-ene (3,4-DGE) やホルムアルデヒドといった細胞傷害性をもつものも存在している。そこで、本研究では計算化学シミュレーションを用いて 3-DG から 3,4-DGE への分解経路を推測し、細胞傷害性のある GDPs の産生が抑制されるような条件を提案することを目的とした。

3 方法

3-1 使用した計算機とソフトウェア

計算化学シミュレーションをするにあたり、準備した計算機の OS は Linux5.5、CPU は Intel corei5、メモリは4GB である。用いたソフトウェアは Gaussian09^[10]である。

3-2 構造最適化

3-2-1 分子の設計

Gaussian09 で計算を行う場合、初期構造として原子の配置を決めなければならない。これには Cartesian と Z-matrix という 2 通りの方法があげられる。Cartesian は原子の位置を xyz 座標で記す方法である。それに対して、Z-matrix は原子の位置と原子の結合を、結合長、結合角、二面角を用いて記述するものである。また Z-matrix は内部座標とも呼ばれ、計算化学シミュレーションによる構造解析において伝統的な方法である。Z-matrix を作成するには以下の手順に従う。

- ① 分子を構成している原子をラベルする。
- ② 分子中の最初の原子を選び、仮想的に三次元空間の中心とする。
- ③ 最初の原子に結合している原子を選び、それを Z 軸上に沿って置く。このふたつの原子間の距離を指定する。
- ④ ②で選択した原子に結合している原子を選んで、二つの結合の間の結合角を指定する。
- ⑤ 後に残ったすべての原子の位置を次のように指定する
 - ⑤-(1)その原子が結合している原子との結合長を指定する
 - ⑤-(2)それに結合している三番目の原子とそれらの結合角を指定する
 - ⑤-(3)上の三つの原子の一端に結合している四番目の原子と、これら四つの原子からなる二面角を指定する。

原子の配置を Z-matrix を用いて書く理由は、後の計算で距離や角度を変えて計算したいときに容易に変更できるからである。H₂O₂を例として挙げる。

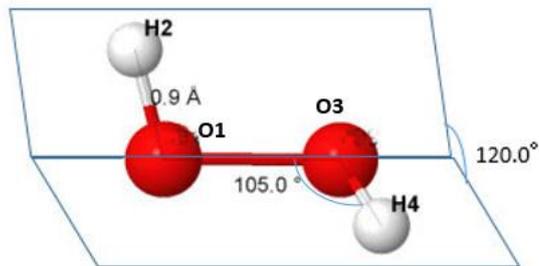


Fig 3-1 H₂O₂の構造

表 3-1 Z-matrix の表記 単位はÅ、°

(ア)	(イ)		(ウ)		(エ)	
O1						
H2	1	0.9				
O3	1	1.4	2	105.0		
H4	3	0.9	1	105.0	2	120.0

(ア) 原子のラベル

(イ) 結合している相手とその距離

O1-H2 : 0.9 Å

(ウ) 3 つ目の原子とその結合角

∠H2 O1 O3 : 105.0°

(エ) 4 つ目の原子と二面角

(面 O1 H2 O3)と(面 O1 O3 H4)のなす角 : 120.0°

3-2-2 Z-matrix 作成補助ソフト Avogadro

Gaussian09 を使用し、計算させるためには分子の構造を Z-matrix で記述する必要がある。小さな分子(H₂O、NH₃ 等)では大まかな構造を予測できるが、原子の数が増えるほど自力で Z-matrix の作成を行うことが困難になる。そこで Z-matrix 作成補助ソフトとして Avogadro を使用した。

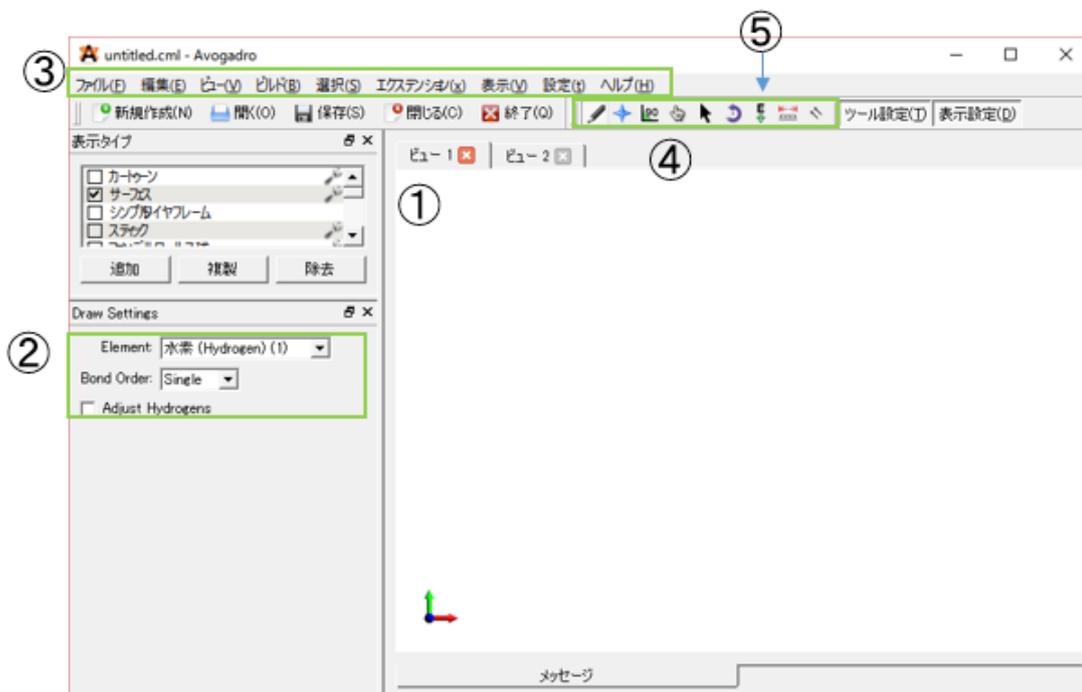


Fig 3-2 Avogadro の初期画面

http://avogadro.cc/wiki/Main_Page

Fig 3-2 は Avogadro の初期画面ある。

- ① 分子作成画面
- ② 原子と結合次数の選択
- ③ メニューバー
- ④ ツールバー
- ⑤ Auto Optimization Tool

Z-matrix を作成するには、②で原子を選択し、①分子作成画面をクリックする。次にツールバーの左から 7 つ目⑤E マークをクリックすると Auto Optimization Setting 画面に切り替わり、[start]ボタンを押して構造最適化を開始する。この構造最適化は粗い構造最適化なので分子の形を整える程度のものである。構造最適化中でも置換基の回転などができる。ある程度収束したら [stop]を押して構造最適化を終了する。ここで作成できる分子は実際には不安定で寿命の短い中間体などでも設計可能である。

次に、[エクステンション]→[分子力場] →[配座探索]で配座探索を行い、[表示] →[プロパティ] →[配座異性体のプロパティ]で最もエネルギーの低い構造を指定する。その際作成画面で分子の構造を見ることができる。

最後に[エクステンション]→[Gaussian(G)]を選ぶと別のウインドが開く。そこ

に[ファイル形式]のリストで[Z-matrix]を指定する。すると下のわく内に Z-matrix が出力される。ここで出力されたものは上記のものと異なり、距離や角度、二面角のパラメータを R1 などと文字を用いて変数として扱うようにする。そして”Variables:”以降に初期構造として各パラメータが記述されている。

文字列で出力された Z-matrix を Excel に移して Gaussian09 で使えるように編集方法は以下のとおりである。

- ① 文字列データをすべて選択して Excel にコピーする。
- ② Excel 上の冒頭から 0 1 のところまでを削除する。
- ③ 大文字と小文字を区別して”B”を”R”に置換する。
- ④ “Variables:”を A 列から C 列に移動させる。
- ⑤ 区切り位置を使用して A 列を最初一文字と 2 文字目以降に分割する。
- ⑥ C 列を選択して、セルに”=A1&ROW(A1)&" "&B1”と入力する。
- ⑦ “Variables:”の手前まで下方向へコピーする。
- ⑧ 並べ替えのユーザー設定に R,A,D を登録する。
- ⑨ “Variables:”以降の A 列と B 列を選択し、A 列を優先して昇順にソートする。
- ⑩ C 列に”=A1&B1”と入力する。この数字は行番号を指定する。

これで C 列に計算に用いる Z-matrix が用意できた。一連の作業はマクロとして登録しており、Avogadro から出力されたものをすべて選択して Excel の A 列にコピーし、[表示] → [マクロ] → [マクロの表示] → [Zmatrix]を選択し、実行を押すと Z-matrix が自動的に編集できる。

次に Gaussian09 を用いて構造最適化を行うので、Z-matrix だけでなくこれに使用する基底関数や理論を指定して Gaussian09 で計算が行われるように Input ファイルを作成する必要がある。

まず Input ファイルを作成するにあたり、H₂O₂ を例に挙げ、説明する。以下の枠内が Input ファイルである。

理論/基底関数は「B3LYP/6-31G*」を用いた。「Opt」は構造最適化を行うコマンドである。通常これは Cartesian での計算に用い、出力される分子構造も Cartesian になる。Z-matrix による構造最適化には「Opt=Zmatrix」を指定することで Z-matrix 形式で出力されるのだが、こちらのほうは計算に時間がかかり、収束し難い。しかし初期構造を Z-matrix で書き「Opt」を用いると、Output ファイルに計算後の Z-matrix が出力できる。よって「Opt」により構造最適化を行った。

表 3-2 H₂O₂ の構造最適化用 Input ファイル

①	%chk=/home/horiuchi/H2O2.chk
②	%mem=1024MB
③	%NProcShared=6
④	#P B3LYP/6-311++G** Opt
⑤	
⑥	H2O2 B3LYP/6-311++G**
⑦	
⑧	0 1
⑨	O1
⑩	H2 1 R1
⑪	O3 1 R2 2 A2
⑫	H4 3 R1 1 A2 2 D3
⑬	Variables:
⑭	R1 0.9
⑮	R2 1.4
⑯	A2 105.0
⑰	D3 120.0
⑱	

① %chk=/home/horiuchi/H2O.chk :

これは chk(checkpoint)の出力先を指定している。chk ファイルには構造最適化された後の分子の電子状態が記述されている。そして“=”より後に書かれているのが chk ファイルの名前とその保存場所である。

② %mem : 使用するメモリ

③ %NprocShared : 計算に使う CPU の数

④ #P : 計算過程を詳細に出力する

B3LYP : 計算理論として密度汎関数理論を指定している

6-311++G** : 使用する基底関数

Opt : 構造最適化のコマンド

⑤ 空行

⑥ メモ欄

⑦ 空行

- ⑧ 左の数字：分子の電荷
 右の数字：電子スピンの多重度
- ⑨ ～⑰が分子構造を Z-matrix を用いて書いたもの。
- ⑱ 空行
 本研究では上記の方法を用いてグルコースや GDPs などの Input ファイルを作成した。

3-2-3 Gaussian09 を用いた構造最適化

Input を Gaussian09 用いて計算を行った。Gaussian09 で構造最適化を実行すると、まず初期座標から分子全体の電子エネルギーが計算される。その結果からより安定な構造を予測し、下記の収束条件を満たすまで繰り返し計算を実行する。

収束条件には以下の 4 つがあり、それぞれ閾値が定められている。

Maximum Force : 分子にかかる力の最大値, 歪を表している。

RMS Force : 上の二乗平均平方根。

Maximum Displacement : 変位の最大値, 前回の結果との差。

RMS Displacement : 上の二乗平均平方根。

二乗平均平方根

$$\text{RMS}[x] = \sqrt{\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N (x_i)^2}$$

表 3-3 構造最適化で用いる収束条件

Item	Value	Threshold	Converged?
Maximum Force	0.000024	0.000450	YES
RMS Force	0.000016	0.000300	YES
Maximum Displacement	0.000571	0.001800	YES
RMS Displacement	0.000459	0.001200	YES
Predicted change in Energy=-5.690857D-09			
Optimization completed.			
-- Stationary point found.			

表 3-4 計算が正常に終了した時の表示

Normal termination of Gaussian 09...

計算結果がこれらの閾値を下回ると構造最適化の計算が終了することになる。これと Output ファイルの最下部に表 3-4 の様に出力されていれば、計算が正確に終了したことを示している。

Opt 計算ではエネルギーを微分して傾きが 0 になるところを探り出し計算するので、Opt 計算だけでは極小値（安定構造）だけでなく、極大値（遷移状態）も計算結果として出力される。このため、構造最適化の計算だけでは安定構造が得られているかどうか判断できない。そこで次に振動計算をすることで極小値か極大値かを判定する。

本研究の構造最適化は以下の通りに実行した。

3-2-4 振動計算

振動計算を行うと、すべての振動数が数値として出力される。このとき安定構造では振動数がすべて実数であり、遷移状態では 1 つだけ虚数の振動数が存在する。Gaussian09 では虚数の振動数は負の数として出力される。

表 3-5 H₂O₂ の振動計算用 Input

```
① %chk=/home/horiuchi/H2O2.gopt.Freq.chk  
② %mem=1024MB  
③ %NProcShared=6  
④ #P B3LYP/6-311++G** Geom=CheckPoint Guess=read Freq  
⑤  
⑥ H2O2 Freq B3LYP/6-311++G**  
⑦  
⑧ 0 1  
⑨
```

振動計算では構造最適化した時の構造情報を使用する。そこで先の chk ファイルをコピーし、振動計算で使うために H2O2.gopt.Freq.chk という別の名前で保存した。そのため今回は保存先ではなく、その chk ファイルがある場所を指定した。Geom=CheckPoint Guess=read は前回の chk ファイルを呼び出すコマンドである。理論と基底関数は構造最適化で使用したものと統一した。

そして、構造最適化の時と同様に収束条件を満たしているか、正常に計算が終了しているかを確認した。

以下の表 3-5 は振動計算行い、Output ファイルから振動数のみを抜き出した。

表 3-6 出力された振動数

	1	2	3
	A	A	B
Frequencies --	365.3284	934.2167	1296.1931
	4	5	6
	A	B	A
Frequencies --	1452.9181	3778.6220	3779.5769

この H₂O₂ 振動計算の結果では、得られた振動数がすべて実数なので、この分子は安定構造をとっていると考えられる。

構造最適化計算の Z-matrix を得るには Output ファイルの最下部の出力データを用いた。これをコピーし、k2editor にペーストした。そして[,]を[]に置換、[]を[]に置換、[,]を[]に置換、[=]を[]に置換した。そして各原子に昇順で番号を記入した。これにより前述の構造最適化後の Z-matrix が用意できた。

実際には 1 回目の計算の基底関数は「6-31G*」用いて計算を行い、精度をあげるため 2 回目の計算の基底関数は「6-311++G**」を用い、再度計算を行った。

振動計算から得られるもう一つの情報として、熱力学パラメータがあげられる。例として H₂O₂ 熱力学パラメータを抜き出したものを下記に示す。

表 3-7 出力された熱力学パラメータ

	(hartree)
Zero-point correction= (Hartree/Particle)	0.026442
Thermal correction to Energy=	0.029684

Thermal correction to Enthalpy=	0.030629
Thermal correction to Gibbs Free Energy=	0.004783
Sum of electronic and zero-point Energies=	-151.575725
Sum of electronic and thermal Energies=	-151.572483
Sum of electronic and thermal Enthalpies=	-151.571539
Sum of electronic and thermal Free Energies=	-151.597384

単位換算 1(hartree)=627.5095(kcal/mol)

3-3 溶媒和モデル SCRF(CPCM)

分子を真空中以外の場合で取り扱う場合は、自己無撞着反応場 (Self-consistent reaction field, SCRF) を用意し、分極伝導体計算モデル (Conductor-like Polarizable Continuum Model: CPCM) を用いて計算を行う。

ある誘電率 ϵ をもつ空間を用意し、その中に半径 a_0 の空洞を空け、そこに分子を入れる (これは自己無撞着反応場である)。計算を開始すると、まず空洞に入れられた分子の電子が反応場に影響を及ぼし、それを受けて反応場が安定するように変化する。変化した反応場がさらに分子の電子状態へ影響を及ぼし、反応場への影響が繰り返される。このようにして収束条件を満たすまで繰り返し計算を行う。Input ファイルは以下の様に作成した。

表 3-8 溶媒計算の Input ファイル

```

%chk=/home/horiuchi/H2O2.gopt.CPCM.chk
%mem=1024MB
%NProcShared=6
#P B3LYP/6-311++G** Opt SCRF(CPCM)

H2O2 B3LYP/6-311++G** Opt CPCM

0 1
O1
H2 1 R1
O3 1 R2 2 A2
H4 3 R1 1 A2 2 D3
Variables:
R1 0.9671931
R2 1.45402613
A2 100.47241272
D3 121.11770674
    
```

本研究では水中での反応での分子(GDPs)の電子状態を求めたいので、溶媒は水である。そして Gaussian09 では、溶媒がデフォルトで水と設定されているので、特に何も指定せずにその設定を利用し計算をした。構造最適化と同様に 4 つの収束条件を満たし、さらに振動計算を行い振動数がすべて実数であることを確認した。

また、Output ファイルに、下記のように水が設定されていることを示す記述を確認した。

表 3-9 水の溶媒設定

Solvent	: Water, Eps= 78.355300 Eps(inf)= 1.777849
---------	--------------------------------------------

(infimum) 下限
Eps(inf)無限振動数での誘電率のオプション値

3-4 滅菌時の温度、圧力の組み込み

3-4-1 温度と圧力

Freq=ReadIsotopes とすると温度や圧力、同位体を変更できる。デフォルトでは標準状態として温度 298.15K、圧力は 1.0atm と設定されている。

以下の様に Input ファイルを作成した。

表 3-9 温度、圧力を加味した Input ファイル

```
%chk=/home/horiuchi/H2O2.gopt.CPCM.sterilized.chk
%mem=1024MB
%NProcShared=6
#P B3LYP/6-311++G** Geom=CheckPoint Freq=ReadIsotopes SCRF(CPCM)

H2O2 394.15K 2.0atm

0 1

394.15 2.0
16
1
16
1
```

温度、圧力を指定するには、電荷、多重度の後に空行を入れ、温度は 394.15K 圧力は 2.0atm に設定した。そして以降は用いる原子の原子量を上から順に記述した。

表 3-10 温度、圧力の指定の確認

```
Solvent : Water, Eps= 78.355300 Eps(inf)= 1.777849

Using temperature 394.150 Kelvin, pressure 2.000 atmospheres,
and frequency scale factor 1.000000.
```

3-4-2 熱力学パラメータ

温度や圧力、溶媒の条件を変更しても、上と同様に熱力学パラメータも算出される。

表 3-11 溶媒計算における熱力学パラメータ

	(hartree)
Zero-point correction= (Hartree/Particle)	0.021194
Zero-point correction= (Hartree/Particle)	0.026345
Thermal correction to Energy=	0.030905
Thermal correction to Enthalpy=	0.032153
Thermal correction to Gibbs Free Energy=	-0.002991
Sum of electronic and zero-point Energies=	-151.584030
Sum of electronic and thermal Energies=	-151.579470
Sum of electronic and thermal Enthalpies=	-151.578222
Sum of electronic and thermal Free Energies=	-151.613366

溶媒、温度、圧力が計算に組み込んだので、滅菌条件下における ΔG を求めた。

3-5 計算結果の可視化

3-5-1 3D 分子構造表示ソフト Jmol

Jmol を使えば計算結果を画面上で可視化することが可能である。可視化することで分子の構造がどのようなものであるか簡単に把握できる。以下のものが jmol によって可視化された分子である。元素記号をつけたり、電荷分布も表示したりすることが可能である。

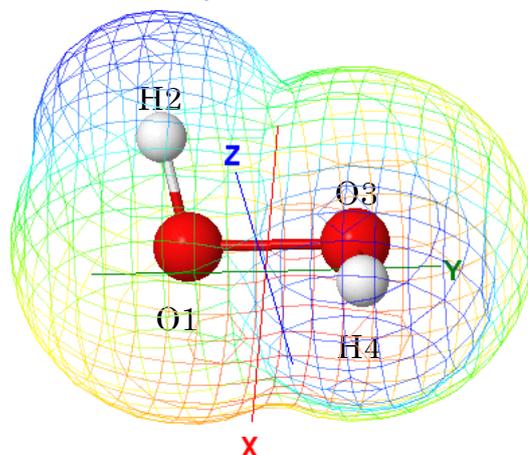


Fig 3-3 可視化した H_2O_2

Output ファイルを jmol で開き、[右クリック]→[コンソール]を選択した、以下のコマンドをコピーアンドペーストした。それにより一連の情報が画面上に表示された。

font label 20 bold

color label black

font axes 20 bold

background white

label DISPLAY

isosurface nofill mesh

font measures 19.0

これで以下のような表示が可能となる

- ラベルを表示し、その場合のフォントはサイズ 20 太文字を使用、文字の色は黒にする
- 軸の表示とそのサイズを指定する
- 背景は白にする
- 表面の表示形式はメッシュ状にする
- 測定結果をフォント 20 で表示する

3-5-2 可視化専用ファイルの作成

上記の操作をしても、結合次数が反映されない、分子の向きが一様でない、他の PC では読み込めないといった問題がある場合には可視化専用のファイルを作成が必要である。

- ① 構造最適化で得られた Output ファイルをコピーし、ファイル名を ~.charge.outp に変更する。
- ② その Output ファイルの最下段にある Z-matrix をコピーし、Jmol で読み込み可能になるように編集する。ファイルの中身は

```
# ZMATRIX
空行
構造
で表す
```
- ③ ②で作成したファイルを Jmol で表示し、[右クリック]→[表示]→[MOL データを抽出]を選択すると Cartesian が見られる。Z-matrix の性質によっては C1 は原点、C2 は Z 軸上、C3 は ZX 平面上におかれ、分子の向きが統一される。
- ④ ~.charge.outp の中身を k2editor で 2 行目から最後の standard orientation まです削除する。

- ⑤ standard orientation の Cartesian 座標を③で作成した Cartesian 座標に書き換える。
- ⑥ 3-5-1 で紹介した操作を行う
- ⑦ Jmol の画面で[右クリック]→[ファイル]→[保存する]→[状態とスクリプトを保存する]と選択して保存する。
- ⑧ 出力された spt ファイルを k2editor で開き、

```
function _setModelState() {
```

の下に

```
data "connect_atoms"
7 1 2 0.1 0.0 double;
6 0 2 0.1 0.0 double;
end "connect_atoms";
```

と結合を指定するコマンドを書き込む。

```
7 1 2 0.1 0.0 double;
```

の意味は 8 番目の原子と 2 番目の原子の結合を 2 重結合にし、結合の太さを 0.1 にするという意味である。このファイルでは原子の番号が 1 ではなく 0 から始まるので原子の番号を一つずらす。

- ⑨ 最後に spt ファイルは単独では使えず、元のファイルの情報も必要なので、参照元のファイルを指定する必要がある。ここで参照する元ファイルの位置は絶対パスで指定されているのでほかの PC に移すと表示できない。そこで

```
load/*file*/"file:/C:/Dropbox/computational
chemistry/¥u53ef¥u8996¥u5316/3-DG/3-DG.charge.outp";
```

と絶対パスで表記されているが、これを

```
load /*file*/"./3-DG.charge.outp";
```

と相対パスに書き換える。絶対パスだとほかの PC で動かしたときにエラーが出る。相対パスに書き換えることで、～.charge.outp と同じフォルダ内に入れておくと自動的に読み込んでくれる。

3-6 結合長

3-6-1 原子の混成軌道と分子間の距離

Jmol で[右クリック]→[計測]→[クリックして距離を計測]を選択し、二つの原子をクリックするとその間の距離を取得できる。そしてそれがどの元素とどの原子が結合しているかをみる。それを一般的な結合長と比較し、

そこから二つ原子がどの混成軌道をとって結合しているかがわかる。

3-6-2 各原子の電荷

Gaussian09 の計算結果には Mulliken atomic charges も出力される。ここからどの各原子の電荷がわかる。

3-7 遷移状態

3-7-1 遷移状態の求め方

遷移状態は 2 つの安定構造の間に存在し、エネルギーが極大値を持つ。遷移状態を求めるためには、2 つの安定構造の間に最も移動距離が大きい原子を選び、その原子と結合している原子間の結合距離を固定し、構造最適化を行う。結合長を 0.1 Å ずつ伸ばして計算を行い、最も高いエネルギーを持つ構造が遷移状態に一番近い構造であると予測できる。次に構造のパラメータを固定せずに Opt(TS, CalcFC) で計算を行う。構造最適化計算結果が得られた場合には、振動計算を行い、虚数の振動数を 1 つもつことを確認する。

また、2 つの安定構造から Opt(QST2, NoOptReactant, NoOptProduct) の計算方法を用いて遷移状態を求めることができる。

Table 3-12 遷移状態の計算の Input ファイル

```
%chk=/home/horiuchi/3-DG_a_1b2b_TS.chk
%mem=1024MB
%NProcShared=6
#P B3LYP/6-311++G**
Opt(QST2,NoOptReactant,NoOptProduct) SCRF(CPCM)

3-DG B3LYP/6-311++G** Opt SCRF(CPCM)

11
(略 3-DG+09のZ-matrix)

3-DG B3LYP/6-311++G** Opt SCRF(CPCM)

11
(略 ②のZ-matrix)
```

3-7-2 活性化自由エネルギー ΔG^\ddagger [24][25]

計算された遷移状態から活性化自由エネルギー ΔG^\ddagger を求めることができる。

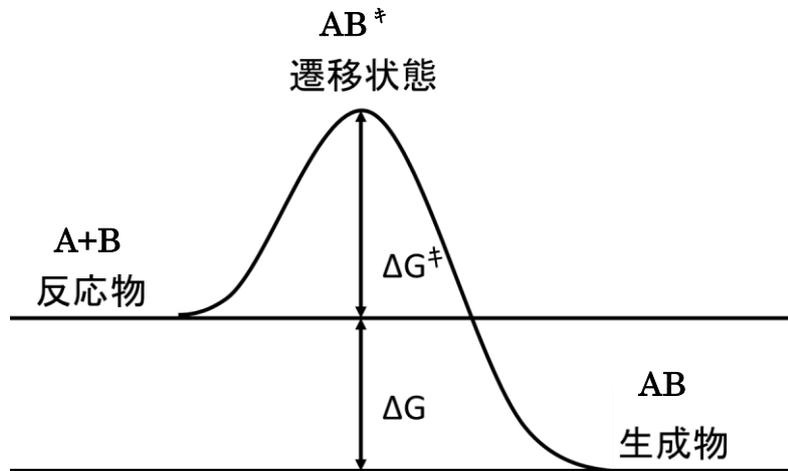


Fig 3-4 ポテンシャルエネルギー図

また、 $A+B \rightleftharpoons AB^\ddagger \rightarrow AB$ の反応で、活性化自由エネルギー、速度定数を ΔG^\ddagger 、 k_2 とすると

$$k_2 = \frac{k_B T}{h} \exp\left(-\frac{\Delta G^\ddagger}{RT}\right)$$

k_B : ボルツマン定数
 h : プランク定数
 T : 温度
 R : 気体定数

と書ける。つまり ΔG^\ddagger がわかれば速度定数が求められ、 ΔG^\ddagger が大きいほど反応速度は遅くなる。

さらに

$$\Delta G^\ddagger = \Delta H^\ddagger - T\Delta S^\ddagger$$

と定義すると

$$k_2 = \frac{k_B T}{h} \exp\left(-\frac{\Delta G^\ddagger}{RT}\right) = \frac{k_B T}{h} \exp\left(\frac{\Delta S^\ddagger}{R}\right) \exp\left(-\frac{\Delta H^\ddagger}{RT}\right)$$

アレニウスの式と比較して

$$E_a = \Delta H^\ddagger + RT$$

$$A = \frac{k_B T}{h} \exp\left(\frac{\Delta S^\ddagger}{R}\right)$$

E_a : 活性化エネルギー
 A : 頻度因子

と書くことができる。 ΔS^\ddagger がわかれば頻度因子 A が計算でき、 ΔS^\ddagger が低いほど反応速度は遅くなる。

3-7-3 Internal Reaction Coordinate (IRC) calculation

IRC calculation は得られた遷移状態を逆に計算し、元あった 2 つの安定構造に戻ることができるか確認する計算方法である。

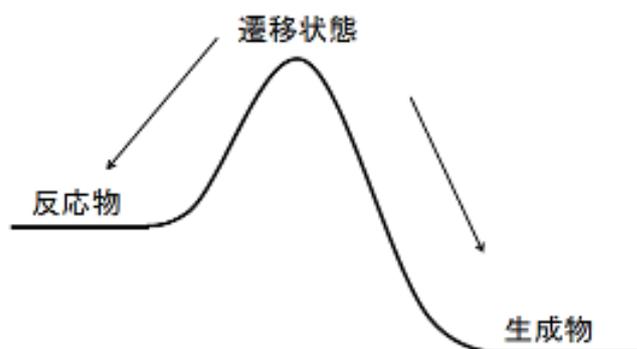


Fig 3-5 IRC calculation

Table 3-13 IRC の計算の Input ファイル

```
%chk=/home/horiuchi/3-DG_a_1b2b_TS.sterilized.IRC.chk
%mem=1024MB
%NProcShared=6
#P B3LYP/6-311++G** geom=check guess=read SCRF(CPCM) IRC=(rcfc)

3-DG_a_1b2b_TS IRC

1 1
```

chk ファイルには遷移状態の振動計算を行ったときのものを用いる。

4 結果

4-1 構造最適化

4-1-1 3-DG (3-deoxyglucosone) の安定構造(構成原子の電荷と振動)

溶媒が水で、394.15K、2.0atm という条件下で 3-DG の最適化構造を計算した。

Fig.4-1 に 3-DG の構造最適化の結果を記す。

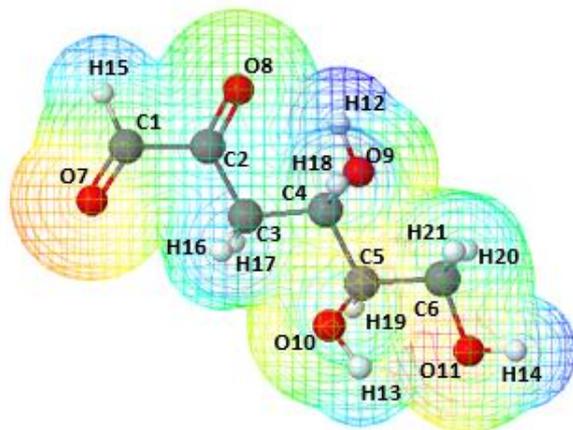


Fig.4-1 3-DG の最適化構造

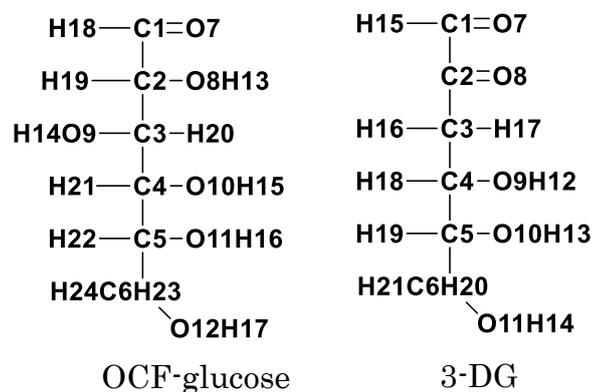
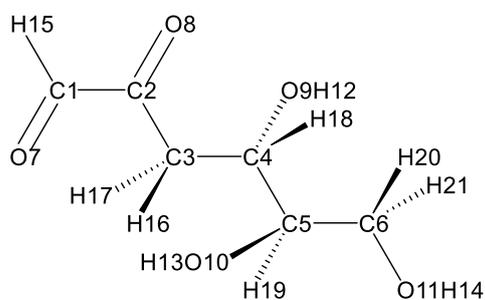
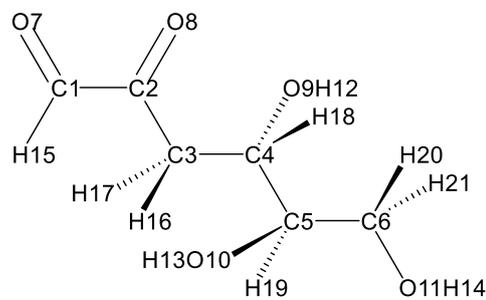


Fig.4-2 OCF-glucose と 3-DG



$$G = -610.843562(\text{hartree})$$



$$G = -610.840279(\text{hartree})$$

Fig.4-3 trans 型 と cis 型

3-DG は OCF-glucose から C3 のヒドロキシ基が脱離し、また C3 の OH から水素が外れてカルボニル基が形成されている(Fig.4-2)。ここで O7、O8 のカルボニル基の向きに注目し、cis と trans を計算して比較すると trans 型のほうがエネルギーは低い値となっていた(Fig.4-3)。構造としては、H12 が O8 の方向を向いており、O8-C2-C3-C4-O9-H12 の並びがわずかに環状構造を形成している。

表 4-1 構造最適化した 3-DG の電荷

Mulliken atomic charges	
C1	-0.199547
C2	0.461017
C3	-0.441313
C4	-0.136716
C5	-0.221809
C6	-0.432050
O7	-0.235064
O8	-0.270151
O9	-0.257525
O10	-0.270823
O11	-0.347651
H12	0.294377
H13	0.285317
H14	0.291862
H15	0.190695
H16	0.217845
H17	0.231131
H18	0.220774
H19	0.232558
H20	0.190998
H21	0.196075

Table 4-1 は構造最適化した 3-DG の各原子が持つ電荷を数値で表したものである。水素は全て正電荷を帯びており、炭素と酸素は C2 を除いて負電荷を帯びている。C2 は O8 と結合し、カルボニル基を構成するため、C2 から O8 に電子が引き寄せられている。

振動数の最小値は 26.6773 でありすべて正の数であった。Gaussian09 では実数を正の数として出力するので、この計算結果は安定化構造とみなせる。

4-1-2 3-DA (3-deoxyaldose-2-ene) の安定構造 (構成原子の電荷と振動)

溶媒が水で、394.15K、2.0atm という条件下で 3-DA の最適化構造を計算した。Fig.4-4 に 3-DA の構造最適化の結果を記す。

3-DG と 3-DA は keto-enol の平衡関係にある (Fig.4-5)。C2 にヒドロキシ基、C2-C3 間に二重結合を持つのでこれは enol 型である。一般的には keto 型のほうが安定構造であり、計算結果も同様に keto 型である 3-DG のほうがエネルギーは低く計算された。また、O7 を含むカルボニル基と O8H12 のヒドロキシの基位置関係において、酸素 O7,O8 の向きが 3-DG と異なり cis 型にあるほうがエネルギーは低いという結果になった (Fig.4-6)。

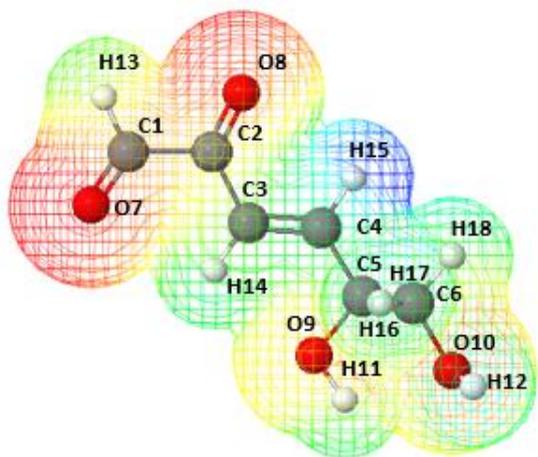


Fig.4-4 3-DA の最適化構造

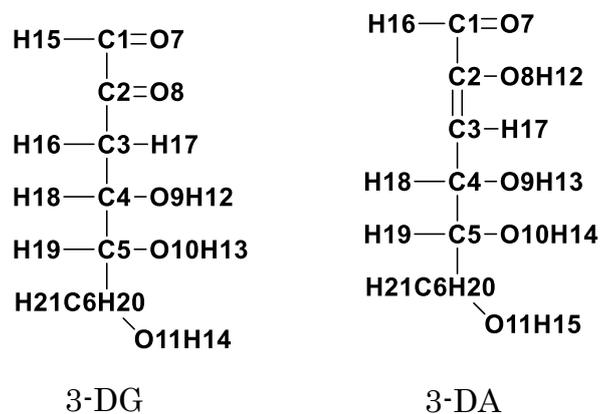


Fig.4-5 3-DG(keto 型)と 3-DA(enol 型)

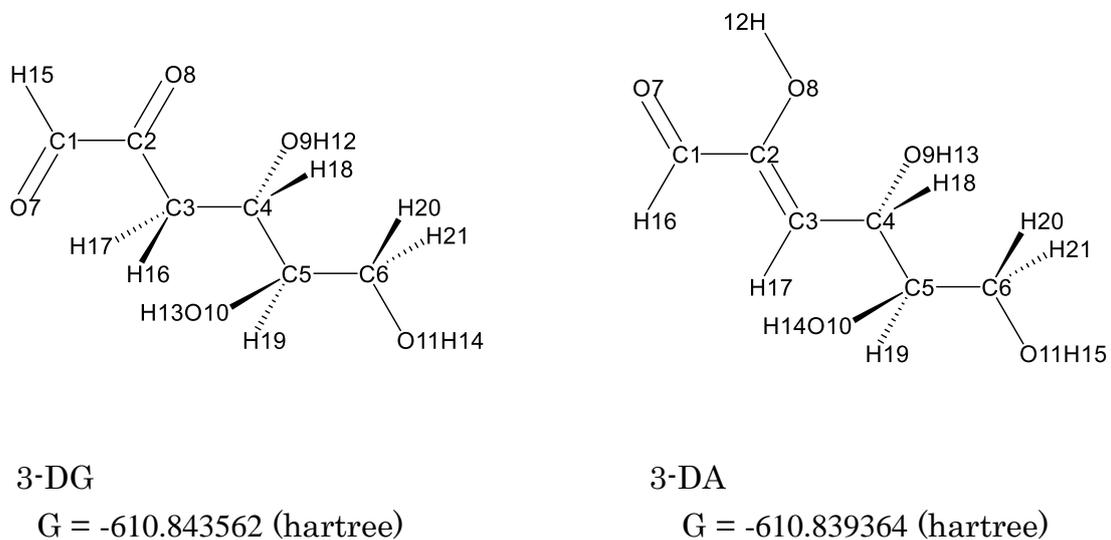


Fig.4-6 3-DG(trans 型) と 3-DA(cis 型)

表 4-2 構造最適化した 3-DA の電荷

Mulliken atomic charges	
C1	-0.150294
C2	-0.034276
C3	0.290157
C4	-0.578344
C5	-0.049796
C6	-0.406921
O7	-0.335690
O8	-0.306086
O9	-0.280608
O10	-0.263583
O11	-0.353826
H12	0.318373
H13	0.306057
H14	0.289018
H15	0.292270
H16	0.174181
H17	0.234299
H18	0.236306
H19	0.230194
H20	0.199398
H21	0.189169

Table 4-2 は構造最適化した 3-DA の各原子が持つ電荷を数値で表したものである。水素は全て正電荷を帯びており、炭素と酸素は C3 を除いて負電荷を帯びている。また、C4 は強く負電荷を帯びている。

振動数の最小値は 34.2856 でありすべて正の数であった。Gaussian09 では実数を正の数として出力するので、この計算結果は安定化構造とみなせる。

4-1-3 3,4-DGE(3,4-dideoxyglucosone-3-ene)の安定構造(構成原子の電荷と振動)

溶媒が水で、394.15K、2.0atm という条件下で 3,4-DGE の最適化構造を計算した。Fig.4-7 に 3,4-DGE の構造最適化の結果を記す。

3,4-DGE は C1 と C2 にカルボニル基、C3-C4 に二重結合をもつジカルボニル化合物である。3-DG から C4 のヒドロキシ基と C3 の水素が脱離し、C3-C4 が二重結合を形成する(Fig.4-8)。O7、O8 を含むカルボニル基は trans 型のほうがエネルギーは低かった。分子の途中に二重結合が存在するため、炭素は一直線上には並んでいない(Fig.4-9)。

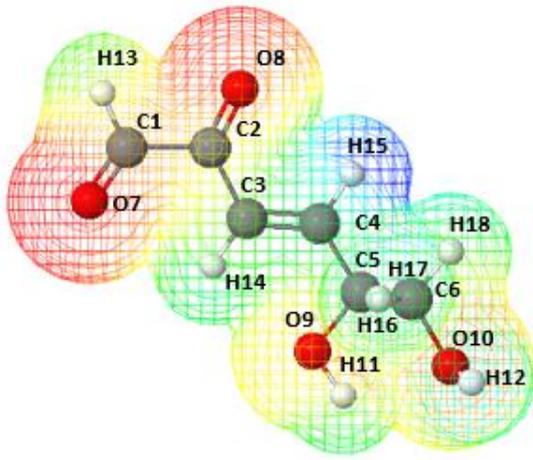


Fig.4-7 3,4-DGE の最適化構造

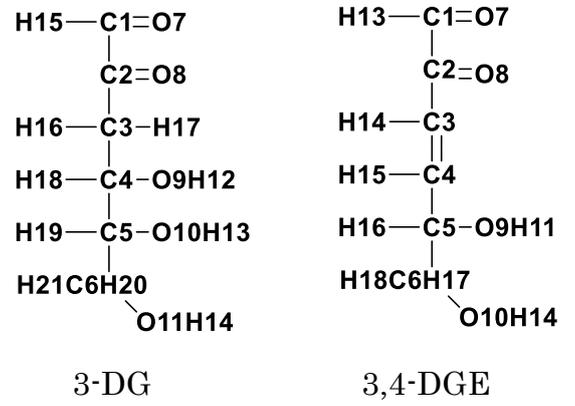


Fig.4-8 3-DG と 3,4-DGE

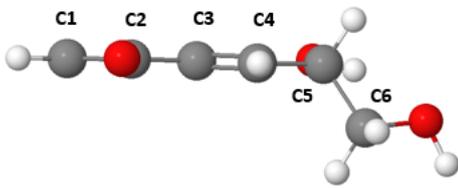


Fig.4-9 3,4-DGE の炭素鎖

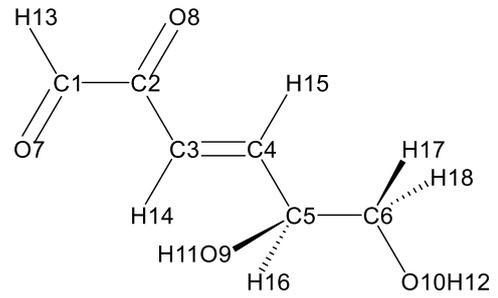


Fig.4-10 3,4-DGE 構造式

Table 4-3 構造最適化した 3,4-DGE の電荷

Mulliken atomic charges:	
C1	-0.117578
C2	0.078341
C3	-0.108091
C4	0.280768
C5	-0.283569
C6	-0.459494
O7	-0.250322
O8	-0.324378
O9	-0.297355
O10	-0.346082
H11	0.275377
H12	0.297737
H13	0.190519
H14	0.234406
H15	0.235813
H16	0.221665
H17	0.194802
H18	0.177440

Table 4-3 は構造最適化した 3,4-DGE の各原子が持つ電荷を数値で表したものである。水素は全て正電荷を帯び、C2,C4 以外の炭素と酸素は負電荷を帯びている。C2-O8 でカルボニル基を形成しているため、C2 は正電荷を帯びている。さらに C3 は負電荷、C4 は正電荷と交互に並んでいる。これもカルボニル基の影響だと考えられる。

振動数の最小値は 29.3695 でありすべて実数であることが確認できた。Gaussian09 では実数を正の数として出力するので、この計算結果は安定化構造とみなせる。

4-1-4 3-DG から 3-DA への keto-enol 変換

【3-DG-H17】

3-DG から H17 を引き抜いた分子の構造表記を 3-DG-H17 とする (Fig.4-11)。溶媒が水で、394.15K、2.0atm という条件下で 3-DG-H17 の最適化構造を計算した。Fig.4-12 に 3-DG の構造最適化の結果を記す。

H17 を引き抜く理由は、C2-O8 にカルボニル基があるために、C3 に結合している水素が外れやすいと考えられるからである。3-DG の C3 には H16,H17 と二つの水素が結合しているが、C3-H16 の結合距離が 1.09 Å であるのに対し、C3-H17 の結合距離は 1.10 Å となっている。結合距離が長いと C-H 間に働く力も弱くなると考えられる

ために 3-DG から H17 を抜き取ることにした。

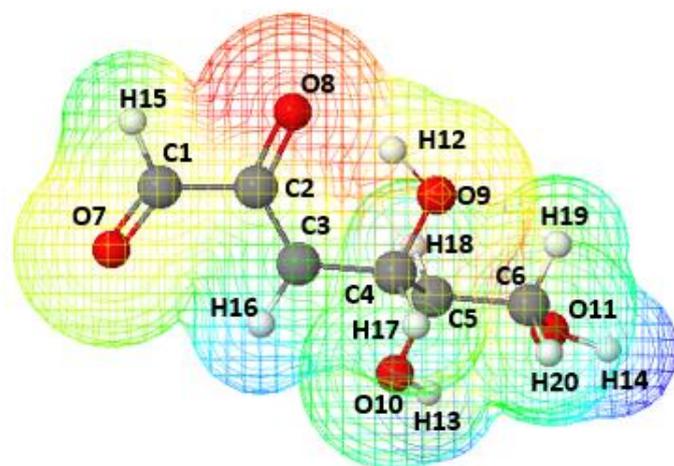
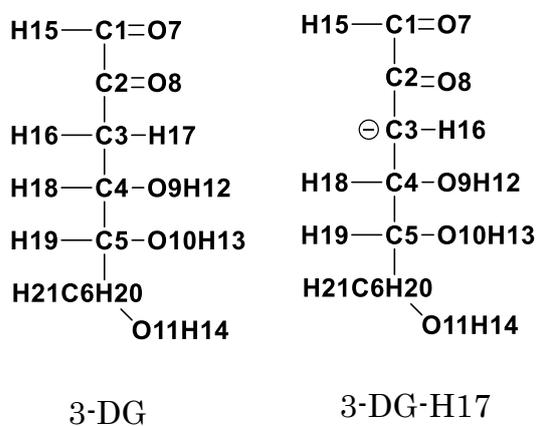


Fig.4-11 3-DG と 3-DG-H17

Fig.4-12 3-DG-H17(脱プロトンした 3-DG)の最適化構造

Table 4-4 構造最適化をした 3-DG-H17 の電荷

Mulliken atomic charges	
C1	-0.173326
C2	-0.011729
C3	0.445174
C4	-0.790093
C5	0.060354
C6	-0.518882
O7	-0.354617
O8	-0.637472
O9	-0.327914
O10	-0.300840
O11	-0.355499
H12	0.295966
H13	0.284533
H14	0.289845
H15	0.127722
H16	0.196264
H17	0.195390
H18	0.199987
H19	0.183715
H20	0.191421

Table 4-4 は構造最適化した 3-DG-H17 の各原子が持つ電荷を数値で表したものである。各原子の電荷を見ると、C2 が負、C3 が正、C4 が負、となっており、これは

3-DG や 3,4-DGE と符号が逆になっている。これも構造最適化の収束条件を満たしており、振動数はすべて実数であるので一つの安定構造であると言える。

振動数の最小値は 28.977 でありすべて実数であることが確認できた。Gaussian09 では実数を正の数として出力するので、この計算結果は安定化構造とみなせる。

しかし、現実はこの分子が単離できるとは考えにくい。これは計算化学シミュレーションならではの実験方法である。

4-1-5 3-DG から 3,4-DGE への脱水過程

グルコース水溶液は酸性条件下で高圧蒸気滅菌が行われている。そこで、3,4-DGE の前駆物質である 3-DG へのプロトン化を試みた。プロトン化の位置として O7 から O11 のプロトン化を試みた。

【3-DG+O7】

3-DG の O7 にプロトンを付加した構造表記を 3-DG+O7 とする (Fig.4-13)。溶媒が水で、394.15K、2.0atm という条件下で 3-DG+O7 の最適化構造を計算した。Fig.4-14 に 3-DG+O7 の構造最適化の結果を記す。

O7 がプロトン化されることによって C1 の sp² 混成軌道が解けて平面構造となっている。しかし、O7 へのプロトン化では脱水が起こらず、C3,C4 間での二重結合も生成されなかった。

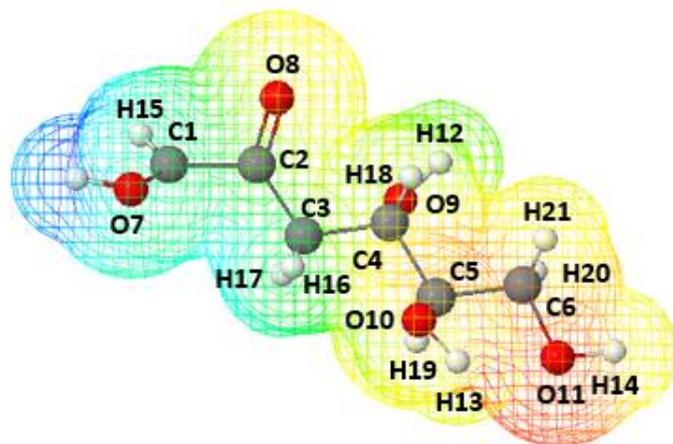
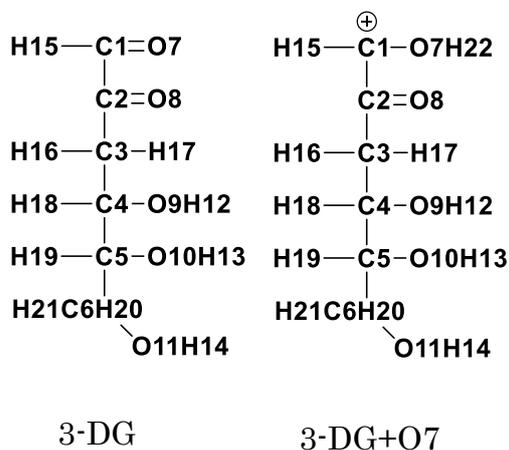


Fig.4-14 3-DG の O7 に H22 を付加した構造

Fig.4-13 3-DG と 3-DG+O7

Table 4-5 O7をプロトン化した3-DGの電荷

Mulliken atomic charges	
C1	0.075027
C2	-0.108308
C3	0.014869
C4	-0.372860
C5	-0.238166
C6	-0.440329
O7	0.044296
O8	-0.086769
O9	-0.233228
O10	-0.260203
O11	-0.344399
H12	0.302645
H13	0.289017
H14	0.295341
H15	0.301747
H16	0.284772
H17	0.251978
H18	0.248562
H19	0.238762
H20	0.169342
H21	0.200904
H22	0.367000

Table 4-5 は構造最適化した 3-DG+O7 の各原子が持つ電荷を数値で表したものである。O7 にプロトン化したため O7 は正電荷を帯びている。また O7 に結合している C2 も正電荷を帯びている。

振動数の最小値は 11.9032 でありすべて実数であることが確認できた。Gaussian09 では実数を正の数として出力するので、この計算結果は安定化構造とみなせる。

【3-DG+O8】

3-DG の O8 にプロトンを付加した構造表記を 3-DG+O8 とする (Fig.4-15)。溶媒が水で、394.15K、2.0atm という条件下で 3-DG+O8 の最適化構造を計算した。Fig.4-16 に 3-DG+O8 の構造最適化の結果を記す。

O7 と O8 のカルボニル基は、cis 型より若干 trans 型のほうがエネルギー的に有利である。H12 の向きは 3-DG とは異なり六員環とは逆方向に向いている (Fig.4-16)。しかし、これは O8 に H22 のプロトンをつけているため、H12 と変わって O8-C2-C3-C4-O9-H22 と緩い六員環の一員として入ってきている。しかし、O8 へのプロトン化では脱水が起こらず、C3,C4 間での二重結合も生成されなかった。

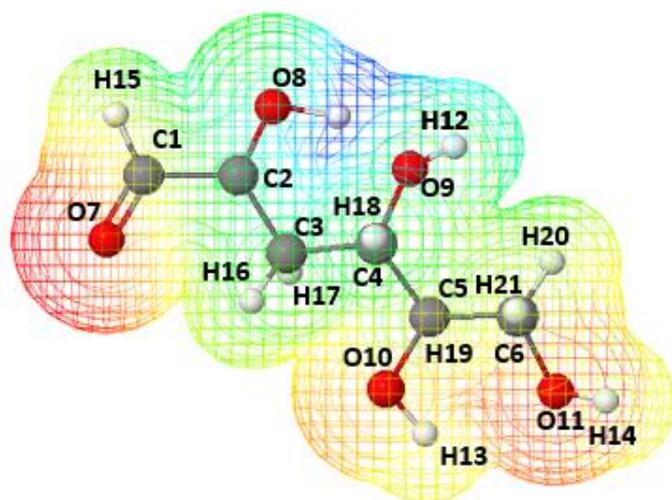
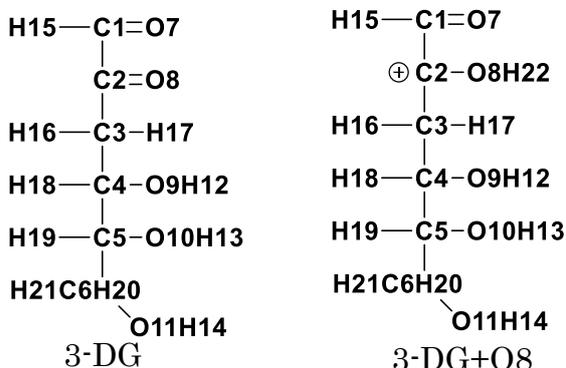


Fig.4-15 3-DG と 3-DG+O8

Fig.4-16 3-DG の O8 に H22 を付加した構造

Table 4-6 O8 をプロトン化した 3-DG の電荷

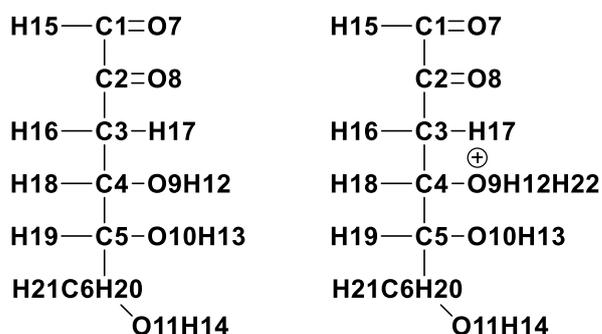
Mulliken atomic charges:	
C1	-0.304428
C2	0.608835
C3	-0.600196
C4	-0.116828
C5	-0.265362
C6	-0.369694
O7	-0.186302
O8	-0.031715
O9	-0.281382
O10	-0.238570
O11	-0.340705
H12	0.345882
H13	0.294477
H14	0.295954
H15	0.227493
H16	0.261148
H17	0.314747
H18	0.297620
H19	0.250831
H20	0.180527
H21	0.207848
H22	0.449819

Table 4-6 は構造最適化した 3-DG+O8 の各原子が持つ電荷を数値で表したものである。C2 が正、C3 が負の電荷をもっており、これは 3-DG や 3,4-DGE と同様の傾向である。

振動数の最小値は 43.1156 でありすべて実数であることが確認できた。Gaussian09 では実数を正の数として出力するので、この計算結果は安定化構造とみなせる。

【3-DG+O9】

3-DGのO9にプロトンを付加した構造表記を3-DG+O9とする(Fig.4-17)。溶媒が水で、394.15K、2.0atm という条件下で3-DG+O9の最適化構造を計算した。Fig.4-18に3-DG+O9の構造最適化の結果を記す。



3-DG

3-DG+O9

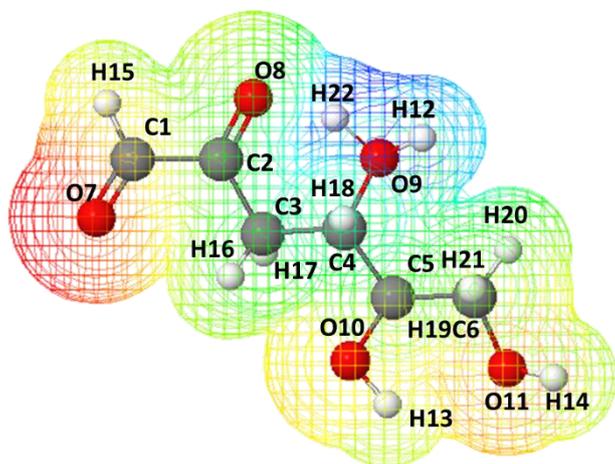


Fig.4-17 3-DG と 3-DG+O9

Fig.4-18 3-DG の O9 に H22 を付加した構造

Table 4-7 O9をプロトン化した3-DGの電荷

Mulliken atomic charge	
C1	-0.29912
C2	0.483523
C3	-0.5095
C4	-0.11191
C5	-0.27723
C6	-0.37116
O7	-0.21021
O8	-0.17596
O9	-0.10774
O10	-0.23113
O11	-0.33813
H12	0.429537
H13	0.294973
H14	0.29886
H15	0.21277
H16	0.254279
H17	0.299201
H18	0.324958
H19	0.266481
H20	0.183087
H21	0.214451
H22	0.369959

Table 4-7 は構造最適化した 3-DG+O9 の各原子が持つ電荷を数値で表したものである。プロトン化した結果 O9H12H22 が水となり、良い脱離基となる。水が脱離することは 3,4-DGE への変化に必要なものであり、これは 3,4-DGE になる可能性がある。

振動数の最小値は 39.8051 でありすべて実数であることが確認できた。Gaussian09 では実数を正の数として出力するので、この計算結果は安定化構造とみなせる。

【3-DG+O10】

3-DG の O10 にプロトンを付加した構造表記を 3-DG+O10 とする (Fig.4-19)。溶媒が水で、394.15K、2.0atm という条件下で 3-DG+O10 の最適化構造を計算した。Fig.4-20 に 3-DG+O10 の構造最適化の結果を記す。

O10H13 のヒドロキシ基にプロトン H22 が付くことで、よい脱離基である水が構成されているが、構造最適化の結果として水は脱離せず、O10 へのプロトン化では、C3,C4 間での二重結合も生成されなかった

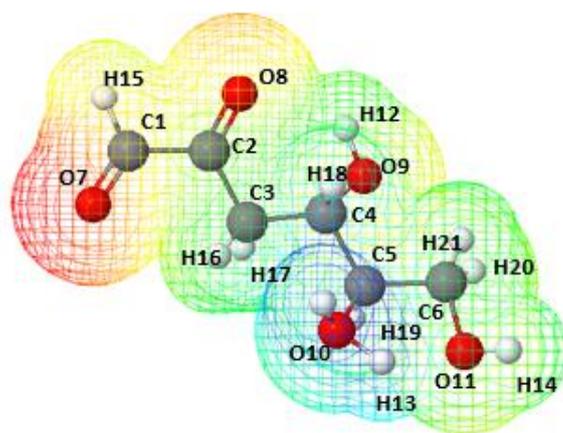
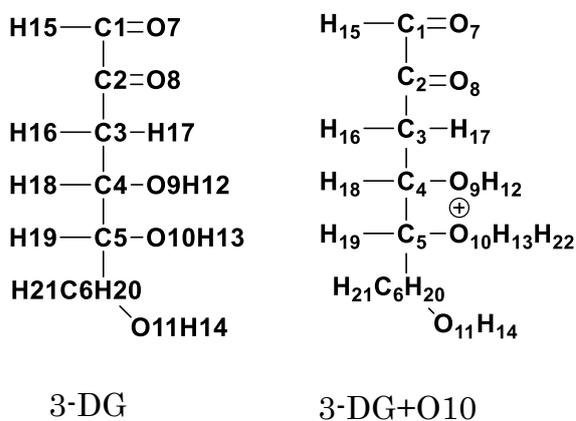


Fig.4-19 3-DG と 3-DG+O10

Fig.4-20 3-DG の O10 に H22 を付加した構造

Table 4-8 O10 をプロトン化した 3-DG の電荷

Mulliken atomic charges	
C1	-0.178948
C2	0.455202
C3	-0.409110
C4	-0.111049
C5	-0.372696
C6	-0.409165
O7	-0.231985
O8	-0.254120
O9	-0.225436
O10	-0.007366
O11	-0.329449
H12	0.305549
H13	0.370185
H14	0.325903
H15	0.197244
H16	0.196803
H17	0.246706
H18	0.256010
H19	0.341549
H20	0.240414
H21	0.236447
H22	0.357312

Table 4-7は構造最適化した 3-DG+O10 の各原子が持つ電荷を数値で表したものである。電荷を見ると C2,C3,C4 は 3-DG と似通った電荷をもっている。よって、O10 のプロトン化は直接反応に関わるものではないと考えられる。

振動数の最小値は 46.6028 でありすべて実数であることが確認できた。Gaussian09 では実数を正の数として出力するので、この計算結果は安定化構造とみなせる。

【3-DG+O11】

3-DG の O11 にプロトンを付加した構造表記を 3-DG+O11 とする (Fig.4-21)。溶媒が水で、394.15K、2.0atm という条件下で 3-DG+O11 の最適化構造を計算した。Fig.4-22 に 3-DG+O11 の構造最適化の結果を記す。

O11H14 のヒドロキシ基にプロトン H22 が付くことで、よい脱離基である水が構成されているが、構造最適化の結果として水は脱離せず、C3,C4 の二重結合も形成されなかった (Fig.4-20)。

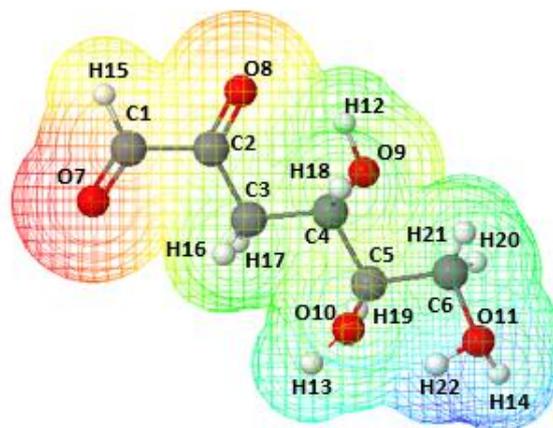
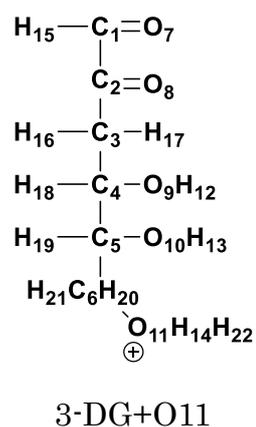
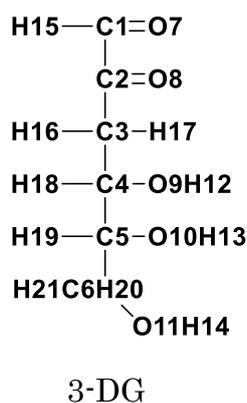


Fig.4-21 3-DG と 3-DG+O10

Fig.4-22 3-DG の O11 に H22 を付加した構造

Table 4-9 O11 をプロトン化した 3-DG の電荷

Mulliken atomic charges	
C1	-0.179792
C2	0.456992
C3	-0.432325
C4	-0.151310
C5	-0.242015
C6	-0.520038
O7	-0.233968
O8	-0.260037
O9	-0.230939
O10	-0.300632
O11	-0.046844
H12	0.304124
H13	0.344176
H14	0.380343
H15	0.194230
H16	0.191757
H17	0.241910
H18	0.261978
H19	0.302398
H20	0.266188
H21	0.297764
H22	0.356042

Table 4-8は構造最適化した 3-DG+O11 の各原子が持つ電荷を数値で表したものである。3-DG+O10 と同様に C2,C3,C4 は 3-DG と似た電荷を持っている。よって、O11 のプロトン化は直接反応に関わるものではないと考えられる。

振動数の最小値は 29.9277 でありすべて実数であることが確認できた。Gaussian09 では実数を正の数として出力するので、この計算結果は安定化構造とみなせる。

【3-DG-O9H12】

3-DG からヒドロキシ基 O9H12 を抜き取った構造表記を 3-DG-O9H12 とする (Fig.4-21)。溶媒が水で、394.15K、2.0atm という条件下で 3-DG-O9H12 の最適化構造を計算した。Fig.4-22 に 3-DG-O9H12 の構造最適化の結果を記す。これは 3-DG-H17 と対をなしており、3-DG から 3,4-DGE へ変化する際に必要だと考えられる。

初期構造として C4 上にカルボカチオンが形成している構造を作成したが、計算結果は H17 が C4 と結合しており、C5 にカルボカチオンが移動していた。カルボカチオンの安定性を考えると第二級炭素 C4 と電子供与基としてヒドロキシ基が結合している C5 とでは、C4 より C5 にカチオンが移動するほうが安定すると考えられる。

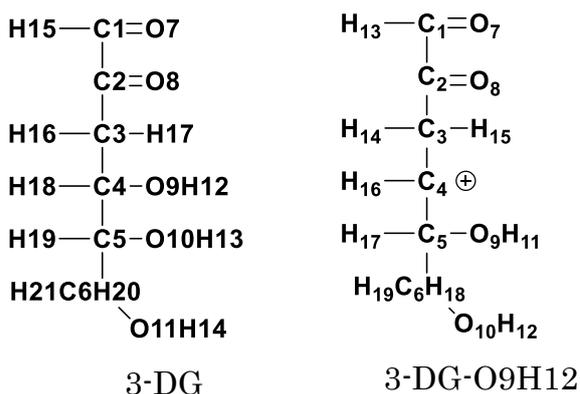


Fig.4-23 3-DG と 3-DG+O10

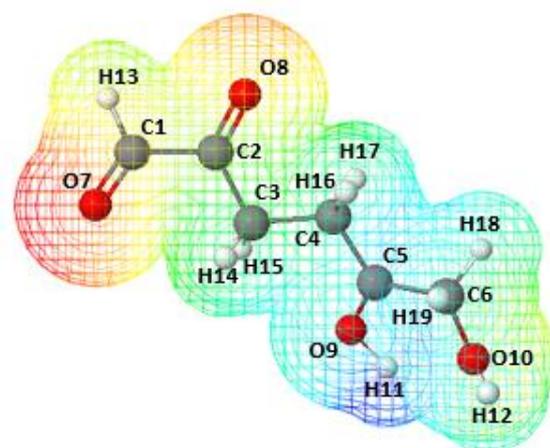


Fig.4-24 3-DG から O9H12 が脱離した構造

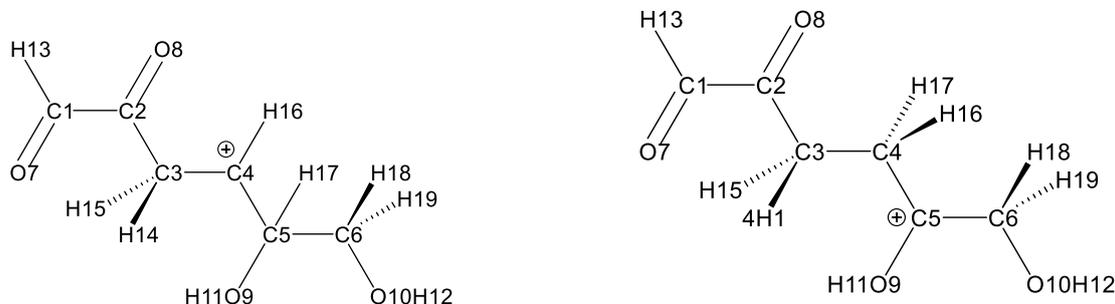


Fig.4-25 初期構造と構造最適から得られた構造

Table 4-10 O9とH12が脱離した3-DGの電荷

Mulliken atomic charges:	
C1	-0.093194
C2	0.377732
C3	-0.290022
C4	-0.570367
C5	0.423945
C6	-0.485809
O7	-0.238606
O8	-0.243636
O9	0.009088
O10	-0.338047
H11	0.377715
H12	0.335849
H13	0.195383
H14	0.226309
H15	0.232228
H16	0.262951
H17	0.278267
H18	0.272345
H19	0.267866

Table 4-9 は構造最適化した 3-DG-O9H12 の各原子が持つ電荷を数値で表したものである。

3-DG-H17 の時は C3 に負電荷が存在している形で安定構造をとっている (Fig4-12)。しかし、C3-C4 の間に二重結合を形成する可能性を持つが、3-DG からヒドロキシ基 O9H12 が単独で引き抜かれる反応では、カルボカチオンが C4 から C5 に移動するため C3-C4 間に二重結合を作る可能性は低くなる。よって O9H12 の脱離は H17 が抜けた後、もしくは H17 の脱離と同時に起こると推測される。

【3-DG-H17+O9】

3-DG から H17 を抜いたうえで O8 にプロトンをつけると enol 型である 3-DA と同じ原子配置になる (Fig.4-26)。3-DG から H17 を抜いた状態から O9 にプロトンをつけると、O9H12H22 が水として脱離し、3,4-DGE が生成した計算結果となった (Fig.4-27)。3-DG から脱水を経た 3,4-DGE の生成する反応の一段階目としては H17 の引き抜きが重要であると考えられる。またこれも O8-C2-C3-C4-O9-H12 で緩やかな環状構造をとっている。

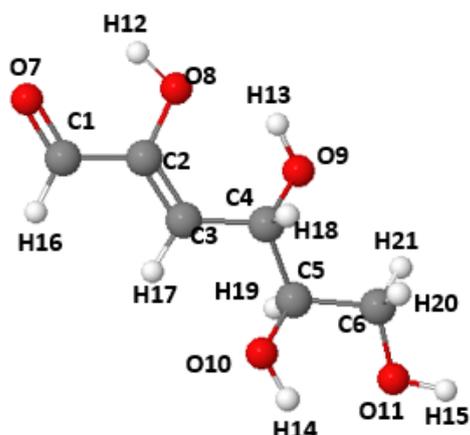


Fig.4-26 3-DA の構造式

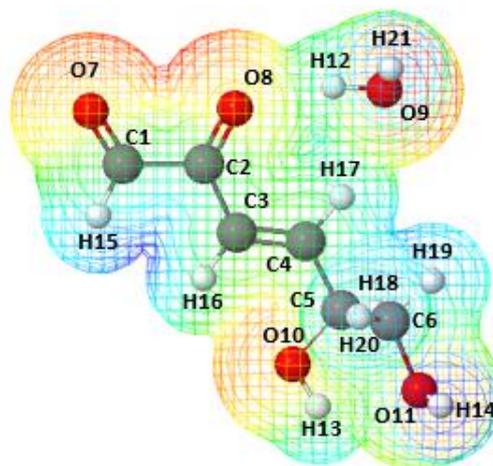


Fig.4-27 3-DG-H17+O9 → 3,4-DGE + H₂O

4-1-6 3,4-DGE を構成する原子の結合長との類似性

計算結果から、結合を作る二つの原子に注目し、その間の結合距離を調べる。これより一般的な結合長^[1]と照らし合わせることで、その結合の混成軌道の種類、結合次数を予想ができる。これをプロトン化、脱プロトン化した分子にあてはめ、それぞれの混成軌道の種類を特定し、3,4-DGE と類似点を見出す。反応部位とその周囲にある結合に着目した。

Table 4-11 3,4-DGE との結合長と結合の比較

		3-DG	3-DG+O7	3-DG+O8	3-DG+O9	3-DG+O10	3-DG+O11	3-DG-H17	3-DG-H17+O9	3,4-DGE
結合長	C2-C3	1.50	1.47	1.48	1.54	1.51	1.51	1.37	1.47	1.47
	C3-C4	1.53	1.53	1.54	1.53	1.53	1.53	1.51	1.35	1.34
	C4-C5	1.53	1.54	1.53	1.53	1.53	1.53	1.55	1.49	1.49
	C2-O8	1.22	1.21	1.25	1.23	1.21	1.21	1.31	1.23	1.22
	C3-H16	1.09	1.10	1.09	1.09	1.09	1.09	1.08	1.09	1.08
	C3-H17	1.10	1.10	1.10	1.10	1.10	1.10			
	C4-O9	1.43	1.42	1.46	1.51	1.42	1.43	1.43		
結合の種類	C2-C3	sp ² -sp ³	sp ² -sp ²	sp ² -sp ²	sp ² -sp ³ >	sp ² -sp ³	sp ² -sp ³	sp ² -sp ² <	sp ² -sp ²	sp ² -sp ²
	C3-C4	sp ³ -sp ³	sp ³ -sp ³	sp ³ -sp ³	sp ³ -sp ³	sp ³ -sp ³	sp ³ -sp ³	sp ² -sp ³	sp ² =sp ²	sp ² =sp ²
	C4-C5	sp ³ -sp ³	sp ³ -sp ³	sp ³ -sp ³	sp ³ -sp ³	sp ³ -sp ³	sp ³ -sp ³	sp ³ -sp ³	sp ² -sp ³	sp ² -sp ³
	C2-O8	sp ² =sp ²	sp ² =sp ²	sp ² =sp ² <	sp ² =sp ²	sp ² =sp ²	sp ² =sp ²	sp ² -sp ² <	sp ² =sp ²	sp ² =sp ²
	C3-H16	sp ³ -H	sp ³ -H	sp ³ -H	sp ³ -H	sp ³ -H	sp ³ -H	sp ² -H	sp ² -H	sp ² -H
	C3-H17	sp ³ -H	sp ³ -H>	sp ³ -H>	sp ³ -H>	sp ³ -H>	sp ³ -H>			
	C4-O9	sp ³ -sp ³	sp ³ -sp ³	sp ³ -sp ³ >	sp ³ -sp ³ >	sp ³ -sp ³	sp ³ -sp ³	sp ³ -sp ³		

Table 4-11 より、3-DG-H17+O9 が 3,4-DGE の構造と一致していた。

4-2 熱力学パラメータ

4-2-1 3-DG/3-DA/3,4-DGE 間の ΔG

Table 4-12 各分子の free energy (hartree)

GDPs	(hartree)
3-DA	-610.839
3-DG	-610.844
3,4-DGE	-534.394
5-HMF	-457.965
H ₂ O	-76.469

3,4-DGEは3-DGと3-DAから脱水した分子なので比較するときは水分子を足す。 ΔG の算出は3-DAを基準にした。

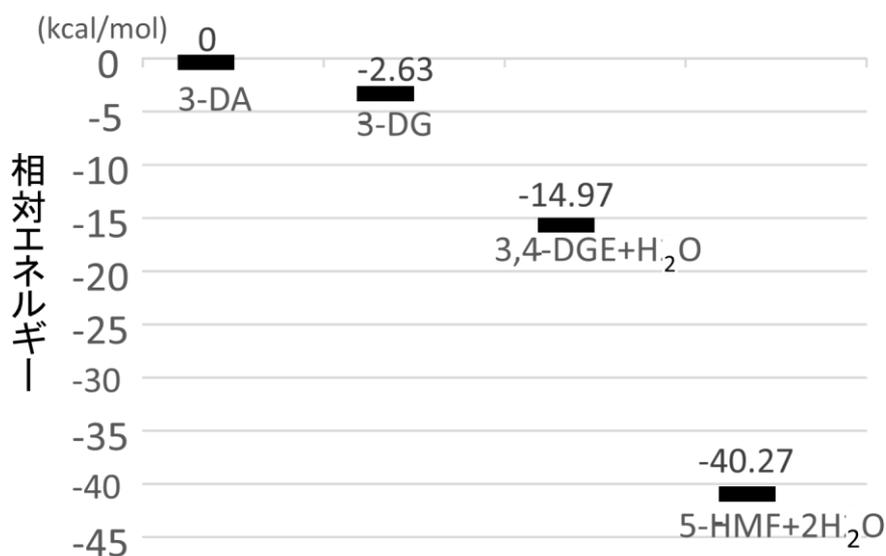


Fig.4-28 3-DA を基準として求めた ΔG

上の三者で比較すると 3-DA、3-DG、3,4-DGE の順に ΔG が低く計算された。文献^[12]では腹膜透析液の 3-DG の濃度と 3,4-DGE の濃度を比較すると 3-DG の濃度が高いと報告されている。しかし、計算で求めた ΔG は 3,4-DGE が生産されるほうに平衡が傾いている。これは 3,4-DGE が生成する反応は 3-DG-H17 から 3-DA を生成する反応と 3,4-DGE を生成する反応では 3,4-DGE へ行くほうの活性化自由エネルギーが非常に高いと考えられる。

4-3 遷移状態

4-3-1 構造

3-DG を基準とし、3-DG+O9 から 3,4-DGE に至るルートを遷移状態、中間体も含めて計算した。3-DG の O9 をプロトン化したときの安定構造を Fig.4-30 に示す。

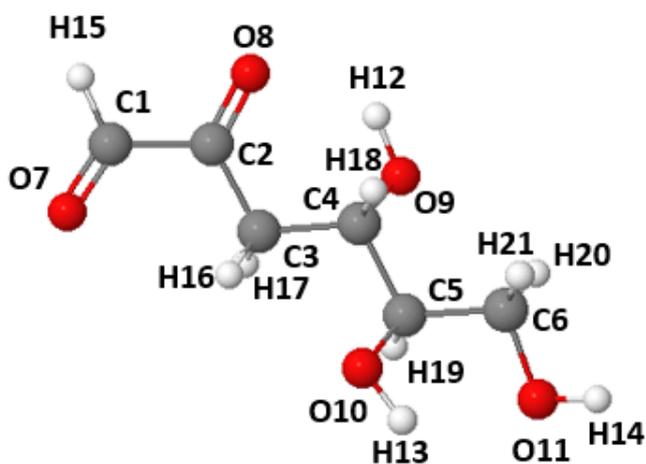


Fig.4-29 3-DG

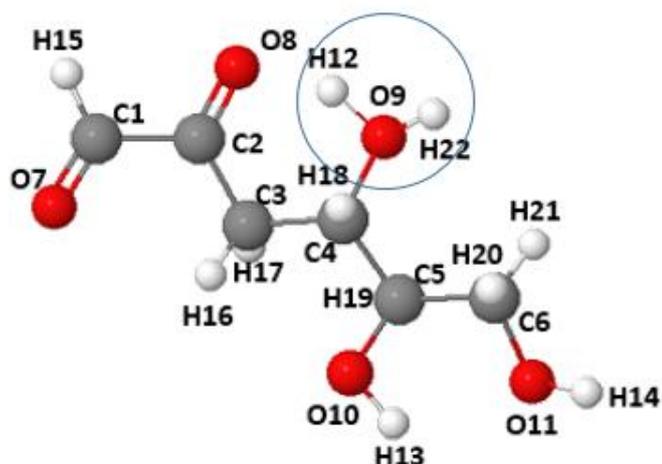


Fig.4-30 3-DG+O9 のプロトン化

遷移状態



Fig.4-31 ①TS O9-H12-H22 の脱水の遷移状態

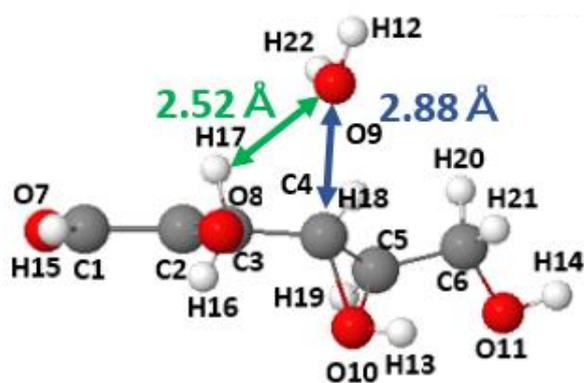


Fig.4-32 ②O9-H12-H22 の脱水

C4-O9 の距離を 0.1 Å ずつ伸ばしていき、2.23 Å のとき遷移状態となった (Fig.4-31)。C4-O9 の距離が 2.88 Å になると完全に水が脱離して安定構造になっ

た(Fig.4-32)。ここから脱離した水が C3 の H17 を引き抜くように近づいていく。このとき H17-O9 の距離は 2.52 Å だった。

遷移状態

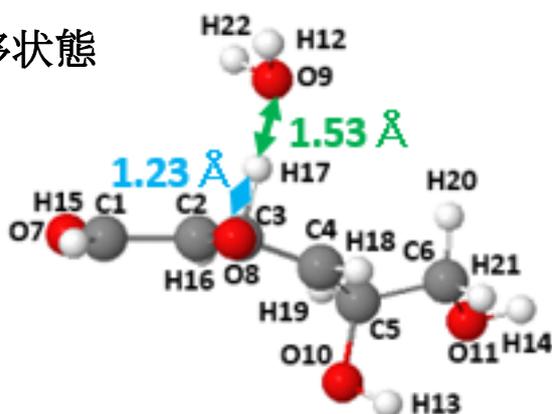


Fig.4-33 ③TS C3 の脱プロトン化の遷移状態

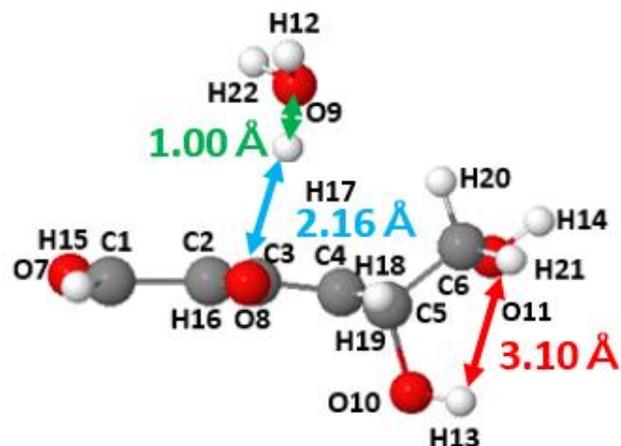


Fig.4-34 ④C3 の脱プロトン化

H17-O9 の距離を近づけてゆき、その距離が 1.53 Å、C3-H17 の距離が 1.23 Å となったとき、遷移状態となった(Fig.4-33)。さらに H17 が O9 に引っ張られ、H17-O9 の距離が 1.00 Å まで縮み、C3-H17 の距離が 2.16 Å まで伸びると完全に脱プロトン化し、安定構造となった(Fig.4-34)。また、O10-H13 ヒドロキシ基に注目すると、水素の向きが O11 の方向に向いたほうが安定性が高いと考えられることから、ヒドロキシ基を回転させた。回転前の H13-O11 の距離は 3.10 Å だったが、回転させることで H13-O11 の距離が 2.15 Å となり、安定性が高まった。

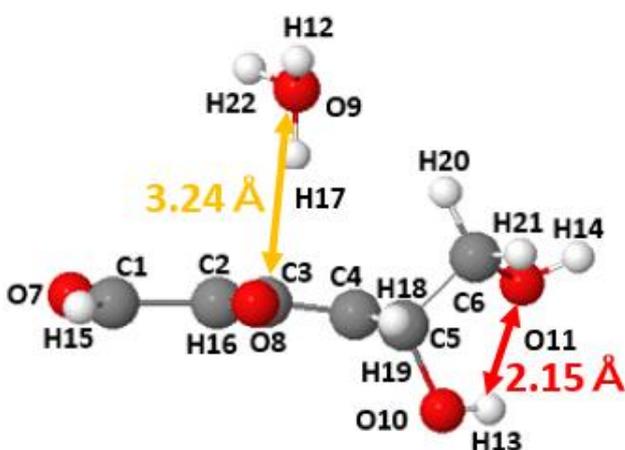


Fig.4-35 ⑤O10-H13 ヒドロキシ基の回転

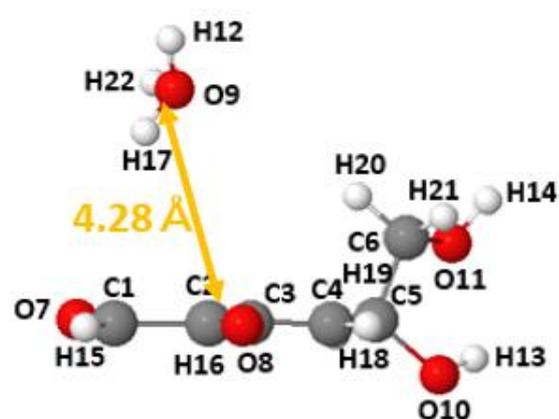


Fig.4-36 ⑥H₃O⁺ の脱離

C3-O9 の距離は 3.24 Å になり、H₃O⁺ が遠ざかった(Fig.4-35)。さらに C3-O9 の距離が伸び、H₃O⁺ が完全に脱離した(Fig.4-36)。そして H₃O⁺ を除去して計算を行うと 3,4-DGE の計算結果と一致した(Fig.4-37)。

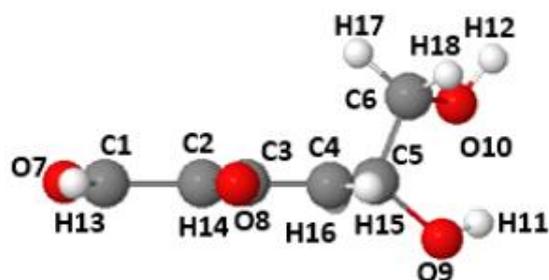


Fig.4-37 H₃O⁺の除去(3,4-DGE)

Table 4-13 H₃O⁺除去した時の 3,4-DGE の電荷

Mulliken atomic charge	
C1	-0.11113
C2	0.183815
C3	-0.2754
C4	0.349323
C5	-0.22322
C6	-0.5483
O7	-0.24791
O8	-0.32037
O9	-0.27016
O10	-0.34472
H11	0.274308
H12	0.295168
H13	0.185879
H14	0.198419
H15	0.239614
H16	0.231118
H17	0.186755
H18	0.196801

4-3-2 熱力学パラメータ

Table 4-14 反応経路上にある各分子の熱力学パラメータ

	S(kcal/mol)	H(hartree)	G(hartree)
3-DG	126.327	-610.764	-610.844
3-DG+O9	123.985	-611.149	-611.226
①TS	134.561	-611.117	-611.201
②	145.509	-611.121	-611.212
③TS	136.047	-611.113	-611.199
④	139.318	-611.128	-611.216
⑤	142.136	-611.131	-611.22
⑥	147.925	-611.131	-611.224
3,4-DGE	117.315	-534.320	-534.394

Table 4-14 は 3-DG から 3,4-DGE へ変化する反応経路にある各分子の熱力学パラメータを計算した。

4-3-3 エネルギーダイアグラム

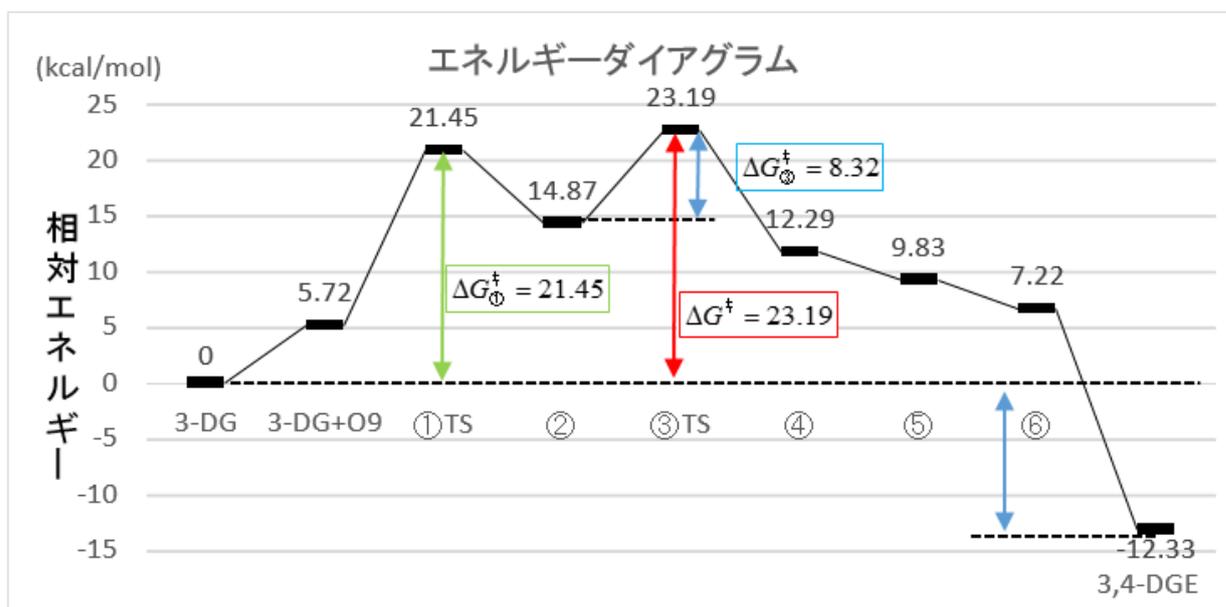


Fig.4-37 反応経路のポテンシャルエネルギー図

Table 4-14 より G についてエネルギーダイアグラムを作成した。3-DG から 3,4-DGE へ至る際の活性化自由エネルギー ΔG^{\ddagger} は 23.19(kcal/mol)であった。また 3-DG から①TS への $\Delta G_{\text{①}}^{\ddagger}$ は 21.45(kcal/mol)、②から③TS への $\Delta G_{\text{②}}^{\ddagger}$ は 1.74(kcal/mol)であった。

さらにこの反応の速度定数を k とすると
 $k = 1.135 \text{ (s}^{-1}\text{)}$
と求められた。

5 考察

5-1 安定構造

3-DG は C107 のカルボニル基と C208 のカルボニル基は trans 型で安定構造であるが、構造的に不利な cis 型も構造最適化の結果極小値を持つため準安定構造であると考えられる。C1 と C2 は sp^2 - sp^2 の単結合で回転可能だが、二つのカルボニル基が同じ平面上にあると安定化するので、C1-C2 の結合には制約が加わると考えられる。これはカルボニル基の π 電子の影響があると考えられる。

3-DG (keto 型) が 3-DA (enol 型) に変化するには C3 から H17 が脱離し、O8 がプロトン化し、C2-O8 の二重結合が C1-C2 に移動することが必要である。

3-DG から 3,4-DGE に変化するには C3 から H17 が脱離し、O9H12 ヒドロキシ基脱離し、C3-C4 に二重結合が形成される必要である。

5-2 3-DG のプロトン化、脱プロトン化時の変化

5-2-1 電荷分布

プロトン化及び脱プロトン化後の電荷を表 5-1 にまとめた。

表 5-1 プロトン化及び脱プロトン化後の電荷 1

	3-DG	3-DG+O7	3-DG+O8	3-DG+O9	3-DG+O10
C1	-0.199547	0.075027	-0.304428	-0.299119	-0.178948
C2	0.461017	-0.108308	0.608835	0.483523	0.455202
C3	-0.441313	0.014869	-0.600196	-0.509495	-0.409110
C4	-0.136716	-0.372860	-0.116828	-0.111905	-0.111049
C5	-0.221809	-0.238166	-0.265362	-0.277232	-0.372696
C6	-0.432050	-0.440329	-0.369694	-0.371159	-0.409165
O7	-0.235064	0.044296	-0.186302	-0.210206	-0.231985
O8	-0.270151	-0.086769	-0.031715	-0.175963	-0.254120
O9	-0.257525	-0.233228	-0.281382	-0.107736	-0.225436
O10	-0.270823	-0.260203	-0.238570	-0.231133	-0.007366
O11	-0.347651	-0.344399	-0.340705	-0.338130	-0.329449
H12	0.294377	0.302645	0.345882	0.429537	0.305549
H13	0.285317	0.289017	0.294477	0.294973	0.370185
H14	0.291862	0.295341	0.295954	0.298860	0.325903
H15	0.190695	0.301747	0.227493	0.212770	0.197244
H16	0.217845	0.284772	0.261148	0.254279	0.196803
H17	0.231131	0.251978	0.314747	0.299201	0.246706
H18	0.220774	0.248562	0.297620	0.324958	0.256010
H19	0.232558	0.238762	0.250831	0.266481	0.341549
H20	0.190998	0.169342	0.180527	0.183087	0.240414
H21	0.196075	0.200904	0.207848	0.214451	0.236447
H22		0.367000	0.449819	0.369959	0.357312

表 5-1 プロトン化及び脱プロトン化後の電荷 2

	3-DG+O11	3-DG-O9H1	3-DG-H17	3-DG-H17+	3,4-DGE
C1	-0.179792	-0.093194	-0.173326	-0.105238	-0.117578
C2	0.456992	0.377732	-0.011729	-0.153458	0.078341
C3	-0.432325	-0.290022	0.445174	-0.039895	-0.108091
C4	-0.151310	-0.570367	-0.790093	0.402052	0.280768
C5	-0.242015	0.423945	0.060354	-0.248650	-0.283569
C6	-0.520038	-0.485809	-0.518882	-0.490824	-0.459494
O7	-0.233968	-0.238606	-0.354617	-0.183017	-0.250322
O8	-0.260037	-0.243636	-0.637472	-0.255955	-0.324378
O9	-0.230939		-0.327914		
O10	-0.300632	0.009088	-0.300840	-0.250741	-0.297355
O11	-0.046844	-0.338047	-0.355499	-0.300676	-0.346082
H12	0.304124		0.295966		
H13	0.344176	0.377715	0.284533	0.257480	0.275377
H14	0.380343	0.335849	0.289845	0.267210	0.297737
H15	0.194230	0.195383	0.127722	0.108486	0.190519
H16	0.191757	0.226309	0.196264	0.215893	0.234406
H17	0.241910	0.232228			
H18	0.261978	0.262951	0.195390	0.224351	0.235813
H19	0.302398		0.199987	0.206395	0.221665
H20	0.266188	0.272345	0.183715	0.161209	0.177440
H21	0.297764	0.267866	0.191421	0.185379	0.194802
H22	0.356042				

全分子の電荷を表にまとめた。空白は分子から引き抜いた原子である。
各分子の電荷と 3-DG の電荷を比較した結果を Fig 5-1 に記す。

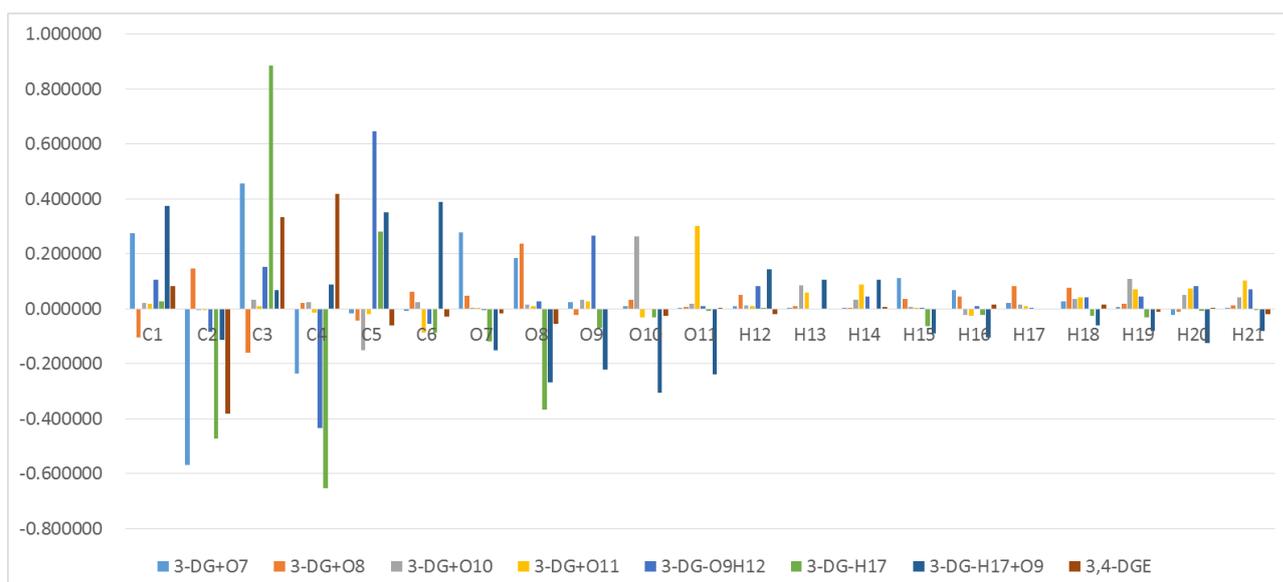


Fig 5-1 プロトン化及び脱プロトン化後の電荷の変化

3-DG の電荷との差が正になると正電荷を帯び、差が負になると負電荷を

帯びる。どの分子も水素原子の電荷はあまり変化しない。よって炭素と酸素上の電荷だけに注目する(Fig 5-2)。

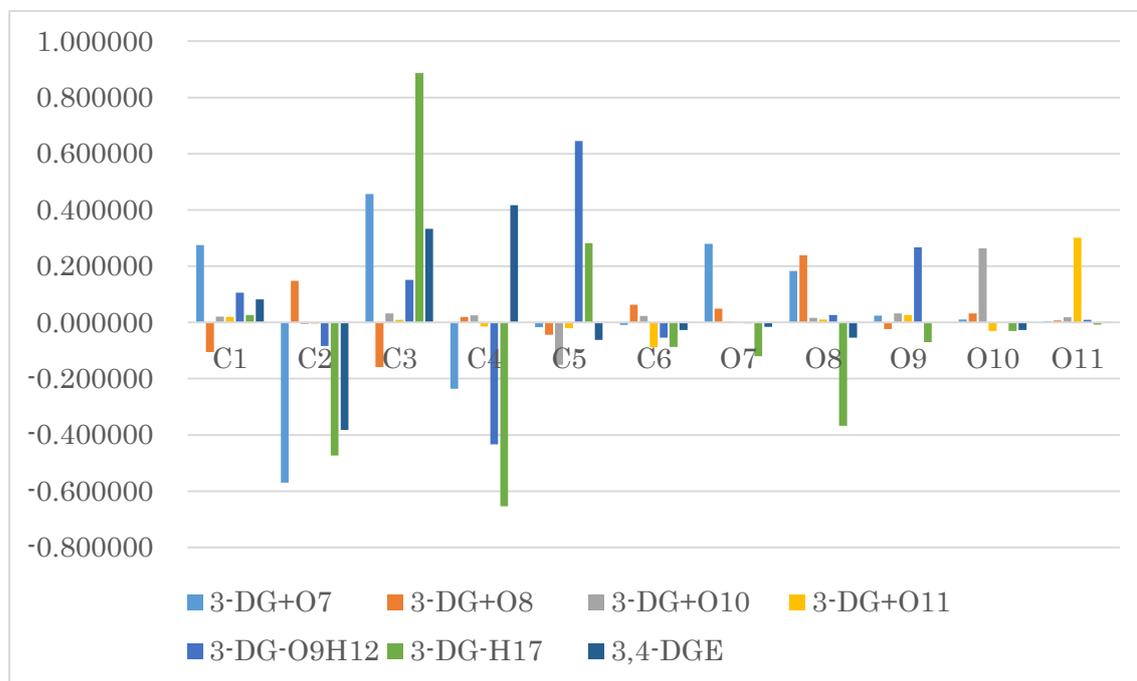


Fig 5-2 プロトン化及び脱プロトン化後の電荷の変化(炭素,酸素)

3-DG の O7 をプロトン化すると O7 の正電荷が増える。それを受けて C1 の正電荷が増え、 sp^3 混成軌道を形成する。C1-O7 のカルボニル基がヒドロキシ基となるためカルボニル基の π 電子が C2 に移動するため、C2 の電荷は負に傾く。O7 のプロトン化により、C1 が sp^3 混成軌道をとることで、C1-C2 にあった π 電子が移動し C2 の電荷を負に傾くと考えられる。これは C2-O8 のカルボニル基の性質を弱らせ、O8 の電荷は正に傾き、C3 の電荷は負に傾く。そして隣接する C4 にも影響を与え、電荷が負に傾く。C3 の電荷が負に傾くので、脱プロトン化が困難になる。また C4 の電荷が正に傾くのでヒドロキシ基の脱離も困難になる(Fig 5-3)。

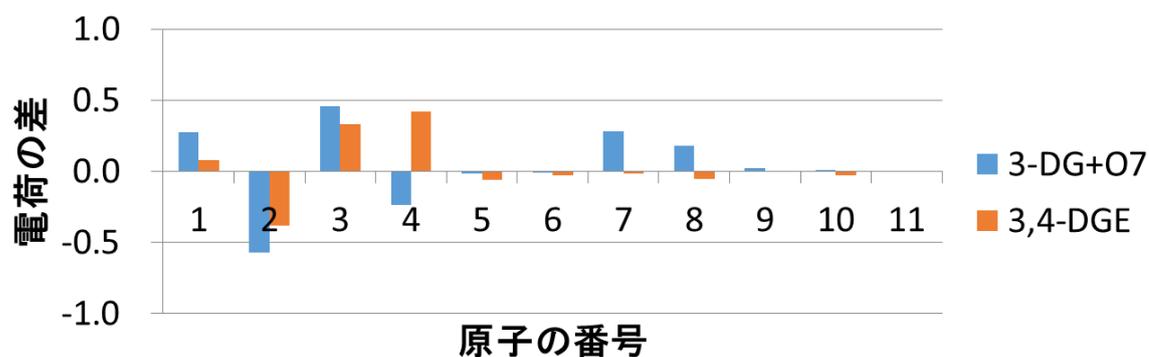


Fig 5-3 3-DG と 3-DG+O7 の電荷の差

3-DG の O8 をプロトン化すると O8 の正電荷が増え、C2 の電荷も正に傾く。二つのカルボニル基は影響しあうので C2-O8 のカルボニル基の二重結合から π 電子が C1 に移動する。しかし、各原子の電荷の変化が起こらないので、3-DG+O7 は 3,4-DGE の生成に関与しない(Fig 5-4)。

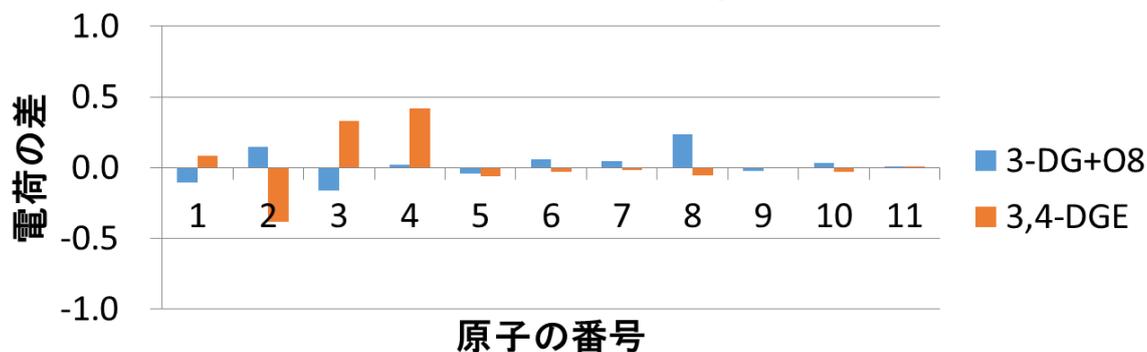


Fig 5-4 3-DG と 3-DG+O8 の電荷の差

3-DG の O9 をプロトン化するとヒドロキシ基が良い脱離基である水へと変化する。この水が脱離すると 3,4-DGE となり反応に関与すると考えられる(Fig 5-5)。

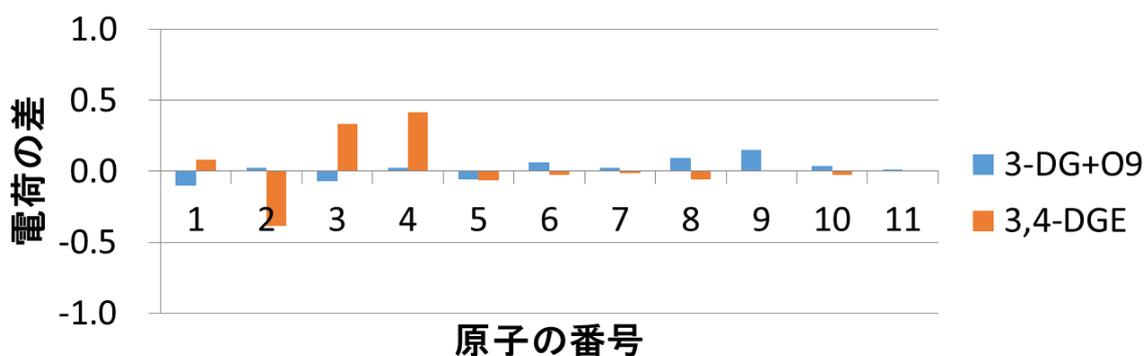


Fig 5-5 3-DG と 3-DG+O9 の電荷の差

3-DG の O10 をプロトン化すると O10 の正電荷が増え、C5 の電荷も正に傾く。しかし他の原子の電荷に変化が見られないので、3-DG+O10 は 3,4-DGE の生成に関与しない(Fig 5-6)。



Fig 5-6 3-DG と 3-DG+O10 の電荷の差

3-DG の O11 をプロトン化すると O11 の正電荷が増え、C6 の電荷も正に傾く。しかし他の原子の電荷に変化が見られないので、3-DG+O11 は 3,4-DGE の生成に関与しない(Fig 5-7)。

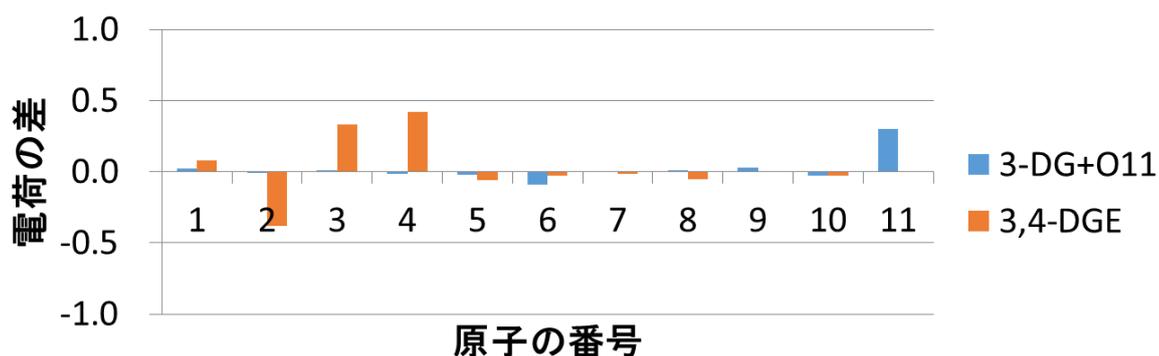


Fig 5-7 3-DG と 3-DG+O11 の電荷の差

3-DG から O9H12 ヒドロキシ基を脱離させると C5 から C4 へプロトンの移動し、カルボカチオンが移動する。よって C4 の電荷は負に傾き、C5 の電荷が正に傾く。C5 の正電荷がカルボニル基と同じ働きをすると考えられるので、C4 は負、C3 は正、C2 が負になり、正電荷と負電荷が交互に並ぶ。しかし、カルボカチオンが C5 移動するため C3-C4 の結合には関与しない。O9H12 ヒドロキシ基の脱離は 3,4-DGE の生成に直接関与しない(Fig 5-8)。



Fig 5-8 3-DG と 3-DG-O9H12 の電荷の差

5-2-2 3-DG から 3-DA への keto-enol 変換

3-DG の C3 から H17 が脱プロトン化すると C3 は平面構造をとる (Fig5-10)。C3 が正電荷を帯びていることと結合長の結果を組み合わせると、C3 は sp^2 混成軌道をとっていると考えられる (Fig 5-9)。C3 から脱プロトンするとカルボアニオンが生じるが、O8 と O9 に電子が引き寄せられるため C3 は正電荷を帯びると考えられる。さらに平面構造のため H12 が O8 に近づき水素結合を形成することでより安定化すると考えられる (Fig 5-11)。

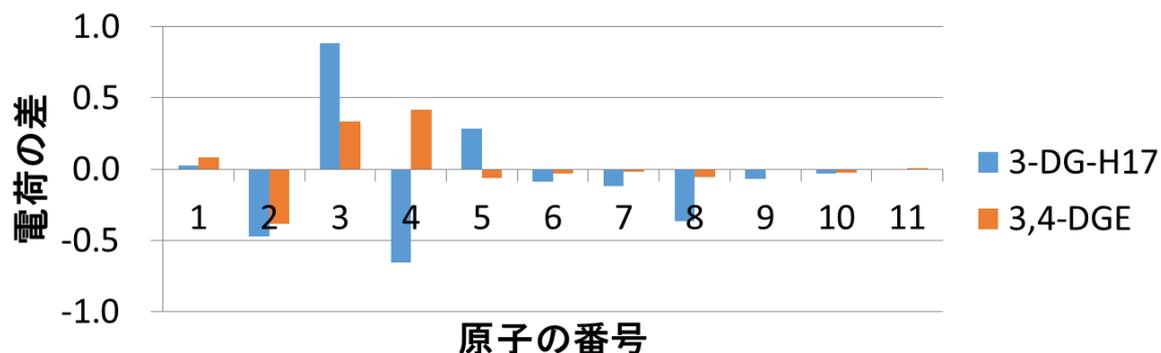


Fig 5-9 3-DG と 3-DG-H17 の電荷の差

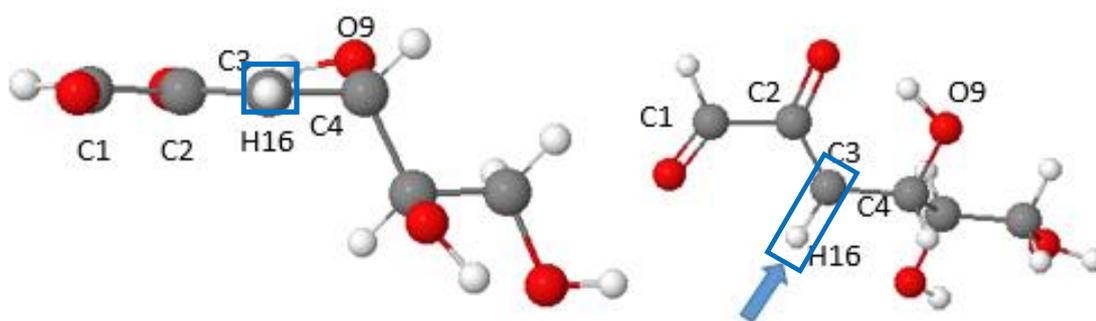


Fig 5-10 3-DG-H17 における C3 の平面構造

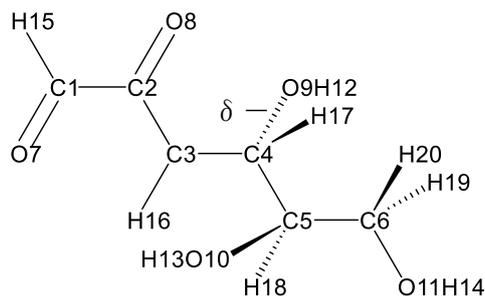


Fig 5-11 3-DG-H17 の電荷分布

3-DA へ変化する経路は O8 が C3 から電子を引き寄せ、電子が C2-C8 カルボニル基の二重結合によって非局在化するので O8 の負電荷がより強くなっている。よって溶液中のプロトンを強く引き寄せるので 3-DA と 3-DG の keto-enol 変換が起こると考えられる。keto-enol の変化は可逆的に反応するため C3 からの脱プロトン化は容易に起こると考えられる。

5-2-3 3-DG から 3,4-DGE への脱水経路

3-DG-H17 から O9 をプロトン化し計算を行うと、水と 3,4-DGE に分離している結果が得られた。



Fig 5-12 3-DG と 3-DG-H17+O9 の電荷の差

計算結果で得られた 3,4-DGE と前述で 3,4-DGE を構造最適化した結果を比較すると Fig 5-12 のように電荷の差は同じ傾向にあった。よって 3,4-DGE が生成されたと考えられる。

C3-C4 に二重結合を作るには H17 と O9H12 ヒドロキシ基が脱離する必要がある。H17 の脱プロトンは上に記した。O9H12 ヒドロキシ基の脱離はカルボカチオンの移動により C3-C4 に二重結合を作らない。

3-DG-H17 は O9 も C3 の電子を引き寄せるが C2O8 のカルボニル基の様に二

重結合を有していない。そのため電子が O9 には至らず C4 の負電荷が強くなる。このために O9H12 ヒドロキシ基が脱離しやすくなる。加えて、O9-H12 ヒドロキシ基がプロトン化されてよい脱離基である水になり、脱離が容易になる。

3-DG から 3-DA へ変化する経路と 3-DG から 3,4-DGE へ変化する反応はどちらも 3-DG-H17 を経由する。この二つの反応経路はプロトン化する位置が異なり、Fig5-5 はプロトンが O8 に近づくと 3-DA へ変化する様子を示し、Fig5-6 はプロトンが O9 に近づき、水を形成する様子を示している。

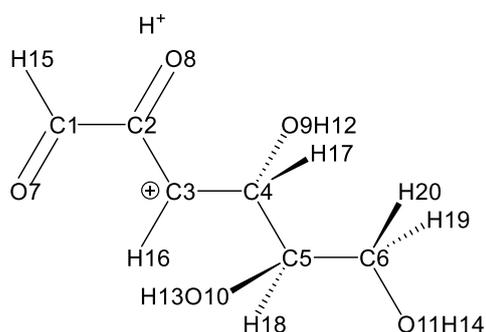


Fig 5-5 3-DG-H17 の O8 プロトン化

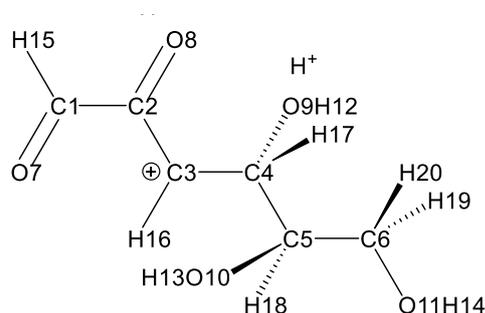


Fig 5-6 3-DG-H17 の O9 プロトン化

また、3-DA の C3 に結合しているヒドロキシ基から脱プロトンがおこると、3-DG-H17 の構造と一致する。よって 3-DG と 3-DA は両者とも 3,4-DGE に変化すると考えられる。

5-3 熱力学パラメータ

3-DA を基準にして他の分子との間で ΔG を求めると、 ΔG が一番小さくなるのは 3,4-DGE+水である。 ΔG だけで判断すると 3,4-DGE+水が多く生成される。これは文献③より透析液中では 3-DG が最も多く存在しているという報告と異なっている。

上記の通り 3-DG-H17 は 3-DA に変化する経路と 3,4-DGE へ変化する経路がある。

3,4-DGE へ変化する経路は C4 が sp^2 混成軌道をとらなければいけない。そのとき C3-C4 に二重結合を作成するには π 軌道の重なりが必要である。そのため、C4 が回転して反応が進むが、C4 には O9H12 ヒドロキシ基が結合しているため回転しにくいと考えられる。これを解消するためには O9 がプロトン化され水として脱

離する必要がある。そのため 3,4-DGE に変化する経路は活性化自由エネルギーが高いことが考えられる。

3-DA へ変化する経路は 3-DG-H17 が生成されると O8-C2-C3 で電子が非局在化する。そのため平面構造になり、二重結合を形成するために炭素が回転する必要がない。よって活性化自由エネルギーが低いと考えられる(Fig 5-6)。

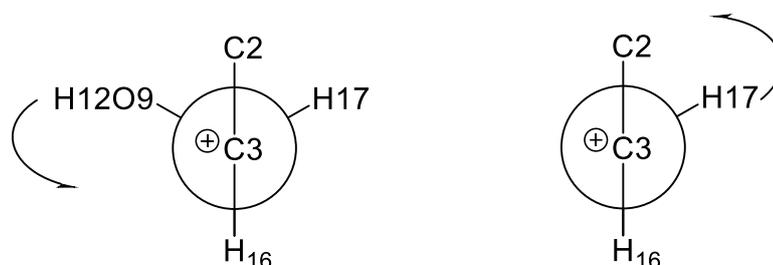


Fig 5-7 二重結合形成のための回転

また、3-DG と 3,4-DGE 以外の影響は無視しており、3,4-DGE がさらに分解し、5-HMF が生成するような反応は含まれていない。この分解反応が 3,4-DGE の生成速度より早く分解すると 3,4-DGE の生産量が減少する。

ここまではすべて OCF-glucose を模型としてすべて直鎖型で計算を行った。しかし、glucose は環状構造をもつので、3-DG にも環状構造があると考えられる^[8]。3-DG の直鎖型構造が環状構造よりもエネルギーが高ければ、glucose と同様に環状構造をとり、反応性が低くなり、3,4-DGE の産生量が減る可能性がある。

5-4 遷移状態

5-4-1 IRC 計算

①TS から計算された 3-DG+O9_IRC(Fig.4-38)について、結合距離より C3-C4 がどの混成軌道が結合しているかを予測すると、 $sp^3-sp^2(1.52 \text{ \AA})$ の結合と考えられる。また、C2-C3-C4 が同一平面上にあり、O9-C4-C3 の結合角は 98.7° であるので、C4 が sp^2 混成軌道をとっていると解釈できる。よって IRC 計算を行ったものは完全に 3-DG+O9 には戻っていない。しかしこれは 3-DG+O9 の脱水において、C4 の回転とともに水が脱離する過程で同様の構造をとるので遷移状態①TS は妥当な結果であるといえる。

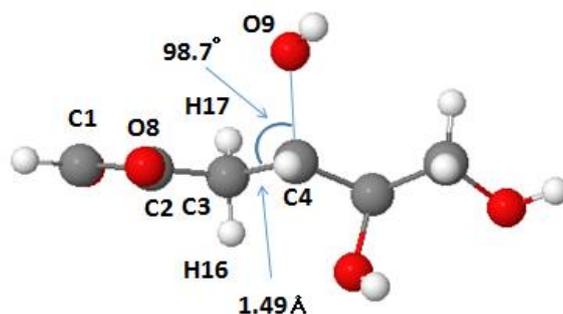


Fig.4-38 3-DG+O9_IRC

また、②_IRC(Fig.4-39)に関しては、結合距離より C3-C4 は sp^2 - sp^2 (1.46 Å) の結合と考えられる。また、C2-C3-C4 が同一平面上にあり O9-C3-C4 の結合角は 98.8° になっているため、C3 と C4 が sp^2 混成軌道をとっていると解釈できる。しかし、この構造はプロトンが引き抜かれる過程で同様の構造をとるので、遷移状態①TS は妥当な結果であるといえる

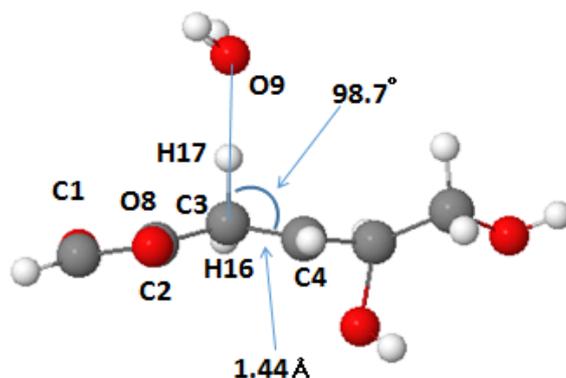


Fig.4-39 ②_IRC

5-4-2 反応機構

酸性条件下では O9 以外の酸素原子にもプロトンはつくが、3,4-DGE への反応には影響を及ぼさない。一方、O9 がプロトン化するとよい脱離基である水が形成され、その水が脱離することで C4 が正電荷を帯びる。このとき O10 が C4 に近づき、C4-C5-O10 で三員環を形成する。これにより C4 の正電荷は非局在化するのでこの中間体は安定化すると考えられる(Fig.4-32)。

水の脱離は C4 の回転を伴うので、炭素鎖を C3→C4 の方向から見て 9 時の方向へ 90° の角度で脱離していた(Fig.5-8)。

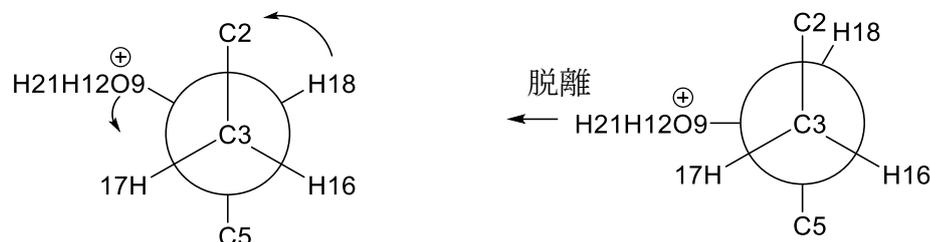


Fig 5-8 水の脱離方向

水の脱離する向きが H17 と同じ方向であるので、H17 の引き抜きを行うことができると考えられる(Fig.4-34)。

O10-H13 は回転できるため、O11-H14 に水素結合を作るのは容易であると考えられる(Fig.4-35)。

最後に H_3O^+ を除去した生成物の構造を最適化すると、上で計算した 3,4-DGE と同様の電荷分布を持っている。よって計算でえられた生成物は 3,4-DGE であるといえる(Table 4-3 , Table 4-13)。

5-4-3 エネルギーダイアグラム

4-3-3 で 3-DG と 3,4-DGE の ΔG を計算したところ、3-DG より 3,4-DGE のほうがエネルギー的に安定しているという結果が出た。また、遷移状態の構造を計算すると $\Delta G^\ddagger = 23.19(\text{kcal/mol})$ という結果がえられた(Fig.4-37)。さらにこの反応の速度定数 k は $k = 1.135 (\text{s}^{-1})$ と求められた。

6 結論

本研究より以下のことが導き出せた。

- ① 3-DG,3-DA,3,4-DGE の安定構造が計算できた
- ② 3-DG から 3,4-DGE へ変化するには H17 の引き抜きが重要だとわかった
- ③ 3-DG-H17 の O9 をプロトン化すると
3,4-DGE と水に分解する様子が観察された
- ④ 3-DG が脱水し、3,4-DGE を産生する反応機構がわかった

7 今後の展望

- 3-DG, 3-DA, 3,4-DGE 以外の GDPs の計算

今回は3つの GDPs に注目して計算したが、分解経路の上流、下流の GDPs も計算を行い、それぞれ比較して GDPs 間の反応性を観察する。

- 滅菌法の提案

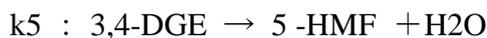
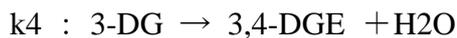
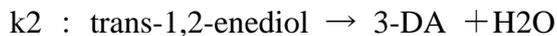
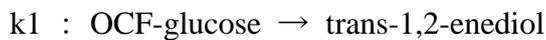
GDPs の反応機構を解明し、より GDPs の産生が少ない滅菌方法を提案することが目標である。

- 3,4-DGE の細胞傷害性の解明

3,4-DGE が強い細胞傷害性をもつ理由を計算機シミュレーションで予測する。

- 反応速度

市販の腹膜透析液において3-DG の濃度が3,4-DGE の濃度よりも高いことを反応速度の面から考えると、3,4-DGE が生成される反応が律速段階だととらえることができる。OCF-glucose が分解し、5-HMF を産生するまでの反応においてそれぞれの速度定数を以下の様に置く。



ここで速度定数 $k4$ が一番小さい値となると、この反応が律速段階であるといえる。よって3-DG と3,4-DGE の濃度の違いを説明するには5つの速度定数すべてを求め、比較する必要があると考えられる。

8 参考文献

- 1 テルモ株式会社 ミッドペリック 250 腹膜透析液 添付文書 2011 年 8 月改訂
- 2 医療用品の滅菌方法/滅菌バリデーション 滅菌保証日本規格協会
- 3 Monika Pischetsrieder, CHEMISTRY OF GLUCOSE AND BIOCHEMICAL PATHWAYS. *Peritoneal Dialysis International*, 2000; May 23–26
- 4 Thomas Zimmeck, et al. HOW TO REDUCE 3-DEOXYGLUCOSONE AND ACETALDEHYDE IN PERITONEAL DIALYSIS FLUIDS. *Peritoneal Dialysis International* 2002;
- 5 山本 忠司, 他. 中性化腹膜透析液のグルコース分解物濃度について. 透析会誌 2004;
- 6 Stefan Mittelmaier, et al. 3-Deoxygalactosone, a new glucose degradation product in peritoneal dialysis fluids: Identification, quantification by HPLC/DAD/MSMS and its pathway of formation *Anal Bioanal Chem* 2011;
- 7 Owen R. Fennema , Food Chemistry, Third Edition. *CRC Press* 1996
- 8 Martin Erixon, et al. TAKE CARE IN HOW YOU STORE YOUR PD FLUIDS: ACTUAL TEMPERATURE DETERMINES THE BALANCE BETWEEN REACTIVE AND NON-REACTIVE GDPs *Peritoneal Dialysis International* 2005;
- 9 MORGAN, HORIUCHI, et al. Glucose degradation products (GDP) retard remesothelialization independently of d-glucose concentration *Kidney International*, 2003
- 10 M. J. Frisch, G. W. Trucks, H. B. Schlegel, G. E. Scuseria, M. A. Robb, J. R. Cheeseman, G. Scalmani, V. Barone, B. Mennucci, G. A. Petersson, H. Nakatsuji, M. Caricato, X. Li, H. P. Hratchian, A. F. Izmaylov, J. Bloino, G. Zheng, J. L. Sonnenberg, M. Hada, M. Ehara, K. Toyota, R. Fukuda, J. Hasegawa, M. Ishida, T. Nakajima, Y. Honda, O. Kitao, H. Nakai, T. Vreven, J. A. Montgomery, Jr., J. E. Peralta, F. Ogliaro, M. Bearpark, J. J. Heyd, E. Brothers, K. N. Kudin, V. N. Staroverov, T. Keith, R. Kobayashi, J. Normand, K. Raghavachari, A. Rendell, J. C. Burant, S. S. Iyengar, J. Tomasi, M. Cossi, N. Rega, J. M. Millam, M. Klene, J. E. Knox, J. B. Cross, V. Bakken, C. Adamo, J. Jaramillo, R. Gomperts, R. E. Stratmann, O. Yazyev, A. J. Austin, R. Cammi, C. Pomelli, J. W. Ochterski, R. L. Martin, K. Morokuma, V. G. Zakrzewski, G. A. Voth, P. Salvador, J. J. Dannenberg, S. Dapprich, A. D. Daniels, O. Farkas, J. B. Foresman, J. V. Ortiz, J. Cioslowski, and D. J. Fox, Gaussian 09 (Revision B.01), Gaussian, Inc., Wallingford CT, 2010.
- 11 JOHN A. POPL, DAVID L. BEVERIDGE Approximate Molecular Orbital Theory *McGRAW-HILL* 1970

- 12 Rainer Himmele, et al. A NEW NEUTRAL-pH LOW-GDP PERITONEAL DIALYSIS FLUID. *Peritoneal Dialysis International* 2011;
- 13 Foresman, et al. 電子構造論による化学の探求 第二版 ガウシアン社 1998
- 14 平尾 公彦, 他. すぐできる量子化学計算ビギナーズマニュアル. 講談社サイエンスティフィク 2006
- 15 和佐田(筒井) 祐子, 和佐田 裕昭 分子軌道法計算プログラム Gaussian03 – その1– 名古屋大学情報基盤センターニュース Vol.5 No.2
- 16 和佐田(筒井) 祐子, 和佐田 裕昭 分子軌道法計算プログラム Gaussian03 – その2– 名古屋大学情報基盤センターニュース Vol.5 No.3
- 17 和佐田(筒井) 祐子, 和佐田 裕昭 分子軌道法計算プログラム Gaussian03 – その3– 名古屋大学情報基盤センターニュース Vol.5 No.4
- 18 和佐田(筒井) 祐子, 和佐田 裕昭 分子軌道法計算プログラム Gaussian03 – その4– 名古屋大学情報基盤センターニュース Vol.6 No.1
- 19 和佐田(筒井) 祐子, 和佐田 裕昭 分子軌道法計算プログラム Gaussian03 – その5– 名古屋大学情報基盤センターニュース Vol.6 No.2
- 20 和佐田(筒井) 祐子, 和佐田 裕昭 分子軌道法計算プログラム Gaussian03 – その6– 名古屋大学情報基盤センターニュース Vol.6 No.3
- 21 和佐田(筒井) 祐子, 和佐田 裕昭 分子軌道法計算プログラム Gaussian03 – その7– 名古屋大学情報基盤センターニュース Vol.6 No.4
- 22 和佐田(筒井) 祐子, 和佐田 裕昭 分子軌道法計算プログラム Gaussian03 – その8– 名古屋大学情報基盤センターニュース Vol.7 No.1
- 23 和佐田(筒井) 祐子, 和佐田 裕昭 分子軌道法計算プログラム Gaussian03 – その9– 名古屋大学情報基盤センターニュース Vol.7 No.2
- 24 和佐田(筒井) 祐子, 和佐田 裕昭 分子軌道法計算プログラム Gaussian03 – その10– 名古屋大学情報基盤センターニュース Vol.7 No.3
- 25 E・A・ドーズ 生物物理学 I. 共立出版株式会社 2005
- 26 山内 淳 新・物質科学ライブラリ 3 基礎物理化学 II-物質のエネルギー論-. サイエンス社 2004
- 27 Gaussian. “Official Gaussian Website”. 2006. <http://www.gaussian.com/>、参照 (2016-3-1)
- 28 HPC システムズ株式会社. “Gaussian 日本語マニュアル”. 2006 http://www.hpc.co.jp/gaussian_help.html. 参照 (2006-3-1)

9 謝辞

本研究を行うにあたり、研究及び研究生活全般において、適切かつ懇切なご指導を賜り、公私において非常にお世話になりました三重大学工学部分子素材工学科生体材料化学研究室の堀内 孝教授、宮本 啓一准教授、事務員の村上 節子様には深く感謝致します。

また本研究を行う上で必要な計算ソフトやその使用法をご指導くださった三重大学工学部分子素材工学科計算化学研究室の三谷 昌輝准教授には深く感謝致します。

そして、研究室の先輩として熱心に研究に取り組む姿を示し、数多くの助言をして下さった水谷 直紀先輩や大友 佳子先輩、加藤 真司先輩、熊澤 雄基先輩、佐々木 剛先輩、野口 寛之先輩、堀井 貴司先輩、山本 光則先輩には深く感謝を致します。

最後に、研究室に配属されてから実験や研究室生活において私を指導し 成長させてくれた東 洋先輩を始め、同じ研究テーマに取り組み日々共に研究に勤しんだ同期の 阿部 功児君、原 拓也君、また後輩である清水 佑典君、叢 秀娜さん、西町 早織さん、西川 真生さん、伊藤 正也君には感謝の意が絶えません。心より深く感謝致します。

また同期の 神谷 歩君、境 淳志君、田野 裕美さん、塚本 真子さん、中村 雅広君、丹羽 一喜のおかげで毎日研究室生活を楽しく過ごすことが出来ました。

多くは過ごせませんでしたでしたが後輩の皆様にお礼申し上げます。

三重大学大学院卒業まで休学も含め長く過ごしましたが、勉強以外でも多くのことに目を向けられ、自分の中に掛け替えのない時間でした。

今後の生体材料化学研究室の発展を祈っています。