

分担研究報告書
厚生労働科学研究費補助金
医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業
「革新的医療機器開発を加速する規制環境整備に関する研究」

分担研究課題名
分子シミュレーションを用いた材料表面水和状態の検討

研究分担者	植松美幸	国立医薬品食品衛生研究所	医療機器部
研究協力者	藪島由二	国立医薬品食品衛生研究所	医療機器部
研究協力者	中岡竜介	国立医薬品食品衛生研究所	医療機器部
研究協力者	瀬川勝智	国立医薬品食品衛生研究所	医薬安全科学部
研究協力者	中野達也	国立医薬品食品衛生研究所	医薬安全科学部

研究要旨

本年度は、中間水が存在する材料のひとつとされるPoly(2-methoxyethyl acrylate)を対象とし、材料表面近傍における水の存在について、分子動力的シミュレーションの結果から検討した。前年度のNMR解析、水の吸着エネルギーを考慮したシミュレーション結果から、メキシ基の酸素原子の近くに存在する水が中間水である可能性が示唆されている。今回のシミュレーション結果から、メキシ基周りの水の距離に応じた個数とその水の拡散係数を算出することで、中間水の動きやすさの数値化を試みた。50重合体のPoly(2-methoxyethyl acrylate)に対して100個の水を配置させ、セル内のエネルギーが安定した状態の400フレーム分の解析を行ったが、中間水とバルク水との差異を示す値を得られなかった。また、フレーム間の解析では、メキシ基周辺にとどまる水が存在するが、バルク水と交換していくように観測された。これがシミュレーションで見ることのできる中間水ではないかと考えられた。

A. 研究目的

平成 22 年度より、生体適合性評価の結果を迅速に得る上での補完的役割として、指標の一部にシミュレーションを組み込むことを想定した研究を行ってきた。高分子をコンピュータ上で構築し厳密な計算を行うことは、現在の技術では難しいため、モノマー・オリゴマー単位での計算に情報を削減するが、これから現実世界を予測できればと考えている。そこで示し得ることと、難しいこととの境界を探りたいと考えている。

そのモチベーションとして、体内に埋込む医療機器は生体への高い適合性が求められることが背景にある。新規材料に対して、長期的な埋込みによる生体適合性の評価をすることを考えると、実際の応用までに時間を要す

るが、材料開発段階でその予測ができれば、材料をより迅速に患者へ普及させることができると考える。その評価指標のひとつとして、本研究ではコンピュータシミュレーションによる評価指標の開発に取り組んできた^{[1]-[3]}。

高分子中の水は大きくわけて不凍水、中間水、自由水の 3 種類ある^[4]。これまで進めてきた中で一貫して採用してきた仮定は、新規材料を構築する上で、シミュレーションによる中間水の存在の確認を、血液適合性評価のひとつのツールにするということである。そのために、中間水はどのようにシミュレーション上で表現するのかについて論じてきた。これは、生体/材料界面における水分子の構造が生体適合性に大きな役割を果たすという考えに基づく。田中らのグループによって実験

的に中間水の存在することが確認されている材料は血液適合性がよいものであることが示されている^[5]。また、生体/材料界面における水分子の構造については、他にも実験によって確認されている^{[6]-[8]}。中間水の材料開発後に多くの試験を求められるのではなく、材料開発中に試行錯誤する上での参考としても役立つと考えている。

研究の目的は医用高分子表面近傍の水和状態に着目し、分子動力的シミュレーションによって中間水の存在可能性を示すことである。これまで創薬用のシミュレーションソフトウェアである Discovery Studio (Accelrys 社) を用いたシミュレーションから始め^[1-2]、平成 24 年度には材料シミュレーション用に特化した Materials Studio (Accelrys 社) に変更し、水分子の吸着エネルギーや拡散係数、動径分布関数などによる解析手法を検討してきた。また、実験値として NMR での解析を行った。これにより、PMEA: Poly(2-methoxyethyl acrylate) 中に中間水の存在がありそうであると予測され、その位置がメトキシ基周辺であると考えられた^[3]。

本年度の目的は、PMEA 中に存在する高分子の位置と動きを数値化することである。そこで、Pipeline Pilot によるプロトコルと Perl を用いた自作プログラムによって結果の解析を行い、中間水とバルク水の数値による分類を試みた。

B. 方法

1. 使用したシステム

Materials Studio (Accelrys 社) の下記モジュール群を用いて行った。

- Visualizer: 立体構造の表示
- Comformers: 最適構造の探索
- Compass: 力場計算
- Forcite Plus: 分子動力学計算
- Adsorption Locator: 吸着エネルギー計算

2. 初期構造の決定と分子動力学計算

現実世界で存在する構造の状態を見ることは難しいが、計算上安定的な構造を与えるために Conformers を用いた構造決定を行った。

力場は COMPASS を用いた。

- 1) 3D Atomistic Document 上でモノメリックな構造を作成し、Repeat Unit 設定のために Head と Tail を指定する。Conformers Calculation を利用し、構造の探索を行い、エネルギーが最小となる構造を monomer として登録する。(図 1: MEA のモノメリックな構造。(a) 分子構造式、(b) エネルギー最小となる構造)
- 2) Build Polymers の Homopolymer を利用し、登録した monomer をもとに isotactic と syndiotactic の 50 量体の構造を作成する。これを Conformer にて構造探索を行い、エネルギーが最小となる構造を初期構造とする(図 2: isotactic、図 3: syndiotactic。(a) は一部を拡大した図、(b) は全体を示した図)
- 3) Amorphous Cell を用いて、周期性をもつ Cell 構造を作成する。重合数は 50 の PMEA に対して、100 個の水分子を与えた Cell 構造を作成する。密度が $1.22\text{g}/\text{cm}^3$ に対して、1 辺 23.06 となった(図 4)
- 4) Forcite Plus を用いて、Annealing を 300K から 500K で 5 サイクル行い、Dynamics を行った。ここで Dynamics は NVT で 50,000 ステップ (50ps) NVE で 100,000 ステップ (100ps) 行った。

上記 1-4 の流れで isotactic、syndiotactic とともに 5 サンプルずつ試行した。

3. シミュレーション結果の解析

以下の解析は Materials Studio に付属する Pipeline Pilot を介して、MaterialsScript API を利用し、自作の Perl のプログラムを併用しながら行った。

(1) メトキシ基周りの水の個数

メトキシ基周りに中間水が存在するという仮定のもと、メトキシ基の酸素原子から 1 ごとの距離に応じて存在する水の個数を算出した(図 5: Pipeline Pilot でのプロトコル)。

(2) メトキシ基からの距離に応じた水の動き 1 番目のフレームを取り出し、メトキシ基

の酸素原子からの距離に応じて、1 ごとに範囲を設定し、その中に入る水分子について、メトキシ基に対する水の相対速度を算出した (図 6: Pipeline Pilot でのプロトコル)。

また、各フレームの結果で得られた原子の位置を静止画として取込み、間をつなぐことで動画としても見ることができる。これにより、視覚的にメトキシ基の酸素原子周りの水の振る舞いを観察した。

C. 実験結果と考察

(1) メトキシ基周りの水の個数と立体規則性による違い

結果を図 7 に示す。横軸はメトキシ基の酸素原子からの距離を 4 以下、4-5、5-6、6-7、7-8 での領域分けしたものであり、縦軸はその領域に存在する水分子の個数である。(a) は isotactic の結果、(b) は syndiotactic の結果である。いずれも 5 回の試行で似通った結果もあれば、異なる結果もあった。平均した結果での比較を行うにはサンプル数が十分でないと考え、isotactic のときの水分子の数よりも syndiotactic のときの水分子の数の方が相対的に多いと見受けられる。

この差は図 2 で見られたように isotactic の場合は側鎖が片側に偏って存在しているが、syndiotactic の場合は側鎖がほぼ 180° の向きに交互に存在していることから、メトキシ基も Cell 内でより広がって存在していることによると考えられる。Cell 内に水分子との距離を計測したときに近くに存在する数が多かったということと思われた。

一方で、水分子の平均 2 乗距離変位が時間に対して線形となっている部分を取り出し、Cell 内全体の水分子についての拡散係数を計算し、5 試行数分で平均してみると、isotactic が 6.7×10^{-6} [cm²/s]、syndiotactic が 6.8×10^{-6} [cm²/s] となった。ただし、取り出す時間幅などによっても結果が異なることに注意が必要である。より多くの試行数で傾向を見ていく必要があると思うが、現在の結果を見ると、水分子全体の動きとしては isotactic と

syndiotactic に大きな差異はないと思われる。中間水の振る舞いということ considering 上で、中間水的な振る舞いをする水がバルク水的な振る舞いをする水に埋もれてしまうためである。したがって、立体規則性の違いをこのシミュレーションの結果から導くのは難しそうである。

(2) メトキシ基からの距離に応じた水の動き
100ps のデータに対して解析をしたところ、近い距離にあっても、離れた距離にあっても水分子の平均的な速度に違いはなかった。

今回、解析前には中間水というのはメトキシ基に対してほぼ固定で大きく外れることなくとどまり続ける水であると考えていた。そのため、酸素原子間の同程度距離関係ある水分子は同じように振る舞うと考え、メトキシ基側の酸素原子からの 1 毎に区切られた範囲での水分子全体をひとまとまりで考えるアルゴリズムを用いた。

しかしながら、動画で見ると、水がメトキシ基の近くに存在しているのを確認することができる (図 8(a))。とはいえ、この水が中間水と思われる水であるとして、他のバルク水とは異なる動きをしているとは今回の解析結果から示すことができない。また、この水についても、必ずしも同じ場所にとどまっているわけではなく、時間経過に伴う動きでメトキシ基との位置も変わっていくようであった (図 8(b))。官能基に対する水のつながりが緩やかである中間水はその表面近くに存在するものの、ついたり、離れたりするものであり、その振る舞いを数値として示すには今回のアルゴリズムでは十分といえなかった。

(3) アルゴリズム改正案

<メトキシ基からの範囲設定>

Trajectory を解析する上で、今回は最初のフレームでメトキシ基の酸素原子からの距離に応じた範囲を設定し、全フレームにおいて使用した。しかしながら、オリゴマーに動きがあり、水分子にも動きがあるため、その初期位置の設定には改良を要する。改良案では、解析する全フレームに対して、メトキシ基、

水それぞれの酸素原子の平均値を計算し、その位置を基準として各原子間の距離を算出するものとした。

<メトキシ基に対する水の捕捉時間の考慮>

メトキシ基に対して水が同じ位置にとどまっているとは限らず、離れていくことも考慮する必要がある。中間水らしい水というものがどれぐらいの時間 (t_s のオーダーとなる) メトキシ基周りに捕捉されており、それがどれぐらいの相対速度であるのかを計算する方がよいのではないかと考えている。

D. 結論

医用高分子表面近傍の水和状態に着目し、分子動学的シミュレーションを行った。

PMEA を対象とし、これまでの実験、シミュレーションによって予測されたメトキシ基の酸素原子近傍の水分子の振る舞いについて、解析した。中間水、バルク水の数値化のために、自作のプログラムにより距離に応じた平均移動変位、拡散係数を算出したが、中間水とバルク水との差異を示すには十分な解析でなかった。

中間水の振る舞いを捉えるために、全フレームの統計的な解析ではなく、官能基に捕捉された時間を見ていくことも考えていきたい。

E. 参考文献

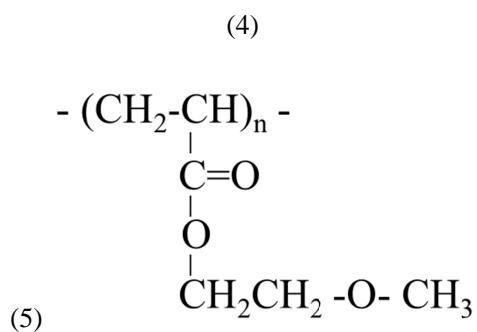
- (1) 植松美幸, 中野達也: 材料/細胞・組織界面特性に着目した医用材料の新規評価方法の開発に関する研究 分子シミュレーションを用いた材料表面水和状態の検討, 材料/細胞・組織界面特性に着目した医用材料の新規評価方法の開発に関する研究 平成 22 年度 総括・分担研究報告書 95-103 2011 年
- (2) 植松美幸, 薮島由二, 中岡竜介, 瀬川勝智, 中野達也: 材料/細胞・組織界面特性に着目した医用材料の新規評価方法の開発に関する研究 分子シミュレーションを用いた材料表面水和状態の検討, 材料/細胞・組織界面特性に着目した医用材料の新規評価方法の開発に関する研究 平成 23 年度 総括・分担研究報告書 103-110 2012 年
- (3) 植松美幸, 薮島由二, 中岡竜介, 瀬川勝智, 中野達也: 材料/細胞・組織界面特性に着目した医用材料の新規評価方法の開発に関する研究 分子シミュレーションを用いた材料表面水和状態の検討, 材料/

細胞・組織界面特性に着目した医用材料の新規評価方法の開発に関する研究 平成 24 年度 総括・分担研究報告書 151-168 2013 年

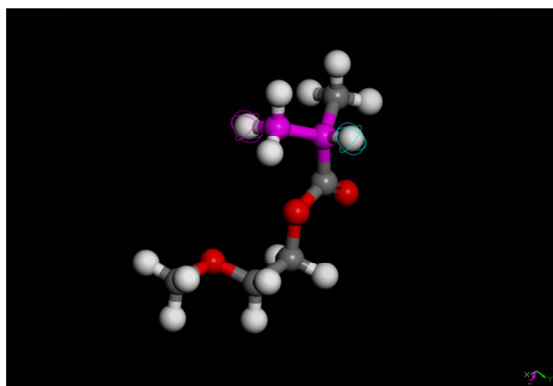
- (4) Jhon, M. S.; Andrade, J. D. J. Biomed. Mater. Res. 7, 509 (1973).
- (5) M. Tanaka et al. Polym. Int. 49, 1709 (2000).
- (6) S. Morita, M. Tanaka, Y. Ozaki, Langmuir, 23, 3750 (2007).
- (7) G. F. Li et al., J. Am. Chem. Soc., 126, 12198(2004).
- (8) Y. Miwa et al., Polymer, 50, 6091(2009).

F. 業績

- (1) Uematsu, M., Haishima, Y., Nakaoka, R., Niimi, S., Segawa, K., Nakano, T.: A Novel Evaluation Methodology of Materials for Medical Devices Based on Molecular Dynamics Simulation, 15th International Conference on Biomedical Engineering, December 2013, Singapore
- (2) 植松美幸, 薮島由二, 中岡竜介, 新見伸吾, 瀬川勝智, 中野達也: 血液適合性評価のための中間水同定シミュレーション, 第 35 回日本バイオマテリアル学会大会予稿集 (2013.11)(東京)
- (3) 植松美幸, 薮島由二, 中岡竜介, 新見伸吾, 中野達也, 瀬川勝智: 医用高分子材料表面の水和状態に関する分子動学的解析 (第 2 報), 高分子学会医用高分子シンポジウム講演要旨集 42nd 2013 年 7 月, 東京

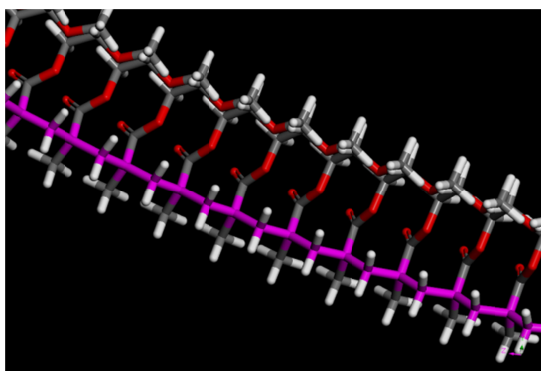


(a) 分子構造式

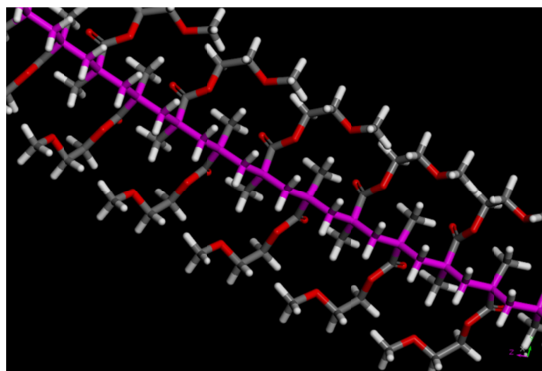


(b) エネルギー最小となる構造
(Conformer を用いた結果)

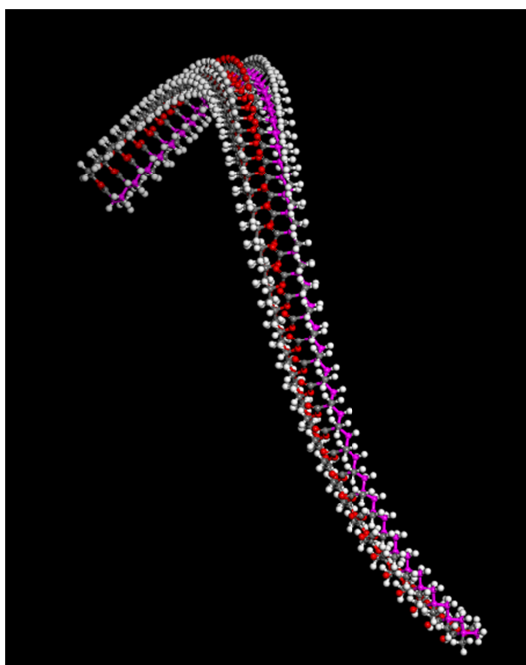
図 1 MEA (モノメトリックな構造)



(a) 拡大図

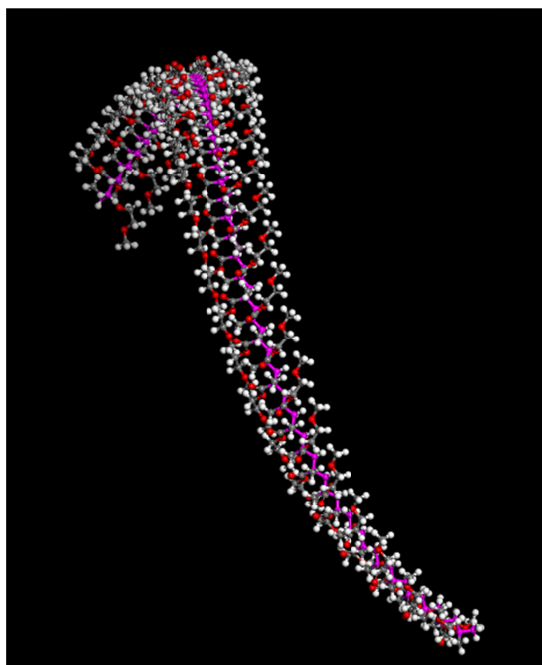


(a) 拡大図



(b) 全体図

図 2 PME A (50 量体) isotactic



(b) 全体図

図 3 PME A (50 量体) syndiotactic

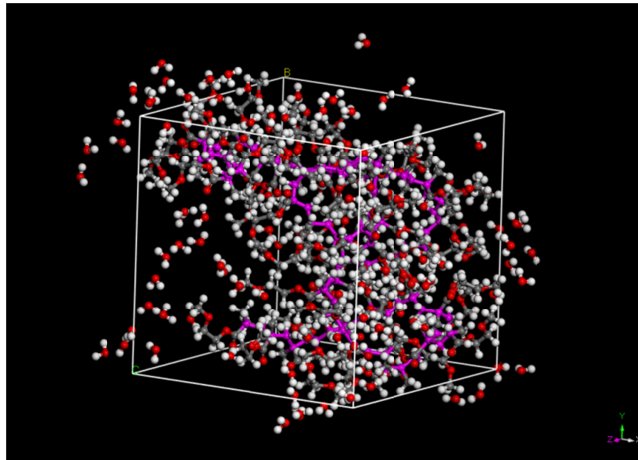


図 4 Cell 内に配置した PME (50 量体) 1 分子と水 100 分子
 (Amorphous Cell による構造の作成結果)

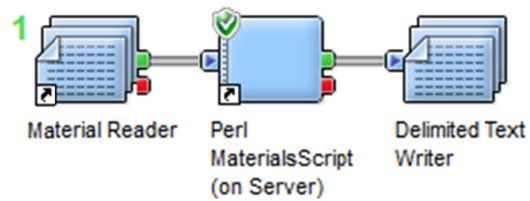


図 5 メトキシ基の酸素原子周りの水の個数の算出
 (Pipeline Pilot によるプロトコル)

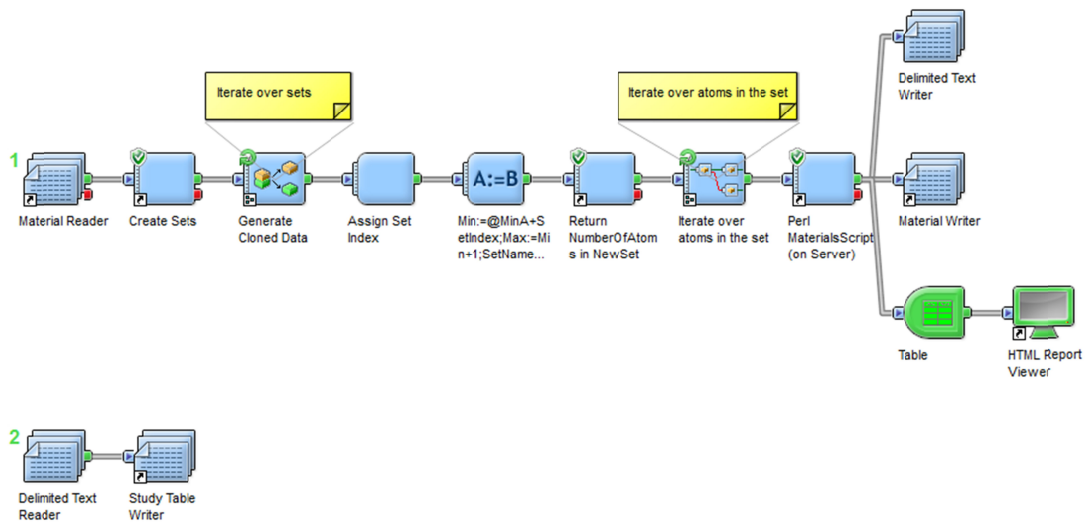
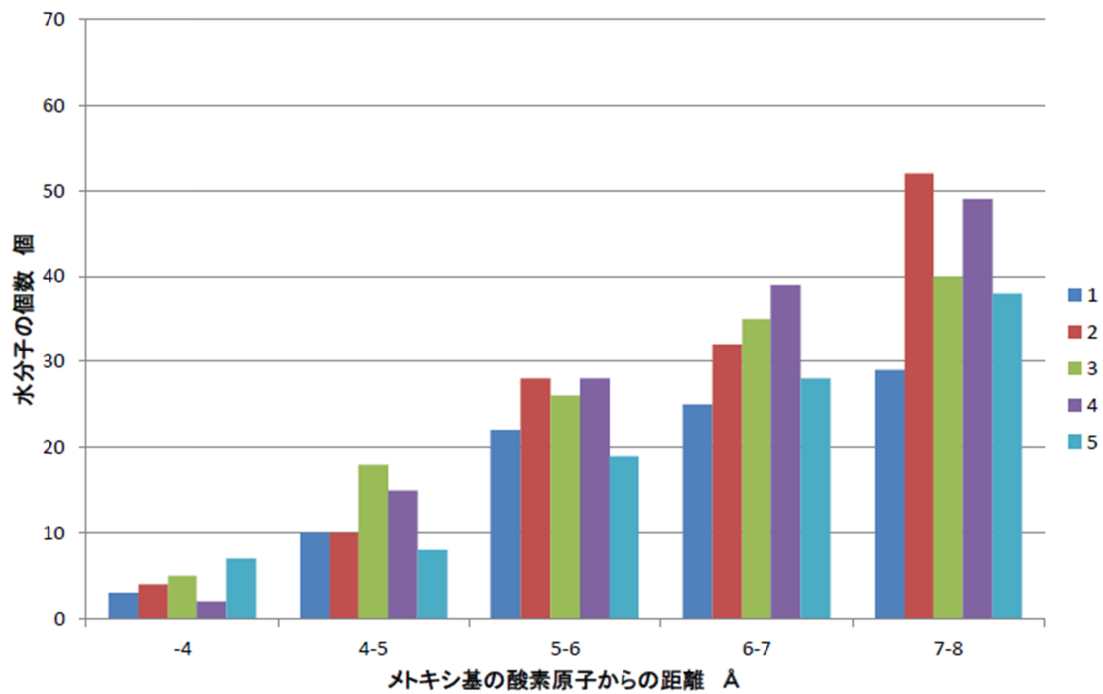
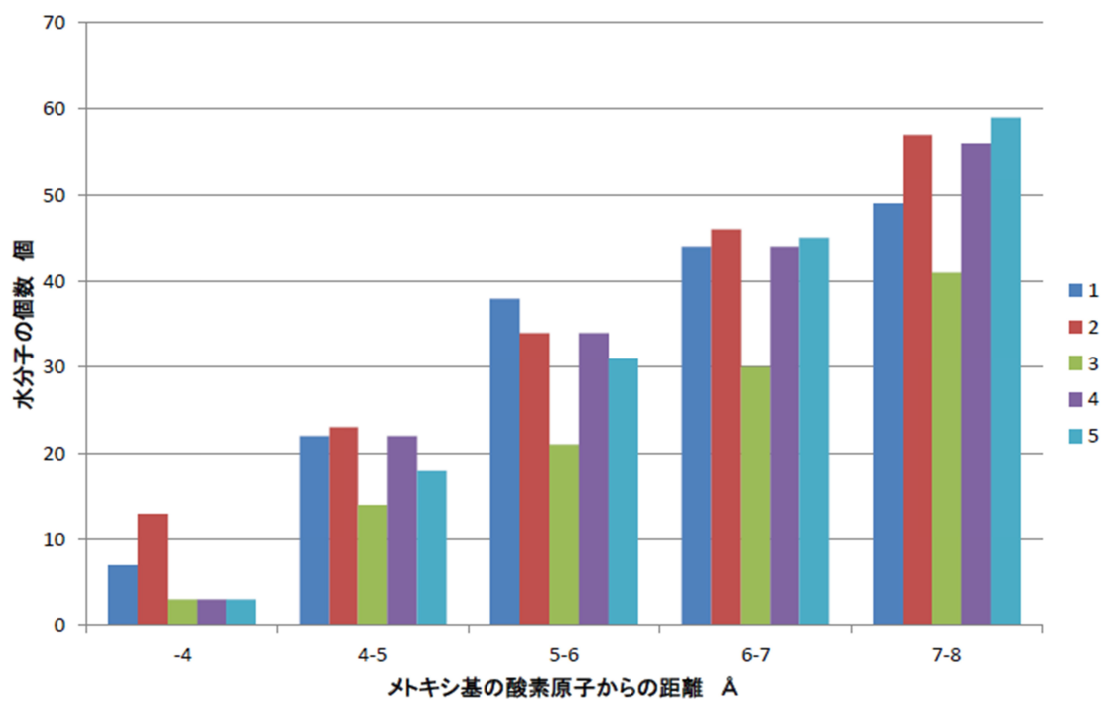


図 6 メトキシ基の酸素原子に対する水分子の相対速度の算出
 (Pipeline Pilot によるプロトコル)

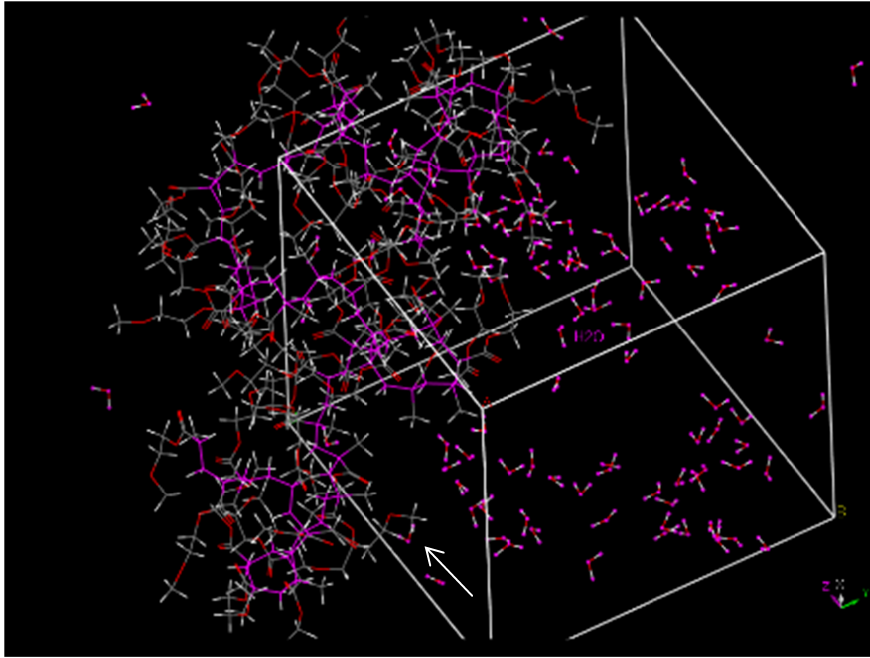


(a) isotactic の結果

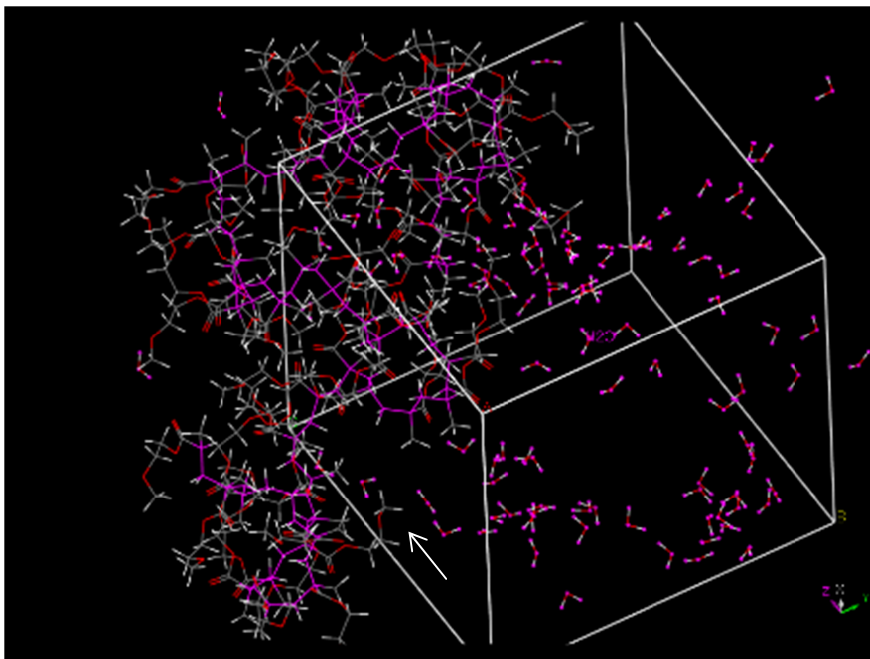


(b) syndiotactic の結果

図7 メトキシ基の酸素原子からの距離に応じた水分子の個数



(a) メトキシ基の酸素原子の近くに水分子が存在していると見られるフレーム
矢印部の水が接近している



(b) メトキシ基の酸素原子から水分子が離れていった後のフレーム
PMEA、水分子ともに動きその位置関係が変わっていく
図 8 Cell 内の PMEA (50 量体) と水分子 100 個の位置関係
フレーム切り出しの結果