

ヘマトポルフィリンとそのダイマーの TDDFT 計算*

A. Suvitha¹ R. V. Belosludov¹ 水関博志¹ 川添良幸¹
武田元博² 河野雅弘² 大内憲明³

¹東北大学金属材料研究所

²東北大学未来科学技術共同研究センター

³東北大学大学院医学系研究科

J. Japan Inst. Metals, Vol. 73, No. 8 (2009), pp. 555-558
Special Issue on Frontiers of Computational Materials Science and Engineering (1)
© 2009 The Japan Institute of Metals

TD-DFT Studies on Hematoporphyrin and Its Dimers

A. Suvitha¹, R. V. Belosludov¹, H. Mizuseki¹, Y. Kawazoe¹,
M. Takeda², M. Kohno² and N. Ohuchi³

¹Institute for Materials Research, Tohoku University, Sendai 980-8577

²NICHE, Tohoku University, Sendai 980-8579

³Department of Surgical Oncology, School of Medicine, Tohoku University, Sendai 980-8579

A theoretical study has been performed on a hematoporphyrin and its dimers which are components of Photofrin, a photosensitizer. Full geometry optimizations have been carried out using the PBEPBE functional and 6-31 G(d) basis set. This combination gives better agreement with X-ray crystal data of porphyrin. Among the dimers studied, the C-C linked structure is found to have the highest stability. The predicted change of free energy ($\Delta G = -13.9$ kcal/mol) suggests that the interconversion of ester to ether would be thermodynamically favorable. The time-dependent density functional theory (TDDFT) studies show that Q-band absorption maxima undergo a less intense transition and low oscillator strength, indicating that dimers have activity when treated under higher dosage.

(Received March 2, 2009; Accepted April 14, 2009)

Keywords: hematoporphyrin, time-dependent density functional theory (TDDFT), photodynamic therapy, spectroscopy

1. 緒 言

光線力学的療法 PDT (photodynamic therapy) は非侵襲的な治療であり、腫瘍や眼科等の広範囲な分野で病気の治療に使われている¹⁻⁴。がん治療に使われる PDT の基本的な組み合わせは、体内に光が透過できる波長領域 ($\lambda = 620-850$ nm) に吸収を持つ光敏感な薬、適切な波長を持つ光源 (例えば、レーザー) と酸素分子である。光線感作物質はガン細胞に蓄積されやすく、低い毒性のものである必要がある。光によって活性化された分子は異なる反応を示し、シングレットからトリプレット励起状態に放射を伴わず(項間交差)変化する物質である。後半のステップの割合は分子中の重い元素により増進される(重原子効果)。主要な細胞毒性物質はシングレットの分子性酸素 $^1\text{O}_2$ である。これはトリプレットから基底状態の分子性酸素 $^3\text{O}_2$ に変化するエネルギー交換反応により作られる⁵。効率よく生成するためには、この光線感作物質のトリプレット状態が分子性酸素の第 1 励起エネルギーの値である 0.98 eV に近い方がよい。

光線感作物質はがん治療に使われており、様々な種類に分けることができる。そのうちの一つである Photofrin は金属を含まないオリゴマー状のポルフィリン(ヘマトポルフィリン)の混合物である^{6,7}。その混合物は 2 個から 9 個のモノマーからなるオリゴマー状のヘマトポルフィリンを含んでいて、それらのオリゴマー状の乾燥物質はエーテル、エステル、C-C 結合を持っていると考えられている⁸。大きなオリゴマーの単離、精製は実験的に難しく、現在でも大きな課題である⁹。ヘマトポルフィリンおよびその誘導体と光力学的活性に関して、構造と活性の観点からの研究はいくつか報告されているが、定量的な議論や PDT 活性を担っている合成物中の正確な分子構造に関する研究報告はない¹⁰。

近年、時間依存密度汎関数理論計算 TDDFT (Time-Dependent Density Functional Theory) は少ないコンピューター資源で電子状態のスペクトル評価に有効であり、励起エネルギーと振動子強度を予測できることが知られている^{11,12}。この論文では PDT に使われる典型的なヘマトポルフィリンのモノマーとダイマーに関して構造とエネルギーとスペクトルの関係を系統的に調べた。この理論計算を実験結果と比較させ、リンカーの種類によるモノマーとダイマーの吸収スペクトルへの影響を調べ、より大きなオリゴマーのよ

* Mater. Trans. 49(2008) 2416-2419 掲載

り複雑なスペクトルに関する情報を得る．特に，モノマーとダイマーの(1)構造とその立体配座，(2)吸収スペクトルとその電子状態の起源，(3)シングレット-トリプレットエネルギーギャップをDFT(Density Functional Theory)とTDDFTによって調べる．また可能限り報告のある実験値と比較し，PDT活性を担う分子の性質を明らかにする．

2. 計算方法

全ての計算には Gaussian03¹³⁾ を用いた．構造最適化と振動数解析，TDDFT 計算は 6-31G(d) 基底で一般勾配法を取り入れた PBEPBE 汎関数を用いた．最近の報告から，6-31G(d) 基底を用いることにより，より正確な分子形状と垂直励起エネルギー値を求めることが出来る事が知られている¹⁴⁾．構造最適化の計算は対称性を考慮せずに行った．エネルギー的に安定状態であることは振動数解析から確認した．計算した全ての系で負の振動数は見られなかった．シングレット状態では α スピンと β スピンが同じ空間軌道を占める制限型，トリプレット状態では異なるスピンは異なる空間軌道を用意する非制限型を適用した．吸収スペクトルは時間依存密度汎関数理論計算により，基底状態からの垂直励起エネルギーから評価した．

3. 結果と考察

3.1 分子形状

ヘマトポルフィリンモノマーは様々な pH により 3 つの異なる結合様式を取ることができる．実験的にはエーテル結合-C-O-C-，エステル結合-CO-O-，および，-C-C-結合をもつヘマトポルフィリンダイマーが知られている¹⁵⁾．(Fig. 1 参照)ヘマトポルフィリン誘導体は単離が難しく，計算結果と比較可能な単結晶のデータが存在しない．ポルフィリン

とヘマトポルフィリンは同様の電子状態¹⁶⁾を持つため，類似のポルフィリンと比較した．6-31G(d) 基底を用い HF, B3LYP, B3P86, PBEPBE の異なる計算方法でガス相のヘマトポルフィリンモノマーの構造最適化を行った．最近の報告から，6-31G(d) 基底を用いることにより，ポルフィリンでは正確な値を得られることが知られている¹⁴⁾．Table 1 は様々な計算方法で得られた結合長を示す．テストをした計算方法では PBEPBE が最もポルフィリンの実験値と一致していた．そのため，これ以降のダイマーの構造最適化計算には PBEPBE と 6-31G(d) を用いた．

3 種類のダイマーのうち最も安定な立体配座を特定するために，構造最適化計算は異なる初期構造から始めた．初期構造として 2 つのポルフィリンを同じ面に置いたものと，2 つのポルフィリンを互いに垂直になるように置いたものの 2 種類である．Fig. 2 に最も低いエネルギーの立体配座を示す．-C-C-結合をもつ異性体は一部直線的な構造をしているが，他の 2 つは折り畳まれた構造をしている．さらにエーテル結合では 2 つのヘマトポルフィリン環の間に π - π 相互作用が見られた．-C-C-結合のものが一番安定で，エーテル結合ダイマーはエステル結合ダイマーよりも 13.3 kcal/mol 安定であった．予測した自由エネルギー変化 ($\Delta G = -13.9$

Table 1 Experimental and calculated bond distances (Å) at various theory levels.

Bond label.	HF	B3LYP	B3P86	PBEPBE	Expt.*
C-C _{am}	1.351	1.396	1.384	1.407	1.405
C-C _{oβa}	1.393	1.446	1.446	1.474	1.457
C-C _{oβc}	1.481	1.442	1.444	1.446	1.430
C-C _{βa}	1.343	1.387	1.380	1.396	1.359
C-C _{βc}	1.406	1.382	1.380	1.392	1.349
C α -NH	1.360	1.367	1.372	1.377	1.379
C α -N	1.386	1.361	1.372	1.372	1.370

* See Reference 15)

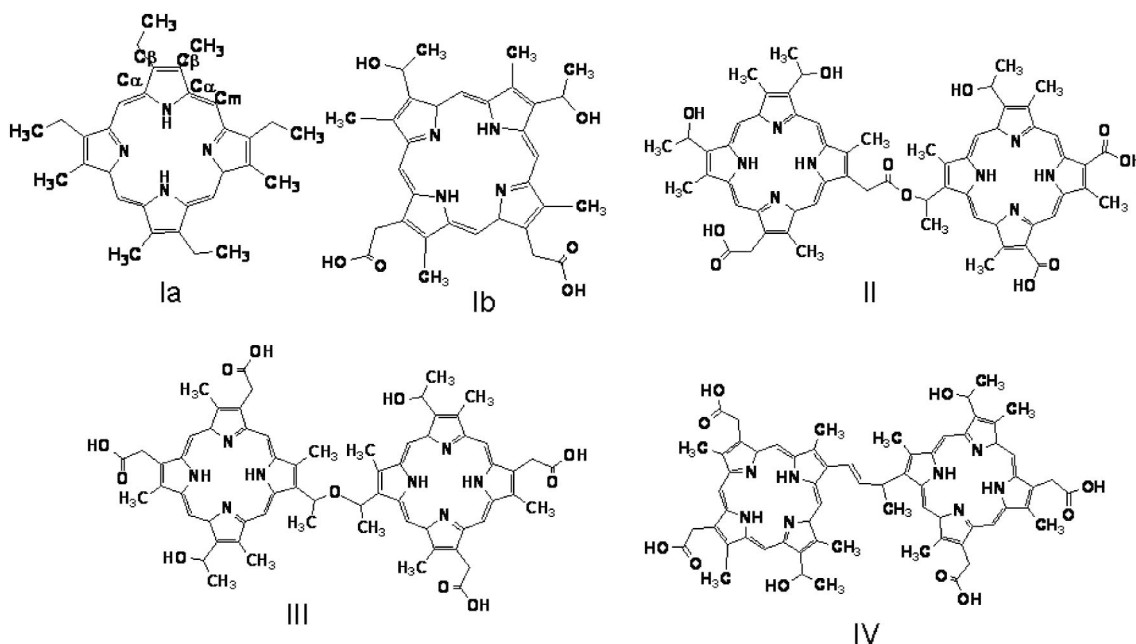


Fig. 1 (Ia) Porphyrin (Ib) Hematoporphyrin (II) Ester linked dimer (III) Ether linked dimer and (IV) C-C linked dimer.

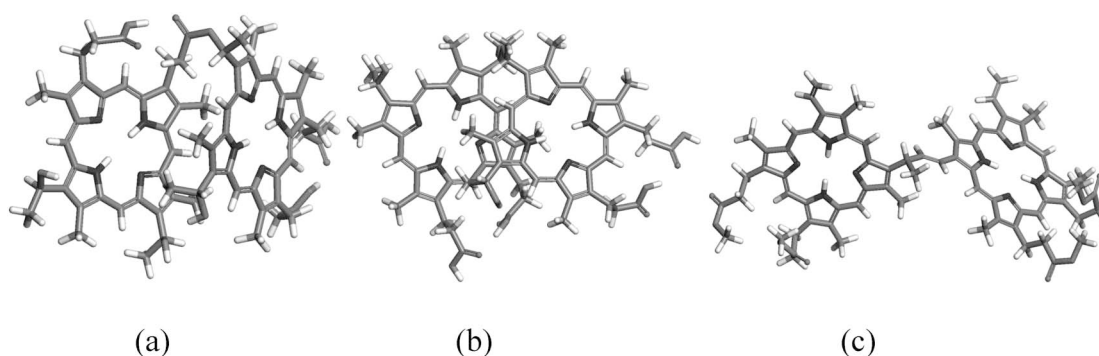


Fig. 2 Optimized structures of: (a) Ester linked; (b) Ether linked; and (c) the C-C linked dimers.

kcal/mol)は、室温でエーテルからエステルへの構造変化は水溶液溶媒中では熱力学的にあり得ることを示している。これはすでにアルカリ性水溶液で実験的に確認されている¹⁷⁾。さらに、この3種類の結合様式で振動数解析を行い、ヘシアン行列の固有値が全て正であり、対応する振動数は実数であることを確認した。これはこれらの構造が安定構造(少なくとも局所的に安定構造)であることを示している。

3.2 モノマー、ダイマーのスペクトル

TDDFT を用いてヘマトポルフィリンのモノマーとダイマーの吸収スペクトルを計算した。その結果を Table 2 に示す。モノマーの計算値 λ_{\max} は実験データと良く一致していた。強く共役した環があるために、ポルフィリンライクな系では 400 nm 付近に強い吸収を示す。これは B band 吸収と呼ばれ、さらに Q band 吸収と呼ばれる 500 から 800 nm の間に弱いピークが見られる。孤立系におけるこれらの化合物のスピンを含むシングレット遷移を計算し、その結果を Table 2 に示す。振動子強度と遷移の関係は、620 nm 付近のピークに関して遷移に寄与する軌道の割合を Table 3 の括弧内に示す。

ダイマーの 620 nm 波長領域の最も低い励起エネルギーは弱い遷移を引き起す。振動子強度は 0.0072 から 0.0001 である。この遷移は主に HOMO-2 から LUMO+3 への励起で、エステルダイマーでは HOMO-2 から LUMO への励起による。一方、HOMO-2 から LUMO へ、HOMO-3 から LUMO+3 へ、HOMO-2 から LUMO+2 への遷移はエーテルダイマーの遷移に寄与している。-C-C-結合ダイマーでは HOMO-1 から LUMO+2 へと HOMO-1 から LUMO+4 への遷移が寄与している。この最も低い励起エネルギーは 2.02-2.07 eV である。これは PDT に利用可能な

バンド遷移である。3種類のダイマーでは2つのヘマトポルフィリン間に強い π 共役はなく、励起エネルギーの大きなシフトは見られなかった。さらにポルフィリン環の π 電子の数は変化していなかった。これはポルフィリン、クロリン、バクテリオクロリンの吸収を増大させたり、シフトさせたりすることに寄与している¹⁸⁾。

3.3 シングレット-トリプレット・エネルギー

最適な性能を出すために光線感作物質が持つべき基本的な物質の一つがシングレット-トリプレットエネルギーギャップ(0.98 eV よりも大きいか等しい必要がある)である¹⁹⁾。ダイマーのシングレット-トリプレットエネルギーギャップ(ΔE)を Table 4 に示す。これらのダイマーの値は 1.52 から

Table 3 Excitation energies (ΔE) in eV for peak around 620 nm of Q band with orbitals contributions.

Molecule	Symmetry	Excitation energy E [eV]	Oscillator strength	Transition character*
Ether linked	A_{1g}	2.04	0.0001	HOMO-2→LUMO (63.6%)
				HOMO-2→LUMO+2 (3.8%)
				HOMO-3→LUMO+3 (2.3%)
C-C linked	A_{1g}	2.02	0.0072	HOMO-1→LUMO+2 (34.6%)
				HOMO-1→LUMO+4 (49.7%)
				HOMO-2→LUMO (19.4%)
Ester linked	A_{1g}	2.07	0.0002	HOMO-2→LUMO+3 (24.3%)

* The percentage contribution of orbitals to the transition are given in parenthesis.

Table 2 Comparison of UV-Vis data and TD-DFT values.

Compounds	B-band		Q-bands		
	nm	nm	nm	nm	nm
Monomer	397.0	505.0	538.0	566.6	617.2
	(396.0)*	(505.5)	(537.0)	(567.0)	(617.0)
Ester linked dimer	398.4	507.2	532.8	568.0	622.4
Ether linked dimer	399.2	505.6	533.6	570.0	623.2
	(398.0)	(503.0)	(535.0)	(570.0)	(624.0)
C-C linked dimer	399.2	505.6	533.6	567.2	623.2

* Experimental values of wavelength in nm are given in parenthesis.

Table 4 Total energies and singlet-triplet energy gaps (ΔE) for the studied dimers.

Compounds	Electronic states	Total energy (Hartree)	ΔE (eV)
Ether linked dimer	1A	-3896.741	0.00
	3A	-3896.684	1.56
Ester linked dimer	1A	-3896.717	0.00
	3A	-3896.656	1.69
C-C linked dimer	1A	-3824.607	0.00
	3A	-3824.551	1.52

1.69 eV の間にあり, 0.90 eV よりも大きな値であった. この結果から, これらのダイマーはトリプレットからシングレット分子性酸素へ変換する能力を有する分子であることが示された. しかし, ΔE の差はわずかである.

4. 結 論

本研究ではヘマトポルフィリンとそのダイマーの基底状態の構造, 吸収スペクトルを TDDFT により研究した. 6-31G(d) 基底を用いた PBEPBE 汎関数が良い結果を導くことが分かり, より大きなオリゴマーに適用可能であることが分かった. 異なる結合で構成されるダイマーを構造最適化し, -C-C-結合ダイマーは部分的に直線の形状をしており, エーテル結合, エステル結合のダイマーは折り畳まれた構造をしていることが見出された. エステル結合からエーテル結合への変換は熱力学的に起こりうることが示され, これは実験で観察された結果と一致している. 光線力学治療用材料には, 以下の物性を持つことが必要である.

(1) シングレットからトリプレットへのギャップは 0.96 eV よりも大きいこと.

(2) Q-band 吸収はあまり変化せず, かつ小さい振幅幅を持っていること.

このため, ヘマトポルフィリンダイマーは高濃度において PDT 活性の利用が可能になることが明らかになった.

文 献

- I. J. MacDonald and T. J. Dougherty: *J. Porphyrins Phthalocyanines* **5**(2001) 105-129.
- Y. Van Tenten, H. J. Schuitmaker, A. De Wolf, B. Willekens, G. F. J. M. Vrensen and M. J. Tassignon: *Exp. Eye Res.* **72**(2001) 41-48.
- T. J. Dougherty, C. J. Gomer, B. W. Henderson, G. Jori, D. Kessel, M. Korbelik, J. Moan and Q. Peng: *J. Natl. Cancer Inst.* **90**(1998) 889-905.
- C. Avendano and J. C. Menendez: *Medicinal chemistry of anticancer drugs*, (Elsevier Science & Technology Rights, Department in Oxford, UK, 2008) pp. 93-132.
- R. Bonnett: *Chem. Soc. Rev.* **24**(1995) 19-33.
- R. K. Pandey and G. Zheng: *Porphyrins as Photosensitizers in Photodynamic Therapy*, Vol. 6., (Academic Press. San Diego, 2000).
- M. R. Detty, S. L. Gibson and S. J. Wagner: *J. Med. Chem.* **47**(2004) 3897-3915.
- M. M. Siegel, K. Tabei and R. Tsao: *J. Mass. Spectrom.* **34**(1999) 661-669.
- K. M. Kadish, K. M. Smith and R. Guilard: *The Porphyrin Handbook*, (Academic, New York, 1978) pp. 189-190.
- B. W. Henderson, D. A. Bellnier, W. R. Greco, A. Sharma, R. K. Pandey, L. A. Vaughan, K. R. Weishaupt and T. J. Dougherty: *Cancer Res.* **57**(1997) 4000-4007.
- R. J. Deeth: *Faraday Discuss* **124**(2003) 379-391.
- V. N. Nemykin, R. G. Hadt, R. V. Belosludov, H. Mizuseki and Y. Kawazoe: *J. Phys. Chem. A* **111**(2007) 12901-12913.
- Gaussian 03, Revision C.02, M. J. Frisch, *et al.* Gaussian, Inc., Wallingford 2003.
- K. A. Nguyen and R. Pachater: *J. Chem. Phys.* **114**(2001) 10757-10767.
- C. J. Byrne, L. M. Marshallsay and A. D. Ward: *J. Photochem. Photobiol.* **6**(1990) 13-27.
- C. J. Byrne, M. A. Cooper, P. A. Cowled, R. A. W. Johnstone, L. Mackenzie, L. V. Marshallsay, I. K. Morris, C. A. Muldoon, M. J. Raftery, S. S. Yin and A. D. Ward: *Aust. J. Chem.* **57**(2004) 1091-1102.
- C. J. Byrne and A. D. Ward: *Aust. J. Chem.* **44**(1991) 411-426.
- R. K. Pandey, J. F. Majchrzycki, K. M. Smith and T. J. Dougherty: *Proc. SPIE.* **1065**(1989) pp. 164-174.
- N. J. Turro: *Singlet oxygen and chemiluminescent organic reactions, Modern Molecular Photochemistry*, (University Science Books, California, 1991) pp. 583-593.