

拡張サンプリング法による 環状ペプチドの膜透過性予測システムの構築

黄 毅聰^{1,2} 吉川 寧^{1,3} 和久井 直樹^{1,3} 大上 雅史^{1,3} 秋山 泰^{1,3,a)}

概要: 近年では環状ペプチド医薬品が注目されているが、環状ペプチドは細胞膜透過性が低い傾向があり、高い膜透過性を有するものを計算機で効率的に選別できる予測システムが求められている。本研究では、拡張サンプリング MD 法による膜透過性予測手法を開発し、さらにデータ並列と MPI 並列で高速化した。102 個の環状ペプチドの膜透過シミュレーションを行い、膜透過を再現できた 90 個の環状ペプチドに対する最良の予測結果では、膜透過性予測値の実験値との有意な相関が示された (相関係数 0.55)。また、予測の高速化のために脂質二重膜の対称性を利用して膜透過率の計算に必要なデータを水層から膜に入る段階のみから見積もる手法を提案した。それにより、14 個のペプチドに対する計算では約 1.4 倍の高速化に成功し、予測値と実験値との有意な相関が示された (相関係数 0.71)。

キーワード: 環状ペプチド, 膜透過率, 分子動力学シミュレーション, 拡張サンプリング法

Development of membrane permeability prediction method for cyclic peptides using enhanced sampling molecular dynamics simulation

YICONG HUANG^{1,2} YASUSHI YOSHIKAWA^{1,3} NAOKI WAKUI^{1,3} MASAHIITO OHUE^{1,3}
YUTAKA AKIYAMA^{1,3,a)}

Abstract: Peptide drugs have attracted attention in the drug discovery field over recent years. However, their poor membrane permeability is one of the problems for intracellular drug targets. Thus predicting the membrane permeability is important for the peptide drug discovery projects. This study aims to predict the membrane permeability of cyclic peptides using molecular dynamics (MD) simulation and parallel computing. We performed MD simulations for 102 cyclic hexapeptides using supervised MD enhanced-sampling method. In the best prediction results for 90 cyclic peptides for which we successfully reproduced the membrane permeation, the correlation coefficient was 0.55. For the purpose of speeding up the prediction, we proposed a method of estimating the membrane permeability only from the data archived from half of the permeation process by utilizing the symmetry of the membrane. With using this method for 14 test peptides, we achieved 1.4-times increase of calculation speed, and the correlation coefficient was 0.71.

Keywords: cyclic peptide, membrane permeability, molecular dynamics simulation, enhanced sampling method

¹ 東京工業大学 情報理工学院 情報工学系,
Department of Computer Science, School of Computing,
Tokyo Institute of Technology

² 産業技術総合研究所・東京工業大学 実社会ビッグデータ活用
オープンイノベーションラボラトリー,
AIST-Tokyo Tech Real World Big-Data Computation Open
Innovation Laboratory (RWBC-OIL), AIST

³ 東京工業大学 中分子 IT 創薬研究推進体,
Middle Molecule IT-based Drug Discovery Laboratory

1. 導入

細胞膜は細胞の内外を隔てる生体膜であり、物質の選択的な透過やシグナル伝達など様々な役割を果たす。化合物の吸収、分布、代謝、排泄の過程と生体膜の透過は深く関

(MIDL), Tokyo Institute of Technology

^{a)} akiyama@c.titech.ac.jp

わっており [1], 細胞膜透過性は医薬品の重要な評価指標の1つとして位置付けられている。

化合物を合成して膜透過性を実験的に評価することはコストが高く, 大量の候補化合物に対しては非現実的である。したがって, 医薬品の開発初期において医薬品候補物に対し, 計算機上で膜透過率を予測しスクリーニングすることが, 開発効率の向上やコストの削減などに重要である。

計算機によるこれまでの膜透過性予測の主たる対象は, 分子量が小さい低分子化合物であった。膜透過性の予測手法として機械学習と分子動力学 (Molecular dynamics, MD) シミュレーション法の2つのアプローチが取られている。機械学習のアプローチでは, 既知の実験データと大きく異なる化合物を予測することが困難である。また, 創薬において考慮されることの多い化合物の動的挙動をモニタリングすることができない。一方, MD シミュレーション法によるアプローチでは, 理論的にはあらゆる化合物に適用が可能であり, また化合物の動的挙動も解析できる。それゆえ, MD シミュレーション法を用いた化合物の膜透過の研究が盛んに行われてきた [2-4]。

低分子医薬品に加えて, 現在ではペプチド医薬品や抗体医薬品も開発が進んでいる [5]。ペプチド医薬品の中でも, 非天然型のアミノ酸残基が含まれている環状ペプチド医薬品は, 活性や特異性が比較的高く, また経口投与が可能であることから近年特に注目を浴びている。しかし, 環状ペプチドは細胞膜透過性が低い傾向があるため, 細胞内に存在する創薬標的を狙うことが難しい。そのため, 細胞膜透過性を有する環状ペプチドのスクリーニング法が求められている。

環状ペプチドの膜透過性予測の課題として, 以下の2つがあげられる。

- 環状ペプチドの残基の種類および, 環の大きさの違いを含めた膨大な数の組み合わせがあり, 膜透過性を Lipinski's rule of 5 [6] などの経験則だけで解釈することは困難である。
- 分子内のわずかな違いだけで膜透過率が劇的に変化することが知られている。例えば, Hewitt らのアッセイでは, 1 残基の立体配置 (L 体/D 体) のみの違いで, 膜透過率が約 175 倍変化する例がある [7]。

そのため, 環状ペプチドの膜透過性予測は大きな課題である。

環状ペプチドである Cyclosporin A の膜透過率は 2.5×10^{-7} であり [8], 脂質膜の厚さは約 5 nm である [1] ことから, Cyclosporin A の細胞膜透過の時間を単純に見積もったら, 約 2 秒かかる。この時間スケールのシミュレーションを通常の MD で実現する場合, 一般的な GPU サーバで約 2 万年以上が必要である*1。そのため, シミュレ

ーションを加速する拡張サンプリング MD 法の適用が必須である。

拡張サンプリング MD 法としては, Steered MD [9], Metadynamics MD [10], Supervised MD [11], PaCS-MD [12] などの手法が提案されている。拡張サンプリング MD 計算を用いて膜透過率を見積もった研究の例として, Lee らの研究では, 低分子化合物を対象に Steered MD 法を利用した計算から膜透過率を計算し, 予測値は実験値の 4~32 倍になったという結果を示した [13]。

しかし, Lee らの報告は低分子化合物を対象としたものであり, より膜透過が困難である環状ペプチドを対象とした研究は報告されていない。また, 拡張サンプリング MD 計算による膜透過率予測の先行研究において, 対象の分子の数は多くとも十数個程度に留まっている。より信頼性のある予測結果を提供するためには多くの実験データでの検証が必要である。その場合, 計算対象となる分子の数が増え, 拡張サンプリング法の利用に加えてデータ並列や Message Passing Interface (MPI) 並列計算などを駆使してさらにシミュレーションを加速することが求められる。

本研究は, 100 個以上の環状ペプチドの膜透過性を MD シミュレーションに基づいて予測することを目的とした。シミュレーションの高速化のため, 拡張サンプリング MD シミュレーション, サンプリング時間の短縮, データ並列, MPI 並列を用いた計算システムの開発を試みた。

2. 拡張サンプリング MD シミュレーションによる膜透過率予測方法

2.1 拡張サンプリング法

MD シミュレーションでは, サンプリングを効率的に行う拡張サンプリング法として, Steered MD 法 [9], Metadynamics MD 法 [10], Supervised MD 法 [11] などが挙げられる。Steered MD 法や Metadynamics MD 法のように外部からの力やポテンシャルを加える手法に比べて, Supervised MD 法は化合物の動きを物理学的に正しく再現するため, 本研究では Supervised MD 法を採用した。

Supervised MD 法は, 図 1 に示すように, 短い MD シミュレーションを繰り返し, 各 MD 計算において次のシミュレーションに用いる初期構造を選択的に選ぶ手法である。タンパク質-化合物の結合シミュレーションなどに用いられている [11] が, 化合物の膜透過シミュレーションでの利用例は現在までに報告されていない。

2.2 膜透過率の計算方法

本研究では, 膜透過率の見積もり方法として, Inhomogeneous solubility-diffusivity model [14,15] を採用した。この

*1 本研究で構築した約 12,000 原子のシミュレーション系に対して, TSUBAME 3.0 の q_node (Intel Xeon E5-2680 v4 2.4 GHz

のうち 7 cores・14 スレッド並列, および NVIDIA Tesla P100 GPU 1 基利用) で約 200 ns/day であることから見積もった結果。 $2 \text{ [s]} / 200 \text{ [ns/day]} = 1 \times 10^7 \text{ [day]} \approx 27,397 \text{ 年}$ 。

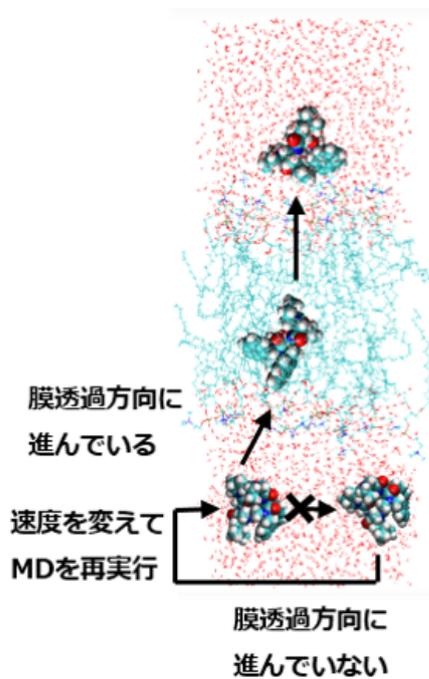


図 1 Supervised MD

モデルでは、式 (1) に示されるように、膜透過率 P_m を平均力ポテンシャル $W(z)$ とローカル拡散係数 $D(z)$ から求めることができる。

$$\frac{1}{P_m} = \int_{z_1}^{z_2} \frac{\exp[\beta W(z)]}{D(z)} dz \quad (1)$$

β は逆温度 ($\beta = 1/k_B T$) であり、 z は膜透過方向に沿った、膜に対する溶質の相対位置を記述する反応座標である。積分空間の下限 (z_1) と上限 (z_2) は、それぞれ膜透過方向において、透過の開始座標と終了座標である。

本研究では、 $W(z)$ を求めるには、反応座標に対して Umbrella サンプリング法 [16] を行った後、Weighted Histogram Analysis Method (WHAM) 法 [17] を利用している。また、Umbrella サンプリングから反応座標 z に沿った時系列データが得られるので、式 (2)–式 (4) で示すように位置 z の分散および、 z の自己相関関数の積分から $D(z)$ を求めることができる [18]。

$$D(z = \langle z \rangle) = \frac{\text{var}(z)^2}{\int_0^\infty C_{zz}(t) dt} \quad (2)$$

$$C_{zz}(t) = \frac{1}{n_{\text{sample}}} \sum_{i=0}^{n_{\text{sample}}-1} \delta z(i) \delta z(t+i) \quad (3)$$

$$\delta z(t) = z(t) - \langle z \rangle \quad (4)$$

$C_{zz}(t)$ は時刻 t における z の自己相関関数、 $\langle z \rangle$ は z の平均である。

3. MD シミュレーションの実験設定

3.1 データセット

本研究では、Furukawa らが公開した 393 個の環状ペプ

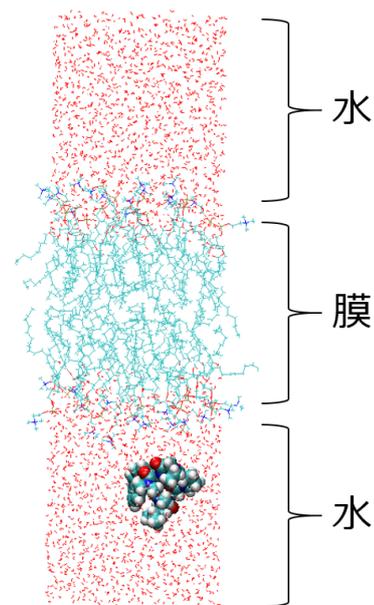


図 2 Membrane-water-ion-peptide simulation system

チドのデータ [19] から、膜透過率を幅広くカバーした 102 個の環状ペプチドを選び、これらを用いた。

3.2 実験環境

実験には東京工業大学の TSUBAME 3.0 および、産業技術総合研究所の AI Bridging Cloud Infrastructure (ABCI) を用いた。また、MD 計算のソフトウェアパッケージとして GROMACS 2018.3 [20] を使用した。

3.3 環状ペプチドの初期構造

MD 計算を行う前に、統合計算化学システムである Molecular Operating Environment (MOE) [21] を用いて、各環状ペプチドに対して立体配座探索を行った。立体配座探索によって最適化され、かつエネルギーが最も低い環状ペプチドの配座を MD シミュレーションの初期構造に用いた。

3.4 MD シミュレーション系の作成

CHARMM-GUI [22] を用いて、図 2 のような、PO ホスファチジルコリン (1-Palmitoyl-2-oleoyl-sn-glycero-3-phosphocholine, POPC) を合計 32 個を含む膜-水-中和イオン-環状ペプチドの系を作成した。表 1 に作成した系の詳細を示す。

3.5 Supervised MD シミュレーション

10 ns のエネルギー最小化と平衡化を行った後、Supervised MD 法を利用して、短い MD 計算を繰り返すことによりシミュレーションを進行させた。表 2 に 1 回の Supervised MD シミュレーションの条件を示す。

表 1 Membrane-water-ion-peptide simulation system details

名称	条件
膜	POPC モデル, 片側 16 個, 両側合計 32 個
水	TIP3P [23] モデル, 合計 2,539 個
ナトリウムイオン	合計 8 個
塩素イオン	合計 8 個
系の横幅	33 Å
系の奥行	33 Å
系の高さ	120 Å

表 2 Supervised MD computational details

名称	条件
アンサンブル	NPT
Constraints	all-bonds
Constraint_algorithm	LINCS
温度	310 K
Thermostat	Nose-Hoover
Pressure coupling	Parrinello-Rahman
周期的境界条件	xyz
Time step	2 fs
シミュレーション時間	100 ps
短い MD の最大反復数	100
Supervised MD 拘束条件	膜に対してペプチドの重心の x, y 方向の相対座標 ≤ 10 Å

3.6 自由エネルギーの計算

自由エネルギー計算では、膜に対してペプチド重心の z 方向の相対座標を反応座標とした。まず、反応座標について、膜透過の始点座標 (z 軸において約 -40 Å) から透過の終点座標 (約 40 Å) までの範囲を 1.5 Å 刻みで分割した。この操作によって、周囲のウィンドウと互いの存在確率分布が重なるような約 54 個のウィンドウが得られた。次に、各ウィンドウに対してデータ並列計算を利用して、80 ns/window 長さの Umbrella サンプルングを行った。その後、WHAM 法により、バイアスポテンシャルの影響を取り除き、自由エネルギープロファイル (PMF) を構築した。また、WHAM 法では、透過始点と終点の座標を自由エネルギーの基準点 (エネルギーが 0 の点) とした。

3.7 PMF 曲線の対称化操作

膜透過率の計算のために、データの前処理の 1 つとして PMF 曲線の対称化を行った。図 3 のように、 $z \leq 0$ Å の情報だけ利用し、 $z = 0$ Å に関して対称化操作を行い、全域の PMF を作成した。得られた赤い破線のような左右対称化した PMF を膜透過率の計算に用いた。

4. 膜に入る過程のみのシミュレーション

ペプチドの膜透過過程は、膜に入る段階と膜から出る段階の 2 段階に分けることができる (図 4)。細胞膜の対称性から、いずれかの 1 つの段階から見積もった自由エネルギープロファイルを利用し、反応座標 $z = 0$ に関して左

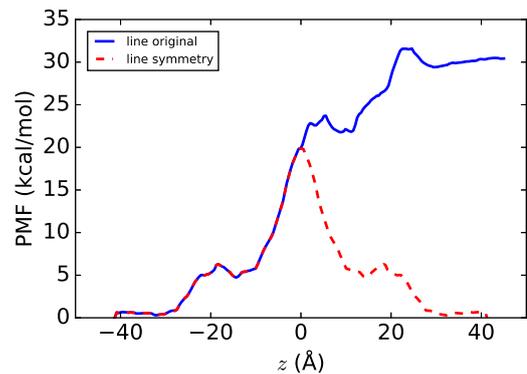


図 3 Symmetrization of PMF

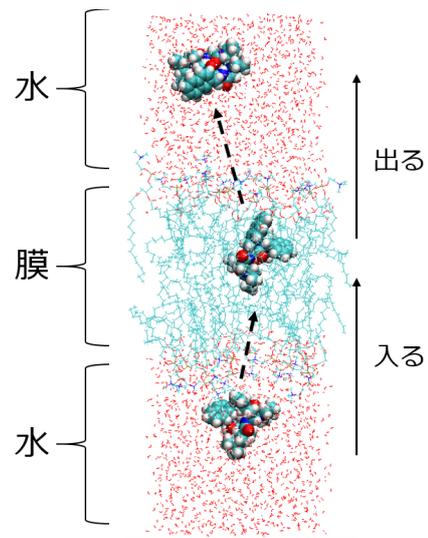


図 4 Membrane permeation process

右対称にすることで、別側の透過段階における自由エネルギーが求まるため、計算の一部を省略することが可能である。本研究では 14 個の環状ペプチドに対し、膜に入る過程のみの Supervised MD 計算を行い、自由エネルギープロファイルを構築することを試みた。

5. MPI 計算の設定

5.1 実験環境

産総研 ABCI (表 3) を利用して MPI 計算の評価を行った。利用した系は表 1 に示したものである。MD 計算のステップ数は 20,000 steps として、最初の 10,000 steps は負荷分散などの調整に使用するため実行時間計測に含めなかった。計算速度は 10 回測定した結果の中央値を求めた。

5.2 並列化の設定

並列性能の測定はシングルノードとマルチノードで行った。シングルノードでの MPI 並列化設定の詳細を表 4 に示す。また、シングルノードの各 GPU 数において、それぞれ最も速い速度を出したプロセスとスレッド数の組み合わせをマルチノードでの測定に適用した。マルチノードで

表 3 Basic specifications of ABCI

CPU	Intel Xeon Gold 6148 2.4GHz 20 cores × 2
Memory	384 GB
GPU	NVIDIA Tesla V100 NVLink (16 GB) × 4
SSD	1.6 TB

表 4 Parallel setting in single node

プロセス数	スレッド数	GPU 数
20	2	1
10	4	
8	5	
5	8	
4	10	
2	20	
1	40	
20	2	2
10	4	
8	5	
4	10	
2	20	
20	2	4
8	5	
4	10	

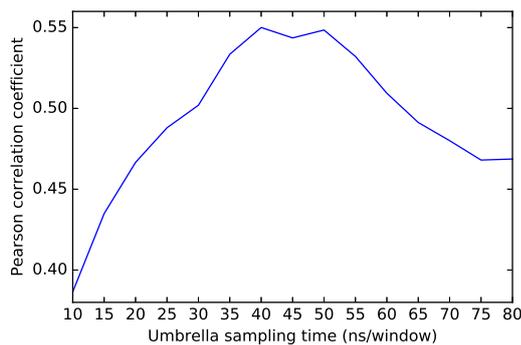


図 5 Changes in Pearson correlation coefficient with respect to Umbrella sampling time

利用したノード数は 2, 4, 6, 8, 12 である。

6. 実験結果

6.1 MD シミュレーションによる膜透過率予測

102 個の環状ペプチドに対して Supervised MD を行った結果、90 個の環状ペプチドが膜透過した。残りの 12 個は設定した MD ステップ内で膜透過が完了しなかった。

膜透過した 90 個の環状ペプチドに対して、各サンプリング時間において、求めた膜透過率の予測値と実験値との Pearson 相関係数 R を表 5、相関係数の変化を図 5 に示す。相関係数が最も高かったサンプリング時間が 40 ns/window のときの結果を図 6 に示す。

母集団の無相関検定を行った結果、5%の有意水準で、各サンプリング時間における予測値は実験値との相関が示された。また、相関係数同士の差の検定を行った結果、5%の

表 5 Pearson correlation coefficient with respect to Umbrella sampling time

サンプリング時間 (ns/window)	相関係数 R	P 値
10	0.386	0.18×10^{-3}
15	0.435	2.05×10^{-5}
20	0.467	4.05×10^{-6}
25	0.488	1.07×10^{-6}
30	0.502	4.65×10^{-7}
35	0.534	6.15×10^{-8}
40	0.550	1.96×10^{-8}
45	0.544	3.08×10^{-8}
50	0.548	2.19×10^{-8}
55	0.532	6.75×10^{-8}
60	0.509	2.94×10^{-7}
65	0.491	8.80×10^{-7}
70	0.480	1.69×10^{-6}
75	0.468	3.29×10^{-6}
80	0.469	3.18×10^{-6}

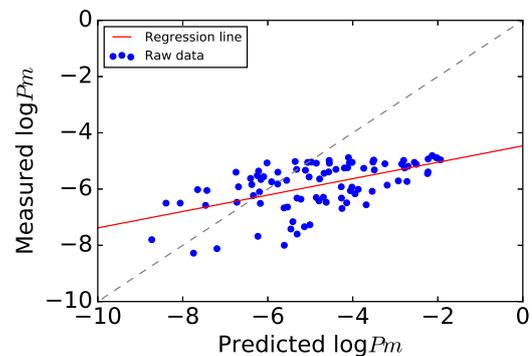


図 6 Plot of the predicted membrane permeability and experimental values at Umbrella sampling time of 40 ns/window

有意水準で、最も高かった相関係数である 0.55 (表 5 の 40 ns/window の時) と他の相関係数との有意差が示された。

6.2 膜に入る過程のみの計算による予測

膜に入る過程のみの計算により、14 個の環状ペプチドに対して、各 Umbrella サンプリング時間において、求めた Pearson の相関係数 R を表 6、相関係数の変化を図 7 に示す。

また、計算時間の観点で、1つの環状ペプチドの膜透過率を評価するために、Supervised MD と Umbrella サンプリングの総計算時間は、約 64 時間 (膜透過の 2 つの過程を計算する場合) から約 45 時間 (膜に入る過程のみの計算を利用する場合) まで削減することができた (ABCI, 40 core×40 thread×1 GPU を利用時)。

母集団の無相関検定を行った結果、5%の有意水準で、サンプリング時間が 25–50 ns/window において予測値は実験値との有意な相関が示された。

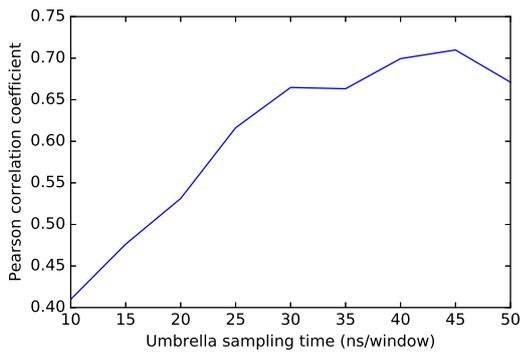


図 7 Changes in Pearson correlation coefficient with respect to Umbrella sampling time calculated only from the data archived from half of the permeation process

表 6 Pearson correlation coefficient with respect to Umbrella sampling time calculated only from the data archived from half of the permeation process

サンプリング時間 (ns/window)	相関係数 R	P 値
10	0.37	0.21
15	0.45	0.13
20	0.50	0.09
25	0.58	0.04
30	0.63	0.02
35	0.63	0.02
40	0.67	0.01
45	0.68	0.01
50	0.63	0.02

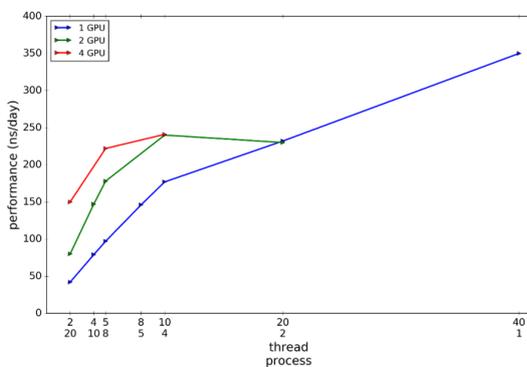


図 8 Parallel efficiency (single node)

6.3 MPI 計算設定の評価

GROMACS の MPI 計算設定の評価結果を図 8 (シングルノード) と図 9 (マルチノード) に示す。シングルノードでは 1 GPU 利用時に 40 thread を用いたときに最も性能が良く、マルチノードでは複数のノードを用いた場合に性能が低下するという結果であった。

7. 考察

7.1 膜透過の全過程計算による膜透過率予測

膜透過シミュレーションが完了できた 90 個の環状ペプチドの膜透過率 $\log P_m$ の実験値の中央値は -5.68 であっ

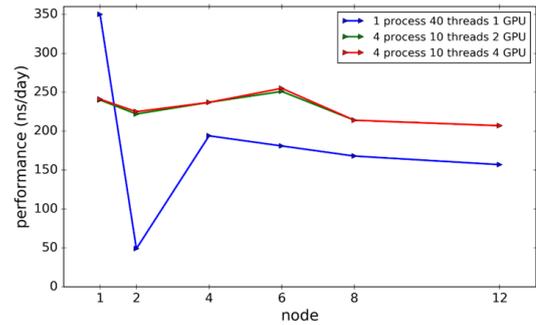


図 9 Performance change with node numbers

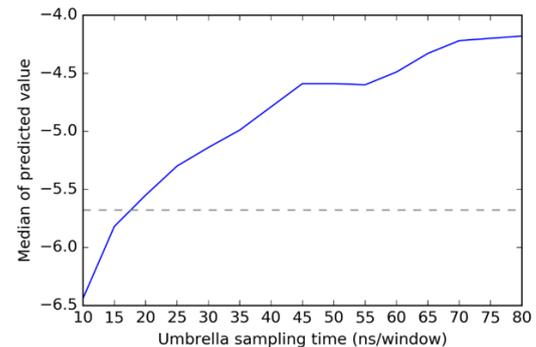


図 10 Changes in median of predicted values of membrane permeability versus Umbrella sampling time

た。膜透過率の予測値が Umbrella サンプリング時間に対してどのように変化するかを中央値の変化で調べた結果を図 10 に示す。

Umbrella サンプリング時間が 10 ns/window から 80 ns/window まで増加するにつれて、予測値 (の中央値) が大きくなることがわかった。図 6 から、予測値は実験値より大きく見積もられやすいことも示されている。この要因の 1 つとして考えられることとして、エネルギー基準点の選び方がある。本研究では WHAM 法による PMF 曲線の見積りの際に、透過開始点と終点の座標を自由エネルギーの基準点 (エネルギー 0 の点) としたが、PMF 曲線の最も底いところ (エネルギー最安定点) を基準点にした場合、各点における PMF の値が相対的に大きくなる。これによって予測値が小さくなるため、予測値を過大評価しないことが期待できる。これは逆に過小評価になる可能性もあるが、エネルギー基準点の選び方には検討の余地がある。

7.2 シングルノードでの MPI 計算設定の速度評価

シングルノード (40 core) の計算速度について、各組み合わせで計算時間のプロファイルを解析した。図 11 は GPU 数のみを変化させて、10 thread \times 4 process で計算したときのプロファイルである。図 11 から、各 GPU 数の計算において、速度の差は GPU による非結合相互作用計算の待ち時間 (wait GPU NB nonloc.) と、Force の計算に関わる通信と待ち時間の 2 つが主に起因することがわかる。

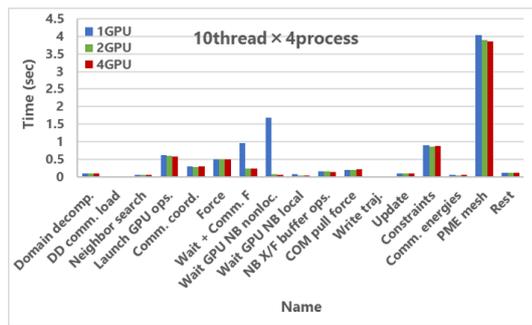


図 11 Analysis result of calculation time profile in single node with 10 thread×4 process

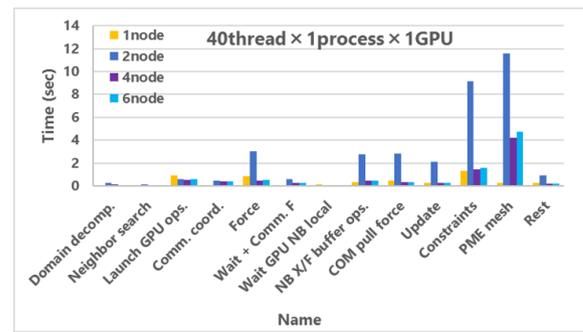


図 13 Analysis result of calculation time profile in multi node using 1 GPU

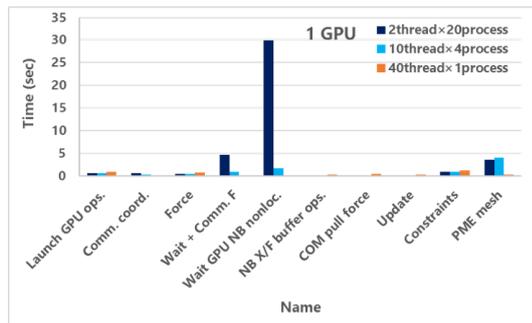


図 12 Analysis result of calculation time profile in single node using 1 GPU

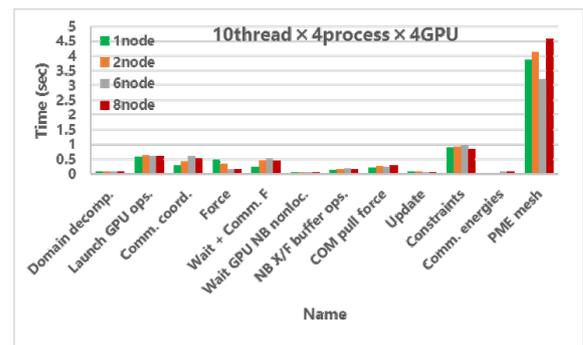


図 14 Analysis result of calculation time profile in multi node using 4 GPUs

GROMACS では、process 数に等しいタスクが GPU にオフロードされる。process 数が変わらない場合は、GPU 数を増やすことによる処理能力の向上で、待ち時間が削減されると思われる。

また、40 thread×1 process×1 GPU の場合では、図 12 に示したように、GPU の待ち時間と Force の計算に関わる通信時間および、長距離の非共有結合計算である PME mesh の計算時間が削減されていることがわかった。PME mesh 計算については、本来であれば全部 CPU が処理するが、1 process の設定のみで計算の一部が GPU にオフロードされたことがプロファイルから確認できたため、GPU へのオフロードが 1 タスクになったことが適切であったと考えられる。

7.3 マルチノードでの MPI 計算設定の速度評価

図 13 と図 14 は、それぞれ 1 GPU と 4 GPU で計算時間プロファイル解析した結果である。1 GPU と 4 GPU の両方で、主に計算速度に影響したのは結合や角度への拘束計算 (Constraints) と PME mesh であることがわかる。また、MD 計算では系を分割しており、node 数が 2 の場合では、分割後の系の CPU/GPU の負荷分散が悪く、性能が低下したことを計算ログから確認できた。

また、Kutzner らは GROMACS の GPU 利用において、約 8 万個の原子を含む系で並列化効率が線形スケールになったことを報告している [24] が、本研究の系はサイズが小さいために良い並列化効率が得られなかったと考えら

表 7 Summary: acceleration of prediction

名前	両側計算	片側のみ計算
予測した環状ペプチドの個数	90	14
Umbrella サンプリング時間の短縮	-	○
膜に入る過程のみ計算	-	○
速度 (括弧は倍率)	64 時間	45 時間
ABCI 利用 (40 CPU thread, 1 GPU)	(×1.0)	(×1.4)
精度 (相関係数 <i>R</i>)	最良結果 : 0.55 実験値と有意な相関	最良結果 : 0.71 実験値と有意な相関

れる。

8. まとめ

8.1 拡張サンプリング MD シミュレーションによる環状ペプチドの膜透過性予測

本研究では、102 個の環状ペプチドを対象に拡張サンプリング MD による膜透過シミュレーションを実施した。膜透過した 90 個の環状ペプチドに対して膜透過率を予測した結果、予測値と実験値の有意な相関が得られた。

8.2 シミュレーション計算の高速化

計算の高速化のために、膜に入る過程のみの計算を行い、各ウィンドウの Umbrella サンプリング時間を 50 ns/window に設定した。得られた速度と相関係数を表 7 にまとめた。

8.3 今後の課題

(1) 膜透過率を計算するとき、PMF 曲線の最も底のところ (エネルギー最安定点) を基準点にして検証する

表 8 Smaller and larger simulation systems

名称	サイズが小さい系 (表 1 再掲, 図 2)	サイズが大きい系
POPC 膜モデル	片側 16 個, 両側計 32 個	片側 64 個, 両側計 128 個
TIP3P ホモモデル	合計 2,539 個	合計 5,760 個
ナトリウムイオン	合計 8 個	合計 20 個
塩素イオン	合計 8 個	合計 20 個
系の横幅	33 Å	66 Å
系の縦幅	33 Å	66 Å
系の高さ	120 Å	100 Å

- (2) 膜に入る過程のみの計算を利用する場合と利用しない場合のそれぞれで得られた相関係数には有意な差が取れていないので, 今後はさらにサンプル数を増やして検証していく.
- (3) 今回検討した系はサイズが比較的に小さいため, 周期的境界条件で同じ原子から重複の力を受けてしまうことや, 隣のイメージセルにある膜が同時に割り込むのために膜が開きにくいことが問題としてあげられる. そこで, 表 8 に示したように, 系のサイズを拡大し, 8 個の環状ペプチドについて実験したところ, 予測値と実験値との相関は得られなかった. 検証対象の分子数が少なかった可能性もあり, 今後さらに分子数を増やして検証する.

謝辞 本研究の一部は, JSPS 科研費 (17H01814), JST CREST (JPMJCR1303), JST リサーチコンプレックス推進プログラム, 文部科学省地域イノベーション・エコシステム形成プログラム, AMED BINDS (JP17am0101112) の支援を受けて行われた.

参考文献

[1] Alberts, B. *et al.* Molecular biology of the cell. *New York: Garland Pub*, (2002).

[2] Bemporad, D. *et al.* Behaviour of small solutes and large drugs in a lipid bilayer from computer simulations. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes*, 1718(1-2), 1-21, (2005).

[3] Matsson, P. *et al.* Cell permeability beyond the rule of 5. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 101, 42-61, (2016).

[4] Whitty, A. *et al.* Quantifying the chameleonic properties of macrocycles and other high-molecular-weight drugs. *Drug Discovery Today*, 21(5), 712-717, (2016).

[5] 舛屋 圭一. 特殊環状ペプチドがもたらす創薬研究開発の新潮流. *日本薬理学雑誌*, 148(6), 322-328, (2016).

[6] Lipinski, C. A. *et al.* Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 23(1-3), 3-25, (1997).

[7] Hewitt, W. M. *et al.* Cell-Permeable Cyclic Peptides from Synthetic Libraries Inspired by Natural Products. *Journal of the American Chemical Society*, 137(2), 715-721, (2015).

[8] Rezai, T. *et al.* Conformational flexibility, internal hydrogen bonding, and passive membrane permeability: successful in silico prediction of the relative permeabilities of cyclic peptides. *Journal of the American Chemical Society*, 128(43), 14073-14080, (2006).

[9] Izrailev, S. *et al.* Steered molecular dynamics simulation of the Rieske subunit motion in the cytochrome bc(1) complex. *Biophysical Journal*, 77(4), 1753-1768, (1999).

[10] Laio, A. *et al.* Metadynamics: a method to simulate rare events and reconstruct the free energy in biophysics, chemistry and material science. *Reports on Progress in Physics*, 71(12), 126601, (2008).

[11] Sabbadin, D. *et al.* Supervised Molecular Dynamics (SuMD) as a Helpful Tool To Depict GPCR-Ligand Recognition Pathway in a Nanosecond Time Scale. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 54(2), 372-376, (2014).

[12] Harada, R. *et al.* Parallel cascade selection molecular dynamics (PaCS-MD) to generate conformational transition pathway. *The Journal of Chemical Physics*, 139(3), 035103, (2013).

[13] Lee, C. T. *et al.* Simulation-Based Approaches for Determining Membrane Permeability of Small Compounds. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 56(4), 721-733, (2016).

[14] Diamond, J. M. *et al.* Interpretation of nonelectrolyte partition coefficients between dimyristoyl lecithin and water. *The Journal of Membrane Biology*, 17(2), 121-54, (1974).

[15] Marrink, S.-J. *et al.* Simulation of water transport through a lipid membrane. *The Journal of Physical Chemistry*, 98(15), 4155-4168, (1994).

[16] Torrie, G. M. *et al.* Nonphysical sampling distributions in Monte Carlo free-energy estimation: Umbrella sampling. *Journal of Computational Physics*, 23(2), 187-199, (1977).

[17] Kumar, S. *et al.* The weighted histogram analysis method for free-energy calculations on biomolecules. I. The method. *Journal of Computational Chemistry*, 13(8), 1011-1021, (1992).

[18] Hummer, G. Position-dependent diffusion coefficients and free energies from Bayesian analysis of equilibrium and replica molecular dynamics simulations. *New Journal of Physics*, 7(1), 34-34, (2005).

[19] Furukawa, A. *et al.* Passive Membrane Permeability in Cyclic Peptomer Scaffolds Is Robust to Extensive Variation in Side Chain Functionality and Backbone Geometry. *Journal of Medicinal Chemistry*, 59(20), 9503-9512, (2016).

[20] Abraham, M. J. *et al.* GROMACS: High performance molecular simulations through multi-level parallelism from laptops to supercomputers. *SoftwareX*, 1-2, 19-25, (2015).

[21] Molecular Operating Environment (MOE), 2013.08; Chemical Computing Group ULC, 1010 Sherbooke St. West, Suite #910, Montreal, QC, Canada, H3A 2R7, 2019.

[22] Jo, S., *et al.* CHARMM-GUI: A web-based graphical user interface for CHARMM. *Journal of Computational Chemistry*, 29(11), 1859-1865, (2008).

[23] Jorgensen, W. L. *et al.* Comparison of simple potential functions for simulating liquid water. *The Journal of Chemical Physics*, 79(2), 926-935, (1983).

[24] Kutzner, C. *et al.* Best bang for your buck: GPU nodes for GROMACS biomolecular simulations. *Journal of Computational Chemistry*, 36(26), 1990-2008, (2015).