

平成22年4月1日現在

研究種目：特定領域研究

研究期間：2005～2009

課題番号：17073007

研究課題名（和文） 複合機能型反応場の創製と物質生産

研究課題名（英文） Synthesis and synthetic utilities of functionalized reaction system in ionic liquids

研究代表者

北爪 智哉 (KITAZUME TOMOYA)

東京工業大学・大学院生命理工学研究科・教授

研究者番号：30092547

研究成果の概要（和文）：

イオン液体を反応場として活用するいくつかの反応を確立することが出来た。特に、触媒機能を付与したイオン液体の創製と反応場としての応用、フッ素化酵素であるフルオリナーゼの機能発現などが複合機能型反応場の創製と物質生産という題目に合致している。さらに、イオン液体の新領域として生理活性を発現する新規のイオン液体を数多く創製し、活性発現と構造相関について明らかにしたことはイオン液体の科学としての新展開である

研究成果の概要（英文）：

We have established new ionic liquid reaction systems for the organic reactions. 1) We have reported the utilities of ionic liquid-supported NHPI complexes as recoverable and recyclable system for the oxidation and nitration. 2) Ionic liquids have recognized as a solvent for *Geotrichum candidum*-catalyzed optical resolution and/or deracemization of racemic secondary alcohols, giving optically active alcohols.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2005年度	19,300,000	0	19,300,000
2006年度	19,200,000	0	19,200,000
2007年度	19,600,000	0	19,600,000
2008年度	10,600,000	0	10,600,000
2009年度	9,500,000	0	9,500,000
総計	78,200,000	0	78,200,000

研究分野：化学

科研費の分科・細目：複合化学・機能物質化学

キーワード：イオン液体、酵素反応、フルオリナーゼ、光学活性体、機能性反応場

1. 研究開始当初の背景

イオン液体という物質が認識され始めた頃で、市販されているイオン液体にも限度があり、溶剤としてどのような特徴があるのかについても不明確であり、新規なイオン液体の創製や用途、機能発現などの検討が望まれていた。

2. 研究の目的

イオン液体を利用する新規な反応場を創製し、物質生産に利用することが目的のひとつである。さらに、新規な機能を発現するイオン液体を設計し、創製したのち、どのような機能発現がなされるのかを検討することも目的とした。

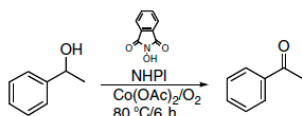
3. 研究の方法

機能を付与したイオン液体の設計と創製を検討しながら、イオン液体を利用する新規な機能性反応場について検討した。イオン液体を活用する研究の新しい展開を図るために生理活性の発現が期待できるイオン液体を設計し、創製した。

4. 研究成果

A. イオン液体を反応場として活用するいくつかの反応を確立することが出来た。

1) 触媒(NHPI)がイオン液体中で使用可能であることを見だし、酸化反応を行った結果有機溶剤を利用した時と比較して再利用可能であることが判明した。

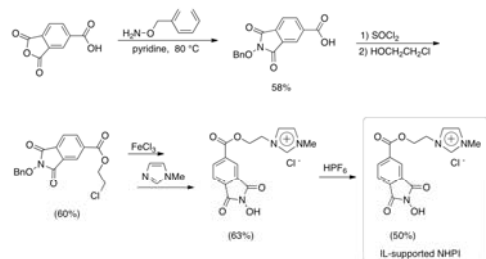


Entry	Solvent	Yield ^a (%)
1	[bmim][PF ₆]	93
2	[bmim][CF ₃ SO ₃]	80
3	[bmim][BF ₄]	78
4	[bmim][(CF ₃ SO ₂) ₂ N]	78
5	[bmim][NO ₃]	65
6	[bmim][CH ₃ SO ₃]	33
7 ^b	Ethyl acetate	92

^a Yields were determined by ¹H NMR integral intensities using C₆H₅CF₃ as an internal standard.

^b The reaction was carried out under reflux.

そこで、触媒機能を付与したイオン液体(IL-supported NHPI)の創製を図示した方法で行い、この触媒機能を付与した物質を用いた酸化反応と NHPI 単独でのイオン液体中での酸化反応の比較検討を行った。両者の相違点は、IL-supported NHPI 体を使用した酸化反応では5回の繰り返し使用においても収率の低減は観察されず、NHPI が3回目の繰り返し使用で急激に収率の低下を示したのに比較して、その性能ははるかに優れていることを明らかにすることができた。



Synthetic routes to ionic liquid-supported NHPI complex

	Run: yield (%)				
	1	2	3	4	5
NHPI (6 h)	93	80	26		
IL-NHPI 4 (2 h)	98	99	96	98	97

次に、この複合機能性イオン液体触媒を活用した酸化反応を行い表に示したような結果を得、触媒機能を有する複合機能性イオン液体の創製と反応場としての活用を明らかにすることが出来た。

Oxidation with IL-supported NHPI and Co(OAc) ₂ system				
Entry	Substrate	Product	Time (hr)	Yield (%)
1	heptanol	heptanal	10	trace
2	2-nonanol	2-nonanone	2	84
3	PhCH(Me)OH	PhCOMe	2	98
4	cyclo-C ₆ H ₁₁ OH		2	80
5			2	78

2) フッ素化酵素であるフルオリナーゼの機能発現がイオン液体中で可能であることを見出した。この反応系において、フルオリナーゼを固定化することにより酵素反応に必要な水分が固定化酵素内に保存されることにより反応が進行することを見出した。さらに、この反応系で知られている 5'-FDA の酵素阻害効果が、生成した 5'-FDA をイオン液体で抽出することにより低減されるため、水系での酵素機能を上回る機能発現が発現することも明らかにした。フルオリナーゼによるフッ素化反応は、水系で行うと転化率は約 6% であるが固定化セルを利用することにより約 9% まで転化率を増加させることが出来る。さらに、イオン液体を利用した反応場でフッ素化反応を行うことにより約 22% まで転化率を向上させることができた。

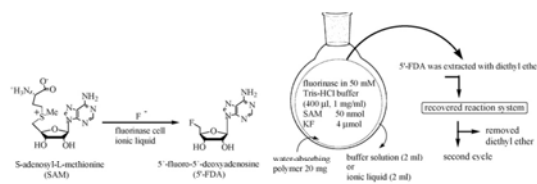


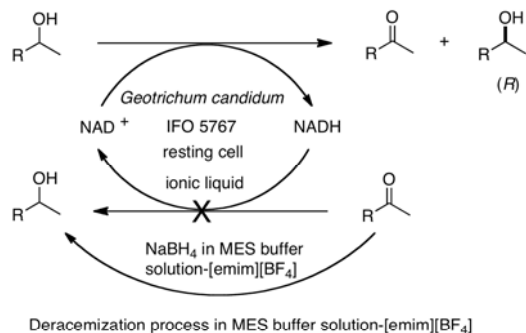
Table 1. Utility of an ionic liquid in fluorination with fluorinase

Entry	IL or Buffer	Conversion yield (%) ^a					Total	Ratio ^b
		first	second	third	fourth	fifth		
1	[DEME][BF ₄]	2.3	2.5	1.4	1.0	1.3	8.5	90
2	[Hexmim][BF ₄]	4.7	3.2	1.8	1.3	1.5	12.5	133
3	[Octylmim][PF ₆]	19.8	2.6	0.4	- ^c	- ^c	22.8	243
4	PP13 TFSI ^{b,d}	1.8	- ^c	- ^c	- ^c	- ^c	1.8	19
5	[DEME]TFSI ^d	- ^c						
6	[Bu ₃ P(C12)][BF ₄] ^d	- ^c						
7	[bmim][TFSI] ^d	- ^c						
8	Tris-HCl buffer	2.5	3.5	2.7	0.5	0.2	9.4	100

^a Reaction condition: immobilized cell was prepared from fluorinase 330 µg in Tris-HCl buffer solution (70 µl) (1 mg/ml, 400 µl), 4 µmol KF, SAM 50 nmol, and water-absorbing polymer 20 mg, 37 °C, 1 hr, ionic liquid (2 ml). ^b N-methyl-N-propylpiperidinium bistrifluoromethanesulfonylamide^c 5'-FDA was not isolated. ^c Ratio of total conversion yield of ionic liquid/Tris-HCl buffer. ^d Reaction condition: immobilized cell was prepared from fluorinase 165 µg in Tris-HCl buffer solution (35 µl) (1 mg/ml, 200 µl), 2 µmol KF, SAM 50 nmol, and water-absorbing polymer 20 mg, 37 °C, 6 hr, Tris-HCl buffer or ionic liquid (800 µl).

3) デラセミ化反応

ラセミの二級アルコール類を効率良く光学活性な二級アルコール類へと変換する酵素法を見いだした。この方法では、イオン液体を反応場とすることが重要な要素であることを明らかにした。このデラセミ化反応による光学活性な二級アルコール類の創製に関しては特許出願している。



Deracemization of secondary alcohols				Deracemization of secondary alcohols							
Entry	NaBH ₄	Wet cell (g)	Yield (%) ^a	% ee of alcohol ^b	Entry	NaBH ₄	Wet cell (g)	Yield (%) ^a	% ee of alcohol ^b		
1	NaBH ₄ (0.0 eq.)	0.50	1	96	99	10	NaBH ₄ (0.0 eq.) ^c	0.75	21	56	>99
2	NaBH ₄ (0.0 eq.)	0.50	5	87	95	11	NaBH ₄ (0.0 eq.)	0.50	18	60	97
3	NaBH ₄ (0.0 eq.)	0.50	15	79	96	12	NaBH ₄ (0.1 eq.)	0.50	16	56	>99
4	NaBH ₄ (0.0 eq.)	0.50	0	54	>99	13	NaBH ₄ (0.9 eq.)	0.50	12	73	>99
5	NaBH ₄ (0.0 eq.) ^d	0.75	0	58	>99	14	NaBH ₄ (0.0 eq.)	0.50	4	96	19
6	NaBH ₄ (0.1 eq.)	0.50	8	68	97	15	NaBH ₄ (0.0 eq.)	6.00 ^e	17	33	66
7	NaBH ₄ (0.0 eq.)	0.50	10	67	89	16	NaBH ₄ (0.0 eq.)	6.00 ^f	32	49	>99
8	NaBH ₄ (0.0 eq.) ^g	0.75	10	74	99	17	NaBH ₄ (0.0 eq.)	0.50	3	90	16
9	NaBH ₄ (0.0 eq.) ^h	1.00	14	85	98	18	NaBH ₄ (0.0 eq.)	3.00 ^g	9	41	97

Reaction conditions: 24 h at 30°C in the mixture of MES buffer (3 ml) and [emim][BF₄] (3 ml). ^a Determined by GC analysis with chiral column (Chiralcel OD or CP-Cyclodextrin-0.2, 2.0 μm, 10). The absolute configuration was determined by the EPR of all samples obtained by comparing the GC retention times with those of the authentic samples in the references. ^b ^c MES buffer solution (4.0 ml), [emim][BF₄] (1.0 ml). ^d MES buffer solution (0.5 ml), [emim][BF₄] (0.5 ml). ^e MES buffer solution (0.5 ml), [emim][BF₄] (0.5 ml). ^f MES buffer solution (0.5 ml), [emim][BF₄] (0.5 ml). ^g MES buffer solution (1.0 ml), [emim][BF₄] (1.0 ml), 0.1 mol. ^h NaBH₄ buffer solution (1.0 ml), [emim][BF₄] (1.0 ml), 0.1 mol.

B. イオン液体の新領域として生理活性を発現する新規のイオン液体を以下の図に示したような合成方法で数多く創製し、活性発現と構造相関について学会で発表している。写真で示した活性発現の成果は、細胞がコントロールに対して伸張している様子が顕著に観察されており、これまでに報告されているNH125と比較しても、新規にデザインし合成した化合物の方がより活性が向上していることが観察でき、これらの化合物群の創製についての特許出願を行っている。

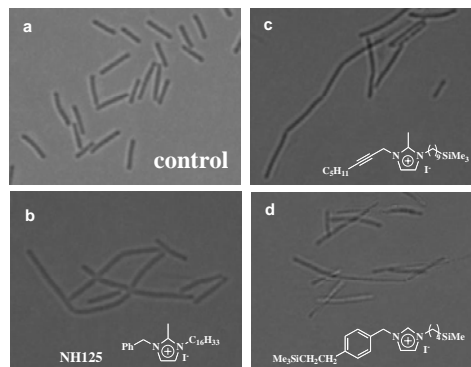
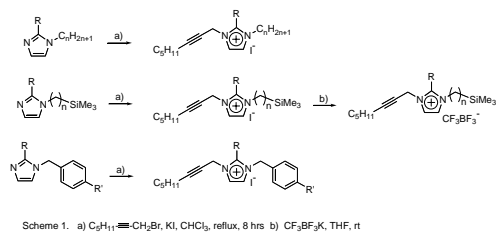


Figure 1. Observation of cell division persisted longer than control: YycG-YycF modulates expression of the *ftsZ* operon in *B. subtilis*

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 11 件)

- Enzymatic fluorination using fluoride ion generated from degradation of fluorinated materials
N. Iwai, Y. Tsuboki, M. Kitazume, T. Kitazume
J. Fluorine Chem. **2010**, *131*, 369-372.
- EPR Study of Rotational Diffusion in Viscous Ionic Liquids: Analysis by a Fractional Stokes-Einstein-Debye Law
Y. Miyake, T. Hidemori, N. Arai, A. Kawai, K. Shibuya, S. Koguchi, T. Kitazume
Chem. Lett. **2009**, *38*, 124-125
- Deracemization of racemic alcohols with *Geotrichum candidum*-NaBH₄ in the mixture of MES buffer solution-ionic liquid
T. Tanaka, N. Iwai, T. Matsuda, T. Kitazume,
J. Mol. Catal. B: Enzymatic **2009**, *57*, 317-320.
- Utility of ionic liquid for improvement of fluorination reaction with immobilized fluorinase
N. Iwai, T. Tanaka, T. Kitazume, *J. Mol. Catal. B: Enzymatic* **2009**, *59*, 131-133.
- Screening of fluorinated materials degrading microbes
N. Iwai, R. Sakai, S. Tsuchida, M. Kitazume, T. Kitazume
J. Fluorine Chem. **2009**, *130*, 434-437.
- Realization of Anti-S_N2' Selective Allylation of 4-Cyclopentene-1,3-diol Monoester with Aryl- and Alkenyl Reagents
K. Nakata, Y. Kiyotsuka, T. Kitazume, Y. Kobayashi, *Org. Lett.* **2008**, *10*, 1345-1348

- ⑦ Structure-Activity Relationship Study of the Bacterial Actin-Like Protein MreB Inhibitors: Effects of Substitution of Benzyl Group in *S*-Benzylisothioureia
N. Iwai, T. Fujii, H. Nagura, M. Wachi, T. Kitazume, *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **2007**, *71*, 246-248
- ⑧ Synthetic utilities of ionic liquid-supported NHPI complex
S. Koguchi, T. Kitazume, *Tetrahedron Lett.* **2006**, *47*, 2797-2801
- ⑨ An effective method to use ionic liquids as reaction media for asymmetric reduction by *Geotrichum candidum*
T. Matsuda, Y. Yamagishi, S. Koguchi, N. Iwai, T. Kitazume, *Tetrahedron Lett.* **2006**, *47*, 4619-4622
- ⑩ In Situ Generation of 3,3,3-Trifluoropropanal and Its Use for Carbon-Carbon Bond-Forming Reactions
T. Yamazaki, R. Kobayashi, T. Kitazume, T. Kubota, *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 2499-2502
- ⑪ Synthesis of Trifluoro- or Difluoromethylated Olefins by Regio- and Stereocontrolled SN² Reactions of *gem*-Difluorinated Vinyloxiranes
H. Ueki, T. Chiba, T. Kitazume, *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 3506-3511

[学会発表] (計 13 件)

- ① 固定化フルオリナーゼの活性向上とイオン液体の効果
田中孝昌、北爪智哉、岩井伯隆
第 32 回フッ素化学討論会、名古屋、11 月 18 日、2008
- ② 細菌の細胞骨格形成を阻害する新規抗菌剤の開発と応用
岡田崇嗣、岩井伯隆、北爪智哉
第 35 回 構造活性相関シンポジウム、京都 11 月 16 日、2007
- ③ 新規なイオン液体の合成と生理活性
中山恭佑、岩井伯隆、北爪智哉
第 31 回フッ素化学討論会、弘前 10 月 25 日、2007

[図書] (計 4 件)

- ① イオン液体の不思議
北爪智哉、北爪麻己
工業調査会 (2007), 159 頁
- ② Synthesis of chiral fluorinated materials via biotransformation
T. KITAZUME, T. MATSUDA, K. NAKAMURA
Advances in Organic Synthesis: Modern Organofluorine Chemistry-Synthetic Aspects; Ed. K. K. Laali Bentham Science

- Publishers Ltd., p. 463-490, 2006.
- ③ Electrochemical Aspects of Ionic Liquids Enzymatic Reaction, Ed by H. Ohno, John Wiley & Sons Ltd., Chap.10, p.135-142, 2005
T. Kitazume

- ④ イオン液体 --- 常識を覆す不思議な塩
北爪智哉、淵上寿雄、沢田英夫、伊藤敏幸
コロナ社、2005, 166 頁

[産業財産権]

○出願状況 (計 2 件)

名称: 光学活性アルコールの製造方法
発明者: 北爪智哉、岩井伯隆、田中孝昌
権利者: 東京工業大学
種類: 国内特許
番号: 特願 2008-004070
出願年月日: 2008 年 1 月 11 日
国内外の別: 国内

名称: イミダゾリウム誘導体塩及びその用途
発明者: 北爪智哉、小林雄一、塚元雅麗、高 明天
権利者: 東京工業大学、ダイキン工業株式会社
種類: 国内特許
番号: 特願 2008-059189
出願年月日: 2008 年 3 月 10 日
国内外の別: 国内

6. 研究組織

(1) 研究代表者

北爪 智哉 (KITAZUME TOMOYA)
東京工業大学・大学院生命理工学研究科・教授
研究者番号: 30092547

(2) 研究分担者

山崎 孝 (YAMAZAKI TAKASHI)
東京農工大学・大学院共生科学技術研究院・准教授
研究者番号: 40191267

(3) 連携研究者

岩井 伯隆 (IWAI NORITAKA)
東京工業大学・大学院・生命理工学研究科・助教
研究者番号: 80376938