

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 18 日現在

機関番号：14101

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2013～2014

課題番号：25620079

研究課題名(和文) 高密度界面酵素反応場の構築を基軸とするひまし油の効率的分子変換

研究課題名(英文) Efficient Transformation of Castor Oil Using a Highly-Densed Phase Boundary Enzyme

研究代表者

清水 真 (Shimizu, Makoto)

三重大学・工学(系)研究科(研究院)・教授

研究者番号：30162712

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：1,3-ジアシルグリセロールもしくはその誘導体の不斉加水分解によって1-モノアシルグリセロールを得る方法を検討した。リパーゼPSをセラミックスに固定化したLipase PS C Amano を用いると、著しく収率が低下した。そこで2級の水酸基を保護した1,3-ジアシルグリセロール誘導体およびリパーゼPSを用い、保護基がBOM基およびMOM基の場合90%deを超える高い選択性でモノアシルグリセロールを得ることができた。93% deのジアシルグリセロールを用いてグリコシル化を検討し、良好な収率でグリコシル化生成物を得た。さらに各種SQDGへの変換およびフロー合成の効率化を検討中である。

研究成果の概要(英文)：We examined asymmetric hydrolysis of 1,3-diacyl glycerol or its derivatives with lipases. Use of Lipase PS immobilized on ceramic was not effective to give only a low yield of the product. When 2-BOM- or 2-MOM-1,3-diacyl glycerols were used, Lipase PS worked very well to give the monoacylated glycerol in >90% de. Transformations into SQDG was next examined. Glycosylation of the diacylated glycerol with the imidate derived from sulfenylated glucose in the presence of TMSOTf gave a precursor to SQDG in good yield. Further transformations involving oxidation of the sulfur moiety and the removal of the protecting groups as well as application to a flow synthesis are under way.

研究分野：有機合成化学

キーワード：ひまし油 不斉加水分解 1,3-ジアシルグリセロール 固定化リパーゼ 1-モノアシルグリセロール
グリコシル化反応 SQDG フロー合成

1. 研究開始当初の背景

本研究で選択的に合成することを目指す光学活性スルホキシルジアシルグリセロール類は、高いDNAポリメラーゼ阻害活性および新生血管成長抑制作用を有することが報告されているが、シアノバクテリア培養液から微量にしか得られず、しかも副生成物との分離が極めて困難である。また不斉炭素の立体化学の活性作用に及ぼす影響も不明である。その合成法もほとんど開発されておらず、入手容易な原料から新手法により各種誘導体を自由に合成できれば新しいエイズ治療薬および癌治療薬の開発に繋がる。私共はここ3, 4年、ひまし油の新しい活用法として機能性材料合成への応用を探索しており、現在新規エイズおよび癌治療薬の開発が強く望まれていることに鑑み、本研究のスルホキシルジアシルグリセロール(SQDG)は極めて有望視されている化合物である。

2. 研究の目的

ひまし油はヒマという植物から得られる入手容易な天然油で、約90%がリシノレイン酸とグリセリンとのエステルであり、脂肪酸部位に二重結合およびヒドロキシ基を有するトリアシルグリセリン構造を有する。本研究ではリパーゼを用いるひまし油の不斉加水分解および不斉エステル化による光学活性ジアシルグリセロールを得る反応を、固定化酵素マイクロリアクターを活用して高密度に集積化された界面酵素反応場を合理的に構築して大量合成に適したものにす。さらに得られた各種光学活性ジアシルグリセロールをD-グルコース由来のスルホン酸誘導体に導入して大量に光学的に純粋な2*R*および2*S*-スルホキシルジアシルグリセロールに変換し、DNAポリメラーゼ阻害作用の検証を経て高い活性を有する新規HIV-RT阻害剤、抗腫瘍剤の創製を目的とする。

3. 研究の方法

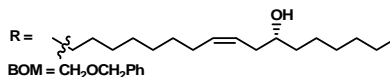
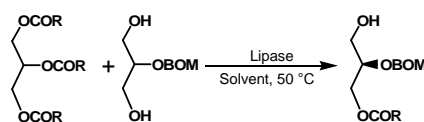
平成25年度は探索実験結果を基に、各種加水分解酵素およびフロー合成を用い簡便な操作でジアシルグリセロールを高い光学純度で合成する方法を詳細に検討し、得られた光学活性ジアシルグリセロールの官能基を適切に変換する手法を検討した。具体的には加水分解酵素リパーゼおよび固定化リパーゼを用いてひまし油の不斉加水分解を行い、ジアシルグリセロールを高い光学純度で合成する反応条件を検討した。また、得られた最適な加水分解条件下で、フロー合成に適する改良を分離精製、反応操作を中心に検討する。特にジアシルグリセロールはそのリシノール酸部位に有する水酸基にアシル基が転位する副生成物が副生することを、予備実験で確認しているため、転位反応を防ぐ反応

条件の確立を狙った。平成26年度は25年度に得られた知見をもとにそれらのフロー大量合成の検討と、各種ジアシルグリセロール誘導体をグリコシル化し、各種スルホキシルジアシルグリセロールの合成を検討した。

4. 研究成果

(1) ひまし油をアシル化剤として用いるグリセロール誘導体のデシメトリ化

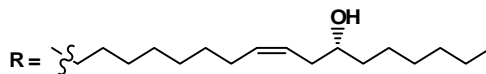
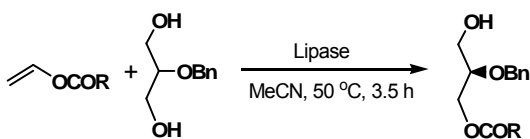
ひまし油とグリセロールの二級アルコール部分をBOM基で保護したものをアルゴン雰囲気下、有機溶媒中50℃で攪拌しているところにリパーゼを加えることにより行った。PPLを用いたとき、もっとも良いジアステレオ選択性であった。リパーゼAKやPSを用いた場合は選択性の低下が見られた。また、全体的に低収率であった。



Entry	Lipase	Solvent	Time (h)	Yield (%)	% de
1	PPL	MeCN	3.5	22	70
2	AK	MeCN	3.5	28	58
3	AK	EtCN	6.5	3	59
4	PS	MeCN	3.5	11	60
5	AYS	MeCN	3.5	trace	-
6	CCL	MeCN	19.0	trace	-
7	Novozym 435	MeCN	3.5	43	0

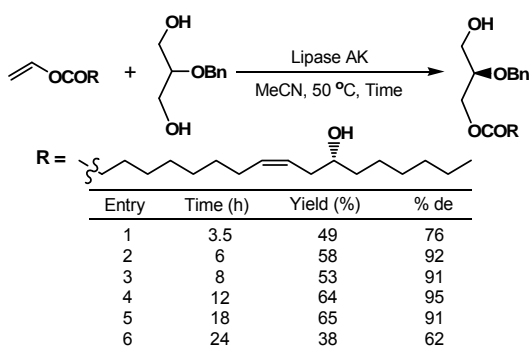
(2) リシノール酸ビニルをアシル化剤として用いるグリセロール誘導体のデシメトリ化

選択性の向上を目指して、アシルドナーをひまし油からリシノール酸ビニルに代えて反応を行った。その結果ジアステレオ選択性の向上が見られた。



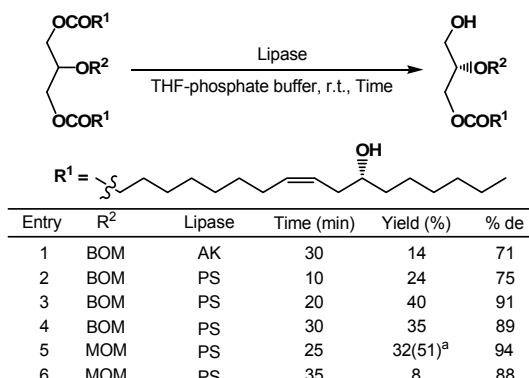
Entry	Lipase	Yield (%)	% de
1	PPL	15	60
2	PS	29	77
3	AK	49	76

次にリパーゼAKを用い、反応時間の検討を行った。その結果反応時間が6時間から、18時間の間では90% deを超える高い選択性で1-モノアシルグリセロールを得ることができ、収率の向上も達成できた。



(3) 不斉加水分解による 1-モノアシルグリセロールの合成

次に 1,3-ジアシルグリセロールもしくはその誘導体の不斉加水分解によって 1-モノアシルグリセロールを得る方法を検討した。リパーゼ PS をセラミックスに固定した Lipase PS C Amano を用いると、著しく収率が低下した。そこで生成物が安定になるよう 2 級の水酸基を保護した 1,3-ジアシルグリセロール誘導体を用い反応条件の検討を行った。リパーゼ PS を用い、保護基に BOM 基を用いた場合および MOM 基を用いたときも良好なジアステレオ選択性でモノアシルグリセロールが得られた。保護基が MOM 基のとき反応時間を 35 分から 25 分にすると、収率、選択性の向上がみられ 90% de を超える高い選択性でモノアシルグリセロールを得ることができた。

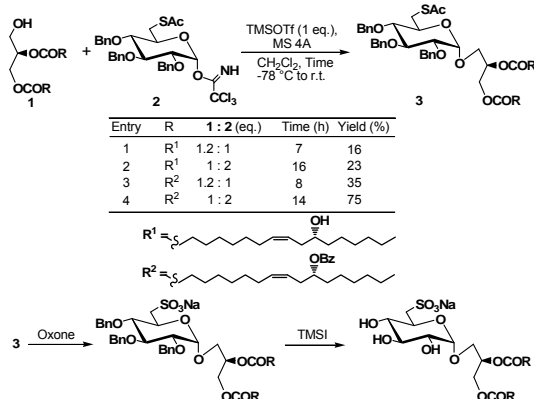


^aConversion yield BOM = CH₂OCH₂Ph MOM = CH₂OCH₃

(4) スルホキシジアシルグリセロール (SQDG) 合成への応用

93% de のジアシルグリセロールを用いて SQDG の合成法を検討した。反応は活性化剤として、TMS トリフラートをを用い、ジクロロメタン溶媒中 -78 から室温まで自然昇温させることで行った。脂肪鎖の水酸基をベンゾイル基で保護したアクセプターをドナーに対して 2 当量用いることにより良好な収率でグリコシル化が進行した。現在この SQDG 前駆体をオキソソで酸化することでスルホン酸塩とし、TMSI でベンジル基の脱保護を行うことによる、SQDG への変換を検討中である。また、フロー合成への展開も少しずつではあ

るが、再現性のある結果が得られている。



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 18 件)

Synthesis of Multi-substituted Dihydroquinoxaline Derivatives via Tandem *N*-Alkylation and Addition Reactions of 3-Oxoquinoxaline-2-carboxylates, S. Miyamaru, K. Umezumi, A. Ito, M. Shimizu, *Eur. J. Org. Chem.*, 3327-3337 (2015) [査読有]

Nucleophilic Addition Reaction to the Iminium Salts Generated from Pipecolic Acid Derivatives and Application to the Synthesis of Bicyclic Compounds, M. Shimizu, A. Yato, T. Kawanura, *Asian J. Org. Chem.*, **4**, (2), 128-131 (2015). [査読有]

2-Aryl-4-quinolone Synthesis Using the Thermal Rearrangement of Iminocyclobutenones, I. Hachiya, K. Yokoyama, A. Ito, M. Shimizu, *Heterocycles*, **90**, (1), 97-103 (2015). [査読有]

N-Alkylation of α -Iminophosphonates and Application to Horner-Wadsworth-Emmons Reaction, M. Shimizu, M. Tateishi, I. Mizota, *Chem. Lett.*, **43**, (11) 1752-1754 (2014). [査読有]

Chemoselective Reductions and Iodinations Using Titanium Tetraiodide, I. Hachiya, M. Shimizu *Tetrahedron Lett.*, **55**, (17), 2781-2788 (2014). [査読有]

Tandem *N*-Alkylation/Vinylogous Aldol Reaction of β,γ -Alkenyl α -Iminoester, H. Tanaka, I. Mizota, M. Shimizu, *Org. Lett.*, **16**, (8), 2276-2279 (2014). [査読有]

Chemoselective Reductions and Iodinations Using Titanium Tetraiodide, I. Hachiya, M. Shimizu, *Tetrahedron Lett.*, **55**, (17), 2781-2788 (2014). [査読有]

Chiral β -Lactam Synthesis through the Enantioselective Reduction of Iminocyclobutenones and Thermal Rearrangement of

Aminocyclobutenones, I. Hachiya, A. Ito, M. Shimizu, *Asian J. Org. Chem.*, **3**, (5), 614-618 (2014). [査読有]

Titanium Tetraiodide Mediated Organic Reactions, T. Haneishi, I. Hachiya, M. Shimizu, *Arabian J. Sci. Eng.*, **39**, (9), 6599-6616 (2014). [査読有]

Integrated Reactions Based on the Sequential Addition to α -Imino Esters, K. Koyama, I. Mizota, M. Shimizu, *Pure Appl. Chem.*, **86**, (5), 755-764 (2014). [査読有]

Two-Step Synthesis of 3,4-Ethylenedioxythiophene (EDOT) from 2,3-Butanedione, I. Hachiya, T. Yamamoto, T. Inagaki, T. Matsumoto, A. Takahashi, I. Mizota, M. Shimizu, *Heterocycles*, **88**, (1), 607-612 (2014). [査読有]

Diastereoselective Iodo Aldol Reaction of γ -Alkoxy α,β -Alkynyl Ketone Derivatives Promoted by Titanium Tetraiodide, I. Hachiya, S. Ito, S. Kayaki, M. Shimizu, *Asian J. Org. Chem.*, **2**, (11), 931-934 (2013). [査読有]

Regioselective Tandem *N*-Alkylation/*C*-Acylation of β,γ -Alkynyl α -Imino Esters, I. Mizota, Y. Matsuda, S. Kamimura, H. Tanaka, M. Shimizu, *Org. Lett.*, **15**, (16), 4206-4209 (2013). [査読有]

Synthesis of Azulene Derivatives Having an Azathiocrown Ether Moiety and Their Selective Color Reaction toward Silver Ion, S. Wakabayashi, M. Uchida, R. Tanaka, M. Shimizu, *Asian J. Org. Chem.*, **2**, (9), 786-791 (2013). [査読有]

Tandem *N*-Alkylation-Addition Reaction of α -Imino Esters and Application to a New Flow System, T. Sano, I. Mizota, M. Shimizu, *Chem. Lett.*, **42**, (9) 995-997 (2013) [査読有]

Highly Diastereoselective Tandem *N*-Alkylation-Mannich Reaction of α -Imino Esters, M. Shimizu, D. Kurita, I. Mizota, *Asian J. Org. Chem.*, **2**, (3) 208-211 (2013). [査読有]

A New Single-ion Polymer Electrolyte Based on Polyvinyl Alcohol for Lithium Ion Batteries, Y. S. Zhu, X. J. Wang, Y. Y. Hou, X. W. Gao, L. L. Liu, Y. P. Wu, M. Shimizu, *Electrochimica Acta*, **87**, (1) 113-118 (2013). [査読有]

Synthesis of Indolin-3-ones and Tetrahydro-4-quinolones Using α -Imino Esters, M. Shimizu, Y. Takao, H. Katsurayama, I. Mizota, *Asian J. Org. Chem.*, **2**, (2) 130-134 (2013) [査読有]

[学会発表] (計 29 件)

日本化学会第 95 春季年会 (2015 年 3 月 26 日 -29 日), 日本大学, 船橋市, *meso*-1,4-ジオキサン誘導体のエナンチオ選択的還元反応によるデシメトリ化, 進藤大明、八谷 巖、清水 真

日本化学会第 95 春季年会 (2015 年 3 月 26 日 -29 日), 日本大学, 船橋市, α -イミノチオエステルに対する極性転換-*N*-アルキル化に続くタンDEM Michael 付加/転位反応, 尹 大成、溝田 功、清水 真
日本化学会第 95 春季年会 (2015 年 3 月 26 日 -29 日), 日本大学, 船橋市, 2-イミノピリジンを出発物質に用いる 2-アミノピリジニウム塩の合成, 福富 慎、八谷 巖、清水 真

日本化学会第 95 春季年会 (2015 年 3 月 26 日 -29 日), 日本大学, 船橋市, シクロプロピル基を有する α -イミノチオエステルへの極性転換反応を活用したタンDEM開環反応, 森本貴好、溝田 功、清水 真
日本化学会第 95 春季年会 (2015 年 3 月 26 日 -29 日), 日本大学, 船橋市, α -イミノアリルエステルの極性転換反応に続く Claisen 転位と反応機構の解明, 小林良成、溝田 功、清水 真

日本化学会第 95 春季年会 (2015 年 3 月 26 日 -29 日), 日本大学, 船橋市, α -イミノアリルエステルに対する極性転換反応を活用した *N*-アルキル化に続く立体選択的 Claisen 転位反応, 深谷俊和、溝田 功、清水 真

日本化学会第 95 春季年会 (2015 年 3 月 26 日 -29 日), 日本大学, 船橋市, 1,2-アザ-Brook 転位を鍵反応に用いるオキシインドールアルカロイド Matemone の合成研究, 今里 駿、清水 真

日本化学会第 95 春季年会 (2015 年 3 月 26 日 -29 日), 日本大学, 船橋市, α -アルジミノチオエステルに対する *N*-アルキル化に続く α -アルジミノエステルとの選択的クロスカップリング反応, 中島雄司、溝田 功、清水 真

日本化学会第 95 春季年会 (2015 年 3 月 26 日 -29 日), 日本大学, 船橋市, 環状アミノケテンシリルアセタール由来のイミニウム塩に対する求核付加反応及び 5-HT_{1A} 受容体アゴニスト S22178 合成への応用, 川村崇人、清水 真

日本化学会第 95 春季年会 (2015 年 3 月 26 日 -29 日), 日本大学, 船橋市, α -イミノニトリルに対する極性転換反応を利用するタンDEM酸化的付加反応を用いたアミノマロニトリル誘導体の合成に関する研究, 古川雄樹、清水 真

日本化学会第 95 春季年会 (2015 年 3 月 26 日 -29 日), 日本大学, 船橋市, α -アルケニル α -イミノエステルの位置選択的二重求核付加反応に関する研究, 新竹加奈、清水 真

日本化学会第 95 春季年会 (2015 年 3 月 26 日 -29 日), 日本大学, 船橋市, 3-オキソキ

ノキサリン-2-カルボキシラート誘導体に対する極性転換反応を利用したタンデム反応に続く三環式化合物の合成, 宮丸智、清水 真

日本化学会第 95 春季年会(2015 年 3 月 26 日-29 日), 日本大学, 船橋市、Sequential *N*-Alkylation/Vinylogous Aldol Reaction of β,γ -Alkenyl- α -iminoester, 溝田 功、清水 真

第 45 回中部化学関係学協会支部連合秋季大会(2014 年 11 月 29 日-30 日) 中部大学, 春日井市、-イミノニトリルに対する極性転換反応を利用するタンデム酸化的付加反応を用いたアミノマロノニトリル誘導体の合成に関する研究, 古川雄樹、清水 真

第 45 回中部化学関係学協会支部連合秋季大会(2014 年 11 月 29 日-30 日) 中部大学, 春日井市、-イミノアリルエステルへの極性転換反応を活用した *N*-アルキル化に続く立体選択的 Claisen 転位反応, 深谷俊和、溝田 功、清水 真

第 45 回中部化学関係学協会支部連合秋季大会(2014 年 11 月 29 日-30 日) 中部大学, 春日井市、-イミノチオエステルに対する様々な求電子剤を用いたタンデム *N*-アルキル化/Michael 付加反応, 尹 大成、溝田 功、清水 真

第 45 回中部化学関係学協会支部連合秋季大会(2014 年 11 月 29 日-30 日) 中部大学, 春日井市、シクロプロピル基を有する -イミノチオエステルへの極性転換反応を活用したタンデム反応, 森本貴好、清水 真

第 45 回中部化学関係学協会支部連合秋季大会(2014 年 11 月 29 日-30 日) 中部大学, 春日井市、3-オキソキノキサリン-2-カルボキシラート誘導体に対する極性転換反応に続くタンデム付加反応, 宮丸智、清水 真

第 45 回中部化学関係学協会支部連合秋季大会(2014 年 11 月 29 日-30 日) 中部大学, 春日井市、-アルジミノチオエステルへのタンデム *N*-アルキル化/求核付加反応, 中島雄司、溝田 功、清水 真

The Ninth International Symposium on Integrated Synthesis, Awaji, Japan (2014 年 11 月 14 日-15 日) Tandem *N*-Alkylation/Nucleophilic Addition Reaction of α -Aldimino Esters Utilizing a New Flow System, Yuji Nakajima, Takanori Sano, Isao Mizota, Makoto Shimizu

- 21 IUPAC 10th International Conference on Novel Materials and Their Synthesis, Zhengzhou, China (2014 年 10 月 11 日-14 日) A Highly Efficient Method for the Synthesis of Nitrogen-Containing Materials

Using Umpolung Addition to Electron-Deficient Imines, Makoto Shimizu

- 22 5th Congress of the European Association for Chemical and Molecular Sciences, Istanbul, Turkey. (2014 年 8 月 31 日-9 月 4 日) Integrated Reactions Based on the Umpolung Addition to Conjugated Imines, Makoto Shimizu

- 23 The XXVI International Conference on Organometallic Chemistry, Sapporo, Japan, (2014 年 7 月 13 日-18 日) Claisen Rearrangement of Aluminum Enolate Derived from α -Imino Allyl Ester via an Umpolung Reaction, Isao Mizota, Makoto Shimizu

- 24 日本化学会第 94 春季年会 (2014 年 3 月 27 日-30 日) 名古屋大学, 名古屋市、-イミノチオエステルに対するタンデム *N*-アルキル化/Michael 付加反応, 尹 大成、溝田 功、清水 真

- 25 日本化学会第 94 春季年会 (2014 年 3 月 27 日-30 日) 名古屋大学, 名古屋市、-アルケニル-イミノエステルに対する *N*-アルキル化を活用した四級アミノ酸誘導体合成、溝田 功、清水 真

- 26 日本化学会第 94 春季年会 (2014 年 3 月 27 日-30 日) 名古屋大学, 名古屋市、-アルケニル-イミノエステルに対するタンデム *N*-アルキル化/ビニロガスアルドール反応、田中裕貴、清水 真

- 27 日本化学会第 94 春季年会 (2014 年 3 月 27 日-30 日) 名古屋大学, 名古屋市、極性転換反応を利用した -アシロキイミノエステルへの *N,N*-ジアルキル化反応および *N,N,C*-トリアルキル化反応、前田達也、清水 真

- 28 The 23rd International Symposium on Fine Chemistry and Functional Polymers & IUPAC 9th International Conference on Novel Materials and Their Synthesis, Shanghai, China (2013 年 10 月 17 日-22 日) Integrated Reactions Based on the Sequential Addition to Conjugated Imines, Makoto Shimizu

- 29 The 15th Asian Chemical Congress (ACC15), Singapore (2013 年 8 月 19 日-23 日) Umpoled Tandem Reaction of α -Imino Esters, Makoto Shimizu

〔その他〕
ホームページ等
<http://www.fine.chem.mie-u.ac.jp/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

清水 真 (SHIMIZU MAKOTO)
三重大学・大学院工学研究科・教授
研究者番号：30162712