

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 4 年 9 月 7 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18H02556

研究課題名(和文) 酵素と金属触媒の協働による多工程ワンポット不斉合成

研究課題名(英文) Multistep one-pot asymmetric synthesis by enzyme-metal combo-catalysis

研究代表者

赤井 周司 (akai, shuji)

大阪大学・薬学研究科・教授

研究者番号：60192457

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,400,000円

研究成果の概要(和文)：我々は、メソポーラスシリカの細孔内にバナジウムを固定した触媒V-MPS4を開発し、V-MPS4と加水分解酵素リパーゼを1つのフラスコ内で同時に用いることでラセミ体の第二級アルコールの動的速度論的光学分割DKRを達成した。本法はラセミ体の第二級アルコールを光学的に純粋なエステルにほぼ100%で変換できる。本研究の目的は、我々の知見をアルコール類と軸不斉ビアリール類の2種類の化合物群に適用拡張することである。以下の3種の反応を開発した：1)プロパルギルアルコールのDKRによって両エナンチオマーを高収率、2)高光学純度で作り分ける方法；3)第三級アルコールのDKR；軸不斉ビアリール類の不斉合成法

研究成果の学術的意義や社会的意義

”光学的に純粋”な化合物の合成法は、副作用軽減、高機能性などの視点から医薬品や機能性材料の創製に不可欠な技術である。本研究では、加水分解酵素リパーゼと金属触媒を一つのフラスコ内で同時に使用することで、ラセミ体原料を光学的に純粋な化合物に100%効率で変換する画期的な方法を創生した。環境に低負荷な酵素の分子識別能を最大限に活用する本合成プロセスは、これからの持続性社会を支える有機化合物の革新的生産法を提示するものである。

研究成果の概要(英文)：We have recently invented a catalyst V-MPS4 with oxovanadium immobilized on the pore surface of mesoporous silica and achieved dynamic kinetic resolution (DKR) of racemic secondary alcohols by simultaneously using V-MPS4 and lipases in a single flask. This method can convert racemic secondary alcohols to optically pure esters at nearly 100% efficiency. The purpose of this study is to extend our findings to two groups of compounds, alcohols and axially chiral biaryls.

The following three types of new reactions were developed: (1) Enantio-divergent DKR of propargylic alcohols to produce both enantiomers in high yields and high optical purity, (2) DKR of tertiary alcohols, and (3) Asymmetric synthesis of axially chiral biaryl compounds.

研究分野：有機合成化学

キーワード：加水分解酵素 遷移金属触媒 不斉合成 動的速度論的光学分割 ワンポット合成 アルコール 軸不斉ビアリール化合物 プロパルギルアルコール

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

近年 様々な多工程ワンポット不斉合成法が開発されてきたが、複数の触媒を用いる場合には、触媒の共存性、各工程の反応制御などが困難であった。また、天然の酵素を精密有機合成に活用する研究が盛んに行われているが、適用できる反応の種類や基質に制限がある。このような背景下、我々は最近、メソポーラスシリカの細孔内表面にオキソバナジウムを固定した触媒 V-MPS4 を開発し、V-MPS4 と加水分解酵素リパーゼを 1 つのフラスコ内で同時に用いることでラセミ体の第二級アルコール 1 の動的速度論的光学分割 (dynamic kinetic resolution: DKR) を達成した。¹ V-MPS4 の細孔によってオキソバナジウムと加水分解酵素は隔離され、これら 2 種類の触媒の共存性を格段に高めることができた。その結果、ラセミ体の第二級アルコール 1 が、光学的にほぼ純粋なエステル 2 に定量的に変換できる方法が誕生した (図 1)。

その他のラセミ化触媒の開発を含めて、第二級アルコールや第二級アミン類などの DKR 研究が世界的に展開されている。これら DKR の基質は、 sp^3 炭素に不斉中心がある化合物に限られていた。一方、我々は 2018 年に、ルテニウム触媒 3 が 35°C で軸不斉ピアリール化合物 4 のラセミ化を触媒することを発見した。そして、ルテニウム触媒 3 とリパーゼを併用することで、ラセミ体の軸不斉ピアリール化合物 4 の DKR を世界で初めて達成した (図 2)。² すなわち、 sp^2 炭素からなる軸不斉化合物の DKR である。

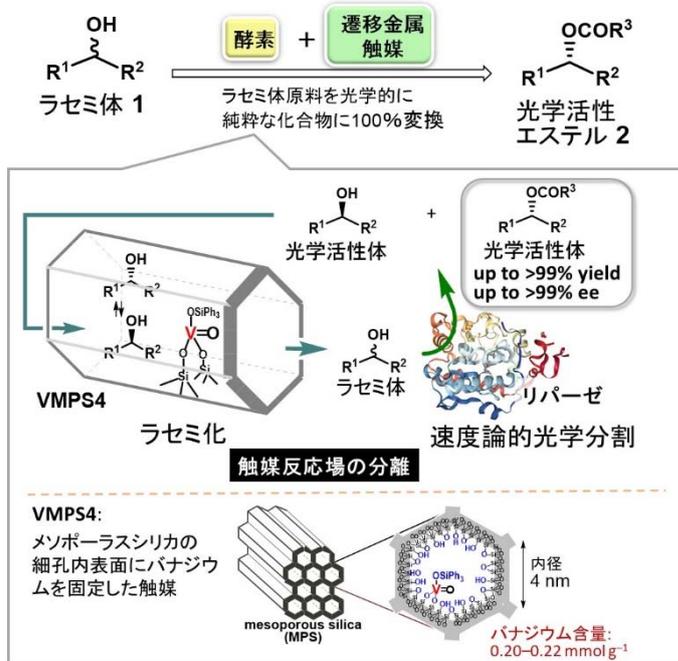


図 1 中心不斉化合物 (第二級アルコール) の動的速度論的光学分割 (DKR): 加水分解酵素リパーゼとバナジウム触媒の併用

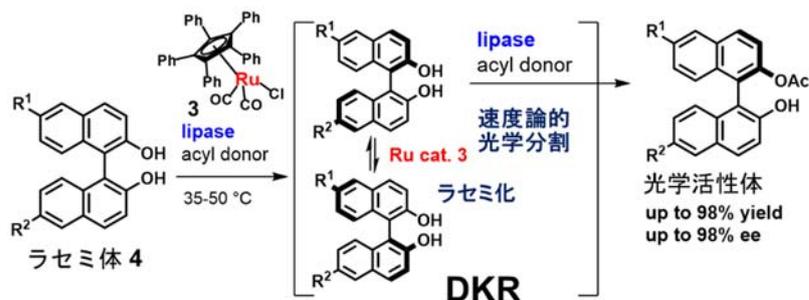


図 2 軸不斉ピアリール化合物の動的速度論的光学分割 (DKR): 加水分解酵素リパーゼとルテニウム触媒の併用

2. 研究の目的

本研究では、アルコール類と軸不斉ピアリール類の2種類の化合物群において、我々が見出した知見を基に DKR 法の適用性を拡張することを目的とした。

3. 研究の方法

- (1) V-MPS4 と市販の *R*-選択的リパーゼを併用する DKR によって、プロパルギルアルコールの両エナンチオマーを高光学純度で作り分ける方法を開発する。
- (2) V-MPS4 とリパーゼを併用するによる DKR を第三級アルコールに適用する。
- (3) V-MPS4 を用いるカルバゾール類の脱水素型クロスカップリング反応、並びに本カップリング反応とリパーゼ触媒速度論的光学分割のワンポット反応を達成し、高光学純度の非対称型軸不斉ピアリール化合物の不斉合成法を開発する。

4. 研究成果

(1) アルコール類の DKR

プロパルギルアルコールの DKR

プロパルギルアルコールは、様々な天然有機化合物、医薬品、機能性分子の重要な構成要素または合成中間体として利用されている。³ 最近、我々は市販の固定化 *Candida antarctica* lipase B (CAL-B) と V-MPS4 を併用し、第二級プロパルギルアルコール (\pm)-5 の DKR を行い、最大で 99% 収率で (*R*)-エステル 6 (81-99% ee) を得た (図 3 の上段)。⁴

本課題研究では、DKR によって両方のエナンチオマーを作り分ける方法の開発に取り組んだ。しかし、これは容易ではなかった。というのは、リパーゼは一般に、基質アルコールの水酸基近傍の置換基の高さの違いによってエナンチオマーを識別する。第二級アルコールのエステル化では、リパーゼは (*R*)-アルコールと選択的に反応する傾向がある。そのため、DKR 生成物は全て *R* 体となる。そこで、市販の *R*-選択的リパーゼを用いる DKR で (*S*)-エナンチオマーを高収率で得るために、アセチレン末端にトリアルキルシリル基が結合した第二級プロパルギルアルコール 7 を用いることにした。高いシリル基によって、水酸基近傍の両置換基の相対的な高さが逆転するわけである。まず、(\pm)-7 の光学分割に適したリパーゼのスクリーニングを行い、市販されている *Pseudomonas fluorescens* lipase (Lipase AK “Amano”) を見つけ出した。これと V-MPS4 を併用する DKR を試みたが、途中で反応が停止する問題に遭遇した。そこで、Lipase AK の固定化を種々検討し、セライトに担持することで反応性、安定性が格段に向上することを見出した。この固定化リパーゼ AK を用いて、多様なプロパルギルアルコール (\pm)-7 の DKR を行い、高光学純度のエステル (*R*)-8 を高収率で得ることができた。続いて、シリル基とアシル基を順次除去し、(*S*)-5 を得た (図 3 の下段)。また、7 に対応するアセチレン末端無置換の 5 を用い、CAL-B と V-MPS4 を併用する DKR を行い、(*R*)-5 を得た (図 3 の上段)。このようにして、着脱が容易な補助置換基 (今回の場合はシリル基) を導入することで、入手容易な市販の *R*-選択的リパーゼを用いる DKR でも両エナンチオマーを高い化学収率と光学純度で作り分ける方法の有効性を実証することができた (投稿論文審査中)。

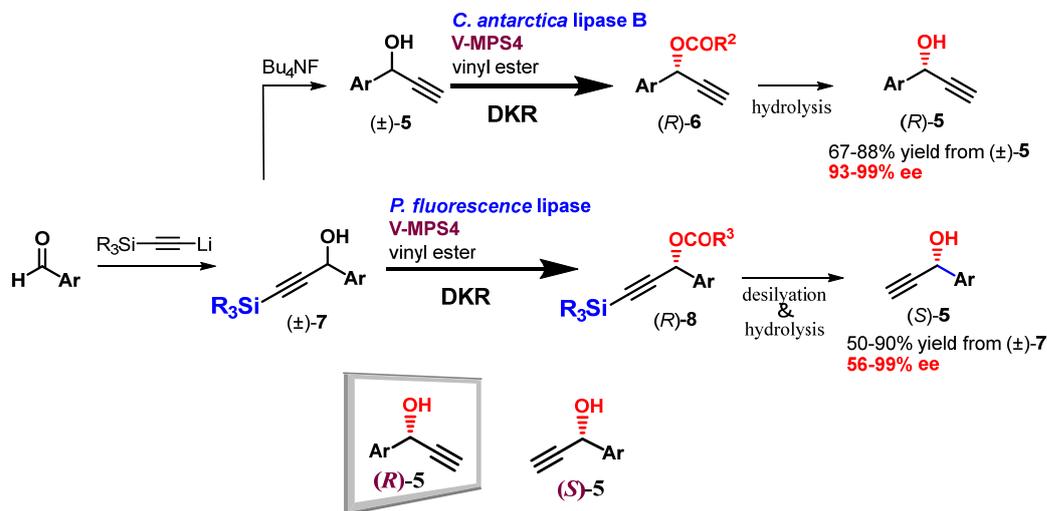


図3 DKRによる両エナンチオマー(R)-, (S)-5の作り分け

第三級アルコールのDKR

光学的に純粋な第三級アルコールは医薬品等の部分構造として、また、合成中間原料として重要であるが、酵素触媒DKRを第三級アルコールに適用した例は無い。それは、既存の酵素には第三級アルコールに適用できるものが少ないことと、現在、第二級アルコールに汎用されている酸化還元を経るラセミ化法(Bäckvall他)は第三級アルコールに適用できないこと、などが主な理由である。申請者は、V-MPS4によるラセミ化はカチオン中間体を経て進行することを活用し、光学活性な第三級アルコール9のラセミ化に有効であることを実験で確認した。次に、V-MPS4によるラセミ化と、リパーゼによる光学分割を同時進行させるDKRを実施し、第三級アルコールのDKRに初めて成功した(図4)⁵

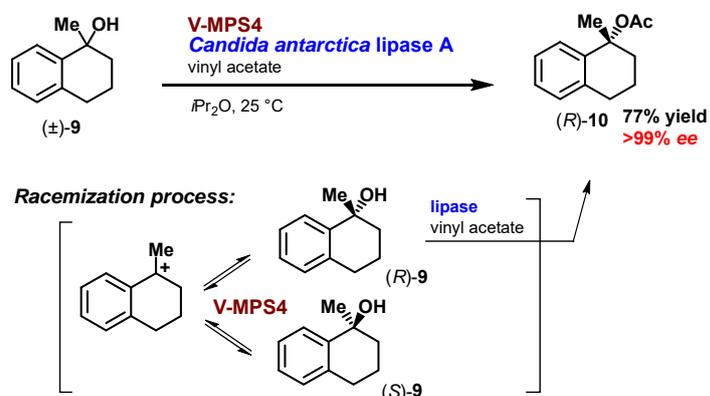


図4 第三級アルコール9のDKR

(2) 軸不斉ビアリール化合物の不斉合成

我々は、上述したラセミ化触媒V-MPS4が、ヒドロキシカルバゾール類11と求核性芳香族化合物12との脱水素型クロスカップリング反応を触媒することを見出した。さらに特筆すべきことは、11と12を等モル比で混合すると、クロスカップリング反応が高い化学選択性と位置選択性で進行し、非対称型ビアリール化合物(±)-13が収率良く得られ、対応するホモカップリング体14, 15の生成は微量であった(図5A)⁶。次に、本法で得たラセミ体のビアリール(±)-13のリパーゼ触媒速度論的光学分割(kinetic resolution: KR)を行った。さらに、脱水素型クロスカップリング反応とリパーゼ触媒KRをワンポットで連続させることにも成功し、高光学純度の非対称型

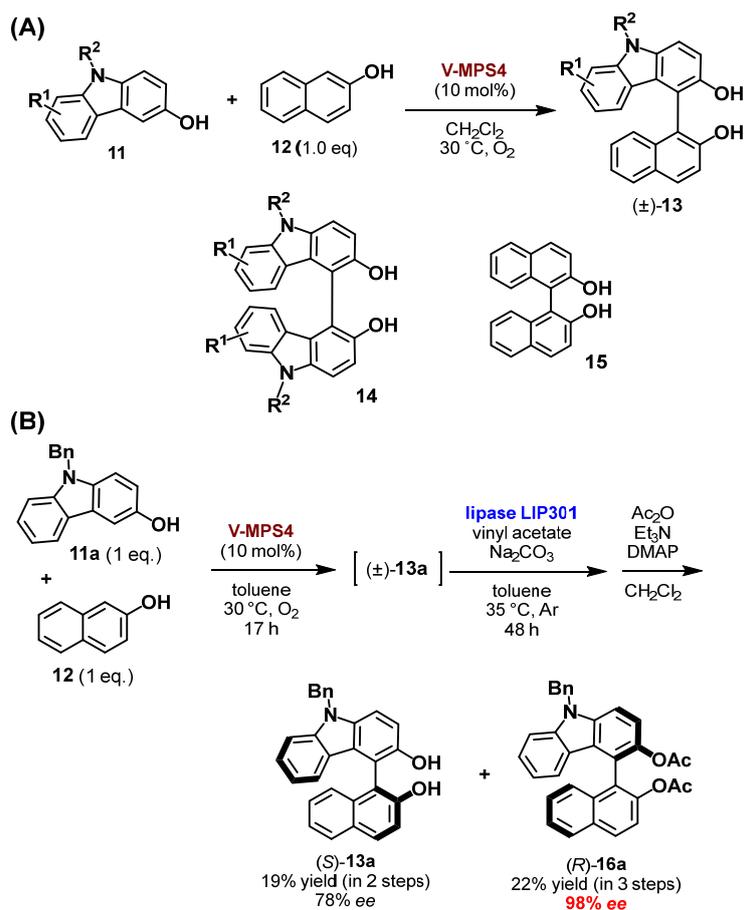


図 5 (A) V-MPS4 を用いるカルバゾール類 **11** の脱水素型クロスカップリング反応, (B) 脱水素型クロスカップリング反応とリパーゼ触媒速度論的光学分割のワンポット反応による非対称型軸不斉ビアリール化合物 **13**, **16** の不斉合成

引用文献

- 1) a) S. Akai, G. A. I. Moustafa, in *Kinetic Control in Synthesis and Self-Assembly* (Eds.: M. Numata, S. Yagai, T. Hamura), Academic Press, 2019, pp. 21–43. b) K. Sugiyama, Y. Oki, S. Kawanishi, K. Kato, T. Ikawa, M. Egi, S. Akai, *Catal. Sci. Technol.* **2016**, *6*, 5023–5030. c) M. Egi, K. Sugiyama, M. Saneto, R. Hanada, K. Kato, S. Akai, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, *52*, 3654–3658.
- 2) G. A. I. Moustafa, Y. Oki, S. Akai, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2018**, *57*, 10278–10282.
- 3) C. Q. O’Broin, P. J. Guiry, *J. Org. Chem.* **2020**, *85*, 10321–10333.
- 4) S. Kawanishi, S. Oki, D. Kundu, S. Akai, *Org. Lett.* **2019**, *21*, 2978–2982.
- 5) F. Kühn, S. Katsuragi, Y. Oki, C. Scholz, S. Akai, H. Gröger, *Chem. Commun.* **2020**, *56*, 2885–2888.
- 6) K. Kasama, K. Kanomata, Y. Hinami, K. Mizuno, Y. Uetake, T. Amaya, M. Sako, S. Takizawa, H. Sasai, S. Akai, *RSC Adv.*, **2021**, *11*, 35342–35350.
- 7) K. Kasama, Y. Hinami, K. Mizuno, S. Horino, T. Nishio, C. Yuki, K. Kanomata, G. A. I. Moustafa, H. Gröger, S. Akai, *Chem. Pharm. Bull.* **2022**, *70*, 391–399.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Kuehn Franziska, Katsuragi Satoko, Oki Yasuhiro, Scholz Cedric, Akai Shuji, Groeger Harald	4. 巻 56
2. 論文標題 Dynamic kinetic resolution of a tertiary alcohol	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Chemical Communications	6. 最初と最後の頁 2885 ~ 2888
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/C9CC09103C	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する
1. 著者名 Kasama Kengo, Kanomata Kyohei, Hinami Yuya, Mizuno Karin, Uetake Yuta, Amaya Toru, Sako Makoto, Takizawa Shinobu, Sasai Hiroaki, Akai Shuji	4. 巻 11
2. 論文標題 Chemo- and regioselective cross-dehydrogenative coupling reaction of 3-hydroxycarbazoles with arenols catalyzed by a mesoporous silica-supported oxovanadium	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 RSC Advances	6. 最初と最後の頁 35342 ~ 35350
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/d1ra07723f	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Kengo Kasama, Yuya Hinami, Karin Mizuno, Satoshi Horino, Tomoya Nishio, Chiharu Yuki, Kyohei Kanomata, Gamal A. I. Moustafa, Harald Groeger, and Shuji Akai	4. 巻 70
2. 論文標題 Lipase-Catalyzed Kinetic Resolution of C1-Symmetric Heterocyclic Biaryls	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Chem. Pharm. Bull.	6. 最初と最後の頁 391 ~ 399
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1248/cpb.c22-00021	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する
1. 著者名 Kawanishi Shinji, Oki Shinya, Kundu Dhiman, Akai Shuji	4. 巻 21
2. 論文標題 Lipase/Oxovanadium Co-Catalyzed Dynamic Kinetic Resolution of Propargyl Alcohols: Competition between Racemization and Rearrangement	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Organic Letters	6. 最初と最後の頁 2978 ~ 2982
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.orglett.9b00334	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計18件（うち招待講演 13件 / うち国際学会 9件）

1. 発表者名 赤井周司
2. 発表標題 加水分解酵素リパーゼだからできる新しい不斉合成術
3. 学会等名 有機合成2月セミナー「有機合成のニュートレンド2020」（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Shuji Akai
2. 発表標題 Lipase/Transition Metal Cocatalyzed Dynamic Kinetic Resolution of Racemic Alcohols: From Batch to Flow
3. 学会等名 13th International CeBiTec Symposium (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Shuji Akai
2. 発表標題 Synergy of Enzymes and Transition Metals: Quantitative Conversion of Racemates into Optically Pure Forms
3. 学会等名 Special lecture at University of Goettingen (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Shuji Akai
2. 発表標題 Chemoenzymatic Access to Axially Chiral Biaryl-2,2'-diols
3. 学会等名 The 8th Japanese-Sino Symposium on Organic Chemistry for Young Scientists (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Shuji Akai
2. 発表標題 Hydrolase Transition Metal Co-catalyzed Dynamic Kinetic Resolution: Quantitative Conversion of Racemates into Optically Pure Molecules
3. 学会等名 The 2nd JGP Chem & ChemEn International Workshop: Sustainability-Oriented Organic Synthesis (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Shinji Kawanishi, Koichi Higashio, Shinya Oki, Shuji Akai
2. 発表標題 Enantiodivergent and Quantitative Conversion of Racemic Propargyl Alcohols into Their Both Enantiomers Using Lipase-Catalyzed Dynamic Kinetic Resolution
3. 学会等名 27th International Society of Heterocyclic Chemistry Congress (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Shuji Akai
2. 発表標題 Lipase-metal Combo Catalyzed Dynamic Kinetic Resolution
3. 学会等名 サントペテルブルグ州立大学特別講義 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 赤井周司
2. 発表標題 加水分解酵素と遷移金属の触媒集積化：新しい不斉合成法への挑戦
3. 学会等名 昭和薬科大学特別講義 (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Shuji Akai
2. 発表標題 Lipase/Metal Combo-Catalysis for Dynamic Kinetic Resolution: Quantitative Conversion of Racemates into Optically Pure Molecules
3. 学会等名 8th Catalysis & Fine Chemicals 2018 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 川西 真司、沖 晋矢、赤井 周司
2. 発表標題 リパーゼ触媒動的光学分割法によるプロパルギルアルコールの両エナンチオマーの選択的合成法の開発
3. 学会等名 第44回 反応と合成の進歩シンポジウム
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 赤井周司
2. 発表標題 Lipase/Metal Combo-Catalyzed Dynamic Kinetic Resolution: Quantitative Conversion of Racemates into Optically Pure Molecules
3. 学会等名 International Congress on Pure & Applied Chemistry Langkawi (ICPAC Langkawi 2018) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 赤井周司
2. 発表標題 加水分解酵素リパーゼが拓く新しい不斉合成
3. 学会等名 金沢薬学シンポジウム (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Shuji Akai
2. 発表標題 Synergy of lipases with metal catalysts for dynamic kinetic resolution of racemic alcohols and binaphthols
3. 学会等名 Bielefeld大学特別講演（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 堀野 聡志
2. 発表標題 市販のリパーゼを用いるS選択的動的光学分割法の開発
3. 学会等名 第22回生体触媒化学シンポジウム
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 赤井 周司
2. 発表標題 酵素と遷移金属のハイブリッド触媒：Chiral-Switching Factory
3. 学会等名 日本薬学会 第141年会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 笠間 建吾
2. 発表標題 固定化バナジウム触媒V-MPS4によるC-H官能化ヘテロピアリアルカップリング法の開発とその応用
3. 学会等名 日本薬学会 第141年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Shuji Akai
2. 発表標題 Lipase-catalyzed Asymmetric Synthesis of Bioactive Molecules
3. 学会等名 International Guest Lecture Series, Faculty of Pharmacy, University of Indonesia (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 笠間建吾
2. 発表標題 リパーゼと遷移金属触媒を併用する高光学純度の軸不斉ピアリール類の不斉合成法の開発
3. 学会等名 第19回次世代を担う有機化学シンポジウム
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 深瀬浩一、永木愛一郎	4. 発行年 2021年
2. 出版社 シーエムシー出版	5. 総ページ数 250
3. 書名 フローマイクロ合成の最新動向	

〔産業財産権〕

〔その他〕

大阪大学大学院 薬学研究科 薬品製造化学分野 ホームページ
<https://handai-seizo.jp/>
 大阪大学大学院薬学研究科 薬品製造化学分野ホームページ
<http://handai-seizo.jp/>

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関			
ドイツ	ビーレフェルト大学			