

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年5月31日現在

機関番号： 23803  
研究種目： 基盤研究B  
研究期間： 2009～2011  
課題番号： 21390005  
研究課題名（和文） 酵素－金属複合触媒による革新的不斉合成法の開発

研究課題名（英文） The development of innovative asymmetric synthetic methods by the enzyme-metal combo catalysis

## 研究代表者

赤井 周司 (AKAI, SHUJI)  
静岡県立大学・薬学部・教授  
研究者番号：60192457

研究成果の概要（和文）： 加水分解酵素とバナジウム化合物を同時に用いることで、入手容易なラセミ体アリルアルコールを1つの鏡像体に変換する方法を開発した。この研究成果は医薬品開発などに不可欠な不斉合成技術に革新的な概念を提示するものである。また、酵素と金属バナジウムという共に高活性で異質な触媒が1つのフラスコ内で共存し、且つ機能を十分に発揮できるよう、メソポーラスシリカの細孔を利用して両触媒の作業空間を区分したことが特筆される。

研究成果の概要（英文）： A new methodology for the conversion of racemic allyl alcohols into optically pure compounds was devised by the combined use of hydrolases and vanadium compounds. The results of this project present an innovative concept for the asymmetric synthesis of optically active compounds which is essential for the drug discovery research. It is noteworthy that in order to fulfill the original functions of the two highly reactive catalysts; viz., enzymes and the oxovanadium compound, without mutual deactivation in a single reaction vessel, mesoporous silica was effectively employed to divide their work space.

## 交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	9,000,000	2,700,000	11,700,000
2010年度	2,700,000	810,000	3,510,000
2011年度	2,700,000	810,000	3,510,000
年度	0	0	0
年度	0	0	0
総計	14,400,000	4,320,000	18,720,000

研究分野： 医歯薬学

科研費の分科・細目： 薬学・化学系薬学

キーワード： 不斉合成・動的光学分割・加水分解酵素・オキシバナジウム・アリルアルコール・メソポーラスシリカ・転位反応・固定化触媒

## 1. 研究開始当初の背景

光学的に純粋な有機化合物は、医薬品、農薬、香料、液晶などの様々な製品に用いられ、我々の生活に欠かせない物質である。年々、

光学活性化合物の需要は高まり、環境に負荷をかけない供給法の開発が今日の重要課題の1つである。最近の金属触媒や低分子有機触媒の発展には目を見張るものがあるが、常

温常圧付近で、高エナンチオ選択性、高官能基選択性、高触媒回転率のすべてを満足するものは未だ少ない。一方、生体触媒（酵素）はこれらを可能にする。また、発酵によって大量生産できる酵素は、資源の乏しいわが国の今後の物質生産・変換を支える鍵になる。さらに、酵素自身が生分解されるため環境への負荷を軽減できる。多様な酵素の中でも脂肪加水分解酵素リパーゼは、取り扱いやすさ、基質適用性の広さ、有機溶媒中での高活性などの特性から有機合成への利用が最も多いが、その用法は限られていた。

我々はこの数年、加水分解酵素リパーゼを不斉合成に多面的に利用する研究を行ってきた。その成果の1つは、カルボン酸 **1** から調製したジエノフィル部を有する活性アシル化剤 **3a** とジエン部を有するラセミ体アルコール **2** を、リパーゼとルテニウム錯体 **4** 共存下に反応させ、多環状炭素骨格 **6** を一挙に構築する不斉合成法である。ここでは、酵素触媒光学分割で残った片方の鏡像体アルコール *(S)*-**2** が **4** が酸化・還元を経てラセミ化することで、ラセミ体基質 **2** がすべて光学活性エステル *(R)*-**5** に変換される動的光学分割 (DKR) が進行する。さらに、生成した *(R)*-**5** は、反応系中で分子内環化反応を起こし、多環状炭素骨格 **6** を与える。すなわち、ラセミ化、エステル化、分子内環化の3種の異なる反応が1つのフラスコ内で同時進行することが本法の特長である。また、カルボン酸 **1** とアルコール  $(\pm)$ -**2** を構成する殆どすべての原子が生成物 **6** に組み込まれるため、本法は原子効率に優れた合成法である (図1) [Angew. Chem. 2004; Chem. Commun. 2005]。

2つ目の成果は、リパーゼとオキソバナジウム化合物  $O=V(OSiPh_3)_3$  **8** を同時に用いる、アリルアルコール  $(\pm)$ -**7** ( $R^1 = R^2$ ) のDKR法の開発である (図2) [Angew. Chem. 2006]。ここでは、光学分割で残った *(S)*-**7** ( $R^1 = R^2$ ) が、**8** による水酸基 1,3-転位反応の過程で不斉を消失してラセミ化することを利用した。

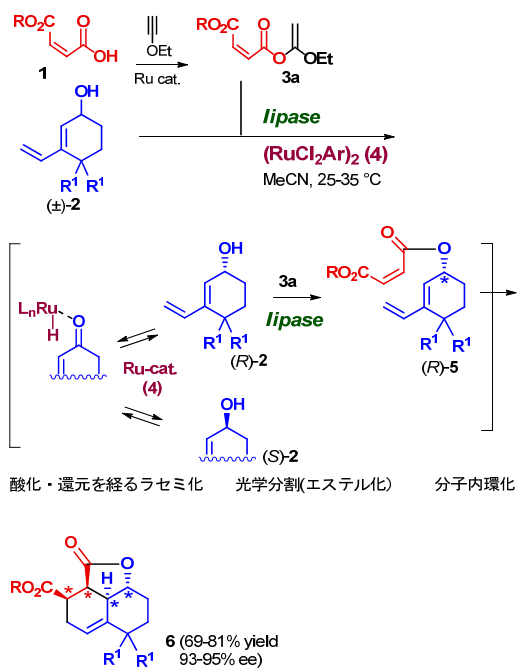


図1. 酸化・還元型動的光学分割

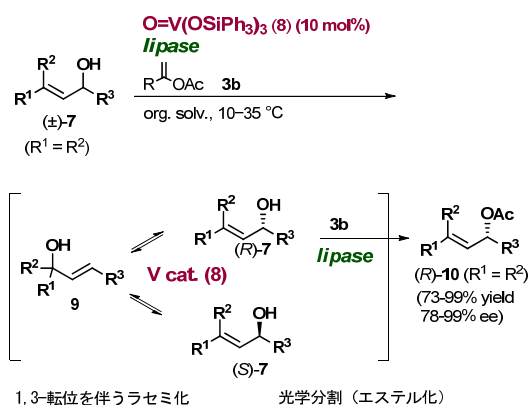


図2. 転位型動的光学分割

## 2. 研究の目的

本研究では、上記の転位型動的光学分割の適用性を拡張する。さらに、反応系中で構造変化を伴うことを最大限に活かした革新的不斉合成法に展開する。これによって、入手容易なラセミ体アルコールから光学的に純粋な有機化合物を短工程、高収率で不斉合成する方法を確立する。また、生物活性化合物の不斉合成に応用して、本法の実践性を検証する。

### 3. 4. 研究の方法・研究成果

#### (1) ラセミ化触媒の高活性化

図2の反応では、転位によって生じる **9** ( $R^1 = R^2$ ) において不斉点が消失してラセミ化することを利用して DKR を達成した。触媒 **8** を置換基が異なる基質 **7** ( $R^1 \neq R^2$ ) に適用するとラセミ化は徐々に進行したが、効果的に DKR を行うにはラセミ化触媒の活性化が不可欠であった。そこで、 $O=VX_n$  型化合物の置換基  $X$  を種々変えてラセミ化活性を調べた結果、 $O=VSO_4 \cdot nH_2O$  (10 mol %) ではラセミ化が速かったが、リパーゼとの共存性が悪かった。 $O=VPO_4 \cdot 2H_2O$  (10 mol %) のラセミ化活性は高くなかったが、ポリマー担持リン酸に結合したオキソバナジウム化合物 **11** は高いラセミ化活性を示し、かつリパーゼとの共存性に優れていることを見出した。そこで、**11** とリパーゼを併用し、鎖状、環状、脂肪族、芳香族、含複素環など多様なアリルアルコール( $\pm$ )-**7** ( $R^1 \neq R^2$ ) から一挙にアリルエステル( $R$ )-**10** ( $R^1 \neq R^2$ ) (90–99% ee) を収率 60–99% で不斉合成する方法を開発した (図3)。この研究過程で、ラセミ化はイオン対中間体を経て進行していることがわかった。さらに、反応系中ではバナジウム化合物によって **7** と **9** の平衡状態が生じるため、**7** と **9** のいずれの原料からほぼ同じ収率と光学純度で( $R$ )-**10** が得られた。すなわち、これら2つの構造異性体は等価な原料として使用できることが本法の大きな特長である。

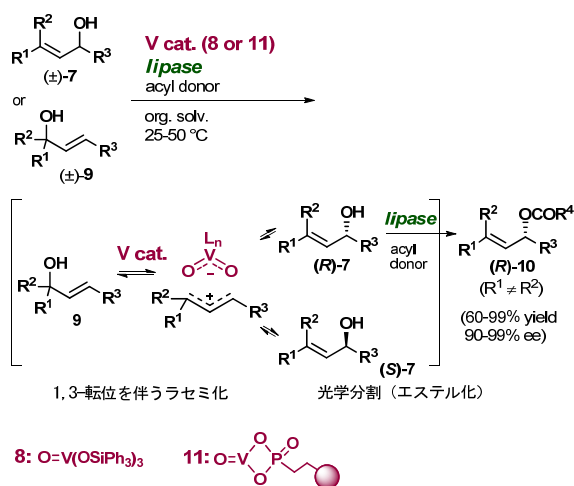


図3. オキソバナジウム (**8**, **11**) とリパーゼを併用する DKR

#### (2) インテリジェント固定化触媒の創製

DKR の収率を更に改善するために、オキソバナジウム触媒の活性をより向上させる検討を行った。しかし、高活性化に伴ってリパーゼとの共存性が顕著に悪化した。そこで、リパーゼと高活性バナジウム触媒を併用する手段として、メソポーラスシリカ(MPS) の細孔内にオキソバナジウム化合物を固定化した新触媒 **V-MPS** を考案した。すなわち、サイズが大きいリパーゼを排除し、かつ、分子量約 1000 以下の低分子基質 (**7**, **9**) は自在に出入りできるように細孔径約 3 nm の MPS を合成し、これと  $O=V(OSiPh_3)_3$  をベンゼン中加熱還流することで MPS 細孔内のシラノールにオキソバナジウムを共有結合させた **V-MPS** (バナジウム含量 0.3–0.5 mmol/g) を調製した。得られた **V-MPS** の BET 測定を行い、細孔内にオキソバナジウムが固定されたことを確認した(図4)。

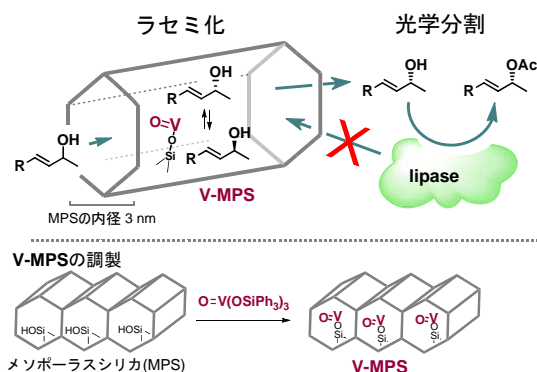
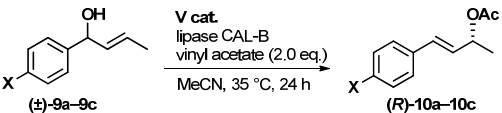


図4. 新規触媒 **V-MPS** の調製と機能

合成した **V-MPS** を 2 mol % 使用すると **11** (10 mol %) と同等のラセミ化活性が得られたことから、**V-MPS** は **11** よりも高いラセミ化能を有していることが明らかとなった。

次に、**V-MPS** とリパーゼ CAL-B の組み合わせによるアルコール( $\pm$ )-**9a–9c** の DKR 反応を行った。いずれの場合にも 99% ee のアリルエステル( $R$ )-**10a–10c** がほぼ定量的に得られた(表1)。一方、従来のオキソバナジウム触媒 (**8**, **11**) ではラセミ化が遅いため( $R$ )-**10a–10c** の収率と光学純度が低く、**V-MPS** の優れた特性が示された。

表 1. (±)-**9a-9c** の DKR におけるバナジウム触媒 (**8**, **11**, V-MPS) の比較



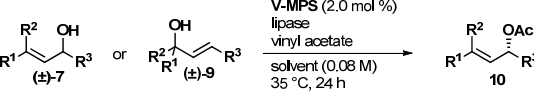
V cat.	10a (X=H)	10b (X=F)	10c (X=Cl)
MPS-V (2 mol %)	99%, 99% ee	98%, 99% ee	95%, 99% ee
<b>8</b> <sup>a)</sup> (10 mol %)	71%, 94% ee	64%, 93% ee	52%, 98% ee
<b>11</b> (10 mol %)	79%, 98% ee	64%, 80% ee	74%, 94% ee

a) Conducted in acetone at 50 °C for 72 h.

V-MPS とリパーゼは共存性に優れるため、DKR 終了後に両触媒を混合状態で回収し、再利用することができた。例えば、(±)-**9a** の DKR 反応を同じ触媒を繰り返し利用したところ、5 回までは活性を損なうことなく、毎回 98–99% ee の (*R*)-**10a** を収率 99% で得た。また、DKR 反応後、バナジウム成分は反応溶液へ殆ど漏出していないことが ICP 測定よりわかった。

V-MPS とリパーゼを併用する DKR 法を様々なラセミ体アリルアルコール(**7**, **9**)に適用し、光学活性アリルエステル **10** を高収率、高光学純度で得た(表 2)。なお、一部の基質については、バナジウム触媒 **8** を用いる我々の初期の DKR 法の結果を併記したが、V-MPS の優位性が明らかになった(entries 4 and 5)。さらに、V-MPS を用いると、これまで適用できなかったベンジルアルコールでも DKR が進行した(entry 10)。

表 2. V-MPS とリパーゼを併用する DKR の実施例



entry	substrate ( <b>7</b> , <b>9</b> )	lipase, solvent	product <b>10</b>	yield (%)	ee (%)
1		CAL-B, heptane		97	96
2		CAL-B, heptane		97	99
3		CAL-B, heptane		98	96
4		CAL-B, MeCN		94 (68)	99 (95) <sup>a)</sup>
5		CAL-B, MeCN		91 (78)	98 (92) <sup>a)</sup>
6 <sup>b)</sup>		Amamo PS-D, heptane		85	99
7		Amamo PS-D, heptane		95	97
8		Amamo PS-D, heptane		92	98
9 <sup>b)</sup>		Amamo PS-D, heptane		87	99
10		CAL-B, heptane		99 (54)	96 (97) <sup>a)</sup>

a) Using 10 mol % of **8** instead of V-MPS. b) Conducted at 50 °C for 48 h.

### (3) 生物活性天然物の不斉合成

V-MPS とリパーゼの複合触媒による DKR 法を鍵反応として、(*R*)-imperanene を不斉合成した(図 5)。この合成法では、ラセミ体アルコール **7d** を片方の鏡像異性体(*S*)-**10d** (99% ee)に収率 87%で変換した。更に 4 工程の変換を経て (*R*)-imperanene が全収率 38%で不斉合成できた。

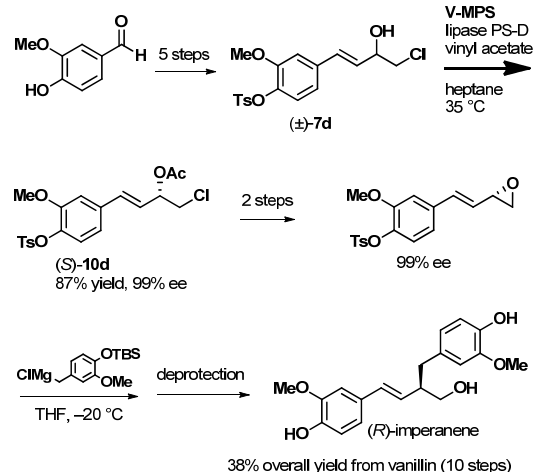
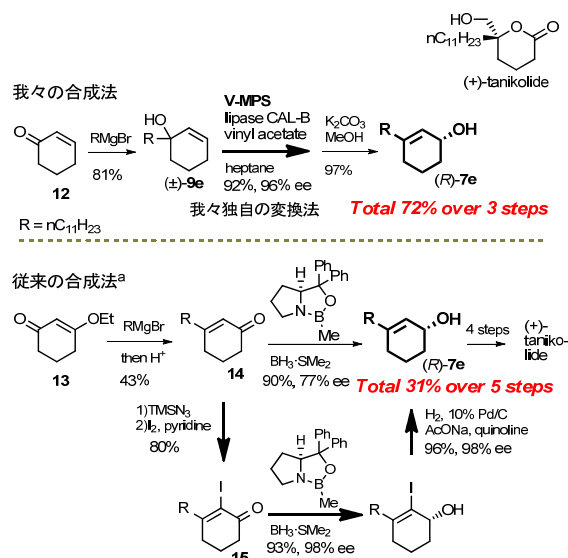


図 5. (*R*)-Imperanene の不斉合成

また、抗菌剤(+)-tanikolide の合成鍵中間体 (*R*)-**7e** を不斉合成した(図 6)。従来の合成法(Kita, Y. et al. *Chem. Eur. J.* **2007**, *13*, 5238) では、エノン **14** の CBS 不斉還元が利用されたが、光学純度を高めるためにヨウ素体 **15** を経由する多段階を要した。一方、我々はラセミ体 **9e** に本 DKR 法を適用し、従来法の 2.3



a) Kita, Y. et al. *Chem. Eur. J.* **2007**, *13*, 5238.

図 6. (+)-Tanikolide の合成鍵中間体(*R*)-**7e** の不斉合成：従来法と我々の方法の比較

倍の総収率で(R)-7eを得た。さらに本法では、酸化状態の低い安価なシクロヘキサノン **12** を原料に用いたことや、工程の短縮など環境への負荷を軽減できたことも特筆される。

#### (4) 両エナンチオマーの作り分け

本 DKR 法では、基質アルコールの構造に応じてリパーゼを選択することで、対応する光学活性アリルエステルが高収率、高光学純度で得られた。ただし、リパーゼの特性から、基本的に絶対配置が R の生成物得られる。その鏡像体(S-体)を得るために、現在、プロテアーゼを中心とした他の加水分解酵素群を本 DKR に利用する検討を行っている。

#### (5) まとめ

本研究では、リパーゼ(生体触媒)とオキソバナジウム化合物(金属触媒)という全くタイプの異なる触媒が1つのフラスコ内で各々の機能を発揮することにより、ラセミ体アルコールを高収率で1つの鏡像体に変換する反応を開発した。すなわち、オキソバナジウムがラセミ化を伴いながら複数の構造異性体の動的平衡を生じ(発散)、リパーゼがその混合物から1種類の鏡像体を高選択的に変換する(収束)反応が同時進行することでDKRが達成された。ただし、リパーゼとオキソバナジウム化合物は共に高活性であるため、両者が反応して互いを失活させるという問題があった。我々は、メソポーラスシリカのナノスケールの細孔を利用して2つの触媒の作業空間を区分するという新しいコンセプトによって、その致命的な課題を解決した。また、固定化バナジウムとリパーゼはいずれも粉末状であるため、混合状態のままでも回収・再利用することができた。

本 DKR 法の基質となるラセミ体アリルアルコール **9** は、カルボニル化合物と炭素陰イオンとの炭素-炭素結合形成反応によって合成できるが、どの結合を形成するかによって Method A~C の3通りが考えられる。位置異性体(±)-**7** も同様に合成できるが、前記 **9e** の例にあるように、**7** よりも **9** の合成の方が容易で、安価・安全に行えることがしばしばある。本 DKR 法では、**7** と **9** を等価な原料基質として利用できることが特長であり、状況に応じて合成ルートを適宜選択できる。このような基質合成の柔軟性は従来の DKR [総説: Kim, M.-J. et al. *Eur. J. Org. Chem.* **2010**, 999.

Turner, N. J. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2010**, *14*, 115 他]には無い概念であり、反応系中でダイナミックな構造変換を伴う方法によってはじめて可能となった。

本反応の生成物(R)-**10** は不斉合成における重要な鍵化合物であり、種々の変換反応に利用できる。本 DKR 法は光学活性アリルアルコール誘導体の革新的な不斉合成法を提供するものである(図7)。

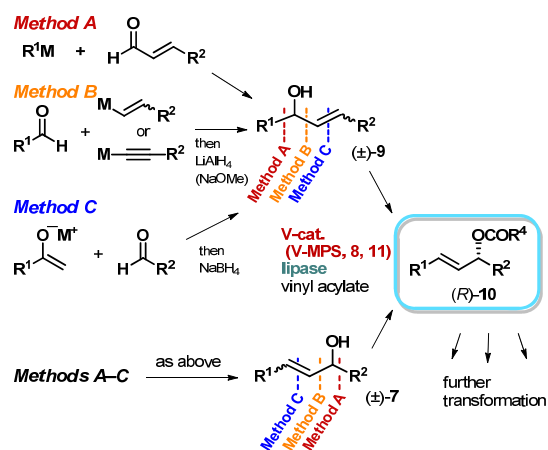


図7. ラセミ体アリルアルコール (**7**, **9**) の合成法、並びに本 DKR の全体像

現在、両鏡像体の作り分け、並びに本 DKR 法を図1のような連続的な環化反応に展開する研究を継続して行っている。

## 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1件)

1. Akai, S.; Hanada, R.; Fujiwara, N.; Kita, Y.; Egi, M. "One-Pot Synthesis of Optically Active Allyl Esters via Lipase-Vanadium Combo Catalysis", *Org. Lett.* **2010**, *12*, 4900-4903. DOI: 10.1021/ol102053a

### 〔学会発表〕(計17件)

1. 赤井周司, 「酵素と金属の協同作業: 多触媒連続反応を志して」, 日本薬学会東海支部特別講演会(岐阜薬科大学), 2012年1月24日(招待講演)
2. 江木正浩, 杉山公二, 實藤盛朗, 花田良輔, 加藤勝也, 赤井周司, 「バナジウム/リパーゼ複合触媒によるアリルアルコール



- ルの動的光学分割」, 日本プロセス化学会  
2011 ウィンターシンポジウム (東京),  
2011 年 12 月 9 日 (招待講演)
3. 杉山公二, 江木正浩, 赤井周司, 「光学活性なビニルオキシランを鍵中間体とする imperanene の全合成研究」, 第 41 回複素環化学討論会 (熊本), 2011 年 10 月 22 日 (口頭)
  4. 江木正浩, 杉山公二, 實藤盛朗, 花田良輔, 加藤且也, 赤井周司, 「Asymmetric Synthesis of Allyl Esters via Vanadium-Lipase Combo Catalyzed Dynamic Kinetic Resolution」, The 2nd International Symposium on Process Chemistry (京都), 2011 年 8 月 12 日 (ポスター)
  5. 赤井周司, 「酵素とオキシメタルの協同作業: 光学活性アリルエステルの新しい不斉合成法」, 分離技術会年会 2011 「プロセス化学と分離技術」(明治大学生田キャンパス), 2011 年 6 月 4 日 (基調講演)
  6. 花田良輔, 藤原 登, 江木正浩, 赤井周司, 「Dynamic kinetic resolution of allyl alcohols by the combined use of lipase and vanadium catalysts: Application to various substrates」, Pacificchem 2010 (Honolulu, Hawaii, USA), 2010 年 12 月 19 日 (口頭)
  7. 赤井周司, 「Lipase-Vanadium Combo Catalysis: Dynamic Kinetic Resolution of Racemic Allyl Alcohols」, BIT's Inaugural Symposium on Enzymes & Biocatalysis (中華人民共和国上海市), 2010 年 4 月 24 日 (招待講演)
  8. 赤井周司, 「酵素-金属複合触媒反応系の創製: 多段階ワンポット合成」, 日本薬学会第 130 年会一般シンポジウム (岡山), 2010 年 3 月 28 日 (招待講演)

#### 〔産業財産権〕

○出願状況 (計 2 件)

名称: オキシバナジウム触媒とその製造方法  
ならびに光学活性エステルの製造方法  
発明者: 赤井周司, 江木正浩, 加藤且也  
権利者: 静岡県立大学法人, 独立行政法人産業技術総合研究所  
種類: 特許願  
番号: 特願 2011-175401  
出願年月日: 平成 23 年 8 月 10 日  
国内外の別: 国内

名称: オキシバナジウム触媒とその製造方法  
ならびに光学活性アリルエステルの製造方法

発明者: 赤井周司, 江木正浩, 加藤且也  
権利者: 静岡県立大学法人, 独立行政法人産業技術総合研究所

種類: 特許願

番号: 特願 2010-233965

出願年月日: 平成 22 年 10 月 18 日

国内外の別: 国内

#### 〔その他〕

ホームページ等

<http://w3pharm.u-shizuoka-ken.ac.jp/lsocus/>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

赤井 周司 (AKAI, SHUJI)

静岡県立大学・薬学部・教授

研究者番号: 6 0 1 9 2 4 5 7