

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 6 年 5 月 28 日現在

機関番号：12608

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2023

課題番号：19K05560

研究課題名(和文) 二酸化炭素を溶かし込んで体積を増加させた溶媒の中での酵素反応による有用物質合成

研究課題名(英文) Synthesis of valuable compounds through biocatalysis in expanded liquid with dissolved carbon dioxide

研究代表者

松田 知子 (Matsuda, Tomoko)

東京工業大学・生命理工学院・准教授

研究者番号：10319494

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：有機合成化学反応は、医薬品などを製造するために必要である。本研究では、環境にやさしい有機合成反応を開発した。触媒を用いると反応を効率的に進行させることができるが、本研究では、副反応物(不純物)の生成を避けるために、選択性が高い触媒である酵素を用いた。また、反応の溶媒としては、二酸化炭素を溶かし込んで膨張させた溶媒を用いた。つまり、触媒としては酵素を用い、溶媒の一部としては二酸化炭素を用いる有機合成反応を開発し、有用物質の合成法を確立した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、酵素を触媒とし、二酸化炭素膨張液体を溶媒として用いる新しい有機合成反応を開発した。学術的意義は、酵素工学の分野を発展させたことである。本研究以前には、このような溶媒中での酵素の触媒能は未知であったが、本研究で、効率的かつ選択的に反応を触媒することを見出した。社会的意義は、環境負荷低減技術の提供による持続的社会的構築への貢献である。この新規有機合成法は、製薬業界などに持続可能な製造プロセスを提供する可能性があり、さらに、二酸化炭素の有効利用は、温室効果ガス削減の一助となり、地球環境保護に貢献する。

研究成果の概要(英文)：Organic synthesis reactions are essential for the production of pharmaceuticals, agrochemicals, and various other products. These reactions often rely on catalysts to increase efficiency and selectivity. In our study, we aimed to develop an environmentally friendly approach to organic synthesis. We specifically utilized enzymes as catalysts, due to their high selectivity and ability to minimize the formation of byproducts (impurities). To further enhance the sustainability, we employed carbon dioxide-expanded liquids as the reaction solvents. These innovative solvents are created by dissolving carbon dioxide in liquids. This choice of solvent not only supports our environmental objectives but also contributes to the efficiency and effectiveness of the reaction process. In summary, our study successfully developed an organic synthesis reaction that integrates enzymes as catalysts and carbon dioxide-expanded liquids as solvents.

研究分野：生体触媒化学

キーワード：グリーンケミストリー

## 様式 C-19、F-19-1 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

有機合成は多くの分野で不可欠な技術であるが、現在の方法では、枯渇の恐れがある資源や爆発の危険性がある物質を使用する場合がある。特に地震などの災害時には、予期せぬ事故が発生し環境に影響を与えるリスクがある。そのため、安全で安心かつ効率的な有機合成反応の開発が求められる。

安全かつ効率的な有機合成反応の触媒としては酵素が注目されている。酵素は、非常に高い立体、位置、官能基選択性を持つため、副産物の生成を抑えられる。また、酵素反応は穏やかな条件で進行し、用いる試薬も安全な物質が多い。酵素は大腸菌などを用いる大量発現により容易に生産でき、さらに、固定化することにより安定性を向上でき再生可能な触媒となる。しかし、医薬中間体合成のような人工的な反応において、酵素反応を最適化するためには、どの溶媒が最適であるかという問いは依然として未解決である。

### 2. 研究の目的

本研究では、酵素反応の溶媒を検討し、反応を最適化する。酵素反応は、自然界では水を溶媒とするが、非水系の溶媒中で酵素を用いることにより、可能となる反応もある。例えば、リパーゼは、水中で用いると正反応であるエステルの加水分解反応の触媒であるが、非水系溶媒中ではエステル化やトランスエステル化の触媒となる(図1)。本研究では、バイオマス由来の溶媒に二酸化炭素を混ぜた『二酸化炭素膨張液体』を溶媒とする酵素反応を検討し、安全で廃棄物を出さない二酸化炭素を有効利用する有機合成反応を開発することを目的とする。『二酸化炭素膨張液体』中での酵素反応について幅広く検討し、その可能性と限界を見極める。

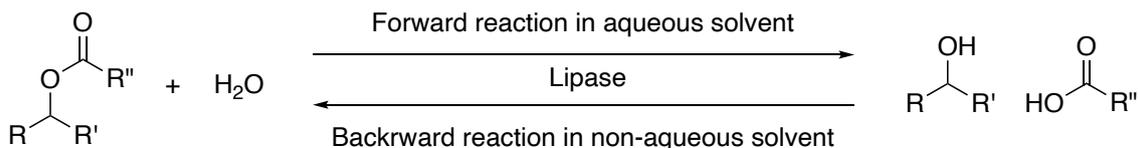


図1 リパーゼの正反応および逆反応

### 3. 研究の方法

樹脂上に固定化された *Candida antarctica* lipase B である市販の Novozym435 を触媒、『二酸化炭素膨張液体(CO<sub>2</sub>-expanded liquid)』を溶媒、ラセミ体アルコールを基質として vinyl acetate とのトランスエステル化反応を行い、Gas chromatography により反応の収率および立体選択性を決定した。また、単離スケールでの反応を行った。

### 4. 研究成果

様々なラセミ体のオルト置換1-フェニルエタノール類似体の Novozym435 によるトランスエステル化を、二酸化炭素膨張 MeTHF および二酸化炭素膨張ヘキサン、ならびに純粋な MeTHF やヘキサン中で行った。本反応は、通常の条件下では、オルト置換の立体障害により、反応が進みにくい。結果として、二酸化炭素膨張 MeTHF 中および二酸化炭素膨張ヘキサン中での反応は、それらの二酸化炭素により膨張していない溶媒中での反応と比較して、収率が顕著に高かった(図2)。

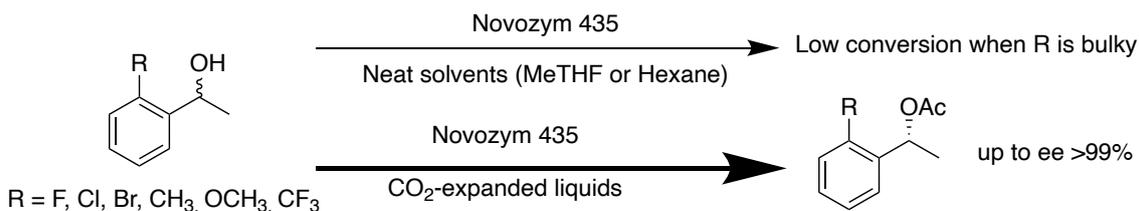


図2 Novozym435 による二酸化炭素膨張液体中でのラセミ体のオルト置換1-フェニルエタノールのトランスエステル化

さらに、光学活性な置換テトラロールは重要な医薬中間体であるため、ラセミ体のテトラロールを基質とする Novozym435 による光学分割反応への二酸化炭素膨張溶媒の効果を検討した

(図3)。その結果、二酸化炭素の効果は、立体障害の大きい1-テトラロールの反応において顕著であった。さらに、単離スケールで、ラセミ体1-テトラロールおよび2-テトラロールの反応により、対応する(*R*)-アセタートおよび(*S*)-アルコールを高収率かつ優れたエナンチオ選択性 ( $ee >99\%$ ) で得ることができた。

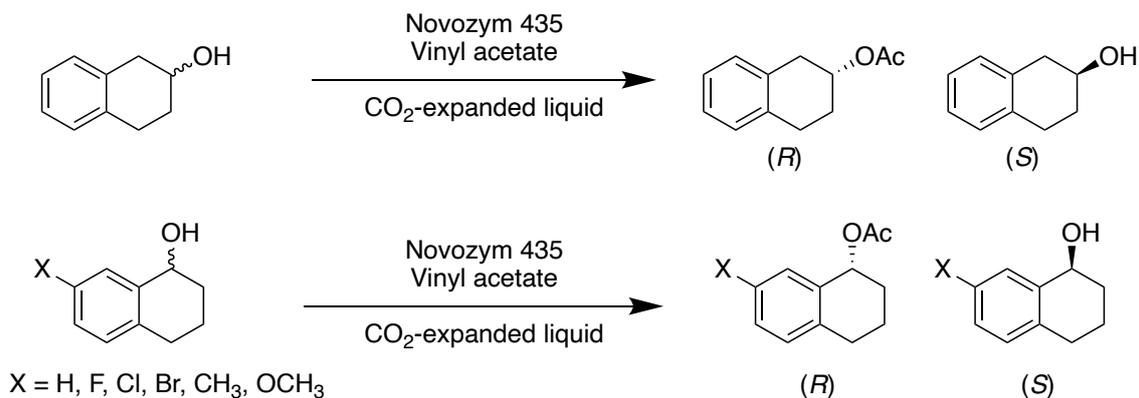


図3 Novozym435による二酸化炭素膨張液体中でのラセミ体の2-テトラロールおよび1-テトラロールのトランスエステル化

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計10件（うち査読付論文 10件 / うち国際共著 2件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 T.sriwong Kotchakorn, Ogura Kazuki, Hawari Muhammad Arisiyi, Matsuda Tomoko	4. 巻 150
2. 論文標題 Geotrichum candidum aldehyde dehydrogenase-inorganic nanocrystal with enhanced activity	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Enzyme and Microbial Technology	6. 最初と最後の頁 109866 ~ 109866
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.enzmictec.2021.109866	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 -

1. 著者名 T.sriwong Kotchakorn, Kamogawa Ramma, Castro Issasi Cinthya Soreli, Sasaki Mitsuru, Matsuda Tomoko	4. 巻 177
2. 論文標題 Geotrichum candidum acetophenone reductase immobilization on reduced graphene oxide: A promising biocatalyst for green asymmetric reduction of ketones	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Biochemical Engineering Journal	6. 最初と最後の頁 108263 ~ 108263
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bej.2021.108263	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 -

1. 著者名 Takagi Michio, T.sriwong Kotchakorn, Masuda Ayaka, Kawaguchi Nozomi, Fukui Shusuke, Le Viet Lan Huong, Kato Dai-ichiro, Kitayama Takashi, Fujii Mikio, Koesoema Afifa Ayu, Matsuda Tomoko	4. 巻 44
2. 論文標題 Immobilization of Baeyer-Villiger monooxygenase from acetone grown Fusarium sp.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Biotechnology Letters	6. 最初と最後の頁 461 ~ 471
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10529-022-03224-3	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 -

1. 著者名 T.sriwong Kotchakorn, Matsuda Tomoko	4. 巻 7
2. 論文標題 Facile mussel-inspired polydopamine-coated 3D-printed bioreactors for continuous flow biocatalysis	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Reaction Chemistry & Engineering	6. 最初と最後の頁 1053 ~ 1060
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/D2RE00040G	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 -

1. 著者名 Suzuki Yuichi, Taniguchi Kosuke, Nam Hoang Hai, Tamura Mayumi, Matsuda Tomoko	4. 巻 99
2. 論文標題 Rate enhancement of lipase-catalyzed reaction using CO <sub>2</sub> -expanded liquids as solvents for chiral tetralol synthesis	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Tetrahedron Letters	6. 最初と最後の頁 153837
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.tetlet.2022.153837	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 該当する

1. 著者名 T.sriwong Kotchakorn, Matsuda Tomoko	4. 巻 26
2. 論文標題 Recent Advances in Enzyme Immobilization Utilizing Nanotechnology for Biocatalysis	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Organic Process Research & Development	6. 最初と最後の頁 1857-1877
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.oprd.1c00404	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 -

1. 著者名 Are Kristian Ray Angelo, Ohshima Shusuke, Koike Yusuke, Asanuma Yoshihisa, Kashikura Shogo, Tamura Mayumi, Matsuda Tomoko	4. 巻 171
2. 論文標題 Enzymatic direct carboxylation under supercritical CO <sub>2</sub>	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Biochemical Engineering Journal	6. 最初と最後の頁 108004 ~ 108004
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bej.2021.108004	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 -

1. 著者名 Otsu Moeko, Suzuki Yuichi, Koesoema Afifa Ayu, Hoang Hai Nam, Tamura Mayumi, Matsuda Tomoko	4. 巻 61
2. 論文標題 CO <sub>2</sub> -expanded liquids as solvents to enhance activity of Pseudozyma antarctica lipase B towards ortho-substituted 1-phenylethanol	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Tetrahedron Letters	6. 最初と最後の頁 152424 ~ 152424
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.tetlet.2020.152424	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 該当する

1. 著者名 T.sriwong Kotchakorn, Koesoema Afifa Ayu, Matsuda Tomoko	4. 巻 10
2. 論文標題 Organic-inorganic nanocrystal reductase to promote green asymmetric synthesis	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 RSC Advances	6. 最初と最後の頁 30953 ~ 30960
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/d0ra03160g	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 -

1. 著者名 Hoshino Tomoyasu, Yamabe Emi, Hawari Muhammad Arisyi, Tamura Mayumi, Kanamaru Shuji, Yoshida Keisuke, Koesoema Afifa Ayu, Matsuda Tomoko	4. 巻 76
2. 論文標題 Oxidation of aromatic and aliphatic aldehydes to carboxylic acids by Geotrichum candidum aldehyde dehydrogenase	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Tetrahedron	6. 最初と最後の頁 131387 ~ 131387
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.tet.2020.131387	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17件 (うち招待講演 2件 / うち国際学会 7件)

1. 発表者名 鈴木 優一・谷口 航涼・Hai Hoang・松田 知子
2. 発表標題 Candida antarctica Lipase B によるトランスエステル化におけるCO <sub>2</sub> 膨張液体の影響
3. 学会等名 第12回CSJ化学フェスタ
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Kotchakorn T.sriwong, Tomoko Matsuda
2. 発表標題 Mussel-inspired polydopamine-coated 3D-printed bioreactor - a promising platform for continuous flow biocatalysis
3. 学会等名 Biocat2022 (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Kotchakorn T.sriwong, Afifa Ayu Koesoema, Ramma Kamogawa, Cinthya Soreli Castro Issasi, Mitsuru Sasaki, Tomoko Matsuda
2. 発表標題 Applications of nanotechnology in an alcohol dehydrogenase immobilization for asymmetric reduction of ketones
3. 学会等名 Biocatalysis Gordon Research Conference (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Kotchakorn T.sriwong, Afifa Ayu Koesoema, Ramma Kamogawa, Cinthya Soreli Castro Issasi, Mitsuru Sasaki, Tomoko Matsuda
2. 発表標題 Applications of nanotechnology in an alcohol dehydrogenase immobilization for asymmetric reduction of ketones
3. 学会等名 Biocatalysis Gordon Research Seminar (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Kotchakorn T.sriwong, Tomoko Matsuda
2. 発表標題 Designable 3D-printed bioreactor for green asymmetric reduction of ketones
3. 学会等名 Pacifichem 2021 (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Kotchakorn T.sriwong, Afifa Ayu Koesoema, Ramma Kamogawa, Mitsuru Sasaki, Tomoko Matsuda
2. 発表標題 Immobilization of Geotrichum candidum alcohol dehydrogenase on novel support materials
3. 学会等名 Biotrans2021 (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Fahmi Ihza Alghiffary, Ryudai Uike, Kazuki Hayashi, Tomoko Matsuda
2. 発表標題 Pressurized Carbon Dioxide and its Role in Peracid Formation for Chemoenzymatic Epoxidation of Styrene using Immobilized <i>Candida antarctica</i> Lipase B
3. 学会等名 日本化学会 第102春季年会 (2022)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Zhongyao Tang, Yuuki Takagi, Shusuke Ohshima, Kotchakorn T. Sriwong, Afifa Ayu Koesoema, Tomoko Matsuda
2. 発表標題 Enzyme Engineering of Alcohol Dehydrogenase from <i>Geotrichum candidum</i> NBRC 4597 (GcAPRD) with enhanced activity and enantioselectivity
3. 学会等名 日本化学会 第102春季年会 (2022)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 鈴木 優一, 松田 知子
2. 発表標題 CO <sub>2</sub> 拡張溶媒中での <i>Candida antarctica</i> Lipase Bを用いた速度論的光学分割反応の開発
3. 学会等名 第11回CSJ化学フェスタ2021
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Kotchakorn T. sriwong, Ramma Kamogawa, Mitsuru Sasaki, Tomoko Matsuda
2. 発表標題 <i>Geotrichum candidum</i> acetophenone reductase immobilization on reduced graphene oxide: an approach for sustainable green asymmetric synthesis
3. 学会等名 化学工学会第52回秋季大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Tomoko Matsuda
2. 発表標題 Biocatalysis for sustainable organic synthesis
3. 学会等名 University of Neyshabur Research Week (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Kotchakorn T.sriwong, Afifa Ayu Koesoema, Tomoko Matsuda
2. 発表標題 Geotrichum candidum acetophenone reductase-inorganic nanocrystal for green asymmetric ketone reduction
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 高木 康雄、Le Viet Lan Huong、Kotchakorn T.sriwong、松田 知子
2. 発表標題 Fusarium sp. 由来のBaeyer-Villiger酸化酵素の固定化法の開発
3. 学会等名 第10回CSJ化学フェスタ2020
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 大島 秀祐、Ray Angelo Gonzales Are Kristian、松田 知子
2. 発表標題 Thermoplasma acidophilum由来グルコース脱水素酵素の諸性質の検討およびNADPH再生系の構築
3. 学会等名 第10回CSJ化学フェスタ2020
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Le Viet Lan Huong, Hiroumi Nemoto, Haruka Maeda, Michio Takagi, Mayumi Tamura, Afifa Ayu Koesoema, Tomoko Matsuda
2. 発表標題 The asymmetric synthesis of alkylaryl sulfoxides by oxidation of sulfide with a novel Baeyer-Villiger monooxygenases from <i>Fusarium</i> sp. NBRC 109816
3. 学会等名 日本化学会 第100春季年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 鶴池 竜大、Suryadinata Henry、Hoang Nam Hai、松田知子
2. 発表標題 超臨界二酸化炭素を用いたリパーゼによるエポキシ化反応の開発
3. 学会等名 日本化学会 第100春季年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Tomoko Matsuda
2. 発表標題 Enzymatic reaction using pressurized carbon dioxide for green sustainable organic synthesis
3. 学会等名 8th ELSI Symposium: "Extending Views of Catalysis" (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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
研究分担者	山中 理央 (Yamanaka Rio)  (40454764)	姫路獨協大学・薬学部・准教授  (34521)	

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
---------	---------