〔総 合 論 文〕

生体触媒を用いる高分子新材料の合成と応用

宇山 浩

(受付 2001 年 3 月 28 日・審査終了 2001 年 6 月 23 日)

要 旨 酵素を触媒とする高分子合成に関する筆者らの最近の成果を概説する。主たるターゲット高分子として芳香族ポリマーとポリエステルを取り上げ、単離酵素を用いる非生成経路による重合反応を開拓した。酸化還元酵素を触媒とする酸化重合により新しい芳香族ポリマーの合成を検討した。フェノール類の酵素触媒重合では、毒性の高いホルマリンを含まない新規フェノール樹脂が穏和な条件で得られた。さらに酸化還元酵素のモデル錯体を触媒に用いることにより新しい高性能高分子を開発した。ポリエステル合成には主にリパーゼを触媒を用いた。ラクトン類の重合では単量体の酵素触媒重合性が化学触媒を用いた場合とまったく逆の挙動を示した。また、ラクトン類の立体選択的重合およびポリオールを単量体とする位置選択的重合を見いだした。いずれの成果も酵素の特異的触媒能に基づくものであり、生成ポリマーの多くが従来法では合成できない高分子新材料である。また、酵素触媒重合は自然界の物質循環に取り込まれるものであり、持続的社会構築への大いなる貢献が期待される。

1 はじめに

生体内で重要な生体高分子である核酸(DNA, RNA), タンパク質, 多糖はすべて酵素の触媒作用によりつくられる。自然界ではあらゆる生物が自身の生存のために酵素を産生している。有機合成分野では、これら生物のつくった酵素を分離し、それを立体あるいは位置選択的反応の触媒として用いる試みが活発に行われてきた¹⁾。有機合成反応における酵素触媒作用は、化学触媒と比較して高い触媒活性、穏和な反応条件、高い立体、位置および官能基選択性、副反応の抑制といった多くの利点を有している。このような特徴から、生体触媒を用いる物質生産に対する関心が高まってきた。

筆者らは酵素を分子触媒の1つとして捉え、酵素を積極的に重合触媒として用いる高分子合成に関する研究(「酵素触媒重合」)を系統的に進めてきた²⁾。なお、ここで酵素触媒重合は「酵素触媒を用いる非生成経路による *in vitro* 重合反応」をいう。近年、機能性高分子材料開発における精密構造制御の必要性が高まっており、それらに対応できる高分子合成の手法として酵素触媒重合が注目されてきた。

すべての酵素は6種類に分類される。これまで3種類の酵素群による重合触媒作用が報告されている。Table 1におおのの酵素群により得られた高分子の例を挙げる。酵素触媒重合におけるターゲット高分子として芳香族ポリマー(ポリフェ

ノール, ポリアニリン), ビニルポリマー, 多糖類, ポリアミノ酸, ポリエステル, ポリカーボネートが挙げられる。多くの場合に、従来法では合成困難なポリマーが *in vitro* での酵素触媒作用により合成されている。

Table 1. Classification of enzymes and *in vitro* production of typical polymers catalyzed by respective enzymes

Enzymes	Typical polymers
Oxidoreductases	Polyphenols, Polyanilines, Vinyl Polymers
Transferases	Polysaccharides, Cyclic Oligosaccharides, Polyesters
Hydrolases	Polysaccharides, Polyesters, Polycarbonates, Poly(amino acid)s
Lyases	
Isomerases	
Ligases

宇山 浩 (UYAMA Hiroshi) 京都大学大学院工学研究科・助教授 (☎606-8501 京都市左京区吉田本町)
1985年3月京都大学工学部合成化学科卒業, 1987年3月京都大学大学院工学研究科合成化学専攻修士課程修了, 1991年7月東北大学博士(工学)取得, 1987年4月花王株式会社研究員, 1988年3月東北大学工学部応用化学科助手, 1997年5月京都大学大学院工学研究科材料化学専攻助手, 2000年2月京都大学大学院工学研究科材料化学専攻助教授, 現在に至る。

また、酵素触媒重合は穏和な条件下での高活性触媒作用（省エネ）、酵素反応系の無毒性（毒性の高い金属触媒や単量体の非使用）、有効利用の望まれている天然資源の出発物質としての活用、生成ポリマーの高い生分解性といった点で、地球環境に優しい（環境低負荷型）高分子材料創製プロセスである。酵素触媒重合は自然界の物質循環に取り込まれるものであり、その研究開発が「グリーンポリマーケミストリー」の推進につながるものと期待される³⁾。

本総合論文では酵素および酵素モデル錯体を触媒に用いる芳香族ポリマーとポリエステル合成に関する筆者らの最近の研究成果を概説する。

2 芳香族高分子の酵素合成

安価なフェノール類を主原料とする高分子材料に関する研究は多く、上市されているフェノール系ポリマーの代表例としては、フェノール樹脂（ノボラック樹脂、レゾール樹脂）とポリ(1,4-フェニレンオキシド) (PPO) が挙げられる。フェノール樹脂は酸あるいはアルカリ触媒によるフェノール類とホルマリンの付加-縮合により製造される熱硬化性樹脂である。安価でありながら、優れた物性を有していることから幅広く用いられてきた。しかし近年、毒性の高いホルマリンを用いていることから、その使用が制限されつつある。また、PPOは2,6-ジメチルフェノールの酸化重合により製造される。PPOは耐衝撃性、耐熱性、耐薬品性に優れたエンジニアリングプラスチックであり、ポリスチレンとのブレンド品が変成PPO樹脂として上市されている。しかし、PPOの合成は単量体が2,6-ジ置換フェノールに限定される。このような現状から、幅広い構造のフェノール類からの新しいポリフェノール合成が切望されていた。

フェノール類の酵素触媒重合には、触媒として西洋ワサビペルオキシダーゼ (HRP) を中心として酸化還元酵素が用いられる。ペルオキシダーゼは、過酸化水素を水素受容体として種々の物質の酸化を触媒する。この酵素は動植物界に広く存在しており、生体内で生じる活性酸素種に対する防御機能に関与していると考えられている。HRPはさまざまなペルオキシダーゼの中でも機能や構造がよく調べられており、インドール酢酸やエチレンの分解および生合成に、またリグリンの生成に関与している。HRPは分子量約4万で、活性中心に鉄プロトポルフィリンを有するヘムタンパクである。ペルオキシダーゼは種々のフェノール、アニリン類を酸化することが知られており、水中での酸化反応ではポリマーと思われる不溶物の生成が確認されている。しかし、これらの分子量、構造は明らかではない。Scheme 1にフェノールを基質とする場合のHRPの触媒サイクルを示す。

Scheme 1.

2.1 フェノール類の酵素触媒重合

1987年にDordickらは1,4-ジオキサンと緩衝液の混合溶媒中でHRP触媒による

-フェニルフェノールの酸化重合を行い、高分子量ポリフェノールが合成されると報告した⁴⁾。重合前は均一系であるが、過酸化水素（酸化剤）を加えることによりポリマーが析出する。含水有機溶媒中で重合を行うことにより、ポリマーの重合溶媒に対する溶解度が向上し、分子量が増大したものと思われる。

筆者らはもっとも単純かつ重要なフェノール類化合物として無置換フェノールを単量体として取り上げ、HRP触媒による重合を検討した^{5),6)}。Dordickらと同様の重合条件により得られるポリマーは有機溶媒に対する溶解性が低く⁵⁾、*N,N*-ジメチルホルムアミド (DMF)、ジメチルスルホキシド (DMSO) に部分的にしか溶解しなかった。生成ポリマーの用途開発には可溶性であることが必須であると考え、重合溶媒組成を系統的に探索した。その結果、メタノールと緩衝液の混合溶媒を用いることでDMFに可溶性ポリフェノールが高収率で合成された⁶⁾。ポリマーの構造解析をNMR, IRにより行ったところ、フェニレンユニットとオキシフェニレンユニットの混合体であることがわかった (Scheme 2)。また、組成比が

メタノールと緩衝液の混合比、緩衝液の pH に依存することを見だし、溶媒組成による構造制御を達成した。

含水 1,4-ジオキサン中でパラ体のアルキルフェノールの重合も進行し、分子量約 5 千のポリマーが得られた⁷⁾。置換基が直鎖アルキル基の場合、アルキル鎖長が 1~5 の範囲で、アルキル鎖が長いほど収率が增大した。*t*-ブチルフェノールから得られたポリマーはガラス転移温度 (182℃) と融点 (233℃) を有していた。

酵素触媒重合により得られるポリフェノールの多くは溶解性が低い、メタ体のアルキルフェノールの場合には重合溶媒を変えることにより有機溶媒に可溶のポリマーが合成された⁸⁾。単量体に *m*-クレゾール、触媒に HRP、溶媒に含水メタノールを用いたところ、ほぼ定量的にポリマーが得られた。生成ポリマーは極性溶媒に易溶であり、ガラス転移温度は 200℃ 以上であった。なお、ポリ(*m*-クレゾール)は土壌中で生分解される⁹⁾。また、*m*-置換フェノールの重合挙動は酵素種に大きく影響を受けた。アルキル置換基の場合、HRP 触媒では置換基が小さいほど、大豆ペルオキシダーゼ (SBP) 触媒では置換

基がかさ高いほど収率が向上した。

酵素触媒重合によるポリフェノール合成は従来法に比べ次のような特徴を有している¹⁰⁾、(i) 毒性のあるホルマリンを用いない、(ii) 幅広い構造のフェノール類が重合し、従来法では合成困難な新規構造のポリフェノールが得られる、(iii) 反応条件により分子量、溶解性、形態を制御できる、(iv) 穏和な条件 (室温) で重合が進行する、(v) 操作が簡便である。酵素の使用量が非常に少なく、多くの場合にターンオーバーは 10 万以上である。また、生成ポリマーは比較的優れた耐熱性を有しており、以下に示すように機能性ポリマーとして有望である。

2.2 機能性ポリフェノールの酵素合成

先に述べたように、PPO は 2,6-ジメチルフェノールの酸化重合により製造されている。筆者らは HRP および SBP を触媒に用いた同単量体の重合を検討した。含水アセトンに溶媒に用いたところ、分子量数千のポリマーが得られた¹¹⁾。ポリマーの NMR、マトリックス支援レーザーイオン化-飛行時間型質量分析計 (MALDI-TOF MS) 分析から、不純物ユニットをまったく含んでいないことがわかった。工業的製法では、アミン (銅触媒のリガンド) 成分がポリマー側鎖に混入したり、末端にキノン構造が含まれることがあり、オキシフェニレンユニットのみからなるポリマーは得られない。

酵素触媒重合による PPO 合成は、単量体にシリリング酸を用いることによって達成された (Scheme 3)¹²⁾。

Scheme 2.

Oxidative Polymerization of Syringic Acid

Synthesis of Poly(2,6-dihydroxy-1,4-oxyphenylene)

Synthesis of Poly(phenylene oxide) - Aromatic Polyester Multiblock Copolymer

Scheme 3.

Scheme 4.

本重合は脱炭酸を伴うまったく新しいタイプの酸化重合である。溶媒組成を変えることにより、分子量1万以上のPPOが合成された。本重合は触媒にラッカーゼを用いても進行する。この場合、空気中の酸素が酸化剤として作用する。また、本ポリマーを三臭化ホウ素で処理した場合、メチル基が93%脱離し、2,6-ヒドロキシ-1,4-オキシフェニレンユニットからなるポリマーが得られた¹³⁾。このポリマーは側鎖にフェノール性ヒドロキシル基を有しており、新しい反応性高分子として期待される。また、シリング酸からのポリマーは末端にフェノール性ヒドロキシル基とカルボン酸を有しており、高分子量単量体として使用できる。トリフェニルホスフィンとヘキサクロロエタンを縮合剤に用いるビスフェノールAとイソフタル酸との共重合では、PPOと芳香族ポリエステルマルチブロック共重合体が得られた¹⁴⁾。

4,4'-ジヒドロキシジフェニルエーテルの酵素触媒重合では、両末端にヒドロキシル基を有するオリゴ(1,4-フェニレンオキシド)の生成が確認された(Scheme 4)¹⁵⁾。HRP触媒による重合混合物をHPLCを用いて主生成物の分離・分取を行ったところ、1,4-オキシフェニレンユニットからなる3~5量体のオリゴマーが単離された。ほかに分岐構造を有する6量体も確認された。また、反応液中にヒドロキノンが含まれた。以上の結果より、1,4-フェニレンオキシドオリゴマーの生成は中間体のキノンケタールからヒドロキノンの脱離を伴う再分配機構

とキノンケタールからの転位によりいったん直鎖状生成物が生成し、その後ヒドロキノンが脱離する機構が推定された。

メタクリル基含有フェノールのペルオキシダーゼ触媒による重合を含水アセトン中で行ったところ¹⁶⁾、極性溶媒に可溶の粉末状ポリマー(分子量1400)が得られた。生成物のNMR分析により、メタクリル基は反応に関与せず、フェノール部位のみが官能基選択的に重合したことがわかった(Scheme 5)。本ポリマーは側鎖にメタクリル基を有しており、反応性高分子としての応用が期待される。示差走査熱量測定(DSC)では、1回目の昇温で100℃に発熱ピークが見られ、昇温後のサンプルはあらゆる溶媒に不溶となったことから、100℃で熱硬化することがわかった。また、フィルム状ポリマーに光照射することにより、不溶化した。これは本ポリマーがレジスト材料として使える可能性を示唆するものである。

ペルオキシダーゼの触媒機能を利用してアセチレン基を有するポリフェノールを合成した¹⁷⁾。HRPを触媒に用い、含水メタノール中で*m*-エチニルフェノールの重合を行うと、側鎖にエチニル基を有する可溶性ポリフェノールが得られた(Scheme 6)。本ポリマーは室温でも徐々に硬化反応が進行し、不溶化する。200℃での加熱によりアセチレン結合が完全に消失し、架橋ポリマーが生成した。本ポリマーは焼成における残存率がフェノール樹脂やほかの酵素法ポリフェノールより高く、機能性炭素

Scheme 5.

Scheme 6.

Scheme 7.

材料の前駆体としての応用が期待される。

カシューナッツ殻液に含まれる主成分(アナカルド酸)の加熱処理により得られるカルダノールはメタ位に0～3の不飽和基を有するフェノール脂質である(平均不飽和度2)。カルダノールは食用カシューナッツを得る工程で多量に生成する副産物であり、その有効利用が望まれていた。カルダノールは含水アセトン中、SBP触媒により重合し、側鎖に不飽和基を有する油状の硬化性ポリフェノールが生成した(Scheme 7)¹⁸⁾。

酵素触媒を用いて合成したビスフェノールAからの重合体が熱硬化性を示した。触媒にSBPを用いる有機

Scheme 8.

溶媒と緩衝液の混合溶媒中での重合により、極性有機溶媒に易溶のポリマーが高収率で得られた¹⁹⁾。生成ポリマー(分子量：4千、ガラス転移温度：154℃)を真空中、150℃で4時間加熱するとポリマーは不溶性となり、ガラス転移温度は170℃に上昇した。

ヒドロキノンユニットを有するポリマーはレドックス活性を有することから、センサーなどへの応用が期待される。しかし、ヒドロキノンを酸化触媒で処理するとベンゾキノンのみが生成し、ポリマーは得られない。そこで、ヒドロキノンのモノ安息香酸エステルをSBP触媒で重合し、その後側鎖エステル基のアルカリ加水分解によりポリヒドロキノンを得た(Scheme 8)²⁰⁾。また、フッ素含有フェノール(3-フルオロフェノール、4-フルオロフェノール、2,6-ジフルオロフェノール)がHRP触媒により重合し、フッ素含有ポリフェノールが生成した²¹⁾。重合中フッ素基が部分的に脱離し、複雑な構造を有するポリマーとなる。

前述のようにフェノール類の酵素触媒重合の多くは沈殿重合系である。重合時に分散剤ポリマーを添加することにより(分散重合)、ポリフェノール粒子が得られた²²⁾。含水1,4-ジオキサン中でのフェノールの重合時にポリ(ビニルメチルエーテル)を存在させると、直径約300nmの粒径の揃った粒子が生成した。ポリマー粒子の粒径は分散剤の濃度と溶媒組成により制御された。分散重合法によりクレゾールや

-フェニルフェノールからもポリフェノール粒子が得られた。さらに本粒子を窒素下で焼成することにより、単分散炭素粒子に変換された。

ペルオキシダーゼ触媒による重合には過酸化水素が水素受容体として必要であるが、一定濃度以上では酵素が失活する。そのため、過酸化水素を注意深く滴下する必要がある。そこで酵素反応により系中で発生した過酸化水素を水素受容体とする新しい重合システムを開発した²³⁾。HRPとグルコースオキシダーゼの2つの酵素およびグルコースの存在下にフェノールの重合を行ったとこ

Scheme 9.

ろ、ポリフェノールの生成が認められた (Scheme 9)。

2.3 酵素モデル錯体を用いるフェノール類の酸化重合

酸化還元酵素を用いる重合は多くの場合に含水有機溶媒中で反応を行う必要があるため、疎水性単量体の重合には不向きであった。マンガンのサレン誘導体錯体は、オレフィンの不斉エポキシ化触媒として働くことが知られており (Jacobsen 触媒)、また種々の金属サレン錯体が立体選択的酸化反応の触媒として活発に研究されている。筆者らは鉄サレンをペルオキシダーゼのモデル錯体と捉え、酸化重合触媒として用いた²⁴⁾。2,6-ジメチルフェノールからは PPO, *p*-*t*-ブチルフェノールやビスフェノール A からは可溶性ポリフェノールが合成された。触媒量は単量体に対して 0.1 mol% で十分であり、高い重合活性が明らかとなった。また、2,6-ジフルオロフェノールの重合では融点 250℃ 以上の結晶性 PPO 誘導体が得られた。

鉄サレン錯体をカルダノールの重合触媒に用いたところ、有機溶媒中で反応を行うことにより可溶性ポリマーが高収率で得られた (Scheme 7)²⁵⁾。NMR 分析により、不飽和基が重合に関与せず、側鎖に不飽和基を有するポリフェノールが生成したことがわかった。生成ポリマーは熱処理あるいはナフテン酸コバルト触媒により容易に硬化し、光沢性の優れた硬化膜が生成した。

銅タンパクであるチロシナーゼはモノフェノールを *o*-ジフェノールに、さらに *o*-キノンに酸化する反応を触媒する酵素であり、各種動物、高等植物のメラニン細胞中に見いだされている。チロシナーゼのモデル錯体を触媒とする 4-フェノキシフェノールの酸化重合により、結晶性 PPO の合成を達成した (Scheme 10)²⁶⁾。これまでのフェノール類の酸化重合では、フェノキシラジカルのカップリング選択性が制御できなかった。そこでチロシナーゼの反応機構を参考にし、求核的な活性酸素錯体によりフェノラート錯体を形成させれば、フェノキシラジカルのカップリングを制御できると考えた。本触媒はトルエン中で求核的な $\mu-\eta^2:\eta^2-O_2$ 錯体を形成し、単量体のカップリングにより C-C 結合は生成せず、高いパラ選択性を示した。生成ポリマーは 170℃ 以上の融点を示した。また、2,5-ジメチルフェノールからは融点

Scheme 10.

Scheme 11.

300℃ 以上の結晶性 PPO 誘導体が得られた。

2.4 人工漆の開発

世界最古の塗料である漆は耐久性に優れた環境調和型の天然塗料であり、酵素の働きにより常温で反応・硬化する。漆特有の官能美から日本では伝統工芸品の素材として古くから用いられており、漆工芸は日本文化の象徴的存在である。漆の主成分はウルシオールと呼ばれる 3-アルケニルカテコール誘導体であり、漆塗膜を形成する主要素となる。ウルシオールは化学合成が非常に難しく、さらにかぶれの問題がある (漆によるかぶれはウルシオールに起因することが報告されている)。

筆者らは簡便に合成できるウルシオール類似体を設計・合成し、ラッカーゼ酵素を用いる硬化により高分子塗膜 (人工漆) を開発した (Scheme 11)²⁷⁾。ウルシオールもフェノール誘導体であり、本研究はフェノール類の酵素触媒重合を硬化反応へ展開したものである。また、本ウルシオール類似体はかぶれない。ウルシオール類似体は天然ウルシオールと同様に酵素作用により硬化し、漆と同等の物性を有する塗膜を与えた。本硬化系は有機溶媒を用いることなく穏和な条件で進行し、優れた光沢性および膜物性を有する塗膜を与えることから、環境調和型の硬化システムとして期待される。また、ラッカーゼ触媒では硬化性を示さなかったウルシオール類似体からも人工漆を合成した (Scheme 12)²⁸⁾。鉄サレン錯体を用いる酸化重合により可溶性ポリフェノールを合成し、ポリカルダノールと同様の条件で硬化させることによ

Scheme 12.

Scheme 13.

り、高光沢表面を有する高分子塗膜を作製した。

2.5 アニリン類の酵素触媒重合

ペルオキシダーゼはアニリン類の酸化重合の触媒としても作用する。筆者らはHRP触媒による o -フェニレンジアミンの重合により、イミノフェニレンユニットからなる可溶性ポリマーが得られることを見いだした(Scheme 13)²⁹⁾。また、フェノールとの共重合も進行し、両ユニットからなる共重合体が合成された³⁰⁾。アニリンの中性領域下での重合では複雑な構造をもつポリマーが生成するが、ポリスチレンスルホン酸塩をテンプレートとして添加することにより導電性ポリアニリンの酵素合成が達成されている³¹⁾。

3 ポリエステルの酵素合成

酵素触媒重合の触媒として加水分解酵素(ヒドロラーゼ)が圧倒的に多く用いられている。自然界に多種多様存在し、工業的にも安価なものが多く、入手しやすいためであろう。自然界でグリコシル結合、エステル結合、ペプチド(アミド)結合などの結合切断を伴う加水分解を触媒する酵素が重合触媒として機能するためには、基質単量体どうしの結合形成が繰り返し起こり、酵素本来の触媒作用とは逆反応の触媒として働く必要がある。これまでに多糖加水分解酵素であるセルラーゼ、キシラナ

Ring-Opening Polymerization of Lactones

Polycondensation of Dicarboxylic Acids or Their Derivatives with Glycols

Polycondensation of Oxyacids or Their Esters

Scheme 14

ーゼおよびキシナーゼを触媒に用いることにより、セルロース、キシランおよびキシンの初の化学合成が達成されている²⁾。

生分解性プラスチックは環境低負荷型の次世代高分子材料として極めて有望である。主たる生分解性プラスチックとして脂肪族ポリエステルが挙げられ、発酵合成法と化学合成法により製造されている。最近になって、リパーゼ触媒を用いる脂肪族ポリエステル合成が生分解性高分子材料の新しい合成手法として確立されつつある。リパーゼは本来、油脂(グリセリン高級脂肪酸トリエステル)の加水分解酵素であるが、有機溶媒中ではエステル化反応やエステル交換反応の触媒として作用することが報告され、有機合成におけるリパーゼの有用性が広がった¹⁾。このようなリパーゼの触媒能を利用することによりポリエステルが合成されてきた³²⁾。主にラクトン、ジカルボン酸誘導体/グリコール、オキシ酸誘導体が単量体として用いられ、いずれも穏和な条件下で重合が進行する(Scheme 14)。

3.1 環状エステルの酵素触媒開環重合

ラクトンをはじめとする種々の環状単量体がリパーゼ触媒により重合することが報告されている(Fig. 1)³²⁾。無置換ラクトンについては、4~17員環のラクトンが開環重合する(Scheme 15)³³⁾。1993年に筆者らとGutmanらのグループが中員環ラクトンである δ -バレロラクトン(δ -VL, 6員環)と ϵ -カプロラクトン(ϵ -CL, 7員環)が市販の粉末リパーゼ(*Candida cylindracea* リパーゼ(リパーゼCC), *Pseudomonas cepacia* リパーゼ(リパーゼPC), *Pseudomonas fluorescens* リパーゼ(リパーゼPF), 豚すい臓リパーゼ(PPL))により開環重合することを初めて見いだした³⁴⁾。バルク重合では末端にアルコールとカルボン酸を有するポリエステルが生成した。酵素を用いなかった場合は単量体はほぼ回収され、重合は進行しない。また、水溶液中で熱失活させた酵素

Fig. 1. Enzymatically polymerized cyclic monomers.

Scheme 15.

(100℃で1時間加熱)を用いても重合は起こらなかった³⁵⁾。これらの結果から、ラクトンの重合が酵素触媒作用により進行することがわかった。 ϵ -CLの重合では生成ポリマーの分子量は酵素種に依存し、リパーゼPF触媒を用いて75℃で反応を行うと分子量1万以上のポリマーが得られた。一方、同様の条件でリパーゼCCやPPLを触媒に用いた場合にはポリマーの分子量は数千であった。また、 δ -VLの酵素触媒重合では分子量2千以下のオリゴマーが生成した。リパーゼPFを触媒に用いた場合、 δ -VLのほうが ϵ -CLより迅速に重合した。

上述の市販品リパーゼ(粗酵素)には多くの安定剤が含まれており、タンパク質含量が高くない。少量の酵素を用いた場合は重合速度が遅いため、多くの場合に単量体に対して20~50重量%の粗酵素を使用していた。筆者らは多孔性アクリル樹脂に固定化した*Candida antarctica* リパーゼ(リパーゼCA, 商品名:Novozym® 435)がラクトン類の開環重合に対する高い触媒活性を有していることを初めて報告した³⁶⁾。少量のリパーゼ(1%以下)でも ϵ -CLの重合が進行した。同じ反応条件ではほかのリパーゼと単量体転化率を比較したところ、リパーゼCAの極めて高い重合能が明らかとなった。さらにリパーゼCAは繰返し使用が可能であり、5回までは重合活性の低下は見られなかった³⁵⁾。

本重合の反応機構は次のように推測される(Scheme

16)^{33), 37)}。リパーゼ触媒による反応はアシル-酵素中間体を経ることが知られている。本重合でもリパーゼとラクトンからリパーゼ-ラクトン複合体が形成し、ラクトンの開環によりアシル-酵素中間体を与える。この中間体は酵素活性化単量体(EM)とみることができる。この中間体と酵素中に含まれる水との反応で ω -オキシ酸が生成することにより重合が開始する。生長段階では中間体とポリマー末端のヒドロキシル基が反応し、ポリマーの重合度が1つのびる。このように、本重合は酵素による単量体の活性化が起こることにより進行すると推定される。

4員環無置換ラクトンである β -プロピオラクトン(β -PL)は*Pseudomonas* 属リパーゼによるバルク重合により分子量数百のオリゴマーを与えた³⁸⁾。生成物は環状と線状のオリゴマーの混合物であった。置換基を有するほかの4員環ラクトンの酵素触媒重合も報告されている³⁹⁾。9員環無置換ラクトンの8-octanolide(OL)は種々のリパーゼにより重合した⁴⁰⁾。リパーゼPC触媒を用い、75℃, 10日間, バルクで反応を行うと、分子量が1万6千に達した。大環状ラクトンとして、11-undecanolide(UDL, 12員環), 12-dodecanolide(DDL, 13員環), 15-pentadecanolide(PDL, 16員環), 16-hexadecanolide(HDL, 17員環)がリパーゼ触媒により重合し、重合条件を選ぶことにより分子量1万以上のポリエステルが得られた^{37), 41)}。また、UDL, DDL, PDLは水中でも重合した⁴²⁾。

環状化合物の反応性は一般的に環員数に依存することが知られており、小員環や中員環ラクトンはその大きい環ひずみから大環状ラクトンより高い開環重合性を有している。Table 2には異なる環員数の無置換ラクトンの双極子モーメント値と反応性をまとめた。双極子モーメントは環ひずみの指標となる。中員環ラクトンの双極子モーメント値は大環状ラクトンや非環式エステルより大きい。また、アルカリ加水分解やアニオン重合での反応性も大環状ラクトンのほうがはるかに小さい。これらの

Scheme 16.

Table 2. Dipole moments and reactivities of unsubstituted lactones

Lactone	Dipole moment Cm	Rate constant		Michaelis-Menten kinetics ^{c)}		
		Alkaline hydrolysis ^{a)}	Propagation ^{b)}	$K_m(\text{lactone})$	$V_{\max}(\text{lactone})$	$V_{\max}(\text{lactone})/K_m(\text{lactone})$
		$\times 10^4, \text{L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$	$10^3, \text{s}^{-1}$	$\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	$\times 10^2, \text{mol} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$	$\times 10^2, \text{h}^{-1}$
δ -VL	4.22	55000	—	—	—	—
ϵ -CL	4.45	2550	120	0.61	0.66	1.1
UDL	1.86	3.3	2.2	0.58	0.78	1.4
DDL	1.86	6.0	15	1.1	2.3	2.1
PDL	1.86	6.5	—	0.80	6.5	8.1
HDL	—	—	—	0.63	7.2	11
Butyl caproate	1.75	8.4	—	—	—	—

^{a)} Alkali: NaOH. Measured in 1,4-dioxane/water(60/40 vol%) at 0°C. ^{b)} Measured using NaOMe initiator(0.06 mol amount) in THF at 0°C. ^{c)} Kinetics of the polymerization was carried out using lipase PF(200 mg) as catalyst in the presence of 1-octanol(0.03 mol·L⁻¹) in diisopropyl ether(10 mL) at 60°C.

結果から大環状ラクトンは環ひずみが小さいために低い反応性を示したことがわかる。

一方、リパーゼ PF 触媒によるラクトン類の重合では、単量体の環員数が多いほど重合速度が大きくなった。この挙動はアルカリ加水分解やアニオン重合とまったく逆である。そこで重合における環員数の影響および反応機構の解明を目的に、速度論的パラメータを求めた (Table 2)。本重合がミカエリス-メンテン式に従うことが判明し⁴³⁾、 $K_m(\text{lactone})$ 値はラクトンの環員数にあまり依存しないが⁸⁾、 $V_{\max}(\text{lactone})$ と $V_{\max}(\text{lactone})/K_m(\text{lactone})$ はラクトン環員数が多いほどその値が増大することがわかった。これは、ラクトン環員数による重合性の違いがリパーゼ-ラクトン複合体からアシル-酵素中間体への反応段階によることを示すものである。大環状ラクトンは開環反応が起こりやすいようにリパーゼのセリン残基の近くに取り込まれると推定される (Fig. 2)。

リパーゼ PF 触媒による δ -VL と ϵ -CL の共重合を検討したところ、ランダム共重合体が得られた⁴⁴⁾。OL と ϵ -CL あるいは DDL の組み合わせからもランダム共重合体が生成した⁴⁰⁾。ラクトンの単独重合性が大きく異なる

Fig. 2. A possible explanation by model; in the lipase-lactone complex, ring-opening is geometrically (A) favored for a macrolide (PDL) and (B) less-favored for ϵ -CL.

るにもかかわらず、ランダム共重合体が得られたことより共重合中にエステル交換反応が頻繁に起こったことが推測される。この特異的なリパーゼ触媒能を活かし、ポリ(ϵ -CL) 存在下にラクトンの重合を行うことによりランダム共重合体を合成した (Scheme 17)⁴⁵⁾。さらにリパーゼ触媒による異なる 2 種のポリエステル間の分子間エステル交換反応が進行し、エステル共重合体の生成を認めた。

有機合成分野ではリパーゼが光学分割触媒として頻繁に用いられる¹⁾。この性質を高分子合成に応用することにより、光学活性ポリマーを合成した。リパーゼ CA はラセミ体ラクトンと無置換ラクトンの共重合の触媒として作用し、高い光学純度をもつポリエステルが得られた。 β -ブチロラクトン (β -BL) と DDL の共重合では S 体の β -BL が立体選択的に重合し、光学純度約 85% の S 体光学活性ポリエステルが生成した (Scheme 18)⁴⁶⁾。6 員環の δ -カプロラクトンも無置換ラクトンと立体選択的に共重合し、R 体の光学活性ポリエステルが得られた。また、7-methyl-1,4-dioxepan-5-one の立体選択的重合をリパーゼ触媒を用いることによって達成した (Scheme 19)^{33a)}。リパーゼ PC を用いた場合は S 体の初速度は R 体より 7 倍大きく、リパーゼ触媒による高い立体選択性が示唆された。リパーゼ PF 触媒では、S 体のみが重合した。

α 位に置換基を有する中員環ラクトン (α -methyl- δ -valerolactone と α -methyl- ϵ -caprolactone) がリパーゼ CA

Scheme 17.

Scheme 18.

Scheme 19.

触媒により重合したが、生成ポリマーは光学不活性であった⁴⁷⁾。また、リパーゼは環状ジエステルの重合触媒として作用した。リパーゼ CA, PC, PF を触媒に用いることにより、ethylene dodecanedioate と ethylene tridecanedioate の重合が進行した⁴⁸⁾。リパーゼ種が重合挙動に大きく影響し、リパーゼ PC 触媒を用いた場合はこれらの環状ジエステルが ϵ -CL や DDL より迅速に重合が進行した。一方、リパーゼ CA 触媒では環状ジエステルの重合速度は ϵ -CL と DDL の中間であった。環状エステル以外に、リパーゼ触媒により 6 員環状カーボネート⁴⁹⁾、環状ジカーボネート⁵⁰⁾ が重合した。

3.2 末端反応性ポリエステルの酵素合成

マクロモノマーやテレケリックスなどの末端反応性ポリマーは機能性高分子材料合成用のプレポリマーとして非常に有用である⁵¹⁾。これらの合成法が活発に研究されてきたが、多くの場合に煩雑な操作や多段階の反応を伴う。一方、酵素触媒を用いることによりそれらの簡便かつ 1 段階合成法を開発した。Scheme 16 に示すように、アルコールはラクトン類の開環重合の開始剤となりうる。機能性アルコール存在下にリパーゼ CA 触媒を用いるラクトンの重合を行うことにより、末端反応性ポリエステルを合成した (開始剤法) (Scheme 20)。メタクリル酸 2-ヒドロキシエチルを開始剤とする DDL の重合では、メタクリル基がポリマー末端に定量的に導入され、メタクリル型マクロモノマーが得られた⁵²⁾。5-hexen-1-ol や 5-hexyn-1-ol を用いることにより、 ω 位に不飽和基を有するマクロモノマーが生成した。複数のヒドロキシル基を有する化合物を開始剤として用い、開始反応の制御が検討された。アルキルグルコピラノシドを開始剤に用いる ϵ -CL の重合では、リパーゼ CA 触媒を用いることによりグリコシドの 6 位のヒドロキシル基から位置選択的に重合が開始する⁵³⁾。ヒドロキシル基を複数個有するデンドリマー (第 1 世代) を開始剤に用いる ϵ -CL の重合では、デンドリマー当たりの重合開始点が 1 箇所のみに制御された⁵⁴⁾。いずれのポリマーも未反応のヒドロキシル基を有しており、反応性ポリマーとしての応用が期

Scheme 20.

Macromonomer

Telechelics

Scheme 21.

待される。

また、ビニルエステル存在下の重合によっても末端反応性ポリマーを1段階で合成した⁵⁵⁾。ビニルエステルは停止剤として作用する(停止剤法)。DDLの重合に少量のメタクリル酸ビニルを共存させることによりメタクリル基をポリマー末端に定量的に導入し、1段階でのメタクリル型マクロモノマーを合成した(Scheme 21)。また、セバシン酸ジビニル存在下の重合により、両末端にカルボン酸基を有するテレケリックスを得た。

3.3 酵素触媒を用いるジカルボン酸誘導体とグリコールの重縮合

ポリエステルは酵素合成に種々のジカルボン酸誘導体を用いられてきた。ジカルボン酸あるいはジアルキルエステルは多くの単量体が安価に市販されており、汎用性の高い単量体である。しかし、リパーゼ触媒を用いるカルボン酸あるいはアルキルエステルからのエステル合成は可逆反応であるため、目的物を定量的に得ることは困難である。そのために、平衡を生成物側にずらし、高分子量ポリエステルを得る工夫が検討されてきた。

ジカルボン酸とグリコールの重合は、グリコールが液状の場合はリパーゼCAを用いることにより無溶媒でも反応が進行し、分子量数千のポリエステルを与えた⁵⁶⁾。単量体構造が重合挙動に大きく影響を与えた。さらに減圧下での重合により分子量が向上し、分子量1万以上のポリエステルが得られた。重合条件で両基質が固体の場合には、少量の湿潤剤を加えることによりポリマーの収率が大幅に改善された。アジピン酸と1,6-ヘキサジオールからは200 kg以上のスケールでポリエステルの合成が報告されている。本系は穏和な反応条件で有機溶媒や毒性の高い触媒を用いていないため、環境調和型の

Scheme 22.

実用的高分子材料合成プロセスとして期待される。

脱水反応は通常非水溶液中で行われる。これは水中では質量作用の法則により平衡が原料側に大きく傾き、反応が進行しないためである。筆者らは触媒にリパーゼを用いると、水溶媒中でジカルボン酸とグリコールの脱水重縮合が進行することを見いだした⁵⁷⁾。これは見かけ上、質量作用の法則に反する現象であり、酵素触媒に特異的な現象と考えられる。筆者らは本結果から新概念「水中での脱水縮合」を提出したい。蒸留水中でのセバシン酸と1,8-オクタンジオールの重合では、リパーゼCA, CC, PC, PFが高活性を示した。また、単量体の親水性-疎水性が重合に大きく影響した。

ビニルエステルをアシル化剤とするリパーゼ触媒によるエステル交換反応が活発に研究されてきた。これは脱離するビニルアルコールのアセトアルデヒドへの異性化を伴う不可逆過程のためである。筆者らはビニルエステル類のリパーゼ触媒に対する高い反応性に着目し、ジビニルエステルを単量体とするポリエステルは酵素合成を開拓した⁵⁸⁾。リパーゼPFを触媒に用いることによりアジピン酸ジビニルと1,4-ブタンジオールの重合が45℃で進行し、分子量数千のポリエステルが生成した(Scheme 22)。一方、同様の条件下でアジピン酸あるいはアジピン酸ジエチルからはポリマー生成は見られなかった。これらの結果より、ジビニルエステルの高い酵素触媒重合性が明らかとなった。また、オキシ酸のビニルエステルも穏和な条件下で重合し、ポリエステルを与えた⁵⁹⁾。

ジビニルエステルとしてアジピン酸とセバシン酸ジビニルを用い、ジビニルエステルとグリコールの重合を詳細に検討した⁶⁰⁾。リパーゼCA, PC, PF, *Mucor miehei*由来のリパーゼ(リパーゼMM)が高い重合活性を有していた。リパーゼPC触媒によるアジピン酸ジビニルと1,4-ブタンジオールの重合では分子量2万以上のポリマーが生成した。セバシン酸ジビニルを用いた場合、アジピン酸ジビニルの重合より収率は高かったが分子量は低下した。また、芳香族ジカルボン酸のジビニルエステルを用いることにより、芳香族ポリエステルの酵素合成を達成した。リパーゼCAが芳香族ポリエステル合成に高い重合活性を有していた⁶¹⁾。また、メタおよびパラ体のキシリレンジグリコールがセバシン酸ジビニルと重合

し、芳香族ポリエステルが得られた。

リパーゼ触媒によるラクトンとジビニルエステルとグリコールの3元共重合を検討し、分子量1万以上のエステル共重合体を合成した (Scheme 23)⁶²⁾。リパーゼ CA と PC から高収率でポリマーが生成した。¹³C NMR 分析から、生成物が単独重合体の混合物でなく、共重合体であることがわかった。これは2つの異なる反応形式の重合(開環重合と重縮合)がリパーゼ触媒により同時に進んだことを示唆するものである。

リパーゼ触媒はポリオールと位置選択的アシル化触媒として頻繁に用いられる。筆者らはリパーゼの高い位置選択的触媒能に着目し、ポリオールを単量体とするポリエステル合成を検討した⁶³⁾。リパーゼ CA を触媒に用い、セバシン酸ジビニルとグリセリンの重合を 60℃ で行った場合、可溶性の高分子量が得られた。通常の化学反応ではゲル化が起こり、可溶性ポリマーは得られない。NMR 分析からグリセリンの1,3位-ジ置換体が主成分であり、少量の分岐ユニットが含まれることがわかった。第1級、第2級ヒドロキシル基間の位置選択性は74:26であった。また、重合を45℃で行うと位置選択性が完全に制御され、グリセリンの1,3位-ジ置換体のみからなる線状ポリエステルが得られた。

リパーゼ触媒を用いて新しい架橋性ポリエステルを開発した。有効利用が強く望まれている再生可能資源のひとつである植物油脂(トリグリセリド)に着目し、植物油脂由来の不飽和カルボン酸存在下にセバシン酸ジビニルとグリセリンの重合を行った (Scheme 24)⁶⁴⁾。リパーゼ CA 触媒を用いることにより側鎖に不飽和基をもつポリエステルが1段階で合成された。減圧下で重合を行うと、ポリマーの収率、分子量が向上した。リノール酸あるいはリノレン酸を用いて得られたポリマーはナフテン酸コバルト触媒あるいは加熱処理により容易に硬化し、透明な架橋塗膜が得られた。

糖含有ポリエステルをリパーゼ CA 触媒を用いることにより合成した (Scheme 25)⁶⁵⁾。アセトニトリル中でセバシン酸ジビニルとソルビトールの重合を行ったところ、ソルビトールの1位と6位が選択的にアシル化されたポリマーが得られた。マンニトールやメソエリスリトールもセバシン酸ジビニルと位置選択的に重合した。

酸無水物もリパーゼ触媒によるアシル化剤として頻繁

に用いられる。リパーゼ PF 触媒によりコハク酸無水物と1,8-オクタジオールの重合が室温で起こり、分子量数千のポリエステルが生成した (Scheme 26)⁶⁶⁾。本重合は環状無水物の開環を伴う付加-縮合で進行する。ポリ酸無水物もポリエステル合成の出発基質として用いられた。リパーゼ CA 触媒を用いることにより、ポリ(アゼライン酸無水物)と1,8-オクタジオールの反応が進行した⁶⁷⁾。ポリ酸無水物とグリセリンの反応では高い分岐度をもつポリエステルが得られた⁶⁸⁾。

Scheme 23.

Scheme 24.

Scheme 25.

Scheme 26.

Scheme 27.

3.4 酵素触媒を用いるポリエステルのケミカルリサイクル

脂肪族ポリエステルの多くは水中でのリパーゼ触媒作用による分解あるいは土壌中での生分解を受ける。一方、有機溶媒中では多くの場合にポリエステル合成が進行するが、反応条件を選ぶことにより分解を起こさせることも可能である。そのような条件下では高分子量ポリ(ε-CL)はリパーゼ触媒により分解し、分子量数百のオリゴマーに変換された⁶⁹⁾。そこで、溶媒を減圧下留去し、残ったオリゴマーと酵素をそのまま加熱するとポリマーが再合成された。同様の操作は繰返し行うことができる。この結果から、筆者らは酵素触媒を用いる高分子材料の新規ケミカルリサイクル手法を世界で初めて提案した(Scheme 27)。これは溶媒の有無といった極めて簡単な条件設定により重合・分解を制御できるという新概念に基づくものである。

4 結 論

本総合論文では、単離酵素を用いる非生合成経路による高分子合成(酵素触媒重合)に関する筆者らの最近の成果を述べてきた。これら以外にもプロテアーゼ触媒によるオリゴペプチド合成⁷⁰⁾、ラッカーゼ触媒によるビニルモノマーの重合⁷¹⁾は機能性高分子の新規合成法として有用と思われる。多くの場合に従来法では合成できない新高分子が得られており、酵素触媒の特徴がよく表れている。また、いずれも環境低負荷型の高分子材料創製プロセスである。今後、本分野の研究が一層活発になり、生体触媒作用を利用した地球環境保護の観点からの新材料、新プロセスの開発が期待される。

謝 辞 本研究を遂行するに当たり、一貫してご指導いただきました小林四郎教授(京都大学工学研究科)に深謝いたします。また、本研究の一部は文部科学省科学研究費補助金、工業技術院「独創的高機能性材料創製技術」プロジェクト、生研機構「基礎研究推進事業」からの研究助成を受けて行われました。

文 献

- 1) a) G. M. Whitesides and C. -H. Wong, *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.*, **24**, 617 (1985); b) J. B. Jones, *Tetrahedron*, **42**, 3351 (1986); c) A. M. Klibanov, *Acc. Chem. Res.*, **23**, 114 (1990); d) E. Santaniello, P. Ferraboschi, P. Grisenti, and A. Manzocchi, *Chem. Rev.*, **92**, 1071 (1992); e) S. Takayama, G. J. McGarvey, and C. -H. Wong, *Chem. Soc. Rev.*, **26**, 407 (1997).
- 2) a) S. Kobayashi, S. Shoda, and H. Uyama, *Adv. Polym. Sci.*, **121**, 1 (1995); b) S. Kobayashi, S. Shoda, and H. Uyama, "The Polymeric Materials Encyclopedia", J. C. Salamone ed., CRC Press, Boca Raton (1996), pp. 2102-2107; c) H. Ritter, "Desk Reference of Functional Polymers, Syntheses and Applications", R. Arshady ed., American Chemical Society, Washington, D.C. (1997), pp. 103-113; d) S. Kobayashi, S. Shoda, and H. Uyama, "Catalysis in Precision Polymerization", S. Kobayashi ed., John Wiley & Sons, Chichester (1997), chap. 8; e) R. A. Gross, D. L. Kaplan, and G. Swift (Ed.), *ACS Symp. Ser.*, **684** (1998); f) S. Kobayashi and H. Uyama, "Materials Science and Technology, Synthesis of Polymers", A. -D. Schlüter ed., Wiley-VCH, Weinheim (1998), chap. 16; g) S. Kobayashi, *J. Polym. Sci., Polym. Chem. Ed.*, **37**, 3041 (1999); h) S. Kobayashi, H. Uyama, and M. Ohmae, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **74**, 613 (2001); i) S. Kobayashi and H. Uyama, "Encyclopedia of Polymer Science and Technology, 3rd Ed.", J. I. Kroschwitz ed., John Wiley & Sons, New York, N.Y. in press; j) S. Kobayashi, H. Uyama, and S. Kimura, *Chem. Rev.*, in press.
- 3) 小林四郎, 高分子, **48**, 124 (1999).
- 4) J. S. Dordick, M. A. Marletta, and A. M. Klibanov, *Biotechnol. Bioeng.*, **30**, 31 (1987).
- 5) a) H. Uyama, H. Kurioka, I. Kaneko, and S. Kobayashi, *Chem. Lett.*, **1994**, 423; b) H. Uyama, H. Kurioka, J. Sugihara, and S. Kobayashi, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **69**, 189 (1996); c) H. Uyama, H. Kurioka, I. Komatsu, J. Sugihara, and S. Kobayashi, *Macromol. Reports, A* **32**, 649 (1995).
- 6) a) T. Oguchi, S. Tawaki, H. Uyama, and S. Kobayashi, *Macromol. Rapid Commun.*, **20**, 401 (1999); b) T. Oguchi, S. Tawaki, H. Uyama, and S. Kobayashi, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **73**, 1389 (2000).
- 7) a) H. Kurioka, I. Komatsu, H. Uyama, and S. Kobayashi, *Macromol. Rapid Commun.*, **15**, 507 (1994); b) H. Uyama, H. Kurioka, J. Sugihara, I. Komatsu, and S. Kobayashi, *J. Polym. Sci., Polym. Chem. Ed.*, **35**, 1453 (1997).
- 8) H. Tonami, H. Uyama, S. Kobayashi, and M. Kubota, *Macromol. Chem. Phys.*, **200**, 2365 (1999).
- 9) R. Farrell, M. Ayyagari, J. Akkara, and D. Kaplan, *J. Environ. Polym. Degrad.*, **6**, 115 (1998).
- 10) a) H. Uyama and S. Kobayashi, *CHEMTECH*, **29** (10), 22 (1999); b) S. Kobayashi, H. Uyama, H. Tonami, T. Oguchi, H. Higashimura, R. Ikeda, and M. Kubota, *Macromol. Symp.*, in press.
- 11) R. Ikeda, J. Sugihara, H. Uyama, and S. Kobayashi, *Macromolecules*, **29**, 8702 (1996).
- 12) a) R. Ikeda, H. Uyama, and S. Kobayashi, *Macromolecules*, **29**, 3053 (1996); b) R. Ikeda, J. Sugihara, H. Uyama, and S. Kobayashi, *Polym. Int.*, **47**, 295 (1998).
- 13) R. Ikeda, H. Uyama, and S. Kobayashi, *Polym. Bull.*, **38**, 273 (1997).
- 14) R. Ikeda, J. Sugihara, H. Uyama, and S. Kobayashi, *Polym. Bull. (Berlin)*, **40**, 367 (1998).
- 15) T. Fukuoka, H. Tonami, N. Maruichi, H. Uyama, S. Kobayashi, and H. Higashimura, *Macromolecules*, **33**, 9152 (2000).
- 16) H. Uyama, C. Lohavisavanich, R. Ikeda, and S. Kobayashi, *Macromolecules*, **31**, 554 (1998).
- 17) H. Tonami, H. Uyama, S. Kobayashi, T. Fujita, Y. Taguchi, and K. Osada, *Biomacromolecules*, **1**, 149 (2000).
- 18) R. Ikeda, H. Tanaka, H. Uyama, and S. Kobayashi, *Polym. J.*, **32**, 589 (2000).
- 19) S. Kobayashi, H. Uyama, T. Ushiwata, T. Uchiyama, J. Sugihara, and H. Kurioka, *Macromol. Chem. Phys.*, **199**, 777 (1998).
- 20) H. Tonami, H. Uyama, S. Kobayashi, K. Rettig, and H. Ritter, *Macromol. Chem. Phys.*, **200**, 1998 (1999).
- 21) R. Ikeda, N. Maruichi, H. Tonami, H. Tanaka, H. Uyama, and S.

- Kobayashi, *J. Macromol. Sci., Pure Appl. Chem.*, **A 37**, 983 (2000).
- 22) a) H. Uyama, H. Kurioka, and S. Kobayashi, *Chem. Lett.*, **1995**, 795 ; b) H. Kurioka, H. Uyama, and S. Kobayashi, *Polym. J.*, **30**, 526 (1998) ; c) H. Uyama, H. Kurioka, and S. Kobayashi, *Colloids Surf., A*, **153**, 189 (1999).
- 23) H. Uyama, H. Kurioka, and S. Kobayashi, *Polym. J.*, **27**, 190 (1997).
- 24) a) H. Tonami, H. Uyama, H. Higashimura, T. Oguchi, and S. Kobayashi, *Polym. Bull. (Berlin)*, **42**, 125 (1999) ; b) H. Tonami, H. Uyama, S. Kobayashi, H. Higashimura, and T. Oguchi, *J. Macromol. Sci., Pure Appl. Chem.*, **A 36**, 719 (1999) ; c) R. Ikeda, H. Tanaka, H. Uyama, and S. Kobayashi, *Macromolecules*, **33**, 6648 (2000).
- 25) R. Ikeda, H. Tanaka, H. Uyama, and S. Kobayashi, *Macromol. Rapid Commun.*, **21**, 496 (2000).
- 26) a) H. Higashimura, K. Fujisawa, Y. Moro-oka, M. Kubota, A. Shiga, A. Terahara, H. Uyama, and S. Kobayashi, *J. Am. Chem. Soc.*, **120**, 8529 (1998) ; b) H. Higashimura, M. Kubota, A. Shiga, K. Fujisawa, Y. Moro-oka, H. Uyama, and S. Kobayashi, *Macromolecules*, **33**, 1986 (2000) ; c) H. Higashimura, K. Fujisawa, Y. Moro-oka, S. Namekawa, M. Kubota, A. Shiga, H. Uyama, and S. Kobayashi, *Polym. Adv. Technol.*, **11**, 733 (2000) ; d) H. Higashimura, K. Fujisawa, S. Namekawa, M. Kubota, A. Shiga, Y. Moro-oka, H. Uyama, and S. Kobayashi, *J. Polym. Sci., Polym. Chem. Ed.*, **38**, 4792 (2000) ; e) H. Higashimura, M. Kubota, A. Shiga, M. Kodaera, H. Uyama, and S. Kobayashi, *J. Mol. Catal. A : Chem.*, **161**, 233 (2000) ; f) H. Higashimura, K. Fujisawa, Y. Moro-oka, S. Namekawa, M. Kubota, A. Shiga, H. Uyama, and S. Kobayashi, *Macromol. Rapid Commun.*, **21**, 1121 (2000) ; g) H. Higashimura, K. Fujisawa, Y. Moro-oka, M. Kubota, A. Shiga, H. Uyama, and S. Kobayashi, *Appl. Catal., A*, **194/195**, 427 (2000) ; h) H. Higashimura, K. Fujisawa, Y. Moro-oka, M. Kubota, A. Shiga, H. Uyama, and S. Kobayashi, *J. Mol. Catal. A : Chem.*, **155**, 201 (2000).
- 27) a) S. Kobayashi, R. Ikeda, H. Oyabu, H. Tanaka, and H. Uyama, *Chem. Lett.*, **2000**, 1214 ; b) R. Ikeda, T. Tsujimoto, H. Tanaka, H. Oyabu, H. Uyama, and S. Kobayashi, *Proc. Jpn. Acad.*, **76 B**, 155 (2000) ; c) R. Ikeda, H. Tanaka, H. Oyabu, H. Uyama, and S. Kobayashi, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **74**, 1067 (2001).
- 28) T. Tsujimoto, R. Ikeda, H. Uyama, and S. Kobayashi, *Chem. Lett.*, **2000**, 1122.
- 29) S. Kobayashi, I. Kaneko, and H. Uyama, *Chem. Lett.*, **1992**, 393.
- 30) H. Uyama, H. Kurioka, I. Kaneko, and S. Kobayashi, *Macromol. Reports*, **A 31**, 421 (1994).
- 31) L. A. Samuelson, A. Anagnostopoulos, K. S. Alva, J. Kumar, and S. K. Tripathy, *Macromolecules*, **31**, 4376 (1998).
- 32) a) S. Kobayashi and H. Uyama, "Advances in Biochemical Engineering / Biotechnology, Biopolyesters", A. Steinbüchel, W. Babel, and T. Scheper eds., Springer-Verlag, Heidelberg (2001), pp. 241-262 ; b) S. Kobayashi and H. Uyama, *Curr. Org. Chem.*, in press.
- 33) a) S. Kobayashi, H. Uyama, and S. Namekawa, *Polym. Degrad. Stab.*, **59**, 195 (1998) ; b) S. Namekawa, S. Suda, H. Uyama, and S. Kobayashi, *Int. J. Biol. Macromol.*, **25**, 145 (1999) ; c) S. Kobayashi and H. Uyama, *Macromol. Symp.*, **144**, 237 (1999).
- 34) a) H. Uyama and S. Kobayashi, *Chem. Lett.*, **1993**, 1149 ; b) D. Knani, A. L. Gutman, and D. H. Kohn, *J. Polym. Sci., Polym. Chem. Ed.*, **31**, 1221 (1993).
- 35) S. Kobayashi, K. Takeya, S. Suda, and H. Uyama, *Macromol. Chem. Phys.*, **199**, 1729 (1998).
- 36) H. Uyama, S. Suda, H. Kikuchi, and S. Kobayashi, *Chem. Lett.*, **1997**, 1109.
- 37) H. Uyama, K. Takeya, and S. Kobayashi, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **68**, 56 (1995).
- 38) S. Namekawa, H. Uyama, and S. Kobayashi, *Polym. J.*, **28**, 730 (1996).
- 39) a) S. Matsumura, H. Beppu, K. Nakamura, S. Osanai, and K. Toshima, *Chem. Lett.*, **1996**, 795 ; b) G. A. R. Nobes, R. J. Kazlauskas, and R. H. Marchessault, *Macromolecules*, **29**, 4829 (1996) ; c) S. Matsumura, Y. Suzuki, K. Tsukuda, K. Toshima, Y. Doi, and K. Kasuya, *Macromolecules*, **31**, 6444 (1998).
- 40) S. Kobayashi, H. Uyama, S. Namekawa, and H. Hayakawa, *Macromolecules*, **31**, 5655 (1998).
- 41) a) H. Uyama, K. Takeya, N. Hoshi, and S. Kobayashi, *Macromolecules*, **28**, 7046 (1995) ; b) H. Uyama, H. Kikuchi, K. Takeya, and S. Kobayashi, *Acta Polymerica*, **47**, 357 (1996) ; c) H. Uyama and S. Kobayashi, "Biomedical Functions and Biotechnology of Natural and Artificial Polymers", M. Yalpani ed., ATL Press, Schremsbury (1996), pp. 5-15 ; d) K. S. Bisht, L. A. Henderson, R. A. Gross, D. L. Kaplan, and G. Swift, *Macromolecules*, **30**, 2705 (1997) ; e) S. Namekawa, H. Uyama, and S. Kobayashi, *Proc. Jpn. Acad.*, **74 B**, 65 (1998) ; f) A. Kumar, B. Kalra, A. Dekhterman, and R. A. Gross, *Macromolecules*, **33**, 6303 (2000).
- 42) S. Namekawa, H. Uyama, and S. Kobayashi, *Polym. J.*, **30**, 269 (1998).
- 43) H. Uyama, S. Namekawa, and S. Kobayashi, *Polym. J.*, **29**, 299 (1997).
- 44) H. Uyama, K. Takeya, and S. Kobayashi, *Proc. Acad. Jpn.*, **69 B**, 203 (1993).
- 45) S. Namekawa, H. Uyama, and S. Kobayashi, *Macromol. Chem. Phys.*, **202**, 801 (2001).
- 46) H. Kikuchi, H. Uyama, and S. Kobayashi, *Macromolecules*, **33**, 8971 (2000).
- 47) K. Küllmer, H. Kikuchi, H. Uyama, and S. Kobayashi, *Macromol. Rapid Commun.*, **19**, 127 (1998).
- 48) S. Müller, H. Uyama, and S. Kobayashi, *Chem. Lett.*, **1999**, 1317.
- 49) a) S. Matsumura, K. Tsukuda, and K. Toshima, *Macromolecules*, **30**, 3122 (1997) ; b) S. Kobayashi, H. Kikuchi, and H. Uyama, *Macromol. Rapid Commun.*, **18**, 575 (1997) ; c) K. S. Bisht, Y. Y. Svirkin, L. A. Henderson, R. A. Gross, D. L. Kaplan, and G. Swift, *Macromolecules*, **30**, 7735 (1997).
- 50) S. Namekawa, H. Uyama, S. Kobayashi, and H. R. Kricheldorf, *Macromol. Chem. Phys.*, **201**, 261 (2000).
- 51) S. Kobayashi and H. Uyama, "Macromolecular Design : Concept and Practice", M. K. Mishra ed., Polymer International Inc., New York, N.Y. (1994), pp. 1-38.
- 52) H. Uyama, S. Suda, and S. Kobayashi, *Acta Polymerica*, **49**, 700 (1998).
- 53) a) K. S. Bisht, F. Deng, R. A. Gross, D. L. Kaplan, and G. Swift, *J. Am. Chem. Soc.*, **120**, 1363 (1998) ; b) A. Córdova, T. Iversen, and K. Hult, *Macromolecules*, **31**, 1040 (1998).
- 54) A. Córdova, A. Hult, K. Hult, H. Ihre, T. Iversen, and E. Malmström, *J. Am. Chem. Soc.*, **120**, 13521 (1998).
- 55) a) H. Uyama, H. Kikuchi, and S. Kobayashi, *Chem. Lett.*, **1995**, 1047 ; b) H. Uyama, H. Kikuchi, and S. Kobayashi, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **70**, 1691 (1997).
- 56) a) H. Uyama, K. Inada, and S. Kobayashi, *Chem. Lett.*, **1998**, 1285 ; b) F. Binns, P. Harffey, S. M. Roberts, and A. Taylor, *J. Polym. Sci., Polym. Chem. Ed.*, **36**, 2069 (1998) ; c) F. Binns, P. Harffey, S. M. Roberts, and A. Taylor, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **1999**, 2671 ; d) H. Uyama, K. Inada, and S. Kobayashi, *Polym. J.*, **32**, 440 (2000).
- 57) a) S. Kobayashi, H. Uyama, S. Suda, and S. Namekawa, *Chem. Lett.*, **1997**, 105 ; b) S. Suda, H. Uyama, and S. Kobayashi, *Proc. Jpn. Acad.*, **75 B**, 201 (1999).

- 58) H. Uyama and S. Kobayashi, *Chem. Lett.*, **1994**, 1687.
- 59) H. Uyama, R. Ikeda, S. Yaguchi, and S. Kobayashi, *ACS Symp. Ser.*, **764**, 113 (2000).
- 60) H. Uyama, S. Yaguchi, and S. Kobayashi, *J. Polym. Sci., Polym. Chem. Ed.*, **37**, 2737 (1999).
- 61) H. Uyama, S. Yaguchi, and S. Kobayashi, *Polym. J.*, **31**, 380 (1999).
- 62) S. Namekawa, H. Uyama, and S. Kobayashi, *Biomacromolecules*, **1**, 335 (2000).
- 63) H. Uyama, K. Inada, and S. Kobayashi, *Macromol. Rapid Commun.*, **20**, 171 (1999).
- 64) T. Tsujimoto, H. Uyama, and S. Kobayashi, *Biomacromolecules*, **2**, 29 (2001).
- 65) H. Uyama, E. Klegraf, S. Wada, and S. Kobayashi, *Chem. Lett.*, **2000**, 800.
- 66) S. Kobayashi and H. Uyama, *Makromol. Chem., Rapid Commun.*, **14**, 841 (1993).
- 67) H. Uyama, S. Wada, and S. Kobayashi, *Chem. Lett.*, **1999**, 893.
- 68) S. Wada, H. Uyama, and S. Kobayashi, *Polym. Prepr., Jpn.*, **49**, 239 (2000).
- 69) S. Kobayashi, H. Uyama, and T. Takamoto, *Biomacromolecules*, **1**, 3 (2000).
- 70) I. Komatsu, H. Uyama, and S. Kobayashi, *Polym. Prepr., Jpn.*, **44**, 246 (1995).
- 71) R. Ikeda, H. Tanaka, H. Uyama, and S. Kobayashi, *Macromol. Rapid Commun.*, **19**, 423 (1998).

[Comprehensive Papers]

Enzymatic Synthesis and Applications of New Polymeric Materials

Hiroshi UYAMA*¹

*¹*Department of Materials Chemistry, Graduate School of Engineering (Kyoto University, Kyoto 606-8501, Japan)*

Our recent advances in enzymatic polymerization, defined as chemical polymer syntheses *in vitro* (in test tubes) via non-biosynthetic pathways catalyzed by an isolated enzyme, have been mainly reviewed. The major target macromolecules formed via the enzymatic polymerizations described in this article are polyaromatics and polyesters. Oxidoreductases act as catalyst for oxidative polymerization of phenol, aniline, and their derivatives. A new class of phenolic polymers are synthesized without use of toxic formaldehyde under mild reaction conditions. Enzyme-model complexes also catalyze the synthesis of new phenolic polymer materials. For synthesis of polyesters, hydrolases are used as catalyst; hydrolases, enzymes catalyzing a bond-cleavage reaction by water, induce the reverse reaction of hydrolysis, leading to polymer production by a bond-forming reaction. Specific enzyme catalysis provides a novel synthetic route for useful polyesters, many of which are difficult to be synthesized by conventional methodologies.

KEY WORDS Enzymatic Polymerization / Oxidoreductase / Peroxidase / Laccase / Lipase / Phenol / Aniline / Polyphenol / Polyester / Ring-Opening Polymerization / Oxidative Polymerization /

(Received March 28, 2001 : Accepted June 23, 2001)

[*Kobunshi Ronbunshu*, **58** (8), 382—396 (2001)]