総合論文

リパーゼを用いる光学活性ヒドロキシエステルの創製とその生理活性化合物合成への応用

——ベンツリシジン A, B アグリコンの全合成——

大石 武*・秋田 弘幸**

Synthesis of Optically Active Hydroxy Esters Using a Function of Lipases ——The Total Synthesis of the Aglycone of Venturicidins A and B——

Takeshi Oishi* and Hiroyuki Akita**

Optically active 2-methyl-3-hydroxy propionic acid derivatives which are expected to be useful building blocks for the synthesis of polyoxo-macrolide antibiotics or the related bioactive compounds have been synthesized based on the asymmetric hydrolysis using various industrialized lipases. As an example of synthetic studies using these synthons, a total synthesis of the aglycone of venturicidins A and B is described.

Hydrolysis of water-insoluble substrates with lipases immobilized with celite or prepolymer (ENTP-4000) proceeds even in organic solvent. However improvement of efficiency is required. Thus a new immobilization method was developed. Namely, an aggregate of lipases with various phospholipid analogue whose hydrophobic aliphatic chains are linked by ether bonding was found to catalyze an asymmetric hydrolysis much more effectively than the previous immobilization methods.

Key words: Asymmetric hydrolysis; Optically active synthon; Immobilized lipase; Phospholipid analogue; New immobilization method.

1. はじめに

天然にはポリケタイドに属する生理活性化合物が数多く存在しているが、ポリエンマクロライド抗生物質は1,3-ポリオール系1を、また、エリスロマイシンAによって代表されるいわゆるポリオキソマクロライド抗生物質は1の水酸基と水酸基の間にメチル基が存在する系2を基本骨格としている。特に2個のキラル中心を有する光学活性 syn-2-メチル-3-ヒドロキシプロピオン酸誘導体3は2の最少単位であり多くの生理活性化合物の有用な出発原料(シントン)となるものと期待される。そこで多くの研究者がそれらの立体選択的合成をめざして鎬

ぎを削り、その結果、いわゆる「鎖状系における立体制御」が著しく進展した。

我々はこの分野の発展の初期段階から関与し、(±)-syn-3を対応するβ-ケトエステルのZn(BH₄)₂還元により効率良く合成する方法を開発し¹⁾、それらを原料とするエリスロマイシンAの合成研究を行った。合成は途中迄は期待通り進行したが最終段階に入り大きな障害に突き当たり、一時計画を断念せざるをえなかった²⁾。その原因は、原料としてラセミ体3誘導体を用いたことにあることは明らかであったが、当時は、光学活性3を合成する手段がなく、そのための新しい手法を開発することから研究をはじめねばならなかった。こうして、必要に

* 理化学研究所 ()

** 東邦大学薬学部 ()

* RIKEN institute ()

** School of Pharmaceutical Science, Toho University ()

Fig. 1

せまれて手をそめたのが酵母の不斉還元機能を利用する方法である。先と同じβ-ケトエステルを基質とし、多数の酵母を用いてのスクリーニングを行った結果、優れた光学純度のもとに目的物を与える酵母を見出した³⁾。しかし、一般に効率が悪いこと、不要のanti体4が常に副生し、求むるsyn体との分離が困難な場合もあること、さらに、先のエリスロマイシンA合成に必要な特定の3誘導体(2*R*,3*R*)-13a,c(表2参照)が得られなかったこと等から本法を断念し、補酵素を必要としないリパーゼの不斉加水分解機能を利用する方法に転換したところ好結果が得られた。リパーゼ機能の利用に関しては既に多くの研究が報告されているが、この分野では反応の選択性自体は酵素機能に依存しているものの、実際の*in vitro*での反応では様々な制約があり、研究者が主体的に取り組まないかぎり斬新な成果をあげることはできないことが多い。ここではまずリパーゼの特性につき概観し、次いで、我々の行ったリパーゼ機能の利用研究について述べる。さらに、抗カビ性抗生物質、ベンツリシジンA,Bアグリコンの合成に際し、リパーゼがどのように寄与したかを紹介し、あわせてその全合成研究について述べる。

2. リパーゼの特性

酵素といえば高価で、大量合成の触媒としては不適で

はないかとの一般的認識があるが、リパーゼに関しては種々の異なる微生物由来の粗製リパーゼが安価に入手可能である。興味あることに、同じ微生物に由来していても精製の度合いによって特性が異なり、それぞれ特有の酵素活性を示すことがある。リパーゼの特性を上げる。

- 1) 一般の試薬と同様に取り扱うことができるので基質の構造、およびリパーゼの種類の両者を変換させての広範なスクリーニングが可能である。
- 2) 基質が水に難溶であっても反応はその表面で進行して生成物を与えることがある。特に、基質が軟い油状物であるときは問題ない。
- 3) 有機溶媒、例えば各種ハイドロカーボン、イソプロパノール、エーテル類中でも酵素活性を保つ例が知られている。このようなリパーゼはリポフィリックなアミノ酸含量が多いものと推定されている。
- 4) 多岐にわたる固定化が可能で、その方法をめぐって研究者の創意が充分に発揮できる。
- 5) 基質の高濃度化、大量処理が可能であり、生成物の分離、精製が容易である。
- 6) 逆反応の不斉エステル化も条件をととのえることにより可能となる。

このようなリパーゼの特徴を好妙に組み合わせ、適切に利用すれば、リパーゼは多岐にわたる光学活性有用化合物の合成に効果的に利用しうるものと期待される^{4a,b)}。

3. 光学活性2-メチル-3-ヒドロキシプロピオン酸誘導体3の合成

先に述べたように、(2*R*,3*R*)-3は多くの薬理活性化合物の合成原料となりうると考えられる。まず、Rとして、後でカルボン酸等の官能基に変換可能なフラン基を有する*o*-アセチル体、(±)-syn-5を基質として選択し、リパーゼによる不斉加水分解に付すことにより光学活性体を得ようとした⁵⁾。0.1Mリン酸バッファー中入手可能な数多くのリパーゼを用いてスクリーニングを行った結果、*Aspergillus niger* 起源のリパーゼ(Amano A また

Table 1 Asymmetric hydrolysis of (±)-syn-5 with lipase.

lipase	time	yield, % (optical purity, % ee) (2 <i>R</i> , 3 <i>R</i>)-5	(2 <i>S</i> , 3 <i>S</i>)-6
Amano-A (<i>Aspergillus niger</i>)	8	33% (>99% ee)	56% (66% ee)
Amano-A-6 (<i>Aspergillus niger</i>)	6.5	28% (>99% ee)	57% (47% ee)

は Amano A-6 が有効に働らき、99% 以上の光学純度で得られる (2*R*,3*R*)-5 が得られることが判明した。ただ、加水分解を受けて生成する (2*S*,3*S*)-6 の光学純度は悪く、こちらが必要な時は別の手だてを考えなければならない。

同様に、フラン基の代わりにメトキシフェニル基を有する (±)-*syn*-7 およびそのビニログである (±)-*syn*-9 の不斉加水分解を行ったが、(±)-7 は (2*R*,3*R*)-7 および (2*S*,3*S*)-8 の両者を共に高い光学収率で与える^(3c) のに (±)-9 の場合は、(±)-*syn*-5 とは逆に、加水分解

されずに残った (2*R*,3*S*)-9a の光学純度は悪いが水酸基に変換されたその鏡像体 (2*S*,3*R*)-10 は 95% ee で得られた⁽⁵⁾。全く予想しなかったことである。また、これらの基質には 2 種のエステルが存在しているが、Amano A または A-6 を用いるかぎり、2 級アルコールのアセテートのみが選択的に加水分解を受け、共存するカルボン酸メチルエステルは不変であった。ただ、使用するリパーゼの種類によっては不斉加水分解が 2 級アルコールのエステルのみならず、カルボン酸の 1 級アルコールエステルでも進行することがあるので注意されたい。

Fig. 2

Fig. 3

Table 2 Asymmetric hydrolysis of (±)-*syn*-13 with lipase.

 (±)- <i>syn</i> -13		 (2 <i>R</i> ,3 <i>R</i>)-13		 (2 <i>S</i> ,3 <i>S</i>)-14	
R	lipase	time (hr)	yield, % (optical purity, % ee) (2 <i>R</i> , 3 <i>R</i>)-13	yield, % (optical purity, % ee) (2 <i>S</i> , 3 <i>S</i>)-14	
 a	Amano A	24	56% (52% ee)	39% (78% ee)	
	Amano A-6	24	42% (83% ee)	45% (64% ee)	
 b	Amano A	27	38% (>99% ee)	51% (64% ee)	
	Amano A-6	27	27% (>99% ee)	61% (38% ee)	
 c	Amano A	24	37% (88% ee)	40% (71% ee)	
	Amano A-6	8	45% (69% ee)	32% (80% ee)	
 d	Amano A-6	48	56% (62% ee)	35% (96% ee)	

このようにして得られた光学活性シントン(2*R*,3*R*)-5および(2*R*,3*S*)-9は、既に、対応するβ-ケトエステルの酵母による不斉還元によっても得ているが³⁾、これらの化合物を原料とし、抗菌性抗生物質オーデマニン A(11)⁶⁾およびB(12)⁷⁾の合成に成功している。これらの抗生物質の絶対構造は不明であったが、本合成を通じてそれぞれ11および12のように示されることが明らかとなった。

エリスロマイシン A の合成に関しては、我々の合成戦略を採用する限り(2*R*,3*R*)-13*a*, *c*を必要とする。先にも述べたように、これらの化合物は対応するβ-ケトエステルの酵母による不斉還元によっては得ることはできなかった。しかし、(±)-*syn* 13*a*, *c*を同様の系[(±)-*syn*-5, (±)-*syn*-7, (±)-*syn*-9*a*]で好結果が得られている Amano A, A-6を用いる不斉加水分解に付したところ、今度は目的物を得ることができた⁵⁾。類縁体の加水分解例も含め結果を表2に示す。求むる(2*R*,3*R*)-13*a*, *c*の光学純度はそれぞれ83% ee, そして88% eeと必ずしも高くはないが、後の合成ルートに精製可能な過程を含むことから出発原料としては充分の純度を持っていると云える。実は、(2*R*,3*R*)-13*a*, *c*の合成は、この不斉加水分解法に成功する以前に、Evans法に我々のZn(BH₄)₂還元法を加味した純化学的方法により達成し、それらを用いて既にエリスロマイシン A の形式全合成に成功している⁸⁾。しかし、本不斉加水分解法は操作も簡単で大量処理が可能である上、高価なキラル源を用いることもないのでやはり意義あるものと考えている。

今まで述べてきたリパーゼによる不斉加水分解において特に強調したいのは、基質としてあらかじめ2位のメチル基と3位の水酸基との相対配置が*syn*に規制された(±)-*syn*-5, 7, 9および13を用いたということである。これらの化合物は、対応するβ-ケトエステルのZn(BH₄)₂還元により高い選択性のもとに合成されている¹⁾。このように、相対配置の規制に適した純化学的方法と、エナンチオ選択性に優れた酵素機能を利用する方法との組み合わせは、相乗効果も期待でき、複雑な構造の光学活性化合物の合成に偉力を発揮するものと思われる。

Fig. 4

我々は既に2種の異なる特性を有する鎖状ケトンの立体選択的還元法(メタルを媒介とする環状遷移状態をへる方法、およびFelkin-Anhモデルに基づき設計した安定コンホマーをへる方法)を基盤とし、(±)-*syn*-13*c*より3個のキラル中心を含むすべての異性体、(±)-15~(±)-18を高い立体選択性のもとに合成する方法を開発している⁹⁾。

本法においては、その合成過程でオレフィンのオゾン酸化による開裂反応を含むので(±)-13*b*もまた(±)-13*c*と同様原料となりうる。ところが今回の不斉加水分解法により(2*R*,3*R*)-13*b*は99% eeという高い光学純度のもとに得ることができるようになった。(表2参照)

このことは、15~18もまた、高い光学純度のもとに得られることを示唆している。これらのシントンに含まれる連続した3個のキラル中心はポリオキソマクロライド抗生物質、ならびにその関連化合物中に広範に見出されるので、それらの合成に(2*R*,3*R*)-13*b*は偉力を発揮するものと思われる。

4. 光学活性2,3-ジヒドロキシエステルの合成

インドールマイシン 19はブドウ球菌に対して特異的に抗菌性を示す抗生物質である。光学活性19は既に向山らによって全合成されており¹⁰⁾、その際、(2*S*,3*R*)-インドールマイセニク酸エステル20が重要中間体として用いられている。20は(2*S*,3*R*)-エポキシエステル21をへて(2*S*,3*R*)-2-アセトキシ-3-ベンジルオキシエステル22から合成可能と思われる。問題はどのようにして光学活性22を合成するかである。そこで先ず、(±)-*anti*-α-アセトキシエステル22においても不斉加

Fig. 5

Fig. 6

Table 3 Asymmetric hydrolysis of (±)-syn-22 with lipase.

lipase	time (h)	yield, % (optical purity, % ee)	
		(2 S, 3 S)-23	(2 R, 3 R)-22
Amano M-10 (<i>Mucol javanicus</i>)	62	47% (81% ee)	50% (79% ee)
OF-360 (<i>Candida cylindracea</i>)	62	63% (28% ee)	28% (95% ee)
Amano F-AP-15 (<i>Rhizopus javanicus</i>)	62	63% (49% ee)	34% (86% ee)
Toyo (<i>Chromobacterium viscosum</i>)	62	16% (64% ee)	50% (87% ee)
Lusepase (<i>Rhizopus japonicus</i>)	62	52% (81% ee)	43% (90% ee)

Fig. 7

水分解が進行するかどうか種々のリパーゼを用いてスクリーニングを行った¹¹⁾。

その結果, *Candida cylindracea* 由来の OF-360 が幸にも求むる (2R,3R)-22 を収率 28%, 光学純度, 95% ee で与えることが判明した。(2R,3R)-22 の (2S,3R)-20 への変換は図 7 に示すルートにより行ったが, 20 の光学純度は 97% ee を示し, SnCl₄ 触媒下でのエポキシ体 21 とインドールとの縮合においてラセミ化が進行しないことが明らかとなった。20 の 19 への変換は既に向山らによって行われているので¹⁰⁾, 工業用リパーゼを用いる不斉加水分解を鍵段階とする光学活性インドールマイシン 19 の形式全合成が達成されたことになる。

5. 有機溶媒中での酵素反応

リパーゼを用いる不斉加水分解においては, 基質が少々水に溶け難くとも水中に懸濁させ強引に反応を行うと好結果が得られる場合もある。しかし, 殆んど反応が進行しないことが多い。また, 基質によっては, 水中では非酵素的加水分解が以外に速く進行してしまうことがある。勿論, このような時は生成物の光学純度は悪い。このような欠陥は, もし酵素反応を有機溶媒中でも進行させることができれば著しく改善される筈である。リパーゼの種類によっては有機溶媒中でも活性を保持しているものも知られているが一般的でない。そこで何らかの工夫が必要であるが, そのための有力な手段の一つが

Table 4 Asymmetric hydrolysis of (±)-24 with immobilized lipase.

lipase	time (h)	yield, % (optical purity, % ee) (2 S, 3 R)-20	(2 R, 3 S)-24
"OF-360"/celite	24	28% (93% ee)	61% (48% ee)
"OF-360"/ENTP-4000	72	37% (93% ee)	62% (54% ee)
"OF-360"/ENTP-4000	240	40% (91% ee)	51% (72% ee)

"OF-360" from *Candida cylindracea*

リパーゼを固定化することである。既に多くの研究がなされており、様々な固定化法が報告されているが、その過程で研究者の創意が直接反映されるので大いに意欲がかきたえられる。ここでは我々の行った例を紹介する。

先に述べた光学活性インドールマイセニック酸エステル 20 を得るには、直接対応する *O*-アセタート、(±)-24 を不斉加水分解に付す方が工程も短かく、はるかに有利である。しかし、(±)-24 をリン酸バッファー中で種々のリパーゼを作用させたが殆んど反応は進行しなかった。このことは、(±)-24 が水と混じらない固い油状物であるためと考えられる。そこでリパーゼを既知の方法で固定化し、有機溶媒中での反応を行った¹²⁾。即ち、6 種のリパーゼをセライト^{13a)} および光架橋性樹脂 (ENTP-4000)^{13b)} で固定化し、水飽和イソオクタンと少量のベンゼン(基質の溶解度を高めるために添加)との混合溶液を用い反応を行った。結果の一部を表 4 に示す。我々が用いたリパーゼに関する限り、*Candida cylindracea* 由来のリパーゼ、OF-360 が最も良い結果を与え、目的物 (2 S, 3 R)-20 が 93% ee の光学純度で得られた。特に、ENTP-4000 で固定化したリパーゼは、反応後も活性をほぼ完全に保持しており、繰り返し使用が可能であることが明らかとなった。

もう一つの例をあげよう。(2 S, 3 S)-25 は、代表的カルシウムアンタゴニストで臨床にも広く用いられているジルチアゼム塩酸塩 26 の合成中間体である。現在工業的には(±)-25 に相当するカルボン酸の古典的ラセミ分割により製造されている。我々は(2 S, 3 S)-25 を対応する *O*-アセタート、(±)-27 の不斉加水分解により得ようと試みたがバッファー中では全く反応が起らなかった。この場合は、基質が固い結晶であるためと思われる。予備的スクリーニング実験より Amano-P が有効であることがわかったので、リパーゼはこれに限定し、

Fig. 8

セライト、ENTP-4000、および ENT-4000 により固定化して反応を行った¹²⁾。結果を表 5 に示す。この場合、加水分解されずに残る方の (2 S, 3 S)-27 を高い光学収率で得ることが要求されるが、光架橋性 ENTP-4000 または ENT-4000 を用いて固定化した時、目的物を 95% ee の光学純度で得ることができた。

これら一連の実験を通じて生成物の光学純度は優れているものの反応速度は極めて遅く、特に後者の場合は 3 週間も必要とすることがわかった(表 5)。*O*-アセタートを *O*-クロロアセタートとして加水分解速度を速めようとしたが全く効果は認められなかった。この基質は本来酵素による加水分解に抵抗するのか、あるいは固定化により酵素活性が損われたのかは不明だが、我々は敢えて後者であると仮定して問題解決に取り組むことにした。次に、我々のアプローチについて述べる。

もし、両親媒性脂質の作用により逆ミセルが形成されれば、内部は親水性で酵素はそこに取り込まれるのに、外面は長鎖のアルキル基によって構成されているので系全体とすると疎水性を示し、有機溶媒と親和力を有すると考えられる。結局、酵素は逆ミセルを媒介として有機溶媒に可溶となるものと期待される。この考えに基づき、Luisi¹⁴⁾、Morita¹⁵⁾、そして岡畑ら¹⁶⁾は独自の反応系を構築し、有機溶媒中において酵素反応を行っている。

岡畑ら¹⁶⁾は糖鎖を親水部とする lipid 28 とリパーゼから製した複合体を用い、イソオクタン中(±)-2 級アル

Table 5 Asymmetric hydrolysis of (±)-27 with immobilized lipase.

Reaction scheme showing the asymmetric hydrolysis of (±)-27a and (±)-27b using immobilized lipase in H₂O saturated organic solvent (isooctane/PhH = 10:3) at 33°C. The reaction yields (2R,3R)-25 and (2S,3S)-27a or (2S,3S)-27b.

Substrate structures: (±)-27a (R = Me) and (±)-27b (R = CH₂Cl).

Reaction conditions: immobilized lipase in H₂O saturated organic solvent (isooctane/PhH = 10:3), 33°C.

Products: (2R,3R)-25 and (2S,3S)-27a or (2S,3S)-27b.

lipase	time	yield, % (optical purity, % ee)	
		(2 R, 3 R)-25	(2 S, 3 S)-27

(±)-27a	"Amano P"/celite	68 h	29% (>99% ee)	67% (48% ee)
(±)-27a	"Amano P"/celite/ENTP-4000	16 d	44% (98% ee)	52% (81% ee)
(±)-27a	"Amano P"/ENTP-4000	21 d	24% (>99% ee)	75% (31% ee)
(±)-27a	"Amano P"/ENT-4000	21 d	49% (97% ee)	50% (94% ee)
(±)-27b	"Amano P"/celite	38 h	44% (91% ee)	49% (69% ee)
(±)-27b	"Amano P"/ENTP-4000	21 d	49% (95% ee)	48% (94% ee)
(±)-27b	"Amano P"/ENT-4000	21 d	56% (74% ee)	40% (95% ee)

h; hour, d; day "Amano P" from *Pseudomonas* sp.

Fig. 9

コール類の不斉エステル化を行っているが、特に(±)-フェニルエタノールのエステル化に際し好結果を得ている。ここで用いた複合体は水に難溶なのに有機溶媒に可溶という特性を有しており興味深い。

これらの研究においては、優れた結果を与える逆ミセル系の構築に脂質の構造が大きな役割をはたすものと考えられるが、その構造-活性相関に関する研究は殆どなされていない。我々はこの点に着目し、数多くの異なるタイプの脂質を合成し、それらを媒介とする不斉加水分解を検討することにした¹⁷⁾。先ず手はじめにリン脂質を基本骨格として分子設計を行ったが、すべての化合物に共通した構造変換の特徴は、疎水部を構成する長鎖アルキル基を通常のエステル結合でなく、エーテル結合に

よってグリコール部に連結したことである(29 参照)。

その理由は、リパーゼを用いるエステル類の不斉加水分解をめざす以上、基質以外にエステルが存在する系は避けた方が良く考えたからである。

リパーゼ水溶液と合成リン脂質のベンゼン溶液を水冷下超音波処理¹⁵⁾すると沈殿物が生じる。遠心分離し減圧乾燥すると粉末が得られるが、このものは水にも有機溶媒にも不溶であり、岡畑らの調整した酵素-脂質複合体とは性質が異なっている。当初意図した酵素を逆ミセル系にとじ込めることによる有機溶媒への可溶化とは異なる方向へ進んでしまったが、新しいタイプの会合による固定化法につながるものと考えている。現在、27種の29誘導体を合成しているが、それらから調整した“固定化リパーゼ Amano P”を用い、先に述べたジルチアゼム塩酸塩合成中間体の前駆体(±)-27bを基質とする不斉加水分解を行った。結果の一部を表6に示す。

Amano P-P2NMMOを用いた例からも明らかのように、反応速度は著しく増大しており、従来3週間必要としたのを2~3日に短縮することができた。反応性とリン脂質の構造との関係を考察すると、四級窒素の周辺を高高くするか、または窒素のα位に嵩高い置換基を導

Table 6 Asymmetric hydrolysis of (±)-27b with “Amano-P”/phospholipid 29 aggregate.

Entry	“Aggregate” (mg)	Substrate (mg)	Time (h)	product (yield; %)	(optical purity; % ee)
1	“Amano P”/P 2 (5)	(10)	(24)	(2R, 3R)-25 (39.1)(>99)	(2S, 3S)-27b (56.6)(71)
2	“Amano P”/P 2 (5)	(10)	(48)	(2R, 3R)-25 (48.5)(>99)	(2S, 3S)-27b (49.5)(94)
3	“Amano P”/P 2 (5)	(10)	(72)	(2R, 3R)-25 (44.9)(>99)	(2S, 3S)-27b (45.9)(99)
4	“Amano P”/P 2 (50)	(100)	(72)	(2R, 3R)-25 (50.0)(99)	(2S, 3S)-27b (49.0)(93)
5	“Amano P”/P 2 NM 3 (5)	(10)	(24)	(2R, 3R)-25 (28.3)(>99)	(2S, 3S)-27b (63.8)(45)
6	“Amano P”/P 2 NM 3 (5)	(10)	(48)	(2R, 3R)-25 (42.5)(>99)	(2S, 3S)-27b (55.5)(75)
7	“Amano P”/P 2 NM 3 (5)	(10)	(72)	(2R, 3R)-25 (44.7)(>99)	(2S, 3S)-27b (52.5)(87)
8	“Amano P”/P 2 CPYRR (5)	(10)	(24)	(2R, 3R)-25 (31.0)(>99)	(2S, 3S)-27b (65.5)(49)
9	“Amano P”/P 2 CPYRR (5)	(10)	(48)	(2R, 3R)-25 (42.6)(>99)	(2S, 3S)-27b (55.6)(78)
10	“Amano P”/P 2 CPYRR (5)	(10)	(72)	(2R, 3R)-25 (47.0)(>99)	(2S, 3S)-27b (51.4)(93)
11	“Amano P”/P 2 CPYRR (50)	(100)	(72)	(2R, 3R)-25 (47.0)(97)	(2S, 3S)-27b (50.0)(94)
12	“Amano P”/P 2 NMMO (5)	(10)	(24)	(2R, 3R)-25 (46.9)(98)	(2S, 3S)-27b (52.6)(88)
13	“Amano P”/P 2 NMMO (5)	(10)	(48)	(2R, 3R)-25 (50.0)(98)	(2S, 3S)-27b (49.7)(>99)
14	“Amano P”/P 2 NMMO (5)	(10)	(72)	(2R, 3R)-25 (50.6)(96)	(2S, 3S)-27b (49.2)(>99)

入すると好結果が得られる傾向にあるが、詳細は今後の研究にまたねばならない。

リン脂質以外にもマンニトール由来のジアルキルエーテル 30 から同様の会合体が得られる¹⁷⁾。(±)-27b の不斉加水分解を行ったところ、ほぼ同様の結果が得られた。ただ、これら会合体の構造は現在のところ不明で今後の研究の重要な課題であるが、その解明はより優れた両親媒性化合物の設計に役立つものと期待される。

6. ベンツリシジン A, B アグリコン(31)の全合成

リパーゼを用いる不斉加水分解法によって合成される 2 個のキラル中心を含む光学活性シントンは、種々の有

用物質の合成原料となるものと期待される。植物病原性カビに対し強い抗カビ性を示すベンツリシジン A, B アグリコン(31)の合成研究において、本法により合成した (2S,3S)-14d が出発原料として重要な役割をはたしたが、ここではその経緯を述べ、同時に全合成研究につき概観する¹⁸⁾。

31 の逆合成を図 10 に示す。この逆合成にのっとり合成しようとするれば、上部セグメント合成のために B が必要であるが、B は D の両端にそれぞれ C₃-および C₅-ユニットを導入すれば得られると思われる。ところで、D の C₁₈~C₂₀ 部は第 3 節で述べた(±)-17 または(±)-18 の一方のエナンチオマーとみなすことができるが、(±)-D 自身は図 10 の道程にのっとりエポキシ体、(±)-E をへて(±)-G から合成し得ると考えられる。

問題は光学活性 G を如何にして合成するかであるが、光学活性 G は、実は(2S,3S)-14 そのものであり(表 2)、(±)-syn-13 をリパーゼを用いての不斉加水分解に付すことにより既に合成されている⁵⁾。ところが、表

Fig. 10

2からも明らかなように、加水分解を受けて生成する(2*S*,3*S*)-14 a, b, cの光学純度は低く最高でも80% eeに過ぎなかった。何んらかの改良を加える必要がある。我々は、既に、末端にフェニル基を含む(±)-*syn*-9 aにおいては加水分解を受けた方が高い光学純度を示すことを知っている(図2)。このことを手がかりとしてフェニル基含有(±)-*syn*-13 dを合成しAmano A-6による不斉加水分解に付したところ96% eeで求める(2*S*,3*S*)-14 dを得ることができた。しかし、このフェニル基の寄与に関しては、現在は推定することすらできない。いずれ酵素の活性部位に関する研究を推進しなければならないと考えているが、その際の恰好の題材となると思われる。

このようにして合成した(2*S*,3*S*)-14 dを原料とし、既にラセミ体において確立している立体選択的反応⁹⁾を適用してキラルエポキシド32を合成し、別に製した一個のキラル中心を有する銅試薬33と縮合させDに相当する光学活性34を合成することができた。さらに34から図10に示した逆合成過程を逆にたどり、光学活性ベンツリシジンA,Bアグリコン31の合成に成功している(図11)。

本合成においては、上記、光学活性34合成以外にも興味深い過程を多く含んでいる。それらについて順次解説する。

6.1. C₂₅-ケトン基の保護 34の両端へのC₃-およびC₅-ユニットの導入は一見困難そうにみえるが比較的容易に達成することができる。C₂₃-OH, C₂₄-Meの立体選択的導入にはRoushの試薬35が極めて有効に働いた。広い応用が期待されるので特に紹介しておく。このようにしてケトン36を合成したが、36は上部セグメントBに含まれるすべてのキラル中心を含んでいる。しかし、後に塩基触媒下マクロラクトン化を行うので、その前にケトン基を保護する必要がある。ところが立体障害のためか通常の方法によっては目的を達することができず、結局は還元してアルコールとしC₂₃-OHとの間にアセタールを形成させて保護した。その際、還元剤としてEvansらの方法(tributylammonium triacetoxyborohydride)²⁰⁾を用いて23,25-*anti*-ジオール37に導いたが、これは意図的に仕組んだものである。その理由は、後に、酸に不安定な環状アセタールを含む大環状ラクトン存在下、問題のアセタールの脱保護を行う必要があるが、23,25-*anti*-ジオールから導かれる6員環アセタールの立体構造は著しく歪んでおり^(1,2)、緩和な条件下加水分解を受けると予想されたからである。事実、44 a, bを、C₁₃-アリルアルコールをアセチル化した後、PPTS-MeOHで処理すると23,24-アセトナイドが選択的に脱保護された45 a, bが得られた。本条件下では、通常、*cis*-ジオールから得られるchair型アセトナイド

Fig. 11

Fig. 11 (つづき)

は加水分解されない。このように仕組んでおいても、加水分解を最後まで完了させようとすると分解してしまう。**44 a, b** がまだ半分以上残っている段階で反応を停止させることによりはじめて **45 a, b** が得られる。本反応の収率が 31%、25% と悪いのはそのためである。

6.2. 41 中の C₅-OH の位置選択的脱水による 42 の生成 下部セグメント (図 10, C に相当) の合成は、基本的には生成過程にのっとり行った。ただ、この戦略を採用する限り、42 の 5,6-位の二重結合は、41 の C₅-OH の位置選択的脱水反応によって導入しなければなら

Fig. 12

Table 7 Regioselective dehydration of 2-methylcyclohexanol derivatives.

ない。この困難な課題は、多くのモデル実験を通じ幸にも、C₅-OH を equatorial に、また、C₆-Me を axial に規制した 41 を光延反応の条件 (EtOOC-N=)₂/PPh₃/THF で処理すると求める方向に脱水が起ることを見出し解決することができた²¹⁾。

メカニズムを検討する目的で、各種モデル化合物を合成し、同条件下脱水反応を行った。代表例を表 7 に示す²²⁾。48, 49 のいずれも高い選択性でメチル側に脱水がおこった 50 を与える。一般に、脱水は水酸基と、隣接する炭素上の脱離されるプロトンとが *anti*-periplanar の時容易に進行する。49 には C-3 位と C-5 位に C₄-OHax と *anti*-paral な 2 個の脱水に都合の良い水素が存在する。48 も部分的に反転を起せば 52 のようになり、水酸基と C₃-H、C₅-H の関係は 49 のそれと同じになる。問題は光延反応条件下、なぜ C₃-H が優先して脱離するかである。

光延条件を用いる限り、反応の最終段階においては oxo-phosphonium 塩が活性種であると考えられるが、この oxo-phosphonium 塩の脱離基としての効果は、53 に示すように、H-C₁ 結合と C₂-O 結合が *anti* であるのみならず C₁-C₂ 結合と O-P⁺ 結合が C₂-O 結合を介しても *anti* の時、即ち、H-C₁-C₂-O-P⁺ の 5 点在同一平面に W 字型に含まれる時最大になると考えられる。このような

関係を 49 で再現すれば 49a および 49b のようなコンホマーが考えられる。しかし、49a においては Me 基と PPh₃⁺ との間に強い立体障害が存在するので 49b として存在する確率が高く、そこから脱離反応が起るので 50 が選択的に得られると推定している。48 からの 50 の生成、そして問題の 41 から、42 への選択的脱水も同様の考察により合理的に説明しうる。

ここで明らかとなった α-置換シクロヘキサノールの位置選択的脱水反応には一般性があり、広い応用が期待される。

6.3. 2 個の 2 級アルコールの選択的酸化 45a, b に存在する 2 個の 2 級アルコールのうち、選択的に C₂₅-OH のみをケトンに変換する必要がある。モデル実験により、これらのアルコールに存在する立体障害の差は以外に大きいことをつきとめ、野崎、大高らの開発した嵩高い酸化剤²³⁾を用いたところ、求める C₂₅-ケトンが一方的に得られてきた。

全合成研究においては、標的化合物の構造が複雑になるにつれ優れた逆合成経路を設定することがますます重要になってくる。勿論逆合成には裏付けが必要だが、計画した時点で合理的裏付けが無いからといってはじめてからその考え方を捨ててしまえば、大きな合成をやりとげることは困難になってきている。時にはその障害を突破すべく、未知の領域にわけ入る気力と決断を持つことが重要な要素であると信じている。

7. おわりに

ここでは我々の研究に的をしぼり、リパーゼを用いる

光学活性中間体の合成と、それらを原料とする生理活性物質、特にペンツリシジン A,B アグリコンの合成研究について述べた。酵素反応といえば受動的に考えられがちだが、研究者の叡智なしには優れた成果をあげることはいできない。この小文からこのへんの機微を若い研究者が汲み取り、この分野にどしどし入り込み、そして新しい角度から発展に寄与していただきたいと切望している。既に膨大な成果が蓄積されているとは言え、例えば現時点ではリパーゼ自体の活性部位の構造、機能発現のメカニズム等は殆んどわかっていない。この分野のより高次の発展をはかるためには今後解明しなければならない重要な課題であると思う。

(平成3年2月27日受理)

文 献

- 1) T. Nakata, T. Oishi, *Tetrahedron Lett.*, 21, 1641 (1980)
- 2) T. Nakata, Y. Tani, T. Oishi, *The 4th International Conference on Organic Synthesis (IUPAC) at Tokyo, 1982, Abstracts of Papers*, p.78.
- 3a) 大石 武, 秋田弘幸, 有合化, 41, 1031 (1983)
- b) 大石 武, 秋田弘幸, 酵素機能と精密有機合成, 大野雅二編著, シーエムシー, 東京, 1984, p.112
- c) 秋田弘幸, ファルマシア, 23, 270 (1987)
- d) 秋田弘幸, 薬学雑誌, 110, 789 (1990) 本分野の文献, 総説等, 4) 参照
- 4a) 大石 武, 秋田弘幸編著, バイオテクノロジーのファインケミカルズへの応用, アイピーシー, 東京, 1989
- b) 須貝 威, 太田博道, 有合化, 48, 1070 (1990)
- 5) H. Akita, H. Matsukura, T. Oishi, *Tetrahedron Lett.*, 27, 5241 (1986)
- 6) H. Akita, H. Koshiji, A. Furuichi, K. Horikoshi, T. Oishi, *Tetrahedron Lett.*, 24, 2009 (1983); *Chem. Pharm. Bull.*, 32, 1242 (1984)
- 7) H. Akita, H. Matsukura, T. Oishi, *Tetrahedron Lett.*, 27, 5397 (1986)
- 8) T. Nakata, M. Fukui, T. Oishi, *ibid.*, 29, 2219, 2223 (1988)
- 9) T. Nakata, M. Fukui, H. Ohtsuka, T. Oishi, *Tetrahedron*, 40, 2225 (1984)
- 10) T. Takeda, T. Mukaiyama, *Chem. Lett.*, 1980, 163
- 11) H. Akita, T. Kawaguchi, Y. Enoki, T. Oishi, *Chem. Pharm. Bull.*, 38, 323 (1990)
- 12) H. Akita, Y. Enoki, H. Yamada, T. Oishi, *ibid.*, 37, 2876 (1989)
- 13a) O. Hoshino, K. Itoh, B. Umezawa, H. Akita, T. Oishi, *Tetrahedron Lett.*, 29, 567 (1988)
- b) S. Fukui, A. Tanaka, *Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*, 29, 1 (1984)
- 14) P. Luthi, P.L. Luisi, *J. Am. Chem. Soc.*, 106, 7285 (1984)
- 15) S. Morita, H. Narita, T. Matoba, M. Kito, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 61, 1571 (1984)
- 16) Y. Okahata, Y. Fujimoto, K. Ijio, *Tetrahedron Lett.*, 29, 5133 (1988); Y. Okahata, K. Ijio, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 1988, 1392; 岡畑恵雄, 居城邦治, 化学と工業, 43, 1242 (1990)
- 17) 秋田弘幸, 梅澤 勲, 松倉弘子, 大石 武, 第16回, 反応と合成の進歩シンポジウム, 東京, 1990, 要旨集 p.250
- 18) H. Akita, H. Yamada, H. Matsukura, T. Nakata, T. Oishi, *Tetrahedron Lett.*, 29, 6449 (1988); 31, 1731, 1735 (1990)
- 19) W.R. Roush, K. Ando, D.B. Powers, R.L. Halterman, A.D. Palkowitz, *Tetrahedron Lett.*, 29, 5579 (1988)
- 20) D.A. Evans, K.T. Chapman, M. Carreira, *J. Am. Chem. Soc.*, 110, 3560 (1988)
- 21) H. Akita, H. Yamada, H. Matsukura, T. Nakata, T. Oishi, *Chem. Pharm. Bull.*, 38, 2377 (1990)
- 22) T. Iimori, Y. Ohtsuka, T. Oishi, *Tetrahedron Lett.*, 32, 1991, in press
- 23) H. Tomioka, K. Takai, K. Oshima, H. Nozaki, *ibid.*, 22, 1605 (1981)