光学分割剤としてのリパーゼと基質の相性診断

中 村 薫*・広 瀬 芳 彦**

Fitness of Lipases and Substrates in Lipase-catalyzed Resolution

Kaoru NAKAMURA* and Yoshihiko HIROSE**

Recently, lipases are used widely as reagents for syntheses of chiral compounds, although organic chemists have only a little knowledge about characteristics of individual lipases. Reactivities and selectivities of lipase-catalyzed reactions are reviewed from a viewpoint of organic syntheses in the present article, which will be usefull for a guide to the proper selection of a lipase for kinetic resolutions of racemic compounds.

Key words : Lipase; Selectivity; Reactivity; Transesterification; *Candida antarctica* lipase (CAL); *Candida rugosa* lipase (CRL); Pig liver esterase (PLE); Porcine pancreas lipase (PPL); *Pseudomonas cepasia* lipase (PCL); *Pseudomonas aeruginosa* lipase; *Rizomucor miehei* lipase (RML); Lipozyme.

1. はじめに

酵素を用いてアルコールや酸を光学分割する方法が最近盛んに行われている。特に有機溶媒中でリパーゼが活性を保持し、加水分解の逆のエステル化が進行すること¹⁻³⁾およびビニルエステル等の活性エステル⁴⁾の使用が有効であることが見いだされてから、リパーゼを用いて有機溶媒中でアルコールをエステル化して光学分割する方法が一般的となり、光学分割としての一手段となっている。酵素反応は一般に基質特異性が狭いことが特徴となっており、酵素を有機合成に応用する場合には、このことが逆に欠点となっている。しかしながら、リパーゼは基質特異性が広いにもかかわらず、最近は選択性の良いリパーゼが見つかった。また、補酵素を必要とせず、経済的にも使いやすく(1 kgが10万円位である!! こんな安い触媒は滅多にない)、安定性も他の化学試薬より優れており、室温で保存しても数年間活性の低下は見られないものが多い。また、生体触媒であるのに滅菌等の操作は不要で一般の化学試薬と同じような取り扱い

ができ、さらに、低温等の苛酷な条件を必要とせずに高い選択性が発揮できる。このような理由からリパーゼは有機合成の試薬として現在注目を浴びている。

しかしながら、現在でも目的基質を分割しようと試みする場合、通常とられる方法はリパーゼをスクリーニングすることであり、また、各リパーゼにおいても反応条件等の違いで反応性や選択性が異なるので、一般の有機合成化学者が始めるのはかなり抵抗がある。

本稿では有機合成化学者がリパーゼを使用する場合に有益な指針となるようにリパーゼの反応性や選択性をまとめた。特にまだ酵素を使ったことのない読者を対象に考え、初めてリパーゼを使う研究者のための処方箋として役立つよう心掛けた。また、リパーゼとしては比較的よく使われ、入手容易である数種を取り上げ、各リパーゼについて得意の基質を示した。また、逆に種々の基質に対してどのようなリパーゼが適当であるかを“逆引き選択性”として示した。読者はこれらを参考にどのようなリパーゼを検討するのが相応しいかの判断材料にいただきたい。文献としては数種のリパーゼを検討している例を挙げ、その内で最も有効的であるものを示した。また、リパーゼによって反応するエナンチオマーが異なる場合も示した。論文中に1つのリパーゼのみを検討している場合は省いたので注意が必要である。数種検討して良かったものだけを論文に載せている可能性もある。反応としては水中の加水分解および有機溶媒中のエステ

* 京都大学化学研究所 ()

** 天野製薬株式会社 ()

* Institute for Chemical Research, Kyoto University ()

** Amano Pharmaceutical Co., Ltd. ()

ル化の両方による光学分割を区別なく取り上げた。また、例としては比較的新しいものを取り上げた。その他の例は総説^{5,6)}を参照のこと。

2. 有機溶媒中の酵素反応

加水分解酵素を有機合成に利用する場合に昔からよく使われているのは水溶液中の加水分解反応である。この反応においては、系内には水が大量に存在するために逆反応であるエステル化が起こらない。反応の結果として酸が生成するので系内の pH が下がる。これを防ぐために緩衝液を使用したり、アルカリを反応の進行に従って添加したりする。この際に問題となるのは、1) 基質が水に溶けない場合にどうすれば良いか、2) 基質が緩衝液に対して不安定な場合どうするか、3) アルカリ添加の場合はアルカリの局所濃度が高くなり、化学的な加水分解が起こる可能性がある、等の点である。この解決策としては有機溶媒の使用が考えられる。有機溶媒を使用した場合は加水分解(加アルコール分解)の他にエステル化(トランスエステル化)が可能である。加水分解酵素を利用して有機溶媒中で酸やエステル(RCO₂X)を反応させると水やアルコールを放出してアシル酵素中間体が生成し、このものに別のアルコール(R'OH)が攻撃すると新しいエステルが生成する。この反応は可逆であるので、逆反応を阻止し、反応を進行させるためには何らかの工夫が必要である。よく用いられているのはXOHを脱離性のよい、求核性の少ないものにすることである。この目的のためには種々の活性エステルが検討されている。比較的良好に使われているのはエノールエステルであるが(スキーム1)、酸無水物も使用される。後者の場合は生成

した酸を除くために塩基やセライトが使われている⁷⁾。アシル化剤としてエノールエステルを使用すると生成したエノールXOH(1)はカルボニル化合物に異性化し、その平衡がカルボニル側に片寄っているので、求核剤としての性質はほとんどなく、系内に存在する求核剤は添加したアルコール(R'OH)のみとなる。このために反応は一方向的に進行する。もっともビニルエステルをアシル

化剤とすると生成したアセトアルデヒドが酵素に作用して反応性や選択性を低下させることが知られている⁸⁾が、通常はさほど影響がない。心配な場合はイソプロペニルエステルを使用すればよい。この場合は反応性は少し落ちる。数種のビニルエステルは試薬として購入可能であるが、試薬リストにないものも信越化学⁹⁾から入手可能である。

2.1. 固定化

有機溶媒中でリパーゼを使用する場合にセライト等で固定化する方法^{10,11)}がよく用いられている。吸着固定の場合は疎水性の固定化剤を使うとリパーゼの活性が高い¹¹⁾。本論文で検討したリパーゼはビーズに固定化されているもの(RMLおよびCAL)やセライトに吸着固定されているもの(PCLやLPL-A)がある。

2.2. 選択性の評価

リパーゼの選択性を比べるには2種の評価法がある。メソ体の反応の場合は生成物のeeがそのまま選択性の目安になるが、ラセミ体の分割の場合は原料の光学純度が反応の進行に伴って変化するので別の尺度が必要である。この場合は選択性の指標としてE値が提案されている¹²⁾。E値はおおまかに言えば両エナンチオマーに対する反応性の比であり、ラセミ体を反応させた場合ごく初期に生成する生成物のエナンチオマーの比である(図1)。Eが20であれば変換率60%で反応を止めると生成

Fig. 1

物のeeは65%であるが、原料は98%eeとなる。このように片方(原料)だけを良い不斉収率で得ることは比較的楽であり、Eが10でも変換率70%にすると原料のeeは98%となる。ただし、この場合の原料の回収率は最高30%にすぎない。これに比べて生成物を不斉収率よく得るのはEが小さい場合は比較的困難であり、E

が20 ならば最初から ee は90% にすぎず、反応の進行と共に低下してくる。E が100 であれば生成物と原料の両方を ee 93~94% で得ることができるが、両方を96% ee にするなら E=200 が必要であり、両方共98% ee を欲するなら E>500 が必要である。現実的には変換率を50% 以上にして原料を分離し、残りを(逆の反応をするか化学的に元に戻して同じ反応を)再び反応させるのが一般的である。

3. リパーゼの特徴

リパーゼの粗製品は数種の酵素の混合物であるが、非天然基質の有機合成には必ずしも精製品が良いとは限らない。ここで取り上げたリパーゼは PCL, AK, CAL, RML, CRL, PPL, LPL-A および PLE の8種類である。その他にサブチリシンやコレステロールエステラーゼ(CE)等もしばしば使用される。

3.1. PCL

天野製薬製のリパーゼで古くはリパーゼ P として、また最近ではリパーゼ PS として報告されている。由来は現在では *Pseudomonas cepacia* となっている。しかし、かつては *Pseudomonas aeruginosa* や *Pseudomonas fluorescence* 由来となっていた。後者2種の菌のリパーゼはそれぞれ現在では別のリパーゼ(*Pseudomonas aeruginosa* は東洋紡製の Lipoprotein lipase (LPL-A))があり、*Pseudomonas fluorescence* は天野製薬製のリパーゼ(AK)があるので少し混乱を招いている。アミノ酸数は320¹³⁾。リパーゼとしてはほぼ単一のものである。有機溶媒には非常に強い。また、乾燥しておれば室温で長期間保存が可能である。セライトに混ざっているが、10~100 倍程度のセライトで再固定化すると活性が大きくなる。

PCL は2の形の化合物の分割に有効である。ここで R は疎水基でありフェニル基やブチル基が有効である。また、Y は Cl や N₃ 等の電子吸引基であり、X はアセチル基よりプロピオニル基の方が有効である。2A が優先的に反応し、R は立体的に大きな方が2A と2B の反応性の差が大きい。比較的大きな分子とも反応する。次に具体的な例を図2に示す。

始めに2級アルコールの分割の例を示す。クロロプロパンジオール誘導体(3)の加水分解では(S)-体が優先的に反応し、PCL と RML が E>100 と選択的である¹⁴⁾。

2級のβ-アジアルコールエステル(4)の分割では、R がブチル基やフェニル基の場合は(S)-体が反応し

Fig. 2 Suitable substrates for PCL-catalyzed resolution.

PCL が PPL, PLE や *Aspergillus* リパーゼより有効である¹⁵⁾。環状の β -アジドアルコール(5)でも PCL が良い。しかしながら、さらに立体的に込み合った化合物(6)では PCL は反応できず、CRL のみが反応する。CRL は 5 では選択性は悪いが(E=6) 6 では E=100 となる¹⁶⁾。

三重結合の隣のヒドロキシル基の分割は PCL が効果的である。3-アシロキシ-1-オクチン-1-TMS(7)の加水分解では PCL がよく PPL は良くない。しかし TMS を外した化合物(8)では PCL の選択性は全くなり PPL が効果的になる。PPL の反応は 7 と 8 で立体が逆転している¹⁷⁾。同様の化合物でも立体的に込み合うと選択性が上がる。殺虫剤のピレスロイドの合成のためのアルコール(9)の分割では PCL が CRL や *Arthrobacter*, *Alcaligenes* 等のリパーゼより E が大きく(R)-体が反応する¹⁸⁾。

アリルアルコール(10)の分割では PCL が(S)-体と反応し良い結果を示す¹⁹⁾。CRL は逆の立体を示す。この場合疎水性でかさ高い *tert*-ブチル基が好影響を及ぼしているようで、ベンジル誘導体の選択性は悪い。アミノアルコール誘導体(11)による加ブタノール分解では S 体が反応し PCL が良い(E>145)²⁰⁾。ヒドロキシエステル誘導体では乳酸 *tert*-ブチルの酢酸エステル(12)の加水分解において PCL や AK の方が CE や CRL より選択性が良い。PCL ではアシル基をアセチルからブチリルにするとさらに選択性が向上する^{21,22)}。 β -ヒドロキシジチオエステル(13)のアセチル化では 17 種のリパーゼがスクリーニングされているが PCL(E=90)が最もよい結果を与える²³⁾。

PCL はヒドロペルオキシドの分割でも効果的であり、14 の分割では数種のリパーゼが検討されているが PCL が選択的である²⁴⁾。

C₂ 対称体やメソ体の化合物でも PCL は効果的であり、例えばシクロヘキセンジオールのエステル(15)の加水分解は RML, CRL および PCL は S 側を攻撃し、その中では PCL が選択性が良い。R 側に反応する酵素では PLE が良い²¹⁾。さらに選択性を向上させるためにオレフィン部分を臭素化し、左右の区別を付けやすくすることが提案されている。メソ体のシクロペンテンジアセテート(16)の反応は CAL(ee>99%)とともに PCL(ee=98%)が良く、どちらも pro-S 側が反応する²⁵⁾。PLE(ee=86%)は R 側が反応する。C₂ 対称体のジエノールジアセテート(17)の加水分解では PCL は pro-R 側と反応する。選択性はあまり良くない(30% ee)。CRL は pro-S 側を攻撃し、選択性も良い(>98%)²⁶⁾。

次に一級アルコールの分割であるが、メソ体であるか、

置換基の大きさに違いがかなりあれば PCL は効果的である。メソ体のジオール(18)のエステル化では PCL が PPL より良い結果を与え²⁷⁾、どちらも R 側を攻撃する。この反応では生成したモノアセテートがジアセテートになるところでも分割があるために反応を少し進行させて(モノアセテートの収率は落ちるが)ee を向上させることができる(93% yield, 96% ee から 78% yield, >99% ee になる)。メソジアセテート(19)の加水分解では PCL が反応性、選択性ともに良く、S 側に反応する²⁸⁾。CRL および PPL は良くない。

ラセミ体のヘリセンジオール(20)を PCL でエステル化すると(M)-(20-OAc)が得られる。CAL では(P)-体が優先的に反応する²⁹⁾。有機金属は一般に酸素や光、酸等に不安定であるが、有機溶媒中でリパーゼを用いてエステル化することにより簡単に光学分割できる。アレーンクロム錯体(21)の分割では *o*-メチルベンジル誘導体は非常に効率が良いが *o*-メトキシになると AK の方が良い。また、*o*-TMS 誘導体では反応しない³⁰⁾。アレーン鉄錯体(22)の分割でも PCL が最も選択性が良い(E=15~145)³⁰⁾。

1,2,4-トリオールのアセタール(23)の一級アルコールのエステル化に PCL は効果的であり、(S)-体と反応し E>60 である。PPL や CRL は(R)-体と反応するが選択性が悪い³¹⁾。また、グリセリン誘導体(24)の一級アルコールのエステル化でも PCL は他のリパーゼより効果的であり、(S)-体が優先的に反応する³²⁾。

PCL はチオールエステルの加水分解にも効果的である。抗炎症剤の原料である 3-メルカプト-2-メチルプロピオン酸およびベンジル誘導体(25, 26)の分割は PCL が良いと報告されている³³⁾。比較の対象は CRL, AK, *Geotrichum* 由来のリパーゼおよび *Aspergillus* 由来のリパーゼである。

その他の化合物との反応では、PCL は糖の選択的エステル化にも応用される。6-デオキシラムノースおよびフコース誘導体(27, 28)では L 体では 2 位に、また、D 体では 4 位にエステル化が起こるが PCL が一番選択的である³⁴⁾。

通常 PCL はアルコールの分割に威力を発揮してエステルのアシル側に不斉点があるような場合は比較的反応性も選択性も良くない。例えば β -ヒドロキシブタン酸エチルのアミド化は CAL が良く、PCL は悪い。例外として、メソ体のジエステル(29)の加水分解では PCL が効率的である³⁵⁾。

PCL は β -ラクタム骨格を持つ化合物の脱保護にも用いられ、30 の加水分解では 19 種類のリパーゼが検討さ

れているが PCL および *Chromobacterium* リパーゼが反応性が高い³⁶⁾。

不得意な基質としては PCL はフェノールには反応しにくく³⁷⁾、また、ピフェノールも反応しない³⁸⁾。このような化合物に対しては LPL-A や CRL が有効である。

3.2. AK

天野製薬製のリパーゼで *Pseudomonas fluorescence* 由来である。 *Pseudomonas* sp. として知られていた。アミノ酸数は 320³⁹⁾。入手しうるものはおよそ単一。PCL ほどきれいでない。有機溶媒には PCL 程ではないがかなり安定である。セライトで固定化して使用すると活性が向上する。AK で効率的に分割される基質の例を図 3 に示す。

Fig. 3 Suitable substrates for AK-catalyzed resolution.

アリルアルコール(10)の分割ではベンジル誘導体は AK が S 体と反応し、良い結果を示す¹⁹⁾。この場合は AK が PCL より良いが、興味あることに *t*-ブチル誘導体になると PCL の方が良くなる。CRL は逆の立体を示す。トリフルオロインドールブタン酸エチル(31)のヘキサン-緩衝液中の加水分解では 13 種類の酵素がスクリーニングされているがその中では AK が選択的である(E=60, 他は 18~1)。AK はトリフルオロ基をメチル基にかえた化合物(32)ではさらに高い選択性と反応性を示す⁴⁰⁾。ブテノリド(33)の分割では AK や PCL は(-)-体と反応し、アセチル体については AK の選択性が良いが、プロピオン体になると選択性が落ちる⁴¹⁾。CRL は他のリパーゼと反応するエナンチオマーが異なり、(+)-体と反応するが、プロピオン酸誘導体の方が選択性が良い。

3.3. CAL

ノボ社製の *Candida antarctica* 由来のリパーゼ。アミノ酸数は 317⁴²⁾。樹脂に固定されたものは Novozym 435 となっている。*Candida antarctica* B もしくは SP 435 として報告されている例もある。SP 525 の名前で報告されているものもあるが、これは非固定のものである。基質特異性が広く、かなり大きなアルコールでも反応する。有機溶媒には非常に強い。冷蔵保存が推奨されている。CAL の大きな特徴はアシル酵素に攻撃する求核剤としてアルコールの他にアミンや過酸化水素等の化合物が使

用できることである。かなり大きな基質とも反応し、選択性も良い。使用され始めたのが新しいので例は少ないがこれから増えてくると考えられる。CAL で効率的に分割される基質の例を図 4 に示す。

Fig. 4 Suitable substrates for CAL-catalyzed resolution.

メソ体のシクロペンテンジアセテート(16)の反応は CAL は pro-S 側と選択的に反応し、選択性も良い(ee>99%)⁴³⁾。逆側と反応する酵素としては PLE がある。同様にシクロペンタンジオールのエポキシド誘導体(34)のエステル化は CAL と PPL が良く、反応性は CAL の方が高い⁴⁴⁾。

ラセミ化合物ではピリジルもしくはビピリジルエタノール(35)のエステル化では CAL は(R)-体と反応し、選択性が高い(E=200~800)⁴⁵⁾。また、ラセミ体のヘリセンジオール(20)を CAL でエステル化すると(P)-20-OAc が得られる。逆に PCL では(M)-体が優先的に反応する²⁹⁾。

求核剤としてアミンを考える場合は CAL が最適である⁴⁶⁾ヘキサン酸エチル(36)のアミド化に効率的である(比較は PCL, CRL, PPL, PLE)。また、選択性も CAL が良く、3-ヒドロキシブタン酸エチル(37)のベンジルアミンによるアミド化では CAL は(R)-体と反応し、良い選択性を示す。PCL は(S)-体と反応するが選択性が悪い⁴⁷⁾。

酸と過酸化水素とで過酸を合成する反応は系内で過酸が生成し、そのまま反応させられるので安全性の面から価値の大きな反応であるが、リパーゼを利用した合成が報告されている(スキーム 2)⁴⁸⁾。この場合効率性は CAL>PCL>RML>CRL であり CRL はほとんど活性がない。

Scheme 2

この反応を利用してオレフィンのエポキシ化が行われている。

α -メチルグルコース(38)のエステル化はシュガーエステル合成として有用であるが、CALが反応性、選択性(モノエステル)ともに良い⁴⁹⁾。

3.4. RML

ノボ社製の *Rizomucor miehei* 由来のリパーゼで報文では *Lipozyme* として出ている例が多い。アミノ酸は269⁵⁰⁾。結晶構造が発表されている。樹脂に固定化されたものが入手可能である。有機溶媒には強い。冷蔵保存が推奨されている。

β -Adrenagic blocker の原料であるフェノキシプロパンジオール誘導体(3)の分割ではPCLとともにRMLが高い選択性を示す。どちらも(S)-体と選択的に反応する¹⁴⁾。

α -メチルグルコース(38)のエステル化はシュガーエステル合成として有用であるが、CALに次いでRMLが反応性、選択性(モノエステル)ともに良い⁴⁹⁾。

3.5. CRL

Candida rugosa 由来のリパーゼ。アミノ酸は534⁵¹⁾。古くはCCL(*Candida cylindracea* lipase)となっていた。Sigma社の他に名糖産業からリパーゼOF(精製品)とリパーゼMY(粗製品)がでており、天野製薬からリパーゼAY(粗製品)が出ている。界面活性剤や有機溶媒の処理により選択性が変化することが知られている^{52,53)}。PCL、CALやLPL-Aと共にかなり大きなアルコールとも反応する。選択性は概して良くないが、大きなアルコールでは良いときがある。CRLで効率良く分割できる例を図5に示す。

Fig. 5 Suitable substrates for CRL-catalyzed resolution.

2級の β -アジドアルコールエステル(4)の分割ではCRLやPCLがPPL、PLEや*Aspergillus*リパーゼより有効である。特に ϵ -ブチル誘導体はCRLがよい(図2)。

立体的に込み合ったアジドエステル(5, 6)の加水分解はCRLとPCLだけが反応し、特にフェナントレンからの化合物(6)ではCRLだけが反応し、選択性も良い。5に関してはPCLの方が選択性は良い(図4)¹⁶⁾。アリルア

ルコール(10)の分割ではCRL(天野製薬のAY)が(R)-体と反応し良い結果を示す。同じCRLでもCCL(多分Sigma)は悪い。AKおよびPCLは(S)-体と反応する(図2)¹⁹⁾。また、AKやPCLはベンジルエステルと ϵ -ブチルエステルとで選択性が大幅に異なるが、CRLはどちらの基質を用いても選択性が良い。

C₂対称のジエノールジアセテート(17)の加水分解ではCRLはpro-S側を攻撃し、選択性も良い(>98%)。PCLは逆と反応するが選択性は落ちる(30% ee)²⁶⁾(図2)。立体障害の小さい16ではCRLは選択性が悪いが、大きな基を導入すると良くなる。

CRLはフェノールとも反応し、ビタミンE誘導体(Tocol, (39))のアセテートの加水分解はCRLが良く、PCLは反応しない³⁷⁾。リンに光学活性部位を持つホスフィンオキシドのフェノール誘導体(40)の加水分解ではCRLが選択的に(R)-体のフェノールを与える⁵⁴⁾。CEやCRL、PPLも反応できるが選択性が良くない。

ブテノリド(33)の分割ではCRLは他のリパーゼと反応するエナンチオマーが異なる。アシル基がアセチルであるとCRLは選択性が悪い(E=10~19)がプロピオニルにすると良くなる(E>200, AKはE=27)⁴¹⁾。この場合でも置換基を大きくすれば選択性が良くなるという現象が見られている(図3)。

α -クロロプロピオン酸エチル(41)のジアミンによるアミド化ではCRLを使うとメソ体が生成せず、(S,S)-体が選択的にできる。その他の酵素(*Subtilisin*やPCL)ではメソ体も生成する。

3.6. PPL

豚膵臓(Porcine pancreas)由来のリパーゼであり、アミノ酸数は449⁵⁶⁾。市販品は数種のリパーゼやプロテアーゼの混合物であり、シグマ社から入手可能である。セライトに固定化して有機溶媒中で反応可能である¹⁰⁾。ジオールやジエステルの反応によく使われる。PPLが効率的に分割する基質の例を図6に示す。

C₂対称の1,3-ジアセテート(42)の加水分解ではPPLが選択性が良く、(S)-体のモノアセテートを与える。PLEは(R)-体を与え、CRLは(S)-体を与えるが、共に選択性が良くない⁵⁷⁾。シクロペンタンジオールのエポキシド誘導体(34)のエステル化はCALとPPLが良く、S側を攻撃する(図4)⁴⁴⁾。ラセミ体のスピロジオール(43)のエステル化ではCRLやPCLよりPPLの方が選択性が高い⁵⁸⁾。抗炎症剤であるPropanololの炭酸エステル誘導体(44, R=CO₂Me)の加水分解はPPLが効果的である。PLEやCEは良くなく、また、酢酸エステル(45)はリパーゼやエステラーゼで加水分解されない。これは立体的に

Fig. 6 Suitable substrates for PPL-catalyzed resolution.

炭酸エステルの方が空いているためである⁵⁹⁾。

メソ体のジエステルの分割にPPLは有効であり、スルホキシドの不斉を認識したエステル(46)の加水分解ではPPLはpro-S側と反応し、pro-R側と反応する⁶⁰⁾。 γ -ヒドロキシジエステル(47)のラクトン化では10種類の加水分解酵素が検討されているがPPLとPCLだけが反応し、それぞれ異なる立体選択性を示す。PPL(pro-R, ee>98%)の方がPCL(pro-S, 32% ee)より選択性がよい⁶¹⁾。

2重結合や3重結合の隣のヒドロキシル基の分割にPPLは有効である。1-オクチン-3-オールのエステル(8)の加水分解ではPPLは(R)-体と反応する。これに対してPCLは全く選択性を示さない。しかしながら1-TMS誘導体(7)にすると立体が逆転して、選択性もPCLの方が良くなる。1-ヨード-1-オクチン-3-オールのエステル(48)の加水分解ではPPLがよく(R)-体を加水分解する。これらのことから、PPLは(R)-体との相性が良く、R選択的な反応を計画するならPPLが相応しいと考えられる¹⁷⁾。

PPLはかなり大きな置換基があるアルコールとも反応する。PPL⁶³⁾およびCE⁶⁴⁾はピナフトール(49)とS選択性で反応する。効率率はLPL-Aの方が良く、(R)-体をエステル化する⁶²⁾。

3.7. LPL-A

Pseudomonas aeruginosa 由来のリパーゼで東洋紡から入手可能である。アミノ酸数は285であり⁶⁵⁾比較的に大きなアルコールの分割に有効である。特に芳香環をもつ化合物の分割が効果的である。LPL-Aが効果的に働く基質の例を図7に示す。

Fig. 7 Suitable substrates for LPL-A-catalyzed resolution.

トリフルオロフェニルエタノール(50)の分割では(S)-体のエステルを与えるが、LPL-AはAchromobactorのリパーゼ(E=1.4)、AK(E=2.4)PCL(E=7.4)に比べて選択性が高い(E=100)⁶⁶⁾。Trifluoronaphthylethanol(51)の場合でもAchromobactorのリパーゼ(E=57)、PCL(E=2.8)やAK(E=1)に比べて効果的(E=100)である⁶⁶⁾。アレーンクロム錯体(21)の分割では立体的に大きなTMS基がオルト位に付いたアルコールを効率良く分割する³⁰⁾。また、1-フェニルエタノールのクロム錯体(52)では非常に効率の良い分割が見られる(E>1000)。この場合、(Ar1S2R, α -R)-体が反応し、(Ar1R2S, α -S)-体が未反応に残る。この化合物はCRLでも反応可能であるが選択性は良くない(E=7)³⁰⁾。シアノヒドリソ(53)のエステル化はLPL-AがE=34で、ここに挙げた酵素の中では一番良い。長瀬産業のPseudomonas lipaseの方がさらに選択的である(E=77)⁶⁷⁾。ピナフトール(49)は立体障害が大きいので反応できるリパーゼが少ないがLPL-A⁶²⁾、CE⁶⁴⁾およびPPL⁶³⁾が反応し、LPL-Aが反応性、選択性共によい。また、立体選択性に関してはLPL-Aは(R)-体と反応し、CEおよびPPLは(S)-体と反応する。

3.8. PLE

豚膵臓由来のエステラーゼ。Sigma社から入手可能。Sih⁶⁸⁾や大野⁶⁹⁾らによってC₂対称体やメソ体の加水分解に使われてから、C₂対称の酸やアルコールのエステルの加水分解に使われている。PLEが効果的な基質の例を図8に示す。Sihらは β -ヒドロキシ- β -メチルグルタル酸ジメチル(54)をPLEで加水分解して(R側を加水分解する)71% eeのハーフエステルを得ている。生成物は

Fig. 8 Suitable substrates for PLE-catalyzed resolution.

(S) PCL³²⁾

 (S) PCL³¹⁾

 CAL⁴⁹⁾

 (1S,2R)₃

 X = Me, PCL³⁰⁾

 X = OMe, AK³⁰⁾

 X = TMS, LPL-A³⁰⁾

(S) LPL-A⁶⁶ (S) LPL-A³⁸ (R) CAL⁴⁵

675

メバロン酸の合成に使われている。また、大野らは β -アミノグルタル酸ジメチル(55, 56)をPLEで加水分解して光学活性なハーフエステルを得ているが、フリーのアミン(55)ではpro-S側が反応し、選択性も良くないが(40% ee)、アミノ基をZ基で保護すると(56)立体選択性が逆転し、不斉収率も向上することを見いだしている。PLEの反応では基質を溶解させるためアセトンを添加することがあるが、有機溶媒中ではあまり使われていない。同様の化合物ではスルホキシドのジエステル(46)の加水分解ではPLEはpro-R側と反応して(S)-体のハーフエステルを生成する。PPLはpro-S側と反応している⁶⁰⁾。シクロペンテンジアセテート(16)の反応では多くの酵素はpro-S側と選択的に反応するがPLEはpro-R側と反応する。選択性はまずまず²⁾(ee=86%)である⁴³⁾。シクロヘキセンジオールのエステル(15)の加水分解でR側に反応する酵素ではPLEの選択性が良い(ee=62%)²¹⁾。

スピロ化合物(57)の加水分解ではジアセテート(58)が得られるが、選択性はPLEがPPL, CCLやPCLより良い⁷⁰⁾。

4. 逆引き選択性

種々の基質に対して相応しいと考えられるリパーゼを図9に示した。この図がリパーゼの反応を検討する際の手助けとなれば有り難いと考えている。

(平成7年6月21日受理)

文 献

- 1) A.M. Klivanov, *Science*, 219, 722 (1983)
- 2) A. Zaks, A.M. Klivanov, *Science*, 224, 1249 (1984)
- 3) A. Zaks, A.M. Klivanov, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 82, 3192 (1985)
- 4) Y-F. Wang, J.J. Lalonde, M. Momongan, D.E. Bergbreiter, C-H. Wong, *J. Am. Chem. Soc.*, 110, 7200 (1988)
- 5) C-S. Chen, C.J. Sih, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 28, 695 (1989)
- 6) E. Santaniello, P. Ferraboschi, P. Grisenti, A. Manzochi, *Chem. Rev.*, 92, 1071 (1992)
- 7) B. Berger, C.G. Rabiller, K. Königsberger, K. Faber, H. Griengl, *Tetrahedron: Asymm.*, 1, 541 (1990)
- 8) B. Berger, K. Faber, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 1991, 1198
- 9) 連絡先 谷岡壮治 〒100 千代田区大手町 2-6-1 朝日東海ビル信越化学工業株式会社 Tel 03-3246-5270, Fax 03-3246-5372
- 10) G.M.R. Tombo, H.-P. Schar, X. F.I. Busquets, O. Gisalva, *Tetrahedron Lett.*, 27, 5707 (1986)
- 11) M. Norin, J. Boutelje, E. Holmberg, K. Hult, *Appl. Microbiol. Biotech.*, 28, 527 (1988)
- 12) C-S. Chen, Y. Fujimoto, G. Girdaukas, C.J. Sih, *J. Am. Chem. Soc.*, 104, 7294 (1982)
- 13) 中西雄二, 黒野良明, 小出芳直, 別府輝彦, 特開平 3-87187
- 14) U. Ader, M. Schneider, *Tetrahedron: Asymm.*, 3, 201 (1992)
- 15) E. Foelsche, A. Hickel, H. Hönig, P. Seuffer-Wasserthal, *J. Org. Chem.*, 55, 1749 (1990)
- 16) C. Exl, H. Hönig, G. Renner, R. Rogi-Kohlenprath, V. Seebauer, P. Seuffer-Wasserthal, *Tetrahedron: Asymm.*, 3, 1391 (1992)
- 17) M. Shimizu, H. Kawanami, T. Fujisawa, *Chem. Lett.*, 1992, 107
- 18) S. Mitsuda, S. Nabeshima, *Rec. Trav. Chim. Pays-Bas*, 110, 151 (1991)
- 19) H. Takahata, Y. Uchida, T. Momose, *Tetrahedron Lett.*, 33, 3331 (1992)
- 20) L.T. Kanerva, K. Rahiala, E. Vanttinen, *J. Chem. Soc., Perkin I*, 1992, 1759
- 21) R.J. Kazlauskas, A.N.E. Weissfloch, A.T. Rapaport, L.A. Cuccia, *J. Org. Chem.*, 56, 2656 (1991)
- 22) A. Scilimati, T.K. Ngooi, C.J. Sih, *Tetrahedron Lett.*, 29, 4927 (1988)
- 23) K. Nakamura, H. Kondo, P. Metzner, A. Ohno, *Bull. Inst. Chem. Res. Kyoto Univ.*, 70, 302 (1992)
- 24) N. Baba, K. Tateno, J. Iwasa, J. Oda, *Agric. Biol. Chem.*, 54, 3329 (1990)
- 25) K. Laumen, M. Schneider, *Tetrahedron Lett.*, 25, 5875 (1984)
- 26) P. Duhamel, P. Renouf, D. Cahard, A. Yebga, J-M. Poirier, *Tetrahedron: Asymm.*, 4, 2447 (1993)
- 27) H-J. Gais, H. Hemmerle, S. Kossek, *Synthesis*, 1992, 169
- 28) K. Fuji, T. Kawabata, Y. Kiryu, Y. Sugiura, T. Taga, Y. Miwa, *Tetrahedron Lett.*, 31, 6663 (1990)
- 29) K. Tanaka, Y. Shogase, H. Osuga, H. Suzuki, K. Nakamura, *Tetrahedron Lett.*, 36, 1675 (1995)
- 30) M. Uemura, H. Nishimura, S. Yamada, Y. Hayashi, K. Nakamura, K. Ishihara, A. Ohno, *Tetrahedron: Asymm.*, 5, 1673 (1994)
- 31) B. Herrad'on, *Tetrahedron: Asymm.*, 3, 209 (1992)
- 32) M. Pallavicini, E. Valoti, L. Villa, O. Piccolo, *J. Org. Chem.*, 59, 1751 (1994)
- 33) R.N. Patel, J.M. Howell, C.G. McNamee, K.F. Fortney, L.J. Szarka, *Biotech. Appl. Biochem.*, 16, 34 (1992)
- 34) P. Ciuffreda, D. Colombo, F. Ronchetti, L. Toma, *J. Org. Chem.*, 55, 4187 (1990)

- 35) D.L. Huges, J.J. Bergan, J.S. Amato, M. Bhupathy, J.L. Leazer, J.M. McNamara, D.R. Sidler, P.J. Reider, E.J.J. Grabowski, *J. Org. Chem.*, **55**, 6252 (1990)
- 36) M. Altamura, P. Cesti, F. Francalanci, M. Marchi, *J. Chem. Soc., Perkin I*, 1989, 1225
- 37) E. Mizuguchi, M. Takemoto, K. Achiwa, *Tetrahedron: Asymm.*, **4**, 1961 (1993)
- 38) M. Inagaki, J. Hiratake, T. Nishioka, J. Oda, *Agric. Biol. Chem.*, **53**, 1879 (1989)
- 39) Y. Kojima, M. Yokoe, T. Mase, *Biosci. Biotech. Biochem.*, **58**, 1564 (1994)
- 40) K. Kato, M. Katayama, R.K. Gautam, S. Fujii, H. Kimoto, *J. Ferm. Bioeng.*, **76**, 178 (1993)
- 41) H. van der Deen, R.P. Hof, A. van Oeveren, B.L. Feringa, R.M. Kellogg, *Tetrahedron Lett.*, **35**, 8441 (1994)
- 42) J. Uppenberg, M.T. Hansen, S. Patkar, T.A. Jones, *Structure*, **2**, 293 (1994)
- 43) C.R. Johnson, S.J. Bis, *Tetrahedron Lett.*, **33**, 7287 (1992)
- 44) F. Theil, H. Schick, G. Winter, G. Reck, *Tetrahedron*, **47**, 7569 (1991)
- 45) J. Uenishi, K. Nishiwaki, S. Hata, K. Nakamura, *Tetrahedron Lett.*, **35**, 7973 (1994)
- 46) Z. Djighaba, H. Deleuze, B. DeJeso, B. Maillard, *Tetrahedron Lett.*, **32**, 761 (1991)
- 47) M.J. Garcia, F. Rebolledo, V. Gotor, *Tetrahedron: Asymm.*, **3**, 1519 (1992)
- 48) F. Björkling, H. Frykman, S.E. Godtfredsen, O. Kirk, *Tetrahedron*, **48**, 4587 (1992)
- 49) F. Björkling, S.E. Godtfredsen, O. Kirk, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 1989, 934
- 50) E. Boel, B. Høge-Jensen, M. Christensen, L. Thim, N.P. Fill, *Lipids*, **23**, 701 (1988)
- 51) S. Longhi, F. Fusetti, R. Grandori, M. Lotti, M. Vanoni, L. Alberghina, *Biochim. Biophys. Acta*, **1131**, 227 (1992)
- 52) S-H. Wu, Z.W. Guo, C.J. Sih, *J. Am. Chem. Soc.*, **112**, 1990 (1990)
- 53) I.J. Colton, S.N. Ahmed, R.J. Kazlauskas, *J. Org. Chem.*, **60**, 212 (1995)
- 54) A.N. Serreqi, R.J. Kazlauskas, *J. Org. Chem.*, **59**, 7609 (1994)
- 55) V. Gotor, M.J. Garcia, F. Rebolledo, *Tetrahedron: Asymm.*, **1**, 277 (1990)
- 56) J. DeCaro, M. Boudouard, J. Bonicel, A. Guidoni, P. Desnuelle, M. Røvery, *Biochim. Biophys. Acta*, **671**, 129 (1981)
- 57) G. Guanti, E. Narisano, T. Podgorski, S. Thea, A. Williams, *Tetrahedron*, **46**, 7081 (1990)
- 58) K. Naemura, A. Furutani, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 1991, 2891
- 59) W-R. Shieh, D-M. Gou, C-S. Chen, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 1991, 651
- 60) S. Tamai, S. Miyauchi, C. Morizane, K. Miyagi, H. Shimizu, M. Kume, S. Sano, M. Shiro, Y. Nagao, *Chem. Lett.*, 1994, 2381
- 61) A.L. Gutman, T. Bravdo, *J. Org. Chem.*, **54**, 4263 (1989)
- 62) M. Inagaki, J. Hiratake, T. Nishioka, J. Oda, *Agric. Biol. Chem.*, **53**, 1879 (1989)
- 63) S. Miyano, K. Kawahara, Y. Inoue, H. Hashimoto, *Chem. Lett.*, 1987, 355
- 64) Kazlauskas, *J. Am. Chem. Soc.*, **111**, 4953 (1989)
- 65) M. Shiomi, K. Yoshikawa, N. Hirayama, K. Yamamoto, Y. Sogabe, T. Nakatani, T. Nishioka, J. Oda, *Arch., Biochim., Biophys.*, **296**, 505 (1992)
- 66) K. Kato, M. Katayama, R.K. Gautam, S. Fujii, H. Kimoto, *Biosci. Biotech. Biochem.*, **59**, 271 (1995)
- 67) M. Inagaki, J. Hiratake, T. Nishioka, J. Oda, *Bull. Inst. Chem. Res., Kyoto Univ.*, **67**, 132 (1989)
- 68) F-C. Huang, L.F. Hsu, R.S.D. Mittal, P.R. Ravikumar, J.A. Chan, C.J. Sih, E. Caspi, C.R. Eck, *J. Am. Chem. Soc.*, **97**, 4144 (1975)
- 69) M. Ohno, S. Kobayashi, T. Iimori, Y-F. Wang, T. Izawa, *J. Am. Chem. Soc.*, **103**, 2405 (1981)
- 70) K. Naemura, A. Furutani, *J. Chem. Soc., Perkin I*, 1990, 3215