

微生物や酵素を用いた有機合成

東京大学農学部教授

森 謙治

KENJI MORI

1. はじめに

微生物や酵素の有する物質変換能力を有用物質の生産に利用することは、酒造りにはじまり抗生物質やアミノ酸・ヌクレオチドの醗酵生産にいたる、古来からの人類の知恵である。ステロイドの微生物変換が、副腎皮質ホルモン類の工業合成法の確立を目的として広く研究された1950年代以降、多段階有機合成の一段階を達成する手段としても、微生物・酵素が有用であることがわかった。これらについては最近すぐれた単行本¹⁻⁴⁾ 総説⁵⁾ が微生物学の立場から書かれている。本稿では、有機合成の立場から最近の進歩を考えてみたい。なお有機合成の立場から書かれたすぐれた単行本⁶⁾ と総説⁷⁾ があるので、その総説⁷⁾ 以降の1978年中頃から1980年末までの研究に焦点を絞ることとする。

2. 微生物や酵素による反応を有機合成にどう使うか

近年の有機合成化学の進歩は目覚ましく、多数の位置選択的・立体選択的反応が開発され、炭素骨格の形成と官能基の変換を従来よりはるかに効率よく行えるようになった。不斉合成反応の開発もまた強力に推進されており、分離分析手段の進歩と相俟って、今や高光学純度の光学活性体の合成は天然物化学で日常的なこととなりつつある。⁸⁾ しかし反応の遷移状態において反応物の立体配座を固定させて不斉合成をおこなうために、極端な低温や入手が必ずしも容易でない試薬を用いているのが有機化学的不斉合成の現状である。

微生物や酵素による反応は、一般に高い鏡像体選択性を示す。しかも反応の溶媒は水であり、条件は常温常圧である。光学活性なアミノ酸や有機酸などある特定の化合物を合成する微生物や酵素を探し出すことができれば、これらを用いる方法は有機合成よりも工業的に有利であることが多い。そこで微生物学者が新微生物の探索に情熱を燃やすことになる。

だが有機合成化学者が、自分の仕事に生化学的手法をとりこむことがそう当たり前になっていないのは何故だろうか。一つには化学者の生化学的手法に対する注文が多いからである。Jones が化学者の注文をうまく要約している。⁹⁾ ①酵素は、化学者にとって合成法として一般的に興味ある反応の触媒とならねばならず、構造が少々違うものでも基質とするが立体特異性は厳密であるものが望ましい。②酵素は市販でなければならない。自分で調製せねばならぬのでは困る。③酵素標品は比較的安定でなければならない。というのは、その酵素の天然基質ではないあまり適合していない基質との反応では、何日もかかることがあるからである。④新規の基質に反応させる際にも、どんなものが生成するかを立体化学を含めて予言できるほど、特異性についてのデータがそろっている方がよい。⑤酵素や補酵素が高価である時は、温和な条件下で高度の立体選択性と位置選択性を示すことの利益が、高コストにもまして充分大でなければいけない。⑥実験法が簡単でなければいけない。本当にこのとおりであって、一般の特に理工系化学者にとっては、綿栓をフラスコにつめて滅菌するなどという操作は、微生物学者に注射器でブチルリチウムを使えというのと同様に異和感を覚えさせるのである。

筆者は、Jones の言をも考慮しつつ、微生物や酵素のおこなう素反応に注目し、生化学反応の最大の特性である不斉合成能を非天然型基質について検討し、不斉変換を行う「合成試薬」として微生物や酵素を使おうと考え、研究をはじめた。まだ1978年から走りはじめたばかりでゴールは遠いが、筆者らの研究にもふれつつ以下各論をのべよう。

2. 酸化・還元反応の利用

酵母による不斉還元

激しくアルコール醗酵をしている酵母による不斉還元は古くから研究され、特に1960年代初期に Prelog ら及び Mosher らによって広汎な研究が行われた。^{6,7)} その結果一般に図1に示すような不斉還元が起ることが明らかになっている。最近の酵母による還元例を以下にのべ

プロフィール

昭32年東大農・農化卒。昭37年東大農助手。昭43年同助教授。昭53年より現職。農博。

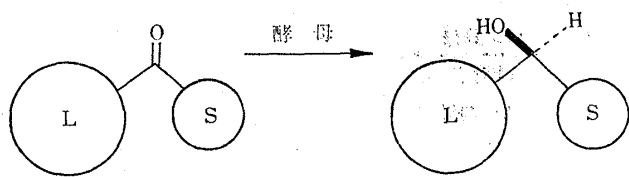


図1. 酵母還元立体化学

る. なお酵母還元的具体的実験例は, Ridley らの報告に詳しい.¹⁰⁾

1) 天然型プロスタグランジン F_{2a} の合成.¹¹⁾ 英国の Newton らは, 図2に示すように(±)-ビシクロ [3.2.0] ヘプト-2-エン-6-オン (**1** + **1'**) をパン酵母を用いて還元した. この際注目すべきことにケトンの両鏡像体がいずれも還元された. そして生成物としていずれも *S* の立体配置をもつアルコール **2** と **3** とが, 回収したケトンの量を考えるとかなりの収率 (77%) で得られたのである. これは結晶性のブロムヒドリンに変換後, 再結晶で精製して光学的にほぼ純粋な両鏡像体 **4** と **5** を得, その両者は異なる中間体を経由して共に天然型 PG F_{2a} に変換された. 高光学純度のものを得るため再結晶を行っていることに注目されたい.

2) 天然型ビタミンEのアルキル側鎖の合成.¹²⁾ イタリアの Fuganti らは, 図3に示すように, ビタミンEの天然型アルキル側鎖の合成にパン酵母の還元能を利用し, 共役している炭素炭素二重結合の不斉水素添加 (**6** → **7a**) を行った. 彼らが得た (3*R*, 7*R*)-**8** は, 旋光度でみると光学純度約 78% ($3.2 \div 4.1 \times 100$) である. つまり不斉中心を一カ所作る際の光学収率は 88% e. e. (e. e. = enantiomeric excess, 鏡像体過剰. この場合 (*R*)-体94%, (*S*)-体6% できるということが e. e. = $94 - 6 = 88\%$ ということになる) である. この合成では

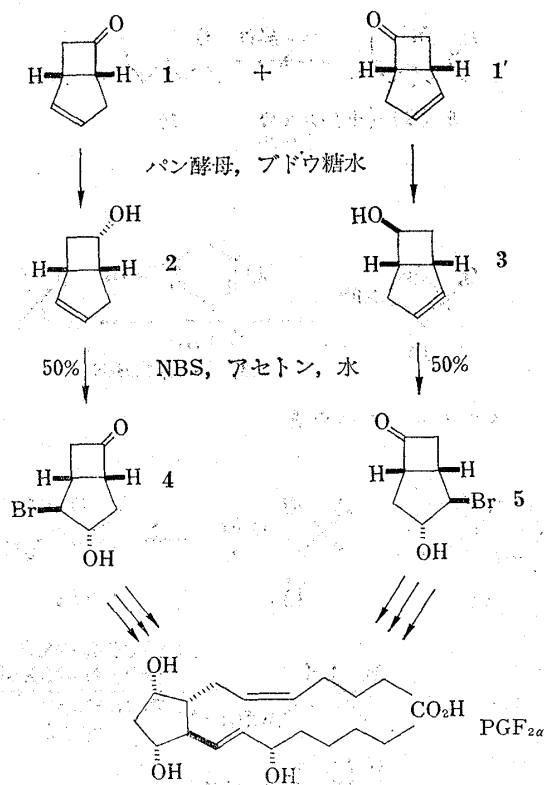


図2. プロスタグランジンの合成

結晶性の中間体ができないために, 途中で再結晶をして光学純度を上げることができなかった.

3) キクイムシの一種 *Gnathotrichus retusus* のフェロモン (*S*)-(+)-sulcatol の合成.¹³⁾ 図4に示すようにスルカトール **9** はモノテルペンの分解物であって, はじめキクイムシ *Gnathotrichus sulcatus* のフェロモンとして得られた. この光学活性体の合成は, 最初筆者によってグルタミン酸を原料とする多段階合成で行われた. その結果 *G. sulcatus* に対するフェロモン活性の

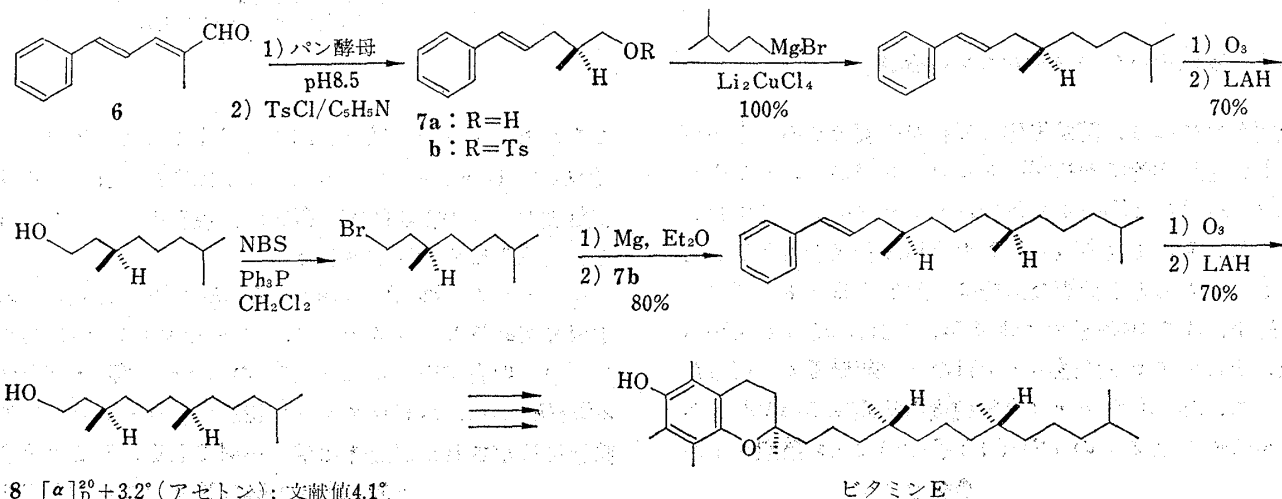


図3. ビタミンEの合成

ファルマシア

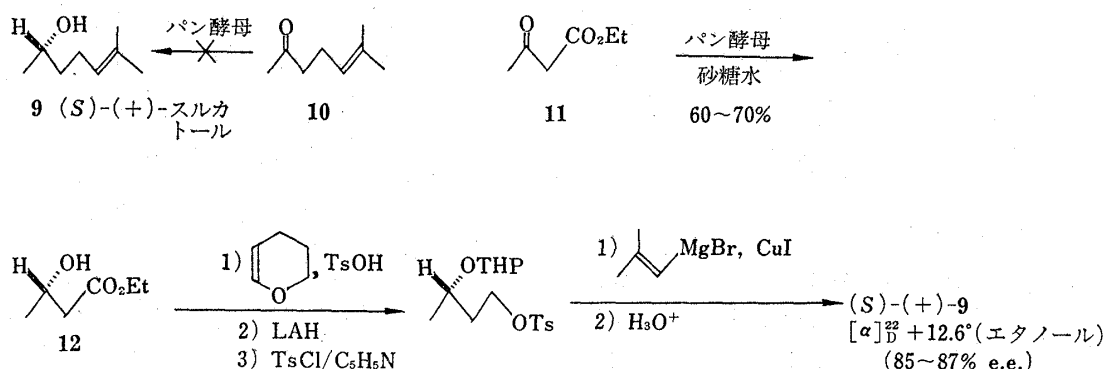


図4. スルカトールの合成

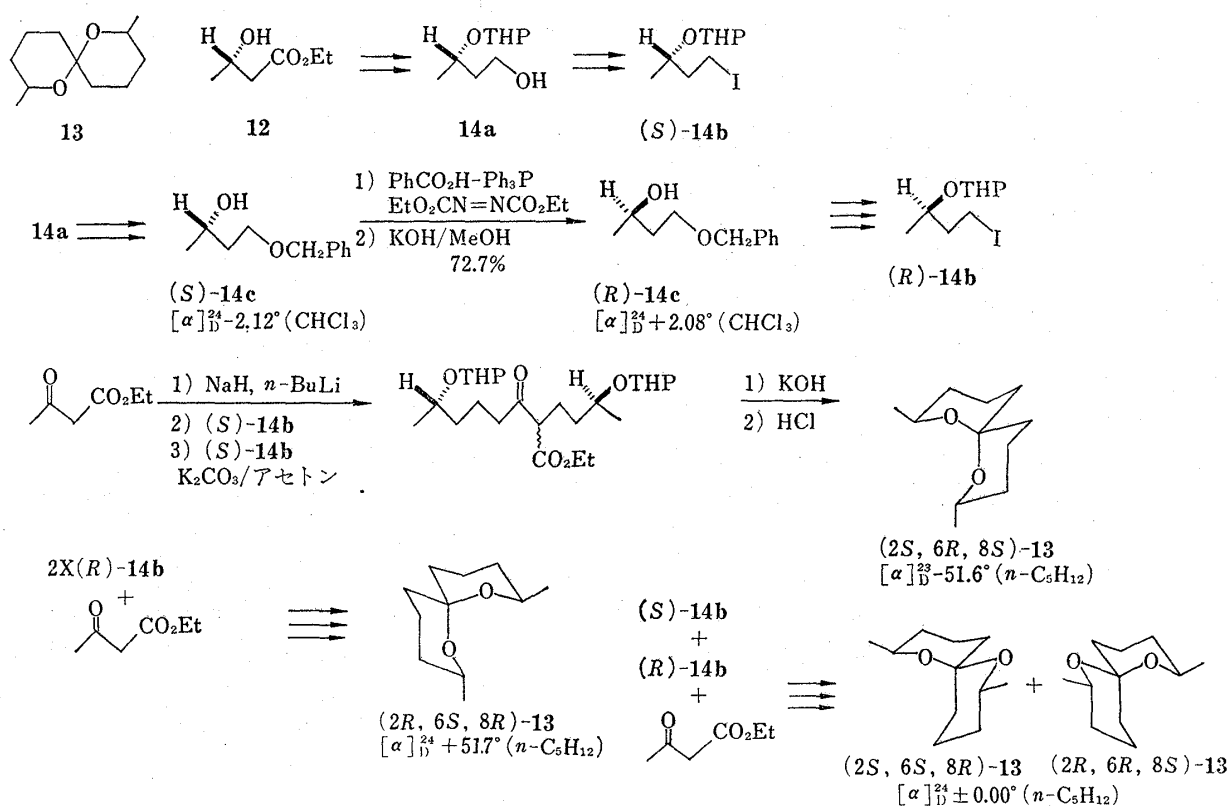


図5. 或種のハチのフェロモンの合成

発現のためには、両鏡像体の存在が必要であることが判明した生物学的に興味深いフェロモンである。ところが *G. retusus* は (S)-(+)-体のみをフェロモンとして用いている。そこで (S)-(+)-9 の簡単な合成を考えることとした。もっとも簡単な方法は、対応するケトン10のパン酵母による不斉還元であるが、これは成功しなかった。そこでアセト酢酸エチル11のパン酵母還元を行ったところ、86—87% e. e. (光学純度の決定は MTPA エステル法⁸⁾ による) の (S)-(+)-β-オキシ-*n*-酪酸エチル12を得ることができた。基質濃度を小にして醗酵時間を短縮すれば、光学収率は92—95% e. e. まで上昇する。

このオキシエステル12は、図4に示すようにして73%の総収率で (S)-(+)-スルカトール9に変換された。脂肪酸飽和ケトンの化学的不斉還元は、現在のところこれほどよい光学収率では進行しない。

4) ハチの一種 *Andrena wilkella* の性フェロモンの主成分である2,8-ジメチル-1,7-ジオキサスピロ[5.5]ウンデカンの合成¹⁴⁾ スウェーデンのハチの一種 *Andrena wilkella* から、スピロケタール13がフェロモンとして単離構造決定されたが立体化学は不明である。そこで筆者らは上述のアセト酢酸エチルの酵母還元生成物12を出発原料として、C-2 と C-6 との絶対立体配置が既知であ

る形で**13**の各立体異性体を合成することとした。光学純度92%の**12**を酵母還元で得て図5のように合成をすすめた。酵母還元では(S)-体しか得られないという難点は、光延の方法により(S)-**14c**を(R)-**14c**にWalden反転で変換することにより克服した。アセト酢酸エチルを(S)-**14b**で二回アルキル化後、生成物を塩基次いで酸で処理して得られたのはフェロモンの(2*S*, 6*R*, 8*S*)-体であり、これは¹³C-NMRで六本のシグナルしか示さない。つまりC₂-対称軸を有している。(R)-**14b**とアセト酢酸エチルとから得られる(2*R*, 6*S*, 8*R*)-体も同じである。ところがアセト酢酸エチルをまず(S)-**14b**、次いで(R)-**14b**でアルキル化して得られるのは(2*S*, 6*S*, 8*R*)-**13**と(2*R*, 6*R*, 8*S*)-**13**との等量よりなるラセミ体で、¹³C-NMRでは11本のシグナルを示した。

このようにWalden反転を利用すれば、生化学的還元から出発して両鏡像体を合成することができる。

馬肝臓アルコール脱水素酵素による不斉酸化

Jones らは、馬の肝臓のアルコール脱水素酵素(horse liver alcohol dehydrogenase, HLADH)を用いる有機化合物の不斉酸化反応を長年研究している。彼らは、その手法を用いて、天然物合成の立場からみて有用な光学活性ラクトンを調製した。¹⁵⁾ そのうちの二例を図6に示す。すなわち対称なメソ型のジオール**15**や**17**をHLADHで二日間酸化すると光学収率100% e. e. でγ-ラクトン**16**やδ-ラクトン**18**が得られる。**16**はワタミムシのフェロモンであるgrandisolの合成原料として、また**18**はmethynolideなどのマクロリドの合成原料として有用と考えられる。この反応は2gくらいの規模で行われ、よい収率を与えるが、HLADHが高価であることと、酸化に参与する補酵素(この場合にはNAD⁺)の再生系を考えねばならないのが問題点である。

4. 不斉加水分解反応の利用

微生物や酵素による反応のうち、アミド結合やエステ

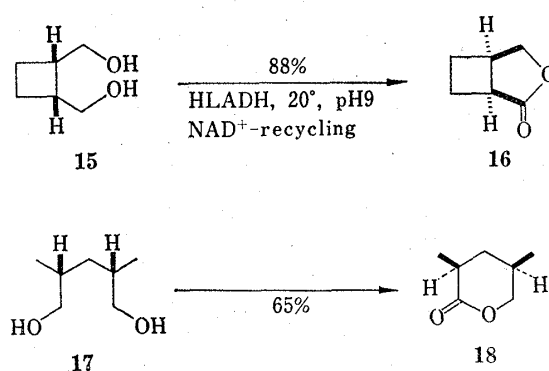


図6. 光学活性ラクトン類の合成

ル結合の不斉加水分解は、古くから知られ利用されている。

アミノアシラーゼによる(±)-N-アセチル-α-アミノ酸の不斉加水分解

Greenstein らは30年以上前に、豚の腎臓のアミノアシラーゼを用いれば(±)-N-アセチル-α-アミノ酸の天然型(S)-体のみが加水分解されてアミノ酸となることを発見した。千畑らは、麹菌 *Aspergillus oryzae* のアミノアシラーゼが、容易に得られるとともに基質特異性の幅が広いことを見出し、それを工業的に利用する途を開いたことで有名である。筆者らは、図7に示すように、非天然型アミノ酸であるthreo-2-アミノ-3-メチルヘキサン酸のN-アセチル体**19**を麹菌のアミノアシラーゼを用いた不斉加水分解で光学分割し、光学活性アミノ酸とした。それを化学的に変換してニレのキクイムシ *Scolytus multistriatus* のフェロモンの構成成分である(3*S*, 4*S*)-(−)-4-メチル-3-ヘプタノール**20**とその鏡像体**20'**に導いた。¹⁶⁾ アシラーゼによる分割は、大量処理が可能であり、操作は極めて簡単である。この場合のような非天然型基質に対しても有効な方法であり、光学純度約98%のアミノ酸を与えた。

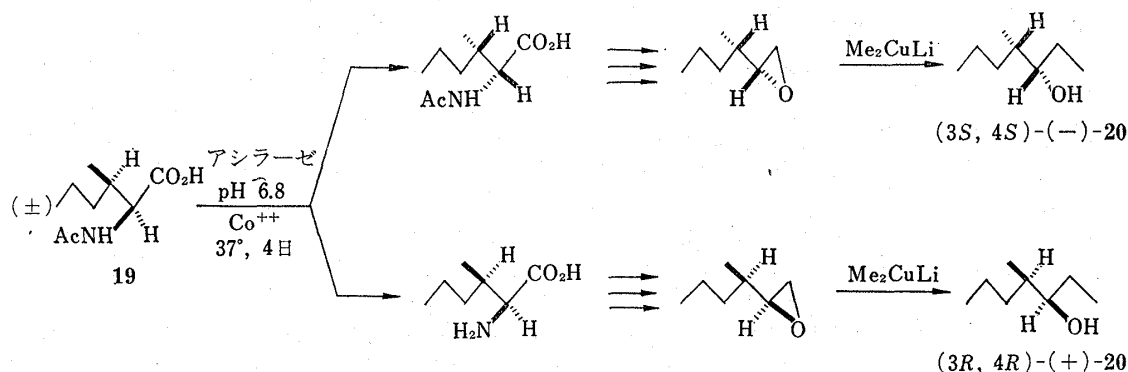


図7. threo-4-メチル-3-ヘプタノールの合成

ファルマシア

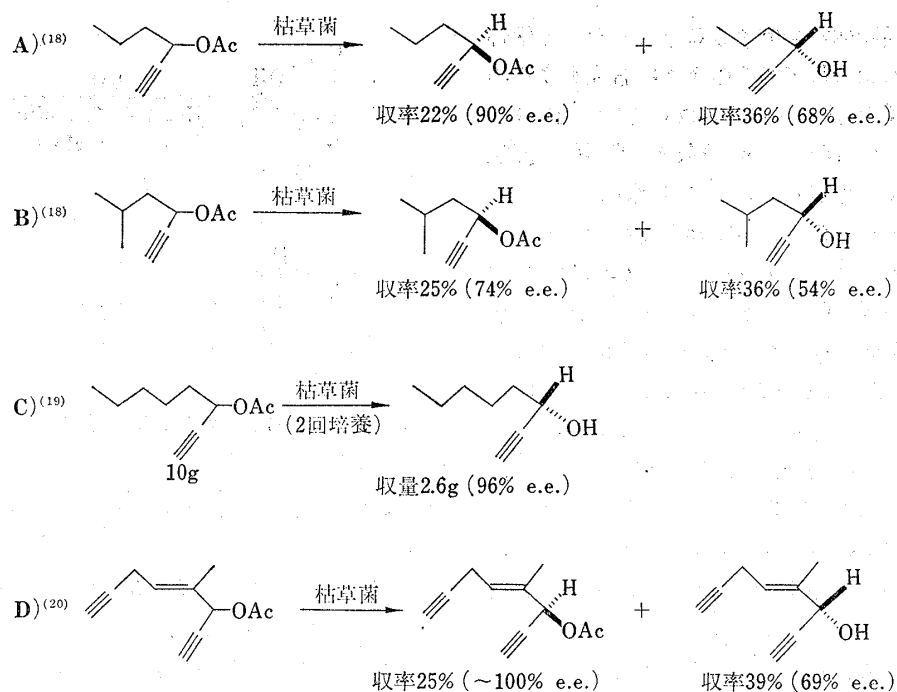


図 8. アルキニルアルコールアセタートの不斉加水分解

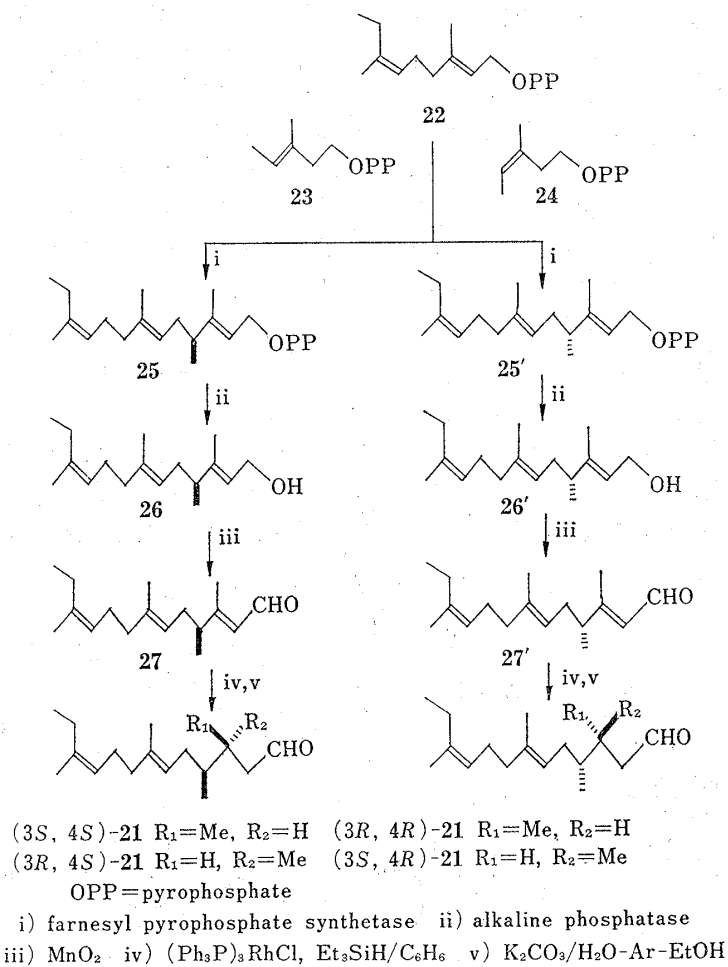


図 9. 酵素法による光学活性ファラナールの合成

枯草菌のエステラーゼによる酢酸エステルの不斉加水分解

■ 枯草菌 *Bacillus subtilis* var. NIGER がラセミのテルペンアルコールの酢酸エステルの不斉加水分解を行うことは、1973年に折谷と山下により報告されている。¹⁷⁾ この反応は、図8に示すように、光学活性なアルキニルアルコール類の調製に利用できることが、筆者らと折谷・山下らによりわかった。^{18,19)} 現在までのところ、あらゆる場合に (S)-アセタートが早く加水分解されて (S)-体の多いアルコールと (R)-体に富むアセタートが得られる。B) の化合物は光学活性ビタミンEの合成原料、C) はプロスタグランディンの側鎖、D) はピレスロイド殺虫剤のアルコール部分²⁰⁾としてそれぞれ光学活性体が有用である。この方法は、得られるものの光学純度にやや難点があるが、操作が簡便であり、またD) のように、通常の化学的光学分割に耐え得ないような不安定な化合物の光学分割にも利用できる。

5. 炭素・炭素結合生成反応の利用

小倉らは、イソプレノイド生合成を研究する過程で、ファルネシルピロリン酸合成酵素が不斉合成に利用できることを見出し、ファラオ蟻 *Monomorium pharaonis* のフェロモンであるファラナル²¹⁾の光学活性体の合成に応用した。²¹⁾ すなわち、豚肝臓のファルネシルピロリン酸合成酵素は、非天然型基質である²²⁾と、²³⁾または²⁴⁾との間の炭素・炭素結合生成反応の触媒となり、その際反応は (E)-二重結合の生成をともないつつ立体特異的に進行する。つまり (E)-体である²³⁾や (Z)-体である²⁴⁾が、²²⁾と結合する際、それぞれの反応の生成物は互いに鏡像関係にある²⁵⁾と^{25')}とである (図9)。²⁵⁾と^{25')}とにそれぞれホスファターゼを作用させると、アルコール²⁶⁾と^{26')}とが得られる。それを酸化してアルデヒド²⁷⁾と^{27')}とを得、ついで二重結合を還元することにより、(3S, 4S)-ファラナル²¹⁾と (3R, 4S)-²¹⁾の混合物 260 μ gを得た。また (3R, 4R)-²¹⁾と (3S, 4R)-²¹⁾との混合物 100 μ gをも得た。次にこの 100 μ gをガスクロマトグラフィーで (3R, 4R)-²¹⁾と (3S, 4R)-²¹⁾とに分離したところ、ファラオ蟻は、(3S, 4R)-体のみに反応した。従って天然ファラナルの立体化学は、3S, 4Rと決定された。ファラナルの光学活性体の合成は、筆者らによって純有機化学的にも行われた。²²⁾ 酵素法と有機合成法とは互いに相補的であり、酵素法では微量ではあるが光学純度 100%のものが得られ、有機合成では旋光度 ($[\alpha]_D$) や分光学的データ (IR, NMR) を測定可能な量確保できたが光学純度は90%であった。酵素法の高い立体特異性は、大いに注目に値する。

ファルマシア

6. おわりに

いくつかの例をあげながら、微生物や酵素を用いた有機合成を、有機化学者の立場から概観してみた。いずれの場合でも、通常の有機化学的手法のみによるよりも簡便に、光学活性体を得ることに成功している。また、生化学反応によって光学活性体を得た後で、かなり多くの合成段階を経て、有機化学的に最終目的物に到達している。要するに、有機合成で行いにくい変換段階のみを、生物にたよっているのである。微生物や酵素を用いた反応例がますます多くなり、反応の適用の範囲と限界とが明らかになった時、微生物や酵素も「合成試薬」として有機化学実験室に不可欠のものとなるであろう。最後に筆者の研究に御助言・御協力下さった東京大学農学部蓼田泰治・別府輝彦 両教授、オリエンタル酵母 越後 明氏、味の素小町谷吉興氏と、研究を実施した四年生・院生・研究生に感謝の意を表する(1980年12月28日)。

引用文献

- 1) 鮫島広年, 奈良 高, “微生物と醗酵生産,” 初版, 共立出版, 東京, 1979, pp. 1—228.
- 2) 福井三郎, “生体触媒としての微生物,” 初版, 共立出版, 東京, 1979, pp. 1—200.
- 3) 相田 浩, “岩波講座現代化学 14. 物質の合成下. 第12章. 酵素・微生物による合成,” 野崎 一編, 岩波書店, 東京, 1980, pp. 387—436.
- 4) G. K. スクリアビン, L. A. M. ゴブレーバ (福井三郎監訳), “微生物による有機化合物の変換,” 初版, 学会出版センター, 東京, 1980, pp. 1—390.
- 5) 清水 昌, 山田秀明, 現代化学, No. 12, 22 (1980).
- 6) J. B. Jones, C. J. Sih, D. Perlman, “Applications of Biochemical Systems in Organic Chemistry” Part 1, John Wiley and Sons, New York, 1976, pp. 1—505.
- 7) 太田博道, 入内島忍, 化学の領域, 33, 209 (1979).
- 8) 森 謙治, “光学活性な天然物の合成,” 化学の領域増刊 125号, 天然物化学 '80A,” 伊東 淑後藤俊夫, 野副重男編, 南江堂, 1980, pp. 155—175.
- 9) J. B. Jones, “Methods in Enzymology,” Vol. XLIV, ed. by K. Mosbach, Academic Press, New York, 1976, pp. 831—844.
- 10) B. S. Deol, D. D. Ridley, G. W. Simpon, Aust. J. Chem., 29, 2459 (1976).
- 11) R. F. Newton, J. Paton, D. P. Reynolds, S. Young, S. M. Roberts, J. C. S. Chem. Comm., 908 (1979); R. F. Newton, S. M. Roberts, Tetrahedron, 36, 2163 (1980).
- 12) C. Fuganti, P. Grasselli, J. C. S. Chem. Comm., 995 (1979).

- 13) 森 謙治, *Tetrahedron*, 印刷中.
- 14) 森 謙治, 谷田嘉市, *Heterocycles*, **51**, 1171 (1981).
- 15) I. J. Jakovac, G. Ng, K. P. Lok, J. B. Jones, *J. C. S. Chem. Comm.*, 515 (1980).
- 16) 森 謙治, 岩沢寛子, *Tetrahedron*, **36**, 2209 (1980).
- 17) 折谷隆之, 山下恭平, *Agric. Biol. Chem.*, **37**, 1687 (1973).
- 18) 森 謙治, 赤尾寛子, *Tetrahedron Lett.*, 4127

- (1978); *Tetrahedron*, **36**, 91 (1980).
- 19) 折谷隆之, 山下恭平, *Agric. Biol. Chem.*, **44**, 2407 (1980).
- 20) 森 謙治ら: 未発表.
- 21) 小林正紀, 古山種俊, 小倉協三, 瀬戸秀一, F. J. Ritter, I. E. M. Brüggemann-Rotgans, *J. Am. Chem. Soc.*, **102**, 6602 (1980).
- 22) 森 謙治, 上田 敬, *Tetrahedron Lett.*, **22**, 1127 (1981).

● 新刊紹介

Electroorganic Chemistry

—電子を用いる新しい有機化学—

長 哲郎, 庄野達哉, 本多健一 共編

近年, 省エネルギー, 環境保全の問題を解決すべく有機化学的新手段の開発が叫ばれている. *Electroorganic Chemistry* は, その最も注目すべきものの一つであり, 電極表面と有機基質との溶液中での限られた層内での電子の授受が行われることにより通常の有機化学反応では実現困難な反応をしばしば可能ならしめる.

本書では最新のデータをもとにして各種電極反応が要領よく網羅されているので, これから本分野を志向する研究者はもちろんのこと専門外の研究者にとっても価値多き知識を学ぶことができる.

本書の内容は有機化学から見た基礎概念, 有機化学における化学修飾電極, 光エネルギー変換と *Electroorganic Chemistry*, 有機電導体, 有機合成化学の有力な手段としての *Electroorganic Chemistry*, 間接的な *Electroorganic Reaction*, 非コルベ反応を中心とした有機合成, 有機金属化学における *Electroorganic Chemistry*, ファインケミカルズ合成の新手段としての *Electroorganic Synthesis*, 工業的立場から見た *Electroorganic Synthesis* 特許から見た *Electroorganic Chemistry* の可能性, 有機化学工業における *Electroorganic Chemistry*, の発展と展望と多彩に亘り, かつ具体的に示されているのでいずれも知識を得るのに十分な内容であった. 更に簡潔明瞭な反応型式の解説および豊富な参考文献により装置さえ設備すれば即座に本分野を試行できうる内容があるのでぜひ一読されることをおすすめしたい.

(大沼 毅)

B 5 判/186頁/2000円 (化学同人)

ビタミン学〔Ⅱ〕水溶性ビタミン

桂 英輔, 福井三郎ほか5名 編者

ビタミンの研究発達はめざましいものがあるが, ビタミン B_{12} の発見 (1948) を最後として新しいビタミンは発見されていない. そして, これからのビタミン学研究の主力は, 内外共に生体活性物質としての作用機序あるいは, 代謝の問題の解明に向うものと思われる. それらについてはわが国には日本ビタミン学会に関連した研究グループとして脂溶性ビタミン, ビタミンBおよびビタミンCの3研究委員会があり, 活発な研究活動により毎年その新知見が発表されている. 本書 (全2冊) は, まずビタミン発見50周年 (1956) 記念として, それまでの研究集大成である“ビタミン学”が刊行され, ついでビタミン学会設立20周年 (1969) に“新ビタミン学”がその後の研究成果がまとめられたものとして刊行されたが, 今日最近10年間に明らかにされた生命科学の領域におけるビタミンの解説をわが国のその分野で最高の専門家を動員して, 刊行されたものである.

この第2分冊すなわち本書の内容を紹介すると, 1. ビタミン B_1 , 2. ビタミン B_2 , 3. ビタミン B_5 , 4. ニコチン酸, 5. パントテン酸, 6. 葉酸, 7. ビオチン, 8. ビタミン B_{12} , 9. ビタミンC, 10. リポ酸, 11. イノシトール の重要な最新の事項について解説されている近來にない好著である. したがって, 薬系のビタミン研究を志す者のみならず, 生命科学は勿論, 環境公害等に関心をもつ研究者と薬学生にとっても, きわめて有益な指針となることが期待される. (太幡利一)

B 5 判/649頁/12000円 (東京化学同人)