

2009 年度 修士学位論文

エノラートの面選択的プロトン化反応の探索

三重大学大学院生物資源学研究科
博士前期課程

生物圏生命科学専攻
生命機能科学講座
生理活性化学教育研究分野

水野 光貴

目次

第 1 章 緒論

第 1 節	光学活性化合物と不斉合成	1
第 2 節	芳香族脂肪酸系抗炎症剤	5
第 3 節	本研究の目的	7

第 2 章 基質となるエノールアセテートの合成

第 1 節	ナプロキセンメチルエステルのエノールアセテート誘導体の合成計画	12
第 2 節	ナプロキセンメチルエステルのエノールアセテート誘導体の合成	13
第 3 節	2-フェニルシクロヘキサノン誘導体の合成計画	14
第 4 節	2-フェニルシクロヘキサノン誘導体の合成	15
第 5 節	2-フェニルプロピオンアルデヒド誘導体の合成計画	16
第 6 節	2-フェニルプロピオンアルデヒド誘導体の合成	17

第 3 章 リチウムエノラートのエナンチオ選択的プロトン化反応

第 1 節	ナプロキセンメチルエステルのリチウムエノラートのエナンチオ選択的プロトン化反応	18
第 2 節	キラルプロトン化剤によるエノラートのエナンチオ選択的プロトン化反応の考察	23

第 4 章 酵素によるエノールアセテートのエナンチオ選択的プロトン化反応

第 1 節 酵素を利用したエナンチオ選択的プロトン化反応 25

第 2 節 Lipase PS を用いたエノールアセテートのエナンチオ選択的プロトン化反応 26

第 3 節 酵素によるエナンチオ選択的プロトン化反応の考察 29

第 5 章 結論 33

第 6 章 実験の部 35

参考文献 52

謝辞 54

第 1 章 緒論

第 1 節 光学活性化合物と不斉合成

多くの有機化合物、特に天然化合物は不斉炭素原子を持っているものが多い。この立体化学の違いにより化合物の性質が異なるものになってしまうものが多い。身近な例として、うまみ成分として知られているグルタミン酸ナトリウムが挙げられる。L体はうまみを示すが、D体は苦味を示す (Figure 1-1)。

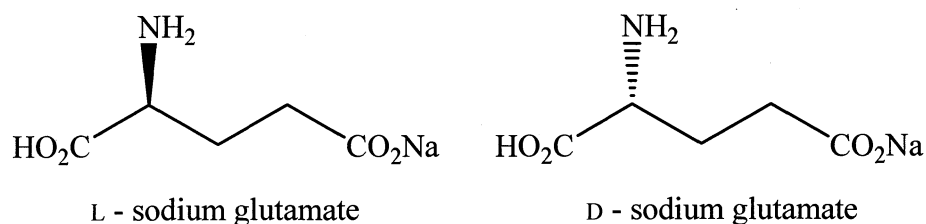


Figure 1-1

また、薬剤ではパーキンソン病の患者に投与されているドーパが挙げられる。L体は神経機能回復に効果があるいっぽう、D体は薬効を示さないばかりか毒性を持つ (Figure 1-2)。また、鎮静剤であるサリドマイドは、R体では鎮静作用を示すものの、S体では催奇形性を引き起こす。特に、妊婦がラセミ体でこの薬剤を服用したことにより、多数の新生児に重大な障害を引き起こしてしまった。しかし、それぞれのエナンチオマーがエノール化によりラセミ化しうることがわかり (Figure 1-3)、医薬品としては光学活性体を用いるようになった¹⁾。

選択的方法とエナンチオ選択的方法に分けられる。ジアステレオ選択的方法ではすでに不斉要素を持っている化合物に対して行う反応である。いっぽう、エナンチオ選択的方法は不斉要素を持たない化合物に対して行う反応であり、2001年にノーベル化学賞受賞した野依教授らの研究はエナンチオ選択的方法による不斉配位子を有する不斉水素化反応が挙げられる^{3), 4)}。この研究はDINAPやBINAP/金属錯体を触媒とする不斉合成法を報告している。これらのロジウム、ルテニウムといった金属との錯体は幅広い基質と反応し、かつ、立体選択性を得ることのできる優れた触媒である (Figure 1-4)。この技術は工業的な (-)-メントールの合成に用いられている⁵⁾。

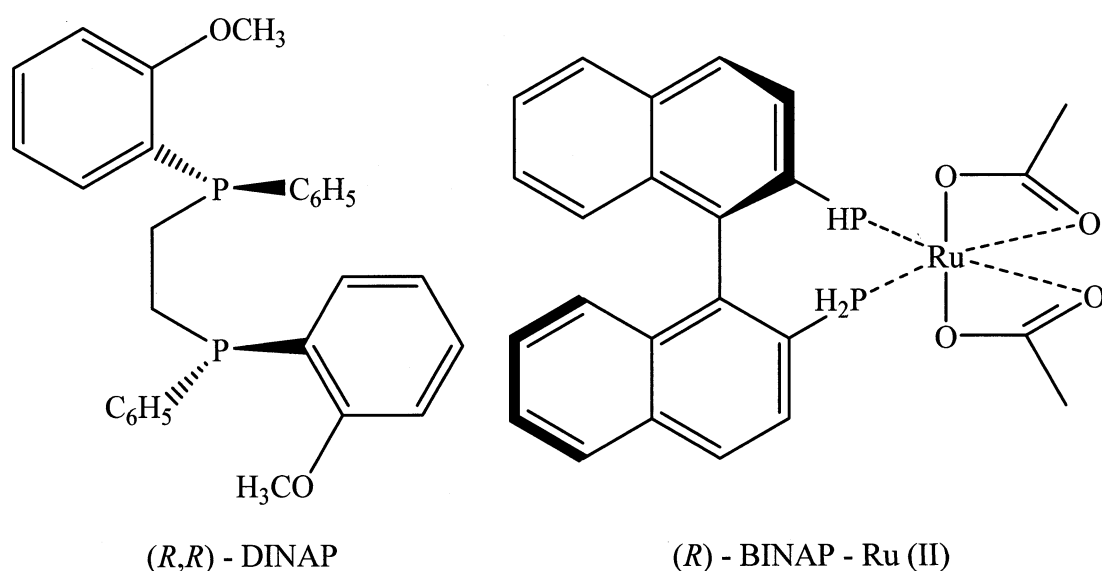
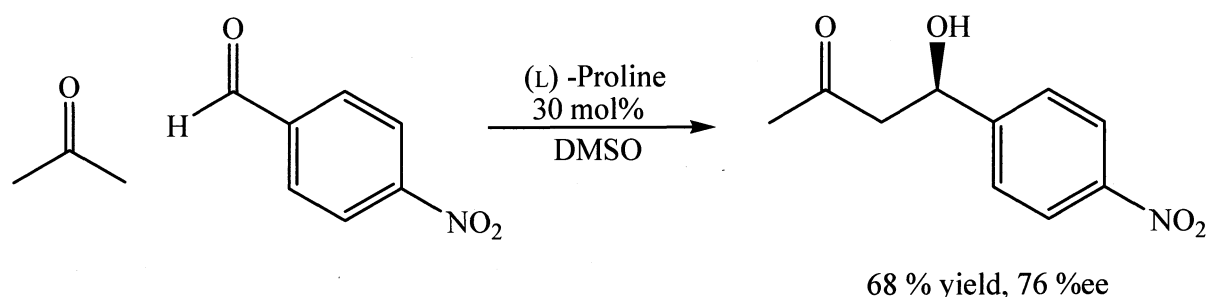


Figure1-4

しかし、このような手法は高い不斉収率を示し、様々な光学化合物の合成に応用できるといった利点を持つが、その反応は禁水・低温といった厳しい反応条件下で行われ、また重金属触媒などを用いることが多く環境負荷が大きいといった問題点がある。

そこで、2000年、MacMillan⁶⁾は金属元素を含まない2級アミンを触媒とするディールス・アルダー反応を報告し (MacMillan 触媒)、有機分子

触媒の概念を提唱した。また、アミノ酸の一種であるプロリンを触媒にした不斉ロビンソン環化⁷⁾が報告されていたが、2000年に List ら⁸⁾はプロリンを触媒とした不斉アルドール反応を報告した。この反応では、単にケトンとアルデヒド、触媒量のプロリンを DMSO 中で攪拌するという極めて単純な操作により、高収率・高エナンチオ選択的に目的のアルドール付加体を与えるものであった (Scheme 1-1)。



Scheme 1-1

これにより、プロリン触媒をはじめとした有機分子触媒に対する注目が高まった。有機分子触媒はそれまで用いられてきた金属含有触媒に比べて一般に安価であり、廃棄物の毒性が低いなど環境負荷が小さいと見られるものが多く、グリーンケミストリーの観点から高い有用性が期待されている。

第 2 節 芳香族脂肪酸系抗炎症剤¹⁾

酸性抗炎症薬には、化学構造の特徴からステロイド性抗炎症薬とそれ以外の非ステロイド性抗炎症薬 (Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs ; NSAID) に大別される。後者はさらにその化学的性質から酸性と非酸性に分類される。これらのうち、臨床的に最も繁用され、製品化された化合物が最も多いのが非ステロイド性酸性抗炎症薬である。

その中で、芳香族脂肪酸系の酸性抗炎症薬はベンゼン環に代表される芳香族部分と低級脂肪酸からなる化合物群で、脂肪酸部分の構造から酢酸系とプロピオン酸系に分けられることが多い。代表的なものを挙げると、酢酸系ではインドメタシン、プロピオン酸系ではイブプロフェンなどがある (Figure 1-5)。1963年にインドメタシンが発表されたのを皮切りにこの系統に属する化合物が続々と発表され、現在でも需要の高い抗炎症薬である。

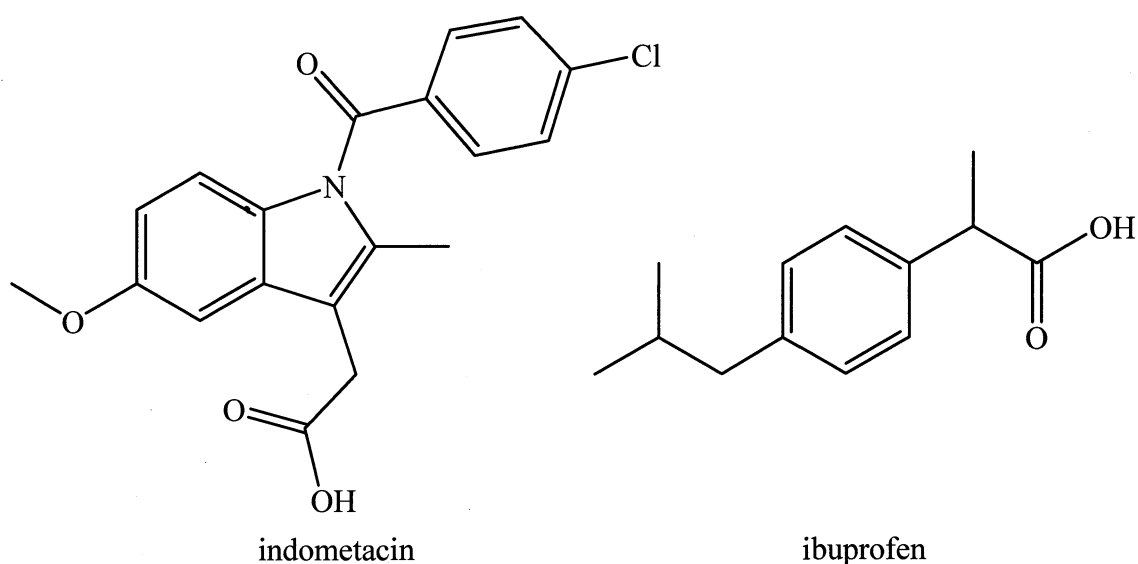
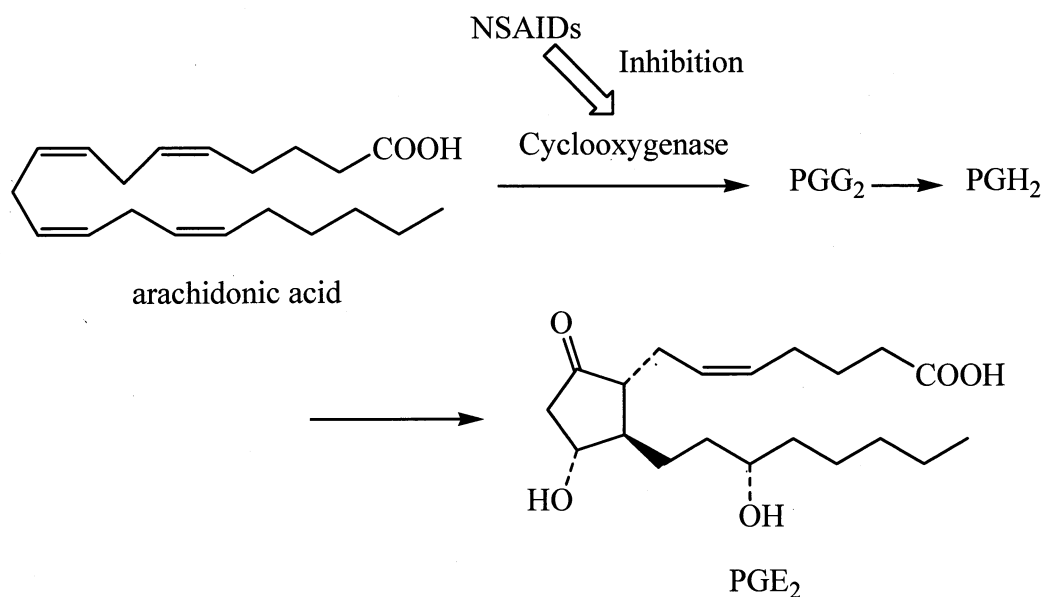


Figure 1-5

これらの化合物の作用機序は、薬剤がプロスタグランジン生成における最も上流のシクロオキシゲナーゼ (COX) を可逆的に拮抗阻害し、ア

アラキドン酸からプロスタグランジン E₂ の生成を抑制することである (Scheme 1-2)。プロスタグランジン E₂ はヒスタミンなどによる血管透過性の亢進あるいは疼痛反応を増強させるほか、血管を拡張あるいは収縮させる働きを持っている。



Scheme 1-2

酸性抗炎症薬によってプロスタグランジンの産生が抑制されるために炎症作用が抑制されるが、同時に胃腸粘膜障害や腎機能障害が起こってしまう。これらは2種類のシクロオキシゲナーゼ (COX-1, COX-2) を阻害してしまうために起こってしまう不可避な副作用と考えられていた。COX-1は、ほぼすべての細胞で発現し、胃腸粘膜保護などの働きを持つ。いっぽう、COX-2は、炎症組織において発現されるプロスタグランジン誘導酵素である。そのため、近年ではCOX-2を選択的に阻害する薬剤の研究が行われている。

これまで芳香族脂肪酸系の化合物が合成され、構造活性相関的な考察が行われているが、全体を通して成立する構造活性相関のルールを以下に挙げる。

- 1) 側鎖にはカルボン酸が必須である。生体内で代謝されてカルボン

酸になることが期待される CH_2OH , CHO , CH_2NH_2 では活性低下が著しい。

- 2) 芳香環の性質により、その芳香環に導入される置換基の活性に及ぼす影響が異なり、Cl, F の導入で活性が増大することが多い。
- 3) プロピオン酸系化合物では、側鎖 α 位の炭素原子が $S (+)$ の配位を有するものが活性型である。

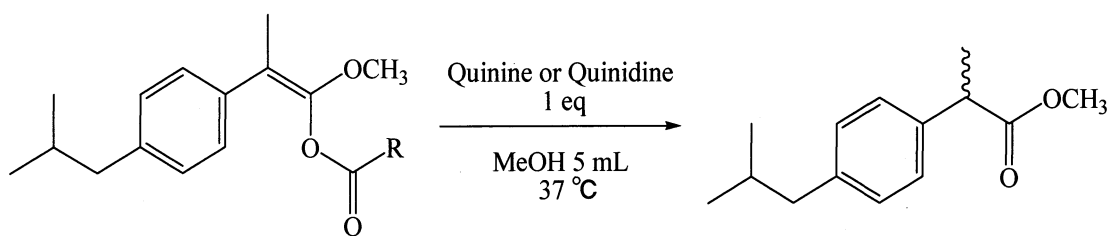
特にプロピオン酸系化合物の立体配置では、3) のようであるが、 R 体のものである、抗炎症作用より副作用である消化性潰瘍形成を優先的に引き起こす場合がある。プロピオン酸系抗炎症剤の中にはラセミ体で服用しても体内の酵素の働きにより S 体に異性化されるものもあるが、服用する上では、 S 体のみを服用しなければならないものもある。

第 3 節 本研究の目的

これまで当研究室では、 α 位に不斉中心を持つ 2-アリールプロピオン酸系抗炎症剤のエノールアセテートを基質として生体触媒である酵素、特に、加水分解酵素の一種であるリパーゼを用い、有機溶媒中における酵素反応を検討したが、反応が進行しなかった。これは、基質のアリール基などの立体障害のために酵素に取り込まれなかったと考えられた⁹⁾。

いっぽう、アルカロイドの一種であるキニンやキニジン在不斉源として用い、加溶媒分解を伴った不斉誘導反応はわずかながらではあったがエナンチオ選択性が見られた^{9), 10)} (Table 1-1)。

Table 1-1. Enantioselective solvolysis with cinchona alkaloid ^{9), 10)}.



R	Reaction time (days)	Conversion (%) ^{a)}	Chiral Base	Enantiomeric excess ^{b)} (%ee)
CH ₂ Cl	6	100	Quinine	3 (<i>R</i>)
CH ₂ Cl	6	100	Quinidine	2 (<i>S</i>)
CF ₃	6	100	Quinine	4 (<i>R</i>)
CF ₃	6	100	Quinidine	2 (<i>S</i>)

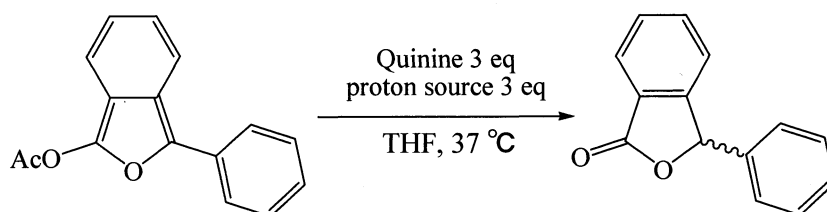
^{a)} Estimated by TLC (R = CH₂Cl: *n*-Hex/EtOAc = 4/1, R = CF₃: Benzene, UV at 254 nm)

^{b)} Determined by optical rotation

これはプロトン源となる溶媒、基質、キラル源の3者が接近して反応を行うとするならば、その位置関係に比較的とりやすい配置があり、そしてその配置は溶媒であるアルコールの構造によって左右され、エナンチオ選択性が得られると考えられた。

また、加藤¹¹⁾はこのようなエナンチオ選択的プロトン化反応のほかに、新規不斉合成反応の探索として、不斉中心を α 位から γ 位に移し、 α - β 間二重結合を持つ共役ジエンのエノールアセテートを合成し、脱アシル化、その後に電子が二重結合を伝わり、それに伴ったプロトン化を期待した遠隔不斉プロトン化反応を検討した。はじめに、リパーゼを用いた反応を試みたが、反応は進行したものの、基質の不安定な性質により、望むべく生成物を得ることができなかった。しかし、3-phenylphthalideの共役ジエンエノールアセテート体を基質として用いた場合、以下の反応条件によりエナンチオ選択性が得られた (**Table 1-2**)。

Table 1-2. Remote enantioselective protonation of 3-phenylphthalide ¹¹⁾.

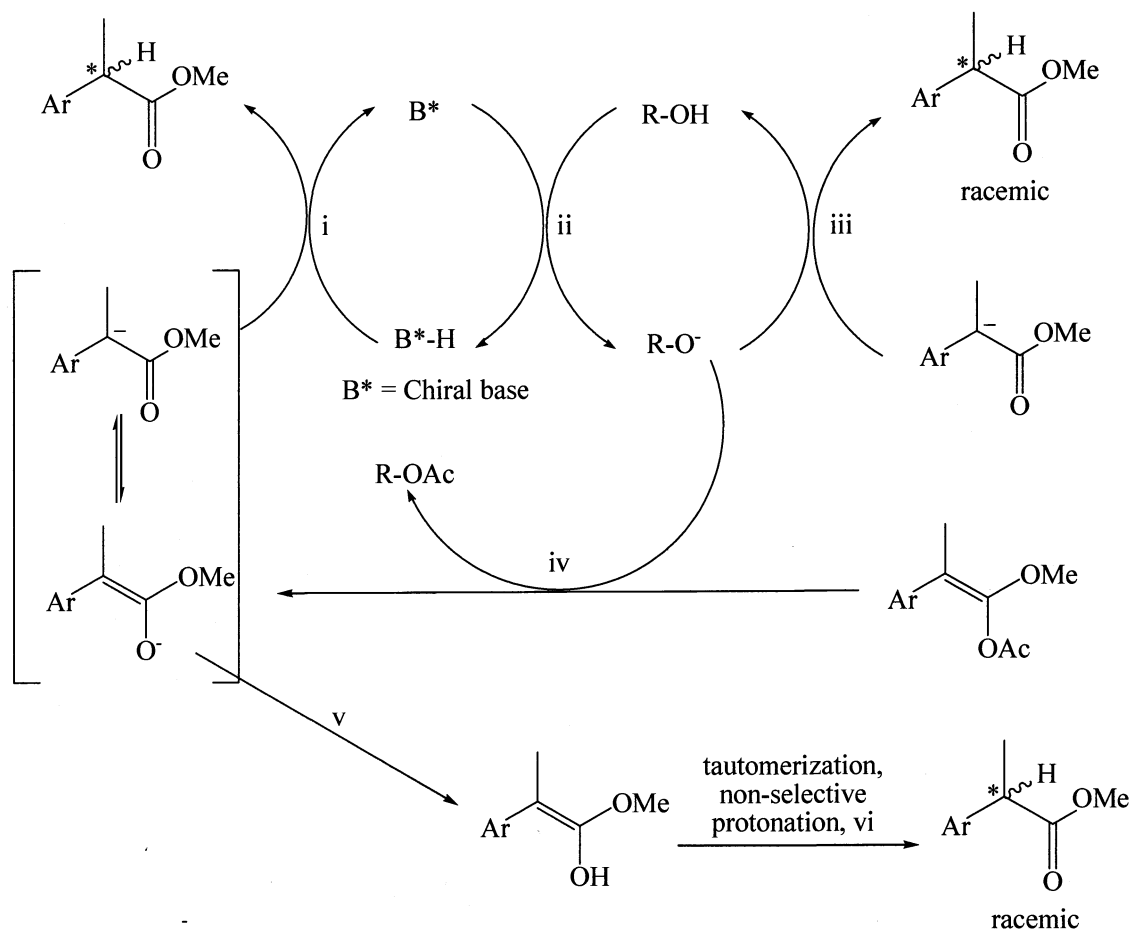


proton source	Reaction time (days)	Conversion (%) ^{a)}	Enantiomeric excess (% ee) ^{b)}
2-PrOH	7	30	14 (<i>R</i>)
<i>t</i> -BuOH	7	30	11 (<i>R</i>)
2,6-di- <i>t</i> -butylphenol	7	30	10 (<i>R</i>)

a) Detected by TLC (*n*-Hex/EtOAc = 5/1, UV at 254 nm)

b) Determined by HPLC analysis with chiral column (CHIRALCEL OJ-RH (Daicel), 4.6 mm I.D. x 150 mm Length, 5 μm, Mobile phase : MeCN/H₂O = 40/60, Flow rate : 0.5 mL/min, Column Temp. : 35 °C, Detection : UV at 270 nm, Injection volume: 5 μL)

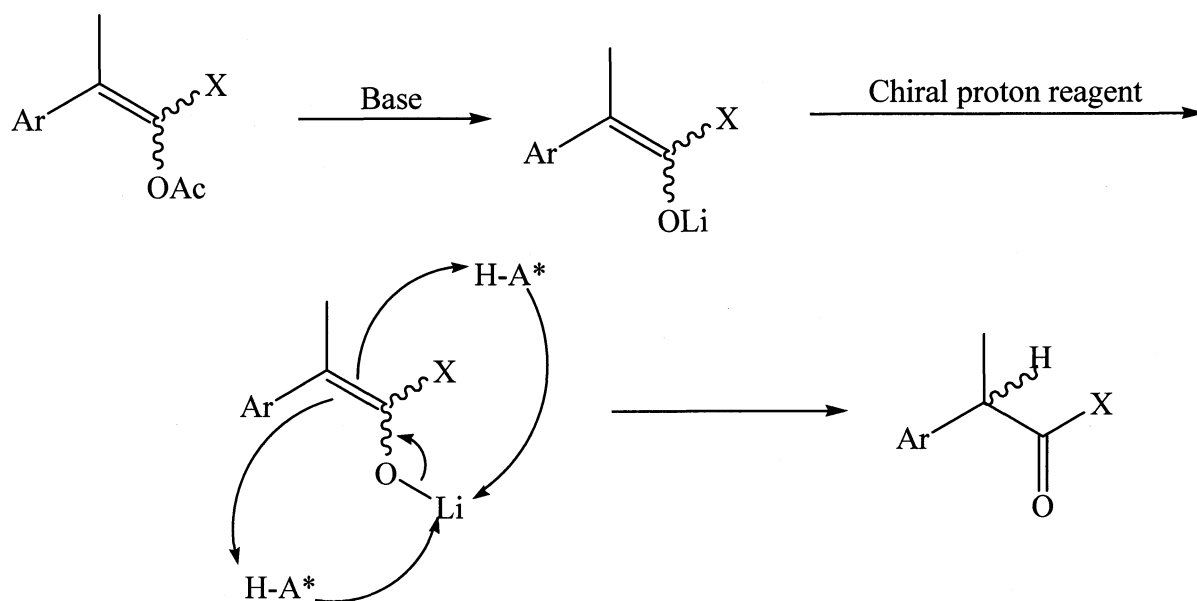
これらのアルカロイドを用いたエナンチオ選択的プロトン化反応の推定の反応機構の概略を **Scheme 1-3** に示した。この反応では、アルカロイドとアルコールのプロトンとの複合体が形成し (ii)、残りのアルコキシドイオンによる脱アセチル化が起こり (iv)、そして、キノンの水酸基によるプロトン化により面選択的なプロトン化 (C-プロトン化) が起こると考えられていた (i)。しかし、結果として、立体選択性が十分に高いといえない結果となった。この原因として、本来望むべき反応、すなわち、アルカロイドからのプロトン化のほかに、アキラルなプロトン源 (アルコール) からのプロトン化も起こってしまう可能性がある (i vs. iii)。このようなことが起こるのであれば、生成物のラセミ体が生成してしまう。また、プロトンがプロキラルな炭素原子に直接プロトン化されていないことも考えられる。エノラートの酸素原子上にプロトン化 (O-プロトン化) してエノールが生成した段階で基質が反応系から出ていき (v)、ケト-エノール互変異性により、非選択的なプロトン移動により炭素原子上にプロトン化し (vi)、結果として、ラセミ体の生成物となることも考えられる。



Scheme 1-3

本研究では、プロキラルなエノールアセテート体を基質として合成し、それをキラルプロトン化剤によるエナンチオ選択的プロトン化反応を進行させるような条件を探索することを目的とした。この反応を行うにあたり、以下の二つの反応系から検討することにした。

一つは、リチウムエノラートからのキラルプロトン化剤によるエナンチオ選択的プロトン化反応である。リチウムエノラートを基質とするエナンチオ選択的プロトン化反応は、求核性を持つ塩基であるアルキルリチウムによる脱アシル化によりリチウムエノラートを反応容器内で調製する。そこへキラルプロトン化剤によるエナンチオ選択的なプロトン化反応を行うことにより、リチウムイオンが脱離する際に、キラルな環境下で面選択的なプロトン化反応を期待する反応である (**Scheme 1-4**)。



Scheme 1-4

もう一つは酵素を利用したエナンチオ選択的プロトン化反応である。酵素のような生体触媒反応の特徴は、常温・常圧・中性条件といった温和な条件で進行し、有害な金属、強酸、強塩基を必要としないことである。その中でも最大の特徴は立体、位置、官能基特異性といった選択性である。光学活性化合物の合成において、立体選択性は言うまでもないが、位置特異性や官能基特異性を持つということは官能基の保護・脱保護というプロセスを省略できるという多段階合成のプロセスの簡略化につながる。酵素は高い基質、位置、官能基特異性を持ち、ラセミ体の速度論的光学分割に多く用いられている。本研究では、これらの酵素の特徴を利用した不斉合成法により、基質から脱アセチル化に伴ったプロトン化反応により光学活性な化合物を選択的に得る方法を探索することにした。

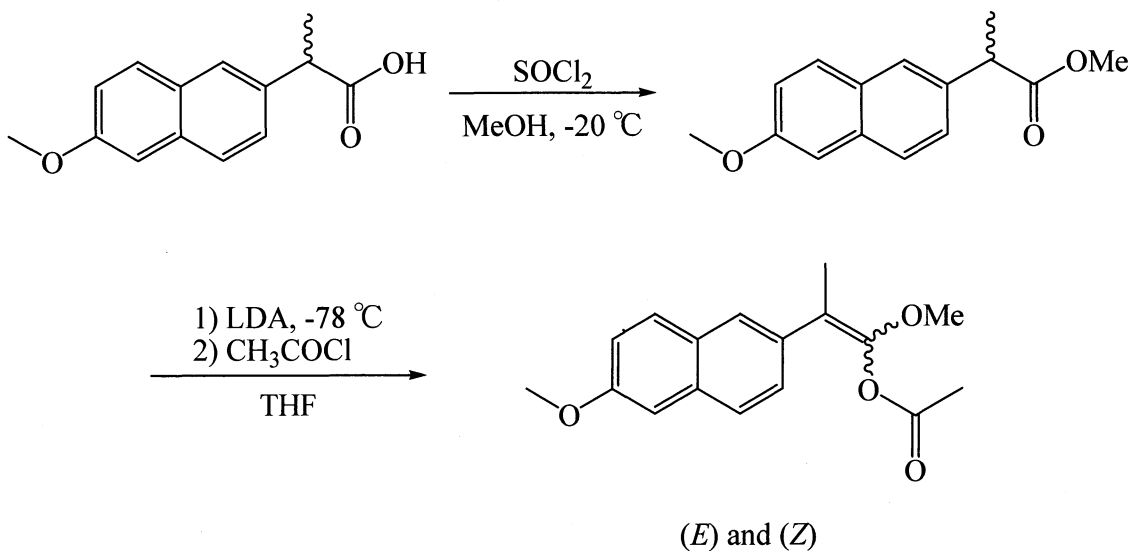
第 2 章 基質となる エノールアセテート誘導体の合成

第 1 節 ナプロキセンメチルエステルのエノールアセテート 誘導体の合成計画

はじめに、2-アリールプロピオン酸系抗炎症剤の中から、本研究では、2-(6-Methoxynaphthyl)propionic acid (ナプロキセン、1) の誘導体を合成することにした。当研究室において、この種類の薬剤のエノールアセテート誘導体の合成に成功しているため⁸⁾、同様の方法を用いて合成することにした。

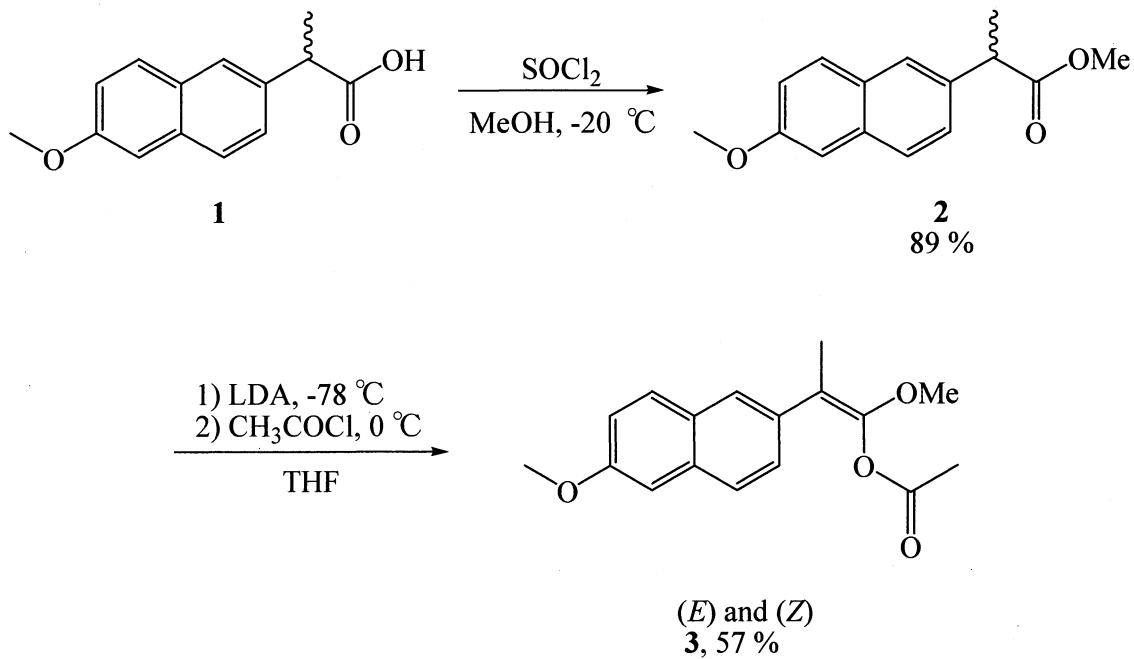
薬剤をメタノール溶媒にて、塩化チオニルを用いて 1 位のカルボキシル基をメチル化したメチルエステルを合成する。つづいて、リチウムジイソプロピルアミド (LDA) を用いて低温条件下において α 位のプロトン脱離し、リチウムが配位したリチウムエノラートを調製する。そこへ塩化アセチルを加え、エノールアセテートを合成する (Scheme 2-1)。

この LDA は、強力な塩基であり脱プロトン化のために一般的に用いられるものである。低温条件下で反応を行うことで速度論的な支配を受けながら不安定な化合物への脱プロトン化を行うことができる¹²⁾。



Scheme 2-1

第 2 節 ナプロキセンメチルエステルのエノールアセテート誘導体の合成



Scheme 2-2

Scheme 2-2 に示したように **1** から **2** を収率 89 % で得た。さらに、**2** から **3** を収率 57 % で合成した。また、NOESY を測定した結果、化合物 **3** の *E* 体と *Z* 体の 2 種類の異性体の存在が確認された (**Figure 2-1**)。しかし、それぞれの異性体の割合の決定や単離はできなかった。

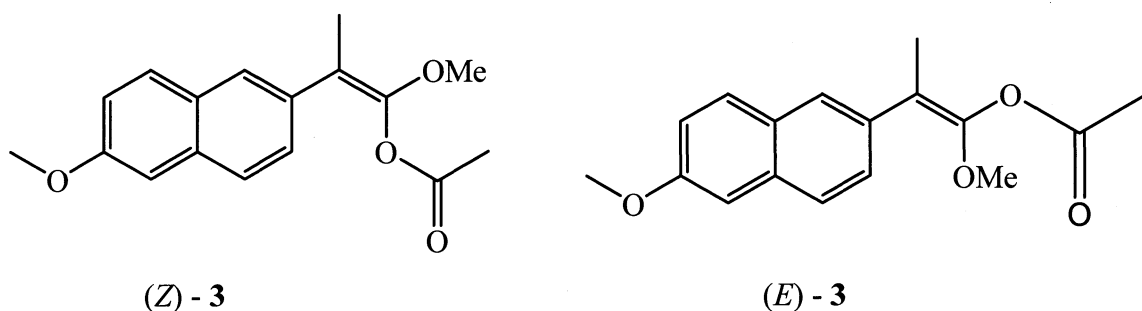
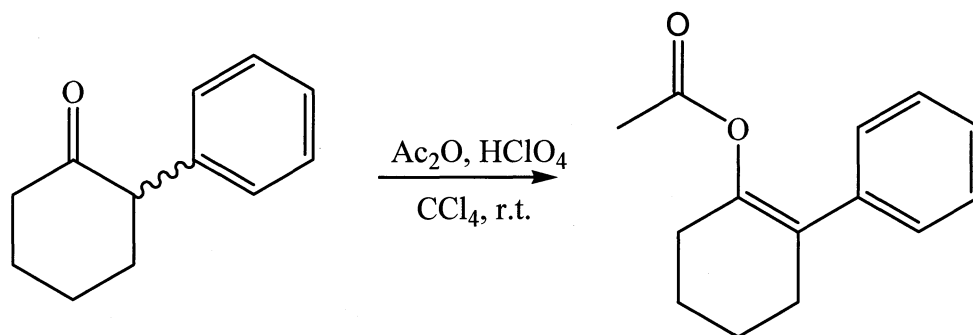


Figure 2-1

第 3 節 2-フェニルシクロヘキサノン誘導体の合成計画

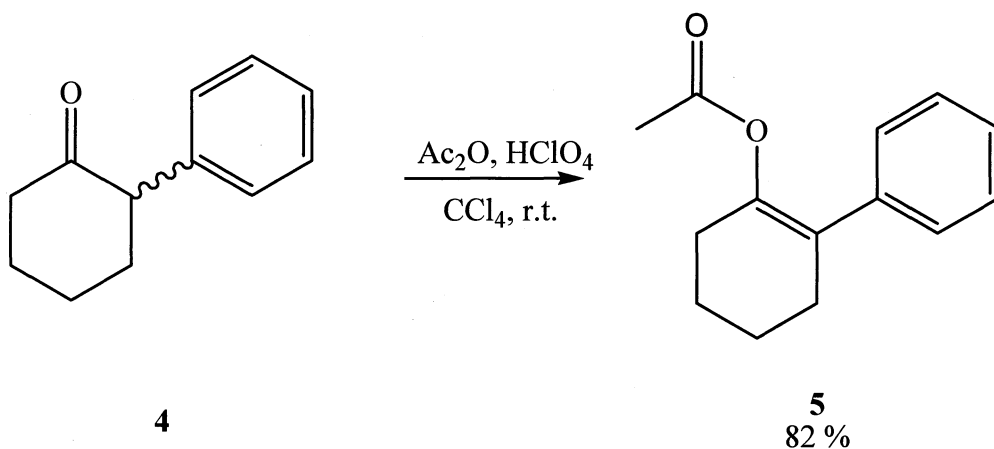
酵素による不斉プロトン化反応を行うための基質として環状ケトンである 2-フェニルシクロヘキサノン誘導体を合成することにする。この化合物は 2 位にフェニル基を有し、アリアルプロピオン酸類と同様にカルボニル基の α 位に不斉中心を持つ。これを酵素系の不斉プロトン化反応のモデル基質として、エノールアセテート誘導体を合成することを計画する。

House ら¹³⁾の方法を用いてエノールアセテートに変換する。これは四塩化炭素溶媒中で無水酢酸と触媒と触媒量の 70 % 過塩素酸を加えてエノールアセテートを合成する方法である (**Scheme 2-3**)。



Scheme 2-3

第 4 節 2-フェニルシクロヘキサノン誘導体の合成



Scheme 2-4

Scheme 2-4 に示したように、**4** から **5** を収率 82% で合成した。また、この際に、6 位のプロトンが脱離した **5'** も生成しうると考えられるが (Figure 2-2)、 $^1\text{H-NMR}$ により、2 位のプロトンが脱離した **5** の生成が確認された。

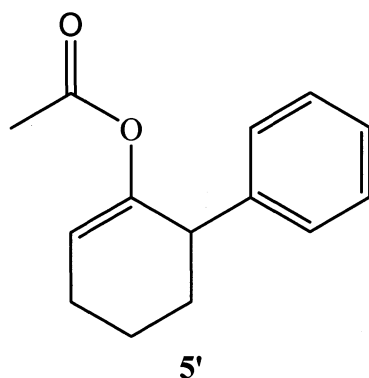
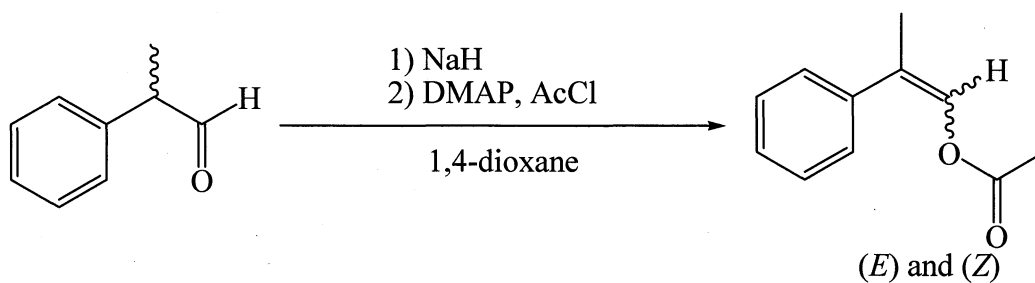


Figure 2-2

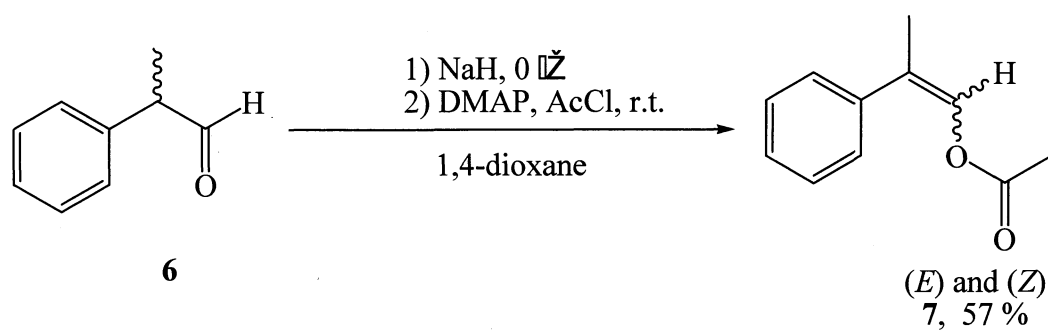
第 5 節 2-フェニルプロピオンアルデヒド誘導体の合成計画

シクロヘキサノン誘導体と同様に、酵素によるエナンチオ選択的プロトン化反応の基質として、アリアルプロピオン酸系薬剤誘導体のメチルエステル部分を除いたアルデヒドを用い、エノールアセテートを合成することを計画した。原料として、2-フェニルプロピオンアルデヒドを用い、CHANG¹⁴⁾の方法を用い、エノールアセテートを合成することを計画した (Scheme 2-5)。これは、水素化ナトリウムを脱プロトン化剤として用い、フェニルアルデヒドからナトリウムエノラート中間体を調製する。そこへ触媒量の 4-ジメチルアミノピリジン (DMAP) と塩化アセチルの混合溶液を加えることでエノールアセテートを合成する方法である。



Scheme 2-5

第 6 節 2-フェニルプロピオンアルデヒド誘導体の合成



Scheme 2-6

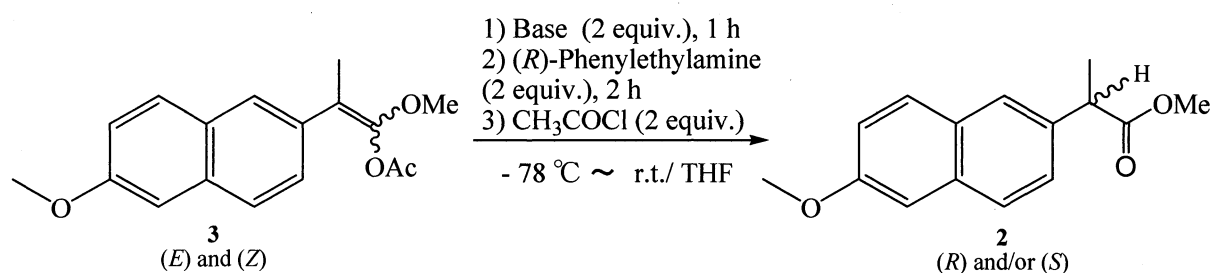
Scheme 2-6 に示したように、**6** から **7** を収率 57% で合成した。また、NOESY を測定した結果、**3** と同様に *E* 体と *Z* 体の両方の異性体の存在が確認された。

第3章 リチウムエノラートの エナンチオ選択的プロトン化反応

第1節 ナプロキセンメチルエステルのリチウムエノラートの エナンチオ選択的プロトン化反応

はじめに、強塩基であり、かつ、求核性を有し、脱アセチル化反応を起こす有機リチウム試薬の選択を行うために、以下の4種類の試薬を用いたときの反応進行度とエナンチオ選択性の比較を行った (Table 3-1)。

Table 3-1. The effect of bases in enantioselective protonation of **3**.



Entry	Base	yield (%) ^{a)}	ee (%) ^{b)}
1	MeLi	65	4 (<i>R</i>)
2	MeLi/LiBr	75	3 (<i>R</i>)
3	<i>n</i> -BuLi	61	3 (<i>R</i>)
4	<i>sec</i> -BuLi	22	3 (<i>R</i>)

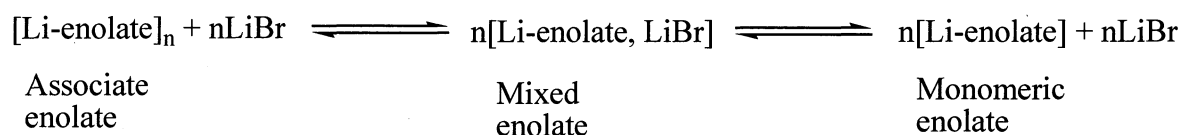
a) Isolated yield.

b) Determined by chiral HPLC.

反応進行度を TLC (*n*-Hex/EtOAc = 4/1) で追跡した。その結果、どの反応も室温で攪拌してから2時間後に反応が停止していることがわかった。また、ブチルリチウムと比べて、メチルリチウムを用いた場合、収率が高くなった。これは、エノラート形成において、アルキル基の立体障害やよるものと考えられた。しかし、エナンチオ選択性を比較した場合、どれも差が見られなかった。また、エナンチオ選択性はあまり見ら

れなかった。

また、リチウムエノラートを形成する際に、アルキルリチウムの場合、エノラートが凝集体を形成する。しかし、リチウム塩やリチウムアルコキシドを添加することで、凝集を妨げることができる^{15), 16)} (**Scheme 3-1**)。この働きを利用して、プロトン化反応の進行度、および、エナンチオ選択性が向上するのではないかと考え、メチルリチウム・臭化リチウム複合体を用いた。

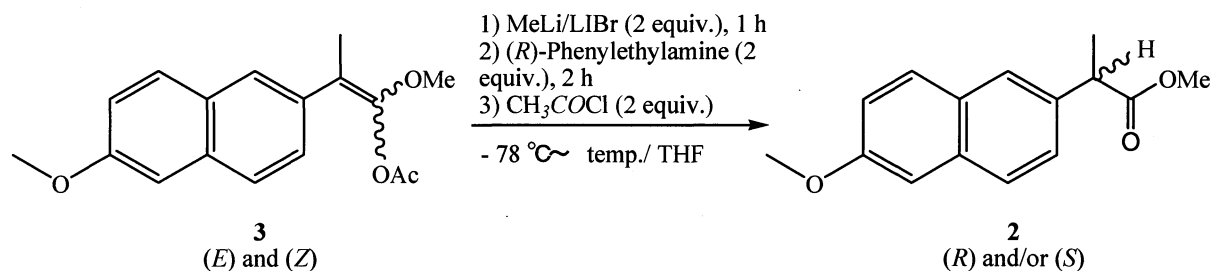


Scheme 3-1. The effect of lithium bromide¹⁵⁾.

その結果、他の塩基と比べて収率は高かったが、エナンチオ選択性に変化は見られなかった。

次に、キラルプロトン化剤によるプロトン化反応での反応温度の比較を行った。一般に、プロトン化反応は低温で行われるため、ここではエノラートを調製した -78°C の状態から、室温、 0°C 、 -20°C 、 -40°C へとそれぞれ反応温度を変化した場合のプロトン化反応を行った。また、 -78°C のままでもプロトン化反応を行い、これらの反応進行度とエナンチオ選択性の比較を行った (**Table 3-2**)。

Table 3-2. The effect of temperature in enantioselective protonation of **3**.



Entry	Temp. (°C)	yield (%) ^{a)}	ee (%) ^{b)}
1	0	68	4 (<i>R</i>)
2	-20	64	5 (<i>R</i>)
3	-40	57	2 (<i>R</i>)
4	-78	28	4 (<i>R</i>)

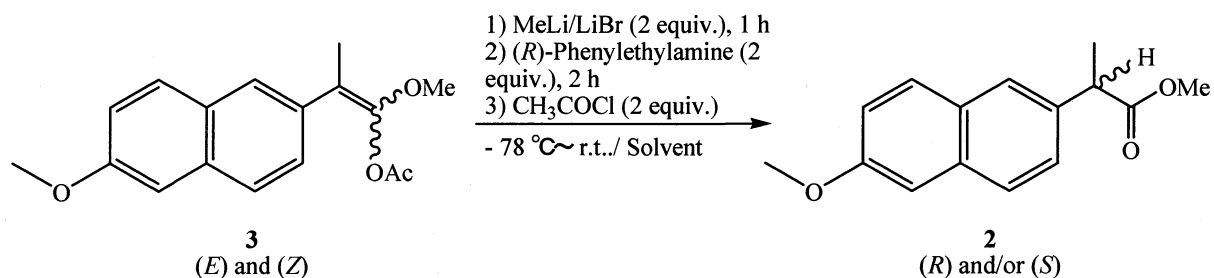
a) Isolated yield.

b) Determined by chiral HPLC.

その結果、アミン添加後のプロトン化反応での反応温度が高いほど収率が高くなった。しかし、エナンチオ選択性にはほとんど差が見られなかった。また、どの反応においてもあまりエナンチオ選択性が見られなかった。

次に、反応溶媒の検討を行った。これまではテトラヒドロフランを用いていたが、テトラヒドロフランとアルキルリチウムは溶媒和により凝集反応を起こしてしまう¹⁶⁾。そのため、テトラヒドロフランに代わる反応溶媒の検討を行い、反応進行度、および、エナンチオ選択性を比較した (Table 3-3)。

Table 3-3. The effect of solvents in enantioselective protonation of **3**.



Entry	Solvent	yield (%) ^{a)}	ee (%) ^{b)}
1	CH ₂ Cl ₂	60	2 (R)
2	Toluene	91	2 (R)
3	<i>i</i> Pr ₂ O	38	<1
4	MeCN	25	<1

a) Isolated yield.

b) Determined by chiral HPLC.

その結果、溶媒にトルエンを用いた場合が最も反応が進行した。また、ジクロロメタンでも中程度の反応が進行した。いっぽう、ジイソプロピルエーテルやアセトニトリルを用いた場合、反応がほとんど進行しなかった。しかし、どの溶媒を用いた場合でもあまりエナンチオ選択性が見られなかった。

次に、Table 3-1 から Table 3-3 の結果を踏まえた上で、エナンチオ選択的プロトン化反応におけるキラルプロトン化剤のスクリーニングを行った (Table 3-4)。

なお、以下の化合物をキラルプロトン化剤として用いた (Figure 3-1)。

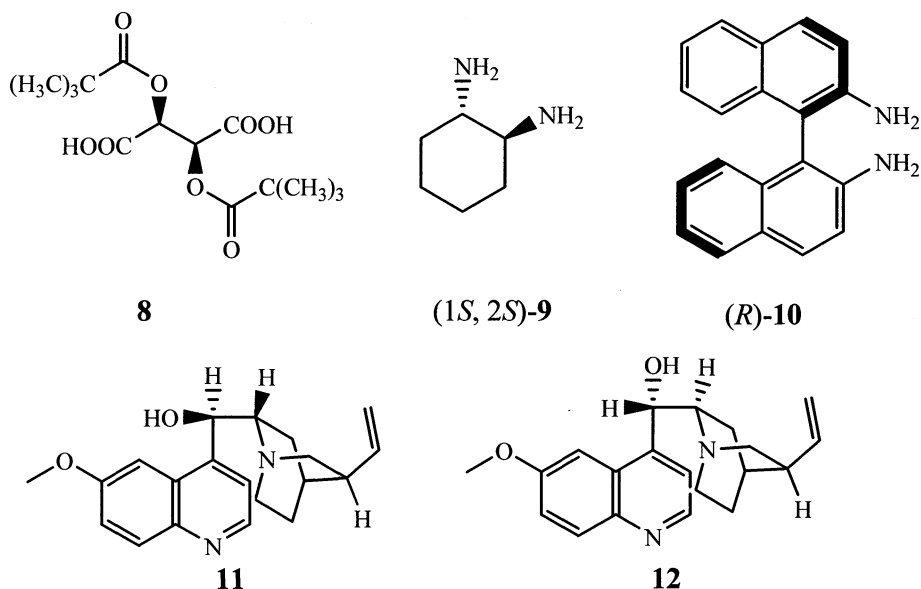
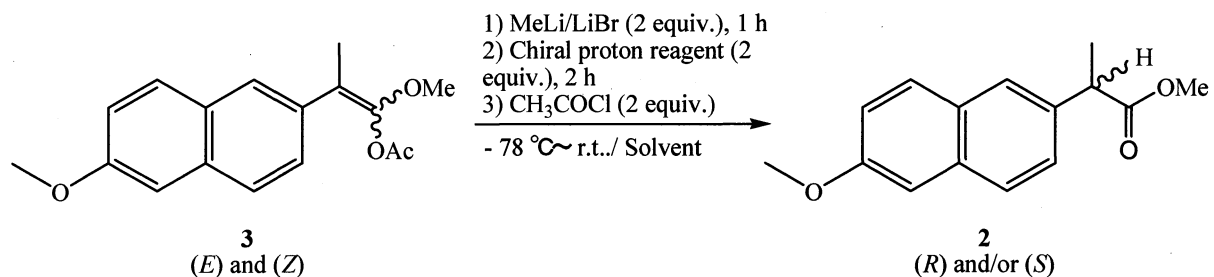


Figure 3-1

Table 3-4. The effect of chiral proton reagents in enantioselective protonation of 3.



Entry	Solvent	Chiral reagent	yield (%) ^{a)}	ee (%) ^{b)}
1	THF	8	74	6 (<i>R</i>)
2	THF	(1 <i>R</i> , 2 <i>R</i>)- 9	44	4 (<i>R</i>)
3	Toluene	(1 <i>S</i> , 2 <i>S</i>)- 9 *	95	< 1
4	Toluene	(1 <i>R</i> , 2 <i>R</i>)- 9 *	73	2 (<i>R</i>)
5	Toluene	(<i>R</i>)- 10 *	23	4 (<i>R</i>)
6	Toluene	(<i>S</i>)- 10 *	57	4 (<i>S</i>)
7	Toluene	11 *	83	2 (<i>S</i>)
8	Toluene	12 *	50	2 (<i>R</i>)

a) Isolated yield.

b) Estimated by chiral HPLC.

* : solved in CH₂Cl₂.

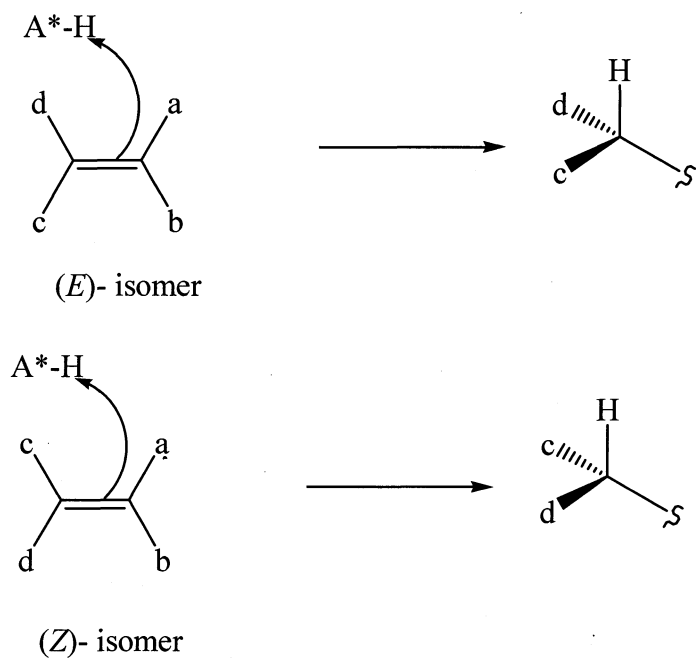
Duhamel ら¹⁸⁾は、酒石酸誘導体 (**8**)によるエノラートのエナンチオ選択的プロトン化反応を報告しており、本研究でも同様の手法により反応

を行った結果、わずかながらのエナンチオ選択性が認められた (Table 3-4, Entry 1)。また、軸不斉を持つビナフチルジアミン ((*R*)-**10** and (*S*)-**10**) や、ジアステレオマーの関係にあるキニン (**12**) とキニジン (**13**) において、わずかなエナンチオ選択性しか見られなかったが、優先して生成する立体配置が逆転するという結果が得られた (Table 3-4, Entries 5-8)。

第 2 節 キラルプロトン化剤によるエノラートのエナンチオ選択的プロトン化反応の考察

エノールアセテートを基質とした加溶媒分解に伴ったエナンチオ選択的プロトン化反応に代わる反応としてリチウムエノレートからのキラルプロトン化剤によるエナンチオ選択的プロトン化反応の探索を行ったが、エステルのエノールアセテートに対する適当なキラルプロトン化剤を見出すことはできなかった。また、シクロヘキサンジアミンや酒石酸といったジアステレオマー化合物やビナフチルジアミンといった軸不斉の化合物を用いた場合でも、エナンチオ選択性が見られなかった。この原因として、キラルプロトン化剤が基質に対してキラリティーを与える環境が弱かったと考えられた。エナンチオ選択性を得るために、これらを出発物質とした誘導体を合成し、それをプロトン化剤やキラルなリガンドとして用いることで、リチウムエノレートにエナンチオ選択性を与える挙動を示す可能性があると考えられる¹⁷⁾。

いっぽう、基質の面から考察するならば、エノラートのそれぞれの異性体がエナンチオ選択的プロトン化反応の際に、別々のエナンチオマーを生成する場合は考えられる (Scheme 3-2)¹⁶⁾。



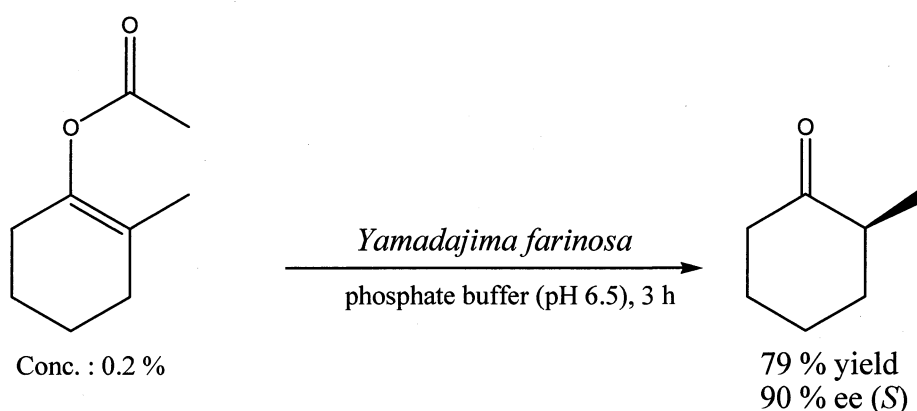
Scheme 3-2

第2章でも示したが、反応原料のナプロキセンメチルエステルのエノールアセテートには2種類の異性体の存在が示唆されたが、それぞれの異性体の割合は決定できなかった。それぞれの異性体の割合がほぼ等しく存在するのであれば、エナンチオ選択性が見られなくなることが考えられる。エノールアセテートの合成における反応溶媒の効果をLC/MSを用いて説明することが必要である。

第4章 酵素によるエノールアセテートの エナンチオ選択的プロトン化反応

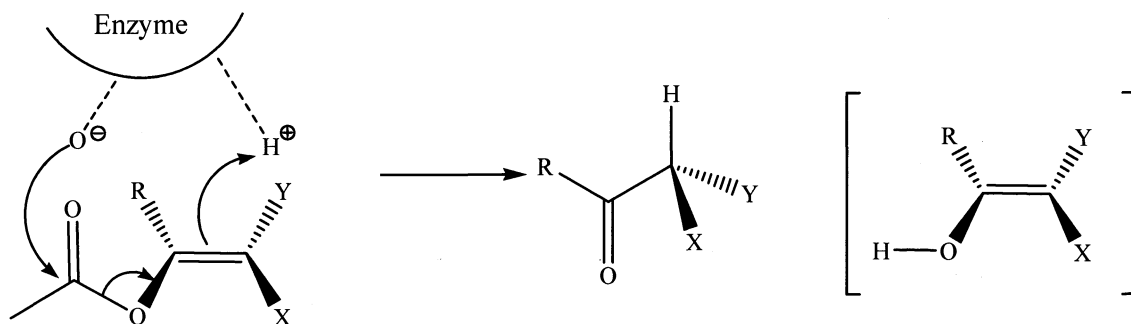
第1節 酵素を利用したエナンチオ選択的プロトン化反応

Ohta¹⁹⁾は、水系溶媒中における微生物を用いた脱アセチル化（加水分解）に伴ったエナンチオ選択的プロトン化反応を報告した（Scheme 4-1）。



Scheme 4-1

そこで、本研究ではこの報告を元に、リパーゼを中心とした酵素を用いたエナンチオ選択的プロトン化反応を計画した。酵素の触媒残基の一方がエノールアセテートに対する求核攻撃による脱アセチル化を触媒し、エノールアセテートが元のカルボニル化合物に戻る際に、エノールアセテートのプロキラル面の区別とともに、他方の触媒残基からβ位の炭素原子がプロトン化されることで、目的とする光学活性なカルボニル化合物を選択的に合成することを期待する反応である（Scheme 4-2）。プロトン化が酸素原子に起こり、エノールを形成する場合があるが、酵素系内におけるキラルな環境でのケト体への異性化を起こすのであれば、結果的に光学活性な化合物を得ることができる。

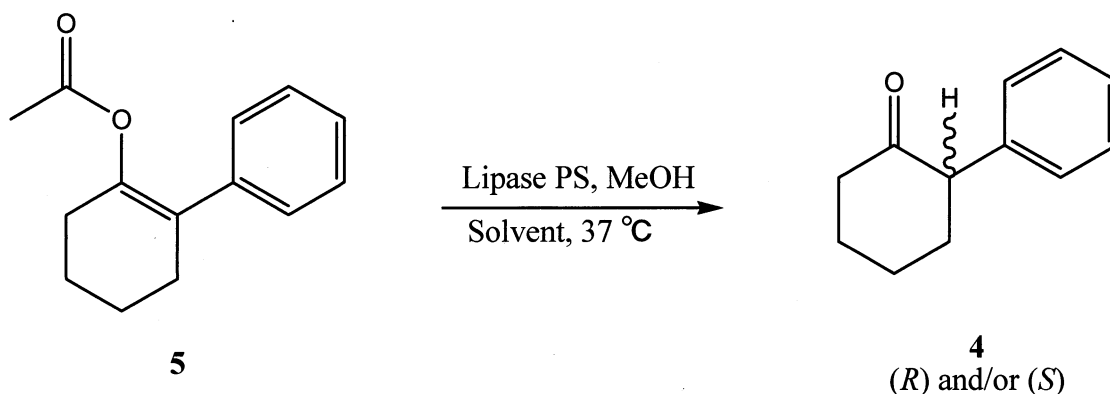


Scheme 4-2²⁰⁾

第 2 節 Lipase PS を用いたエノールアセテートのエナンチオ選択的プロトン化反応

Sakai ら²⁰⁾は 2-Methylcyclohexenyl acetate と多孔質セラミックスに固定化された Lipase PS-II を用いて不斉プロトン化反応を行った。様々な条件を検討した結果、プロトン源としてメタノールおよびエタノールを用いた場合、いずれも 0 °C で最も高い選択性を示した。また、Lipase PS-II とセライトで固定化された酵素を用いた場合とで比較すると、プロトン源として水を用いる条件下において、前者が後者に比べて反応速度が 6 倍以上速くなると報告している。この報告を元に、アマノエンザイムから市販されている *Burkholderia cepacia* 由来の Lipase PS を用いて有機溶媒中でのエノールアセテートとの酵素反応を行った。また、水系の溶媒を用い、酵素反応の重要なファクターである至適 pH も考慮に入れ、中性付近の緩衝能を持つ 0.1 M リン酸ナトリウム緩衝液 (pH 7.4) を用いて反応を行った (Table 4-1, Table 4-2)。

Table 4-1. Enantioselective hydrolysis by Lipase PS of **5**.



Entry	Solvent	Time(days)	Yield ^{a)}	ee (%) ^{b)}
1	<i>i</i> Pr ₂ O + MeOH (10 equiv.)	14	57	3 (<i>R</i>)
2	THF + MeOH (10 equiv.)	14	no reaction	-
3	MeOH	14	no reaction	-
4	0.1M NaPB (pH 7.4)	3	53	5(<i>R</i>)

a) Isolated yield.

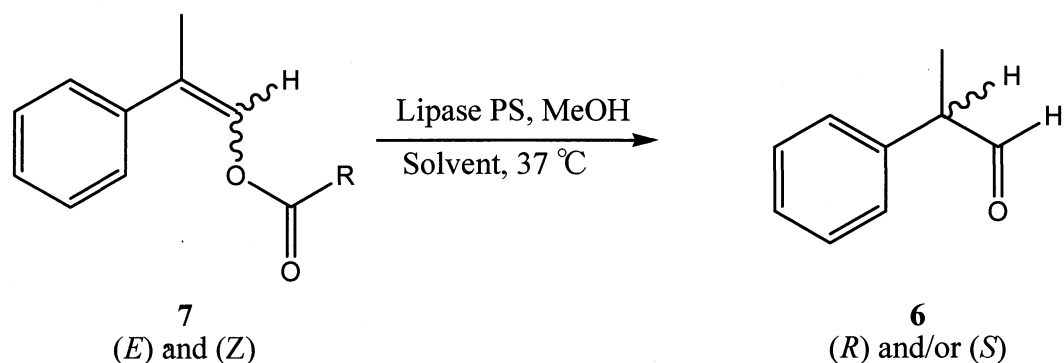
b) Determined by optical rotation by polarimeter.

反応の経過を TLC (*n*-Hex/EtOAc = 4/1) によって追跡した。その結果、**Table 4-1** に示したように、溶媒にジイソプロピルエーテルを用いた場合のみ 14 日間で反応が進行し、目的の化合物を 57% の収率で得ることができた。キラルカラムを用いた HPLC と比旋光度によりによるエナンチオマー過剰率および絶対配置を決定した。なお、絶対配置については

Tomizawa²¹⁾らの報告を元に決定した

((*S*)-2-Phenylcyclohexanone: $[\alpha]_D^{25} = -103.4^\circ$ *c* 0.32, CHCl₃)。いっぽう、THF やメタノールを溶媒に用いた場合では反応しなかった。

Table 4-2. Enantioselective hydrolysis by Lipase PS of 7.



Entry	Solvent	Time(days)	Yield (%) ^{a)}	ee (%) ^{b)}
1	<i>i</i> Pr ₂ O + MeOH (10 equiv.)	7	9	8 (R)
2	THF + MeOH (10 equiv.)	7	11	3 (R)
3	DMF + MeOH (10 equiv.)	7	no reaction	-
4	0.1 M NaPB (pH 7.4)	3	trace	-

a) Isolated yield.

b) Determined by optical rotation by polarimeter.

次に、7 を基質とした反応を試みた (Table 4-2)。反応の経過を TLC (*n*-Hex/EtOAc =4/1) によって追跡した結果、ジイソプロピルエーテルや THF を溶媒にした反応は 7 日間で進行し、目的の化合物それぞれ 9 %、11 %の収率で得ることができた。比旋光度によりエナンチオマー過剰率およびその絶対配置を決定した。なお、絶対配置については Corey²²⁾ の報告を元に決定した ((*R*)-(-)-2-Phenylpropionaldehyde: $[\alpha]_D^{23} = -88.6^\circ$, *c* 0.93, CHCl₃)。しかし、反応が進行しているにもかかわらず、著しく収量が減少したのは、生成物が揮発性を有しているためによるものだと示唆された。そのため、ガスクロマトグラフィーを用いた反応進行度の分析や光学純度の測定をする方が適していると考えられた²³⁾。

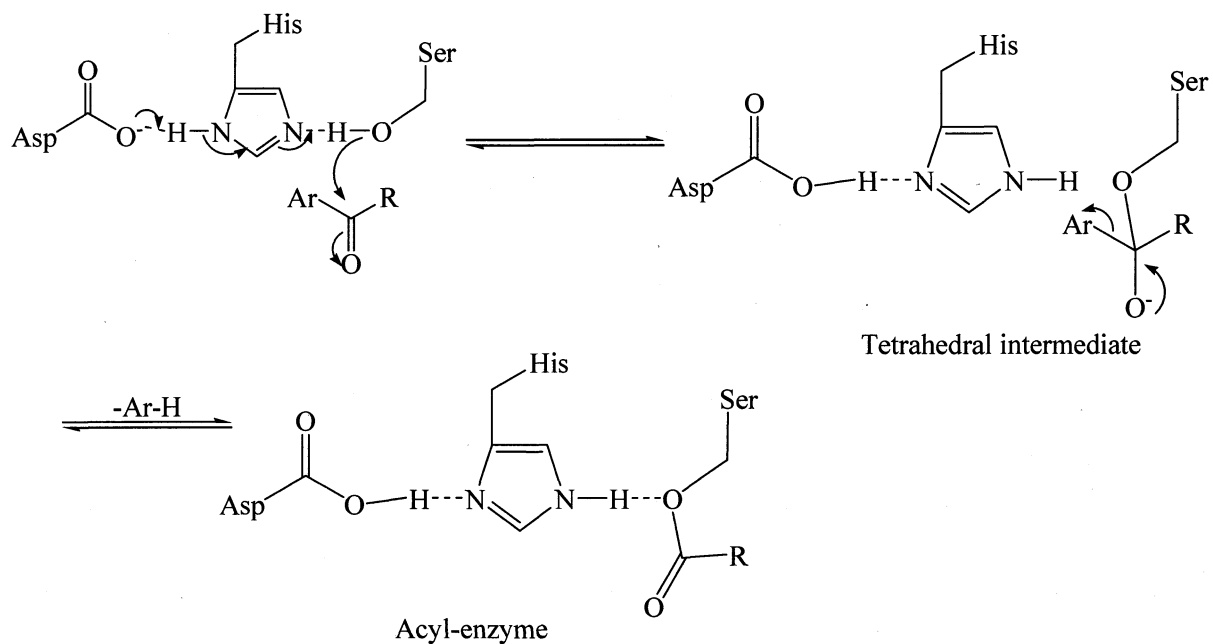
いっぽう、ジメチルホルムアミド (DMF) を溶媒に用いた反応は 7 日間経過後も反応しなかった。

第3節 酵素によるエナント選択的プロトン化反応の考察

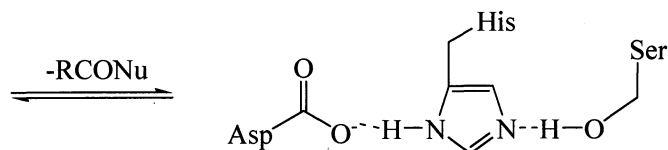
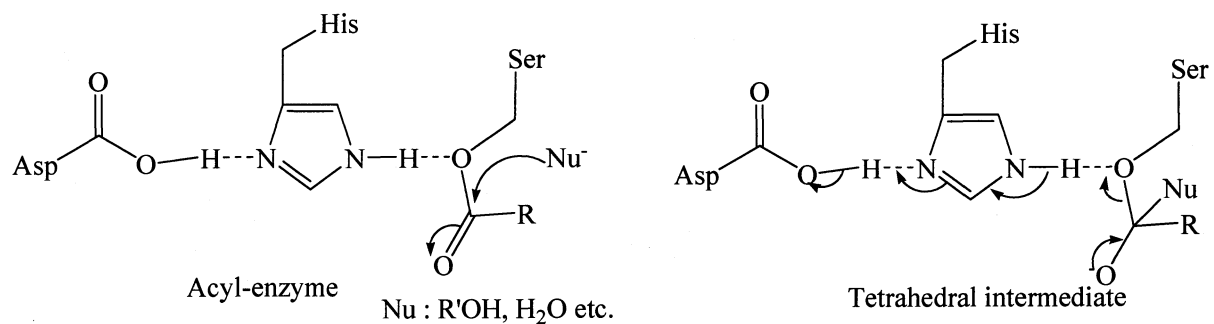
リパーゼの活性中心はアスパラギン酸、ヒスチジン、セリンの3残基が水素結合している”Catalytic Triad”と呼ばれるところで行われることが知られている²⁴⁾。

リパーゼがエノールアセテートの脱アセチル化を触媒する反応は2段階で進み、途中にエノールアセテートのアセチル基がセリン残基と共有結合した「アシル化酵素中間体」が生成する。

第1段階は、エノールアセテートと酵素が反応してアシル化酵素中間体を生成する段階 (Scheme 4-3)、第2段階は、アシル化酵素中間体の加水分解により活性残基が再生する段階である (Scheme 4-4)。

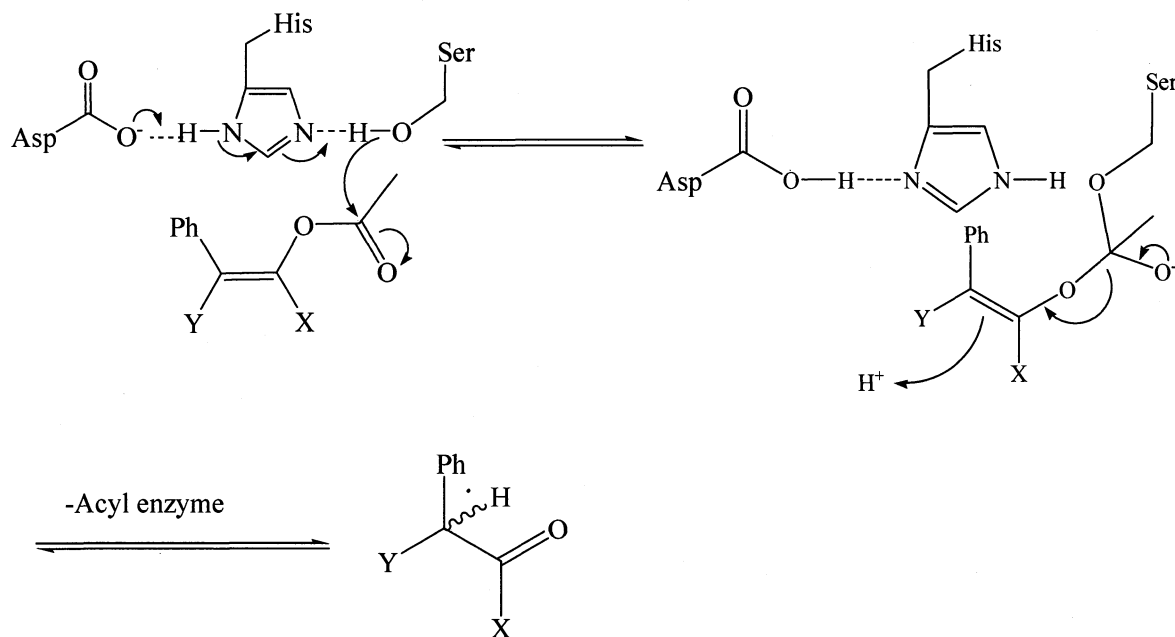


Scheme 4-3²⁴⁾.



Scheme 4-4 ²⁴⁾

このようなリパーゼの脱アセチル化反応を利用して、本研究において、脱アセチル化を伴ったエナンチオ選択的プロトン化反応を試みた。その推定上の反応機構を示す (**Scheme 4-5**)。

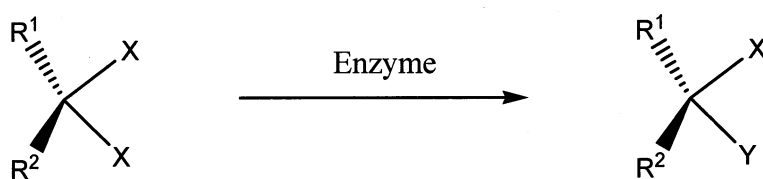


Scheme 4-5

Scheme 4-5 のような反応機構により脱アシル化に伴ったエナンチオ選択的プロトン化反応が進行するのではないかと考えられたが、第 2 節

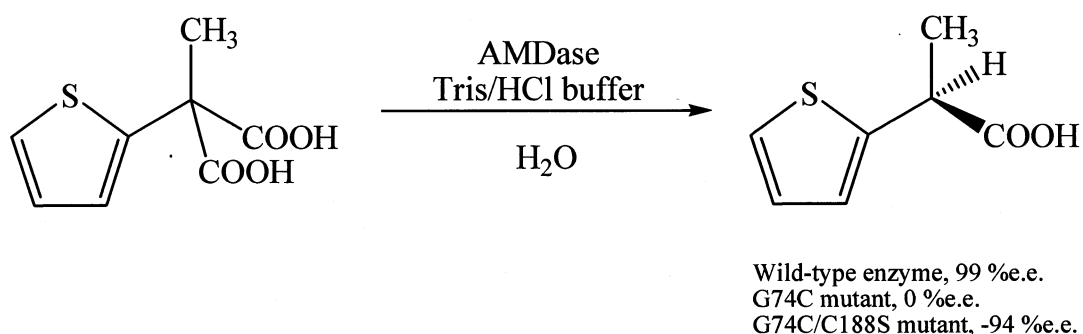
に示したようにわずかながらのエナンチオ選択性しか得られなかった。エナンチオ選択性が得られなかった原因として、直接的に *O*-プロトン化したエノールを形成して反応系外に出てゆき、不斉な環境がない中での互変異性が生じてしまい、エナンチオ選択性が得られない結果になったのではないかと考えられた。

このことを踏まえた上で、酵素を利用した不斉合成法として、1つの炭素原子上に同一の2つの官能基を持つ化合物を基質とした酵素反応を挙げる (Scheme 4-6)。



Scheme 4-6²⁴⁾

これに関する報告で、Ohta ら^{19), 25)}はアリールマロン酸脱炭酸酵素を用いた脱炭酸を伴ったプロトン化反応を報告した。また、この報告は酵素の変異体を作製し、これらもエナンチオ選択的反応に利用している (Scheme 4-7)。



Scheme 4-7^{19), 25)}

これをリパーゼのような加水分解酵素に応用するのであれば、同一炭素上に2つのアセチル基を持つプロキラルな化合物のエナンチオ選択的

反応に利用できるのではないかと考えられた。

第 5 章 結論

本研究では、エナンチオ選択的プロトン化反応のための基質として、アリアルプロピオン酸系抗炎症剤のエステルから合成したエノールアセテートのほかに、2-フェニルシクロヘキサノン、2-フェニルプロピオンアルデヒドのエノールアセテートをエナンチオ選択的プロトン化反応の基質として合成した。

得られたエノールアセテートを脱アシル化に伴ったプロトン化反応により元の化合物に戻す際に起こるキラルなプロトン化剤、光学活性な化合物を選択的に合成するために、まず、ナプロキセンメチルエステルのエノールアセテートを強塩基で求核性を持つアルキルリチウム化合物により脱アシル化したリチウムエノラートを基質として用い、キラルプロトン化剤によるエナンチオ選択的プロトン化反応を試みたが、わずかながらエナンチオ選択性が得られたものの、十分な光学活性を有する化合物を得る条件を見つけるに至らなかった。

また、生体触媒の一つである酵素、特に加水分解酵素のリパーゼを利用した2-フェニルシクロヘキサノン、および、2-フェニルプロピオンアルデヒドのエノールアセテートの加水分解に伴ったエナンチオ選択的プロトン化反応を試みたが、先と同様に、光学活性な化合物を得ることができなかった。

これらの原因として、用いたキラルプロトン化剤の脱リチウム化や脱アシルかが迅速におこり、直接的な *O*-プロトン化が進行し、エノールの形として反応系外に出てゆき、反応系外での非選択的な異性化反応によりエナンチオ選択性が得られなかったこと、用いたキラルプロトン化剤が与える不斉な環境が基質にとって弱かったことが挙げられた。

軸不斉化合物や光学活性アルカロイドを用いた反応において立体選択性が逆転した結果から、今後、この課題を解決するために、これらの化合物から誘導体を合成し、それをプロトン化反応やキラルなりガンドとして用い、アキラルなプロトン化剤のプロトン化を助ける役割を有する化合物を作る必要がある。一般に光学活性化合物は高価であり、場合によっては、不斉合成法より先に述

べた速度論的光学分割のほうがより効率よいこともあるため、少量で効率よく、面選択的な反応が進行することが望ましく、触媒的エナンチオ選択的プロトン化反応の開発が求められる。

第 6 章 実験の部

¹H-NMR は日本電子 JEOL JNM-ECX400P (400 MHz) で測定した。融点測定器はヤナコ MP-500D を使用した。HPLC は SHIMADZU の LC-10AVP を使用し、付属のクロマトグラム解析ソフトウェアは CLASS-VP を使用した。分析用 TLC には Merck Silica Gel 60 F₂₅₄、シリカゲルクロマトグラフィーには Merck Silica Gel 60 を使用した。旋光度測定器は日本分光 DIP-370 で測定した。本実験で用いた反応容器、およびシリンジはすべて加熱乾燥後、デシケーターを用いて乾燥状態で保存したものを使用した。THF は脱水された市販のものをそのまま使用した。用いたその他の試薬は市販のものをそのまま使用した。

2-(6-Methoxy-2-naphthyl)propionic acid methyl ester (2)

100 mL ナスフラスコにメタノール (25 mL) を入れ、-20 °C に冷却した状態で塩化チオニル (1.83 g, 15.4 mmol) を加え、そこへさらに 2-(6-Methoxy-2-naphthyl)propionic acid (1) (1.00 g, 4.34 mmol) を加え、1.5 時間攪拌し、室温にてさらに 30 分攪拌した。反応溶液を水で希釈し、ジクロロメタン (10 mL x 3) で抽出した。有機層を飽和炭酸水素ナトリウム水溶液 (10 mL x 3)、飽和食塩水 (10 mL x 2) で洗浄し、硫酸ナトリウムで脱水乾燥した。その溶液の溶媒を減圧濃縮し、粗生成物を得て、シリカゲルカラムクロマトグラフィー (Hex/EtOAc = 4/1) で精製した (白色固体, 891 mg, 89 %)。

mp. : 68 – 69 °C

¹H-NMR (CDCl₃) : δ 7.71 (1H, s, 4'-H), 7.69 (1H, s, 8'-H), 7.66 (1H, s, 1'-H), 7.39 (1H, d, 3'-H, *J* = 8.7 Hz), 7.14 (1H, d, 7'-H, *J* = 9.2 Hz), 7.11 (1H,

s, 5'-H), 3.90 (3H, s, 6'-OMe), 3.86 (1H, q, 2-H, $J = 7.3$ Hz), 3.66 (3H, s, 1-OMe), 1.57 (3H, d, $J = 7.3$ Hz)

1-Methoxy-2-(2-(6-methoxy)naphthyl)propenyl acetate (3)

窒素置換した 50 mL 三ツロフラスコにテトラヒドロフラン 5 mL とジイソプロピルアミン (459 mg, 4.54 mmol) を加え、 -78 °C に冷却した。1.6 M *n*-ブチルリチウムヘキサン溶液 (2.83 mL, 4.54 mmol) を滴下して 0 °C で 30 分間攪拌した。再び -78 °C に冷却した後、テトラヒドロフラン 5 mL に溶解した化合物 2 を滴下して 30 分間攪拌した。この溶液を別に用意した塩化アセチル (712 mg, 9.08 mmol) に滴下して、 0 °C で 30 分間攪拌し、その後、室温にてさらに 30 分間攪拌した。反応溶液に水を加え、酢酸エチル (10 mL x 3) で抽出した。有機層を飽和食塩水 (10 mL) で洗浄した。硫酸ナトリウムで脱水乾燥し、溶媒を減圧流去し、シリカゲルカラムクロマトグラフィー (Hex/EtOAc = 10/1) で精製した (白色固体, 342 mg, 57 %)。

mp. : 126 – 129 °C

$^1\text{H-NMR}$: δ 7.71 (2H, overlapped, 4'-H, 8'-H), 7.67 (1H, s, 1'-H), 7.34 (1H, d, 3'-H, $J = 9.0$ Hz), 7.15 (1H, d, 7'-H, $J = 9.0$ Hz), 7.12 (1H, s, 5'-H), 3.91 (3H, s, 6'-OMe), 3.80 (3H, s, 1-OMe), 2.11 (3H, s, Ac), 1.86 (3H, s, 3-H)

2-Phenylcyclohexenyl acetate (5)

50 mL ナスフラスコに四塩化炭素を加え 0 °C に冷却した。そこへ 2-Phenylcyclohexanone (4) (500 mg, 2.85 mmol)、無水酢酸 (583 mg, 5.70 mmol)、60 % 過塩素酸 1 滴を加えた。室温にて一晩攪拌したのち、ジエチルエーテルで希釈し、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液で洗浄した。硫

酸ナトリウムで脱水乾燥後、溶媒を減圧流去し、シリカゲルカラムクロマトグラフィー (Hex/EtOAc = 20/1) で精製した (無色液体, 506 mg, 82 %).

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): δ 7.31 – 7.20 (5H, m, phenyl), 2.41 (2H, m, 6-H), 2.27 (2H, m, 3-H), 1.91 (3H, s, Ac), 1.82 (2H, m, 5-H), 1.78 (2H, m, 4-H)

2-Phenylpropenyl acetate (7)

水素化ナトリウム (1.20 g, 30.0 mmol) を加え、1,4-ジオキサンを加えた 50 mL 三ツロフラスコを窒素置換し、その後 0°C に冷却した。ジオキサンに溶解した 2-Phenylpropionaldehyde (6) (2.68 g, 20.0 mmol) を加え、水素の泡が発生しなくなるまで攪拌した。1,4-ジオキサンに溶解した 4-ジメチルアミノピリジン (244 mg, 2.00 mmol) と塩化アセチル (4.68 g, 60.0 mmol) を 0°C にて加え、室温にて 30 分攪拌した。反応溶液に水を加え、ヘキサンで抽出した。飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、飽和食塩水で洗浄した。硫酸ナトリウム脱水乾燥し、溶媒を減圧流去し、シリカゲルカラムクロマトグラフィー (Hex/Toluene = 4/1) で精製した (無色液体, 2.02g, 57 %).

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): δ 7.51 (5H, m, phenyl), 2.20 (3H, s 3-H), 2.11 (3H, s, Ac), 1.44 (1H, d, 1-H, $J = 8.0$ Hz)

メチルリチウムを塩基として用いた化合物 **3** のエナンチオ選択的プロトン化反応 [Table 3-1 Entry 1]

3 (100 mg, 0.350 mmol) を入れた 50 mL 三ツロフラスコを窒素置換し、テトラヒドロフラン (5 mL) を加え、-78 °C に冷却した。3.0 M メチルリチウム ジメトキシエタン溶液 (0.233 mL, 0.700 mmol) を滴下して、そ

のまま 1 時間攪拌した。(R)-フェニルエチルアミン (84.8 mg, 0.700 mmol) を滴下した後、室温にて 2 時間攪拌した。塩化アセチル (55.0 mg, 0.700 mmol) を加えて反応を停止させ、水を加えて希釈し、酢酸エチル (10 mL x 2) で抽出した。酢酸エチル層を飽和食塩水 (10 mL x 2) で洗浄した。硫酸ナトリウムで脱水乾燥した後に、溶媒を減圧留去し、シリカゲルカラムクロマトグラフィー (Hex/EtOAc = 10/1) で精製した。また、キラルカラムを用いた HPLC により光学純度、絶対配置を決定した (55.4 mg, 65 %, 4 %ee (R))。

(HPLC condition)

Column : DAICEL CHIRALCEL OJ-RH (4.6mm I.D. x 150 mm Length, 5 μ m,), Mobile Phase : 15 mM Sodium phosphate buffer (pH 2.2)/MeCN = 45/55, Flow rate : 0.5 mL/min, Column temperature : 30 $^{\circ}$ C, Detection : UV at 230 nm, Injection volume : 5 μ L, Retention time 19.2 min (R isomer) 20.6 min (S isomer)

メチルリチウム・臭化リチウムを塩基として用いた化合物 **3** のエナンチオ選択的プロトン化反応 [Table 3-1 Entry 2]

化合物 **3** (100 mg, 0.350 mmol)を入れた 50 mL 三ツロフラスコを窒素置換し、テトラヒドロフラン (5 mL) を加え、-78 $^{\circ}$ C に冷却した。1.5 M メチルリチウム・臭化リチウム ジエチルエーテル溶液 (0.467 mL, 0.700 mmol) を滴下して、そのまま 1 時間攪拌した。(R)-フェニルエチルアミン (84.8 mg, 0.700 mmol) を滴下した後、室温にて 2 時間攪拌した。塩化アセチル (55.0 mg, 0.700 mmol) を加えて反応を停止させ、水を加えて希釈し、酢酸エチル (10 mL x 2) で抽出した。酢酸エチル層を飽和食塩水 (10 mL x 2) で洗浄した。硫酸ナトリウムで脱水乾燥した後に、溶媒を減

圧留去し、シリカゲルカラムクロマトグラフィー (Hex/EtOAc = 10/1) で精製した。また、キラルカラムを用いた HPLC により光学純度、絶対配置を決定した (55.4 mg, 65 %, 3 %ee (*R*))。

n-ブチルリチウムを塩基として用いた化合物 **3** のエナンチオ選択的プロトン化反応 [Table 3-1 Entry 3]

化合物 **3** (100 mg, 0.350 mmol)を入れた 50 mL 三ツロフラスコを窒素置換し、テトラヒドロフラン (5 mL) を加え、-78 °C に冷却した。1.6 M *n*-ブチルリチウム ヘキサン溶液 (0.438 mL, 0.700 mmol) を滴下して、そのまま 1 時間攪拌した。(R)-フェニルエチルアミン (84.8 mg, 0.700 mmol) を滴下した後、室温にて 2 時間攪拌した。塩化アセチル (55.0 mg, 0.700 mmol) を加えて反応を停止させ、水を加えて希釈し、酢酸エチル (10 mL x 2) で抽出した。酢酸エチル層を飽和食塩水 (10 mL x 2) で洗浄した。硫酸ナトリウムで脱水乾燥した後に、溶媒を減圧留去し、シリカゲルカラムクロマトグラフィー (Hex/EtOAc = 10/1) で精製した。また、キラルカラムを用いた HPLC により光学純度、絶対配置を決定した (52.2 mg, 61 %, 3 %ee (*R*))。

sec-ブチルリチウムを塩基として用いた化合物 **3** のエナンチオ選択的プロトン化反応 [Table 3-1 Entry 4]

化合物 **3** (100 mg, 0.350 mmol)を入れた 50 mL 三ツロフラスコを窒素置換し、テトラヒドロフラン (5 mL) を加え、-78 °C に冷却した。1.0 M *sec*-ブチルリチウム ジエチルエーテル溶液 (0.700 mL, 0.700 mmol) を滴下して、そのまま 1 時間攪拌した。(R)-フェニルエチルアミン (84.8 mg, 0.700 mmol) を滴下した後、室温にて 2 時間攪拌した。塩化アセチル

(55.0 mg, 0.700 mmol) を加えて反応を停止させ、水を加えて希釈し、酢酸エチル (10 mL x 2) で抽出した。酢酸エチル層を飽和食塩水 (10 mL x 2) で洗浄した。硫酸ナトリウムで脱水乾燥した後に、溶媒を減圧留去し、シリカゲルカラムクロマトグラフィー (Hex/EtOAc = 10/1) で精製した。また、キラルカラムを用いた HPLC により光学純度、絶対配置を決定した (18.5 mg, 22 %, 3 %ee (*R*))。

0 °C における化合物 **3** のエナンチオ選択的プロトン化反応 [Table 3-2 Entry 1]

化合物 **3** (100 mg, 0.350 mmol) を入れた 50 mL 三ツロフラスコを窒素置換し、テトラヒドロフラン (5 mL) を加え、-78 °C に冷却した。1.5 M メチルリチウム・臭化リチウム複合体 ジエチルエーテル溶液 (0.233 mL, 0.700 mmol) を滴下して、そのまま 1 時間攪拌した。*(R)*-フェニルエチルアミン (84.8 mg, 0.700 mmol) を滴下した後、0 °C にて 2 時間攪拌した。塩化アセチル (55.0 mg, 0.700 mmol) を加えて反応を停止させ、水を加えて希釈し、酢酸エチル (10 mL x 2) で抽出した。酢酸エチル層を飽和食塩水 (10 mL x 2) で洗浄した。硫酸ナトリウムで脱水乾燥した後に、溶媒を減圧留去し、シリカゲルカラムクロマトグラフィー (Hex/EtOAc = 10/1) で精製した。また、キラルカラムを用いた HPLC により光学純度、絶対配置を決定した (58.5 mg, 68 %, 4 %ee (*R*))。

(HPLC condition)

Column : DAICEL CHIRALCEL OJ-RH (4.6mm I.D. x 150 mm Length, 5 μm,), Mobile Phase : 15 mM Sodium phosphate buffer (pH 2.2)/MeCN = 50/50, Flow rate : 0.5 mL/min, Column temperature : 30 °C, Detection : UV at 230 nm, Injection volume : 5 μL, Retention time 28.3 min (*R* isomer) 30.7

min (*S* isomer)

-20 °Cにおける化合物 **3** のエナンチオ選択的プロトン化反応 [Table 3-2 Entry 2]

Table 3-2 Entry 1 に同じ。

(55.0 mg, 64 %, 5 %ee (*R*)).

-40 °Cにおける化合物 **3** のエナンチオ選択的プロトン化反応 [Table 3-2 Entry 3]

Table 3-2 Entry 1 に同じ。

(48.5 mg, 57 %, 2 %ee (*R*))

-78 °Cにおける化合物 **3** のエナンチオ選択的プロトン化反応 [Table 3-2 Entry 4]

Table 3-2 Entry 1 に同じ。

(23.6 mg, 28 %, 4 %ee (*R*)).

ジクロロメタンを溶媒として用いた化合物 **3** のエナンチオ選択的プロトン化反応 [Table 3-3 Entry 1]

化合物 **3** (50 mg, 0.175 mmol)を入れた 50 mL 三ツロフラスコを窒素置換し、ジクロロメタン(5 mL) を加え、-78 °Cに冷却した。1.5 M メチルリチウム・臭化リチウム ジエチルエーテル溶液 (0.233 mL, 0.350 mmol) を滴下して、そのまま 1 時間攪拌した。(R)-フェニルエチルアミン (42.4 mg, 0.350 mmol) を滴下した後、室温にて 2 時間攪拌した。塩化アセチル (27.5 mg, 0.350 mmol) を加えて反応を停止させ、水を加えて希釈し、

酢酸エチル (10 mL x 2) で抽出した。酢酸エチル層を飽和食塩水 (10 mL x 2) で洗浄した。硫酸ナトリウムで脱水乾燥した後に、溶媒を減圧留去し、シリカゲルカラムクロマトグラフィー (Hex/EtOAc = 10/1) で精製した。また、キラルカラムを用いた HPLC により光学純度、絶対配置を決定した (25.7 mg, 60 %, 2 %ee (*R*))。

トルエンを溶媒として用いた化合物 **3** のエナンチオ選択的プロトン化反応 [Table 3-3 Entry 2]

化合物 **3** (50 mg, 0.175 mmol) を入れた 50 mL 三ツロフラスコを窒素置換し、トルエン (5 mL) を加え、-78 °C に冷却した。1.5 M メチルリチウム・臭化リチウム ジエチルエーテル溶液 (0.233 mL, 0.350 mmol) を滴下して、そのまま 1 時間攪拌した。*(R)*-フェニルエチルアミン (42.4 mg, 0.350 mmol) を滴下した後、室温にて 2 時間攪拌した。塩化アセチル (27.5 mg, 0.350 mmol) を加えて反応を停止させ、水を加えて希釈し、酢酸エチル (10 mL x 2) で抽出した。酢酸エチル層を飽和食塩水 (10 mL x 2) で洗浄した。硫酸ナトリウムで脱水乾燥した後に、溶媒を減圧留去し、シリカゲルカラムクロマトグラフィー (Hex/EtOAc = 10/1) で精製した。また、キラルカラムを用いた HPLC により光学純度、絶対配置を決定した (39.0 mg, 91 %, 2 %ee (*R*))。

ジイソプロピルエーテルを溶媒として用いた化合物 **3** のエナンチオ選択的プロトン化反応 [Table 3-3 Entry 3]

化合物 **3** (50 mg, 0.175 mmol) を入れた 50 mL 三ツロフラスコを窒素置換し、ジクロロメタン (5 mL) を加え、-78 °C に冷却した。1.5 M メチルリチウム・臭化リチウム ジエチルエーテル溶液 (0.233 mL, 0.350 mmol)

を滴下して、そのまま 1 時間攪拌した。(R)-フェニルエチルアミン (42.4 mg, 0.350 mmol) を滴下した後、室温にて 2 時間攪拌した。塩化アセチル (27.5 mg, 0.350 mmol) を加えて反応を停止させ、水を加えて希釈し、酢酸エチル (10 mL x 2) で抽出した。酢酸エチル層を飽和食塩水 (10 mL x 2) で洗浄した。硫酸ナトリウムで脱水乾燥した後に、溶媒を減圧留去し、シリカゲルカラムクロマトグラフィー (Hex/EtOAc = 10/1) で精製した。また、キラルカラムを用いた HPLC により光学純度、絶対配置を決定した (16.3 mg, 38 %, racemic)。

アセトニトリルを溶媒として用いた化合物 **3** のエナンチオ選択的プロトン化反応 [Table 3-3 Entry 4]

3 (50 mg, 0.175 mmol) を入れた 50 mL 三ツロフラスコを窒素置換し、ジクロロメタン (5 mL) を加え、-78 °C に冷却した。1.5 M メチルリチウム・臭化リチウム ジエチルエーテル溶液 (0.233 mL, 0.350 mmol) を滴下して、そのまま 1 時間攪拌した。(R)-フェニルエチルアミン (42.4 mg, 0.350 mmol) を滴下した後、室温にて 2 時間攪拌した。塩化アセチル (22.5 mg, 0.350 mmol) を加えて反応を停止させ、水を加えて希釈し、酢酸エチル (10 mL x 2) で抽出した。酢酸エチル層を飽和食塩水 (10 mL x 2) で洗浄した。硫酸ナトリウムで脱水乾燥した後に、溶媒を減圧留去し、シリカゲルカラムクロマトグラフィー (Hex/EtOAc = 10/1) で精製した。また、キラルカラムを用いた HPLC により光学純度、絶対配置を決定した (10.7 mg, 25 %, racemic)。

(-)-ジピバロイル-L-酒石酸 (**8**) をキラルプロトン化剤として用いた化合物 **3** のエナンチオ選択的プロトン化反応 [Table 3-4 Entry 1]

化合物 **3** (100 mg, 0.350 mmol)を入れた 50 mL 三ツロフラスコを窒素置換し、テトラヒドロフラン (5 mL) を加え、-78 °C に冷却した。1.5 M メチルリチウム・臭化リチウム ジエチルエーテル溶液 (0.467 mL, 0.700 mmol) を滴下して、そのまま 1 時間攪拌した。テトラヒドロフラン (2 mL) に溶解した(-)-ジピバロイル-L-酒石酸 (**8**) (223 mg, 0.700 mmol) を滴下した後、室温にて 2 時間攪拌した。塩化アセチル (55.0 mg, 0.700 mmol) を加えて反応を停止させ、水を加えて希釈し、酢酸エチル (10 mL x 2) で抽出した。酢酸エチル層を飽和食塩水 (10 mL x 2) で洗浄した。硫酸ナトリウムで脱水乾燥した後に、溶媒を減圧留去し、シリカゲルカラムクロマトグラフィー (Hex/EtOAc = 10/1) で精製した。また、キラルカラムを用いた HPLC により光学純度、絶対配置を決定した(37.2 mg, 44 %, 4 %ee (*R*))。

(1*R*, 2*R*)-シクロヘキサンジアミン((1*R*, 2*R*)-(**9**)) をキラルプロトン化剤として用いた化合物 **3** のエナンチオ選択的プロトン化反応 [Table 3-4 Entry 2]

化合物 **3** (50 mg, 0.175 mmol)を入れた 50 mL 三ツロフラスコを窒素置換し、トルエン (5 mL) を加え、-78 °C に冷却した。1.5 M メチルリチウム・臭化リチウム ジエチルエーテル溶液 (0.234 mL, 0.350 mmol) を滴下して、そのまま 1 時間攪拌した。ジクロロメタン(2 mL) に溶解した(1*S*, 2*S*)-シクロヘキサンジアミン((1*S*, 2*S*)-(**9**)) (39.9 mg, 0.350 mmol) を滴下した後、室温にて 2 時間攪拌した。塩化アセチル (27.5 mg, 0.350 mmol) を加えて反応を停止させ、水を加えて希釈し、酢酸エチル (10 mL x 2) で抽出した。酢酸エチル層を飽和食塩水 (10 mL x 2) で洗浄した。硫酸ナトリウムで脱水乾燥した後に、溶媒を減圧留去し、シリカゲルカラムク

ロマトグラフィー (Hex/EtOAc = 10/1) で精製した。また、キラルカラムを用いた HPLC により光学純度、絶対配置を決定した(63.1 mg, 44 %, 4 %ee (*R*))。

(1*S*, 2*S*)-シクロヘキサンジアミン((1*R*, 2*R*)-(9)) をキラルプロトン化剤として用いた化合物 3 のエナンチオ選択的プロトン化反応 [Table 3-4 Entry 3]

化合物 3 (100 mg, 0.350 mmol)を入れた 50 mL 三ツロフラスコを窒素置換し、テトラヒドロフラン (5 mL) を加え、-78 °C に冷却した。1.5 M メチルリチウム・臭化リチウム ジエチルエーテル溶液 (0.467 mL, 0.700 mmol) を滴下して、そのまま 1 時間攪拌した。テトラヒドロフラン (2 mL) に溶解した(1*R*, 2*R*)-シクロヘキサンジアミン((1*R*, 2*R*)-(9)) (79.8 mg, 0.700 mmol) を滴下した後、室温にて 2 時間攪拌した。塩化アセチル (55.0 mg, 0.700 mmol) を加えて反応を停止させ、水を加えて希釈し、酢酸エチル (10 mL x 2) で抽出した。酢酸エチル層を飽和食塩水 (10 mL x 2) で洗浄した。硫酸ナトリウムで脱水乾燥した後に、溶媒を減圧留去し、シリカゲルカラムクロマトグラフィー (Hex/EtOAc = 10/1) で精製した。また、キラルカラムを用いた HPLC により光学純度、絶対配置を決定した(40.9 mg, 95 %, racemic)。

(1*R*, 2*R*)-シクロヘキサンジアミン((1*R*, 2*R*)-(9)) をキラルプロトン化剤として用いた化合物 3 のエナンチオ選択的プロトン化反応 [Table 3-4 Entry 4]

化合物 3 (100 mg, 0.350 mmol)を入れた 50 mL 三ツロフラスコを窒素置換し、テトラヒドロフラン (5 mL) を加え、-78 °C に冷却した。1.5 M メ

チルリチウム・臭化リチウム ジエチルエーテル溶液 (0.467 mL, 0.700 mmol) を滴下して、そのまま 1 時間攪拌した。テトラヒドロフラン (2 mL) に溶解した(1*R*, 2*R*)-シクロヘキサンジアミン((1*R*, 2*R*)-(9)) (79.8 mg, 0.700 mmol) を滴下した後、室温にて 2 時間攪拌した。塩化アセチル (55.0 mg, 0.700 mmol) を加えて反応を停止させ、水を加えて希釈し、酢酸エチル (10 mL x 2) で抽出した。酢酸エチル層を飽和食塩水 (10 mL x 2) で洗浄した。硫酸ナトリウムで脱水乾燥した後に、溶媒を減圧留去し、シリカゲルカラムクロマトグラフィー (Hex/EtOAc = 10/1) で精製した。また、キラルカラムを用いた HPLC により光学純度、絶対配置を決定した(37.2 mg, 73 %, 2 %ee (*R*))。

(*R*)-1,1'-ビナフチルジアミン ((*R*)-10)をキラルプロトン化剤として用いた化合物 3 のエナンチオ選択的プロトン化反応[Table 3-4 Entry 5]

3 (50 mg, 0.175 mmol)を入れた 50 mL 三ツロフラスコを窒素置換し、トルエン (5 mL) を加え、-78 °C に冷却した。1.5 M メチルリチウム・臭化リチウム ジエチルエーテル溶液 (0.467 mL, 0.700 mmol) を滴下して、そのまま 1 時間攪拌した。ジクロロメタン(2 mL) に溶解した (*R*)-1,1'-ビナフチルジアミン ((*R*)-10) (99.5 mg, 0.350 mmol) を滴下した後、室温にて 2 時間攪拌した。塩化アセチル (27.5 mg, 0.350 mmol) を加えて反応を停止させ、水を加えて希釈し、酢酸エチル (10 mL x 2) で抽出した。酢酸エチル層を飽和食塩水 (10 mL x 2) で洗浄した。硫酸ナトリウムで脱水乾燥した後に、溶媒を減圧留去し、シリカゲルカラムクロマトグラフィー (Hex/EtOAc = 10/1) で精製した。また、キラルカラムを用いた HPLC により光学純度、絶対配置を決定した(10.0 mg, 23 %, 4 %ee (*R*))。

(*S*)-1,1'-ビナフチルジアミン ((*S*)-10)をキラルプロトン化剤として用いた化合物 **3** のエナンチオ選択的プロトン化反応 [Table 3-4 Entry 6]

3 (50 mg, 0.175 mmol)を入れた 50 mL 三ツロフラスコを窒素置換し、トルエン (5 mL) を加え、-78 °Cに冷却した。1.5 M メチルリチウム・臭化リチウム ジエチルエーテル溶液 (0.467 mL, 0.700 mmol) を滴下して、そのまま 1 時間攪拌した。ジクロロメタン(2 mL) に溶解した (*S*)-1,1'-ビナフチルジアミン ((*S*)-10) (99.5 mg, 0.350 mmol) を滴下した後、室温にて 2 時間攪拌した。塩化アセチル (27.5 mg, 0.350 mmol) を加えて反応を停止させ、水を加えて希釈し、酢酸エチル (10 mL x 2) で抽出した。酢酸エチル層を飽和食塩水 (10 mL x 2) で洗浄した。硫酸ナトリウムで脱水乾燥した後に、溶媒を減圧留去し、シリカゲルカラムクロマトグラフィー (Hex/EtOAc = 10/1) で精製した。また、キラルカラムを用いた HPLC により光学純度、絶対配置を決定した(24.6 mg, 57 %, 4 %ee (*S*))。

キニン (**11**)をキラルプロトン化剤として用いた化合物 **3** のエナンチオ選択的プロトン化反応 [Table 3-4 Entry 7]

化合物 **3** (50 mg, 0.175 mmol)を入れた 50 mL 三ツロフラスコを窒素置換し、トルエン (5 mL) を加え、-78 °Cに冷却した。1.5 M メチルリチウム・臭化リチウム ジエチルエーテル溶液 (0.467 mL, 0.700 mmol) を滴下して、そのまま 1 時間攪拌した。ジクロロメタン(2 mL) に溶解した キニン (**12**) (114 mg, 0.350 mmol) を滴下した後、室温にて 2 時間攪拌した。塩化アセチル (27.5 mg, 0.350 mmol) を加えて反応を停止させ、水を加えて希釈し、酢酸エチル (10 mL x 2) で抽出した。酢酸エチル層を飽和食塩水 (10 mL x 2) で洗浄した。硫酸ナトリウムで脱水乾燥した後に、溶媒を減圧留去し、シリカゲルカラムクロマトグラフィー (Hex/EtOAc =

10/1) で精製した。また、キラルカラムを用いた HPLC により光学純度、絶対配置を決定した(35.7 mg, 83 %, 2 % ee (*S*))。

キニジン (12) をキラルプロトン化剤として用いた化合物 3 のエナンチオ選択的プロトン化反応 [Table 3-4 Entry 8]

化合物 3 (50 mg, 0.175 mmol)を入れた 50 mL 三ツロフラスコを窒素置換し、トルエン (5 mL) を加え、-78 °C に冷却した。1.5 M メチルリチウム・臭化リチウム ジエチルエーテル溶液 (0.467 mL, 0.700 mmol) を滴下して、そのまま 1 時間攪拌した。ジクロロメタン(2 mL) に溶解した キニジン (114 mg, 0.350 mmol) を滴下した後、室温にて 2 時間攪拌した。塩化アセチル (27.5 mg, 0.350 mmol) を加えて反応を停止させ、水を加えて希釈し、酢酸エチル (10 mL x 2) で抽出した。酢酸エチル層を飽和食塩水 (10 mL x 2) で洗浄した。硫酸ナトリウムで脱水乾燥した後に、溶媒を減圧留去し、シリカゲルカラムクロマトグラフィー (Hex/EtOAc = 10/1) で精製した。また、キラルカラムを用いた HPLC により光学純度、絶対配置を決定した(21.4 mg, 50 %, 2 % ee (*R*))。

ジイソプロペーテル溶媒中における Lipase PS による化合物 5 のエナンチオ選択的加水分解反応 [Table 4-1 Entry 1]

ジイソプロピルエーテル (7.5 mL) に化合物 5 (300 mg, 1.39 mmol)、Lipase PS (300 mg)、メタノール (445 mg, 13.9 mmol) を加え、37 °C にて 14 日間攪拌した。反応溶液をセライトろ過し、溶媒を減圧留去して得た粗生成物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (Hex/EtOAc = 4/1) で精製した。光学純度はキラルカラムを用いた HPLC で測定し、絶対配置は比旋光度により決定した (137 mg, 57 %, 3 % ee (*R*))。

mp.: 54-57 °C

¹H-NMR : δ 7.35 – 7.09 (5H, m, phenyl), 2.41 (2H, m, 6-H), 3.60 (1H, m, 2-H), 2.46 (2H, m, 3-H), 2.01 (2H, m, 5-H), 1.82 (2H, m, 4-H)

(HPLC condition)

Column : DAICEL CHIRALCEL OJ-RH (4.6mm φ x 150 mm Length, 5 μm,), Mobile Phase : 15 mM Sodium phosphate buffer (pH 2.2)/MeCN = 60/40, Flow rate : 0.5 mL/min, Column temperature : 30 °C, Detection : UV at 220 nm, Injection volume : 5 μL, Retention time 28.4 min. and 30.7 min.

テトラヒドロフランおよびメタノール溶媒中における Lipase PS による化合物 **5** のエナンチオ選択的加水分解反応 [Table 4-1 Entries 2, 3]

テトラヒドロフランおよびメタノール (2.5 mL) に化合物 **5** (300 mg, 1.39 mmol)、Lipase PS (300 mg)、メタノール (445 mg, 13.9 mmol) を加え、37 °Cにて 14 日間攪拌した。反応溶液をセライトろ過し、溶媒を減圧留去して得た粗生成物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (Hex/EtOAc = 20/1) で回収した。

0.1 M リン酸ナトリウム緩衝液 (pH 7.4) 溶媒中における Lipase PS による化合物 **5** のエナンチオ選択的加水分解反応 [Table 4-1 Entry 4]

0.1 M リン酸ナトリウム緩衝液 (2.5 mL) に化合物 **5** (100 mg, 0.462 mmol)、Lipase PS (100 mg) を加え、37 °Cにて 3 日間攪拌した。反応溶液をセライトろ過し、溶媒を減圧留去して得た粗生成物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (Hex/EtOAc = 4/1) で精製した。光学純度はキラルカラムを用いた HPLC で測定し、絶対配置は旋光度測定により決定した (42.4 mg, 53 %, 5 %ee (*R*))。

ジイソプロエーテル溶媒中における Lipase PS による化合物 7 のエナンチオ選択的加水分解反応 [Table 4-2 Entry 1]

ジイソプロピルエーテル (2.5 mL) に化合物 7 (300 mg, 1.70 mmol)、Lipase PS (300 mg)、メタノール (445 mg, 17.0 mmol) を加え、37 °C にて 7 日間攪拌した。反応溶液をセライトろ過し、溶媒を減圧留去して得た粗生成物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (Hex/EtOAc = 10/1) で精製した。光学純度および絶対配置は比旋光度により決定した (20 mg, 9 %, 8 %ee (*R*))。

テトラヒドロフラン溶媒中における Lipase PS による化合物 7 のエナンチオ選択的加水分解反応 [Table 4-2 Entry 2]

テトラヒドロフラン (7.5 mL) に化合物 7 (300 mg, 1.70 mmol)、Lipase PS (300 mg)、メタノール (445 mg, 17.0 mmol) を加え、37 °C にて 7 日間攪拌した。反応溶液をセライトろ過し、溶媒を減圧留去して得た粗生成物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (Hex/EtOAc = 10/1) で精製した。光学純度および絶対配置は比旋光度により決定した (26 mg, 11 %, 3 %ee (*R*))。

ジメチルホルムアミド溶媒中における Lipase PS による化合物 7 のエナンチオ選択的加水分解反応 [Table 4-2 Entry 3]

ジメチルホルムアミド (7.5 mL) に化合物 7 (300 mg, 1.70 mmol)、Lipase PS (300 mg)、メタノール (445 mg, 17.0 mmol) を加え、37 °C にて 7 日間攪拌した。反応溶液をセライトろ過し、溶媒を減圧留去して化合物 7 を回収した。

0.1 M リン酸ナトリウム緩衝液(pH 7.4) 溶媒中における Lipase PS による化合物 7 のエナンチオ選択的加水分解反応 [Table 4-2 Entry 4]

0.1 M Sodium phosphate buffer (2.5 mL) に 7 (100 mg, 0.568 mmol)、Lipase PS (300 mg)、メタノール (445 mg, 17.0 mmol) を加え、37 °C にて 7 日間攪拌した。反応溶液をセライトろ過し、溶媒を減圧留去して得た粗生成物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (Hex/EtOAc = 10/1) で精製した。(trace)

参考文献

- 1) 山川浩司, 金岡祐一, 岩澤義郎, メディシナルケミストリー第5版、**2004**, pp.163-187、講談社.
- 2) 野崎一ほか, 立体選択的な有機合成反応, **1976**, 共立出版ライブラリー
- 3) W. S. Knowles, M. J. Sabacky, B. D. Vineyard and D. J. Weinkauff, *J. Am. Chem. Soc.* **1975**, 97,2567.
- 4) 野平博之, 現代応用化学シリーズ1, 光学活性体 - その有機工業化学, **1989**, pp.111-113, 朝倉書店.
- 5) 野依良治, 研究はみずみずしく, **2002**, pp.26-30,名古屋大学出版会.
- 6) Kateri A. Ahrendt, Christopher J. Borths, and David W. C. MacMillan, *J. Am. Chem. Soc.*, **2000**, 122, 4243-4244.
- 7) Z. G. Hajos and D.R. Parrish, *J. Org. Chem.*, **1974**, 39, 1615.
- 8) Benjamin List, Richard A. Lerner, and Carlos F. Barbas III, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, 122, 2395-2396.
- 9) 中島進吾, 2006年度三重大学大学院生物資源学研究科修士学位論文.
- 10) 水野光貴, 2007年度三重大学生物資源学部卒業論文.
- 11) 加藤修也, 2008年度三重大学生物資源学部卒業論文.
- 12) Lutz-Friedjan Tietze and Theophil Eicher, 精密有機合成 [実験マニュアル], **1983**, 南江堂
- 13) H. O. House, M. Gall and H. D. Olmstead, *J. Am. Chem. Soc.*,

- 1971, 36, 2361-2371.
- 14) CHANG, Yu-an, *Chin. J. Chem.*, **2007**, 25, 989-991.
- 15) L. Duhamel, P. Duhamel, and J.-C. Plaquevent, *Tetrahedron: Asymmetry*, **2004**, 15, 3653-3691.
- 16) Lawrence M. Pratt, Donald G. Truhlar, Christopher J. Cramer, Steven R. Kass, Jason D. Thompson, James D. Xidos, *J. Org. Chem.*, **2007**, 72, 2962-2966.
- 17) J. Eames, and N. Weerasooriya, *Tetrahedron Letters*, **2000**, 41, 521-523.
- 18) L. Duhamel, J.-C. Plaquevent, *J. Am. Chem. Soc.*, **1978**, 100, 7415-7416.
- 19) Hiromichi Ohta, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **1997**, 70, 2895-2911.
- 20) T. Sakai, A. Matsuda, Y. Tanaka, T. Korenaga and T. Ema, *Tetrahedron: Asymmetry*, **2004**, 15, 1929-1932.
- 21) Tomizawa Masaki, Shibuya Masatoshi, Iwabuchi Yoshiharu, *Organic Letters*, **2009**, 11, 1829-1831.
- 22) Corey, E. J., *Tetrahedron*, **1989**, 45, 545-555.
- 23) Cristina Rodríguez, Gonzalo de Gonzalo, Marco W. Fraaije and Vicente Goto, *Tetrahedron: Asymmetry*, **2007**, 13, 1338-1344.
- 24) R. V. Muralidhar, R. R. Chirumamilli, R. Marchant, V. N. Ramachandran, O. P. Ward and P. Nigam, *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, **2002**, 18, 81-97.
- 25) Justin T. Mohr, Allen Y Hong and Brian M. Stoltz, *NATURE CHEMISTRY*, **2009**, 1, 359-369.

謝辞

本研究を行うにあたり、適切な助言とご指導賜りました三重大学大学院生物資源学研究科稲垣穰准教授に深く感謝いたします。本論文を精読いただき、また、審査していただきました三重大学大学院生物資源学研究科寺西克倫教授、および、三重大学大学院生物資源学研究科今井邦雄教授に深く感謝いたします。高速液体クロマトグラフィー分析やキラルカラム分析、および、それに関する知見を賜りました三重大学大学院生物資源学研究科博士後期課程、株式会社日本点眼薬研究所小島久毅氏に深く感謝いたします。また、様々な助言をいただき、激励していただいた諸先輩方をはじめとする生理活性化学研究室の皆様、また、生命機能科学講座の諸先輩方、同輩、後輩の皆様には深く感謝し、今後のご活躍を心よりお祈り申し上げます。

最後に、これまでの学生生活を見守り、応援してくれた家族に心から感謝いたします。