

氏 名	飛 弾 浩 一
学位(専攻分野)	博 士 (理 学)
学 位 記 番 号	理 博 第 2120 号
学位授与の日付	平 成 11 年 7 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研究科・専攻	理 学 研 究 科 化 学 専 攻
学位論文題目	パン酵母由来の還元酵素を利用した光学活性アルコールの新規な合成法の開発

論文調査委員 (主 査) 助教授 中 村 薫 教 授 林 民 生 教 授 大 須 賀 篤 弘

論 文 内 容 の 要 旨

不斉合成の意義については新ためて言うまでもないが、その重要性から現在の有機化学において最も注目されている研究テーマの一つになっている。不斉合成を行う手段として生体触媒がその一翼を担っており、実際、種々の酵素や微生物を用いた様々な不斉合成反応が数多く報告されている。それらの中でも、特にパン酵母より単離されたケトエステル還元酵素の一つである YKER-I (Yeast Keto Ester Reductase-I) に申請者は着目し、この酵素独自の分子認識能を利用した光学活性アルコールの新規な合成法の開発を行った。

酵素は非常に複雑に構築された不斉場であり、その活性部位に取り込まれた基質と酵素の錯体はキラルな超分子である。そのため、不斉中心が基質上のどの位置に何個あろうが理論上、酵素はそれらを認識しうはずである。しかし、実際に酵素が立体化学を認識できる不斉中心の位置や数は非常に限られており、ほとんどの場合、反応中心か、その隣接部分にある 1 個の不斉中心を認識するだけである。このように一般的に酵素反応において、不斉中心が反応中心から遠く離れば離れるほど、その立体化学は酵素によって識別されにくくなるという経験則が知られている。しかし、この経験則に反し YKER-I は反応中心の立体化学と同様そこから離れている不斉中心も認識して、反応が高い立体選択性で進行することを見いだした。エステルのアルコール部位 (1' 位) に不斉炭素を有する 2 級アルコールの 2-メチルアセト酢酸エステルを YKER-I を用いて還元すると、光学活性なヒドロキシエステルがジアステレオ選択的に得られ、1 度に 3 個の不斉中心を導入できることを明らかにした。このことは、基質の反応中心だけでなく、そこから離れた部位の立体化学をも本酵素が認識していることを示している。この様な他の酵素では見られない性質が、この酵素のいかなる性質に由来するのかを明らかにするために、1' 位が光学活性な基質に対する YKER-I の K_m および k_{cat} の測定を行った。その結果、基質上の反応中心から離れている部位の立体化学の認識は主に、酵素への基質の取り込まれ易さに起因していることを明らかにした。これは認識される不斉中心についている置換基のかさ高さと、酵素の活性中心近傍と置換基との水素結合などの相互作用に起因すると考えられる。

以上のように、反応中心から遠く離れた部位、特にエステルのアルコール部位にある不斉炭素の立体化学を YKER-I が認識できることを示した。次に、本酵素が上記の基質とは異なる位置にある不斉炭素の立体化学を認識できないかと考え不斉炭素を有するアルキル基を 2 位に導入した 2-sec-アルキル-3-オキソブタン酸メチルの還元反応を試みた。その結果、どの置換基を有する基質の還元反応においても生成可能な 8 種類の立体異性体のうち、主に 2 種類の立体異性体しか生成しなかった。特に置換基にメトキシカルボニルメチル基を有する基質を反応に用いた時に立体選択性が飛躍的に向上し、99% 以上の鏡像異性体過剰率と 96% のジアステレオマー過剰率で対応する還元生成物が得られた。このように、YKER-I は 2-sec-アルキル-3-オキソブタン酸メチルでも反応部位以外の不斉炭素の立体化学を認識できることが明らかとなった。同時に 3 個の不斉炭素を導入できる、このような反応は、この酵素を使用した系以外では報告例がない。この反応で得られる生成物は、同一の炭素鎖に 3 個の連続する不斉炭素を持つため、天然物や生理活性物質を合成するための出発物質として非常に有用だと考えられる。以上の様に本酵素は、有機合成上、非常に有用な反応に用いることができることを示した。

これまで YKER-I はケトエステル類を基質とする反応にしか用いられてこなかった。そこで α -アセチルケトン型の非対称なジケトンの還元で YKER-I を用いるところ、アセチル基のカルボニル基のみが位置選択的に還元された生成物が高い立体選択性で得られることを見いだした。このことは本酵素がケトエステルだけでなく α -ジケトンのような他の種類の基質の還元反応にも適用できることを示唆している。

論文審査の結果の要旨

不斉合成は、その重要性から現在の有機化学において最も注目されている研究テーマの一つになっている。それを行う手段として生体触媒がその一翼を担っており、実際、種々の酵素や微生物を用いた様々な不斉合成反応が数多く報告されている。それらの中で、パン酵母より単離されたケトエステル還元酵素の一つである YKER-I (Yeast Keto Ester Reductase-I) に申請者は着目し、この酵素独自の分子認識能に基づいた光学活性アルコールの新規な合成法の開発を目指し研究をすすめたものである。

酵素の活性部位は非常に複雑に構築された不斉場であり、基質上に不斉炭素が幾つあってもそれらを認識しうるはずである。しかし、実際にその様なことができるかどうかを確かめた例は無い。報告されている反応のほとんどは、反応中心かその隣接部分にある不斉中心を認識するだけである。申請者は酵素分子が本来持っている潜在的な能力を明らかにするために、遠隔不斉誘導と連続する不斉炭素の認識を評価する系を確立し、酵素が人工基質に対してもそのような高度な不斉認識能力を有していることを明らかにした。

遠隔不斉誘導に関しては、 β -ケトエステルのアルコール部位 (1' 位) に不斉炭素を有する 2 級アルコールの 2-メチルアセト酢酸エステルを基質として設計・合成し酵素反応の評価に用いている。実際に YKER-I を用いた還元では、光学活性なヒドロキシエステルを立体選択的に得ており、遠隔位を含む 3 個の不斉中心を一段階で導入できることを明らかにしている。更に、この様な他の酵素では見られない性質が、この酵素のいかなる性質に由来するのかを明らかにするために、1' 位が光学活性な基質に対する YKER-I の K_m および k_{cat} の測定を行い、基質上の反応中心から離れている部位の立体化学の認識は主に、酵素への基質の取り込まれ易さに起因していることを明らかにした。これは認識される不斉中心について置換基のかさ高さと、酵素の活性中心近傍と置換基との水素結合などの相互作用に起因すると結論づけている。

連続する不斉炭素の認識に関しては、非対称な二級のアシル基を 2 位に導入した 2-sec-アシル-3-オキソブタン酸メチルを基質として設計・合成し酵素反応の評価に用いている。YKER-I による還元反応では、置換基にメトキシカルボニルメチル基を有する基質を反応に用いた時に生成可能な 8 種類の立体異性体のうちの一種のみを 99% 以上の鏡像異性体過剰率と 96% のジアステレオマー過剰率で得ている。この事は酵素分子が連続する三つの不斉炭素を厳密に認識していることを示している。このように同時に三つの連続する不斉炭素を導入する反応は、この酵素を使用した系以外では報告例がなく、合成反応への本酵素の適用という観点からも高く評価できる。

以上の二つの系によって申請者は、酵素分子が人工基質に対しても本来潜在的に有している機能、すなわち「反応中心から遠隔位の厳密な立体化学認識」および「連続する複数の不斉中心の厳密な認識」を初めて実証した。これらの成果は、今後の生体触媒科学の研究の一つの方向性を示すものであり、同分野に多大な貢献を与えたと言える。よって本論文は博士(理学)の学位論文として価値あるものと認める。