



RIKEN ニュース

理化学研究所

酵素リパーゼの不斉加水分解機能の利用 —キラルな生理活性化合物の合成—

安価な不斉加水分解酵素リパーゼを適切に利用することにより生理活性化合物合成に必要な、高純度のキラルな光学活性中間体の大量合成が可能となっていました。

生体が合成する生理活性物質のほとんどはキラル（自分自身の鏡像と重なり合わない形）で、光学活性化合物です。一方、通常の純化学的方法によっては、生理活性を示す鏡像体と示さないもう一方の鏡像体の等量混合物（ラセミ体）が生成してしまいます。そこで、現在、求める鏡像体だけを如何にして選択的に合成するかが大きな課題となっています。

何年か前に合成睡眠剤サリドマイドが催奇性を持つことから社会問題となったことがあります。当時使用されたサリドマイドはラセミ体ですが、その後の研究で一方の鏡像体のみが強い催奇性を有することが判明しました。もう一方の鏡像体を使用していたならばこの様な悲劇はおこらなかつた筈で、誠に悔れます。この例は、求むる高純

度のキラル化合物を選択的に合成することの必要性を如実に示しています。有機合成化学研究室では、安価な酵素、リパーゼの優れた不斉加水分解機能を利用することにより二個のキラル中心を有する光学活性原料（シントン、複雑な系合成に有用な短い炭素鎖からなる合成ブロック）の大量合成に成功し、それらを用いて各種抗生物質の全合成に成功しました。

1) 今、なぜリパーゼか？

私達は、ポリオキソマクロライド抗生物質、エリスロマイシンAの合成研究の途上、キラルシントンの選択的合成が目的達成の為に必須であるとの認識からこの分野に手をそめるようになりましたが、当初は酵母による鎖状ケトンの不斉還元（求

むるキラル化合物を還元により選択的に合成すること)による光学活性アルコール類の合成に従事してきました。多数の酵母を用いるスクリーニングの結果、目的物を高い選択性のもとに与える微生物を発見しましたが一般に効率が悪く、キラルシントンの合成という観点からは必ずしも得策ではありません。そこで補酵素を必要としないリバーゼによる不斉加水分解法を用いたところ好結果が得られました。

酵素といえば高価なものと思われていますがリバーゼは別で、種々の異なる微生物由来のリバーゼが安価に入手可能です。但しそれらはすべて粗製品で多数の酵素の混合物ですが比較的安定で、全体として特有の酵素活性を示します。リバーゼ機能の利用に関しては既に多くの研究がなされていますが、次の様な特性があり、今後も大いに用いられるものと考えられます。

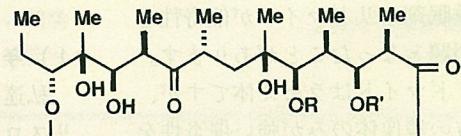
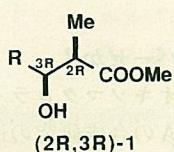
- (i) 一般的試薬と同様に取り扱うことができる
ので基質及びリバーゼの両者を変てのスクリーニングを迅速に実施できます。
- (ii) 微生物を使用する場合と異なり、基質の高濃度化、大量処理が可能です。更に、生成物との分離も容易です。
- (iii) 多岐にわたる固定化が可能で、研究者の創意が充分に發揮できます。
- (iv) 条件を選ぶと、逆反応の不斉エステル化が進行します。

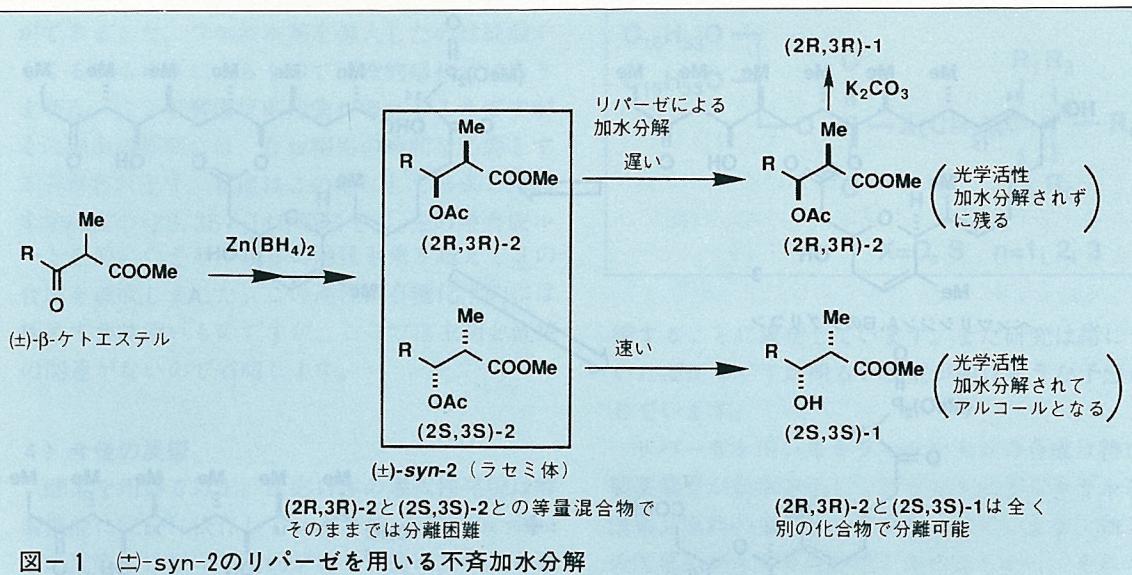
2) 2個のキラル中心を有する有用シントンの合成

2個のキラル中心を有するsyn-2-メチル-3-ヒドロキシプロピオン酸誘導体(2R,3R)-1(光学活性)

性)は、あの複雑なポリオキソマクロライド抗生物質を構成する基本単位であり、それらの合成のための出発原料となることが期待されます。ところが、この一見簡単そうな化合物は鎖状化合物で、その立体選択的合成は、実は極めて困難で、有機合成上の大きな課題の一つとなっていました。

私達は、目的とする(2R,3R)-1のC₃-Oアセテートである(2R,3R)-2を対応する(±)-syn-2(ラセミ体)のリバーゼによる不斉加水分解により高い光学純度のもとに得ることに成功しました。即ち、(±)-syn-2(ラセミ体、光学不活性)は、(2R,3R)-2(光学活性)と(2S,3S)-2(光学活性)との等量混合物ですが、両者は鏡像体の関係にあり物理的性質は同じでそのままでは分離困難です。ところが、Aspergillus niger由来のリバーゼ、Amano-A又はAmano-A6を触媒とする加水分解を行ったところ、後者は前者より著しく速く加水分解されることが判明しました。反応容器中には未反応の(2R,3R)-2とアルコールにまで加水分解された(2S,3S)-1が含まれますが、これらは全く別の化合物で、今度は容易に分離することができます。この様にして求むる光学活性(2R,3R)-2(従って1)を得ることができましたが、リバーゼの特異な機能には唯感嘆するのみです。原料の(±)-syn-2(ラセミ体)に関しては、私達は既に対応するβ-ケトエステルのZn(BH₄)₂還元により極めて高い選択性のもとに合成する方法を開発しています。この様に、ここに述べたキラルな(2R,3R)-1の合成は、有機化学的手法と生物化学的手法が融合して好結果が得られた好例であります。(2R,3R)-1はエリスロマイシン-Aの形式全合成に、又、オーデマンシンA,Bの



図-1 (\pm)-*syn*-2のリバーゼを用いる不斉加水分解

R	リバーゼ	反応時間(hr)	収率(光学純度%ee)	
			($\text{2R},\text{3R}$)-2	($\text{2S},\text{3S}$)-1
a	Me Me	Amano A	24	56% (52% ee)
		Amano A-6	24	42% (83% ee)
b	Me Me	Amano A	27	38% (99% ee)
		Amano A-6	27	27% (99% ee)
c	Me	Amano A	24	37% (88% ee)
		Amano A-6	8	45% (69% ee)
d	Ph Me	Amano A-6		56% (62% ee)
				35% (96% ee)

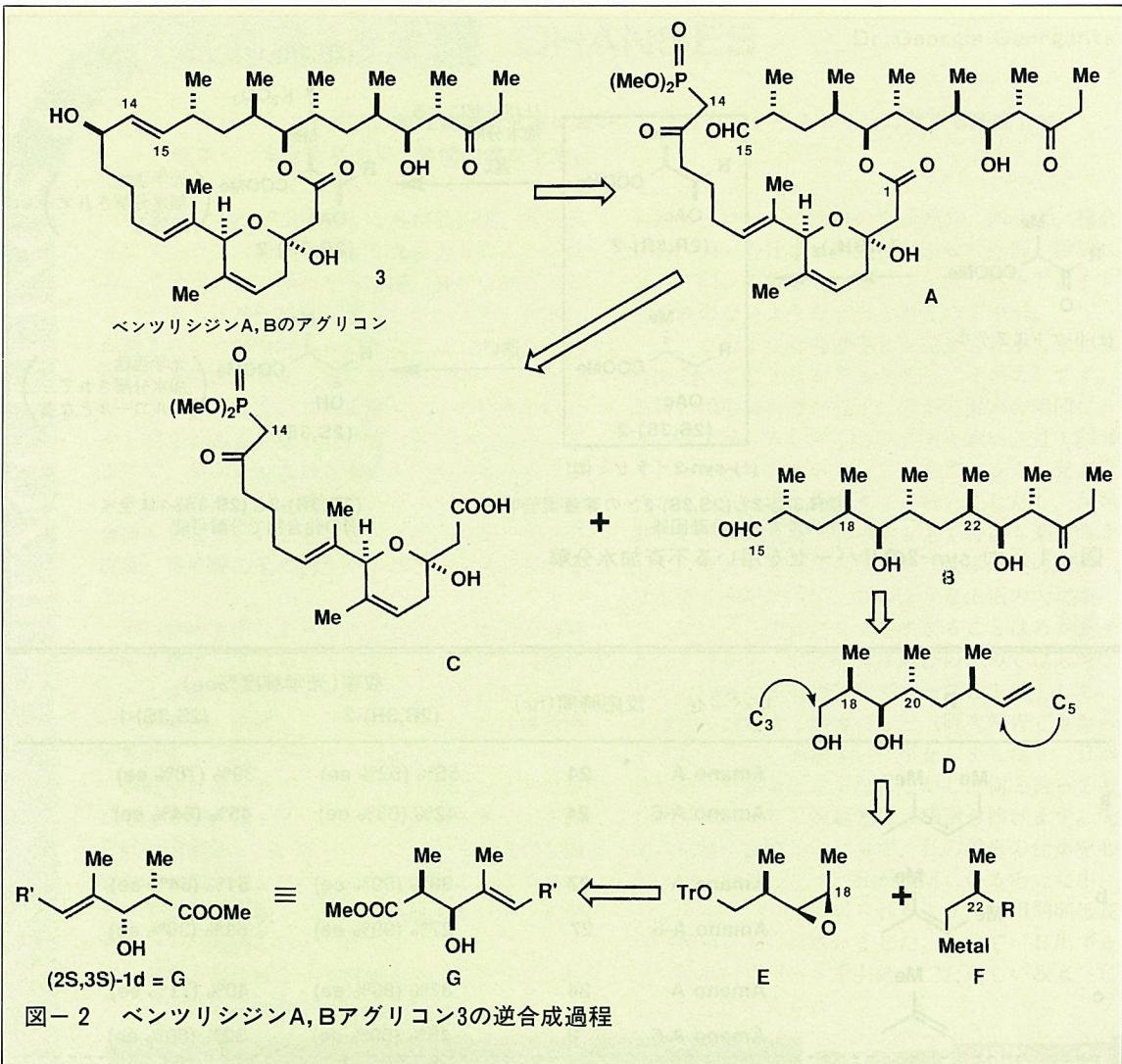
表-1 (\pm)-*syn*-2のリバーゼを用いる不斉加水分解

全合成等に光学活性原料として重要な役割をはたしました。

3) ベンツリシジンA,Bアグリコン3の全合成

ここでは、抗カビ性抗生物質、ベンツリシジンA,Bアグリコン3合成に際し、リバーゼがどの様に寄与したかを中心に述べます。

3の逆合成を図3に示しました。「逆合成」とは実際の合成ルートとは逆に標的化合物から出発して合成戦略を考える一種の紙上計画で、全合成研究の成否をわかつ重要な思考過程です。3はAから、AはBとCから、更にBはDから合成できるだろう、そしてDはEとFとの縮合により、又EはGから誘導出来るだろうというふうに逆



にと考えるわけです。逆合成での各段階には、実現出来るかどうかは別として合理的な裏付けが必要です。

本逆合成においては、GのEへの変換に飛躍があり過ぎる様に見えます。しかし、実は、私達は既に(±)-G(ラセミ体)から(±)-E(ラセミ体)を選択性良く合成する一般法を開発しているので何ら問題なく、むしろ逆にこの反応過程をいかした逆合成過程を考えたわけです。

唯、光学活性3を合成するためには光学活性Gが必要で、それをどの様にして合成するかがここ

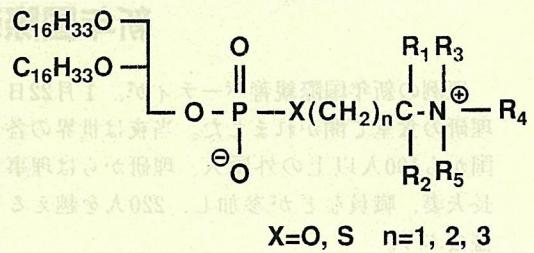
での最大の課題となります。ところがこのGは、前節でのべた(2S, 3S)-1そのものです。従って、ここでも又リバーゼによる不斉加水分解が問題解決に大きく寄与しました。しかし、表1から明らかなように、(2R, 3R)-2と異なり、(2S, 3S)-1の光学純度は不充分で改良を加える必要があります。私達は経験的に、基質にフェニル基が含まれると加水分解される方の光学純度が向上することを知っています。そこでフェニルを二重結合の末端に挿入した(±)-syn-2dを基質として用いたところ96%eの光学純度で求むる(2S, 3S)-1dを得ること

ができました。フェニル基を導入したのは経験からくるひらめきによるもので論理的帰結ではありません。ここが酵素反応の歯がゆいところですがその理由の解明には、なお相当の時間を必要とすると思われます。私達はこの様にして合成した高光学純度の(2S, 3S)-1dを原料とし、先の逆合成ルートを逆にたどり、幾多の困難を乗り越えて3の合成を達成しました。この過程は有機化学的には極めて興味深いのですが、ここでは主題と直接の関連がないので省略します。

4) 今後の展望

酵素を用いる以上、反応自体の選択性発現は酵素機能に完全に依存していますが、実際のin vitroでの反応では様々な制約があり、優れた成果をあげるために研究者は主体的に問題解決に取り組む必要があります。リバーゼの特徴の一つは、先にも述べたように固定化による性状の変換が容易であるということです。固定化することによりハイドロカーボン類、エーテル類等に対し安定となり、これらの有機溶媒中でも反応を行うことができるようになります。事実、水に不安定な、或いは極めて難溶な基質を種々の既知の方法により固定化し、それらを用いて有機溶媒中反応を行うことにより好結果が得られている例を既に経験しています。唯、既知の固定化法を用いるかぎり、どうしても本来の酵素活性が損われ反応の効率が低下するのを防ぐことができません。そこで取り上げたのが逆ミセル中での反応です。本法の特質は、逆ミセルを形成させるための両親媒性物質（現在は脂質同族体を使用）に関し、それらの構造を自由に設計しうるということです。

既に独自に設計、合成したエーテル結合を有する脂質同族体4を用いることにより、従来3週間以上必要とした不齊加水分解反応を2~3日に短



縮することに成功しています。まだ研究は緒についたばかりですが明るい展望が開けそうな予感がしています。

リバーゼを用いるキラルシントンの合成は特に製薬業界が興味を示し、プラントによるキラルな医薬品原料の合成も一部実施されています。殆どの医薬品がキラル化合物であることから、それらの合成に純化学的方法と相補的に、リバーゼの機能を用いる方法もますます利用されるでしょう。唯、現時点ではリバーゼ自体の派性部位の構造、機能発現のメカニズム等は殆どわかっていません。これら理解を深めることは、より高次の発展をはかる上で不可欠のことと今後挑戦すべき重要な課題であると思われます。



有機合成化学研究室

主任研究員 大石 武

新年国際親善パーティ

恒例の新年国際親善パーティが、1月22日理研の食堂で開かれました。当夜は世界の各国から100人以上の外国人、理研からは理事長夫妻、職員などが参加し、220人を越える盛会ぶり。

ひときわ人目をひいたのは民族衣裳をまとったエジプトの女性。また日本女性かと話してみると「もとは中国ですが、今はスウェーデンの科学者の妻」、彼女の夫に聞くと「毎日がとても幸せです」。



皆さんそれぞれの語らいや出会いがあり、相互理解が一段と進んだ夕べでした。



韓国科学技術研究院(KIST)より感謝状

柴田昌文さん(前国際協力担当調査役)

韓国の代表的研究機関KAIST(当時)と姉妹研究所関係が始まってはや8年、これまで研究者交流、共同研究などが着実に進展しています。この度の感謝状は、柴田さんの退職に際し、これまでの円滑な研究協力に対して贈られたもので、御当人は次のように話しています。

「昭和58年にKAISTとの協定が結ばれてか

ら、理研と韓国の間の交流は目覚ましく発展しました。これはひとえに関連研究室や事務局の皆様の御尽力によるもので、今回の感謝状は、理研全体に頂いたものと思います。今後もこのような国際交流が一層盛んになるよう祈っております。」



御苦労さま、160cmサイクロトロン



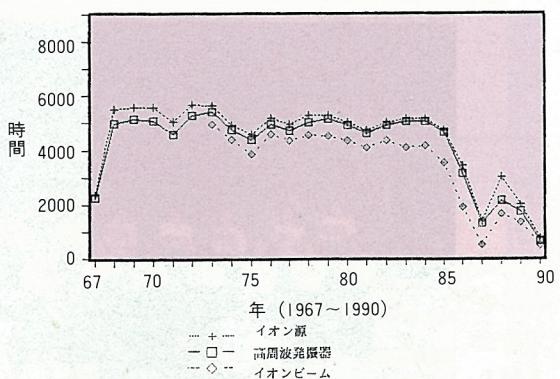
160cmサイクロトロンは、理化学研究所が駒込から現在の和光市に移転するに当って、新しい場所における理研の目玉の一つとして企画された。1962年に認可され、サイクロトロン研究室熊谷寛夫、放射線研究室山崎文男両元主任研究員の指導の下に建設が始められた。このサイクロトロンは、現在各地で稼働しているAVF型サイクロトロンと違い、古い普通型(弱収斂型)であったが、リチウムより重い重イオンを加速できる新しい特徴を持っていた。建設は4年後の1966年に終り、その年の10月に最初の加速ビームを取り出し、1967年の2月から理研所内の共同利用が始まった。その後、このマシンは日本における最初の本格的重イオン加速器として、各種分野の研究に利用され、多くの研究成果を挙げてきたが、23年後の1990年4月末をもってその活動を停止した。

この23年間にサイクロトロンを利用して得られた研究成果については、RIKEN Accelerator Progress Report, Supplement "The 160 cm Cyclotron" (1990) に詳しく述べられているので、ここでは省き、23年間サイクロトロンの維持・運転・利用時間の配分などに携わって来た者として160cmサイクロトロンを見てみたい。

初めの内はサイクロトロンの動作が安定せず、利用時間の割当てを渴望していた実験者と維持・運転グループとの間で、実験継続か停止かのトラブルが絶えず、夜中まで故障修理を続けていたが、サイクロトロン研究室の維持・運転グ

ループの努力によって改善が重ねられ、その性能も徐々に増してきた。そうなると実験グループの欲が出てきて利用時間の増大が求められ、そのため運転グループに負担がしわ寄せされ、こちらに不満が増してきた。この両者の間をうまく調整するのに利用者と運転グループの間でその都度話し合いによるルールを作り、バランスを見ながら23年間が過ぎたように思われる。参考までにサイクロトロンのイオン源と高周波発振器の運転時間、実際にイオンビームを加速した時間の統計を図に示す。これは装置に装備されている時間計による値から取ったもので、平均5000時間を15年間以上続けていたことを物語っており、外国の一流の加速器に比べても自慢できる実績である。さらに私がこの間痛感していたのは、外国の同様の加速器に比べてサイクロトロンの維持・運転グループの人数が大幅に少いことで、このような条件で上記のような稼動時間は驚異的なものと思っている。この事は運転グループだけでなく、利用者達の努力にも負っている。

しかし、23年間稼働した160cmサイクロトロンはすでに満身創痍となり、時代の役目をまとうして新鋭機のリングサイクロトロンに新しい期待をかけることになった。次期の新鋭機が稼働を始め、その内で去っていくことは幸なことであろう。



23年間のイオン源、高周波発振器、イオンビームの稼動時間

安全管理室

室長 河野 功

SCIENCE BRINGS US TOGETHER CHANGES

Dr. Georgia Georganta

ギリシャより来日、微生物学研究室において「サイクロデキストリンに関する研究」に従事し、本年4月まで1年間の滞在予定。

世界の三大陸が出会うところが私の国、ギリシャです。小さな島々からなり九百万人の人々が住み、三千年の古い歴史をもつ国。貧しい国ですか、一千万人は海外に出て暮らしています。外国に占領されたり戦争があったりなどは、干ばつと同様日常茶飯事ですが、笑いや人生の楽しみもまたたくさんあります。日本と似ているのは多くの山々と四季があること。けれども似ているのはここまで、ギリシャ人は日本人の人たちと違って仕事よりも休暇にずっと興味があり、少ない苦労でお金持になりたいと考えています。また、人々の皮膚、目や髪の毛の色もバラエティに富んでいます。

1974年の選挙によって王制を廃し、建国の当時と同じ制度、すなわち、有名なパルテノン神殿によって象徴されペリクレウスが2千5百年前に述べている民主主義にもどりました。これは東西両世界の多くの国々が取り入れています。

1981年には、ギリシャはECに加盟しましたが、ECのもと、12カ国が、近世史上はじめて、それぞれの国家としての独立を保ちながら経済的な国境を取り払うことを決めたのです。これは今日のアメリカ合衆国のシステムとは違っていて、古代ギリシャの組織と似ています。

日本の企業はギリシャを有望なマーケットとみて、現地に支店を置きはじめました。もっとも、

わがヨーロッパの法律のある部分、例えば、機会均等、同一の仕事に対しては国籍や性別、縁故によらず同一の賃金といったように、日本であまりなじみのないようなものもあるのですが。

このような背景をもつ国から日本に来た私は楽しいでしょうか？もちろん“イエス”です。理研の国際協力課の紹介で和光市混声合唱団に入り、週1回いろいろな日本の歌を歌い、月1回ボイストレーニングを受けています。さらに発表会や日本の伝統的な結婚式でも歌いましたし、河口湖にいき莊厳な富士山のふもとで合宿も楽しみました。ヨーロッパ人にとって“仕事以外の生活”はとても大切なことで、このような生活の大切さについていくら強調してもしそぎることはありません。とはいって、私の訪日は遊びのためではありません。理研の微生物研究グループの1員として、工藤先生の慎重な指導のもと（研究報告でもおわかりのように）興味深い仕事をしましたし、日本語もいくつか覚えました。しかし、何と言っても、たいへん御多忙な掘越先生に感謝を捧げます。先生は研究の指導のみならず、私の将来の仕事を心配してくださいったり、私が理研にいるあいだ中、ハイム佑アパートに居られるよう、利用期間延長の手配もしてくださいました。お陰で“日出する国”最高のアパートを引き続き“たのしい我家”にできたのですから。



理研シンポジウム（3月）

テ　ー　マ

- 鏡面研削の技術動向
- イオンビームと表面・表層・界面のかかわり
- 材料の微細表面形状とその利用
- 第3回「記号・数式処理と先端的科学技術計算」
- 学際利用のための大強度加速器の現状と将来計画
- 第13回「レーザー科学」
- 第8回「ヨセフソン・エレクトロニクス」
- 第10回「加速器利用の原子衝突」
- 核反応断面積データベースと断面積の評価

担当研究室

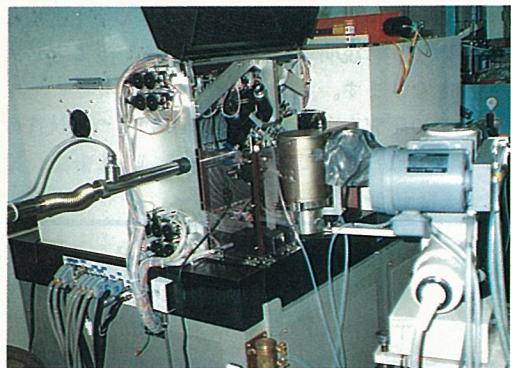
	開催日
素形材工学	3/5
表面界面工学他	3/6
素形材工学	3/7
情報科学	3/8
金属物理他	3/8
レーザー科学 研究グループ	3/14
情報科学他	3/15
原予過程	3/18
放射線	3/22

スポットニュース

測定時間を2桁短縮した 新しいX線回折装置の開発

結晶学研究室では、実験室系で、通常の有機化合物の結晶構造解析に必要な全X線データを1時間程度で収集できる新しい迅速X線回折装置を開発した。この開発研究は、文部省科学研究費・重点領域研究「分子性結晶の反応の解析と制御」の一部として、昭和63年から3年間にわたって実施したもので、現在ほぼ当初の目標通りの試作機を完成し、実用試験を行っている段階である。試作機には、光学系の改良により試料を照射するX線強度を増大させ、検出器2組を用いてデータ記録効率の向上を図り、また多重スクリーン方式を導入して速い測定でも十分な測定精度を確保するなど各種の工夫を施した。その結果、簡単な結晶構造で20分、かなり複雑な構造のものでも2時間程度でX線の全回折データを収集することに成功しており、在来型の四軸X線自動回折計に比べて1~2桁程

度の測定時間の短縮を実現した。この装置は変化・崩壊しやすい不安定物質の迅速X線データ収集に利用することもできるほか、通常の結晶についても解析時間の大幅短縮を実現し、NMRよりも早く確実な分子構造情報を与える可能性ができたことなど、構造化学上種々の波及効果を期待している。





一天然物屋と一本釣り

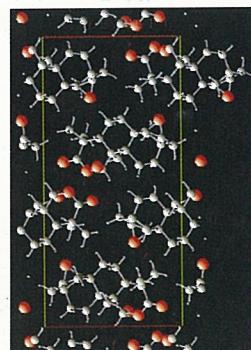
田舎育ちの私は魚釣りが好きで、理研の釣りの会にもよく参加させて頂いています。久里浜から出船して遠方に霞む三浦半島を眺めながら糸を垂れている時、ふと自分の研究テーマは沿岸で稚魚を育てて栽培するのとは対照的に小船を操って一本釣りで魚を捕るのと多くの共通点をもつと感じることがしばしばあります。それは、研究テーマが天然物研究のなかでも生理活性物質を単離し、その化学構造を明らかにするといった狭い分野を取り上げてきた為と思われます。それはひたすら魚(活性物質)の掛かるのを願う姿であり、かかった魚を数十メートル引き上げる時の期待に満ちた感覚は、活性物質を単離し、化学構造が見えてくる日々の緊張感を圧縮したもののように思えます。

現在のテーマは、“何故栽培植物が特定の植物病原菌に対して抵抗性品種と感受性品種という違いを示すのか”ということを物質レベルで調べることです。この違いを説明できる物質として、病原菌が生産する宿主特異的毒素があります。この毒素は宿主である感受性品種のみに毒性を示し、抵抗性品種には何ら作用しません。これまでこのような毒素の化学構造解明を研究の中心としてきました。その結果、ネブラスカ大学のDaly教授をはじめとする多くの人達と共に、トウモロコシのゴマ葉枯れ病に関与する毒素、柑橘類の褐斑病に関与する毒素、燕麦のヴィクトリアーブライト病に関与する毒素関連化合物などを明らかにしてきました。このような毒素による病害としては、現在世界で約15種類の病害が知られています。では“このほかの大部分の病害に於ける宿主選択の機構はどのように説明すればよいか”ということが大きな問題となります。

一つの研究方向としては、植物がもつ抵抗性の機構からこの点についての答えを得る試みとして、植物が

自分自身を守る物質、主としてプロヒビチン（もとからある抗菌物質）とかファイトアレキシン（後からできる抗菌物質）の研究があります。このような観点から、茨城大学と共同でイネのファイトアレキシンとして抗いもち病菌物質であるオリザレキシンを明らかにしました。最近では、構造解析室、東京農工大学と共同でイネ(止葉より抽出)のプロヒビチンとして抗白葉枯れ病細菌物質であるオリザライドを明らかにできましたが、このときは1キロを越えるマダイを釣り上げた時の気分といったところでした。今後はこれらの防御物質について抵抗性及び感受性との関連をさらに詳しく研究することにより植物が持つ抵抗性の機構から病原菌が宿主を選択する機構を探る糸口がみつかることを期待しています。また別の研究方向としては、病原菌の代謝産物から宿主を選択する物質を探る方向がありますが、まだ手探りの状況といったところです。

どのような方向から研究を進めるにしても、植物と植物病原菌の相互作用にかかる新しい生理活性物質を探す研究から宿主選択の“鍵”となる物質を見だし、それを“有用植物の保護育成への応用”つまり一本釣りのようなものから栽培漁のようなものへと進展させることを夢みながら研究に向かう日々です。



結晶内のオリザライド分子の配列



イネの止葉(一番上の葉)

植物生活環制御研究室

副主任研究員 河野 芳樹