

## 酵素法による光学活性アミノ酸合成の今

安川 和志

光学活性 $\alpha$ -、 $\beta$ -アミノ酸の需要は、化粧品や農薬、医薬品などのビルディングブロックとして年々増している。利用に際しては光学異性体の片方を高純度で得ることが肝要となるため、その合成法の開発が注目されている。非天然光学活性 $\alpha$ -アミノ酸はおもに酵素的/化学的な光学分割法によって広く工業生産されているが、そのうちの酵素法による、特に近年の $\alpha$ -、 $\beta$ -アミノ酸の速度論的分割法について本稿で紹介したい。

速度論的分割法 (Kinetic Resolution, KR) は両エナンチオマーで反応性の異なる酵素を用いてラセミ体基質の一方のエナンチオマーのみを光学活性化化合物へ変換する合成法である。理論収率は50%にとどまり、反応液中には生成物の他、似た構造をもつ未反応の基質が含まれるため、煩雑な精製を要する。一方の動的分割法 (Dynamic Kinetic Resolution, DKR) は系内で基質をラセミ化させつつKRで光学活性化化合物に変換する合成法であり、理論収率100%で非常にエレガントだ。

日本では、立体選択的なN-アシルアミノ酸アシラーゼを用いたN-アシルDL- $\alpha$ -アミノ酸からのL- $\alpha$ -アミノ酸の工業的合成方法が世界に先駆けて実用化された。さらにD-アミノアシラーゼ<sup>1)</sup>とN-アシルアミノ酸ラセマーゼ<sup>2)</sup>のDKRへの利用により、N-アシルDL- $\alpha$ -アミノ酸からのD-またはL- $\alpha$ -アミノ酸の合成も可能になった。近年Asanoらは、基質の環状アミドである $\alpha$ -アミノ- $\epsilon$ -カプロラクタム (ACL) と $\alpha$ -アミノ酸アミドの構造類似性に着目し、L-リジンの工業生産に用いられていた *Achromobacter obae* 由来 ACL ラセマーゼが $\alpha$ -アミノ酸アミド化合物に対してラセミ化活性を有することを見いだした<sup>3)</sup>。ACL ラセマーゼとD-またはL-アミノ酸アミド加水分解酵素<sup>4)</sup>をカップリングし、 $\alpha$ -アミノ酸アミドからのD-、L-アミノ酸のDKRによる合成も報告している。またYasukawaらは、一般的に酵素の特徴と言われる位置特異性や立体選択性とは逆に、あえて $\alpha$ -アミノニトリルを非立体選択的にラセミ体 $\alpha$ -アミノ酸アミドに変換するニトリルヒドラーゼの生産菌を探索し、*Rhodococcus opacus* 71Dを土壌より単離した。この酵素は広い基質特異性を持ち、さまざまな $\alpha$ -アミノニトリル化合物を非立体選択的に $\alpha$ -アミノ酸アミドへ変換した。上記ACL ラセマーゼを用いた反応系と同時に用いると、ラセミ体 $\alpha$ -アミノニトリルから光学活性 $\alpha$ -アミノ酸へのDKRが可能となる<sup>5)</sup>。安価な原料であるアルデヒドを基質とするストレッカー反応を含め、わずか2段階で脂肪族、分岐鎖、芳香族の光学活性 $\alpha$ -アミノ酸の合成が達成された。

近年、 $\beta$ -アミノ酸がタキソールなどの天然生理活性物質の骨格の一部を構成していることが明らかとなり、 $\beta$ -アミノ酸の合成法に関する研究が話題となっている。これまでの酵素法による $\beta$ -アミノ酸の合成研究は、ラセミ体N-保護DL- $\beta$ -アミノ酸のリパーゼを用いたKRが主だったが、最近Geuekeらは自然界での $\beta$ -ペプチド分解に興味をもち、 $\beta$ -ペプチドを唯一の炭素源として生育する菌株として単離した *Sphingosinicella xenopeptidilytica* 3-2W4に、新規酵素 $\beta$ -ペプチジルアミノペプチダーゼ (BapA) を見いだした。この酵素は $\beta$ -アミノ酸をN-末端に有する $\beta$ -ジペプチドおよびトリペプチド、さらに $\beta$ -アミノ酸アミドをL-立体選択的に加水分解する<sup>6)</sup>。BapAを用いた脂肪族DL- $\beta$ -アミノ酸アミドからL- $\beta$ -アミノ酸へのKRは、保護基を必要としない安価な原料から合成できるため、リパーゼを用いるKRよりメリットがある<sup>7)</sup>。未知の $\beta$ -アミノ酸アミドのラセミ化酵素とのDKRにより効率的な光学活性 $\beta$ -アミノ酸の合成法の開発に期待される。

一方BapAは、一本のポリペプチド鎖として翻訳された後、求核性アミノ酸残基のセリンが自己触媒的に直前のペプチド結合を切断し $(\alpha\beta)_4$ 構造の成熟タンパク質を形成する。そのセリン残基は成熟酵素の活性中心となる特徴からN-末端求核性加水分解酵素類 (セリンプロテアーゼ) に属すが、典型的なセリンプロテアーゼとは活性ドメインの折りたたみが違うため、構造の異なるファミリーに分類されるなど、酵素化学的にも興味深い<sup>8)</sup>。

以上、近年の酵素法による光学活性 $\alpha$ -、 $\beta$ -アミノ酸の合成法について紹介した。非天然アミノ酸を含む多くの光学活性化化合物は、ラセミ体の基質からKRにより合成されている。そのため理論収率100%のDKRは魅力的であり、グリーンケミストリーの中核を担う合成法の一つとして、今後の研究に期待される。

- 1) Wakayama, M. *et al.*: *J. Mol. Catal. B: Enzymatic*, **23**, 71 (2003).
- 2) Tokuyama, S. *et al.*: *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **58**, 24 (1994).
- 3) Asano, Y. *et al.*: *J. Mol. Catal. B: Enzymatic*, **36**, 22 (2005).
- 4) Komeda, H. *et al.*: バイオサイエンスとインダストリー, **62**, 31 (2004).
- 5) Yasukawa, K. *et al.*: *Adv. Synth. Catal.*, **353**, 2328 (2011).
- 6) Geueke, B. *et al.*: *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **74**, 1197 (2007).
- 7) Heck, T. *et al.*: *ChemBioChem*, **10**, 1558 (2009).
- 8) Heck, T. *et al.*: *Chemistry & Biodiversity*, **9**, 2388 (2012).