

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第6161069号
(P6161069)

(45) 発行日 平成29年7月12日(2017.7.12)

(24) 登録日 平成29年6月23日(2017.6.23)

(51) Int. Cl.			F I		
B O 1 J	31/22	(2006.01)	B O 1 J	31/22	Z
B O 1 J	32/00	(2006.01)	B O 1 J	32/00	
C 1 2 N	15/09	(2006.01)	C 1 2 N	15/00	A

請求項の数 7 (全 15 頁)

(21) 出願番号	特願2013-180898 (P2013-180898)	(73) 特許権者	504132272
(22) 出願日	平成25年9月2日(2013.9.2)		国立大学法人京都大学
(65) 公開番号	特開2015-47555 (P2015-47555A)		京都府京都市左京区吉田本町36番地1
(43) 公開日	平成27年3月16日(2015.3.16)	(73) 特許権者	000002901
審査請求日	平成28年4月12日(2016.4.12)		株式会社ダイセル
			大阪府大阪市北区大深町3番1号
特許法第30条第2項適用	公益社団法人 日本化学会	(74) 代理人	100100549
	日本化学会第93春季年会(2013)講演予稿集1		弁理士 川口 嘉之
11 発行日	平成25年3月8日 日本化学会第93	(74) 代理人	100126505
春季年会 開催日	平成25年3月22日 Bioma		弁理士 佐貫 伸一
terials Science 掲載日	平成25年	(74) 代理人	100131392
7月10日 掲載アドレス	http://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2013/bm/c3bm60134j		弁理士 丹羽 武司
		(74) 代理人	100160945
			弁理士 菅家 博英

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 DNAを含有するハイブリッド触媒及びその触媒を有する充填剤

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

DNAが担体に担持されてなり、金属錯体と組み合わせることで不斉合成の触媒を形成する触媒材料であって、

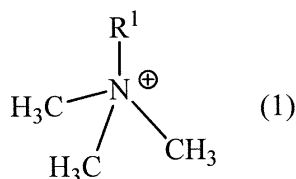
前記担体は第四級アンモニウムカチオンを有し、

DNAの前記担体への担持が、DNAが有するリン酸骨格と、担体が有する第四級アンモニウムカチオンの静電相互作用によるものである、触媒材料。

【請求項2】

前記担体が以下の式(1)で表される第四級アンモニウムカチオンを有するシリカゲルである、請求項1に記載の触媒材料。

【化1】

(式中、R¹は、炭素数1~27の炭化水素基を示す。)

【請求項3】

前記R¹が、任意の-CH₂-の一つがフェニルで置換されているエチル、プロピル及び

ブチルから選択されるものである、請求項 2 に記載の触媒材料。

【請求項 4】

前記 DNA が、s t - DNA である、請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載の触媒材料。

【請求項 5】

請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載の触媒材料と、金属錯体とから形成される、ハイブリッド触媒。

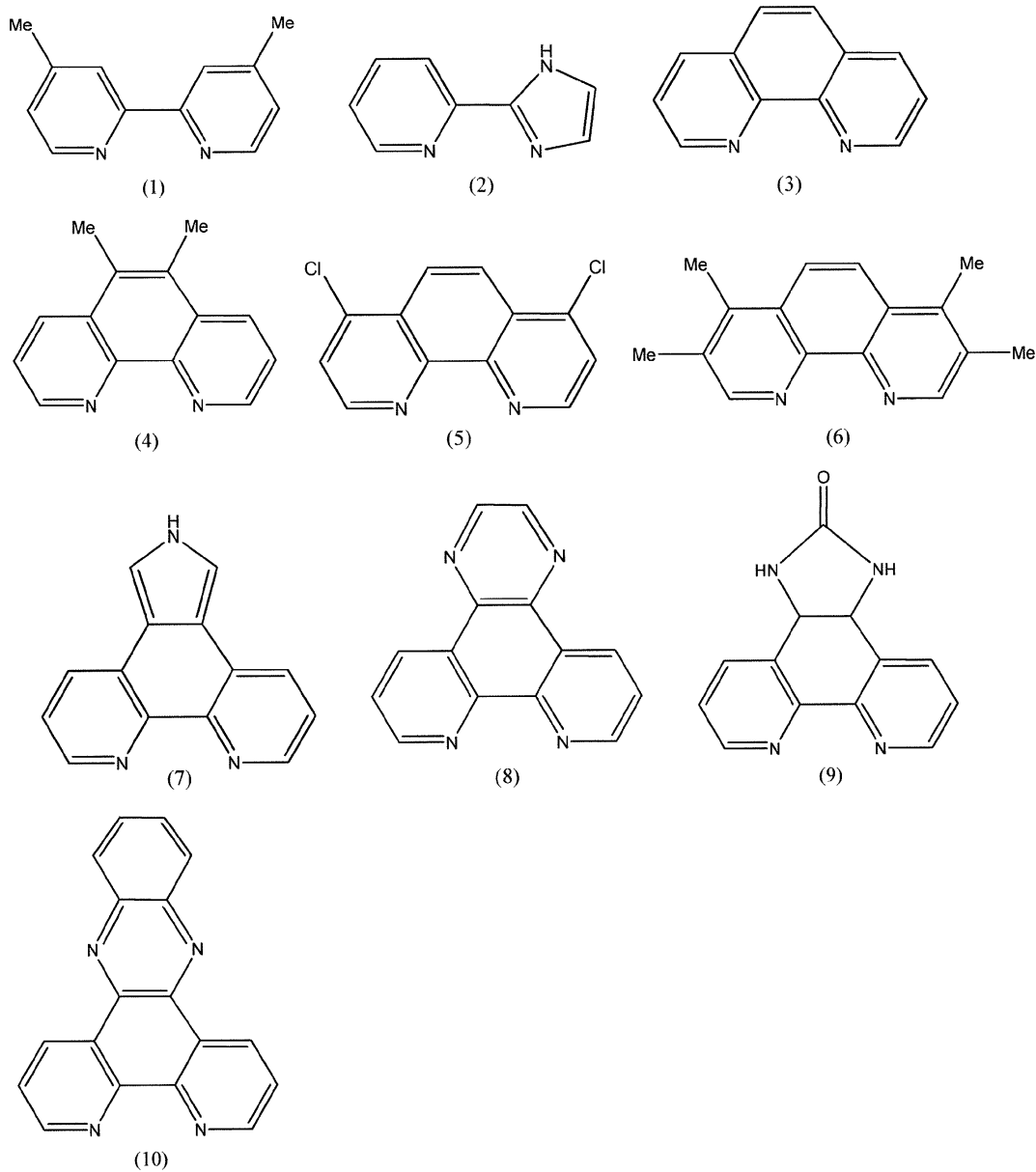
【請求項 6】

前記金属錯体を構成する金属が、銅 (I I) である、請求項 5 に記載のハイブリッド触媒。

【請求項 7】

前記金属錯体を構成する配位子が、下記式 (1) ~ (1 0) で表される化合物のいずれか 1 以上である、請求項 5 または 6 に記載のハイブリッド触媒。

【化 2】



【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、DNA を含有するハイブリッド触媒を用いた連続的な不斉合成法に関する。

10

20

30

40

50

【背景技術】

【0002】

フリーデル - クラフツアルキル化反応およびそれによるエナンチオ選択的な変異体の合成は、有機化学における炭素 - 炭素結合反応の重要な一態様である。

近年では、銅の触媒活性とDNAのらせん不斉を組み合わせたハイブリッド触媒系が *Feringa* 等によって開発され、上記のフリーデル - クラフツアルキル化反応に加え、ディールス・アルダー反応やマイケル付加反応などの炭素 - 炭素結合反応において、このようなハイブリッド触媒を用いた場合には、高エナンチオ選択的に目的の生成物が得られることが報告されている（例えば、非特許文献1参照）。

上記のハイブリッド触媒には、DNAの他に銅のような金属の錯体を用いられており、そのような金属錯体を構成する配位子としては、4, 4'-ジメチル-2, 2'-ビピリジン (*dmppy*) を用いることが報告されており、また、DNAとしては、例えばサケ精巢から抽出されるDNA (*salmon testes DNA*) を用いることが報告されている（例えば、非特許文献1参照）。

このようなハイブリッド触媒を用いた不斉合成法は、従来必要とされていたレアメタルや人工的なキラルリガンドを用いる必要がなく、また、水のような環境に対する負荷の少ない溶媒中で反応を起こさせることが可能であることから、有望な不斉合成法として注目されている（例えば、非特許文献2参照）。

【先行技術文献】

【非特許文献】

【0003】

【非特許文献1】 *Angew. Chem. Int. Ed.* 2009, 48, 3346 - 3348

【非特許文献2】 *Angew. Chem. Int. Ed.* 2010, 49, 3870 - 3878

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0004】

しかしながら、これまでの研究例では、いずれも研究室内で行われるバッチ実験のみであり、その実験に用いられるハイブリッド触媒の作製については検討の余地がある。

【0005】

本発明は、高エナンチオ選択的な化学反応のために用いられるDNAが、特定の担体に担持されて形成される触媒を提供することを課題とする。

【課題を解決するための手段】

【0006】

本発明は上記実情に鑑みてなされたものであり、本発明者は鋭意研究の結果、第四級アンモニウムカチオンを有する担体にDNAを特定の態様で担持させた触媒材料を作製した。また、これを特定の配位子を持つ金属錯体と組み合わせたハイブリッド触媒を作製した。

すなわち、本発明は、DNAが担体に担持されてなる触媒材料であって、前記担体は第四級アンモニウムカチオンを有し、DNAの前記担体への担持が、DNAが有するリン酸骨格と、担体が有する第四級アンモニウムカチオンの静電相互作用によるものである、触媒材料によって、上記課題を解決する。

【発明の効果】

【0007】

本発明の触媒材料は、金属錯体と組み合わせることで、高収率かつ高エナンチオ選択的に目的物質を連続的に得るための触媒になる。このような触媒材料を用いた場合には、DNAが担体に担持されていることで、繰り返しの使用に用いることができる。

【図面の簡単な説明】

【0008】

10

20

30

40

50

【図 1】本発明の実施例の触媒材料の作製に用いたシリカゲル、市販品の修飾シリカゲル、本発明の実施例の触媒材料の I R 分析の結果を示す図である。

【図 2】各触媒材料における DNA の担持を確認するために行った、DNA 濃度の経時変化を示す図である。

【発明を実施するための形態】

【0009】

本発明の触媒材料は、DNA と担体に担持されてなる触媒材料であって、前記担体は第四級アンモニウムカチオンを有し、DNA の前記担体への担持が、DNA が有するリン酸骨格と、担体が有する第四級アンモニウムカチオンの静電相互作用によるものである。

なお、本発明でいう触媒材料とは、それ自身が触媒となるものではないものの、金属錯体と組み合わせて用いることで、不斉合成の触媒を形成するものである。

【0010】

本発明の触媒材料に用いる担体は、第四級アンモニウムカチオンが共有結合により結合している。

そのような結合を介して第四級アンモニウムカチオンを有している担体であれば、特段の制限なく用いることができる。

担体の平均粒径としては、通常 $5 \sim 100 \mu\text{m}$ のものを用いることができる。

本発明で用いる担体の粒径は、メディアン径 (D_{50}) をいい、その測定は、平均粒径 D_{50} : レーザー回折散乱式粒子分布測定装置によって測定した粒子分布 (直径) の中央値を 3 回測定し、この平均値を算出して得ることができる。

担体の材料の具体的な例としては、シリカゲルを用いることが、取扱いの容易さ、汎用性の観点から好ましい。シリカゲルは市販されているものを用いることができる。

シリカゲル以外の担体の材料としては、ガラスを挙げることができる。ガラスからなる担体とは、ガラスを構成成分として含む担体をいう。そのようなガラス系担体としては、細孔直径が $4.5 \text{ nm} \sim 400 \text{ nm}$ で、細孔容積が $50 \sim 70\%$ 程度のコントロールドポアガラス (Controlled Pore Glass) のような粒子形状ものが好ましく例示できる。

【0011】

また、担体の材料としてシリカゲルを用いる場合には、後述するように、その表面を予め処理することが好ましい。

表面処理としては、後述するように第四級アンモニウムカチオンを導入するために必要な官能基を有するようであれば特段の限定はなく、例えばシリカゲルのシラノールをアミノアルキルシリル基で修飾する処理を挙げることができる。アミノアルキルシリル基のアルキルとしては、炭素数 $1 \sim 5$ 程度の直鎖炭化水素を挙げることができ、例えばメチル、エチル、プロピルを好ましく挙げることができる。

アミノアルキルシリル基でシラノールを修飾する方法として、公知のアミノ基を有するシランカップリング剤を用いて、公知の方法により行うことができる。

【0012】

第四級アンモニウムカチオンをシリカゲルに導入する方法としては、以下の方法を挙げることができる。

第四級アンモニウムカチオンは、下記式 (1) で表される第四級アンモニウムカチオンが有しているアルキル基を介してシリカゲルと直接結合していてもよいし、アルキル基とシリカゲルの間に、その他のスペーサーとなる結合基を介して結合していてもよい。なお、結合の際には、下記式 (1) で表される第四級アンモニウムカチオンが有しているアルキル基の一つの水素が置換されることになる。

【0013】

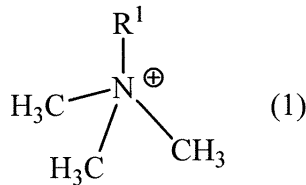
10

20

30

40

【化 1】



(式中、 R^1 は、炭素数 1 ~ 27 の炭化水素基を示す。)

【0014】

10

式(1)において、前記炭化水素基としては、例えば、任意の $-CH_2-$ がフェニルやナフチルのようなアリーレンで置換されてもよい、メチル、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、イソブチル基、*sec*-ブチル、*tert*-ブチル、ペンチル、ネオペンチル、ヘキシル、イソヘキシル、ノニル、デシル、ドデシル、オクタデシル、シクロペンチル、シクロヘキシル基等の炭素数 1 ~ 27 の直鎖状、分岐鎖状若しくは環状のアルキル基が挙げられる。これらの中でも、前記 R^1 が、任意の $-CH_2-$ の一つがフェニルで置換されている炭素数 7 ~ 17 のアルキル基であることが好ましく、任意の $-CH_2-$ の一つがフェニルで置換されているエチル、プロピル及びブチルから選択されるものであることがより好ましい。

【0015】

20

上記式(1)で表される第四級アンモニウムカチオンを、スペーサーとなる結合基を介して担体に結合させる場合、担体の材料としてアミノプロピルシリル基が導入されたシリカゲルを用いる態様を挙げることができる。

そして、アミノプロピルシリル基が導入されたシリカゲルと、例えばイソシアネートを有する臭素化炭化水素をジクロロメタンのような溶媒中で反応させて、臭素化炭化水素をシリカゲルに導入する。

その際、アミノ基とイソシアネート基の反応により、臭素化炭化水素とシリカゲルの間にはウレア結合が介在する。

あるいは、アミノプロピルシリル基が導入されたシリカゲルと、例えば臭素化炭化水素を有する炭酸エステルをベンゼンのような溶媒中で反応させて、臭素化炭化水素をシリカゲルに導入する。

30

その際、アミノ基と炭酸エステル基との反応により、臭素化炭化水素とシリカゲルの間にはウレタン結合が介在する。

臭素化炭化水素を構成する炭化水素としては、フェニルやナフチルのようなアリールを有する炭素数 1 ~ 10 のアルキルを挙げることができる。

炭素数 1 ~ 10 のアルキルとしては、メチル、エチル、*n*-プロピル、*n*-ブチル、*n*-ペンチル、*n*-ヘキシル、*n*-ヘプチル、*n*-オクチル、*n*-ノニル、*n*-ドデシルのような直鎖状の炭化水素を挙げることができ、これらの中でも、メチル、エチル、*n*-プロピルのような短鎖のものが好ましく挙げられる。

【0016】

40

イソシアネートを有する臭素化炭化水素は、例えば以下のような方法で得ることができる。

ヒドロキシメチルアニリンのようなヒドロキシ基を有するアニリンを臭化水素の溶解液中で還流させることでヒドロキシ基を有するアニリンのヒドロキシ基を臭素に置換させて臭素が導入された芳香族アミンを形成させ、これをさらにトリホスゲンと反応させることで、イソシアネートが導入された臭素化炭化水素を得ることができる。

【0017】

炭化水素基を有する炭酸エステルは、例えば以下のような方法で得ることができる。

4-プロモ安息香酸メチルのような臭素を有するエステルをジイソブチルアルミニウムヒドライドのような還元剤を用いて、(4-(プロモメチル)フェニル)メタノールのような

50

臭素有するアルコールを調製する。その後、これを4-ニトロクロロホルメートのようなクロロギ酸エステルとピリジンのような塩基性溶媒のもとで反応させると、(4-(ブromoメチル)ベンジル(4-ニトロフェニル)カーボネートのような臭素化炭化水素有する炭酸エステルを調製することができる。

【0018】

上記の手順により得られたシリカゲルをメタノールのような適当な溶媒の存在下で、トリメチルアミンを加えて反応させると、シリカゲルに導入された臭素化炭化水素有する臭素とトリメチルアミンが反応して第四級アンモニウムカチオン(置換基の3つがメチル)と臭素イオンを有する基がシリカゲルに導入される。

トリメチルアミンを用いることで、上記式(1)の第四級アンモニウムカチオンを構成する基がメチル基のような立体障害の少ないものになり、DNAとの静電相互作用が好ましいものになり、担体への担持が確保される。

【0019】

本発明の触媒材料における担体とDNAの重量の割合は、特に限定されないが、通常、20~100 $\mu\text{g}/\text{mg}$ (DNA/担体)である態様を挙げることができ、好ましくは35~50 $\mu\text{g}/\text{mg}$ (DNA/担体)である態様を挙げることができる。

【0020】

本発明の触媒材料を用いたハイブリッド触媒を使用する不斉合成方法によれば、基質を含む溶液中の基質が、上記のハイブリッド触媒と接触することで、中心金属がルイス酸として作用して炭素-炭素結合反応に代表される化学反応が起こるとともに、不斉源としてのDNAのらせん構造により、生成物のエナンチオ選択性が高まる。

上記の化学反応としての炭素-炭素結合反応には、フリーデル-クラフツ反応に加え、ディールス-アルダー反応やマイケル付加反応も含まれる。上記フリーデル-クラフツ反応には、同一分子内での反応も含まれる。

なお、本発明において基質とは、上記化学反応に用いられる原料のことを意味する。

また、本発明いうハイブリッド触媒とは、DNAと金属錯体から形成される超高分子集合体のことをいう。

本発明によれば、不斉合成反応に用いる触媒材料が粒子状のものであることにより、生成物との分離にかかる手間を省くことができるとともに、ハイブリッド触媒の再利用が既存の方法に比べて容易になる。これはDNAが担体に特定の態様で担持されていることで、水や緩衝液などの水溶液、またはアセトニトリルやエーテルなどの高極性の有機溶媒により、ハイブリッド触媒を洗浄することができるためである。

【0021】

本発明のハイブリッド触媒では、前記触媒材料と金属錯体とが組み合わされる。

本発明のハイブリッド触媒によれば、これが有するDNAのらせん構造に起因する不斉源の作用により、得られる生成物の鏡像体過剰率が高まる、つまりエナンチオ選択性が高まる。なお、以下の文で略号として用いる「ee」は鏡像体過剰率のことを示す。

鏡像体過剰率は、多い方の物質質量から少ない方の物質質量を引き、全体の物質質量で割った値で表されるものである。

【0022】

本発明で用いることのできるDNAとして、例えば市販されているDNA材料、例えば、サケ精巢DNA(以下、st-DNAともいう)を利用することもできるし、DNAを含有する天然試料から、公知の方法を用いて抽出したDNAを用いることもできる。また、所望の塩基配列を有する合成オリゴヌクレオチドを用いることもできる。さらに、エナンチオ選択性に影響を与えない程度に、DNAの一部がメチル化されている配列を含むものも用いることができる。

上記の中では、入手の容易性と目的物の高いエナンチオ選択性を得る観点から、st-DNA、さらにはct-DNA(仔ウシ胸腺DNA)を用いることが好ましい。また、反応速度の観点からは二重鎖のDNAを用いることが好ましい。

ここで、DNAとしては、高AT含量のものを用いる場合に、目的物のエナンチオ選択

10

20

30

40

50

性や反応速度を若干高める傾向がある。

また、本発明で用いることのできるDNAは、通常400～3000bpサイズのものを用いることができ、st-DNAを用いる場合には、約500～2000bpサイズのものを用いることができる。

DNAとしては、例えば非特許文献2に記載されているように、官能基で修飾されたオリゴヌクレオチドを用いることもできる。

上記DNAは、ハイブリッド触媒として用いる際に、一種のみを用いてもよいし、異なる複数種を用いることでもできる。

DNA原料は、上記で説明した第四級アンモニウムカチオンと臭素イオンからなる基を有する担体に静電相互作用により担持させるために、前記担体をDNA原料の水溶液（例えば1～5mg/mL程度の濃度）に加え、5～55程度の温度で1時間～1週間程度攪拌する手段を用いることができる。攪拌時の温度としては、45～55程度であることが好ましい。このような温度帯で攪拌した場合、攪拌時間を短縮しても十分に担体へのDNAの担持が起こる。これにより、本発明の触媒材料を得ることができる。

【0023】

金属錯体とDNAが担持された担体は、金属触媒の溶解に用いる溶媒が例えば水である場合には、水溶液中で金属錯体がDNAに対して非共有結合により結合してハイブリッド触媒となる。

このようなハイブリッド触媒を形成するためには、DNAの分子と、金属錯体を構成する金属とのモル比が10：3～1：1の範囲となるように、調製を行うことが好ましい。

【0024】

本発明のハイブリッド触媒を構成する金属錯体が有する金属は、スカンジウム（Sc）、チタン（Ti）、バナジウム（V）、クロム（Cr）、マンガン（Mn）、鉄（Fe）、コバルト（Co）、ニッケル（Ni）、銅（Cu）、亜鉛（Zn）のような遷移金属を例示することができる。

このような遷移金属は、硝酸塩、硫酸塩、塩化物及びその水和物、トリフルオロメタンスルホン酸塩などから選択される塩等により、本発明のハイブリッド触媒の金属源として供されることが好ましい。

上記の中でも、特に二価の銅を用いることが、目的物の収率及び高エナンチオ選択性を得る観点から好ましい。またその塩としては、 $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ で表される組成式を有する硝酸銅を好ましく例示できる。

【0025】

本発明のハイブリッド触媒を用いて基質の反応を行う場合、上記金属の濃度は、後述する金属錯体の濃度として、基質に対して、通常0.03～100mol%であり、10～40mol%であることが、目的物のエナンチオ選択性を高める観点から好ましい。

【0026】

本発明のハイブリッド触媒には、上記遷移金属を中心原子する金属錯体が含まれるが、当該金属錯体を構成するリガンド（配位子ともいう）は、例えば下記式（1）：4,4'-ジメチル-2,2'-ピピリジン（以下、dmbpyともいう）、（2）：2-(2'-ピリジニル)イミダゾール、（3）：フェナントロリン、（4）：5,6-ジメチル-1,10-フェナントロリン（以下、5,6-dmpともいう）、（5）4,7-ジクロロ-1,10-フェナントロリン、（6）3,4,7,8-テトラメチル-1,10-フェナントロリン、（7）：1,10-フェナントロリンピロール、（8）：ピラジノ[2,3-f][1,10]フェナントロリン、（9）：ジピリド[1,3]ジアゼピノン、（10）：ジピリド[3,2-a:2'-3'-c]フェナジンで示されるものを例示することができる。これらは特に、フリーデル-クラフツ反応に好適に用いられる。

【0027】

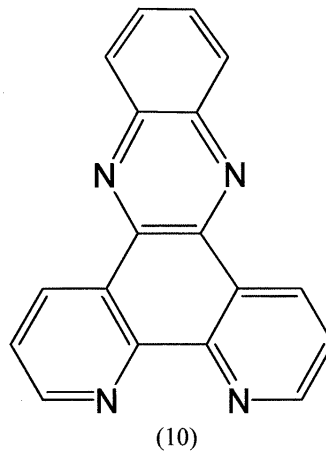
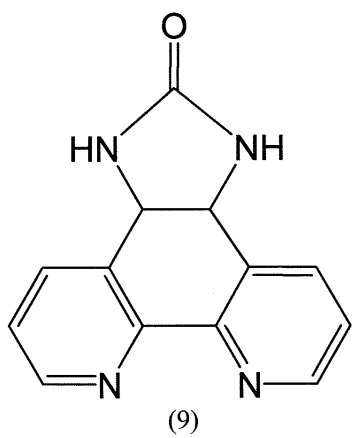
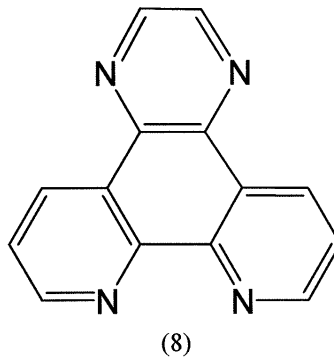
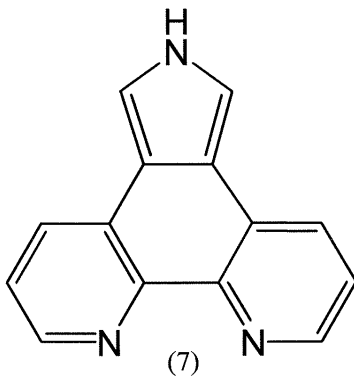
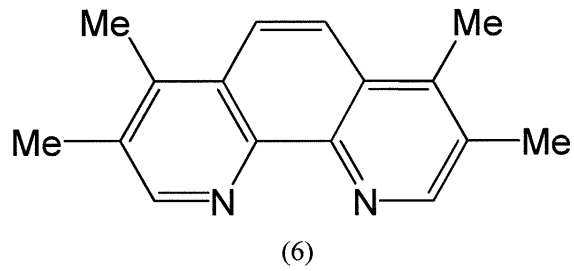
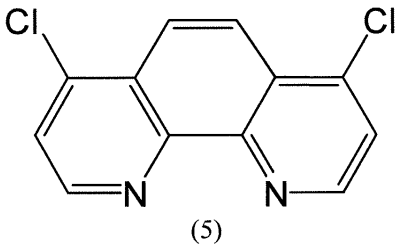
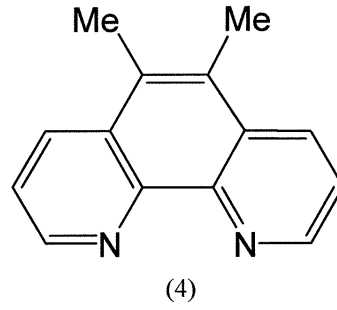
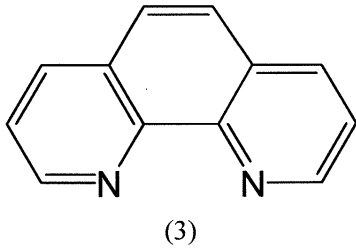
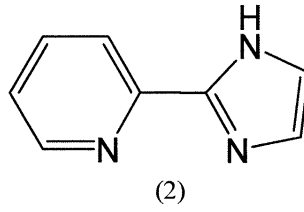
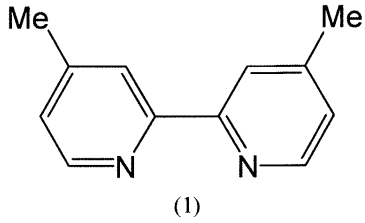
10

20

30

40

【化 2】

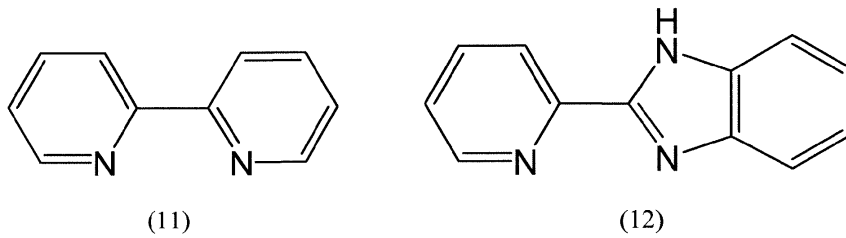


【 0 0 2 8 】

配位子としては、その他に下記式(11)で表される2,2'-ピピリジン、式(12) 50

)で表される2-(2-ピリジニル)-1H-ベンゾイミダゾールを用いることもできる。これらと、上記式(1)、(2)、(3)、(8)及び(10)で表される化合物は、ディールス・アルダー反応のハイブリッド触媒の作製に好適に用いられる。

【化3】



10

【0029】

上記各式で示される化合物のうち、式(1)で示される4,4'-ジメチル-2,2'-ビピリジン(dmbpy)を用いることが、目的物の高い収率と高いエナンチオ選択性を得る観点から好ましい。これは特にディールス・アルダー反応において顕著である。

上記の化合物は、上記金属源との金属錯体を形成する配位子となるために、例えば水溶液中で金属錯体を調製する際に、金属源となる金属原子と配位子となる化合物のモル比が、1:1~1:2となるように混合することが好ましい。

【0030】

本発明の触媒材料は、担体に担持されて形成されるものであり、これをカラムのような円柱状の筒に充填する充填剤として用いる態様を挙げることができる。この態様によれば、連続的な通液が可能となり、化学反応も連続的に行われ、これにより、目的物も連続的に得ることができる。

20

本発明の触媒材料をカラムに充填して用いる場合には、カラムの長さは通常5~15mであり、内径は、通常3~6mmである。カラムの材質としては、ステンレスのような金属製あるいはフッ素樹脂や他の樹脂製のものも使用することができる。

そのようなカラムに、本発明の触媒材料を充填し、さらに金属錯体を溶液のような状態で導入し、カラム内で上述した超分子集合体を形成させることもできる。このような操作を経ることで、カラム内の担体上に保持されたハイブリッド触媒を形成することができる。

30

【0031】

本発明の触媒材料を用いたハイブリッド触媒を用いて反応を起こさせる際に用いる溶媒としては、水系溶媒を挙げることができ、その中でもMOPS(3-モルホリノプロパンスルホン酸)緩衝液を用いることが好ましい。このような緩衝液を用いることで、反応器内でDNA及び金属錯体からなるハイブリッド触媒を安定に保つことができる。

MOPSの濃度としては、通常10~100mMで用いる。また、通液のための溶媒のpHの範囲は、通常5.5~6.5である。

【0032】

本発明の触媒材料を用いたハイブリッド触媒を用いた不斉合成方法によれば、高収率かつ高エナンチオ選択的に目的物質を得ることができる。これにより、有用な薬剤や農薬の開発に貢献できる。また、本発明によれば、担体にDNAが静電相互作用により担持されていることで、使用後に洗浄等の操作を行ってもDNAが担体に担持され続けることから、複数回の利用に耐えることができる。

40

【実施例】

【0033】

以下に、実施例をあげて、本発明について更に詳細に説明を加えるが、本発明の範囲がかかる実施例にのみ限定されないことはいうまでもない。

【0034】

<実施例1:アンモニウム修飾シリカゲルの合成>

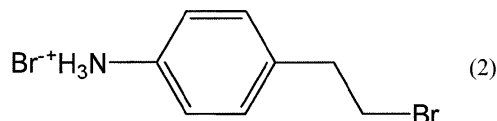
1.(4-(2-bromoethyl)anilinium bromide (1)の合成)

50

240 mg の4-(2-hydroxyethyl)aniline (1.75mmol)を20 mLの48%臭化水素酸に溶かし、4時間還流を行った。還流後に室温まで放冷し、その後0℃まで冷やすと白色固体が析出したので、濾過して分離し、以下の式(2)で表される4-(2-bromoethyl)anilinium bromideを得た(328mg, 67% yield)。

【0035】

【化4】



10

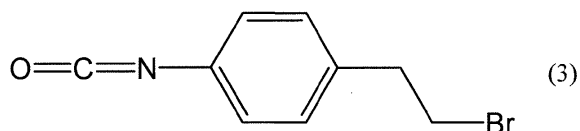
【0036】

2. (4-(2-bromoethyl)phenylisocyanateの合成)

得られた固体を4 mLのジクロロメタンに溶かし、さらに4 mLの飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加えた。この溶液を0℃で攪拌させ、十分冷えた後に114 mgのトリホスゲン(0.39mmol)を加え、さらに0℃で40分間攪拌を行った。その後、ジクロロメタンで抽出操作を行い、得られた有機層を硫酸ナトリウムで乾燥、濾過し、減圧条件下で溶媒を留去して淡黄色のオイル(以下の式(3)で表される4-(2-bromoethyl)phenylisocyanate)を得た(224mg, 1.00mmol)。

【0037】

【化5】



20

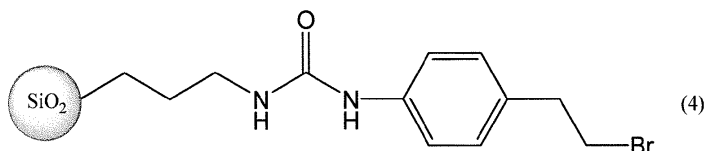
【0038】

3. (3-((4-((2-bromo)ethyl)phenyl)ureido)propyl-修飾シリカゲルの合成)

上記で得られたオイルを20 mLのジクロロメタンに溶かし、800 mgの3-aminopropyl-functionalized silica gel (40-63 μm, 1mmol/g NH₂ loading, Aldrich)を加えた。この懸濁液を室温で20時間攪拌した後濾過し、固体を少量のジクロロメタンで洗って、3-((4-((2-bromo)ethyl)phenyl)ureido)propyl-修飾シリカゲルを得た(以下の式(4))。

【0039】

【化6】



40

【0040】

4. 3-((4-((2-trimethylammonium)ethyl)phenyl)ureido)propyl-functionalized silica gel, bromideの合成

上記の固体に7 mLのトリメチルアミン-メタノール溶液(3.2 mol/L, TCI)と2 mLのエタノールを加えて、50℃で三日間攪拌した。その後濾過し、メタノール、アセトン、水で洗浄した後、減圧乾燥し、白色固体(以下の式(5)で表される3-((4-((2-trimethyl ammonium)ethyl)phenyl)ureido)propyl-functionalized silica gel, bromide) 914 mgを得た(40-63 μm, 1 mmol/g ammonium loading)。

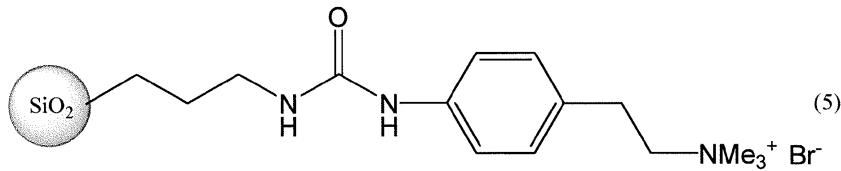
元素分析 計算値: C/N =4.29

50

実測値 : C, 9.79; N, 2.32 C/N = 4.22

【0041】

【化7】



【0042】

< シリカゲル担持DNA (触媒材料) の作製 >

サケ精巢由来のDNA (Sigma-Aldrich) 2 mg を超純水 (MiliQ, Millipore) 1 mL に溶解させた。この溶液と、上記で合成した第四級アンモニウムカチオンが導入されたシリカゲル 50 mg に加え、5 で7日間振とうした。溶液中のDNA濃度が振とう開始時の10%未満になった時点で振とうを止めて濾過し、1 mLの超純粋で二回洗浄、凍結乾燥を経て、本発明の触媒材料であるシリカゲル担持DNA粉末 50 mg を得た。

本発明の実施例の触媒材料の作製に用いたシリカゲル、市販品のシリカゲル (3-アミノプロピル-修飾-シリカゲル (40-63 μm, アルドリッチ社製))、本発明の実施例のシリカゲル担持DNA (触媒材料) について、IR分析を行った。結果を図1に示す。

図1の結果から、1400 ~ 1700 cm⁻¹の間で、本発明の実施例の触媒材料では特徴的なピークが見られた。これは、本発明の実施例の触媒材料が有する、ウレア基やアミール基に起因するものであると考えられる。

【0043】

< シリカゲル担持DNA粉末を用いたエナンチオ選択的Diels-Alder反応 >

上記で作製したシリカゲル担持DNA粉末 50 mg に240 μLのMOPSバッファー (20 mmol/L, pH6.5) を加え、さらに120 μLの銅触媒溶液 ([Cu(dmbpy)(NO₃)₂]の2.7 μmol/mL水溶液) を加えた後、5 で1.5時間振とうし、触媒混和物 (ハイブリッド触媒) とした。これに反応基質である2-azachalconeの0.5 Mアセトニトリル溶液を2 μLと、cyclopentadine 2 μLを加え、5 で三日間振とうすることで反応を行った。反応後はジエチルエーテルで生成物を抽出し、減圧条件下で溶媒を留去して目的の生成物を得た。生成物の転化率とエナンチオ選択性はHPLCで (株) ダイセル製キラルカラム (CHIRALCEL OD-H、溶離液イソプロパノール/ヘキサン = 19/1、流速0.5 mL/min) を用いて調べたところ、収率98%、94% eeであった。

【0044】

< 試験例1 : 本発明の触媒材料であるシリカゲル担持DNA粉末の再利用実験 >

実施例1で作製した使用済みの本発明の触媒材料であるシリカゲル担持DNA粉末を、抽出作業後の懸濁液から回収し、新しく240 μLのMOPSバッファーと120 μLの銅触媒溶液を加えなおし、5 で1.5時間振とうした。これを触媒混和物 (ハイブリッド触媒) とし、前項と同じ条件で基質添加からHPLCでの転化率とエナンチオ選択性の測定までの工程を繰り返した。この再利用実験を10回繰り返したところ、以下の表1に示す結果が得られた。

【0045】

10

20

30

40

【表 1】

表 1

回数	転化率(%)	endo/exo比	ee(%)
1	99	99/1	94
2	99	98/2	94
3	93	98/2	93
4	96	98/2	93
5	99	98/2	92
6	99	98/2	90
7	98	98/2	89
8	99	98/2	88
9	94	97/3	85
10	99	98/2	89

10

【0046】

この結果から、シリカゲル担持DNA粉末は複数回反応に利用しても、高い転化率とエナンチオ選択性を失うことなく、不斉源として繰り返し用い得ることが示された。

【0047】

20

<比較例1：第四級アンモニウムカチオンと炭酸イオンとからなる基が導入されたシリカゲル（市販品）を用いた例>

実施例1と同様の手順により、サケ精巢由来のDNA（Sigma-Aldorich：以下、単にst-DNAともいう）2mgを超純水（MiliQ, Millipore）1mLに溶解させた。この溶液と、市販品のシリカゲル（3-(trimethylammonium) propyl-functionalized silica gel, carbonate (200-400 mesh 0.8mmol/g loading)) 50mgに加え、5 で7日間振とうした。溶液中のDNA濃度が振とう開始時の10%未満になった時点で振とうを止めて濾過し、1mLの超純粋で二回洗浄、凍結乾燥を経て、本発明の触媒材料であるシリカゲル担持DNA粉末50mgを得た。

【0048】

30

<比較例2：第四級アンモニウムカチオンが導入されていないシリカゲル（市販品）を用いた例>

実施例1と同様の手順により、サケ精巢由来のDNA（Sigma-Aldorich）2mgを超純水（MiliQ, Millipore）1mLに溶解させた。この溶液と、市販品のシリカゲル60N（球状、中性、平均粒径40-50 μ m）50mgに加え、5 で7日間振とうした。溶液中のDNA濃度が振とう開始時の10%未満になった時点で振とうを止めて濾過し、1mLの超純粋で二回洗浄、凍結乾燥を経て、触媒材料50mgを得た。

【0049】

<試験例2：触媒材料におけるDNA分子の担持の確認>

実施例1、比較例1及び2で作製した触媒材料を、st-DNAの溶液（st-DNA 2mgを水1mLに溶解）にそれぞれ加えて、1週間攪拌した。その際のDNA濃度の経時変化を確認した。結果を図2に示す。

40

図2の結果から明らかなように、本発明の触媒材料は、DNA分子を徐々に吸着するのに対し、比較例の触媒材料はDNA分子をほとんど吸着しなかった。

【0050】

<試験例3>

シリカゲルに担持させていないst-DNAを用い（1.3M）、金属触媒としてCu（dmbpy）（1.5mM）を用いて反応を行わせた例を試験例3-1とした。

実施例1の触媒材料を用い、Diels-Alder反応を行った例を試験例3-2とした。

また、実施例1の触媒材料においてDNAを担持してないものを触媒材料として用い、

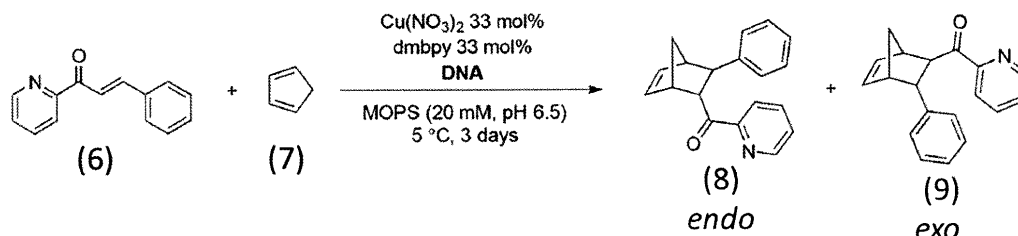
50

配位子としてdmbpyを用いた金属触媒を用いたこと以外は試験例3-2と同様の手順、操作により、Diels-Alder反応を行った例を試験例3-3とした。

得られた転化率、endo/exo比、ee%について、以下の表2に示す。試験例3-1~3-3のいずれにおいても、用いた基質は以下の式(6)：2-azachalcone及び(7) cyclo pentadieneであり、得られた生成物は式(8)：endo体、式(9)：exo体で表される化合物である。

【0051】

【化8】



【0052】

【表2】

表2

	DNA	転化率 (%)	endo/exo	ee (%)
試験例3-1	担体なし	93	99/1	99
試験例3-2	実施例1	99	99/1	94
試験例3-3	st-DNAの担持なし	14	91/9	<3

20

【0053】

< 実施例2：アンモニウム修飾シリカゲルの合成 >

1. (4-(bromomethyl)phenyl)methanol の合成

2.0 gのmethyl 4-bromomethyl benzoate (18.7 mmol)を50 mLのdichloromethaneに溶かし、-78 に冷却した後、29 mLのDIBAL-H (Diisobutylaluminium hydride, 1.0 M in THF)を加えた。この溶液を-78 で1.5時間撹拌した後、0 まで昇温し、さらに30分間撹拌した。少量の水で反応を停止し、dichloromethaneで抽出操作を行い、得られた有機層を硫酸ナトリウムで乾燥、濾過し、減圧条件下で溶媒を留去して白色の個体を得た。(4-(bromomethyl)phenyl)methanol, 1.95 g, quant)

30

【0054】

2. 4-(bromomethyl)benzyl (4-nitrophenyl) carbonateの合成

得られた固体を50 mLのdichloromethaneに溶かし、2.6 gの4-nitrochloroformateと2.1 mLのpyridineを加えた。この溶液を常温で24時間撹拌した。Chloroformを加えて反応溶液を希釈し、1 Mの硫酸水素ナトリウムで洗浄し、得られた有機層を硫酸ナトリウムで乾燥、濾過し、減圧条件下で溶媒を留去した。得られた混合物からシリカゲルカラムクロマトグラフィにより黄色の個体を得た。(4-(bromomethyl)benzyl (4-nitrophenyl) carbonate, 3.19 g, quant)

40

【0055】

3. 3-((4-((2-trimethylammonium)ethyl)phenyl)carbamoyl)propyl-functionalized silica gel, bromideの合成

得られた個体を20 mLのbenzeneに溶かし、500 mg の3-aminopropyl-functionalized silica gel (40-63 μm, 1 mmol/g NH₂ loading, Aldrich)を加えた。この懸濁液を室温で20時間撹拌した後濾過し、固体を少量のdichloromethaneとacetoneで洗った。この固体に4.7 mLのtrimethylamine in methanol 溶液(3.2 mol/L, TCI)と2 mLのethanolを加えて、50 で三日間撹拌した。その後濾過し、methanol, acetone, 水、で洗浄した後減圧乾燥

50

し、白色固体310 mgを得た。(3-((4-((2-trimethylammonium)ethyl)phenyl)carbamoyl)propyl-functionalized silica gel, bromide, 40-63 μm , 1 mmol/g ammonium loading)

【0056】

<シリカゲル担持DNA(触媒材料)の作製>

サケ精巢由来DNA(sigma-aldrich) 2 mgを超純水(MilliQ, Millipore)1 mLに溶解させた。この溶液と、上で合成したカチオン修飾シリカゲル 50 mgに加え、5 で7日間振とうした。溶液中のDNA濃度が振とう開始時の10%未満になった時点で振とうを止めて濾過し、1 mLの超純水で二回洗浄、凍結乾燥を経てシリカゲル担持DNA粉末50 mgを得た。

【0057】

実施例2で作製したシリカゲル担持DNA粉末を用いて実施例1と同様の反応を行ったところ、優れた収率及びエナンチオ選択性を示した。また、繰り返しの使用にも耐えることができた。

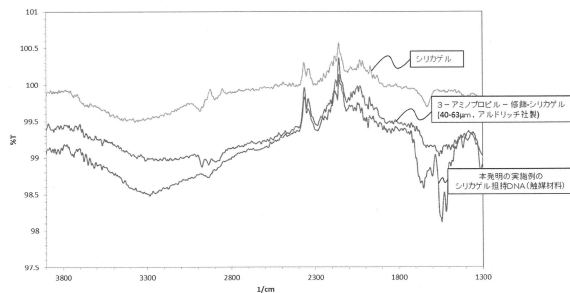
【産業上の利用可能性】

【0058】

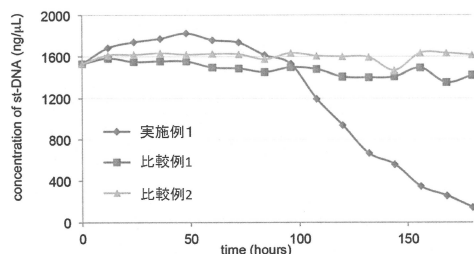
本発明の触媒材料には、市販されているDNAのような安価な材料を用いることができ、また、有機溶媒ではなく環境負荷の小さい水系溶媒を用いて反応を起こさせることができる。また、本発明によれば、連続的なプロセスにより高エナンチオ選択的に目的の生成物を得るためのハイブリッド触媒を提供できるので、薬剤あるいは農薬として使用可能性のある目的物の大量生産に本発明を利用することができる。

10

【図1】



【図2】



フロントページの続き

- (72)発明者 杉山 弘
京都府京都市左京区北白川追分町 国立大学法人京都大学大学院理学研究科内
- (72)発明者 朴 昭映
京都府京都市左京区北白川追分町 国立大学法人京都大学大学院理学研究科内
- (72)発明者 池端 桂一
京都府京都市左京区北白川追分町 国立大学法人京都大学大学院理学研究科内

審査官 安齋 美佐子

- (56)参考文献 特開2007-003439(JP,A)
特開平02-001499(JP,A)
特開2013-184935(JP,A)
Arnold J. Boersma, et al., Enantioselective Friedel-Crafts Reactions in Water Using a DNA-Based Catalyst, *Angewandte Chemie International Edition*, 2009年, Vol.48, p.3346-3348

- (58)調査した分野(Int.Cl., DB名)
B01J 21/00-38/74
C12N 15/09
C07B 61/00
JSTPlus/JST7580(JDreamIII)