

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第4452820号
(P4452820)

(45) 発行日 平成22年4月21日(2010.4.21)

(24) 登録日 平成22年2月12日(2010.2.12)

(51) Int. Cl.		F I	
C 1 2 P 41/00	(2006.01)	C 1 2 P 41/00	C
C 0 7 D 211/60	(2006.01)	C 0 7 D 211/60	

請求項の数 6 (全 15 頁)

(21) 出願番号	特願2003-55011 (P2003-55011)	(73) 特許権者	504174135
(22) 出願日	平成15年2月28日(2003.2.28)		国立大学法人九州工業大学
(65) 公開番号	特開2004-261086 (P2004-261086A)		福岡県北九州市戸畑区仙水町1番1号
(43) 公開日	平成16年9月24日(2004.9.24)	(74) 代理人	100095603
審査請求日	平成18年2月28日(2006.2.28)		弁理士 榎本 一郎
		(72) 発明者	西野 憲和
			福岡県北九州市若松区畠田1-6-6
		(72) 発明者	原中 沙織理
			福岡県嘉穂郡桂川町大字豆田29
		(72) 発明者	森口 充暲
			大分県大分市大字旦野原700
		(72) 発明者	左右田 健次
			大阪府吹田市山手町3-3-35
		審査官	福岡 信子

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 ピペコリン酸の製造方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

D - 2 - アミノ - 6 - ハロゲノヘキサン酸、L - 2 - アミノ - 6 - ハロゲノヘキサン酸を

N - アセチル - DL - 2 - アミノ - 6 - ハロゲノヘキサン酸のラセミ体溶液に、アスペルギルス・ジーナス (Aspergillus genus) L - アミノアシラーゼ、Thermococcus eitoralis L - アミノアシラーゼ、アシラーゼ I (ブタスイ臓、Aspergillus melleus) L - アミノアシラーゼ、アルカリジーナスキシロースオキシダンス (Alcaligenes xylosoxydans) D - アミノアシラーゼのいずれかのアミノアシラーゼを添加する調整工程と、前記ラセミ体溶液を pH 6 ~ 9、温度 20 ~ 50 で 10 ~ 30 時間保持させる生成工程と、による前記アミノアシラーゼのエナンチオマー特異的作用により生成し、

これに続く分子内環化反応によって、D - ピペコリン酸又は L - ピペコリン酸を生成させることを特徴とするピペコリン酸の製造方法。

【請求項2】

前記生成工程後の前記ラセミ体溶液から前記 D - ピペコリン酸又は前記 L - ピペコリン酸を溶媒抽出する抽出工程を備えていることを特徴とする請求項1に記載のピペコリン酸の製造方法。

【請求項3】

前記 N - アセチル - DL - 2 - アミノ - 6 - ハロゲノヘキサン酸が、アセタミドマロン酸ジエチルと 1, 4 - ジブロモブタンを反応させてアセタミド - 4 - ブロモブチルマロン酸ジ

10

20

エチルを生成させる工程と、前記アセタミド - 4 - ブロモブチルマロン酸を半ケン化して加熱脱炭酸し DL - N - アセチル - 2 - アミノ - 6 - ブロモヘキサン酸エチルを得る工程と、前記工程で得られた DL - N - アセチル - 2 - アミノ - 6 - ブロモヘキサン酸エチルをケン化、結晶化させる工程と、を順次実行して製造されたものであることを特徴とする請求項 1 又は 2 に記載のピペコリン酸の製造方法。

【請求項 4】

D - 2 - アミノ - 6 - ハロゲノヘキサン酸、L - 2 - アミノ - 6 - ハロゲノヘキサン酸を

、
N - 保護 - D - 2 - アミノ - 6 - ハロゲノヘキサン酸、N - 保護 - L - 2 - アミノ - 6 - ハロゲノヘキサン酸のいずれかの溶液を保護基の脱着条件に保持することにより生成し

10

、
これに続く分子内環化反応によって D - ピペコリン酸又は L - ピペコリン酸を生成させるピペコリン酸の製造方法であって、

前記脱着条件が、室温下におけるパラジウム炭を触媒とする水素添加反応条件又は、塩化水素含有ジオキサン溶液又は酢酸エチル中での脱着反応条件であることを特徴とするピペコリン酸の製造方法。

【請求項 5】

前記 N - 保護 - L - 2 - アミノ - 6 - ハロゲノヘキサン酸が、N - 保護 - L - 2 - アミノ - 6 - ブロモヘキサン酸であって、

前記 N - 保護 - L - 2 - アミノ - 6 - ブロモヘキサン酸が、N - ベンジルオキシカルボニル - アミノマロン酸ジエチル、N - t - ブトキシカルボニル - アミノマロン酸ジエチルの保護

20

基を有するアミノマロン酸誘導体と 1, 4 - ジブロモブタンを反応させて N - 保護 - アミノ - 4 - ブロモブチルマロン酸ジエチルを生成せしめた後、氷冷下で希薄強アルカリ水を添加して半ケン化し、次いで加熱脱炭酸して得られる DL - N - 保護 - 2 - アミノ - 6 - ブロモヘキサン酸エチルをタンパク質分解酵素またはエステラーゼの加水分解作用によって作成されたものであることを特徴とする請求項 4 に記載のピペコリン酸の製造方法。

【請求項 6】

前記 N - 保護 - D - 2 - アミノ - 6 - ハロゲノヘキサン酸が、N - 保護 - D - 2 - アミノ - 6 - ブロモヘキサン酸であって、

前記 N - 保護 - D - 2 - アミノ - 6 - ブロモヘキサン酸が、前記 N - 保護 - L - 2 - アミノ - 6 - ブロモヘキサン酸の作成後の溶液から回収された N - 保護 - D - 2 - アミノ - 6 - ブロモヘキサン酸エチルを、氷冷下で希薄強アルカリ水を添加してケン化して作成されたものであることを特徴とする請求項 5 に記載のピペコリン酸の製造方法。

30

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は L - ピペコリン酸および D - ピペコリン酸を低原価で量産できるピペコリン酸の製造方法に関する。

【0002】

【従来の技術】

40

光学活性ピペコリン酸は、図 1 に示すように天然に存在する種々の有用な生理活性物質の構成要素として含まれ、また合成医薬品の原料としても重要な化合物である。天然物質の構成成分としては FK506 (免疫抑制剤)、Rapamicin (免疫抑制剤)、や Trapoxin A (HDAC 阻害剤) が、合成医薬品では VX710 (抗がん剤) や Bupivacaine (局部麻酔剤) が挙げられる。また、L - ピペコリン酸を含む天然物に Cyl-2 (非特許文献 1)、及び Sandramycin (非特許文献 2) がある。

さらに、人工的に設計され、薬理活性を有するため有用である化合物中にも L - ピペコリン酸が構成要素として導入されている。例えば、VX710 (非特許文献 3) および L-365,209 (非特許文献 4) が挙げられる。

D - ピペコリン酸を含む天然物には例えば、Trapoxin A (非特許文献 5) と Apicidin (非

50

特許文献6)とが挙げられる。

これらの構造を元に新規様々な薬理活性を有する医薬品の開発および製造を行なおうとする時、分子構造の組み立て上、L-ピペコリン酸またはD-ピペコリン酸が必要であるが、特殊な環状イミノ酸であるピペコリン酸を完全な光学活性体で安価に入手する事が困難であり、創薬上のネックになっていた。そこで過去20年以上に渡って、主として天然物の生理活性と構造との相関解明のために、必要とされる光学活性ピペコリン酸の合成および製造が数々試みられてきた。

【0003】

(1)例えば、ピペコリン酸の製造方法として(非特許文献7)には、L-またはD-リシン、或いはその他のアミノ酸からの誘導法が、また、(非特許文献8)には酵素を用いた方法として、リパーゼ、アミダゼ、または酪酸ビニル存在下でアシラーゼを用いる方法が記載されている。

10

(2)(特許文献1)や(非特許文献9)には、比較的安価なDL-ピペコリン酸に対して酒石酸、キラルなパラジウム複核錯体、またはO-フェニル乳酸を反応させ、分別沈殿による光学分割法が開示されており、ここでは、DL-ピペコリン酸を混合物媒体中で光学活性フェノキシプロピオン酸と反応させ、得られた難溶性ジアステレオマー塩を水に溶解又は懸濁し、これに当量又は過剰の酸を加えて複分解して光学的に純粋なD-ピペコリン酸又はL-ピペコリン酸を製造する方法が記載されている。

(3)(非特許文献10)には、不斉触媒を用いたり、不斉点を導入したりするなどの不斉合成法が試みられており、(非特許文献11)には、ハロゲン化アルキルに対するアミン類の分子内SN2反応を用いてペリジン環を形成する方法が記載されている。

20

(4)(非特許文献12)には、L-リシンを原料として2種の酵素(lysine 6-aminotransferase および L-1-piperidine 6-carboxylate reductase)を応用した方法が提案されている。

【0004】

【非特許文献1】

(Hirota, A., Suzuki, A., Aizawa, K., and Tamura, S. (1973). Structure of Cyl-2, a novel cyclotetrapeptide from *Cylindrocladium scoparium*. *Arg. Biol. Chem.* 37, 955-956)、Rapamycin (Vezina, C., Kudelski, A., and Sehgal, S. N. (1975). Rapamycin (AY-22,989), a new antifungal antibiotic. I. Taxonomy of the producing streptomycete and isolation of the active principle. *J. Antibiot.* 28, 721-726)、FK506 (Tanaka, H., Kuroda, A., Marusawa, H., Hatanaka, H., Kino, T., Goto, T., and Hashimoto, M. (1987). Structure of FK506: a novel immunosuppressant isolated from *Streptomyces*. *J. Am. Chem. Soc.* 109, 5031-5033)

30

【非特許文献2】

(Boger, D. L., Chen, J. H., and Saionz, K. W. (1996). (-)-Sandramycin: Total synthesis and characterization of DNA binding properties. *J. Am. Chem. Soc.* 118, 1629-1644)

【非特許文献3】

(Germann, U. A., Shlyakhter, D., Mason, V. S., Zelle, R. E., Duffy, J. P., Galullo, V., Armistead, D. M., Saunders, J. O., Boger, J., and Harding, M. W. (1997). Cellular and biochemical characterization of VX-710 as a chemosensitizer: Reversal of P-glycoprotein-mediated multidrug resistance in vitro. *Anticancer Drugs* 8, 125-140)、Bupivacaine (Adger, B., Dyer, U., Hutton, G., and Woods, M. (1996). Stereospecific synthesis of the anaesthetic levobupivacaine. *Tetrahedron Lett.* 37, 6399-6402)、

40

【非特許文献4】

(Pettibone, D. J., Clineschmidt, B. V., Anderson, P. S., Freidinger, R. M., Lundell, G. F., Koupal, L. R., Schwartz, C. D., Williamson, J. M., Goetz, M. A., Hensens, O. D., Liesch, J. M., and Springer, J. P. (1989). A structurally unique,

50

potent, and selective oxytocin antagonist derived from *Streptomyces silvensis*. *Endocrinology* 125, 217-222)

【非特許文献 5】

(Itagaki, H., Nagashima, K., Sugita, K., Yoshida, H., Kawamura, Y., Yasuda, Y., Matsumoto, K., Ishii, K., Uotani, N., Nakai, H., Terui, A., and Yoshimatsu, S. (1990). Isolation and structural elucidation of new cyclotetrapeptides, Trapoxins A and B, having detransformation activities as antitumor agents. *J. Antibiotics* 43, 1524-1532)

【非特許文献 6】

(Darkin-Rattray, S. J., Gurnett, A. M., Myers, R. W., Dulski, P. M., Crumley, T. M., Allocco, J. J., Cannova, C., Meinke, P. T., Colletti, S. L., Bednarek, M. A., Singh, S. B., Goetz, M. A., Dombrowski, A. W., Polishook, J. D., and Schmatz, D. M. (1996). Apicidin: A novel antiprotozoal agent that inhibits parasite histone deacetylase. *Proc. Natl. Acad. USA* 93, 13143-13147, Singh, S. B., Zink, D. L., Liesch, J. M., Mosley, R. T., Dombrowski, A. W., Bills, G. F., Darkin-Rattray, S. J., Schmatz, D. M., and Goetz, M. A. (2002). Structure and chemistry of apicidins, a class of novel cyclic tetrapeptides without a terminal α -keto epoxide as inhibitors of histone deacetylase with potent antiprotozoal activities. *J. Org. Chem.* 67, 815-825)

【非特許文献 7】

(Fujii, T. and Miyoshi, M. (1975). A novel synthesis of L-pipecolic acid. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* 48, 1341-1342; Kisfaludy, L., and Korenczki, F. (1982). One-step synthesis of L-piperidine-2-carboxylic acid. *Synthesis* 9, 163; Ohtani, B., Tsuru, S., Nishimoto, S., and Kagiya, T. (1990). Photocatalytic one-step syntheses of cyclic imino acids by aqueous semiconductor suspensions. *J. Org. Chem.* 55, 5551-5553)。

【非特許文献 8】

(Ng-Youn-Chen, M. C., Serreqi, A. N., Huang, Q. L., and Kazlauskas, R. J. (1994). Kinetic resolution of pipecolic acid using partially-purified lipase from *Aspergillus niger*. *J. Org. Chem.* 59, 2075-2081; Eichhorn, E., Roduit, J., Shaw, N., Heinzmann, K., and Kiener, A. (1997). Preparation of (S)-piperazine-2-carboxylic acid, (R)-piperazine-2-carboxylic acid, and (S)-piperidine-2-carboxylic acid by kinetic resolution of the corresponding racemic carboxamides with stereoselective amidases in whole bacterial cells. *Tetrahedron: Asymmetry* 8, 2533-2536; Sanchez-Sancho, F. and Herradon, B. (1998). Short syntheses of (S)-pipecolic acid, (R)-coniine, and (S)-d-coniceine using biocatalytically-generated chiral building blocks. *Tetrahedron: Asymmetry* 9, 1951-1965)

【非特許文献 9】

(Portoghese, P. S., Pazdernik, T. L., Kuhn, W. L., Hite, G., Shafi'ee, A. (1968). Stereochemical studies on medicinal agents. V. Synthesis, configuration, and pharmacological activity of pipradrol enantiomers. *J. Med. Chem.* 11, 12-15; Hardtmann, G. E., Houlihan, W. J., and Giger, R. K. A. (1988). Trifluoromethyl substituted tetracyclic quinazolin-ones having tranquilizing activity. US patent 4760065; Hochless, D. C. R., Mayadunne, R. C., and Wild, S. B. (1995). Convenient resolution of (\pm)-piperidine-2-carboxylic acid ((\pm)-pipecolic acid) by separation of palladium(II) diastereomers containing orthometallated (S)-(-)-1-[1-(Dimethylamino)ethyl]naphthalene. *Tetrahedron: Asymmetry* 6, 3031-3037)

【非特許文献 10】

(Berrien, J. F., Royer, J., Husson, H. P. (1994). Asymmetric synthesis. 32. A new access to enantiomerically pure (S)-(-)-pipecolic acid and 2- or 6-alkylated d

10

20

30

40

50

erivatives. *J. Org. Chem.* 59, 3769-3774; Foti, C., J. and Comins, D. L. (1995). Synthesis and reactions of α -(trifluoromethanesulfonyloxy)enecarbamates prepared from N-acyllactams. *J. Org. Chem.* 60, 2656-2657; Agami, C., Kadouri-Puchot, C., and Kizirian, J. C. (2000). A new enantioselective synthesis of (2S)-pipecolic acid. *Synth. Commun.* 30, 2565-2572; Ginesta, X., Pericas, M. A., Riera, A. (2002). Straightforward entry to the pipecolic acid nucleus. Enantioselective synthesis of baikiain. *Tetrahedron Lett.* 43, 779-782).

【非特許文献 1 1】

(Fernandez-Garcia, C., and McKerverey, M. A. (1995). A short enantioselective synthesis of pipecolic acid. *Tetrahedron: Asymmetry* 6, 2905-2906; Myers, A. G., Gleason, J. L., Yoon, T., and Kung, D. W. (1997). Highly practical methodology for the synthesis of D- and L-amino acids, N-protected amino acids, and N-methyl-amino acids. *J. Am. Chem. Soc.* 119, 656-673; Nazabadioko, S., Perez, R. J., Brieva, R., and Gotor, V. (1998). Chemoenzymatic synthesis of (S)-2-cyanopiperidine, a key intermediate in the route to (S)-pipecolic acid and 2-substituted piperidine alkaloids. *Tetrahedron: Asymmetry* 9, 1597-1604).

10

【非特許文献 1 2】

(Agematsu, H., and Fujii, T. (2002). Production of L-pipecolic acid by recombinant *Escherichia coli* at an industrial scale. *Bio Industry* 19, 40-47).

【0005】

20

【特許文献 1】

特開 2000 - 178253 号公報

【0006】

【発明が解決しようとする課題】

しかしながら、前記の従来技術では以下のような課題があった。

(a) 非特許文献 7 に記載のリシンなどのアミノ酸からの誘導法は、
-位および -位のアミノ基の選択反応を必要とし、アミノ基の官能基変換の際に水酸化等の副反応が多く起こるため低収率、低純度であり、試薬の使用に危険が伴うなど操作上の問題があり、安価な供給が困難であるという課題があった。

(b) 非特許文献 8 に記載のリパーゼ、アミダゼ、または酪酸ビニル存在下でアシラーゼを用いる方法では、ジアステレオマー選択性が不十分である
の理由で実用的な製造法となるに到らず、酵素の立体特異性の応用面で効率化を図る点で不十分であるという課題があった。

30

(c) 特許文献 1 や非特許文献 9 などに記載の分別沈殿法では、DL-ピペコリン酸を原料として光学分割するので、光学異性体を別途準備し、使用後それを回収する必要がある点で非効率的であるという課題があった。

(d) 非特許文献 10 に記載の不斉合成法は、不斉点を導入する試薬そのものが高価であり、規模も実験室レベルであるため量産性に欠け実用的ではなく工業的な適用が困難であるという課題があった。

(e) 非特許文献 11 に記載のアミン類の分子内 SN2 反応を用いてピペリジン環を形成する方法では、ピペリジン環のものに限定されるため直接ピペコリン酸に到らず低収率であり、また、酵素による光学分割法ではないため
不要のジアステレオマーも副生してしまい高純度のものが得られ難いという課題があった。

40

(f) 非特許文献 12 の L-リシンを原料として 2 種の酵素を適用した方法は、L-体の立体特異性を持った酵素を用いるため、また、D-体の立体特異性を有する同様酵素が開発されていないために D-ピペコリン酸の製造には適用できないという課題があった。

【0007】

本発明は前記従来技術の課題を解決するためになされたもので、高純度に光学分割されたピペコリン酸を高収率で安価に供給することができるピペコリン酸の製造方法を提供すること

50

を目的とする。

【0008】

【課題を解決するための手段】

請求項1に記載のピペコリン酸の製造方法は、D - 2 - アミノ - 6 - ハロゲンヘキサン酸、L - 2 - アミノ - 6 - ハロゲンヘキサン酸を、N - アセチル - DL - 2 - アミノ - 6 - ハロゲンヘキサン酸のラセミ体溶液に、アスペルギルス・ジーナス (Aspergillus genus) L - アミノアシラーゼ、Thermococcus eitoralis L - アミノアシラーゼ、アシラーゼ I (ブタスイ臓、Aspergillus melleus) L - アミノアシラーゼ、アルカリジーナスキシロースオキシダンス (Alcaligenes xylosoxydans) D - アミノアシラーゼのいずれかのアミノアシラーゼを添加する調整工程と、前記ラセミ体溶液を pH 6 ~ 9、温度 20 ~ 50
で 10 ~ 30 時間保持させる生成工程と、による前記アミノアシラーゼのエナンチオマー特異的作用により生成し、これに続く分子内環化反応によって、D - ピペコリン酸又は L - ピペコリン酸を生成させる構成を備えている。

10

請求項2に記載のピペコリン酸の製造方法は、請求項1に記載の発明において、前記生成工程後の前記ラセミ体溶液から前記 D - ピペコリン酸又は前記 L - ピペコリン酸を溶媒抽出する抽出工程を備えて構成されている。

これによって、高純度に光学分割されたピペコリン酸を高収率で安価に製造することができる。すなわち、N - アセチル - DL - 2 - アミノ - 6 - ハロゲンヘキサン酸に光学活性なアミノアシラーゼを作用させることによって、N - アセチル - DL - 2 - アミノ - 6 - ハロゲンヘキサン酸をエナンチオマー特異的に加水分解させ、その直後に起こる分子内環化反応によって光学活性ピペコリン酸を効率的に生成させることができる。

20

また、アミノアシラーゼによるエナンチオマー特異的加水分解およびこれに伴う分子内環化反応を適正に維持させることができ、高純度の光学活性ピペコリン酸をさらに高収率で得ることができる。

【0009】

ハロゲン基は、N - アセチル - DL - 2 - アミノ - 6 - ハロゲンヘキサン酸の分子内環化反応を誘発して脱離するためのもので、臭素、塩素、ヨウ素などのハロゲン元素を適用することができる。なお、N - アセチル - DL - 2 - アミノ - 6 - ハロゲンヘキサン酸の側鎖末端とは、N - アセチル - DL - 2 - アミノ - 6 - ハロゲンヘキサン酸における炭素から伸長した原子団の末端をいう。

30

アミノアシラーゼは微生物などから抽出され、N - アセチル - DL - 2 - アミノ - 6 - ハロゲンヘキサン酸のアミド結合を加水分解させる酵素であり、アスペルギルスジーナス (Aspergillus genus) L - アミノアシラーゼ、アルカリジーナスキシロースオキシダンス (Alcaligenes xylosoxydans) D - アミノアシラーゼなどが含まれる。

分子内環化反応は、図3に例示されるようにN - アセチル - DL - 2 - アミノ - 6 - ハロゲンヘキサン酸を自己環化させて特殊なイミノ酸を生成させる反応である。N - アセチル - DL - 2 - アミノ - 6 - ハロゲンヘキサン酸を所定の分子内環化反応条件に保持してアミノアシラーゼの作用で加水分解させることにより自己環化させることができる。すなわち、アミノアシラーゼの酵素的エナンチオマー特異的加水分解およびこの加水分解に伴う分子内環化反応によって光学活性なピペコリン酸 (L - ピペコリン酸および D - ピペコリン酸) を製造できる。

40

【0010】

ここで、ラセミ体溶液における pH が 6 より低くなると、特異的加水分解の反応速度などが低下する傾向が現れ、逆に pH が 9 を超えるとアミノアシラーゼが変性して光学活性なピペコリン酸を有効に得ることができなくなる傾向が現れるので好ましくない。

ラセミ体溶液における温度が 20 より低くなると、反応速度などが極端に低下する傾向が現れ、逆に温度が 50 を超えるとアミノアシラーゼが変性して光学活性なピペコリン酸を有効に得ることができなくなる傾向が現れるので好ましくない。

溶液における分子内環化反応の保持時間が 10 時間より短くなると、特異的加水分解の反応速度などが低下する傾向が現れ、逆に保持時間が 30 時間より長くなるとアミノアシ

50

ラーゼが変性して光学活性なピペコリン酸を有効に得ることができなくなる傾向が現れるので好ましくない。

【0011】

アミノアシラーゼがアスペルギルス・ジーナス (Aspergillus genus) L-アミノアシラーゼ、Thermococcus eitoralis L-アシラーゼ、アシラーゼ I (ブタスイ臓、Aspergillus melleus)、アルカリジーナスキシロースオキシダンス (Alcaligenes xylosoxydans) D-アミノアシラーゼであるように構成されている。

これによって、光学活性なピペコリン酸を高収率で得ることができ、酵素を用いる光学分割によって得られるアミノ酸誘導体を中間体として、簡便かつ好収率で D- および L-ピペコリン酸を製造することができる。

10

【0012】

抽出工程により L-ピペコリン酸が抽出除去された残溶液から D-アセチル-2-アミノ-6-プロモヘキサン酸を回収する工程と、前記回収された D-アセチル-2-アミノ-6-プロモヘキサン酸にアルカリジーナスキシロースオキシダンス (Alcaligenes xylosoxydans) D-アミノアシラーゼを添加し、その D-エナンチオマー特異的作用により脱アセチル化させ、分子内環化させて D-ピペコリン酸を生成する工程と、を備えることにより、L-ピペコリン酸を抽出した残溶液を有効に用いて、付加価値の高い D-ピペコリン酸を無駄なく生成でき、生産性に優れたピペコリン酸製造システムを構成することができ、特殊なイミノ酸である光学活性なピペコリン酸の供給不足に対応して両光学異性体の供給を容易化して医療開発研究などを押し進めることができる。

20

【0013】

抽出工程により D-ピペコリン酸が抽出除去された残溶液から L-アセチル-2-アミノ-6-プロモヘキサン酸を回収する工程と、前記回収された L-アセチル-2-アミノ-6-プロモヘキサン酸にアスペルギルス・ジーナス (Aspergillus genus) L-アミノアシラーゼを添加し、その L-エナンチオマー特異的作用により脱アセチル化させ、分子内環化させて L-ピペコリン酸を生成する工程と、を備えることにより、D-ピペコリン酸を抽出した残溶液を有効に用いて、付加価値の高い L-ピペコリン酸を無駄なく生成でき、生産性に優れたピペコリン酸製造システムを実現できる。

【0014】

請求項 3 に記載のピペコリン酸の製造方法は、請求項 1 又は 2 に記載の発明において、前記 N-アセチル-DL-2-アミノ-6-ハロゲノヘキサン酸が、アセタミドマロン酸ジエチルと 1, 4-ジプロモブタンを反応させてアセタミド-4-プロモブチルマロン酸ジエチルを生成させる工程と、前記アセタミド-4-プロモブチルマロン酸を半ケン化して加熱脱炭酸し DL-N-アセチル-2-アミノ-6-プロモヘキサン酸エチルを得る工程と、前記 DL-N-アセチル-2-アミノ-6-プロモヘキサン酸エチルをケン化、結晶化させる工程と、を順次実行して製造されるように構成されている。

30

これによって、比較的安価で入手しやすいアセタミドマロン酸ジエチルを出発原料として、ピペコリン酸製造のため中間体となる DL-N-アセチル-2-アミノ-6-プロモヘキサン酸を制御しやすい容易な工程で効率的に製造することができ、生産性に優れた製造システムを構築できる。

40

ここで、半ケン化の条件は、アセタミド-4-プロモブチルマロン酸に氷冷下、1当量強のアルカリを添加する条件であり、加熱脱炭酸の条件はトルエンまたは酢酸エチル溶液を添加して加熱還流させる条件である。

【0015】

請求項 4 に記載のピペコリン酸の製造方法は、D-2-アミノ-6-ハロゲノヘキサン酸、L-2-アミノ-6-ハロゲノヘキサン酸を、N-保護-D-2-アミノ-6-ハロゲノヘキサン酸、N-保護-L-2-アミノ-6-ハロゲノヘキサン酸のいずれかの溶液を保護基の脱着条件に保持することにより生成し、これに続く分子内環化反応によって D-ピペコリン酸又は L-ピペコリン酸を生成させる ピペコリン酸の製造方法であって、前記脱着条件が、室温下におけるパラジウム炭を触媒とする水素添加反応条件又は、塩化水

50

素含有ジオキサン溶液又は酢酸エチル中での脱着反応条件である構成を有している。

これによって、保護基の脱着や加水分解に伴う分子内環化反応によってピペコリン酸を有効に生成することができる。すなわち、図4に例示されるようにアミノ酸誘導体の保護基（アミノ基を修飾するt-ブトキシカルボニル基の部分）を所定の条件下で加水分解させ、これに続く分子内環化反応によってピペコリン酸を効率的に生成させるものである。こうして、L-ピペコリン酸およびD-ピペコリン酸並びにそれらの誘導体を個別に、安価に供給することができる。

保護基はジブプロモブタンとの反応時におけるアミノ酸誘導体のアミノ基を保護するために導入される官能基であって、また分子内環化反応直前までアミノ基のプロモ結合炭素との反応を抑えるための保護基であり、ベンジルオキシカルボニル基、t-ブトキシカルボニル基などが用いられる。

10

また上記の脱着条件により、光学活性のピペコリン酸を得るために必要な脱着条件を適正に保持させることができ、100%近い高純度のピペコリン酸を80~90%の高収率で得ることができ、保護基を有するアミノ酸誘導体を用いて、工業的な規模でのピペコリン酸の製造を可能にする。

ここで、塩化水素の濃度は2モル濃度でアミノ酸誘導体に対し約10当量用いられる。

【0017】

請求項5に記載のピペコリン酸の製造方法は、請求項4に記載の発明において、前記N-保護-L-2-アミノ-6-ハロゲンヘキサン酸が、N-保護-L-2-アミノ-6-プロモヘキサン酸であって、前記N-保護-L-2-アミノ-6-プロモヘキサン酸が、N-ベンジルオキシカルボニル-アミノマロン酸ジエチル、N-t-ブトキシカルボニル-アミノマロン酸ジエチルの保護基を有するアミノマロン酸誘導体と1,4-ジブプロモブタンを反応させてN-保護-アミノ-4-プロモブチルマロン酸ジエチルを生成せしめた後、氷冷下で希薄強アルカリ水を添加して半ケン化し、次いで加熱脱炭酸して得られるDL-N-保護-2-アミノ-6-プロモヘキサン酸エチルをタンパク質分解酵素またはエステラーゼの加水分解作用によって作成されるように構成されている。

20

請求項6に記載のピペコリン酸の製造方法は、請求項5に記載の発明において、前記N-保護-D-2-アミノ-6-ハロゲンヘキサン酸が、N-保護-D-2-アミノ-6-プロモヘキサン酸であって、前記N-保護-D-2-アミノ-6-プロモヘキサン酸が、前記N-保護-L-2-アミノ-6-プロモヘキサン酸の作成後の溶液から回収されたN-保護-D-2-アミノ-6-プロモヘキサン酸エチルを、氷冷下で希薄強アルカリ水を添加してケン化して作成されるように構成されている。

30

これによって、光学活性ピペコリン酸（D-ピペコリン酸、L-ピペコリン酸）製造の際に（1）N-保護-L-2-アミノ-6-プロモヘキサン酸や（2）N-保護-D-2-アミノ-6-プロモヘキサン酸を中間原料として、効率的な生産システムを構成することができる。医薬品原料となるような光学活性ピペコリン酸を低原価で量産することができる。

ここで、温和な条件とは、アミノ酸誘導体の反応保持温度が0以下であるような条件をいい、これによって半ケン化及びケン化の程度などを制御することができる。

タンパク質分解酵素としては、エステル分解作用を有するキモトリプシン、ズブチリシン、アルカリプロテアーゼなどや、立体特異性が厳密であるエステラーゼなどが好適に用いられる。

40

希薄強アルカリ水としては、水酸化ナトリウムや水酸化カリウム等の約0.1N溶液が用いられる。

【0018】

【発明の実施の形態】

本発明者らは、L-ピペコリン酸およびD-ピペコリン酸を構成要素として含有する生理活性天然物をリードとする抗がん剤の開発ならびに特殊人工アミノ酸の開発中に、偶然ピペコリン酸を生成する副反応を発見した。この反応を利用すれば新規にL-ピペコリン酸およびD-ピペコリン酸並びにそれら誘導体を簡便に製造することができるのではないかと考え、上記課題を解決するため鋭意研究を行なった結果、図3に示すようにハロゲン基

50

を側鎖末端に有するラセミのアミノ酸誘導体がアスペルギルスジューナス (*Aspergillus genus*) L-アミノアシラーゼ及び、アルカリジューナスキシロースオキシダンス (*Alcaligenes xylosoxydans*) D-アミノアシラーゼの作用により、定量的にL-ピペコリン酸およびD-ピペコリン酸を生成することを確認した。また、アミノ基をウレタン型等の保護基で保護し、側鎖末端にハロゲン基、アルキルスルホキシ基を有するラセミ体の2-アミノヘキサン酸エステルを、スブチリシン、キモトリプシン、酸性プロテアーゼ (*Aspergillus niger*)、中性プロテアーゼ (*Aspergillus oryzae*, *Bacillus subtilis*) 又はアルカリプロテアーゼ (*Bacillus subtilis*, *Aspergillus melleus*, *Bacillus licheniformis*) 等のプロテアーゼで処理した後に、保護基の除去と同時にL-ピペコリン酸およびD-ピペコリン酸が生成することを確認した。本発明者らはこの酵素的エナンチオマー特異的加水分解および自動環化反応をL-ピペコリン酸およびD-ピペコリン酸の簡便な製造法に利用

10

できることを見出して本発明を完成させた。
すなわち本発明は、以下のL-ピペコリン酸およびD-ピペコリン酸の製造方法を包含するものである。

[1] アセタミドマロン酸ジエチルよりN-アセチル-DL-2-アミノ-6-ハロゲノヘキサン酸を原料として調製する方法。

[2] ラセミ体中のL-体に*Aspergillus genus* L-アミノアシラーゼを、D-体に*Alcaligenes xylosoxydans* D-アミノアシラーゼを作用させて、L-ピペコリン酸およびD-ピペコリン酸を生成せしめる方法。

[3] N-アシル-DL-2-アミノ-6-ハロゲノヘキサン酸エステルにプロテアーゼを作用させた後、アシル基を除去すると同時にL-ピペコリン酸を生成させる方法。

20

[4] 回収したD-N-アシル-2-アミノ-6-ハロゲノヘキサン酸エステルより、脱保護によってD-ピペコリン酸またはその誘導体を生成せしめる方法。

【0019】

すなわち、本実施の形態の概要は以下のとおりである。

アセタミドマロン酸ジエチルと1,4-ジブロモブタンを定法で反応させ、温和な条件でケン化反応を2回行い、得られるN-アセチル-DL-2-アミノ-6-ヘキサン酸をL-アミノアシラーゼによって処理すれば、酵素特異的光学分割によって生成したL-2-アミノ-6-プロモヘキサン酸は、反応溶液中で直ちにL-ピペコリン酸に変わる。続いて定量的に回収するN-アセチル-D-2-アミノ-6-ヘキサン酸に更にD-アミノアシラーゼを作用させ、同様にD-ピペコリン酸を得る事ができる。

30

【0020】

一方、図4に示すように、N-t-プトキシカルボニル-アミノマロン酸ジエチルのように脱着可能な保護基を用いる場合、同様に1,4-ジブロモブタンと反応させ、N-t-プトキシカルボニル-2-アミノ-4-プロモブチルマロン酸ジエチルを得、上記と同様に半ケン化、脱炭酸のステップを経て得られるN-t-プトキシカルボニル-DL-2-アミノ-6-プロモヘキサン酸エチルをスブチリシン等のタンパク質分解酵素またはエステラーゼによって処理すると、エチルエステルの酵素的、立体特異的加水分解によってN-t-プトキシカルボニル-L-2-アミノ-6-プロモヘキサン酸と、酵素作用を受けないN-t-プトキシカルボニル-D-2-アミノ-6-プロモヘキサン酸エチルとが得られる。両者は容易に分離可能である。N-t-プトキシカルボニル-D-2-アミノ-6-プロモヘキサン酸エチルを、更にエタノール中で氷冷下ケン化を行ない、定量的にN-t-プトキシカルボニル-D-2-アミノ-6-プロモヘキサン酸に変換する。N-t-プトキシカルボニル-L-2-アミノ-6-プロモヘキサン酸を酸処理し、次いで中和すると生成したL-2-アミノ-6-プロモヘキサン酸は自動的に分子内環化反応を起こして、L-ピペコリン酸を生成する。同様にしてD-ピペコリン酸を得る。

40

【0021】

ベンジルオキシカルボニル基をアミノマロン酸ジエチルのアシル保護基として用いる場合、N-ベンジルオキシカルボニル-L-2-アミノ-6-プロモヘキサン酸をメタノール中でパラジウム等の触媒存在下、接触還元すれば、生成したL-2-アミノ-6-プロモヘキサ

50

ン酸は自動的に分子内環化反応により、L-ピペコリン酸を生成する。N-ベンジルオキシカルボニル-D-2-アミノ-6-プロモヘキサン酸からは同様にD-ピペコリン酸が得られる。t-ブトキシカルボニル基以外の、ベンジルオキシカルボニル基等温和に脱着可能な保護基も用い得る。また、エチルエステル以外のエステルも用い得る。

【0022】

本実施の形態において、2-アミノ-6-ハロゲンヘキサン酸のアミノ保護基として、アセチル基以外にその他の置換アシル基およびウレタン型のアシル基を含む。同等の作用が得られるからである。L-アミノアシラーゼおよびD-アミノアシラーゼのエナンチオマー特異的（光学特異性、立体特異性）加水分解活性が充分であればよい。エステラーゼ活性を示す酵素はエナンチオマー特異的（光学特異性、立体特異性）加水分解活性が充分であれば、その対象エステルの種類と本来の酵素反応の特異性を問わない。

10

【0023】

以上のように本実施の形態のピペコリン酸の製造方法は、DL-N-アセチル-2-アミノ-6-プロモヘキサン酸にAspergillus genus L-アミノアシラーゼを作用させ、酵素による光学分割に続いて速やかに分子内環化反応を起こさせるL-ピペコリン酸を生成させる。また、この反応から回収されるD-N-アセチル-2-アミノ-6-プロモヘキサン酸を更にAlcaligenes xylosoxydans D-アミノアシラーゼで処理すると、同様にD-ピペコリン酸が得られる。このように側鎖にプロモアルキル基を有するラセミ体アミノ酸の酵素分割を利用して、L-およびD-ピペコリン酸を高純度、高収率で合成できる優れた生産システムを構築できる。

20

【0024】

以下、実施例により図面を用いてさらに詳細に説明するが、本発明は以下の実施例に制限されるものではない。

（実施例1）

図2にN-アセチル-DL-2-アミノ-6-プロモヘキサン酸の合成の概要を示す。

（1）アセタミド-4-プロモブチルマロン酸ジエチルの合成

300 ml ナスフラスコ中で脱水エタノール（100 ml）に金属ナトリウム（2.19 g, 95 mmol）を加え30分間攪拌後、アセタミドマロン酸ジエチル（21.08 g, 100 mmol）を加え30分間加熱（120℃）下攪拌した。そこに1,4-ジブロモブタン（59 ml, 500 mmol）を加えて5時間の還流を行った。放冷後、酢酸（0.29 ml, 5 mmol）を加え、エタノールと1,4-ジブロモブタンをそれぞれ留去した。酢酸エチル（300 ml）で目的物を抽出した後、シリカゲルクロマトグラフィー（4.7 cm x 17 cm, 酢酸エチル/ヘキサン=1:1）で精製した。溶媒を留去してアセタミド-4-プロモブチルマロン酸ジエチルの白色結晶を得た。収量：26.2 g、収率：73%、Rf値：0.82(CHCl₃ / MeOH = 9 : 1)。

30

（2）アセトアミド-4-プロモブチルマロン酸モノエチルの合成

アセトアミド-4-プロモブチルマロン酸ジエチル（26.2 g, 74.4 mmol）をエタノール（80 ml）に溶解し、氷冷下で2N水酸化ナトリウム水溶液（40 ml）を30分毎に5回に分けて加えた。3時間後、反応溶液を濃縮しエーテルおよび4%炭酸水素ナトリウム水溶液と振った。4%炭酸水素ナトリウム水溶液をクエン酸で中和、酸性とした後、析出油状物を酢酸エチルで抽出した。酢酸エチル層を飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥後、溶媒を留去してアセトアミド-4-プロモブチルマロン酸モノエチルの白色結晶を得た。収量：20.4 g、収率：85%、Rf値：0.64(CHCl₃ / MeOH / AcOH = 90 : 10 : 2)。

40

（3）N-アセチル-DL-2-アミノ-6-プロモヘキサン酸エチルの合成

アセトアミド-4-プロモブチルマロン酸モノエチル（20.4 g, 63.1 mmol）を酢酸エチル（100 ml）に溶解し、トルエンや酢酸エチル中で3時間加熱還流し脱炭酸を行った。溶液を濃縮し、エーテルに溶解させ4%炭酸水素ナトリウム水溶液、及び飽和食塩水で洗浄した。無水硫酸マグネシウムで乾燥後、溶媒を留去してN-アセチル-DL-2-アミノ-6-プロモヘキサン酸エチルの油状物を得た。収量：17.0 g、収率：97%、Rf値：0.62 (CHCl₃ / MeOH = 9 : 1)。

50

(4) N-アセチル-DL-2-アミノ-6-プロモヘキサンの合成

N-アセチル-DL-2-アミノ-6-プロモヘキサン酸エチル (17.0 g, 60.9 mmol) をエタノール (50 ml) に溶解し、氷冷下で 2 N 水酸化ナトリウム水溶液 (25 ml) を 30 分毎に 5 回に分けて加えた。3 時間後、溶液を濃縮しエーテルおよび 4% 炭酸水素ナトリウム水溶液と振った。4% 炭酸水素ナトリウム水溶液をクエン酸で中和し、酸性とした後、目的物を酢酸エチルに抽出した。酢酸エチル層を飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥後、溶媒を留去して N-アセチル-DL-2-アミノ-6-プロモヘキサン酸の白色結晶を得た。収量 : 12.5 g、収率 : 81%、Rf 値 : 0.54 (CHCl₃ / MeOH / AcOH = 90 : 10 : 2)。

【0025】

10

(実施例 2)

次に、L-アミノアシラーゼによる L-ピペコリン酸の合成、N-アセチル-D-2-アミノ-6-プロモヘキサン酸の回収、および D-アミノアシラーゼによる D-ピペコリン酸の合成について説明する。

図 3 はその合成などの概要を示す図である。

(1) N-アセチル-DL-2-アミノ-6-プロモヘキサン酸 (10.3 g, 41.0 mmol) を 0.1 N 水酸化ナトリウム水溶液 (約 200 ml) に溶解し、pH を 7.0 に調整した。この溶液に CoCl₂ · 6H₂O (48 mg) および *Aspergillus* genus L-アミノアシラーゼ (東京化成, 2.0 g) を加え 38 °C で 24 時間反応させた。反応溶液を濃縮し 1 N 塩酸を加えて pH 3 とした後、N-アセチル-D-2-アミノ-6-プロモヘキサン酸を酢酸エチルで抽出した。無水硫酸マグネシウムで乾燥後、溶媒を留去して N-アセチル-D-2-アミノ-6-プロモヘキサン酸を白色結晶として得た。収量 : 4.59 g、収率 : 89%、Rf 値 : 0.52 (CHCl₃ / MeOH / AcOH = 90 : 10 : 2)、Rt : 13.38 min [B: 0% - 100% 30min, (A: 100% AcCN / H₂O / 0.1% TFA, B: 100% AcCN / 0.1% TFA) YMC-Pack ODS-A 150 x 4.6 mm, l = 220 nm]。

20

(2) また、N-アセチル-D-2-アミノ-6-プロモヘキサン酸の抽出後の水溶液を水酸化ナトリウムで pH 7 に調整した後、溶液陽イオン交換樹脂 (Amberlite IR-120, 200 ml) カラムに投じ、1 M アンモニア水溶液で溶出した。溶出液を濃縮乾固して L-ピペコリン酸を白色結晶として得た。収量 : 1.84 g、収率 : 80%、[α]_D : -26.3 (c 1.0, H₂O)、FABHRMS : [M+H]⁺ (130.0842), C₆H₁₂O₂N (130.0868)。

(3) N-アセチル-D-2-アミノ-6-プロモヘキサン酸 (3.5 g, 14 mmol) を 0.1 N 水酸化ナトリウム水溶液 (約 7 ml) に溶解し、pH を 7.0 に調整した。この溶液に *Alcaligenes xylosoxydans* D-アミノアシラーゼ (45 mg/45 ml) を加え 38 °C で 3 日間反応させた。反応溶液を濃縮後、陽イオン交換樹脂 (Amberlite IR-120, 200 ml) カラムに投じ、1 M アンモニア水溶液で溶出した。溶出液を濃縮乾固して D-ピペコリン酸を白色結晶として得た。収量 : 1.55 g、収率 : 85%、[α]_D : +26.3 (c 1.0, H₂O)、FABHRMS : [M+H]⁺ (130.0877), C₆H₁₂O₂N (130.0868)。

30

【0026】

(実施例 3)

次に、N-アシル-DL-2-アミノ-6-ハロゲンヘキサン酸エステルの合成とプロテアーゼ作用および脱アシル基による L-ピペコリン酸の合成について説明する。

40

(1) N-t-プトキシカルボニル-2-アミノ-4-プロモブチルマロン酸ジエチルの合成 300 ml ナスフラスコ中で脱水 エタノール (100 ml) に金属ナトリウム (2.3 g, 100 mmol) を加え 30 分間攪拌後、N-t-プトキシカルボニル-2-アミノマロン酸ジエチル (27.6 g, 100 mmol) を加え 30 分間加熱攪拌した。そこに 1, 4-ジブロモブタン (60 ml, 500 mmol) を加えて 5 時間の還流を行った。放冷後、クエン酸を加え中和、NaBr をろ過後、エタノールと 1, 4-ジブロモブタンをそれぞれ留去した。酢酸エチル (300 ml) で目的物を抽出、溶媒を留去し N-t-プトキシカルボニル-2-アミノ-4-プロモブチルマロン酸ジエチルの油状物を得た。収量 : 37.0 g、収率 : 92%、Rf 値 : 0.90 (CHCl₃ / MeOH = 9 : 1)。

(2) N-t-プトキシカルボニル-2-アミノ-4-プロモブチルマロン酸モノエチルの合

50

成

N - t - ブトキシカルボニル - 2 - アミノ - 4 - プロモブチルマロン酸ジエチル (37.0 g, 92 mmol) をエタノール (100 ml) に溶解し、氷冷下で 2 N 水酸化ナトリウム水溶液 (46 ml) を 30 分毎に 5 回に分けて加えた。3 時間後、反応溶液を濃縮しエーテルおよび 4% 炭酸水素ナトリウム水溶液と振った。4% 炭酸水素ナトリウム水溶液をクエン酸で中和、酸性とした後、析出油状物を酢酸エチルで抽出した。酢酸エチル層を飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥後、溶媒を留去して N - t - ブトキシカルボニル - 2 - アミノ - 4 - プロモブチルマロン酸モノエチルの白色結晶を得た。収量 : 27.5 g、収率 : 80%、Rf 値 : 0.68(CHCl₃ / MeOH / AcOH = 90 : 10 : 2)。

(3) N - t - ブトキシカルボニル - DL - 2 - アミノ - 6 - プロモヘキサン酸エチルの合成
N - t - ブトキシカルボニル - 2 - アミノ - 4 - プロモブチルマロン酸モノエチル (27.5 g, 73 mmol) をトルエン (150 ml) に溶解し、3 時間加熱還流した。溶液を濃縮して、シリカゲルクロマトグラフィー (4.7 cm x 18 cm, 酢酸エチル/ヘキサン = 1 : 8) で精製した。溶媒を留去して N - t - ブトキシカルボニル - DL - 2 - アミノ - 6 - プロモヘキサン酸エチルの油状物を得た。収量 : 19.3 g、収率 : 85%、Rf 値 : 0.70 (CHCl₃ / MeOH = 9 : 1)。

(4) N - t - ブトキシカルボニル - L - 2 - アミノ - 6 - プロモヘキサン酸の合成

図 4 にその合成方法の概要を示す。

N - t - ブトキシカルボニル - DL - 2 - アミノ - 6 - プロモヘキサン酸エチル (19.3 g, 58.6 mmol) を DMF (50 ml)、H₂O (150 ml) に溶解し、1 M NH₃aq で pH を 8.0 に調整し、subtilisin (60 mg) を加え 37 °C で 12 時間反応させた。エーテルおよび 4% 炭酸水素ナトリウム水溶液と振り無水硫酸マグネシウムで乾燥後、溶媒を留去して N - t - ブトキシカルボニル - L - 2 - アミノ - 6 - プロモヘキサン酸及び N - t - ブトキシカルボニル - D - 2 - アミノ - 6 - プロモヘキサン酸エチルを得た。その後 4% 炭酸水素ナトリウム水溶液をクエン酸で酸性とした後、析出油状物を酢酸エチルで抽出した。酢酸エチル層を飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥後、溶媒を留去して N - t - ブトキシカルボニル - L - 2 - アミノ - 6 - プロモヘキサン酸を油状で得た。収量 : 8.0 g、収率 : 89%、Rf 値 : 0.55(CHCl₃ / MeOH / AcOH = 90 : 10 : 2)。

(5) L - ピペコリン酸の合成

N - t - ブトキシカルボニル - L - 2 - アミノ - 6 - プロモヘキサン酸 (1.24 g, 4.0 mmol) を室温で 2 時間、2 M HCl / ジオキサン (20ml, 10 当量) (溶媒) で処理し、次いで溶媒を留去した後、DMF (10 ml) に溶解し氷冷下でトリエチルアミン (8 mmol, 1.1 ml) を加えて pH を 8.0 に調整し 5 時間反応させた。塩をろ過後、反応液を酢酸で中和、濃縮してアセトンを加え L - ピペコリン酸の白色結晶として得た。収量 : 494 mg、収率 : 95%。

。

【 0 0 2 7 】

(実施例 4)

N - アシル - D - 2 - アミノ - 6 - ハロゲノヘキサン酸の合成と脱アシル基による D - ピペコリン酸の合成

(1) N - t - ブトキシカルボニル - D - 2 - アミノ - 6 - プロモヘキサン酸の合成

N - t - ブトキシカルボニル - D - 2 - アミノ - 6 - プロモヘキサン酸エチル (4.63 g, 13.6 mmol) をエタノール (20 ml) に溶解し、氷冷下で 2 N 水酸化ナトリウム水溶液 (7 ml) を 30 分毎に 5 回に分けて加えた。3 時間後、反応溶液を濃縮しエーテルおよび 4% 炭酸水素ナトリウム水溶液と振った。4% 炭酸水素ナトリウム水溶液をクエン酸で酸性とした後、析出油状物を酢酸エチルで抽出した。酢酸エチル層を飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥後、溶媒を留去して N - t - ブトキシカルボニル - D - 2 - アミノ - 6 - プロモヘキサン酸を油状で得た。収量 : 4.33 g、収率 : 100%、Rf 値 : 0.55(CHCl₃ / MeOH / AcOH = 90 : 10 : 2)。

(2) D - ピペコリン酸の合成

N - t - ブトキシカルボニル - D - 2 - アミノ - 6 - プロモヘキサン酸 (4.33 g, 14.0 mmol) を室温で 2 時間、2 M HCl / ジオキサン (20ml, 10 当量) (溶媒) で処理した後、溶媒

10

20

30

40

50

を留去し、次いで、DMF (15 ml) に溶解し氷冷下でトリエチルアミン (28 mmol, 3.92 ml) を加えてpHを 8.0 に調整し 5 時間反応させた。塩をろ過後、反応液を酢酸で中和、濃縮してアセトンを加え D-ピペコリン酸の白色結晶として得た。収量 : 1.71 mg、収率 : 94%

【0028】

【発明の効果】

請求項 1 に記載のピペコリン酸の製造方法によれば、高純度に光学分割されたピペコリン酸を高収率で低原価で製造することができる。

【0029】

請求項 2 に記載のピペコリン酸の製造方法によれば、請求項 1 記載の効果に加えて、高純度の光学活性ピペコリン酸を高収率で得ることができ生産性に優れる。

10

【0033】

請求項 3 に記載のピペコリン酸の製造方法によれば、請求項 1 又は 2 に記載の効果に加えて、比較的安価で入手しやすいアセタミドマロン酸ジエチルを出発原料として、ピペコリン酸製造のため中間体となる DL-N-アセチル-2-アミノ-6-プロモヘキサン酸を制御しやすい容易な工程で効率的に製造することができ、生産性や経済性に優れた製造システムを構築できる。

【0034】

請求項 4 に記載のピペコリン酸の製造方法によれば、保護基の脱着に伴う分子内環化反応によってピペコリン酸を有効に生成することができる。すなわち、アミノ酸誘導体の保護基を所定の条件下で脱着させ、これに続く分子内環化反応によってピペコリン酸を効率的に生成でき、L-ピペコリン酸および D-ピペコリン酸並びにそれらの誘導体を個別かつ、安価に製造できる。更に、光学活性のピペコリン酸を得るために必要な脱着条件を適正に保持させることができ、高純度のピペコリン酸を高収率で得ることができ、保護基を有するアミノ酸誘導体を用いて、工業的な規模でのピペコリン酸の製造を可能にする。

20

【0036】

請求項 5 に記載のピペコリン酸の製造方法によれば、請求項 4 に記載の効果に加えて、光学活性ピペコリン酸 (D-ピペコリン酸、L-ピペコリン酸) 製造の際に (1) N-保護-L-2-アミノ-6-プロモヘキサン酸や (2) N-保護-D-2-アミノ-6-プロモヘキサン酸を中間原料として、効率的な生産システムを構成することができ、医薬品原料となるような光学活性ピペコリン酸を安価に提供できる。

30

【図面の簡単な説明】

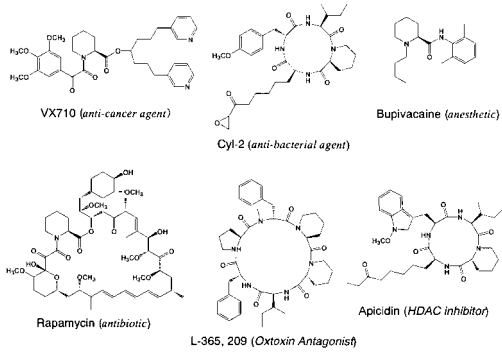
【図 1】 L- または D-ピペコリン酸を含む生理活性天然物および医薬品の例

【図 2】 N-アセチル-DL-2-アミノ-6-プロモヘキサン酸の合成のフローチャート

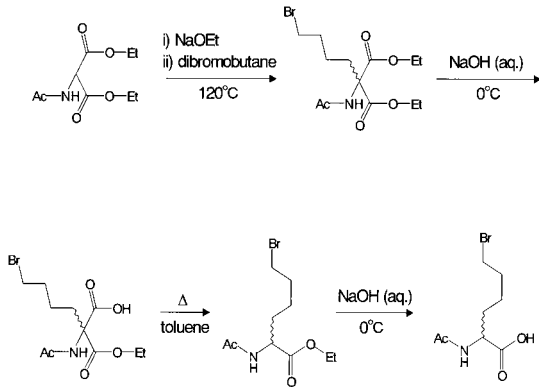
【図 3】 L-アミノアシラーゼの作用による L-ピペコリン酸の合成反応および D-アミノアシラーゼの作用による D-ピペコリン酸の合成反応のフローチャート

【図 4】 脱着可能保護基を用いる場合のプロテアーゼ作用を含む L- および D-ピペコリン酸の合成法のフローチャート

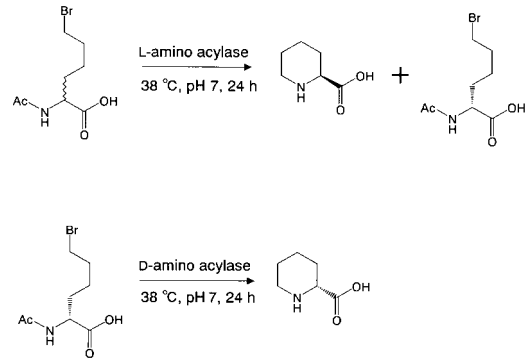
【 図 1 】



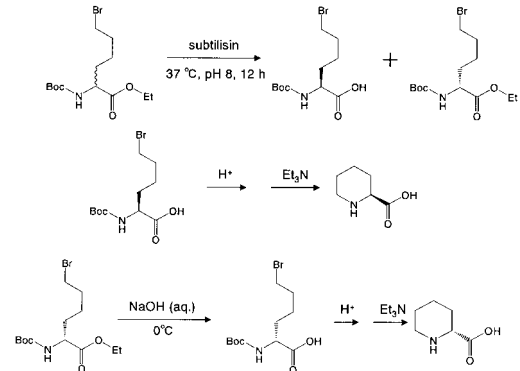
【 図 2 】



【 図 3 】



【 図 4 】



フロントページの続き

(56)参考文献 関西大学先端科学シンポジウム講演集, 2001年, 5巻, 154-162頁

(58)調査した分野(Int.Cl., D B名)

C12P 41/00

CA/BIOSIS/WPIDS(STN)

JSTPlus/JMEDPlus(JDreamII)

PubMed