

N-5

赤色 LED 照射下藍藻 (*Synechocystis* sp. PCC 6803) を用いたアセトフェノン誘導体の不斉還元

## Asymmetric Reduction of Acetophenone Derivatives by Cyanobacterium under irradiation of Red LED Illumination

○柿本剛志<sup>1</sup>, 伊藤賢一<sup>2</sup>, 青山忠<sup>3</sup>, 村上雅彦<sup>2</sup>, 酒巻弘<sup>2</sup>, 中村薫<sup>4</sup>, 滝戸俊夫<sup>3</sup>  
 \*Tsuyoshi Kakimoto<sup>1</sup>, Ken-ichi Itoh<sup>2</sup>, Tadashi Aoyama<sup>3</sup>, Masahiko Murakami<sup>2</sup>,  
 Hiroshi Sakamaki<sup>2</sup>, Kaoru Nakamura<sup>4</sup>, Toshio Takido<sup>3</sup>

Abstract: Microbes such as yeast and fungi are biocatalysts that reduce various ketones to the corresponding optically active alcohols. Chiral secondary alcohols are widely used as synthetic intermediates in organic chemistry. Herein, we report an efficient asymmetric reduction of acetophenone derivatives using cyanobacterium (*Synechocystis* sp. PCC 6803) under red LED illumination.

## 1. 緒言

我々は、近年の社会情勢等を勘案した環境低負荷型有機反応の開発を目指し、無機固体担持試薬を用いた、酸 - 塩基共存反応や生体触媒を用いた生変換反応 (Biotransformation) <sup>[1]</sup>の研究を行ってきた。生変換反応とは、酵素や微生物、植物などを直接用いた有機反応である為に、水溶液中で行われることが多く、従来の有機反応と比べ有機溶媒の使用量を減らすことができるだけでなく、室温付近での温和な条件で反応を行うことができる。また、副生成物をつくることなく高い選択性で目的物が得られる場合が多いため、近年環境負荷の低い反応として期待され、関連する研究が活発に行われている<sup>[2]</sup>。先に我々は、藍藻やクロレラを生体触媒として用いた蛍光灯下でのアセトフェノン誘導体の高選択的不斉還元を報告した<sup>[3]</sup>。今回、この不斉還元における光源を 660 nm の赤色光に代えて反応を行い、より効果的に不斉還元を行うことができないか検討したので、その詳細を報告する。

## 2. 実験

藍藻 (*Synechocystis* sp. PCC 6803) の継体培養懸濁液から分光光度計を用いて、OD<sub>750</sub> = 2 の藍藻懸濁液を調整した。この溶液 6 mL に微量のジメチルスルホキシド (DMSO) に溶解させた基質 (0.5 mg) を加え、660 nm の光 (赤色 LED) 照射下、25 °C、120 rpm の振とう条件で反応を行った。反応終了後、内容物を酢酸エチルで抽出した。生成物の収率 (使用カラム: DB-1) とエナンチオ過剰率 (使用カラム: CP-cyclodextrin-B-2,3,6-M-19 [CPCD]) はガスクロマトグラフィーを用いた内部標準法 (内部標準物質: *n*-ドデカン) により求めた。

## 3. 結果および考察

まず始めに、蛍光灯下においてアセトフェノン誘導体の不斉還元反応を行ったところ、用いたすべての基質において高い選択性で不斉還元が進行することが判明した (Table 1)。

Table 1. Asymmetric Reduction of Acetophenone Derivatives using *Synechocystis* sp. PCC 6803 under Fluorescent Illumination

1a-4a  $\xrightarrow[\text{BG-11 medium}]{\text{Synechocystis sp. PCC 6803}}$  1b-4b

1a: R = CH<sub>3</sub>, X = 2',3',4',5',6'-F<sub>5</sub>    3a: R = CH<sub>3</sub>, X = *p*-CF<sub>3</sub>  
 2a: R = CH<sub>3</sub>, X = *o*-F                    4a: R = CF<sub>3</sub>, X = H

Run	Substrate	Time (days)	Yield (%)		Ee (%) (config.)
			Ketone	Alcohol	
1	<b>1a</b>	3	-	<b>1b</b> (73)	>99 ( <i>S</i> )
2	<b>2a</b>	4	<b>2a</b> (50)	<b>2b</b> (36)	>99 ( <i>S</i> )
3	<b>3a</b>	4	<b>3a</b> (31)	<b>3b</b> (47)	90 ( <i>S</i> )
4	<b>4a</b>	4	<b>4a</b> (83)	<b>4b</b> (12)	>99 ( <i>R</i> )

光源を蛍光灯から赤色 LED (660 nm) に代えて反応を行ったところ、蛍光灯下と同様に不斉還元が進行した (Table 2). **1a** を用いて、光の強さ ( $\text{W/m}^2$ ) を変化させ反応を行ったところ、照射する光が強いほど反応は進行しやすく、 $22 \text{ W/m}^2$  の光を反応に用いたとき 2 日で基質はすべて還元された。しかしながらそれ以上の光の強さで反応を行うと強光条件となり、反応開始後 2 日目に藍藻懸濁液が白濁し、還元が進行しなかった。**2a** を用いたときには、照射する光が強いほど反応は進行しやすく、 $11.5 \text{ W/m}^2$  および  $22 \text{ W/m}^2$  の光を用いたときに最も収率よく反応が進行した。**3a** を用いた反応では、 $7.5 \text{ W/m}^2$  の光を照射したときに収率および選択性が最もよい結果となった。また光を強くするとエナンチオ過剰率は低下した。基質 **4a** では、 $4.8$

**Table 2.** Asymmetric Reduction of Acetophenone Derivatives using *Synechocystis* sp. PCC 6803 under Red LED Illumination

Run	Substrate	LED ( $\text{W/m}^2$ )	Time (days)	Yield (%)		Ee (%) (config.)
				Ketone	Alcohol	
1	<b>1a</b>	4.8	4	<b>1a</b> (8)	<b>1b</b> (62)	>99 (S)
2	<b>1a</b>	7.5	4	-	<b>1b</b> (70)	>99 (S)
3	<b>1a</b>	11.5	4	-	<b>1b</b> (73)	>99 (S)
4	<b>1a</b>	22	2	-	<b>1b</b> (75)	>99 (S)
5	<b>1a</b>	60	2	<b>1a</b> (13)	<b>1b</b> (54)	>99 (S)
6	<b>1a</b>	60	4	<b>1a</b> (9)	<b>1b</b> (56)	>99 (S)
7	<b>2a</b>	4.8	4	<b>2a</b> (56)	<b>2b</b> (31)	>99 (S)
8	<b>2a</b>	7.5	4	<b>2a</b> (52)	<b>2b</b> (35)	>99 (S)
9	<b>2a</b>	11.5	4	<b>2a</b> (41)	<b>2b</b> (43)	>99 (S)
10	<b>2a</b>	22	4	<b>2a</b> (40)	<b>2b</b> (43)	>99 (S)
11	<b>2a</b>	60	4	<b>2a</b> (38)	<b>2b</b> (38)	>99 (S)
12	<b>3a</b>	4.8	4	<b>3a</b> (8)	<b>3b</b> (61)	>99 (S)
13	<b>3a</b>	7.5	4	<b>3a</b> (6)	<b>3b</b> (66)	>99 (S)
14	<b>3a</b>	11.5	4	<b>3a</b> (7)	<b>3b</b> (65)	92 (S)
15	<b>3a</b>	22	4	<b>3a</b> (5)	<b>3b</b> (67)	80 (S)
16	<b>3a</b>	60	4	<b>3a</b> (16)	<b>3b</b> (52)	32 (S)
17	<b>4a</b>	1	4	<b>4a</b> (51)	<b>4b</b> (22)	90 (R)
18	<b>4a</b>	3	4	<b>4a</b> (43)	<b>4b</b> (40)	89 (R)
19	<b>4a</b>	4.8	4	<b>4a</b> (36)	<b>4b</b> (52)	78 (R)
20	<b>4a</b>	7.5	4	<b>4a</b> (71)	<b>4b</b> (23)	>99 (R)
21	<b>4a</b>	11.5	4	<b>4a</b> (67)	<b>4b</b> (18)	>99 (R)
22	<b>4a</b>	22	4	<b>4a</b> (72)	<b>4b</b> (18)	>99 (R)
23	<b>4a</b>	60	4	<b>4a</b> (80)	<b>4b</b> (8)	>99 (R)

$\text{W/m}^2$  の光のときに最も収率よく反応が進行し、それ以上光を強くすると反応性は低下した。以上より、本反応での反応性 (収率) および立体選択性は光の強弱に依存し、最適な強度は反応する基質によって異なることが判明した。また、赤色 LED (660 nm) 照射下でより効率よく還元が進行する条件を見出すことができた。

次に、**1a** を用いて赤色 LED パルス光 (間欠光) 照射下での反応を行った (Table 3)。パルス光照射下で同様の反応が進行すれば、反応に必要な光量を減らすことができ省エネルギー化が期待される。 $22 \text{ W/m}^2$  の光を用い、DT 比 (明期時間/周期) を 50 % に固定して、反応日数 2 日間でパルス周期の検討を行ったところ、周期が短いほど反応性はよく、 $0.1 \text{ ms}$  と  $0.01 \text{ ms}$  では基質をすべて還元することができ、相当するアルコールを約 70 % の収率で得ることができた。

**Table 3.** Asymmetric Reduction of **1a** using *Synechocystis* sp. PCC 6803 under Red LED Pulse Illumination

Run	Pulse period (ms)	Yield (%)		Ee (%) (Config.)
		Ketone	Alcohol	
1	1000	<b>1a</b> (27)	<b>1b</b> (54)	>99 (S)
2	100	<b>1a</b> (10)	<b>1b</b> (65)	>99 (S)
3	10	<b>1a</b> (10)	<b>1b</b> (69)	>99 (S)
4	1	<b>1a</b> (10)	<b>1b</b> (70)	>99 (S)
5	0.1	-	<b>1b</b> (73)	>99 (S)
6	0.01	-	<b>1b</b> (70)	>99 (S)

#### 4. 参考文献

- [1] K. Nakamura *et al.*: "In Enzyme Catalysis in Organic Synthesis A Comprehensive Handbook", Wiley-VCH:Weinheim, pp991-1047, 2002.
- [2] (a) T. Matsuda *et al.*: "Recent progress in biocatalysis for asymmetric oxidation and reduction.", *Tetrahedron Asymmetry*, 20, pp513-557, 2009. (b) K. Ishihara *et al.*: "Biotransformation using plant cultured cells.", *J Mol Catal B: Enzym*, 23, pp145-170, 2003.
- [3] (a) K. Nakamura *et al.*: "Cyanobacterium-catalyzed asymmetric reduction of ketones.", *Tetrahedron Lett.*, 41, pp6799-6802, 2000. (b) K. Itoh *et al.*: "Photobiocatalyzed asymmetric reduction of ketones using *Chlorella* sp. MK201.", *Biotechnol Lett.*, in press.