

総合論文

酵素触媒反応を鍵とする光学活性な香気物質両鏡像体の合成と香気評価

清田 洋正
(農芸化学コース)

Enzyme-catalyzed synthesis and odor evaluation of both enantiomers of perfume compounds

Hiromasa Kiyota

(Course of Agrochemical Bioscience)

Synthesis of both enantiomers of some perfume compounds, and their difference in aroma characteristics are described. Enantiomeric pairs of methyl jasmonate and its 4,5-didehydro congener, principal components of jasmin absolute, were prepared from the corresponding commercially available racemates using lipase-catalyzed optical resolution. The E-value for the reaction is as high as 370. The nature-identical isomers produced superior aroma activity relative to unnatural ones. Racemic lavandulol from a commercial source, was also resolved using several enzymatic transesterifications followed by hydrolysis with PPL. Odor evaluation revealed that the nature-identical isomer should play a key role in lavender oil. *Cis- α -irone* and *cis- γ -irone*, used as important violet components for perfumery, were synthesized in optically active forms through fractional crystallization of the diastereomeric salts with α -phenethylamine. The nature-identical irones also had better floral characteristics like ionone.

Key words : flavor and fragrance, enantiomers, synthesis, methyl jasmonate, lavandulol, irone

緒 言

古来天然物からの抽出に頼っていた香料の生産は、合成化学が発達するにつれ、工業生産に取って代わられてきた¹⁻⁴⁾。一般に、光学活性な天然香気化合物の多くは、ラセミ体であっても同程度の香調を示すため、工業的にはラセミ体で代替されている。こうした背景から、多くの天然化合物について、未だに鏡像異性と香質との関係が不明なままである。私は、有機化合物の持つ立体化学と香質の関係に興味を持ち、様々な天然・非天然物質の合成研究を行ってきた。ジャスモン酸メチル、ラバンジュロール、イロンは、よく知られている精油の主成分である。これら両鏡像体の工業生産品、あるいは重要合成中間体(ラセミ体)の、酵素触媒光学分割反応を用いた合成および香質評価を紹介する。

1. ジャスモン酸メチル (ジャスミン油)

(-) - ジャスモン酸メチル [MJA, (-)-1] は、ジャスミン精油の主要成分である (Fig. 1)⁵⁾。Acreeらによって、真の香気は平衡比で5%程度含まれる (+) - エピジャスモン酸メチル [MepiJA, (+)-*epi*-1] に由来すると報告されたが⁶⁾、依然 (-)-1 の香粧品素材としての需要は大きい。これまで数多くの不斉合成法が報告されてい

るが、いずれも (-)-1 の実用化には至っていない⁶⁾。一方、ラセミ体 (\pm)-1 は日本ゼオン社で工業的に製造されている⁸⁾。そこで私は、このラセミ体を光学分割できれば、効率的な (-)-1 の供給が容易になると考え、研究に着手した⁹⁾。

初めに、日本ゼオン社から取り寄せた (\pm)-1 のエステル部分について、エステラーゼやリパーゼでの不斉加水

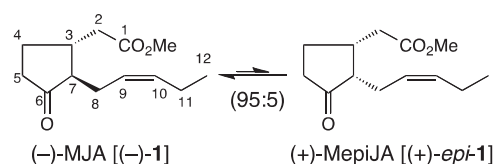


Fig. 1 Methyl jasmonate and methyl epijasmonate.

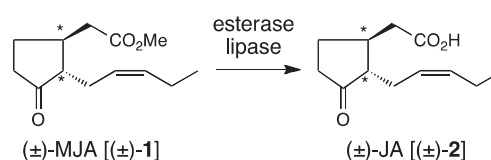


Fig. 2 Enzyme-catalyzed hydrolysis of (\pm)-MJA.

分解を試みた。しかしながら、何れも立体選択性を示さず、ラセミ体のジャスモン酸 [(±)-2] が生成するのみであった (Fig. 2)。

そこで、環上の6-位オキシ基をヒドロキシ基に還元した基質を用いて、リパーゼ触媒不斉アシル化/加水分解を行うことにした (Fig. 3)。先ず、(±)-1を塩基DBUで処理して、混在する(±)-*epi*-1を(±)-1に異性化収束させ、直ちに還元してアルコールのジアステレオマー(±)-3-OHと(±)-4-OHを得た。それぞれを立体

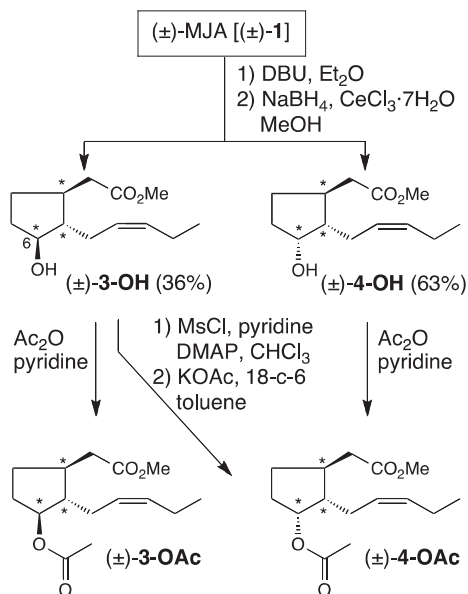


Fig. 3 Preparation of substrates for enzymatic optical resolution.

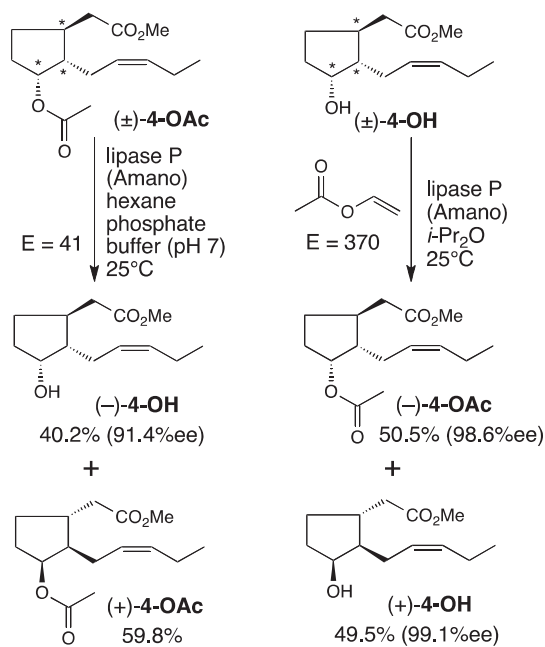


Fig. 4 Lipase-catalyzed transesterification and hydrolysis.

配置の保持或いは反転を伴って、相当する酢酸エステル(±)-3-OAcおよび(±)-4-OAcに導き、酵素反応の基質とした。

酵素触媒光学分割については、先ず(±)-3-OHと(±)-3-OAcの変換を検討したが、アシル化のE値¹⁰⁾は最大で2程度、加水分解でもリパーゼP (天野製薬)がE値3.6を示すに留まった。幸いなことに、リパーゼP (天野製薬)を用いると、(±)-4-OHのアシル化 (E値370)、(±)-4-OAcの加水分解 (E値41) 何れにおいても良好な結果を示した (Fig. 4)。

各生成物は相当する3,5-ジニトロ安息香酸エステル4-ODNBに導き、再結晶により鏡像体純度を>99.8% eeに向上させることができた (Fig. 5)。最後に Dess-Martin 酸化でオキシ基を再生させて、(-)-1と(+)-1を合成した。

ジャスミン油からは4,5-脱水素体 [(+)-Δ_{4,5}MJA, (+)-5]も単離されている¹¹⁾。そこで、MJAからTMSエノールエーテル経路で脱水素化反応を行い¹²⁾、両鏡像体を合成した¹³⁾。

Table 1に香質評価の結果を示す。MJAおよびΔ_{4,5}MJAいずれにおいても、天然型はフローラルな香気に優れ、非天然型はメタリックやケミカルなど人工的なニュアンスが含まれることが分かった。ラセミ体は天然型に準ずるがやや劣るという、至極当然の結果となった¹³⁾。別途合成した3,7-脱水素誘導体(6)は、両側鎖がMepiJA

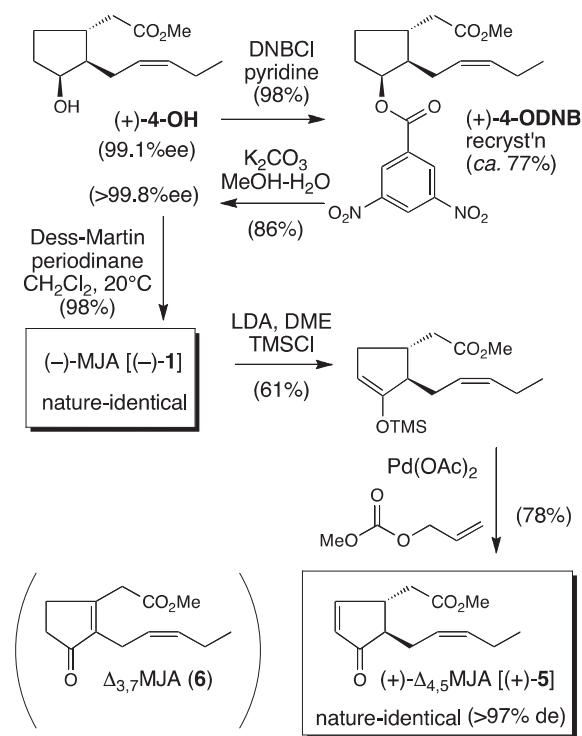


Fig. 5 Synthesis of MJA and Δ_{4,5}MJA in enantiomerically pure forms.

Table 1 Odor evaluation of methyl jasmonate congeners

Compounds (10% in triethyl citrate)	Odor characters
(-)-MJA [(-)-1] nature-identical (>99.8%ee, 96%de)	green-floral note, less sweet, bitter <i>cis</i> -jasmane-like
(+)-MJA [(+)-1] unnatural (>99.8%ee, 89%de)	green note with chemical and sharp nuance
(±)-MJA [(±)-1] racemate (90%de)	fresh-sweet-floral note
(+)- $\Delta_{4,5}$ MJA [(+)-5] nature-identical (>99.8%ee, >97%de)	a fresh natural, sweet floral fruity odor, reminiscent of Jasmin and Ylang Ylang flower
(-)- $\Delta_{4,5}$ MJA [(-)-5] unnatural (>99.8%ee, >99%de)	a floral green odor with slight metallic green aspect, less intensive than (+)-5
(±)- $\Delta_{4,5}$ MJA [(±)-5] racemate (94%de)	green-floral note, having weak and less volume than (±)-1
$\Delta_{3,7}$ MJA (6)	fresh-sweet-floral note, with slightly woody nuances

と類似の配向を取っており、予想通り良好な香質を示した^{12, 14}。なお、 $\Delta_{4,5}$ MJAは、白血病細胞分化誘導活性を示したが、これもラセミ体より天然型の方が強力であった^{15, 16}。

2. ラバンジュロール (ラベンダー油)

ラベンダー精油は19世紀中頃から香水として用いられてきた。ラバンジュロール [(-)-7] は、ラベンダー精油の成分として1942年に Sehinz らによって単離された^{17, 18}。ラセミ体がクラレ社で製造されているので、MJAと同様酵素触媒光学分割を用いて、両鏡像体の香気特性を明らかにしようと試みた。1級アルコールであるラバンジュロールの分割には困難が予想されたが、多くの酵素を検討した結果、PPL (豚膵臓リパーゼ、ナカライ) による不斉アシル化 (E値14) と不斉加水分解 (E値24) を組み合わせる手法が有用であることが分かった (Fig. 6)。即ち、非天然型のアセチル化を2回繰り返して、残存する天然型 (-)-7 を>99.5%eeで得た。また、アセチル化した非天然型 (+)-8 (80%ee) を単離、加水分解して>99.4%eeの (+)-7 を調製した。鏡像体純度は、相当する (S)-O-アセチルマンデル酸エステルに導いて、¹H-NMR測定により決定した¹⁹。

ラバンジュロールにおいても、天然型の香質は非天然型に優ること、非天然型は合成的な要素を含むことが明

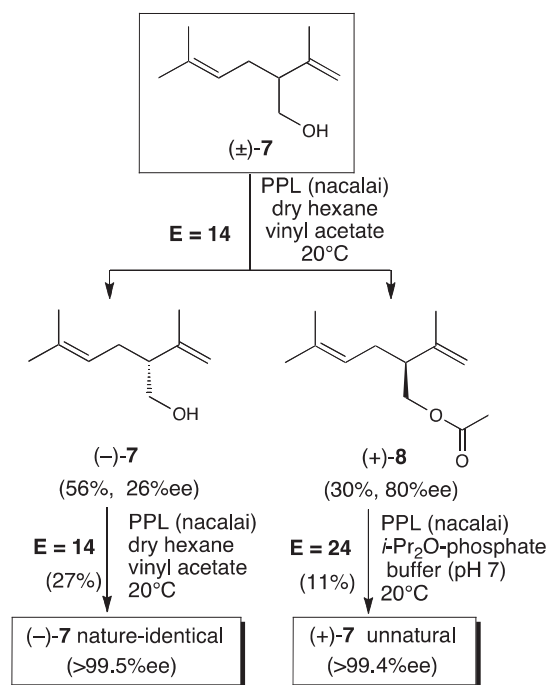


Fig. 6 Enzymatic resolution of (±)-lavandulol.

Table 2 Odor evaluation of lavandulol stereoisomers

Compounds (10% in EtOH)	Odor characters
(-)-7 nature-identical (>99.5%ee)	a weak floral, herbal odor with slightly lemon-like, fresh citrus fruity nuance
(+)-7 unnatural (>99.4%ee)	stronger than (-)-7, but synthetic, linalyl acetate-like
(±)-7 racemate	a weak floral, herbal odor

らかとなった (Table 2)¹⁹⁾.

3. イロン (オリス油)

バイオレット香素材として重要なイロンには, *cis* および *trans*, α , β , γ の異性体が存在するが, 特に *cis*- α -イロン (9) と *cis*- γ -イロン (10) が香質に優れ, 種々のアヤマ (オリス) 根精油に含まれている (Fig. 7)²⁰⁾. Brenna らは, 市販の α -イロンを酵素により光学分割して, 香質評価を報告している²¹⁾. 私は, 有用なキラル合成単位の作出という観点から, Nussbaumer と Fráter のラセミ体合成²²⁾ の中間体アルコール [(\pm)-11]²³⁾ に着目し, この鏡像体合成による α -および γ -イロン類の合成を検討した²⁴⁾.

初めに, (\pm)-11 の不斉合成を検討した. Fig. 8 の不斉触媒²⁵⁾ を用いた反応では, アルデヒド 12 を経て目的物は得られたものの, (\pm)-11 の鏡像体純度は 24% ee に留まった.

次に酵素触媒光学分割を行った (Fig. 9). PPL (Sigma) を用いた不斉アシル化と不斉加水分解を組み合わせることで, 光学純度 96% op の (\pm)-11 を得ることができた. この重要中間体については, キラルアミンを用いた分別

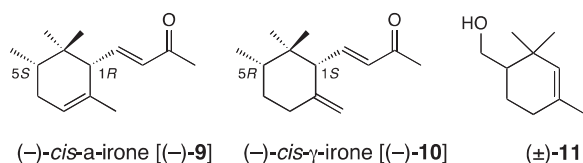


Fig. 7 Irones and the synthetic intermediate.

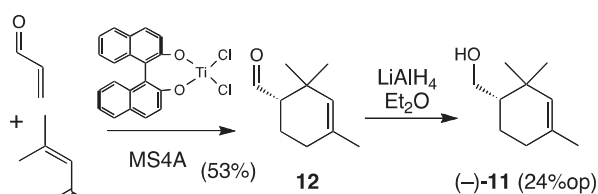


Fig. 8 Asymmetric Diels-Alder reaction.

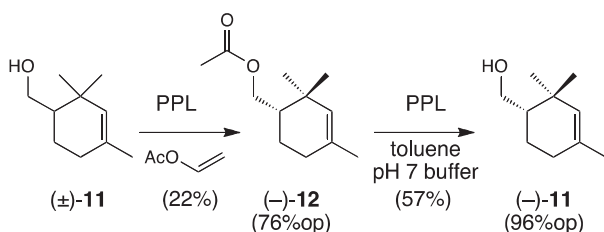


Fig. 9 Enzymatic preparation of (\pm)-11.

結晶法も試みた (Fig. 10).

アルデヒド (\pm)-12 を酸化したカルボン酸 (\pm)-13²⁶⁾ に (*S*)- α -フェネチルアミン [($-$)-PA] を作用させると, ($-$)-13 \cdot ($-$)-PA が針状晶として析出した. これを分離した後, 図 (A) の手順で精製し, 純粋な ($-$)-13 を得た. 一方, 図 (B) の様に, 母液に残った ($+$)-13 は, ($+$)-PA との塩で結晶化させて精製した. それぞれ, メチルエステル経由で還元して, アルコール 11 に導いた.

続いて 11 以降の変換を行った (Fig. 11)²²⁾. 即ち ($-$)-11 とアクリル酸単位とのエーテル ($-$)-14 に導いた後, 酸触媒エン反応により *cis*-配置の両側鎖を導入, ($+$)-*endo*-15 を得た. エステル部分の加水分解に続く LDA 処理により, エーテル環開環物 ($-$)-*endo*-16 に導き, 不要なヒドロキシ基を還元的に除去して ($-$)-*endo*-17 とした. 最後にカルボン酸をメチルケトンに変換, ($-$)-*cis*-イロン [($-$)-9] を得た. 同様に ($+$)-9 を合成した.

γ -イロンは α -イロンの二重結合位置異性体であるので, 中間体として *exo*-15 を合成すればよい. そこでエン反応の条件を検討した (Fig. 12). BF₃ や HBr ではいずれも完全に *endo*-選択性であった. 加熱 (270°C, 中性) 条件では *exo*-15 が得られたが低収率 (<23%) であった.

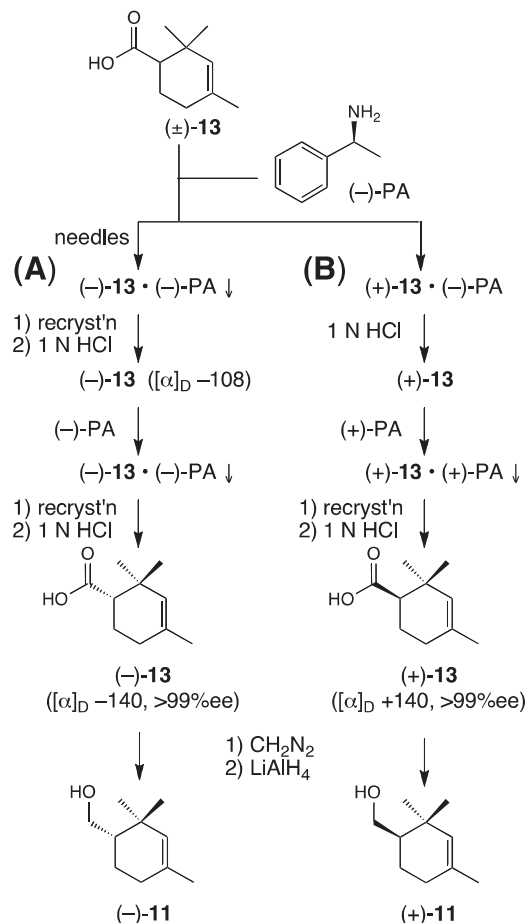


Fig. 10 Optical resolution using ($-$)- and ($+$)- α -phenethylamine.

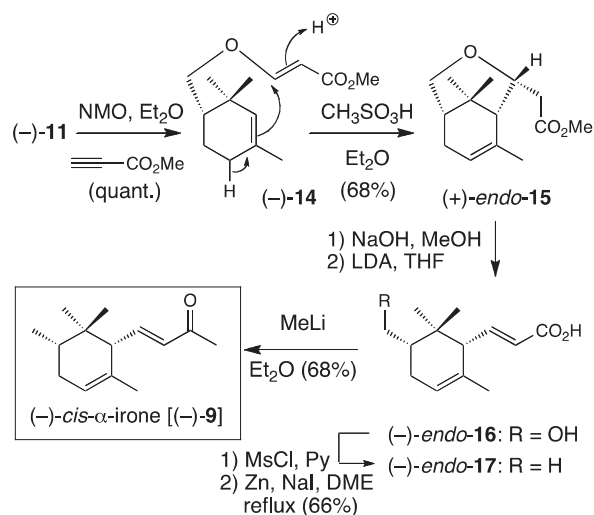
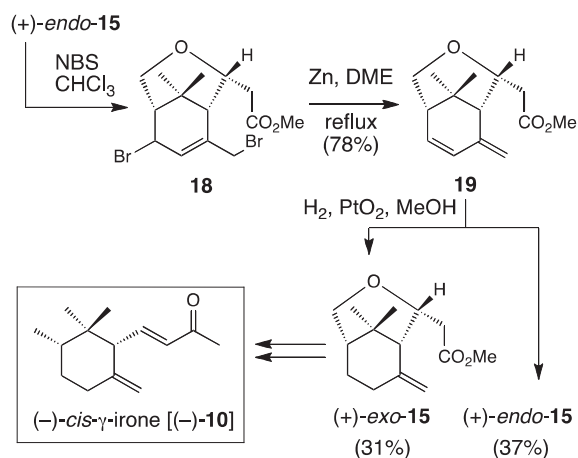
Fig. 11 Synthesis of (-)-*cis*- α -irone.Fig. 12 Synthesis of (-)-*cis*- γ -irone.

Table 3 Odor evaluation of irone stereoisomers

Compounds (10% in EtOH)	Odor characters
(-)- <i>cis</i> - α -irone [(-)-9] (>99%ee)	single-floral, ionone-like
(+)- <i>cis</i> - α -irone [(+)-9] (>99%ee)	green, light ; weak
(-)- <i>cis</i> - γ -irone [(-)-10] (>99%ee)	floral, sweet, ionone-like
(+)- <i>cis</i> - γ -irone [(+)-10] (>99%ee)	floral, green ; weak

最終的に, (+)-*endo*-15をジプロミド18経由でジエン19に導き, *endo*-二重結合を水素添加することで(+)-*exo*-15を得た。以下, 同様に *cis*- γ -イロン(10)の両鏡像体を合成した²⁴⁾。

香気評価の結果をTable 3に示す。*cis*- α -イロン(9),

cis- γ -イロン(10)何れにおいても, (-)体はイオン様様の花香を有し, (+)体より優れていることが分かった²⁴⁾。これは Brennaらの結果とほぼ同じであった。また, 環内外の二重結合位置の差違よりも, 側鎖の立体配置が重要であることが分かった。

香気は, 揮発性化学物質がヒト嗅覚受容体に作用することにより認識される。従って, 化学物質の立体化学的性質は香質を大きく左右する。立体異性体を純度良く作り分けて, 香質の微妙な差違を明らかにすることは, 新しい香料素材を発掘して世に送り出すために, 極めて重要である。不斉反応や光学分割など合成手法と, 絶対立体配置決定や微量異性体の検出など分析法の進歩と相俟って, 本分野がさらに進展することが期待される。

要 約

天然由来の香気物質について, 両鏡像体の合成を行い, 香質の差違を明らかにした。対象は, ジャスミン油成分ジャスモン酸メチルおよびその脱水素化誘導体, ラベンダー油成分ラバンジュロール, オリス油成分イロン類である。ジャスモン酸メチルとラバンジュロールでは市販ラセミ体の酵素触媒アシル化・加水分解による光学分割を行った。いずれの類縁化合物でも, 天然型の香気が非天然型より優れていた。イロン類については, 合成中間体であるラセミカルボン酸のキラルアミンとの結晶化による光学分割を用いた。 α -イロン, γ -イロン何れにおいても, (-)体が特徴的なイオン様香気を有していた。

謝 辞

本研究遂行においては, 下記の企業にお世話になりました。深謝いたします。

合成原料提供: 日本ゼオン株式会社, 株式会社クラレ。酵素試料提供: 天野製薬株式会社。香気評価: 日本ゼオン株式会社, 日本フレーバー&フレグランス学院。

文 献

- 1) 印藤元一: 香料の実際知識, 第2版, 東洋経済新報社, 東京(1985)
- 2) 印藤元一: 合成香料 化学と商品知識, 増補改訂版, 化学工業日報社, 東京(2005)
- 3) Surburg, H. and J. Panten: Common Fragrance and Flavor Materials, 5th Ed., Wiley-VCH, Germany (2006)
- 4) 長谷川香料株式会社: 香料の科学, 講談社, 東京(2013)
- 5) Demole, E., E. Lederer, D. Mercier: Isolement et détermination de la structure du jasmonate de méthyle, constituant odorant caractéristique de l'essence de jasmin. Helv. Chim. Acta, **45**, 675-685 (1962)
- 6) Review see: Chapuis, C.: The Jubilee of methyl jasmonate and hedione. Helv. Chim. Acta, **95**, 1479-1511 (2012)
- 7) Acree, T. E., R. Nishida and H. Fukami: Odor thresholds of the stereoisomers of methyl jasmonate. J. Agric. Food Chem., **33**, 425-427 (1985)
- 8) 吉岡 明・山田俊郎: ジャスモン酸メチルの工業化技術の開

- 発. 有合化, **48**, 56-64 (1990)
- 9) Kiyota, H., E. Higashi, T. Koike, T. Oritani : Lipase-catalyzed preparation of both enantiomers of methyl jasmonates. *Tetrahedron : Asymmetry*, **12**, 1035-103 (2001)
 - 10) E値は, 酵素触媒光学分割反応における, 両鏡像体間の初速度の比 (≥ 1) に相当する : Wang, C. H. and G. M. Whitesides : *Enzymes in Synthetic Organic Chemistry*, pp 9-13, Pergamon, UK (1994)
 - 11) Kaiser, R. and D. Lamparsky : Neue Inhaltsstoffe des Jasminblütenabsolutes mit Cyclopentangeruest. *Tetrahedron Lett.*, 3413-3416 (1974)
 - 12) Kiyota, H., Y. Yoneta and T. Oritani : Synthesis and biological activities of methyl 3,7- and 4,5-didehydrojasmonates. *Phytochemistry*, **46**, 983-986 (1997)
 - 13) Asamitsu, Y., Y. Nakamura, M. Ueda, S. Kuwahara, H. Kiyota : Synthesis and odor descriptions of both enantiomers of methyl 4,5-didehydrojasmonate, a component of jasmin absolute. *Chem. Biodivers.*, **3**, 654-659 (2006)
 - 14) Kiyota, H., S. Takigawa and S. Kuwahara : Syntheses and odor descriptions of cyclopropanated compounds. *Helv. Chim. Acta*, **87**, 1584-1589 (2004)
 - 15) Ishii, Y., H. Kiyota, S. Sakai and Y. Honma : Induction of differentiation of human myeloid leukemia cells by jasmonates, plant hormones. *Leukemia*, **18**, 1413-1419 (2004)
 - 16) Tsumura, H., M. Akimura, Y. Ishii, H. Kiyota, H. Ishikura and Y. Honma : Gene expression profiles of differentiating leukemia cells induced by methyl jasmonate largely share with those of cytokinins and methyl Jasmonate analogs induce the differentiation of human leukemia cells in primary culture. *Leukemia*, **23**, 753-760 (2009)
 - 17) Sehinz, H. and C. F. Seidel : Zur Kenntnis des Lavendelöls. (1. Mitteilung). Über Lavandulol, einen neuen Monoterpenalkohol aus Lavendelöl. *Helv. Chim. Acta*, **25**, 1572-1591 (1942)
 - 18) Sehinz, H. and J. P. Bourquin : Zur Kenntnis des Lavendelöls. (2. Mitteilung). Die Konstitution des Lavandulols. *Helv. Chim. Acta*, **25**, 1591-1611 (1942)
 - 19) Sakauchi, H., H. Kiyota, S. Takigawa, T. Oritani and S. Kuwahara : Enzymatic resolution and odor descriptions of both enantiomers of lavandulol, a fragrance of lavender oil. *Chem. Biodivers.*, **2**, 1183-1186 (2005)
 - 20) Marner, F. J., T. Runge, W. A. König : Separation of enantiomeric irones by gas-liquid chromatography on modified cyclodextrins. *Helv. Chim. Acta*, **73**, 2165-2170 (1990)
 - 21) Brenna, E., C. Fuganti, G. Fronza, L. Malpezzi, A. Righetti and S. Serra : Enzyme-mediated preparation of (+)- and (±)-*cis*- α -irone and (+)- and (±)-*trans*- α -irone. *Helv. Chim. Acta*, **82**, 2246-2259 (1999)
 - 22) Nussbaumer, C. and G. Fráter : A stereoselective synthesis of (±)-*cis*- γ -Irone. *Helv. Chim. Acta*, **71**, 619-623 (1988)
 - 23) Jitkow, O. N. and M. T. Bogert : The relationship between structure and odor in the case of certain derivatives of 2,2,4-trimethyl- Δ 3-cyclohexene aldehyde. *J. Am. Chem. Soc.*, **63**, 1979-1984 (1941)
 - 24) Inoue, T., H. Kiyota and T. Oritani : Synthesis of both enantiomers of *cis*- α -irone and *cis*- γ -irone, principal constituents of *Irish* oil, via optical resolution of (±)-2,2,4-trimethyl-3-cyclohexenecarboxylic acid. *Tetrahedron : Asymmetry*, **11**, 3807-3818 (2000)
 - 25) Mikami, K., M. Terada, Y. Motoyama and T. Nakai : Chiral titanium complex-catalyzed Diels-Alder reaction : a practical route to anthracycline intermediates. *Tetrahedron : Asymmetry*, **2**, 643-646 (1991)
 - 26) 野中啓明, 菊花の香気成分の研究 (第1~2報), *日本化学雑誌* **77**, 1818-1826 (1956)