アミノ酸系界面活性剤 (第6報)

N^{ϵ} -アシルリシンの合成及びそのエチレンオキシド付加物の界面化学的性質

坂本 一民・滝沢 宏一・稲塚 新一・吉田良之助

味の素株式会社中央研究所 (川崎市川崎区鈴木町 1-1)

Surfactants Derived from Amino Acids. VI.

Synthesis of N^{ϵ} -Acyl Lysine and Surface Activities of Its Ethylene Oxide Adducts

Kazutami SAKAMOTO, Kōichi TAKIZAWA, Shinichi INAZUKA, and
Ryōnosuke YOSHIDA

The Central Research Laboratories, Ajinomoto Co., Inc
(1-1, Suzuki-cho, Kawasaki-ku, Kawasaki)

Synthesis and surface activities of the N^{ϵ} -acyl-L-lysine and their derivatives were investigated. The N^{ϵ} -acyl-L-Lys were selectively obtained from fatty acid salts of Lys by the thermal dehydration. This method is superior in selectivity and convenience to the usual methods for the selective acylation of the ϵ -amino group in Lys, because the usual methods need to protect the α -amino group against the acylation and also to use special acylating agents such as acyl chloride or *p*-nitrophenyl ester of fatty acid.

The N^{ϵ} -lauroyl-L-Lys was less soluble into water in spite of its amphoteric structure, and ethylene oxide (EO) was added to increase the solubility.

Wetting power, foaming power, emulsifying power and detergency of EO adducts of N^{ϵ} -lauroyl-L-Lys were measured. Wetting power varied with pH like usual amphoteric surfactants, but the variation decreased with increasing of the number of EO.

1 緒 言

酸性および中性アミノ酸から誘導される N -長鎖アシルアミノ酸塩はアニオン界面活性剤であり、中でも N -長鎖アシルグルタミン酸塩は弱酸性アニオン界面活性剤として皮膚に対して温和で生分解性が良いなどの特徴を有している¹⁾。これに対しリシン、オルニチンなどの塩基性アミノ酸のモノアシル化物は分子内に一對の遊離のアミノ基とカルボキシル基を持ち両性界面活性剤としての性質が期待される。しかし、アニオン界面活性剤である N^{α} , N^{ϵ} -ジ長鎖アシルリシン^{2),3)} およびモノ長鎖アシルリシンの抗菌性ペプチドの合成中間体としての報告^{4),5)} はあるが、両性界面活性剤としての報告は見当たらない。これは通常用いられるアミノ酸のアシル化法では選択的にモノアシル体を得難いことが一因と考えられる。そこで本研究は脂肪酸とリシンからの N^{ϵ} -長鎖アシルリシンの選択的合成法およびそのエチレンオキシド

(EO) 付加体の界面化学的性質について検討を行った。

2 実 験

2.1 合成

2.1.1 L-リシンラウリン酸塩 (I) の合成

ラウリン酸 200 g (1 mol) をメタノール 200 ml に溶解し室温で L-リシンの50%水溶液 (pH10) を滴下し、30 min かきまぜた後沈殿を濾別、水洗、乾燥して L-リシンラウリン酸塩の白色粉末 301 g を得た。収率87%。mp 189~195°C

2.1.2 L-リシン脂肪酸塩 (I) の合成

2.1.1 と同様の方法で L-リシンミリスチン酸塩、パルミチン酸塩、ステアリン酸塩を合成した。ステアリン酸は川研ファインケミカル社製 MC ステアリン (ステアリン酸55%, パルミチン酸 41%, ミリスチン酸4%, オレイン酸 tr) を、他の脂肪酸は特級試薬を用いた。収率および分析値を Table-1 に示した。

注 1) 前報: 日誌, 1976. 1934 (1976)

Table-1 Yield and analysis of fatty acid salts of L-Lys.

Fatty acid salts of L-Lys	Yield (%)	Found (%)			Calc. (%)			mp (°C)
		C	H	N	C	H	N	
L-Lys lauric acid salt	87	66.33	11.61	6.55	66.30	11.61	6.72	189~195
L-Lys myristic acid salt	85	65.60	11.50	6.80	65.63	11.52	6.96	190~200
L-Lys palmitic acid salt	87	64.06	11.29	7.48	64.13	11.30	7.48	190~193
L-Lys stearic acid salt	93	62.38	11.03	8.04	62.39	11.05	8.09	185~195

2・1・3 N^{ϵ} -ラウロイル-L-リシン (II) の合成

L-リシンラウリン酸塩(I) 200 g (0.58 mol) をキシレン 2 l 中に分散させかきまぜながら 24 h 加熱還流した。脱水反応により生成した水は共沸蒸留により分離した。反応液は開始後 2~3 h でゲル状を呈し、時間の経過とともにかっ色を帯びた。反応終了後室温まで冷却しメタノール 500 ml を加えてゲルを破壊した後濾過、乾燥し、 N^{ϵ} -ラウロイル-L-リシン (II) の淡黄色粉末 120 g を得た。収率 63%。次に酢酸から再結晶して (II) の白色粉末 80 g を得た。

また母液から溶媒を留去してワックス状の副生成物 18 g を得た。収率 10%, TLC, IR による分析の結果 α -アミノ- ϵ -カプロラクタムから合成した N -ラウロイル- α -アミノ- ϵ -カプロラクタムと一致した。 $R_f=0.85$ (n -ブタノール: 酢酸: 水=4:1:2), 1640 cm^{-1} , 1660 cm^{-1} , mp $128\sim130^{\circ}\text{C}$, $\text{C}_{18}\text{H}_{34}\text{O}_2\text{N}_2$ Found C 69.76, H 10.87, N 8.85%, Calc. C 69.63, H 11.04, N 9.02%。

2・1・4 N^{ϵ} -アシル-L-リシン (II) の合成

L-リシン脂肪酸塩 (I) から 2・1・3 の方法で合成した。収率および分析値を **Table-2** に示した。

2・1・5 N^{ϵ} -ステアロイル-L-リシンの合成

ステアリン酸 97.2 g (0.36 mol) をキシレン 1 l に溶解し $30\sim40^{\circ}\text{C}$ にて L-リシンの 50% 水溶液 87.6 g (0.3 mol) を滴下した。 $90\sim100^{\circ}\text{C}$ に加熱して水を共沸により留去しさらに 140°C , 10 h 加熱還流の後, 2・1・3 と同様に処理して N^{ϵ} -ステアロイル-L-リシンのかっ色粉末 113.1 g を得た。収率 94.6%。

2・1・6 L-リシンとラウリン酸の加熱脱水によるアシル化

L-リシン塩酸塩 18.2 g (0.1 mol) とラウリン酸 2.2 g (0.1 mol) をキシレン中に懸濁しオートクレーブ中 $150\sim170^{\circ}\text{C}$ 4 h 加熱後反応液を水酸化ナトリウム水溶液に溶解し、塩酸で pH 1 として沈殿を濾取した。これをエタノールに溶解後不溶物を濾取乾燥して N^{ϵ} -ラウロイルリシン 9.1 g を得た。母液からエタノールおよび水を留去して N^{α}, N^{ϵ} -ジラウロイルリシン 18.0 g を得た。

2・1・7 N^{α} -ラウロイル-L-リシンの合成

N^{ϵ} -カルボベンゾキシ-L-リシンとラウロイルクロリドから栗原らの方法⁵⁾で N^{α} -ラウロイル- N^{ϵ} -カルボベンゾキシ-L-リシンとし、これを Pd-炭触媒を用いて還元し N^{α} -ラウロイル-L-リシンを得た。

2・1・8 N^{ϵ} -ラウロイル-L-リシン EO 付加体 (IV) の合成

N^{ϵ} -ラウロイル-L-リシン (II) 5 g を 2% 水酸化ナトリウム水溶液 100 ml に懸濁し窒素気流下で EO と反応させた。反応液を塩酸で中和後析出した未反応の II を濾別し、母液にメタノールを加えてあわ立ちを抑制しつつ減圧濃縮の後残分をメタノールに溶解して析出した副生食塩を濾別した。濾液からメタノールを留去して粘りゅうな油状物質を得た。生成物の粘度は EO 導入量の増加とともに減少した。生成物の IR スペクトルにエーテル結合に帰属する吸収 ($1460, 1360, 1080\text{ cm}^{-1}$) が認められ、副生成物として考えられるポリエチレングリコール (PEG 400 および 1500) にみられる 1300 cm^{-1} の吸収はほとんど認められなかった。さらに EO 付加反応中のアルカリによる II の加水分解を調べる目的で、II 2.5 g を 2% 水酸化ナトリウム水溶液に懸濁させて 100°C , 10 h 加熱の後硫酸で中和し生じたラウリン酸を酢酸エチルで抽出した。酢酸エチルを留去してラウリン酸 0.05 g を

Table-2 Yield and analysis of N^{ϵ} -acyl-L-Lys.

N^{ϵ} -acyl-L-Lys	Yield (%)	Found (%)			Calc. (%)			mp (°C)
		C	H	N	C	H	N	
N^{ϵ} -lauroyl-L-Lys	63	66.03	11.09	8.60	65.81	11.05	8.53	237~239
N^{ϵ} -myristoyl-L-Lys	60	67.38	11.32	7.92	67.37	11.31	7.86	238~242
N^{ϵ} -palmitoyl-L-Lys	55	68.84	11.64	7.27	68.70	11.53	7.28	235~236
N^{ϵ} -stearoyl-L-Lys	72	69.31	11.76	7.11	69.30	11.63	7.03	236~237

Table-3 Addition of ethylene oxide to *N*^ε-lauroyl-L-Lys (II).EO was added to 5.0g of *N*^ε-lauroyl-L-Lys in 100ml of 2% aq. soln. of NaOH.

No.	Reaction temp. (°C)	Reaction time(h)	Amounts of EO (g)	Number of EO added to (II)	Yield (%)
1	20~25	4	1.5	5~6	35.2
2	20~25	8	1.6	5~6	40.0
3	50~60	4	5.0	10~11	73.6
4	50~60	8	7.9	12~13	90.4
5	95~100	4	6.3	9~10	95.0
6	95~100	10	20.0	30~31	100.0
7	95~100	10	40.0	60~64	100.0

得た。(分解率 2.7%) これらの結果から EO 付加反応生成物は大部分 *N*^ε-ラウロイル-L-リシン EO 付加体(IV)と考えられる。そこで NMR スペクトルにおけるラウロイル基のメチレンプロトン ($\delta=8.7$) とエーテルプロトン ($\delta=6.4$) の比から見掛けの EO 付加モル数を推算した。結果を Table-3 に示した。

2.2 界面活性性能の測定方法

2.2.1 溶解性

試料 0.1g の溶媒 100 ml に対する 40°C における溶解性を調べた。

2.2.2 表面張力

室温 (23°C) にて du Nöuy 法により測定した。

2.2.3 浸透力

直径 1 in のフェルトジスク (ローラークロス, フェルト規格 20 オンス, ニッケ製) を用いてセミマイクロジスク法⁶⁾ でジスクの沈降し始めるまでの時間を測定した。

2.2.4 あわ立ち力

Ross & Miles 法を用いて 40°C における 0 min, 5 min, および 30 min のあわの高さを測定した。

2.2.5 乳化力

10 mmφ×390 mm の測定管に試料溶液 10 ml とトルエン 10 ml を加え倒立を 30 回行って乳化させた後分離する水の量から乳化力を求めた。

2.2.6 洗浄力

柏らの方法で作成した木綿人工汚染布⁷⁾ を用い, Terg-O-Tometer にて下記条件で洗浄しその反射率から洗浄力を算出した。洗浄温度 25°C, 洗浄時間 10 min, 浴比 40, 汚染布の反射率 40~44%, 洗浄水 900 ml, すすぎ 900 ml 2 min, 1 回。洗浄率 (%) = $(R_w - R_s) / (R_0 - R_s) \times 100$ R_0 : 清浄布の反射率 (%), R_s : 汚染布の洗浄前の反射率 (%), R_w : 汚染布の洗浄後の反射率 (%)。

3 結果および考察

3.1 合成

アミノ酸の *N*-アシル化法としては一般に酸クロリド

を用いる Shotten-Baumann 法が用いられており, これによる *N*^α, *N*^ε-ジアシルリシンの合成が報告されている^{2), 3)}。しかしこの方法ではリシンの一方のアミノ基のみを選択的にアシル化することはできない。これは両アミノ基の反応性の差が小さく酸クロリドのような反応性の高いアシル化剤の攻撃は両アミノ基に非選択的に起こるためと考えられている⁸⁾。ε-アミノ基を選択的にアシル化する方法にはリシンを銅塩として α-アミノ基を保護した後酸クロリドで ε-アミノ基をアシル化する方法⁹⁾と酸クロリドに比べ反応性の低い *p*-ニトロフェニルエステルを用いて pH 11 で ε-アミノ基を選択的にアシル化する方法^{8), 9)} が報告されている。銅塩を用いる方法は選択性 100% で *N*^ε-アシルリシンが得られるが脱銅に硫化水素を必要とし実用的な方法とは言い難い。*p*-ニトロフェニルエステルを用いる方法は直接 *N*^ε-アシルリシンが得られ選択性も良好であるが, アシル化剤を脂肪酸から合成する必要がある簡便な方法とは言い難くさらに長鎖アシル化に関する例はない。Leclerc らは式 (1) から pH 11 ではリシンのアミノ基はいずれも未解離の状態にあるため *p*-ニトロフェニルエステルにより塩基性の強い ε-アミノ基が選択的にアシル化されたと考えた⁸⁾。

この結果はリシンの両アミノ基の塩基性度の差を区別し得る比較的温和なアシル化条件を選ぶことによる選択的モノアシル化の可能性を示唆するものである。

そこで本研究では式 (2) による *N*^ε-長鎖アシルリシンの選択的合成に関する検討を行った。すなわちリシンの等電点は pH 9.59 でありカルボキシル基は ε-アミノ基と分子内塩を形成している。ここに脂肪酸を添加してリシン脂肪酸塩 (I) とした後加熱脱水すれば選択的に *N*^ε-アシルリシン (II) が得られると予想される。反応の結果ラウリン酸からステアリン酸までのいずれの脂肪酸の場合も収率よく I および II が得られた (Table-1, 2)。

さらに I の加熱脱水反応において *N*-アシル-α-アミノ-ε-カプロラクタム (IV) の副生が認められた (2・1・3)。これは I がリシンと脂肪酸に再び解離し, リシンがラクタム化して α-アミノ-ε-カプロラクタム (III) と成って脂肪酸と脱水縮合したものと思われる。本反応で得られた II のアシル化部位を確認する 目的で *N*-ミリストイル

A) *n*-Butanol : Acetic acid : Water = 4 : 1 : 2
 B) *n*-Butanol : Aqueous ammonia : Water = 20 : 12 : 3
 1 : *N*^ε-Myristoyl- L-Lys
 2 : *N*^ε-Myristoyl- L-Lys treated in refluxed xylene for 4 h
 3 : *N*^ε-Myristoyl- L-Lys
 4 : *N*^ε-Myristoyl- L-Lys treated in refluxed xylene for 4 h
 5 : *N*-Lauroyl-α-amino-ε-caprolactam

Fig.-1 TLC of *N*-myristoyl-L-Lys and its derivatives.

-L-リシンについて本反応による生成物と *N*^ε-カルボベンゾキシ-L-リシンから誘導された *N*^ε-アシル化物をそれぞれキシレン中で加熱したところ Fig.-1, 2 に示すように *N*^ε-アシル化物からは *N*-ミリストイル-α-アミノ-ε-カプロラクタムの生成が認められたが、本反応による II には変化が認められなかった。この結果から II は ε 位のアシル化されたモノアシルリシンであることが確認された (式 (3))。

Schroeder らはアミノ酸と脂肪酸の混合物を加熱脱水するアミノ酸のアシル化法を報告している¹⁰⁾が、リシンの場合 *N*^ε-アシルリシンの 2 倍量の *N*^ε, *N*^ε-ジアシルリシンが生成した (2・1・6)。これは式 (2) の選択性が I

IR spectra were measured in the mixture of *N*^ε-Myristoyl- L-Lys and nujol.
 1 : *N*^ε-Myristoyl- L-Lys; 2 : *N*^ε-Myristoyl- L-Lys;
 3 : *N*^ε-Myristoyl- L-Lys treated in refluxed xylene for 4 h
 4 : *N*-Lauroyl-α-amino-ε-caprolactam

Fig.-2 IR spectra of *N*-myristoyl-L-Lys and its derivatives.

の生成時に決まることを裏づけるものである。式 (2) の反応で脂肪酸をキシレンに溶解してリシン水溶液と反応させた後 I を単離せずに共沸蒸留で水を留去し、次にキシレンの還流温度で加熱脱水することにより一段の反応で収率良く、しかも選択的に *N*^ε-アシルリシンが得られた (2・1・5)。以上のように本反応は脂肪酸クロリド、*p*-ニトロフェニルエステルなどのアシル化剤を用いずにリ

Table-4 Solubility of EO adducts of *N*^ε-lauroyl-L-Lys (IV).

0.1 g of IV in 100 ml of H₂O at 40°C

Number of added EO		0	6~7	30~32	62~64
Solvent					
Water	pH < 1	PS	S	S	S
	pH ≈ 7	I	S	S	S
	pH > 12	PS	S	S	S
Methanol		I	S	S	S
Ethanol		I	S	S	S
Ethyl acetate		I	PS	S	S
Dioxane		I	S	S	S
THF		I	S	S	S
Chloroform		I	S	S	S
Carbon tetrachloride		I	I	I	I
Benzene		I	I	I	I
<i>n</i> -Hexane		I	I	I	I

S, soluble; PS, partially soluble; I, slightly soluble or insoluble.

Table-5 Surface activities of EO adducts of *N*^ε-lauroyl-L-Lys (IV)
0.25% aq. soln.

Number of added EO	pH ¹⁾	Surface ¹⁾ tension (dyn/cm)	Wetting ²⁾ power (sec)	Foaming power ²⁾ (mm)			Emulsifying ²⁾ power (mm)	
				0 min	5 min	30 min	5 min	10 min
6~7	6.5	40	22	193	179	171	3.2	5.4
30~32	6.0	39	101	167	160	152	3.9	3.9
62~64	6.5	34	530	130	116	115	9.8	9.9

1) at 23°C 2) at 40°C

Fig. 3 Detergency of EO adducts of *N*^ε-lauroyl-L-Lys, at 25°C, artificially soiled cotton textile.

シンと脂肪酸から直接選択的に *N*^ε-アシルリシンを合成できることおよび反応操作も比較的容易であることから実用的合成法として有用と考えられる。

このようにして得られた *N*^ε-アシルリシン(II)およびその塩は水に難溶のため界面活性剤として用いにくい(**Table-4**)。そこでIIにEOを付加して水溶性の向上を計った。IIを2%水酸化ナトリウム中でEOと反応させることによりEO付加体(IV)が得られた(**Table-3**)。

3.2 界面化学的性質

N^ε-アシルリシンにEO付加を行うと水溶性とともにアルコール、エステル、エーテル類への溶解性も向上した(**Table-4**)。EO付加体の弱酸性における各種界面化学的性質を**Table-5**に、界面活性剤としての総合的性能と考えられる洗浄力を**Fig. 3**に示した。

浸透力のpHによる変化を調べたところ付加モル数によらずpH 5~6付近でフェルトの沈降時間が極小値を示した(**Fig. 4**)。一般に両性界面活性剤の物性はpH依存性を示し当電点付近で良好な値を示すことが知られており、一方*N*^ε-ラウロイル-L-リシンの当電点は中性アミノ酸の当電点(pH 5~6)付近と推定される。したがって浸透力のpH依存性はEO付加体(IV)の両性界面活性剤としての性質を示すものと思われる。さらに、**Table-5**, **Fig. 3**, **4**に示した浸透力、あわ立ち力および洗浄力はIIへのEO付加数により変化した、これらについては純度およびEO付加数を確認した試料を用い

0.25%, at 23°C

Fig. 4 Relation between wetting power and pH in the solution of EO adducts of *N*^ε-lauroyl-L-Lys.

てさらに検討する必要がある。

本研究の一部は昭和50年10月、日本化学会第33秋季年会(福岡)において報告した。(昭和51年11月17日受理)

文 献

- 吉田良之助, 竹原将博, 有合化, **33**, 671 (1975)
- A. Nagamatsu, T. Okuma, T. Hayashida, Y. Yamamura, *Chem. Pharm. Bull.*, **16**, 211 (1968)
- E. Jungerman, J.F. Gerecht, I.J. Krems, *J. Am. Chem. Soc.*, **78**, 172 (1956)
- K. Vogler, P. Lanz, P. Quitt, R.O. Studer, W. Lergier, E. Böhni, B. Fust, *Helv. Chim. Acta*, **47**, 526 (1964)
- 栗原藤三郎, 武田秀雄, 伊藤秀雄, 佐川啓子, 薬誌, **89**, 531 (1969)
- T. Hikota, K. Meguro, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **40**, 579 (1969)
- 柏 一郎, 桑村秀明, 川崎征男, 西沢 均, 角田光雄, 大場洋一, 油化学 **19**, 158 (1970)
- J. Leclec, L. Benoiton, *Can. J. Chem.*, **46**, 1047 (1968)
- K. Okawa, S. Hase, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **36**, 754 (1963)
- G. Schroeder, W. Gaenzler, J. Babuliak, P. Uddrich, *Ger. Offen*, 2,004,009 (1971)