展 望

合成高分子触媒による 低分子アミド化合物の加水分解

天然の酵素はわれわれの生活に大きく貢献していることは古くから知られている。この酵素の働きは酵素化学から現在生化学の分野へと発展してきた。しかし有機質触媒と考えられる酵素の数はたいへん多く、それがエステル、アミド、エーテル(アセタール)、脱炭素などの特定な反応をどういう過程を通して進むかを明らかにするのはたいへんむずかしい。そこで 10 年ぐらい前から、特別な官能基をもつポリマーを合成して、酵素の触媒能と比べようとする研究が始まった。エステルの分野に対する合成ポリマーの触媒作用は数多く紹介されているが、アミドについては見あたらない。本稿ではアミド基切断における酵素触媒の概念をもとにして、合成ポリマーの触媒機構に対する展望を試みる。

羽 山 茂*

1. はじめに

アミド化合物とは分子内に $-CONH-$ 結合をもつものの総称である。天然に生産される高分子物はタンパク質と呼ばれ、合成物ではナイロン系の合成繊維がこれにあたる。タンパク質は分子の構成状態から2とおりに大別される。第1は羊毛ケラチン、絹フィブロインのように巨大分子が繊維状に並び、互に水素結合、塩結合、ファンデルワールス結合により結晶構造を示し、ときには羊毛のシスチン結合のように隣りの分子と橋かけしているものもある。したがって繊維状タンパク質は水に溶けず、強酸性強アルカリ性でないと分解されない。一方のタンパク質はゼラチン、牛乳カゼイン、豆乳グロブリン、絹のセリシンのように、巨大分子が糸まり状になって生産される。これらは水中に懸濁状態で存在し、あるものはわれわれの体内に栄養源として摂取され、分解されて、ときには別なタンパク質に再合成されて皮フ、ツメ、毛髪、血液、各種器官に再生産される。そのような仕事をするのに欠かせないのが酵素である。酵素は生物が摂取したタンパク質から再生産された一種のタンパク質で、体内の各所の器官に貯蔵されて、食物の消化と呼吸作用に重要な役割を果している。酵素には生物(菌類)といっしょになって活動するものと、生物が死滅後もなお独自の働きを示すものがある。酵素は高分子量体でタンパク質と同程度の分子量をもっている。酵素作用という言葉は有機質触媒と考えられる酵素の働きを示すもので

ある。表題の合成高分子によるアミド結合の分解促進効果を考えるとき、先輩格にあたる酵素の構造や触媒効果の大略をつかむことが近道である。

2. 酵素の作用概念

酵素の種類はきわめて多いが、個々の酵素についていえることは分解されるべき化合物(基質)の、特定な結合基($-CONH-$, $COOR$, $R-O-C-O-R'$)に対してのみ作用するということである。それは個々の酵素の構造が異なっていることと、さらに基質の分子構造の違いに基いて両者がうまく接近できる条件、すなわち付加化合物(complex)を形成した場合に限って、中性付近で大きな触媒効果を発揮することを示唆している。しかし酵素が単分子の浮遊状態にあるときは、そのような触媒効果を期待することは当然不可能である。現在わかっている酵素の分子構造は疎水性と親水性の二つのグループから成り、疎水性の骨格構造から親水性の官能基がペンダント状にぶらさがっているか、ときには両者がうまい具合に共有結合で交互に連結されているということである。親水性官能基としてはタンパク質に共通な $-NH_2$ 、 $-COOH$ のほか、個々の酵素の特性基として、 $-OH$ 、 $-NH-$ 、 $-SH$ (パパイニン)、イミダズール(後述)および金属塩などがある。それらの特性基と疎水性骨格部の一定な配列状態により(conformation)、数多くの酵素が構成されている。そして疎水性部のゆらゆらした運動に応じて親水性基が疎水性部の外側、すなわち水との界面に集中して並び、活性中心と呼ばれる触媒作用の基地を形成して、大きな触媒効果を発揮するわけである。そのために疎水性部もファンデルワールス力および水素結合力などによっ

* Shigeru HAYAMA 山形大学(工学部高分子化学科・992 米沢市城南4丁目)教授・工博
Synthetic Polymers Catalyzed Amide Hydrolysis

て基質を酵素分子内に取り込む役目をして、活性中心における分解促進効果を助けている。

以上が酵素作用のあらましのつかみ方である¹⁾が、本題のアミド化合物の加水分解に対する合成高分子の触媒作用となると、現在合成されている官能性ポリマーのレベルで考えなければならない。しかしそれらのポリマーは主としてイオン交換ポリマー、高分子界面活性剤および高分子凝集剤として利用されている。それらが触媒として利用されるためには、酵素のようにうまく具合に活性中心をもちうる構造になっているかどうか、またその活性中心になりうる官能基が研究の対象に選ばれた基質の加水分解を選択的に促進しうるかどうかが問題になってくる。例を酵素にとると、アミノペプチダーゼによって分解される基質は $-\text{NH}_2$ に隣接した $-\text{CONH}-$ をもつこと、それに反してカルボキシペプチダーゼの場合には、遊離の $-\text{COOH}$ に隣接した $-\text{CONH}-$ が切断される。したがってどちらの場合も2個以上の $-\text{CONH}-$ をもつアミド化合物はその末端から分裂されて、遊離のアミノ酸になることがわかっている。さらにタンパク質分解酵素として知られるペプシンは強酸性のみで特定な構造の $-\text{CONH}-$ を切断し、トリプシンは弱酸性で、陽電荷をもつ側鎖の隣りにある $-\text{CONH}-$ のみを分解する。キモトリプシンは特殊な酵素で、L-ヒスチジンを分子内にもち、エステルおよびアミド化合物に対して分解能をもつことが知られている。アミド化合物の分解では牛乳の凝固やゼラチンの分解促進に威力を発揮する¹⁾。その末端5員環はイミダゾール環で、これは酸性、中性付近、アルカリ性で各々違った構造をとるため、酸としても塩基

L-ヒスチジン

としても働くことができる。そこでこの L-ヒスチジンを使ってビニルイミダゾール (VIm) に変え、ポリビニルイミダゾール (PVIIm) が合成された²⁾。その一例を次に示す。

また N-ビニルイミダゾール (NVIIm) のポリマー^{3), 4)}, VIm, NVIIm とフェノール、アクリル酸、アクリルアミドなどの共重合体も合成され^{5)~5)}、エステルの加水分解時に complex を形成して大きな触媒効果を示すことが報告されている⁶⁾。この PVIIm がアミド化合物の分解にどのような機作を示すかが興味の対象になろう。ところが酵素がアミド基質を分解するのは、特定な官能基が $-\text{CONH}-$ のそばにある場合だけとなっているので、そのような官能基をもつ低分子および高分子アミド基質を合成して、その分子内触媒効果を調べた報告がある。

3. アミド化合物の分子内触媒効果

アミド化合物もエステル化合物も、その特性結合 $-\text{CONH}-$ 、 $-\text{COOR}$ が二つの $-\text{COOH}$ 基の間に囲まれているとき、ある pH 値の水溶液中で非常に活性化される⁷⁾。次の基質で $-\text{COOH}$ が $-\text{CONH}-$ のオルト位にあるときは、25.8°C で pH 3~4 の範囲にわたり分解が促進される。そして一方の $-\text{COOH}$ がイオン化されていると分解速度は 50 倍増加する。また $-\text{COOH}$ がパラ位

にあると分解速度は 1/10 に低下するという⁷⁾。フタル酸アミドを pH 3 の塩酸中で (48.7°C) 分解させると、その分解速度は同条件下のベンズアミドの 10 万倍に達する⁸⁾。また o-ニトロベンズアミドの 100 万倍も速い速度で分解される。オルト位の $-\text{COOH}$ は同じ位置のニトロ基より分子内触媒効果が著しく大きいわけである。その分解機構は次のように説明される。

羽山茂氏 昭和20年旅順工科大学応用化学科卒業。昭和23年より山形大学にて繊維化学を研究、30年より合成繊維、40年より高分子合成の研究に従事。米沢から数km離れた溪谷で川魚を釣る心境に早くなりたいと思っている。

ベンズアミドの酸性分解は次式で説明されている⁹⁾。

アセトアミドの 100°C における加水分解は中性付近で遅く、 $[\text{OH}^-]$ とともに増加する¹⁰⁾。 γ -ヒドロキシブチルアミドを中程度の酸およびアルカリ中で分解すると、 $[\text{H}^+]$ 、 $[\text{OH}^-]$ 濃度に依存し、中間体として γ -ブチラクトンを経て、 γ -ヒドロキシブチル酸とアンモニアを生じる。

その分解速度は酸性、アルカリ性ともにアセトアミドの 10 倍速く、またブチルアミドの 15~20 倍になった。中性付近の 100°C における分解ではアセトアミドの 300 倍、ブチルアミドの 800 倍になった。これは γ -ヒドロキシル基の分子内触媒効果に原因すると結論している¹⁰⁾。Bruce ら¹¹⁾はイミダゾール基をもつ L-ヒスチジンが基質と complex を形成してアセチルイミダゾールに変わり、基質の加水分解を促進することに着目してアセチルイミダゾールおよびブチルアミドイミダゾールの分解におけるイミダゾール核の効果を調べた。アセチルイミダゾールではイミダゾール核の窒素に直結したアセチル基は容易に切断される（酸性、アルカリ性ともに中性より速い）。さらにブチルアミド基はイミダゾールの分子内触媒作用を受けて次のように分解する。

Morawetz ら¹²⁾の *p*-ニトロアクリルアミドアクリル酸共重合体の 135.4°C における分解では、pH 2~6 にわたり分解速度は変わらないが、アルカリ性では低下する。このアルカリ性液にポリアクリル酸を加えると、分解速度が 35% 増加した。これより $[\text{H}^+]$ とイオン化しない $-\text{COOH}$ が触媒になっていると説明した。メタクリル酸-メタクリルアミド共重合体は二つのイオン化された $-\text{COO}^-$ が $-\text{CONH}-$ の横についているとき、アルカリ性加水分解が妨げられるという¹³⁾。ニトロフェノール

エステルの加水分解にはイオン化した $-\text{COO}^-$ が必要であるので¹²⁾、 $-\text{COOR}$ または $-\text{CONH}-$ の横に $-\text{COOH}$ をつけたポリマーが加水分解される条件は異なっているわけである。Morawetz らはこれを酵素が基質の特性基に対して選択的触媒作用を示すことによく似ていると結論している。

アミド化合物にはこのほかアニリド、およびアゾリドがあるが、これらは次の触媒効果の項で述べる。

4. ポリマーの触媒能

Morawetz らは α -ブromアセトアミドにポリメタクリル酸、ポリビニルピリジンベタインを作用させて、Br を分離させた¹⁴⁾。その際、ポリマーのもつ $-\text{COOH}$ のイオン化が進むと、触媒活性は低下した。基質の $-\text{CONH}_2$ がポリマーの $-\text{COOH}$ と結合しながら Br の分離が進むとき、イオン化した $-\text{COO}^-$ の結合力は $-\text{COOH}$ の結合力より弱くなると考えられる。Bender らは α -キモトリプシンを触媒として、エステルおよびアミド基質の加水分解を行なった¹⁵⁾。その際、 α -キモトリプシンのアシル化中間体を経て、脱アシル化（分解）に進むという。その中間体は α -キモトリプシンに含まれる L-ヒスチジン末端のイミダゾールと基質が complex を形成したあとでアシル化したものと考えられている。

(ES: 触媒(E)と基質(S)の complex, ES': アシル化中間体)

この式の各段階を分けて追跡することは困難であるが、最後の脱アシル化の段階をモデル化合物を用いて検討することはできる¹⁵⁾。合成ポリマーを用いて、アシル化フェニルエステルの加水分解を促進させた例は多いが^{1), 5), 6)}、アミド化合物については報告が見あたらない。そこで筆者はアシルイミダゾールの脱アシル化を PVIm を触媒にして実験した。実験条件としては、PVIm の触媒能力が最高に発揮される 28.5 vol% エタノール-水溶液中、緩衝液を共存させて、紫外吸光度 (*D*) 変化を測定した¹⁶⁾。一次反応速度定数 *k* は次式で計算される。

$$kt = \ln \left[\frac{D_0 - D_\infty}{D - D_\infty} \right]$$

PVIm を加えない条件で求めた *k* の値を *k*_{blank}, PVIm を加えた場合を *k*_{measd} として二次定数 *k*_{cat} (*l* · M⁻¹ · min⁻¹) を次のように計算した¹⁶⁾。

$$k_{\text{obs}} [\text{min}^{-1}] = k_{\text{measd}} - k_{\text{blank}}$$

$$k_{\text{cat}} = k_{\text{obs}} / [\text{PVIm}]$$

その結果を第 1 表に示す。アセチル化およびプロピル化したイミダゾールは 26°C で非常に速く分解され、PVIm が共存すると、分解が促進された。低分子イミダゾールの触媒機構は Fife によって与えられた¹⁷⁾。それによるとイミダゾール分子が水のプロトンを放出させ、基質

の脱アシル化を進めるという。これらアシル化したイミダゾール、ピラゾール、トリアゾール類はヘテロサイクリックアミドの一種で、アゾリドと呼ばれる。アゾリドは脱アシル化反応によって、別なエステル、アミド、アルデヒド、ケトンなど重要な化合物をつくる試薬として利用されている¹⁸⁾。またオキサジアゾロン環をもつ化合物も容易にアシル化され、アミンの存在で別なアミド化合物を与える¹⁹⁾。このようなヘテロサイクリックイミンをアシル化すると、脱アシル化しやすいアミド化合物が得られるので、いろいろなポリマー触媒を用いて、脱アシル化反応における触媒効果を比較できるであろう。

Jencks らはヘテロサイクリック環の窒素電子対は、環の内部に固定されたまま動けない状態にあるので、カルボニル炭素と窒素の間で切断されやすいと述べている²⁰⁾。その状態は酸性側のイオン化した状態でも同様である。

第1表には PVIm の代わりに低分子のイミダゾールを加えた場合の $k_{cat}(l \cdot M^{-1} \cdot \min^{-1})$ を併記した。pH 8 以外のところでは全体的にポリマーの触媒効果の方が大きいといえるようである。pH 8 における低分子イミダゾールの異常性はまだはっきりしない。

アニリン誘導体をアシル化したアニリド類は、中性付近では加水分解されにくい、PVIm を触媒に加えても触媒効果 (k_{cat}) を認められなかった。同じアシル基とフェニル核をもつエステルに比べて、アニリドはエステルより著しく安定であることが確かめられている^{21), 22)}。Jencks ら²⁰⁾は、アニリドのカルボニルがイオン化されると、窒素の電子対はベンゼン核の共鳴効果によって、カルボニル炭素と窒素の間に共役二重結合をつくるため、脱アシル化が困難になると説明している。

5. ま と め

以上をまとめると二つの方向が考えられる。第1はポリマーの官能基がアミド基質と complex を形成し、ポリマーのアシル化を経て脱アシル化に進む酵素的触媒効

第1表 PVIm を触媒としたアゾリドの加水分解

pH	$k_{cat}(l \cdot M^{-1} \cdot \min^{-1})$ PVIm	$k_{cat}(l \cdot M^{-1} \cdot \min^{-1})$ Im ¹⁾	k_{blank} ($\min^{-1}$)
a) アセチルイミダゾール (245 mμ)			
9	84.9	0	0.4765
8	17.9	34.5	0.0902
7	12.4	4.1	0.0170
6 ²⁾	5.1	0.3	0.0164
b) プロピオニルイミダゾール (245 mμ)			
9	20.6	9.1	0.4344
8	25.9	20.3	0.0699
7	13.4	5.0	0.0164
6 ²⁾	10.1	0	0.0214
c) アセチルベンズイミダゾール (250 mμ)			
8.4	4.15	0 ³⁾	0.03435
8.0	5.26	0	0.01987
7.1	1.34	0	0.00248
d) プロピオニルベンズイミダゾール (250 mμ)			
8.4	4.13	0 ³⁾	0.02633
8.0	1.92	5.6	0.01336

基質濃度: $1.5 \times 10^{-4} M/l$

PVIm: $1 \times 10^{-3} M/l$

Im: $1.43 \times 10^{-4} M/l$

イオン強度: $\mu = 0.02$

緩衝液: Tris (28.5 vol% エタノール-水)

1) イミダゾール

2) 酢酸ナトリウム緩衝液 (28.5 vol% エタノール-水)

3) ベンズイミダゾール

果を期待する場合である。しかしこの場合はポリマーの官能基の種類、コンホメーション、さらに基質との組合せが重要な要素となりきわめて複雑である。第2はポリマーによってアミド基質が脱アシル化される場合の触媒効果である。こちらは第1の場合の最終段階におけるモデル反応である。そしてこれは酵素による触媒反応を離れて高分子反応に発展する性質のものである。そのためには有機性官能基をどのようにしてポリマーに持たせるかが問題になるが、その分野の研究はすでに緒についたというべきであろう^{11), 12)}。次に脱アシル化しやすいアミド基質の選択が重要になってくる。これについては本文で書いたようにヘテロサイクリックアミドのほか、ベンジルアミン系統のアミド、トルエンスルホアミド系の基質が有望である。最後にアミド基質の分解速度はエステルの場合のように生成有機酸の滴定では確認しにくいので、紫外部に特定吸収波長を示す置換基をもった基質を選ぶことが有利な方法である。

この分野の研究は今後急速に進展すると思われ、この貧弱な内容の拙文が何かの参考になれば幸いである。文中の筆者の実験はシガン大学 C.G. Overberger 研究室で行なったものである。

文 献

- 坂口謹一郎, 植村定治郎:「酵素」, 修教社書院(1940); 大垣和一郎:「酵素反応のしくみ」, 東京化学同人(1970); 化学増刊 51「高分子化学と生化学の境域」, 化学同人(1971)
- C.G. Overberger, N. Vorchheimer: *J. Am. Chem. Soc.*, **85**, 951 (1963)
- R.L. Letsinger, I. Klaus: *J. Am. Chem. Soc.*, **87**, 3380 (1965)
- C.G. Overbergerら: *J. Am. Chem. Soc.*, **87**, 296 (1965)
- T. Kunitake, F. Shimada, C. Aso: *J. Am. Chem. Soc.*, **91**, 2716 (1969)
- C.G. Overberger, J.C. Salamone: *Accounts Chem. Res.*, **2**, 217 (1969); 国武豊喜: 高分子, **22**, 347 (1972)
- H. Morawetz, J. Shafer: *J. Am. Chem. Soc.*, **84**, 3783 (1962)
- M.L. Bender, Y.L. Chow, F. Chloupek: *J. Am. Chem. Soc.*, **80**, 5380 (1958)
- J.A. Leisten: *J. Chem. Soc.*, 765 (1959)
- T.C. Bruice, F.H. Marquardt: *Org. Biol. Chem.*, **84**, 365 (1962)
- T.C. Bruice, J.M. Sturtevant: *J. Am. Chem. Soc.*, **81**, 2860 (1959)
- E.W. Westhead, Jr., H. Morawetz: *J. Am. Chem. Soc.*, **80**, 237 (1958)
- S.H. Pinner: *J. Polymer Sci.*, **10**, 379 (1951)
- H. Ladenheim, H. Morawetz: *J. Am. Chem. Soc.*, **81**, 4860 (1959)
- M.L. Benderら: *J. Am. Chem. Soc.*, **85**, 358 (1963), **86**, 3704, 3714 (1964)
- C.G. Overberger, M. Morimoto: *J. Am. Chem. Soc.*, **93**, 3222 (1971)
- T.H. Fife: *J. Am. Chem. Soc.*, **87**, 4597 (1965)
- H.A. Staab: *Angew. Chem. Internat. Edit.*, **1**, 351 (1962)
- 遠藤 剛, 高橋 滋, 大河原信: 第 21 回高分子討論会, 講演要旨集 No. 3, p. 1077 (1972)
- D.G. Oakenfull, W.P. Jencks: *J. Am. Chem. Soc.*, **93**, 178 (1971)
- S.S. Biechler, R.W. Taft: *J. Am. Chem. Soc.*, **79**, 4927 (1957)
- M.L. Bender, R.D. Ginger, K.C. Kemp: *J. Am. Chem. Soc.*, **76**, 3350 (1954)

求人・求職欄利用規定

求人求職は 153 ページにあります。

1. 掲載の申込み

求人・求職欄掲載申込書(ハガキで下記あて請求のこと)に所定事項記入のうえ, 掲載手数料, 掲載原稿を添えて, 下記あて書留便で郵送すること(申込の受理通知は出状しない)。

郵便番号 104 東京都中央区銀座 5-12-8 本州ビル

高分子学会 求人・求職係

2. 掲載

掲載申込締切は毎月 20 日とし, 翌々月の 1 日に発行される会誌「高分子」の求人・求職欄に掲載される。

求人には P, 求職には J で始まる一連整理番号を 1 件ごとに付して掲載する。ただし, 求職者の掲載回数は 3 回とする。なお引続き掲載希望者は改めて申し込まれたい。

3. 掲載手数料

3-1. 求人欄の利用掲載手数料は第 1 表のとおりとする。

a) 8 行(や, も 1 字として数える)を越える場合は, 広告ページに掲載し, 求人欄には 100 字まで(会員無料・会員外 6,800 円)の概要を紹介し, 本記事の掲載ページを明示する。

b) 求人欄利用者で匿名を希望する場合は, 掲載 1 回につき 3,800 円, 照会 1 件につき 1,000 円の手数料を別に追加される。

第 1 表 求人欄掲載手数料(円/回)

行 数*	正会員	維持会員		賛助会員		会員外	匿 名 手 数 料
		2回/年 まで	3回/年 以上	2回/年 まで	3回/年 以上		
2 行まで	1,500	0	1,500	1,500	2,300	3,800	(2,500 円 照会 1 件 につき 1,000 円)
4 行まで	3,000	2,500	3,000	3,000	4,000	6,800	
8 行まで	6,000	4,500	6,000	6,000	8,400	15,300	
8 行	1/2 ページ/1 回	19,000		19,000		22,000	—
以上	1 ページ/1 回	38,000		38,000		43,000	

c) 営利を目的としない団体・機関の利用掲載手数料は, 4 行まで無料とする。5 行以上は第 1 表による。

3-2. 求職欄の利用掲載料は, 第 2 表のとおりする。

ただし 4 行以上は取り扱わない。

第 2 表 求職欄掲載手数料(円/回)

行 数*	会 員	会 員 外
3 行まで	0	3,800
4 行まで	800	5,300

4. 原稿の書き方

4-1. 25 字の横書き B5 判原稿用紙に書き, 余白に必ず連絡先, 氏名を記入のこと。

4-2. 求人原稿は, 求人側の必要事項(会社概要や希望職種など)を明確に記すこと。特に制限はない。

4-3. 求職原稿は, 求職の希望, 専攻, 経験年数, 学位, 年齢, など, 実例に沿って必要と思われることを明確に記すこと。

5. 応募・照会

5-1. 求人に対する応募は, 会誌「高分子」に掲載された求人 P ナンバーを記して直接求人側に連絡すること。ただし求人側が匿名の場合は, 本会の求人・求職係に照会のこと。

5-2. 求職に対する照会は, J ナンバーを記し, 本会求人・求職係あて書面で照会すること。他の方法による照会は受けけない。

6. その他

6-1. 求人(匿名の場合) 求職の機密は厳重に保持する。

6-2. 本会は求人・求職については一切保証の責任を負わない。

* 1 行の字数は, 23 字とし, 点やカンマ, 空白の箇所も含めて数える。ただし, 最後の行が 23 字に満たなくても 1 行分とみなします。

(7303)