(昭和50年2月26日受理)

 α -アミノ酸 *N*-カルボン酸無水物の新合成法[†]小岩 洋一*・辰川 敬三*・三 池 彰*
寺西 正行*・藤本 康夫**New Synthetic Method for *N*-Carboxy- α -amino Acid Anhydride (NCA)Yoichi KOIWA*, Keizo TATSUKAWA*, Akira MIKE*,
Masayuki TERANISHI* and Yasuo FUJIMOTO**

In a previous paper, we reported a new method for the synthesis of *N*-carboxy- α -amino acid anhydride (NCA) by the use of trichloromethyl chloroformate (TCF).

We have examined some detailed reaction conditions for the new method and it was found that (i) more than 1.375 molar amounts of TCF should be added to γ -methyl ester of *L*-glutamic acid: (ii) water content in the reaction mixture has little influence on the reaction: (iii) the reaction time can not be shortened by passing nitrogen gas through the reaction mixture to drive off hydrogen chloride produced: (iv) irradiation of UV light to the mixture after the completion of the reaction to decompose excess TCF is not effective.

概 要

前報¹⁾において、われわれは、trichloromethyl chloroformate (TCF) を用いる新しい NCA の合成法について報告し、いくつかの実験条件について検討した。*L*-グルタミン酸 γ -メチルエステル (MLG) を原料とし、TCF 法による NCA 化反応について、さらに検討し、次の結論を得た。i) TCF は、MLG に対し、1.375 当量以上必要とし、それ以下では、事実上反応は完結しない。ii) 反応溶媒中に含まれる水分の量は、余り反応に

影響を与えない。iii) 反応系に窒素ガスを通気し、副生する塩化水素ガスを系外に除く操作を加えることは、有効ではない。iv) 反応系の温度がほぼ同一でも、加熱油浴温度の違いは、反応時間にかなり影響する。v) 反応終了後、反応系に残存する未反応 TCF を紫外線照射によってホスゲンに分解し、系外に除去する試みは有効でない。

前報での実験結果と併せ、TCF 法による NCA 化反応における最適条件が得られた。

I. 結 言

われわれは、前報¹⁾で α -アミノ酸-*N*-カルボン酸無水物 (NCA) の一般的合成法である Fuchs-Farthing 法²⁻⁴⁾において、ホスゲンの代りに TCF を用いる新しい NCA の合成法 (TCF 法) を報告した。その中で特に、反応終了後、反応系に残存する未反応 TCF の除去法、NCA 化反応溶媒の選択および反応溶媒の使用量を中心に検討し、高純度の NCA を高収率で合成し得ることを示した。

われわれはさらに、この TCF による NCA の合成反

† この報文を「ポリアミノ酸の合成 (第三報)」とする
第二報、有化 33 628 (1975)

* 協和醗酵工業(株)、東京研究所 ()

* Tokyo Research Laboratory, Kyowa Hakkō Kogyo Co., Ltd. ()

** 日本ケミファ(株)、研究所 ()

** Research Laboratory, Nippon Chemiphar Co., Ltd. ()

応について、主に、TCFの使用量の効果、NCA化反応溶媒中の水分の影響、反応中不活性ガスを通気し、反応系から副生塩化水素を除去することの有効性、加熱油溶温度の効果、TCFの添加方法と反応時間およびTCFの反応率の関係、反応系に残った未反応TCFを除去する新しい試み等について検討を加え、前報の結果と併せて、TCF法によるNCA合成反応の反応条件の概要を把握しようと試みた。

α -アミノ酸としては、前報にひきつづき、グルタミン酸 γ -メチルエステル (MLG) を選んだ。

II. 実験

1. 原料 前報と同一のもの、あるいは、同一の方法で処理、精製したものを用いた。溶媒は使用直前に、カールフィッシャー水分測定装置（筒井理化学器材製）により、水分含量を測定して、50 ppm 以下であることを確認した。

2. NCA 化反応、残存 TCF の除去および NCA の重合テスト 前報と同一の装置、容量および方法で行なった。NCA 化反応終了後の反応系に残っている未反応 TCF の除去には、粉末状活性炭 0.5 g を、1,2-ジクロロエタン (EDC) 10 ml でスラリーとして反応系温度 80°C で加え、その温度で 30 分間かきまぜた。この間、窒素ガスを約 300 ml/min の速度で通気し、残存 TCF が分解して生じたホスゲンガスを系外に除去した。その後、反応液をろ紙（東洋汙紙製、No. 6）でろ過し、濃縮後、晶析、単離した。

NCA の含有塩素量、着色度の測定および重合テストは、前報の方法を準用した。

3. 窒素ガス通気下の NCA 化反応 II. 2. において、温度計の代りに、ガス導入管を装備し、シリカゲルカラムを通した乾燥窒素ガスを 300 ml/min の速度で通気した。

4. 紫外線による残存 TCF の分解 II. 2. の方法で NCA 化反応を行なった後、反応液をろ紙で自然ろ過し、光化学反応容器に入れた後、ウシオ電機製 UM-100, 100 W 低圧用紫外線ランプを用いて照射した。照射中は窒素ガスを通気し、TCF が分解して生じたホスゲンガスを除いた。

5. NCA の含有塩素量、着色度の測定 および重合テスト 前報と同一の方法によった。

III. 結果および考察

1. TCF の使用量の効果 前報において、MLG 1 モルに対し、TCF を 0.75 モル (MLG に対し、1.5 当

量に相当する) または、1 モル (MLG に対し 2 当量に相当する) 使用する場合についての反応を検討し、TCF が MLG に対し、1.5 当量の場合でも、ほぼ定量的に高純度の NCA が得られることを明らかにした。ここでは、さらに TCF の使用量をどの位まで減らせるかについて、および、TCF の使用量と NCA 化反応、NCA の純度の関係を調べた。いうまでもなく、TCF の使用量は少ないほど、TCF と生成した NCA による副反応が少ないこと、反応終了後に残存する未反応 TCF を除去する操作が容易であることなどの有利さがあると予想される。

そこで、NCA 化反応溶媒として、EDC-ジオキサン (DOX) (15:1 容積比) の系を選び、TCF 使用量の効果を検討した。この混合溶媒を MLG 1 g に対し、16 ml の割合 (solvent (ml)/MLG(g)=16) で用い、82~83°C で反応を行なった。

結果を表 1 および図 1 に示す。

図 1 の結果から、TCF の使用量が多いほど、反応時

表 1 TCF 使用量と反応時間*, NCA の着色度** および含有塩素量との関係

TCF/MLG 当量比	反応時間 (分)	NCA の着色度 (OD)	NCA の含有 塩素量 (%)
2.00	60	0.023	0.039
1.75	70	0.058	0.012
1.50	75	0.021	0.012
1.38	100	0.037	0.021
1.25	>165	1.103	0.178

* EDC-DOX (15:1 容積比) 240 ml を反応溶媒として用いた。

** NCA 20 W/V% アセトン溶液の 450 nm での吸光度 (OD) を測定し NCA の着色度の指標とした。

図 1 Equivalent ratio of TCF/MLG effect on reaction time and chlorine content of NCA.

間が短縮されることがわかる。NCA 中に混入した副生物に由来する含有塩素量については、TCF の使用量が MLG に対し 1.375 当量以上では、ほとんど差がないが、1.375 当量未満では著るしく増加する傾向をもつことが示された。

TCF 使用量と NCA の着色度には、有意な関係は認められない。TCF の使用量が多いほど、NCA と TCF の副反応が多くなるが、反応時間が短くなっているもので、相殺されているものと考えられる。TCF が 1.25 当量の場合 (表 1 参照) に OD が異常に高くなっているのは、NCA 中にアセトン不溶の副生成物が混在しているため、着色度を反映していない。

以上の結果より、TCF の使用量は、MLG に対し 1.375 倍当量以上が必要であるとの結論に達した。ホスゲンガスを反応系に通気して NCA 化反応を行なう場合 (ホスゲン法) には約 1.67 倍当量必要とするから⁹⁾、ホスゲン法に比較して大きな長所の一つであると考えられる。これは、ホスゲン法の場合に、ホスゲンガスの反応媒体への拡散溶解が十分でなく、また、系から逃散するホスゲンガス (沸点 8.2°C) を通常の方法で凝縮し反応系に戻すことが困難であるのに対し、TCF の場合は、沸点が 127~128°C⁶⁾ であり、反応系外に逃散する量が著るしく少ないことに由来している。しかし、1 モルの TCF が 1 モルの MLG と反応すると、1 モルのホスゲンが発生するから、この発生したホスゲンの系外への逃散は TCF の場合にも依然として存在していて、仕込み TCF の反応率を低下させる一因となっている。

MLG に対して、1.375 当量以上の TCF を必要とし、それ以下では、事実上、反応が停止してしまう理由も、ホスゲンの逃散を考慮すると納得できる。逃散するホスゲン量を少なくし、TCF の反応率を向上させる試みについては II. 5. で述べる。

2. 反応系に窒素ガスを通気することの有効性

NCA 化反応において発生する塩化水素は、ホスゲン法の場合には、通気されるホスゲンによって、反応系から追い出されるが、TCF 法の場合には、塩化水素が系内に蓄積されると考えられる。事実、前者の場合の方が、反応系から出てくる排気ガス量 (ホスゲンガスと塩化水素ガス) は、はるかに多い。

そこで、反応系に窒素ガスを通気し、副生塩化水素を積極的に系外に除去すると反応が促進され、副反応も、少なくなることが期待される。各種の NCA 化溶媒中、窒素ガスを通気した場合としない場合について、反応時間を比較した。

結果を表 2 に示す。

表 2 反応系に窒素ガスを通気することの反応時間への影響

反 応 溶 媒	TCF/ MLG 当量比	反応時間* (分)	
		窒素ガ ス通気	窒素ガ スなし
EDC	2	200	150
(THF) ベンゼン-トルエン-テトラヒド ロフラン (10:5:1)	2	120	100
EDC-THF (9:1)	2	55	50
EDC-DOX (15:1)	2	70	60
EDC	1.5	>325	150

* 反応系の出口に接続した流量計の浮子がゼロに停止したときを反応終了とみなした。

表 2 の結果より、窒素ガスを通気したことによる有効性は、予想に反し、ほとんど認められない。むしろ、窒素ガスを通気しない場合の方が、反応時間はやや短い。特に、EDC 中、TCF を 1.5 当量使用する場合について、窒素ガスを通気しない場合に、150 分で反応が終了しているのに対し、通気した場合には、5 時間以上でも反応が完結せず、顕著な対照を示している。また NCA の着色度は窒素ガスを通気した場合の方が反応時間が長くなるためやや大であった。塩化水素を系外に除くことによる副反応の抑制効果はほとんど観察されなかった。

窒素ガスを通気したときの反応時間の延長は TCF が MLG と反応して生じたホスゲンガスが、塩化水素ガスとともに反応系外に強制的に除かれてしまうため、すなわち、前述の逃散ホスゲン量が増加するためであると考えられる。塩化水素を除去したことによる効果は、ホスゲンガスが逃散してしまう影響で相殺されてしまったと考えれば、実験事実は説明できる。

結局、反応系に窒素ガス等の不活性ガスを通気し、副生する塩化水素を除く操作を加えることは、NCA 合成反応に対して必ずしも有利ではないことがわかった。

3. NCA 化反応溶媒中の水分の影響 TCF は水分によって常温では徐々に、また、100°C ではかなり急速に加水分解される⁷⁾。

したがって、TCF を用いる NCA 化反応において、系中の水分の影響を知っておくことは重要である。

EDC-酢酸エチル (EtOAc) (9:1 容積比) の系および EDC-DOX (15:1 容積比) の系について、各反応溶媒は、MLG 1g に対して 16ml の割合で用いることとして、溶媒中の水分の影響を比較した。TCF は、いずれの場合にも MLG に対して、1.5 当量使用し、その他の条件は同一とした。

結果を表 3 に示す。

表 3 反応溶媒中の水分の影響

反 応 溶 媒*	水分含 量 (ppm)	反応時 間 (分)	NCA 度 の着色 (OD)	NCA の 塩素含有 量 (%)	重合溶 液の評 価**
EDC-EtOAc	168	100	0.030	0.023	4
"	512	95	0.014	0.027	4
"	925	90	0.025	0.022	4
EDC-DOX	187	70	0.027	0.023	4
"	970	77	0.031	0.041	3~4

* EDC-EtOAc (9:1 容積比), EDC-DOX (15:1 容積比) 各 240 mL, TCF は MLG に対し 1.5 当量使用した。

** 完全透明な粘稠液をランク 5 とし, 完全に白濁している場合をランク 1 とし, 5 段階法で評価した。

いずれの場合にも, 反応は水分含量が 50 ppm 以下の場合と全く同じように完結し, NCA 中に含まれる塩素量, NCA の着色度ともに異常値ではなかった。MLG に対して, 意外に, 溶媒中の水分の影響は小さいことがわかった。しかし, 表 3 にも示されるように, NCA 中に含まれる塩素量, 重合テストの結果とも, 水分量の少ない方が, 良好であり, 水分量が多いほど, わずかではあるが副反応が増加する傾向を示している。

4. 加熱油浴温度の効果 反応系内の温度が同じでも, 加熱油浴の温度の違いが反応時間に大きな影響を持つことが経験的に知られている。そこで, 加熱油浴の温度を 100°C, 110°C および 120°C に制御して, 反応時間, NCA の着色度および重合溶液の状態を比較した。反応溶媒は, EDC-EtOAc (9:1 容積比) を使用し, TCF MLG に対して 1.5 当量用いた。

結果を表 4 に示す。

表 4 加熱油浴温度の影響*

加熱油浴温度 (°C)	反応系温度 (°C)	反応時間 (分)	NCA の着色 度(OD)	重合溶液 の評価
100	82	105	0.021	4
110	82~82.5	100	0.023	4
120	82~83	85	0.024	4

* EDC-EtOAc (9:1 容積比), 240 mL, TCF は MLG に対し 1.5 当量使用した。

反応系はいずれの場合も還流状態に保たれているとはいえ, TCF が入っているため, 反応温度は多少変化する。この温度差が反応時間に効いているのか, あるいは, 反応器壁面境界での温度差による反応速度の違いが影響しているのかは明らかではないが, とに角, 加熱油浴温度の効果は考慮しておかなければならないことがわかる。得られた NCA の着色度は, 油浴温度が高い方が大であるが, その差は, 非常にわずかであった。

5. TCF の添加方法の影響 今までに述べてきた NCA 化反応はいずれも, 反応系内の温度が所定の温度

になってから TCF を加え, この時間 0 を反応時間として, 反応時間を比較してきた。これは, 反応時間を正確に知るために便宜的にそうにしたのであって, 実際には, 室温で TCF を処定量添加した後に, 反応系の温度を昇温させる方法が実験操作上, 好ましい。この場合に, ある温度に到達すると, TCF と MLG の反応が急速に進行するような現象があるとすると, その温度で急激な発熱およびガス発生が起き, コンデンサーの容量を越える可能性がある。

そこで, 4 と同一の反応系について, TCF を室温で MLG に対し 1.5 当量加え, 図 2 に示すように加熱油浴温度を室温から徐々に直線的に上昇させ, 反応系内の温度および発生ガス量を測定した。

● : Temperature of heating oil bath
○ : Temperature of reaction mixture
+ : Volume of exhaust gas from the outlet
EDC-EtOAc (9:1 in volume ratio), 240 mL, was used as reaction solvent. Equivalent ratio of TCF/MLG: 1.5

図 2 Changes in the temperature of reaction mixture and the volume of exhaust gas from the vessel when bath temperature was increased from 25°C to 120°C.

図 2 に示されるように, 発生するガス量は, 反応系内の温度が反応溶媒の還流温度 (82~83°C) に到達する前後から急速に増加するが, この温度以下で, 特異的に反応が始まる温度は認められなかった。したがって, 通常の方法により, 直線的に油浴温度を上昇させて反応を行なうこともでき, 突沸などの不都合は起きない。

ところで, TCF は反応初期に一度に加えずに, 反応系に徐々に滴下しても良いであろう。ホスゲン法の場合には, NCA 化溶媒に前もって所定量のホスゲンを低温で吸収させておいてから, α -アミノ酸を添加し, 加温して反応を行なう方法と α -アミノ酸を加えた反応系に全

時間にわたってホスゲンガスを通気し続けて反応を行なう方法とがある。後者の方が実験技術上、容易であるので、一般に広く行なわれている。

われわれは、TCF 法の場合についても、反応初期に所定量の TCF を一度に加えるのではなく、全反応時間にわたって TCF を滴下し、反応系の TCF 濃度をコントロールすることによって副反応を抑制し、さらに高純度の NCA を得ることができるのではないかと予想した。同時に、反応時間を短縮し、TCF の反応に要する量を減らすこと、すなわち、TCF の反応率を向上させることが出来るのではないかと期待した。

EDC-DOX (15:1 容積比) の混合溶媒系での NCA 化反応では、TCF は MLG に対し、1.375 当量以上必要とし、それ以下では長時間反応させても事実上、反応が完結しないことが表 1 に示されている。すなわち、相当量の TCF がホスゲンガスとして (1モルの TCF が1モルの MLG と反応したときに1モルのホスゲンが発生する) 系外に逃散していることが予想され、逃散するホスゲン量を減らす意味からも、TCF を全反応時間にわたって徐々に滴下する必要がある。

MLG に対して、TCF を 1.375 当量始めに加え反応させる場合について、反応の経過を模式的に書くと図 3 のようになる。

図 3 Schematic representation of NCA formation reaction by use of TCF.

図中、斜線部分の中 (各時間での TCF の過剰量) は時間とともに減少していく。その原因は、MLG と反応したときに発生するホスゲンガスが系外に逃げるためおよび副反応に消費されるためなどが考えられるが、これ

らを総称して逃散 TCF とすると時間 t までに逃散する量 $F(t)$ は [1] 式で示される。

$$F(t) = S_0 f(x_1, x_2, x_3, \dots) dt \quad \text{[1]}$$

S_0 は最初に添加する TCF の当量 (図 3 の場合は $S_0 = 1.375$ 当量) であり、 $f(x_1, x_2, x_3, \dots)$ は各時間での逃散率で、未知のいくつかのファクター ($x_1, x_2, x_3, \dots$) の関数である。いずれにしても、逃散量 $F(t)$ を小さくするためには、 S_0 は小さい方が有利である。

そこで、 S_0 を小さくし、 $S_0 f(x_1, x_2, x_3, \dots) \cdot dt$ に合う分の TCF を各時間で滴下すれば TCF の逃散量は少くなる。しかしながら、 S_0 を小さくすると反応速度が遅くなり、反応時間が長くなるから適当な S_0 を選ぶ必要がある。 $f(x_1, x_2, x_3, \dots)$ の関数がわかっていないので、これを定数と仮定して、 S_0 を適当量加えた後、一定速度で TCF を滴下して比較した。

ホスゲン法の場合⁹⁾と同様、TCF 法による NCA 化反応の場合⁹⁾も、反応温度 80°C 以上で、MLG と TCF の反応は極めて迅速に進行し、反応初期に原料 MLG の 1/3 量は NCA となり、残りの 2/3 量の MLG は、このときに発生する 2/3 量の塩化水素と反応して、MLG 塩酸塩 (MLG·HCl) となっていて、この MLG·HCl と TCF の反応は、遊離アミノ基を有する MLG と TCF の反応に比較して著しく緩慢であることが明らかにされている。

したがって、MLG 2m モルを NCA 化するとした場合に、(1/3)・m モルの TCF は瞬間的に消費される (TCF は MLG に対して 2 当量として反応する) はずであるから、時間 0 で、まず、TCF は (1/3)・m モル加えるべきであり、これ以下であると TCF の量が反応に対して律速になってしまう。このとき、(2/3)・m モルの MLG は NCA となり、(4/3)・m モルの MLG が MLG·HCl となっている。以後の反応は、MLG·HCl と TCF の反応になる。

この (4/3)・m モルの MLG·HCl に対して、前述の S_0 を (2/3)・m × 1.1 モル (case 1)、(2/3)・m × 1.2 モル (case 2)、(2/3)・m × 1.3 モル (case 3) および (2/3)・m × 1.4 モル (case 4) とし、その後、滴下ロートより定速で TCF を 90 分間滴下し、各場合について、合計の TCF 添加量 (最初に加えた (1/3)・m および S_0 も含めて) が 1.375 m モルとなるようにして比較した。

case 1 から case 4 および反応開始時に一時に TCF も添加する場合 (case 5) について、その TCF 添加方法を図 4 に模式的に示し、図中に反応が完結した時間を併せて示す。溶媒系その他は 1 の場合と同一とした。

S_0 の値を (2/3)・m × 1.1 とした場合 (case 1) には

図 4 Schematic representation of the method of TCF addition ($\leftarrow$) and the reaction time ($\rightleftharpoons$) needed. (MLG 2 mmol)

反応が完結せず、反応系は TCF 不足の状態になっていることがわかった。反応初期に 1.375m モル一度に TCF を加えたとき (case 5) に 90 分で反応が終了することを考えると、case 1 から case 4 いずれの場合も、反応時間、TCF の反応率の面から有利ではない。したがって始めの予想に反し、TCF は反応初期に一度に添加するのがよく、全反応時間にわたって滴下する方法によると反応時間が長くなり、TCF の反応率の向上は特に認められなかった。

6. 紫外線による残存 TCF の分解除去 前報において、反応終了後、反応系中に残っている未反応 TCF を除去することが必須であることを明らかにした。TCF を除去する方法としては、TCF を分解して、ホスゲンガスとして系外に除去するのが最も簡単であり、その最も効率の良い方法として、カーボンを追加し接触分解する方法を示した。しかしながら、カーボン表面に吸着された水は、NCA を重合させる恐れがある上、NCA を吸着するので収率をやや低下させる。したがって、できることならカーボンをを用いない方法が望まれる。

そこで反応終了後、反応系に紫外線を照射して、残存している TCF を分解する方法を検討した。

III 4. と同一の反応系について、加熱油浴温度 100°C

で、NCA 化反応を行ない、110 分間反応後口過し、口液を光化学反応容器に移した後、80°C で紫外線を照射した。その間窒素ガスを通気し、TCF が分解して発生したホスゲンを系外に除いた。

照射時間を変えて単離した NCA の着色度、含有塩素量および重合テストの結果を表 5 に示す。

表 5 紫外線 (UV) 照射による残存 TCF の分解除去*

UV照射時間 (分)	NCA の着色度 (OD)	NCA の含有塩素量 (%)	重合溶液の評価
0	0.022	0.019	3
30	0.073	0.016	4
54	0.082	0.011	4
60	0.103	0.002	5

* EDC-EtOAc (9 : 1 容積比), 240 ml, TCF は MLG に対し 1.5 当量使用した。

照射時間とともに、NCA 中に含有される塩素量は減少しているが、NCA の着色度が急速に増大し、副反応が起きていることを示している。したがって、この方法は実際には使用しがたいものと考えられる。

付記 TCF を提供して下さいました 保土ヶ谷化学 (株) に感謝します。

文 献

- 1) 小岩洋一, 辰川敬三, 三池 彰, 寺西正行, 藤本康夫, 有合化 **33** 628 (1975)
- 2) F. Fuchs, *Ber.* **55** 2943 (1922)
- 3) A.C. Farthing, *J. Chem. Soc.* **1950** 3213
- 4) A.C. Farthing, R.J.W. Reynolds, *Nature* **165** 647 (1950)
- 5) 藤本康夫編, “ポリアミノ酸一応用と展望” p. 74 (1974) 講談社
- 6) H.P. Hood, H.R. Murdock, *J. Phys. Chem.* **23** 498 (1919)
- 7) Idem, *ibid.* **23** 501 (1919)
- 8) 小岩洋一, 寺西正行, 辰川敬三, 藤本康夫, 日化誌 **1975** (4) 678
- 9) 小岩洋一, 辰川敬三, 寺西正行, 藤本康夫「ポリアミノ酸の合成 (第 4 報)」有合化投稿中