

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 29 年 6 月 13 日現在

機関番号：11301

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2015～2016

課題番号：15K14219

研究課題名（和文）還元的切断によるペプチド鎖の選択的変換を可能にする固体触媒の開発

研究課題名（英文）Development of solid catalysts for selective transformation of peptide chains by reductive cleavage

研究代表者

田村 正純（TAMURA, Masazumi）

東北大学・工学研究科・助教

研究者番号：10635551

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,000,000円

研究成果の概要（和文）：たんぱく質（ペプチド）はグリーンバイオマスから得られるバイオマス資源の一つと考えられ、その変換手法の開発が求められる。その手法として、強固なアミド結合の切断が必要となるが、量論の酸や塩基を用いた手法が主であり、よりグリーンな代替手法の開発が求められる。そこで、本研究では、アミドの直接水素化による切断を可能にする不均一系触媒の開発を目的とし、触媒検討を行った結果、窒素処理したRu/CeO<sub>2</sub>触媒が高活性、高選択性を示すことを見出し、非常に小さいRuメタルが有効な活性種であることを示した。

研究成果の概要（英文）：Protein(peptide) can be regarded as one of biomass-derived key materials, and can be obtained from green biomass. Therefore, development of transformation methods of protein is required. Dissociation of the amide bonds is one strategy for that, however, the methods that use stoichiometric amount of acids or bases are used as main ones, and alternative environmentally-benign methods are required. In this study, we investigated heterogeneous catalysts that enables direct cleavage of C-N bond in amide by hydrogenation, and found that N<sub>2</sub>-treated Ru/CeO<sub>2</sub> catalyst showed high activity and selectivity for the reaction and that the small Ru particles over Ru/CeO<sub>2</sub> are responsible active species for the high performance.

研究分野：触媒化学、有機化学

キーワード：水素化 アミド ルテニウム 酸化セリウム 触媒 ナノ粒子

### 1. 研究開始当初の背景

安価なグリーンバイオマス資源からの有用化学品への変換が近年注目を集めている。グリーンバイオマスである若草は多くのタンパク質を含有(固形成分の最大 20%)しており、タンパク質の切断によるアミノ酸やジペプチドなどの有用化学品への変換が期待されている。タンパク質の切断手法として酵素や酸・塩基による加水分解があるが、酵素では生産性や触媒コストの問題があり、酸・塩基では無機塩の生成や、タンパク質の分解や熱変性、低選択性などの問題を抱える。人工有機触媒も報告されているが、高温、低選択性、低活性などの問題を抱え、触媒の耐久性・再利用の問題もある。固体触媒による変換が望ましいが、カルボン酸生成による触媒失活や金属種溶出が懸念される。従って、有効な固体触媒による新たな変換手法の開発が望まれる。一方、本研究グループでは、金属酸化物修飾貴金属触媒(M+MO<sub>x</sub>触媒)が水素分解に非常に高い活性を示すことを見出し、これらの知見を生かすことで、アミド結合を水素化切断可能な斬新かつ効果的な固体触媒系を構築可能であると考えられた。

### 2. 研究の目的

本研究では、カルボン酸を生成させずにアミド結合を切断する手法として、アミドの水素化による切断に注目し、新たに、水素化反応によるペプチドの選択的切断に有効な固体触媒の開発を目指した。本研究の実現には、キーとなる(1)高活性なアミド結合の水素化触媒、(2)アミドの選択的水素化切断と(3)ペプチド鎖の選択的切断の3つの機能を有する触媒が必要となる。そこで、これらを実現する触媒系の構築を目指す。

### 3. 研究の方法

触媒は市販されているカーボン担持貴金属触媒、及び各種担体(CeO<sub>2</sub>, SiO<sub>2</sub>, γ-Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, MgO, ZrO<sub>2</sub>, TiO<sub>2</sub>, SiO<sub>2</sub>-Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>)を用いた Ru 担持触媒を調製し、反応に用いた。Ru 担持量は 4 wt% とした。触媒は蒸発乾固法で調製し、CeO<sub>2</sub> に担持させた Ru/CeO<sub>2</sub> は空気下で 573 K または 773 K で 3 時間焼成したものと、窒素下で 573 K で 1 時間熱処理をしたものを調製し、それぞれ Ru/CeO<sub>2</sub>-XY(X: 反応温度(K), Y: Air or N<sub>2</sub>)のように表記した。その他の触媒は 573 K で 3 時間、空気下で焼成処理した。触媒はこれらの条件で気相還元、表面酸化処理し、Ru/CeO<sub>2</sub>-573N<sub>2</sub> のみ未処理で用いた。

反応には高圧回分式反応装置を用いた。分析は FID-GC、GC-MS を用いキャラクタリゼーションとして XRD を行った。

### 4. 研究成果

まず初めに主金属及び担体の影響について、シクロヘキサンアミドの水素化をモデル反応として用い、検討した (Fig. 1)。目的生

成物であるシクロヘキサンメタノール (赤棒) に加え、C=O 結合切断生成物であるシクロヘキサンメチルアミン (青棒)、水和生成物であるシクロヘキサンカルボン酸 (緑棒)、アルカンとアミンの二量体 (オレンジ棒) が得られた。主金属を比較すると、Pd、Pt ではほとんど活性を示さず、Rh ではわずかに活性を示しアミンが主生成物を与えた。Ru では他の金属よりも高い活性を示し、シクロヘキサンメタノールを選択的に生成した。したがって、本反応には主金属として Ru が有効であることが分かった。そこで、Ru 担持触媒の担体の影響を検討した。いずれも高選択的にシクロヘキサンメタノールが得られた。特に、Ru/CeO<sub>2</sub>-573N<sub>2</sub> 及び Ru/CeO<sub>2</sub>-573Air 触媒で比較的高い活性が得られ、Ru/CeO<sub>2</sub>-573N<sub>2</sub> が最も高い活性を示した。

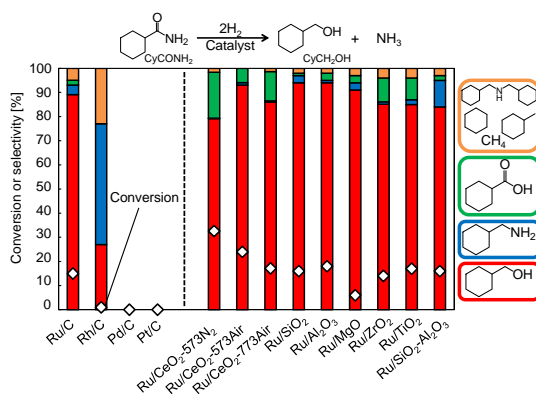


Fig. 1 シクロヘキサンアミドの水素化反応における主金属及び担体の影響

Reaction conditions: catalyst 100 mg (M/C: M metal 5 wt%, Ru/Support: Ru metal 4 wt%), CyCONH<sub>2</sub> 0.25 g (2 mmol), H<sub>2</sub> 8 MPa, water 20 g, 373 K, 4 h.

そこで、Ru/CeO<sub>2</sub> 触媒に各種金属酸化物 (MO<sub>x</sub>: M=Nb, V, Mn, Fe, Co, Re, Cs, Mo, Ta, Zn, W, Zr) を担持させた触媒 (金属酸化物 / Ru 比: 1/8) を用い、金属酸化物の影響を検討した。しかし、活性、選択性の大きな変化はほとんど見られず、金属酸化物の影響は大きくないことが明らかとなった。

次に、Ru/CeO<sub>2</sub>-573N<sub>2</sub> を用いて反応温度の影響を検討した (Fig. 2)。高温になるほどシクロヘキサンカルボン酸、アルカンの選択率が増加し、シクロヘキサンメタノール選択率が低下した。転化率と選択率の観点から反応温度は 353 K を選択した。

Ru/CeO<sub>2</sub>-573N<sub>2</sub> 触媒を用い、水素圧依存と基質濃度依存を検討した。水素圧依存性の結果を Fig. 3(a) に示す。水素圧の上昇と共に転化率が向上し、またアルコール選択率も向上した。よって、高水素圧が有効であり、水素圧に大きく依存する反応系であることが明らかとなった。基質濃度依存の結果を Fig. 3(b) に示す。濃度は溶媒量でコントロールした。基質濃度を変化させても転化率、選択率は大きく変化せず、基質濃度に依存しないこ

とが明らかとなった。

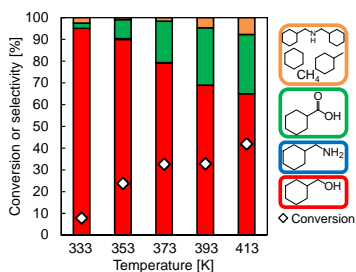


Fig. 2 Ru/CeO<sub>2</sub>-573N<sub>2</sub> 触媒を用いたシクロヘキサナミドの水素化反応における反応温度の影響

Reaction conditions: Ru/CeO<sub>2</sub>-573N<sub>2</sub> 100 mg (Ru metal 4 wt%), CyCONH<sub>2</sub> 0.25 g (2 mmol), H<sub>2</sub> 8 MPa, water 20 g, 4 h.

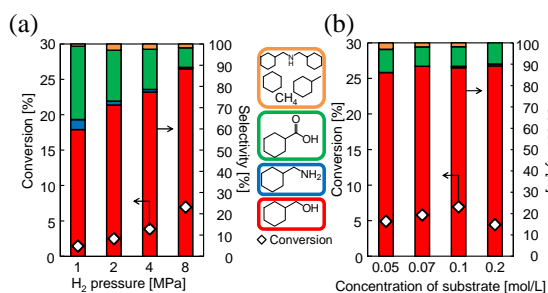


Fig. 3 Ru/CeO<sub>2</sub>-573N<sub>2</sub> 触媒を用いたシクロヘキサナミドの水素化反応における水素圧依存(a)及び基質濃度依存(b).

Reaction conditions (a): Ru/CeO<sub>2</sub>-573N<sub>2</sub> 100 mg (Ru metal 4 wt%), CyCONH<sub>2</sub> 0.25 g (2 mmol), H<sub>2</sub> 1~8 MPa, water 20 g, 353 K, 1 h. Reaction conditions (b): Ru/CeO<sub>2</sub>-573N<sub>2</sub> 100 mg (Ru metal 4 wt%), CyCONH<sub>2</sub> 0.25 g (2 mmol), H<sub>2</sub> 8 MPa, water 10~40 g, 353 K, 1 h.

次に反応の経時変化を検討した(Fig. 4)。まず、触媒量 100mg の結果(Fig. 4(a))をみると、反応初期からシクロヘキサメタノールを選択的に生成し、時間を延ばしても選択率約 85% で一定であることが分かった。カルボン酸も反応開始直後から生成し、選択率は約 13% で一定だった。反応時間が長くなると、反応の進行が遅くなり、48 時間で転化率は 50% となった。そこで触媒量を 500 mg に増加させると、選択率は 100 mg の場合とほぼ同じ傾向でほとんど変化しなく、24 時間で転化率 97%、シクロヘキサメタノール選択率が 89% となり、その収率は 86% に到達した。これは、既報の収率(最高で 32%)と比べ、極めて高い値である。しかしながら、この時のマテリアルバランスが約 80% 程度と時間とともに低下がみられ、GC 等では測定できない副生物が生成している可能性が高いと考えられる。今後、マテリアルバランス低下の原因についての検討を行う予定である。

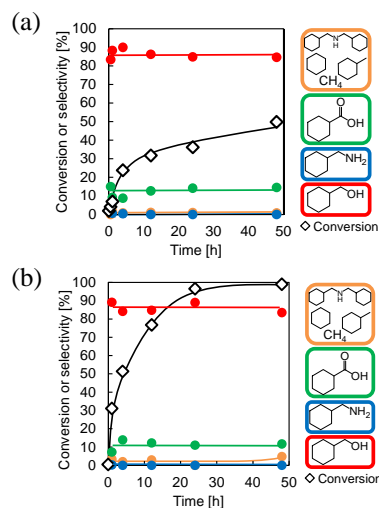


Fig. 4 Ru/CeO<sub>2</sub>-573N<sub>2</sub> 触媒を用いたシクロヘキサナミドの水素化反応の反応経時変化 ((a) 触媒量 100 mg, (b) 触媒量 500 mg).

Reaction conditions: Ru/CeO<sub>2</sub>-573N<sub>2</sub> 100 or 500 mg (Ru metal 4 wt%), CyCONH<sub>2</sub> 0.25 g (2 mmol), H<sub>2</sub> 8 MPa, water 20 g, 353 K.

Ru/CeO<sub>2</sub>-573N<sub>2</sub> 触媒構造を確認するため、CeO<sub>2</sub>、Ru/CeO<sub>2</sub>-573N<sub>2</sub>、反応後の Ru/CeO<sub>2</sub>-573N<sub>2</sub>、Ru/SiO<sub>2</sub> 触媒を用い、XRD 解析を行った。Ru/SiO<sub>2</sub> 触媒では Ru メタル由来する 44° のピークが観測され、その強度から Ru 粒子径は 5.1 nm と見積もられた。一方、Ru/CeO<sub>2</sub>-573N<sub>2</sub> では Ru メタルや酸化物由来のピークが全く確認できなかったため、Ru 種は高分散していると考えられた。これまでの本研究室の Ru/CeO<sub>2</sub>-573N<sub>2</sub> 触媒に関する XAS 解析の結果より、窒素下で処理した Ru/CeO<sub>2</sub>-573N<sub>2</sub> 触媒は Ru メタルを有し、その粒子サイズは 1.5 nm 以下であることが示されている(ChemSusChem 8 (2015) 2472.)。従って、本反応系においても、同様に小さな Ru メタルを有した触媒であると考えられる。よって、Ru/CeO<sub>2</sub>-573N<sub>2</sub> での転化率の上昇は、Ru 粒子径が小さくなることで引き起こされたと解釈できる。また、反応後の Ru/CeO<sub>2</sub>-573N<sub>2</sub> 触媒は高分散を維持していることから、反応速度の低下は Ru の凝集によるものではないと考えられる。

そこで、触媒活性の低下の要因として、副生する化合物の影響の検討を行った。Ru/CeO<sub>2</sub>-573N<sub>2</sub> 100 mg に含まれる Ru は 0.04 mmol であるため、その半分に相当する 0.02 mmol のカルボン酸(ヘキサ酸)またはアミン(*n*-オクチルアミン)を反応前に添加して反応を行った(Fig. 5)。カルボン酸添加、アミン添加共に転化率の低下が確認された。長時間反応後においてもアミンの生成はほとんど観測されないことを考えると、触媒活性低下における Ru/CeO<sub>2</sub>-573N<sub>2</sub> のアミンによる被毒の影響は低いと考えられる。よって、本反応においては、副生したカルボン酸が主な被毒物と考えられ、副生したカルボン酸が Ru メタル近傍の CeO<sub>2</sub> 上にカルボキシレートと

して吸着することで、活性点である Ru メタルと基質との相互作用を阻害し、反応速度が低下したと推察された。今後、触媒構造の最適化、構造解析、速度論的解析を行うことで、マテリアルバランスの影響を含め、より詳細な反応メカニズムの解明を行っていく予定である。

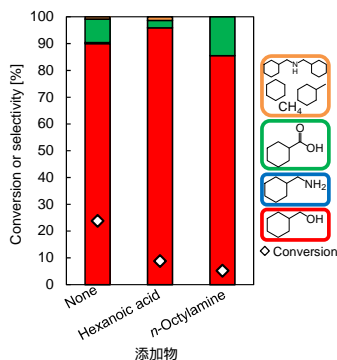


Fig. 5 Ru/CeO<sub>2</sub>-573N<sub>2</sub> 触媒を用いたシクロヘキサナムドの水素化反応における添加物の影響

Reaction conditions: Ru/CeO<sub>2</sub>-573N<sub>2</sub> 100 mg (Ru metal 4 wt%), CyCONH<sub>2</sub> 0.25 g (2 mmol), H<sub>2</sub> 8 MPa, water 20 g, additive 0.02 mmol, 353 K, 4 h.

以上、アミドの C-N 結合切断において CeO<sub>2</sub> に Ru を担持させ窒素下で熱処理した Ru/CeO<sub>2</sub>-573N<sub>2</sub> が最も有効であることが分かった。反応温度を低くすることで、シクロヘキサナムドの水素化によるシクロヘキサノール合成反応において、選択率が向上し、水素圧に比例して活性が向上することが分かった。さらに、Ru/CeO<sub>2</sub>-573N<sub>2</sub> を用い、353 K, 24 h, 水素圧 8 MPa で反応することで、シクロヘキサノール収率 86% を達成した。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 2 件)

石川出、田村正純、中川善直、冨重圭一、Ru 担持触媒による 1 級アミドの C-N 結合の選択的切断、第 118 回触媒討論会、2016 年 9 月 21 日、岩手県(岩手大学)。  
石川出、田村正純、中川善直、冨重圭一、金属酸化物触媒によるアミドの C-N 結合の選択的切断、石油学会 第 65 回研究発表会、2016 年 5 月 24 日、東京(タワーホール船堀)。

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.che.tohoku.ac.jp/~erec/>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

田村 正純 (TAMURA, Masazumi)  
東北大学・大学院工学研究科・助教  
研究者番号: 10635551

### (2) 研究分担者

なし

### (3) 連携研究者

冨重 圭一 (TOMISHIGE, Keiichi)  
東北大学・大学院工学研究科・教授  
研究者番号: 50262051

中川 善直 (NAKAGAWA, Yoshinao)

東北大学・大学院工学研究科・教授  
研究者番号: 10436545

### (4) 研究協力者

なし