

Enzymatic synthesis of sugar esters of L-lysine and L-aspartic acid

전규중, 박오진, 신문식, 양지원

한국과학기술원 화학공학과

전화 (042) 869-3964, FAX (042) 869-3910

abstract

The enzymatic synthesis of conjugates of lysine and aspartic acid with D-glucose was studied. Optimase M-440 showed the very poor regioselectivity in the transesterification of *N* α ,*N*' ϵ -di-*t*-Boc-L-Lys-OTFE and *N*-*t*-Boc-L-Asp-diOTFE with D-glucose. The acylation of glycosidic -OH and primary -OH of D-glucose occurred. However, Optimase M-440 catalyzed only the acylation of primary -OH group in the transesterification of *N* α ,*N*' ϵ -di-*t*-Boc-L-Lys-OTFE and *N*-*t*-Boc-L-Asp-diOTFE with α - and β -methylglucopyranoside in high yields without any other transesterification. Optimase M-440 also discriminated carboxyl groups of *N*-*t*-Boc-L-Asp-diOTFE.

서론

Lysine과 aspartic acid는 자연계에서 얻을 수 있는 재생가능한 아미노산으로서 각각 두 개의 아민기와 acid기가 있어 생분해성과 생체적합성을 가진 고분자 물질 등의 합성에 있어 매우 유용하기 때문에 전극, 센서, gene delivery 및 약물전달체 등에 응용하기 위한 다양한 연구가 진행되고 있다¹⁾. Lysine과 aspartic acid의 경우 다수의 고분자 합성 및 응용이 발표되었으나, lysine과 aspartic acid의 다당류 또는 당을 이용한 유도체의 합성과 응용은 다당류에 존재하는 많은 -OH기가 선택적인 화학적 합성에 있어 장애가 되기 때문에 극히 드물다. 본 연구에서는 이러한 사실을 바탕으로 amino acid-sugar conjugate 합성에서 뛰어난 결과를 보인 Optimase M-440을 사용하여 lysine과 aspartic acid의 sugar ester를 합성하였다.

재료 및 방법

1. Activated amino acid ester는 Park *et al.* (1999)²⁾와 같이 합성하고 분석하였다.
2. Activated amino acid ester (0.2 mmol)와 sugar(0.2 mmol)의 혼합물에 2ml의 pyridine과 Optimase M-440 (200mg)을 첨가한 후 45°C에서 교반하였다. 24시간 후 원심분리로 효소를 제거하고, column chromatography (CHCl₃:MeOH:EtOAc=15:1:1)로 분리하였다.

결과 및 고찰

이전의 transesterification 연구에서 뛰어난 활성을 보인 Optimase M-440 (subtilisin)^{2,3)}에 대해 pyridine을 반응용매로 *N* α ,*N*' ϵ -di-*t*-Boc-L-Lys-OTFE와 *N*-*t*-Boc-L-Asp-diOTFE를 acyl donor로서 D-glucose의 반응성을 테스트하였다. Acyl acceptor로서 D-glucose는 *N* α ,*N*' ϵ -di-*t*-Boc-L-Lys-OTFE와 *N*-*t*-Boc-L-Asp-diOTFE과의 transesterification에서 높은 반응성을 나타내었으나, D-glucose의 primary -OH(C6)와 glycosidic -OH기에 ester bond가 형성되어 Optimase M-440의 위치선택성이 매우 낮은 결과를 보였다. *N*-*t*-Boc-L-Asp-diOTFE의 transesterification은 두 개의 ester중에서 1-trifluoroethyl ester의 transesterification만 일어나 부

분적인 Optimase M-440의 위치선택성을 확인하였다(Figure 1과 2). D-glucose 이외의 다른 당에서도 전환율은 높지만 위치선택성이 매우 낮은 결과를 보였다. Optimase M-440은 이전의 결과에서 L-phenylalanine, L-methionine과 같은 소수성 아미노산의 transesterification에서 뛰어난 전환율과 위치선택성을 보였으나^{2,3)}, lysine과 aspartic acid와 같은 염기성 또는 산성의 성격을 가진 아미노산의 transesterification에서는 상대적으로 낮은 전환율과 위치선택성을 보였다. 그러나, α - 또는 β -methylglucopyranoside를 acyl acceptor로서 사용한 경우 lysine과 aspartic acid 모두 Optimase M-440에 의해 높은 전환율과 높은 위치선택성을 보였다(Figure 3과 4). Primary -OH(C6)에만 esterification이 일어났으며, secondary -OH기에는 전혀 esterification이 일어나지 않아 이전의 결과에서 보인 위치선택성과 동일한 결과^{2,3)}를 확인하였다. Aspartic acid의 경우 1-trifluoroethyl ester만 transesterification이 일어나 이전의 Optimase M-440이 보였던 -OH기에 대한 위치선택성외에 또 다른 위치선택성을 확인하였다.

본 연구의 수행으로 이전의 결과에 이어 보다 다양한 amino acid-sugar ester를 생산할 수 있는 가능성과 Optimase M-440의 우수한 촉매능 및 위치선택성을 확인하였다.

참고문헌

1. Sandrine G and et al., "Alkylated poly(-lysine citramide) as models to investigate the ability of amphiphilic macromolecular drug carriers to physically entrap lipophilic compounds in aqueous media"(1999), *J. Controlled Release*, 60, 235-247.
2. Park O-J, Jeon G-J, and Yang J-W, "Protease-catalyzed synthesis of disaccharide amino acid esters in organic media"(1996), *Enzyme Microb. Technol.*, 25, 455-462.
3. Gyu-Jong Jeon, Oh-Jin Park, Byung-Ki Hur, Ji-Won Yang, "Enzymatic synthesis of amino acid-sugar alcohol conjugates in organic media" (2001), *Biotechnology Letters*, 23, 929-934.

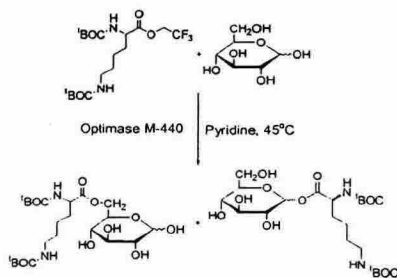


Figure 1. Optimase M-440 catalyzed transesterification of *Na,N'*-di-*t*-Boc-L-Lys-OTFE with D-glucose

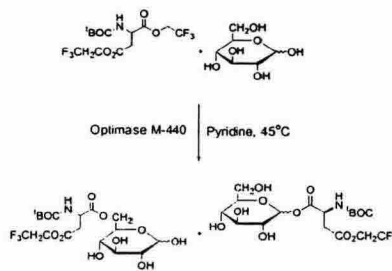


Figure 2. Optimase M-440 catalyzed transesterification of *N-t*-Boc-L-Asp-diOTFE with D-glucose

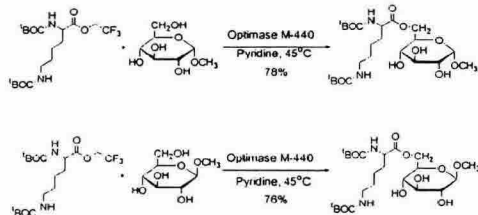


Figure 4. Optimase M-440 catalyzed transesterification of *Na,N'*-di-*t*-Boc-L-Lys-OTFE with methyl glucopyranosides

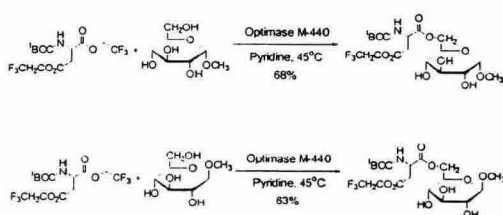


Figure 4. Optimase M-440 catalyzed transesterification of *N-t*-Boc-L-Asp-diOTFE with methyl glucopyranosides