

수용성 폴리파라시클로판류와 약물과의 상호작용(제 2 보) 수용액중 수용성 폴리파라시클로판류와 형광 소수 나프탈렌 유도체류와의 상호 작용

전인구[†]·이민화*·김신근*
동덕여자대학교 약학과·서울대학교 약학대학*
(1988년 8월 22일 접수)

Interactions between Water-Soluble Polyparacyclophanes and Drugs (II) Interaction between Water-Soluble Polyparacyclophanes and Fluorescent Hydrophobic Naphthalene Derivatives in Aqueous Solution

In Koo Chun,[†] Min Hwa Lee* and Shin Keun Kim*

Department of Pharmacy, Dongduck Women's University, Seoul 136-714, Korea and College of
Pharmacy, * Seoul National University, Seoul 151-742, Korea
(Received August 22, 1988)

A series of water-soluble polyparacyclophanes bearing two diphenylmethane or two diphenyl ether skeletons were investigated to develop useful host compounds by using 1-anilinonaphthalene-6-sulfonate (ANS) and 2-*p*-toluidinylnaphthalene-6-sulfonate (TNS) as fluorescent hydrophobic substrates in aqueous solution. It was noteworthy that remarkable fluorescent enhancements and blue shifts of ANS and TNS were observed only in the presence of 1,6,20,25-tetraaza[6.1.6.1] paracyclophane (CPM 44) and 1,6,21,27-tetraaza [7.1.7.1] paracyclophane (CPM 55) for diphenylmethane skeleton, and 1,7,21,27-tetraaza-14,34-dioxa [7.1.7.1] paracyclophane (CPE 55) and 1,8,22,29-tetraaza-15,36-dioxa [8.1.8.1] paracyclophane (CPE 66) for diphenyl ether skeleton, comparing with α - and β -cyclodextrins. However, their acyclic analogues such as 4,4'-dimethylaminodiphenylmethane and 4,4'-dimethylaminodiphenyl ether, and paracyclophanes whose cavities were smaller showed only small effects under the same conditions. These facts suggested that hosts and substrates were in an intimate contact which would not occur without larger structures, and thus that guest molecules were strongly incorporated in the hydrophobic cavities of these larger paracyclophanes. The effects of pH on the fluorescent intensity of ANS-CPM 44, ANS-CPM 55, ANS-CPE 55, ANS-CPE 66, TNS-CPM 44, TNS-CPM 55, TNS-CPE 55 and TNS-CPE 66 systems were not significant below pH 2.0, but their fluorescent intensities were markedly reduced with increasing ionic strength.

Key words— water-soluble paracyclophanes, 1-anilinonaphthalene-6-sulfonate, 2-*p*-toluidinylnaphthalene-6-sulfonate, complex formation, fluorescence, pH, ionic strength

수용성 paracyclophane류가 수용액중에서 기질을 그 內孔에 포접한다는 사실이 흡광도법, 형광 및 ESR 등을 수단으로 하여 몇몇 예에서 확인되었다.

Murakami 등은 대환상[20] paracyclophane

류를 효소모델로 사용하여 기질인 *p*-nitrophenyl carboxylate로부터 *p*-nitrophenol이 유리되는 속도를 측정하였으며¹⁾ 또 같은 기질이[10, 10] paracyclophane에 의하여 가수분해가 촉진됨을 보고하였다²⁾. 또 octopus type인 수용성 azapar-

[†] 본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로.

acyclophane 과 rhodamine 6G, quinaldrine red 또는 1-(2-pyridylazo)-2-naphthol이 각각 1:1의 포접화합물을 형성한다는 사실이 가시부 흡광도 측정법으로 입증되었다³⁾.

Tabush 등⁴⁾은 대환상의 수용성 heterocyclophane을 합성하고 소수성의 형광 probe로 1-anilinonaphthalene-8-sulfonate(ANS)가 이의 疎水內孔에 성공적으로 포접됨을 확인하였으며 이의 회합정수가 380 M^{-1} 로 β -cyclodextrin (β -CyD)보다 16배 컸음을 보여 주었다. 또한 tetrasulfide를 함유하는 수용성 heterocyclophane은 완충액중에서 이의 존재시 ANS의 형광이 현저하게 증가하고 그 회합정수가 $1.6 \times 10^3 \text{ M}^{-1}$ 로 β -CyD의 그것보다 28배나 컸다⁵⁾. 더욱 4급 암모늄기를 갖는 양이온성[20] paracyclophane은 ANS로 형광 적정을 시도하여 micelle화 거동이 관찰되어 cmc 값($1.8 \times 10^{-4} \text{ M}$)이 산출되었고 그 결합정수($K=1.1 \times 10^{-4} \text{ M}^{-1}$)도 β -CyD보다 190배나 크게 나타났다⁶⁾.

근년 Odashima 등⁷⁾은 diphenylmethane 골격의 1, 6, 20, 25-tetraaza [6.1.6.1] paracyclophane을 설계하여 합성하고 수용액중 이의 존재로 ANS의 형광강도가 현저히 증가하였음을 관찰하고 ANS가 비극성 환경으로 이행하였거나 ANS의 conformation이 변화되었음을 시사하였다. 그는 더욱 이의 內孔의 크기를 계통적으로 변화시켜 여러 유도체를 만들고 수용액중 ANS와의 상호작용을 통하여 해리정수를 산출하였으며⁸⁾, host의 內孔의 크기 및 疎水面積의 변화에 따라 host-guest 인식에 큰 차이가 있음을 보고하였다⁹⁾.

저자 등은 유효한 host 화합물을 개발하기 위하여 diphenylmethane 골격의 환화물류와 diphenyl ether 골격의 환화물류를 가지고 수용액중에서의 이들 환화물의 기질 포접성을 ANS 및 2-*o*-toluidinylnaphthalene-6-sulfonate(TNS)를 소수형광 probe로 이용하여 검토하였으며 host-guest 상호작용에 미치는 농도, pH, 이온강도 및 온도 등의 외적 요인의 영향을 고찰하였다. 또한 약제학 영역에서 host 화합물로 널리 응용되고 있는 α -CyD 및 β -CyD의 기질 포접성을 동시에 동일조건에서 수용성 paracyclophane류의 그것과 비교 검토하였다.

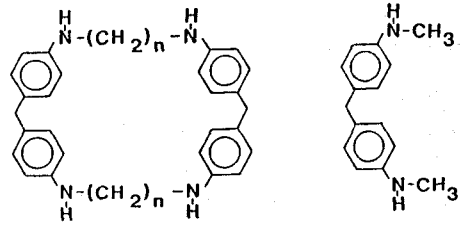


Chart 1—Water-soluble polyparacyclophanes containing diphenylmethane skeletons, and their acyclic body. Key: $n=3$ (CPM 33), $n=4$ (CPM 44), $n=5$ (CPM 55) and acyclic body (ACM 11)

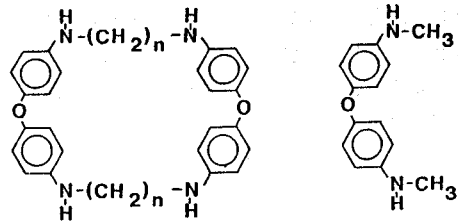


Chart 2—Water-soluble polyparacyclophanes containing diphenyl ether skeletons, and their acyclic body. Key: $n=3$ (CPE 33), $n=4$ (CPE 44), $n=5$ (CPE 55), $n=6$ (CPE 66) and acyclic body (CPE 11)

실험방법

시 료

diphenylmethane 골격의 환화물(Chart 1)로 1, 5, 19, 23-tetraaza [5.1.5.1] paracyclophane (CPM 33), 1, 6, 20, 25-tetraaza [6.1.6.1] paracyclophane(CPM 44), 1, 7, 21, 27-tetraaza [7.1.7.1] paracyclophane(CPM 55)은 Odashima 등⁸⁾의 방법에 따라 합성한 것을 썼으며, diphenyl ether 골격의 환화물(Chart 2)로 1, 5, 19, 23-tetraaza-12, 30-dioxa[5.1.5.1] paracyclophane(CPE 33), 1, 6, 20, 25-tetraaza-13, 32-dioxa[6.1.6.1] paracyclophane(CPE 44), 1, 7, 21, 27-tetraaza-14, 34-dioxa[7.1.7.1] paracyclophane(CPE 55) 및 1, 8, 22, 29-tetraaza-15, 36-dioxa[8.1.8.1] paracyclophane(CPE 66)은 前報¹⁰⁾에서와 같은 방법으로 만든 것을 사용하였다. 또한 비교 연구를 위한 diphenylmethane 골격의 비환상 유사체로 4, 4'-dimethylaminodiphenylmethane(ACM 11)은 Stetter 등¹¹⁾ 및 Braun¹²⁾의 방법을 약간 변경하여 합성하였고 diphenyl ether 골격의 비환상 유사체로 4, 4'-

dimethylaminodiphenyl ether(ACE 11)은 前報¹⁰⁾와 같은 방법으로 만든 것을 썼다. 이들 환상체 및 비환상체는 모두 원소분석 및 mass spectra의 측정에 사용한 것을 썼다.

소수성 형광기질로 1-anilinonaphthalene-8-sulfonic acid ammonium salt(ANS)는 東京化成工業(株)의 특급품을, 2-*p*-toluidinylnaphthalene-6-sulfonic acid potassium salt(TNS)는 Aldrich Chem. Co.의 특급품을 48시간 실온에서 진공건조(P_2O_5)하고 냉소에 보존하면서 사용하였다. 형광 보정을 위해 쓴 quinine sulfate는 和光 특급품을 썼으며 α - 및 β -cyclodextrin(α - 및 β -CyD)은 Aldrich Chem. Co.의 특급품을 썼다. 시험에 쓴 물은 증류수를 Milli-Q™ water purification system을 통과시킨 것을 사용하였으며 기타 시약류는 시판 특급품을 그대로 사용하였다.

기 기

형광측정은 Shimadzu model RF-510 spectrofluorophotometer(150w xenon lamp, R 452 phototube)를 써서 측정하였으며 모든 형광스펙트라는 Hitachi 204-S fluorescence spectrophotometer를 사용하여 QD-15 Hitachi recorder로 기록하였다. pH 측정기는 Fisher Accumet® 620 pH meter를 사용하였다.

형광측정조건

형광강도의 측정은 response; medium, slit; excitation 10 nm, emission 40 nm, 여기 파장 375 nm(ANS 및 TNS)^{5,13)}, 형광측정파장 505 nm(ANS), 495 nm(TNS), gain 50 또는 100, 측정온도 $25 \pm 0.2^\circ\text{C}$ 에서 조제 1시간 이내에 측정하였다. 매 측정전 15분 이상 예열하였으며 매 측정시마다 표준시료용액의 형광강도도 측정하여 필요에 따라 보정을 행하였다. 표준시료용액으로는 quinine sulfate의 0.5N H_2SO_4 용액(1×10^{-7} M)을 사용하였다. 또 형광스펙트라의 기록은 response; medium, slit; excitation 및 emission 모두 10 nm, P. M. gain 3, sense range 3 또는 1, recorder pen 5 mV 또는 10 mV의 조건에서 120 nm/min의 scan speed로 기록하였으며 형광강도의 파장의존성에 대한 보정은 행하지 않았다.

형광 Probe 및 환화물의 농도가 형광강도에 미

치는 영향

환화물의 존재하에서 ANS 및 TNS의 농도변화에 따른 영향을 관찰하기 위하여 pH 1.95 KCl-HCl 완충액으로 CPM류를 녹여 고농도(1.2×10^{-4} M)와 저농도(1.2×10^{-5} M)가 되도록 만들고 각각의 액에 ANS 또는 TNS의 농도가 $2 \sim 14 \times 10^{-6}$ M이 되도록 순차적으로 변화시켰다. 동시에 비환상체인 ACM 11의 농도는 2.4×10^{-4} M로 유지하였다. 환화물 CPE류는 2×10^{-4} M로 유지하고 이의 비환상체인 ACE 11은 4×10^{-4} M로 유지하면서 ANS의 농도를 $0.5 \sim 4.0 \times 10^{-5}$ M로 변화시켰으며 TNS는 $2 \sim 14 \times 10^{-6}$ M이 되도록 변화시켜 형광강도를 측정하였다.

환화물의 농도가 형광강도에 미치는 영향을 고찰하기 위하여 pH 1.95 KCl-HCl 완충액에 ANS를 녹여 8×10^{-6} M로 일정하게 유지시키면서 CPM류 및 ACM 11의 농도를 $1 \sim 6 \times 10^{-5}$ M이 되도록 변화시켰으며, CPE류 및 ACE 11은 $4 \times 10^{-5} \sim 4 \times 10^{-4}$ M로 변화시켰다. 또한 TNS의 경우는 이의 농도를 8×10^{-6} M로 유지시키면서 CPM류 및 ACM 11의 농도를 $1 \sim 6 \times 10^{-6}$ M로 하였고 CPE류의 농도영향은 TNS의 농도를 2×10^{-5} M로 고정하고 CPE류 및 ACE 11의 농도를 $0.4 \sim 4 \times 10^{-4}$ M로 조제하였다. 모든 시료 용액의 형광강도는 $25 \pm 0.2^\circ\text{C}$ 에서 측정하였다.

환화물-형광 Probe 용액의 pH가 형광강도에 미치는 영향

환화물 및 형광 probe의 공존하에서 용액의 pH가 형광강도에 미치는 영향을 고찰하기 위하여 용액의 이온강도를 KCl을 첨가하여 0.2로 일정하게 유지한 pH 0.8~3.5의 KCl-HCl 완충액에 ANS 및 TNS를 각각 녹인 다음 $25 \pm 0.2^\circ\text{C}$ 에서 형광강도를 측정하였다. CPM류-ANS계는 각각 5×10^{-5} M 및 8×10^{-6} M로, CPE류-ANS계는 각각 2×10^{-4} M 및 2×10^{-5} M로, CPM류-TNS계는 각각 5×10^{-5} M 및 8×10^{-6} M로, CPE-TNS계는 각각 2×10^{-4} M 및 2×10^{-5} M로 조제한 액을 사용하였다.

환화물-형광 Probe 용액의 이온강도가 형광강도에 미치는 영향

pH 1.95 KCl-HCl 완충액에 KCl을 넣어 이온강도가 각각 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5 및 1.0이

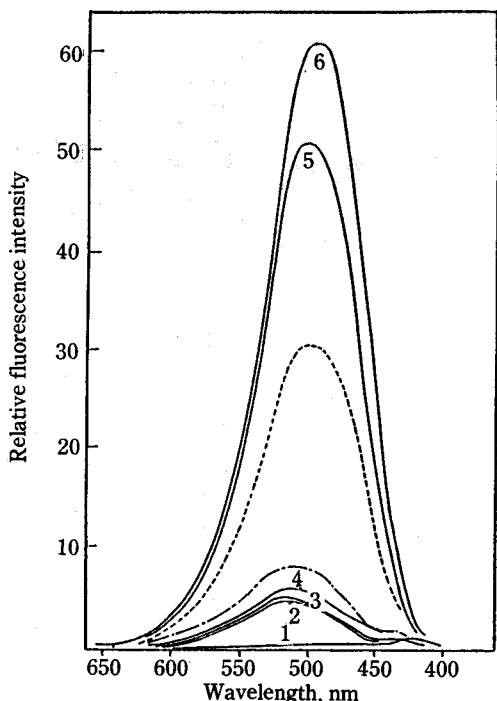


Figure 1—Fluorescence emission spectra of ANS-CPM systems and ANS-cyclodextrin complexes in pH 1.95 KCl-HCl buffer ($\mu=0.061$) and at 25°C. The concentration of ANS was constant at 2×10^{-5} M. The concentrations of CPM 33, CPM 44, and CPM 55 were constant at 2×10^{-4} M, and that of ACM 11 was 4×10^{-4} M. The concentrations of α -CyD and β -CyD were 1×10^{-2} and 4×10^{-4} M, respectively.
Key: 1; pH 1.95 buffer, 2; ANS alone, 3; ANS + ACM 11, 4; ANS + CPM 33, 5; ANS + CPM 44, 6; ANS + CPM 55, - - - - -; ANS + α -CyD and - - - - -; ANS + β -CyD

되도록 조절한 후 환화물 및 형광기질을 이온강도가 다른 각각의 완충액에 녹이고 25±0.2°C에서 형광강도를 측정하였다. CPM류-ANS계는 각각 5×10^{-5} M 및 8×10^{-6} M로, CPE류-ANS계는 각각 2×10^{-4} M 및 2×10^{-5} M로, CPM류-TNS계는 5×10^{-5} M 및 8×10^{-6} M로, CPE류-TNS계는 2×10^{-4} M 및 2×10^{-5} M로 조절한 액을 사용하였다.

실험결과 및 고찰

형광스펙트라

ANS 및 TNS 그 자체로는 형광이 거의 없으나

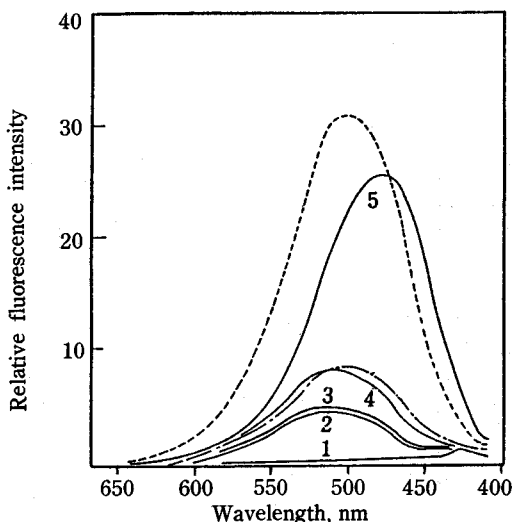


Figure 2—Fluorescence emission spectra of ANS-CPE systems and ANS-cyclodextrin complexes in pH 1.95 KCl-HCl buffer ($\mu=0.061$) and at 25°C. The concentrations of CPE 55 and CPE 66 were constant at 2×10^{-4} M and that of ACE 11 was 4×10^{-4} M. The other conditions were the same as in Fig. 1.
Key: 1; pH 1.95 buffer alone, 2; ANS alone, 3; ANS + ACE 11, 4; ANS + CPE 55, 5; ANS + CPE 66, - - - - -; ANS + α -CyD and - - - - -; ANS + β -CyD

단백질과 같은 거대분자와 결합을 할 때는 이들 분자의 주변환경이 변함이 따라 형광스펙트럼의 성질, 즉 극대형광파장과 형광강도가 달라진다. 대환상화합물과의 결합에 관한 연구에 응용된 예로는 tyrocidine B¹³⁾에 TNS가, 수용성 paracyclophane에 ANS가 사용되어 현저한 형광증대와 함께 hypsochromic shift를 나타내었다^{4,5)}.

이러한 성질로 인하여 소수공간을 갖는 환화물과의 상호작용의 연구에 ANS 또는 TNS가 쓰일 수 있음을 고려하여 본 연구에서 택한 수용성 paracyclophane류와 종래의 CyD류를 가지고 형광소수기질과의 상호작용성을 동일조건에서 검토하기 위하여 일정농도조건에서 형광스펙트라를 비교 관찰하였다.

Fig. 1은 diphenylmethane을 골격으로 하는 CPM 33, CPM 44, CPM 55 및 ACM 11의 존재하에서의 ANS의 형광스펙트라를 나타낸다. 이에서 보면 CPM 44 및 CPM 55의 존재시에는 형광강도가 현저히 증대함과 동시에 극대형광파장이 단파장쪽으로 shift하였으나 비환상체인 ACM 11

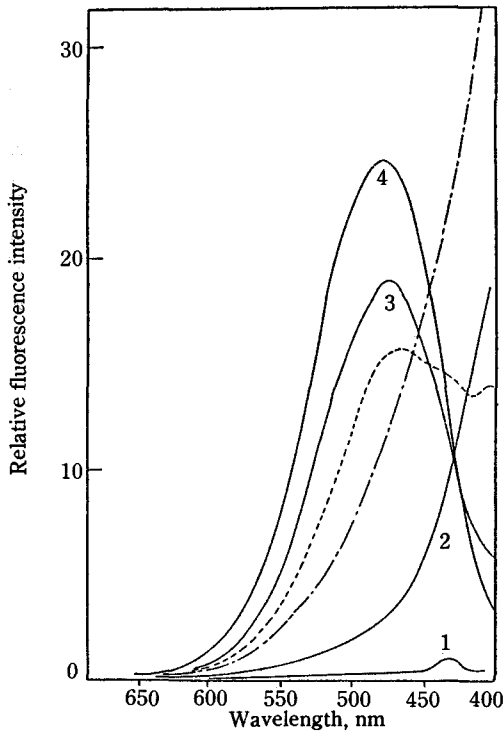


Figure 3—Fluorescence emission spectra of TNS-CPM systems and TNS-cyclodextrin complexes in pH 1.95 KCl-HCl buffer ($\mu = 0.061$) and at 25 °C. The concentration of TNS was constant at 2×10^{-5} M. The concentrations of CPM 44 and CPM 55 were the same at 2×10^{-4} M. The concentrations of α -CyD and β -CyD were 4×10^{-3} and 4×10^{-4} M, respectively.

Key: 1; pH 1.95 buffer alone, 2; TNS alone, 3; TNS + CPM 55, 4; TNS + CPM 44, - - -; TNS + α -CyD and - - -; TNS + β -CyD

및 소수공간의 크기가 보다 작은 CPM 33이 존재할 때는 형광강도의 증대가 거의 나타나지 않았으며 ANS 단독의 그것과 거의 유사하였다. 이러한 사실은 CPM 44 및 CPM 55의 경우 기질이 매우 소수성인 환경으로 이행하였음을 의미하며 또 ACM 11이나 CPM 33에서는 형광증대가 거의 없는 것으로 보아 ANS가 소수내공으로 포접되었음을 시사한다. 또한 CPM 44 및 CPM 55의 극대형광파장이 각각 504 및 491nm로 CPM 55가 CPM 44보다 13nm 더 단파장쪽으로 hypsochromic shift를 하고 형광강도가 약 1.16배 증대 한 것은 같은 기질에 대한 host의 내공의 차이가 관여되어 fit의 정도가 다를 수 있다고 생각된다.

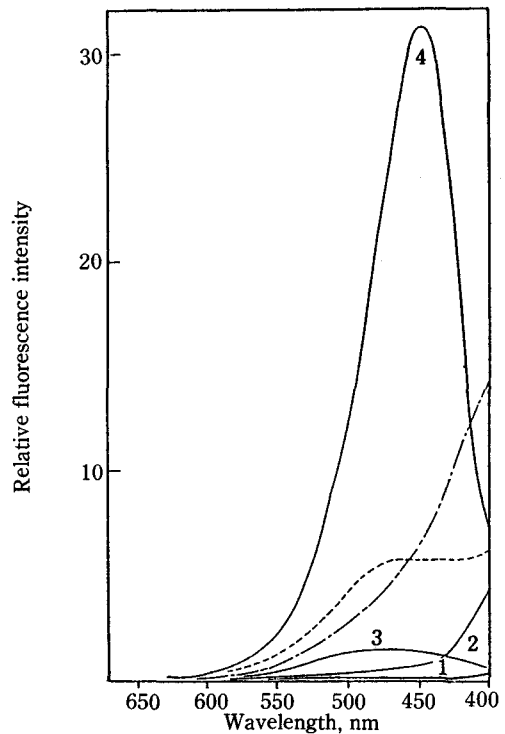


Figure 4—Fluorescence emission spectra of TNS-CPE systems and TNS-cyclodextrin complexes in pH 1.95 KCl-HCl buffer ($\mu = 0.061$) and at 25 °C. The concentration of TNS was constant at 2×10^{-5} M. The concentrations of CPE 55 and CPE 66 were the same at 2×10^{-4} M. The concentrations of α -CyD and β -CyD were 1×10^{-2} and 4×10^{-4} M, respectively.

Key: 1; pH 1.95 buffer alone, 2; TNS alone, 3; TNS + CPE 55, 4; TNS + CPE 66, - - -; TNS + α -CyD and - - -; TNS + β -CyD

한편 α - 및 β -CyD의 농도를 CPM 농도보다 각각 50 및 2배 증가시켰을 때 형광강도의 증대는 다소 나타났으나 CPM 55 존재시의 형광강도에 비하여 각각 약 1/8 및 1/2 정도이었다.

Fig. 2는 diphenyl ether을 골격으로 하는 CPE 33, CPE 44, CPE 55, CPE 66 및 ACE 11의 존재하에서의 ANS의 형광스펙트라를 보여 준다. CPE 55 및 CPE 66이 존재할 때는 ANS 단독의 형광강도보다 각각 약 1.7 및 5.4배 증대하였으나 이의 비환상체인 ACE 11 및 내공의 크기가 보다 작은 CPE 33 및 CPE 44의 존재시에는 형광강도의 증대가 나타나지 않았다. CPE 55 및 CPE 66의 존재시 극대형광파장이 각각 507 및 483nm로 ANS 단독의 그것보다 각각 8 및 32nm 단파장쪽

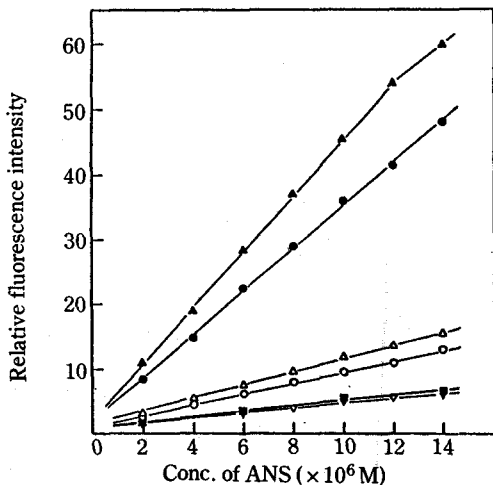


Figure 5—Effect of the concentration of ANS on the fluorescence intensity of CPM-ANS systems in pH 1.95 KCl-HCl buffer ($\mu=0.061$) and at 25°C. The solid points indicate higher concentrations of CPM and open points lower ones.

Key: \blacktriangle ; 1.2×10^{-4} M CPM 55, \triangle ; 1.2×10^{-5} M CPM 55, \bullet ; 1.2×10^{-4} M CPM 44, \circ ; 1.2×10^{-5} M CPM 44, \blacksquare ; 1.2×10^{-4} M CPM 33 and ∇ ; ANS alone

으로 shift하였으며 CPE 66이 CPE 55보다 훨씬 큰 hypsochromic shift를 나타내었다.

TNS를 형광소수기질로 하여 CPM 또는 CyD 류와의 상호작용의 유무를 검토한 스펙트라가 Fig. 3이다. CPM 44 및 CPM 55의 존재시는 현저한 형광증대가 나타났으나 ACM 11 및 CPM 33의 존재시는 도시는 하지 않았으나 TNS 단독의 형광기록과 거의 동일하였다. 495 nm에서의 형광강도는 CPM 44 및 CPM 55의 존재로 TNS 자체의 그것보다 각각 7.26 및 9.1배 증대하였고, 극대파장도 각각 480 및 483 nm로 shift하였다. 그러나 α -CyD는 25배나 높은 농도조건에서도 형광극대를 나타내지 않은 반면 β -CyD는 2배의 농도조건에서 463 nm에서 극대를 보여 주었다. 이러한 스펙트라의 변화는 동일 기질에 대하여 host 화합물의 기질선택성과 밀접성이 다름을 의미한다.

Fig. 4는 TNS와 CPE류간의 상호작용을 비교 검토한 스펙트라이다. 이에서도 CPE 66은 강한 형광증대를 보여 주었으나 도시에에서 제외한 ACE 11, CPE 33 및 CPE 44는 아무런 형광증대가 없었다. 495 nm에서의 강도는 CPE 66의 존재로 TNS 단독의 그것보다 약 18.4배 증대하였고

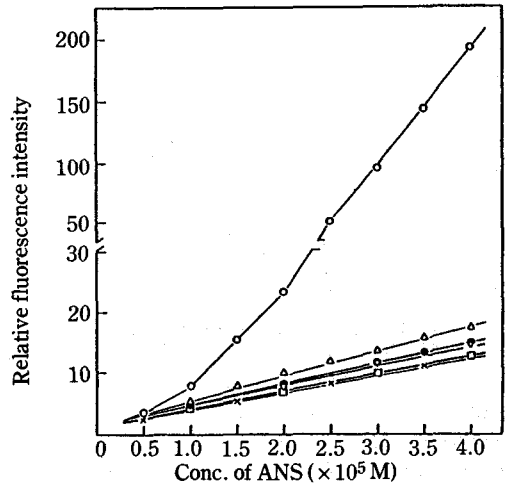


Figure 6—Effect of concentration of ANS on fluorescence intensity of CPE-ANS and ACE 11-ANS systems in pH 1.95 KCl-HCl buffer ($\mu=0.061$) and at 25°C. The concentration of CPE was constant at 2×10^{-4} M and that of ACE 11 was 4×10^{-4} M.

Key: \circ ; CPE 66, \triangle ; CPE 55, \bullet ; CPE 44, \square ; ACE 11 and \times ; ANS alone

CPE 55의 존재시는 다소 약하지만 명백한 형광증대를 보여 주었다.

이상의 형광스펙트라로부터 형광기질로서 ANS 및 TNS 어느 것이든 CPM 44, CPM 55, CPE 55 및 CPE 66과 모두 어떤 상호작용을 하고 있었으며, ACM 11, CPM 33, ACE 11, CPE 33 및 CPE 44와는 아무런 상호작용이 없었음을 알았다.

농도가 형광강도에 미치는 영향

ANS 및 TNS의 농도 영향—CPM 44 및 CPM 55를 pH 1.95 KCl-HCl 완충액 ($\mu=0.061$)에 녹여 고농도와 저농도 용액으로 조제하고 각각에 ANS의 농도를 $2 \sim 14 \times 10^{-6}$ M로 순차적으로 함유되도록 하여 각각의 형광강도를 측정된 결과가 Fig. 5이다. CPM 44 및 CPM 55의 존재시는 고농도나 저농도에 관계없이 형광강도가 직선적으로 증가하였으나 고농도의 CPM 33과 도시되지 않은 ACM 11의 존재시 ANS 단독의 형광보다 유의성 있는 형광증대를 나타내지 않았다. 또 CPE 33, CPE 44, CPE 55 및 CPE 66이 2×10^{-4} M로 고정하고 ANS의 농도를 $0.5 \sim 4.0 \times 10^{-4}$ M로 변화시켜 얻은 형광증대는 Fig. 6과 같다. CPE 33, CPE 44 및 ACE 11의 존재시는 형광증가가 거의

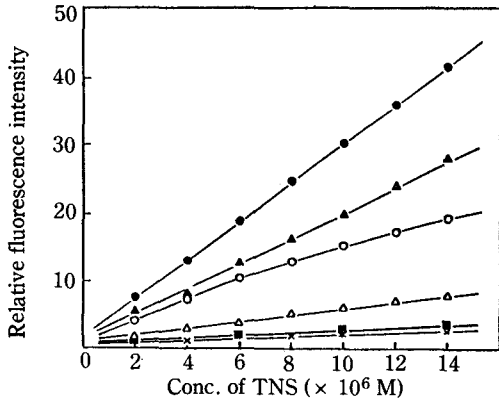


Figure 7—Effect of the concentration of TNS on the fluorescence intensity of CPM-TNS systems in pH 1.95 KCl-HCl buffer ($\mu=0.061$) and at 25°C. The solid points indicate higher concentrations of CPM and open points lower ones.

Key: \blacktriangle ; 1.2×10^{-4} M CPM 55, \triangle ; 1.2×10^{-5} M CPM 55; \bullet ; 1.2×10^{-4} M CPM 44, \circ ; 1.2×10^{-5} M CPM 44, \blacksquare ; 1.2×10^{-4} M CPM 33, and \times ; TNS alone

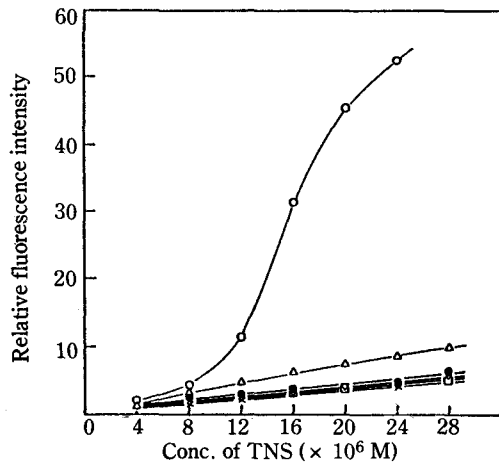


Figure 8—Effect of the concentration of TNS on the fluorescence intensity of CPE-TNS and ACE 11-TNS systems in pH 1.95 KCl-HCl buffer ($\mu=0.061$) and at 25°C. The concentration of CPE was constant at 2×10^{-4} M, and that of ACE 11 was 4×10^{-4} M.

Key; \circ ; CPE 66, \triangle ; CPE 55, \bullet ; CPE 44, \square ; CPE 33, \square ; ACE 11 and \times ; TNS alone

없었으나 특히 CPE 66의 존재시는 놀라울 정도로 증가되어 sigmoid 양상으로 나타났으며 ANS가 2.5×10^{-5} M로 공존할 때는 급격한 증가를 보여 어떤 임계미셀농도¹⁴⁾가 존재함을 보여 주었다.

한편 CPM류 및 CPE류의 농도를 일정하게 하

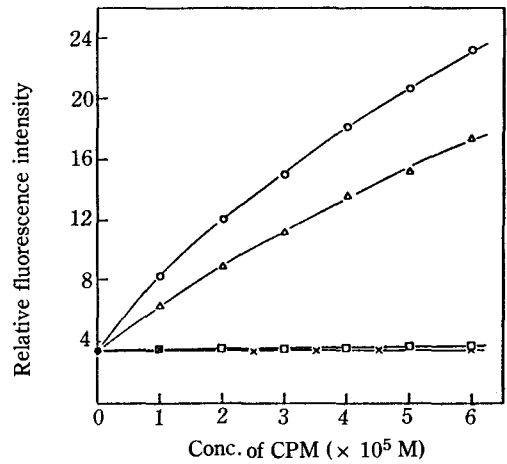


Figure 9—Effect of the concentration of CPM on the fluorescence intensity of ANS in pH 1.95 KCl-HCl buffer ($\mu=0.061$) and at 25°C. The concentration of ANS was constant at 8×10^{-6} M.

Key: \circ ; CPM 55, \triangle ; CPM 44, \square ; CPM 33, \times ; ACM 11, and \bullet ; ANS alone

고 TNS의 농도를 순차적으로 변화시켜 얻은 형광강도의 변화는 각각 Fig. 7 및 8에서와 같다. 이에서도 CPM 33 및 ACM 11의 존재시는 거의 형광증대를 나타내지 않았으나 CPM 44 및 CPM 55의 존재시는 고농도나 저농도에서 모두 직선적인 형광증대를 보여 주었다. 또 Fig. 8에서와 같이 CPE 33, CPE 44 및 ACE 11의 존재시는 TNS의 농도증가에 따라 형광의 증가가 거의 없었으나 CPE 55의 경우는 유의성 있게 직선적인 증가를 보여 주었고 CPE 66을 1.6×10^{-5} M의 TNS 첨가농도에서 형광이 급격히 증가되는 sigmoid 양상을 나타내었다.

환화물 및 비환상체의 농도 영향—Fig. 5~8과는 달리 형광기질을 고정하고 환화물 및 비환상체의 농도를 변화시켜 얻은 형광강도의 변화를 나타낸 것이 Fig. 9~12이다. ANS 및 TNS의 농도를 일정하게 한 경우 CPM 33 및 ACM 11은 형광강도에 거의 변화가 없었으나 CPM 44 및 CPM 55는 농도증가와 함께 강한 형광증대를 나타내어 상호 작용이 있음을 알았다(Fig. 9 및 11). Fig. 9의 결과는 Odashima 등⁷⁾ 및 Soga 등⁸⁾의 결과와 일치한다. 또 ANS 및 TNS의 농도를 일정하게 하고 CPE류의 농도를 증가시켰을 때 CPE 33, CPE 44 및 ACE 11은 형광변화를 나타내지 않았으며

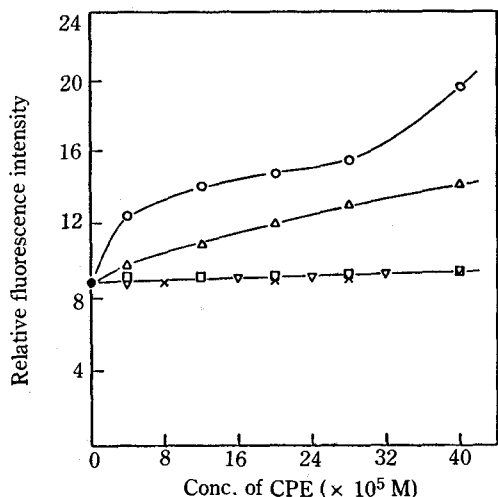


Figure 10—Effect of the concentration of CPE on the fluorescence intensity of ANS in pH 1.95 KCl-HCl buffer ($\mu = 0.061$) and at 25°C. The concentration of ANS was constant at 2×10^{-5} M.
Key: ○; CPE 66, △; CPE 55, □; CPE 44, ▽; CPE 33, ×; ACE 11 and ●; ANS alone

CPE 55는 유의성 있게, CPE 66은 보다 현저히 형광을 증대시켜 기질과의 상호작용이 화학양론적으로 진행된다는 것을 추측할 수 있었다(Fig. 10 및 12). 이때 CPE 55 및 CPE 66의 농도를 2×10^{-5} M ANS에 대하여 1×10^{-3} M로 함유시켰을 때 각각 강한 녹색 및 청색의 형광을 발하였고 불용성 침전물을 형성하였으며 TNS를 기질로 한 경우도 같은 농도조건에서 모두 강한 형광을 발하였고 불용성 침전물을 형성하였다.

이와 같이 일련의 농도변화로 부터 형광강도의 변화를 고찰하여 볼 때 diphenylmethane을 골격으로 하는 비환상체(ACM 11)와 내공의 크기가 작은 CPM 33은 ANS 및 TNS와 상호작용을 나타내지 않았으며 CPM 44 및 CPM 55는 강한 상호작용이 있음을 알았다. 또 diphenyl ether을 골격으로 하는 비환상체(ACE 11)와 내공의 크기가 작은 CPE 33 및 CPE 44는 ANS 및 TNS와의 상호작용을 관찰할 수 없었으며 내공의 크기가 보다 큰 CPE 55 및 CPE 66과는 비교적 강한 상호작용이 있음을 확인하였다. 또 비환상체와 내공의 크기가 작은 환화물은 ANS 및 TNS와의 공존시 형광증가가 거의 없는 점으로 보아 강한 이온간의 상호작용은 거의 없으며 본 상호작용의 발현을 주

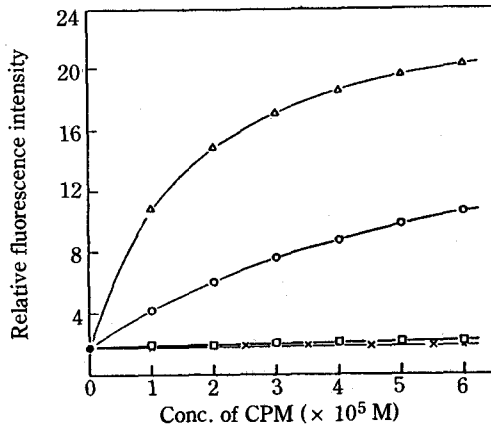


Figure 11—Effect of the concentration of CPM on the fluorescence intensity of TNS in pH 1.95 KCl-HCl buffer ($\mu = 0.061$) and at 25°C. The concentration of TNS was constant at 8×10^{-6} M.
Key: ○; CPM 55, △; CPM 44, □; CPM 33, ×; ACM 11 and ●; TNS alone

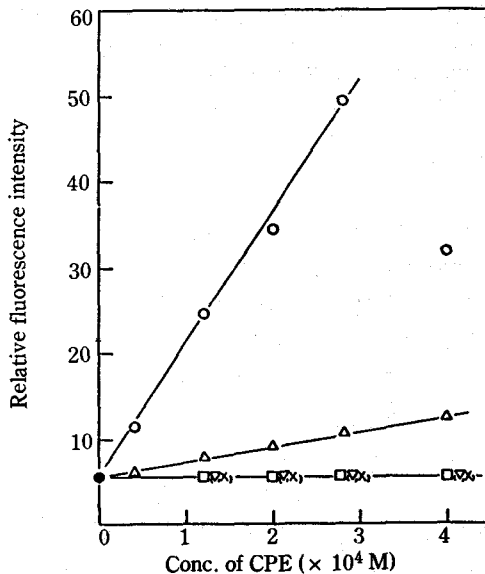


Figure 12—Effect of the concentration of CPE on the fluorescence intensity of TNS in pH 1.95 KCl-HCl buffer ($\mu = 0.061$) and at 25°C. The concentration of TNS was constant at 2×10^{-5} M.
Key: ○; CPE 66, △; CPE 55, □; CPE 44, ▽; CPE 33, ×; ACE 11 and ●; TNS alone.

로 intercalation에 의한 소수성 상호작용으로 생각된다.

pH가 형광강도에 미치는 영향

host-guest 상호작용에 있어서 pH 2 이하에서

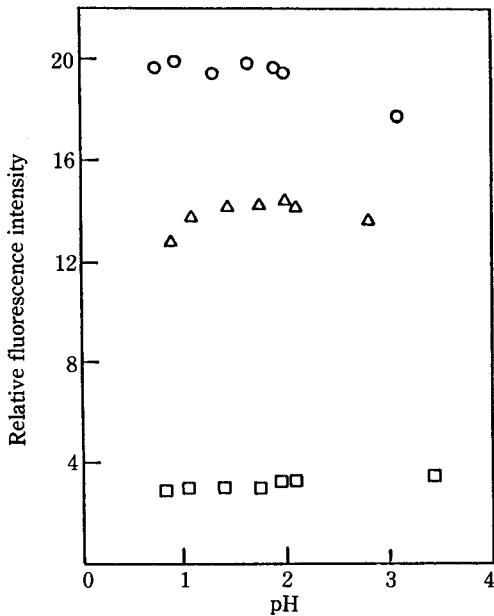


Figure 13—pH dependence of the fluorescence intensity of ANS-CPM complexes at 25°C. Potassium chloride was added to adjust the ionic strength to 0.2. The concentrations of ANS and CPM were constant at 8×10^{-6} and 5×10^{-5} M, respectively.
Key: ○; ANS-CPM 55, △; ANS-CPM 44 and □; ANS alone

positive charge를 갖는 환화물과 pH가 변함에 따라 sulfonate group의 이온화 정도가 달라지는 기질과의 이온간의 상호작용도 고려할 필요가 있다. Fig. 13은 CPM 44-ANS 및 CPM 55-ANS 계의 형광강도에 미치는 pH의 영향을 나타낸 것으로 pH 1.0~2.0에서는 형광강도가 거의 변화되지 않았으며 pH가 3 이상으로 커지면 다소 감소하는 경향을 보여 주었다. 또한 ANS 그 자체의 형광강도는 같은 pH범위에서 별다른 변화는 없었다. CPE 55-ANS 및 CPE 66-ANS계에서도 pH 2 이하에서 형광의 변화가 약간 보이는 정도이었다.

한편 TNS를 기질로 하는 CPM 44-TNS 및 CPM 55-TNS계는 pH 2.0 이하에서는 별다른 형광강도의 변화가 없었으며 pH 3 이상에서는 약간 감소하였다. 또 CPE 55-TNS 및 CPE 66-TNS계에서도 pH 2.0 이하에서는 pH변화에 따라 별다른 형광강도의 변화가 관찰되지 않았다.

pH 2.0 이상에서 형광강도가 약간 감소되는 것

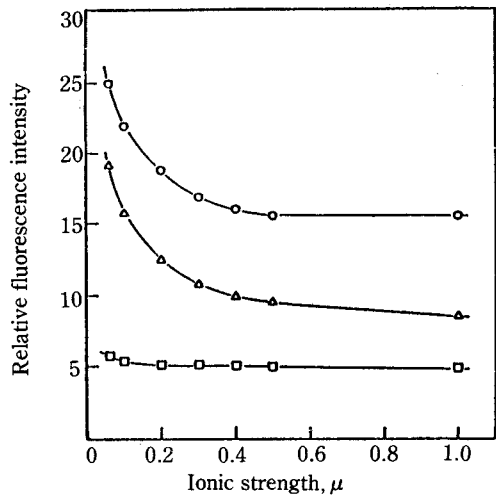


Figure 14—Dependence of the fluorescence intensity of CPM-ANS complexes on ionic strength at pH 1.95 and 25°C. CPM concentration: 5×10^{-5} M. ANS concentration: 8×10^{-6} M.
Key: ○; CPM 55-ANS complex, △; CPM 44-ANS complex and □; ANS alone

은 환화물의 positive charge 부분이 감소하여 base 상태로 변화되어 가므로 이온간의 상호작용이 다소 감소하기 때문으로 생각되며, 환화물-기질간의 상호작용에는 매우 약하지만 액성조건에 따라 환화물 및 기질의 charge가 결합력에 다소 관여된다고 추정된다.

환화물의 $pK_{a(1)-(4)}$ 값을 구하기 위하여 알칼리 적정을 시도하였지만 적정곡선이 명확한 변곡점을 나타내지 않았다. 따라서 pH 2 이하에서는 액성에 따라 paracyclophane· nH^+ 의 상태로 존재할 것으로 생각된다.

이온강도가 형광강도에 미치는 영향

Fig. 14는 CPM 44-ANS 및 CPM 55-ANS계의 형광강도에 미치는 이온강도(μ)의 영향을 나타낸 것으로 μ 가 0.3으로 증가될 때까지는 형광강도가 급격히 감소하였으나 μ 1.0까지는 완만한 감소를 보여 주었다. ANS 자체의 형광강도도 μ 의 증가에 따라 매우 완만한 감소를 나타내었다. 마찬가지로 CPE 55-ANS 및 CPE 66-ANS계 (Fig. 15), CPM 44-TNS 및 CPM 55-TNS계 (Fig. 16), CPE 55-TNS 및 CPE 66-TNS계 (Fig. 17)의 경우 모두 유사하게 그 형광강도가 μ 0.061 일 때보다 현저히 감소되었다. 특히 CPE 66

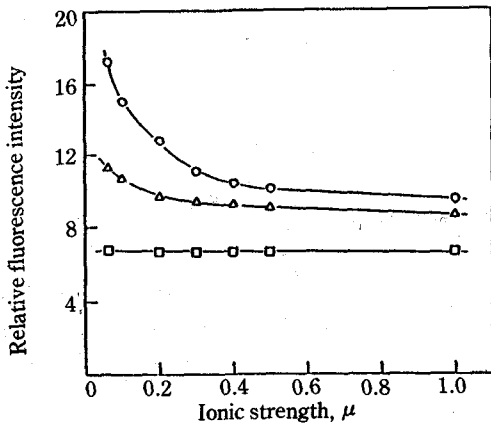


Figure 15—Dependence of the fluorescence intensity of CPE-ANS complexes on ionic strength at pH 1.95 and 25°C. The concentrations of CPE and ANS were constant at 2×10^{-4} M and 2×10^{-5} M, respectively. Key: ○; CPE 66-ANS complex, △; CPE 55-ANS complex and □; ANS alone

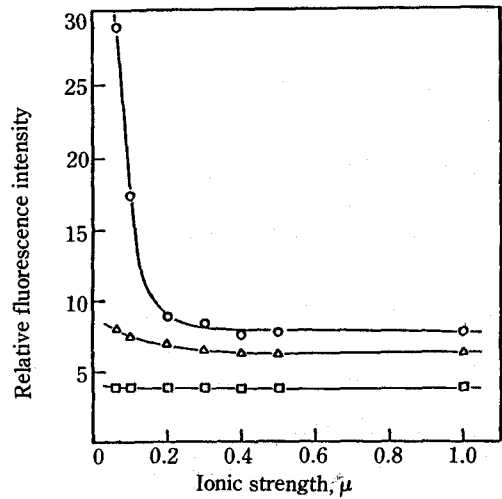


Figure 17—Dependence of the fluorescence intensity of CPE-TNS complexes on ionic strength at pH 1.95 and 25°C. The concentrations of CPE and ANS were constant at 2×10^{-4} M and 2×10^{-5} M, respectively. Key: ○; CPE 66-TNS complex, △; CPE 55-TNS complex and □; TNS alone

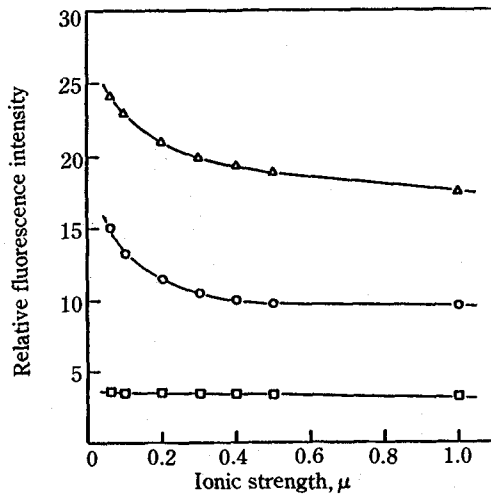


Figure 16—Dependence of the fluorescence intensity of CPM-TNS complexes on ionic strength at pH 1.95 and 25°C. CPM concentration: 5×10^{-5} M. TNS concentration: 8×10^{-6} M. Key: ○; CPM 55-TNS complex, △; CPM 44-TNS complex and □; TNS alone

-TNS계는 $\mu 0.2$ 까지 매우 급격한 형광강도의 저하를 나타내었다.

이와 같이 μ 가 증가함에 따라 형광강도가 현저히 감소되는 것은 용액내의 internal pressure가 증가함으로써 ANS¹⁵⁾ 및 TNS의 activity가 감소되어 소수성 상호작용 및 정전적 상호작용¹⁶⁾을 위한

driving force가 약화되기 때문으로 사료된다. 또 동일 기질에 대하여 환화물을 달리하였을 경우 μ 에 따라 형광강도의 변화가 다르게 나타난 것은 이들 환화물과 기질간의 고유한 상호작용의 mode와 driving force가 서로 다르기 때문인 것으로 생각된다. 또한 diphenylmethane 골격의 환화물이 diphenyl ether 골격의 환화물보다 전반적으로 ANS 및 TNS의 형광강도를 현저히 증대시켰고 이온강도에 의한 소광효과가 더 작은 점으로 보아 face conformation^{17,18)}을 우선적으로 취하는 것으로 추정된다.

결 론

diphenylmethane을 골격으로 하는 수용성 polyparacyclophane류(CPM 33, CPM 44, CPM 55)와 diphenyl ether을 골격으로 하는 수용성 polyparacyclophane류(CPE 33, CPE 44, CPE 55, CPE 66) 및 각 골격의 비환상체(ACM 11 및 ACE 11)를 가지고 종래의 α - 및 β -cyclodextrin(α - 및 β -CyD)을 비교 host 화합물로 하여 수용액중에서 형광소수기질(ANS 및 TNS)과의 host-guest 상호작용을 형광법으로 검토한

바 그 결론을 다음과 같다.

1. 환의 내공이 작은 CPM 33, CPE 33, CPE 44 및 각 골격의 비환상체인 ACM 11, ACE 11은 ANS 및 TNS와 유의성 있는 상호작용이 관찰되지 않았으나 환의 내공이 보다 큰 CPM 44, CPM 55, CPE 55 및 CPE 66은 강력한 상호작용을 나타내었다. 환화물의 존재시 현저한 형광강도의 증가와 blue shift의 발현을 host-guest 상호작용의 결과로 소수내공에의 기질 밀접성과 conformation의 변화를 강력하게 시사하였다. 또 이들 환화물에 의한 형광의 변화는 α - 및 β -CyD에 의한 것보다 현저하였다.

2. CPM 44-ANS 및 CPM 55-ANS계, CPM 44-TNS 및 CPM 55-TNS계, CPE 55-ANS 및 CPE 66-ANS계, CPE 55-TNS 및 CPE 66-TNS계의 형광강도에 미치는 pH의 영향은 pH 2.0 이하에서는 거의 없었으며, 또 수용액중 상기 복합체의 형광강도에 미치는 이온강도의 영향은 이온강도가 증가됨에 따라 형광강도가 현저히 감소되어 host-guest의 소수성 상호작용에 정전적으로 상호작용함을 확인하였다.

문 헌

- 1) Y. Murakami, Y. Aoyama and K. Dobashi *J.C.S. Perkin II*, 24
- 2) Y. Murakami, Y. Aoyama, M. Kida, A. Nakano, K. Dobashi, C.D. Tran and Y. Matsuda, *J.C.S. Perkin I*, 1560 (1979)

- 3) Y. Murakami, A. Nakano, R. Miyata and Y. Matsuda, *ibid.*, 1669 (1979)
- 4) I. Tabushi, Y. Kuroda and Y. Kimura, *Tetrahedron Lett.*, 3327 (1976)
- 5) I. Tabushi, H. Sasaki and Y. Kuroda, *J. Am. Chem. Soc.*, **98**, 5727 (1976)
- 6) Y. Murakami, Y. Aoyama, M. Kida and A. Nakano, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **50**, 2420 (1977)
- 7) K. Odashima, A. Itai, Y. Iitaka and K. Koga, *J. Am. Chem. Soc.*, **102**, 2504 (1980)
- 8) T. Soga, K. Odashima and K. Koga, *Tetrahedron Lett.*, **21**, 4351 (1980)
- 9) K. Odashima, T. Soga and K. Koga, *ibid.*, **22**, 5311 (1981)
- 10) I. K. Chun, M.H. Lee and S.K. Kim, *J. Kor. Pharm. Sci.*, **18**, 89 (1988)
- 11) H. Stetter and E.E. Roos, *Chem. Ber.*, **88**, 1390 (1955)
- 12) J.V. Braun, *Ber.*, **41**, 2145 (1908)
- 13) C.F. Beyer, L.C. Craig, and W.A. Gibbons, *Biochem.*, **11**, 4920 (1972)
- 14) F. Diederich, and K. Dick, *Tetrahedron Lett.*, **23**, 3167 (1982)
- 15) C.K. Kim, H.Y. Ahn, J.S. Yang, Y.B. Kim and B.S. Yu, *Yakhak Hoeji*, **26**, 85 (1982)
- 16) K. Odashima, T. Soga and K. Koga, *Tetrahedron Lett.*, **22**, 5311 (1981)
- 17) I. Tabushi, H. Yamada and Y. Kuroda, *J. Org. Chem.*, **40**, 1946 (1975)
- 18) I. Tabushi and H. Yamada, *Tetrahedron*, **33**, 1101 (1977)