

인공효소의 개발

김 세 권 / 부산수산대학교 교수

1. 머리말

생체내에 존재하는 다종다양한 효소는 각각 작용하는 기질에 대하여 현저한 특이성을 가지고 있고, 생체내에서의 복잡한 화학반응을 온화한 생리적 조건하에서 촉매하는 단백질이다. 효소는 단백질 사슬로 이루어진 3차원 구조내에 기질을 인식하는 결합부위와 화학반응에 작용하는 활성부위를 가지고 있다. 효소가 촉매작용을 할 수 있는 첫 번째 이유는 결합부위에 기질이 결합되면 효소의 입체구조가 기질의 전이상태를 안정화시키도록 변형되어 활성화 에너지를 낮추어 주기 때문이며, 두 번째로 활성부위들은 결합부위에 가깝게 자리잡고 있으며(Proximity effect), 결합된 기질과 반응이 용이하도록 위치(Orientation effect)하고 있어 반응에 참여하는 화학종 등의 국지농도가 확산반응에서의 농도보다 수천배 이상 높아지기 때문이다.¹⁾

그러나 이들 효소를 공업적으로 이용하는 데는 온도, pH변화 및 유기용매에 대한 효소의 불안정성과 비싼 분리 정제비용 때문에 실용화에 문제가 되고 있다. 그래서 대량공급이 가능하고 싼 가격으로 얻을 수 있

으며 충분한 안정성을 가진 인공효소의 합성이 필요하게 되었다.

인공효소란 천연효소와 유사한 기능을 가진 합성고분자를 말한다. 여기에는 효소의 결합부위의 기질인식과 활성부위들의 반응기작에 대한 연구를 위한 대상물이나 그들의 응용을 위한 화합물로서 순수한 유기합성에 의해 만들어진 효소모방체들과 기존의 효소를 화학적 방법으로 변환시켜 새로운 촉매기능을 가지는 준합성효소 등이 포함된다. 최근에는 항체의 분자인식 능력을 이용하여 효소를 제조하는 방법이 시도되고 있다.²⁾ 즉, 전이상태 유사체에 대한 항체를 면역학적으로 생성, 분리하여 촉매반응에 이용하는 것으로써 에스테르 가수분해, 크라이젠 축합반응(Claisen condensation), 산화-환원반응 등에 촉매역할이 가능한 항체효소가 개발되고 있다.

본고에서는 인공효소의 촉매활성부위의 기본설계, 효소모델 및 인공효소의 실제개발 예에 대하여 기술하고자 한다.

2. 인공효소-수용체(receptor)와 호스트(host)-게스트(guest)화학

생체계의 반응을 수행하는 효소계는 오래 전부터 선택성과 반응가속성이 매우 높다는 점에서 일반 촉매에 비하여 매우 우수하다고 알려졌는데, 그 비밀은 소위 “자물쇠와 열쇠”설로 대표되는 기질과 효소의 특이적인 상호작용에 있다. 최근 효소 반응기작에 대한 상세한 연구가 진행됨에 따라, 여러가지 설명이 가능하게 되었지만, 본질적으로 이 “자물쇠와 열쇠”설이 현재에 있어서도 효소의 기능을 언급하는데 있어서 가장 중요한 개념이 되고 있다. 이것은 효소를 수용체로 놓아도 같은 의미이며, 2개의 분자간의 특이적 상호작용은 생체반응의 가장

중요한 기능중 하나가 된다. 이 “자물쇠와 열쇠”설에서 볼 수 있는 효소-기질간 상호작용은 보통 소수성 상호작용, 클론 상호작용, 수소결합, 배위 상호작용 등, 소위 비공유결합성 상호작용에 기초를 두고 있지, 결합에너지가 큰 공유결합은 좀처럼 관여하지 않는다. 이것은 효소가 빠른 속도로 기질을 결합, 방출을 하는 큰 회전수(turnover number)를 확보한다는 점에서 중요한 의미를 가지고 있다. 또한, 그 상호작용 양식(樣式)의 다양성은 기질 선택성을 높이는 점에서도 중요한데, 효소는 기질의 구조가 약간 변화해도 인식할 수 있기 때문에, 보통 그 결합부위는 복수(複數)의 상호작용에 근거한 소위 다중인식 부위로서 구성되고 있다(그림 1).

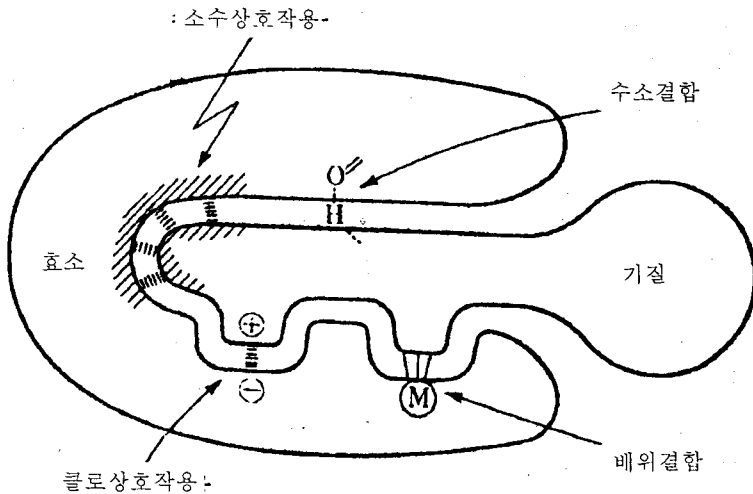


그림 1. 자물쇠와 열쇠(Lock and Key)형 다중인식부위

또한 이와 같은 효소의 특징을 가진 분자를 유기화학적으로 재구성하고자 할 때에, 첫째로 문제가 되는 것은 다중분자인식을 실현하는 분자구조를 인공적으로 만드는 것이다. 목적으로 하는 분자는 기질을 주위에서 인식하기 때문에, 필연적으로 비교적 분자량이 큰 화합물로 되는 경우가 많고, 특

히 분자내에 동공(crevices)을 가진 큰 환상 화합물이 취급이나 구조해석에 용이하게 다루어지고 있다. 따라서 호스트-게스트 화학은 이러한 일련의 화합물을 설계, 합성하고, 그 기능발현을 지향하는 화학으로서 정의될 수 있다. 이와 같은 인공화합물의 예를 표 1에 나타내었다.

표 1. 분자인식을 하는 호스트분자

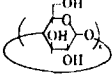
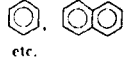
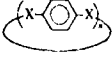


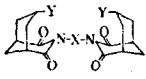



호	스	트	구	조	게	스	트
시클로							
텍스트린							etc.
시클로판						상	동
크라운						$R-NH_4^+$	
화합물						$R-N_3^+$	
			etc.			알칼리금속	
분자동공							
미셀						$CH_3(CH_2)_n-X$	
2중막							

표 1에는 큰 환상구조는 가지고 있지 않지만, 효소모델 등에 의한 생체형 분자인식을 할수 있는 분자(잡합체)의 예³⁻⁵⁾를 나타내었다. 예를 들면, 분자구(溝)(molecular cleft)라고 불리는 분자는 효소의 결합부위가 때때로 동공이라고 하기보다는 구(cleft)형태로 많이 존재하고 있는 점에 착안하여 합성된 신종 호스트 분자이다. 또한, 미셀이나 이중막은 엄격히 말해서 분자는 아니지만, 집합체로서 호스트 기능을 발현할 수 있다. 특히, 미셀은 인공효소 연구의 초기에 자주 이용되어졌다.

이들 호스트는 각각 특유의 분자인식능력을 나타내지만, 그 인식은 대부분의 경우 단순하여 생체계의 다중인식을 실현하기 위해서는 목적으로 하는 게스트분자에 대응하는 인식기를 여러개 도입할 필요가 있다. 뒤에, 몇가지의 예를 보이겠지만, 이러한 인식기의 도입은 인공효소의 경우, 촉매기의 도입과 관련하여 복잡한 합성경로를 필요로 하는 경우도 있고, 분자모델에서의 조합이 실제의 합성에서 매우 곤란하게 되는 경우

도 있어, 호스트 설계단계에서 합성경로를 잘 검토하고, 특히 그것에 맞는 합성법을 확립하여 둘 필요가 있다.

3. 인공효소에 있어서 촉매 활성부위의 설계

앞에서 기술한 호스트분자를 이용함으로써 효소의 분자인식부분이 인공적으로 실현 가능하지만, 인공효소로서는 역시 촉매부위가 필요하다. 유기합성 입장에서 호스트분자에 대하여 임의의 치환기를 도입하는 것이 가능하다고 생각되므로, 인공효소의 설계와 합성에 있어서는 다음 2가지 기본 전략이 효과적이라 할 수 있다.

- ① 인공효소의 분자인식부위와 촉매활성부위는 각각 독립적으로 설계할 수 있다.
 - ② 특히, 촉매활성부위에 있어서의 분자설계는 천연효소의 기능해석에 기초를 두고 있다.
- ①의 항에 대해서 예를 들면, 긴사슬 알

길기를 가지고 있는 기질이 목적으로 될 경우에는 미셀을, 벤젠환을 가진 기질의 경우에는 시클로텍스트린을 호스트로 선택하고, 목적하는 반응이 가수분해반응이면 카르보닐기에 대한 친핵성 촉매기를, 또 아미노산 생성이면 피리독사민기를 촉매기로 선택하여 조합시킴으로써 인공효소를 설계할 수 있다는 것을 의미한다. ②에 대해서는 그림 2에 나타낸 순서대로 효소기능발현에 필요한 최소 구조인자를 알아내고, 그 결과를 근거로 하여 촉매부위를 설계할 수 있다는 것을 의미하고 있다.

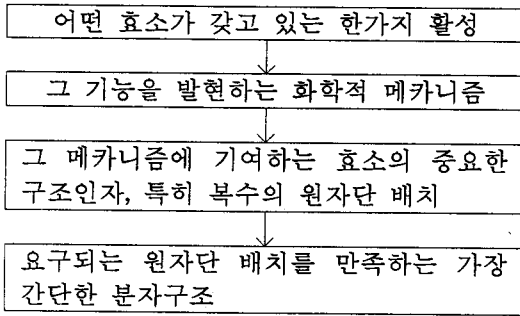


그림 2. 인공효소의 촉매부위 설계

여기에서 구조인자에 대해서는 효소의 X 선해석이 유용하게 이루어지면 문제가 없지만, 그렇지 못할 경우, 변형효소의 활성측정이나, 맵핑(Mapping : 기질의 구조를 변화시키는 실험)에서 얻은 추정정보를 이용하여 적당한 인공효소로 재현하고, 그 촉매반응을 해석함으로써 추론할 수도 있다.

이 촉매부위 설계에 있어서는 “동기능변환원리(isofunctional substitution principle)”라고 하는 원리를 적용하는 것이 효과적이다.⁶⁾ 즉, 인공효소의 구축에 있어서 효소의 이해는 불가피하지만, 목적은 효소와 같은 구조를 만드는 것이 아니다. 여기서 중요한 것은 효소와 동일한 또는 보다 우수한 기능을 가지고 동시에 인공계에서 재현할 수 있도록 적합한 치환기나 화합물로 치환시킨다는 것이다. 따라서, 유기화학에서 축적된 정보를 충분히 활용하여 효소의 기능발현에 필요한 부분부분을 바꿈으로써 인공효소를 설계할 수 있는 유력한 방법이 될 수 있을

것으로 생각된다. 이 동기능변환원리의 실제 예로서 그림 2에 α -키모트립신의 가수분해 촉매기능을 미셀에서 발현시킨 예가 있다.⁷⁾

그림 3은 키모트립신의 활성부위를 모식적으로 나타낸 것이지만, 기질 트립토판기를 인식하고 있는 부위와 소위 Ser-His-Asp의 전자 중계에 의한 촉매부위가 독립되어 있는 것을 알 수 있다.

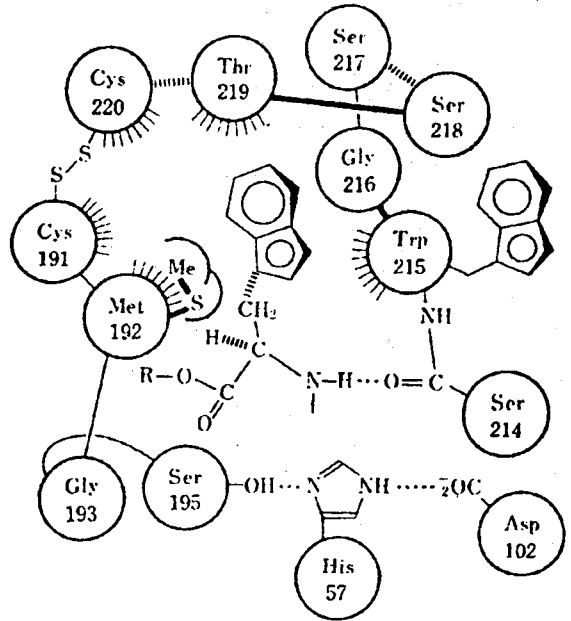


그림 3. α -키모트립신의 촉매활성부위

따라서, 그림 4에 나타는 바와 같이 인식부위에 대한 소수성 포켓으로서 미셀을 이용하고, 친핵성을 높일 수 있는 Ser-OH기에 대응하는 히드록삼산(hydroxamic acid)을 이용함으로써 키모트립신 유사체의 활성을 기대할 수 있다. 실제 표 2에 나타난 것처럼 아세틸트리메틸암모늄(acetyltrimethylammonium) 미셀(micelle)에 의한 계(system)는 p-니트로페닐아세테이트(nitrophenylacetate)에 대하여 키모트립신에 필적한 만한 활성을 나타내었고, p-니트로페닐(nitrophenyl)- α -클로로아세테이트(chloroacetate)에 대해서는 최적기질 트립토판의

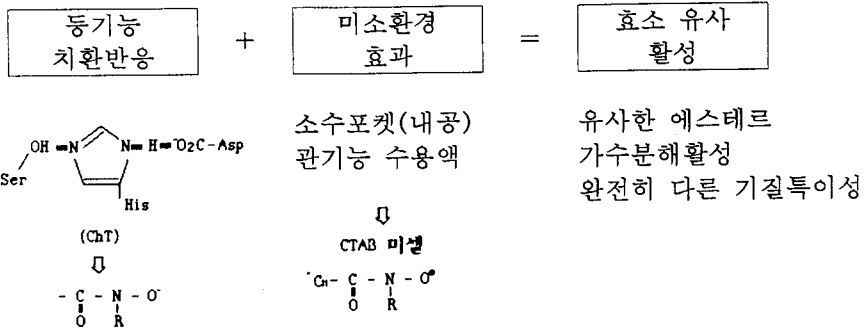

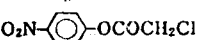


그림 4. 등기능변환원리에 기반을 둔 인공가수분해효소의 합성

표 2. C₁₁H₂₈CON(CH₃)OH-CTAB미셀(HA-CTAB)에서의 가수분해촉매효소

촉 매	기 질	k _{cat} (s ⁻¹ M ⁻¹)	pH
HA-CTAB		945	8.96
α-ChT	"	563	7.94
HA-CTAB	N ^ε -AcTrp-PNP	3.34 × 10 ⁴	9.99
α-ChT	"	1.5 × 10 ⁷	8.0
HA-CTAB		1.29 × 10 ⁶	9.99
α-ChT	"	1.03 × 10 ⁶	7.85

p-니트로페닐아세테이트와 동등한 절대 속도를 나타내었다. 이 초기의 인공효소에는 단순히 기질선택성이라는 점에 있어서 단순알킬사슬에 의한 소수성만을 인식하였지만, 인공효소가 천연효소와 반응속도에 있어서는 거의 동등하게 합성될 수 있다는 사실을 시사하는 점에서 중요하다.

이상 서술한 것처럼, 기질인식부위로서 호스트분자를 준비하고, 이것에 대하여 촉매활성부위를 부여함으로써 인공효소의 합성에 도달할 수 있지만, 얻어진 인공효소에 기대할 수 있는 기능으로서는 다음과 같은 것을 들 수 있다.

- a. 특정반응만을 현저하게 가속해야 한다 : 가속성
- b. 특정기질만을 선택해야 한다 : 기질선택성
- c. 기질의 특정위치만을 선택해야 한다 : 위치특이성
- d. 특정의 입체화학만을 선택 또는 생성

해야 한다 : 입체특이성, 광학특이성
 e. 가능한 반응경로 중 어느 한가지만을 선택해야 한다 : 반응특이성
 이들 중 어느 혹은 원하는 모든 조건을 만족하는 기능성 촉매가 얻어졌을 때, 인공효소의 합성은 성공했다고 할 수 있다.

4. 인공효소의 개발

1) 시토크롬(Cytochrome) P-450효소

시토크롬 P-450은 세균에서부터 인간에 이르기까지 광범위하게 분포하고 있으며, 생체계를 유지하는데 필요한 물질을 합성하고, 또한 고등동물에서는 체내로 침입해 온 독물(毒物)의 산화분해를 수행하는 등 그 역할이 다양하다. 그러나 P-450이 수행하는 많은 역할 중에서 어느 것이나 공통적인 특징을 가지고 있으며, 반응은 혈중의 산소를 산소원으로 하여 이것을 생체내 NADH에서의 전자를 이용

하여 산소분자를 활성화시키는 점에서 공통의 반응기구를 가지고 있다.⁸⁾ 이 활성화 반응은 철-포피린을 기능중심으로 하여 촉매작용을 받는다. 이 P-450의 반응기구는 분자상 산소를 사용하며, 그 활성화에 환원제를 이용하는 점에서 매우 독특하다. 이 모델화는 산송 반응기구적인 흥미와 실용적인 이용이라는 양면성 때문에 많은 화학자들에 의해서 연구되어 왔다. 산소화 및 산화분해를 수행하는데 환원제를 사용하는 반응은 적어도 종래의 화학 반응에 대한 상식을 초월하고 있지만, 효소에 대한 반응기구는 현재 그림 5와 같이 생각할 수 있다.

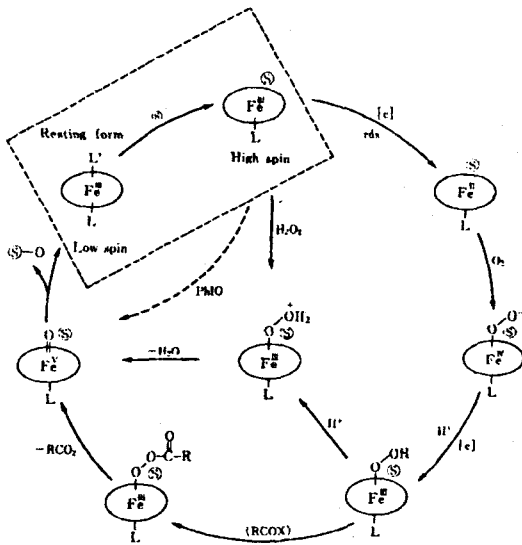


그림 5. 인공 P-450의 산소산화반응 메카니즘

복잡한 반응기구이지만, 다음의 2가지 점에서 주목할 필요가 있다. (a) 전체 반응 속도를 조절하는 것은 Fe^{II}에서 Fe^{III}로의 환원이며, 여기서 환원제가 소비된다. (b) 반응을 실제로 유지하는 중간체는 Fe^v=O이지만, Fe^v는 보통에서는 볼 수 없는 매우 불안정한 화학종이다. 따라서 인공 시토크롬 P-450활성을 발현하기 위해서는, Fe^{III}

→Fe^{II}로 반응에 대응하는 전자공급을 어떻게 하면 빨리 수행할 수 있을 것인가를 생각해야 한다. 즉, 산화반응을 행하는 데에서 가능하면 유효한(효율이 높고 또한 선택적인)환원제를 이용할 필요가 있다. Tabushi등은 NaBH₄등의 환원제도 유효하다는 것을 보였지만⁹⁾, 부반응 등이 생긴다는 점에서 고분자에 고정화된 콜로이드 Pt-H₂계가 현재까지 가장 적합하다는 것으로 되어 있다. 실제로 이 계는 수소를 전자원(電子源)으로 하여 콜로이드상의 Pt미립자가 촉매가 되어 매우 빠른 속도로 포피린 Fe^{II}를 환원시킨다. 여기에 산소를 공급하면 P-450형의 산화반응이 진행하지만, 이 인공 P-450 효소는 천연의 P-450이 수행할 정도의 반응을 수행할 수 있고, 올레핀의 에폭시화, 벤젠의 수산화, 알킬기의 산소산화 등과 같은 반응을 분자상 산소를 이용하여 수행할 수도 있다 (그림 6).

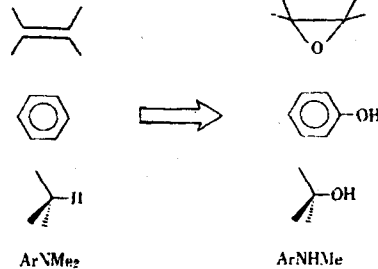
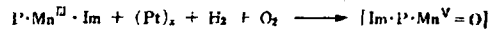


그림 6. 인공 P-450이 촉매하는 산화반응

사용되는 포피린(porphyrin)은 쉽게 합성할 수 있는 테트라페닐포피린형(tetraphenylporphyrin form)으로 하고 중심금속으로서 인공계에서 Mn이 실용상으로 유리하다. 이 인공 P-450은 네롤(nerol) 등의 천연 디올레핀(diolefin)에 상당히 높은 위치선택성과 입체특이성을 갖고 있어 에폭시화할 수 있다(표 3)¹⁰⁾. 특히 기질인 식용의 결합부위를 갖고 있지 않는 인공 P-450에서 이러한 위치 및 입체특이성이 관측되었다는 것은 Mn=O포피린으로의 올레핀 접근이 큰 포피린 배위자 때문에 억제되고 있기 때문이라고 생각할 수 있다.

표 3. 인공 P-450에 의한 디올레핀의 에폭시화

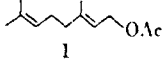
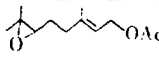
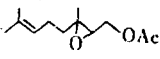
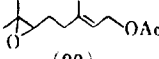
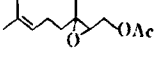
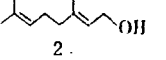
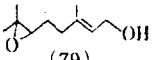
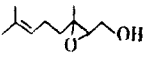
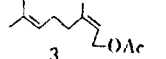
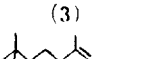
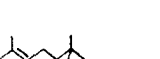
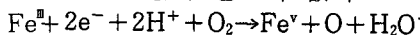
기 질	포 피 린	Pt콜로이드	반응율	수 율	생 성	물
 1 (2.8×10^{-3})	TSO_3NaPP (2.8×10^{-5})	Pt/PVA (9×10^{-6})	56	5.600 (28.600)	 (93)	 (7)
1 (2.8×10^{-3})	TPP (2.8×10^{-5})	Pt/PVA (9×10^{-6})	33	3.300 (34.600)	 (90)	 (10)
 2 (2.8×10^{-3})	TSO_3NaPP (2.8×10^{-5})	Pt/PVA (9×10^{-6})	85	8.500 (53.800)	 (79)	 (18)
 3 (2.8×10^{-3})	TSO_3NaPP (2.8×10^{-5})	Pt/PVA (6×10^{-6})	81	4.050 (40.500)	 (3)	 (93)

표 3에서도 알 수 있듯이, 인공 P-450은 촉매효율도 높고, 실제의 합성 규모로서도 이용할 수 있으며, 분자상 산소를 이용하는 우수한 산화반응 시약으로서 이용하는 것이 가능하다.

단지 한가지 남은 문제는, $\text{Fe}^{\text{III}} \rightarrow \text{Fe}^{\text{V}}=0$ 과 $\text{Mn}^{\text{IV}} \rightarrow \text{Mn}^{\text{V}}$ 의 환원은 상당히 빠르지만, 생성되는 $\text{M}=0$ 가 강한 환원제(Pt) x^{2-} 에 의해 빠르게 환원되기 때문에, 생성되는 $\text{M}=0$ 는 1/20밖에 기질의 산화반응에 이용되지 못한다는 점이다. 이것을 피하기 위해서는 약한 환원제를 이용하면 되지만, 그렇게 하면 전체의 율속단계가 느리게 된다. 이러한 모순들은 효소에 대하여 보다 깊은 고찰을 통해서 해결의 실마리를 찾을 수 있다. 즉, 시토크롬 P-450은 P-450 환원효소라고 하는 별개의 효소의 도움을 받아 NADH(NADPH)전자를 받아서 반응을 수행한다.¹¹⁾ 그림 5에서도 알 수 있듯이, $\text{Fe}^{\text{III}} \rightarrow \text{Fe}^{\text{V}}=0$ 을 생성하는 데에는 2개의 전자로 충분하며, NADH는 당연히 필요한 2개의 전자만을 공급하기 때문에 그 이상의 전자공급은 전혀 필요가 없다.



그리고 이 반응에서 생성되는 NAD^+ 는 이미 $\text{Fe}^{\text{V}}=0$ 를 환원할 수 있는 능력이 없다. 여기에서 NAD^+ 를 환원효소로 인식시

켜 어느 정도의 시간이 경과한 후 활성부위에 머물게 하고, 또한 그 기질을 $\text{Fe}^{\text{V}}=0$ 중간체의 근방에 보충하게 되면, $\text{Fe}^{\text{V}}=0$ 는 환원되지 않고 기질에 산소를 주는 것으로 생각할 수 있다. 이와 같은 생각으로 등기능변환원리를 전체반응에 이용하여 NADH 대신에 디히드로니코틴아미드(NAH), P-450환원효소의 전자전달에 관여하는 플라빈기를 이용함으로써 천연효소에 못지않은 인공 P-450을 합성할 수 있다(그림 7(a))¹²⁾.

특히, NAH에서 플라빈(flavin)으로의 전자이동속도는 NAH인식성 호스트를 첨가한 그림5(b)에 의해 보다 높은 효율로 수행하는 것이 가능하지만, 이 계는 Kaiser등에 의한 플라보파파인(flavopapain) 보다는 전체 효율에서 우수한 것은 주목해야 할 필요가 있다.¹³⁾

2) 시클로덱스트린(Cyclodextrin)을 이용한 인공효소

감자의 전분에 효소를 작용시켜 얻을 수 있는 환상 올리고당인 시클로덱스트린은 D-글루코오스가 α -1, 4-글리코시드 결합으로 연결되어 있고, 전체의 형태는 마치 바구니(bucket)의 바닥을 도리어낸 것과 같은 형상이다. 고리를 구성하는

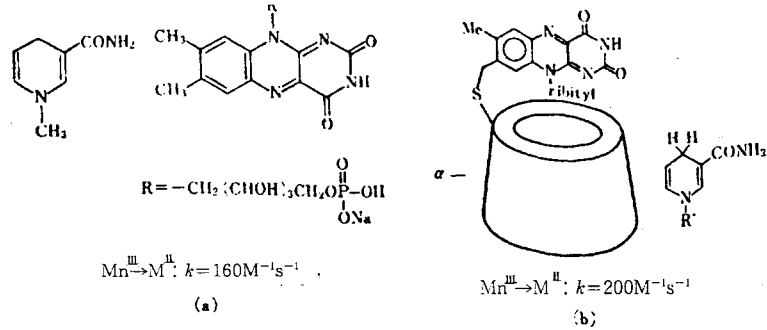


그림 7

글루코오스 수는 6, 7, 8개이며, 이들을 각각 α , β , γ -시클로텍스트린이라고 부르고 있다. 이들의 화합물은 분자내에 각각 0.5nm, 0.7nm, 0.85nm의 내공을 가지고 있어 일반 유기화합물에 잘 맞고, 넓은 쪽 테두리에는 2급 히드록시기가 위치해 있

고, 좁은 쪽 테두리에는 1급 히드록시기가 위치해 있다. 가운데 구멍의 폭은 텍스트린에 포함된 글루코오스의 수에 따라 달라지며 벽은 소수성 부분으로 구성되어 있으나 전체적으로 많은 수산기를 가지고 있기 때문에 물에 잘 녹는다.³⁾

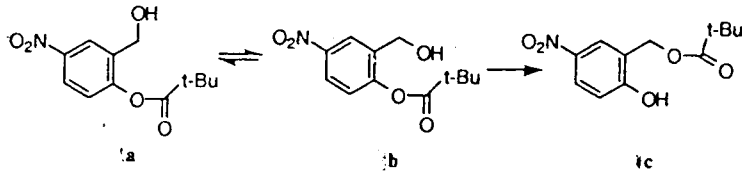


그림 8

시클로텍스트린의 구멍 속은 소수성 환경을 가지고 있기 때문에 물속에서 소수성 물질은 시클로텍스트린의 구멍 속을 차지하여 착화합물을 형성하게 된다. 구멍 속의 소수성 매질이 촉매작용으로 연결된 예로 페닐시아노 아세트산의 탈카르복실화 반응을 들 수 있다.¹⁴⁾ 이 반응은 전이 상태에서 음전하 밀도가 낮아지기 때문에 소수성 매질 속에서 가속됨이 알려져 있다.

시클로텍스트린 구멍 속에 분자가 삽입되면 이 분자 내의 형태 자유도가 억제되게 된다. 이에 따라 생산적인 형태의 농도

가 증가하여 촉매작용으로 연결될 수도 있다. 예를 들어 시클로텍스트린 구멍 속에 그림 8b의 농도가 증가함으로써 그림 8c를 형성하는 분자내 친핵성 반응속도가 5~6배 증가한다.¹⁵⁾

시클로텍스트린이 가지고 있는 유일한 작용기인 1급 및 2급 히드록시기가 친핵체로 작용하여 에스테르와 같은 게스트 분자를 공격하는 반응에 대하여 많은 연구가 되어 있다. 히드록시기가 친핵체로 작용하여 에스테르를 공격하면 비교적 안정한 에스테르(아실-시클로텍스트린)가 중간체로 형성되기 때문에 기질인 에스테

르의 가수분해에 대하여 시클로텍스트린이 촉매로 작용하지 않는다는 점에 유의할 필요가 있다. 페닐 고리에 다양한 치환기를 가진 페닐아세테이트는 시클로텍스트린과 착화합물을 만든 뒤, 시클로텍스트린의 2급 히드록시기의 음이온의 공격을 받아 에스테르 결합이 절단된다. 이 반응에서 치환기가 메타 위치에 도입된 경우가 파라 위치에 도입된 것보다 훨씬 빠른 속도를 보여준다.

시클로텍스트린은 순수한 물 속에서 뿐만 아니라, 디메틸설폭사이드(DMSO)를 상당량 포함하는 물 속에서도 소수성 기질과 착화합물을 형성한다. β -시클로텍스트린은 60% (v/v) DMSO속에서 *p*-니트로페닐페로신나메이트(그림 9)와 착화합물을 형성하며, 이 때 그림 9의 탈아실화 속도는 75만배 가속된다.¹⁶⁾ 이에 비해 *m-t*-부틸페닐아세테이트의 탈아실화 반응은 단지 260배 가속된다. 이러한 차이는 에스

테르 기질의 구조 차이로 설명된다.

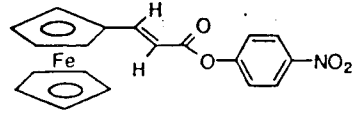


그림 9

이 시클로텍스트린을 그대로 이용해도 효소 유사반응 가속성을 나타내는 것이 이미 Cramer¹⁷⁾나 Bender 등³⁾에 의해 보고되었다. 이것은 시클로텍스트린의 수산기가 친핵체로 작용하여 카르보닐기 등을 가진 기질을 일단 결합부위에 삽입하고 나서 소위 Michaelis-Menten형의 반응양상을 재현하게 된다(그림 10).

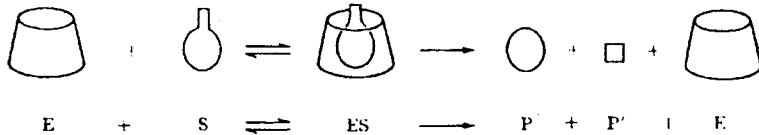
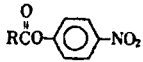


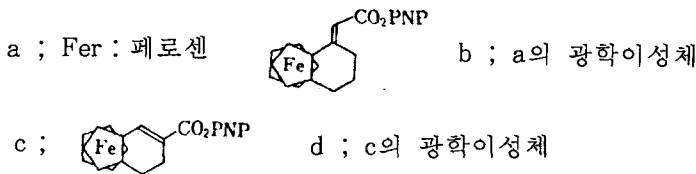
그림 10

가수분해반응 이외의 반응에 있어서도, 같은 형태의 효소형 가속성을 나타내는 계(system)가 있지만, 지금까지 무치환의 시클로텍스트린을 이용하여 반응가속이 있는 것으로 알려진 반응에 있어서 가속 효과는 천연효소에 비해 적다. 그러나 Breslow 등¹⁸⁾은 무치환 시클로텍스트린을 사용하여도 기질을 적당히 선택하면, 효소에 필적할 정도로 혹은 그것을 능가할 만큼의 반응가속을 나타내는 경우가 있다고 하였는데, 이 경우 기질로서 페로센형(ferrocen) 화합물을 사용하여 에스테르기

의 위치를 시클로텍스트린에 접근시켰을 때 기질로서 페로센 유도체가 2급 수산기에 알맞게 접근하도록 설계하여 사용했을 때에는 얻을 수 있는 결과이다(표 4). 이와 같은 접근법은 “Guest-design”이라고도 하는데, 기질을 호스트에 맞게 설계한다는 점에서 본래의 인공효소합성의 목적에서 보면 조금 문제가 있지만, 인공효소가 어느 정도 가속성을 나타내는지를 명확히 하고 있다는 점에서 매우 흥미롭다. 이 계에서는 광학이성체에 대해서 선택성이 매우 높은 것으로 밝혀졌다.

표 4. 베타-시클로덱스트린 촉매에 의한 가수분해반응

	$k_{un} \times 10^8$ (S ⁻¹)	$k_{complex} \times 10^3$ (S ⁻¹)	K_{ass} (M ⁻¹)	$k_{complex}/k_{un}$
Ad-propiolate	3,900	84	3,300	2,200
3-t-Bu-Ad-propiolate	3,900	590	560	15,000
Fer-acrylate	26.7	96	110	360,000
Fer-exocyclic ester				
a	2.25	72.3	260	3,200,000
b	2.25	3.56	220	160,000
Fer-endocyclic ester				
c	15.3	10.1	260	66,000
d	15.3	1.56	220	10,000



3) 변형 시클로덱스트린(Modified cyclodextrin)을 이용하는 인공효소

앞에서 본 것과 같이 시클로덱스트린은 효소모델로서 매우 유리한 호스트인 것이 밝혀졌기 때문에, 이것을 변형시켜 보다 고도의 효소모델을 얻도록 하는 시험이 많이 시도되고 있다. 그 최초의 예는 Cramer 등에 의한 이미다졸기(Imidazole)를 도입한 시클로덱스트린이다.¹⁹⁾ 그러나, 이것은 이미다졸기가 시클로덱스트린의 어디에 도입되었는지를 알 수 없을 뿐 아니라, 에스테르 가수분해에 대한 가속효과도 크지않았다. 이후 다수의 연구가 행하여졌는데, 보다 고도의 인공효소합성을 위해서는 복수의 촉매를 도입함으로써, 다관능성(multiple function)촉매효과를 시클로덱스트린 상에서 실현할 필요가 있다는 것이 밝혀졌다. 이 다관능성-시클로덱스트린 합성은 Tabushi 등의 캡을 씌운 시클로덱스트린(capped cyclodextrin)에 의해 시작되었다.²⁰⁾ β-시클로덱스트린의 7개의 글루코오스에 위치선택적으로 치환기를 도입하는 것이 요점(key point)이지만, 여러가지 길이의 캡을 만들 수 있는 시약(대

부분 디설포닐클로이드 형태)을 사용하여 시클로덱스트린에 캡을 씌워 AB, AC, AD 형태의 캡을 씌운 시클로덱스트린을 합성할 수 있다(그림 11).²¹⁾ 이 캡을 씌운 시클로덱스트린에 각종 친핵체 시약을 반응시킴으로써 위치 선택적으로 관능기가 도입된 시클로덱스트린을 얻을 수 있었다.²²⁾

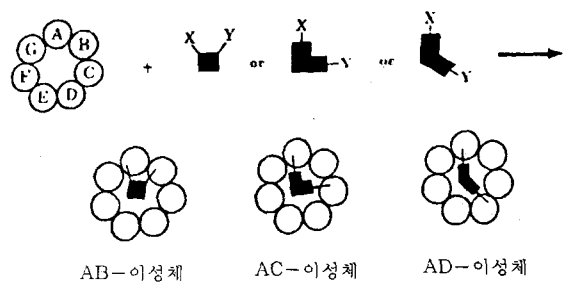


그림 11. 캡을 씌운 시클로덱스트린

이 캡을 씌운 시클로덱스트린을 이용한 인공효소의 성공 예로서 Breslow 등에 의한 리보핵산 가수분해효소(ribonuclease) 모델이 유명하다.²³⁾ 그들은 이 캡시클로덱

스트린에 이미다졸을 반응시켜 다이미다졸 시클로덱스트린을 합성하였다. 이 화합물은 환상 인산에스테르를 가수분해하는데 그 결과중에서도 특히 흥미로운 것은 다음의 2가지 점이다.

① 반응 pH의존성은 효소반응에서 자주 볼 수 있는 벨형으로, 중성 부근에서 1개의 이미다졸은 염기로서, 또 하나의 이미다졸은 산으로서 작용하여 산-염기형 촉매부위를 형성하고 있다.

② 이미다졸기의 사슬길이를 변화시키면 인산에스테르를 가수분해할 때, 친핵체공격의 위치가 바뀐다.

이와 같은 특징은 그림 12에 나타난 것과 같은 메카니즘으로서 촉매반응이 진행하고 있다는 것을 나타내고, 선택성의 차이는 촉매의 길이에 의해 물분자가 기질을 공격하는 방향의 제어되기 때문이라고 생각된다.

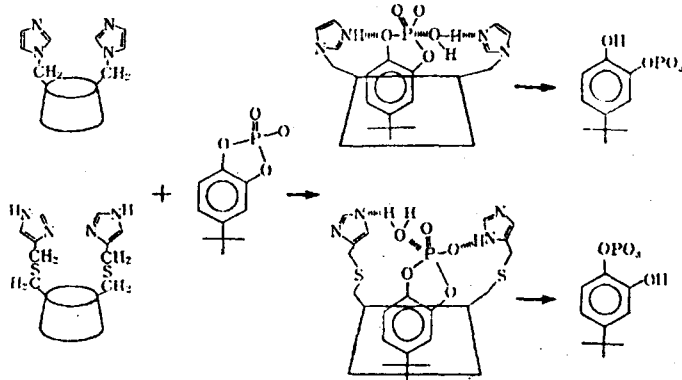
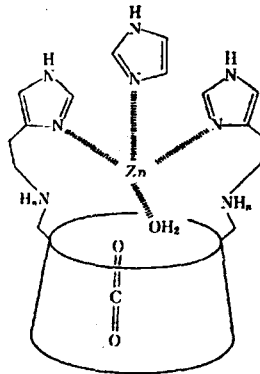


그림 12. 리보뉴클레아제 모델에 의한 인산가수분해

이 캡을 씌우는 방법(capping method)을 이용한 또 다른 인공효소의 예로서는, Tabusshi 등의 탄산 탈수소효소(carbonic anhydrase)모델이 있다.²⁴⁾ 이것은 캡이 있는 시클로덱스트린에 히스타민(histamine)을 반응시켜 얻을 수 있는 시클로덱스트린유도체를 Zn착물로 하고, 이미다졸 완충액중에서 탄산가스의 수화반응을 일으킨다. 탄산 탈수소효소는 천연효소 중에서도 가장 빠른 반응속도를 가지고 있기 때문에, 인공효소 모델의 활성은 천연효소와는 비교할 수 없지만(표 5), 이미다졸 완충액 이외에 HEPES 완충액 등에서는 활성이 나타나지 않는다는 점에서 그림 13에 나타낸 활성종이 촉매의 본체라고 생각할 수 있다.

이들 인공효소에 착안하여 Breslow 등은 피리독사민(pyridoxamine)을 시클로덱스트린 상에 도입한 아미노기 전달효소(transaminase)모델을 합성하였다.²⁵⁾ 이것은 시클로덱스트린 모노토실산(monotosyl-

ate)에 메캡토피리독사민(mercaptopyridoxamine)을 반응시켜 얻은 인공효소로서, 페닐피루브산(phenylpyruvic acid) 혹은 인돌피루브산(indolpyruvic acid)이라고 하는 소수성 케토산(keto acid)을 아미노산으로 변환시키는 것이다(그림 14).



(His)₂CD Zn Imd Complex
그림 13. 탄산수화반응의 활성종

표 5. 인공 탄산탈수효소에 의한 탄산수화반응

Zn	Buffer	pH	$k_{cat}(s^{-1}M^{-1})$	(at n recycling)	$k_{deact}(s^{-1}M^{-1})$
0	Imd	7.0	0	(1)	340 ± 20
0	Imd	7.5	0	(1)	800 ± 200
5×10^{-8}	Imd	7.5	$3,100 \pm 800$	0	
			$2,600 \pm 800$	1	800 ± 200
			$2,400 \pm 900$	2	
2×10^{-3}	Imd	7.8	$3,500 \pm 800$	0	
			$3,400 \pm 800$	1	920 ± 200
			$3,200 \pm 900$	2	
0	HEPES	7.0	0	(1)	250 ± 100
5×10^{-8}	HEPES	7.0	0	(1)	270 ± 100

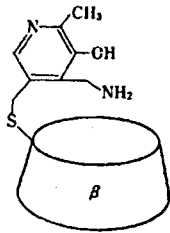


그림 14

하면 키랄유도를 비롯하여 여러가지 유용한 특이성이 발현시킬 수가 있으며, 여기서는 아미노산 생성반응에 관하여는 인공 아미노기 전달효소에 대해서 그 예를 들겠다.

최근 X선해석 및 효소화학적 해석에 의하면 아미노기 전달효소의 활성중심에 있어서 피리독살 보조소는 효소의 벽에 있는 리진아미노 잔기에 의해 시프염기(Schiff base)결합으로 포착(捕捉)된다.(그림 15)²⁶⁾

한편, 인공효소에도 분자인식력을 갖게

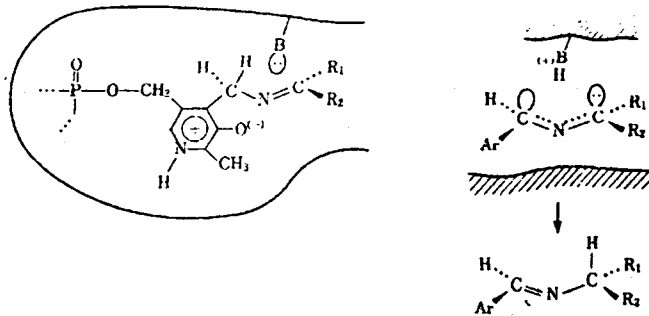


그림 15. 아미노산 전달효소 활성부위에서의 양성자 전이반응

같은 방법으로 피리독사민이 케토산을 포착하게 되면, 피리독사민-NH=C-케토산형의 시프염기가 형성되고 그 평면은 효소벽과의 상호작용에 의해 고정된다. 이때, 유리된 리진의 아미노기가 효소의 벽에 매달리게 되고, 이것이 [양성자 전이반

응]의 위상화학(topochemistry)을 결정하게 된다. 이것에 의해 광학활성이 없는 케토산에서 L(혹은 D)형 광학활성 아미노산이 합성된다. 따라서 앞의 Breslow등의 효소모델에 이 리진 잔기의 양성자 이동촉매효과를 부여하면, 더욱 광학유도율이 높

은 인공효소가 합성될 수 있을 것이다. 이러한 생각을 실제의 인공효소설계에 적용하면 다음과 같이 된다. 먼저, ① 피리독사민과 호스트인 시클로덱스트린을 묶고(이것은 효소에서는 많은 상호작용을 이용하지만, 인공효소에서는 공유결합 한개로 충

분하다), 다음에 ② 케토산 시프염기의 평면을 고정한다. 이것은 그림 16과 같이 CO₂가 친수성, R이 소수성으로서 시클로덱스트린의 동공에 들어가는 것과 시클로덱스트린과 피리독사민이 공유결합하고 있다는 등의 3요소로 실현할 수 있다.

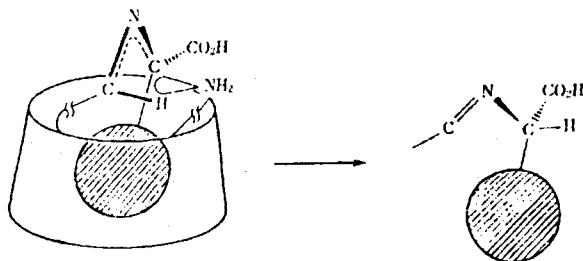


그림 16. 시클로덱스트린에서의 핵심적 키랄인식

마지막으로, ③ 아미노기를 고정한 시프염기의 평면 한쪽으로만 접근시키는 위상 화학을 설정한다. 이것은 아미노기를 시클로덱스트린에 그 방향을 유지한 채, 위치 특이적으로 옮겨 심는 것으로 확립되었다. 이 방법에 따라서 그림 17에 나타난 합성을 하여 AB치환체와 BA치환체를 분리하

였다²⁷⁾. 얻어진 이성체 중 AB치환체는 실제, 페닐글리신, 페닐알라린, 트립토판과 같은 소수성 아미노산을 95~98%라고 하는 높은 광학수율로 생성하는 것이 밝혀짐으로써, 분자인식에 근거를 둔 인공효소설계가 유효한 수단이라는 것으로 보여 주었다.

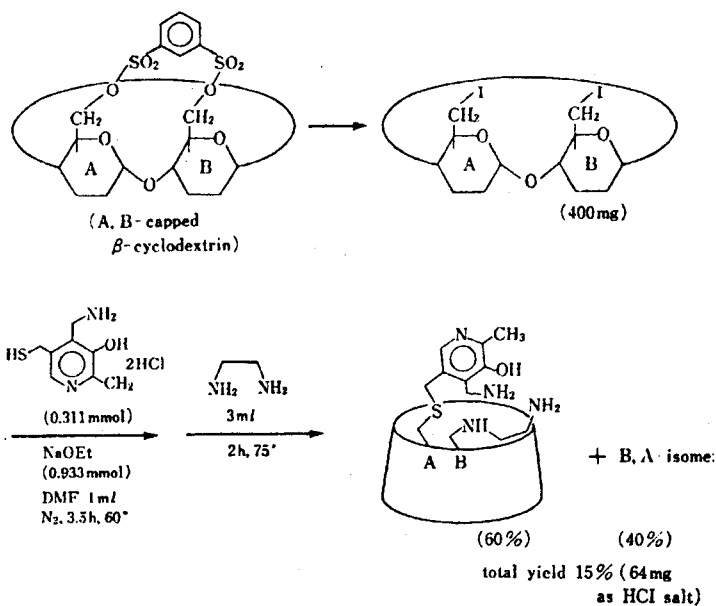


그림 17. 키랄인식을 하는 아미노기 전달효소 모델의 합성

4) 시클로판(Cyclophane)을 이용한 인공효소

시클로판은 적어도 한개의 방향족 고리의 양쪽이 적어도 한개의 지방족 고리에 의하여 연결된 수용체 분자이다.²⁸⁾

시클로판의 고리내부에 분자가 포함되어 착화합물을 형성하는 최초의 예는 그림 18이 듀렌과 이룬 착화합물이다. 그 이후에 시클로판의 구조를 다양하게 변화시키면서 여러가지의 분자간 힘을 이용하여 게스트 분자를 인식하여 착화합물을 효과적으로 형성시키려는 연구와 시클로판의 부착시킨 작용기를 이용하여 효소를 모방한 촉매를 제작하려는 연구가 활발히 시도되었다.

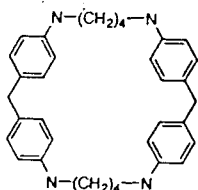
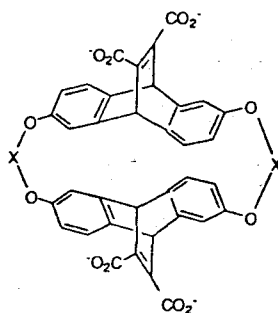


그림 18

시클로판이 호스트 분자의 역할을 효과적으로 수행하기 위하여 거대고리 골격의 형태를 고정에 의해 게스트 분자를 수용할 구멍이 작아지지 않도록 하여야 한다.

시클로판의 효율성을 제고하려면 물에 대한 용해도를 증가시켜야만 한다. 이를 위하여 분자내에 친수성 부분을 도입하여야 한다. 한편, 물속에서 게스트와의 결합력을 높이려면 소수성 작용을 활용하여야 하는데, 이를 위하여서는 분자내에 소수성 부분을 도입해야 한다. 이러한 두 측면을 수용하기 위하여 분자내의 친수성 부분과 소수성 부분을 빨리 떨어지도록 시클로판의 구조를 설계하기도 하는데 그 예로 그림 19와 그림 20을 들 수 있다. 그림 19a와 비교하여 19b는 내부 구멍이 쉽게 붕괴되지 않는 형태상의 안정도를 가지고 있어 게스트 분자와의 결합능력이 훨씬 뛰어나다.²⁹⁾



19a: X = $-(CH_2)_4-$

19b: X = $-CH_2-C_6H_4-CH_2-$

그림 19

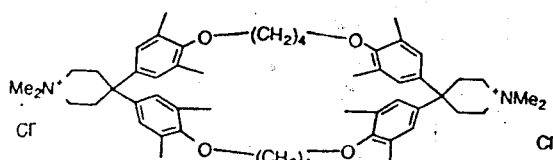


그림 20

호스트 분자의 결합능력을 제고하기 위하여 전자 공여체-수용체 작용을 분자간의 힘으로 활용할 수 있게끔 시클로판의 구조를 고안하기도 한다. 예를 들어 그림 20에서 페녹시 벤젠부분이 전자 공여체로 작용하여 전자가 결합된 나프탈렌 유도체와 효과적으로 결합하는 것이 관찰되었다.³⁰⁾ 벤젠 고리의 전자 밀도가 높은 그림 19b는 전자 밀도가 높은 인돌 유도체보다 전자 밀도가 낮은 퀴놀린 혹은 이소 퀴놀린 유도체와 착화합물을 더 강하게 형성한다.

생체계에서의 분자인식에서는 수소결합이 매우 중요한 역할을 하는데 단백질과 핵산의 나선형 삼차원 구조에서 그 전형적인 예를 볼 수 있다. 소형분자에서도 수소결합을 사용하여 분자인식을 더 효과적으로 성취하려는 노력을 기울이고 있다. 시클로판에서도 게스트의 구조를 인식하여 선택적이고 강한 착화합물을 형성하는데 수소결합을 효과적으로 활용한 연구가

보고되고 있다.³¹⁾

시클로판의 분자인식 능력을 다양화하기 위한 노력에서 외부 자극에 의해 시클로판의 내부구멍의 기하학적인 구조에 변화가 유도되어 게스트의 결합능력이 영향을 받는 경우가 연구되었다. 예를 들어, 그림 21은 가시광선과 자외선을 교차하여 쪼여줄 때 가역적인 화학 변화가 일어나서 구멍의 크기가 바뀌게 된다.³²⁾ 아조 벤젠이 자외선을 쬐이면 불안정한 시스형태로 바뀌었다가 가시광선을 쬐이면 안정한 트란스형태로 복원된다는 사실을 이용하여 구조 변화를 유도하는 시클로판도 보고되었다.³³⁾

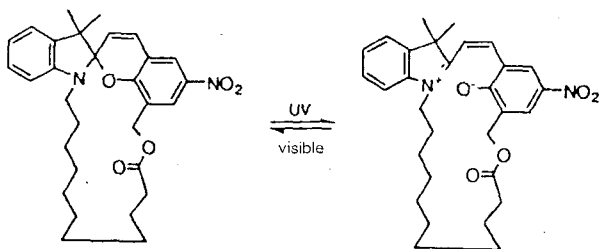


그림 21

이외에도 플라빈을 모방한 시클로판을 합성하여 산화 환원 반응에 의하여 그 구조 변화를 가역적으로 유도하는 예도 알려져 있다.³⁴⁾

키랄성 게스트 분자의 구조를 인식하는 시클로판을 설계하려는 연구도 시작되었다. 예를 들어 그림 22는 키랄성 시클로판이기 때문에 게스트의 키랄성을 인식할 수 있어서 만델산의 두 광학 이성질체와 선별적으로 결합하는 능력을 가지고 있다.

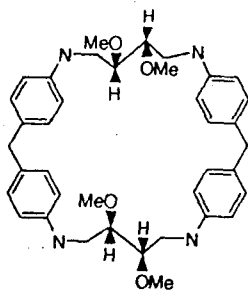


그림 22

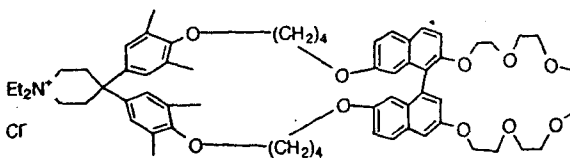


그림 23

시클로판의 내부 구멍을 결합부위로 사용하면서 제2의 결합부위를 추가로 도입하려는 연구도 진행되고 있는데 예를 들어 그림 23은 소수성 탄화수소를 결합하는 시클로판 부분과 금속이온을 인식하는 크라운 에테르를 포함하여 이중적인 분자인식을 수행할 수 있다.

시클로판을 이용하여 상호 보완적인 구조를 가진 게스트와 착화합물을 형성하는데 대하여서는 상당한 양의 연구결과가 축적되었으나 물질 및 신호의 전달촉매 작용들 동적인 기능을 보유한 시클로판의 연구는 상대적으로 미미한 수준에 머물고 있다. 수용성 시클로판이 아렌을 비극성 작용에 의하여 결합한 후 물층을 가로질러 이동시키는 등 초보적인 전달기능은 보고된바 있다.³⁶⁾ 시클로판의 거대고리골격에 작용기를 부착시킨 뒤, 이 작용기가 간단한 유기반응에 촉매로 작용하는 예도 몇 가지가 보고되었다.³⁶⁾ 현재까지는 시클로판에 관한 연구에서 효과적인 골격구조를 설계하는데 주력하였기 때문에 효율적인 촉매를 고안하려는 연구는 시클로렉스트린과 비교하여 상당히 뒤지는 수준에 머물고 있다.

수용성 시클로판에 의한 기질인식에 대해서 Tabushi등은 2ⁿ-파라시클로판에의 4급 암모늄염의 도입 등을 연구해 왔지만,³⁷⁾ 호스트분자의 구조를 결정할 수 없는 등의 문제가 있었다. 그러나 시클로판 골격의 중앙에 이온성을 가진 2종의 시클로판을 합성할 경우, 기대되는 기질결합능력을 갖고 있다는 것이 밝혀졌다(그림 24).³⁸⁾ 이들의 분자는 1-아닐노(Anylno)-8-나프탈렌 황산(naphthalene sulfonic acid)에 대

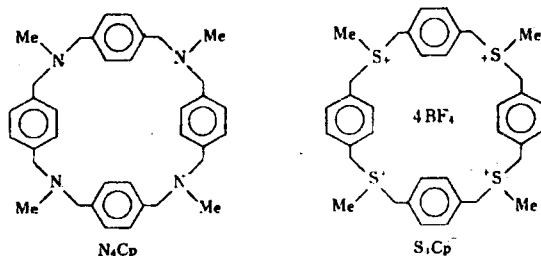


그림 24. 수용성 시클로판

표 6. 수용성 시클로판에 의한 1, 8-ANS 의 결합

Host	pH	$K_{ass}(M^{-1})$
S ₄ Cp	7.0	1,600
N ₄ Cp	2.0	550
β -CD	7.0	57

하여 β -시클로덱스트린보다도 강한 착물 형성능을 가지고 있으며, 분자내의 동공은 강한 소수성을 나타낸다(표 6). 또한, 이들 시클로판 중 아민형 시클로판을 4급화

하여 얻은 테트라암모늄(tetraammonium) 시클로판은 넓은 pH영역에서 완전히 수용성을 나타내고, 각종 에스테르의 가수분해에 대하여 효소형 촉매효과를 나타낸다.³⁹⁾ 흥미있는 것은 표 7에 나타낸 것처럼 나프틸 클로로아세테이트(naphthyl chloroacetate)의 α 체와 β 체에 대하여 상당한 선택성을 나타내는 점이고, 이와 같은 선택성은 천연효소에서는 볼 수 없는 기질선택성을 발현시키는 것이 가능하다는 것을 보여준다.

표 7. 수용성 시클로판에 의한 에스테르 가수분해 반응

촉매	CICH ₂ CO ₂ R	$k_0 \times 10^3$ (s ⁻¹)	$k_2 \times 10^3$ (s ⁻¹)	$K_{ass} \times 10^3$ (M ⁻¹)	k_2/k_0
N ₄ Pc(Me) ₄	α -Naphthyl	0.82	4.9	5.5	6.0
	β -Naphthyl	0.77	19.2	1.9	25
	<i>P</i> -Nitrophenyl	5.54	14.6	2.0	2.6
	α -Cl- β -naphthyl	2.60	0.22	5.0	0.085
(CH ₃) ₃ N ⁺ (2 BF ₄ ⁻)	β -Naphthyl	0.82	1.32	0.38	1.6
CTAB	α -Naphthyl	0.81	4.5	42	5.6
	β -Naphthyl	0.87	5.9	33	6.8

이것은 앞으로의 인공효소의 이상적인 것 중의 하나를 암시하는 것이다. 이들 시클로판에 의한 촉매반응은 Michaelis-Menten형의 속도론에 따른 1:1 포접체를 중간체로 생각할 수 있지만, 실제로 벤젠 고리 등이 시클로판의 소수동공에 들어가는 것은 이미 설명한 시클로판과 유사한 테트라아자시클로판(tetraazacyclophane)에 대해서는 X-선해석에 의해 명확히 밝

혀졌다.⁴⁰⁾ 또한 최근에, Breslow등은 시클로덱스트린의 경우과 같이 피리독사민기를 시클로판에 도입하여 아미노기 전달반응을 대폭적으로 가속하는 것을 밝혔다.⁴¹⁾

5) 크라운 에테르를 이용한 인공효소

1967년에 최초의 크라운 에테르가 합성되고 금속이온을 선택적으로 인식하는 능력이 보고된 이후에 매우 다양한 구조를 가진 크라운 에테르 및 유도체가 합성되

있으며 이들에 의한 새로운 기능이 보고되었다.⁴²⁾ 크라운 에테르는 적어도 한 개의 마크로 고리를 가지고 있으며 여러개의 산소를 고리원자로 포함하고 있는데 산소중 일부가 유황, 질소 혹은 다른 헤테로 원자로 치환되기도 한다.

크라운 에테르 호스트 분자는 인공효소의 모체로서 시클로덱스트린에 비하면 장단점의 양면성을 가지고 있다. 장점은 합성화합물이기 때문에 어떤 기질을 상정(想定)했을 때 그것에 적합한 형태로 자유롭게 설계할 수 있다는 점이다. 단점은 일반적으로 상당히 분자량이 큰 이들 호스트를 합성하는 것이 곤란한 경우가 있다는 점이다.

단순한 구조를 가진 12-크라운-4(그림 25a), 15-크라운-5(그림 25b), 18-크라운-6(그림 25c)의 내부 구멍의 직경은 각각 1.2, 1.7, 2.6 Å이다.

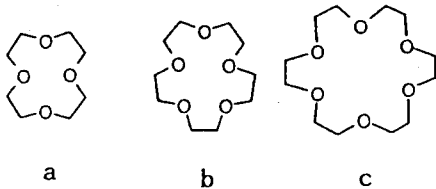


그림 25

한편, 알칼리 금속의 양이온과 암모늄이온의 직경은 1.4~3.3 Å이므로 간단한 크라운 에테르는 크기가 당초 보완적인 양이온을 선택적으로 결합할 수 있다. 유기용매에 녹지 않는 염의 경우에 크라운 에테르를 가함으로써 양이온이 크라운 에테르와 착화합물을 형성하여 용해도가 크게 증가하게 된다. 이러한 용해도의 증가가 반응속도를 증가시키기도 한다. 음이온 친핵체의 카운터 양이온이 크라운 에테르에 의하여 배위되면 양이온의 유효크기가 증가하게 되고 음이온 친핵체에 미치는 카운터 양이온의 정전기적 영향이 감소하게 되는데 이 효과가 반응메카니즘에 따라 반응속도를 증가시킬 수도 있고, 감소시킬 수도 있다. 크라운 에테르에 의한 반응속도의 영향에 따라 반응메카니즘의 문제점을 규명한 예도 있다.⁴³⁾

크라운 에테르는 그림 26의 예와 같이 정사면체 암모늄 양이온과도 안정한 착화합물을 형성한다. 크라운 에테르를 키랄성인 구조를 가지게 고안하여 라세미형의 아민을 분할하는데 사용한 예가 다수 보고되어 있다.⁴⁴⁾

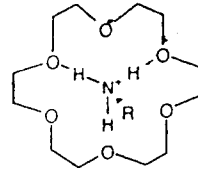
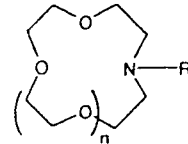


그림 26

크라운 에테르의 고리위에 존재하는 산소 원자중의 일부를 질소로 바꾼 경우를 아자 크라운 에테르(aza crown ether)라고 한다. 한편 크라운 에테르의 고리에 팔을 붙이고, 이 팔에 배위자리를 도입한 일련의 화합물을 라리아트 크라운 에테르(lariat crown ether)라 부른다.⁴⁵⁾ 그림 27의 예에서 보듯이 라리아트 크라운 에테르의 구조를 적절히 변경함에 따라 금속이온에 대한 결합능력이 크게 영향 받는다.



n	R	log K _f for Na ⁺	log K _f for K ⁺
2	CH ₃	3.39	3.07
2	CH ₂ CH ₂ OCH ₃	3.88	3.95
2	(CH ₂ CH ₂ O) ₂ CH ₃	4.54	4.68
2	(CH ₂ CH ₂ O) ₃ CH ₃	4.32	4.91
3	CH ₃	3.93	5.33
3	CH ₂ CH ₂ OCH ₃	4.58	5.67
3	(CH ₂ CH ₂ O) ₂ CH ₃	4.33	6.07

그림 27

크라운 에테르가 게스트의 구조를 인식하는 선택성을 제고하는 방안으로 한분자가 두개의 크라운 에테르를 가지고 있는 비스 크라운 에테르(bis crown ether) 종류도 다수 합성된 바 있다. 최근에는 두 크라운 에테르를 아조벤젠으로 연결하고 아조기가 자외선에 의하여서는 트란스형이

열화학적으로 불안정한 시스형으로 바뀌고 가시광선에 의하여서는 시스가 트란스로 바뀌는 것(그림 28)을 이용하고 시스형이 K^+ 이온을 결합하는 능력이 월등히 양호하다는 점을 이용하여 광선에 의해 금속이온의 결합능력을 조절할 수 있는 광감응성 크라운 에테르도 보고된 바 있다.

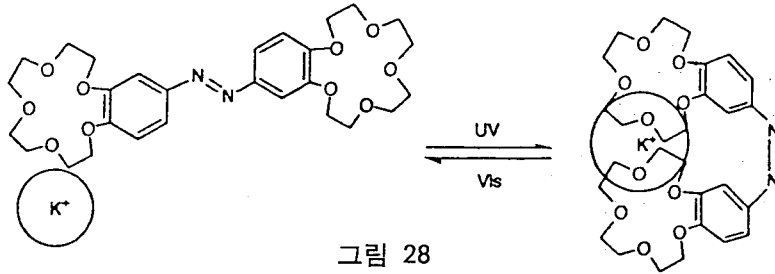


그림 28

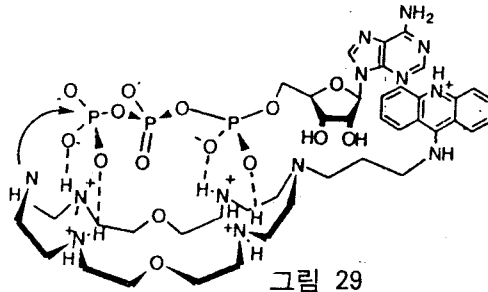


그림 29

그림 29에 도시한 아자 크라운 에테르는 아크리딘 고리를 결사슬에 부착시켜 놓은 구조를 가지고 있는데 이온성 상호작용과 방향족 고리간의 포갠 상호작용에 의하여 APT의 구조를 인식하여 착화합물을 형성한다.⁴⁷⁾ 이 착화합물에서 2급 아민이 친핵체로 작용하여 포스포릴기를 공격하여 치환반응을 일으켜 중간체를 형성하며 이 중간체가 물의 공격을 받아 파괴됨으로써

지고 있는 세개의 카르보닐 산소와 알라닌 *p*-니트로페닐 에스테르(*p*-nitrophenyl ester)의 암모늄 수소간에 수소결합이 형성되며 알라닌의 *p*-니트로페닐 에스테르와 강력한 착화합물을 형성하며 이 착화합물에서 호스트의 벤질알콜부분의 알콕시기가 친핵체로 게스트인 에스테르를 공격한다. 이에 따라 알코올의 아실화 반응성이 착화합물을 형성할 수 없는 경우보다 10^{10} 배정도 가속된다고 보고된 바 있다.²⁸⁾

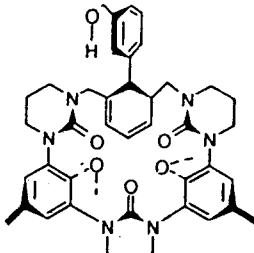


그림 30

ATP가 ADP로 가수분해되는 반응의 촉매 작용이 완결된다. 스페란트(그림 30)가 가

5. 인공 수용체의 구축

앞에서 서술한 광학활성형의 크라운 에테르는 유기용매 중에서 아미노산의 광학 이성체를 상당한 정도로 인식한다는 것을 알 수 있었고, 액막(液膜)을 이용한 D. L-아미노산의 선택적 수송 혹은 실리카겔 등의 고체에 고정시킴으로써 아미노산을

광학분할하는 기능 등은 이들 크라운 에테르의 우수한 광학이성질체의 인식능력을 보여주고 있다.⁴⁴⁾ 그러나 생체와 같이 수용액 중에서 정밀한 분자인식을 수행할 경우, 호스트와 게스트의 인식기(認識基) 주위의 강력한 수화상태 혹은 클론상호작용이 약한 것 등의 이유로 곤란한 점이 생긴다. 물론, 수용액 중에서 전체에 작용하는 수소성 상호작용을 이용할 때는, 시클로덱스트린 혹은 시클로판은 상당한 선택성을 나타내었다. 예를 들면, 캡을 씌운 시클로덱스트린은 캡을 씌우지 않은 시클로덱스트린에 비해, 아다만탄카르복실산(adamantanes carboxylic acid) 혹은 ANS 등의 소수성 기질에 대해 20배에서 200배 정도의 큰 결합정수를 나타내며(표 8), $K_{ass}^{AdCO_2}/K_{ass}^{ANS}$ 도 캡을 씌우지 않는 것보다 4에서 40배 정도까지 선택성이 향상되었다.

표 8. 캡을 씌운 시클로덱스트린의 기질 결합

게스트	$K_{ass}(M^{-1})$	
	β -CD	캡-시클로덱스트린
1,8-ANS	58	1,300
Ad-CO ₂	250	50,000

또한, 시클로덱스트린을 이용한 다른 예로서 흥미있는 것은 Knowls등에 의해 합성된 α -시클로덱스트린-트리암모늄체이며, 이 화합물은 대응하는 모노암모늄체의 k_{ass} (3.3×10^1)에 비해 약 1,000배나 큰 값을 벤질인산에 대해 나타냈다(그림 31).⁴⁹⁾

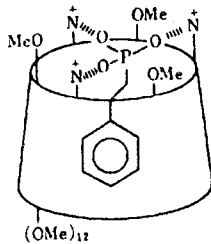


그림 31. 인산 수용체에 의한 벤질인산의 인식

Tabushi등은 시클로덱스트린을 모체로 하여 수용액 중에서 아미노산의 D, L을

인식하는 호스트 합성을 시도하여, 인공 아미노기 전달효소 설계와 같은 방법을 사용하여 키랄 2치환 시클로덱스트린 유도체를 합성하였다(그림 32).⁵⁰⁾ 이들 화합

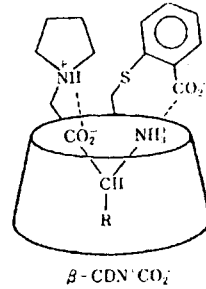


그림 32. 시클로덱스트린을 모체골격으로 하는 아미노산 수용체

물은 AB체와 BA체의 분할이 가능하고, 소수공(疎水孔), N⁺, CO₂등은 아미노산의 키랄인식에 필요한 3점인식이 가능하도록 하였다. 게스트 아미노산으로서 D, L-트립토판을 이용하여 그 결합정수를 측정하면, N⁺...-O₂C간의 상호작용에 근거로 한 결합능의 증대를 볼 수 있었다. 아미노산과 같은 상당히 친수성이 높은 기질도 효과적으로 결합하는 것이 발견되었지만, 유감스럽게도 D, L 인식능력은 최대 1.2배 정도의 차이 밖에 발견되지 않았다(표 9). 이것은 수용액 중에서 강력하게 수화된 이온간의 상호작용이 물의 큰 유전율과 상반하여 유기용매 혹은 진공 중에 비해 대폭적으로 약화되기 때문이라고 생각된다. 시클로덱스트린 중에 결합된 트립토판 분자는 소수내공에 비하여 상대적

표 9. 아미노산 수용체에 의한 트립토판의 결합

호스트	게스트	$K_{ass}(M^{-1})$
β -CDN ⁺ CO ₂	D-Trp	45.5 ± 8.2
	L-Trp	34.5 ± 5.7
β -CDCO ₂ N ⁺	D-Trp	54.0 ± 5.7
	L-Trp	42.5 ± 7.3
β -CD	D-Trp	13 ± 8

인 운동은 거의 정지하고 있다는 것이 증수소 완화법으로부터 알 수 있기 때문에, 이러한 결과는 이들 이온간 상호작용이 적은 방향으로, 거리가 최적인 위치에서 보아도 차이가 그다지 없을 정도로 밖에 작용을 하지 않는 것으로 나타났다. 따라서 이온기 주위를 좀더 소수성으로 하고, 이온상호작용이 일어나는 곳을 유도율(誘導率)이 낮게끔 바꿀 필요가 있다. 이것은 트립토판의 암모늄기에 소수기로서의 프로필기를 도입하면 D, L 선택성의 비가 2배 정도까지 향상하는 것을 보아도 알 수 있다. 실제로, 천연효소, 수용체의 인식부위를 보면, 인식기의 이온 주위는 상당히 소수성 환경으로 되어 있는 경우가 많다. 앞으로도 특히, 물과 분리된 환경에서 이온기, 수소결합기 등을 인식기로 가진 인공 수용체의 개발이 필요할 것이다.

어쨌든, 천연효소에서 기질과 반대의 키랄을 가진 화합물은 강력한 저해제로서 활성부위에 결합되는 경우가 많다는 사실을 생각하면, 후속 반응 등 다이나믹한 과정을 포함하고 있지 않는 순수한 출발물질의 키랄인식에는 보다 엄밀한 인식부위를 설계할 필요가 있을 것이다.

6. 맺음말

이상 서술한 인공효소는 최근 10~15년 동안에 급속히 발달한 분야이며, 그 방법론은 연구를 일률적으로 시행할 정도로는 완성되어 있지 않다. 또한, 대상이 되는 효소가 더욱 확대되면, 모체가 되는 호스트분자에도 좀더 다양한 구조가 필요하게 될 것이다. 그렇지만 현재까지의 연구결과는 천연의 효소기능을 인공적으로 설계합성된 분자로 확실하게 재현할 수 있다는 것이다.

시클로텍스트린은 감자전분 등에서 발효법에 의해 합성되고 있으며, 완전히 인공계는 아니지만 효소모델로서 기질인식능을 가지고 있고 수식할 수 있는 수산기가 많은 것이 특징이라 할 수 있다. 이로 인하여 앞으로 인공효소의 소재로서 이용이 증가할 것으로 생각된다. 남은 문제는 캡을 씌우는 방법에 따라 원리적으로 해결된 복수치환 시클로텍스트린(2급 수산

기의 수식도 포함)을 더욱 증대시켜 그 일반적인 수법을 더욱 확립시킬 필요가 있다.

특히 흥미있는 문제로서는 치환상호배치의 차이로 인한 광학이성체의 분리 등을 들 수 있다. 또, 시클로판의 합성과 분리가 어려운 점이 있지만 여러 관능기를 도입함으로써 완전히 인공적으로 설계된 특이적 촉매활성을 나타낼 것으로 생각된다. 크라운 에테르는 인체 유해성의 문제가 초기에 대두되었지만 고분자에 결합시킴으로써 해결의 실마리를 찾았으며, 이와 같이 인공효소를 담체에 결합시키는 것은 크라운형 인공효소에 한정된 것은 아니지만 공업화에서 볼 때 흥미있는 응용이 기대된다.

또한 미셀 등에 대해서도 안정성이 높고, 에스테르 가수분해의 예 뿐만 아니라 높은 기질 특이성이나 입체선택성을 인공효소에 도입하는 것이 가능해지면 보다 많은 인공효소의 실용화가 빨리 이루어질 것이다. 특히 헴단백질에 대한 인공효소에 대해서는 인공혈액 등 사회의 요구도 강하기 때문에 그 실용화가 시급한 실정이다. 또한 이들 인공효소를 서로 조합시켜 보다 고도의 복합 인공효소계를 만들어 이용할 수 있으면 생체와 같은 혹은 그 이상으로 복잡한 기능을 수행하는 것도 가능할 것이다.

앞으로의 인공화합물에 의한 인공효소는 천연에서는 얻지 못하는 기질선택성, 촉매반응, 안전성(pH, 용매, 온도 등에 대하여)등을 보다 강하게 지향하는 것이 될 것이다. 한편, 천연 효소 혹은 단백질공학, 유전자공학에 의한 단백질 변형에 의해 이루어질 수 있는 목표에 대해서는 단백질 혹은 그 외의 천연화합물(혹은 그 변형체)을 이용하게 될 것이다. 따라서, 인공효소의 연구에 있어서는 이들 2가지의 연구법이 상호 보완적인 역할을 담당할 것으로 생각되고, 목적에 맞는 필요한 인공효소를 손수 얻게 되는 날도 그렇게 요원하지는 않을 것으로 기대되며, 만일 인공효소가 개발되어 대량으로 값싸게 공급될 수 있다면 식품공업분야에서도 인공효소를 이용한 새로운 소재의 기능성 개발도 가능할 것으로 생각된다.

참 고 문 헌

- 1) J. David Rawn: *Biochemistry*, Patterson, Burlington, 1989.
- 2) T. Kitazume, J. Y. Lin, M. Takeda and T. Yamazaki: *J. Am. Chem. Soc.*, 113, 2123(1991).
- 3) Bender, M/ .L and Komiyama, M. *Cyclodextrin Chemister*, Springer-Verlag, Berlin(1978)
- 4) Tabushi, I. and Yamamura, K.: *Water soluble cyclophanes as host and catalysts in "Cyclophanes I"*, F. Vogtle Ed. Springer-Verlag, Berlin(1983).
- 5) Rebek, J. Jr: *Science*, 235, 1478(1987).
- 6) I. Tabushi: *Tetrahedron*, 40, 269 (1984).
- 7) I. Tabushi, Y. Kuroda and S. Kita: *Tet. Lett.*, 3613(1974)
- 8) R. R. White and M. J. Coon: *Annu. Rev. Biochem.*, 59, 315(1984).
- 9) I. Tabushi and N. Koga: *J. Am. Chem. Soc.*, 101, 6456(1979).
- 10) K. Tabushi and K. Morinitsu: *J. Am. Chem. Soc.*, 106. 6871(1984).
- 11) F. D. G Uengerich : *Biochemistry*, 22, 2811(1983).
- 12) I. Tabushi and M, Kodera: *J. Am. Chem. Soc.*, 108, 1101(1986).
- 13) I. Tabushi and M. Kodera: *J. Am. Chem. Soc.*, 109. 4734(1987).
- 14) Straub, T. S. and Bender, M. L.: *J. Am. Chem. Soc.*, 95, 1679(1973).
- 15) Breslow, R. and Czarniecki. M. F.: *J. Am. Chem. Soc.*, 100, 7771(1978).
- 16) Cramer, F. and Kampe, W.: *J. Am. Chem. Soc.*, 87, 1115(1965)
- 17) G. L. Traimer and R. Breslow : *J. Am. Chem. Soc.*, 103, 154(1981)
- 18) F. Cramer and G Mackensen: *Angew.*, 78, 641(1986).
- 19) I. Tabushi, K. Shimokawa, N. Shimizu, H. Shirakata and K. Fujita: *J. Am. Chem. Soc.*, 98, 7855(1976).
- 20) I. Tabushi, T. Nabeshima, K. Fujita, A. Mutsunaga and T. Imoto : *J. Org. Chem.*, 50, 2638(1985).
- 21) I. Tabushi, K. Shimokawa, and K. Fujita: *Tet. Lett.*, 1527(1977).
- 22) R. Breslow, P. Bovy and C. L Hersh: *J. Am. Chem. Soc.*, 102, 2116(1980).
- 23) I. Tabushi and Y. Kuroda: *J. Am. Chem. Soc.*, 106, 4580(1984).
- 24) R. Breslow, A. W. Czarnik, M. Laner, R. Leppkes, J. Winker and S. Zimmerman: *J. Am. Chem. Soc.*, 108, 1969(1986).
- 25) P. Cristen and D. E. Metzler, Ed.: "Transaminases", John Wiley and Son, N. Y.(1985).
- 26) I. Tabushi, Y. Kuroda, M. Yamada, H. Higashimura and R. Breslow: *J. Am. Chem. Soc.*, 107, 5545(1985).
- 27) Murakami, Y., Kikuchi, J. I. and Ohno, T.: *Adv. Supramolecular Chem.*, 1, 109 (1990).
- 28) Shepodd, T. J., Petti, M. A. and Dougherty: *J. Am. Chem. Soc.*, 108, 6085(1986).
- 29) Ferguson, S. B. and Diederich, F: *Angew. Chem.*, 98, 1127(1986)
- 30) Hamilton, A. D.: *Adv. Supramolecular Chem.*, 1, 1(1990).
- 31) Winkler, J. D. and Deshayes, K.: *J. Am. Chem. Soc.*, 109, 2190(1987).
- 32) Losensky, H. W. and Spelthanm, H.: *J. Angew. Chem, Int. Ed. Engl.*, 27, 1189 (1988).
- 33) Seward, E. and Diedrich, F. : *Tet. Lett.* 28, 5111(1987).
- 34) Dietrich, F. and Dick, K.: *Angew Chem. Int. Ed. Engl.*, 27, 1705(1988).
- 35) Dietraich, F.: *Cyclophanes*, Royal Society of Chemistry, Springer Verlag, New York, 1978.
- 36) 田伏岩未·黒田裕久 : , 16, 78(1974)
- 37) I. Tabushi, H. Sasaki and Y. Kuroda : *J. Am. Chem. Soc.*, 98, 5727(1976).
- 38) I. Tabushi, Y. Kimura and Yamamura: *J. Am. Chem. Soc.*, 102,

- 2504(1980).
- 39) K. Odashima, A. Itai, Y. Zitaka, K. Koga : J. Am. Chem. Soc., 102, 2504 (1980)
- 40) J. Winkler, E. Coutouli—Argyropoulou, R. Leppkes and R. Breslow: J. Am. Chem. Soc., 105, 7198(1983).
- 41) Gokel, G.: Crown Ether and Cryptands, Royal Chemical Society: Cambridge 1991.
- 42) Suh, J. and Heo, J. S.: J. Org. Chem, 55, 5531(1990).
- 43) Cram, D. J.: In Applications of Biochemical Systems in Organic Chemistry, Jones, J. B., Wiley: New York, Part II, Chap. 5, 1976.
- 44) Gokel, G. W.: Chem. Soc. Rev. 21, 39 (1992).
- 45) Shinkai, s: In Bioorganic Chemistry Frontiers, Dugas, H. Ed., Springer—Verlag; Berlin vol. 1, pp. 161~195 (1990)
- 46) Hosseini, M. W., Blacken, A. W. and Lehn, J. M.: J. Am. Chem. Soc., 112, 3896(1990).
- 47) Cram, D. J. and Katz, H. E.: J. Am. Chem. Soc., 105, 135(1983).
- 48) J. Boger and J. R. Knowles: J. Am. Chem. Soc., 101, 1614(1979).
- 49) I. Tabushi, Y. Kuroda and T. Mizutani: J. Am. Chem. Soc., 4514 (1986).