

# PC1) ETABr 용액내에서 p-Nitrophenyldiphenylphosphate의 탈인산화반응에 미치는 Benzimidazole의 촉매효과

김정배  
계명대학교 환경대학

## 1. 서 론

지난 수십년 동안 계면에서 일어나는 반응에 대한 많은 연구가 있었다. 특히 서로 섞이지 않는 두 상 간에 phase transfer catalyst(PTC)를 비롯한 여러 계면활성제에 의한 촉매반응 및 억제반응의 연구는 물리화학, 유기화학, 생화학, 환경화학, 제약화학, 고분자화학 등, 광범위한 분야에서 흥미를 끌고 있다. 특히 유기 에스테르와 유기 포스페이트들의 가수분해반응(hydrolysis) 및 탈인산화반응(dephosphorylation)등은 효소반응과 관련하여 많은 관심을 가지고 있다. 이러한 연구는 1951년 Jarrouse에 의하여 quaternary ammonium salt 인 benzyl tri-ethyl ammonium chloride의 작용이 alkali 수용액 내에서 cyclohexanol과 benzyl chloride의 서로 섞이지 않는 두 상 간의 반응을 현저하게 증진시킴을 관찰하였다.

한편, 이미다졸(imidazole)과 그 유도체들은 탈아실화반응(deacylation)이나 탈인산화반응에 매우 효과적인 시약이며, 이들의 반응은 미셀화된 계면활성제(micellized surfactant)에 의해 반응이 촉진된다. 이 두가지 반응의 경우, 미해리된 이미다졸 부분(nonionic imidazole moiety)은 일반염기(general base)로 작용하며 해리된 이미다졸 음이온(anion)은 친핵체(nucleophile)로 작용한다는 보고가 있다.

또한 1981년 C.A. Bunton 등은 phase transfer agent로서 ethyl tri-*n*-octyl ammonium bromide(ETABr)와 ethyl tri-*n*-octyl ammonium mesylate(ETAMs)가 benzimidazolide ion(BI<sup>⊖</sup>)과 naphth-2, 3-imidazolide ion(NI<sup>⊖</sup>)에 의해 *p*-nitrophenyl dipheyl phosphate(*p*-NPDPP)를 가수분해(탈인산화)할 때 강한 촉매작용을 나타냄을 확인하고, 그 반응 mechanism을 규명하였다. 이때 BI<sup>⊖</sup> 및 NI<sup>⊖</sup>는 염기(general base)가 아니라 친핵체(nucleophile)로 작용한다고 하였다.

본 연구에서는 상전이촉매(PTC)인 quaternary ammonium salts로서 ETABr을 사용하여, *p*-NPDPP의 탈인산화 반응에서 benzimidazole(BI) 및 그의 음이온(BI<sup>⊖</sup>)에 의해 추진되는 반응속도와 반응 model에 대해서 연구하였다. 이때 ETABr은 구조상 미셀(micelle)을 형성할 수 없기 때문에 미셀 촉매의 pseudo phase model을 따르지 않을 것으로 생각된다.

## 2. 본 론

### 2.1. 실험재료

ETABr과 benzimidazole은 Aldrich사 고급시약을 정제 없이 사용하였다. 기질(substrate)

인 p-nitrophenyldiphenylphosphinate(p-NPDPIN)은 다음과 같이 합성하여 사용하였다. Ethylene chloride(200ml)에 녹인 0.1ml의 diphenylphosphinyl chloride(Sigma Co.)에 0.99 mole의 p-nitrophenol 과 0.098 mole의 pyridine 혼합용액을 가하여 상온에서 10시간 교반하여 준다. 분액깔대기(separatory funnel)에 옮겨 100ml의 찬 증류수로 2번 씻고 알콜성 NaHCO<sub>3</sub> 로 씻은 다음 유기층을 무수 MgSO<sub>4</sub>로 건조한다. MgSO<sub>4</sub>를 걸러낸뒤 시럽(syrup) 형태가 될 때까지 용매를 증류해서 제거한다. 이것을 ether에 녹이고 용액이 흐려질 때까지 cyclohexane을 가하여 낮은 온도(0~5°C)에서 10시간 정도 방치하면 결정이 석출된다. Ether와 cyclohexane 혼합용액에서 재결정하여 건조하고 IR 및 NMR로 확인하였다.

## 2.2. 실험방법

모든 실험은 25±0.2°C에서 0.01M carbonate buffer(pH 10.7) 또는 10<sup>-4</sup>~10<sup>-2</sup> NaOH 용액 속에서 실시하였다. Carbonate buffer의 pH는 HCl용액을 가감하면서 pH meter로 결정하였다. 기질의 농도는 3.0×10<sup>-6</sup>M을 사용하여 친핵체인 OH<sup>-</sup> 나 IB<sup>-</sup>에 비해 미량을 유지하였다. 여러 가지의 ETABr 용액은 1×10<sup>-1</sup> M 용액을 증류수와 희석하여 사용하였다.

모든 반응의 속도상수(k<sub>p</sub>, sec<sup>-1</sup>)는 분광학적 방법을 이용하여 400 nm에서 반응의 결과 생성된 p-nitrophenoxide의 농도변화를 측정하여 유사1차 반응속도상수(pseudo first order rate constant, k<sub>p</sub>, sec<sup>-1</sup>)를 측정하였다. 느린 반응에서는 UV-visible Spectrophotometer (Beckmann DU-8B)와 Diode Array Spectrophotometer(HP8450 및 HP9451)를 사용하였고, 그리고 빠른 반응에서는 Stopped-Flow Spectrometer(Durrum 2274)를 사용하였다.

## 3. 결 론

### 3.1. ETABr이 존재하지 않을때 Carbonate buffer 수용액 속에서의 p-NPDPIN의 탈인산화반응

10<sup>-2</sup>M carbonate buffer(pH 10.7) 속에서 기질인 p-NPDPIN의 탈인산화반응 속도상수(k<sub>p</sub>)는 4.30×10<sup>-3</sup>sec<sup>-1</sup>이었다.(Table 1). 그리고 10<sup>-2</sup>M carbonate buffer 속에서 benzimidazole(BI)에 의해서 추진되는 속도상수값은 1×10<sup>-2</sup>M BI 용액에서는 5.02×10<sup>-3</sup>sec<sup>-1</sup>, 2×10<sup>-2</sup>M BI 용액에서는 6.29×10<sup>-3</sup>sec<sup>-1</sup> 값으로서 순수한 수용액 속에서(ETABr이 없을때) p-NPDPIN의 탈인산화반응 속도상수에 미치는 BI의 영향은 미미하였다(Table 1).

Table 1. Effect of ETABr on dephosphorylation of p-NPDPIN mediated by BI.

10 <sup>3</sup> [BI], M	10 <sup>3</sup> [ETABr], M					
	0.00	0.25	0.50	1.00	1.50	2.00
0.00	4.30	4.53	4.51	4.67	4.69	4.71
0.25	-	6.82	7.42	8.92	12.0	15.3
0.50	-	7.17	8.04	11.2	16.8	26.2
1.00	5.02	7.54	9.68	18.5	30.3	74.0
1.50	-	8.42	12.2	30.3	65.0	116
2.00	6.29	10.2	14.5	47.0	120	271

10<sup>3</sup> k<sub>p</sub> (sec<sup>-1</sup>), 25°C, 10<sup>-2</sup>M carbonate buffer(pH 10.7), 3.0×10<sup>-6</sup> M p-NPDPIN

### 3.2. ETABr 수용액 속에서의 탈인산화반응

#### (1) ETABr 수용액 속에서의 OH<sup>⊖</sup> 이온에 의한 탈인산화반응

Table 2에서 볼 수 있는 바와 같이, 낮은 OH<sup>⊖</sup>의 농도에서는 ETABr의 농도에 관계없이 OH<sup>⊖</sup>의 농도가 증가함에 따라 속도상수의 증가가 미미했으나 높은 OH<sup>⊖</sup>의 농도에서는 거의 정량적으로 증가하였다. 이 기질(p-NPDPIN)은 원천적으로 OH<sup>⊖</sup> 또는 BI<sup>⊖</sup>와 같은 친핵체에 의해 쉽게 탈인산화되지만, 물에 불용이기 때문에 수용액속에서의 OH<sup>⊖</sup>에 의한 반응은 매우 느리며, 이것과 물에 녹아 있는 OH<sup>⊖</sup>는 주로 계면에서 반응하게 된다. 따라서 과량으로 사용한 친핵체의 농도가 증가함에 따라 반응속도가 증가하여 유사1차반응으로 진행되지 않는다. 즉 친핵체의 농도의 증가는 계면에서 이것의 농도의 증가를 의미하기 때문에 반응속도가 증가하는 것으로 판단되며, 이 반응 계면에서의 2차반응에 해당된다. 이것은 소수성인 p-NPDPIN은 물속보다 ETABr에 더 잘 수용되고, BI는 물과 ETABr속에서 평형을 유지하면서 두 층에 존재하기 때문인 것으로 판단된다(평형의 위치는 물층에 치우쳐 있다). 그러나 ETABr의 농도 증가는 반응속도에 거의 영향을 주지 않는다. 이것은 기질인 DPNPIN의 농도가 상대적으로 매우 낮은 상태에서 친수성의 OH<sup>⊖</sup>가 상전이촉매인 ETABr 속에 일부 수용되기는 하되 다량 수용되지는 못하기 때문인 것으로 생각된다.

Table 2. First order rate constant of dephosphorylation of p-NPDPIN by OH<sup>⊖</sup> in ETABr solutions.

10 <sup>3</sup> [OH <sup>⊖</sup> ], M	10 <sup>3</sup> [ETABr], M			
	0.00	1.00	2.50	5.00
0.00	4.52	4.62	4.49	4.53
1.00	5.01	5.19	5.14	5.08
2.00	9.48	9.08	9.29	9.02
4.00	18.1	18.3	19.1	18.3

10<sup>3</sup> k<sub>p</sub> (sec<sup>-1</sup>), 25°C, 10<sup>-2</sup>M carbonate buffer(pH 10.7), 3.0×10<sup>-6</sup> M p-NPDPIN

#### (2) ETABr 수용액 속에서의 BI에 의해서 추진되는 탈인산화반응

기질인 p-NPDPIN의 농도의 영향을 알기 위해 이 기질의 농도를 0.3~2.0×10<sup>-5</sup>M로 변화시켜 속도상수를 측정하였다. Table 3에서 볼 수 있는 바와 같이, 기질의 농도가 증가하여도 속도상수의 변화는 거의 없었다. 이는 이 반응이 친핵체에 대해 1차 속도반응임을 뜻한다.

#### (3) ETABr 용액속에서 p-NPDPIN의 탈인산화반응에서의 BI 농도의 영향

본 연구에서 주된 관심사인 친핵체인 BI 농도의 영향을 알아보기 위하여 ETABr 용액속에서 BI의 농도변화에 대한 속도상수를 측정하여 Table 1에 나타내었다. 앞서 언급한 바와 같이, BI를 사용하지 않고 carbonate buffer 용액 속에서 반응시킬 경우 ETABr의 농도가 증가하여도 반응속도는 거의 증가하지 않았으나, BI를 사용할 경우 이 친핵체의 농도가 증가함에 따라 반응이 급격히 빨라짐을 볼 수 있다. 이는 이 반응에서 BI가 반응을 촉진시키는 촉매 역할을 함을 암시하고 있다. 한편, 일정한 BI의 농도에서 ETABr의 농도를 증가시

킴에 따라 반응속도가 급격히 증가함을 알 수 있다. 이는 물에 불용성인 p-NPDPIN과 일부 용해하는 BI를 ETABr이 함께 수용하여 p-NPDPIN과 BI의 충돌빈도를 높여 줌을 뜻한다.

Table 3. Effect of substrate concentration on dephosphorylation of p-NPDPIN in ETABr solutions.

$10^5$ [p-NPDPIN], M	$10^2$ [ETABr], M	
	2.5	5.0
0.30	6.80	7.44
0.50	6.93	7.67
0.75	7.35	8.07
1.00	7.68	8.04
1.25	7.65	7.99
1.50	7.57	7.66
2.00	7.02	7.23

$10^3 k_p$  (sec<sup>-1</sup>), 25°C, 10<sup>-2</sup>M carbonate buffer(pH 10.7), 2.5×10<sup>-3</sup> M BI

#### 4. 요약

BI 및 ETABr의 농도변화에 따른 속도상수의 변화는 이 반응이 단순한 1차 및 2차 반응 속도식에 맞지 않는다. 이와 같은 현상은 용액 속에서 두 반응 시약인 p-NPDPIN 및 BI와 상전이촉매인 ETABr 사이에 많은 수의 작은 응집된 입자(aggregates)를 형성함을 의미한다. 수용액 속에서는 불용성인 p-NPDPIN과 수용성인 BI가 충돌하여 반응할 기회가 적는데 반하여 ETABr은 이 두 시약을 함께 수용하여 세 분자 사이에 응집현상이 일어남으로 p-NPDPIN과 BI가 반응하기에 충분한 거리 내에 있게 된다. 바꾸어 말하면, 이 두 반응물질이 1:1 adducts로 반응하기보다는 여러 ETABr과 함께 많은 수의 반응분자들이 회합(응집)되어 있음을 뜻한다.

#### 참고 문헌

- DeKeijzer, A. H., L. H. Koole, W. J. M. Van der Hofstad, and H. M. Buckrate, 1988. Enhancement of nucleophilic substitution reactions in phosphate esters; Influence of conformational transmission on the rate of solvolysis in alkyl diphenylphosphinates, *J. Org. Chem.*, 54, 1453-1456.
- Bourne, N., E. Chrystiuk, A. M. Davis and A. Williams, 1988. A single transition state in the reaction of aryl diphenylphosphate esters with phenolate ions in aqueous solution, *J. Amer. Chem. Soc.*, 110, 1890-1895.
- Bunton, C. A., Y. S. Hong, L. S. Romsted, and C. Quan, 1981. Catalysis by hydrophobic tetraalkylammonium ions; Dephosphorylation of p-nitrophenyl diphenyl phosphate, *J. Amer. Chem. Soc.*, 103, 5788-5794.