

옥소디피로메텐들과 빌리루빈의 엔올형의 흡수스펙트라

朴龍泰[†] · 朴俊圭 · 宋明燮

경북대학교 자연과학대학 화학과

(1982. 8. 5 접수)

Absorption Spectra of Enol Forms of Oxodipyrromethenes and Bilirubin IX- α

Yong-Tae Park[†], Joon-Kju Park and Myung-Sub Song

Department of Chemistry, Kyungpook National University, Taegu 635, Korea

(Received August. 5, 1982)

요 약. 몇 가지 용매에 대하여 옥소디피로메텐과 빌리루빈의 흡수스펙트라 이동현상을 연구하였다. 메탄올이나 아세트산용액 중에서는 옥소디피로메텐이 수소결합을 하여 권주게이션이 많이 되는 형태로 존재하며, 강산 존재 하에서는 엔올 형으로 흡수한다. 옥소디피로메텐이나 빌리루빈의 큰 몰 흡광계수와 많은 알킬기가 치환된 옥소디피로메텐이 장파장을 흡수하는 것으로 보아 이들의 처음여기 상태는 $\pi \rightarrow \pi^*$ 전이일 것이다.

ABSTRACT. Solvent shift effect on absorption spectra of oxodipyrromethenes and bilirubin IX- α were studied. In methanol or acetic acid the oxodipyrromethenes exist as flat conjugated conformations and in strong acid medium as enol forms of oxodipyrromethenes and bilirubin. The visible absorption bands of bilirubin IX- α and the model compounds, oxodipyrromethenes, are assigned as $\pi \rightarrow \pi^*$ transition due to their large molar absorption coefficients and to the fact that the more alkyl-substituted one absorbs at rather longer wavelengths than less alkyl-substituted one. A weak blue shift of bilirubin IX- α in polar solvent is probably attribute to disruption of intramolecular hydrogen bond.

서 론

빌리루빈의 광화학은 황달의 근원물질이 빌리루빈이라는 이유로 많은 연구가 되어왔다¹⁻³. 빌리루빈을 산소 존재하에서 광산화시키면 여러가지 광산화물이 생긴다는 보고가 있다^{2,4}. 이것은, 여기된 빌리루빈의 삼중상태가 산소에 에너지 전이를 하여 단일선상태의 산소를 내고 이것이 빌리루빈과 반응한다는 보고가 있다^{2,5}. 또 광산화 이외 광이성화도 가능함을 보인 보고도 있다⁶. 그러나 빌리루빈의 처음여기상태가 $\pi \rightarrow \pi^*$ 인지, $n \rightarrow \pi^*$ 인지 불분명하다. 사실 이 부분에 대한 연구는 Barber와 Richards⁷의 연구가 있는

때, 빌리루빈의 극성용매에 대한 청색이동과 저온에서 인광측정으로서 처음여기상태는 $n \rightarrow \pi^*$ 전이라고 했다. 그러나 빌리루빈은 분자내수소결합을 하고 있다는 것이 알려져 있기 때문에^{8,9}, 이 결합의 영향이 흡수스펙트라 용매 이동효과에 다소 영향을 주리라고 보고, 이들의 모델이라고 생각되는 몇 가지 옥소디피로메텐 (oxodipyrromethenes)을 만들어 흡수스펙트라의 용매 이동효과를 시험해 보았다. 옥소디피로메텐은 기대했던 바와 같이 깨끗한 용매 효과는 나타나지 않고 매우 혼어진 결과를 주고 거기다가 엔올형의 흡수가 존재하는 것을 알았다. 여기서는 주로 엔올형의 흡수에 대한 것을 보고할 것이고 이들의

여기상태에 대한 것도 논의하고자 한다.

실 험

사용된 옥소디피로메텐은 본 실험실에서 알려진 방법¹⁰으로 합성하여 사용했으며 빌리루빈은 Matheson 제품을 그대로 구입하여 사용하였다. 사용한 용매들은 일급 및 특급을 사용하였으며 필요에 따라서는 정제하여 사용하였다. 사용기기는 UV Spectrophotometer, Shimadzu UV-210A 와 IR Spectrophotometer, JASCO IRA₁ 을 사용하였다.

결과 및 고찰

옥소디피로메텐 1(5'-oxo-3'-ethyl-4,5,4'-trimethyl-1',5'-dihydro(2,2')-dipyrrromethene)과 옥소디피로메텐 2(5'-oxo-3,5-dimethyl-3',4',4-triethyl-1,5'-dihydro-(2,2')-dipyrrromethene)와 빌리루빈 IX- α 의 구조식을 Fig. 1에 나타내었다. 이들의 여러용매에 대한 최대흡수파장과 몰흡광계수를 측정하여 Table 1에 기록하였다. 여기서 분명히 해두어야 할 것은 세가지 화합물

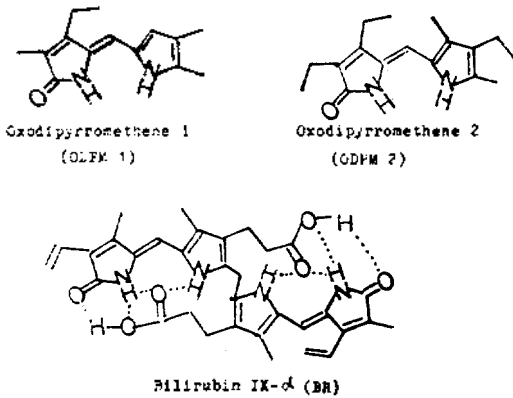


Fig. 1. Structures of Oxodipyrromethene 1 and 2, and Bilirubin IX- α .

의 몰흡광계수가 대단히 크다는 것이다. 용매의 유전항수함수인 $f(D) = 2(D-1)/2D+1$ 에 대해 최대흡수에너지 ($E_{\lambda_{max}}$, cm^{-1})를 도시하니 Fig. 2, 3, 4와 같다. Fig. 2와 3에서 볼 때 매우 흩어져 있음을 알 수 있다. Fig. 4에서

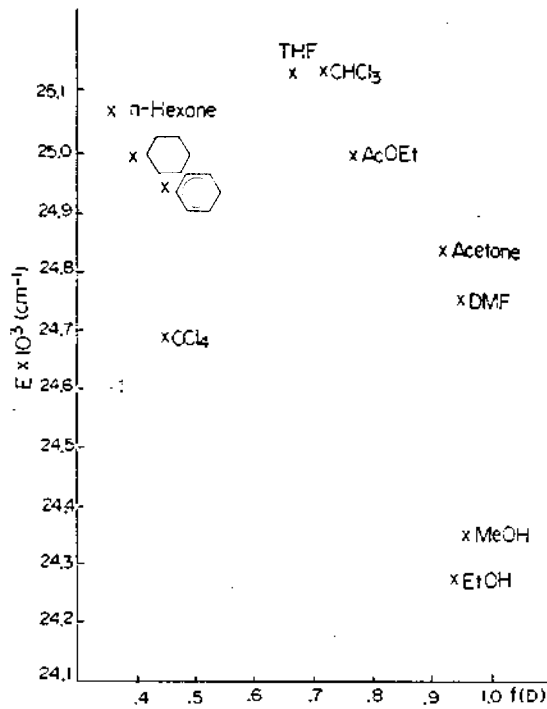


Fig. 2. Solvent shift effect in oxodipyrromethene 1.

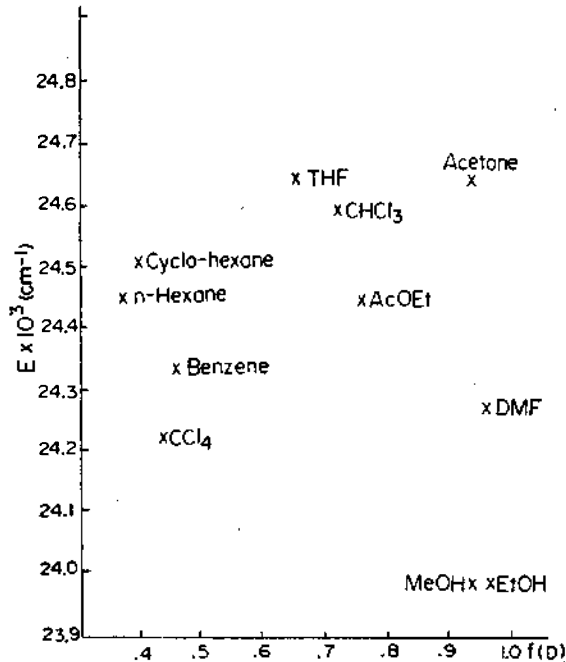


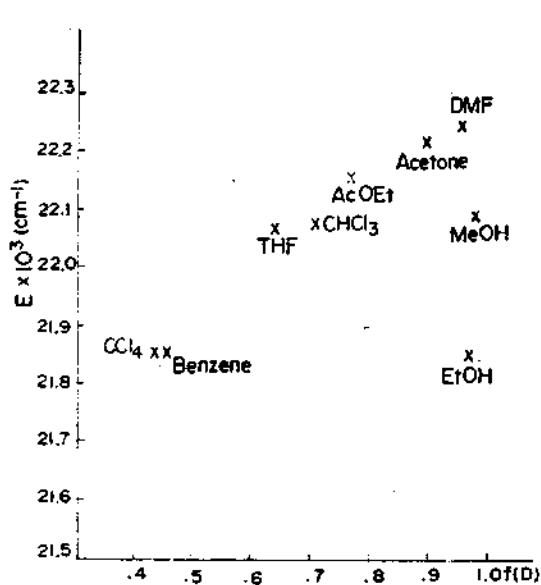
Fig. 3. Solvent shift effect in oxodipyrromethene 2.

는 어느정도 직선관계가 성립됨을 보여준다. Fig. 2와 3에서 용매의 효과가 너무나 흩어져

Table 1. Solvent shifts and molar absorptivity for oxodipyrromethene 1 and 2 and bilirubin IX- α .

Solvents	D	$f(D)^+$	ODPM 1		ODPM 2		BR	
			λ_{max}	$\log \epsilon$	λ_{max}	$\log \epsilon$	λ_{max}	$\log \epsilon$
<i>n</i> -Hexane	1.89	0.375	399	4.51	408	4.48		
Cyclohexane	2.02	0.405	400	4.39	409	4.42		
CCl ₄	2.24	0.453	404	4.36	413	4.39	458	
Benzene	2.28	0.458	401	4.58	411	4.56	458	4.66
THF	3.91	0.660	400	4.44	406	4.47	453	4.75
CHCl ₃	4.81	0.718	398	4.48	407	4.54	453	4.70
AcOEt	6.02	0.770	400	4.40	409	4.25	452	
Acetone	20.7	0.929	400	4.52	406	4.52	451	4.47
EtOH	24.3	0.940	411	4.51	420	4.47	458 ⁺⁺	4.79
MeOH	32.6	0.955	412	4.53	418	4.50	453 ⁺⁺	
DMF	36.7	0.960	403	4.51	412	4.46	450	
Alc-KOH		—	409	—	419			

$f(D)^+ = 2(D-1)/2D+1$ ⁺⁺With ammonia pulsed.

Fig. 4. Solvent shift effect in bilirubin IX- α

나오기 때문에, 그 원인을 알기 위하여 혼합용매나 산이 존재하는데서 흡수스펙트라를 시험하였다. 옥소디피로메텐을 시클로헥산에 녹여 흡수스펙트라를 측정하고 (UV-cell, 1cm path 3 ml) 나서 여기에 메탄올 1 μ l씩을 넣으면서 다시 흡수스펙트라를 조사하니 Fig. 5와 같았다. 시클로헥산에서는 최대흡수가 410nm 근처에 있으

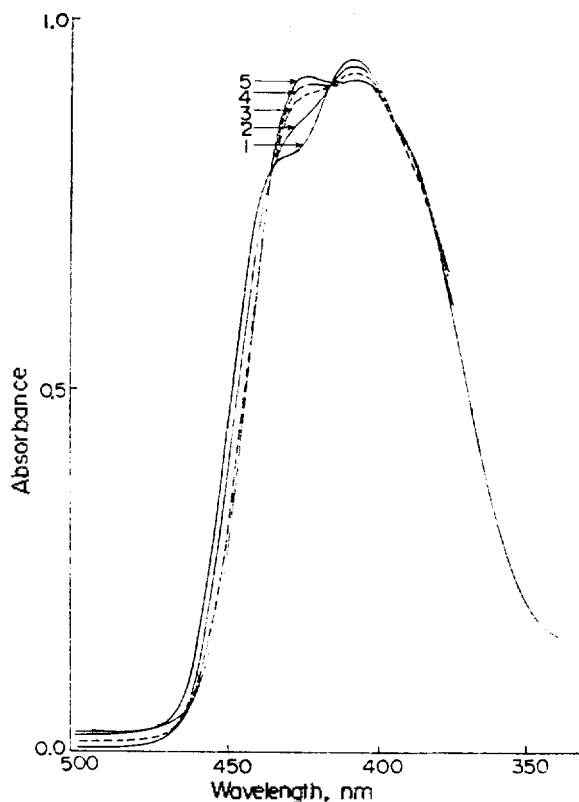


Fig. 5. Absorption spectra of oxodipyrromethene 2 in cyclohexane: 1; in pure cyclohexane, 2; with 1 μ l, 3; with 2 μ l, 4; with 3 μ l and 5; with 5 μ l of methanol in above solution.

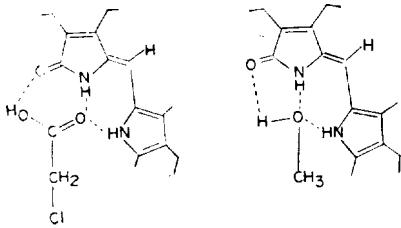


Fig. 6. Hydrogen bonded oxodipyrromethene 2.

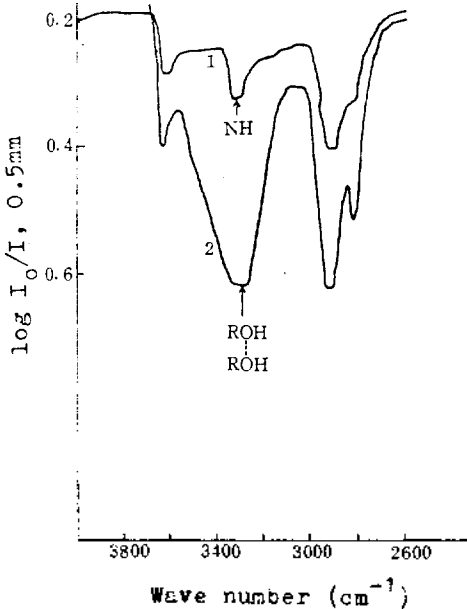


Fig. 7. Infrared absorption study of methanol hydrogen-bonded complexing: curve 1; methanol (20 μ l) in carbon tetrachloride (1ml), curve 2; methanol (20 μ l) and oxodipyrromethene 2 (3mg) in carbon tetrachloride (1ml), saturated soln., both in 0.5mm NaCl window cell.

며 430nm 근처에는 어깨가 있는데 메탄올 1 μ l 씩을 넣으니 410nm 봉우리는 작아지고 430nm 는 더 커짐을 볼 수 있다. 또 417과 447nm 에서 흡수점(Isosbestic point)이 있음을 알 수 있는데, 이것은 410nm 에서 흡수하는 종이 430nm 에서 등 흡수하는 종으로 변화하는 것을 말한다. 메탄올 대신 아세트산이나 모노클로로 아세트산 이 존재하는데서도 같은 모양의 변화를 주었다.

이것은 Fig. 6에서 표시한 것과 같이, 도입된 메탄올이 옥소디피로메텐과 수소결합을 하여 더 켈주게이션 (conjugation)하는 형으로 되어 더

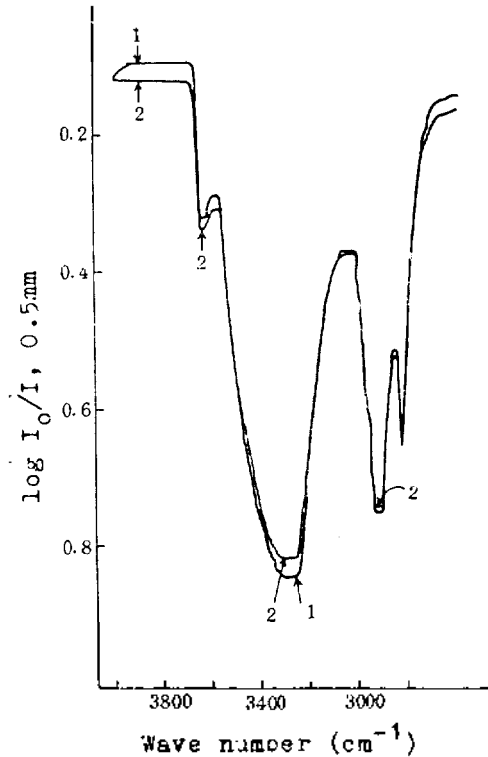


Fig. 8. Infrared absorption study of ethanol hydrogen-bonded complexing: curve 1; ethanol (25 μ l) in carbon tetrachloride (1ml), curve 2; ethanol (25 μ l) and bilirubin (1mg) (saturated soln.) in carbon tetrachloride (1ml), both in 0.5mm NaCl window cell.

장파장을 흡수한다고 생각된다. 이와 같은 현상은 빌리루빈 경우에는 볼 수 없었다. 아마 빌리루빈은 강한 분자내 수소결합으로 이미 이와같은 형태 (conformation)로 존재하기 때문 일 것이다. 이 결론을 뒷받침하기 위하여 다음과 같은 IR 흡수 시험을 하였다. 사염화탄소에서 메탄올 미량을 녹이고 (20 μ l/1ml) IR 흡수를 측정하니, Fig. 7의 1이 되었는데 3300 cm^{-1} 에서 수소결합한 메탄올의 흡수를 알 수 있다. 여기에 옥소디피로메텐 2를 2mg 정도 가하여 IR 흡수를 측정하니 스펙트럼 2가 되었다. 이는 옥소디피로메텐이 메탄올의 수소결합을 파괴하고 자신이 메탄올과 수소결합을 한다고 생각된다. 3320 cm^{-1} 근처에서 작은 봉우리를 N-H 라고 한 것은 메탄올없이 옥소디피로메텐즈를 사염화탄소에서 같은 농도로 측정 비교하여 알 수 있다.

빌리루빈의 경우에도 위와 같은 실험을 행하였는데 수소결합의 파열은 매우 약한 것으로 나타났다. 이는 빌리루빈이 이미 강한 수소결합으로 형태 (conformation)가 굳어 있기 때문에 메탄올이나 에탄올의 수소결합의 파괴를 옥소디피로메텐만큼 에탄올의 수소결합을 파괴하지 못하는 데 기인한다고 생각한다. 그러나 Fig. 8에서 보는 바와같이 약간의 변화는 있었다. 또 에틸아세테이트에서 옥소디피로메텐 1이나 2의 흡수스펙트라를 측정하고 여기에 *p*-Toluene sulfonic acid (1.5 mg in 2.5ml soln.)를 미량 넣으니 한개의 새로운 흡수띠 (λ_{max} , 473nm)가 생겼다. 이것은 흡수띠가 이동했다기 보다는 엔올형 (enol form of oxodipyrromethene)의 흡수띠라고 생각된다. 이와 같은 흡수스펙트라는, 옥소디피로메텐 1이나 2의 용액에 HCl기체를 약간

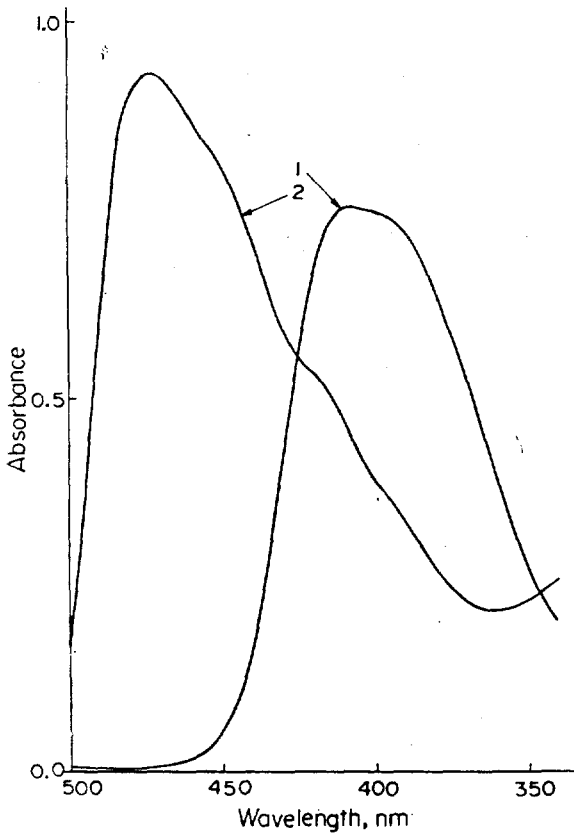


Fig. 9. Absorption spectra of oxodipyrromethene 2 in the absence (curve 1) and in the presence of *p*-toluene sulfonic acid (2mg, curve 2) in ethyl acetate (2.5ml).

통과시킨 후 (pulse)에도 관찰할 수 있었다 (Fig. 9, 10 참조) 다시 여기에 트리에틸아민을 넣어 중화하니 원상태로 되돌아 감을 알 수 있었다. 빌리루빈의 경우에는 이와 같은 현상이 매우 약하게 나타났다. 산 존재하에서 생긴 봉우리 520 nm는 트리에틸아민으로 중화하니 원상태로 되돌아 갔다.

따라서 산 존재하에서 옥소디피로메텐 2의 473 nm 봉우리와 빌리루빈의 520 nm 봉우리는 엔올형의 흡수 락에 틀림없다. 또 빌리루빈용액에 과량의 HCl을 통과시키고 트리에틸아민을 넣어도 원상태로 돌아오지 않았다. 이 경우에는 쉽사리 엔올형도 잘 안되지만, 과량의 HCl이 존재하는 데서는 첨가반응이 일어난 것 같다. 이와 같은 조건에서 첨가반응이 일어남은 보고된 바 있다¹¹. 이와 같은 엔올형의 관여로 Fig. 2와 3에서 용매의 유전항수에 대한 최대 흡수띠 에너지가 직선적으로 변하지 않는 것이 아닌가 한다. 빌리루빈의 흡수띠 에너지가 용매의 극성에 따라 (Fig. 4) 직선적으로 변하는 것도

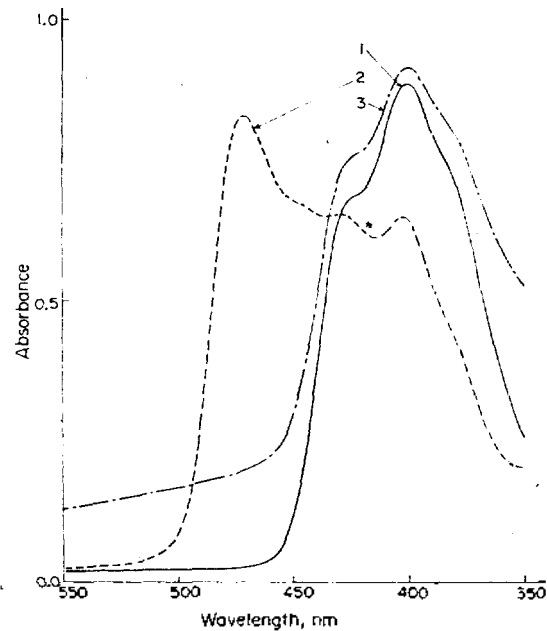


Fig. 10. Absorption spectra of oxodipyrromethene 1 in the absence (curve 1), in the presence of hydrogen chloride (curve 2), and in the presence of hydrogen chloride and triethyl amine in cyclohexane (curve 3).

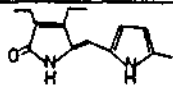
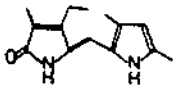
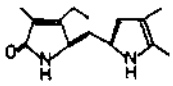
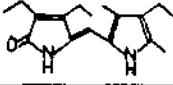
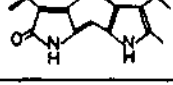
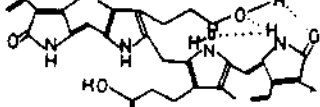
용매 이동효과 때문인지, 아니면 분자내 수소 결합의 부분적인 파열 때문인지 현단계로는 알 수 없다. 치환기가 흡수파장에 주는 영향을 알기 위하여, 몇 가지 알킬기가 치환된 옥소디피로메텐을 클로로포름과 메탄올에 녹여 흡수스펙트럼을 측정하고, 그 결과를 Table 2에 나타내었다. 알킬기가 많이 치환된 옥소디피로메텐이 더 장 파장을 흡수했다. 이 사실과 앞에서 논한 큰 분자 흡광계수는 전형적인 $\pi \rightarrow \pi^*$ 전이에 상당한다 하겠다. 따라서 이 옥소디피로메텐들은 물론 빌리루빈의 경우도 처음여기상태가 $\pi \rightarrow \pi^*$ 전이인 것 같으며, $n \rightarrow \pi^*$ 전이는 큰 $\pi \rightarrow \pi^*$ 전이에 묻혀

있는 것이 아닌가 생각되나 이 부분에는 더 연구가 되어야 하겠다. 사실 Barber와 Richards가 보고한 삼중상태는 (54 kcal/mole)⁷ Land가 보고한 삼중상태 (40 kcal/mole)¹²와는 상당한 차이가 있다. 아니면 단일전상태에서는 $n \rightarrow \pi^*$ 이나 $\pi \rightarrow \pi^*$ 의 에너지가 같은 상태에 있다가 삼중상태로 떨어지니 두 상태가 구별되는 것일 수 있다.

REFERENCES

1. D. A. Lightner, "In Vitro Photooxidation products of Bilirubin" in phototherapy in the Newborn, An Overview, G. B. Odell, R. Schaffer, and A. P. Simopoulos, Eds, National Academy of Sciences, 1974, p. 34~55.
2. R. Bonnett and J. C. M. Stewart, *J. Chem. Soc.*, (Perkin I) 224 (1975).
3. A. F. McDonagh, *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **244**, 553 (1975).

Table 2. λ_{max} and ϵ_{max} of oxodipyrromethenes and bilirubin in $CHCl_3$ and MeOH

Compounds	$\lambda_{max}(\log \epsilon, M^1cm^1)$	
	$CHCl_3$	Me OH
	386 (4.49)	400 (4.49)
	398 (4.52)	407 (4.53)
	398 (4.48)	411 (4.53)
	407 (4.54)	417 (4.50)
	433 (4.56)	438 (4.60)
	453 (4.70)	453* (4.76)

* in MeOH with NH_3 pulse

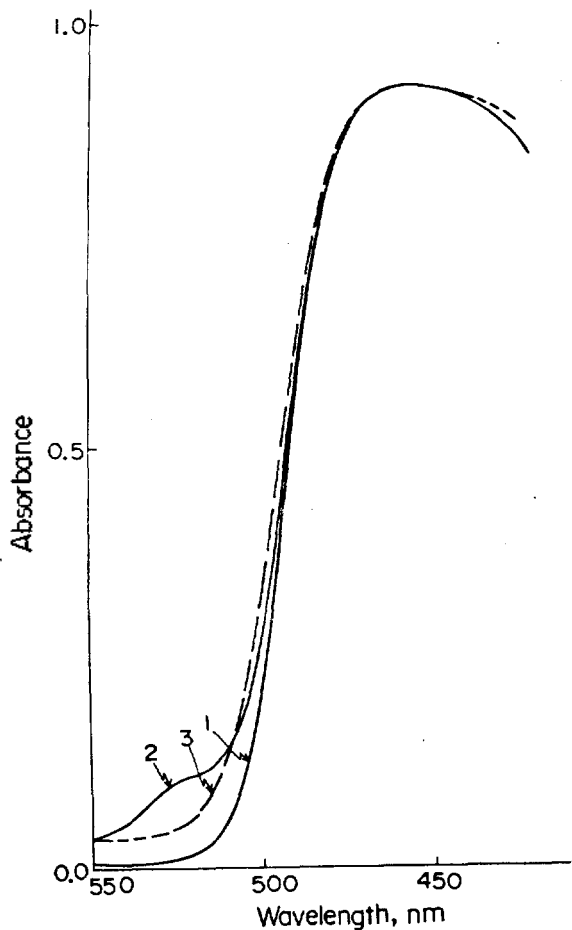


Fig. 11. Absorption spectra of bilirubin in chloroform (2.5ml) in the absence of (curve 1), in the presence of *p*-toluene sulfonic acid (1mg, curve 2), and in the presence of *p*-toluene sulfonic acid and triethylamine.

4. D. A. Lightner and G. B. Quistad, *Nature New Biology*, **236**, 203 (1972).
5. A. F. McDonagh, *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, **44**, 1306 (1971).
6. Y. T. Park and J. U. Hwang, *Bull. Korean Chem. Soc.*, **1**, 23 (1980).
7. D. J. W. Barker and J. T. Rechards, *Chem. Phys. Lett.*, **46**, 130 (1977).
8. A. J. Knell, B. Johnson and D. W. Hutchin-son, *Digestion*, **6**, 288 (1972).
9. C. C. Kuenzle, M. H. Weibel, R. R. Pelloni, and P. Hemmerich, *Biochem. J.*, **133**, 364 (1973).
10. D. A. Lightner and Y. T. Park, *Tetrahedron*, **35**, 463 (1979).
11. P. Manitto, *Experientia*, **27**, 1147 (1971).
12. E. J. Land, *Photochem. Photobiol.*, **24**, 475 (1976).