

## 아미드-아미드 및 아미드-용매 상호작용에 관한 Raman 분광학적인 연구

俞貞娥 · 崔永翔

고려대학교 이과대학 화학과

(1983. 7. 15 접수)

## Raman Spectroscopic Investigations of the Amide- Amide and Amide-Solvent Interactions

Jeong-A Yu and Young-Sang Choi

Department of Chemistry, Korea University, Seoul 132, Korea

(Received July 15, 1983)

**요 약.** 아미드와 아미드-용매계의 C=O stretching band에 해당하는 Raman 스펙트럼으로 부터 카르보닐기와 질소에 치환된 알킬기가 수소결합에 미치는 영향을 조사하였다. Formamide 계에서는 상호작용의 세기가 아미드-아미드>아미드-물>아미드-알코올 순으로 감소했으며, acetamide와 propionamide 계에서는 아미드-물>아미드-아미드>아미드-알코올 순으로 감소하였다. 카르보닐기에 알킬기가 치환되면 카르보닐기의 proton acceptor의 세기가 증가되며, 질소에 알킬기가 치환되면 proton donorcity가 감소함을 보이는데 이는 이론적인 계산 결과와도 일치한다.

**ABSTRACTS.** Raman spectra for the carbonyl stretching mode of the amides, and amide-solvent systems have been recorded to investigate the effect of alkyl substitutions at the carbonyl carbon and at the nitrogen on the amide hydrogen-bonding. The data have shown that the interaction affinities are in the order of amide-amide>amide-water>amide-alcohol in formamide system, and amide-water>amide-amide>amide-alcohol in acetamide and propionamide systems. The strength of the proton acceptor of the carbonyl oxygen is increased by the presence of alkyl group to the carbonyl carbon and the proton donorcity of the amide is decreased by the alkyl substitution at the nitrogen. The above results are in good agreement with the *ab initio* SCF MO calculation.

### 1. 서 론

아미드 linkage를 가지고 있는 단백질이나 polypeptide의 안정성은 수소 결합과 소수성 상호작용이 가장 큰 요인임은 이미 잘 알려진 사실이다. 이들 화합물에서 소수성기가 수소 결합의 세기에 어떤 영향을 미치는지 연구함은 안전성을 설명하는데 매우 중요한 기본 자료가 되기 때문에 몇몇 아미드를 모델 화합물로 선정하여

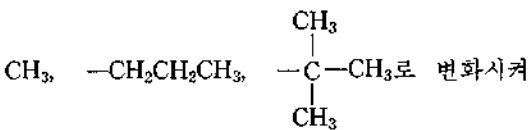
nmr<sup>1,2</sup>, near IR<sup>3</sup> 및 열역학적 방법<sup>4~6</sup>으로 연구가 많이 발표되었다.

한편 아미드-아미드 및 아미드-물간의 수소결합의 상대적 세기에 관한 이론적인 연구도<sup>7~9</sup> 많이 발표 되었으나 설정되는 MO basis set에 따라 다른 결과를 보이고 있어서 알킬기의 치환이 이들 상호작용에 미치는 영향을 체계적으로 연구함은 바람직하다.

따라서 본연구에서는 여러가지 아미드에 크기

가 다른 알킬기가 치환되었을 때 아미드-아미드 및 아미드-용매 사이의 proton acceptor 및 proton donor의 세기를 비교함으로써 수소 결합에 미치는 영향을 체계적으로 연구하고자 한다.

1650cm<sup>-1</sup> 부근에서 나타나는 아미드의 C=O stretching band는 Raman 스펙트럼에서 강하게 나타나지만 여기서 사용된 용매들은 이 영역에서 약한 scatterer들이므로<sup>3</sup> 본연구에서는 formamide, acetamide 및 propionamide계에 대하여 카르보닐기의 알킬기를 H-, CH<sub>3</sub>-, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>-로 변화시키고, 질소의 알킬기를 -CH<sub>3</sub>, -CH<sub>2</sub>



Raman 스펙트럼을 분석한다. 또한 아미드에 물, CCl<sub>4</sub>, 메탄올, 및 DMSO 등의 용매를 혼합시킨 아미드-용매 2 성분 계에서 아미드-아미드 수소 결합에 미치는 용매의 영향을 검토하고자 한다.

## 2. 실험

**시약.** 본 실험에 사용된 아미드 중에서 N-methylformamide(NMF), N,N-dimethylformamide(DMF), N-ethylformamide(NEF), N-methylacetamide(NMA), N-ethylacetamide(NEA), N-ethylpropionamide(NEP), N,N-diethylpropionamide(DEP)는 T.C.I. GR급을, 그리고 N-methylpropionamide(NMP), N-*t*-butylformamide(TBF) 및 N,N-dimethylpropionamide(DMP)는 Eastman GR급 들이다. 먼저 이들 아미드에 Calcium hydride를 소량 넣어서 reflux 시킨후 40cm vigreux column을 사용하여 감압 정제 했다. 건조시킨 3~4Å molecular sieve를 넣어 다시 건조시킨 것을 질소기체로 채워진 glove box에 보관하여 사용하였다.

메탄올, DMSO 및 CCl<sub>4</sub>는 모두 분별 증류한 후 molecular sieve로 건조 시켜서 사용했고, 증류수는 이온교환수지를 통과시킨 3차 증류수를 사용하였다.

N-propylpropionamide(NPP)는 N-propylacet-

amide<sup>10</sup>와 같은 방법으로 합성하여 사용하였다.

**기 기.** Raman 스펙트럼은 JASCO Model R-300 Spectrometer를 사용하여 얻었으며 laser source는 Ar<sup>+</sup>(5145Å)이다. 직경 0.5mm 유리 모세관에 넣은 sample을 excitation 시켜서 incident beam의 90° 되는 것을 관측하였고 기기적인 오차는 ±0.5cm<sup>-1</sup>이다.

## 3. 결과 및 고찰

순수한 formamide, acetamide 및 propionamide계는 물론 용매와의 혼합용액에 대하여 카르보닐기의 Raman stretching band 스펙트럼을 조사했으며 그 중에서 Fig. 1과 2는 NEA와 TBF 계에 대한 것이다. 이들 스펙트럼 들로부터  $\nu_{\max}$ 와 일부 스펙트럼에서 보여주는 shoulder의 frequency를 Table에 수록했으며, 그 결과를 몇 가지로 분류하여 고찰하였다.

### 순수한 아미드계

**카르보닐에 치환된 알킬기에 의한 효과.** 카르보닐기에 치환된 알킬기의 효과를 고찰 하기 위해서 순수한 NMF, NMA, NMP, NEF, NEA 및 NEP의  $\nu_{\max}$ 와 치환기의 크기에 대한 관계를 Fig. 3에 나타냈다.

N-의 알킬기를 -CH<sub>3</sub> 및 -CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>로 고정

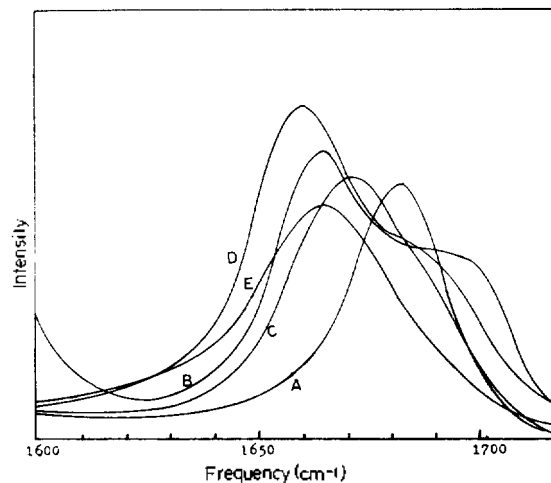


Fig. 1. Spectra of C=O stretching mode of NEA. (A) 15 volume % NEA in DMSO; (B) 10 volume % NEA in CCl<sub>4</sub>; (C) pure NEA; (D) 50 volume % NEA in methanol; (E) 50 volume % NEA in water.

Table 1. The wavenumber at max. absorption of C=O Raman stretching mode in various amides and amide-solvent mixtures.

Amide \ Solvent	NMF	DMF	NEF	TBF	NMA	NEA	NMP*	DMP	NEP	DEP	NPP
Neat	1657	1661	1658 (1695)	1660 (1688)	1655 (1640)	1656 (1640)	1646	1641	1647	1641	1648
DMSO (15%)	1682	1674	1681	1682	1674	1665	1670	1643	1662	1639	1660
CH <sub>3</sub> OH (50%)	1661	1660 (1687)	1666	1670	1662 (1643)	1659 (1641)	1657 (1644)	1630 (1650)	1651 (1648)	1626 (1648)	1652 (1635)
CCl <sub>4</sub> (10%)	1667 (1692)	1679	1664 (1700)	1664 (1698)	1657	1654	1648	1654	1646	1646	1644
H <sub>2</sub> O (50%)	1660	1655	1659	1664	1640 (1662)	1633 (1657)	1633	1609	1632	1605	1630** (1621) 1640*** (1657)

unit; cm<sup>-1</sup>, ( ) ; shoulder, % ; volume % of amides, \*; Reference (3) ; \*\* 25 volume % of NPP, \*\*\* ; 89 volume % of NPP.

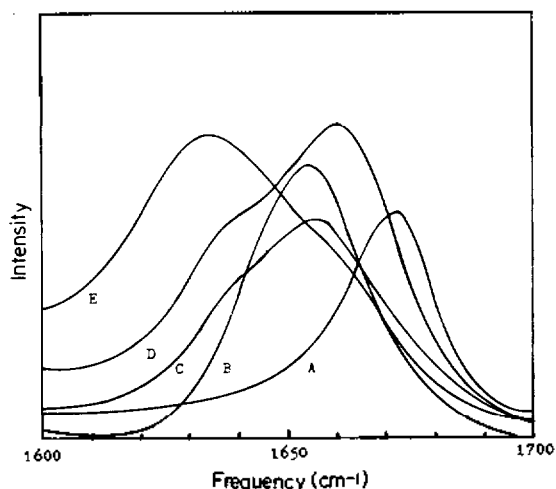


Fig. 2. Spectra of C=O stretching mode of TBF. (A) 15 volume % TBF in DMSO; (B) 10 volume % TBF in CCl<sub>4</sub>; (C) 50 volume % TBF in methanol; (D) pure TBF; (E) 50 volume % TBF in water.

시켰을때 카르보닐기에 치환된 알킬기가 커짐에 따라  $\nu_{max}$ 은 NEF>NEA>NEP 및 NMF>NMA>NMP 순으로 감소하고 특히 NMP와 NEP에서 크게 감소함을 보인다. 카르보닐기에 수소결합을 이룰 때는 질소에 대해서 cis 보다는 trans 위치에 결합을 이루는 것이 보다 안정하다는 결과<sup>9</sup> 발표되었는데, 이것이 사실이라면 카르보닐기에 알킬기가 치환되면 입체적인 장애를 크게 받으리라 생각된다. 그러나 알킬기의 유발효과가 더 크게 작용하여 proton acceptor의 세기

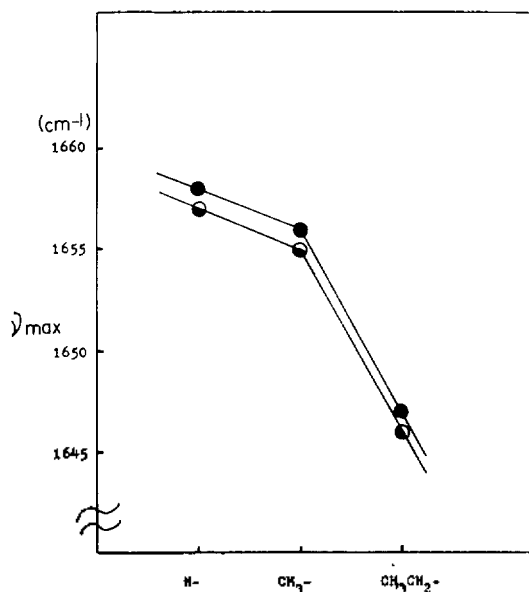


Fig. 3. Effect of C=O substituted alkyl group on the Raman C=O stretching mode  $\nu_{max}$  of various amides. ○ ; N-methyl group, ● ; N-ethyl group.

를 증가시키므로 알킬기의 크기가 증가함에 따라 수소결합을 더 강하게 이루게 됨을 알수 있다. 특히 NEF가 1695cm<sup>-1</sup> 근처에서 shoulder를 보임은 free C=O 또는 약하게 수소결합을 이룬 C=O가 상당수 있음을 뜻하며 NEA의 경우 1640 cm<sup>-1</sup>에서 shoulder를 보임은 분자간의 수소결합을 완전히 이루었거나 하나의 카르보닐기에 2

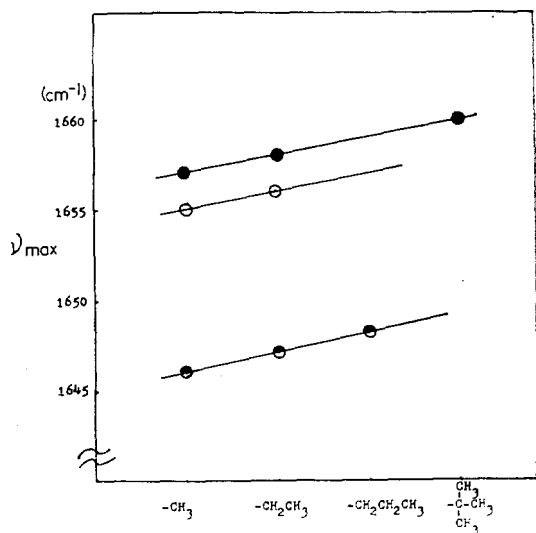


Fig. 4 Effect of N-substituted alkyl group on the Raman C=O stretching mode  $\nu_{\max}$  of various amides. ●; Formamide group, ○; Acetamide group, ◐; Propionamide group

개 이상의 아미드가 수소결합을 이룬 아미드가 많아짐을 암시하고 있다.

**질소에 치환된 알킬기의 효과.** Proton donor site인 질소에 대한 치환기 효과를 살펴보기 위하여 순수한 N-monoalkyl substituted amide들의  $\nu_{\max}$ 와 알킬기의 크기와의 관계를 Fig. 4에 나타내었다.

Formamide 계에서는 NMF < NEF < TBF 순으로, acetamide 계에서는 NMA < NEA 순으로, 그리고 propionamide 계에서는 NMP < NEP < NPP 순으로 알킬기의 탄소수에 비례해서  $\nu_{\max}$ 이 증가함을 보여준다.

카르보닐기에 같은 알킬기가 붙어있는 아미드에서 질소에 치환된 알킬기의 유발효과와 입체장애로 인하여 N-H의 proton donority가 현저히 감소한다고 생각된다. Formamide계는 acetamide계나 propionamide계에 비해 상당히 약한 proton acceptor로 작용하므로 proton donor의 세기와 소수성 작용기인 알킬기의 입체장애가 크게 영향을 미쳐, 알킬기가 커짐에 따라 수소결합을 이루지 않거나, 혹은 매우 약하게 결합된 카르보닐기가 많이 존재하리라고 예상 할 수 있

다. 실제로 NEF와 TBF에서 높은 frequency 영역에서 강한 shoulder를 나타내고 있다.

카르보닐기에 치환된 알킬기는 아미드-아미드의 수소결합을 안정화시켜 주고, 질소에 치환된 알킬기는 수소결합을 약화시키는 효과를 보이고 있는데 이와같은 결과는 Johansson과 Kollman<sup>8</sup> 및 Dreyfus와 Pullman<sup>7</sup>등이 아미드-아미드 수소결합이 미치는 알킬기의 영향을 LCAO SCF MO로 계산한 결과와 일치함을 보이고 있다.

순수한 아미드계에 대한 실험결과를 보충하고 특히 polypeptide나 단백질의 생체내에서의 안정성을 설명할 수 있는 기본자료를 얻기 위하여 아미드-물 계는 물론 몇가지 다른 2성분계에 대해서도 조사하였다.

#### 아미드-용매(물, 메탄올, DMSO, CCl<sub>4</sub>) 2성분계

아미드-용매 혼합계는 순수한 아미드계에 비하여 오히려 많은 연구가 되고 있다. 이는 생체내의 상태가 아미드만의 linkage로 된 순수 아미드계보다 아미드-용매계에 더욱 가깝기 때문이다.

아미드와 물의 2성분계에서 아미드의 C=O와 물의 산소는 proton acceptor로서, N-H와 O-H는 proton donor로서 경쟁적으로 작용하여 수소결합을 이루게 되기 때문에 그 메커니즘을 규명하기는 쉽지 않다. Proton acceptor로서의 상대적인 세기를 비교하는데는 다른 실험 방법을 이용하는 것이 바람직한데 near IR 분광학적인 연구가 적당한 방법이라고 생각되어 이미 많은 연구가 발표되었다.<sup>3,19</sup> 또한 proton donority를 비교하는데는 Raman 분광법이 특히 효과적인데 이것은 아미드의 카르보닐 stretching mode가 나타나는 1650cm<sup>-1</sup> 근처에서는 본 실험에서 사용한 용매들이 전혀 방해할 하지않기 때문에 오직 아미드의 C=O에 결합하는 N-H와 O-H의 proton donority를 효과적으로 비교할 수 있기 때문이다.

본 연구에서는 사용한 아미드가 모두 액체이므로 부피 %로 섞어서 모든 아미드-용매에 대

하여 solvent-rich 영역에서 실험했으며 아미드에 대한 용매의 비가 1:7~9의 몰 비율이 되도록 하였다. (단, NPP는 큰 소수성 작용기(propyl)로 인하여 아미드의 물분율이 0.05~0.48인 영역이 물과 섞이지 않아 아미드 물분율이 0.05와 0.48에서 실험하였다.)

**아미드-물과 아미드-알코올 2 성분계.** 첫째로 카르보닐기에 결합된 알킬기에 의해서 proton acceptor의 세기가 증가된 acetamide계와 propionamide 계에서는 물과 알코올이 가해지면  $\nu_{max}$ 가 아미드-알코올 > 아미드-아미드 > 아미드-물 순으로 감소한다. 이것은 proton acceptor site인 카르보닐기에 대한 proton donorcity가 O-H(물) > N-H(아미드) > O-H(알코올) 순으로 감소함을 의미한다. 순수한 아미드에 물과 알코올이 첨가 되면 band가 broad 해짐을 보이는데 이것은 아미드-물 및 아미드-알코올에서 수소결합의 세기가 비슷한 여러가지 형태의 결합이 가능하기 때문이다. 특히, 아미드-알코올계는 강한 shoulder를 나타내어 알코올의 입체장애가 크게 작용함을 알 수 있다.

또한 아미드에 물이 첨가되면 순수한 아미드-아미드계에서와는 반대로  $\nu_{max}$ 가 NMA > NEA, NMP > NEP > NPP, NMA > NMP 및 NEA > NEP 순으로 감소하는데, 이것은 아미드에 크기가 작은 물이 접근하면 N-에 치환된 알킬기의 입체장애효과는 급격히 감소하게 되고 유발효과가 더 큰 영향을 미치게 되므로 보다 큰 알킬기일 때 더 강한 수소결합을 이룰 수 있게 된다. 한편 카르보닐기에 알킬기가 치환되면 알킬기의 유발효과로 인하여 아미드-아미드 수소결합이 강하게 이루어져 있음을 보여준다. 또한 아미드에 알코올이 첨가되면  $\nu_{max}$ 가 NPP ≈ NEP < NMP, NEA < NMA 및 NMP < NMA, NEP < NEA 순으로 증가된다. 또 순수 아미드에 대한 아미드-알코올 2 성분계의  $\nu_{max}$ 의 증가량은 NMP > NEP ≈ NPP, NMA > NEA, 및 NMP > NMA, NEP ≈ NEA로 감소되며 이는 크기가 작은 물에 비하여 입체장애효과가 크게 작용함을 보여준다.

한편, formamide계는 앞의 두 경우와는 달리  $\nu_{max}$ 가 아미드-아미드 < 아미드-물 < 아미드-알

코올 순으로 증가하게 되는데 이는 카르보닐기에 유발효과를 줄 수 있는 알킬기가 없으므로 proton acceptor의 세기가 acetamide계와 propionamide계에 비하여 훨씬 약화되었기 때문이다. Bonner와 Jordan<sup>12</sup>이 NMF와 NMF-물 계에 대하여 3310cm<sup>-1</sup> 근처에서 나타나는 N-H stretching mode를 조사한 결과도 proton acceptor의 세기가 물의 산소보다 NMF의 카르보닐기가 약함을 보여주는데 이 결과는 본실험과 잘 일치하고 있다.

또한 formamide계에서  $\nu_{max}$ 이 NMF < NEF < TBF 순으로 증가함은 formamide계에서는 유발효과 보다는 입체장애효과가 크게 나타나기 때문이라고 생각되며, 특히 아미드-알코올 계는 입체장애에 효과가 물의 경우보다 크게 작용하는 것으로 생각된다. 이들 결과를 종합해보면 본실험에서 취급한 아미드 중에서 카르보닐기의 proton acceptor 세기가 가장 강한 것은 카르보닐기에 큰 알킬기가 치환되고 N-에 작은 알킬기가 치환된 NMP이며, 반대로 카르보닐기에 치환기가 없어서 유발효과가 없고 N-에 큰 알킬기가 붙은 TBF에서 가장 약한 수소결합을 이루고 있음을 보여주고 있다. 이들 결과는 이론적으로 계산한 결과들과<sup>7-9</sup> 잘 일치하고 enthalpy change로부터 구한 Spencer의 결과와도<sup>6</sup> 일치함을 보인다.

Formamide계의 아미드, 물 및 메탄올의 수소결합의 세기는 실험방법에 따라 약간 반대되는 견해를 보이고 있다<sup>13,15</sup>. 그러나 De Visser와 Somsen<sup>16</sup>, Rohdewald와 Moldner<sup>17</sup>는 NMF-물 계의 농도에 따른 열 용량 연구에서 water-rich 영역에서는 아미드에 물이 들어가면 아미드-아미드 사이의 회합은 깨어지고 물이 아미드의 알킬기를 hydrophobic solvation 한다고 설명하고 있어 흥미있는 결과를 보이고 있다.

**아미드-CCl<sub>4</sub>와 아미드-DMSO 2 성분계.**

아미드에 DMSO를 넣을 경우  $\nu_{max}$ 가 모두 큰 값으로 이동함은 DMSO가 아미드의 사슬을 끊는 structure breaker로<sup>18</sup> 작용하고 있음을 보인다. 이때의 frequency는 formamide계 > acetamide계 > propionamide계 순으로 감소하며 순수

한 아미드에 대한  $\nu_{\max}$ 의 증가량은 NMP>NEP>NPP 및 NMA>NEA로 N-에 치환된 알킬기가 증가함에 따라 감소하고, NMP>NMA 및 NEP>NEA 순으로 카르보닐기에 치환된 알킬기가 증가함에 따라 증가하고 있다.

한편 CCl<sub>4</sub>를 넣을 경우에도 DMSO의 경우와 대체로 비슷하나 NEA, NEP 및 NPP는 오히려 순수한 아미드의 경우에서 보다 약간 낮은 frequency로 이동하고 있음을 보여주고 있는데 이제까지 CCl<sub>4</sub>를 첨가하면 수소결합이 끊어진다는 잘 알려진 사실과 달리 아미드의 소수성 작용기와 CCl<sub>4</sub> 사이에 dipole interaction에 의해서 오히려 수소결합이 강화되지 않을지 추측되지만 결론을 얻기 위해서는 보다 체계적인 실험의 뒷받침이 필요할 것 같다.

#### 4. 결 론

첫째로 N-에 치환된 알킬기의 유발효과와 입체장애효과로 인하여 아미드의 proton donor의 세기가 감소되어 아미드-아미드 수소결합이 약화되며, 아미드-물, 아미드-알코올의 수소결합은 강화된다. 알킬기가 카르보닐기에 치환되면 알킬기의 유발효과는 아미드의 proton acceptor의 세기를 증가시켜 아미드-아미드, 아미드-물, 아미드-알코올의 수소결합의 세기를 증가시킨다.

둘째로 NMF, NEF, TBF의 formamide계는 proton acceptor인 아미드에 대해 아미드-아미드>아미드-물>아미드-메탄올 순의 수소결합의 세기를 지나고,

셋째로 NMA, NEA, NMP, NEP, NPP의 acetamide계와 propionamide계는 아미드-물>아미드-아미드>아미드-메탄올순의 상대적인 수소결합의 세기를 지난다.

본 연구는 1982년도 문교부 기초과학 특성화 계획에 의한 보조로 이루어졌음을 밝히며 이에 감사드리고 바이다.

#### 인 용 문 헌

1. T. H. Lilley *et al*, *J. C. S. Faraday I*, **76**, 906 (1980).
2. R. C. Neuman, J. W. Snider and V. Jonas, *J. Phys. Chem.*, **72**, 2469 (1968).
3. O. D. Bonner and Y. S. Choi, *Spectrochim. Acta*, **31A** (1975).
4. A. R. Giaquinto *et al.*, *J. Solution Chem.*, **6**, 687 (1977).
5. T. H. Lilley *et al*, *J. C. S. Faraday I*, **76**, 901 (1980).
6. J. N. Spencer, *J. Phys. Chem.*, **85**, 1241(1981).
7. A. Johansson, P. Kollman, S. Rothenberg and J. Mckelvey, *J. Amer. Chem. Soc.*, **96**, 3794 (1974).
8. A. Johansson and P. Kollman, *J. Amer. Chem. Soc.*, **94** (1974).
9. J. E. Del Bene, *J. Amer. Chem. Soc.*, **100**, 1387 (1978).
10. R. Y. Lin and W. Daunhouser, *J. Phys. Chem.*, **67**, 1805 (1963).
11. M. Claude, B. Houplain, and C. Sandorfy, *Can. J. Chem.*, **51**, 3640 (1973).
12. O. D. Bonner and C. F. Jordan, *Physics*, **8**, 293 (1976).
13. P. Assazsson and F. R. Eirich, *J. Phys. Chem.*, **72**, 2710 (1968).
14. J. F. Hinton and K. H. Ladner, *Spectrochim Acta*, **28A**, 1731 (1972).
15. F. Shahidi, P. G. Ferell and J. T. Edward, *J. C. S. Faraday*, **73**, 715 (1977).
16. C. de Visser and G. Somsem, *Z. Physik. Chem. Neue Folge Bd*, **92S**, 159 (1974).
17. P. Rohdewald and M. Moldner, *J. Phys. Chem.*, **77**, 73 (1973).
18. J. R. Scherer and M. K. Go, *J. Phys. Chem.*, **77**, 2108 (1973).
19. Y. S. Choi *et al*, *The Sciences and Tech. Korea University*, **22**, 219 (1981).