

수용성 폴리파라시클로판류와 약물과의 상호작용(제 3보)  
수용액 중 수용성 폴리파라시클로판류와 형광 소수  
나프탈렌 유도체류와의 복합체 형성

전인구<sup>†</sup> · 이민화<sup>\*</sup>

동덕여자대학교 약학대학, \*서울대학교 약학대학

(1989년 4월 24일 접수)

**Interactions between Water-Soluble Polyparacyclophanes and Drugs (III)  
Complex Formation of Water-Soluble Polyparacyclophanes with  
Fluorescent Hydrophobic Naphthalene Derivatives in Aqueous Solution**

In Koo Chun<sup>†</sup> and Min Hwa Lee<sup>\*</sup>

College of Pharmacy, Dongduk Women's University, Seoul 136-714, Korea and

\*College of Pharmacy, Seoul National University, Seoul 151-742, Korea

(Received April 24, 1989)

Complex formation of water-soluble polyparacyclophanes bearing two diphenylmethane or two diphenyl ether skeletons with 1-anilino-naphthalene-8-sulfonate (ANS) and 2-*p*-toluidinylnaphthalene-6-sulfonate (TNS) was investigated quantitatively to develop useful host compounds comparing with  $\alpha$ - and  $\beta$ -cyclodextrins ( $\alpha$ - and  $\beta$ -CyDs) in aqueous solution. Benesi-Hildebrand type analysis of the fluorescent intensity showed that the dissociation constants (Kd) of paracyclophane-ANS complexes were  $1.55 \times 10^{-4}M$  for 1,6,20,25-tetraaza[6.1.6.1]paracyclophane (CPM 44) and  $1.23 \times 10^{-4}M$  for 1,7,21,27-tetraaza[7.1.7.1]paracyclophane (CPM 55), and those of paracyclophane-TNS complexes were  $6.99 \times 10^{-6}M$  for CPM 44 and  $6.23 \times 10^{-5}M$  for CPM 55, in 1:1 molar ratio. On the other hand, the Kd values of 1,7,21,27-tetraaza-14,34-dioxo[7.1.7.1]paracyclophane (CPE 55)-ANS, 1,8,22,29-tetraaza-15,36-dioxo[8.1.8.1]paracyclophane (CPE 66)-ANS, CPE 55-TNS, CPE 66-TNS complexes were  $1.75 \times 10^{-3}M$ ,  $3.07 \times 10^{-3}M$ ,  $3.75 \times 10^{-3}M$  and  $2.15 \times 10^{-3}M$ , respectively. On the contrary, the Kd values of  $\alpha$ -CyD-ANS,  $\beta$ -CyD-ANS,  $\alpha$ -CyD-TNS and  $\beta$ -CyD-TNS complexes were found to be  $3.98 \times 10^{-2}M$ ,  $1.05 \times 10^{-2}M$ ,  $1.38 \times 10^{-2}M$  and  $3.52 \times 10^{-4}M$ , respectively. These results mean that the complexation of CPMs with ANS or TNS is by 5.6-1,975 fold stronger than that for  $\alpha$ - or  $\beta$ -CyDs, and the complex formation of CPEs with ANS or TNS is nearly same as or somewhat stronger than that for  $\alpha$ - or  $\beta$ -CyDs. From the Kd values determined at different temperatures, thermodynamic parameters were calculated and the complexation was found to be a spontaneous exothermic reaction. The effects of pH on Kd values of CPM 44-ANS, and CPM 55-ANS complexes were negligible in the range of pH 1.2-1.8. However, the Kd values of these complexes increased significantly with increasing ionic strength.

**Keywords**—water-soluble paracyclophane, inclusion complex, 1-anilino-naphthalene-8-sulfonate, 2-*p*-toluidinylnaphthalene-6-sulfonate,  $\alpha$ - and  $\beta$ -cyclodextrins, Benesi-Hildebrand plot, fluorescence, dissociation constant, temperature, pH, ionic strength, thermodynamic parameter

<sup>†</sup>본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로.

수용성 폴리파라시클로판류가 수용액 중에서 기질을 그 疎水內孔에 포접한다는 사실이 몇몇 예에서 확인되었다<sup>1-7)</sup>. Odashima 등<sup>8)</sup>은 근년 디페닐메탄 골격의 수용성 파라시클로판류를 설계·합성하고 수용액 중에서 1-anilinonaphthalene-8-sulfonate(ANS)와의 상호작용을 형광법으로 검토하고 형광강도가 현저히 증대하여 ANS가 비극성 환경으로 이행하였거나 ANS의 입체구조가 변화되었음을 시사하였다. 그는 또 내공의 크기를 계통적으로 변화시켜 여러 유도체를 만들고 수용액 중에서 ANS와의 상호작용을 검토하여 해리정수(Kd)를 산출한 다음<sup>9)</sup> host의 내공의 크기와 소수 면적의 변화에 따라 host-guest 인식에 큰 차이가 있음을 보고하였다<sup>10)</sup>. 이들 디페닐메탄 골격의 환화물에 관해서 기질포접성, 구조적 특이성 및 기질 선택성 등에 중점을 두어 연구되었으나 host-guest 상호작용에 미치는 외적 요인의 영향에 대해서는 검토된 바 없다.

저자 등은 前報에서 디페닐에테를 골격으로 하는 수용성 파라시클로판류를 설계 합성하고<sup>11)</sup> Odashima 등이 합성한 디페닐메탄 골격의 환화물류와 함께 수용액 중에서 ANS 및 2-*p*-toluidinylnaphthalene-6-sulfonate(TNS)를 형광 소수기질로 하여 이들 환화물과 기질의 공존시의 상호작용을 형광 스펙트라의 변화, 형광강도의 변화에 미치는 환화물 및 기질의 농도 영향, pH, 이온강도 등 외적 영향을 각 환화물의 비환상체,  $\alpha$ - 및  $\beta$ -시클로덱스트린(CyD)과 비교하여 동일 조건에서 검토하였다<sup>12)</sup>. 그 결과 내공의 크기가 큰 환화물은 ANS 및 TNS의 공존시 현저한 형광강도의 증대와 함께 blue shift를 나타내었으며 이러한 변화는  $\alpha$ - 및  $\beta$ -CyD보다 현저히 컸다. 또 환화물 및 기질의 상호 농도 증가로 형광강도가 현저히 증가하였다. 환화물과 기질의 공존시 나타나는 형광강도에 미치는 pH의 영향은 pH 2.0 이하에서는 거의 없었으며, 이온강도의 영향은 이온강도가 증가할수록 현저히 형광강도가 감소되어 host-guest의 소수성 상호작용에 정전적 상호작용이 관여됨을 확인하였다.

본 연구에서는 이들 환화물 중 현저히 형광강도를 증대시킨 내공이 큰 환화물과 형광소수기

질<sup>13-16)</sup>과의 복합체 형성에 따른 해리정수를 산출하고 이 해리정수에 미치는 온도, pH 및 이온강도의 영향을  $\alpha$ - 및  $\beta$ -CyD와 동일 조건에서 비교 검토하였다.

## 실험방법

### 시 료

디페닐메탄 골격의 환화물로 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 Soga 등<sup>9)</sup>의 방법에 따라 합성하여 질량분석으로 구조가 확인된 것을 썼으며 디페닐에테 골격의 환화물로 1,7,21,27-tetraaza-14,34-dioxo[7.1.7.1]paracyclophane(CPE 55) 및 1,8,22,29-tetraaza[8.1.8.1]paracyclophane(CPE 66)은 前報<sup>11)</sup>에서와 같은 방법으로 만든 것을 사용하였다.  $\alpha$ - 및  $\beta$ -CyD는 Aldrich Chem. Co.의 특급품을 썼다. 소수 형광기질로 1-anilinonaphthalene-8-sulfonic acid ammonium salt(ANS)는 Tokyo Kasei Co.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 황산퀴닌은 Wako Pure Chem. Co.의 특급품을 썼다. 시험에 쓴 물은 증류수를 Milli-Q™ water purification system을 통과시켜 사용하였고 기타 시약류는 시판 특급품을 그대로 사용하였다.

### 기 기

형광 측정은 Shimadzu model RF 510 형광분광광도계(150W Xenon lamp, R542 phototube)를 써서 측정하였으며 pH는 Fisher Accumet 620 pH 측정기를 사용하여 측정하였다.

### 형광 측정조건

형광강도의 측정은 response : medium, slit : excitation 10 nm, emission 40 nm, 여기 파장 375 nm(ANS 및 TNS)<sup>5,14)</sup>, 형광 측정 파장 505 nm(ANS), 495 nm(TNS), gain 50 또는 100에서 조제한 후 1시간 이내에 측정하였다. 매 측정 전 15분 이상 예열하였으며 매 측정시마다 황산퀴

년의 0.5N 황산용액 (1×10<sup>-7</sup>M)의 형광을 측정하여 필요에 따라 보정을 행하였다.

**시료용액의 조제**

환화물과 형광소수기질의 공존 시료용액은 pH 1.95 KCl-HCl 완충액을 써서 다음과 같이 조제하였다. 온도의 영향은 15, 25 및 35±0.2°C로 변화시켰으며 시료용액의 pH 변화는 KCl-HCl 완충액을 사용하여 pH 1.2, 1.4, 1.6 및 1.8±0.01로 조절하였고, 이온강도의 영향은 시료용액에 KCl을 넣어 이온강도를 0.061-0.3으로 변화시켜 형광강도를 측정하였다.

**CPM류 - ANS 복합체** - CPM 44-ANS 계는 ANS의 농도를 4×10<sup>-6</sup>M로 고정하고, CPM 44의 농도를 2.07, 4.14, 8.28..., 28.98×10<sup>-5</sup>M로 하여 8개 시료용액의 형광강도를 측정하였으며 CPM 55-ANS 계는 ANS의 농도를 4×10<sup>-6</sup>M로 고정하고 CPM 55의 농도를 2, 4, 8..., 28×10<sup>-5</sup>로 하여 8개 시료용액의 형광강도를 측정하였다.

**CPM류 - TNS 복합체** - CPM 44-TNS 계는 TNS의 농도를 4×10<sup>-6</sup>M로 고정하고 CPM 44의 농도를 1.035, 2.07..., 8.28×10<sup>-5</sup>M로 변화시켜 8개 시료용액의 형광강도를 측정하였다. CPM 55-TNS 계는 TNS의 농도를 4×10<sup>-6</sup>M로 고정하고 CPM 55의 농도를 2, 4, 8, 12, 16..., 28×10<sup>-5</sup>M로 하여 8개 시료용액의 형광강도를 측정하였다.

**CPE류 - ANS 복합체** - CPE 55-ANS 계는 ANS의 농도를 2×10<sup>-5</sup>M로 하고, CPE 55의 농도를 4, 6, 8, 12, 16..., 28×10<sup>-5</sup>M로 변화시켜 8개 시료용액의 형광강도를 측정하였다. CPE 66-ANS 계는 ANS의 농도를 2×10<sup>-5</sup>M로 하고, CPE 66의 농도를 2, 2.8, 3.6, 4.8, 8, 12, 16, 20×10<sup>-5</sup>M로 하여 8개 시료용액의 형광강도를 측정하였다.

**CPE류 - TNS 복합체** - CPE 55-TNS 계는 TNS의 농도를 2×10<sup>-5</sup>M로 하고, CPE 55의 농도를 4, 8, 12, 16, 20, 28, 40, 48, 60×10<sup>-5</sup>M로 변화시켜 시료용액으로 하고, CPE 66-TNS 계는 TNS의 농도를 2×10<sup>-5</sup>M로 하고 CPE 66의 농도를 2, 2.8, 3.6, 4.8, 6, 8, 12, 16, 20×10<sup>-5</sup>M로 변

화시켜 시료용액의 형광강도를 측정하였다.

**CyD류 - ANS 복합체** - α-CyD-ANS 계는 ANS의 농도를 1×10<sup>-4</sup>M로 하고, α-CyD의 농도를 3.948~31.584×10<sup>-4</sup>M로 변화시켜 8개 시료용액으로 하고, β-CyD-ANS 계는 ANS의 농도를 4×10<sup>-6</sup>M로 하고 β-CyD의 농도를 4, 12, 20, 28..., 60×10<sup>-4</sup>M로 변화시켜 8개 시료용액의 형광강도를 측정하였다.

**CyD류 - TNS 복합체** - α-CyD-TNS 및 β-CyD-TNS 계에 대하여 TNS의 농도를 1.2×10<sup>-5</sup>M로 고정시키고 α-CyD의 농도는 5.92, 7.90, 9.87, 13.82, 19.74, 29.61, 39.48×10<sup>-4</sup>M로 변화시켰고, β-CyD의 농도는 2, 3.2, 5, 8, 10, 20, 30, 40, 48, 60×10<sup>-4</sup>M로 변화시켜 각각의 시료용액의 형광강도를 측정하였다.

**해리정수의 측정**

복합체의 해리정수(K<sub>d</sub>)의 측정은 형광강도의 측정에 의해 Benesi-Hildebrand의 방법<sup>17)</sup>에 따라 다음과 같이 해석하여 산출하였다.

$$H + G \rightleftharpoons HG \quad (1:1 \text{ 복합체})$$

$$\text{형광강도} \quad \epsilon_H C_H + \epsilon_G C_G \rightleftharpoons \epsilon_{HG} C_{HG}$$

$$K_d = \frac{C_H \cdot C_G}{C_{HG}} \quad (1)$$

단, host(H)의 초농도 C<sub>H</sub><sup>o</sup>=C<sub>H</sub>+C<sub>HG</sub>, guest(G)의 초농도 C<sub>G</sub><sup>o</sup>=C<sub>G</sub>+C<sub>HG</sub>이며 ε<sub>H</sub>, ε<sub>G</sub>, ε<sub>HG</sub>는 각각 host, guest 및 복합체의 몰형광강도이다. 또 측정된 형광강도(E<sub>obs</sub>)는 E<sub>obs</sub>=ε<sub>H</sub>C<sub>H</sub>+ε<sub>G</sub>C<sub>G</sub>+ε<sub>HG</sub>C<sub>HG</sub>이며 ΔE=E<sub>obs</sub>-(ε<sub>H</sub>C<sub>H</sub><sup>o</sup>+ε<sub>G</sub>C<sub>G</sub><sup>o</sup>), Δε=ε<sub>HG</sub>-(ε<sub>H</sub>+ε<sub>G</sub>)로 놓고 K<sub>d</sub>≫C<sub>HG</sub> 또는 C<sub>H</sub><sup>o</sup>C<sub>G</sub><sup>o</sup>-(C<sub>H</sub><sup>o</sup>+C<sub>G</sub><sup>o</sup>)C<sub>HG</sub>≫C<sub>HG</sub><sup>2</sup>로 근사시키면;

$$\frac{C_H^o \cdot C_G^o}{\Delta E} = \frac{1}{\Delta \epsilon} (C_H^o + C_G^o) + \frac{K_d}{\Delta \epsilon} \quad (2)$$

의 (2)식이 얻어진다. 따라서 (C<sub>H</sub><sup>o</sup>+C<sub>G</sub><sup>o</sup>)에 대하여 C<sub>H</sub><sup>o</sup>·C<sub>G</sub><sup>o</sup>/ΔE를 플롯하여 직선이 얻어지면 1:1의 복합체 형성을 의미하며 직선의 기울기로부터 Δε를, Δε 및 절편으로부터 K<sub>d</sub>값을 구할 수 있다.

또 ANS 및 TNS의 기질과 환화물과의 K<sub>d</sub>를 측정할 때 측정결과의 오차를 최소화하기 위하여

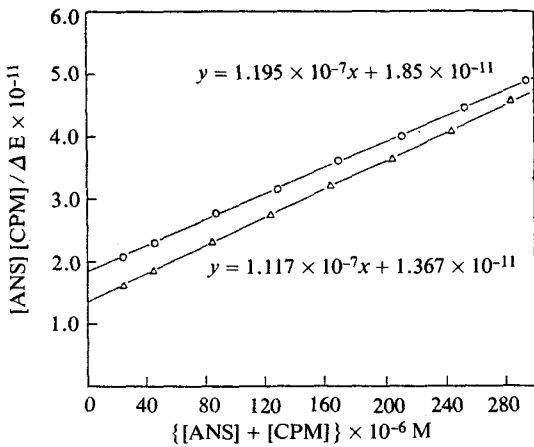


Figure 1—The Benesi-Hildebrand plots of CPM 44-ANS (○) and CPM 55-ANS (△) complex systems in pH 1.95 KCl-HCl buffer ( $\mu=0.061$ ) and at 25 °C.

기질의 농도는 농도와 형광강도의 직선성이 성립하는 범위에서 여기과장에서의 시료용액의 흡광도는 0.02 이하<sup>18)</sup>로 하였다.

실험결과 및 고찰

복합체의 해리정수

여러 시료용액의 형광강도를 측정하여 (2)식에 따라 Benesi-Hildebrand 플롯트를 행한 결과 Fig.1에서와 같이 25°C 및 이온강도 0.061에서 CPM 44-ANS 및 CPM 55-ANS 복합체의 경우 양호한 직선관계가 얻어져 1:1의 몰비로 복합체가 형성됨이 확인되었으며 이 직선의 기울기 및 절편으로부터 해리정수를 산출하였다. 또 CPM 44-TNS 및 CPM 55-TNS 복합체에 있어서도 Fig.2에서와 같이 플롯트하여 Kd 값을 구하였다. 수용액 중 온도변화에 따른 Kd 값의 변화를 알기 위하여 15 및 35°C에서도 형광강도를 측정하여 같은 방법으로 처리하여 Kd 값을 산출하였다.

또한 CyD류로서  $\alpha$ - 및  $\beta$ -CyD를 택하여 동일 소수형광기질과의 복합체 형성을 같은 원충액 중에서 비교 검토하고자 15, 25 및 35°C를 유지하면서 형광적정을 행하고 그 형광강도를 측정하여 Kondo 등<sup>19)</sup>의 방법에 따라 (3)식에 의해 데이터를 처리하였다.

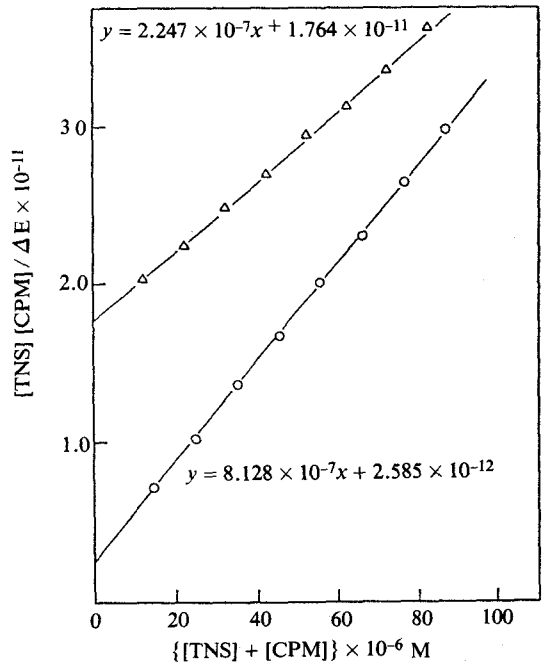


Figure 2—The Benesi-Hildebrand plots of CPM 44-TNS (○) and CPM 55-TNS (△) complex systems in pH 1.95 KCl-HCl buffer ( $\mu=0.061$ ) and at 25 °C.

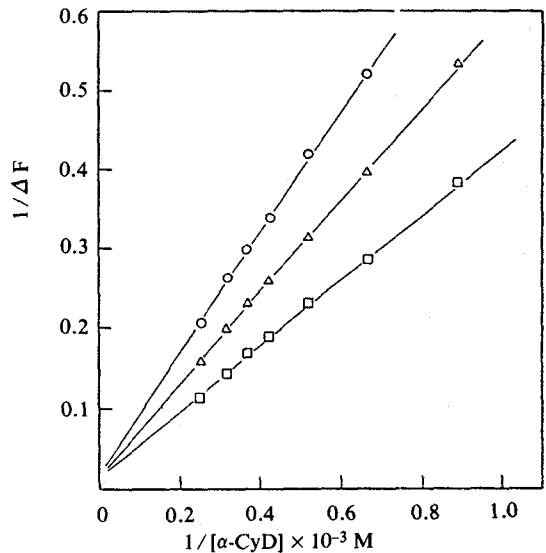
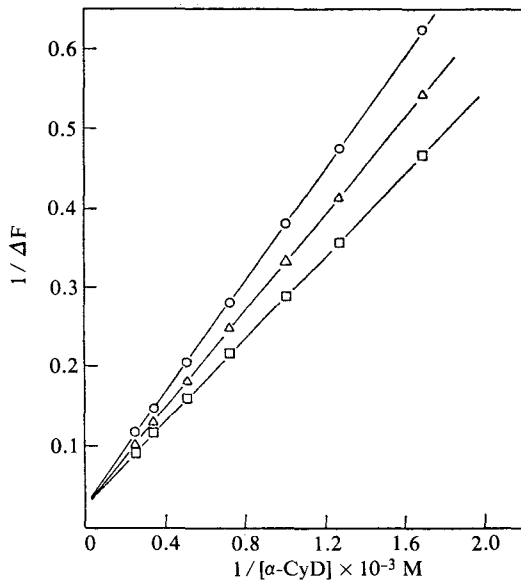


Figure 3—Fluorescence titration of ANS with  $\alpha$ -cyclodextrin in pH 1.95 KCl-HCl buffer ( $\mu=0.061$ ). The concentration of ANS was constant at  $1 \times 10^{-4}$  M. ○; 35 °C, △; 25 °C and □; 15 °C.



**Figure 4**—Fluorescence titration of TNS with  $\alpha$ -cyclodextrin in pH 1.95 KCl-HCl buffer ( $\mu = 0.061$ ). The concentration of TNS was constant at  $1.2 \times 10^{-5}$  M.  $\circ$ ; 35°C,  $\Delta$ ; 25°C and  $\square$ ; 15°C.

$$\frac{1}{\Delta F} = \frac{K_d}{\alpha \cdot C_0^0} \cdot \frac{1}{C_H^0} + \frac{1}{\alpha \cdot C_0^0} \quad (3)$$

단  $\Delta F$ 는 상대형광강도,  $C_H^0$  및  $C_0^0$ 는 각각 CyD 및 기질의 총 농도이며  $\alpha$ 는 비례 상수이다.

Fig.3은  $\alpha$ -CyD-ANS의 복합체 형성에 대하여 15, 25 및 35°C에서 형광적정을 하여 얻은 형광강도를 가지고 (3)식에 따라 플로트한 것이다. 또  $\alpha$ -CyD-TNS 계에 대하여 동일하게 처리한 결과는 Fig.4이다. 이들 모두 직선성이 양호하여 온도 조건에 관계없이 측정된 농도범위에서 1:1의 복합체가 형성되었다. 한편 ANS 및 TNS의 기질과  $\beta$ -CyD 간에는 형광적정하여 (3)식에 따라 플로트한 결과  $\beta$ -CyD의 저농도측에서는 완만한 직선이 얻어졌으나 고농도측에서는 기울기가 큰 직선이 얻어졌다. 이는 Kondo 등<sup>15)</sup>의  $\beta$ -CyD-TNS 및  $\gamma$ -CyD-TNS 계에서의 결과와 일치된 것으로 CyD의 고농도측에서는 1:1 이외에 1:2 복합체가 형성됨을 뒷받침한다.

이상의 8종 복합체에 대하여 15, 25 및 35°C에서 Kd 값을 산출한 결과를 Table I에 정리하였다. 이에서 보면 CPM 44는 25°C에서 ANS 및

TNS와의 복합체의 Kd 값이 각각  $1.55 \times 10^{-4}$  M 및  $6.99 \times 10^{-6}$  M이었으며 CPM 55의 경우는 각각  $1.23 \times 10^{-4}$  M 및  $6.23 \times 10^{-5}$  M이었다. 기질의 수용성 파라시클로판의 경우 환골격에 4개의 질소 원자를 갖는 heterocyclophane<sup>4)</sup>, 4개의 윗환 원자를 갖는 heterocyclophane<sup>5)</sup> 및 4급 암모늄기를 갖는 양이온성 [20]paracyclophane<sup>6)</sup>과 ANS 간 복합체의 Kd 값이 각각  $1.8 \times 10^{-3}$  M,  $6.3 \times 10^{-4}$  M 및  $9.1 \times 10^{-5}$  M이었으며, 따라서 CPM 44 및 CPM 55와 ANS 간 복합체의 Kd 값이  $1.55 \times 10^{-4}$  M 및  $1.23 \times 10^{-4}$  M이라고 하는 것은 같은 정도 또는 보다 강한 복합체 형성능을 의미한다. 또 CPM 44와 TNS 간 복합체의 25°C에서 Kd 값이  $6.99 \times 10^{-6}$  M이라고 하는 것은 host와 기질을 각각 0.1 M 농도로 공존시킬 때 기질의 99.2%가 복합체의 결합형으로 존재함을 의미한다. 이 TNS-CPM 44 복합체의 안정도 정수( $Kc'$ )는  $\alpha$ - 및  $\beta$ -CyD 복합체의 그것에 비하여 25°C에서 각각 1,975 및 50배 컸으며, TNS-CPM 55 복합체도 각각 221 및 5.6배 큰  $Kc'$ 값을 나타내었다. ANS-CPM 44 복합체의  $Kc'$ 값이  $\alpha$ - 및  $\beta$ -CyD의 복합체 비하여 25°C에서 각각 약 248 및 68배 이었고, ANS-CPM 55 복합체의  $Kc'$ 값도 약 313 및 86배가 컸다.

한편 디페닐에틸 골격의 환상체는 pH 1.95(이온 강도 0.3) 및 25°C에서 ANS-CPE 55, ANS-CPE 66, TNS-CPE 55 및 TNS-CPE 66 복합체의 Kd 값은 각각  $1.75 \times 10^{-3}$  M,  $3.07 \times 10^{-3}$  M,  $3.75 \times 10^{-3}$  M 및  $2.15 \times 10^{-3}$  M이었으며 ANS의 형광기질에 대해서는 대체로  $\alpha$ - 및  $\beta$ -CyD보다 안정한 복합체를 형성하였다. TNS에 대해서는  $\alpha$ -CyD보다 복합체 형성능이 강하였고  $\beta$ -CyD보다는 다소 약하였다.

#### 온도가 복합체의 해리정수에 미치는 영향

환화물과 형광소수기질간의 복합체형성에 미치는 온도의 영향을 검토하였다. 온도가 상승됨에 따라 Kd 값은 커졌으며 그 폭은 복합체 시스템에 따라 다소 상이하였다. Kd 값의 온도의존성으로부터 (4)~(6)식에 따라 열역학적 파라미터를 구하여 Table I에 정리하였다.

$$\Delta G = -2.303RT \log K \quad (4)$$

**Table I**—Thermodynamic Parameters of Various Isothermal Equilibrium Systems for Host-Guest Interaction in pH 1.95 KCl-HCl Buffer ( $u = 0.061$ ) and at Various Temperatures.

Complex system	Temperature, T °K	Dissociation constant, Kd (M)	Stability constant, Kc' (M <sup>-1</sup> )	ΔG (Kcal/Mole)	ΔH (Kcal/mole)	ΔS (cal/deg/mole)
ANS-CPM 44	288	$1.02 \times 10^{-4}$	9,084	-5.21		+5.61
	298	$1.55 \times 10^{-4}$	6,452	-5.20	-3,595	+5.39
	308	$2.29 \times 10^{-4}$	4,367	-5.13		+4.98
ANS-CPM 55	288	$6.58 \times 10^{-5}$	15,198	-5.51		-0.01
	298	$1.23 \times 10^{-4}$	8,130	-5.33	-5.513	-0.61
	308	$2.28 \times 10^{-4}$	4,396	-5.13		-1.24
TNS-CPM 44	288	$3.13 \times 10^{-6}$	319,489	-7.25		+2.83
	298	$6.99 \times 10^{-6}$	143,164	-7.03	-6.436	+1.99
	308	$1.33 \times 10^{-5}$	75,188	-6.87		+1.41
TNS-CPM 55	288	$4.27 \times 10^{-5}$	23,419	-5.76		+8.82
	298	$6.23 \times 10^{-5}$	16,051	-5.73	-3.22	+8.42
	308	$8.80 \times 10^{-5}$	11,364	-5.72		+8.12
ANS-α-CyD <sup>a)</sup>	288	$2.88 \times 10^{-2}$	35	-2.03		-1.70
	298	$3.89 \times 10^{-2}$	26	-1.92	-2.52	-2.01
	308	$5.08 \times 10^{-2}$	20	-1.82		-2.27
ANS-β-CyD <sup>b)</sup>	288	$8.61 \times 10^{-3}$	116	-2.72		+3.33
	298	$1.05 \times 10^{-2}$	95	-2.70	-1.76	+3.15
	308	$1.28 \times 10^{-2}$	78	-2.67		+2.95
TNS-α-CyD	288	$1.19 \times 10^{-2}$	84.0	-2.54		+4.45
	298	$1.38 \times 10^{-2}$	72.5	-2.54	-1.258	+4.30
	308	$1.58 \times 10^{-2}$	63.3	-2.54		+4.16
TNS-β-CyD	288	$2.97 \times 10^{-4}$	3,367	-4.65		+10.85
	298	$3.52 \times 10^{-4}$	2,841	-4.71	-1.524	+10.69
	308	$4.19 \times 10^{-4}$	2,387	-4.76		+10.51

<sup>a)</sup> α-Cyclodextrin. <sup>b)</sup> β-Cyclodextrin

$$\log K_2/K_1 = \frac{\Delta H}{2.303R} \left( \frac{T_2 - T_1}{T_1 - T_2} \right) \quad (5)$$

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S \quad (6)$$

단,  $K_1$  및  $K_2$ 는 각각  $T_1$  및  $T_2$ 에서의 안정도 정수이며,  $T$ 는 절대온도,  $R$ 은 기체정수,  $\Delta G$ 는 자유에너지의 변화,  $\Delta H$ 는 enthalpy의 변화,  $\Delta S$ 는 entropy의 변화이다.

van't Hoff plot는 15~35°C의 온도범위에서 양호한 직선관계를 나타내었으며 ANS 및 TNS와

각 환화물간의 포접평형은 모두 자발적 발열반응이었으며 負의  $\Delta H$ 를 나타내었다. 한편  $\Delta S$ 는 환화물 및 기질분자의 종류에 따라 正 또는 負의 값을 보여 주어 상호작용 기구의 복잡성을 반영하였다.

#### pH가 복합체의 해리정수에 미치는 영향

수용액 중 ANS와 CPM 44 및 CPM 55 간의 복합체 형성에 미치는 pH의 영향을 KCl-HCl 완충액(이온강도 0.1)에서 검토하였다. Table II에서와 같이 ANS-CPM 44 및 ANS-CPM 55 복합

**Table II**—Effect of pH on the Dissociation Constants of ANS-CPM 44 and ANS-CPM 55 Complexes in KCl-HCl Buffer and at 25°C.

Complex system	Dissociation constant ( $\times 10^4$ M)			
	pH			
	1.2	1.4	1.6	1.8
ANS-CPM 44	1.80	1.78	1.89	1.90
ANS-CPM 55	1.45	1.43	1.33	1.41

KCl-HCl buffers for various pH values were adjusted to have constant ionic strength ( $\mu=0.1$ ) with potassium chloride.

**Table III**—Effect of Ionic Strength on the Dissociation Constants of ANS-CPM 44 and ANS-CPM 55 Complexes in pH 1.95 KCl-HCl Buffer and at 25°C.

Complex system	Dissociation constant ( $\times 10^4$ M)			
	Ionic strength			
	0.061	0.1	0.2	0.3
ANS-CPM 44	1.55	1.84	2.52	4.35
ANS-CPM 55	1.23	1.45	1.69	2.07

체 모두 pH 1.2~1.8의 범위에서 별다른 차이는 없었다. 이는 환화물과 기질의 공존시 형광강도에 미치는 pH의 영향이 거의 없었던 결과<sup>12)</sup>와 일치된다. 이러한 결과를 pH 2.0 이하의 산성 수용액에서는 CPM 44와 CPM 55가 모두 아민염(4HCl)으로 존재함으로써 환골격의 4개의 질소원자가 포화되어 기질과의 정전적 상호작용<sup>10)</sup>에 유의성있는 차이를 나타내지 않았기 때문으로 생각된다.

#### 이온강도가 복합체의 해리정수에 미치는 영향

이온강도가 ANS-CPM 44 및 ANS-CPM 55 간의 복합체 형성에 미치는 영향을 pH 1.95 KCl-HCl 완충액에서 검토하였다. 그 결과는 Table III과 같다. 이에서 보면 이온강도가 0.061에서 0.3까지 증가됨에 따라 ANS-CPM 44 복합체는 약 1.8배, ANS-CPM 55는 약 1.7배로 그 Kd 값이 증대하였다. 이는 이온강도가 커짐에 따라 용액내의 internal pressure의 증가<sup>20)</sup>로 소수성 상호작용 및 정전적 상호작용을 위한 포점의 driving force가 약화되기 때문인 것으로 추정된다.

## 결론

디페닐메탄을 골격으로 하는 수용성 폴리파라시클로판류(CPM 44 및 CPM 55)와 디페닐에틸을 골격으로 하는 수용성 폴리파라시클로판류(CPE 55 및 CPE 66)를 가지고 종래의  $\alpha$ - 및  $\beta$ -시클로덱스트린( $\alpha$ - 및  $\beta$ -CyD)을 비교 host 화합물로 하여 수용액 중에서 형광소수기질(ANS 및 TNS)과의 복합체 형성을 온도, pH 및 이온강도( $\mu$ )를 변화시키면서 형광법으로 검토하였다. 그 결론은 다음과 같다.

1. pH 1.95 KCl-HCl 완충액(25°C,  $\mu=0.061$ ) 중 CPM 44-ANS, CPM 44-TNS, CPM 55-ANS 및 CPM 55-TNS 복합체의 해리정수(Kd)는 각각  $1.55 \times 10^{-4}$  M,  $6.99 \times 10^{-6}$  M,  $1.23 \times 10^{-4}$  M 및  $6.23 \times 10^{-5}$  M로 매우 강한 1:1의 복합체를 형성하였고  $\alpha$ - 및  $\beta$ -CyD 복합체의 Kd 값과 비교할 때 전체적으로 5.6~1,975배의 강한 복합체 형성능을 나타내었다. 반면 CPE 류의 ANS 및 TNS와의 복합체 형성능은  $\alpha$ - 및  $\beta$ -CyD와 다소 강하거나 거의 같은 정도이었다.

2. CPM 류 및 CyD 류와 ANS 및 TNS 간의 복합체는 온도가 높아짐에 따라 온도 의존적으로 Kd 값이 증가되었으며 열역학적 파라미터를 구한 결과 자발적 발열반응이었다. 또  $\mu=0.1$  및 pH 1.2~1.8의 범위에서 CPM 44-ANS 복합체의 Kd 값은  $1.78 \times 10^{-4}$  M~ $1.90 \times 10^{-4}$  M, CPM 55-ANS 복합체의 Kd 값은  $1.33 \times 10^{-4}$  M~ $1.45 \times 10^{-4}$  M로 pH가 복합체 형성에 미치는 영향은 거의 없었다. 그러나 pH 1.95 및 25°C에서  $\mu$ 가 0.061에서 0.3으로 증가됨에 따라 CPM 44-ANS 복합체의 경우 Kd 값에 약 1.8배 증가되고 CPM 55-ANS 복합체는 Kd 값이 약 1.7배 증가되어 복합체 형성능이 감소되었으나 높은 이온강도하에서도 강한 복합체를 형성하였다.

## 문헌

- 1) Y. Murakami, Y. Aoyama and K. Dobashi, Macrocyclic enzyme model systems. Concurrent nucleophilic-electrostatic bifunctional

- catalysis by [20] paracyclophanes in a deacylation of *p*-nitrophenyl carboxylates, *J.C.S. Perkin II*, 24-32 (1977)
- 2) Y. Murakami, Y. Aoyama and K. Dobashi, Macrocyclic enzyme model systems, Unusual nucleophilic reactivity of un-ionized [20] paracyclophane oximes, *ibid.*, 32-28 (1977)
  - 3) Y. Murakami, A. Nakano, R. Miyata and Y. Matsuda, Syntheses of macrocyclic enzyme models. Part 3, Preparation and properties of water-soluble azaparacyclophanes, *J.C.S. Perkin I*, 1669-1676 (1979)
  - 4) I. Tabushi, Y. Kuroda and Y. Kimura, Strong hydrophobic binding by water soluble macrocyclic heterocyclophane, *Tetrahedron Lett.*, **37**, 3327-3330 (1976)
  - 5) I. Tabushi, H. Sasaki and Y. Kurada, Water soluble heterocyclophane as a novel class of inclusion host, *J. Am. Chem. Soc.*, **98**(9), 5727-5728 (1976)
  - 6) Y. Murakami, Y. Aoyama, M. Kida and A. Nakano, A macrocyclic enzyme model system, Deacylation of *p*-nitrophenyl carboxylates as effected by a [20] paracyclophane bearing an imidazole group, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **50**(12), 3365-3371 (1977)
  - 7) I. Tabushi, Y. Kimura and K. Yamamura, Substrate specificity in ester hydrolysis by a new water-soluble heterocyclophane, *J. Am. Chem. Soc.*, **103**(21), 6486-6494 (1981)
  - 8) K. Odashima, A. Itai, Y. Iitaka and K. Koga, Host-guest complex formation between a water-soluble polyparacyclophane and a hydrophobic guest molecule, *ibid.*, **102**(7), 2504-2505 (1980)
  - 9) T. Soga, K. Odashima and K. Koga, Modifications of hydrophobic cavity and their effects on the complex formation with a hydrophobic substrate, *Tetrahedron Lett.*, **21**, 4351-4354 (1980)
  - 10) K. Odashima, T. Soga and K. Koga, Substrate selective inclusion by a series of water-soluble paracyclophanes, Host-guest recognition of steric structure and change, *ibid.*, **22**, 5311-5314 (1981)
  - 11) I.K. Chun, M.H. Lee and S.K. Kim, Interactions between water-soluble polyparacyclophanes and drugs (I), Design and synthesis of water-soluble polyparacyclophanes containing diphenyl ether skeletons, *J. Kor. Pharm. Sci.*, **18**(2), 89-97 (1988)
  - 12) I.K. Chun, M.H. Lee and S.K. Kim, Interactions between water-soluble polyparacyclophanes and drugs (II), Interaction between water-soluble polyparacyclophanes and fluorescent hydrophobic naphthalene derivatives in aqueous solution, *ibid.*, **18**(3), 113-123 (1988)
  - 13) L. Brand and J. R. Gohlke, Fluorescence probes for structure, *Ann. Rev. Biochem.*, **41**, 843-868 (1972)
  - 14) C.F. Beyer, L.C. Craig and W.A. Gibbons, Interaction of the fluorescent probe 2-*p*-toluidinylnaphthalene-6-sulfonate with peptides, Structural requirements for binding and fluorescence enhancement, *Biochem.*, **11**(26), 4920-4426 (1972)
  - 15) W.D. McClure and G. M. Edelman, Fluorescent probes for conformational states of proteins-I, Mechanism of fluorescence of 2-*p*-toluidinylnaphthalene-6-sulfonate, a hydrophobic probe, *ibid.*, **5**(6), 1908-1919 (1966)
  - 16) G.R. Penzer, 1-Anilinonaphthalene-8-sulfonate, The dependence of emission spectra on molecular conformation studied by fluorescence and proton-magnetic resonance, *Eur. J. Biochem.*, **25**(2), 218-228 (1972)
  - 17) H.A. Benesi and J.H. Hildebrand, A spectrophotometric investigation of the interaction of iodine with aromatic hydrocarbons, *J. Am. Chem. Soc.*, **71**(Aug.), 2703-2707 (1949)
  - 18) 渡邊光夫, ケイ光分析-基礎と応用, 廣川書店, 1977, p. 14
  - 19) H. Kondo, H. Nakatani and K. Hiromi, Interaction of cyclodextrins with fluorescent probes and its application to kinetic studies of amylase, *J. Biochem.*, **79**(2), 393-405 (1976)



- 20) C.K. Kim, H.Y. Ahn, J.S. Yang, Y.B. Kim and B.S. Yu, Drug-macromolecule interaction (III), 1-Anilinonaphthalene-8-sulfonate binding to bovine serum albumin by fluorescence, *Yakhak Hoeji*, **26**(2), 85-90 (1982)