

Octyldimethyl p-aminobenzoate와 β -Cyclodextrin의

포접화합물에 관한 연구

이창학 · 소부영 · 김영수

(주 가양)

A Study on the Inclusion Complexation of Octyldimethyl

p-aminobenzoate with β -Cyclodextrin

Lee Chang-Hak, So Boo-Young, Kim Young-Soo

(Ka Yang Co., Ltd.)

ABSTRACT

Inclusion complex formation of octyldimethyl p-aminobenzoate with β -cyclodextrin in aqueous solution and in the solid state was studied by the solubility method, spectroscopic(UV, FT-IR) and X-ray diffractometry.

The solid complex of octyldimethyl p-aminobenzoate with β -cyclodextrin was obtained in molar ratio of 1:2(guest/host). A spatial relationship between host and guest molecule was clearly reflected in the magnitude of the apparent stability constant (K') and in the stoichiometry of the inclusion complex.

Furthermore, a typical type Bs phase-solubility diagram was obtained for octyldimethyl p-aminobenzoate and β -cyclodextrin in water at 25°C.

The results indicated that the solubility of the guest molecule was higher by the formation of β -cyclodextrin inclusion complex

I . 서 론

Cyclodextrin (이하 CyD)은 "schardinger dextrin" 혹은 "cycloamylose"라고 불리는 환상 oligo당 동족체이며, 구성단위로 D-glucopyranose 가 환상으로 α -1,4결합된 것으로서 단위 수가 6,7,8개인 것을 각각 α -, β -, γ -CyD라 통칭한다.

CyD는 1891년 Villiers에 의해 발견되었으며¹⁾ 내산성이고 결정성이 탁월하여 발견 당시에는 cellulosein이라 불리웠다. 그후 Schardinger가 CyD를 생성해 내는 bacillus macerans amylase를 이용하여 α -, β -CyD를 분리해 내어 그에

대한 연구는 2) 급속한 진전을 가져왔다. 요오드 및 각종 유기용매와의 복합체 형성작용이 이때 알려지게 되었으나, CyD에 대한 최초의 관심은 구조해명에 국한되었었다.

그러나 구조해명이 용이하지 않아 이후 1950년에 Freudenberg와 French등의 연구결과 3) 현재와 같은 CyD구조를 확립하게 되었고, 이용개발연구가 점차 진전된 것은 1950년 이후였다. Cramer가 설흐의 안정화를 보고 4) 한 다음 포접화합물 형성능을 이용한 연구가 활발하게 행하여 졌다. 최근에 이르러 CPC 사의 제조법 개발에 따라 CyD의 특이한 구조가 효소모델 혹은 촉매로서 인정되어, 포접현상의 정밀한 해석이 행하여져 다양한 연구결과가 보고되었으나, β -CyD의 난용성 문제와 높은 가격으로 인해 이용면에서는 커다란 진전을 가져오지 못했다가 β -CyD의 생성가격 저하에 대한 노력과 1970년경에 염기성 β -CyD 효소가 발견되어 β -CyD는 상당한 저가로 시판되게 되었으며, 그와 더불어 연구개발에 급속한 진전을 가져오게 되었고 5), CyD의 특이한 다환상구조로 여러가지 특징적인 물리·화학적 거동을 살피게 되었다. 그 가운데 가장 중요한 특징은 여러 화합물을 CyD 혈내에 끌어들여 안정한 포접화합물을 형성하는 것이다. 6) 복합체 형성에 의한 여러가지 효과는 CyD 분자 (host molecule) 및 포접되는 분자 (guest molecule)에 의해서 유도된다. 즉, 포접되는 분자의 가용화 7), 안정화 8), 광안정성의 향상 9,10), 맛의 개선 11,12), 휘발성 억제 13), 액상물질의 분체화 14,15) 및 광학이성체의 분할 16) 등에 응용되고 있다.

이러한 포접화합물은 여러 물리·화학적 방법, 즉 흡수 스펙트라, NMR, DSC, 용해도 법등에 의해서 추정할 수 있다. 이들 효과는 host 분자—guest 분자간의 상호작용에 기반을 둔 것으로 CyD 구조와 밀접한 관련을 갖는다.

따라서 본 연구에서는 난용성 물질인 octyldimethyl p-aminobenzoate (이하 ODP)를 선택하여 분체화 및 용해도 변화의 방법으로 β -CyD와의 포접화를 시도했으며, 형성된 ODP와 β -CyD 포접화합물은 용해도법, 자외선 흡수 스펙트라, 적외선 흡수 스펙트라 및 X선 회절로 확인하여, 수용액 혹은 고체상태에서 guest 분자인 ODP와 host 분자인 β -CyD의 상호작용에 관한 것을 검토하였다.

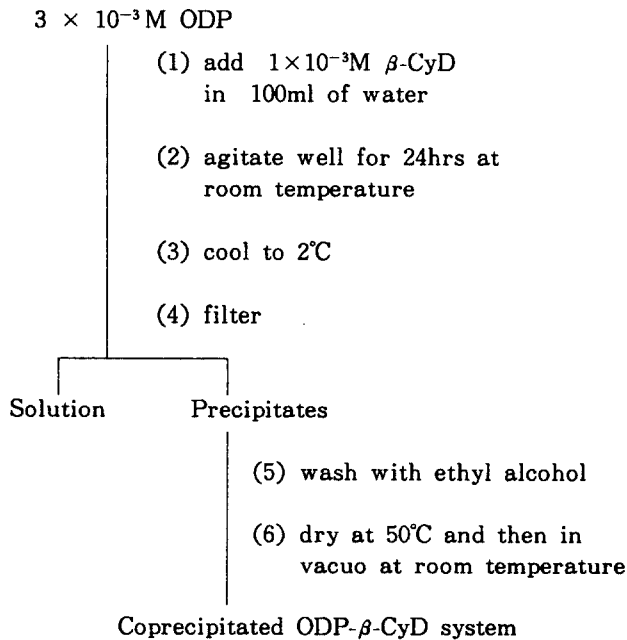
II. 실험 방법

1. 재료 및 기기

본 실험에서 사용한 octyldimethyl p-aminobenzoate 는 Van Dyk 사제를 사용하였으며, β -CyD 및 그 밖의 시약류는 Toko Kasei 제 특급 또는 일급시약을 사용하였다. 이들의 녹는점 또는 끓는점 등은 문헌과 잘 일치한다. 자외선 스펙트라는 Shimadzu UV-256, 적외선 스펙트라는 Nicolet-5 SXB 그리고 X선 회절은 Philips-PM 9920 을 사용하였다.

2. 고체 포접화합물의 조제

Scheme I 과 같이 Kurozumi 등의 방법¹⁴⁾ 중 포접화합물 조제에 있어 가장 일반적 방법인 공침법으로 행하였다. 즉, 물속에 β -CyD와 ODP의 몰비를 1:3으로 혼합하여 24시간 교반한 후 석출된 침전물을 여과하여 에탄올로 씻고 50℃에서 진공건조하였다.



Scheme1. Coprecipitation method

3. 용해도 측정

ODP 일정량을 삼각플라스크에 넣고 $0.2 \sim 5 \times 10^{-3}$ 몰 여러 농도의 β -CyD를 수용액에 첨가하여 평형에 도달할 때까지 25 ℃에서 48 시간 진탕하였다. 이 용액을 Millipore filter($0.45 \mu\text{m}$, type HA)로 여과한 후 10 배량의 물로 희석시킨 수용액을 314 nm에서 흡광도를 측정하여 미리 작성된 검량선으로부터 농도를 구하였다. 이 결과를 Fig.1에 도시하였다.

4. 안정도상수의 산출

Higuchi 등¹⁷⁾의 방법에 의해 용해도상도(phase solubility diagram)의 초기상승직선 부분의 훔배 및 절편으로부터 겔보기 안정도상수 K' 를 식(1)에 의해 산출하였다.

$$K' = \frac{[St - So]}{[St - (St - So)][Lt - (St - So)]}$$
$$= \frac{\text{Slope}}{So(1 - \text{Slope})} \dots\dots\dots (1)$$

(1)식에서 St, Lt는 각각 ODP 및 CyD의 첨가농도, So는 ODP의 용해도, 훔배 및 절편은 각각 용해도상도의 초기상승직선 부분의 훔배 및 절편값을 나타낸다. 이 결과를 Table 1에 표시하였다.

5. 포접화합물의 ODP 함량 측정

Tokumura의 방법¹⁸⁾에 의하여 다음과 같이 실험하였다. 즉, 포접화합물 약 50mg을 정칭하여 50% (v/v) isopropanol에 용해시켰다. 314nm에서 이 용액의 흡광도를 구하고, 미리 작성된 검량선으로부터 ODP 농도를 구했다. 이것으로부터 평량된 포접화합물 중의 ODP 함량을 산출하였다. 이 결과를 Table 2에 표시하였다.

6. 자외선 흡수 스펙트라

II - 2의 방법에 의하여 조제된 ODP와 β -CyD와의 고체 포접화합물과 단독 ODP에

대한 것을 Shimadzu UV - 256으로 측정 한 스펙트라는 Fig.2에 도시하였고, 수용액 중에서는 일정한 량의 ODP와 2×10^{-3} , 4×10^{-3} 및 6×10^{-3} 몰의 β -CyD 농도를 변화시켜 자외선 스펙트라를 행하였다. 이때 생성된 스펙트라는 Fig.3에 일괄하여 도시하였다.

7. 적외선 흡수 스펙트라

KBr disk method로 ODP, β -CyD 및 ODP와 β -CyD의 물리적 혼합물과 그의 고체 포접화합물을 각각 시료로서 측정하였다. 이 결과는 Fig.4 및 Fig.5에 각각 도시하였다.

8. 분말 X선 회절분석

분말 X선 회절분석은 β -CyD, ODP와 β -CyD의 물리적 혼합물 및 그의 고체 포접화합물을 각각 시료로 하여 측정하였으며, X-ray는 Cu-K α radiation, full scale 400 CPS (count / sec), scanning 속도 2° / min, chart 속도 2 cm / min로 하여 측정하였다. 이 결과는 Fig.6에 일괄하여 도시하였다.

III. 결과 및 고찰

1. ODP의 용해도에 미치는 β -CyD의 영향

ODP와 β -CyD 사이의 혼합계에 있어서 용해도상도 (phase-solubility diagram)는 Fig.1과 같다. 이는 Higuchi¹⁷⁾ 등의 분류에 따른 용해도상도중에서 난용성 복합체를 형성하는 전형적인 Bs형이다. ODP와 β -CyD계의 용해도상도에서 β -CyD농도가 증가함에 따라 초기 용해도가 직선적으로 증가한다. 이는 초기의 묽은 수용액에서 ODP와 β -CyD가 1:1 몰비로 복합체를 형성함을 추정할 수 있다. 그 결과 ODP의 용해도는 물에서의 ODP용해도보다 β -CyD와 혼합계에서 1.4배 증가한다. 이와같이 ODP와 β -CyD의 혼합계에서의 용해도 변화는 ODP와 β -CyD와의 복합체 형성에 기인하는 것으로 사료된다. 그후 계속적으로 β -CyD의 농도를 증가시키면 ODP의 용해도가 변화하지 않는 일정한 평행이 나타나며, 더욱 β -CyD 농도를 증가시키면 용해도 곡선이 점차 감소한다. 이러한 현상은 고

체 포접화합물형성으로 용해도가 감소됨을 추정할 수 있다. Bs형의 용해도상도가 얻어지면 하강곡선 부분에서 복합체의 분류 및 조제설정이 가능하게 되며 19,20) 그 중에서도 Bs형의 평행영역 해석에 의해 포접화합물의 조성 물비를 화학량론적으로 산출할 수 있다. 21)

Fig. 1을 통해 ODP와 β -CyD의 화학량론적 결합비가 1:2 물비로 고체 포접화합물이 형성됨을 알 수 있다. 이와같은 Bs형을 나타내는 guest분자는 β -CyD형내에서 안정한 포접체를 형성하며, 고체 포접화합물로의 분리도 용이한 것으로 알려져 6) 있는 것과 거의 일치하였다.

Table 1은 용해도상도로부터 구한 ODP의 용해도(S_0)와 겉보기 안정도상수(K')값을 나타내었다. 겉보기 안정도상수(K')는 용해도상도의 초기상승곡선에서 구했으며, 그 값이 클수록 안정된 포접체를 형성하므로 ODP와 β -CyD의 포접체의 경우 매우 안정된 복합체가 형성됨을 추정할 수 있다.

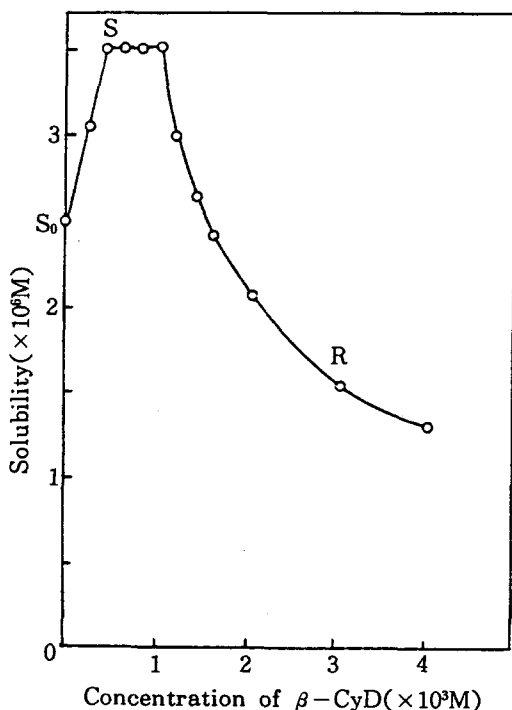


Fig. 1. Phase-solubility diagram of ODP- β -CyD system in water at 25°C

2. ODP의 포접량

II - 2의 방법 즉, 공침법으로 조제된 ODP와 β -CyD의 포접화합물중 ODP함량 (%)

Table 1. Apparent stability constant(K' , M^{-1}) and type of solubility.
Curve of ODP- β -CyD complex system determined by solubility method

Temperature °C	Solubility $S_0(M)$	Type ^{a)}	Apparent stability constant, K'
25	2.5×10^{-6}	B_s	1002

a) The type of phase-solubility diagram was defined according to Higuchi et al.¹⁷⁾

및 ODP와 β -CyD의 결합 몰비 포접화합물의 함량을 Table 2에 나타내었다. 이들 ODP 함량 및 결합 몰비, 포접화합물 함량은 아래와 같은 식 (2) 및 (3)에 의해 산출되었다.

$$\text{몰비 ; ODP : } \beta\text{-CyD} = 1 : \frac{(100 - [C]) / 1135}{[C] / 277} \dots\dots\dots (2)$$

이때 $[C]$ 는 ODP의 백분율의 함량이다. 그리고 포접화합물 함량 $[Ci]$;

$$[Ci] = [C] \times \frac{(277 + 1135 \times 2)}{277} \dots\dots\dots (3)$$

공침법에 의해 조제된 고체 포접화합물은 ODP와 β -CyD의 결합 몰비가 1:1.9가 되었으며, 이는 용해도상도에 의해 구한 ODP와 β -CyD의 침전물인 고체 포접화합물의 결합 몰비인 1:2와 잘 일치함을 알 수 있다.

Table 2. Amount of ODP included by β -CyD by the coprecipitation method

Content of ODP (%)	Content of inclusion compound (%)	Molar ratio (ODP : β CyD)
10.92	100.4	1 : 1.99

3. 자외선 흡수 스펙트라

Fig.2는 공침법에 의해 조작된 ODP와 β -CyD의 고체 포접화합물의 자외선 스펙트럼과 단독 ODP의 자외선 스펙트럼을 비교하여 나타내었다. 또한 Fig. 3은 수용액중에서 일정한 양의 ODP와 ODP에 일정한 몰비로 β -CyD 농도를 변화시킴으로 인한 자외선 스펙트라의 변화를 나타내었다. Fig.2,3의 자외선 스펙트라에 의하면 β -CyD의 농도가 높아짐에 따라 molar 흡광도가 감소하였다. 이는 β -CyD의 혈내에 ODP가 포접됨으로서 ODP의 전자운동이 속박되는 것으로 사료된다.

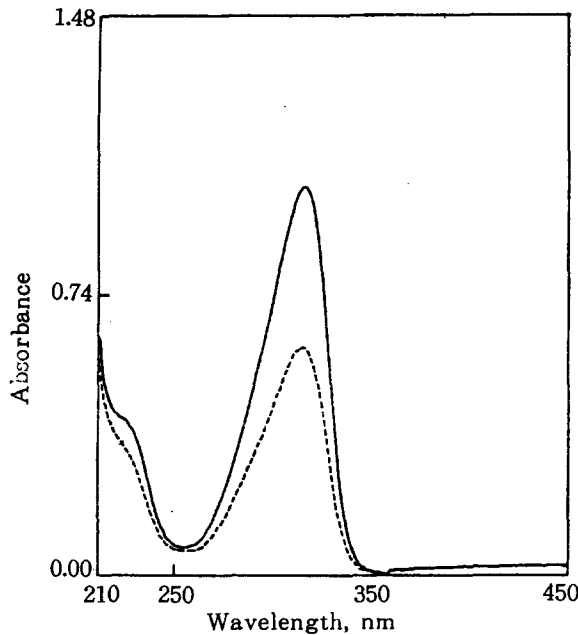


Fig. 2. UV absorption spectra of ODP β -CyD system

key : ——— ODP

..... complex of ODP with β -CyD

4. 적외선 흡수 스펙트라

Fig.4 및 5는 ODP 및 β -CyD, 또한 ODP와 β -CyD를 물리적 혼합 및 II-2의 방법으로 조제된 고체 포접화합물의 적외선 흡수 스펙트라를 나타낸 것이다.

ODP와 β -CyD의 혼합물의 스펙트럼은 ODP 및 β -CyD의 적외선 흡수 스펙트럼 각각에 대한 피크가 겹쳐진 형태로 나타난다. 그러나 고체 포접화합물의 적외선 스펙트럼은 혼합물의 스펙트럼과 상이한 새로운 형태를 나타내고 있다.

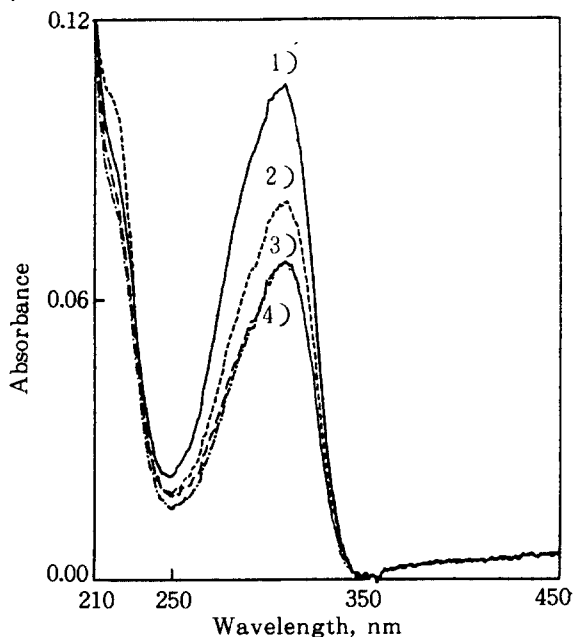


Fig. 3. UV absorption spectra of ODP (3.6×10^{-4} M) and its β -CyD systems in water

key : 1) ODP alone 2) ODP + β -CyD (2×10^{-3} M)
 3) ODP + β -CyD (4×10^{-3} M) 4) ODP + β -CyD (6×10^{-3} M)

ODP와 혼합물의 스펙트럼에서는 $1,350 \text{ cm}^{-1}$ 에 monosubstituted alkane 기가, $1,200 \text{ cm}^{-1}$ 부근에 tertiaryamine 기의 피크가 명백히 나타나는데 반하여, 포접화합물의 경우는 피크가 완전히 나타나지 않고 다만, $1,730 \text{ cm}^{-1}$ 부근에 카르보닐기의 stretching vibration이 포접화합물의 스펙트럼에서는 그대로 나타나 있다.

이 결과로 미루어 보아 ODP가 β -CyD에 의해서 ODP 분자중 카르보닐기를 좌우로 하여 포접된 것으로 추정된다.

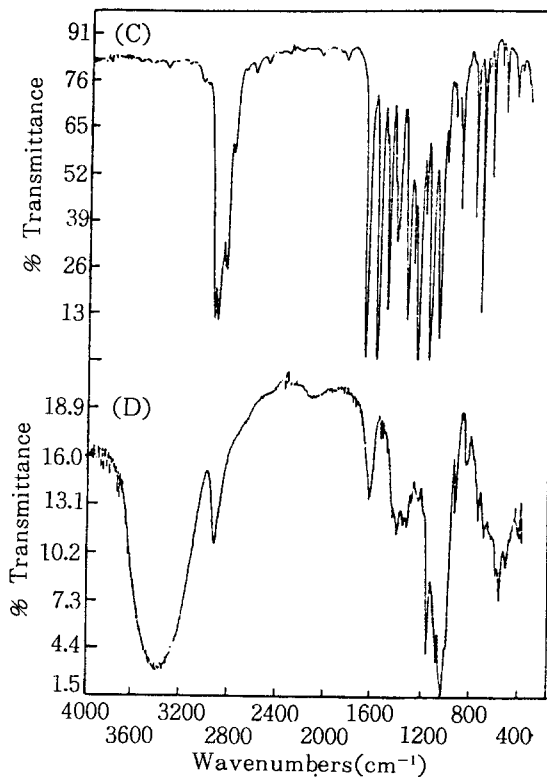
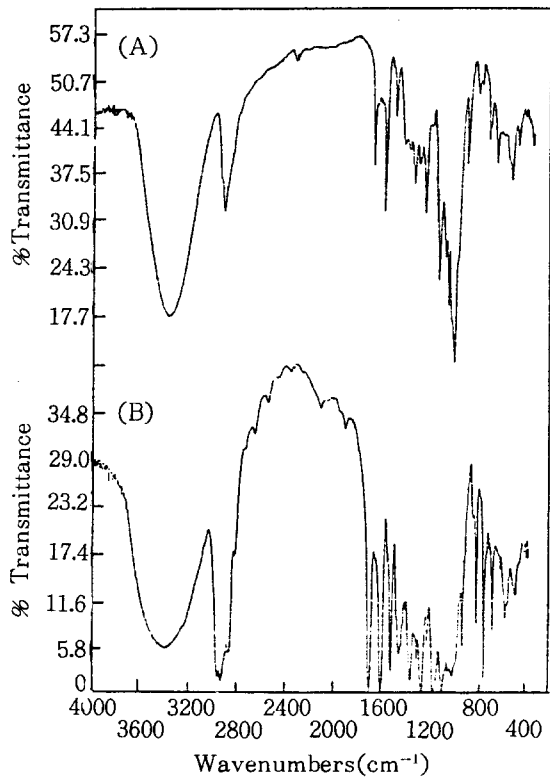


Fig. 4. IR absorption spectra of ODP- α -CyD according to KBr disk method
 (A) complex of ODP with β -CyD
 (B) Physical mixture of ODP and β -CyD

Fig. 5. IR absorption spectra of ODP- β -CyD according to KBr disk method
 (C) ODP
 (D) β -CyD

5. 분말 X선 회절

Fig. 6은 β -CyD 및 ODP와 β -CyD의 물리적 혼합물 또한 ODP와 β -CyD의 고체 포접화합물을 비교한 것이다. 포접화합물의 X선 회절 pattern은 물리적 혼합물의 경우와 비교할 때 결정성이 현저히 약해졌다. 또한 포접화합물의 X선 회절 pattern은 β -CyD 회절 pattern과 거의 유사했다. 이는 ODP가 무정형의 β -CyD에 포접됨으로서 결정성이 약해지기 때문이라 사료된다.

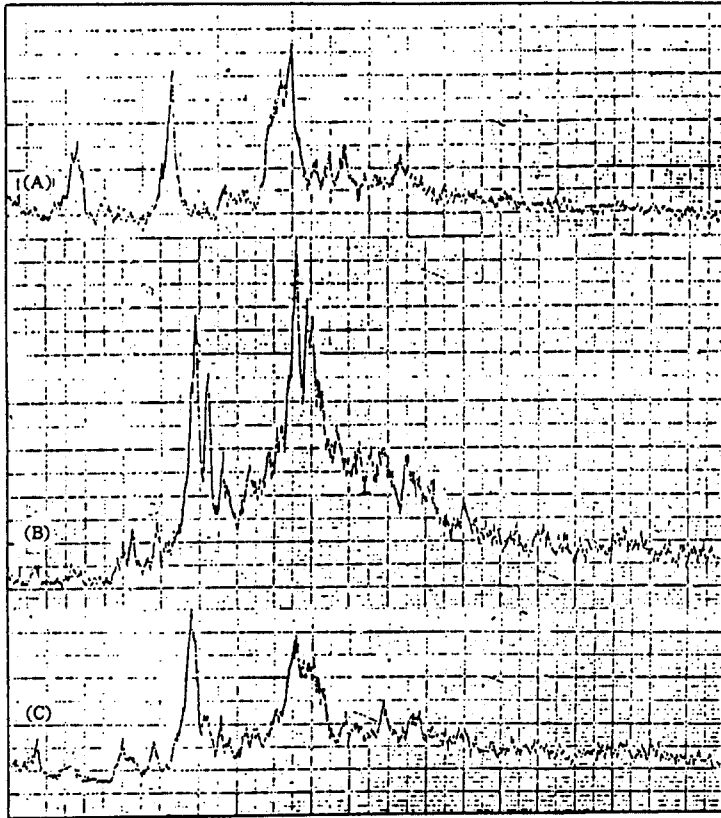


Fig. 6. X-ray diffraction pattern of ODP- β -CyD system

- (A) complex of ODP with β -CyD
- (B) physical mixture of ODP and β -CyD
- (C) β -CyD

IV. 결 론

guest 분자인 ODP와 host 분자인 β -CyD와의 포접화합물에 관한 연구에서 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 용해도법에 의하여 수용액중의 묽은 농도 영역에서 host와 guest 분자 사이에 1:1 몰비로 안정한 포접화합물이 형성되는 것으로 추정되며, 포접화합물 형성으로 ODP

용해도가 1.4 배 증가하였다.

2. 고체 포접화합물의 1:2 몰비 (ODP : β - CyD) 로 ODP 분자가 β - CyD 분자의 헐 내에 포접된다.

3. 공침법에 의해 조제된 고체 포접화합물은 자외선 흡수 스펙트라, 적외선 흡수 스펙트라, X 선 회절의 분석에 의해 포접화합물임을 확인하였다.

REFERENCES

1. Villiers. A., Compt. rend., **112**, 536(1981).
11. Uekama, K., and Ikeda, Y., *ibid.*, **100**
2. Schardinger, F. and Untersuch, Z., Nahr. (1), 994(1980).
- U. Genussm., **6**, 865(1903).
12. Fujioka, K. and Kurosaki, Y., Chem. Pharm. Bull., **31**(7), 2416(1983).
3. French, D., Advan. Carbohydrate Chem., **12**,189(1957).
13. Ikeda, Y. and Matsumoto, K., Yakugaku Zasshi, **102**(1), 82(1982).
4. Cramer, F., Chem. Ber., **84**, 851(1951)
14. Kurozumi, K. and Nambu, N., Chem. Pharm. Bull., **23**(12), 3032(1972).
5. Kuge, T. and Takeo, K., Agr. Biol. Chem., **36**, 2615(1972).
15. Uekama, K. and Hirayama, F., J. Pharm. Sci., **68**, 1059(1979).
6. Uekama, K., Yakugaku zasshi, **101**(10), 857(1981).
16. Cramer, F., Angew, Chem., **64**, 136(1952).
7. Ikeda, K. and Uekama, K., Chem, Pharm. Bull. **23**(1), 201(1975).
17. Higuchi, T. and Connors, K.A., Adv. Anal. Chem. Instr., **4**, 117(1965).
8. Lach, J.L. and Chin, T.F., J. pharm. Sci., **53**, 69(1964).
18. Tokumura, T. and Tsushima, Y., Yak uzaigaku, **45**(1), 1(1985).
9. Ikeda, Y, and Matsumoto, K., Yakugaku Zasshi. **102**(1), 83(1982).
19. Uekama, K. and Fujinaga, T., Inter. J. Pharm. **10**, 1(1982).
10. Hibi, T. and Fatsumi, M., *ibid.*, **104**(9), 990(1984).
20. Seo, H. and Suruaka, M., Chem. Pharm. Bull., **31**, 286(1983).
21. Higuchi, T. and Lach, J.L., J. Amer. Pharm. Assoc. Sci. Ed., **43**, 349(1954).