

지금까지의 polypeptide 重合에 관한 모든 研究는 生成되는 polypeptide가 잘 녹는 溶媒 (nitrobenzene, tetrahydrofuran, dioxane, dimethylformamide, chloroform, benzene, 및 acetophenone) 중에서 行하여진 것이 대부분이다.

그러나 glycine NCA의 重合에 의해서 生成되는 polypeptide는 溶媒에 녹지않음으로 不均一系反應이다. 또한 glycine NCA의 重合反應에 대한 速度論의인 종래의 研究는 거의 없다.

본연구에서는 acetonitrile 중에서 n-butylamine에 의해서 開始되는 glycine NCA의 重合에 관하여 速度論의인 데이터를 얻고 이 重合反應의 機構를 究明함을 目的으로 한다.

實 驗

1. 試藥 및 NCA 合成

微細하게 粉碎하여 乾燥시킨 glycine을 tetrahydrofuran에 分散시켜 phosgene dimer (ClCOCl₂)와 반응시켜 생긴 粗 NCA를 ethylacetate와 hexan 및 에테르와 hexan 등으로 여러번 精製하여 비교적 순수한 glycine NCA를 얻었고 이것을 acetonitrile에 溶解시켜 所定濃度 (0.217 mol/l)로 하여 사용하였다. 이때 NCA중의 鹽素含有量은 0.01% 以下였다.

溶媒는 보통法에 따라 脫水에 留意해서 蒸溜 및 精製하였으며 開始劑인 n-butylamine도 蒸溜 및 精製하여 사용하였으며 사용농도 範圍는 0.0018 mol/l ~ 0.002 mol/l 이다.

2. 폴리머 合成

NCA의 重合은 200cc三口플라스크內에서 시켰다. acetonitrile중 NCA의 濃度는 항상 0.217 mol/l로 하고 모노머溶液에 所定量의 開始劑인

n-butylamine을 加함으로써 重合反應이 開始되었다.

重合反應이 進行됨에 따라 重合系는 不均一系 (粉末沈澱狀)로 되었다. 이 重合反應은 (1)式에서 알 수 있는 바와같이 重合時 發生하는 CO₂를 定量함으로써 反應이 어느程度 進行되었는가를 알 수 있다.

3. CO₂ 測定法

反應器중에서 重合反應이 進行될때 N₂를 계속 불어 넣어 反應할때 生成되는 CO₂가스를 모두 에탄올과 dioxane의 混合液중에 benzylamine을 녹인 溶液중에 誘導하여 吸收시켰다. 吸收된 CO₂는 thymol blue를 指示劑으로 하여 0.1N sodium methoxide로 滴定하였다^{8,9}.

4. IR 및 X-線廻折測定

IR 측정은 Beckmann 18-A를 사용하여 KBr 粉末로 만들어 하였다. X線粉末廻折圖는 Shimadzu社의 X-Ray diffractometer Type VD-1을 사용하여 粉末法으로 찍었다.

結果 및 考察

일반적으로 1차아민에 의한 NCA 重合은 보통 living polymer 型으로 進行되며 polypeptide의 重合度는 다음式에 의해서 주어진다¹⁰.

$$\overline{DP}_n = P + [\text{NCA}]_0 / [\text{開始劑}] \quad (2)$$

여기에서 \overline{DP}_n 은 polypeptide의 重合度, P는 開始劑의 重合度 및 $[\text{NCA}]_0$ 는 NCA의 初期濃度를 나타낸다. Acetonitrile중에서 n-butylamine에 의해 開始되는 glycine NCA의 重合反應에서도 polypeptide의 重合度는 (2)式에 잘 적용된다. 따라서 glycine NCA의 重合反應에서 反應時間이 경과함에 따라 폴리머의 分子量은 增加한다.

Acetonitrile중에서 glycine NCA의 重合에서 重合시작후 數分內에 이 反應系는 混濁하게 되어 重合生成물이 沈澱하였다. 反應을 더욱 계속시키면 固體重合物과 液相인 모노머와의 사이에서 反應이 계속된다. 즉 이 反應은 不均一系重

합反應이다. 일반적으로 不均一系에서의 重合反應速度는 均一系에서의 重合反應速度와 똑같은 方法으로 검토될 수 없지만 여기에서 얻어지는 polypeptide의 重合度가 $[NCA_0]/[開始劑]$ 와 잘 일치하기 때문에 反應機構를 究明할 수 있는 情報를 얻기 위해 均一系에서의 重合反應速度論에 의하여 검토하였다.

acetonitrile 중에서 n-butylamine에 의해 開始되는 glycine NCA의 重合速度는 反應에 의해 生成되는 CO_2 量을 時間에 따라 定量함으로써 求하였다.

일반적으로 1차아민에 의해 開始되는 NCA의 重合反應速度는 다음과 같이 表示할 수 있다.

$$Rp = -d[M]/dt = k[M][I] \quad (3)$$

여기에서 Rp 는 重合反應速度 (mole/l·min), k 는 速度定數 (l/mole·min), $[M]$ 은 NCA의 濃度 (mole/l), $[I]$ 는 開始劑의 濃度 (mole/l) 그리고 t 는 時間(min)이다.

$[I]$ 를 일정하게 놓고 $t=0$ 일때 $[M]=[M_0]$, $t=t$ 일때 $[M]=[M]$ 인 조건하에서 (3)식을 積分하면

$$\ln \frac{[M_0]}{[M]} = k[I]t \quad (4)$$

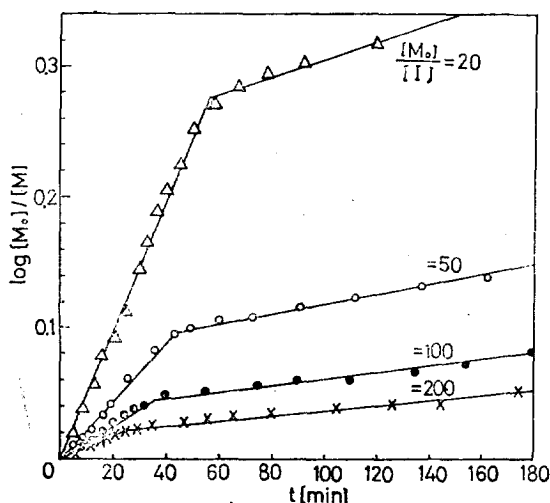


Figure 1. Polymerization rate of glycine NCA in acetonitrile at 30°C. $[M_0]=0.217$ [mole·l⁻¹].

가 된다.

實驗데이터가 (4)식과 잘 맞는지를 검토하기 위하여 Fig. 1에 重合時間에 對한 $\log[M_0]/[M]$ 를 圖示하였다. Fig. 1에서 보는 바와같이 實驗 데이터는 거의 直線性을 나타냄을 알 수 있다. 이러한 直線性으로 보아 acetonitrile 중에서 n-butylamine에 의해 開始되는 glycine NCA의 重合速度는 不均一系이지만 (3)식이 잘 적용될 수 있음을 나타내고 있다.

또한 反應의 初期段階에서는 速度가 빠르고 時間이 40~60分정도 지나가면 速度가 느린段階인 2段階速度曲線을 나타내고 있다.

重合速度가 빠를 때의 速度定數를 k_f (l/mole·min) 및 느릴때의 速度定數를 k_s (l/mole·min)라 하면 Fig. 1의 기울기로부터 Table 1에 表示한 바와 같이 여러 $[I]$ 에 對한 $k_f[I]$ 및 $k_s[I]$ 값을 얻을 수 있다.

Table 1. $k(I)$ at Various Concentration of Initiator

$[M_0]/[I]$	$k_f(I) \times 10^3$ (min ⁻¹)	$k_s(I) \times 10^4$ (min ⁻¹)
20	11.9	19.8
50	5.2	10.0
100	3.0	5.3
200	1.3	3.3

Table 1의 값을 Fig. 2에 $[I]$ 에 對한 $k(I)$ 의 값을 플롯하고 이 기울기로부터 k_f 및 k_s 를 구할 수 있다.

速度定數의 溫度依存性을 검토하기 위하여

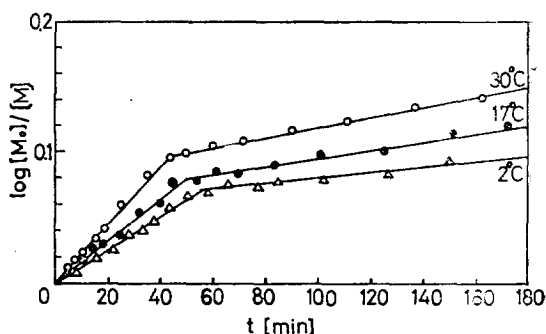


Figure 2. Polymerization rate of glycine NCA in acetonitrile. $[M_0]=0.217$ [mole·l⁻¹], $[I]=0.00434$ [mole·l⁻¹].

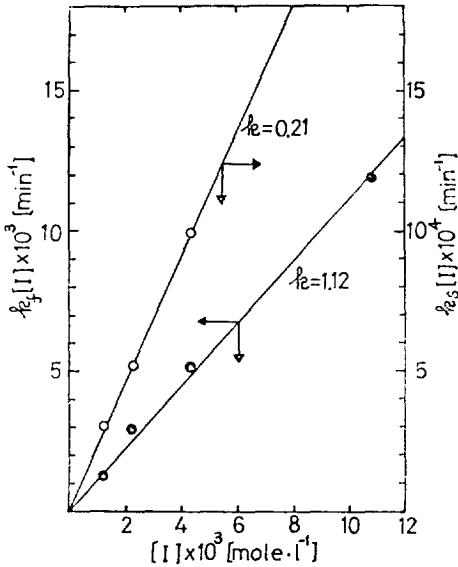


Figure 3. k_f vs $[I]$.

Table II. Reaction Rate Constants at Various Temperatures

T(°C)	k_f (l·mole ⁻¹ ·min ⁻¹)	k_s (l·mole ⁻¹ ·min ⁻¹)
2	0.69	0.114
17	0.85	0.164
30	1.12	0.210

$[M_0]/[I]=100$ 일 때 여러 온도에서 시간에 따르는 $\log([M_0]/[M])$ 을 圖示한 것이 Fig. 3이다.

Fig. 3에서도 알 수 있는 바와같이 각 온도에서 速度가 빠른 段階와 速度가 느린 段階인 2 段階 速度 曲線을 나타내고 있다. 여기에서 각 直線의 기울기로부터 각 온도에 따르는 k_f 및 k_s 를 구하여 Table II에 表示하였다.

Table II를 Arrhenius plot 한 것이 Fig. 4이다. 速度가 빠른 段階에서의 活性化에너지를 E_f (kcal/mole) 및 速度가 느린 段階에서의 活性化에너지를 E_s (kcal/mole)라 하면 Fig. 4로부터 $E_f=3$ kcal/mole 및 $E_s=4$ kcal/mole이다.

Fig. 1 및 2에서 反應이 빠른 段階에서부터 느린 段階로 되는 折點을 重合度로 換算하면 實驗적으로 約 8~10 정도로 一定한 값을 가지고

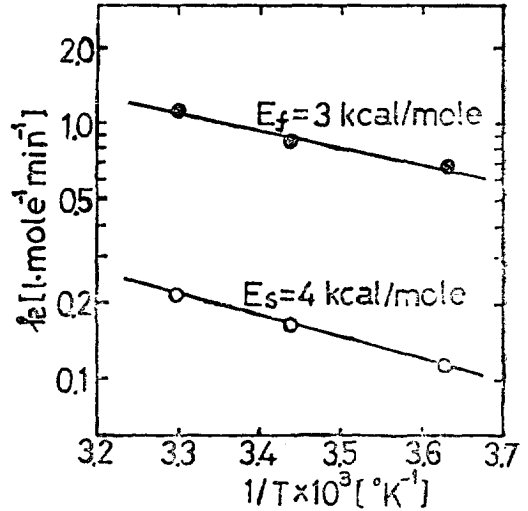


Figure 4. Temperature dependence of k_s and k_f .

있다. 그런데 polyglycine은 重合時 成長過程에서 開始劑를 中心으로 逆平行方向으로 配列된다. 折點까지의 라멜라내의 polyglycine의 殘基當 길이가 約 7\AA^{12} 이므로 n-butylamine의 길이까지 합하면 折點까지의 polyglycine의 길이는 約 $60\sim 75\text{\AA}$ 이 된다.

이 길이는 polyglycine과 비슷한 構造를 가지고 있는 nylon 6의 라멜라중에서 分子鎖의 구부러진 길이인 74\AA^{13} 과 비슷하며 또 polyethylene의 單結晶에 chain folding된 分子鎖의 길이가 100\AA^{14} 에 달하는 것과도 유사하다. 그러므로 glycine NCA의 重合過程에서 反應速度가 느려지는 折點範圍는 polyglycine의 分子鎖가 nylon 6나 polyethylene처럼 分子鎖가 구부러지는 점이라고 생각된다.

重合過程에서 $[NCA]_0/[I]$ 나 重合溫度變化 (Fig. 1 및 2)에 관계없이 反應初期에서는 重合速度가 빠르다가 實驗적으로 一定한 重合度範圍에서 느려지게 되는 原因은 開始反應이 일어난 直後부터 分子鎖가 extended chain으로 成長하기 때문에 成長分子鎖末端에 붙어있는 開始劑에 모노머가 쉽게 충돌할 수 있는데 비하여 折點부터는 分子鎖가 구부러지므로 충돌이 억제되어 初期段階보다 느려지는 2 段階 速度 曲線을 나타내는 것으로 간주된다.

重合試料를 IR 測定결과 1,631 cm⁻¹, 1,519 cm⁻¹ 및 704 cm⁻¹에 amide I, II, 및 V를 나타내는 흡수스펙트럼과 1,689 cm⁻¹에 逆平行의 peptide 分子鎖를 반영하는 작은 스펙트럼이 있었다.

X線回折圖는 2θ = 20.6°와 25.8°에 主鎖와 水 結合거리를 나타내는 band가 나타났다.

이상의 결과로 보아 이 重合物의 構造는 poly-glycine I임을 알 수 있었는데 IR와 X線回折圖는 前報¹¹와 같으므로 여기서는 게재를 생략한다.

結 論

Acetonitrile 중에서 n-butylamine에 의해 開始되는 glycine NCA의 重合反應速度는 모노머 및 開始劑농도에 각각 1次였다. 이 反應速度는 느린段階와 빠른段階인 2段階速度曲線을 나타내며 각 段階에서의 速度定數를 구하였다. 速度가 빠른段階에서의 活性化에너지는 3 kcal/mole이고 느린段階에서의 活性化에너지는 4 kcal/mole임을 알았다.

重合速度가 빠르다가 느려지는 折點을 갖는 原因은 처음反應이 일어날때 分子鎖가 extended chain으로 成長하기 때문에 成長分子鎖末端에 붙어있는 開始劑에 모노머가 쉽게 충돌할 수 있는데 비하여 折點에서 부터는 分子鎖가 구부러 지므로 충돌이 억제되어서 2段階速度曲線을 나

타내는 것으로 생각된다.

引 用 文 獻

1. C. H. Bamford and G. H. Ballard, Proc. Roy. Soc. (London), A223, 495 (1954).
2. C. H. Bamford and G. H. Ballard, Proc. Roy. Soc. (London), A 236, 384 (1956).
3. C. H. Bamford and G. H. Ballard, Proc. Roy. Soc. (London), A227, 155 (1955).
4. E. R. Blout and H. Karlson, J. Am. Chem. Soc., 78, 941 (1956).
5. M. Idelson and E. R. Blout, J. Am. Chem. Soc., 79, 3948 (1957).
6. R. P. Lundberg and P. Doty, J. Am. Chem. Soc., 79, 3961 (1957).
7. M. Szwarc, Forsch. Hochpolymer Forsch, 4, 1 (1965).
8. E. Katchalski, J. Am. Chem. Soc., 82, 1630 (1960).
9. Y. Shalitin, Anal. Chem., 33, 1887 (1961).
10. C. H. Bamford, A. Elliott, W. E. Hanby, Synthetic Polypeptides, p. 63, Academic Press, New York, (1956).
11. T. Komoto, K. Y. Kim, Y. Minoshima, M. Oya and T. Kawai, Makromol. Chem., 168, 261 (1973).
13. 井本稔, 高分子化學教程, p. 262, 朝倉書店(1972).
14. A. Keller, Phil. Mag., 2, 1171 (1957).