

β -아미노- β -페닐프로피온산을 리용한 디펩티드의 합성

권 철 진

경애하는 최고령도자 김정은동지께서는 다음과 같이 말씀하시였다.

《우량종자와 다수확농법, 능률적인 농기계들을 대대적으로 받아들이고 농사를 과학기술적으로 지어 알곡생산목표를 반드시 점령하며 축산물과 과일, 온실남새와 버섯생산을 늘여야 합니다.》

지금 우리 나라에서는 영양학적 및 약리학적가치가 매우 높은 버섯들을 많이 재배하고있으며 인민들의 식생활과 건강증진에 적극 리용하고있다.

현시기 버섯생산량을 늘이기 위한 중요한 방도의 하나는 생장촉진제를 적극 개발리용하는것이다.[3, 5-8]

론문에서는 비천연아미노산인 β -아미노- β -페닐프로피온산(ABPA)을 리용한 디펩티드의 합성에 미치는 몇가지 요인들의 영향을 검토한 연구결과에 대하여 논의하였다.

재료 및 방법

시약으로는 화학합성한 β -아미노- β -페닐프로피온산(ABPA)[2]과 발린(분석순), 초산(분석순), 염화티오닐(분석순)을 리용하였다.

산염화물과 아미노기가 반응하여 펩티드결합을 형성할수 있다는데로부터 디펩티드를 산염화물법으로 합성하였다. 먼저 발린의 N-아세틸화와 정제는 선행연구[1]의 방법으로 하였다. 다음 N-아세틸발린(Ac-N-Val)을 에테르매질에서 염화티오닐로 처리하여 대응한 산염화물로 전환[5]시키고 즉시 피리딘매질에서 비천연아미노산인 ABPA와 결합시켜 디펩티드를 합성하였다. 피리딘을 감압증류하여 제거하고 남은 고형분을 증류수로 씻은 다음 94% 에타놀로 정제하였다.(순도는 99.5%이상이다.)

거둬들은 리론량에 대한 얻어진 디펩티드의 질량비(%)로 평가하였다. 그 공정도는 그림 1과 같다.

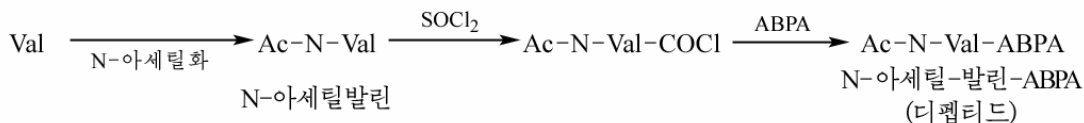


그림 1. 발린과 ABPA를 리용한 디펩티드의 합성공정도

합성한 디펩티드는 푸리에변환적외선분광기(《Nicolet 6700》)와 초고성능액체크로마토그래프-질량분석기(《Acquity™ UPLC-SQD2》)를 리용하여 특정한 기능단분석과 질량분석으로 확인하였다.

결과 및 해석

1) 합성에 미치는 반응온도의 영향

N-아세틸발린의 산염화물(N-Ac-Val-COCl)과 ABPA의 반응물질량비 1.3:1, 반응시간 30min으로 하였을 때 반응온도에 따르는 거둬를 결정하여 디펩티드합성에 미치는 온도의 영향을 평가하였다.(그림 2)

그림 2에서 보는것처럼 반응온도가 5, 15, 25℃일 때에는 거둬가 각각 87.6, 88.3, 87.9%로서 차이가 없었지만 35℃에서는 57.8%, 45℃에서는 31.4%로서 급격히 감소되었다. 35℃이상부터 거둬가 급격히 낮아지는것은 반응온도가 높아짐에 따라 반응기능단에 대한 산염화물의 선택성이 차이난기때문이다.[4] 25℃까지는 아미노기와의 반응선택성이 높지만 그 이상의 온도에서는 히드록실기와의 반응성이 높아진다. 결국 불안정한 아실에테르형의 결합이 형성되며 이 결합은 공기중에서 쉽게 초기반응산물인 Ac-N-Val과 ABPA로 분해되는 결과 디펩티드의 거둬는 낮아지게 되는것이다. 이 반응초기물질들은 증류수에 대한 풀림도가 높으므로 정제과정에 쉽게 제거된다.

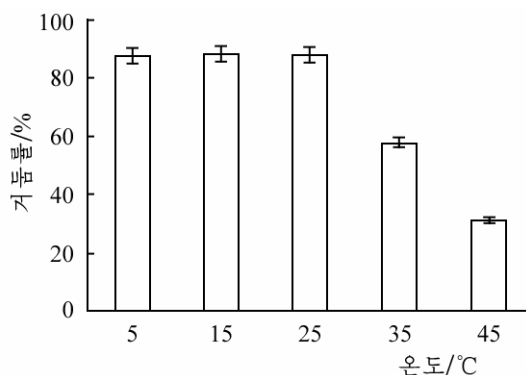


그림 2. 디펩티드(Ac-N-Val-ABPA)합성에 미치는 반응온도의 영향

2) 합성에 미치는 반응물질량비의 영향

디펩티드합성반응에 미치는 반응물질량비의 영향을 검토하기 위하여 반응온도 15℃, 반응시간 1h일 때 각이한 반응물질량비를 설정하고 거둬를 결정하였다.(표 1)

표 1. ABPA에 대한 Ac-N-Val-COCl의 반응물질량비에 따르는 디펩티드의 거둬

반응물질량비	1:1	1.1:1	1.2:1	1.3:1	1.4:1
거둬/%	75.1±0.20	82.4±0.15	87.9±0.15	88.1±0.12	87.9±0.17

$n=3, p<0.05$

표 1에서 보는것처럼 ABPA에 대한 Ac-N-Val-COCl의 반응물질량비에 따르는 거둬는 1.2:1이상에서는 더이상 높아지지 않았다. 반응물질량비 1.2:1이하에서 거둬가 낮은것은 N-아세틸발린의 산염화물이 불안정하여 반응과정에 일부가 분해되는것과 관련된다. 이로부터 N-아세틸발린의 산염화물은 1.2배이상으로 반응시켜야 한다는것을 알수 있다.

3) 반응시간의 영향

N-아세틸발린의 산염화물(N-Ac-Val-COCl)과 ABPA의 반응물질량비 1.2:1, 반응온도 25℃에서 반응시간에 따르는 거둬를 결정하여 디펩티드합성에 미치는 반응시간의 영향을 평가하였다.(표 2)

표 2. 반응시간에 따르는 디펩티드의 거둬

반응시간/min	10	20	30	40	50
거둬/%	71.9±0.15	81.5±0.13	87.9±0.20	88.2±0.12	88.1±0.16

$n=3, p<0.05$

표 2에서 보는것처럼 반응시간 30min이상에서는 거름물에서 차이가 크게 나타나지 않았다. 이로부터 반응시간을 30min으로 정하는것이 적당하다는것을 알수 있다.

4) 합성된 디펩티드 Ac-N-Val-ABPA의 분석

합성된 디펩티드 Ac-N-Val-ABPA를 무수에틸알콜(분석순)로 2회 려과세척하고 95℃에서 통풍건조시킨 후 분석하였다.

적외선흡수스펙트르 푸리에변환적외선분광기(《Nicolet 6700》)를 리용하여 합성된 디펩티드 Ac-N-Val-ABPA의 적외선흡수스펙트르를 측정하였다.(그림 3)

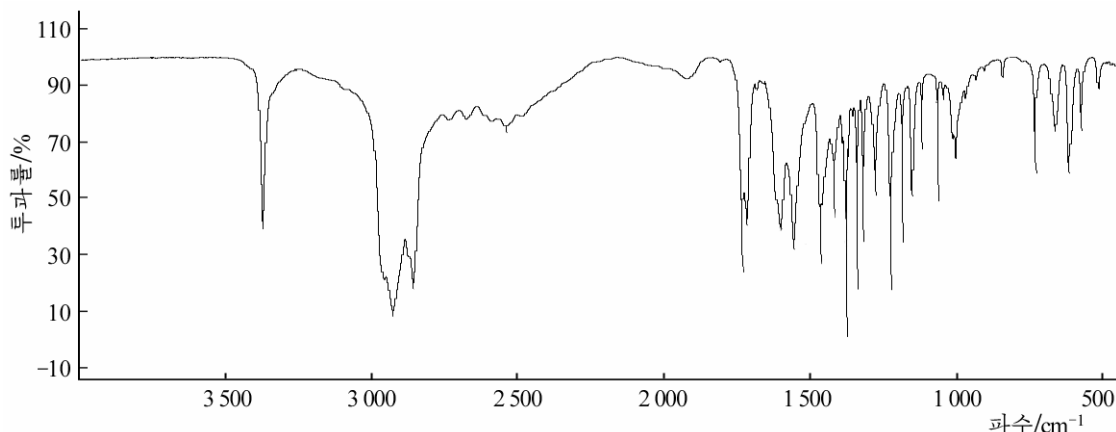


그림 3. 디펩티드 Ac-N-Val-ABPA의 적외선흡수스펙트르

그림 3에서 보는바와 같이 기능단구역 2.5~7.7 μm (4 000~1 300 cm^{-1})에서 디펩티드에 고유한 흡수스펙트르가 나타났다. 펩티드결합과 려관된 2급이미드기(=NH)와 산아미드기(—CO—NH—)의 신축진동흡수띠는 3 368.83 cm^{-1} 와 1 713.60 cm^{-1} 에서, 포화탄화수소류에 특징적인 신축진동흡수띠는 2 923.76 cm^{-1} 와 2 853.82 cm^{-1} 에서 나타났다. 또한 카르복실기(—COOH)에 고유한 신축진동흡수띠는 1 728.7 cm^{-1} 에서 그리고 벤졸고리(C_6H_6)의 특징적인 신축진동흡수띠는 1 598.27 cm^{-1} 와 1 464.1 cm^{-1} 에서 나타났다.

액체크로마토그래프—질량분석 초고성능액체크로마토그래프—질량분석기(《Acquity™ UPLC-SQD2》)로 합성한 디펩티드 Ac-N-Val-ABPA에 대한 질량분석을 진행하였다.(그림 4)

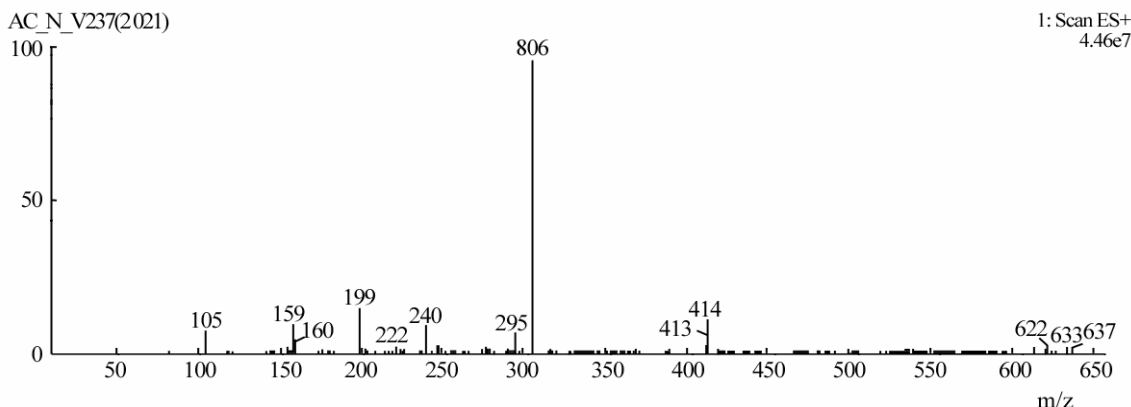


그림 4. 디펩티드 Ac-N-Val-ABPA의 액체크로마토그래프—질량스펙트르

그림 4의 질량스펙트럼에서 보는것처럼 $m/z=306$ 에서 스펙트럼피크가 확인되었다. 이것은 Ac-N-Val-ABPA의 분자량과 완전히 일치한 값이다.

이상의 분석결과들로부터 합성한 물질이 디펩티드인 Ac-N-Val-ABPA라는것을 알수 있다.

맺는 말

디펩티드인 Ac-N-Val-ABPA의 적합한 합성조건은 ABPA에 대한 N-아세틸발린산염화물의 반응물질량비 1.2:1, 반응온도 25°C 이하, 반응시간 30min이었다.

푸리에변환적외선분광기와 초고성능액체크로마토그래프-질량분석기에 의한 분석결과는 합성물질이 디펩티드인 Ac-N-Val-ABPA라는것을 보여주었다.

참고 문헌

- [1] 김일성종합대학학보(자연과학), 57, 11, 97, 주체100(2011).
- [2] 김일성종합대학창립 70돛기념 전국부문별과학토론회논문집, 고등교육도서출판사, 104, 주체105(2016).
- [3] 김광윤; 버섯활성물질과 그 리용, 과학기술출판사, 20~21, 주체101(2012).
- [4] M. Kirihata et al.; Nippon Nogeikagaki Kaishi, 52, 3, 135, 1978.
- [5] P. F. G. Praill; Acylation reaction, Pergamon Press, 67, 1963.
- [6] T. Nishi et al.; Chem. Pharm. Bull., 38, 1, 103, 1990.
- [7] J. Spengler et al.; Advances in Organic Synthesis, 4, 3, 2013.
- [8] 主积涛 等, 有机化学(上册), 南開大学出版社, 710, 2010.

주체108(2019)년 1월 5일 원고접수

Synthesis of Dipeptide using β -Amino- β -Phenyl-Propionic Acid

Kwon Chol Jin

The optimal synthesys conditions of dipeptide Ac-N-Val-ABPA are as follows: the reactive molar ratio of the acid chloride of N-acetylvaline to ABPA(β -amino- β -phenyl-propionic acid)—1.2:1, the reaction temperature—below 25°C and the reaction time—30 minutes.

By the results of the IR-spectra and the UPLC-MS spectra, the synthesized material is the dipeptide Ac-N-Val-ABPA.

Key words: dipeptide, N-acetylvaline, β -amino- β -phenyl-propionic acid