

L-Proline NCA의 重合反應速度

金啓用* · 徐漢洙* · 李永茂* · 鄭雨昌**

*漢陽大學校 工科大学 高分子工學科

**漢陽大學校 工科大学 化學工學科

(1978년 2월 24일 접수)

Kinetics of Polymerization of L-Proline NCA

Kea Yong Kim*, Han Soo Suh*, Young Moo Lee*, and Woo Chang Chung**

**Dept. of Polymer Engineering, **Dept. of Chemical Engineering,
College of Engineering, Hanyang University, Seoul 133, Korea*

(Received February 24, 1978)

要約: 아세토니트릴 및 벤젠 용매중에서 각각 n-부틸아민에 의해 개시되는 L-proline NCA의 重合反應速度를 反應中 發生하는 CO₂量을 측정함으로써 구하였다. 아세토니트릴 및 벤젠은 poly-L-proline의 溶媒가 아니므로 不均一反應系이지만 重合速度는 모노머와 開始劑의 농도에 각각 1次로 表示되었다.

아세토니트릴 및 벤젠 용매중에서 각각 重合初期의 成長速度는 상당히 빠르며 重合이 어느정도 進行된 後에는 重合速度가 느려지는 현상을 나타내었다. 反應速度가 빠른 段階와 느린 段階에서의 速度定數를 0~35°C에서 구하였다. 重合速度가 빠를때의 活性化에너지 (E_s)와 느릴때의 活性化에너지 (E_t)를 測定한 結果 아세토니트릴 용매에서는 $E_t=8.1$ kcal/mole 및 $E_s=2.2$ kcal/mole이고 벤젠용매에서는 $E_t=5.3$ kcal/mole 및 $E_s=2.5$ kcal/mole 이었다.

벤젠용매에서의 重合時가 아세토니트릴용매에서 보다 重合度가 낮은 點에서 反應速度가 느려지는 것을 알 수 있는데 이것은 重合時 生成하는 poly-L-proline의 구조 差異에서 오는 結果로 간주된다.

Abstract: Rate constants of polymerization of L-proline NCA initiated by n-butylamine in acetonitrile and benzene were determined by measuring the CO₂ evolved in the reaction.

Although the reaction systems were heterogeneous (both acetonitrile and benzene were nonsolvent for poly-L-proline), the rate of polymerization could be represented as second order rate equation which was first order with respect to monomer and initiator concentrations respectively. The polymerization rate

of L-proline NCA proceeded fast at the early stage of polymerization (up to about 30 minutes) but considerably slow in the ensuing stage of polymerization. The reaction rate constants were obtained at temperatures ranging from 0° to 35°C.

The activation energies for fast and slow polymerization, E_f and E_s , were determined; in acetonitrile, $E_f=8.1$ kcal/mole and $E_s=2.2$ kcal/mole, and in benzene $E_f=5.3$ kcal/mole and $E_s=2.5$ kcal/mole, respectively.

The polymerization rate of L-proline NCA in benzene showed lower transition point than that in acetonitrile at low degree of polymerization. It was postulated that the structures of polymers obtained in acetonitrile and benzene solvents might be different.

1. 서 론

E. Fisher 등¹에 의해 polypeptide를 합성하려는 試圖가 행해진 後 많은 研究者들에 의해 polypeptide가 합성되어 그 構造와 物性등이 確認되었다^{2~10}. 특히 polypeptide 重合時 重合물을 잘 녹이는 溶媒에서 重合시킬때의 反應速度에 관하여는 많은 研究가 소개되어 있다. 그러나 不均一系에서의 反應速度에 관하여는 몇개의 反應의 경우에만 報告되어 있다⁷.

本研究에서의 反應重合物인 poly-L-proline은 이미드기에 水素原子가 없어서 水素結合을 할 수 없으며, 水素結合을 形成할 수 있는 아미노酸으로 부터 만든 polypeptide와는 다른 構造를 갖는다. 그래서 L-proline NCA의 重合速度를 測定하고 重合된 poly-L-proline의 構造를 파악하르로서 protein, 특히 collagen, gelatin, casein과 zein같은 proline이 많이 함유된 protein 構造에서 proline의 役割을 明確히 하는데 도움을 줄 수 있을 것이다. 또한 poly-L-proline을 어느 溶媒에서 重合시키느냐에 따라 *cis*^{11,12}와 *trans*^{13,14}의 서로 다른 두 構造가 된다.

本 研究에서는 L-proline NCA를 아세트니트릴 및 벤젠용매에서 n-부틸아민으로 開始되는 重合反應의 反應速度論에 關하여 研究하고 poly-L-proline의 構造發生에 關하여 考察하였다.

2. 실험

2.1. 試藥 및 NCA의 合成

前報¹⁶와 같이 L-proline NCA는 微細하게 粉碎하여 減壓乾燥시킨 L-proline을 THF (tetrahydrofuran)에 分散시켜 포스젠 二合體인 trichloromethyl chloroformate (CICOCCl₃)와 反應시켜 생긴 crude NCA를 이소프로필에테르로 여러번 精製시켜 순수한 NCA를 얻었고 이것을 아세트니트릴 및 벤젠에 용해시켜 所定濃度(0.217 mole/l)로 하여 사용하였다. 이때 NCA中の 鹽素量은 0.01 % (重量)이하였다.

本實驗에 使用한 용매는 보통법에 따라 脫水에 留意해서 蒸溜 및 精製하였으며 開始劑인 n-부틸아민도 精製하여서 使用하였다. 사용농도 범위는 0.0018~0.002 mole/l 였다.

2.2. Polymer 合成

L-proline NCA의 重合은 前報¹⁵와 같은 方法으로 하였다. 즉 200 ml三口플라스크內에서 아세트니트릴 및 벤젠中の L-proline NCA의 濃度を 항상 0.217 mole/l로 하고 모노머溶液에 所定量의 開始劑인 n-부틸아민을 加하르로서 重合反應을 開始시켰다. 重合反應이 進行됨에 따라 重合系는 不均一系로 되었다.

이 反應은 一次아민을 開始劑로 하여 重合시킴으로서 單分散性인 polypeptide가 生成되므로 CO₂를 定量하면 反應이 어느程度 進行되었는지

를 알 수 있다.

2.3. CO₂ 測定法

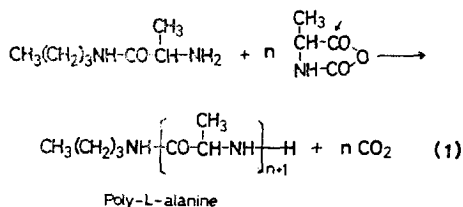
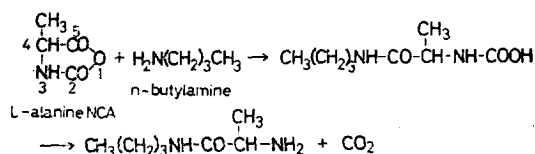
前報¹⁵와 같은 방법으로 反應器中에서 重合反應이 進行될 때 N₂를 계속 불어넣어 反應中 生成되는 CO₂ gas를 모두 에탄올과 디옥산의 混合液중에 벤질아민을 녹인 溶液중에 誘導하여 吸收시켰다. 吸收된 CO₂는 thymol blue를 指示藥으로 하여 0.1 N sodium methoxide로 滴定하였다.¹⁶

2.4. IR Spectroscopy 및 X-線 廻折測定

赤外線吸收測定은 Perkin-Elmer model 221 double beam spectrometer를 使用하였으며 X-線 廻折測定은 Shimadzu社의 X-ray diffractometer Type VD-1을 使用하였다.

3. 결과 및 고찰

一次아민을 開始劑로 한 NCA의 重合에 關係는從來 많이 研究되어 왔다^{7, 18, 19}. 즉



開始反應은 NCA의 5번 炭素에 n-부틸아민의 아미노기가 親核의으로 附加하여 開始된다. 이렇게 生成된 分子는 CO₂가 脫二酸化炭素되어 다시 分子의 末端에 아미노기가 생긴다. 이 아미노기는 다시 다른 NCA를 攻撃하여 重合反應이 進行된다¹⁸.

n-부틸아민을 開始劑로 하는 L-proline NCA의 重合反應은 重合이 進行됨에 따라 白濁의 polymer가 生成되는 不均一系 重合反應이었다.

그러나 重合反應속도는 다음 式과 같이 모노머 농도에 1次이고 開始劑농도에 1次인 全體 2次的의 一般均一系 反應速度式으로 表示할 수 있었다.

$$R_p = -\frac{d[M]}{dt} = k[M][I] \quad (3)$$

一般的으로 不均一系 重合反應속도는 均一系에서의 重合反應속도와 같은 方法으로는 檢討할 수 없지만 系에서 얻어지는 polypeptide의 重合도가 反應한 모노머의 濃도와 開始劑의 濃도比로서 잘 表示되고 또 poly-L-proline의 構造發生機構의 情報를 얻기 위한 手段으로 均一系에서의 重合反應速度論에 의거하여 檢討하였다. 여기에서 R_p 는 重合反應속도 [mole/l·min], k 는 速度定數 [l/mole·min], $[M]$ 은 NCA의 濃도 [mole/l] 및 t 는 時間 [min]이다.

$[I]$ 를 一定하게 놓고 $t=0$ 일때 $[M]=[M_0]$, $t=t$ 일때 $[M]=[M]$ 인 條件下에서 (3)式을 積分하면

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

가 된다.

Figure 1은 30°C에서 모노머의 濃도를 0.217 mole/l로 하고 開始劑의 濃도를 parameter로 하여 아세토니트릴에서 重合할때 (4)式에 의거하여 重合時間에 對한 $\log[M_0]/[M]$ 를 圖示한 것이다.

Figure 1에서 보는 바와 같이 實驗데이터는 거의 直線性을 나타냄을 알 수 있다. 이러한 直線性으로 보아 아세토니트릴중에서 n-부틸아민에 의해 開始되는 L-proline NCA의 重合속도는 不均一系이지만 (3)式이 잘 適用될 수 있음을 나타내고 있다. 또한 反應의 初期段階에서는 速度가 빠르다가 時間이 30分 정도 지나가면 速度가 느린 2段階速度曲線을 나타내고 있다. 重合反應時 빠른 速度段階로 부터 느린 速度段階로 移動하는 折點에서의 重合도는 대개 13~16이었다.

重合속도가 빠를때의 速度定數를 k_f [l/mole·min] 및 느릴때의 速度定數를 k_s [l/mole·min]라 하면 Figure 1의 기울기로 부터 Table 1에 表

Table I. $k[I]$ at Various Concentration of Initiator

$[M_0] / [I]$	20	50	100	200
$k_f[I] \times 10^3 \text{ (min}^{-1}\text{)}$	21.6	11.6	6.3	3.6
$k_s[I] \times 10^4 \text{ (min}^{-1}\text{)}$	17.0	7.8	5.9	4.6
$k_t'[I] \times 10^3 \text{ (min}^{-1}\text{)}$	14.1	5.1	2.5	1.4
$k_s'[I] \times 10^4 \text{ (min}^{-1}\text{)}$	14.7	5.7	5.0	3.2

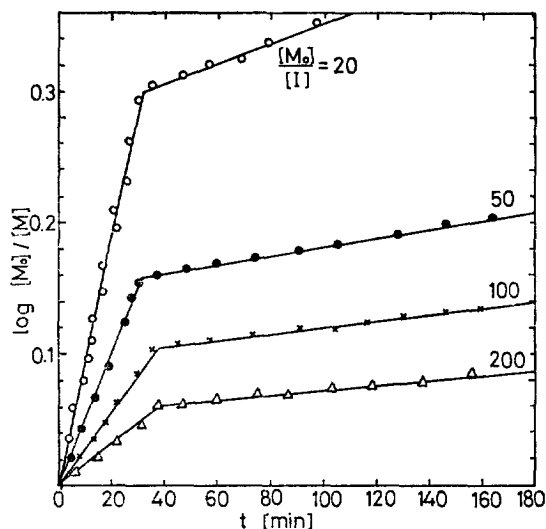


Figure 1. Polymerization rate of L-proline NCA in acetonitrile at 30°C. $[M_0]=0.217 \text{ (mole. l}^{-1}\text{)}$

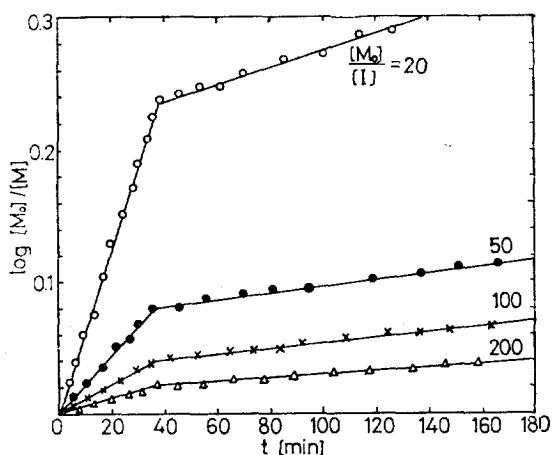


Figure 2. Polymerization rate of L-proline NCA in benzene at 30°C. $[M_0]=0.217 \text{ (mole. l}^{-1}\text{)}$

示한 바와같이 여러 $[I]$ 에 對한 $k_f[I]$, $k_s[I]$ 를 얻을 수 있다.

Figure 2는 30°C에서 벤젠을 重合溶媒로 하였을때 시간에 對하여 $\log[M_0]/[M]$ 을 圖示한 것이다. 아세토니트릴에서와 類似한 傾向을 나타내었으나 重合도가 보다 낮은 點(약 7~10殘基)에서 重合速度가 느려지는 것을 알았다. 아세토니트릴에서와 마찬가지로 重合速度가 빠를때의 速度定數를 k_f' 및 느릴때의 速度定數를 k_s' 라 하면 각각의 기울기로 부터 $k_f'[I]$ 와 $k_s'[I]$ 를 구하여 Table I에 나타내었다.

Figure 3과 Figure 4는 앞에서 구한 $k[I]$ 값을 開始劑의 各濃度에 對하여 플롯하여 그 기울기로부터 주어진 온도에서의 重合速度定數를 구할 수 있다.

Figure 5와 Figure 6은 아세토니트릴과 벤젠 溶媒中에서 各各 $[M_0]/[I]=50$ 일때 溫度變化에 對한 重合反應速度의 變化를 時間에 對하여 圖示한 것이다.

Figure 5와 Figure 6에서도 알 수 있는 바와 같이 各 溫度에서 速度가 빠른 段階과 느린 段階인 2段階速度曲線을 나타내고 있다. 여기서 各 直線의 기울기로 부터 各 溫度에 따르는 速度定數를 구하여 Table II에 表示하였다.

Figure 7과 Figure 8은 Table II를 Arrhenius 플롯한 것으로 아세토니트릴과 벤젠溶媒에서 구한 反應速度定數의 對數를 重合溫度의 逆數에 플롯하여 各各의 기울기로 부터 活性化 에너지를 구하였다.

重合反應速度의 溫度依存性을 檢討하기 爲하여 重合溫度를 7~30°C까지 變化시키면서 反應을 시켰다.

L-proline NCA가 아세토니트릴에서 重合시킬

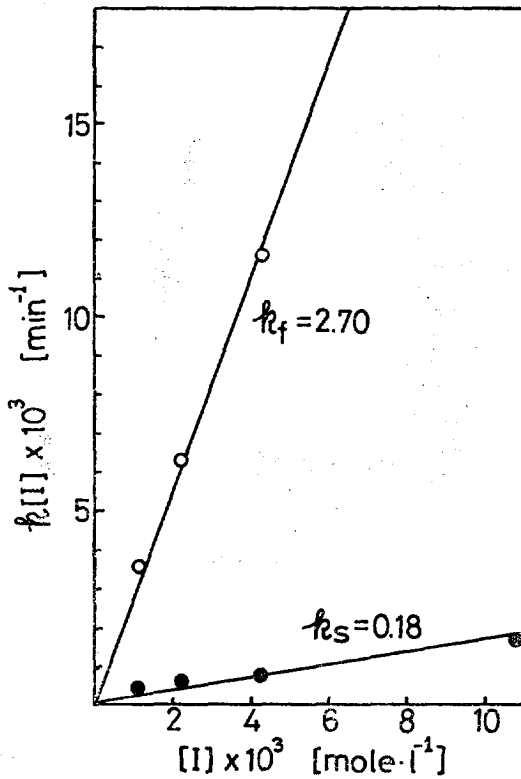


Figure 3. $k(I)$ vs $[I]$.

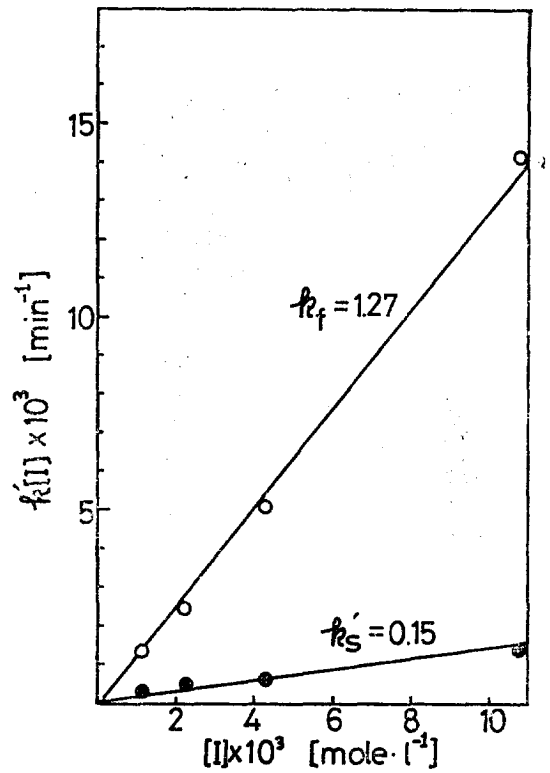


Figure 4. $k'(I)$ vs $[I]$.

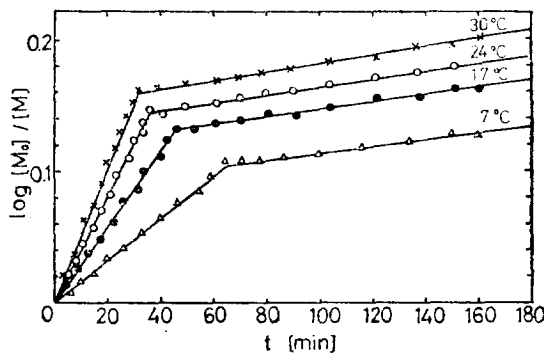


Figure 5. Polymerization rate of L-proline NCA in acetonitrile. $[M_0] = 0.217 \text{ (mole.l}^{-1}\text{)}$
 $[I] = 0.00434 \text{ (mole.l}^{-1}\text{)}$

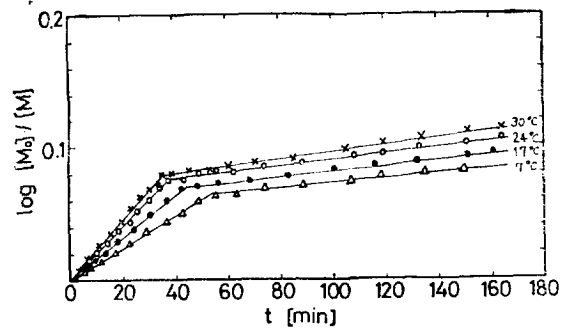


Figure 6. Polymerization rate of L-proline NCA in benzene. $[M_0] = 0.217 \text{ (mole.l}^{-1}\text{)}$
 $[I] = 0.00434 \text{ (mole.l}^{-1}\text{)}$

Table II. Reaction rate constants at various temperatures

T (°C)	7	17	24	30
$k_f \text{ (l.mole}^{-1}\text{.min}^{-1}\text{)}$	0.851	1.542	2.150	2.702
$k_s \text{ (l.mole}^{-1}\text{.min}^{-1}\text{)}$	0.142	0.144	0.160	0.180
$k'_f \text{ (l.mole}^{-1}\text{.min}^{-1}\text{)}$	0.628	0.828	1.104	1.176
$k'_s \text{ (l.mole}^{-1}\text{.min}^{-1}\text{)}$	0.100	0.112	0.128	0.144

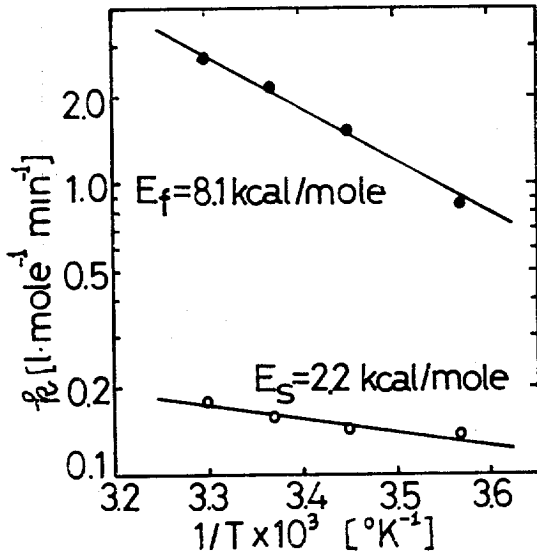


Figure 7. Temperature dependence of k_f and k_s .

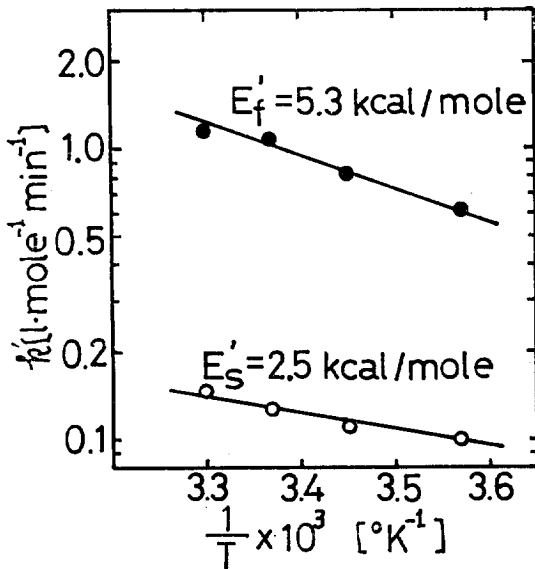


Figure 8. Temperature dependence of k'_f and k'_s .

때 반응속도가 빠를때의 활성화에너지 $E_f=8.1$ kcal/mole이고, 느릴때의 활성화에너지 $E_s=2.2$ kcal/mole이었다. 또한 벤젠용매에서는 $E'_f=5.3$ kcal/mole이고, $E'_s=2.5$ kcal/mole이었다.

벤젠용매중에서 n-부틸아민을 開始劑로 L-proline NCA를 중합시킬때의 반응속도는 아세토

니트릴에서 오는 달리 중합도가 보다 낮은點에서 反應速度가 느려지는 것을 알았다 (Figure 2, 및 6).

이것은 poly-L-proline이 두가지 conformation을 갖는 사실과 比較하면 잘 알 수 있다. 벤젠에서 重合한 poly-L-proline (PP II)은 left-handed helix 構造를 가지고 있는데 分子鎖斷面積 ($38 \text{ \AA}^2$)¹⁷은 아세토니트릴에서 重合한 poly-L-proline (PP I)의 分子鎖斷面積 ($71 \text{ \AA}^2$)보다 작으므로 不均一系 重合에서의 構造發生說에 의거하여^{20,21} 보다 빨리 chain fold 할 것으로 생각된다. Figure 1, 및 2에서 보는바와 같이 둘 다 反應初期에는 빠른 速度로 進行되다가 벤젠용매에서 重合한 PP II는 아세토니트릴용매에서 重合한 것보다 더 빨리 느린速度段階로 移動하는 折點을 가져오는데 이 折點에서의 重合도는 7~10 정도로 아세토니트릴에서의 13~16보다 낮다. 바로 이 折點들이 前報¹⁷에서도 밝힌바와 같이 重合時에 成長分子鎖가 구부러지는 段階라고 생각된다.

한편, 重合物的 IR 과 X-線廻折圖는 前報와 같으므로 여기에서는 게재를 생략한다.

4. 결 론

n-부틸아민을 開始劑로 使用하여 아세토니트릴과 벤젠에서 L-proline NCA를 重合시켜 反應速度論의으로 考察한 結果 다음과 같은 結論을 얻었다.

1. 重合溫度에 對한 反應速度定數는 Table II와 같다.

2. 아세토니트릴에서 重合速度가 빠를때의 活性化에너지가 8.1 kcal/mole이고, 느릴때가 2.2 kcal/mole이었다. 벤젠에서는 빠를때가 5.3 kcal/mole, 느릴때가 2.5 kcal/mole 임을 알았다.

3. 아세토니트릴에서 重合時 polymer는 right-handed helix를 갖는 cis-form(PP I)이고 벤젠에서의 polymer는 left-handed helix를 갖는 trans-form(PP II)인 事實은 벤젠용매에서의 重合時가 아세토니트릴용매에서 보다 重合도가 낮은點에서 反應速度가 느려지는 것으로도 說明

할 수 있다.

인 용 문 헌

- 1) E. Fisher, *Ber.*, **39**, 2924 (1906).
- 2) E. Katchalski, *Advances in Protein Chem.*, **6**, 123 (1951).
- 3) D. Coleman, *J. Am. Chem. Soc.*, 2294 (1951).
- 4) A. Berger and E. Katchalski, *J. Am. Chem. Soc.*, **73**, 4084 (1951).
- 5) H. Tani, H. Yuki, S. Sakadibara and T. Kaki, *ibid.*, **75**, 3042 (1953).
- 6) A. Patchonik, M. Sela and E. Katchalski, *ibid.*, **76**, 299 (1954).
- 7) Y. Iwakura, K. Uno and M. Oya., *J. Polym. Sci.*, **A-5**, 2867 (1967).
- 8) M. Oya, K. Uno and Y. Iwakura, *Bull. Chem. Soc. Jap.*, **43**, 1788 (1970).
- 9) T. Komoto, T. Akaishi, M. Oya and T. Kawai, *Makromol. Chem.*, **154**, 151 (1972).
- 10) T. Komoto, K.Y. Kim, Y. Minoshima, M. Oya and T. Kawai, *Makromol. Chem.*, **168**, 261 (1973).
- 11) W. Traub and U. Shmueli, *Nature (London)*, **198**, (1963).
- 12) I.Z. Steinberg, W.F. Harrington, A. Berger, M. Sela and E. Kachalski, *J. Am. Chem. Soc.*, **82**, 5263 (1960).
- 13) V. Sasisekharan, *Acta Crystallogr.*, **12**, 897 (1959).
- 14) P.M. Cowan and S. McGavin, *Nature (London)*, **176**, 501 (1955).
- 15) K. Y. Kim and M. K. Oh, *Polymer (Korea)*, **2**, (4) 187 (1978).
- 16) A. Patchonik and Y. Y. Shalitin, *Anal. Chem.*, **33**, 1887 (1961).
- 17) K. Y. Kim, *Polymer (Korea)*, **1**, 277 (1977).
- 18) E. R. Blout and H. Karlson, *J. Am. Chem. Soc.*, **78**, 941 (1956).
- 19) J. D. Coombes and E. Katchalski, *ibid.*, **82**, 5280 (1960).
- 20) K. Y. Kim, T. Komoto, R. Katakai, M. Oya and T. Kawai, *Makromol. Chem.*, **176**, 373 (1975).
- 21) T. Komoto, T. Akaishi, M. Oya, and T. Kawai, *Makromol. Chem.*, **154**, 151 (1972).