Journal of the Korean Chemical Society
1996, *Vol. 40, No. 4*
Printed in the Republic of Korea

p-Nitrophenyl Picolinate의 가수분해에 대한 코발트(III) 착물의 촉매효과

盧載根 · 金昌錫† · 洪淳瑛*
한양대학교 자연과학대학 화학과
†충북대학교 사범대학 과학교육과
(1996. 2. 10 접수)

Catalytic Effects of Co(III) Complexes on the Hydrolysis of *p*-Nitrophenyl Picolinate

Jae-Geun Noh, Chang-Suk Kim†, and Soon-Yung Hong*
Department of Chemistry, Hanyang Universty, Seoul 133-791, Korea
†Department of Science Education, Chungbuk National Universty, Cheongju 360-763, Korea
(Received February 10, 1996)

요 약. 두 자리 또는 세 자리의 질소 리간드를 갖는 5 종류의 Co(III) 착물을 합성하였다. 이 착물들의 촉매 작용을 질소의 위치가 다른 세 종류의 기질, 즉 *p*-nitrophenyl picolinate, *p*-nitrophenyl nicotinate 및 *p*-nitrophenyl isonicotinate의 가수분해 반응에 대하여 자외선 분광법으로 측정하였다. 이 세 가지 기질 중에서 *p*-nitrophenyl picolinate가 촉매에 가장 민감한 반응을 보였으며 이 화합물의 가수분해 반응은 aquohydroxo 형태의 착물이 가장 많이 존재하는 pH 6.5에서 이 촉매들에 의하여 21~40배 촉진되었다. *p*-Nitrophenyl picolinate의 가수분해 반응에 대한 착물의 효과는 $Co(ibpn)(OH)_2(OH_2)$>$Co(aepn)(OH)_2(OH_2)$>$Co(tn)_2(OH)(OH_2)$>$Co(bpy)_2(OH)(OH_2)$>$Co(dien)(OH)_2(OH_2)$와 같이 나타났으며, 이 가수분해 반응은 분자내 일반 염기성 촉매 반응이 우세한 과정을 따르며 부분적으로 분자내 친핵성 촉매반응 메카니즘을 따르고 있음을 알 수 있었다.

ABSTRACT. Five cobalt(III) complexes were synthesized from bi- or tridentate nitrogen ligands. Catalytic actions of these complexes for hydrolyses of *p*-nitrophenyl picolinate, *p*-nitrophenyl nicotinate, and *p*-nitrophenyl isonicotinate were investigated by a spectrophotometric method. *p*-Nitrophenyl picolinate showed the most senstive reaction among three substrates by these catalysts. Aquohydroxo Co(III) complexes raised as much as 21~40 times the rate of hydrolysis of *p*-nitrophenyl picolinate at pH 6.5. Activities of complexes were in the order: $Co(ibpn)(OH)_2(OH_2)$>$Co(aepn)(OH)_2(OH_2)$>$Co(tn)_2(OH)(OH_2)$>$Co(bpy)_2(OH)(OH_2)$>$Co(dien)(OH)_2(OH_2)$. Catalytic hydrolysis was postulated to proceed through a intramolecular general base catalysis path which is mixed by a partial intramolecular nucleophilic catalysis.

서 론

금속 이온을 함유하는 가수분해 효소(예를 들어, carbonic anhydrase, superoxide dismutase, carboxypeptidase, phosphatase 등)의 반응 메카니즘과 그들의 활성 중심에서의 금속 이온의 역할은 아주 흥미로운 연구 과제로서 그 동안 많은 연구 결과들이 보고되고 있다.[1~4] Zn(II)를 포함하고 있는 효소로서 *E. coli* 알칼리 인산가수분해 효소는 phosphate monoester를 가수분해하는데 10^{10}~10^{12}배의 촉매 효과를 보여주고 있다.[5] 효소 가수분해 반응에 대하여 제안된 메카니즘의 하나로서 금속 이온에 배위된 수산화 이온이 nitrile,[6] olefin[7] 및 amino acid ester[8]

들의 가수분해 반응에 대하여 매우 효과적인 친핵체로서 작용한다는 것이다. Koike 등[9]은 폴리아민 리간드를 갖는 Zn(II) 착물을 합성하여 phosphate 들에 대한 이들의 가수분해 반응에 대한 속도론적 연구를 통해 L-Zn-OH^-가 반응성이 좋은 화학종으로 역할을 하며 가장 강한 염기 형태인 OH^-종보다 더 효과적인 촉매 작용을 한다고 보고하였다. 또한 다른 Zn(II) 모델들이 phophate triester의 가수분해 반응에 대하여 연구된 바 있다.[10,11] 최근 다른 금속 이온 모델로서 Cu(II)나 Co(III) 착물의 연구가 진행되고 있는데 Yang 등[12]은 phosphate triester에 대한 가수분해 반응에서 Cu(II) 착물의 촉매 효과와 메카니즘을 제시한 바 있으며 Hong 등[13]은 Cu(II)에 세자리 질소 리간드와 이미다졸이 배위된 여러 종류의 착물을 합성하여 *p*-nitrophenyl acetate의 가수분해 반응에 대한 촉매 효과를 보고하였다. Kenley 등[14]은 phosphonate diester의 가수분해 반응에서 여러 종류의 Co(III) 착물의 촉매 효과를 조사한 결과 촉매 작용이 $Co(bpy)_2(OH)(OH_2) \ll Co(trien)(OH)(OH_2) < Co(tn)_2(OH)(OH_2) < Co(tme)_2(OH)(OH_2)$의 순으로 나타났으며 Chin들은 cAMP[15]나 phosphate diester[16]의 가수분해 반응에서 Co(III) 착물의 촉매 효과가 $10^7 \sim 10^{10}$배 정도로 나타난다고 하였다.

본 연구에서는 촉매로서 5종류의 Co(III) 착물을 합성하여 배위 결합을 할 수 있는 질소 원자의 위치가 다른 3종류의 기질에 대한 가수분해 반응 속도를 자외선 분광법으로 측정하여 pH 의존도, 촉매의 농도 효과, 열역학적 활성화 파라미터 및 용매 동위 원소 효과를 조사하고 이를 통하여 촉매 효과 및 메카니즘을 규명하고자 한다.

실 험

시약 및 기기. 기질과 촉매의 합성에 사용된 모든 시약과 완충제들은 Aldrich사의 G. R.급을 정제없이 사용하였다. 완충제로는 MES(*N*-morpholineethansulfonic acid), HEPES(*N*-(2-hydroxyethyl)-piperazine-*N'*-ethanesulfonic acid), EPPS(*N*-(2-hydroxyethyl)-piperazine-*N'*-propanesulfonic acid) 및 CHES(2-(cyclohexylamino)-ethanesulfonic acid)를 사용하였으며 이 완충제는 amino sulfonate type (Good buffer[17])으로서 금속 착물과의 친화도가 적다고 알려져 있기 때문에 착물의 연구에 좋은 완충제로 사용되어지고 있다. 반응속도 측정에 사용되어진 증류수는 이온 교환 수지를 통과시키고 0.25% NaOH와 0.05% $KMnO_4$로 재증류하여 정제하였다.[18] ^1H NMR과 IR 스펙트럼은 각각 Bruker 200 MHz NMR spectrometer, Bruker IFS 48FT-IR spectrophotometer를 사용하여 얻었고 원소분석에는 Fison EA 1108을 사용하였으며 녹는점 측정에는 Yamato MP-1 모세관 녹는점 측정 장치를 사용하였다. 반응속도는 Kontron 860 UV visible spectrophotometer로 측정하였으며 pH 측정에는 Corning pH meter 220을 이용하였다. 반응 속도 측정 용매의 이온 강도는 YSI Model 32 conductance meter로 측정하였다.

***p*-Nitrophenyl picolinate(PNPP).** Thionyl chloride 2 mL와 DMF 2~3방울을 첨가한 용액에 picolinic acid 0.62 g을 50~60 ℃의 온도로 가열 교반하면서 서서히 첨가하였다. 2시간 후 이 반응물을 실온으로 냉각하고 용매를 감압 증발시켰으며 다시 dichloromethane 20 mL를 넣어 picolinoyl chloride를 녹였다. 이 용액을 0 ℃로 유지하면서 다른 용기에 dichloromethane 30 mL와 tripropylamine 1.2 mL에 *p*-nitrophenol 0.70 g을 녹여 준비한 용액과 교반하면서 1시간 정도 반응시켰다. 이 혼합 용액을 증류수로 여러번 추출한 후 얻어진 유기층을 감압 증발시켜 0.62 g(51% 수율)의 생성물을 얻었다. 이 생성물을 에탄올로 3번 재결정하였다. *p*-Nitrophenyl nicotinate(PNPN)는 출발 물질로서 nicotinic acid를 또한 *p*-nitrophenyl isonicotinate(PNPI)는 isonicotinic acid를 사용하여 위와 동일한 방법으로 합성하여 각각 0.73 g(60% 수율)과 0.65 g(53% 수율)의 생성물을 얻었다.

$[Co(tn)_2(OH_2)_2](ClO_4)_3 \cdot 2H_2O$. 알려진 방법[14]따라 $[Co(tn)_2CO_3]ClO_4$(문헌[19]의 방법에 따라 얻은)에 산을 넣어 가수분해시켜 합성하였다. 원소분석 실험치(이론치) C% 12.42(12.48), H% 5.07(4.89), N% 9.23(9.70).

$[Co(bpy)_2(OH_2)_2](ClO_4)_3 \cdot H_2O$. 알려진 방법[14]을 약간 수정하여 합성하였다. 즉 $Na_3[Co(CO)_3] \cdot 3H_2O$ 3.60 g(문헌[20]의 방법에 따라 얻은)과 2,2'-bipyridine

3.20 g을 증류수 40 mL에 녹여 8시간 교반한 후 여과하여 불순물을 제거한 뒤 이 여액에 $NaClO_4$ 2 g을 증류수 15 mL에 녹인 용액을 첨가하였다. 이때 생긴 갈색 침전물을 감압 여과하여 아세톤으로 충분히 세척하여 $[Co(bpy)_2CO_3]ClO_4$ 4.85 g(97% 수율)을 얻었다. 이 화합물 2.62 g을 증류수 10 mL와 아세트니트릴 5 mL의 혼합 용매에 녹여 60 ℃로 가열 교반하면서 60% $HClO_4$ 수용액 14 mL를 CO_2가 발생되지 않을 때까지 천천히 첨가하였다. 이 용액을 3~4일간 0~5 ℃의 온도로 냉장고에 방치하여 생성된 결정을 디메틸 에테르 100 mL로 세척한 후 진공 건조시켜 2.65 g(92% 수율)의 생성물을 얻었다. 원소분석 실험치(이론치) C% 33.62(33.20), H% 3.26 (3.06), N% 7.61(7.64).

Co(dien)Cl_3. 알려진 방법[21]에 따라 증류수 10 mL에 $Co(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$ 5.82 g과 $NaNO_2$ 6.01 g을 녹인 후 pH를 5~6으로 조정하였다. 이 용액에 diethylenetriamine(dien) 2.16 mL를 증류수 8 mL와 섞은 용액을 교반하면서 첨가할 때 진한 갈색에서 녹색으로 용액의 색깔이 바뀌면서 고체 상태로 Co(dien)$(NO_2)_3$이 생성되었다. 이것을 감압 여과하여 증류수와 에탄올로 여러번 세척한 다음 진공 건조시켜 2.88 g(47% 수율)의 생성물을 얻었다. 다시 Co(dien)$(NO_2)_3$ 2 g을 6 N HCl 용액에 넣고 50~60 ℃를 유지하면서 NO_2의 방출이 끝날 때까지 교반하였다. 이 혼합 용액을 실온으로 방치하고 감압 여과하였으며 얻어진 고체를 증류수와 에탄올로 충분히 세척한 후 진공 건조시켜 1.21 g(67% 수율)의 최종 생성물을 얻었다. 원소분석 실험치(이론치) C% 17.61(17.90), H% 4.94 (4.88), N% 15.88(15.65).

Co(aepn)Cl_3. 합성 방법은 Co(dien)Cl_3와 유사하며 이 착물은 리간드로서 *N*-(2-aminoethyl)-1,3-propanediamine(aepn)을 사용하였으며 최종 생성물 0.97 g(57% 수율)을 얻었다. 원소분석 실험치(이론치) C% 21.19(21.26), H% 5.50(5.35), N% 14.75(14.87).

Co(ibpn)Cl_3. 합성 방법은 Co(dien)Cl_3와 유사하며 이 착물은 리간드로서 3,3′-iminobispropylamine (ibpn)을 사용하였으며 최종 생성물 1.23 g(72% 수율)을 얻었다. 원소분석 실험치(이론치) C% 24.34 (24.30), H% 6.01(5.78), N% 14.50(14.17).

위의 3종류의 염소 착물들에 1.5N NaOH를 가하여 촉매로서 사용하는 수화된 코발트 착물을 만들었다.

용액속에서 *trans*-Co(tn)$_2$(OH)(OH_2)는 빠르게 시스 이성질체로 이성화한다고 알려져 있으며($t_{1/2}$=1s at 25 ℃),[19] Co(bpy)$_2$(OH)(OH_2)의 경우에는 리간드 사이의 상호 입체 작용의 결과로 시스 이성질체가 우세하다는 것이 알려져 있다.[22] 분광학적 자료로부터 Co(dien)$(OH_2)_3$는 d-d 전이가 500 nm(ε=86)에서 일어나고 있는 트란스 이성질체로 알려져 있으며,[21] 본 연구에서 새로 합성한 착물인 Co(aepn)$(OH_2)_3$나 Co(ibpn)$(OH_2)_3$들은 d-d 전이가 각각 536 nm(ε=73)와 531 nm(ε=86)에서 일어나고 있다. 일반적으로 트란스 착물이 시스 착물보다 안정하여 단파장 부근에서 전이가 일어나는 경우가 많으며 위의 Co(aepn)$(OH_2)_3$ 나 Co(ibpn)$(OH_2)_3$는 Co(dien)$(OH_2)_3$에 비해 d-d 전이가 장파장쪽으로 이동됨을 알 수 있는데 이는 착물의 구조가 트란스 보다는 오히려 시스 구조로 존재 할 수 있을 것이라 예측할 수 있다. 가수분해 반응에 있어서 Co(III) 착물들은 시스 이성질체가 트란스 이성질체에 비해 반응성이 크다는 것이 알려져 있다.[23] 이들 착물에 대한 대표적 구조는 *Fig.* 1과 같다. 그리고 이들 착물의 산해리 상수는 전위차 적정법에 의하여 결정하였으며 *Table* 1과 같다.

가수분해 반응 속도의 측정. PNPP, PNPN 및 PNPI의 가수분해 반응 속도는 반응의 진행에 따른

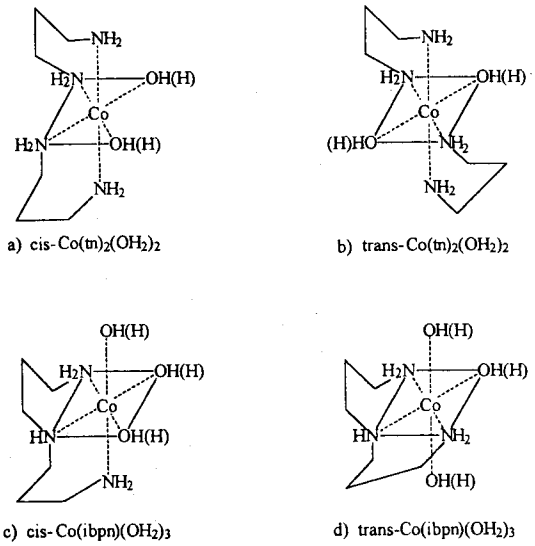


Fig. 1. Structures of isomers of Co(III) complexes.

Table 1. Acid dissociation constant(pK_a) values of Co (III) complexes determined by potentiometric titration at 25 ℃

Complex	pK_{a_1}	pK_{a_2}	pK_{a_3}
$[Co(tn)_2(OH_2)_2](ClO_4)_3 \cdot 2H_2O$	5.25	7.68	
$[Co(bpy)_2(OH_2)_2](ClO_4)_3 \cdot H_2O$	3.79	6.39	
$Co(dien)(OH_2)_3$	2.22	6.62	11.04
$Co(aepn)(OH_2)_3$	2.02	5.95	11.04
$Co(ibpn)(OH_2)_3$	2.33	5.37	10.77

최대 흡광 파장인 272 nm에서의 흡광도 감소나 생성물인 *p*-nitrophenol의 최대 흡광 파장인 400 nm (pH 6.5 미만 320 nm)에서의 흡광도 증가를 측정하여 구할 수 있으나 모든 코발트 착물이 250~360 nm 부근에서 큰 흡광이 일어나 기질과의 흡광 파장이 겹치므로 반응 속도의 측정은 생성물의 흡광도 변화를 조사하여 측정하였다. 그리고 생성물의 최대 흡광 파장은 pH가 감소함에 따라 400 nm에서 320 nm로 이동하게 되는데 $[Co(tn)_2(OH_2)_2]^{3+}$(λ_{max} 254 nm)를 제외한 모든 착물들이 300~360 nm에서 큰 흡광이 일어나므로 낮은 pH에서는 반응 속도를 측정할 수 없었다. 실험에 사용한 모든 반응 용매는 기질의 용해도를 증가시키기 위하여 5%(v/v) MeCN을 포함하며 이온 강도는 KCl를 사용하여 0.1 M로 유지시켰다. 완충 용액은 pH 5.0, 6.0 및 6.5에서는 MES를, pH 7.0과 7.5에서는 HEPES를, pH 8.0과 8.5에서는 EPPS를, pH 9.0에서는 CHES 완충제를 각각 사용하여 20 mM 용액이 되도록 만들었다. 예로서 pH 7에서 20 mM HEPES 완충 용액을 사용하여 2.5×10^{-3} M 코발트 착물 용액을 만들어 두개의 UV cuvette에 3 mL씩 넣은 후 UV 분광 광도계의 sample과 reference chamber에 각각 넣어 15분간 항온이 되게 하였다. 1×10^{-3} M 기질을 포함하는 MeCN 저장 용액에서 50 μL의 기질을 취하여 sample cuvette에 빠르게 넣어 흔든 후 400 nm(또는 320 nm)에서 시간에 따른 흡광도(A_t)와 반감기의 10배 이상되는 시간에서의 흡광도(A_∞)를 측정하였다. 유사 1차 속도 상수는 (1)식[24]을 사용하여 구하였다.

$$\ln(A_\infty - A_t) = -kt + \ln(A_\infty - A_0) \quad (1)$$

모든 가수분해 반응에서 코발트 착물을 기질에 비해 과량으로 사용하여 유사 1차 반응 조건에 따르게 하였으며 반응의 속도 법칙은 (2)식과 같다.

$$\text{rate} = \{k_0 + k_{OH}[OH^-] + k_B[\text{Buffer}] + k_{Cat}[\text{Cat}]\}[\text{Ester}] \quad (2)$$

PNPP의 가수분해 반응에 대하여 k_0는 촉매가 관여하지 않은 반응의 1차 속도 상수이며 k_{OH}와 k_B는 OH^-와 buffer에 대한 2차 속도 상수로서 k_{OH}와 k_B(HEPES)는 각각 6.95와 $6.10 \times 10^{-4}\ M^{-1}s^{-1}$로 나타났다. pH 7에서 k_0, $k_{OH}[OH^-]$및 $k_B[\text{Buffer}]$는 $2.55 \times 10^{-5}\ s^{-1}$, $6.95 \times 10^{-7} s^{-1}$ 및 $1.22 \times 10^{-5} s^{-1}$로 나타났다. 본 실험에서 관찰된 유사 1차 속도 상수는 $\sim 10^{-4} s^{-1}$으로서 $k_{OH}[OH^-]$보다 훨씬 크므로 (3)식으로 줄일 수 있으며 이는 (6)식으로 표현할 수 있다.

$$\text{rate} = \{k_0 + k_B[\text{Buffer}] + k_{Cat}[\text{Cat}]\}[\text{Ester}] \quad (3)$$

$$\text{rate} = k_{obs}[\text{Ester}] \quad (4)$$

$$k_{obs} = k_0 + k_B[\text{Buffer}] + k_{Cat}[\text{Cat}] \quad (5)$$

$$k_{obs} = k_0' + k_{Cat}[\text{Cat}];\ k_0' = k_0 + k_B[\text{Buffer}] \quad (6)$$

k_{Cat}값은 (6)식으로부터 [Cat]를 변화시켜 얻은 유사 1차 속도 상수(k_{obs})와 촉매의 농도를 도시하여 그 기울기로부터 구하였다. 촉매의 활성이 가장 크게 나타나는 pH 6.5에서의 k_B(MES)는 $2.69 \times 10^{-4}\ M^{-1} s^{-1}$로 또한 k_0, $k_{OH}[OH^-]$ 및 $k_B[\text{Buffer}]$는 각각 $6.60 \times 10^{-6} s^{1-}$, $2.19 \times 10^{-7} s^{-1}$ 및 $5.38 \times 10^{-6} s^{-1}$로 나타났다. 본 실험에서 관찰된 유사 1차 속도 상수는 $\sim 10^{-4} s^{-1}$으로서 $k_B[\text{Buffer}]$나 $k_{OH}[OH^-]$보다 훨씬 크므로 이 경우에는 (3)식을 다시 (7)식으로 줄일 수 있으며 이는 (9)식으로 표현할 수 있다.

$$\text{rate} = \{k_0 + k_{Cat}[\text{Cat}]\}[\text{Ester}] \quad (7)$$

$$\text{rate} = k_{obs}[\text{Ester}] \quad (8)$$

$$k_{obs} = k_0 + k_{Cat}[\text{Cat}] \quad (9)$$

결과 및 고찰

pH 의존도. 착물의 금속 이온과 기질과의 배위 결합에 의한 반응 속도의 영향을 살펴보기 위하여 반응 중심에서의 질소의 위치가 다른 세 가지의 기질을 선택하여 여러 pH 조건하에서 완충 용액 또는 $Co(tn)_2(OH_2)_2^{3+}(aq)$이 존재할 때의 반응 속도를 측정하여 그 결과를 *Table* 2에 요약하였으며 이를 *Fig.* 2와 3에 나타내었다.

Table 2. Pseudo-first-order rate constants (k_{obs}, s^{-1}) for PNPP, PNPN, and PNPI hydrolysis in the presence of 1×10^{-2} M catalyst at 35 ℃

pH	PNPP		PNPN		PNPI	
	Buffer	$Co(tn)_2(OH_2)_2$	Buffer	$Co(tn)_2(OH_2)_2$	Buffer	$Co(tn)_2(OH_2)_2$
5.0	8.25×10^{-6}	4.30×10^{-5}				
6.0	9.89×10^{-6}	1.73×10^{-4}				
6.5	1.22×10^{-5}	2.75×10^{-4}	3.63×10^{-6}	2.23×10^{-5}	2.07×10^{-5}	1.23×10^{-4}
7.0	3.76×10^{-5}	3.82×10^{-4}	1.00×10^{-5}	5.10×10^{-5}	5.45×10^{-5}	2.07×10^{-4}
7.5	1.08×10^{-4}	8.27×10^{-4}	2.83×10^{-5}	9.23×10^{-5}	1.56×10^{-4}	3.94×10^{-4}
8.0	2.06×10^{-4}	1.89×10^{-3}	6.01×10^{-5}	2.17×10^{-4}	3.61×10^{-4}	9.91×10^{-4}
8.5	4.81×10^{-4}	4.09×10^{-3}	1.76×10^{-4}	4.23×10^{-4}	8.36×10^{-4}	2.04×10^{-3}
9.0	8.54×10^{-4}	5.32×10^{-3}	3.68×10^{-4}	9.53×10^{-4}	1.77×10^{-3}	4.59×10^{-3}

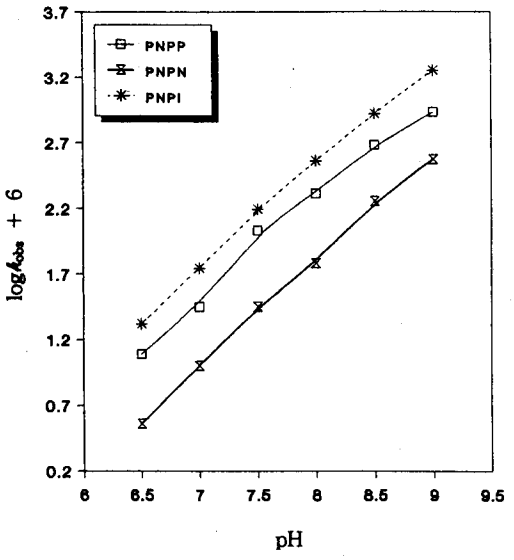


Fig. 2. pH-rate profiles for substrate hydrolyses in buffer solution at 35 ℃.

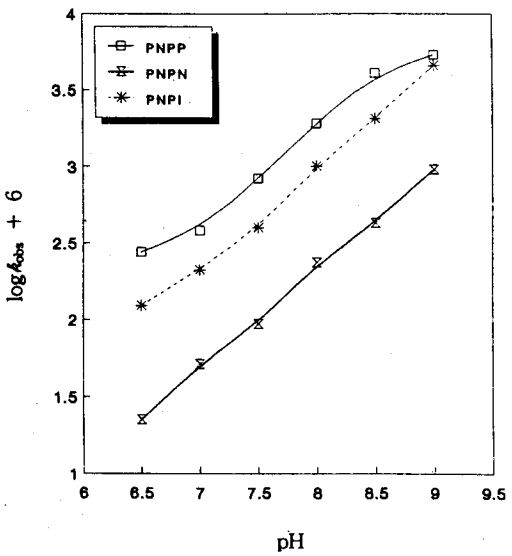


Fig. 3. pH-rate profiles for substrate hydrolyses in $Co(tn)_2(OH_2)_2$ at 35 ℃.

Fig. 2의 완충 용액내에서의 가수분해 반응은 반응 중심과 질소의 위치가 가장 가까운 PNPP가 오히려 PNPI보다 반응 속도가 느리나 착물을 첨가할 때에는 반응 속도가 PNPI보다 빨라진다. 즉 착물과 기질과의 배위 결합에 의해 가수분해 반응이 촉진되고 있음을 나타내는 결과이다. 촉매에 의한 반응 속도의 영향이 모든 기질에 동등한 영향을 주고 있다면 이것은 배위 결합이 일어나지 않고 어떤 다른 경로에 의해 가수분해가 일어난다고 볼 수 있다. 여러가지의 촉매를 PNPP에 넣었을 때의 반응 속도를 측정한 결과를 *Table* 3에 요약하였으며 *Fig.* 4에 나타내었다. Phosphate monoester나 diester의 가수분해 반응에 대하여 커다란 촉매 작용을 나타내는 $Co(tn)_2(OH)(OH_2)$보다 $Co(ibpn)(OH)_2(OH_2)$가 더 좋은 촉매작용을 하는 것을 알 수 있었고 pH 6~7에서는 $Co(tn)_2(OH)(OH_2)$에 의한 반응 속도가 비교적 pH에 무관하며 그 이후에서는 pH가 증가함에 따라 유사 1차 반응으로 진행하고 있음을 알 수 있다. 특히 다른 pH 영역에서 보다 pH 6.5에서 촉매(1×10^{-2} M)를 첨가하였을 때 모든 촉매들은 완충 용액에 의한 가수분해 반응에 비해 21~40배 정도의 비교적 빠른 가수분해 반응 촉진 효과를 보여주고 있다. 이것은

Table 3. Pseudo-first-order rate constants ($k_{obs}\times10^4$, s^{-1}) for PNPP hydrolysis in the presence of 1×10^{-2} M catalysts at 35 ℃

pH	Buffer	$Co(bpy)_2(OH_2)_2$	$Co(dien)(OH_2)_3$	$Co(aepn)(OH_2)_3$	$Co(ibpn)(OH_2)_3$
6.5	0.12	3.14	2.52		4.75
7.0	0.38	3.40	2.67	4.66	6.50
7.5	1.08	4.74	3.48	5.97	11.32
8.0	2.06	6.14	6.73	9.48	24.42
8.5	4.81	10.64	13.07	20.45	40.80
9.0	8.54	21.38	26.75	47.02	69.47

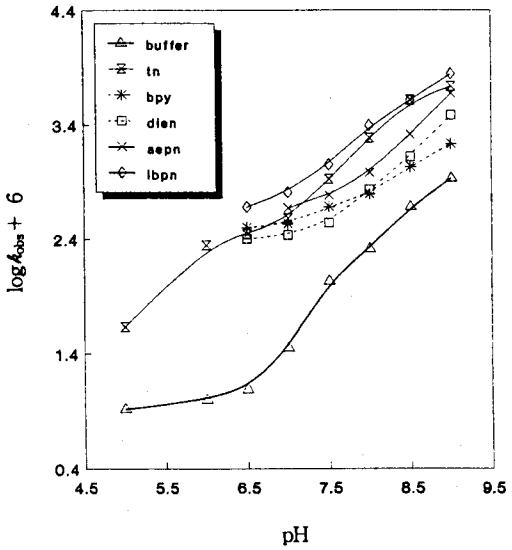


Fig. 4. pH-rate profiles for *p*-nitrophenyl picolinate hydrolysis in catalysts at 35 ℃.

Co(III) 착물의 aquohydroxo 형태가 pH 6.5에서의 tn 착물의 산해리 상수로부터 계산을 해보면, 착물의 aquohydroxo 형태가 pH 6.5와 7.0에서 각각 89%와 81%로 존재하고 있음을 알 수 있는데 이러한 사실은 pH 7.0보다는 6.5에서 촉매에 의한 가수분해 반응이 촉진되고 있는 현상을 설명해 준다. 그 결과 착물의 활성화 형태는 aquohydroxo임을 알 수 있었다.

촉매의 농도 효과. PNPP의 가수분해 반응은 촉매의 농도의 1차에 비례하면서 진행하고 있음을 알 수 있으며 이에 대한 가수분해 반응 속도 상수를 *Table* 4에 정리하였다. 이를 도시한 결과 *Fig.* 5와 같은 좋은 직선성이 나타났으며 그 기울기로부터 2차 속도 상수(k_{cat})를 구하였으며 이를 *Table* 5에 정리하였다.

가수분해 반응에서 지금까지 촉매로서 사용된 바

Table 4. Pseudo-first-order rate constants ($k_{obs}\times10^4$, s^{-1}) for PNPP hydrolysis under various catalyst concentrations at pH 7.0

Catalyst	Concentration ($\times10^3$ M)			
	2.5	5.0	7.5	10.0
$Co(tn)_2(OH)(OH_2)$	1.27	2.10	2.81	3.82
$Co(bpy)_2(OH)(OH_2)$	1.15	1.91	2.54	3.40
$Co(dien)(OH)_2(OH_2)$	0.96	1.56	2.15	2.67
$Co(aepn)(OH)_2(OH_2)$	1.45	2.50	3.40	4.66
$Co(ibpn)(OH)_2(OH_2)$	1.90	3.48	5.30	6.50

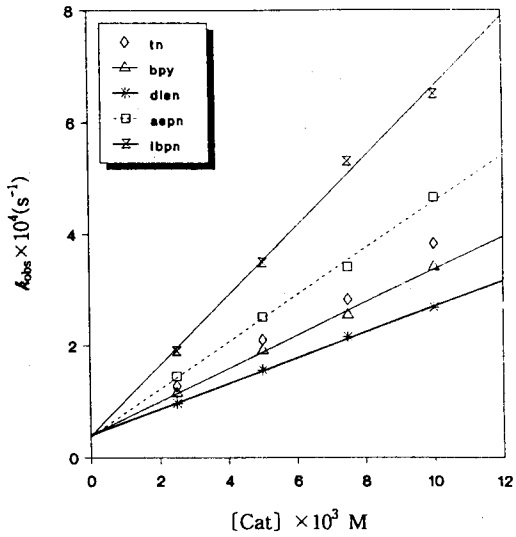


Fig. 5. Plots of pseudo-first-order rate constant (k_{obs}, s^{-1}) *vs.* [Cat] for *p*-nitrophenyl picolinate hydrolysis at pH 7.0 and 35 ℃.

없는 $Co(ibpn)(OH)_2(OH_2)$가 phosphate ester 계통의 물질들의 가수분해 반응에 대하여 놀라운 촉매 작용을 하고 있는 $Co(tn)_2(OH)(OH_2)$보다 2배 가량 큰

Table 5. Second-order catalytic rate constants (k_{cat}, $M^{-1}s^{-1}$) for PNPP hydrolysis at pH 7.0 and 35 ℃

Catalyst	k_{cat}, $M^{-1}s^{-1}$
$Co(tn)_2(OH)(OH_2)$	3.34×10^{-2}
$Co(bpy)_2(OH)(OH_2)$	2.95×10^{-2}
$Co(dien)(OH)_2(OH_2)$	2.23×10^{-2}
$Co(aepn)(OH)_2(OH_2)$	4.21×10^{-2}
$Co(ibpn)(OH)_2(OH_2)$	6.25×10^{-2}
NaOH	6.95[a]
HEPES	6.10×10^{-4}[b]
MES	2.69×10^{-4}[c]

[a]Not at pH 7.0. Based on pseudo-first-order rate constants for 0.5 mM, 1.0 mM,and 2.0 mM NaOH. [b]Based on pseudo-first-order rate constants for 5.0 mM, 10.0 mM, and 20.0 mM HEPES buffer. [c]Based on pseudo-first-order rate constants for 5.0 mM, 10.0 mM, and 20.0 mM MES buffer at pH 6.5.

2차 속도 상수(k_{cat})를 가지고 있으며 이 착물이 phosphate ester의 가수분해 반응에서 좋은 촉매로서 이용되어질 수 있음을 시사하고 있다. 두 자리 질소 리간드를 갖는 Co(III) 착물의 경우 대부분의 pH에서 $Co(tn)_2(OH)(OH_2)$가 $Co(bpy)_2(OH)(OH_2)$보다 비교적 빠른 반응 속도를 보여주고 있다. 이러한 이유는 pH 7에서 착물의 활성화된 형태가 전자의 경우 81%, 후자의 경우 20%로서 큰 차이로 존재하고 있는데 기인하며 또 다른 이유는 bpy(sp^2 혼성) 착물의 산해리 상수가 tn(sp^3 혼성) 착물보다 작다. 그리하여 bpy 착물의 monohydroxy 킬레이트가 tn 착물의 것보다도 염기도가 떨어져 다른 전자 주게 원자에 대하여 더 큰 친화도를 지닐 수 있게 된다. 방향족 bpy 착물은 쉽게 이합체를 형성할 수 있다. 이러한 이합체 착물은 촉매의 활성도가 아주 적은 것으로 알려져 있다.[25] 세자리 질소 리간드를 지니고 있는 Co(III) 착물의 경우 $Co(ibpn)(OH)_2(OH_2)$나 $Co(aepn)(OH)_2(OH_2)$ 착물이 $Co(dien)(OH)_2(OH_2)$보다 좋은 촉매 활성도를 지니고 있는데 이것은 주로 착물의 구조에 의한 영향일 것이다. 앞에서도 언급한 바와 같이 트란스보다는 시스 이성질체가 가수분해 반응시 반응성이 좋다는 사실과 일치하는 결과이다. 모든 착물의 2차 속도 상수(k_{cat})는 가장 강한 염기로서 알려진 free OH^-에 비해 아주 작으며 OH^-종들의 친핵성(즉, 속도 상수)과 염기도 사이에 부분적으로 직선 관계가 나타나고 있음을 알 수 있으며 착물의 구조 및 형태에 따라 일부 일치되지 않는 경우도 있다.

Table 6. Pseudo-first-order rate constants ($k_{obs}\times10^4$, s^{-1}) for PNPP hydrolysis in the presence of 1×10^{-2} M catalysts at various temperatures and pH 7.0

Catalyst	Temperature (℃)			
	25	30	35	40
$Co(tn)_2(OH)(OH_2)$	1.70	2.71	3.82	5.61
$Co(bpy)_2(OH)(OH_2)$	1.45	2.09	3.40	4.99
$Co(dien)(OH)_2(OH_2)$	1.13	1.74	2.67	3.83
$Co(aepn)(OH)_2(OH_2)$	1.85	2.74	4.66	6.61
$Co(ibpn)(OH)_2(OH_2)$	2.44	3.90	6.50	8.86

Table 7. Activation parameters for PNPP hydrolysis in the presenceof 1×10^{-2} M catalysts at pH 7.0

Catalyst	Ea^a	$\Delta H^{\neq b}$	$\Delta G^{\neq c}$	$-\Delta S^{\neq d}$
$Co(tn)_2(OH)(OH_2)$	14.61	14.00	22.87	28.79
$Co(bpy)_2(OH)(OH_2)$	15.71	15.09	23.57	25.53
$Co(dien)(OH)_2(OH_2)$	15.27	14.66	23.72	27.42
$Co(aepn)(OH)_2(OH_2)$	16.31	15.70	22.79	23.01
$Co(ibpn)(OH)_2(OH_2)$	16.31	15.70	22.59	22.37

[a]Ea: $kcal\cdot mole^{-1}$, [b]$\Delta H^{\neq}$: $kcal\cdot mole^{-1}$, [c]$\Delta G^{\neq}$: $kcal\cdot mole^{-1}$, [d]$\Delta S^{\neq}$: $cal\cdot mole^{-1}K^{-1}$

열역학적 활성화 파라미터. 전이 상태의 열역학적 활성화 파라미터를 알아보기 위해 여러 온도에서 측정한 반응 속도 상수를 *Table* 6에 나타내었으며 이 상수를 Arrhenius식에 적용하여 활성화 에너지(E_a)를 구하고 열역학적 관계식을 이용하여 $\Delta H^{\neq}$와 $\Delta S^{\neq}$및 $\Delta G^{\neq}$를 구하여 *Table* 7에 나타내었다.

일반적으로 A-2 반응과 S_N2 반응은 전이 상태에서 물분자가 활성화 착물에 관여하여 물분자의 병진 및 회전 자유도의 감소로 인해 A-1 반응이나 S_N1 반응보다 작은 엔트로피를 갖는 것으로 알려져 있으며 전자의 경우 $\Delta S^{\neq}$는 $-15\sim-30$ cal/mol·K를 갖으며 후자의 경우는 $0\sim-10$ cal/mol·K를 갖는다고 알려져 있다.[26] pH 7.0에서의 촉매에 의한 가수분해 반응은 비교적 적은 음의 활성화 엔트로피($-22.37\sim-28.80$ cal/mol·K)를 갖고 있으므로 이분자적 친핵성 치환 반응이 일어날 것으로 예상할 수 있다.

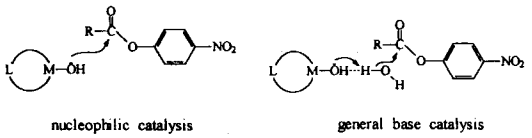
반응 메카니즘의 고찰. pH 6.0~8.5에서의 PNPP

Table 8. Pseudo-first-order rate constants (k_{obs}, s^{-1}) and solvent isotope effect for PNPP hydrolysis in the presence of 1×10^{-2} M $Co(tn)_2(OH_2)_2$ in light and heavy waters at 35 ℃

pH	$k_{obs}\times10^4$ (s^{-1})		k_{H_2O}/k_{D_2O}
	H_2O	D_2O	
6.0	1.73	1.02	1.70
6.5	2.75	1.50	1.83
7.0	3.82	2.21	1.72
7.5	8.27	3.38	2.45
8.0	18.98	7.66	2.46
8.5	32.26	16.64	2.46

에 대한 용매 동위 원소 효과를 측정하여 *Table* 8에 정리하였다. pD는 pH+0.44의 관계[27]를 이용하여 조절하였다. pH 7.5 미만에서는 k_{H_2O}/k_{D_2O}가 1.57~1.83을 또한 pH 7.5 이상에서는 2.45~2.46으로 관찰되었다.

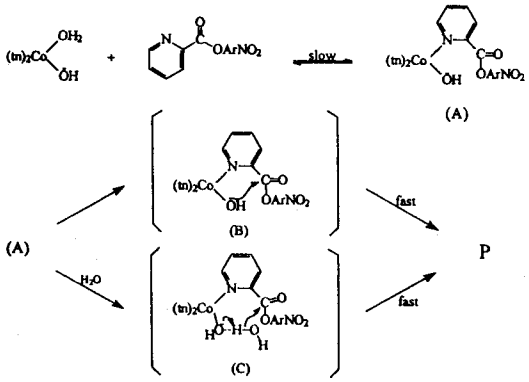
일반적으로 일반 염기성 촉매 가수분해 반응은 k_{H_2O}/k_{D_2O}가 2.0~4.0로 또한 친핵성 촉매 가수분해 반응은 k_{H_2O}/k_{D_2O}은 1.0~1.6으로 나타난다고 알려져 있으며 k_{H_2O}/k_{D_2O}가 1.7~1.9일 경우에는 친핵성 촉매 반응이나 일반 염기성 촉매 반응 모두 존재할 수 있으나 확실한 메카니즘은 더 많은 자료로부터 알 수 있다.[28] Johns 등[29]은 코발트에 배위된 *p*-nitrophenyl phosphate의 가수분해 반응에서 이 반응의 동위 원소 효과, k_{H_2O}/k_{D_2O}가 1.20이며 분자내 OH^-가 반응 중심을 직접 공격하여 일어나는 친핵성 촉매 반응을 지지하였으며 Fife 등[30]은 2-hydroxy-5-nitrophenyl carbonate의 가수분해 반응에서 동위 원소 효과, k_{H_2O}/k_{D_2O}가 2.30인 분자내 일반 염기성 촉매 반응을 제시하였다. Koike 등[9]은 *p*-nitrophenyl acetate의 가수분해 반응에서 free OH^-가 L-Zn-OH^-보다 훨씬 큰 2차 속도 상수를 갖고 있으며 또한 OH^-종들의 친핵성과 염기도 사이에 직선 관계를 갖는 이러한 반응은 주로 단순한 친핵성 메카니즘(*Scheme* 1) 즉 L-Zn-OH^-가 카르보닐 중심을 직접 공격하는 친핵체로서 역할을 하는 친핵성 촉매 반응이나 OH^-를 생성시키는 일반적인 염기로서 역할을 하는 일반 염기성 촉매 반응의 친핵체로서 작용한다고 보고하였다. 또한 acetaldehyde hydration 반응에서도 역시 L-Zn-OH^-가 단순한 친핵성 메카니즘을 따라 반응



Scheme 1. Simple nucleophilic mechanism (L: ligand, M: metal).

이 진행한다고 하였다. 그리고 phosphate의 가수분해 반응에서 좋은 촉매 효과를 보여주고 있는 OH^-가 결합된 Zn(II),[9] Co(III),[14~16,31] Ir(III)[32] 등은 bifunctional(또는 hybrid) 메카니즘, 즉 금속 이온이 Lewis 산으로서 작용하여 기질과 배위된 후 금속과 결합된 OH^-가 직접 반응 중심을 공격하여 반응이 진행되는 메카니즘을 제시하고 있다.

촉매의 활성화된 형태가 많이 존재하는 pH 영역에서의 *p*-nitrophenyl picolinate에 대한 Co(III) 착물의 가수분해 반응 메카니즘을 pH 의존도, 촉매의 농도 효과 및 용매 동위 원소 효과를 통하여 고찰하였다. 첫째, 착물의 aquohydroxo 형태가 많이 존재하는 pH 6~7에서는 착물의 촉매 작용에 의하여 가수분해 반응 속도가 크게 증가하였으며 pH의 증가에 따른 반응 속도에 미치는 효과가 비교적 적은 pH에 의존하지 않는 영역을 보여주고 있다. 일반적으로 nitrophenyl carbonate ester의 가수분해 반응에서 보여주고 있는 pH에 의존하지 않는 영역에서의 반응은 물분자가 직접 카르보닐 탄소를 공격하면서 일어나는 일반 염기성 촉매 메카니즘을 따르고 있는 것으로 알려져 있으며 Fife 등에 의해 연구된 2-hydroxy-5-nitrophenyl carbonate의 가수분해 반응의 pH-속도 도시에서도 pH 7~9 영역에서의 반응속도가 pH에 무관한 곡선을 보여주고 있으며 이 영역에서의 동위 원소 효과와 더불어 가수분해 반응이 일반 염기성 촉매 반응을 따른다는 것이 밝혀졌다. 이에 pH 6~7 영역에서의 *p*-nitrophenyl picolinate의 가수분해 반응이 일반 염기성 촉매 반응을 따를 가능성이 높을 것이라 생각된다. 둘째, Co(III) 착물에 의한 *p*-nitrophenyl picolinate의 가수분해 반응에 대한 2차 속도 상수(k_{cat})는 가장 강한 염기인 free OH^-에 의한 것보다 훨씬 적은 값을 지니고 있으며 또한 OH^-종들의 친핵성(즉, 속도 상수)과 염기도 사이에 어느 정도의 직선 관계를 나타내고 있으므로 코발트에 결합된 OH^-가 단순한 친핵성 메카니즘



Scheme 2. Mechanistic pathway for *p*-nitrophenyl picolinate hydrolysis by $Co(tn)_2(OH)(OH_2)$ (B: nucleophilic catalysis, C: general base catalysis).

(친핵성 메카니즘 또는 일반 염기성 메카니즘)을 따를 것으로 예상된다. 셋째, Co(III) 착물에 의한 가수분해 반응에서 코발트와 기질과의 배위 결합없이 단순한 친핵체로서 작용한다면 본 연구에 사용된 모든 기질들이 촉매에 의해 비슷한 반응 속도 증가 효과를 보여줄 것이다. 그러나 반응 중심에서 가장 가까운 위치에서 배위 결합을 할 수 있는 질소를 가지고 있는 기질인 *p*-nitrophenyl picolinate가 촉매에 의해 가장 민감한 반응을 보여주고 있다. 이러한 사실은 기질과 착물과의 배위 결합이 가수분해 반응에 매우 중요한 역할을 하고 있음을 말해 준다. Co(III) 착물에 의한 phosphate(reactive ester)의 가수분해 반응의 경우 착물과 기질과의 배위 결합이 그 반응의 반응 속도 결정 단계로서 작용한다고 알려져 있다.[9] 넷째, 용매 동위 원소 효과를 측정한 결과 pH 6~7 부근에서 k_{H_2O}/k_{D_2O}가 1.70~1.83으로 나타났으며 이는 친핵성과 일반 염기성 촉매 반응 모두를 따를 가능성이 있다. 앞의 결과에 의하면 일반 염기성 촉매 반응이 지배적이나 이들 착물이 phosphate ester에 대하여 주로 친핵성 촉매 작용을 하고 있는 사실을 고려해 보면 이를 간과할 수는 없을 것이다.

위의 고찰로부터 Co(III) 착물에 의한 *p*-nitrophenyl picolinate의 가수분해 반응은 기질과 착물과 배위 결합에 따른 분자내 일반 염기성 촉매 작용에 의해 주로 반응이 진행되며 부분적으로 분자내 친핵성 촉매 작용이 일어날 것으로 예상된다(*Scheme* 2).

결론적으로 aquohydroxo 금속 착물들은 반응 중심과 어느 정도의 상호 작용이 일어날 가능성이 있거나 반응 중심 부근에 배위 결합을 할 수 있는 원자나 음이온을 갖고 있는 경우 좋은 촉매 작용을 할 수 있으며 이러한 착물의 구조가 금속 이온을 함유하는 가수분해 효소의 기본적인 모델이 될 수 있을 것이라 생각된다.

인 용 문 헌

1. Ochai, E. J. *J. Chem. Educ.* **1988**, *65*, 943.
2. Chin, J.; Zoe, X. *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110*, 223.
3. Clewley, R. G.; Slebocka-Tilt, H.; Brown, R. S. *Inorg. Chim. Acta* **1989**, *157*, 233.
4. Kimura, E.; Shiota, T.; Koike, T.; Shiro, M.; Kodama, M. *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 5805.
5. Coleman, J. E.; Chelbowski, J. F. In *Advances in inorganic Biochemistry*; Eichhorn, G. L., Marzilli, L. G., Eds,; Elesevier: North Holand, 1979; Vol. 1, pp 1~66.
6. Bukingham, D. A.; Morris, P.; Sargeson, A. M.; Zanella, A. *Inorg. Chem.* **1977**, *16*, 1950.
7. Sargeson, A. M. *Pure Appl. Chem.* **1978**, *50*, 905.
8. Boreham, C. J.; Bukingham, D. A.; Kenne, F. R. *J. Am. Chem. Soc.* **1979**, *101*, 1409.
9. Koike, T.; Kimura, E. *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 8935.
10. Gellman, S. H.; Petter, R.; Breslow, R. *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, *108*, 2388.
11. Norman, P. R. *Inorg. Chim. Acta* **1987**, *130*, 1.
12. Yang, J. K.; Chang, S. I.; Ryu, S. G.; Yang, Y. S. *Bull. Korean Chem. Soc.* **1994**, *15*, 261.
13. Jeong, M. H.; Noh, J. G.; Kim, T. W.; Kim, C. S.; Hong, S. Y. *Bull. Korean Chem. Soc.* **1994**, *15*, 263.
14. Kenley, R. A.; Fleming, R. H.; Laing, R. M.; Tse, D. S.; Winterle, J. S. *Inorg. Chem.* **1984**, *23*, 1870.
15. Chin, J.; Zou, X. *Can. J. Chem.* **1987**, *65*, 1882.
16. Chin, J.; Zou, X. *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110*, 223.
17. Good, N. E.; Izawa, S. I. In *Method in Enzymology*; San Piettro, A., Ed.; Academic: New York, 1972; Vol. 24, p 53.
18. Perrin, D. D.; Armarego, W. L. F. In *Purification of Laboratory Chemicals*, 3rd Ed.; Pergamon Press: Oxoford, 1988; p 359.
19. Jonnason, I. R.; Lincoln, S. F.; Stranks, D. R. *Aust. J. Chem.* **1970**, *23*, 2267.

20. Bauer, H. F.; Drinkard, W. C. *J. Am. Chem. Soc.* **1960**, *82*, 5031.
21. Crayton, P. H.; Mattern, J. A. *J. Inorg. Nucl. Chem.* **1960**, *13*, 248.
22. Mackenzie, E. D. *Coor. Chem. Rev.* **1971**, *6*, 187.
23. Rawji, G. H. *Inorg. Chim. Acta* **1988**, *150*, 227.
24. Cox, B. G. In *Modern Liquid Phase Kinetics*; Compton, R. G.; Oxford University Press: New York, U. S. A., 1994; p 14.
25. Gustafuson, R. L.; Martell, A. E. *J. Am. Chem. Soc.* **1962**, *84*, 2309.
26. Long, F. A.; Pritchard, J. G.; Stafford, F. E. *J. Am. Chem. Soc.* **1957**, *79*, 2362.
27. Mikkelsen, K.; Nielsen, S. O. *J. Phy. Chem.* **1960**, *64*, 632.
28. Richter, S.; Bregovec, I.; Sunko, D. E. *J. Org. Chem.* **1976**, *41*, 785.
29. Johns, D. R.; Lindoy, L. F.; Sargeson, A. M. *J. Am. Chem. Soc.* **1983**, *105*, 7327.
30. Fife, T. H.; Hutchins, E. C. *J. Am. Chem. Soc.* **1972**, *94*, 2837.
31. Chin, J.; Banaszczyk, M.; Jubian, V.; Zoe, X. *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 186.
32. Hendry, P.; Sargeson, A. M. *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 2521.