



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2013-0078629

(43) 공개일자 2013년07월10일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

C07D 211/04 (2006.01) *C07D 211/40* (2006.01)

C12N 9/02 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2011-0147670

(22) 출원일자 2011년12월30일

심사청구일자 2011년12월30일

(71) 출원인

이화여자대학교 산학협력단

서울특별시 서대문구 이화여대길 52 (대현동, 이화여자대학교)

(72) 발명자

김진홍

서울시 은평구 진관동 14번지 은평뉴타운상림마을
롯데캐슬 805동 701호

김철

경기도 성남시 분당구 서현동 효자촌현대아파트
111동 404호

정광덕

서울특별시 강동구 길2동 337-4

(74) 대리인

손민

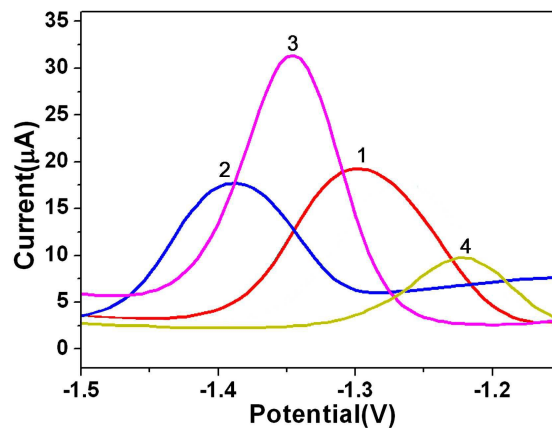
전체 청구항 수 : 총 6 항

(54) 발명의 명칭 니코틴아미드 아데닌 디뉴클레오티드 유도체 및 이를 포함하는 효소 복합체

(57) 요약

본 발명은 니코틴아미드 아데닌 디뉴클레오티드 유도체 및 이를 포함하는 효소 복합체에 관한 것으로, 더욱 상세하게는 생체 모방적인 NAD^+ 유사체인 1-벤질-3-카바모일피리디늄으로부터 유도된 신규한 NAD^+ 모델 화합물 및 이를 포함하는 효소 복합체에 관한 것이다.

대표도 - 도1



이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	R11-2005-008-06002-0
부처명	교육과학기술부
연구사업명	기초과학연구지원사업(우수연구센터지원사업)
연구과제명	바이오선택성 나노구조체 연구
주관기관	이화여자대학교
연구기간	2008.03.01 ~ 2011.02.28이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호	2011K000675
부처명	서울과학기술대학교 정밀화학과
연구사업명	첨단융합기술개발사업
연구과제명	생반응 모방 시스템을 위한 소재 기술 개발
주관기관	한국과학기술연구원
연구기간	2009.09.01 ~ 2014.06.30

특허청구의 범위

청구항 1

3-카바모일-1-(4-메틸벤질)피리디늄, 3-카바모일-1-(4-니트로벤질)피리디늄, 1-벤질-3-(디메틸카바모일)피리디늄 및 1-벤질-3-(페닐카바모일)피리디늄으로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나의 화합물.

청구항 2

3-카바모일-1-(4-메틸벤질)피리디늄, 3-카바모일-1-(4-니트로벤질)피리디늄, 1-벤질-3-(디메틸카바모일)피리디늄 및 1-벤질-3-(페닐카바모일)피리디늄으로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나의 화합물의 환원형.

청구항 3

하기 단계를 포함하는 제1항의 화합물의 환원형을 제조하는 방법:

제1항의 화합물에 환원 촉매로서 $[\text{Cp}^*\text{Rh}(\text{bpy})(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$ 를 첨가하여 반응시키는 단계;

상기에서,

Cp^* 는 펜타메틸시클로펜타디에닐이고,

bpy는 2,2'-바이피리딘이다.

청구항 4

제1항의 화합물이 조효소 의존성 효소와 조합하여 이루어지는 효소-조효소 복합체.

청구항 5

제4항에 있어서, 상기 조효소 의존성 효소는 탈수소효소인, 효소-조효소 복합체.

청구항 6

제5항에 있어서, 상기 탈수소효소는 포도당 탈수소효소(E.C.1.1.1.47), 락테이트 탈수소효소(E.C.1.1.1.27, 1.1.1.28), 말레이트 탈수소효소(E.C.1.1.1.37), 글리세롤 탈수소효소(E.C.1.1.1.6), 알코올 탈수소효소(E.C.1.1.1.1), 알파-하이드록시부티레이트 탈수소효소, 소르비톨 탈수소효소 및 아미노산 탈수소효소로 이루어지는 군으로부터 선택되는 1종 이상인, 효소-조효소 복합체.

명세서

기술분야

[0001] 본 발명은 니코틴아미드 아데닌 디뉴클레오티드 유도체 및 이를 포함하는 효소 복합체에 관한 것으로, 더욱 상세하게는 생체 모방적인 NAD^+ 유사체인 1-벤질-3-카바모일피리디늄으로부터 유도된 신규한 NAD^+ 모델 화합물 및 이를 포함하는 효소 복합체에 관한 것이다.

배경기술

- [0002] 효소 반응이 키랄 화합물 합성에 결정적이기 때문에 니코틴아미드 아데닌 디뉴클레오티드(NAD^+)의 환원형의 재생을 위한 실용적인 방법은 바이오촉매 분야에서 대단히 중요시되어 왔다(Fang, J. M. et al., *J. Chem. Soc., Perkin Trans 1*, 1995, 967). 다양한 산화환원 반응 효소는, 환원 전위의 형태의, 화학적 에너지로서 디히드로 니코틴아미드 아데닌 디뉴클레오티드(NADH)를 이용하여 이들의 특이적인 생물학적 반응을 수행한다. 생물학적 반응에서 화학량론적인 양으로 사용되는 보조인자가 비싸기 때문에, 효소적 합성 반응에서의 보조인자의 종국적인 사용에 있어 NADH 의 재생은 경제적인 제한 요인이 된다. 생물학적 자원으로부터의 분리는 현재 매력적이지 않으며 화학적 합성은 경제적이지 않다. 그러므로, 연구 계획의 방향은 기질의 생물학적 및 생체 모방적 변형을 위해 실제로 관심의 대상이 되어온 NADH 재생을 수행할 수 있는 효과적인 시스템을 개발하는 것이다. NAD^+ 로부터 1,4- NADH 로의 전환은 재생 속도 및 재생 속도의 효율을 증가시키기 위하여 화학적, 전기화학적, 광화학적 또는 효소적 방법을 이용하여 널리 연구되어 왔다. 또 다른 가능한 방향은 이와 같이 많은 관심을 받아온 대체 보조인자에 대해 연구하는 것이다. 이상적인 대체 보조인자는 합성하는데 비용이 많이 들지 않아야 하며, NADH -의존적 효소를 억제하지 않아야 하고, 천연 보조인자로 얻어지는 것과 최소한 필적할 만한 반응 속도를 나타내야 한다.
- [0003] NADH 재생을 위한 보다 경제적인 공정을 개발하기 위하여, NAD^+ 및 H_2 의 합성적 모델의 선택적인 환원을 위한 촉매로서 전이 금속 착물이 연구되어 왔다(Beley, M. et al., *J. Mol. Catal.*, 1993, 79, 133; Collman, J. P. et al., *J. Am. Chem. Soc.*, 1992, 114, 5665). 가장 효과적인 촉매로서, $[\text{Cp}^*\text{Rh}(\text{bpy})(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$ (Cp^* = 펜타메틸 시클로펜타디에닐, bpy = 2,2'-바이피리딘)가 NADH 를 재생산하기 위해 도입되어 왔다. 반응 도중에, 인시츄로 생성된 금속 수소화물인 $[\text{Cp}^*\text{Rh}(\text{bpy})(\text{H})]^+$ 가 NAD^+ 의 위치선택적인 환원을 위한 반응종인 것으로 나타났다(Steckhan, E. et al., *Organometallics*, 1991, 1568-1577). 보조인자 재생 공정은 NADH -의존적인 효소적 산화 또는 환원 반응과 결부될 수 있는 것으로 입증되었다(Westerhausen, D. et al., *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 1992, 1529-1531).
- [0004] 대체 보조인자에 대한 연구는 많은 관심을 받아 왔다. 소듐 디티오나이트(Fang, X. et al., *Drug Metab. Dispos.*, 1996, 24, 1282-1285), 아스코르브산(Tosha, T. et al., *J. Biol. Chem.*, 2004, 279, 42836-42843) 및 전기화학적 공급원(Schwaneberg, U. et al., *J. Biotechnol.*, 2000, 84, 249-257; Estabrook, R. W. et al., *Methods Enzymol.*, 1996, 44-51)과 같은 몇몇의 전자 공급원에 대하여 효소를 지원하는 이들의 능력을 평가해왔으나, 이러한 시스템의 기질 전환 및 초기 속도는 NADH 를 이용한 것(Urlacher, V. B. et al., *Trans Biotechnol.*, 2006, 24, 324-330)보다 유의적으로 낮았다. 합성하는데 비용이 많이 들지 않고 적어도 천연 NADH 를 통해 얻는 것에 필적할 만한 반응 속도를 나타내는 이상적인 NAD^+ 모델이 최종 목표로서 요구된다.
- [0005] 생체 모방적인 NAD^+ 유사체인 1-벤질-3-카바모일피리디늄이 $[\text{Cp}^*\text{Rh}(\text{bpy})(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$ 및 소듐 포르메이트를 이용한 화학적 환원에 사용되어 왔다. horse liver alcohol dehydrogenase가 케톤의 알코올로의 환원을 촉매하기 위하여 Rh 촉매로 생성된 1-벤질-1,4-디히드로니코틴아미드를 사용하는 것으로 보고된바 있다(Lo, H., C. et al., *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 2002, 478-481). 1-벤질-3-카바모일피리디늄의 1,4-디히드로 생성물은 2-히드록시바이페닐 3-모노옥시게나제에 의한 페놀 산화에 필요한 전자를 공급할 수 있다(Lutz, J. et al., *J. Organometal. Chem.*, 2004, 689, 4783-4790). 야생형 P450_{cam} 및 P450 BM-3의 돌연변이형이 또한 상기 모델의 1,4-디히드로 생성물을 이용한 반응을 수행하는 것으로 나타났다(Ryan, J. D. et al., *ChemBioChem.*, 2008, 9, 2579-2582).
- [0006] 이에 본 발명자들은 상기와 같은 점을 감안하여 연구하던 중, 신규한 NAD^+ 모델을 합성하고, 유기 금속 Rh 촉매 및 소듐 포르메이트에 의해 촉매되는 상기 모델의 위치선택적인 환원이 가능함을 확인함으로써 본 발명을 완성하였다.

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0007] 본 발명의 목적은 신규한 NAD^+ 모델 화합물을 제공하는 것이다.
- [0008] 본 발명의 다른 목적은 상기 NAD^+ 모델 화합물의 환원형을 제공하는 것이다.
- [0009] 본 발명의 또 다른 목적은 상기 NAD^+ 모델 화합물의 환원형을 제조하는 방법을 제공하는 것이다.
- [0010] 본 발명의 또 다른 목적은 상기 NAD^+ 모델 화합물이, 조효소 의존성 효소와 조합하여 이루어지는 효소-조효소 복합체를 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

- [0011] 상기 과제를 해결하기 위해, 본 발명은 3-카바모일-1-(4-메틸벤질)피리디늄, 3-카바모일-1-(4-니트로벤질)피리디늄, 1-벤질-3-(디메틸카바모일)피리디늄 및 1-벤질-3-(페닐카바모일)피리디늄으로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나의 화합물을 제공한다.
- [0012] 또한, 본 발명은 3-카바모일-1-(4-메틸벤질)피리디늄, 3-카바모일-1-(4-니트로벤질)피리디늄, 1-벤질-3-(디메틸카바모일)피리디늄 및 1-벤질-3-(페닐카바모일)피리디늄으로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나의 화합물의 환원형을 제공한다.
- [0013] 또한, 본 발명은 하기 단계를 포함하는 상기 화합물의 환원형을 제조하는 방법을 제공한다.
- [0014] 1) 3-카바모일-1-(4-메틸벤질)피리디늄, 3-카바모일-1-(4-니트로벤질)피리디늄, 1-벤질-3-(디메틸카바모일)피리디늄 및 1-벤질-3-(페닐카바모일)피리디늄으로 이루어진 군으로부터 선택되는 화합물에 환원 촉매로서 $[\text{Cp}^*\text{Rh}(\text{bpy})(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$ 를 첨가하여 반응시키는 단계;
- [0015] 상기에서,
- [0016] Cp^* 는 펜타메틸시클로펜타디에닐이고,
- [0017] bpy는 2,2'-바이피리딘이다.
- [0018] 또한, 본 발명은 3-카바모일-1-(4-메틸벤질)피리디늄, 3-카바모일-1-(4-니트로벤질)피리디늄, 1-벤질-3-(디메틸카바모일)피리디늄 및 1-벤질-3-(페닐카바모일)피리디늄으로 이루어진 군으로부터 선택되는 화합물이, 조효소 의존성 효소와 조합하여 이루어지는 효소-조효소 복합체를 제공한다.
- [0019] 본 발명에서, 상기 조효소 의존성 효소는 탈수소효소일 수 있으며, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0020] 본 발명에서, 상기 탈수소효소는 포도당 탈수소효소(E.C.1.1.1.47), 락테이트 탈수소효소(E.C.1.1.1.27, 1.1.1.28), 말레이트 탈수소효소(E.C.1.1.1.37), 글리세롤 탈수소효소(E.C.1.1.1.6), 알코올 탈수소효소(E.C.1.1.1.1), 알파-하이드록시부티레이트 탈수소효소, 소르비톨 탈수소효소 및 아미노산 탈수소효소로 이루어지는 군으로부터 선택되는 1종 이상일 수 있으며, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0021] 이하, 본 발명의 구성을 상세히 설명한다.

- [0022] NAD^+ 모델의 전자 및 기하학적 효과를 조사하기 위하여, 네 개의 신규한 NAD^+ 모델 화합물을 이전에 보고된 방법 및 이를 적절히 변형한 방법으로 제조하였다(Lutz, J. et al., *J. Organometal. Chem.*, 2004, 689, 4783-4790).
- [0023] 1-벤질니코틴아미드 상의 치환기의 가능한 전자 및 입체 효과를 조사하기 위하여, 본 발명의 일 실시예에 따라 포스페이트 완충액/THF 중에서 상기 모델의 환원 전위를 측정하였다(도 1).
- [0024] 본 발명에서는, $[\text{Cp}^*\text{Rh}(\text{bpy})\text{H}]^+$ 를 이용한 NAD^+ 모델의 위치선택적인 환원을 통해, 보조인자 재생에 적용할 수 있는, 1,4-디히드로 유사체를 배타적으로 형성할 수 있음을 확인하였다.
- [0025] Cp^*Rh 금속 이온 중심에 대한 천연 NAD^+ 와 유사한 상기 NAD^+ 모델의 결합은, 1,4-디히드로 생성물 형성에 중요한, C4로의 하이드라이드 이동을 활성화한다. 또한, 니코틴아미드 핵의 질소에 직접 결합된 치환기가 또한 위치선택적인 환원의 속도에 크게 영향을 끼침을 확인하였다.
- [0026] 따라서, 본 발명의 NADH 모델은 아키랄 화합물을 키랄 화합물로 전환시키는 바이오촉매적 반응에 이용될 수 있다.

발명의 효과

- [0027] 본 발명은 생체 모방적인 NAD^+ 유사체인 1-벤질-3-카바모일피리디늄으로부터 유도된 신규한 NAD^+ 모델 화합물을 합성하고, 유기 금속 Rh 촉매 및 소듐 포르메이트에 의해 촉매되는 상기 모델의 위치선택적인 환원이 가능함을 확인함으로써, 아키랄 화합물을 키랄 화합물로 전환시키는 바이오촉매적 반응에서 조효소로서 이용할 수 있는 NAD^+ 모델 화합물을 제공하는 뛰어난 효과가 있다.

도면의 간단한 설명

- [0028] 도 1은 본 발명의 화합물에 대한 시차 펄스 전압전류 측정 결과를 나타낸다.
- 도 2 내지 도 5는 각각 화합물 1 내지 4와, $[\text{Cp}^*\text{Rh}(\text{bpy})(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$ 및 하이드라이드 공급원 HCO_2Na 의 반응에 따른 UV-vis 변화를 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0029] 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세히 설명하고자 한다. 이들 실시예는 오로지 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되는 것은 아니다.
- [0030] **실시예 1: 재료 및 기기**
- [0031] 물은 MilliQ 정수기를 이용하여 정제하여 사용하였다. 모든 시약은 알드리치로부터 입수하여 추가적인 정제 없이 사용하였다. 촉매 $[\text{Cp}^*\text{Rh}(\text{bpy})(\text{Cl})]\text{Cl}_2$ 는 로 등(Lo, H., C. et al., *Inorg. Chem.*, 2001, 6705-6712)의 방법에 따라 합성하였다.
- [0032] UV-vis 스펙트럼은 Hewlett Packard 8453 분광기 상에서 기록하였다. 1,4-디히드로 생성물은 inertsil C18 컬럼(ODS-3V, 4.6 I.D.×150mm)을 이용하여 HPLC (Youngin Instrument, Korea, Acme 9000)로 분석하였다.

[0033] 실시예 2: NAD^+ 모델의 합성

[0034] NAD^+ 모델의 전자 및 기하학적 효과를 조사하기 위하여, 3-카바모일-1-(4-메틸벤질)피리디늄(1), 3-카바모일-1-(4-니트로벤질)피리디늄(2), 1-벤질-3-(디메틸카바모일)피리디늄(3) 및 1-벤질-3-(페닐카바모일)피리디늄(4)을 제조하였다.

[0035] 구체적으로, 화합물 1 내지 4에 대한 합성 과정은 하기와 같이 수행하였다. 화합물 1 내지 4는 브로마이드 염의 형태로 제조하였다. IR 스펙트럼은 KBr 펠렛으로 BIO RAD FTS 135 분광기 상에서 측정하였다. ^1H NMR 측정은 Varian 400 MHz 분광기 상에서 수행하였다. X-선 회절 데이터는 Bruker SMART AXS 회절계 상에서 수집하였다.

[0036] 1) 3-카바모일-1-(4-메틸벤질)피리디늄(1)의 제조

[0037] 니코틴아미드(123.4 mg, 1 mmol)를 10 mL 아세토니트릴에 용해시켰다. 상기 용액을 수분 동안 교반한 후, 4-메틸벤질 브로마이드(190.8 mg, 1 mmol) 용액을 상기 용액에 조심스럽게 첨가하였다. 상기 용액을 80°C에서 5 시간 동안 교반하였다. 생성된 침전물을 여과하고 메틸렌 클로라이드로 3회 세척한 다음 진공 건조시켜 화합물 1을 제조하였다. 수율은 255.9 mg(83.3%)이었다.

[0038] Anal. Calc. for $\text{C}_{14}\text{H}_{15}\text{N}_2\text{OBr}$ (307.19). IR (KBr): $\nu(\text{cm}^{-1}) = 3256.8(\text{s}), 3118.1(\text{s}), 3040.6(\text{s}), 2938.8(\text{s}), 1700.1(\text{s}), 1618.0(\text{m}), 1586.8(\text{m}), 1510.3(\text{m}), 1443.1(\text{s}), 1398.4(\text{s}), 1265.6(\text{w}), 1190.6(\text{w}), 1140.4(\text{m}), 1105.3(\text{w}), 792.0(\text{m}), 763.8(\text{m}), 746.4(\text{m}), 668.0(\text{s}), 643.7(\text{m}), 480.9(\text{m})$.

[0039] ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$, 400MHz) δ 9.61(s, 1H), 9.29(d, 1H, $J=8\text{Hz}$), 8.97(d, 1H, $J=8\text{Hz}$), 8.60(s, 1H), 8.29(t, 1H, $J=4\text{Hz}$), 8.19(s, 1H), 7.49(d, 2H, $J=8\text{Hz}$), 7.27(d, 2H, $J=8\text{Hz}$), 5.87(s, 2H), 2.30(s, 3H).

[0040] 2) 3-카바모일-1-(4-니트로벤질)피리디늄(2)의 제조

[0041] 니코틴아미드(123.4 mg, 1 mmol)를 10 mL 아세토니트릴에 용해시켰다. 상기 용액을 수분 동안 교반한 후, 4-니트로벤질 브로마이드(220.4 mg, 1 mmol) 용액을 상기 용액에 조심스럽게 첨가하였다. 상기 용액을 80°C에서 3 시간 동안 교반하였다. 생성된 침전물을 여과하고 메틸렌 클로라이드로 3회 세척한 다음 진공 건조시켜 화합물 2를 제조하였다. 수율은 307.2 mg(91%)이었다.

[0042] Anal. Calc. for $\text{C}_{13}\text{H}_{12}\text{N}_3\text{O}_3\text{Br}$ (338.16). IR (KBr): $\nu(\text{cm}^{-1}) = 3360.4(\text{m}), 3170.8(\text{m}), 2923.8(\text{m}), 1693.0(\text{s}), 1644.2(\text{w}), 1608.9(\text{w}), 1530.7(\text{s}), 1448.7(\text{w}), 1407.1(\text{m}), 1351.6(\text{s}), 1144.4(\text{w}), 854.8(\text{w}), 864.9(\text{w}), 735.1(\text{w}), 704.7(\text{w}), 672.6(\text{w})$.

[0043] ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$, 400MHz) δ 9.68(s, 1H), 9.35(d, 1H, $J=8\text{Hz}$), 9.02(d, 1H, $J=8\text{Hz}$), 8.62(s, 1H), 8.35(d-d, 1H, $J=6.44, 8\text{Hz}$), 8.31(d, 2H, $J=8\text{Hz}$), 8.22(s, 1H), 7.83(d, 2H, $J=8\text{Hz}$), 6.09(s, 2H).

[0044] 3) 1-벤질-3-(디메틸카바모일)피리디늄(3)의 제조

[0045] *N,N*-디메틸니코틴아미드(151.7 mg, 1 mmol)를 10 mL의 1,4-디옥산/메탄올(v/v, 8:2) 용액에 용해시켰다. 상기 용액을 수분 동안 교반한 후, 벤질 브로마이드(0.121 mL, 1 mmol) 용액을 상기 용액에 조심스럽게 첨가하였다. 상기 용액을 80°C에서 1일간 교반하였다. 생성된 침전물을 여과하고 1,4-디옥산으로 단시간 내에 1회 세척한 다음 진공 건조시켜 화합물 3을 제조하였다. 수율은 207.2 mg(64.5%)이었다.

[0046] Anal. Calc. for $\text{C}_{15}\text{H}_{17}\text{N}_2\text{OBr}$ (321.21). IR (KBr): $\nu(\text{cm}^{-1}) = 2919.4(\text{m}), 1638.9(\text{s}), 1494.4(\text{m}), 1453.4(\text{m}), 1406.4(\text{m}), 1264.7(\text{w}), 1151.5(\text{m}), 1095.2(\text{m}), 1032.8(\text{m}), 816.1(\text{m}), 763.1(\text{m}), 717.4(\text{s}), 683.1(\text{s})$,

651.6(m).

[0047] ^1H NMR (DMSO- d_6 , 400MHz) δ 9.46(s, 1H), 9.27(d, 1H, J=6Hz), 8.71(d, 1H, J=8Hz), 8.26(t, 1H, J=6Hz), 7.59(d, 2H, J=8Hz), 7.48(m, 3H), 5.89(s, 2H), 3.04(s, 3H), 2.95(s, 3H).

[0048] 4) 1-벤질-3-(페닐카바모일)피리디늄(4)의 제조

[0049] *N*-페닐니코틴아미드 히드로클로라이드(241.9 mg, 1 mmol)를 10 mL의 1,4-디옥산/메탄올(v/v, 8:2) 용액에 용해시켰다. 상기 용액을 수분 동안 교반한 후, 벤질 브로마이드(0.121 mL, 1 mmol) 용액을 상기 용액에 조심스럽게 첨가하였다. 상기 용액을 80°C에서 5일간 교반하였다. 생성된 침전물을 여과하고 메틸렌 클로라이드로 3회 세척한 다음 진공 건조시켜 화합물 4를 제조하였다. 수율은 227.5 mg(61.6%)이었다.

[0050] Anal. Calc. for $\text{C}_{19}\text{H}_{17}\text{N}_2\text{OBr}$ (369.26). IR (KBr): $\nu(\text{cm}^{-1})$ = 3013.4(m), 2934.0(m), 1666.7(s), 1603.0(m), 1552.8(m), 1494.2(m), 1443.0(m), 1332.7(m), 1273.9(w), 1158.0(m), 1032.4(m), 922.7(w), 811.9(w), 754.5(s), 708.2(s), 677.8(s), 621.3(w).

[0051] ^1H NMR (DMSO- d_6 , 400MHz) δ 10.94(s, 1H), 9.79(s, 1H), 9.34(d, 1H, J=6Hz), 9.12(d, 1H, J=8Hz), 8.36(d-d, 1H, J=6.4, 8Hz), 7.78(d, 2H, J=7.6Hz), 7.63(d, 2H, J=8Hz), 7.49(m, 5H), 7.22(t, 1H, J=7.6Hz), 5.96(s, 2H).

[0052] 실험예 1: 전기화학적 측정

[0053] 본 발명 화합물에 대한 순환 전압전류 측정 및 시차 펄스 전압전류 측정을 수행하여 본 발명 화합물의 환원 전위를 측정하였다.

[0054] 구체적으로, 0.1 M 소듐 포스페이트 완충액(pH 7.0) 중에서 0.1 mM의 화합물 1 내지 4의 순환 전압전류 및 시차 펄스 전압전류를 측정하였다. 유리상 탄소 전극의 작업전극, Ag/AgCl 기준 전극 및 백금 와이어의 상대전극을 갖는 표준의 3개-전극 전지를 이용하여 순환 전압전류 및 시차 펄스 전압전류의 측정을 수행하였다.

[0055] 그 결과, 화합물 1-4의 모든 전기화학적 반응은 20-50 mV/s 스위프 속도(sweep rate)를 이용한 전압전류 실험에서 화학적으로 비가역적인 피크를 나타내었다.

[0056] 본 발명 화합물에 대한 시차 펄스 전압전류 측정 결과를 하기 표 1 및 도 1에 나타내었다.

표 1

화합물	환원 전위 (V)
1	-1.29
2	-1.38
3	-1.34
4	-1.52

[0058] 상기 표 1 및 도 1을 통해, 금속 중심의 환원으로부터 예측된 바와 같이 전자-끌기 -NO₂기의 환원 전위가 상대적으로 더욱 낮은 전위를 나타냄을 알 수 있었다. 또한 아마이드 질소 상에 각각 디메틸과 벤질을 갖는 화합물 3 및 4는 상대적으로 더욱 높은 전위를 나타내었다.

[0059] 실험예 2: 동력학적 측정

[0060] $[\text{Cp}^*\text{Rh}(\text{bpy})(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$ 는 소듐 포르메이트로 처리할 경우 하이드리도로튬 중간체 $[\text{Cp}^*\text{Rh}(\text{bpy})\text{H}]^+$ 를 생성시키는 것으로 보고된바 있다. 천연 NAD⁺의 존재 하에, 1,4-NADH는 상기 하이드리도로튬 중간체에 의한 하이드라이드 이

동 반응을 통해 생성된다.

[0061] 이에 따라 본 발명의 NAD^+ 모델 즉, 화합물 1 내지 4와, 하이드라이드 공급원 HCO_2Na 의 반응에 대한 동력학적 측정을 하기와 같이 수행하였다.

[0062] 먼저, NAD^+ 모델 및 소듐 포르메이트(HCO_2Na)의 용액을 질소 하에서 1:1 포스페이트 완충액(50 mM)/THF 혼합물 중에 제조하였다. 그 다음 상기 시료를 UV-vis 분광기의 자동 온도 조절되는 셀 홀더에서 25℃로 조절하였다. 그 다음, $[\text{Cp}^*\text{Rh}(\text{bpy})(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$ 의 스톡 용액을 질소 하에서 첨가하고 상기 용액을 혼합하였다. 흡광도 변화를 시간에 따라 관찰하였다.

[0063] 환원된 위치선택적인 생성물의 형성을 $\text{D}_2\text{O}/\text{THF}-d_6$ 중에서 ^1H -NMR로 조사하였으며, 이들의 스펙트럼을 합성된 1,4-디히드로니코틴아미드 모델의 스펙트럼과 비교하였다.

[0064] 그 결과, 화합물 1과, $[\text{Cp}^*\text{Rh}(\text{bpy})(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$ 및 하이드라이드 공급원 HCO_2Na 의 반응을 통해 K^+ -포스페이트 완충액(pH 7.5) 중에서 1,4-디히드로 생성물을 얻을 수 있음을 확인하였다(도 2). 다른 3개의 모델의 포르메이트를 첨가함에 따른 UV-vis 변화를 도 3-5에 나타내었다.

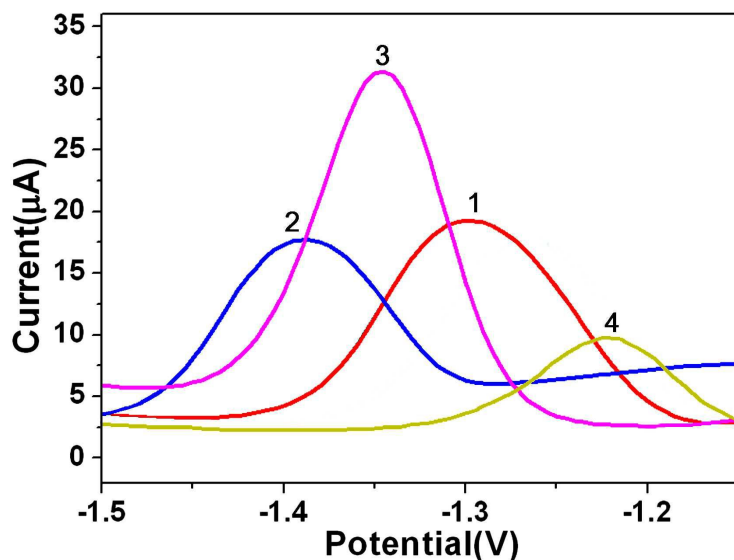
[0065] 또한, 하기 표 2에 화합물 1 및 2의 초기 속도, v_m , K_m 및 전환 수율을 나타내었다.

표 2

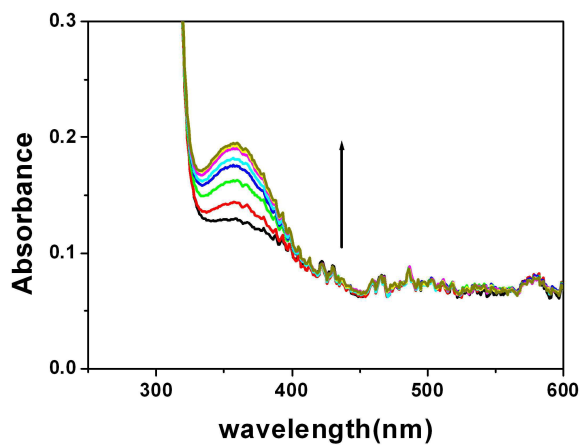
화합물	초기 속도 ($\mu\text{M}/\text{min}$)	v_m ($\mu\text{M}/\text{min}$)	K_m (mM)	수율(%)
1	8.4	8.6	34.8	45
2	-	-	-	~ 10

도면

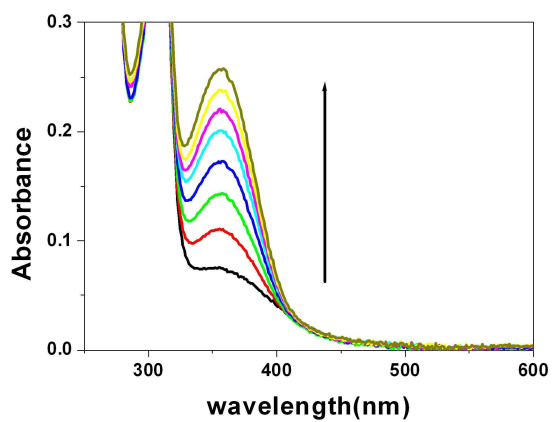
도면1



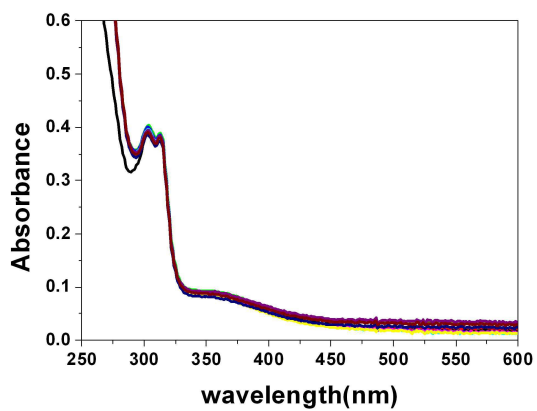
도면2



도면3



도면4



도면5

