

형광성 探索者로서 α -Tocopherol

< I > 분자분광학적 특성과 Liposome Probe로서의 이용

정 진·김 동 현

서울대학교 농과대학 농화학과

(1982년 11월 3일 受理)

α -Tocopherol as a Fluorescent Probe

< I > Its spectroscopic characterization and use as a probe of liposome

Jin Jung and Dong-Hurn Kim

Department of Agricultural Chemistry, College of Agriculture, Seoul National University, Suweon, Korea

Abstract

α -Tocopherol was found to be a fluorescent probe in determination of the phase transition temperature of liposome. Since this was a discovery of a new aspect of α -tocopherol as an important biochemical molecule, its molecular spectroscopic characterization was carried out in order to obtain some informations on its spectral and structural properties in various media, anticipating that the compound may entertain a wide applications in biochemical systems as a spectroscopic probe. Two species of α -tocopherol, monomer and dimer, were found to exist in organic media, especially in solvents of nonhydrogen bonding ability. Monomer with maximum UV-absorption around 291~294nm is highly fluorescent, while dimer which is formed by intermolecular hydrogen bonds and absorbs with spectral peak at 298nm is nonfluorescent. α -tocopherol incorporated to liposome exhibits emission property quite different from that in various organic media showing broad and red-shifted fluorescence excitation and emission spectra. This spectral abnormality is to be interpreted to arise from chromanolate-type ion, H-dissociated α -tocopherol.

서 론

생체내에서 가장 중요한 항산화제의 하나인 α -tocopherol은 보통 vitamin E로 불리우며 그 생화학적 영양학적 중요성은 잘 알려져 있다. 그런데

이 생체미량성분물질은 그 화학구조에 있어서, 수산기를 포함하는 극성인 chroman 구조의 head group과 긴 탄화수소 tail group을 갖고 있어서 biomembrane에 끼어들 수 있는 구조적 특성과 함께 近紫外線 파장영역에서 상당히 강한 형광성을 띄고 있어서 model biomembrane의 물리적성질을

탐색할 수 있는 probe로서 이용될 수 있을 것으로 기대된다.

최근에 Fragata와 Bellemare¹⁾는 liposome에 α -tocopherol이 끼여들 때 tocopherol分子內 chromanol ring이 인지질의 polar head group과 hydrophobic core의 경계 부근에 위치하였음을 관찰하였다. 이 사실은 α -tocopherol의 UV흡수 chromophore가 π electron conjugate system이 있는 chromanol ring일 수 밖에 없다는 점을 감안한다면, membrane 중에서 그것이 놓여 있는 위치는 분광학적 프로브로서 독특한 조건을 갖추었다고 볼 수 있다. 그 이유는 membrane의 surface geometry를 조사할 수 있는 탐색자가 될지도 모르기 때문이다.

만일 이와 같은 가능성이 사실로 증명된다면 이는 곧 α -tocopherol이 갖는 생화학적 기능상의 중요성 이외에 전혀 새로운 가치의 발견이 될 것이다. 이러한 관점에서 저자들은 이를 확인하기 위한 예비작업으로서 인지질로 부터 Liposome을 만들고, 온도에 따른 Liposome membrane의 상(phase)성질의 변화를 α -tocopherol의 형광을 이용하여 증계하였던 바, 예견하였던 상전이온도의 측정을 할 수 있었다.

따라서 α -tocopherol이 손쉽게 구할 수 있는 우수한 형광성 프로브임이 확인된 이상, 그 적절한 응용의 확대를 위해서는 아직까지 거의 연구된 바 없는 그 분자분광학적 성질에 대한 폭넓은 조사가 필요한 일로 판단되었기에 본 연구를 착수하였다.

재료 및 방법

1. 재 료

α -tocopherol(Wako Co.)은 dry ice-acetone bath에서 저온재결정법으로 정제하였다. liposome 제조에 사용한 인지질은 soy bean lecithin(Wako Co.)과 버 잎으로부터 분리한^{3,16)} 순인지질이다. 본 실험에 사용된 유기용매들은 Fisher, Wako 및 Merck사의 제품들로서 최소한 EP grade 이상의 것들을 재증류하여 분광학적 순도를 확인한 후 사용하였다. 각종 무기시약과 buffer 용액제조용 시약은 모두 AR 또는 GR grade들로서 정제없이 사용하였다. 물은 이차증류에 의해 순도를 보장하였다.

2. 방 법

(1) UV 흡수 및 형광스펙트라의 측정 : α -tocopherol을 n-hexane에 녹여 0.1%(w/v)인 stock solution을 준비하여 질소로 수분간 flushing한 후 압병소에 보관하며 사용하였다. 스펙트라 측정시에는 stock solution의 농도를 1/10 및 1/50 희석하였으며, n-hexane이외의 매질을 사용하는 경우는 다음과 같은 과정을 거쳐 준비하였다. 1ml의 stock solution을 10ml(또는 50ml) 용량 flask에 넣고 약 40°C의 온수 bath위에서 N₂ flushing으로 용매를 휘발시킨다. 건조가 끝나면 flask 바닥에 얇은 막을 형성하고 있는 시료의 공기산화됨 막기 위해 N₂ stream을 계속 통과시키면서 필요한 용매를 소량 넣어 잘 녹인 후 최종적으로 10ml(또는 50ml)로 만든다.

모든 흡수스펙트라는 Varian spectrophotometer Cary 118C를, 그리고 형광스펙트라는 Shimadzu spectrofluorophotometer model RF-500을 사용하여 측정하였다.

(2) 적외선흡수스펙트라의 측정 : Window smearing에 의한 순수한 α -tocopherol의 IR spectrum과 n-hexane용매 중 α -tocopherol의 IR spectrum을 각각 KBr window 및 KBr cell을 이용하여 single beam 및 double beam spectrometry로 얻었다. 사용된 기기는 Perkin-Elmer Infrared spectrometer model 567이었다.

(3) α -tocopherol이 incorporate된 liposome의 제조 : 인지질농도가 약 10⁻⁴M인 phospholipid-chloroform용액에 α -tocopherol stock solution을 인지질에 대한 α -tocopherol의 mole비율이 1/100~1/200이 될 만큼 첨가한 다음, liposome제조 기 존방법^{4,5)}에 준하여 다음과 같은 과정을 거쳤다. 상기 혼합용액 5ml를 vial에 넣고 감압하에서 농축시켜 약 0.5ml로 만든 다음 N₂ flushing으로 용매를 제거하였다. 질소대기를 그대로 유지하면서 4mM Tris buffer(0.6mM EDTA, 2mM histidine 및 50mM NaCl포함, pH 7.4) 3ml를 첨가하고 수분동안 N₂ flushing을 계속한 후, vortex mixer로 약 5분간 진탕하여 지질을 분산시켰다. 이것을 다시 ultrasonic cleaner bath에 정치시켜 ~20°C의 온도를 유지하면서 2~3시간 동안 sonicating시켰다. 이와 같은 과정을 거쳐 준비한 비교적 투명해진 혼탁액을 sephadex G-75 column(2.5×50cm)에 넣어 4mM Tris buffer로 용출시켜 liposome을

분리하였고, 분리된 vesicle은 배율 2,000의 현미경을 통해 그 크기($\sim 2\mu$)와 모양(완전구형)이 관측되었으며, 형광 현미경으로는 연한 푸른색 형광이 확인되었다.

(4) liposome의 온도 형광강도 프로파일의 작성 : 온도 상승에 따른 liposome 형광강도의 변화를 보이는 profile은 sample을 300nm에서 활성화시켜 390nm에서 측정한 형광강도를 증계하여 작성하였다.

결과 및 고찰

1. 자외선흡수 및 형광의 성질

(1) 여러가지 매질 중에서 α -tocopherol의 자외선흡수파라미터 : methanol 및 ethanol과 같은 알콜 중에서 최대흡수파장(292nm)과 최대흡광계수 ($\epsilon_{1\%}^{1\text{cm}}=74.2$; methanol)²⁾는 알려져 있으나, 성질이 다른 기타 여러가지 유기용매에서 α -tocopherol의 흡수 parameters에 관해서는 보고되어 있지 않

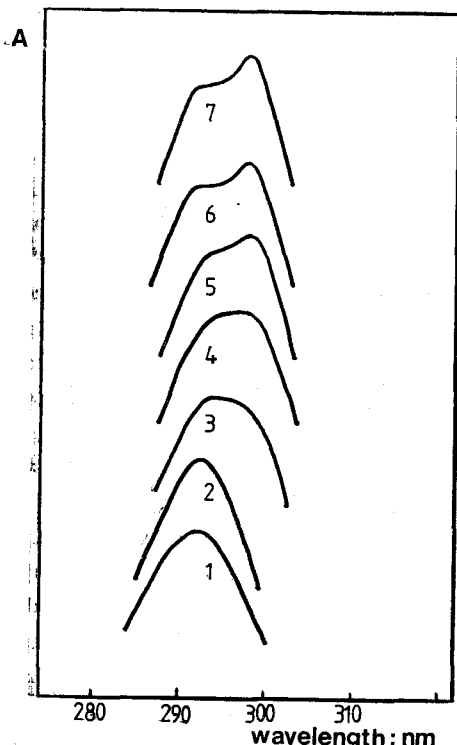


Fig. 1. The absorption spectra of α -tocopherol in various organic solvents; (1) methanol (2) ethanol (3) *p*-dioxane (4) chloroform (5) benzene (6) cyclohexane (7) *n*-hexane

Table 1. The extinction coefficients of α -tocopherol in relation to the dipole moment of various solvents

Solvent	Dipole moment*	$\epsilon_{1\%}^{1\text{cm}}$ at $\lambda_{\text{max}}^{***}$
<i>n</i> -Hexane	~ 0	84.9
Cyclohexane	~ 0	84.4
Benzene	~ 0	85.5
<i>p</i> -Dioxane	~ 0	83.9
Chloroform	1.12	78.5
Ethanol	1.69	76.3
Methanol	1.69	74.5

*Dipole moment in gas phase⁶⁾

**Values are means of 3 measurements and significant at 1.5% level.

다. 따라서 우선 이들 파라미터들이 매질의 물리적 화학적 성질들과 어떤 관계가 있는지 조사한 결과를 Fig. 1 및 Table 1, 2에 정리하였다.

용매의 극성과 흡광계수의 크기와는 부의 상관관계가 있는 듯하다(Table 1). 비극성용매(dipole moment=0)인 *n*-hexane, cyclohexane, benzene 및 *p*-dioxane에서는 $\epsilon_{1\%}^{1\text{cm}}$ 가 84~85인 값을 유지하다가 용매의 극성이 증가함에 따라 그것이 감소하여 methanol에서는 74.5인 최하치를 보인다. 이와 같은 용매극성에 따른 hypochromism은 α -tocopherol을 분광학적 probe로 이용함에 있어서 유용한 자료가 될 수도 있다.

Table 2. The wavelengths of absorption peak and shoulder of α -tocopherol in relation to the hydrogen bonding ability of various solvents

Solvent	Type*	H-Bonding ability**	λ_{max} (nm)	$\lambda_{\text{shoulder}}$ (nm)
<i>n</i> -Hexane	IV	none	298	291~294
Cyclohexane	IV	none	298	291~294
Benzene	II	very weak	298	292~295
Chloroform	I	weak	297	293~295
<i>p</i> -Dioxane	II	medium	293	296~299
Ethanol	III	strong	292	none
Methanol	III	strong	292	none

*Classified types are according to Pimmentel and McClellan⁷⁾

**Hydrogen bonding ability toward acidic OH group of chromanol ring of α -tocopherol(Refer to [reference](8) for general discussion on hydrogen bonding)

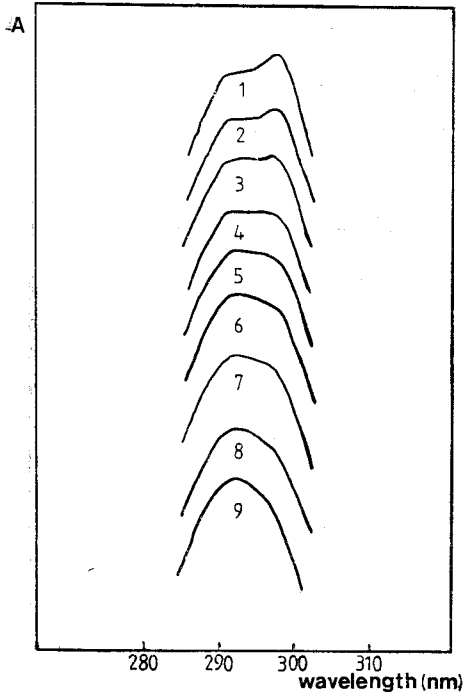


Fig. 2. The absorption spectra of α -tocopherol in *n*-hexane-ethanol mixture with varied concentration of ethanol: Concentration of ethanol; (1) 0% (2) 0.83% (3) 1.67% (4) 2.08% (5) 2.50% (6) 3.33% (7) 4.17% (8) 5.85% (9) 8.33%

용매 종류에 따라서 흡수 spectra의 모양은(특히 peak 부근에서) 상당한 차이를 보였는데 (Table 2, Fig. 1), methanol과 ethanol 같은 극성용매 중에서는 gaussian 형태의 single peak를 나타내는데 반하여 *n*-hexane, cyclohexane 및 benzene 과 같은 비극성 용매에서는 흡수 peak의 단파장편에 현저한 spectral shoulder를 공통적으로 보였다. 그러나 역시 비극성인 *p*-dioxane에서는 미미한 shoulder가 있기는 하지만 전반적인 형태와 최대흡수파장의 위치가 methanol 및 ethanol에서 얻은 spectrum과 상당한 유사성을 보였다. 한편 극성인 chloroform에서는 상기 비극성 용매들에서 얻은 결과와 더욱 근접한 spectrum을 보였다.

이러한 관찰 사실은 spectral pattern을 지배하는 인자는 용매의 전기적 극성이 아닌 어떤 다른 성질임을 시사하며, 그것은(다음에 제시하게 될 결과들과 함께 논의하게 되겠으나), 용매분자의 수소결합 능력으로 판단되었다. 우선 Table 2 및 Fig. 1을 살펴 보면, 용질의 acidic OH기와 수소

결합 능력이 강한 type III의 용매에서 292nm의 최대흡수파장을 갖는 single peak 흡수대가, 결합 능력이 작은 type IV의 *n*-hexane 및 cyclohexane에서는 298nm로 이동되면서 기존의 peak(292nm)는 shoulder로 축소변형되는데, 그 현상은 용매의 수소결합능력의 감소에 따라 단계적 변화의 양상을 띄고 있다.

n-hexane에 녹인 α -tocopherol-용액에 소량의 ethanol을 첨가하여 그 함량을 0%에서 8%(v/v)로 점차적으로 증가시켰을 때 UV흡수스펙트라는 Fig. 2와 같은 변화양상을 보이며, 그것은 Fig. 1의 결과와 극히 유사하다. 이 두가지 결과는 α -tocopherol과 수소결합을 할 수 있는 용매분자의 존재가 그 분광학적 성질에 변화를 초래하였다고 결론지을 수 있다.

(2) α -tocopherol의 용액 중 형광성 및 비형광성 화학종들의 존재 : 여러가지 유기용매 중에서 α -tocopherol의 형광 및 형광활성 스펙트라를 측정하였고 두가지 대표적 용매로서 ethanol 및 *n*-hexane에서의 스펙트라를 Fig. 3에 도시하였다. heavy atom effect¹⁷⁾가 강하게 나타나서 형광소멸 현상을 보이는 chloroform을 제외하고는 모든 용매에서 유사한 스펙트라를 보였는데, 최대형광 활성파장과 최대형광파장의 에너지 간격(stock shift)이 용매에 따라 약간의 차이를 보였고, 상대적 형광양자수율이 용매의 수소결합능력의 증가에 따라 커지는 현상을 볼 수 있었다. 그러나 무엇보다도 가장 주목할만한 사실은 비수소결합성 용매(*n*-hexane)에서 보였던 UV흡수스펙트라상의 두뿔한 shoulder가 형광활성 스펙트라에서는 전혀 나타나지 않는다는 점이다. 넓은 파장영역에 걸

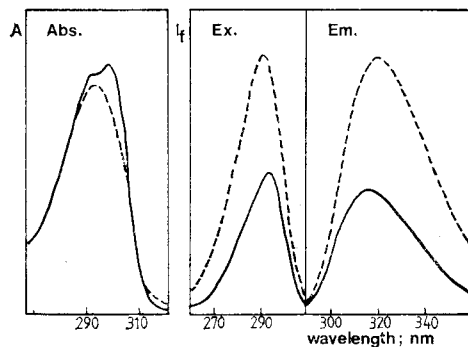


Fig. 3. Fluorescence excitation(Ex.) and emission(Em.) spectra of α -tocopherol in hexane(—) and in ethanol(.....) compared to the absorption spectra(Abs.)

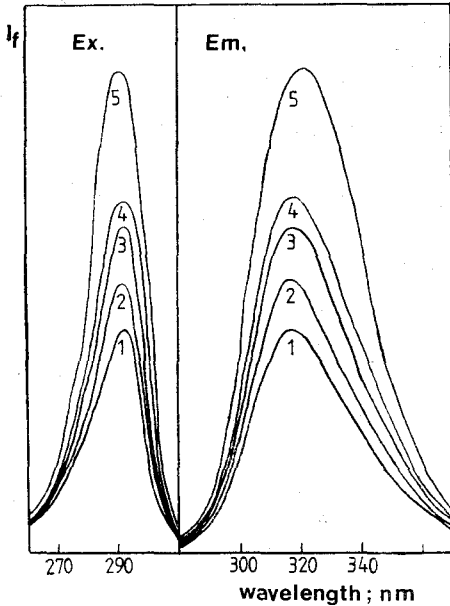


Fig. 4. The fluorescence excitation(Ex.) and emission(Em.) spectra of α -tocopherol in *n*-hexane-ethanol mixture with varied concentration of ethanol: Concentration of ethanol; (1) 0.00% (2) 0.83% (3) 2.08% (4) 8.33% (5) 100%

쳐 형광과장들을 정하고 얻은 모든 형광활성스펙트라를 예의 검토하였으나 shoulder로 추측되는 spectral structure는 보이지 않았다. 이러한 관찰은, *n*-hexane에서 대표적으로 보여준 흡수스펙트럼의 peak와 shoulder는 용액 중에 존재하는 최소한 두가지 화학종들에 각각 대응하며 그 중 하나는 비형광성 species라고 하는 해석을 가능케 한다.

Fig. 4의 결과는 상기와 같은 해석의 정당성을 입증할 뿐 아니라, 두가지 UV흡수 species 중 어떤 것이 형광성인가를 보여 주는 자료가 된다. Fig. 2에서와 동일한 실험조건에서 얻은 Fig. 4의 형광활성 및 형광스펙트라를 검토하면, *n*-hexane 중 ethanol의 함량이 점차적으로 증가함에 따라 298nm의 흡수 peak가 점점 쇠퇴하여 shoulder로 변형되는데 반하여, 291~294nm에 있던 shoulder가 거의 유일한 peak로 대두하게 되었는데(Fig. 2), 이때 형광강도는 역시 점점 증가하는 현상을 보였다.

따라서 현 단계에서 지금까지의 실험결과를 비교 검토하면 다음과 같은 결론에 도달할 수 있다. 즉 수소결합능력이 없는 용매에서는 α -tocopherol

은 두가지의 화학종, 298nm 흡수 species와 291~294nm 흡수 species로 존재한다. 수소결합능력이 큰 용매는 298nm 흡수 species를 291~294nm 흡수 species로 변형시킨다. 298nm 흡수 species는 형광성이며 291~294nm 흡수 species는 비형광성이다.

2. IR흡수성질 ; monomer 및 dimer의 존재

진행에서 논의하였던 형광성 및 비형광성화학종들은 무엇이며, 수소결합능력이 강한 용매는 어떻게 비형광성 species를 형광성으로 변형시키는가를 밝히기 위해 적외선흡수성질을 조사하였다.

n-hexane과 같은 불활성용매가 α -tocopherol의 화학구조에 변화를 일으킬 수 있다고 기대하지 못하므로 두 화학종의 존재와 상호변환은 monomer와 dimer(또는 multimer)로 보는 것이 적절한 추리이다. 일단 dimer의 존재를 가정하면 α -tocopherol의 구조상 가장 가능성 있는 dimer의 형태는 chromanol ring의 acidic OH기와 -O-기가 참여하는 H-bond에 의한 dimer로 추정하는 것이 극히 합리적이다. 그 이유는 공유결합이나 이온결합이 형성될 근거는 전무하고, hydrophobic interaction에 의한 dimer였다면 그것이 비극성 용매에서 안정할 수 없을 뿐 아니라 더욱이 극성용매인 ethanol의 첨가에 의해 monomer로 분해 된다고 볼 수는 없기 때문이다.

따라서 우선 수소결합의 존재여부를 확인하기 위해 α -tocopherol의 적외선흡수성질을 조사하였으며, Fig. 5에 O-H stretching에 기인한 진동에너지전이가 속한 에너지영역의 IR spectra를 보였다. 이에 의하면 *n*-hexane 중에서 α -tocopherol은 3500cm⁻¹ 전후에 전형적인 H-bonded OH stretching을 나타내는 넓은 흡수대¹⁾와 non H-bonded OH stretching을 보이는 3630cm⁻¹ peak의 보다

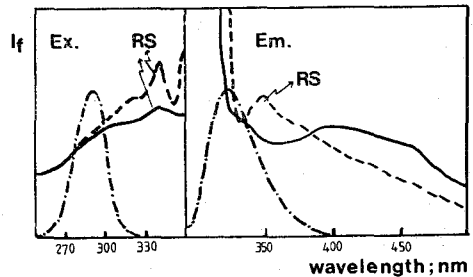


Fig. 5. The IR spectra of α -tocopherol in *n*-hexane (A) and smeared state (B)

예민한 흡수대를 각각 갖고 있다. 이 사실은 α -tocopherol 이 일부는 monomer로서, 그리고 일부는 분자간 수소결합에 의하여 dimer로서 *n*-hexane 중에 존재하고 있음을 시사한다. 용액 중에서가 아닌 순수한 α -tocopherol의 스펙트럼(Fig. 5B)은 모든 분자가 수소결합에 참여하고 있음을 보여준다. 3500cm⁻¹ 진후의 더욱 넓은 흡수대로 미루어 볼때 수소결합과 수소기상호작용에 의한 multimeric aggregation 상태에 있는 것으로 해석된다.

α -tocopherol이 용매에 녹게되면 일부는 용매분자에 둘러싸인 monomer로 분해하게 될 것인데, 이때 ethanol과 같은 수소결합능력이 큰 용매분자는 스스로 용질분자와 수소결합을 형성하게 되므로 기존의 α -tocopherol 분자간 수소결합이 파괴되어 결국 monomer로의 분해가 더욱 효과적일 것이다.

따라서 비형광성인 298nm 흡수 species가 분자간 수소결합에 의해 생성된 α -tocopherol의 dimer이며, 형광성인 291~294nm species는 monomer라는 결론에 도달하게 되며, 수소결합능력이라는 용매분자의 성질의 차이 때문에 나타났던 α -tocopherol의 UV 흡수성질(Table 2, Figs. 1, 2)과 형광성질(Figs. 3, 4)의 변화는 용액 중에서 monomer \rightleftharpoons dimer 가역반응의 평형이동으로 해석된다.

3. liposome에 incorporate된 α -tocopherol의 형광성질

soybean lecithin으로 만든 liposome에서 α -tocopherol은 여러가지 유기용매에서의 그것과 현저하게 다른 형광활성 및 형광스펙트라를 보여주었다(Fig. 6). 만약 α -tocopherol이 liposome 이

중막의 소수성 내부에 놓여 있다면 그 형광성질은 비극성유기용매에서와 유사할 것이라 짐작된다. 따라서 이러한 상이성의 원인은 α -tocopherol의 chromanol ring이 liposome layer의 polar head group과 hydrophobic core의 경계부분에 위치하고 있다는 기존의 관찰¹⁾에서 찾아 볼 수 있다. 즉, 인지질분자의 polar head group에 있는 음이온인 인산기에 α -tocopherol의 chromanol acidic OH가 그 수소이온을 넘겨주고 chromanolate음이온으로 되면, 흡수 및 형광 chromophore의 전자적구조에 심한 변화를 일으키게 될 것이므로 형광성질의 변화는 당연한 귀결이다.

실제로 phenol형의 화합물이 phenolate(음이온)형으로 바뀔 때 흡수 및 형광의 큰 장파장이동(red shift) 현상은 자주 관찰되었으¹⁰⁾, 보통 KOH-alcohol 매질에서 얻게 된다. liposome 중에서 α -tocopherol이 chromanolate 형태로 존재하는가를 확인하기 위해 KOH-ethanol 매질 중에 녹인 α -tocopherol의 형광 및 형광활성 스펙트라를 얻고 liposome에서의 그것들과 비교하였다(Fig. 6).

비록 KOH-ethanol 중의 α -tocopherol은 그 형광양자수율이 지극히 작아서 대단히 높은 기기강도와 넓은 slit width가 필요하였기 때문에 Raman scattering(RS)의 방해가 상당히 넓은 파장영역에 걸쳐 강하게 나타나지만, 두 스펙트라간의 유사성은 능히 관찰할 수 있었다. 따라서 liposome에 incorporate된 α -tocopherol은 chromanolate 형태로 존재한다고 일단은 추정하나, 이에 대한 확고한 결론을 얻기 위해서 보다 체계적인 연구가 현재 진행 중임을 부연한다.

4. α -tocopherol probe를 이용한 liposome의 상전이온도 측정

liposome에 결합된 α -tocopherol은 앞에서 보인 바와 같이 약 390nm에서 최대강도를 갖는 넓은 형광대를 보여준다. 이것을 이용하여 300nm에서 활성시켜 390nm에서 형광측정을 실시하여(온도범위 3°C로 부터 25°C까지 매 1°C마다), 얻은 형광강도-온도 profile을 Fig. 7에 도시하였다. 이 profile에 의하면 온도에 따른 형광강도의 변화곡선에 갑작스러운 불연속점이 나타나는데, 이 불연속점에 해당하는 온도에서 liposome membrane은 solid gel phase \longleftrightarrow liquid crystalline phase간의 상전이를 경험하게 되는 것으로 알려져 있다.^{11,12)} 따라서 형광강도-온도 profile상의 불연속점은 상

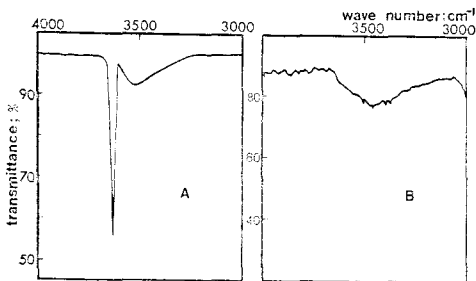


Fig. 6. The fluorescence excitation(Ex.) and emission(Em.) spectra of α -tocopherol in liposome(—), KOH-ethanol(.....), compared to those of *n*-hexane(-.-) RS indicates Raman scattering

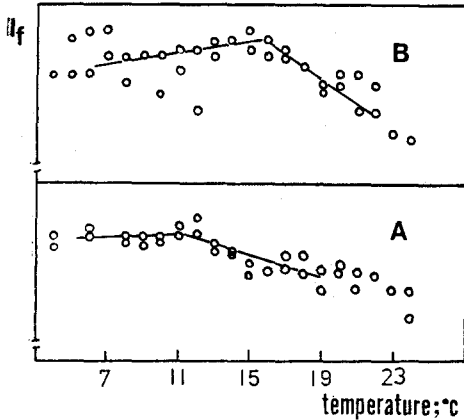


Fig. 7. Fluorescence intensity-temperature profile of α -tocopherol incorporated in liposome prepared with soybean lecithine (A) and mixed phospholipids from rice plant (B)

전이온도를 지시하며, 이것을 구하기 위한 수단으로 상전이온도 전후의 곡선을 편의상 두개의 직선 성분으로 나누어 이들이 교차하는 점을 상전이온도로 잡았다. 즉, soybean lecithin으로 만든 liposome은 11°C, 그리고 rice plant phospholipid로 제조된 liposome은 16°C에서 상전이가 일어났음을 보여준다.

그런데 Fig. 6의 결과는 일반적으로 알려진 형광성 probe들의 형광-온도 profile과는 근본적인 차이를 보인다. 즉, pyrene¹³⁾이나 trans-parinaric acid^{14,15)}와 같은 probe인 경우 liposome이 gel phase에 있을때나 liquid crystalline phase를 갖을 때나 공히 온도 상승에 따라 형광강도는 감소하는 데 다만 온도에 대한 형광강도변화의 기울기가 후자에서 상당히 떨어지게 되므로 상전이가 일어났음을 알려 준다. α -tocopherol probe인 경우는 기울기의 단순한 변화가 아니라 반전으로 나타났다. 아마 이러한 현상은 liposome의 형광성 probe로서는 독특한 최초의 관찰일지 모른다.

상기와 같은 profile상의 차이는 probe chromophore의 결합 위치가 기존의 probe들과 α -tocopherol에서 서로 다르다는 사실로 설명될지도 모른다. 즉 pyrene이나 trans-parinaric acid는 그 구조상 형광 chromophore가 membrane의 hydrophobic core에 위치할 것이므로 이 probe들은 fatty acid hydrocarbon matrix의 유동성(fluidity)의 변화를 경험하여 이를 형광강도로 반영할 것이다. 한편 α -tocopherol은 앞에서 이미 언급한 바와 같이 그

chromophore가 surface head groups의 바로 밑에 위치하므로¹⁾ 그 형광은 자 liposome phase에서 독특한 배열을 갖게될 polar head group들의 surface geometry의 변화에 대응할 것으로 기대된다. 물론 이러한 해석은 현재로서는 가정적일 뿐이며 앞으로 이에 대한 규명이 필요할 것이다.

이상의 논의에서 손쉽게 구할 수 있는 α -tocopherol이 세포막의 model인 liposome의 형광성 probe로 이용될 수 있음을 알았다. 뿐만 아니라 그 결합 위치로 미루어 화석(그리고 형광-온도 profile로서 간접적이긴 하나 그 가능성을 약간 내보였지만), membrane의 생화학적 기능과 밀접한 관계가 있는 표면부위의 구조변화를 증계하는 새로운 차원의 탐색자가 될지도 모른다는 기대를 갖게한다.

초 록

liposome에 결합되어 있는 α -tocopherol의 형광을 이용하여 liposome의 상전이온도를 측정할 수 있었다. 이는 α -tocopherol의 vitamin E로서의 중요성 이외에 형광성 프로브로서의 새로운 가치의 발견이다. 형광성 프로브로서 그 응용의 확대를 위한 필수적인 기초자료의 수집을 위해, 분자분광학적성질을 조사하였다. 용액중의 α -tocopherol은 monomer와 dimer의 두가지 형태로 존재하며, 단파장흡수대(291~294nm)의 monomer는 형광성인데 반하여 dimer는 298nm 부근을 흡수하는 비형광성이고 분자간수소결합에 의하여 형성되었음이 밝혀졌다. liposome에 결합된 α -tocopherol은 각종 유기용매 중에서의 α -tocopherol과는 판이한 형광성질을 갖고 있었고 chromanolate이온형태의 화학종으로부터 생긴 것으로 해석되었다.

사 사

본 연구는 한국과학재단의 연구지원(1981년도)에 의해 이루어졌다.

인지질분리를 도와 준 본 연구실 박사규준에게 감사드립니다.

인용문헌

1. Fragata, M. and Bellemare, F.: Chem. Phys. Lipids, 27: 93(1980).

2. Perrin, D.D., Armarego, W.L.F. and Perrin, D.R.: in "Purification of Laboratory Chemicals", p. 436, Pergamon press, Oxford(1980).
3. Rouser, G., Kritchevsky, G. and Yamamoto, A.: in "Lipid Chromatographic Analysis", Vol. 1, p. 99, Dekker Inc., New York(1967).
4. Kimerlberg, H.K. and Papahadjopoulos, D.: J. Biol. Chem., 246 : 1142(1971).
5. Thulborn, K.R. and Sawyer, W.H.: Biochim. Biophys. Acta., 511 : 125(1978).
6. Minkin, V.I., Osipov, O.A. and Zhdanov, Y.A.: in "Dipole moments in Organic Chemistry" translation ed. by Vaughan, W.E., p. 67, Plenum press, New York, (1970)
7. Pimmentel and McClellan: in "the Hydrogen Bonds" Freeman, San Francisco(1960).
8. Vinogradov, S.N. and Linnell, R.H.: in "Hydrogen Bonding", p. 15, Van Nostrand Reinhold Co.(1971).
9. Vinogradov, S.N. and Linnell, R.H.: in "Hydrogen Bonding", p. 47, Van Nostrand Reinhold Co. (1971).
10. Jung, J., Chin, C.A. and Song, P.S.: J. Am. Chem. Soc., 98 : 3949(1976).
11. Lyons, J.M.: Ann. Rev. Plant Physiol., 24 : 445(1973).
12. Scott, H.L. Jr.: Biochim. Biophys. Acta., 643 : 161(1981).
13. Cheng, S., Thomas, J.K. and Kulpa, C.F.: Biochemistry, 13 : 1135(1974).
14. Sklar, L.A., Hudson, B.S. and Simoni, R.D.: Biochemistry, 16 : 819(1977).
15. Pike, C.S. and Berry, J.A.: Plant. Physiol., 66 : 238(1980).
16. Folch, J. Lees, M. and Stanley, G.H.S.: J. Biol. Chem., 226 : 497(1957).
17. Barltrop, J.A. and Coyle, J.D.: in "Excited states Organic Chemistry", p. 24, John Wiley and Sons, New York(1975).