

BSE 11870-681-1



NMR 분광학을 이용한 소형
생체 물질 구조 분석에 관한 연구

A Study on NMR Structure
Determination of Small Biomolecules

1995. 2

韓國科學技術研究院
附設 遺傳工學研究所

제 출 문

한국과학기술연구원

부설 유전공학연구소 소장

귀하

본 보고서를 “ NMR 분광학을 이용한 구조 분석을 통한 생명 공학 제품 스크리닝
기술에 관한 연구 ” 의 최종 보고서로 제출합니다.

1995. 2.

연구 책임자 : 한규훈 (유전공학연구소 선임연구원)

연 구 원 : 정동호 (유전공학연구소 선임기술원)

김수경 (유전공학연구소 연 구 원)

요 약 문

1. 제 목

NMR 분광학을 이용한 생명 공학 제품 스크리닝 기술에 관한 연구

2. 연구의 목적과 중요성

유전 공학 연구소에서는 매년 많은 생명공학 제품의 가능성이 있는 물질들이 생산된다. 이들의 제품 개발 가치는 그 구조가 밝혀져 기존 물질과의 비교가 된 후, 새로운 물질로 판명되어야만 인정된다.

본 연구에서는 NMR을 이용한 구조분석 전문인력을 양성하여 연구소 내에서 분리되는 소형 생체물질의 구조를 신속히 결정하고, 운영중인 2 대의 NMR을 효율적으로 보수, 관리, 조작하는 기술을 정착시키고자 한다.

3. 연구 내용 및 범위

- 운영중인 NMR의 효율적인 보수 및 관리
- 소형 생체물질의 구조분석 방법 개발
- 생명공학 제품 후보 물질의 구조 분석 수행
- NMR을 이용한 소형 생체물질 구조분석 전문인력 양성
- 학회 참석, 문헌 수집, 연구원 교육을 통한 기술 정보 활동
- 기기 들의 상태 점검, 부품 교환을 통한 최적 상태 유지
- 기존의 분석기술을 이용한 구조분석 시도 및 새로운 분석방법의 도입

4. 연구 결과

- 운영중인 NMR의 효율적인 보수 및 관리
- 생명공학 제품 후보 물질의 구조 분석 수행
- NMR을 이용한 소형 생체물질 구조분석 전문인력 양성
- 학회 참석, 문헌 수집, 연구원 교육을 통한 기술 정보 활동
- 기기 들의 상태 점검, 부품 교환을 통한 최적 상태 유지

SUMMARY

1. Title of Research

A Study on NMR Structure Determination of Small Biomolecules

2. Objectives and Importance of Research

- NMR structure determination of small biomolecules produced within GERI.
- Build-up of know-how regarding maintenance of NMR spectrometers.

3. Scope and Content of Research

- NMR structure determination of small biomolecules produced within GERI.
- Build-up of know-how regarding maintenance of NMR spectrometers.

4. Results

- More than 1,000 of small biomolecules were looked at by NMR.
- For a few compounds, detailed NMR structural interpretation was carried out.

CONTENTS

Chapter 1.	Introduction	7
Chapter 2.	Detailed spectral interpretation.....	8
가.	Sample number 1	8
나.	Sample number 2	17
다.	Sample number 3	30
Chapter 3.	Remarks	32

목 차

제 1 장	서언	7
제 2 장	시료별 연구 결과	8
	가. 시료 1	8
	나. 시료 2	17
	다. 시료 3	30
제 3 장	맺음말	32

제 1 장 서 언

본 연구 과제는 유전 공학 연구소 내에서 미생물 및 천연 물질에서 분리 정제된 시료들의 구조 확인과 그 신규성 입증을 위한 작업을 다루었으며, 대상 물질들을 분리 정제한 연구팀과의 긴밀한 공동 연구 하에 이루어졌다. 편의상 시료 명을 밝히는 대신 번호순으로 구분하여 구조결정 연구내용을 서술한다.

제 2 장 시료별 연구 결과

가. 시료 1

시료 1은 지질 계통의 화합물로서 화학식이 $C_{17}H_{24}O$ 이다. 그 구조는 그림 1에 주어졌으며, 탄소에 번호가 붙어 있고, 이에 따른 공명주파수 지정표가 표 1에 주어져 있다. 그림 2와 그림 3은 일차원 수소 스펙트럼이며, 특히 그림 2에서는 peak 적분값을 통해 수소의 개수가 화학식에서 나타난 것과 24개로 일치함을 알 수 있다. 그림 4는 수소 COSY 스펙트럼이다. 그림 5에는 탄소의 일차원 스펙트럼이 주어져 있는 데, 총 탄소수가 화학식에서 보여 주듯이 17 개이다 (29.1 ppm 부근에 3 개의 CH_2 탄소가 중복되어있음).

그림 6과 그림 7은 각각 HMQC 및 HMBC 스펙트럼이다.

1. Resonance assignment of sample number 1
 (Chemical shifts in ppm)

Assignment	C-13	H-1
1=CH ₂	116.96	5.34
2=CH-	136.12	5.92
3-OH		2.37
3-CHO-	63.39	4.89
4≡C-	74.23	
5≡C-	71.17	
6≡C-	64.02	
7≡C-	80.12	
8-CH ₂ -	17.59	3.01
9=CH-	121.9	5.35
10=CH-	132.99	5.48
11-CH ₂ -	27.11	2.00
12-CH ₂ -	29.12	1.34
13-CH ₂ -	29.12	1.26
14-CH ₂ -	29.12	1.26
15-CH ₂ -	31.74	1.26
16-CH ₂ -	22.56	1.26
17-CH ₃	13.99	0.86

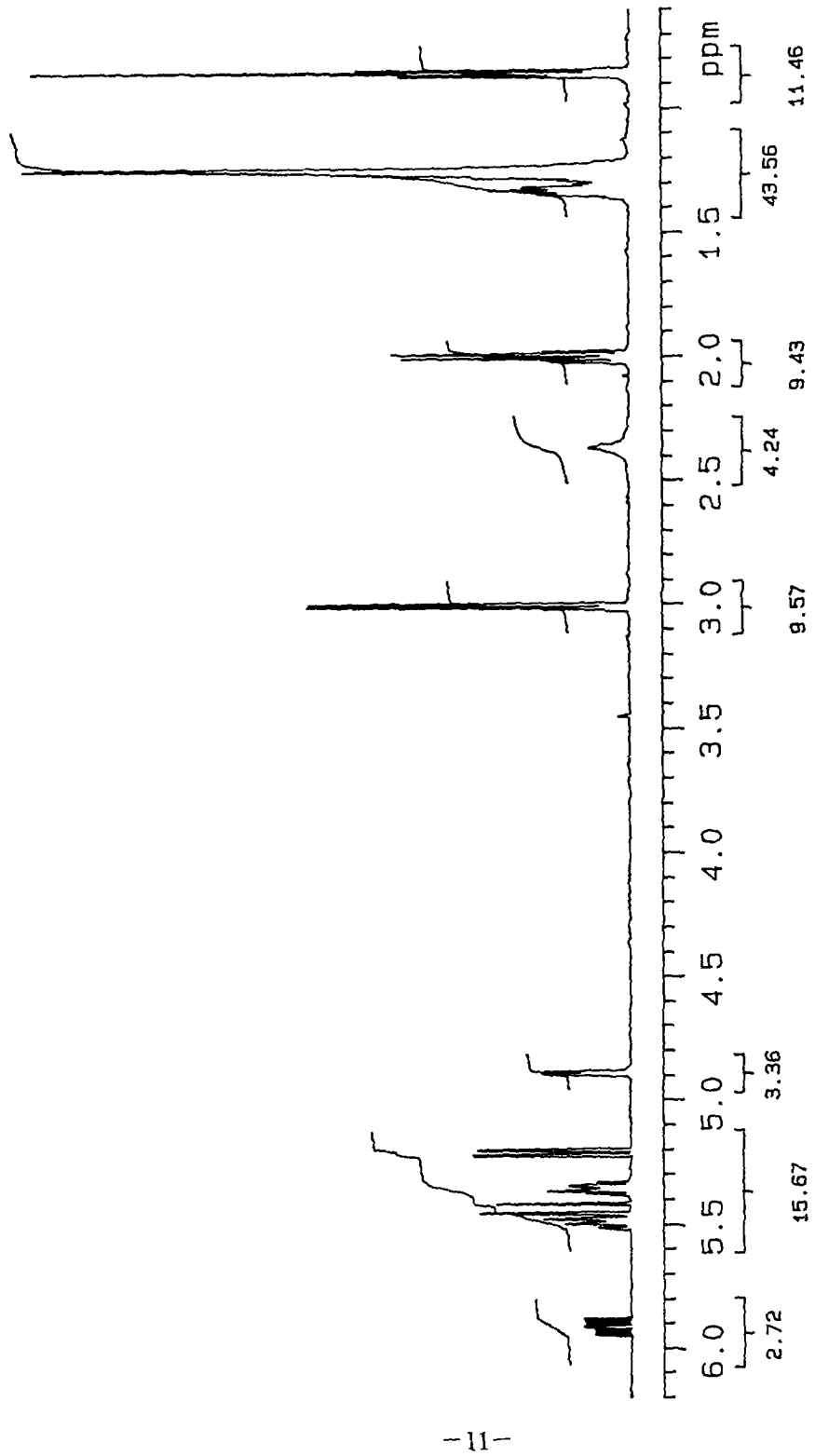


그림2 1H-Spectrum

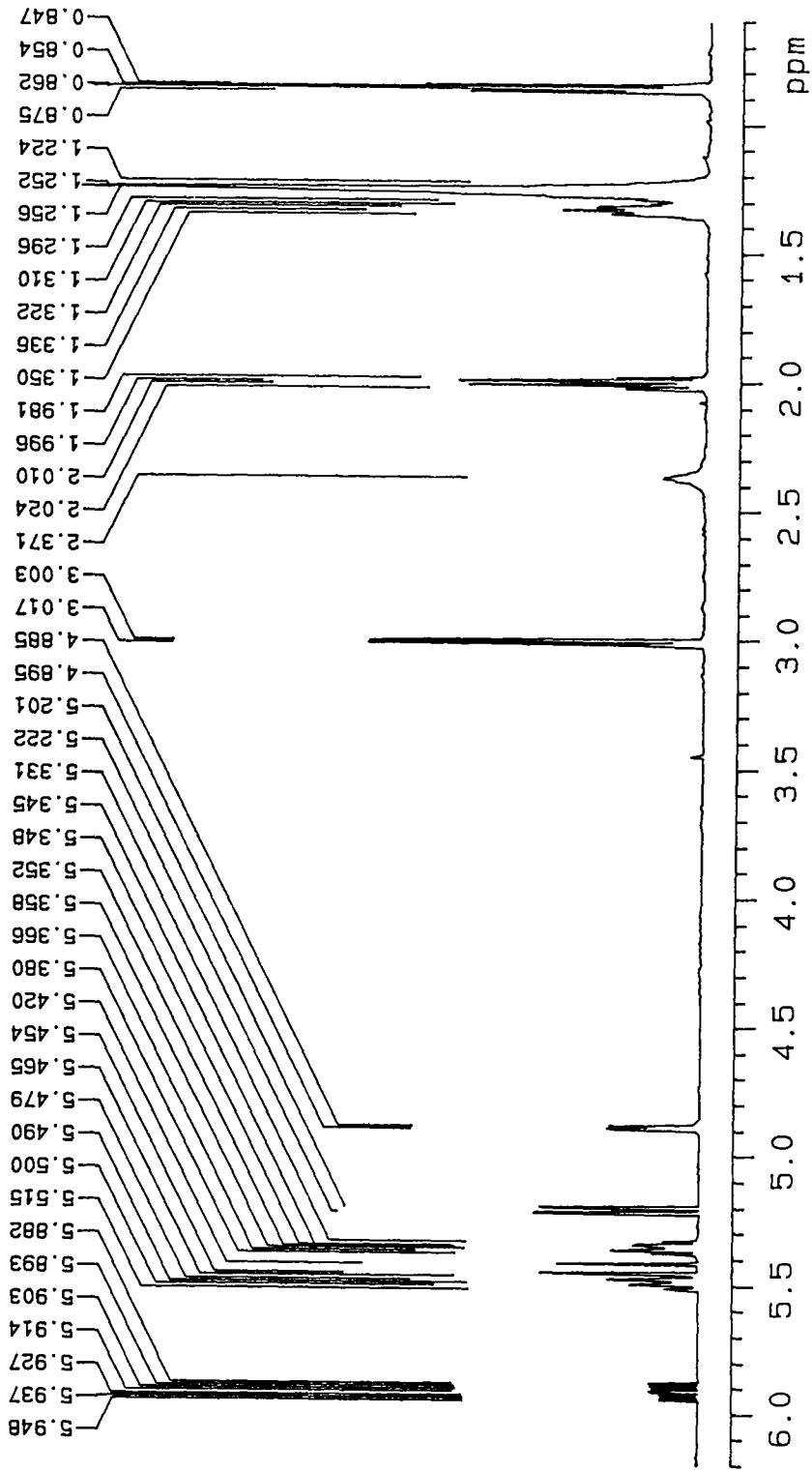


그림3 1H-Spectrum

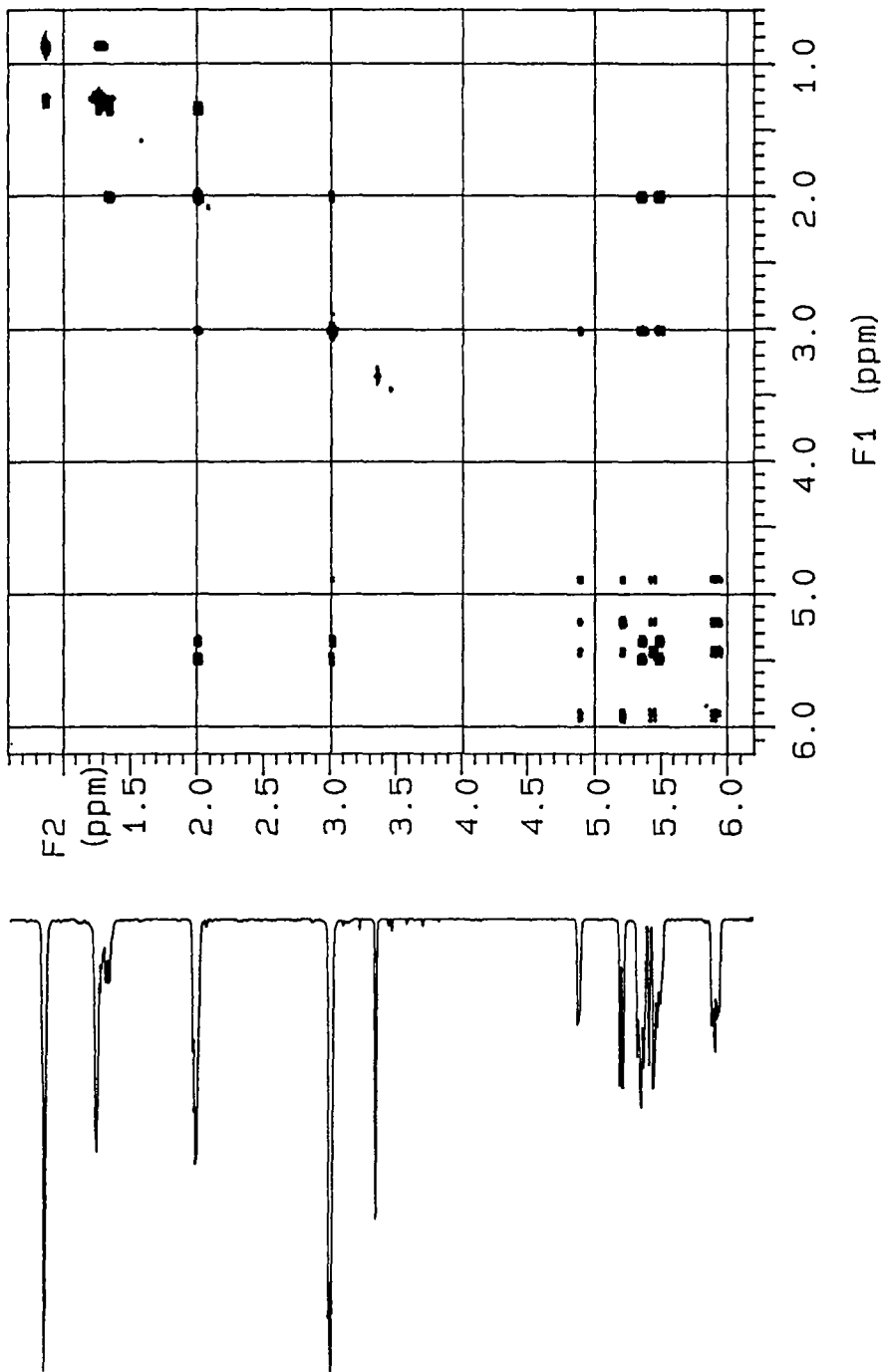


그림4 PFG-COSY

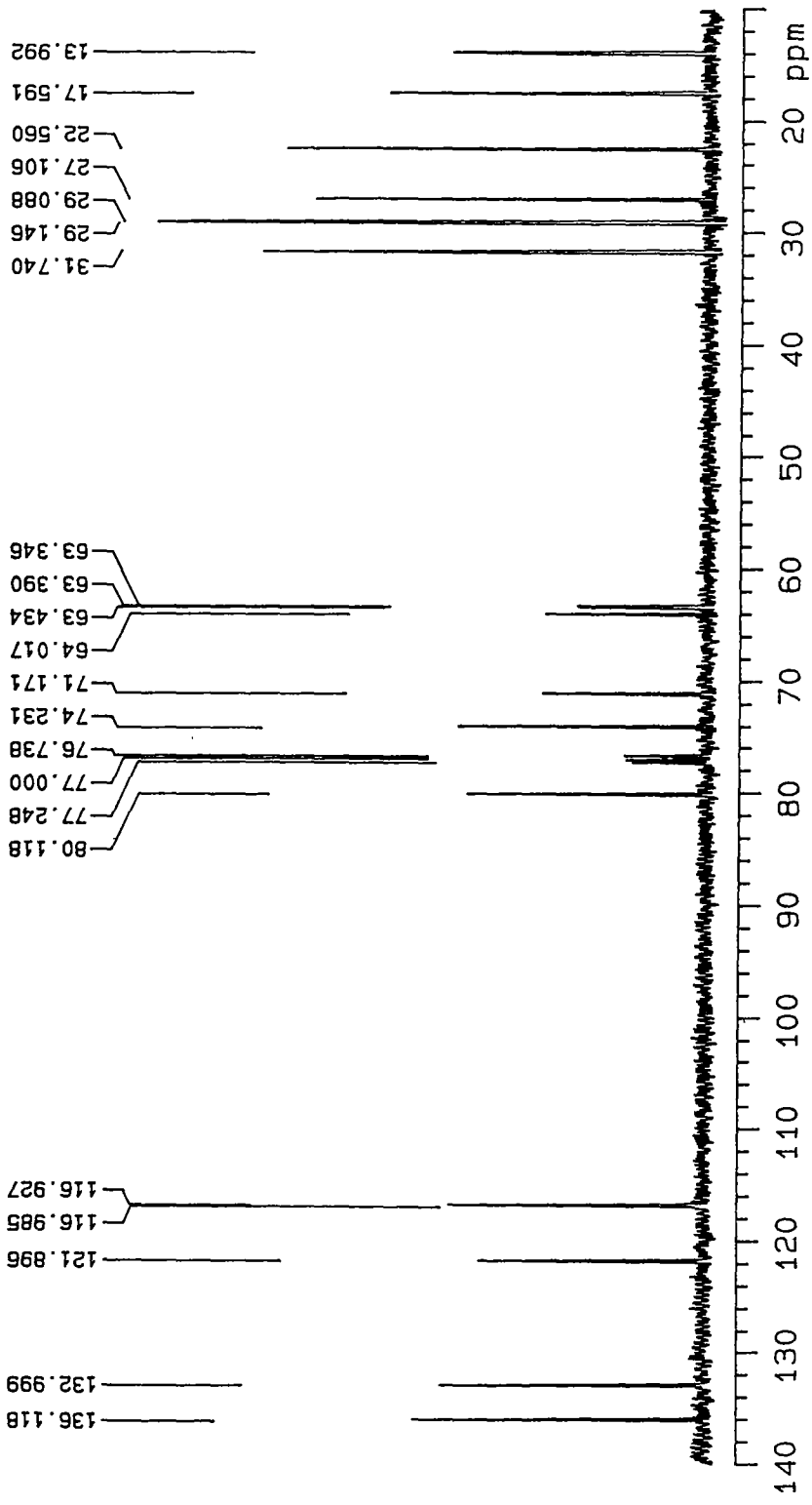


그림5 BC-Spectrum

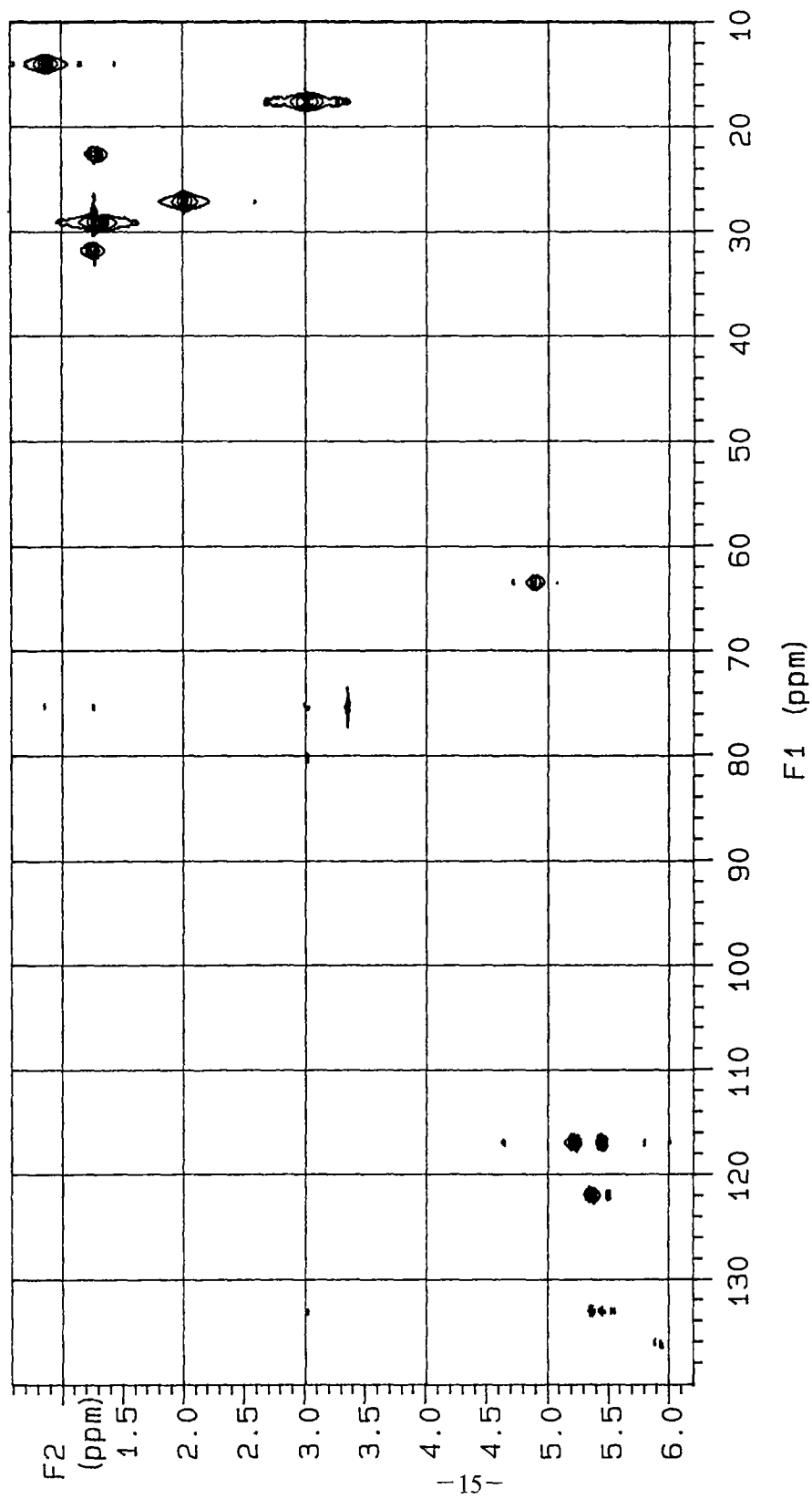


그림6 PFG-HMQC

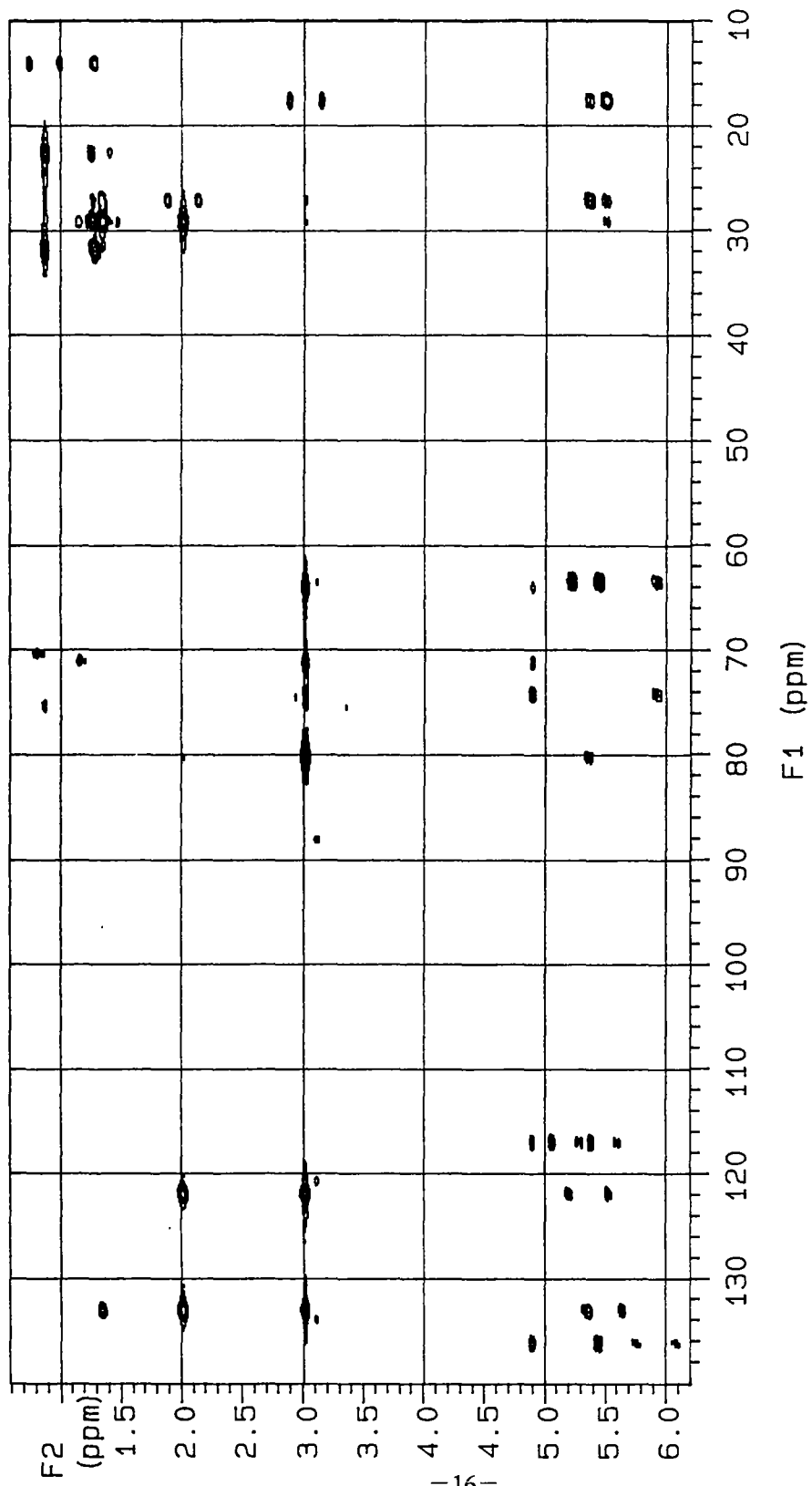


그림7 PFG-HMBC

나. 시료 2

시료 2는 화학조성이 $C_{20}H_{28}O_3$ 이다.

그림 8에는 구조가 표 2에는 공명주파수 지정표가 주어져 있다.

그림 9에서 그림 17은 구조결정에 사용된 NMR 스펙트럼들이다

2. Resonance assignment of sample number 2
 (Chemical shifts in ppm)

#	C-13	H-1	Assignment
CH₃			
1	16.86	0.95	16-CH ₃
2	16.92	1.12	17-CH ₃
3	21.83	0.97	20-CH ₃
CH₂			
1	19.79	1.70 1.99	4-CH ₂ -
2	30.27	1.77 2.27	5-CH ₂ -
3	30.76	1.50 1.94	14-CH ₂ -
4	31.39	1.37 1.50	13-CH ₂ -
5	31.66	1.55 1.68	11-CH ₂ -
6	35.42	1.61 1.78	3-CH ₂ -
7	35.82	2.15 2.42	8-CH ₂ -
8	109.89	4.96	19=CH ₂
CH			
1	47.36	2.41	10-CH-
2	50.89	2.27	6-CH-
3	149.53	5.83	18=CH-
C_q			
1	35.06	-	12-R ₂ C-
2	38.82	-	15-R ₂ C-
3	47.25	-	2-R ₂ C-
4	86.97	-	7-R ₂ C-O-
CO			
1	179.32	-	1-COO-
2	210.29	-	9-CO-

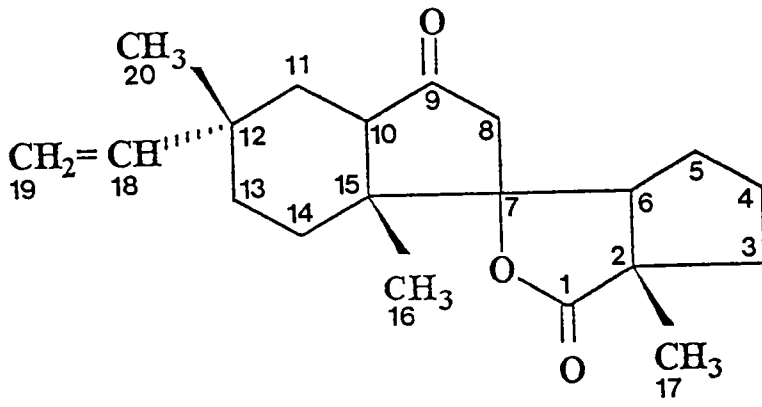


그림8

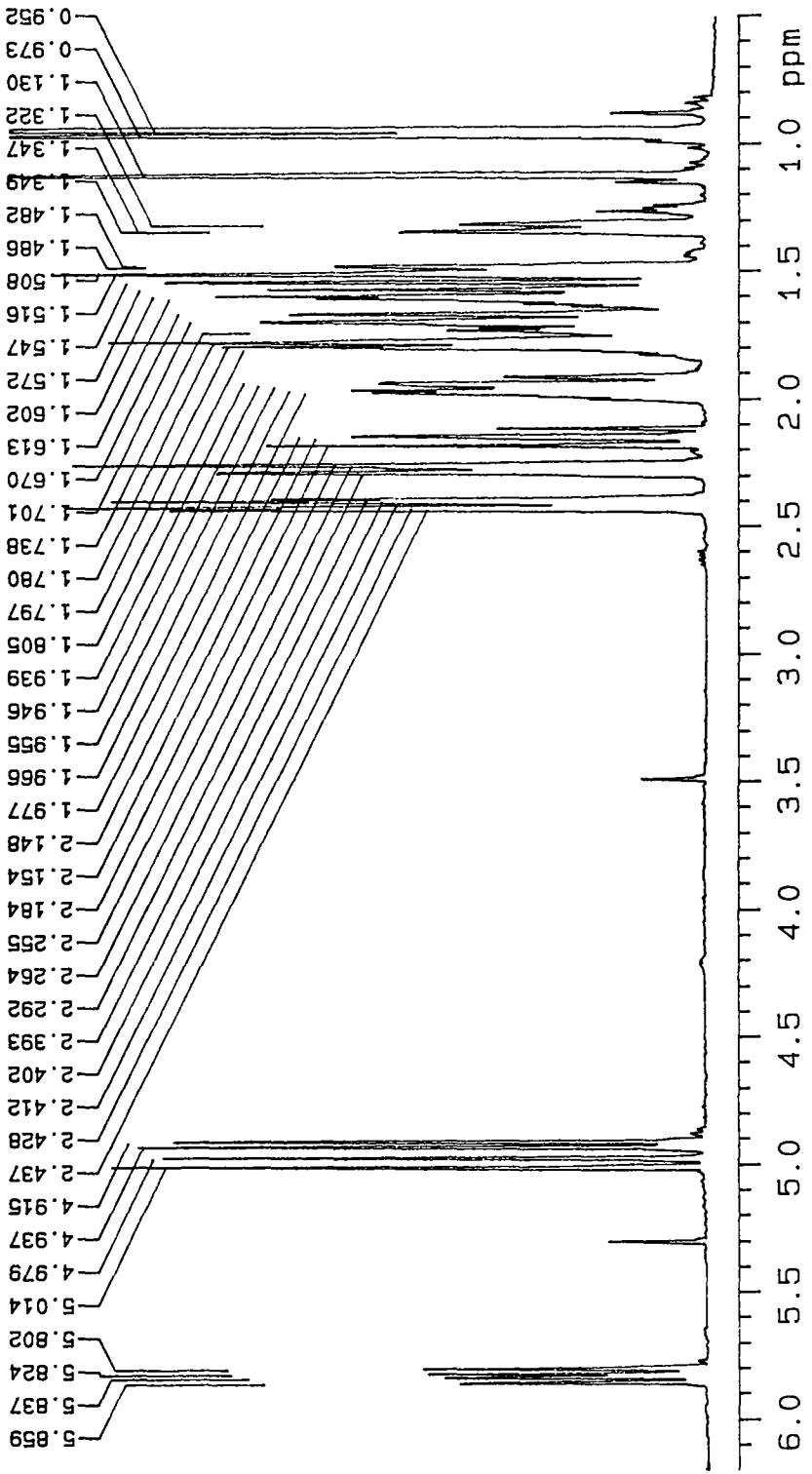


그림9 1H-Spectrum

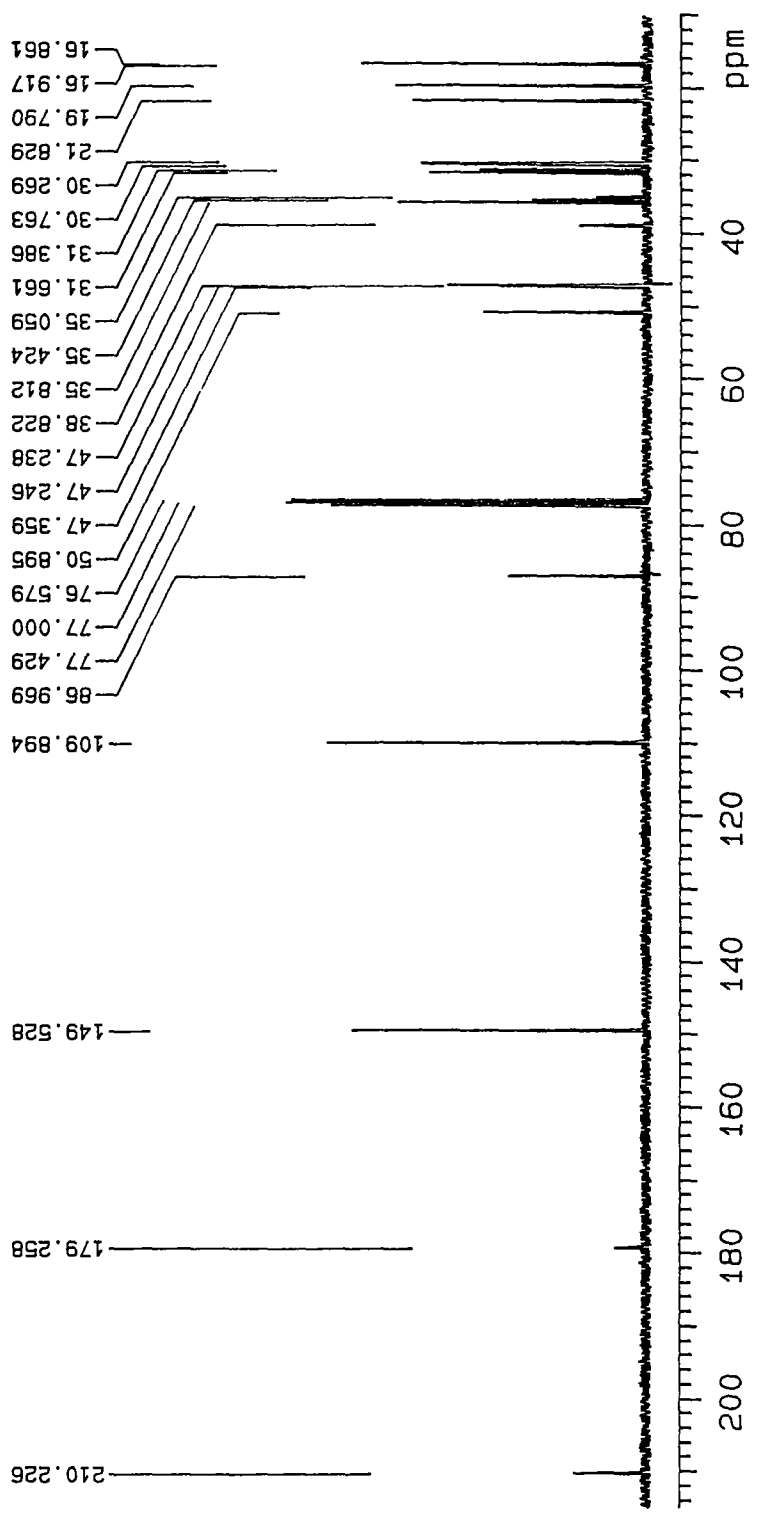


그림10 B-C Spectrum

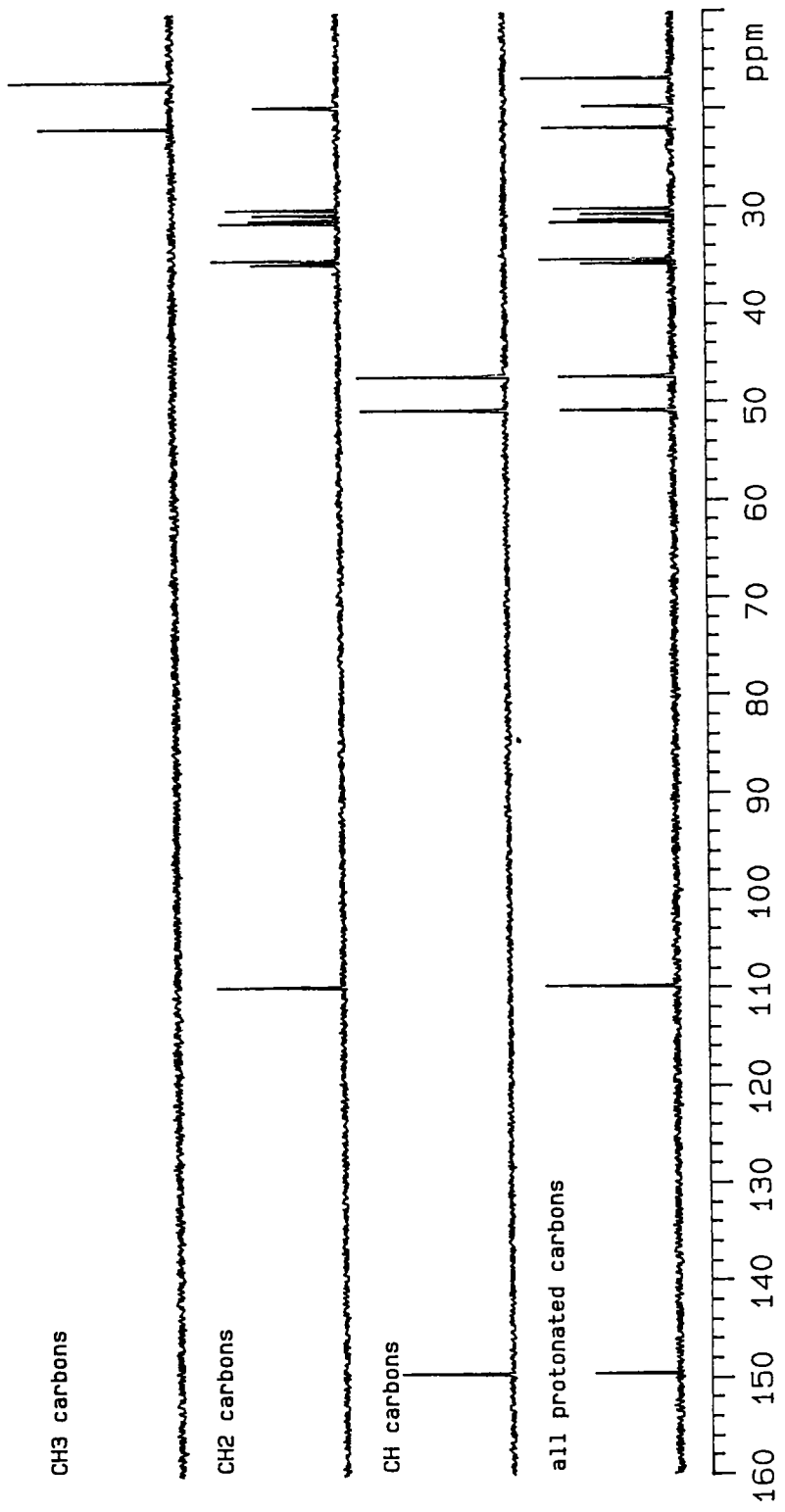


그림11 DEPT

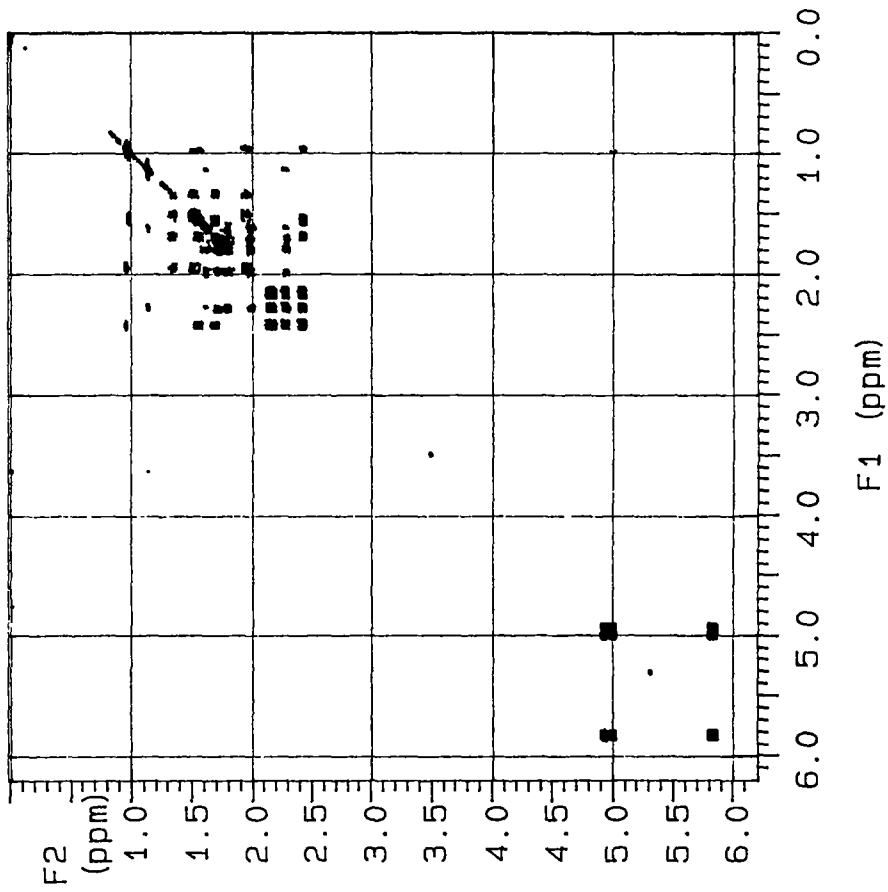


그림12 PFG-COSY

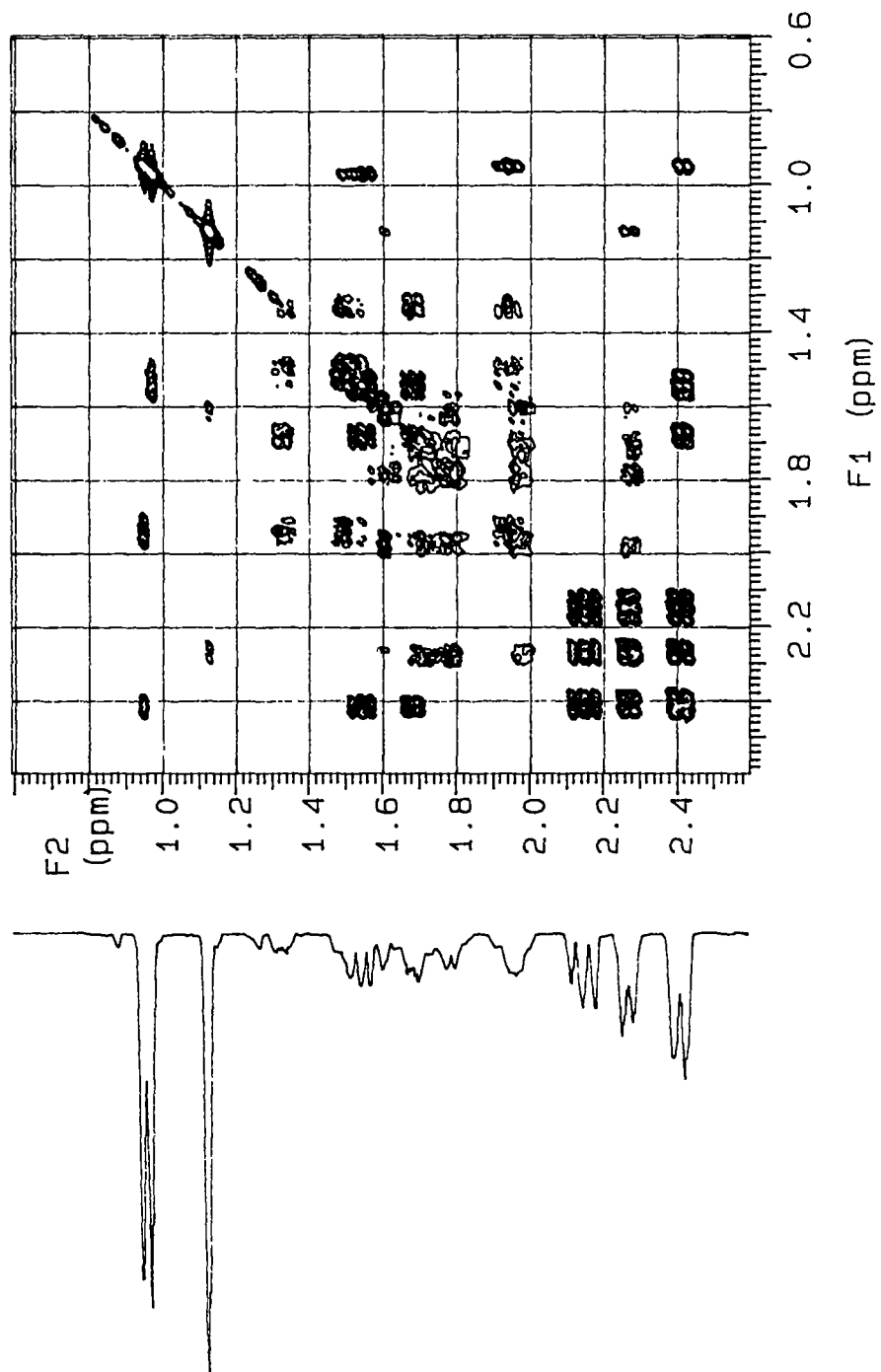


그림13 PFG-COSY

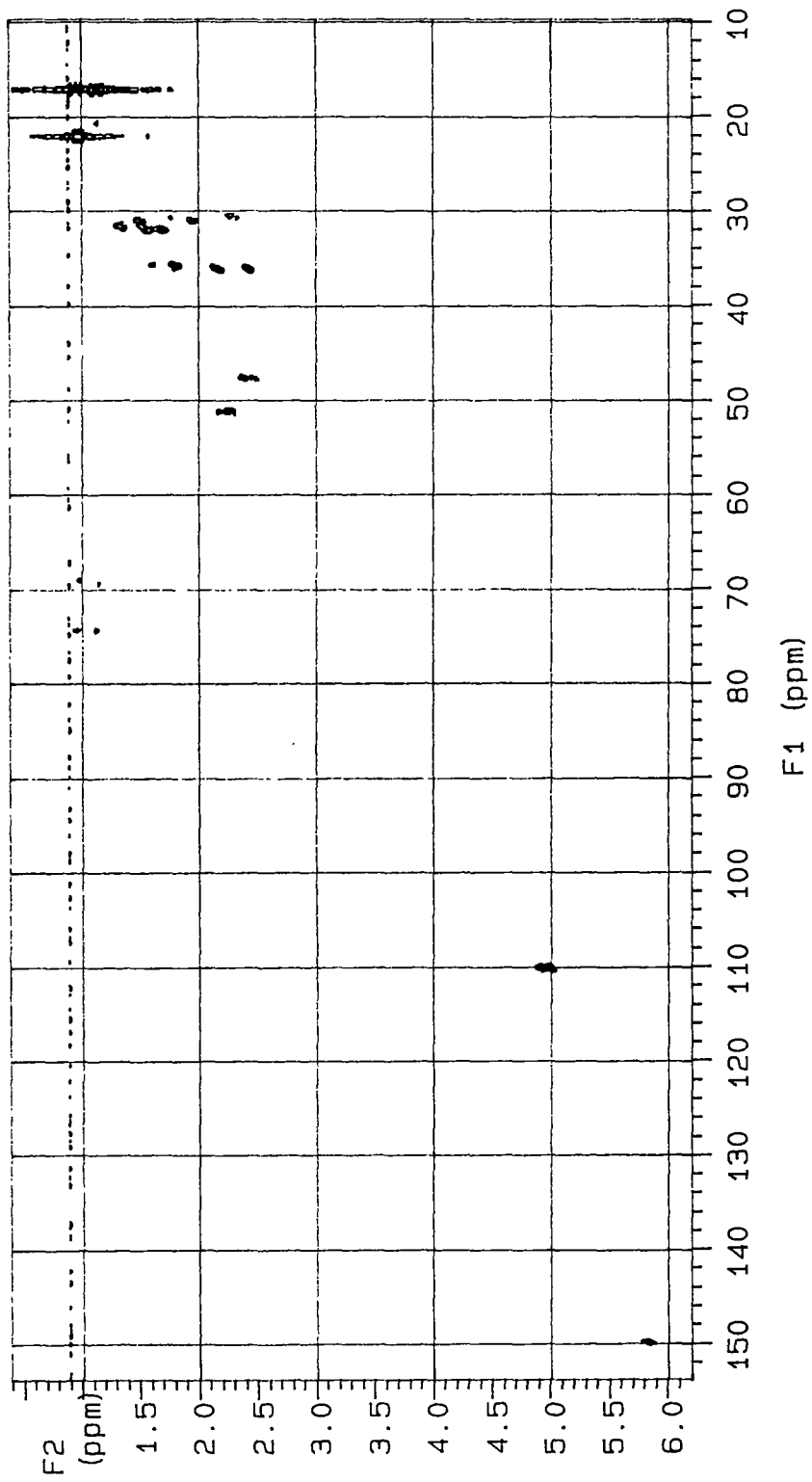


그림14 PFG-HMOC

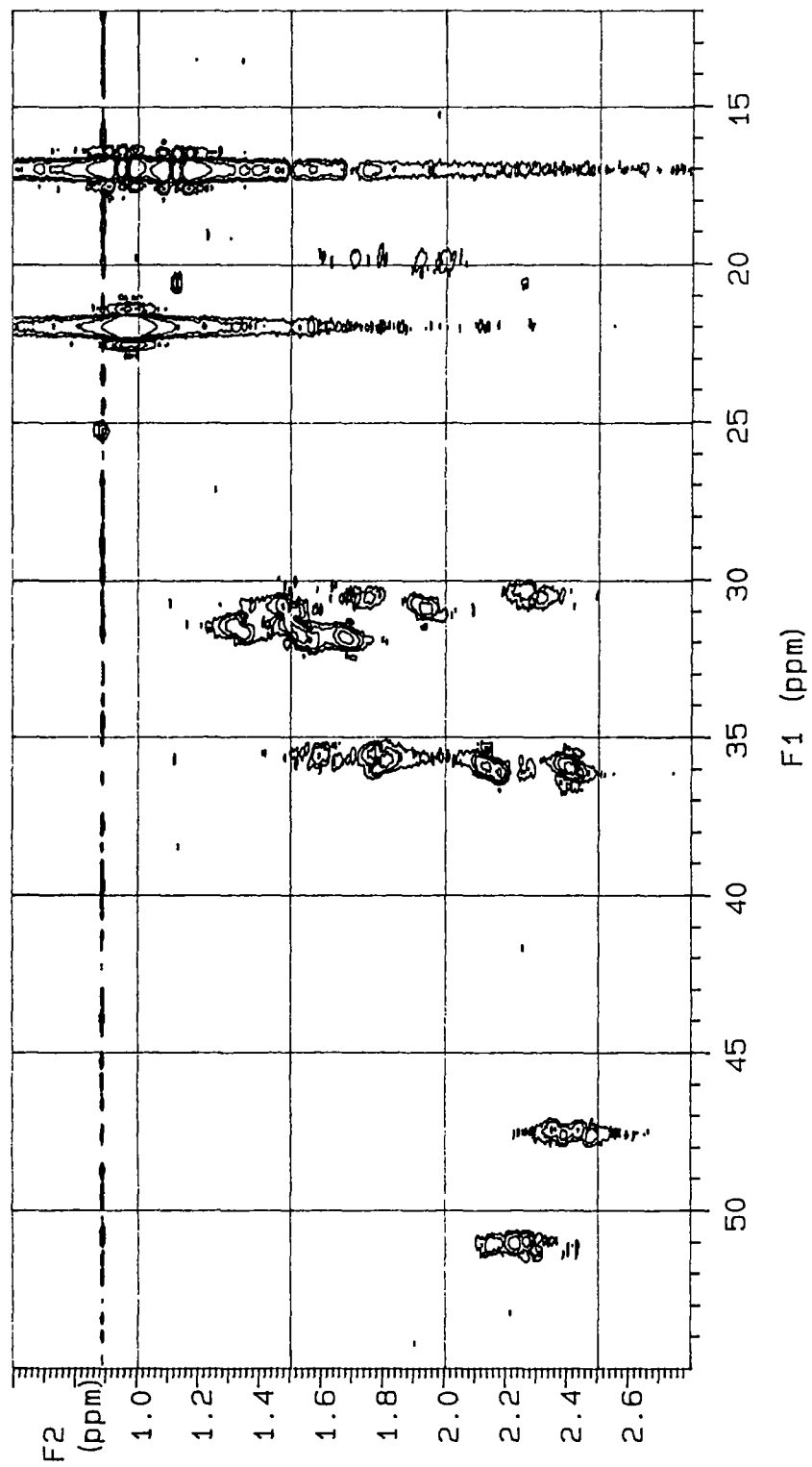


그림15 PFG-HMQC

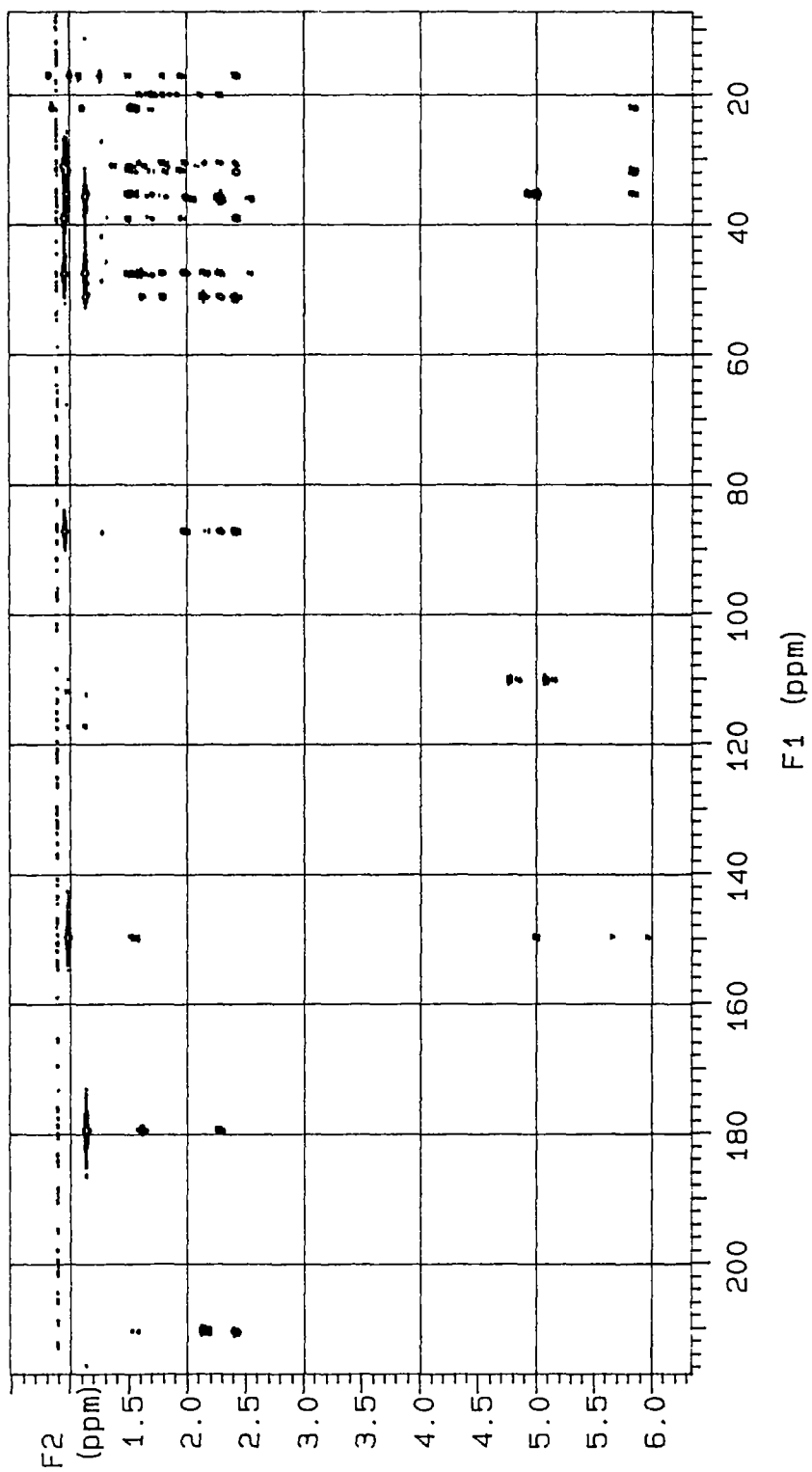


그림16 PFG-HMBC

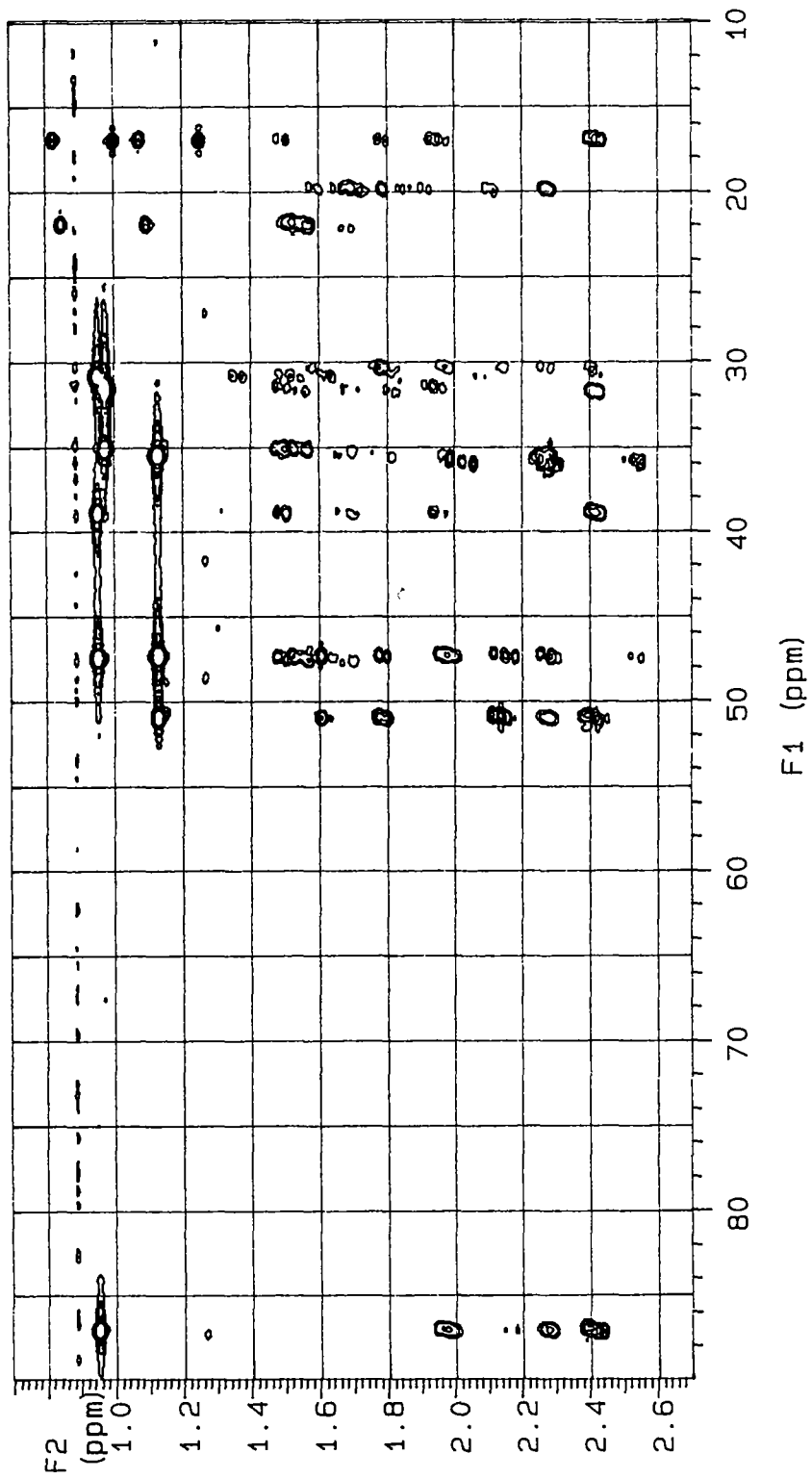


그림17 PFG-HMBC

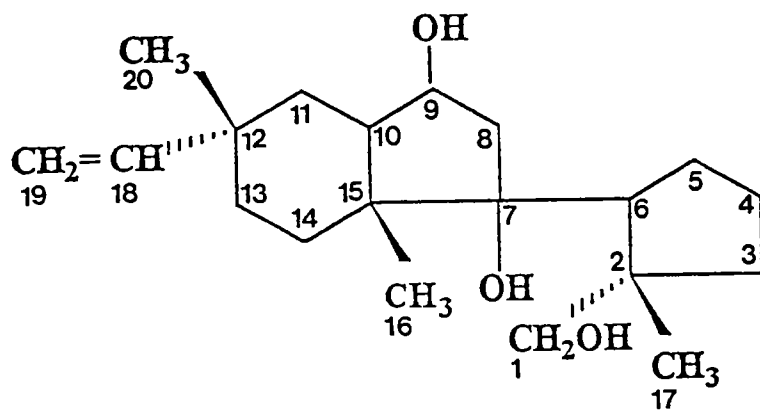


그림18

다. 시료 3

시료 3은 시료 2의 유도체로 화학 조성식은 $C_{20}H_{34}O_3$ 이다.

시료의 골격이 시료2와 같고 단지 1번과 7번 탄소를 포함하는 부분만이 다르다. 표 3에는 시료 3의 공명주파수 지정표가 주어져 있다.

그림 18은 시료 3의 구조이다.

사용된 NMR 기법은 시료2의 경우와 동일하므로 스펙트럼을 일일이 보여주지 않았다.

3. Resonance assignment of sample number 3
(Chemical shifts in ppm)

#	C-13	H-1	Assignment
CH₃			
1	14.46	1.08	16-CH ₃
2	24.64	1.05	20-CH ₃
3	27.92	0.81	17-CH ₃
CH₂			
1	19.07	1.45 2.02	4-CH ₂ -
2	31.99	1.66 2.21	8-CH ₂ -
3	32.81	1.38 1.72	5-CH ₂ -
4	33.78	1.33 1.75	13-CH ₂ -
5	33.96	1.40 1.79	14-CH ₂ -
6	36.85	1.09 1.98	11-CH ₂ -
7	40.76	1.27 1.80	3-CH ₂ -
8	70.23	3.31 3.72	1-CH ₂ -OH
9	108.95	4.90	19=CH ₂
CH			
1	40.27	1.52	10-CH-
2	43.51	1.59	6-CH-
3	71.98	3.82	9-CH-OH
4	150.58	5.86	18=CH-
C_q			
1	36.69	-	12-R ₂ C-
2	37.82	-	2-R ₂ C-
3	41.40	-	15-R ₂ C-
4	74.45	-	7-R ₂ C-OH

제 3 장 결 론

본 보고서에는 열거되지 않았지만 NMR 연구팀은 본 연구기간중 1,000여개의 각종 시료에 대한 구조결정 연구를 지원하였다. 본 보고서에 제시된 것은 이중 장시간의 구조해석을 필요로 했던 경우들이다.

많은 경우 시료를 분리, 정제하는 연구자들의 순수한 시료를 준비해 오지 않아 구조 결정연구가 제대로 이루어지지 못하였다.