



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2011-0085275
(43) 공개일자 2011년07월27일

(51) Int. Cl.

C07D 491/10 (2006.01) C07D 209/54 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2010-0004961

(22) 출원일자 2010년01월19일

심사청구일자 2010년01월19일

(71) 출원인

고려대학교 산학협력단

서울 성북구 안암동5가 1

(72) 발명자

김중승

경기도 성남시 분당구 수내동 파크타운롯데아파트 130-2402

이민희

경기도 수원시 권선구 평동 14-5

강철훈

경기도 수원시 장안구 천천동 신안한일아파트 10 5동 704호

(74) 대리인

특허법인충현

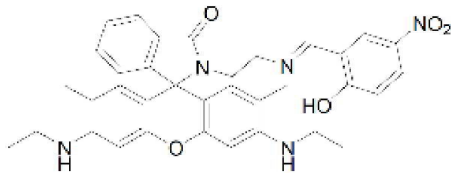
전체 청구항 수 : 총 6 항

(54) 로다민 유도체, 이의 제조방법 및 이를 이용하여 3가 철 이온을 검출하는 방법

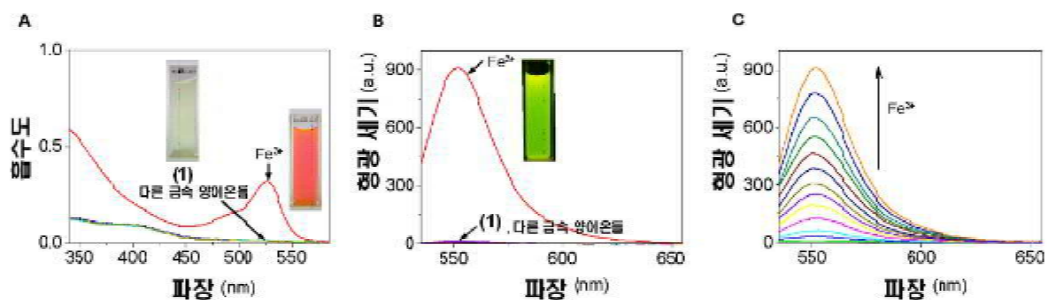
(57) 요약

본 발명은 하기 화학식 1로 표시되는 화학센서로 이용될 수 있는 로다민에 기초한 화합물에 관한 것으로서, Fe^{3+} -촉매 반응에 의하여 형광 변화를 나타내므로 Fe^{3+} 를 검출할 수 있으며, 다른 종류의 금속 양이온에 대하여 높은 선택성을 보이고, 다른 중금속 및 전이금속 양이온에 방해받지 않고 형광변화 특성을 보이므로 환경학적 및 생물학적 시스템에서 높은 감도와 선택성을 유지하며 Fe^{3+} 를 검출할 수 있다.

화학식 1



대표도 - 도1

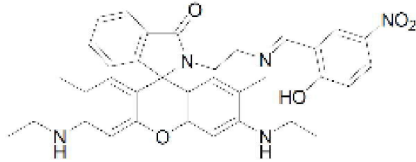


특허청구의 범위

청구항 1

하기의 화학식 1로 표시되는 로다민 유도체.

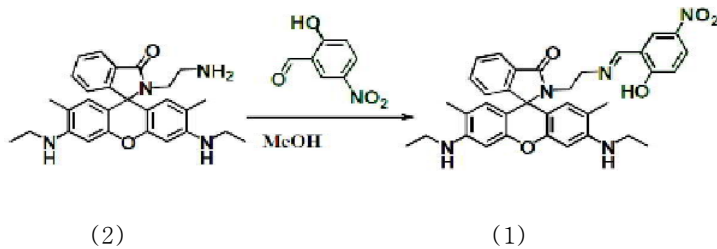
화학식 1



청구항 2

하기 반응식 1에 의하여 제1항에 따른 화학식 1의 로다민 유도체를 제조하는 방법:

반응식 1



청구항 3

제1항에 따른 화학식 1의 로다민 유도체를 이용하여 시료 중에서 3가 철 이온을 선택적으로 검출하는 방법.

청구항 4

제3항에 있어서,

상기 로다민 유도체와 3가 철 이온의 결합에 의한 형광 파장 및 형광 세기의 변화에 의해 이루어지는 것을 특징으로 하는 3가 철 이온을 선택적으로 검출하는 방법.

청구항 5

제3항에 있어서,

상기 시료는 수용액인 것을 특징으로 하는 3가 철 이온을 선택적으로 검출하는 방법.

청구항 6

제1항에 따른 화학식 1의 로다민 유도체를 이용한 3가 철 이온 검출용 화학 센서.

명세서

기술분야

[0001] 본 발명은 로다민 유도체 및 이를 이용하여 Fe^{+3} 이온을 검출하는 방법에 관한 것으로서, 보다 구체적으로는 로다민 유도체와 Fe^{+3} 이온의 결합에 의한 형광 변화를 이용하여 Fe^{+3} 이온을 선택적으로 검출할 수 있는 방법에 관한 것이다.

배경 기술

- [0002] 환경측정 또는 임상진단과 같은 분야에서는 특정 용액에 함유되어 다양한 이온의 농도를 신속하고 정확하게 분석할 필요가 있다. 이러한 분석에는 특정 이온에 선택성이 있는 물질을 이용한 다양한 종류의 화학센서 물질들이 사용되며, 센서의 일반적인 감지 신호는 전기, 저항, 전위차 등의 전기적 성질이나 색채, 형광 등의 광학적 성질을 이용한다. 이중에서 색의 변화 및 형광의 변화는 육안으로 쉽게 판별이 가능하므로 특별한 장비가 없어도 측정이 용이한 방법 중의 하나이다.
- [0003] 철은 지구의 내부에서부터 포유계 세포를 포함한 생물 기관에 걸쳐 전 우주에 편재하는 물질이다. 인간과 동물의 건강에 있어 철의 근본적인 기능은 급세기를 통하여 명확해지고 있다. 철은 생물체의 몸을 구성하며, 적정량의 철 섭취와 질병 예방간의 상관관계가 밝혀지고 있다. 이와 같이 철은 건강을 위해 반드시 섭취되어야 할 필수성분이지만, 유기체가 안전하게 이용할 수 있는 수준을 넘어서 섭취되는 경우에는 지질, 단백질 및 다른 세포 구성 물질의 상화를 촉진하여 유기체에 해를 끼치게 된다.
- [0004] 생물체 내의 Fe^{3+} 이온 농도가 지나치게 높아지면, 특정 암의 발생이나 심장, 체장 및 간과 같은 기관의 기능 이상을 초래할 수 있다. 따라서, 생리학적 환경과 동물 세포에서 생물학적으로 중요하고 싸이토평독(cytotoxic)한 이온을 검출하는 것은 생물학적 및 환경학적 관점에서 매우 중요한 요소이다. Fe^{2+} 와 Fe^{3+} 이온을 동시에 검출하는 형광물질로 칼세인(calcein), 펜 그린(phen green)과 같은 물질이 알려져 있지만, 이 경우 형광은 철 이온의 결합에 의하여 급속히 소멸된다. 최근에는 다른 중금속 이온의 방해에 대하여 높은 선택성을 보이는 Fe^{3+} 에 의하여 형광이 강화되는 ‘턴-온(turn-on)’ 시스템이 개발되었고, 많은 관심을 끌었다. 그 중에서, 케모도시메트릭 반응(chemodosimetric reaction)에 의하여 형광 강화를 나타내는 물질에 대한 연구가 특히 주목을 받았는데, 이는 Fe^{3+} 이온과 결합하여 생리학적 환경에서 자유 Fe^{3+} 이온을 비가역적으로 그리고 안전하게 제거하는 특성을 보였다.

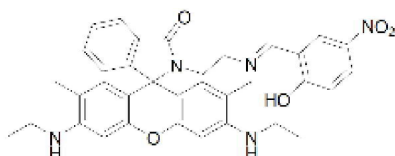
발명의 내용

해결하려는 과제

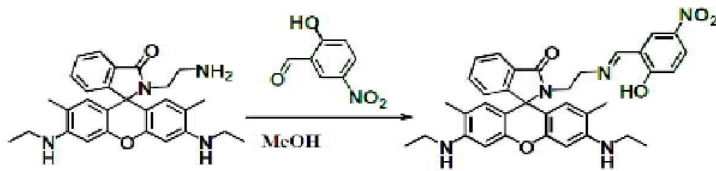
- [0005] 본 발명이 해결하고자 하는 첫 번째 과제는 3가 철 이온에 대해 선택성을 갖는 로다민 유도체를 제공하는 것이다.
- [0006] 본 발명이 해결하고자 하는 두 번째 과제는 상기의 로다민 유도체를 제조하는 방법을 제공하는 것이다.
- [0007] 본 발명이 해결하고자 하는 세 번째 과제는 상기 로다민 유도체를 이용하여 시료 중에서 3가 철 이온을 선택적으로 검출하는 방법을 제공하는 것이다.
- [0008] 본 발명이 해결하고자 하는 네 번째 과제는 상기 로다민 유도체를 이용한 3가 철 이온 검출용 화학 센서를 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

- [0009] 본 발명은 상기 첫 번째 과제를 달성하기 위하여, 하기의 화학식 1로 표시되는 로다민 유도체를 제공한다.
- [0010] 화학식 1



- [0011]
- [0012] 본 발명은 상기 두 번째 과제를 달성하기 위하여, 하기 반응식 1에 의하여 상기 로다민 유도체를 제조하는 방법을 제공한다.
- [0013] 반응식 1



(2)

(1)

본 발명은 상기 세 번째 과제를 달성하기 위하여, 상기 로다민 유도체를 이용하여 시료 중에서 3가 철 이온을 선택적으로 검출하는 방법을 제공한다. 이때, 3가 철 이온의 검출은 상기 로다민 유도체와 3가 철 이온의 결합에 의한 형광 파장 및 형광 세기의 변화에 의해 이루어질 수 있다.

또한 본 발명의 일 실시예에 의하면 상기 시료는 수용액인 것이 바람직하다.

본 발명은 상기 네 번째 과제를 달성하기 위하여 상기 화학식 1의 로다민 유도체를 이용한 3가 철 이온 검출용 화학 센서를 제공한다.

발명의 효과

본 발명의 로다민 유도체는 Fe^{3+} -촉매 반응에 의하여 형광 변화를 나타내므로 Fe^{3+} 를 검출할 수 있고, 구체적으로 헵타토사이트의 세포 내 Fe^{3+} 를 높은 감도로 검출할 수 있다. 또한 본 발명의 로다민 유도체는 Fe^{3+} , Fe^{2+} , K^+ , Na^+ , Ca^{2+} 등과 같은 다른 종류의 금속 양이온에 대하여 높은 선택성을 보이고, Ag^+ , Hg^{2+} , Ba^{2+} , Cd^{2+} , Co^{2+} , Cu^{2+} , Ni^{2+} , Pb^{2+} 및 Zn^{2+} 와 같은 다른 중금속 및 전이금속 양이온에 방해받지 않고 형광변화 특성을 보이므로 응용성이 높다. 따라서 환경학적 및 생물학적 시스템에서 높은 감도와 선택성을 유지하며 Fe^{3+} 를 검출할 수 있다.

도면의 간단한 설명

도 1의 (a)는 다양한 양이온의 Cl염에 대한 화학식 (1)의 로다민 유도체의 자외선/가시광선 흡수 스펙트럼을 나타낸 것이고, 도 1의 (b)는 화학식 (1)의 로다민 유도체의 형광 스펙트럼을 나타낸 것이며, 도 1의 (c)는 수용액에서의 형광 적정 스펙트럼을 나타낸 것이다.

도 2는 다양한 양이온의 Cl염에 대한 화합물 1의 자외선/가시광선 흡수 스펙트럼을 나타낸 것이다.

도 3은 수용액에서의 화학식 (1)의 로다민 유도체의 흡수 적정 스펙트럼을 나타낸 것이다.

도 4는 수용액에서의 화학식 (1)의 로다민 유도체 + Fe^{3+} , 2-히드록시-5-니트로벤즈알데하이드 및 FeCl_3 의 정규화된 흡수 스펙트럼을 나타낸 것이다.

도 5와 도 6은 수용액 내에서 측정된 다양한 금속 이온에 대한 로다민 유도체의 551nm에서의 형광 반응을 나타낸 것이다.

도 7은 FeCl_3 가 존재하는 경우와 존재하지 않는 경우의 수용액 조건에서 측정된 로다민 유도체의 FAB-MS 결과이다.

도 8은 CDCl_3 을 용매로 측정한 2-히드록시-5-니트로벤즈알데하이드의 ^1H NMR 측정결과이다.

도 9는 $\text{Fe}(\text{OTs})_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 과 로다민 유도체 혼합물의 X-선 결정 구조를 나타낸 것이다.

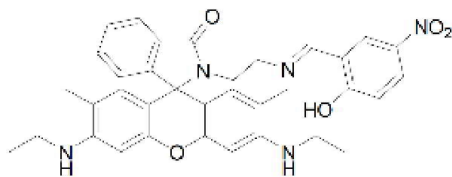
도 10은 로다민 유도체로 Hep G2에 대한 공초점 현미경 분석을 수행한 결과이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

이하, 본 발명을 상세하게 설명한다.

본 발명에 따른 로다민 유도체는 하기 화학식 1로 표시되는 것이 특징이다.

[0023] 화학식 1

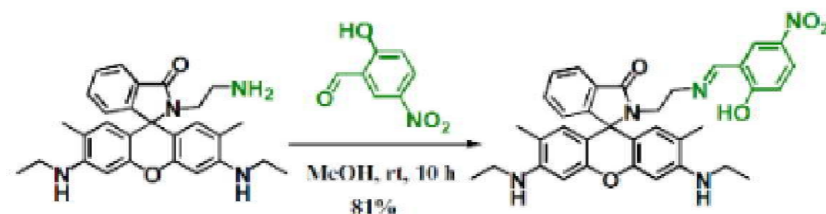


[0024]

[0025] 본 발명의 연구자들은 신규한 화합물을 이용하여 로다민(rhodamine)에 기초한 프로브(probe)를 제조하였고, 이에 대한 형광특성과, 철-과다담지 세포 라인(iron-overloaded cell line)의 응용성을 연구하였다. 본 발명의 일 구현예에 따른 로다민 유도체는 Fe^{3+} -촉매 반응에 의하여 형광 변화를 나타내고, 다른 금속 양이온의 존재 하에서도 이러한 특성을 유지한다. 따라서, 상기 로다민 유도체를 이용한 화학검출기는 헵파토사이트(hepatocyte)의 세포 내 Fe^{3+} 를 선택적이고도 높은 감도로 검출할 수 있다.

[0026] 본 발명의 일 구현예는 비형광 로다민 메인 코어(main core)에 결합된 에틸렌디아민(링커의 역할을 함)과 2-히드록시-5-니트로벤즈알데하이드를 결합시켜 수화가능한 이민(imine) 결합을 형성하는 하기의 반응식 1을 제시한다. 에틸렌디아민(EDA) 프레임워크에 대한 높은 전자친화도와, 쉬프(Schiff) 염기의 수화를 촉진하는 다른 금속 이온에 대한 강한 루이스산 활동도는 Fe^{3+} 이온에 대한 선택성을 높여준다.

[0027] 반응식 1



[0028]

[0029] (2) (1)

[0030] 실시예: 화학식 (1)의 로다민 유도체의 합성

[0031] 화학식 (2)의 화합물(0.3 g, 0.6 mmol)(J.-S. Wu, I.-C. Hwang, K. S. Kim and J. S. Kim, *Org. Lett.* 2007, 9, 907.에 따라 제조)와 2-히드록시-5-니트로벤즈알데하이드(0.1 g, 0.6 mmol)를 메탄올 중에서 상온하에 10시간 동안 교반시켰다. 침전을 수집하여 헥산으로 재결정했으며, 최종 생성물로서 백색 화학식 (1)의 화합물을 0.3g 얻었다(81 % 수율).

[0032] Mp 230 ~ 240 °C. IR (deposit from MeOH solution on a NaCl plate, cm^{-1}): 3210, 1590, 1450, 1300. FAB-MS m/z (M^+) calcd 605.7, found 606.2. ^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz): δ 8.13 (dd, 1 H, $J = 2.83$ Hz); 8.02 (d, 1 H, $J = 2.83$ Hz); 7.93 (m, 1 H); 7.79 (s, 1H); 7.47 ~ 7.44 (m, 2 H); 7.05 ~ 6.90 (m, 1 H); 6.88 (d, 1 H, $J = 9.27$ Hz); 6.34 (s, 2 H); 6.17 (s, 2 H); 3.51 (m, 4 H); 3.20 (t, 2 H, $J = 6.63$ Hz); 3.19 (m, 4 H); 1.83 (s, 6 H); 1.32 (t, 6 H, $J = 7.13$ Hz). ^{13}C NMR (CDCl_3 , 100 MHz): 169.4, 168.5, 164.6, 153.3, 151.7, 147.0, 138.3, 132.7, 130.7, 128.2, 127.9, 123.8, 122.9, 119.1, 117.9, 116.5, 105.8, 96.4, 64.8, 55.5, 40.3, 38.3, 16.6, 14.6 ppm.

[0033] 시험예: 형광 스펙트럼 분석

[0034] 도 1의 (a)는 K^+ , Na^+ , Fe^{2+} , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Mn^{2+} 및 Fe^{3+} (각각 50당량)와 같은 양이온의 Cl염에 대한 상기 화학식 (1)로 표시되는 로다민 유도체의 자외선/가시광선 흡수 스펙트럼을 나타낸 것이고, 이때 로다민 유도체의 농도는 $10 \mu\text{M}$ 였다. 도 1의 (b)는 상기 화학식 (1)로 표시되는 로다민 유도체의 형광 스펙트럼을 나타낸 것이며, 이때 로다민 유도체의 농도는 $1.0 \mu\text{M}$ 였다. 도 1의 (c)는 수용액($\text{H}_2\text{O}:\text{CH}_3\text{CN} = 95:5$, v/v)에서의 로다민 유도체 형

광 적정 스펙트럼을 나타낸 것이고, 이때 로다민 유도체의 농도는 $1.0\mu\text{M}$ 이고, Fe^{3+} 농도는 0, 1, 10, 20, 40, 50, 100, 150, 250, 350, 450 μM 이며, 여기를 위한 광의 파장은 528nm였다. 도 1의 (a)와 (b)를 참조하면, 상기 로다민 유도체 화합물 단독으로는 400nm 영역에서 자외선 흡수를 보이다가, 수용액 내에서 로다민 유도체에 Fe^{3+} 이온이 첨가됨에 따라 526nm 중심의 흡수 밴드가 나타나기 시작하고, 동시에 551nm에서 강한 녹색 형광의 발광이 관찰된다. 이러한 흡수와 발광은 스파이로락탐(spirolactam)의 열린 고리의 로다민 유도체에 해당한다. 또한, 도 1의 (b)를 참조하면, 동일한 조건에서 다른 경쟁적인 금속 이온은 거의 형광의 변화를 나타내지 않고 있다.

[0035] 도 2는 K^+ , Na^+ , Fe^{2+} , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Mn^{2+} 및 Fe^{3+} (각각 50당량)와 같은 양이온의 Cl염에 대한 화학식 (2)의 화합물의 자외선/가시광선 흡수 스펙트럼을 나타낸 것이고, 이때 로다민 유도체의 농도는 $10\mu\text{M}$ 였다. 도 2를 참조하면, 화학식 (2)의 화합물은 다른 금속 이온들에 대하여 Fe^{3+} 에 의한 유사한 형광 변화를 나타내고 있는데 반하여, Fe^{3+} 와 Fe^{2+} 에 대한 선택성은 거의 관찰되지 않는다.

[0036] 도 3은 수용액($\text{H}_2\text{O}:\text{CH}_3\text{CN}=95:5$, v/v)에서의 본 발명에 따른 로다민 유도체 흡수 적정 스펙트럼을 나타낸 것이고, 이때 로다민 유도체의 농도는 $10\mu\text{M}$ 이며, Fe^{3+} 농도는 0, 1, 10, 20, 40, 50, 100, 150, 250, 350, 450 μM 였다. 또한, 도 4는 수용액($\text{H}_2\text{O}:\text{CH}_3\text{CN}=95:5$, v/v)에서의 로다민 유도체+ Fe^{3+} , 2-히드록시-5-니트로벤즈알데하이드 및 FeCl_3 의 정규화된 흡수 스펙트럼을 나타낸 것이다. 도 3 및 도 1의 (c)를 참조하면, Fe^{3+} 농도가 증가함에 따라 340 내지 500nm 영역의 넓은 흡수 밴드가 증가하는데, 이는 주로 로다민 유도체의 Fe^{3+} -유도 이민 수화에 의하여 2-히드록시-5-니트로벤즈알데하이드가 생성되기 때문이고(도 4 참조), 526nm에서도 새로운 흡수 밴드가 나타난다($\epsilon = 4.6 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$). 발광 스펙트럼에서는, 528nm의 여기 에너지 조건에서 0.6의 양자 효율(Φ_f)을 보이는 강한 형광 세기의 증가가 551nm에서 관찰된다. Fe^{3+} 농도를 변수로 한 흡수 및 형광의 적정 스펙트럼으로부터, 로다민 유도체 및 Fe^{3+} 의 검출 한계는 수용액 내에서 $1.0\mu\text{M}$ 이하로 나타났다.

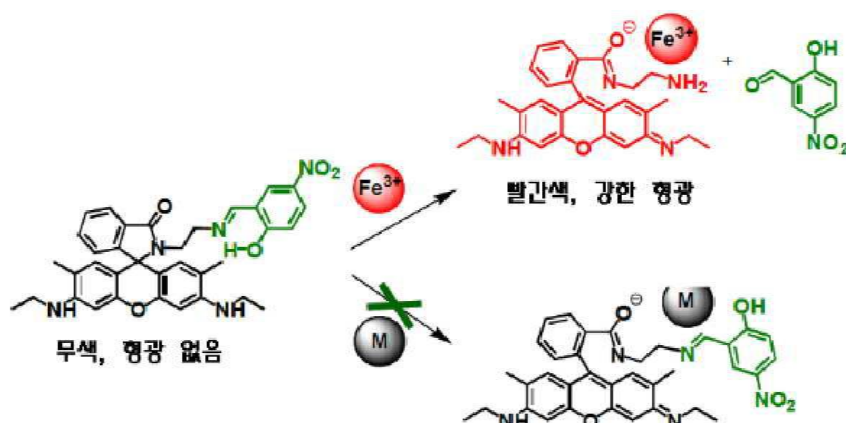
[0037] 생리학적 응용 관점에서는 다른 금속 이온에 의한 방해 특성이 고려되어야 하므로, 다른 경쟁적인 금속 이온 존재 하에서 로다민 유도체- Fe^{3+} 이온 반응에서의 형광 변화를 측정하였다. 도 5는 수용액($\text{H}_2\text{O}:\text{CH}_3\text{CN}=95:5$, v/v) 내에서 측정된 다양한 금속 이온에 대한 로다민 유도체($1.0\mu\text{M}$)의 551nm에서의 형광 반응을 나타낸 것이다. 하얀색 바(bar)는 로다민 유도체(각각 $50\mu\text{M}$)에 금속 양이온은 첨가한 결과를 나타내고 있고, (a) Fe^{3+} , b) Fe^{2+} , c) K^+ , d) Na^+ , e) Ca^{2+} , f) Mg^{2+} , g) Mn^{2+}), 검은색 바는 다른 금속 양이온(각각 1.0 mM)의 존재 하에서 연속적으로 Fe^{3+} ($50\mu\text{M}$)을 첨가한 결과를 나타낸 것이다. 이러한 결과는 로다민 유도체의 Fe^{3+} -촉매 반응에서 형광의 변화가 과량의 다른 생리학적 활성 금속 이온들(K^+ , Na^+ , Fe^{2+} , Ca^{2+} , Mg^{2+} 및 Mn^{2+} , 각각 1.0mM)에 의하여 억제되지 않음을 보여준다.

[0038] 도 6은 수용액($\text{H}_2\text{O}:\text{CH}_3\text{CN}=95:5$, v/v)에서 다양한 금속 양이온에 대한 로다민 유도체($1\mu\text{M}$)의 551nm에서의 형광 반응을 나타낸다. 하얀색 바(bar)는 로다민 유도체(각각 $50\mu\text{M}$)에 금속 양이온을 첨가한 결과를 나타내고 있고 ((a) Fe^{3+} , b) Fe^{2+} , c) K^+ , d) Na^+ , e) Ca^{2+} , f) Mg^{2+} , g) Mn^{2+} , h) Ag^+ , i) Hg^{2+} , j) Ba^{2+} , k) Cd^{2+} , l) Co^{2+} , m) Cu^{2+} , n) Ni^{2+} , o) Pb^{2+} , p) Zn^{2+}), 검은색 바는 다른 금속 양이온에 연속적으로 Fe^{3+} ($50\mu\text{M}$)를 첨가한 결과를 나타내고 있다.

[0039] 도 6을 참조하면, 오염물질로 알려진 Ag^+ , Hg^{2+} , Ba^{2+} , Cd^{2+} , Co^{2+} , Cu^{2+} , Ni^{2+} , Pb^{2+} 및 Zn^{2+} 와 같은 다른 중금속 및 전이금속 양이온들은 Fe^{3+} 와 화학식 (1)의 로다민 유도체의 케모도시메트릭 결합을 방해하지 않는다. 더 흥미로운 것은 화학식 (1)의 로다민 유도체는 색변화와 형광변화에 대하여 Fe^{3+} 에 대한 선택성이 Fe^{2+} 보다 월등히 높다. 이에 반하여 화학식 (2)의 화합물은 Fe^{2+} 에 비해 Fe^{3+} 의 선택성이 낮다. 따라서, 환경학적 및 생물학적 시스템에서 상기 화학식 (1)의 로다민 유도체를 Fe^{3+} 검출 용도로 사용하는 것이 가능하며, 이는 다른 경쟁적인 오염원인 양이온이 존재하는 경우에도 마찬가지이다.

[0040] 상기 화학식 (1)의 로다민 유도체와 Fe^{3+} 의 케모도시메트릭 반응을 확인하기 위하여 Fe^{3+} 이온을 로다민 유도체에 첨가하며 ^1H NMR과 FAB-MS를 이용하여 반응 혼합물의 성분을 분석하였다. 도 7은 FeCl_3 가 존재하는 경우(오른쪽 그림)와 존재하지 않는 경우(왼쪽 그림)의 수용액 조건에서 측정된 로다민 유도체의 FAB-MS 결과이다. 또한, 도 8은 CDCl_3 을 용매로 측정된 2-히드록시-5-니트로벤즈알데하이드의 ^1H NMR 측정결과로서, a)는 Aldrich사에서 구입한 상용 제품이고, b)는 화학식 (1)의 로다민 유도체와 FeCl_3 가 수용액 상태로 존재하는 혼합물에서 분리한 것이다.

[0041] 도 7 및 도 8을 참조하면, Fe^{3+} 이온과 로다민 유도체의 비가역적인 결합은 로다민 유도체에 포함되는 스카이로락탐의 고리 열림을 유도하고, 하기의 반응식 2에 나타난 바와 같이 이민 결합의 수화가 일어나게 된다. 상기의 스펙트럼 데이터들은 케모도시메트릭 메커니즘을 강력하게 뒷받침한다.



[0042]

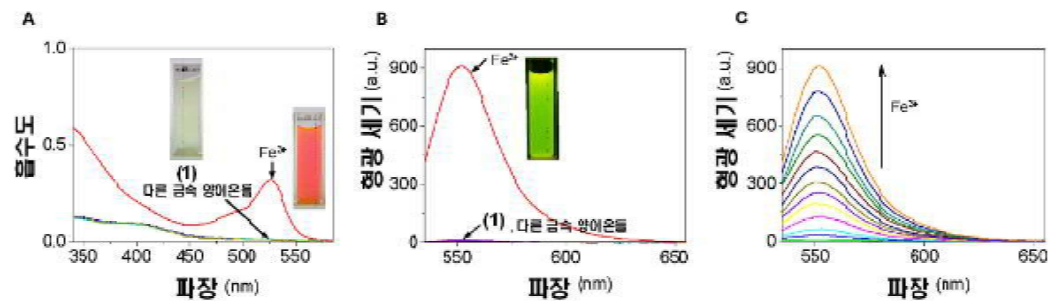
[0043] $\text{Fe}(\text{OTs})_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 을 로다민 유도체 용액에 첨가하여 열린 고리 로다민 화합물의 X-선 결정 구조를 얻을 수 있었다. 도 9는 $\text{Fe}(\text{OTs})_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 와 로다민 유도체 혼합물의 X-선 결정 구조를 나타낸 것이다. 도식된 결정 구조에서 모든 수소 원자는 생략하였다. 로다민 유도체의 Fe^{3+} 에 대한 높은 선택성은, 구연산화제이철(ferric citrate)이 과다하게 담지된 셀 라인을 이용하여 간 세포에 퇴적된 자유로운 Fe^{3+} 이온에 대한 분석을 가능하게 한다. 구연산화제이철은 간(liver)에서 유래한 세포에 용이하게 침투할 수 있고, 잘 정립된 철-과다담지 방법(iron-overloading method)이 될 수 있다. 따라서, 본 발명의 일 구현예에서는 로다민 유도체가 철-과다담지된 헵파토사이트에서의 형광을 발생시킬 수 있는지에 대한 특성이 연구되었다.

[0044] 도 10은 로다민 유도체로 Hep G2에 대한 공초점 현미경 분석(confocal microscopic analysis)을 수행한 결과이다. 세포는 24-well plate 위에 1.0×10^5 cells/mL로 씨딩(seeding)되고, 5% CO_2 , 95% 습도 및 37°C 의 온도 조건 하에서 배양되었다. 80% 콘플루언스(confluence)에 다다르면, DMEM에 용해된 $500\mu\text{M}$ 의 구연산화제이철로 처리하고, 24시간 후에 $1.0\mu\text{M}$ 의 로다민 유도체를 첨가하며 공초점 현미경으로 상의 콘트라스트(phase contrast)와 형광 이미지를 측정하였다. 이때, 560nm 이상의 파장을 가지는 long path 발광 필터를 이용하여 로다민 유도체를 여기시켰다. 이어서, 로다민 유도체로 처리한 후에 10, 20, 30, 40분이 경과한 시점에서 철이 과다담지된 세포의 상 명암과 형광 이미지를 결합시켰다. 도 10에서 일반(normal)과 철 과다담지된 세포의 이미지를 각각 (B) 및 (A)로 표시하였고, 패널 (A)는 서로 다른 시간 대에서 측정된 Hep G2 세포 라인의 공초점 이미지이고, 패널 (B)는 처리되지 않은 공초점 이미지이다. 세포는 초기에는 구연산화제이철로 처리되었으며, 이어서 로다민 유도체로 처리되었다.

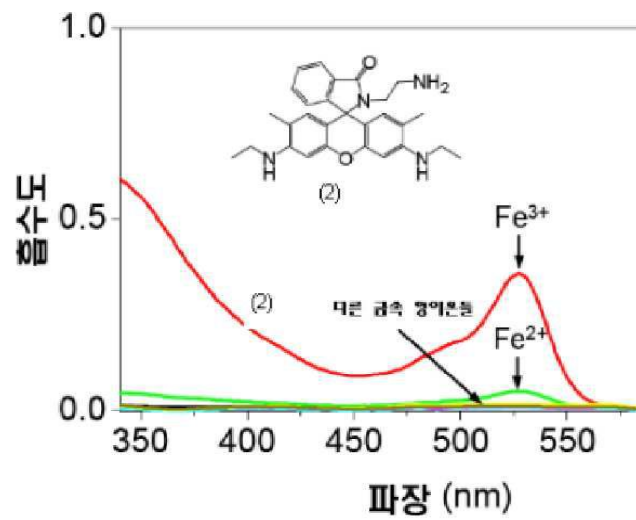
[0045] 도 10을 참조하면, 형광 세포의 개수와 강도는 점차적으로 증가하였는데, 이로부터 형광이 스킵 2와 같이 케모도시메트릭 거동을 보이는 세포 내 반응에 의존한다는 것을 알 수 있다. 또한, 형광 세포의 개수와 강도의 증가는 처리되지 않은 세포에 비하여 철-과다담지된 세포의 존재를 보다 명확히 알 수 있게 한다. 이러한 결과는 본 발명에 따른 화학식 (1)의 로다민 유도체의 케모도시메트릭 반응이 매우 선택적이고, Fe^{3+} 에 기초한 금속효소(metaloenzyme)의 부정적인 효과 없이 세포 내 Fe^{3+} 이온을 검출할 수 있음을 의미한다.

도면

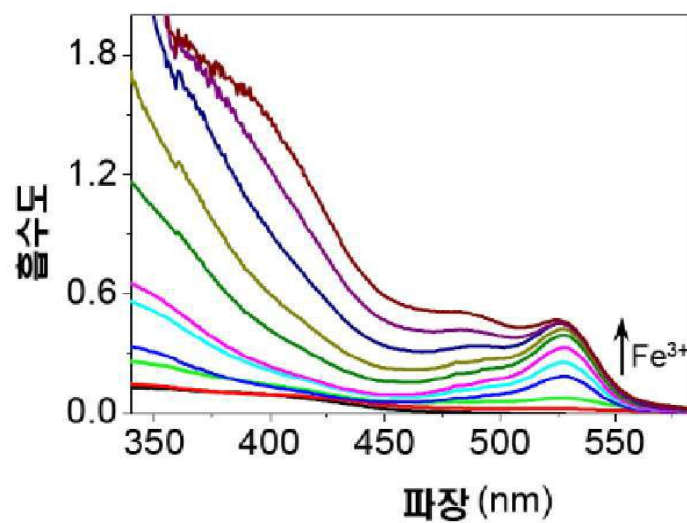
도면1



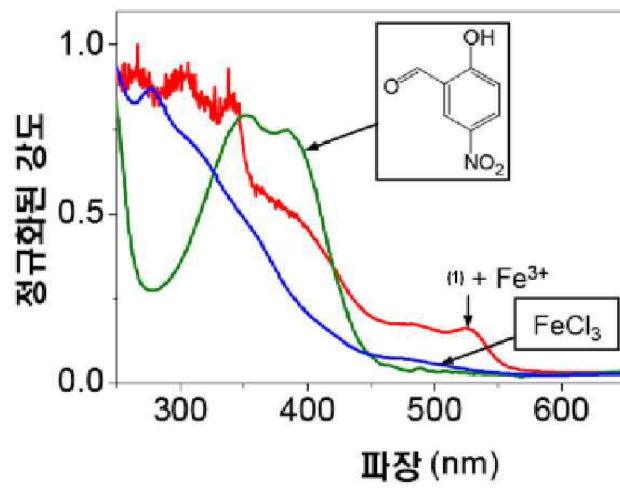
도면2



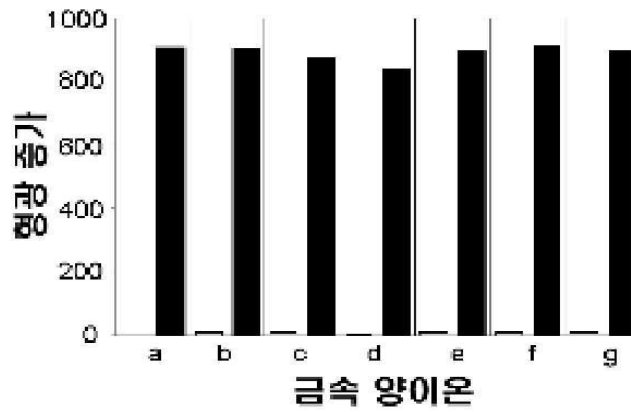
도면3



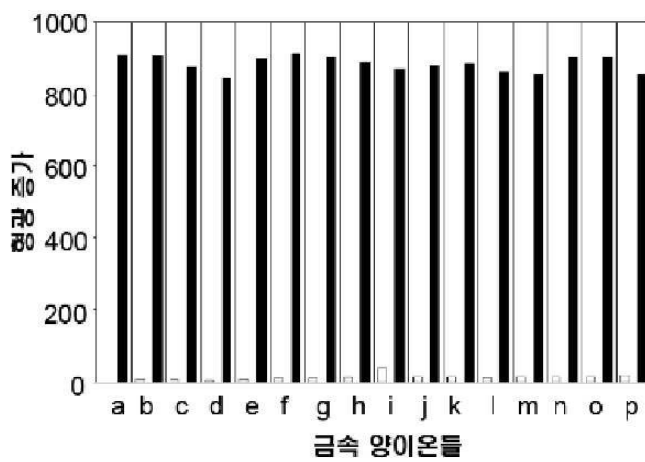
도면4



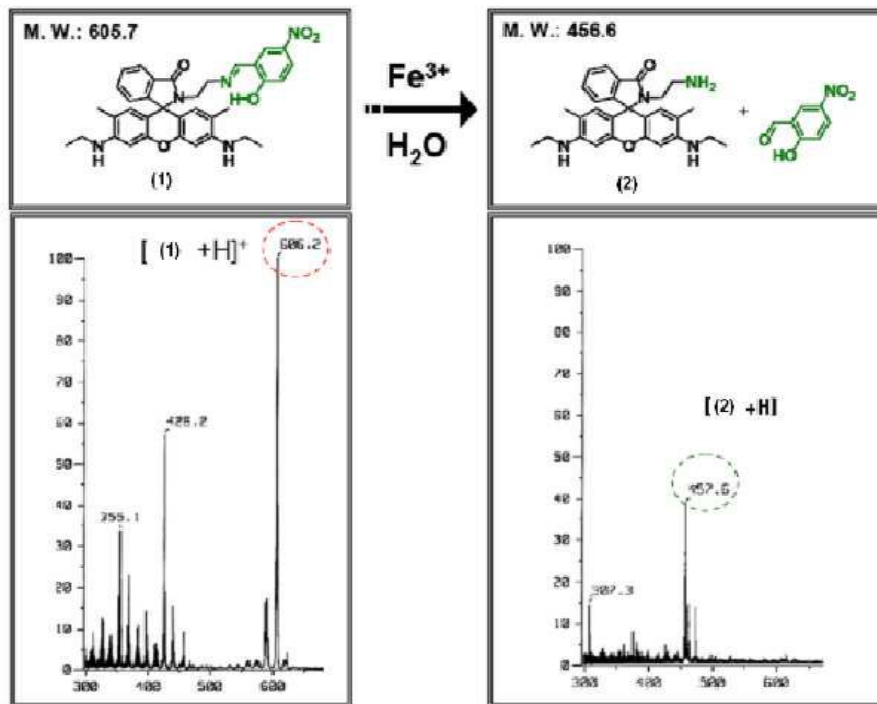
도면5



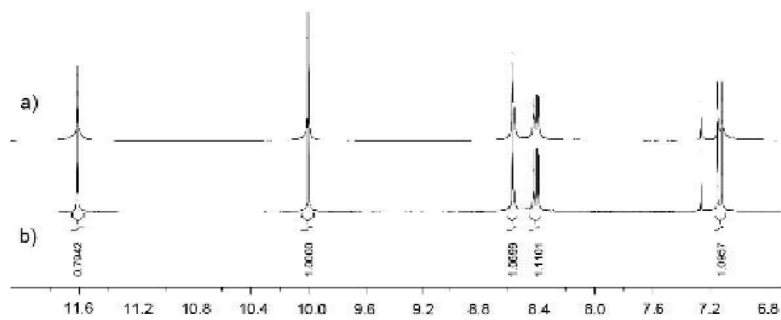
도면6



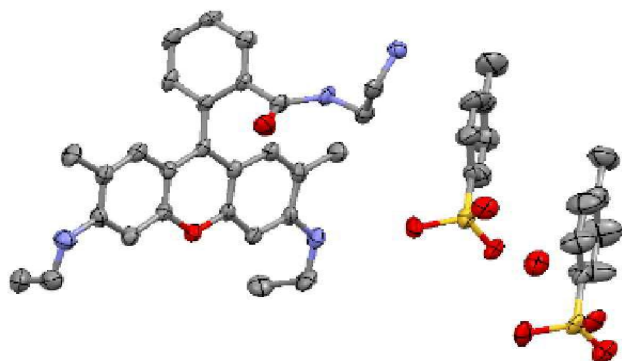
도면7



도면8



도면9



도면10

