



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2012-0097794
(43) 공개일자 2012년09월05일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

C08F 38/02 (2006.01) *C07D 401/12* (2006.01)

G01N 33/20 (2006.01) *G01N 21/64* (2006.01)

(21) 출원번호 10-2011-0017229

(22) 출원일자 2011년02월25일

심사청구일자 2011년02월25일

(71) 출원인

이화여자대학교 산학협력단

서울특별시 서대문구 이화여대길 52 (대현동, 이화여자대학교)

(72) 발명자

윤주영

서울특별시 서초구 잠원로14길 3, 롯데캐슬 207동 2003호 (잠원동)

첸샤오창

서울특별시 서대문구 이화여대길 52, 나노바이오기술연구소 (대현동, 이화여자대학교)

이경미

서울특별시 서대문구 이화여대길 52, 바이오융합과학과 (대현동, 이화여자대학교)

(74) 대리인

특허법인다나

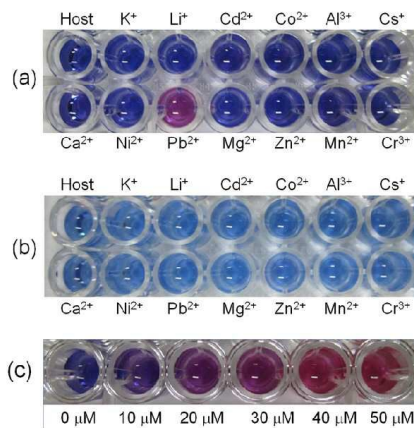
전체 청구항 수 : 총 15 항

(54) 발명의 명칭 **납 이온 선택성을 갖는 폴리아세틸렌 초분자체, 이의 제조방법 및 이를 이용한 납 이온 검출방법**

(57) 요약

본 발명은 폴리아세틸렌 초분자체, 이의 제조방법 및 이를 이용한 납 이온 검출방법에 관한 것으로, N-헥테로고리 헤드 그룹을 갖는 폴리아세틸렌 초분자체는 100% 수용액 하에서 납 이온에 대해 선택적 비색 및 형광 반응을 나타내는 육안으로 납 이온 검출이 가능하다.

대표도 - 도5



이 발명을 지원한 국가연구개발사업

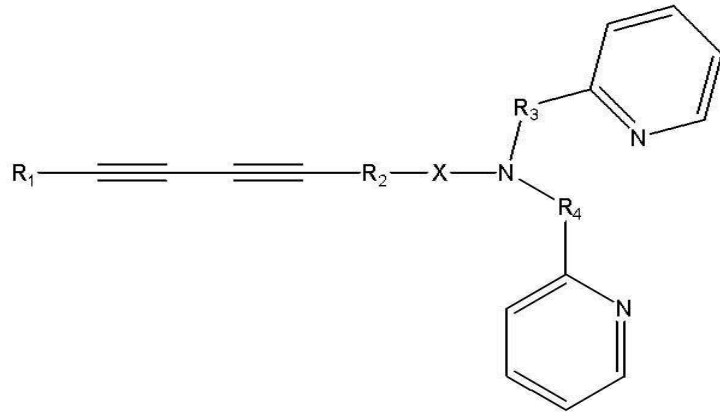
과제고유번호	20100018895
부처명	교육과학기술부
연구사업명	국가지정연구실사업
연구과제명	바이오물질에 선택적인 지능형 형광센서 개발
주관기관	이화여자대학교 산학협력단
연구기간	2007.07.01 ~ 2012.06.30이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호	20100001481
부처명	교육과학기술부
연구사업명	우수연구센터지원사업
연구과제명	지능형 나노바이오소재 연구센터(바이오센서용 유기하이드리드물질개발)
주관기관	이화여자대학교 산학협력단
연구기간	2008.03.01 ~ 2011.02.28

특허청구의 범위

청구항 1

하기 화학식 1로 표시되는 화합물:

[화학식 1]



상기 식에서,

R_1 는 탄소수 1 내지 30의 알킬기를 나타내고,

R_2 는 탄소수 1 내지 30의 알킬렌기를 나타내며,

R_3 및 R_4 는 각각 독립적으로 탄소수 1 내지 4의 알킬렌기를 나타내고,

X 는 $-NHC(CH_3)CH_2-$ 를 나타낸다.

청구항 2

제1항에 있어서,

R_1 는 탄소수 3 내지 18의 알킬기를 나타내고,

R_2 는 탄소수 3 내지 18의 알킬렌기를 나타내는 화합물.

청구항 3

제1항에 있어서,

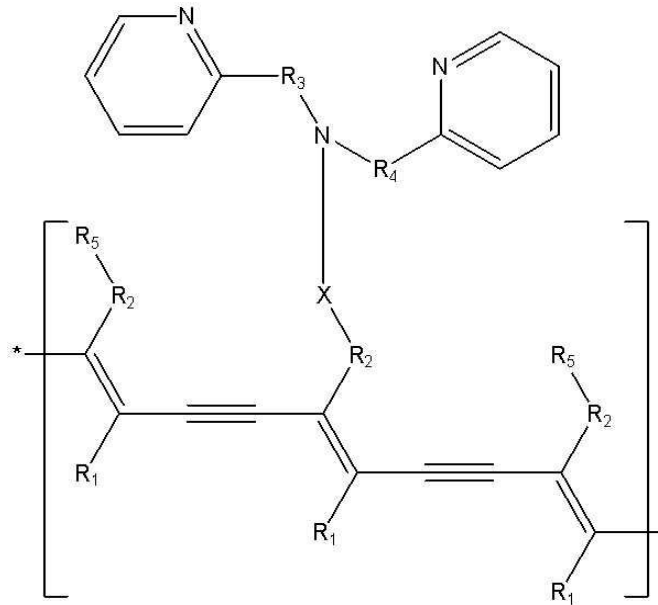
R_1 는 탄소수 6 내지 16의 알킬기를 나타내고,

R_2 는 탄소수 4 내지 10의 알킬렌기를 나타내는 화합물.

청구항 4

구조 내에 하기 화학식 2의 구조를 포함하는 폴리아세틸렌 초분자체:

[화학식 2]



상기 식에서,

R_1 는 탄소수 1 내지 30의 알킬기를 나타내고,

R_2 는 탄소수 1 내지 30의 알킬렌기를 나타내며,

R_3 및 R_4 는 각각 독립적으로 탄소수 1 내지 4의 알킬렌기를 나타내고,

R_5 는 $-COOH$ 를 나타내고,

X 는 $-NHC(CH_2)CH_2-$ 를 나타낸다.

청구항 5

제4항에 있어서,

R_1 는 탄소수 3 내지 18의 알킬기를 나타내고,

R_2 는 탄소수 3 내지 18의 알킬렌기를 나타내는 폴리아세틸렌 초분자체.

청구항 6

제4항에 있어서,

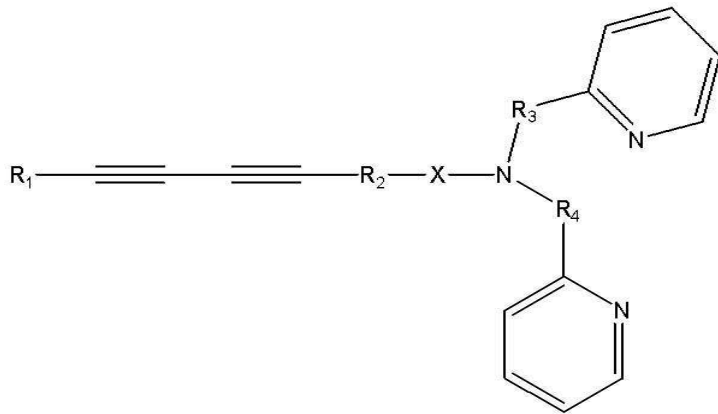
R_1 는 탄소수 6 내지 16의 알킬기를 나타내고,

R_2 는 탄소수 4 내지 10의 알킬렌기를 나타내는 폴리아세틸렌 초분자체.

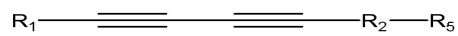
청구항 7

하기 화학식 1의 화합물 및 하기 화학식 3의 화합물을 혼합하여 중합하는 단계를 포함하는 폴리아세틸렌 초분 자체의 제조방법:

[화학식 1]



[화학식 3]



상기 식에서,

R_1 은 탄소수 1 내지 30의 알킬기를 나타내고,

R_2 는 탄소수 1 내지 30의 알킬렌기를 나타내며,

R_3 및 R_4 는 각각 독립적으로 탄소수 1 내지 4의 알킬렌기를 나타내고,

R_5 는 $-COOH$ 를 나타내고,

X 는 $-NHC(CH_2)CH_2-$ 를 나타낸다.

청구항 8

제7항에 있어서,

R_1 은 탄소수 3 내지 18의 알킬기를 나타내고,

R_2 는 탄소수 3 내지 18의 알킬렌기를 나타내는 폴리아세틸렌 초분자체의 제조방법.

청구항 9

제7항에 있어서,

R_1 은 탄소수 6 내지 16의 알킬기를 나타내고,

R_2 는 탄소수 4 내지 10의 알킬렌기를 나타내는 폴리아세틸렌 초분자체의 제조방법.

청구항 10

제7항에 있어서,

화학식 1의 화합물 및 화학식 3의 화합물은 1:7내지 1:10의 중량 비율로 혼합하는 폴리아세틸렌 초분자체의 제조방법.

청구항 11

제4항 내지 제6항 중 어느 한 항에 따른 폴리아세틸렌 초분자체를 포함하는 납 이온 검출용 센서.

청구항 12

제4항 내지 제6항 중 어느 한 항에 따른 폴리아세틸렌 초분자체를 포함하는 납 이온 검출용 조성물.

청구항 13

제12항에 있어서,

pH 6 내지 8의 완충용액을 더 포함하는 납 이온 검출용 조성물.

청구항 14

제4항 내지 제6항 중 어느 한 항에 따른 폴리아세틸렌 초분자체를 사용하여 납 이온을 검출하는 방법.

청구항 15

제14항에 있어서,

납 이온의 검출은 육안으로 비색 변화를 관찰하거나, 형광 강도 증가를 측정하는 것인 납 이온을 검출하는 방법.

명세서

기술 분야

[0001] 본 발명은 100% 수용액 하에서 납 이온에 대해 선택적 비색 및 형광 반응을 나타내는 N-헤테로고리 헤드 그룹을 갖는 폴리아세틸렌 초분자체, 이의 제조방법 및 이를 이용한 납 이온 검출방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 흡착, 방출 및 산화-환원 특성에 의해 집중적으로 연구되어 온 공액 고분자 기반 센서는 환경 동요에 민감하다. 그들 중, 공액 고분자의 일종인 폴리다이아세틸렌(polydiacetylenes, PDAs)은 몇 가지 양상에서 매우 흥미로운 물질들이다. PDA는 짙은 파란색을 나타내고, 파란색 PDA는 환경 자극 시 붉은색 상으로의 색 이동을 겪을 수 있다. 자극에 의해 생기는 PDA의 명백한 파란색의 붉은색으로의 전이는 다양한 PDA 기반 화학센서의 개발을 이르게 하였다. 그리하여, 생물학적, 화학적 및 환경적으로 중요한 표적 분자, 예를 들어, DNA, 바이러스, 음이온, 금속 이온, 및 계면활성제 등의 비색 검출이 보고되었다.

[0003] 금속 이온 중, 납 이온은 납 노출 특히 아이들에 대한 건강에 해로운 효과로 인해 중요한 표적 중 하나이다. 납 노출은 기억 상실, 과민성, 빈혈, 근육 마비 및 정신지체를 유발할 수 있다. 그러나, 납은 배터리, 가솔린, 색소 등에서 예전부터 사용되고 있어 환경에서 쉽게 부딪힐 수 있다. 1996년, WHO는 음용수 내 최대 납 함량을 10mg/L로 제한하는 가이드라인을 세웠다. 현재 납 검출 방법, 예를 들어, 원자흡광광도법, 유도결합 플라즈마 질량 분석법 및 다른 방법들은 비용과 시간이 소요되는 과정들이어서 납을 검출하는 간단한 방법이 요구되는 실정이다.

[0004] 비록 지난 수십 년간 다양한 금속 이온들에 대한 형광 화학센서들을 개발하고자 하는 주목할만한 노력들이 있어왔으나, 납 이온에 선택적인 형광 화학센서들에 대한 보고들은 상대적으로 적었다. 현재 프로브들은 DNAzyme, 펩타이드, 단백질, 고분자 및 소분자들을 기반으로 한다. 그러나, 대부분의 상기 소분자 기반 프로

브들은 유기용매 또는 유기-물 혼합용매에서 수행되며, DNAzyme 또는 단백질 기반 프로브들은 높은 선택성을 나타내기는 하나 소분자 또는 고분자 기반 센서들에 비해 복잡한 공정을 요구한다.

[0005] 납 선택적 형광 센서들과 비교하여, 납 선택적 비색 센서들은 거의 없고, 특히 수용액에서 수행하는 비색 센서들은 보고된 바 없다.

발명의 내용

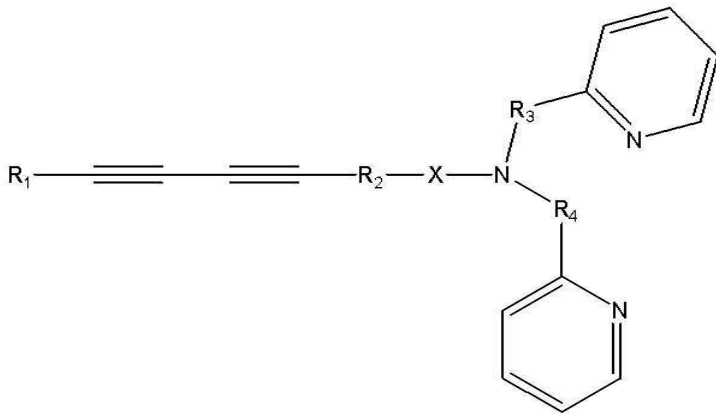
해결하려는 과제

[0006] 본 발명의 목적은 폴리아세틸렌 초분자체를 이용하여 선택적으로 납 이온을 비색 또는 형광 검출할 수 있는 폴리아세틸렌 초분자체, 이의 제조방법 및 이를 이용한 납 이온의 검출방법을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0007] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 하기 화학식 1로 표시되는 화합물을 제공한다:

[0008] [화학식 1]



[0009]

[0010] 상기 식에서,

[0011] R_1 는 탄소수 1 내지 30의 알킬기를 나타내고,

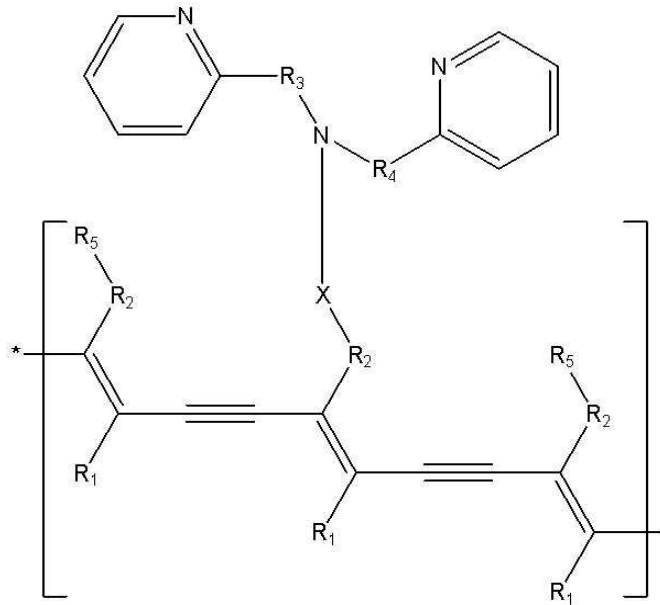
[0012] R_2 는 탄소수 1 내지 30의 알킬렌기를 나타내며,

[0013] R_3 및 R_4 는 각각 독립적으로 탄소수 1 내지 4의 알킬렌기를 나타내고,

[0014] X 는 $-NHC(CH_2)CH_2-$ 를 나타낸다.

[0015] 본 발명은 또한 구조 내에 하기 화학식 2의 구조를 포함하는 폴리아세틸렌 초분자체를 제공한다:

[0016] [화학식 2]



[0017]

[0018] 상기 식에서,

[0019] R₁는 탄소수 1 내지 30의 알킬기를 나타내고,

[0020] R₂는 탄소수 1 내지 30의 알킬렌기를 나타내며,

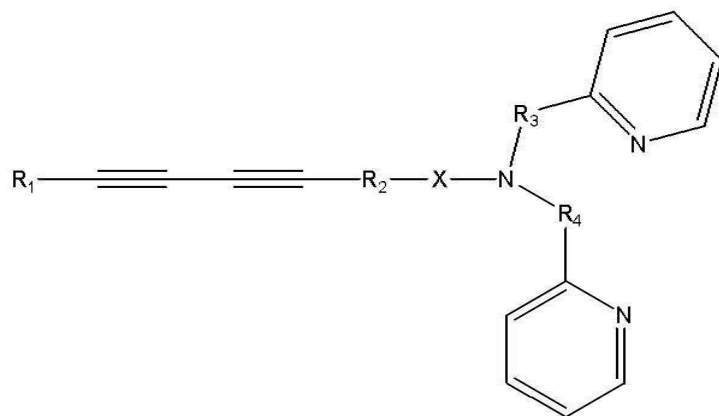
[0021] R₃ 및 R₄는 각각 독립적으로 탄소수 1 내지 4의 알킬렌기를 나타내고,

[0022] R₅는 -COOH 를 나타내고,

[0023] X는 -NHC(CH₂)CH₂- 를 나타낸다.

[0024] 본 발명은 또한 하기 화학식 1의 화합물 및 하기 화학식 3의 화합물을 혼합하여 중합하는 단계를 포함하는 폴리아세틸렌 초분자체의 제조방법을 제공한다:

[0025] [화학식 1]



[0026]

[0027] [화학식 3]

[0028] R₁—≡—≡—R₂—R₅

- [0029] 상기 식에서,
- [0030] R_1 은 탄소수 1 내지 30의 알킬기를 나타내고,
- [0031] R_2 는 탄소수 1 내지 30의 알킬렌기를 나타내며,
- [0032] R_3 및 R_4 는 각각 독립적으로 탄소수 1 내지 4의 알킬렌기를 나타내고,
- [0033] R_5 는 $-COOH$ 를 나타내고,
- [0034] X 는 $-NHC(CH_2)CH_2-$ 를 나타낸다.
- [0035] 본 발명은 또한 본 발명에 따른 폴리아세틸렌 초분자체를 포함하는 납 이온 검출용 센서를 제공한다.
- [0036] 본 발명은 또한 본 발명에 따른 폴리아세틸렌 초분자체를 포함하는 납 이온 검출용 조성물을 제공한다.
- [0037] 본 발명은 또한 본 발명의 폴리아세틸렌 초분자체를 사용하여 납 이온을 검출하는 방법을 제공한다.

발명의 효과

- [0038] 본 발명은 수용액 내에서 폴리아세틸렌 초분자체를 기초로 한 납 이온에 대한 화학센서 시스템을 개발한 것으로, 납 이온이 폴리아세틸렌 초분자체의 백본 구조를 방해하여 중합으로 인해 생성된 알킬 사이드 체인의 변형 에너지의 방출을 유도함으로써 잘 배열된 p-오비탈의 부분 뒤틀림으로 인해 비색 및 형광 변화를 일으키는 납 이온에 대한 선택성을 이용한 것이다.

도면의 간단한 설명

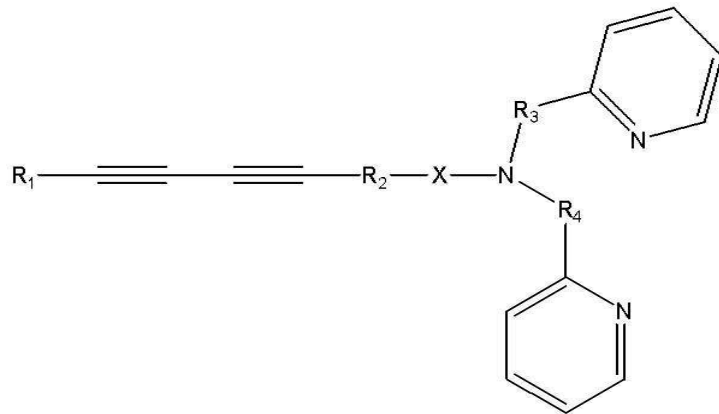
- [0039] 도 1은 $CDCl_3$ 에서 본 발명의 다이아세틸렌 단량체(PCDA-DPA-1)의 ^1H NMR (250 MHz)를 나타낸 것이다.
- 도 2는 $CDCl_3$ 에서 본 발명의 다이아세틸렌 단량체(PCDA-DPA-1)의 ^{13}C NMR (62.5 MHz)를 나타낸 것이다.
- 도 3은 25℃에서 HEPES (10 mM, pH 7.4)에서 UV 조사 전 본 발명의 다이아세틸렌 베지클 용액의 평균 크기 분포를 나타낸 것이다.
- 도 4는 25℃에서 HEPES (10 mM, pH 7.4)에서 UV 조사 후 본 발명의 폴리아세틸렌 베지클 용액의 평균 크기 분포를 나타낸 것이다.
- 도 5는 HEPES (10 mM, pH 7.4)에서 다양한 금속 양이온들 존재 하에서 본 발명의 폴리아세틸렌 초분자체(PCDA-DPA-1:PCDA-Acid=1:9)(a) 및 다이아세틸렌 단량체(PCDA-Acid) 유래의 폴리아세틸렌 초분자체(200 μ M)(b)의 비색 반응과, HEPES (10 mM, pH 7.4)에서 Pb^{2+} 의 농도 별 본 발명의 폴리아세틸렌 초분자체(PCDA-DPA-1:PCDA-Acid=1:9)(200 μ M)의 비색반응을 나타낸 것이다(c).
- 도 6은 HEPES (10 mM, pH 7.4)에서 납 이온의 농도 별 본 발명의 폴리아세틸렌 초분자체(PCDA-DPA-1:PCDA-Acid=1:9)(50 μ M)의 흡광 분광 모니터링 결과(a)와, HEPES (10 mM, pH 7.4)에서 납 이온과 본 발명의 폴리아세틸렌 초분자체(PCDA-DPA-1:PCDA-Acid=1:9)(50 μ M)의 형광 적정 결과를 나타낸 것이다(b)(여기과장: 530 nm, 슬릿: 5 nm/5 nm).
- 도 7은 HEPES (10 mM, pH 7.4) 완충용액에서 납 이온의 농도 별 본 발명의 폴리아세틸렌 초분자체(PCDA-DPA-1:PCDA-Acid=1:9)(50 μ M)의 정량 비색 반응을 나타낸 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0040] 이하 본 발명의 구성을 구체적으로 설명한다.

[0041] 본 발명은 하기 화학식 1로 표시되는 화합물에 관한 것이다:

[0042] [화학식 1]



[0043] 상기 식에서,

[0045] R₁는 탄소수 1 내지 30의 알킬기를 나타내고,

[0046] R₂는 탄소수 1 내지 30의 알킬렌기를 나타내며,

[0047] R₃ 및 R₄는 각각 독립적으로 탄소수 1 내지 4의 알킬렌기를 나타내고,

[0048] X는 -NHC(CH₂)CH₂- 를 나타낸다.

[0049] 본 발명의 화합물의 치환체 정의에 사용된 용어는 하기와 같다.

[0050] "알킬"은 다른 기체가 없는 한, 탄소수 1 내지 30의 직쇄 또는 분지쇄 또는 고리형의 포화 탄화수소를 가리킨다. C₁₋₃₀ 알킬기의 예는 메틸, 에틸, 프로필, 부틸, 펜틸, 헥실, 헵틸, 옥틸, 노닐, 데실, 이소프로필, 이소부틸, sec-부틸 및 tert-부틸, 이소펜틸, 네오펜틸, 이소헥실, 이소헵틸, 이소옥틸, 이소노닐 및 이소데실이 포함되나, 이들에 제한되지 않는다. 또한 상기 알킬은 "시클로알킬"을 포함한다. 상기 시클로알킬은 다른 기체가 없는 한, 탄소수 3 내지 12의 비방향족, 포화 탄화 수소환으로서 단일환 및 융합환을 포함한다. C₃₋₁₂ 시클로알킬의 대표적 예는 시클로프로필, 시클로부틸, 시클로펜틸, 시클로헥실, 시클로헵틸 및 시클로옥틸이 포함되나, 이들에 제한되지 않는다.

[0051] "알킬렌"은 상기 알킬로부터 유도된 2가의 유기로서, 바람직한 탄소수의 범위는 상기 알킬과 동일하다.

[0052] 상기 화학식 1의 화합물은 구체적으로는, 상기 R₁는 탄소수 3 내지 18의 알킬기를 나타내고,

[0053] R₂는 탄소수 3 내지 18의 알킬렌기를 나타낼 수 있다.

[0054] 가장 구체적으로는, 화학식 1의 화합물은 상기 R₁는 탄소수 6 내지 16의 알킬기를 나타내고,

[0055] R₂는 탄소수 4 내지 10의 알킬렌기를 나타낼 수 있다.

[0056] 본 발명의 화학식 1의 화합물은 다이-(2-피코일) 아민 유도체가 다이아세틸렌과 결합하여 헤드 그룹을 형성하며 자기 조립이 가능하여 100% 수용액 상에서 간단하게 고분자가 제조될 수 있는 특징이 있다.

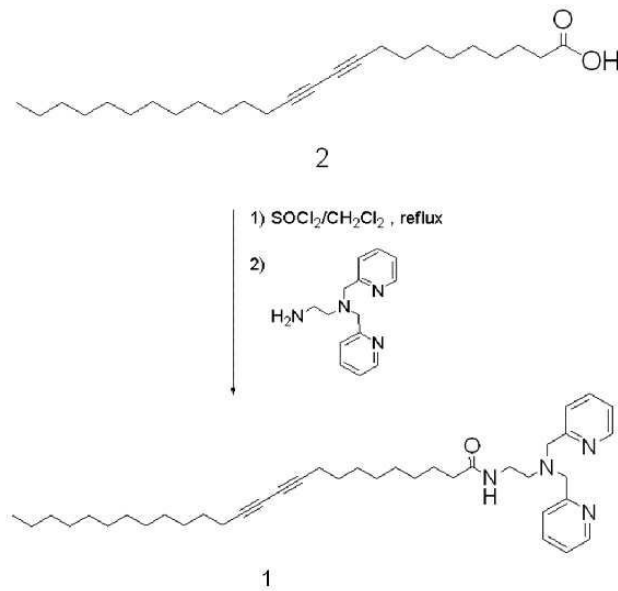
[0057] 상기 화학식 1의 화합물의 자기 조립에 의한 리포솜의 직경은 80 내지 500 nm, 보다 구체적으로는 90 내지 250 nm정도 일 수 있다.

[0058] 상기 화학식 1의 화합물은 다이아세틸렌과 다이-(2-피코일) 아민 유도체의 아민기를 반응시켜 제조할 수 있다.

[0059] 상기 다이아세틸렌은 다이-(2-피코일) 아민 유도체의 아민기와 반응할 수 있는 작용기를 갖는 다이아세틸렌이라면 특별히 제한하지는 않으며 예를 들어, 10, 12-펜타코사다이노산 (pentacosadiynoic acid), 5, 7-에이코사다이노산 (eicosadiynoic acid), 2, 4-헵타코사다이노산 (heptacosadiynoic acid) 또는 이들의 혼합물을 사용할 수 있다. 상기 다이-(2-피코일) 아민 유도체로 (2-아미노에틸)비스(2-피리딜메틸)아민 사용할 수 있으나, 이에 특별히 제한하는 것은 아니다.

[0060] 본 발명의 일 구체예에 따른 화학식 1의 다이아세틸렌 단량체의 제조방법은 하기 반응식 1에 따라 제조될 수 있다:

[0061] [반응식 1]

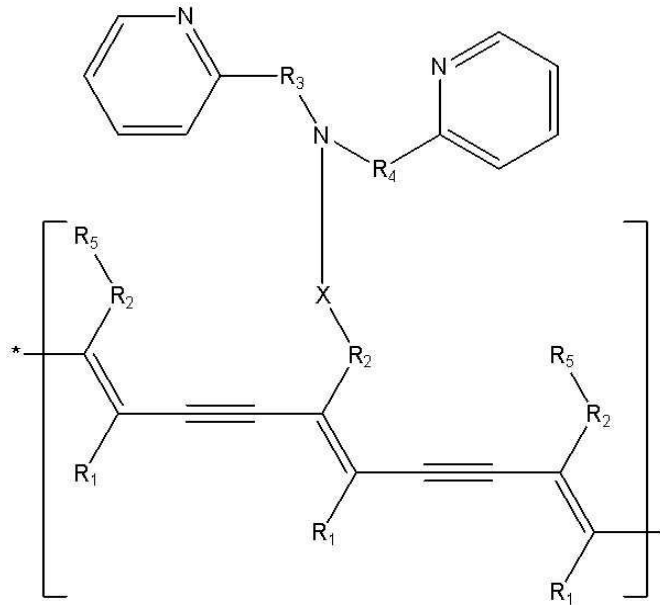


[0062]

[0063] 상기 반응식 1에 따르면, 메틸렌 클로라이드/티오닐 클로라이드 용매에 녹인 다이아세틸렌 용액을 환류시킨 후, 다이-(2-피코일) 아민 유도체와 반응시켜 화학식 1의 다이아세틸렌 단량체를 합성한다.

[0064] 또한, 상기 화학식 1의 화합물을 이용한 중합 과정을 통해 구조 내에 하기 화학식 2의 구조를 포함하는 폴리 아세틸렌 초분자체를 형성할 수 있다:

[0065] [화학식 2]



[0067] 상기 식에서,

[0068] R₁는 탄소수 1 내지 30의 알킬기를 나타내고,

[0069] R₂는 탄소수 1 내지 30의 알킬렌기를 나타내며,

[0070] R₃ 및 R₄는 각각 독립적으로 탄소수 1 내지 4의 알킬렌기를 나타내고,

[0071] R₅는 -COOH 를 나타내고,

[0072] X는 $\text{-NHC(CH}_2\text{)CH}_2\text{-}$ 를 나타낸다.

[0073] 상기 폴리아세틸렌 초분자체는 구체적으로는, R₁는 탄소수 3 내지 18의 알킬기를 나타내고,

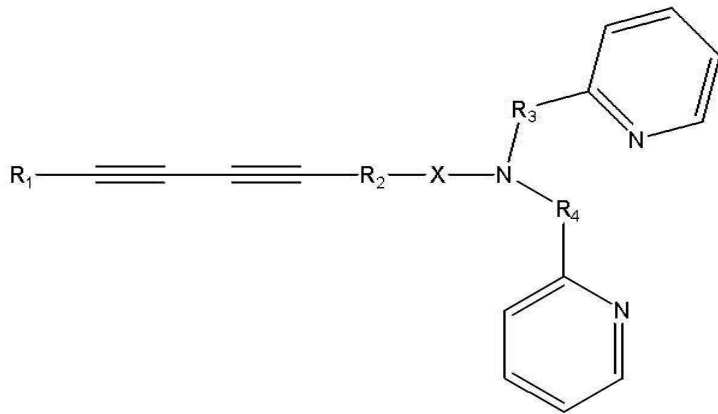
[0074] R₂는 탄소수 3 내지 18의 알킬렌기를 나타낼 수 있다.

[0075] 가장 구체적으로는, 상기 폴리아세틸렌 초분자체는 R₁는 탄소수 6 내지 16의 알킬기를 나타내고,

[0076] R₂는 탄소수 4 내지 10의 알킬렌기를 나타낼 수 있다.

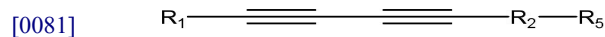
[0077] 상기 폴리아세틸렌 초분자체의 제조방법은 구체적으로 하기 화학식 1의 화합물 및 하기 화학식 3의 화합물의 혼합 용액을 중합시켜 제조할 수 있다:

[0078] [화학식 1]



[0079]

[0080] [화학식 3]



[0082] 상기 식에서,

[0083] R_1 은 탄소수 1 내지 30의 알킬기를 나타내고,

[0084] R_2 는 탄소수 1 내지 30의 알킬렌기를 나타내며,

[0085] R_3 및 R_4 는 각각 독립적으로 탄소수 1 내지 4의 알킬렌기를 나타내고,

[0086] R_5 는 $-\text{COOH}$ 를 나타내고,

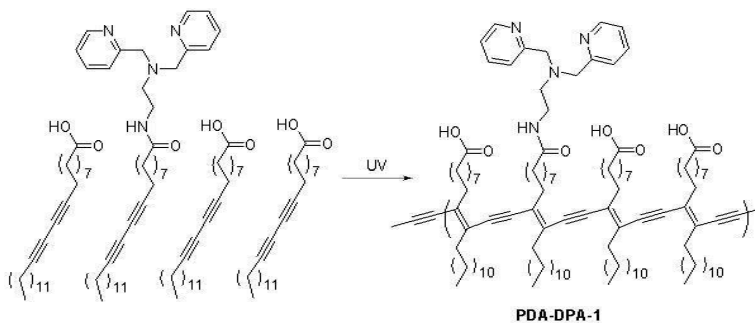
[0087] X 는 $-\text{NHC}(\text{CH}_2)\text{CH}_2-$ 를 나타낸다.

[0088] 상기 화학식 1의 화합물 및 화학식 3의 화합물은 1:7 내지 1: 10의 중량 비율로 혼합하는 것이 좋다. 상기 범위내일 경우 상온에서 안정하며, 상기 범위를 벗어날 경우 고분자가 광중합 이후에 자체적으로 색이 변할 수 있기 때문이다.

[0089] 상기 중합은 통상의 고분자 중합 과정을 거쳐 실시할 수 있어 특별히 제한하지는 않으며, 예를 들어, 254 nm UV 선을 조사하여 광 중합을 실시할 수 있다.

[0090] 본 발명의 일 구체예에 따른 폴리아세틸렌 초분자체의 제조방법은 하기 반응식 2에 따라 제조될 수 있다:

[0091] [반응식 2]



[0092]

[0093] 상기 폴리아세틸렌 초분자체는 다이아세틸렌 중합 동안 리포솜의 크기가 수축되어 직경이 50 내지 300 nm, 보다 구체적으로는 55 내지 90 nm일 수 있다.

- [0094] 본 발명은 또한 본 발명의 폴리아세틸렌 초분자체를 포함하는 납 이온 검출용 센서에 관한 것이다.
- [0095] 상기 폴리아세틸렌 초분자체는 파란색을 띠지만 납 이온이 폴리아세틸렌 고분자의 백본을 방해할 수 있어 중합 동안 생성된 알킬 사이드 체인 상에 부과된 변형 에너지의 방출을 유발한다. 사이드 체인의 변형 에너지의 방출은 잘 배열된 p-오비탈의 부분 뒤틀림을 유발하여 폴리아세틸렌 초분자체의 색전이를 유도함으로써 붉은색으로 변하게 된다. 이러한 색전이는 육안으로 관찰 가능할 뿐만 아니라 좁은 영역 내에서의 반응에 대한 변화는 광학현미경 등을 통해 확인할 수 있다. 또한, 붉은색으로의 변화는 형광으로도 검출이 가능하다. 이러한 색전이는 납 이온 농도 의존적인 경향을 나타낸다. 이러한 색전이의 정도를 수치화하면 납 이온의 농도도 계산할 수 있다.
- [0096] 본 발명의 일 구체예에 따르면, 납 이온 하에서 상기 폴리아세틸렌 초분자체는 파란색의 붉은색으로의 색전이를 나타내어 620 nm에서 흡광도는 감소하고 540 nm에서의 흡광도가 증가한다. 또한, 납 이온 하에서 형광 강도 역시 증가한다.
- [0097] 본 발명의 일 구체예에 따르면, 상기 폴리아세틸렌 초분자체는 Ca^{2+} , Co^{2+} , Cu^{2+} , Hg^{2+} , Mg^{2+} , Mn^{2+} , Ni^{2+} , Zn^{2+} 등의 다양한 금속 이온들에 대해서는 색전이를 나타내지 않으나, 납 이온과 반응시키면 농도 의존적으로 붉은색으로의 색전이를 나타내고, 형광 강도의 증가를 나타낸다.
- [0098] 따라서, 본 발명의 폴리아세틸렌 초분자체는 100% 수용액 하에서 납 이온을 선택적으로 검출할 수 있는 비색 또는 형광 센서로 사용할 수 있다.
- [0099] 본 발명의 납 이온 검출용 센서는 납 이온을 검출하고자 하는 시료용액과 혼합하여 납 이온의 유무 및 농도를 확인할 수 있는 통상의 키트로 제공될 수 있다.
- [0100] 본 발명은 또한 본 발명에 따른 폴리아세틸렌 초분자체를 포함하는 납 이온 검출용 조성물에 관한 것이다.
- [0101] 본 발명의 납 이온 검출용 조성물은 본 발명의 폴리아세틸렌 초분자체 외에 완충용액을 포함할 수 있다. 완충용액의 종류 및 농도는 특별히 제한되지 아니하나, 상기 납 이온 검출용 조성물의 적용 용도에 따라 적절히 변경할 수 있을 것이다. 보다 구체적으로는, pH 6 내지 10의 완충용액일 수 있다. 가장 구체적으로는, HEPES 완충용액을 사용할 수 있다.
- [0102] 본 발명은 또한 본 발명에 따른 폴리아세틸렌 초분자체를 사용하여 납 이온을 검출하는 방법에 관한 것이다.
- [0103] 본 발명에 따른 폴리아세틸렌 초분자체는 수용액 내에서 파란색을 띠나 납 이온을 첨가할 경우 선택적으로 붉은색으로 변화하므로 육안으로 비색 변화를 관찰하거나, 형광 강도 증가를 측정하여 납 이온을 검출할 수 있다.
- [0104] 또한, 납 이온의 검출은 100% 수용액 하에서 실시되므로 환경에서, 세포내 납 성분의 측정 등을 검출하는데 쉽게 적용할 수 있다.
- [0105] 이하, 본 발명에 따르는 실시예 통하여 본 발명을 보다 상세히 설명하나, 본 발명의 범위가 하기 제시된 실시예에 의해 제한되는 것은 아니다.
- [0106] <실시예 1> 다이아세틸렌 단량체의 제조
- [0107] 다이아세틸렌 단량체를 제조하기 위한 출발물질로 10,12-펜타코사다이노산(10,12-pentacosadiynoic acid)와 (2-아미노에틸)비스(2-피리딜메틸)아민 ((2-aminoethyl)bis(2-pyridylmethyl)amine)을 사용하였다(반응식 1 참조).
- [0108] 실온에서 10mL의 메틸렌 클로라이드에 녹인 0.50092 g (1.34 mmol)의 10,12-펜타코사다이노산(10,12-pentacosadiynoic acid) 용액에 1 mL (13.7 mmol)의 티오닐 클로라이드(thionyl chloride)를 한 방울씩 부가하였다. 혼합 용액을 4시간 동안 환류시키고, 진공 하에서 용매를 증발시킨 후, 잔류물은 10 mL의 메틸렌 클

로라이드에서 재용해시켰다. 상기 용액을 10mL의 메틸렌 클로라이드에 녹인 390 mg (1.61 mmol)의 (2-아미노에틸)비스(2-피리딜메틸)아민 ((2-aminoethyl)bis(2-pyridylmethyl)amine) 용액에 한 방울씩 부가하고, 혼합 용액을 실온에서 오버나이트 동안 교반하였다. 진공 하에서 용매를 제거하고, 잔류물은 알루미늄 컬럼 크로마토그래피(230-400 mesh ASTM; Merck, CH₂Cl₂/CH₃OH 100:1) 에서 정제하여, 410 mg (51%)의 N-(2-(bis(pyridin-2-ylmethyl)amino)ethyl)pentacos-10,12 diynamide (PCDA-DPA-1)을 수득하였다. Thin layer chromatography (TLC)는 두께가 1mm인 Merck 60 F₂₅₄ 플레이트를 사용하여 실시하였다. ¹H NMR 및 ¹³C NMR 스펙트럼은 Bruker 250 or Varian 500에서 기록하였다. 질량 스펙트럼은 JMS-HX 110A/110A Tandem Mass Spectrometer(JEOL)에서 얻었다. 다이아세틸렌 단량체의 분광 데이터는 다음과 같다(도 1 및 2 참조):

[0109] PCDA-DPA-1 : ¹H NMR (250 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 0.78-0.83 (t, J= 6.3 Hz, 3H), 1.18-1.58 (m, 32H), 1.93 (s, 1H) , 2.12-2.19 (m, 6H), 2.65-2.69 (t, J= 5.8 Hz, 2H), 3.24-3.31 (m, 2H), 3.81 (s, 4H), 7.10-7.11 (m, 2H), 7.25-7.28 (d, J= 7.9 Hz, 2H), 7.52-7.56(td, J= 7.7 Hz, J=1.8 Hz, 2H), 8.47-8.85 (dq, J= 4.9 Hz, J= 0.8 Hz, 2H);

[0110] ¹³C NMR (250 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 173.10, 159.18, 149.14, 136.51, 123.19, 122.20, 65.26, 65.18, 59.89, 52.43, 37.41, 36.92, 31.91, 29.63, 29.61, 29.48, 29.42, 29.35, 29.28, 29.10, 28.86, 28.81, 28.34, 28.31, 22.69, 19.20, 14.14;

[0111] HRMS (FAB) m/z 598.4673 (C₃₉H₅₈N₄O requires 598. 4778).

[0112] <실시예 2> 다이아세틸렌의 조립 및 광중합

[0113] 2-넥 라운드 바텀 플라스크에서 상기 실시예 1의 PCDA-DPA-1 및 PCDA-Acid(10,12-pentacosadiynoic acid)를 1:9의 중량 비율로 포함하는 혼합 용액을 20 mL의 메틸렌 클로라이드에 용해시켰다. 질소 가스 하에서 상기 용매를 완전히 증발시키고, 1mM 지질 용액이 되도록 완충된 수용액(HEPES, 10 mM pH7.4)을 부가하였다. 상기 용액은 80℃에서 40분 동안 초음파처리하고, 시린지 필터를 통해 지질 응집체들을 제거한 후, 0℃에서 오버나이트 동안 냉각 및 저장하였다. 실온에서 다이아세틸렌 단량체에 254 nm UV 선을 조사(1 mW cm⁻²)하여 중합한 결과, 파란색을 띠는 폴리아세틸렌 초분자체가 형성되었다(반응식 2 참조).

[0114] <실험예 1> 입자 크기 측정 및 SEM 이미지 연구

[0115] 25℃에서 HEPES (10 mM, pH 7.4)에서 리포솜 용액 응집체들의 외견상의 크기는 동적 광 산란(dynamic light scattering) 장치(ALV 5000-60x0, Zetasizer nano ZS, Malvern instrument Ltd. Malvern, UK)에서 연구하였다. 직경 값은 5분 간격으로 3회 측정치들의 평균값이다.

[0116] SEM 이미지는 5.0 또는 10.0 keV에서 작동시킨 전계방출주사전자현미경(JMS-6700F, JEOL)에서 얻었다.

[0117] 도 3 및 4에 나타난 바와 같이, UV 선을 조사하기 전, 리포솜 입자는 90 nm의 평균 크기를 갖고 있다(도 3). 254 nm UV 선을 조사하는 동안 베지클 크기는 60 nm까지 수축하였다(도 4).

[0118] <제조예 1> 금속 이온 용액의 제조

[0119] 증류수에서 금속 염의 스톡 용액(1mM)을 제조하였다. 또한, 리포솜의 스톡 용액(1mM)은 HEPES (10 mM, pH 7.4)에서 제조하였다. 비색 반응을 위해 Pb²⁺, Ca²⁺, Ni²⁺, Cd²⁺, Mg²⁺, Zn²⁺, Hg²⁺의 염화염 및 K⁺, Li⁺, Ag⁺, Cs⁺, Al³⁺, Cr³⁺ 및 Cu²⁺의 과염소산염을 사용하였다. UV 및 형광 스펙트럼을 조사하기 전에, 금속 염이 부가된 용액은 5분 동안 평형화시켰다.

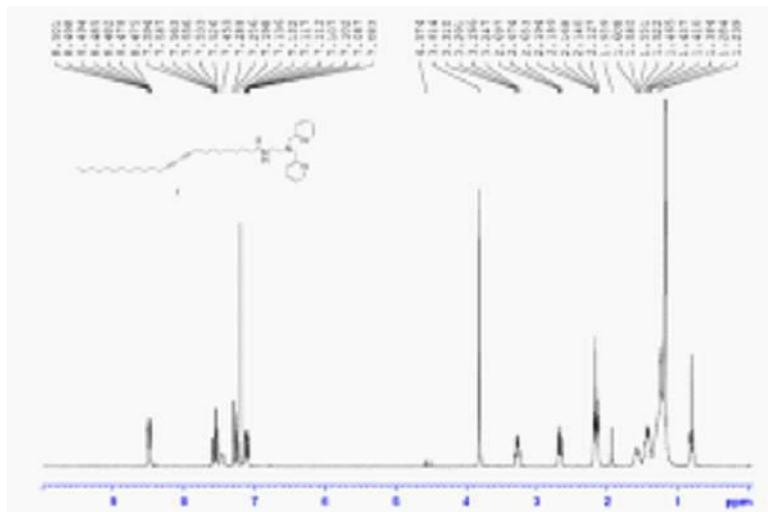
[0120] <실험예 2> 금속 이온들에 대한 비색 반응 조사

- [0121] PDA 현탁액을 제조한 후, 금속 이온들의 비색 반응을 조사하였다. 750 μL 의 리포솜(200 μM)을 실험관에 정치하여 50 μM 의 스톱 용액을 제조하고, 2250 μL 의 10 mM HEPES (pH 7.4)로 상기 용액을 희석하였다. UV 적정은 HEPES (10 mM, pH 7.4)에서 PDA-DPA의 50 μM 용액을 이용하여 수행하였다. 파란색에서 붉은색으로의 PDA-DPA의 색 변화는 하기 식에 따라 비색 반응(colorimetric response, CR)을 계산하였다:
- [0122]
$$\text{CR} = [(\text{PB}_0 - \text{PB}_1)/\text{PB}_0] \times 100$$
- [0123] 여기서, $\text{PB} = A_{\text{blue}}/(A_{\text{blue}} + A_{\text{red}})$ 이고, A는 UV-vis 스펙트럼에서 파란색 성분 또는 붉은색 성분에서의 흡광도이다. PB_0 및 PB_1 은 각각 노출 전 및 후의 값을 나타낸다. UV 흡광 스펙트럼은 UVIKON 933 Double Beam UV/VIS Spectrometer에서 얻었다.
- [0124] 도 5a에 나타난 바와 같이, 다양한 금속 양이온들, 예를 들어, Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Cd^{2+} , Co^{2+} , Cu^{2+} , Hg^{2+} , Mg^{2+} , Ni^{2+} , Pb^{2+} 및 Zn^{2+} 를 포함하는 HEPES (10 mM, pH 7.4)에서 PDA-DPA-1(200 μM)는 납 이온에 대해서만 파란색에서 붉은색으로의 전이를 선택적이고 명확하게 나타냈다.
- [0125] 대조군 실험을 위해 PCDA-Acid만을 이용한 폴리아세틸렌 초분자체를 제조하였다. PCDA-Acid 유래 초분자체는 금속 이온들에 대해 어떠한 유의적인 변화들을 나타내지 않아(도 5b), 명확한 비색 전이를 유발하기 위해서는 실시예 1에서 제조된 PCDA-DPA-1 단량체가 필요함을 입증하였다.
- [0126] 도 5c는 HEPES (10 mM, pH 7.4)에서 다양한 함량의 납 이온 하에서 고분자 PDA-DPA-1 (100 μM)의 농도 의존적 비색 변화를 나타낸 것으로, 납 이온의 존재는 육안으로 모니터링할 수 있음을 알 수 있었다.
- [0127] 납에 의한 PDA의 상 전이는 또한 흡광 분광 광도법에 의해 추가로 모니터링 하였다.
- [0128] 도 6a에 나타난 바와 같이, Pb^{2+} 를 부가하면 620 nm에서 흡광도가 감소하며, 동시에 540 nm에서 흡광도의 증가가 일어나는데, 이는 본 발명의 시스템이 PDA 센서의 전형적인 파란색의 붉은색으로의 전이를 나타냄을 입증하는 것이다.
- [0129] 도 7은 도 6a에서 이들 납 이온에 대해 기록된 흡광 스펙트럼으로부터 납 이온에 대해 계산된 비색 반응 값의 대표 비율(CR %)을 나타낸 것으로, CR은 비색 고분자에 실험 분석물질을 부가한 후 흡광 스펙트럼에서의 변화를 반영하는 파라미터이다.
- [0130] 0 내지 11 μM 의 범위 내에서 CR 값과 납 이온의 온도 간에 직선 관계가 관찰되었다.
- [0131] <실험예 3> 형광 스펙트럼 조사
- [0132] PDA의 파란색의 붉은색으로의 전이는 형광의 발생을 동반하기 때문에, 형광 스펙트럼을 통해 납에 의한 전이를 모니터링 하였다.
- [0133] PDAs(50 μM)의 스톱 용액은 750 μL 의 초분자체(200 μM) 및 2250 μL 의 HEPES 완충용액(10 mM, pH 7.4)을 혼합하여 제조하였다. 여기 및 방출 슬릿 너비는 둘 다 5 nm/5 nm였다. 형광 스펙트럼은 분석물질을 부가한 후 5분 동안 측정하였다. 형광 방출 스펙트럼은 RF-5301/PC Spectrofluorophotometer (Shimadzu)에서 얻었다.
- [0134] 도 6b에 나타난 바와 같이, 중합된PDA-DPA-1(50 μM)는 납 이온에 의해 큰 형광 증가를 생성하였다. PDA의 형광 스펙트럼은 0 내지 9 μM 의 Pb^{2+} 에서 점차적인 증가를 나타냈다. 50 μM 의 파란색의 PDA를 이용하여 납 이온의 함량 별로 방출 변화를 모니터링한 결과, 검출 한계는 0.8 ppm인 것으로 평가되었다. 이때 시그널 노이즈는 3dB였다.
- [0135] PDA-DPA-1의 납 이온 선택성은 DPA 유닛과 인접한 PCDA-Acid 모이어티의 카르복실산 카르보닐기와 납 이온의 상호작용때문일 수 있다. 납 이온의 부가는 PDA 고분자의 백본을 방해할 수 있어 중합 동안 생성된 알킬 사이드 체인 상에 부과된 변형 에너지의 방출을 유발한다. 사이드 체인의 변형 에너지의 방출은 잘 배열된 p-오비탈의 부분 뒤틀림을 유발하여 광학적 특징들에서의 관찰된 변화를 유도할 수 있다.
- [0136] 상술한 바와 같이, 수용액에서 납 이온을 검출할 수 있는 새로운 PDA 기반 화학 센서 시스템은 형광 증가뿐만 아니라 파란색의 붉은색으로의 선택적 비색 변화를 나타내어 납 이온의 존재를 육안으로 쉽게 검출할 수

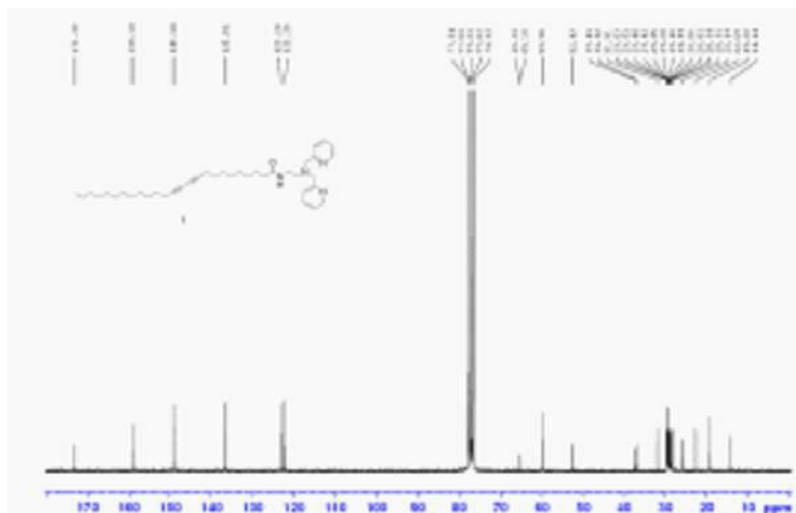
있다.

도면

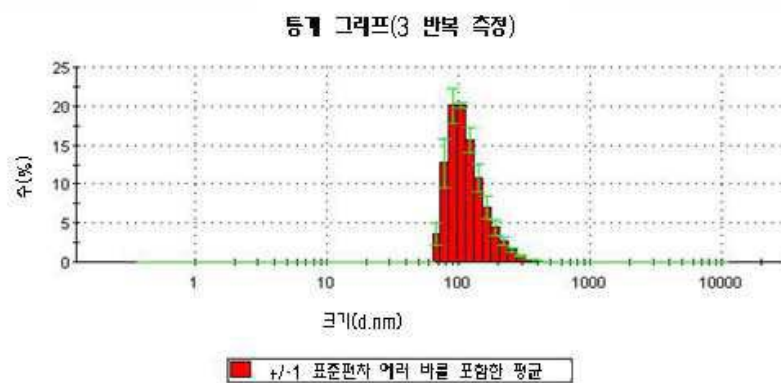
도면1



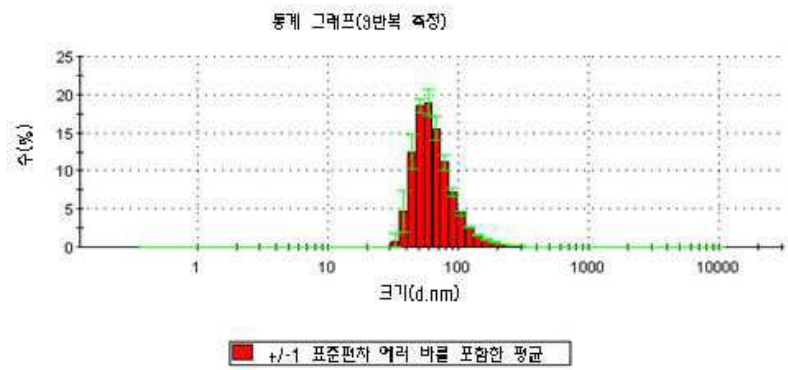
도면2



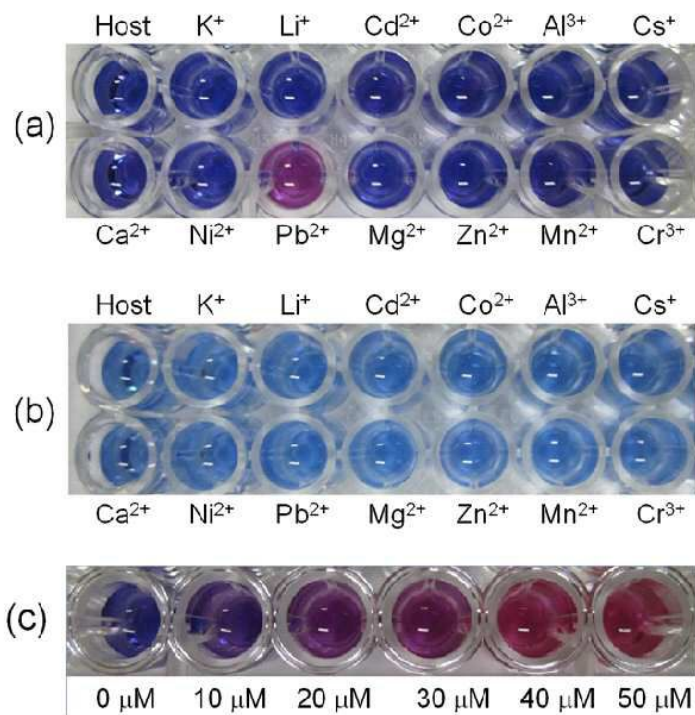
도면3



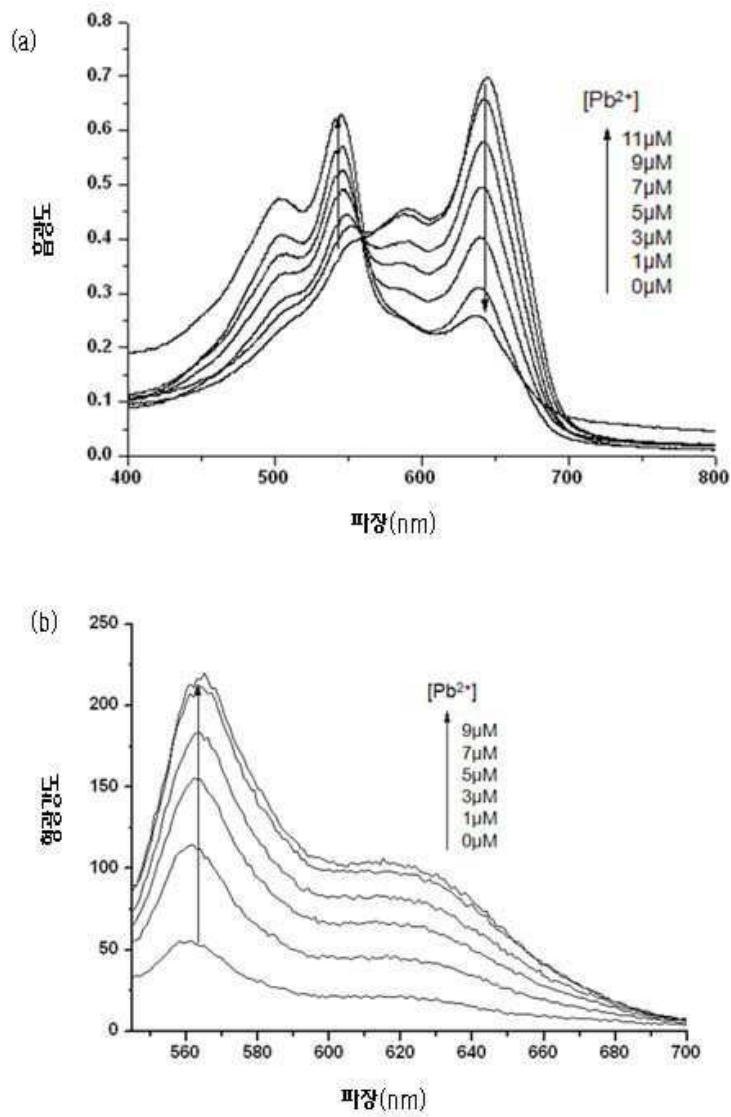
도면4



도면5



도면6



도면7

