



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2017년03월28일  
(11) 등록번호 10-1720623  
(24) 등록일자 2017년03월22일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
C07K 19/00 (2006.01) C07D 233/56 (2006.01)  
C07D 271/12 (2006.01) C07D 285/14 (2006.01)  
C07K 5/06 (2006.01) G01N 31/22 (2006.01)  
(52) CPC특허분류  
C07K 19/00 (2013.01)  
C07D 233/56 (2013.01)  
(21) 출원번호 10-2016-0019101  
(22) 출원일자 2016년02월18일  
심사청구일자 2016년02월18일  
(56) 선행기술조사문헌  
KR1020090093684 A\*  
WO2012022932 A1\*  
\*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자  
인하대학교 산학협력단  
인천광역시 남구 인하로 100, 인하대학교 (용현동)  
(72) 발명자  
이건형  
서울특별시 양천구 목동서로 38 (목동, 목동1단지 아파트) 130-1104  
(74) 대리인  
이원희

전체 청구항 수 : 총 8 항

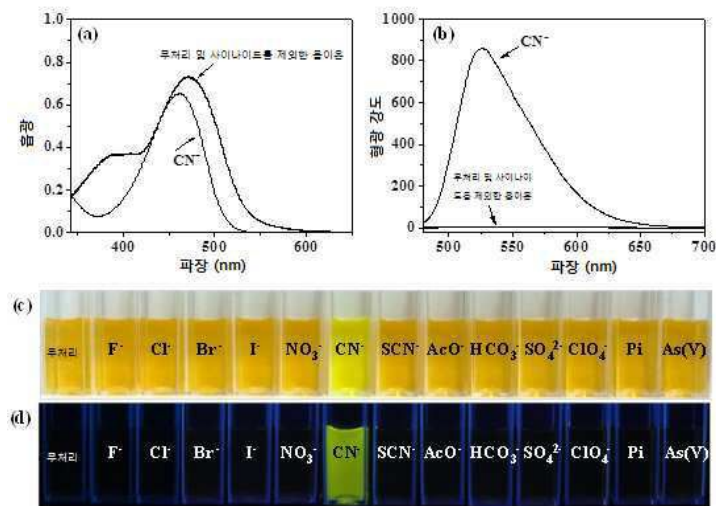
심사관 : 김정아

(54) 발명의 명칭 사이나이드 검출용 화합물, 이의 착화합물 및 이를 함유하는 사이나이드 검출용 조성물

(57) 요약

본 발명은 사이나이드 검출용 화합물, 이의 착화합물 및 이를 함유하는 사이나이드 검출용 조성물에 관한 것으로, 본 발명의 착화합물을 함유하는 사이나이드 조성물은 보조 유기용매 없이 100% 수용액에 용해될 수 있고, 선택적으로 사이나이드만을 검출할 수 있으며, 사이나이드를 WHO 최대 음용수 사이나이드 기준치 1.9  $\mu\text{M}$  이하의 감도로 사이나이드를 검출할 수 있고, 검출시 사이나이드 농도 증가에 따른 비색변화와 형광변화를 동시에 사용하여 사이나이드를 우수하게 검출할 수 있어 음용수와 같은 고도물처리가 필요한 분야에서 사이나이드 검출용 조성물로 유용하게 사용될 수 있다.

대표도 - 도12



(52) CPC특허분류

*C07D 271/12* (2013.01)

*C07D 285/14* (2013.01)

*C07K 5/06* (2013.01)

*G01N 31/22* (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 1485013081

부처명 환경부

연구관리전문기관 한국환경산업기술원

연구사업명 토양지하수오염방지기술개발

연구과제명 바이오 고분자 기반 광학 센서 개발을 통한 중금속 및 유기오염물질 검출 현장측정용 kit  
및 중금속 정화공정 개발

기 여 율 1/1

주관기관 인하대학교 산학협력단

연구기간 2015.04.01 ~ 2016.03.31

공지예외적용 : 있음

---

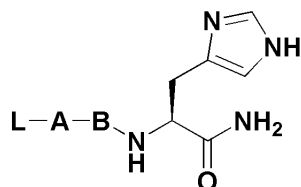
## 명세서

### 청구범위

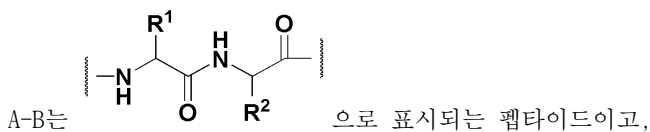
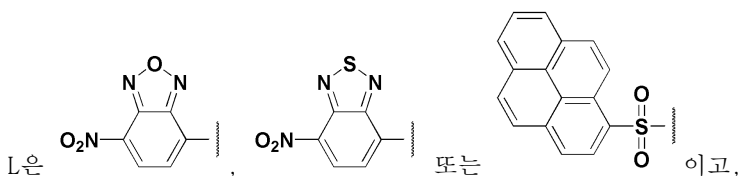
#### 청구항 1

하기 화학식 1로 표시되는 화합물:

[화학식 1]



(상기 화학식 1에서,



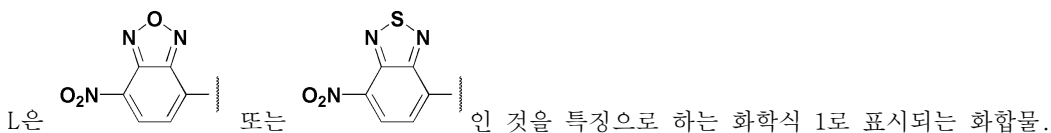
상기  $R^1$  및  $R^2$ 는 독립적으로 글리신, 알라닌, 발린, 루신, 아이소루신, 페닐알라닌, 트립토판, 메티오닌, 시스테인, 프롤린, 세린, 트레오닌, 티로신, 아스파라진, 글루타민, 아스파르산, 글루타민산, 리신, 아르기닌 및 히스티딘으로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나의 아미노산의 결가지이다).

#### 청구항 2

제1항에 있어서,

상기 화학식 1의

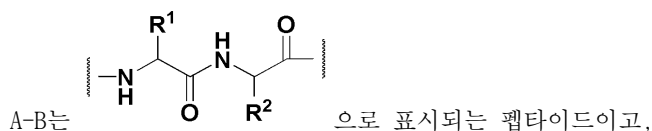
A-B는 제1항의 화학식 1에서 정의된 바와 같고,



#### 청구항 3

제1항에 있어서,

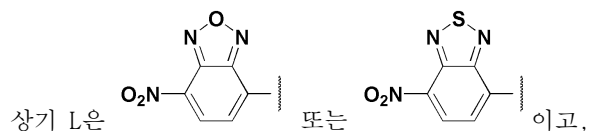
상기 L은 제1항에서 정의한 바와 같고,



상기  $R^1$  및  $R^2$ 는 독립적으로 글리신, 히스티딘, 세린 및 아스파르산으로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나의 아미노산의 결가지인 것을 특징으로 하는 화학식 1로 표시되는 화합물.

#### 청구항 4

제1항에 있어서,



A-B는 글리신-글리신, 세린-세린 또는 아스파르산-아스파르산인 것을 특징으로 하는 화학식 1로 표시되는 화합물.

#### 청구항 5

제1항의 화학식 1로 표시되는 화합물과

$Ag^+$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$ ,  $Co^{2+}$ ,  $Cs^+$ ,  $Cu^{2+}$ ,  $Fe^{2+}$ ,  $Fe^{3+}$ ,  $Hg^{2+}$ ,  $K^+$ ,  $Li^+$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $Mn^{2+}$ ,  $Na^+$ ,  $Ni^{2+}$  및  $Pb^{2+}$ 로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종의 금속이온을 함유하는 착화합물.

#### 청구항 6

제5항에 있어서,

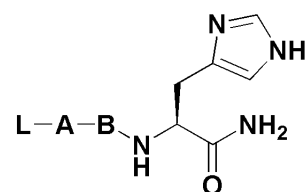
상기 착화합물은 제1항의 화학식 1로 표시되는 화합물과  $Cu^{2+}$ 을 함유하는 것을 특징으로 하는 착화합물.

#### 청구항 7

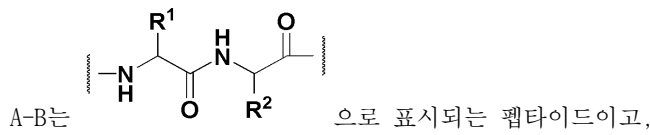
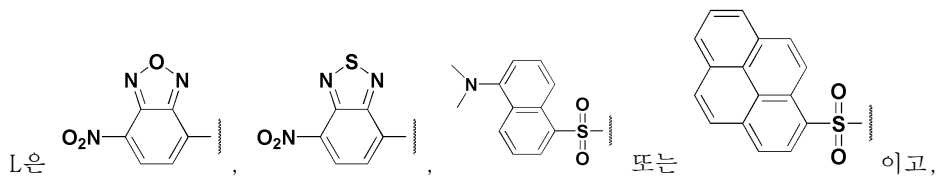
하기 화학식 1로 표시되는 화합물; 및

$Ag^+$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$ ,  $Co^{2+}$ ,  $Cs^+$ ,  $Cu^{2+}$ ,  $Fe^{2+}$ ,  $Fe^{3+}$ ,  $Hg^{2+}$ ,  $K^+$ ,  $Li^+$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $Mn^{2+}$ ,  $Na^+$ ,  $Ni^{2+}$  및  $Pb^{2+}$ 로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종의 금속이온;을 함유하는 착화합물을 함유하는 사이나이드 검출용 조성물:

[화학식 1]



(상기 화학식 1에서,

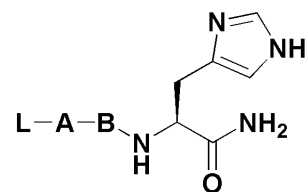


상기  $R^1$  및  $R^2$ 는 독립적으로 글리신, 알라닌, 발린, 루신, 아이소루신, 페닐알라닌, 트립토판, 메티오닌, 시스테인, 프롤린, 세린, 트레오닌, 티로신, 아스파라진, 글루타민, 아스파르산, 글루타민산, 리신, 아르기닌 및 히스티딘으로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나의 아미노산의 곁가지이다).

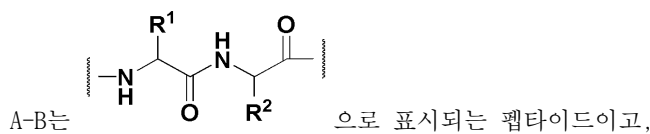
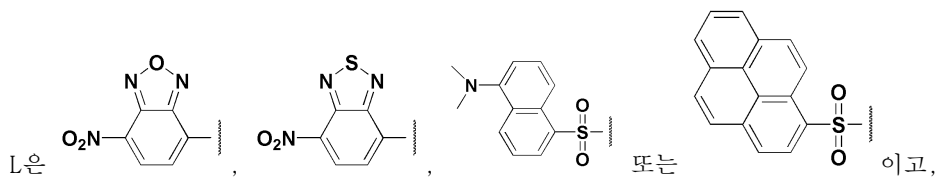
## 청구항 8

하기 화학식 1로 표시되는 화합물을 함유하는 사이나이드 검출용 조성물:

[화학식 1]



(상기 화학식 1에서,



상기  $R^1$  및  $R^2$ 는 독립적으로 글리신, 알라닌, 발린, 루신, 아이소루신, 페닐알라닌, 트립토판, 메티오닌, 시스테인, 프롤린, 세린, 트레오닌, 티로신, 아스파라진, 글루타민, 아스파르산, 글루타민산, 리신, 아르기닌 및 히스티딘으로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나의 아미노산의 곁가지이다).

## 발명의 설명

## 기술 분야

[0001] 본 발명은 사이나이드 검출용 화합물, 이의 착화합물 및 이를 함유하는 사이나이드 검출용 조성물에 관한 것이다.

## 배경 기술

[0003] 사이나이드 음이온은 매우 낮은 농도에도 강한 독성을 보이는 음이온으로 알려져 있다. 사이나이드 음이온은 생

체 내 효소의 활성자리를 불활성화 시킴으로써 세포의 질식을 유도하여 두통, 실신, 경련 등을 유발할 뿐만 아니라 사망에 이르게 한다. 사이나이드 음이온은 특정 식물에서 자연적으로 생성되기도 하며 다양한 산업 공정과정에서 쓰이기 때문에 수생환경에 갑작스럽게 노출될 수 있어 심각한 문제가 될 수 있다. 이에, 세계보건기구(WHO)는 음용수 내 최대 사이나이드 음이온 농도의 허용치를  $1.9 \times 10^{-6}$  M 농도 이하로 엄격하게 제한하고 있다(비특허문헌 1).

[0004] 따라서, 수용액 내 사이나이드를 손쉽게 검출할 수 있는 방법을 개발하는 것은 매우 중요한 의의가 있다. 사이나이드 음이온을 검출할 수 있는 여러 방법 중에서, 형광화학센서(fluorescent chemosensor)를 사용한 방법이 근래에 매우 주목을 받고 있다. 형광화합물을 사용한 센싱 방법은 비교적 간단한 기기를 사용하며, 다른 선택리과정 없이 매우 뛰어난 감도로 저농도의 사이나이드를 관찰할 수 있는 장점이 있다. 특히, 구리(II) 금속 착물을 사용한 사이나이드 음이온 검출 방법이 큰 관심을 받고 있는데, 형광화학센서의 수용체 부분과 구리(II) 금속이 착물을 형성하여 구리(II) 금속의 형광을 소광시키는 성질(quenching effect)을 사용하는 것으로 착물형성 후 형광이 소광되어 빛을 방출하지 않다가 사이나이드 음이온이 존재하는 경우, 수용체에 결합되어 있던 구리(II)와 사이나이드가 매우 강한 결합을 형성함으로써 구리(II)가 수용체에서 떨어져 나오게 됨으로써, 소광되었던 형광이 증폭되어 빛을 방출하면 이를 감지하는 것이며 사이나이드의 음이온 농도가 증가할수록 형광화합물의 형광이 더욱 증폭하게 된다.

[0005]

[0006] 한편, 종래에 보고된 대부분의 구리(II) 착물 기반의 형광 착화합물은 작동하기 위해 매우 높은 농도의 유기용매를 요구하기 때문에 100%의 수용액 내에서 검출이 어렵고 또한, 종래의 착화합물은 사이나이드 음이온 검출시, 민감도가 좋지 않아 세계보건기구(WHO)에서 정한 사이나이드 최대 음용수 허용치인  $1.9 \times 10^{-6}$  M 농도의 범위 또는 그 이하를 측정할 수 없다. 극히 일부 고체 타입의 형광화학센서는 100% 수용액 내에서 민감하게 사이나이드를 검출할 수 있으나, 고체 형태로 인한 센서의 농도 정량 및 처리에 문제가 있다(비특허문헌 2).

[0008] 따라서, 100% 수용액 내에서 사이나이드 음이온에 대해 민감하고 선택적으로 검출할 수 있는 새로운 형광 센싱 방법을 개발하는 것은 매우 중요한 과제이다.

[0010] 이에, 본 발명자들은 100% 수용액 용해될 수 있고, 사이나이드 음이온을 선택적으로 검출하고, WHO 기준치 이하로 민감하게 검출할 수 있는 새로운 형광 센싱 방법을 개발하기 위해 노력하던 중, 최초로 펩타이드 수용체를 사용한 본 발명의 사이나이드 검출용 착화합물이 유기용매 없이 100% 수용액에 용해될 수 있고, 사이나이드 음이온을 선택적으로 검출할 수 있으며, WHO 사이나이드 최대 음용수 허용치인  $1.9 \times 10^{-6}$  M 이하의 마이크로몰 농도로 민감하게 사이나이드를 검출할 수 있고, 상기 착화합물에 적절한 형광 및 발색 변화를 보이는 형광 발색단을 도입하여 형광 및 색 변화를 동시에 사용할 수 있음을 확인하여 본 발명을 완성하였다.

## 선행기술문헌

### 비특허문헌

- [0012] (비특허문헌 0001) 1. Guidelines for Drinking-Water Quality; World Health Organization: Geneva, Switzerland, 1996.
- (비특허문헌 0002) 2. Das, S.; Biswas, S.; Mukherjee, S.; Bandyopadhyay, J.; Samanta, S.; Bhowmick, I.; Hazra, D. K.; Ray, A.; Parui, P. P. RSC Adv. 2014, 4, 96569659.

## 발명의 내용

### 해결하려는 과제

[0013] 본 발명의 목적은 형광 화합물을 제공하는 것이다.

[0015] 본 발명의 다른 목적은 상기 화합물과 금속 이온을 함유하는 착화합물을 제공하는 것이다.

[0017] 본 발명의 또 다른 목적은 상기 화합물을 함유하는 사이나이드 검출용 조성물을 제공하는 것이다.

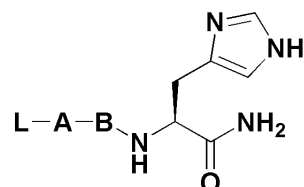
[0019] 본 발명의 다른 목적은 상기 착화합물을 함유하는 사이나이드 검출용 조성물을 제공하는 것이다.

### 과제의 해결 수단

[0021] 상기 목적을 달성하기 위해,

[0022] 본 발명은 하기 화학식 1로 표시되는 화합물을 제공한다:

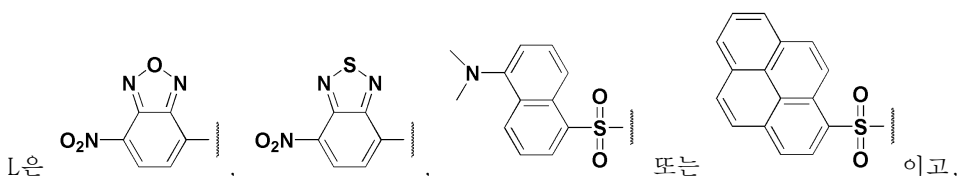
[0023] [화학식 1]



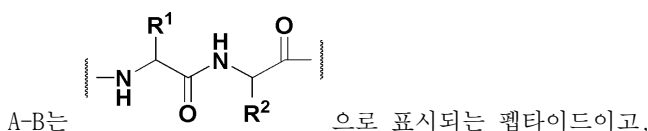
[0024]

[0025] (상기 화학식 1에서,

[0026]



[0027]



[0028] 상기 R<sup>1</sup> 및 R<sup>2</sup>는 독립적으로 글리신, 알라닌, 발린, 루신, 아이소루신, 페닐알라닌, 트립토판, 메티오닌, 시스테인, 프롤린, 세린, 트레오닌, 티로신, 아스파라진, 글루타민, 아스파르산, 글루타민산, 리신, 아르기닌 및 히스티딘으로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나의 아미노산의 곁가지이다).

[0030] 또한, 본 발명은 상기 화학식 1로 표시되는 화합물과 Ag<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup>, Cd<sup>2+</sup>, Co<sup>2+</sup>, Cs<sup>+</sup>, Cu<sup>2+</sup>, Fe<sup>2+</sup>, Fe<sup>3+</sup>, Hg<sup>2+</sup>, K<sup>+</sup>, Li<sup>+</sup>, Mg<sup>2+</sup>, Mn<sup>2+</sup>, Na<sup>+</sup>, Ni<sup>2+</sup> 및 Pb<sup>2+</sup>로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종의 금속이온을 함유하는 착화합물을 제공한다.

[0032] 나아가, 본 발명은 상기 화학식 1로 표시되는 화합물을 함유하는 사이나이드 검출용 조성물을 제공한다.

[0034] 또한, 본 발명은 상기 착화합물을 함유하는 사이나이드 검출용 조성물을 제공한다.

### 발명의 효과

[0036] 본 발명의 착화합물을 함유하는 사이나이드 조성물은 보조 유기용매 없이 100% 수용액에 용해될 수 있고, 선택적으로 사이나이드만을 검출할 수 있으며, 사이나이드를 WHO 최대 음용수 사이나이드 기준치 1.9 μM 이하의 감도로 사이나이드를 검출할 수 있고, 검출시 사이나이드 농도 증가에 따른 비색변화와 형광변화를 동시에 사용하여 사이나이드를 우수하게 검출할 수 있어 음용수와 같은 고도물처리가 필요한 분야에서 사이나이드 검출용 조성물로 유용하게 사용될 수 있다.

[0037]

### 도면의 간단한 설명

[0038] 도 1의 A는 NBD-DDH의 ESI-MS 그래프를 나타낸 것이고, 도 1의 B는 NBD-DDH의 HPLC 그래프이다.

도 2의 A는 SNBD-GGH의 ESI-MS 그래프를 나타낸 것이고, 도 2의 B는 SNBD-GGH의 HPLC 그래프이다.

도 3의 A는 NBD-GGH의 ESI-MS 그래프를 나타낸 것이고, 도 3의 B는 NBD-GGH의 HPLC 그래프이다.

도 4의 A는 NBD-SSH(30 μM)가 녹아있는 수용액 중 구리(II) 금속이온 농도의 증가에 따른 흡광 변화를 도시한 그래프이다. 도 4의 B는 NBD-SSH(30 μM)가 녹아있는 수용액 중 구리(II) 금속이온 농도의 증가에 따른 형광 변

화를 도시한 그래프이다.

도 5의 A는 NBD-DDH(30  $\mu$ M)가 녹아있는 수용액 중 구리(II) 금속이온 농도의 증가에 따른 흡광 변화를 도시한 그래프이다. 도 5의 B는 NBD-DDH(30  $\mu$ M)가 녹아있는 수용액 중 구리(II) 금속이온 농도의 증가에 따른 형광 변화를 도시한 그래프이다.

도 6의 A는 SNBD-GGH(30  $\mu$ M)가 녹아있는 수용액 중 구리(II) 금속이온 농도의 증가에 따른 흡광 변화를 도시한 그래프이다. 도 6의 B는 SNBD-GGH(30  $\mu$ M)가 녹아있는 수용액 중 구리(II) 금속이온 농도의 증가에 따른 형광 변화를 도시한 그래프이다.

도 7의 A는 NBD-GGH(30  $\mu$ M)가 녹아있는 수용액 중 구리(II) 금속이온 농도의 증가에 따른 흡광 변화를 도시한 그래프이다. 도 7의 B는 NBD-GGH(30  $\mu$ M)가 녹아있는 수용액 중 구리(II) 금속이온 농도의 증가에 따른 형광 변화를 도시한 그래프이다.

도 8의 A는 NBD-SSH 및 Cu(II)로 구성된 사이나이드 검출용 조성물(30  $\mu$ M)이 녹아있는 수용액 중 사이나이드 농도를 증가시켜 나타난 흡광변화를 도시한 그래프이다. 도 8의 B는 NBD-SSH 및 Cu(II)로 구성된 사이나이드 검출용 조성물(30  $\mu$ M)이 녹아있는 수용액 중 사이나이드 농도를 증가시켜 나타난 형광변화를 도시한 그래프이다.

도 9의 A는 NBD-DDH 및 Cu(II)로 구성된 사이나이드 검출용 조성물(30  $\mu$ M)이 녹아있는 수용액 중 사이나이드 농도를 증가시켜 나타난 흡광변화를 도시한 그래프이다. 도 9의 B는 NBD-DDH 및 Cu(II)로 구성된 사이나이드 검출용 조성물(30  $\mu$ M)이 녹아있는 수용액 중 사이나이드 농도를 증가시켜 나타난 형광변화를 도시한 그래프이다.

도 10의 A는 SNBD-GGH 및 Cu(II)로 구성된 사이나이드 검출용 조성물(30  $\mu$ M)이 녹아있는 수용액 중 사이나이드 농도를 증가시켜 나타난 흡광변화를 도시한 그래프이다. 도 10의 B는 SNBD-GGH 및 Cu(II)로 구성된 사이나이드 검출용 조성물(30  $\mu$ M)이 녹아있는 수용액 중 사이나이드 농도를 증가시켜 나타난 형광변화를 도시한 그래프이다.

도 11의 A는 NBD-GGH 및 Cu(II)로 구성된 사이나이드 검출용 조성물(30  $\mu$ M)이 녹아있는 수용액 중 사이나이드 농도를 증가시켜 나타난 흡광변화를 도시한 그래프이다. 도 11의 B는 NBD-GGH 및 Cu(II)로 구성된 사이나이드 검출용 조성물(30  $\mu$ M)이 녹아있는 수용액 중 사이나이드 농도를 증가시켜 나타난 형광변화를 도시한 그래프이다.

도 12의 A는 본 발명의 사이나이드 검출용 조성물의  $F^-$ ,  $Cl^-$ ,  $Br^-$ ,  $I^-$ ,  $NO_3^-$ ,  $CN^-$ ,  $SCN^-$ ,  $AcO^-$ ,  $HCO_3^{2-}$ ,  $SO_4^{2-}$ ,  $ClO_4^-$ ,  $HPO_4^{2-}$  및  $HAsO_4^{2-}$ 의 음이온에 대한 흡광 그래프를 도시한 것이고, 도 12의 B는 상기 음이온에 대한 형광 그래프를 도시한 것이고, 도 12의 C는 상기 음이온에 대한 비색변화를 나타낸 그림이고, 도 12의 D는 상기 음이온에 대한 형광변화(UV, 365 nm)를 나타낸 그림이다.

도 13의 A는 NBD-SSH, 사이나이드, 사이나이드를 제외한 음이온 및 사이나이드를 포함한 음이온 각각의 수용액에 대한 흡광 강도 그래프이고, 도 13의 B는 NBD-SSH, 사이나이드, 사이나이드를 제외한 음이온 및 사이나이드를 포함한 음이온에 대한 형광 강도 그래프이다.

도 14의 A는 NBD-DDH, 사이나이드, 사이나이드를 제외한 음이온 및 사이나이드를 포함한 음이온 각각의 수용액에 대한 흡광 강도 그래프이고, 도 14의 B는 NBD-DDH, 사이나이드, 사이나이드를 제외한 음이온 및 사이나이드를 포함한 음이온에 대한 형광 강도 그래프이다.

도 15의 A는 SNBD-GGH, 사이나이드, 사이나이드를 제외한 음이온 및 사이나이드를 포함한 음이온 각각의 수용액에 대한 흡광 강도 그래프이고, 도 15의 B는 NBD-DDH, 사이나이드, 사이나이드를 제외한 음이온 및 사이나이드를 포함한 음이온에 대한 형광 강도 그래프이다.

도 16의 A는 NBD-GGH, 사이나이드, 사이나이드를 제외한 음이온 및 사이나이드를 포함한 음이온 각각의 수용액에 대한 흡광 강도 그래프이고, 도 16의 B는 NBD-GGH, 사이나이드, 사이나이드를 제외한 음이온 및 사이나이드를 포함한 음이온에 대한 형광 강도 그래프이다.

도 17은 NBD-SSH-Cu(II)(0.5  $\mu$ M)의 100% 수용액에서의 사이나이드 농도에 따른 형광 강도 그래프이다.

도 18은 NBD-DDH-Cu(II)(30  $\mu$ M)의 100% 수용액에서의 사이나이드 농도에 따른 형광 강도 그래프이다.

도 19는 SNBD-GGH-Cu(II)(30  $\mu$ M)의 100% 수용액에서의 사이나이드 농도에 따른 형광 강도 그래프이다.

도 20은 NBD-GGH-Cu(II)(30  $\mu$ M)의 100% 수용액에서의 사이나이드 농도에 따른 형광 강도 그래프이다.

도 21은 본 발명의 사이나이드 검출용 조성물(NBD-SSH-Cu(II))의 ESI-Mass 그래프이다.

도 22는 사이나이드 검출시 변화된 본 발명의 사이나이드 검출용 조성물의 ESI-Mass 그래프이다.

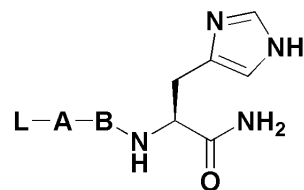
### 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

이하, 본 발명을 상세히 설명한다.

이하 설명은 발명의 이해를 돕기 위해서 제시하는 것이며, 본 발명이 이하 설명의 내용으로 제한되지 않는다.

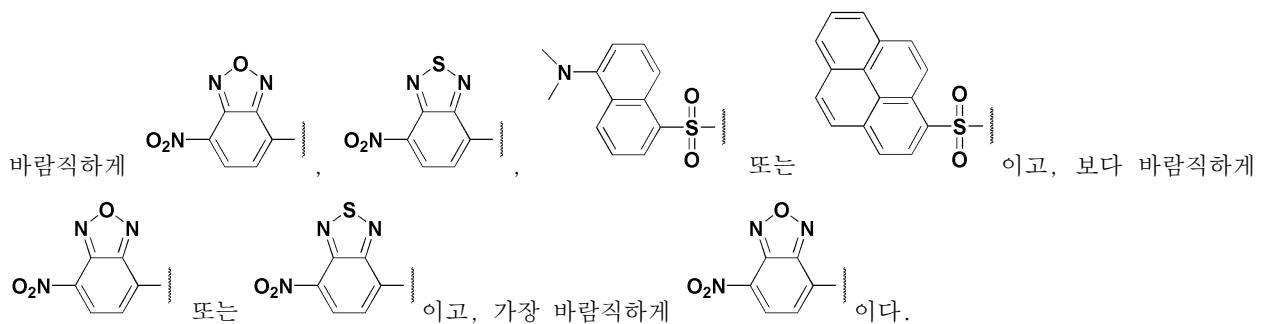
본 발명은 하기 화학식 1로 표시되는 화합물을 제공한다:

[화학식 1]



상기 화학식 1에서,

상기 L은 형광 특성이 있는 화합물이면 이에 제한되지 않으나,



이때, 상기 L은 고유의 형광 특성이 있는 화합물이라면 이에 제한되지 않으나, 300-650nm의 흡수 파장대를 가지며, 480-700nm의 형광 파장대를 갖는 형광 화합물이다.

상기 A 및 B는 천연에 존재하거나 합성되어 얻어진 아미노산이라면 이에 제한되지 않고,  $\alpha$ -아미노산에서 선택될 수 있고, 독립적으로 글리신, 알라닌, 발린, 루신, 아이소루신, 페닐알라닌, 트립토판, 메티오닌, 시스테인, 프롤린, 세린, 트레오닌, 티로신, 아스파라진, 글루타민, 아스파르산, 글루타민산, 리신, 아르기닌 및 히스티딘으로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나의 아미노산이고,

바람직하게 -OH, -COOH를 포함하는 결가지를 가지는 아미노산이고,

보다 바람직하게 글리신, 히스티딘, 세린 및 아스파르산으로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나의 아미노산이고,

가장 바람직하게 상기 A-B는 글리신-글리신, 세린-세린 또는 아스파르산-아스파르산이다.

이때, 본 발명의 화학식 1로 표시되는 화합물은 금속 이온의 수용체의 역할을 수행하며, 금속 이온과 착화합물을 형성하여 이를 완전히 수용액에 용해 시키는 역할을 수행한다. 특히, 본 발명의 화학식 1로 표시되는 화합물은 수용액에 별도의 유기용매 없이 용해될 수 있고, 바람직하게 금속 이온과 착화합물을 형성하여 100% 수용액에 용해될 수 있다.

또한, 본 발명은 상기 화학식 1로 표시되는 화합물과  $Ag^+$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$ ,  $Co^{2+}$ ,  $Cs^+$ ,  $Cu^{2+}$ ,  $Fe^{2+}$ ,  $Fe^{3+}$ ,  $Hg^{2+}$ ,  $K^+$ ,  $Li^+$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $Mn^{2+}$ ,  $Na^+$ ,  $Ni^{2+}$  및  $Pb^{2+}$ 로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종의 금속이온, 바람직하게 상기 화학식 1로 표시되는 화합물과  $Cu^{2+}$ 을 함유하는 착화합물을 제공한다.

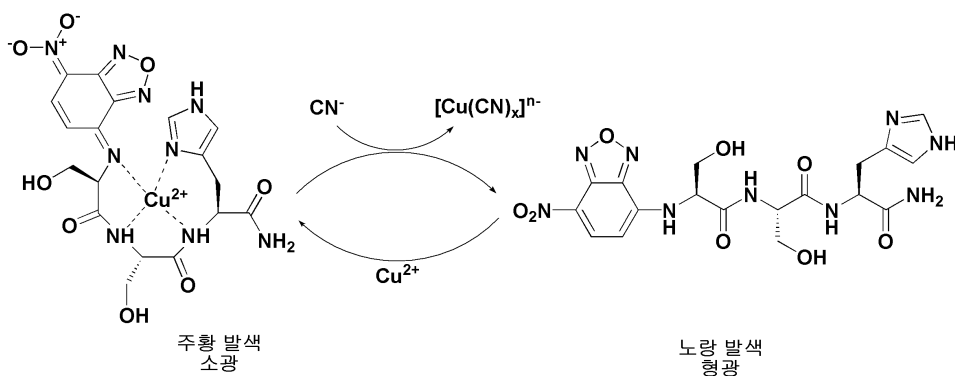
[0057] 이때, 상기 금속이온은 본 발명의 화학식 1로 표시되는 화합물과 착화합물을 형성하여 상기 화학식 1로 표시되는 화합물의 형광특성을 소광 시키는 역할을 수행한다. 일례로 상기 금속이온 중  $\text{Cu}^{2+}$ 은 상기 화학식 1로 표시되는 화합물과 N-테트라텐테이트의 형태로 착화합물을 형성하여 형광특성을 우수하게 소광 시키는 효과가 있다.

[0059] 나아가, 본 발명은 상기 화학식 1로 표시되는 화합물을 함유하는 사이나이드 검출용 조성물을 제공한다.

[0060] 이때, 상기 화학식 1로 표시되는 화합물을 금속이온과 결합시켜 사이나이드 검출용 조성물을 제조할 수 있고, 이를 사용하여 사이나이드 검출을 위해 사용할 수 있다. 상기 사이나이드 검출용 조성물이 사이나이드와 만나 금속이온-사이나이드 간의 강한 결합을 형성하여 상기 펩타이드 수용체로부터 금속이온을 분리시킴으로써 소광되어 있던 펩타이드 수용체의 형광특성을 다시 증폭시키고, 이로부터 형광을 감지할 수 있어 사이나이드를 검출하는 역할을 수행할 수 있다.

[0061] 또한, 상기 사이나이드 검출용 조성물은 형광 외에도 발색 변화를 통해 사이나이드를 검출할 수 있는데, 구체적으로 금속이온이 펩타이드 수용체와 분리되어 사이나이드와 결합함으로써 사이나이드 검출용 조성물의 발색 변화가 일어나, 이로부터 사이나이드를 육안으로 검출할 수 있다. 일례로 하기 반응식 1과 같이 NBD-SSH-Cu(II) 사이나이드 검출용 조성물의 구조 변화와 형광 및 발색 변화를 통해 사이나이드를 검출할 수 있다(NBD = 7-니트로-2,1,3-벤조옥사디아졸, SSH = 세린-세린-히스티딘 트리펩타이드).

[0062] [반응식 1]



[0063]

[0064] (이때, 상기  $[\text{Cu}(\text{CN})_x]^{n-}$ 의 x는 Cu에 결합된 사이나이드의 수를 나타내는 정수이고 n은 x - 2의 정수이다)

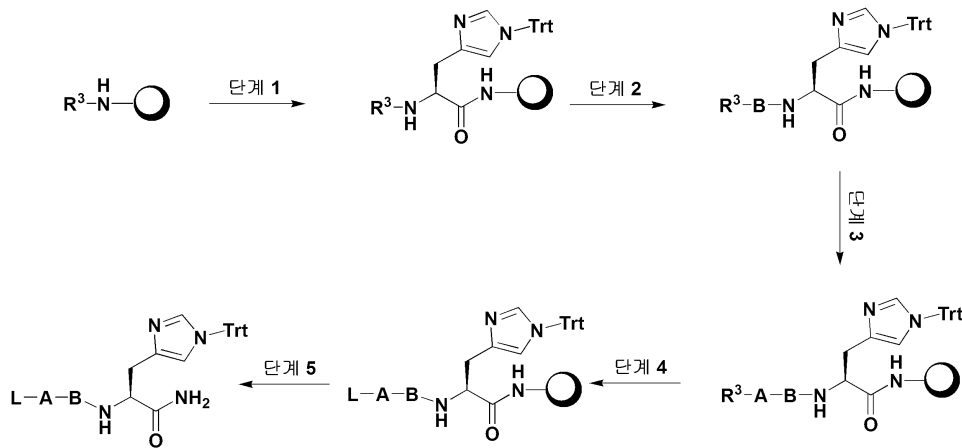
[0066] 또한, 본 발명은 상기 착화합물을 함유하는 사이나이드 검출용 조성물을 제공한다.

[0067] 이때, 상기 사이나이드 검출용 조성물은 금속이온과 결합하고 있어 펩타이드 수용체의 형광이 소광된 상태이나, 사이나이드와 만나 금속이온-사이나이드 결합을 형성하고 펩타이드 수용체로부터 분리되어 소광되어 있던 펩타이드 수용체의 형광이 다시 증폭하게 된다. 이로부터 본 발명의 사이나이드 검출용 조성물은 사이나이드를 검출할 수 있고, 이와 동시에 사이나이드 검출용 조성물의 발색 변화가 수반되기 때문에 육안으로 발색 변화를 관찰함으로써 사이나이드를 검출할 수 있다. 일례로 상기 반응식 1과 같은 사이나이드 검출용 조성물로 사이나이드를 검출할 수 있다.

[0068]

[0069] 나아가, 본 발명은 하기 반응식 2로 표시되는 상기 화학식 1로 표시되는 화합물의 제조방법을 제공한다:

[0070] [반응식 2]



[0071]

[0072] 보호기( $R^3$ )-NH-고체상에 히스티딘을 도입하여 보호기( $R^3$ )-히스티딘(His)-NH-고체상으로 표시되는 화합물을 제조하는 단계(단계 1),

[0073] 상기 단계 1의 화합물에 B로 표시되는 아미노산을 도입하여 보호기( $R^3$ )-B-히스티딘(His)-NH-고체상으로 표시되는 화합물을 제조하는 단계(단계 2),

[0074] 상기 단계 2의 화합물에 A로 표시되는 아미노산을 도입하여 보호기( $R^3$ )-A-B-히스티딘(His)-NH-고체상으로 표시되는 화합물을 제조하는 단계(단계 3),

[0075] 상기 단계 3의 화합물에서  $R^3$ 을 제거하고 L을 도입하여 L-A-B-히스티딘(His)-NH-고체상으로 표시되는 화합물을 제조하는 단계(단계 4), 및

[0076] 상기 단계 4의 화합물의 고체상을 제거하여 화학식 1로 표시되는 화합물을 제조하는 단계 (단계 5).

[0078] 이하, 본 발명에 따른 화학식 1로 표시되는 화합물의 제조방법을 각 단계별로 상세히 설명한다.

[0080] 본 발명에 따른 화학식 1로 표시되는 화합물의 제조방법에 있어서, 상기 단계 1은 보호기( $R^3$ )-NH-고체상에 히스티딘을 도입하여 보호기( $R^3$ )-히스티딘(His)-NH-고체상으로 표시되는 화합물을 제조하는 단계이다.

[0082] 이때, 상기 단계 1의 보호기( $R^3$ )는 당 분야에서 통상적으로 사용할 수 있는 것으로, 아미노 말단을 보호하는 보호기라면 이에 제한되지 않으나, 9-플루오레닐메틸옥사카보닐기(Fmoc: 9-fluorenylmethyloxycarbonyl)가 바람직하게 사용될 수 있다. 또한, 상기 고체상은 당 분야에서 통상적으로 사용되는 고체상이라면 특별한 제한이 없으나, 바람직하게 아미드가 연결된 메틸벤조하이드릴아민(MBHA) 수지, 왕(Wang) 수지, 폴리에틸렌글리콜 - 폴리스티렌(PEG-PS) 수지, 실리카 나노입자, 티타늄옥사이드 나노 입자, 키토산 등이고, 보다 바람직하게 메틸벤조하이드릴아민(MBHA) 수지, 왕(Wang) 수지를 사용할 수 있다.

[0083] 또한, 상기 단계 1은 다음과 같이 수행될 수 있다. 먼저, 보호기( $R^3$ )-NH-고체상의 화합물에서 아민 염기를 사용하여 보호기( $R^3$ )를 제거한 뒤,  $R^3$ -히스티딘(트리틸)-OH와 커플링 반응시켜 히스티딘을 도입하는 단계로 수행될 수 있다.

[0084] 이때, 상기 아민 염기는 통상적으로 보호기를 제거하는데 사용하는 것이라면 특별히 제한되지 않으나, 바람직하게 피페리딘, 피롤리딘, 몰포린, 피리딘, N,N-다이메틸아미노피리딘 등이고, 보다 바람직하게 피페리딘이다.

[0085] 또한, 상기 고체상과 아미노산은 몰비로 1 : 2-10이 바람직하고, 고체상 및 아미노산이 몰비로 1 : 3-7인 것이 보다 바람직하다.

[0086] 또한, 상기 커플링 반응의 시약은 바람직하게 벤조트리아졸-1-일-옥시-트리스(다이메틸아미노)-포스포니움 헥사플루오로포스페이트(Py-BOP), 1-하이드록시-벤조트리아졸(HBTU), 1-하이드록시-7-아자-벤조트리아졸(HATU), 하이드록시 벤조트리아졸(HOBt), 디사이클로헥실카르보디이미드(DCC), 다이이소프로필카르보디이미드(DIC), 1-에틸-3-(3-다이메틸아미노프로필)카르보디이미드(EDC), 카르보닐디이미다졸(CDI) 등으로 이루어진 군으로부터 선

택되는 1종 이상의 시약이고, 보다 바람직하게 다이이소프로필카르보디이미드(DIC)와 하이드록시 벤조트리아졸(HOBt)을 혼합한 시약이다.

[0088] 본 발명에 따른 화학식 1로 표시되는 화합물의 제조방법에 있어서, 상기 단계 2는 상기 단계 1의 화합물에 B로 표시되는 아미노산을 도입하여 보호기(R<sup>3</sup>)-B-히스티딘(His)-NH-고체상로 표시되는 화합물을 제조하는 단계이다.

[0090] 이때, 상기 단계 2는 상기 단계 1의 히스티딘을 대신하여 B로 표시되는 아미노산을 도입하는 것을 제외하고 단계 1과 동일하게 수행된다.

[0091] 또한, 상기 B로 표시되는 아미노산은 이에 제한되지 않으나, 바람직하게 글리신, 알라닌, 발린, 루신, 아이소루신, 페닐알라닌, 트립토판, 메티오닌, 시스테인, 프롤린, 세린, 트레오닌, 티로신, 아스파라진, 글루타민, 아스파르산, 글루타민산, 리신, 아르기닌 및 히스티딘으로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나의 아미노산이고, 보다 바람직하게 글리신, 히스티딘, 세린 및 아스파르산으로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나의 아미노산이다.

[0093] 본 발명에 따른 화학식 1로 표시되는 화합물의 제조방법에 있어서, 상기 단계 3은 상기 단계 2의 화합물에 A로 표시되는 아미노산을 도입하여 보호기(R<sup>3</sup>)-A-B-히스티딘(His)-NH-고체상로 표시되는 화합물을 제조하는 단계이다.

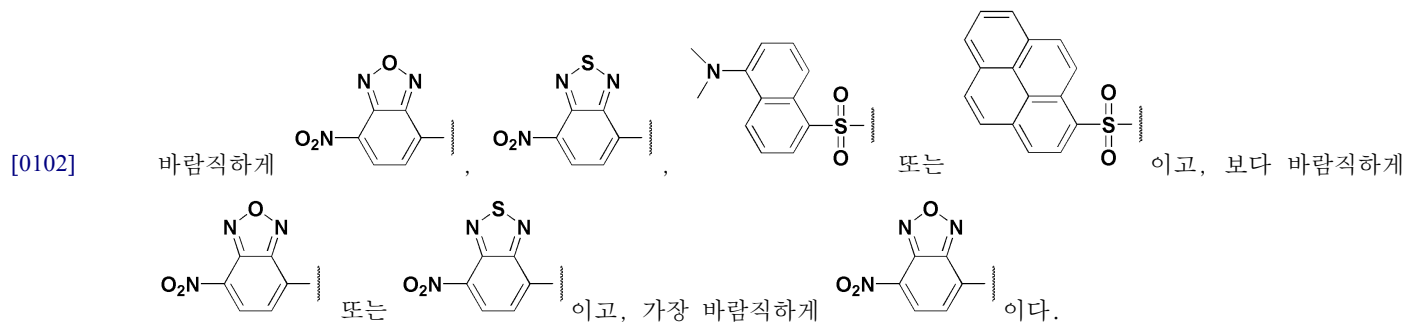
[0095] 이때, 상기 단계 3은 상기 단계 1의 히스티딘을 대신하여 A로 표시되는 아미노산을 도입하는 것을 제외하고 단계 1과 동일하게 수행된다.

[0096] 또한, 상기 A로 표시되는 아미노산은 이에 제한되지 않으나, 바람직하게 글리신, 알라닌, 발린, 루신, 아이소루신, 페닐알라닌, 트립토판, 메티오닌, 시스테인, 프롤린, 세린, 트레오닌, 티로신, 아스파라진, 글루타민, 아스파르산, 글루타민산, 리신, 아르기닌 및 히스티딘으로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나의 아미노산이고, 보다 바람직하게 글리신, 히스티딘, 세린 및 아스파르산으로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나의 아미노산이다.

[0098] 본 발명에 따른 화학식 1로 표시되는 화합물의 제조방법에 있어서, 상기 단계 4는 상기 단계 3의 화합물에서 R<sup>3</sup>을 제거하고 L을 도입하여 L-A-B-히스티딘(His)-NH-고체상로 표시되는 화합물을 제조하는 단계이다.

[0100] 이때, 상기 단계 4는 상기 단계 1의 히스티딘을 대신하여 L로 표시되는 형광 화합물을 도입하는 것 및 단계 1의 커플링 시약 DIC와 HOBt의 혼합물을 대신하여 N,N-다이아이소프로필에틸아민(DIPEA)을 사용한 것을 제외하고 단계 1과 동일하게 수행된다.

[0101] 또한, 상기 L은 형광 특성이 있는 화합물이면 이에 제한되지 않으나,

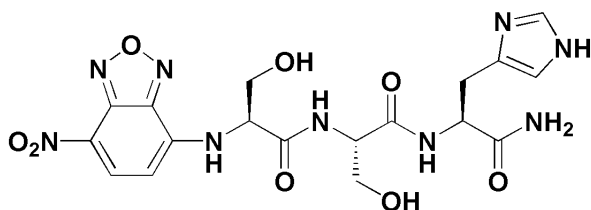


[0104] 본 발명에 따른 화학식 1로 표시되는 화합물의 제조방법에 있어서, 상기 단계 5는 상기 단계 4의 화합물의 고체상을 제거하여 화학식 1로 표시되는 화합물을 제조하는 단계이다.

[0106] 이때, 상기 단계 5의 고체상 제거 단계는 상기 단계 4의 화합물을 무기산 조건하에 반응시키는 단계이다. 상기 무기산은 바람직하게 트라이플루오로아세트산, 염산, 불산, 포름산 등으로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상의 무기산이고, 보다 바람직하게 트라이플루오로아세트산, 싸이오아니졸, 3,6-다이옥사-1,8-옥탄다이싸이올 및 1,2-에탄다이싸이올로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상의 무기산이고, 더욱 바람직하게 트라이플루오로아세트산, 싸이오아니졸 및 3,6-다이옥사-1,8-옥탄다이싸이올의 혼합 무기산 또는 트라이플루오로아세트산, 싸이오아니졸 및 1,2-에탄다이싸이올의 혼합 무기산이다. 또한, 상기 무기산은 증류수와 혼합하여 사용할 수 있다. 일례로 상기 트라이플루오로아세트산, 싸이오아니졸 및 3,6-다이옥사-1,8-옥탄다이싸이올 또는 1,2-에탄다이싸이올 3개의 혼합 무기산과 증류수를 부피비로 87.5 : 2.5 : 5 : 2.5 로 혼합하여 사용할 수 있다.

- [0108] 또한, 본 발명은
- [0109] 상기 사이나이드 검출용 조성물을 수용액에 용해시켜 혼합 수용액을 얻는 단계(단계 A); 및
- [0110] 상기 단계 A의 혼합물을 육안으로 관찰하거나 UV를 조사하여 색 변화를 관찰하는 단계(단계 B);를 포함하는 사이나이드 검출방법을 제공한다.
- [0112] 이하, 상기 사이나이드 검출방법을 각 단계별로 상세히 설명한다.
- [0114] 본 발명에 따른 사이나이드 검출방법에 있어서, 상기 단계 A는 상기 사이나이드 검출용 조성물을 수용액에 용해시켜 혼합 수용액을 얻는 단계이다.
- [0116] 이때, 상기 혼합 수용액을 얻는 단계는 본 발명의 사이나이드 검출용 조성물을 유기용매 없이 수용액에 완전히 용해시킬 수 있으며, 상기 수용액은 특별히 이에 제한되지 않으나, 바람직하게 100% 수용액일 수 있다.
- [0118] 본 발명에 따른 사이나이드 검출방법에 있어서, 상기 단계 B는 상기 단계 A의 혼합물을 육안으로 관찰하거나 UV를 조사하여 색 변화를 관찰하는 단계이다.
- [0120] 이때, 상기 색 변화를 관찰하는 단계는 상기 단계 A의 수용액에 상기 사이나이드 검출용 조성물을 첨가하여 첨가 전, 후의 용액의 발색을 비교하여 사이나이드를 검출할 수 있다. 또한, 본 발명의 사이나이드 검출용 조성물을 수용액에 첨가 수, UV를 조사하여 나타나는 형광을 관찰하는 것으로 사이나이드를 검출할 수 있고, 바람직하게 상기 UV 조사는 300-650nm의 범위로 조사할 수 있고, 상기 형광은 바람직하게 480-700nm의 형광일 수 있다.
- [0122] 본 발명의 사이나이드 검출용 조성물은 형광 및 발색의 변화를 동시에 사용하여 100% 수용액 내의 사이나이드를 선택적으로 세계보건기구 음용수 사이나이드 허용 농도보다 낮은 농도로 검출할 수 있어 음용수, 사이나이드 검출용 화학센서, 고도물처리 등의 분야에서 유용하게 사용될 수 있음을 확인하기 위해, 본 발명에서 하기 실험예 1 내지 5를 수행하였다.
- [0124] 먼저, 본 발명에 따른 화학식 1로 표시되는 화합물의 금속이온 농도 변화에 따른 소광효과를 평가하기 위한 실험을 수행한 결과, 본 발명에 따른 화학식 1로 표시되는 화합물은 트리캡타이드 수용체에 금속을 배위하여 착화합물을 형성함으로써, 화합물의 형광을 소광시킬 수 있고, 이로부터 본 발명의 사이나이드 검출용 조성물을 제조할 수 있음을 알 수 있다(하기 실험예 1 참조).
- [0126] 또한, 본 발명에 따른 사이나이드 검출용 조성물의 사이나이드 검출 평가를 하기 위한 실험을 수행한 결과, 본 발명에 따른 사이나이드 검출용 조성물은 민감도가 우수하게 사이나이드를 검출할 수 있어 이를 포함하는 사이나이드 검출용 화학 센서 및 고도물처리 분야에서 유용하게 사용될 수 있다(하기 실험예 2 참조).
- [0128] 나아가, 본 발명에 따른 사이나이드 검출용 조성물의 사이나이드에 대한 선택성을 평가하기 위한 실험을 수행한 결과, 본 발명에 따른 사이나이드 검출용 조성물은 사이나이드를 선택적으로 검출할 수 있으며, 타 음이온의 간섭과 무관하게 사이나이드를 검출할 수 있어, 사이나이드 검출용 화학센서 및 이를 포함하는 고도물처리 분야에서 유용하게 사용될 수 있다(하기 실험예 3 참조).
- [0130] 또한, 본 발명의 사이나이드 검출용 조성물의 검출 한계를 평가하기 위한 실험을 수행한 결과, 본 발명에 따른 사이나이드 검출용 조성물은 세계 보건기구의 음용수 사이나이드 허용치인  $1.9 \times 10^{-6}$  M 보다 낮은 농도의 사이나이드를 검출할 수 있고, 사이나이드를 nM 단위로 검출할 수 있어, 매우 민감한 사이나이드 검출용 조성물으로써, 이를 함유하는 사이나이드 검출용 화학 센서, 고도물처리, 음용수 등의 분야에서 유용하게 사용될 수 있다(하기 실험예 4 참조).
- [0132] 본 발명의 사이나이드 검출용 조성물의 사이나이드 검출방법을 확인하기 위한 실험을 수행한 결과, 본 발명의 사이나이드 검출용 조성물은 금속 이온과 1 : 1로 착화합물을 형성하며, 사이나이드 검출시 본 발명의 사이나이드 검출용 조성물로부터 금속 이온이 이탈되어 사이나이드와 결합하는 방법으로 사이나이드가 검출되는 것임을 확인할 수 있다(하기 실험예 5 참조).
- [0134] 이하, 본 발명을 제조예, 실시예 및 실험예에 의거하여 상세히 설명한다.
- [0135] 단, 하기 제조예, 실시예 및 실험예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명의 내용이 이에 한정되는 것은 아니다.

[0137] <제조예 1> NBD-SSH의 제조



[0138]

[0139] Fmoc-세린(*tert*-부틸)-OH, Fmoc-히스티딘(트리틸)-OH, 1-하이드록시벤조트리아졸(HOBT), 및 아마이드 링크된 MBHA 수지(100.200 mesh, 0.45 mmol/g)를 Bead Tech사에서 구입하여 사용하였고, N,N'-다이아이소프로필카보다이이미드(DIC)는 TCI에서 구입하였으며, 14-클로로-7-니트로-2,1,3-벤조옥사다리아졸 및 N,N-다이메틸포름아마이드(DMF)는 Acros Organics에서 구입하여 사용하였다.

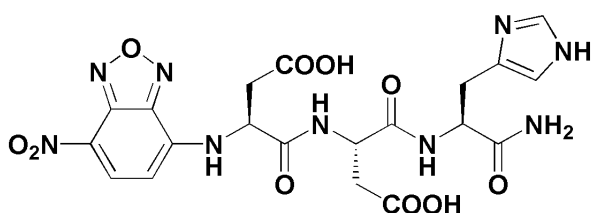
[0141] DIPEA(104.5  $\mu$ L, 0.6 mmol, 6 equiv)를 함유하는 DMF(3 mL)에 녹아있는 4-클로로-7-니트로-2,1,3-벤조옥사다리아졸(100 mg, 0.5 mmol, 5당량)을 고체상이 부착된 SSH펩타이드(0.1 mmol)에 첨가한 후, 만들어진 혼합액을 실온에서 6시간 동안 유지시키면서 커플링 반응시켰다. 상기 커플링 반응 종결 후, TFA/TIS/H<sub>2</sub>O (95:2.5:2.5, v/v/v)의 혼합물로 실온에서 4시간 동안 처리해주어 고체상 분리 및 탈 보호기 반응해 주었다. 질소 기체로 초과 TFA를 제거해주고, 냉각 에테르를 첨가하여 조 생성물을 침전시켜주었다. 상기 고체의 침전물은 원심분리하였고, 에테르로 씻어 준 뒤, 진공상태에서 동결건조하였다. 증류수(0.1%의 TFA)/아세트나이트릴(0.1% TFA)의 HPLC로 정제하여 NBD-SSH를 제조하였다.

[0143] <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, D<sub>2</sub>O, 25 ° C)  $\delta$  8.66 (s, 1H), 8.55 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 7.35 (s, 1H), 6.41 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 4.754.71 (m, 2H), 4.554.53 (m, 1H), 4.16 4.15 (m, 2H), 3.923.89 (m, 2H), 3.353.30 (m, 1H), 3.213.13(m, 1H);

[0144] <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, D<sub>2</sub>O, 25 ° C)  $\delta$  174.0,171.6, 171.2, 163.0, 162.6, 144.2, 143.7, 138.1, 133.6, 128.6, 122.4, 117.4, 61.6, 61.0, 59.4, 55.9, 52.4, 26.4;

[0145] HRMS (ESITOF) calcd 492.1586 (m/z) [M + H]<sup>+</sup>, obsd 492.1586 (m/z)[M + H]<sup>+</sup>.

[0147] <제조예 2> NBD-DDH의 제조



[0148]

[0149] DIPEA(104.5  $\mu$ L, 0.6 mmol, 6 equiv)를 함유하는 DMF(3 mL)에 녹아있는 4-클로로-7-니트로-2,1,3-벤조옥사다리아졸(100 mg, 0.5 mmol, 5당량)을 고체상이 부착된 DDH펩타이드(0.1 mmol)에 첨가한 후, 만들어진 혼합액을 실온에서 6시간 동안 유지시키면서 커플링 반응시켰다. 상기 커플링 반응 종결 후, TFA/TIS/H<sub>2</sub>O (95:2.5:2.5, v/v/v)의 혼합물로 실온에서 4시간 동안 처리해주어 고체상 분리 및 탈 보호기 반응해 주었다. 질소 기체로 초과 TFA를 제거해주고, 냉각 에테르를 첨가하여 조 생성물을 침전시켜주었다. 상기 고체의 침전물은 원심분리하였고, 에테르로 씻어 준 뒤, 진공상태에서 동결건조하였다. 증류수(0.1%의 TFA)/아세트나이트릴(0.1% TFA)의 HPLC로 정제하여 NBD-DDH를 제조하였다.

[0150] 상기 제조된 NBD-DDH의 ESI-MS 및 HPLC 그래프를 도 1에 나타내었다.

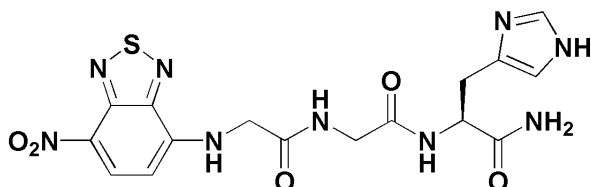
[0152] 삭제

[0153] 삭제

[0154] 삭제

[0155] 삭제

[0156] <제조예 3> SNBD-GGH의 제조



[0157]

[0158] DIPEA(104.5  $\mu$ L, 0.6 mmol, 6 equiv)를 함유하는 DMF(3 mL)에 녹아있는 4-클로로-7-니트로-2,1,3-벤조싸이아다리아졸(100 mg, 0.5 mmol, 5당량)을 고체상이 부착된 GGH펩타이드(0.1 mmol)에 첨가한 후, 만들어진 혼합액을 실온에서 6시간 동안 유지시키면서 커플링 반응시켰다. 상기 커플링 반응 종결 후, TFA/TIS/H<sub>2</sub>O (95:2.5:2.5, v/v/v)의 혼합물로 실온에서 4시간 동안 처리해주어 고체상 분리 및 탈 보호기 반응해 주었다. 질소 기체로 초과 TFA를 제거해주고, 냉각 에테르를 첨가하여 조 생성물을 침전시켜주었다. 상기 고체의 침전물은 원심분리하였고, 에테르로 씻어 준 뒤, 진공상태에서 동결건조하였다. 증류수(0.1%의 TFA)/아세트나이트릴(0.1% TFA)의 HPLC로 정제하여 SNBD-GGH를 제조하였다.

[0159] 상기 제조된 SNBD-GGH의 ESI-MS 및 HPLC 그래프를 도 2에 나타내었다.

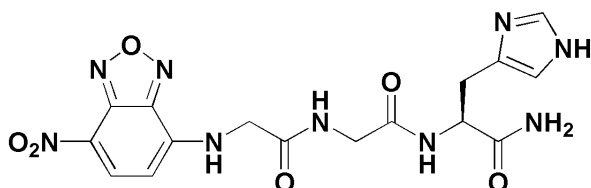
[0161] 삭제

[0162] 삭제

[0163] 삭제

[0164] 삭제

[0165] <제조예 4> NBD-GGH의 제조



[0166]

[0167] DIPEA(104.5  $\mu$ L, 0.6 mmol, 6 equiv)를 함유하는 DMF(3 mL)에 녹아있는 4-클로로-7-니트로-2,1,3-벤조옥사다리아졸(100 mg, 0.5 mmol, 5당량)을 고체상이 부착된 GGH펩타이드(0.1 mmol)에 첨가한 후, 만들어진 혼합액을 실온에서 6시간 동안 유지시키면서 커플링 반응시켰다. 상기 커플링 반응 종결 후, TFA/TIS/H<sub>2</sub>O (95:2.5:2.5, v/v/v)의 혼합물로 실온에서 4시간 동안 처리해주어 고체상 분리 및 탈 보호기 반응해 주었다. 질소 기체로 초과 TFA를 제거해주고, 냉각 에테르를 첨가하여 조 생성물을 침전시켜주었다. 상기 고체의 침전물은 원심분리하였고, 에테르로 씻어 준 뒤, 진공상태에서 동결건조하였다. 증류수(0.1%의 TFA)/아세트나이트릴(0.1% TFA)의 HPLC로 정제하여 NBD-GGH를 제조하였다.

[0168] 상기 제조된 NBD-GGH의 ESI-MS 및 HPLC 그래프를 도 3에 나타내었다.

- [0170] 삭제
- [0171] 삭제
- [0172] 삭제
- [0173] 삭제
- [0174] <실험예 1> Cu(II) 착화합물의 소광효과 평가
- [0175] 본 발명에 따른 화학식 1로 표시되는 화합물의 금속이온 농도 변화에 따른 소광효과를 평가하기 위해 다음과 같이 실험하였다.
- [0177] 구체적으로, 상기 NBD-SSH(제조예 1), NBD-DDH(제조예 2), SNBD-GGH(제조예 3) 및 NBD-GGH(제조예 4)가 각각 30  $\mu$ M의 농도로 녹아있는 수용액에 구리(II) 금속이온의 농도를 점차 증가시켜 첨가하였고, 이로부터 흡광 및 형광변화를 평가하였다.
- [0178] 형광 스펙트럼 측정 시, 여기 파장은 469 nm로 하고, 상기 제조된 테스트 용액들은 pH 7.4 조건에서(PBS 혹은 HEPES 완충용액 사용) 형광 스펙트럼을 측정하였다. 이때, 여기와 방출 슬릿 폭은 각각 10nm, 5.5nm 이다.
- [0180] <실험예 1-1> NBD-SSH의 Cu(II) 착화합물의 소광효과 평가
- [0181] 제조예 1에서 제조된 NBD-SSH의 흡광 및 형광변화를 평가하여, 그 결과를 도 4에 나타내었다.
- [0183] 도 4의 A는 NBD-SSH(30  $\mu$ M)가 녹아있는 수용액 중 구리(II) 금속이온 농도의 증가에 따른 흡광 변화를 도시한 그래프이다. 도 4의 B는 NBD-SSH(30  $\mu$ M)가 녹아있는 수용액 중 구리(II) 금속이온 농도의 증가에 따른 형광 변화를 도시한 그래프이다.
- [0185] 도 4의 A를 살펴보면, 약 30  $\mu$ M(1당량)의 구리(II) 금속이온 존재하에서 가장 큰 흡광 변화가 나타나고, 30  $\mu$ M 초과 농도에서 더 이상의 흡광 변화는 나타나지 않는 것을 확인하였고, 도 4의 B를 살펴보면, 약 30  $\mu$ M(1당량)의 구리(II) 금속이온 존재하에서 형광이 거의 소광되고, 그 이상의 농도에서 형광변화가 나타나지 않는 것을 확인할 수 있다.
- [0187] 따라서, 본 발명의 NBD-SSH는 Cu(II) 금속이온과 1:1의 몰비로 착화합물을 형성함으로써 NBD-SSH의 형광이 완전하게 소광됨을 확인할 수 있다.
- [0189] <실험예 1-2> NBD-DDH의 Cu(II) 착화합물의 소광효과 평가
- [0190] 제조예 2에서 제조된 NBD-DDH의 흡광 및 형광변화를 평가하여, 그 결과를 도 5에 나타내었다.
- [0192] 도 5의 A는 NBD-DDH(30  $\mu$ M)가 녹아있는 수용액 중 구리(II) 금속이온 농도의 증가에 따른 흡광 변화를 도시한 그래프이다. 도 5의 B는 NBD-DDH(30  $\mu$ M)가 녹아있는 수용액 중 구리(II) 금속이온 농도의 증가에 따른 형광 변화를 도시한 그래프이다.
- [0194] 도 5의 A를 살펴보면, 약 30  $\mu$ M(1당량)의 구리(II) 금속이온 존재하에서 가장 큰 흡광 변화가 나타나고, 30  $\mu$ M 초과 농도에서 더 이상의 흡광 변화는 나타나지 않는 것을 확인하였고, 도 5의 B를 살펴보면, 약 30  $\mu$ M(1당량)의 구리(II) 금속이온 존재하에서 형광이 거의 소광되고, 그 이상의 농도에서 형광변화가 나타나지 않는 것을 확인할 수 있다.
- [0196] 따라서, 본 발명의 NBD-DDH는 Cu(II) 금속이온과 1:1의 몰비로 착화합물을 형성함으로써 NBD-DDH의 형광이 완전하게 소광됨을 확인할 수 있다.
- [0198] <실험예 1-3> SNBD-GGH의 Cu(II) 착화합물의 소광효과 평가
- [0199] 제조예 3에서 제조된 SNBD-GGH의 흡광 및 형광변화를 평가하여, 그 결과를 도 6에 나타내었다.
- [0201] 도 6의 A는 SNBD-GGH(30  $\mu$ M)가 녹아있는 수용액 중 구리(II) 금속이온 농도의 증가에 따른 흡광 변화를 도시한

그래프이다. 도 6의 B는 SNBD-GGH(30  $\mu$ M)가 녹아있는 수용액 중 구리(II) 금속이온 농도의 증가에 따른 형광 변화를 도시한 그래프이다.

[0203] 도 6의 A를 살펴보면, 약 30  $\mu$ M(1당량)의 구리(II) 금속이온 존재하에서 가장 큰 흡광 변화가 나타나고, 30  $\mu$ M 초과 농도에서 더 이상의 흡광 변화는 나타나지 않는 것을 확인하였고, 도 6의 B를 살펴보면, 약 30  $\mu$ M(1당량)의 구리(II) 금속이온 존재하에서 형광이 거의 소광되고, 그 이상의 농도에서 형광변화가 나타나지 않는 것을 확인할 수 있다.

[0205] 따라서, 본 발명의 SNBD-GGH는 Cu(II) 금속이온과 1:1의 몰비로 착화합물을 형성함으로써 SNBD-GGH의 형광이 완전하게 소광됨을 확인할 수 있다.

[0207] <실험예 1-4> NBD-GGH의 Cu(II) 착화합물의 소광효과 평가

[0208] 제조예 4에서 제조된 NBD-GGH의 흡광 및 형광변화를 평가하여, 그 결과를 도 7에 나타내었다.

[0210] 도 7의 A는 NBD-GGH(30  $\mu$ M)가 녹아있는 수용액 중 구리(II) 금속이온 농도의 증가에 따른 흡광 변화를 도시한 그래프이다. 도 7의 B는 NBD-GGH(30  $\mu$ M)가 녹아있는 수용액 중 구리(II) 금속이온 농도의 증가에 따른 형광 변화를 도시한 그래프이다.

[0212] 도 7의 A를 살펴보면, 약 30  $\mu$ M(1당량)의 구리(II) 금속이온 존재하에서 가장 큰 흡광 변화가 나타나고, 30  $\mu$ M 초과 농도에서 더 이상의 흡광 변화는 나타나지 않는 것을 확인하였고, 도 7의 B를 살펴보면, 약 30  $\mu$ M(1당량)의 구리(II) 금속이온 존재하에서 형광이 거의 소광되고, 그 이상의 농도에서 형광변화가 나타나지 않는 것을 확인할 수 있다.

[0214] 따라서, 본 발명의 NBD-GGH는 Cu(II) 금속이온과 1:1의 몰비로 착화합물을 형성함으로써 NBD-GGH의 형광이 완전하게 소광됨을 확인할 수 있다.

[0216] 상기 본 실험예 1에서 살펴본 바와 같이, 본 발명에 따른 화학식 1로 표시되는 화합물은 트리캡타이드 수용체에 금속을 배위하여 착화합물을 형성함으로써, 화합물의 형광을 소광시킬 수 있고, 이로부터 본 발명의 사이나이드 검출용 조성물을 제조할 수 있음을 알 수 있다.

[0218] <실험예 2> 사이나이드 검출용 조성물의 사이나이드 검출 평가

[0219] 본 발명에 따른 사이나이드 검출용 조성물의 사이나이드 검출 평가를 하기 위해, 다음과 같이 실험하였다.

[0221] 상기 NBD-SSH(제조예 1), NBD-DDH(제조예 2), SNBD-GGH(제조예 3) 및 NBD-GGH(제조예 4)를 각각 Cu(II)와 착화합물을 형성하여 사이나이드 검출용 조성물을 제조한 뒤, 상기 조성물(30  $\mu$ M)이 녹아있는 수용액 중 사이나이드 농도를 점차적으로 증가시켜 흡광 및 형광 변화를 측정하여 사이나이드 검출 평가를 하였다.

[0223] <실험예 2-1> NBD-SSH-Cu(II)의 사이나이드 검출 평가

[0224] NBD-SSH-Cu(II)의 흡광 및 형광 변화를 측정하여 그 결과를 도 8에 나타내었다.

[0226] 도 8의 A는 NBD-SSH 및 Cu(II)로 구성된 사이나이드 검출용 조성물(30  $\mu$ M)이 녹아있는 수용액 중 사이나이드 농도를 증가시켜 나타난 흡광변화를 도시한 그래프이다. 도 8의 B는 NBD-SSH 및 Cu(II)로 구성된 사이나이드 검출용 조성물(30  $\mu$ M)이 녹아있는 수용액 중 사이나이드 농도를 증가시켜 나타난 형광변화를 도시한 그래프이다.

[0228] 도 8의 A를 살펴보면, 약 660  $\mu$ M(22 당량)의 사이나이드 존재하에서 흡광 변화가 가장 크게 나타났고, 그 이상의 농도에서 더 이상의 흡광변화가 나타나지 않는 것을 확인할 수 있고, 도 8의 B를 살펴보면, 약 660  $\mu$ M(22 당량)의 사이나이드 존재하에서 형광 변화가 가장 크게 나타났고, 그 이상의 농도에서 더 이상의 형광변화가 나타나지 않는 것을 확인할 수 있다.

[0230] 따라서, 본 발명의 NBD-SSH-Cu(II) 조성물은 민감도가 우수하게 1당량의 금속이온 조성물 대비 22당량의 사이나이드를 검출할 수 있고, 사이나이드의 농도 증가와 함께 형광 강도가 증가되어 비례적으로 사이나이드를 검출할 수 있어 사이나이드 검출에 유용하게 사용될 수 있다.

[0232] <실험예 2-2> NBD-DDH-Cu(II)의 사이나이드 검출 평가

[0233] NBD-DDH-Cu(II)의 흡광 및 형광 변화를 측정하여 그 결과를 도 9에 나타내었다.

[0235] 도 9의 A는 NBD-DDH 및 Cu(II)로 구성된 사이나이드 검출용 조성물(30  $\mu$ M)이 녹아있는 수용액 중 사이나이드 농도를 증가시켜 나타난 흡광변화를 도시한 그래프이다. 도 9의 B는 NBD-DDH 및 Cu(II)로 구성된 사이나이드 검출

용 조성물( $30\ \mu\text{M}$ )이 녹아있는 수용액 중 사이나이드 농도를 증가시켜 나타난 형광변화를 도시한 그래프이다.

[0237] 도 9의 A를 살펴보면, 약  $660\ \mu\text{M}$ (22 당량)의 사이나이드 존재하에서 흡광 변화가 가장 크게 나타났고, 그 이상의 농도에서 더 이상의 흡광변화가 나타나지 않는 것을 확인할 수 있고, 도 9의 B를 살펴보면, 약  $660\ \mu\text{M}$ (22 당량)의 사이나이드 존재하에서 형광 변화가 가장 크게 나타났고, 그 이상의 농도에서 더 이상의 형광변화가 나타나지 않는 것을 확인할 수 있다.

[0239] 따라서, 본 발명의 NBD-DDH-Cu(II) 조성물은 민감도가 우수하게 1당량의 금속이온 조성물 대비 22당량의 사이나이드를 검출할 수 있고, 사이나이드의 농도 증가와 함께 형광 강도가 증가되어 비례적으로 사이나이드를 검출할 수 있어 사이나이드 검출에 유용하게 사용될 수 있다.

[0241] <실험예 2-3> SNBD-GGH-Cu(II)의 사이나이드 검출 평가

[0242] SNBD-GGH-Cu(II)의 흡광 및 형광 변화를 측정하여 그 결과를 도 10에 나타내었다.

[0244] 도 10의 A는 SNBD-GGH 및 Cu(II)로 구성된 사이나이드 검출용 조성물( $30\ \mu\text{M}$ )이 녹아있는 수용액 중 사이나이드 농도를 증가시켜 나타난 흡광변화를 도시한 그래프이다. 도 10의 B는 SNBD-GGH 및 Cu(II)로 구성된 사이나이드 검출용 조성물( $30\ \mu\text{M}$ )이 녹아있는 수용액 중 사이나이드 농도를 증가시켜 나타난 형광변화를 도시한 그래프이다.

[0246] 도 10의 A를 살펴보면, 약  $660\ \mu\text{M}$ (22 당량)의 사이나이드 존재하에서 흡광 변화가 가장 크게 나타났고, 그 이상의 농도에서 더 이상의 흡광변화가 나타나지 않는 것을 확인할 수 있고, 도 10의 B를 살펴보면, 약  $660\ \mu\text{M}$ (22 당량)의 사이나이드 존재하에서 형광 변화가 가장 크게 나타났고, 그 이상의 농도에서 더 이상의 형광변화가 나타나지 않는 것을 확인할 수 있다.

[0248] 따라서, 본 발명의 SNBD-GGH-Cu(II) 조성물은 민감도가 우수하게 1당량의 금속이온 조성물 대비 22당량의 사이나이드를 검출할 수 있고, 사이나이드의 농도 증가와 함께 형광 강도가 증가되어 비례적으로 사이나이드를 검출할 수 있어 사이나이드 검출에 유용하게 사용될 수 있다.

[0250] <실험예 2-4> NBD-GGH-Cu(II)의 사이나이드 검출 평가

[0251] NBD-GGH-Cu(II)의 흡광 및 형광 변화를 측정하여 그 결과를 도 11에 나타내었다.

[0253] 도 11의 A는 NBD-GGH 및 Cu(II)로 구성된 사이나이드 검출용 조성물( $30\ \mu\text{M}$ )이 녹아있는 수용액 중 사이나이드 농도를 증가시켜 나타난 흡광변화를 도시한 그래프이다. 도 11의 B는 NBD-GGH 및 Cu(II)로 구성된 사이나이드 검출용 조성물( $30\ \mu\text{M}$ )이 녹아있는 수용액 중 사이나이드 농도를 증가시켜 나타난 형광변화를 도시한 그래프이다.

[0255] 도 11의 A를 살펴보면, 약  $660\ \mu\text{M}$ (22 당량)의 사이나이드 존재하에서 흡광 변화가 가장 크게 나타났고, 그 이상의 농도에서 더 이상의 흡광변화가 나타나지 않는 것을 확인할 수 있고, 도 11의 B를 살펴보면, 약  $660\ \mu\text{M}$ (22 당량)의 사이나이드 존재하에서 형광 변화가 가장 크게 나타났고, 그 이상의 농도에서 더 이상의 형광변화가 나타나지 않는 것을 확인할 수 있다.

[0257] 따라서, 본 발명의 NBD-GGH-Cu(II) 조성물은 민감도가 우수하게 1당량의 금속이온 조성물 대비 22당량의 사이나이드를 검출할 수 있고, 사이나이드의 농도 증가와 함께 형광 강도가 증가되어 비례적으로 사이나이드를 검출할 수 있어 사이나이드 검출에 유용하게 사용될 수 있다.

[0259] 상기 본 실험예 2에서 살펴본 바와 같이, 본 발명에 따른 사이나이드 검출용 조성물은 민감도가 우수하게 사이나이드를 검출할 수 있어 이를 포함하는 사이나이드 검출용 화학 센서 및 고도물처리 분야에서 유용하게 사용될 수 있다.

[0261] <실험예 3> 사이나이드 조성물의 사이나이드 선택성 평가

[0262] 본 발명에 따른 사이나이드 검출용 조성물의 사이나이드에 대한 선택성을 평가하기 위하여 다음과 같이 실험하였다.

[0264] 본 발명에 따른 사이나이드 검출용 조성물을 다음의 음이온과 실험하여 사이나이드 선택성을 평가하였다.

[0265] 실험에 사용된 음이온은  $\text{F}^-$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{Br}^-$ ,  $\text{I}^-$ ,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{CN}^-$ ,  $\text{SCN}^-$ ,  $\text{AcO}^-$ ,  $\text{HCO}_3^-$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ ,  $\text{ClO}_4^-$ ,  $\text{HPO}_4^{2-}$  및  $\text{HASO}_4^{2-}$ 이고 음이온 무처리 군을 대조군으로 하였다.

- [0266] 먼저, 각각의 음이온 및 무처리 군에 대해 흡광 및 형광 스펙트럼을 측정하였으며, 각각의 비색변화와 형광변화(UV, 365nm)를 육안으로 관찰하여, 그 결과를 도 12에 나타내었다.
- [0268] 또한, 본 발명의 사이나이드 검출용 조성물을 사이나이드만을 포함한 수용액, 사이나이드를 제외한 음이온을 포함한 수용액 및 사이나이드 및 음이온을 포함한 수용액에 대하여 형광 및 흡광 변화를 측정함으로써, 본 발명의 사이나이드 검출용 조성물의 사이나이드 선택성을 평가하였다.
- [0270] 이때, 상기 음이온을 증류수에 각각 용해시켜 음이온 기준용액을 제조하여 사용하였다. 테스트 용액은 사이나이드 검출용 조성물의 농도를 30  $\mu$ M로 하고, 음이온의 농도를 660  $\mu$ M로 하여 PBS 완충용액의 농도가 10 mM이 되도록 조절하였다. 형광 측정시, 제조된 테스트 용액을 여기 파장 469 nm, 여기 슬릿 및 방출 슬릿 폭 각각 10 nm 및 5.5 nm가 되도록 조절하여 형광 스펙트럼을 측정하였다.
- [0272] 도 12의 A는 본 발명의 사이나이드 검출용 조성물의  $F^-$ ,  $Cl^-$ ,  $Br^-$ ,  $I^-$ ,  $NO_3^-$ ,  $CN^-$ ,  $SCN^-$ ,  $AcO^-$ ,  $HCO_3^-$ ,  $SO_4^{2-}$ ,  $ClO_4^-$ ,  $HPO_4^{2-}$  및  $HAsO_4^{2-}$ 의 음이온에 대한 흡광 그래프를 도시한 것이고, 도 12의 B는 상기 음이온에 대한 형광 그래프를 도시한 것이고, 도 12의 C는 상기 음이온에 대한 비색변화를 나타낸 그림이고, 도 12의 D는 상기 음이온에 대한 형광변화(UV, 365 nm)를 나타낸 그림이다.
- [0273]
- [0274] 도 12의 A를 살펴보면, 사이나이드의 흡광 파장대가 사이나이드를 제외한 음이온 및 음이온 무처리의 파장대보다 단파장에서 형성됨을 확인할 수 있고, 이로부터 본 발명의 사이나이드 검출용 조성물이 선택적으로 사이나이드에 반응한다는 것을 확인할 수 있고, 도 12의 B를 살펴보면, 본 발명의 사이나이드 검출용 조성물이 사이나이드에 대하여 다른 음이온에서 나타나지 않는 형광을 나타냄을 확인할 수 있다. 이로부터 본 발명의 사이나이드 검출용 조성물이 선택적으로 사이나이드에 반응한다는 것을 확인할 수 있다. 도 12의 C 및 도 12의 D를 살펴보면, 본 발명의 사이나이드 검출용 조성물은 음이온 무처리의 테스트 용액 및 사이나이드를 제외한 다른 음이온에 대해 주황색의 비색을 나타내고 UV 램프 상에서 형광을 나타내지 않았으나, 사이나이드 존재 하에서는 노란색의 비색을 나타내고 UV 램프 상에서 형광을 나타내는 것을 확인할 수 있다.
- [0276] 따라서, 본 발명에 따른 사이나이드 검출용 조성물은 선택적으로 사이나이드를 검출할 수 있음을 알 수 있다.
- [0278] <실험예 3-1> NBD-SSH의 사이나이드 선택성 평가
- [0279] NBD-SSH만을 함유한 수용액을 대조군으로 하고, 각각의 사이나이드만을 함유한 수용액, 사이나이드를 제외한 음이온을 함유한 수용액, 사이나이드 및 음이온을 함유한 수용액에 대하여 형광 및 흡광 스펙트럼을 측정하였으며, 그 결과를 도 13에 나타내었다.
- [0281] 도 13의 A는 NBD-SSH, 사이나이드, 사이나이드를 제외한 음이온 및 사이나이드를 포함한 음이온 각각의 수용액에 대한 흡광 강도 그래프이고, 도 13의 B는 NBD-SSH, 사이나이드, 사이나이드를 제외한 음이온 및 사이나이드를 포함한 음이온에 대한 형광 강도 그래프이다.
- [0282] 도 13의 A를 살펴보면, 본 발명의 사이나이드 검출용 조성물은 사이나이드가 포함된 음이온 및 사이나이드만 포함된 수용액에서 흡광 강도의 변화를 나타내는 것을 확인할 수 있고, 도 13의 B를 살펴보면, 본 발명의 사이나이드 검출용 조성물은 사이나이드가 포함된 음이온 및 사이나이드만 포함된 수용액에서만 형광이 나타나는 것을 확인할 수 있다.
- [0284] 따라서, 본 발명의 사이나이드 검출용 조성물은 타 음이온과 반응하지 않아 형광을 나타내지 않고, 선택적으로 사이나이드와 반응하여 형광을 나타내고, 다른 음이온과 사이나이드가 혼합된 수용액에서도 선택적으로 사이나이드를 검출할 수 있어 본 발명의 사이나이드 검출용 조성물이 타 이온의 간섭없이 사이나이드를 우수하게 검출할 수 있음을 알 수 있다.
- [0286] <실험예 3-2> NBD-DDH의 사이나이드 선택성 평가
- [0287] NBD-DDH만을 함유한 수용액을 대조군으로 하고, 각각의 사이나이드만을 함유한 수용액, 사이나이드를 제외한 음이온을 함유한 수용액, 사이나이드 및 음이온을 함유한 수용액에 대하여 형광 및 흡광 스펙트럼을 측정하였으며, 그 결과를 도 14에 나타내었다.
- [0289] 도 14의 A는 NBD-DDH, 사이나이드, 사이나이드를 제외한 음이온 및 사이나이드를 포함한 음이온 각각의 수용액

에 대한 흡광 강도 그래프이고, 도 14의 B는 NBD-DDH, 사이나이드, 사이나이드를 제외한 음이온 및 사이나이드를 포함한 음이온에 대한 형광 강도 그래프이다.

[0290] 도 14의 A를 살펴보면, 본 발명의 사이나이드 검출용 조성물은 사이나이드가 포함된 음이온 및 사이나이드만 포함된 수용액에서 흡광 강도의 변화를 나타내는 것을 확인할 수 있고, 도 14의 B를 살펴보면, 본 발명의 사이나이드 검출용 조성물은 사이나이드가 포함된 음이온 및 사이나이드만 포함된 수용액에서만 형광이 나타나는 것을 확인할 수 있다.

[0292] 따라서, 본 발명의 사이나이드 검출용 조성물은 타 음이온과 반응하지 않아 형광을 나타내지 않고, 선택적으로 사이나이드와 반응하여 형광을 나타내고, 다른 음이온과 사이나이드가 혼합된 수용액에서도 선택적으로 사이나이드를 검출할 수 있어 본 발명의 사이나이드 검출용 조성물이 타 이온의 간섭없이 사이나이드를 우수하게 검출할 수 있음을 알 수 있다.

#### [0294] <실험예 3-3> SNBD-GGH의 사이나이드 선택성 평가

[0295] SNBD-GGH만을 함유한 수용액을 대조군으로 하고, 각각의 사이나이드만을 함유한 수용액, 사이나이드를 제외한 음이온을 함유한 수용액, 사이나이드 및 음이온을 함유한 수용액에 대하여 형광 및 흡광 스펙트럼을 측정하였으며, 그 결과를 도 15에 나타내었다.

[0297] 도 15의 A는 SNBD-GGH, 사이나이드, 사이나이드를 제외한 음이온 및 사이나이드를 포함한 음이온 각각의 수용액에 대한 흡광 강도 그래프이고, 도 15의 B는 NBD-DDH, 사이나이드, 사이나이드를 제외한 음이온 및 사이나이드를 포함한 음이온에 대한 형광 강도 그래프이다.

[0298] 도 15의 A를 살펴보면, 본 발명의 사이나이드 검출용 조성물은 사이나이드가 포함된 음이온 및 사이나이드만 포함된 수용액에서 흡광 강도의 변화를 나타내는 것을 확인할 수 있고, 도 15의 B를 살펴보면, 본 발명의 사이나이드 검출용 조성물은 사이나이드가 포함된 음이온 및 사이나이드만 포함된 수용액에서만 형광이 나타나는 것을 확인할 수 있다.

[0300] 따라서, 본 발명의 사이나이드 검출용 조성물은 타 음이온과 반응하지 않아 형광을 나타내지 않고, 선택적으로 사이나이드와 반응하여 형광을 나타내고, 다른 음이온과 사이나이드가 혼합된 수용액에서도 선택적으로 사이나이드를 검출할 수 있어 본 발명의 사이나이드 검출용 조성물이 타 이온의 간섭없이 사이나이드를 우수하게 검출할 수 있음을 알 수 있다.

#### [0302] <실험예 3-4> NBD-GGH의 사이나이드 선택성 평가

[0303] NBD-GGH만을 함유한 수용액을 대조군으로 하고, 각각의 사이나이드만을 함유한 수용액, 사이나이드를 제외한 음이온을 함유한 수용액, 사이나이드 및 음이온을 함유한 수용액에 대하여 형광 및 흡광 스펙트럼을 측정하였으며, 그 결과를 도 16에 나타내었다.

[0305] 도 16의 A는 NBD-GGH, 사이나이드, 사이나이드를 제외한 음이온 및 사이나이드를 포함한 음이온 각각의 수용액에 대한 흡광 강도 그래프이고, 도 16의 B는 NBD-GGH, 사이나이드, 사이나이드를 제외한 음이온 및 사이나이드를 포함한 음이온에 대한 형광 강도 그래프이다.

[0306] 도 16의 A를 살펴보면, 본 발명의 사이나이드 검출용 조성물은 사이나이드가 포함된 음이온 및 사이나이드만 포함된 수용액에서 흡광 강도의 변화를 나타내는 것을 확인할 수 있고, 도 16의 B를 살펴보면, 본 발명의 사이나이드 검출용 조성물은 사이나이드가 포함된 음이온 및 사이나이드만 포함된 수용액에서만 형광이 나타나는 것을 확인할 수 있다.

[0308] 따라서, 본 발명의 사이나이드 검출용 조성물은 타 음이온과 반응하지 않아 형광을 나타내지 않고, 선택적으로 사이나이드와 반응하여 형광을 나타내고, 다른 음이온과 사이나이드가 혼합된 수용액에서도 선택적으로 사이나이드를 검출할 수 있어 본 발명의 사이나이드 검출용 조성물이 타 이온의 간섭없이 사이나이드를 우수하게 검출할 수 있음을 알 수 있다.

[0310] 상기 본 실험예 3에서 살펴본 바와 같이, 본 발명에 따른 사이나이드 검출용 조성물은 사이나이드를 선택적으로 검출할 수 있으며, 타 음이온의 간섭과 무관하게 사이나이드를 검출할 수 있어, 사이나이드 검출용 화학센서 및 이를 포함하는 고도물처리 분야에서 유용하게 사용될 수 있다.

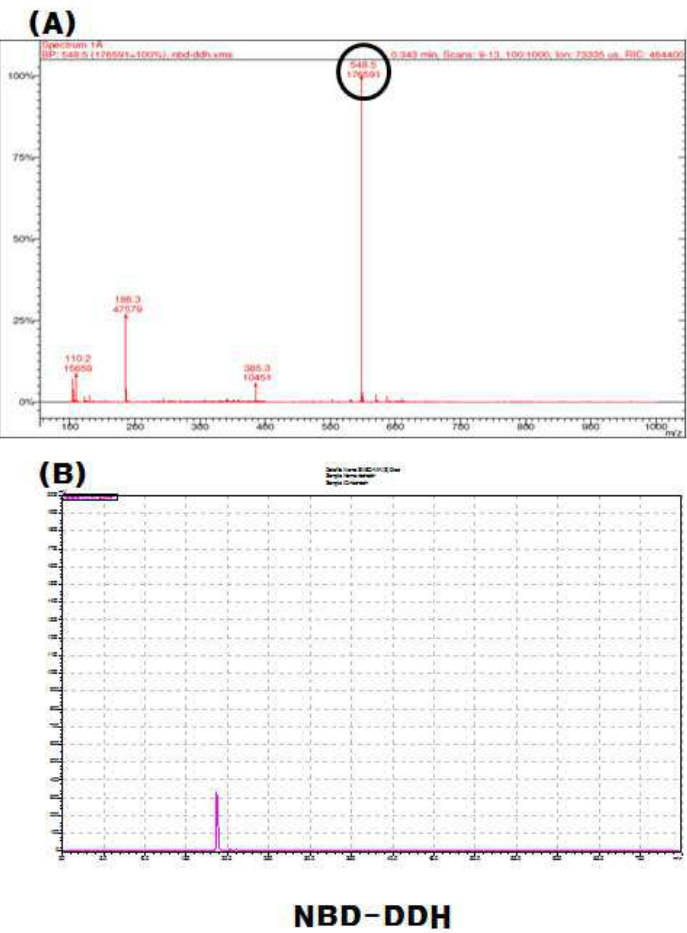
#### [0312] <실험예 4> 사이나이드 검출 민감도 평가

- [0313] 본 발명의 사이나이드 검출용 조성물의 검출 한계를 평가하기 위해, 다음과 같이 실험하였다.
- [0315] 구체적으로, 본 발명의 사이나이드 검출용 조성물(0.5  $\mu$ M)을 100% 수용액에 용해시키고, 점차적으로 사이나이드의 농도를 나노몰의 단위로 증가시켜, 이의 형광 변화를 측정함으로써, 사이나이드에 대한 검출 민감도와 검출 한계를 평가하였다(10 mM HEPES 버퍼용액, PH 7.4, 여기 469 nm, 형광검출 525 nm, 슬릿 15/15 nm).
- [0316] 검출 한계 측정 방식으로, 사이나이드가 없을 경우의 형광 세기에 비교하여 세배 이상의 형광 증가가 나타나는 최소 사이나이드 농도를 검출 한계값으로 구하였다.
- [0318] <실험예 4-1> NBD-SSH의 사이나이드 검출 민감도 평가
- [0319] NBD-SSH-Cu(II) 조성물의 사이나이드 농도 변화에 대한 형광 변화를 측정하였으며, 그 결과를 도 17에 나타내었다.
- [0321] 도 17은 NBD-SSH-Cu(II)(0.5  $\mu$ M)의 100% 수용액에서의 사이나이드 농도에 따른 형광 강도 그래프이다.
- [0323] 도 17을 살펴보면, 사이나이드 검출용 조성물은 0~1000 nM의 사이나이드에 대해서 선형 거동을 보이며, 사이나이드 농도에 대하여 0.00278로 상당히 우수한 민감도를 보인다. 검출 한계값은 724 nM이며, 이는 세계보건기구(WHO)에서 요구하는 음용수 내 최대 사이나이드 농도 허용치인  $1.9 \times 10^{-6}$  M의 농도보다 상당히 낮은 농도임을 확인할 수 있다.
- [0325] 따라서, 본 발명에 따른 사이나이드 검출용 NBD-SSH-Cu(II) 조성물은 세계보건기구에서 정한 사이나이드 허용 농도값 이하로 민감하게 사이나이드를 검출할 수 있어, 음용수, 고도물처리 등의 분야에서 유용하게 사용될 수 있다.
- [0327] <실험예 4-2> NBD-DDH의 사이나이드 검출 민감도 평가
- [0328] NBD-DDH-Cu(II) 조성물의 사이나이드 농도 변화에 대한 형광 변화를 측정하였으며, 그 결과를 도 18에 나타내었다.
- [0330] 도 18은 NBD-DDH-Cu(II)(30  $\mu$ M)의 100% 수용액에서의 사이나이드 농도에 따른 형광 강도 그래프이다.
- [0332] 도 18을 살펴보면, 사이나이드 검출용 조성물은 사이나이드 농도 증가에 대한 형광 증가가 선형의 거동으로 나타나고, 검출 한계값은 14.89 nM로 세계보건기구(WHO)에서 요구하는 음용수 내 최대 사이나이드 농도 허용치인  $1.9 \times 10^{-6}$  M의 농도보다 상당히 낮은 농도임을 확인할 수 있다.
- [0334] 따라서, 본 발명에 따른 사이나이드 검출용 NBD-DDH-Cu(II) 조성물은 세계보건기구에서 정한 사이나이드 허용 농도값 이하로 민감하게 사이나이드를 검출할 수 있어, 음용수, 고도물처리 등의 분야에서 유용하게 사용될 수 있다.
- [0336] <실험예 4-3> SNBD-GGH의 사이나이드 검출 민감도 평가
- [0337] SNBD-GGH-Cu(II) 조성물의 사이나이드 농도 변화에 대한 형광 변화를 측정하였으며, 그 결과를 도 19에 나타내었다.
- [0339] 도 19는 SNBD-GGH-Cu(II)(30  $\mu$ M)의 100% 수용액에서의 사이나이드 농도에 따른 형광 강도 그래프이다.
- [0341] 도 19를 살펴보면, 사이나이드 검출용 조성물은 사이나이드 농도 증가에 대해 형광 증가가 선형 거동을 보이며, 검출 한계값은 17.42 nM이며, 이는 세계보건기구(WHO)에서 요구하는 음용수 내 최대 사이나이드 농도 허용치인  $1.9 \times 10^{-6}$  M의 농도보다 상당히 낮은 농도임을 확인할 수 있다.
- [0343] 따라서, 본 발명에 따른 사이나이드 검출용 SNBD-GGH-Cu(II) 조성물은 세계보건기구에서 정한 사이나이드 허용 농도값 이하로 민감하게 사이나이드를 검출할 수 있어, 음용수, 고도물처리 등의 분야에서 유용하게 사용될 수 있다.
- [0345] <실험예 4-4> NBD-GGH의 사이나이드 검출 민감도 평가
- [0346] NBD-GGH-Cu(II) 조성물의 사이나이드 농도 변화에 대한 형광 변화를 측정하였으며, 그 결과를 도 20에 나타내었다.
- [0348] 도 20은 NBD-GGH-Cu(II)(30  $\mu$ M)의 100% 수용액에서의 사이나이드 농도에 따른 형광 강도 그래프이다.

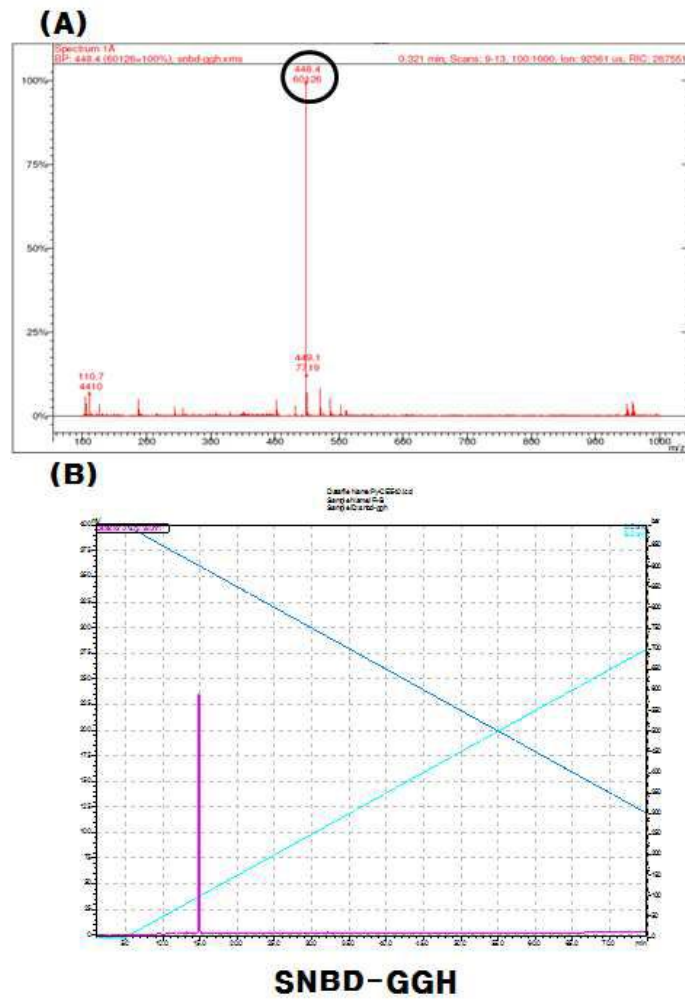
- [0350] 도 20을 살펴보면, 사이나이드 검출용 조성물은 사이나이드 농도 증가에 대해 형광의 증가가 선형 거동을 보이고, 검출 한계값은 69.42 nM이며, 이는 세계보건기구(WHO)에서 요구하는 음용수 내 최대 사이나이드 농도 허용치인  $1.9 \times 10^{-6}$  M의 농도보다 상당히 낮은 농도임을 확인할 수 있다.
- [0352] 따라서, 본 발명에 따른 사이나이드 검출용 NBD-GGH-Cu(II) 조성물은 세계보건기구에서 정한 사이나이드 허용농도값 이하로 민감하게 사이나이드를 검출할 수 있어, 음용수, 고도물처리 등의 분야에서 유용하게 사용될 수 있다.
- [0354] 상기 본 실험예 4에서 살펴본 바와 같이, 본 발명에 따른 사이나이드 검출용 조성물은 세계 보건기구의 음용수 사이나이드 허용치인  $1.9 \times 10^{-6}$  M 보다 낮은 농도의 사이나이드를 검출할 수 있고, nM 단위로 검출할 수 있어 매우 민감한 사이나이드 검출용 조성물으로써, 이를 함유하는 사이나이드 검출용 화학 센서, 고도물처리, 음용수 등의 분야에서 유용하게 사용될 수 있다.
- [0356] <실험예 5> 고해상도 ESI-Mass 분석
- [0357] 본 발명의 사이나이드 검출용 조성물의 사이나이드 검출방법을 확인하기 위해, 다음과 같이 실험하였다.
- [0359] 구체적으로, 사이나이드 검출 전 본 발명의 사이나이드 검출용 조성물과 사이나이드 검출시 사이나이드 검출용 조성물의 변화를 확인하기 위해, ESI-Mass를 수행하여 분석하였으며, 그 결과를 도 21 및 도 22에 나타내었다.
- [0361] 도 21은 본 발명의 사이나이드 검출용 조성물의 ESI-Mass 그래프이다.
- [0363] 도 22는 사이나이드 검출시 변화된 본 발명의 사이나이드 검출용 조성물의 ESI-Mass 그래프이다.
- [0364]
- [0365] 도 21을 살펴보면, 본 발명의 사이나이드 검출용 조성물(NBD-SSH 및 구리(II) 이온) 존재하에서 고해상도 ESI-Mass 분석시,  $m/z = 551.0567$  에서 강한 피크가 나타나는 것을 확인할 수 있다. 이 피크는  $[\text{NBD-SSH-Cu}^{2+} - 3\text{H}]^+$  에 해당하며 이를 통해 본 발명의 사이나이드 검출용 조성물을 확인할 수 있다.
- [0367] 도 22를 살펴보면, 본 발명의 사이나이드 검출용 조성물에 사이나이드를 첨가한 후,  $[\text{NBD-SSH} + \text{H}]^+$  에 해당하는  $m/z = 492.1587$  의 새로운 피크가 나타나는 것을 확인할 수 있다. 이 피크로부터 본 발명의 사이나이드 검출용 조성물에서 Cu(II)가 이탈되었음을 확인할 수 있다.
- [0369] 따라서, 본 발명의 사이나이드 검출용 조성물은 Cu(II) 이온과 1 : 1로 착화합물을 형성하며, 사이나이드 검출시 본 발명의 사이나이드 검출용 조성물로부터 Cu(II) 이온이 이탈되어 사이나이드와 결합하는 방법으로 사이나이드가 검출되는 것임을 확인할 수 있다.

도면

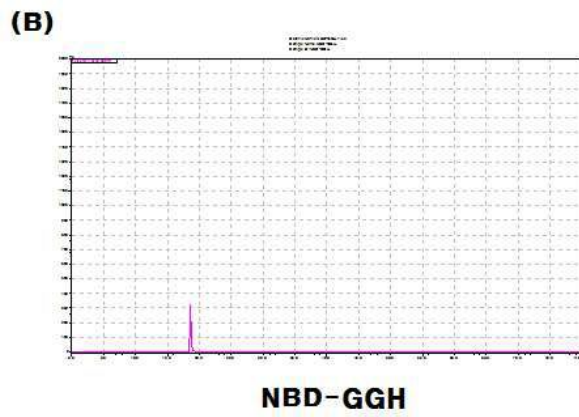
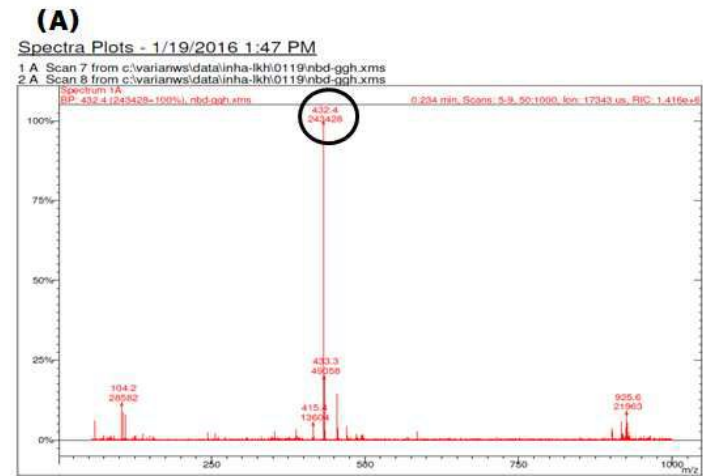
도면1



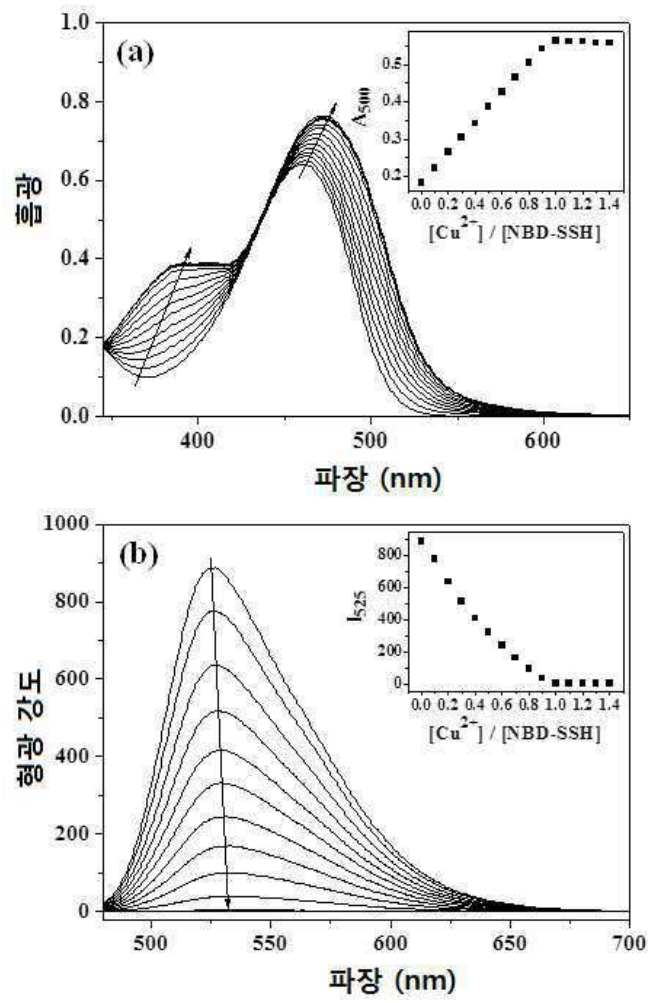
도면2



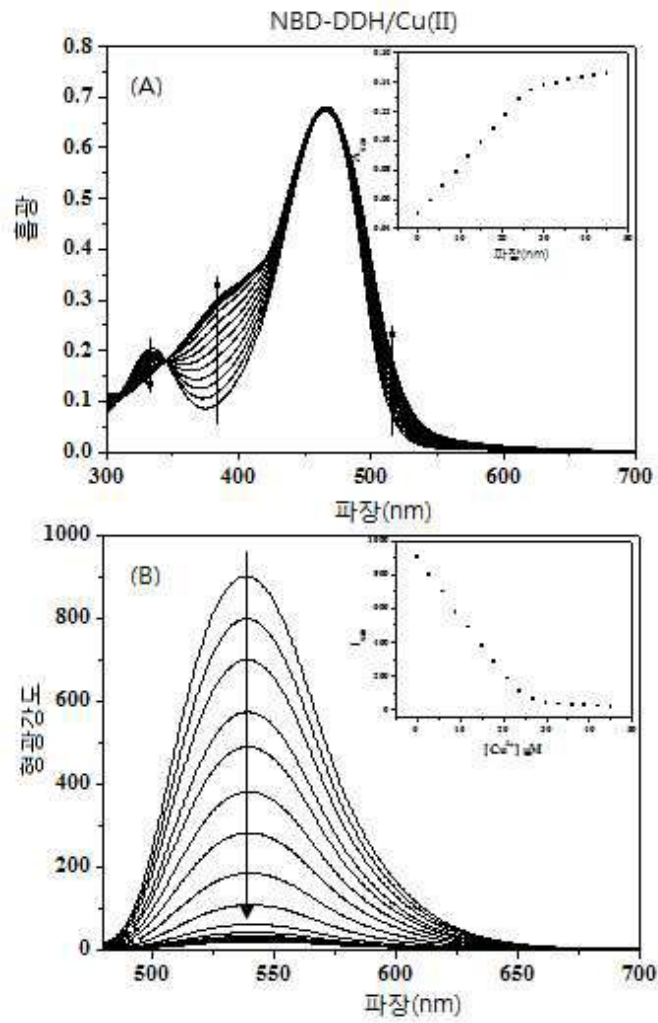
도면3



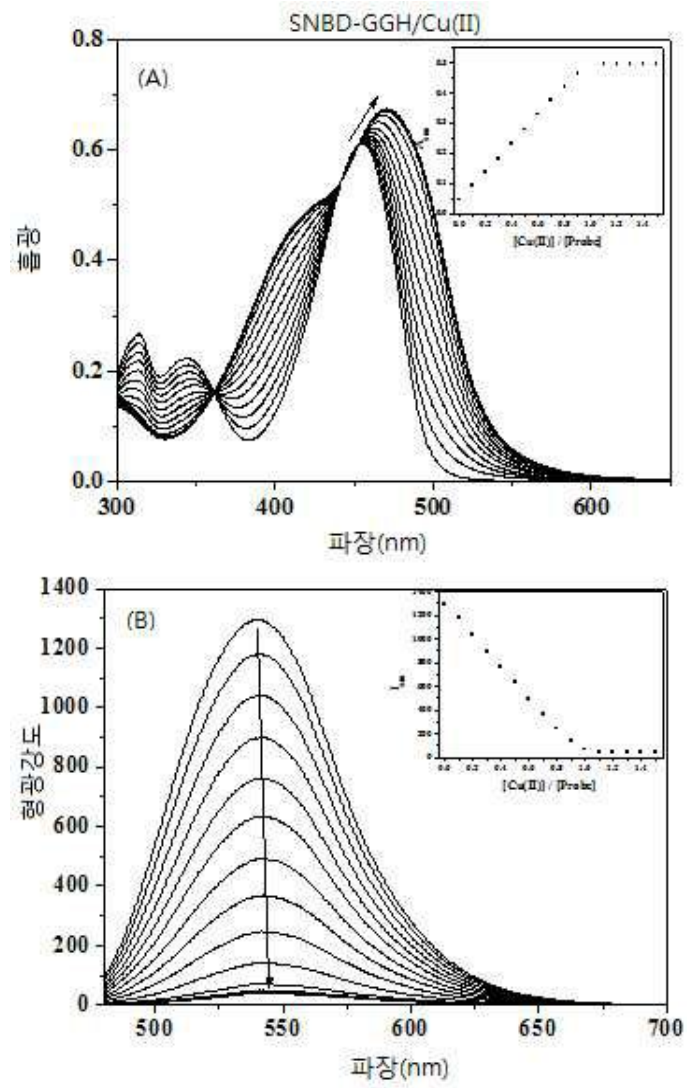
도면4



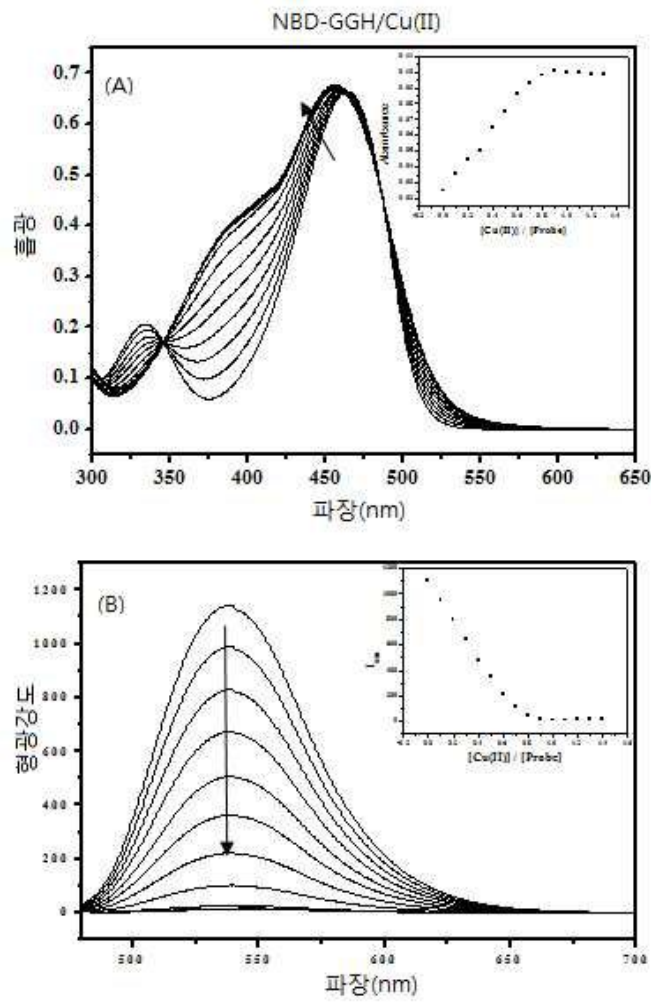
도면5



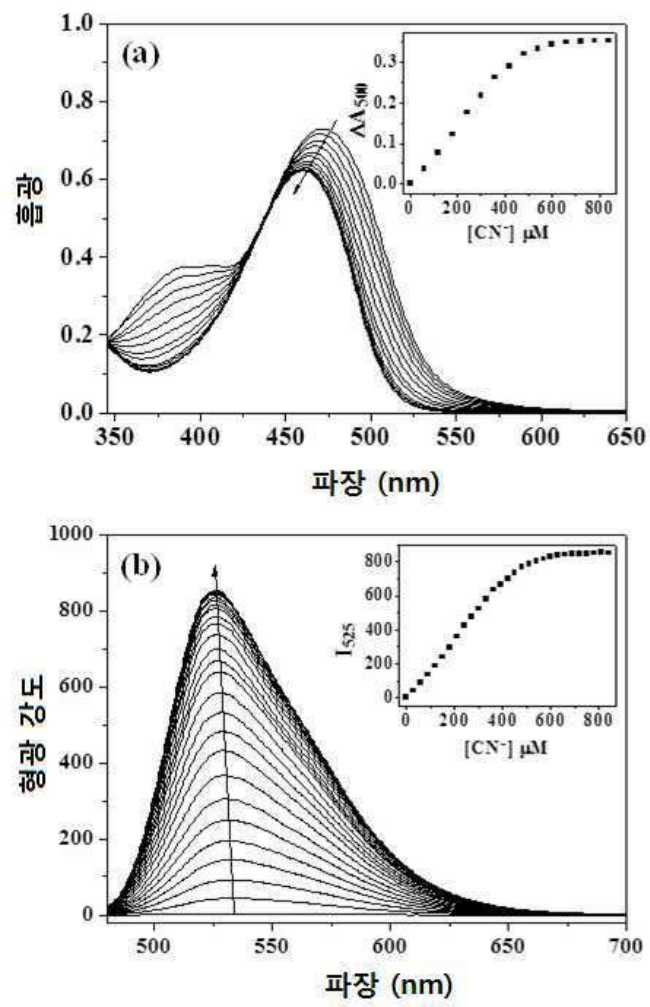
도면6



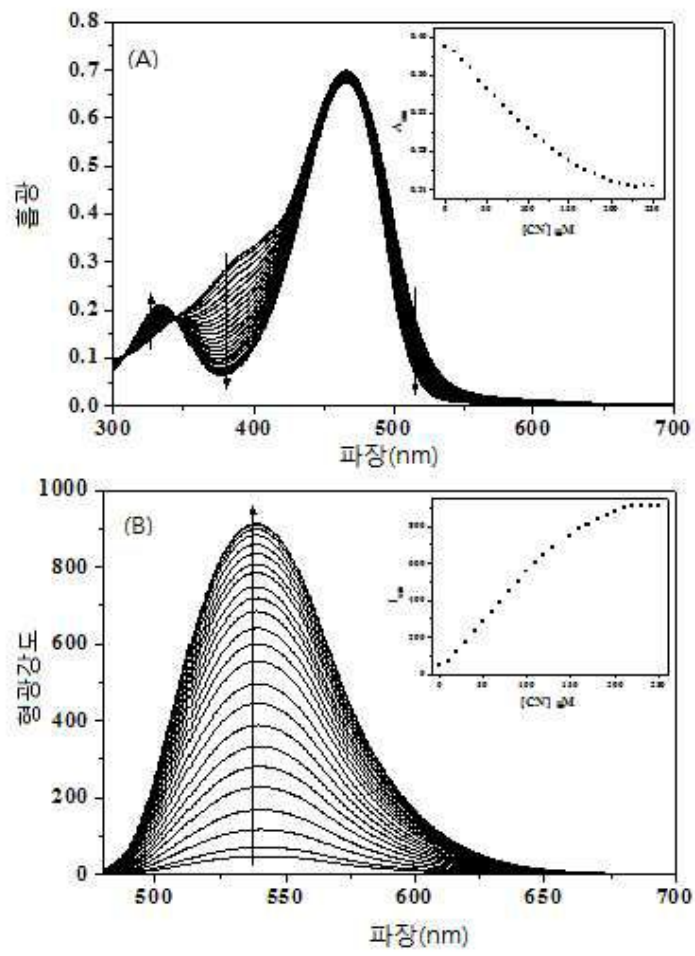
도면7



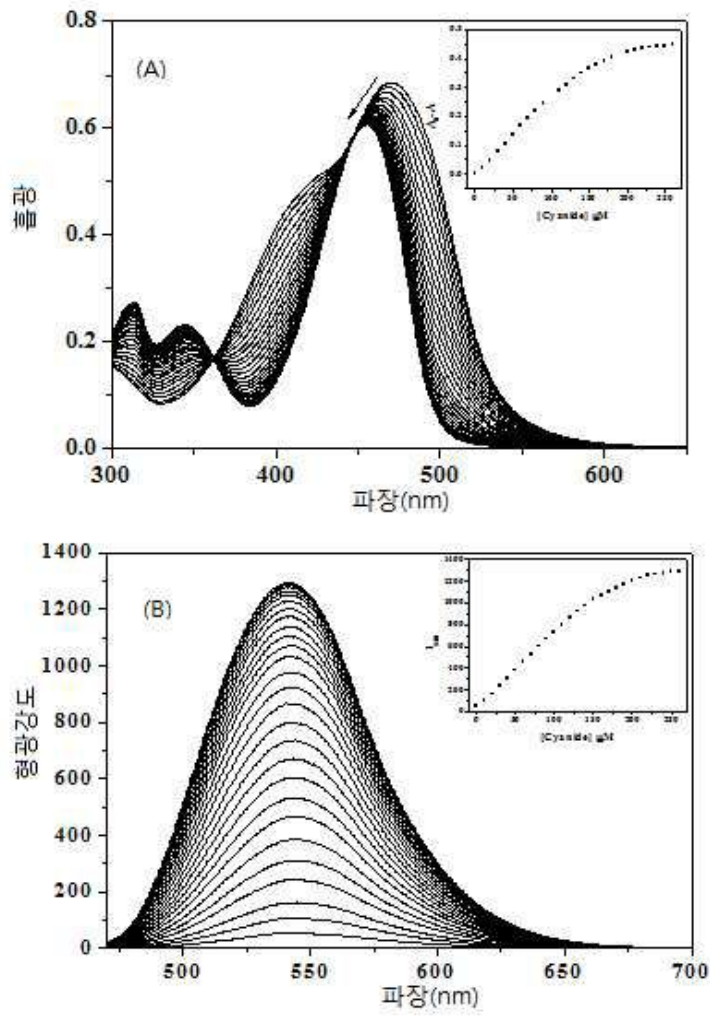
도면8



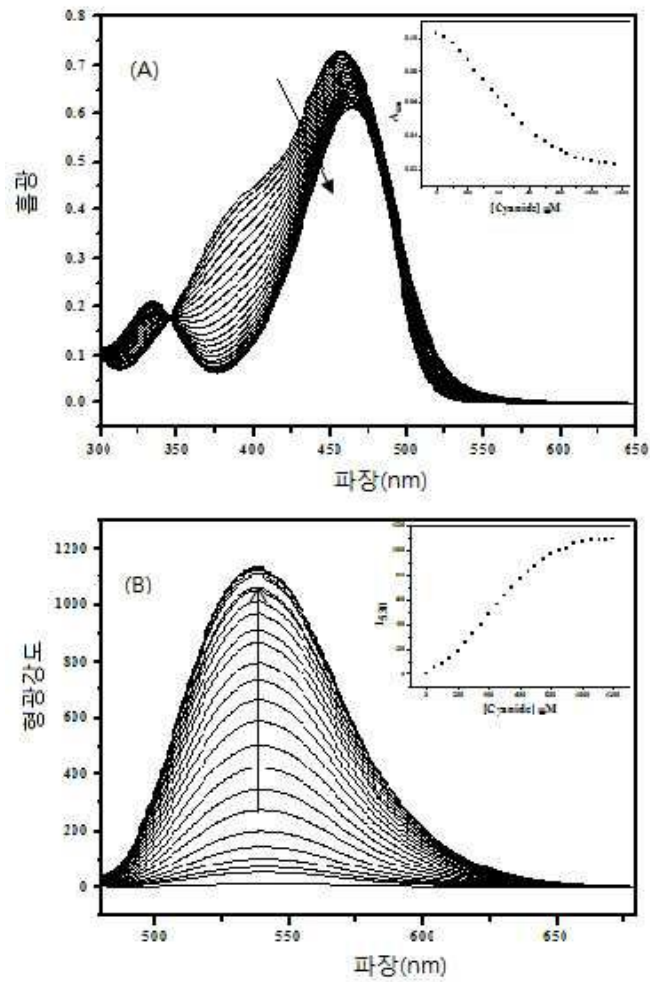
도면9



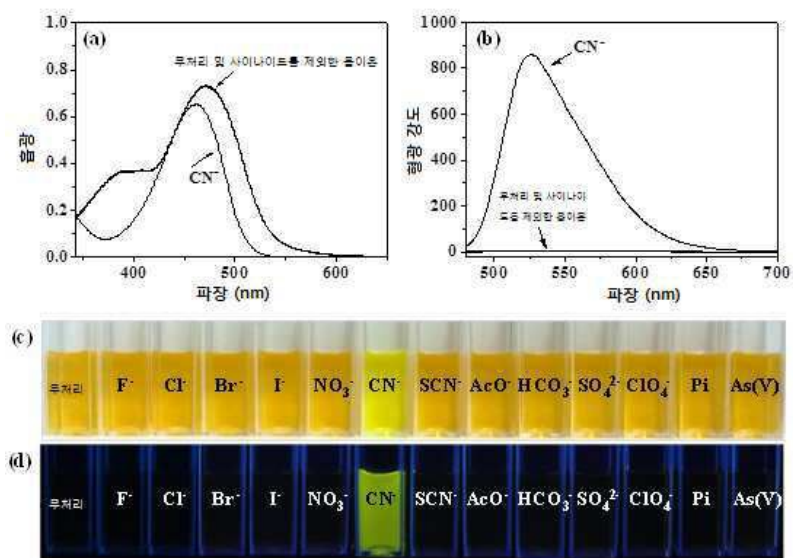
도면10



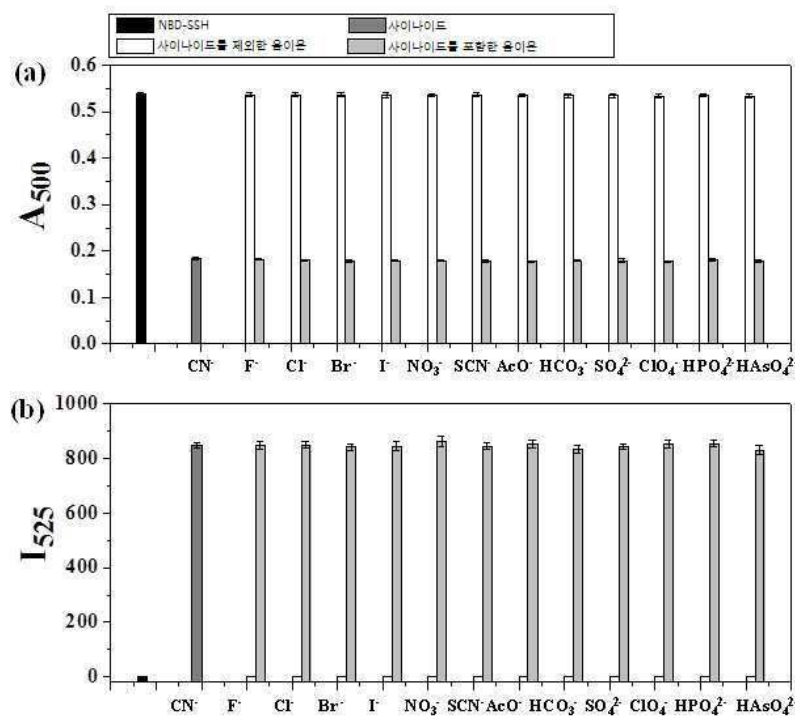
도면11



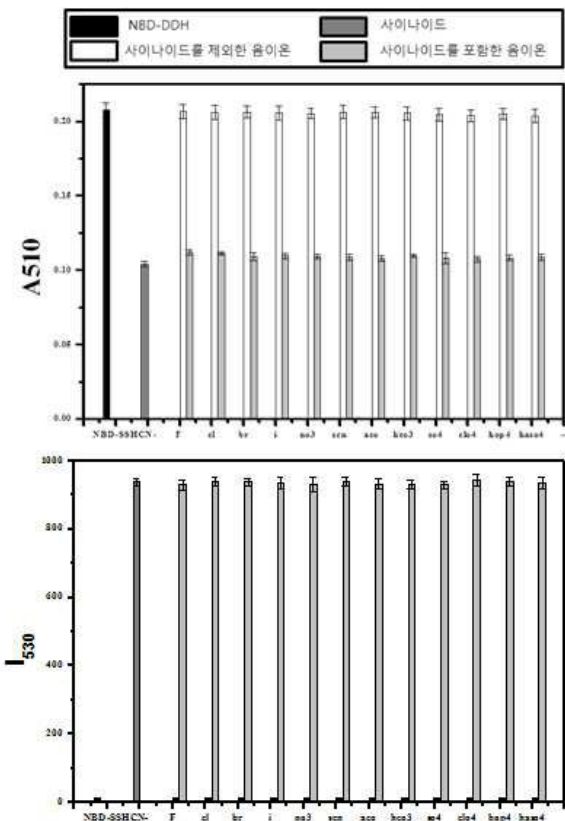
도면12



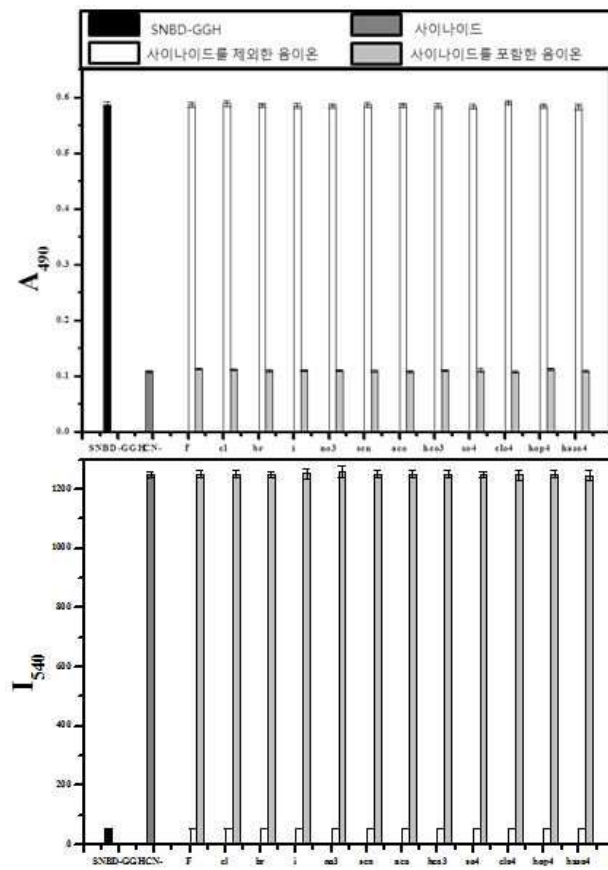
도면13



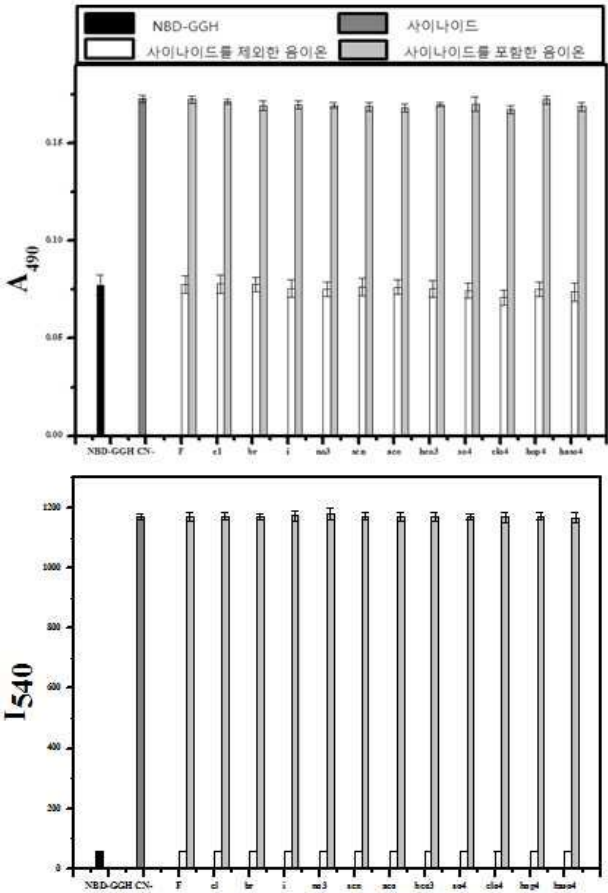
도면14



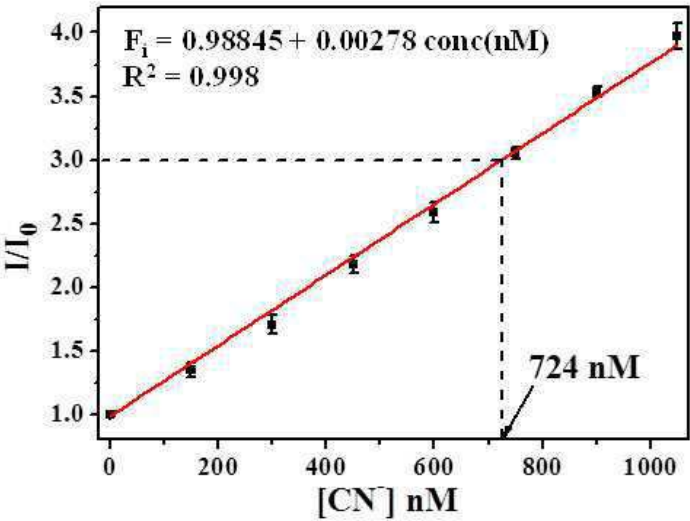
도면15



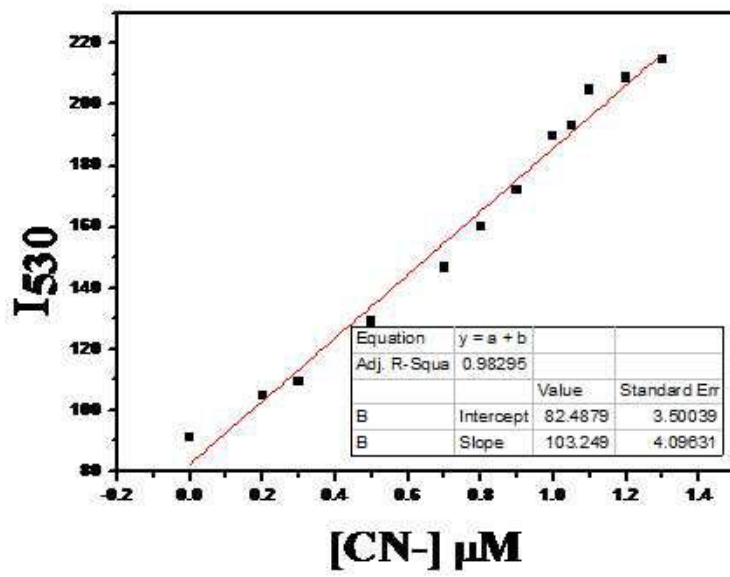
도면16



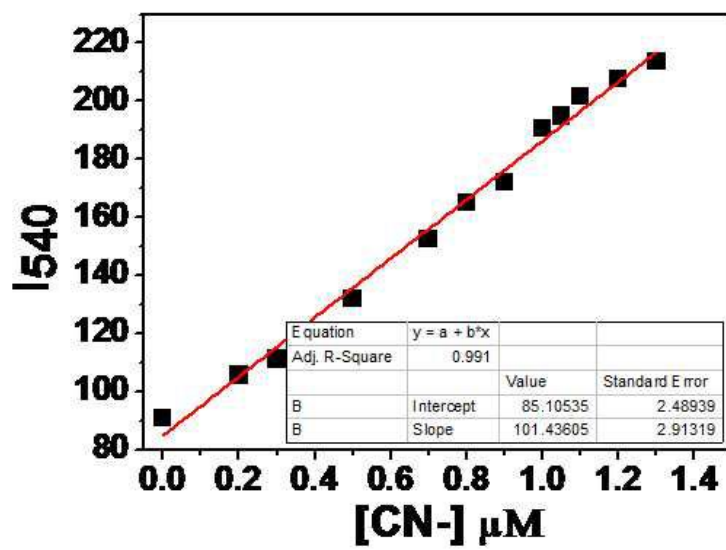
도면17



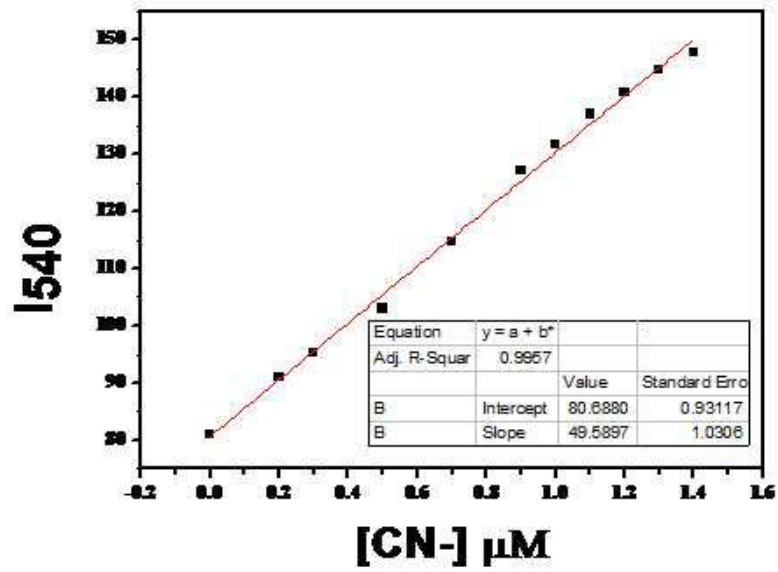
도면18



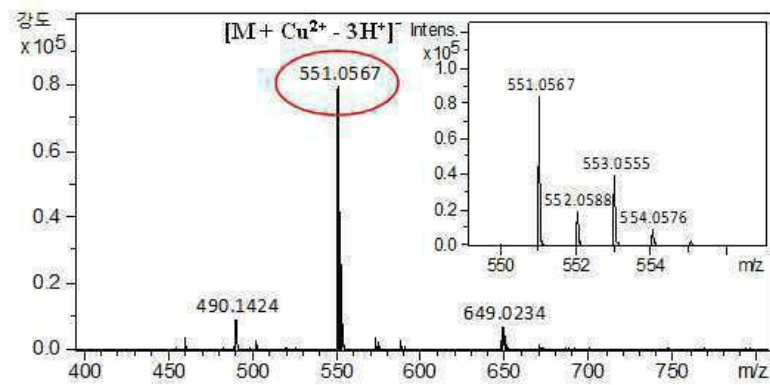
도면19



도면20



도면21



도면22

