



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호

10-2010-0103202

(43) 공개일자

2010년09월27일

(51) Int. Cl.

B82B 1/00

(2006.01)

G01N 33/50

(2006.01)

(21) 출원번호

10-2009-0021699

(22) 출원일자

2009년03월13일

심사청구일자

2009년03월13일

(71) 출원인

경상대학교산학협력단

경상남도 진주시 가좌동 900

(72) 발명자

정종화

대전광역시 서구 둔산동 수정타운아파트 11동 501호

김남훈

경상남도 마산시 진동면 진동리 325번지

(74) 대리인

이현수, 김종선, 김태현, 정홍식

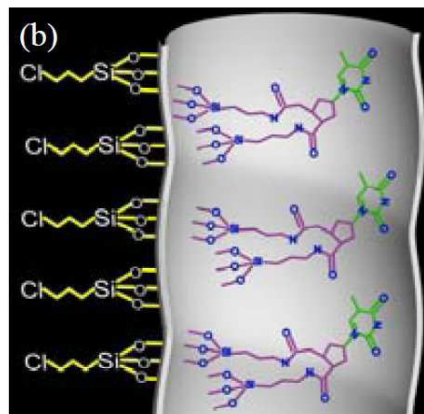
전체 청구항 수 : 총 10 항

(54) 뉴클레오타이드 선택적 실리카 나노튜브, 이의 제조 방법 및 이를 포함하는 바이오 센서

(57) 요약

뉴클레오타이드 선택적 실리카 나노튜브 및 이의 제조 방법, 이를 이용한 바이오 센서가 개시된다. 본 발명의 뉴클레오타이드 선택적 실리카 나노튜브는 원통형으로 형성된 주형의 일측면이 주기율표상의 7족 원소 또는 하이드록실기로 포화되어 있고, 상기 주형의 타측면이 뉴클레오타이드로 포화되어 있으며, 상기 주형은 실리카를 포함한다. 본 발명에 따르면, 뉴클레오타이드에 대해서 선택적으로 반응하는 실리카 나노튜브를 제공함으로써 생체 의학적으로 사용할 수 있는 효과가 있다.

대표도 - 도1b



이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 03-2008-0121/03-2008-0128

부처명 과학기술부/환경부

연구관리전문기관

연구사업명 감마선 조사에 의한 중금속 흡착용 유기-무기../고 효율 중금속 분리/제거용 다공성 유기-무기..

연구과제명 감마선 조사에 의한 중금속 흡착용 유기-무기../고 효율 중금속 분리/제거용 다공성 유기-무기..

기여율

주관기관 경상대학교/경상대학교

연구기간 2008년 04월 01일 ~ 2009년 03월 31/2008년 04월 01일 ~ 2009년 03월 31

특허청구의 범위

청구항 1

원통형으로 형성된 주형의 일측면이 주기율표상의 7족 원소 또는 하이드록실기로 포화되어 있고,
상기 주형의 타측면이 뉴클레오티드로 포화되어 있으며,
상기 주형은 실리카를 포함하는 것을 특징으로 하는 뉴클레오티드 선택적 실리카 나노튜브.

청구항 2

제 1항에 있어서,
상기 7족 원소는 염소 또는 불소인 것을 특징으로 하는 뉴클레오티드 선택적 실리카 나노튜브.

청구항 3

제 1항에 있어서,
상기 주형을 포화시키는 뉴클레오티드는 구아닌, 아데노신, 티미딘 또는 시토신인 것을 특징으로 하는 뉴클레오티드 선택적 실리카 나노튜브.

청구항 4

제 2항에 있어서,
상기 7족 원소는 염소이고, 상기 염소는 상기 주형의 외측면에 포화되는 것을 특징으로 하는 뉴클레오티드 선택적 실리카 나노튜브.

청구항 5

제 3항에 있어서,
상기 주형을 포화시키는 뉴클레오티드는 티미딘이고, 상기 실리카 나노튜브는 아데노신 선택적인 것을 특징으로 하는 뉴클레오티드 선택적 실리카 나노튜브.

청구항 6

겔형성제를 이용하여 유기 겔 섬유를 제조하는 단계;
상기 유기 겔 섬유에 테트라에톡시실란을 첨가하여 반응시켜서 원통형의 실리카 나노튜브 주형을 제조하는 단계;
상기 실리카 나노튜브 주형의 외측면에 염소를 고정시키는 단계; 및
상기 실리카 나노튜브 주형의 내측면에 뉴클레오티드를 고정시키는 단계;
를 포함하는 것을 특징으로 하는 뉴클레오티드 선택적 실리카 나노튜브의 제조 방법.

청구항 7

제 6항에 있어서,
상기 실리카 나노튜브 주형의 외측면에 염소를 고정시키는 단계는 (3-클로로)트리메톡시실란을 이용하는 것을 특징으로 하는 뉴클레오티드 선택적 실리카 나노튜브의 제조 방법.

청구항 8

제 6항에 있어서,
상기 주형을 포화시키는 뉴클레오티드는 구아닌, 아데노신, 티미딘 또는 시토신인 것을 특징으로 하는 뉴클레오티드 선택적 실리카 나노튜브의 제조 방법.

청구항 9

기재; 및

상기 기재 상에 코팅된 센서층;을 포함하고,

상기 센서층은 실리카를 포함하는 원통형의 나노튜브를 포함하며,

상기 나노튜브의 일측면이 뉴클레오티드로 포화되어 있으며,

상기 뉴클레오티드는 티미딘, 구아닌, 시토신 또는 아데노신인 것을 특징으로 하는 뉴클레오티드를 탐지하는 바이오 센서.

청구항 10

제 9항에 있어서,

상기 바이오 센서는 상기 나노튜브에 포화되어 있는 뉴클레오티드가 표적 뉴클레오티드와 반응하여 발광하는 것을 탐지하는 것을 특징으로 하는 뉴클레오티드를 탐지하는 바이오 센서.

명세서

발명의 상세한 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 실리카 나노튜브에 대한 것으로, 더욱 상세하기로는 표적 뉴클레오티드를 선택적으로 탐지할 수 있는 실리카 나노튜브 및 이의 제조방법과 이 실리카 나노튜브를 포함하는 바이오 센서에 대한 것이다.

배경 기술

[0002] 최근 산업계에서는 초소형화, 초정밀화되고 있는 부품들의 개발에 맞추어 나노미터 크기의 기능성 물질에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다.

[0003] 나노미터 크기의 기능성 물질 개발을 위해서 나노미터 크기의 튜브, 즉, 나노튜브를 사용하는 기술이 많이 응용되고 있다. 나노튜브는 일반적으로 탄소 나노튜브가 많이 이용되고 있는데, 탄소 나노튜브는 탄소 원자가 다른 탄소 원자와 육각형 벌집 무늬로 결합되어 있는 튜브 형태를 이루고 있는 물질이다.

[0004] 그러나, 탄소는 생체 친화적이지 않기 때문에, 의학 및/또는 약학과 같은 분야에서는 응용되는 범위가 좁다.

[0005] 한편, 실리카(silicon dioxide, SiO₂)로 제조되는 실리카 나노튜브에 대한 관심이 높아지고 있다. 실리카 나노튜브는 그 제조가 용이하고 제조 단가가 저렴하며, 수용액 중에서 쉽게 현탁화할 수 있는 점 때문에 응용 범위가 넓은 장점이 있다.

[0006] 또한, 실리카 나노튜브는 생체 적합성이 우수하여 최근 의약 분야에서도 연구 개발이 시급히 요구되고 있다.

발명의 내용

해결 하고자하는 과제

[0007] 본 발명은 상기와 같은 요구에 의해서 안출된 것으로서, 본 발명의 목적은 실리카 나노튜브를 이용하여 표적 뉴클레오티드를 검출할 수 있는 실리카 나노튜브를 제공하고자 하는 것이다.

[0008] 본 발명의 두번째 목적은 표적 뉴클레오티드를 검출할 수 있는 실리카 나노튜브의 제조 방법을 제공하고자 하는 것이다.

[0009] 본 발명의 세번째 목적은 표적 뉴클레오티드를 검출할 수 있는 실리카 나노튜브를 포함하는 바이오 센서를 제공하고자 하는 것이다.

과제 해결수단

[0010] 상기한 바와 같은 목적을 달성하기 위한 본 발명에 따른 뉴클레오티드 선택적 실리카 나노튜브는 원통형으로 형

성된 주형의 일측면이 주기율표상의 7족 원소 또는 하이드록실기로 포화되어 있고,

[0011] 상기 주형의 타측면이 뉴클레오티드로 포화되어 있으며,

[0012] 상기 주형은 실리카를 포함한다.

[0013] 상기 7족 원소는 염소 또는 불소인 것이 바람직하고, 더욱 바람직하기로는 염소이다.

[0014] 상기 염소는 상기 주형의 외측면에 포화되는 것이 바람직하다.

[0015] 상기 주형을 포화시키는 뉴클레오티드는 구아닌, 아데노신, 티미딘 또는 시토신이 바람직하고, 더욱 바람직하기로는 티미딘이다.

[0016] 상기 주형을 포화시키는 뉴클레오티드가 티미딘인 경우, 실리카 나노 튜브는 아데노신 선택적이다.

[0017] 본 발명의 두번째 목적을 달성하기 위한 뉴클레오티드 선택적 실리카 나노튜브의 제조 방법은,

[0018] 겔형성제를 이용하여 유기 겔 섬유를 제조하는 단계;

[0019] 상기 유기 겔 섬유에 테트라에톡시실란을 첨가하여 반응시켜서 원통형의 실리카 나노 튜브 주형을 제조하는 단계;

[0020] 상기 실리카 나노 튜브 주형의 외측면에 염소를 고정시키는 단계; 및

[0021] 상기 실리카 나노 튜브 주형의 내측면에 뉴클레오티드를 고정시키는 단계;

[0022] 를 포함한다.

[0023] 상기 실리카 나노 튜브 주형의 외측면에 염소를 고정시키는 단계는 (3-클로로)트리메톡시실란을 이용하는 것이 바람직하다.

[0024] 상기 주형을 포화시키는 뉴클레오티드는 구아닌, 아데노신, 티미딘 또는 시토신인 것이 바람직하고, 더욱 바람직하기로는 티미딘이다.

[0025] 본 발명의 세번째 목적을 달성하기 위한 바이오 센서는,

[0026] 기재; 및

[0027] 상기 기재 상에 코팅된 센서층;을 포함하고,

[0028] 상기 센서층은 실리카를 포함하는 원통형의 나노튜브를 포함하며,

[0029] 상기 나노튜브의 일측면이 뉴클레오티드로 포화되어 있으며,

[0030] 상기 뉴클레오티드는 티미딘, 구아닌, 시토신 또는 아데노신이다.

[0031] 상기 바이오 센서는 상기 나노튜브에 포화되어 있는 뉴클레오티드가 표적 뉴클레오티드와 반응하여 발광하는 것을 탐지하는 것이 바람직하다.

효 과

[0032] 이상과 같은 본 발명에 따르면, 특정 뉴클레오티드에 대해서 선택적으로 반응하는 실리카 나노튜브 및 그 제조 방법과 이를 응용한 바이오 센서를 제공하여, 질병의 진단이나 세포적 사건을 모니터링하는 데에 중요한 도구로서 개발될 수 있는 효과가 있다.

발명의 실시를 위한 구체적인 내용

[0033] 이하에서는 첨부되는 도면을 참조하여 본 발명을 더욱 상술한다.

[0034] 본 발명은 표적 뉴클레오티드를 탐지하기 위하여 뉴클레오티드를 담지하는 실리카 나노튜브에 대한 것이다.

[0035] 실리카 나노튜브는 그 생체 적합성으로 인하여 잠재적으로 바이오분리(bioseparation), 약물 전달, 화상 형성 및 생체 의학과 같은 분야에서 널리 사용될 것이 기대되는 새로운 무기 구조물의 한 종류이다.

[0036] 본 발명은 이러한 실리카 나노튜브에 신규한 작용기를 친관성 구조와 결합시켜서 상용화가 가능하도록 기능화시키고자 한 것으로, 특히, 실리카 나노튜브에 소정의 뉴클레오티드를 결합시켜서 표적 뉴클레오티드를 탐지하는

바이오센서로 응용할 수 있도록 제공하고자 한다.

[0037] 본 명세서에서 사용하는 용어인 뉴클레오티드는 핵산을 구성하는 단위체로서, 염기-당-인산의 결합으로 이루어지는 것을 의미한다.

[0038] 염기는 DNA의 경우, 아데닌(A), 구아닌(G), 시토신(C), 티민(T)이 있으며, RNA의 경우 티민 대신 우라실(U)이 들어 간다. 이 중에서, 아데닌은 티민과 상보적 수소 결합을 하고, 구아닌은 시토신과 상보적 수소 결합을 한다.

[0039] 당은 5탄당을 포함한다.

[0040] 먼저, 본 발명의 뉴클레오티드가 결합된 실리카 나노튜브, 즉, 뉴클레오티드-실리카 나노튜브는, 원통형으로 형성된 주형의 실리카 나노튜브의 내측 또는 외측면이 뉴클레오티드로 결합하고 있고, 다른 측면은 주기율표상의 7족 원소와 결합하고 있다.

[0041] 주기율표상의 7족 원소 중에서는 염소와 결합시키는 것이 바람직하며, 원통형의 실리카 나노튜브 주형의 외측 표면을 염소와 결합시키는 것이 바람직하다.

[0042] 실리카 나노튜브 주형의 외측 표면을 먼저 염소로 포화시킨 후에 내측의 빈 공간을 뉴클레오티드로 포화시키는 것이 공정상 유리할 수 있기 때문인데, 편의에 따라서 외측 표면을 뉴클레오티드로 포화시키고 내측 표면을 염소로 포화시킬 수도 있다.

[0043] 시료 물질 중의 탐지하고자 하는 뉴클레오티드에 따라서 반응하는 뉴클레오티드를 포화시킨 실리카 나노튜브를 이용할 수 있다.

[0044] 즉, 본 발명에 따른 일 실시예에서, 실리카 나노튜브의 주형과 결합하는 뉴클레오티드는 탐지하고자 하는 표적 뉴클레오티드와 결합할 수 있는 뉴클레오티드이다. 이는, 앞서 설명한 바와 같이, A-T, G-C의 DNA 염기의 상보적 결합 관계를 고려할 수 있다.

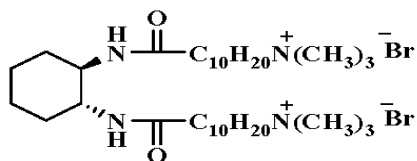
[0045] 본 발명의 뉴클레오티드-실리카 나노튜브를 제조하는 과정은 다음과 같다.

[0046] 먼저, 겔형성체를 이용하여 유기 겔 섬유를 제조하고, 이 유기 겔 섬유에 테트라에톡시실란을 첨가하여 반응시켜서 원통형의 실리카 나노 튜브의 주형을 제조한다.

[0047] 겔형성체는 공지의 겔화제를 사용할 수 있다. 본 발명에 사용할 수 있는 겔화제로는 예를 들면, 카르복시폴리메틸렌, 카르복시메틸 셀룰로오스, 카르복시프로필 셀룰로오스, 폴록사머(poloxamer), 카라겐안(carrageenan), 비이검(Beegum), 카르복시비닐, 카라얀고무, 크산고무, 구아검, 아라비아고무, 트라가칸트고무와 같은 제품을 이용할 수도 있지만 이에 한정되는 것은 아니다.

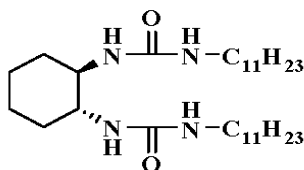
[0048] 본 발명에서는 겔형성체로서, 다음의 화학식을 갖는 화합물을 혼합하여 사용한다.

[0049] [화학식 A]



[0050]

[0051] [화학식 B]

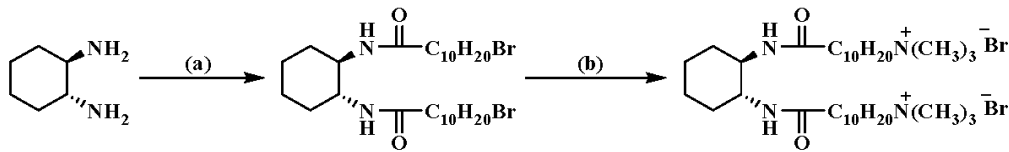


[0052]

[0053] 상기 화학식 A 및 화학식 B의 화합물을 혼합하여 겔 시료를 준비한 다음, 여기에 테트라에톡시실란(TEOS)을 첨가하여 반응시켜서 원통형의 실리카 나노 튜브의 주형을 제조한다.

[0054] 상기 화학식 A의 겔형성제는 다음과 같은 반응식을 통해서 제조할 수 있다.

반응식 1

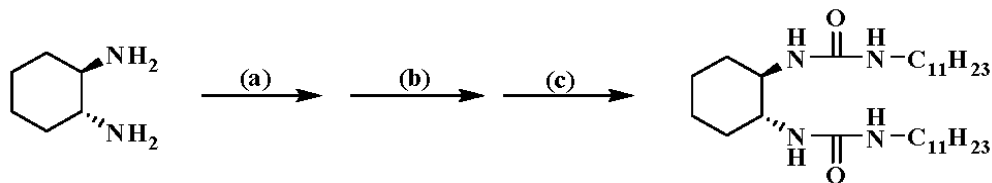


[0055]

[0056] 상기에서 (a)에서는 11-브로모운데칸산, DCC, DMAP, THF의 용매가 사용되고, (b)에서는 TMA, THF/DMF와 같은 용매가 사용될 수 있다.

[0057] 또한, 화학식 B의 겔형성제는 다음과 같은 반응식을 통해서 제조할 수 있다.

반응식 2



[0058]

[0059] 상기 식에서 (a)에서는 도데실이소시아네이트, 톨루엔과 같은 용매가 사용되고, (b)에서는 DCM이 사용되며, (c)에서는 디에틸에테르와 같은 용매가 사용될 수 있다.

[0060] 이렇게 해서 형성된 실리카 나노 튜브 주형은 원통형이면서 그 내부가 비어있지 않은 구조이다.

[0061] 그 다음, 이렇게 해서 형성된 실리카 나노 튜브 주형의 외측면에 염소를 고정시킨다.

[0062] 염소를 고정시키기 위해서, (3-클로로프로필)트리메톡시실란을 실리카 나노 튜브에 접촉시켜서 염소가 실리카 나노 튜브에 고정되도록 한다. 실리카 나노 튜브의 주형이 그 내부가 비어 있지 않은 구조이기 때문에 염소는 실리카 나노 튜브의 외측면에 고정되게 된다.

[0063] 그 다음, 실리카 나노 튜브 주형의 내부를 세척해 내고, 이 내측면에 뉴클레오티드를 고정시킨다.

[0064] 상기와 같은 방법으로 제조되는 뉴클레오티드-실리카 나노튜브를 이용하여 바이오 센서를 제조할 수 있다.

[0065] 본 발명의 일 실시예에 따르면, 소정의 기재 상에 상기 제조되는 뉴클레오티드-실리카 나노튜브를 포함하는 코팅용액을 코팅하여 바이오 센서를 제조할 수 있다.

[0066] 이렇게 제조되는 바이오 센서는 특정 뉴클레오티드에 대해서 반응하게 되며, 이 반응에 의해서 발광을 하면 시료 중에 특정 뉴클레오티드의 존재 유무와 그 함량의 정도를 파악할 수 있다.

[0067] 이하에서는 본 발명에 따른 실시예를 참고하여 더욱 상세하게 설명한다.

[0068] {실시예}

[0069] 실리카 나노 튜브의 제조

[0070] 상기 화학식 A 및 화학식 B를 갖는 화합물을 1:1의 중량%로 혼합하여 겔형성제를 준비하였다.

[0071] 이 겔형성제 30mg을 에탄올 2ml에 넣고 가열하여 용해시켜 겔 시료를 준비하였다.

[0072] 이 겔 시료에 테트라에톡시실란(TEOS) 120mg, 물 40mg, 벤질아민 40mg을 첨가하고 용액이 투명해질 때까지 승온하였다. 그 다음, 이 반응 혼합물을 3일 동안 정지 상태로 실온에 방치하였다.

[0073] 그 다음, 생성물을 톨루엔으로 세정하였다.

[0074] 이렇게 하여 실리카 나노튜브의 백색의 고형분을 수득하였다.

[0075] 한편, (3-클로로프로필)트리메톡시실란(100mg, 0.50 mmol)을 무수 톨루엔 10ml에 용해시켰다. 그 다음, 상기에 서 수득된 백색 고형분의 실리카 나노튜브에 100mg을 첨가하여 현탁액을 제조하였다. 그 다음, 이 실리카 나노튜브 현탁액을 24시간 동안 60℃에서 교반하였다.

[0076] 그 다음, 고형분을 수집하고 이를 뜨거운 에탄올로 세정하여 유기 겔 형성제와 잉여분의 (3-클로로프로필)트리메톡시실란을 제거하였고, 진공 하에서 건조시켰다.

[0077] 이렇게 하여 외측 표면이 염소로 포화된 실리카 나노튜브를 제조하였다.

[0078] 티미딘 화합물의 제조

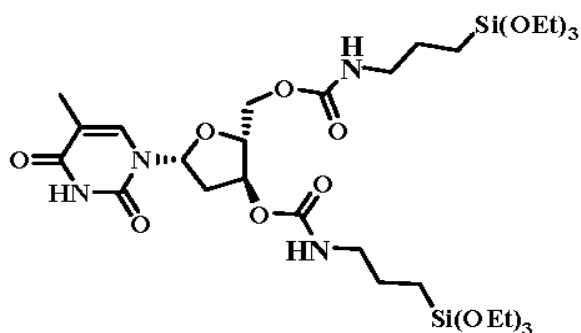
[0079] 티미딘(1.0g, 4.12mmol)을 무수물 DMF(10ml) 중에 용해하였다.

[0080] 트리에틸아민(3g, 29.6mmol) 및 트리에톡시실릴프로필 이소시아네이트(2.5g, 10.1mmol)을 티미딘 용액에 첨가하였다. 이 용액을 환류 조건하에서 24시간 동안 교반한 후 실온으로 냉각하였다.

[0081] 그 다음, 물을 첨가하였고, 에틸아세테이트 50ml로 추출하였다. 유기층을 $MgSO_4$ 로 건조하였다. 진공에서 유기 용매를 제거하여 흰색 고체를 수득하였다.

[0082] 이 조생성물을 에틸아세테이트/헥산(1/3 v/v)의 크로마토그래피 칼럼으로 정제하여 하기 화학식 C의 최종 생성물을 수득하였다. 수득율은 70%였다.

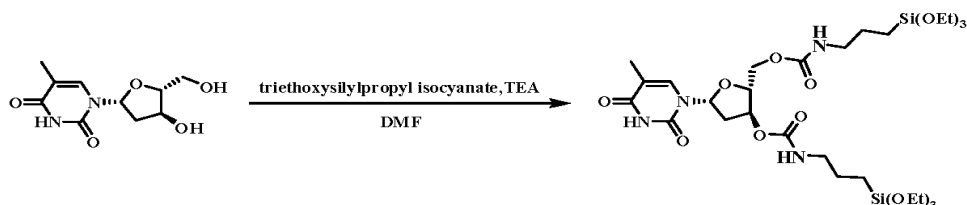
[0083] [화학식 C]



[0084]

[0085] 이를 반응식으로 표현하면 다음과 같다.

반응식 3



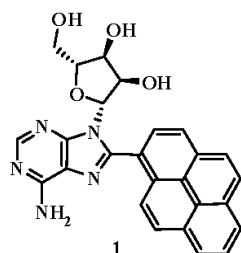
[0086]

[0087] 1H NMR(300MHz, $DMSO-d_6$) δ = 11.3(s, 1H), 7.47(s, 1H), 7.4~7.0(m, 3H), 6.2(t, 1H, $J=6Hz$), 5.36~5.06(m, 1H), 4.23~4.09(m, 3H), 3.93(q, 12H, $J=3.6Hz$), 2.96(d, 2H, $J=3Hz$), 2.50~2.15(m, 2H), 1.46(m, 4H), 1.13(t, 18H, $J=6.9Hz$), 0.55(t, 4H, $J=7.5Hz$);

[0088] ^{13}C NMR(300MHz, $DMSO-d_6$):164.0, 156.2, 155.7, 150.9, 136.0, 110.2, 84.2, 82.5, 74.8, 64.3, 59.7, 43.4, 36.5, 23.4, 18.5, 15.5, 12.5, 7.6;

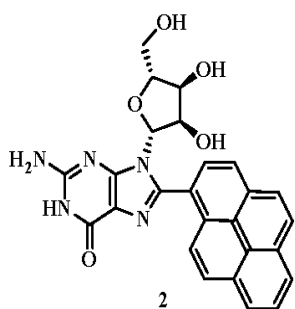
- [0089] IR(KBr 플레이트 상에서, cm^{-1}): 3340(m), 2980(s), 2922(s), 2885(s), 1705(s), 1536(m);
- [0090] EI^+ MS m/z (M) 736;
- [0091] $\text{C}_{30}\text{H}_{56}\text{N}_4\text{O}_{13}\text{Si}_2$ 에 대한 Anal. Calcd. : C, 48.89; H, 7.66; N, 7.60; O, 28.22; Si, 7.62; 확인: C, 47.73, H, 7.74; N, 7.42.
- [0092] **티미딘-실리카 나노튜브의 제조**
- [0093] 상기에서 제조된 실리카 나노튜브와 화학식 C의 티미딘 화합물을 결합시킨 티미딘-실리카 나노튜브를 제조하였다.
- [0094] 먼저 상기 제조된 실리카 나노튜브의 내면에 선택적으로 티미딘 화합물을 고정하기 위해서, 화학식 C의 상기 제조된 티미딘 화합물(100mg, 0.13mmol)을 무수 톨루엔 10ml에 용해시켰다. 그 다음, 실리카 나노튜브 100mg을 첨가하여 반응시켰다.
- [0095] 그 다음, 이 반응 혼합물을 24시간 동안 환류 조건에서 교반하였다.
- [0096] 그 다음, 고형분을 수집하고 과량의 THF로 세정하여 잉여분의 티미딘 화합물을 제거하였고, 진공하에서 건조시켰다.
- [0097] 이렇게 하여 티미딘-실리카 나노튜브를 수득하였다.
- [0098] 이렇게 해서 수득된 티미딘-실리카 나노튜브의 TEM(전자주사 현미경) 이미지를 도 1a에 나타내고, ^{13}C CP/MAS를 도 6에 나타내며, TOF-SIMS(이차이온질량 분석기) 스펙트럼을 도 7에 나타내었다.
- [0099] 도 1b를 참조하면, 본 발명의 일 실시예에 따라 제조된 티미딘-실리카 나노튜브에서 티미딘이 공유 결합으로 고정되어 있는 것으로 이해할 수 있다.
- [0100] 도 1a를 참조하면, 티미딘은 티미딘-실리카 나노튜브에서 그 내부 지름의 20nm 지점에서 잘 드러나는 것을 알 수 있다.
- [0101] 도 6을 참조하면, ^{13}C CP/MAS 관측에 따르면, 탄소 피크가 117, 159, 179ppm에서 나타나는데, 이들은 티미딘 화합물의 탄소임을 알 수 있다.
- [0102] 또한, 도 7에서 알 수 있듯이, 티미딘 화합물의 분절은 이차이온질량분석기로 확인할 수 있는데, 이들에 의해서, 티미딘 화합물이 실리카 나노튜브의 내부 표면에 부착되어 있음을 알 수 있다.
- [0103] 도 5를 참조하면, 본 발명의 일 실시예에 따라서 티미딘-실리카 나노튜브를 제조하는 과정이 잘 도시되어 있다.
- [0104] {테스트}
- [0105] 다음 화학식들로 표현되는 시료들을 각각 준비하였다.

화학식 1



- [0106]
- [0107] 편의상 상기 화학식 1을 갖는 시료를 이하에서 화합물 1이라고 칭한다.

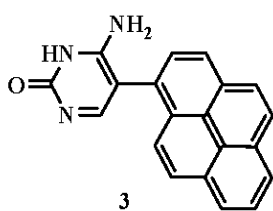
화학식 2



[0108]

[0109] 편의상 상기 화학식 2을 갖는 시료를 이하에서 화합물 2라고 칭한다.

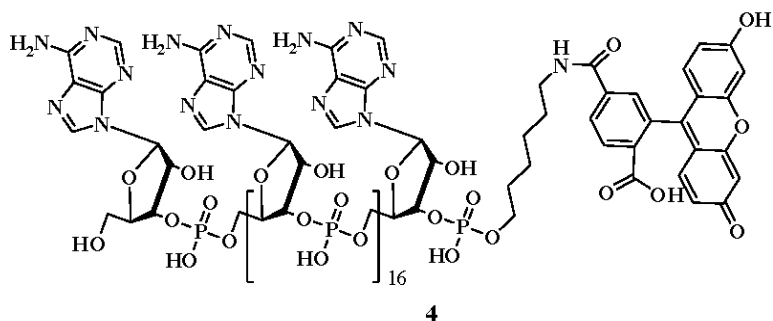
화학식 3



[0110]

[0111] 편의상 상기 화학식 3을 갖는 시료를 이하에서 화합물 3이라고 칭한다.

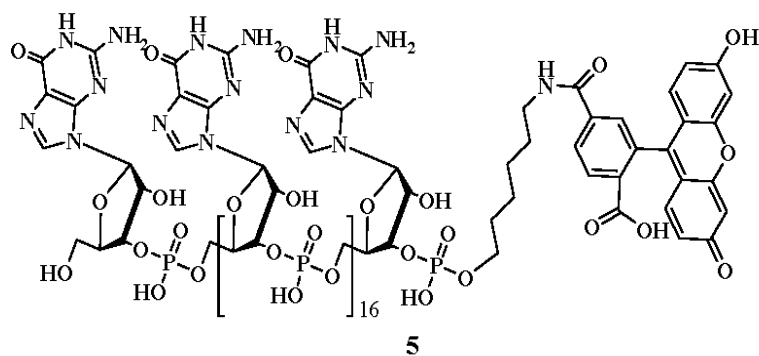
화학식 4



[0112]

[0113] 편의상 상기 화학식 4을 갖는 시료를 이하에서 화합물 4라고 칭한다.

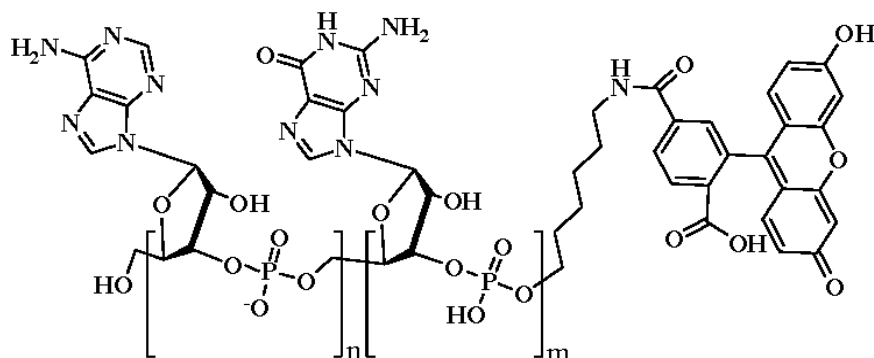
화학식 5



[0114]

[0115] 편의상 상기 화학식 5을 갖는 시료를 이하에서 화합물 5라고 칭한다.

화학식 6



[0116]

[0117] 식 중 n이 6, m이 12인 경우는 화합물 6, n이 3, m이 15인 경우는 화합물 7로, n이 1, m이 17인 경우는 화합물 8이라고 한다.

[0118] 먼저, 화합물 1, 화합물 2 및 화합물 3을 다음과 같은 방법으로 제조하여 준비하였다.

화합물 1의 제조

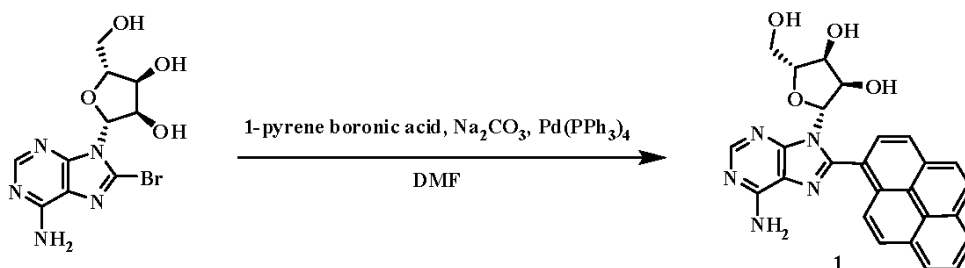
[0120] 8-브로모아데노신(50mg, 0.14mmol), 피렌보론산(pyrene boronic acid)(40mg, 0.16mmol) 및 테트라키스(트리페닐포스핀)팔라듐(30mg, 0.08mmol)을 진공에서 30분 동안 건조시켰다.

[0121] 그 다음, 혼합물을 DMF(10ml)에 용해시켰다. 그 다음, Na_2CO_3 (22mg, 0.21mmol) 수용액을 부어 24시간 동안 60°C에서 교반하였다.

[0122] 이 반응 혼합물을 여과하고, 여과물을 에틸아세테이트로 세정하여 화학식 1의 화합물을 제조하였다.

[0123] 이 반응을 반응식으로 도식화하면 다음과 같다.

반응식 4



[0124]

[0125] 수득율: 50%

[0126] ^1H NMR(300MHz, DMSO-d_6) δ = 8.47(d, 1H), 8.42(d, 1H), 8.39(d, 1H), 8.34(d, 1H), 8.29(d, 1H), 8.25(s, 1H), 8.21(bm, 1H), 8.12(t, 1H), 7.61(s, 2H), 5.41(d, 2H), 5.0~5.2(bm, 1H), 4.78(bs, 1H), 4.04(m, 1H), 3.81(s, 1H), 3.68(m, 1H);

[0127] IR(KBr 플레이트 상에서, cm^{-1}): 3414(s), 1641(s), 1576(w), 1538(m), 1454(w);

[0128] EI MSm/z (M)467;

[0129] $\text{C}_{26}\text{H}_{21}\text{N}_4\text{O}_5$ 에 대한 Anal. Calcd. : C, 66.80; H, 4.53; N, 14.98; O, 13.69; 확인: C, 64.32, H, 4.78; N, 14.43.

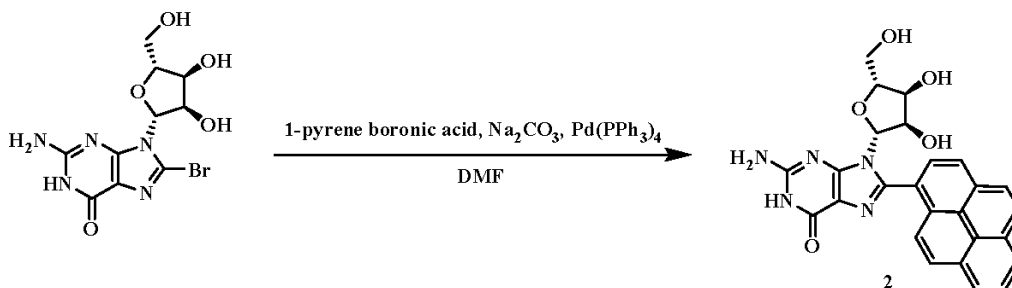
[0130] $C_{26}H_{21}N_4O_5$ 에 대한 Anal. Calcd. : C, 66.80; H, 4.53; N, 14.98; O, 13.69; 확인: C, 64.32, H, 4.78; N, 14.43.

[0131] **화합물 2의 제조**

[0132] 화합물 2는 상기 화합물 1의 제조에 있어서 8-브로모아데노신 대신에 8-브로모구아노신을 사용하는 것을 제외하고는 화합물 1의 제조 방법과 동일한 방법으로 제조하였다.

[0133] 이 반응을 반응식으로 도식화하면 다음과 같다.

반응식 5



[0134]

[0135] 수득율: 50%

[0136] 1H NMR(300MHz, DMSO- d_6) δ = 7.5~8.5(m, 9H), 6.78(s, 2H), 5.67(m, 1H), 5.41(s, 1H), 4.78~5.0(m, 1H);

[0137] IR(KBr 플레이트 상에서, cm^{-1}): 3336(s), 1683(s), 1646(s), 1595(s), 1507(w), 1463(s);

[0138] $EI^+ MS/m/z(M)$ 483.48;

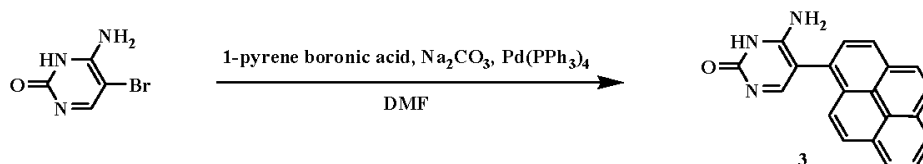
[0139] $C_{26}H_{21}N_5O_5$ 에 대한 Anal. Calcd. : C, 64.59; H, 4.38; N, 14.49; O, 16.55; 확인: C, 64.70, H, 4.35; N, 14.25.

[0140] **화합물 3의 제조**

[0141] 화합물 3는 상기 화합물 1의 제조에 있어서 8-브로모아데노신 대신에 6-브로모시토신을 사용하는 것을 제외하고는 화합물 1의 제조 방법과 동일한 방법으로 제조하였다.

[0142] 이 반응을 반응식으로 도식화하면 다음과 같다.

반응식 6



[0143]

[0144] 수득율: 50%

[0145] 1H NMR(300MHz, DMSO- d_6) δ = 6.98~7.73(m, 10H), 6.88(s, 2H);

[0146] IR(KBr 플레이트 상에서, cm^{-1}): 3448(m), 3368(w), 3287(w), 3059(m), 1698(s), 1654(s), 1610(m), 1537(w), 1457(s);

- [0147] $EI^+MSm/z(M)$ 311.34;
- [0148] $C_{20}H_{13}N_3O$ 에 대한 Anal. Calcd. : C, 77.16; H, 4.21; N, 13.50; O, 5.14; 확인: C, 77.25, H, 4.25; N, 5.18.
- [0149] **티미딘-실리카 나노튜브의 선택적 탐지 능력**
- [0150] 각각의 시료 분자에 대한 티미딘-실리카 나노튜브의 선택적 탐지 및 분리 능력을 확인하기 위해서, 티미딘-실리카 나노튜브(2.5mg)을 화합물 1 내지 화합물 8의 각각의 시료 분자($2.5 \times 10^{-6} M$)를 함유하는 수용액(1mL, 0.1M 포스페이트 완충 식염수, pH=7.4)에 첨가하였다.
- [0151] 각각의 혼합물을 교반하고 10분간 시료 분자가 티미딘-실리카 나노튜브에 침입하도록 방치하였다.
- [0152] 그 다음, 티미딘-실리카 나노튜브를 여과한 후, 형광분광측정법 및 형광 관찰법을 통해 티미딘-실리카 나노튜브와 화합물 1 내지 화합물 8의 각각의 시료 분자에 대한 결합 능력을 측정하였다. (이와 비교하기 위해서, 각 화합물들의 시료 분자에 티미딘-실리카 나노튜브를 첨가하기 전의 각 수용액의 형광분광측정법 및 형광 관찰을 미리 측정하였다.)
- [0153] 한편, 티미딘-실리카 나노튜브의 각 시료 분자에 대한 결합을 확인하기 위해서 대조군으로 티미딘이 결합하지 않은 실리카 나노튜브를 상기와 같이 동일한 방법으로 각 시료 분자의 수용액에 첨가하고 이를 형광분광측정법 및 형광 관찰법으로 측정하였다.
- [0154] 도 2a, 도 8, 도 9를 참조하면, 도 2a는 티미딘-실리카 나노튜브의 첨가에 따른 아데노신 시료에 있어서의 형광 스펙트라의 변화를 나타내고 있고, 도 8은 티미딘-실리카 나노튜브-아데노신의 결합의 존재를 보이는 형광 현미경 이미지를 나타내고 있으며, 도 9는 도 8의 형광 현미경 이미지를 티미딘-실리카 나노튜브와 아데노신간의 결합관계를 도시한 이미지를 나타내고 있다. 이 이미지에서 아데노신에 의해서 발광이 일어나는 것을 나타낸 것이다.
- [0155] 도 2a를 참조하면, 티미딘-실리카 나노튜브에 대한 형광 관찰 결과, 화합물 1, 즉 아데노신 시료의 수용액에 티미딘-실리카 나노튜브를 첨가하기 전에 비해서, 첨가한 후의 수용액 중의 아데노신의 함량이 급격히 감소하여 약 95% 이상이 용액에서 제거되었음을 알 수 있다. 이는, 아데노신이 티미딘-실리카 나노튜브와 결합함에 따라서 수용액 중에 잔존하는 양이 없어졌음을 의미한다. 즉, 화합물 1의 아데노신과 티미딘 모이어티간에 상보적 수소 결합때문에, 화합물 1의 아데노신이 선택적으로 티미딘-실리카 나노튜브와 결합하였기 때문이다.
- [0156] 또한, 화합물 1의 아데노신 시료의 수용액에서 여과된 티미딘-실리카 나노튜브는 강한 형광(도 8 및 9 참조)을 보이는데 이는 티미딘-실리카 나노튜브의 내부 면에 결합한 아데노신의 형광에 의한 것이다. (형광은 $\lambda_{em}=345nm$)
- [0157] 한편, 대조 실험을 통해서, 티미딘 비결합의 실리카 나노튜브를 화합물 1과 반응시키면 탐지가능한 변화가 관찰되지 않았다. 도 10을 참조하면, 도 10은 실리카 나노튜브의 첨가 전(a) 및 첨가 후(b)의 시료 용액의 형광 변화를 관찰한 것인데, 첨가 전후에 있어서 형광 변화가 차이가 나지 않음을 알 수 있다. 이는 실리카-나노튜브가 아데노신 화합물을 흡수하지 못하였기 때문에, 시료 수용액 중에 화합물 1의 아데노신이 실리카 나노튜브의 첨가 후에도 그대로 잔재하여, 시료 용액에서 아데노신에 의해서 발색하는 형광의 강도가 변화가 없는 것이다.
- [0158] 또한, 티미딘-실리카 나노튜브의 시료 용액에 대한 반응 실험을 화합물 2(구아노신 화합물) 및 화합물 3(시토신 화합물)에 대해서도 진행하였으며, 이는 도 11a 및 도 11b에 의해서 그래프로 도시하였다.
- [0159] 도 11a를 참조하면, 화합물 2인 구아노신 화합물을 포함하는 시료의 수용액에 티미딘-실리카 나노튜브를 첨가하기 전과 후의 형광 강도에 있어서 별반 차이가 없음을 알 수 있다. 이는, 티미딘-실리카 나노튜브가 구아노신과 결합하지 않았음을 나타내는 것이다.
- [0160] 또한, 도 11b를 참조하면, 화합물 3인 시토신 화합물을 포함하는 시료의 수용액에 티미딘-실리카 나노튜브를 첨가하기 전과 후의 형광 강도에 있어서 별반 차이가 없음을 알 수 있다. 이는, 티미딘-실리카 나노튜브가 시토신과 결합하지 않았음을 나타내는 것이다.
- [0161] 즉, 실험한 결과는 예견한 대로, 화합물 2 및 화합물 3의 시료의 약 3% 이하가 티미딘-실리카 나노튜브에 도입되었는데, 이는 티미딘-구아노신, 티미딘-시토신간 결합이 없기 때문이다.

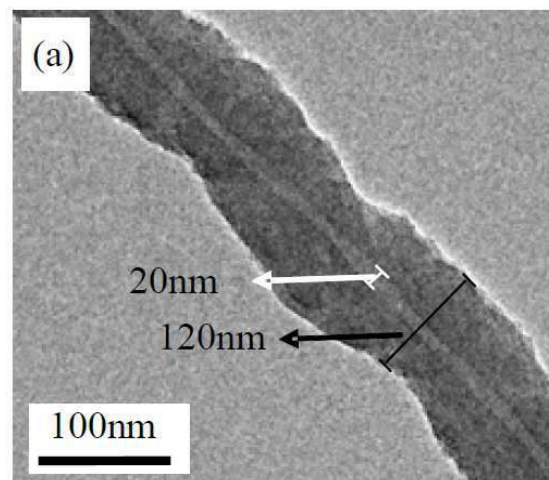
- [0162] 따라서, 이 결과는 티미딘-실리카 나노튜브가 미지의 시료 중에 포함되어 있는 아데노신 유도체에 대해서 선택적으로 결합하기 때문에, 이 아데노신 유도체를 시료로부터 추출해 내는데 효과적으로 사용될 수 있다는 것을 나타낸다.
- [0163] 또한, 실제 생분자에 대한 모델 화합물로서 다양한 올리고핵산인 화합물 4 내지 화합물 8을 각각 포함하는 시료 수용액에 대해서도 티미딘-실리카 나노튜브의 첨가하여 그 선택적 결합 정도를 관찰하였다.
- [0164] 화합물 4의 올리고아데노신은 18 아데노신기를 갖는 화합물이다. 이 화합물 4의 올리고아데노신에 대해서, 티미딘-실리카 나노튜브는 시료 용액으로부터 98%이상의 화합물 4를 흡착하였다. (도 2a, 블루 라인 참조).
- [0165] 도 2b는 시료 용액과의 반응 후 여과된 티미딘-실리카 나노튜브 중에 존재하는 올리고아데노신 화합물의 발광을 측정하는 것이다.
- [0166] 이 결과는 용액 중에서 티미딘-실리카 나노튜브에 고정된 티미딘과 아데노신 모이어티 간의 분자내 상보적 수소 결합에 의해 티미딘-실리카 나노튜브가 선택적으로 화합물 4와 반응해서 탐지해냈다는 것을 의미한다.
- [0167] 반대로, 시료 용액에 대한 티미딘-실리카 나노튜브의 첨가 전후에 있어서, 화합물 5의 올리고구아노신의 경우에는 구아노신과 티미딘 모이어티 사이에서 결합이 이루어 지지 않기 때문에, 올리고 구아노신과 티미딘-실리카 나노튜브가 결합하지 않아서 아무런 형광 변화를 관찰하지 못하였다.
- [0168] 도 3은 화합물 4의 올리고아데노신과 화합물 5의 올리고구아노신을 1:1의 함량으로 함께 포함하는 시료 용액에 대해서 티미딘-실리카 나노튜브로 추출하기 전(A) 및 후(B)의 시료 용액에서의 HPLC 크로마토그램을 나타낸다. 그래프에서 4는 올리고아데노신을, 5는 올리고구아노신을 나타낸다.
- [0169] 시료 용액 중에 티미딘-실리카 나노튜브를 첨가하여 반응시킨 후, 이 나노튜브를 여과법으로 여과하였다.
- [0170] 추출 전의 시료 용액 중에 올리고아데노신과 올리고구아노신이 함께 존재하지만, 티미딘-실리카 나노튜브로 시료 용액을 추출한 후에는 시료 용액 중에 올리고아데노신이 거의 존재하지 않음을 알 수 있다.
- [0171] 이는 도 4에 나타난 것과 같이, 올리고아데노신과 올리고구아노신이 함께 존재하는 시료 중에 티미딘-실리카 나노튜브를 첨가하여 올리고아데노신을 추출해 냄으로써, 시료 용액 중에는 올리고구아노신만이 존재하기 때문이다.
- [0172] 또한, 화합물 6, 화합물 7 및 화합물 8의 세 개의 다른 올리고뉴클레오타이드에 대한 티미딘-실리카 나노튜브의 선택적 흡착 능력을 관찰했다.
- [0173] 이 올리고뉴클레오타이드는 복수의 구아노신 모이어티와 함께 아데노신기를 함유하였는데, 화합물 6은 6개의 아데노신기를, 화합물 7은 3개의 아데노신기를, 화합물 8은 1개의 아데노신기를 함유하였다.
- [0174] 이들에 대한 티미딘-실리카 나노튜브의 흡착능력은 각각에 대해, 화합물 6에 대해서 87.5%, 화합물 7에 대해서 30.5%, 및 화합물 8에 대해서 3%였다. (도 12 내지 도 14 참조).
- [0175] 이 결과들은 티미딘-실리카 나노튜브가 올리고뉴클레오타이드의 혼합물로부터 다양한 아데노신 유도체와 올리고아데노신을 선택적으로 분리해낼 수 있다는 것을 의미한다.
- [0176] 이상과 같은 결과들을 볼 때, 티미딘-실리카 나노튜브는 아데노신 및 아데노신이 풍부한 올리고뉴클레오타이드에 대해서 그 반응 선택성이 매우 우수하여 그 적용 효과가 우수함을 알 수 있다.
- [0177] 이러한 결과는 티미딘-실리카 나노튜브가 앞으로 약물/유전자 전달 담체로서 및 화학적 및 생화학적 분리를 포함하는 다양한 적용에서 사용될 수 있음을 예견할 수 있다. 또한, 신규한 생체의학 나노물질의 제조에 기여할 수 있을 것이다.
- [0178] 상기 실시예에서는 티미딘-실리카 나노튜브에 대해서 실험하였지만, 역으로 아데노신-실리카 나노튜브, 구아노신-실리카 나노튜브, 시토신-실리카 나노튜브도 제조가 가능할 것이다.
- [0179] 이상에서는 본 발명의 바람직한 실시예에 대하여 도시하고 설명하였지만, 본 발명은 상술한 특징의 실시예에 한정되지 아니하며, 청구범위에서 청구하는 본 발명의 요지를 벗어남이 없이 당해 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자라면 누구든지 다양한 변형 실시가 가능한 것은 물론이고, 그와 같은 변경은 청구범위 기재의 범위 내에 있게 된다.

도면의 간단한 설명

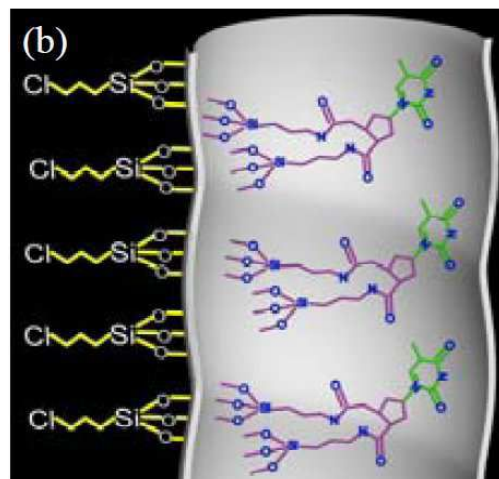
- [0180] 도 1a는 본 발명의 일 실시예에 따라 제조된 티미딘-실리카 나노튜브의 TEM 이미지,
- [0181] 도 1b는 본 발명의 일 실시예에 따른 실리카 나노튜브 내측면에 티미딘 화합물이 공유 결합으로 고정되는 것을 간단히 도시한 이미지,
- [0182] 도 2a는 본 발명의 일 실시예에 따른 티미딘-실리카 나노튜브의 첨가 전 후의 각각의 용액에서의 아데노신(1)과 올리고아데노신(4)의 형광 스펙트라,
- [0183] 도 2b는 본 발명의 일 실시예에 따른 티미딘-실리카 나노튜브의 올리고아데노신의 존재를 나타내는 형광 현미경 이미지,
- [0184] 도 2c는 본 발명의 일 실시예에 따른 티미딘-실리카 나노튜브와 올리고아데노신의 결합을 A-T 염기쌍간의 상보적 수소 결합으로 설명하기 위하여 결합 관계를 도시한 이미지,
- [0185] 도 3은 본 발명의 일 실시예에 따른 티미딘-실리카 나노튜브로 올리고아데노신(4)과 올리고구아노신(5)을 추출하기 전(A)과 후(B)의 HPLC 크로마토그램,
- [0186] 도 4는 도 3을 설명하기 위하여 도시한 이미지,
- [0187] 도 5는 본 발명의 일 실시예에 따른 티미딘-실리카 나노튜브를 제조하는 과정을 도식화한 이미지,
- [0188] 도 6은 본 발명의 일 실시예에 따른 티미딘-실리카 나노튜브의 ^{13}C CP/MAS,
- [0189] 도 7은 본 발명의 일 실시예에 따른 티미딘-실리카 나노튜브의 TOF-SIMS 스펙트럼,
- [0190] 도 8은 본 발명의 일 실시예에 따른 티미딘-실리카 나노튜브의 아데노신 유도체의 존재를 보이는 형광 현미경 이미지,
- [0191] 도 9는 도 8의 결합관계를 도시한 이미지,
- [0192] 도 10은 본 발명의 비교예에 따른 실리카 나노튜브의 첨가 전(a) 및 후(b)의 아데노신 유도체의 형광 스펙트라 변화를 나타내는 그래프,
- [0193] 도 11a는 본 발명의 일 실시예에 따른 티미딘-실리카 나노튜브의 첨가 전(a) 및 후(b)의 구아노신 유도체의 형광 스펙트라 변화를 나타내는 그래프,
- [0194] 도 11b는 본 발명의 일 실시예에 따른 티미딘-실리카 나노튜브의 첨가 전(a) 및 후(b)의 시토신 유도체의 형광 스펙트라 변화를 나타내는 그래프,
- [0195] 도 12는 본 발명의 일 실시예에 따른 티미딘-실리카 나노튜브의 첨가 전(a) 및 후(b)의 화학식 6의 올리고뉴클레오타이드의 형광 강도 변화를 나타내는 그래프,
- [0196] 도 13은 본 발명의 일 실시예에 따른 티미딘-실리카 나노튜브의 첨가 전(a) 및 후(b)의 화학식 7의 올리고뉴클레오타이드의 형광 강도 변화를 나타내는 그래프,
- [0197] 도 14는 본 발명의 일 실시예에 따른 티미딘-실리카 나노튜브의 첨가 전(a) 및 후(b)의 화학식 8의 올리고뉴클레오타이드의 형광 강도 변화를 나타내는 그래프이다.

도면

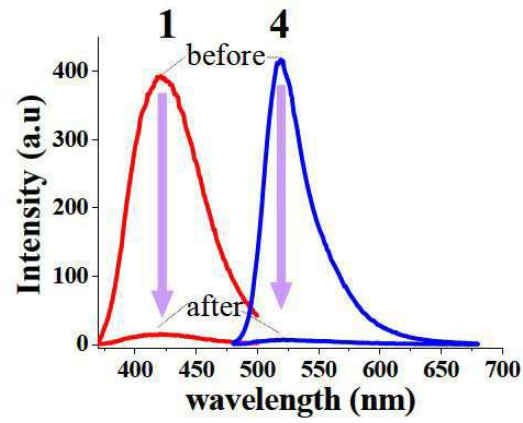
도면1a



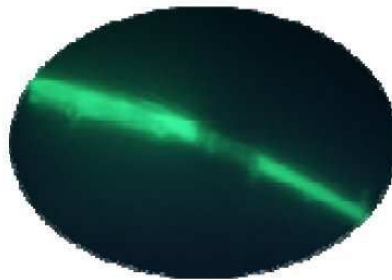
도면1b



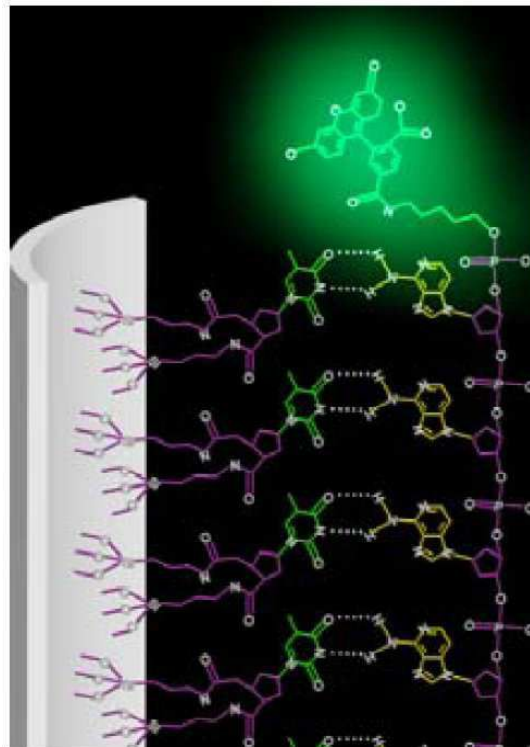
도면2a



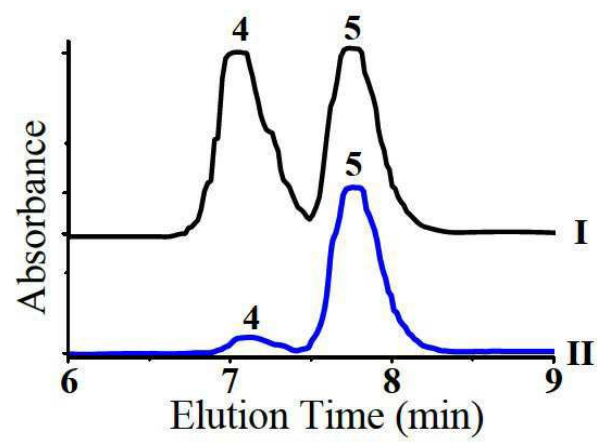
도면2b



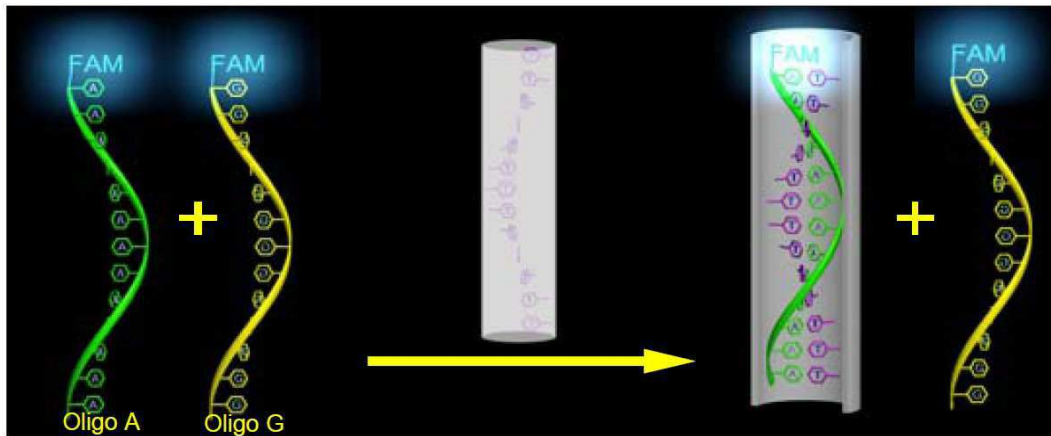
도면2c



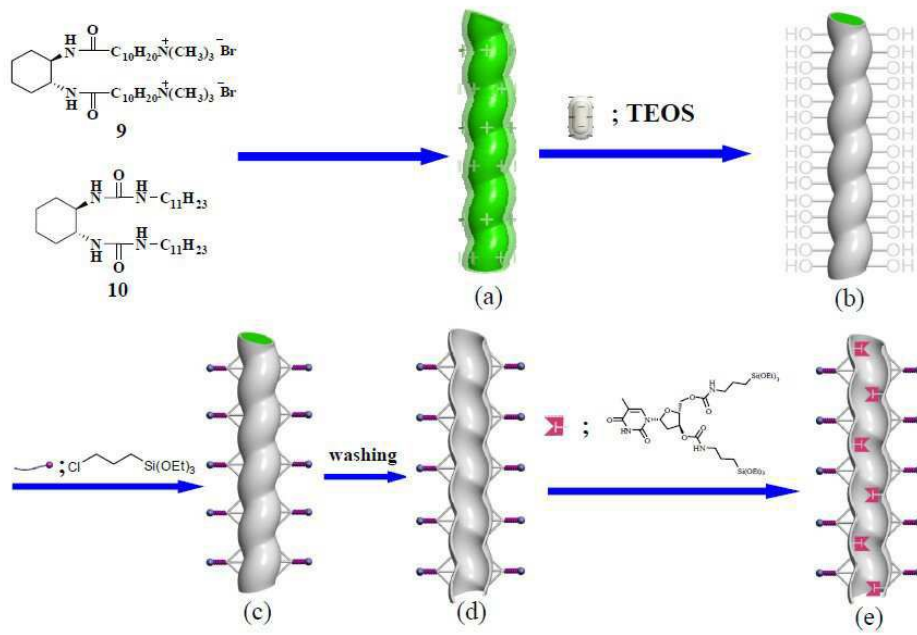
도면3



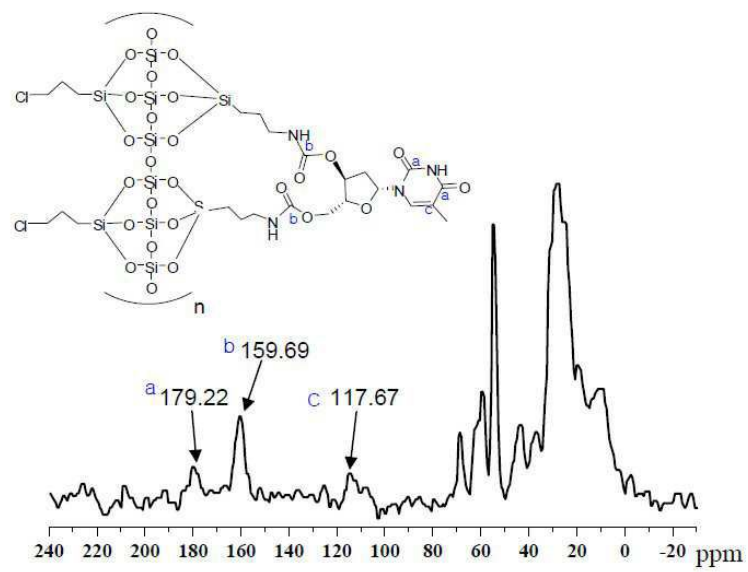
도면4



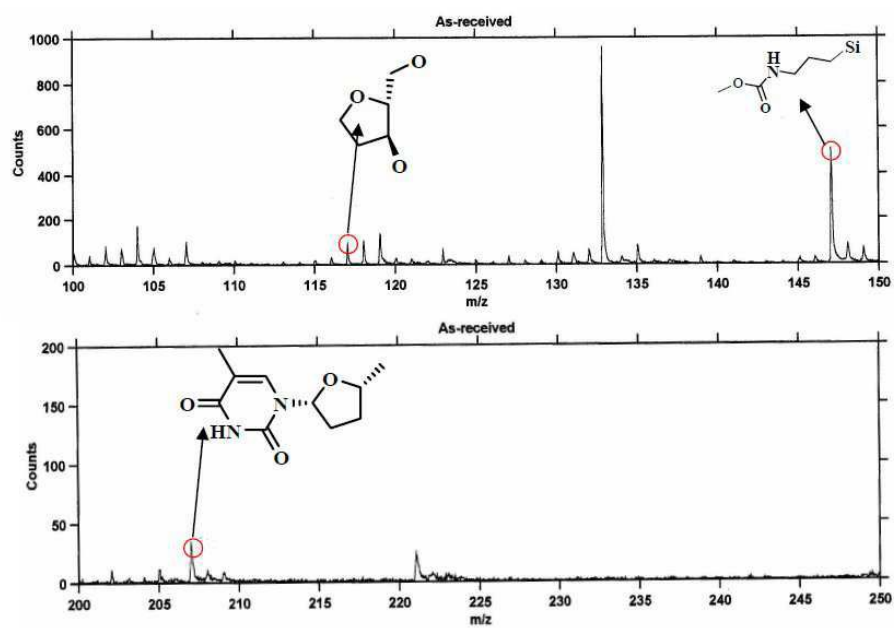
도면5



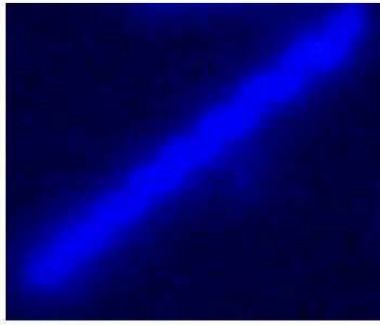
도면6



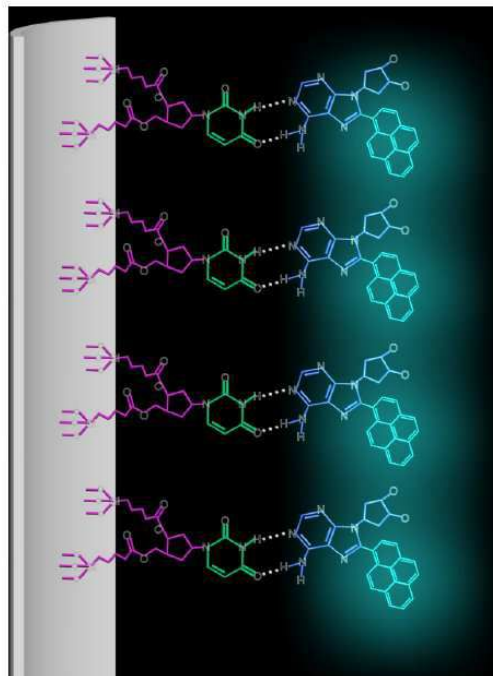
도면7



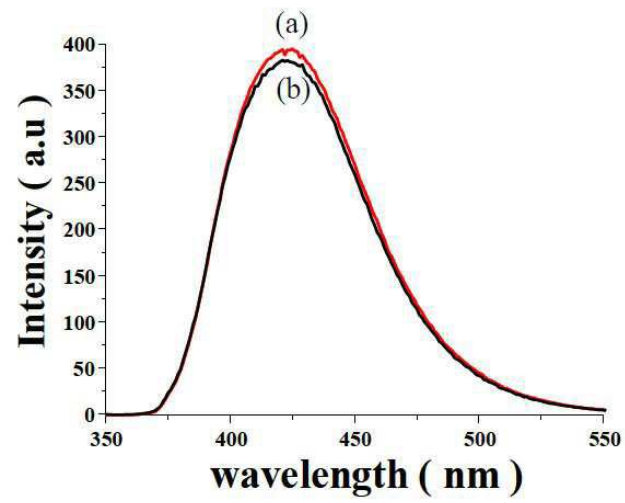
도면8



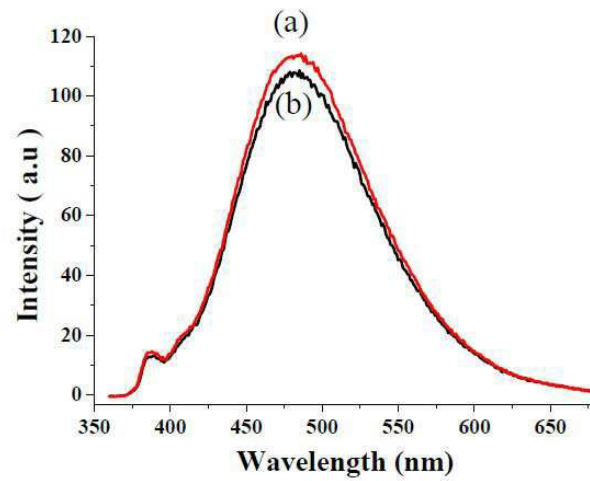
도면9



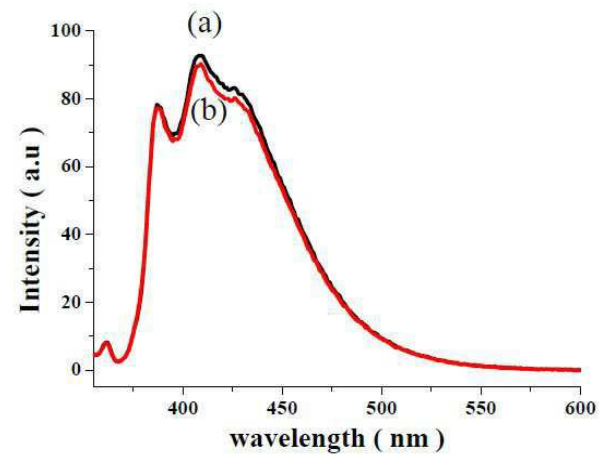
도면10



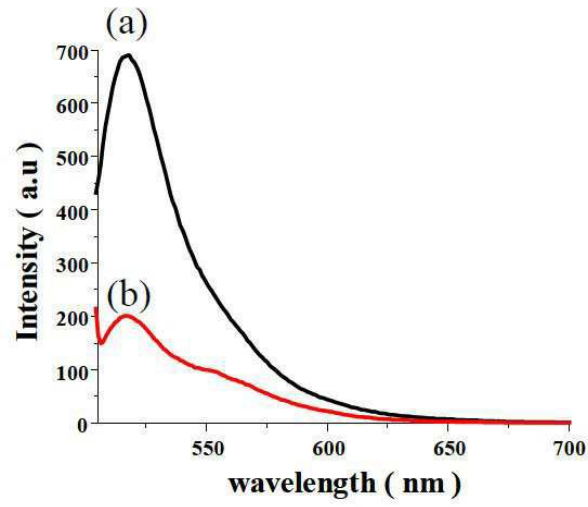
도면11a



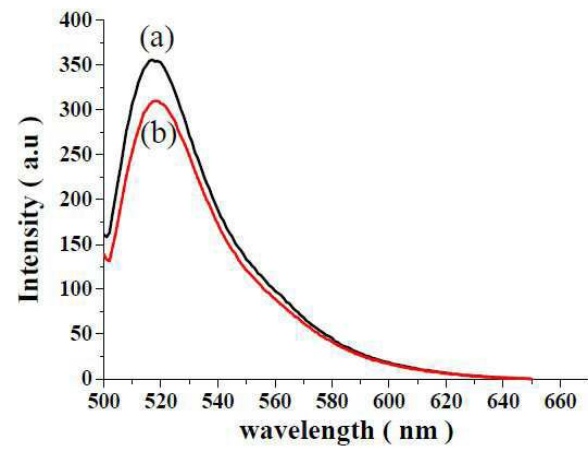
도면11b



도면12



도면13



도면14

