(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2011-0085926
(43) 공개일자 2011년07월27일

(51) Int. Cl.
C07D 407/14 (2006.01) *C07D 491/10* (2006.01)
C07D 311/88 (2006.01) *G01N 33/52* (2006.01)
(21) 출원번호 10-2011-0005383
(22) 출원일자 2011년01월19일
심사청구일자 2011년01월19일
(30) 우선권주장
1020100005299 2010년01월20일 대한민국(KR)

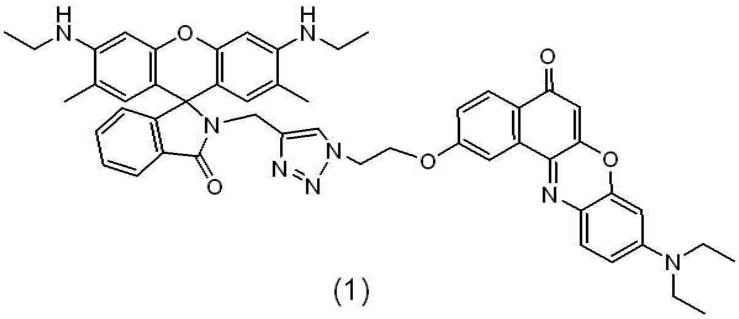
(71) 출원인
고려대학교 산학협력단
서울 성북구 안암동5가 1
(72) 발명자
김종승
경기도 성남시 분당구 수내동 파크타운롯데아파트 130-2402
박선영
서울특별시 종로구 이화동 9-24 이화아트빌 201호
김상훈
서울특별시 은평구 응암3동 626-56호
(74) 대리인
특허법인충현

전체 청구항 수 : 총 4 항

(54) 로다민 유도체 및 이의 제조방법

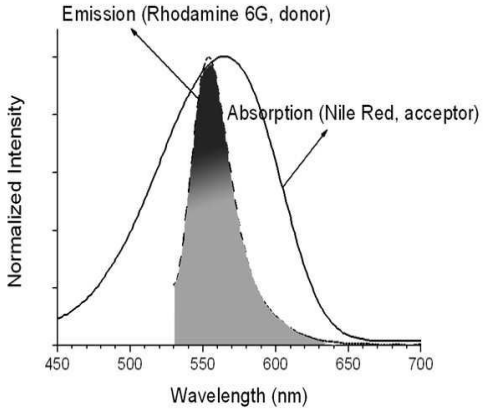
(57) 요 약

본 발명은 형광 화학센서로 이용될 수 있는 하기 화학식 (1)의 로다민 유도체에 관한 것으로서, 특정 이온을 검출할 수 있는 시그널 오프-온 FRET 시스템에 적용될 수 있다.



(1)

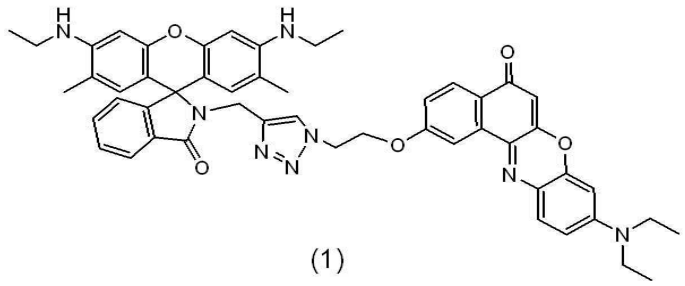
대 표 도 - 도1



특허청구의 범위

청구항 1

하기의 화학식 (1)로 표시되는 로다민 유도체.

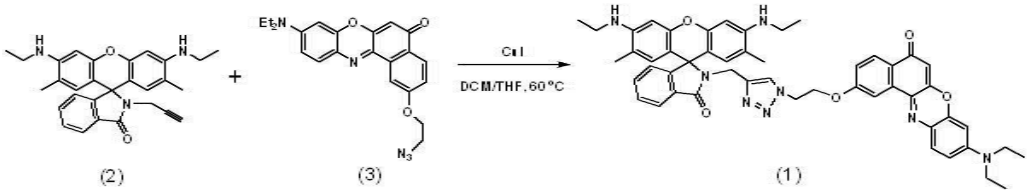


(1)

청구항 2

하기 반응식 (1)에 의하여 제1항의 로다민 유도체를 제조하는 방법:

반응식 (1)

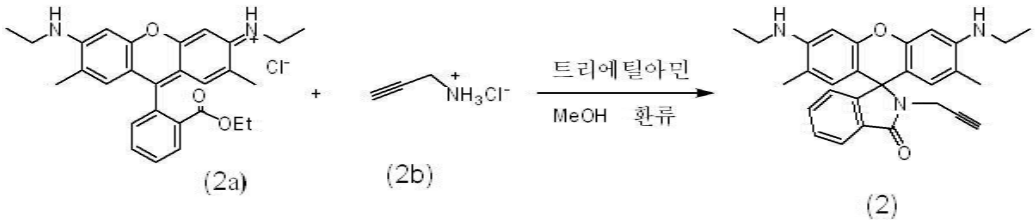


(2) (3) (1)

청구항 3

제2항에 있어서,

상기 화학식 (2)의 화합물을 하기 반응식 (2)에 따라 제조하는 것을 특징으로 하는 로다민 유도체를 제조하는 방법:



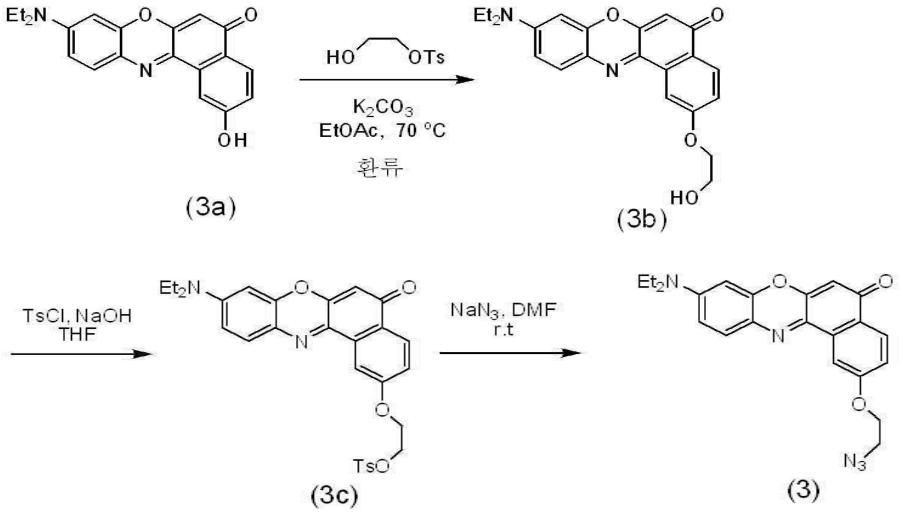
(2a) (2b) (2)

청구항 4

제2항에 있어서,

상기 화학식 (3)의 화합물을 하기 반응식 (3)에 따라 제조하는 것을 특징으로 하는 로다민 유도체를 제조하는 방법:

반응식 (3)



명 세 서

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 로다민 유도체에 관한 것으로서, 특정 양이온을 검출하는 시그널 오프-온 형광 공명 에너지 전달(FRET) 시스템에 적용될 수 있는 로다민 유도체 및 그 제조 방법에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 환경측정 또는 임상진단과 같은 분야에서는 특정 용액에 함유된 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 하나이고, 형광의 변화를 관찰하는 센서를 형광 화학센서라 한다.

[0003] 형광 화학센서의 설계는 일반적으로 광에 의하여 유도되는 전자/에너지 전달(photoinduced electron/energy transfer, PET), 금속-리간드 전하 전달(metal-ligand charge transfer, MLCT), 분자 내 전하 전달(intramolecular charge transfer, ICT), 엑시머/엑시플렉스 형성(excimer/exciplex formation), 이민 이성질체화(imine isomerization), 킬레이션-강화 형광(chelation-enhanced fluorescence, CHEF) 및 형광 공명 에너지 전달(fluorescence resonance energy transfer, FRET)에 기초하여 이루어진다. 상기 방법 중 형광 공명 에너지 전달(FRET)은 목적 분자나 이온 종에 대한 선택적이고도 높은 감도를 가질 뿐 아니라 세포 생리학 및 광학적 치료에 잠재적인 실용성을 가지고 있어 최근에 가장 활발히 연구되고 있다.

[0004] 형광 공명 에너지 전달(FRET)은 상이한 형광물질(fluorophore) 사이에 에너지가 전달되는 에너지 전달 메커니즘 중 하나이다. 이 메커니즘에서는 주게(doner) 형광물질이 받게(acceptor) 형광물질에 여기 상태의 에너지를 전달한다. 이러한 작용에 의하여 주게 형광물질이 전자 바닥 상태로 변화되고, 받게 형광물질에서 발광이 일어난다. 이 경우 발광 효율은 주게와 받게 사이의 거리와, 주게 발광 스펙트럼과 받게 흡수 스펙트럼의 스펙트럼 중첩에 의존한다. 도 1은 로다민 6G의 발광 스펙트럼과 나일 레드의 흡수 스펙트럼 중첩을 나타낸 것이다.

[0005] 로다민 6G(rhodamine 6G)는 수용성 형광물질이고, 다양한 종류의 양이온을 감지하는 형광물질과 결합 싸이트로 이용되어 왔다. 특정 양이온과의 결합에 의하여 유도되는 로다민 그룹에서의 스피로락탐(spirolactam) 고리의 열림은 무색이고 비형광 상태를 유색과 강한 형광 상태로 변화시키며 "형광 오프-온 시스템(fluorescence Off-On system)"을 형성한다. 이러한 현상은 특정한 게스트 양이온의 매개에 의하여 레이셔매트릭(ratiomatric) FRET 시스템이 아닌, 신호 오프-온 FRET 시스템을 설계하는 것을 가능하게 한다. 본 발명자는 2개의 브랜치드 칼릭사렌(branched calixarene) 단위와, 피레닐기(주게)에 인접한 로다민 B(받게)로 이루어진 N-트리포달(*N*-tripodal) 분자를 이용하는 '시그널 오프-온 FRET'에 대한 연구결과를 발표한 바 있다. 리간드의 N-포시셔날 고

립 전자쌍(*N*-positional lone pair electron)에 의하여 유도되는 PET 시스템은 자유 리간드 상태에서 형광을 소멸시키고, 이는 '신호 오프-온 FRET 시스템을 가능하게 한다.

[0006] 샤프리스(Sharpless)와 멜달(Meldal) 이래로, 구리(I) 촉매를 이용한 알킨(alkyne) 및 아자이드(azide)의 1,3-다이폴라 고리화첨가는 1,2,3-트리아졸(1,2,3-triazole), 특히 1,4-이치환된 입체이성질체를 클릭 케미스트리(click chemistry)에 이용할 수 있게 해준다. 1,2,3-트리아졸을 이용한 간단한 연결(linking) 전략은 바이오컨쥬게이션(bioconjugation), 의약 디자인(drug design) 및 재료 화학과 같은 다양한 분야에서 연구되어 왔다. 또한, 커플링 반응에서 형성되는 트리아졸 고리는 그 자체로 훌륭한 결합 모티프(motif)로 알려져 있다.

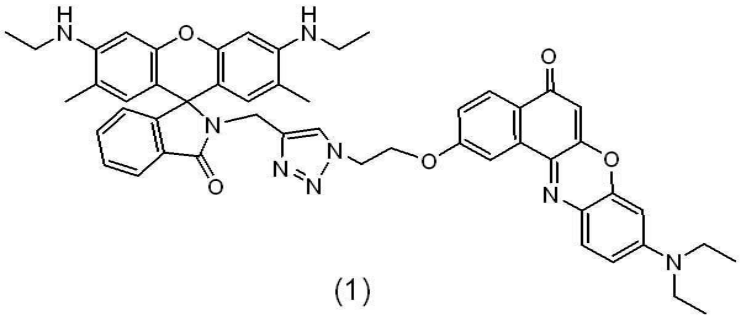
발명의 내용

해결하려는 과제

[0007] 본 발명이 해결하고자 하는 과제는 특정 양이온을 검출하는 시그널 오프-온 형광 공명 에너지 전달(FRET) 시스템에 적용될 수 있는 신규한 로다민 유도체 및 그 제조 방법을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0008] 상기 기술적 과제를 달성하기 위하여, 본 발명은 하기의 화학식 1로 표시되는 로다민 유도체를 제공한다.

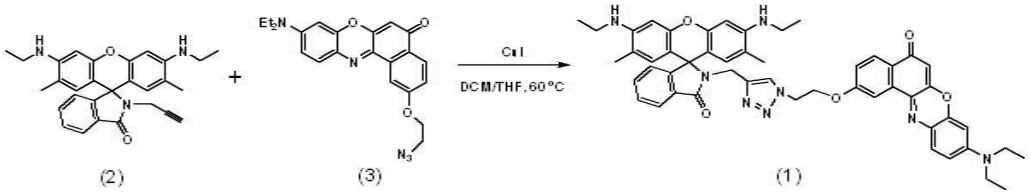


(1)

[0009]

[0010] 본 발명에 있어서, 상기 화학식 (1)의 로다민 유도체는 하기 반응식 (1)에 따라 제조될 수 있다.

[0011] 반응식 (1)

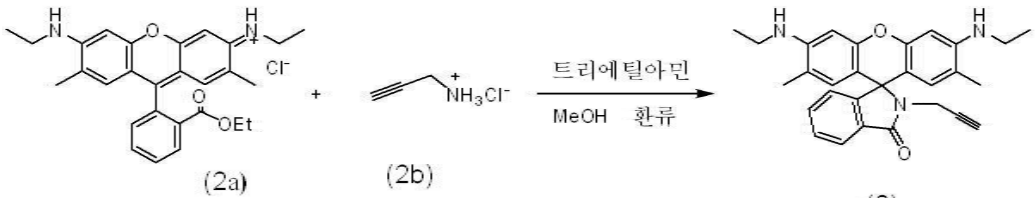


(2) (3) (1)

[0012]

[0013] 또한 상기 화학식 (2)의 화합물은 하기 반응식 (2)에 따라 제조될 수 있다.

[0014] 반응식 (2)

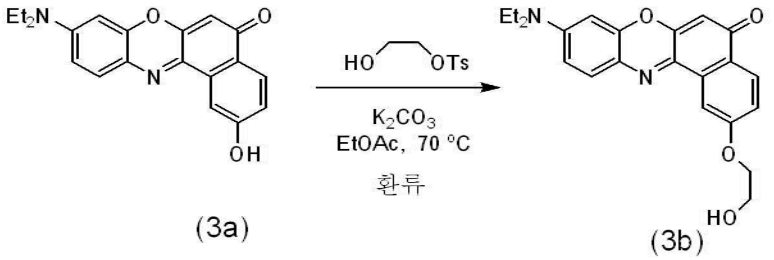


(2a) (2b) (2)

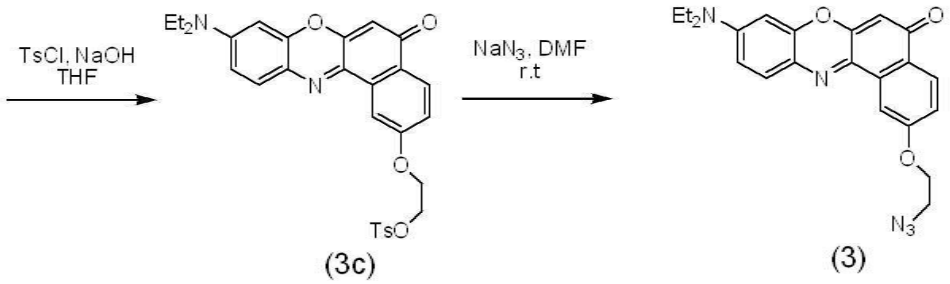
[0015]

[0016] 또한 상기 화학식 (3)의 화합물은 하기 반응식 (3)에 따라 제조될 수 있다.

[0017] 반응식 (3)



[0018]



[0019]

발명의 효과

[0020] 본 발명에 따른 로다민 유도체는 목적 분자나 이온 종에 대한 선택적이고도 높은 감도를 가지므로 특정 양이온을 검출할 수 있는 시그널 오프-온 형광 공명 에너지 전달(FRET) 시스템에 적용될 수 있다.

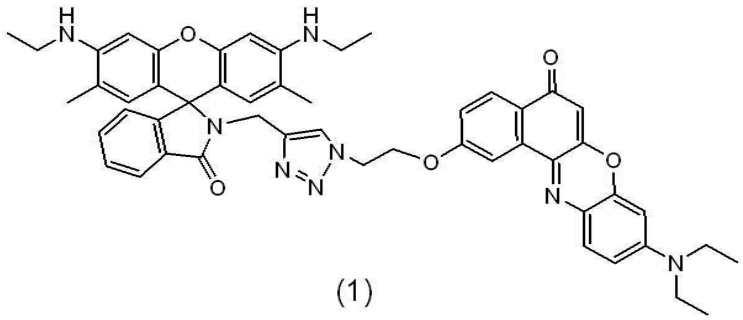
도면의 간단한 설명

[0021] 도 1은 로다민 6G의 발광 스펙트럼과 나일 레드의 흡수 스펙트럼 중첩을 나타낸 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0022] 이하, 본 발명을 보다 상세하게 설명한다.

[0023] 본 발명에서 로다민 6G와 1,2,3-트리아졸 고리 스페이서에 나일 레드(Nile Red)가 결합된 새로운 화합물을 합성하였고, 이를 통하여 시그널 오프-온 FRET 시스템을 구현하고자 하였다. 본 발명은 하기의 화학식 (1)로 표시되는 로다민 유도체를 제공한다.



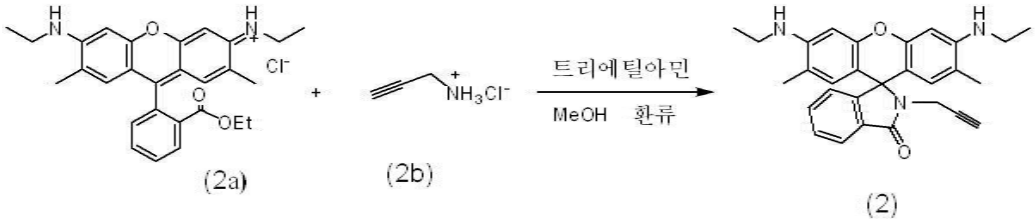
[0024]

[0025] 상기 화학식 1로 표시되는 화합물을 합성하기 위하여 로다민 6G를 알킨기(alkyne)로 기능화시키고, 분자 내 1,2,3-트리아졸 링커를 형성할 수 있도록 아자이드-나일 레드로 처리하였다.

[0026] 먼저 프로파길 유도체(화학식 2)는 하기 반응식 (2)에 따라 합성하였다. 트리아졸 고리를 통하여 리포터 유닛을 삽입하기 위하여, 상업적으로 이용가능한 로다민 6G(화학식 2a)와 프로파길아민 하이드로클로라이드(propargylamine hydrochloride)로부터 간단한 합성 순서로 프로파길 유도체(화학식 2)를 합성하였고, 옅은 분홍색 고체를 26% 수율로 수득하였다. 화학식 (2)의 화합물은 로다민 6G의 유도체이지만, 이 화합물은 CH_3CN/H_2O

용액(1:1) 또는 아세토니트릴에서 무색의 용액을 형성하고, 이는 스피로락탐이 주로 고리 형태로 존재한다는 것을 알려준다. 화학식 (2)의 화합물에 대한 ^{13}C NMR 스펙트럼에서 65.0ppm 부근에서 유의적인 피크가 관찰되는 것은 이러한 사실을 뒷받침한다.

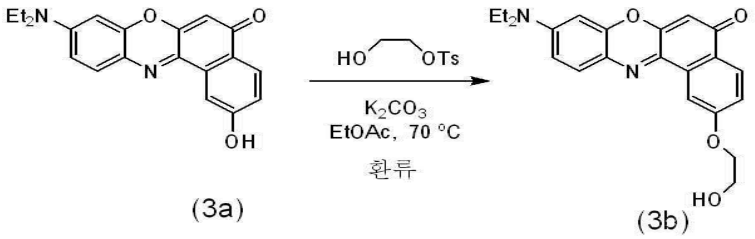
[0027] 반응식 (2)



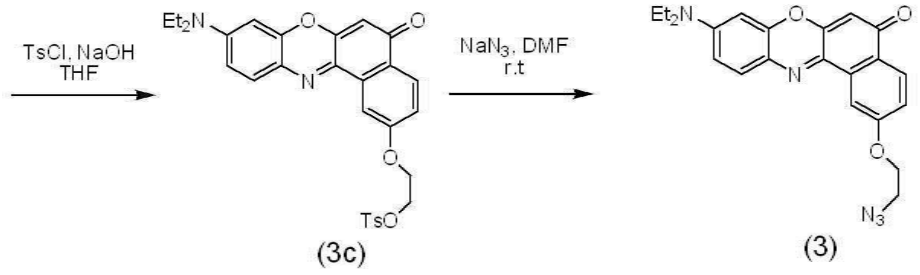
[0028]

[0029] 나일 레드(Nile Red) 유도체(화학식 3)의 합성 경로는 반응식 (3)에 나타낸 바와 같다. 나일 레드(화학식 3a), 모노토실화된 에틸렌 글리콜(monotosylated ethylene glycol) 및 K_2CO_3(염기로 작용)를 디메틸포름아마이드/에틸아세테이트 용액(1:1)에서 반응시켜 화학식 (3b)의 화합물을 37% 수율로 수득하였다. 이어서, 화학식 (3b)의 화합물을 토실 클로라이드(tosyl chloride)로 토실화하여 화학식 (3c)의 화합물을 64% 수율로 수득하였다. 이어서, 화합식 (3c)의 화합물을 과량의 소듐 아자이드(sodium azide)와 반응시켜 아지도-나일 레드(azido-Nile Red) 화합물(화학식 3)을 23%의 수율로 수득하였다.

[0030] 반응식 (3)



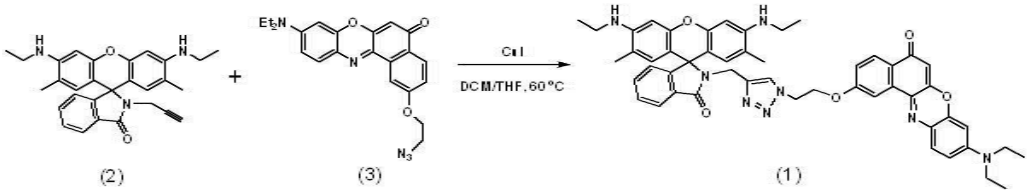
[0031]



[0032]

[0033] 화합물 (2)와 화합물 (3)으로 "클릭 반응"을 진행하여 하기 반응식 (1)과 같이 18%의 수율로 화합물 (1)을 생성하였다. 디메틸포름아마이드 용매에 요오드화구리(CuI) 촉매를 사용하고, 90℃에서 교반을 진행한 경우에는 화합물 (1)이 생성되지 않았다. 대신 용매를 CH_2Cl_2/테트라하이드로퓨란(1:1)으로 변경하여 반응물이 충분히 용해될 수 있게 한 경우에 화학식 (1)의 화합물을 높은 수율로 합성할 수 있었다. ^1H NMR 분석에서 트리아졸의 수소 시그널은 7.23ppm에서 단일피크로 관찰되었다. 본 발명에서는 각 화합물에 대한 NMR (^1H 및 ^{13}C) 분석과 FAB(fast atom bombardment) 질량 스펙트럼 분석을 수행하여 화합물의 구조를 확인하였다.

[0034] 반응식 (1)

[0035] 

(2) (3) (1)

[0036] 이와 같이 본 발명에서는 로다민 6G와, 트리아졸 고리 스페이서에 결합된 나일 레드를 포함하는 신규한 화합물(화학식 1)을 합성하였고, 신규 화합물(화학식 1)은 특정 양이온을 검출할 수 있는 시그널 오프-온 형광 공명 에너지 전달(FRET) 시스템에 적용하였다. 본 발명에 따른 화합물의 합성 경로는 여러 가지 형광물질을 이용하여 FRET 시스템을 위한 화학센서의 합성에 응용될 수 있을 것이다.

[0037] **실시예 1: 화학식 2의 화합물의 합성**

[0038] 질소 분위기에서 로다민 6G(용액(500mg, 1.044mmol, 화학식 2a), 프로파길아민 하이드로클로라이드(96mg, 1.044mmol) 및 트리에틸아민(5mL, 염기로 작용)을 메탄올(30mL)에 용해시키고 80℃로 가열하였다. 24시간 동안 환류(reflux)시킨 후에, 생성 용액에서 용매를 회전 증발기(rotary evaporation)로 휘발시키고, CH_2Cl_2(200mL) 용매에 용해시켰다. 유기물 층을 증류수(2x300mL)로 세척하고, 무수 Na_2SO_4로 건조시키고 필터링하였다. 잔류물을 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피로 정제하고, 에틸 아세테이트-헥산(ethyl acetate-hexane, 1:3)으로 녹여 분리하여 옅은 분홍색 고체인 125mg의 화합물 1을 27%의 수율로 수득하였다. 화학식 2의 화합물의 녹는점은 254℃로 측정되었다.

[0039] ^{1}H NMR(300MHz)과 ^{13}C NMR(100MHz) 분석 및 FAB 중량 스펙트럼 분석을 수행하였다. ^{1}H NMR 분석 결과는 d 7.96-7.94 (1H, m), 7.46-7.42 (2H, m), 7.08-7.03 (1H, m), 6.36 (2H, s), 6.29 (2H, s), 3.93 (2H, d, *J* = 2 Hz), 3.54 (1H, br), 3.21 (4H, q, *J*= 7 Hz), 1.90 (6H, s), 1.32 (6H, t, *J* = 7.1 Hz)과 같았고, ^{13}C NMR 분석 결과는 d 14.7, 16.7, 28.6, 38.4, 64.9, 70.1, 78.3, 96.5, 105.3, 117.7, 123.1, 123.7, 128.0, 128.8, 130.2, 132.7, 147.4, 151.8, 154.0, 167.6와 같았다. 또한 FAB 중량 분석 결과는 *m/z* (M^+) calcd 451.56, 452.3에서 피크가 관찰되었다.

[0040] **실시예 2: 화학식 3의 화합물의 합성**

[0041] 실시예 2-1: 화학식 3b의 화합물의 합성

[0042] 질소 분위기에서 나일 레드(Nile Red, 240mg, 0.711mmol, 화학식 3a), 모노토실레이티드 에틸렌 글리콜(monotosylated ethylene glycol, 53mg, 0.711mmol) 및 K_2CO_3 (100 mg, 0.723mmol)를 30ml의 DMF/에틸 아세테이트(1:1)에 용해시키고, 80℃로 가열하였다. 12시간 동안 환류시킨 후에, 생성 용액에서 용매를 회전 증발기로 휘발시키고, 에틸 아세테이트(200mL)에 용해시켰다. 유기물층을 증류수(2x300mL)로 세척하고, 무수 $MgSO_4$로 건조시키고 필터링하였다. 잔류물을 실시카 겔 컬럼 크로마토그래피로 정제하고, 에틸 아세테이트-헥산(ethyl acetate-hexane, 1:2)으로 녹여 분리하여 100mg의 짙은 보라색 고체인 화합물(화학식 3b)을 37%의 수율로 수득하였다.

[0043] ^{1}H NMR(300MHz)과 ^{13}C NMR(100MHz) 분석 및 FAB 중량 스펙트럼 분석을 수행하였다. ^{1}H NMR 분석 결과는 d 8.23 (1H, d, *J* = 8.7 Hz), 8.06 (1H, d, *J*= 2.6 Hz), 7.58 (1H, d, *J* = 9.1 Hz), 7.19 (1H, dd, J_1 = 8.7 Hz, J_2 = 2.7 Hz), 6.66 (1H, dd, J_1 = 9.1 Hz, J_2 = 2.7 Hz), 6.45 (1H, d, *J*= 2.7 Hz), 6.31 (1H, s), 4.52 (2H, t, *J* = 4.5 Hz), 4.39 (2H, t, *J* = 4.5 Hz), 3.47 (4H, q, *J*= 7.1 Hz), 1.26 (6H, t, *J* = 7.1 Hz)과 같았고, ^{13}C NMR 분석 결과는 d 12.9, 45.3, 61.6, 69.8, 96.5, 105.4, 106.9, 109.8, 118.4, 124.9, 126.2, 128.1, 131.3, 134.3, 140.0, 147.1, 151.0, 152.3, 161.5, 183.4와 같았다. 또한 FAB 중량 분석 결과는 *m/z* (M^+)

calcd 378.42, 379.1.에서 피크가 관찰되었다.

[0044] 실시예 2-2: 화학식 3c의 화합물의 합성

[0045] 질소 분위기에서, 화합물 3b(100mg, 0.264mmol), TsCl (55mg, 0.288mmol) 및 NaOH (15mg, 0.375mmol)를 10ml의 THF에 용해시키고 12시간 동안 교반하였다. 생성 용액에서 용매를 회전 증발기로 휘발시키고, CH_2Cl_2 (200mL)에 용해시켰다. 유기물층을 증류수(2x300mL)로 세척하고, 무수 $MgSO_4$로 건조시키고 필터링하였다. 잔류물을 실시카겔 컬럼 크로마토그래피로 정제하고, 에틸 아세테이트-헥산(ethyl acetate-hexane, 1:3)으로 녹여 분리하여 90mg의 짙은 보라색 고체인 화합물 3를 64%의 수율로 수득하였다. 화합물(화학식 3c)의 녹는점은 184℃로 측정되었다.

[0046] ^{1}H NMR 분석 결과는 d 8.18 (1H, d, *J*= 8.6 Hz), 7.94 (1H, d, *J* = 2.6 Hz), 7.84 (2H, d, *J*= 8.4 Hz), 7.60 (1H, d, *J* = 9.2 Hz), 7.34 (2H, d, *J* = 8.4 Hz), 7.01 (1H, dd, J_1 = 8.8 Hz, J_2 = 2.6 Hz), 6.67 (1H, dd, J_1 = 9.2 Hz, J_2 = 2.8 Hz), 6.46 (1H, d, *J* = 2.8 Hz), 6.30 (1H, s), 4.47 (2H, m), 4.37 (2H, m), 3.48 (4H, q, *J* = 7.2 Hz), 2.43 (3H, s), 1.27 (6H, t, *J* = 7.2 Hz)였고, ^{13}C NMR 분석 결과는 d12.6, 21.7, 45.1, 65.6, 68.0, 96.2, 105.2, 106.3, 109.6, 118.3, 124.7, 126.1, 127.8, 128.0, 129.9, 131.1, 132.8, 134.0, 145.1, 146.9, 150.8, 152.1, 160.5, 183.1였다. 또한 FAB 중량 분석 결과는 *m/z* (M^+) calcd 532.61, 533.3에서 피크가 관찰되었다.

[0047] 실시예 2-3: 화학식 3의 화합물의 합성

[0048] 질소 분위기에서, 화합물 3c(330mg, 0.620mmol) 및 소듐 아자이드(sodium azide, 60mg, 0.929mmol)을 DMF에 용해시키고, 90℃로 가열하였다. 24시간 동안 환류시킨 후에 생성 용액에서 용매를 회전 증발기로 휘발시키고, 에틸 아세테이트(ethyl acetate, 300mL)에 용해시켰다. 잔류물을 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피로 정제하고, 에틸 아세테이트-헥산(ethyl acetate-hexane, 1:3)으로 녹여 분리하여 59mg의 짙은 보라색 고체인 화합물(화학식 3)을 24%의 수율로 수득하였다. 화합물의 녹는점은 144℃로 측정되었다.

[0049] ^{1}H NMR 분석 결과는 d 8.24 (1H, d, *J* = 8.7 Hz), 8.06 (1H, d, *J* = 2.7 Hz), 7.60 (1H, d, *J* = 9.0), 7.21 (1H, dd, J_1 = 8.7 Hz, J_2 = 2.7 Hz), 6.66 (1H, dd, J_1 = 9.0 Hz, J_2 = 2.8 Hz), 6.46 (1H, d, *J* = 2.8 Hz), 6.31 (1H, s), 4.38 (2H, t, *J* = 4.9 Hz), 3.70 (2H, t, *J*= 4.9 Hz), 3.48 (4H, q, *J* = 7.1 Hz), 1.27 (6H, t, *J* = 7.1 Hz)였고, ^{13}C NMR 분석 결과는 d 12.6, 45.1, 50.1, 67.2, 96.2, 105.2, 106.3, 109.6, 118.4, 124.7, 126.1, 127.9, 131.1, 134.0, 139.6, 146.9, 150.8, 152.1, 160.8, 183.1였다. 또한 FAB 중량 분석 결과는 *m/z* (M^+) calcd 404.43, 404.0에서 피크가 관찰되었다.

[0050] **실시예 3: 화학식 1의 화합물의 합성**

[0051] 질소 분위기에서, 요오드화 구리(copper iodide, 15mg)를 프로파길 로다민 6G(화학식 2, 15mg, 0.0372mmol) 및 나일 레드 아자이드(화학식 3, 16.7mg, 0.0372mmol)에 첨가하고 10 mL의 CH_2Cl_2/THF (1:1) 용매에 용해시켰으며, 60℃로 4시간 동안 가열하였다. 생성 용액에서 용매를 회전 증발기로 휘발시키고, CH_2Cl_2 (50mL)에 용해시켰다. 유기물층을 증류수(300mL)로 세척하고, 무수 Na_2SO_4로 건조시키고 필터링하였다. 잔류물을 실시카겔 컬럼 크로마토그래피로 정제하고, CH_2Cl_2-메탄올 (20:1)으로 녹여 분리하여 6mg의 짙은 보라색 고체인 화합물(화학식 1)을 19%의 수율로 수득하였다. 화합물(화학식 1)의 녹는점은 174℃로 측정되었다.

[0052] ^{1}H NMR 분석 결과는 d 8.21 (1H, d, *J*= 8.7 Hz), 8.01 (1H, d, *J* = 2.8 Hz), 7.97 (1H, dd, J_1 = 5.6 Hz, J_2 = 2.2 Hz), 7.60 (1H, d, *J* = 9.1 Hz), 7.46-7.43 (2H, m), 7.23 (1H, s), 7.14 (1H, dd, J_1 = 8.9 Hz, J_2 = 2.6 Hz), 7.04 (1H, dd, J_1 = 6.1 Hz, J_2 = 2.6 Hz), 6.65 (1H, dd, J_1 = 9.1 Hz, J_2 = 2.8 Hz), 6.45 (1H, d, *J* =

2.8 Hz), 6.32 (2H, s), 6.30 (1H, s), 6.10 (2H, s), 4.57 (2H, t, *J*= 5.5 Hz), 4.50 (2H, s), 4.41 (2H, t, *J* = 5.5 Hz), 3.47 (4H, q, *J* = 7.0 Hz), 3.18 (4H, m), 1.82 (6H, s), 1.27 (12H, m)였고, ^{13}C NMR 분석 결과는 d 12.8, 14.97, 16.88, 35.2, 38.6, 45.3, 49.1, 65.2, 66.6, 96.5, 96.8, 105.5, 105.9, 106.5, 109.9, 117.8, 118.8, 123.2, 123.7, 124.0, 124.9, 126.5, 128.2, 128.3, 128.7, 130.9, 131.3, 132.9, 134.3, 139.7, 144.3, 147.1, 147.5, 151.1, 151.9, 152.3, 153.9, 160.6, 168.2, 183.3였다. 또한 FAB 중량 분석 결과는 *m/z* (M^+) calcd 854.99, 855.7에서 피크가 관찰되었다.

도면

도면1

