(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2021-0131077
(43) 공개일자 2021년11월02일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07F 15/00 (2006.01) *C09K 11/06* (2006.01)
G01N 21/64 (2006.01)
(52) CPC특허분류
C07F 15/0066 (2013.01)
C09K 11/06 (2021.01)
(21) 출원번호 10-2020-0049428
(22) 출원일자 2020년04월23일
심사청구일자 2020년04월23일

(71) 출원인
이화여자대학교 산학협력단
서울특별시 서대문구 이화여대길 52 (대현동, 이화여자대학교)
(72) 발명자
김진홍
서울특별시 은평구 진관4로 37, 805동 701호 (진관동, 은평뉴타운상림마을)
(74) 대리인
특허법인엠에이피에스

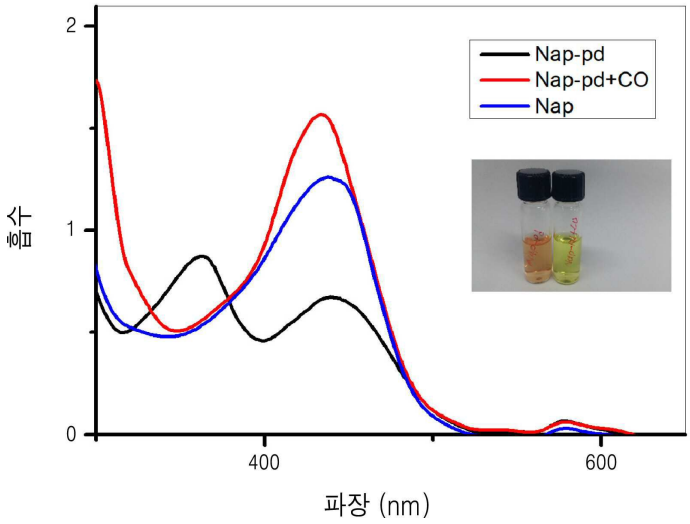
전체 청구항 수 : 총 14 항

(54) 발명의 명칭 **분자성 전이금속 복합체 및 이를 포함하는 CO 검출 턴-온 센서**

(57) 요 약

본원은 신규한 분자성 전이금속 복합체, 상기 분자성 전이금속 복합체를 포함하는 CO 검출 턴-온 센서, 및 상기 CO 검출 턴-온 센서를 이용하여, CO를 검출하는 방법에 관한 것이다.

대 표 도 - 도2



(52) CPC특허분류
G01N 21/6428 (2013.01)
C09K 2211/185 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 1711093635
과제번호 2017M1A2A2046740
부처명 과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명 한국연구재단
연구사업명 기후변화대응기술개발(R&D)
연구과제명 이산화탄소 전환용 광-바이오촉매시스템: 전자전달물질 및 NADH 대체물질 개발
기 여 율 8/10
과제수행기관명 이화여자대학교
연구기간 2019.04.15 ~ 2020.02.14
이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 1711091139
과제번호 2017R1A5A1015365
부처명 과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명 한국연구재단
연구사업명 집단연구지원(R&D)
연구과제명 혼성계면 화학구조 연구센터
기 여 율 2/10
과제수행기관명 이화여자대학교
연구기간 2019.03.01 ~ 2020.02.29

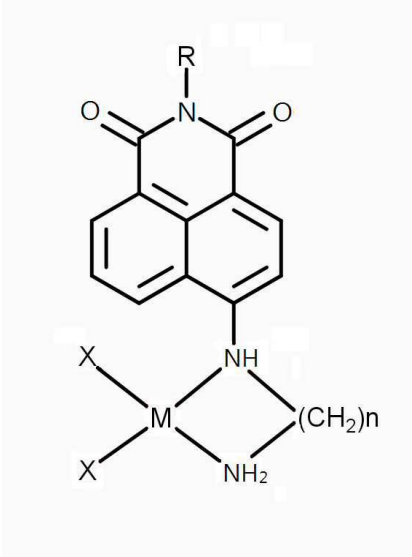
명 세 서

청구범위

청구항 1

하기 화학식 1로서 표시되는, 분자성 전이금속 복합체:

[화학식 1]



;

상기 화학식 1에서,

M은 Pd, Ni, Co, Fe, Pt, Cu, Ru 또는 Os이고,

R은 수소, 치환 또는 비치환된 선형 또는 분지형의 C_{1-6} 알킬기, 치환 또는 비치환된 알릴기, 또는 치환 또는 비치환된 선형 또는 분지형의 C_{2-6} 알케닐기이거나; 또는 고분자, 금속, 또는 금속 산화물에 결합 또는 배위되는 작용기이고,

R이 치환되는 경우, 치환기는 C_{3-10} 시클로알킬기, N, O, 또는 S의 헤테로 원자를 하나 이상 포함하는 C_{3-10} 헤테로시클로알킬기, C_{6-10} 아릴기, 또는 N, O, 또는 S의 헤테로 원자를 하나 이상 포함하는 C_{3-10} 헤테로아릴기이며,

X는 할로겐 원소이고,

n은 1 내지 4의 정수임.

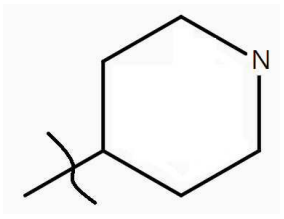
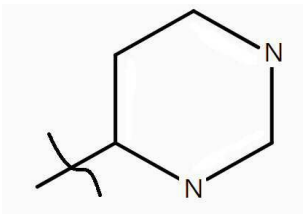
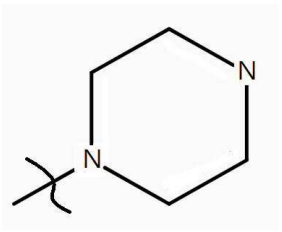
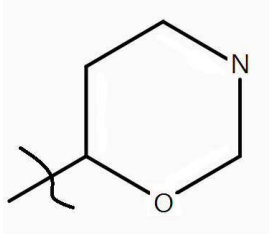
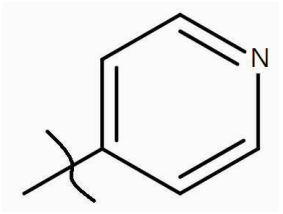
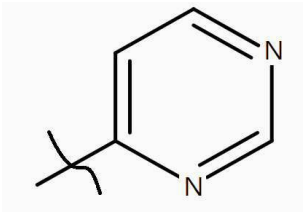
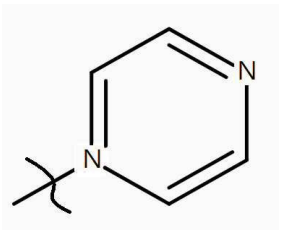
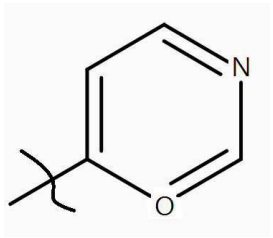
청구항 2

제 1 항에 있어서,

R은 치환 또는 비치환된 메틸기, 에틸기, n-프로필기, iso-프로필기, n-부틸기, iso-부틸기, sec-부틸기, tert-부틸기, n-펜틸기, iso-펜틸기, neo-펜틸기, n-헥실기, iso-헥실기, 3-메틸펜틸기, 2,2-디메틸부틸기, 2, 3-디메틸부틸기, 또는 알릴기인 것인, 분자성 전이금속 복합체.

청구항 3

제 1 항에 있어서,

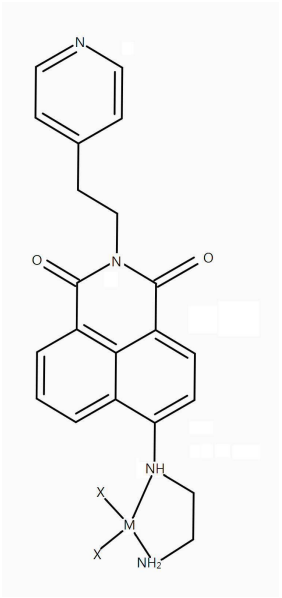
상기 치환기는 시클로펜틸기, 시클로헥실기, 피롤리디닐기 (-NC_4H_8, pyrrolidinyl group), 피페리디닐기 (-NC_5H_{10}, piperidinyl group), 피페라지닐기(-$N_2C_4H_9$, piperazinyl group), 메틸피페라진-1-일기(-$N_2C_5H_{11}$, 4-methylpiperazin-1-yl group), 모르폴리노기(-NOC_4H_8, morpholino group), 페닐기, 톨루에닐기, 아닐린기 (-$C_6H_5NH_2$), 피리디닐기 (-NC_5H_5), 피롤기 (-NC_4H_4), , , , , , , , 또는  인 것인, 분자성 전이금속 복합체.

청구항 4

제 1 항에 있어서,

상기 분자성 전이금속 복합체는 하기 화학식 2로서 표시되는 것인, 분자성 전이금속 복합체:

[화학식 2]



;

상기 화학식 2에서,

M은 Pd, Ni, Co, Fe, Pt, Cu, Ru 또는 Os이고,

X는 할로겐 원소임.

청구항 5

제 1 항 내지 제 4항 중 어느 한 항에 따른 분자성 전이금속 복합체를 포함하는,

CO 검출 턴-온 (turn-on) 센서.

청구항 6

제 5 항에 있어서,

상기 CO 검출 턴-온 센서는 10 분 내에 최대 방출 강도의 80%에 도달하는 것인, CO 검출 턴-온 센서.

청구항 7

제 5 항에 있어서,

상기 CO 검출 턴-온 센서는 pH 1 내지 8의 범위에서 기능하는 것인, CO 검출 턴-온 센서.

청구항 8

제 5 항에 있어서,

상기 CO 검출 턴-온 센서의 검출한계는 0.6 μM 내지 1 μM인 것인, CO 검출 턴-온 센서.

청구항 9

제 5 항에 있어서,

상기 CO 검출 턴-온 센서는 CO 존재 하에서 카르보닐화된 중심 금속의 방출에 의해 리간드의 형광이 회복되어 CO를 검출하는 것인, CO 검출 턴-온 센서.

청구항 10

제 5 항에 있어서,

상기 CO 검출 턴-온 센서는 CO의 농도가 증가함에 따라 형광 방출 강도가 증가하는 것인, CO 검출 턴-온 센서.

청구항 11

제 5 항에 있어서,

상기 CO 검출 턴-온 센서는 생체 세포 내에 내재화되는 것인, CO 검출 턴-온 센서.

청구항 12

제 5 항 내지 제 11항 중 어느 한 항에 따른 CO 검출 턴-온 센서를 이용하는 것을 포함하는, CO를 검출하는 방법.

청구항 13

제 12 항에 있어서,

상기 방법은 용액 내에서 수행되는 것인, CO를 검출하는 방법.

청구항 14

제 12 항에 있어서,

상기 CO 검출 턴-온 센서를 생체 세포 내에 내재화하여 이용하는 것인, CO를 검출하는 방법.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본원은 신규한 분자성 전이금속 복합체, 상기 분자성 전이금속 복합체를 포함하는 CO 검출 턴-온 센서, 및 상기 CO 검출 턴-온 센서를 이용하여, CO를 검출하는 방법에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 무색 및 무취의 일산화탄소(CO)는, 종종 흡입 시 치명적 결과를 초래할 수 있는 조용하고 보이지 않는 위협이다. CO는 헤모글로빈에 대한 강한 친화력으로 인해 매우 독성이 있다. CO는 연기와 자동차 배기 가스에서 비롯된 것으로 알려져 있다. 최근 연구에서 체내의 헴 옥시게나아제(heme oxygenase) 효소에 의한 헴(heme)의 분해를 통해 CO가 또한 지속적으로 생성되는 것으로 나타났다. 또한, 선행 연구들에서 다양한 생리적 및 병리학적 과정에서 CO가 중요한 역할을 하는 것으로 나타났다. 예를 들어, CO는 혈관 확장 (vasodilation), 신경 전달 (neurotransmission) 및 항세포자살 (antiapoptotic), 항-염증 (anti-inflammatory) 및 항증식 (antiproliferative) 활성에 관여한다. 또한, CO는 산화 질소 및 황화수소와 같은 신호 전달 분자의 내인성인 기체상 전달자 계열인 것으로 간주된다. 또한, CO는 생리학적 및 병리학적 조건 하에서 다수의 방어 메커니즘에 관여하는 치료성 분자로서 인식되어 왔다. CO의 많은 중요한 역할로 인해, 지난 몇 년 동안 생물학적 시스템에서 CO 기능의 더 나은 이해를 성취하기 위해 많은 노력을 기울여 왔다. 그러나, 생물학적 시스템에서 상기 분자의 검출을 위한 효율적 방법의 부족은 본 연구 영역을 억제하고 있다. 레이저 센서-적외선 흡수 측정, 비색 분석(colorimetric analysis) 및 전기 화학적 방법과 같은 분석 기술이 CO 검출을 위해 개발되었지만, 이러한 방법들은 일반적으로 살아있는 세포에서 CO의 실시간 검출에 적합하지 않다.

[0003] 지난 몇 년 동안, 형광 프로브들을 기반으로 한 방출 검출은 편리하고, 민감하며, 비침습적 특성으로 인해 생체 시스템에서 다양한 생물학적으로 중요한 분자들을 모니터링하고 검출하는 가장 강력한 도구들 중 하나로서 부상하였다. 그러나, CO 검출을 위한 형광 센서의 개발은 여전히 초기 단계이다. 실제로, 단지 최근에 He와 Chang의 연구 그룹의 독립적 연구들로부터 약진이 나타났다. 각각의 그룹은 살아있는 세포에서 CO의 이미징을 위해 상이한 유형의 형광 CO 프로브를 보고하였다. 상기 약진 이후, 몇몇의 프로브들이 개발되었고 CO의 세포 이미징에 적용되었다. 그러나, 이러한 프로브들은 여전히 합성의 어려움, 불완전하게 해결된 색상 또는 방출의 변화, 저 선택성, UV 광에 의한 여기, 및 유기 용제의 대량 사용과 같은, 여러 개의 결점을 가지고 있다. 여전히 남아 있는 과제들은 CO 검출을 위한 더 적합한 프로브들의 추가 개발이 요구됨을 시사한다.

선행기술문헌

특허문헌

[0004] (특허문헌 0001) 대한민국 공개특허공보 제10-2009-0022620호.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0005] 본원은 신규한 분자성 전이금속 복합체, 상기 분자성 전이금속 복합체를 포함하는 CO 검출 턴-온 센서, 및 상기

CO 검출 턴-온 센서를 이용하여, CO를 검출하는 방법에 관한 것이다.

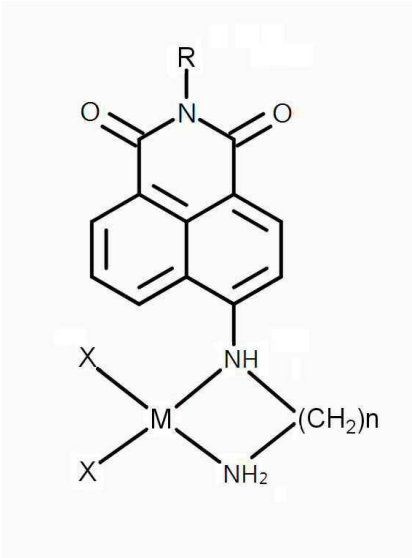
[0006] 본원은 수성 버퍼에서 CO의 선택적 검출을 위해 Pd(II)-나프탈이미드를 기반으로 한 신규한 형광 프로브를 포함하는 CO 검출 턴-온 센서에 관한 것이다. CO의 검출은 Pd-나프탈이미드 복합체로부터 Pd(II)를 제거함으로써 나프탈이미드의 형광이 회복되는 것을 기반으로 하며, 여기서 팔라듐 이온의 결합이 중금속 원자에 의한 전자 효과를 통해 나프탈이미드의 형광을 퀜칭시킨다. 본원의 구현예들에 따른 프로브는 금속-탄소 결합이 없는 Pd(II) 복합체로부터 파생된 첫번째 턴-온(turn-on) 방출 센서이다. Pd(II)의 상이한 배위 환경으로 인해, CO에 대한 상기 프로브의 검출 시간은 다른 보고된 Pd 센서들보다 빠르다. 상기 프로브는 살아있는 세포들에 내재화될 수 있으며, 실시간 CO 이미징을 제공할 수 있다.

[0007] 그러나, 본원이 해결하고자 하는 과제는 이상에서 언급한 과제로 제한되지 않으며, 언급되지 않은 또 다른 과제들은 아래의 기재로부터 통상의 기술자에게 명확하게 이해될 수 있을 것이다.

과제의 해결 수단

[0008] 본원의 제 1 측면은, 하기 화학식 1로서 표시되는, 분자성 전이금속 복합체를 제공한다:

[0009] **[화학식 1]**



[0010] ;

[0011] 상기 화학식 1에서,

[0012] M은 Pd, Ni, Co, Fe, Pt, Cu, Ru 또는 Os이고,

[0013] R은 수소, 치환 또는 비치환된 선형 또는 분지형의 C_{1-6} 알킬기, 치환 또는 비치환된 알릴기, 또는 치환 또는 비치환된 선형 또는 분지형의 C_{2-6} 알케닐기이거나; 또는 고분자, 금속, 또는 금속 산화물에 결합 또는 배위되는 작용기이고,

[0014] R이 치환되는 경우, 치환기는 C_{3-10} 시클로알킬기, N, O, 또는 S의 헤테로 원자를 하나 이상 포함하는 C_{3-10} 헤테로시클로알킬기, C_{6-10} 아릴기, 또는 N, O, 또는 S의 헤테로 원자를 하나 이상 포함하는 C_{3-10} 헤테로아릴기이며,

[0015] X는 할로겐 원소이고,

[0016] n은 1 내지 4의 정수임.

[0017] 본원의 제 2 측면은, 제 1 측면에 따른 분자성 전이금속 복합체를 포함하는, CO 검출 턴-온 센서를 제공한다.

[0018] 본원의 제 3 측면은, 제 2 측면에 따른 CO 검출 턴-온 센서를 이용하는 것을 포함하는, CO를 검출하는 방법을 제공한다.

발명의 효과

[0019] 본원의 구현예들에 따른, 가스 신호 전달 분자 (gaseous signaling molecules) 중 하나인, 일산화탄소(CO)를

검출하는 분석법은 신규 팔라듐 복합체 화학 센서(chemosensor)를 사용하여 개발되었다. 나프탈이미드(napthalimide) 형광단에 부착된 에틸렌디아민(ethylenediamine)기는 Pd(II)에 배위하며, 이는 분자 내에서 형광을 퀜칭한다. CO로 처리할 때, 포스페이트 버퍼 내의 실온에서 상기 Pd(II) 복합체 및 CO 사이의 복합체의 형성으로 인해 턴-온(turn-on) 형광 센서의 흡광도가 변화한다. CO의 농도가 증가함에 따라, 527 nm에서의 프로브 피크 방출 강도는 점진적으로 증가한다. F^-, Cl^-, Br^-, NO, NO_2^-, NO_3^-, HCO_3^-, CH_3COO^-, H_2O_2, $^{\cdot}OH$ 및 $^{t}BuOO^{\cdot}$와 같은, 다른 대조군 분석물들은 방출 강도에 유의미한 영향을 나타내지 않는다. 상기 펜던트 에틸렌디아민(pendent ethylenediamine)기에 대한 Pd(II)의 상대적으로 약한 배위로 인해 CO에 대한 상기 프로브의 반응 시간은 빠르다. 상기 프로브는 수성 버퍼 및 살아있는 세포(living cell)에서 고선택적으로 CO를 검출할 수 있으며, 이는 생물학적 시스템에서 CO-관련 반응들을 연구할 수 있는 잠재적인 실시간 지표를 제공한다.

도면의 간단한 설명

[0020] 도 1a는, 본원의 일 실시예에 따라 PBS 버퍼 (pH 7.3)에서 시간에 따른 CORM-2 (100 μM) 첨가시 Nap-Pd (10 μM)의 방출 스펙트럼 변화를 나타낸 것으로서, 흑색 점선 스펙트럼은 Nap-Pd 단독이며, 도 1b는 실온에서 PBS 버퍼 (pH 7.3) 내 CORM-2 (100 μM)의 첨가시 Nap-Pd (20 μM)의 시간-의존적 흡수 스펙트럼을 나타낸 것으로서, 흑색 점선 스펙트럼은 Nap-Pd 단독이다.

도 2는, 본원의 일 실시예에 따라 DMSO : H_2O (1:20) 혼합물에서 Nap (파란색) 및 Nap-Pd (검정색) (각 50 μM)의 UV-vis 스펙트럼 및 CO (80 μM) 첨가시 Nap-Pd (적색)의 UV-vis 스펙트럼으로서, 삽입도는 Nap-Pd (적갈색) 및 Nap (노란색)의 용액을 보여준다.

도 3a는, 본원의 일 실시예에 따라 H_2O : DMSO (20:1)에서 관련 분석물 (50 μM) 첨가시 Nap-Pd (5 μM)의 방출 스펙트럼으로서, CO는 적색으로 나타냈으며, Br^-, Cl^-, F^-, H_2O_2, HCO_3^-, NO, NO_2^-, NO_3^-, CH_3COO^-, $\cdot OH$, SO_4^{2-}, 및 $^{t}BuOO\cdot$는 다른 색상들로 나타내었다. 또한, 도 3b는, 본원의 일 실시예에 따라, 관련 분석물의 첨가 시 Nap-Pd (5 μM)의 상대적인 강도 (I-I_o)의 막대 그래프 [1. 대조군 (Nap-Pd 단독); 2. CO; 3. Br^-; 4. Cl^-; 5. F^-; 6. H_2O_2; 7. HCO_3^-; 8. NO; 9. NO_2^-; 10. NO_3^-; 11. CH_3COO^-; 12. $\cdot OH$; 13. SO_4^{2-}; 14. $^{t}BuOO\cdot$]로서, I_o는 Nap-Pd의 강도이고 I는 다른 분석물들의 강도를 나타낸 것이다.

도 4는, 본원의 일 실시예에 있어서, PBS 완충액 (pH 7.4) 내에서 CORM-2 첨가시 Nap-Pd (5 μM) 및 Br^-, Cl^-, F^-, HCO_3^-, I^-, NO_2^-, NO_3^-, AcO^-, H_2O_2, $\cdot OH$, SO_4^{2-} 및 tBuOO· 와 같은 기타 분석 물질 (50 μM) (흑색 막대)의 경쟁적 결합 실험 결과를 나타낸 막대 그래프로서, 적색 막대는 CORM-2 부재 하에서 다른 분석 물질 (50 μM)에 대한 Nap-Pd (5 μM)의 방출 강도를 나타낸 것이다.

도 5a는, 본원의 일 실시예에 있어서, 실온에서 PBS 버퍼 (pH 7.3) 내 상이한 농도의 CORM-2 (0 μM 내지 100 μM) 첨가시 Nap-Pd (10 μM)의 방출 스펙트럼을 나타낸 것으로서, Nap-Pd는 CORM-2의 부재시 흑색 점선 스펙트럼을 제공하였으며, CORM-2의 첨가 후 10 분에 모든 스펙트럼을 수득하였다. 또한, 도 5b는, 본원의 일 실시예에 있어서, PBS 버퍼 (pH 7.3) 내 상이한 양의 CORM-2 (0 μM 내지 100 μM)를 첨가시 시간에 따른 Nap-Pd 용액 (10 μM)의 방출 강도를 플롯팅한 것이다.

도 6은, PBS 버퍼에서 상이한 pH 조건 하 527 nm에서 (흑색 사각형) 및 CORM-2 (50 μM) 부재 하에서(적색 원)의 Nap-Pd (5 μM)의 방출 강도를 나타낸 것이다.

도 7는, 본원의 일 실시예에 있어서, 10 μM에서 Nap-Pd로 착색된 유방암 세포 (MCF-7)에서 CO의 형광 이미지이며, 착색 전, 상기 세포들을 37℃에서 30 분 동안 CORM-3 존재 하 또는 부재 하에서 배양하였으며, 각각의 CORM-3의 농도는 다음과 같다: (a) 0 μM, (b) 1 μM 및 (c) 10 μM (스케일 바: 100 μm).

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0021] 이하, 첨부한 도면을 참조하여 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자가 용이하게 실시할 수 있도록 본원의 구현예 및 실시예를 상세히 설명한다. 그러나 본원은 여러 가지 상이한 형태로 구현될 수 있으며 여기에서 설명하는 구현예 및 실시예에 한정되지 않는다. 그리고 도면에서 본 발명을 명확하게 설명하기 위

해서 설명과 관계없는 부분은 생략하였으며, 명세서 전체를 통하여 유사한 부분에 대해서는 유사한 도면 부호를 붙였다.

[0022] 본원 명세서 전체에서, 어떤 부분이 다른 부분과 "연결"되어 있다고 할 때, 이는 "직접적으로 연결"되어 있는 경우뿐 아니라, 그 중간에 다른 소자를 사이에 두고 "전기적으로 연결"되어 있는 경우도 포함한다.

[0023] 본원 명세서 전체에서, 어떤 부재가 다른 부재 "상에" 위치하고 있다고 할 때, 이는 어떤 부재가 다른 부재에 접해 있는 경우뿐 아니라 두 부재 사이에 또 다른 부재가 존재하는 경우도 포함한다.

[0024] 본원 명세서 전체에서, 어떤 부분이 어떤 구성요소를 "포함"한다고 할 때, 이는 특별히 반대되는 기재가 없는 한 다른 구성요소를 제외하는 것이 아니라 다른 구성 요소를 더 포함할 수 있는 것을 의미한다.

[0025] 본 명세서에서 사용되는 정도의 용어 "약", "실질적으로" 등은 언급된 의미에 고유한 제조 및 물질 허용오차가 제시될 때 그 수치에서 또는 그 수치에 근접한 의미로 사용되고, 본원의 이해를 돕기 위해 정확하거나 절대적인 수치가 언급된 개시 내용을 비양심적인 침해자가 부당하게 이용하는 것을 방지하기 위해 사용된다.

[0026] 본원 명세서 전체에서 사용되는 정도의 용어 “~ 하는 단계” 또는 “~의 단계”는 “~를 위한 단계”를 의미하지 않는다.

[0027] 본원 명세서 전체에서, 마쿠시 형식의 표현에 포함된 "이들의 조합(들)"의 용어는 마쿠시 형식의 표현에 기재된 구성 요소들로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상의 혼합 또는 조합을 의미하는 것으로서, 상기 구성 요소들로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상을 포함하는 것을 의미한다.

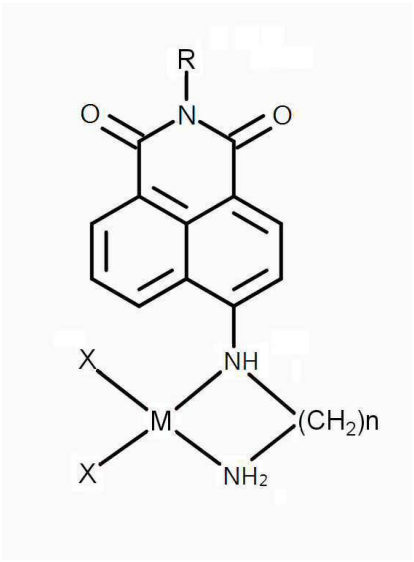
[0028] 본원 명세서 전체에서, "A 및/또는 B"의 기재는, "A 또는 B, 또는 A 및 B"를 의미한다.

[0029] 본원 명세서 전체에서, 용어 "알킬" 또는 "알킬기"는, 1 내지 12 개의 탄소 원자, 1 내지 10 개의 탄소 원자, 1 내지 8 개의 탄소 원자, 또는 1 내지 5 개의 탄소 원자를 갖는 선형 또는 분지형 알킬기 및 이들의 모든 가능한 이성질체를 포함한다. 예를 들어, 상기 알킬 또는 알킬기는 메틸기(Me), 에틸기(Et), n-프로필기(^{n}Pr), iso-프로필기(^{i}Pr), n-부틸기(^{n}Bu), iso-부틸기(^{i}Bu), tert-부틸기(tert-Bu, ^{t}Bu), sec-부틸기(sec-Bu, ^{sec}Bu), n-펜틸기(^{n}Pe), iso-펜틸기(^{iso}Pe), sec-펜틸기(^{sec}Pe), tert-펜틸기(^{t}Pe), neo-펜틸기(^{neo}Pe), 3-펜틸기, n-헥실기, iso-헥실기, 헵틸기, 4,4-디메틸펜틸기, 옥틸기, 2,2,4-트리메틸펜틸기, 노닐기, 데실기, 운데실기, 도데실기, 및 이들의 이성질체들 등을 들 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다.

[0031] 이하, 본원의 구현예를 상세히 설명하였으나, 본원이 이에 제한되지 않을 수 있다.

[0033] 본원의 제 1 측면은, 하기 화학식 1로서 표시되는, 분자성 전이금속 복합체를 제공한다:

[0034] **[화학식 1]**



[0035] ;

[0036] 상기 화학식 1에서,

[0037] M은 Pd, Ni, Co, Fe, Pt, Cu, Ru 또는 Os이고,

[0038] R은 수소, 치환 또는 비치환된 선형 또는 분지형의 C_{1-6} 알킬기, 치환 또는 비치환된 알릴기, 또는 치환 또는 비치환된 선형 또는 분지형의 C_{2-6} 알케닐기이거나; 또는 고분자, 금속, 또는 금속 산화물에 결합 또는 배위되는 작용기이고,

[0039] R이 치환되는 경우, 치환기는 C_{3-10} 시클로알킬기, N, O, 또는 S의 헤테로 원자를 하나 이상 포함하는 C_{3-10} 헤테로시클로알킬기, C_{6-10} 아릴기, 또는 N, O, 또는 S의 헤테로 원자를 하나 이상 포함하는 C_{3-10} 헤테로아릴기이며,

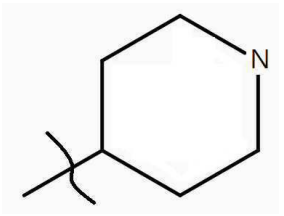
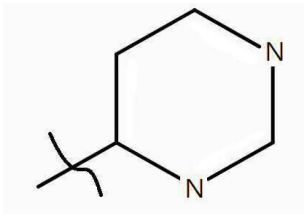
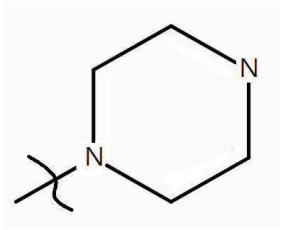
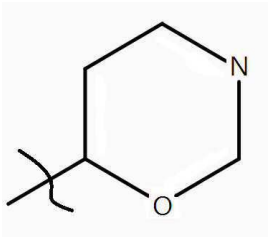
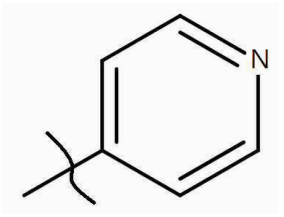
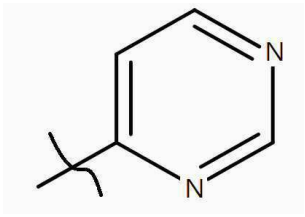
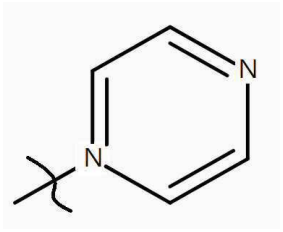
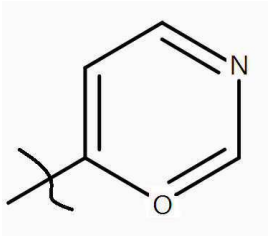
[0040] X는 할로겐 원소이고,

[0041] n은 1 내지 4의 정수임.

[0042] 본원의 일 구현예에 있어서, R은 수소, 치환 또는 비치환된 메틸기, 에틸기, n-프로필기, iso-프로필기, n-부틸기, iso-부틸기, sec-부틸기, tert-부틸기, n-펜틸기, iso-펜틸기, neo-펜틸기, n-헥실기, iso-헥실기, 3-메틸펜틸기, 2,2-디메틸부틸기, 2, 3-디메틸부틸기, 또는 알릴기일 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다.

[0043] 본원의 일 구현예에 있어서, R이 치환되는 경우, 상기 치환기는 아실기, 아미노기 (단순한 아미노기, 모노 및 디알킬아미노기, 모노 및 디아릴아미노기 및 알킬아릴아미노기를 포함함), 아실아미노기 (카르바모일기, 및 우레이도기를 포함함), 알킬카르보닐옥시기, 아릴기, 아릴카르보닐옥시기, 알콕시카르보닐옥시기, 알콕시카르보닐기, 카르복시기, 카르복실레이트기, 아미노카르보닐기, 모노 및 디알킬아미노카르보닐기, 시아노기, 아지도기, 할로겐기, 히드록실기, 니트로기, 트리플루오로메틸기, 티올기, 알킬티올기, 아릴티올기, 알킬티오카르보닐기, 티오카르복실레이트기, 저급 알킬기, 저급 알케닐기, 저급 알키닐기, 시클로알킬기, 헤테로시클로알킬기, 아릴기, 헤테로아릴기, 저급 알콕시기, 아릴옥시기, 아릴옥시카르보닐옥시기, 벤질옥시기, 벤질기, 설피닐기, 알킬설피닐기, 설포닐기, 설페이트기, 설포네이트기, 설폰아미드기, 포스페이트기, 포스포네이토기, 포스피네이토기, 옥소기, 구아니딘기, 이미노기, 및 포르밀기에서 선택되는 하나 이상을 포함하는 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다.

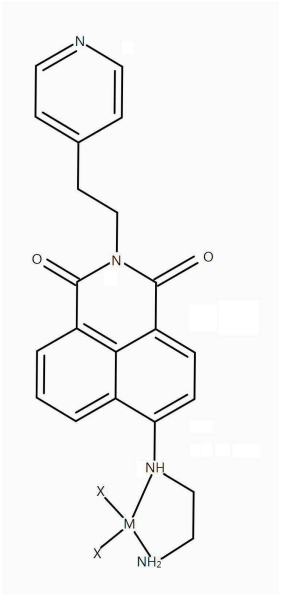
[0044] 본원의 일 구현예에 있어서, R이 치환되는 경우, 상기 치환기는 시클로펜틸기, 시클로헥실기, 피롤리디닐기 (-NC_4H_8, pyrrolidinyl group), 피페리디닐기 (-NC_5H_{10}, piperidinyl group), 피페라지닐기(-$N_2C_4H_9$, piperazinyl group), 메틸피페라진-1-일기(-$N_2C_5H_{11}$, 4-methylpiperazin-1-yl group), 모르폴리노기(-NOC_4H_8, morpholino group), 페닐기, 톨루에닐기, 아닐린기 (-$C_6H_5NH_2$), 피리디닐기 (-NC_5H_5), 피롤기 (-NC_4H_4),








또는

일 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다.

[0045] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 할로겐 원소는 F, Cl, Br, 또는 I일 수 있다.

[0046] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 분자성 전이금속 복합체는 하기 화학식 2로서 표시되는 것일 수 있다:

[0047] **[화학식 2]**



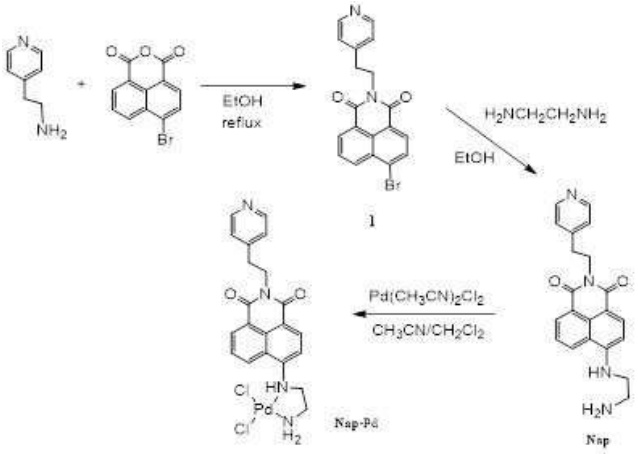
[0048] ;

[0049] 상기 화학식 2에서,

[0050] M은 Pd, Ni, Co, Fe, Pt, Cu, Ru 또는 Os이고,

[0051] X는 할로겐 원소임.

[0052] 본원의 일 구현예에 있어서, 형광 물질로서 나프탈이미드(napthalimide), 금속화를 위한 에틸렌디아민(ethylenediamine), 및 잠재적 pH 조절제로서 피리딘(pyridine)을 함유하는 Nap의 단핵성 팔라듐(II) 화합물을 설계 및 제조하였다 (스킴 1).



[0053]

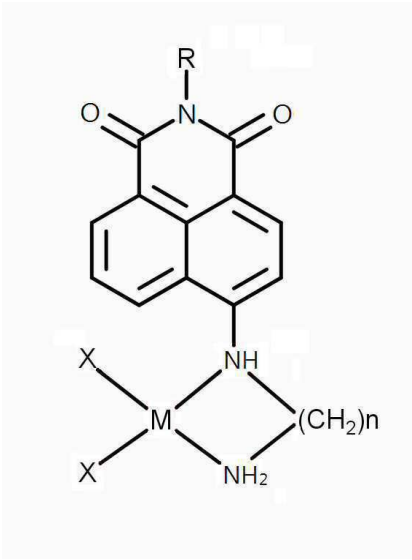
[0054] **<스킴 1. Nap의 합성 절차 및 Nap-Pd의 제조>**

[0056] 본원의 제 2 측면은, 제 1 측면에 따른 분자성 전이금속 복합체를 포함하는, CO 검출 턴-온 센서를 제공한다.

[0057] 본원의 제 1 측면과 중복되는 부분들에 대해서는 상세한 설명을 생략하였으나, 본원의 제 1 측면에 대해 설명한 내용은 본원의 제 2 측면에서 그 설명이 생략되었더라도 동일하게 적용될 수 있다.

[0058] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 분자성 전이금속 복합체는 하기 화학식 1로서 표시되는 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다:

[0059] **[화학식 1]**



[0060] ;

[0061] 상기 화학식 1에서,

[0062] M은 Pd, Ni, Co, Fe, Pt, Cu, Ru 또는 Os이고,

[0063] R은 수소, 치환 또는 비치환된 선형 또는 분지형의 C_{1-6} 알킬기, 치환 또는 비치환된 알릴기, 또는 치환 또는 비치환된 선형 또는 분지형의 C_{2-6} 알케닐기이거나; 또는 고분자, 금속, 또는 금속 산화물에 결합 또는 배위되는 작용기이고,

[0064] R이 치환되는 경우, 치환기는 C_{3-10} 시클로알킬기, N, O, 또는 S의 헤테로 원자를 하나 이상 포함하는 C_{3-10} 헤테로시클로알킬기, C_{6-10} 아릴기, 또는 N, O, 또는 S의 헤테로 원자를 하나 이상 포함하는 C_{3-10} 헤테로아릴기이며,

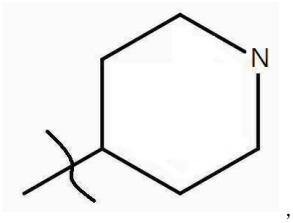
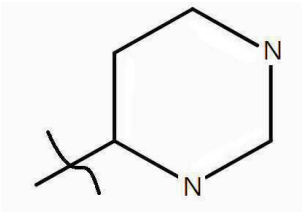
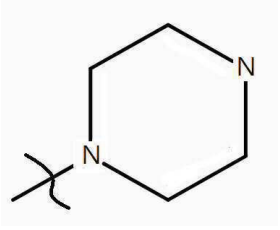
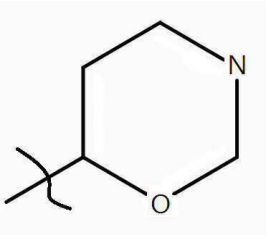
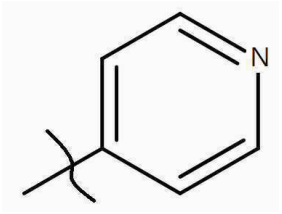
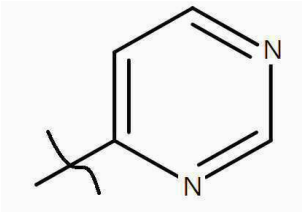
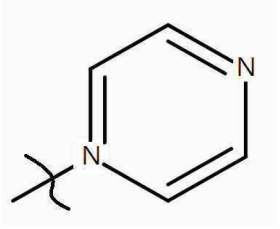
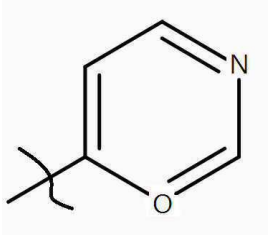
[0065] X는 할로겐 원소이고,

[0066] n은 1 내지 4의 정수임.

[0067] 본원의 일 구현예에 있어서, R은 수소, 치환 또는 비치환된 메틸기, 에틸기, n-프로필기, iso-프로필기, n-부틸기, iso-부틸기, sec-부틸기, tert-부틸기, n-펜틸기, iso-펜틸기, neo-펜틸기, n-헥실기, iso-헥실기, 3-메틸펜틸기, 2,2-디메틸부틸기, 2, 3-디메틸부틸기, 또는 알릴기일 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다.

[0068] 본원의 일 구현예에 있어서, R이 치환되는 경우, 상기 치환기는 아실기, 아미노기 (단순한 아미노기, 모노 및 디알킬아미노기, 모노 및 디아릴아미노기 및 알킬아릴아미노기를 포함함), 아실아미노기 (카르바모일기, 및 우레이도기를 포함함), 알킬카르보닐옥시기, 아릴기, 아릴카르보닐옥시기, 알콕시카르보닐옥시기, 알콕시카르보닐기, 카르복시기, 카르복실레이트기, 아미노카르보닐기, 모노 및 디알킬아미노카르보닐기, 시아노기, 아지도기, 할로겐기, 히드록실기, 니트로기, 트리플루오로메틸기, 티올기, 알킬티올기, 아릴티올기, 알킬티오카르보닐기, 티오카르복실레이트기, 저급 알킬기, 저급 알케닐기, 저급 알키닐기, 시클로알킬기, 헤테로시클로알킬기, 아릴기, 헤테로아릴기, 저급 알콕시기, 아릴옥시기, 아릴옥시카르보닐옥시기, 벤질옥시기, 벤질기, 설피닐기, 알킬설피닐기, 설포닐기, 설페이트기, 설포네이트기, 설폰아미드기, 포스페이트기, 포스포네이토기, 포스피네이토기, 옥소기, 구아니딘기, 이미노기, 및 포르밀기에서 선택되는 하나 이상을 포함하는 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다.

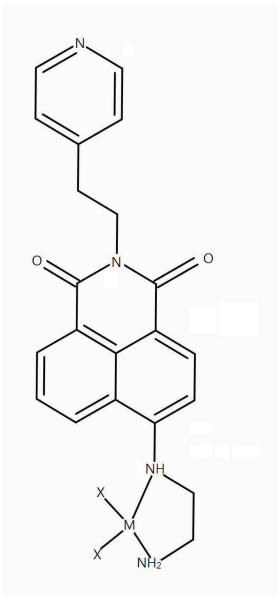
[0069] 본원의 일 구현예에 있어서, R이 치환되는 경우, 상기 치환기는 시클로펜틸기, 시클로헥실기, 피롤리디닐기 (-NC_4H_8, pyrrolidinyl group), 피페리디닐기 (-NC_5H_{10}, piperidinyl group), 피페라지닐기(-$N_2C_4H_9$, piperazinyl group), 메틸피페라진-1-일기(-$N_2C_5H_{11}$, 4-methylpiperazin-1-yl group), 모르폴리노기(-NOC_4H_8, morpholino group), 페닐기, 톨루에닐기, 아닐린기 (-$C_6H_5NH_2$), 피리디닐기 (-NC_5H_5), 피롤기 (-NC_4H_4),


,

,

,

,

,

,

, 또는

일 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다.

[0070] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 할로겐 원소는 F, Cl, Br, 또는 I일 수 있다.

[0071] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 분자성 전이금속 복합체는 하기 화학식 2로서 표시되는 것일 수 있다:

[0072] **[화학식 2]**

[0073]  ;

[0074] 상기 화학식 2에서,

[0075] M은 Pd, Ni, Co, Fe, Pt, Cu, Ru 또는 Os이고,

[0076] X는 할로겐 원소임.

[0077] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 CO 검출 턴-온 센서는 약 10 분 내에 최대 방출 강도의 약 80%에 도달하는 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다. 상기 방출 강도는 시간에 따라 일정하게 증가하며, 일정 수준에서 포화되는 것일 수 있다. 상기 방출 강도는 약 10 분, 약 9 분, 약 8 분, 약 6 분, 약 5 분 내에 최대 방출 강도의 약 80%, 약 85%, 약 90%, 약 95%, 또는 약 98%에 도달하는 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다.

[0078] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 CO 검출 턴-온 센서의 검출 시간은 핵자기공명법 및/또는 기체크로마토그래피법으로 측정할 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다. 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 CO 검출 턴-온 센서의 검출 시간은 공지된 방법에 의해 제한없이 측정될 수 있다.

[0079] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 CO 검출 턴-온 센서는 pH 약 1 내지 약 8의 범위에서 기능하는 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다. 예를 들어, 상기 CO 검출 턴-온 센서는 약 1 내지 약 8, 약 1 내지 약 7, 약 1 내지 약 6, 약 1 내지 약 5, 약 1 내지 약 4, 약 1 내지 약 3, 약 1 내지 약 2, 약 2 내지 약 8, 약 2 내지 약 7, 약 2 내지 약 6, 약 2 내지 약 5, 약 2 내지 약 4, 약 2 내지 약 3, 약 3 내지 약 8, 약 3 내지 약 7, 약 3 내지 약 6, 약 3 내지 약 5, 약 3 내지 약 4, 약 4 내지 약 8, 약 4 내지 약 7, 약 4 내지 약 6, 약 4 내지 약 5, 약 5 내지 약 8, 약 5 내지 약 7, 약 5 내지 약 6, 약 6 내지 약 8, 약 6 내지 약 7, 또는 약 7 내지 8의 범위에서 기능하는 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다. 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 CO 검출 턴-온 센서는 pH 약 1 내지 약 5, pH 약 4 내지 약 8 또는 약 5 내지 약 8의 범위에서 기능하는 것일 수 있다.

[0080] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 CO 검출 턴-온 센서의 검출한계는 약 0.6 μM 내지 약 1 μM일 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다. 예를 들어, 상기 CO 검출 턴-온 센서의 검출한계는 약 0.6 μM 내지 약 1 μM, 약 0.6 μM 내지 약 0.9 μM, 약 0.6 μM 내지 약 0.8 μM, 약 0.6 μM 내지 약 0.7 μM, 약 0.7 μM 내지 약 1 μM, 약 0.7 μM 내지 약 0.9 μM, 0.7 μM 내지 약 0.8 μM, 약 0.8 μM 내지 약 1 μM, 약 0.8 내지 약 0.9 μM, 또는 약 0.9 μM 내지 약 1 μM일 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다. 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 CO 검출 턴-온 센서의 검출한계는 약 0.8 μM 내지 약 1 μM일 수 있다.

[0081] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 CO 검출 턴-온 센서는 CO 존재 하에서 카르보닐화된 중심 금속의 방출에 의해 리간드의 형광이 회복되어 CO를 검출하는 것일 수 있다. 예를 들어, 상기 CO 검출 턴-온 센서는 CO 존재 하에서 카르보닐화된 팔라듐(Ⅱ)의 방출에 의해 나프탈이미드 리간드의 형광이 회복되어 CO를 검출하는 것일 수 있다.

[0082] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 CO 검출 턴-온 센서는 CO의 농도가 증가함에 따라 형광 방출 강도가 증가하는

것일 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다. 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 CO 검출 턴-온 센서는 CO의 농도가 증가함에 따라 형광 방출 강도가 일정하게 또는 선형적으로 증가하는 것일 수 있다.

[0083] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 CO 검출 턴-온 센서는 생체 세포 내에 내재화되는 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다. 본원의 일 구현에에 있어서, 상기 CO 검출 턴-온 센서는 수성 버퍼 및/또는 살아있는 세포에서 CO를 검출할 수 있다.

[0085] 본원의 제 3 측면은, 제 2 측면에 따른 CO 검출 턴-온 센서를 이용하는 것을 포함하는, CO를 검출하는 방법을 제공한다.

[0086] 본원의 제 1 측면 및 제 2 측면과 중복되는 부분들에 대해서는 상세한 설명을 생략하였으나, 본원의 제 1 측면 및 제 2 측면에 대해 설명한 내용은 본원의 제 3 측면에서 그 설명이 생략되었더라도 동일하게 적용될 수 있다.

[0087] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 CO를 검출하는 방법은 용액 내에서 수행되는 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다. 예를 들어, 상기 방법은 수성 버퍼 내에서 수행되는 것일 수 있다.

[0088] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 CO 검출 턴-온 센서를 생체 세포 내에 내재화하여 이용하는 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다.

[0090] 이하, 본원에 대하여 실시예를 이용하여 좀더 구체적으로 설명하지만, 하기 실시예는 본원의 이해를 돕기 위하여 예시하는 것일 뿐, 본원의 내용이 하기 실시예에 한정되는 것은 아니다.

[0092] **[실시예]**

[0093] **1. 결과 및 고찰**

[0094] **<설계 및 합성>**

[0095] 먼저, 4-브로모-1,8-나프탈산 무수물(4-bromo-1,8-naphthalic anhydride) 및 4-(2-아미노에틸)피리딘(4-(2-aminoethyl)pyridine)의 축합을 통해 화합물 1을 단리하였다. 그 후, 펜던트 에틸렌디아민(pendent ethylenediamine)기를 친핵성 치환 반응을 통해 화합물 1에 도입하여 Nap를 수득하였다. 이어서, 아세토니트릴/디클로로메탄 (acetonitrile/dichloromethane)에서 $PdCl_2(CH_3CN)_2$와 Nap의 반응을 통해 Nap-Pd를 수득하였다. 복합체 1, Nap 및 Nap-Pd를 ^{1}H-NMR, ^{13}C-NMR 및 질량 분석에 의해 특성 분석하였다 (후술하는 실험 섹션 참조).

[0096] **<CO의 형광 검출>**

[0097] 수성 버퍼 용액에서 Nap-Pd의 CO에 대한 형광 특성 및 선택성을 조사하였다. 일산화탄소 방출 분자인 CORM-2를 일산화탄소 공급원으로서 사용하였다. Nap 단독으로는 440 nm에서 여기하여 527 nm에서 강한 형광 방출을 나타냈으나, Nap-Pd는 PBS 버퍼 (pH 7.3)에서 약한 형광을 제공하였다. 도 1에 도시된 바와 같이, PBS 버퍼 (10 mM, 1% DMSO)에서 Nap-Pd에 CORM-2를 첨가하면, 527 nm에서 방출 증가가 관찰되었다. 방출 강도는 시간에 따라 일정하게 증가하였고 15 분 후에 포화되었다. 상기 방출 강도는 5 분에서 최대 강도의 82%에 도달하였다. 이러한 빠른 반응 시간은, 금속-탄소 결합을 함유하는 다른 Pd(II) 센서들과 비교하여, Nap-Pd에서 Pd(II)의 에틸렌디아민 배위로부터 기인할 것이다. 다른 보고된 Pd-기반 센서들은 최대 강도의 >90%에 도달하기 위해 20 분 내지 60 분이 요구된다.

[0098] 형광단 Nap에서 Nap-Pd의 상기 Pd(II) 복합체 부분으로의 분자 내 광-유도 전자 전달 (PET; photo-induced electron transfer) 공정은 퀜칭 효과를 초래하였다. Nap-Pd 용액에 CORM-2 첨가시, 상기 Nap-Pd 용액의 형광은 정체기에 도달함에 따라 점진적으로 증가하였다 (도 1a). 이러한 관찰은 Pd(II)의 카르보닐화 생성물의 CO-유도 형성과 잘 일치된다. Pd-기반 CO 프로브들의 이러한 Pd 카르보닐화는 CO에 대한 다른 Pd-기반 센서들에서 또한 제안되었다.

[0099] 또한, Nap-Pd의 CO에 대한 반응은 또한 UV-Vis 분광법(UV-Vis spectroscopy)을 사용하여 또한 조사하였다. Nap-Pd는 258 nm, 363 nm 및 442 nm에서 3 개의 구별되는(distinctive) 흡수 밴드를 가진다. Nap에서 Pd^{2+}로의

분자 내 전하 이동의 결과로서 Nap와 Pd^{2+}의 강한 결합으로부터 363 nm에서의 상기 밴드가 파생된다. 442 nm에서의 흡수 밴드는 Nap의 n-δ^* 전이로부터 기인할 것이다. Nap-Pd 용액에 CORM-2를 첨가할 때, 442 nm에서의 흡수 밴드는 시간에 따라 점진적으로 증가하였다 (도 1b). 신규 밴드가 298 nm에 나타났으며, 시간에 따라 약간 증가하였다. 용액 색상은 적갈색에서 노란색으로 변화하였다 (도 2). Nap-Pd로부터 Pd^{2+}가 제거될 때, PET 공정이 중단되어, 흡수 스펙트럼이 회복된다. CO 첨가시 증가하는 442 nm 밴드는 Nap의 흡수 밴드에 해당한다. 이러한 결과들은 Nap-Pd의 Nap로의 전환을 입증하며, 이는 카르보닐화된 Pd 생성물의 CO-유도된 형성 때문이었다.

[0100] **<선택성 테스트>**

[0101] Nap-Pd의 선택성은 Br^-, Cl^-, F^-, HCO_3^-, I^-, NO_2^-, NO_3^-, 아세테이트(AcO^-), H_2O_2, 하이드록실 라디칼(·OH), SO_4^{2-} 및 tert-부틸퍼옥시드 라디칼 ($^tBuOO\cdot$, *tert*-butylperoxide radical)과 같은 다른 생물학적으로 관련된 반응종들로 조사하였다. 도 3에 도시된 바와 같이, CO만이 방출의 강화를 유도한 반면, 다른 분석물들에서는 약간 증가한 것으로 나타났다. 또한, 다른 분석물의 존재 하에서 Nap-Pd를 CO에 노출시키는 것은 여전히 현저하게 증가된 형광을 나타내었다 (도 4). 이러한 결과들은 Nap-Pd가 다른 분석물들에 비해 CO에 대한 우수한 선택성을 가지고 있음을 명확하게 나타낸다. Nap-Pd에 의한 턴-온 방출 반응은 실제적인 생물학적 샘플들에 존재하는 다양한 분석물들에 비해 우수한 선택성을 나타내었다.

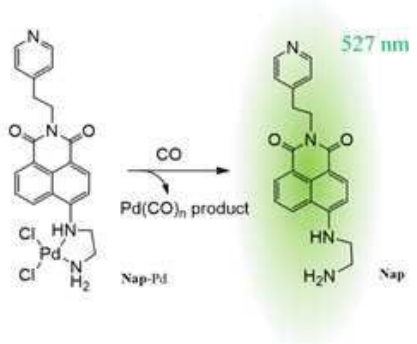
[0102] **<선택성>**

[0103] Nap-Pd의 CO에 대한 선택성을 밝히기 위해, 상이한 농도의 CORM-2 (0 μM 내지 200 μM)를 버퍼에서 10 μM Nap-Pd의 용액에 첨가한 후, 시간에 따라 형광 스펙트럼을 기록하였다 (도 5). 상기 NaP-Pd 용액의 방출 강도는 CORM-2의 양이 증가함에 따라 일정하게 증가하였고 CO의 검출 한계는 3-시그마 방법(3-sigma method)을 사용하여 0.95 μM에서 수득하였다. 검출 한계는 Nap-Pd가 CO에 대해 꽤 선택성이 있다는 것을 암시한다. 다른 Pd(II)-기반 CO 프로브들에서 보고된 검출 한계는 0.65 μM 내지 1.0 μM 범위에 있다.

[0104] Nap-Pd의 방출 강도에 대한 pH 효과는 CO의 유무에서 pH 1.0 내지 pH 11 범위에서 조사하였다 (도 6). Nap-Pd 용액의 강도 증가는 낮은 pH에서 관찰되었고 Nap-Pd 및 Nap-Pd/CO 사이의 가장 현저한 차이는 5 미만의 pH 값에서 관찰되었다. 낮은 pH에서 향상된 방출은 피리딜 잔기의 양성자화에서 유도된 것일 것이다. 그러나, Nap-Pd 용액의 방출 강도는 생물학적 pH 근처에서 CO의 존부에 따라 유의미한 차이를 나타낸다.

[0105] **<CO 검출/센싱 메커니즘>**

[0106] CO의 검출/센싱 메커니즘은 Nap-Pd로부터의 카르보닐화 생성물의 CO-유도된 형성으로부터 유도된다(스킴 2). Nap-Pd로부터 카르보닐화된 Pd(II) 종들을 방출한 후 Nap가 회복된다. 그 후, Nap의 형광 방출은 Nap-Pd의 퀜칭 효과로부터 회복된다. Pd(II)를 사용하는 다른 CO 센서들에서도 유사한 메커니즘들이 제안되었다. Nap-Pd와 CO의 반응 특성을 추가적으로 이해하기 위해, 하기와 같은 탈기 실험을 수행하였다. 과량의 CO를 사용하여 Nap-Pd로부터 유도된 방출을 포화시킨 후, 진공을 적용하여 잔류 CO를 제거하여 금속화-탈금속화 반응의 가역성을 확인하였다. 상기 용액으로부터 CO를 제거하면, 카르보닐화된 Pd 생성물은 Nap와 다시 반응할 수 있으며 Nap-Pd를 생성할 수 있고 이어서 상기 용액의 방출이 다시 퀜칭될 것이다. 그러나, CO를 진공 처리한 후 상기 방출 강도는 유의미한 변화를 나타내지 않았으며, 이는 상기 카르보닐화 생성물이 상기 기재된 조건 하에서 Nap와의 반응을 나타내지 않음을 시사한다.



[0107]

[0108] **<스킴 2. Nap-Pd와 CO의 반응 메커니즘>**

[0109] **<살아있는 세포에서 CO 이미징>**

[0110] 상기에서 수득한 유망한 결과들로부터의 연구에서, 본 발명자들은 살아있는 세포에서 CO의 이미징에 Nap-Pd를 적용하였다 (도 7). 유방암 세포들을 10 μM Nap-Pd와 함께 30 분 동안 배양할 때, 소수 내지 제로 형광 스팟들이 관찰되었다. 그러나, 세포 배양을 Nap-Pd 및 10 μM [$Ru(CO)_3Cl$(glycinate)] (CORM-3)과 함께 배양했을 때, 방출 스팟의 수가 현저하게 증가하였다. 이들 데이터는 Nap-Pd가 상기 세포들 내로 내재화되어 있고 살아있는 세포에서 CO의 이미징에 사용될 수 있음을 명확히 나타낸다.

[0111] 10 μM의 Nap-Pd에서, 1 μM 또는 10 μM CORM-3으로 전처리된 상기 세포들을 전처리되지 않은 비교군들(counterparts)보다 더 강한 발광을 나타내었다. Nap-Pd를 사용한 세포 내 방출에서 현저한 CORM-3 용량-의존적 증가가 관찰되었다. 그러나, CORM-3을 100 μM로 처리하고 그것들의 형광 이미지를 수득하지 못했을 때 대부분의 세포들이 24-웰 플레이트 표면으로부터 분리되었다 (데이터 미도시). 상기 결과들은 CORM-3이 100 μM 이상의 농도에서 상기 세포들에 독성이 있음을 나타낸다. 본 발명의 결과들은 Nap-Pd가 동물 세포에서 세포 내 CO를 모니터링하기 위한 효과적 프로브임을 나타낸다.

[0112] 결론적으로, Nap-Pd 베어링 나프탈이미드(Nap-Pd bearing napthalimide)를 Pd(II) 배위를 위한 펜던트 에틸렌디아민기를 갖는 형광단으로서 설계하였다. Nap는 강한 방출을 보였지만, Nap의 금속화는 분자 내 전하 이동에 의해 방출 퀜칭을 야기하였다. 이러한 방출 특성들을 CO 검출에 사용하였다. Nap-Pd의 발광 연구는 CO 첨가 시 점진적 방출 변화를 야기하며, 우수한 선택성을 나타내었다. 에틸렌디아민 잔기와 Pd(II)의 결합으로 인해, CO에 대한 상기 프로브의 반응 시간은 다른 보고된 화학 센서보다 더 빠르다. Nap-Pd는 수성 버퍼뿐만 아니라 살아있는 세포에서 고선택적으로 CO를 검출할 수 있다. 본 발명은 생물학적 시스템에서 CO-관련된 반응을 연구하기 위한 잠재적 지표의 개발을 위한 우수한 코스를 제공한다.

[0113] **2. 실험 섹션**

[0114] **<재료 및 계측>**

[0115] Aldrich Chemical Co.로부터 수득한 모든 화학 물질들은 이용할 수 있는 가장 좋은 순도를 나타내며, 달리 명시되지 않은 한, 추가 정제없이 사용하였다. 물은 Milli-Q 정제 시스템으로 정제하였다.

[0116] ^{1}H-NMR 스펙트럼 및 ^{13}C-NMR 스펙트럼은 $CDCl_3/CD_3CN$을 사용하여 Bruker-FT NMR-AL 300 MHz에서 기록하였다. 화학적 이동(δ)은 테트라메틸실란(tetramethylsilane) $Si(CH_3)_4$에 상대적인 ppm으로 보고되었다. UV-vis 흡수 스펙트럼을 석영 큐벳 (경로 길이, 1 cm)을 사용하는, Hewlett-Packard 8452A 다이오드-어레이 분광계(diode-array spectrometer)에 기록하였다. Perkin-Elmer LS 55 발광 분광 광도계에서 방출 스펙트럼을 수집하였다.

[0117] **<화합물 1의 합성>**

[0118] 4-브로모-1,8-나프탈산 무수물 (4-Bromo-1,8-napthalic anhydride, 2.0 mmol) 및 4-(2-아미노에틸)-피리딘 (4-(2-aminoethyl)-pyridine, 2.6 mmol)을 4.0 mL 에탄올에 첨가하였다. 용액을 가열하여 2 시간 동안 환류시킨 후, 실온으로 냉각하였다. 생성물을 여과하고 건조하여 갈색 고체를 수득하였다 (80% 수율).

[0119] ^{1}H-NMR (ppm, DMSO-d_6, 300 MHz): 3.04 (t, J = 3.5Hz, 2H), 4.25 (t, J = 4.75Hz, 2H), 7.28 (dd, J = 5Hz, 2H), 8.013 (d, J = 5Hz, 1H), 8.293 (d, J = 10Hz 1H), 8.39 (d, J = 5Hz, 1H), 8.51 (d, J = 5Hz, 3H), 8.55 (d, J = 5Hz, 1H).

[0120] ^{13}C-NMR (ppm, DMSO-d_6, 300 MHz): 30.25 (1C), 40.8 (1C), 123.0 (2C), 124.2 (1C), 125.1 (1C), 125.5 (1C), 128.7 (1C), 130.5 (1C), 132.2 (1C), 132.5 (1C), 136.6 (1C), 137.3 (1C), 139.9 (1C), 137.3 (1C), 148.7 (1C), 150.3 (2C), 163 (1C). $[M + H]^+$에 대해 발견된 FAB-MS m/z = 367.77.

[0121] **<Nap의 합성>**

[0122] 에탄올 내 화합물 1 (2.0 mmol)의 용액에, 디에틸아민 (diethylamine, 2.0 mmol)을 첨가하고 혼합물을 밤새 환류시켰다. 실온으로 냉각한 후 형성된 생성 침전물을 여과하고 에탄올 및 에테르로 세척하여 황색 고체를 수득하였다 (80%).

[0123] ^{1}H-NMR (ppm, DMSO-d_6, 300 MHz): 2.88 (t, J = 5Hz, 2H), 3.33 (t, J = 10Hz, 2H), 3.48 (t, J = 9.5Hz, 2H), 4.21 (t, J = 5Hz, 2H), 6.11 (s, 2H), 6.7 (d, J = 4.8Hz, 1H), 7.2 (d, J = 5Hz, 3H), 7.6 (t, J = 10Hz, 1H), 8.17 (d, J = 9.7Hz, 1H), 8.36 (d, J = 9.8Hz, 1H), 8.44 (d, J = 5Hz, 1H), 8.69 (d, J = 9.8Hz, 1H), 9.1 (s, 1H).

[0124] ^{13}C-NMR (ppm, DMSO-d_6, 300 MHz): 33.32, 46.49, 104.23 (2C), 107.78, 120.50, 121.98, 124.54, 124.61, 129.15, 129.77, 131.01, 134.60, 148.31, 148.34 (2C), 150.00, 151.31, 163.12 (2C), 164.04. $[M + H]^{+}$에 대하여 발견된 FAB-MS *m/z* = 360.16.

[0125] **<Nap-Pd의 합성>**

[0126] 아세토니트릴(acetonitrile, 20 mL) 내 $Pd(CH_3CN)_2Cl_2$ (0.50 mmol)의 용액을 CH_2Cl_2(20 mL)에 미리 용해시킨 Nap (0.50 mmol)에 적가하여 첨가하였다. 상기 용액 혼합물을 몇 분 동안 50℃로 가열한 후 다시 2 시간 동안 교반하였다. 상기 반응 혼합물을 여과하고 차가운 디클로로메탄(dichloromethane)을 사용하여 세척한 후 진공(*in vacuo*)에서 건조한 후 황색 고체로서 생성물을 수득하였다 (75%).

[0127] ^{1}H-NMR (ppm, DMSO-d_6, 300 MHz): 2.89 (t, J = 9.5Hz, 2H), 3.72 (t, J = 10Hz, 2H), 4.02 (t, J = 15Hz, 2H), 4.30 (t, J = 11Hz, 2H), 6.7 (d, J = 4.7Hz, 1H), 7.24 (d, J = 8Hz, 3H), 7.41 (d, J = 7.9Hz, 1H), 7.69 (d, J = 5.5Hz, 1H), 8.07 (d, J = 9.5Hz, 1H), 8.25 (d, J = 10Hz, 1H), 8.35 (d, J = 7.6Hz, 1H), 8.48 (d, J = 5Hz, 1H), 8.61 (d, J = 10Hz, 1H).

[0128] ^{13}C-NMR (ppm, DMSO-d_6, 500 MHz): 33.56, 40.077, 42.77, 104.21 (2C), 107.11, 120.50, 121.98, 124.89, 126.19, 127.11, 129.94, 134.60, 148.57 (2C), 150.25, 151.31, 152.43, 163.23 (2C), 164.00. 질량 (MALDI-TOF): $[Nap + Pd^{2+} + Cl^{-}]^{+}$에 대하여 수득된 *m/z* = 550.22.

[0129] Nap-Pd에 대한 원소 분석 ($C_{21}H_{20}Cl_2N_4O_2Pd$): calc. C: 46.91%, H: 3.75%, N: 10.42%, found C: 46.74%, H: 3.70%, N: 10.53%.

[0130] **<Nap-Pd의 흡수 및 발광 측정>**

[0131] Nap-Pd 및 트리카보닐클로로(글리시나토)루테늄(II) [tricarbonylchloro(glycinato)ruthenium(II)] (CORM-2, Sigma-Aldrich, 상업적으로 이용가능한 일산화탄소-방출 분자)의 스톡 용액들을 DMSO에서 제조하였고 새롭게 사용하였다. CORM-2는 수용성 CO-방출 분자(CORMs; CO-releasing molecules)이며, 다른 분석물들의 스톡 용액들을 초순수 수(ultrapure water)로 제조하였다. NO, ·OH, 및 ^{t}BuOO· 라디칼과 같은 ROS 종들을 공지된 절차에 따라 제조하여 새롭게 사용하였다.

[0132] 전형적 분광학(spectroscopic) 연구를 위해, Nap-Pd (10 μM)를 함유하는 용액을 DMSO-H_2O (1:20 *v/v*) 또는 DMSO-포스페이트 버퍼 용액 (1:20 *v/v*)에서 제조하였다. Nap-Pd의 UV-vis 또는 형광 스펙트럼은 실온에서 다양한 분석물을 첨가하여 기록하였다.

[0133] **<세포 이미징>**

[0134] 유방암 세포주 MCF-7을 37℃에서 5% CO_2의 습한 인큐베이터에서 10% 소 태아 혈청(FBS; fetal bovine serum) (HyClone Laboratories), 100 units/mL 페니실린(Life Technologies) 및 100 μg/mL 스트렙토마이신(Life Technologies)을 함유하는 둘베코의 수정된 이글 배지(DMEM; Dulbecco's Modified Eagle's Medium) (Thermo Fisher Scientific)에서 배양하였다. 이어서, 세포들을 이미징하기 전 하루 동안 24-웰 배양 플레이트에 시딩하였다. 세포들을 CO로 노출시키기 위해, 세포들을 다양한 농도의 CORM-3 (1 μM 내지 100 μM)으로 전처리하였다. CORM-3을 탈 이온수에서 10 mM로 새롭게 제조하였고 포스페이트-버퍼 식염수 (PBS; phosphate-buffered saline pH 7.4)로 희석하여 사용 전에 농도를 조정하였다. 이어서 상기 세포들을 PBS로 세척하였다. 이후, 그것들을 37℃에서 30 분간 10 μM Nap-Pd와 배양되었고, 그 후 PBS로 3 회 세척하였다. Nap-Pd를 DMSO에서 10 mM 스톡으로서 새롭게 제조하였고 계산된 농도로 조정하기 위해 희석하였다. 상기 세포는 형광 이소티오시아네이트(FITC; fluorescent isothiocyanate) 필터 세트(예를 들어 467 nm 내지 498 nm, em. 513 nm 내지

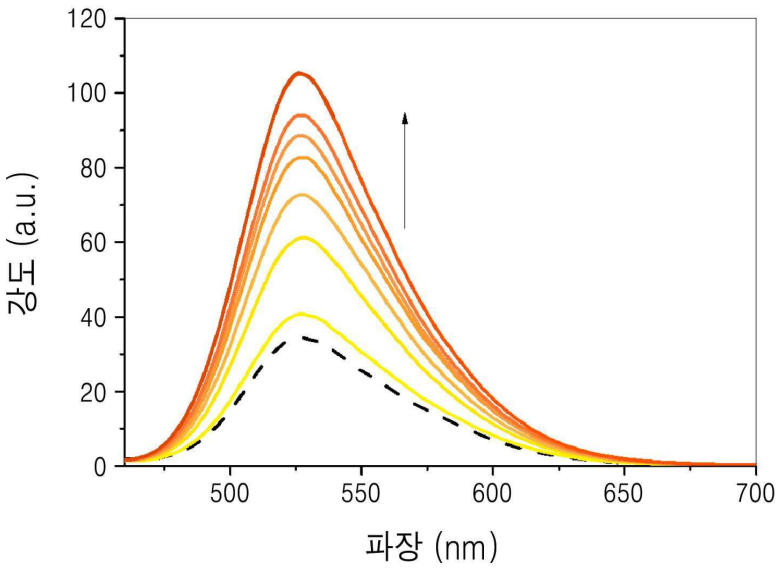
556 nm)가 구비된 형광 현미경(Olympus IX71)에 의해 이미징하였다.

[0136] 전술한 본원의 설명은 예시를 위한 것이며, 본원이 속하는 기술분야의 통상의 지식을 가진 자는 본원의 기술적 사상이나 필수적인 특징을 변경하지 않고서 다른 구체적인 형태로 쉽게 변형이 가능하다는 것을 이해할 수 있을 것이다. 그러므로 이상에서 기술한 실시예들은 모든 면에서 예시적인 것이며 한정적이 아닌 것으로 이해해야만 한다. 예를 들어, 단일형으로 설명되어 있는 각 구성 요소는 분산되어 실시될 수도 있으며, 마찬가지로 분산된 것으로 설명되어 있는 구성 요소들도 결합된 형태로 실시될 수도 있다.

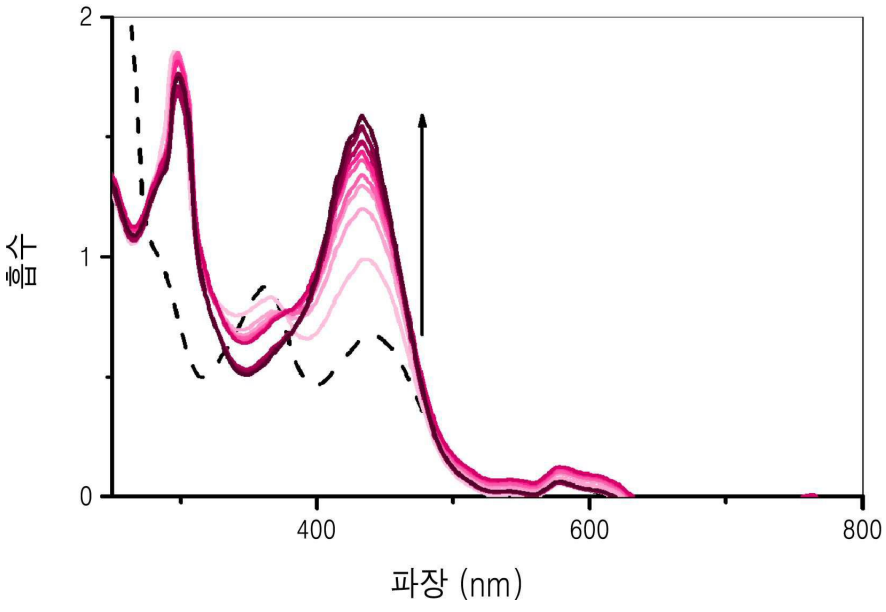
[0137] 본원의 범위는 상기 상세한 설명보다는 후술하는 특허청구범위에 의하여 나타내어지며, 특허청구범위의 의미 및 범위, 그리고 그 균등 개념으로부터 도출되는 모든 변경 또는 변형된 형태가 본원의 범위에 포함되는 것으로 해석되어야 한다.

도면

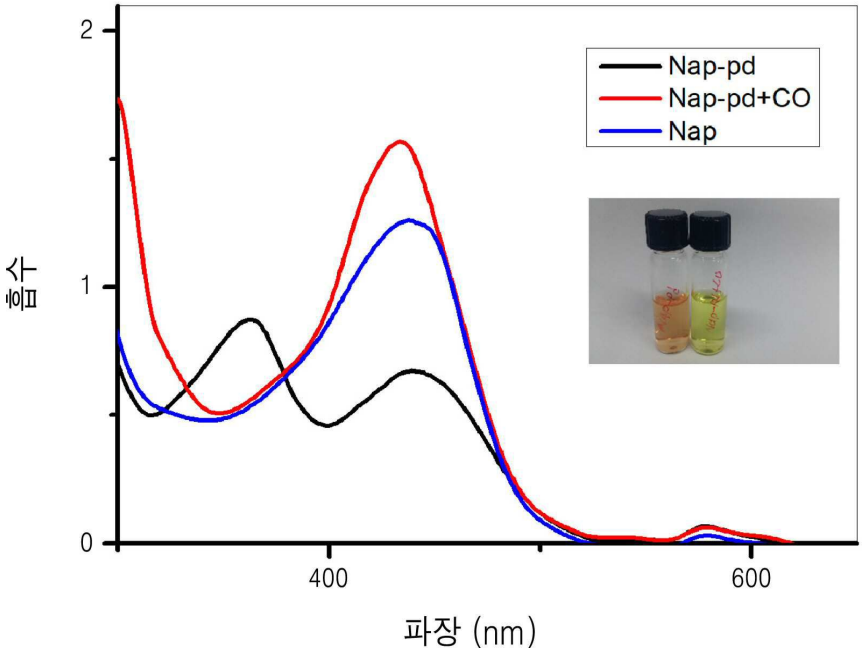
도면1a



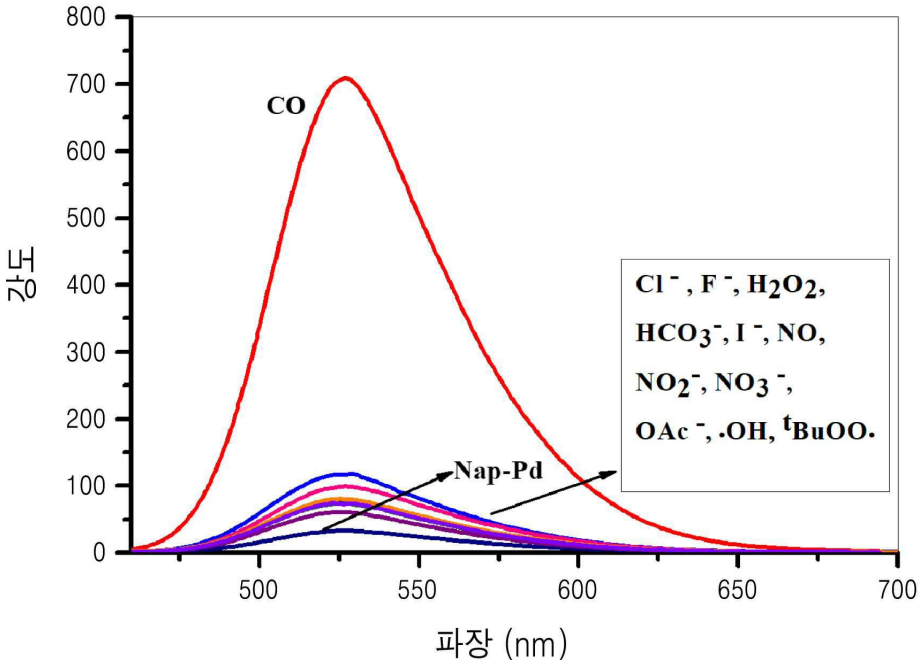
도면1b



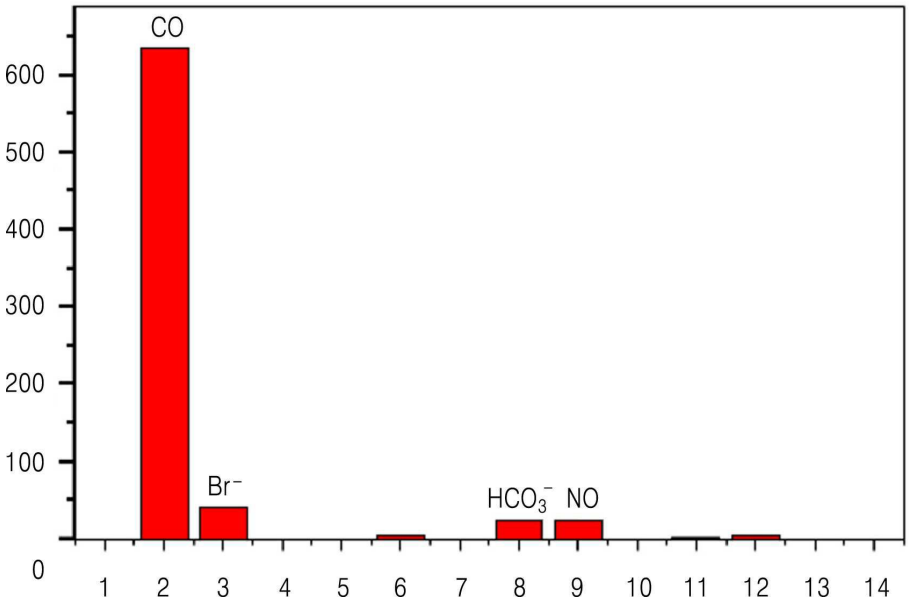
도면2


Nap-pd
Nap-pd+CO
Nap
흡수
파장 (nm)
0
1
2
400
600

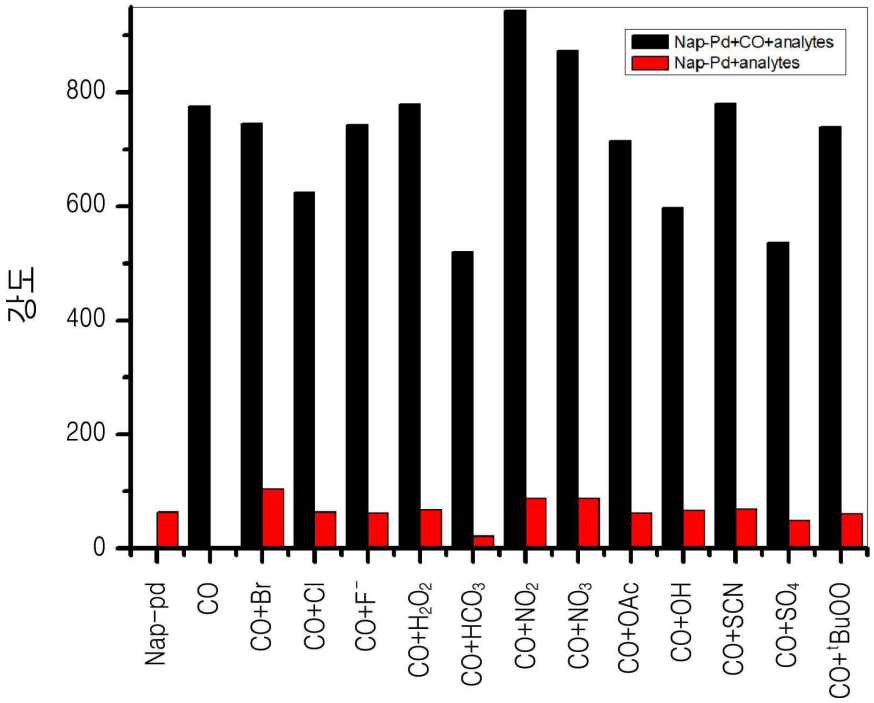
도면3a


CO
Nap-Pd
Cl⁻, F⁻, H2O2,
HCO3⁻, I⁻, NO,
NO2⁻, NO3⁻,
OAc⁻, ·OH, tBuOO·
강도
파장 (nm)
0
100
200
300
400
500
600
700
800
500
550
600
650
700

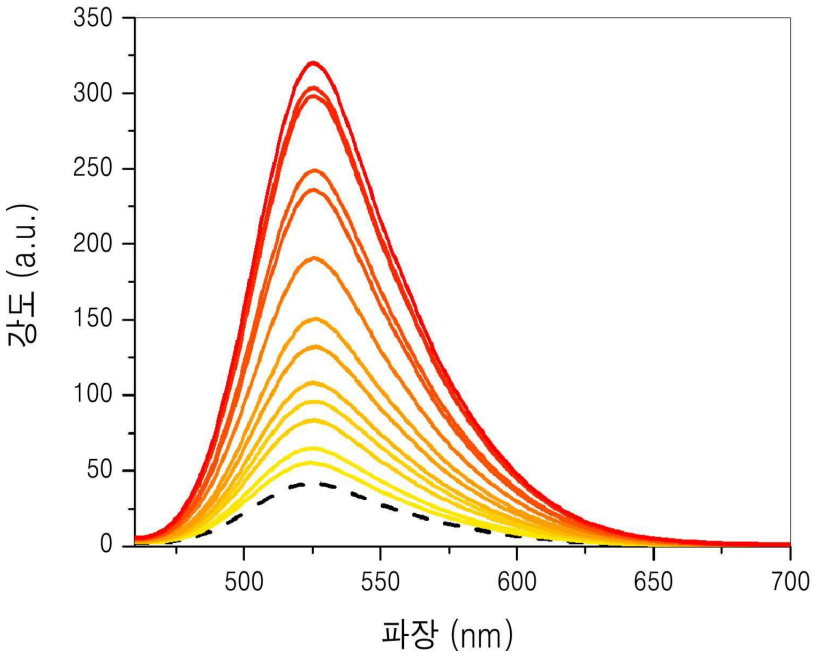
도면3b


CO
Br⁻
HCO3⁻
NO
600
500
400
300
200
100
0
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14

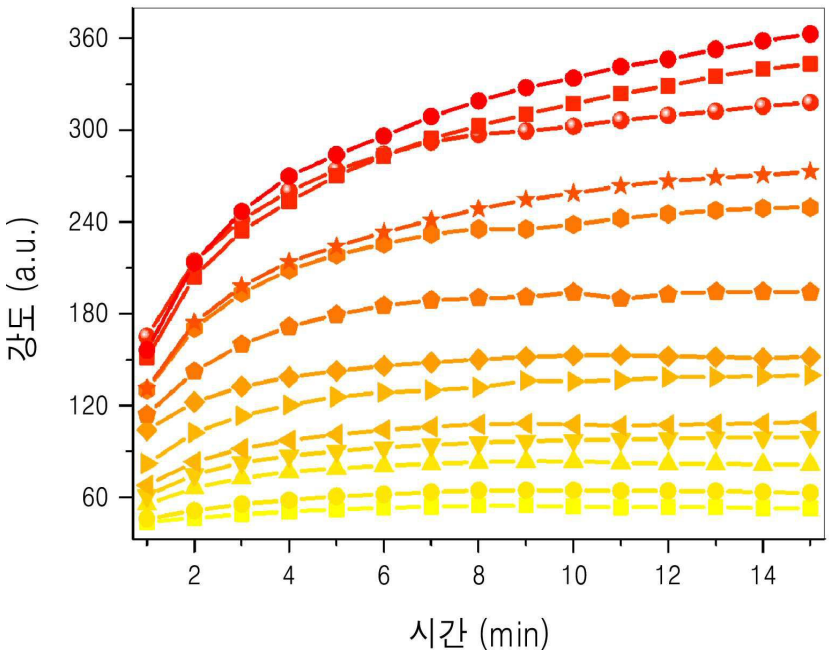
도면4


Nap-Pd+CO+analytes
Nap-Pd+analytes
강도
800
600
400
200
0
Nap-pd
CO
CO+Br
CO+Cl
CO+F⁻
CO+H2O2
CO+HCO3
CO+NO2
CO+NO3
CO+OAc
CO+OH
CO+SCN
CO+SO4
CO+tBuOO

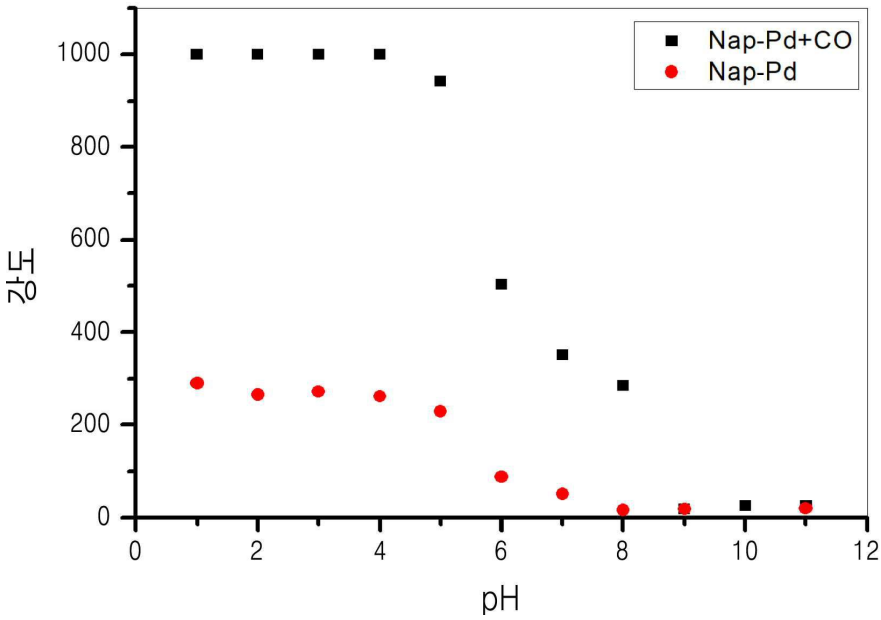
도면5a


350
300
250
200
150
100
50
0
강도 (a.u.)
500
550
600
650
700
파장 (nm)

도면5b


360
300
240
180
120
60
강도 (a.u.)
2
4
6
8
10
12
14
시간 (min)

도면6



도면7

