



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2018년07월05일

(11) 등록번호 10-1875321

(24) 등록일자 2018년06월29일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 5/08 (2006.01) **C07K 1/04** (2006.01)
C07K 1/06 (2006.01) **C07K 5/06** (2006.01)
G01N 33/52 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
C07K 5/08 (2013.01)
C07K 1/04 (2013.01)
- (21) 출원번호 **10-2017-0032257**
- (22) 출원일자 **2017년03월15일**
 심사청구일자 **2017년03월15일**
- (56) 선행기술조사문헌
 석사학위논문, 인하대학교, 화학공학, 2016, 인병규
 (뒷면에 계속)

- (73) 특허권자
인하대학교 산학협력단
 인천광역시 남구 인화로 100, 인하대학교 (용현동)
- (72) 발명자
이건형
 서울특별시 양천구 목동서로 38 (목동, 목동신시가지아파트1단지) 130-1104
- (74) 대리인
이원희

전체 청구항 수 : 총 13 항

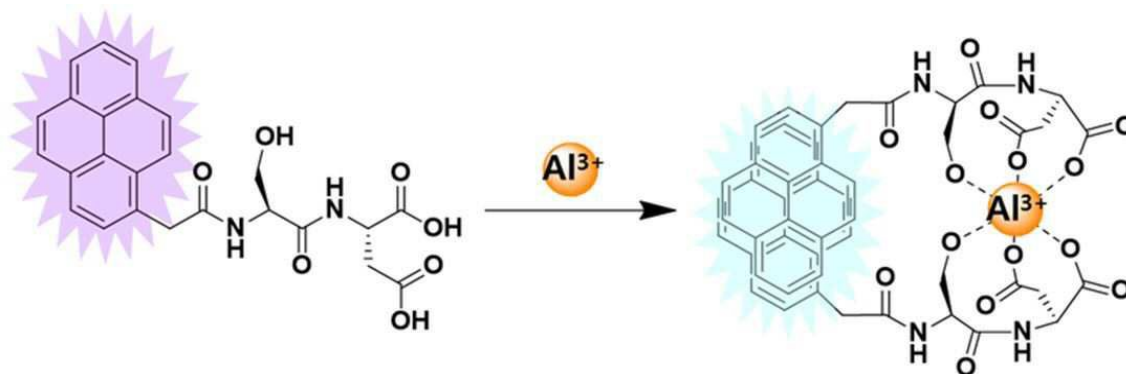
심사관 : 손영희

(54) 발명의 명칭 **트리펩타이드 및 다이펩타이드 유도체, 이의 제조방법, 이를 포함하는 화학센서 및 이를 이용한 알루미늄 이온 및 3가 금속이온을 비례 형광형으로 검출하는 방법**

(57) 요약

본 발명은 트리펩타이드 유도체 및 다이펩타이드 유도체, 이의 제조방법, 이를 포함하는 비례형광형 화학센서 및 이를 이용한 알루미늄 이온(Al^{3+}) 및 3가 금속이온(M^{3+})을 검출하는 방법에 관한 것으로, 본 발명에 따른 화학식 1로 표시되는 트리펩타이드 유도체 및 화학식 2로 표시되는 다이펩타이드 유도체는 방해물질로 작용할 수 있는 다른 금속 이온들의 존재하에서도 알루미늄 이온(Al^{3+}), 갈륨 이온(Ga^{3+}), 인듐 이온(In^{3+}) 및 철 이온(Fe^{3+})을 선택적으로, 정량적으로 및 동시 또는 이시에 검출할 수 있고, 생체 세포 내로 침투가 용이하여 생체 세포 내에서 알루미늄 이온(Al^{3+}), 갈륨 이온(Ga^{3+}), 인듐 이온(In^{3+}) 및 철 이온(Fe^{3+})과의 결합에 의한 형광세기 변화를 통해 검출 가능한 형광 감응 화학센서로 유용할 수 있다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

C07K 1/061 (2013.01)

C07K 5/06 (2013.01)

G01N 33/52 (2013.01)

(56) 선행기술조사문헌

KR101466800 B1

KR101523311 B1

ORG. LETT., 2011, VOL. 13, NO. 19,
P.5028_5031

TALANTA VOL. 85 (2011) P. 1566_1574

KR101105334 B1

W02005023294 A2

KR1020140049486 A

KR1020090097704 A

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 1485013802

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 2016.04.01 ~ 2017.03.31

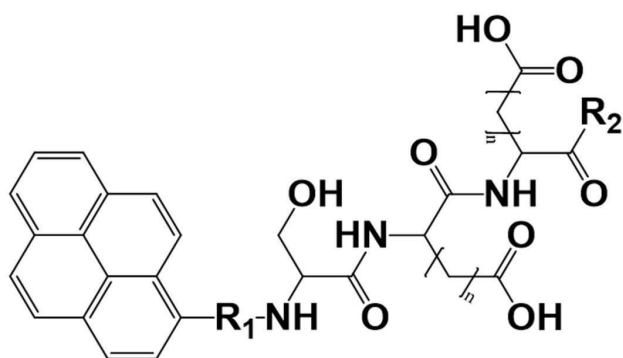
명세서

청구범위

청구항 1

하기 화학식 1로 표시되는 트리펩타이드 유도체 화합물, 또는 이의 광학이성질체:

[화학식 1]



(상기 화학식 1에서,

R₁은 -SO₂- 또는 -CH₂-이고;

R₂는 -NH₂ 또는 -OH이고; 및

n은 1 내지 4의 정수이다).

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 화학식 1로 표시되는 트리펩타이드 유도체 화합물은 하기 화합물 군으로부터 선택되는 어느 하나인 것을 특징으로 하는 트리펩타이드 유도체 화합물, 또는 이의 광학이성질체:

(S)-5-아미노-4-((S)-4-카복시-2-((S)-3-하이드록시-2-(파이렌-1-설폰아미도)프로판아미도)부탄아미도)-5-옥소펜타노익 에시드;

(S)-2-((S)-4-카복시-2-((S)-3-하이드록시-2-(파이렌-1-설폰아미도)프로판아미도)부탄아미도)펜타다이오익 에시드;

(S)-4-아미노-3-((S)-3-카복시-2-((S)-3-하이드록시-2-(파이렌-1-설폰아미도)프로판아미도)프로판아미도)-4-옥소부타노익 에시드;

(S)-2-((S)-3-카복시-2-((S)-3-하이드록시-2-(파이렌-1-설폰아미도)프로판아미도)프로판아미도)석신익 에시드;

(S)-5-아미노-4-((S)-4-카복시-2-((S)-3-하이드록시-2-((파이렌-1-일메틸)아미노)프로판아미도)부탄아미도)-5-옥소펜타노익 에시드; 및

(S)-2-((S)-4-카복시-2-((S)-3-하이드록시-2-((파이렌-1-일메틸)아미노)프로판아미도)부탄아미도)펜타다이오익 에시드.

청구항 3

하기 반응식 1의, 화학식 3으로 표시되는 고체상에 지지된 화합물을 화학식 4의 화합물과 반응시켜 화학식 5의

화합물을 제조하는 단계(단계 1);

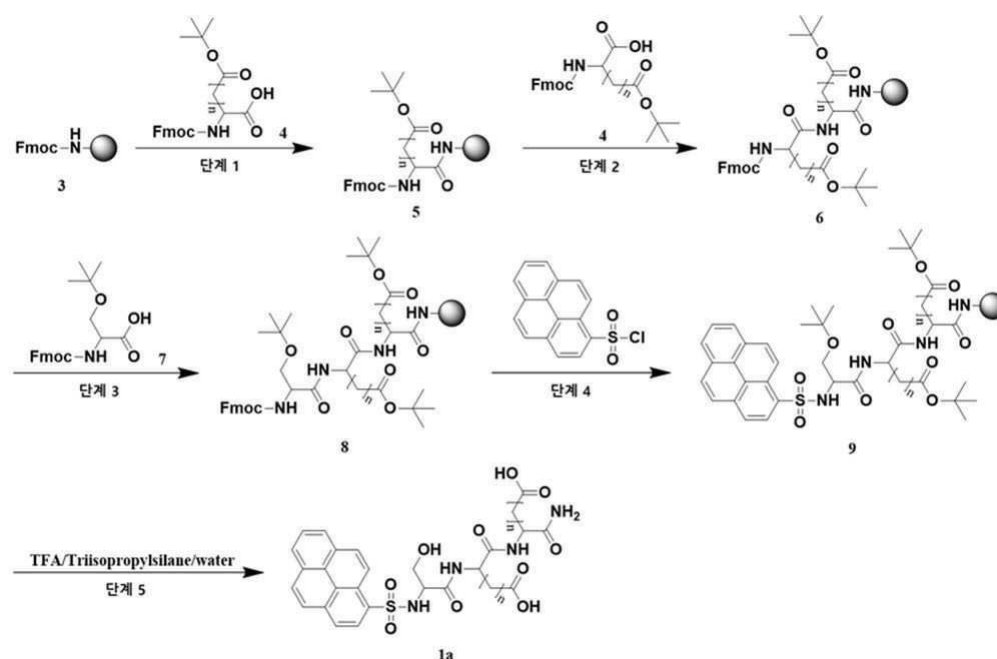
상기 단계 1에서 제조된 화학식 5의 화합물을 화학식 4의 화합물과 반응시켜 화학식 6의 화합물을 제조하는 단계(단계 2);

상기 단계 2에서 제조된 화학식 6의 화합물을 화학식 7의 화합물과 반응시켜 화학식 8의 화합물을 제조하는 단계(단계 3);

상기 단계 3에서 제조된 화학식 8의 화합물을 파이렌-1-설포닐 클로라이드와 반응시켜 화학식 9의 화합물을 제조하는 단계(단계 4); 및

상기 단계 4에서 제조된 화학식 9의 화합물에서 t-부틸 보호기를 제거하고, 고체상으로부터 분리하여 화학식 1a로 표시되는 트리펩타이드 유도체를 제조하는 단계(단계 5);를 포함하는 제1항의 화학식 1로 표시되는 트리펩타이드 유도체 화합물의 제조방법:

[반응식 1]



(상기 반응식 1에서,

n은 1 내지 4의 정수이고;



는 고체상으로써, 아마이드가 연결된 메틸벤즈히드릴아민(MBHA) 수지, 왕(Wang) 수지, 폴리에틸렌글리콜-폴리스틸렌(PEG-PS) 수지, 실리카 나노 입자, 티타늄옥사이드 나노 입자 및 키토산으로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종인 것을 특징으로 하고;

Fmoc는 보호기로써, 플루오레닐메틸옥시카르보닐 클로라이드(Fluorenylmethyloxycarbonyl chloride)이고; 및

화학식 1a는 제1항의 화학식 1로 표시되는 트리펩타이드 유도체 화합물에 해당한다).

청구항 4

하기 반응식 2의, 화학식 3a로 표시되는 고체상에 지지된 화합물을 화학식 4의 화합물과 반응시켜 화학식 5a의 화합물을 제조하는 단계(단계 1);

상기 단계 1에서 제조된 화학식 5a의 화합물을 화학식 4의 화합물과 반응시켜 화학식 6a의 화합물을 제조하는 단계(단계 2);

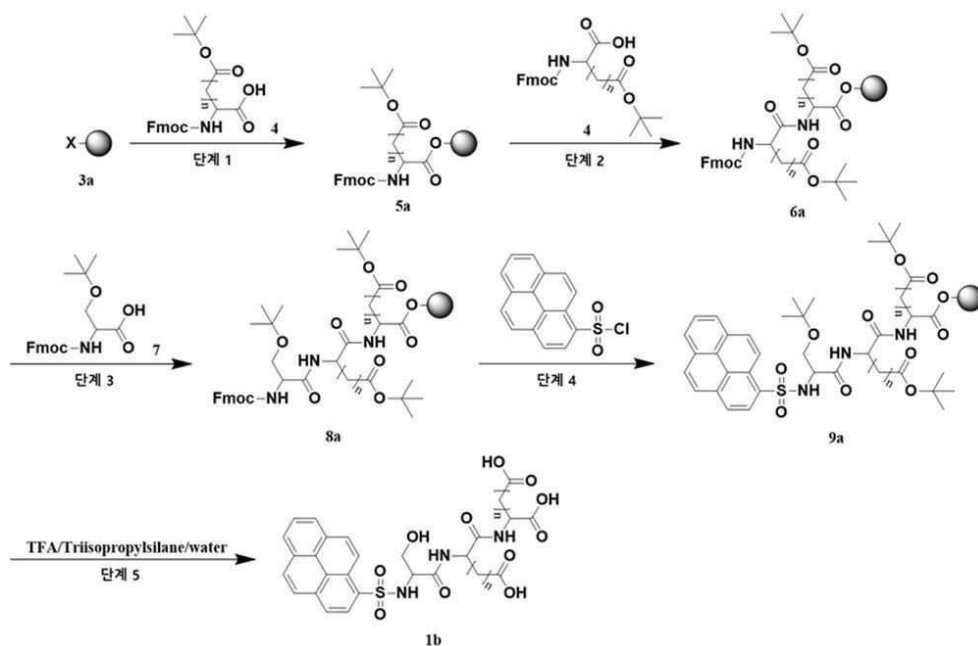
상기 단계 2에서 제조된 화학식 6a의 화합물을 화학식 7의 화합물과 반응시켜 화학식 8a의 화합물을 제조하는

단계(단계 3);

상기 단계 3에서 제조된 화학식 8a의 화합물을 파이렌-1-설폰닐 클로라이드와 반응시켜 화학식 9a의 화합물을 제조하는 단계(단계 4); 및

상기 단계 4에서 제조된 화학식 9a의 화합물에서 t-부틸 보호기를 제거하고, 고체상으로부터 분리하여 화학식 1b로 표시되는 트리펩타이드 유도체를 제조하는 단계(단계 5);를 포함하는 제1항의 화학식 1로 표시되는 트리펩타이드 유도체 화합물의 제조방법:

[반응식 2]



(상기 반응식 2에서,

X는 할로젠이고;

n은 1 내지 4의 정수이고;

는 고체상으로써, 2-클로로트리틸클로라이드(2-Chlorotrityl chloride) 수지, 왕(Wang) 수지, 폴리에틸렌글리콜-폴리스티렌(PEG-PS)수지, 실리카 나노 입자, 티타늄옥사이드 나노입자 및 키토산으로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종인 것을 특징으로 하고;

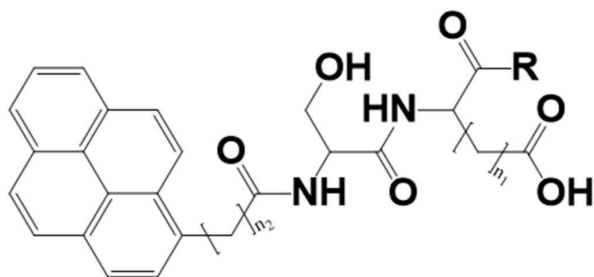
Fmoc는 보호기로써, 플루오레닐메틸옥시카르보닐 클로라이드(Fluorenylmethyloxycarbonyl chloride)이고; 및

화학식 1b는 제1항의 화학식 1로 표시되는 트리펩타이드 유도체 화합물에 해당한다).

청구항 5

하기 화학식 2로 표시되는 다이펩타이드 유도체 화합물, 또는 이의 광학이성질체:

[화학식 2]



(상기 화학식 2에서,

R은 $-NH_2$ 또는 $-OH$ 이고;

n_1 은 1 내지 4의 정수이고; 및

n_2 는 0 내지 2의 정수이다).

청구항 6

제5항에 있어서,

상기 화학식 2로 표시되는 다이펩타이드 유도체 화합물은 하기 화합물 군으로부터 선택되는 어느 하나인 것을 특징으로 하는 다이펩타이드 유도체 화합물, 또는 이의 광학이성질체:

(S)-2-((S)-3-하이드록시-2-(2-(파이렌-1-일)아세트아미도)프로판아미도)석신익 에시드;

(S)-4-아미노-3-((S)-3-하이드록시-2-(2-(파이렌-1-일)아세트아미도)프로판아미도)-4-옥소부타노닉 에시드;

(S)-2-((S)-3-하이드록시-2-(2-(파이렌-1-일)아세트아미도)프로판아미도)펜탄다이오익 에시드;

(S)-5-아미노-4-((S)-3-하이드록시-2-(2-(파이렌-1-일)프로판아미도)-5-옥소펜타노닉 에시드;

(S)-2-((S)-3-하이드록시-2-(파이렌-1-카복사미도)프로판아미도)석신익 에시드;

(S)-2-((S)-3-하이드록시-2-(3-(파이렌-1-일)프로판아미도)프로판아미도)석신익 에시드;

(S)-4-아미노-3-((S)-3-하이드록시-2-(파이렌-1-카복사미도)프로판아미도)-4-옥소부타노닉 에시드; 및

(S)-4-아미노-3-((S)-3-하이드록시-2-(3-(파이렌-1-일)프로판아미도)프로판아미도)-4-옥소부타노닉 에시드.

청구항 7

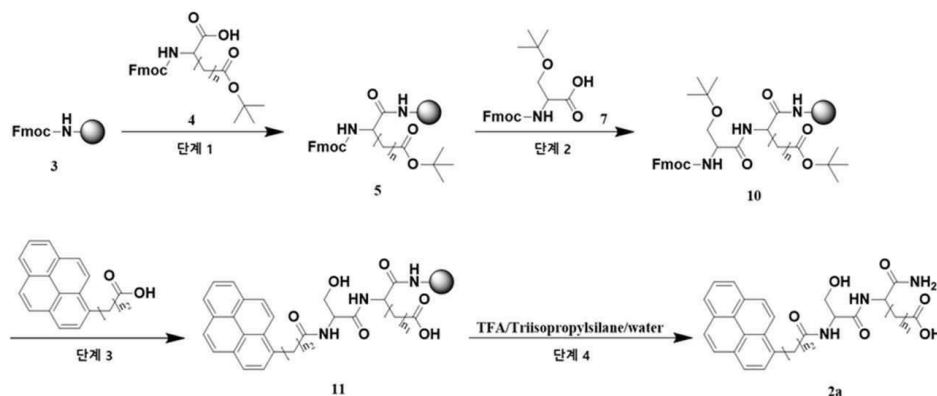
하기 반응식 3의, 화학식 3으로 표시되는 고체상에 지지된 화합물을 화학식 4의 화합물과 반응시켜 화학식 5의 화합물을 제조하는 단계(단계 1);

상기 단계 1에서 제조된 화학식 5의 화합물을 화학식 7의 화합물과 반응시켜 화학식 10의 화합물을 제조하는 단계(단계 2);

상기 단계 2에서 제조된 화학식 10의 화합물을 1-파이렌아세트 에시드와 반응시켜 화학식 11의 화합물을 제조하는 단계(단계 3);

상기 단계 3에서 제조된 화학식 11의 화합물에서 t-부틸 보호기를 제거하고, 고체상으로부터 분리하여 화학식 2a로 표시되는 다이펩타이드 유도체를 제조하는 단계(단계 4);를 포함하는 제5항의 화학식 2로 표시되는 다이펩타이드 유도체 화합물의 제조방법;

[반응식 3]



(상기 반응식 3에서,

n_1 은 1 내지 4의 정수이고;

n_2 는 0 내지 2의 정수이고;


 는 고체상으로써, 아마이드가 연결된 메틸벤즈히드릴아민(MBHA) 수지, 왕(Wang) 수지, 폴리에틸렌글리콜-폴리스티렌(PEG-PS) 수지, 실리카 나노 입자, 티타늄옥사이드 나노 입자 및 키토산으로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종인 것을 특징으로 하고;

Fmoc는 보호기로써, 플루오레닐메틸옥시카르보닐 클로라이드(Fluorenylmethyloxycarbonyl chloride)이고; 및
 화학식 2a는 제5항의 화학식 2로 표시되는 다이펩타이드 유도체 화합물에 해당한다).

청구항 8

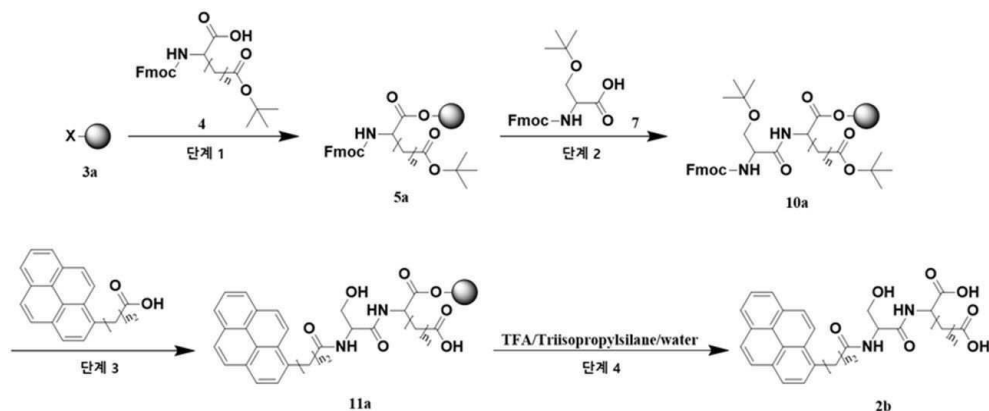
하기 반응식 4의, 화학식 3a로 표시되는 고체상에 지지된 화합물을 화학식 4의 화합물과 반응시켜 화학식 5a의 화합물을 제조하는 단계(단계 1);

상기 단계 1에서 제조된 화학식 5a의 화합물을 화학식 7의 화합물과 반응시켜 화학식 10a의 화합물을 제조하는 단계(단계 2);

상기 단계 2에서 제조된 화학식 10a의 화합물을 1-파이렌아세트 에시드와 반응시켜 화학식 11a의 화합물을 제조하는 단계(단계 3);

상기 단계 3에서 제조된 화학식 11a의 화합물에서 t-부틸 보호기를 제거하고, 고체상으로부터 분리하여 화학식 2b로 표시되는 다이펩타이드 유도체를 제조하는 단계(단계 4);를 포함하는 제5항의 화학식 2로 표시되는 다이펩타이드 유도체 화합물의 제조방법:

[반응식 4]



(상기 반응식 4에서,

X는 할로젠이고;

n_1 은 1 내지 4의 정수이고;

n_2 는 0 내지 2의 정수이고;

는 고체상으로써, 아마이드가 연결된 메틸벤즈히드릴아민(MBHA) 수지, 왕(Wang) 수지, 폴리에틸렌글리콜-폴리스티렌(PEG-PS) 수지, 실리카 나노 입자, 티타늄옥사이드 나노 입자 및 키토산으로 이루어진 균으로부터 선택되는 1종인 것을 특징으로 하고;

Fmoc는 보호기로써, 플루오레닐메틸옥시카르보닐 클로라이드(Fluorenylmethyloxycarbonyl chloride)이고; 및

화학식 2b는 제5항의 화학식 2로 표시되는 다이펩타이드 유도체 화합물에 해당한다).

청구항 9

제1항의 화학식 1로 표시되는 트리펩타이드 유도체 화합물 및 제5항의 화학식 2로 표시되는 다이펩타이드 유도체 화합물로 이루어지는 균으로부터 선택되는 1종 이상을 포함하는,

알루미늄 이온(Al^{3+}), 갈륨 이온(Ga^{3+}), 인듐 이온(In^{3+}) 및 철 이온(Fe^{3+})으로 이루어지는 균으로부터 선택되는 1종 이상의 검출대상을 검출할 수 있는 비레 형광형 형광 감응 화학센서.

청구항 10

제1항의 화학식 1로 표시되는 트리펩타이드 유도체 화합물 및 제5항의 화학식 2로 표시되는 다이펩타이드 유도체 화합물로 이루어지는 균으로부터 선택되는 1종 이상을 알루미늄 이온(Al^{3+}), 갈륨 이온(Ga^{3+}), 인듐 이온(In^{3+}) 및 철 이온(Fe^{3+})으로 이루어지는 균으로부터 선택되는 1종 이상의 검출대상을 포함하는 시료에 투입시키는 단계(단계 1); 및

상기 단계 1의 시료 내에 존재하는 1종 이상의 검출대상과 상기 제1항의 화학식 1로 표시되는 트리펩타이드 유도체 화합물 및 제5항의 화학식 2로 표시되는 다이펩타이드 유도체 화합물로 이루어지는 균으로부터 선택되는 1종 이상의 반응 생성물이 발생시키는 형광 신호를 측정하는 단계(단계 2);를 포함하는 알루미늄 이온(Al^{3+}), 갈륨 이온(Ga^{3+}), 인듐 이온(In^{3+}) 및 철 이온(Fe^{3+})으로 이루어지는 균으로부터 선택되는 1종 이상의 검출대상을 검출하는 방법.

청구항 11

삭제

청구항 12

제10항에 있어서,

상기 시료는 수용액상인 것을 특징으로 하는 알루미늄 이온(Al^{3+}), 갈륨 이온(Ga^{3+}), 인듐 이온(In^{3+}) 및 철 이온(Fe^{3+})으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 1종 이상의 검출대상을 검출하는 방법.

청구항 13

제12항에 있어서,

상기 수용액은 메탄올, 에탄올, 디메틸포름아마이드(DMF) 및 아세토니트릴로 이루어지는 군으로부터 선택되는 1종 이상의 유기용액을 포함한 수용액상인 것을 특징으로 하는 알루미늄 이온(Al^{3+}), 갈륨 이온(Ga^{3+}), 인듐 이온(In^{3+}) 및 철 이온(Fe^{3+})으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 1종 이상의 검출대상을 검출하는 방법.

청구항 14

제10항에 있어서,

상기 시료는 상수, 하수, 폐수, 강물, 바닷물, 생체액 또는 개체로부터 분리된 세포인 것을 특징으로 하는 알루미늄 이온(Al^{3+}), 갈륨 이온(Ga^{3+}), 인듐 이온(In^{3+}) 및 철 이온(Fe^{3+})으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 1종 이상의 검출대상을 검출하는 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 트리펩타이드 및 다이펩타이드 유도체, 이의 제조방법, 이를 포함하는 화학센서 및 이를 이용한 알루미늄 이온(Al^{3+}) 및 3가 금속이온(M^{3+})을 비례 형광형으로 검출하는 방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0003] 생체 내 주요 물질과 이온들에 대한 새로운 센서의 설계와 연구는 그동안 많은 관심을 받으며 활발히 진행되어 왔다. 최근 초분자(supramolecule) 화학을 비롯하여 아미노산, 펩타이드 등 다양한 분자를 이용한 선택적으로 이온 또는 여러 가지 다른 종류의 게스트 화합물들과 결합할 수 있는 호스트 화합물의 설계에 대하여 큰 가능성을 보여 왔으며, 최근 펩타이드에 형광물질을 도입함으로써 특정 게스트 화합물과의 결합 시 발생하는 형광변화를 이용하여 보다 손쉽게 검출할 수 있는 형광 화학센서(fluorescent chemosensor)의 개발에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다.

[0005] 형광이란 특정한 광파장(여기파장)을 갖는 광자가 표지분자(indicator molecule)와 충돌하고, 충돌의 결과로 전자가 고 에너지 준위로 여기(excitation)되면서 일어나는 광화학적 현상이다. 여러 분석방법 중에서 형광을 이용하는 방법은 매우 뛰어난 감도로 인해 10^{-9} M 농도에서도 신호를 관찰할 수 있는 큰 장점을 가지고 있다. 따라서 이 분석방법은 널리 활용되고 있는데 최근에는 이러한 성질을 이용하여 양이온, 음이온 그리고 중성 유기 분자들의 검출용 형광 화학센서에 응용되는 연구들이 발표된 바 있다(비특허문헌 1).

[0007] 알루미늄(Al)은 금속 중에서 가장 풍부한 금속이며, 전체 원소 중에서도 산소와 실리콘 다음으로 풍부한 원소이다. 또한, 자동차 및 컴퓨터 제조업 등의 많은 산업 분야와 의학 분야에서 널리 사용되고 있다. 그러나 3가 알루미늄 이온(Al^{3+})은 생화학적인 관점에서 볼 때, 독성이 있는 물질로 알려져 있다. 신체 내의 높은 수준의 알루미늄 이온은 알츠하이머병과 파킨슨병을 포함하는 신경계에 심각한 손상을 야기한다. 게다가, 높은 농도의 알루미늄

미늄 이온은 토양 산성화와 수생환경에 피해를 일으킨다. 예를 들어, 물속에 있는 알루미늄은 인의 흡수를 억제하기 때문에 식물의 성장을 방해한다. 이에, 미국 환경 보호국(EPA)은 식수와 지표수의 알루미늄 이온의 양을 엄격하게 규제하고 있다. 이런 이유 때문에, 수용액에서 낮은 농도의 알루미늄 이온을 검출하는 것은 환경적 측면에서 매우 중요하다. 비록 유도결합플라즈마 질량분석기(Inductively coupled plasma mass spectrometer, ICP-MS)와 원자흡광분석기(Atomic absorption spectrophotometer, AAS) 같은 기기들을 사용한 종래의 방법들이 낮은 수준의 알루미늄 이온을 확인하는데 지금도 이용되고 있지만, 이러한 방법들은 비싼 장비와 많은 시간이 필요하며, 실시간으로 알루미늄을 검출하는 것이 불가능하다는 단점이 있다.

[0009] 주기율표상 알루미늄과 동족에 위치하는 3가 이온인 갈륨 이온(Ga^{3+})은 물, 채소 및 과일에 소량 존재하는데, 신체 내의 갈륨 화합물은 목의 통증과 호흡곤란 및 가슴 통증 등을 유발할 수 있다. 게다가, 기체 형태의 갈륨에 노출될 경우, 폐수종과 부분적인 마비와 같은 매우 심각한 상태에 이를 수 있다. 인듐(In) 또한 알루미늄 및 갈륨과 동족인 원소로서, 수용액의 인듐 이온(In^{3+})은 대사작용을 방해하고, 심장, 간장 및 폐에 손상을 입히는 것으로 알려져있다.

[0011] 3가 이온 중 철(III)은 빠른 산화-환원 반응속도를 가지기 때문에 효소-촉매 반응에서 호환이 가능한 물질이고, 전자전달 계의 보조 인자로서 사용된다. 따라서, 신체 내 철 이온의 불균형은 많은 질병을 야기할 수 있다. 3가 철이 과량 존재하는 경우, 라디칼이 생성되어 DNA와 기관의 단백질에 손상을 입힐 수 있으며, 3가 철이 결핍되면 빈혈, 간 손상, 신장 손상, 당뇨병 및 심장병 등을 유발할 수 있다.

[0013] 그러므로 3가 금속 이온(M^{3+})을 선택적으로 검출할 수 있는 검출제를 개발하는 것이 매우 중요하여 많은 연구가 이루어지고 있으나, 여러 3가 금속 이온(M^{3+})을 동시에 검출하는 검출제를 개발하는 것이 매우 어려우며, 실제로 알루미늄 이온(Al^{3+}) 이외에 3가 금속 이온(M^{3+})을 검출하는 화학 센서는 거의 알려져 있지 않은 실정이다.

[0015] 형광을 이용하는 방법은 필요한 기기가 작고 저렴하며 간단하지만 높은 감도를 가지기 때문에 낮은 농도의 분석 물질을 검출하는데 가장 유용한 방법이다. 따라서, 알루미늄 이온(Al^{3+})을 검출하기 위한 몇몇 종류의 형광 화학 센서들이 보고되었다. 보고된 몇몇 형광 화학센서들은 알루미늄 이온(Al^{3+})에 대해 민감한 반응을 보여주지만, 대부분 물에 잘 녹지 못하기 때문에 유기용매 또는 물과 유기용매를 섞은 용매에서만 활용될 수 있다(특허문헌 1).

[0017] 물에서 알루미늄 이온(Al^{3+}) 및 3가 금속 이온(M^{3+})은 루이스(Lewis) 산으로 작용하기 때문에, 물과 유기용매를 섞은 용매에 알루미늄 이온(Al^{3+}) 및 3가 금속 이온(M^{3+})을 첨가하는 것은 화학센서의 형광 방출에 영향을 미치는 용액의 pH를 변화시켜 정확한 측정을 할 수 없게 만든다. 게다가, 물에서 알루미늄 이온(Al^{3+})을 비롯한 3가 금속 이온(M^{3+})의 용해도와 용해종은 pH에 매우 의존적이다. 예를 들어, 알루미늄 이온(Al^{3+})은 산성 pH에서 물에 잘 녹지만, pH가 증가함에 따라 OH^- 착물(예를 들어, $Al(OH)^{2+}$, $Al(OH)_2^+$, $Al(OH)_3$, $Al(OH)_4^-$)을 형성한다. 뿐만 아니라, 대부분의 알루미늄 화학센서들은 흔히 공통적으로 Schiff base(이민)을 알루미늄을 수용하는 중요 리간드로서 사용한다. 하지만, 이민은 수용액에서 불안정하기 때문에 실제 시료 용액에서 다양한 농도의 알루미늄을 검출하기 위한 새로운 수용체를 포함하는 새로운 형광 화학센서의 개발이 필요하다.

[0019] 한편, 펩타이드를 이용한 중금속 형광 센서를 합성하여 다양한 종류의 전이금속을 검출하는 연구가 활발히 진행되고 있다. 형광 펩타이드 센서는 다음과 같은 몇 가지 측면에서 많은 관심을 받고 있다. 펩타이드를 포함하는 형광 센서는 고체상 합성법을 이용하여 빠른시간 내에 비교적 손쉽게 합성을 할 수 있으며, 여러 가지 아미노산의 조합을 이용하여, 원하는 금속 이온에 대한 선택성과 감도를 조절할 수 있다. 또한, 생리적 조건과 유사한 수용액에 잘 녹기 때문에 유기용매를 쓰지 않아도 사용이 용이하므로 환경 친화적이며, 금속 이온에 대한 결합 능력이 매우 우수한 점이 기존 형광 화학센서와 차별화된 점이라 할 수 있다. 나아가, 합성된 형광 펩타이드 센서를 고체상 장치에 손쉽게 결합시킬 수 있고, 중금속 흡착 제거 등의 응용이 가능하다. 최근엔 합성된 형광 펩타이드 센서를 이용해 2가 금속이온을 검출하는 방법에 대해서도 연구되었다(특허문헌 2). 그러나 아직까지 펩타이드를 수용체로 이용한 알루미늄 이온(Al^{3+}) 및 3가 금속 이온(M^{3+}) 인식 형광 센서는 시도되지 않은 실정이다.

[0021] 이에, 본 발명자들은 알루미늄 이온(Al^{3+}) 및 3가 금속 이온(M^{3+})을 선택적으로 검출할 수 있는 센서를 개발하던 중, 펩타이드로부터 유래된 화합물이 산성 수용액에서 알루미늄 이온(Al^{3+}) 및 3가 금속 이온(M^{3+})을 선택적으로 검출할 수 있을 뿐만 아니라, 3가 금속 이온(M^{3+}) 농도에 따라 비례 검출되는 것을 확인하고 본 발명을 완성하였다.

선행기술문헌

특허문헌

[0023] (특허문헌 0001) 대한민국등록특허 제10-1105334호
(특허문헌 0002) 대한민국등록특허 제10-1523311호

비특허문헌

[0024] (비특허문헌 0001) A. P. de Silva., et al., Chem. Rev. 97, (1997)

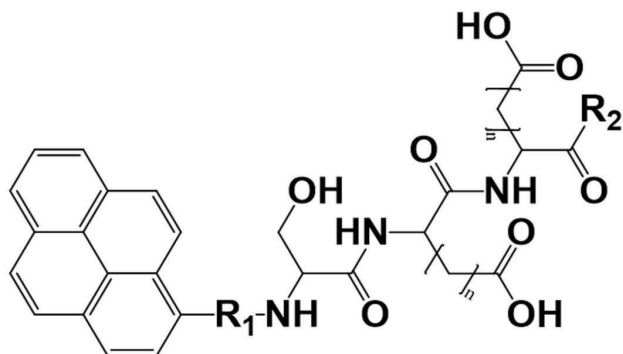
발명의 내용

해결하려는 과제

[0025] 본 발명의 목적은 트리펩타이드 및 다이펩타이드 유도체를 제공하는 것이다.
[0027] 본 발명의 다른 목적은 상기 트리펩타이드 및 다이펩타이드 유도체의 제조방법을 제공하는 것이다.
[0029] 본 발명의 또 다른 목적은 상기 트리펩타이드 및 다이펩타이드 유도체를 포함하는 비례형광형 형광 감응 화학센서를 제공하는 것이다.
[0031] 본 발명의 다른 목적은 상기 트리펩타이드 및 다이펩타이드 유도체를 이용한 알루미늄 이온(Al^{3+}), 갈륨 이온(Ga^{3+}), 인듐 이온(In^{3+}) 및 철 이온(Fe^{3+})을 검출하는 방법을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0033] 상기 목적을 달성하기 위하여,
[0034] 본 발명은 하기 화학식 1로 표시되는 트리펩타이드 유도체 화합물, 또는 이의 광학이성질체를 제공한다.
[0035] [화학식 1]



[0036]
[0037] 상기 화학식 1에서,
[0038] R_1 , R_2 및 n 은 본 명세서에서 정의한 바와 같다.
[0040] 또한, 본 발명은 하기 반응식 1에 나타난 바와 같이,

[0041] 화학식 3으로 표시되는 고체상에 지지된 화합물을 화학식 4의 화합물과 반응시켜 화학식 5의 화합물을 제조하는 단계(단계 1);

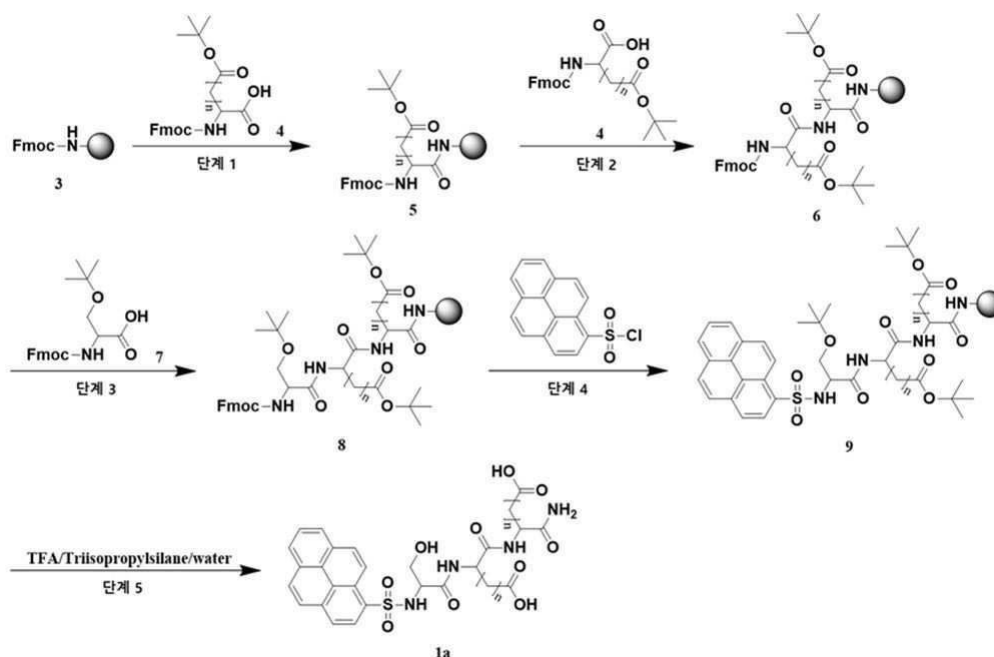
[0042] 상기 단계 1에서 제조된 화학식 5의 화합물을 화학식 4의 화합물과 반응시켜 화학식 6의 화합물을 제조하는 단계(단계 2);

[0043] 상기 단계 2에서 제조된 화학식 6의 화합물을 화학식 7의 화합물과 반응시켜 화학식 8의 화합물을 제조하는 단계(단계 3);

[0044] 상기 단계 3에서 제조된 화학식 8의 화합물을 파이렌-1-설포닐 클로라이드와 반응시켜 화학식 9의 화합물을 제조하는 단계(단계 4); 및

[0045] 상기 단계 4에서 제조된 화학식 9의 화합물에서 t-부틸 보호기를 제거하고, 고체상으로부터 분리하여 화학식 1a로 표시되는 트리펩타이드 유도체를 제조하는 단계(단계 5);를 포함하는 상기 화학식 1로 표시되는 트리펩타이드 유도체 화합물의 제조방법을 제공한다.

[0046] [반응식 1]



[0047]

[0048] 상기 반응식 1에서,

[0049] n은 1 내지 4의 정수이고;

[0050] 는 고체상으로써, 아마이드가 연결된 메틸벤즈히드릴아민(MBHA) 수지, 왕(Wang) 수지, 폴리에틸렌글리콜-폴리스티렌(PEG-PS) 수지, 실리카 나노 입자, 티타늄옥사이드 나노 입자 및 키토산으로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종인 것을 특징으로 하고;

[0051] Fmoc는 보호기로써, 플루오레닐메틸옥시카르보닐 클로라이드(Fluorenylmethyloxycarbonyl chloride)이고; 및

[0052] 화학식 1a는 상기 화학식 1로 표시되는 트리펩타이드 유도체 화합물에 해당한다.

[0054] 나아가, 본 발명은 하기 반응식 2에 나타난 바와 같이,

[0055] 화학식 3a로 표시되는 고체상에 지지된 화합물을 화학식 4의 화합물과 반응시켜 화학식 5a의 화합물을 제조하는 단계(단계 1);

[0056] 상기 단계 1에서 제조된 화학식 5a의 화합물을 화학식 4의 화합물과 반응시켜 화학식 6a의 화합물을 제조하는 단계(단계 2);

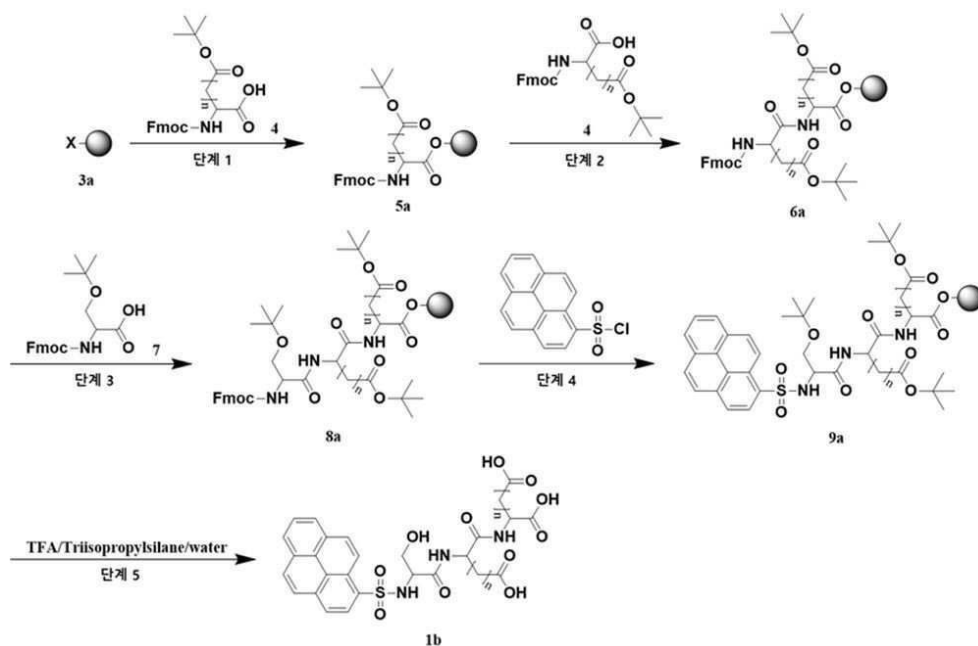
[0057] 상기 단계 2에서 제조된 화학식 6a의 화합물을 화학식 7의 화합물과 반응시켜 화학식 8a의 화합물을 제조하는

단계(단계 3);

[0058] 상기 단계 3에서 제조된 화학식 8a의 화합물을 파이렌-1-설폰닐 클로라이드와 반응시켜 화학식 9a의 화합물을 제조하는 단계(단계 4); 및

[0059] 상기 단계 4에서 제조된 화학식 9a의 화합물에서 t-부틸 보호기를 제거하고, 고체상으로부터 분리하여 화학식 1b로 표시되는 트리펩타이드 유도체를 제조하는 단계(단계 5);를 포함하는 상기 화학식 1로 표시되는 트리펩타이드 유도체 화합물의 제조방법을 제공한다.

[0060] [반응식 2]



[0061]

상기 반응식 2에서,

[0063] X는 할로젠이고;

[0064] n은 1 내지 4의 정수이고;

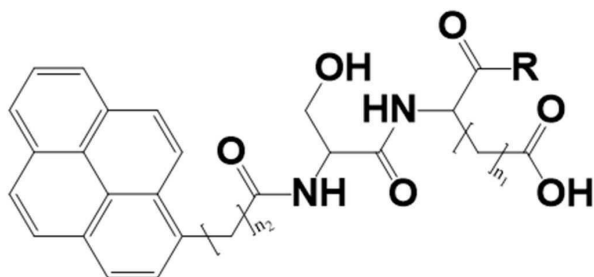
[0065] 는 고체상으로써, 2-클로로트리틸클로라이드(2-Chlorotrityl chloride) 수지, 왕(Wang) 수지, 폴리에틸렌글리콜-폴리스티렌(PEG-PS)수지, 실리카 나노 입자, 티타늄옥사이드 나노입자 및 키토산으로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종인 것을 특징으로 하고;

[0066] Fmoc는 보호기로써, 플루오레닐메틸옥시카르보닐 클로라이드(Fluorenylmethyloxycarbonyl chloride)이고; 및

[0067] 화학식 1b는 상기 화학식 1로 표시되는 트리펩타이드 유도체 화합물에 해당한다.

[0069] 또한, 본 발명은 하기 화학식 2로 표시되는 다이펩타이드 유도체 화합물, 또는 이의 광학이성질체를 제공한다.

[0070] [화학식 2]



[0071]

상기 화학식 2에서,

[0073] R, n_1 및 n_2 는 본 명세서에서 정의한 바와 같다.

[0075] 나아가, 본 발명은 하기 반응식 3에 나타난 바와 같이,

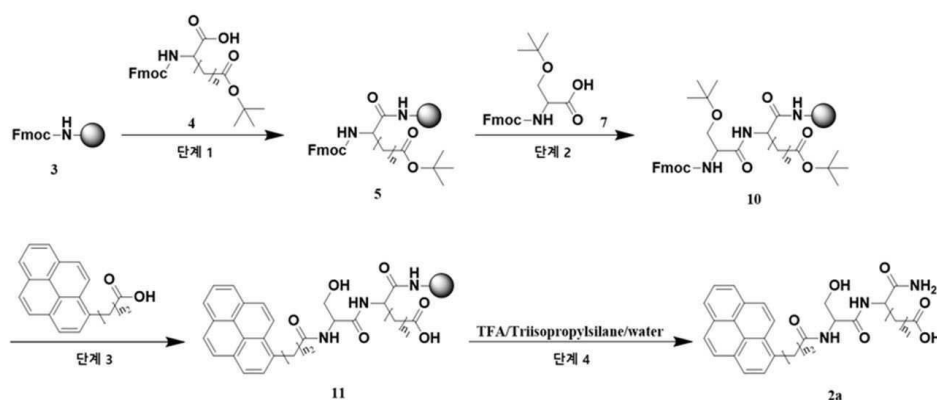
[0076] 화학식 3으로 표시되는 고체상에 지지된 화합물을 화학식 4의 화합물과 반응시켜 화학식 5의 화합물을 제조하는 단계(단계 1);

[0077] 상기 단계 1에서 제조된 화학식 5의 화합물을 화학식 7의 화합물과 반응시켜 화학식 10의 화합물을 제조하는 단계(단계 2);

[0078] 상기 단계 2에서 제조된 화학식 10의 화합물을 1-파이렌아세트릭 에시드와 반응시켜 화학식 11의 화합물을 제조하는 단계(단계 3);

[0079] 상기 단계 3에서 제조된 화학식 11의 화합물에서 t-부틸 보호기를 제거하고, 고체상으로부터 분리하여 화학식 2a로 표시되는 다이펩타이드 유도체를 제조하는 단계(단계 4);를 포함하는 상기 화학식 2로 표시되는 다이펩타이드 유도체 화합물의 제조방법을 제공한다.

[0080] [반응식 3]



[0081] 상기 반응식 3에서,

[0082] n_1 은 1 내지 4의 정수이고;

[0084] n_2 는 0 내지 2의 정수이고;

[0085] 는 고체상으로써, 아마이드가 연결된 메틸벤즈히드릴아민(MBHA) 수지, 왕(Wang) 수지, 폴리에틸렌글리콜-폴리스티렌(PEG-PS) 수지, 실리카 나노 입자, 티타늄옥사이드 나노 입자 및 키토산으로 이루어진 균으로부터 선택되는 1종인 것을 특징으로 하고;

[0086] Fmoc는 보호기로서, 플루오레닐메틸옥시카르보닐 클로라이드(Fluorenylmethyloxycarbonyl chloride)이고; 및

[0087] 화학식 2a는 상기 화학식 2로 표시되는 다이펩타이드 유도체 화합물에 해당한다.

[0089] 또한, 본 발명은 하기 반응식 4에 나타난 바와 같이,

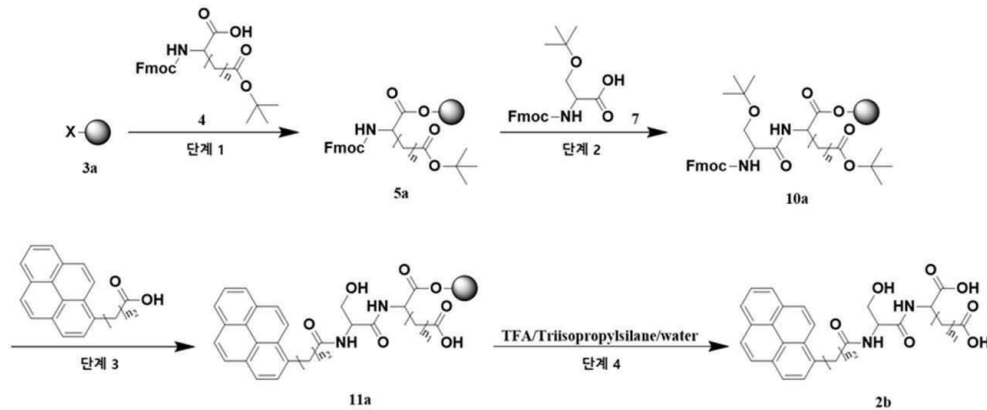
[0090] 화학식 3a로 표시되는 고체상에 지지된 화합물을 화학식 4의 화합물과 반응시켜 화학식 5a의 화합물을 제조하는 단계(단계 1);

[0091] 상기 단계 1에서 제조된 화학식 5a의 화합물을 화학식 7의 화합물과 반응시켜 화학식 10a의 화합물을 제조하는 단계(단계 2);

[0092] 상기 단계 2에서 제조된 화학식 10a의 화합물을 1-파이렌아세트릭 에시드와 반응시켜 화학식 11a의 화합물을 제조하는 단계(단계 3);

[0093] 상기 단계 3에서 제조된 화학식 11a의 화합물에서 t-부틸 보호기를 제거하고, 고체상으로부터 분리하여 화학식 2b로 표시되는 다이펩타이드 유도체를 제조하는 단계(단계 4);를 포함하는 상기 화학식 2로 표시되는 다이펩타이드 유도체 화합물의 제조방법을 제공한다.

[0094] [반응식 4]



[0095]

[0096] 상기 반응식 4에서,

[0097] X는 할로젠이고;

[0098] n_1 은 1 내지 4의 정수이고;

[0099] n_2 는 0 내지 2의 정수이고;

[0100]  는 고체상으로써, 아마이드가 연결된 메틸벤즈히드릴아민(MBHA) 수지, 왕(Wang) 수지, 폴리에틸렌글리콜-폴리스티렌(PEG-PS) 수지, 실리카 나노 입자, 티타늄옥사이드 나노 입자 및 키토산으로 이루어진 균으로부터 선택되는 1종인 것을 특징으로 하고;

[0101] Fmoc는 보호기로써, 플루오레닐메틸옥시카르보닐 클로라이드(Fluorenylmethyloxycarbonyl chloride)이고; 및

[0102] 화학식 2b는 상기 화학식 2로 표시되는 다이펩타이드 유도체 화합물에 해당한다.

[0104] 나아가, 본 발명은 상기 화학식 1로 표시되는 트리펩타이드 유도체 화합물 및 상기 화학식 2로 표시되는 다이펩타이드 유도체 화합물로 이루어지는 균으로부터 선택되는 1종 이상을 알루미늄 이온(Al^{3+}), 갈륨 이온(Ga^{3+}), 인듐 이온(In^{3+}) 및 철 이온(Fe^{3+})으로 이루어지는 균으로부터 선택되는 1종 이상의 검출대상을 포함하는 시료에 투입시키는 단계(단계 1); 및

[0105] 상기 단계 1의 시료 내에 존재하는 1종 이상의 검출대상과 상기 화학식 1로 표시되는 트리펩타이드 유도체 화합물 및 상기 화학식 2로 표시되는 다이펩타이드 유도체 화합물로 이루어지는 균으로부터 선택되는 1종 이상의 반응 생성물이 발생시키는 형광 신호를 측정하는 단계(단계 2);를 포함하는 알루미늄 이온(Al^{3+}), 갈륨 이온(Ga^{3+}), 인듐 이온(In^{3+}) 및 철 이온(Fe^{3+}) 검출방법을 제공한다.

발명의 효과

[0107] 본 발명에 따른 화학식 1 및 2로 표시되는 트리펩타이드 유도체는 방해물질로 작용할 수 있는 다른 금속 이온들의 존재하에서도 알루미늄 이온(Al^{3+}), 갈륨 이온(Ga^{3+}), 인듐 이온(In^{3+}) 및 철 이온(Fe^{3+})을 선택적으로, 정량적으로 검출할 수 있고, 생체 세포 내로 침투가 용이하여 생체 세포 내에서 알루미늄 이온(Al^{3+}), 갈륨 이온(Ga^{3+}), 인듐 이온(In^{3+}) 및 철 이온(Fe^{3+})과의 결합에 의한 형광세기 변화를 통해 검출이 가능한 형광 감응 화학 센서로 유용할 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0109] 도 1은 본 발명에 따른 화학센서의 발광 원리를 보여주는 개요도이다.

도 2는 금속 이온 종류에 따른 실시예 1 화합물-금속 이온 복합체의 형광 변화를 나타낸 형광 스펙트럼(A) 및 형광 변화를 보여주는 사진(B)이다.

도 3은 금속 이온 종류에 따른 실시예 4 화합물-금속 이온 복합체의 형광 변화를 나타낸 형광 스펙트럼(A) 및 형광 변화를 보여주는 사진(B)이다.

도 4는 3가 금속 이온 종류에 따른 실시예 1 화합물-금속 이온 복합체의 형광 변화를 나타낸 형광 스펙트럼이다.

도 5는 3가 금속 이온 종류에 따른 실시예 4 화합물-금속 이온 복합체의 형광 변화를 나타낸 형광 스펙트럼이다.

도 6은 금속 이온 종류별 각 테스트 용액의 형광 스펙트럼에 있어서 실시예 1에서 제조된 화합물의 490 nm와 383 nm 파장의 형광 세기의 비를 나타낸 그래프이며, 도 6에서 나타내는 부호는 하기 기재된 바와 같다.

	실시예 1 화합물의 형광 세기의 비
	실시예 1 화합물과 알루미늄 이온의 혼합시료의 형광 세기의 비
	실시예 1 화합물과 금속 이온의 혼합시료의 형광 세기의 비
	실시예 1 화합물, 금속 이온 및 알루미늄 이온의 혼합시료의 형광 세기의 비

도 7은 금속 이온 종류별 각 테스트 용액의 형광 스펙트럼에 있어서 실시예 4에서 제조된 화합물의 476 nm와 395 nm 파장의 형광 세기의 비를 나타낸 그래프이며, 도 7에서 나타내는 부호는 하기 기재된 바와 같다.

	실시예 4 화합물의 형광 세기의 비
	실시예 4 화합물과 알루미늄 이온의 혼합시료의 형광 세기의 비
	실시예 4 화합물과 금속 이온의 혼합시료의 형광 세기의 비
	실시예 4 화합물, 금속 이온 및 알루미늄 이온의 혼합시료의 형광 세기의 비

도 8은 알루미늄 이온(Al^{3+}) 농도 변화에 따른 실시예 1 화합물-알루미늄 이온 복합체의 형광 세기 변화를 나타낸 형광 스펙트럼(A) 및 형광 변화를 보여주는 사진(B)이다.

도 9는 알루미늄 이온(Al^{3+}) 농도 변화에 따른 실시예 4 화합물-알루미늄 이온 복합체의 형광 세기 변화를 나타낸 형광 스펙트럼(A) 및 형광 변화를 보여주는 사진(B)이다.

도 10은 알루미늄 이온(Al^{3+}) 농도 변화에 따른 실시예 1 화합물-알루미늄 이온 복합체의 흡광도 변화를 나타낸 흡광도 스펙트럼이다.

도 11은 알루미늄 이온(Al^{3+}) 농도 변화에 따른 실시예 4 화합물-알루미늄 이온 복합체의 흡광도 변화를 나타낸 흡광도 스펙트럼이다.

도 12는 알루미늄 이온(Al^{3+})의 농도 변화에 따른 실시예 1 화합물의 490 nm와 383 nm 파장의 형광 세기 비의 변화를 나타낸 형광 스펙트럼이다.

도 13은 알루미늄 이온(Al^{3+})의 농도 변화에 따른 실시예 4 화합물의 476 nm와 395 nm 파장의 형광 세기 비의 변화를 나타낸 형광 스펙트럼이다.

도 14는 알루미늄 이온(Al^{3+})에 따른 몰분율을 이용한 실시예 1 화합물과 알루미늄 이온(Al^{3+})에 대한 Job's plot 그래프이다.

도 15는 알루미늄 이온(Al^{3+})에 따른 몰분율을 이용한 실시예 4 화합물과 알루미늄 이온(Al^{3+})에 대한 Job's plot 그래프이다.

도 16은 실시예 1 화합물 및 실시예 1 화합물과 알루미늄 이온의 혼합시료의 1H NMR 그래프이다.

도 17은 실시예 4 화합물 및 실시예 4 화합물과 알루미늄 이온의 혼합시료의 1H NMR 그래프이다.

도 18은 pH 변화에 따른 실시예 1 화합물-알루미늄 이온(Al^{3+}) 복합체의 형광 변화를 나타낸 스펙트럼이다.

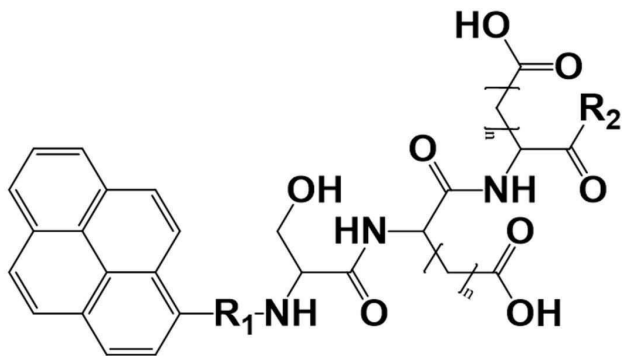
도 19는 pH 변화에 따른 실시예 4 화합물-알루미늄 이온(Al^{3+}) 복합체의 형광 변화를 나타낸 스펙트럼이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

이하, 본 발명을 상세히 설명한다.

본 발명은 하기 화학식 1로 표시되는 트리펩타이드 유도체 화합물, 또는 이의 광학이성질체를 제공한다.

[화학식 1]



상기 화학식 1에서,

R_1 은 $-SO_2-$ 또는 $-CH_2-$ 이고;

R_2 는 $-NH_2$ 또는 $-OH$ 이고; 및

n 은 1 내지 4의 정수이다.

이때, 상기 화학식 1로 표시되는 트리펩타이드 유도체 화합물은 하기 화합물 군으로부터 선택되는 어느 하나인 것이 바람직하다.

(S)-5-아미노-4-((S)-4-카복시-2-((S)-3-하이드록시-2-(파이렌-1-설폰아미도)프로판아미도)부탄아미도)-5-옥소펜타노익 에시드;

(S)-2-((S)-4-카복시-2-((S)-3-하이드록시-2-(파이렌-1-설폰아미도)프로판아미도)부탄아미도)펜탄다이오익 에시드;

(S)-4-아미노-3-((S)-3-카복시-2-((S)-3-하이드록시-2-(파이렌-1-설폰아미도)프로판아미도)프로판아미도)-4-옥소부타노익 에시드;

(S)-2-((S)-3-카복시-2-((S)-3-하이드록시-2-(파이렌-1-설폰아미도)프로판아미도)프로판아미도)석신익 에시드;

(S)-5-아미노-4-((S)-4-카복시-2-((S)-3-하이드록시-2-((파이렌-1-일메틸)아미노)프로판아미도)부탄아미도)-5-옥소펜타노익 에시드; 및

(S)-2-((S)-4-카복시-2-((S)-3-하이드록시-2-((파이렌-1-일메틸)아미노)프로판아미도)부탄아미도)펜탄다이오익 에시드.

또한, 본 발명은 하기 반응식 1에 나타난 바와 같이,

화학식 3으로 표시되는 고체상에 지지된 화합물을 화학식 4의 화합물과 반응시켜 화학식 5의 화합물을 제조하는 단계(단계 1);

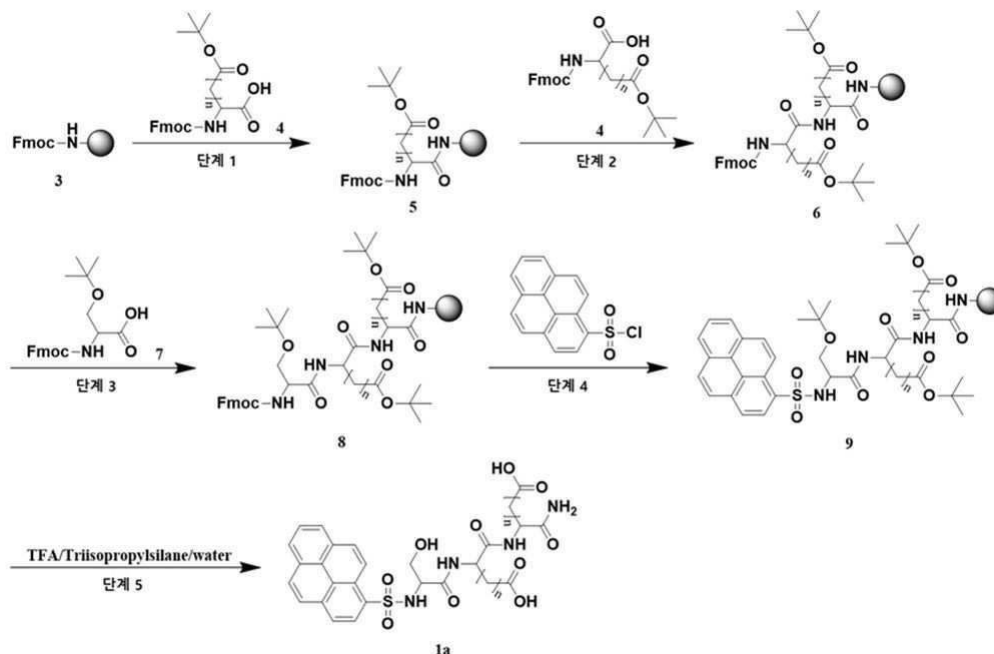
상기 단계 1에서 제조된 화학식 5의 화합물을 화학식 4의 화합물과 반응시켜 화학식 6의 화합물을 제조하는 단계(단계 2);

상기 단계 2에서 제조된 화학식 6의 화합물을 화학식 7의 화합물과 반응시켜 화학식 8의 화합물을 제조하는 단계(단계 3);

[0132] 상기 단계 3에서 제조된 화학식 8의 화합물을 파이렌-1-설폰일 클로라이드와 반응시켜 화학식 9의 화합물을 제조하는 단계(단계 4); 및

[0133] 상기 단계 4에서 제조된 화학식 9의 화합물에서 t-부틸 보호기를 제거하고, 고체상으로부터 분리하여 화학식 1a로 표시되는 트리펩타이드 유도체를 제조하는 단계(단계 5);를 포함하는 상기 화학식 1로 표시되는 트리펩타이드 유도체 화합물의 제조방법을 제공한다.

[0134] [반응식 1]



[0135]

[0136] 상기 반응식 1에서,

[0137] n은 1 내지 4의 정수이고;

[0138] 는 고체상으로써, 아마이드가 연결된 메틸벤즈히드릴아민(MBHA) 수지, 왕(Wang) 수지, 폴리에틸렌글리콜-폴리스티렌(PEG-PS) 수지, 실리카 나노 입자, 티타늄옥사이드 나노 입자 및 키토산으로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종인 것을 특징으로 하고;

[0139] Fmoc는 보호기로써, 플루오레닐메틸옥시카르보닐 클로라이드(Fluorenylmethyloxycarbonyl chloride)이고; 및

[0140] 화학식 1a는 상기 화학식 1로 표시되는 트리펩타이드 유도체 화합물에 해당한다.

[0142] 나아가, 본 발명은 하기 반응식 2에 나타난 바와 같이,

[0143] 화학식 3a로 표시되는 고체상에 지지된 화합물을 화학식 4의 화합물과 반응시켜 화학식 5a의 화합물을 제조하는 단계(단계 1);

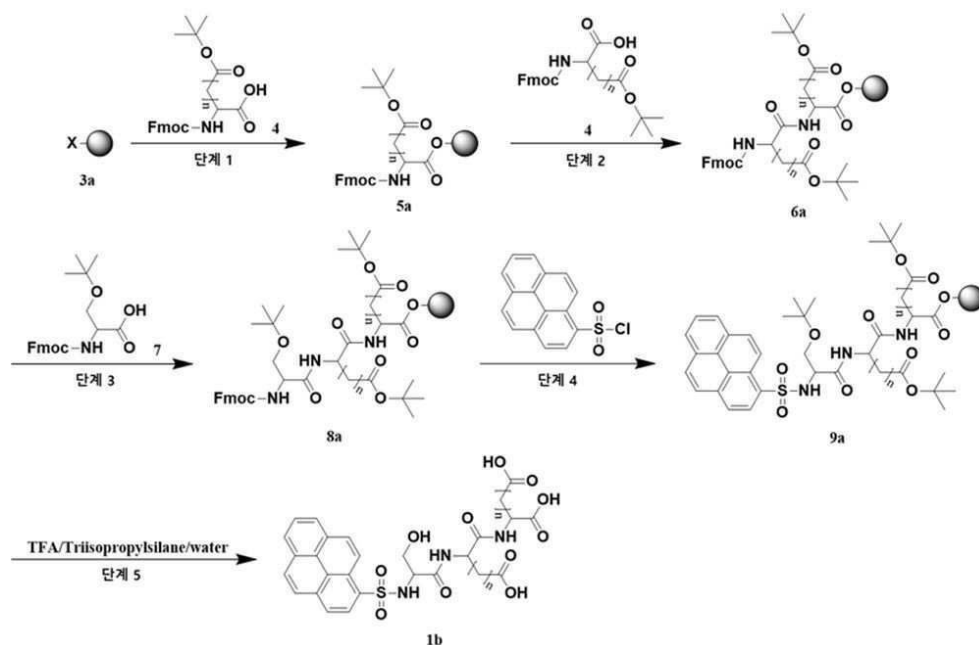
[0144] 상기 단계 1에서 제조된 화학식 5a의 화합물을 화학식 4의 화합물과 반응시켜 화학식 6a의 화합물을 제조하는 단계(단계 2);

[0145] 상기 단계 2에서 제조된 화학식 6a의 화합물을 화학식 7의 화합물과 반응시켜 화학식 8a의 화합물을 제조하는 단계(단계 3);

[0146] 상기 단계 3에서 제조된 화학식 8a의 화합물을 파이렌-1-설폰일 클로라이드와 반응시켜 화학식 9a의 화합물을 제조하는 단계(단계 4); 및

[0147] 상기 단계 4에서 제조된 화학식 9a의 화합물에서 t-부틸 보호기를 제거하고, 고체상으로부터 분리하여 화학식 1b로 표시되는 트리펩타이드 유도체를 제조하는 단계(단계 5);를 포함하는 상기 화학식 1로 표시되는 트리펩타이드 유도체 화합물의 제조방법을 제공한다.

[0148] [반응식 2]



[0149]

[0150] 상기 반응식 2에서,

[0151] X는 할로젠이고;

[0152] n은 1 내지 4의 정수이고;

[0153]  는 고체상으로써, 2-클로로트리틸클로라이드(2-Chlorotrityl chloride) 수지, 왕(Wang) 수지, 폴리에틸렌글리콜-폴리스티렌(PEG-PS)수지, 실리카 나노 입자, 티타늄옥사이드 나노입자 및 키토산으로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종인 것을 특징으로 하고;

[0154] Fmoc는 보호기로써, 플루오레닐메틸옥시카르보닐 클로라이드(Fluorenylmethyloxycarbonyl chloride)이고; 및

[0155] 화학식 1b는 상기 화학식 1로 표시되는 트리펩타이드 유도체 화합물에 해당한다.

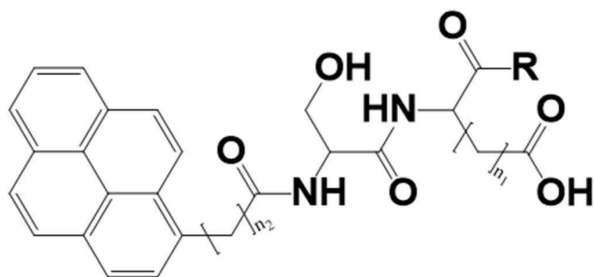
[0157] 상기 반응식 1 또는 반응식 2에 따른 제조방법에 사용되는 시료들은 상업적으로 구매 가능하거나 통상적으로 알려진 제조방법을 통해 준비할 수 있고, 반응온도와 반응시간은 목적 화합물을 높은 수율과 순도로 제조하기 위한 목적으로 적절히 조절할 수 있다.

[0158] 일례로, 반응온도는 -30℃ 내지 90℃에서 수행할 수 있고, 바람직하게는 -10℃ 내지 80℃, 더욱 바람직하게는 0℃ 내지 70℃, 더욱더 바람직하게는 10℃ 내지 50℃, 가장 바람직하게는 25℃ 내지 40℃, 즉 상온으로 조절할 수 있다.

[0159] 일례로, 반응시간은 0 내지 12시간 동안 수행할 수 있고, 바람직하게는 20분 내지 6시간 동안 수행할 수 있고, 더욱 바람직하게는 30분 내지 5시간 동안 수행할 수 있고, 더욱더 바람직하게는 1시간 내지 4시간 동안 수행할 수 있고, 가장 바람직하게는 2시간 동안 수행할 수 있다.

[0161] 또한, 본 발명은 하기 화학식 2로 표시되는 다이펩타이드 유도체 화합물, 또는 이의 광학이성질체를 제공한다.

[0162] [화학식 2]



[0163]

[0164] 상기 화학식 2에서,

[0165] R은 $-NH_2$ 또는 $-OH$ 이고;

[0166] n_1 은 1 내지 4의 정수이고; 및

[0167] n_2 는 0 내지 2의 정수이다.

[0169] 상기 화학식 2로 표시되는 다이펩타이드 유도체 화합물은 하기 화합물 군으로부터 선택되는 어느 하나인 것이 바람직하다.

[0170] (S)-2-((S)-3-하이드록시-2-(2-(파이렌-1-일)아세트아미도)프로판아미도)석신익 에시드;

[0171] (S)-4-아미노-3-((S)-3-하이드록시-2-(2-(파이렌-1-일)아세트아미도)프로판아미도)-4-옥소부타노닉 에시드;

[0172] (S)-2-((S)-3-하이드록시-2-(2-(파이렌-1-일)아세트아미도)프로판아미도)펜탄다이오익 에시드;

[0173] (S)-5-아미노-4-((S)-3-하이드록시-2-(2-(파이렌-1-일)프로판아미도)-5-옥소펜타노닉 에시드;

[0174] (S)-2-((S)-3-하이드록시-2-(3-(파이렌-1-일)프로판아미도)프로판아미도)석신익 에시드;

[0175] (S)-2-((S)-3-하이드록시-2-(3-(파이렌-1-일)프로판아미도)프로판아미도)석신익 에시드;

[0176] (S)-4-아미노-3-((S)-3-하이드록시-2-(3-(파이렌-1-일)프로판아미도)프로판아미도)-4-옥소부타노닉 에시드; 및

[0177] (S)-4-아미노-3-((S)-3-하이드록시-2-(3-(파이렌-1-일)프로판아미도)프로판아미도)-4-옥소부타노닉 에시드.

[0179] 또한, 본 발명은 하기 반응식 3에 나타난 바와 같이,

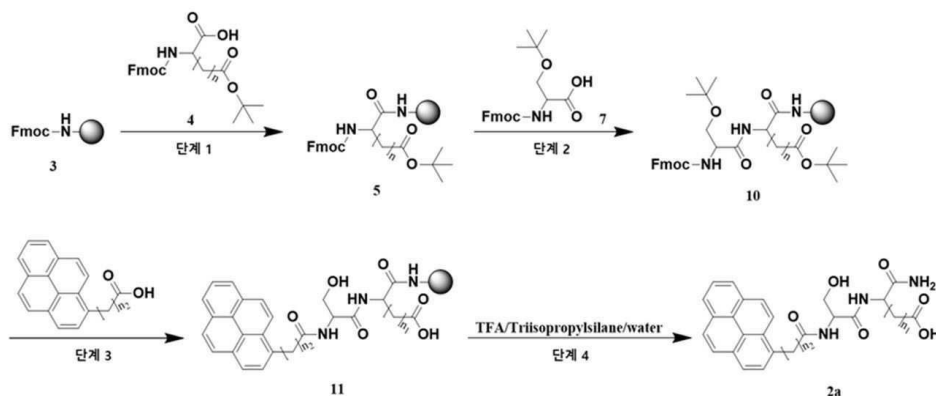
[0180] 화학식 3으로 표시되는 고체상에 지지된 화합물을 화학식 4의 화합물과 반응시켜 화학식 5의 화합물을 제조하는 단계(단계 1);

[0181] 상기 단계 1에서 제조된 화학식 5의 화합물을 화학식 7의 화합물과 반응시켜 화학식 10의 화합물을 제조하는 단계(단계 2);

[0182] 상기 단계 2에서 제조된 화학식 10의 화합물을 1-파이렌아세트 에시드와 반응시켜 화학식 11의 화합물을 제조하는 단계(단계 3);

[0183] 상기 단계 3에서 제조된 화학식 11의 화합물에서 t-부틸 보호기를 제거하고, 고체상으로부터 분리하여 화학식 2a로 표시되는 다이펩타이드 유도체를 제조하는 단계(단계 4);를 포함하는 상기 화학식 2로 표시되는 다이펩타이드 유도체 화합물의 제조방법을 제공한다.

[0184] [반응식 3]



[0185]

[0186] 상기 반응식 3에서,

[0187] n_1 은 1 내지 4의 정수이고;

[0188] n_2 는 0 내지 2의 정수이고;

[0189]  는 고체상으로써, 아마이드가 연결된 메틸벤즈히드릴아민(MBHA) 수지, 왕(Wang) 수지, 폴리에틸렌글리콜-폴리스티렌(PEG-PS) 수지, 실리카 나노 입자, 티타늄옥사이드 나노 입자 및 키토산으로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종인 것을 특징으로 하고;

[0190] Fmoc는 보호기로써, 플루오레닐메틸옥시카르보닐 클로라이드(Fluorenylmethyloxycarbonyl chloride)이고; 및

[0191] 화학식 2a는 상기 화학식 2로 표시되는 다이펩타이드 유도체 화합물에 해당한다.

[0193] 나아가, 본 발명은 하기 반응식 4에 나타난 바와 같이,

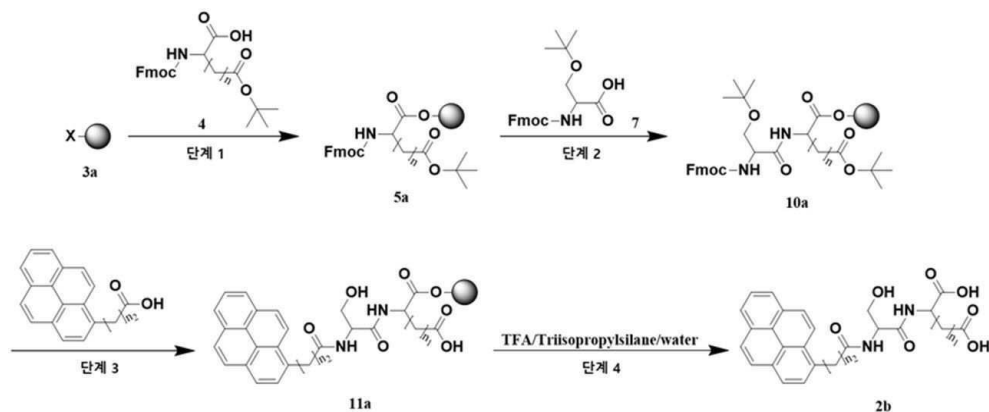
[0194] 화학식 3a로 표시되는 고체상에 지지된 화합물을 화학식 4의 화합물과 반응시켜 화학식 5a의 화합물을 제조하는 단계(단계 1);

[0195] 상기 단계 1에서 제조된 화학식 5a의 화합물을 화학식 7의 화합물과 반응시켜 화학식 10a의 화합물을 제조하는 단계(단계 2);

[0196] 상기 단계 2에서 제조된 화학식 10a의 화합물을 1-파이렌아세트 에시드와 반응시켜 화학식 11a의 화합물을 제조하는 단계(단계 3);

[0197] 상기 단계 3에서 제조된 화학식 11a의 화합물에서 t-부틸 보호기를 제거하고, 고체상으로부터 분리하여 화학식 2b로 표시되는 다이펩타이드 유도체를 제조하는 단계(단계 4);를 포함하는 상기 화학식 2로 표시되는 다이펩타이드 유도체 화합물의 제조방법을 제공한다.

[0198] [반응식 4]



[0199]

- [0200] 상기 반응식 4에서,
- [0201] X는 할로젠이고;
- [0202] n_1 은 1 내지 4의 정수이고;
- [0203] n_2 는 0 내지 2의 정수이고;
- [0204] 는 고체상으로써, 아마이드가 연결된 메틸벤즈히드릴아민(MBHA) 수지, 왕(Wang) 수지, 폴리에틸렌글리콜-폴리스티렌(PEG-PS) 수지, 실리카 나노 입자, 티타늄옥사이드 나노 입자 및 키토산으로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종인 것을 특징으로 하고;
- [0205] Fmoc는 보호기로써, 플루오레닐메틸옥시카르보닐 클로라이드(Fluorenylmethyloxycarbonyl chloride)이고; 및
- [0206] 화학식 2b는 상기 화학식 2로 표시되는 다이펩타이드 유도체 화합물에 해당한다.
- [0208] 상기 반응식 3 또는 반응식 4에 따른 제조방법에 사용되는 시료들은 상업적으로 구매 가능하거나 통상적으로 알려진 제조방법을 통해 준비할 수 있고, 반응온도와 반응시간은 목적 화합물을 높은 수율과 순도로 제조하기 위한 목적으로 적절히 조절할 수 있다.
- [0209] 일례로, 반응온도는 -30℃ 내지 90℃에서 수행할 수 있고, 바람직하게는 -10℃ 내지 80℃, 더욱 바람직하게는 0℃ 내지 70℃, 더욱더 바람직하게는 10℃ 내지 50℃, 가장 바람직하게는 25℃ 내지 40℃, 즉 상온으로 조절할 수 있다.
- [0210] 일례로, 반응시간은 0 내지 12시간 동안 수행할 수 있고, 바람직하게는 20분 내지 6시간 동안 수행할 수 있고, 더욱 바람직하게는 30분 내지 5시간 동안 수행할 수 있고, 더욱더 바람직하게는 1시간 내지 4시간 동안 수행할 수 있고, 가장 바람직하게는 2시간 동안 수행할 수 있다.
- [0212] 또한, 본 발명은 상기 화학식 1로 표시되는 트리펩타이드 유도체 화합물 및 상기 화학식 2로 표시되는 다이펩타이드 유도체 화합물로 이루어지는 군으로부터 선택되는 1종 이상을 포함하는,
- [0213] 알루미늄 이온(Al^{3+}), 갈륨 이온(Ga^{3+}), 인듐 이온(In^{3+}) 및 철 이온(Fe^{3+})으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 1종 이상의 검출대상을 검출할 수 있는 비례 형광형 형광 감응 화학센서를 제공한다.
- [0215] 나아가, 본 발명은 상기 화학식 1로 표시되는 트리펩타이드 유도체 화합물 및 상기 화학식 2로 표시되는 다이펩타이드 유도체 화합물로 이루어지는 군으로부터 선택되는 1종 이상을 알루미늄 이온(Al^{3+}), 갈륨 이온(Ga^{3+}), 인듐 이온(In^{3+}) 및 철 이온(Fe^{3+})으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 1종 이상의 검출대상을 포함하는 시료에 투입시키는 단계(단계 1); 및
- [0216] 상기 단계 1의 시료 내에 존재하는 1종 이상의 검출대상과 상기 화학식 1로 표시되는 트리펩타이드 유도체 화합물 및 상기 화학식 2로 표시되는 다이펩타이드 유도체 화합물로 이루어지는 군으로부터 선택되는 1종 이상의 반응 생성물이 발생시키는 형광 신호를 측정하는 단계(단계 2);를 포함하는 알루미늄 이온(Al^{3+}), 갈륨 이온(Ga^{3+}), 인듐 이온(In^{3+}) 및 철 이온(Fe^{3+}) 검출방법을 제공한다.
- [0218] 이하, 본 발명에 따른 알루미늄 이온(Al^{3+}), 갈륨 이온(Ga^{3+}), 인듐 이온(In^{3+}) 및 철 이온(Fe^{3+}) 검출방법을 단계별로 상세히 설명한다.
- [0220] 본 발명에 따른 검출방법에 있어서, 상기 단계 1은 상기 화학식 1로 표시되는 트리펩타이드 유도체 및/또는 상기 화학식 2로 표시되는 다이펩타이드 유도체를 알루미늄 이온(Al^{3+}), 갈륨 이온(Ga^{3+}), 인듐 이온(In^{3+}) 및 철 이온(Fe^{3+})으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 1종 이상의 검출대상 유무를 판별하고자 하는 시료에 투입시키는 단계로서,
- [0221] 보다 상세하게는 방해물질로 작용할 수 있는 다양한 종류의 금속 이온들이 함께 용해된 시료에 화학식 1로 표시되는 트리펩타이드 유도체 및/또는 화학식 2로 표시되는 다이펩타이드 유도체를 투입한 다음, 상기 시료 상에 존재하는 알루미늄 이온(Al^{3+}), 갈륨 이온(Ga^{3+}), 인듐 이온(In^{3+}) 및 철 이온(Fe^{3+})으로 이루어지는 군으로부터

선택되는 1종 이상의 검출대상과 화학식 1로 표시되는 트리펩타이드 유도체 및/또는 화학식 2로 표시되는 다이펩타이드 유도체가 선택적으로 반응하여 복합체를 이루는 단계이다. 상기 복합체는 도 1에 도시한 바와 같다.

- [0223] 본 발명에 따른 검출방법에 있어서, 상기 단계 2는 상기 단계 1에서 형성된 알루미늄 이온(Al^{3+}), 갈륨 이온(Ga^{3+}), 인듐 이온(In^{3+}) 및 철 이온(Fe^{3+})으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 1종 이상과 화학식 1로 표시되는 트리펩타이드 유도체 및/또는 화학식 2로 표시되는 다이펩타이드 유도체의 복합체가 방출하는 형광 신호를 형광 스펙트럼으로 측정하여 시료 내의 알루미늄 이온(Al^{3+}), 갈륨 이온(Ga^{3+}), 인듐 이온(In^{3+}) 및 철 이온(Fe^{3+})으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 1종 이상의 검출대상을 검출하는 단계로,
- [0224] 본 발명에 따른 트리펩타이드 및/또는 다이펩타이드 유도체는 방해물질로 작용할 수 있는 다른 금속 이온들의 존재하에서도 알루미늄 이온(Al^{3+}), 갈륨 이온(Ga^{3+}), 인듐 이온(In^{3+}) 및 철 이온(Fe^{3+})과의 결합에 의해 큰 형광세기 변화를 나타낸다(실험예 1, 도 3, 도 4 및 도 5 참조).
- [0226] 또한, 본 발명의 트리펩타이드 및/또는 다이펩타이드 유도체는 알루미늄 이온(Al^{3+}), 갈륨 이온(Ga^{3+}), 인듐 이온(In^{3+}) 및 철 이온(Fe^{3+})으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 1종 이상의 검출대상과 선택적으로 감응하여 각각의 형광 신호 차이에 의해 이들을 검출하는 것을 특징으로 한다.
- [0227] 본 발명의 트리펩타이드 및/또는 다이펩타이드 유도체의 동시 검출능 실험결과를 살펴보면, 본 발명의 트리펩타이드 유도체는 알루미늄 이온(Al^{3+})과의 결합에 의해서는 방출파장 490 nm에서 큰 형광세기 증가 및 방출파장 383 nm에서 큰 형광세기 감소를 나타낸 반면, 철 이온(Fe^{3+})과의 결합에 의해서는 방출파장 383 nm에서 형광세기 감소만을 나타냈다.
- [0228] 또한, 본 발명의 다이펩타이드 유도체는 알루미늄 이온(Al^{3+})과의 결합에 의해서는 방출파장 476 nm에서 큰 형광세기 증가 및 방출파장 395 nm에서 큰 형광세기 감소를 나타낸 반면, 철 이온(Fe^{3+})과의 결합에 의해서는 방출파장 395 nm에서 형광세기 감소만을 나타냈다.
- [0230] 이는 본 발명의 트리펩타이드 및/또는 다이펩타이드 유도체가 알루미늄 이온(Al^{3+})과 철 이온(Fe^{3+})에 대하여 각각 다른 파장에서 큰 형광변화를 나타냄으로써 알루미늄 이온(Al^{3+})과 철 이온(Fe^{3+})이 동시에 존재하는 경우에도 각각의 상이한 형광 세기 변화 특성에 의해 알루미늄 이온(Al^{3+})과 철 이온(Fe^{3+})의 구분이 가능하여 이들을 동시에 검출할 수 있다는 것을 의미한다(실험예 2 및 도 4 참조).
- [0232] 나아가, 본 발명의 검출방법에 있어서, 상기 시료는 유기용매 뿐만 아니라 수용액상 또는 증류수에도 적용할 수 있다.
- [0233] 상기 수용액은 메탄올, 에탄올, 디메틸포름아마이드(DMF) 및 아세토니트릴로 이루어지는 군으로부터 선택되는 1종 이상의 유기용액을 포함한 수용액 상일 수 있으나, 시료의 범위가 이에 제한되는 것은 아니다. 이때, 상기 수용액 상에 함유된 유기용액은 메탄올, 에탄올, 디메틸포름아마이드(DMF), 아세토니트릴 등을 사용하는 것이 바람직하나, 이에 한정하는 것은 아니다.
- [0234] 상기 수용액상인 시료에 유기용매를 혼합하는 경우, 메탄올, 에탄올, 디메틸포름아마이드(DMF) 또는 아세토니트릴 등의 상기 유기용매들은 물에 용해도가 높아 알루미늄 이온(Al^{3+}), 갈륨 이온(Ga^{3+}), 인듐 이온(In^{3+}) 및 철 이온(Fe^{3+})으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 1종 이상의 검출대상과 단일 상을 이룸으로써, 형광 검출 감도의 변화없이 높은 검출감도로 알루미늄 이온(Al^{3+}), 갈륨 이온(Ga^{3+}), 인듐 이온(In^{3+}) 및 철 이온(Fe^{3+})을 검출할 수 있다. 또한, 본 발명의 검출방법에 있어서, 상기 시료는 상수, 하수, 폐수, 강물, 바닷물, 생체액, 개체로부터 분리된 세포 등을 사용할 수 있으나, 상기 시료가 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0236] 상술한 바와 같이, 본 발명에 따른 화학식 1로 표시되는 트리펩타이드 유도체 및/또는 상기 화학식 2로 표시되는 다이펩타이드 유도체는 방해물질로 작용할 수 있는 다른 금속 이온들의 존재하에서도 알루미늄 이온(Al^{3+}), 갈륨 이온(Ga^{3+}), 인듐 이온(In^{3+}) 및 철 이온(Fe^{3+})을 선택적으로 및 정량적으로 검출할 수 있고, 생체 세포 내로 침투가 용이하여 생체 세포 내에서 알루미늄 이온(Al^{3+}), 갈륨 이온(Ga^{3+}), 인듐 이온(In^{3+}) 및 철 이온(Fe^{3+})

과의 결합에 의한 형광세기 변화를 통해 검출 가능한 형광 감응 화학센서로 유용할 수 있다.

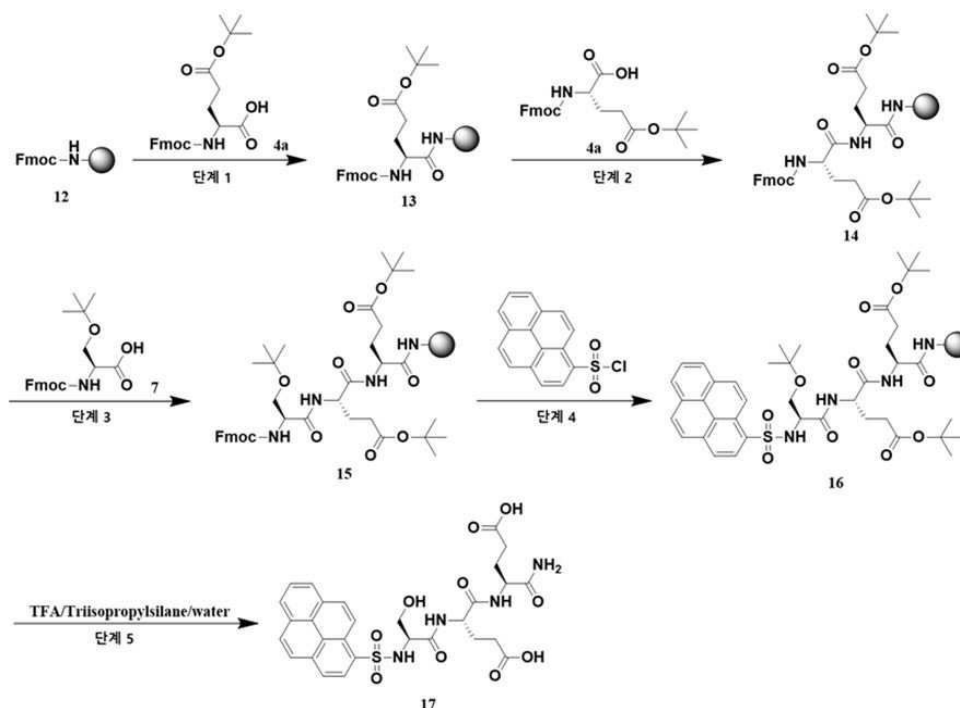
[0238] 이하, 본 발명을 실시예 및 실험예에 의해 상세히 설명한다.

[0239] 단, 하기 실시예 및 실험예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명의 내용이 하기 실시예 및 실험예에 한정되는 것은 아니다.

[0241] <실시예 1> (S)-5-아미노-4-((S)-4-카복시-2-((S)-3-하이드록시-2-(파이렌-1-설포아미도)프로판아미도)부탄아미도)-5-옥소펜타노익 에시드의 제조

[0242] 하기 반응식 5의 내용에 따라 (S)-5-아미노-4-((S)-4-카복시-2-((S)-3-하이드록시-2-(파이렌-1-설포아미도)프로판아미도)부탄아미도)-5-옥소펜타노익 에시드의 제조를 수행하였다.

[0243] [반응식 5]



[0244]

[0246] 이하, 본 발명에 따른 실시예 1 화합물의 제조방법을 단계별로 상세히 설명한다.

[0248] 단계 1: 화학식 13의 화합물 제조

[0249] 리브라 튜브(ribr tube)에 화학식 12의 말단 아민이 Fmoc-기로 보호화된 링크 아마이드 메틸벤조하이드릴아민 수지(Rink amide MBHA resin, 235 mg, 0.1 mmol)를 무수 디메틸포름아마이드(3 mL)와 함께 주입하여 약 15분간 미리 팽윤시켰다. 다음으로, 팽윤된 상기 수지에 25%의 피페리딘/디메틸포름아마이드 혼합용액(3 mL)을 첨가하고 15분간 활성화시켜 용해된 수지의 아미노기 말단 Fmoc 보호기를 제거하였다. 그 후, 무수 디메틸포름아마이드(3 mL) 용매 안에 화학식 4a의 Fmoc-L-글루탐산(Glu)(OtBu)-OH(128 mg, 0.3 mmol), 다이이소프로필카르보디이미드(DIC, 47 μ L, 0.3 mmol) 및 히드록시 벤조트리아졸(HOBt, 40 mg, 0.3 mmol)을 첨가하고, 미리 15분간 활성화 시킨 아미노 말단 Fmoc 보호기가 제거된 상기 링크 아마이드 메틸벤조하이드릴아민 수지 용액과 약 4시간 정도 반응시켰다.

[0250] 반응 후, 반응용액을 여과하고 여과된 수지를 디메틸포름아마이드와 메탄올로 수차례 세척한 후, 카이저(kaiser) 테스트를 실행하였다. 카이저 테스트가 양성으로 나오면 상기의 활성화 시킨 용액을 다시 만들어 첨가하고, 음성으로 나오면 반응을 멈춰 목적 화합물인 화학식 13의 화합물을 제조하였다.

[0252] 단계 2: 화학식 14의 화합물 제조

[0253] 상기 단계 1에서 수득한 화학식 13의 화합물에 다시 25%의 피페리딘/디메틸포름아마이드 혼합용액(3 mL)을 첨가하고 15분간 활성화시켜 아미노기 말단의 Fmoc 보호기를 제거하였다. 그 후, 무수 디메틸포름아마이드(3 mL) 용매 안에 화학식 4a의 Fmoc-L-글루탐산(Glu)(OtBu)-OH(128 mg, 0.3 mmol), 다이이소프로필카르보디이미드(DIC, 47 μ L, 0.3 mmol) 및 히드록시 벤조트리아졸(HOBt, 40 mg, 0.3 mmol)을 첨가하고, 미리 15분간 활성화 시킨

아미노 말단 Fmoc 보호기가 제거된 상기 용액과 약 4시간 정도 반응시켰다.

[0254] 반응 후, 반응용액을 여과하고 여과된 수지를 디메틸포름아마이드와 메탄올로 수차례 세척한 후, 카이저(kaiser) 테스트를 실행하였다. 카이저 테스트가 양성으로 나오면 상기의 활성화 시킨 용액을 다시 만들어 첨가하고, 음성으로 나오면 반응을 멈춰 목적 화합물인 화학식 14의 화합물을 제조하였다.

[0256] 단계 3: 화학식 15의 화합물 제조

[0257] 상기 단계 2에서 수득한 화학식 14의 화합물에 25%의 피페리딘/디메틸포름아마이드 혼합용액(3 mL)을 첨가하고 15분간 활성화시켜 아미노기 말단의 Fmoc 보호기를 제거하였다. 그 후, 무수 디메틸포름아마이드(3 mL) 용매 안에 화학식 7의 Fmoc-L-세린(Ser)(tBu)-OH(128 mg, 0.3 mmol), 다이이소프로필카르보디이미드(DIC, 47 μ L, 0.3 mmol) 및 히드록시 벤조트라이아졸(HOBt, 40 mg, 0.3 mmol)을 첨가하고, 미리 15분간 활성화 시킨 아미노 말단 Fmoc 보호기가 제거된 상기 용액과 약 4시간 정도 반응시켰다.

[0258] 반응 후, 반응용액을 여과하고 여과된 수지를 디메틸포름아마이드와 메탄올로 수차례 세척한 후, 카이저(kaiser) 테스트를 실행하였다. 카이저 테스트가 양성으로 나오면 상기의 활성화 시킨 용액을 다시 만들어 첨가하고, 음성으로 나오면 반응을 멈춰 목적 화합물인 화학식 15의 화합물을 제조하였다.

[0260] 단계 4: 화학식 16의 화합물 제조

[0261] 상기 단계 3에서 수득한 화학식 15의 화합물에 25%의 피페리딘/디메틸포름아마이드 혼합용액(3 mL)을 첨가하고 15분간 활성화시켜 아미노기 말단의 Fmoc 보호기를 제거하였다. 그 후, 무수 디메틸포름아마이드(3 mL) 용매 안에 파이렌-1-설폰일 클로라이드(90 mg, 0.3 mmol)와 트리에틸아민(80 μ L, 0.6 mmol)을 첨가하여, 상온에서 약 4시간 동안 교반시킨 후, 반응용액을 여과하고 여과된 수지를 디메틸포름아마이드와 메탄올로 수차례 세척하여 목적 화합물인 화학식 16의 화합물을 제조하였다.

[0263] 단계 5: (S)-5-아미노-4-((S)-4-카복시-2-((S)-3-하이드록시-2-(파이렌-1-설폰아미도)프로판아미도)부탄아미도)-5-옥소펜타노익 에시드의 제조

[0264] 상기 단계 4에서 수득한 화학식 16의 화합물을 트라이플루오로아세트산:트라이프로필실렌:증류수(95:2.5:2.5, v/v/v)의 혼합용액과 상온에서 4시간 반응시켰다. 반응 후 반응 용액을 여과하여 t-부틸 보호기를 제거하고, 수지로부터 목적 화합물을 분리하였다. 여과된 분리용액은 질소 기체를 통과시켜 트라이플루오로아세트산을 제거하고, 역상 고성능 액체 크로마토그래피(HPLC, C-18 칼럼 delta pak C18-300A, 1.9 X 30 cm)(용리액: 0.1% 트라이플루오로아세트산(TFA)이 포함된 증류수/아세트니트릴(1:1, v/v), 구배: 유속 3.0 mL/분)를 이용하여 정제하여 화학식 17의 목적 화합물(56 mg, 수율 90%)을 백색의 고체상으로 수득하였다.

[0265] 정제된 트리펩타이드 유도체의 분자량은 ESI 질량분석기를 이용하여 확인하였고, 그 결과값은 다음과 같다.

[0266] ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6 , 25°C): 12.075 (s, 2H), 8.991 (d, 1H), 8.619 (d, 1H), 8.490 (m, 2H), 8.440 (m, 2H), 8.388 (s, 1H), 8.366 (s, 1H), 8.269 (s, 1H), 8.216 (m, 2H), 7.677 (d, 1H), 7.034 (s, 2H), 5.077 (t, 1H), 4.044 (m, 1H), 3.937 (m, 1H), 3.795 (m, 1H), 2.135 (m, 3H), 2.049 (m, 2H), 1.845 (m, 1H), 1.730 (m, 1H), 1.587 (m, 3H).

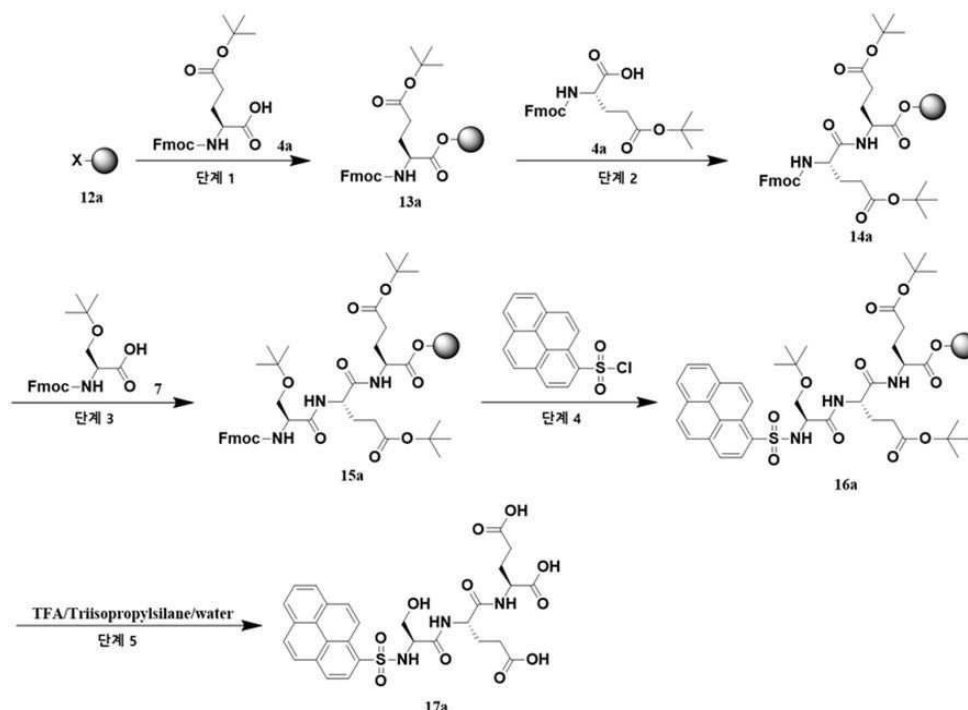
[0267] ^{13}C NMR (400 MHz, DMSO- d_6 , 25°C): δ 173.9, 173.7, 172.9, 170.6, 169.9, 134.0, 132.7, 130.5, 130.0, 127.3, 127.1, 126.9, 126.8, 126.7, 124.2, 124.0, 123.8, 123.2, 62.1, 57.6, 52.2, 51.7, 30.1, 30.0, 27.0, 26.6.

[0268] ESI-Mass (m/z): $[\text{M}+\text{H}]^+$ $\text{C}_{29}\text{H}_{30}\text{N}_4\text{O}_{10}\text{S}$: 627.17(계산치), 627.4(측정치).

[0270] <실시예 2> (S)-2-((S)-4-카복시-2-((S)-3-하이드록시-2-(파이렌-1-설폰아미도)프로판아미도)부탄아미도)펜타다이오익 에시드의 제조

[0271] 하기 반응식 6의 내용에 따라 (S)-2-((S)-4-카복시-2-((S)-3-하이드록시-2-(파이렌-1-설폰아미도)프로판아미도)부탄아미도)펜타다이오익 에시드의 제조를 수행하였다.

[0272] [반응식 6]



[0273]

[0275] 이하, 본 발명에 따른 실시예 2 화합물의 제조방법을 단계별로 상세히 설명한다.

[0277] 단계 1: 화학식 13a의 화합물 제조

[0278] 먼저, 리브라 튜브(libra tube)에 화학식 12a의 2-클로로트리틸 클로라이드 수지(2-Chlorotrityl chloride resin, 61 mg, 0.1 mmol)를 무수 디클로로메탄(3 ml)와 함께 주입하여 약 1시간 동안 미리 팽윤시켰다. 다음으로, 팽윤된 상기 수지에 화학식 4a의 Fmoc-L-글루탐산(Glu)(OtBu)-OH(128 mg, 0.3 mmol)과 수지대비 6당량의 다이소프로필에틸아민(DIPEA, 105 μ L, 0.6 mmol)을 첨가한 3 ml 디클로로메탄 용액을 넣고 약 5시간 동안 반응시켰다.

[0279] 반응 후, 반응용액을 여과하고 여과된 수지를 디클로로메탄과 디메틸포름아마이드 및 메탄올로 수차례 세척하여 목적 화합물인 화학식 13a의 화합물을 제조하였다.

[0281] 단계 2: 화학식 14a의 화합물 제조

[0282] 상기 단계 1에서 수득한 화학식 13a의 화합물에 25%의 피페리딘/디메틸포름아마이드 혼합용액(3 mL)을 첨가하고 15분간 활성화시켜 아미노기 말단의 Fmoc 보호기를 제거하였다. 그 후, 무수 디메틸포름아마이드(3 mL) 용매 안에 화학식 4a의 Fmoc-L-글루탐산(Glu)(OtBu)-OH(128 mg, 0.3 mmol), 다이이소프로필카르보디이미드(DIC, 47 μ L, 0.3 mmol) 및 히드록시 벤조트라이아졸(HOBt, 40 mg, 0.3 mmol)을 첨가하고, 미리 15분간 활성화 시킨 아미노 말단 Fmoc 보호기가 제거된 상기 용액과 약 4시간 정도 반응시켰다.

[0283] 반응 후, 반응용액을 여과하고 여과된 수지를 디메틸포름아마이드와 메탄올로 수차례 세척한 후, 카이저(kaiser) 테스트를 실행하였다. 카이저 테스트가 양성으로 나오면 상기의 활성화 시킨 용액을 다시 만들어 첨가하고, 음성으로 나오면 반응을 멈춰 목적 화합물인 화학식 14a의 화합물을 제조하였다.

[0285] 단계 3: 화학식 15a의 화합물 제조

[0286] 상기 단계 2에서 수득한 화학식 14a의 화합물에 25%의 피페리딘/디메틸포름아마이드 혼합용액(3 mL)을 첨가하고 15분간 활성화시켜 아미노기 말단의 Fmoc 보호기를 제거하였다. 그 후, 무수 디메틸포름아마이드(3 mL) 용매 안에 화학식 7의 Fmoc-L-세린(Ser)(tBu)-OH(128 mg, 0.3 mmol), 다이이소프로필카르보디이미드(DIC, 47 μ L, 0.3 mmol) 및 히드록시 벤조트라이아졸(HOBt, 40 mg, 0.3 mmol)을 첨가하고, 미리 15분간 활성화 시킨 아미노 말단 Fmoc 보호기가 제거된 상기 용액과 약 4시간 정도 반응시켰다.

[0287] 반응 후, 반응용액을 여과하고 여과된 수지를 디메틸포름아마이드와 메탄올로 수차례 세척한 후, 카이저(kaiser) 테스트를 실행하였다. 카이저 테스트가 양성으로 나오면 상기의 활성화 시킨 용액을 다시 만들어 첨가

하고, 음성으로 나오면 반응을 멈춰 목적 화합물인 화학식 15a의 화합물을 제조하였다.

[0289] 단계 4: 화학식 16a의 화합물 제조

[0290] 상기 단계 3에서 수득한 화학식 15a의 화합물에 25%의 피페리딘/디메틸포름아마이드 혼합용액(3 mL)을 첨가하고 15분간 활성화시켜 아미노기 말단의 Fmoc 보호기를 제거하였다. 그 후, 무수 디메틸포름아마이드(3 mL) 용매 안에 파이렌-1-설폰일 클로라이드(90 mg, 0.3 mmol)와 트리에틸아민(80 μ L, 0.6 mmol)을 첨가하여, 상온에서 약 4시간 동안 교반시킨 후, 반응용액을 여과하고 여과된 수지를 디메틸포름아마이드와 메탄올로 수차례 세척하여 목적 화합물인 화학식 16a의 화합물을 제조하였다.

[0292] 단계 5: (S)-2-((S)-4-카복시-2-((S)-3-하이드록시-2-(파이렌-1-설폰아미도)프로판아미도)부탄아미도)펜탄다이오익 에시드의 제조

[0293] 상기 단계 4에서 수득한 화학식 16a의 화합물을 트라이플루오로아세트산:트라이프로필실렌:증류수(95:2.5:2.5, v/v/v)의 혼합용액과 상온에서 4시간 반응시켰다. 반응 후 반응 용액을 여과하여 t-부틸 보호기를 제거하고, 수지로부터 목적 화합물을 분리하였다. 여과된 분리용액은 질소 기체를 통과시켜 트라이플루오로아세트산을 제거하고, 역상 고성능 액체 크로마토그래피(HPLC, C-18 칼럼 delta pak C18-300A, 1.9 X 30 cm)(용리액: 0.1% 트라이플루오로아세트산(TFA)이 포함된 증류수/아세토니트릴(1:1, v/v), 구배: 유속 3.0 mL/분)를 이용하여 정제하여 화학식 17a의 목적 화합물(49mg, 수율 78%)을 백색의 고체상으로 수득하였다.

[0294] 정제된 트리펩타이드 유도체의 분자량은 ESI 질량분석기를 이용하여 확인하였고 그 결과값은 다음과 같다.

[0295] ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6 , 25 $^\circ\text{C}$): δ 12.132 (s, 3H), 9.008 (d, 1H), 8.628 (d, 1H), 8.476 (m, 2H), 8.439 (m, 2H), 8.398 (s, 1H), 8.371 (s, 1H), 8.281 (s, 1H), 8.204 (m, 2H), 7.689 (d, 1H), 5.014 (t, 1H), 4.067 (m, 1H), 3.904 (m, 1H), 3.811 (m, 1H), 2.149 (m, 3H), 2.067 (m, 2H), 1.861 (m, 1H), 1.757 (m, 1H), 1.581 (m, 3H).

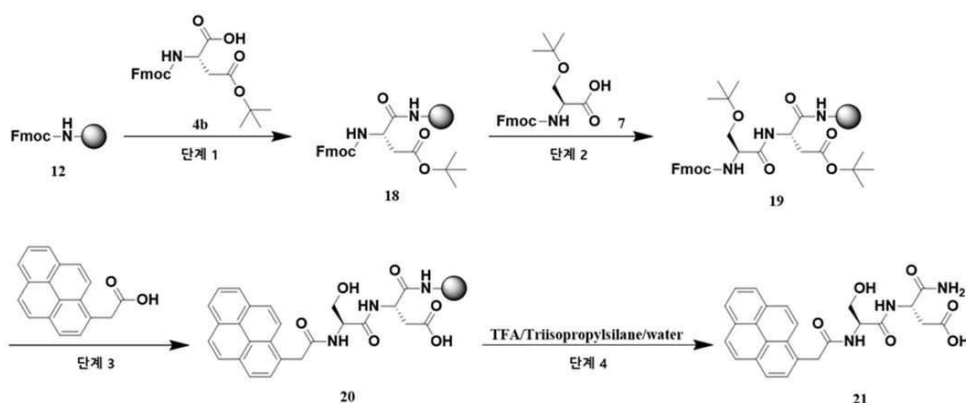
[0296] ^{13}C NMR (400 MHz, DMSO- d_6 , 25 $^\circ\text{C}$): δ 174.1, 173.9, 172.8, 170.6, 170.0, 133.7, 132.7, 130.6, 130.2, 127.5, 127.2, 127.0, 126.8, 126.6, 124.2, 124.0, 123.7, 123.3, 62.2, 57.7, 52.3, 51.9, 30.3, 30.1, 27.2, 26.5.

[0297] ESI-Mass (m/z): $[\text{M}+\text{H}]^+$ $\text{C}_{29}\text{H}_{29}\text{N}_3\text{O}_{11}\text{S}$: 628.15(계산치), 628.2(측정치).

[0299] <실시예 3> (S)-4-아미노-3-((S)-3-하이드록시-2-(2-(파이렌-1-일)아세트아미도)프로판아미도)-4-옥소부타오닉 에시드의 제조

[0300] 하기 반응식 7의 내용에 따라 (S)-4-아미노-3-((S)-3-하이드록시-2-(2-(파이렌-1-일)아세트아미도)프로판아미도)-4-옥소부타오닉 에시드의 제조를 수행하였다.

[0301] [반응식 7]



[0302]

[0304] 이하, 본 발명에 따른 실시예 3 화합물의 제조방법을 단계별로 상세히 설명한다.

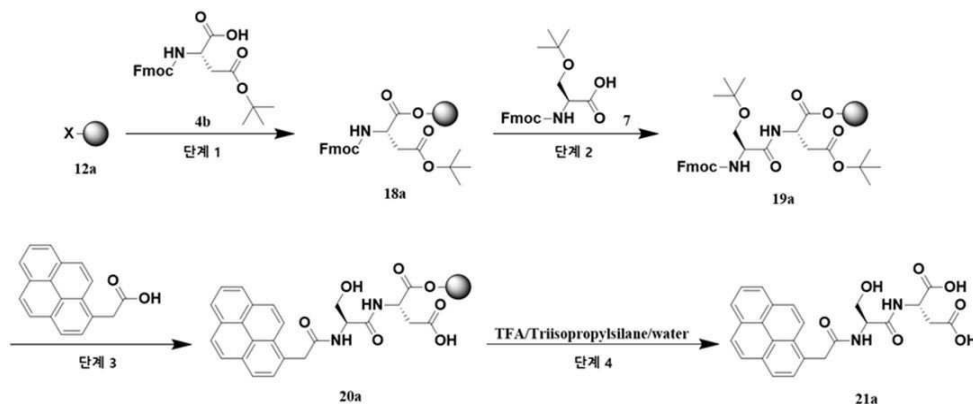
[0306] 단계 1: 화학식 18의 화합물 제조

- [0307] 먼저, 리브라 튜브(ribra tube)에 화학식 12의 말단 아민이 Fmoc-기로 보호화된 링크 아마이드 메틸벤조하이드릴아민 수지(Rink amide MBHA resin, 235 mg, 0.1 mmol)를 무수 디메틸포름아마이드(3 mL)와 함께 주입하여 약 15분간 미리 팽윤시켰다. 다음으로, 팽윤된 상기 수지에 25%의 피페리딘/디메틸포름아마이드 혼합용액(3 mL)을 첨가하고 15분간 활성화시켜 용해된 수지의 아미노기 말단 Fmoc 보호기를 제거하였다. 그 후, 무수 디메틸포름아마이드(3 mL) 용매 안에 화학식 4b의 Fmoc-L-아스파르트산(Asp)(OtBu)-OH(123 mg, 0.3 mmol), 다이이소프로필카르보디이미드(DIC, 47 μ L, 0.3 mmol) 및 히드록시 벤조트라이아졸(HOBt, 40 mg, 0.3 mmol)을 첨가하고, 미리 15분간 활성화 시킨 아미노 말단 Fmoc 보호기가 제거된 상기 링크 아마이드 메틸벤조하이드릴아민 수지 용액과 약 4시간 정도 반응시켰다.
- [0308] 반응 후, 반응용액을 여과하고 여과된 수지를 디메틸포름아마이드와 메탄올로 수차례 세척한 후, 카이저(kaiser) 테스트를 실행하였다. 카이저 테스트가 양성으로 나오면 상기의 활성화 시킨 용액을 다시 만들어 첨가하고, 음성으로 나오면 반응을 멈춰 목적 화합물인 화학식 18의 화합물을 제조하였다.
- [0310] 단계 2: 화학식 19의 화합물 제조
- [0311] 상기 단계 1에서 수득한 화학식 18의 화합물에 다시 25%의 피페리딘/디메틸포름아마이드 혼합용액(3 mL)을 첨가하고 15분간 활성화시켜 아미노기 말단의 Fmoc 보호기를 제거하였다. 그 후, 무수 디메틸포름아마이드(3 mL) 용매 안에 화학식 7의 Fmoc-L-세린(Ser)(tBu)-OH(128 mg, 0.3 mmol), 다이이소프로필카르보디이미드(DIC, 47 μ L, 0.3 mmol) 및 히드록시 벤조트라이아졸(HOBt, 40 mg, 0.3 mmol)을 첨가하고, 미리 15분간 활성화 시킨 아미노 말단 Fmoc 보호기가 제거된 상기 용액과 약 4시간 정도 반응시켰다.
- [0312] 반응 후, 반응용액을 여과하고 여과된 수지를 디메틸포름아마이드와 메탄올로 수차례 세척한 후, 카이저(kaiser) 테스트를 실행하였다. 카이저 테스트가 양성으로 나오면 상기의 활성화 시킨 용액을 다시 만들어 첨가하고, 음성으로 나오면 반응을 멈춰 목적 화합물인 화학식 19의 화합물을 제조하였다.
- [0314] 단계 3: 화학식 20의 화합물 제조
- [0315] 상기 단계 2에서 수득한 화학식 19의 화합물에 25%의 피페리딘/디메틸포름아마이드 혼합용액(3 mL)을 첨가하고 15분간 활성화시켜 아미노기 말단의 Fmoc 보호기를 제거하였다. 그 후, 무수 디메틸포름아마이드(3 mL) 용매 안에 1-파이렌아세트 에시드(78 mg, 0.3 mmol), 다이이소프로필카르보디이미드(DIC, 47 μ L, 0.3 mmol) 및 히드록시 벤조트라이아졸(HOBt, 40 mg, 0.3 mmol)을 첨가하고, 미리 15분간 활성화 시킨 아미노 말단 Fmoc 보호기가 제거된 상기 용액과 약 4시간 정도 반응시켰다.
- [0316] 반응 후, 반응용액을 여과하고 여과된 수지를 디메틸포름아마이드와 메탄올로 수차례 세척하여 목적 화합물인 화학식 20의 화합물을 제조하였다.
- [0318] 단계 4: (S)-4-아미노-3-((S)-3-하이드록시-2-(2-(파이렌-1-일)아세트아미도)프로판아미도)-4-옥소부타오닉 에시드의 제조
- [0319] 상기 단계 3에서 수득한 화학식 20의 화합물을 트라이플루오로아세트산:트라이프로필실렌:증류수(95:2.5:2.5, v/v/v)의 혼합용액과 상온에서 4시간 반응시켰다. 반응 후 반응 용액을 여과하여 t-부틸 보호기를 제거하고, 수지로부터 목적 화합물을 분리하였다. 여과된 분리용액은 질소 기체를 통과시켜 트라이플루오로아세트산을 제거하고, 역상 고성능 액체 크로마토그래피(HPLC, C-18 칼럼 delta pak C18-300A, 1.9 X 30 cm)(용리액: 0.1% 트라이플루오로아세트산(TFA)이 포함된 증류수/아세트오니트릴(1:1, v/v), 구배: 유속 3.0 mL/분)를 이용하여 정제하여 화학식 21의 목적 화합물(42 mg, 수율 92%)을 백색의 고체상으로 수득하였다.
- [0320] 정제된 다이펩타이드 유도체의 분자량은 ESI 질량분석기를 이용하여 확인하였고, 그 결과값은 다음과 같다.
- [0321] ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6 , 25°C): δ 8.404 (d, 1H), 8.368 (d, 1H), 8.269 (m, 2H), 8.215 (m, 3H), 8.148 (s, 2H), 8.065 (m, 2H), 7.028 (s, 2H), 4.910 (s, 1H), 4.558 (m, 1H), 4.369 (m, 1H), 4.389 (m, 2H), 3.616 (m, 2H), 2.649 (m, 2H).
- [0322] ^{13}C NMR (400 MHz, DMSO- d_6 , 25°C): δ 167.7, 165.1, 164.4, 164.0, 130.8, 130.7, 130.3, 129.9, 129.2, 128.5, 127.5, 127.2, 126.8, 126.3, 125.2, 124.9, 124.6, 124.3, 124.1, 123.9, 62.0, 56.2, 50.3, 38.1.
- [0323] ESI-Mass (m/z): $[\text{M}+\text{H}]^+$ $\text{C}_{25}\text{H}_{23}\text{N}_3\text{O}_6$: 462.16(계산치), 462.3(측정치).

[0325] <실시예 4> (S)-2-((S)-3-하이드록시-2-(2-(파이렌-1-일)아세트아미도)프로판아미도)석신의 에시드의 제조

[0326] 하기 반응식 8의 내용에 따라 (S)-2-((S)-3-하이드록시-2-(2-(파이렌-1-일)아세트아미도)프로판아미도)석신의 에시드의 제조를 수행하였다.

[0327] [반응식 8]



[0328]

[0330] 이하, 본 발명에 따른 실시예 4 화합물의 제조방법을 단계별로 상세히 설명한다.

[0332] 단계 1: 화학식 18a의 화합물 제조

[0333] 먼저, 리브라 튜브(libra tube)에 화학식 12a의 2-클로로트리틸 클로라이드 수지(2-Chlorotrityl chloride resin, 61 mg, 0.1 mmol)를 무수 디클로로메탄(3 mL)와 함께 주입하여 약 1시간 동안 미리 팽윤시켰다. 다음으로, 팽윤된 상기 수지에 화학식 4b의 Fmoc-L-아스파르트산(Asp)(OtBu)-OH(123 mg, 0.3 mmol)과 수지대비 6당량의 디이소프로필에틸아민(DIPEA, 105 μ L, 0.6 mmol)을 첨가한 3 mL 디클로로메탄 용액을 넣고 약 5시간 동안 반응시켰다.

[0334] 반응 후, 반응용액을 여과하고 여과된 수지를 디클로로메탄과 디메틸포름아마이드 및 메탄올로 수차례 세척하여 목적 화합물인 화학식 18a의 화합물을 제조하였다.

[0336] 단계 2: 화학식 19a의 화합물 제조

[0337] 상기 단계 1에서 수득한 화학식 18a의 화합물에 다시 25%의 피페리딘/디메틸포름아마이드 혼합용액(3 mL)을 첨가하고 15분간 활성화시켜 아미노기 말단의 Fmoc 보호기를 제거하였다. 그 후, 무수 디메틸포름아마이드(3 mL) 용매 안에 화학식 7의 Fmoc-L-세린(Ser)(tBu)-OH(128 mg, 0.3 mmol), 다이이소프로필카르보디이미드(DIC, 47 μ L, 0.3 mmol) 및 히드록시 벤조트리아졸(HOBt, 40 mg, 0.3 mmol)을 첨가하고, 미리 15분간 활성화 시킨 아미노 말단 Fmoc 보호기가 제거된 상기 용액과 약 4시간 정도 반응시켰다.

[0338] 반응 후, 반응용액을 여과하고 여과된 수지를 디메틸포름아마이드와 메탄올로 수차례 세척한 후, 카이저(kaiser) 테스트를 실행하였다. 카이저 테스트가 양성으로 나오면 상기의 활성화 시킨 용액을 다시 만들어 첨가하고, 음성으로 나오면 반응을 멈춰 목적 화합물인 화학식 19a의 화합물을 제조하였다.

[0340] 단계 3: 화학식 20a의 화합물 제조

[0341] 상기 단계 2에서 수득한 화학식 19a의 화합물에 25%의 피페리딘/디메틸포름아마이드 혼합용액(3 mL)을 첨가하고 15분간 활성화시켜 아미노기 말단의 Fmoc 보호기를 제거하였다. 그 후, 무수 디메틸포름아마이드(3 mL) 용매 안에 1-파이렌아세트 에시드(78 mg, 0.3 mmol), 다이이소프로필카르보디이미드(DIC, 47 μ L, 0.3 mmol) 및 히드록시 벤조트리아졸(HOBt, 40 mg, 0.3 mmol)을 첨가하고, 미리 15분간 활성화 시킨 아미노 말단 Fmoc 보호기가 제거된 상기 용액과 약 4시간 정도 반응시켰다.

[0342] 반응 후, 반응용액을 여과하고 여과된 수지를 디메틸포름아마이드와 메탄올로 수차례 세척하여 목적 화합물인 화학식 20a의 화합물을 제조하였다.

[0344] 단계 4: (S)-2-((S)-3-하이드록시-2-(2-(파이렌-1-일)아세트아미도)프로판아미도)석신의 에시드의 제조

[0345] 상기 단계 4에서 수득한 화학식 20a의 화합물을 트라이플루오로아세트산:트라이프로필실렌:증류수(95:2.5:2.5, v/v/v)의 혼합용액과 상온에서 4시간 반응시켰다. 반응 후 반응 용액을 여과하여 t-부틸 보호기를 제거하고, 수

지로부터 목적 화합물을 분리하였다. 여과된 분리용액은 질소 기체를 통과시켜 트라이플루오로아세트산을 제거하고, 역상 고성능 액체 크로마토그래피(HPLC, C-18 칼럼 delta pak C18-300A, 1.9 X 30 cm)(용리액: 0.1% 트라이플루오로아세트산(TFA)이 포함된 증류수/아세토니트릴(1:1,v/v), 구배: 유속 3.0 mL/분)를 이용하여 정제하여 화학식 21a의 목적 화합물(37 mg, 수율 81%)을 백색의 고체상으로 수득하였다.

[0346] 정제된 다이펩타이드 유도체의 분자량은 ESI 질량분석기를 이용하여 확인하였고 그 결과값은 다음과 같다.

[0347] ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6 , 25°C): δ 8.411 (d, 1H), 8.389 (d, 1H), 8.269 (m, 2H), 8.219 (m, 3H), 8.149 (s, 2H), 8.050 (m, 2H), 4.900 (s, 1H), 4.565 (m, 1H), 4.377 (m, 1H), 4.303 (m, 2H), 3.610 (m, 2H), 2.652 (m, 2H).

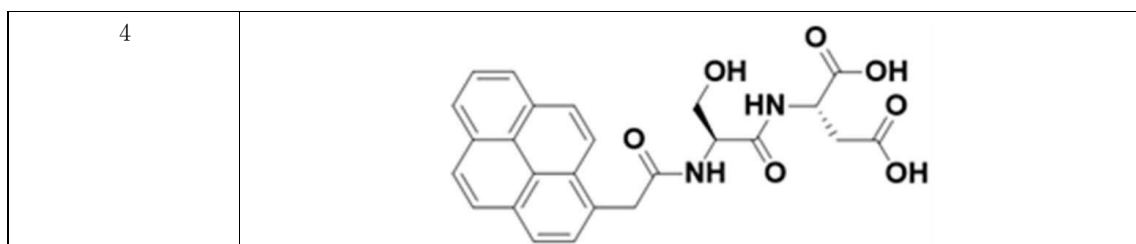
[0348] ^{13}C NMR (400 MHz, DMSO- d_6 , 25°C): δ 172.2, 171.7, 170.2, 170.0, 130.9, 130.8, 130.4, 130.0, 129.1, 128.7, 127.4, 127.2, 126.8, 126.1, 125.0, 124.9, 124.7, 124.2, 124.1, 123.9, 61.9, 55.0, 48.6, 36.0.

[0349] ESI-Mass (m/z): $[\text{M}+\text{H}]^+$ $\text{C}_{25}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_7$: 463.14(계산치), 463.1(측정치).

[0351] 상기 실시예 1 내지 4에서 제조한 실시예 화합물의 구체적인 구조를 하기 표 1에 나타내었다.

표 1

실시예	화학구조
1	
2	
3	



[0354] <실험예 1> 형광 감응 화학센서의 금속이온 선택성 평가

[0355] 본 발명에 따른 화학식 1 및 2로 표시되는 알루미늄 및 3가 금속 이온(M^{3+}) 형광 감응 화학센서의 알루미늄 및 3가 금속 이온(M^{3+})에 대한 선택성을 평가하기 위하여 하기와 같은 실험을 수행하였다.

[0357] 본 발명에 따른 실시예 1 및 4에서 제조된 화합물의 알루미늄 및 3가 금속 이온(M^{3+})에 대한 선택성을 평가하기 위하여, 다양한 금속 이온을 대상으로 실험하였다. 실험에 사용된 금속 이온은 니켈 이온(Ni^{2+}), 납 이온(Pb^{2+}), 카드뮴 이온(Cd^{2+}), 은 이온(Ag^+), 칼슘 이온(Ca^{2+}), 철 이온(Fe^{2+}), 크롬 이온(Cr^{3+}), 알루미늄 이온(Al^{3+}), 코발트 이온(Co^{2+}), 구리 이온(Cu^{2+}), 망간 이온(Mn^{2+}), 마그네슘 이온(Mg^{2+}), 아연 이온(Zn^{2+}), 철 이온(Fe^{3+}) 및 수은 이온(Hg^{2+})의 퍼클로레이트 염과 칼륨 이온(K^+) 및 나트륨 이온(Na^+)의 클로라이드 염과 갈륨 이온(Ga^{3+}) 및 인듐 이온(In^{3+})의 나이트레이트 염으로, 상기 금속 이온들을 증류수에 각각 용해시켜 10 mM의 금속이온 기준 용액을 제조하였다. 또한, 알루미늄 이온(Al^{3+})과 다른 금속 이온을 함께 포함하는 10 mM의 알루미늄 이온(Al^{3+})-금속 이온 기준 용액도 제조하였다.

[0359] 테스트 튜브에 10 mM 헥사민(hexamine) 완충용액(pH 5.5, 1 mL)을 주입한 후, 상기 실시예에서 제조된 화합물을 증류수에 녹여 10 μ M의 형광 감응 화학센서 시약을 제조하였다. 금속 기준 용액 또는 알루미늄 이온(Al^{3+})-금속 이온 기준 용액을 각 10 μ L씩 첨가한 후, 전체 용액의 양이 2 mL가 되도록 증류수를 주입하였다. 제조된 테스트 용액을 여기 파장은 342 nm, 여기 슬릿과 방출 슬릿의 폭은 실시예 1에서 제조된 화합물은 각각 15 nm, 5.5 nm 및 실시예 4에서 제조된 화합물은 각각 15 nm, 10 nm가 되도록 조절하여 형광 스펙트럼을 측정하였으며, 그 결과를 도 2 내지 도 7에 나타내었다.

[0361] 도 2 내지 도 7에 나타난 바와 같이, 본 발명에 따른 화학식 1 및 2로 표시되는 화합물은 다른 금속 이온의 존재 하에서도 알루미늄 및 3가 금속 이온(M^{3+})에 대하여 선택적으로 결합하는 것을 알 수 있다.

[0363] 보다 구체적으로, 본 발명에 따른 실시예 1에서 제조된 화합물과 다양한 금속 이온이 혼합된 테스트 용액의 형광 스펙트럼을 측정한 결과, 알루미늄 이온(Al^{3+})에 대해서 490 nm의 형광이 증가하고 및 383 nm의 형광이 크게 감소한 것을 알 수 있다(도 2 참조). 그리고 실시예 1에서 제조된 화합물과 3가 금속 이온이 혼합된 테스트 용액의 형광 스펙트럼을 측정한 결과, 갈륨 이온(Ga^{3+}) 및 인듐 이온(In^{3+})에 대해서 490 nm의 형광이 증가하고 및 383 nm의 형광이 크게 감소하며, 철 이온(Fe^{3+})에 대해서 383 nm의 형광이 감소한 것을 알 수 있다(도 4 참조).

[0365] 또한, 실시예 1에서 제조된 화합물과 알루미늄 이온(Al^{3+})과 다양한 금속 이온을 함께 포함하는 알루미늄 이온(Al^{3+})-금속 이온 기준 용액이 혼합된 테스트 용액의 경우, 혼합되어 있는 다른 금속 이온(구리 이온(Cu^{2+}) 및 크롬 이온(Cr^{3+}))을 제외한)의 영향을 받지 않고 선택적으로 알루미늄 이온(Al^{3+})과 복합체를 이루어 형광 변화를 일으키는 것을 알 수 있다(도 6 참조).

[0367] 나아가, 본 발명에 따른 실시예 4에서 제조된 화합물과 다양한 금속 이온이 혼합된 테스트 용액의 형광 스펙트럼을 측정한 결과, 알루미늄 이온(Al^{3+})에 대해서 476 nm의 형광이 크게 증가하고 및 395 nm의 형광이 크게 감소한 것을 알 수 있다(도 3 참조). 그리고 실시예 4에서 제조된 화합물과 3가 금속 이온이 혼합된 테스트 용액의 형광 스펙트럼을 측정한 결과, 갈륨 이온(Ga^{3+}) 및 인듐 이온(In^{3+})에 대해서 476 nm의 형광이 크게 증가하고 및

395 nm의 형광이 크게 감소하며, 철 이온(Fe^{3+})에 대해서 395 nm의 형광이 감소한 것을 알 수 있다(도 5 참조).

[0369] 또한, 실시예 4에서 제조된 화합물과 알루미늄 이온(Al^{3+})과 다양한 금속 이온을 함께 포함하는 알루미늄 이온(Al^{3+})-금속 이온 기준 용액이 혼합된 테스트 용액의 경우, 혼합되어 있는 다른 금속 이온(철 이온(Fe^{2+}), 구리 이온(Cu^{2+}) 및 크롬 이온(Cr^{3+})을 제외한)의 영향을 받지 않고 선택적으로 알루미늄 이온(Al^{3+})과 복합체를 이루어 형광 변화를 일으키는 것을 알 수 있다(도 7 참조).

[0371] 이로부터, 본 발명에 따른 화학식 1 및 2로 표시되는 화합물은 다른 금속 이온 존재 하에서도 알루미늄 이온(Al^{3+})과 선택적으로 결합하여 복합체를 형성함으로써 형광 세기 변화를 일으키는 것을 알 수 있다.

[0373] 따라서, 본 발명에 따른 화학식 1 및 2로 표시되는 알루미늄 및 3가 금속 이온(M^{3+}) 형광 감응 화학센서는 다른 전이금속 이온의 존재 하에서도, 선택적으로 알루미늄 및 3가 금속 이온(M^{3+})과 복합체를 형성하며 이로 인한 알루미늄 및 3가 금속 이온(M^{3+})에 대한 선택적 검출능이 현저히 우수하므로, 지하수, 하천과 같은 수계 환경에서 방해물질로 작용할 수 있는 다른 금속 이온들의 존재 하에서도 알루미늄 이온(Al^{3+}), 갈륨 이온(Ga^{3+}), 인듐 이온(In^{3+}) 및 철 이온(Fe^{3+})을 선택적으로, 정량적으로 및 동시 또는 이시에 검출할 수 있다. 또한, 생체 세포 내로 침투가 용이하여 생체 세포 내에서 알루미늄 이온(Al^{3+}), 갈륨 이온(Ga^{3+}), 인듐 이온(In^{3+}) 및 철 이온(Fe^{3+})과의 결합에 의한 형광세기 변화를 통해 검출 가능한 형광 감응 화학센서로 유용할 수 있다.

[0375] <실험예 2> 형광 감응 화학센서의 알루미늄 및 3가 금속 이온(M^{3+}) 농도에 따른 검출능 평가

[0376] 본 발명에 따른 형광 감응 화학센서의 알루미늄 및 3가 금속 이온(M^{3+}) 농도에 따른 검출능을 평가하기 위하여 하기와 같은 실험을 수행하였다.

[0378] 먼저, 알루미늄 이온(Al^{3+})의 피클로레이트 염을 증류수에 용해시켜 0.5mM의 알루미늄 이온(Al^{3+}) 기준 용액을 제조하였다. 테스트 튜브에 10mM의 헥사민 완충용액(pH 5.5, 1mL)을 주입하고, 상기 실시예 1 및 4에서 제조한 화합물을 증류수에 녹여 제조된 1.0 mM의 형광 감응 화학센서 시약을 10 μM 가 되도록 첨가하였다. 그 후, 상기 혼합용액에 존재하는 형광 감응 화학센서인 실시예 1 및 4의 화합물에 대하여 0 당량에서부터 0.5 당량씩 점점 증가 되도록 알루미늄 이온(Al^{3+}) 기준 용액을 각각의 반응 용액에 첨가하여 테스트 용액을 제조하였다. 상기 테스트 용액을 실험예 1과 같은 조건에서 흡광 및 형광 스펙트럼을 측정하였다. 그 결과를 도 8 내지 13에 나타내었다.

[0380] 도 8 내지 도 13에 나타낸 바와 같이, 본 발명에 따른 화학식 1 및 2로 표시되는 화합물은 알루미늄 이온(Al^{3+})의 농도에 따라 흡광 및 형광 세기가 변하는 것을 알 수 있다.

[0382] 구체적으로, 본 발명에 따른 화학식 1 및 2로 표시되는 화합물에 대하여 알루미늄 이온(Al^{3+}) 농도에 따른 형광 스펙트럼을 측정한 결과, 0 당량을 시작으로 알루미늄 이온(Al^{3+})의 당량이 높아짐에 따라 형광과 흡광의 세기 및 파장이 서서히 변화하는 것으로 확인되었다(도 8, 도 9, 도 10 및 도 11 참조).

[0384] 나아가, 본 발명에 따른 실시예 1 및 4 화합물의 알루미늄 이온(Al^{3+})의 농도 변화에 따른 방출파장의 형광 세기 변화를 통하여 알루미늄 이온(Al^{3+}) 검출 한계를 계산한 결과, 실시예 1 화합물의 알루미늄 이온(Al^{3+}) 검출 한계는 276.4 nM인 것으로 확인되었다(도 12 참조). 또한, 실시예 4 화합물의 알루미늄 이온(Al^{3+}) 검출 한계는 138.1 nM인 것으로 확인되었다(도 13 참조).

[0386] 이로부터, 본 발명에 따른 화학식 1 및 2의 화합물은 알루미늄 및 3가 금속 이온(M^{3+})의 농도에 따라 형광 세기의 변화 정도가 커지므로, 본 발명에 따른 화학식 1 및 2의 화합물은 알루미늄 및 3가 금속 이온(M^{3+})에 대하여 감응하는 것을 알 수 있다.

[0388] 따라서, 본 발명에 따른 화학식 1 및 2로 표시되는 알루미늄 및 3가 금속 이온(M^{3+}) 형광 감응 화학센서는 수용

액 상에서 종래의 형광 감응 화학센서에 비해 알루미늄 및 3가 금속 이온(M^{3+})과의 결합성이 현저히 우수하고, 다른 금속 이온의 존재 하에서도, 선택적으로 알루미늄 및 3가 금속 이온(M^{3+})과 복합체를 형성하여 화학 센서의 형광 세기 변화를 통해 알루미늄 및 3가 금속 이온(M^{3+})의 검출이 가능하므로, 지하수, 하천과 같은 수계 환경에서 방해물질로 작용할 수 있는 다른 금속 이온들의 존재하에서도 알루미늄 이온(Al^{3+}), 갈륨 이온(Ga^{3+}), 인듐 이온(In^{3+}) 및 철 이온(Fe^{3+})을 선택적으로, 정량적으로 검출할 수 있다. 또한, 생체 세포 내로 침투가 용이하여 생체 세포 내에서 알루미늄 이온(Al^{3+}), 갈륨 이온(Ga^{3+}), 인듐 이온(In^{3+}) 및 철 이온(Fe^{3+})과의 결합에 의한 형광세기 변화를 통해 검출이 가능한 형광 감응 화학센서로 유용할 수 있다.

[0390] <실험예 3> 형광 감응 화학센서와 알루미늄 이온(Al^{3+})의 착물 형성 모드 확인

[0391] 알루미늄 이온(Al^{3+})에 대한 실시예 1 및 4 화합물의 착물 형성 비율을 확인하기 위하여, Job's plot 방법을 이용하였다. Job's plot 그래프를 도시한 결과, 최대점은 몰분율이 0.33일 때 나타났으며, 이는 리간드 대 금속 착물의 비율이 2대 1 비율인 경우의 전형적인 리간드 몰분율이다(도 14 및 도 15 참조).

[0393] 20% D2O/DMSO- d_6 중의 실시예 1 및 4 화합물과 알루미늄 이온(Al^{3+}) 착물의 1H NMR 스펙트로스코피 또한 알루미늄 이온(Al^{3+})에 대한 실시예 1 및 4 화합물의 착물 형성 모드를 입증하기 위해 측정되었으며, 스펙트럼의 차이는 도 16 및 17에 도시되어 있다.

[0395] 실시예 1의 화합물에서 다른 프로톤의 시그널이 거의 변화를 나타내지 않은 반면, H4의 시그널은 약 0.02 ppm, H9의 시그널은 약 0.06 ppm 및 H13의 시그널은 약 0.09 ppm 다운 쉬프트 되었다. 또한, 실시예 4의 화합물에서 다른 프로톤의 시그널이 거의 변화를 나타내지 않은 반면, H3의 시그널은 약 0.1 ppm, H3 '의 시그널은 약 0.07 ppm 및 H7의 시그널은 약 0.25 ppm 다운 쉬프트 되었다. 이러한 결과는 실시예 1 및 4 화합물과 함께 알루미늄 이온(Al^{3+})이 히드록시 및 카르보닐 그룹과 2:1로 착물을 형성하며 결합되어 있다는 사실을 보여준다.

[0397] 이러한 모든 스펙트럼 데이터로부터, 실시예 1 및 4 화합물의 히드록시 및 카르보닐 그룹과 결합하는 금속은 AIE(aggregation induced emission)에 의해 실시예 1 및 4의 화합물의 pyrene 형광체의 방출파장이 변화된다는 결론을 내릴 수 있다. 실시예 1 및 4의 화합물의 형광 변화는, 실시예 1 및 4의 화합물과 금속 이온이 2:1로 착물을 형성하며 결합되어 모노머 파장의 방출이 감소하고 이시머 파장의 방출이 증가한 것으로 추정된다. 예측 가능한 착물 형성 모드는 도 1에 도시되어 있다.

[0399] <실험예 4> 형광 감응 화학센서의 시료내의 pH에 따른 검출능 평가

[0400] 본 발명에 따른 알루미늄 이온(Al^{3+}) 형광 감응 화학센서의 시료 내 pH에 따른 알루미늄 이온(Al^{3+}) 검출능을 평가하기 위하여 하기와 같은 실험을 수행하였다. pH에 따른 알루미늄 이온(Al^{3+}) 검출능을 평가하기 위하여 pH 1.5-3.5의 20 mM MES 완충용액, pH 4.1-6.1의 20 mM 헥사민 완충용액, pH 6.5-7.4의 20 mM HEPES 완충용액 및 pH 8.5-12.5의 20 mM CHES 완충용액을 사용하였다. 테스트 튜브에 각각의 pH에 해당하는 20 mM 완충용액(1 mL)을 넣고, 실험예 1에서 제조된 형광 감응 화학센서 시약 1.0 mM 용액을 20 μ L 첨가한 다음, 10 mM의 알루미늄 이온(Al^{3+}) 용액(10 μ M)을 첨가하고, 증류수로 전체 용액의 양이 2 mL가 되도록 각각의 테스트 용액을 희석하였다. 이때, 테스트 용액은 센서의 농도가 10 μ M, 알루미늄 이온의 농도는 50 μ M, 완충용액의 농도는 10 mM이 되도록 농도 조절하였다. 이후, 상기 제조된 테스트 용액의 형광 스펙트럼을 측정하였으며, 그 결과를 도 18 및 도 19에 나타내었다.

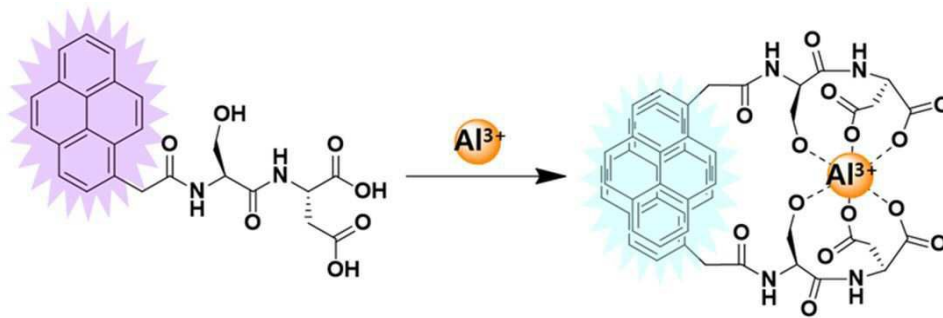
[0402] 도 18 및 도 19에 나타난 바와 같이, 본 발명에 따른 실시예 1 및 4의 화합물에 대하여 시료 내의 다양한 pH에서 알루미늄 이온(Al^{3+})을 측정된 결과 pH 4.5 내지 pH 7.4의 범위에서 실시예 1 및 4 화합물은 알루미늄 이온(Al^{3+})과의 복합체를 형성하여 형광 세기 변화를 가지는 것을 관찰할 수 있다. 이로부터, 본 발명에 따른 화학식 1 및 2로 표시되는 화합물은 pH 4.5 내지 pH 7.4의 범위에서 알루미늄 이온(Al^{3+})의 검출이 용이하다는 것을 알 수 있다.

[0404] 따라서, 본 발명에 따른 화학식 1 및 2로 표시되는 알루미늄 및 3가 금속 이온(M^{3+}) 형광 감응 화학센서는 수용

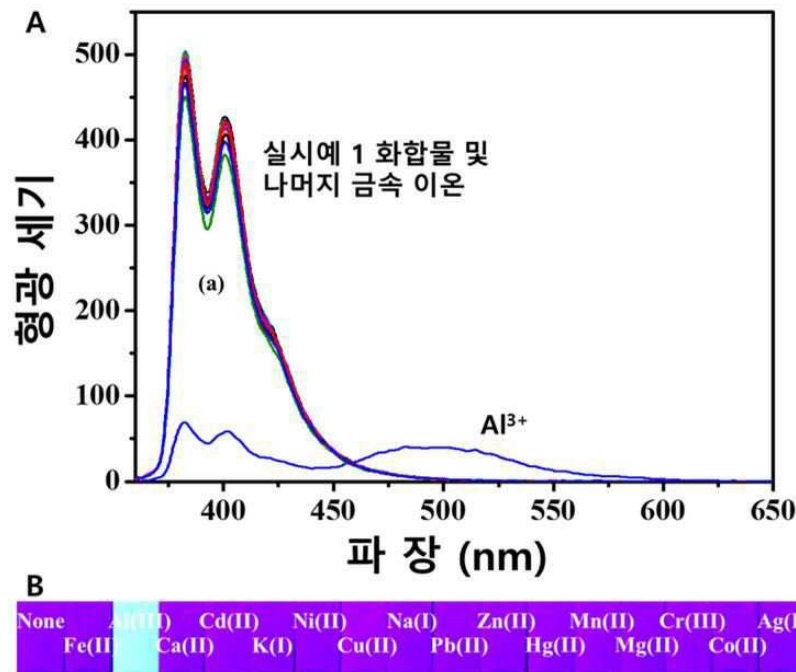
액 상에서 알루미늄 및 3가 금속 이온(M^{3+})과의 결합성이 현저히 우수하고, 알루미늄 및 3가 금속 이온(M^{3+})의 용해도가 높은 pH 4.5 내지 7.4의 pH 범위에서 알루미늄 및 3가 금속 이온(M^{3+}) 검출이 가능하며, 지하수, 하천과 같은 수계 환경에서 방해물질로 작용할 수 있는 다른 금속 이온들의 존재 하에서도 알루미늄 이온(Al^{3+}), 갈륨 이온(Ga^{3+}), 인듐 이온(In^{3+}) 및 철 이온(Fe^{3+})을 선택적으로 또는 정량적으로 검출할 수 있다. 또한, 생체 세포 내로 침투가 용이하여 생체 세포 내에서 알루미늄 이온(Al^{3+}), 갈륨 이온(Ga^{3+}), 인듐 이온(In^{3+}) 및 철 이온(Fe^{3+})과의 결합에 의한 형광세기 변화를 통해 검출 가능한 형광 감응 화학센서로 유용할 수 있다.

도면

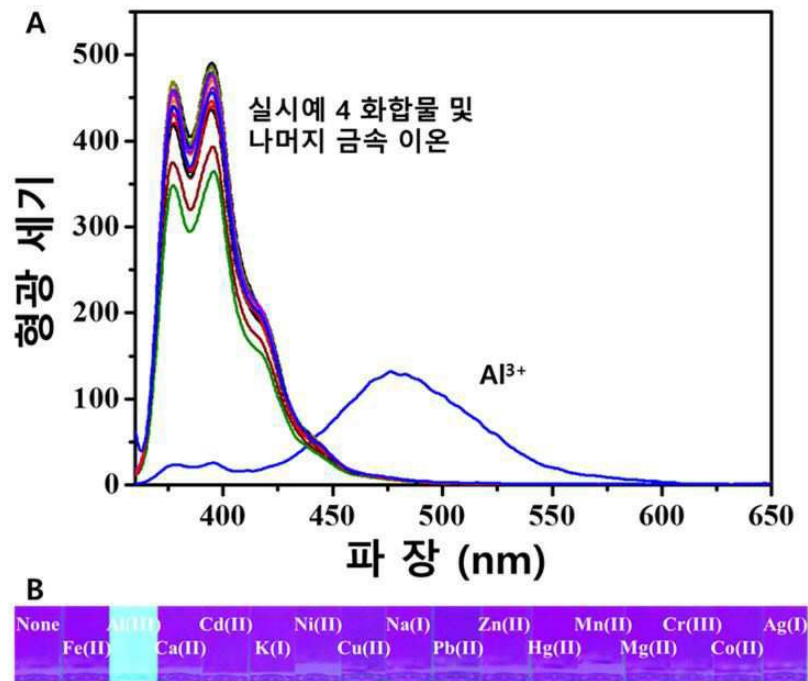
도면1



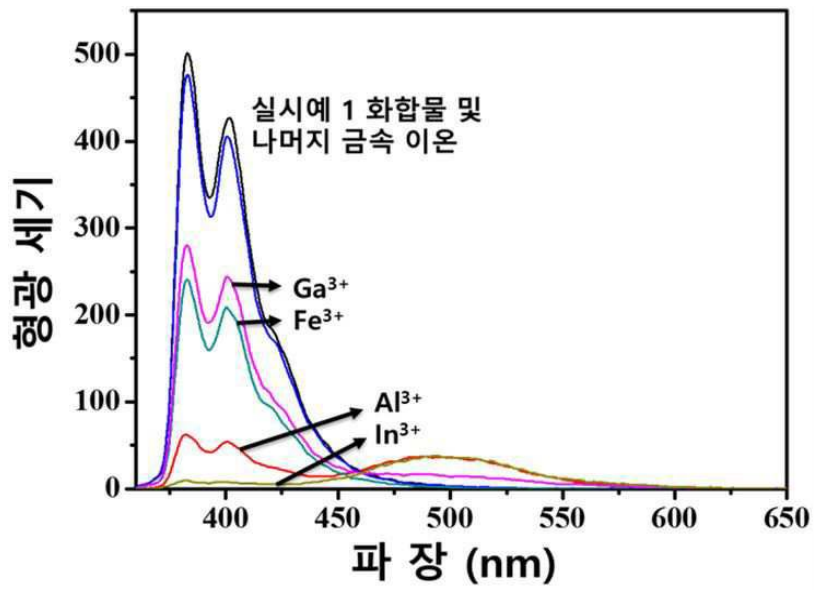
도면2



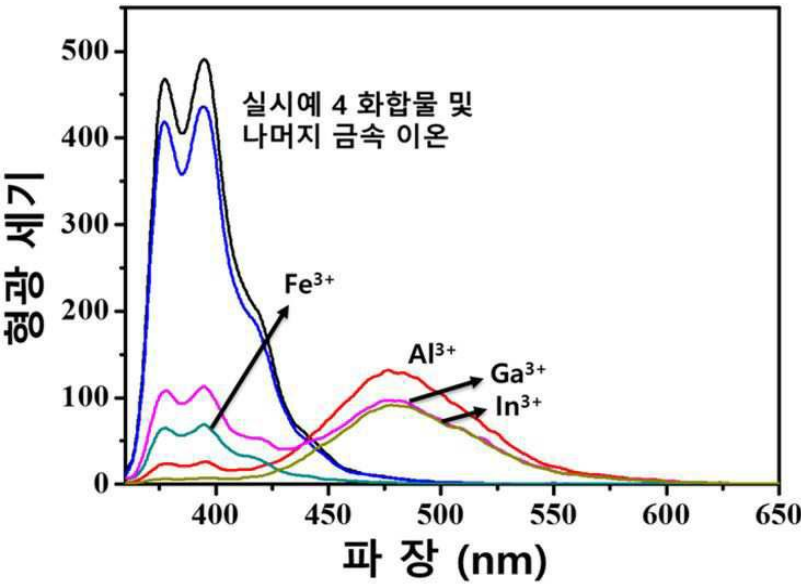
도면3



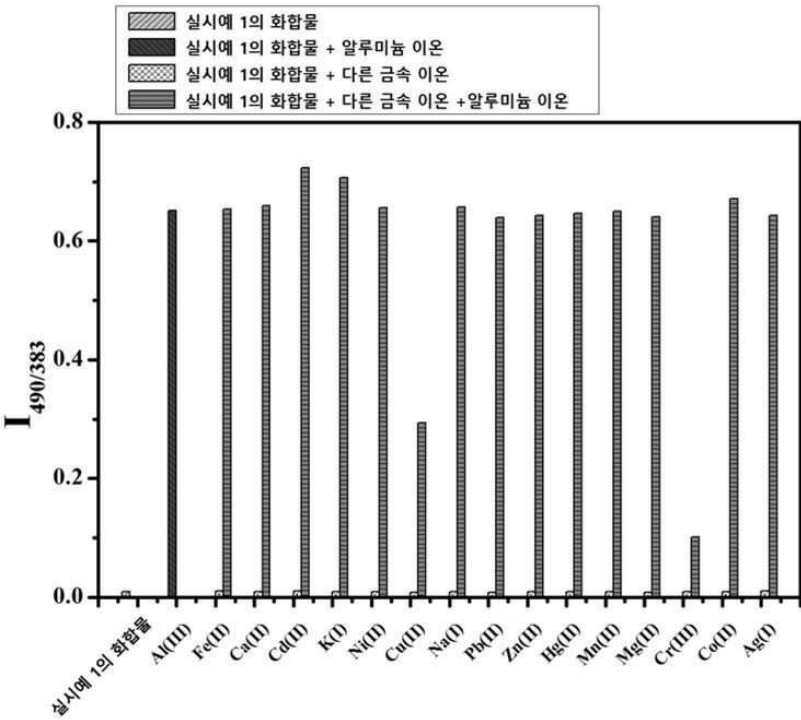
도면4



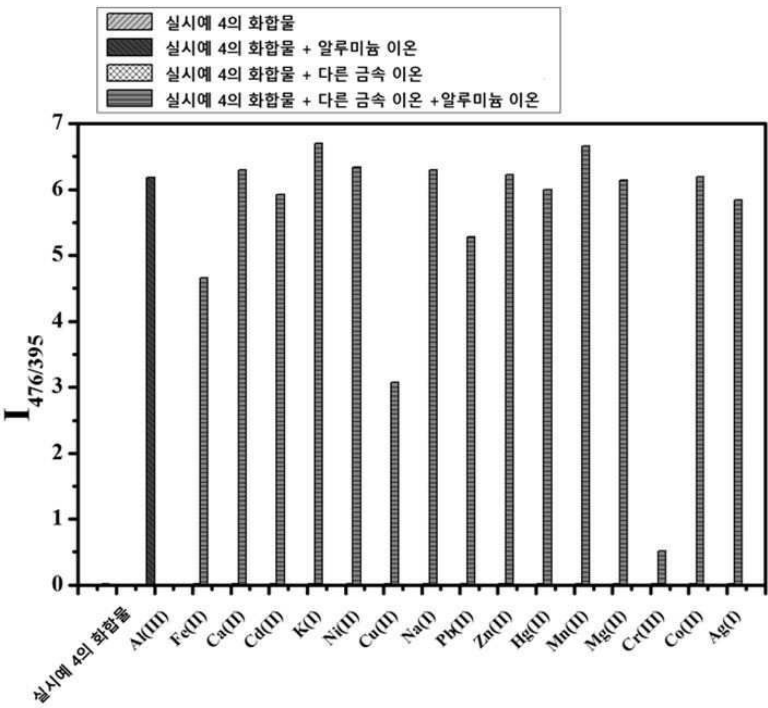
도면5



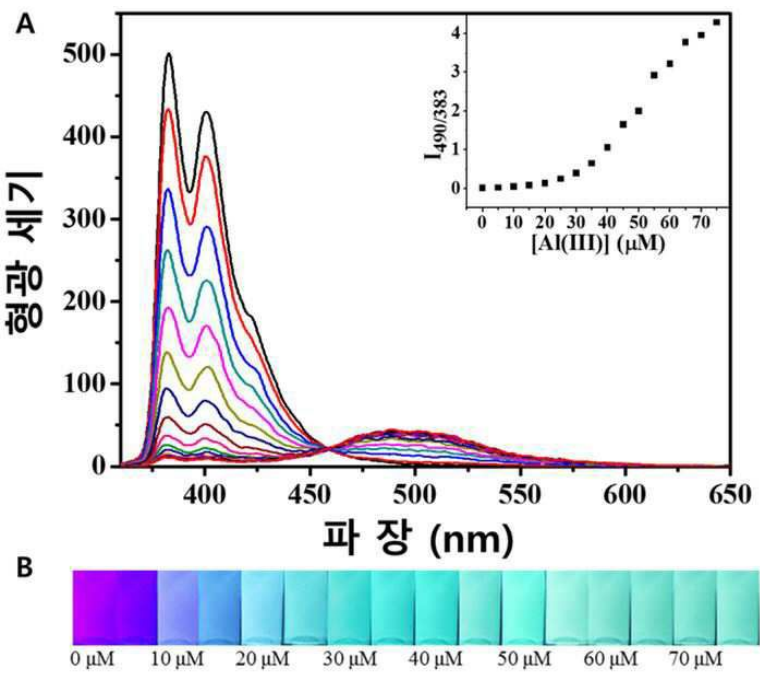
도면6



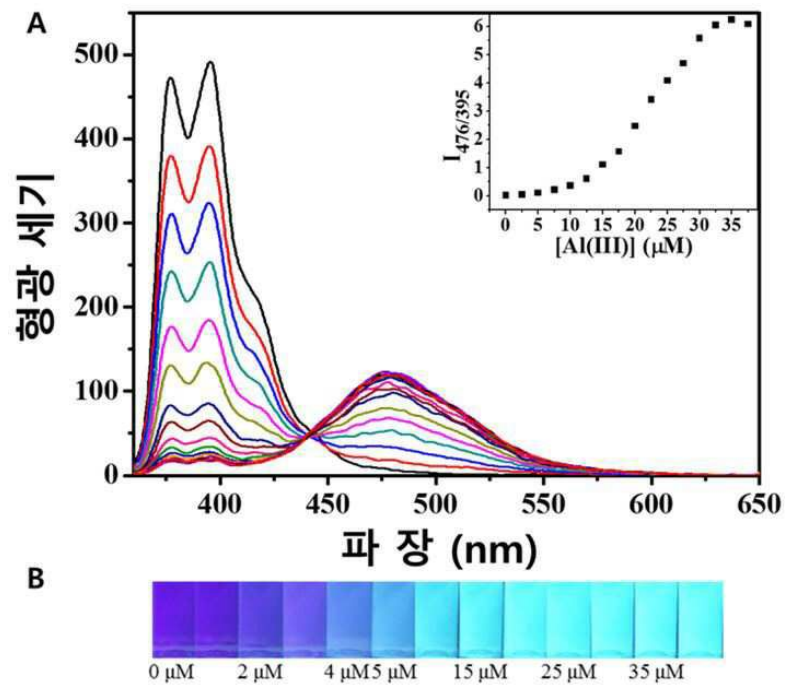
도면7



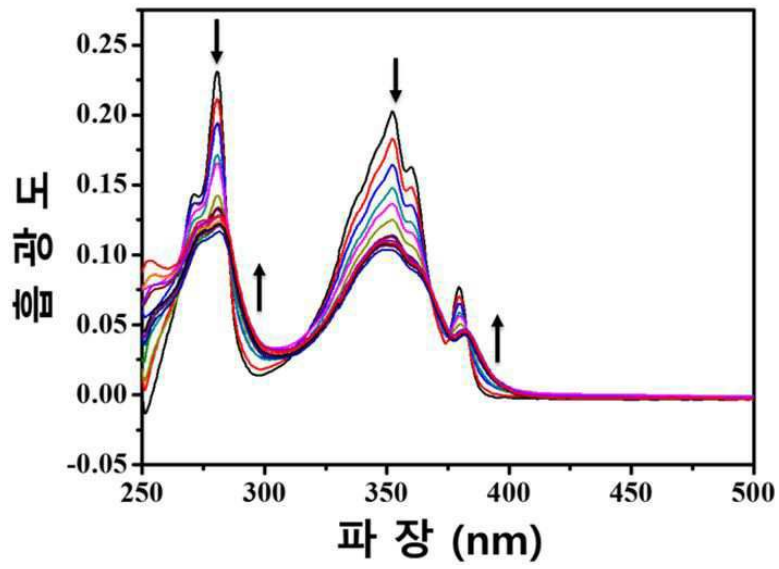
도면8



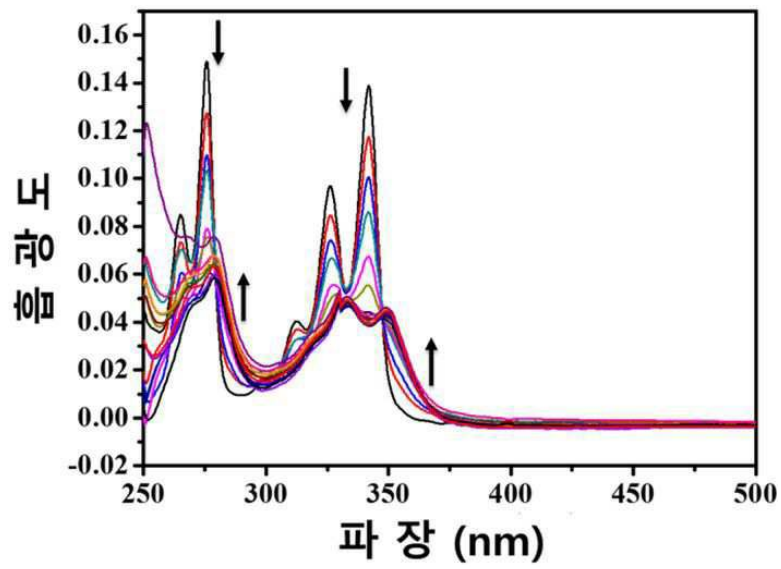
도면9



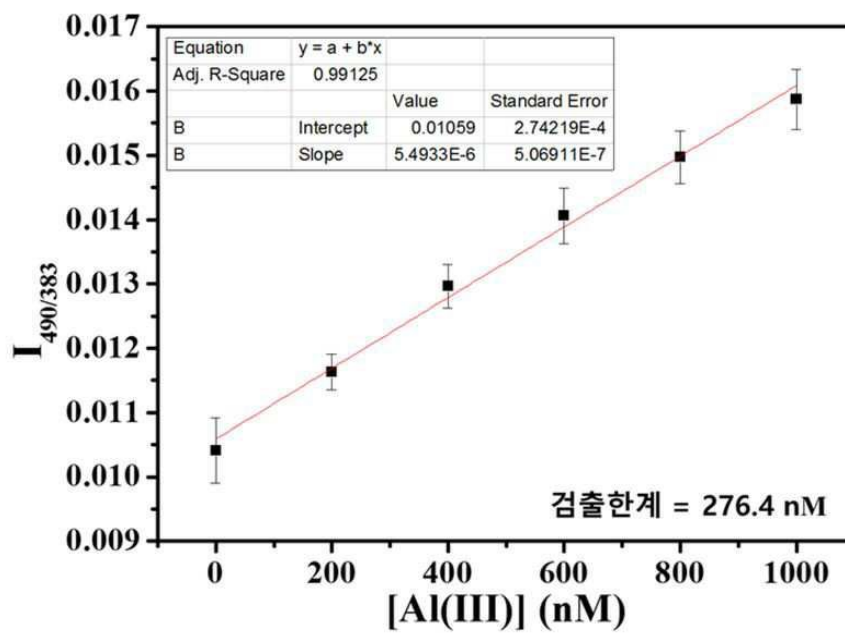
도면10



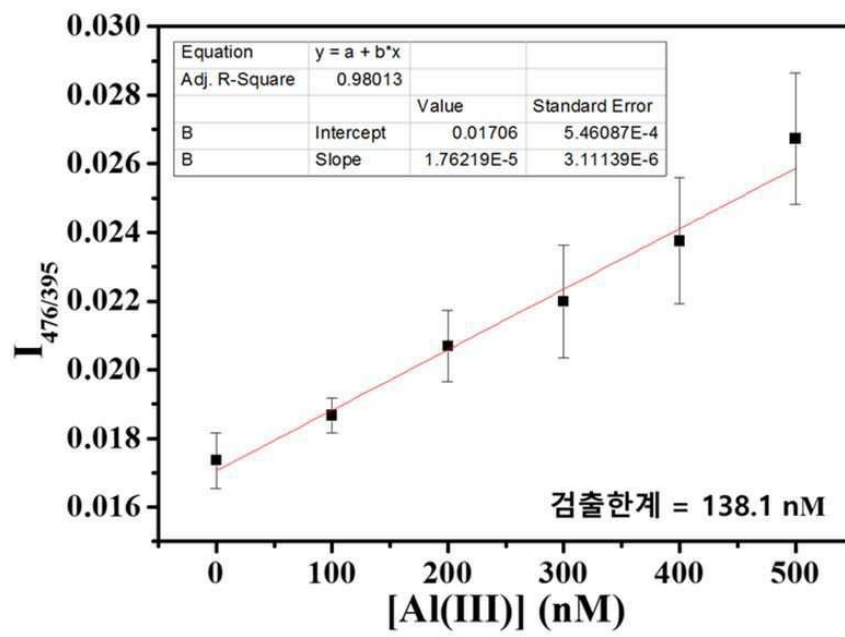
도면11



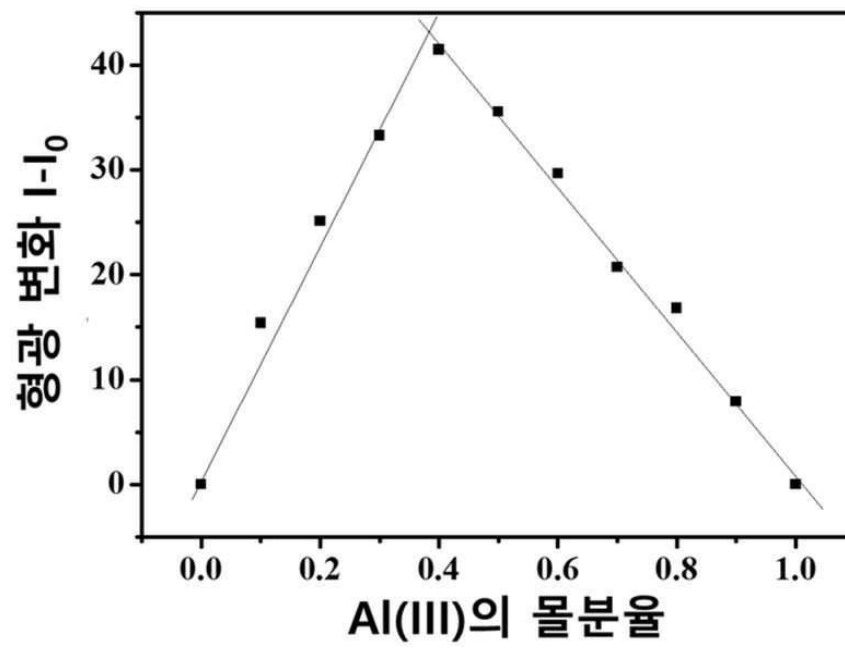
도면12



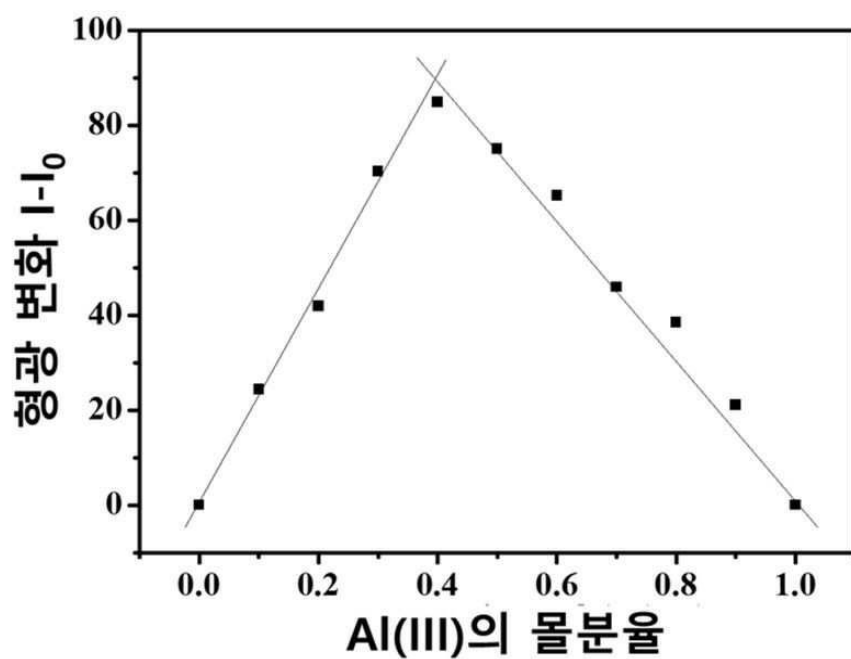
도면13



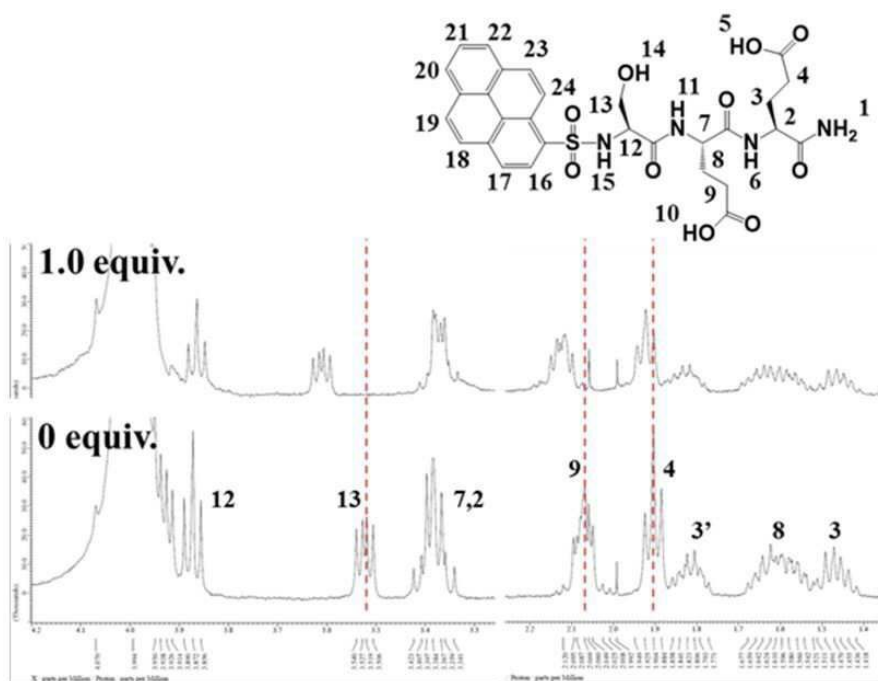
도면14



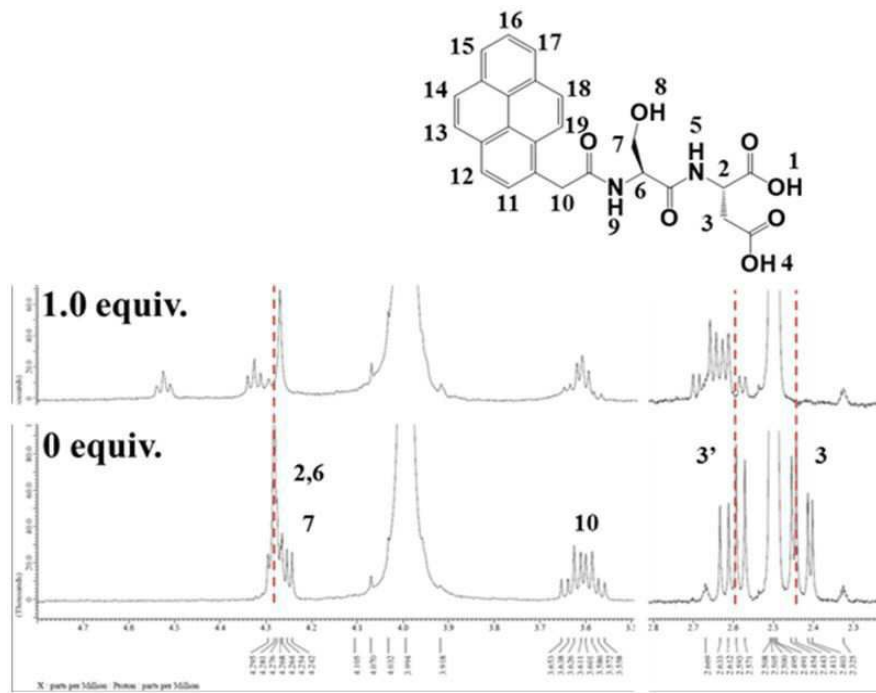
도면15



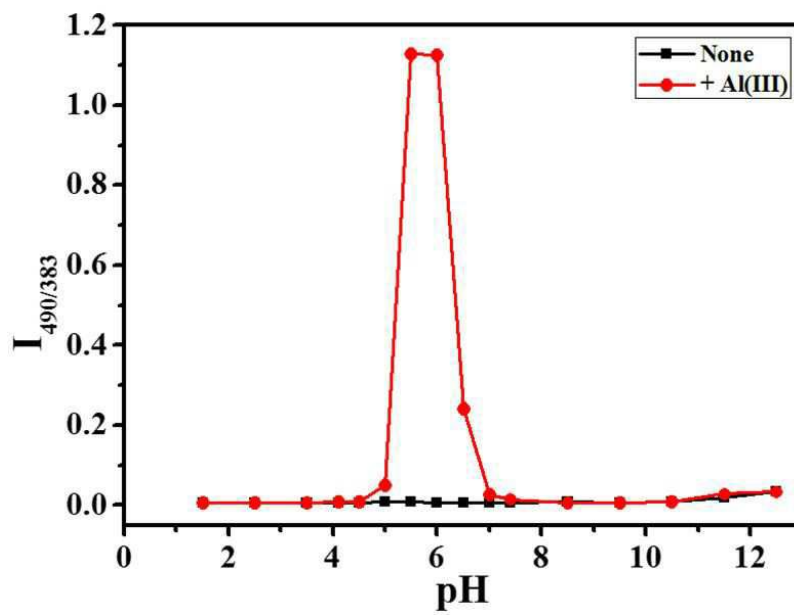
도면16



도면17



도면18



도면19

