(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2020-0104580
(43) 공개일자 2020년09월04일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07D 417/10 (2006.01) *C09K 11/06* (2006.01)
(52) CPC특허분류
C07D 417/10 (2013.01)
C09K 11/06 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2019-0023088
(22) 출원일자 2019년02월27일
심사청구일자 2019년02월27일

(71) 출원인
충남대학교산학협력단
대전광역시 유성구 대학로 99 (궁동, 충남대학교)
(72) 발명자
손영아
대전광역시 유성구 지족로 343 반석마을아파트 211-2201
메르구 나빈
대전광역시 유성구 대학로 99 충남대학교 바이오응용화학연구소
(74) 대리인
특허법인 플러스

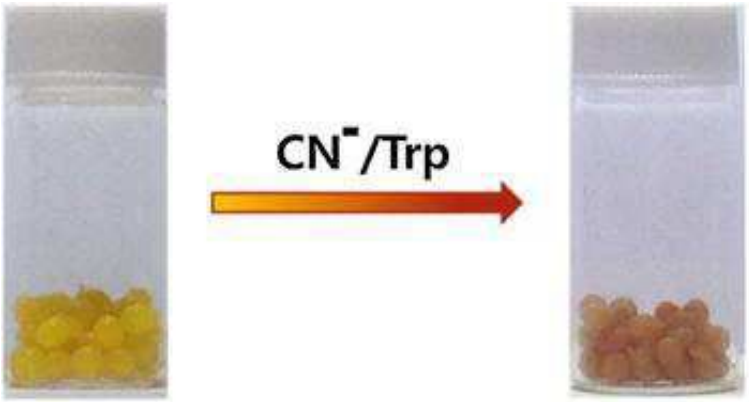
전체 청구항 수 : 총 15 항

(54) 발명의 명칭 **신규한 나프탈이미드-벤조사이아졸 화합물 및 이를 포함하는 시아나이드 이온 및 트립토판 아미노산의 선택적 검출이 가능한 화학센서**

(57) 요 약

본 발명은 신규한 나프탈이미드-벤조사이아졸 화합물 및 이를 이용한 시아나이드 이온 및 트립토판 아미노산의 검출 방법에 관한 것으로, 상기 나프탈이미드-벤조사이아졸 화합물은 수용액 내 존재하는 유해 시아나이드 이온 및 트립토판 아미노산에 대하여 향상된 민감도와 선택성을 가지고 있어 이를 이용한 화학센서는 보다 신속하고 간단하게 비색 또는 형광 신호를 확인함으로써 수용성 분석시료 내 시아나이드 이온 및 트립토판 아미노산을 선택적으로 검출할 수 있다.

대 표 도 - 도12



(52) CPC특허분류
C09K 2211/1037 (2013.01)

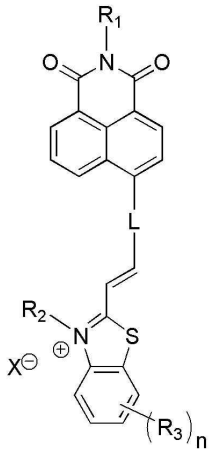
명 세 서

청구범위

청구항 1

하기 화학식 1로 표시되는 나프탈이미드-벤조사이아졸 화합물:

[화학식 1]



(상기 화학식 1에서,

L은 C6-C20아릴렌이고;

R_1 및 R_2는 각각 독립적으로 C1-C20알킬, C3-C20사이클로알킬, 할로C1-C20알킬, C2-C20알케닐, C2-C20알키닐, C6-C20아릴 또는 C7-C40아릴알킬이고;

R_3는 독립적으로 C1-C20알킬, C1-C20알콕시 및 할로겐이며;

X는 1가 음이온이고,

n은 0 내지 4의 정수이고,

상기 R_1 및 R_2의 아릴 및 아릴알킬은 치환 또는 비치환된 C1-C10알킬이 하나 이상으로 더 치환될 수 있다.)

청구항 2

제 1항에 있어서,

상기 화학식 1에서

상기 L은 C6-C20아릴렌이고;

상기 R_1은 C7-C20아릴알킬이고;

상기 R_2는 C1-C20알킬이며;

상기 R_3는 C1-C10알킬, C1-C10알콕시 및 할로겐이고;

상기 X는 할로겐인 1가 음이온이며;

상기 n은 0 내지 1의 정수인 나프탈이미드-벤조사이아졸 화합물.

청구항 3

제 1항에 있어서,

상기 화학식 1에서

상기 L은 페닐렌, 나프탈렌, 비페닐렌 또는 안트라세닐렌에서 선택되고;

상기 R_1은 C7-C10아릴알킬이고;

상기 R_2는 C1-C6알킬이며;

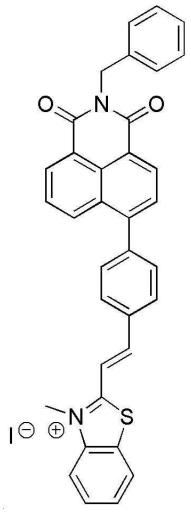
상기 n은 0의 정수인 나프탈이미드-벤조사이아졸 화합물.

청구항 4

제 1항에 있어서,

상기 화학식 1은 하기 화학식 2로 표시되는 나프탈이미드-벤조사이아졸 화합물.

[화학식 2]



청구항 5

제 1항에 있어서,

상기 나프탈이미드-벤조사이아졸 화합물은 시아나이드 이온 및 트립토판 아미노산 검출용인, 나프탈이미드-벤조사이아졸 화합물.

청구항 6

제 1항의 나프탈이미드-벤조사이아졸 화합물을 포함하는, 시아나이드 이온 및 트립토판 아미노산의 검출용 조성물.

청구항 7

제 1항의 나프탈이미드-벤조사이아졸 화합물 또는 제 6항의 시아나이드 이온 및 트립토판 아미노산의 검출용 조성물과 분석 시료를 접촉시키는 단계; 및

상기 화합물 또는 상기 조성물의 광학적 변화를 확인하는 단계;

를 포함하는, 시아나이드 이온 및 트립토판 아미노산의 검출 방법.

청구항 8

제 7항에 있어서,

상기 광학적 변화의 확인은 상기 화합물의 색 변화, 흡광도 및 형광 강도 변화 중 적어도 하나를 통해 확인하는

것인, 검출 방법.

청구항 9

제 7항에 있어서,

상기 분석 시료는 수계 분석 시료인, 검출 방법.

청구항 10

제 1항의 나프탈이미드-벤조사이아졸 화합물을 포함하는, 알지네이트 비드.

청구항 11

제 10항에 있어서,

알지네이트 비드는 수계 상에 잔류하는 시아나이드 이온 및 트립토판 아미노산의 검출용 알지네이트 비드.

청구항 12

제 1항의 나프탈이미드-벤조사이아졸 화합물을 포함하여 수계 상에 잔류하는 시아나이드 이온 및 트립토판 아미노산의 검출용 알지네이트 비드를 제조하는 단계;

상기 알지네이트 비드에 분석 시료를 접촉시키는 단계; 및

광학적 변화를 확인하는 단계;

를 포함하는 시아나이드 이온 및 트립토판 아미노산의 검출 방법.

청구항 13

제 12항에 있어서,

상기 광학적 변화의 확인은 상기 화합물의 색 변화, 흡광도 및 형광 강도 변화 중 적어도 하나를 통해 확인하는 것인, 검출 방법.

청구항 14

제 13항에 있어서,

상기 분석 시료는 수용성 분석 시료인, 검출 방법.

청구항 15

제 1항의 나프탈이미드-벤조사이아졸 화합물을 포함하는, 시아나이드 이온 및 트립토판 아미노산의 검출용 화학센서.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 신규한 나프날이미드-벤조사이아졸 화합물, 이를 포함하는 시아나이드 이온 및 트립토판 아미노산의 검출용 조성물 및 이를 이용한 시아나이드 이온 및 트립토판 아미노산의 검출 방법에 관한 것이다. 또한, 본 발명은 상기 나프탈이미드-벤조사이아졸 화합물을 포함하는 시아나이드 이온 및 트립토판 아미노산의 검출용 알지네이트 비드, 이를 이용한 시아나이드 이온 및 트립토판 아미노산의 검출용 알지네이트 비드를 이용한 시아나이드 이온 및 트립토판 아미노산의 검출 방법에 관한 것이다. 또한 본 발명은 상기 나프탈이미드-벤조사이아졸 화합물, 시아나이드 이온 및 트립토판 아미노산의 검출용 조성물, 또는 시아나이드 이온 및 트립토판 아미노산의 검출용 알지네이트 비드를 포함하는, 시아나이드 이온 및 트립토판 아미노산의 검출용 화학센서에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 음이온은 화학적, 생물학적, 환경적 또는 산업적인 공정과 같이 여러 분야에서 중요한 역할은 한다. 시아닌은 좀더 유용한 음이온으로써, 금광업 및 추출, 전기 도금, 합성 섬유, 금속공학, 수지 산업 및 제초제와 같이 많

은 분야에서 광범위하게 사용되고 있다. 또한 시안화물은 화학작용제(화학무기), 심지어 테러를 위한 물질로서 사용되어왔다. 게다가, 시안화물은 독성이 높고, 인체에 매우 해로우며 체중의 0.5 내지 3.5mg/kg 으로 농축되었을 때 인간에게 매우 치명적인 물질이다. 시안화물은 위장기관, 피부 또는 폐를 통해 인체 내에 흡수되면, 사이토크롬 c(cytochrome c)의 활성부위에 있는 헴(heme) 단위에 결합하여 생명체의 세포 호흡을 억제한다. 세계보건기구(WHO)에 따르면, 음용수 안에서 시안화물의 최대 허용치는 1.9μM 에 불과하다. 따라서, 시아나이드 이온(CN^-)을 선택적이고 고감도로 검출하는 것은 환경 보호, 식품 분석뿐 아니라 대테러 방지를 위해도 매우 중요하다.

[0003] 시안화물을 검출하기 위해 전압전류법, 적정법, 크로마토그래피법, 전위차 및 전기화학적 방법 등 많은 분석 기술이 제안되고 있다. 그러나, 이러한 검출방법들은 복잡하고 실시간 및 현장 감지용으로는 시간이 많이 걸릴 뿐 아니라 고가의 장비가 필요하고 검출에도 한계를 가지고 있다. 그리하여, 보다 고감도로 선택적이고, 저비용이며, 간단한 검출방법이 절실히 요구된다. 반면에, 저분자 화학프로브를 사용한 광학적 방법은 육안으로 시각적 감지가 가능할 뿐아니라 간단하고 고감도와 저비용으로 검출이 가능하기 때문에 광범위하게 이용되고 있다. 이와 같이 프로브를 사용하는 것과 같은 시안화물을 검출하는 접근법은 친핵성 첨가, 수소 결합 상호작용, 시안화착물 형성/첨가, 초분자 자기조립, 전자-부족 알켄 및 기타 여러 가지가 있다. 그 중에서도 가장 널리 연구되고 있는 시안화물의 화학정량계(chemodosimeter)를 위한 반응경로는 전자-부족의 탄소-탄소 이중결합, 탄소-헤테로원자 및 복소환 유도체들에게 친핵성 시안화물을 첨가하는 것이다. 그러나 수계에서 용해도가 낮고, 반응시간이 길며, 다른 경쟁 음이온들에 비해 선택성이 낮아 용도면에서 제한이 있었다.

[0004] 한편, 아미노산은 다양한 기능기의 측쇄를 가진 저분자 물질로 단백질의 구성단위를 형성한다. 단백질 내의 아미노산 서열은 생화학적 과정에서 달라진다. 히스티딘(histidine)은 동물의 성장, 생합성 밑 식불 발달에 관여하는 필수 아미노산이다. 트립토판(tryptophan)의 결핍은 간 손상, 근육 손실, 성장지연, 시력저하, 모발탈색, 지방감소, 구강건조, 부종 및 혼수상태를 야기할 수 있다. 아미노산을 인식하는 많은 기술들이 있을지라도, 반-수계 또는 수계에서 작동할 수 있는 형광 및/또는 비색계 화학센서와 같은 간단하고 휴대용이 가능한 실시간 검출방법은 여전히 요구되고 있는 실정하다.

[0005] 이에, 상기와 같은 사항을 염두에 두고 본 발명은 나프탈이미드-벤조사이아졸화합물과 이의 새로운 반응 기반을 통한 비색 및 형광 센서를 완성하였다.

선행기술문헌

특허문헌

[0006] (특허문헌 0001) 대한민국 공개특허공보 제2017-0090408호

비특허문헌

[0007] (비특허문헌 0001) Y. Fu, H. Nie, R. Zhang, F. Xin, Y. Tian, J. Jing and X. Zhang, RSC Adv., 2018, 8, 1826

발명의 내용

해결하려는 과제

[0008] 본 발명의 목적은 신규한 나프탈이미드-벤조사이아졸 화합물을 제공하는 것이다.

[0009] 또한 본 발명의 목적은 상기 나프탈이미드-벤조사이아졸 화합물을 포함하는 시아나이드 이온 및 트립토판 아미노산의 검출용 조성물을 제공하는 것이다.

[0010] 또한 본 발명의 목적은 상기 나프탈이미드-벤조사이아졸 화합물 또는 시아나이드 이온 및 트립토판 아미노산의 검출용 조성물을 이용한 시아나이드 이온 및 트립토판 아미노산의 검출 방법을 제공하는 것이다.

[0011] 또한 본 발명의 목적은 상기 나프탈이미드-벤조사이아졸 화합물 또는 시아나이드 이온 및 트립토판 아미노산의 검출용 알지네이트 비드를 제공하는 것이다.

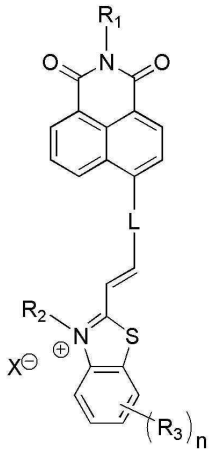
[0012] 또한 본 발명의 목적은 상기 시아나이드 이온 및 트립토판 아미노산의 검출용 알지네이트 비드를 이용한 시아나이드 이온 및 트립토판 아미노산의 검출 방법을 제공하는 것이다.

[0013] 또한 본 발명의 목적은 상기 나프탈이미드-벤조사이아졸 화합물, 시아나이드 이온 및 트립토판 아미노산의 검출용 조성물, 또는 시아나이드 이온 및 트립토판 아미노산의 검출용 알지네이트 비드를 포함하는, 시아나이드 이온 및 트립토판 아미노산의 검출용 화학센서를 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0014] 상술된 목적을 위하여, 화학식 1의 나프탈이미드-벤조사이아졸 화합물이 제공된다.

[0015] [화학식 1]

[0016] 

[0017] (상기 화학식 1에서,

[0018] L은 C6-C20아릴렌이고;

[0019] R_1 및 R_2는 각각 독립적으로 C1-C20알킬, C3-C20사이클로알킬, 할로C1-C20알킬, C2-C20알케닐, C2-C20알키닐, C6-C20아릴 또는 C7-C40아릴알킬이고;

[0020] R_3는 독립적으로 C1-C20알킬, C1-C20알콕시 및 할로겐이며;

[0021] X는 1가 음이온이고,

[0022] n은 0 내지 4의 정수이고,

[0023] 상기 R_1 및 R_2의 아릴 및 아릴알킬은 치환 또는 비치환된 C1-C10알킬이 하나 이상으로 더 치환될 수 있다.)

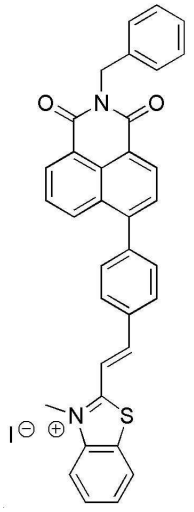
[0024] 본 발명의 일 실시예에 따른 상기 화학식 1의 화합물은, 상기 L은 C6-C20아릴렌이고; R_1은 C7-C20아릴알킬이고; R_2는 C1-C20알킬이며; R_3는 C1-C10알킬, C1-C10알콕시 및 할로겐이고; X는 할로겐인 1가 음이온이며;

[0025] n은 0 내지 1의 정수인 것일 수 있다.

[0026] 본 발명의 실시예에 따른 상기 화학식 1의 화합물은, 상기 L은 페닐렌, 나프탈렌, 비페닐렌 또는 안트라세닐렌에서 선택되고; R_1은 C7-C10아릴알킬이고; R_2는 C1-C6알킬이며; n은 0의 정수인 것일 수 있다.

[0027] 본 발명의 일 실시예에 따른 상기 화학식 1의 화합물은, 하기 화학식 2로 표시될 수 있다.

[0028] [화학식 2]



[0029]

[0030] 본 발명의 일 실시예에 따른 상기 화학식 1의 화합물은, 시아나이드 이온 및 트립토판 아미노산의 검출용일 수 있다.

[0031] 또한 본 발명은 상기 화학식 1의 나프탈이미드-벤조사이아졸 화합물을 포함하는 시아나이드 이온 및 트립토판 아미노산의 검출용 조성물을 제공한다.

[0032] 또한 본 발명은 상기 화학식 1의 나프탈이미드-벤조사이아졸 화합물 또는 상기 시아나이드 이온 및 트립토판 아미노산의 검출용 조성물과 분석 시료를 접촉시키는 단계; 및 상기 화합물 또는 상기 조성물의 광학적 변화를 확인하는 단계;를 포함하는, 시아나이드 이온 및 트립토판 아미노산의 검출 방법을 제공한다.

[0033] 본 발명의 일 실시예에 따른 상기 시아나이드 이온 및 트립토판 아미노산의 검출 방법에 있어서, 상기 광학적 변화의 확인 상기 화합물의 색 변화, 흡광도 및 형광 강도 병화 중 적어도 하나를 통해 확인하는 것일 수 있다.

[0034] 본 발명의 일 실시예에 따른 상기 시아나이드 이온 및 트립토판 아미노산의 검출 방법에 있어서, 상기 분석 시료는 수계 분석 시료일 수 있다.

[0035] 또한 본 발명은 상기 화학식 1의 나프탈이미드-벤조사이아졸 화합물을 포함하는 알지네이트 비드를 제공한다.

[0036] 본 발명의 일 실시예에 따른 알지네이트 비드는 수계 상에 잔류하는 시아나이드 이온 및 트립토판 아미노산의 검출용 알지네이트 비드일 수 있다.

[0037] 또한 본 발명은 상기 화학식 1의 나프탈이미드-벤조사이아졸 화합물을 포함하는 시아나이드 이온 및 트립토판 아미노산의 검출용 알지네이트 비드를 제조하는 단계; 상기 알지네이트 비드에 분석 시료를 접촉시키는 단계; 및 광학적 변화를 확인하는 단계;를 포함하는, 시아나이드 이온 및 트립타민 아미노산의 검출방법을 제공한다.

[0038] 본 발명의 일 실시예에 따른 상기 시아나이드 이온 및 트립타민 아미노산의 검출 방법에 있어서, 상기 광학적 변화의 확인은 상기 화합물의 색 변화, 흡광도 및 형광 강도 변화 중 적어도 하나를 통해 확인하는 것일 수 있다.

[0039] 본 발명의 일 실시예에 따른 상기 시아나이드 이온 및 트립타민 아미노산의 검출 방법에 있어서, 상기 분석 시료는 수계 분석 시료일 수 있다.

[0040] 또한 본 발명은 상기 화학식 1의 나프탈이미드-벤조사이아졸 화합물을 포함하는 시아나이드 이온 및 트립타민 아미노산의 검출용 화학센서를 제공한다.

발명의 효과

[0041] 본 발명에 따른 나프탈이미드-벤조사이아졸 화합물은 신규한 화합물로, 수성 매질 내 시아나이드 이온(CN^-) 및 트립토판 아미노산에 대하여 높은 선택성을 가질 뿐만 아니라, 극미량의 시아나이드 이온(CN^-) 및 트립토판 아미노산 농도에도 불구하고 비색 또는 형광 변화를 확인 할 수 있으므로, 육안, 또는 형광으로 시아나이드 이온(CN^-

) 및 트립토판 아미노산의 유무를 용이하게 검출할 수 있다.

[0042] 또한, 본 발명에 따른 나프탈이미드-벤조사이아졸 화합물은 물에 대한 용해도가 우수하며, 친환경적이고, 환경 및 바이오 분양의 적용에 유리하다.

[0043] 또한, 본 발명에 따른 나프탈이미드-벤조사이아졸 화합물은 비드에 적용가능하며, 상기 화합물을 포함하는 검출용 알지네이트 비드를 제조할 수 있다. 상기 제조된 알지네이트 비드는 보관 및 이동이 용이할 뿐 아니라 휴대가 간편하며, 시아나이드 이온(CN^-) 및 트립토판 아미노산에 대해 고감도 및 높은 선택성을 나타내기 때문에 다양한 장소에서 언제든지 시아나이드 이온(CN^-) 및 트립토판 아미노산을 선택적으로 검출 및 감지할 수 있다.

[0044] 또한, 본 발명에 따른 나프탈이미드-벤조사이아졸 화합물을 포함하는 화학센서를 이용하면, 시아나이드 이온 및 트립토판 아미노산의 존재 여부를 육안으로도 확인할 수 있어 별도의 장비 없이도 보다 빠르고 간편하게 비색 또는 형광 신호를 확인함으로써 수성매질에서 시아나이드 이온 및 트립토판 아미노산을 검출할 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0045] 도 1은 다양한 음이온에 대하여 수용체 NPT (50 μM)의 수용액 내 시아나이드 이온(CN-)에 대한 선택적 검출을 나타내는 흡수 스펙트럼(안쪽: 육안으로 색 변화를 관찰한 결과)이다.

도 2는 다양한 음이온에 대하여 수용체 NPT (50 μM)의 수용액 내 시아나이드 이온(CN^-)에 대한 선택적 검출을 나타내는 형광 스펙트럼(안쪽: UV램프(λex = 365nm)를 조사하여 형광 변화를 관찰한 결과)이다.

도 3은 다양한 농도(0-1.6 eqv.)의 시아나이드 이온(CN^-)에 대한 수용체 NPT (50 μM)의 UV-vis 흡수 스펙트럼 변화를 도시한 도면(안쪽: 시아나이드 이온 적정에 따른 394nm에서의 흡광도 세기 변화를 나타낸 그래프)이다.

도 4은 다양한 농도(0-1.6 eqv.)의 시아나이드 이온(CN^-)에 대한 수용체 NPT (50 μM)의 형광 스펙트럼 변화를 도시한 도면(안쪽: 시아나이드 이온 적정에 따른 520nm에서의 형광 세기 변화를 나타낸 그래프)이다.

도 5는 시아나이드 이온(CN^-)의 몰분율에 대해 λ_{max} 520 nm에서의 발광하는 형광 스펙트럼으로부터 얻어진 Job's 플롯(Job's plot)을 나타낸 그래프이다.

도 6는 다양한 아미노산에 대하여 수용체 NPT (50 μM)의 수용액 내 트립토판(tryptophan)에 대한 선택적 검출을 나타내는 흡수 스펙트럼(안쪽: 육안으로 색 변화를 관찰한 결과이고, 1: NPT, 2: L-tryptophan, 3: L-glycine, 4: L-alanine, 5: L-cysteine, 6: L-glutamine, 7: L-histidine, 8: L-leucine, 9: L-lysine, 10: L-methionine, 11: L-proline, 12: L-serine, 13: L-threo- nine, 14: L-tyrosine, 15: L-asparagine)이다.

도 7은 다양한 아미노산에 대하여 수용체 NPT (50 μM)의 수용액 내 트립토판(tryptophan)에 대한 선택적 검출을 나타내는 형광 스펙트럼(안쪽: UV램프(λex = 365nm)를 조사하여 형광 변화를 관찰한 결과이고, 1: NPT, 2: L-tryptophan, 3: L-glycine, 4: L-alanine, 5: L-cysteine, 6: L-glutamine, 7: L-histidine, 8: L-leucine, 9: L-lysine, 10: L-methionine, 11: L-proline, 12: L-serine, 13: L-threo- nine, 14: L-tyrosine, 15: L-asparagine)이다.

도 8은 다양한 농도(0-1.1 eqv.)의 트립토판(tryptophan)에 대한 수용체 NPT (50 μM)의 UV-vis 흡수 스펙트럼 변화를 도시한 도면(안쪽: 트립토판(tryptophan) 적정에 따른 394nm에서의 흡광도 세기 변화를 나타낸 그래프)이다.

도 9는 다양한 농도(0-1.1 eqv.)의 트립토판(tryptophan)에 대한 수용체 NPT (50 μM)의 형광 스펙트럼 변화를 도시한 도면(안쪽: 트립토판(tryptophan) 적정에 따른 520nm 및 444nm에서의 형광 세기 변화를 나타낸 그래프)이다.

도 10은 실시예 5의 에탄올 수용액(EtOH:H_2O = 1:1, v/v) 내 수용체 NPT와 시아나이드 이온(CN^-) 및 트립토판 아미노산이 존재할 때의 결합된 NPT를 질량 분석한 MALDI-TOF 질량 스펙트럼이다.

도 11는 다양한 천연 아미노산들 안에서 수용체 NPT의 트립토판(tryptophan)의 선택성을 나타내는 그래프(형

광)이다.

도 12은 NPT비드를 시아나이드(CN^-)/트립토판(tryptophan) 수용액에 담근 후 NPT 비드의 색변화를 나타낸 사진이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0046] 이하, 본 발명에 대하여 보다 구체적으로 설명한다. 이 때 사용되는 기술 용어 및 과학 용어에 있어서 다른 정의가 없다면, 이 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자가 통상적으로 이해하고 있는 의미를 가지며, 하기의 설명에서 본 발명의 요지를 불필요하게 흐릴 수 있는 공지 기능 및 구성에 대한 설명은 생략한다.

[0047] 본 명세서에서의 용어, "알킬"은 직쇄 또는 분쇄형태의 탄화수소로부터 유도된 기능기를 의미한다. 또한, 본 발명에 따른 알킬 및 알킬을 포함하는 치환체는 탄소수 1 내지 7의 단쇄인 것이 우선되며, 좋게는 메틸, 에틸, 프로필 및 부틸 등에서 선택되는 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0048] 본 발명에서의 용어, "아릴" 또는 "아릴렌"는 단일환 또는 복소환의 방향족을 의미하며, 예컨대, 아릴은 페닐기, 비페닐기, 플루오렌기, 스파이로플루오렌기일 수 있다.

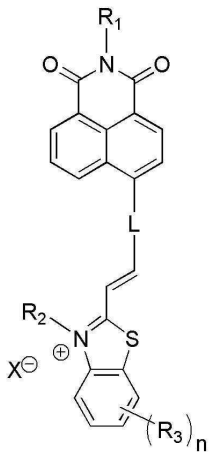
[0049] 또한 본 명세서에서의 용어, "알케닐"은 이중결합을 하나 이상 포함하는 직쇄 또는 분쇄형태의 탄화수소로부터 유도된 기능기를 의미하며, "알키닐"은 삼중결합을 하나 이상 포함하는 직쇄 또는 분쇄형태의 탄화수소로부터 유도된 기능기를 의미한다.

[0050] 본 발명은 신규한 나프탈이미드-벤조사이아졸 화합물 및 이를 포함하는 시아나이드 이온 및 트립토판 아미노산의 검출용 화학센서에 관한 것으로, 상기 나프탈이미드-벤조사이아졸 화합물을 이용하여 수용액 내 존재하는 유해 시아나이드 이온 및 트립토판 아미노산을 고선택적으로 검출하고자 한다.

[0051] 이하, 본 발명의 나트탈이미드-벤조사이아졸 화합물 및 이의 응용을 구체적으로 설명한다.

[0052] 본 발명에 따른 신규한 나프탈이미드-벤조사이아졸 화합물은, 하기 화학식 1로 표시되는 화합물일 수 있다.

[0053] [화학식 1]

[0054] 

[0055] (상기 화학식 1에서,

[0056] L은 C6-C20아릴렌이고;

[0057] R_1 및 R_2는 각각 독립적으로 C1-C20알킬, C3-C20사이클로알킬, 할로C1-C20알킬, C2-C20알케닐, C2-C20알키닐, C6-C20아릴 또는 C7-C40아릴알킬이고;

[0058] R_3는 독립적으로 C1-C20알킬, C1-C20알콕시 및 할로겐이며;

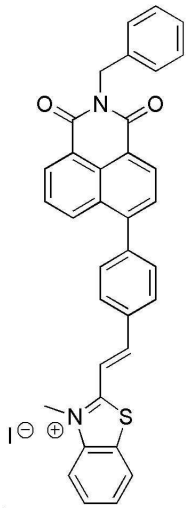
[0059] X는 1가 음이온이고,

[0060] n은 0 내지 4의 정수이고,

[0061] 상기 R_1 및 R_2의 아릴 및 아릴알킬은 치환 또는 비치환된 C1-C10알킬이 하나 이상으로 더 치환될 수 있다.)

[0062] 보다 바람직하게, 상기 화학식 1의 나프탈이미드-벤조사이아졸 화합물은 하기 화학식 2로 표시되는 나프탈이미드-벤조사이아졸 화합물일 수 있으나 이에 한정되는 것은 아니다.

[0063] [화학식 2]



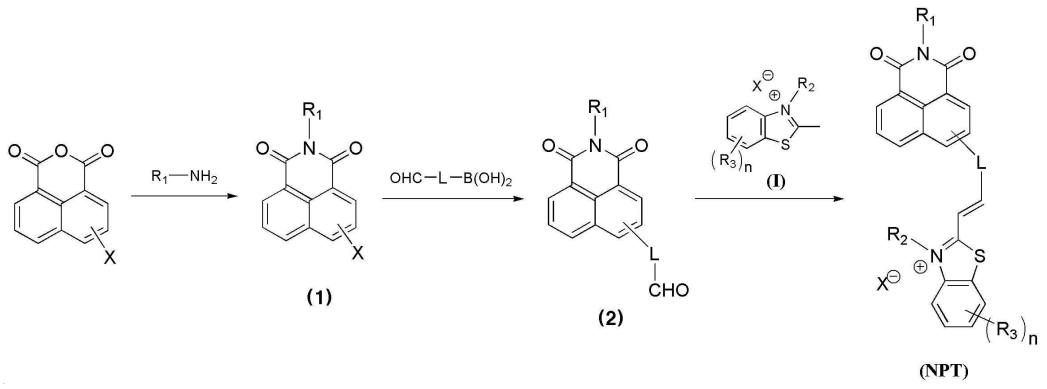
[0064]

[0065] 상기 화학식 1의 나프탈이미드-벤조사이아졸 화합물은 시아나이드 이온 및 트립토판 아미노산에 대한 고감도 및 높은 선택성을 갖는 신규한 혼합물이며, 시아나이드 이온 및 트립토판 아미노산과 접촉 시 친핵성 첨가반응하여 해당 이온을 선택적으로 감지할 수 있는 신규한 발색체이다.

[0066] 시아나이드 이온 및 트립토판 아미노산을 겸출하는데 있어, 상기 화학식 1의 나프탈이미드-벤조사이아졸 화합물 분석 시료 내 전자가 풍부한 화학종인 시아나이드 이온 및 트립토판 아미노산이 이중결합으로 연결된 도너-억셉터 구조의 나프탈이미드-벤조사이아졸과 친핵성 첨가반응하여 벤조사이아졸 부분의 내부전자전이(ICT)에 변화를 주어 광학적 색변화가 나타날 수 있다.

[0067] 상기 화학식 1의 나프탈이미드-벤조사이아졸 화합물은 하기 반응식 1에 도시된 바와 같이, 나프탈이미드 유도체(2)와 벤조사이아졸 화합물(I)을 반응시켜 제조될 수 있다. 상기 나프탈이미드 유도체(2)는 1,8-naphtahlic anhydride로부터 2단계로 반응시켜 제조될 수 있으며, 벤조사이아졸 화합물(I)은 N-알킬레이션하여 염 형태로 제조될 수 있다. 더 자세한 내용은 하기 실시예 1에서 설명된다. 그러나 본 발명의 나프탈이미드-벤조사이아졸 화합물의 제조방법이 하기 반응식 1에 한정하는 것을 아니고, 공지의 유기 반응을 이용하여 다양한 방법으로 합성할 수 있음은 물론이다.

[0068] [반응식 1]



[0069]

[0070] (상기 반응식 1에서, L1, R1 내지 R3, X, n은 화학식 1에서 정의한 바와 동일하다.)

[0071] 본 발명은 상기 화학식 1의 나트탈이미드-벤조사이아졸 화합물을 포함하는 시아나이드 이온 및 트립토판 아미노산의 검출용 조성물을 제공한다.

[0072] 일 실시예에 따라, 상기 조성물은 상기 화학식 1의 나프탈이미드-벤조사이아졸 화합물 및 용매를 포함하는 조성물일 수 있다.

[0073] 상기 용매는, 상기 화합무을 용해할 수 있는 용매라면, 제한없이 사용할 수 있고, 예를 들어, 메탄올(MeOH), 에탄올(EtOH), 이소프로판올, n-프로판올, n-부탄올, tert-부탄올, 벤젠, 톨루엔, 자일렌, 디에틸에테르, 디이소프로필에테르, 테트라하이드로퓨란(THF), 에틸렌글리콜모노메틸에테르, 에틸렌글리콜메틸에테르, 아세톤, 트리클로로에틸렌, 1,2-디클로로에탄, 테트라클로로메탄, 클로로포름, 디클로로메탄(DCM), 아세트아미드, 디메틸아세트아미드, N-메틸피롤리돈(NMP), 디메틸포름아미드(DMf0, 디메틸설폭사이드(DMSO), 물(H_2O), 에틸아세테이트(EA) 등일 수 있다.

[0074] 바람직하게는, 디클로로메탄(DCM), 클로로포름, 디메틸포름아미드(을), 디메틸석폭사이드(DMSO), 에틸아세테이트, 물(H_2O), 아세토나이트릴, 메탄올(MeOH), 에탄올(EtOH) 및 테트라하이드로퓨란(THF)에서 선택되는 하나 이상의 용매일 수 있다. 더 바람직하게는, 물(H_2O)일 수 있다. 상기 용매로 물을 사용할 경우에는 유기용매에 의한 독성을 낮출 수 있고, 세포 등과 같은 바이오 및 환경 분야의 적용에 유리할 수 있다.

[0075] 본 발명은 상기 화학식 1의 나프탈이미드-벤조사이아졸 화합물 또는 시아나이드 이온 및 트립토판 아미노산의 검출용 조성물을 이용한 시아나이드 이온 및 트립토판 아미노산의 검출 방법을 제공한다.

[0076] 보다 구체적으로, 상기 검출 방법은 상기 화학시 1의 나프탈이미드-벤조사이아졸 화합물 또는 시아나이드 이온 및 트립토판 아미노산의 검출용 조성물과 분석 시료를 접촉시키는 단계; 및 상기 화합물 또는 상기 조성물의 광학적 변화를 확인하는 단계;를 포함할 수 있다.

[0077] 상기 분석 시료는 수계 분석 시료 일 수 있으며, 상기 화합물 또는 상기 조성물에 분석 시료를 접촉시킴에 따라 분석 시료 내에 시안화물 및 트립토판 아미노산이 존재하는 경우에 상기 화합물과 시아나이드 이온 및 트립토판 아미노산이 축합반응하여 시아나이드-NPT복합체 및 트립토판-NPT복합체를 형성할 수 있다.

[0078] 상기 광학적 색 변화는 상기 화합물 또는 상기 조성물에서 시아나이드-NPT복합체 및 트립토판-NPT복합체의 형성 시 발생하는 광학적 변화로, 상기 화합물 또는 상기 조성물의 색 변화, 흡광도 변화 및 발광 세기 변화 중 적어도 하나를 통패 확인할 수 있다. 보다 구체적으로, 상기 화합물 또는 상기 조성물의 색 변화를 육안으로 관찰하여 시안화물의 존재를 확인하거나 또는 UV-Vis분광기 등을 이용하여 흡수특성 및 형광특성의 변화를 관찰하여 시아나이드 이온 및 트립토판 아미노산의 정성 및 정량 분석을 할 수 있다.

[0079] 예를 들어, 분석 시료 내에 시아나이드 이온 및 트립토판 아미노산이 존재할 경우에, 상기 화합물 또는 상기 조성물의 색상은, 연노랑색에서 분홍색으로 변화되므로, 시아나이드 이온 및 트립토판 아미노산의 존재를 육안으로 감지할 수 있고, UV-Vis 분광기의 흡광도 측정에서는 둘 다 394 nm 역역의 흡광도의 세기가 감소한다. 또한, 여기광에 의해 둘 다 파랑색 형광으로 발광하고 520 nm 영역의 발광세기가 감소되며, 특히 트립토판 아미노산의 경우 520 nm 영역의 감소와 더불어 444 nm영역에서 발광 피크가 생성됨을 확인할 수 있다. 또한, 시아나이드 이온 및 트립토판 아미노산의 농도에 따라 본 발명에 따른 화합물의 흡광도 및 발광 피크의 변화를 데이터화하여 시아나이드 이온 및 트립토판 아미노산의 정량 및 정성 분석에 이용할 수 있다.

[0080] 본 발명은 상기 화학식 1의 나프탈이미드-벤조사이아졸 화합물을 포함하는 시아나이드 이온 및 트립토판 아미노산의 검출용 알지네이트 비드를 제공한다.

[0081] 상기 화학식 1의 나프탈이미드-벤조사이아졸 화합물 및 이의 조성물을 이용하여 시아나이드 이온 및 트립토판 아미노산의 검출 또는 제거 용도인 알지네이트 비드를 제조할 수 있다.

[0082] 본 발명은 상기 화학식 1의 나프탈이미드-벤조사이아졸 화합물을 포함하는 시아나이드 이온 및 트립토판 아미노산의 검출 또는 제거 용도인 알지네이트 비드를 이용한 시아나이드 이온 및 트립토판 아미노산의 검출 방법을 제공한다.

[0083] 보다 구체적으로, 상기 검출 방법은 상기 화학식 1의 나프탈이미드-벤조사이아졸 화합물을 포함하는 시아나이드 이온 및 트립타민 아미노산의 검출 또는 제거 용도인 알지네이트 비드를 제조하는 단계; 상기 알지네이트 비드에 분석 시료를 접촉시키는 단계; 및 광학적 변화를 확인하는 단계;를 포함할 수 있다.

[0084] 일 예에 있어, 상기 화학식 1의 나프탈이미드-벤조사이아졸 화합물을 포함하는 검출 또는 제거 용도인 알지네이트 비드는 연노랑색 및 무형광이나. 시아나이드 이온 및 트립토판 아미노산을 포함하는 분석 시료와 접촉 시 시아나이드 이온 및 트립토판 아미노산을 감지하는 순간 뚜렷한 색 변화, 흡광도 또는 형광 강도 변화를 나타낼 수 있다. 따라서, 상기 제조된 검출용 시약은 휴대가 간편하며 시아나이드 이온 및 트립토판 아미노산에 대하여 고감도 및 고선택성을 나타내어 장소와 시간에 상관없이 시아나이드 이온 및 트립토판 아미노산을 선택적으로

검출 및 감지 할 수 있다.

[0085] 상기 분석 시료는 수계 분석 시료일 수 있으며, 상기 검출용 시약에 분석 시료를 접촉시킴에 따라 분석 시료 내에 시안화물 및 트립토판 아미노산이 존재하는 경우에 상기 검출용 시약의 알지네이트 비드에 포함되어 있는 화학식 1의 나프탈이미드-벤조사이아졸 화합물이 반응하여 시아나이드-NPT복합체 및 트립토판-NPT복합체를 형성할 수 있다.

[0086] 상기 광학적 변화는 상기 검출용 시약에서 시아나이드-NPT복합체 및 트립토판-NPT복합체의 형성 시 발생하는 광학적 변화로, 상기 검출용 시약의 알지네이트 비드의 색 변화, 흡광도 및 형광 강도 변화 중 적어도 하나를 통해 확인할 수 있다. 보다 구체적으로, 상기 검출용 시약의 알지네이트 비드에 나타나는 색 변화를 육안으로 관찰하여 시아나이드 이온 및 트립토판 아미노산의 존재를 확인하거나 또는 UV-Vis 분광기 등을 이용하여 흡광도 및 형광 변화를 관찰하여 시아나이드 이온 및 트립토판 아미노산의 정성 및 정량 분석을 할 수 있다.

[0087] 본 발명은 상기 화학식 1의 나프탈이미드-벤조사이아졸 화합물, 상기 시아나이드 및 트립토판 아미노산의 검출용 조성물, 또는 상기 시아나이드 이온 및 트립토판 아미노산의 검출 또는 제거 용도인 알지네이트 비드를 포함하는 시아나이드 이온 및 트립토판 아미노산의 검출용 화학센서를 제공한다.

[0088] 일 예에 있어, 상기 화학센서는 환경, 식품, 의약 및 바이오 분야에서 유해한 성분으로 알려진 시아나이드 이온과 필수 아미노산 중 하나인 트립토판 아미노산을 높은 선택성과 고감도로 신속하고 정확하게 검출하는 화학센서일 수 있다.

[0089] 상기 나프탈이미드-벤조사이자졸 화합물 및 이를 포함하는 시아나이드 이온 및 트립토판 아미노산 검출용 조성물은, 파우더, 겔, 에멀젼, 또는 액상, 또는 성형품으로 적용되거나, 또는 분석칩, 전기화로, 섬유, 펄프, 고분자 필름, 유리기판, 등과 같은 지지체 상에 코팅 또는 함침되어 상기 화학센서에 적용할 수 있다.

[0090] 상기 화학센서는 상기 나프탈이미드-벤조사이아졸 화합물, 상기 조성물 또는 상기 알지네이트를 포함하는 검출용 시약의 색변화를 육안으로, 또는 전기적, 또는 광학적으로 감지 및 특정하여 정성 및/또는 정량 분석할 수 있다.

[0091] 상기 화학센서는 시아나이드 이온 및 트립토판 아미노산 검출용 키트 형태일 수 있으며, 상기 키트는 흡광도, 형광 강도 측정기 등을 더 포함할 수 있으며, 상기 측정기는 키트와 일체화되거나 또는 별도로 구성될 수 있다.

[0092] 이하 본 발명의 실시예를 기재한다. 그러나 하기 실시예는 본 발명의 바람직한 일 실시예일뿐 본 발명이 하기 실시예에 한정되는 것은 아니다.

[0094] 모든 시약 및 용매는 분석용 등급으로, 추가의 정제없이 사용하였다. 생성물의 구조분석은 ^{1}H NMR 및 ^{13}C NMR(Bruker Avance 300 MHz 및 600 MHz 기기 (^{1}H NMR 300 및 600MHz, ^{13}C NMR 100 및 200 MHz), ESI-mass(4000 QTRAP Mass Spectrometer), UV-vis spectrometer(Agilent 8453 spectrophotometer), Fluorometer(RF-5301PC spectro- fluorophotometer), DFT calculations(Gaussian 09 program at the B3LYP level using 6-31G** basis set))을 이용하여 수행되었다.

[0096] **[실시예 1]**

[0097] 6-(2-스티릴-N-메틸벤조[d]사이아졸)-2-페닐메틸벤조[de]이소퀴놀린-1,3-디온 요오드 염(6-(2-styryl-N-methylbenzo[d]thiazole)-2-phenylmethylbenzo[de]isoquinoline-1,3-dione iodine salt(이하, '**수용체 NPT**'이라 함))의 제조

[0099] 단계 1: 중간체**1**(6-브로모-2-페닐메틸벤조[de]이소퀴놀린-1,3-디온)의 제조

[0100] 4-브로모-1,8-나프탈무수물(4-bromo-1,8-naphtahlic anhydride)(1.11g, 4.0mmol)과 벤질아민(0.22g, 4mmol)의 혼합물에 에탄올(EtOH)을 첨가한 뒤 8시간동안 교반환류하였다. 상기 반응물을 실온으로 냉각시키고, 생성된 침전물을 여과하고 에탄올로 수회 세척한 뒤 흰색 고체의 중간체**1**(1.07g, 73%)을 수득하였다.

[0101] ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 300 MHz), S (ppm): 5.29 (2H, s), 7.14-7.26 (3H, m), 7.46 (2H, d, *J* = 7.2 Hz), 7.75 (1H, t, *J* = 7.8 Hz), 7.94 (1H, d, *J* = 7.8 Hz), 8.34 (1H, d, *J* = 7.8 Hz), 8.47 (1H, d, *J* = 8.4 Hz), 8.58 (1H, d, *J* = 7.2 Hz).

[0102] ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 150 MHz), S (ppm): 43.6, 122.1, 122.9, 127.5, 128.0, 128.4, 128.9, 129.0, 130.3, 130.5, 131.0, 131.3, 132.2, 133.3, 137.0, 163.5.

[0103] 단계 2: 중간체 **2**(6-벤즈알데히드-2-페닐메틸벤조[de]이소퀴놀린-1,3-디온)의 합성

[0104] 중간체 **1**(0.73g, 2mmol)과 4-포르밀페닐붕소산(4-formylphenylboronic acid)(0.3g, 2mmol)의 혼합물에 테트라하이드로퓨란(THF)과 2M의 Na_2CO_3수용액을 3:1로 혼합하여첨가하였다. 상기 혼합용액에 Pd(PPh3)4(23mg, 0.02mmol)를 첨가한 뒤 반응 혼합물을 질소 분위기하에서 80℃로 밤새 교반환류하였다. 실온으로 냉각 후, 반응물을 디클로로메탄(DCM)으로 추출한 뒤 무수 Na_2SO_4상에서 건조시키고 용매를 감압증류 하여 제거하였다. 잔류물을 컬럼크로마토그래피(실리카겔, 헥산(Hexane):디클로로메탄(DCM) = 3:2, v/v)로 정제하여 백색 고체의 중간체 **2**(0.65g, 83%)를 수득하였다.

[0105] ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 600 MHz), δ (ppm): 5.35 (2H, s), 7.16-7.19 (1H, m), 7.23-7.25 (2H, m), 7.49 (2H, d, *J*=7.2 Hz), 7.61 (2H, d, *J*=7.8 Hz), 7.64-7.67 (2H, m), 8.00 (2H, d, *J*=8.4 Hz), 8.10 (1H, dd, *J*=1.2, 8.4 Hz), 8.59-8.62 (2H, m), 10.08 (1H, s).

[0106] ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 150 MHz), δ (ppm): 43.6, 122.4, 122.9, 127.3 127.5, 127.8, 128.4, 128.6, 128.9, 129.7, 129.9, 130.6, 130.9, 131.6, 132.0, 136.1, 137.1, 144.8, 145.2, 163.9, 164.1, 191.6.

[0107] 단계 3: **수용체 NPT**의 제조

[0108] 상기 2단계에서 제조한 중간체 **2**(0.39g, 1mmol) 및 벤조사이아졸 요오드화물(**I**)(0.29g, 1mmol)에 에탄올(EtOH)(20ml)을 넣고 혼합물에 촉매량의 피리딘(2-3방울)을 첨가한 뒤 12동안 교반환류하였다. 반응물을 실온으로 냉각한 후 고체를 여과하여 알코올로 수 회 세척한 뒤 추가 정제없이 갈색 고체의 **수용체 NPT**(0.38g, 57%)를 수득하였다.

[0109] ^{1}H NMR (DMSO-d_6, 600 MHz), δ (ppm): 4.43 (3H, s), 5.26 (2H, s), 7.24 (1H, t, *J*=7.2 Hz), 7.31 (2H, t, *J*=7.2 Hz), 7.38 (2H, d, *J*=7.2 Hz), 7.78 (2H, d, *J*=7.8 Hz), 7.82 (1H, t, *J*=7.2 Hz), 7.87-7.92 (3H, m), 8.20 (1H, d, *J*=15.6 Hz), 8.27 (1H, d, *J*=8.4 Hz), 8.30 (3H, d, *J*=7.8 Hz), 8.36 (1H, d, *J*=16.2 Hz), 8.48 (1H, d, *J*=8.4 Hz), 8.57 (2H, t, *J*=8.4 Hz);

[0110] ^{13}C NMR (DMSO-d_6, 150 MHz), δ(ppm): 36.6, 42.9, 114.8, 116.9, 121.4, 122.2, 124.2, 127.0, 127.4, 127.7, 127.8, 127.9, 128.1, 128.3, 128.5, 129.0, 129.4, 129.9, 130.5, 130.6, 131.0, 132.0, 134.1, 137.1, 141.5, 141.9, 144.9, 147.4, 163.1, 163.3, 171.6.

[0111] ESI-MS m/z: Calcd. for C35H25N2O2S $(M)^+$: 537.2, found: 537.5.

[0113] **[실시예 2] 시아나이드 이온에 대한 선택성 확인**

[0114] Cl^-, F^-, Br^-, CN^-, ClO_4^-, HS^-, I^-, N_3^-, NO_3^-, OH^-, $H_2PO_4^-$ and SCN^-와 같은 다양한 음이온에 대한 실시예 1의 수용체 NPT의 비색 또는 형광 선택성을 알아보기 위하여, 다음과 같이 실험을 수행하였다.

[0115] EtOH : H_2O (1 : 1, v/v)의 에탄올 수용액에 Cl^-, F^-, Br^-, CN^-, ClO_4^-, HS^-, I^-, N_3^-, NO_3^-, OH^-, $H_2PO_4^-$ and SCN^-를 포함한 다양한 음이온을 각각 50μM농도로 별개의 바이알에 투입하고, 상기 다양한 음이온이 들어있는 바이알에 실시예 1의 수용체 NPT를 1.0eq로 투입한 후 각 바이알 내 용액의 색 변화를 육안 및 UV램프(365nm)를 조사하여 확인하였다.

[0116] 도 1은 UV-vis 흡수 스펙트라로 CN-이온을 첨가한 경우의 흡수파장이 다르며, (안쪽)에 도시된 바와 같이, 시아나이드 이온(CN^-)이 존재하는 경우만 연노랑에서 분홍색으로 육안으로 색변화를 관찰하였고, 다른 음이온이 존재하는 경우에는 용액의 색이 변화하지 않았다.

[0117] 도 2는 형광 스펙트라로 CN-을 첨가한 경우의 발광파장이 다르며, (안쪽)에 도시된 바와 같이, UV램프(365nm)를 조사하였을 때 시아나이드 이온(CN^-)이 존재하는 경우만 연녹색에서 파랑색으로 형광이 변화하였고, 다른 음이온이 존재하는 경우에는 용액의 색이 변화하지 않았다.

[0118] 즉, 본 발명의 수용체 NPT(실시예1)은 시아나이드 이온(CN^-)에 대해 매우 선택적으로 반응함을 알 수 있었다.

[0120] **[실시예 3] 시아나이드 이온의 농도에 따른 UV-vis흡수 및 형광 스펙트럼 관찰**

[0121] 다양한 농도의 시아나이드 이온(CN-)에 따른 수용체 NPT의 UV-vis 흡수 및 형광 스펙트럼을 관찰하기 위하여, 다음과 같이 실험하였다.

[0122] EtOH : H_2O (1 : 1, v/v)의 에탄올 수용액에 수용체 NPT을 50μM 농도로 투입하고, 수용체 NPT 대비 시아나이드 이온(CN^-)을 0 내지 2.0 당량으로 투입하면서 시아나이드 이온(CN^-) 농도에 따른 용액 내 수용체 NPT의 UV-vis 흡수 스펙트라 및 형광 스펙트라 변화를 측정하였다. 그 결과를 도 3 및 도 4에 각각 도시하였다.

[0123] 도 3은 UV-vis 흡수 스펙트라로, 시아나이드 이온(CN^-)의 농도가 증가함에 따라 394nm에서 흡수 밴드의 세기가 감소하는 것을 확인할 수 있었다. 도 4는 형광 스펙트라로, 시아나이드 이온(CN^-)의 농도가 증가함에 따라 520 nm에서 발광 피크의 세기가 감소하는 것을 확인할 수 있었다.

[0124] 이와 같은 흡수 밴드 및 발광 피크의 세기 감소는, 도 3 및 4의 (안쪽)에 도시된 바와 같이, 시아나이드 이온(CN-)의 농도가 1.2당량보다 높을 때는 분광학적 변화가 관찰되지 않으며, 시아나이드 이온(CN^-)의 농도가 0 내지 1당량일 때 농도 변화에 따른 흡광도 및 형광의 세기 변화가 직선형으로 이루어지고 있음을 확인할 수 있었다.

[0125] 또한, 도 5에 도시한 바와 같이, 시아나이드 이온과 수용체 NPT와의 결합 형태에 대해 화학정량적으로 분석하면 수용체 NPT의 발광세기가 시아나이드 이온(CN^-)의 농도가 증가함에 따라 낮아지며, 시아나이드 이온(CN^-) 1당량이 첨가되고 난 후에는 형광세기가 일정하게 유지되고 있음을 확인하였다.

[0126] 즉, 상기 결과 및 즉, 도 10(오른쪽)에서도 확인할 수 있듯이, 수용체 NPT가 시아나이드 이온과 1 : 1로 결합하고 있음을 알 수 있었다.

[0128] **[실시예 4] 트립토판 아미노산에 대한 선택성 확인**

[0129] tryptophan (Trp), glycine (Gly), alanine (Ala), cysteine (Cys), glutamine (Gln), histidine (Hys), leucine (Leu), lysine (Lys), methionine (Met), proline (Pro), serine (Ser), threonine (Thr), tyrosine (Tyr) and asparagine (Asp)과 같은 다양한 아미노산에 대한 실시예 1의 수용체 NPT의 비색 또는 형광 선택성을 알아보기 위하여, 다음과 같이 실험을 수행하였다.

[0130] EtOH : H_2O (1 : 1, v/v)의 에탄올 수용액에 tryptophan (Trp), glycine (Gly), alanine (Ala), cysteine (Cys), glutamine (Gln), histidine (Hys), leucine (Leu), lysine (Lys), methionine (Met), proline (Pro), serine (Ser), threonine (Thr), tyrosine (Tyr) and asparagine (Asp)를 포함한 다양한 아미노산을 각각 50μM농도로 별개의 바이알에 투입하고, 상기 다양한 아미노산이 들어있는 바이알에 실시예 1의 수용체 NPT를 1.0eq로 투입한 후 각 바이알 내 용액의 색 변화를 육안 및 UV램프(365nm)를 조사하여 확인하였다.

[0131] 도 6은 UV-vis 흡수 스펙트라로 트립토판(tryptophan)을 첨가한 경우의 흡수파장이 다르며, (안쪽)에 도시된 바와 같이, 트립토판(tryptophan)이 존재하는 경우만 연노랑에서 분홍색으로 육안으로 색변화를 관찰하였고, 다른 아미노산이 존재하는 경우에는 용액의 색이 변화하지 않았다.

[0132] 도 7는 형광 스펙트라로 트립토판(tryptophan)을 첨가한 경우의 발광파장이 다르며, (안쪽)에 도시된 바와 같이, UV램프(365nm)를 조사하였을 때 트립토판(tryptophan)이 존재하는 경우만 연녹색에서 파랑색으로 형광이 변화하였고, 다른 아미노산이 존재하는 경우에는 용액의 색이 변화하지 않았다.

[0133] 즉, 본 발명의 수용체 NPT(실시예1)은 트립토판(tryptophan)에 대해 매우 선택적으로 반응함을 알 수 있었다.

[0135] **[실시예 5] 트립토판(tryptophan)의 농도에 따른 UV-vis 흡수 및 형광 스펙트럼 관찰**

[0136] 다양한 농도의 트립토판(tryptophan)에 따른 수용체 NPT의 UV-vis 흡수 및 형광 스펙트럼을 관찰하기 위하여, 다음과 같이 실험하였다.

[0137] EtOH : H_2O (1 : 1, v/v)의 에탄올 수용액에 수용체 NPT을 50μM 농도로 투입하고, 수용체 NPT 대비 트립토판(tryptophan)을 0 내지 1.1 당량으로 투입하면서 트립토판(tryptophan) 농도에 따른 용액 내 수용체 NPT의 UV-vis 흡수 스펙트라 및 형광 스펙트라 변화를 측정하였다. 그 결과를 도 8 및 도 9에 각각 도시하였다.

[0138] 도 8은 UV-vis 흡수 스펙트라로, 트립토판(tryptophan)의 농도가 증가함에 따라 394nm에서 흡수 밴드의 세기가 감소하고 355 nm로 청색이동 하는 것을 확인할 수 있었다. 도 9는 형광 스펙트라로, 트립토판(tryptophan)의 농도가 증가함에 따라 520 nm에서 발광 피크의 세기가 감소하고 444 nm에서 새로운 발광 피크가 생성되어 증가하는 것을 확인할 수 있었다.

[0139] 이와 같은 흡수 밴드 및 발광 피크의 세기 감소는, 도 8 및 9의 (안쪽)에 도시된 바와 같이, 트립토판(tryptophan)의 농도가 0 내지 1당량일 때 농도 변화에 따른 흡광도 및 형광의 세기 변화가 직선형으로 이루어지고 있음을 확인하였다.

[0140] 즉, 상기 결과 및 도 10(오른쪽)에서도 확인할 수 있듯이, 수용체 NPT가 트립토판(tryptophan)과 1 : 1로 결합하고 있음을 알 수 있었다.

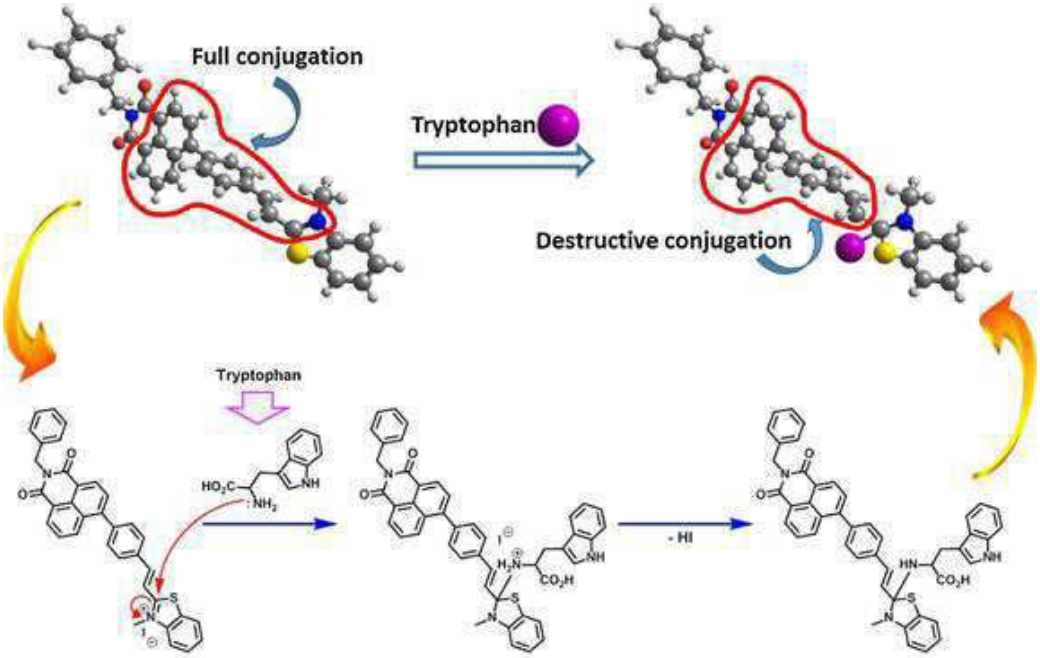
[0141] 또한, 444 nm에서의 형광 세기 변화도 트립토판(tryptophan)의 농도에 비례하여 증가되는 것이 관찰되며, 3σ 방법을 사용하여 계산한 결과, 트립토판(tryptophan)의 검출 한계가 15.2 nM임을 확인 하였다.

[0143] **[실시예 6] 수용체 NPT의 시아나이드 이온(CN^-) 및 트립토판(tryptophan)에 대한 감지 메커니즘**

[0144] 본 발명의 수용체 NPT 의 시아나이드 밑 트립토판 아미노산에 대한 감지 메커니즘을 알아보기 위하여 수용체 NPT와 시아나이드 이온 빛 트립토판(tryptophan)의 반응으로부터 얻어지는 생성물들의 질량 변화를 확인하였다(도11).

[0145] 도 10에 도시된 바와 같이, 수용체 NPT의 질량스펙트럼은 537.5 m/z이고 수용체 NPT와 시아나이드 이온이 반응한 생성물은 [NPT-CN^- + Na]인 586.5 m/z를 나타냈으며, 수용체 NPT와 트립토판(tryptophan)이 반응한 생성물은 [NPT-tryptophan + Na]인 763.6 m/z를 나타냈다. 이러한 결과는 수용체 NPT가 각각 시아나이드 이온 또는 트립토판(tryptophan)과 결합하여 각각 NPT-CN 또는 NPT-tryptophan의 복합체를 형성함을 의미한다.

[0146] 즉, 수용체 NPT과 시아나이드 이온 또는 트립토판(tryptophan)과의 결합성질을 질량 변화로 확인하였으며, 트립토판(tryptophan)의 형광 스펙트럼 결과(도 7)를 통해 수용체 NPT와 트립토판(tryptophan)이 결합되면 발광 피크가 청색이동 되는 것으로 볼 때 트립토판(tryptophan)이 수용체 NPT 분자를 공격할 때 수용체 NPT의 컨쥬게이션이 영향을 받은 것으로 예측된다. 이러한 결과는 트립토판(tryptophan)의 아민의 자유 전자쌍이 친핵체로서 수용체 NPT의 이민 그룹의 탄소를 공격하여 친핵성 첨가반응이 일어남으로 인해 이민이 아민으로 변화되면서 수용체 NPT의 컨쥬게이션이 방해되었다는 것을 의미한다. 하기에 본 발명의 수용체 NPT와 트립토판(tryptophan)과의 결합 메커니즘을 도시하였다.



[0147]

[0149] **[실시예 6] 수용체 NPT의 트립토판(tryptophan)의 선택적 감지 특성**

[0150] 다양한 아미노산 중에서 트립토판(tryptophan)의 선택적 감지 특성 여부를 확인하기 위하여 결합경쟁실험을 수행하였으며, 상기 실시예 1에서 제조된 동등한 양의 수용체 NPT(50㎛)의 에탄올 수용액(EtOH : H_2O = 1 : 1, v/v)에 1당량의 아미노산들과 1당량의 트립토판(tryptophan)의 첨가에 따른 발광 특성을 관찰하였다.

[0151] 그 결과를 도 11에 도시한 바와 같이, 수용체 NPT와 아미노산의 혼합물에 트립토판(tryptophan)이 첨가될 때 444 nm의 새로운 발광 피크가 뚜렷하게 발현되었으며 다른 아미노산이 존재하여도 트립토판(tryptophan)에 따라 발현되는 발광 세기도 큰 변화가 없음을 확인하였다. 이는 수용체 NPT의 트립토판(tryptophan)의 감지 능력이 다른 아미노산에 의해 방해 받지 않음을 알 수 있으며, 수용체 NPT가 다른 경쟁 아미노산들보다 트립토판(tryptophan)에 대해 높은 선택적 감지 특성을 가지고 있음을 나타내었다.

[0153] **[실시예 7] 알지네이트 비즈의 제조 및 이를 이용한 수용액 상에서의 시아나이드 이온(CN^-) 및 트립토판 아미노산의 검출**

[0154] 수용체 NPT(2%)와 Sodium alginate(1g)의 혼합물을 증류수(10ml)에 분산시킨 뒤 2시간동안 가열 교반한 용액을 $CaCl_2$포화수용액에 방울방울 천천히 첨가하여 형성된 비즈를 수득하여 NPT프로브를 제조하였다.

[0155] 도 12에 도시된 이미지에서와 같이, 시아나이드 이온 및 트립토판(tryptophan)이 포함된 알코올 수용액(EtOH : H_2O = 1 : 1, v/v)에 비즈를 침수시켰을 때 비즈의 색이 노랑에서 빨강으로 색변화를 보이는 것을 육안으로 관찰할 수 있었다.

[0157] 이상 살핀 바와 같이, 본 발명의 수용체 NPT는 나프탈이미드-벤조사이아졸 기반의 수용체로, 육안으로 시아나이드 이온(CN-) 및 트립토판 아미노산의 검출 및 인식을 가능케 하는 비색계 및 형광 프로브로서 작용할 수 있다. 또한 다른 경쟁 음이온 또는 아미노산의 존재 하에서도 매우 높은 선택성을 나타내어 환경 보호 및 식품 분석 분야에서는 시아나이드 이온의 용이하게 검출할 수 있고, 인간의 분비물 또는 혈청과 같은 약학 및 생물학적 시료에서 트립토판 아미노산을 편리하게 검출 할 수 있는 화학센서로서 다양한 분야에 적용 가능하다. 뿐만 아니라 본 발명의 수용체 NPT는 검출 프로브로서 알지네이트 비드로 사용가능하며, 비드화 된 수용체 NPT는 수계의 매질, 즉, 물이 포함된 수용액 내에서 시아나이드 이온 및 트립토판 아미노산의 감지에 따른 색 변화가 뚜렷하고 신속하기 때문에, 수용체 NPT로 제조되는 알지네이드 비드는 별도 도구의 필요없이 수용액 내 시아나이드 이

온 및 트립토판 아미노산을 간편하게 감지할 수 있다.

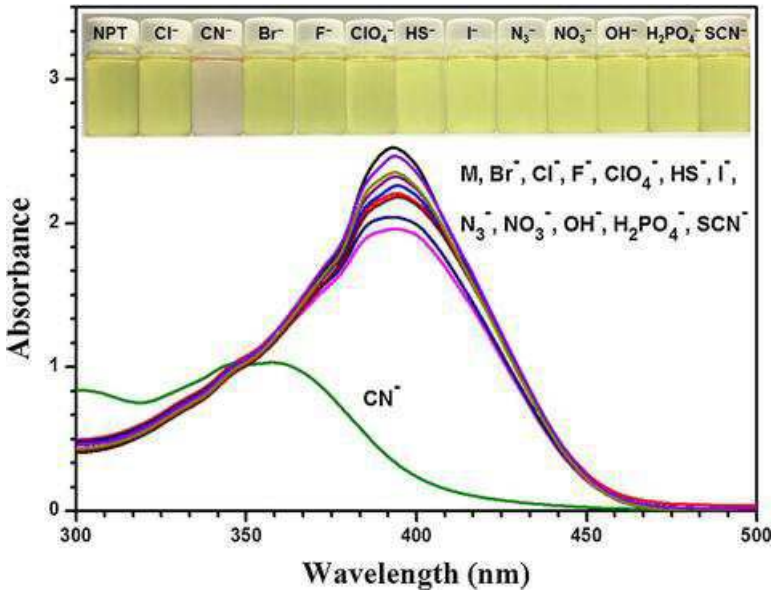
[0158] 따라서, 본 발명의 수용체 NPT는 수계 상의 시아나이드 이온 및 트립토판 아미노산을 검출하는데 매우 용이함을 알 수 있다.

[0160] 이상과 같이 본 발명에서는 특정된 사항들과 한정된 실시예에 의해 설명되었으나 이는 본 발명의 보다 전반적인 이해를 돕기 위해서 제공된 것일 뿐, 본 발명은 상기의 실시예에 한정되는 것은 아니며, 본 발명이 속하는 분야에서 통상의 지식을 가진 자라면 이러한 기재로부터 다양한 수정 및 변형이 가능하다.

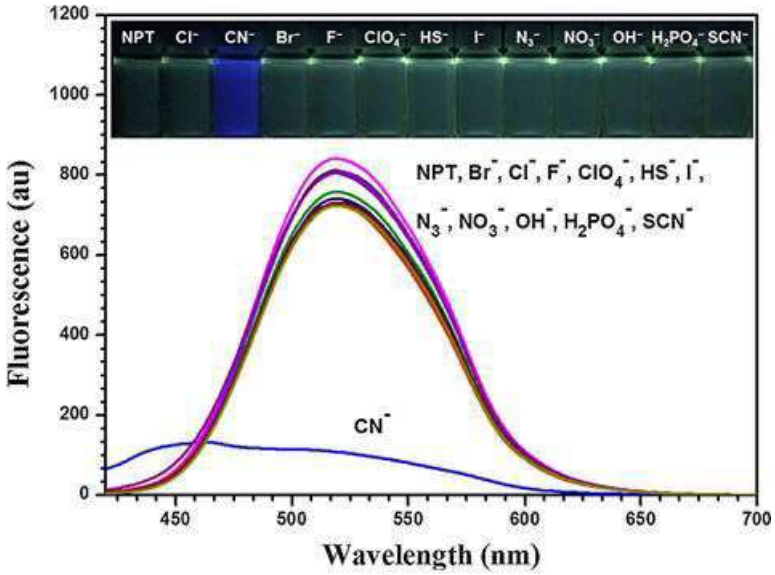
[0161] 따라서, 본 발명의 사상은 설명된 실시예에 국한되어 정해져서는 아니되며, 후술하는 특허청구범위뿐 아니라 이 특허청구범위와 균등하거나 등가적 변형이 있는 모든 것들은 본 발명 사상의 범주에 속한다고 할 것이다.

도면

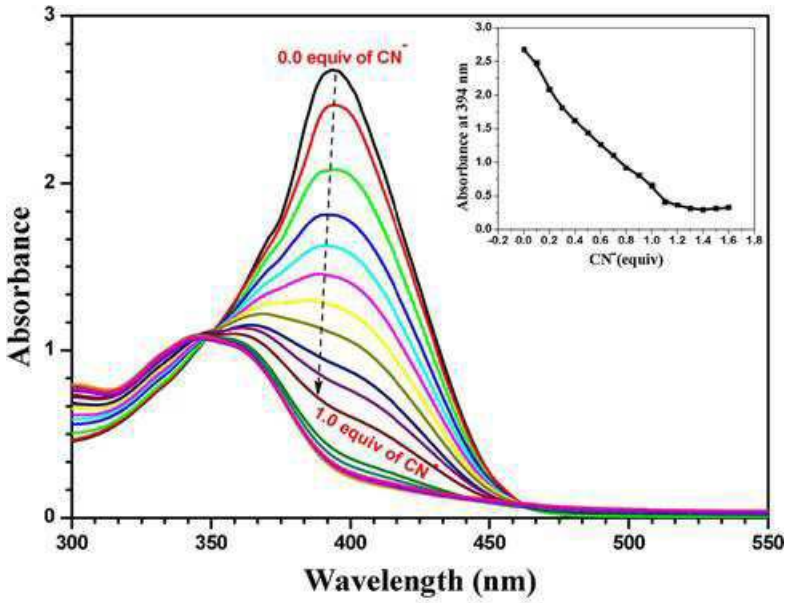
도면1



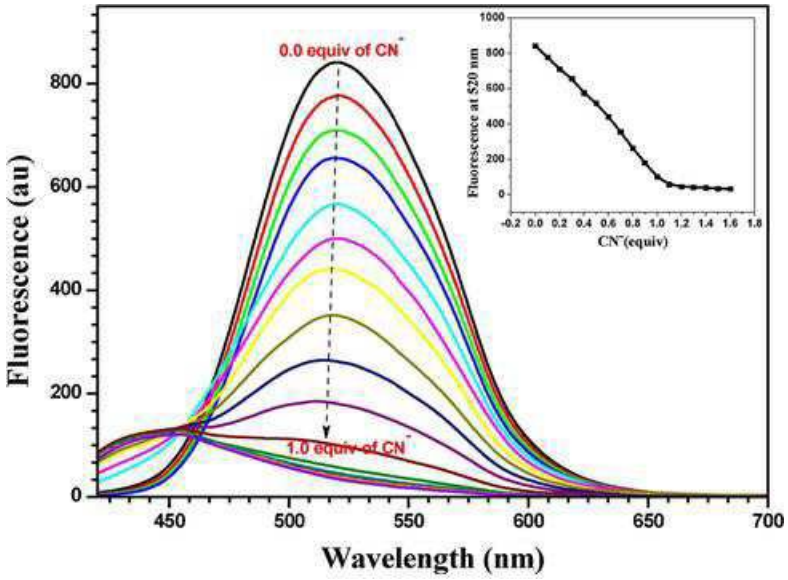
도면2



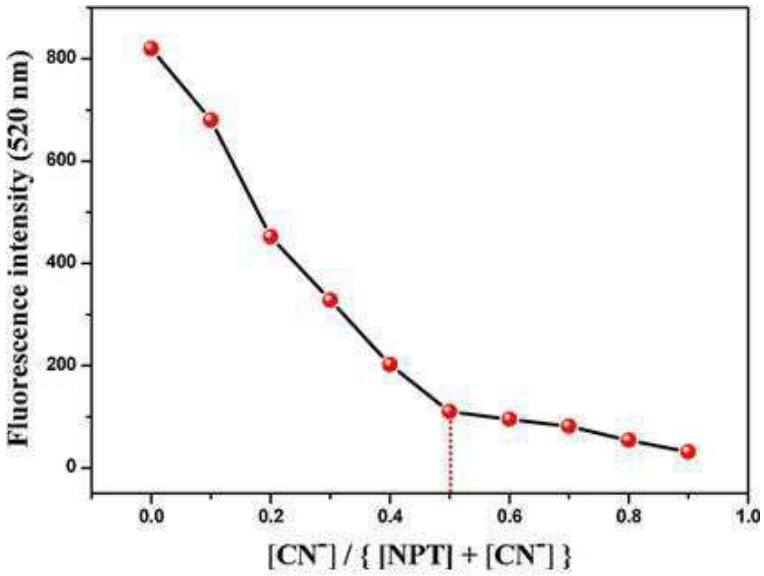
도면3


0.0 equiv of CN-
1.0 equiv of CN-
Absorbance
Wavelength (nm)
Absorbance at 394 nm
CN-(equiv)

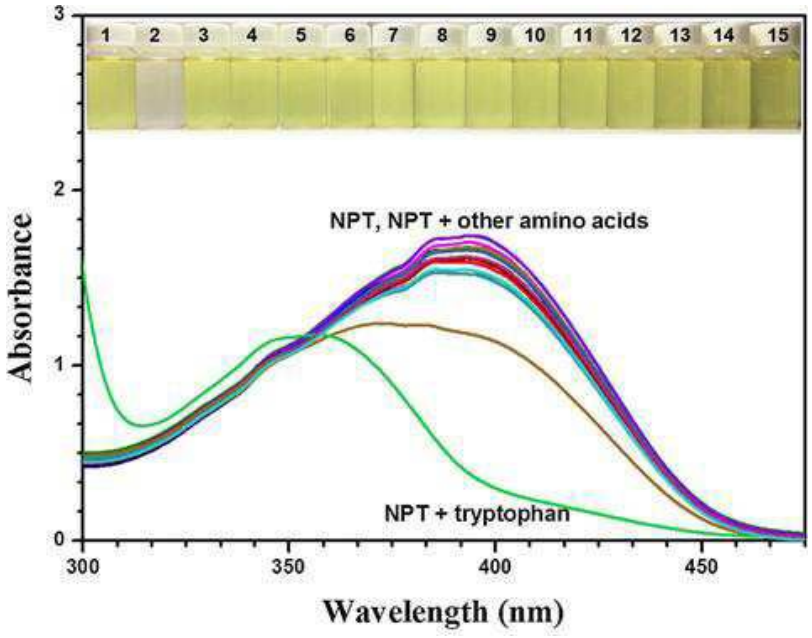
도면4


0.0 equiv of CN-
1.0 equiv of CN-
Fluorescence (au)
Wavelength (nm)
Fluorescence at 520 nm
CN-(equiv)

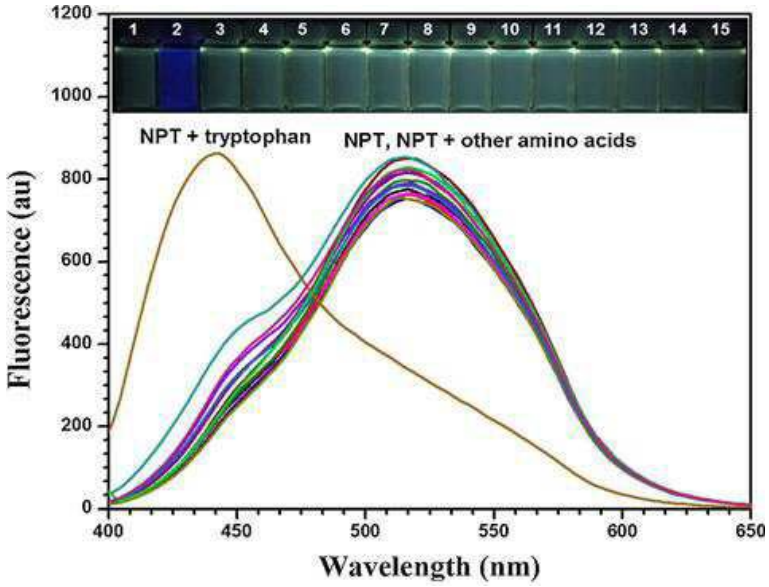
도면5


Fluorescence intensity (520 nm)
800
600
400
200
0
0.0
0.2
0.4
0.6
0.8
1.0
[CN⁻] / { [NPT] + [CN⁻] }

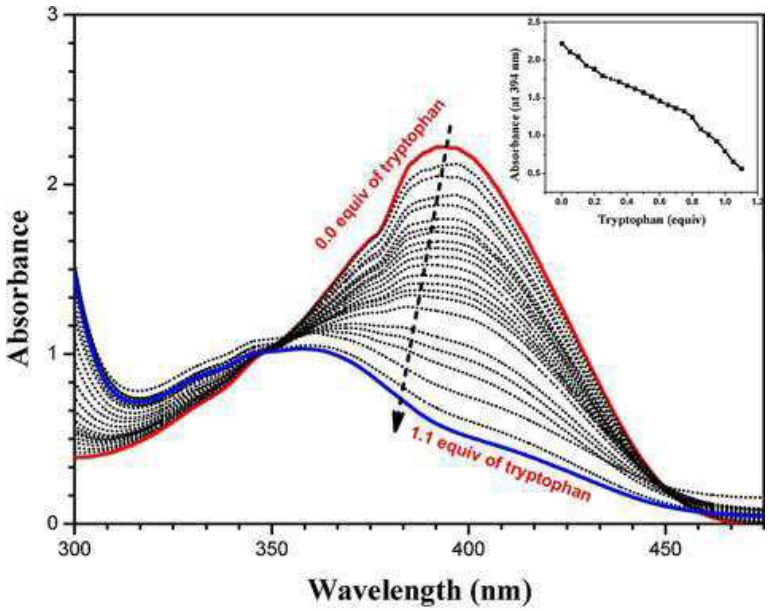
도면6


1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
Absorbance
3
2
1
0
NPT, NPT + other amino acids
NPT + tryptophan
300
350
400
450
Wavelength (nm)

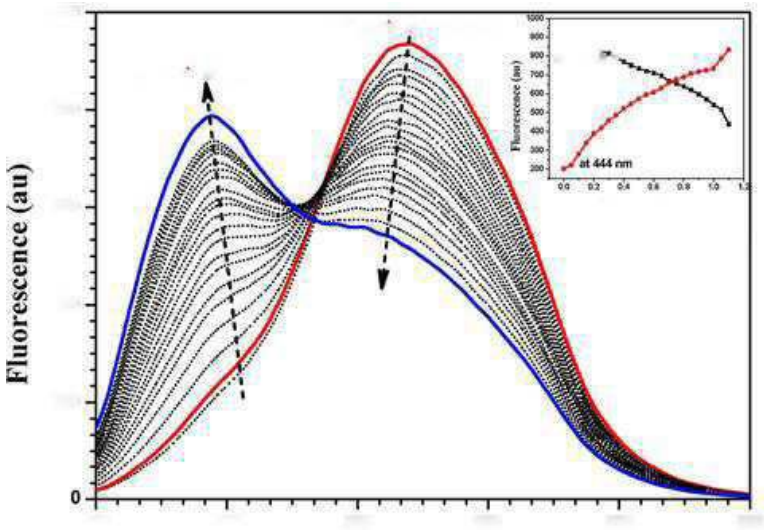
도면7


1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15
NPT + tryptophan
NPT, NPT + other amino acids
Fluorescence (au)
Wavelength (nm)

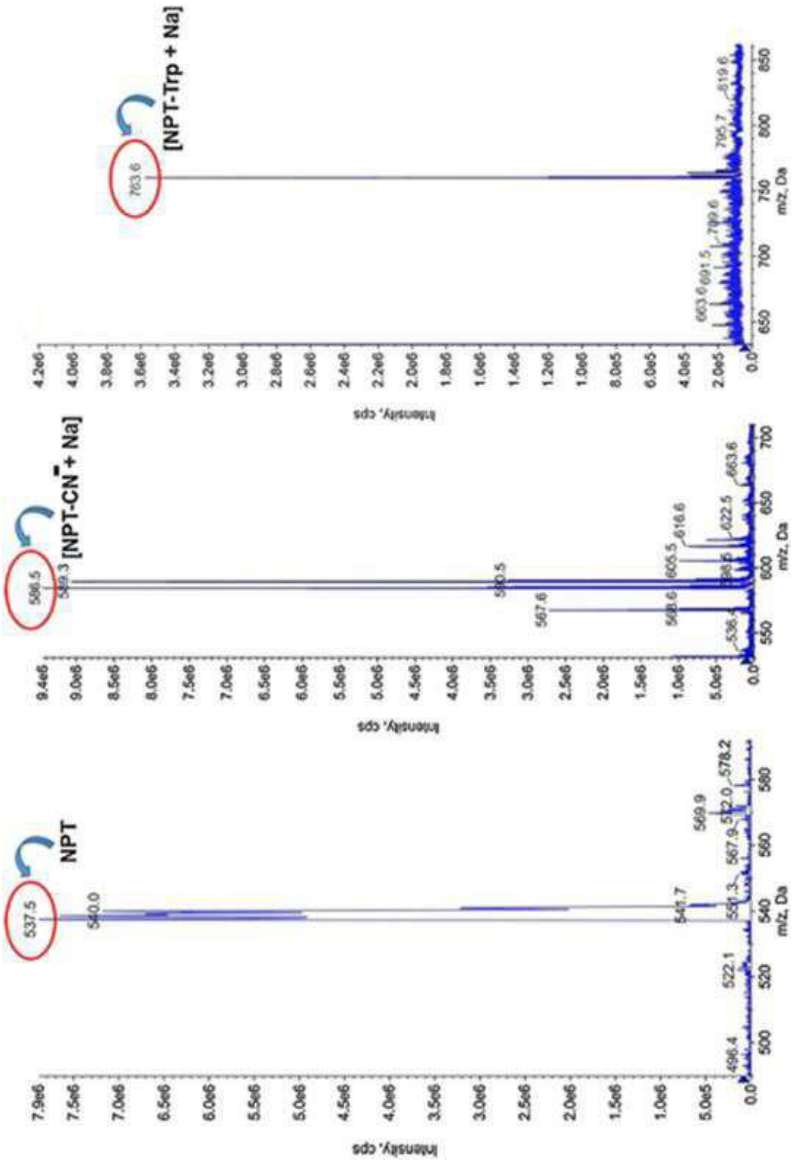
도면8


0.0 equiv of tryptophan
1.1 equiv of tryptophan
Absorbance
Wavelength (nm)
Absorbance (at 394 nm)
Tryptophan (equiv)

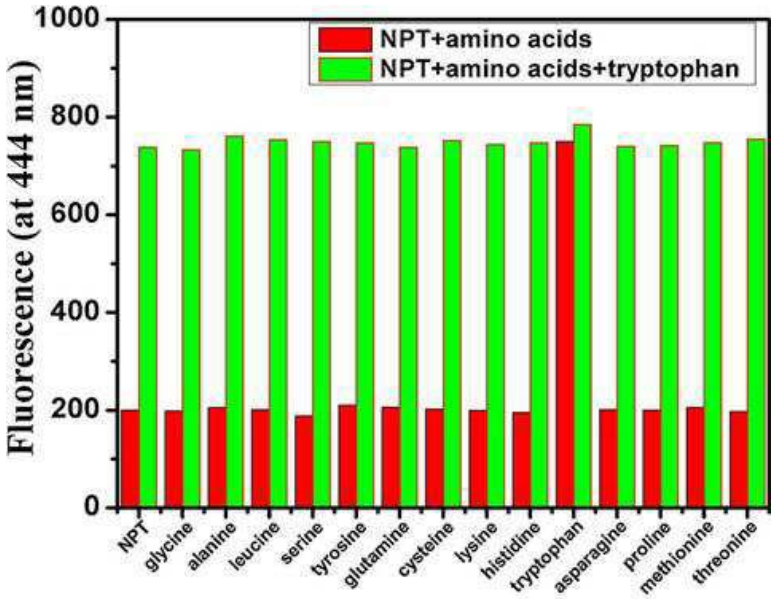
도면9



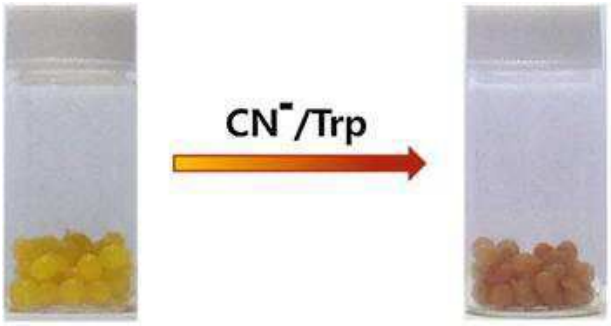
도면10



도면11


NPT+amino acids
NPT+amino acids+tryptophan
Fluorescence (at 444 nm)
1000
800
600
400
200
0
NPT
glycine
alanine
leucine
serine
tyrosine
glutamine
cysteine
lysine
histidine
tryptophan
asparagine
proline
methionine
threonine

도면12


CN-/Trp