(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2013-0085755
(43) 공개일자 2013년07월30일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07D 403/10 (2006.01) *C07D 209/08* (2006.01)
G01N 21/80 (2006.01)
(21) 출원번호 10-2012-0006796
(22) 출원일자 2012년01월20일
심사청구일자 2012년01월20일

(71) 출원인
이화여자대학교 산학협력단
서울특별시 서대문구 이화여대길 52 (대현동, 이화여자대학교)
(72) 발명자
윤주영
서울특별시 서초구 잠원동 롯데캐슬아파트 207동 2003호
지관 궈
서울시 서대문구 대현동 11-1 이화여자대학교 지능형나노바이오소재연구센터
(74) 대리인
이원희

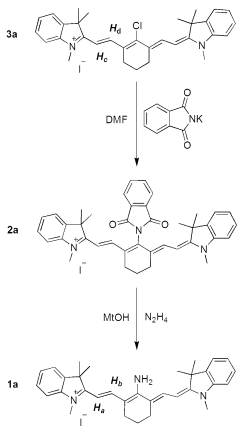
전체 청구항 수 : 총 15 항

(54) 발명의 명칭 **폴리메틴 체인에 메조-반응작용기를 갖는 신규한 시아닌 유도체 및 이의 제조방법**

(57) 요 약

본 발명은 폴리메틴 체인에 메조-반응작용기를 갖는 신규한 시아닌 유도체 및 이의 제조방법에 관한 것으로, 본 발명에 따른 메조 위치에 반응 작용기가 치환된 시아닌 유도체는 합성 방법이 매우 간단하여 대량생산에 적합하고, 종래의 신경작용제 검출용 시약이 두 단계의 반응 과정을 거쳐야하는 반면에 본 발명의 시아닌 유도체는 한 단계의 반응 과정만을 거치므로 반응속도가 매우 빠르고 민감도 또한 매우 우수하며, 산성의 pH에서도 활성화 가능하고 수성 환경에서도 사용가능하므로, 산성의 pH에서 활성화 가능한 비율측정 근적외선 프로브(acid pH-activatable ratiometric NIR probe)로 유용할 수 있다.

대 표 도 - 도1



이 발명을 지원한 국가연구개발사업

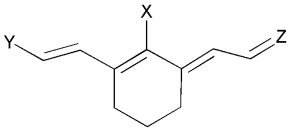
과제고유번호	20110020450
부처명	교육과학기술부
연구사업명	국가지정연구실사업
연구과제명	바이오 물질에 선택적인 지능형 형광센서 개발
주관기관	이화여자대학교 산학협력단
연구기간	2007.07.01 ~ 2012.06.30이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호	20110001334
부처명	교육과학기술부
연구사업명	우수연구센터지원사업
연구과제명	지능형 나노바이오소재 연구센터(나노구조를 이용한 유기하이브리드 바이오센서연구)
주관기관	이화여자대학교 산학협력단
연구기간	2011.03.01 ~ 2014.02.28

특허청구의 범위

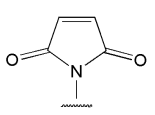
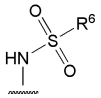
청구항 1

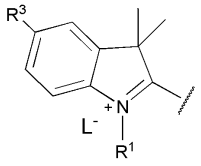
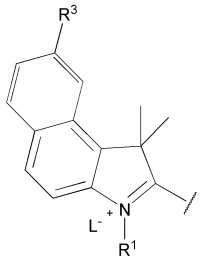
하기 화학식 1로 나타나는 폴리메틴 체인에 메조-반응작용기를 갖는 신규한 시아닌 유도체:

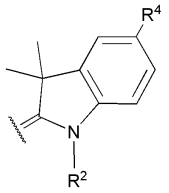
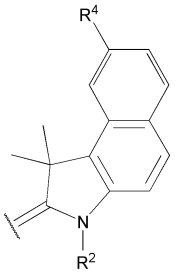
[화학식 1]



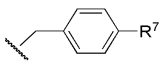
(상기 화학식 1에서,

X는 $-NH_2$, $-NCO$, $-NCS$, $-N_3$,  또는  이고,

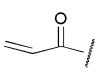
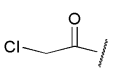
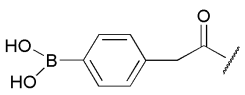
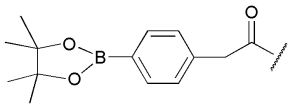
Y는  또는  이고,

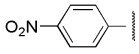
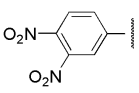
Z는  또는  이고,

L^-는 Cl^-, Br^-, I^-, ClO_4^- 또는 PF_6^-이고,

R^1 및 R^2는 서로 독립적으로 $-(CH_2)_nR^7$, $-(CH_2)_mOR^8$, $-(CHR^9CH_2O)_pR^8$ 또는  이고,

R^3, R^4 및 R^7은 서로 독립적으로 $-H$, $-SO_3R^{10}$ 또는 $-CO_2R^{11}$이고,

R^5는  ,  ,  ,  또는  이고,

R^6은  또는  이고,

R^8은 $-H$ 또는 $-(CH_2)_qCH_3$이고,

R^9는 -H 또는 $-CH_3$이고,

R^{10}은 -H 또는 -M이고,

R^{11}은 -H, -M 또는 $-(CH_2)_qCH_3$이고,

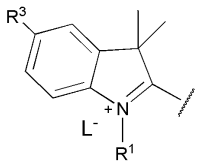
M은 Na, K 또는 $-N(R^8)_4$이고,

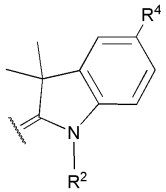
m, n, p 및 q는 서로 독립적으로 0-18의 정수이다).

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 X는 $-NH_2$, -NCO, -NCS 또는 $-N_3$이고,

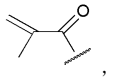
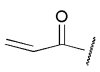
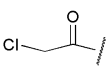
Y는  이고,

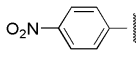
Z는  이고,

L^-는 Cl^-, Br^- 또는 I^-이고,

R^1 및 R^2는 서로 독립적으로 $-(CH_2)_nR^7$, $-(CH_2)_mOR^8$ 또는 $-(CHR^9CH_2O)_pR^8$이고,

R^3, R^4 및 R^7은 서로 독립적으로 -H 또는 $-CO_2R^{11}$이고,

R^5는  ,  또는  이고,

R^6은  이고,

R^8은 -H 또는 $-(CH_2)_qCH_3$이고,

R^9는 -H 또는 $-CH_3$이고,

R^{10}은 -H 또는 -M이고,

R^{11}은 -H 또는 -M이고,

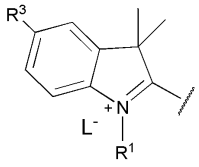
M은 Na 또는 K이고,

m, n, p 및 q는 서로 독립적으로 0-10의 정수인 것을 특징으로 하는 시아닌 유도체.

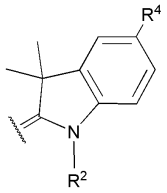
청구항 3

제1항에 있어서,

상기 X는 $-NH_2$ 또는 -NCO이고,



Y는 이고,



Z는 이고,

L^-는 Cl^-, Br^- 또는 I^-이고,

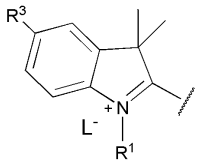
R^1 및 R^2는 서로 독립적으로 C_{1-3}의 직쇄 알킬이고,

R^3 및 R^4는 서로 독립적으로 -H 또는 $-CO_2H$인 것을 특징으로 하는 시아닌 유도체.

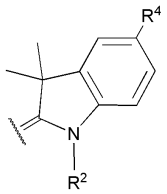
청구항 4

제1항에 있어서,

상기 X는 $-NH_2$이고,



Y는 이고,



Z는 이고,

L^-는 I^-이고,

R^1 및 R^2는 $-CH_3$이고,

R^3 및 R^4는 -H인 것을 특징으로 하는 시아닌 유도체.

청구항 5

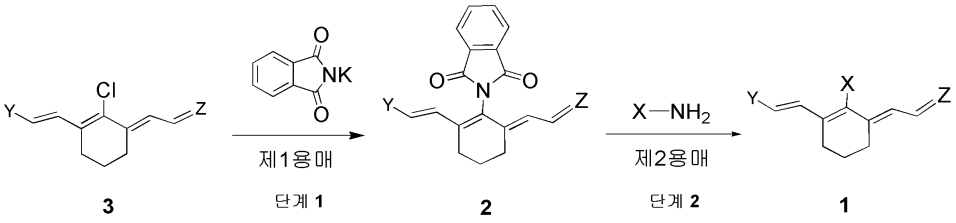
하기 반응식 1에 나타난 바와 같이,

제1용매에서 화합물 3 및 프탈이미드 포타슘을 반응시켜, 화합물 3의 메조 위치에 프탈이미드가 치환된 화합물

2를 얻는 단계(단계 1); 및

제2용매에서 상기 단계 1에서 제조한 화합물 2 및 $X-NH_2$를 반응시켜, 화합물 2의 메조 위치에 X가 치환된 화합물 1을 얻는 단계(단계 2);를 포함하는 제1항의 시아닌 유도체의 제조방법:

[반응식 1]



(상기 반응식 1에서,

X, Y 및 Z는 제1항의 화학식 1에서 정의한 바와 같다).

청구항 6

제1항에 있어서,

상기 제1용매는 디메틸포름아미드, 디메틸아세트아미드, 디에틸에테르, 테트라하이드로퓨란, 1,4-디옥산, 벤젠 및 톨루엔으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 1종인 것을 특징으로 하는 시아닌 유도체의 제조방법.

청구항 7

제1항에 있어서,

상기 제2용매는 메탄올, 에탄올, 프로판올 및 부탄올로 이루어지는 군으로부터 선택되는 1종인 것을 특징으로 하는 시아닌 유도체의 제조방법.

청구항 8

제1항의 화학식 1로 표시되는 시아닌 유도체를 포함하는 pH 검출용 화학센서.

청구항 9

제8항에 있어서,

상기 화학센서는 종이, 필름 또는 입자 형태의 기재에 적용되는 것을 특징으로 하는 pH 검출용 화학센서.

청구항 10

제1항의 화학식 1로 표시되는 시아닌 유도체를 이용하여 pH 변화를 검출하는 방법.

청구항 11

제10항에 있어서,

상기 pH 변화를 검출하는 방법은 화학식 1로 표시되는 시아닌 유도체의 폴리메틴 체인의 메조-반응작용기에 양성자 첨가가 일어나 발생하는 π-공액계(π-conjugation system) 변화에 의해서 기인하는 변색, 흡광 또는 발광

특징의 변화를 단독으로 또는 혼합하여 측정하는 것을 특징으로 하는 pH 변화를 검출하는 방법.

청구항 12

제1항의 화학식 1로 표시되는 시아닌 유도체를 포함하는 유기인계 신경작용제 검출용 화학센서.

청구항 13

제12항에 있어서,

상기 화학센서는 종이, 필름 또는 입자 형태의 기재에 적용되는 것을 특징으로 하는 유기인계 신경작용제 검출용 화학센서.

청구항 14

제1항의 화학식 1로 표시되는 시아닌 유도체를 이용하여 유기인계 신경작용제를 검출하는 방법.

청구항 15

제14항에 있어서,

상기 유기인계 신경작용제를 검출하는 방법은 화학식 1로 표시되는 시아닌 유도체의 폴리메틴 체인의 메조-반응작용기가 유기인계 신경작용제와 치환반응하여 발생하는 π-공액계 변화에 의해서 기인하는 변색, 흡광 및 발광 특징의 변화를 단독으로 또는 혼합하여 측정하는 것을 특징으로 하는 유기인계 신경작용제를 검출하는 방법.

명 세 서

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 폴리메틴 체인에 메조-반응작용기를 갖는 신규한 시아닌 유도체 및 이의 제조방법에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 신경작용제는 화학전(chemical warfare)에서 가장 극악한 종류로 여겨진다. 중요하고 치명적인 종별 신경작용제로써, 유기인계화합물은 신경계의 중요한 효소이고 신경전달물질 아세틸콜린의 저하에 원인이 되는 아세틸클로리네스터라아제(acetylcholinesterase, AChE)의 강력한 저해제이다.

[0003] 유기인계화합물 시약에 의한 효소 잔여물의 활성 에스테라틱 사이트(esteratic site)의 인산화는 효소를 효험이 없도록 만든다. 이러한 비가역적 불활성화는 콜린성 과다-자극의 결과로 생성되는 과량의 아세틸콜린을 만듬으로써, 수 분 이내에 호흡정지에 의한 죽음에 이르게 된다. 따라서, 맹독성, 무색 및 무취의 유기인계화합물 신경작용제를 민감하고 신속하게 검출하는 방법을 개발하는 것이 시급하다.

[0004] 유기인계화합물 신경작용제 시약의 에스테르화에 의한 반응성 화학센서의 설계는 독성의 유기인계화합물을 신속하게 검출하고 높은 특이성으로 분해하기 위해 이러한 접근이 사용될 수 있기 때문에 현명한 전략이다.

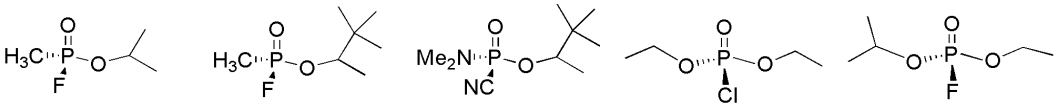
[0005] 유기인계화합물 신경작용제 시약의 검출을 위한 현재의 방법은 주로 비색분석, 형광분석, 전기화학분석, 효소분석 등을 기초로 한다. 그러나, 이러한 시스템들은 낮은 선택성, 느린 반응, 작동상의 복잡성 및 낮은 휴대성과

같은 제한을 받는다.

[0006] 일반적으로, 비색분석(colorimetric) 방법이 저렴한 장치를 사용하기 때문에 가장 간단한 검출 기술로 여겨진다. 그러나, 낮은 농도에서 감도가 항상 문제가 되고 있다.

[0007] 이러한 관점으로부터, 형광 변조(fluorescence modulation)는 이상적인 고감도 신호 검출을 가능하게 한다. 특히, 두 가지 파장 강도의 비율을 측정하는 비율측정(ratiometric) 모드는 환경 영향(environment effects)으로부터 섭동(perturbations)을 제거하여 선택성 및 민감성을 향상시킬 수 있다.

[0008] 하기에 대표적인 유기인계화합물 신경작용제를 나타내었다.

[0009] 

[0010] 한편, 근적외선(NIR) 염료는 높은 침투(penetration) 및 낮은 자가-형광 백그라운드를 가지고 분자 활동을 이미징 가능케 하는 광학적 성질 때문에 많은 생물학 연구의 분석에서 주목되었다.

[0011] 트리카르보시아닌(Tricarbocyanine) 염료는 이들의 흡수 및 방출 최대치가 큰 흡광계수(extinction coefficient) 및 비교적 높은 양자수율(quantum yield)을 가지고 근적외선 영역(650-900 nm)에 속하기 때문에, 생체 내 이미징용 형광 표지자 및 센서로써 광범위하게 이용된다.

[0012] 시아닌 염료의 광물리적 및 구조적 성질은 전자주개 그룹 사이에서 π-공액 브릿지(π-conjugated bridge)에 의존한다. 그러므로, 시아닌 염료를 위한 신규한 접근법은 시아닌 염료의 폴리메틴 π-전자계를 방해하는 것에 의해서 개발될 수 있다. 그러나, 시아닌 구조를 개질하는 것은 합성하기가 전형적으로 어렵다. 일반적으로, 더욱 다양한 기능성을 갖는 트리카르보시아닌의 메조 위치-염소 원자를 대체하기 위한 친핵성 치환에 의해서 트리카르보시아닌 유도체의 개질이 이루어진다.

[0013] 그러나, 이러한 전략은 비교적 비활성을 나타내는 메조 위치-염소 원자로 인하여 제한된다. 이러한 문제점을 피하고 트리카르보시아닌의 화학적 및 광화학적 성질을 최대한 좋게 만들기 위해서, 폴리메틴 체인의 메조 위치에서 활성을 가지는 치환체는 다양한 시아닌 염료의 설계를 위해서 매우 바람직하다.

[0014] 추가로, 다양한 생리적 및 병리적 과정에 의한 세포내 또는 세포외 pH 변화의 활용은 세포의 분석 또는 진단에 유망한 전략이다. 염증 또는 종양은 일반적으로 산성 환경을 만들기 때문에, 산성 조건의 pH에서 활성화 가능한 작은 분자 형광물질 프로브(probe)는 생체 내 암세포 검출을 위한 유용한 도구이다. 그러나, 현재까지 생체 내 이미징을 위한 산성에서 활성화 가능한 형광물질 프로브는 거의 없는 실정이다.

[0015] 이에 본 발명자들은, 폴리메틴 체인의 메조 위치에서 활성을 가지는 치환체를 갖는 시아닌 유도체를 연구하던 중, 본 발명에 따른 메조 위치에 반응 작용기가 치환된 시아닌 유도체가 합성 방법이 매우 간단하여 대량생산에 적합하고, 종래의 신경작용제 검출용 시약이 두 단계의 반응 과정을 거쳐야하는 반면에 본 발명의 시아닌 유도체는 한 단계의 반응 과정만을 거치므로 반응속도가 매우 빠르고 민감도 또한 매우 우수하며, 산성의 pH에서도 활성화 가능하고 수성 환경에서도 사용가능하여, 산성의 pH에서 활성화 가능한 비율측정 근적외선 프로브(acid

pH-activatable ratiometric NIR probe)로 유용할 수 있음을 알아내고 본 발명을 완성하였다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0016] 본 발명의 목적은 폴리메틴 체인에 메조-반응작용기를 갖는 신규한 시아닌 유도체를 제공하는 것이다.

[0017] 본 발명의 다른 목적은 상기 시아닌 유도체의 제조방법을 제공하는 것이다.

[0018] 본 발명의 또 다른 목적은 상기 시아닌 유도체를 포함하는 pH 검출용 화학센서를 제공하는 것이다.

[0019] 본 발명의 다른 목적은 상기 시아닌 유도체를 이용하여 pH 변화를 검출하는 방법을 제공하는 것이다.

[0020] 본 발명의 또 다른 목적은 상기 시아닌 유도체를 포함하는 유기인계 신경작용제 검출용 화학센서를 제공하는 것이다.

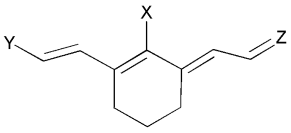
[0021] 본 발명의 다른 목적은 상기 시아닌 유도체를 이용하여 유기인계 신경작용제를 검출하는 방법을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

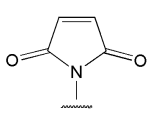
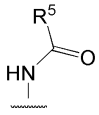
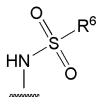
[0022] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은

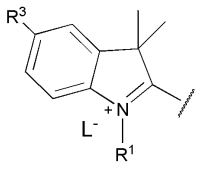
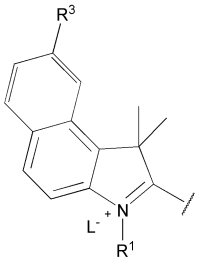
[0023] 하기 화학식 1로 나타나는 폴리메틴 체인에 메조-반응작용기를 갖는 신규한 시아닌 유도체:

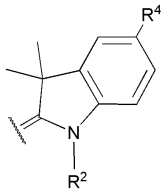
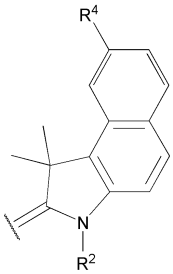
[0024] [화학식 1]

[0025] 

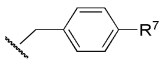
[0026] (상기 화학식 1에서,

[0027] X는 $-NH_2$, -NCO, -NCS, $-N_3$, ,  또는  이고,

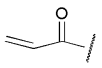
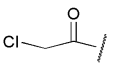
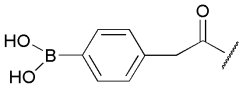
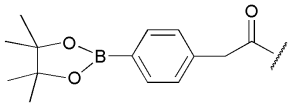
[0028] Y는  또는  이고,

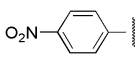
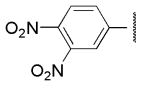
[0029] Z는  또는  이고,

[0030] L^-는 Cl^-, Br^-, I^-, ClO_4^- 또는 PF_6^-이고,

[0031] R^1 및 R^2는 서로 독립적으로 $-(CH_2)_nR^7$, $-(CH_2)_mOR^8$, $-(CHR^9CH_2O)_pR^8$ 또는  이고,

[0032] R^3, R^4 및 R^7은 서로 독립적으로 -H, $-SO_3R^{10}$ 또는 $-CO_2R^{11}$이고,

[0033] R^5는  ,  ,  ,  또는  이고,

[0034] R^6은  또는  이고,

[0035] R^8은 -H 또는 $-(CH_2)_qCH_3$이고,

[0036] R^9는 -H 또는 $-CH_3$이고,

[0037] R^{10}은 -H 또는 -M이고,

[0038] R^{11}은 -H, -M 또는 $-(CH_2)_qCH_3$이고,

[0039] M은 Na, K 또는 $-N(R^8)_4$이고,

[0040] m, n, p 및 q는 서로 독립적으로 0-18의 정수이다.)

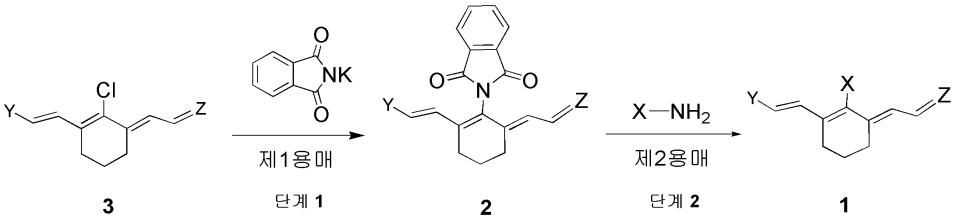
[0041] 또한, 본 발명은

[0042] 하기 반응식 1에 나타난 바와 같이,

[0043] 제1용매에서 화합물 3 및 프탈이미드 포타슘을 반응시켜, 화합물 3의 메조 위치에 프탈이미드가 치환된 화합물 2를 얻는 단계(단계 1); 및

[0044] 제2용매에서 상기 단계 1에서 제조한 화합물 2 및 $X-NH_2$를 반응시켜, 화합물 2의 메조 위치에 X가 치환된 화합물 1을 얻는 단계(단계 2);를 포함하는 상기 시아닌 유도체의 제조방법을 제공한다.

[0045] [반응식 1]

[0046] 

[0047] (상기 반응식 1에서,

[0048] X, Y 및 Z는 상기 화학식 1에서 정의한 바와 같다.)

[0049] 나아가, 본 발명은 종이, 필름 또는 입자 형태의 기재에 적용되는 것을 특징으로 하는, 상기 화학식 1로 표시되는 시아닌 유도체를 포함하는 pH 검출용 화학센서를 제공한다.

[0050] 또한, 본 발명은 상기 화학식 1로 표시되는 시아닌 유도체의 폴리메틴 체인의 메조-반응작용기에 양성자 첨가가 일어나 발생하는 π-공액계(π-conjugation system) 변화에 의해서 기인하는 변색, 흡광 또는 발광 특징의 변화를 단독으로 또는 혼합하여 측정하는 것을 특징으로 하는 pH 변화를 검출하는 방법을 제공한다.

[0051] 나아가, 본 발명은 종이, 필름 또는 입자 형태의 기재에 적용되는 것을 특징으로 하는, 상기 화학식 1로 표시되는 시아닌 유도체를 포함하는 유기인계 신경작용제 검출용 화학센서를 제공한다.

[0052] 또한, 본 발명은 상기 화학식 1로 표시되는 시아닌 유도체의 폴리메틴 체인의 메조-반응작용기가 유기인계 신경작용제와 치환반응하여 발생하는 π-공액계 변화에 의해서 기인하는 변색, 흡광 및 발광 특징의 변화를 단독으로 또는 혼합하여 측정하는 것을 특징으로 하는 유기인계 신경작용제를 검출하는 방법을 제공한다.

발명의 효과

[0053] 본 발명에 따른 메조 위치에 반응 작용기가 치환된 시아닌 유도체는 합성 방법이 매우 간단하여 대량생산에 적합하고, 종래의 신경작용제 검출용 시약이 두 단계의 반응 과정을 거쳐야하는 반면에 본 발명의 시아닌 유도체는 한 단계의 반응 과정만을 거치므로 반응속도가 매우 빠르고 민감도 또한 매우 우수하며, 산성의 pH에서도 활성화 가능하고 수성 환경에서도 사용가능하므로, 산성의 pH에서 활성화 가능한 비율측정 근적외선 프로브(acid pH-activatable ratiometric NIR probe)로 유용할 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0054] 도 1은 본 발명의 일실시예에 따른 화합물 1a의 제조과정을 나타낸 반응식이다(화학이동을 측정하기 위하여, 화합물 1a 및 화합물 3a의 이중결합에 치환된 수소를 H_a, H_b, H_c 및 H_d로 나타냄).

도 2는 제조예 1에서 제조한 화합물 3a의 흡광 및 발광 스펙트럼 결과를 나타낸 그래프이다((a)는 흡광 스펙트럼이고, (b)는 발광 스펙트럼이다).

도 3은 화합물 1a의 폴리메틴 체인에 형성되어 있는 π-공액계(π-conjugation system)가 메조-반응작용기에 의해 변화하는 것을 나타내는 이미지이다(화합물 4와 화합물 1a는 토토머화(tautomerization)에 의한 π-공액계 변화를 나타내고, 화합물 5와 화합물 1a는 pH 변화에 따른 π-공액계 변화를 나타낸다).

도 4는 본 발명의 일실시예에 따른 화합물 1a의 흡광/발광 스펙트럼을 나타내는 그래프이다((a)는 흡광 스펙트럼이고, (a)의 삽화는 흡광 강도 변화의 비율(A_{715nm}/A_{550nm})을 나타내는 그래프이고, (b)는 발광 스펙트럼이고,

(b)의 삽화는 630 nm에서 형광 강도 변화를 나타내는 그래프이다).

도 5는 본 발명의 일실시예에 따른 화합물 1a의 발광 스펙트럼을 나타내는 그래프이다((a)는 발광스펙트럼(λ_{ex} = 710 nm)이고, (a)의 삽화는 발광 스펙트럼 모드에서 pH의 함수로써 형광 강도 비율($I_{730\ nm}/I_{630\ nm}$)을 나타내는 그래프이고, (b)는 발광스펙트럼(λ_{ex}= 730 nm)이고, (b)의 삽화는 들뜸 스펙트럼 모드에서 λ_{em}= 730 nm와 함께 pH의 함수로써 형광 강도 비율($I_{(710nm\ ex)}$ / $I_{(550nm\ ex)}$)을 나타내는 그래프이다).

도 6은 본 발명의 일실시예에 따른 화합물 1a가 신경 독가스 유사체 DCP와 반응하여 생성되는 화합물의 구조를 나타내고, 이에 따른 색상 변화를 나타낸 그림이다.

도 7은 본 발명의 일실시예에 따른 화합물 1a와 신경 독가스 유사체 DCP가 반응하여 나타나는 흡광 스펙트럼(a) 및 발광 스펙트럼(b)을 나타낸 그래프이다.

도 8은 본 발명의 일실시예에 따른 화합물 1a이 수성 조건의 용매에서 신경 독가스 유사체 DCP와 반응하여 나타나는 흡광 스펙트럼(a) 및 발광 스펙트럼(b)을 나타내는 그래프이다.

도 9는 본 발명의 일실시예에 따른 화합물 1a와 신경 독가스 유사체 DCP의 반응속도를 나타내는 그래프이다((a)는 DCP의 농도와 시간의 함수에 따른 흡광 강도의 비율(A_{715nm}/A_{550nm})을 나타내는 그래프이고, (b)는 DCP의 농도와 시간의 함수에 따른 발광 강도의 비율($I_{710nm\ ex}$ / $I_{550nm\ ex}$)을 나타내는 그래프이다).

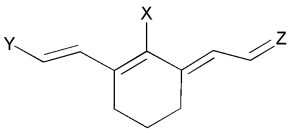
도 10은 본 발명의 일실시예에 따른 화합물 1a를 코팅한 필름을 이용하여 신경 독가스 유사체 DCP 검출 전후의 색상 변화를 나타낸 사진이다((a)는 DCP 가스에 노출시키기 전의 필름 표면 사진이고, (b)는 DCP 가스에 노출시킨 다음의 필름 표면 사진이고, (c)는 DCP 가스에 노출시키기 전의 필름 표면을 365 nm UV 램프 하에서 촬영한 사진이고, (d)는 DCP 가스에 노출시킨 후의 필름 표면을 365 nm UV 램프 하에서 촬영한 사진이다).

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

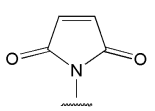
[0055] 이하, 본 발명을 상세히 설명한다.

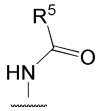
[0056] 본 발명은 하기 화학식 1로 나타나는 폴리메틴 체인에 메조-반응작용기를 갖는 신규한 시아닌 유도체를 제공한다.

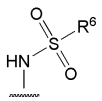
화학식 1

[0057] 

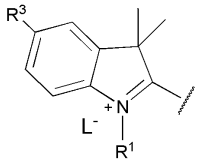
[0058] 상기 화학식 1에서,

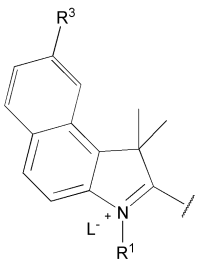
[0059] X는 $-NH_2$, -NCO, -NCS, $-N_3$, 

, 

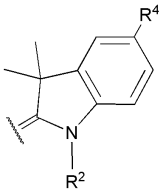
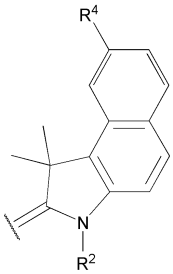
또는 

이고,

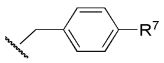
[0060] Y는 

또는 

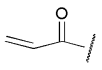
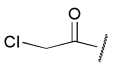
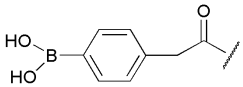
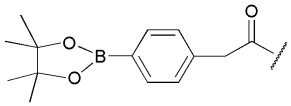
이고,

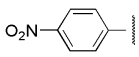
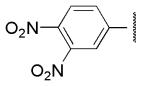
[0061] Z는  또는  이고,

[0062] L^-는 Cl^-, Br^-, I^-, ClO_4^- 또는 PF_6^-이고,

[0063] R^1 및 R^2는 서로 독립적으로 $-(CH_2)_nR^7$, $-(CH_2)_mOR^8$, $-(CHR^9CH_2O)_pR^8$ 또는  이고,

[0064] R^3, R^4 및 R^7은 서로 독립적으로 -H, $-SO_3R^{10}$ 또는 $-CO_2R^{11}$이고,

[0065] R^5는  ,  ,  ,  또는  이고,

[0066] R^6은  또는  이고,

[0067] R^8은 -H 또는 $-(CH_2)_qCH_3$이고,

[0068] R^9는 -H 또는 $-CH_3$이고,

[0069] R^{10}은 -H 또는 -M이고,

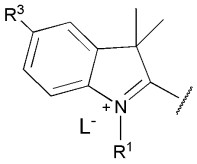
[0070] R^{11}은 -H, -M 또는 $-(CH_2)_qCH_3$이고,

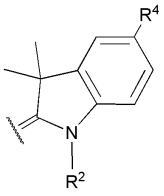
[0071] M은 Na, K 또는 $-N(R^8)_4$이고,

[0072] m, n, p 및 q는 서로 독립적으로 0-18의 정수이다.

[0073] 바람직하게는,

[0074] 상기 X는 $-NH_2$, -NCO, -NCS 또는 $-N_3$이고,

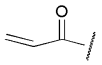
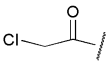
[0075] Y는  이고,

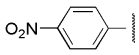
[0076] Z는  이고,

[0077] L^-는 Cl^-, Br^- 또는 I^-이고,

[0078] R^1 및 R^2는 서로 독립적으로 $-(CH_2)_nR^7$, $-(CH_2)_mOR^8$ 또는 $-(CHR^9CH_2O)_pR^8$이고,

[0079] R^3, R^4 및 R^7은 서로 독립적으로 -H 또는 $-CO_2R^{11}$이고,

[0080] R^5는  ,  또는  이고,

[0081] R^6은  이고,

[0082] R^8은 -H 또는 $-(CH_2)_qCH_3$이고,

[0083] R^9는 -H 또는 $-CH_3$이고,

[0084] R^{10}은 -H 또는 -M이고,

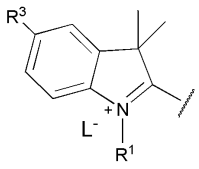
[0085] R^{11}은 -H 또는 -M이고,

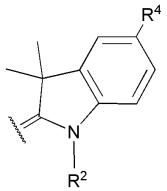
[0086] M은 Na 또는 K이고,

[0087] m, n, p 및 q는 서로 독립적으로 0-10의 정수이다.

[0088] 더욱 바람직하게는,

[0089] 상기 X는 $-NH_2$ 또는 -NCO이고,

[0090] Y는  이고,

[0091] Z는  이고,

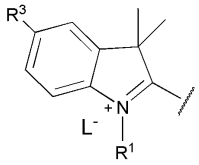
[0092] L^-는 Cl^-, Br^- 또는 I^-이고,

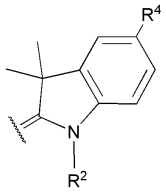
[0093] R^1 및 R^2는 서로 독립적으로 C_{1-3}의 직쇄 알킬이고,

[0094] R^3 및 R^4는 서로 독립적으로 -H 또는 $-CO_2H$이다.

[0095] 특히 바람직하게는,

[0096] 상기 X는 $-NH_2$이고,

[0097] Y는  이고,

[0098] Z는  이고,

[0099] L^-는 I^-이고,

[0100] R^1 및 R^2는 $-CH_3$이고,

[0101] R^3 및 R^4는 -H이다.

[0102] 본 발명에 따른 폴리메틴 체인에 메조-반응작용기를 갖는 신규한 시아닌 유도체는 상기 메조-반응작용기(화학식 1의 치환기 정의 중에서 X를 나타냄)가 활성이 높아 다른 화합물들과 반응하기 쉬워, 다른 화합물과 반응할 경우 폴리메틴 체인에 형성되어 있는 π-공액계(π-conjugation system)가 변화하면서 변색, 흡광 및 발광 특징의 변화를 유도한다.

[0103] 상기 변화 특징을 이용하여 비색분석(colormetric analysis), 흡광분석(absorption analysis), 발광분석(luminescence analysis) 등의 방법을 이용하여 검출하고자 하는 물질을 정성/정량 분석할 수 있다.

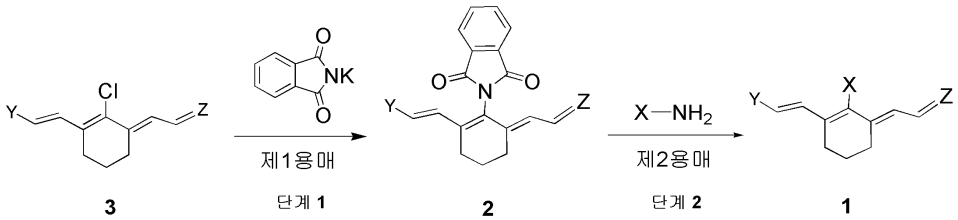
[0104] 본 발명에 따른 메조 위치에 반응 작용기가 치환된 시아닌 유도체는 합성 방법이 매우 간단하여 대량생산에 적합하고, 종래의 신경작용제 검출용 시약이 두 단계의 반응 과정을 거쳐야하는 반면에 본 발명의 시아닌 유도체는 한 단계의 반응(메조-반응작용기와 검출물질의 친핵성 치환반응) 과정만을 거치므로 반응속도가 매우 빠르고 민감도 또한 매우 우수하며, 산성의 pH에서도 활성화 가능하고 수성 환경에서도 사용가능하므로, 산성의 pH에서 활성화 가능한 비율측정 근적외선 프로브(acid pH-activatable ratiometric NIR probe)로 유용할 수 있다.

[0105] 또한, 본 발명은 하기 반응식 1에 나타난 바와 같이,

[0106] 제1용매에서 화합물 3 및 프탈이미드 포타슘을 반응시켜, 화합물 3의 메조 위치에 프탈이미드가 치환된 화합물 2를 얻는 단계(단계 1); 및

[0107] 제2용매에서 상기 단계 1에서 제조한 화합물 2 및 $X-NH_2$를 반응시켜, 화합물 2의 메조 위치에 X가 치환된 화합물 1을 얻는 단계(단계 2);를 포함하는 상기 시아닌 유도체의 제조방법을 제공한다.

[0108] [반응식 1]

[0109] 

3 2 1

[0110] 상기 반응식 1에서,

[0111] X, Y 및 Z는 상기 화학식 1에서 정의한 바와 같다.

[0112] 본 발명에 따른 시아닌 유도체는 상기 반응식 1에 나타낸 바와 같이, 가브리엘 합성법(Gabriel synthesis)을 이용하여 간단하게 제조할 수 있다.

[0113] 본 발명에 따른 제조방법에 있어서, 상기 제1용매는 디메틸포름아미드, 디메틸아세트아미드, 디에틸에테르, 테트라하이드로퓨란, 1,4-디옥산, 벤젠, 톨루엔 등을 사용할 수 있으나, 이에 제한하지 않는다.

[0114] 본 발명에 따른 제조방법에 있어서, 상기 제2용매는 메탄올, 에탄올, 프로판올, 부탄올 등의 저급 알콜류를 사용할 수 있으나, 이에 제한하지 않는다.

[0115] 나아가, 본 발명은 상기 화학식 1로 표시되는 시아닌 유도체를 포함하는 pH 검출용 화학센서(chemosensor)를 제공한다.

[0116] 이때, 상기 화학센서는 종이, 필름 또는 입자 형태의 기재에 적용될 수 있으나, 이에 제한하지 않는다.

[0117] 또한, 본 발명은 상기 화학식 1로 표시되는 시아닌 유도체를 이용하여 pH 변화를 검출하는 방법을 제공한다.

[0118] 이때, 상기 pH 변화를 검출하는 방법은 화학식 1로 표시되는 시아닌 유도체의 폴리메틴 체인의 메조-반응작용기에 양성자 첨가가 일어나 발생하는 π-공액계(π-conjugation system) 변화에 의해서 기인하는 변색, 흡광 또는 발광 특징의 변화를 단독으로 또는 혼합하여 측정하는 것을 특징으로 한다.

[0119] 나아가, 본 발명은 화학식 1로 표시되는 시아닌 유도체를 포함하는 유기인계 신경작용제 검출용 화학센서를 제공한다.

[0120] 이때, 상기 화학센서는 종이, 필름 또는 입자 형태의 기재에 적용될 수 있으나, 이에 제한하지 않는다.

[0121] 여기서, 검출가능한 유기인계 신경작용제의 예로는 사린(sarin), 소만(soman), 타분(tabun), 디에틸클로로포스페이트(diethylchlorophosphate, DCP), 디이소프로필플루오로포스페이트(diisopropylfluorophosphate, DFP) 등을 들 수 있다.

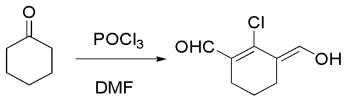
[0122] 또한, 본 발명은 상기 화학식 1로 표시되는 시아닌 유도체를 이용하여 유기인계 신경작용제를 검출하는 방법을 제공한다.

[0123] 이때, 상기 유기인계 신경작용제를 검출하는 방법은 화학식 1로 표시되는 시아닌 유도체의 폴리메틴 체인의 메조-반응작용기가 유기인계 신경작용제와 치환반응하여 발생하는 π-공액계 변화에 의해서 기인하는 변색, 흡광 및 발광 특징의 변화를 단독으로 또는 혼합하여 측정하는 것을 특징으로 한다.

[0124] 이하, 본 발명을 하기의 실시예에 의하여 더욱 상세히 설명한다. 단, 하기의 실시예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명의 내용이 하기의 실시예에 의해 한정되는 것은 아니다.

[0125] **<제조예 1> 시아닌-Cl(Cyanine-Cl)(3)의 제조**

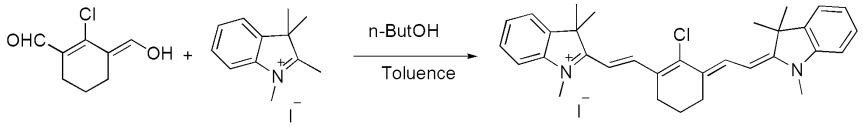
[0126] (E)-2-클로로-3-(하이드록시메틸렌)사이클로헥스-1-엔카브알데하이드((E)-2-chloro-3-(hydroxymethylene)cyclohex-1-enecarbaldehyde)의 준비

[0127] 

[0128] N_2 분위기하에서 CH_2Cl_2(20 ml)에 무수 디메틸포름아미드(20 ml)를 넣고 0 ℃에서 교반한 다음, 얼음 수조에서 CH_2Cl_2(10 ml) 및 $POCl_3$ (20 ml) 혼합용액을 적가하였다. 30분 후에, 사이클로헥산(5 g, 50 mmol)을 첨가하여 얻은 반응 혼합물을 80 ℃에서 3시간 동안 강하게 교반하며 환류시켰다. 그 다음, 상기 혼합 용액을 얼음물에 붓고, 하룻밤 동안 두어 (E)-2-클로로-3-(하이드록시메틸렌)사이클로헥스-1-엔카브알데하이드를 오란색 고체로 얻었다(6.2 g, 70 %).

[0129] ^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ = 1.65 (m, 2H), 2.31(t, 4H, *J*=6.3 Hz), 10.21 (s, 1H).

[0130] 시아닌-Cl(Cyanine-Cl)의 제조

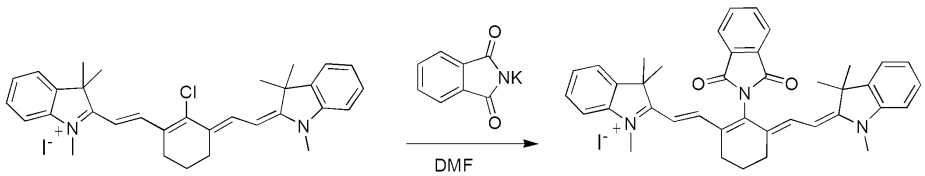
[0131] 

[0132] 부탄올-벤젠(70 ml-20 ml) 용매에 1,2,3,3-테트라메틸-3*H*-인돌리늄 아이오다이드(6.3 g, 0.021 mol) 및 상기에서 준비한 (E)-2-클로로-3-(하이드록시메틸렌)사이클로헥스-1-엔카브알데하이드(1.72 g, 0.01 mol)를 N_2 분위기하에서 용해시켰다. 상기 혼합용액을 140 ℃에서 8시간 동안 환류시켰다. 그 후에, 용매를 증발시키고, 얻은 고체 혼합물을 메탄올을 이용하여 재결정화키겨 화합물 3(시아닌-Cl)을 녹색 고체로 얻었다(4.5 g, 74 %).

[0133] ^{1}H NMR (300 MHz, CD_3Cl_3, ppm) δ = 1.73 (s, 12H, CH_3), 1.97 (m, 2H, cyclohexane-*H*), 2.75 (m, 4H, cyclohexane-*H*), 3.75 (s, 6 H, NCH_3), 6.23 (d, *J* = 14.2 Hz, 2H, alkene-H), 7.20 (d, *d* = 7.8 Hz, 2H, Ph-H), 7.25 (t, *d* = 7.8 Hz, 2H, Ph-H), 7.37-7.41 (m, 4H, Ph-H), 8.35 (d, *J*=14.1 Hz, 2H, alkene-H).

[0134] **<실시예 1> 시아닌-아민(Cyanine-amine)(1a)의 제조**

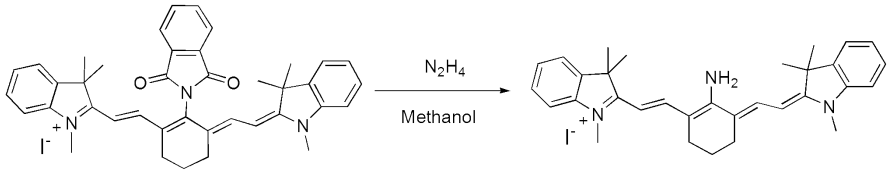
[0135] 시아닌-프탈이미드(Cyanine-phthalimide)(2)의 준비

[0136] 

[0137] 무수 디메틸포름아미드(15 ml)에 제조예 1에서 제조한 화합물 3(500 mg, 0.75 mmol) 및 프탈이미드 포타슘(166 mg, 0.90 mmol)을 용해시키고, N_2 분위기하에서 5시간 동안 약 80-90 ℃로 가열하였다. 용매를 증발시킨 후에, 얻은 붉은 고체를 플래쉬 실리카 크로마토그래피로 정제하여 화합물 2(시아닌-프탈이미드)를 붉은 고체로 얻었다(280 mg, 49 %).

[0138] ^{1}H NMR (300 MHz, CD_3Cl_3, ppm): δ = 1.63 (s, 12H, $-CH_3$), 1.91(m, 2H, cyclohexane-*H*), 2.64 (t, *J* = 5.4 Hz, 4H, cyclohexane-*H*), 3.23 (s, 6H, NCH_3), 5.43 (d, *J* = 13.2 Hz, 2H, alkene-H), 6.71(d, *J* = 7.8 Hz, 2H, Ph-H), 6.93 (t, *J* =7.5 Hz, 2H, Ph-H), 7.20 (t, *J* =7.5 Hz, 4H, Ph-H), 7.76-7.80 (m, 2H, Ph-H), 7.88-7.91 (m, 2H, Ph-H), 8.19 (d, *J* = 13.2 Hz, 2H, alkene-H).

[0139] 시아닌-아민(Cyanine-amine)(1a)의 제조



2a (Cyanine-Phthalimide) 1a (Cyanine-amine)

[0140]

[0141] 메탄올(15 ml)에 상기에서 준비한 화합물 2(시아닌-프탈이미드)(280 mg) 및 하이드라진 수화물(1 ml)을 용해시키고, N_2 분위기하에서 약 60-70 ℃로 3시간 동안 가열하였다. 용매를 증발시킨 후에, CH_2Cl_2를 첨가하여 다량의 하얀 고체 침전물을 얻었다. 상기 혼합 용액을 여과시키고 증발키셔 얻은 붉은 고체를 플래쉬 실리카 크로마토그래피로 정제하여 화합물 1a(시아닌-아민)를 붉은 고체로 얻었다(150 mg, 63 %).

[0142] ^{1}H NMR (300 MHz, CD_3Cl_3, ppm): δ = 1.69 (s, 12H, $-CH_3$), 1.89(m, 2H, cyclohexane-*H*), 2.63 (t, *J* = 5.4 Hz, 4H, cyclohexane-*H*), 3.23 (s, 6H, NCH_3), 5.43 (d, *J* = 13.2 Hz, 2H, alkene-H), 6.71(d, *J* = 7.8 Hz, 2H, Ph-H), 6.95 (t, *J* = 6.9 Hz, 2H, Ph-H), 7.18-7.24 (m, 4H, Ph-H), 8.19 (d, *J* = 13.2 Hz, 2H, alkene-H).

[0143] ^{13}C-NMR (75 MHz, CD_3Cl_3, ppm): δ= 14.2064, 21.0653, 22.5523, 25.8685, 28.7071, 29.2873, 46.4402, 60.4072, 92.5391, 106.4178, 120.4795, 121.7382, 126.8638, 127.6369, 132.7425, 139.6232, 144.6192, 163.2035, 186.4762 (19 C).

[0144] Fabs Mass (positive): $[C_{32}H_{38}IN_3 - I]^+$ Calculated : **464.3066**; Found:**463.3062**

[0145] **<실험예 1> π-공액계(π-conjugation system) 변화 평가**

[0146] 실시예 1의 화합물 1a를 제조하는 과정에서 화합물 3a의 메조 위치에 있는 염소기를 아민기로 치환함으로써 발생하는 π-공액계 변화를 알아보기 위하여 다음과 같이 실험하였다.

[0147] 구체적으로, 화합물 1a 및 화합물 3a의 밀고-당기는 π-공액계(π-conjugation system) 변화를 알아보기 위하여 ^{1}H NMR(제조사: Brucker, 모델명: AM-300)을 이용하여 이중결합에 치환된 특정 수소(화합물 1a에서 H_a 및 H_b로 표시, 화합물 3a에서 H_c 및 H_d로 표시)의 화학 이동을 측정하였다. 도 1에 화합물 3a를 출발물질로하여 가브리엘 반응(Gabriel reaction)으로 화합물 1a를 제조하는 간단한 과정을 나타내었고, 화합물 1a 및 화합물 3a에서 화학 이동을 측정한 이중결합에 치환된 수소를 각각 H_a, H_b, H_c 및 H_d로 나타내었다.

[0148] 도 1은 본 발명의 일실시예에 따른 화합물 1a의 제조과정을 나타낸 반응식이다(화학이동을 측정하기 위하여, 화합물 1a 및 화합물 3a의 이중결합에 치환된 수소를 H_a, H_b, H_c 및 H_d로 나타냄).

[0149] 도 1에 나타난 바와 같이, 시아닌 유도체의 ^{1}H-NMR 스펙트럼 분석에서 화합물 1a와 화합물 3a의 이중결합에 치환된 수소에서 명백한 화학이동을 확인할 수 있었다(화합물 1a: δ_{Ha}= 5.43 ppm 및 δ_{Hb}= 8.19 ppm; 화합물 3a: δ_{Hc}= 6.23 ppm 및 δ_{Hd}= 8.35 ppm). 이러한 결과는, 화합물 3a로부터 화합물 1a를 합성하면서 밀고-당기는 π-공액계(π-conjugation system)가 전자분포 재배열과 함께 급격히 변화한 것을 나타낸다.

[0150] **<실험예 2> 천색이동(hypsochromic shift) 평가**

[0151] 일반적으로, 메조-치환체의 전자 주개 또는 받개 성질은 폴리메틴(polymethine) 염료의 흡광 스펙트럼에는 영향을 주지만, 발광 스펙트럼에는 큰 영향을 미치지 않는다. 이에, 실시예 1의 화합물 1a를 제조하는 과정에서 화합물 3a의 메조 위치에 있는 염소기를 아민기로 치환함으로써 발생하는 천색 이동에 따른 흡수 및 발광 스펙트럼의 변화를 알아보기 위하여 다음과 같이 실험하였다.

[0152] 구체적으로, 25 ℃의 메탄올에서 5 μM의 화합물 3a 및 화합물 1a의 흡광 스펙트럼을 UV/VIS 분광기(제조사: Scinco, 모델명: 3000 spectrophotometer)로 측정하였다. 또한, 상기와 동일한 조건에서 화합물 3a 및 화합물 1a의 발광 스펙트럼을 형광분광기(제조사: Shimada, 모델명: RF-5301/PC)로 측정하였다. 상기 흡광 및 발광 스펙트럼의 결과를 도 2에 나타내었다.

[0153] 도 2는 제조예 1에서 제조한 화합물 3a의 흡광 및 발광 스펙트럼 결과를 나타낸 그래프이다((a)는 흡광 스펙트럼이고, (b)는 발광 스펙트럼이다).

[0154] 도 3은 화합물 1a의 폴리메틴 체인에 형성되어 있는 π-공액계(π-conjugation system)가 메조-반응작용기에 의해 변화하는 것을 나타내는 이미지이다(화합물 4와 화합물 1a는 토토머화(tautomerization)에 의한 π-공액계 변화를 나타내고, 화합물 5와 화합물 1a는 pH 변화에 따른 π-공액계 변화를 나타낸다).

[0155] 도 2에 나타낸 바와 같이, 흡광 스펙트럼에서 실시예 1에서 제조한 화합물 1a(λ_{abs}= 570 nm)는 제조예 1에서 제조한 화합물 3a(λ_{abs}= 780 nm)와 비교했을 때 약 210 nm의 강한 천색이동을 나타내는 것을 확인하였다. 또한, 발광 스펙트럼에서 실시예 1에서 제조한 화합물 1a(λ_{ex}= 630 nm)는 제조예 1에서 제조한 화합물 3a(λ_{ex}= 790 nm)와 비교했을 때 약 160 nm의 큰 천색이동을 나타내는 것을 확인하였다.

[0156] 도 3에 나타낸 바와 같이, 화합물 3a의 π-공액계는 두 질소 원자 사이에서 전자가 다른 위치로 옮겨다니며 양전하를 가지는 반면에, 화합물 1a에서는 메조 위치에 존재하는 전자가 풍부한 아민기가 π-공액계를 통해 인접한 양전하를 가진 질소 원자에 전자를 주는 토토머화(tautomerization)가 발생한다. 또한, 본 발명에 따른 화합물 1a는 pH 변화에 따라서 π-공액계에 변화가 오는 것을 알 수 있다.

[0157] 따라서, 본 발명에 따른 시아닌 유도체는 발광 스펙트럼에서도 큰 천색이동이 일어나므로 고감도의 형광분석에 적용할 수 있는 장점이 있다.

[0158] **<실험예 3> pH 변화에 따른 흡광/발광 스펙트럼 변화 평가**

[0159] 실시예 1에서 제조한 화합물 1a의 화합물이 pH-변화에 따라 흡광/발광 스펙트럼이 변화하는 것을 알아보기 위하여 다음과 같이 실험하였다.

[0160] 구체적으로, 다양한 pH 값(9.69, 6.96, 4.13, 3.56, 3.24, 2.98, 2.77 및 1.87)을 갖는 CH_3OH-H_2O(부피비 1-1) 혼합용액에서 실시예 1에서 제조한 화합물 1a(5 μM)의 흡광/발광 스펙트럼을 실험예 2에서 사용한 장치들로 각각 측정하였고, 그 결과를 도 4 및 도 5에 나타내었다.

[0161] 도 4는 본 발명의 일실시예에 따른 화합물 1a의 흡광/발광 스펙트럼을 나타내는 그래프이다((a)는 흡광 스펙트럼이고, (a)의 삽화는 흡광 강도 변화의 비율(A_{715nm}/A_{550nm})을 나타내는 그래프이고, (b)는 발광 스펙트럼이고, (b)의 삽화는 630 nm에서 형광 강도 변화를 나타내는 그래프이다).

[0162] 도 5는 본 발명의 일실시예에 따른 화합물 1a의 발광 스펙트럼을 나타내는 그래프이다((a)는 발광스펙트럼(λ_{ex} = 710 nm)이고, (a)의 삽화는 발광 스펙트럼 모드에서 pH의 함수로써 형광 강도 비율($I_{730\ nm}/I_{630\ nm}$)을 나타내는 그래프이고, (b)는 발광스펙트럼(λ_{ex}= 730 nm)이고, (b)의 삽화는 들뜸 스펙트럼 모드에서 λ_{em}= 730 nm와 함께 pH의 함수로써 형광 강도 비율($I_{(710nm\ ex)}$ / $I_{(550nm\ ex)}$)을 나타내는 그래프이다).

[0163] 도 4 및 도 5에 나타난 바와 같이, 화합물 1a에 존재하는 아민기의 질소 원자에 있는 고립 전자쌍(lone pair)은 양성자 첨가에 의해 쉽게 영향을 받고 pH 의존성을 나타낸다. 도 4 (a) 및 (b)에 나타낸 바와 같이, 화합물 1a는 CH_3OH-H_2O(부피비 1-1) 혼합용액 안에서 흡광(570 nm) 및 발광(630 nm)을 가진다. 낮은 pH 값에서 아미노기의 양성자 첨가로, 570 nm($\varepsilon = 5\times10^4\ M^{-1}\cdot cm^{-1}$)에서의 흡수 피크는 급격히 감소하였고, 610 nm에서 등흡광점(isosbestic point)을 기준으로 715 nm($\varepsilon = 1\times10^5\ M^{-1}\cdot cm^{-1}$)에서 새로운 강한 밴드가 관찰되었다(도 4 (a)). 이와 마찬가지로, 도 4 (b)의 발광 스펙트럼에서 pH 값이 낮아질수록 630 nm 피크는 급격히 감소하였고, 도 5 (a)의 발광 스펙트럼에서는 730 nm에 새로운 근적외선 밴드가 나타났다.

[0164] 또한, 흡광 비율(도 4 (a)의 삽화에서, A_{715nm}/A_{550nm})에 따른 pH 변화 및 발광 강도 변화(도 5 (a)의 삽화에서, 각각 I_{630nm} 또는 $I_{730\ nm}$)를 맞춤으로서 pK_a 값을 추측하였다. 두 채널(발광 및 들뜸 스펙트럼 모드)을 이용하여 비율측정 형광(ratiometric fluorescence) 함수가 확립될 수 있다. 상기 들뜸 스펙트럼 모드의 비율측정 함수는 pH 값 변화의 함수로써 730 nm에서 관찰한 형광 비율($I_{710nm\ ex}/I_{550nm\ ex}$)로부터 얻었다(도 5 (b)). 상기 결과는 화합물 1a의 산해리상수(pK_a)가 약 3.6임을 나타냈다.

[0165] 따라서, 실시예 1에서 제조한 화합물 1a는 흡광 및 발광 변화 두 비율측정 조절을 기초로 하는 생체 내 이미징을 위한 유용한 도구로 사용될 수 있는, 산성의 pH에서 활성화 가능한 비율측정 근적외선 프로브(acid pH-activatable ratiometric NIR probe)로 사용할 수 있다.

[0166] **<실험예 4> 유기인계 신경작용제에 따른 비색반응(colorimetric) 평가**

[0167] 화학전에서 치명적인 독가스로 사용되는 유기인계 신경작용제의 화학구조는 일반적으로 4치환된 인의 센터에 이탈기가 있는 것으로 구성된다. 실시예 1에서 제조한 화합물 1a와 유기인계 신경작용제가 반응하여 색상이 변하는지 알아보기 위하여 다음과 같이 실험하였다.

[0168] 구체적으로, 종래의 신경 가스와 유사한 구조를 가지지만, 독성을 배제시킨 디에틸클로로포스페이트(diethylchlorophosphate, DCP)를 실험에 사용하였다. CH_2Cl_2 용매에 실시예 1에서 제조한 화합물 1a 및 DCP를 넣고 상온에서 반응시켜 색상 변화를 관찰하였고, 그 결과를 도 6에 나타내었다.

[0169] 도 6은 본 발명의 일실시예에 따른 화합물 1a가 신경 독가스 유사체 DCP와 반응하여 생성되는 화합물의 구조를 나타내고, 이에 따른 색상 변화를 나타낸 그림이다.

[0170] 도 6에 나타난 바와 같이, CH_2Cl_2 용매에 실시예 1에서 제조한 화합물 1a만 존재할 경우에는 보라색을 나타내지만, DCP를 추가로 첨가할 경우 화합물 1a의 메조 위치에 DCP가 치환되면서 밝은 하늘색으로 변하는 것을 확인할 수 있었다.

[0171] 따라서, 본 발명에 따른 시아닌 유도체는 유기인계 신경 독가스와 반응하여 색상이 변하므로 간단하게 검출할

수 있을 뿐만 아니라, 비색법(colorimetric)으로 그 농도까지 측정할 수 있는 효과가 있다.

[0172] **<실험예 5> 유기인계 신경작용제에 따른 흡광/발광 스펙트럼 평가**

[0173] 실시예 1에서 제조한 화합물 1a와 유기인계 신경작용제가 반응하여 형광 스펙트럼이 변하는지 알아보기 위하여 다음과 같이 실험하였다.

[0174] 구체적으로, 실시예 1에서 제조한 화합물 1a(2 μM)가 포함된 CH_2Cl_2 혼합용액에 디에틸클로로포스페이트(diethylchlorophosphate, DCP)를 2 ppm(1 ppm = 5.8×10^{-6} M) 첨가한 다음, 실험예 2에서 사용한 흡광/발광 분광기로 측정하였다. 그 결과를 도 7에 나타내었다.

[0175] 도 7은 본 발명의 일실시예에 따른 화합물 1a와 신경 독가스 유사체 DCP가 반응하여 나타나는 흡광 스펙트럼(a) 및 발광 스펙트럼(b)을 나타낸 그래프이다.

[0176] 도 7에 나타난 바와 같이, DCP(2 ppm)를 첨가한 후, 수 초 만에 730 nm에 뾰족한 새로운 밴드가 신속하게 생겨났고, 510 nm에 있던 최초의 밴드는 거의 사라지는 것을 확인하였다(도 7 (a)). 또한, 550 nm에 있던 단파장의 발광 피크가 급격히 줄어들면서 새로운 740 nm의 근적외선 발광이 매우 신속히 생겨나는 것을 확인하였다. 이러한 결과는, 화합물 1a의 메조 위치에 DCP가 신속히 치환 반응하여 인산 에스테르를 형성한 증거이다.

[0177] 따라서, 본 발명에 따른 시아닌 유도체는 유기인계 신경작용제와 수 초 이내에 신속히 반응하여 흡광 및 발광 스펙트럼의 변화를 나타내므로, 분광학으로 유기인계 신경작용제를 용이하게 검출할 수 있는 효과가 있다.

[0178] **<실험예 6> 수성 조건하에서 유기인계 신경작용제와의 반응성 평가**

[0179] 수성 조건하에서 유기인계 신경작용제용 화학센서의 개발은 여전히 도전 과제로 남아있다. 이에, 수성 조건하에서 실시예 1에서 제조한 화합물 1a와 DCP가 반응하는지 알아보기 위하여 다음과 같이 실험하였다.

[0180] 구체적으로, DCP의 부분적인 가수분해로 인한 pH 변동을 피하고, 화합물 1a와 DCP가 반응하여 생성되는 부생성물인 염산에 의한 pH 변화를 최소화하기 위해서 HEPES 완충액(pH=7.4)을 실험에 사용하였다. CH_3OH/H_2O(부피비 80/20) 및 HEPES 완충액(10 mM, pH=7.4) 혼합용액에 화합물 1a(2 μM), HCl(2×10^{-3} M) 및 DCP(50 ppm, 3×10^{-4} M)를 각각 첨가 또는 동시 첨가하고, 실험예 2에서 사용한 흡광/발광 분광기를 이용하여 흡광/발광 스펙트럼을 측정하였다. 그 결과를 도 8에 나타내었다.

[0181] 도 8은 본 발명의 일실시예에 따른 화합물 1a이 수성 조건의 용매에서 신경 독가스 유사체 DCP와 반응하여 나타나는 흡광 스펙트럼(a) 및 발광 스펙트럼(b)을 나타내는 그래프이다.

[0182] 도 8에 나타난 바와 같이, 염산을 첨가하였을 경우에는 흡광/발광 스펙트럼에서 유의적인 변화가 관찰되지 않았다. 반면에, DCP를 첨가하였을 경우에는 흡광 스펙트럼에서 현저한 변화가 나타나는 것을 확인하였다.

[0183] 따라서, 본 발명에 따른 시아닌 유도체는 수성 조건에서 유기인계 신경작용제와 반응시 발생하는 부분적인 pH 변화에는 반응하지 않고, DCP에 민감하게 반응하는 효과가 있다.

[0184] **<실험예 7> 반응속도 평가**

[0185] 실시예 1에서 제조한 화합물 1a와 유기인계 신경작용제 유사체 DCP와의 반응속도를 알아보기 위하여 다음과 같이 실험하였다.

[0186] 구체적으로, 실험예 6과 같이 수성 조건으로 CH_3OH/H_2O(부피비 80/20) 및 HEPES 완충액(10 mM, pH=7.4) 혼합용액에 화합물 1a(2 μM)를 넣고, 다양한 농도의 DCP(0, 40, 60, 80, 100 ppm)를 첨가한 다음, 실험예 2에서 사용한 흡광/발광 분광기를 이용하여 흡광/발광 스펙트럼을 측정하고, 시간 변화에 따라 흡광 및 발광 스펙트럼에서 흡광 강도의 비율(A_{715nm}/A_{550nm}) 및 발광 강도의 비율($I_{710nm\ ex}$ / $I_{550nm\ ex}$)을 계산하였다. 그 결과를 도 9에 나타내었다.

[0187] 도 9는 본 발명의 일실시예에 따른 화합물 1a와 신경 독가스 유사체 DCP의 반응속도를 나타내는 그래프이다((a)는 DCP의 농도와 시간의 함수에 따른 흡광 강도의 비율(A_{715nm}/A_{550nm})을 나타내는 그래프이고, (b)는 DCP의 농도와 시간의 함수에 따른 발광 강도의 비율($I_{710nm\ ex}$ / $I_{550nm\ ex}$)을 나타내는 그래프이다).

[0188] 도 9에 나타난 바와 같이, 시간 경과에 따라 DCP 농도가 높을수록 흡광 및 발광 강도의 비율이 모두 증가하는 것을 확인할 수 있었다. 이 결과를 바탕으로, 유사 1차 반응속도 상수(pseudo first-order rate constant, k)를 계산한 결과 약 k= 0.2 min^{-1}을 나타내었다.

[0189] 따라서, 본 발명에 따른 시아닌 유도체는 종래의 방법으로 수성 용액에서 DCP를 검출하는 반응속도와 비교해서, 현저히 빠른 반응속도를 나타내는 효과가 있다.

[0190] **<실험예 8> 신경작용제 검출용 필름 제작 및 검출 평가**

[0191] 실시예 1에서 제조한 화합물 1a를 이용하여 신경작용제 검출용으로 실제 적용가능한 필름을 제작하였다.

[0192] 구체적으로, 석영판에 화합물 1a 및 메탄올 혼합용액을 점적하고 고루 펴주어 얇은 필름을 제작하였다. 상기에서 제작한 필름을 불활성 아르곤 가스가 가득찬 밀폐용기에 넣은 다음, DCP 가스(10 ppm)를 주입하고 365 nm UV 램프 하에서 관찰하였다. 그 결과를 도 10에 나타내었다.

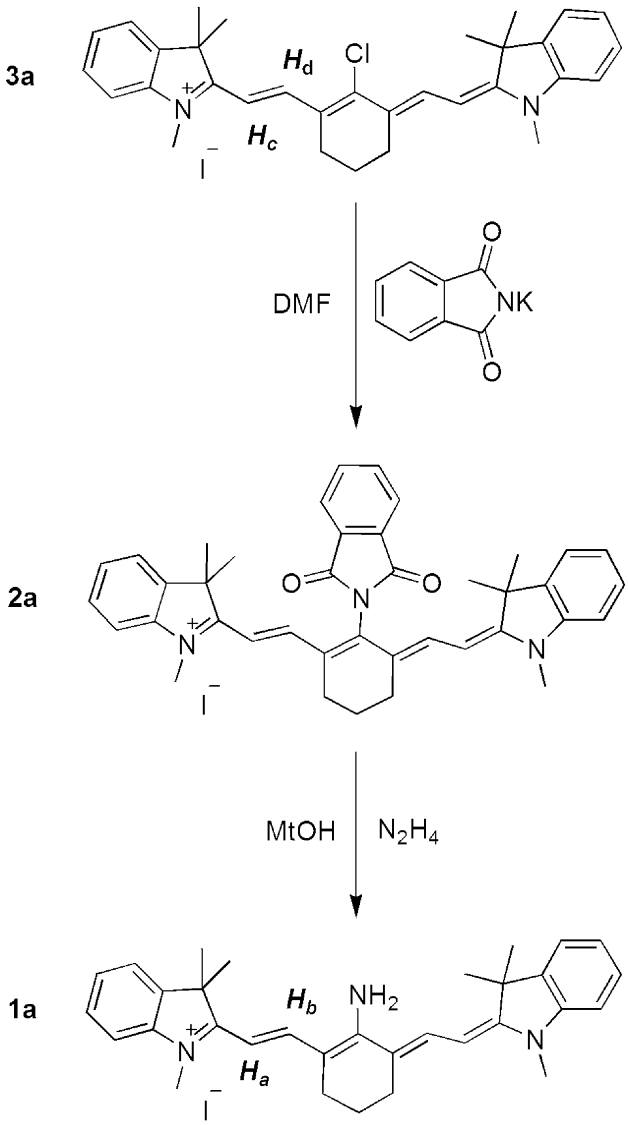
[0193] 도 10은 본 발명의 일실시예에 따른 화합물 1a를 코팅한 필름을 이용하여 신경 독가스 유사체 DCP 검출 전후의 색상 변화를 나타낸 사진이다((a)는 DCP 가스에 노출시키기 전의 필름 표면 사진이고, (b)는 DCP 가스에 노출시킨 다음의 필름 표면 사진이고, (c)는 DCP 가스에 노출시키기 전의 필름 표면을 365 nm UV 램프 하에서 촬영한 사진이고, (d)는 DCP 가스에 노출시킨 후의 필름 표면을 365 nm UV 램프 하에서 촬영한 사진이다).

[0194] 도 10에 나타낸 바와 같이, DCP 가스에 노출시키기 전에 필름은 붉은색을 나타내는 반면에, DCP 가스에 노출시킨 후에는 매우 신속하게(거의 즉시) 초록색을 나타내는 것을 확인할 수 있었다.

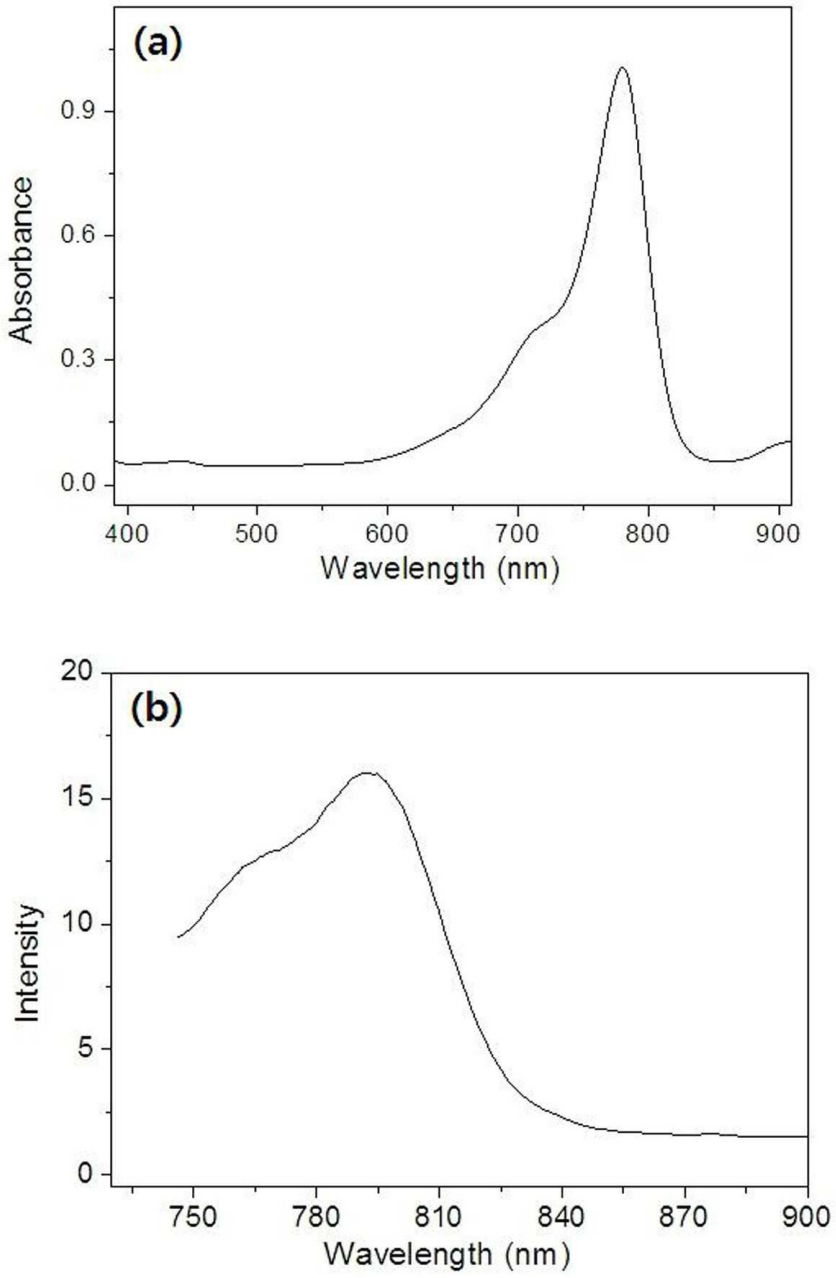
[0195] 따라서, 본 발명에 따른 시아닌 유도체는 유기인계 신경작용제를 검출하기 위하여 고체 상태의 간단한 센서로 제작이 가능할 뿐만 아니라, 반응속도도 매우 신속한 효과가 있다.

도면

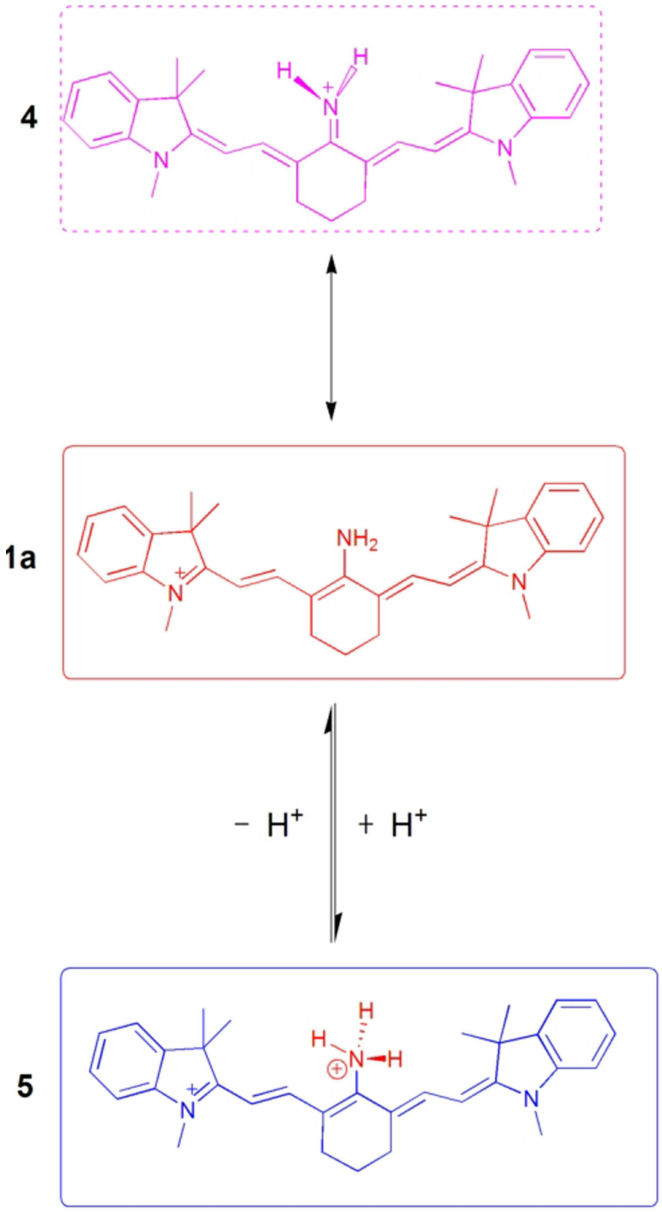
도면1



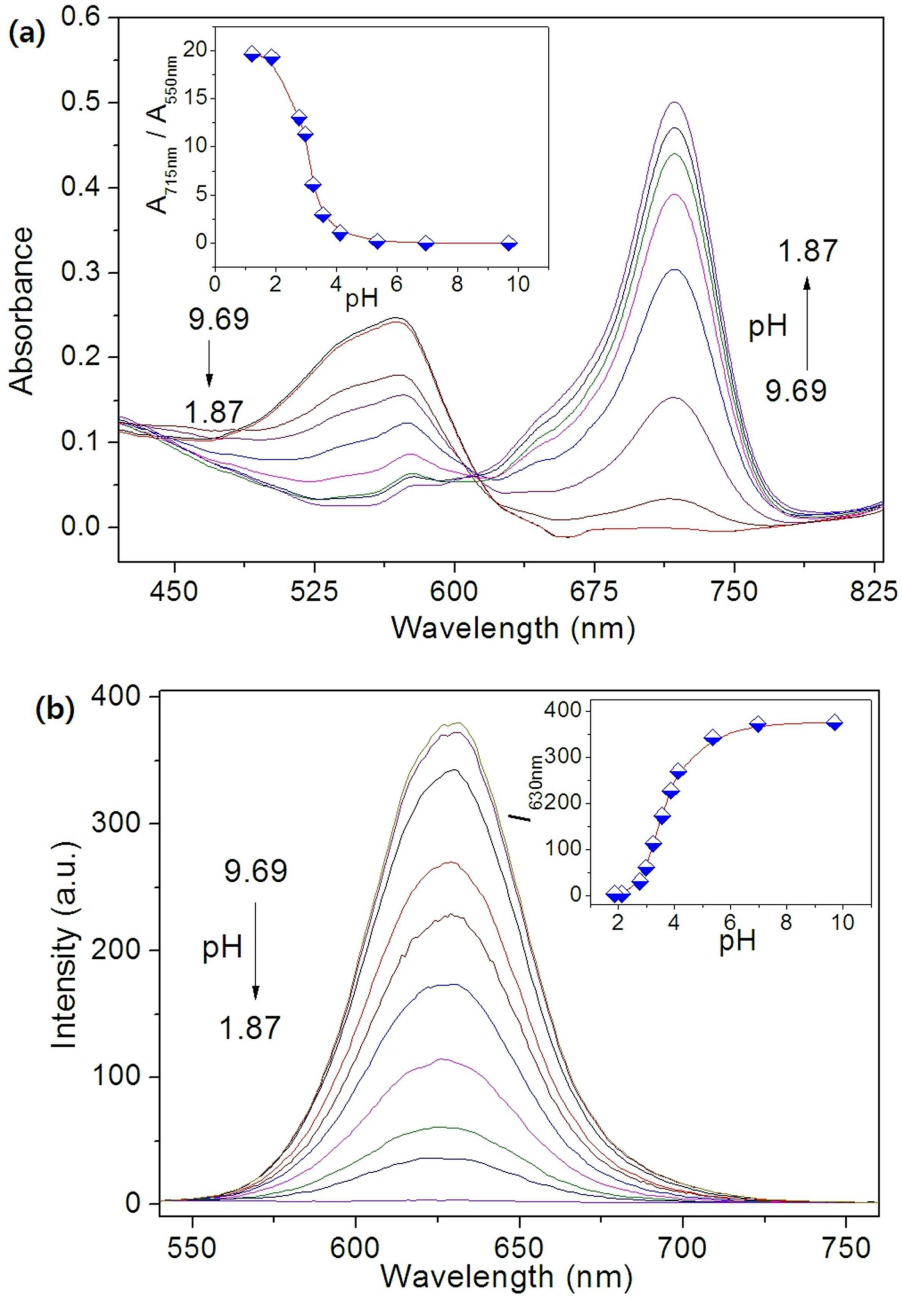
도면2


(a)
Absorbance
0.0
0.3
0.6
0.9
400
500
600
700
800
900
Wavelength (nm)
(b)
Intensity
0
5
10
15
20
750
780
810
840
870
900
Wavelength (nm)

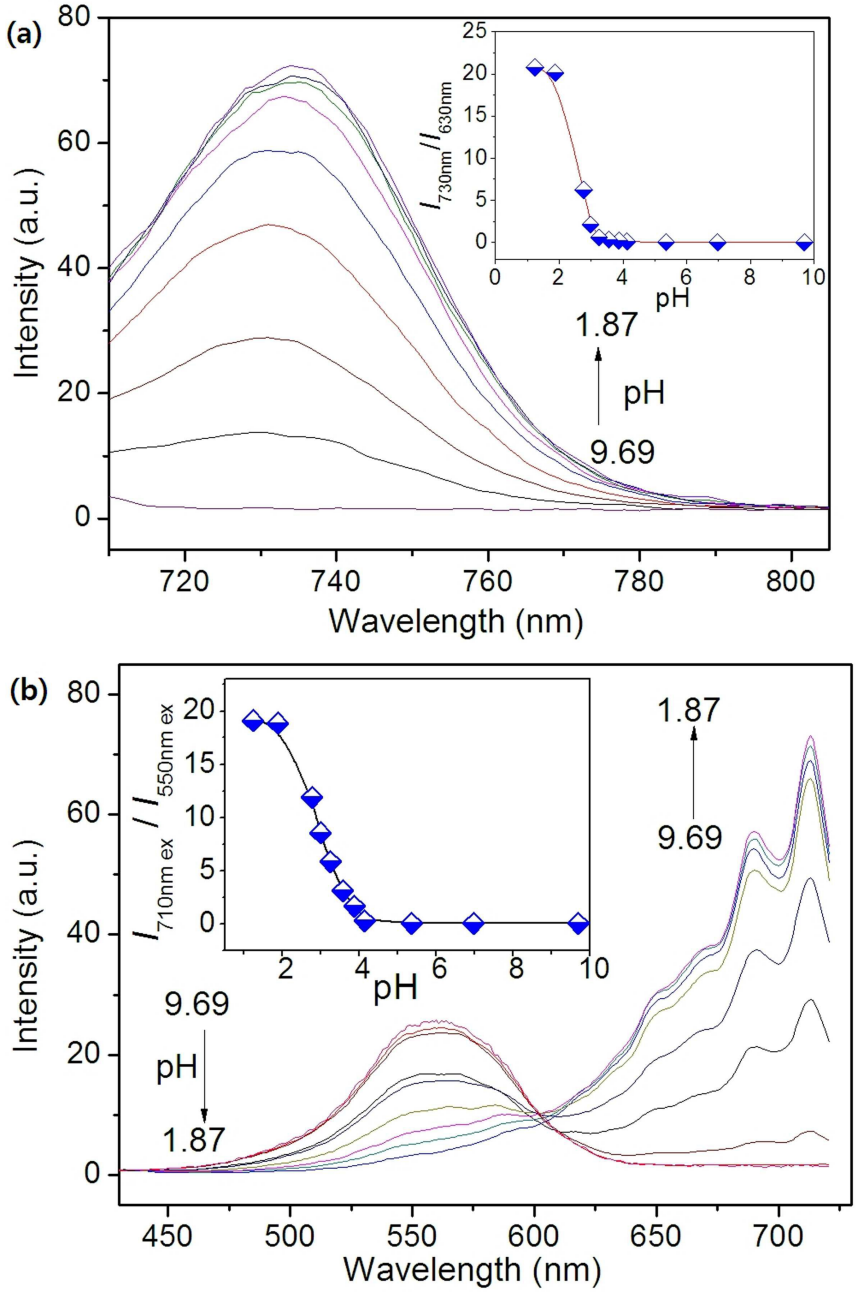
도면3



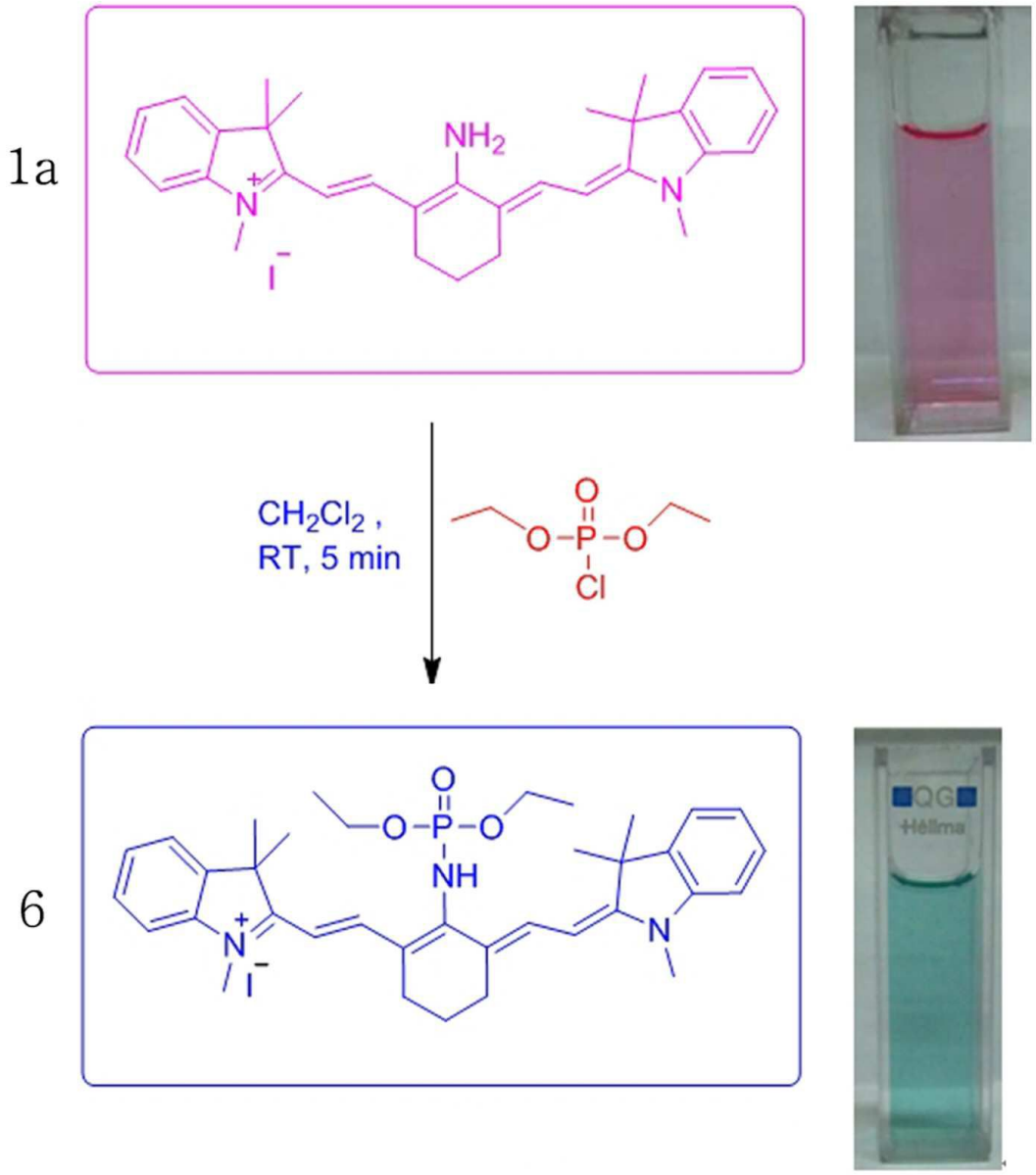
도면4


(a)
Absorbance
Wavelength (nm)
9.69
1.87
pH
1.87
9.69
A_{715nm} / A_{550nm}
pH
(b)
Intensity (a.u.)
Wavelength (nm)
9.69
pH
1.87
I_{630nm}
pH

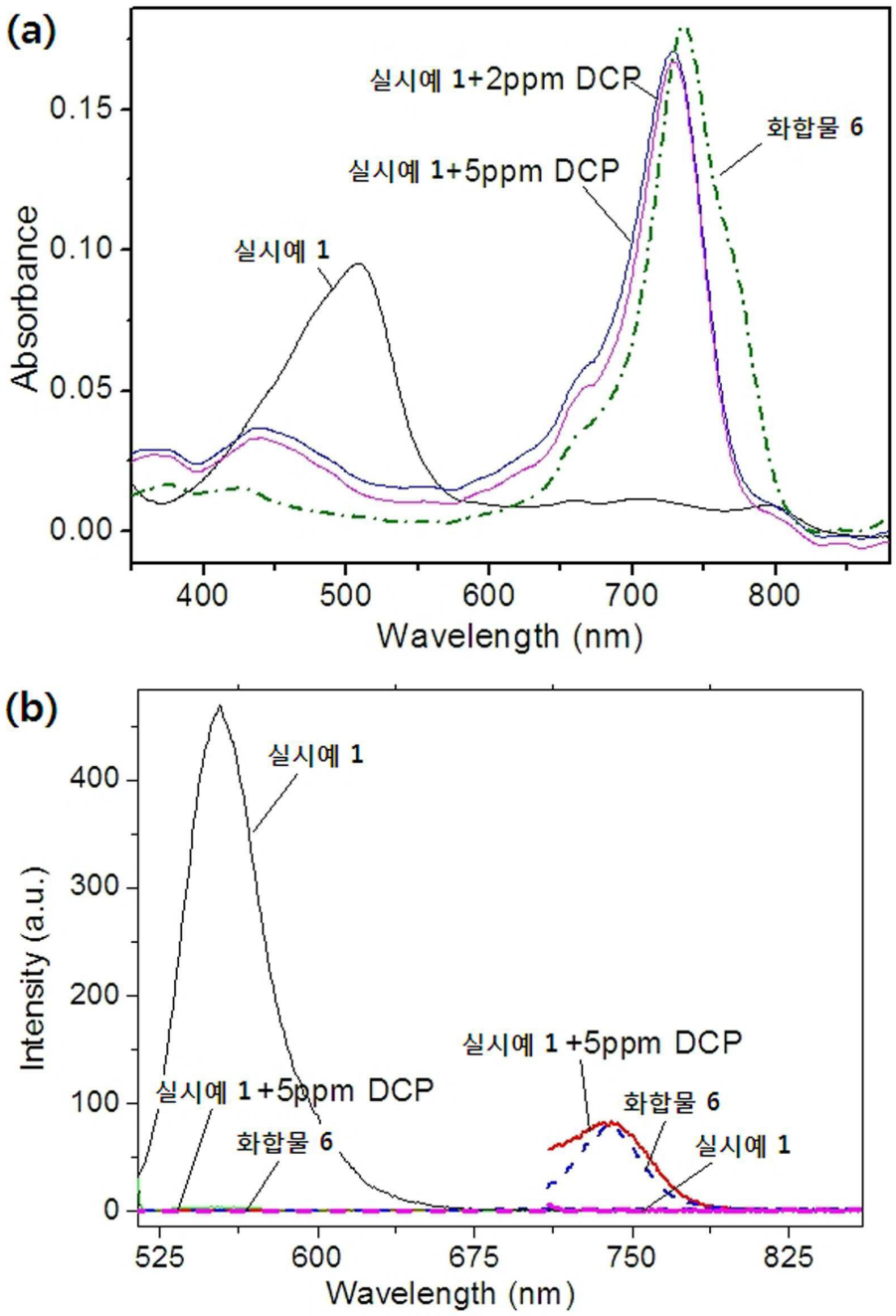
도면5


(a)
Intensity (a.u.)
Wavelength (nm)
I_{730nm}/I_{630nm}
pH
1.87
pH
9.69
(b)
Intensity (a.u.)
Wavelength (nm)
$I_{710nm\ ex}/I_{550nm\ ex}$
pH
1.87
9.69
9.69
pH
1.87

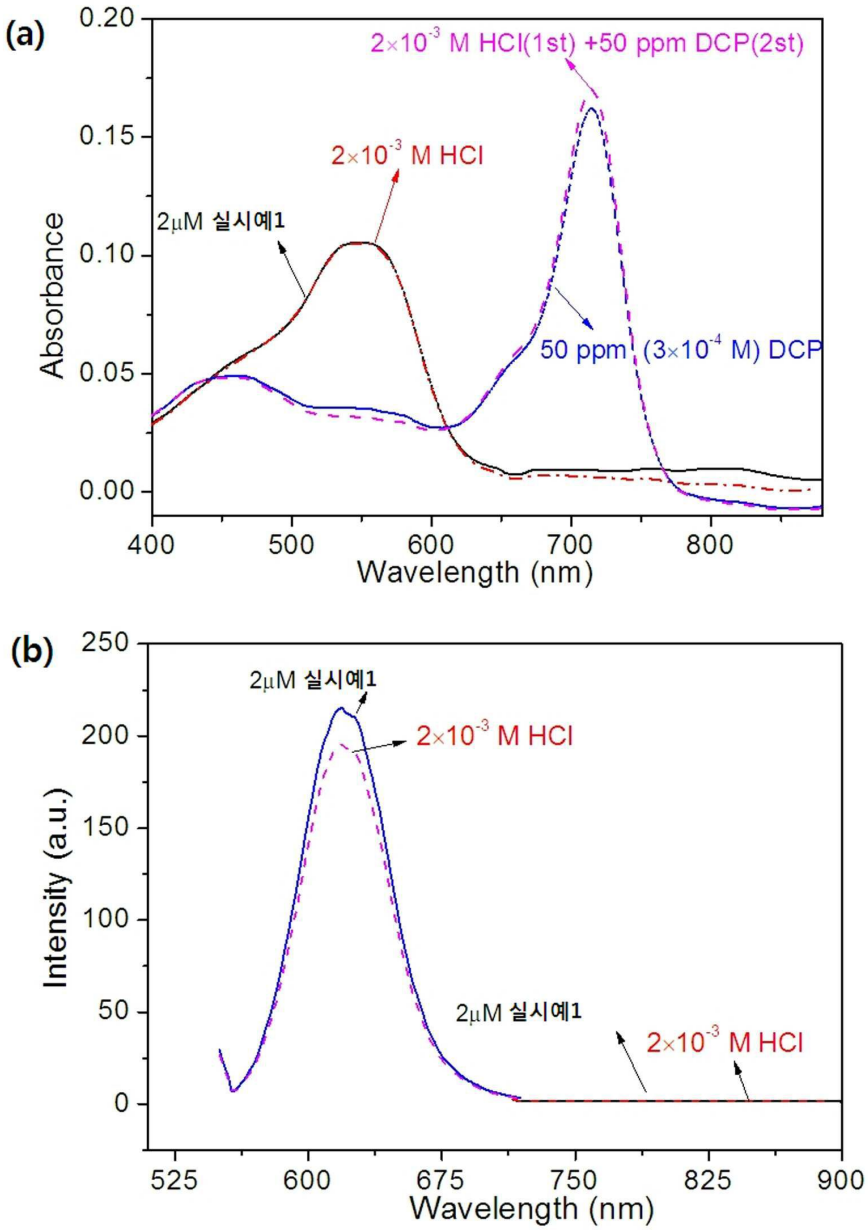
도면6



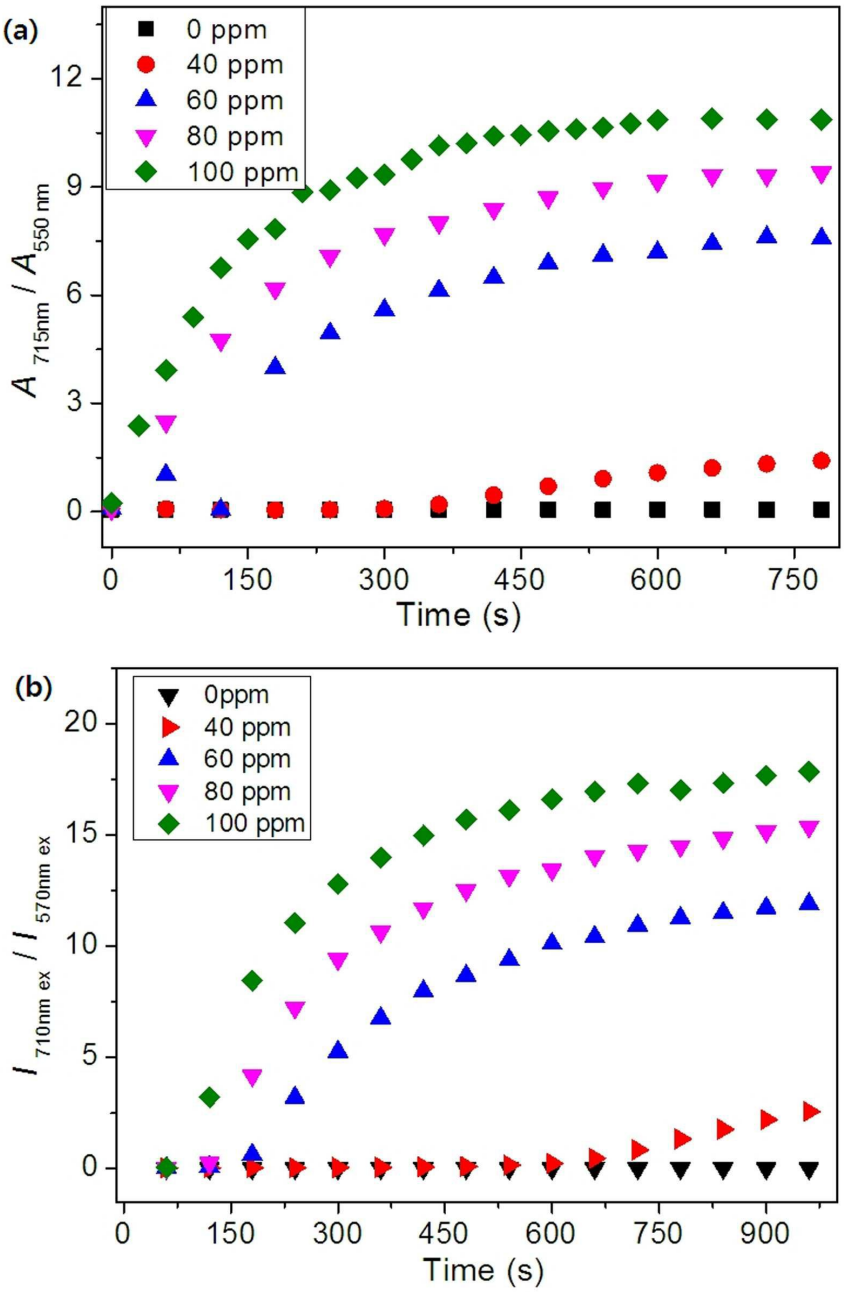
도면7


(a)
실시예 1+2ppm DCP
화합물 6
실시예 1+5ppm DCP
실시예 1
Absorbance
0.15
0.10
0.05
0.00
400
500
600
700
800
Wavelength (nm)
(b)
실시예 1
400
300
200
100
0
Intensity (a.u.)
실시예 1+5ppm DCP
화합물 6
실시예 1+5ppm DCP
화합물 6
실시예 1
525
600
675
750
825
Wavelength (nm)

도면8


(a)
Absorbance
Wavelength (nm)
2×10-3 M HCl(1st) +50 ppm DCP(2st)
2×10-3 M HCl
2μM 실시예1
50 ppm (3×10-4 M) DCP
(b)
Intensity (a.u.)
Wavelength (nm)
2μM 실시예1
2×10-3 M HCl
2μM 실시예1
2×10-3 M HCl

도면9


(a)
0 ppm
40 ppm
60 ppm
80 ppm
100 ppm
A 715nm / A 550 nm
Time (s)
(b)
0ppm
40 ppm
60 ppm
80 ppm
100 ppm
I 710nm ex / I 570nm ex
Time (s)

도면10

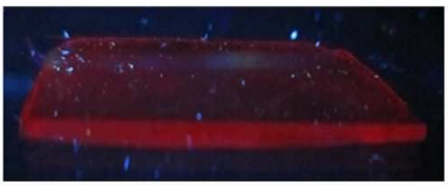
(a)



(b)



(c)



(d)

