

	(19) 대한민국특허청(KR) (12) 공개특허공보(A)	(11) 공개번호 10-2014-0006510 (43) 공개일자 2014년01월16일
(51) 국제특허분류(Int. Cl.) C07D 249/04 (2006.01) G01N 21/76 (2006.01)		(71) 출원인 인하대학교 산학협력단
(21) 출원번호	10-2012-0073607	인천광역시 남구 인하로 100, 인하대학교 (용현동)
(22) 출원일자	2012년07월06일	(72) 발명자
심사청구일자	2012년07월06일	이건형
		서울특별시 양천구 목동서로 38 (목동, 목동1단지아파트) 130동 1104호
		(74) 대리인
		이원희

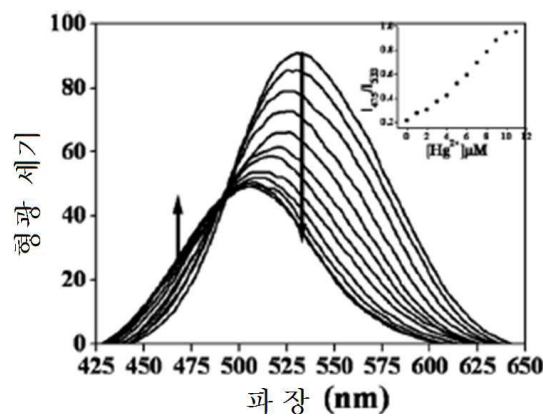
전체 청구항 수 : 총 15 항

(54) 발명의 명칭 아미노산에서 유래되는 수은 이온 선택적, 비례적 형광 감응 화학센서, 이의 제조방법 및 이를 이용한 수은 이온 검출방법

(57) 요약

본 발명은 아미노산에서 유래되는 수은 이온(Hg^{2+}) 선택적, 비례적 형광 감응 화학센서, 이의 제조방법 및 이를 이용한 수은 형광 검출방법에 관한 것으로, 본 발명에 따른 수은 이온(Hg^{2+}) 선택적, 비례적 형광 감응 화학센서는 100 % 수용액 및 수용액-유기용액의 혼합용액에서 종래의 형광 감응 화학센서에 비해 수은 이온(Hg^{2+})과의 결합성이 현저히 우수하고, 다른 전이금속 이온의 존재하에서도, 선택적으로 수은 이온(Hg^{2+})과 복합체를 형성하여 수은 이온(Hg^{2+})을 검출이 가능하다. 또한, 농도에 따라 비례적으로 검출함으로써, 수은 이온(Hg^{2+})의 정량 분석이 가능할 뿐만 아니라, 생체시료에 침투성이 뛰어나고, 생체 시료의 pH 범위에서 수은 이온(Hg^{2+}) 검출력이 우수하여, 생체시료 내에서의 수은 이온(Hg^{2+}) 검출이 가능하다. 아울러, 고체상에 도입된 형태에서도 수은 이온(Hg^{2+})을 검출하는 능력이 뛰어나므로, 지하수, 하천과 같은 수계 환경 및 생체시료 등의 낮은 농도의 수은 이온(Hg^{2+}) 검출이 요구되는 전반적인 산업분야에서 유용하게 사용될 수 있다.

대표도 - 도4



이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 43272-1

부처명 교육과학기술부

연구사업명 기본연구

연구과제명 펩타이드 scaffold를 기반으로 한 바이오 분자의 센싱 연구

기 여 율 1/1

주관기관 인하대학교산학협력단

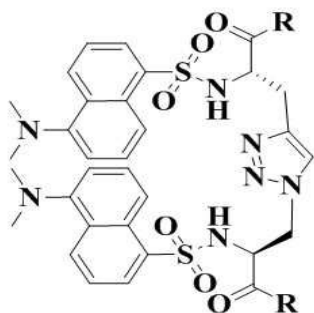
연구기간 2011.05.01 ~ 2012.04.30

특허청구의 범위

청구항 1

아미노산에서 유래되는 하기 화학식 1로 표시되는 화합물;

[화학식 1]



(상기 화학식 1에서,

R은 수소; NR₁R₂ 또는 OR₃이고;

R₁ 및 R₂는 서로 독립적으로, 수소; C1 내지 C10의 직쇄 또는 측쇄알킬; 비치환 또는 할로젠; 히드록시; C1 내지 C4의 알콕시; 아민으로 치환된 아릴; 질소 원자(N), 산소원자(O) 또는 황 원자(S)를 포함하는 5 내지 6 원자 헤테로아릴이고; 및

R₃은 수소; C1 내지 C10의 직쇄 또는 측쇄알킬이다).

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 R은 수소; NR₁R₂ 또는 OR₃이고;

R₁ 및 R₂는 서로 독립적으로, 수소; 메틸, 에틸, 프로필, 부틸, 펜틸, 헥실, 옥틸; 페닐, 4-히드록시페닐, 3-클로로페닐, 4-클로로페닐, 4-브로모페닐, 3-메톡시페닐, 4-메톡시페닐, 3-아닐린, 4-아닐린, 4-(N-메틸아미노)페닐, 3-(N,N-디메틸아미노)페닐; 2-피리디닐, 3-피리디닐, 2-퓨로일, 3-퓨로일, 2-티오펜일 또는 3-티오펜일이고; 및

R₃은 수소; 메틸, 에틸, 프로필, 부틸, 펜틸, 헥실 또는 옥틸인 것을 특징으로 하는 아미노산에서 유래되는 하기 화학식 1로 표시되는 화합물.

청구항 3

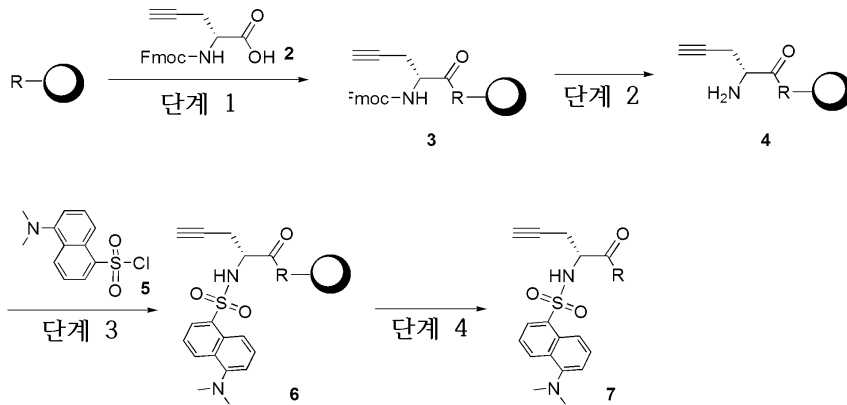
제1항에 있어서,

상기 R은 수소; NR₁R₂ 또는 OR₃이고;

R₁ 및 R₂는 서로 독립적으로, 수소; 메틸, 에틸, 프로필 또는 부틸이고; 및

R₃은 수소; 메틸, 에틸, 프로필 또는 부틸인 것을 특징으로 하는 아미노산에서 유래되는 하기 화학식 1로 표시되는 화합물.

[반응식 2]



(상기 반응식 2에서, R은 제1항의 화학식 1에서 정의된 바와 같으며,

은 고체상이다).

청구항 6

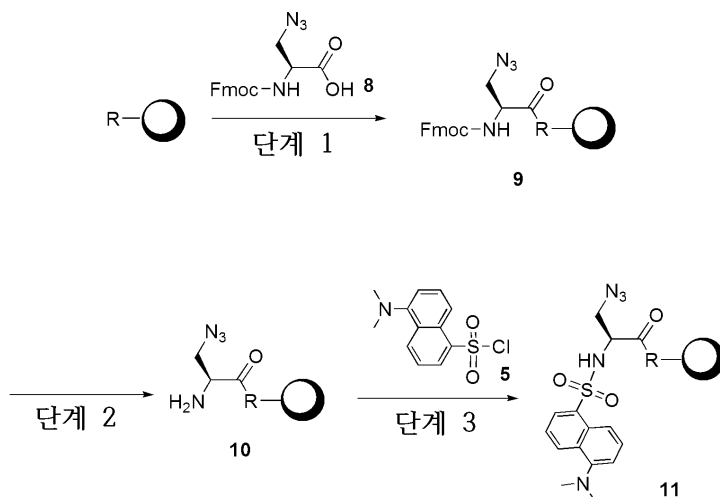
제4항에 있어서, 상기 반응식 1에서 화학식 11로 표시되는 화합물의 제조방법은;

화학식 8로 표시되는 아자이드기를 가진 아미노산을 고체상에 도입하여 화학식 9의 화합물을 제조하는 단계(단계 1);

상기 단계 1에서 제조된 화학식 9의 화합물의 말단 아미노기로부터 보호기를 제거하여 화학식 10의 화합물을 제조하는 단계(단계 2); 및

상기 단계 2에서 제조된 화학식 10의 화합물을 화학식 5의 화합물과 반응시켜 화학식 11의 화합물을 제조하는 단계(단계 3)를 포함하는 하는 것을 특징으로 하는 제1항의 화학식 1로 표시되는 화합물의 제조방법;

[반응식 3]



(상기 반응식 3에서, R은 제1항의 화학식 1에서 정의된 바와 같으며,

은 고체상이다).

청구항 7

제5항 또는 제6항에 있어서,

상기 단계 1의 고체상은 아마이드가 연결된 메틸벤조하이드릴아민(MBHA) 수지, 왕(Wang) 수지, 폴리에틸렌글리콜-폴리스틸렌(PEG-PS) 수지, 실리카 나노입자, 티타늄옥사이드 나노 입자 및 키토산으로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종인 것을 특징으로 하는 제1항의 화학식 1로 표시되는 화합물의 제조방법.

청구항 8

제5항 또는 제6항에 있어서,

상기 단계 1에서 고체상과 아미노산의 혼합비는 1 : 2 내지 10의 몰(mole)비인 것을 특징으로 하는 제1항의 화학식 1로 표시되는 화합물의 제조방법.

청구항 9

제1항의 화학식 1로 표시되는 수은 이온(Hg^{2+}) 선택적 비례적 형광 감응 화학센서.

청구항 10

제1항의 화학식 1로 표시되는 화합물을 수은 이온(Hg^{2+}) 유무를 판별하고자 하는 대상시료에 투입시키는 단계(단계 1); 및

상기 단계 1의 대상시료 내에 존재하는 수은 이온(Hg^{2+})과 상기 화학식 1의 화합물의 반응 생성물이 발생시키는 형광 신호를 측정하여 수은 이온(Hg^{2+})을 검출하는 단계(단계 2)를 포함하는 수은 이온(Hg^{2+}) 검출 방법.

청구항 11

제10항에 있어서,

상기 수은 검출 방법은 수은 이온(Hg^{2+})을 선택적, 비례적으로 감응하는 것을 특징으로 하는 수은 이온(Hg^{2+}) 형광 검출방법.

청구항 12

제10항에 있어서,

상기 시료는 수용액상 또는 유기용액을 함유한 수용액상인 것을 특징으로 하는 수은 이온(Hg^{2+}) 검출방법.

청구항 13

제12항에 있어서,

상기 유기용액은 디메틸포름아미드, 아세토니트릴, 메탄올 및 에탄올로 이루어지는 군으로부터 선택되는 1종인 것을 특징으로 하는 수은 이온(Hg^{2+}) 검출방법.

청구항 14

제10항에 있어서,

상기 시료는 생체시료를 포함하는 것을 특징으로 하는 수은 이온(Hg^{2+}) 검출방법.

청구항 15

제10항에 있어서,

상기 제1항의 수은 이온(Hg^{2+}) 형광 감응 화학센서는 아미노산에 도입된 고체상을 제거하지 않은 상태에서도 수은 이온(Hg^{2+})을 선택적, 비례적으로 감응하는 것을 특징으로 하는 수은 이온(Hg^{2+}) 검출방법.

명세서

기술분야

[0001] 본 발명은 아미노산에서 유래되고 수은 이온(Hg^{2+})을 선택적으로 및 비례적으로 형광 감응하는 화학센서, 이를 제조하는 방법 및 상기 화학센서를 이용하여 수은 이온(Hg^{2+})을 검출하는 방법에 관한 것이다.

배경기술

[0002] 생체 내 주요 물질과 이온들에 대한 새로운 센서의 설계와 연구는 그 동안 활발히 진행되어져 왔다. 최근 초분자(supramolecule) 화학에 대한 이해와 연구는 선택적으로 이온 또는 여러 가지 다른 종류의 게스트 화합물들과 결합할 수 있는 호스트 화합물의 설계에 큰 가능성을 보여 왔으며, 최근 이러한 초분자 화합물을 형광물질과 커플링시켜, 게스트 화합물과의 선택적 결합을 형광변화를 이용하여 보다 손쉽게 관찰할 수 있는 형광 화학센서(fluorescent chemosensor)의 개발에 대한 연구에 큰 도움을 주고 있다.

[0003] 형광이란 특정한 광과장(여기과장)을 갖는 광자가 표지분자(indicator molecule)와 충돌하고, 충돌의 결과로 전자가 고에너지 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 있어 많이 이용되고 있는 방법이다. 최근에는 이러한 성질을 이용하여 양이온, 음이온 그리고 중성 유기분자들에 대한 형광 화학 센서에 대한 연구들이 발표된 바 있다(비특허문헌 1).

[0004] 근래에, 대양과 화산에 의한 방출(비특허문헌 2), 금채광(비특허문헌 3), 또는 고체 폐기물 소각에 의한 수은 오염은 면역계, 유전자, 신경계에 대한 극심한 독성 때문에 큰 이슈가 되어 왔다. 수은은 매우 위험한 맹독성 오염물질로서 주변 환경 속에 많이 존재하고 있다. 주로 물에 잘 용해되는 이온형태(Hg^{2+})로 전환되어 수질 오염을 일으키며, 이렇게 오염된 수질에 생존하는 어류, 또는 수질을 이용하여 생산되는 농산물에 쉽게 축적된다. 수은 이온은 먹이 사슬을 통해 인간에게까지 축적이 이루어지며, 먹이사슬의 마지막 단계인 인간에게 축적되는 오염량은 상당히 높은 수준이다. 그러므로 수용액상에 존재하는 수은의 함량을 잘 모니터링 하는 것이 인류의 건강을 지키는 중요한 활동 중 하나가 될 수 있다. 따라서, 수용액에서 잘 녹고 수은 이온(Hg^{2+})에 대해서 강한 결합력과 선택성을 갖는 새로운 수은 화학센서의 개발에 큰 관심이 모아지고 있다.

[0005] 종래, 수은 이온(Hg^{2+})을 선택적으로 인식하는 다양한 화학센서들이 보고되었다. 예를 들면, 레이시오메트리(ratiometry) 방법을 이용하여 선택적인 형광 변화를 관찰하는 방법이 발표된 바 있으며(비특허문헌 4), 인광을 이용한 수은 이온(Hg^{2+}) 검출센서가 보고된 바 있다(특허문헌 1). 또한, 형광 화학센서를 이용한 수은 이온(Hg^{2+}) 검출방법이 알려져 있다(특허문헌 2 내지 7, 비특허문헌 5).

- [0006] 그러나 상기 방법들은 수은 이온(Hg^{2+})의 검출은 가능하나, 여러 가지 문제점이 있다.
- [0007] 레이시오메트리 방법을 이용한 경우, 수은 이온(Hg^{2+})에 대한 선택성이 있다고 보고되었으나, 약 4배의 정도의 경미한 레이시오메트리 거동을 나타내며, 화합물의 제조과정이 매우 복잡하고, 또한 니켈 및 구리 이온에 많은 영향을 받는 문제점이 있다. 인광을 이용한 수은 이온(Hg^{2+}) 검출센서는 ppm 단위 미만의 낮은 농도로 수은 이온(Hg^{2+})에 오염된 시료의 경우, 수은 이온(Hg^{2+}) 검출하지 못하는 문제가 있다. 종래의 알려져 있는 형광 화학센서 또한, ppm 단위 미만의 낮은 농도의 수은 이온(Hg^{2+})을 검출하지 못하는 경우가 대부분이며, 유기용매를 사용해야 하거나, 다른 금속이온의 간섭을 받는 등의 문제로 수은 이온(Hg^{2+})을 선택적으로 검출하지 못하는 경우가 많다.
- [0008] 최근 들어, 아미노산을 이용한 중금속 형광 센서를 합성하여 여러 종류의 전이금속을 검출하는 연구가 활발히 진행되고 있다. 형광 아미노산 센서는 아래에 나와 있는 몇 가지 측면에서 많은 관심을 받고 있다. 천연 아미노산을 포함하는 형광 센서는 고체상 합성법을 이용하여 빠른 시간 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 유기 용매를 쓰지 않아도 사용이 용이하므로 환경 친화적이며, 그 결합 능력이 매우 우수한 점이 기존 형광 화학 센서와 차별화된 점이라 할 수 있다. 또한 합성된 형광 아미노산 센서를 고체상 장치에 손쉽게 결합시킬 수 있고, 중금속 흡착 센싱 등의 응용이 가능하다.
- [0009] 이에, 본 발명자들은 수은 이온(Hg^{2+})에 대하여 연구하던 중, 2개의 아미노산 사이에 트리아졸을 도입하고, 2개의 아미노산 말단의 아미노기에 형광체를 도입한 화합물이 선택적, 비례적으로 수은 이온(Hg^{2+})을 높은 감도로 검출하는 것을 확인하고 본 발명을 완성하였다.

선행기술문헌

특허문헌

- [0010] (특허문헌 0001) KR 10-1031314
(특허문헌 0002) KR 10-0862606
(특허문헌 0003) KR 10-0816200
(특허문헌 0004) KR 10-0930969
(특허문헌 0005) KR 10-0028274
(특허문헌 0006) KR 10-0007112
(특허문헌 0007) KR 10-0007113

비특허문헌

- [0011] (비특허문헌 0001) A. P. de Silva., et al., Chem. Rev. 97,(1997) 1515.
(비특허문헌 0002) Renzoni, A., et al., Environ. Res. 77,(1998), 68.
(비특허문헌 0003) Malm, O., et al., Environ. Res. 77,(1998). 73.
(비특허문헌 0004) Elizabeth. M., et al., J. Materials. Chem. 15,(2005). 2778.

(비특허문헌 0005) Pil Seung. K., et al., J. Kor. Chem. Soc. 54,(2010). 451.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0012] 본 발명의 목적은 아미노산에서 유래되는 수은 이온(Hg^{2+}) 선택적, 비례적 형광 감응 화학센서를 제공하는 것이다.

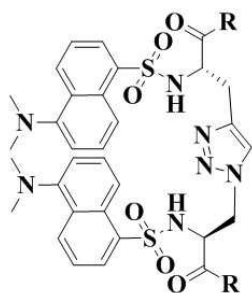
[0013] 본 발명의 다른 목적은 상기 수은 이온(Hg^{2+}) 선택적, 비례적 형광 감응 화학센서의 제조방법을 제공하는 것이다.

[0014] 본 발명의 또 다른 목적은 상기 수은 이온(Hg^{2+}) 선택적, 비례적 형광 감응 화학센서를 이용한 수은 이온(Hg^{2+}) 형광 검출방법을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0015] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 하기 화학식 1로 표시되는 아미노산에서 유래되는 수은 이온(Hg^{2+}) 선택적, 비례적 형광 감응 화학센서를 제공한다:

[0016] [화학식 1]



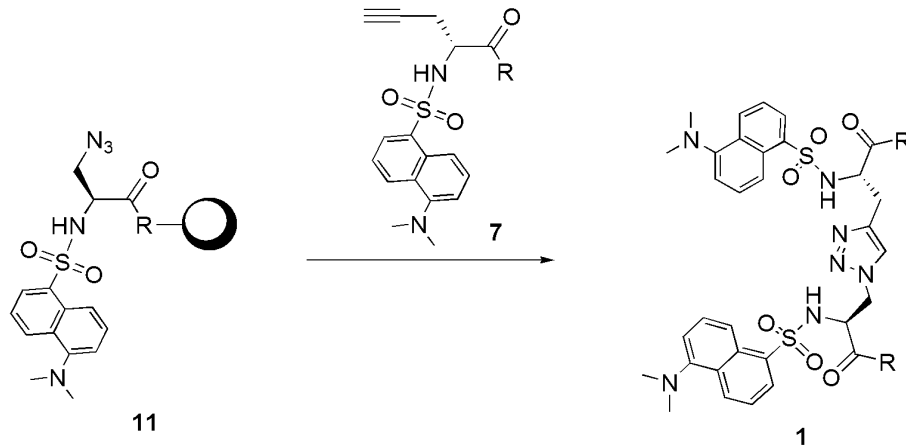
[0017]

[0018] (상기 화학식 1에서 R은 본 명세서에서 정의한 바와 같다).

[0019] 또한, 본 발명은 하기 반응식 1에 나타난 바와 같이,

[0020] 화학식 11로 표시되는 아자이드기를 갖는 아미노산 유도체와 화학식 7로 표시되는 알킬닐기를 갖는 아미노산 유도체를 반응시켜 트리아졸 형성을 통해 상기 화학식 1로 표시되는 수은 이온(Hg^{2+}) 선택적, 비례적 형광 감응 화학센서의 제조방법을 제공한다.

[0021] [반응식 1]



[0022]

[0023] (상기 반응식 1에서, R은 본 명세서에서 정의된 바와 같으며,

[0024] 는 고체상이다).

[0025] 나아가, 본 발명은 상기 화학식 1로 표시되는 화합물을 수은 이온(Hg^{2+}) 유무를 판별하고자 하는 대상시료에 투입시키는 단계(단계 1); 및

[0026] 상기 대상시료 내에 존재하는 수은과 상기 화학식 1의 화합물의 반응 생성물이 발생시키는 형광 신호를 측정하여 수은 이온(Hg^{2+})을 검출하는 단계(단계 2)를 포함하는 수은 이온(Hg^{2+}) 선택적, 비례적 형광 감응 화학센서를 이용한 수은 이온(Hg^{2+}) 형광 검출방법을 제공한다.

발명의 효과

[0027] 본 발명에 따른 수은 이온(Hg^{2+}) 선택적, 비례적 형광 감응 화학센서는 100 % 수용액 및 수용액-유기용액의 혼합 용액에서 종래의 형광 감응 화학센서에 비해 수은 이온(Hg^{2+})과의 결합성이 현저히 우수하고, 다른 전이금속 이온의 존재하에서도, 선택적으로 수은 이온(Hg^{2+})과 복합체를 형성하여 수은 이온(Hg^{2+})을 검출이 가능하다. 또한, 농도에 따라 비례적으로 검출함으로써, 수은 이온(Hg^{2+})의 정량 분석이 가능할 뿐만 아니라, 생체시료에 침투성이 뛰어나고, 생체 시료의 pH 범위에서 수은 이온(Hg^{2+}) 검출력이 우수하여, 생체시료 내에서의 수은 이온(Hg^{2+}) 검출이 가능하다. 아울러, 고체상에 도입된 형태에서도 수은 이온(Hg^{2+})을 검출하는 능력이 뛰어나므로, 지하수, 하천과 같은 수계 환경 및 생체시료 등의 낮은 농도의 수은 이온(Hg^{2+}) 검출이 요구되는 전반적인 산업분야에서 유용하게 사용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0028] 도 1은 화학식 1의 화합물-수은 이온(Hg^{2+}) 복합체의 ESI-MS 스펙트럼이다.

도 2는 전이 금속에 따른 화학식 1의 화합물-금속 이온 복합체의 형광 변화를 나타낸 형광 스펙트럼이다.

도 3은 각 시료의 형광 스펙트럼에서 475 nm 파장의 형광 변화에 대한 530 nm 파장의 형광 변화의 비율을 계산한 그래프이다.

상기 도 3에서 나타내는 부호는 하기와 같다.



: 화학식 1의 화합물의 형광 변화 비율값



: 화학식 1의 화합물과 수은 이온의 혼합시료의 형광 변화 비율값



: 화학식 1의 화합물과 금속 이온의 혼합시료의 형광 변화 비율값



: 화학식 1의 화합물, 금속 이온 및 수은 이온의 혼합시료의 형광 변화 비율값

도 4는 수은 이온 농도에 따른 화학식 1의 화합물-수은 이온 복합체의 형광 변화를 나타낸 형광 스펙트럼이다.

도 5는 수은 이온(Hg^{2+})에 따른 물분율을 이용한 화학식 1의 화합물과 수은 이온(Hg^{2+})에 대한 Job's plot 그래프이다.

도 6은 화학식 1의 화합물의 수은 이온(Hg^{2+})의 농도 변화에 따른 530 nm의 형광 변화를 나타낸 형광 스펙트럼이다.

도 7은 pH 변화에 따른 화학식 1의 화합물-수은 이온(Hg^{2+}) 복합체의 형광 변화를 나타낸 형광 스펙트럼이다.

도 8은 HeLa 세포 내에서의 화학식 1의 화합물 침투 및 수은 이온(Hg^{2+})과의 복합체를 나타낸 공초점 현미경(confocal microscopy) 촬영 사진이다.

상기 도 8에서 나타내는 부호는 하기와 같다.

(A): HeLa 세포의 사진.

(B): 화학식 1의 화합물이 침투한 HeLa 세포의 사진.

(C): 세포 내에서 침투한 화학식 1의 화합물과 수은 이온(Hg^{2+})이 복합체를 이룬 HeLa 세포의 사진.

도 9는 고체상이 도입된 화학식 1의 화합물-금속 이온 복합체의 형광 세기 변화를 나타낸 형광 스펙트럼이다.

상기 도 9에서 나타내는 부호는 하기와 같다.

(A): 고체상이 도입된 형광 화학센서의 형광 스펙트럼.

(B): 2 당량의 수은 이온(Hg^{2+}) 처리 후의 형광 화학센서의 형광 스펙트럼.

(C): 5 당량의 수은 이온(Hg^{2+}) 처리 후의 형광 화학센서의 형광 스펙트럼.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

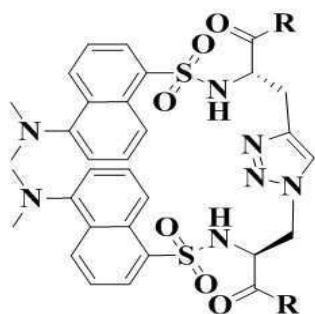
이하, 본 발명을 상세히 설명한다.

[0029]

본 발명은 하기 화학식 1로 표시되는 아미노산에서 유래되는 하기 화학식 1로 표시되는 화합물을 제공한다.

[0030]

화학식 1



[0031]

[0032]

상기 화학식 1에서,

[0033]

R은 수소; NR₁R₂ 또는 OR₃이고;

[0034]

R₁ 및 R₂는 서로 독립적으로, 수소; C1 내지 C10의 직쇄 또는 측쇄알킬; 비치환 또는 할로겐; 히드록시; C1 내지 C4의 알콕시; 아민으로 치환된 아릴; 질소원자(N), 산소원자(O) 또는 황 원자(S)를 포함하는 5 내지 6 원자 헤테로아릴이고; 및

[0035]

R₃은 수소; C1 내지 C10의 직쇄 또는 측쇄알킬이다.

[0036]

바람직하게는, 상기 화학식 1에서,

[0037]

R은 수소; NR₁R₂ 또는 OR₃이고;

[0038]

R₁ 및 R₂는 서로 독립적으로, 수소; 메틸, 에틸, 프로필, 부틸, 펜틸, 헥실, 옥틸; 페닐, 4-히드록시페닐, 3-클로로페닐, 4-클로로페닐, 4-브로모페닐, 3-메톡시페닐, 4-메톡시페닐, 3-아닐린, 4-아닐린, 4-(N-메틸아미노)페닐, 3-(N,N-디메틸아미노)페닐; 2-피리디닐, 3-피리디닐, 2-퓨로일, 3-퓨로일, 2-티오펜일 또는 3-티오펜일이고; 및

[0039]

R₃은 수소; 메틸, 에틸, 프로필, 부틸, 펜틸, 헥실 또는 옥틸이다.

[0040]

더욱 바람직하게는, 상기 화학식 1에서,

[0041]

R은 수소; NR₁R₂ 또는 OR₃이고;

[0042]

R₁ 및 R₂는 서로 독립적으로, 수소; 메틸, 에틸, 프로필 또는 부틸이고; 및

[0043]

R₃은 수소; 메틸, 에틸, 프로필 또는 부틸이다.

[0044]

또한, 본 발명은 상기 화학식 1로 표시되는 화합물의 제조방법을 제공한다.

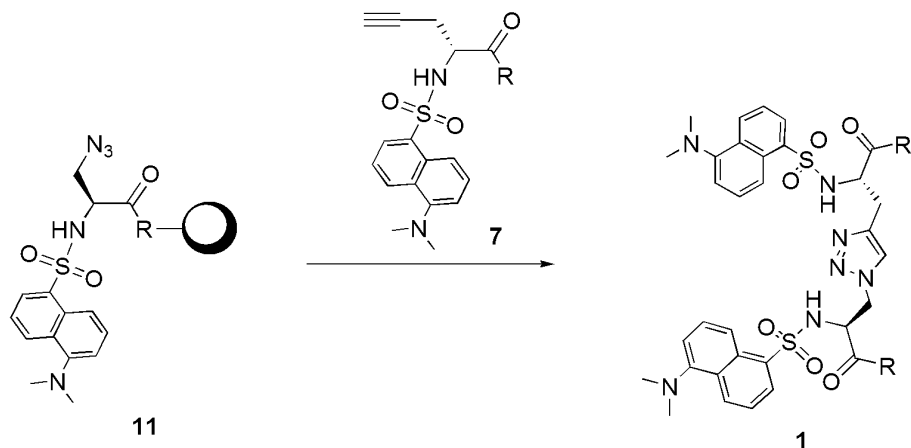
[0045]

하기 반응식 1에 나타난 바와 같이,

[0046]

화학식 11로 표시되는 아자이드기를 갖는 아미노산 유도체와 화학식 7로 표시되는 알킬닐기를 갖는 아미노산 유도체를 반응시켜 트리아졸 형성을 통해 상기 화학식 1로 표시되는 화합물의 제조방법을 제공한다.

[0047] [반응식 1]



[0048]

[0049] (상기 반응식 1에서, R은 상기 화학식 1에서 정의된 바와 같으며,

[0050] 은 고체상이다).

[0051] 본 발명에 따른 상기 제조방법은 화학식 11로 표시되는 아자이드기를 갖는 아미노산 유도체와 화학식 7로 표시되는 알킬닐기를 갖는 아미노산 유도체의 클릭(Click) 반응을 통하여 트리아졸을 형성한 뒤, 트리플루오로아세트산(TFA)을 이용하여 화학식 10에서 고체상을 제거하여 화학식 1로 표시되는 화합물을 제조한다.

[0052] 이때, 클릭(Click) 반응에 사용 가능한 유기용매로는 반응에 악영향을 미치지 않는 에탄올, t-부탄올, 1,4-디옥산, 디메틸포름아미드, 디메틸설폭사이드, 증류수, 또는 이들의 혼합용액 등을 이용하여 반응을 수행할 수 있고, 바람직하게는 t-부탄올, 증류수 및 디메틸포름아미드의 혼합용매를 사용할 수 있다.

[0053] 또한, 화학식 11에서 고체상을 제거하는 반응에 사용 가능한 유기용매는 용매검 반응제로 트리플루오로아세트산과 증류수를 95 대 5의 부피비로 혼합하여 사용할 수 있다.

[0054] 나아가, 클릭(Click) 반응에 사용 가능한 촉매로는 요오드화구리(I), 황산구리(II) 등을 사용할 수 있으며, 바람직하게는 황산구리(II)를 사용할 수 있고, 첨가제로는 소듐아스코르바이트, 트리에틸아민(TEA), L-프롤린, 디이소프로필에틸아민(DIPEA) 또는 1,8-디아자비스사이클로우데켄(DBU) 등을 사용할 수 있으며, 바람직하게는 소듐아스코르바이트를 사용할 수 있다.

[0055] 또한, 반응온도는 특별히 제한되지는 않으나, 상온 내지 용매의 환류 온도 범위 내에서 수행될 수 있다.

[0056] 또한, 하기 반응식 2에 나타난 바와 같이,

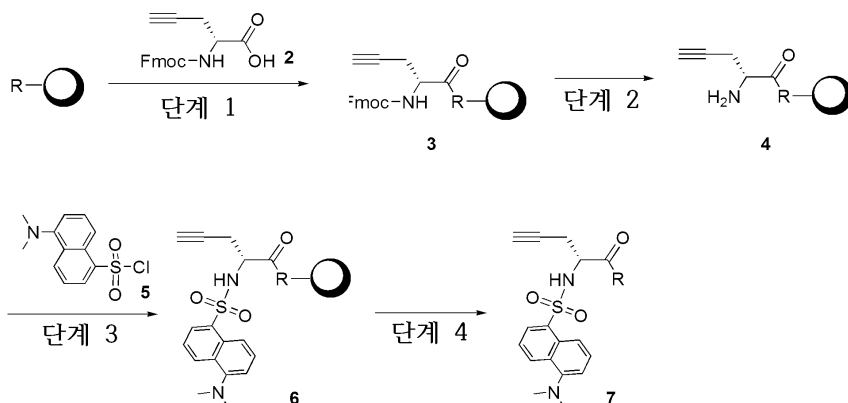
[0057] 화학식 2로 표시되는 알킨기를 가진 아미노산을 고체상에 도입하여 화학식 3의 화합물을 제조하는 단계(단계 1);

[0058] 상기 단계 1에서 제조된 화학식 3의 말단 아미노기로부터 보호기를 제거하여 화학식 4의 화합물을 제조하는 단계(단계 2);

[0059] 상기 단계 2에서 제조된 화학식 4의 화합물에 화학식 5의 화합물과 반응시켜 화학식 6의 화합물을 제조하는 단계(단계 3); 및

[0060] 상기 단계 3에서 제조된 화학식 6의 아미노산에 결합된 고체상을 제거하여 화학식 7의 화합물을 제조하는 단계(단계 4)를 포함하여 제조되는 상기 반응식 1의 화학식 7의 화합물을 제조하는 방법을 제공한다.

[0061] [반응식 2]



(상기 반응식 2에서, R은 상기 화학식 1에서 정의된 바와 같으며,

은 고체상이다).

이하, 상기 제조방법을 각 단계별로 상세히 설명한다.

먼저, 상기 단계 1은 화학식 2로 표시되는 알키닐기를 가진 아미노산의 카르복실기에 수지, 필름 또는 나노입자 등의 고체상을 도입하여 화학식 3의 화합물을 제조하는 단계이다.

이때, 상기 결합반응은 디이소프로필에틸아민 또는 트리에틸아민과 함께 아마이드 결합시약으로 벤조트리아졸-1-일-옥시-트리스(디메틸아미노)-포스포니움 헥사플루오로포스페이트(Py-BOP), 1-히드록시-벤조트리아졸(HBTU), 1-히드록시-7-아자-벤조트리아졸(HATU), 히드록시 벤조트리아졸(HOBt), 디사이클로헥실카르보디이미드(DCC), 디이소프로필카르보디이미드(DIC), 1-에틸-3-(3-디메틸아미노프로필)카르보이미드(EDC), 또는 카르보닐디이미다졸(CDI)을 사용할 수 있으며, 바람직하게는 디이소프로필카르보디이미드(DIC)와 히드록시 벤조트리아졸(HOBt)를 함께 사용할 수 있다.

또한, 사용 가능한 유기용매로는 반응에 악영향을 미치지 않는 메탄올, 디메틸포름아이드(DMF), 테트라하이드로퓨란(THF), 디클로로메탄(DCM) 또는 톨루엔 등을 이용하여 반응을 수행할 수 있고, 바람직하게는 디메틸포름아이드(DMF)를 사용할 수 있다.

본 발명에 따른 상기 단계 1의 ()으로 표시되는 고체상은 당 분야에서 통상적으로 사용되는 수지 및 나노입자를 사용할 수 있으며, 바람직하게는 아마이드가 연결된 메틸벤조하이드릴아민(MBHA) 수지, 왕(Wang) 수지, 폴리에틸렌글리콜-폴리스티렌(PEG-PS) 수지, 실리카 나노입자, 티타늄옥사이드 나노 입자 또는 키토산을 사용할 수 있다.

또한, 본 발명에 따른 상기 단계 1에서 고체상과 아미노산은 1 : 2 내지 10의 몰(mole)비로 혼합할 수 있으며, 바람직하게는 1 : 3 내지 7의 몰(mole)비로 혼합할 수 있다.

상기 고체상과 아미노산의 혼합비가 몰(mole)비로 1:2 미만인 경우, 도입되는 아미노산의 양이 적어 원하는 목적화합물의 합성효율이 떨어지는 문제점이 있으며, 고체상과 아미노산의 혼합비가 몰(mole)비로 1:10을 초과하는 경우에는 반응 후, 미반응하여 폐기되는 아미노산의 양이 많아 비경제적이라는 문제점이 있다.

또한, 본 발명에 따른 단계 2는 상기 단계 1에서 제조된 화학식 3의 말단 아미노기로부터 보호기를 제거하여 화

화학식 4의 화합물을 제조하는 단계로서, 보다 상세하게는 50% 피페리딘을 이용하여 화학식 3으로 표시되는 Fmoc-보호기로 보호된 아미노기를 갖는 화합물로부터 아미노기를 보호하고 있는 Fmoc-보호기를 제거하여 화학식 4의 아미노기에 보호기가 없는 화합물을 제조하는 단계이다.

[0073] 나아가, 본 발명에 따른 상기 단계 3은 상기 단계 2에서 제조된 화학식 4의 화합물에 화학식 5의 화합물과 반응시켜 화학식 6의 화합물을 제조하는 단계로서, 보다 상세하게는 화학식 5로 표시되는 5-(디메틸아미노)나프탈렌-1-술포닐 클로라이드의 클로로기가 화학식 4의 보호기가 제거된 아미노산의 아미노기로 치환되어 화학식 6의 화합물을 제조하는 단계이다.

[0074] 이때, 사용 가능한 유기용매로는 반응에 악영향을 미치지 않는 메탄올, 디메틸포름아미드(DMF), 테트라하이드로퓨란(THF), 디클로로메탄(DCM) 또는 톨루엔 등을 이용하여 반응을 수행할 수 있고, 바람직하게는 디메틸포름아미드(DMF)를 사용할 수 있다.

[0075] 또한, 사용 가능한 첨가제로는 트리에틸아민(TEA), L-프롤린, 디이소프로필에틸아민(DIPEA) 또는 1,8-디아자비사이클로우데켄(DBU) 등을 사용할 수 있으며, 바람직하게는 트리에틸아민(TEA)을 사용할 수 있다.

[0076] 나아가, 반응온도는 특별히 제한되지는 않으나, 상온 내지 용매의 환류온도 범위 내에서 수행될 수 있다.

[0077] 또한, 본 발명에 따른 단계 4는, 상기 단계 3에서 제조된 화학식 6의 아미노산에 결합된 고체상을 제거하여 화학식 7의 화합물을 제조하는 단계로서, 보다 상세하게는 트리플루오로아세트산(TFA)을 이용하여 화합물 말단의 고체상을 제거하여 화학식 7의 화합물을 제조하는 단계이다.

[0078] 이때, 고체상을 제거하기 위해 사용되는 트리플루오로아세트산(TFA)은 증류수와 혼합하여 반응용매로 사용하며, 반응용매로 사용되는 혼합용매는 트리플루오로아세트산(TFA)의 비율이 부피비로 95 % 이상인 것이 바람직하다.

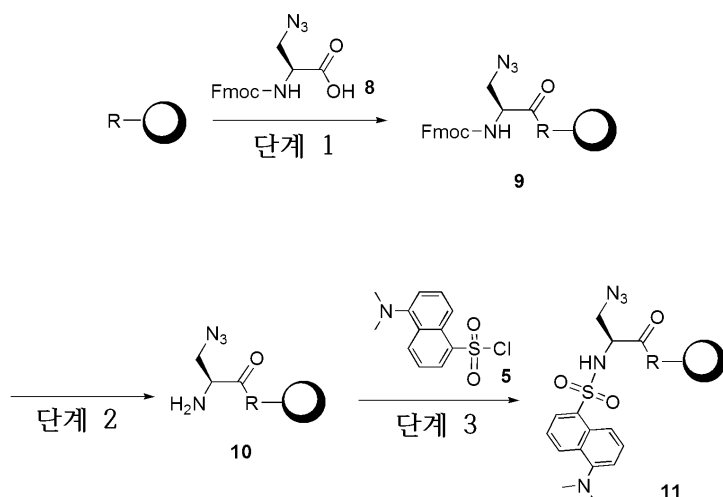
[0079] 나아가, 하기 반응식 3에 나타난 바와 같이,

[0080] 화학식 8로 표시되는 아자이드기를 가진 아미노산을 고체상에 도입하여 화학식 9의 화합물을 제조하는 단계(단계 1);

[0081] 상기 단계 1에서 제조된 화학식 9의 화합물의 말단 아미노기로부터 보호기를 제거하여 화학식 10의 화합물을 제조하는 단계(단계 2); 및

[0082] 상기 단계 2에서 제조된 화학식 10의 화합물을 화학식 5의 화합물과 반응시켜 화학식 11의 화합물을 제조하는 단계(단계 3)를 포함하여 제조되는 상기 반응식 1의 화학식 11의 화합물을 제조하는 방법을 제공한다.

[0083] [반응식 3]



[0084]

[0085] (상기 반응식 3에서, R은 상기 화학식 1에서 정의된 바와 같으며,

은 고체상이다).

[0086]

이하, 상기 제조방법을 각 단계별로 상세히 설명한다.

[0087]

먼저, 상기 단계 1은 화학식 8로 표시되는 아자이드기를 가진 아미노산의 카르복실기에 수지, 필름 또는 나노입자 등의 고체상을 도입하여 화학식 9의 화합물을 제조하는 단계이다.

[0088]

이때, 상기 결합반응은 디이소프로필에틸아민 또는 트리에틸아민과 함께 아마이드 결합시약으로 벤조트리아졸-1-일-옥시-트리스(디메틸아미노)-포스포니움 헥사플루오로포스페이트(Py-BOP), 1-히드록시-벤조트리아졸(HBTU), 1-히드록시-7-아자-벤조트리아졸(HATU), 히드록시 벤조트리아졸(HOBt), 디사이클로헥실카르보디이미드(DCC), 디이소프로필카르보디이미드(DIC), 1-에틸-3-(3-디메틸아미노프로필)카르보디이미드(EDC), 또는 카르보닐디이미다졸(CDI)을 사용할 수 있으며, 바람직하게는 디이소프로필카르보디이미드(DIC)와 히드록시 벤조트리아졸(HOBt)를 함께 사용할 수 있다.

[0089]

또한, 사용 가능한 유기용매로는 반응에 악영향을 미치지 않는 메탄올, 디메틸포름아미드(DMF), 테트라하이드로퓨란(THF), 디클로로메탄(DCM) 또는 톨루엔 등을 이용하여 반응을 수행할 수 있고, 바람직하게는 디메틸포름아미드(DMF)를 사용할 수 있다.

[0090]

본 발명에 따른 상기 단계 1의 ()으로 표시되는 고체상은 당 분야에서 통상적으로 사용되는 수지를 사용할 수 있으며, 바람직하게는 아마이드가 연결된 메틸벤조하이드릴아민(MBHA) 수지, 왕(Wang) 수지, 폴리에틸렌 글리콜-폴리스티렌(PEG-PS) 수지, 실리카 나노입자, 티타늄옥사이드 나노 입자 및 키토산을 사용할 수 있다.

[0091]

또한, 본 발명에 따른 상기 단계 1에서 고체상과 아미노산은 1 : 2 내지 10의 몰(mole)비로 혼합할 수 있으며, 바람직하게는 1 : 3 내지 7의 몰(mole)비로 혼합할 수 있다.

[0092]

상기 고체상과 아미노산의 혼합비가 몰(mole)비로 1:2 미만인 경우, 도입되는 아미노산의 양이 적어 원하는 목적화합물의 합성 효율이 떨어지는 문제점이 있으며, 고체상과 아미노산의 혼합비가 몰(mole)비로 1:10을 초과하는 경우에는 반응 후, 미반응하여 폐기되는 아미노산의 양이 많아 비경제적이라는 문제점이 있다.

[0093]

또한, 본 발명에 따른 단계 2는 상기 단계 1에서 제조된 화학식 9의 화합물의 말단 아미노기로부터 보호기를 제거하여 화학식 10의 화합물을 제조하는 단계로서, 보다 상세하게는 50 % 피페리딘을 이용하여 화학식 9로 표시되는 Fmoc-보호기로 보호된 아미노기를 갖는 화합물로부터 아미노기를 보호하고 있는 Fmoc-보호기를 제거하여 화학식 10의 아미노기에 보호기가 없는 화합물을 제조하는 단계이다.

[0094]

나아가, 본 발명에 따른 단계 3은 상기 단계 2에서 제조된 화학식 10의 화합물을 화학식 5의 화합물과 반응시켜 화학식 11의 화합물을 제조하는 단계로서, 보다 상세하게는 화학식 5로 표시되는 5-(디메틸아미노)나프탈렌-1-술포닐 클로라이드의 클로로기가 화학식 4의 보호기가 제거된 아미노산의 아미노기로 치환되어 화학식 11의 화합물을 제조하는 단계이다.

[0095]

이때, 사용 가능한 유기용매로는 반응에 악영향을 미치지 않는 메탄올, 디메틸포름아미드(DMF), 테트라하이드로퓨란(THF), 디클로로메탄(DCM) 또는 톨루엔 등을 이용하여 반응을 수행할 수 있고, 바람직하게는 디메틸포름아미드(DMF)를 사용할 수 있다.

[0096]

또한, 사용 가능한 첨가제로는 트리에틸아민(TEA), L-프롤린, 디이소프로필에틸아민(DIPEA) 또는 1,8-디아자비사이클로우데켄(DBU) 등을 사용할 수 있으며, 바람직하게는 트리에틸아민(TEA)을 사용할 수 있다.

[0097]

[0098] 나아가, 반응온도는 특별히 제한되지는 않으나, 상온 내지 용매의 환류온도 범위 내에서 수행될 수 있다.

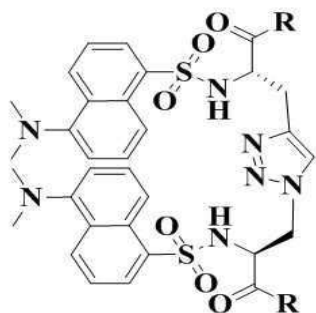
[0099] 본 발명에 따라 제조된 상기 화학식 1로 표시되는 화합물은 수은 이온(Hg^{2+}) 선택적 비례적 형광 감응 화학센서로 사용할 수 있다.

[0100] 나아가, 본 발명은

[0101] 하기 화학식 1로 표시되는 화합물을 수은 이온(Hg^{2+}) 유무를 판별하고자 하는 대상시료에 투입하여 반응시키는 단계(단계 1); 및

[0102] 상기 대상시료 내에 존재하는 수은 이온(Hg^{2+})과 하기 화학식 1의 화합물의 반응 생성물이 발생시키는 형광신호를 측정하여 수은 이온(Hg^{2+})을 검출하는 단계(단계 2)를 포함하는 수은 이온(Hg^{2+}) 검출방법을 제공한다.

[0103] [화학식 1]



[0104]

[0105] (상기 화학식 1에서, R은 상기 화학식 1에서 정의한 바와 같다).

[0106] 이하, 상기 검출방법을 각 단계별로 상세히 설명한다.

[0107] 본 발명에 따른 상기 단계 1은 상기 화학식 1로 표시되는 화합물을 수은 이온(Hg^{2+}) 유무를 판별하고자 하는 대상시료에 투입하여 반응시키는 단계로서, 보다 상세하게는 수은 이온(Hg^{2+}) 유무를 판별하고자 하는 대상시료에 형광 감응 화학센서인 상기 화학식 1의 화합물을 투입한 다음, 대상시료 상에 존재하는 수은 이온(Hg^{2+})과 화학식 1의 화합물이 반응하여 복합체를 이루는 단계이다.

[0108] 또한 본 발명에 따른 상기 단계 1에서 대상시료는 수용액상 또는 유기용액을 함유한 수용액상이다.

[0109] 형광 감응 화학센서인 상기 화학식 1의 화합물은 물에 대한 용해도가 높으며, 상기 화학식 1의 화합물과 수은 이온(Hg^{2+})의 복합체 형성 여부를 확인한 실험결과를 참조하면, 수용액 상태의 수은 이온(Hg^{2+}) 시료와 약산의 형광 감응 화학센서 수용액을 혼합하여 반응시킴으로써, 형광 화학센서인 상기 화학식 1의 화합물과 수은 이온(Hg^{2+})의 복합체가 형성됨을 확인할 수 있다(실험예 1 및 도 1 참조).

[0110] 따라서, 본 발명에 따른 형광 감응 화학센서는 물에 대한 용해도가 높고, 수용액상 또는 유기용액을 함유한 수용액상에서, 본 발명에 따른 화학식 1의 화합물과 수은 이온(Hg^{2+})의 결합성이 우수하므로, 수용액상 또는 유기용액을 함유한 수용액상에서 수은 이온(Hg^{2+}) 검출이 용이하다.

- [0111] 이때, 상기 수용액상에 함유된 유기용액은 디메틸포름아미드, 아세토니트릴, 메탄올 또는 에탄올 등을 사용하는 것이 바람직하나, 이에 한정하는 것은 아니다.
- [0112] 수은 이온(Hg^{2+})을 측정해야 할 수용액상인 대상시료에 유기용매를 혼합하는 경우, 메탄올, 에탄올, 디메틸포름아미드 또는 아세토니트릴 등의 상기 유기 용매들은 물에 용해도가 높아 단일상을 이룸으로써, 형광 검출 감도의 변화없이 정확히 수은 이온(Hg^{2+})을 검출할 수 있다.
- [0113] 나아가, 본 발명에 따른 상기 단계 1의 상기 대상시료는 생체시료를 포함한다.
- [0114] 형광 감응 화학센서인 상기 화학식 1의 화합물의 동물세포 내로의 침투 능력 및 세포 내의 수은 이온(Hg^{2+}) 검출력을 확인한 실험결과를 참조하면, 본 발명에 따른 화학식 1로 표시되는 화합물은 HeLa 세포 내로 완전히 침투 가능하고, 세포 내의 수은 이온(Hg^{2+})을 높은 감도로 효과적으로 검출하는 것을 알 수 있다(실험예 6 및 도 8 참조).
- [0115] 따라서, 본 발명에 따른 형광 감응 화학센서는 동물세포 내로의 침투력이 우수하고, 세포 내의 수은 이온(Hg^{2+}) 검출 능력 또한 상당히 뛰어나므로, 동물 또는 사람의 수은 중독을 평가하기 위한 체액 또는 혈액 등의 생체시료 내의 수은 이온(Hg^{2+}) 검출에 유용하게 사용할 수 있다.
- [0116] 본 발명에 따른 상기 단계 2는 대상시료 내에 존재하는 수은 이온(Hg^{2+})과 하기 화학식 1의 화합물의 반응 생성물이 발생시키는 형광 신호를 측정하여 수은 이온(Hg^{2+})을 검출하는 단계로서, 보다 상세하게는 상기 단계 1에서 제조된 수은 이온(Hg^{2+})과 형광 감응 화학센서인 화학식 1의 화합물의 복합체가 방출하는 형광 신호를 형광 스펙트럼으로 측정하여 시료 내의 수은 이온(Hg^{2+})을 검출하는 단계이다.
- [0117] 이때, 상기 수은 이온의 검출은 형광 감응 화학센서와 수은 이온(Hg^{2+})의 복합체를 여기시켜 킬레이트 증폭형광(CHEF) 효과를 확인함으로써 수행될 수 있으며, 상기 킬레이트 증폭을 위한 여기파장은 330 내지 380 nm 인 것이 바람직하다.
- [0118] 또한, 본 발명에 따른 상기 수은 검출 방법은 수은 이온(Hg^{2+})을 선택적, 비례적으로 검출한다.
- [0119] 본 발명에 따른 화학식 1로 표시되는 형광 감응 화학센서인 화합물의 수은 이온(Hg^{2+}) 선택적 및 비례적 검출을 확인한 실험 결과를 참조하면, 본 발명에 따른 화학식 1로 표시되는 형광 감응 화학센서인 화합물은 낮은 농도의 수은 이온(Hg^{2+})이 높은 농도의 I 족 및 II 족의 전이금속 이온과 시료 내에 함께 존재하여도 높은 감도로 오직 수은 이온(Hg^{2+})에 대해서만 선택적으로 반응하여 복합체를 형성하였으며, 이때 형성된 복합체에 의한 큰 형광 변화를 보였다(실험예 2, 도 2 및 도 3 참조). 또한, 본 발명에 따른 화학식 1의 화합물은 수은 이온(Hg^{2+})의 농도에 의존적하여 비례적으로 형광 변화의 정도가 달라지는 것으로 관찰되었다(실험예 3 및 도 4 내지 6 참조). 따라서, 본 발명에 따른 화학식 1의 화합물은 다른 전이금속 이온 존재하에서도 수은 이온(Hg^{2+})과 높은 결합력으로 반응하여 복합체를 형성하는 높은 선택성을 가지며, 농도에 따른 비례 검출(ratiometric sensing)이 가능하여, 시료 내의 수은 이온(Hg^{2+})의 정량분석이 가능하고, 수은 이온(Hg^{2+}) 검출시 외부의 형광 방해요인에 의한 형광 검출 문제를 최소화할 수 있는 장점을 가진다.
- [0120] 나아가, 본 발명에 따른 수은 이온(Hg^{2+}) 형광 감응 화학센서는 아미노산에 도입된 고체상을 제거하지 않은 상

태에서도 수은 이온(Hg^{2+})을 선택적, 비례적으로 검출할 수 있다.

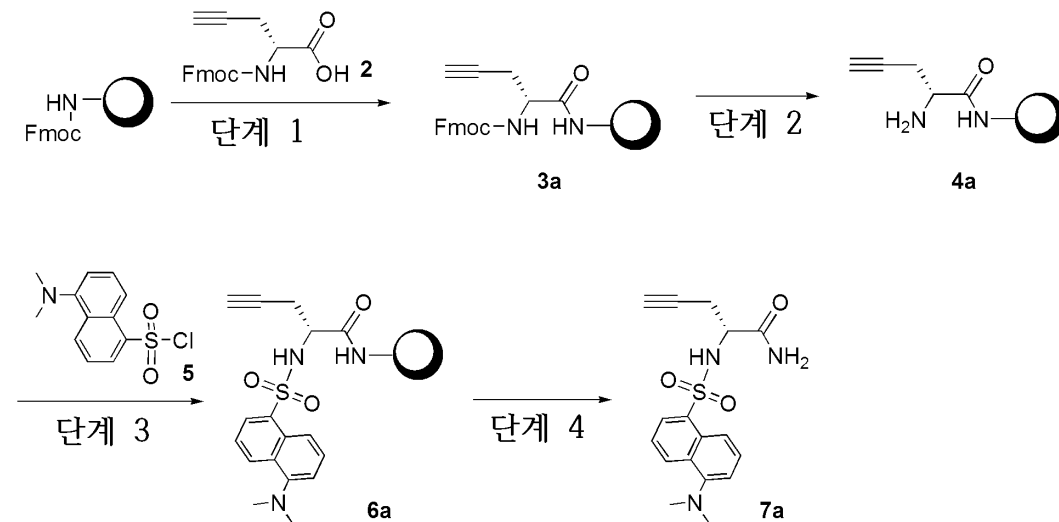
[0121] 본 발명에 따른 형광 감응 화학센서인 화학식 1로 표시되는 화합물을 합성할 때 도입된 고체상을 제거하지 않은 상태에서, 수은 이온(Hg^{2+}) 검출력을 확인한 실험결과를 참조하면, 본 발명에 따른 화학식 1로 표시되는 형광 감응 화학센서인 화합물을 합성할 때, 도입되는 고체상을 제거하지 않은 상태에서도, 수은 이온(Hg^{2+}) 인식 능력이 유지되어 선택적으로 수은 이온(Hg^{2+})에 대해서만 반응하였으며, 낮은 농도에서도 검출 감도가 우수하였다(실험 예 7 및 도 9 참조).

[0122]
[0123] 이하, 본 발명을 실시예 및 실험예에 의해 상세히 설명한다.

[0124] 단, 하기 실시예 및 실험예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명의 내용이 하기 실시예 및 실험예에 한정되는 것은 아니다.

[0125] <제조예 1> (R)-2-(5-(디메틸아미노)나프탈렌-1-술폰아미도)펜틴-4-노익산의 제조(화학식 7a)

[0126] [반응식 2]



[0127]
[0128] (상기 반응식 2에서, R은 화학식 1에서 정의된 바와 같으며,

[0129]  은 고체상이며,

[0130] 상기 화학식 7a는 화학식 7이다.)

[0131] 단계 1: (R)-2-(((9H-플루오렌-9-일)메톡시)카르보닐아미노)펜틴-4-노익산 -메틸벤조하이드릴아민 수지의 제조 (화학식 3a)

[0132] 링크 아미드 메틸벤조하이드릴아민(MBHA) 수지(200 mg, 0.1 mmol)을 무수 디메틸포름아미드(3 ml)에 용해시킨 다음, 약 30 분간 미리 팽윤시켰다. 팽윤된 상기 수지에 50 % 피페리딘/디메틸포름아미드 혼합용액을 3 ml 첨가하여 15분간 반응시켜 수지 말단 아미노기의 Fmoc- 보호기를 제거하였다. 그 후, 무수 디메틸포름아미드(3 ml) 용매에 화학식 (2)인 (R)-2-(((9H-플루오렌-9-일)메톡시)카르보닐아미노)펜틴-4-노익산(101 mg, 0.3 mmol), 디 이소프로필카르보디이미드(DIC, 47 μl , 0.3 mmol) 및 히드록시 벤조트리아졸(HOBt, 40.5 mg, 0.3 mmol)을 첨가하여 15 분간 교반하여 활성화시키고, 상기 Fmoc-보호기를 제거한 링크 아미드 메틸벤조하이드릴아민(MBHA) 수지를 첨가하여 4시간 동안 교반하였다. 다음으로, 반응용액을 여과하고 여과된 수지를 디메틸포름아미드와 메탄올로 수차례 세척한 후, 카이저 테스트(Kaiser test)를 실행하였다. 카이저 테스트(Kaiser test)가 양성으로 나오면 상기의 활성화 용액을 다시 만들어 첨가하고, 음성으로 나오면 반응을 멈춰 목적화합물 (3a)을 얻었다.

[0133] 단계 2: (R)-2-아미노펜틴-4-아미드-메틸벤조하이드릴아민 수지의 제조(화학식 4a)

[0134] 상기 단계 1에서 제조된 화학식 (3a)인 (R)-2-((9H-플루오렌-9-일)메톡시)카르보닐아미노)펜틴-4-노익산-메틸벤조하이드릴아민 수지를 50 % 피페리딘/디메틸포름아미드 혼합용액을 3 ml 첨가하여 15분간 반응시켰다. 그 후, 반응용액을 여과하고 여과된 수지를 디메틸포름아미드와 메탄올로 수차례 세척하여 목적화합물 (4a)을 얻었다.

[0135] 단계 3: (R)-2-(5-(디메틸아미노)나프탈렌-1-술폰아미도)펜틴-4-아미드-메틸벤조하이드릴아민 수지의 제조(화학식 6a)

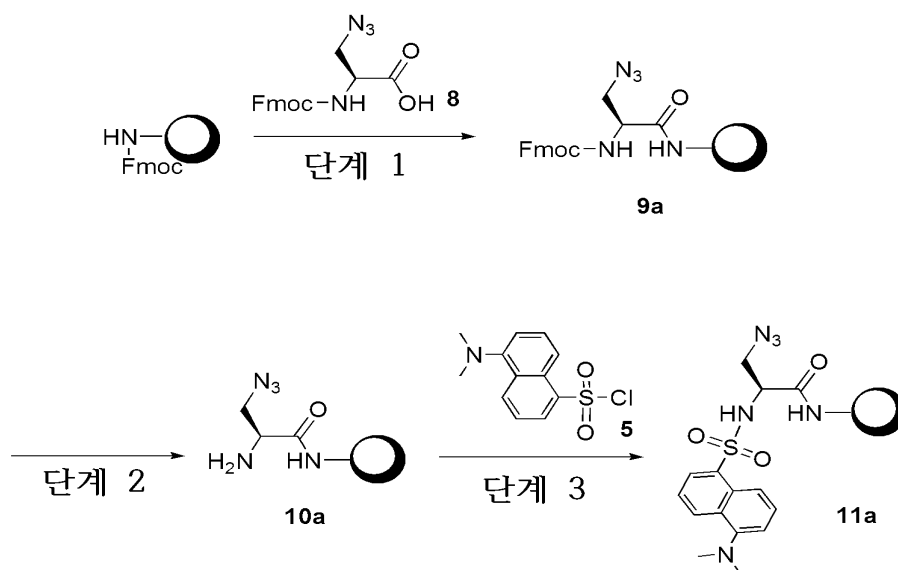
[0136] 무수 디메틸포름아미드(3 ml)에 용해시킨 후, 댄실클로라이드(81 mg, 0.3 mmol) 및 트리에틸아민(84 μ l, 0.6 mmol)를 용해시킨 후, 상기 단계 2에서 제조된 화학식 (4a)인 (R)-2-아미노펜틴-4-아미드-메틸벤조하이드릴아민 수지를 첨가하여 상온에서 3시간 동안 교반하였다. 다음으로, 반응 용액을 여과하고 여과된 수지를 디메틸포름아미드와 메탄올로 수차례 세척하여 목적화합물 (6a)을 얻었다.

[0137] 단계 4: (R)-2-(5-(디메틸아미노)나프탈렌-1-술폰아미도)펜틴-4-노익산의 제조(화학식 7a)

[0138] 트리플루오로아세트산(2.85 ml)와 증류수(0.15 ml)의 혼합용액에 상기 단계 3에서 제조된 (R)-2-(5-(디메틸아미노)나프탈렌-1-술폰아미도)펜틴-4-아미드-메틸벤조하이드릴아민 수지(6a)를 첨가하여 상온에서 2시간 동안 교반하였다. 그 후, 반응용액을 여과하여 형광 아미노산과 수지를 분리하였다. 여과된 형광 아미노산 분리 용액은 질소 기체(N_2)를 통과시켜 트리플루오로아세트산을 제거하여 목적화합물 (7a)(34.5 mg, 99.9 %)을 얻었다.

[0139] <제조예 2> (S)-3-아지도-2-(5-(디메틸아미노)나프탈렌-1-술폰아미도)프로판아미드-메틸벤조하이드릴아민 수지의 제조(화학식 11a)

[0140] [반응식 3]



[0141]

[0142] (상기 반응식 3에서, R은 화학식 1에서 정의된 바와 같으며,

[0143] 은 고체상이며,

[0144] 상기 화학식 11a는 화학식 11이다.)

- [0145] 단계 1: (S)-(9H-플루오렌-9-일)메틸-3-아지도-1-(메틸아미노)-1-옥소프로판-2-카바메이트-메틸벤조하이드릴아민 수지의 제조(화학식 9a)
- [0146] 상기 제조예 1의 단계 1에서 (R)-2-(((9H-플루오렌-9-일)메톡시)카르보닐아미노)펜타-4-노익산 (2) 대신에 (S)-2-(((9H-플루오렌-9-일)메톡시)카르보닐아미노)-3-아지도프로판산 (8)을 사용한 것을 제외하고, 상기 제조예 1의 단계 1과 동일한 방법으로 수행하여 목적화합물 (9a)을 얻었다.
- [0147] 단계 2: (S)-2-아미노-3-아지도프로판아미드-메틸벤조하이드릴아민 수지의 제조(화학식 10a)
- [0148] 상기 제조예 1의 단계 2에서 화학식 (3a)의 화합물 대신에 상기 단계 1에서 제조된 화학식 (9a)의 화합물을 사용하는 것을 제외하고, 상기 제조예 1의 단계 2와 동일한 방법으로 수행하여 목적화합물 (10a)을 얻었다.
- [0149] 단계 3: (S)-3-아지도-2-(5-(디메틸아미노)나프탈렌-1-술폰아미도)프로판아미드-메틸벤조하이드릴아민 수지의 제조(화학식 11a)
- [0150] 상기 제조예 1의 단계 3에서 화학식 (4a)의 화합물 대신에 상기 단계 2에서 제조된 화학식 (10a)의 화합물을 사용하는 것을 제외하고, 상기 제조예 1의 단계 3와 동일한 방법으로 수행하여 목적화합물 (11a)(194 mg, 99.9%)을 얻었다.
- [0151] <제조예 3> (S)-3-아지도-2-(5-(디메틸아미노)나프탈렌-1-술폰아미도)프로판아미드-폴리에틸렌-폴리스티렌 수지의 제조(화학식 11b)
- [0152] 상기 제조예 2의 단계 1에서 메틸벤조하이드릴아민(MBHA) 수지 대신에 폴리에틸렌-폴리스티렌(PEG-PS) 수지를 사용한 것을 제외하고 상기 제조예 2와 동일한 방법으로 수행하여 목적화합물 (11b)을 얻었다.
- [0153] <실시예 1> (2S,2'S)-3,3'-(1H-1,2,3-트리아졸-1,4-디일)비스(2-(5-(디메틸아미노)나프탈렌-1-술폰아미드)프로판아미드)의 제조 (1a)
- [0154] 상기 제조예 1에서 제조된 (R)-2-(5-(디메틸아미노)나프탈렌-1-술폰아미도)펜타-4-노익산 (7a)(34.5 mg, 0.1 mmol)과 상기 제조예 2에서 제조된 (S)-3-아지도-2-(5-(디메틸아미노)나프탈렌-1-술폰아미도)프로판아미드-메틸벤조하이드릴아민 수지 (11a)(194 mg, 0.1 mmol)를 t-부탄올(1.35 ml), 디메틸포름아미드(1.35 ml) 및 증류수 (0.3 ml) 혼합용액에 용해시킨 후, 황산구리(II)(12.48 mg, 0.05 mmol)와 소듐아스코르바이트(19.81 mg, 0.1 mmol)를 첨가하고 90 °C로 등온하여 극초단파(microwave, 150W)를 10분 동안 처리하였다. 그 후, 반응용액을 상온으로 냉각시킨 다음, 반응용액을 여과하고 여과된 수지를 디메틸포름아미드와 메탄올로 수차례 세척하였다. 다음으로, 세척된 여과물을 트리플루오로아세트산(2.85 ml)과 증류수(0.15 ml)의 혼합용액에 용해시키고, 상온에서 2시간 동안 교반하였다. 교반을 마친 후, 상기 반응용액을 여과하여 형광 아미노산과 수지를 분리하였다. 여과된 형광 아미노산 분리 용액은 질소 기체(N₂)를 통과시켜 트리플루오로아세트산을 제거하여 목적화합물 (11a)(49.5 mg, 70 %)을 얻었다.
- [0155] m.p. 130-135 °C (Yellowish solid);
- [0156] IR (KBr): 3398, 3294, 3010, 2820, 1685, 1316 cm⁻¹;
- [0157] ¹H NMR (400 MHz, D₂O/CD₃CN): δ 8.462, 8.42(m, 2H), 8.38 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 8.32(d, J = 7.3 Hz, 1H), 8.26 (d, J = 7.3 Hz, 1H), 8.09 (dd, J = 7.6, 1.8 Hz, 2H), 4.21(dd, J = 10.255, 4.4, 1H), 4.02 (dd, J = 14.3, 4.0, 1H), 4.11 (dd, J = 14.2, 10.2 Hz, 1H), 3.81 (dd, J = 10.9, 4.4 Hz, 1H), 3.52 (s, 12H), 2.45 (dd, J = 15.0, 10.9), 2.37 (dd, J = 15.0, 4.4 Hz, 1H) ppm;
- [0158] ¹³C NMR (100 MHz, CD₃CN): δ 173.547, 170.909, 148.889, 142.347, 136.161, 135.896, 130.862, 130.756,

130.453, 130.165, 130.059, 129.991, 129.513, 129.407, 129.119, 128.884, 125.367, 125.283, 125.003, 122.372, 122.153, 118.385, 117.597, 117.506, 57.356, 52.522, 51.628, 46.372, 29.180 ppm;

[0159] ESI-Mass (m/z): $[M+H]^+$ 708.23 (calcd. for $C_{32}H_{37}N_{9}O_6S_2$: 708.23).

[0160] <실시예 2> (2S,2'S)-3,3'-(1H-1,2,3-트리아졸-1,4-디일)비스(2-(5-(디메틸아미노)나프탈렌-1-술폰아미드)프로판아미드)-폴리에틸렌-폴리스티렌 수지의 제조 (1a)

[0161] 상기 제조예 1에서 제조된 (R)-2-(5-(디메틸아미노)나프탈렌-1-술폰아미도)펜탄-4-노익산 (7a)(34.5 mg, 0.1 mmol)과 상기 제조예 3에서 제조된 (S)-3-아지도-2-(5-(디메틸아미노)나프탈렌-1-술폰아미도)프로판아미드-폴리에틸렌-폴리스티렌 수지 (11b)를 t-부탄올(1.35 ml), 디메틸포름아미드(1.35 ml) 및 증류수(0.3 ml) 혼합용액에 용해시킨 후, 황산구리(II)(12.48 mg, 0.05 mmol)와 소듐아스코르바이트(19.8 mg, 0.1 mmol)를 첨가하고 90 °C로 등온하여 극초단파(microwave, 150W)를 15분 동안 처리하였다. 그 후, 반응용액을 상온으로 냉각시킨 다음, 반응용액을 여과하고 여과된 수지를 디메틸포름아미드와 메탄올로 수차례 세척하여 목적화합물 (1b)을 얻었다.

[0162] <실험예 1> 형광 감응 화학센서-수은 이온(Hg^{2+}) 복합체의 제조

[0163] 본 발명에 따른 화학식 1로 표시되는 화합물의 수은 이온(Hg^{2+})과의 결합 여부 및 상태를 분석하기 위해 하기와 같은 실험을 수행하였다.

[0164] 상기 실시예 1에서 제조된 화학식 (1a)로 표시되는 화합물을 0.1 % 트라이플루오로아세트산(TFA)이 첨가된 증류수에 녹여 1 mM의 형광 감응 화학센서 시약을 제조하였다. 수은 이온(Hg^{2+})은 퍼클로레이트 염을 증류수에 용해시켜 10 mM의 기준용액을 제조하였다. 테스트 튜브에 상기에서 제조한 형광 감응 화학센서의 농도는 100 μ M이 되고, 수은 이온은 200 μ M이 되도록 증류수와 아세트니트릴(1:1, v/v)에 희석하여 테스트 용액을 제조하였다. 상기 제조된 테스트 용액을 ESI-MS를 측정하여 화학식 (1a)로 표시되는 화합물과 수은 이온(Hg^{2+})의 복합체 형성 여부를 확인하였으며, 그 결과를 도 1에 나타내었다.

[0165] 도 1에 나타난 바와 같이, ESI-MS 스펙트럼에서 708.30 m/e, 908.19 m/e가 관찰되었다. 이때, 708.30 m/e는 화학식 (1a)의 화합물이 양성자와 결합된 형태로서, 화학식 (1a)로 표시되는 화합물이 수은 이온(Hg^{2+})과 복합체를 형성하지 않은 상태의 값이고, 908.19 m/e는 화학식 (1a)의 화합물이 수은 이온(Hg^{2+})과 결합된 형태로서, 화학식 (1a)로 표시되는 화합물이 수은 이온(Hg^{2+})과 복합체를 형성한 상태의 값이다. 이로부터 본 발명에 따른 화학식 1로 표시되는 화합물은 수은 이온(Hg^{2+})과의 결합성이 우수하여 안정한 복합체를 형성할 수 있다는 것을 알 수 있다.

[0166] 따라서, 본 발명에 따른 수은 이온(Hg^{2+}) 형광 감응 화학센서인 화학식 1로 표시되는 화합물은 수용액상에서 수은 이온(Hg^{2+})과의 결합성이 우수하므로, 지하수, 하천과 같은 수계 환경 등의 수은 이온(Hg^{2+}) 검출이 요구되는 전반적인 산업분야에서 유용하게 사용될 수 있다.

[0167] <실험예 2> 형광 감응 화학센서의 금속이온 선택성 평가

[0168] 본 발명에 따른 화학식 1로 표시되는 화합물의 수은 이온(Hg^{2+}) 선택성을 평가하기 위하여 하기와 같은 실험을 수행하였다.

[0169] 본 발명에 따른 화학식 1로 표시되는 화합물의 수은 이온(Hg^{2+}) 선택성을 평가하기 위하여 I 족 및 II족의 전이 금속 이온을 대상으로 실험하였다. 실험에 사용된 I 족 및 II족의 전이금속 이온은 은 이온(Ag^+), 알루미늄 이온(Al^{3+}), 칼슘 이온(Ca^{2+}), 카드뮴 이온(Cd^{2+}), 코발트 이온(Co^{3+}), 크롬 이온(Cr^{3+}), 구리 이온(Cu^{2+}), 칼륨 이온(K^+), 수은 이온(Hg^{2+}), 마그네슘 이온(Mg^{2+}), 망간 이온(Mn^{2+}), 나트륨 이온(Na^+), 니켈 이온(Ni^{2+}), 아연 이온(Zn^{2+}) 및 납 이온(Pb^{2+})으로 상기 I 족 및 II족의 전이금속 이온들의 퍼클로레이트 염을 증류수에 각각 용해시켜 10 mM의 I 족 및 II족의 전이금속 이온 기준용액을 제조하였으며, I 족 및 II족의 전이금속 이온과 수은 이온(Hg^{2+})을 함께 포함하는 10 mM의 I 족 및 II족의 전이금속 이온-수은 이온(Hg^{2+}) 기준용액도 제조하였다.

[0170] 테스트 튜브에 20 mM HEPES 버퍼용액(pH 7.4, 1 ml)을 넣은 후, 상기 실험에 1에서 제조한 형광 감응 화학센서 시약 1 mM 용액을 10 μl 첨가하고, 상기에서 제조한 I 족 및 II족 금속 및 전이금속 기준용액 또는 I 족 및 II족의 전이금속 이온-수은 이온(Hg^{2+}) 기준용액을 각각 2 μl 씩 첨가한 후, 전체 용액의 양이 2 ml가 되도록 증류수를 넣어 테스트 용액에서 센서의 농도가 5 μM , 금속은 10 μM , HEPES 완충용액의 농도는 10 mM이 되도록 제조하였다. 상기 용액을 혼합하여 테스트 용액을 제조하고, 이를 여기파장은 330 nm, 여기 슬릿과 방출 슬릿의 폭은 각각 10 nm, 5nm으로 조절하여 형광 스펙트럼을 측정하였으며, 그 결과를 도 2 내지 도 3에 나타내었다.

[0171] 도 2 내지 도 3에 나타난 바와 같이, 본 발명에 따른 화학식 1의 화합물과 각각의 I 족 및 II족의 전이금속 이온이 혼합된 테스트 용액을 형광 스펙트럼을 측정한 결과, 수은 이온(Hg^{2+})에 대해서만 60 nm의 큰 형광 변화가 일어난 것을 알 수 있다(도 2 참조). 또한, I 족 및 II족의 전이금속 이온과 수은 이온(Hg^{2+})을 함께 포함하는 I 족 및 II족의 전이금속 이온-수은 이온(Hg^{2+}) 기준용액을 사용한 테스트 용액의 경우, 혼합되어 있는 다른 I 족 및 II족의 전이금속 이온(Hg^{2+})의 영향을 받지 않고 선택적으로 수은 이온(Hg^{2+})과 복합체를 이루어 형광 변화를 일으키는 것을 알 수 있다(도 3 참조). 이로부터 본 발명에 따른 화학식 1의 화합물은 수은 이온(Hg^{2+}) 검출 시, 시료 내의 다른 I 족 및 II족의 전이금속 이온이 존재하여도 선택적으로 수은 이온(Hg^{2+})과 복합체를 형성하여 형광 변화가 일으키는 것을 알 수 있다.

[0172] 따라서, 본 발명에 따른 수은 이온(Hg^{2+}) 형광 감응 화학센서인 화학식 1로 표시되는 화합물은 수용액상에서 수은 이온(Hg^{2+})과의 결합성이 우수하고(실험예 1), 다른 전이금속 이온의 존재하에서도, 선택적으로 수은 이온(Hg^{2+})과 복합체를 형성하여 수은 이온(Hg^{2+})을 검출함으로써(실험예 2), 지하수, 하천과 같은 수계 환경 등의 낮은 농도의 수은 이온(Hg^{2+}) 검출이 요구되는 전반적인 산업분야에서 유용하게 사용될 수 있다.

[0173] <실험예 3> 형광 감응 화학센서의 수은 이온(Hg^{2+}) 농도에 따른 검출력 평가

[0174] 본 발명에 따른 화학식 1로 표시되는 화합물의 수은 이온(Hg^{2+}) 농도에 따른 검출력을 평가하기 위하여 하기와 같은 실험을 수행하였다.

[0175] 수은 이온(Hg^{2+})의 퍼클로레이트 염을 증류수에 용해시켜 1 mM의 기준용액을 제조하였다.

[0176] 테스트 튜브에 10 mM HEPES 완충용액(pH 7.4, 2 ml)을 넣고, 상기 실험예 1에서 제조한 형광 감응 화학센서 시약 5 μM 이 되도록 첨가한 다음, 상기 혼합용액에 존재하는 형광 감응 화학센서인 화학식 1의 화합물에 대하여 0 당량, 0.2 당량, 0.4 당량, 0.6 당량, 0.8 당량, 1.0 당량, 1.2 당량, 1.6 당량 및 2.0 당량이 되도록 수은 이온(Hg^{2+}) 기준용액을 각각의 반응용액에 첨가하여 테스트 용액을 제조하였다. 상기 테스트 용액을 실험예 2와 같은 조건에서 형광 스펙트럼을 측정하였다. 그 결과를 도 4 내지 도 7에 나타내었다.

[0177] 도 4 내지 도 6에 나타난 바와 같이, 수은 이온(Hg^{2+}) 농도에 따른 형광 스펙트럼은 수은 이온(Hg^{2+})이 상기 테스트 용액에 존재하는 형광 감응 화학센서인 화학식 1의 화합물에 대하여 0 당량에서 2 당량으로 서서히 변함에 따라 형광의 세기 및 파장이 조금씩 변화하는 것을 알 수 있으며, 이 변화를 이용하여 화학식 1의 화합물의 수은 이온(Hg^{2+})에 대한 해리 상수는 100 % 수용액에서 672 nm로 나타났다(도 4 참조). 또한, 수은 이온(Hg^{2+})에 대한 물분율을 이용한 화학식 1의 화합물과 수은 이온(Hg^{2+})에 대한 Job's plot 그래프를 통하여 0.5 물분율에서 가장 형광 변화가 큼을 알 수 있으며, 이것은 수은 이온(Hg^{2+})과 화학식 1의 화합물이 1 대 1 결합을 이뤄 복합체를 형성한다는 것을 뜻한다(도 5 참조). 한편, 본 발명에 따른 화학식 1의 화합물의 수은 이온(Hg^{2+})의 농도 변화에 따른 530 nm의 형광 변화를 통하여 본 발명에 따른 화학식 1의 화합물의 수은 이온(Hg^{2+}) 검출 한계를 계산한 결과, 화학식 1의 화합물의 수은 이온(Hg^{2+}) 검출 한계는 96 nM인 것을 알 수 있다(도 6 참조). 이로부터, 본 발명에 따른 화학식 1의 화합물은 수은 이온(Hg^{2+})의 농도에 따라 형광 세기의 변화 정도가 큼으로, 본 발명에 따른 화학식의 화합물은 수은 이온(Hg^{2+})에 대하여 비례적으로 감응하는 것을 알 수 있다. 또한, 수은 이온(Hg^{2+})에 대한 해리 상수는 100 % 수용액에서 672 nm이고, 수은 이온(Hg^{2+}) 검출 한계는 96 nM로서, 종래에 알려진 형광 감응 화학센서 중 수은 이온(Hg^{2+})과의 결합력이 가장 뛰어나 감도가 현저히 뛰어나며, 그 검출 한계 역시 종래의 것보다 현저히 우수하다는 것을 알 수 있다.

[0178] 따라서, 본 발명에 따른 수은 이온(Hg^{2+}) 형광 감응 화학센서인 화학식 1로 표시되는 화합물은 수용액상에서 종래의 형광 감응 화학센서에 비해 수은 이온(Hg^{2+})과의 결합성이 현저히 우수하고(실험예 1), 다른 전이금속 이온의 존재하에서도, 선택적으로 수은 이온(Hg^{2+})과 복합체를 형성하여 수은 이온(Hg^{2+})을 검출함은(실험예 2) 물론, 농도에 따라 비례적으로 검출함으로써, 수은 이온(Hg^{2+})의 정량 분석이 가능하므로(실험예 3), 지하수, 하천과 같은 수계 환경 등의 낮은 농도의 수은 이온(Hg^{2+}) 검출이 요구되는 전반적인 산업분야에서 유용하게 사용될 수 있다.

[0179] <실험예 4> 형광 감응 화학센서의 시료 내의 pH에 따른 검출력 평가

[0180] 본 발명에 따른 화학식 1의 화합물의 시료 내의 pH에 따른 수은 이온(Hg^{2+}) 검출력을 평가하기 위하여 하기와 같은 실험을 수행하였다.

[0181] pH에 따른 수은 이온(Hg^{2+}) 검출력을 평가하기 위하여 pH 4.5, 5.5 및 6.5의 20 mM MES 버퍼용액, pH 7.4의 20 mM HEPES 버퍼용액, pH 8.5 및 9.5의 20 mM CHES 버퍼용액을 사용하였다. 테스트 튜브에 각각의 pH에 해당하는 20 mM 완충용액(1 ml)을 넣고, 형광 감응 화학센서 시약 1 mM 용액을 10 μ l 첨가한 다음, 1 mM의 수은 이온(Hg^{2+}) 용액(20 μ l)을 첨가하고, 증류수로 전체 용액의 양이 2 ml가 되도록 각각의 테스트 용액을 희석하였다. 이때, 테스트 용액에서 센서의 농도가 5 μ M, 금속은 10 μ M, HEPES 완충용액의 농도는 10 mM이다. 상기 제조된 테스트 용액을 여기파장은 330 nm, 여기 슬릿과 방출 슬릿의 폭은 각각 10 nm, 5nm으로 조절하여 형광 스펙트럼을 측정하였으며, 그 결과를 도 7에 나타내었다.

[0182] 도 7에 나타난 바와 같이, 시료 내의 다양한 pH에서 수은 이온(Hg^{2+})을 측정한 결과, pH 4 내지 pH 9.5의 범위에서 본 발명에 따른 화학식 1의 화합물은 수은 이온(Hg^{2+})과의 복합체를 형성하여 형광 세기 변화를 가지는 것을 관찰할 수 있다. 이로부터, pH 4 내지 pH 9.5의 범위에서 수은 이온(Hg^{2+})의 농도에 따른 비례 검출이 용이하

다는 것을 알 수 있다. 또한, 생체 내의 pH는 6.5 내지 7.5로서 본 발명에 따른 화학식 1의 화합물이 수은 이온(Hg^{2+})을 검출할 수 있는 pH 범위 내에 포함이 되므로, 세포에도 적용 가능하다는 것을 짐작할 수 있다.

[0183] 따라서, 본 발명에 따른 수은 이온(Hg^{2+}) 형광 감응 화학센서인 화학식 1로 표시되는 화합물은 수용액상에서 종래의 형광 감응 화학센서에 비해 수은 이온(Hg^{2+})과의 결합성이 현저히 우수하고(실험예 1), 다른 전이금속 이온의 존재하에서도, 선택적으로 수은 이온(Hg^{2+})과 복합체를 형성하여 수은 이온(Hg^{2+})을 검출함은(실험예 2) 물론, 농도에 따라 비례적으로 검출함으로써, 수은 이온(Hg^{2+})의 정량 분석이 가능할 뿐만 아니라(실험예 3), pH 4 내지 9.5의 넓은 pH 범위에서 수은 이온(Hg^{2+})을 검출이 가능하므로(실험예 4), 지하수, 하천과 같은 수계 환경 및 생체시료 등의 낮은 농도의 수은 이온(Hg^{2+}) 검출이 요구되는 전반적인 산업분야에서 유용하게 사용될 수 있다.

[0184] <실험예 5> 생체시료에서의 수은 이온(Hg^{2+}) 검출력 평가

[0185] 본 발명에 따른 화학식 1의 화합물의 생체시료 내로의 침투력 및 시료 내의 수은 이온(Hg^{2+}) 검출력을 평가하기 위하여 하기와 같은 실험을 수행하였다.

[0186] 상기 실시예 1에서 제조된 화학식 (1a)로 표시되는 화합물을 HEPES 완충용액을 이용하여 pH 7.4용액에서 30 μM 의 농도가 되도록 형광 감응 화학센서 시약을 제조하였다. 제조된 형광 감응 화학센서 시약을 동물세포인 HeLa 세포에 처리한 후, 약 30분간 37 $^{\circ}\text{C}$ 에서 배양한 후 세포를 PBS 완충 용액으로 세척한 다음, 5 당량의 수은 이온(Hg^{2+})을 처리하였다. 그 후, 세포 내의 형광 변화를 공초점 현미경(confocal microscopy)를 이용하여 촬영하였으며, 그 결과를 도 8에 나타내었다.

[0187] 도 8에 나타난 바와 같이, 형광 발색을 하지 않던 동물세포에 본 발명에 따른 화학식 1의 화합물을 처리한 후에는 세포가 형광 발색을 하여, 하늘색을 띄는 것을 알 수 있으며, 수은 이온(Hg^{2+})을 처리한 이후, 세포의 형광 색깔이 하늘색에서 짙은 푸른색으로 변화한 것을 관찰할 수 있다. 이로부터 본 발명에 따른 화학식 1의 화합물은 세포 내로의 침투력이 뛰어나다는 것을 알 수 있으며, 세포 내에서도 세포 내에 침투된 화학식 1의 화합물과 수은 이온(Hg^{2+})의 결합력이 뛰어나므로 복합체를 이룸으로써 형광 발색이 변화한 것을 알 수 있다.

[0188] 따라서, 본 발명에 따른 수은 이온(Hg^{2+}) 형광 감응 화학센서인 화학식 1로 표시되는 화합물은 수용액상에서 종래의 형광 감응 화학센서에 비해 수은 이온(Hg^{2+})과의 결합성이 현저히 우수하고(실험예 1), 다른 전이금속 이온의 존재하에서도, 선택적으로 수은 이온(Hg^{2+})과 복합체를 형성하여 수은 이온(Hg^{2+})을 검출이 가능하다(실험예 2). 또한, 농도에 따라 비례적으로 검출함으로써, 수은 이온(Hg^{2+})의 정량 분석이 가능할 뿐만 아니라(실험예 3), pH 4 내지 9.5의 넓은 pH 범위에서 수은 이온(Hg^{2+})을 검출이 가능하고(실험예 4), 생체시료 내에서의 수은 이온(Hg^{2+}) 검출이 가능하므로(실험예 5), 지하수, 하천과 같은 수계 환경 및 생체시료 등의 낮은 농도의 수은 이온(Hg^{2+}) 검출이 요구되는 전반적인 산업분야에서 유용하게 사용될 수 있다.

[0189] <실험예 6> 고체상이 도입된 형광 감응 화학센서의 수은 이온(Hg^{2+})의 검출력 평가

[0190] 고체상이 도입된 본 발명에 따른 화학식 1의 화합물의 수은 이온(Hg^{2+}) 검출력을 평가하기 위하여 하기와 같은

실험을 수행하였다.

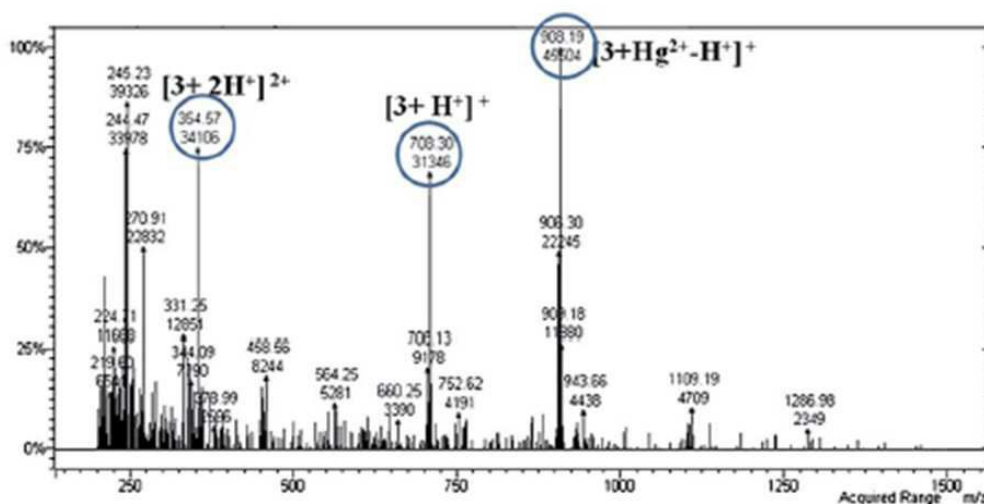
[0191] 상기 실험예 1에서 실시예 1의 (2S,2'S)-3,3'-(1H-1,2,3-트리아졸-1,4-디일)비스(2-(5-(디메틸아미노)나프탈렌-1-술폰아미드)프로판아미드) (1a) 대신에 실시예 2의 (2S,2'S)-3,3'-(1H-1,2,3-트리아졸-1,4-디일)비스(2-(5-(디메틸아미노)나프탈렌-1-술폰아미드)프로판아미드)-폴리에틸렌글리콜-폴리시티렌 수지 (1b)를 사용한 것을 제외하고 상기 실험예 1과 동일한 방법으로 수행하여 테스트 용액을 제조하였다. 제조된 테스트 용액에 대하여 형광 스펙트럼을 측정하였으며, 그 결과를 도 9에 나타내었다.

[0192] 도 9에 나타난 바와 같이, 본 발명에 따른 화학식 1의 화합물에 고체상이 도입되어 있어도 수은 이온(Hg^{2+})과 복합체를 형성하여 형광 세기가 변화하는 것을 관찰할 수 있다(도 9 참조). 이로부터, 본 발명에 따른 화학식 1의 화합물에 수지나 필름 등의 고체상이 도입된 형태의 형광 감응 화학센서 또한, 수은 이온(Hg^{2+})과의 결합력이 뛰어나므로, 본 발명에 따른 화학식 1의 화합물의 수은 이온(Hg^{2+}) 검출력이 유지가 된다는 것을 알 수 있다.

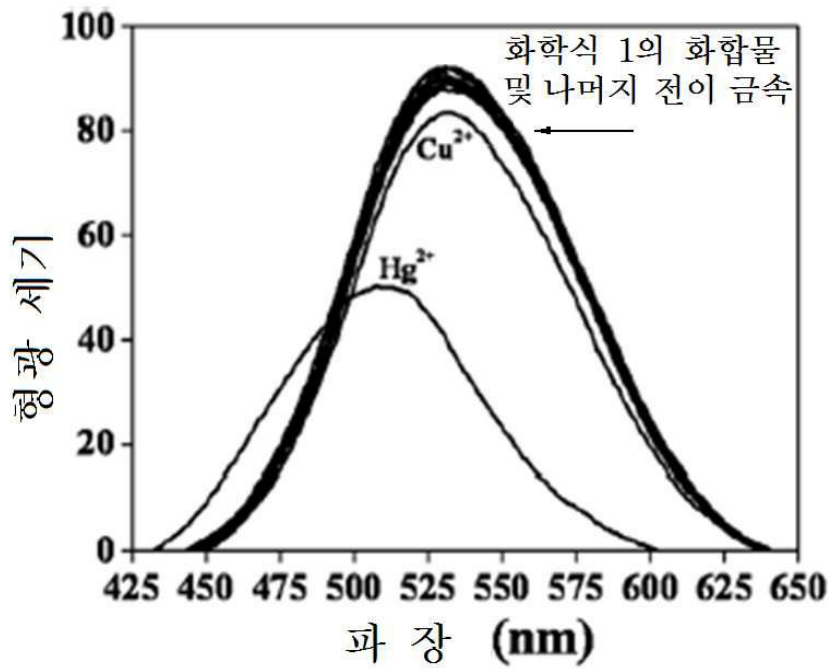
[0193] 따라서, 본 발명에 따른 수은 이온(Hg^{2+}) 형광 감응 화학센서인 화학식 1로 표시되는 화합물은 수용액상에서 종래의 형광 감응 화학센서에 비해 수은 이온(Hg^{2+})과의 결합성이 현저히 우수하고(실험예 1), 다른 전이금속 이온의 존재하에서도, 선택적으로 수은 이온(Hg^{2+})과 복합체를 형성하여 수은 이온(Hg^{2+})을 검출함은(실험예 2) 물론, 농도에 따라 비례적으로 검출함으로써, 수은 이온(Hg^{2+})의 정량 분석이 가능하다(실험예 3). 또한, pH 4 내지 9.5의 넓은 pH 범위에서 수은 이온(Hg^{2+}) 검출이 가능하고(실험예 4), 생체시료 내에서의 수은 이온(Hg^{2+}) 검출이 가능하며(실험예 5), 고체상에 도입된 형태에서도 수은 이온(Hg^{2+})을 검출하는 능력이 뛰어나므로(실험예 6), 지하수, 하천과 같은 수계 환경 및 생체시료 등의 낮은 농도의 수은 이온(Hg^{2+}) 검출이 요구되는 전반적인 산업분야에서 유용하게 사용될 수 있다.

도면

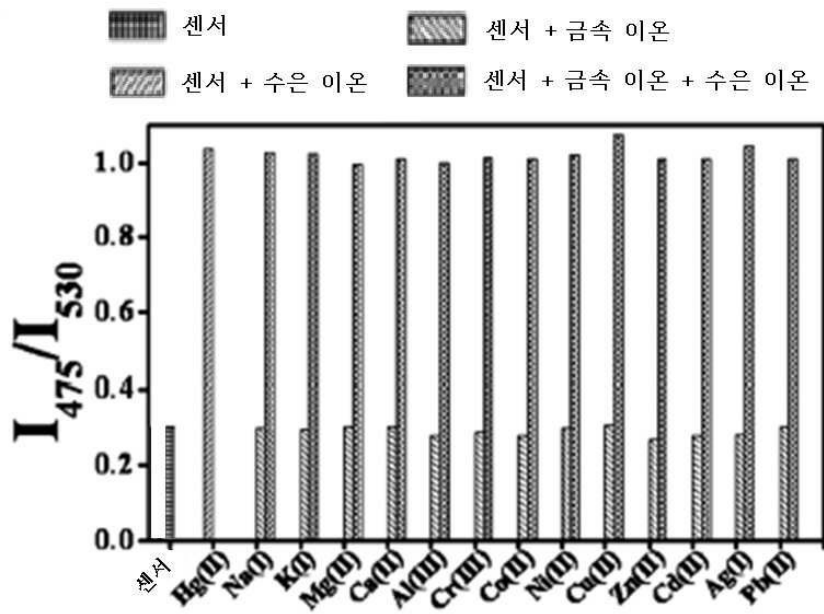
도면1



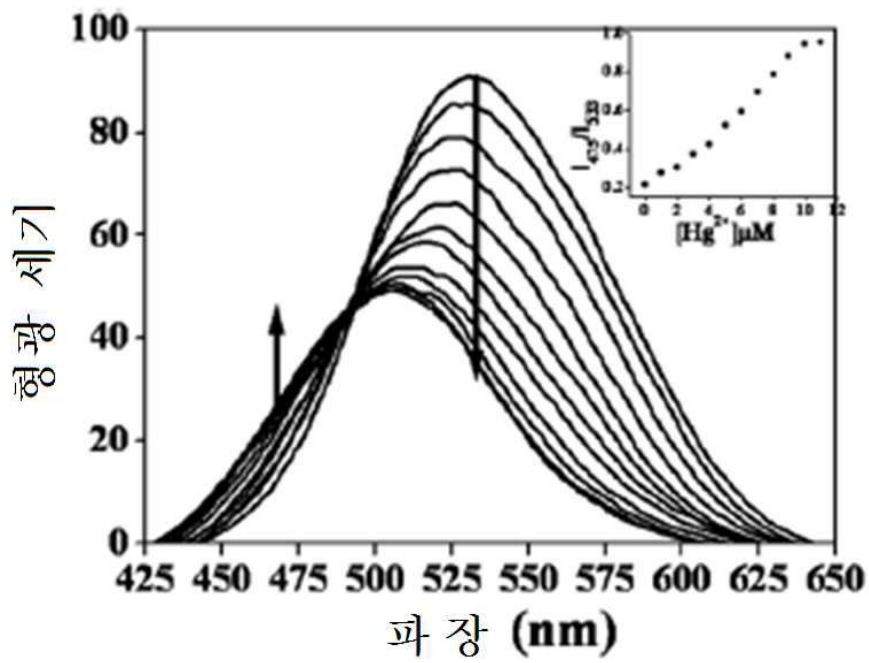
도면2



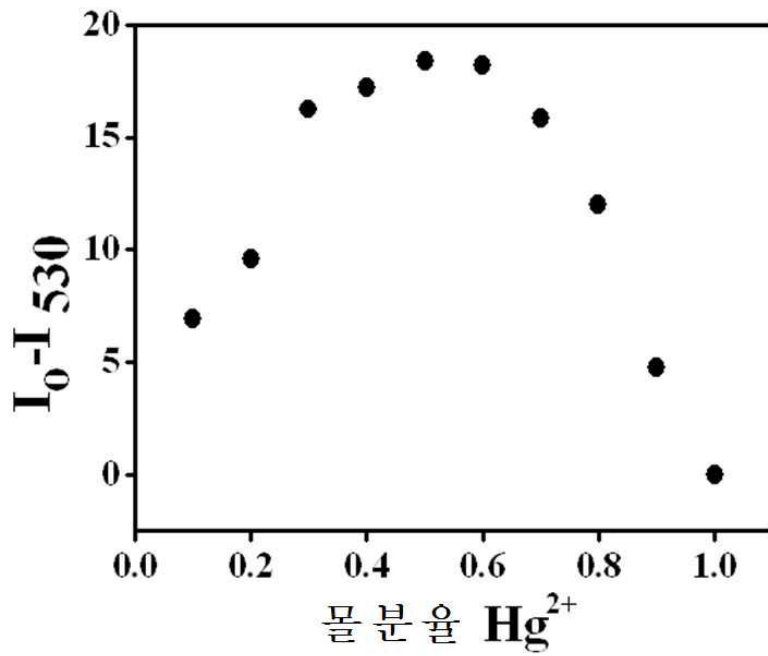
도면3



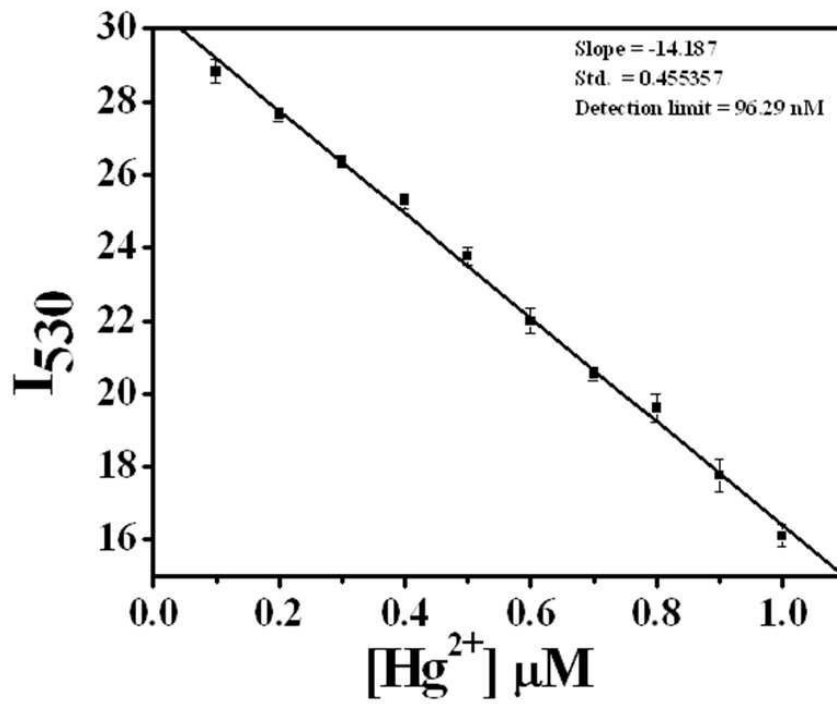
도면4



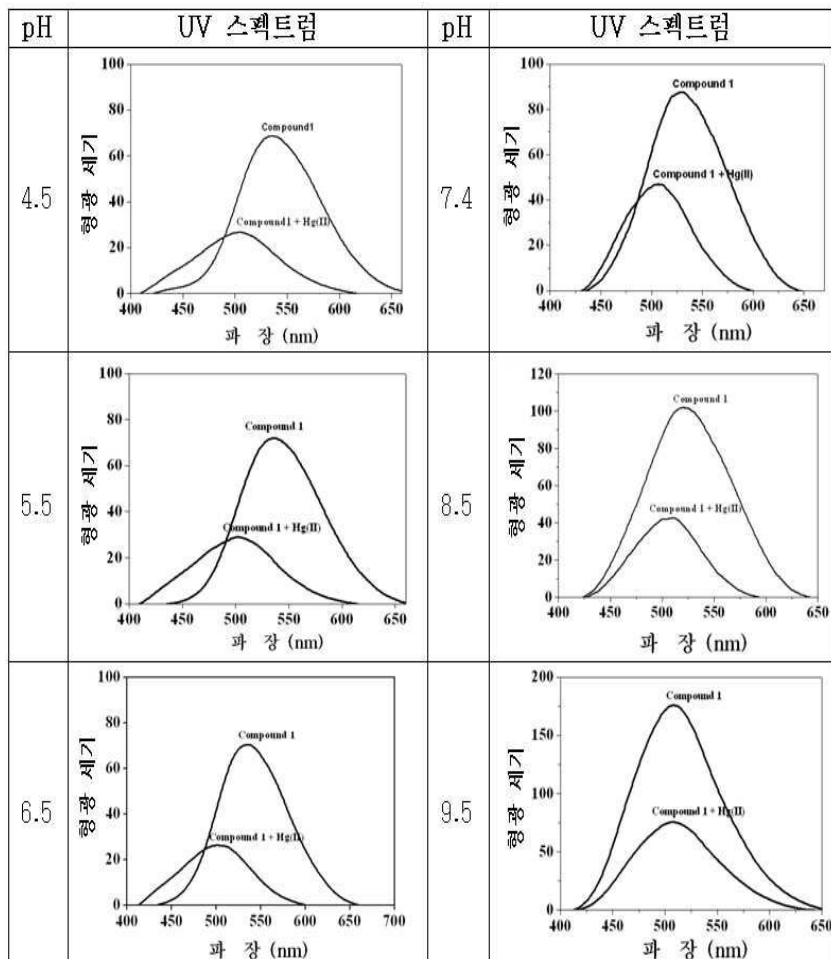
도면5



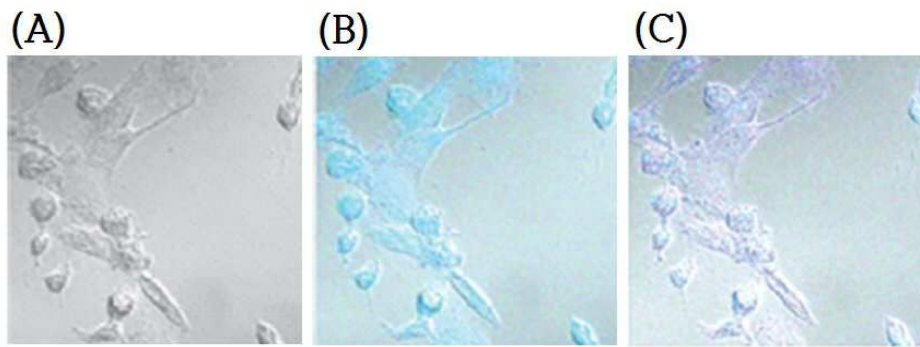
도면6



도면7



도면8



도면9

