(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2010-0096042
(43) 공개일자 2010년09월01일

(51) Int. Cl.
C08G 61/12 (2006.01) *C08G 61/00* (2006.01)
G01N 33/68 (2006.01) *C12Q 1/34* (2006.01)
(21) 출원번호 10-2010-0070837(분할)
(22) 출원일자 2010년07월22일
심사청구일자 2010년07월22일
(62) 원출원 특허 10-2008-0103701
원출원일자 2008년10월22일
심사청구일자 2008년10월22일

(71) 출원인
충남대학교산학협력단
대전광역시 유성구 궁동 220번지 충남대학교
(72) 발명자
이택승
대전광역시 유성구 관평동 테크노밸리6단지 운암아파트 611-2001
이정효
대전광역시 서구 갈마동 갈마아파트 204-603
(74) 대리인
권오식, 박창희, 김종관

전체 청구항 수 : 총 7 항

(54) 화학센서 및 바이오센서용 수용성 공액화 고분자 화합물, 이의 제조방법 및 이를 포함하는 센서

(57) 요 약

본 발명은 벤조싸이아다이아졸 또는 비스싸이에닐벤조싸이아다이아졸을 함유하는 수용성 공액화 고분자 화합물에 관한 것으로, 보다 상세하게는 화학센서 및 바이오센서로 이용이 가능한 수용성 공액화(conjugated) 고분자 화합물과 이의 제조방법에 관한 것이다.

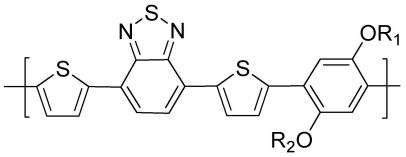
본 발명에 따른 고분자 화합물은 단백질에 대한 인지물질로 사용할 수 있으며, 특히 대표적인 단백질 중 하나인 라이소자임(lysozyme)에 대한 선택성이 높아서 바이오센서로서 단백질 라이소자임을 정량적, 정성적으로 분석하는 것이 가능하므로 진단, 의학연구, 임상실험, 화학분석 등이 널리 사용될 수 있다.

특허청구의 범위

청구항 1

하기 화학식 4의 중합단위를 가지는 수용성 공액화 고분자 화합물.

[화학식 4]



[상기 화학식 4에서, R_1 및 R_2는 서로 독립적으로 말단에 술폰산염 또는 트리(C1-C7)알킬암모늄염으로 치환된 직쇄 또는 분지쇄의 C1 내지 C6의 알킬기이다.]

청구항 2

제 1항에 있어서,

상기 R_1 및 R_2의 알킬기의 말단은 서로 독립적으로 술폰산염, 트라이메틸암모늄염, 에틸다이메틸암모늄염, 다이에틸메틸암모늄염, 트라이에틸암모늄염으로 치환되는 것을 특징으로 하는 수용성 공액화 고분자 화합물.

청구항 3

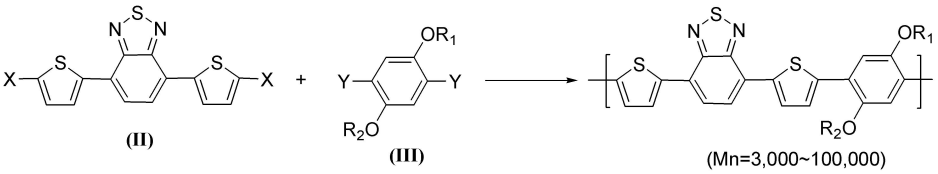
제 1항에 있어서,

상기 수용성 공액화 고분자 화합물은 수평균 분자량(Mn)이 3,000 내지 100,000인 것을 특징으로 하는 수용성 공액화 고분자 화합물.

청구항 4

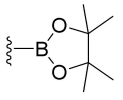
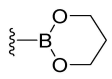
비스싸이에닐벤조싸이아다이아졸 유도체(II)과 수용성 단량체(III)를 테트라키스(트리페닐포스핀)팔라듐 촉매 존재하에서 스즈키커플링시켜 하기 반응식 4에 따른 화학식 4의 수용성 공액화 고분자 화합물을 제조하는 방법.

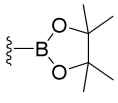
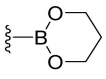
[반응식 4]



[화학식 4]

[상기 반응식 4에서, R_1 및 R_2는 서로 독립적으로 말단에 술폰산염 또는 트리(C1-C7)알킬암모늄염으로 치환된 직쇄 또는 분지쇄의 C1 내지 C6의 알킬기이고;

X가 Cl, Br 또는 I인 경우 Y는 ,  또는  이고;

X가 ,  또는  인 경우 Y는 Cl, Br 또는 I 이다.]

청구항 5

제 1항 내지 제 2항에서 선택되는 어느 한 항에 따른 수용성 공액화 고분자 화합물을 포함하는 센서.

청구항 6

제 5항에 있어서,

상기 센서는 단백질 검출용인 것을 특징으로 하는 센서.

청구항 7

제 6항에 있어서,

상기 단백질은 라이소자임인 것을 특징으로 하는 센서.

명 세 서

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 벤조싸이아다이아졸 또는 비스싸이에닐벤조싸이아다이아졸을 함유하는 수용성 공액화 고분자 화합물에 관한 것으로, 보다 상세하게는 특정 단백질을 선택적으로 인식하여 화학센서 및 바이오센서로 이용이 가능한 수용성 공액화 고분자 화합물과 이의 제조방법에 관한 것이다. 또한, 본 발명은 바이오센서용 수용성 공액화 고분자 화합물 및 이를 이용한 단백질의 선택적인 검출방법에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 진단, 의학연구, 임상실험 또는 화학분석 등 많은 경우에 시험 용액에 함유되어 있는 다양한 단백질의 농도를 신속 정확하게 분석할 필요가 있다. 이러한 분석에는 특정 단백질에 선택성이 있는 물질을 이용한 다양한 종류의 바이오센서물질들이 사용되며, 센서의 일반적인 감지 신호는 전기, 저항, 전위차 등의 전기적 성질이나 색채, 형광 등의 광학적 성질을 이용한다. 이중에서도 색채 및 형광색의 변화는 육안으로도 쉽게 판별이 가능하므로 특별한 장비가 없어도 측정이 용이한 방법 중의 하나이다.

[0003] 상기와 같은 색채 및 형광색의 변화를 나타내는 광센서로는 일반적으로 저분자 물질이 많이 이용되고 있으며, 측정대상물질도 이온뿐만 아니라 분자와 같은 다양한 화학종을 감지할 수 있다.

[0004] 공액화 고분자는 화학신호를 측정 가능한 전기 또는 광신호로 신호변환이 가능하고, 특히 피측정물과 상호작용에 대한 응답으로 신호를 발현할 때 감도가 증가한다는(증폭현상) 장점을 가지고 있어 금속이온 및 음이온 감지, 폭발물(방향족 나이트로 화합물) 감지 등의 센서재료로 널리 사용되고 있다(D. T. McQuade, A.E. Pullen, T. M. Swager, Chem. Rev. 100, 2537, 2000). 또한, 수용성 공액화 고분자는 공액화 고분자의 감도 증가의 장점과 물에 녹는다는 특징을 이용하여 저분자량의 바이오물질, 단백질, DNA 등에 대한 센서재료로 널리 사용되고 있다(C. Li, M. Numata, M. Yu, S. Wang, S. Shinkai, Angew. Chem. Int. Ed. 42, 4803, 2003; I. -B. Kim, J. N. Wilson, U. H. F. Bunz, Chem. Commun. 10, 1273, 2005; B. S. Gaylord, A. J. Heeger, G. C. Bazan, Proc. Natl. Acad. Sic. USA 99, 10954, 2002).

[0005] 그 중 단백질을 감지하는 센서물질의 개발은 현재 많은 관심을 끌고 있으며, 특히 센서물질의 색이나 형광색의 변화에 의한 단백질의 감지는 그 감지 신호의 민감도 때문에 널리 사용되고 있다. 단백질 중에서도 라이소자임의 감지는 생리적으로 중요한 요소가 되고 있다. 라이소자임은 세균의 세포벽에 있는 무코 다당류를 가수분해함으로써 세균의 감염을 막는 동물의 조직이나 침, 눈물 속에 들어 있는 항균성 효소이다. 따라서 인체 내 면역체계를 통한 항상성의 유지를 위해 라이소자임의 감지가 필요하다.

[0006] 단백질과 같은 양쪽성 전해질 물질은 고유의 등전점을 가지고 있어 pH에 따라 음전하 또는 양전하를 띄게 된다. 수용액 상태에서 pH를 조정하여 단백질이 음전하를 띄게 될 경우 양이온을 갖는 색소 화합물을 넣을 경우 단백질과 색소 화합물이 회합(aggregation)을 하게 되어 색이나 형광색이 변화 할 수 있고, 반대로 단백질이 양전하를 띄게 되면 음이온을 갖는 색소 화합물을 넣어 회합으로 색이나 형광색을 변화 시킬 수 있다.

[0007] 상기와 같은 단백질의 특성으로 색변화에 의한 컬러센서로 단백질을 감지하려는 노력은 저분자와 고분자 물질에 의하여 많이 시도되었다. 이들은 수용액 상태에서 양전하나 음전하의 이온성질을 갖고 반대 전하의 단백질이 접근할 때 회합을 통해 색이나 형광색의 변화를 유도하는 것으로 알려져 있다(S. W. Thomas III, G. D. Joly, T. M. Swager, Chem. Rev. 107, 1339, 2007).

[0008] 상기와 같은 화합물을 이용한 바이오센서는 형광색의 변화를 단순히 소광(fluorescence quenching)되는 형태로

만 측정하였다. 즉, 단백질과 화합물이 회합될 경우 색이나 형광색의 변화가 아닌 같은 형광의 증가 및 감소의 형태로 측정한 것이다. 이 경우 비슷한 등전점을 갖는 단백질의 감지에 어려움이 나타나게 된다. 라이소자임(lysozyme)과 사이토크롬 C(cytochrome C)의 경우 각각 등전점이 11.0과 10.0이다. 이러한 양이온성의 단백질과 음이온 색소 화합물을 중성(pH 7) 상태에서 측정하게 되면 두 단백질이 들어간 수용액에서 모두 형광의 감소를 나타낸다. 또한 BSA(bovine serum albumin)의 경우 4.9의 등전점을 갖고 있어 중성 상태에서 음전하를 띄지만, 음이온 색소 화합물의 소수성기와 소수성 결합을 통해 형광의 감소를 나타내어 단백질의 감지에 영향을 미쳐 센서 분자의 민감도 및 선택성을 저하시킬 수 있다.

[0009] 상기와 같은 공액화 고분자는 고분자 주쇄의 소수성기로 인해 물에 대한 용해도가 현저하게 떨어지게 되어 수용성 고분자 센서재료로 바이오센서로의 활용에 어려움이 있다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0010] 본 발명은 상기와 같은 종래기술의 문제점을 해결하기 위한 것으로, 공액화 고분자의 물에 대한 용해도를 증가시켜 화학센서 및 바이오센서로 응용이 가능한 수용성 공액화 고분자 화합물 및 그의 제조방법을 제공하는 것을 목적으로 한다.

[0011] 또한 본 발명은 특정 단백질, 특히 라이소자임만을 선택적으로 인식하여 형광색의 변화로서 감지 신호를 나타내는 화학센서 및 바이오센서로의 응용이 가능한 수용성 공액화 고분자 화합물 및 그의 제조방법을 제공하는 것을 목적으로 한다.

[0012] 또한 본 발명은 형광 변화를 일으키는 고분자 화합물의 반복단위를 벤조싸이아다이아졸 또는 비스싸이에닐벤조싸이아다이아졸으로 조절하여 제조하여 형광색의 변화가 다르게 나타나는 다중 형광색 화학센서 및 바이오센서를 제조하는 방법을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0013] 본 발명은 수용성 공액화 고분자 화합물과 이의 제조방법 및 이를 포함하는 센서에 관한 것이다.

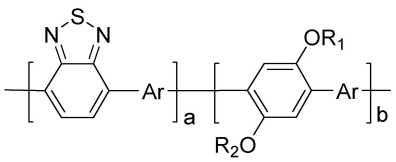
[0014] 보다 상세하게는 본 발명은 벤조싸이아다이아졸 또는 비스싸이에닐벤조싸이아다이아졸을 고분자 주쇄에 가지고 있으며, 상기의 고분자에 수용성을 부여하기 위하여 측쇄에 이온성기를 함유하고 있는 수용성 공액화 고분자 화합물과 이의 제조방법 및 이를 포함하여 특정 단백질을 선택적으로 인식하는 센서에 관한 것이다.

[0015] 본 발명은 벤조싸이아다이아졸 또는 비스싸이에닐벤조싸이아다이아졸을 함유하는 수용성 공액화 고분자 화합물에 관한 것으로, 보다 상세하게는 특정 단백질을 선택적으로 인식하여 화학센서 및 바이오센서로 이용이 가능한 수용성 공액화 고분자 화합물과 이의 제조방법에 관한 것이다. 또한, 본 발명은 바이오센서용 수용성 공액화 고분자 화합물 및 이를 이용한 단백질의 선택적인 검출방법에 관한 것이다.

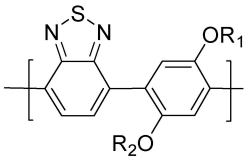
[0016] 이하 본 발명을 상세히 설명한다.

[0017] 본 발명에 따른 수용성 공액화 고분자 화합물은 하기 화학식 1 내지 4에서 선택되는 중합단위를 가지고 있다.

[0018] [화학식 1]

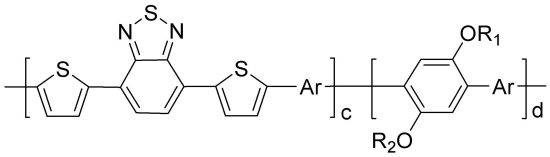
[0019] 

[0020] [화학식 2]



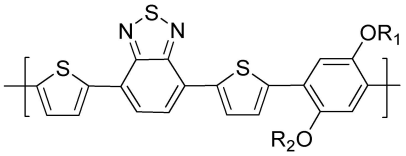
[0021]

[0022] [화학식 3]



[0023]

[0024] [화학식 4]



[0025]

[0026] [상기 화학식 1 내지 4에서, R_1 및 R_2는 서로 독립적으로 말단에 술폰산염 또는 트리(C1-C7)알킬암모늄염으로 치환된 직쇄 또는 분지쇄의 C1 내지 C6의 알킬기이고;

[0027] Ar은 (C6-C20)아릴렌 또는 N, O 및 S로부터 선택된 하나 이상의 헤테로 원자를 포함하는 (C3-C12)헤테로아릴렌이고;

[0028] a, b, c 및 d는 몰분율로, a 및 c는 서로 독립적으로 0 내지 1의 실수이고, b는 1-a 이고, d는 1-c 이다.]

[0029] 상기 R_1 및 R_2의 알킬기의 말단은 서로 독립적으로 술폰산염, 트라이메틸암모늄염, 에틸다이메틸암모늄염, 다이에틸메틸암모늄염, 트라이에틸암모늄염으로 치환될 수 있으며, R_1 및 R_2의 알킬기는 서로 독립적으로 메틸, 에틸, i-프로필, n-프로필, i-부틸, n-부틸, t-부틸, n-펜틸, i-펜틸 또는 n-헥실로부터 선택되어지며, 상기 Ar은 2가의 페닐렌 또는 싸이에닐렌으로부터 선택된다.

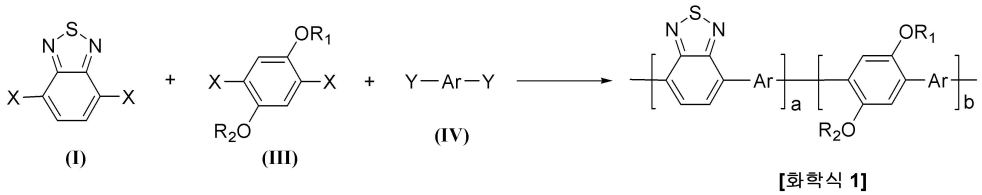
[0030] 본 발명에 따른 수용성 공액화 고분자의 분자량은 원칙적으로 제한이 없으나, 수평균 분자량(Mn)으로 3,000 내지 100,000이 바람직하고, 그 용도에 요구되는 특성에 따라 그 범위를 적절히 조절하여 사용할 수 있다.

[0031] 이하에서는, 스즈키 커플링에 의한 수용성 공액화 고분자 화합물의 제조 방법을 예로 들어 각 반응을 상세히 설명한다.

[0032] **(A) 수용성 공액화 벤조싸이아다이아졸계 고분자 화합물의 제조**

[0033] 본 발명에 따른 화학식 1로 표시되는 중합단위를 포함하는 수용성 공액화 고분자 화합물은 하기 반응식 1에 기재된 바와 같이, 벤조싸이아다이아졸 유도체(I)과 수용성 단량체(III)와 방향족 단량체(IV)를 테트라키스(트리페닐포스핀)팔라듐 촉매 존재하에서 스즈키커플링시켜 제조된다.

[0034] [반응식 1]



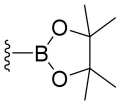
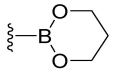
[화학식 1]

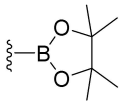
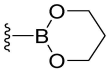
[0035]

[0036] [상기 반응식 1에서,

[0037] Ar은 (C6-C20)아릴렌 또는 N, O 및 S로부터 선택된 하나 이상의 헤테로 원자를 포함하는 (C3-C12)헤테로아릴렌이고;

[0038] R_1 및 R_2는 서로 독립적으로 말단에 술폰산염 또는 트리(C1-C7)알킬암모늄염으로 치환된 직쇄 또는 분지쇄의 C1 내지 C6의 알킬기이고;

[0039] X가 Cl, Br 또는 I인 경우 Y는  ,  또는  이고;

[0040] X가  ,  또는  인 경우 Y는 Cl, Br 또는 I이고;

[0041] a 및 b는 몰분율로, a는 0 내지 1의 실수이고, b는 1-a 이다.]

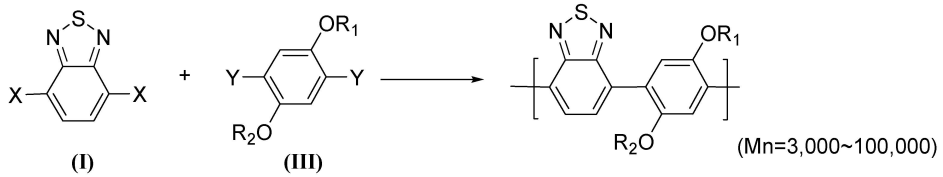
[0042] 또한 제조된 화학식 1로 표시되는 중합단위를 갖는 수용성 공액화 고분자 화합물의 a의 몰분율 및 b의 몰분율은 투입하는 벤조싸이아다이아졸 유도체(I)와 수용성 단량체(III)의 당량 비에 의해 조절할 수 있다.

[0043] 상기 방향족 단량체(IV)로 본 발명의 실시예에서는 벤젠-1,4-다이보론산비스(피나콜)에스터를 이용하여 수용성 공액화 고분자 화합물을 제조하였으나, 이에 한정되는 것은 아니며 스즈키 커플링에 의하여 상기의 공액화 벤조싸이아다이아졸계 고분자 화합물을 생성할 수 있는 것이라면 어떠한 단량체도 무방하다.

[0044] 벤조싸이아다이아졸 유도체(I)와 수용성 단량체(III)를 (I)과(III)의 몰수의 합과 동일한 당량의 방향족 단량체(IV)와 테트라키스(트리페닐포스핀)팔라듐 촉매 존재 하에서 스즈키 커플링 반응에 의해 고분자를 이루게 된다(N. Miyaura, A. Suzuki, Chem. Rev. 95, 2457, 1995). 공액화 벤조싸이아다이아졸계 고분자 화합물은 두가지 방법으로 제조할 수 있으며, 보다 구체적으로 첫 번째 방법은, 양 말단에 할로겐, 즉 Cl, Br 또는 I를 갖는 벤조싸이아다이아졸 유도체(I) 및 수용성 단량체(III)와 양 말단에 보란 또는 보론산 또는 보론 에스터 등의 작용기를 갖는 방향족 단량체(IV)를 스즈키 커플링 반응에 의해 고분자화 하는 것이며, 다른 한 가지 방법은 이와 반대로 양 말단에 보란 또는 보론산 또는 보론 에스터 등의 작용기를 갖는 벤조싸이아다이아졸 유도체(I) 및 수용성 단량체(III)와 다이할로 방향족 단량체(IV)를 스즈키 커플링하여 고분자화하여 제조하는 것이다. 상기 두 가지 방법 중 어떤 방법을 사용하는 지에 따라 적절한 벤조싸이아다이아졸 유도체와 방향족 단량체(IV)를 선정하여 사용할 수 있다.

[0045] 본 발명에 따른 또 다른 화합물인 화학식 2로 표시되는 벤조싸이아다이아졸계 고분자 화합물은 상기 화합물인 화학식 1과 유사한 반응 조건에서 하기 반응식 2에 나타낸 바와 같이, 벤조싸이아다이아졸 유도체(I)과 수용성 단량체(III)를 테트라키스(트리페닐포스핀)팔라듐 촉매 존재하에서 스즈키커플링 반응시켜 제조되며, 이 때 화학식 2의 화합물은 공중합체가 아닌 단일중합체로 이루어진다.

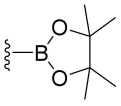
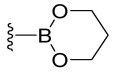
[0046] [반응식 2]

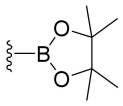
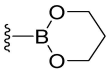


[0047] [화학식 2]

[0048] [상기 반응식 2에서,

[0049] R_1 및 R_2는 서로 독립적으로 말단에 술폰산염 또는 트리(C1-C7)알킬암모늄염으로 치환된 직쇄 또는 분지쇄의 C1 내지 C6의 알킬기이고;

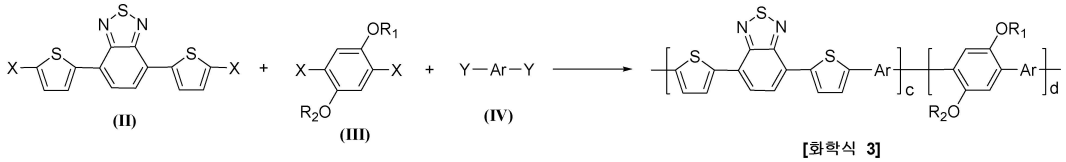
[0050] X가 Cl, Br 또는 I인 경우 Y는  ,  또는  이고;

[0051] X가  ,  또는  인 경우 Y는 Cl, Br 또는 I 이다.]

[0052] **(B) 수용성 공액화 비스싸이에닐벤조싸이아다이아졸계 고분자 화합물의 제조**

[0053] 본 발명에 따른 화학식 3으로 표시되는 중합단위를 포함하는 수용성 공액화 고분자 화합물은 하기 반응식 3에 기재된 바와 같이, 비스싸이에닐벤조싸이아다이아졸 유도체(II)과 수용성 단량체(III)를 (II)와 (III)의 몰수의 합과 동일 몰수의 방향족 단량체(IV)와 테트라키스(트리페닐포스핀)팔라듐 촉매 존재 하에서 스즈키 커플링시켜 제조된다.

[0054] [반응식 3]

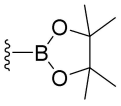
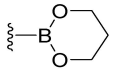


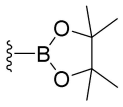
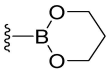
[0055] [화학식 3]

[0056] [상기 반응식 3에서,

[0057] Ar은 (C6-C20)아릴렌 또는 N, O 및 S로부터 선택되 하나 이상의 헤테로 원자를 포함하는 (C3-C12)헤테로아릴렌이고;

[0058] R_1 및 R_2는 서로 독립적으로 말단에 술폰산염 또는 트리(C1-C7)알킬암모늄염으로 치환된 직쇄 또는 분지쇄의 C1 내지 C6의 알킬기이고;

[0059] X가 Cl, Br 또는 I인 경우 Y는  ,  또는  이고;

[0060] X가  ,  또는  인 경우 Y는 Cl, Br 또는 I이고;

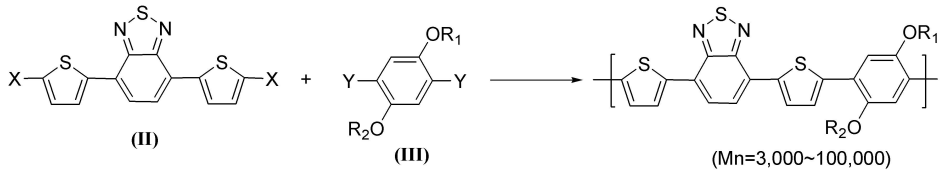
[0061] c 및 d는 몰분율로, c는 0 내지 1의 실수이고, d는 1-c 이다.]

[0062] 상기 방향족 단량체(IV)로 본 발명의 실시예에서는 벤젠-1,4-다이보론산비스(피나콜)에스터를 이용하여 수용성 공액화 고분자 화합물을 제조하였으나, 이에 한정되는 것은 아니며 스즈키 커플링에 의하여 상기의 공액화 비스싸이에닐벤조싸이아다이아졸계고분자 화합물을 생성할 수 있는 것이라면 어떠한 단량체도 무방하다.

[0063] 또한 제조된 화학식 3으로 표시되는 중합단위를 갖는 수용성 공액화 고분자 화합물의 c의 몰분율 및 d의 몰분율은 투입하는 비스싸이에닐벤조싸이아다이아졸 유도체(II)과 수용성 단량체(III)의 당량 비에 의해 조절할 수 있다.

[0064] 본 발명에 따른 또 다른 화합물인 화학식 4로 표시되는 비스싸이에닐벤조싸이아다이아졸계 고분자 화합물은 상기 화합물인 화학식 2와 유사한 반응 조건에서 하기 반응식 4에 나타낸 바와 같이, 비스싸이에닐벤조싸이아다이아졸 유도체(II)과 수용성 단량체(III)를 테트라키스(트리페닐포스핀)팔라듐 촉매 존재하에서 스즈키커플링 반응시켜 제조되며, 이 때 화학식 4의 화합물은 공중합체가 아닌 단일중합체로 이루어진다.

[0065] [반응식 4]

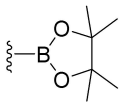
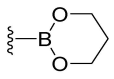


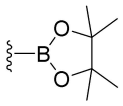
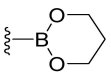
[화학식 4]

[0066]

[0067] [상기 반응식 4에서,

[0068] R_1 및 R_2는 서로 독립적으로 말단에 술폰산염 또는 트리(C1-C7)알킬암모늄염으로 치환된 직쇄 또는 분지쇄의 C1 내지 C6의 알킬기이고;

[0069] X가 Cl, Br 또는 I인 경우 Y는  ,  또는  이고;

[0070] X가  ,  또는  인 경우 Y는 Cl, Br 또는 I 이다.]

[0071] 본 발명에 따른 벤조싸이아다이아졸을 주쇄에 갖는 화학식 1 또는 화학식 2의 중합단위를 포함하는 수용성 공액화 고분자 화합물 또는 비스싸이에닐벤조싸이아다이아졸을 주쇄에 갖는 화학식 3 또는 화학식 4의 중합단위를 포함하는 수용성 공액화 고분자 화합물 또는 이를 구성 성분으로 하는 센서는 단백질을 검출하는데 유용하다. 상기 센서는 화학센서 및 바이오센서를 포함한다. 단백질이 가지고 있는 양쪽성 전해질 특징을 살려 pH에 따른 단백질의 전하를 예상하고 그와 반대되는 전하를 갖는 화합물을 첨가해주어서 회합에 의한 색 및 형광 변화로 단백질을 감지 할 수 있다. 특히 실시예에서 볼 수 있듯이 라이소자임에서 선택적으로 감지하기 위한 용도로서 이용될 수 있다.

발명의 효과

[0072] 이상과 같이 본 발명에 따른 고분자 화합물은 단백질에 대학 인지 물질로 사용할 수 있으며, 특히 라이소자임에 대한 선택성이 높아서 바이오센서로서 단백질 라이소자임을 정량적, 정성적으로 분석하는 것이 가능하므로 진단, 의학연구, 임상실험, 화학분석 등이 널리 사용될 수 있다. 또한 상기 벤조싸이아다이아졸계 고분자와 비스싸이에닐벤조싸이아다이아졸계의 고분자가 단백질에 대해 갖는 형광의 특성이 상이하므로 다중 형광색 바이오센서로 널리 사용될 수 있다.

[0073] 지금까지 기술한 본 발명의 고분자 물질은 화학센서 재료, 바이오센서 재료 등 다양한 기술 분야에 응용이 가능

하며, 특히 손님 분자 등의 조절에 의한 응답성, 선택성 등의 센서 기능에 부합되는 물성을 갖고 있어 분자인식형 센서 재료에 적용될 수 있다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0074] 이하 실시예를 통하여 본 발명을 상세하게 설명한다. 그러나 이들 실시예는 예시적인 목적일 뿐 본 발명이 이에 한정되는 것은 아니다.

[0075] **[제조예 1] 벤조싸이아다이아졸계 단량체의 제조**

[0076] **A) 4,7-다이브로모-2,1,3-벤조싸이아다이아졸(화합물 I-a, X=Br)의 제조**

[0077] 2,1,3-벤조싸이아다이아졸 10 g (73.4 mmol)을 50 mL의 브롬산에 첨가한 후 110 ℃로 가열하였다. 상기 용액에 브롬 11.3 mL (220 mmol)를 적가한 후 원활한 교반을 위해서 브롬산 20 mL를 추가로 첨가하였다. 2시간 동안 교반 후 상기 반응물을 여과하고, 여액을 상온으로 냉각한 후 다시 여과하였다. 최종적으로 여과하여 얻은 고체를 물에 3회 세척한 후 다시 메탄올로 세척하고 건조하여 16.37 g (75.8%)의 4,7-다이브로모-2,1,3-벤조싸이아다이아졸을 얻었다.

[0078] ^{1}H NMR(300 MHz, $CDCl_3$) δ=7.75 (2H, 방향족) ppm.

[0079] **B) 4,7-비스(4,4,5,5,-테트라메틸-1,3,2-다이옥사보로레인-2-일)벤조-2,1,3-싸이아다이아졸(화합물 I-b, X=4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolane)의 제조**

[0080] 4,7-다이브로모-2,1,3-벤조싸이아다이아졸 1 g (3.41 mmol)과 포타슘아세테이트 1.96 g (20 mmol)을 1,4-다이옥세인 10 mL에 넣고 80 ℃로 가열하였다. 비스(피나콜레이토)다이보론(bis(pinacolato)diboron) 363 mg (1.43 mmol)과 [1,1`-비스(다이페닐포스피노)페로세인]다이클로로팔라듐(Ⅱ) 89 mg (0.71 mmol)을 넣어준다. 12시간 동안 교반 후 상온으로 냉각하고, 반응액에 3차 증류수 30 mL와 에틸아세테이트 90 mL를 넣어주어서 생성물을 추출한 후 유기층을 회수하였다. 회수한 유기층에 황산마그네슘을 넣어 교반한 다음 여과하여 여과액을 얻는다. 얻어진 여과액을 증발시킨 후 얻어진 고체는 헥산과 에틸아세테이트의 97:3 혼합 용액을 사용 컬럼 크로마토그래피로 분리하여 4,7-비스(4,4,5,5,-테트라메틸-1,3,2-다이옥사보로레인-2-일)벤조-2,1,3-싸이아다이아졸 600 mg (46%)을 얻었다.

[0081] ^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ=8.04(2H, 방향족), 1.41(24H, 알킬기) ppm.

[0082] **[제조예 2] 비스싸이에닐벤조싸이아다이아졸계 단량체의 제조**

[0083] **A) 4,7-비스(5-브로모싸이오펜-2-일)벤조-2,1,3-싸이아다이아졸(화합물 II-a, X=Br)의 제조**

[0084] 4,7-다이(싸이오펜-2-일)-2,1,3-벤조싸이아다이아졸 2 g(6.67 mmol)을 52 mL의 클로로포름과 52 mL의 아세틱산 혼합용액에 녹인 후 2.5 g(14.01 mmol)의 N-브로모숙신이미드(NBS)를 천천히 넣어준다. 상온에서 24시간 동안 교반 후 상기 반응물을 여과하고, 얻어진 고체를 DMF에서 재결정한 후 건조하여 1 g의 4,7-비스-(5브로모싸이오펜-2-일)벤조-2,1,3-싸이아다이아졸(33%)을 얻었다.

[0085] ^{1}H NMR(300 MHz, DMSO) δ=8.16(2H, 방향족), 7.98(2H, 방향족), 7.41(2H, 방향족) ppm.

[0086] **B) 4,7-비스[5-(4,4,5,5,-테트라메틸-1,3,2-다이옥사보로레인-2-일)싸이오펜-2-일]벤조-2,1,3-싸이아다이아졸(화합물 II-b, X=4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2- dioxaborolane)의 제조**

[0087] 4,7-비스(5-브로모싸이오펜-2-일)벤조-2,1,3-싸이아다이아졸 300 mg (0.65 mmol)과 포타슘아세테이트 370 mg (3.77 mmol)을 1,4-다이옥세인 5 mL에 넣고 100 ℃로 가열하였다. 비스(피나콜레이토)다이보론 363 mg (1.43 mmol)과 [1,1`-비스(다이페닐포스피노)페로세인]다이클로로팔라듐(Ⅱ) 89 mg (0.71 mmol)을 넣어준다. 12시간 동안 교반 후 상온으로 냉각하고, 반응액에 3차 증류수 20 mL와 에틸아세테이트 60 mL를 넣어주어서 생성물을

추출한 후 유기층을 회수하였다. 회수한 유기층에 황산마그네슘을 넣어 교반한 다음 여과하여 여과액을 얻는다. 얻어진 여과액을 증발시킨 후 얻어진 고체는 헥산과 에틸아세테이트의 97:3 혼합 용액을 사용 컬럼 크로마토그래피로 분리하여 104 mg (29%)의 4,7-비스[5-(4,4,5,5,-테트라메틸-1,3,2-다이옥사보로레인-2-일)싸이오펜-2-일]벤조-2,1,3-싸이아다이아졸을 얻었다.

[0088] ^{1}H NMR (300 MHz, DMSO): δ=8.18(2H, 방향족), 8.01(2H, 방향족), 1.45(24H, 알킬기) ppm.

[0089] **[제조예 3] 수용성 고분자 제조를 위한 단량체의 제조**

[0090] **A) 1,4-다이브로모-2,5-비스(4-술포네이토부톡시)벤젠소디움염(화합물 III-a, X=Br, R_1=R_2=-$CH_2CH_2CH_2CH_2S(=O)(=O)ONa$)**

[0091] 2,5-다이브로모-1,4-하이드로퀴논 4 g (14.01 mmol)과 소디움하이드록사이드 1.8 g (44.8 mmol)를 에탄올 35 mL에 넣고 80 ℃로 가열하였다. 상기 용액에 1,4-부탄술톤(1,4-butane sultone)을 3.44 g (44.8 mmol)를 첨가하였다. 12시간 동안 교반 후 상온으로 냉각하고 상기 반응물을 여과하였다. 얻어진 고체를 에탄올로 수세한 후 건조하여 7.85 g (96%)의 1,4-다이브로모-2,5-비스(4-술포네이토부톡시)벤젠소디움염을 얻었다.

[0092] ^{1}H NMR (300MHz, D_2O): δ=7.41(2H, 방향족), 4.16(4H, 알킬기), 3.08(4H, 알킬기), 2.00(4H, 알킬기), 1.96(4H, 알킬기) ppm.

[0093] **B)1,4-비스(3-브로모프로폭시)-2,5-다이브로모벤젠(화합물 III-b, X=Br, R_1=R_2= $-CH_2CH_2CH_2Br$)**

[0094] 1,4-비스(3-브로모프로폭시)벤젠 3.52 g (10.00 mmol)을 메틸렌클로라이드 80 mL에 녹인 후 철 0.01 g (0.18 mmol)을 넣어 주고 상온에서 교반하였다. 브롬 3.43 g (21.4 mmol)를 메틸렌클로라이드 40 mL에 희석하여 상기 용액에 천천히 넣어준다. 12시간 동안 교반 후 상기 반응물을 여과하였다. 얻어진 여과액에 3차 증류수 50 mL를 넣어 추출한 후 유기층을 회수하였다. 회수한 유기층에 황산마그네슘을 넣어 교반한 다음 여과하여 여과액을 얻는다. 얻어진 여과액을 증발시킨 후 얻어진 고체는 헥산과 에틸아세테이트의 4:1 혼합 용액을 사용 컬럼 크로마토그래피로 분리하여 4.03g (79%)의 41,4-비스(3-브로모프로폭시)-2,5-다이브로모벤젠을 얻었다.

[0095] ^{1}H NMR (300MHz, $CDCl_3$): δ=7.14(2H, 방향족), 4.13(4H, 알킬기), 3.69(4H, 알킬기), 2.35(4H, 알킬기) ppm.

[0096] **[실시예 1-3] 벤조싸이아다이아졸계 고분자 화합물의 제조**

[0097] **[실시예 1] 화학식 1의 고분자 (R_1=R_2=4-술포네이토부틸, Ar=1,4-페닐렌)의 제조**

[0098] 4,7-다이브로모-2,1,3-벤조싸이아다이아졸(**화합물 I-a**) 26.5 mg (0.090 mmol)과 1,4-다이브로모-2,5-비스(4-술포네이토부톡시)벤젠소디움염(**화합물 III-a**) 474.4 mg (0.812 mmol)과 1,4-벤젠다이보론산비스(피나콜)에스터 297.7 mg (0.902 mmol), 그리고 테트라키스(트리페닐포스핀)팔라듐 촉매 3.5 mg (0.003 mmol)을 습기가 제거된 6 mL의 DMF와 9 mL의 2M Na_2CO_3 혼합용액에 용해시키고 90 ℃에서 48시간동안 환류하였다. 반응 후 상온으로 냉각하고 500 mL의 부피비가 10:40:50인 메탄올/아세톤/에테르 혼합 용액에 부어 결정을 석출시킨 다음 석출물을 여과하였다. 여과하여 얻어진 고체를 3차 증류수에 녹인 후 삼투막을 이용한 여과로 분자량이 12,400이상인 화학식 1의 고분자를 얻었다. 이를 원소분석 한 결과 x는 10%의 몰분율을 차지하는 것을 알 수 있었다.

[0099] ^{1}H NMR(300 MHz, D_2O) δ=8.1~7.3(2H, 방향족), 7.2~6.7(2H, 방향족), 3.9(4H, 알킬기), 2.8(4H, 알킬기), 1.7~1.3(7.8H, 알킬기) ppm.

[0100] **[실시예 2] 화학식 1의 고분자 (R_1=R_2=3-*N,N,N*-트라이메틸암모니움프로필, Ar=1,4-페닐렌)의 제조**

[0101] 4,7-다이브로모-2,1,3-벤조싸이아다이아졸(**화합물 I-a**) 26.5 mg (0.090 mmol)과 1,4-비스(3-브로모프로폭시)-

2,5-다이브로모벤젠(**화합물 III-b**) 414 mg (0.812 mmol)과 1,4-벤젠다이보론산비스(피나콜)에스터 297.7 mg (0.902 mmol), 그리고 테트라키스(트리페닐포스핀)팔라듐 촉매 3.5 mg (0.003 mmol)을 습기가 제거된 9 mL의 톨루엔과 4.5 mL의 2M Na_2CO_3 혼합용액에 용해시키고 90 ℃에서 48시간동안 환류하였다. 반응 후 상온으로 냉각하고 200 mL의 메탄올에 부어 결정을 석출시킨 다음 석출물을 여과하고 얻어진 고체를 아세톤 200 mL에 수세한 후 여과하였다. 여과하여 얻어진 고체를 THF 10 mL에 녹인 후 -78 ℃로 냉각시킨 후 트라이메틸아민 4 mL를 천천히 넣어주었다. 반응용액의 온도를 상온으로 승온시킨 후 6시간동안 교반한 후 아세톤 200 mL에 부어 석출하였다. 석출된 고체를 3차 증류수에 녹인 후 삼투막을 이용한 여과로 분자량이 12,400이상인 화학식 1의 고분자를 얻었다. 이를 원소분석 한 결과 x는 10%의 몰분율을 차지하는 것을 알 수 있었다.

[0102] ^{1}H NMR(300 MHz, D_2O) δ=8.1~7.3(2H, 방향족), 7.2~6.7(2H, 방향족), 4.1(4H, 알킬기), 3.8~3.2(6H, 알킬기), 2.9(4H, 알킬기), 1.7(4H, 알킬기) ppm.

[0103] **[실시예 3] 화학식 2의 고분자 (R_1=R_2=4-술포네이토부틸)의 제조**

[0104] 4,7-비스(4,4,5,5,-테트라메틸-1,3,2-다이옥사보로레인-2-일)벤조-2,1,3-싸이아다이아졸(**화합물 I-b**) 100 mg (0.258 mmol)과 1,4-다이브로모-2,5-비스(4-술포네이토부톡시)벤젠소디움염(**화합물 III-a**) 151 mg (0.258 mmol), 그리고 테트라키스(트리페닐포스핀)팔라듐 촉매 2.3 mg (0.002 mmol)을 습기가 제거된 6 mL의 DMF와 9 mL의 2M Na_2CO_3 혼합용액에 용해시키고 90 ℃에서 48시간동안 환류하였다. 반응 후 상온으로 냉각하고 500 mL의 부피비가 10:40:50인 메탄올/아세톤/에테르 혼합 용액에 부어 결정을 석출시킨 다음 석출물을 여과하였다. 여과하여 얻어진 고체를 3차 증류수에 녹인 후 삼투막을 이용한 여과로 분자량이 12,400이상인 화학식 2의 고분자를 얻었다.

[0105] H NMR(300 MHz, D_2O) δ=8.3~7.6(3H, 방향족), 7.4~7.0(2H, 방향족), 4.1(2H, 알킬기), 3.0(2.5H, 알킬기), 1.9~1.6(4.7H, 알킬기) ppm.

[0106] **[실시예 4-6] 비스싸이에닐벤조싸이아다이아졸계 고분자 화합물의 제조**

[0107] **[실시예 4] 화학식 3의 고분자 (R_1=R_2=4-술포네이토부틸, Ar=1,4-페닐렌)의 제조**

[0108] 4,7-비스(5-브로모싸이오펜-2-일)벤조-2,1,3-싸이아다이아졸(**화합물 II-a**) 21.6 mg (0.057 mmol)과 1,4-다이브로모-2,5-비스(4-술포네이토부톡시)벤젠소디움염(**화합물 III-a**) 300.0 mg (0.514 mmol)과 1,4-벤젠다이보론산비스(피나콜)에스터 188.0 mg (0.571 mmol), 그리고 테트라키스(트리페닐포스핀)팔라듐 촉매 3.5 mg (0.003 mmol)을 습기가 제거된 8 mL의 DMF와 12 mL의 2M Na_2CO_3 혼합용액에 용해시키고 100 ℃에서 48시간동안 환류하였다. 반응 후 상온으로 냉각하고 500 ml의 부피비가 10:40:50인 메탄올/아세톤/에테르 혼합 용액에 부어 결정을 석출시킨 다음 석출물을 여과하였다. 여과하여 얻어진 고체를 3차 증류수에 녹인 후 삼투막을 이용한 여과로 분자량이 12,400이상인 화학식 3의 고분자를 얻었다. 이를 원소분석 한 결과 x는 8%의 몰분율을 차지하는 것을 알 수 있었다.

[0109] ^{1}H NMR(300 MHz, D_2O) δ=8.1~7.3(3.1H, 방향족), 7.2~6.7(2H, 방향족), 4.0(2.8H, 알킬기), 3.0(3H, 알킬기), 2.0~1.5(5H, 알킬기) ppm.

[0110] **[실시예 5] 화학식 3의 고분자 (R_1=R_2=3-*N,N,N*-트라이메틸암모니움프로필, Ar=1,4-페닐렌)의 제조**

[0111] 4,7-비스[5-(4,4,5,5,-테트라메틸-1,3,2-다이옥사보로레인-2-일)싸이오펜-2-일]벤조-2,1,3-싸이아다이아졸(**화합물 II-b**) 41.2 mg (0.090 mmol)과 1,4-비스(3-브로모프로폭시)-2,5-다이브로모벤젠(**화합물 III-b**) 414 mg (0.812 mmol)과 1,4-벤젠다이보론산비스(피나콜)에스터 297.7 mg (0.902 mmol), 그리고 테트라키스(트리페닐포스핀)팔라듐 촉매 3.5 mg (0.003 mmol)을 습기가 제거된 9 mL의 톨루엔과 4.5 mL의 2M Na_2CO_3 혼합용액에 용해시키고 100 ℃에서 48시간동안 환류하였다. 반응 후 상온으로 냉각하고 200 mL의 메탄올에 부어 결정을 석출시킨 다음 석출물을 여과하고 얻어진 고체를 아세톤 200 mL에 수세한 후 여과하였다. 여과하여 얻어진 고체를 THF

10 mL에 녹인 후 -78 ℃로 냉각시킨 후 트라이메틸아민 4 mL를 천천히 넣어주었다. 반응용액의 온도를 상온으로 승온시킨 후 6시간동안 교반한 후 아세톤 200 mL에 부어 석출하였다. 석출된 고체를 3차 증류수에 녹인 후 삼투막을 이용한 여과로 분자량이 12,400이상인 화학식 1의 고분자를 얻었다. 이를 원소분석 한 결과 x는 10%의 몰분율을 차지하는 것을 알 수 있었다.

[0112] ^{1}H NMR(300 MHz, D_2O) δ=8.1~7.3(3.1H, 방향족), 7.2~6.7(2H, 방향족), 4.0(2.8H, 알킬기), 3.7~3.2(4.7H, 알킬기), 3.0(3H, 알킬기), 2.0(3.1H, 알킬기) ppm.

[0113] **[실시예 6] 화학식 4의 고분자 (R_1=R2=4-술포네이토부틸)의 제조**

[0114] 4,7-비스[5-(4,4,5,5,-테트라메틸-1,3,2-다이옥사보로레인-2-일)싸이오펜-2-일]벤조-2,1,3-싸이아다이아졸(**화합물 II-b**) 143 mg (0.258 mmol)과 1,4-다이브로모-2,5-비스(4-술포네이토부톡시)벤젠소디움염(**화합물 III-a**) 151 mg (0.258 mmol), 그리고 테트라키스(트리페닐포스핀)팔라듐 촉매 2.3 mg (0.002 mmol)을 습기가 제거된 6 mL의 DMF와 9 mL의 2M Na_2CO_3 혼합용액에 용해시키고 100 ℃에서 48시간동안 환류하였다. 반응 후 상온으로 냉각하고 500 mL의 부피비가 10:40:50인 메탄올/아세톤/에테르 혼합 용액에 부어 결정을 석출시킨 다음 석출물을 여과하였다. 여과하여 얻어진 고체를 3차 증류수에 녹인 후 삼투막을 이용한 여과로 분자량이 12,400이상인 화학식 4의 고분자를 얻었다.

[0115] ^{1}H NMR(300 MHz, D_2O) δ=8.2~7.7(2H, 방향족), 7.6~7.1(2H, 방향족), 4.0(4H, 알킬기), 3.0(4H, 알킬기), 2.0~1.5(8H, 알킬기) ppm.

[0116] **[실시예 7] 제조된 음이온성 고분자의 단백질센서로의 성능 평가**

[0117] 실시예 1, 실시예 3, 실시예 4 및 실시예 6에 의하여 제조된 고분자 화합물들의 단백질에 대한 생화학적 검출 능력을 확인하기 위해 상기 고분자 화합물들을 0.1 몰농도 소디움포스페이트 완충용액(pH 9.55)에 녹여 각각 1.72×10^{-5} 몰농도로 맞추었다. 여기에 등전점이 높아 pH 9.55에서 양전하를 갖는 단백질인 라이소자임과 사이토크롬 C, 그리고 등전점은 낮으나 고분자 주쇄와 소수성 결합을 갖는 BSA을 소량 첨가하여 8.26×10^{-6} 몰농도까지 용액의 형광 변화를 형광광도계를 이용하여 관찰하였다.

[0118] 그 결과 발명에 의한 고분자 화합물인 실시예 1의 화합물 또는 실시예 4의 화합물이 실험한 단백질에 따라 각각 다른 형광 변화를 관측 할 수 있었다. 특히 라이소자임의 경우는 단백질 첨가 전 고분자만의 형광은 감소하고 새로운 형광이 나타나는 바와 같이, 라이소자임 첨가 전후 전혀 다른 형광색을 보이는 현상을 볼 수 있었다. 형광 광도계에 의한 형광을 측정한 결과 실시예 1의 고분자 화합물의 경우 사이토크롬 C가 첨가에 의하여 430 nm에서의 청색형광이 93% 감소하였으며, BSA을 첨가한 경우 430 nm에서의 청색형광과 535 nm의 녹색형광이 각각 115%와 193%씩 증가하였다. 라이소자임의 경우에는 앞의 두 경우와 다르게 라이소자임 첨가 전의 고분자의 형광은 감소하고 새로운 형광이 나타나는 것을 볼 수 있었다. 라이소자임을 첨가하였을 때 430 nm의 청색형광이 60% 감소하였고, 535 nm의 녹색형광은 116% 증가하였다.

[0119] 또한 본 발명에 따른 실시예 4의 고분자 화합물의 경우 사이토크롬 C에서 430 nm에서의 청색형광이 94% 감소하였으며, BSA을 첨가한 경우 430 nm에서의 청색형광과 650 nm의 적색형광이 각각 129%와 937%씩 증가하였다. 라이소자임의 경우에는 앞의 두 경우와 다르게 라이소자임 첨가 전의 고분자의 청색형광은 감소하고 새로운 적색형광이 나타나는 것을 볼 수 있었다. 라이소자임을 첨가하였을 때 417 nm의 청색형광이 67% 감소하였고, 650 nm의 적색형광은 557%증가하였다.

[0120] 이상의 결과로 보아 제조된 고분자 화합물은 단백질에 따라 선택적인 바이오센서로 이용될 수 있음을 확인할 수 있었다. 또한, 고분자 주쇄에 벤조싸이아다이아졸이 포함된 경우 라이소자임을 감지하여 녹색형광을 나타내고, 고분자 주쇄에 비스싸이에닐벤조싸이아다이아졸이 포함된 경우 라이소자임을 감지하여 적색형광을 나타내는 다중 형광색 단백질센서로 이용될 수 있다.

[0121] **[실시예 8] 제조된 양이온성 고분자의 단백질센서로의 성능 평가**

[0122] 실시예 2 및 실시예 5에서 제조된 고분자 화합물들의 단백질에 대한 생화학적 검출 능력을 확인하기 위해 상기 고분자 화합물들을 0.1 몰농도 소디움포스페이트 완충용액(pH 2.5)에 녹여 각각 1.72×10^{-5} 몰농도로 맞추었다. 여기에 등전점이 낮아 pH 3.5에서 음전하를 갖는 단백질인 펩신 소량 첨가하여 8.26×10^{-6} 몰농도까지 용액의 형광 변화를 형광광도계를 이용하여 관찰하였다.

[0123] 그 결과 발명에 의한 고분자 화합물인 실시예 2의 화합물 또는 실시예 5의 화합물이 실험한 단백질에 따라 각각 다른 형광 변화를 관측 할 수 있었다. 실시예 2의 화합물에 펩신을 첨가하였을 때 430 nm의 청색형광이 58% 감소하였고, 535 nm의 녹색형광은 124% 증가하였다. 또한 실시예 5의 화합물에 417 nm의 청색형광이 74% 감소하였고, 650 nm의 적색형광은 638% 증가하였다.

[0124] 위와 같이 펩신의 경우 강산성인 위액에서 작용하는 효소로 등전이 1.0이하임으로 pH 3.5에서 음전하를 띄게 되어 실시예 2 및 실시예 5의 양이온성 고분자와 정전기적 인력에 의한 회합에 의한 형광색 변화로 다중 형광색 단백질 센서로 이용될 수 있음을 확인할 수 있었다.