

	(19) 대한민국특허청(KR) (12) 공개특허공보(A)	(11) 공개번호 10-2014-0098436 (43) 공개일자 2014년08월08일
(51) 국제특허분류(Int. Cl.) G01N 27/00 (2006.01) C07F 5/02 (2006.01)	(71) 출원인 인하대학교 산학협력단 인천광역시 남구 인하로 100, 인하대학교 (용현동)	
(21) 출원번호 10-2013-0011080 (22) 출원일자 2013년01월31일 심사청구일자 없음	(72) 발명자 이건형 서울 양천구 목동서로 38, 130동 1104호 (목동, 목동1단지아파트)	
	(74) 대리인 이원희	

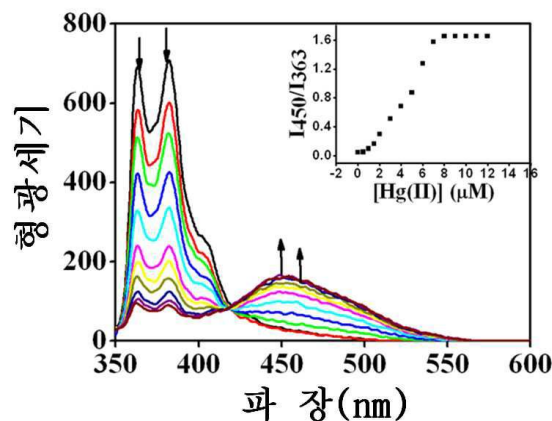
전체 청구항 수 : 총 10 항

(54) 발명의 명칭 수은 이온과 선택적으로 결합하는 보론산을 포함하는 비례 형광 감응 화학센서, 이의 제조방법 및 이를 이용한 수은 이온 검출방법

(57) 요약

본 발명은 수은 이온(Hg^{2+})과 선택적으로 결합하는 보론산을 포함하는 비례(ratiometric) 형광 감응 화학센서, 이의 제조방법 및 이를 이용한 수은 이온(Hg^{2+})검출방법에 관한 것이다. 본 발명에 따른 수은 이온 형광 검출센서는 100% 수용액상 및 수용액과 유기 용액의 혼합 용액에서 다른 금속 이온의 존재 하에서도 선택적으로 비례(ratiometric) 형광발광을 하여 수은 이온(Hg^{2+})의 정량 분석이 용이하다. 또한, 화학센서의 보론산과 수은 이온의 금속교환반응을 통한 비가역적 공유 결합을 형성함으로써 수은 이온의 인식과 동시에, 분석물로부터 화학센서를 분리하여 수은 이온 자체를 제거하는 친환경적인 효과가 있으므로, 지하수, 하천과 같은 수계 환경 및 생체 시료 등의 수은 이온 검출이 요구되는 전반적인 산업분야에서 유용하게 사용될 수 있다.

대표도 - 도7



이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 45162-1

부처명 환경부

연구사업명 토양지하수오염방지기술개발사업

연구과제명 중금속 인식 펩타이드를 이용한 지하수내 중금속 검출 및 저감 기술 개발

기 여 율 1/1

주관기관 인하대학교 산학협력단

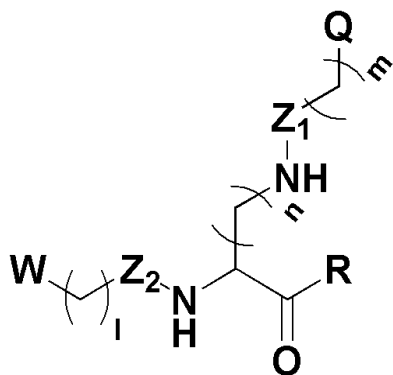
연구기간 2012.04.01 ~ 2013.03.31

특허청구의 범위

청구항 1

하기 화학식 1로 표시되는, 수은 이온(Hg^{2+})과 선택적으로 결합하는 보론산을 포함하는 비례(ratiometric) 형광 감응 화학센서:

[화학식 1]



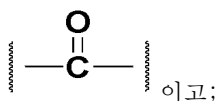
(상기 화학식 1에 있어서,

R은 $-\text{NR}^1\text{R}^2$ 또는 $-\text{OR}^1$ 이고;

R^1 및 R^2 는 서로 독립적으로 수소 또는 C1 내지 C6의 직쇄 또는 측쇄 알킬이고;

Q 및 W는 비치환, 또는 할로젠; 할로젠으로 치환된 C1-C4의 알킬; 하이드록시; C1-C4의 알킬옥시; 아민; 또는 나이트로 치환된 C6-C12의 아릴보론산으로 이루어지는 제 1군으로부터 선택되는 어느 하나, 또는 파이렌 및 안트라센으로 이루어지는 제 2군으로부터 선택되는 어느 하나이되, Q와 W는 각각 서로 다른 군으로부터 선택되고;

Z_1 및 Z_2 는 서로 독립적으로 $\text{—}\overset{\text{O}}{\parallel}\text{C—}$, $\text{—CH}_2\text{—}$ 또는 $\text{—}\overset{\text{O}}{\parallel}\text{S}\overset{\text{O}}{\parallel}\text{—}$ 이되, 적어도 하나는



l 및 m은 0 내지 3의 정수이고; 및

n은 1 내지 6의 정수이다).

청구항 2

제1항에 있어서,

R은 $-\text{NR}^1\text{R}^2$ 또는 $-\text{OR}^1$ 이고;

R^1 및 R^2 는 수소, 메틸, 에틸, 프로필 또는 부틸이고;

Q 및 W는 비치환, 또는 하나 이상의 플루오로; 트라이플루오로메틸; 하이드록시; 메톡시; 아민; 또는 나이트로 치환된 페닐보론산으로 이루어지는 제 1군으로부터 선택되는 어느 하나, 또는 파이렌 및 안트라센으로 이루어지는 제 2군으로부터 선택되는 어느 하나이되, Q 및 W는 각각 서로 다른 군으로부터 선택되고;

Z_1 및 Z_2 는 서로 독립적으로 $\text{---}\overset{\text{O}}{\underset{\text{||}}{\text{C}}}\text{---}$, $\text{---CH}_2\text{---}$ 또는 $\text{---}\overset{\text{O}}{\underset{\text{||}}{\text{S}}}\text{---}$ 이 되, 적어도 하나는 $\text{---}\overset{\text{O}}{\underset{\text{||}}{\text{C}}}\text{---}$ 이고;

l 및 m 은 0 내지 1의 정수이고; 및
 n 은 1 내지 4의 정수인 것을 특징으로 하는 비례 형광 감응 화학센서.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 화학식 1로 표시되는 비례(ratiometric) 형광 감응 화학센서는;

- (1) 4-(1-아미노-1-옥소-5-(2-(파이렌-4-일)아세토아미도)펜탄-2-일카바모일)페닐보론산; 또는
- (2) 4-(1-아미노-5-(안트라센-9-카르복스아미도)-1-옥소펜탄-2-일카바모일)페닐보론산인 것을 특징으로 하는 비례 형광 감응 화학센서.

청구항 4

하기 반응식 1에 나타난 바와 같이,

화학식 3으로 표시되는 고체상 화합물에 화학식 2로 표시되는, 말단 아민기가 보호기로 보호된 아미노산을 도입하여 화학식 4로 표시되는 화합물을 제조하는 단계(단계 1);

상기 단계 1에서 제조된 화학식 4로 표시되는 화합물의 탈보호화 반응을 수행하여 X로 표시되는 말단 아민 보호기가 탈보호화된 화학식 5로 표시되는 화합물을 제조하는 단계(단계 2);

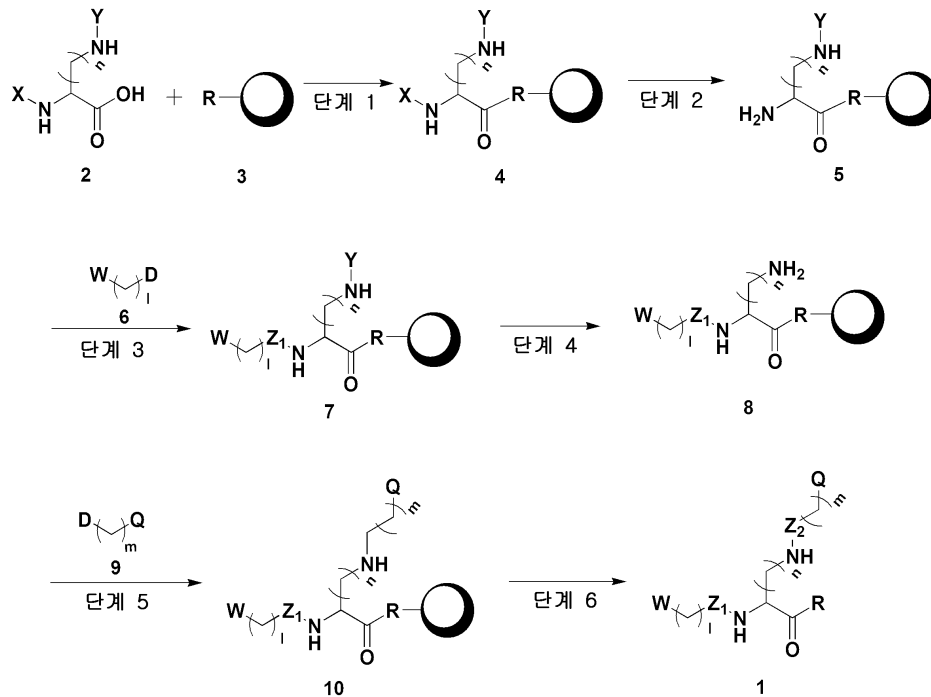
상기 단계 2에서 제조된 화학식 5의 화합물과 화학식 6으로 표시되는 화합물의 커플링 반응을 수행하여 화학식 7로 표시되는 화합물을 제조하는 단계(단계 3);

상기 단계 3에서 제조된 화학식 7로 표시되는 화합물의 탈보호화 반응을 수행하여 Y로 표시되는 말단 아민 보호기가 탈보호화된 화학식 8로 표시되는 화합물을 제조하는 단계(단계 4);

상기 단계 4에서 제조된 화학식 8의 화합물과 화학식 9로 표시되는 화합물의 커플링 반응을 수행하여 화학식 10으로 표시되는 화합물을 제조하는 단계(단계 5); 및

상기 단계 5에서 제조된 화학식 10으로 표시되는 화합물의 고체상을 제거하여 화학식 1로 표시되는 화합물을 제거하는 단계(단계 6)를 포함하는 수은 이온(Hg^{2+}) 선택적, 비례 형광 감응 화학센서의 제조방법;

[반응식 1]



(상기 반응식 1에 있어서,

상기 R, Q, W, Z₁, Z₂, l, m 및 n은 제1항에서 정의한 바와 같고;

D는 알데하이드, 카르복실산 또는 설포닐클로라이드이고;

X 및 Y는 아민 보호기이고, 이때, X 및 Y는 서로 상이하며; 및



은 고체상이다).

청구항 5

제4항에 있어서,

상기 단계 1의 화학식 2로 표시되는 아미노산은 말단 아민기가 보호화된 오르니틴(Orn)인 것을 특징으로 하는 수은 이온(Hg²⁺) 선택적, 비레 형광 감응 화학센서의 제조방법.

청구항 6

제4항에 있어서,

상기 단계 1의 화학식 3으로 표시되는 고체상 화합물의 고체상은 아마이드가 연결된 메틸벤조하이드릴아민(MBHA) 수지, 왕(Wang) 수지, 폴리에틸렌글리콜-폴리스티렌(PEG-PS) 수지, 실리카 나노입자, 티타늄옥사이드 나노 입자 및 키토산으로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종인 것을 특징으로 하는 수은 이온(Hg²⁺) 선택적, 비레 형광 감응 화학센서의 제조방법.

청구항 7

제1항의 화학식 1로 표시되는 비레 형광 감응 화학센서를 수은 이온(Hg²⁺) 유무를 판별하고자 하는 대상시료에

투입시키는 단계(단계 1); 및

상기 단계 1의 대상시료 내에 존재하는 수은 이온(Hg^{2+})과 상기 화학식 1의 화합물 간의 공유결합을 통해 얻어지는 반응 생성물이 발생시키는 형광 신호를 측정하여 수은 이온(Hg^{2+})을 선택적으로, 수은 이온(Hg^{2+})의 농도를 비례적으로 감응하여 검출하는 단계(단계 2)를 포함하는 수은 이온(Hg^{2+}) 검출방법.

청구항 8

제7항에 있어서,

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

청구항 9

제8항에 있어서,

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

청구항 10

제7항에 있어서,

제1항의 수은 이온(Hg^{2+}) 선택적, 비례 형광 감응 화학센서는 대상시료 내에 존재하는 수은 이온(Hg^{2+})과 상기 화학식 1의 화합물 간의 공유결합을 통하여 수은 이온(Hg^{2+})을 비가역적(irreversible)으로 검출하는 것을 특징으로 하는 것을 특징으로 하는 수은 이온(Hg^{2+}) 검출방법.

명세서

기술 분야

[0001] 본 발명은 수은 이온(Hg^{2+})과 선택적으로 결합하는 보론산을 포함하는 비례(ratiometric) 형광 감응 화학센서, 이의 제조방법 및 이를 이용한 수은 이온(Hg^{2+}) 검출방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 수은(Hg^{2+})은 미국 독성물질 질병 등록국(Agency for Toxic Substances and Disease Registry:ATSDR)의 리스트 중 세 번째로 많이 발견되고, 두 번째로 일반적인 독성 중금속으로 알려져 있다. 수은 오염은 광범위하게 퍼져 있고, 다양한 자연적 원인으로부터 발생한다. 일단 해양 환경에 도입되면, 박테리아는 무기 수은 이온(Hg^{2+})은 메틸수은으로 변화시킨다. 1956년 일본 미나마타 시에서 메틸수은이 포함된 어패류를 먹은 주민들에게 집단적으로 발생해 이타이이타이 병과 같이, 메틸수은은 신경 독성이 심각하여 친유성 성질로 인하여 생물체 내의 막을 쉽게 통과할 수 있어 무기 수은보다 쉽게 흡수될 뿐만 아니라 장기간 축적되어 비가역적 신경학적 손상과 관련된 수은 오염원으로써 작용한다. 이에 따라, 최근 화학, 생명공학 및 환경 공학 분야에서 수은 이온(Hg^{2+})을 선택적으로 검출하는 방법에 대한 관심이 고조되고 있다.

[0003] 이와 관련하여 최근 수용체 내에서 형광 변화를 유도하는 계측 분자(dosimetric molecules)와 타겟 화학종

(target species) 간의 특이적 비가역 화학반응을 이용하는 화학센서로서 케모도시미터(chemodosimeters)의 사용이 많은 관심을 받고 있다. 간편함, 높은 감도 및 목적하는 분석물에 의하여 유도되는 비가역적이고 선택성이 높은 반응의 이용 또한 주목을 받고 있는데, 이에 축적된 효과는 분석물의 농도와 직접적으로 관련되어 있다.

[0004] 종래에 케모도시미터를 이용한 검출 기술은 대부분 수은 이온(Hg^{2+})에 의해서 유발되는 티오아마이드 유도체 또는 티오아세틸기의 탈황반응을 화학감응센서나, 이민(Schiff 염기) 작용기와 수은 이온과의 탈황 반응을 이용한 수은 인식 케모도시미터가 개발된바 있다(특허문헌 1).

[0005] 그러나, 그 동안 개발되었던 케모도시미터는 수용성이 낮고, 응답시간이나 감도가 좋지 않아 실제로 산업에 적용하기 적합하지 않은 문제점이 있어, 이에 따른 생물학적, 환경공학적인 공정에 적용할 수 있도록 수용성 환경에서 중금속의 검출 능력이 우수하고, 다른 금속 양이온이 혼재할 경우에도 수은 이온(Hg^{2+})만을 선택적으로 검출할 수 있는 케모도시미터의 개발이 요구되고 있다.

[0006] 한편, 보론산은 인접한 다이올기를 포함하는 물질에 대해 고친화성을 갖는 것으로 알려져 있으며, 탄수화물용 형광성 화학센서로 이용되어 왔다(특허문헌 2). 또한, 스틸벤일(stilbene) 보론산은 수은 이온(Hg^{2+})을 모니터링하기 위한 항체-계열 센서에 있어 보조인자로서 활용되어 왔다(비특허문헌 1).

[0007] 이에, 본 발명자들은 금속 이온 중 수은 이온(Hg^{2+})을 선택적으로 검출하는 케모도시미터를 연구하던 중, 수은 이온(Hg^{2+})과 선택적으로 결합하는 보론산을 포함하는 안트라센 유도체 또는 파이렌 유도체가 다른 이온 존재 하에서도 수은 이온(Hg^{2+})에 대해서만 선택적으로 감응할 뿐만 아니라, 형광화학센서에 포함되어 있는 보론산과 수은 이온(Hg^{2+})은 비가역적으로 공유결합을 형성하여 수은 이온(Hg^{2+}) 검출과 동시에 제거하는 것을 확인하고 본 발명을 완성하였다.

선행기술문헌

특허문헌

[0008] (특허문헌 0001) 대한민국 공개특허 제2012-0062223호;
(특허문헌 0002) 국제 공개특허 제2002-54067호.

비특허문헌

[0009] (비특허문헌 0001) Org. Lett. 7, (2005), 4943.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0010] 본 발명의 목적은 수은 이온(Hg^{2+}) 선택적, 비례(ratiometric) 형광 감응 화학센서를 제공하는데 있다.

[0011] 본 발명의 다른 목적은 상기 비례(ratiometric) 형광 감응 화학센서의 제조방법을 제공하는데 있다.

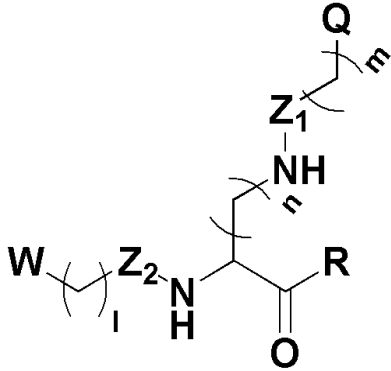
[0012] 본 발명의 또 다른 목적은 상기 비례(ratiometric) 형광 감응 화학센서를 이용한 수은 이온(Hg^{2+}) 검출방법을 제공하는데 있다.

과제의 해결 수단

[0013] 상기 목적을 달성하기 위하여,

[0014] 본 발명은 하기 화학식 1로 표시되는, 수은 이온(Hg^{2+})과 선택적으로 결합하는 보론산을 포함하는 비례(ratiometric) 형광 감응 화학센서를 제공한다:

[0015] [화학식 1]



[0016]

[0017] (상기 화학식 1에 있어서, R, Q, W, Z₁, Z₂, l, m 및 n은 본 명세서에서 정의한 바와 같다).

[0018] 또한, 본 발명은 하기 반응식 1에 나타난 바와 같이,

[0019] 화학식 3으로 표시되는 고체상 화합물에 화학식 2로 표시되는, 말단 아민기가 보호기로 보호된 아미노산을 도입하여 화학식 4로 표시되는 화합물을 제조하는 단계(단계 1);

[0020] 상기 단계 1에서 제조된 화학식 4로 표시되는 화합물의 탈보호화 반응을 수행하여 X로 표시되는 말단 아민 보호기가 탈보호화된 화학식 5로 표시되는 화합물을 제조하는 단계(단계 2);

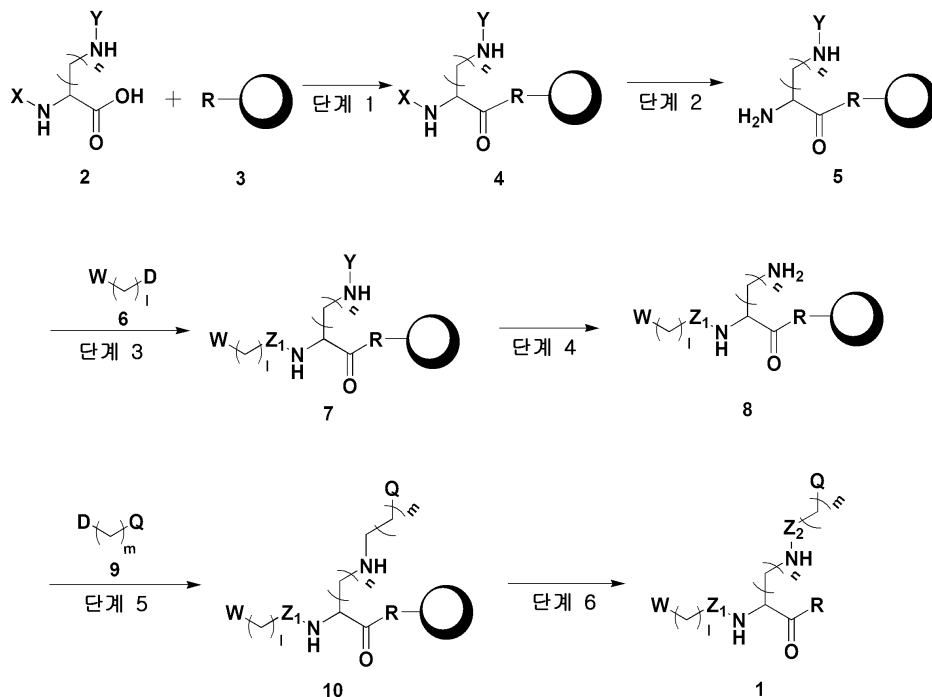
[0021] 상기 단계 2에서 제조된 화학식 5의 화합물과 화학식 6으로 표시되는 화합물의 커플링 반응을 수행하여 화학식 7로 표시되는 화합물을 제조하는 단계(단계 3);

[0022] 상기 단계 3에서 제조된 화학식 7로 표시되는 화합물의 탈보호화 반응을 수행하여 Y로 표시되는 말단 아민 보호기가 탈보호화된 화학식 8로 표시되는 화합물을 제조하는 단계(단계 4);

[0023] 상기 단계 4에서 제조된 화학식 8의 화합물과 화학식 9로 표시되는 화합물의 커플링 반응을 수행하여 화학식 10으로 표시되는 화합물을 제조하는 단계(단계 5); 및

[0024] 상기 단계 5에서 제조된 화학식 10으로 표시되는 화합물의 고체상을 제거하여 화학식 1로 표시되는 화합물을 제거하는 단계(단계 6)를 포함하는 수은 이온(Hg^{2+}) 선택적, 비례 형광 감응 화학센서의 제조방법을 제공한다.

[0025] [반응식 1]



[0026]

[0027] (상기 반응식 1에 있어서, 상기 R, Q, W, X, Y, Z₁, Z₂, D, l, m, n 및  은 본 명세서에서 정의한 바와 같다.)

[0028] 나아가, 본 발명은 상기 화학식 1로 표시되는 비례 형광 감응 화학센서를 수은 이온(Hg²⁺) 유무를 판별하고자 하는 대상시료에 투입시키는 단계(단계 1); 및

[0029] 상기 단계 1의 대상시료 내에 존재하는 수은 이온(Hg²⁺)과 상기 화학식 1의 화합물 간의 공유결합을 통해 얻어지는 반응 생성물이 발생시키는 형광 신호를 측정하여 수은 이온(Hg²⁺)을 선택적으로, 수은 이온(Hg²⁺)의 농도를 비례적으로 감응하여 검출하는 단계(단계 2)를 포함하는 수은 이온(Hg²⁺) 검출방법을 제공한다.

발명의 효과

[0030] 본 발명에 따른 수은 이온 형광 검출센서는 100% 수용액상 및 수용액과 유기 용액의 혼합 용액에서 다른 금속 이온의 존재 하에서도 선택적으로 비례(ratiometric) 형광발광을 하여 수은 이온(Hg²⁺)의 정량 분석이 용이하다. 또한, 화학센서의 보론산과 수은 이온의 금속교환반응을 통한 비가역적 공유 결합을 형성함으로써 수은 이온의 인식과 동시에, 분석물로부터 화학센서를 분리하여 수은 이온 자체를 제거하는 친환경적인 효과가 있으므로, 지하수, 하천과 같은 수계 환경 및 생체 시료 등의 수은 이온 검출이 요구되는 전반적인 산업분야에서 유용하게 사용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0031] 도 1은 본 발명에 따른 실시예 1에서 제조된 화합물-수은 이온(Hg²⁺) 복합체의 ESI-MS 스펙트럼이다.

도 2는 본 발명에 따른 실시예 2에서 제조된 화합물-수은 이온(Hg²⁺) 복합체의 ESI-MS 스펙트럼이다.

도 3은 다른 전이금속 이온들 존재 하에서의 실시예 1에서 제조된 화합물-수은 이온(Hg^{2+}) 복합체의 형광 변화를 나타낸 형광 스펙트럼이다.

도 4는 전이금속 이온 종류에 따른 실시예 1에서 제조된 화합물-금속 이온 복합체의 형광 변화를 나타낸 형광 스펙트럼이다.

도 5는 다른 전이금속 이온들 존재 하에서의 실시예 2에서 제조된 화합물-수은 이온(Hg^{2+}) 복합체의 형광 변화를 나타낸 형광 스펙트럼이다.

도 6은 전이금속 이온 종류에 따른 실시예 2에서 제조된 화합물-금속 이온 복합체의 형광 변화를 나타낸 형광 스펙트럼이다.

도 7은 수은 이온(Hg^{2+}) 농도에 따른 실시예 1에서 제조된 화합물-수은 이온(Hg^{2+}) 복합체의 형광 변화를 나타낸 형광 스펙트럼이다.

도 8은 수은 이온(Hg^{2+}) 농도에 따른 실시예 2에서 제조된 화합물-수은 이온(Hg^{2+}) 복합체의 형광 변화를 나타낸 형광 스펙트럼이다.

도 9는 수은 이온(Hg^{2+})에 따른 물분율을 이용한 실시예 1에서 제조된 화합물과 수은 이온(Hg^{2+})에 대한 Job's plot 그래프이다.

도 10은 수은 이온(Hg^{2+})에 따른 물분율을 이용한 실시예 2에서 제조된 화합물과 수은 이온(Hg^{2+})에 대한 Job's plot 그래프이다.

도 11은 본 발명에 따른 실시예 1에서 제조된 화합물-수은 이온(Hg^{2+}) 복합체의 흡광 스펙트럼이다.

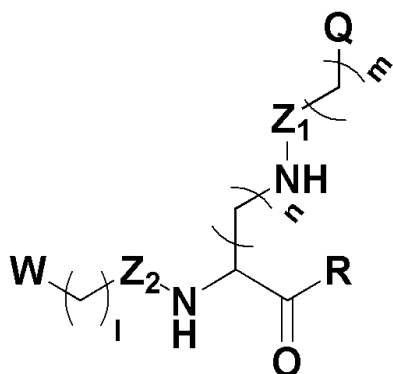
도 12는 본 발명에 따른 실시예 2에서 제조된 화합물-수은 이온(Hg^{2+}) 복합체의 흡광 스펙트럼이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

이하, 본 발명을 상세히 설명한다.

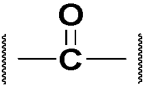
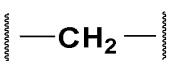
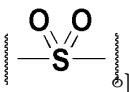
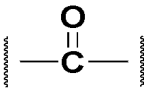
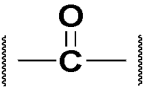
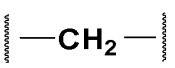
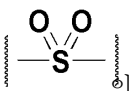
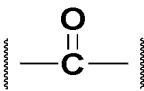
본 발명은 하기 화학식 1로 표시되는, 수은 이온(Hg^{2+})과 선택적으로 결합하는 보론산을 포함하는 비례(ratiometric) 형광 감응 화학센서를 제공한다.

화학식 1



상기 화학식 1에 있어서,

R은 $-\text{NR}^1\text{R}^2$ 또는 $-\text{OR}^1$ 이고;

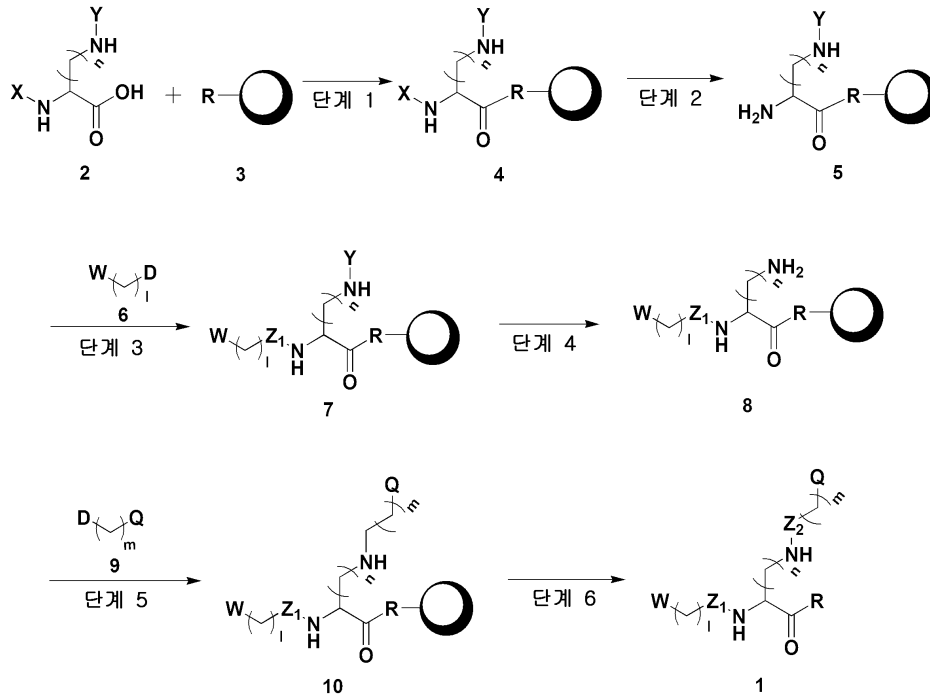
- [0037] R^1 및 R^2 는 독립적으로 수소 또는 C1 내지 C6의 직쇄 또는 측쇄 알킬이고;
- [0038] Q 및 W는 비치환, 또는 할로젠; 할로젠으로 치환된 C1-C4의 알킬; 하이드록시; C1-C4의 알킬옥시; 아민; 또는 나이트로 치환된 C6-C12의 아릴보론산으로 이루어지는 제 1군으로부터 선택되는 어느 하나, 또는 파이렌 및 안트라센으로 이루어지는 제 2군으로부터 선택되는 어느 하나이되, Q와 W는 각각 서로 다른 군으로부터 선택되고;
- [0039] Z_1 및 Z_2 는 서로 독립적으로 ,  또는  이되, 적어도 하나는  이고;
- [0040] l 및 m은 0 내지 3의 정수이고; 및
- [0041] n은 1 내지 6의 정수이다.
- [0042] 바람직하게는
- [0043] 상기 R은 $-NR^1R^2$ 또는 $-OR^1$ 이고;
- [0044] R^1 및 R^2 는 수소, 메틸, 에틸, 프로필 또는 부틸이고;
- [0045] Q 및 W는 비치환, 또는 하나 이상의 플루오로; 트라이플루오로메틸; 하이드록시; 메톡시; 아민; 또는 나이트로 치환된 페닐보론산으로 이루어지는 제 1군으로부터 선택되는 어느 하나, 또는 파이렌 및 안트라센으로 이루어지는 제 2군으로부터 선택되는 어느 하나이되, Q 및 W는 각각 서로 다른 군으로부터 선택되고;
- [0046] Z_1 및 Z_2 는 서로 독립적으로 ,  또는  이되, 적어도 하나는  이고;
- [0047] l 및 m은 0 내지 1의 정수이고; 및
- [0048] n은 1 내지 4의 정수이다.
- [0049] 가장 바람직하게는, 상기 화학식 1로 표시되는, 수은 이온(Hg^{2+}) 선택적, 비례(ratiometric) 형광 감응 화학센서는 하기에 나타낸 바와 같다:
- [0050] (1) 4-(1-아미노-1-옥소-5-(2-(파이렌-4-일)아세트아미도)펜탄-2-일카바모일)페닐보론산; 또는
- [0051] (2) 4-(1-아미노-5-(안트라센-9-카르복스아미도)-1-옥소펜탄-2-일카바모일)페닐보론산.
- [0052] 또한, 본 발명은 하기 반응식 1에 나타난 바와 같이,
- [0053] 화학식 3으로 표시되는 고체상 화합물에 화학식 2로 표시되는, 말단 아민기가 보호기로 보호된 아미노산을 도입하여 화학식 4로 표시되는 화합물을 제조하는 단계(단계 1);
- [0054] 상기 단계 1에서 제조된 화학식 4로 표시되는 화합물의 탈보호화 반응을 수행하여 X로 표시되는 말단 아민 보호기가 탈보호화된 화학식 5로 표시되는 화합물을 제조하는 단계(단계 2);
- [0055] 상기 단계 2에서 제조된 화학식 5의 화합물과 화학식 6으로 표시되는 화합물의 커플링 반응을 수행하여 화학식 7로 표시되는 화합물을 제조하는 단계(단계 3);

[0056] 상기 단계 3에서 제조된 화학식 7로 표시되는 화합물의 탈보호화 반응을 수행하여 Y로 표시되는 말단 아민 보호기가 탈보호화된 화학식 8로 표시되는 화합물을 제조하는 단계(단계 4);

[0057] 상기 단계 4에서 제조된 화학식 8의 화합물과 화학식 9로 표시되는 화합물의 커플링 반응을 수행하여 화학식 10으로 표시되는 화합물을 제조하는 단계(단계 5); 및

[0058] 상기 단계 5에서 제조된 화학식 10으로 표시되는 화합물의 고체상을 제거하여 화학식 1로 표시되는 화합물을 제거하는 단계(단계 6)를 포함하는 수은 이온(Hg^{2+}) 선택적, 비레 형광 감응 화학센서의 제조방법을 제공한다:

[0059] [반응식 1]



[0060]

[0061] (상기 반응식 1에 있어서, 상기 R, Q, W, Z₁, Z₂, l, m 및 n은 상기 화학식 1에서 정의한 바와 같고; D는 알데하이드, 카르복실산 또는 설포닐클로라이드이고; X 및 Y는 아미노 보호기이고, 이때, X 및 Y는 서로 상이하며;

및  은 고체상이다).

[0062] 이하, 상기 수은 이온(Hg^{2+}) 선택적, 비레 형광 감응 화학센서의 제조방법을 각 단계별로 상세히 설명한다.

[0063] 본 발명에 따른 상기 단계 1은 화학식 3으로 표시되는 고체상 화합물에 화학식 2로 표시되는 아미노산을 도입하여 화학식 4로 표시되는 화합물을 제조하는 단계이다. 보다 상세하게는 화학식 2로 표시되는 아미노산의 카르복실기와 화학식 3으로 표시되는 고체상 화합물의 커플링 반응을 통하여, 화학식 2의 화합물에 고체상이 도입된 화학식 4의 화합물을 제조하는 단계이다.

[0064] 이때, 본 발명에 따른 상기 단계 1의 화학식 2로 표시되는 아미노산은 말단 아민기가 보호화된 오르니틴(Orn), 라이신(Lys), 다이아미노프로피온산(Dap., diamino propionic acid), 다이아미노부타논산(Dab., diaminopropionic acid) 등을 사용할 수 있으며, 바람직하게는 오르니틴(Orn)을 사용할 수 있다.

[0065] 또한, 상기 화학식 2로 표시되는 아미노산의 말단 아민기를 보호화하는 보호기 X 및 Y는 탈보호화 조건이 서로

다른 보호기를 사용함으로써, 화학식 2로 표시되는 아미노산의 원하는 위치에 화학식 6 및 화학식 9의 화합물을 선택적으로 커플링(coupling) 할 수 있다.

[0066] 상기 화학식 2의 말단 아민기 보호화에 사용가능한 보호기로는 t-부톡시카보닐(Boc), 9H-플로렌-9-일메톡시카보닐(Fmoc), 트라이틸(trityl), 벤질, 클로로아세틸, 벤질옥시카보닐, p-메톡시벤질옥시카보닐, 포밀, 트라이플루오로아세틸, p-톨루엔술포닐, 벤젠술포닐, 메탄술포닐, p-니트로벤질옥시카보닐, 2,2,2-트라이클로로에톡시카보닐, 알릴옥시카보닐(Alloc) 등을 사용할 수 있다. 바람직하게는 9H-플로렌-9-일메톡시카보닐(Fmoc) 및 알릴옥시카보닐(Alloc)을 사용할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0067] 나아가, 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.

[0068] 본 발명에 따른 상기 단계 1의 커플링 반응에 사용가능한 커플링제는 벤조트리아졸-1-일-옥시-트라이스(다이메틸아미노)-포스포니움 헥사플루오로포스페이트(Py-BOP), 0-벤조트리아졸-N,N,N,N-테트라메틸-유로니움-헥사플루오로-포스페이트(HBTU), 2-(7-아자-1H-벤조트리아졸-1-일)-1,1,3,3-테트라메틸유로니움헥사플루오로포스페이트(HATU), 1-하이드록시벤조트리아졸(HOBt), 다이이소프로필카르보다이이미드(DIC), 다이사이클로헥실카르보다이이미드(DCC), 1-에틸-3-(3-다이메틸아미노프로필)카르보다이이미드(EDC) 또는 카르보닐다이이미다졸(CDI)을 사용할 수 있으며, 바람직하게는 다이이소프로필카르보다이이미드(DIC) 및 1-하이드록시벤조트리아졸(HOBt)을 함께 사용할 수 있다.

[0069] 이때, 상기 단계 1에서 사용 가능한 유기용매로는 반응에 악영향을 미치지 않는 테트라하이드로퓨란(THF), 다이메틸포름아미드(DMF), 다이메틸아세트아미드(DMA), 다이메틸설폭사이드(DMSO), 메틸렌클로라이드(MC), 클로로벤젠, 톨루엔, 벤젠 등을 사용할 수 있다. 바람직하게는 다이메틸포름아미드(DMF)를 사용할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0070] 다음으로, 본 발명에 따른 상기 단계 2는 상기 단계 1에서 제조된 화학식 4로 표시되는 화합물의 탈보호화 반응을 수행하여 X로 표시되는 말단 아민 보호기가 탈보호화된 화학식 5로 표시되는 화합물을 제조하는 단계이다.

[0071] 이때, 본 발명에 따른 단계 2의 탈보호화 조건은 보호화된 보호기에 따라 통상적으로 사용되는 비보호화 조건을 사용할 수 있다.

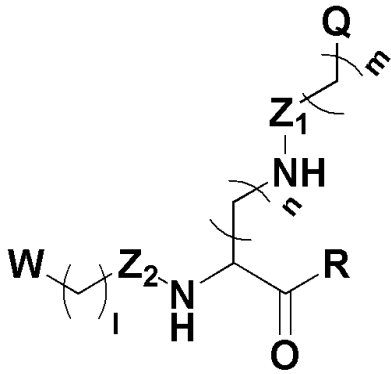
[0072] 다음으로, 본 발명에 따른 상기 단계 3은 상기 단계 2에서 제조된 화학식 5의 화합물과 화학식 6으로 표시되는 화합물의 커플링 반응을 수행하여 화학식 7로 표시되는 화합물을 제조하는 단계이다. 보다 상세하게는 화학식 6으로 표시되는 화합물의 D가 알데하이드인 경우, 상기 단계 2에서 제조된 화학식 5로 표시되는, 말단의 아민기의 보호기가 제거된 화합물과 환원성 아민화 반응(reductive amination)을; D가 카르복실산인 경우에는 화학식 5의 화합물과 아마이드화 반응을; 또는 D가 설포닐클로라이드인 경우에는 아민의 술포닐화 반응을 수행하여 화학식 7로 표시되는 화합물을 제조하는 단계이다.

[0073] 이때, 본 발명에 따른 상기 단계 3의 커플링 반응으로 환원성 아민화 반응을 수행할 경우, 사용가능한 환원제는 소듐시아노보로하이드라이드(NaCNBH_3 , sodiumcyanoborohydride), 소듐보로하이드라이드(NaBH_4 , sodiumborohydride) 또는 소듐트리아세톡시보로하이드라이드($\text{NaBH}(\text{OAc})_3$, sodium triacetoxyborohydride)를 사용할 수 있다. 바람직하게는 소듐시아노보로하이드라이드(NaCNBH_3 , sodiumcyanoborohydride)를 사용할 수 있

으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

- [0074] 상기 환원성 아민화 반응에 사용가능한 용매로는 반응에 다이클로로에탄(DCE), 테트라하이드로퓨란(THF), 메탄올, 이소프로판올, 다이메틸포름아마이드(DMF) 등을 들 수 있다.
- [0075] 또한, 상기 단계 3의 커플링 반응으로 아민의 설폰화 반응을 수행할 경우, 사용가능한 염기는 메틸아민, 에틸아민, 다이메틸아민, 다이에틸아민, 트라이메틸아민, 트라이에틸아민, 사이클로헥실아민, 다이에틸이소프로필아민, 피리딘 등을 들 수 있다.
- [0076] 상기 아민의 설폰화 반응에 사용가능한 유기용매로는 반응에 다이클로로메탄, 클로로포름, 테트라하이드로퓨란, 다이에틸에테르, 톨루엔, 자이렌, 크실렌, 벤젠, 클로로벤젠, 다이메틸포름아마이드 등을 들 수 있다.
- [0077] 또한, 본 발명에 따른 상기 단계 3의 커플링 반응으로 아마이드화 반응을 수행할 경우에는 상기 단계 1과 동일한 조건으로 수행하여 화학식 7의 화합물을 제조할 수 있다.
- [0078] 다음으로, 본 발명에 따른 상기 단계 4는 상기 단계 3에서 제조된 화학식 7로 표시되는 화합물의 탈보호화 반응을 수행하여 Y로 표시되는 말단 아민 보호기가 탈보호화된 화학식 8로 표시되는 화합물을 제조하는 단계이다.
- [0079] 이때, 본 발명에 따른 단계 4의 탈보호화 조건은 보호화된 보호기에 따라 통상적으로 사용되는 비보호화 조건을 사용할 수 있다.
- [0080] 다음으로, 본 발명에 따른 상기 단계 5는 화학식 8의 화합물과 화학식 9로 표시되는 화합물의 커플링 반응을 수행하여 화학식 10으로 표시되는 화합물을 제조하는 단계이다. 보다 상세하게는 화학식 9로 표시되는 화합물의 D가 알데하이드인 경우, 단계 2에서 제조된 화학식 8의 화합물과 환원성 아민화 반응(reductive amination)을; D가 카르복실산인 경우에는 화학식 8의 화합물과 아마이드화 반응을; 또는 D가 설폰닐클로라이드인 경우에는 아민의 설폰화 반응을 수행하여 화학식 10으로 표시되는 화합물을 제조하는 단계이다.
- [0081] 이때, 본 발명에 따른 단계 5의 커플링 반응은 상기 단계 3과 동일한 조건으로 수행하여 화학식 10의 화합물을 제조할 수 있다.
- [0082] 다음으로, 본 발명에 따른 상기 단계 6은 상기 단계 5에서 제조된 화학식 10으로 표시되는 화합물의 고체상을 제거하여 화학식 1로 표시되는 화합물을 제거하는 단계이다. 보다 상세하게는, 상기 단계 5에서 제조된 화학식 10으로 표시되는 화합물의 고체상을 트라이플루오로아세트산(TFA)을 이용하여 제거함으로써 화학식 1로 표시되는 수은 이온(Hg^{2+}) 선택적, 비례적 형광 감응 화학센서를 제조하는 단계이다.
- [0083] 이때, 상기 단계 6의 고체상을 제거하는 반응에 사용 가능한 유기용매는 용매결 반응제로 트라이플루오로아세트산과 증류수를 95 대 5의 부피비로 혼합하여 사용할 수 있다.
- [0084] 나아가, 본 발명은 하기 화학식 1로 표시되는 비례 형광 감응 화학센서를 수은 이온(Hg^{2+}) 유무를 판별하고자 하는 대상시료에 투입시키는 단계(단계 1); 및
- [0085] 상기 단계 1의 대상시료 내에 존재하는 수은 이온(Hg^{2+})과 상기 화학식 1의 화합물 간의 공유결합을 통해 얻어지는 반응 생성물이 발생시키는 형광 신호를 측정하여 수은 이온(Hg^{2+})을 선택적으로, 수은 이온(Hg^{2+})의 농도를 비례적으로 감응하여 검출하는 단계(단계 2)를 포함하는 수은 이온(Hg^{2+}) 검출방법을 제공한다.

[0086] [화학식 1]



[0087]

[0088] (상기 화학식 1에 있어서, R, Q, W, Z₁, Z₂, l, m 및 n은 상기 화학식 1에서 정의한 바와 같다).

[0089] 이하, 상기 수은 이온(Hg^{2+}) 검출방법을 각 단계별로 상세히 설명한다.

[0090] 먼저, 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.

[0091] 이때, 본 발명에 따른 상기 단계 1에서 대상시료는 수용액상 또는 유기용액을 함유한 수용액상이다.

[0092] 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, 수용액상태의 수은 이온(Hg^{2+}) 시료와 형광 감응 화학센서 수용액을 혼합하여 반응시킴으로써, 형광 화학센서인 상기 화학식 1의 화합물과 수은 이온(Hg^{2+})의 복합체가 형성됨을 확인할 수 있다(실험예 1, 도 1 및 도 2 참조).

[0093] 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.

[0094] 본 발명에 따른 상기 수용액상에 함유된 유기용액은 다이메틸포름아미드, 아세토니트릴, 메탄올 또는 에탄올 등을 사용하는 것이 바람직하나, 이에 한정하는 것은 아니다.

[0095] 수은 이온(Hg^{2+})을 측정해야 할 수용액상인 대상시료에 유기용매를 혼합하는 경우, 메탄올, 에탄올, 다이메틸포름아미드 또는 아세토니트릴과 같은 유기 용매들은 물에 용해도가 높아 단일상을 이루므로써, 형광 검출 감도의 변화없이 정확히 수은 이온(Hg^{2+})을 검출할 수 있다.

[0096] 다음으로, 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 화합물인 화학식 1의 화합물의 복합체가 방출하는 형광 신호

를 형광 스펙트럼으로 측정하여 시료 내의 수은 이온(Hg^{2+})을 검출하는 단계이다.

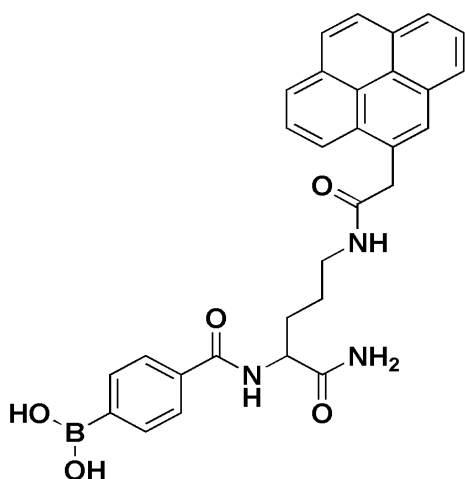
[0097] 본 발명에 따른 상기 수은 검출 방법은 수은 이온(Hg^{2+})에 대하여 선택적, 비례(ratiometric)인, 대상시료 내에 존재하는 수은 이온(Hg^{2+})과 상기 화학식 1의 화합물 간의 공유결합을 통하여 수은 이온(Hg^{2+})을 비가역적(irreversible)으로 검출한다.

[0098] 본 발명에 따른 화학식 1로 표시되는 화합물의 수은 이온(Hg^{2+}) 선택적, 비례적 검출을 확인한 실험 결과를 참조하면, 본 발명에 따른 화학식 1로 표시되는 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, 및 도 3 내지 도 6 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 7 내지 도 8 참조). 아울러, 본 발명에 따른 화학식 1로 표시되는 화합물은 수은 이온(Hg^{2+})과 화합물 내의 보론산의 금속교환반응을 통하여 수은 이온(Hg^{2+})과 형광감응 화학센서와의 비가역적(irreversible) 공유결합이 형성됨으로써, 검출과 동시에 분석물로부터 수은 이온(Hg^{2+})을 제거시키는 효과가 있다(실험예 1, 실험예 3, 도 1, 및 도 9 내지 도 11 참조). 따라서, 본 발명에 따른 화학식 1의 화합물은 다른 전이금속 이온 존재 하에서도 수은 이온(Hg^{2+})과 높은 결합력으로 반응하여 복합체를 형성하는 높은 선택성을 가지며, 농도에 따른 비례 검출(ratiometric sensing)이 가능하므로 시료 내의 수은 이온(Hg^{2+})의 정량분석이 용이하고, 수은 이온(Hg^{2+}) 검출시 외부의 형광 방해요인에 의한 형광 검출 문제를 최소화할 수 있으며, 수은 이온(Hg^{2+})의 검출과 동시에 제거함으로써 친환경적이라는 장점을 가진다.

[0099] 이하, 본 발명을 실시예 및 실험예에 의해 상세히 설명한다.

[0100] 단, 하기 실시예 및 실험예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명의 내용이 하기 실시예 및 실험예에 한정되는 것은 아니다.

[0101] <실시예 1> 4-(1-아미노-1-옥소-5-(2-(파이렌-4-일)아세트아미도)펜탄-2-일카바모일)페닐보론산의 제조



[0102]

[0103] 단계 1: 알릴 4-((9H-플루오렌-9-일)메틸카바메이트)-5-아미노-5-옥소펜틸카바메이트 메틸벤조하이드릴아민 수지의 제조

[0104] 먼저, 링크 아미드 메틸벤조하이드릴아민(MBHA) 수지(200 mg, 0.1 mmol)를 다이메틸포름아미드(3 ml) 용액에 넣은 후, 약 10 분간 팽윤시켰다. 팽윤된 상기 수지에 20% 피페리딘/다이메틸포름아미드 혼합용액(3 ml)을 첨가하여 15 분간 교반하고, 아미노기 말단의 Fmoc 보호기를 제거한 후, 남아있는 피페리딘 용액 제거를 위하여,

다이메틸포름아마이드 용액과 메탄올 용액으로 수지를 각각 3 차례 세척하였다. 이후 다이메틸포름아마이드 용매(1.5 ml)에 Fmoc-L-오르니틴(Alloc)-OH (105.9 mg, 0.3 mmol), 다이이소프로필카르보다이이미드(DIC, 47 μ l, 0.1 mmol) 및 하이드록시벤조트라이아졸(HOBt, 40 mg, 0.3 mmol)을 첨가하고, 미리 15 분간 활성화시킨 다음, 다이메틸포름아마이드(1.5 ml)에 수지를 넣은 용액에 상기 반응물을 첨가하고, 약 4 시간 동안 교반시켰다. 반응 후, 반응용액을 여과하고 여과된 수지를 다이메틸포름아마이드와 메탄올로 수차례 세척하여 목적화합물을 얻었다.

[0105] 단계 2: 4-(5-알릴옥시카르보닐아미노)-1-아미노-1-옥소펜탄-2-일카바모일)페닐보론산 메틸벤조하이드릴아민 수지의 제조

[0106] 4-(4,4,5,5-테트라메틸-1,3,2-다이옥사보란-2-일)벤조산(74.5 mg, 0.3 mmol)을 용해시킨 다이메틸포름아마이드 용액에 다이이소프로필카르보다이이미드(DIC, 47 μ l, 0.1 mmol) 및 하이드록시벤조트라이아졸(HOBt, 40 mg, 0.3 mmol)을 첨가하고 15 분간 활성화시켰다. 그런 다음, 상기 단계 1에서 제조된 수지에 20% 피페리딘/다이메틸포름아마이드 혼합 용액(3 ml)을 첨가하여 15 분간 교반하고 아미노기 말단의 Fmoc 보호기를 제거한 후, Fmoc 보호기가 제거된 수지에 상기 반응물을 첨가하여 약 4 시간 교반시켰다. 이후 반응용액을 여과하고 여과된 수지를 다이메틸포름아마이드와 메탄올로 수차례 세척하여 목적화합물을 얻었다.

[0107] 단계 3: 4-(1-아미노-1-옥소-5-(2-(파이렌-4-일)아세트아미도)펜탄-2-일카바모일)페닐보론산 메틸벤조하이드릴아민 수지의 제조

[0108] 상기 단계 3에서 제조된 수지에 1.1 당량의 테트라키스(트라이페닐포스핀)팔라듐($\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$) 및 페닐실란(phenylsilane)을 처리하여, 아민의 알록(Alloc) 보호기를 제거하였다. 그런 다음, 파이렌아세트산(78 mg, 0.3 mmol)을 녹인 다이메틸포름아마이드 용액에 다이이소프로필카르보다이이미드(DIC, 47 μ l, 0.1 mmol) 및 하이드록시벤조트라이아졸(HOBt, 40 mg, 0.3 mmol)을 첨가하고 15분 동안 활성화시키고, 수지용액에 넣어 약 4시간 교반시켰다. 교반이 종료되면 반응용액을 여과하고 여과된 수지를 다이메틸포름아마이드와 메탄올로 수차례 세척하여 목적화합물을 얻었다.

[0109] 단계 4: 4-(1-아미노-1-옥소-5-(2-(파이렌-4-일)아세트아미도)펜탄-2-일카바모일)페닐보론산의 제조

[0110] 5%의 부피비로 물을 포함한 트라이플루오로아세트산 약 10 mL을 상기 단계 3에서 제조된 수지에 첨가하여 6시간 동안 교반시킨 다음, 반응물로부터 수지를 제거하고, 질소가스를 주입하여 트라이플루오로아세트산을 제거하였다. 그 후, 다이메틸에테르를 넣어 목적물을 침전시키고, 고성능 액체크로마토그래피(HPLC)를 이용하여 정제하였다. 이때, 고성능 액체크로마토그래피 조건은 다음과 같다. 역상 고성능 액체크로마토그래피(HPLC, C-18 칼럼 delta pak C18-300A, 1.930 cm)을 이용하였으며, 용출 용매의 농도구배는 0.1% 트라이플루오로아세트산(TFA)이 포함된 증류수/아세트니트릴=1:1(v/v)을 3.0 mL/분의 유속으로 흘려보냈으며, 상기의 조건으로 정제하여 목적화합물(수율: 75%)을 얻었다.

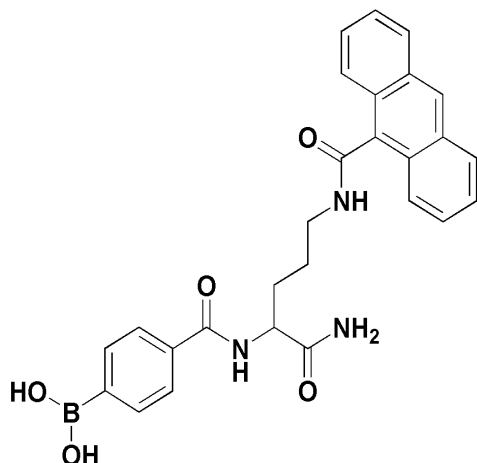
[0111] m.p.: 183-184°C;

[0112] ^1H NMR(400 MHz, DMSO_d): δ 8.35(d, J = 9.2 Hz, 1H), 8.30(d, J = 8.0 Hz, 1H), 8.26(d, J = 7.6 Hz, 1H), 8.23(d, J = 7.6 Hz, 1H), 8.19(d, J = 7.2 Hz, 1H), 8.16(d, J = 9.2 Hz, 2H), 8.12 (m, 2H), 8.04(t, J = 8.0 Hz, 1H), 7.97(d, J = 7.6 Hz, 1H), 7.84(m, 4H), 7.37(brs, 1H), 7.02(brs, 1H), 4.41(m, 1H), 4.19(brs, 2H), 3.15 (m, 2H), 1.82-1.73(m, 2H), 1.42-1.50(m, 2H) ppm;

[0113] ^{13}C NMR(100 MHz, DMSO_d): δ 173.77, 169.93, 166.36, 135.42, 133.83, 131.04, 130.79, 130.33, 129.66, 128.95, 128.59, 127.36, 127.17, 126.77, 126.35, 126.31, 125.03, 124.88, 124.72, 124.07, 123.98, 123.90, 93.96, 52.93, 29.28, 26.13 ppm;

[0114] ESI-Mass (m/z): $[\text{M}+\text{Na}^+]$ 544.11(calc. 544.21).

[0115] <실시예 2> 4-(1-아미노-5-(안트라센-9-카르복아미도)-1-옥소펜탄-2-일카바모일)페닐보론산의 제조



[0116]

[0117] 상기 실시예 1의 단계 3에서 파이렌 아세트산을 사용하는 대신에 안트라센-9-카르복실산을 사용하는 것을 제외하고는 상기 실시예 1과 동일한 방법으로 수행하여 목적화합물(수율: 76%)을 얻었다.

[0118] m.p.: 181-182°C;

[0119] ^1H NMR(400MHz, DMSO₆): δ 8.80(t, J = 8.0 Hz, 1H), 8.63(brs, 1H), 8.36(d, J = 8.4 Hz, 1H), 8.10(d, J = 8.8 Hz, 2H), 7.93(d, J = 8.8 Hz, 2H), 7.85(m, 4H), 7.52(d, J = 8.4Hz, 4H), 7.43(brs, 1H), 7.06(brs, 1H) 4.65(m, 1H), 3.45-3.51(m, 2H), 1.83-1.92(m, 2H) 1.70-1.78(m, 2H) ppm;

[0120] ESI-Mass (m/z): [M+Na]⁺ 484.09 (calc. 484.20).

[0121] <실험예 1> 형광 감응 화학센서-수은 이온(Hg²⁺) 복합체의 제조

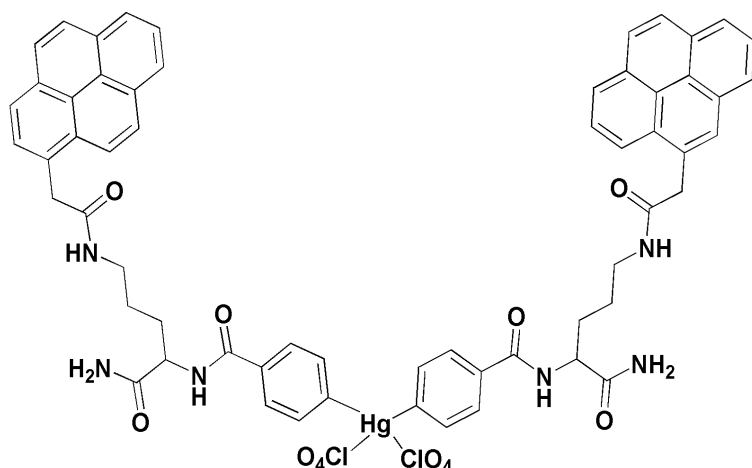
[0122] 본 발명에 따른 화학식 1로 표시되는 화합물의 수용액상에서 수은 이온(Hg²⁺)과의 결합 여부 및 상태를 분석하기 위해 하기와 같은 실험을 수행하였다.

[0123] 상기 실시예 1 및 실시예 2에서 제조된 화학식 1로 표시되는 화합물을 증류수에 녹여 1 mM의 형광 감응 화학센서 시약을 제조하였다. 수은 이온(Hg²⁺)은 퍼클로레이트(ClO₄⁻) 염을 증류수에 용해시켜 10 mM의 기준용액을 제조하였다. 테스트 튜브에 상기에서 제조한 형광 감응 화학센서의 농도는 100 μM 이 되고, 수은 이온은 200 μM 이 되도록 증류수와 메탄올(1:1, v/v)에 희석하여 테스트 용액을 제조하였다. 상기 제조된 테스트 용액을 ESI-MS를 측정하여 화학식 1로 표시되는 화합물과 수은 이온(Hg²⁺)의 복합체 형성 여부를 확인하였으며, 그 결과를 도 1 및 도 2에 나타내었다.

[0124] 먼저, 도 1에 나타난 바와 같이 본 발명에 따른 실시예 1에서 제조된 화합물의 ESI-MS 스펙트럼에서는 678.08 m/e, 775.17 m/e 및 1355.32 m/e의 값이 관찰되었다. 이때, 678.08 m/e는 실시예 1에서 제조된 화합물이 수은 이온(Hg²⁺)과 결합된 상태의 값이고, 775.17 m/e는 실시예 1에서 제조된 화합물이 메탄올 및 수은 이온(Hg²⁺)과 결합된 형태의 값이다. 또한, 1355.32 m/e는 하기 화학식 11에 나타난 바와 같이, 실시예 1에서 제조된 화합물 2분자는 수은 이온(Hg²⁺), 퍼클로레이트(ClO₄⁻) 및 양성자(H⁺)와 결합된 형태의 값이다. 이로부터, 본 발명에 따른 화학식 1로 표시되는 화합물은 수은 이온(Hg²⁺)과의 결합성이 우수하여 안정한 복합체를 형성할 수 있다는 것을 알 수 있으며, 수은 이온(Hg²⁺)을 중심으로 본 발명에 따른 화학식 1로 표시되는 화합물 2분자가 결합하는 2대 1 구조를 이루는 것을 알 수 있다. 또한, 본 발명에 따른 화학식 1로 표시되는 화합물과 수은 이온(Hg²⁺)이

가역적(reverxible) 상호작용(interaction)이 아닌 보론산과 수은 이온(Hg^{2+})의 금속교환반응(transmetallation)을 통한 비가역적(irreversible) 공유결합을 형성하는 것을 알 수 있다.

화학식 11



[0125]

[0126]

다음으로, 도 2에 나타난 바와 같이 본 발명에 따른 실시예 2에서 제조된 화합물의 ESI-MS 스펙트럼에서는 675.14 m/e 및 676.09 m/e의 값이 확인되었다. 이때, 675.14 m/e는 실시예 2에서 제조된 화합물이 염화수은 이온($(\text{HgCl})^+$)과 결합된 상태의 값이고, 676.09 m/e는 실시예 2에서 제조된 화합물이 염화수은 이온($(\text{HgCl})^+$) 및 양성자와 결합된 형태이다. 이로부터 본 발명에 따른 화학식 1로 표시되는 화합물은 수은 이온(Hg^{2+})과의 결합성이 우수하여 안정한 복합체를 형성할 수 있다는 것을 알 수 있다.

[0127]

따라서, 본 발명에 따른 수은 이온(Hg^{2+}) 형광 감응 화학센서인 화학식 1로 표시되는 화합물은 수용액상에서 수은 이온(Hg^{2+})과의 결합성이 우수하고, 수은 이온(Hg^{2+})과 비가역적(irreversible) 공유결합을 형성함으로써 수은 이온(Hg^{2+})의 검출과 동시에 제거할 수 있으므로, 지하수, 하천과 같은 수계 환경 등의 수은 이온(Hg^{2+}) 검출이 요구되는 전반적인 산업분야에서 유용하게 사용될 수 있다.

[0128]

<실험예 2> 형광 감응 화학센서의 금속이온 선택성 평가

[0129]

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

[0130]

[0131]

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+})이다. 상기 I 족 및 II족의 전이금속 이온들의 퍼클로레이트(ClO_4^-) 염을 증류수에 각각 용해시켜 10 mM의 I 족 및 II족의 전이금속 이온 기준용액을 제조하였으며, 또한, 각각의 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.

[0132] 테스트 튜브에 10 mM HEPES 완충용액-다이메틸설폭사이드(DMSO, 2:98(v/v), pH 7.4, 1 ml)를 주입한 다음, 상기 실험예 1에서 제조한 형광 감응 화학센서 시약 1 mM 용액을 20 μ l 첨가하고, 상기에서 제조한 I 족 및 II 족 금속 및 전이금속 기준용액 또는 I 족 및 II 족의 전이금속 이온-수은 이온(Hg^{2+}) 기준용액을 각각 2 μ l씩 첨가하였다. 그 후, 전체 용액의 양이 2 ml가 되도록 증류수를 넣어 테스트 용액에서 센서의 농도가 10 μ M, 금속은 10 μ M, HEPES 완충용액-다이메틸설폭사이드(DMSO)의 농도는 10 mM이 되도록 제조하였다. 상기 용액을 혼합하여 테스트 용액을 제조하고, 이를 여기파장은 330 nm, 여기 슬릿과 방출 슬릿의 폭은 각각 10 nm, 5 nm로 조절하여 형광 스펙트럼을 측정하였으며, 그 결과를 도 3 내지 도 6에 나타내었다.

[0133] 먼저, 도 3 및 도 4에 나타난 바와 같이 본 발명에 따른 실시예 1에서 제조된 화합물은 각각의 I 족 및 II 족의 전이금속 이온이 혼합된 테스트 용액을 형광 스펙트럼을 측정한 결과, 수은 이온(Hg^{2+})에 대해서만 비례적(ratiometric) 형광변화를 보이는 것으로 확인되었다. 또한, 실시예 1에서 제조된 화합물은 수은 이온(Hg^{2+})과 결합함으로써, 350-400 nm 범위의 형광은 약 70 배 감소하는 동시에, 475 nm 범위 대의 파이프렌의 엑시머 밴드(excimer band)는 약 200 배 증가된 것이 확인되었다(도 3 참조). 나아가, I 족 및 II 족의 전이금속 이온과 수은 이온(Hg^{2+})을 함께 포함하는 I 족 및 II 족의 전이금속 이온-수은 이온(Hg^{2+}) 기준용액을 사용한 테스트 용액의 경우, 혼합되어 있는 다른 I 족 및 II 족의 전이금속 이온(Hg^{2+})의 영향을 받지 않고 선택적으로 수은 이온(Hg^{2+})과 복합체를 이루어 형광 변화를 일으키는 것으로 확인되었다(도 4 참조). 이로부터 본 발명에 따른 실시예 1의 화합물은 수은 이온(Hg^{2+}) 검출시, 시료 내의 다른 I 족 및 II 족의 전이금속 이온이 존재하여도 선택적으로 수은 이온(Hg^{2+})과 복합체를 형성하여 형광 변화가 일으키는 것을 알 수 있다.

[0134] 다음으로, 도 5 및 도 6에 나타난 바와 같이 본 발명에 따른 실시예 2에서 제조된 화합물은 각각의 I 족 및 II 족의 전이금속 이온이 혼합된 테스트 용액을 형광 스펙트럼을 측정한 결과, 수은 이온(Hg^{2+})에 대해서만 비례적(ratiometric) 형광변화를 보이는 것으로 확인되었다. 또한, 실시예 2에서 제조된 화합물은 수은 이온(Hg^{2+})과 결합함으로써, 420 nm 범위 대의 형광은 감소하는 동시에, 485 nm 범위 대의 안트라센의 엑시머 밴드(excimer band)는 약 2 배 증가된 것이 확인되었다(도 5 참조). 나아가, I 족 및 II 족의 전이금속 이온과 수은 이온(Hg^{2+})을 함께 포함하는 I 족 및 II 족의 전이금속 이온-수은 이온(Hg^{2+}) 기준용액을 사용한 테스트 용액의 경우, 혼합되어 있는 다른 I 족 및 II 족의 전이금속 이온(Hg^{2+})의 영향을 받지 않고 선택적으로 수은 이온(Hg^{2+})과 복합체를 이루어 형광 변화를 일으키는 것으로 확인되었다(도 6 참조). 이로부터 본 발명에 따른 실시예 2의 화합물은 수은 이온(Hg^{2+}) 검출시, 시료 내의 다른 I 족 및 II 족의 전이금속 이온이 존재하여도 선택적으로 수은 이온(Hg^{2+})과 복합체를 형성하여 형광 변화가 일으키는 것을 알 수 있다.

[0135] 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 존재 하에서도, 선택적으로 수은 이온(Hg^{2+})과 복합체를 형성하여 수은 이온(Hg^{2+})을 검출하며(실험예 2), 수은 이온(Hg^{2+})과 비가역적(irreversible) 공유결합을 형성함으로써 수은 이온(Hg^{2+})의 검출과 동시에 제거할 수 있으므로(실험예 1), 지하수, 하천과 같은 수계 환경 등의 낮은 농도의 수은 이온(Hg^{2+}) 검출이 요구되는 전반적인 산업분야에서 유용하게 사용될 수 있다.

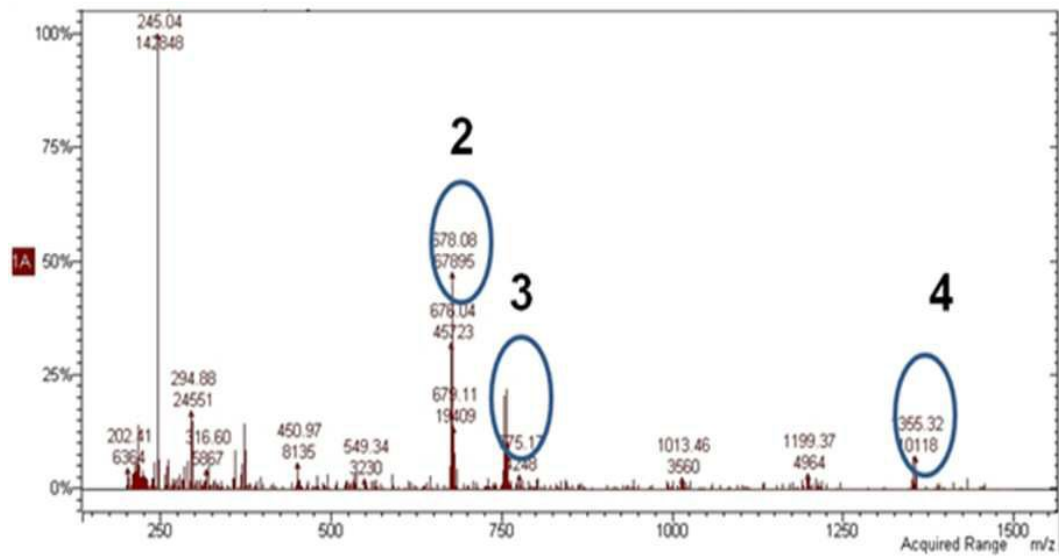
[0136] <실험예 3> 형광 감응 화학센서의 수은 이온(Hg^{2+}) 농도에 따른 검출력 평가

[0137] 본 발명에 따른 화학식 1로 표시되는 화합물의 수은 이온(Hg^{2+}) 농도에 따른 검출력을 평가하기 위하여 하기와 같은 실험을 수행하였다.

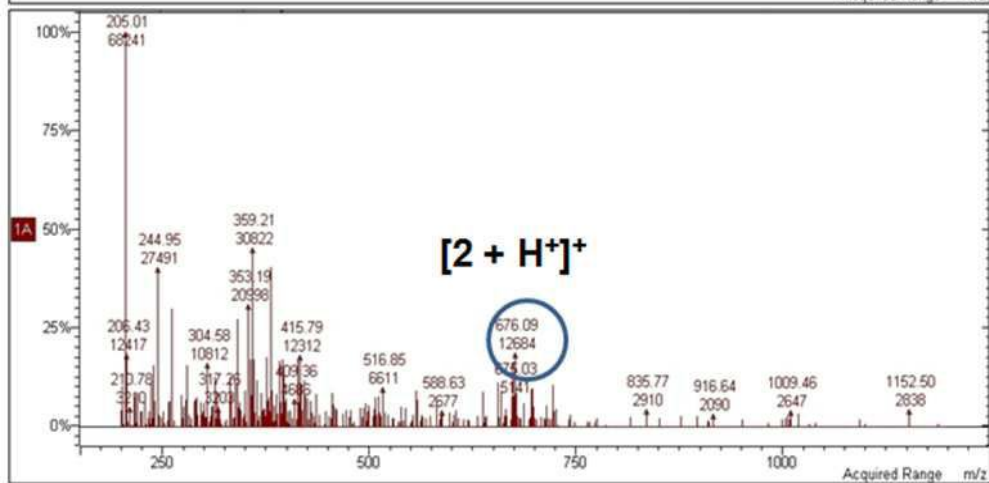
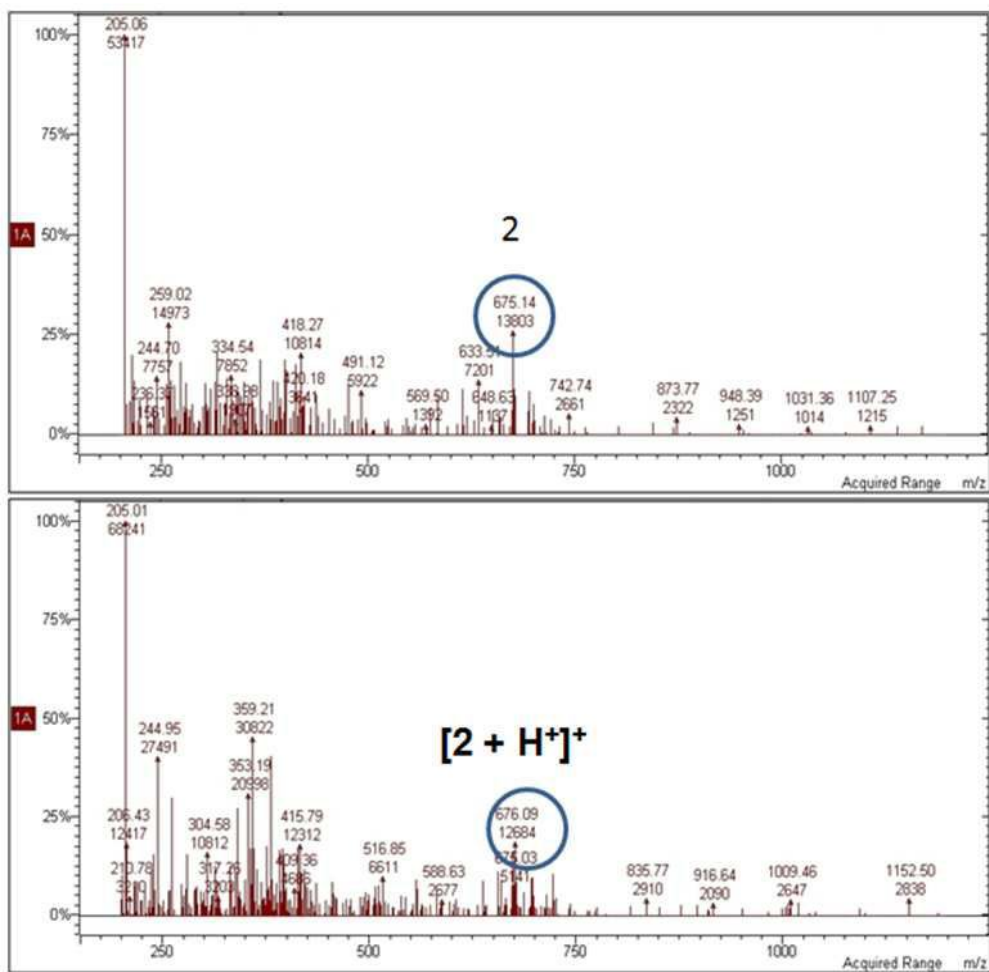
- [0138] 먼저, 수은 이온(Hg^{2+})의 퍼클로레이트(ClO_4^-) 염을 증류수에 용해시켜 1 mM의 기준용액을 제조하였다. 테스트 튜브에 10 mM HEPES 완충용액-다이메틸설폭사이드(DMSO, 2:98(v/v), pH 7.4, 1 ml)를 넣은 후, 상기 실험에 1에서 제조한 실시예 1 및 실시예 2의 형광 감응 화학센서 시약의 농도가 10 μM 이 되도록 테스트 튜브에 첨가한 다음, 상기 혼합용액에 존재하는 형광 감응 화학센서인 화학식 1의 화합물에 대하여 0 당량, 0.2 당량, 0.4 당량, 0.6 당량, 0.8 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 스펙트럼 및 흡광 스펙트럼을 측정하였다. 그 결과를 도 7 내지 도 12에 나타내었다.
- [0139] 먼저, 도 7 내지 도 8에 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 변함에 따라 형광의 세기 및 파장이 서서히 변화하는 것을 확인할 수 있다. 또한, 약 1 당량 이하의 수은 이온(Hg^{2+}) 농도에서 실시예 1 및 실시예 2에서 제조된 화합물의 형광 스펙트럼 변화가 포화되는 것으로 나타났다.
- [0140] 다음으로, 도 9 내지 도 10에 나타난 바와 같이 수은 이온(Hg^{2+})에 대한 실시예 1 및 실시예 2의 화합물의 Job's plot 그래프를 통하여 약 0.34 몰분율에서 가장 형광 변화가 큼을 알 수 있다. 이것은 수은 이온(Hg^{2+})과 본 발명에 따른 실시예 1 및 실시예 2의 화합물이 1 대 2 결합을 이뤄 복합체를 형성한다는 것을 뜻한다.
- [0141] 다음으로, 도 11 및 도 12에 나타난 바와 같이 본 발명에 따른 실시예 1에서 제조된 화합물의 경우, 342 nm 파장의 흡광세기가 줄어드는 것으로 확인되었으며, 실시예 2에서 제조된 화합물의 경우에는, 363 nm 파장의 흡광세기가 줄어드는 것으로 확인되었다. 이는 각 화합물의 형광단인 파이렌 및 안트라센의 특유의 흡광세기 감소로서, 수은 이온(Hg^{2+})이 본 발명에 따른 화합물 주위에 존재시, 형광단이 수은 이온(Hg^{2+})과 샌드위치 형태로 겹쳐지며, 이 구조는 본 발명에 따른 화학식 1로 표시되는 화합물과 수은 이온(Hg^{2+})이 가역적(reversible) 상호작용(interaction)이 아닌 보론산과 수은 이온(Hg^{2+})의 금속교환반응(transmetallation)을 통한 비가역적(irreversible) 공유결합을 형성하는 것을 알 수 있다.
- [0142] 이로부터, 상기 도 9 내지 도 10의 해석과 같이, 수은 이온(Hg^{2+})과 본 발명에 따른 화학식 1로 표시되는 화합물이 1 대 2 결합을 이루는 것을 간접적으로 알 수 있으며, 상기 실험예 1의 도 1의 해석과 같이, 수은 이온(Hg^{2+})과 본 발명에 화학식 1로 표시되는 화합물이 비가역적(irreversible) 공유결합을 형성한다는 것을 알 수 있다.
- [0143] 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 존재 하에서도 선택적으로 수은 이온(Hg^{2+})과 복합체를 형성하여 수은 이온(Hg^{2+})을 검출하는 선택성이 우수하다(실험예 2). 또한, 농도에 따라 비례적으로 검출함으로써, 수은 이온(Hg^{2+})의 정량 분석이 용이하고, 수은 이온(Hg^{2+})과 비가역적(irreversible) 공유결합을 형성함으로써 수은 이온(Hg^{2+})의 검출과 동시에 제거할 수 있으므로(실험예 1 및 실험예 3), 지하수, 하천과 같은 수계 환경 등의 낮은 농도의 수은 이온(Hg^{2+}) 검출이 요구되는 전반적인 산업분야에서 유용하게 사용될 수 있다.

도면

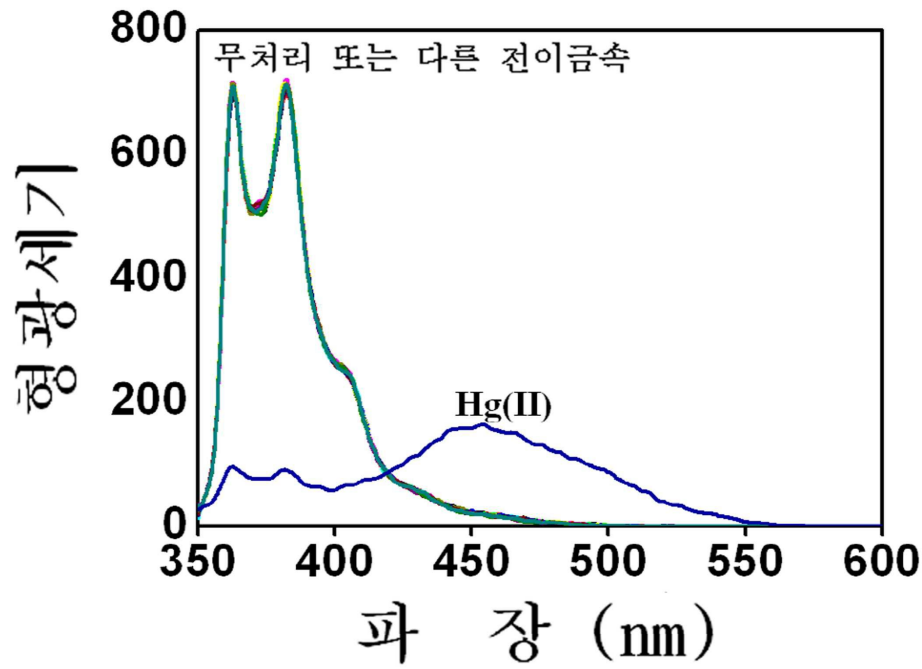
도면1



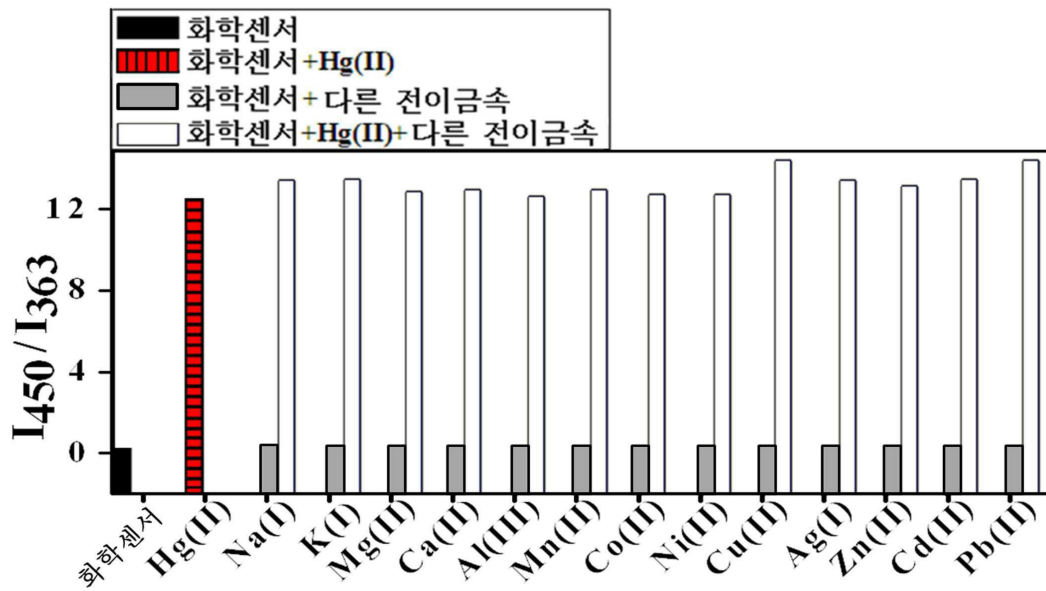
도면2



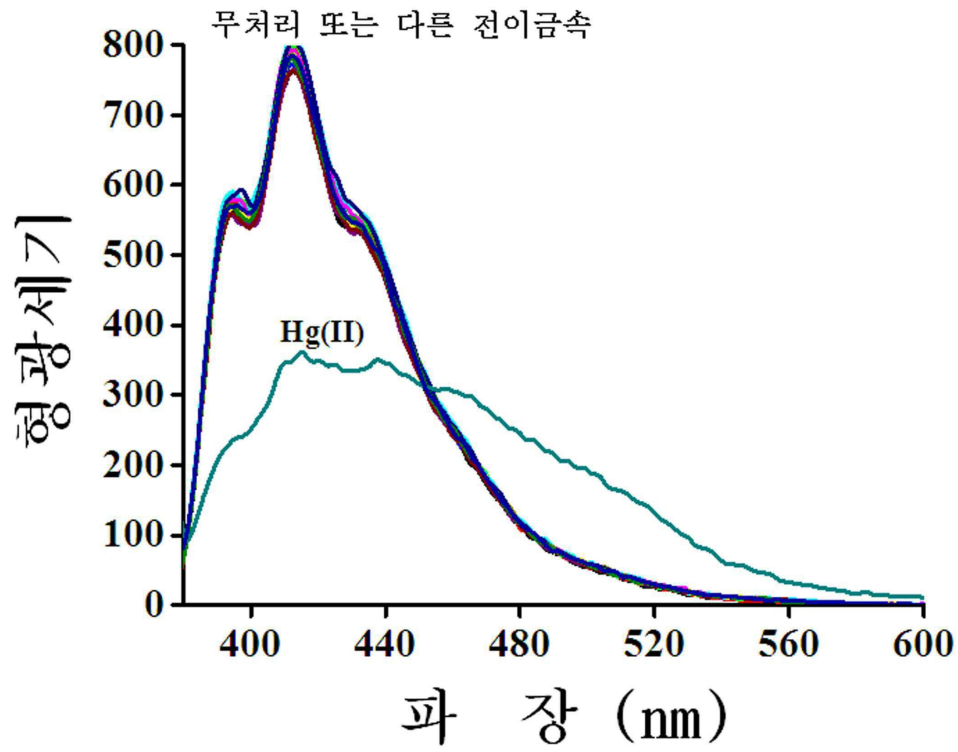
도면3



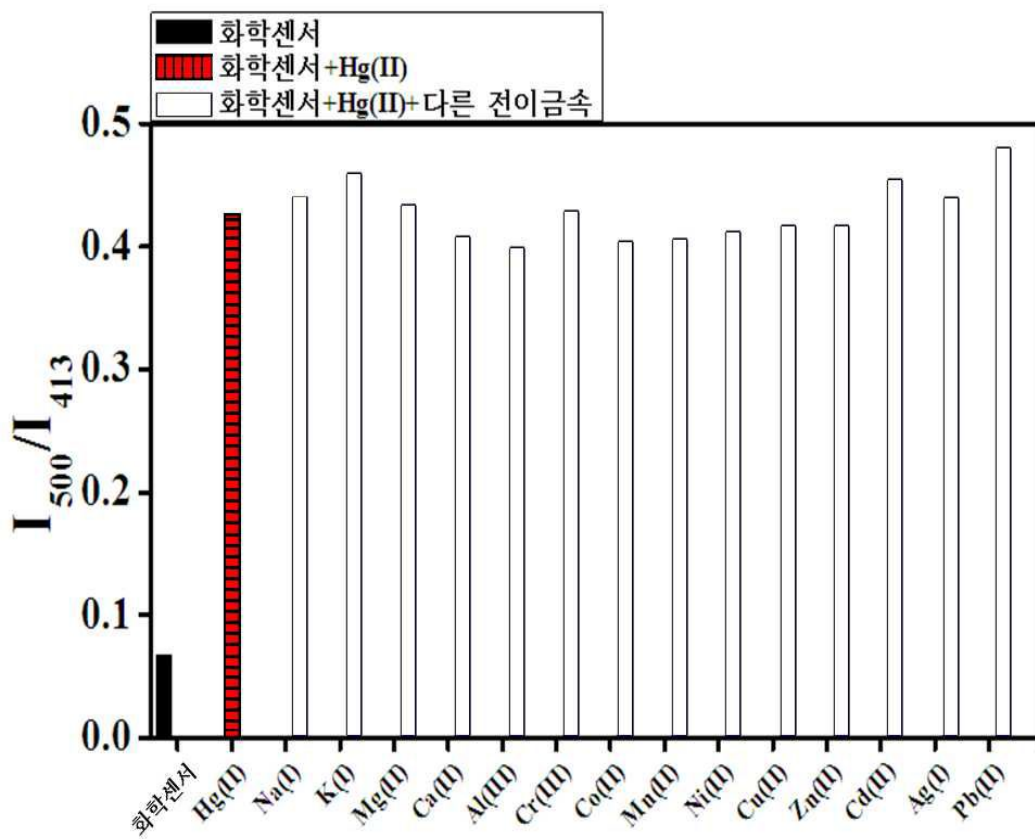
도면4



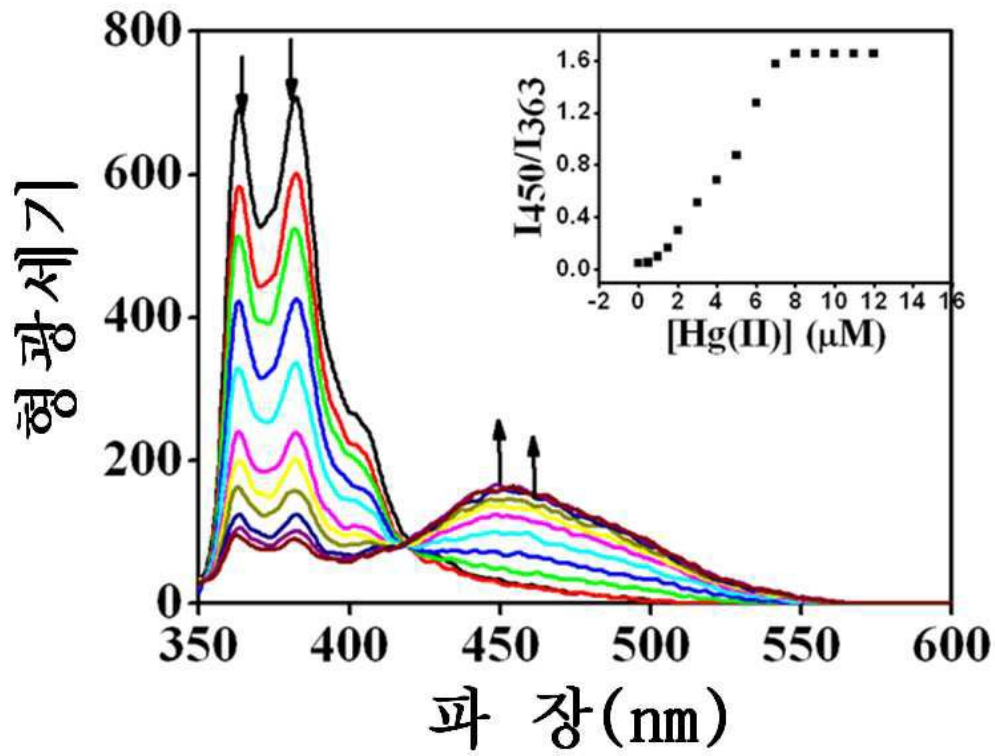
도면5



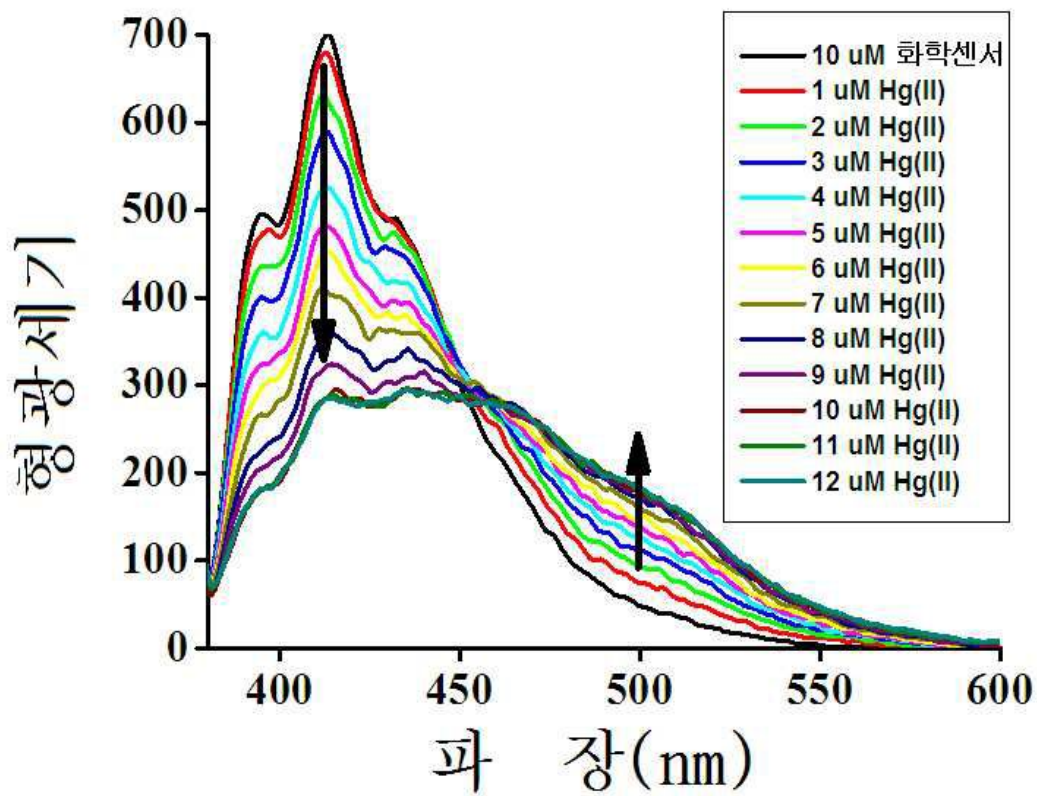
도면6



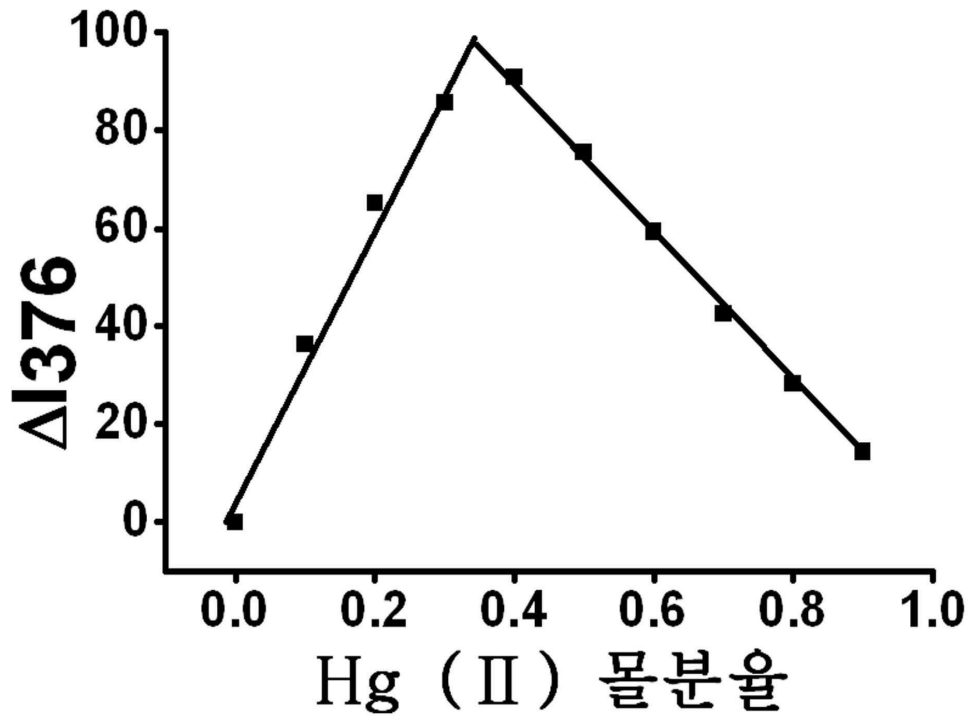
도면7



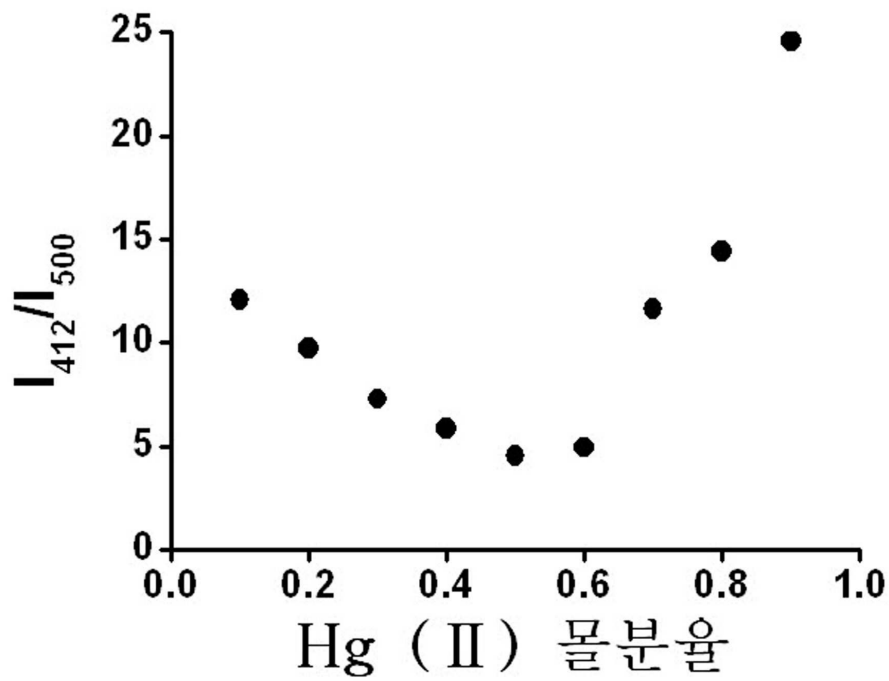
도면8



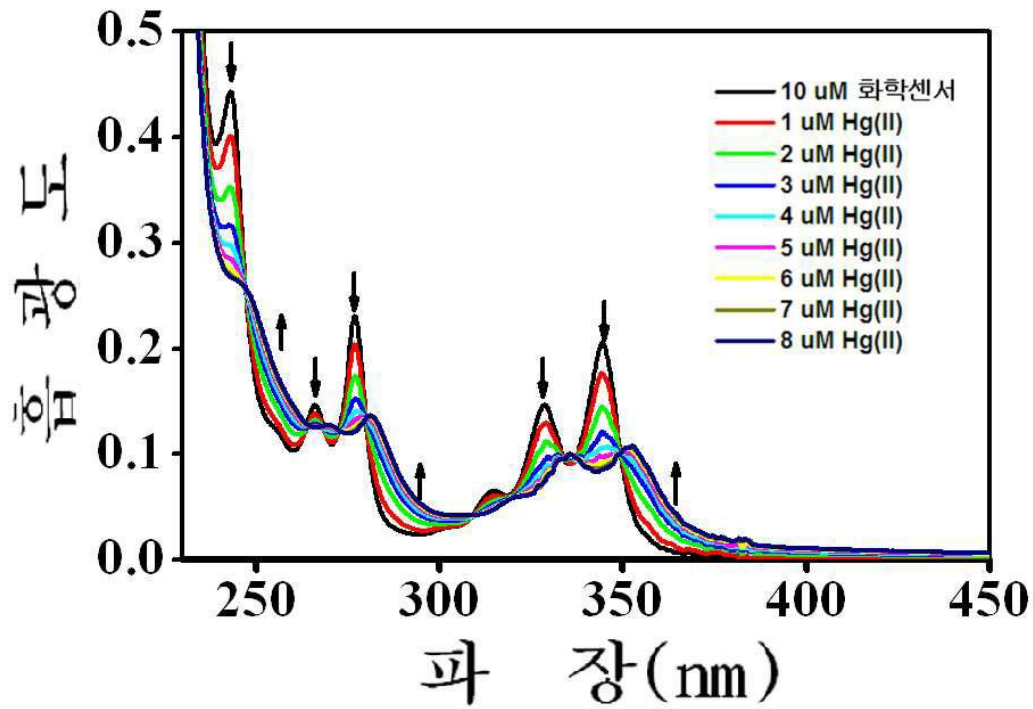
도면9



도면10



도면11



도면12

