



등록특허 10-2172084



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2020년10월30일

(11) 등록번호 10-2172084

(24) 등록일자 2020년10월26일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

C07F 1/12 (2006.01) G01N 21/64 (2006.01)

G01N 33/58 (2006.01) G01N 33/66 (2006.01)

(52) CPC특허분류

C07F 1/12 (2013.01)

G01N 21/64 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2019-0049287

(22) 출원일자 2019년04월26일

심사청구일자 2019년04월26일

(56) 선행기술조사문헌

KR101721572 B1\*

KR101845153 B1\*

\*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자

연세대학교 산학협력단

서울특별시 서대문구 연세로 50 (신촌동, 연세대학교)

(72) 발명자

이동일

서울특별시 강서구 우현로 67

표경림

서울특별시 마포구 월드컵북로 202-7

(74) 대리인

특허법인 플러스

전체 청구항 수 : 총 4 항

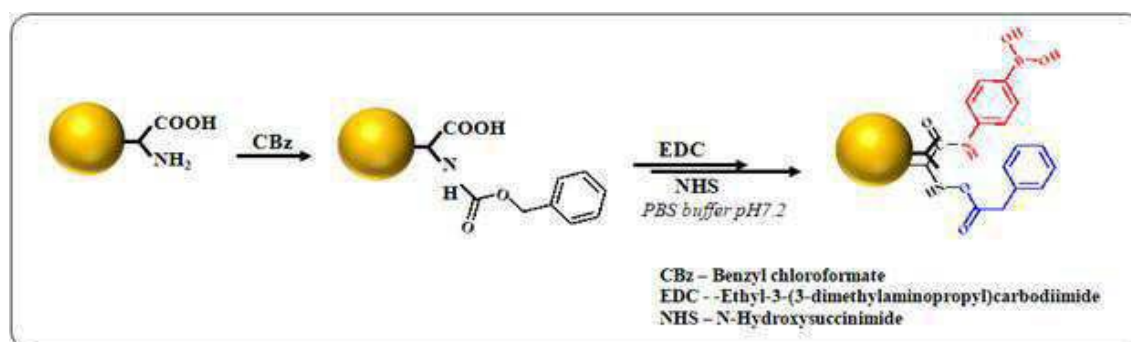
심사관 : 김지은

(54) 발명의 명칭 금 나노클러스터와 이의 제조방법 및 이를 포함하는 혈당 센서

### (57) 요약

본 발명은 금 나노클러스터와 이의 제조방법에 관한 것으로, 이를 포함하여 우수한 형광성을 갖는 혈당 센서를 제공한다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

**G01N 33/58** (2020.05)

**G01N 33/66** (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	2018M3D1A1089380
부처명	과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	원천기술개발사업
연구과제명	Power-to-Gas 전환 반응용 맞춤형 거대원자 촉매 개발
기 여 율	1/2
과제수행기관명	연세대학교
연구기간	2018.12.01 ~ 2019.04.30

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	2017R1A2B3006651
부처명	과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	중견연구자지원사업
연구과제명	거대원자입자 기반 맞춤형 전기화학 촉매 개발연구(3/5)
기 여 율	1/2
과제수행기관명	연세대학교
연구기간	2019.03.01 ~ 2020.02.29

---

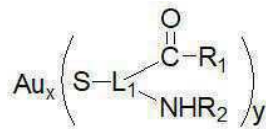
## 명세서

### 청구범위

#### 청구항 1

하기 화학식 1로 표시되는 금 나노클러스터.

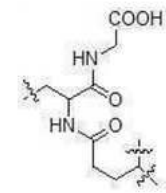
[화학식 1]



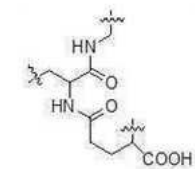
(상기 화학식 1에서

L<sub>1</sub>은 하기 화학식 6 또는 화학식 7로 표시되는 3가 연결기이고,

[화학식 6]



[화학식 7]



R<sub>1</sub>은 각각 독립적으로 -OH 또는 -R<sub>11</sub>-Ar<sub>1</sub>-B(OH)<sub>2</sub>이고, y 단위 중 상기 R<sub>1</sub>은 적어도 하나 이상은 -R<sub>11</sub>-Ar<sub>1</sub>-B(OH)<sub>2</sub>이며, 상기 R<sub>11</sub>은 -NH-이고, 상기 Ar<sub>1</sub>은 탄소수 6 내지 50의 아릴렌기이며,

R<sub>2</sub>는 각각 독립적으로 수소 또는 -R<sub>21</sub>-Ar<sub>2</sub>이고, y 단위 중 상기 R<sub>2</sub>는 적어도 하나 이상은 -R<sub>21</sub>-Ar<sub>2</sub>이고, R<sub>21</sub>은 -COO- 및 탄소수 1 내지 5의 알킬렌기의 조합이며, 상기 Ar<sub>2</sub>는 탄소수 6 내지 50의 아릴기이며,

x는 22 또는 25이고,

y는 18이다.)

#### 청구항 2

제 1항에 있어서,

상기 화학식 1에서

Ar<sub>1</sub>은 탄소수 6 내지 20의 아릴렌기이며,

R<sub>2</sub>는 -COOCH<sub>2</sub>-이며, 상기 Ar<sub>2</sub>는 탄소수 6 내지 20의 아릴기인, 금 나노클러스터.

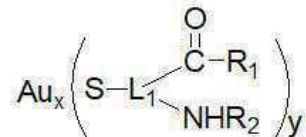
#### 청구항 3

제 1항 또는 제 2항의 금 나노클러스터를 포함하는 혈당 센서.

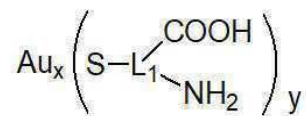
#### 청구항 4

- a) 하기 화학식 2로 표시되는 화합물 및 할로겐화 화합물을 반응시켜 화학식 2로 표시되는 화합물의 아미노기에 할로겐화 화합물을 결합하는 단계 및
- b) 상기 결합된 화합물의 카르복실기를 활성화시켜 보로닉산 화합물을 도입하여 하기 화학식 1로 표시되는 금 나노클러스터를 제조하는 단계를 포함하며, 상기 할로겐화 화합물은 하기 화학식 3을 만족하고, 상기 보로닉산 화합물은 하기 화학식 4를 만족하는 것인 하기 화학식 1로 표시되는 금 나노클러스터의 제조방법.

[화학식 1]



[화학식 2]



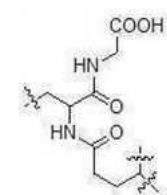
(상기 화학식 1 및 2에서

$\text{L}_1$ 은 하기 화학식 6 또는 화학식 7로 표시되는 3가 연결기이고,

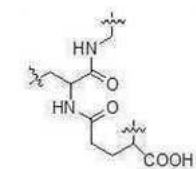
$\text{R}_1$ 은 각각 독립적으로  $-\text{OH}$  또는  $-\text{R}_{11}-\text{Ar}_1-\text{B}(\text{OH})_2$ 이고,  $y$  단위 중 상기  $\text{R}_1$ 은 적어도 하나 이상은  $-\text{R}_{11}-\text{Ar}_1-\text{B}(\text{OH})_2$ 이며, 상기  $\text{R}_{11}$ 은  $-\text{NH}-$ 이며; , 상기  $\text{Ar}_1$ 은 탄소수 6 내지 50의 아릴렌기이며,

$\text{R}_2$ 는 각각 독립적으로 수소 또는  $-\text{R}_{21}-\text{Ar}_2$ 이고,  $y$  단위 중 상기  $\text{R}_2$ 는 적어도 하나 이상은  $-\text{R}_{21}-\text{Ar}_2$ 이고,  $\text{R}_{21}$ 은  $-\text{COO}-$  및 탄소수 1 내지 5의 알킬렌기의 조합이며, 상기  $\text{Ar}_2$ 는 탄소수 6 내지 50의 아릴기이고,

[화학식 6]



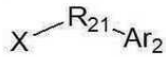
[화학식 7]



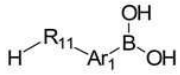
$x$ 는 22 또는 25이고,

$y$ 는 18이다.)

[화학식 3]



[화학식 4]



(상기 화학식 3 및 4에서

$\text{R}_{11}$ 은 -NH-이며,  $\text{Ar}_1$ 은 탄소수 6 내지 50의 아릴렌기이며,

$\text{R}_{21}$ 은 -COO- 및 탄소수 1 내지 5의 알킬렌기의 조합이며,  $\text{Ar}_2$ 는 탄소수 6 내지 50의 아릴기이며, X는 -F, -Cl, -Br 또는 -I이다.)

## 청구항 5

삭제

## 발명의 설명

## 기술 분야

[0001] 본 발명은 금 나노클러스터와 이의 제조방법 및 이를 포함하는 혈당 센서에 관한 것이다.

## 배경 기술

[0002] 특정 개수의 금속 원자와 리간드로 구성되는 나노클러스터(nanocluster) 또는 거대원자(superatom)는 입자가 가지는 정전위상 전자(valence electron)가 새롭게 정의되는 거대원자 오비탈 이론을 따르며, 이를 하나의 거대한 원자로 보겠다는 이론이다.

[0003] 나노클러스터는 원자 하나 또는 나노입자(nanoparticle) 대비 안정적이며, 금속적인 성질보다 분자적인 성질이 강해 나노입자와는 전혀 다른 광학적 및 전기화학적 성질을 가진다. 특히, 나노클러스터는 금속 원자의 개수, 금속 원자의 종류 및 리간드 등에 따라 광학적, 전기적 및 촉매적 성질이 민감하게 달라짐에 따라, 매우 다양한 분야에서 나노클러스터에 관한 연구가 활발하게 진행 중이다.

[0004] 이러한 나노클러스터는 발광(luminescence) 특성을 가짐으로써, 발광 디스플레이, 광전자 기기, 광학센서, 의료 영상 및 바이오 진단 분야 등 다양한 분야에서 응용될 가능성이 높아 큰 관심을 받고 있다.

[0005] 이 중, 바이오 분야에서 질병을 진단하는 바이오 센서에 대한 관심이 높고, 특히, 혈액 내의 글루코오스는 당뇨병, 고혈당증, 저혈당증 및 알츠하이머 등의 질병과 관계가 있어 이러한 글루코오스를 진단하는 것은 상기 질환들의 예방 및 치료 차원에서 매우 중요한 수단으로 이에 대한 연구 개발의 필요성이 대두되고 있다.

## 선행기술문헌

## 특허문헌

[0006] (특허문헌 0001) 대한민국 등록특허공보 제10-1450385호 (2014.10.06)

## 발명의 내용

## 해결하려는 과제

[0007] 본 발명은 발광, 형광 특성 및 안정성이 우수한 금 나노클러스터와 이의 제조방법을 제공하는 것을 목적으로 한

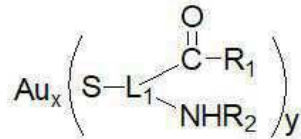
다.

[0008] 또한, 본 발명은 소량으로도 글루코오스 진단이 가능한 금 나노클러스터를 포함하는 혈당 센서를 제공하는 것을 목적으로 한다.

### 과제의 해결 수단

[0009] 본 발명의 일 양태는 하기 화학식 1로 표시되는 금 나노클러스터에 관한 것이다.

[0010] [화학식 1]



[0011]

[0012] 상기 화학식 1에서

[0013]  $\text{L}_1$ 은 3가 연결기이고, 상기 3가 연결기는  $-\text{O}-$ ,  $-\text{C}(=\text{O})-$ ,  $-\text{COO}-$ ,  $-\text{NH}-$  및  $-\text{CONH}-$ 에서 선택되는 어느 하나 또는 둘 이상을 포함하거나 포함하지 않는 탄화수소 골격이며,

[0014]  $\text{R}_1$ 은 각각 독립적으로  $-\text{OH}$  또는  $-\text{R}_{11}-\text{Ar}_1-\text{B}(\text{OH})_2$ 이고,  $y$  단위 중 상기  $\text{R}_1$ 은 적어도 하나 이상은  $-\text{R}_{11}-\text{Ar}_1-\text{B}(\text{OH})_2$ 이며, 상기  $\text{R}_{11}$ 은  $-\text{O}-$ ,  $-\text{NH}-$ , 탄소수 1 내지 5의 알킬렌기 또는 이들의 조합일 수 있고, 상기  $\text{Ar}_1$ 은 탄소수 6 내지 50의 아릴렌기일 수 있으며,

[0015]  $\text{R}_2$ 는 각각 독립적으로 수소 또는  $-\text{R}_{21}-\text{Ar}_2$ 이고,  $y$  단위 중 상기  $\text{R}_2$ 는 적어도 하나 이상은  $-\text{R}_{21}-\text{Ar}_2$ 이며, 상기  $\text{R}_{21}$ 은  $-\text{COO}-$ , 탄소수 1 내지 5의 알킬렌기 또는 이들의 조합일 수 있으며, 상기  $\text{Ar}_2$ 는 탄소수 6 내지 50의 아릴기일 수 있고, 상기 아릴기는 탄소수 1 내지 5의 알킬기, 할로젠기, 탄소수 1 내지 6의 알콕시기, 탄소수 1 내지 10의 알킬설파닐기, 탄소수 1 내지 10의 알킬설포닐기 및 탄소수 1 내지 10의 알킬카보닐기에서 선택되는 하나 또는 둘 이상의 치환기로 더 치환될 수 있으며,

[0016]  $x$ 는 18, 22, 25, 38, 67, 102, 144 또는 333이고,

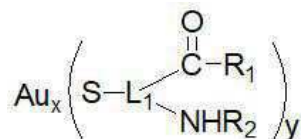
[0017]  $y$ 는 14, 18, 24, 35, 44, 60 또는 79이다.

[0018] 상기 일 양태에 있어, 상기 화학식 1에서 상기 탄화수소 골격은  $-\text{OH}$ ,  $-\text{COOH}$  및  $-\text{NH}_2$ 에서 선택되는 어느 하나 또는 둘 이상의 치환기를 갖는 것일 수 있다.

[0019] 본 발명의 또 다른 일 양태는 상술한 금 나노클러스터를 포함하는 혈당 센서에 관한 것이다.

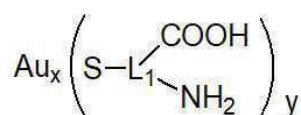
[0020] 본 발명의 또 다른 일 양태는 a) 하기 화학식 2로 표시되는 화합물 및 할로젠화 화합물을 반응시켜 화학식 2로 표시되는 화합물의 아미노기에 할로젠화 화합물을 결합하는 단계 및 b) 상기 결합된 화합물의 카르복실기에 보로닉산 화합물을 결합하는 단계를 포함하여 하기 화학식 1로 표시되는 금 나노클러스터의 제조방법에 관한 것이다.

[0021] [화학식 1]



[0022]

[0023] [화학식 2]



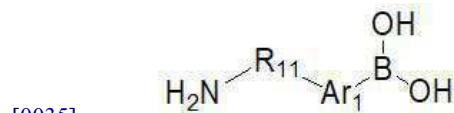
[0024]

- [0025] 상기 화학식 1 및 2에서
- [0026]  $L_1$ 은 3가 연결기이고, 상기 3가 연결기는  $-O-$ ,  $-C(=O)-$ ,  $-COO-$ ,  $-NH-$  및  $-CONH-$ 에서 선택되는 어느 하나 또는 둘 이상을 포함하거나 포함하지 않는 탄화수소 골격이며,
- [0027]  $R_1$ 은 각각 독립적으로  $-OH$  또는  $-R_{11}-Ar_1-B(OH)_2$ 이고,  $y$  단위 중 상기  $R_1$ 은 적어도 하나 이상은  $-R_{11}-Ar_1-B(OH)_2$ 이며, 상기  $R_{11}$ 은  $-O-$ ,  $-NH-$ , 탄소수 1 내지 5의 알킬렌기 또는 이들의 조합일 수 있고, 상기  $Ar_1$ 은 탄소수 6 내지 50의 아릴렌기일 수 있으며,
- [0028]  $R_2$ 는 각각 독립적으로 수소 또는  $-R_{21}-Ar_2$ 이고,  $y$  단위 중 상기  $R_2$ 는 적어도 하나 이상은  $-R_{21}-Ar_2$ 이며, 상기  $R_{21}$ 은  $-COO-$ , 탄소수 1 내지 5의 알킬렌기 또는 이들의 조합일 수 있으며, 상기  $Ar_2$ 는 탄소수 6 내지 50의 아릴기일 수 있고, 상기 아릴기는 탄소수 1 내지 5의 알킬기, 할로젠기, 탄소수 1 내지 6의 알콕시기, 탄소수 1 내지 10의 알킬설퍼닐기, 탄소수 1 내지 10의 알킬설포닐기 및 탄소수 1 내지 10의 알킬카보닐기에서 선택되는 하나 또는 둘 이상의 치환기로 더 치환될 수 있으며,
- [0029]  $x$ 는 18, 22, 25, 38, 67, 102, 144 또는 333이고,
- [0030]  $y$ 는 14, 18, 24, 35, 44, 60 또는 79이다.
- [0031] 상기 일 양태에 있어, 상기 할로젠화 화합물은 하기 화학식 3을 만족하고, 상기 보로닉산 화합물은 하기 화학식 4를 만족하는 것일 수 있다.

[0032] [화학식 3]



[0034] [화학식 4]



- [0036] 상기 화학식 3 및 4에서
- [0037]  $R_{11}$ 은  $-O-$ ,  $-NH-$ , 탄소수 1 내지 5의 알킬렌기 또는 이들의 조합일 수 있고,  $Ar_1$ 은 탄소수 6 내지 50의 아릴렌기일 수 있으며,
- [0038]  $R_{21}$ 은  $-COO-$ , 탄소수 1 내지 5의 알킬렌기 또는 이들의 조합일 수 있고,  $Ar_2$ 는 탄소수 6 내지 50의 아릴기일 수 있고, 상기 아릴기는 탄소수 1 내지 5의 알킬기, 할로젠기, 탄소수 1 내지 6의 알콕시기, 탄소수 1 내지 10의 알킬설퍼닐기, 탄소수 1 내지 10의 알킬설포닐기 및 탄소수 1 내지 10의 알킬카보닐기에서 선택되는 하나 또는 둘 이상의 치환기로 더 치환될 수 있으며,  $X$ 는  $-F$ ,  $-Cl$ ,  $-Br$  또는  $-I$ 이다.

### 발명의 효과

- [0039] 본 발명에 따른 금 나노클러스터는 우수한 발광 특성 및 안정성으로 현저히 높은 형광성을 구현할 수 있다는 장점이 있다.
- [0040] 또한, 본 발명에 따른 금 나노클러스터의 제조방법은 말단기인 카르복실기에 결합하는 보로닉산 화합물의 결합 개수를 용이하게 조절할 수 있다는 장점이 있다.
- [0041] 또한, 본 발명에 따른 금 나노클러스터를 포함하는 혈당 센서는 글루코오스와 강력한 결합을 유도하여 소량으로 글루코오스 존재여부를 진단할 수 있다는 장점이 있다.

### 도면의 간단한 설명

- [0042] 도 1은 본 발명의 실시예 1의 금 나노클러스터 제조방법을 도시한 것이다.

도 2는 본 발명의 일 실시예 및 비교예의 금 나노클러스터의 흡광도를 측정한 결과이다.

도 3은 본 발명의 일 실시예 및 비교예의 금 나노클러스터를 520nm로 여기시킨 후 측정된 파장대에 대한 발광 특성 결과이다.

도 4는 본 발명의 일 실시예 및 비교예의 금 나노클러스터에 대한 글루코오스 진단 방법을 도시화한 것이다.

도 5는 본 발명의 일 실시예 1의 금 나노클러스터에 대한 글루코오스 진단 결과이다.

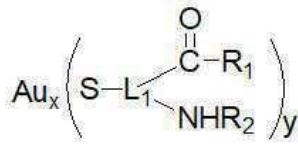
### 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0043] 이하 첨부한 도면들을 참조하여 본 발명에 따른 금 나노클러스터와 이의 제조방법 및 이를 포함하는 혈당 센서에 대하여 상세히 설명한다. 다음에 소개되는 도면들은 당업자에게 본 발명의 사상이 충분히 전달될 수 있도록 예로서 제공되는 것이다. 따라서, 본 발명은 이하 제시되는 도면들에 한정되지 않고 다른 형태로 구체화될 수도 있으며, 이하 제시되는 도면들은 본 발명의 사상을 명확히 하기 위해 과장되어 도시될 수 있다. 또한 명세서 전체에 걸쳐서 동일한 참조번호들은 동일한 구성요소들을 나타낸다.
- [0044] 이때, 사용되는 기술 용어 및 과학 용어에 있어서 다른 정의가 없다면, 이 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자가 통상적으로 이해하고 있는 의미를 가지며, 하기의 설명 및 첨부 도면에서 본 발명의 요지를 불필요하게 흐릴 수 있는 공지 기능 및 구성에 대한 설명은 생략한다.
- [0045] 또한, 본 발명의 구성 요소를 설명하는 데 있어서, 제1, 제2, A, B, (a), (b) 등의 용어를 사용할 수 있다. 이러한 용어는 그 구성 요소를 다른 구성 요소와 구별하기 위한 것일 뿐, 그 용어에 의해 해당 구성 요소의 본질이나 차례 또는 순서 등이 한정되지 않는다.
- [0046] 본 명세서의 용어 “알킬”은 탄소 및 수소 원자만으로 구성된 1가의 직쇄 또는 분쇄 포화 탄화수소 라디칼을 의미하는 것으로, 1 내지 10개의 탄소원자, 바람직하게는 1 내지 6개의 탄소원자를 가질 수 있다. 이러한 알킬 라디칼의 예는 메틸, 에틸, 프로필, 이소프로필, 부틸, 이소부틸, t-부틸, 펜틸, 헥실 등을 포함하지만 이에 한정되지는 않는다. 용어 “알킬렌”은 포화 탄화수소로부터 유도된 2가의 유기 라디칼을 의미한다.
- [0047] 본 명세서의 용어 “아릴”은 하나의 수소 제거에 의해서 방향족 탄화수소로부터 유도된 유기 라디칼로, 각 고리에 적절하게는 4 내지 7개, 바람직하게는 5 또는 6개의 고리원자를 포함하는 단일 또는 융합고리계를 포함하며, 다수개의 아릴이 단일결합으로 연결되어 있는 형태까지 포함한다. 구체적인 예로 페닐, 나프틸, 비페닐, 안트릴, 인덴yl(indenyl), 피레닐, 플루오레닐, 크리세닐 등을 포함하지만, 이에 한정되지는 않는다.
- [0048] 본 명세서의 용어 “아릴렌”은 방향족 탄화수소로부터 유도된 방향족 고리 2가의 유기 라디칼을 의미한다.
- [0049] 본 명세서의 용어 “할로” 또는 “할로젠”은 할로젠족 원소를 나타내며, 예컨대, 플루오로, 클로로, 브로모 및 요오도를 포함한다.
- [0050] 본 명세서의 용어 “알콕시”는 -O-알킬 라디칼로, 1 내지 10개의 탄소원자, 바람직하게는 1 내지 6개의 탄소원자를 가질 수 있다. 여기서 ‘알킬’은 상기 정의한 바와 같다. 구체적인 예로는 메톡시, 에톡시, 이소프로톡시, 부톡시, 이소부톡시, t-부톡시 등을 포함되지만 이에 한정되지는 않는다.
- [0051] 본 명세서의 용어 “아릴옥시”는 -O-아릴 라디칼을 의미하는 것으로, 여기서 ‘아릴’은 상기 정의한 바와 같다. 이러한 아릴옥시 라디칼의 예는 페녹시 등을 포함하지만 이에 한정되지는 않는다.
- [0052] 본 명세서의 용어 “알킬설파닐”은 -S-알킬 라디칼을 의미하는 것으로, 여기서 ‘알킬’은 상기 정의한 바와 같다. 이러한 알킬설파 라디칼의 예는 메틸설파, 에틸설파 등을 포함하지만 이에 한정되지는 않는다.
- [0053] 본 명세서의 용어 “알킬설포닐”은 -SO<sub>2</sub>-알킬 라디칼을 의미하는 것으로, 여기서 ‘알킬’은 상기 정의한 바와 같다. 이러한 알킬설포닐 라디칼의 예는 메틸설포닐, 에틸설포닐 등을 포함하지만 이에 한정되지는 않는다.
- [0054] 본 명세서의 용어 “알킬카보닐”은 -C(=O)알킬 라디칼을 의미하는 것으로, 여기서 ‘알킬’은 상기 정의한 바와 같다. 이러한 알킬카보닐 라디칼의 예는 메틸카보닐, 에틸카보닐, 이소프로필카보닐, 프로필카보닐, 부틸카보닐, 이소부틸카보닐, t-부틸카보닐 등을 포함하지만 이에 한정되지는 않는다.
- [0055] 본 발명자들은 금 나노클러스터의 리간드에 보로닉산 화합물을 용이하게 결합할 수 있을 뿐만 아니라 결합 개수를 세밀하게 조절 가능하여 다양한 발광 및 형광 특성을 구현할 수 있는 금 나노클러스터와 이의 제조방법을 제공하고, 이를 포함하여 글루코오스와 결합을 유도하여 혈당진단이 가능한 혈당 센서를 제공하고자 한다.



[0056] 상세하게, 본 발명의 일 양태는 하기 화학식 1로 표시되는 금 나노클러스터에 관한 것이다. 하기 화학식 1을 만족함으로써, 우수한 발광 특성 및 안정성을 가질 수 있고, 글루코오스와 결합력이 우수하여 소량으로도 혈당 진단이 가능하다.

[0057] [화학식 1]



[0058]

[0059] 상기 화학식 1에서

[0060]  $\text{L}_1$ 은 3가 연결기이고, 상기 3가 연결기는  $-\text{O}-$ ,  $-\text{C}(=\text{O})-$ ,  $-\text{COO}-$ ,  $-\text{NH}-$  및  $-\text{CONH}-$ 에서 선택되는 어느 하나 또는 둘 이상을 포함하거나 포함하지 않는 탄화수소 골격이며,

[0061]  $\text{R}_1$ 은 각각 독립적으로  $-\text{OH}$  또는  $-\text{R}_{11}-\text{Ar}_1-\text{B}(\text{OH})_2$ 이고,  $y$  단위 중 상기  $\text{R}_1$ 은 적어도 하나 이상은  $-\text{R}_{11}-\text{Ar}_1-\text{B}(\text{OH})_2$ 이며, 상기  $\text{R}_{11}$ 은  $-\text{O}-$ ,  $-\text{NH}-$ , 탄소수 1 내지 5의 알킬렌기 또는 이들의 조합일 수 있고, 상기  $\text{Ar}_1$ 은 탄소수 6 내지 50의 아릴렌기일 수 있으며,

[0062]  $\text{R}_2$ 는 각각 독립적으로 수소 또는  $-\text{R}_{21}-\text{Ar}_2$ 이고,  $y$  단위 중 상기  $\text{R}_2$ 는 적어도 하나 이상은  $-\text{R}_{21}-\text{Ar}_2$ 이며, 상기  $\text{R}_{21}$ 은  $-\text{COO}-$ , 탄소수 1 내지 5의 알킬렌기 또는 이들의 조합일 수 있으며, 상기  $\text{Ar}_2$ 는 탄소수 6 내지 50의 아릴기일 수 있고, 상기아릴기는 탄소수 1 내지 5의 알킬기, 할로젠기, 탄소수 1 내지 6의 알콕시기, 탄소수 1 내지 10의 알킬설퍼닐기, 탄소수 1 내지 10의 알킬설폰닐기 및 탄소수 1 내지 10의 알킬카보닐기에서 선택되는 하나 또는 둘 이상의 치환기로 더 치환될 수 있으며,

[0063]  $x$ 는 18, 22, 25, 38, 67, 102, 144 또는 333이고,

[0064]  $y$ 는 14, 18, 24, 35, 44, 60 또는 79이다.

[0065] 본 발명에 따른 금 나노클러스터는 금(Au)을 포함하고, 금(Au)이 리간드인  $y$ 단위 내의 황(S)과 배위 결합한 형상을 가지며, 상기 화학식 1을 만족한다.

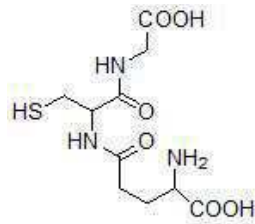
[0066] 본 발명의 일 예에 있어, 상기 금 나노클러스터( $\text{Au}_x(\text{GS})_y$ )는 금(Au) 원자로 이루어진 코어(core)와 상기 코어를 둘러싸는 상기 GS인 리간드가 셸(shell)로 구성되는 코어-셸 구조를 가질 수 있다. 이 때, 상기 GS는 화학식 1에서의  $y$ 단위를 약칭하는 것이다.

[0067] 더욱 상세하게, 본 발명의 일 예에 있어, 상기 금 나노클러스터는 금(Au) 원자가 코어(핵)로 중심에 있고, 상기 코어의 주위에는  $[\text{GS}-\text{Au}-\text{GS}-\text{Au}-\text{GS}-\text{Au}-\text{GS}]$ 와 같은 사슬 2개 및  $[\text{GS}-\text{Au}-\text{GS}-\text{Au}-\text{GS}-\text{Au}-\text{GS}-\text{Au}-\text{GS}]$ 와 같은 사슬 2개 사 서로 고리 형태를 이루어 상기 코어를 감싸는(셸) 구조로 클러스터를 형성할 수 있다.

[0068] 본 발명의 일 예에 있어, 상기 화학식 1에서  $\text{L}_1$ 은 3개의 결합이 이루어진 3가 연결기로, 바람직하게는  $-\text{CONH}-$ 에서 선택되는 어느 하나 또는 둘 이상을 포함하거나 포함하지 않는 탄화수소 골격일 수 있다. 더 바람직하게는 상기 탄화수소 골격에서  $-\text{OH}$ ,  $-\text{COOH}$  및  $-\text{NH}_2$ 에서 선택되는 어느 하나 또는 둘 이상의 치환기를 갖는 것일 수 있다. 보다 바람직하게는 상기 탄화수소 골격에서  $-\text{COOH}$  치환기를 갖는 것일 수 있다.

[0069] 보다 구체적으로, 안정적인 클러스터 구조를 가질 수 있고, 발광 수율을 현저히 향상시키기 위하여 상기 화학식 1에서  $\text{L}_1$ 은 글루타티온(Glutathione) 골격일 수 있고, 상기 글루타티온 골격은 말단기로 2개의 카르복실기( $-\text{COOH}$ ) 및 1개의 아미노기( $-\text{NH}_2$ )를 갖는 하기 화학식 5에 표시되는 화합물로부터 유도된 것이다.

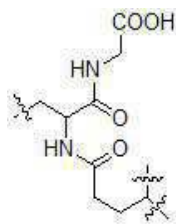
[0070] [화학식 5]



[0071]

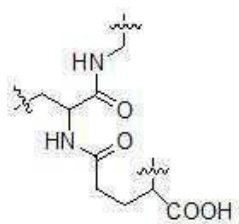
[0072] 보다 바람직하게는 하기 화학식 6 및 화학식 7로 표시되는 골격에서 선택되는 어느 하나 또는 둘 이상일 수 있다.

[0073] [화학식 6]



[0074]

[0075] [화학식 7]



[0076]

[0077] 본 발명의 일 예에 있어, 상기 금 나노클러스터는 말단기에 다양한 물질이 용이하게 결합될 수 있어 발광 세기 및 수율을 증가시킬 수 있을 뿐만 아니라 결합 개수를 세밀하게 조절가능하여 다양한 발광 세기를 구현할 수 있다. 특히, 기존에는 리간드 개수만큼 말단기에 물질을 결합하는 것은 거의 불가능하거나, 수율이 현저히 낮은 단점이 있었으나, 본 발명에 따른 제조방법으로 제조된 금 나노클러스터는 리간드 개수가 넓은 범위에서 화학양론적으로 결합이 가능하다.

[0078] 상술한 다양한 물질은 상기 화학식 1의  $R_1$ 에 결합된 물질을 의미하고, 이하에서 보다 상세하게 설명하기로 한다.

[0079] 본 발명의 일 예에 있어, 상기  $R_1$ 은 각각 독립적으로 -OH 또는  $-R_{11}-Ar_1-B(OH)_2$ 이고, y 단위 중 상기  $R_1$ 은 적어도 하나 이상은  $-R_{11}-Ar_1-B(OH)_2$ 이다. 바람직하게는 y 단위 중 상기  $R_1$ 은 적어도 둘 이상은  $-R_{11}-Ar_1-B(OH)_2$ 일 수 있다. 구체적으로 상기  $R_{11}$ 은 -O-, -NH-, 탄소수 1 내지 5의 알킬렌기 또는 이들의 조합일 수 있고, 상기  $Ar_1$ 은 탄소수 6 내지 50의 아릴렌기일 수 있다. 바람직하게는 상기  $R_{11}$ 은 -NH-, 탄소수 1 내지 5의 알킬렌기 또는 이들의 조합일 수 있고, 상기  $Ar_1$ 은 탄소수 6 내지 20의 아릴렌기일 수 있다. 더 바람직하게는 상기  $R_{11}$ 은 -NH-일 수 있고, 상기  $Ar_1$ 은 페닐, 나프틸, 비페닐, 안트릴, 피레닐 또는 크리세닐일 수 있다. 상기와 같은 말단 결합이 형성될 경우, 우수한 형광성을 구현할 수 있고, 글루코오스와 결합으로 혈당 진단이 가능하다.

[0080] 본 발명에 따른 금 나노클러스터는 상기와 같이 y 단위 중 상기  $R_1$ 은 적어도 하나 이상, 바람직하게는 둘 이상으로  $-R_{11}-Ar_1$ 의 결합 개수가 증대하였을 때, 상술한 바와 같이 우수한 형광성을 가질 뿐만 아니라 글루코오스 여부 진단이 가능하여 혈당 센서로 적용할 수 있다.

[0081] 본 발명의 일 예에 있어,  $R_2$ 는 각각 독립적으로 수소 또는  $-R_{21}-Ar_2$ 이고, y 단위 중 상기  $R_2$ 는 적어도 하나 이상은  $-R_{21}-Ar_2$ 이며, 바람직하게는 y 단위 중 상기  $R_1$ 은 적어도 둘 이상은  $-R_{21}-Ar_2$ 일 수 있다. 구체적으로는 상기  $R_{21}$ 은 -COO-, 탄소수 1 내지 5의 알킬렌기 또는 이들의 조합일 수 있으며, 상기  $Ar_2$ 는 탄소수 6 내지 50의 아릴

기일 수 있고, 상기 아릴기는 탄소수 1 내지 5의 알킬기, 할로젠기, 탄소수 1 내지 6의 알콕시기, 탄소수 1 내지 10의 알킬설퍼닐기, 탄소수 1 내지 10의 알킬설폰닐기 및 탄소수 1 내지 10의 알킬카보닐기에서 선택되는 하나 또는 둘 이상의 치환기로 더 치환될 수 있다. 바람직하게는 상기  $R_{21}$ 은  $-COO-$ , 탄소수 1 내지 5의 알킬렌기 또는 이들의 조합일 수 있으며, 상기  $Ar_2$ 는 탄소수 6 내지 20의 아릴기일 수 있다. 더 바람직하게는 상기  $R_{21}$ 은  $-COO-$  및 탄소수 1 내지 5의 알킬렌기의 조합일 수 있으며, 상기  $Ar_2$ 는 탄소수 6 내지 20의 아릴기일 수 있다. 보다 바람직하게는 상기  $R_{21}$ 은 메틸렌, 에틸렌, 프로필렌, 이소프로필렌, 부틸렌 또는 펜틸렌에서 선택되는 알킬렌기와  $-COO-$ 의 조합일 수 있으며, 상기  $Ar_2$ 는 나프틸, 비페닐, 안트릴, 피레닐 또는 크리스세닐일 수 있다.

[0082] 본 발명에 따른 금 나노클러스터는 상기와 같은 말단 결합이 형성될 경우, 아미노기를 보호하면서 상기와 같이 말단 결합이 형성되지 않을 때 대비 약 2배 이상의 현저히 우수한 형광성을 구현할 수 있다.

[0083] 본 발명에 따른 금 나노클러스터는 상기와 같이 y 단위 중 상기  $R_2$ 는 적어도 하나 이상, 바람직하게는 둘 이상으로  $-R_{21}-Ar_2$ 의 결합 개수가 증대하였을 때, 상술한 바와 같이 형광성을 현격히 증대할 수 있다.

[0084] 더욱이, 본 발명에 따른 금 나노클러스터는 상기와 같이 y 단위 중 상기  $R_1$ 은 적어도 하나 이상이  $-R_{11}-Ar_1$ 로 결합되고, y 단위 중 상기  $R_2$ 는  $-R_{21}-Ar_2$ 로 결합되었을 때, 더욱 향상된 형광성을 부여할 수 있고, 글루코오스를 세밀하게 진단 가능하여 혈당 센서로 더욱 탁월하다.

[0085] 본 발명의 일 예에 있어, 상기 금 나노클러스터는 금원자 개수에 따라 결합가능한 리간드 개수가 존재하며, 구체적으로 상기 화학식 1의 x는 18, 22, 25, 38, 67, 102, 144 또는 333이며, y는 14, 18, 24, 35, 44, 60 또는 79이다. 예를 들어, (x,y)일 때, (18,14), (22,18), (25,18), (38,24), (67,35), (102,44), (144,60) 또는 (333,79)를 만족한다. 세밀한 말단 결합 개수를 조절하기 위하여 바람직하게는 x는 18, 22 또는 25이며, y는 14 또는 18일 수 있으며, 예를 들어, (x,y)일 때, (18,14), (22,18) 또는 (25,18)를 만족할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0086] 본 발명의 일 예에 있어, 상기 금 나노클러스터는 10nm이하의 평균크기를 가질 수 있고, 바람직하게는 0.1 내지 5nm, 더 바람직하게는 0.5 내지 3nm의 평균크기를 가질 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0087] 본 발명에 따른 금 나노클러스터는 상기와 같은 구성을 가짐으로써, 현저히 우수한 형광성을 구현할 수 있고, 소량으로도 극대화된 형광 효과를 구현할 수 있다.

[0088] 또한, 본 발명에 따른 금 나노클러스터는 최종 물질이 수용성일 수 있다. 이와 같이 수용성을 가짐으로써, 물이 존재하는 생체환경에 적합성을 가져 생체 진단 등의 바이오 분야에 다양하게 적용할 수 있다. 이 외에도 글루코오스와 결합이 가능하여 혈당 센서로서 탁월하다.

[0089] 본 발명의 또 다른 일 양태는 상술한 금 나노클러스터를 포함하는 혈당 센서에 관한 것이다. 상기와 같이 본 발명에 따른 금 나노클러스터는 글루코오스와 결합이 가능하여 글루코오스의 존재여부에 대하여 진단할 수 있다.

[0090] 본 발명의 일 예에 있어, 상기 금 나노클러스터는 그 자체로 혈당 센서로 사용될 수 있고, 다양한 부품, 물질, 시스템 등과 동반하여 사용될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

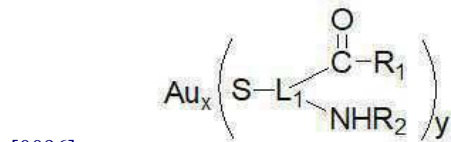
[0091] 본 발명의 일 예에 있어, 혈당 센서는 구체적으로 하기와 같은 방법으로 혈당을 진단할 수 있다. 예를 들어, 상기 혈당 센서를 이용한 혈당 진단방법은, 도 4에 도시된 바와 같이 A) 금 나노클러스터를 준비하는 단계, B) 진단 물질을 투입하여 상기 금 나노클러스터에 상기 진단 물질 내의 글루코오스와 결합을 유도하는 단계, C) 상기 유도된 물질을 세척하는 단계 및 D) 상기 세척 후 결합된 글루코오스를 분리하는 단계를 포함할 수 있다. 더욱 구체적으로는 A) 금 나노클러스터를 준비하는 단계, B) 진단 물질을 투입하여 상기 금 나노클러스터에 상기 진단 물질 내의 글루코오스와 결합을 유도하는 단계, C) 상기 유도된 물질을 세척하여 미반응 물질을 제거하는 단계 및 D) 상기 세척 후 pH를 8 내지 10으로 조절하여 결합된 글루코오스를 분리하는 단계를 포함하여 글루코오스 존재여부를 판단할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0092] 본 발명의 일 예에 있어, 상기 진단 물질은 글루코오스의 존재여부를 판단하기 위한 물질로 글루코오스 화합물 그 자체를 포함하는 것뿐만 아니라 글루코오스가 결합된 복합체를 포함할 수 있다.

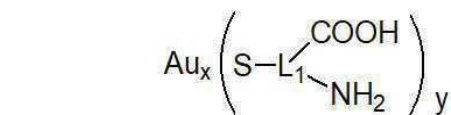
[0093] 본 발명에 따른 금 나노클러스터는 글루코오스와 결합할 수 있어 혈당 진단이 가능하고, 또한, 금 나노클러스터를 소량으로 사용하더라도 혈당 진단이 가능하여 정밀하고 세밀한 조건에서도 사용할 수 있다.

[0094] 본 발명의 또 다른 일 양태는 상술한 금 나노클러스터를 제조하는 방법이며, 상세하게, a) 하기 화학식 2로 표시되는 화합물 및 할로젠화 화합물을 반응시켜 화학식 2로 표시되는 화합물의 아미노기에 할로젠화 화합물을 결합하는 단계 및 b) 상기 결합된 화합물의 카르복실기에 보로닉산 화합물을 결합하는 단계를 포함하여 하기 화학식 1로 표시되는 금 나노클러스터에 관한 것이다.

[0095] [화학식 1]



[0097] [화학식 2]



[0099] 상기 화학식 1 및 2에서

[0100]  $\text{L}_1$ 은 3가 연결기이고, 상기 3가 연결기는  $-\text{O}-$ ,  $-\text{C}(=\text{O})-$ ,  $-\text{COO}-$ ,  $-\text{NH}-$  및  $-\text{CONH}-$ 에서 선택되는 어느 하나 또는 둘 이상을 포함하거나 포함하지 않는 탄화수소 골격이며,  $\text{R}_1$ 은 각각 독립적으로  $-\text{OH}$  또는  $-\text{R}_{11}-\text{Ar}_1-\text{B}(\text{OH})_2$ 이고,  $y$  단위 중 상기  $\text{R}_1$ 은 적어도 하나 이상은  $-\text{R}_{11}-\text{Ar}_1-\text{B}(\text{OH})_2$ 이며, 상기  $\text{R}_{11}$ 은  $-\text{O}-$ ,  $-\text{NH}-$ , 탄소수 1 내지 5의 알킬렌기 또는 이들의 조합일 수 있고, 상기  $\text{Ar}_1$ 은 탄소수 6 내지 50의 아릴렌기일 수 있으며,  $\text{R}_2$ 는  $-\text{R}_{21}-\text{Ar}_2$ 이고, 상기  $\text{R}_{21}$ 은  $-\text{COO}-$ , 탄소수 1 내지 5의 알킬렌기 또는 이들의 조합일 수 있으며, 상기  $\text{Ar}_2$ 는 탄소수 6 내지 50의 아릴기일 수 있고, 상기 아릴기는 탄소수 1 내지 5의 알킬기, 할로젠기, 탄소수 1 내지 6의 알콕시기, 탄소수 1 내지 10의 알킬설파닐기, 탄소수 1 내지 10의 알킬설포닐기 및 탄소수 1 내지 10의 알킬카보닐기에서 선택되는 하나 또는 둘 이상의 치환기로 더 치환될 수 있으며,  $x$ 는 18, 22, 25, 38, 67, 102, 144 또는 333이고,  $y$ 는 14, 18, 24, 35, 44, 60 또는 79이다. 이 때, 화학식 1 및 2의 설명은 상술한 금 나노클러스터의 설명에서 도출되는 것과 동일한 중복설명은 생략한다.

[0101] 본 발명에 따른 금 나노클러스터의 제조방법은 반응 활성화도 및 안정성이 우수하여 말단기 결합 개수를 용이하게 조절할 수 있으며, 우수한 수율로 금 나노클러스터를 수득할 수 있다.

[0102] 본 발명에 따른 금 나노클러스터의 제조방법은 상기 a) 및 b)단계를 순차적으로 수행할 수 있으며, 구체적으로는 하기와 같다.

[0103] 본 발명의 일 예에 있어, 상기 a)단계에서는 상기 화학식 2로 표시되는 화합물은 카르복실기 및 아미노기를 말단기로 포함하는 것으로, 상기 아미노기에 할로젠화 화합물을 반응시켜 결합할 수 있다. 상기와 같이 아미노기에 할로젠화 화합물을 반응시킴으로써, 아미노기를 보호하여 이 후 b)단계에서 카르복실기 결합반응을 안정적으로 유도할 수 있다.

[0104] 본 발명의 일 예에 있어, 상기 a)단계는 하기 화학식 2로 표시되는 화합물 및 할로젠화 화합물의 단순 교반으로 결합을 유도할 수 있다. 바람직하게는 탄산염 존재하에 결합을 유도할 수 있다. 상기 탄산염은 예를 들어, 탄산수소나트륨, 탄산나트륨, 세스퀴탄산나트륨, 탄산칼슘, 탄산칼륨, 탄산마그네슘, 탄산수소칼슘 및 탄산수소칼륨 등에서 선택되는 어느 하나 또는 둘 이상을 포함할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0105] 본 발명의 일 예에 있어, 상기 할로젠화 화합물은 하기 화학식 3을 만족할 수 있다.

[0106] [화학식 3]



[0108] 상기 화학식 3에서 상기  $\text{R}_{21}$ 은  $-\text{COO}-$ , 탄소수 1 내지 5의 알킬렌기 또는 이들의 조합일 수 있고,  $\text{Ar}_2$ 는 탄소수 6

내지 50의 아릴기일 수 있고, 상기 아릴기는 탄소수 1 내지 5의 알킬기, 할로젠기, 탄소수 1 내지 6의 알콕시기, 탄소수 1 내지 10의 알킬설파닐기, 탄소수 1 내지 10의 알킬설포닐기 및 탄소수 1 내지 10의 알킬카보닐기에서 선택되는 하나 또는 둘 이상의 치환기로 더 치환될 수 있으며, X는 -F, -Cl, -Br 또는 -I이다. 바람직하게는 상기 R<sub>21</sub>은 -COO-, 탄소수 1 내지 5의 알킬렌기 또는 이들의 조합일 수 있으며, 상기 Ar<sub>2</sub>는 탄소수 6 내지 20의 아릴기일 수 있고, X는 -F, -Cl, -Br 또는 -I이다. 다. 더 바람직하게는 상기 R<sub>21</sub>은 -COO- 및 탄소수 1 내지 5의 알킬렌기의 조합일 수 있으며, 상기 Ar<sub>2</sub>는 탄소수 6 내지 20의 아릴기일 수 있고, X는 -Cl 또는 -Br이다. 보다 바람직하게는 상기 R<sub>21</sub>은 메틸렌, 에틸렌, 프로필렌, 이소프로필렌, 부틸렌 또는 펜틸렌에서 선택되는 알킬렌기와 -COO-의 조합일 수 있으며, 상기 Ar<sub>2</sub>는 나프틸, 비페닐, 안트릴, 피레닐 또는 크리세닐일 수 있고, X는 -Cl이다.

[0109] 상기 할로겐화 화합물은 상술한 화학식 3을 만족한다면 특별히 제한되는 것은 아니지만, 구체적인 예를 들어, 벤질 클로로포르메이트(Benzyl chloroformate), 4-메톡시벤질 클로로포르메이트(4-Methoxybenzyl chloroformate), 플루오렌일메틸옥시카르보닐 클로라이드(Fluorenylmethyloxycarbonyl chloride; Fmoc chloride), 트리틸 클로라이드(Trityl chloride) 및 트리틸 브로마이드(Trityl bromide)에서 선택되는 어느 하나 또는 둘 이상의 혼합물일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0110] 본 발명의 일 예에 있어, 상기 b)단계에서는 상기 결합된 화합물의 카르복실기에 보로닉산 화합물을 반응시켜 결합할 수 있다. 구체적으로, 상기 결합된 화합물의 카르복실기에 보로닉산 화합물 내의 아미노기를 반응시켜 결합할 수 있다.

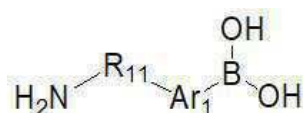
[0111] 본 발명의 일 예에 있어, 상기 보로닉산 화합물은 아미노기를 포함할 수 있다. 상기 아미노기와 상기 결합된 화합물의 카르복실기를 결합함으로써, 금 나노클러스터 내에 보로닉산 화합물을 결합할 수 있다. 예를 들어, 상기 결합은 EDC/NHS 커플링 반응을 통하여 상기 결합된 화합물의 카르복실기와 아미노기의 결합반응을 유도하는 것으로, 1-에틸-3-(3-디메틸아미노프로필)카르보디이미드(EDC, 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimide)를 처리하여 불안정한 에스테르 중간체(Unstable intermediate ester)를 형성한 후 N-하이드록시숙신이미드(NHS, N-hydroxy succinimide)를 가하면 카르복실기는 준안정한 상태의 아민-반응성 NHS 에스테르 중간체로 변환될 수 있다. 상기 아민-반응성 NHS 에스테르 중간체는 상기 보로닉산 화합물의 아미노기와 반응하여 아미드 결합을 형성한다.

[0112] 또한, 상기 결합 반응은 매우 균일하며 화학양론적으로 반응되는 특성을 가지고, 상기 결합된 화합물의 반응 몰수에 따라 결합되는 보로닉산 화합물을 세밀하게 조절할 수 있어 목적에 맞는 발광 세기를 구현할 수 있다. 또한, 말단기 결합 개수를 증대하여 글루코오스와 결합 강도를 더욱 향상시킬 수 있어 세밀한 혈당 진단이 가능하다.

[0113] 본 발명의 일 예에 있어서, 상기 1-에틸-3-(3-디메틸아미노프로필)카르보디이미드 및 N-하이드록시숙신이미드는 1:0.1 내지 1:5몰비로 포함할 수 있고, 바람직하게는 원활한 2차결합을 위하여 1:1 내지 1:4 몰비로 포함할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0114] 구체적으로 본 발명의 일 예에 있어, 상기 보로닉산 화합물은 하기 화학식 4를 만족하는 것일 수 있다.

[0115] [화학식 4]



[0116]

[0117] 상기 화학식 4에서 R<sub>11</sub>은 -O-, -NH-, 탄소수 1 내지 5의 알킬렌기 또는 이들의 조합일 수 있고, Ar<sub>1</sub>은 탄소수 6 내지 50의 아릴렌기일 수 있다. 바람직하게는 상기 R<sub>11</sub>은 -NH-, 탄소수 1 내지 5의 알킬렌기 또는 이들의 조합일 수 있고, 상기 Ar<sub>1</sub>은 탄소수 6 내지 20의 아릴렌기일 수 있다. 더 바람직하게는 상기 R<sub>11</sub>은 -NH-일 수 있고, 상기 Ar<sub>1</sub>은 페닐, 나프틸, 비페닐, 안트릴, 피레닐 또는 크리세닐일 수 있다.

[0118] 본 발명의 일 양태에 따라, 상기 a) 및 b)단계를 물을 포함하는 조건 하에서 수행할 수 있다. 기존의 물을 포함하는 조건에서는 결합반응에 대한 활성도 및 안정성이 낮았지만, 본 발명에 따른 금 나노클러스터는 물을 포함



하는 조건에서도 우수한 활성도 및 안정성을 가져 높은 수율을 가질 수 있다.

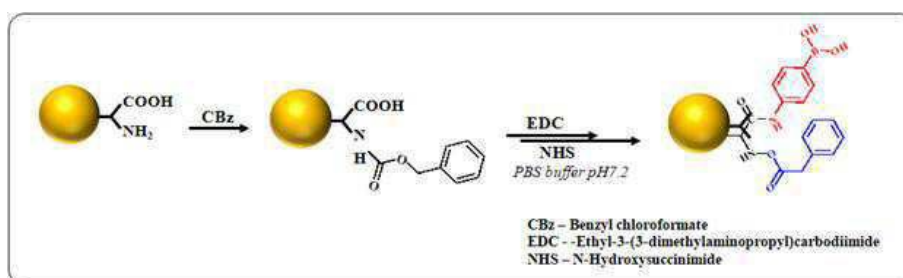
- [0119] 본 발명에 따른 금 나노클러스터는 높은 형광 특성으로 소량으로도 민감하게 반응할 수 있고, 높은 글루코오스 결합력으로 글루코오스 관련 질환 및 질병 진단을 위한 바이오분야에서도 사용이 가능하다. 특히, 글루코오스 센싱은 당뇨, 알츠하이머 등과 같은 질병을 초기에 진단할 수 있는 척도로 중요한 역할을 할 수 있다.
- [0120] 이하, 실시예를 통해 본 발명에 따른 금 나노클러스터와 이의 제조방법 및 이를 포함하는 혈당 센서에 대하여 더욱 상세히 설명한다. 다만 하기 실시예는 본 발명을 상세히 설명하기 위한 하나의 참조일 뿐 본 발명이 이에 한정되는 것은 아니며, 여러 형태로 구현될 수 있다.
- [0121] 또한 달리 정의되지 않은 한, 모든 기술적 용어 및 과학적 용어는 본 발명이 속하는 당업자 중 하나에 의해 일반적으로 이해되는 의미와 동일한 의미를 갖는다. 본원에서 설명에 사용되는 용어는 단지 특정 실시예를 효과적으로 기술하기 위함이고 본 발명을 제한하는 것으로 의도되지 않는다. 또한 명세서에서 특별히 기재하지 않은 첨가물의 단위는 중량%일 수 있다.
- [0123] [제조예 1]  $\text{Au}_{22}\text{GS}_{18}$  클러스터의 합성
- [0124] 12.50 mL의 물에 용해 되어있는 0.25 mmol의  $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  및 7.50 mL의 물에 용해되어 있는 0.37 mmol의 글루타티온(GS)을 230 mL의 물에 동시에 투입하고, 2 분 동안 격렬하게 교반 시킨 후, 용액의 색상이 탁한 노란색으로 변하면 1 M의 NaOH를 넣어주어 pH를 12로 높여주었다. 상기 용액에 3.5 mM 농도의  $\text{NaBH}_4$  0.1 mL를 용액에 한 방울씩 천천히 적하하였다. 이 후, 30 분 동안 교반 시킨 후, 1 M의 HCl을 이용하여 용액의 pH를 2.5로 낮춘 후, 상온에서 6 시간 동안 더 교반하였다. 반응이 완결되면 회전 증발하여 용매를 완전히 제거한 후 10 mL의 물에 녹이고 12 mL의 이소프로판올을 투입하여 생기는 고체를 원심분리기를 이용하여 침전시키는 재결정과정 통하여  $\text{Au}_{22}\text{GS}_{18}$  나노클러스터를 분리하였다. 상층액에 추가로 2 mL의 이소프로판올을 투입하여 생기는 고체를 원심분리기를 통해 분리하였고, 이 과정은 상층액이 투명해 질 때까지 진행하였다. 이렇게 분리된 고체를 과량의 이소프로판올 및 메탄올로 씻어 반응하지 않고 남아있는 불순물을 제거하여 글루타티온 리간드(GS)로 보호된  $\text{Au}_{22}$  클러스터인 금 나노클러스터( $\text{Au}_{22}\text{GS}_{18}$ )를 얻었다.
- [0125] [제조예 2]  $\text{Au}_{18}\text{GS}_{14}$  클러스터의 합성
- [0126] 상기 제조예 1에서 12.0 mL의 물에 용해 되어있는 0.25 mmol의  $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  및 8.0 mL의 물에 용해되어 있는 0.37 mmol의 글루타티온(GS)을 230 mL의 물에 동시에 투입하고, 2 분 동안 격렬하게 교반 시킨 후, 용액의 색상이 탁한 노란색으로 변하면 1 M의 NaOH를 넣어주어 pH를 10으로 높여주었다. 이 후 일산화탄소 가스를 1기압으로 2분 동안 퍼징을 한 후 16 시간동안 격렬하게 교반하였다. 상기 용액에 3.5 mM 농도의  $\text{NaBH}_4$  0.1 mL를 용액에 한 방울씩 천천히 적하하였다. 이 후, 30 분 동안 교반 시킨 후, 1 M의 HCl을 이용하여 용액의 pH를 2.5로 낮춘 후, 상온에서 6 시간 동안 더 교반하였다. 반응이 완결되면 회전 증발하여 용매를 완전히 제거한 후 10 mL의 물에 용해시키고, 12 mL의 이소프로판올을 투입하여 생기는 고체를 원심분리기를 이용하여 침전시키는 재결정과정 통하여  $\text{Au}_{18}\text{GS}_{14}$  나노클러스터를 분리하였다. 상층액에 추가로 2 mL의 이소프로판올을 투입하여 생기는 고체를 원심분리기를 통해 분리하였고, 이 과정은 상층액이 투명해 질 때까지 진행하였다. 이렇게 분리된 고체를 과량의 이소프로판올 및 메탄올로 씻어 반응하지 않고 남아있는 불순물을 제거하여 글루타티온 리간드(GS)로 보호된  $\text{Au}_{18}$  클러스터인 금 나노클러스터( $\text{Au}_{18}\text{GS}_{14}$ )를 얻었다.
- [0127] [제조예 3]  $\text{Au}_{25}\text{GS}_{18}$  클러스터의 합성
- [0128] 상기 제조예 1에서 80 mL의 메탄올에 용해 되어있는 0.394g의  $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  및 40 mL의 물에 용해되어 있는 1.23g의 글루타티온(GS)을 동시에 혼합하고, 30 분 동안 격렬하게 교반 시킨 후, 용액의 색상이 탁한 하얀색으로 변하면 10 mL 물에 녹인 0.374g  $\text{NaBH}_4$ 를 넣어 1 시간 30 분 동안 격렬하게 교반하였다. 이 후 모든 용매를 증발시킨 후 10 mL의 물을 넣어 녹여주었다. 5mL씩 각각 팔콘 튜브(Falcon tube)에 옮겨담은 후 1 mL씩 메탄올을 첨가하여 혼든 후 원심분리하였다. 상층액은 또 다른 팔콘 튜브로 옮겨담고 아래에 떨어진 고체를 수득하였다. 상층액이 투명해질 때까지 메탄올을 첨가한 후 원심분리하는 방법을 반복하였다. 이렇게 분리된 고체를 과량의 이소프로판올 및 메탄올로 씻어 반응하지 않고 남아있는 불순물을 제거하여 글루타티온 리간드(GS)로 보호된  $\text{Au}_{25}$  클러스터인 금 나노클러스터( $\text{Au}_{25}\text{GS}_{18}$ )를 얻었다.

- [0129] [실시예 1]  $\text{Au}_{22}\text{GS}_{18}\text{-CBz}_{18}\text{-BA}_9$
- [0130] 제조예 1에서 제조된 10 mg의  $\text{Au}_{22}\text{GS}_{18}$ 를 20 ml의 바이알에 담긴 1 ml의 증류수에 용해시킨 후, 1 mg의  $\text{NaHCO}_3$ 을 첨가하였다. 이후, 20  $\mu\text{l}$ 의 벤질 클로로포르메이트(CBz)를 1 ml의 테트라하이드로퓨란(THF)에 용해시킨 용액을 첨가하여 3 시간 동안 격렬하게 교반시켰다. 상기 투입 비율은  $\text{CBz}/\text{Au}_{22}=180$ 으로 GS 1개 당 CBz 10 배의 조성비로 투입된 것이다. 이 후, 반응하지 않은 벤질 클로로포르메이트는 3kDa의 탈이온 컬럼(desalting column)을 통해 제거하여  $\text{Au}_{22}\text{GS}_{18}\text{-CBz}_{18}$  나노 클러스터를 얻었다.
- [0131] 상기  $\text{Au}_{22}\text{GS}_{18}\text{-CBz}_{18}$  나노 클러스터 10 mg을 2 ml의 PBS 완충용액(phosphate buffered saline,  $\geq 99\%$ , pH 7.2)에 녹인 후, 35 mg의 1-에틸-3-(3-디메틸아미노프로필)카르보디이미드(EDC,  $\text{EDC}/\text{Au}_{22}=180$  중량비로 투입)와 42 mg의 N-하이드록시숙신이미드(NHS,  $\text{NHS}/\text{EDC}=2$  중량비로 투입)를 첨가하여 600 rpm 에서 20 분 동안 교반시켰다. 이후, 56 mg의 아미노페닐 보로닉산(BA,  $\text{BA}/\text{Au}_{22}=360$  중량비로 투입)을PBS 완충용액(phosphate buffered saline,  $\geq 99\%$ , pH 7.2)에 녹여 첨가하였다. 600 rpm에서 16 시간 동안 교반시킨 후,  $\text{Au}_{22}\text{GS}_{18}\text{-CBz}_{18}\text{-BA}_9$ 를 반응하지 않은 아미노페닐 보로닉산과 분리하기 위하여 Desalting column을 이용한 분리와 전기영동 분리를 함께 진행하였다. 또한,  $^1\text{H}$  NMR을 통하여 아미노페닐 보로닉산이 금 나노클러스터에 9개가 결합된 것을 확인하였다.
- [0132] [실시예 2]  $\text{Au}_{18}\text{GS}_{14}\text{-CBz}_{18}\text{-BA}_9$
- [0133] 상기 실시예 1에서  $\text{Au}_{22}\text{GS}_{18}$ 를 대신하여 제조예 2로부터 제조된  $\text{Au}_{18}\text{GS}_{14}$ 를 사용하여 금 나노클러스터  $\text{Au}_{18}\text{GS}_{14}\text{-CBz}_{14}\text{-BA}_9$ 를 수득한 것을 제외하고는 동일하게 실시하였다.
- [0134] [실시예 3]  $\text{Au}_{25}\text{GS}_{18}\text{-CBz}_{18}\text{-BA}_9$
- [0135] 상기 실시예 1에서  $\text{Au}_{22}\text{GS}_{18}$ 를 대신하여 제조예 3으로부터 제조된  $\text{Au}_{18}\text{GS}_{14}$ 를 사용하여 금 나노클러스터  $\text{Au}_{25}\text{GS}_{18}\text{-CBz}_{18}\text{-BA}_9$ 를 수득한 것을 제외하고는 동일하게 실시하였다.
- [0136] [비교예 1]
- [0137] 상기 제조예 1로 제조된  $\text{Au}_{22}\text{GS}_{18}$ 를 그대로 사용하였다.
- [0138] [비교예 2]  $\text{Au}_{22}\text{GS}_{18}\text{-CBz}_{18}$
- [0139] 제조예 1에서 제조된 10 mg의  $\text{Au}_{22}\text{GS}_{18}$ 을 20 ml의 바이알에 담긴 1 ml의 증류수에 녹인 후, 1 mg의  $\text{NaHCO}_3$ 을 첨가하였다. 이후, 20  $\mu\text{l}$ 의 벤질 클로로포르메이트(CBz)를 1 ml의 테트라하이드로퓨란(THF)에 용해시킨 용액을 첨가하여 3시간 동안 격렬하게 교반시켰다. 상기 투입 비율은  $\text{CBz}/\text{Au}_{22}=180$ 으로 GS 1개 당 CBz 10배의 조성비로 투입된 것이다. 이 후, 반응하지 않은 벤질 클로로포르메이트는 3kDa의 탈이온 컬럼(desalting column)을 통해 제거하여  $\text{Au}_{22}\text{GS}_{18}\text{-CBz}_{18}$  나노 클러스터를 얻었다.
- [0140] [결과 분석]
- [0141] 발광특성
- [0142] 도 2에 도시된 바와 같이 실시예 1 및 비교예 1로 제조된 금 나노클러스터의 흡광도를 관찰하였다. 상기 흡광도를 통하여 실시예 1의 금 나노클러스터에서 보로닉산 그룹의 특징적인 흡수 피크인 252nm에서 피크가 생성된 것을 확인하여 보로닉산 화합물이 결합된 것을 확인할 수 있었다.
- [0143] 또한, 도 3에 도시된 바와 같이 실시예 1 및 비교예 1 내지 2로 제조된 금 나노클러스터의 발광 특성을 관찰하였다. 비교예 1 대비, 520nm의 여기파장에서 측정하였을 때, 650nm 파장의 발광 피크가 3.5배 증대한 것을 확인할 수 있었다. 또한, 비교예 2 대비, 520nm의 여기파장에서 측정하였을 때, 650nm 파장의 발광 피크가 1.25배 증대한 것을 확인할 수 있었다. 이와 같이 본 발명에 따른 금 나노클러스터는 우수한 형광 및 발광 세기 및 수율을 제공할 수 있음을 확인하였다.
- [0144] 혈당 진단여부 확인

- [0145] 도 4에 도시된 바와 같은 방법으로 실시예 1 및 비교예 1 내지 2로 제조된 금 나노클러스터에 대하여, 당화 알부민(Glycated albumin)을 이용하여 혈당 진단 가능성을 판단하였다. 구체적으로 먼저, 실시예 1의 금 나노클러스터 100  $\mu$ g를 진단기에 투입하였다. 이 후, 혈당 진단 물질인 당화 알부민을 투입하여 상기 당화 알부민에 결합되어 있는 글루코오스와 금 나노클러스터의 결합을 유도하였다. 이 후, 상기 결합이 유도된 물질이 들어 있는 진단기를 PBS 완충용액(phosphate buffered saline,  $\geq 99\%$ , pH 7.2)으로 세척하여 결합되지 않은 물질 및 불순물을 제거하였다. 상기 세척 후 pH 8.5로 조절하여 결합된 당화 알부민을 분리하였다. 이 후, 분리된 물질을 pH 5.0으로 조절한 후 Q Exactive LC/MS로 물질을 분석하였다.
- [0146] 이 때, 상기 방법에서 소량의 당화 알부민 10 $\mu$ g를 투입하였을 때, 세척단계에서 배출되는 당화 알부민없이 모두 결합되어 글루코오스에 대하여 우수한 결합도를 갖는 것을 확인하였고, 이 후 금 나노클러스터의 함량은 고정하고, 당화 알부민의 투입 함량을 25, 50 또는 100 $\mu$ g으로 증대하여 실험하였을 때에도 도 5에 도시된 결과를 통하여 금 나노클러스터의 결합 최대 개수만큼 결합된 것을 확인하였다. 이를 통하여 본 발명에 따른 금 나노클러스터는 글루코오스와 결합도가 매우 우수하고, 금 나노클러스터의 다량의 글루코오스 결합 반응기를 보유하여 소량으로도 다량의 글루코오스를 결합할 수 있음을 확인하였다. 이 때 세척단계에서 배출되는 당화 알부민은 금 나노클러스터의 말단에 당화 알부민이 대부분 결합되어 과량으로 인한 잔여 당화 알부민이 배출된 것으로 확인된다. 이를 통하여 금 나노클러스터는 우수한 글루코오스와의 결합도를 가지며, 혈당 진단여부가 가능하여 혈당 센서로 탁월함을 확인할 수 있다.
- [0147] 상기 실시예 2 및 3의 금 나노클러스터도 혈당 진단을 상기와 같이 수행하였을 때, 실시예 1과 동일한 패턴을 가져 우수한 글루코오스와의 결합도를 갖는 것을 가지며, 혈당 진단여부가 가능하여 혈당 센서로 탁월함을 확인하였다.
- [0148] 또한, 비교예 1 및 2에서는 글루코오스가 결합되지 않아 혈당 진단에 사용될 수 없음을 확인하였다.
- [0149] 본 발명에 따른 금 나노클러스터는 우수한 발광 및 형광 특성을 구현할 수 있고, 소량의 글루코오스를 투입하더라도 강하게 결합되어 혈당 진단을 할 수 있고, 이로써 혈당 센서로 탁월함을 확인할 수 있었다.
- [0150] 이상과 같이 특정된 사항들과 한정된 실시예를 통해 본 발명이 설명되었으나, 이는 본 발명의 보다 전반적인 이해를 돕기 위해서 제공된 것일 뿐, 본 발명은 상기의 실시예에 한정되는 것은 아니며, 본 발명이 속하는 분야에서 통상의 지식을 가진 자라면 이러한 기재로부터 다양한 수정 및 변형이 가능하다.
- [0151] 따라서, 본 발명의 사상은 설명된 실시예에 국한되어 정해져서는 아니되며, 후술하는 특허청구범위뿐 아니라 이 특허청구범위와 균등하거나 등가적 변형이 있는 모든 것들은 본 발명 사상의 범주에 속한다고 할 것이다.

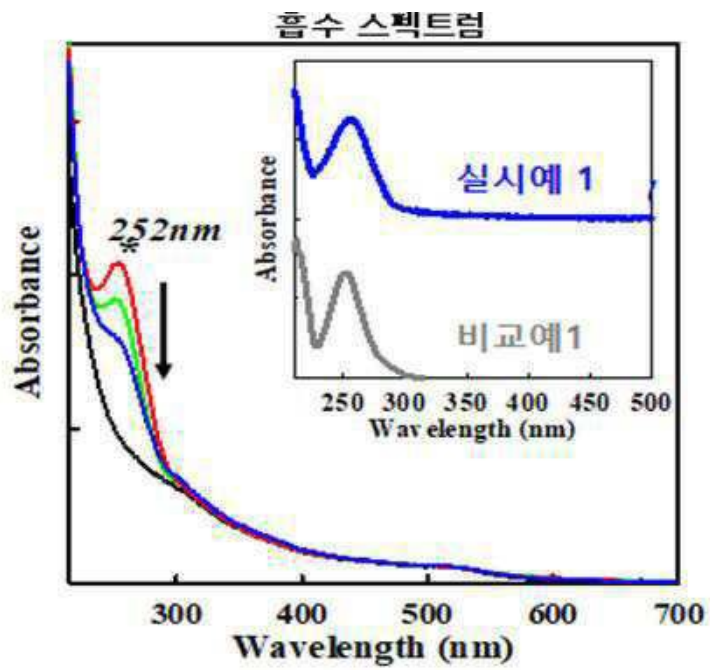
## 도면

### 도면1

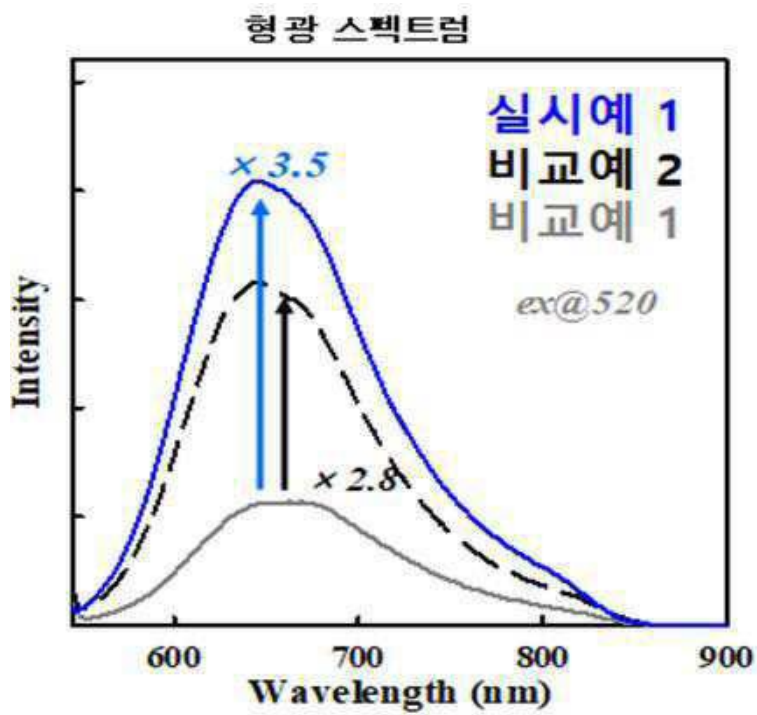




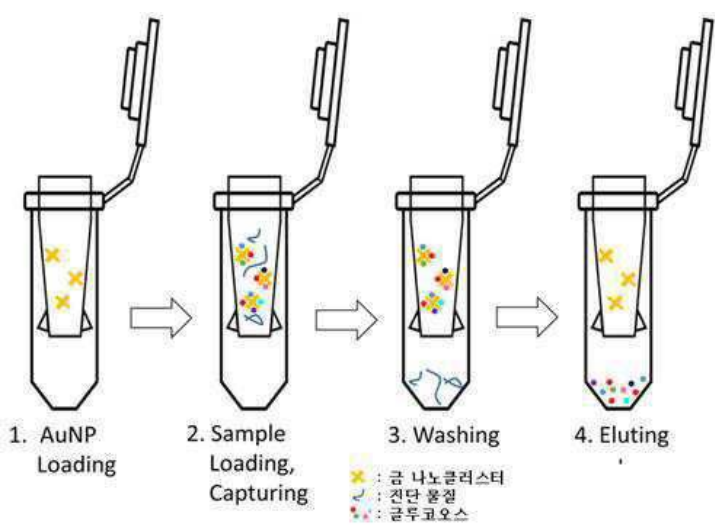
도면2



도면3



도면4



도면5

Standard Albumin Study (glycated peptide)

	10μg	25μg	50μg	100μg
Wash	0	2	6	9
Elution	12	13	16	14

