



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2010-0004503
(43) 공개일자 2010년01월13일

(51) Int. Cl.

B82B 3/00 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2008-0064706

(22) 출원일자 2008년07월04일

심사청구일자 2008년07월04일

(71) 출원인

경희대학교 산학협력단

경기도 용인시 기흥구 서천동 1 경희대학교 국제 캠퍼스내

(72) 발명자

이인수

경기도 수원시 영통구 영통2동 988-2 동아아파트 717동 802호

안광현

서울시 서초구 서초동 무지개아파트 6동 1201호

(74) 대리인

유수미

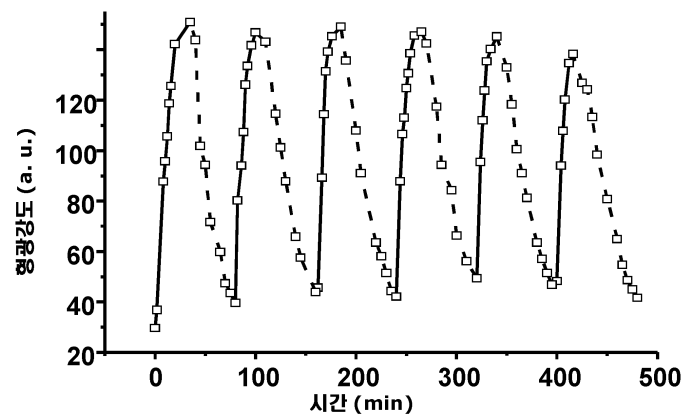
전체 청구항 수 : 총 14 항

(54) 광전환될 수 있는 형광성의 초상자성 금속 산화물 나노입자

(57) 요약

본 발명은 초상자성 금속 산화물을 포함하는 코어, 상기 코어를 둘러싸는 고분자 코팅층 및 상기 고분자 코팅층에 담지된 광전환될 수 있는 형광성을 나타내는 유기 염료를 포함하는 다기능성 나노입자 및 상기 다기능성 나노입자를 간단하고 용이하게 제조하는 방법에 관한 것이다. 본 발명의 다기능성 나노입자는 광전환될 수 있는 형광성과 초상자성을 동시에 가져 세포 표지(cellular labeling) 등 생의학적 응용을 위한 온-오프 전환 다기능 이미징 프로브로서 유용하게 사용될 수 있다.

대표도 - 도2c



특허청구의 범위

청구항 1

초상자성 금속 산화물을 포함하는 코어, 상기 코어를 둘러싸는 고분자 코팅층 및 상기 고분자 코팅층에 담지된 광전환될 수 있는 형광성을 나타내는 유기 염료를 포함하는 다기능성 나노입자.

청구항 2

제1항에 있어서, 초상자성 금속 산화물 코어의 직경이 1 내지 25 nm인 것을 특징으로 하는 다기능성 나노입자.

청구항 3

제1항에 있어서, 다기능성 나노입자의 직경이 10 내지 100 nm인 것을 특징으로 하는 다기능성 나노입자.

청구항 4

제1항에 있어서, 초상자성 금속 산화물이 철, 망간, 아연, 니켈, 코발트, 구리 또는 이들의 혼합물을 포함하는 것을 특징으로 하는 다기능성 나노입자.

청구항 5

제1항에 있어서, 초상자성 금속 산화물이 산화철인 것을 특징으로 하는 다기능성 나노입자.

청구항 6

제1항에 있어서, 고분자 코팅층이 폴리메틸메타크릴레이트, 폴리비닐알코올, 폴리아크릴산, 폴리글루탐산, 폴리아세트산, 폴리히드록시에틸 아크릴레이트, 폴리에틸렌 글리콜, 폴리프로필렌 글리콜 또는 이들의 공중합체를 포함하는 것을 특징으로 하는 다기능성 나노입자.

청구항 7

제1항에 있어서, 고분자 코팅층이 폴리에틸렌 글리콜과 폴리프로필렌 글리콜의 공중합체를 포함하는 것을 특징으로 하는 다기능성 나노입자.

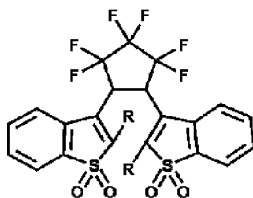
청구항 8

제1항에 있어서, 유기 염료가 하나의 나노입자 당 10 내지 300개 담지되어 있는 것을 특징으로 하는 다기능성 나노입자.

청구항 9

제1항에 있어서, 유기 염료가 하기 화학식 I의 산화 디아릴에텐(oxidized diarylethene)인 것을 특징으로 하는 다기능성 나노입자:

[화학식 I]



상기 식에서, R은 C_1-C_5 의 알킬기이다.

청구항 10

제9항에 있어서, R이 n-프로필인 것을 특징으로 하는 다기능성 나노입자.

청구항 11

- (i) 초상자성 금속 산화물, 고분자 및 광전환될 수 있는 형광성을 나타내는 유기 염료를 유기용매에서 혼합하는 단계; 및
- (ii) 수득한 혼합물에 물을 가하고 부유 물질을 여과하여 제거하는 단계를 포함하는 다기능성 나노입자의 제조 방법.

청구항 12

제11항에 있어서, 단계 (i)에서 유기용매로 벤젠계 용매, 탄화수소계 용매, 에테르계 용매, 할로젠화 탄화수소계 용매, 폴리머 용매 및 이온성 액체 용매로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상을 사용하는 것을 특징으로 하는 제조방법.

청구항 13

제11항에 있어서, 단계 (i)에서 유기용매로 클로로메탄을 사용하는 것을 특징으로 하는 제조방법.

청구항 14

제11항에 있어서, 단계 (ii)에서 수득한 다기능성 나노입자를 원심분리하고 물에 분산시키는 과정을 반복하여 정제하는 단계를 추가로 포함하는 것을 특징으로 하는 제조방법.

명세서

발명의 상세한 설명

기술 분야

- <1> 본 발명은 광전환될 수 있는 형광성의 초상자성 금속 산화물 나노입자 및 그의 제조방법에 관한 것이다. 보다 구체적으로, 본 발명은 초상자성 금속 산화물을 포함하는 코어, 상기 코어를 둘러싸는 고분자 코팅층 및 상기 고분자 코팅층에 담지된 광전환될 수 있는 형광성을 나타내는 유기 염료를 포함하는 다기능성 나노입자 및 상기 다기능성 나노입자를 간단하고 용이하게 제조하는 방법에 관한 것이다.

배경 기술

- <2> 다기능성 나노입자는 생의학적 응용을 위한 첨단 물질로서 점차 관심이 증가하고 있다. 근래에 자성과 형광성을 동시에 가지는 몇가지 종류의 나노입자가 초상자성 나노입자를 형광성 유기 염료 또는 양자점(quantum dots)과 결합시켜 제조되었다[참고문헌: J. Choi, J. C. Kim, Y. B. Lee, I. S. Kim, Y. K. Park and N. H. Hur, *Chem. Commun.*, **2007**, 1644; J. Gao, W. Zhang, P. Huang, B. Zhang and B. Xu, *J. Am. Chem. Soc.*, **2008**, *130*, 3710]. 하나의 나노입자에 자성과 형광성의 결합은 종래의 물질로는 달성할 수 없었던 독특한 응용성을 제공한다. 예를 들면, 그러한 형광성 자성 나노입자의 이동이 외부 자기장의 부가에 의해 유도되고 실시간으로 형광 측정에 의해 관찰될 수 있다. 아울러, 형광성 자성 나노입자는 자기 공명과 광학 이미징 기술을 사용하여 동시 진단을 가능하게 하는 다기능 이미징 프로브(multimodality imaging probe)로도 사용될 수 있다.
- <3> 최근에는, 형광성이 가역적으로 광전환될 수 있는(photoswitchable) 분자가 세포 표지(cellular labeling)에 사용되어 초고해상도 현미경검사법(super-resolution microscopy)의 성능을 현저히 개선시켰다. 또한, 광전환될 수 있는 형광성을 가지는 수 종류의 고분자 나노입자가 합성되었고, 잘못된 양성 신호로부터 관심 부위를 구별할 수 있는 새로운 종류의 프로브로서 입증되었다[참고문헌: J. Foeling, S. Polyakova, V. Belov, A. van Blaaderen, M. L. Bossi and S. W. Hell, *Small*, **2008**, *4*, 134; L. Zhu, W. Wu, M.-Q. Zhu, J. J. Han, J. K. Hurst and A. D. Q. Li, *J. Am. Chem. Soc.*, **2007**, *129*, 3524].
- <4> 따라서, 자성 나노입자와 광전환될 수 있는 형광성을 결합시키는 것은 복잡한 생체 시스템을 이미징하고 추적하는데 유용한 수단을 제공할 수 있을 것이다. 그러나, 아직까지 자성과 광전환될 수 있는 형광성을 동시에 가지는 나노입자는 개발된 바 없다.

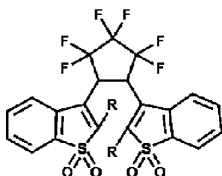
발명의 내용

해결 하고자하는 과제

- <5> 이에, 본 발명자들은 자성과 광전환될 수 있는 형광성을 동시에 가지는 나노입자를 개발하기 위해 예의 연구 검토한 결과, 초상자성 금속 산화물 나노입자에 광전환될 수 있는 형광성을 나타내는 유기 염료를 고분자 코팅층을 이용하여 담지시킴으로써, 광전환될 수 있는 형광성의 초상자성 금속 산화물 나노입자를 제조할 수 있음을 발견하고 본 발명을 완성하게 되었다.
- <6> 따라서 본 발명의 목적은 광전환될 수 있는 형광성의 초상자성 금속 산화물 나노입자를 제공하는 것이다.
- <7> 본 발명의 다른 목적은 상기 나노입자를 간단하고 용이하게 제조하는 방법을 제공하는 것이다.

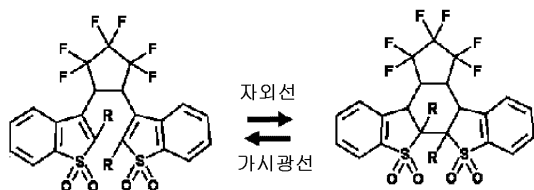
과제 해결수단

- <8> 본 발명은 초상자성 금속 산화물을 포함하는 코어, 상기 코어를 둘러싸는 고분자 코팅층 및 상기 고분자 코팅층에 담지된 광전환될 수 있는 형광성을 나타내는 유기 염료를 포함하는 다기능성 나노입자에 관한 것이다.
- <9> 상기 초상자성 금속 산화물 코어의 직경은 약 1 내지 25 nm, 바람직하게는 약 3 내지 10 nm일 수 있다. 상기 다기능성 나노입자는 고분자 코팅으로 인해 금속 산화물 보다 더 크며, 대략 10 내지 100 nm의 직경을 갖는 것이 바람직하다.
- <10> 상기 초상자성 금속 산화물은 철, 망간, 아연, 니켈, 코발트, 구리 또는 이들의 혼합물을 포함할 수 있다. 바람직하게는, 상기 초상자성 금속 산화물은 산화철, 예를 들면 Fe_3O_4 또는 Fe_2O_3 이다.
- <11> 상기 고분자 코팅층은 천연 또는 합성 고분자, 이들의 조합 또는 이들의 공중합체를 포함할 수 있다. 예를 들면, 폴리메틸메타크릴레이트, 폴리비닐알코올, 폴리아크릴산, 폴리글루탐산, 폴리아세트산, 폴리히드록시에틸아크릴레이트, 폴리에틸렌 글리콜, 폴리프로필렌 글리콜 및 이들의 공중합체를 포함하나 이에 한정되는 것은 아니다. 바람직하게는, 상기 고분자 코팅층으로 폴리에틸렌 글리콜과 폴리프로필렌 글리콜의 공중합체를 사용한다. 상기 공중합체는 폴리프로필렌 글리콜의 소수성 부분이 유기용매상에서 합성된 금속 산화물 나노입자의 경우에 존재하는 금속 산화물 주위의 긴 탄소 사슬로 이루어진 소수성 리간드(예를 들면, 올레산) 껍질의 경계면에 부착되는 반면, 폴리에틸렌 글리콜의 친수성 부분은 외부로 뻗어 있는 형태로 표면 코팅층을 형성할 것으로 예측된다.
- <12> 상기 광전환될 수 있는 형광성을 나타내는 유기 염료는 소수성 작용에 의해 금속 산화물 코어 표면 주위에 고분자 코팅층에 의해 형성된 소수성 껍질내에 담지된다. 유기 염료를 나노입자의 소수성 껍질내에 담지시킴으로써 유기 염료 분자를 물 분자로부터 보호하여 수성 현탁액에서도 유기 염료의 형광성과 전환 성질을 유지할 수 있는 것으로 생각된다.
- <13> 상기 광전환될 수 있는 형광성을 나타내는 유기 염료는 하나의 나노입자 당 약 10 내지 300개가 담지될 수 있다.
- <14> 상기 유기 염료로는 광전환될 수 있는 형광성을 나타내는 어떠한 유기 염료라도 사용될 수 있으나, 하기 화학식 I의 산화 디아릴에텐(oxidized diarylethene)을 사용하는 것이 바람직하다.
- <15> [화학식 I]



- <16>
- <17> 상기 식에서, R은 C_1 - C_6 의 알킬기, 바람직하게는 메틸, 에틸, n-프로필, 가장 바람직하게는 n-프로필이다.
- <18> 상기 화학식 I의 산화 디아릴에텐은 하기 반응식 1에서 보듯이, 에틸 아세테이트에서 자외선을 조사하면 광고리화 반응을 수행하여 매우 형광성인 폐환 이성체가 형성되고, 가시광선을 조사하면 비형광성 개환 이성체로 전환되는 것으로 알려져 있다.

<19> [반응식 1]



<20>

<21> 다른 한편으로, 본 발명은 (i) 초상자성 금속 산화물, 고분자 및 광전환될 수 있는 형광성을 나타내는 유기 염료를 유기용매에서 혼합하는 단계; 및 (ii) 수득한 혼합물에 물을 가하고 부유 물질을 여과하여 제거하는 단계를 포함하는 본 발명의 다기능성 나노입자의 제조방법에 관한 것이다.

<22> 상기 초상자성 금속 산화물은 참고문헌[J. Park, K. An, Y. Hwang, J.-G. Park, H.-J. Noh, J.-Y. Kim, J.-H. Park, N.-M. Hwang and T. Hyeon, *Nat. Mater.* **2004**, *3*, 891]에 공지된 방법에 따라 제조할 수 있으며, 자외선과 가시광선을 교호 조사함으로써 형광성이 가역적으로 변환되는 R이 메틸인 상기 화학식 I의 산화 디아릴에텐은 참고문헌[Y.-C. Jeong, S. I. Yang, E. Kim and K.-H. Ahn, *Tetrahedron*, **2006**, *62*, 5855]에 공지된 방법에 따라 제조할 수 있다.

<23> 상기 단계 (i)에서 유기용매로는 벤젠계 용매(예를 들면 벤젠, 톨루엔, 할로젠화 벤젠 등), 탄화수소계 용매(예를 들면, 헥산, 옥탄, 노난, 데칸 등), 에테르계 용매(예를 들면, 벤질 에테르, 페닐 에테르, 탄화수소 에테르 등), 할로젠화 탄화수소계 용매(예를 들면, 클로로메탄, 디클로로메탄, 클로로포름 등), 폴리머 용매, 이온성 액체 용매 등을 사용하는 것이 바람직하며, 클로로메탄을 사용하는 것이 가장 바람직하다.

<24> 단계 (ii)에서 수득한 다기능성 나노입자는 원심분리하고 물에 분산시키는 과정을 반복하여 정제할 수 있다.

<25>

효 과

<26> 본 발명의 다기능성 나노입자는 광전환될 수 있는 형광성과 초상자성을 동시에 가져 세포 표지(cellular labeling) 등 생의학적 응용을 위한 온-오프(on-off) 전환 다기능 이미징 프로브로서 유용하게 사용될 수 있다. 특히, 본 발명의 다기능성 나노입자는 유리된 유기 염료 분자의 형광성과 광전환성이 거의 그대로 유지될 뿐만 아니라 반복사용시에도 피로효과 또는 광퇴색(photo-bleaching)이 나타나지 않고, 콜로이드 안정성이 우수하며, 세포독성이 낮아 보다 우수한 성능의 다양한 생체내(in vivo) 또는 생체외(in vitro) 다기능 나노시스템으로서 효과적으로 사용될 수 있다.

<27>

발명의 실시를 위한 구체적인 내용

<28> 이하, 실시예에 의해 본 발명을 보다 구체적으로 설명하고자 한다. 이들 실시예는 오직 본 발명을 설명하기 위한 것으로 본 발명의 범위가 이들 실시예에 국한되지 않는다는 것은 당업자에게 있어서 자명하다.

<29> **실시예 1: 1,2-비스(2-프로필-1-벤조티오펜-3-일)퍼플루오로시클로펜텐의 제조**

<30> 3-브로모-2-프로필-1-벤조티오펜(5.45 g, 21.5 mmol)을 함유하는 THF 교반 용액(30 mL)에, 헥산에 n-부틸리튬을 용해시킨 용액(2.5 M, 23.6 mmol) 9.4 mL를 -78°C에서 서서히 가하고, 용액을 1시간 동안 -78°C에서 교반하였다. 그런 다음, 반응 혼합물에 옥타플루오로시클로펜텐(1.15 mL, 8.58 mmol)을 -78°C에서 적가하고, 용액을 서서히 상온으로 승온시켰다. 반응 혼합물을 농축 염화나트륨 용액에 붓고 디에틸 에테르로 추출하였다. 유기층을 무수 황산마그네슘으로 건조시키고 용매를 감압하에서 제거하였다. 생성된 잔류물을 실리카겔 컬럼 크로마토그래피(헥산)로 정제하여, 표제 화합물 1.10 g (2.10 mmol, 24% 수율)을 수득하였다.

<31> Mp. 198-199 °C.

<32> ¹H NMR (CDCl₃, 300MHz) δ 7.17-7.01 (m, 4H), 6.85-6.68 (m, 3H), 6.62-6.59 (m, 1H), 2.34-2.24(m, 0.4H), 2.13-1.99 (m, 1.9H), 1.79-1.69 (m, 1.5), 1.22-1.15 (m, 0.9H), 0.96-0.84 (m, 1.5H), 0.51-0.46 (m, 3H),

0.085 (t, $J=7.5\text{Hz}$, 4.8H).

<33> ^{13}C NMR (CDCl_3 , 75MHz) δ 149.11, 148.45, 138.33, 138.10, 138.01, 137.97, 124.59, 124.30, 124.26, 122.38, 122.17, 121.91, 118.27, 31.93, 31.42, 24.91, 24.36, 13.92, 13.30.

<34> HRMS (EI^+) m/z calcd. for $\text{C}_{27}\text{H}_{22}\text{F}_6\text{S}_2$: 524.1067 found: 524.1069

<35> **실시예 2: 1,2-비스(2-프로필-1-벤조티오펜-1,1-디옥사이드-3-일)피플루오로시클로펜텐의 제조**

<36> 상기 실시예 1에서 수득한 화합물(1.0 g, 1.90 mmol)을 디클로로메탄(20 mL)에 용해시키고 *m*-CPBA(70%, 3.43 g, 15.3 mmol)을 가하였다. 반응 혼합물을 24시간 동안 상온에서 교반하고 NaHSO_3 수용액을 가하였다. 생성물을 디클로로메탄으로 추출하고(2x50mL), 유기층을 황산마그네슘으로 건조시킨 다음 여과하고 용매를 제거하였다. 생성된 잔류물을 실리카겔 컬럼 크로마토그래피로 정제하여, 표제 화합물(800 mg, 1.36 mmol, 71%)를 수득하였다.

<37> Mp. 217-218 °C.

<38> ^1H NMR (CDCl_3 , 300MHz) δ 7.76 (d, $J=7.32\text{Hz}$, 1.27H), 7.67-7.55 (m, 3.33H), 7.47-7.42 (m, 1.46H), 7.21 (d, $J=7.14\text{Hz}$, 1.26H), 7.12 (d, $J=7.32\text{Hz}$, 0.68H), 2.64-2.56 (m, 0.67H), 2.42-2.21 (m, 3.10H), 1.87-1.61 (m, 3.38H), 1.35-1.33 (m, 1.30H), 1.05 (t, $J=7.32\text{Hz}$, 1.95H), 0.78 (t, $J=7.32\text{Hz}$, 3.60H).

<39> ^{13}C NMR (CDCl_3 , 75MHz) δ 147.66, 147.30, 135.52, 135.44, 133.75, 133.30, 130.81, 130.67, 129.54, 129.35, 123.70, 122.93, 122.87, 122.66, 122.60, 122.39, 122.26, 27.75, 27.56, 20.75, 20.36, 14.23, 13.92.

<40> HRMS (EI^+) m/z calcd. for $\text{C}_{27}\text{H}_{22}\text{F}_6\text{O}_4\text{S}_2$: 588.0864 found: 588.0862.

<41> **실시예 3: 다기능성 나노입자의 제조**

<42> 40 mg의 공지된 방법으로 제조된 올레산으로 안정화된 산화철 나노입자(평균 코어 크기: 7 nm), 20 mg의 실시예 1에서 수득한 화합물 및 160 mg의 플루로닉 공중합체(Pluronic copolymer; F127, PEO_{99} - PPO_{67} - PEO_{99})를 10 mL의 클로로메탄(CHCl_3)에서 혼합하였다. 반응 용액을 수분 동안 흔든 후에, 용매를 감압하에서 제거하였으며, 그 결과 플라스크의 바닥에 흑색 필름이 형성되었다. 반응 플라스크를 1시간 동안 진공 배기시켰다. 20 mL의 물을 붓고 10분 동안 음파처리(sonication)하였으며, 그 결과 적은 양의 흰색 부유물이 떠 있는 암갈색 현탁액이 생성되었다. 실린지 필터(셀룰로즈 아세테이트, 0.20 μm 의 구멍 크기, MFS)로 여과하여 투명한 현탁액을 수득하였다. 15 mL의 물 부가, 원심분리(13,000 rpm, 20 °C, 30 min) 및 상등액의 제거에 의한 정제 과정을 2회 반복하여 다기능성 나노입자의 고농축 현탁액을 수득하였다.

<43> 도 1은 수득한 나노입자를 투과 전자 현미경(transmission electron microscopy: TEM)으로 관찰한 도(a) 및 고해상도 TEM(HRTEM)으로 관찰한 도(b)이다. 도 1에서 보듯이, 제조과정 동안 나노결정의 형태, 크기 또는 크기 분포에서 식별할만한 변화가 없었음을 확인할 수 있었다.

<44> 또한, 수득한 나노입자는 상온에서 한달 이상 방치하여도 전혀 응집이 관찰되지 않았으며, 이는 상기 나노입자의 우수한 콜로이드 안정성을 나타낸다.

<45>

<46> **실시예 4: 다기능성 나노입자의 제조**

<47> 실시예 1에서 수득한 화합물 대신에 공지된 방법에 따라 합성한 R이 메틸인 화학식 I의 화합물을 사용하는 것을 제외하고는, 상기 실시예 3과 동일한 방법으로 다기능성 나노입자의 고농축 현탁액을 수득하였다.

<48> **실험예 1: 담지된 유기 염료 분자의 수 측정**

<49> 실시예 3에서 수득한 다기능성 나노입자 중 철 농도를 ICP AES를 사용하여 측정하였다. 나노입자의 수를 7 nm 직경의 구로 가정하고 계산하였다. 100 mL의 현탁액(0.45 mg/mL의 철 농도)을 원심분리하여 상기 나노입자를 수

집하고 진공 건조시켰다. 고체상태의 유기 염료 분자의 수를 원소 분석법을 사용하여 황 함량을 측정함으로써 결정하였다. 하나의 나노입자 당 담지된 유기 염료 분자의 수는 약 200개이었다.

<50> **실험예 2: 담지된 유기 염료 분자의 수 측정**

<51> 다기능성 나노입자의 수를 ICP AES를 사용하여 상기 실험예 1과 동일한 방법으로 측정하였다. 원심분리에 의해 수집된 나노입자 고체를 에틸 아세테이트에 재분산시키고 음파처리하여 유기 염료 분자를 추출하였다. 나노입자를 용액으로부터 원심분리에 의해 제거하고 상등액에 자외선을 312 nm에서 40 분 동안 조사하였다. 유기 염료의 농도를 410 nm 여기광으로 $\lambda_{ex} = 505$ nm에서 형광 분광광도계를 사용하여 측정하였다. 표준 플롯을 나노입자에 담지된 유기 염료의 양을 계산하기 위하여 동일한 조건에서 제조하였다. 하나의 나노입자 당 담지된 유기 염료 분자의 수는 약 300개이었다.

<52> **실험예 3: 형광 분광 분석**

<53> 상기 실시예 3에서 수득한 다기능성 나노입자의 광학적 성질 및 전환 성질을 자외선과 가시광선을 조사하여 분석하였다. 312 nm에서 자외선 조사는 상기 나노입자 현탁액의 형광성을 현저히 증가시켰다. 도 2a에서 보듯이 410 nm 여기광으로 관찰된 나노입자의 방출 스펙트럼은 자외선 조사 동안 강도가 점차적으로 증가하였다. 약 460 및 490 nm에서 두 피크를 가지는 다기능성 나노입자의 형광 프로파일은 에틸 아세테이트에서 유리된 산화 디아릴에텐의 폐환 이성체로부터 관찰된 것과 매우 유사하였으며, 이는 자외선에 의해 담지된 산화 디아릴에텐 분자가 고리화되었음을 나타낸다.

<54> 도 2b에서 보듯이, 420 nm에서 다시 가시광선을 조사하면, 현탁액의 형광성은 초기 강도로 감소하였다. 이는 담지된 산화 디아릴에텐 분자의 폐환 이성체의 개환 이성체로의 전환 때문인 것으로 예상된다.

<55> 전환 과정의 가역성을 평가하기 위하여, 자외선(312 nm)과 가시광선(420 nm)을 주기적으로 교호 조사하면서 실시예 3에서 수득한 다기능성 나노입자의 형광성 변환을 수성 현탁액에서 505 nm에서 관찰하고, 그 결과를 도 2c에 나타내었다. 도 2c에서 실선은 자외선 조사 주기, 점선은 가시광선 조사 주기를 나타낸다. 도 2c에서 보듯이, 나노입자의 형광성은 최소한 6회 동안 피로 효과 또는 광퇴색(photo-bleaching)없이 가역적으로 변환되었다. 이러한 수성 매질하에서의 가역적 형광성 변환은 본 발명의 다기능성 나노입자를 생의학적 응용에 온-오프 전환 프로브로서 사용할 수 있음을 입증한다.

<56> **실험예 4: 나노입자의 온-오프 형광성 전환 및 가역적 응집과 분산**

<57> 실시예 3에서 수득한 다기능성 나노입자는 300 K에서 자기장 의존 자화(magnetization)의 측정 동안에 가역적 자화 및 소화(demagnetization)를 보여주었으며, 이는 초상자성을 나타낸다. 작은 자석이 용기의 측면에 놓였을 때, 상기 나노입자는 자성 기울기를 따라 이동하여 거의 모두가 12 시간 내에 자석 가까이로 모였다. 모인 나노입자는 흔들거나 보텍싱(vortexing)하여 용이하게 분산되었다. 도 3a 및 3b는 외부 자기장을 부가함으로써 조절되는 상기 나노입자의 가역적 응집과 분산 및 빛의 교호 조사에 의해 유도되는 온-오프 형광성 전환을 도시하며, 이는 상기 나노입자가 초상자성과 광전환될 수 있는 형광성을 동시에 가지고 있음을 입증한다. 도 3a는 365 nm 여기광 하에서의 상기 나노입자의 수성 현탁액 사진이고, 도 3b는 자연광하에서의 상기 나노입자의 수성 현탁액 사진으로서, 중간에 있는 것은 312 nm에서 20분 동안 UV를 조사한 후, 오른쪽의 것은 용기의 측면에 12 시간 동안 작은 자석을 놓은 후, 왼쪽의 것은 용기를 흔든 다음 420 nm에서 40분 동안 가시광선을 조사한 후에 촬영한 사진이다.

<58>

<59> **실험예 5: 형광 양자 수율의 측정**

<60> 형광 양자 수율은 표준물질로서 시클로헥산에 용해된 3-아미노플루오란텐(3-aminofluoranthene)을 사용하여 측정하였다.

<61> 실시예 3에서 수득한 다기능성 나노입자의 형광 양자 수율은 0.12로서, 에틸 아세테이트 용액에서 유리된 산화 디아릴에텐 분자에 대한 0.14 보다 약간 낮은 값이었다.

<62> **실험예 6: 시험관내 세포독성**

<63> 실시예 3에서 수득한 다기능성 나노입자를 Raw 264.7 세포(마우스 대식세포)와 배양한 후에 세포 생존력에 대한 나노입자의 영향을 MTT 분석법을 사용하여 측정하였다. 상기 나노입자는 ICP AES에 의해 측정된 10 M의 철 농도까지의 실험 조건에서 세포에 유의적인 독성을 나타내지 않았으며, 이는 본 발명의 다기능성 나노입자의 세포

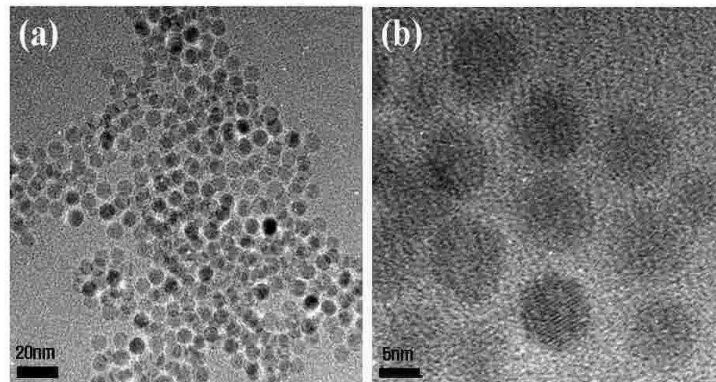
표지를 포함하는 생의학적 응용에서의 적합성을 나타낸다.

도면의 간단한 설명

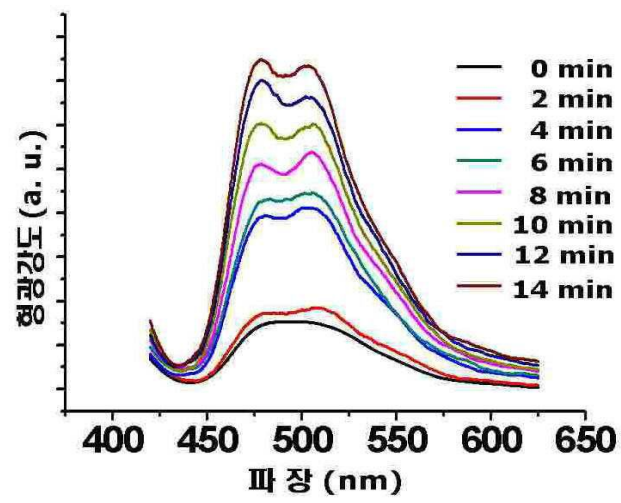
- <64> 도 1은 실시예 3에서 제조된 다기능성 나노입자를 투과 전자 현미경(transmission electron microscopy: TEM)으로 관찰한 도(a) 및 고해상도 TEM(HRTEM)으로 관찰한 도(b)이다.
- <65> 도 2a는 실시예 3에서 제조된 다기능성 나노입자의 수성 현탁액의 312 nm에서 자외선 조사에 따른 형광 스펙트럼 변화를 나타낸 그래프이다.
- <66> 도 2b는 실시예 3에서 제조된 다기능성 나노입자의 수성 현탁액의 312 nm에서 자외선 조사 후에 420 nm에서 가시광선 조사에 따른 형광 스펙트럼 변화를 나타낸 그래프이다.
- <67> 도 2c는 312 nm에서 자외선(실선)과 420 nm에서 가시광선(점선)을 교호 조사하였을 때, 410 nm의 여기광으로 505 nm에서 관찰한, 수성 현탁액에서 실시예 3에서 제조된 다기능성 나노입자의 형광성 변환을 나타낸 그래프이다.
- <68> 도 3a는 365 nm 여기광 하에서 실시예 3에서 제조된 다기능성 나노입자의 수성 현탁액 사진으로서, 중간에 있는 것은 312 nm에서 20분 동안 자외선을 조사한 후, 오른쪽의 것은 용기의 측면에 12 시간 동안 작은 자석을 놓은 후, 왼쪽의 것은 용기를 흔든 다음 420 nm에서 40분 동안 가시광선을 조사한 후에 촬영한 사진이다.
- <69> 도 3b는 자연광 하에서 실시예 3에서 제조된 다기능성 나노입자의 수성 현탁액 사진으로서, 중간에 있는 것은 312 nm에서 20분 동안 자외선을 조사한 후, 오른쪽의 것은 용기의 측면에 12 시간 동안 작은 자석을 놓은 후, 왼쪽의 것은 용기를 흔든 다음 420 nm에서 40분 동안 가시광선을 조사한 후에 촬영한 사진이다.

도면

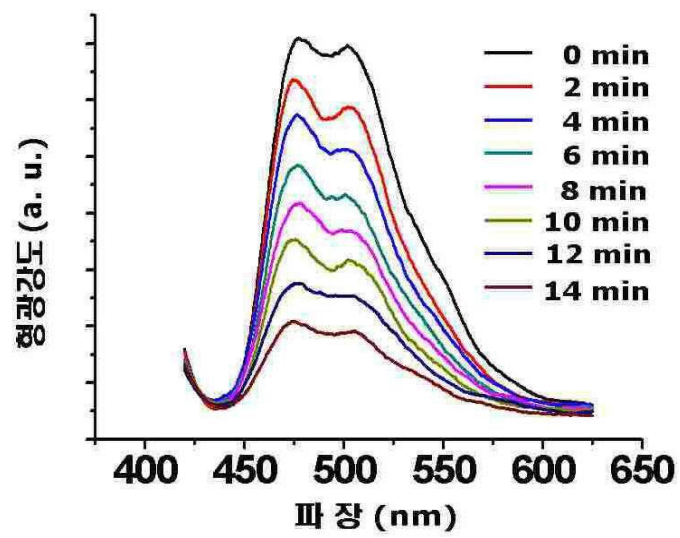
도면1



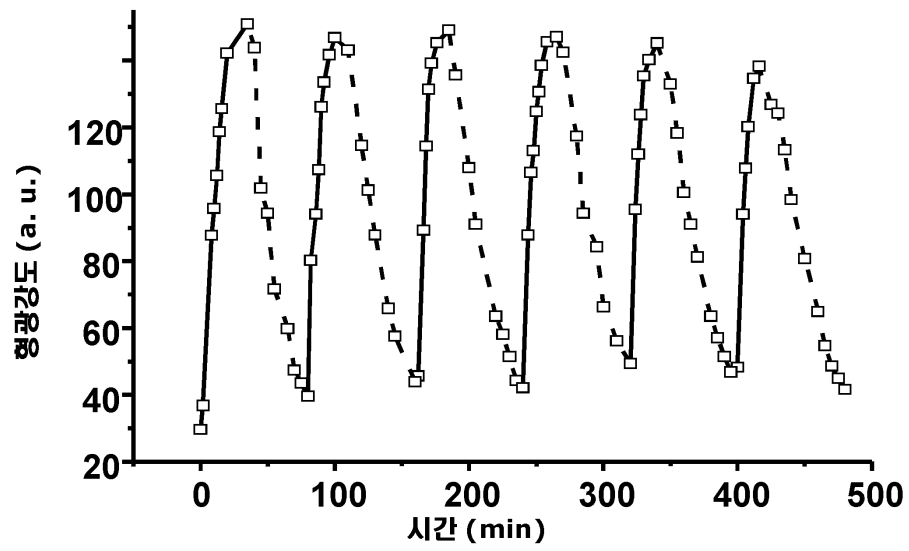
도면2a



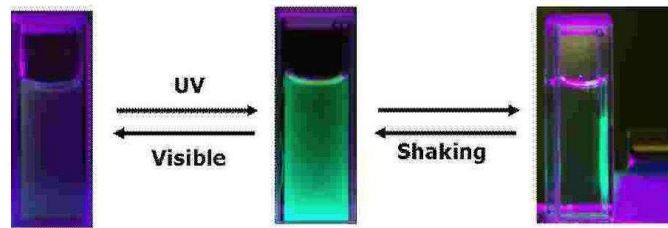
도면2b



도면2c



도면3a



도면3b

