(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2022-0021747
(43) 공개일자 2022년02월22일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 49/22 (2006.01) *A61K 49/00* (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 49/22 (2013.01)
A61K 49/0065 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2020-0102692
(22) 출원일자 2020년08월14일
심사청구일자 2020년08월14일

(71) 출원인
인하대학교 산학협력단
인천광역시 미추홀구 인하로 100(용현동, 인하대학교)
서강대학교산학협력단
서울특별시 마포구 백범로 35 (신수동, 서강대학교)
재단법인대구경북과학기술원
대구 달성군 현풍읍 테크노중앙대로 333
(72) 발명자
박성진
서울특별시 서초구 신반포로33길 15 (잠원동,동아아파트) 103동 1905호
장다운
인천광역시 미추홀구 소성로 16(용현동) 인하 아리스타 오피스텔 811호
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
이원희

전체 청구항 수 : 총 14 항

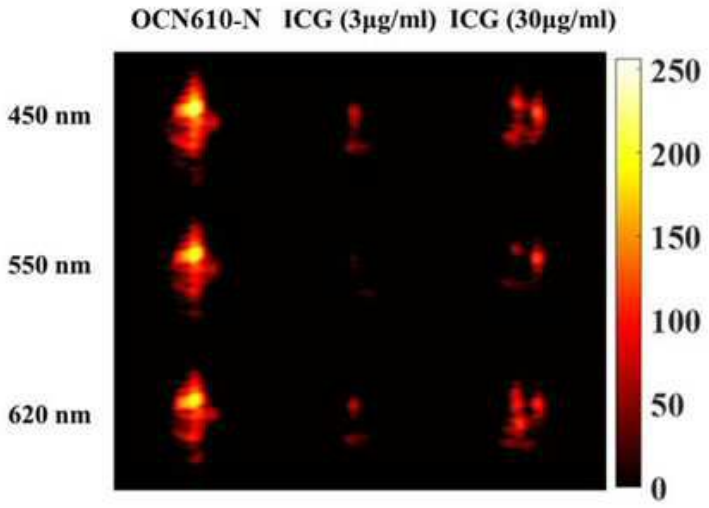
(54) 발명의 명칭 **탄소-질소 교대배열 물질의 제조 및 이를 이용한 광음향 조영제 응용**

(57) 요 약

본 발명은 고분산성 및 장파장 영역의 형광 빛을 내는 카본 나이트라이드 소재를 포함하는 조영제 및 이의 제조 방법에 관한 것으로, 본 발명에 따라 제조된 결함이 있는 카본 나이트라이드는 고분산성 및 고안정성의 분산액으로 제조될 수 있다.

따라서, 시험관 내 형광 이미징 뿐만 아니라, 종래 기술로는 불가능했던 생체 내 형광 이미징을 구현할 수 있는 바, 질병 진단용 조영제, 세포 추적용 조영제 등의 조영제 의약품에 제공될 수 있는 효과가 있다.

대 표 도 - 도15



(52) CPC특허분류
A61K 49/226 (2013.01)
C01B 21/0605 (2013.01)
C01B 21/0828 (2013.01)
A61K 2123/00 (2013.01)

(72) 발명자
김현철
서울특별시 마포구 백범로 35 서강대학교 베르크만 스우정원(BW관)703호
장용호
서울특별시 마포구 백범로 35 서강대학교 베르크만 스우정원(BW관) 703호
장진호
대구광역시 달성군 현풍면 테크노중앙대로 333

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1711117180
과제번호	2020M3D1A1068973
부처명	과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	미래소재디스커버리지원(R&D)
연구과제명	탄소-닉토젠 공유결합기반 생체친화 발광소재군 설계 및 개발
기 여 율	1/1
과제수행기관명	인하대학교
연구기간	2020.04.29 ~ 2020.08.28

명 세 서

청구범위

청구항 1

카본 나이트라이드 전구체를 준비하는 단계;

상기 카본 나이트라이드 전구체를 1차 열처리하는 단계;

상기 1차 열처리 단계 후, Hummers' method를 통하여 산화시키는 단계; 및

상기 산화시키는 단계 후, 불활성 분위기에서 2차 열처리하는 단계;를 포함하는 카본 나이트라이드의 제조방법으로부터 제조되는,

카본 나이트라이드를 포함하는 조영제 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 카본 나이트라이드 전구체는 요소(Urea), 싸이오요소(Thiourea), 다이시안 다이아마이드(dicyandiamide), 시안아마이드(cyanamide) 및 멜라민(Melamine) 중 적어도 하나인, 조영제 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 카본 나이트라이드의 크기는 10 내지 1000 nm 인 것을 특징으로 하는, 조영제 조성물.

청구항 4

제1항에 있어서,

상기 카본 나이트라이드의 비표면적은 10 내지 300 m^2/g 인 것을 특징으로 하는, 조영제 조성물.

청구항 5

제 1항에 있어서,

상기 카본 나이트라이드는 s-트리아진 구조를 포함하는 것을 특징으로 하는, 조영제 조성물.

청구항 6

제1항에 있어서,

상기 조영제 조성물은, 질병 진단용 또는 세포 추적용인 것을 특징으로 하는, 조영제 조성물.

청구항 7

제6항에 있어서,

상기 조영제 조성물은 암 또는 암 전이의 진단용 또는 암세포 추적용인, 조영제 조성물.

청구항 8

제6항에 있어서,

형광 영상화(fluorescence imaging), 광학 영상화(optical imaging), 방사선 영상화, 컴퓨터 단층(CT) 촬영 또는 MRI(magnetic resonance imaging) 영상화에 사용되기 위한 것인 조영제 조성물.

청구항 9

카본 나이트라이드 전구체를 준비하는 단계;

상기 카본 나이트라이드 전구체를 1차 열처리하는 단계;

상기 1차 열처리 단계 후, Hummers' method를 통하여 산화시키는 단계; 및

상기 산화시키는 단계 후, 불활성 분위기에서 2차 열처리하는 단계;를 포함하는, 조영제 조성물의 제조방법.

청구항 10

제9항에 있어서,

상기 카본 나이트라이드 전구체는 요소(Urea), 싸이오요소(Thiourea), 다이시안 다이아마이드(dicyandiamide), 시안아마이드(cyanamide) 및 멜라민(Melamine) 중 적어도 하나인, 조영제 조성물의 제조방법.

청구항 11

제9항에 있어서,

상기 카본 나이트라이드의 크기는 10 내지 1000 nm 인 것을 특징으로 하는, 조영제 조성물의 제조방법.

청구항 12

제9항에 있어서,

상기 카본 나이트라이드의 비표면적은 10 내지 300 m^2/g 인 것을 특징으로 하는, 조영제 조성물의 제조방법.

청구항 13

제 9항에 있어서,

상기 카본 나이트라이드는 s-트리아진 구조를 포함하는 것을 특징으로 하는, 조영제 조성물의 제조방법.

청구항 14

질병의 발병 또는 진행상황을 진단하기 위한 정보를 제공하기 위하여, 제1항에 따른 조영제 조성물을 사용하여 조직을 영상화하는 방법.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 고분산성 및 장파장 영역의 형광 빛을 내는 카본 나이트라이드 소재를 포함하는 광음향 조영제 및 이의 제조방법에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0003] 질화탄소(C_3N_4)는 탄소와 질소가 교대로 배열되면서 트라이아진(triazine) 또는 트리-에스-트라이아진(tri-s-triazine) 형태가 2차원으로 펼쳐진 구조를 갖는 물질이며, 고분자 탄소 질화물(g-C_3N_4 또는 p-C_3N_4)은 sp^2 탄소-질소 결합이 층층이 쌓인 구조로 매우 안정한 그래파이트 형태의 구조를 갖는다.

[0004] 이론상 다이아몬드보다 더 큰 강도를 가지는 소재로 알려져 있으며, 다이아몬드를 대체할 물질로서 많은 연구자로부터 연구되어 왔다. 고분자 탄소 질화물은 유기물 중 질소의 함량이 가장 높고(~60 wt%), 높은 열적 안정성(< 700 ℃), 전기 전도성 등의 특성을 나타내는 것이 발견되어, 최근에는 g-C_3N_4가 내마모성이 요구되는 각종 부품류 뿐만 아니라 전자방출재료, 변환 밴드갭 반도체 재료, 촉매 등 그 응용범위가 매우 다양할 수 있음이 보고되고 있다.

[0006] 한편, g-C_3N_4 기반 물질들은 가시광선 영역에서 형광 특성을 보여주는 것으로 알려져 있는데, 기존 연구들은 대부분 3차원 소재들을 이용한 광촉매, 흡착제, 형광 센서 연구이다.

[0007] g-C_3N_4 기반 물질들은 비금속 소재이기 때문에 생체에서 저독성 및 생체적합성(biocompatibility)이 좋을 것이라 생각되어서 본 발명자들은 g-C_3N_4를 화학적 표면 개질법을 이용해 기존 층 내 트리-에스-트라이아진 구조에서 인위적으로 결함을 만들어 고분산성 및 장파장 영역의 형광 빛을 내는 신물질을 제조하였고, 암세포 등에 대한 형광 생체 조영제로 이용하고자 한다.

[0009] 광음향 효과(photoacoustic effect)는 조영제 물질이 빛을 흡수하였을 때, 일부는 빛의 형태로 방출되지만 일부는 열 에너지의 형태로 에너지가 방출되는데, 이 때 발생한 열이 소리를 만들게 되는 현상을 의미한다. 이러한 광음향 효과는 특정 질병(암 세포 등)의 위치에 조영제가 투여된 다음, 외부에서 빛을 조사하였을 때, 이러한 광음향 효과가 발생하게 되고, 이를 외부에서 초음파를 통하여 해당 질병의 진단이 가능하게 된다.

[0011] 조영제란 위, 장관, 혈관, 뇌척수강, 관절강 등에 투입하여 자기공명영상(MRI) 촬영이나 컴퓨터단층(CT) 촬영과 같은 방사선 검사 때에 조직이나 혈관을 잘 볼 수 있도록 각 조직의 X선 흡수차를 인위적으로 크게 함으로써 영상의 대조도를 크게 해주는 약품이다. 따라서 조영제를 사용함으로써 생체 구조나 병변을 주위와 잘 구별할 수 있게 해 주어 진단적 가치를 향상시켜준다.

[0013] 먼저, 생체 내에서 형광 조영제로 쓰기 위해서는 생체 매질에서 발광체들이 안정하게 분산되어 있는 소재의 합성이 중요한데, 기존 3차원 소재들은 분산성이 매우 떨어지기 때문에 조영제로 사용하기에 적합한 분산액 확보가 사실상 불가하였다.

[0015] 최근에 화학 개질법 등을 통해 수십 nm 크기의 g-C_3N_4 양자점(nanodot)의 분산액을 확보하고 세포내에서 in-vitro 이미징 결과를 보고한 예들이 있으나, 역시 낮은 분산성과 낮은 발광 효율 때문에 동물 실험(in vivo)에서 이미징을 성공한 예는 아직까지 전무하다.

[0017] 이러한 배경 하에, 본 발명자들은 탄소-질소가 교대 배열하여 생성되는 g-C_3N_4 합성법 개발을 통해 화학적 표면 개질법을 통하여 분산성이 뛰어난 안정한 분산액을 제조하고, 이 물질에서는 최초로 광음향 효과가 발생하는 현상 및 조영제로 응용이 가능하다는 것을 제시하여 본 발명을 완성하였다.

선행기술문헌

비특허문헌

[0019] (비특허문헌 0001) Biosens Bioelectron. 2017 Mar 15;89(Pt 1):411-416.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0020] 본 발명의 일 측면에서의 목적은,

[0021] 고분산성 및 장파장 영역의 형광 빛을 내는 카본 나이트라이드 소재를 포함하는 조영제 조성물을 제공하는 것이다.

[0023] 본 발명의 다른 측면에서의 목적은,

[0024] 상기 조영제 조성물의 제조방법을 제공하는 것이다.

[0026] 본 발명의 또 다른 측면에서의 목적은,

[0027] 질병의 발병 또는 진행상황을 진단하기 위한 정보를 제공하기 위하여, 상기 조영제 조성물을 사용하여 조직을 영상화하는 방법을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0029] 상기 목적을 달성하기 위하여,

[0030] 본 발명의 일 측면에서,

[0031] 카본 나이트라이드 전구체를 준비하는 단계;

[0032] 상기 카본 나이트라이드 전구체를 1차 열처리하여 벌크 탄소 질화물(CN520-A)을 제조하는 단계;

[0033] 상기 벌크 탄소 질화물(CN520-A)를 Hummers' method를 통하여 산화시켜 탄소 질화물(OCN)을 제조하는 단계; 및

[0034] 탄소 질화물(OCN)을 질소 분위기에서 열처리하여 결함이 있는 탄소 질화물(OCN610-N)을 제조하는 단계;를 포함하는 고분산성 카본 나이트라이드의 제조방법으로부터 제조되는, 고분산성 카본 나이트라이드를 포함하는 조영제 조성물이 제공된다.

[0036] 본 발명의 다른 측면에서,

[0037] 카본 나이트라이드 전구체를 준비하는 단계;

[0038] 상기 카본 나이트라이드 전구체를 1차 열처리하여 벌크 탄소 질화물(CN520-A)을 제조하는 단계;

[0039] 상기 벌크 탄소 질화물(CN520-A)를 Hummers' method를 통하여 산화시켜 탄소 질화물(OCN)을 제조하는 단계; 및

[0040] 탄소 질화물(OCN)을 질소 분위기에서 열처리하여 결함이 있는 탄소 질화물(OCN610-N)을 제조하는 단계;를 포함하는 조영제 조성물의 제조방법이 제공된다.

[0042] 본 발명의 다른 측면에서,

[0043] 질병의 발병 또는 진행상황을 진단하기 위한 정보를 제공하기 위하여, 상기 조영제 조성물을 사용하여 조직을 영상화하는 방법이 제공된다.

발명의 효과

[0045] 본 발명에 따라 제조된 고분산성 및 장파장 영역의 형광 빛을 내는 카본 나이트라이드는 고분산성 및 고안정성의 분산액으로 제조될 수 있어, 시험관 내(In vitro) 형광 이미징 뿐 아니라, 특히, 종래 기술로는 사실상 불가했던 생체 내(In vivo) 형광 이미징을 구현할 수 있는 바, 질병 진단용 조영제, 세포 추적용 조영제 등의 조영제 의약품이 제공될 수 있는 유용한 효과가 있다.

도면의 간단한 설명

[0047] 도 1은 본 발명의 제조방법에 따르는 카본 나이트라이드 제조방법의 개략도이다.

도 2는 카본 나이트라이드의 표면 형상을 주사전자현미경(SEM)으로 관찰한 이미지이다.

도 3은 카본 나이트라이드(Carbon film grid)의 형상을 투과전자현미경(TEM)으로 관찰한 이미지이다.

도 4는 벌크 탄소 질화물(CN), 산화된 탄소 질화물(OCN), OCN580-N, OCN610-N을 분석한 XRD 스펙트럼이다.

도 5는 벌크 탄소 질화물(CN), 산화된 탄소 질화물(OCN), OCN580-N, OCN610-N, OCN630-N, CN-610-N을 분석한 FT-IR 스펙트럼이다.

도 6 및 도 7은 벌크 탄소 질화물(CN), 산화된 탄소 질화물(OCN), OCN580-N, OCN610-N, CN-610-N을 분석한 XPS 스펙트럼이다.

도 8은 벌크 탄소 질화물(CN), 산화된 탄소 질화물(OCN), OCN580-N, OCN610-N, CN-610-N을 분석한 NEXAFS 스펙트럼이다.

도 9는 벌크 탄소 질화물(CN), 산화된 탄소 질화물(OCN), OCN580-N, OCN610-N, OCN630-N, CN-610-N을 분석한 UV-visible 스펙트럼이다.

도 10은 벌크 탄소 질화물(CN), 산화된 탄소 질화물(OCN), OCN580-N, OCN610-N, CN-610-N을 분석한 PL 스펙트럼이다.

도 11은 벌크 탄소 질화물(CN), 산화된 탄소 질화물(OCN), OCN580-N, OCN610-N을 분석한 TR-PL 스펙트럼이다.

도 12는 벌크 탄소 질화물(CN), 산화된 탄소 질화물(OCN), OCN580-N, OCN610-N, OCN630-N, CN-610-N을 분석한 BET 스펙트럼이다.

도 13은 광음향 영상 촬영 기 모식도를 나타낸 그림이다.

도 14는 벌크 탄소 질화물(OCN610-N) 및 ICG를 분석한 UV-visible 스펙트럼이다.

도 15는 산화된 탄소 질화물(OCN610-N), 3 μg/ml의 ICG, 30 μg/ml의 ICG의 조사한 빛의 파장에 따른 광음향적 신호 세기를 분석한 그림이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0048] 이하 본 발명을 상세히 설명한다.

[0050] 본 발명의 일 측면에서,

[0051] 카본 나이트라이드 전구체를 준비하는 단계;

[0052] 상기 카본 나이트라이드 전구체를 1차 열처리하여 벌크 탄소 질화물(CN520-A)을 제조하는 단계;

[0053] 상기 벌크 탄소 질화물(CN520-A)를 Hummers' method를 통하여 산화시켜 탄소 질화물(OCN)을 제조하는 단계; 및

[0054] 상기 탄소 질화물(OCN)을 질소 분위기에서 열처리하여 결함이 있는 탄소 질화물(OCN610-N)을 제조하는 단계;를 포함하는 카본 나이트라이드의 제조방법으로부터 제조되는, 고분산성 및 장파장 영역의 형광 빛을 내는 카본 나이트라이드를 포함하는 조영제 조성물이 제공된다.

[0056] 이에 제한되지 않으나, 본 발명의 상기 조영제 조성물은 포함되는 카본 나이트라이드가 종래 기술로는 달성할 수 없었던 특성인 용매 중에서의 고분산성, 장시간 경과에도 고안정성의 특성을 달성한다.

[0057] 또한 이에 제한되지 않으나, 상기 조영제 조성물은 종래에 일반적으로 우레아를 열처리하여 삼차원 C_3N_4 소재를 제조한 것과는 다른 방법으로 카본 나이트라이드를 제조하는 것으로부터, 상기한 고분산성 및 고안정성의 특성이 달성되는 것으로 이해될 수 있다.

[0059] 본 발명의 일 구체예로서, 상기 본 발명의 그래피틱 카본 나이트라이드의 제조방법은, 다음과 같은 제조방법일 수 있다.

[0061] **그래피틱 카본 나이트라이드의 제조방법**

[0062] 도 1은 본 발명의 제조방법에 따르는 카본 나이트라이드 제조방법의 개략도이다.

[0064] 도 1을 참조하면, 본 발명의 제조방법에 따르는 카본 나이트라이드의 제조방법은 카본 나이트라이드 전구체를 준비하는 단계; 상기 카본 나이트라이드 전구체를 1차 열처리하여 벌크 탄소 질화물(CN520-A)을 제조하는 단계; 상기 벌크 탄소 질화물(CN520-A)를 Hummers' method를 통하여 산화시켜 탄소 질화물(OCN)을 제조하는 단계; 및 상기 탄소 질화물(OCN)을 질소 분위기에서 열처리하여 결함이 있는 탄소 질화물(OCN610-N)을 제조하는 단계;를

포함한다.

[0066] 이하, 본 발명의 실시예를 따르는 카본 나이트라이드의 제조방법을 각 단계별로 상세히 설명한다.

[0068] 먼저, 본 발명의 제조방법에 따르는 카본 나이트라이드의 제조방법의 첫 번째 단계는 카본 나이트라이드 전구체를 준비하는 단계이다.

[0069] 상기 그래피틱 카본 나이트라이드 전구체는 요소(Urea), 싸이오요소(Thiourea), 다이시안 다이아마이드(dicyandiamide), 시안아마이드(cyanamide) 및 멜라민(Melamine) 중 적어도 하나일 수 있고, 바람직하게는 멜라민(Melamine) 일 수 있다.

[0071] 다음으로, 본 발명의 실시예를 따르는 카본 나이트라이드의 제조방법의 두 번째 단계는 상기 그래피틱 카본 나이트라이드 전구체를 1차 열처리하여 벌크 탄소 질화물(CN520-A)을 제조하는 단계이다.

[0072] 상기 1차 열처리 온도는 300 내지 600℃, 350 내지 600℃, 400 내지 600℃, 450 내지 600℃, 또는 500 내지 540℃의 범위에서 수행될 수 있고, 또는 520℃의 온도에서 수행될 수 있다.

[0073] 상기 열처리의 온도가 300℃ 미만이면, 상기 카본 나이트라이드의 전구체가 카본 나이트라이드로 합성되지 않을 수 있다. 상기 열처리의 온도가 650℃를 초과하면 합성된 카본 나이트라이드의 구조가 불안정해질 수 있고, 분해될 수 있다.

[0075] 다음으로, 본 발명의 제조방법에 따르는 카본 나이트라이드의 제조방법의 세 번째 단계는 상기 1차 열처리하여 제조된 벌크 탄소 질화물(CN520-A)에 황산, 과망간산 칼륨을 교반하여 Hummers' method를 통해 벌크 탄소 질화물(CN520-A)을 산화시켜 박리된 탄소 질화물(OCN)을 제조하는 단계이다.

[0077] 허머스 방법(Hummers' method)은 흑연, 질산 나트륨 및 황산 용액에 과망간산 칼륨을 첨가하여 산화 흑연을 생성하는 데 사용할 수 있는 화학 공정이다. 이 기술은 엔지니어링 및 실험실 기술자가 산화 흑연을 대량으로 생산하는 신뢰할 수있는 방법으로 일반적으로 사용된다.

[0079] 다음으로, 본 발명의 제조방법에 따르는 카본 나이트라이드의 제조방법의 네번째 단계는 상기 제조된 산화 및 박리된 탄소 질화물(OCN)을 불활성 분위기에서 2차 열처리하여 산소 작용기 제거 및 결함이 있는 탄소 질화물(OCN610-N)을 제조하는 단계이다. 상기 불활성 분위기는 특별히 제한되는 것은 아니지만, 바람직하게 질소(N_2) 분위기일 수 있다.

[0080] 앞선 단계에서 카본 나이트라이드의 표면에 흡착되어 불순물로 작용할 수 있는 물질의 영향을 배제하기 위해 불활성 분위기에서 열처리하여 제거할 수 있다. 또한, 상기 2차 열처리를 수행함으로써, 본 발명의 제조방법에 따르는 그래피틱 카본 나이트라이드의 표면적이 상승할 수 있다.

[0081] 상기 2차 열처리 온도는 400 내지 600℃, 450 내지 600℃, 500 내지 600℃, 550 내지 620℃, 580 내지 620℃, 또는 600 내지 620℃의 범위에서 수행될 수 있고, 또는 약 610℃의 온도에서 수행될 수 있다.

[0082] 상기 열처리의 온도가 400℃ 미만이면, 불안정한 불순물이 충분히 제거되지 않을 수 있다. 상기 열처리의 온도가 620℃를 초과하면 상기 합성된 그래피틱 카본 나이트라이드의 구조가 불안정해질 수 있고, 분해될 수 있다.

[0084] 본 발명의 제조방법에 따르는 카본 나이트라이드의 제조방법에 의해 준비된 카본 나이트라이드의 비표면적은 10 내지 300, 10 내지 250, 10 내지 200, 10 내지 150, 10 내지 100 m^2/g일 수 있다.

[0085] 상기 카본 나이트라이드의 비표면적은 10 m^2/g 미만인 경우 상기 카본 나이트라이드의 경도 또는 단단한 정도가 상승할 수 있고, 분산을 위한 용액에 분산이 어려울 수 있다. 상기 카본 나이트라이드의 비표면적이 300 m^2/g을 초과하는 경우에는 상기 카본 나이트라이드에 존재하는 미세 세공에 의한 캐필러리 효과에 의해 미세 기공에 흡착된 불순물의 제거가 어려울 수 있다.

[0087] 본 발명의 제조방법에 따르는 카본 나이트라이드의 제조방법에 의해 준비된 카본 나이트라이드 입자의 크기는 10 내지 1000 nm, 10 내지 800 nm, 10 내지 600 nm, 10 내지 500 nm, 10 내지 300 nm, 10 내지 200 nm, 20 내지 150 nm, 20 내지 120 nm, 20 내지 100 nm, 또는 30 내지 60 nm일 수 있고, 또는 20 내지 40 nm일 수 있다.

[0088] 상기 카본 나이트라이드 입자의 크기가 10 nm 미만이면 유기 용매에 분산성이 저하될 수 있고, 상기 카본 나이트라이드의 크기가 1000 nm를 초과하면 상기 카본 나이트라이드의 미세기공에 잔존하는 불순물의 제거가 어려울

수 있다.

[0090] 본 발명의 다른 측면에서,

[0091] 상기 본 발명의 제조방법에 따르는 카본 나이트라이드는 트라이아진 구조를 포함하는 것일 수 있다. 특히, 종래의 제조방법으로는, 트리-에스-트라이아진 구조를 포함하는 카본 나이트라이드가 제조되었던 반면, 본 발명의 제조방법에 따르는 카본 나이트라이드는 트리-에스-트라이아진 구조과 트라이아진 구조를 모두 갖는 것으로 확인되었다.

[0092] 본 발명이 특정 이론으로 제한되는 것은 아니나, 상기와 같이 구조 차이를 나타내는 것은 본 발명의 신규한 제조방법에 따라 도출되는 효과로서 이해될 수 있고, 이로부터 고분산성과 고안정성의 분산액, 즉 본 발명의 조영제 조성물이 제조되는 것으로 이해될 수 있다.

[0094] 본 발명의 또 다른 측면에서,

[0095] 상기 본 발명의 제조방법에 따르는 카본 나이트라이드를 포함하는 조영제 조성물은, 이에 제한되지 않으나, 상기 카본 나이트라이드가 1종 이상의 용매에 분산되어 있는 현탁액 또는 분산액을 포함하는 것으로 이해될 수 있다.

[0096] 여기서, 상기 용매는, 예를 들어, 상기 본 발명의 카본 나이트라이드의 적어도 일부가 분산 또는 현탁될 수 있는 것이라면 특별히 제한되지 않고 본 발명에 포함되고, 다른 예를 들어, 상기 본 발명의 카본 나이트라이드가 상기 용매 중에 분산 또는 현탁되어 조영제로서 기능할 수 있는 용매라면 본 발명에 제한 없이 포함되고, 또 다른 예를 들어, 상기 본 발명의 카본 나이트라이드의 적어도 일부가 분산 또는 현탁되는 것이되, 생체 적합한 용매일 수 있다.

[0097] 본 발명의 일 구체예에서, 상기 용매는 일반적으로 조영제 의약품에 적용될 수 있는 용매일 수 있고, 수성 또는 유성 현탁액의 멸균 주사용 제제에 사용되는 용매일 수 있다. 또한, 선택적으로 적합한 분산제 또는 습윤제(예를 들면, 트윈 80) 및 현탁화제를 더 사용할 수 있다. 멸균 주사용 제제는 또한 무독성의 비경구적으로 허용되는 희석제 또는 용매 중의 멸균 주사용액 또는 현탁액(예를 들면, 1,3-부탄디올 중의 용액)일 수 있다. 사용될 수 있는 비히클 및 용매로는 만니톨, 물, 링거 용액 및 등장성 염화나트륨 용액이 있다. 또한, 멸균 비휘발성 오일이 통상적으로 용매 또는 현탁화 매질로서 사용된다. 이러한 목적을 위해 합성 모노 또는 디글리세라이드를 포함하여 자극성이 적은 비휘발성 오일을 사용할 수 있다.

[0099] 한편, 상기 본 발명의 조영제 조성물은 특히 고분산성 및 고안정성의 카본 나이트라이드의 특성으로부터, 시험관 내 이미징뿐 아니라, 종래 기술로는 달성이 어려웠던, 생체 내(In-vivo) 이미징이 구현 가능한 효과가 달성된다.

[0100] 이에, 본 발명 조영제 조성물은, 조영제 의약품으로서 사용될수 있고, 예를 들어, 질병 진단용 또는 세포 추적용으로 사용될 수 있다.

[0101] 여기서, 특별히 제한되지는 않으나, 예를 들어, 암 또는 암 전이의 진단용으로 본 발명의 조영제 조성물을 사용할 수 있다.

[0102] 또한, 특별히 제한되지는 않으나, 예를 들어, 암세포 추적용 조영제 조성물로서 사용될 수 있다.

[0104] 한편, 상기 조영제 조성물은 형광 영상화(fluorescence imaging), 광학 영상화(optical imaging), 방사선 영상화, 컴퓨터 단층(CT) 촬영 또는 MRI(magnetic resonance imaging) 영상화에 사용되기 위한 것일 수 있다.

[0106] 일 측면에서, 상기 본 발명의 조영제 조성물은, 특히 본 발명 제조방법에 따르는 카본 나이트라이드를 통하여 이미징되는 것이되, 선택적으로, 무기 또는 유기 염료(dye), 형광체, 동위원소, 자성체, 상자성 나노입자 또는 초상자성 나노입자로 표시된 것일 수도 있다.

[0107] 예를 들어, 상기 무기 또는 유기 염료는 기존의 염료를 포함하여 형광 또는 광학 영상, 컴퓨터 단층(CT) 촬영과 같은 방사선 영상화, 초음파 또는 MRI와 같은 비방사선 영상화에 있어서 영상의 대조도를 증가시키기 위하여 사용되는 것으로서, 예컨대 디아트리조에이트(Diatrizoate), 메트리조에이트(Metrizoate), 이옥사글레이트(Ioxaglate), 이오파미돌(Iopamidol), 이오헥솔(Iohexol), 이옥실란(Ioxilan), 이오프로미드(Iopromide), 이오딕산올(Iodixanol), 바륨 설페이트와 같은 바륨계 염료, 가스트로그라핀(Gastrografin)®등을 사용할 수 있으나, 반드시 이에 제한되는 것은 아니다.

[0108] 상기 형광 표지자로는, 예컨대 인도시아닌, NIR(근적외선) 염료, 플루오레신(fluorescein), 피코에리트린(phycoerythrin), 로다민, 리사민(lissamine), Cy3, Cy5(Pharmacia), 발색단, 화학발광단, 매스 표지, 전자밀집입자, 효소(알칼린 포스파타아제 또는 호스래디쉬 퍼옥시다아제) 등을 사용할 수 있으나, 반드시 이에 한정되는 것은 아니다.

[0109] 한편, 방사성 동위 원소로 표지될 수도 있는데, 사용 가능한 방사성 동위 원소의 예는 ^{10}C, ^{11}C, ^{12}N, ^{13}N가 있다.

[0111] 본 발명의 조영제 조성물은 약제학적으로 허용되는 담체를 포함할 수 있고, 상기 약제학적으로 허용되는 담체는 제제시에 통상적으로 이용되는 것으로서, 락토스, 덱스트로스, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 전분, 아카시아 고무, 인산 칼슘, 알기네이트, 젤라틴, 규산 칼슘, 미세결정성셀룰로스, 폴리비닐피롤리돈, 셀룰로스, 물, 시럽, 메틸 셀룰로스, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 활석, 스테아르산 마그네슘 및 미네랄 오일 등을 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다. 적합한 약제학적으로 허용되는 담체 및 제제는 Remington's Pharmaceutical Sciences (19th ed., 1995)에 상세히 기재되어 있다.

[0112] 본 발명의 조영제 조성물은 비경구 또는 경구 방식으로 투여될 수 있다. 비경구 투여를 하는 경우, 정맥내 주입, 근육내 주입, 관절내(intra-articular) 주입, 활액내(intra-synovial) 주입, 수망강내 주입, 간내(intrahepatic) 주입, 병변내(intralesional) 주입 또는 두개강내(intracranial) 주입 등으로 투여할 수 있다.

[0113] 본 발명의 조영제 조성물의 적합한 투여량은 제제화 방법, 투여 방식, 환자의 연령, 체중, 성, 병적 상태, 음식, 투여 시간, 투여 경로, 배설 속도 및 반응 감응성과 같은 요인들에 의해 다양하게 처방될 수 있다.

[0115] 본 발명의 또 다른 측면에서,

[0116] 질병의 발병 또는 진행상황을 진단하기 위한 정보를 제공하기 위하여, 제1항에 따른 조영제 조성물을 사용하여 조직을 영상화하는 방법이 제공된다.

[0117] 본 발명의 조영제 조성물은 고분산성과 고안정성을 가지는 장파장 영역의 형광 빛을 내는 본 발명 제조방법에 따르는 그래피틱 카본 나이트라이드를 포함하기 때문에, 시험관내 이미징뿐 아니라, 특히 종래 그래피틱 카본 나이트라이드로는 불가하였던, 인 비보(in vivo) 이미징, 예를 들어 생체 조직 이미징에 유용하게 사용될 수 있다.

[0119] 본 발명의 일 측면에서, 본 발명에 따라 제조된 카본 나이트라이드는 기존 카본 나이트라이드보다 표면적이 증가하는 것으로 확인되었다.

[0120] 또한, 본 발명의 카본 나이트라이드는 XPS 분석을 이용해 크기(grain size)가 줄어들었고, 단위 구조의 개수가 작아지면 그만큼 에지(edge)의 NH_x 작용기의 수가 커지기 때문에 분산성 또한 증가한 것으로 볼 수 있다.

[0122] 이하 본 발명을 제조예, 실시예, 및 실험예를 통하여 상세히 설명한다. 단, 하기 제조예, 실시예, 및 실험예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명이 하기에 의해 한정되는 것은 아니다.

[0124] **<제조예> 카본 나이트라이드(OCN610-N)의 제조**

[0125] 1. 벌크 탄소 질화물(CN520-A)의 제조

[0126] 석영 도가니에 멜라민(Melamine) 5 g을 배치하였다. 상기 멜라민이 배치된 석영 도가니를 관형 전기로의 중앙에 넣고, 공기 가스 분위기에서 520℃까지 3℃/min의 온도로 승온하고 2시간 동안 유지하였다. 열처리 과정이 끝나면, 황색의 고체 생성물을 막자사발에 넣고 곱게 갈아 벌크 탄소 질화물(CN520-A)을 제조하였다.

[0128] 2. 산화된 탄소 질화물(OCN)의 제조

[0129] 삼각 플라스크에 상기 제조된 벌크 탄소 질화물(CN520-A) 1.5 g을 넣고, 핫 플레이트 위에 배치하였다. 상기 삼각 플라스크에 황산(H_2SO_4) 75 ml을 넣고 교반하였다. 얼음 바스를 핫 플레이트 위에 설치한 후, 상기 삼각 플라스크에 과망간산 칼륨(potassium permanganate) 3.5 g을 천천히 넣었다. 혼합액이 든 삼각 플라스크를 물 바스에 넣고, 35℃에서 2시간 동안 교반하고, 반응이 끝나면 얼음 바스를 핫 플레이트 위에 설치한 후 삼각 플라스크를 넣고 증류수를 연기가 안 날 때까지 천천히 넣어주었다. 산화반응의 종결을 위해 얼음 바스 안에서 과산화수소를 혼합액이 흰 색으로 변할 때까지 넣어준 후, 12시간 동안 교반하였다. 반응이 끝나면 0.2 μm 기공 크기의 멤브레인 필터를 이용해 여과한 후, pH 7이 될 때까지 여러 번 증류수로 헹구고, 헹군 샘플을 진공 펌프기에 넣어 12시간 동안 건조시켜 산화된 탄소 질화물(OCN)을 제조하였다.

[0131] 3. 결함이 있는 탄소 질화물(OCN610-N)의 제조

[0132] 석영 도가니에 상기 제조한 산화된 탄소 질화물(OCN) 500 mg을 배치하였다. 상기 산화된 탄소 질화물(OCN)이 배치된 석영 도가니를 관형 전기로의 중앙에 넣고, 질소 가스 분위기에서 610℃까지 5℃/min의 온도로 승온하고 2시간 동안 유지하였다. 열처리 과정이 끝나면, 붉은 황색의 고체 생성물을 막자사발에 넣고 곱게 갈아 결함이 있는 탄소 질화물(OCN610-N)을 제조하였다.

[0134] **<실험예 1> 카본 나이트라이드 분석**

[0135] (1) 주사전자현미경(SEM) 관찰

[0136] 상기 제조예에 의해 준비된 카본 나이트라이드의 표면 형상을 주사전자현미경으로 관찰하였고, 그 결과를 도 2에 나타내었다.

[0138] 도 2를 참조하면, 제조예에 의해 준비된 카본 나이트라이드는 많은 숫자의 작은 기공(다공성)이 형성된 것을 알 수 있고, 다층 구조의 카본 나이트라이드가 적층된 형태인 것을 알 수 있다.

[0139] 또한, 벌크 탄소 질화물(CN), 산화된 탄소 질화물(OCN), 결함이 있는 탄소 질화물(OCN580-N, OCN610-N)로 반응이 진행될수록 많은 숫자의 작은 기공이 형성된 것도 알 수 있다.

[0141] (2) 투과전자현미경(TEM) 관찰

[0142] 상기 제조예에 의해 준비된 카본 나이트라이드의 상을 투과전자현미경으로 관찰하였고, 그 결과를 도 3에 나타내었다.

[0144] 도 3을 참조하면,

[0145] 제조예에 의해 준비된 카본 나이트라이드는 벌크 탄소 질화물(CN), 산화된 탄소 질화물(OCN), 결함이 있는 탄소 질화물(OCN580-N, OCN610-N)로 반응이 진행될수록 입자의 크기가 감소하여, OCN610-N에서는 입자의 크기가 약 0.5 ㎛로 측정되었다.

[0147] (3) XRD 분석

[0148] 도 4는 벌크 탄소 질화물(CN), 산화된 탄소 질화물(OCN), OCN580-N, OCN610-N을 분석한 XRD 스펙트럼이다.

[0150] (4) FT-IR 분석

[0151] 도 5는 벌크 탄소 질화물(CN), 산화된 탄소 질화물(OCN), OCN580-N, OCN610-N, OCN630-N, CN-610-N을 분석한 FT-IR 스펙트럼이다.

[0153] (5) XPS 분석

[0154] 도 6 내지 도 7 및 표 1 내지 표 3은 벌크 탄소 질화물(CN), 산화된 탄소 질화물(OCN), OCN580-N, OCN610-N, CN-610-N을 분석한 XPS 스펙트럼이다.

표 1

[0156]

Sample	C(at %)	N(at %)	O(at %)	C/O	C/N
CN	48.5	49.3	2.2	22.0	0.98
OCN	39.9	47.6	12.5	3.2	0.84
OCN580-N	46.3	52.5	1.21	38.3	0.88
OCN610-N	44.4	54.7	0.98	45.3	0.81
CN-610-N	46.5	50.7	2.73	17.0	0.92

표 2

[0158]

Sample	Total C content(at %)	C-C/C=C	C-NH_x	N-C=N	C=O
CN	48.5	20.1	4.34	73.2	2.32
OCN	39.9	7.74	4.49	49.4	38.4
OCN580-N	46.3	10.8	4.16	79.1	5.95

OCN610-N	44.4	2.91	5.33	83.5	8.29
OCN630-N	46.3	10.9	6.48	78.2	4.39
CN-610-N	46.5	15.3	6.11	73.9	4.67

표 3

[0160]

Sample	Total N content(at %)	C=N-C (398.8 eV)	$N-(C)_3$ (400.1 eV)	$-NH_X$ (401.4 eV)	NO_2-terminal groups
CN	49.3	69.3	24.6	3.57	2.53
OCN	47.6	45.7	25.9	23.2	5.13
OCN580-N	52.5	69.8	25.1	1.94	3.17
OCN610-N	54.7	66.5	26.4	4.13	2.97
CN-610-N	50.7	68.7	56.4	2.92	1.96

[0162] (6) X선 흡수 미세구조 스펙트럼(NEXAFS) 분석

[0163] 도 8은 벌크 탄소 질화물(CN), 산화된 탄소 질화물(OCN), OCN580-N, OCN610-N, CN-610-N을 분석한 NEXAFS 스펙트럼이다.

[0165] (7) UV-visible 분석

[0166] 도 9는 벌크 탄소 질화물(CN), 산화된 탄소 질화물(OCN), OCN580-N, OCN610-N, OCN630-N, CN-610-N을 분석한 UV-visible 스펙트럼이다.

[0168] 도 9를 참조하면,

[0169] 본 발명의 카본 나이트라이드는 200 내지 400 nm의 파장에서 높은 흡광도를 나타내는 것을 확인하였다.

[0171] (8) 형광(PL) 분석

[0172] 도 10은 벌크 탄소 질화물(CN), 산화된 탄소 질화물(OCN), OCN580-N, OCN610-N, CN-610-N을 분석한 PL 스펙트럼이다.

[0174] 도 10을 참조하면,

[0175] 본 발명의 카본 나이트라이드는 400 내지 550 nm의 파장에서 main peak가 나타나는 것을 확인하였다.

[0177] (9) TR-PL 분석

[0178] 도 11 및 표 4는 벌크 탄소 질화물(CN), 산화된 탄소 질화물(OCN), OCN580-N, OCN610-N을 분석한 TR-PL 스펙트럼이다. 이 때, CN은 478 nm, OCN은 414 nm, OCN580-N및 OCN610-N은 530 nm의 파장으로 여기시켜서 측정한 결과이다.

표 4

[0180]

Samples	CN520-A	OCN	OCN580-N	OCN610-N
τ_1(ns)	21.804	39.680	27.202	40.660
I_1(%)	16.160	20.050	31.380	30.880
τ_2(ns)	2.292	11.804	3.241	7.696
I_2(%)	58.430	30.770	45.510	25.290
τ_3(ns)	0.000	3.410	0.540	1.615
I_3(%)	0.000	37.420	23.110	29.820
τ_4(ns)	0.773	0.552	0.000	0.344
I_4(%)	25.410	11.750	0.000	14.010
τ_{avg}(ns)	5.059	12.929	10.136	15.032

[0182] (10) BET 분석

[0183] 도 12 및 표 5는 벌크 탄소 질화물(CN), 산화된 탄소 질화물(OCN), OCN580-N, OCN610-N, OCN630-N, CN-610-N을 분석한 BET 스펙트럼이다.

표 5

[0185]

Sample	Surface area (m^2/g)	Absorption-Pore diameter (nm)	Desorption-Pore diameter (nm)
CN	7.8	338.1	195.1
OCN	91.8	283.8	258.2
OCN580-N	69.2	251.6	238.9
OCN610-N	86.5	253.0	238.3
OCN630-N	28.8	398.9	342.0
CN-610-N	23.9	254.4	181.8

[0187] 도 12 및 표 5를 참조하면,

[0188] OCN, OCN610-N, OCN580-N, CN 샘플 순으로 표면적이 증가하는 것을 확인하였고, 흡탈착 등온선에서 흡착된 양이 표면적 증가 경향과 마찬가지로 증가하는 것으로 보아, 본 물질을 porous한 촉매인 것을 확인하였다.

[0190] 위와 같은 실험 결과를 통하여,

[0191] 본 발명의 카본 나이트라이드는 조영제의 발광 물질로 사용될 수 있음을 확인하였다.

[0193] **<실험예 2> 광음향 조영제의 성능 확인**

[0194] (1) 실험 방법

[0195] 제작된 C-N 닉토젠을 농도가 0.02 mg/ml이 되도록 DW로 희석한다. 내경이 0.5 인치인 tygon tube에 C-N 닉토젠, 3 μg/ml의 ICG(용매: DW), 30 μg/ml의 ICG를 100 μl 가량 주입하고, 450, 550, 620 nm의 레이저(pulse: 7 ns, 10 Hz, energy: 10 mJ/cm^2)를 조사하면서 발생하는 광음향 신호를 L7-4 초음파 변환자를 사용하여 영상화하였다.

[0197] 도 13은 광음향 영상 촬영 기 모식도를 나타낸 그림이다.

[0199] (2) UV-visible 분석

[0200] 도 14는 벌크 탄소 질화물(OCN610-N) 및 ICG를 분석한 UV-visible 스펙트럼이다.

[0202] 도 14를 참조하면,

[0203] 벌크 탄소 질화물(OCN610-N)은 300 내지 400 nm의 파장에서 높은 흡광도를 나타내고, ICG는 750 내지 850 nm의 파장에서 높은 흡광도를 나타내는 것을 확인하였다. 다만, 두 물질 모두에서 400 내지 700 nm의 파장에서는 흡광도가 상대적으로 낮은 것을 확인하였다.

[0205] (3) 광음향 신호 세기 분석

[0206] 표 6은 벌크 탄소 질화물(OCN610-N), 3 μg/ml의 ICG, 30 μg/ml의 ICG의 조사한 빛의 파장에 따른 광음향적 신호 세기를 분석한 표이다.

표 6

[0208]

Wavelength	OCN610-N 20 μg/ml	ICG 3 μg/ml	ICG 30 μg/ml
450 nm	191.73	11	47.39
550 nm	149.51	4.29	26.81
620 nm	133.75	7.78	46.8

[0210] 표 6을 참조하면,

[0211] 광음향 물질로 알려진 ICG와 광음향 신호를 비교하였을 때, OCN610-N에서 상대적으로 강한 세기의 신호가 발생함을 알 수 있었고,

[0212] 보다 구체적으로,

[0213] 450 nm의 빛을 조사한 경우, 3 μg/ml의 ICG 대비 약 17.4배, 30 μg/ml의 ICG 대비 약 4배 강한 세기의 신호가 발생하였고,

[0214] 550 nm의 빛을 조사한 경우, 3 μg/ml의 ICG 대비 약 39.5배, 30 μg/ml의 ICG 대비 약 5.6배 강한 세기의 신호가 발생하였으며,

[0215] 620 nm의 빛을 조사한 경우, 3 μg/ml의 ICG 대비 약 17.2배, 30 μg/ml의 ICG 대비 약 2.9배 강한 세기의 신호가 발생하였음을 확인하였다.

[0217] (4) 광음향 영상 촬영 결과

[0218] 도 15는 산화된 탄소 질화물(OCN610-N), 3 μg/ml의 ICG, 30 μg/ml의 ICG의 조사한 빛의 파장에 따른 광음향적 신호 세기를 분석한 그림이다.

[0220] 도 15를 참조하면,

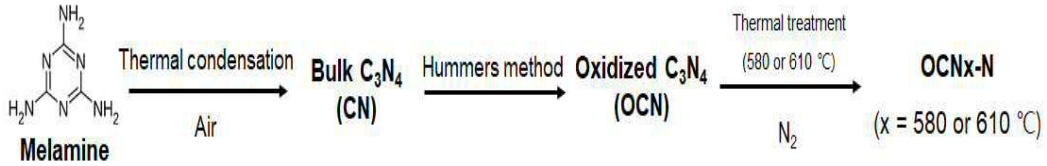
[0221] 광음향 물질로 알려진 ICG와 광음향 신호를 비교하였을 때, C-N 닉토젠에서 광음향 신호가 발생하여 영상화가 가능함을 알 수 있다. 또한, 각 파장에서의 흡광량에 따라 광음향 신호의 세기 차이가 발생하는 것을 확인하였다.

[0223] 상기 표 6과 도 15를 종합한 결과,

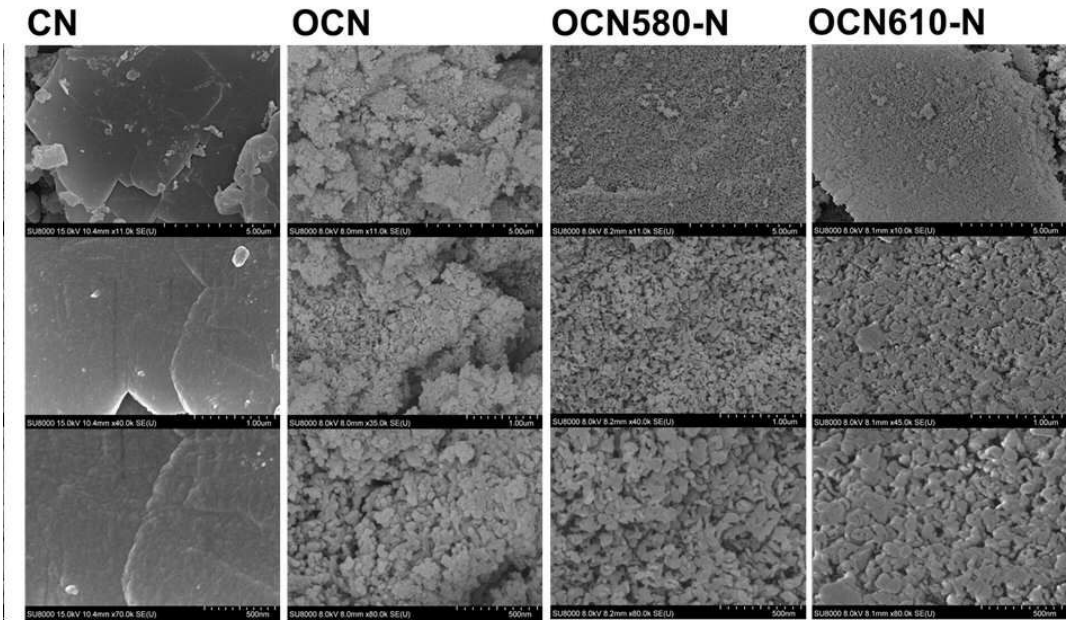
[0224] 450 nm, 550 nm, 620 nm의 빛을 조사한 경우, 종래 광음향 물질로 알려진 ICG와 비교하여 강한 세기의 광음향 신호가 발생하여 이를 영상화 할 수 있음을 확인하였다.

도면

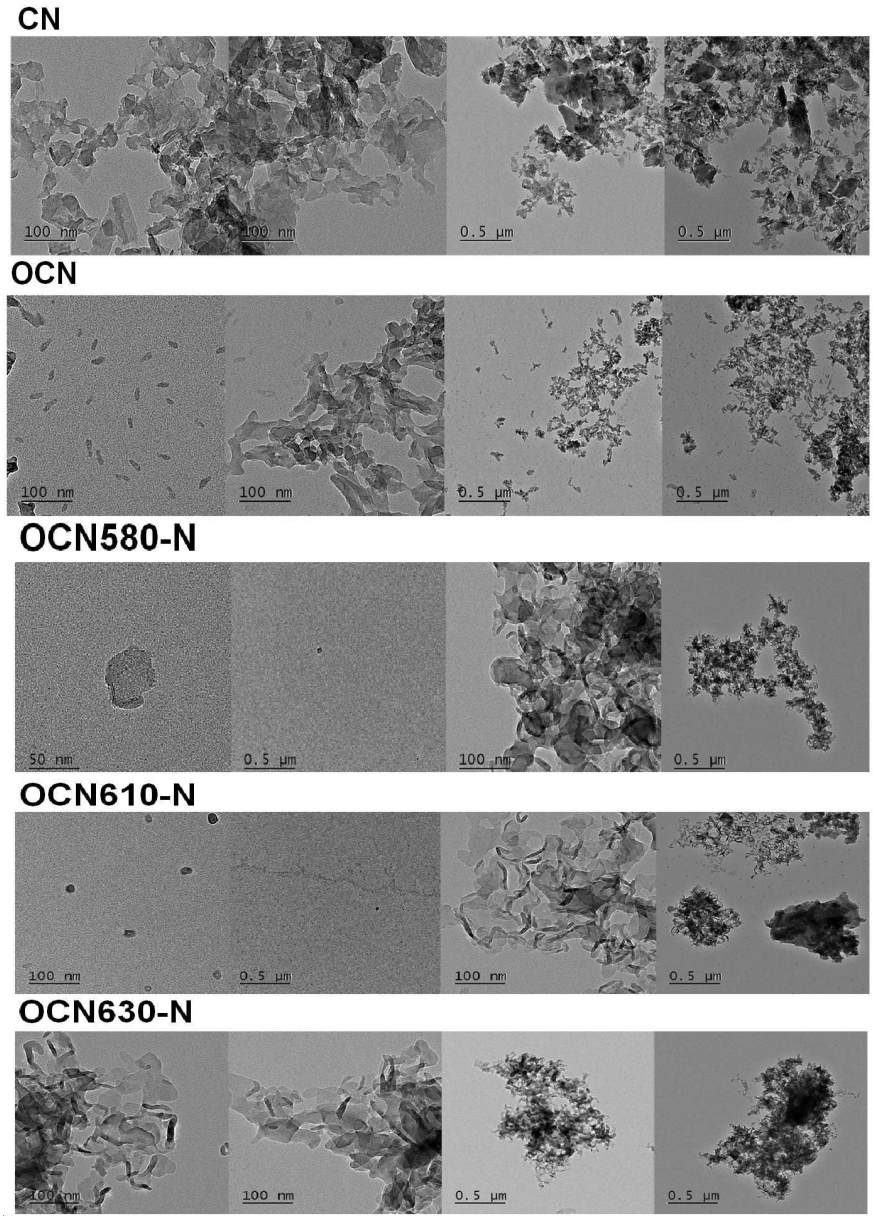
도면1



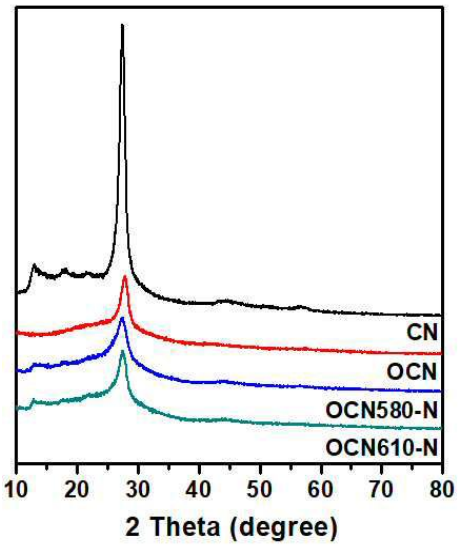
도면2



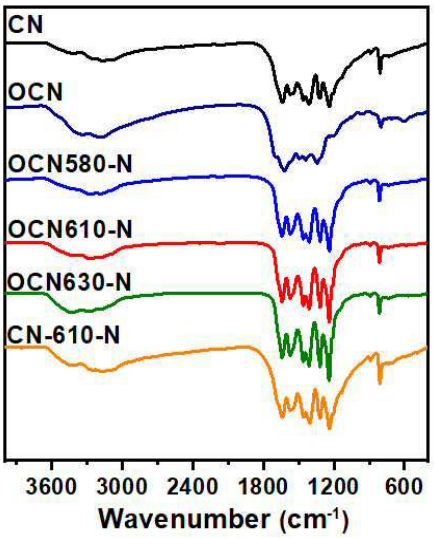
도면3


CN
100 nm
100 nm
0.5 μm
0.5 μm
OCN
100 nm
100 nm
0.5 μm
0.5 μm
OCN580-N
50 nm
0.5 μm
100 nm
0.5 μm
OCN610-N
100 nm
0.5 μm
100 nm
0.5 μm
OCN630-N
100 nm
100 nm
0.5 μm
0.5 μm

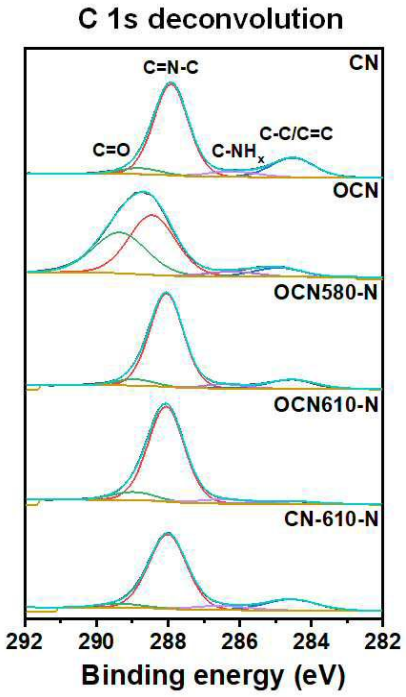
도면4


CN
OCN
OCN580-N
OCN610-N
10
20
30
40
50
60
70
80
2 Theta (degree)

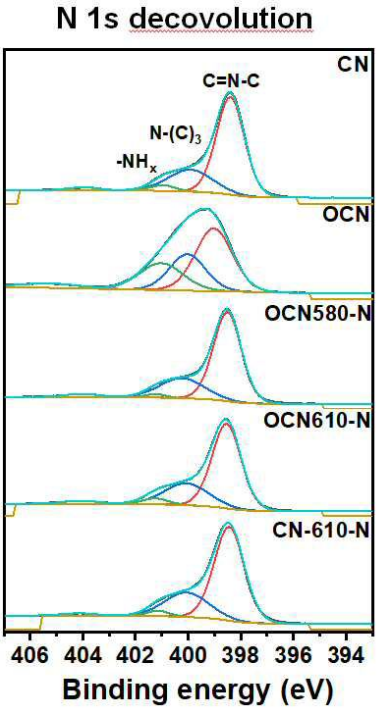
도면5


CN
OCN
OCN580-N
OCN610-N
OCN630-N
CN-610-N
3600
3000
2400
1800
1200
600
Wavenumber (cm-1)

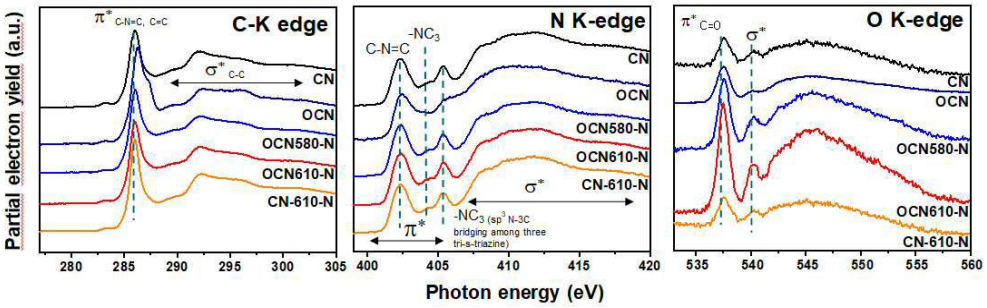
도면6


C 1s deconvolution
C=N-C
CN
C=O
C-NHx
C-C/C=C
OCN
OCN580-N
OCN610-N
CN-610-N
292
290
288
286
284
282
Binding energy (eV)

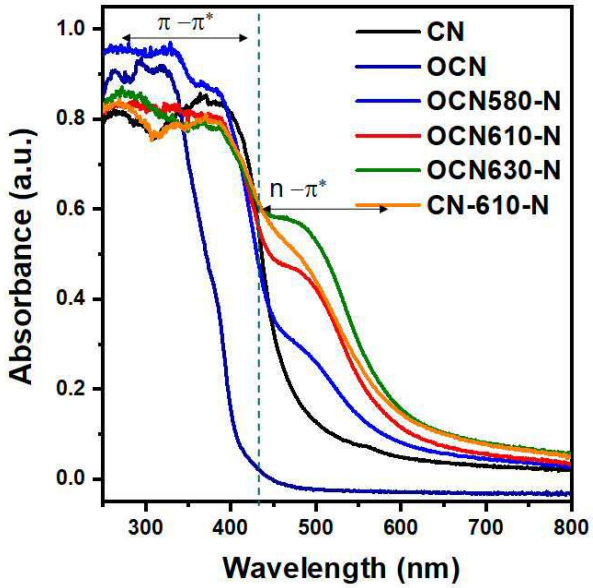
도면7


N 1s decovolution
CN
C=N-C
N-(C)3
-NHx
OCN
OCN580-N
OCN610-N
CN-610-N
406
404
402
400
398
396
394
Binding energy (eV)

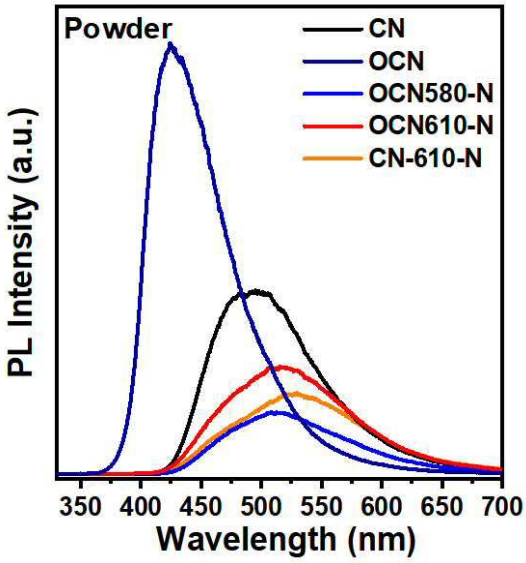
도면8


Partial electron yield (a.u.)
C-K edge
N K-edge
O K-edge
CN
OCN
OCN580-N
OCN610-N
CN-610-N
Photon energy (eV)

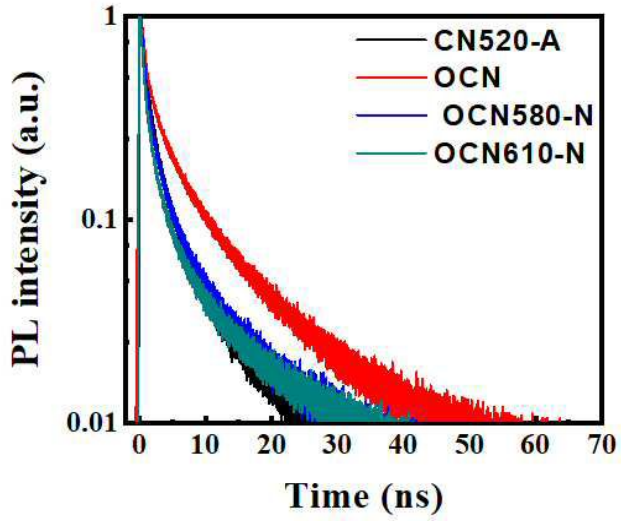
도면9


Absorbance (a.u.)
Wavelength (nm)
CN
OCN
OCN580-N
OCN610-N
OCN630-N
CN-610-N

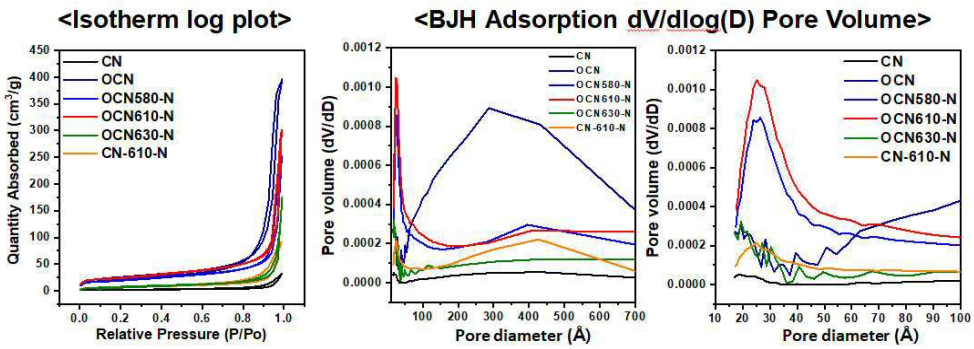
도면10


Powder
PL Intensity (a.u.)
Wavelength (nm)
CN
OCN
OCN580-N
OCN610-N
CN-610-N

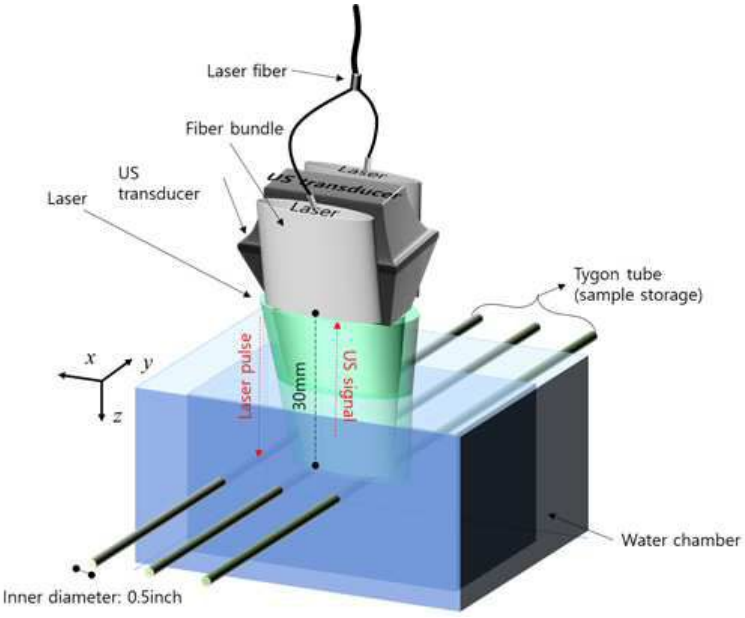
도면11



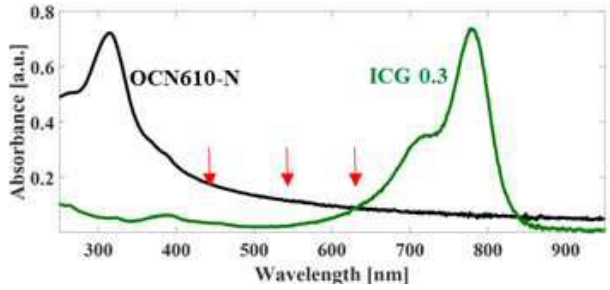
도면12



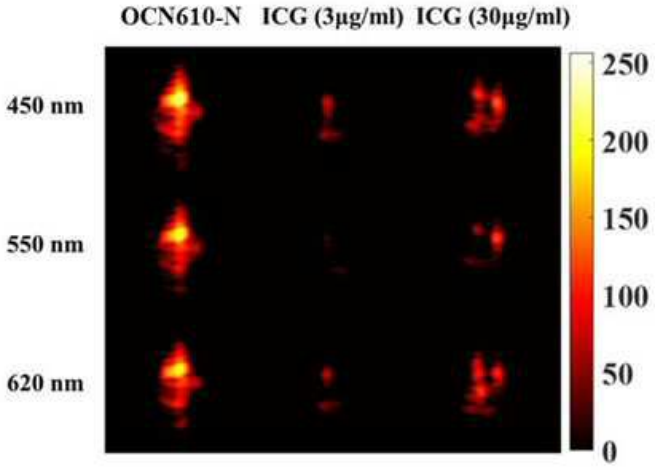
도면13



도면14


0.8
0.6
0.4
0.2
Absorbance [a.u.]
OCN610-N
ICG 0.3
300
400
500
600
700
800
900
Wavelength [nm]

도면15


OCN610-N
ICG (3μg/ml)
ICG (30μg/ml)
450 nm
550 nm
620 nm
250
200
150
100
50
0