(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2021-0125935
(43) 공개일자 2021년10월19일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 41/00 (2020.01) *A61P 35/00* (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 41/0052 (2013.01)
A61K 41/0057 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2021-0045753
(22) 출원일자 2021년04월08일
심사청구일자 2021년04월08일
(30) 우선권주장
1020200043432 2020년04월09일 대한민국(KR)

(71) 출원인
이화여자대학교 산학협력단
서울특별시 서대문구 이화여대길 52 (대현동, 이화여자대학교)
한국과학기술연구원
서울특별시 성북구 화랑로14길 5 (하월곡동)
(72) 발명자
김동하
서울특별시 마포구 서강로9길 45, 101동 703호 (창전동, 태영아파트)
유수빈
서울특별시 서대문구 연세로2다길 18 (창천동)
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
특허법인엠에이피에스

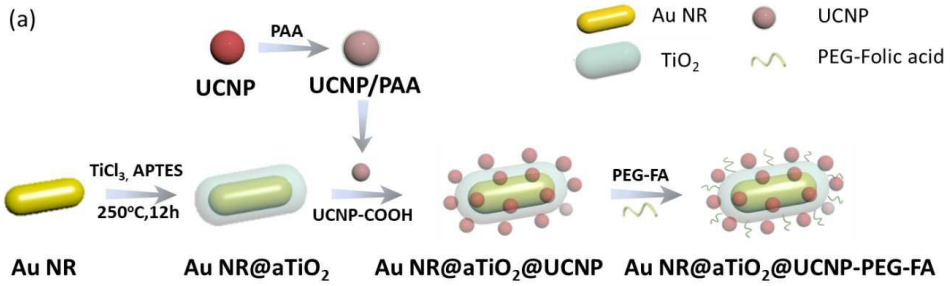
전체 청구항 수 : 총 16 항

(54) 발명의 명칭 **상향변환 나노입자를 포함하는 이방성 플라즈모닉 나노구조체를 포함하는 약학적 조성물, 및 이의 제조 방법**

(57) 요 약

본원은 상향변환 나노입자를 포함하는 이방성 플라즈모닉 나노구조체를 포함하는 약학적 조성물, 이의 제조 방법, 및 이를 이용한 암예방 또는 암치료 방법에 관한 것이다.

대 표 도 - 도1



(52) CPC특허분류
A61P 35/00 (2018.01)
(72) 발명자
김세훈
서울특별시 성북구 오패산로 90, 118동 402호 (하월곡동, 래미안월곡아파트)
장도현
서울특별시 성북구 화랑로 94-12, 302호 (하월곡동)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 1711115682
과제번호 2020R1A2C3003958
부처명 과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명 한국연구재단
연구사업명 개인기초연구(미래부)
연구과제명 융복합 키랄 플라즈모닉스 기반 새로운 패러다임의 빛-물질 상호작용 시스템 개발 연구
기 여 율 4/10
과제수행기관명 이화여자대학교
연구기간 2021.03.01 ~ 2022.02.28
이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 1345330707
과제번호 2020R1A6C101B194
부처명 교육부
과제관리(전문)기관명 한국기초과학지원연구원
연구사업명 이공학학술연구기반구축
연구과제명 핵심연구지원센터 조성 지원 과제(나노바이오·에너지 소재 센터)
기 여 율 2/10
과제수행기관명 이화여자대학교
연구기간 2021.03.01 ~ 2022.02.28
이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 1711103674
과제번호 2017M3A9D8029942
부처명 과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명 한국연구재단
연구사업명 바이오.의료기술개발(R&D)
연구과제명 산화·환원 다중 활성화학종 감응 전기화학발광 나노센서 개발 및 질환 특이적 센싱 패턴 분석
기 여 율 4/10
과제수행기관명 한국과학기술연구원
연구기간 2020.01.01 ~ 2020.12.31

명 세 서

청구범위

청구항 1

금속 나노입자 및 무기 광감응제를 포함하는 코어-쉘 나노입자; 및 상기 코어-쉘 나노입자의 표면 상에 배치된 상향변환 나노입자를 포함하는 이방성 플라즈모닉 구조체

를 포함하는, 암예방 또는 암치료용 약학적 조성물로서,

상기 코어-쉘 나노입자는 상기 금속 나노입자를 포함하는 코어를 상기 무기 광감응제를 포함하는 쉘이 둘러싸는 구조인,

암예방 또는 암치료용 약학적 조성물.

청구항 2

제 1 항에 있어서,

상기 무기 광감응제는 아나타제 이산화티타늄(anatase TiO_2), 산화구리(Ⅰ)(Cu_2O), 산화아연(ZnO), 바나듐산비스무트($BiVO_4$), 산화주석(SnO_2), 질산화탄소(C_3N_4) 및 삼산화텅스텐(WO_3)중에서 선택되는 하나 이상을 포함하는 것인, 암예방 또는 암치료용 약학적 조성물.

청구항 3

제 1 항에 있어서,

상기 무기 광감응제를 포함하는 쉘의 두께는 7 nm 내지 35 nm인 것인, 암예방 또는 암치료용 약학적 조성물.

청구항 4

제 1 항에 있어서,

상기 금속 나노입자는 Au, Ag, Pt, Pd, Rh, Re 및 Rb 중에서 선택되는 하나 이상을 포함하는 것인, 암예방 또는 암치료용 약학적 조성물.

청구항 5

제 1 항에 있어서,

상기 상향변환 나노입자는 $NaYF_4$, $NaGdF_4$, $KGdF_4$, YOF, $BaLaF_5$, LaF_3, $NaLuF_4$, 및 SrF_2 중에서 선택되는 하나 이상을 포함하는 것인, 암예방 또는 암치료용 약학적 조성물.

청구항 6

제 1 항에 있어서,

상기 상향변환 나노입자는 도펀트로서 Yb^{3+}, Tm^{3+}, Ln^{3+}, Er^{3+} 및 Nd^{3+} 중에서 선택되는 하나 이상을 포함하는 것인, 암예방 또는 암치료용 약학적 조성물.

청구항 7

제 1 항에 있어서,

상기 상향변환 나노입자는 코어-쉘 구조로서,

코어-상향변환 나노입자를 쉘-상향변환 나노입자가 둘러싸는 구조인 것인, 암예방 또는 암치료용 약학적 조성물.

청구항 8

제 1 항에 있어서,

상기 상향변화 나노입자의 크기는 10 nm 내지 40 nm인 것인, 암예방 또는 암치료용 약학적 조성물.

청구항 9

제 1 항에 있어서,

상기 이방성 플라즈모닉 구조체는 상기 코어-쉘 나노입자의 표면 상에 생체 친화 물질을 추가 포함하는 것인, 암예방 또는 암치료용 약학적 조성물.

청구항 10

제 1 항에 있어서,

상기 이방성 플라즈모닉 구조체는 상기 무기 광감응제가 일중항산소 및 수산화라디칼을 생성함으로써 광역학 치료 효과를 나타내는 것인, 암예방 또는 암치료용 약학적 조성물.

청구항 11

제 1 항에 있어서,

상기 이방성 플라즈모닉 구조체는 상기 금속 나노입자의 국소화된 표면 플라즈몬 공명 효과에 의해 열전자가 생성되어 광열 치료 효과를 나타내는 것인, 암예방 또는 암치료용 약학적 조성물.

청구항 12

금속 나노입자를 준비하는 단계;

상기 금속 나노입자를 무기 광감응제로 코팅하여 코어-쉘 나노입자를 준비하는 단계;

상향변환 나노입자를 준비하는 단계; 및

상기 코어-쉘 나노입자의 표면에 상기 상향변환 나노입자를 배치하여 이방성 플라즈모닉 구조체를 수득하는 단계

를 포함하는,

제 1 항에 따른 암예방 또는 암치료용 약학적 조성물의 제조 방법.

청구항 13

제 12 항에 있어서,

상기 코어-쉘 나노입자를 준비하는 단계는 상기 금속 나노입자 및 상기 무기 광감응제의 전구체를 열수 처리하여 수행되는 것인, 암예방 또는 암치료용 약학적 조성물의 제조 방법.

청구항 14

제 13 항에 있어서,

상기 열수 처리는 200℃ 내지 300℃ 온도 범위에서 수행되는 것인, 암예방 또는 암치료용 약학적 조성물의 제조 방법.

청구항 15

제 12 항에 있어서,

상기 암예방 또는 암치료용 약학적 조성물의 제조 방법은,

상기 코어-쉘 나노입자의 표면에 친수성 화합물을 배치하는 단계를 추가 포함하는 것인, 암예방 또는 암치료용 약학적 조성물의 제조 방법.

청구항 16

제 1 항에 따른 암예방 또는 암치료용 약학적 조성물을 대상 개체에 투여하고,

근적외선을 조사하는 것을 포함하는,

암예방 또는 암치료 방법.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본원은 상향변환 나노입자를 포함하는 이방성 플라즈모닉 나노구조체를 포함하는 약학적 조성물, 이의 제조 방법, 및 이를 이용한 암예방 또는 암치료 방법에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 암이란 조직 내에서 제한없이 증식하는 세포로 구성된 종양(tumor)을 형성하는 질병으로, 인접한 정상조직이나 기관을 파괴시키며 전이되는 질환군을 말한다. 현재 다양한 항암 임상 치료법이 시도되고 있지만 심한 부작용도 함께 존재한다. 절제 등의 수술법은 암이 빠르게 전이될 위험이 있고, 방사선 치료는 방사능 중독과 이차적인 암의 발달을 야기시킬 수 있다. 화학요법(chemotherapy)은 약물의 낮은 선택성과 독성이 부작용으로 이어질 수 있다. 이러한 문제점이 있기 때문에 효과적이고 부작용이 적은 항암 치료법의 연구개발이 매우 중요하다.

[0003] 최근 몇 년간 항암 요법에 관한 연구는 몸속의 질병을 검출하고 질병 부위만 선택적으로 치료할 수 있는 새로운 물질의 개발에 중점을 두고 있다. 그 중 하나인, 광역학 치료(photodynamic therapy)는 낮은 독성, 높은 암세포 선택성, 낮은 재발율, 높은 효율 및 짧은 반응시간 등의 우수한 장점을 바탕으로 기존의 타 암치료법이 가지고 있는 여러 가지 문제점들(특히, 부작용)을 해결할 수 있는 비침투성 및 환자맞춤형 암치료 방법이다. 광감응제(photosensitizer)가 빛을 흡수하여 주변의 산소에 에너지 또는 전자를 전달함으로써 반응성이 매우 큰 산소화학종(단일항 산소 $^1O_2$ 등의 활성산소종; ROS)을 생성하고 이 ROS가 암세포 또는 암조직을 사멸시킨다. 또한 열을 이용해 암을 치료하는 광열 치료(photothermal therapy)는 근적외선(700 nm 내지 850 nm) 영역의 빛을 나노입자에 가함으로써 금속 나노입자의 표면 플라즈몬 공명에 의해 43℃ 이상의 온도를 갖는 열생성으로 종양세포 또는 종양조직을 치료하는 방법이다.

[0004] 최근에는 광역학 치료와 광열적 치료 효과가 동시에 나타나는 나노복합체, 예를 들어 속이 빈 금 나노껍질과,

종양 주변의 낮은 pH에서 세포 내로 투과하는 특성을 가진 펩타이드(pH low insertion peptide), 빛을 받아 활성산소종(reactive oxygen species, ROS)을 생산하는 기능을 가지는 광증감제(photosensitizer)인 클로린 e6(Chlorin e6, Ce6)을 조합한 나노구조체를 제조하는 등의 시도가 있었으나 (M. Yu, F. Guo, J. Wang, F. Tan, and N. Li, Photosensitizer-loaded pH-responsive hollow gold nanospheres for single light-induced photothermal/photodynamic therapy, ACS Appl. Mater. Interfaces, 7, 17592-17597 (2015).), 상기 나노구조체는 제조 방법이 복잡하고, 암치료 효과가 크기 않아 실제 적용하기에는 무리가 있었다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0005] 본원은, 상향변환 나노입자가 도입된 이방성 플라즈모닉 구조체를 포함함으로써 근적외선 조사에 의해 광역학 치료(photodynamic therapy) 및 광열 치료(photothermal therapy) 효과가 나타나는 암예방 또는 암치료용 약학적 조성물, 상기 약학적 조성물의 제조방법, 및 상기 약학적 조성물을 이용한 암예방 또는 암치료 방법을 제공한다.

[0006] 그러나, 본원이 해결하고자 하는 과제는 이상에서 언급한 과제로 제한되지 않으며, 언급되지 않은 또 다른 과제들은 아래의 기재로부터 통상의 기술자에게 명확하게 이해될 수 있을 것이다.

과제의 해결 수단

[0007] 본원의 제 1 측면은, 금속 나노입자 및 무기 광감응제를 포함하는 코어-쉘 나노입자; 및 상기 코어-쉘 나노입자의 표면 상에 배치된 상향변환 나노입자를 포함하는 이방성 플라즈모닉 구조체를 포함하는, 암예방 또는 암치료용 약학적 조성물을 제공한다.

[0008] 본원의 제 2 측면은, 금속 나노입자를 준비하는 단계, 상기 금속 나노입자를 무기 광감응제로 코팅하여 코어-쉘 나노입자를 준비하는 단계, 상향변환 나노입자를 준비하는 단계, 및 상기 코어-쉘 나노입자의 표면에 상기 상향변환 나노입자를 배치하여 이방성 플라즈모닉 구조체를 수득하는 단계를 포함하는, 제 1 측면에 따른 암예방 또는 암치료용 약학적 조성물의 제조 방법을 제공한다.

[0009] 본원의 제 3 측면은, 제 1 측면에 따른 암예방 또는 암치료용 약학적 조성물을 대상 개체에 투여하고, 근적외선을 조사하는 것을 포함하는, 암예방 또는 암치료 방법을 제공한다.

발명의 효과

[0010] 본원의 구현예들에 따른 이방성 플라즈모닉 구조체는 금속 나노입자 및 무기 광감응제를 포함하는 코어-쉘 나노입자의 표면에 상향변환 나노입자가 도입된 것으로서, 상기 금속 나노입자에 의한 플라즈모닉 현상으로 인해 강화된 전기장이 형성되어 상향변환 발광(upconversion luminescence, UCL)이 증가되는 효과가 있으며, 이로 인해 광역학 치료(photodynamic therapy)를 구현할 수 있는 특징이 있다. 구체적으로, 근적외선(NIR) 조사를 통해 상기 금속 나노입자로 인한 강화된 전기장이 형성되어 상향변환 나노입자의 발광이 증폭됨으로써, 상기 무기 광감응제가 활성산소종(reactive oxygen species, ROS) 및 수산화 라디칼(hydroxyl radical, ·OH)을 생성될 수 있다. 즉, 상기 활성산소종 및 수산화 라디칼은 악성세포 사멸능을 발휘할 수 있으므로, 상기 무기 광감응제는 근적외선 영역의 파장에 대한 광촉매적 효과를 가져 정상 조직에 영향이 적고, 깊은 조직 침투가 가능하여 광역학 치료에 사용될 수 있는 효과가 나타나는 특징이 있다.

[0011] 본원의 구현예들에 따르면, 본원의 코어-쉘 나노입자는 금속 나노입자를 함유하는 것으로서, 근적외선이 조사되는 경우 국소화된 표면 플라즈몬 공명(Localized Surface Plasmon Resonance, LSPR)에 의해 광열 치료(photothermal therapy) 효과를 내어 암세포 등을 치료하고, 그 자체로서 화학적으로 비활성이므로 유의미한 정도의 세포독성을 나타내지 않아 생체에 사용될 수 있는 이점이 있다.

[0012] 본원의 구현예들에 따른 암예방 또는 암치료 방법은, 근적외선 조사에 의해 광역학 치료 및 광열 치료 효과가 있는 이방성 플라즈모닉 구조체를 사용하는 것으로서, 수술, 방사선치료, 및 화학치료와 같은 전통적인 치료 방법에 비해 덜 침습적이고, 전체 과정이 몇 분 정도의 짧은 시간 안에 종결되며, 처치 도중에 출혈과 같은 소모적인 현상이 일어나지 않아 환자의 체력적 부담을 경감시킬 수 있으며 치료 후 회복기간도 단축시킬 수 있는 효과가 있다. 아울러, 본원에 따른 암예방 또는 암치료 방법은 수술로 제거하기 힘든 극 미세한 크기의 종양을 효율적으로 처리할 수 있는 이점이 있다.

도면의 간단한 설명

[0013] 도 1은, 본원의 실시예에 있어서, Au NR@aTiO$_2$@UCNP 제조 과정의 모식도이다.

도 2의 a는, 본원의 실시예에 있어서, (i) Au NR@aTiO$_2$의 투과전자현미경(transmission electron microscope, TEM)사진 및 (ii) Au NR@aTiO$_2$@UCNP의 TEM 사진이다.

도 2의 b는, 본원의 실시예에 있어서, Au NR, Au NR@aTiO$_2$ 및 Au NR@aTiO$_2$@UCNP의 UV-Vis 흡수 스펙트라이다.

도 2의 c는, 본원의 실시예에 있어서, UCNP/PAA 및 Au NR@aTiO$_2$@UCNP의 상향변환 발광 스펙트라이다.

도 3의 a는, 본원의 실시예에 있어서, UCNP@aTiO$_2$ 제조 과정의 모식도이다.

도 3의 b는, 본원의 실시예에 있어서, 코어 UCNP 및 코어-쉘 UCNP의 TEM 사진이다.

도 3의 c는, 본원의 실시예에 있어서, UCNP@aTiO$_2$ 의 TEM 사진이다.

도 3의 d는, 본원의 실시예에 있어서, 코어 UCNP 및 코어-쉘 UCNP의 상향변환 발광 스펙트라이다.

도 3의 e는, 본원의 실시예에 있어서, 코어 UCNP 및 코어-쉘 UCNP의 XRD 패턴이다.

도 3의 f는, 본원의 실시예에 있어서, UCNP@aTiO$_2$ 의 UV-Vis 흡수 스펙트럼 이다.

도 4는, 본원의 실시예에 있어서, Au NR@aTiO$_2$, UCNP@aTiO$_2$, 및 Au NR@aTiO$_2$@UCNP의 광촉매 및 광열 지문을 조사한 결과이다.

도 5는, 본원의 실시예에 있어서, Au NR@aTiO$_2$, UCNP@aTiO$_2$, 및 Au NR@aTiO$_2$@UCNP의 세포독성 및 ROS 생성을 조사한 결과이다.

도 6는, 본원의 실시예에 있어서, Au NR@aTiO$_2$, UCNP@aTiO$_2$, 및 Au NR@aTiO$_2$@UCNP의 세포사멸 과정을 조사한 결과이다.

도 7의 a는, 본원의 실시예에 있어서, Au NR@aTiO$_2$의 쉘 두께 별 TEM 사진이다.

도 7의 b는, 본원의 실시예에 있어서, Au NR@aTiO$_2$@UCNP의 쉘 두께에 따른 상향변환 발광 스펙트럼이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0014] 이하, 첨부한 도면을 참조하여 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자가 용이하게 실시할 수 있도록 본원의 구현예 및 실시예를 상세히 설명한다. 그러나 본원은 여러 가지 상이한 형태로 구현될 수 있으며 여기에서 설명하는 구현예 및 실시예에 한정되지 않는다. 그리고 도면에서 본 발명을 명확하게 설명하기 위해서 설명과 관계없는 부분은 생략하였으며, 명세서 전체를 통하여 유사한 부분에 대해서는 유사한 도면 부호를 붙였다.

[0015] 본원 명세서 전체에서, 어떤 부분이 다른 부분과 "연결"되어 있다고 할 때, 이는 "직접적으로 연결"되어 있는 경우뿐 아니라, 그 중간에 다른 소자를 사이에 두고 "전기적으로 연결"되어 있는 경우도 포함한다.

[0016] 본원 명세서 전체에서, 어떤 부재가 다른 부재 "상에" 위치하고 있다고 할 때, 이는 어떤 부재가 다른 부재에 접해 있는 경우뿐 아니라 두 부재 사이에 또 다른 부재가 존재하는 경우도 포함한다.

[0017] 본원 명세서 전체에서, 어떤 부분이 어떤 구성요소를 "포함"한다고 할 때, 이는 특별히 반대되는 기재가 없는 한 다른 구성요소를 제외하는 것이 아니라 다른 구성 요소를 더 포함할 수 있는 것을 의미한다.

[0018] 본 명세서에서 사용되는 정도의 용어 "약", "실질적으로" 등은 언급된 의미에 고유한 제조 및 물질 허용오차가 제시될 때 그 수치에서 또는 그 수치에 근접한 의미로 사용되고, 본원의 이해를 돕기 위해 정확하거나 절대적인 수치가 언급된 개시 내용을 비양심적인 침해자가 부당하게 이용하는 것을 방지하기 위해 사용된다.

[0019] 본원 명세서 전체에서 사용되는 정도의 용어 “~ 하는 단계” 또는 “~의 단계”는 “~를 위한 단계”를 의미하지 않는다.

[0020] 본원 명세서 전체에서, 마쿠시 형식의 표현에 포함된 "이들의 조합(들)"의 용어는 마쿠시 형식의 표현에 기재된 구성 요소들로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상의 혼합 또는 조합을 의미하는 것으로서, 상기 구성 요소들로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상을 포함하는 것을 의미한다.

[0021] 본원 명세서 전체에서, "A 및/또는 B"의 기재는, "A 또는 B, 또는 A 및 B"를 의미한다.

[0022] 본원 명세서 전체에서, "근적외선(near-infrared, NIR)"의 기재는, 650 nm 내지 900 nm 파장 영역의 전자기파로서, 생체 조직을 잘 투과하고, 특히 연조직의 경우 보통 4 cm 내지 10 cm의 깊이까지 투과가 이루어질 수 있는 것을 말한다.

[0024] 이하, 본원의 구현예를 상세히 설명하였으나, 본원이 이에 제한되지 않을 수 있다.

[0026] 본원의 제 1 측면은, 금속 나노입자 및 무기 광감응제를 포함하는 코어-쉘 나노입자; 및 상기 코어-쉘 나노입자의 표면 상에 배치된 상향변환 나노입자를 포함하는 이방성 플라즈모닉 구조체를 포함하는, 암예방 또는 암치료용 약학적 조성물을 제공한다.

[0027] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 코어-쉘 나노입자는 상기 금속 나노입자를 포함하는 코어를 상기 무기 광감응제를 포함하는 쉘이 둘러싸는 구조인 것일 수 있다.

[0028] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 무기 광감응제는 자외선 영역의 빛이 조사될 경우 가전자대(valence band)의 전자가 전도대(conduction band)로 여기되어 전자-홀 쌍이 생성되는 것일 수 있으며, 전도대의 전자는 O_2를 환원시켜 O_2^-를 생성하고 가전자대의 홀은 H_2O를 산화시켜 수산화 라디칼(·OH)을 생성함으로써 광역학 치료 효과를 내는 것일 수 있다. 그러나, 자외선 영역의 조사는 정상 조직의 광독성(phototoxicity)을 야기할 수 있고, 정상 조직을 손상시키지 않는 근적외선 영역의 빛은 무기 광감응제를 여기시키지 못하므로, 상기 무기 광감응제는 단독으로 생체 내에서 암 세포 등을 없애기 위한 용도로 사용되기 어렵다. 그러나, 본원의 이방성 플라즈모닉 구조체는 금속 나노입자 및 무기 광감응제를 포함하는 코어-쉘 나노입자의 표면에 상향변환 나노입자가 도입된 것으로서, 금속 나노입자에 의한 플라즈모닉 현상으로 인해 강화된 전기장이 형성되어 상향변환 발광(upconversion luminescence, UCL)이 증가되는 효과가 있으며, 이로 인해 광역학 치료의 효과가 발생한다. 구체적으로, 근적외선(NIR) 조사를 통해 상기 금속 나노입자로 인한 강화된 전기장이 형성되어 상향변환 나노입자의 발광이 증폭되고, 방출된 자외선에 의해 무기 광감응제가 여기됨으로써, 상기 무기 광감응제가 활성종산소 및 수산화 라디칼을 생성할 수 있다. 따라서, 상기 무기 광감응제는 근적외선 영역의 파장에 대한 광촉매적 효과를 가져 정상 조직에 영향이 적고, 깊은 조직 침투가 가능하여 광역학 치료에 사용될 수 있다.

[0029] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 무기 광감응제는 아나타제 이산화티타늄(anatase TiO_2), 산화구리(I)(Cu_2O), 산화아연(ZnO), 바나듐산비스무트($BiVO_4$), 산화주석(SnO_2), 질화탄소(C_3N_4), 및 삼산화텅스텐(WO_3) 중에서 선택되는 하나 이상을 포함하는 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다. 구체적으로, 이산화티타늄은 아나타제 상, 루틸 상 및 브루카이트 상의 동질다상 또는 비정질(amorphous) 상으로 존재할 수 있지만, 본원에 따른 무기 광감응제는 아나타제 이산화티타늄을 포함하는 것일 수 있다. 루틸 이산화티타늄, 브루카이트 이산화티타늄 및 비정질 이산화티타늄은 금속 나노입자의 표면에 도입되더라도 금속 나노입자로부터 열전자의 전달 정도가 작아 광역학 치료 효과가 미미하게 나타날 수 있다. 반면, 본원의 아나타제 이산화티타늄은 매우 안정하여 광분해(photodegradation)가 적어 장기간 및 여러 번의 사이클에 사용될 수 있고, 금속 나노입자로부터 열전자의 전달도가 우수한 특성으로 인해 광역학 치료에 사용하기 적합하다.

[0030] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 무기 광감응제를 포함하는 쉘의 두께는 약 7 nm 내지 약 35 nm인 것일 수 있다. 예를 들어, 상기 무기 광감응제를 포함하는 쉘의 두께는 약 7 nm 내지 약 35 nm, 약 8 nm 내지 약 35 nm, 약 9 nm 내지 약 35 nm, 약 10 nm 내지 약 35 nm, 약 11 nm 내지 약 35 nm, 약 12 nm 내지 약 35 nm, 약 13 nm 내지 약 35 nm, 약 14 nm 내지 약 35 nm, 약 7 nm 내지 약 30 nm, 약 8 nm 내지 약 30 nm, 약 9 nm 내지 약 30 nm, 약 10 nm 내지 약 30 nm, 약 11 nm 내지 약 30 nm, 약 12 nm 내지 약 30 nm, 약 13 nm 내지 약 30 nm, 약 14 nm 내지 약 30 nm, 약 7 nm 내지 약 25 nm, 약 8 nm 내지 약 25 nm, 약 9 nm 내지 약 25 nm, 약 10 nm 내지 약 25 nm, 약 11 nm 내지 약 25 nm, 약 12 nm 내지 약 25 nm, 약 13 nm 내지 약 25 nm, 약 14 nm 내지 약 25 nm, 약 7 nm 내지 약 20 nm, 약 8 nm 내지 약 20 nm, 약 9 nm 내지 약 20 nm, 약 10 nm 내지 약 20 nm, 약 11

nm 내지 약 20 nm, 약 12 nm 내지 약 20 nm, 약 13 nm 내지 약 20 nm, 약 14 nm 내지 약 20 nm, 약 7 nm 내지 약 18 nm, 약 8 nm 내지 약 18 nm, 약 9 nm 내지 약 18 nm, 약 10 nm 내지 약 18 nm, 약 11 nm 내지 약 18 nm, 약 12 nm 내지 약 18 nm, 약 13 nm 내지 약 18 nm, 약 14 nm 내지 약 18 nm, 약 7 nm 내지 약 16 nm, 약 8 nm 내지 약 16 nm, 약 9 nm 내지 약 16 nm, 약 10 nm 내지 약 16 nm, 약 11 nm 내지 약 16 nm, 약 12 nm 내지 약 16 nm, 약 13 nm 내지 약 16 nm, 또는 약 14 nm 내지 약 16 nm일 수 있다. 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 무기 광감응제를 포함하는 쉘의 두께는 약 14 nm 내지 약 16 nm일 수 있다. 상기 무기 광감응제를 포함하는 쉘의 두께가 약 7 nm 미만일 경우 상기 금속에 의한 퀜칭(quenching) 효과에 의해 의도하지 않은 에너지 트랜스퍼(transfer)가 발생하여 상기 이방성 플라즈모닉 구조체의 상향 변환 방출(upconversion luminescence, UCL) 강도가 감소할 수 있고, 상기 무기 광감응제를 포함하는 쉘의 두께가 약 35 nm 초과일 경우 상향변환 나노입자에 대한 LSPR에 의한 근거리장 강화 효과가 감소하여 상기 이방성 플라즈모닉 구조체의 UCL 강도가 감소할 수 있다.

[0031] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 금속 나노입자는 Au, Ag, Pt, Pd, Rh, Re 및 Rb 중에서 선택되는 하나 이상을 포함하는 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다.

[0032] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 금속 나노입자는 나노로드(nanorod), 나노스타(nanostar), 나노쉘(nanoshell), 나노크로스(nanocross), 나노케이지(nanocage), 및 나노바이피라미드(nanobipyramid) 중에서 선택되는 형태일 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다.

[0033] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 금속 나노입자는 국소화된 표면 플라즈몬 공명(Localized Surface Plasmon Resonance, LSPR)의 성질을 가지며, LSPR 파장과 일치하거나 가까운 파장의 빛이 조사되었을 경우 전자와 전자, 전자와 포논, 포논과 포논 간의 충돌을 포함하는 비복사 기전(non-radiative mechanism)을 통해 흡수된 빛이 열로 변환되어 열전자 생성과 함께 광열 치료 효과를 낼 수 있다. 본원에 따른 코어-쉘 나노입자는 상기 금속 나노입자를 함유하는 것으로서, 근적외선 파장이 조사되는 경우 LSPR에 의해 광열 치료 효과를 내어 암세포 등을 치료하고, 그 자체로서 화학적으로 비활성이므로 유의미한 정도의 세포독성을 나타내지 않아 생체에 사용될 수 있다.

[0034] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 코어-쉘 나노입자는 상기 무기 광감응제 쉘을 둘러싸는 쉘을 추가 포함하는 것일 수 있다. 구체적으로, 상기 쉘은 SiO_2, 트레멜리티리미도-아미노산(trimellitylimido-amino acid), 또는 폴리포스포릭산(polyphosphoric acid)일 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다. 상기 쉘은 상기 이방성플라즈모닉 구조체의 응집을 예방하는 역할을 할 수 있다.

[0035] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 코어-쉘 나노입자의 크기는 약 60 nm 내지 약 400 nm 일 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다. 예를 들어, 상기 코어-쉘 나노입자의 크기는 약 60 nm 내지 약 400 nm, 약 60 nm 내지 약 350 nm, 약 60 nm 내지 약 300 nm, 약 60 nm 내지 약 250 nm, 약 60 nm 내지 약 200 nm, 약 60 nm 내지 약 150 nm, 약 60 nm 내지 약 100 nm, 약 60 nm 내지 약 80 nm, 약 70 nm 내지 약 400 nm, 약 70 nm 내지 약 350 nm, 약 70 nm 내지 약 300 nm, 약 70 nm 내지 약 250 nm, 약 70 nm 내지 약 200 nm, 약 70 nm 내지 약 150 nm, 약 70 nm 내지 약 100 nm, 또는 약 70 nm 내지 약 80 nm일 수 있다.

[0036] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 상향변화 나노입자는 $NaYF_4$, $NaGdF_4$, $KGdF_4$, YOF, $BaLaF_5$, LaF_3, $NaLuF_4$, 및 SrF_2 중에서 선택되는 하나 이상을 포함하는 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다.

[0037] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 상향변화 나노입자는 도펀트로서 Yb^{3+}, Tm^{3+}, Ln^{3+}, Er^{3+}, 및 Nd^{3+} 중에서 선택되는 하나 이상을 포함하는 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다.

[0038] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 상향변환 나노입자는 코어-쉘 구조로서, 코어-상향변환 나노입자를 쉘-상향변환 나노입자가 둘러싸는 구조일 수 있다. 상기 코어-상향변환 나노입자 및 상기 쉘-상향변환 나노입자 각각은 상기 상향변환 나노입자의 성분 중에서 선택되는 물질을 포함하는 것일 수 있다.

[0039] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 코어 상향변환 나노입자 및 쉘 상향변환 나노입자는 서로 상이한 도펀트 물질 및/또는 서로 상이한 상향변환 물질을 포함함으로써, 서로 다른 광학 특성을 가지는 것일 수 있고, 서로 다른 광학 특성에 의하여 상향변화 나노입자의 UCL 강도가 향상될 수 있다. 구체적인 일 례로서, 상기 상향변환 나노입자는 Yb 및 Tm이 도핑된 $NaYF_4$($NaYF_4$:Yb/Tm) 코어를 Yb 및 Nd가 도핑된 $NaYF_4$($NaYF_4$:Yb/Nd) 쉘이 둘러싸는 것일 수 있으며, 상기 $NaYF_4$($NaYF_4$:Yb/Nd) 쉘의 도입으로 인하여 808 nm 대역의 레이저를 추가 흡수할 수 있으므

로, 상기 상향변환 나노입자의 UCL 강도가 향상될 수 있다. 또한, 상기 코어 상향변환 나노입자 및 쉘 상향변환 나노입자의 구조로 인하여 상기 코어 상향변환 나노입자의 결함(defect site)이 감소하는 효과가 있다.

[0040] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 상향변환 나노입자의 크기는 약 10 nm 내지 약 40 nm일 수 있다. 예를 들어, 상기 상향변환 나노입자의 크기는 약 10 nm 내지 약 40 nm, 약 10 nm 내지 약 30 nm, 약 10 nm 내지 약 20 nm, 약 20 nm 내지 약 40 nm, 약 20 nm 내지 약 30 nm, 또는 약 30 nm 내지 약 40 nm일 수 있다. 상기 상향변환 나노입자의 크기가 약 10 nm 미만일 경우 상향변환 효율이 극도로 낮거나 광 촉매적 반응이 원활히 일어날 수 있는 표면적을 제공하지 않을 수 있으며, 상기 상향변환 나노입자의 크기가 약 40 nm 초과일 경우 상기 코어-쉘 나노입자 표면에 충분한 수의 상기 상향변환 나노입자의 도입이 어려운 문제점이 있을 수 있다.

[0041] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 상향변환 나노입자는 근적외선 파장 영역의 전자기파를 흡수하여 보다 높은 에너지의 전자기파를 방출함으로써 암치료 효과를 내는 것일 수 있다.

[0042] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 상향변환 나노입자는 표면 상에 친수성 화합물이 추가 도입된 것일 수 있다. 예를 들어, 상기 친수성 화합물은 폴리아크릴산(polyacryl acid, PAA), 폴리에틸렌이민(polyethylenimine, PEI), 및 폴리비닐피로리돈(polyvinylpyrrolidone, PVP) 중에서 선택되는 하나 이상을 포함하는 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다. 상기 친수성 화합물의 도입은 상기 상향변환 나노입자의 적절한 수분 분산을 유도할 수 있다.

[0043] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 이방성 플라즈모닉 구조체는 상기 코어-쉘 나노입자의 표면 상에 생체 친화 물질을 추가 포함하는 것일 수 있다. 예를 들어, 상기 생체 친화 물질은 엽산이 도입된 폴리에틸렌글리콜(polyethylene glycol-modified folic acid, PEG-FA), 폴리에틸렌글리콜, 글리콜 키토산(glycol chitosan), 및 히알루론 산(hyaluronic acid) 중에서 선택되는 하나 이상을 포함하는 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다. 상기 이방성 플라즈모닉 구조체는 표면에 상기 생체 친화 물질을 도입함으로써 생체 적합성이 향상됨에 따라 암예방 및 암치료 효과가 극대화될 수 있다.

[0044] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 이방성 플라즈모닉 구조체는 상기 무기 광감응제가 일중항산소 및 수산화라디칼을 생성함으로써 광역학 치료 효과를 나타내는 것일 수 있다.

[0045] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 이방성 플라즈모닉 구조체는 상기 금속 나노입자의 국소화된 표면 플라즈몬 공명 효과에 의해 열전자가 생성되어 광열 치료 효과를 나타내는 것일 수 있다.

[0046] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 이방성 플라즈모닉 구조체는 근적외선 조사에 의해 상기 광역학 치료 및 상기 광열 치료 효과가 동시에 나타나는 것일 수 있다.

[0047] 본원의 제 2 측면은, 금속 나노입자를 준비하는 단계, 상기 금속 나노입자를 무기 광감응제로 코팅하여 코어-쉘 나노입자를 준비하는 단계, 상향변환 나노입자를 준비하는 단계, 및 상기 코어-쉘 나노입자의 표면에 상기 상향변환 나노입자를 배치하여 이방성 플라즈모닉 구조체를 수득하는 단계를 포함하는, 제 1 측면에 따른 암예방 또는 암치료용 약학적 조성물의 제조 방법을 제공한다.

[0048] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 금속 나노입자를 준비하는 단계는 종자-매개 성장법(seed-mediated growth)으로 수행되는 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다. 구체적으로, 상기 종자-매개 성장법은 시드 용액(seed solution) 및 성장 용액을 준비하고 상기 시드 용액 및 상기 성장 용액을 혼합하여 수행되는 것일 수 있다.

[0049] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 코어-쉘 나노입자를 준비하는 단계는 상기 금속 나노입자 및 상기 무기 광감응제의 전구체를 열수 처리하여 수행되는 것일 수 있다.

[0050] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 열수 처리는 약 200℃ 내지 약 300℃ 온도 범위에서 수행되는 것일 수 있다. 예를 들어, 상기 온도 범위는 약 200℃ 내지 약 300℃, 약 220℃ 내지 약 300℃, 약 240℃ 내지 약 300℃, 약 200℃ 내지 약 280℃, 약 220℃ 내지 약 280℃, 약 240℃ 내지 약 280℃, 약 200℃ 내지 약 260℃, 약 220℃ 내지 약 260℃, 또는 약 240℃ 내지 약 260℃일 수 있다. 상기 온도 범위가 약 200℃ 내지 약 300℃ 온도 범위를 벗어나는 경우, 상기 금속 나노입자 및 상기 무기 광감응제의 결정이 잘 형성되지 않거나, 의도하는 결정성을 갖지 않는 문제점이 나타날 수 있다. 예를 들어, 상기 무기광감응제가 TiO_2일 경우 상기 온도 범위가 300℃를 초과하면 아나타제 결정이 아닌 결정성을 띄고 TiO_2 무기 광감응제의 광촉매활성이 떨어지는 문제점이 발생할 수 있다.

[0051] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 코어-쉘 나노입자를 준비하는 단계 이후 상기 코어-쉘 나노입자를 둘러싸는 쉘을 준비하는 단계가 추가 포함될 수 있다. 구체적으로, 상기 쉘은 SiO_2, 트레멜리티리미도-아미노산(trimellitylimido-amino acid), 또는 폴리포스포릭산(polyphosphoric acid)일 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다.

[0052] 본원의 일 구현예에, 상기 코어-쉘 나노입자를 준비하는 단계는, 상기 금속 나노입자 및 상기 무기 광감응제의 전구체를 열수 처리 하기 전에, 상기 금속 나노입자를 폴리소듐스티렌설포네이트(poly sodium styrene sulfonate, PSS)로 포장하는 것을 추가 포함하는 것일 수 있다.

[0053] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 상향변환 나노입자를 준비하는 단계는 용매로서 올레익산(Oleic Acid, OA) 및/또는 옥타데센(1-Octadecene, ODE)을 사용할 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다.

[0054] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 상향변환 나노입자를 준비하는 단계는 상향변환 나노입자의 전구체로서 $Y(CH_3CO_2)_3$, $Yb(CH_3CO_2)_3$, $Tm(CH_3CO_2)_3$, 및 $Nd(CH_3CO_2)_3$중에서 선택되는 하나 이상을 사용하는 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다.

[0055] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 상향변환 나노입자를 준비하는 단계는 상기 상향변환 나노입자 전구체 및 상기 용매를 혼합하여 가열하여 수행되는 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다. 예를 들어, 상기 가열 온도는 약 120℃ 내지 약 290℃일 수 있다.

[0056] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 상향변환 나노입자를 준비하는 단계는 표면의 리간드를 제거하는 것을 포함하는 것일 수 있다.

[0057] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 암예방 또는 암치료용 약학적 조성물의 제조 방법은 상기 코어-쉘 나노입자의 표면에 친수성 화합물을 배치하는 단계를 추가 포함하는 것일 수 있다.

[0058] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 코어-쉘 나노입자의 표면에 상기 상향변환 나노입자를 배치하여 이방성 플라즈모닉 구조체를 수득하는 단계는 상기 코어-쉘 나노입자를 아민 작용기화하는 것을 포함하는 것일 수 있다. 구체적으로, 상기 코어-쉘 나노입자의 표면에 상기 아민 작용기를 도입하여 상기 상향변환 나노입자가 도입될 수 있다.

[0059] 본원의 일 구현예에 있어서, 코어-쉘 나노입자의 표면에 상기 상향변환 나노입자를 배치하여 이방성 플라즈모닉 구조체를 수득하는 단계 이후 상기 이방성 플라즈모닉 구조체 표면에 생체 친화 물질을 도입하는 것이 추가 포함될 수 있다.

[0061] 본원의 제 3 측면은, 제 1 측면에 따른 약학적 암예방 또는 암치료용 약학적 조성물을 대상 개체에 투여하고 근적외선을 조사하는 것을 포함하는, 암예방 또는 암치료 방법을 제공한다.

[0062] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 대상 개체는 인간을 제외하거나 인간을 포함하는 것일 수 있다.

[0064] 본원의 제 1 측면과 중복되는 부분들에 대해서는 상세한 설명을 생략하였으나, 본원의 제 1 측면에 대해 설명한 내용은 본원의 제 2 측면 및 제 3 측면에서 그 설명이 생략되었더라도 동일하게 적용될 수 있다.

[0066] 이하, 본원에 대하여 실시예를 이용하여 좀더 구체적으로 설명하지만, 하기 실시예는 본원의 이해를 돕기 위하여 예시하는 것일 뿐, 본원의 내용이 하기 실시예에 한정되는 것은 아니다.

[0068] **[실시예]**

[0069] **<실시예 1: 금 나노로드(Au NRs)의 합성>**

[0070] 종자-매개 성장법(seed-mediated growth)으로 금 나노로드(Au nanorods)를 합성하였다. 먼저, 바이알에서 $HAuCl_4$ 용액(0.5 mM, 5 mL) 및 브롬화세틸트리메틸암모늄(cetyltrimethylammonium bromide, CTAB) 용액(0.2 M, 5 mL)을 혼합하였다. 이후 신선한 $NaBH_4$ (0.01 M, 0.06 mL)을 물로 혼합하여 0.1 mL 이 되도록 희석한 후, 강하

게 교반하면서 Au(Ⅲ)-CTAB 용액에 주입하였다. 용액 색은 노란색에서 황갈색(brownish-yellow)으로 변하였고 2 분 후에 교반을 멈췄다. 시드 용액(seed solution)은 사용 전 상온에서 30분간 숙성하였다. 성장 용액을 제조하기 위하여, CTAB(0.7 g) 및 NaOH(0.1234 g)를 1 L 삼각 플라스크 안에서 온수(25 mL)에 에 용해시키고 용액을 30℃까지 냉각시킨 후 $AgNO_3$ 용액(4 mM, 2.4 mL)을 첨가하였다. 그 후, $HAuCl_4$ 용액(1 mM, 25 mL)을 첨가하고 혼합물을 30℃에서 15 분간 방해가 없는 조건에서 방치하였다. 그 후 90 분 동안 교반하여 용액이 무색으로 변한 뒤 HCl(11.9 M, 0.150 mL)을 추가하여 pH를 조정하였다. 15 분 동안 400 rpm으로 천천히 추가 교반한 후, 아르보르브산(ascorbic acid, AA)(0.064 M, 0.125 mL)을 추가하여 용액을 30 초 동안 격렬히 교반하였다. 마지막으로 상기 시드 용액(40 μL)을 상기 성장 용액에 주입하였다. 생성된 혼합물을 30 초 동안 교반하고 30℃에서 12 시간 동안 방치한 후, 금 나노로드를 수득하였다.

[0072] **<실시예 2: 티타니아(titania) 코팅된 금 나노로드(Au NRs)(Au NR@aTiO_2)의 합성>**

[0073] 우선, 실시예 1에서 제조된 금 나노로드를 폴리소듐스티렌설포네이트(poly sodium styrene sulfonate, PSS)로 포장하였다. 갓 제조된 CTAB 안정화된(CTAB-stabilized) 금 나노로드(10 mL)를 8000 rpm에서 15 분간 원심 분리하여 침전물을 모았다. 상기 침전물을 물(10 mL)에 재분산한 뒤 PSS 수용액(2 g/L, 10 mL)에 격렬하게 교반하면서 적가하고, 밤새 그대로 두었다. 과량의 PSS을 제거하고 원심 분리를 이용하여 물로 세척하였다. 물(0.2 mL)에 재분산된 PSS-capped 금 나노로드를 제조한 후, $TiCl_3$ 용액(0.2 mL)을 물(6 mL)과 혼합하여 $TiCl_3$ 수용액을 만들었다. $NaHCO_3$ 용액 (0.93 M, 1.2 mL)을 추가한 뒤, 즉시 PSS-capped 금 나노로드(0.2 mL)를 추가하고 30 분 동안 격렬하게 교반하였다. 생성물을 원심분리를 이용하여 2 회 세척하고 에탄올(EtOH)(0.2 mL)에 재분산하였다. 결정화된 TiO_2 쉘의 구조를 유지하기 위하여, 테트라에틸 규산염 (Tetraethyl orthosilicate,TEOS) 을 이용하여 제조된 Au NR@aTiO_2 에 얇은 SiO_2 쉘을 도입하였다. 제조된 Au NR@aTiO_2를 EtOH에 재분산하고 탈이온수(4.5 μL), 25% NH_3OH(18 μL), 및 20% TEOS/EtOH(4.5 μL)를 첨가하여 1 시간 동안 교반하였다. 과량의 TEOS을 제거하고 EtOH로 세척한 후 250° C에서 12 시간 동안 처리하여 잘 분산된 결정화된 Au NR@aTiO_2@SiO_2를 형성하였다. 또한, 상기 SiO_2 쉘은 Au NR@aTiO_2의 응집을 예방하는 역할 및 추후에 aTiO_2샘플 표면에 아민 작용화기를 도입하기 위한 전처리 역할을 할 수 있다. 이후, 아민 작용기 도입을 위해 Au NR@aTiO2@SiO_2에 (3-아미노프로필)트리에톡시실란((3-aminopropyl)triethoxysilane, APTES)를 도입하였다. 도 2의 a (i)는, Au NR@aTiO_2의 TEM 사진으로서, TiO_2 쉘 두께 약 15 nm의 균일한 Au NR@aTiO_2가 형성되었음을 확인하였다.

[0075] **<실시예 3: 상향변환 나노입자(UCNPs) $NaYF_4$:Yb^{3+},Tm^{3+}의 합성(980 nm UCNPs)>**

[0076] $NaYF_4$:Yb/Tm 입자를 종래 문헌을 참고하여 고온 공침(co-precipitation)법을 사용하여 합성하였다. 올레익산(Oleic Acid, OA)(6 mL) 및 옥타데센(1-Octadecene, ODE)(14 mL) 용액에 $Y(CH_3CO_2)_3$(0.64 mmol), $Yb(CH_3CO_2)_3$(0.144 mmol) 및 $Tm(CH_3CO_2)_3$(0.016 mmol)을 첨가하여 $NaYF_4$:Yb/Tm 전구체 혼합물을 만들었다. 상기 $NaYF_4$:Yb/Tm 전구체 혼합물을 120℃에서 일정 시간 유지하고 다시 실온으로 냉각시킨 후 강하게 교반하면서 NH_4F(0.1475 g) 및 NaOH(0.1 g)를 포함하는 메탄올 용액을 첨가하여 반응 혼합물을 만들었다. 상기 반응 혼합물을 100 mL 둥근 바닥 플라스크에 옮기고 2 시간 동안 290℃로 가열한 후, 상온으로 냉각시키고 원심 분리하여 얻어진 침전물을 시클로헥산(cyclohexane)에 보관하였다.

[0078] **<실시예 4: 코어-쉘 상향변환 나노입자 (core-shell UCNPs) $NaYF_4$:Yb^{3+},Tm^{3+}@$NaYF_4$:Yb^{3+},Nd^{3+}의 합성 (808 nm UCNPs)>**

[0079] NaYF4:Yb/Tm 합성 방법과 동일한 공정으로 NaYF4:Yb/Nd를 제조 하였고, 동일 합성 공정을 사용하여 $NaYF_4$:Yb/Tm을 제조한 후, 이를 통해, $NaYF_4$:Yb/Tm@$NaYF_4$:Yb/Nd 코어쉘 입자를 제작하였다. 쉘 전구체인 $Y(CH_3CO_2)_3$(0.64 mmol), $Yb(CH_3CO_2)_3$(0.24 mmol) 및 $Nd(CH_3CO_2)_3$(0.24 mmol)을 OA(6 mL) 및 ODE(14 mL)의 용액에 첨가하였다. 상

기 쉘 전구체 용액을 120℃로 유지하고 실온으로 냉각시킨 후, 실시예 3에서 제조된 코어 $NaYF_4$:Yb/Tm 입자, NH_4F(0.1475 g), 및 NaOH(0.1 g)를 메탄올 용액에 첨가하고 상기 쉘 전구체 용액과 함께 혼합하였다. 290℃에서 2 시간 동안 반응 시킨 후, 원심 분리한 후 혼합물을 시클로헥산에 보관하였다. 도 3의 b (i)는, $NaYF_4$:Yb/Tm 코어 UCNP의 TEM 사진, 도 3의 b (ii)는, $NaYF_4$:Yb/Tm@$NaYF_4$:Yb/Nd 코어-쉘 UCNP의 TEM 사진으로서, 각각 약 25 nm 및 약 40 nm의 직경을 가지는 것을 확인하였다. 도 3의 e는 $NaYF_4$:Yb/Tm 코어 UCNP 및 $NaYF_4$:Yb/Tm@$NaYF_4$:Yb/Nd 코어-쉘 UCNP의 XRD 패턴으로서, 결정상이 레퍼런스 β-$NaYF_4$의 헥사고날(hexagonal) 상(JCPDS 16-0334)과 잘 일치함을 확인하였다.

[0081] **<실시예 5: UCNP/PAA 나노구조체(Nanocomposites)의 합성>**

[0082] 실시예 4에서 제조된 UCNP 시클로헥산 용액(1 mL) 및 과량 에탄올의 혼합물을 원심 분리하여 코어-쉘 UCNP를 제작하고, 상기 코어-쉘 UCNP를 HCl 용액(0.05 M, 5 mL)에 옮겼다. 표면 리간드를 제거하기 위하여 초음파 처리한 후, 원심 분리를 통해 리간드-프리 UCNP(ligand-free UCNP)를 얻었다. 상기 리간드-프리 UCNP를 폴리아크릴산(polyacryl acid, PAA) (0.02 g, 평균 MW 1800)을 함유하는 탈이온수(2 mL)에서 20 분 동안 교반하면서 분산하였다. pH = 7.4로 조절하기 위해 NaOH(1 M)를 첨가한 후 원심 분리를 이용하여 세척하였다.

[0084] **<실시예 6: Au NR@aTiO_2@UCNP 코어-쉘 나노구조체(core-shell nanocomposites)의 합성>**

[0085] 상기 실시예 2에서 제조된 Au NR@aTiO_2@SiO_2을 EtOH에 재분산하고 (3-아미노프로필)트리에톡시실란((3-Aminopropyl)triethoxysilane, APTES)으로 처리하여 아민 작용기화(amine functionalization)하였다. 원심 분리 후, 상기 아민 작용기화 된 Au NR@aTiO_2@SiO_2를 탈이온수에 재분산하고 상기 실시예 5에서 제조된 UCNP/PAA를 첨가하여 밤새 교반하였다. pH를 조정하기 위하여 NaOH(0.1 M)를 주입하고 원심 분리를 이용하여 세척하였다. 최종적으로, 상기 Au NR@aTiO_2@UCNP는 생체적합성을 증가시키기 위하여 쉘 표면에 polyethylene glycol-modified folic acid(PEG-FA)를 도입하였다 (도 1a). 도 2의 a(ii)는, Au NR@aTiO_2@UCNP의TEM 사진으로서, UCNP가 결정질 TiO_2 쉘에 균일하게 분포된 것을 나타낸다. 다른 형태학은 관찰되지 않았으므로 본 발명의 Au NR@aTiO_2@UCNP합성이 적절한 방법으로 행해졌음을 확인하였다.

[0087] **<비교예 1: UCNP@TiO_2 코어쉘 나노구조체의 합성>**

[0088] 실시예 4에서 제조된 UCNP 시클로헥산 용액(1 mL) 및 과량의 에탄올의 혼합물을 원심 분리하여 코어-쉘 UCNP를 제작하고, 상기 코어-쉘 UCNP를 HCl 용액(0.05 M, 5 mL)에 옮겼다. 표면 리간드를 제거하기 위하여 초음파 처리한 후, 원심 분리를 이용하여 리간드-프리 UCNP를 얻었다. 리간드-프리 UCNP를 폴리비닐피롤리돈(polyvinylpyrrolidone, PVP)(0.5g, 평균 MW 40000)을 함유하는 탈이온수(5 mL)에서 1 시간 동안 초음파 처리 및 자기 교반하면서 분산하였다. 생성된 PVP로 감싸진 UCNP를 에탄올(20 mL)과 혼합한 후, 30 분 동안 추가 자기 교반하였다. 티타늄을 공급하기 위하여 자기 교반되고 있는 상기 용액에 TiF_4 수용액(0.025 M, 4 mL)을 적가하였다. 형성된 반응 용액을 바이알에 옮기고 200℃에서 2 시간 동안 유지하였다. 상온으로 냉각 한 후, 얻어진 침전물을 원심 분리를 이용하여 분리하고 에탄올과 탈이온수로 각각 3 회 세척하였다. 그 후, UCNPs@TiO_2의 생체적합성을 향상시키기 위하여 표면에 PEG-FA을 도입하였다 (도 3의 a). 상기 UCNP/TiO_2 나노구조체는 Au 나노 성분이 없는 상태에서 UCNP와 TiO_2 사이에서 확립된 기계적 경로(상향변환 발광에 의한 TiO_2의 여기)를 조사하기 위한 비교군으로서 사용하였다.

[0090] **<실험예 1: 광학 특성 평가>**

[0091] 본 발명의 나노구조체의 성능을 평가하기 위하여 실시예에서 제조된 나노구조체의 광학적 특성을 측정하였다. 본 발명의 나노구조체의 성능은 개별 나노 구성 요소의 흡수 및 방출 광학 특성과 직접적으로 얽혀있다. 도 2의

b는, 실시예 1에서 제조된 Au NR, 실시예 2에서 제조된 Au NR@aTiO$_2$, 및 실시예 6에서 제조된 Au NR@aTiO$_2$@UCNP의 UV-Vis 흡수 스펙트라이다. 종횡비 3.2 (112 x 35 nm)의 합성된 Au NR의 세로 방향 표면 플라즈몬 공명(longitudinal surface plasmon resonance, longitudianl-SPR) 피크 및 가로 방향의 표면 플라즈몬 공명(transverse surface plasmon resonance, TSPR) 피크는 각각 약 740 nm 및 약 530 nm에서 나타났다. TiO$_2$ 쉘은 longitudianl-SPR 피크를 약 880 nm로 red-shift 유도하였다. 상기 현저한 longitudianl-SPR 피크 이동은 Au NR을 둘러싼 굴절률의 증가에 기인하며, 상기 현저한 longitudianl-SPR 피크 이동은, SiO$_2$ 쉘을 도입하였을 때 쉘의 습성 및 두께가 변함에도 불구하고, SiO$_2$ 쉘을 도입하였을 때도 유사한 정도로 나타났다. TiO$_2$ 어닐링 공정 및 이어지는 UCNP 통합(Au NR@aTiO$_2$@UCNP)은 longitudianl-SPR 피크를 다시 약 808 nm로 blue-shift 유도하였다. 중요한 것은, Au NR@aTiO$_2$의 흡수 대역은 UCNP의 흡수 대역과 겹쳐짐으로써UCNP의 흡수 단면적이 확대되고, UCNP 흡수 단면적의 확대는 방출 효율의 증가로 이어진다는 것이였다. 도 3의 f는, 비교예 1에서 제조된 UCNP@aTiO$_2$의 흡수 스펙트럼으로서, UCNP@aTiO$_2$ 광학적 특성은 약 250 nm에서 TiO$_2$ 특성 밴드만을 나타냈으며 코어 UCNP의 낮은 흡수 단면으로 인해 808 nm에서 흡수 피크가 나타나지 않았다. 도 3의 d는, 실시예 3에서 제조된 NaYF$_4$:Yb/Tm 코어 UCNP 및 실시예 4에서 제조된 NaYF$_4$:Yb/Tm@NaYF$_4$:Yb/Nd 코어-쉘 UCNP의 상향변환 발광(upconversion luminescence, UCL) 스펙트라이다. 상기 NaYF$_4$:Yb/Tm 코어 UCNP 및 상기 808 nm 광반응성 NaYF$_4$:Yb/Tm@NaYF$_4$:Yb/Nd 코어-쉘 UCNP는 UV 영역에서 345 nm 및 361 nm의 두 개의 피크, 블루 파장 대역에서 451 nm 및 476 nm의 두 개의 피크, 및 녹색 파장 대역에서 527 nm 하나의 피크를 나타냈다. 이러한 방출은 각각 $^1I_6$ 에서 $^3F_4$, $^1D_2$ 에서 $^3H_6$, $^1D_2$ 에서 $^3F_4$, $^1G_4$ 에서 $^3H_6$, 및 $^1D_2$ 에서 $^3H_5$의 전자 이동(transition)에 기인했으며, 본 발명자의 이전 보고와 잘 일치했다. Nd^{3+} 기반 쉘의 도입은 단면적 흡수의 증가 및 도펀트의 도입을 통한 표면 결함의 감소에 기초한 우수한 UCL 강도를 달성하였다. 적절한 수분 분산을 위한 PAA의 도입은, 활성화된 이온을 차폐하고 청색 영역에서 작은 피크 이동을 유도함으로써, UV 영역에서의 Tm^{3+} 방출 피크를 억제하는 것으로 나타났다 (도 2의 c). 삼원 구조로 통합됨에 따라, 본 발명자는 세 가지 구별되는 조건에서 스페이서 두께의 영향을 조사하였다 (도 7). 도 2의 c를 참조하여 설명하면, Au NR@aTiO$_2$@UCNP의 UCL 강도는 UCNP/PAA와 비교하여, 약 15 nm 의 최적화된 스페이서 두께에서 3 배 증가를 나타냈으며, 이는 플라즈몬 효과의 결과이다. 도 7의 b를 참조하여 설명하면, 빛 조사 하에서 약 7 nm의 얇은 두께의 TiO$_2$ 스페이서는 약 15 nm의 최적화 된 두께 조건에 비해 상대적으로 약한 UCL 강도를 나타냈으며, 이는 가속화된 퀜칭 효과를 시사한다. 반대로, 약 35 nm로 스페이서 두께가 증가하면 인접 UCNP에 대한 근거리장 강화 효과가 감소되고 UCL강도가 저하되는 것으로 나타났다. 따라서 본 발명은 플라즈몬 구조(Au NR)와 UCNP 사이의 스페이서로서 작용하는 최적화된 TiO$_2$ 쉘이 바람직하지 않은 퀜칭 효과(quenching effect)를 방지하는 데 적합함을 증명하고 있다. LSPR-강화된 상향변환 방출의 향상에 대한 우리의 초점에도 불구하고, Au와 UCNP 나노 성분 사이에 확립된 거리는 국소장강화-증가된 여기율(local field enhancement-increased excitation rates, LFE) 및 복사 감쇠율의 표면 플라즈몬 결합 방출(surface plasmon-coupled emission, SPCE)증가 향상 및 비복사에너지전환(non-radiative energy transferring, NRET)에 똑같이 영향을 미칠 것으로 예상된다. 종래 문헌에서는 더 얇은 쉘의 주요 NRET가 금속 퀜칭을 유도하는 반면, SPCE와 LFE는 스페이서 두께가 증가함에 따라 우세해졌다. 각 효과를 정확하게 분리하려면 쉘 두께뿐만 아니라 분석중인 구조의 모양, 크기 및 구성에 크게 의존하는 포괄적 인 연구가 필요할 것으로 예상된다. 상기 광학 특성 평가 결과를 종합하면, 플라즈모닉 효과는 Au NR@aTiO$_2$ 코어-쉘 나노구조체 주위에서 강한 근거리장 강화를 유도하고, 이것은 흡수 스펙트럼 일치로 인한 UCNP 단면적 흡수를 증가시키고 UCNP 나노입자의 방출 효율을 강화시킴을 확인하였다.

[0093] **<실험예 2: 광촉매 및 광열 특성 평가>**

[0094] 본 발명의 실시예에서 제조된 나노구조체의 광촉매 및 광열 지문을 조사하였다 (도 4). 먼저, NIR 광(808 nm) 조사하에서 활성산소종(ROS, reactive oxygen species)의 생성을 평가하기 위하여, Rhodamine B(RhB) 염료 분해 실험을 실시하였다. 상기 808 nm의 레이저는 실험예 1에서의 Au NR@aTiO$_2$@UCNP 삼원 구조체의 Au LSPR 밴드 흡수 대역과 일치하는 것이다. 수집된 시간에 따른 RhB 흡수 스펙트럼으로부터 550 nm에서의 상대 흡수 밴드 강도를 체계적으로 계산하였다 (도 4의 a). 빛 조사 시간(0 시간, 1 시간, 2 시간, 및 3 시간)에서, RhB와 물의

혼합물인 대조군(회색)에 비해 Au NR@aTiO$_2$(주황색) 및 UCNP@aTiO$_2$(보라색)의 이원 구조체 모두 RhB의 저하 정도가 증가하였다 (도 3의 b). Au NR@aTiO$_2$에 해당되는 결과는 제안된 플라즈몬 파생된 열전자 생성 및 상기 열전자가 쇼트키 장벽을 가로 질러 TiO$_2$의 전도대에 주입된다는 것의 직접적인 증거이다. 결정질 aTiO$_2$의 역할을 밝히기 위하여, Au NR@비정질(amorphous) TiO$_2$를 추가로 준비하여 Rhodamine B(RhB) 염료 분해 실험을 수행한 결과, amorphous TiO$_2$에 주입된 전하 캐리어의 빠른 재결합으로 인하여 Au NR@결정질 TiO$_2$ 의 라디칼 형성의 일부만을 나타냈다. 레퍼런스 UCNP@aTiO$_2$ 성능에 대한 직접적인 정량적 비교는 이러한 하이브리드 재료의 뚜렷한 형태와 뚜렷한 UCNP/aTiO$_2$ 인터페이스 영역에 의해 신중하게 고려되어야 하지만, 위의 결과는 그럼에도 불구하고 두 나노 성분 사이의 확립된 메커니즘에 대해 밝히고 있다. 구체적으로, UCL은 본질적으로 입사 NIR 빛을 사용할 수 없는 UV 반응성 TiO$_2$를 효과적으로 여기하여 수산화라디칼(·OH)을 생성하기 위한 적절한 산소 환원을 위해 반도체에 효율적인 전자 여기를 유도하도록 제안되었다. 그러나, RhB 염료 분해는 삼원 Au NR@aTiO$_2$@UCNP 구조의 존재에서 현저하게 두드러졌다. 특히, Au NR@aTiO$_2$의 표면에 고유한 낮은 양자 효율을 가진 UCNP를 도입하는 것은 빛 조사에서 Au NR@aTiO$_2$ 및 UCNP@aTiO$_2$ 의 이원 물질에 대해 현저한 향상을 가져왔다. 상기 논의 및 광학 특성 분석에 따라, 본 발명의 결과는 인접한 플라즈몬 나노 구조(Au NR) 에 의해 부분적으로 재흡수되는 해당 가시광(vis)은 TSPR에 의한 근접장 강화를 유도하여 UCNP의 시너지 플라즈몬 강화 방출 효율 향상시킴을 추론할 수 있다. 따라서 여기된 TiO$_2$의 전도대에 있는 전자뿐만 아니라 SPR에서 파생된 열 전자는 주변의 산소 분자로 신속하게 전달되어 ·OH의 생성을 분명하게 증가시키는 것으로 추정하였다.

[0095] 테레프탈산(TA)을 포함하는 Au NR@aTiO$_2$, UCNP@aTiO$_2$ 및 Au NR@aTiO$_2$@UCNP 용액을 2 시간 동안 빛 조사하여 테레프탈산(TA)의 존재하에서 ·OH의 생성을 조사하였다 (도 4의 c). 비 발광성인 TA 염료는 ·OH 라디칼과 반응하면 발광성 hydroxyterephthalic acid 반응 생성물로 전환된다. Au NR@aTiO2@UCNP에서 ·OH 라디칼이 효율적으로 생성된 것을 나타내는 강한 형광 강도가 나타났다. 대조적으로, Au NR@aTiO$_2$ 및 UCNP@aTiO$_2$은 모두 삼원 구조 Au NR@aTiO$_2$@UCNP에 비해 약한 강도를 나타냈다. 도출된 결론은 또한 N-tert-Butyl-α-phenylnitrone(PBN)을 트래핑 프로브로 사용하여 수행된 전자자기공명(electron magnetic resonance, EPR) 분광법에 의해 확증되었다 (도 4의 d). 빛 조사 하에서 Au NR@aTiO$_2$@UCNP는 Au NR@ aTiO$_2$ 및 UCNP@aTiO$_2$ 의 적분값 0.29 및 0.24와 비교하여 가장 강한 강도 (적분값: 0.37)를 가진 특징적인 PBN/·OH 피크를 나타냈다. 상기 광촉매 및 광열 특성 평가 결과는 본원의 실시예에 따른 삼원계 하이브리드 물질(Au NR@aTiO$_2$@UCNP)이 플라즈모닉 강화된 UCL로 인한 아나타제 TiO$_2$의 여기 및 Au NR 코어로부터 발생한 LSPR 및 TSPR 유도된 열전자의 주입으로 인하여, 훌륭한 ROS 생성 특성을 가지는 것을 일관되게 입증하였다. 또한, NIR 조사 하에서 시간에 따른 온도 상승 프로파일을 통해 나노구조체의 광열 효과를 조사하였다 (도 4의 e). 10 분 후, Au NR@aTiO$_2$ 및 Au NR@aTiO$_2$@UCNP는, 탈이온수(약 29℃) 및 UCNP@aTiO$_2$(약 31℃)보다 현저히 우수한 온도 범위인, 최대 온도 범위(약 42℃)를 보였으며, 이것은 암 세포의 열 절제에 중요한 역할을 할 것으로 예상된다. 상기 결과는 온도 상승이 주로 Au NR 코어의 플라즈몬 효과에 기인하는 것이며 UCNP로 인한 열 생성은 미미함을 나타냈다.

[0097] **<실험예 3: 암 치료 분석(Cancer treatment assays)>**

[0098] Au NR@aTiO$_2$@UCNP 나노구조체의 광열 및 광 역학 조합 암치료 가능성을 평가하기 위하여, 본 실험예에서는 인간 교모세포종 세포(U87MG)를 사용하여 시험관 내 치료 특성을 조사하였다 (도 5). 먼저, 상기 하이브리드 나노구조체의 생체 적합성을 어두운 조건에서 광학 밀도가 점차 증가함에 따른 3-(4,5-디메틸티아졸-2-일)-2,5-디페닐테트라졸륨브로마이드(3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide, MTT) 분석으로 검사하였다. Au NR@aTiO$_2$@UCNP, UCNP@aTiO$_2$, 및 Au NR@aTiO$_2$샘플을 각각 U87MG 세포와 함께 24 시간 동안 배양한 다음 MTT로 처리하였다. 약 570 nm에서 나타나는 흡수 밴드를 모니터링하여 유도된 세포 독성을 조사하였다. 광학 밀도 범위(Au NR@aTiO$_2$ 및 Au NR@ aTiO$_2$@UCNP의 경우 808 nm에서 0-0.2 μg범위, UCNP@aTiO$_2$의 경우 0-30 μg 범위)에 의해 나노구조체의 독성 농도가 크게 증가했음에도 불구하고, 모든 하이브리드 나노구조체로 처리된 세포의 생존율은 약 80% 이상을 유지하여 하이브리드 나노구조체의 생체적합성을 확인하였다 (도 5의 a). 빛 세포 독성을 평가하고 하이브리드 나노구조체의 광치료 효과를 입증하기 위하여, 빛 조사 하에서 MTT 분석을 수행하

였다. Au NR@aTiO$_2$ 및 Au NR@aTiO$_2$@UCNP는 OD=0.2을, UCNP@aTiO$_2$는 30 μg을 U87MG 세포와 함께 24 시간 동안 배양하고 808 nm 레이저를 5 분간 조사하였다. 이원 물질 샘플(Au NR@aTiO$_2$ 및 UCNP@TiO$_2$)에 빛을 조사하는 경우 및 나노 구조가 없는 조건에서 유일하게 빛을 조사하는 샘플(빨간색 막대)의 경우는 열악한 세포 독성을 나타내어 제한적인 광열 및 광역학적 효율성을 나타내거나 개별 광 역학 처리에 불충분한 산화 스트레스를 나타냄을 확인하였다 (도 5b). 광 조사 하에서의 Au NR@aTiO$_2$@UCNP는 전례없는 세포 생존력 감소를 촉진하여 광열 및 광역학적 효과의 조합 효과를 입증하였다 (도 5b). 또한, 플라즈몬 강화된 UCL과 결합된 LSPR 및 TSPR 생성 열전자로 의한 ROS 생성 능력의 상승 효과를 확인하였다 (도 5의 c).

[0099] 시험관 내에서 ROS 생성 능력을 밝히기 위하여, 2',7'-dichlorodihydrofluorescein diacetate(DCFH-DA) 프로브를 사용하여 세포 내 ROS 수준을 측정하였다. 원칙적으로 비형광 DCFH-DA는 ROS와 반응하여 살아있는 세포 내부에 녹색 형광 2',7'-dichlorodihydrofluorescein(DCF)을 형성한다. 특히, 대조군(Au NR@aTiO$_2$ 및 UCNP@aTiO$_2$의 샘플처리 한세포군)과 비교하여 Au NR@aTiO$_2$@UCNP의 우수한 형광 강도는 향상된 UCL; 및 LSPR 및 향상된 TSPR로 구동되는 열 전자의 생성을 나타냈다. 상기 결과는 상기 나노구조체의 효율성을 강조하고 세포 환경 내에서 제안된 조합 및 시너지 치료 효과를 강조하였다.

[0100] 또한, 본 실험예에서는 유동 세포 계측 분석(flow cytometric analysis)을 사용하여 세포 사멸 메커니즘 경로를 밝혔다. 대표적으로, 빛 조사하에 Au NR@aTiO$_2$@UCNP의 존재하에서 배양한 후 후기 세포 사멸의 총 비율은 평가된 나노구조체 샘플 중에서 가장 높은 값(76.0%)을 달성하였고, Au NR@aTiO$_2$ 및 UCNP@aTiO$_2$ 값은 각각 15.0% 및 12.2%에 그쳤다 (도 6의 a). 종합하면, 상기 결과는 apoptosis pathway(아폽토시스 경로)(세포막이 터지지 않은 상태에서 세포가 사멸된 것으로서, 암세포 전이가 일어나지 않으므로 이상적인 세포 사멸 경로임)를 통해 우수한 치료 효과를 나타내었다.

[0101] 광 유도된 세포 사멸은 종종 미토콘드리아 및 리소좀을 포함한 세포 소기관의 손상을 동반할 수 있다. PDT의 저항성을 유발하는 미토파지(mitophagy) 과정은 대사 항상성을 유지하여 proapoptotic 단백질의 방출을 막는다. 우연히 손상된 미토콘드리아와 리소좀은 미토파지의 억제로 인해 느리고 더 효과적인 세포 사멸을 초래할 수 있다. 따라서, 본 실험예에서는 미토콘드리아와 리소좀의 오작동을 조사하였다. 먼저, MitoTracker Green FM 형광 등을 사용하여 미토콘드리아의 기능 장애를 모니터링하였다 (도 6의 b). 어두운 상태 및 유일한 빛 조사 하에서 대조 샘플을 처리한 후, 처리된 세포는 실 모양의 미토콘드리아 형태를 나타냈고 (도 6의 b), 빛 조사 하에서 샘플이 있는 경우 조각화 된 (심지어 흐릿한) 미토콘드리아가 관찰되다. 상기 결과는 생성된 ·OH 또는 LSPR 기반 국부 열이 상당한 미토콘드리아 기능 장애를 유발하여 결국 세포 사멸을 유발함을 시사하였다.

[0102] 강화된 미토콘드리아 손상은 레이저 광선 아래에서 하이브리드 나노구조체의 존재 하에서 뚜렷하게 관찰되었다. 두 가지 유형의 형광 이미징(LysoTracker Green DND-26 및 acridine orange(AO) 염색 분석)을 사용하여 세포 사멸 진행에서 유도된 리소좀 손상을 조사하였다. 처리되지 않았거나 어두운 곳에서 처리된 세포는 세포질 내부에 녹색 반점이 지속적으로 나타나 건강한 리소좀의 존재를 유추하였다 (도 6의 c). 빛 조사 하에서 Au NR@aTiO$_2$ 및 UCNP@aTiO$_2$는 이러한 이원 구조를 사용하는 경미한 치료 효과(단독 PTT 또는 PDT에 기인 함)와 일치하여 녹색 반점의 전체 강도가 약간만 감소한 것으로 표시될 수 있었다. 레이저 광 아래에서 Au NR@aTiO$_2$@UCNP로 묘사되고 리소좀의 효과적인 파괴에 기인한 미묘한 녹색 형광은 생성된 ROS 및 국부 열에 의한 효율적인 리소좀 막 불안정화를 확인하였다. 위에서 언급한 효과를 추가로 확인하기 위해 최종적으로 AO 분석을 수행하여 리소좀 막 투과성(LMP)을 모니터링하였다 (도 6의 d). 빛 조사 하에서 Au NR @aTiO$_2$@UCNP가 있는 경우, 리소좀의 두드러진 적색 형광은 PTT 및 PDT 조합 효과의 영향으로 심각하게 손상된 리소좀을 반영하였다.

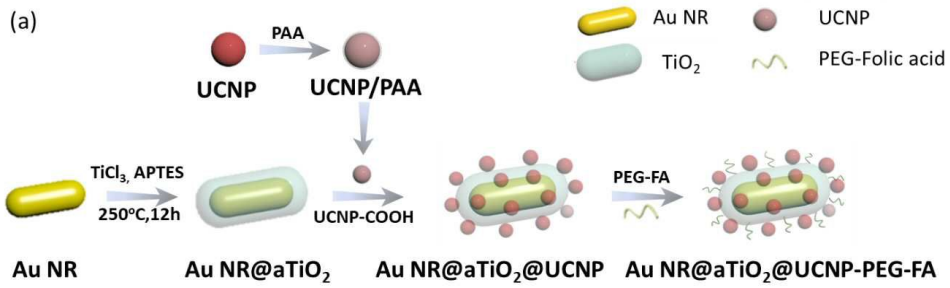
[0104] 전술한 본원의 설명은 예시를 위한 것이며, 본원이 속하는 기술분야의 통상의 지식을 가진 자는 본원의 기술적 사상이나 필수적인 특징을 변경하지 않고서 다른 구체적인 형태로 쉽게 변형이 가능하다는 것을 이해할 수 있을 것이다. 그러므로 이상에서 기술한 실시예들은 모든 면에서 예시적인 것이며 한정적이 아닌 것으로 이해해야만 한다. 예를 들어, 단일형으로 설명되어 있는 각 구성 요소는 분산되어 실시될 수도 있으며, 마찬가지로 분산된 것으로 설명되어 있는 구성 요소들도 결합된 형태로 실시될 수도 있다.

[0105] 본원의 범위는 상기 상세한 설명보다는 후술하는 특허청구범위에 의하여 나타내어지며, 특허청구범위의 의미 및 범위, 그리고 그 균등 개념으로부터 도출되는 모든 변경 또는 변형된 형태가 본원의 범위에 포함되는 것으로 해

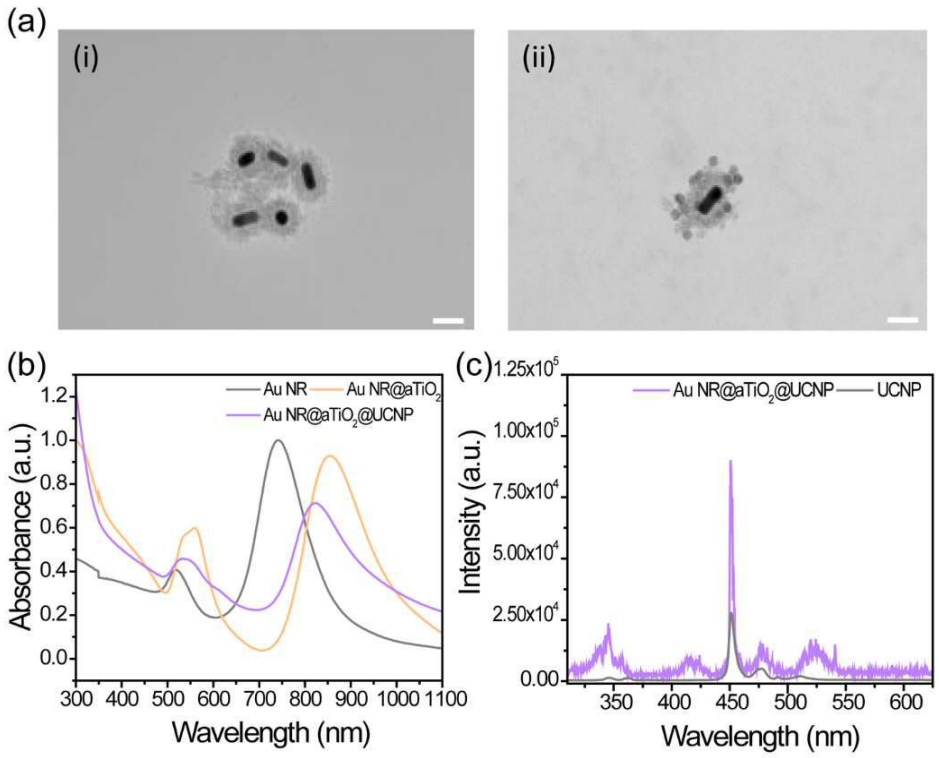
석되어야 한다.

도면

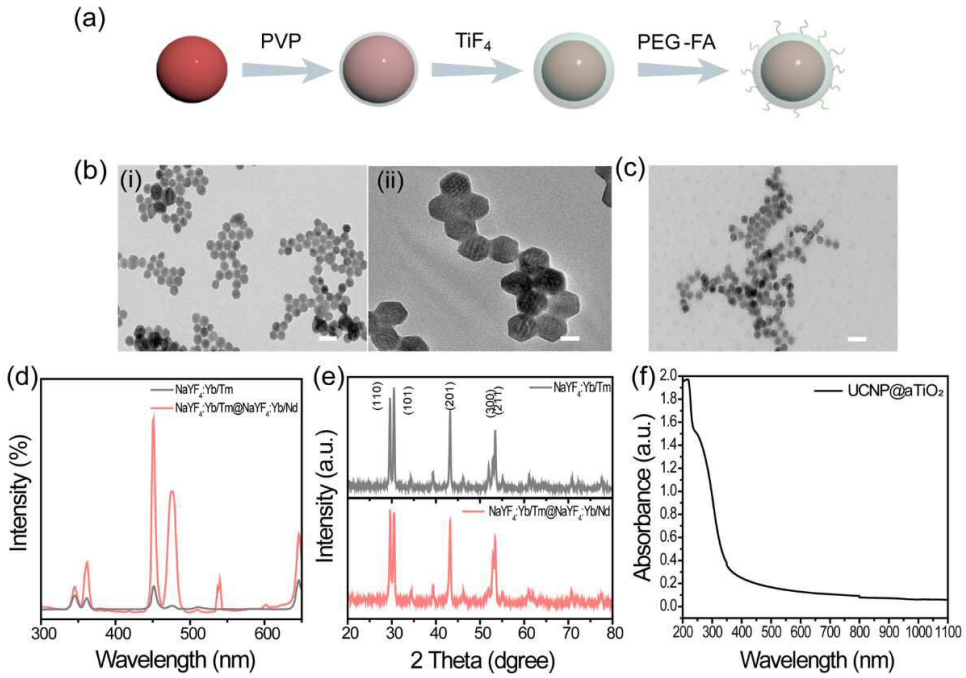
도면1



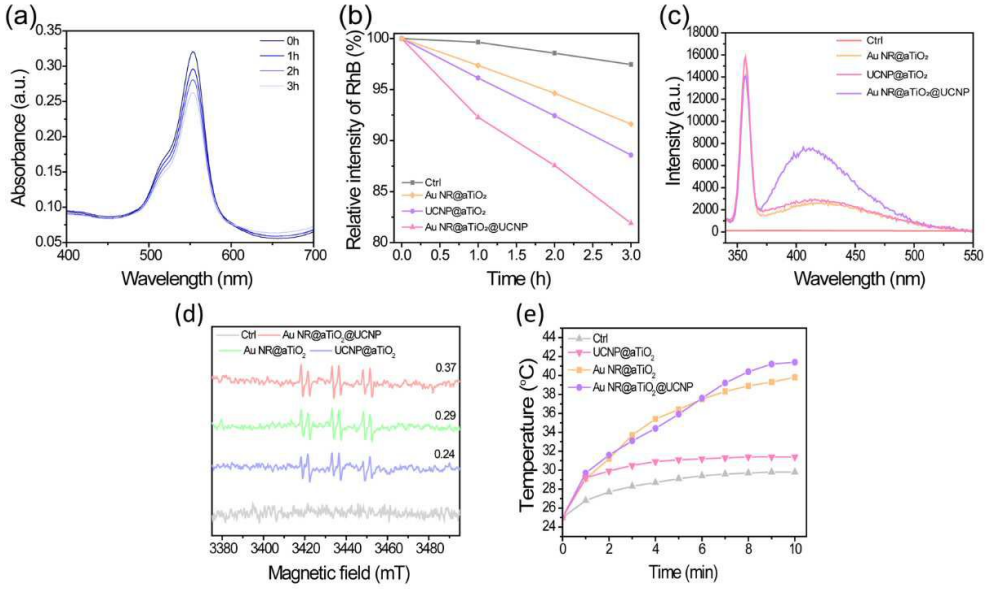
도면2



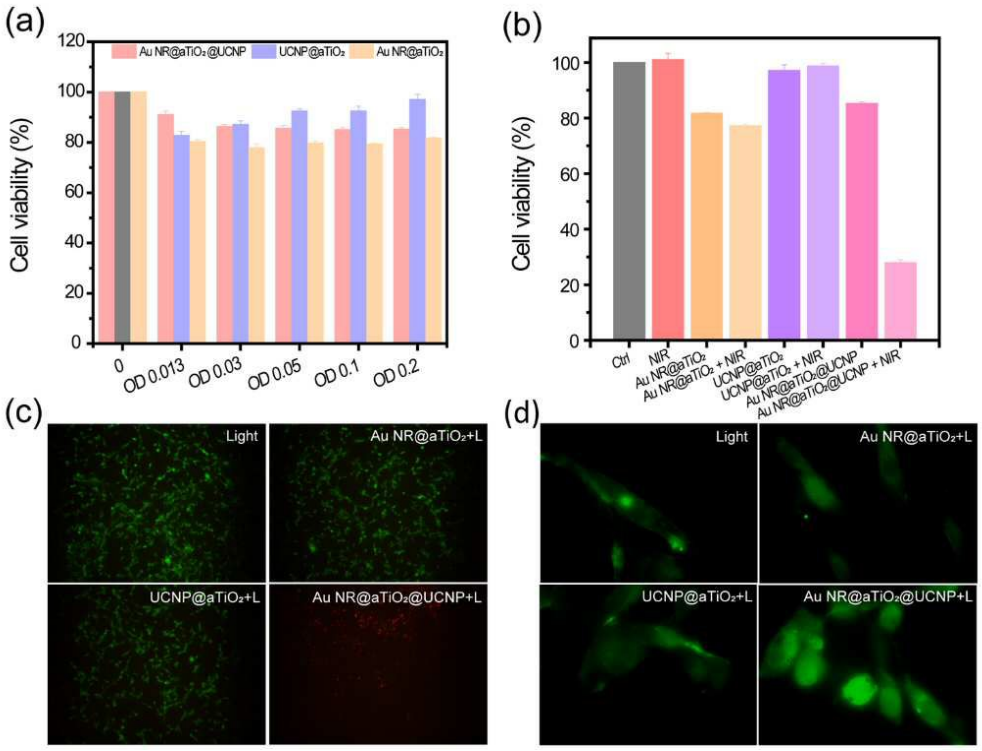
도면3


(a)
PVP
TiF_4
PEG-FA
(b)
(i)
(ii)
(c)
(d)
Intensity (%)
Wavelength (nm)
(e)
Intensity (a.u.)
2 Theta (dgree)
(f)
Absorbance (a.u.)
Wavelength (nm)
UCNP@aTiO2

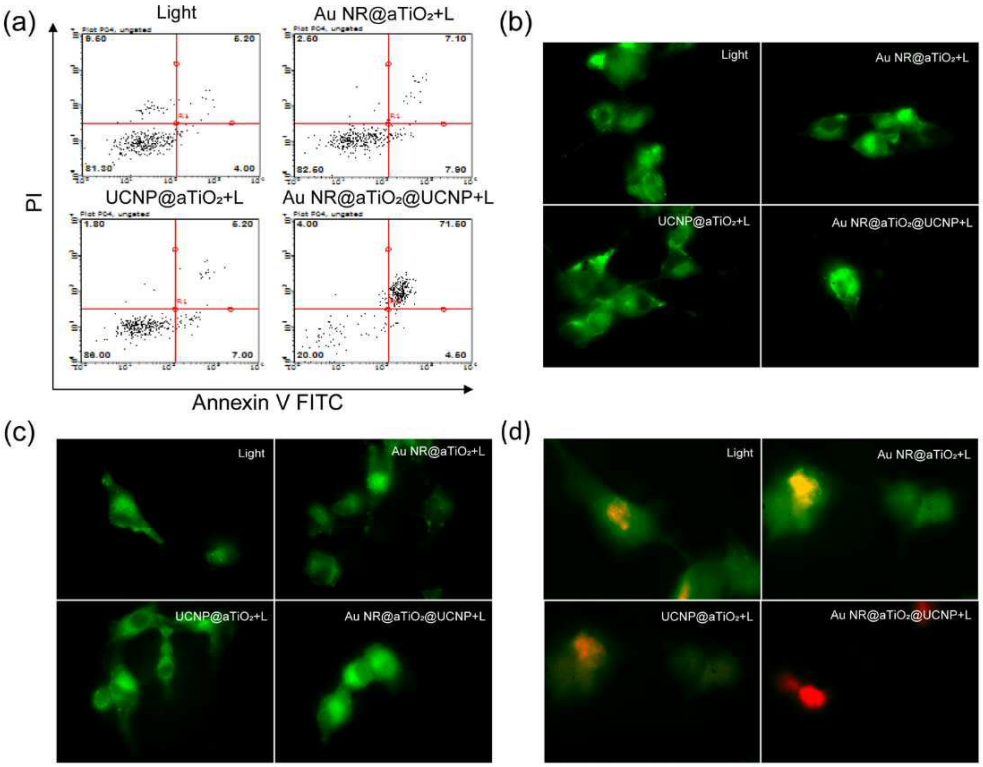
도면4


(a)
Absorbance (a.u.)
Wavelength (nm)
0h
1h
2h
3h
(b)
Relative intensity of RhB (%)
Time (h)
Ctrl
Au NR@aTiO2
UCNP@aTiO2
Au NR@aTiO2@UCNP
(c)
Intensity (a.u.)
Wavelength (nm)
(d)
Magnetic field (mT)
0.37
0.29
0.24
(e)
Temperature (°C)
Time (min)

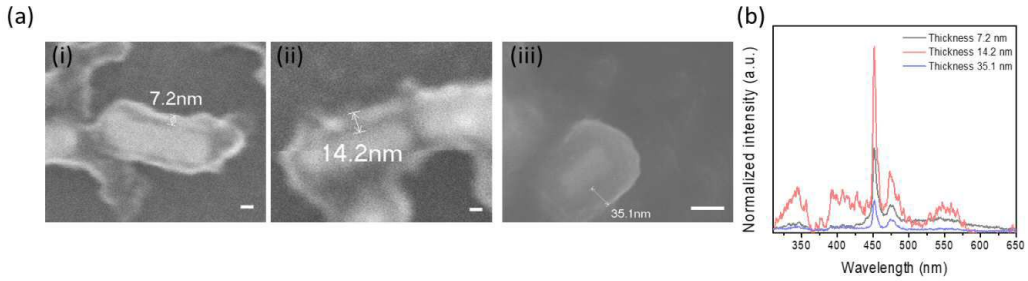
도면5


(a)
Au NR@aTiO₂@UCNP
UCNP@aTiO₂
Au NR@aTiO₂
Cell viability (%)
0
OD 0.013
OD 0.03
OD 0.05
OD 0.1
OD 0.2
(b)
Cell viability (%)
Ctrl
NIR
Au NR@aTiO₂
Au NR@aTiO₂ + NIR
UCNP@aTiO₂
UCNP@aTiO₂ + NIR
Au NR@aTiO₂@UCNP
Au NR@aTiO₂@UCNP + NIR
(c)
Light
Au NR@aTiO₂+L
UCNP@aTiO₂+L
Au NR@aTiO₂@UCNP+L
(d)
Light
Au NR@aTiO₂+L
UCNP@aTiO₂+L
Au NR@aTiO₂@UCNP+L

도면6


(a)
Light
Au NR@aTiO₂+L
UCNP@aTiO₂+L
Au NR@aTiO₂@UCNP+L
PI
Annexin V FITC
(b)
Light
Au NR@aTiO₂+L
UCNP@aTiO₂+L
Au NR@aTiO₂@UCNP+L
(c)
Light
Au NR@aTiO₂+L
UCNP@aTiO₂+L
Au NR@aTiO₂@UCNP+L
(d)
Light
Au NR@aTiO₂+L
UCNP@aTiO₂+L
Au NR@aTiO₂@UCNP+L

도면7


(a)
(i)
7.2nm
(ii)
14.2nm
(iii)
35.1nm
(b)
Thickness 7.2 nm
Thickness 14.2 nm
Thickness 35.1 nm
Normalized intensity (a.u.)
350
400
450
500
550
600
650
Wavelength (nm)