

(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구
국제사무국



(43) 국제공개일
2012년 5월 3일 (03.05.2012)

PCT

(10) 국제공개번호
WO 2012/057556 A2

- (51) 국제특허분류:
B82B 3/00 (2006.01) *B82B 1/00* (2006.01)
- (21) 국제출원번호: PCT/KR2011/008116
- (22) 국제출원일: 2011년 10월 28일 (28.10.2011)
- (25) 출원언어: 한국어
- (26) 공개언어: 한국어
- (30) 우선권정보:
10-2010-0106731 2010년 10월 29일 (29.10.2010) KR
- (71) 출원인 (US 을(를) 제외한 모든 지정국에 대하여): **포항공과대학교 산학협력단 (POSTECH ACADEMY-INDUSTRY FOUNDATION)** [KR/KR]; 경북 포항시 남구 효자동 산 31번지, 790-784 Pohang-si (KR).
- (72) 발명자: **김성지 (KIM, Sung-je)** [KR/KR]; 경북 포항시 남구 지곡동 교수아파트 5-603, 790-751 Gyungbuk (KR). **박준혁 (PARK, Joon-hyuck)** [KR/KR]; 경북 포항시 남구 효자동 포항공과대학교 화학관 420호, 790-784 Gyungbuk (KR). **남주택 (NAM, Jutack)** [KR/KR]; 경북 포항시 남구 효자동 포항공과대학교 15-314, 790-784 Gyungbuk (KR). **진호 (JIN, Ho)** [KR/KR]; 충남 서산시 양대동 397-3, 356-100 Chungnam (KR).

- (74) 대리인: **박상훈 (PARK, Sang Hoon)**; 서울시 강남구 역삼1동 823-48 세원빌딩 4층, 135-080 Seoul (KR).
- (81) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 역내 권리의 보호를 위하여): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.
- (84) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 역내 권리의 보호를 위하여): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 유라시아 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), 유럽 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

공개:

- 국제조사보고서 없이 공개하며 보고서 접수 후 이를 별도 공개함 (규칙 48.2(g))

(54) Title: SYNTHESIS OF MOLECULAR SIEVES FOR MODIFYING THE SURFACES OF NANOPARTICLES HAVING AMPHOTERIC IONS, AND APPLICATION THEREOF

(54) 발명의 명칭 : 양쪽성 이온을 가진 나노입자 표면 개질용 표면 분자체의 합성과 그 응용

(57) Abstract: The present invention relates to a surface modification method for improving the dispersion of nanoparticles, and to nanoparticles having improved dispersion properties prepared by the method. More particularly, the present invention relates to a method in which amphoteric compounds are bonded to the surfaces of nanoparticles to improve dispersion at the surfaces of nanoparticles. The present invention also relates to nanoparticles using the method. Both anions and cations are formed on the surfaces of the nanoparticles according to the present invention, and therefore the nanoparticles are electrically stable so as to achieve stability in a wide pH range, are stably dispersed in the event of a high concentration of salts, and the non-specific adsorption thereof is reduced. Novel specific substances or sensors having minimized non-specific adsorption may be produced using the nanoparticles of the present invention.

(57) 요약서: 본 발명은 나노입자의 분산성을 향상시킬 수 있는 표면 개질 방법 및 이를 이용해 제조된 향상된 분산성을 가지는 나노입자에 관한 것으로서, 보다 상세하게는 나노입자의 표면에 양쪽성 화합물이 결합하여 표면 분산성을 향상시키는 방법 및 이를 이용한 나노입자에 관한 것이다. 본 발명에 따른 나노입자는 나노입자의 표면에 음이온과 양이온이 동시에 형성되어, 전기적으로 안정하여 넓은 pH 범위에서 안정하고, 염의 농도가 높은 경우에도 안정적으로 분산되고, 비특이적 흡착이 저감된다. 이를 이용하여 비특이적 흡착을 최소화한 새로운 특이적 물질이나 센서를 제조하게 되었다.

WO 2012/057556 A2

명세서

발명의 명칭: 양쪽성 이온을 가진 나노입자 표면 개질용 표면 분자체의 합성과 그 응용

기술분야

- [1] 본 발명은 나노입자의 분산성을 향상시킬 수 있는 표면 개질 방법 및 이를 이용해 제조된 향상된 분산성을 가지는 나노입자에 관한 것으로서, 보다 상세하게는 나노입자의 표면에 양쪽성 화합물이 결합하여 표면 분산성을 향상시키는 방법 및 이를 이용한 나노입자에 관한 것이다.

배경기술

- [2] 나노입자를 제조하기 위한 다양한 방안들이 제시되고 있는데, 전통적인 물리적 분쇄 방법 이외에도 불꽃열분해법(flame pyrolysis), 분무열분해법(spray pyrolysis), 졸겔법(sol-gel process), 용액열분해법(solvothermal method) 등이 사용되고 있다. 나노입자의 경우, 나노입자가 형성될 때에 나노입자 표면의 불안정성 때문에 나노입자가 형성됨과 동시에 서로 엉겨 붙는 현상이 나타나는데, 이를 극복하기 위한 방안들이 개발되고 있다.
- [3] 삼성전기 주식회사는 대한민국 특허 공개 제2008-0004831호에서 구리 전구체의 표면을 캡핑분자로 둘러싸 안정화시킨 금속 산화물 나노입자 제조 방법과 금속산화물 나노입자를 개시하고, 대한민국 특허 제820231호에서 금속 전구체 용액을 스프레이 인젝션하여 금속 나노입자를 제조하는 방법을 개시하고, 또한 대한민국 특허 제790948호에서 금속 전구체 용액에 분산안정제를 사용하여 금속 나노입자를 제조하는 방법을 개시한다.
- [4] 성균관대학교 산학협력단은 대한민국 특허 제861355호에서 무전해 도금액을 이용한 나노입자 제조 방법을 개시하고, 한국생산기술연구원은 대한민국 특허공개 제2008-81630호에서 무전해 도금액을 기판에 스프레이 하여 금속 나노입자를 제조하는 방법을 개시한다.
- [5] 발명자 최용호는 대한민국 특허 555584호에서 전기분해법을 이용한 금속 나노입자 제조 방법을 개시하고, 고려대학교 산학협력단은 특허 제724807호에서 올레산을 이용하여 주석 산화물 나노입자를 제조하는 방법과 주석 산화물 나노입자를 개시한다.
- [6] 또한, 금속 나노입자에 아민이나 아스코빅 나트륨과 같은 리간드를 도입하여 활성 탄소, 무기산화물, 고분자, 제올라이트 등에 고정해서 안정화시키는 방안들도 제시되고 있다. 연세대학교는 대한민국 공개 특허 제10-2008-0021535호에서 다작용기 리간드를 이용한 나노입자의 표면 개질 및 수용성 나노입자의 제조 방법에 대하여 개시한다.
- [7] 수용액에 안정하게 분산되는 나노입자는 생명공학 및 의료공학 연구에 획기적인 도구로서 각광받고 있기 때문에, 그 수요가 국내외적으로 매우 높은

상황이며, 그래서 다양한 나노입자를 수용액에 안정하게 분산시킬 수 있는 기술은 여전히 다각도의 방법으로 연구되고 있으며, 균일하면서도 안정적인 나노크기의 입자를 가지는 새로운 나노입자와 그 제조 방법에 대한 요구가 끊임없이 제기되어 있다.

발명의 상세한 설명

기술적 과제

- [8] 본 발명에서 해결하고자 하는 과제는 넓은 pH 범위와 염의 농도에서 안정한 새로운 나노입자를 제공하는 것이다.
- [9] 본 발명에서 해결하고자 하는 다른 과제는 넓은 pH 범위와 염의 농도에서 안정한 새로운 나노입자를 제조하는 방법을 제공하는 것이다.
- [10] 본 발명에서 해결하고자 하는 또 다른 과제는 나노입자의 안정성을 향상시킬 수 있는 개질 방법을 제공하는 것이다.
- [11] 본 발명에서 해결하고자 하는 또 다른 과제는 나노입자의 안정성을 향상시킬 수 있는 새로운 화합물을 제공하는 것이다.
- [12] 본 발명에서 해결하고자 하는 또 다른 과제는 넓은 pH 범위와 염의 농도에서 안정성을 가지는 새로운 나노크기의 양자점과 그 용도를 제공하는 것이다

과제 해결 수단

- [13] 상기와 같은 문제를 해결하기 위해서, 본 발명에 따른 나노입자는 나노입자의 표면에 음이온과 양이온을 동시에 가지는 양쪽성 나노입자인 것을 특징으로 한다.
- [14] 본 발명에 따른 나노입자는 이론적으로 한정된 것은 아니지만, 양쪽성 이온 분자가 넓은 pH 범위, 높은 염의 농도 조건에서 양전하 혹은 음전하만을 띠는 분자보다 이온들에 의한 전하 가리움 효과를 덜 받게 되어, 안정한 분산체를 이루게 된다.
- [15] 본 발명에 있어서, 상기 나노입자는 1000 nm 미만의 직경을 가지는 나노단위의 염의 입자를 말한다. 일부 실시예에 있어서, 상기 나노입자는 National Science Foundation에서 정의한 것에 따르면, 나노입자는 300 nm 미만의 직경을 가진다. 일부 구체예에서, 나노입자는 National Institutes of Health에서 정의한 것에 따르면 직경이 100 nm 미만이다.
- [16] 본 발명에 있어서, 상기 나노입자는 금속, 비금속, 세라믹, 플라스틱, 고분자, 생물학적 소재, 반도체, 양자점, 복합재질 등 다양한 재질로 이루어 질 수 있으며, 또한 형광성 입자일 수 있다. 상기 복합재질이라 함은 예를 들어, 내부는 세라믹이나 고분자와 같은 비금속 재질의 핵체가 들어 있으며, 외부는 금속으로 코팅된 입자일 수 있다.
- [17] 본 발명에 있어서, 상기 나노입자는 하나의 나노입자로 이루어질 수 있고, 또한 여러 개의 금속 나노입자가 응집되어 하나의 나노입자를 이루는 형태를 이룰 수 있으며, 상기 나노입자는 내부가 채워진 고밀도의 나노입자이거나 내부에

- 격실이나 공간이 형성된 나노입자의 형태를 이룰 수 있다. 본 발명의 일 실시예 있어서, 상기 나노입자는 단층 또는 다층 형태를 이룰 수 있다.
- [18] 본 발명에 있어서, 전체적으로 중성이라 함은 입자 표면에 있는 음이온과 양이온이 균형을 이루어 실질적으로 중성을 이룸을 의미한다. 본 발명에 있어서, 상기 중성이라 함은 동적 광산란법을 이용한 표면 전하 측정 시 일반적으로 -5 mV에서 +5 mV 사이의 값을 가지며 그 표면 전하의 절대값이 10 mV를 넘지 않음을 의미한다.
- [19] 본 발명은 일 측면에 있어서, 상기 나노입자는 나노입자의 표면에 양쪽성 이온 분자체 또는 화합물이 결합된 양쪽성 나노입자이다.
- [20] 본 발명에 있어서, 상기 양쪽성 이온 분자체 또는 양쪽성 이온 화합물이란 화합물에 각각 하나 이상의 음이온과 양이온을 포함하는 화합물이다. 본 발명에 있어서, 상기 분자체 또는 화합물은 단량체, 다이머나 트라이머와 같은 올리고머, 고분자 화합물일 수 있으며, 바람직하게는 분자체의 길이가 나노입자의 외경보다 짧아, 분자체가 나노입자를 둘러쌀지 못하고, 분산된 상태에서 입자의 중심에서 외부로 뻗어가는 형태로 결합되어, 나노입자의 가장 바깥쪽 표면에 양쪽성 이온이 분포되도록 하는 것이 좋다.
- [21] 본 발명에 있어서, 상기 양쪽성 이온 화합물은 도 1에서와 같이 나노입자와 결합되는 표면 결합 영역, 연결 영역 및 작용기 영역으로 이루어질 수 있으며, 일단에 나노입자와의 결합부가 형성되고 타단에 양쪽성 이온이 형성되는 형태를 가지는 것이 좋다.
- [22] 본 발명의 실시예에 있어서, 표면 결합 영역은 나노입자의 표면에 강하게 결합할 수 있는 능력을 가진 부분으로서, 나노입자의 표면에 안정적으로 결합할 수 있는 한 제한이 사용할 수 있으며, 예를 들어 싸이올기(-SH), 다이싸이올기(-CS₂, -PS₂, -CH(SH)(CH₂CH₂SH)), 아민기(-NH₂, -NH), 포스포네이트기(-PO₃H), 포스파이드기(-P), 포스핀옥사이드기(-P=O), 카르복시기(-COOH), 하이드록시기(-OH), 이미다졸기(-imidazole), 다이올기(-diol) 등이 있으며, 이에 제한되지는 않는다.
- [23] 본 발명에 있어서, 상기 연결 영역은 표면 결합 영역과 작용기 영역을 효과적으로 연결 시켜주는 부분으로써, 일례로 아미드 결합(-CONH-), 탄소 결합(-(CH₂)_n-), 폴리에틸렌글리콜(-(CH₂CH₂O)_n-), 트리아졸(triazole) 등이 있으며 이에 제한되지는 않는다. 본 발명의 실시예에 있어서, 상기 연결 영역은 하나 이상의 분자들을 결합해서 이루어질 수 있으며, 바람직하게는 분자 전체를 나노입자 표면에 높은 밀도로 코팅할 수 있도록 형성되는 것이 좋다.
- [24] 본 발명에 있어서, 상기 작용기 영역은 나노입자를 분산시킬 용매에 안정하게 분산시킬 수 있는 능력을 가지며 이를 연결 영역과 화학적으로 결합시킨 부분으로서, 양쪽성 이온으로 술포베테인기(-N⁺(CH₃)₂CH₂CH₂CH₂SO³⁻), 카르보베테인기(-N⁺(CH₃)₂CH₂CH₂CH₂COO⁻), 포스포릴콜린기(-PO₄CH₂CH₂N⁺) 등이 있으며, 목적에 따라 이에 제한되지는 않는다. 이 분자로 표면 치환한

나노입자의 가장 바깥쪽 표면에 작용기 영역이 드러나 양쪽성 이온 분자 자체의 특성을 나노입자가 띠게 할 수 있다.

- [25] 본 발명의 일 실시예에 있어서, 시스테인(cystein)은 단백질을 구성하는 단량체, 즉 아미노산 중 하나로 싸이올기(-SH)를 가져서 이 부분이 나노입자 표면에 결합하는 표면 결합 영역이 되고, 다른 한쪽이 카르복시산기(-COO-)와 아민기(-NH₃⁺)를 동시에 가져서 이 부분이 작용기 영역이 된다. 결국 시스테인으로 표면 처리된 나노입자에서 pH 7 근처에서 시스테인이 양쪽성 이온 분자체의 역할을 하여 표면 전하를 중성에 가깝게 만들어 줄 수 있다.
- [26] 본 발명은 일 측면에 있어서, 본 발명에 따른 나노입자의 제조 방법이 나노입자를 양쪽성 이온 분자체와 반응시켜 양쪽성 이온 나노입자를 제조하는 방법인 것을 특징으로 한다.
- [27] 본 발명의 실시예에 있어서, 상기 양쪽성 이온 나노입자는 나노입자의 표면에 표면에 양쪽성 이온 분자체와 치환가능한 표면 분자체, 예를 들어, 리간드를 도입하는 단계, 그리고 상기 표면 분자체를 양쪽성 이온 분산체와 치환하는 단계를 거쳐 제조될 수 있다.
- [28] 본 발명은 일 측면에서, 나노입자의 표면에 양쪽성 이온 분자체를 형성하여 나노입자의 비특이적 흡착을 억제하는 것을 특징으로 한다.
- [29] 여기서, 용어 "비특이적 흡착"이라 함은 나노입자 또는 나노입자 내부에 포함된 물질과 외부 물질의 특이적 결합을 제외한 다른 힘, 예를 들어 이온 결합, 또는 분자간 인력에 의해서 이루어지는 흡착을 의미한다.
- [30] 여기서, 용어 "억제"라 함은 나노입자의 표면에 양쪽성 이온 분자체가 형성된 후, 나노입자의 흡착력이 특정 환경에서 줄어드는 것을 의미한다.
- [31] 이론적으로 한정된 것은 아니지만, 본 발명에 따른 나노입자는 표면에 중성상태로 안정화되어 있어, 다양한 환경에서 이온결합이나 분자간 인력에 의한 비특이적 흡착이 감소하게 된다.
- [32] 발명의 일 실시예에 있어서, 양자점과 같은 형광성 나노입자는 표면에 양쪽성 이온 분자체가 형성된 후, 비특이적 흡착이 줄어들어 피착체, 예를 들어 생체 내 세포막이나 플라스틱 표면과 같은 표면, 특히 정전기적으로 양 또는 음으로 대전된 피착체에 대한 흡착력이 현저하게 약해지게 된다.
- [33] 본 발명은 일 측면에 있어서, 표면에 양쪽성 이온 분자체가 형성된 나노입자와 상기 나노입자와 결합된 특이적 결합체를 포함하는 복합체인 것을 특징으로 한다.
- [34] 본 발명에 있어서, 특이적 결합체라 함은 나노입자 외부 물질과의 특이적 결합을 유도하는 물질을 의미하며, 예를 들어 프로브, 탐침, 항원-항체 등을 의미한다.
- [35] 본 발명에 있어서, 상기 나노입자는 형광체 또는 운반체로서 유용하게 이용될 수 있다. 본 발명의 실시예에 있어서, 상기 복합체에서 나노입자는 형광성, 흡광성, 또는 발광성 나노입자, 예를 들어 나노크기의 양자점 일 수 있으며, 이 경우,

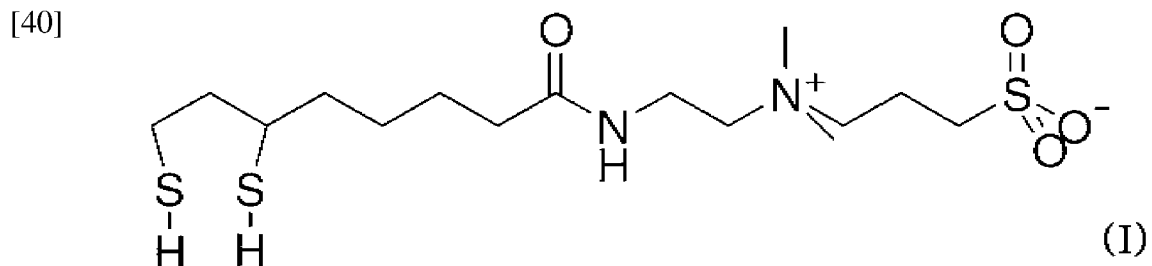
복합체는 나노입자의 비특이적 흡착 없이 특이적 결합체에 의해서 특정 물질에 결합된 후, 형광, 흡광, 또는 발광될 수 있다. 나노입자의 독특한 광학적 특성을 이용할 경우, 자기공명 영상화의 조영제, 생체 내 근적외선 형광 영상화에 사용될 수 있다. 양쪽성 이온 분자를 나노입자 표면에 도입, 비특이적 흡착이 최소화된 나노입자를 구현할 수 있다. 이 경우 영상화의 표지 인자로 사용될 나노입자의 비특이적 흡착을 최소화 시킴으로써, 영상화하고자 하는 대상만 선택적으로 관찰 할 수 있는 장점이 있다.

[36] 본 발명의 다른 실시예에 있어서, 상기 복합체에서 나노입자는 생리학적 물질, 또는 약학적 물질이나 조성물을 포함하는 나노크기의 운반체일 수 있다. 이 경우, 복합체는 약학적 또는 생리학적 물질이 필요한 부위에 특이적 결합체에 의해서 선택적으로 운반되거나 결합될 수 있다.

[37] 본 발명은 일 측면에서, 분산매에서 나노입자와 양쪽성 이온 분자체를 반응시켜 양쪽성 이온 나노입자를 제조하는 것을 특징으로 방법을 제공한다.

[38] 본 발명에 있어서, 상기 분산매는 유기 용매, 물, 또는 이들의 혼합물이며, 상기 양쪽성 이온 분자체는 분산된 나노입자와 리간드 치환 등의 방법으로 반응하게 된다.

[39] 본 발명은 다른 일 측면에서, 하기 화학식 (I)로 이루어진 양쪽성 이온 분자체를 제공한다:



[41] 본 발명은 다른 일 측면에 있어서, 도 2에 따라 상기 화학식 (I)의 양쪽성 이온 분자체를 제조하는 방법을 제공한다.

[42] 본 발명을 또 다른 일 측면에 있어서, 양쪽성 이온 분자체를 표면에 결합하여 표면의 비특이적 흡착력을 감소시키는 것을 특징으로 한다.

[43] 본 발명에 있어서, 상기 표면은 다양한 물리 화학적 방법에 의해서 양쪽성 이온 분자체가 결합할 수 있는 표면을 의미하며, 예를 들어, 양쪽성 이온 분자체가 결합될 수 있는 유리 또는 고분자 박막이 형성된 표면일 수 있다.

[44] 본 발명의 실시예에 있어서, 상기 표면은 센서의 표면일 수 있다. 본 발명의 실시예에 있어서, 상기 센서의 표면은 생체 내 특정 단백질(예컨대 심장발작 발명의 요인인 미오글로빈)에 대한 센서나 특정 세포(면역 세포 등)에 대한 센서일 수 있다.

[45] 본 발명에서와 같이, 표면에 양쪽성 이온 분자체가 도입되는 센서는 비특이적 결합력이 약해 생체 내 다른 단백질들과의 비특이적 흡착을 최소화하여 센서에서 가장 중요한 요구조건 중 하나인 시그널/노이즈 비율(signal/noise

ratio)을 크게 높일 수 있게 된다.

발명의 효과

- [46] 양쪽성 이온 분자가 개질된 나노입자의 표면은 넓은 pH 변화나 높은 염농도 환경에서 표면 분자의 작용기 부분의 성질이 바뀌지 않게 된다. 결국 양쪽성 이온 분자의 전체 전하가 0에 가까운 특성을 유지할 수 있으며, 단백질 및 인지질과의 비특이적 흡착을 최소화할 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [47] 도 1은 표면 개질 분자로 사용될 양쪽성 이온 분자의 구조 모식도이다.
- [48] 도 2는 양쪽성 이온 분자의 합성 과정을 나타내며, (i) carbonyl diimidazole, N,N-dimethylethylenediamine / anhydrous chloroform; (ii) 1,3-propanesultone / anhydrous chloroform; (iii) sodium borohydride / deionized water이다.
- [49] 도 3은 유기 용매에서 합성된 나노입자를 양쪽성 이온 분자로 표면 치환하여 양쪽성 이온 분자가 표면 개질된 나노입자를 만드는 모식도이다.
- [50] 도 4는 유기 용매에서 합성된 나노입자를 카르복시기를 가진 분자로 표면 치환하여 개질된 나노입자를 만드는 모식도이다.
- [51] 도 5는 유기 용매에서 합성된 나노입자를 양쪽성 이온 분자 및 카르복시기를 가진 분자로 동시에 표면 치환하여 두 분자가 섞여 표면 개질된 나노입자를 만드는 모식도이다.
- [52] 도 6에서 좌측은 pH 환경 변화(pH 5-10)에 따른 양자점의 수화된 크기이고, 우측은 염의 농도 변화(ionic strength: 0.05-5 M)에 따른 양자점의 수화된 크기이다. 커질수록 불안정해져 수용액에서 고르게 분산되지 못하고 응집체를 형성하여 양자점의 응용의 가능성이 낮아진다.
- [53] 도 7은 양자점과 폴리머 구슬과의 비특이적 결합을 확인 하기 위한 형광 현미경 사진이고, scale bar = 5 μm 이다.
- [54] 도 8은 양자점과 같이 키워준 자궁 경부암 세포의 공초점 현미경 사진이고, 사진의 초록색이 양자점을 나타내고, scale bar = 20 μm 이다.
- [55] 도 9는 양자점-스트렙트아비딘 복합체에 의해 선택적 표지된 비오틴 코팅된 폴리머 구슬의 형광 및 투과 영상화 사진이다. 사진의 노란색이 양자점을 나타내며, 이는 양자점이 가지는 특별한 광학적 성질 중 하나인 형광 신호이다.

발명의 실시를 위한 형태

- [56] 실시예 1
- [57] 양쪽성 이온 리간드의 합성
- [58] Lipoic acid(도 2의 (1))를 anhydrous chloroform에 녹인 후 상온, 진공 환경에서 1.3 당량의 carbonyldiimidazole에 첨가하여 5분간 교반하고 남아 있는 carbonyldiimidazole을 제외한 반응 용액 층을 분리한다. Lipoic acid의 5 당량에 해당하는 N,N-dimethylethylenediamine을 질소 환경에서 anhydrous chloroform에 녹인 후 ice bath로 온도를 낮춘 상태에서 위의 용액을 첨가하여 1시간 동안

교반한다.(결과물질은 도 2의 (3)). 반응 용액을 10% NaCl 수용액으로 3번, 3차 증류수로 1번 추출을 이용하여 정제하고 1,3-propanesultone을 첨가하여 상온에서 24시간 교반한 후 생성된 고체를 걸러준다 (결과물질은 도 2의 (4)). 이를 2N NaOH를 사용하여 pH를 9로 조정된 수용액에 녹인 후 2 당량의 NaBH₄를 첨가하여 4시간 동안 상온에서 교반한다. 합성한 양쪽성 이온 리간드(도 2의 (5))는 정제 과정 없이 바로 사용하였다.

[59] 나노입자의 합성

[60] 본 명세서에서 밝히는 나노입자의 합성방법은 다양한 합성 방법 중 하나의 대표적인 예시를 드는 것일 뿐, 이에 제한되지는 않는다. 나노입자 중 하나인 양자점을 합성하기 위해 다음과 같이 준비한다. Octadecene, oleylamine을 둥근 바닥 플라스크에 넣고 100°C로 가열하면서 진공 상태, 질소 주입 상태를 번갈아 바꾸어 주어, 결국 주변 환경을 질소 기체로만 가득 채운 환경으로 바꾸어 준다. 이후 둥근 바닥 플라스크의 온도를 300°C까지 올리고, 각각 카드뮴(Cd)과 셀레늄(Se)을 따로 녹인 Octadecene 용액을 Cd:Se = 1:5의 비율로 동시에 고온의 플라스크에 넣어 준다. 이 때, Cd 대 Se의 비율은 원하는 나노입자의 크기에 따라 조절될 수 있다. 이후 반응 용기인 플라스크를 천천히 식혀 유기 용매에 분산된 나노입자를 얻는다.

[61] 실시예 2

[62] 양쪽성 이온 표면 분자로 표면 개질된 나노입자 합성

[63] 유기 용매에서 합성된 나노입자를 chloroform에 분산시킨다. 앞서 합성한 양쪽성 이온 분자(도 2의 (5))가 과량으로 용해되어 있는 수용액과 합성된 나노입자를 상온에서 교반한다. 양쪽성 이온 분자가 가진 작용기 중 하나인 dithiol이 phosphonic acid 혹은 primary amine이 작용기인 유기 분자 리간드에 비해 나노입자(양자점)와 강한 표면 결합력을 가지고 있다. 그러므로 양자점 표면의 유기 분자 리간드가 양쪽성 이온 분자로 리간드 치환되면서 양자점을 수용액 층으로 가져와 분산시키게 된다. 이후 chloroform 층은 층 분리 후 제거하고 수용액 층만을 투석하여 여분의 리간드를 제거한다. 도 3에서는 사용한 양쪽성 이온 분자체를 도 1에서와 같이 도식화하였다. 표면 결합 영역을 네모로, 연결 영역을 물결무늬 선으로, 작용기 영역을 타원형으로 나타내었다.

[64] 실시예 3 (비교실시예 1)

[65] 카르복실기로(-COOH)를 가진 분자로 표면 개질된 나노입자의 합성

[66] 유기 용매에서 합성된 나노입자를 chloroform에 분산시킨다. 앞서 합성한 카르복시기를 가진 분자(도 2의 (2))가 과량으로 용해되어 있는 수용액과 정제된 양자점이 있는 상온에서 교반한다. 이 때, 나노입자 표면의 유기 분자 리간드가 카르복시기를 가진 분자로 리간드 치환되면서 나노입자를 수용액 층으로 가져와 분산시키게 된다. 이후 chloroform 층은 층 분리 후 제거하고 수용액 층만을 투석하여 여분의 리간드를 제거한다. 도 4에서는 사용한 카르복시기를 가진 분자체를 도 1에서와 같이 도식화하였다. 표면 결합 영역을 네모로, 연결

영역을 물결무늬 선으로, 작용기 영역을 타원형으로 나타내었다.

[67] **실시예 4**

[68] 양쪽성 이온 분자와 카르복시기를 가진 분자로 동시에 표면 개질된 나노입자의 합성

[69] 유기 용매에서 합성된 나노입자를 chloroform에 분산시킨다. 앞서 합성한 양쪽성 이온 분자(도 2의 (5))와 카르복시기를 가진 분자(도 2의 (2))가 과량으로 용해되어 있는 수용액과 정제된 나노입자가 있는 상온에서 교반한다. 이 때, 나노입자 표면의 유기 분자 리간드가 양쪽성 이온 분자 및 카르복시기를 가진 분자로 동시에 리간드 치환되면서 양자점을 수용액 층으로 가져와 분산시키게 된다. 이후 chloroform 층은 층 분리 후 제거 하고 수용액층 만을 투석하여 여분의 리간드를 제거한다. 도 5에서는 사용한 표면 분자체를 도 1에서와 같이 도식화 하였다. 표면 결합 영역을 네모로, 연결영역을 물결무늬 선으로, 작용기 영역을 타원형으로 나타내었다.

[70] **실시예 5**

[71] 양쪽성 이온 분자가 표면 개질된 나노입자의 pH 및 염 농도 변화에 따른 수화된 크기 측정

[72] 나노입자에 표면 개질을 하면 양쪽성 이온 분자의 작용기 영역이 떠는 성질을 나노입자가 띄게 된다. 이를 확인하기 위하여 실시예 2에서와 같이 나노입자를 양쪽성 이온 분자로 치환한 경우와 실시예 3에서와 같이 나노입자를 카르복시기(-COOH)를 가진 분자로 표면 치환시키고 나노입자의 수화된 크기를 측정하였다. 여기서 사용한 나노입자는 양자점으로 빛을 받아서 특정 파장의 빛을 발광하는 성질을 가지고 있으며, 이 양자점이 수화된 크기는 용액상에서 고르게 분산되었을 때 약 6-7 nm 정도이다.

[73] 양쪽성 이온 분자가 치환된 나노입자의 경우(실시예 2)가 pH 변화나 염의 농도 변화에 따른 수화된 크기 변화가 크게 관측되지 않았다. 하지만 대조군으로 사용한, 작용기 영역으로 양쪽성 이온 분자가 아닌 카르복시기(-COOH)을 가진 분자로 치환된 나노입자(실시예 3)는 pH 변화, 염의 농도 변화에 따른 뚜렷한 크기 변화가 나타나게 된다. 이는 양쪽성 이온 분자가 대조군에 비해 나노입자 표면을 넓은 pH 및 염의 농도 범위에서 안정화시킬 수 있게 되었음을 말해준다. 크기가 일정하게 유지된다는 말은 양쪽성 이온 분자가 다양한 수용액 환경에서 나노입자를 효과적으로 분산시키고 안정화시킬 수 있음을 알 수 있는 결과이다.

[74] **실시예 6**

[75] 고분자 구슬과의 비특이적 흡착정도 확인

[76] 도 7에서는 양쪽성 이온 분자가 치환된 나노입자(실시예 2)와 폴리머 구슬 간의 비특이적 결합이 양쪽성 이온 분자의 표면 치환 때문에 낮아졌음 보여주는 결과이다. 일반적으로 DNA array assay, Lab on a chip 등과 같이, 연구, 휴대용으로 사용되는 기관 기반의 센서는 비특이적 흡착 정도를 낮추기 위하여 기관 표면에 Bovine serum albumine과 같은 생분자를 코팅한다. 하지만 이와 같이

처리해준 표면에서도 비특이적 결합이 완전히 없어지지 않고 나타나게 된다.

- [77] 그래서 이와 비슷하게 구현된 고분자 표면에서 나노입자의 비특이적 흡착이 줄어들었음을 보고자 하였다. 먼저 Bovine serum albumine이 코팅된 폴리머 구슬에 나노입자를 섞어주고 일정 시간이 흐른 뒤 여분의 양자점을 충분히 씻어주어 구슬 표면에 비특이적 흡착된 나노입자 - 본 명세서에서는 양자점에 예로 들었으므로 - 의 형광을 형광 현미경으로 관찰하였다.

- [78] 카르복시기 분자(-COOH)를 작용기 영역으로 가진 분자로 표면 치환된 나노입자(실시예 3)는 쉽게 폴리머 구슬 표면에 흡착되어 구슬 표면에서 나노입자(즉, 본 명세서에서 예로 든 양자점)의 형광이 관측됨을 확인할 수 있다. 하지만, 양쪽성 이온 분자로 표면 치환된 양자점의 경우 형광이 거의 관측되지 않는 것으로 보아 전체적으로 중성 전하를 띄어 정전기적 인력이 최소화 되므로 비특이적 흡착 정도가 현저하게 낮아졌음을 확인할 수 있다.

- [79] **실시예 7**

- [80] 살아있는 세포와의 비특이적 결합 정도 확인

- [81] 도 8 은 자궁 경부암 세포에 각각 양쪽성 이온 분자가 표면 치환된 양자점(실시예 2)과 카르복시기를 가진 분자로 표면 치환한 나노입자(실시예 3)를 처리한 후 공초점 현미경으로 관찰한 사진이다. 아래의 사진에서 초록색으로 표시한 부분이 양자점의 형광이 관측되는 부분이며, 이 사진은 세포 내부에서 나오는 형광에만 초점을 맞추어 선택적으로 보고 있는 그림이다.

- [82] 앞서 실시예 6 에서 볼 수 있는 것과 같이 양쪽성 이온 분자로 치환된 나노입자(실시예 2)와 폴리머 구슬과의 비특이적 흡착이 줄어들었던 것과 비슷한 결과를 보였다. 작용기 영역으로 양쪽성 이온 분자로 표면 치환한 양자점의 경우가 대조군으로 사용한 카르복시기를 가진 분자로 표면 치환한 양자점의 경우에 비해 세포 내, 외곽 부분에서 양자점의 형광이 전혀 관측되지 않음을 알 수 있다.

- [83] 양쪽성 이온 분자를 치환한 나노입자의 경우, 세포 표면과의 정전기적 인력을 통한 상호작용을 낮출 수 있기 때문에 세포 내 및 외곽 부분에서 비특이적 흡착에 의한 세포 내입이 관측되지 않는다. 하지만 대조군 즉, 카르복시기를 가진 분자로 표면 치환한 나노입자의 경우 세포에 대한 비특이적 결합이 관측되며, 이를 통한 세포의 내입 또한 관측된다. 이러한 결과는 이를 통해 양쪽성 이온을 이용해 세포에 대한 양자점의 비특이적 흡착 정도를 현저하게 낮추어, 생체 영상화 기술 개발을 위한 나노입자의 표면 개질 기술에 사용될 수 있는 가능성을 밝혔다.

- [84] **실시예 8**

- [85] 양자점-단백질 복합체를 이용한 선택적 표지 능력 확인

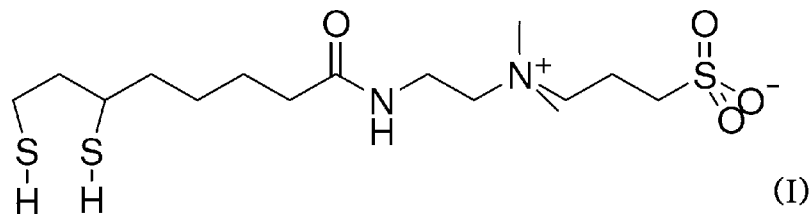
- [86] 카르복시산과 양쪽성 이온 분자를 동시에 표면 치환한 나노입자(실시예 4)의 경우, 생분자 중 하나인 스트렙타비딘(streptavidin)과의 생접합을 통해 강한 공유 결합을 이루어 복합체를 형성할 수 있다. 본 명세서에서는 나노입자의 예로

양자점을 들었고 단백질의 예로 스트렙트아비딘을 들었으므로, 양자점-스트렙트아비딘 복합체를 생접합을 통해 합성하였다. 도 9는 비오틴이 코팅된 폴리머 구슬에 양자점-스트렙트아비딘 복합체를 섞어주고 그 형광 및 투과 영상화 사진을 관측한 것이다. 스트렙트아비딘과 비오틴 사이에는 항체와 항원 사이의 결합과 같은 강한 분자간 인력 즉, 다중 수소 결합으로 강력한 인력이 작용한다. 그러므로 스트렙트아비딘은 쉽게 비오틴이 코팅된 폴리머 구슬에 표지될 수 있고, 양자점-스트렙트아비딘 복합체도 같은 원리로 비오틴이 코팅된 폴리머 구슬에 표지될 수 있다. 대조군으로, 실시예 4에서 합성한 양자점을 스트렙트아비딘과 복합체를 이루지 않은 채로 비오틴이 코팅된 폴리머 구슬에 섞어 주었을 때는 양자점의 표면의 양쪽성 이온 분자에 의해 비특이적 흡착정도가 낮기 때문에 양자점의 형광이 관측되지 않는다.

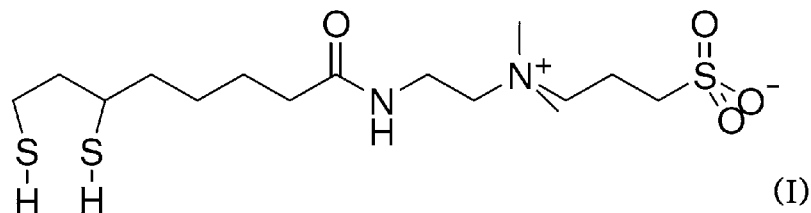
청구범위

- [청구항 1] 나노입자의 표면에 음이온과 양이온이 동시에 형성된 것을 특징으로 하는 나노입자.
- [청구항 2] 제1항에 있어서, 상기 나노입자는 입자의 표면에 음이온과 양이온을 동시에 가지는 양쪽성 분자체가 형성된 것을 특징으로 하는 나노입자.
- [청구항 3] 제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 나노입자는 실질적으로 전기적으로 중성인 것을 특징으로 하는 나노입자.
- [청구항 4] 제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 나노입자는 1000 nm 미만의 직경을 가지는 나노단위의 임의 입자인 것을 특징으로 하는 나노입자.
- [청구항 5] 제4항에 있어서, 상기 나노입자는 0.5-10 마이크론인 것을 특징으로 하는 나노입자.
- [청구항 6] 제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 나노입자는 금속, 비금속, 세라믹, 플라스틱, 고분자, 생물학적 소재, 반도체, 양자점, 또는 이들의 하나 이상의 복합재질로 이루어진 것을 특징으로 하는 나노입자.
- [청구항 7] 제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 나노입자는 광학적 나노입자인 것을 특징으로 하는 나노입자.
- [청구항 8] 제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 나노입자는 내부가 채워진 충전형, 또는 내부의 적어도 일부에 공간이 포함된 캐비티형인 것을 특징으로 하는 나노입자.
- [청구항 9] 제2항에 있어서, 상기 분자체는 단량체, 올리고머, 또는 고분자인 화합물인 것을 특징으로 하는 나노입자.
- [청구항 10] 제2항에 있어서, 상기 분자체의 길이가 나노입자의 외경보다 짧은 것을 특징으로 하는 나노입자.
- [청구항 11] 제2항에 있어서, 상기 양쪽성 이온 분자체는 일측에 양이온과 음이온이 형성되고, 타측에 나노입자와의 결합부위가 형성된 것을 특징으로 하는 나노입자.
- [청구항 12] 제2항에 있어서, 상기 양쪽성 이온 분자체는 나노입자와 결합되는 표면 결합 영역, 연결 영역 및 작용기 영역으로 이루어지는 것을 특징으로 하는 나노입자.
- [청구항 13] 제12항에 있어서, 상기 표면 결합 영역은 싸이올기(-SH), 다이싸이올기(-CS₂, -PS₂, -CH(SH)(CH₂CH₂SH)), 아민기(-NH₂, -NH), 포스포네이트기(-PO₃H), 포스파이드기(-P), 포스핀옥사이드기(-P=O), 카르복시기(-COOH), 하이드록시기(-OH), 이미다졸기(-imidazole), 다이올기(-diol)로

- 이루어진 그룹에서 선택되는 것을 특징으로 하는 나노입자.
- [청구항 14] 제12항 또는 제13항에 있어서, 상기 연결 영역은 아미드 결합(-CONH-), 탄소 결합(-(CH₂)_n-), 폴리에틸렌글리콜(-(CH₂CH₂O)_n-), 트리아졸(triazole)로 이루어진 그룹에서 하나 이상 선택되는 것을 특징으로 하는 나노입자.
- [청구항 15] 제12항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 작용기 영역은 술포베테인기(-N⁺(CH₃)₂CH₂CH₂CH₂SO₃⁻), 카르보베테인기(-N⁺(CH₃)₂CH₂CH₂CH₂COO⁻), 포스포릴콜린기(-PO₄-CH₂CH₂N⁺)로 이루어진 그룹에서 선택되는 양쪽성 이온인 것을 특징으로 하는 나노입자.
- [청구항 16] 제2항에 있어서, 상기 양쪽성 분자체는 하기 화학식 (I)의 화합물인 것을 특징으로 하는 나노입자:



- [청구항 17] 나노입자를 양쪽성 이온 분자체와 반응시켜 나노입자의 표면에 음이온과 양이온이 동시에 존재하는 나노입자를 제조하는 것을 특징으로 하는 방법.
- [청구항 18] 제17항에 있어서, 상기 양쪽성 이온 나노입자는 나노입자의 표면에 양쪽성 이온 분자체와 치환가능한 리간드가 형성되고, 상기 리간드가 양쪽성 이온 분자체와 치환되는 것을 특징으로 하는 방법.
- [청구항 19] 제17항 또는 제18항에 있어서, 상기 나노입자는 유기용매, 물, 또는 이들의 혼합물로 이루어진 분산매에 분산된 나노입자인 것을 특징으로 하는 방법.
- [청구항 20] 제17항 내지 제19항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 양쪽성 이온 분자체는 하기 화학식 (I)의 화합물인 것을 특징으로 하는 방법:



- [청구항 21] 나노입자의 표면에 양쪽성 이온 분자체를 형성하여 나노입자의 비특이적 결합을 억제하는 것을 특징으로 하는 방법.
- [청구항 22] 제21항에 있어서, 상기 나노입자는 양자점인 것을 특징으로 하는 방법.
- [청구항 23] 표면에 양쪽성 이온 분자체가 형성된 나노입자와, 상기

나노입자에 결합된 특이적 결합체를 포함하는 것을 특징으로 하는 나노 복합체.

[청구항 24] 제23항에 있어서, 상기 특이적 결합체는 나노입자 외부 물질과 특이적으로 결합하는 물질인 것을 특징으로 하는 나노 복합체.

[청구항 25] 제23항에 있어서, 상기 특이적 결합체는 특이적 단백질인 것을 특징으로 하는 나노 복합체.

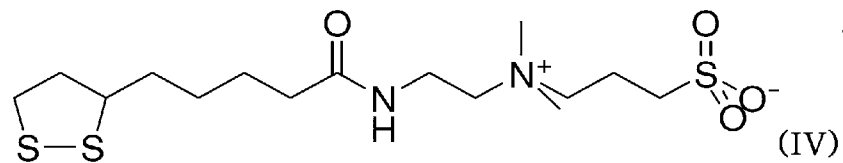
[청구항 26] 제23항에 있어서, 상기 특이적 결합체는 항원 또는 항체이거나 프로브인 것을 특징으로 하는 나노 복합체.

[청구항 27] 제23항 내지 제26항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 나노입자는 형광성 나노입자인 것을 특징으로 하는 나노 복합체.

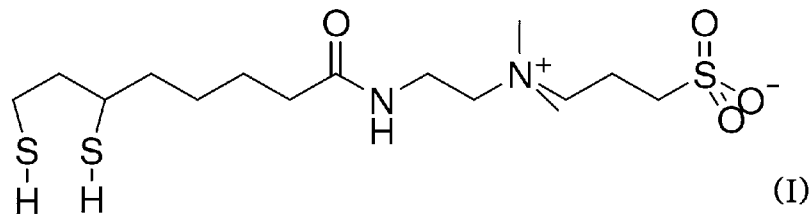
[청구항 28] 제23 내지 제27항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 나노입자는 생리학적 물질, 약학적 물질, 또는 약학적 조성물을 포함하는 나노크기의 운반체인 것을 특징으로 하는 나노 복합체.

[청구항 29] 제27항에 있어서, 상기 복합체는 조형제 또는 근적외선 형광제인 것을 특징으로 하는 나노 복합체.

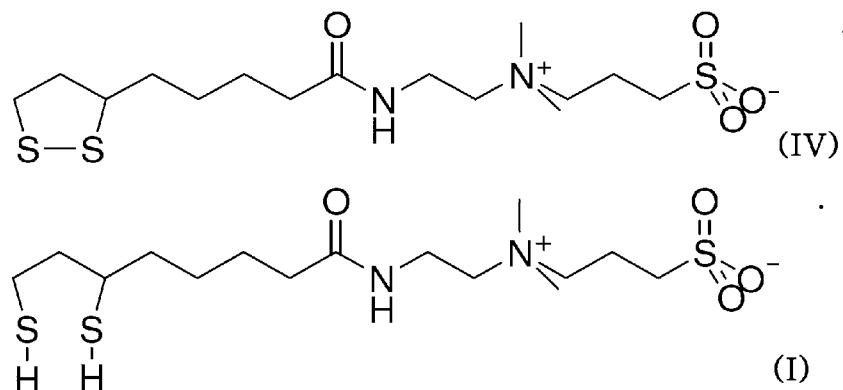
[청구항 30] 제23항 내지 제29항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 양쪽성 이온 분자체는 하기 화학식 (IV)로 표현되는 물질인 것을 특징으로 하는 나노 복합체:



[청구항 31] 하기 화학식 (I)로 이루어진 양쪽성 이온 분자체:

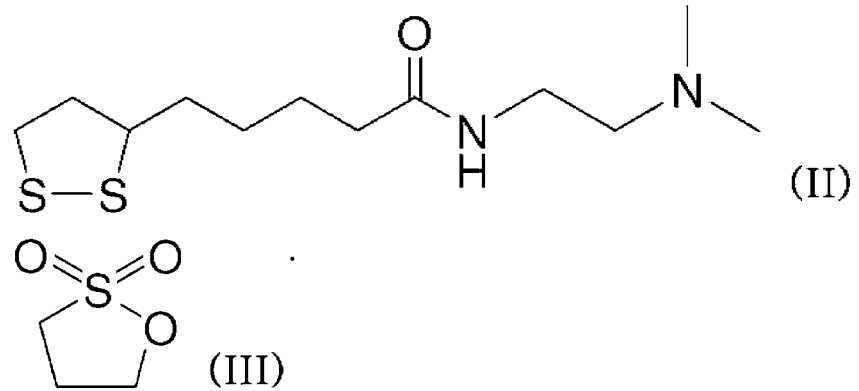


[청구항 32] 하기 화학식 (IV)의 화합물을 쏘듐 보로하이드라이드로 반응시켜 하기 화학식 (I)의 화합물을 제조하는 방법:



[청구항 33]

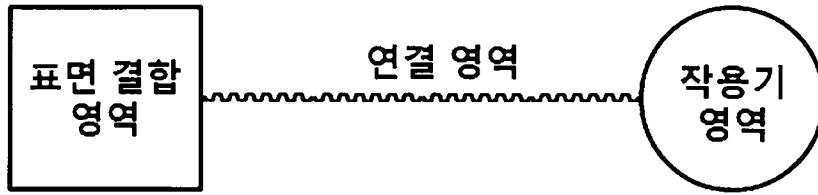
제32항에 있어서, 상기 화학식 (IV)의 화합물을 화학식 (II)의 화합물과 하기 화학식 (III)의 화합물을 반응시켜 제조하는 방법:



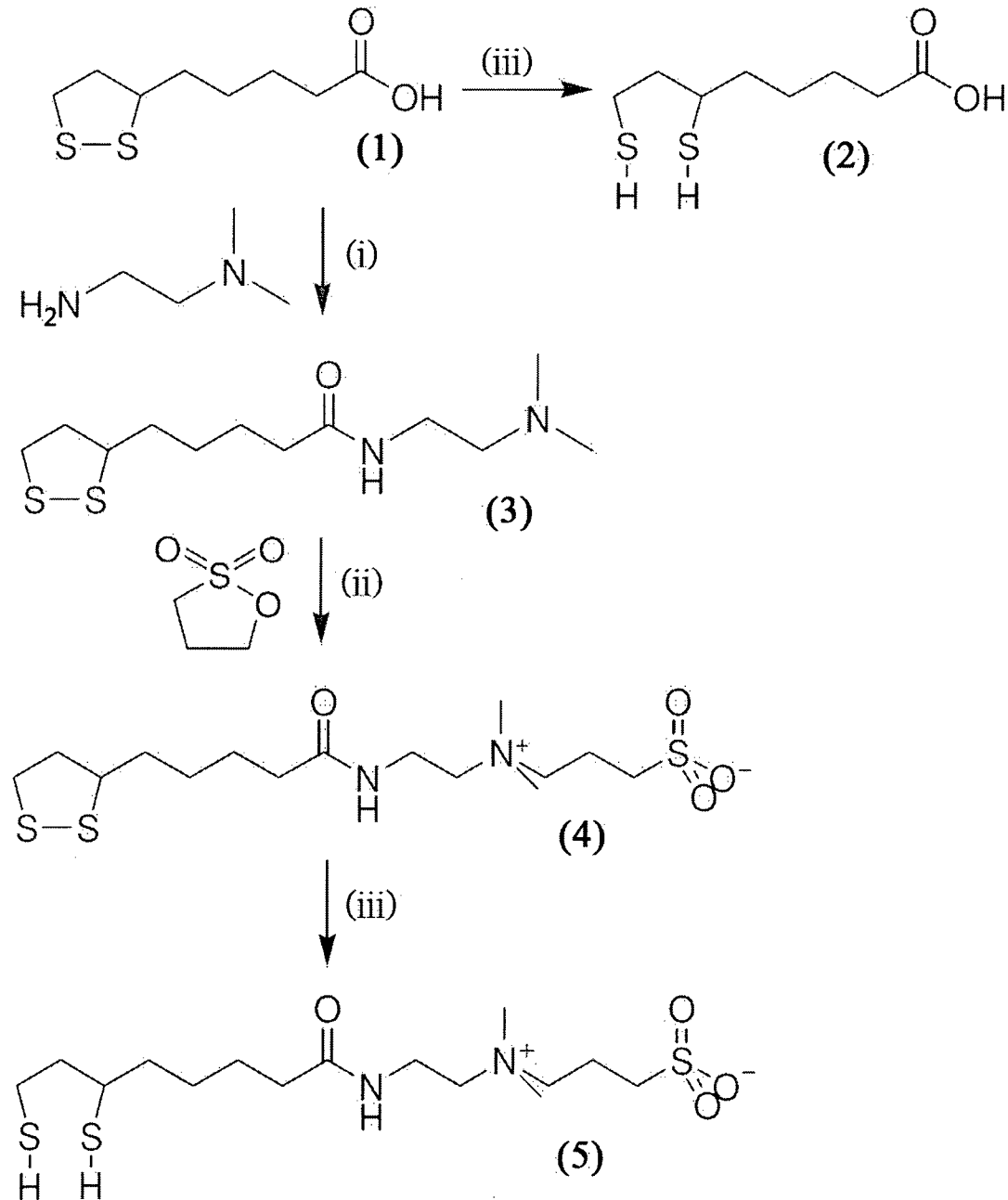
[청구항 34]

센서의 표면에 양쪽성 이온 분자체를 형성하여 센서 표면의 비특이적 흡착을 저감시키는 것을 특징으로 하는 센서 표면 개질 방법.

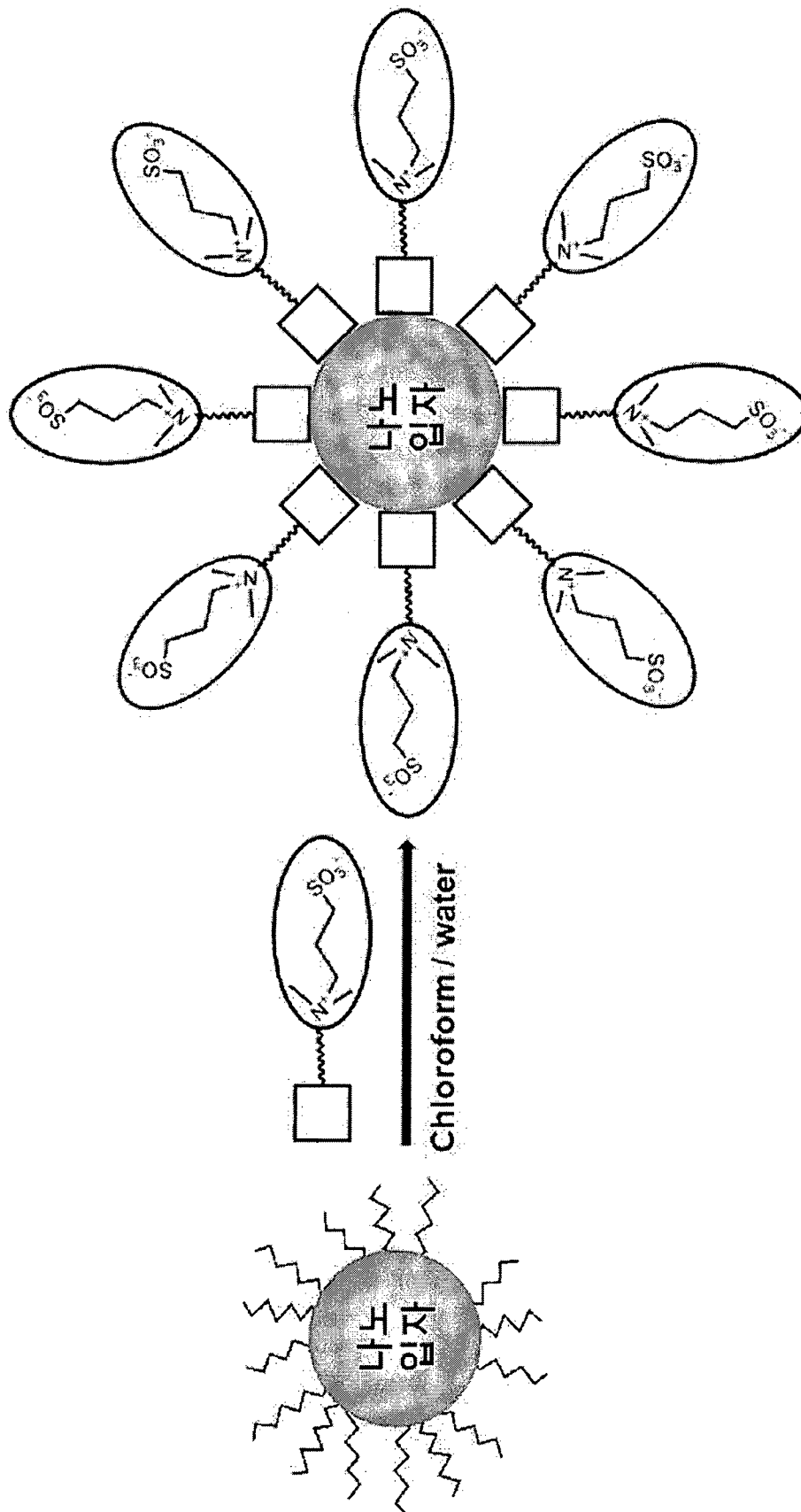
[Fig. 1]



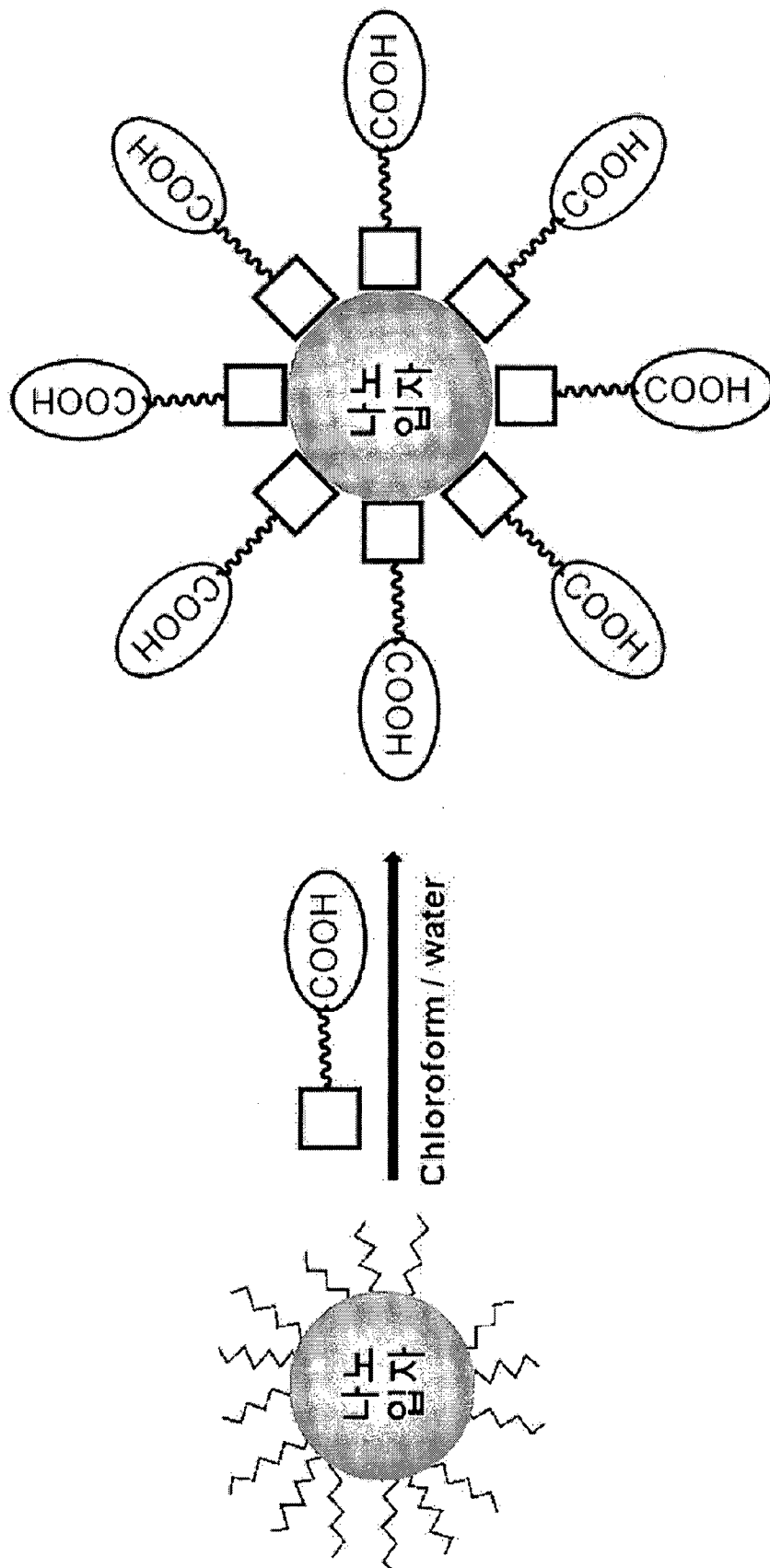
[Fig. 2]



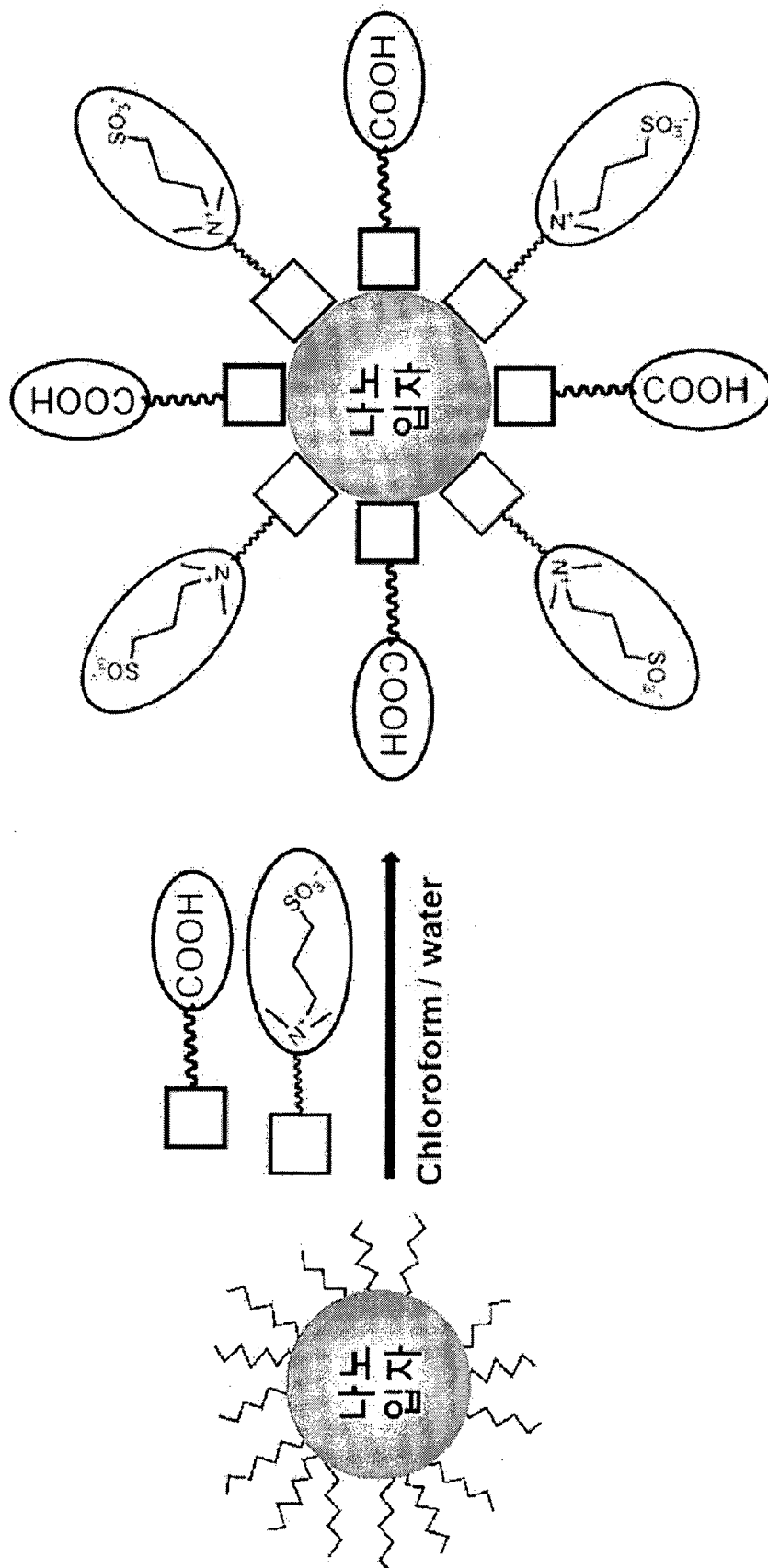
[Fig. 3]



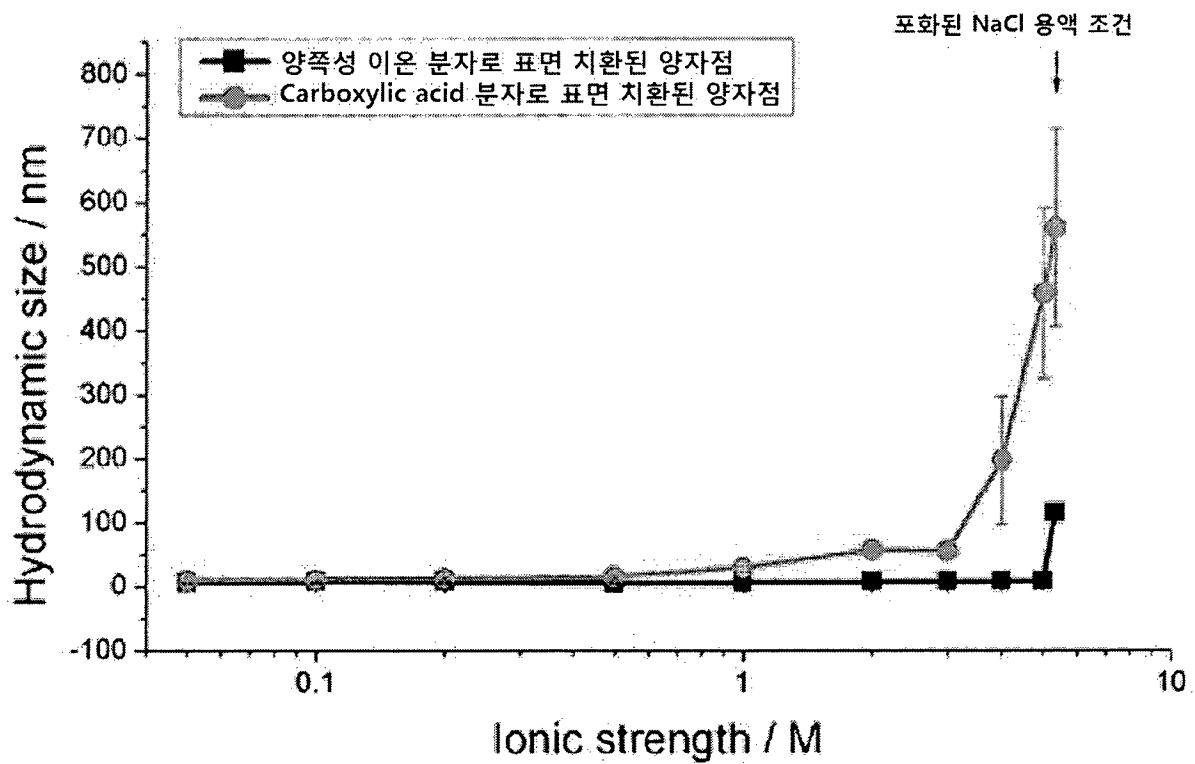
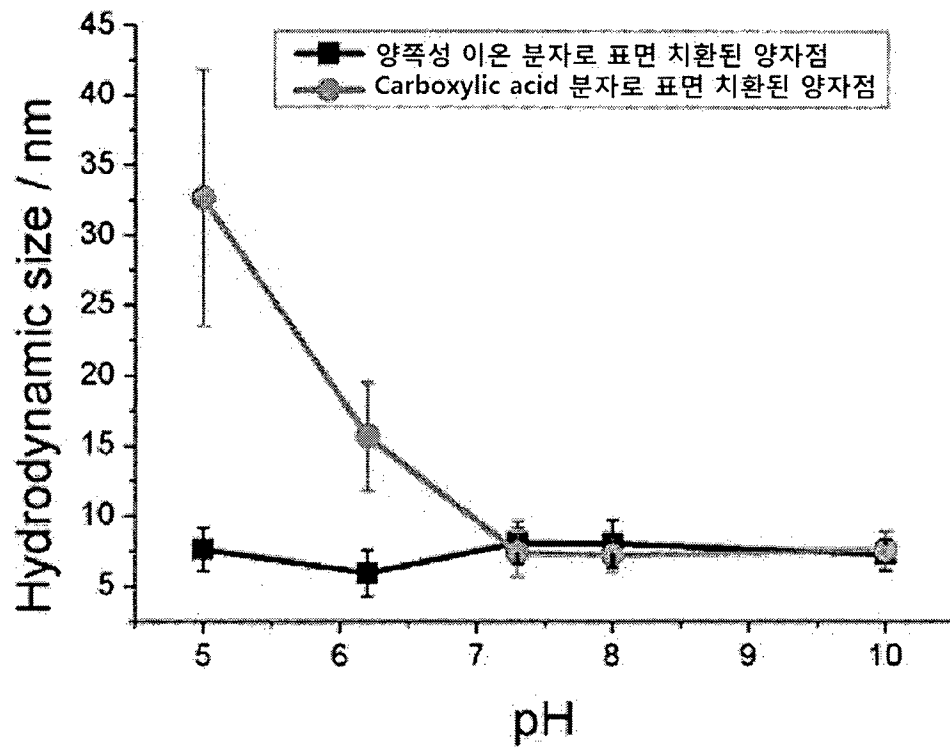
[Fig. 4]



[Fig. 5]



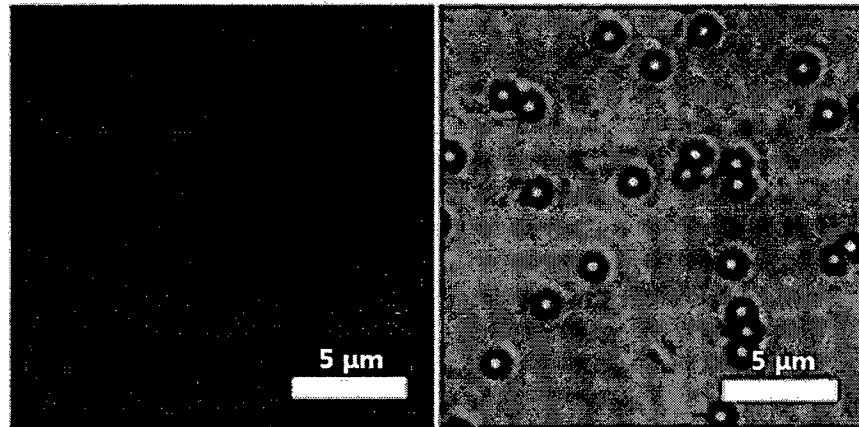
[Fig. 6]



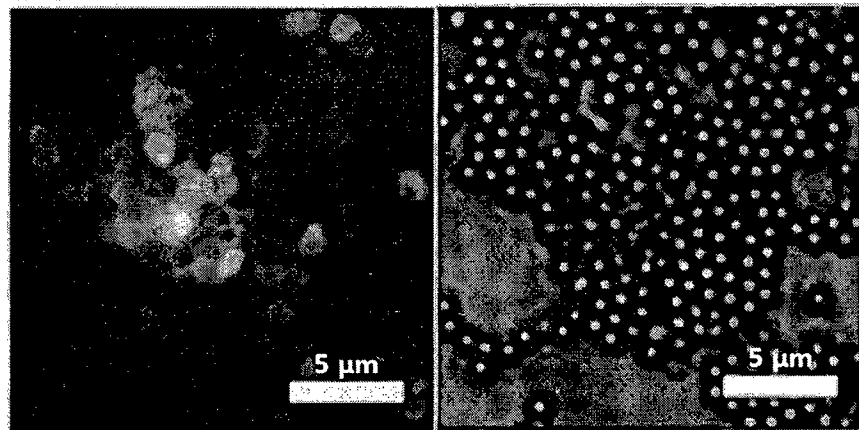
[Fig. 7]

Bovine Serum Albumine이 코팅된 폴리머 구슬
형광 사진 투과 사진

양쪽성 이온
분자로 표면
치환된 양자점

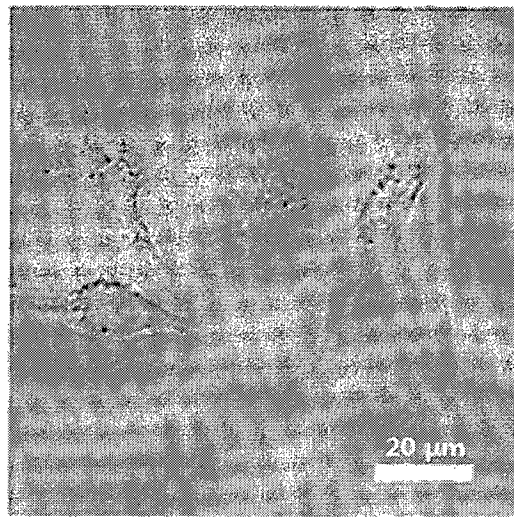


Carboxylic acid
분자로 표면
치환된 양자점

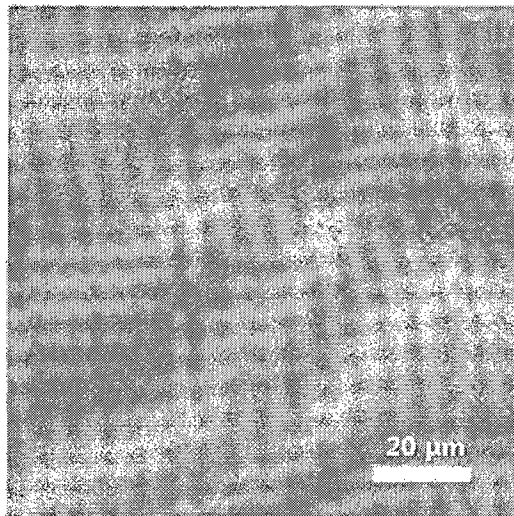


[Fig. 8]

양쪽성 이온
분자로 표면
치환된 양자점



Carboxylic acid
분자로 표면
치환된 양자점



[Fig. 9]

