



(19)대한민국특허청(KR)  
(12) 공개특허공보(A)

(51) Int. Cl.  
B82B 3/00 (2006.01)  
C01B 31/02 (2006.01)

(11) 공개번호 10-2007-0030282  
(43) 공개일자 2007년03월15일

(21) 출원번호 10-2007-7001393  
(22) 출원일자 2007년01월19일  
심사청구일자 없음  
번역문 제출일자 2007년01월19일  
(86) 국제출원번호 PCT/US2005/022413 (87) 국제공개번호 WO 2006/130150  
국제출원일자 2005년06월23일 국제공개일자 2006년12월07일

(30) 우선권주장 10/875,435 2004년06월23일 미국(US)

(71) 출원인 하이페리온 커탈리시스 인터내셔널 인코포레이티드  
미국 매사추세츠 02138 캠브리지 스미스 플레이스 38

(72) 발명자 호치 로버트  
미국 뉴욕 12439 헨슨빌 박스 422 알알1  
피셔 알란  
미국 매사추세츠 02139 캠브리지 엔트럼 스트리트 80  
테넨트 호워드  
미국 펜실베이니아 19348 켄벳 스퀘어 캔들러 밀 로드 301

(74) 대리인 차윤근

전체 청구항 수 : 총 47 항

(54) 작용기 부착된 단일벽 탄소 나노튜브

(57) 요약

본 발명은 튜브형 플러린(일반적으로 "버키 튜브"라 불리는 것) 및 원섬유(fibril)를 포함하고, 작용기 부(moiety)의 화학적 치환이나 흡착에 의해 작용기 부착된(functionalized) 흑연 나노튜브(nanotube)에 관한 것이다. 더 상세하게는, 본 발명은 화학적 부로 균일 또는 비균일하게 치환되거나, 특정 고리 화합물이 흡착되어 있는 단일벽 탄소 나노튜브(single walled carbon nanotube), 및 상기 작용기 부착된 나노튜브가 서로 결합되어 이루어진 복합 구조물에 관한 것이다. 또한, 본 발명은 단일벽 탄소 나노튜브의 표면 위에 작용기를 도입시키는 방법에 관한 것이다. 또한, 본 발명은 작용기 부착된 단일벽 탄소 나노튜브의 용도에 관한 것이다.

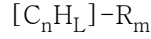
대표도

도 1

특허청구의 범위

### 청구항 1.

하기 화학식으로 표시되는 소재의 합성물:



이 식에서, 탄소원자  $C_n$ 은 직경이 5나노미터 미만인, 실질적으로 원기둥형의 단일벽 탄소 나노튜브의 표면 탄소이며,

$n$ 은 정수이고,  $L$ 은  $0.1n$  미만의 수이며,  $m$ 은  $0.5n$  미만의 수이고,

$R$ 은 각각 동일한 것으로서,  $SO_3H$ ,  $COOH$ ,  $NH_2$ ,  $OH$ ,  $R'CHOH$ ,  $CHO$ ,  $CN$ ,  $COCl$ , 할라이드,  $COSH$ ,  $SH$ ,  $COOR'$ ,  $SR'$ ,  $SiR'_3$ ,  $Si-(OR')_y-R'_{3-y}$ ,  $Si-(O-SiR'_2)-OR'$ ,  $R''$ ,  $Li$ ,  $AlR'_2$ ,  $Hg-X$ ,  $TlZ_2$  및  $Mg-X$  중에서 선택되며,

$y$ 는 3 이하의 정수이고,

$R'$ 는 수소, 알킬, 아릴, 시클로알킬, 아르알킬, 시클로아릴 또는 폴리(알킬에테르)이며,

$R''$ 는 플루오로알킬, 플루오로아릴, 플루오로시클로알킬 또는 플루오로아르알킬이고,

$X$ 는 할라이드이고,

$Z$ 는 카르복실레이트 또는 트리플루오로아세테이트이다.

### 청구항 2.

하기 화학식으로 표시되는 소재의 합성물:



이 식에서, 탄소원자  $C_n$ 은 직경이 5나노미터 미만인, 실질적으로 원기둥형의 단일벽 탄소 나노튜브의 표면 탄소이며,

$n$ 은 정수이고,  $L$ 은  $0.1n$  미만의 수이며,  $m$ 은  $0.5n$  미만의 수이고,

$R$ 은 각각 동일하거나 상이한 것으로서,  $SO_3H$ ,  $COOH$ ,  $NH_2$ ,  $OH$ ,  $R'CHOH$ ,  $CHO$ ,  $CN$ ,  $COCl$ , 할라이드,  $COSH$ ,  $SH$ ,  $COOR'$ ,  $SR'$ ,  $SiR'_3$ ,  $Si-(OR')_y-R'_{3-y}$ ,  $Si-(O-SiR'_2)-OR'$ ,  $R''$ ,  $Li$ ,  $AlR'_2$ ,  $Hg-X$ ,  $TlZ_2$  및  $Mg-X$  중에서 선택되며,

$y$ 는 3 이하의 정수이고,

$R'$ 는 수소, 알킬, 아릴, 시클로알킬, 아르알킬, 시클로아릴 또는 폴리(알킬에테르) 중에서 선택되며,

$R''$ 는 플루오로알킬, 플루오로아릴, 플루오로시클로알킬 또는 플루오로아르알킬이고,

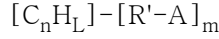
$X$ 는 할라이드이고,

$Z$ 는 카르복실레이트 또는 트리플루오로아세테이트이며,

추가로 각  $R$ 이 산소 함유 기인 경우에는  $COOH$ 가 아닌 것이어야 한다.

**청구항 3.**

하기 화학식으로 표시되는 소재의 합성물:



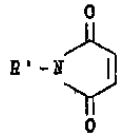
이 식에서, 탄소원자  $C_n$ 은 직경이 5나노미터 미만인, 실질적으로 원기둥형의 단일벽 탄소 나노튜브의 표면 탄소이며,

$n$ 은 정수이고,  $L$ 은  $0.1n$  미만의 수이며,  $m$ 은  $0.5n$  미만의 수이고,

각  $R'$ 는 알킬, 아릴, 시클로알킬, 아르알킬, 시클로아릴 또는 폴리(알킬에테르)이며,

$A$ 는  $OY$ ,  $NHY$ ,  $\begin{matrix} O \\ || \\ C-OY \end{matrix}$ ,  $\begin{matrix} O \\ || \\ C-NR'Y \end{matrix}$ ,  $\begin{matrix} O \\ || \\ C-SY \end{matrix}$ ,  $\begin{matrix} O \\ || \\ C-Y \end{matrix}$ ,  $-CR'_2-OY$ ,  $N=Y$ ,  $\begin{matrix} O \\ || \\ -NCHY \end{matrix}$  또는  $C=Y$  중에서 선택되고,

$Y$ 는 단백질, 펩타이드, 아미노산, 효소, 항체, 뉴클레오타이드, 올리고뉴클레오타이드, 항원 또는 효소 기질, 효소 억제제 또는 효소 기질의 전이 상태 유사체의 적당한 작용기이거나 또는  $R'-OH$ ,  $R'-N(R')_2$ ,  $R'SH$ ,  $R'CHO$ ,  $R'CN$ ,  $R'X$ ,  $R'N^+$  ( $R')_3X^-$ ,  $R'SiR'_3$ ,  $R'Si-(OR')_y-R'_{3-y}$ ,  $R'Si-(O-SiR'_2)-OR'$ ,  $R'-R''$ ,  $R'-N-CO$ ,  $(C_2H_4O)_w-H$ ,  $-(C_3H_6O)_w-H$ ,  $-(C_2H_4O)_w-$



$R'$ ,  $(C_3H_6O)_w-R'$ ,  $R'$  및  중에서 선택되는 것이며,

$y$ 는 3 이하의 정수이고,

$R''$ 는 플루오로알킬, 플루오로아릴, 플루오로시클로알킬 또는 플루오로아르알킬이고,

$X$ 는 할라이드이고,

$Z$ 는 카르복실레이트 또는 트리플루오로아세테이트이며,

$w$ 는 1보다 크고 200보다 작은 정수이다.

**청구항 4.**

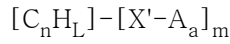
제3항에 있어서,  $A$ 가  $\begin{matrix} O \\ || \\ CNR'Y \end{matrix}$  또는  $\begin{matrix} O \\ || \\ COY \end{matrix}$  이고,

$R'$ 는 H이며

$Y$ 는 리신, 세린, 트레오닌, 타이로신, 아스파르트산 및 글루탐산으로 이루어진 그룹 중에서 선택되는 아미노산인 것이 특징인 합성물.

**청구항 5.**

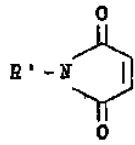
하기 화학식으로 표시되는 소재의 합성물:



이 식에서, 탄소원자  $C_n$ 은 직경이 5나노미터 미만인, 실질적으로 원기둥형의 단일벽 탄소 나노튜브의 표면 탄소이며,  $n$ 은 정수이고,  $L$ 은  $0.1n$  미만의 수이며,  $m$ 은  $0.5n$  미만의 수이고,  $a$ 는 10 미만의 정수이며,

각  $A$ 는  $OY$ ,  $NHY$ ,  $\begin{matrix} O \\ || \\ C-OY \end{matrix}$ ,  $\begin{matrix} O \\ || \\ C-NR'Y \end{matrix}$ ,  $\begin{matrix} O \\ || \\ C-SY \end{matrix}$ ,  $\begin{matrix} O \\ || \\ C-Y \end{matrix}$ ,  $-CR'_2-OY$ ,  $N=Y$ ,  $\begin{matrix} O \\ || \\ -NHCY \end{matrix}$  또는  $C=Y$  중에서 선택되고,

$Y$ 는 단백질, 펩타이드, 아미노산, 효소, 항체, 뉴클레오타이드, 올리고뉴클레오타이드, 항원 또는 효소 기질, 효소 억제제 또는 효소 기질의 전이 상태 유사체의 적당한 작용기이거나 또는  $R'-OH$ ,  $R'-N(R')_2$ ,  $R'SH$ ,  $R'CHO$ ,  $R'CN$ ,  $R'X$ ,  $R'N^+$  ( $R')_3X^-$ ,  $R'SiR'_3$ ,  $R'Si-(OR')_y-R'_{3-y}$ ,  $R'Si-(O-SiR'_2)-OR'$ ,  $R'-R''$ ,  $R'-N-CO$ ,  $(C_2H_4O)_w-H$ ,  $-(C_3H_6O)_w-H$ ,  $-(C_2H_4O)_w-$



$R'$ ,  $(C_3H_6O)_w-R'$ ,  $R'$  및  $\begin{matrix} O \\ || \\ R'-N \\ | \\ Z \end{matrix}$  중에서 선택되는 것이며,

$y$ 는 3 이하의 정수이고,

$R'$ 는 알킬, 아릴, 시클로알킬, 아르알킬 또는 시클로아릴이며,

$R''$ 는 플루오로알킬, 플루오로아릴, 플루오로시클로알킬 또는 플루오로아르알킬이고,

$X$ 는 할라이드이고,

$X'$ 는 다핵성 방향족, 이중다핵성 방향족 또는 금속이중다핵성 방향족 부이거나 또는 평면 금속 테트라티오옥살레이트이며,

$Z$ 는 카르복실레이트 또는 트리플루오로아세테이트이며,

$w$ 는 1보다 크고 200보다 작은 정수이다.

### 청구항 6.

탄소 나노튜브의 표면 탄소를 화학식  $R'CH_2OH$ 로 표시되는 화합물과 자유 라디칼 개시제의 존재 하에, 하기 화학식으로 표시되는 작용기 부착된 나노튜브를 형성하기에 충분한 조건 하에서 반응시키는 단계를 포함하여, 하기 화학식으로 표시되는 소재의 합성물을 제조하는 방법:



이 식에서, 탄소원자  $C_n$ 은 직경이 5나노미터 미만인 실질적으로 원기둥형의 단일벽 탄소 나노튜브의 표면 탄소이며,  $n$ 은 정수이고,  $L$ 은  $0.1n$  미만의 수이며,  $m$ 은  $0.5n$  미만의 수이고,  $R'$ 는 수소, 알킬, 아릴, 시클로알킬, 아르알킬, 시클로아릴 또는 폴리(알킬에테르)이다.

### 청구항 7.

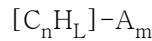
제6항에 있어서, 자유 라디칼 개시제가 과산화벤조일인 것이 특징인 방법.

**청구항 8.**

(a) 탄소 나노튜브의 표면 탄소를 화학식  $[C_nH_L]-R_m$ (이 식에서, 각 R은 동일한 것으로서,  $SO_3H$ ,  $COOH$ ,  $NH_2$ ,  $OH$ ,  $CH$   $(R')OH$ ,  $CHO$ ,  $CN$ ,  $COCl$ , 할라이드,  $COSH$ ,  $SH$ ,  $COOR'$ ,  $SR'$ ,  $SiR'_3$ ,  $Si-(OR')_y-R'_{3-y}$ ,  $Si-(O-SiR'_2)-OR'$ ,  $R''$ ,  $Li$ ,  $AlR'_2$ ,  $Hg-X$ ,  $TlZ_2$  및  $Mg-X$  중에서 선택되며, y는 3 이하의 정수이다)으로 표시되는 치환된 단일벽 탄소 나노튜브를 형성하기에 충분한 조건 하에서 적어도 하나의 적당한 시약과 반응시키는 단계; 및

(b) 이와 같이 치환된 단일벽 탄소 나노튜브  $[C_nH_L]-R_m$ 을 하기 화학식으로 표시되는 작용기 부착된 단일벽 탄소 나노튜브를 형성하기에 충분한 조건 하에서 적어도 하나의 적당한 시약과 반응시키는 단계를 포함하여,

하기 화학식으로 표시되는 소재의 합성물을 제조하는 방법:



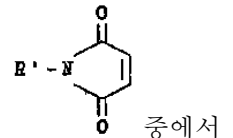
이 식에서, 탄소원자  $C_n$ 은 직경이 5나노미터 미만인, 실질적으로 원기동형의 단일벽 탄소 나노튜브의 표면 탄소이며,

n은 정수이고, L은 0.1n 미만의 수이며, m은 0.5n 미만의 수이고,

각 A는  $OY$ ,  $NHY$ ,  $\begin{matrix} O \\ | \\ C-OY \end{matrix}$ ,  $\begin{matrix} O \\ | \\ C-NR'Y \end{matrix}$ ,  $\begin{matrix} O \\ | \\ C-SY \end{matrix}$ ,  $\begin{matrix} O \\ | \\ C-Y \end{matrix}$ ,  $-CR'_2-OY$ ,  $N=Y$ ,  $\begin{matrix} O \\ || \\ -NHCY \end{matrix}$  또는  $C=Y$  중에서 선택되고,

Y는 단백질, 펩타이드, 아미노산, 효소, 항체, 올리고뉴클레오타이드, 뉴클레오타이드, 항원 또는 효소 기질, 효소 억제제 또는 효소 기질의 전이 상태 유사체의 적당한 작용기이거나 또는  $R'-OH$ ,  $R'-N(R')_2$ ,  $R'SH$ ,  $R'CHO$ ,  $R'CN$ ,  $R'X$ ,  $R'SiR'_3$ ,

$R'N^+(R')_3X^-$ ,  $R'-R''$ ,  $R'-N-CO$ ,  $(C_2H_4O)_w-H$ ,  $-(C_3H_6O)_w-H$ ,  $-(C_2H_4O)_w-R'$ ,  $(C_3H_6O)_w-R'$ ,  $R'$  및



선택되는 것이며,

R'는 수소, 알킬, 아릴, 시클로알킬, 아르알킬 또는 시클로아릴이며,

R''는 플루오로알킬, 플루오로아릴, 플루오로시클로알킬 또는 플루오로아르알킬이고,

X는 할라이드이고,

Z는 카르복실레이트 또는 트리플루오로아세테이트이며,

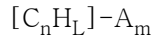
w는 1보다 크고 200보다 작은 정수이다.

**청구항 9.**

(a) 탄소 나노튜브의 표면 탄소를 화학식  $[C_nH_L]-R_m$  (이 식에서, 각 R은  $SO_3H$ ,  $COOH$ ,  $NH_2$ ,  $OH$ ,  $CH(R')OH$ ,  $CHO$ ,  $CN$ ,  $COCl$ , 할라이드,  $COSH$ ,  $SH$ ,  $COOR'$ ,  $SR'$ ,  $SiR'_3$ ,  $Si-(OR')_y-R'_{3-y}$ ,  $Si-(O-SiR'_2)-OR'$ ,  $R''$ ,  $Li$ ,  $AlR'_2$ ,  $Hg-X$ ,  $TlZ_2$  및  $Mg-X$  중에서 선택되며, y는 3 이하의 정수이다)로 표시되는 치환된 단일벽 탄소 나노튜브를 형성하기에 충분한 조건 하에서 적어도 하나의 적당한 시약과 반응시키는 단계; 및

(b) 이와 같이 치환된 단일벽 탄소 나노튜브  $[C_nH_L]-R_m$ 을 하기 화학식으로 표시되는 작용기 부착된 단일벽 탄소 나노튜브를 형성하기에 충분한 조건 하에서 적어도 하나의 적당한 시약과 반응시키는 단계를 포함하여,

하기 화학식으로 표시되는 소재의 합성물을 제조하는 방법:

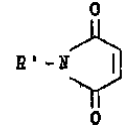


이 식에서, 탄소원자  $C_n$ 은 직경이 5나노미터 미만인, 실질적으로 원기동형의 단일벽 탄소 나노튜브의 표면 탄소이며,

n은 정수이고, L은 0.1n 미만의 수이며, m은 0.5n 미만의 수이고,

각 A는  $OY$ ,  $NHY$ ,  $\begin{matrix} O & O & O & O \\ | & | & | & | \\ C-OY & C-NR'Y & C-SY & C-Y \end{matrix}$ ,  $-CR'_2-OY$ ,  $N=Y$ ,  $\begin{matrix} O \\ || \\ -NHCY \end{matrix}$  또는  $C=Y$  중에서 선택되고,

Y는 단백질, 펩타이드, 아미노산, 효소, 항체, 올리고뉴클레오타이드, 뉴클레오타이드, 항원 또는 효소 기질, 효소 억제제 또는 효소 기질의 전이 상태 유사체의 적당한 작용기이거나 또는  $R'-OH$ ,  $R'-N(R')_2$ ,  $R'SH$ ,  $R'CHO$ ,  $R'CN$ ,  $R'X$ ,  $R'SiR'_3$ ,



$R'N^+(R')_3X^-$ ,  $R'-R''$ ,  $R'-N-CO$ ,  $(C_2H_4O)_w-H$ ,  $-(C_3H_6O)_w-H$ ,  $-(C_2H_4O)_w-R'$ ,  $(C_3H_6O)_w-R'$ ,  $R'$  및

$R'$ 는 수소, 알킬, 아릴, 시클로알킬, 아르알킬 또는 시클로아릴이며,

$R''$ 는 플루오로알킬, 플루오로아릴, 플루오로시클로알킬 또는 플루오로아르알킬이고,

X는 할라이드이고,

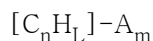
Z는 카르복실레이트 또는 트리플루오로아세테이트이며,

w는 1보다 크고 200보다 작은 정수이다.

### 청구항 10.

화학식  $[C_nH_L]-R_m$  (이 식에서, 각 R은 동일한 것으로서,  $SO_3H$ ,  $COOH$ ,  $NH_2$ ,  $OH$ ,  $CH(R')OH$ ,  $CHO$ ,  $CN$ ,  $COCl$ , 할라이드,  $COSH$ ,  $SH$ ,  $COOR'$ ,  $SR'$ ,  $SiR'_3$ ,  $Si-(OR')_y-R'_{3-y}$ ,  $Si-(O-SiR'_2)-OR'$ ,  $R''$ ,  $Li$ ,  $AlR'_2$ ,  $Hg-X$ ,  $TlZ_2$  및  $Mg-X$  중에서 선택되며, y는 3 이하의 정수이다)로 표시되는 치환된 단일벽 탄소 나노튜브를 하기 화학식으로 표시되는 작용기 부착된 단일벽 탄소 나노튜브를 형성하기에 충분한 조건 하에서 적어도 하나의 적당한 시약과 반응시키는 단계를 포함하여,

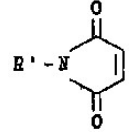
하기 화학식으로 표시되는 소재의 합성물을 제조하는 방법:



이 식에서, 탄소원자  $C_n$ 은 직경이 5나노미터 미만인, 실질적으로 원기둥형의 단일벽 탄소 나노튜브의 표면 탄소이며,  $n$ 은 정수이고,  $L$ 은  $0.1n$  미만의 수이며,  $m$ 은  $0.5n$  미만의 수이고,

각 A는  $OY$ ,  $NHY$ ,  $\begin{matrix} O \\ || \\ C-OY \end{matrix}$ ,  $\begin{matrix} O \\ || \\ C-NR'Y \end{matrix}$ ,  $\begin{matrix} O \\ || \\ C-SY \end{matrix}$ ,  $\begin{matrix} O \\ || \\ C-Y \end{matrix}$ ,  $-CR'_2-OY$ ,  $N=Y$ ,  $\begin{matrix} O \\ || \\ -NRCY \end{matrix}$  또는  $C=Y$  중에서 선택되고,

$Y$ 는 단백질, 펩타이드, 아미노산, 효소, 항체, 올리고뉴클레오타이드, 뉴클레오타이드, 항원 또는 효소 기질, 효소 억제제 또는 효소 기질의 전이 상태 유사체의 적당한 작용기이거나 또는  $R'-OH$ ,  $R'-N(R')_2$ ,  $R'SH$ ,  $R'CHO$ ,  $R'CN$ ,  $R'X$ ,  $R'SiR'_3$ ,



$R'N^+(R')_3X^-$ ,  $R'-R''$ ,  $R'-N-CO$ ,  $(C_2H_4O)_w-H$ ,  $-(C_3H_6O)_w-H$ ,  $-(C_2H_4O)_w-R'$ ,  $(C_3H_6O)_w-R'$ ,  $R'$  및

중에서 선택되는 것이며,

$R'$ 는 수소, 알킬, 아릴, 시클로알킬, 아르알킬 또는 시클로아릴이며,

$R''$ 는 플루오로알킬, 플루오로아릴, 플루오로시클로알킬 또는 플루오로아르알킬이고,

$X$ 는 할라이드이고,

$Z$ 는 카르복실레이트 또는 트리플루오로아세테이트이며,

$w$ 는 1보다 크고 200보다 작은 정수이다.

### 청구항 11.

화학식  $[C_nH_L]-R_m$ (이 식에서, 각  $R$ 은 동일한 것으로서,  $SO_3H$ ,  $COOH$ ,  $NH_2$ ,  $OH$ ,  $CH(R')OH$ ,  $CHO$ ,  $CN$ ,  $COCl$ , 할라이드,  $COSH$ ,  $SH$ ,  $COOR'$ ,  $SR'$ ,  $SiR'_3$ ,  $Si-(OR')_y-R'_{3-y}$ ,  $Si-(O-SiR'_2)-OR'$ ,  $R''$ ,  $Li$ ,  $AlR'_2$ ,  $Hg-X$ ,  $TlZ_2$  및  $Mg-X$  중에서 선택되며,  $y$ 는 3 이하의 정수이다)로 표시되는 치환된 단일벽 탄소 나노튜브를 하기 화학식으로 표시되는 작용기 부착된 단일벽 탄소 나노튜브를 형성하기에 충분한 조건 하에서 적어도 하나의 적당한 시약과 반응시키는 단계를 포함하여,

하기 화학식으로 표시되는 소재의 합성물을 제조하는 방법:

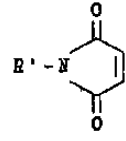


이 식에서, 탄소원자  $C_n$ 은 직경이 5나노미터 미만인, 실질적으로 원기둥형의 단일벽 탄소 나노튜브의 표면 탄소이며,

$n$ 은 정수이고,  $L$ 은  $0.1n$  미만의 수이며,  $m$ 은  $0.5n$  미만의 수이고,

각 A는  $OY$ ,  $NHY$ ,  $\begin{matrix} O \\ || \\ C-OY \end{matrix}$ ,  $\begin{matrix} O \\ || \\ C-NR'Y \end{matrix}$ ,  $\begin{matrix} O \\ || \\ C-SY \end{matrix}$ ,  $\begin{matrix} O \\ || \\ C-Y \end{matrix}$ ,  $-CR'_2-OY$ ,  $N=Y$ ,  $\begin{matrix} O \\ || \\ -NRCY \end{matrix}$  또는  $C=Y$  중에서 선택되고,

Y는 단백질, 펩타이드, 아미노산, 효소, 항체, 올리고뉴클레오타이드, 뉴클레오타이드, 항원 또는 효소 기질, 효소 억제제 또는 효소 기질의 전이 상태 유사체의 적당한 작용기이거나 또는 R'-OH, R'-N(R')<sub>2</sub>, R'SH, R'CHO, R'CN, R'X, R'SiR'<sub>3</sub>,



R'N<sup>+</sup>(R')<sub>3</sub>X<sup>-</sup>, R'-R'', R'-N-CO, (C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>O)<sub>w</sub>-H, -(C<sub>3</sub>H<sub>6</sub>O)<sub>w</sub>-H, -(C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>O)<sub>w</sub>-R', (C<sub>3</sub>H<sub>6</sub>O)<sub>w</sub>-R', R' 및

중에서 선택되는 것이며,

R'는 수소, 알킬, 아릴, 시클로알킬, 아르알킬 또는 시클로아릴이며,

R''는 플루오로알킬, 플루오로아릴, 플루오로시클로알킬 또는 플루오로아르알킬이고,

X는 할라이드이고,

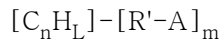
Z는 카르복실레이트 또는 트리플루오로아세테이트이며,

w는 1보다 크고 200보다 작은 정수이다.

### 청구항 12.

화학식 [C<sub>n</sub>H<sub>L</sub>]-[R'-R]<sub>m</sub>(이 식에서, 각 R은 동일한 것으로서, SO<sub>3</sub>H, COOH, NH<sub>2</sub>, OH, CH(R')OH, CHO, CN, COCl, 할라이드, COSH, SH, COOR', SR', SiR'<sub>3</sub>, Si-(OR')<sub>y</sub>-R'<sub>3-y</sub>, Si-(O-SiR'<sub>2</sub>)-OR', R'', Li, AlR'<sub>2</sub>, Hg-X, TiZ<sub>2</sub> 및 Mg-X 중에서 선택되며, y는 3 이하의 정수이다)로 표시되는 치환된 단일벽 탄소 나노튜브를 하기 화학식으로 표시되는 작용기 부착된 단일벽 탄소 나노튜브를 형성하기에 충분한 조건 하에서 적어도 하나의 적당한 시약과 반응시키는 단계를 포함하여,

하기 화학식으로 표시되는 소재의 합성물을 제조하는 방법:








이 식에서, 탄소원자 C<sub>n</sub>은 직경이 5나노미터 미만인, 실질적으로 원기동형의 단일벽 탄소 나노튜브의 표면 탄소이며,

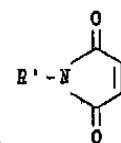
n은 정수이고, L은 0.1n 미만의 수이며, m은 0.5n 미만의 수이고,

R'는 알킬, 아릴, 시클로알킬, 아르알킬, 시클로아릴 또는 폴리(알킬에테르)이며,

X는 할라이드이고,

각 A는 OY, NHY, , , , , -CR'<sub>2</sub>-OY, N=Y,  또는 C=Y 중에서 선택되고,

Y는 단백질, 펩타이드, 아미노산, 효소, 항체, 올리고뉴클레오타이드, 뉴클레오타이드, 항원 또는 효소 기질, 효소 억제제 또는 효소 기질의 전이 상태 유사체의 적당한 작용기이거나 또는 R'-OH, R'-NH<sub>2</sub>, R'SH, R'CHO, R'CN, R'X, R'SiR'<sub>3</sub>,



R'R'', R'-N-CO, (C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>O)<sub>w</sub>-H, -(C<sub>3</sub>H<sub>6</sub>O)<sub>w</sub>-H, -(C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>O)<sub>w</sub>-R', (C<sub>3</sub>H<sub>6</sub>O)<sub>w</sub>-R', R' 및

중에서 선택되는 것이며,

R''는 플루오로알킬, 플루오로아릴, 플루오로시클로알킬 또는 플루오로아르알킬이고,

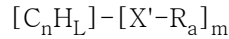


Z는 카르복실레이트 또는 트리플루오로아세테이트이다.

### 청구항 13.

하기 화학식으로 표시되는 작용기 부착된 단일벽 탄소 나노튜브를 형성하기에 충분한 조건 하에서 단일벽 탄소 나노튜브의 표면 위에 적어도 하나의 적당한 거대고리 화합물을 흡착시키는 단계를 포함하여,

하기 화학식으로 표시되는 소재의 합성물을 제조하는 방법:



이 식에서, 탄소원자  $C_n$ 은 직경이 5나노미터 미만인, 실질적으로 원기동형의 단일벽 탄소 나노튜브의 표면 탄소이며,

$n$ 은 정수이고,  $L$ 은 0.1 $n$  미만의 수이며,  $m$ 은 0.5 $n$  미만의 수이고,  $a$ 는 0 또는 10 미만의 정수이며,

각  $R$ 은  $SO_3H$ ,  $COOH$ ,  $NH_2$ ,  $OH$ ,  $CH(R')OH$ ,  $CHO$ ,  $CN$ ,  $COCl$ , 할라이드,  $COSH$ ,  $SH$ ,  $COOR'$ ,  $SR'$ ,  $SiR'_3$ ,  $Si-(OR')_y-R'_{3-y}$ ,  $Si-(O-SiR'_2)-OR'$ ,  $R''$ ,  $Li$ ,  $AlR'_2$ ,  $Hg-X$ ,  $TlZ_2$  및  $Mg-X$  중에서 선택되며,

$y$ 는 3 이하의 정수이고,

$R'$ 는 알킬, 아릴, 시클로알킬, 아르알킬 또는 시클로아릴이며,

$X$ 는 할라이드이고,

$X'$ 는 다핵 방향족, 이종다핵 방향족 또는 금속이종다핵 방향족 부이거나 또는 평면 금속 테트라티오옥살레이트이며,

$R''$ 는 플루오로알킬, 플루오로아릴, 플루오로시클로알킬 또는 플루오로아르알킬이고,

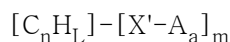
Z는 카르복실레이트 또는 트리플루오로아세테이트이다.

### 청구항 14.

(a) 화학식  $[C_nH_L]-[X'-R_a]_m$ (이 식에서, 각  $R$ 은  $SO_3H$ ,  $COOH$ ,  $NH_2$ ,  $OH$ ,  $CHO$ ,  $CN$ ,  $COCl$ , 할라이드,  $COSH$ ,  $SH$ ,  $COOR'$ ,  $SR'$ ,  $SiR'_3$ ,  $Si-(OR')_y-R'_{3-y}$ ,  $Si-(O-SiR'_2)-OR'$ ,  $R''$ ,  $Li$ ,  $AlR'_2$ ,  $Hg-X$ ,  $TlZ_2$  및  $Mg-X$  중에서 선택되며,  $y$ 는 3 이하의 정수이다)로 표시되는 치환된 단일벽 탄소 나노튜브를 형성하기에 충분한 조건 하에서 단일벽 탄소 나노튜브의 표면 위에 적어도 하나의 적당한 거대고리 화합물을 흡착시키는 단계;

(b) 치환된 나노튜브  $[C_nH_L]-[X'-R_a]_m$ 를 하기 화학식으로 표시되는 작용기 부착된 단일벽 탄소 나노튜브를 형성하기에 충분한 조건 하에서 적어도 하나의 적당한 시약과 반응시키는 단계를 포함하여,

하기 화학식으로 표시되는 소재의 합성물을 제조하는 방법:

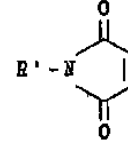


이 식에서, 탄소원자  $C_n$ 은 직경이 5나노미터 미만인, 실질적으로 원기동형의 단일벽 탄소 나노튜브의 표면 탄소이며,

$n$ 은 정수이고,  $L$ 은 0.1 $n$  미만의 수이며,  $m$ 은 0.5 $n$  미만의 수이고,  $a$ 는 10 미만의 정수이며,

각 A는 OY, NHY,  $\begin{matrix} \text{O} \\ | \\ \text{C-OY} \end{matrix}$ ,  $\begin{matrix} \text{O} \\ | \\ \text{C-NR}'\text{Y} \end{matrix}$ ,  $\begin{matrix} \text{O} \\ | \\ \text{C-SY} \end{matrix}$ ,  $\begin{matrix} \text{O} \\ | \\ \text{C-Y} \end{matrix}$ ,  $-\text{CR}'_2-\text{OY}$ ,  $\text{N=Y}$ ,  $\begin{matrix} \text{O} \\ || \\ -\text{N} \\ | \\ \text{CY} \end{matrix}$  또는  $\text{C=Y}$  중에서 선택되고,

Y는 단백질, 펩타이드, 아미노산, 효소, 항체, 올리고뉴클레오타이드, 뉴클레오타이드, 항원 또는 효소 기질, 효소 억제제 또는 효소 기질의 전이 상태 유사체의 적당한 작용기이거나 또는  $\text{R}'-\text{OH}$ ,  $\text{R}'-\text{NH}_2$ ,  $\text{R}'\text{SH}$ ,  $\text{R}'\text{CHO}$ ,  $\text{R}'\text{CN}$ ,  $\text{R}'\text{X}$ ,  $\text{R}'\text{SiR}'_3$ ,



$\text{R}'\text{R}''$ ,  $\text{R}'-\text{N}-\text{CO}$ ,  $(\text{C}_2\text{H}_4\text{O})_w-\text{H}$ ,  $-(\text{C}_3\text{H}_6\text{O})_w-\text{H}$ ,  $-(\text{C}_2\text{H}_4\text{O})_w-\text{R}'$ ,  $(\text{C}_3\text{H}_6\text{O})_w-\text{R}'$ ,  $\text{R}'$  및

$\text{R}'$ 는 수소, 알킬, 아릴, 시클로알킬, 아르알킬 또는 시클로아릴이며,

$\text{R}''$ 는 플루오로알킬, 플루오로아릴, 플루오로시클로알킬 또는 플루오로아르알킬이고,

X는 할라이드이고,

X'는 다핵 방향족, 이종다핵 방향족 또는 금속이종다핵방향족 부이거나 또는 평면 금속 테트라티오옥살레이트이며,

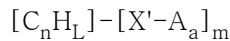
Z는 카르복실레이트 또는 트리플루오로아세테이트이고,

w는 1보다 크고 200보다 작은 정수이다.

### 청구항 15.

화학식  $[\text{C}_n\text{H}_L]-[\text{X}'-\text{R}_a]_m$  (이 식에서, 각 R은  $\text{SO}_3\text{H}$ ,  $\text{COOH}$ ,  $\text{NH}_2$ ,  $\text{OH}$ ,  $\text{CHO}$ ,  $\text{CN}$ ,  $\text{COCl}$ , 할라이드,  $\text{COSH}$ ,  $\text{SH}$ ,  $\text{COOR}'$ ,  $\text{SR}'$ ,  $\text{SiR}'_3$ ,  $\text{Si}-(\text{OR}')_y-\text{R}'_{3-y}$ ,  $\text{Si}-(\text{O}-\text{SiR}'_2)-\text{OR}'$ ,  $\text{R}''$ ,  $\text{Li}$ ,  $\text{AlR}'_2$ ,  $\text{Hg}-\text{X}$ ,  $\text{TlZ}_2$  및  $\text{Mg}-\text{X}$  중에서 선택되며, y는 3 이하의 정수이다)로 표시되는 치환된 단일벽 탄소 나노튜브를 하기 화학식으로 표시되는 작용기 부착된 단일벽 탄소 나노튜브를 형성 하기에 충분한 조건 하에서 적어도 하나의 적당한 시약과 반응시키는 단계를 포함하여,

하기 화학식으로 표시되는 소재의 합성물을 제조하는 방법:

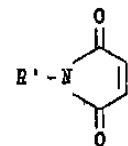


이 식에서, 탄소원자  $\text{C}_n$ 은 직경이 5나노미터 미만인, 실질적으로 원기동형의 단일벽 탄소 나노튜브의 표면 탄소이며,

n은 정수이고, L은 0.1n 미만의 수이며, m은 0.5n 미만의 수이고, a는 10 미만의 정수이며,

각 A는 OY, NHY,  $\begin{matrix} \text{O} \\ | \\ \text{C-OY} \end{matrix}$ ,  $\begin{matrix} \text{O} \\ | \\ \text{C-NR}'\text{Y} \end{matrix}$ ,  $\begin{matrix} \text{O} \\ | \\ \text{C-SY} \end{matrix}$ ,  $\begin{matrix} \text{O} \\ | \\ \text{C-Y} \end{matrix}$ ,  $-\text{CR}'_2-\text{OY}$ ,  $\text{N=Y}$ ,  $\begin{matrix} \text{O} \\ || \\ -\text{N} \\ | \\ \text{CY} \end{matrix}$  또는  $\text{C=Y}$  중에서 선택되고,

Y는 단백질, 펩타이드, 아미노산, 효소, 항체, 올리고뉴클레오타이드, 뉴클레오타이드, 항원 또는 효소 기질, 효소 억제제 또는 효소 기질의 전이 상태 유사체의 적당한 작용기이거나 또는  $\text{R}'-\text{OH}$ ,  $\text{R}'-\text{NH}_2$ ,  $\text{R}'\text{SH}$ ,  $\text{R}'\text{CHO}$ ,  $\text{R}'\text{CN}$ ,  $\text{R}'\text{X}$ ,  $\text{R}'\text{SiR}'_3$ ,



$\text{R}'\text{R}''$ ,  $\text{R}'-\text{N}-\text{CO}$ ,  $(\text{C}_2\text{H}_4\text{O})_w-\text{H}$ ,  $-(\text{C}_3\text{H}_6\text{O})_w-\text{H}$ ,  $-(\text{C}_2\text{H}_4\text{O})_w-\text{R}'$ ,  $(\text{C}_3\text{H}_6\text{O})_w-\text{R}'$ ,  $\text{R}'$  및

R'는 알킬, 아릴, 시클로알킬, 아르알킬 또는 시클로아릴이며,

R"는 플루오로알킬, 플루오로아릴, 플루오로시클로알킬 또는 플루오로아르알킬이고,

X는 할라이드이고,

X'는 다핵 방향족, 이종다핵 방향족 또는 금속이종다핵방향족 부이거나 또는 평면 금속 테트라티오옥살레이트이며,

Z는 카르복실레이트 또는 트리플루오로아세테이트이고,

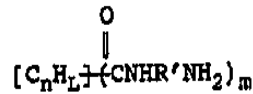
w는 1보다 크고 200보다 작은 정수이다.

### 청구항 16.

화학식  $[C_nH_L]-(COOH)_m$ 으로 표시되는 작용기 부착된 단일벽 탄소 나노튜브를 형성하기에 충분한 조건 하에서 탄소 나노튜브의 표면 탄소를 적어도 하나의 적당한 시약과 반응시키는 단계; 및

이와 같이 작용기 부착된 단일벽 탄소 나노튜브를 아미노기가 2개 이상인 화합물과 하기 화학식으로 표시되는 작용기 부착된 단일벽 탄소 나노튜브를 형성하기에 충분한 조건하에서 반응시키는 단계를 포함하여,

하기 화학식으로 표시되는 소재의 합성물을 제조하는 방법:



이 식에서, 탄소원자  $C_n$ 은 직경이 5나노미터 미만인, 실질적으로 원기동형의 단일벽 탄소 나노튜브의 표면 탄소이며,

n은 정수이고, L은 0.1n 미만의 수이며, m은 0.5n 미만의 수이고,

R'는 알킬, 아릴, 시클로알킬 또는 시클로아릴이다.

### 청구항 17.

기질로서 단일벽 탄소 나노튜브를 수용할 수 있는 적어도 하나의 효소와 표면 탄소를 반응시키는 단계 및 적어도 하나의 효소가 화학 반응을 수행할 수 있는 조건 하에서 수성 현탁액 중에서 화학 반응을 수행하여 하기 화학식으로 표시되는 소재의 합성물을 생성하는 단계를 포함하여, 하기 화학식으로 표시되는 소재의 합성물을 제조하는 방법:



이 식에서, 탄소원자  $C_n$ 은 직경이 5나노미터 미만인, 실질적으로 원기동형의 단일벽 탄소 나노튜브의 표면 탄소이며,

n은 정수이고, L은 0.1n 미만의 수이며, m은 0.5n 미만의 수이고,

R은 각각 동일한 것으로서,  $SO_3H$ ,  $COOH$ ,  $NH_2$ ,  $OH$ ,  $CH(R')OH$ ,  $CHO$ ,  $CN$ ,  $COCl$ , 할라이드,  $COSH$ ,  $SH$ ,  $COOR'$ ,  $SR'$ ,  $SiR'_3$ ,  $Si-(OR')_y-R'_{3-y}$ ,  $Si-(O-SiR'_2)-OR'$ ,  $R''$ ,  $Li$ ,  $AlR'_2$ ,  $Hg-X$ ,  $TlZ_2$  및  $Mg-X$  중에서 선택되며,

y는 3 이하의 정수이고,

R'는 수소, 알킬, 아릴, 시클로알킬, 아르알킬 또는 시클로아릴이며,

R"는 플루오로알킬, 플루오로아릴, 플루오로시클로알킬 또는 플루오로아르알킬이고,

X는 할라이드이고,

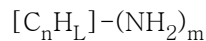
Z는 카르복실레이트 또는 트리플루오로아세테이트이다.

### 청구항 18.

제17항에 있어서, R<sub>m</sub>은 -OH이고 효소는 사이토크롬 p450 효소 또는 퍼옥시다제인 것이 특징인 방법.

### 청구항 19.

탄소 나노튜브의 표면 탄소를 질산 및 황산과 반응시켜 니트로화된 단일벽 탄소 나노튜브를 형성시키는 단계; 및 이와 같이 니트로화된 단일벽 탄소 나노튜브를 환원시켜 하기 화학식으로 표시되는 합성물을 수득하는 단계를 포함하여, 하기 화학식으로 표시되는 소재의 합성물을 제조하는 방법:



이 식에서, 탄소원자 C<sub>n</sub>은 직경이 5나노미터 미만인, 실질적으로 원기둥형의 단일벽 탄소 나노튜브의 표면 탄소이며, n은 정수이고, L은 0.1n 미만의 수이며, m은 0.5n 미만의 수이다.

### 청구항 20.

직경이 5나노미터 미만인 단일벽 탄소 나노튜브를 이 단일벽 탄소 나노튜브의 표면 위에 작용기를 균일하게 치환시킬 수 있는 반응물의 유효량과 접촉시키는 것을 포함하여, 상기 직경이 5나노미터 미만인 단일벽 탄소 나노튜브의 표면을 작용기로 균일하게 치환시키는 방법.

### 청구항 21.

제20항에 있어서, 반응물이 프탈로시아닌인 것이 특징인 방법.

### 청구항 22.

제20항에 있어서, 반응물이 니켈 (II) 프탈로시아닌테트라설포산(테트라나트륨 염) 또는 1,4,8,11,15,18,22,25-옥타부톡시-29H,31H-프탈로시아닌인 것이 특징인 방법.

### 청구항 23.

직경이 5나노미터 미만인 단일벽 탄소 나노튜브를 이 단일벽 탄소 나노튜브의 표면 위에 작용기를 치환시킬 수 있는 반응물의 유효량과 접촉시키는 것을 포함하는 방법을 통해 제조된 직경이 5나노미터 미만인 표면 변형된 단일벽 탄소 나노튜브.

**청구항 24.**

제23항에 있어서, 반응물이 프탈로시아닌인 것이 특징인 표면 변형된 단일벽 탄소 나노튜브.

**청구항 25.**

제23항에 있어서, 반응물이 니켈 (II) 프탈로시아닌테트라설포산(테트라나트륨 염) 또는 1,4,8,11,15,18,22,25-옥타부톡시-29H,31H-프탈로시아닌인 것이 특징인 표면 변형된 단일벽 탄소 나노튜브.

**청구항 26.**

NHS 에스테르 기를 보유하고 직경이 5나노미터 미만인 단일벽 탄소 나노튜브와 단백질을, 상기 NHS 에스테르와 상기 단백질의 아민 기 사이에 공유 결합을 형성하기에 충분한 조건 하에서 접촉시키는 단계를 포함하여 단백질을 나노튜브에 결합시키는 방법.

**청구항 27.**

직경이 5나노미터 미만인 작용기 부착된 단일벽 탄소 나노튜브를 함유하는 전극.

**청구항 28.**

제27항에 있어서, 전극이 다공성 관통 전극(porous flow through electrode)인 것이 특징인 전극.

**청구항 29.**

제27항에 있어서, 작용기 부착된 단일벽 탄소 나노튜브가 프탈로시아닌 치환된 나노튜브인 것이 특징인 전극.

**청구항 30.**

작용기 부착된 단일벽 탄소 나노튜브 망상구조가 작용기에 적어도 하나의 링커 부에 의해 결합된 적어도 2개의 작용기성 원섬유를 함유하고, 상기 링커 부가 이작용기성 또는 다작용기성인 것이 특징인 복수의 작용기 부착된 단일벽 탄소 나노튜브 망상구조를 함유하는 다공성 소재.

**청구항 31.**

직경이 5나노미터 미만인 단일벽 탄소 나노튜브의 표면 탄소를, 작용기 부착된 단일벽 탄소 나노튜브를 형성하기에 충분한 조건 하에서, 적어도 하나의 적당한 시약으로 물리적 또는 화학적으로 변형시키는 단계;

이와 같이 작용기 부착된 단일벽 탄소 나노튜브 위에 당해의 용질이 결합할 수 있는 물질을 고정시키는 단계; 및

이와 같이 작용기 부착된 단일벽 탄소 나노튜브 위에 고정된 물질에 당해의 용질이 결합하기에 충분한 조건 하에서 당해의 용질을 함유하는 분획에 상기 치환된 단일벽 탄소 나노튜브를 노출시키는 단계를 포함하여 시료로부터 당해의 용질을 분리하는 방법.

**청구항 32.**

제31항에 있어서, 당해의 용질이 단백질인 것이 특징인 방법.

**청구항 33.**

제31항에 있어서, 추가로 작용기 부착된 단일벽 탄소 나노튜브를 회수하는 단계를 포함하는 것이 특징인 방법.

**청구항 34.**

제31항에 있어서, 작용기 부착된 단일벽 탄소 나노튜브가 다공성 매트 형태인 것이 특징인 방법.

**청구항 35.**

제31항에 있어서, 작용기 부착된 단일벽 탄소 나노튜브가 충전된 컬럼 형태인 것이 특징인 방법.

**청구항 36.**

제31항에 있어서, 결합이 가역성인 것이 특징인 방법.

**청구항 37.**

제31항에 있어서, 결합이 이온 상호작용인 것이 특징인 방법.

**청구항 38.**

제31항에 있어서, 결합이 소수성 상호작용인 것이 특징인 방법.

**청구항 39.**

제31항에 있어서, 결합이 특정 분자 인식을 통해 이루어지는 것이 특징인 방법.

**청구항 40.**

직경이 5나노미터 미만인 작용기 부착된 단일벽 탄소 나노튜브가 복수개 결합되어 있는, 직경이 25 $\mu$  미만인 실질적으로 구형인 비드를 함유하는 중합체 비드.

**청구항 41.**

제40항에 있어서, 비드가 자성인 것이 특징인 중합체 비드.

**청구항 42.**

직경이 5나노미터 미만인 단일벽 탄소 나노튜브의 표면 탄소를, 작용기 부착된 단일벽 탄소 나노튜브를 형성하기에 충분한 조건 하에서, 적어도 하나의 적당한 시약으로 물리적 또는 화학적으로 변형시키는 단계;

이와 같이 작용기 부착된 단일벽 탄소 나노튜브 위에서 반응을 촉매할 수 있는 생물촉매를 고정시키는 단계; 및

반응물이 산물로 변환되기에 충분한 조건 하에서 상기 작용기 부착된 단일벽 탄소 나노튜브를 반응물과 접촉시키는 단계를 포함하여 적어도 하나의 반응물을 적어도 하나의 산물로 변환시키는 반응을 촉매하는 방법.

**청구항 43.**

제42항에 있어서, 추가로 반응이 완료된 후 작용기 부착된 단일벽 탄소 나노튜브를 회수하는 단계를 포함하는 것이 특징인 방법.

**청구항 44.**

제42항에 있어서, 작용기 부착된 단일벽 탄소 나노튜브가 다공성 매트 형태인 것이 특징인 방법.

**청구항 45.**

제42항에 있어서, 작용기 부착된 단일벽 탄소 나노튜브가 충전된 컬럼 형태인 것이 특징인 방법.

**청구항 46.**

펩타이드의 말단 아미노산을 가역성 링커를 통해 직경이 5나노미터 미만인 단일벽 탄소 나노튜브에 부착시키는 단계를 포함하는, 펩타이드 합성방법.

**청구항 47.**

제46항에 있어서, 링커가 4-(하이드록시메틸)페녹시아세트산인 것이 특징인 합성방법.

**명세서**

**기술분야**

관련 출원에 대한 참조 설명

본 출원은 1996년 9월 25일에 제출된 가출원 번호 60/037,238을 우선권으로 주장하고, 1996년 3월 6일에 출원되었지만 현재는 포기된 미국 출원 일련번호 08/611,368의 연속 출원인, 1997년 3월 6일에 출원되었지만 현재는 포기된 미국 특허 출원 일련 번호 08/812,856의 연속 출원인 2004년 4월 30일에 출원된 미국 특허 출원 일련번호[대리인 도켓 번호

100647-3583]의 일부연속출원이다. 또한, 본 출원은 1994년 12월 8일에 출원된 미국 특허출원 일련번호 08/352,400 (현재 미국 특허 6,203,814)의 분할 출원인 2000년 6월 16일에 출원된 미국 특허 출원 일련번호 09/594,673의 일부연속 출원이다. 전술한 출원들의 각 내용들은 본원에 참고인용되었다.

본 발명은 대체로 튜브형 플러린(일반적으로 "버키 튜브"라 불리는 것) 및 원섬유(fibril)를 포함하고, 작용성 부(moiety)의 화학적 치환이나 흡착에 의해 작용기 부착된(functionalized) 흑연 나노튜브(nanotube)에 관한 것이다. 더 상세하게는, 본 발명은 화학적 부로 균일 또는 비균일하게 치환되거나, 특정 고리 화합물이 흡착되어 있는 단일벽 탄소 나노튜브(single walled carbon nanotube), 및 상기 작용기 부착된 원섬유가 서로 결합되어 이루어진 복합 구조물에 관한 것이다. 또한, 본 발명은 단일벽 탄소 나노튜브의 표면 위에 작용기를 도입시키는 방법에 관한 것이다.

## 배경기술

본 발명은 때로 기상 성장 탄소섬유(vapor grown carbon fiber)라 불리는 서브마이크론 흑연 원섬유 분야에 관한 것이다. 탄소 원섬유는 직경이 1.0 $\mu$  미만, 바람직하게는 0.5 $\mu$  미만, 더욱 더 바람직하게는 0.2 $\mu$  미만인 연층모양의 탄소 침착물(carbon deposit)로서, 다양한 형태로 존재하고 금속 표면에서 다양한 탄소함유 기체의 접촉 분해를 통해 제조되었다. 이러한 연층모양의 탄소 침착물은 대부분 전자현미경이 나타난 이래로 관측되었다. 유익한 초기 조사와 설명은 문헌[Baker and Harris, Chemistry and Physics of Carbon, Walker and Thrower ed., Vol. 14, 1978, p. 83, 본원에 참고인용됨]에서 찾아볼 수 있다. 또한, 본원에 참고인용되는 문헌[Rodriguez, N., J.Master.Research, Vol.8, p.3233(1993)]도 참고할 수 있다. 1976년에, 엔도 등[Obelin, A., and Endo, M., J. of Crvstal Growth, Vol.32(1976), pp. 335-349, 본원에 참고인용됨]은 이러한 탄소 원섬유가 성장하는 기본 기작을 밝혀냈다. 이들은 탄화수소 함유 기체의 존재 하에서 탄소로 파괴화되기 시작하는 금속 촉매 입자로부터 형성되기 시작하는 것으로 관찰되었다. 원기둥형의 규칙적인 흑연 코어는 압출된 후, 그 즉시 엔도 등의 방법에 따라 열분해 침착된 흑연의 외각층으로 코팅되기 시작한다. 이러한 열분해 오버코트를 보유한 원섬유는 일반적으로 직경이 0.1 $\mu$ 를 초과하고, 더 일반적으로는 0.2 내지 0.5 $\mu$  사이이다.

1983년에 테넨트(Tennent)는 미국 특허 4,663,230(본원에 참고인용됨)에서 열분해 탄소로 오염되지 않은 성장하는 원기둥형 규칙 흑연 코어를 성공시켰다. 즉, 테넨트의 발명은 직경이 더 작은 원섬유, 일반적으로 35 내지 700Å(0.0035 내지 0.070 $\mu$ )인 원섬유 및 규칙적인 "성장된 그대로의(as grown)" 흑연 표면에 접근할 수 있게 했다. 또한, 덜 완벽한 구조이면서 열분해 탄소 외각층이 없는 원섬유 탄소도 성장되었다.

본 출원의 작용기 부착된 원섬유, 버키튜브 및 나노섬유는 보강 소재로서 시중에서 입수용이한 연속 탄소 섬유와는 상이한 것이다. 중형비가 큰 것이 바람직하지만, 불가피하게 제한적인 원섬유와는 대조적으로, 연속 탄소 섬유의 중형비(L/D)는 적어도  $10^4$ 이고 종종  $10^6$  이상이기도 하다. 또한, 연속 섬유의 직경은 원섬유의 직경보다 훨씬 커서, 항상  $>1.0\mu$ 이고 일반적으로 5 내지 7 $\mu$  사이이다.

연속 탄소 섬유는 유기 전구체 섬유, 일반적으로 레이온, 폴리아크릴로니트릴(PAN) 및 피치(pitch)의 열분해에 의해 제조된다. 즉, 연속 탄소 섬유는 그 구조 내에 헤테로원자를 함유할 수 있다. "제조된 그대로의(as made)" 연속 탄소 섬유의 흑연 종류는 다양하지만, 후속 흑연화 단계로 처리될 수 있다. 흑연화도의 차이, 존재하는 경우의 흑연 면의 배향 및 결정도, 헤테로원자의 존재 가능성 및 심지어 기재 직경의 절대적 차이는 연속 섬유를 예측하기 어려운 나노섬유 화학의 요인으로 만들었다.

테넨트는 미국 특허 4,663,230에서 연속 열적 탄소 오버코트가 없고 원섬유 축과 실질적으로 평행한 복수의 흑연 외각층을 보유한 탄소 원섬유를 게시한다. 이 원섬유는 그 자체가 원기둥 축에 실질적으로 수직인, 흑연의 곡면 층의 접선에 수직인 c축을 보유하는 것을 특징으로 한다. 일반적으로, 이 원섬유의 직경은 0.1 $\mu$  이하이고 길이 대 직경 비가 적어도 5이다. 바람직하게는, 이 원섬유는 연속 열적 탄소 오버코트, 즉 이 원섬유의 제조에 사용된 기체 원료의 열분해로 수득되는 열분해 침착된 탄소가 실질적으로 없다.

테넨트 등은 미국 특허 5,171,560(본원에 참고인용됨)에서 열적 오버코트가 없고 원섬유 축과 실질적으로 평행한 흑연 층을 보유하며, 이 층의 원섬유 축 상에서의 돌출이 적어도 2개의 원섬유 직경의 거리만큼 전개되어 있는 탄소 원섬유를 게시한다. 일반적으로, 이러한 원섬유는 직경이 실질적으로 일정한, 실질적으로 원기둥형의 흑연 나노튜브이며, 이러한 원기둥 축에 실질적으로 수직인 c 축을 보유한 원기둥형 흑연 시트를 함유한다. 또한, 열분해 침착된 탄소가 실질적으로 없고, 직경이 0.1 $\mu$  미만이며, 길이 대 직경 비가 5보다 크다. 이러한 원섬유가 이 발명의 주요 대상이다.



탄소 원섬유 집합체의 형성에 관한 또 다른 상세한 내용은 스나이더(Snyder) 등에 의해 1988년 1월 28일에 출원된 미국 특허 출원 일련번호 149,573 및 1989년 1월 28일에 출원된 PCT 출원 번호 US89/00322("Carbon Fibrils") WO 89/07163, 및 모이(Moy) 등에 의해 1989년 9월 28일에 출원된 미국 특허 출원 일련 번호 413,837 및 1990년 9월 27일에 출원된 PCT 출원 번호 US90/05498("Fibril Aggregates and Method of Making Same") WO 91/05089 (이들 출원들은 모두 본 발명과 동일한 양수인에게 양도되었고, 본원에 참고인용되었다)의 명세서에서 찾아볼 수 있다.

모이 등은 본원에 참고 인용된 1992년 5월 22일에 출원된 USSN 07/887,307에서 무작위로 서로 얽혀서, 새 등지("BN")를 닮은 얽힌 불형 원섬유를 형성하는, 다양한 거시적 형태(주사형 전자 현미경으로 측정 시)를 보유한 집합체로서 제조된 원섬유; 또는 상대적 배향이 실질적으로 동일하고, 빗질한 안("CY")의 외관, 예컨대 각 원섬유의 종축(각각 구부러지거나 꼬임에 상관없이)이 다발의 주위 원섬유와 동일한 방향으로 신장되어 있는 외관을 보유한 직선 내지 약간 굽거나 꼬인 탄소 원섬유의 다발로 이루어진 집합체; 또는 서로 느슨하게 얽혀서 "개방 망"("ON") 구조를 형성하는 직선 내지 약간 굽거나 꼬인 원섬유로 이루어진 집합체로서 제조된 원섬유에 대해 설명하고 있다. 개방 망 구조에서, 원섬유 얽힘 정도는 빗질한 안형 집합체(각 원섬유가 실질적으로 동일한 상대적 배향을 갖고 있다)에서 관찰되는 정도보다 많고, 새 등지형 원섬유에서 관찰되는 정도보다는 적다. CY 및 ON 집합체는 BN보다 더 쉽게 분산되어, 구조 전반적으로 성질이 균일한 바람직한 복합체 제조에 유용하다.

원섬유 축 위에 흑연 층의 돌출이 2개의 원섬유 직경 미만의 거리만큼 전개되어 있을 때, 흑연 나노섬유의 탄소면은 횡단면이 어골형 외관을 나타낸다. 따라서, 어골형 원섬유라 한다. 본원에 참고인용된 미국 특허 4,855,091에서 제우스(Geus)는 열분해 오버코트가 실질적으로 없는 어골형 원섬유의 제조방법을 제공한다. 이러한 원섬유는 본 발명의 실시에도 유용하게 사용된다.

형태가 앞에서 설명한 축매 성장형 원섬유와 유사한 탄소 나노튜브는 고온 탄소 아크에서 성장되었다(Iijima, *Nature* 354 56 1991). 현재, 이러한 아크 성장형 나노섬유는 종래 테넨트의 축매 성장형 원섬유와 동일한 형태를 보유하는 것으로 일반적으로 받아들여져 있다(Weaver, *Science* 265 1994). 아크 성장형 탄소 나노섬유 역시 본 발명에 유용하다.

단일벽 탄소 나노튜브 및 이의 제조방법은 1993년 이후 문헌["Single-shell carbon nanotubes of 1-nm diameter", S Iijima and T Ichihashi *Nature*, vol. 363, p.603(1993) 및 "Cobalt-catalysed growth of carbon nanotubes with single-atomic-layer walls", D S Bethune, C H Kiang, M S DeVries, G Gorman, R Savoy and R Beyers *Nature*, vol.363, p.605(1993), 모두 본원에 참고인용된 것임]에 게시되어 있다.

또한, 단일벽 탄소 나노튜브는 전문이 본원에 참고인용된 미국 특허 6,221,330(Moy et al.)에 게시되어 있다. 이 문헌에서 모이 등은 먼저 탄소원자가 1 내지 6개이고 헤테로원자로서 오로지 H, O, N, S 또는 Cl을 보유하며 경우에 따라 수소와 혼합된 1종 이상의 기체성 탄소 화합물, 및 축매 분해 반응 조건 하에서 불안정하고 이 반응 조건 하에서 분해 촉매로서 작용하는 금속 함유 축매를 형성하는 기체상 금속 함유 화합물을 함유하는 기체상 탄소 원료 스톱 가스 혼합물을 형성시키고; 그 다음 상기 분해 반응을 분해 반응 조건 하에서 수행하여 나노튜브를 수득하는, 1종 이상의 기체성 탄소 화합물의 축매 분해에 의해 중공의 단일벽 탄소 나노튜브를 생산하는 방법을 게시하고 있다. 이 발명은 기체상 금속 함유 화합물이 또한 기체성 탄소원을 함유하는 반응 혼합물로 도입되는 기체상 반응에 관한 것이다. 탄소원은 전형적으로, 헤테로원자로서 H, O, N, S 또는 Cl을 보유하고, 경우에 따라 수소와 혼합된 C<sub>1</sub> 내지 C<sub>6</sub> 화합물이다. 일산화탄소 또는 일산화탄소와 수소가 바람직한 탄소 공급원료이다. 약 400°C 내지 1300°C의 증가된 반응 구역 온도 및 약 0 내지 약 100p.s.i.g. 사이의 압력은 기체상 금속 함유 화합물의 금속 함유 촉매로의 분해를 유발하는 것으로 생각된다. 분해는 원자 금속에 또는 부분 분해된 중간 종에 대한 분해일 수 있다. 금속 함유 촉매는 (1) CO 분해를 촉매하고 (2) SWNT 형성을 촉매한다. 즉, 이 발명은 탄소 화합물의 축매 분해를 통해 SWNT를 형성시키는 방법에 관한 것이다.

미국 특허 6,221,330의 발명은 일부 양태에서 금속 함유 촉매의 에어로졸이 반응 혼합물로 도입된 에어로졸 기술을 이용하기도 한다. SWNT를 생산하는 에어로졸 방법의 장점은 효율적이고 연속적인 상업적 또는 공업적 생산 방법에서 크기와 규모가 균일한 축매 입자를 생산할 수 있다는 점이다. 종래 논의된 전기 아크 방전 및 레이저 침착 방법은 그러한 상업적 또는 공업적 생산을 위해 경제적으로 증대될 수 없는 방법이었다. 이러한 발명에 유용한 금속 함유 화합물의 예에는 금속 카르보닐, 금속 아세틸 아세토네이트, 및 분해 조건 하에서 분해하여 자립형 금속 촉매를 형성하는 증기로서 도입될 수 있는 다른 물질이 포함된다. 축매 활성 금속에는 Fe, Co, Mn, Ni 및 Mo가 있다. 몰리브덴 카르보닐 및 철 카르보닐은 반응 조건하에서 분해하여 증기상 촉매를 형성할 수 있는 바람직한 금속 함유 화합물이다. 이러한 금속 카르보닐의 고체 형태는 기화되는 전처리 구역으로 전달되어 촉매의 증기상 전구체가 될 수 있다. 자립형 촉매 위에 SWNT를 형성시키는데 이용할 수 있는 방법에는 2가지 방법이 있는 것으로 발견되었다.

첫 번째 방법은 휘발성 촉매의 직접 주입 방법이다. 직접 주입 방법은 본원에 참고인용된 미국 특허 출원 일련번호 08/459,534에 설명되어 있다. 휘발성 촉매 전구체의 직접 주입은 몰리브덴 헥사카르보닐[Mo(CO)<sub>6</sub>] 및 디코발트 옥타카르보닐[Co<sub>2</sub>(CO)<sub>8</sub>] 촉매를 이용하여 SWNT를 형성시키는 것으로 관찰되었다. 이 두 물질은 실온에서 고체이지만 상온 또는 상온 부근에서 승화한다. 즉, 몰리브덴 화합물은 적어도 150°C까지 열 안정성이지만, 코발트 화합물은 분해되면서 승화한다["Organic Syntheses via Metal Carbonyls", Vol. 1, I.Wender and P.Pino, eds., Interscience Publishers, New York, 1968, p.40].

두 번째 방법은 금속 함유 화합물을 도입시키기 위해 기화기를 이용한다(도 12). 이 발명의 바람직한 일 양태에 따르면, 도 12에 도시된 기화기(10)는 바닥에서부터 약 1" 위치에 밀봉부(24)를 보유하여 제2 구역을 형성하는 석영 서모웰(20)을 포함한다. 이 구역에는 개방되어 기체 반응물에 노출되는 2개의 1/4" 구멍(26)이 존재한다. 촉매는 이 구역으로 주입된 후, 기화기 노(32)에 의해 임의의 바람직한 온도에서 기화된다. 이 노(furnace)는 제1 열전쌍(22)에 의해 조절된다. 금속 함유 화합물, 바람직하게는 금속 카르보닐은 분해점 이하의 온도에서 기화되고, 기체 반응물 CO 또는 CO/H<sub>2</sub>는 반응 구역 노(38) 및 제2 열전쌍(42)에 의해 각각 조절되는 반응 구역(34)으로 전구체를 쏘아낸다. 작동성을 특정 이론에 국한하려는 의도는 아니지만, 반응기 온도에서 금속 함유 화합물은 중간 종으로 부분적으로 분해되거나 금속 원자로 완전히 분해되는 것으로 생각된다. 이러한 중간 종 및/또는 금속 원자는 합체하여 실제 촉매인 더 큰 집합 입자가 된다. 이 입자는 그 다음 CO의 분해를 촉매하고 SWNT 성장을 촉진하는 정확한 크기로 성장한다. 도 11의 장치에서, 촉매 입자와 최종 탄소 형태는 석영 양모 플러그(36) 위에 수집된다. 입자의 성장 속도는 기체상 금속 함유 중간 종의 농도에 따라 달라진다. 이 농도는 기화기의 증기 압력(이에 따른 온도)에 의해 결정된다. 농도가 너무 높으면, 입자 성장이 너무 빠르고 SWNT 이외의 다른 구조가 성장된다(예컨대, MWNT, 무정형 탄소, 어니언형 등). 본 발명에는 미국 특허 6,221,330의 실시예를 비롯한 전문이 참고인용되었다.

본원에 참고인용된 미국 특허 5,424,054(Bethune et al.)는 탄소 증기를 코발트 촉매와 접촉시켜 단일벽 탄소 나노튜브를 생산하는 방법을 설명하고 있다. 탄소 증기는 무정형 탄소, 흑연, 활성화되거나 탈색된 탄소 또는 이의 혼합물일 수 있는 고체 탄소의 전기 아크 가열에 의해 생산된다. 다른 탄소 가열 기술도 논의되어 있는데, 그 예에는 레이저 가열, 전기 빔 가열 및 RF 유도 가열이 있다.

본원에 참고인용된 문헌[Guo, T., Nikoleev, P., Thess, A., Colbert, D.T., and Smally, R.E., Chem.Phys.Lett. 243: 1-12(1995)]에서 스몰리 등은 흑연 막대와 전이 금속이 고온 레이저에 의해 동시에 기화되는 단일벽 탄소 나노튜브의 제조 방법을 설명하고 있다.

또한, 본원에 참고인용된 문헌[Thess, A., Lee, R., Nikolaev, P., Dai, H., Petit, P., Robert, J., Xu, C., Lee, Y.H., Kim, S.G., Rinzler, A.G., Colbert, D.T., Scuseria, G.E., Tonarek, D., Fischer, J.E., and Smalley, R.E., Science, 273: 483-487 (1996)]에서 스몰리 등은 소량의 전이 금속을 함유한 흑연 막대가 약 1200°C의 오븐에서 레이저 기화되는 단일벽 탄소 나노튜브의 생산방법을 기술하고 있다. 단일벽 나노튜브는 70%가 넘는 수율로 생산된다고 보고되어 있다.

SWNT 형성을 지지형 금속 촉매도 공지되어 있다. 본원에 참고인용된 문헌[Dai, H., Rinzler, A.G., Nikolaev, P., Thess, A., Colbert, D.T., and Smalley, R.E., Chem.Phys.Lett. 260: 471-475(1996)]에서 스몰리 등은 CO로부터 다중벽 나노튜브 및 단일벽 나노튜브를 성장시키는 지지형 Co, Ni 및 Mo 촉매, 및 이들 형성의 추정 기작에 대해 설명하고 있다.

맥카티 등은 본원에 참고인용되고 1989년 5월 15일에 출원된 미국 특허 출원 일련번호 351,967에서 원섬유의 표면을 산화시키기 위해 충분한 반응 조건(예, 시간, 온도 및 압력) 하에서 황산(H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)과 염소산칼륨(KClO<sub>3</sub>)을 함유하는 산화제와 원섬유를 접촉시키는 것을 포함하는 탄소 원섬유의 표면을 산화시키는 방법에 대해 설명하고 있다. 맥카티 등의 방법에 따라 산화된 원섬유는 불균일하게 산화되어, 즉 탄소 원자가 카르복시, 알데하이드, 케톤, 페놀 기 및 다른 카르보닐 기의 혼합물로 치환되어 있다.

또한, 원섬유는 질산 처리에 의해 불균일하게 산화되었다. 국제 출원 PCT/US94/10168은 작용기의 혼합물을 함유하는 산화된 원섬유의 형성에 대해 게시한다. 또한, 후젠바드, 엠.에스. 등("Metal Catalysts supported on a Novel Carbon Support", Presented at Sixth International Conference on Scientific Basis for the Preparation of Heterogeneous Catalysts, Brussels, Belgium, September 1994)은 원섬유 지지된 귀금속을 제조하는데 있어서 원섬유 표면을 질산으로

먼저 산화하는 것이 유익하다는 것을 발견했다. 이러한 산 전처리는 탄소 지지된 귀금속 촉매의 제조에 표준 단계로서, 이러한 탄소의 일반적인 급원이 제공된다면, 그 처리는 표면을 작용기화할 수 있는 만큼 가능한 한 많이 바람직하지 않은 소재를 제거한다.

공개된 연구에서 맥카티와 베닝(Polymer Preprints ACS Div.of Polymer Chem. 30(1) 420(1990))은 표면이 다양한 산화기를 함유하고 있음을 증명하기 위하여 산화된 원섬유의 유도체를 제조했다. 제조한 화합물인, 페닐하이드라존, 할로아로마틱에스테르, 탈륨 염 등은 이의 분석 유용성, 예컨대 색이 밝거나 약간 다른 강하면서 쉽게 확인되고 구별되는 시그널을 나타내는 점 때문에 선택되었다. 이러한 화합물은 분리되지 않았으며 본원에 설명된 유도체와는 달리 실용적인 가치가 없다.

탄소 원섬유 및 탄소 원섬유의 집합체는 상기 언급된 특허 및 특허 출원 문헌들에 기술된 바와 같이 많은 용도가 있음이 밝혀져 있지만, 원섬유 표면이 작용기화된다면 다른 많은 중요한 용도가 개발될 수 있을 것이다. 균일 또는 불균일한 작용기화는 다양한 기재와 작용기 부착된 원섬유가 상호작용하여 독특한 성질을 보유한 소재의 독특한 합성물이 형성될 수 있게 하며, 원섬유 표면에 존재하는 작용성 부위 사이의 결합에 기초하여 원섬유 구조물이 형성될 수 있게 한다.

## 발명의 상세한 설명

### 발명의 목적

따라서, 본 발명의 제1 목적은 직경이 5 나노미터 미만인 작용기 부착된 단일벽 탄소 나노튜브, 즉 작용성 화학적 부(moiety)가 결합되도록 표면이 균일 또는 불균일하게 변형되어 있는 단일벽 탄소 나노튜브를 제공하는 것이다.

또 다른 본 발명의 제2 목적은 직경이 5 나노미터 미만이고 산화 매질 또는 다른 화학 매질과의 반응에 의해 표면에 작용기 부착된 단일벽 탄소 나노튜브를 제공하는 것이다.

또 다른 본 발명의 제3 목적은 직경이 5 나노미터 미만이고 화학적 반응에 의해 또는 화학적 반응성을 자체적으로 가진 종의 물리적 흡착에 의해 표면이 균일하게 변형된 단일벽 탄소 나노튜브를 제공하는 것이다.

또 다른 본 발명의 제4 목적은 직경이 5 나노미터 미만이고, 표면이 산화 등에 의해 변형된 다음 작용기와 반응하여 추가 변형된 단일벽 탄소 나노튜브를 제공하는 것이다.

또 다른 본 발명의 제5 목적은 직경이 5 나노미터 미만이고, 다양한 기재에 존재하는 화학적 기에 물리적으로 결합하거나 화학적으로 반응할 수 있도록 광범위한 작용기로 표면이 변형된 단일벽 탄소 나노튜브를 제공하는 것이다.

또 다른 본 발명의 제6 목적은 직경이 5 나노미터 미만인 단일벽 탄소 나노튜브 상의 작용기를 다양한 링커 화학을 통해서 결합시킨 상기 단일벽 탄소 나노튜브의 복합 구조물을 제공하는 것이다.

또 다른 본 발명의 제7 목적은 각 경우마다 작용성 부를 원섬유의 표면에 결합시키기 위해, 원섬유 표면을 화학적 변형시키는 방법 및 직경이 5 나노미터 미만인 단일벽 탄소 나노튜브의 표면에 종을 물리적으로 흡착시키는 방법을 제공한다.

또 다른 본 발명의 제8 목적은 직경이 5 나노미터 미만인 작용기 부착된 단일벽 탄소 나노튜브를 기제로 한 소재의 신규 합성물을 제공하는 것이다.

### 실시예

#### 나노튜브의 작용기 부착 방법

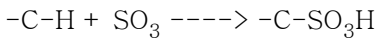
본 발명의 균일하게 작용기 부착된 원섬유는 설폰화, 탈산소화된 원섬유 표면에 대한 친전자 첨가 또는 금속화 반응을 통해 직접 제조할 수 있다. 아크 성장된 나노섬유가 사용되는 경우에는 작용기 부착 전에 정제를 충분히 해야 한다. 에베센(Ebbesen et al., Nature 367 519 (1994))은 이러한 정제 절차를 제시한다.

탄소 원섬유는 작용기화제와 접촉시키기 전에 처리되는 것이 바람직하다. 이러한 처리에는 원섬유를 용매에 분산시키는 것이 포함될 수 있다. 일부 경우에는, 탄소 원섬유를 접촉시키기 전에 여과하여 건조할 수도 있다.

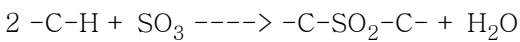
**1. 설폰화**

배경 기술은 문헌[March, J.P., Advanced Organic Chemistry, 3rd Ed. Wiley, New York 1985; House, H., Modern Synthetic Reactions, 2nd Ed., Benjamin/Cummings, Menlo Park, CA 1972]에 설명되어 있다.

활성화된 C-H(방향족 C-H 포함) 결합은 SO<sub>3</sub>을 20% 이하로 함유하는 농황산 용액인 발연 황산(oleum)을 사용하여 설폰화할 수 있다. 종래 방법은 발연황산을 사용하여 T-80℃에서 액체 상을 통해 실시되었지만, 활성화된 C-H 결합은 불활성 비양성자성 용매 중에서 SO<sub>3</sub>을 사용하거나 또는 기체 상에서 SO<sub>3</sub>을 사용하여 설폰화할 수도 있다. 이 반응은 다음과 같다:



과잉 반응은 다음과 같은 반응식에 따라 설폰을 형성시킨다:



**실시예 1**

**황산을 이용한 C-H 결합의 활성화**

이 반응은 기체 상 및 용액 중에서 결과에 어떠한 유의적 차이없이 실시될 수 있다. 기체 상 반응은 린드버그 노(Lindberg furnace)에 의해 가열된 수평 석영 튜브 반응기에서 실시했다. SO<sub>3</sub> 공급원으로는 기체 유입관/배출관이 장착된 다중구 플라스크에 농황산 중의 20% SO<sub>3</sub> 용액을 담아 사용했다.

자기제 보트형 용기에 담긴 일정량의 원섬유(BN 또는 CC) 시료를 기체 유입구가 장착된 1" 튜브에 넣고, 배출구는 농황산 발포 트랩에 연결시켰다. 아르곤을 20분 동안 반응기를 통해 유통시켜 공기를 모두 제거하고, 시료를 잔류 수분을 제거하기 위해 300℃에서 1시간 동안 가열했다. 건조 후, 온도를 아르곤 하에서 반응 온도가 되게 조정했다.

바람직한 온도로 안정되었을 때, SO<sub>3</sub> 공급원을 반응기 튜브에 연결시키고, 아르곤류를 사용하여 SO<sub>3</sub> 증기를 석영 튜브 반응기 내로 운반했다. 반응은 바람직한 온도에서 바람직한 시간 동안 실시했고, 그 후 반응기를 유동 아르곤 하에서 냉각시켰다. 그 다음, 원섬유를 90℃, 5" Hg 진공 하에서 건조하여 무수 중량의 증가를 측정했다. 설폰산(-SO<sub>3</sub>H) 함량은 0.100N NaOH와 반응시킨 뒤, pH 6.0의 종말점까지 0.100N HCl로 역적정하여 측정했다.

액체 상 반응은 온도계/온도 조절기와 자석 교반기가 장착된 다중구 100cc 플라스크에 담긴, 20% SO<sub>3</sub>을 함유한 농황산 중에서 실시했다. 농황산(50) 중의 원섬유 슬러리를 상기 플라스크에 첨가했다. 발연황산 용액(20cc)은 반응기에 첨가하기 전에 -60℃로 예열했다. 반응 후, 산 슬러리를 얼음 조각 위에 쏟아 붓고, 1L 탈이온수로 즉시 희석했다. 고체를 여과하고, 세척 유출액의 pH에 변화가 없을 때까지 탈이온수로 철저히 세척했다. 원섬유를 100℃, 5" Hg 진공하에서 건조했다. 여과 시 이동 손실로 인하여 정확한 중량 증가를 획득할 수 없었다. 결과는 표 I에 정리했다.

표 I

반응 정리

EX.	실험 #	반응	시료 Wt.g	원섬유 종류	T°C	시간	무수 Wt 증가	SO <sub>3</sub> H 농도 meq/g
1A	118-60A	Vap	0.20	CY	170	15 m	9.3%	0.50
1B	118-61A	Vap	0.20	BN	100	30 m	8.5%	0.31
1C	118-61B	Vap	0.20	BN	65	15 m	4.2%	0.45
1D	118-56A	Liq	1.2	CY	50	10 m		0.33
1E	118-56B	Liq	1.0	CY	25	20 m		0.40

기체 상 또는 액체 상에서의 반응에 의해 수득되는 설폰산 함량에는 유의적 차이가 없었다. 온도 효과는 있어서, 고온의 반응(기체 상)은 더욱 다량의 설폰을 제공했다. 118-61B에서 4.2% 중량 증가는 설폰산 함량(이론값 0.51meq/g)과 일치했다. 실험 60A 및 61A에서는 중량 증가가 오로지 설폰산 함량에 의해 수득되는 것보다 지나치게 높았다. 따라서, 상당량의 설폰이 추가 제조된 것으로 추정되었다.

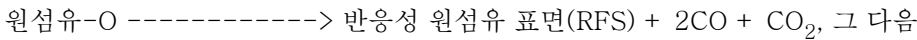
**2. 산화물 제거된 원섬유 표면에 대한 첨가**

배경 기술은 문헌[Urry, G., Elementary Equilibrium Chemistry of Carbon, Wiley, New York, 1989]에 설명되어 있다.

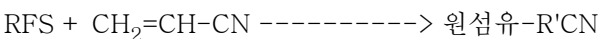
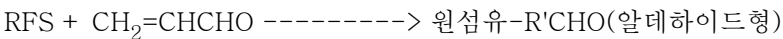
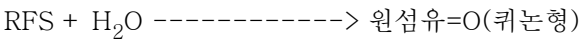
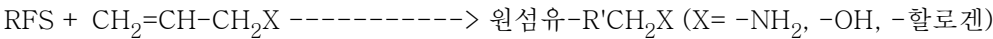
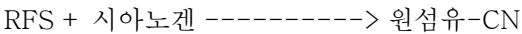
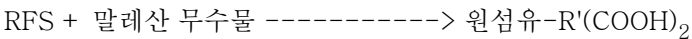
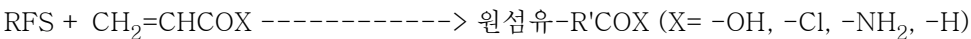
원섬유의 표면 탄소는 흑연과 유사하여, 기초 평면 탄소와 가장자리 탄소를 함유하는 육각형 시트로 배열되어 있다. 기초 평면 탄소는 화학적 공격에 비교적 불활성인 반면, 가장자리 탄소는 반응성이고 탄소 원자가를 충족시키기 위하여 약간의 헤테로원자 또는 기를 함유해야 한다. 또한, 원섬유는 기본적으로 가장자리 탄소이고 헤테로원자 또는 기를 함유한 표면 결합 부위를 갖고 있다.

원섬유의 표면 탄소에 부착된 가장 일반적인 헤테로원자는 제조 동안의 주요 기체 성분인 수소; 높은 반응성 및 제거하기 매우 어려운 미량으로 인한 산소; 및 촉매로 인해 항상 존재하는 H<sub>2</sub>O이다. 진공 하에 약 1000°C에서의 열분해는, 반응이 작은 알려지지 않았지만 화학량론은 알려져 있는 복합 반응으로 표면의 산소를 제거한다. 산물은 2:1 비율의 CO 및 CO<sub>2</sub>이다. 수득되는 원섬유 표면은 활성화된 올레핀과 매우 반응성인 C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 배열의 라디칼을 함유한다. 이러한 표면은 진공 또는 불활성 기체의 존재 하에서는 안정하지만, 반응성 기체에 노출될 때까지 높은 반응성을 보유한다. 즉, 원섬유는 진공 또는 불활성 대기 중에서 약 1000°C에서 열분해될 수 있고, 이와 동일한 조건 하에서 냉각되며, 저온에서 적당한 분자와 반응하여 안정한 작용기를 제공할 수 있다. 전형적인 반응 예는 다음과 같다:

1000°C



1000°C



상기 식에서, R'는 탄화수소 라디칼(알킬, 시클로알킬 등)이다.

**실시예 2**

산화물 제거된 원섬유 표면과 아크릴산의 반응에 의한 작용기 부착된 원섬유의 제조

자기제 보트형 용기에 담긴 BN 원섬유 1g을, 열전쌍이 장착된 수평 1" 석영 튜브에 넣고, 린드버그 튜브로 배치했다. 말단에는 기체 유입구/배출구를 장착했다. 이러한 튜브를 무수 탈산소화된 아르곤으로 10분 동안 세정한 후, 노의 온도를 300°C로 상승시키고 30분 동안 유지시켰다. 그 다음, 연속 아르곤류 하에서, 온도를 100°C씩 1000°C까지 상승시키고 16시간 동안 유지시켰다. 그 후, 튜브를 아르곤류 하에서 실온(RT)까지 냉각시켰다. 아르곤류는 그 다음 기체 유입구/배출구가 장착되고 50°C인 순수 정제된 아크릴산을 함유한 다중구 플라스크로 흐르게 했다. 아크릴산/아르곤 기체류는 RT에서 6시간 동안 지속시켰다. 그 다음, 남은 미반응 아크릴산을 제거하고, 먼저 아르곤으로 세정한 뒤, 100°C, <5" 진공 하에서 진공 건조했다. 카르복시산 함량은 과량의 0.100N NaOH와 반응시킨 뒤 pH 7.5의 종말점까지 0.100N HCl로 역적정하여 측정했다.

### 실시예 3

#### 산화물 제거된 원섬유 표면과 아크릴산의 반응에 의한 작용기 부착된 원섬유의 제조

열분해와 냉각이  $10^{-4}$  Torr 진공 하에서 실시된 것을 제외하고는 상기 실험과 유사한 방식으로 실험을 반복했다. 정제된 아크릴산 증기는 앞의 실험에서와 같이 아르곤으로 희석했다.

### 실시예 4

#### 산화물 제거된 원섬유 표면과 말레산의 반응에 의한 작용기 부착된 원섬유의 제조

80°C에서 용융 정제된 말레산 무수물(MAN) 조를 통해 아르곤 기체를 유통시킨 후 반응기로 공급하는 정제된 말레산 무수물이 RT의 반응물인 것을 제외하고는 실시예 2에서와 같이 실험을 반복했다.

### 실시예 5

#### 산화물 제거된 원섬유 표면과 아크릴로일 클로라이드의 반응에 의한 작용기 부착된 원섬유의 제조

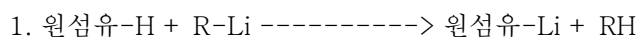
본 실험은 RT에서의 반응물이 정제된 아크릴로일 클로라이드인 것을 제외하고는 실시예 2에서와 같이 반복했으며, 여기서 반응물은 25°C에서 순수 아크릴로일 클로라이드 상으로 아르곤을 유통시킨 후 반응기로 공급했다. 산 염화물 함량은 과량의 0.100N NaOH와 반응시킨 뒤, 0.100N HCl로 역적정하여 측정했다.

진공 하에서의 원섬유의 열분해는 원섬유 표면에서 산소를 제거한다. TGA 장치에서, 진공 또는 정제된 Ar류 하에 1000°C에서의 열분해 결과, 3가지 BN 원섬유 시료의 평균 중량 손실이 3%였다. 기체 크로마토그래피 분석에서는 각각 약 2:1 비율의 CO 및 CO<sub>2</sub> 만이 검출되었다. 수득되는 표면은 매우 반응성이어서, 아크릴산, 아크릴로일 클로라이드, 아크릴아미드, 아크롤레인, 말레산 무수물, 알릴 아민, 알릴 알콜 또는 알릴 할라이드와 같은 활성화된 올레핀은 심지어 실온에서도 반응하여 오로지 활성화된 올레핀에 결합한 작용기만을 함유하는 깨끗한 산물을 형성할 것이다. 즉, 카르복시산만을 함유하는 표면은 아크릴산 또는 말레산 무수물과의 반응에 의해 수득할 수 있고, 산 염화물만을 함유하는 표면은 아크릴로일 클로라이드와의 반응에 의해 수득할 수 있으며, 알데하이드만을 함유하는 표면은 아크롤레인의 반응에 의해, 하이드록시 기만을 함유하는 표면은 알릴 알콜과의 반응에 의해, 아민만을 함유하는 표면은 알릴 아민과의 반응에 의해, 할라이드만을 함유하는 표면은 알릴 할라이드와의 반응에 의해 수득할 수 있다.

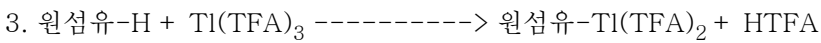
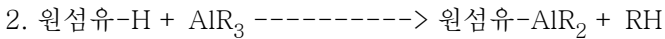
## 3. 금속화

배경 기술은 문헌[March, *Advanced Organic Chemistry*, 3rd ed., p 545]에 설명되어 있다.

방향족 C-H 결합은 다양한 유기금속 시약에 의해 금속화되어 탄소-금속 결합(C-M)을 형성할 수 있다. M은 일반적으로 Li, Be, Mg, Al 또는 Tl 이지만, 다른 금속이 사용될 수도 있다. 가장 간단한 반응은 활성화된 방향족에서 수소의 직접 치환에 의한 반응이다:

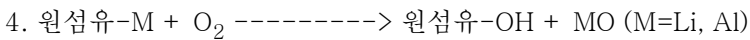


이 반응은 추가로 강염기, 예컨대 t-부톡시화칼륨 또는 킬레이트화 디아민을 필요로 할 수 있다. 비양성자성 용매가 반드시 필요하다(과라핀, 벤젠).

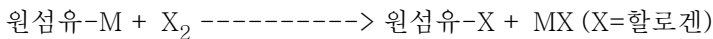
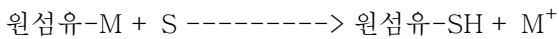


TFA = 트리플루오로아세트이트, HTFA = 트리플루오로아세트산

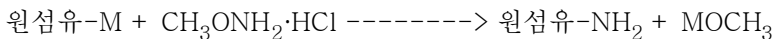
금속화된 유도체는 1차 단일 작용기 부착된 원섬유의 예이다. 하지만, 추가 반응을 통해 다른 1차 단일 작용기 부착된 원섬유를 제공할 수도 있다. 일부 반응은 중간체 분리 없이 동일 장치에서 연속적으로 실시될 수 있다.



H<sup>+</sup>

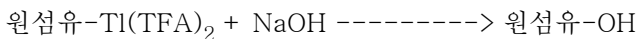


축매

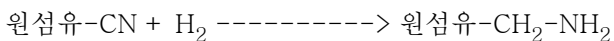
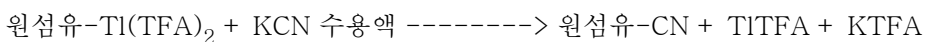
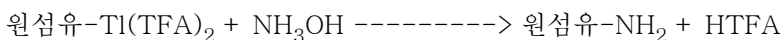


에테르

축매



축매



## 실시예 6

### 원섬유-Li의 제조

CC 원섬유 1g을 자기제 보트형 용기에 담아, 린드버그 튜브 노에 싸인 1" 석영 튜브 반응기로 투입했다. 튜브의 말단에는 기체 유입구/배출구를 장착했다. 연속 H<sub>2</sub>류 중에서, 원섬유를 700℃까지 2시간 동안 가열하여 임의의 표면 산소화물을 C-H 결합으로 변환시켰다. 그 다음, 반응기를 H<sub>2</sub>류 중에서 실온으로 냉각시켰다.

수소화된 원섬유는 무수 탈산소화된 헵탄(LiAlH<sub>4</sub>와 함께)과 함께, 공기를 모두 제거하고 불활성 대기를 유지하기 위한 정제 아르곤 세정 시스템, 응축기, 자석 교반기 및 주사기로 액체를 첨가할 수 있는 고무 격막이 장착된 1 리터 다중구 둥근바닥 플라스크로 이동시켰다. 아르곤 대기 하에서 헵탄 중에 5mmol 부틸리튬을 함유하는 2% 용액을 주사기로 첨가하고, 슬

러리를 완전한 환류하에 4시간 동안 교반했다. 그 다음, 원섬유를 아르곤 대기 글로브 박스에서 중력 여과로 분리하고 필터 상에서 무수 탈산소화된 헵탄으로 세척했다. 원섬유는 정지 마개가 장착된 50cc r.b. 플라스크로 이동시키고 50°C, 10<sup>-4</sup> torr 진공하에서 건조시켰다. 리튬 농도는 원섬유 시료를 과량의 탈이온수 중의 0.100N HCl과 반응시킨 뒤, pH 5.0의 종말점까지 0.100N NaOH로 역적정하여 측정했다.

### 실시예 7

#### 원섬유-TI(TFA)<sub>2</sub>의 제조

CC 원섬유 1g을 실시예 5에서와 같이 수소화하고, 무수 아르곤으로의 반복 세정으로 탈기시킨 HTFA와 함께 다중구 플라스크에 적재했다. 이 플라스크에 고무 격막을 통해, HTFA 중에 5mmol TI(TFA)<sub>3</sub>을 용해시킨 5% 용액을 첨가하고, 완전한 환류하에 슬러리를 6시간 동안 교반했다. 반응 후, 원섬유를 수집하여 실시예 1에서와 같이 건조했다.

### 실시예 8

#### 원섬유-OH의 제조(OH 작용기만을 함유하는 산소화된 유도체)

실시예 6에서 제조한 리튬화된 원섬유 0.5g을 아르곤 대기 글로브 백에서 무수 탈산소화된 헵탄과 함께, 정지 마개와 자석 교반기 막대가 장착된 50cc 1구 플라스크에 투입했다. 이 플라스크를 글로브 백에서 꺼내어 자석 교반기 상에서 교반했다. 정지 마개를 열어 대기에 노출시키고 슬러리를 24시간 동안 교반했다. 그 다음, 원섬유를 여과 분리하고 MeOH 수용액으로 세척한 뒤, 50°C, 5" 진공하에서 건조했다. OH 기의 농도는 OH 기를 아세테이트 에스테르로 변환시키고, 이 과정 중에 반응된 무수물 1몰당 아세트산 1당량을 방출하도록, 디옥산 중의 아세트산 무수물 표준 용액(0.252M)과 80°C에서 반응시켜 측정했다. 총 산 함량, 유리 아세트산 및 미반응 아세트산 무수물은 0.100N NaOH로 pH 7.5의 종말점까지 적정하여 측정했다.

### 실시예 9

#### 원섬유-NH<sub>2</sub>의 제조

탈리화된 원섬유 1g을 실시예 7에서와 같이 제조했다. 원섬유는 디옥산에 슬러리화한 후, 디옥산에 용해된 0.5g 트리페닐 포스핀을 첨가했다. 이러한 슬러리를 50°C에서 수분간 교반한 뒤, 50°C에서 30분 동안 암모니아 기체를 첨가했다. 그 다음, 원섬유를 여과 분리하고 디옥산과 그 다음 탈이온수로 세척한 뒤, 80°C, 5" 진공 하에서 건조했다. 아민 농도는 과량의 아세트산 무수물과 반응시킨 뒤, 0.100N NaOH로 유리 아세트산과 미반응 무수물을 역적정하여 측정했다.

## 4. 유도체화된 다핵 방향족 화합물, 이중다핵 방향족 화합물 및 평면 거대고리 화합물

원섬유의 흑연 표면은 방향족 화합물을 물리적 흡착할 수 있다. 인력은 반데르 발스 힘이다. 이러한 힘은 다고리 이중핵 방향족 화합물과 흑연 표면의 기초 평면 탄소 간에 상당하다. 탈착은 경쟁적 표면 흡착이 가능하거나 피흡착물이 용해도가 높은 경우에 일어날 수 있다.

예를 들어, 원섬유는 프탈로시아닌 유도체의 흡착에 의해 작용기가 부착될 수 있는 것으로 발견되었다. 이러한 프탈로시아닌 유도체 원섬유는 단백질 고정용 고체 지지체로서 사용될 수 있다. 다른 프탈로시아닌 유도체를 선택하여 원섬유 표면에 다른 화학적 기를 간단하게 도입시킬 수도 있다.

단백질 고정에 프탈로시아닌 유도체 원섬유의 사용은 종래 단백질 고정 방법에 비해 유의적인 장점을 갖고 있다. 구체적으로, 공유 변형보다 더 간단한 방법이다. 또한, 프탈로시아닌 유도체 원섬유는 표면적이 넓고, 광범위한 온도 및 pH 범위에서 거의 모든 종류의 용매 중에서 안정하다.

### 실시예 10

#### 원섬유 상에 포피린 및 프탈로시아닌의 흡착



원섬유 상에 물리적 흡착하기에 바람직한 화합물은 흑연 또는 카본 블랙에 강하게 흡착하는 것으로 공지된 유도체화된 포피린 또는 프탈로시아닌이다. 이용할 수 있는 몇가지 화합물에는 테트라카르복시산 포피린, 코발트(II) 프탈로시아닌 또는 디리튬 프탈로시아닌이 있다. 마지막 2개는 카르복시산 형태로 유도체화될 수 있다.

#### 디리튬 프탈로시아닌

일반적으로 2개의  $\text{Li}^+$  이온은 대부분의 금속(특히 다가) 복합체에 의해 프탈로시아닌(Pc) 기로부터 치환된다. 따라서, 비불안정성 리간드에 결합된 금속 이온을 이용한  $\text{Li}^+$  이온의 치환은 원섬유 표면 위에 안정된 작용기를 도입시키는 방법이다. 거의 모든 전이 금속 복합체는 Pc로부터  $\text{Li}^+$  를 치환하여 안정된 비불안정성 킬레이트를 형성한다. 이러한 부위는 그 다음 상기 금속을 적당한 리간드에 커플링시키는 부위이다.

#### 코발트(II) 프탈로시아닌

코발트(II) 복합체가 특히 적합하다.  $\text{Co}^{++}$  이온은 2개의  $\text{Li}^+$  이온 대신에 치환되어 매우 안정한 킬레이트를 형성한다.

$\text{Co}^{++}$  이온은 그 다음 카르복시산 측기를 보유한 피리딘 고리를 함유하고 피리딘 기에 우선적으로 결합하는 것으로 공지된 니코틴산과 같은 리간드에 배위결합할 수 있다. 과량의 니코틴산의 존재 하에  $\text{Co(II)Pc}$ 는  $\text{Co(III)Pc}$ 로 전기화학적으로 산화되어 니코틴산의 피리딘 부와 비불안정성 복합체를 형성한다. 즉, 니코틴산 리간드의 자유 카르복시산 기는 원섬유 표면에 확고하게 부착된다.

다른 적합한 리간드는 아미노피리딘 또는 에틸렌디아민( $\text{NH}_2$  측기), 머캅토피리딘( $\text{SH}$ ) 또는 한쪽 말단에 아미노 부 또는 피리딘 부를 함유하고 다른쪽 말단에 임의의 바람직한 작용기를 함유하는 다른 다작용기성 리간드이다.

포피린 또는 프탈로시아닌의 적재량은 첨가량을 증가시킬 때의 용액의 탈색을 통해 측정할 수 있다. 용액의 진한 색 (MeOH 중의 테트라카르복시산 포피린은 진한 핑크색, 아세톤 또는 피리딘 중의  $\text{Co(II)}$  또는 디리튬 프탈로시아닌은 진한 청녹색)은 분자가 원섬유의 흑색 표면 위에 흡착되어 제거될 때 탈색된다.

적재량은 이러한 방법으로 측정했고, 이러한 대략적인 측정값(약  $140\text{\AA}^2$ )으로부터 유도체의 잔량을 계산했다. 평균표면적이  $250\text{m}^2/\text{g}$ 인 원섬유는 최대 적재량이 약  $0.3\text{mmol}/\text{g}$ 일 것이다.

테트라카르복시산 포피린은 적정으로 분석했다. 흡착 보존성은 상온 및 승온에서 수성계에서의 탈색을 통해 검사했다.

먼저 원섬유 슬러리를 혼합(Waring 블렌더)하고 적재 중에도 교반했다. 색이 더 이상 탈색되지 않으면 슬러리 일부를 초음파처리했으나, 어떤 효과도 없었다.

적재 후, 실험 169-11, -12, -14 및 -19-1(표 II 참조)는 동일한 용매로 세척하여 내포된 안료를 제거했다. 세척 용출물에서는 계속 희미한 색조가 나타나서, 포화점을 정확하게 결정하기가 어려웠다. 실험 168-18 및 -19-2에서는 적재에 계산된 양의 안료를 사용했고, 적재 후 매우 약간만이 세척되었다.

테트라카르복시산 포피린(아세톤으로부터) 및 Co 프탈로시아닌(피리딘으로부터)은 추가 분석을 위해 원섬유 위에 적재했다(각각 실험 169-18 및 -19-2).

#### 테트라카르복시산 포피린 분석

과량의 염기(pH 11-12)의 첨가는 적정 중인 슬러리를 즉시 핑크색으로 변색시켰다. 이것은 적정을 방해하지 않지만, 높은 pH에서 포피린이 탈착되는 것을 보여주었다. 카르복시산 농도는 pH 7.5의 종말점까지 과량의 NaOH로 역적정하여 측정했다. 적정 결과, 포피린 1g당 0.275meq에 해당하는 산 1g당 1.10meq의 적재량이 수득되었다.

#### 코발트 또는 디리튬 프탈로시아닌 분석

피흡착물의 농도는 오로지 탈색 실험을 통해 평가했다. 청녹색 색조가 30분 후 사라진 지점을 포화점으로 간주했다.

다수의 치환된 다핵 방향족 또는 이중다핵 방향족 화합물을 원섬유 표면에 흡착시켰다. 부착을 위해, 방향족 고리의 수는 고리/측쇄 작용기당 2개보다 많아야 한다. 즉, 융합 고리 3개를 함유하는 치환된 안트라센, 페난트렌 등, 또는 융합 고리 4개 이상을 함유하는 다작용기성 유도체는 포피린 또는 프탈로시아닌 유도체 대신에 사용할 수 있다. 이와 마찬가지로, 퀴놀린과 같은 치환된 방향족 헤테로고리 또는 고리를 4개 이상 함유하는 다중 치환된 헤테로방향족도 사용할 수 있다.

표 II는 3가지 포피린/프탈로시아닌 유도체의 적재 실험 결과를 정리한 것이다.

표 II

흡착 실험 정리

EX.	실험 번호	피흡착물	Wgt. 원섬유, g	용매	적재량		meq/g 적정
					g/g	형태	
10A	169-11	TCAPorph	19.6 mg	아세톤	0.18g/g	Acid	na
10B	169-12	TCAPorph	33.3 mg	H <sub>2</sub> O	0.11	Na Salt	na
10C	169-14	DiLiPhth	119.0 mg	아세톤	0.170	Li	na
10D	169-19-1	CoPhth	250.0 mg	피리딘	0.187	Co	0.335(cal)
10E	169-18	TCAPorph	1.00 g	아세톤	0.205	Acid	1.10(T)
10F	169-19-2	CoPhth	1.40 g	피리딘	0.172	Co	0.303(cal)

TCAPorph = 테트라카르복시산 포피린

DiLiPhth = 디리튬 프탈로시아닌

CoPhth = 코발트(II) 프탈로시아닌

(cal) = 계산값

(T) = 적정값

다음 실시예 11과 12는 2가지 다른 프탈로시아닌 유도체를 탄소 나노튜브에 흡착시키는 방법을 예시한 것이다.

### 실시예 11

#### 니켈(II) 프탈로시아닌테트라설피산의 흡착에 의해 작용기 부착된 원섬유

dH<sub>2</sub>O 1ml 중에서 기본 원섬유 4.2mg과 니켈(II) 프탈로시아닌-테트라설피산(4나트륨 염) 2mg을 혼합했다. 이 혼합물을 50분 동안 초음파처리하고 실온에서 하룻밤 동안 회전시켰다.

원섬유를 dH<sub>2</sub>O 1ml로 3회, MeOH 1ml로 3회, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 1ml로 3회 세척하고 진공 건조했다.

이러한 프탈로시아닌 유도체 원섬유 상에 서몰리신(thermolysin)을 흡착 고정시켰다. 원섬유 0.5mg을 dH<sub>2</sub>O 250 $\mu$ l에 현탁시키고 20분 동안 초음파 처리했다. 상청액은 버리고 원섬유를 다시 0.05M Tris(pH 8.0) 250 $\mu$ l에 현탁시키고, 동일 완충액으로 제조한 0.6mM 서몰리신 용액 250 $\mu$ l와 혼합했다. 이 혼합물을 실온에서 2시간 동안 회전시키고 4 $^{\circ}$ C에서 하룻밤 동안 보관했다. 원섬유를 그 다음 25mM Tris(pH = 8) 1ml로 3회 세척하고 40mM Tris와 10mM CaCl<sub>2</sub>를 함유하는 완충액(pH 7.5) 250 $\mu$ l 중에 현탁시켰다.

이 원섬유 상에 서몰리신의 양은 원섬유의 효소 활성을 측정하여 확인했다. 서몰리신은 기질 FAGLA(N-3[2-푸틸]아크릴로일)-gly-leu아미드)과 반응하여 345nm에서 흡광도를 감소시키는, 흡광 계수가 -310M<sup>-1</sup>cm<sup>-1</sup>인 화합물을 생산한다. 이 반응의 분석 완충액 조건은 40mM Tris, 10mM CaCl<sub>2</sub> 및 1.75M NaCl, pH 7.5였다. 이 반응은 1ml 큐벳에서 FAGLA

스톡 용액( $\text{dH}_2\text{O}$  중의 30% DMF, 25.5mM)  $5\mu\text{l}$ 와 서몰리신 원섬유  $10\mu\text{g}$ 를 분석 완충액 1ml 중에 넣고 혼합하여 실시했다. 345nm에서의 흡광도 감소는 10분 동안 경시적 스캔을 통해 모니터링했다. 효소 활성( $\mu\text{M}/\text{min}$ )은 흡광 계수  $-310\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ 를 사용하여 초기 기울기(initial slope)로부터 계산했다. 원섬유 1g당 활성 서몰리신의 양은  $0.61\mu\text{M}$ 이었다.

## 실시예 12

### 1,4,8,11,15,18,22,25-옥타부톡시-29H, 31H-프탈로시아닌의 흡착에 의해 작용기 부착된 원섬유

1,4,8,11,15,22,25-옥타부톡시-29H, 31H-프탈로시아닌 3mg과 기본 원섬유 5.3mg을  $\text{CHCl}_3$  1ml에서 혼합했다. 이 혼합물을 50분 동안 초음파처리하고 실온에서 하룻밤 동안 회전시켰다.

원섬유는  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  1ml로 3회 세척하고 진공 건조했다.

이러한 프탈로시아닌 유도체 원섬유 상에 서몰리신을 실시예 34의 방법에 따라 흡착 고정시켰다. 원섬유 1g당 활성 서몰리신의 양은  $0.70\mu\text{M}$ 이었다.

## 실시예 13

### 서몰리신이 고정되어 있는 프탈로시아닌 유도체 원섬유를 이용한 아스파탐 전구체 합성

서몰리신이 고정되어 있는 프탈로시아닌 유도체 원섬유는 인공 감미료인 아스파탐 전구체의 합성을 촉매하는데 사용될 수 있다. 이 반응은 에틸 아세테이트 중의 80mM L-Z-Asp 및 220mM L-PheOMe를 서몰리신 고정된 원섬유  $10\mu\text{M}$ 과 혼합하여 실시했다. 산물인 Z-Asp-PheOMe는 HPLC를 모니터링하여 수율을 측정했다.

## 5. 염소산염 또는 질산 산화

농황산 또는 질산 중의 염소산칼륨과 같은 강산화제를 이용한 흑연의 산화에 대한 문헌에는 R.N.Smith, *Quarterly Review* 13, 287 (1959); M.J.D.Low, *Chem.Rev.* 60, 267(1960)이 있다. 일반적으로, 가장자리 탄소(결합 부위에 있다)는 공격을 받아 카르복시산, 페놀 및 다른 산소화된 기의 혼합물을 제공한다. 이 반응 기작은 라디칼 반응을 수반하여 복잡하다.

## 실시예 14

### 염소산염을 이용한 카르복시산 작용기 부착된 원섬유의 제조

CC 원섬유 시료는 스페툴라로 혼합하여 농황산에 슬러리화한 뒤, 기체 유입구/배출구 및 상부 교반기가 장착된 반응기 플라스크로 이동시켰다. 교반과 저속 아르곤류 하에서,  $\text{NaClO}_3$  충전량을 실험 기간 동안 RT에서 분할 첨가했다. 전 실험 과정 동안 염소 증기가 발생하여 반응기로부터 NaOH 수용액 트랩으로 제거되었다. 실험 마지막에 원섬유 슬러리를 얼음 조각 위에 쏟아붓고 진공 여과했다. 여과 케익을 속슬렛 팀블로 옮겨서 속슬렛 추출기에서 탈이온수로 세척하고 수시간 마다 새 탈이온수로 교환했다. 세척은 새 탈이온수를 첨가했을 때 원섬유 시료가 물의 pH를 변화시키지 않을 때까지 계속했다. 그 다음, 원섬유를 여과 분리하고,  $100^\circ\text{C}$ , 5" 진공 하에 하룻밤 동안 건조했다.

카르복시산 함량은 과량의 0.100N NaOH와 시료를 반응시킨 뒤 pH 7.5의 종말점까지 0.100N HCl로 역적정하여 측정했다. 결과는 이하 표에 정리했다.

## 표 III

### 직접 산화 실험 결과

산, Ex. #	실험 번호	성분, g			시간		회수량	
		원섬유	NaClO <sub>3</sub>	cc H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	시	세척 Ph	Wgt	meq/g
11A	168-30	10.0	8.68	450	24	5.7	10.0	0.78
11B	168-36	12.0	13.9	600	24	5.9	13.7	0.75

**실시에 15**

**질산을 이용한 카르복시산 작용기 부착된 원섬유의 제조**

상부 교반기와 수응축기가 장착된 둥근 바닥 다중구 오목 반응기 플라스크에 적당한 강도의 질산을 넣고 여기에 일정 중량의 원섬유 시료를 넣어 슬러리화했다. 일정한 교반하에, 온도를 조정하고 특정 시간 동안 반응을 진행시켰다. 온도가 70℃를 초과한 직후에 산의 강도에 관계없이 갈색 연기가 방출되었다. 반응 후, 슬러리는 얼음 조각에 쏟아붓고 탈이온수로 희석했다. 슬러리를 여과하고 과량의 산을 속슬랫 추출기에서 세척 제거한 뒤, 슬러리화된 시료로 인한 탈이온수의 pH 변화가 나타나지 않을 때까지 수시간마다 새로운 탈이온수로 교환해 주었다. 원섬유를 100℃, 5" 진공에서 하룻밤 동안 건조했다. 칭량된 일부 원섬유를 표준 0.100N NaOH와 반응시키고, 0.100N HCl로 역적정하여 카르복시산 함량을 측정했다. 표면 산소 함량은 XPS로 측정했다. 수분산성은 0.1wt% 농도를 웨어링 블렌더에서 2분간 고속으로 혼합하여 검사했다. 결과는 표 4에 정리했다.

표 IV

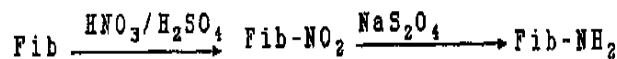
**직접 산화 실험 결과**

Ex.	성분			온도 °C.	시간	중량 손실	COOH meq/g	ESCA, C	at % O	수분산성 H <sub>2</sub> O
	원섬유	cc 산	산 농도							
12A	1(BN)	300	70%	RT	24 hr	0	<0.1	98	2	P
12B	1(BN)	300	15	rtlx	48	<5%	<0.1	미분석		P
12C	20(BN)	1.0	70	rtlx	7	25%	0.8	미분석		G
12D	48(BN)	1.0	70	rtlx	7	20%	0.9	미분석		G

P=불량; G=양호

**6. 원섬유의 아미노 작용기화**

아미노 기는 원섬유를 다음과 같은 반응식에 따라 질산 및 황산으로 처리하여 니트로화된 원섬유를 수득한 뒤, 니트로화된 형태를 아이티온산 나트륨(sodium dithionite)과 같은 환원제로 환원시켜 아미노 작용기 부착된 원섬유를 수득함으로써, 흑연 원섬유 위에 직접 도입될 수 있다:



그 결과 수득되는 원섬유는 많은 유용성이 있는데, 그 예로는 단백질(예, 효소 및 항체) 고정화, 및 친화성 및 이온 교환 크로마토그래피에 이용될 수 있다.

**실시에 16**

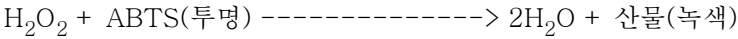
**질산을 이용한 아미노 작용기 부착된 원섬유의 제조**

원섬유(70mg)를 물(1.6ml)과 아세트산(0.8ml)에 현탁시킨 냉각 현탁액(0℃)에 질산(0.4ml)을 적가 방식으로 첨가했다. 반응 혼합물을 0℃에서 15분 동안 교반하고, 실온에서 추가 1시간 동안 교반했다. 황산(0.4ml)과 염산(0.4ml)의 혼합물을 천천히 첨가하고 실온에서 1시간 동안 교반했다. 반응을 정지시키고 원섬유를 분리했다. 수성층은 제거하고, 원섬유를 물로 세척했다(X5). 잔류물을 10% 수산화나트륨으로 처리하고(X3), 물로 세척하여(X5) 니트로화 원섬유를 수득했다.

니트로화된 원섬유를 물(3ml)과 수산화암모늄(2ml)에 현탁시킨 현탁액에 아이티온산나트륨(200mg)을 0℃에서 3분량으로 나누어 첨가했다. 반응 혼합물을 실온에서 5분 동안 교반하고 100℃에서 1시간 동안 환류했다. 반응을 정지시키고, 0℃로 냉각한 뒤, pH를 아세트산(pH 4)으로 조정했다. 실온에서 하룻밤동안 방치한 후, 현탁액을 여과하고, 물(X10), 메탄올(X5)로 세척하고, 진공 건조하여 아미노 원섬유를 수득했다.

아미노 작용기 부착된 원섬유를 검사하기 위하여, 원섬유에 양고추냉이 퍼옥시다제를 커플링시켰다. HRP 커플링된 아미노 원섬유를 그 다음 충분히 투석했다. 투석 후, 원섬유를 그 다음주까지 15회 세척했다. 효소 변형된 원섬유는 다음과 같이 분석되었다:

HRP



그 결과, Fib-NH<sub>2</sub>와 커플링된 HRP는 1주 동안 유지되는 양호한 효소 활성을 보여주었다.

### 7. 자유 라디칼 개시제를 이용한 말단 알콜의 부착

탄소 나노튜브의 고도의 안정성은 가혹한 환경에서도 사용될 수 있게 하지만, 추가 변형을 위해 활성화되기가 어렵게 한다. 종래 방법들은 가혹한 산화제 및 산의 사용을 수반했다. 하지만, 이제 놀랍게도 과산화벤조일(BPO)과 같은 자유 라디칼 개시제를 이용하면 탄소 나노튜브에 말단 알콜을 부착할 수 있다는 것을 발견했다. 탄소 나노튜브는 화학식 RCH<sub>2</sub>OH (여기서, R은 수소, 알킬, 아릴, 시클로알킬, 아르알킬, 시클로아릴 또는 폴리(알킬에테르)이다)로 표시되는 알콜에 자유 라디칼 개시제와 함께 첨가하고, 약 60℃ 내지 약 90℃로 가열했다. 바람직한 알콜에는 에탄올 및 메탄올이 포함된다. 모든 자유 라디칼 개시제가 분해되기에 충분한 시간이 경과하면, 반응 혼합물을 여과하고 탄소 나노튜브 소재를 세척하고 건조하여 화학식 나노튜브-CH(R)OH로 표시되는 변형된 나노튜브를 수득한다. 이 방법은 또한 이작용기성 알콜의 커플링에도 사용할 수 있다. 이 방법은 한쪽 말단이 탄소 나노튜브에 결합되고, 다른쪽 말단은 표면에 다른 물질을 간접 결합시키는데 사용될 수 있게 한다.

#### 실시예 17

##### 과산화벤조일을 이용한 알콜 작용기 부착된 나노튜브의 제조

탄소 나노튜브 0.277g을 프로브 초음파처리기를 사용하여 MeOH에 분산시켰다. BPO 0.126g을 RT에서 첨가하고, 이 온도를 60℃까지 증가시킨 뒤 추가 0.128g의 BPO를 첨가했다. 60℃에서 45분이 더 경과한 후, 최종 BPO 충전물 0.129g을 첨가하고, 이 혼합물을 60℃에서 추가 30분 동안 더 유지시켰다. 산물을 막위로 여과하고 MeOH와 EtOH로 수회 세척한 뒤, 90℃ 오븐에서 건조했다. 수율은 0.285g이었다. ESCA 분석 결과, 산소 함량은 BPO 없이 MeOH에서 환류된 대조군 시료의 0.74%에 비해 2.5원자%인 것으로 나타났다.

#### 실시예 18

##### 과산화벤조일을 이용한 폴리(에틸렌 글리콜)로의 탄소 나노튜브의 변형

탄소 나노튜브 0.1g, BPO 0.5g 및 폴리(에틸렌 글리콜) 평균분자량 1000(PEG-1000) 10g을 실온에서 함께 혼합했다. 이 혼합물을 90℃까지 가열하여 PEG를 용해시키고, 이 혼합물을 90℃에서 하룻밤 동안 반응시켰다. 그 다음, 총 혼합물을 여과 및 세척하여 과량의 PEG를 제거한 뒤, 건조했다. 수득되는 물질은 그대로 사용하거나 또는 PEG의 자유 말단에 당해 소재를 부착시켜 추가 변형시킬 수도 있다.

#### 실시예 19

##### 비특이적 결합을 감소시키기 위한 PEG로 변형된 탄소 나노튜브의 용도

표면적이 넓은 탄소 소재에 대한 비특이적 결합은 어디에서나 나타난다. 탄소 나노튜브에 PEG와 같은 친수성 올리고머를 부착시키면 비특이적 결합이 감소될 수 있는 것으로 밝혀졌다. 또한, 나노튜브의 표면에 PEG와 같은 사슬형 분자의 한쪽 말단을 부착시키면, 자유 말단은 당해 다른 소재의 부착에 사용될 수 있는 작용기를 함유할 수 있으면서, 비특이적 결합을 감소시키는 PEG(또는 다른 물질) 층의 성질을 보유할 수 있는 것으로 밝혀졌다.

PEG 변형된 원섬유와 소혈청 알부민의 비특이적 결합 감소

미변형된 원섬유, 염소산염 산화된 원섬유 및 PEG 변형된 원섬유를 0.1mg/ml 농도로 pH 7.0의 50mM 인산칼륨에 분산시킨 스톱 분산액은 각각 1.0mg 씩을 10ml의 완충액에 초음파 처리로 분산시켜 제조했다. 각각 2배의 연속 희석액을 2ml 씩 9개의 폴리프로필렌 튜브에 각각 주입했다. 동일한 완충액에 소혈청 알부민(BSA)을 0.2mg/ml 농도로 용해시킨 용액 100 $\mu$ l도 각 튜브와 3개의 완충액 블랭크 튜브에 첨가했다. 단백질을 제외한 3개의 완충액 튜브도 함께 준비했다. 모든 튜브는 볼텍스 믹서로 혼합하고 10분마다 30초간 볼텍싱하면서 30분 동안 항온처리했다. 원섬유를 분리하기 위해 튜브를 모두 원심분리하고, 상청액 1ml를 새로운 튜브에 담아 Micro BCA 단백질 분석법(Pierce)을 사용하여 총 단백질 함량을 분석했다. 상청액에 남아 있는 단백질 농도는 원섬유에 비특이적으로 결합된 양의 간접적인 척도이다. BSA는 PEG 변형된 원섬유의 상청액에서는 모두 남아 있는 반면, 미변형된 원섬유 또는 염소산염 산화된 원섬유에는 거의 완전히 결합된 것으로 나타났다(도 1 참조).

과산화벤조일을 사용하여 제조한 PEG 변형된 원섬유 및 NHS 에스테르 커플링에 의한 비특이적 결합 감소 비교

염소산염 산화된 원섬유, 과산화벤조일을 사용하여 PEG로 변형된 원섬유 및 NHS 에스테르 커플링에 의해 PEG로 변형된 염소산염 산화된 원섬유의 스톱 분산액은 50mM 인산칼륨 완충액(pH 7.0)에 초음파처리를 이용하여 1.0mg/ml 농도로 제조했다. 각 분산액의 3배 연속 희석액을 2ml씩 각각 7개의 폴리프로필렌 튜브에 주입했다. 동일한 완충액에  $\beta$ -락토글로불린( $\beta$ LG)을 0.2mg/ml 농도로 용해시킨 용액 100 $\mu$ l도 각 튜브와 3개의 완충액 블랭크 튜브에 첨가했다. 단백질을 제외한 3개의 완충액 튜브도 함께 준비했다. 모든 튜브는 볼텍스 믹서로 혼합하고 10분마다 30초간 볼텍싱하면서 60분 동안 항온처리했다. 원섬유를 분리하기 위해 튜브를 모두 원심분리하고, 상청액 1ml를 새로운 튜브에 담아 Micro BCA 단백질 분석법(Pierce)을 사용하여 총 단백질 함량을 분석했다. 상청액에 남아 있는 단백질 농도는 원섬유에 비특이적으로 결합된 양의 간접적인 척도이다(도 2 참조). 각 튜브마다 NHS 에스테르 경로를 통해 PEG 변형된 원섬유의 상청액에서는  $\beta$ LG가 남아있어, 비특이적 결합은 전혀 보이지 않았다. BPO 경로를 통해 PEG 변형된 원섬유는 최고의 원섬유 농도 1.0mg/ml에서만 약간(약 10%)의  $\beta$ LG 결합성을 나타냈고, 이보다 낮은 농도에서는 어떠한 유의적 결합도 나타내지 않았다. 이에 반해, 원섬유 농도 1mg/ml 이상의 염소산염 산화된 원섬유에 대해서는 거의 완전한 결합성을 나타냈고, 원섬유 0.01mg/ml에 대해서는 상당한 결합 감소를 나타냈다.

**8. 작용기 부착된 나노튜브의 2차 유도체**

카르복시산 작용기 부착된 나노튜브

오로지 카르복시산으로부터 제조될 수 있는 2차 유도체의 수는 본질적으로 무한하다. 알콜 또는 아민은 산에 쉽게 결합하여 안정한 에스테르 또는 아마이드가 된다. 알콜 또는 아민이 이작용기성 다가 분자의 일부라면, O- 또는 NH-를 통한 결합은 측기로서 다른 작용기를 이탈시킨다. 2차 시약의 전형적인 예는 다음과 같다:

일반식	측기	예
HO-R, R=알킬, 아르알킬, 아릴, 플루오로에탄올, 중합체, SiR' <sub>3</sub>	R-	메탄올, 페놀, 트리플루오로카본, 애 말단의 폴리에스테르, 실란올
H <sub>2</sub> N-R, R=상기와 같다	R-	아민, 아닐린, 플루오르화된 아민, 실릴아민, 아민 말단의 폴리아미드, 단백질
Cl-SiR <sub>3</sub>	SiR <sub>3</sub> -	클로로실란
HO-R-OH, R=알킬, 아르알킬, CH <sub>2</sub> O-	HO-	에틸렌글리콜, PEG, 펜타에리트리톨, 비스페놀 A
H <sub>2</sub> N-R-NH <sub>2</sub> , R=알킬, 아르알킬	H <sub>2</sub> N-	에틸렌디아민, 폴리에틸렌아민
X-R-Y, R=알킬 등; X=OH 또는 NH <sub>2</sub> ; Y=SH, CN, C=O, CHO, 알켄, 알킨, 방향족, 헤테로사이클	Y-	폴리아민 아마이드, 머캅토에탄올

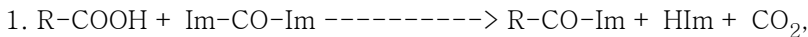
반응은 알콜 또는 아민을 이용하여 카르복시산을 에스테르화 또는 아민화하기 위해 개발된 임의의 방법을 사용하여 수행할 수 있다. 이 중에서, 에스테르 또는 아미드의 아실화제로서 N,N'-카르보닐 디이미다졸(CDI)을 이용하는 문헌 [H.A.Staab, Anagew.Chem.Internat.Edit., (1), 351(1962)] 및 아미드화를 위해 N-하이드록시숙신이미드(NHS)를 이용하여 카르복시산을 활성화하는 문헌[G.W. Anderson, et al., J.Amer.Chem.Soc. 86, 1839(1964)]의 방법을 사용했다.

## 실시예 20

### 작용기 부착된 원섬유의 2차 유도체 제조

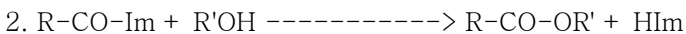
N,N'-카르보닐 디이미다졸

본 실험에는 깨끗한 무수 비양성자성 용매(예, 톨루엔 또는 디옥산)가 필요하다. 시약은 화학량론적 함량이면 충분하다. 에스테르를 위해, 카르복시산 화합물을 톨루엔 중에서 불활성 대기(아르곤) 하에, 톨루엔 중에 용해된 CDI의 화학량론적 함량과 실온에서 2시간 동안 반응시켰다. 이 반응 동안, CO<sub>2</sub>가 발생했다. 2시간 후, 알콜을 촉매량의 에톡시화나트륨과 함께 첨가하고, 반응을 80°C에서 4시간 동안 계속했다. 노르말 알콜인 경우 수율은 정량적이었다. 반응식은 다음과 같다:

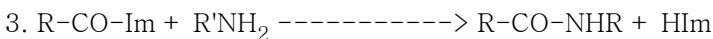


Im = 이미다졸리드, HIm = 이미다졸

NaOEt

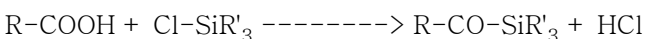


아민의 아미드화는 RT에서 비촉매적 반응으로 실시한다. 본 실험의 제1 단계는 동일하다. CO<sub>2</sub> 발생 후, 화학량론적 함량의 아민을 RT에서 첨가하고 1 내지 2시간 동안 반응시켰다. 반응은 정량적이었다. 반응식은 다음과 같다:



## 실릴화

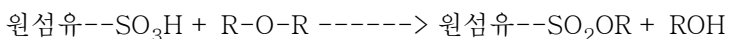
트리알킬실릴클로라이드 또는 트리알킬실란올은 다음과 같은 반응식에 따라 산성 H와 즉시 반응한다:



소량의 디아자-1,1,1-비스클로옥탄(DABCO)을 촉매로서 사용했다. 적당한 용매는 디옥산과 톨루엔이다.

## 설폰산 작용기 부착된 원섬유

실시예 1에서 제조한 바와 같은 아릴 설폰산은 추가 반응시켜 2차 유도체를 생산할 수 있다. 설폰산은 LiAlH<sub>4</sub> 또는 트리페닐 포스핀과 요오드 혼합물에 의해 머캡탄으로 환원될 수 있다(March, J.P., p.1107). 또한, 설폰산은 디알킬 에테르와 반응하여 설폰산염 에스테르로 변환될 수 있다:



## N-하이드록시숙신이미드

1차 아민으로의 아미드화를 위한 카르복시산의 활성화는 N-하이드록시숙신아미드 에스테르를 통해 일어난다; 카르보디이미드는 치환 우레아와 함께 방출되는 물의 제거에 사용되었다. 그 다음, NHS 에스테르는 실온에서 1차 아민과 반응하여 아미드로 변환된다. 반응식은 다음과 같다:

1.  $R-COOH + NHS + \text{카르보다이미드} \rightarrow R-CONHS + \text{치환 우레아}$

2.  $R-CONHS + R'NH_2 \rightarrow R-CO-NHR'$

이 방법은 단백질 측쇄 상의 자유  $NH_2$ 를 통해 단백질을 흑연 원섬유에 공유 부착시키는데 특히 유용하다. 이 방법에 의해 원섬유 상에 고정될 수 있는 단백질의 예에는 트립신, 스트렙타비딘 및 아비딘이 있다. 스트렙타비딘(또는 아비딘) 원섬유는 모든 비오틴화된 물질에 대한 고체 담체 역할을 한다.

### 실시예 21

#### NHS 에스테르를 통한 단백질의 원섬유에 대한 공유 부착

단백질이 NHS 에스테르를 통해 원섬유에 공유 결합될 수 있는지를 증명하기 위하여 스트렙타비딘, 아비딘 및 트립신을 다음과 같이 원섬유에 부착시켰다.

NHS-에스테르 원섬유 0.5mg을 5mM 인산나트륨 완충액(pH 7.1)으로 세척하고 상청액을 제거했다. 이 원섬유에 스트렙타비딘 용액(동일 완충액에 1.5mg) 200 $\mu$ l를 첨가하고, 이 혼합물을 실온에서 5.5시간 동안 교반했다. 그 다음, 원섬유를 다음 완충액 1ml로 순서대로 세척했다: 인산나트륨(pH 7.1), PBS(0.1M 인산나트륨, 0.15M NaCl, pH 7.4), ORIGEN™ 분석 완충액(IGEN, Inc., Gaithersburg, MD) 및 PBS. 스트렙타비딘 원섬유는 추후에 사용하기 위해 PBS 완충액에 보관했다.

NHS-에스테르 원섬유 2.25mg을 5mM 인산나트륨 완충액(pH 7.1) 500 $\mu$ l 중에서 40분 동안 초음파 처리하고 상청액을 제거했다. 이 원섬유를 5mM 인산나트륨 완충액(pH 7.1) 500 $\mu$ l에 현탁시키고, 동일 완충액에 2mg 아비딘(Sigma, A-9390)을 첨가하여 제조한 아비딘 용액 300 $\mu$ l를 첨가했다. 이 혼합물을 실온에서 2시간 동안 회전시키고, 4℃에서 하룻밤 동안 보관한 뒤, 실온에서 추가 1시간 동안 회전시켰다. 원섬유를 5mM 인산나트륨 완충액(pH 7.1) 1ml로 4회, PBS 완충액으로 2회 세척했다. 아비딘 원섬유는 보관하기 위해 PBS 완충액 200 $\mu$ l에 현탁시켰다.

트립신 원섬유는 5mM 인산나트륨 완충액(pH 7.1)에 제조한 1.06mM 트립신 용액 200 $\mu$ l와 NHS-에스테르 원섬유(아비딘 원섬유에서와 같이 처리한 것) 1.1mg을 혼합한 뒤, 실온에서 6.5시간 동안 회전시켜 제조했다. 그 다음, 트립신 원섬유를 5mM 인산나트륨 완충액(pH 7.1) 1ml로 3회 세척하고 동일 완충액 400 $\mu$ l에 현탁시켜 보관했다.

### 실시예 22

#### 원섬유 상에 존재하는 트립신의 효소 활성 측정

트립신은 기질 L-BAPNA( $N_\alpha$ -벤조일-L-아르기닌 p-니트로아닐리드)과 반응하여 410nm에서 광을 흡수하는 유색 화합물을 방출할 수 있다. 이 반응의 분석 완충액으로는 0.05M Tris, 0.02M  $CaCl_2$ , pH 8.2를 사용했다. 이 반응은 1ml 큐벳에서 L-BAPNA 스톡 용액(37% DMSO 수용액 중에 50mM) 5 $\mu$ l와 1ml 분석 완충액 중의 10 내지 25 $\mu$ g의 트립신 원섬유를 혼합하여 수행했다. 410nm에서의 흡광도 증가는 10분 동안 모니터링했다. 그 다음, 효소 활성( $\mu$ M/min)을 초기 기울기로부터 계산했다.

공유 결합된 트립신 원섬유의 경우, 효소 활성은 원섬유 13 $\mu$ g 당 5.24 $\mu$ M/min이었다. 이 결과는 동일 분석 조건하에서 1 $\mu$ M 트립신 당 46 $\mu$ M/min으로 측정된 공지된 농도의 트립신 용액의 활성을 나누어, 원섬유에 존재하는 활성 트립신의 양으로 변환할 수 있다. 따라서, 원섬유 1g당 활성 트립신의 양은 8.3 $\mu$ M(또는 195mg)이었다.

### 실시예 23

#### 표면 티올을 보유한 탄소 나노튜브

실시예 27(이하)에 기술된 바와 같이 에틸렌디아민으로 변형시켜 제조한 아미노 탄소 나노튜브(CN) 0.112g을, 50mM EDTA를 함유하는 0.05M 인산칼륨 완충액(pH 8.0) 20ml에 현탁시켰다. 이 현탁액을 CN 분산을 위해 Branson 450 Watt



프로브 초음파처리기로 5분 동안 초음파처리했다. 수득되는 현탁액은 꽤 농후했다. 이 현탁액을 통해 아르곤을 30분 동안 교반하여 주입하여 발포시켰다. 2-이미노티올란·HCl 50mg을 첨가하고, 이 혼합물을 아르곤 하에서 연속 교반하여 70분 동안 반응시켰다. 수득되는 물질을 폴리카보네이트 막 필터를 이용하여 여과하고, 완충액으로 2X, 탈이온수로 1X 및 무수 EtOH로 2회 세척했으며, 모두 아르곤 블랭킷하에서 실시했다. 티올 변형된 CN을 진공 데시케이터 안에 넣고 하룻밤 동안 탈기시켰다.

최종 중량 = 0.118g, 중량 증가에 기초한 변환율 55%.

티올화된 나노튜브 10mg 시료를 탈이온수 10ml 중에서 초음파처리하여 현탁시키고, 0.45 $\mu$ m 나일론 막을 이용하여 여과하여 펠트계 매트 형태로 만들었다. 이 매트 조각을 진공 데시케이터에서 보관한 다음 ESCA로 분석한 결과, 황이 0.46% 이고 질소가 1.69%인 것으로 나타났는데, 이는 티올 변형된 CN으로의 변환이 성공적인 것을 증명한다.

## 실시에 24

### 티올 변형된 탄소 나노튜브의 금 표면에 대한 부착

금박(Alfa/Aesar), 2cmx0.8cm를 30% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 1부와 농황산 3부의 용액으로 10분 동안 세탁한 후 탈이온수로 씻어냈다. 박 단편을 Au 전선 납에 연결하여, 순환 전압전류도가 변화하지 않을 때까지, 약 10분 동안 50mv/sec에서 -0.35V vs. Ag/AgCl과 1.45V vs. 1M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 중의 Ag/AgCl 사이에 전기화학적 순환을 일으켰다. 그 다음, 탈이온수로 씻은 다음 건조했다. 큰 단편을 4개의 0.5cm x 0.8cm 조각으로 절단했다.

30분 동안 아르곤 세정으로 탈산소화된 무수 EtOH 10ml를 2개의 유리 바이엘에 각각 주입했다. 한 바이엘에는 티올 변형된 CN(CN/SH) 16mg과 2개의 Au 조각을 현탁시키고, 다른 바이엘에는 1개의 Au 조각과 티올 유도체 제조에 사용한 에틸렌디아민 변형된 CN 10mg을 현탁시켰다. 모든 조각은 Ar 충전된 글로브 박에서 수행했다. 아르곤 하에서 바이엘을 밀봉하고 냉각된 초음파조에서 1시간 동안 방치했다. 밀봉된 바이엘을 실온에서 72시간 동안 방치했다. 바이엘에서 Au 시료를 꺼내어 EtOH로 3X 씻고, 공기 건조한 뒤, 보호용 바이엘에 넣어두었다.

CN/에틸렌디아민 및 CN/SH에 노출된 Au 박 시료를 주사형 전자현미경(SEM)으로 조사하여 표면에 CN의 존재 여부를 검출했다. 40,000X로 조사 시, CN/SH에 노출된 표면 위에서는 CN의 분포가 관찰되었으나, CN/에틸렌디아민에 노출된 Au 박 시료에서는 CN이 전혀 관찰되지 않았다.

## 실시에 25

### 아미노 원섬유로부터 말레이미드 원섬유의 제조

아미노 원섬유는 실시예 13에 따라 제조했다. 이러한 아미노 원섬유(62.2mg)를 인산나트륨 완충액(5ml, 5mM, pH 7.2)에서 초음파처리했다. 이러한 원섬유 현탁액에 설포숙신이미딜-4-(N-말레이미도메틸)시클로헥산-1-카르복실레이트(SMCC; 28.8mg, 0.66mM; Pierce, Cat.No. 22360)를 첨가했다. 이 반응 혼합물을 실온에서 하룻밤 동안 교반했다. 원섬유를 물과 메탄올로 세척하고, 원섬유 산물을 진공 건조했다. 이 산물 상의 항체 고정화는 말레이미드 원섬유의 존재를 의미했다. 이와 동일한 방법을 통해 다른 링커(예, 설포-SMCC, 숙신이미딜 4-[p-말레이미도페닐]부티레이트[SMPB], 설포-SMPB, m-말레이미도벤질-N-하이드록시숙신이미드 에스테르[MBS], 설포-MBS 등) 원섬유를 보유한 다른 말레이미드도 제조했다.

수득되는 말레이미드 원섬유는 항체 및 효소와 같은 단백질의 공유적 고정을 위한 고체 지지체로서 사용할 수 있다. 항체는 말레이미드 활성화된 원섬유 상에 공유 고정되었다. 항체의 적재량은 니트로화/환원법(실시예 13)으로 수득한 아미노 원섬유를 사용한 경우에는 원섬유 1g당 1.84mg이었고, 카르복시 원섬유로부터 유도체화된 아미노 원섬유를 사용한 경우에는 원섬유 1g당 0.875mg이었다.

## 실시에 26

### 카르복시산 작용기 부착된 원섬유로부터 에스테르/알콜 유도체의 제조

카르복시산 작용기 부착된 원섬유는 실시예 14에서와 같이 제조했다. 카르복시산 함량은 0.75meq/g이었다. 원섬유는 불활성 대기 하에 CO<sub>2</sub> 발생이 중지될 때까지 화학량론적 함량의 CDI 및 용매로서 톨루엔과 실온에서 반응시켰다. 그 후, 슬러리는 10배 과량 물의 폴리에틸렌글리콜(MW600) 및 촉매로서 소량의 NaOEt와 80°C에서 반응시켰다. 반응 2시간 후, 원섬유는 여과로 분리하고, 톨루엔으로 세척한 뒤, 100°C에서 건조했다.

## 실시예 27

### 카르복시산 작용기 부착된 원섬유(177-041-1)로부터 아미드/아민 유도체의 제조

염소산염 산화된 원섬유(0.62meq/g) 0.242g을 세럼(serum) 마개가 장착된 100ml RB 플라스크에서 20ml 무수 디옥산 중에서 교반하면서 현탁시켰다. 20배 과량 물의 N-하이드록시숙시이미드(0.299g)를 첨가하여 용해시켰다. 그 다음, 20배 과량 물의 1-에틸-3-(3-디메틸아미노프로필)카르보디이미드(EDAC)(0.510g)를 첨가하고, RT에서 2시간 동안 교반했다. 2시간 후 교반을 중지하고 상청액을 흡인 제거한 뒤, 고체를 무수 디옥산과 MeOH로 세척하고, 0.45 미크론 폴리설펜 막을 이용하여 여과했다. 고체를 여과막 상에서 추가 MeOH로 세척하고, 중량 감소가 더 이상 관찰되지 않을 때까지 진공 건조했다. NHS 활성화된 산화 원섬유의 수율은 관찰된 6% 중량 증가를 근거로 할 때 100%였다.

에틸렌디아민(en) 100 $\mu$ l를 0.2M NaHCO<sub>3</sub> 완충액 10ml에 첨가했다. pH를 약 8로 유지하기 위해 동일한 양의 아세트산(HOAc)을 첨가했다. NHS 활성화된 산화 원섬유(0.310g)를 강력한 교반하에 첨가하고 1시간 동안 반응시켰다. 추가로, en 300 $\mu$ l 및 HOAc 300 $\mu$ l를 추가 10분 동안 첨가했다. 이 용액을 0.45 미크론 폴리설펜 막 위로 여과하고, NaHCO<sub>3</sub> 완충액, 1% HCl, 탈이온수 및 EtOH로 순차적으로 세척했다. 고체를 하룻밤 동안 진공 건조했다. HCl 염은 후속 분석과 반응을 위해 NaOH와 반응시켜 자유 아민(177-046-1)으로 다시 변환시켰다.

아민화된 원섬유(GF/NH<sub>2</sub>) 상에 존재하는 N의 양을 정량분석하기 위하여 ESCA를 실시했다. 177-046-1의 ESCA 분석은 0.90 at% N(177-059)을 나타냈다. 이러한 N 중 어느 정도의 양이 접근용이하고 반응성인 아민 기인지를 추가 분석하기 위하여, 이용가능한 1차 아민 기를 보유한 쉬프 염기 결합을 형성하기 위하여 펜타플루오로벤즈알데하이드와 기체상 반응으로 유도체를 제조했다. ESCA 분석 결과, N의 함량은 예상한 바대로 0.91at% 였고, F 1.68at%를 나타냈다. 이러한 결과는 아민화된 원섬유 상에 존재하는 반응성 1차 아민으로 존재하는 N의 함량이 0.34at%인 것으로 해석된다(펜타플루오로벤즈알데하이드 분자 당 5F). 0.45at% N의 농도는 각 N의 자유 말단과 완전 반응할 때 수득되는 것이라 생각할 수 있다. 따라서, 측정된 농도는 NHS 활성화된 원섬유와 N의 반응에 의한 매우 높은 수율을 시사하는 것으로서, 이용가능한 자유 아민 기의 반응성을 확인할 수 있다.

ESCA 데이터로부터 계산된 자유 아민으로 존재하는 0.34at% N의 농도에서는 원섬유의 거의 전부가 다른 물질과 커플링할 수 있는 자유 아민 기로 덮이게 될 것이다.

또한, 카르복시 원섬유는 에틸렌디아민(2 탄소 링커)보다는 하나의 기가 보호된 1,6-디아미노헥산(6 탄소 링커)에 의해 아미노 원섬유로 변환되었다.

## 실시예 28

### 카르복시산 작용기 부착된 원섬유로부터 아민 유도체의 제조

원섬유 상의 카르복시 기는 아미노 기를 2개 이상 보유한 화합물(이 아미노 기 중 적어도 하나는 t-Boc 또는 CBZ와 같은 기로 탈보호된 것)의 하나의 아미노 기와 카르복시 기의 반응에 의해 변형될 수 있다. 이와 같이 형성된 원섬유는 원섬유 카르복시 기로부터 아미드 카르보닐이 유래되고, 아미드 질소가 하나 이상의 1차 아민을 함유한 기(예, 알킬 기)로 치환된 아미드 유도체이다. 이러한 아미노 기는 사용 또는 추가 변형 시 이용될 수 있다.

배출구를 고무 세럼 격막으로 완전히 막은 건조 소결된 유리 필터 터널에 탄소 원섬유 1g을 넣고, 무수 디클로로메탄을 덮일 정도로 첨가했다. N-메틸몰핀(758 $\mu$ l, 7mmol)을 첨가하고, 현탁액을 스페큘라를 이용하여 혼합했다. 그 다음, 이소부틸 클로로포르메이트(915 $\mu$ l, 7mmol)를 첨가하고, 그 현탁액을 1시간 동안 주기적으로 혼합했다. 이 혼합물을 대기 수분으로부터 보호하기 위해 실제 도움이 될 만큼 파라필름을 도포했다.

한편, N-boc-1,6-디아미노헥산 염산염(1.94g, 7.7mmol)은 디클로로메탄(10ml)과 1M NaOH(10ml)로 분획화했다. 하부 유기 층을 무수 탄산칼륨 상에서 탈수시키고, 면전이 된 1회용 파스처 피펫을 통해 여과하고 N-메틸모르폴린(758 $\mu$ l, 7mmol)을 첨가했다.

필터 터널로부터 세럼 격막을 제거한 뒤, 진공 여과하여 원섬유로부터 시약을 제거한 다음, 원섬유를 무수 디클로로메탄으로 세척했다. 세럼 격막을 다시 끼우고 원섬유에 N-메틸모르폴린과 하나의 기가 보호된 디아미노헥산의 혼합물을 첨가했다. 이 혼합물을 1시간 동안 주기적으로 교반했다. 그 다음, 시약을 여과 제거하고, 원섬유는 디클로로메탄, 메탄올, 물, 메탄올 및 디클로로메탄으로 순차적으로 세척했다.

그 다음, 원섬유에 트리플루오르산 및 디클로로메탄의 50% 혼합물을 첨가하고 이 혼합물을 20분 동안 주기적으로 교반했다. 용매를 여과 제거하고, 원섬유를 디클로로메탄, 메탄올, 물, 0.1M NaOH 및 물로 순차적으로 세척했다.

이 방법의 효능을 입증하기 위하여, 소량의 아미노 원섬유 시료를, 아미노 기와 특이적으로 반응하도록 변형된 "활성화된" 양고추냉이 퍼옥시다제(HRP; 5mg, Pierce)와 반응시켰다. 원섬유를 저온으로 유지시키면서 수 일동안 반복적으로 세척했다(현탁하고, 교반한 뒤, 에펜도르프 튜브에 담아 원심분리하여). 약 2주간 세척한 후, 효소를 글리신 완충액(pH 4.4) 중의 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/ABTS로 분석했다. 10분 내에 용액이 녹색을 나타냈고, 이는 효소의 존재를 표시한다. 대조 원섬유(활성화된 HRP로 처리되고 동일한 시간 기간 동안 세척된 COOH 원섬유)는 어떠한 촉매 활성도 거의 나타내지 않았다.

**실시예 29**

**카르복시산 작용기 부착된 원섬유로부터 실릴 유도체의 제조**

실시예 14에서와 같이 제조한 산 작용기 부착된 원섬유는 불활성 대기 하에 디옥산 중에 슬러리화했다. 교반 하에, 화학량론적 함량의 클로로트리에틸 실란을 첨가하고, 0.5시간 동안 반응시킨 후, 디옥산 중의 DABCO 5% 용액을 여러 방울 첨가했다. 이 시스템을 추가 1시간 동안 반응시킨 다음, 원섬유를 여과 수거하고 디옥산으로 세척했다. 원섬유는 100°C, 5" 진공하에 하룻밤 동안 건조했다.

표 V는 2차 유도체 제조물을 정리한 것이다. 그 산물의 C, O, N, Si 및 F 표면 함유량은 ESCA로 분석했다.

표 V

2차 유도체 제조물 정리

반응물	측기	S	ESCA 분석, 원자 %				
			C	N	O	Si	F
순수 성장형	---	--	98.5	--	1.5	--	--
염소산염 산화형	-COOH, C=O, C-OH	-	92.4	--	7.6	--	--
H <sub>2</sub> N-C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> -NH <sub>2</sub>	-CONHC <sub>2</sub> H <sub>4</sub> NH <sub>2</sub>	-	99.10	0.90	--	--	--
	-CONHC <sub>2</sub> H <sub>4</sub> N=OC <sub>6</sub> F <sub>5</sub>	-	97.41	0.91	--	--	1.68

**실시예 30**

**카르복시산 작용기 부착된 원섬유로부터 실릴 유도체의 제조**

실시예 14에서와 같이 제조한 산 작용기 부착된 원섬유를 불활성 대기 하에서 디옥산 중에 슬러리화했다. 교반하면서 화학량론적 함량의 클로로트리에틸 실란을 첨가하고 0.5시간 동안 반응시킨 다음 디옥산 중의 DABCO 5% 용액을 여러 방울 첨가했다. 이 시스템을 추가 1시간 동안 반응시킨 다음, 원섬유를 여과 수거하고 디옥산으로 세척했다. 원섬유는 100°C, 5" 진공하에 하룻밤 동안 건조했다.

표 VI은 2차 유도체 제조물을 정리한 것이다. 그 산물은 ESCA로 분석했다. 이 분석 결과, 필요한 측기가 혼입된 것을 확인했다. 산물의 C, O, N, Si 및 F 표면 함유량은 ESCA로 분석했다.

표 VI

2차 유도체 제조물 정리

반응물	측기	ESCA 분석, ATOM %					
		S	C	N	O	Si	F
CF <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> OH	-COOCH <sub>2</sub> CF <sub>3</sub>	분석 불가					
PolyEG-600	-C <sub>n</sub> -(OC <sub>2</sub> H <sub>4</sub> O) <sub>n</sub> H	분석 불가					
HO-C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> -SH	-COOC <sub>2</sub> H <sub>4</sub> SH						
Cl-SiEt <sub>3</sub>	-COSiEt <sub>3</sub>						

**실시예 31**

**카르복시산 작용기 부착된 원섬유로부터 3차 및 4차 아민 유도체의 제조**

3차 및 4차 아민 작용기는 나노튜브 상의 카르복시기와 3차 또는 4차 아민 전구체의 아민 및 하이드록시 기 중 어느 하나를 통해 아마이드 또는 에스테르 결합에 의해서 탄소 나노튜브의 표면에 부착될 수 있다. 이러한 3차 또는 4차 아민 원섬유는 생물분자의 분리용 크로마토그래피 기질로서 유용하다. 3차 또는 4차 아민 원섬유는 원반형 매트릭스로 가공되거나 통상적인 분리용 크로마토그래피 매질(예, 아가로스)과 혼합될 수 있다.

요오드화 트리에틸에탄올아민 전구체의 제조

100ml 둥근 바닥 플라스크에서, N,N-디에틸에탄올아민(85.3mmol) 10g을 무수 메탄올 10ml와 혼합했다. 그 다음, 요오드화에틸(127.95mmol) 20g과 무수 메탄올 10ml의 혼합물을 피펫을 사용하여 적가했다. 반응 혼합물을 30분 동안 환류했다. 반응 혼합물을 실온으로 냉각했을 때 백색 결정형 산물이 형성되었다. 이러한 백색 고체 산물을 여과 수거하고 무수 메탄올로 세척했다. 산물을 진공 데시케이터에서 하룻밤 동안 건조했다. 산물은 33%의 수율로 수득되었다(10.3g, 37.7mmol).

4차 아민 작용기 부착된 흑연 원섬유의 제조

진공 건조된 25ml 헛튼(Wheaton) 1회용 신틸레이션 바이엘에서, 무수 카르복시 원섬유(원섬유 1g당 약 0.7mmol COOH) 100mg을 무수 디메틸포름아미드 2ml와 혼합하고 이 혼합물을 60초 동안 초음파처리했다. 디메틸포름아미드 2ml 이상, 39mg 디메틸-아미노피리딘(0.316mmol) 및 50 $\mu$ l 디이소프로필카르보디이미드(0.316mmol)를 반응 바이엘에 첨가했다. 반응 혼합물을 실온에서 1시간 동안 교반한 후, 88mg 요오드화 트리에틸에탄올아민(0.316mmol)을 바이엘에 첨가한 뒤, 하룻밤 동안 반응시켰다. 수득되는 원섬유는 20ml 디메틸포름아미드로 3회, 20ml 염화메틸렌으로 3회, 20ml 메탄올로 3회, 마지막으로 탈이온수로 3회 세척했다. 산물을 진공 건조했다. 질소 원소 분석 결과, 원섬유에 존재하는 카르복시 기의 약 50%가 4차 아민 부 중의 1차 아미노 기와 반응했음을 알 수 있었다.

**실시예 32**

**3차 아민 작용기 부착된 흑연 원섬유에서 소혈청 알부민(BSA)의 크로마토그래피**

2-디에틸아미노 에틸아민 변형된 카르복시 원섬유 60mg과 Sephadex G-25 초미세 수지(Pharmacia, Uppsala, Sweden) 180mg을 함유하는 수성 슬러리를 실온에서 하룻밤 동안 방치하여 고체 지지체를 완전 수화시켰다. 슬러리를 1 cm x 3.5cm 컬럼에 충전했다. 이 컬럼을 5mM 인산나트륨 완충액(pH 7.3)으로 0.2ml/min의 유속으로 평형화시켰다. BSA (0.1ml 탈이온수 중에 0.6mg)를 컬럼에 적재했다. 이 컬럼을 5mM 인산나트륨으로 0.2ml/min의 유속으로 용출시키고, 0.6ml씩 분획들을 수거했다. 용출 프로필을 UV-가시광선 검출기로 모니터한 결과는 도 3에 제시했다. 검출기를 통해 컬럼에서 더 이상 단백질이 용출되지 않는 것으로 관찰되면, 그 즉시 결합된 BSA를 5mM 인산나트륨(pH 7.3) 중의 1M KCl을 첨가하여 용출시켰다. 각 분획에 있는 단백질의 존재는 마이크로 BCA 분석(Pierce, Rockford, IL)으로 확인했다.

**실시예 33**

#### 4차 아민 작용기 부착된 흑연 원섬유에서의 소혈청 알부민(BSA)의 크로마토그래피

100mg 2-(2-트리에틸아미노 에톡시)에탄올 변형된 카르복시 원섬유와 300mg Sephadex G-25 초미세 수지를 함유하는 수성 슬러리를 실온에서 하룻밤 동안 방치했다. 수득되는 슬러리는 1cm 직경의 컬럼에 충전했다. 이 컬럼을 0.1 내지 0.6ml/min 유속의 5mM 인산나트륨 완충액(pH 7.3)으로 평형화했다. BSA(0.2ml 탈이온수 중에 2.7mg)를 컬럼에 적재했다. 컬럼을 0.2ml/min 유속의 5mM 인산나트륨으로 용출시키고, 0.6ml씩 분획들을 수거했다. 용출 프로파일은 UV-가시광선 검출기로 모니터했다(도 4). 5mM 인산나트륨 완충액에 의해 더 이상 단백질이 용출되지 않는 것으로 검출기에서 관찰되면, 그 즉시 용매를 5mM 인산나트륨(pH 7.3) 중의 1M KCl로 교환했다. 각 분획에 있는 단백질의 존재는 마이크로 BCA 분석(Pierce, Rockford, IL)으로 확인했다.

#### 9. 흑연 탄소의 효소적 작용기화

생물촉매는 흑연 탄소, 특히 탄소 나노튜브의 표면 상에 작용기를 도입시키는데 사용될 수 있다. 지금까지 흑연 탄소는 순수 화학적 방법(예, 미국 특허 출원 일련번호 08/352,400, 1994.12.8)에 의해 변형되었다. 이러한 화학적 방법에는 (1) 가혹한 조건(최대 온도, 최대 산성 또는 독성 화학물질의 사용) 및 (2) 특이성 부족(예컨대, 산화는 COOH, COH 및 CHO 기를 도입시킬 수 있다)과 같은 단점이 있다. 고체 흑연 탄소(예, 탄소 원섬유; Hyperion, Inc.)의 수성 현탁액은 기질로서 흑연 탄소를 수용할 수 있는 하나 이상의 효소를 첨가하고 화학적 반응을 수행하여 화학적으로 변형된 흑연 탄소를 수득함으로써 제조한다. 수성 현탁액은 효소가 반응을 수행할 수 있는 조건(온도, pH, 염 농도 등)에서 효소가 흑연 탄소의 표면을 촉매적으로 변형시키기에 충분한 시간 동안 유지시킨다. 반응 동안, 현탁액은 효소가 흑연 탄소의 표면에 접근할 수 있도록 계속적으로 혼합한다. 반응이 만족스러운 정도로 진행되기에 충분한 반응 시간 후, 효소는 여과 세척하여 탄소로부터 제거한다.

지금까지 2종류의 효소가 사용되었다: 사이토크롬 p450 효소 및 피옥시다제 효소. 이 두 효소 모두, 효소의 유형이 충분히 연구되어, 모두 방향족계 기질을 수용하는 것으로 밝혀져 있고, 이들의 최적 반응 조건도 밝혀져 있다. 이 두 효소의 유형은 기질에 하이드록시 기를 도입시켜, 흑연 탄소에 하이드록시 기를 도입시킬 수 있다. 효소 외에도, 다른 생물촉매, 예컨대 리보자임 및 촉매성 항체, 또는 효소의 비생물학적 모방체도 탄소 나노튜브를 촉매적으로 작용기화하도록 설계될 수 있다.

#### 실시예 34

##### 래트 간 마이크로솜을 이용한 효소적 작용기화

사이토크롬 p450 효소는 일반적으로 독성제거제로서 간에서 작용하는 것으로 생각되고 있다(F.Peter Guengerich, American Scientist, 81, 440-447 및 F.Peter Guengerich, J.Biol.Chem., 266, 10019-10022). 이 효소는 다방향족계 독성 화합물과 같은 이중 화합물을 하이드록시화한다. 하이드록시화는 상기 화합물을 수용성이 되게 하여 소변을 통해 신체로부터 제거될 수 있게 한다. 간에는 많은 종류의 사이토크롬 p450 효소가 있으며, 각 효소마다 기질 특이성이 상이하다. 이러한 광범위한 특이성은 독소제거가 필요한 환경 독소가 다양하기 때문에 중요한 특징이라고 생각된다. 각 사이토크롬 p450은 시중에서 입수할 수 있지만, 이 중 어떠한 사이토크롬 p450이 기질로서 탄소 나노튜브를 수용할 수 있는지에 관해서는 알려진 바가 전혀 없다. 이러한 불확실성 때문에, 본 발명자들은 처음으로 여러 가지 많은 사이토크롬 p450을 함유한 래트 간 추출물과 탄소 나노튜브를 항온배양하기로 결정했다.

2마리 래트("실험용" 래트)에게 사이토크롬 p450 효소의 발현을 유도하기 위하여 음용수 중의 펜토바르비탈(1g/L, pH 7.0)을 1주 동안 투여했다. 다른 2마리 래트("대조용" 래트)에게는 펜토바르비탈이 없는 물을 제공했다. 그 다음, 래트를 살처분하고 간으로부터 표준 방법(예컨대, Methods in Enzymology, Vol. 206 참조)에 따라 사이토크롬 p450 함유 마이크로솜을 준비했다.

이러한 마이크로솜을 탄소 나노튜브(원섬유)와 혼합하여 사이토크롬 p450이 흑연 탄소와 반응하게 했다. 본 실험에서는 원섬유("기본" 또는 작용기 부착되지 않은 원섬유 및 "COOH" 또는 산화된 원섬유) 5mg을 마이크로솜(실험용 및 대조용 마이크로솜)과 0.1M Tris, 1.0mM NADPH, 0.01% Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, 10mM 글루코스-6-포스페이트, 글루코스-6-포스페이트 탈수소효소(1 유닛/ml)를 함유하는 완충 용액(pH 7.4)에서 혼합했다. NADPH는 사이토크롬 p450 및 글루코스-6-포스페이트의 공동기질로서 첨가했고, 글루코스-6-포스페이트 탈수소효소는 NADP<sup>+</sup>(NADP<sup>+</sup>가 사이토크롬 p450에 의해 발생된다면)로부터 NADPH를 재생시키기 위해 첨가했다. 이러한 혼합물을 마이크로원심분리 관에 넣어 약 1.5일 동안 실온에

서 회전시켰다. 항온배양 후, 원섬유를 탈이온수, 1M HCl, 1M NaOH, 0.05% Triton X-100, 0.05% Tween, 메탄올 및 1M NaCl로 충분히 세척했다. 세척 후, 단백질의 마이크로BCA 분석(Pierce)을 통해, 원섬유가 자신에게 결합된 단백질을 여전히 보유하고 있는 것으로 관찰되었다(세척 용액 중에서 단백질이 전혀 검출되지 않았다).

원섬유 표면에 하이드록시기가 도입되었는지를 확인하기 위하여, 원섬유를 N-FMOC-이소류신과 반응시켰다. 여러 배량의 원섬유(대조용 및 실험용)(각각 1.5mg)를 4.45mg/ml FMOC-이소류신, 1.54mg/ml 디메틸아미노피리딘(DMAP) 및 2.6mg/ml 1,3-디시클로헥실카르보디이미드(DCC)를 함유하는 무수 DMF 용액 333 $\mu$ l와 반응시켰다. 2일 동안 반응(지속적으로 회전시키면서)시킨 후, 원섬유를 DMF, 피페리딘, 메탄올, 물, DMF, 메탄올, 염화메틸렌(각각 600 $\mu$ l)으로 세척했다. 이 세척 순서는 3회 반복했다. 원섬유에 존재하는 이소류신에 대한 아미노산 분석을 위해 원섬유를 갈브레이스 래보러토리즈(Galbraith Laboratories, Knoxville, TN)로 보냈다. 결과는 이소류신 외에도 많은 다른 아미노산이 관찰되었기 때문에 확실치 않았는데, 이는 래트 간 마이크로솜 추출물에 존재하는 단백질, 펩타이드 및 아미노산이 원섬유로부터 완전하게 세척되지 않았기 때문인 것으로 보인다. 따라서, 세척과 분석의 기술적 난점으로 인해, 사이토크롬 p450이 원섬유에 작용기화되었는지의 여부는 확인할 수 없었다.

### 실시예 35

#### **시중에서 입수할 수 있는 재조합 사이토크롬 p450 효소를 이용한 원섬유 작용기화**

사이토크롬 p450의 공급원으로서 래트 간 마이크로솜을 사용하는 것과 관련된 문제점인 불순물을 없애기 위하여, 각 사이토크롬 p450 효소를 구입했다(GENTEST, Woburn, MA). 사이토크롬 p450 효소는 오로지 막에 결합하여 활성을 나타내기 때문에 이 효소는 마이크로솜 제조물로서 공급된다. 진술한 것과 유사한 반응 절차를 사용하여 다음과 같은 사이토크롬 p450을 검사했다: CYP1A1(cat.#M111b), CYP1A2(cat.#M103c), CYP2B6(cat.#110a), CYP3A4(환원효소와 함께, cat.#107r). 반응 용액에 또한 MgCl<sub>2</sub>(0.67mg/ml)를 첨가했다. 이 실험에서, 원섬유는 속슬렛 장치를 이용하여 세척했다.

도입된 하이드록시기의 분석은 사이토크롬 p450과 반응되고 세척된 원섬유를 발색 시약인 3,5-디니트로벤조산(DNBA)와 반응시켜 수행했다. 커플링은 앞서 N-FMOC-이소류신에서 설명한 바와 같이 실시했다. DNBA와 반응 후, 원섬유를 DMF로 세척하고, 잔류(공유 부착된) DNBA는 6M HCl 또는 46 유닛/ml 돼지 간 에스테라제(Sigma)를 사용하여 가수분해했다. 해리된 DNBA의 분석은 가수분해 처리 후 원섬유 주변 상청액을 HPLC 분석하여 수행했다. 해리된 DNBA의 HPLC 분석은 Vydac C18 역상 분석 컬럼(cat.# 218TP54)이 장착된 Waters HPLC 시스템에서 0.1% TFA 함유 탈이온수(용매 A) 대 0.1% TFA 함유 아세트니트릴(용매 B)의 선형 구배를 이용하여 실시했다.

### 실시예 36

#### **퍼옥시다제를 이용한 원섬유의 작용기화**

퍼옥시다제 기질 특이성에 대한 문헌의 설명은 탄소 나노튜브가 이 효소의 기질이 될 수 있음을 시사했다(J.S. Dorick et al., *Biochemistry* (1986), 25, 2946-2951; D.R. Buhler et al., *Arch. Biochem. Biophys.* (1961) 92, 424-437; H.S. Mason, *Advances in Enzymology*, (1957) 19, 79; G.D. Nordblom et al., *Arch Biochem. Biophys.* (1976) 175, 524-533). 퍼옥시다제(수소 퍼옥시다제, 타입 II, Sigma)가 원섬유 표면에 하이드록시기를 도입시킬 수 있는지의 여부를 측정하기 위하여 원섬유(11mg)를 50mM 아세트산나트륨(1.25ml, pH 5.0), 양고추냉이 퍼옥시다제(200nM)를 함유하는 용액에서 혼합하고, 디하이드록시푸마르산(15mg)을 처음 반응 3시간 동안 한번에 5mg씩 첨가했다. 이 반응을 중간에 간헐적으로 기체 산소의 발포 하에 4°C에서 총 5시간 동안 실시했다. 반응 후, 원섬유를 물, 1N NaOH, 메탄올 및 염화메틸렌(각각 200ml씩)으로 세척했다. 대조 반응은 열불활성화된(100°C, 5분) 퍼옥시다제를 사용하여 수행했다.

퍼옥시다제에 의해 촉매된 원섬유의 하이드록시화 정도를 분석하기 위하여, 원섬유를 이미다졸의 존재 하에 무수 DMF 중의 t-부틸디메틸실릴 클로라이드(Aldrich)와 반응시켰다. 원섬유를 세척한 후, 로버트슨 마이크로렛 래보러토리즈, 인크. (Madison, NJ)로 보내서, 원섬유에 혼입된 규소를 원소분석했다. 분석 결과, 원섬유 표면에 규소가 존재하는지에 대해서는 불명확했다. 그 이유는 본 실험에 사용된 유리제품 유래의 규소도 원소 분석을 의뢰한 원섬유에 작은 조각으로 존재할 것으로 생각되기 때문이다. 이것은 실험용 시료와 대조군 시료 모두에서 높은 규소 농도를 초래했다. 본 실험 결과, 퍼옥시다제가 원섬유에 하이드록시기를 도입시킬 수 있지만, 기술적 어려움으로 인해 도입된 임의의 하이드록시기의 존재를 측정하는 것은 불가능했다.

#### **10. 무산소 원섬유 표면에 대한 친전자 첨가 또는 금속화에 의해 작용기 부착된 나노튜브**

활성화된 친전자체를 무산소 원섬유 표면에 첨가하여 수득할 수 있는 1차 산물은 측기 -COOH, -COCl, -CN, -CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>, -CH<sub>2</sub>OH, -CH<sub>2</sub>-할로젠 또는 HC=O를 보유하는 것이다. 이 기들은 다음과 같이 2차 유도체로 변환될 수 있다:

원섬유-COOH -----> 전술한 바와 같다.

원섬유-COCl(산 염화물) + HO-R-Y -----> F-COO-R-Y (Sec.4/5)

원섬유-COCl + NH<sub>2</sub>-R-Y -----> F-CONH-R-Y

원섬유-CN + H<sub>2</sub> -----> F-CH<sub>2</sub>-NH<sub>2</sub>

원섬유-CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub> + HOOC-R-Y -----> F-CH<sub>2</sub>NHCO-R-Y

원섬유-CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub> + O=CR-R'Y -----> F-CH<sub>2</sub>N=CR-R'-Y

원섬유-CH<sub>2</sub>OH + O(COR-Y)<sub>2</sub> -----> F-CH<sub>2</sub>OCOR-Y

원섬유-CH<sub>2</sub>OH + HOOC-R-Y -----> F-CH<sub>2</sub>OCOR-Y

원섬유-CH<sub>2</sub>-할로젠 + Y<sup>-</sup> -----> F-CH<sub>2</sub>-Y + X<sup>-</sup> Y<sup>-</sup>=NCO<sup>-</sup>, -OR<sup>-</sup>

원섬유-C=O + H<sub>2</sub>N-R-Y -----> F-C=N-R-Y

## 11. 덴드리머형 나노튜브

나노튜브의 표면에 존재하는 작용기의 농도는 나노튜브를 순차 생성되는 다가 시약으로 변형시켜 증가시킬 수 있으며, 결과적으로 각 단계마다 특정 작용기의 수가 증가하여 덴드리머형 구조가 형성되게 된다. 수득되는 덴드리머형 나노튜브는 단백질의 공유적으로 고정시키는 고체 지지체로서 특히 유용한데, 그 이유는 이러한 나노튜브가 나노튜브 표면 상에 고정되는 단백질의 밀도를 증가시킬 수 있기 때문이다. 본 발명은 종래 고표면적 탄소에는 어려웠던 특정 화학적 작용기의 고 밀도를 고표면적 미립자 탄소의 표면에 부여할 수 있음을 증명하는 것이다.

### 실시예 37

#### 리신계 덴드리머의 제조

반응 순서는 도 5에 제시했다.

아미노 원섬유(90mg)를 중탄산나트륨(5ml, 0.2M, pH 8.6)에 현탁시킨 현탁액에, Na,Nε-디-t-boc-L-리신 N-하이드록시숙신이미드 에스테르(120mg, 0.27mmol)를 디옥산(5ml)에 용해시킨 용액을 첨가했다. 이 반응 혼합물을 실온에서 하룻밤 동안 교반했다. tert-부톡시카르보닐 보호된 리신 원섬유를 물, 메탄올 및 염화메틸렌으로 충분히 세척하고 진공 건조했다. 그 다음 tert-부톡시카르보닐 보호된 리신 원섬유를 염화메틸렌(5ml) 중의 트리플루오로아세트산(5ml)으로 실온에서 2시간 동안 처리했다. 그 산물인 아미노 리신 원섬유는 염화메틸렌, 메탄올 및 물로 충분히 세척하고 진공 건조했다. 이와 동일한 절차로 2차 및 3차 리신 원섬유도 제조했다. 아미노산 분석 결과, 1차 리신 원섬유는 원섬유 1g당 0.6μmol의 리신을 함유하고, 2차 리신 원섬유는 원섬유 1g당 1.8μmol의 리신을 함유하며, 3차 리신 원섬유는 원섬유 1g당 3.6μmol의 리신을 함유하는 것으로 나타났다.

카르복시 덴드리머 원섬유도 이와 동일한 방법에 따라 카르복시 원섬유와 아스파르트산 또는 글루탐산을 이용하여 제조할 수 있다.

**실시예 38****카르복실레이트 말단 덴드리머의 제조**

탄소 나노튜브(CN) 코어를 보유한 카르복실레이트 말단 덴드리머는 염소산염 산화된 탄소 나노튜브의 NHS 에스테르를 시초로 하여 아미노부틸니트릴로트리아세트산(NTA)을 연속 순차 커플링시켜 생산한다.

NTA의 제조

NTA는 본원에 참고인용된 문헌(E.Hochuli, H.Dobeli 및 A.Schacher, *J.Chromatography*. 411, 177-184(1987))의 방법에 따라 제조했다.

CN/NHS의 제조

CN/NHS는 실시예 20의 방법에 따라 제조했다.

CN/NTA의 제조

NTA·HCl 0.4g을 0.2M NaHCO<sub>3</sub> (pH 8.1) 25ml에 용해했다. 1M NaOH를 첨가하여 pH를 다시 7.8 이하로 조정했다. CN/NHS 0.5g을 첨가하고, 혼합물을 초음파처리하여 CN을 분산시키고, 수득되는 슬러리를 교반하면서 30분 동안 반응시켰다. 이 슬러리를 0.45 $\mu$ m 나일론 막 위로 여과하고, 필터 상에서 pH 8.1 탄산염 완충액으로 2X, 탈이온수로 2X 세척했다. 변형된 CN은 MeOH 25ml에 초음파처리로 다시 재현탁하고, 여과하여 고체 케익을 얻어서, 마지막으로 진공 데시케이터에서 건조했다.

CN/NTA/NTA의 제조

CN/NTA는 먼저 NHS 활성 에스테르로 변환시켰다. CN/NTA 0.396g을 90 $^{\circ}$ C 오븐에서 30분 동안 건조한 뒤, 무수 디옥산 30ml가 담긴 100ml RB 플라스크에 넣고, 아르곤으로 세정했다. 교반하면서 N-하이드록시숙신이미드 0.4g을 첨가한 후, 추가 1시간 동안 계속 교반하면서 EDC 0.67g을 첨가했다. 이 때 CN은 함께 응집하는 경향이 있었다. 디옥산은 따라내고, 고체를 무수 디옥산 20ml로 2X 세척했다. 그 다음, 고체를 무수 MeOH 20ml로 세척했고, 그 동안 응집물이 분쇄되었다. 고체는 0.45 $\mu$ m 나일론 막 위로 여과하고, MeOH에 재현탁시킨 다음, 여과하고, 필터 상에서 MeOH로 세척했다.

NTA 0.2g을 50ml 플라스크에 첨가하고, 1M NaOH 10방울로 용해시켰다. 0.2M NaHCO<sub>3</sub> (pH 8.1) 20ml를 첨가한 뒤, CN/NTA/NHS를 모두 첨가하고, 그 용액을 프로브 초음파처리기로 가볍게 초음파처리했다. 이 혼합물을 실온에서 2.5시간 동안 반응시켰다. 변형된 CN은 0.45 $\mu$ m 나일론 막위로 여과하고, 탄산염 완충액으로 2X 세척한 뒤, 탈이온수에 초음파처리로 재현탁하고, 여과한 다음 탈이온수로 세척했다. 그 다음, 진공 데시케이터에 넣어 건조했다.

CN/NTA/NTA/NTA의 제조

앞서 기술한 절차에 따라서 NTA 추가량을 첨가했다.

CN/NTA/NTA/NTA/NTA의 제조

앞서 기술한 절차에 따라서 NTA 추가량을 첨가했다.

NTA 첨가 4단계 중 각 단계의 시료(약 10mg)는 탈이온수 10ml에 넣어 초음파처리로 현탁시킨 다음, 0.45 $\mu$ m 나일론 막위로 여과하여 펠트계 매트 형태로 만들었다. 이 매트 조각을 진공 데시케이터에서 보관한 다음 질소(N)에 대해 ESCA로 분석하여 NTA의 상대적 함량을 수득했다. 그 결과는 다음과 같았다.

재료 ESCA에 의한 N %

CN/NTA 0



CN/NTA/NTA 1.45

CN/NTA/NTA/NTA 1.87

CN/NTA/NTA/NTA/NTA 2.20

ESCA 결과는 각 순차 단계에 따라 증가 함량이 병입된 것을 입증해 주었다.

**실시예 39**

**단백질 지지체로서의 탄소 나노튜브 덴드리머**

탄소 나노튜브에 고정된 단백질의 밀도는 덴드리머를 생산하기 위해 유도체화된 원섬유를 사용하여 크게 증가시킬 수 있다. 양고추냉이 퍼옥시다제(HRP)는 다음과 같은 방법에 따라 덴드리머 나노튜브에 고정시켰다:

기본 원섬유(0.49mg), 아미노 원섬유(0.32mg), 1단계 리신 원섬유(0.82mg), 2단계 리신 원섬유 및 3단계 리신 원섬유를 중탄산나트륨 집합 완충액(600 $\mu$ l, 0.1M, 0.9% NaCl 함유)에서 15분 동안 실온에서 초음파처리했다. 그 다음, 중탄산 집합 완충액 중의 HRP 용액(490ml, 5.6mg/ml의 효소 스톡 용액)과 실온에서 19시간 동안 항온처리했다. 이와 같이 HRP 고정된 원섬유는 다음과 같은 완충액(1ml)으로 세척했다: 0.9% NaCl을 함유하는 10mM NaHCO<sub>3</sub> 완충액, pH 9.5(1X 세척 완충액) 7회, 1X 세척 완충액 중의 0.1% Triton X-100 5회, 1X 세척 완충액 중의 50% 에틸렌 글리콜 3회. HRP의 활성은 글리신 분석 완충액(50mM, pH4.4) 중의 2,2-아지노비스(3-에틸벤조티아졸린)-6-설폰산 이암모늄 염(ABTS, 3 $\mu$ l, mM 스톡 용액)과 과산화수소 용액(10 $\mu$ l, 10mM 스톡 용액)을 이용하여 414nm에서 분석했다. 결과는 다음 표에 제시한 바와 같다:

원섬유 HRP nmol/원섬유 g

기본 원섬유 3.82

원섬유-NH<sub>2</sub> 8.58

원섬유-NH-Lys 28.09

원섬유-NH-Lys(Lys)<sub>2</sub> 28.30

원섬유-NH-Lys(Lys)<sub>4</sub> 46.28

**12. 이작용기성 원섬유**

작용기 부착된 나노튜브, 예컨대 카르복시 나노튜브를 아미노산과 반응시키면 원섬유 상에 1종류 이상의 작용기(예, 카르복시 기 및 아미노 기)를 동시에 도입시킬 수 있다는 것을 발견했다. 이러한 이작용기성 원섬유는 특히 1:1 화학량론 및 이와 유사한 비율에서 다수의 분자를 고정시키는데 사용될 수 있다.

**실시예 40**

**리신 첨가에 의한 이작용기성 원섬유의 제조**

N<sub>ε</sub>-CBZ-L-리신 벤질 에스테르의 합성

반응 순서는 도 7에 제시했다. N<sub>ε</sub>-(tert-하이드록시카르보닐)-L-리신(2g, 8.12mmol)을 메탄올(40ml)과 물(40ml)에 용해하고, 트리에틸아민으로 pH를 8로 조정했다. 이러한 혼합물에 디옥산 중의 N-(벤질옥시카르보닐-옥시)숙신이미드 용액(20ml 중에 2.4g, 9.7mmol)을 첨가하고, pH를 트리에틸아민으로 8-9로 유지했다. 반응 혼합물을 하룻밤 동안 교반했

다. 용매는 회전 증발로 제거하여 미정제  $N_{\alpha}$ -CBZ- $N_{\epsilon}$ -(tert-부톡시카르보닐)-L-리신을 수득했다.  $N_{\alpha}$ -CBZ- $N_{\epsilon}$ -(tert-부톡시카르보닐)-L-리신을 0.2M 탄산칼슘(4ml)으로 처리하고, 수성층을 제거하여 백색 고체를 수득했다. 이 고체를 N,N-디메틸포름아미드(40ml)와 벤질브로마이드(1.16ml)에 재현탁시켰다. 이 반응 혼합물을 실온에서 하룻밤 동안 교반했다. 이 반응 혼합물을 에틸아세테이트와 물로 마무리 처리하고, 유기층을 황산마그네슘 상에서 건조했다. 용매를 제거하여 미정제  $N_{\alpha}$ -CBZ- $N_{\epsilon}$ -(tert-부톡시카르보닐)-L-리신 벤질 에스테르를 수득하고, 이것을 용매로서 에틸아세테이트 중의 25% 헥산을 이용하는 실리카겔 크로마토그래피로 정제했다. 염화메틸렌(10ml) 중의  $N_{\alpha}$ -CBZ- $N_{\epsilon}$ -(tert-부톡시카르보닐)-L-리신 벤질 에스테르(1g, 2.2mmol)에 트리플루오로아세트산을 0°C에서 첨가했다. 반응 혼합물을 0°C에서 10분 동안 교반한 다음, 실온에서 추가 2.5시간 동안 교반했다. 용매를 제거하고, 미정제 산물을 수득했다. 실리카겔 크로마토그래피로 순수  $N_{\alpha}$ -CBZ-L-리신 벤질 에스테르를 수득했다.

$N_{\alpha}$ -CBZ-L-리신-벤질 에스테르 원섬유의 합성

카르복시 원섬유(300mg)를 염화메틸렌(18ml)에 현탁시킨 현탁액에  $N_{\alpha}$ -CBZ-L-리신 벤질 에스테르 용액(20ml 염화메틸렌과 176 $\mu$ l 트리에틸아민 중에 148mg, 0.32mmol)을 첨가했다. 그 다음, HOBT(43.3mg, 0.32mmol) 및 EDC(61.3mg, 0.32mmol)를 첨가했다. 이 반응 혼합물을 실온에서 하룻밤 동안 교반하여 미정제 산물을 수득했다. 이러한 산물 원섬유를 메탄올, 염화메틸렌 및 물로 충분히 세척하고, 진공 건조했다.

이작용기성 원섬유, 원섬유-Lys(COOH)NH<sub>2</sub>의 합성

메탄올(4ml) 중의  $N_{\alpha}$ -CBZ-L-리신 벤질 에스테르 원섬유(113mg)에 수산화나트륨(1N, 4ml)을 첨가하고, 이 반응 혼합물을 하룻밤 동안 교반했다. 산물인  $N_{\alpha}$ -CBZ-L-리신 원섬유를 물과 메탄올로 충분히 세척하고, 원섬유를 진공 건조했다.  $N_{\alpha}$ -CBZ-L-리신 원섬유(50mg)를 아세토니트릴(4ml)에 현탁시킨 현탁액에 트리메틸 실릴 요오다이드(1ml)를 첨가했다. 이 혼합물을 40°C에서 3시간 동안 교반했다. 최종 이작용기성 원섬유는 물, 메탄올, 0.5N 수산화나트륨, 아세토니트릴 및 염화메틸렌으로 충분히 세척했다. 아미노산 분석 결과, 리신은 원섬유 1g당 0.3 $\mu$ mol인 것으로 나타났다.

이상 기술된 방법과 유사한 방법에 따라 세린, 트레오닌 또는 타이로신을 사용하여 하이드록시 및 카르복시(또는 아미노) 이작용기성 원섬유도 제조할 수 있다. 티올화된, 카르복시(또는 아미노) 이작용기성 원섬유는 시스테인을 사용하여 제조할 수 있다. 카르복시 및 아미노 이작용기성 원섬유는 아스파르트산 또는 글루탐산을 이용하여 제조할 수 있다.

작용기 부착된 나노튜브의 용도

작용기부착된 흑연 나노튜브는 높은 다공도, 화학적 및 열적 안정성, 그리고 넓은 표면적으로 인해 다수의 생명공학 이용 분야에서 고체 지지체로서 유용하게 사용된다. 이러한 나노튜브는 가혹한 화학적 및 열적 처리에도 견딜 수 있고, 화학적 작용기화하기도 매우 쉬운 것으로 확인되었다.

예를 들어, 효소는 자신의 생물학적 활성을 유지하면서 변형된 나노튜브에 공유적으로 고정될 수 있다. 또한, 나노튜브는 또한 생물분자 분리 시 친화성 크로마토그래피의 지지체로서 사용하기에 적합하다. 예를 들어, 효소 억제제는 고정된 억제제가 거대분자에 접근이 가능하여 변형된 원섬유와 단백질 사이에서 가역적인 특정 생물학적 인식이 일어나도록 다단계 합성에 의해 나노튜브 상에 제조되었다.

나노튜브 표면의 소수성은 흡착에 의해 단백질을 고밀도로 고정시키기에는 충분하지 않다. 따라서, 나노튜브 표면의 소수성을 증가시키고, 2차원에서 3차원까지 소수성 환경을 확장시키기 위해, 나노튜브 표면에 다양한 길이의 알킬 사슬을 커플링시켰다. 이러한 알킬 나노튜브에 흡착에 의해 고정되는 단백질에는 트립신, 알칼리 포스파타제, 리파제 및 아비딘이 있다. 이와 같이 고정된 단백질의 효소 활성은 수용액에서 각 기질의 가수분해에 대한 촉매적 효능이 입증되지만 한다면 유리 효소의 효소 활성과 비슷할 것이다.

또한, 페닐-알킬 나노튜브는 알킬 사슬의 말단에 페닐기를 첨가한 알킬 나노튜브로서 제조했다. 이러한 변형은 단백질의 아미노산 페닐알라닌, 타이로신 및 트립토판과  $\pi$ - $\pi$  상호작용을 통해 상호작용하는 방향족 구조를 도입시켰다. 페닐-알킬 나노튜브 상에 알칼리 포스파타제 및 리파제의 흡착은 C<sub>8</sub> 알킬 나노튜브 상의 흡착과 비슷한 수준이었다.

작용기 부착된 원섬유는 또한 단백질 합성의 고체 지지체로서 유용한 것으로 확인되었다.

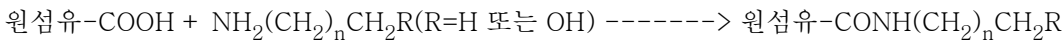
**1. 효소의 고체 지지체로서의 작용기 부착된 나노튜브**

**실시예 41**

**흡착에 의한 효소 고정화**

알킬 원섬유의 제조

알킬 원섬유는, -COOH 기 약 0.007mmol(10mg 원섬유 x 0.7mmol -COOH/mg 원섬유 = 0.007mmol)을 함유하는 카르복시 원섬유 10mg을, EDC(1-에틸-3-(3-디메틸아미노프로필)카르보디이미드) 0.14mmol 및 DMAP(4-디메틸아미노피리딘) 0.14mmol을 사용하여 1.5ml DMF(N,N-디메틸포름아미드) 중의 알킬아민 0.14mmol과 반응시켜 제조했다. 화학적 반응식은 다음과 같다:



이러한 절차에 따라 알킬 사슬의 길이가 다른(n=5, 7, 9, 17; n=5인 경우에는 R=OH) 여러 알킬 원섬유를 제조했다. 반응물을 상온에서 교반한 후, 원섬유를 3 x 25ml CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, 3 x 25ml MeOH 및 3 x 25ml dH<sub>2</sub>O로 철저히 세척했다. 원섬유의 질소 함량을 원소 분석한 결과 반응의 수율은 65-100%인 것으로 나타났다.

효소 흡착

효소 리파제, 트립신, 알칼리 포스파타제 및 아비딘을 본 실시예의 알킬 원섬유 상에 흡착을 통해 고정시켰다. 알킬 원섬유와 효소를 실온에서 3 내지 4시간 동안 혼합한 뒤, 5mM 인산나트륨(pH 7.1)으로 2 내지 4회 세척했다. 알칼리 포스파타제는 C<sub>8</sub>-원섬유 및 C<sub>6</sub>OH-원섬유 상에; 트립신은 C<sub>6</sub>-, C<sub>8</sub>-, C<sub>10</sub>- 및 C<sub>18</sub>-원섬유 상에; 리파제는 C<sub>6</sub>OH-, C<sub>8</sub>-, C<sub>10</sub>- 및 C<sub>18</sub>-원섬유 상에; 아비딘은 C<sub>8</sub>-원섬유 상에 고정되었다. 결과는 다음 표에 정리했다:

효소	μmol/g 원섬유	mg/g 원섬유
리파제	6.8	816
트립신	1.7	40
알칼리 포스파타제	0.66	56
아비딘	측정되지 않음	

고정된 효소의 동역학적 성질은 다음 표에 나타낸 바와 같이 자유 효소의 성질과 비슷한 것으로 확인되었다:

효소	K <sub>m</sub> (M)	k <sub>cat</sub> (s <sup>-1</sup> )	k <sub>cat</sub> /K <sub>m</sub> (M <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup> )
리파제	40 x 10 <sup>-6</sup>	0.040	0.99 x 10 <sup>3</sup>
리파제-원섬유	36 x 10 <sup>-6</sup>	0.048	1.34 x 10 <sup>3</sup>
트립신	1.2 x 10 <sup>-3</sup>	4.8	4.17 x 10 <sup>3</sup>
트립신-원섬유	7.9 x 10 <sup>-3</sup>	19.1	2.43 x 10 <sup>3</sup>

기질:

리파제 1,2-O-디라우틸-rac-글리세로-3-글루타르산 레소루핀 에스테르

트립신 N-벤조일-L-아르기닌-p-니트로아닐리드

**실시예 42**

### 원섬유-리파제에 의해 촉매된 에스테르화(에틸 부티레이트의 합성)

리파제는 실시예 41의 절차에 따라 C<sub>8</sub>-알킬 원섬유 상에 고정시켰다. 이러한 리파제 원섬유를 먼저 디옥산으로 세척하고, 다음 디옥산과 헵탄의 혼합물로 세척하고, 마지막으로 헵탄으로 세척하여 헵탄에 원섬유를 분산시켰다. 에틸 부티레이트(파인애플-바나나 향을 제공하는 식품 첨가제)를 합성하기 위하여, 에탄올(0.4M)과 부티르산(0.25M)을 헵탄 중에서 6.2 μm 원섬유 고정된 리파제와 혼합했다. 반응 혼합물을 실온에서 교반했다. 수율은 7시간이 지나서 60%였다(수율은 기존 방법을 사용하여 반응 혼합물 중의 에탄올 농도를 측정하여 확인했다). 반응 및 결과는 도 8에 도시한 바와 같다.

### 실시예 43

#### 페닐-알킬 원섬유 상에 알칼리 포스파타제의 고정화

##### 페닐-알킬 원섬유의 제조

페닐-알킬 원섬유는 다른 2가지 반응에 따라 제조했다. 반응 1에서는 카르복시 원섬유(-COOH 기 약 0.014mmol을 함유한다) 20mg을 1.5ml DMF(N,N-디메틸포름아미드) 중의 0.28mmol 4-페닐부틸아민, 0.28mmol EDC 및 0.28mmol DMAP(4-디메틸아미노피리딘)과 혼합했다. 반응 2에서는 카르복시 원섬유 20mg을 DMF 1.5ml 중의 0.28mmol 6-페닐-1-헥산올, 0.28mmol DCC(1,3-디시클로헥실카르보디이미드) 및 0.28mmol DMAP와 혼합했다. 실온에서 하룻밤 동안 교반하면서 반응시켰다. 그 다음, 원섬유는 3 x 25ml CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, 3 x 25ml MeOH 및 3 x 25ml dH<sub>2</sub>O로 철저히 세척했다.

##### 알칼리 포스파타제 고정된 원섬유의 제조

페닐-알킬 원섬유 0.5mg을 0.05M Tris(pH 8.6) 400μl에 현탁시키고 20분 동안 초음파처리했다. 이러한 원섬유에 알칼리 포스파타제 용액(5mM 인산나트륨 완충액 pH 7.0 중에 1.67mg/ml) 150μl를 첨가하고, 이 혼합물을 실온에서 2시간 동안 회전시키고 4°C에서 하룻밤 동안 보관했다. 그 다음, 원섬유를 5mM 인산나트륨 완충액(pH 7.1) 600μl로 2회 세척하고, 동일한 완충액 200μl에 현탁시켰다.

##### 촉매 활성의 측정에 의해 특이적으로 고정된 알칼리 포스파타제의 정량

알칼리 포스파타제는 기질인 p-니트로페닐 포스페이트와 반응하여 405nm에서 광을 흡수하는, 흡광 계수가 18,200M<sup>-1</sup>cm<sup>-1</sup>인 유색 화합물을 방출한다. 이 반응의 분석 완충액 조건은 10mM Tris, 1mM CaCl<sub>2</sub> 및 0.1mM ZnCl<sub>2</sub>, pH 8.4였다. 이 반응은 1ml 큐벳에서 니트로페닐 포스페이트 스톱 용액(분석 완충액 중의 33% DMSO 중에 0.5M) 5μl와 1ml 분석 완충액 중의 알칼리 포스파타제 원섬유 13μg을 혼합하여 실시했다. 405nm에서의 흡광도 증가는 10분 동안 경시적 스캔을 통해 모니터링했다. 효소 활성(μM/min)은 흡광 계수 18200M<sup>-1</sup>cm<sup>-1</sup>를 사용하여 초기 기울기로부터 계산했다.

반응 1로부터 페닐 원섬유에 흡착된 알칼리 포스파타제는 활성이 13μg 원섬유당 6.95μM/min이었다. 반응 2로부터 페닐 원섬유에 흡착된 알칼리 포스파타제는 활성이 13μg 원섬유 당 2.58μM/min이었다. 이러한 결과를 동일한 분석 조건 하에서 1μM 알칼리 포스파타제당 879.8μM/min로 측정된, 농도가 공지된 알칼리 포스파타제 용액의 활성을 나눈 결과, 각각 원섬유 1g당 활성 알칼리 포스파타제 농도는 0.63μmol(또는 54mg) 및 0.23μmol(또는 20mg)이었다.

### 실시예 44

#### 페닐 알킬 원섬유 상에 리파제의 고정화

##### 리파제 고정된 원섬유의 제조

페닐-알킬 원섬유 0.5mg을 5mM 인산나트륨 완충액(pH 7.1) 50μl에 현탁시키고 20분 동안 초음파 처리했다. 이 원섬유에 리파제 용액(5mM 인산나트륨 완충액, pH 7.1 중에 0.2mM) 350μl를 첨가하고, 이 혼합물을 실온에서 5시간 동안 회전시킨 뒤, 4°C에서 하룻밤 동안 보관했다. 원섬유를 그 다음 5mM 인산나트륨 완충액(pH 7.1) 600μl로 3회 세척하고, 이 완충액 200μl에 현탁시켰다.

특이적으로 고정된 리파제의 촉매 활성의 측정을 통한 정량분석

리파제는 기질 1,2-o-디라우릴-rac-글리세로-3-글루타르산-레소루핀 에스테르(Boehringer Mannheim, 1179943)와 반응하여 572nm에서 광을 흡수하는, 흡광 계수가  $60,000\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ 인 유색 화합물을 생산한다. 이 반응의 분석 완충액 조건은  $0.1\text{M KH}_2\text{PO}_4$ , pH 6.8이었다. 이 반응은 1ml 큐벳에서 기질 스톡 용액(Thesit 중의 50% 디옥산 중에 7.6mM)  $5\mu\text{l}$ 와 1ml 분석 완충액 중의 알칼리 포스파타제 원섬유  $13\mu\text{g}$ 을 혼합하여 실시했다. 572nm에서의 흡광도 증가는 10분 동안 경시적 스캔을 통해 모니터했다. 효소 활성( $\mu\text{M}/\text{min}$ )은 흡광 계수  $60,000\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ 를 사용하여 초기 기울기로부터 계산했다.

실시에 43의 반응 1로부터 페닐알킬 원섬유에 흡착된 리파제의 활성은  $13\mu\text{g}$  원섬유당  $0.078\mu\text{M}/\text{min}$ 이었다. 실시에 43의 반응 2로부터 페닐알킬 원섬유에 흡착된 리파제의 활성은  $13\mu\text{g}$  원섬유 당  $0.054\mu\text{M}/\text{min}$ 이었다. 이러한 결과를, 동일한 분석 조건 하에서  $1\mu\text{M}$  리파제당  $1.3\mu\text{M}/\text{min}$ 로 측정된, 농도가 공지된 리파제 용액의 활성을 나눈 결과, 각각 원섬유 1g당 활성 리파제 농도는  $4.7\mu\text{mol}$ (또는 564mg) 및  $3.3\mu\text{mol}$ (또는 396mg)이었다.

**실시에 45****아미노 알킬 변형된 원섬유 상에 양고추냉이 퍼옥시다제(HRP)의 고정화**카르복시산 작용기 부착된 원섬유의 제조(카르복시 원섬유)

농황산 450ml에 흑연 원섬유 10.0g 시료를 스페툴라로 혼합하여 슬러리화한 다음, 유입구/배출구 및 상부 교반기가 장착된 반응기 플라스크에 주입했다. 교반과 저속의 아르곤류 하에서,  $\text{NaClO}_3$  8.68g의 충전량을 실온에서 24시간 동안에 걸쳐 분할 첨가했다. 전 실험 과정동안 발생된 염소 증기는 반응기로부터 수성 NaOH 트랩으로 제거되었다. 실험 마지막에 원섬유 슬러리를 얼음 조각 위에 쏟아붓고, 진공 여과했다. 여과 케익을 그 다음 속슬렛 팀블로 옮겨서, 속슬렛 추출기에서 탈이온수로 세척하고 수시간마다 새 물로 교환해 주었다. 새로운 탈이온수를 첨가했을 때 원섬유 시료가 물의 pH를 변화시키지 않을 때까지 세척을 계속했다. 카르복시화된 원섬유는 여과 수거하고  $100^\circ\text{C}$ , 5" 진공 하에서 하룻밤 동안 건조했다. 수율은 10.0g이었다.

HRP 고정된 원섬유의 제조

실시에 27의 방법을 사용하여 1,6-디아미노헥산으로부터 제조한 아미노 원섬유( $1.2\text{mg}$ )를 접합 완충액( $0.1\text{M NaHCO}_3$ , 0.9% NaCl, pH 9.5)에 첨가하고, 현탁액을 20분 동안 초음파처리했다. 그 다음, 원섬유를 에펜도르프 튜브에서 접합 완충액으로 2회 세척하고,  $430\mu\text{l}$  접합 완충액에 현탁시켰다. 현탁액  $50\mu\text{l}$  분량을  $50\mu\text{l}$  탈이온수에 용해된  $4.0\text{mg}$  활성 HRP (Pierce, Rockford, IL)와 혼합하고, 수득되는 현탁액을  $4^\circ\text{C}$ 에서 하룻밤 동안 회전시켰다. HRP 접합된 원섬유는 에펜도르프 원심분리관에서 다음과 같은 용액의 조합으로 철저히 세척했다; 접합 완충액, 세척 완충액( $20\text{mM KH}_2\text{PO}_4$ , 0.45% NaCl, pH 6.2), 0.03 내지 0.1% Triton X-100을 함유하는 세척 완충액 및 50% 에틸렌 글리콜을 함유하는 세척 완충액. 대조군으로서, 활성 HRP를 이용한 동일한 조작을 기본(비유도체화된) 원섬유를 가지고 수행한 결과, 아미노 원섬유에 대한 HRP의 부착은 실제로 특이적 공유 결합이었음을 나타냈다.

촉매 활성의 측정을 통한 특이적 고정화된 HRP의 정량분석

철저한 세척은 비특이적으로 결합된 효소의 대부분을 제거했다. 고정된 활성 HRP는  $\text{H}_2\text{O}_2$  및 발색성 기질 2,2'-아지노-비스(3-에틸벤즈티아졸린-6-설폰산), 이암노늄염(ABTS)을 사용하여 기질 변환율을 통해 정량분석했다. HRP의 촉매 활성은 기질로서  $100\mu\text{M H}_2\text{O}_2$ 와  $30\mu\text{M ABTS}$ 를 사용하여 414nm에서 분광분석으로 모니터했다. 이러한 예비 연구에서 아미노 원섬유에 결합된 효소의 총 함량은 원섬유 1g당  $0.0230\mu\text{mol}$  HRP였다. 비교용으로, 대조군(기본 원섬유)에는 원섬유 1g당  $0.0048\mu\text{mol}$  HRP가 비특이적으로 결합했다. 이를 제외하면, 공유(특이적으로) 부착된 HRP의 함량은  $0.0182\mu\text{mol}/\text{g}$ (원섬유)이었다.

**실시에 46**

**고정된 효소 억제제를 보유한 원섬유 상에서 알칼리 포스파타제(AP)와 β-갈락토시다제(βG)의 친화성 크로마토그래피 분리**

알칼리 포스파타제 억제제 원섬유의 제조

AP 억제제 변형된 원섬유의 제조는 문헌[Brenna et al.(1975), *Biochem J.*, 151:291-296]의 방법을 기초로 했다. 카르복시화된 원섬유는 이하 실시예 50에 기술된 바와 같이 NHS 에스테르 원섬유를 제조하는데 사용되었다. NHS 에스테르 원섬유(114mg)는 4ml 아세톤에 현탁시키고 10당량(원섬유 1g당 0.7meq NHS 에스테르라는 계산에 기초하여)의 티라민을 첨가했다. 무수 트리에틸아민(10당량)을 첨가하고, 이 혼합물을 실온에서 3시간 동안 교반했다. 티라미닐 원섬유를 소결 유리 깔대기에서 진공하에, 먼저 아세톤으로 세척하고, 그 다음 탈이온수로 철저히 세척했다.

4-(p-아미노페닐아조)-페닐아르손산(66mg)은 1N HCl 4ml에 현탁시켰다. 이 현탁액을 4℃까지 냉각시키고 0.5M NaNO<sub>2</sub> 0.36ml와 천천히 혼합했다. 15분 후, 아르손산/NaNO<sub>2</sub> 혼합물을, 0.1M NaCO<sub>3</sub>(pH 10.0) 10ml에 현탁시킨 티라미닐 원섬유에 첨가했다. 이 반응 혼합물(pH 약 10)을 하룻밤 동안 4℃에서 교반했다. 원섬유를 그 다음 용출물이 투명해질 때까지 0.1M Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(pH 10.0), 8M 구아니딘 HCl, 25mM NaOH 및 물로 순차 세척했다. AP-억제제 원섬유에 존재하는 비소의 원자 흡수 분석은 갈브레이스 래보러토리즈(Knoxville, TN)에서 수행하게 했다. 비소 1원자를 함유하는 측쇄를 보유한 AP 억제제 원섬유는 원자 흡수 분석 결과 임의의 비소 함량이 0.4%인 것으로 관찰되었다. 이는 계산된 초기 COOH 기의 약 10%가 이러한 다단계 합성에 따라 AP 억제제로 변환되었음을 나타낸다. 원섬유 표면적을 기초로 하면, 표면적 500Å<sup>2</sup>당 하나의 억제제 분자(효소 결합 부위)가 존재한다는 것을 의미한다.

β-갈락토시다제 억제제 원섬유의 제조

p-아미노-페닐-β-D-티오갈락토사이드(TPEG) 유도체화된 원섬유는 울만[Ullman, (1984) *Gene*, 29: 27-31]의 방법에 기초하여 제조했다. 탈이온수 0.2ml 중의 카르복시화된 원섬유 8mg에 TPEG 2.24mg을 첨가했다. 이 현탁액의 pH를 0.1M HCl로 4.0으로 조정하고, EDAC 15mg을 첨가했다. 이 혼합물을 pH 4.0, 실온에서 3시간 동안 교반했다. 에펜도르프 관에서 고속 원심분리하고 액체를 제거하여 반응을 정지시켰다. 탈이온수에 재현탁 및 원심분리를 반복하여 β-갈락토시다제 억제제 원섬유를 5회 세척했다.

친화성 분리

대장균 유래의 알칼리 포스파타제(AP)(타입 III; Sigma Chemical Co., St. Louis, MO) 및 β-갈락토시다제(βG)(대장균 유래; Calbiochem., La Jolla, CA)의 혼합물을 에펜도르프 미세원심분리기 관에 담긴 AP-억제제 원섬유 또는 βG 억제제 원섬유 상에서 회분식으로 분리했다. 친화성 분리를 위해, AP(일반적으로 약 10 유닛) 및 βG(일반적으로 약 280 유닛)를 모두 함유하는 적재 완충액(20mM Tris, 10mM MgCl, 1.6M NaCl, 10mM 시스테인, pH 7.4) 용액 1.0ml를 AP-억제제 원섬유 또는 βG 억제제 원섬유 0.8 내지 1.0mg에 첨가했다. 수득되는 현탁액을 부드럽게 볼텍싱한 후, 실온에서 2시간 동안 회전시켰다. 효소 결합 후, 원섬유를 탁상용 원심분리기로 순간 원심분리하여 원섬유를 침강시키고, 결합되지 않은 효소를 함유하는 액체상을 회수하여 효소 분석을 위해 보관해 두었다. 적재 완충액으로의 세척(7 x 1.0ml)은 반복된 완충액 첨가, 부드러운 볼텍싱, 15분 회전, 순간 원심분리 및 파스처 피펫으로의 용매 제거를 통해 실시했다. 7회 세척 후, βG 억제제 원섬유에 적당한 용출 완충액(100mM 붕산나트륨, 10mM 시스테인, pH 10.0) 또는 AP 억제제 원섬유에 적당한 용출 완충액(40mM NaHPO<sub>4</sub>, 10mM Tris, 1.0mM MgCl<sub>2</sub>, 0.1mM ZnCl<sub>2</sub>, pH 8.4)으로 동일한 조작을 반복 수행했다(5 x 1.0mL).

모든 분획(미결합된 효소, 세척물 및 용출물)을 AP 및 βG 활성에 대해 분석했다. 알칼리 포스파타제 활성은 500μM p-니트로-페닐포스페이트(PNPP)의 가수분해 속도를 410nm에서 분광분석적으로 모니터링하여 측정했다(Δε=18,000M<sup>-1</sup>cm<sup>-1</sup>). 알칼리 포스파타제 활성 측정은 10mM Tris, 1.0mM MgCl<sub>2</sub> 및 0.1mM ZnCl<sub>2</sub>(pH 8.4)에서 실시했다. β-갈락토시다제는 2-니트로-갈락토-β-D-피라노사이드(ONPG)를 가수분해하는 효소의 활성을 분광분석적으로 모니터링하여 측정했다. 5.0mM ONPG의 β-갈락토시다제 촉매된 가수분해의 초기 속도는 10mM Tris, 10mM MgCl<sub>2</sub>, 1.6M NaCl, 10mM 시스테인, pH 7.4에서 405nm(Δε=3500M<sup>-1</sup>cm<sup>-1</sup>)에서 측정했다.

AP 억제제 원섬유 및 βG 억제제 원섬유를 위해, AP 및 βG의 혼합물을 첨가했다. 특이적인 결합능의 측정을 용이하게 하기 위하여, 첨가된 효소의 농도는 고정된 억제제 농도보다 상당한 초과량으로 첨가했다. AP 억제제 원섬유에서는

0.550 $\mu$ mol AP/g 원섬유가 결합되었다(0.020  $\mu$ mol  $\beta$ G/g 원섬유의 비특이적 결합과 대조적으로).  $\beta$ G 억제제 원섬유에서는 결합능이 0.093 $\mu$ mol  $\beta$ G/g 원섬유(0.012 $\mu$ mol AP/g 원섬유인 비특이적 결합과 대조적으로)인 것으로 측정되었다. 친화성 크로마토그래피 실험의 결과는 도 9 및 도 10에 제시했다. AP 억제제 원섬유는  $\beta$ G에 인식할 수 있을 정도로 결합하지 않았지만, AP에는 결합했고, 이 AP는 40mM 인산염, 경쟁 억제제를 완충액에 첨가했을 때 특이적으로 용출되었다(도 9).  $\beta$ G로 유도체화된 원섬유는 상당량의 AP에 결합하지 않았지만  $\beta$ G에는 결합했고, 이  $\beta$ G는 효소-억제제 결합을 약화시키기 위해 pH를 상승시켰을 때 특이적으로 용출되었다(도 10). 이러한 결과는 억제제가 원섬유에 성공적으로 공유 부착되었고, 고정된 억제제가 큰 분자에 접근할 수 있으며, 억제제가 특정 효소 결합에 이용가능하며, 특이적으로 용출되었을 때 효소가 활성 상태를 유지한다는 것을 보여준다. 도 10에서 관찰되듯이,  $\beta$ G 억제제 원섬유로부터는  $\beta$ G가 지속적으로 침출되는 것으로 나타난다. 이와 같은 현상은 AP 억제제 원섬유의 경우에는 관찰되지 않았는 바(도 9), 원섬유의 단점이라기보다는 타고난 효소-억제제 친화성이 약하기 때문인 결과라고 생각된다.

## 2. 항체용 고체 지지체로서 작용기 부착된 나노튜브

항체는 작용기 부착된 나노튜브 위에 고정될 수 있고, 이러한 항체 나노튜브는 중량 기준의 높은 표면적, 전기 전도성 및 화학적 및 물리적 안정성으로 인해 많은 이용분야에서 독특한 장점을 나타낸다는 것이 밝혀졌다. 예를 들어, 항체 나노튜브는 분자 분리용 친화성 시약으로서 사용될 수 있다. 또한, 항체 나노튜브는 ECL계 면역분석법과 같은 진단 면역분석법을 비롯한 분석 용도에도 유용하다.

항체는 공유 결합 또는 비공유 흡착을 통해 고정될 수 있다. 공유적 고정화는 다음과 같은 다양한 방법에 의해 달성될 수 있다: 항체 탄수화물 기의 환원적 아민화, 카르복시화된 원섬유의 NHS 에스테르 활성화(상기 실시예 27 참조) 및 환원 또는 말레이미도 변형된 항체와 티올화 또는 말레이미도화 원섬유의 반응(상기 실시예 23 및 25 참조).

나노튜브에 항체를 부착시키는 최상의 방법은 이 복합체가 사용되는 용도에 따라 달라진다. 분리용인 경우에는 바람직한 방법은 비공유 흡착인데, 그 이유는 이 방법에서 단백질 결합능이 가장 높은 것으로 보이기 때문이다. 원섬유의 전기전도성이 중요할 수 있는 ECL을 수반하는 방법에서는 공유적 방법이 바람직할 수 있다(알킬 부가물은 약한 전기 전도체로서, 원섬유를 절연시킬 것으로 예상된다). 환원적 아민화는 항체를 원섬유에 공유 부착시키는데 최상의 방법일 수 있는데, 그 이유는 이 방법을 사용하면 항체의 결합 부위가 외측(원섬유 반대)으로 향하도록 항체가 정확하게 배향되기 때문이다.

## 3. 작용기 부착된 나노튜브에 NAD<sup>+</sup>의 첨가

NAD<sup>+</sup>와 같은 보조인자는 효소 보조인자에 결합하는 단백질의 생물특이적 친화성 크로마토그래피용 고체 지지체에 첨가되어 고체 지지체로서 사용될 수 있는 것으로 발견되었다. 예를 들어, NAD<sup>+</sup> 원섬유는 탈수소효소의 정제용 고체 지지체로서 사용되었다. 원섬유 이용의 주요 장점은 접근할 수 있는 표면적이 넓다는 점이다. 표면적이 넓은 친화성 기질은 잠재능이 많기 때문에 바람직하다. 원섬유는 컬럼이나 매트에 느슨하게 분산되어 있거나 고정되어 있을 수 있다.

### 실시예 47

#### NAD<sup>+</sup> 원섬유에서 탈수소효소의 친화성 크로마토그래피 분리

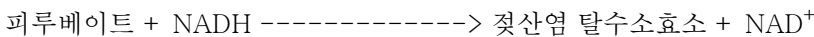
##### NAD<sup>+</sup>원섬유의 제조

원섬유는 실시예 14 및 15에 따라 산화하여 카르복시기를 도입시켰다. 원섬유(31mg)를 중탄산나트륨 용액(3ml, 0.2M, pH 8.6)에 현탁시킨 현탁액에 N<sup>6</sup>-[아미노헥실]카르바모일메틸)-니코틴아미드 아데닌 디뉴클레오타이드 리튬 염 용액(5ml 중탄산나트륨 용액 중에 Sigma 제품 25mg)을 첨가했다. 이 반응 혼합물을 실온에서 하룻밤 동안 교반했다. 산물인 원섬유를 물, N,N-디메틸포름아미드 및 메탄올로 충분히 세척했다. 원소 분석 데이터에서는 산물인 원섬유가 질소 분석 시 원섬유 1g당 NAD 분자 130mmol을 함유하고, 인 분석 시 원섬유 1g당 NAD 분자 147mmol을 함유한다는 것을 보여주었다. 아미노기로 종결되는 링커를 보유한 다른 NAD<sup>+</sup> 유사체도 NAD<sup>+</sup> 원섬유를 제조하는데 사용될 수 있다.

##### 친화성 분리

NAD<sup>+</sup> 고정된 원섬유(0.26mg) 및 기본 원섬유(0.37mg)를 인산나트륨(1ml, 0.1M, pH7.1) 중의 0.1% 폴리에틸렌 글리콜 (PEG, MW1000)과 함께 40°C에서 30분 동안 초음파처리한 후, 40°C에서 30분 동안 항온배양했다. 이 원섬유 현탁액을 원심분리하고 상청액을 제거했다. 원섬유를 0.1% PEG(1000) 인산나트륨 완충액 중의 L-젖산염 탈수소효소(LDH) 혼합물(250 $\mu$ l, LDH 용액 대 0.1% PEG 완충액의 비는 1:1이다)과 4°C에서 90분 동안 항온처리했다. 그 다음, 이 혼합물을 실온에서 30분 동안 평형화했다. LDH와 원섬유의 항온처리 후, 원섬유를 인산나트륨 완충액 중의 0.1% PEG(1000)(5X 1000 $\mu$ l)로 세척하고, 세척마다 회전을 15분간 실시했다. LDH는 0.1% PEG(1000) 인산나트륨 완충액 중의 5mM NADH 용액(5mM 3X 1000 $\mu$ l)으로 용출시켰다. 각 용출 동안 원섬유는 15분 동안 회전시켰다. 용출물 중의 LDH 활성은 피루베이트 환원 동안에 340nm의 흡광도 변화를 측정하여 분석했다. 분석 혼합물은 인산나트륨 완충액 중의 0.1% PEG(1000) (980 $\mu$ l), 피루베이트(3.3 $\mu$ l, 100mM 스톡 용액) 및 각 용출 분획(16.7 $\mu$ l)을 함유했다. 효소 반응은 다음과 같다:

LDH



분석 결과, NAD<sup>+</sup> 고정된 원섬유 상에서의 LDH의 능력은 원섬유 1g당 484nmol이고, 기본 원섬유(대조군) 상에서의 LDH의 능력은 원섬유 1g당 3.68nmol인 것으로 나타났다. LDH의 비특이적 결합은 5.6%였다.

**4. 단백질 합성용 고체 지지체로서 작용기 부착된 나노튜브**

**실시예 48**

**펩타이드 합성용 고체 지지체로서 작용기 부착된 원섬유의 용도**

염화메틸렌(20ml)에 아미노 원섬유(400mg)와 4-(하이드록시메틸)페녹시아세트산 현탁액(255mg, 1.4mmol)을 첨가한 혼합물에 1-에틸-3-(3-디메틸아미노프로필)카르보다이미드(EDC, 268mg, 1.40mmol) 및 1-하이드록시벤조트리아졸 수화물(HOBT, 189mg, 1.4mmol)을 첨가했다. 이 반응 혼합물을 아르곤 가스 하에서 실온에서 하룻밤 동안 교반했다. 산물인 원섬유를 염화메틸렌, 메탄올 및 물로 충분히 세척한 뒤, 진공 건조하여 원섬유를 수득했다. 이 원섬유를 N,N-디메틸 포름아미드(DMF, 2ml)와 염화메틸렌(8ml)에 현탁시킨 현탁액에 N-(9-플루오레닐메톡시카르보닐)-O-부틸-L-세린 (215mg, 0.56mmol), 1,3-디시클로헥실카르보다이미드(DCC, 115mg, 0.56mmol) 및 4-디메틸아미노피리딘(DMAP, 3.4mg, 0.028mmol)을 첨가했다. 이 반응 혼합물을 실온에서 하룻밤 동안 교반하고, 산물인 원섬유를 DMF 중의 20% 피페리딘으로 처리했다(5X 40ml, 각 처리마다 1분간 침지시켰다). 산물인 원섬유를 DMF, 물, 수산화나트륨(1N), 메탄올 및 염화메틸렌으로 충분히 세척했다. 산물인 Fib-Handle-Ser(O<sup>+</sup>)-COOH(닌하이드린 검사는 양성이었다)는 진공 건조했다. 디펩타이드의 합성을 위해, 동일한 절차를 반복하여 아르기닌을 첨가했다. Fib-Handle-Ser(O<sup>+</sup>)-Arg(N<sup>ε</sup>-2,2,5,7,8-펜타메틸크로만-6-설포닐)의 아미노산 분석 데이터는, 원섬유 1g당 세린 6.5 $\mu$ mol 및 아르기닌 7.6 $\mu$ mol이 함유되어 있음을 보여주었다. 임의의 다른 펩타이드도 동일한 방법으로 제조할 수 있다.

**5. 비오틴화된 원섬유 및 비오틴화된 알킬 원섬유**

원섬유 표면은 비오틴화 또는 알킬화 및 비오틴화에 의해 작용기 부착될 수 있는 것으로 밝혀졌다. 이러한 변형을 함유한 원섬유는 그 후 스트렙타비딘 비드 및 스트렙타비딘 효소와 같은 임의의 스트렙타비딘 접합된 물질에 결합할 수 있다.

원섬유는 표면적이 넓기 때문에 고체 담체로서 매우 유용한 장점을 제공한다. 강한 자성을 띠게 제조될 수 있는 비드는 분리 분석용으로 매우 유용하다. 본 명세서에 기술된 비오틴화된 원섬유는 원섬유의 장점과 비드의 장점을 결합시킨 것이다. 비오틴화된 알킬 원섬유는 알킬 원섬유와 동일한 개념의 연장체이지만, 추가 단백질 흡착성을 나타내는 것이다.

스트렙타비딘 및 비오틴 코팅된 원섬유는 진단학에 사용될 수 있고, 전기화학발광 분석법과 같은 분석에서 포획제 (capture agent)로 사용될 수 있다.

본 발명의 신규 특징은 하나의 원섬유 상에 2개의 고체 담체를 조합하여 만든 이작용기성 원섬유이다. 더욱이, 게시된 방법은 비드의 표면적을 증가시키고 원섬유 자성을 증대시킨다.



**실시예 49****비오틴화된 원섬유의 제조**

비오틴화된 원섬유는 실시예 16에 기술된 바와 같이 제조한 아미노 원섬유 2.4mg과 NHS 에스테르 장쇄 비오틴 9mg을 pH 8.15의 0.2M NaHCO<sub>3</sub> 완충액에서 혼합하여 제조했다. 이 혼합물을 실온에서 4시간 동안 회전시키고 동일한 완충액으로 2회 세척했다.

**실시예 50****비오틴화된 알킬 원섬유의 제조**

비오틴화된 알킬 원섬유는 2단계 반응으로 제조했다. 먼저, 이작용기성 원섬유(아미노 및 카르복시를 모두 함유하는) 4.25mg과 NHS 에스테르 장쇄 비오틴 25mg을 혼합했다. 이 원섬유를 세척하고 진공 건조했다.

제2 반응은 EDC(1-에틸-3,3-디메틸아미노프로필)카르보디이미드) 11mg을 DMAP(4-디메틸아미노피리딘) 7.5mg 및 DMF 0.5ml중의 NH<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>7</sub>CH<sub>3</sub> 10 $\mu$ l와 혼합하여 실시했다. 이 혼합물을 실온에서 하룻밤 동안 교반했다. 최종 비오틴화된 알킬 원섬유는 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, MeOH 및 dH<sub>2</sub>O로 세척했다.

**실시예 51****분석법에서 고체 지지체로서의 비오틴화된 원섬유**

비오틴화된 원섬유는 스트렙타비딘-비오틴 또는 아비딘-비오틴 상호작용을 필요로 하는 형식을 수반하는 분석법에 사용될 수 있다. 비오틴화된 원섬유는 예를 들어 스트렙타비딘에 의해 추가 유도체화될 수 있다. 원섬유에 공유결합된 비오틴(실시예 50 참조)은 스트렙타비딘과 강한 비공유 결합 상호작용을 형성할 수 있다. 스트렙타비딘은 4개의 동등한 결합 부위를 보유한 4량체 단백질이기 때문에, 비오틴화된 원섬유에 결합된 스트렙타비딘은 추가 비오틴화된 시약이 결합할 수 있는 비어있는 결합 부위를 갖고 있을 것이 거의 확실하다. 즉, 비오틴화된 원섬유는 스트렙타비딘 코팅된 원섬유로 변환될 수 있을 것이다.

이러한 원섬유-비오틴-스트렙타비딘(FBS) 지지체로 수행될 수 있는 분석 검사에는 다수가 있다. 예를 들어, 비오틴화된 항피분석물 항체는 FBS 지지체 상에 포획될 수 있다(항체가 피분석물에 결합하기 전 또는 후에). 비오틴화된 항피분석물 항체를 이용한 분석법은 매우 잘 확립되어 있다. 이러한 분석법에는 당해의 피분석물이 항피분석물 항체에 대한 결합성에서 표지된 피분석물과 경쟁하는 경쟁 분석법이 있다. 자유(미결합) 피분석물 및 자유(미결합) 표지된 피분석물은 항체 고정된 원섬유로부터 세척될 수 있다. 세척 단계는 원심분리, 여과를 수반하는 일반적인 실험이나 또는 자석에 대한 인력을 통해 용액상으로부터 물리적으로 분리되는 원섬유에 따라 달라진다.

경쟁 분석외에도, 샌드위치형 면역분석법이 FBS 지지체 상에서 수행될 수 있다. 샌드위치 면역분석법은 진단학 분야에 공지되어 있다. 이 분석법은 2개의 항체, 즉 예를 들어 비오틴에 의해 표지되어 고체 표면 상에 포획되어 있는 "1차 항체" 및 고체 표면에 포획되어 있지 않지만 리포터(reporter) 기로 표지되어 있는 "2차" 항체로 동시에 결합되어 있는 피분석물을 수반한다. 이러한 샌드위치 분석법은 고체 포획 지지체로서 원섬유를 이용하여 수행할 수 있으며, 여기서 원섬유는 앞 문단에 기술된 바와 같이 포획된다. 이러한 분석법에 따르면, 원섬유는 비오틴에 공유결합될 것이며, 상기 비오틴은 스트렙타비딘에 결합되고, 이 스트렙타비딘은 다시 비오틴화된 1차 항체에 결합되며, 이 항체는 피분석물(존재하는 경우)에 결합되고, 이 피분석물은 표지된 2차 항체에 결합될 것이다.

이와 유사한 것으로서, DNA 프로브 분석법도 FBS 지지체를 사용하여 수행할 수 있다. 비오틴화된 일본쇄 DNA는 FBS 지지체에 결합될 수 있고, 상보적 일본쇄 피분석물 DNA 분자와 상보적 표지된 올리고뉴클레오타이드 사이에서 경쟁적 하이브리드화가 일어날 수 있다.

다른 유형의 비오틴화된 원섬유인 비오틴화된 알킬화 원섬유도 면역분석법 및 DNA 프로브 분석법에 사용될 수 있다. 실시예 51에 기술된 바와 같이, 이작용기성 원섬유는 한 종류의 작용기에는 비오틴을, 다른 종류의 작용기에는 알킬 사슬을 공유 부착시켜 변형시킬 수 있다. 수득되는 알킬화, 비오틴화된 원섬유는 스트렙타비딘 또는 아비딘과의 특이적 결합(비오틴을 통해)뿐만 아니라 단백질의 흡착(알킬 사슬을 통해)용으로 사용될 수 있다.

알킬 원섬유는 다른 고체 지지체, 예컨대 스트렙타비딘 코팅된 자성 비드와 함께 사용될 수 있다. 이러한 비드 상의 원섬유가 보유한 1가지 장점은 표면적(단위 중량 기준)이 더 넓다는 점이다. 즉, 원섬유가 자성 비드의 외측 표면에 부착될 수 있다면, 이는 표면적의 급격한 증대와 이에 따른 비드의 결합능의 증대를 초래할 수 있다. 따라서, 알킬화, 비오틴화된 원섬유는 스트렙타비딘 코팅된 비드와 혼합되어 높은 친화성 스트렙타비딘(비드)-비오틴(원섬유) 상호작용을 생성할 수 있고, 이에 따라 표면적이 매우 큰 원섬유 코팅된 비드를 생성할 것으로 전망된다. 알킬 원섬유는 흡착에 의해 단백질에 결합할 수 있기 때문에, 원섬유 코팅된 비드는 스트렙타비딘 및 항체를 비롯한 흡착 단백질에 의해 추가 유도체화될 수 있다. 전술한 바와 같이, 스트렙타비딘 또는 항체 코팅된 원섬유는 면역분석법 및 DNA 프로브 분석법에 사용될 수 있다. 즉, 원섬유 코팅된 비드는 소정의 분석법에서 동일한 결과를 제공하는데 필요한 비드의 수가 더 적어도 되도록, 표면적을 극적으로 증가시켜 비드의 성질을 개선시킬 수 있다.

### 6. 3차원 구조

산화된 원섬유는 산화되지 않은 원섬유보다 수성 매질에 더욱 용이하게 분산된다. 중간소공 및 거대소공(소공 >2nm)을 보유한 안정된 다공성 3차원 구조는 촉매 또는 크로마토그래피 지지체로서 매우 유용하다. 원섬유는 개별적 기준에 따라서 분산될 수 있기 때문에, 가교결합에 의해 안정화된 잘 분산된 시료는 상기 지지체의 작제에 사용될 수 있을 것이다. 작용기 부착된 원섬유는 이러한 용도에 이상적인데, 그 이유는 수성 또는 극성 매질에 쉽게 분산되고, 작용기가 가교점을 제공하기 때문이다. 또한, 작용기는 촉매 또는 크로마토그래피 부위를 지지하는 지점을 제공한다. 최종 결과는 활성제를 지지하는 작용기 부위가 접근할 수 있는 총 표면적을 보유한 강성 3차원 구조물이다.

촉매작용에서 이러한 지지체의 전형적인 용도에는 함침에 의해 적재된 금속 촉매, 예컨대 귀금속 수소화 촉매용의 고도 다공성 지지체로서의 용도가 있다. 더욱이, 구조물의 매우 높은 다공성과 함께 작용기를 통해 분자 촉매를 지지체에 결속시켜 고정시키는 능력은 불균일 방식에서 균일한 반응을 수행할 수 있게 한다. 결속된 분자 촉매는 균일 반응에 부수적인 선택성 및 속도의 장점을 이용할 수 있다는 점에서, 균일 반응기와 유사하게 연속 액체상에 분질적으로 매달려있다. 하지만, 고체 지지체에 결속되어 있어서, 활성 성분 및 대부분의 경우 매우 값비싼 촉매의 분리 및 회수를 용이하게 할 수 있다.

이러한 안정된 강성 구조물은 또한 지지체에 적당한 거울상이성질체 촉매 또는 선택적인 기질을 부착시킴으로써 비대칭 합성 또는 친화성 크로마토그래피와 같은 지금까지 매우 어려웠던 반응들을 수행할 수 있게 한다. 또한, 금속-Pc 또는 금속-포피린 복합체를 통한 유도체화는 금속 이온에 결합된 리간드, 및 추가로 2차 유도체를 통해 리간드에 결합된 임의의 분자를 회수할 수 있게 한다. 예를 들어, 작용기 부착된 원섬유의 3차원 구조가 전극 또는 전극의 일부이고, 작용기화가 Co(II)Pc의 흡착에 의해 이루어진 경우에, 니코틴산의 존재 하에서 Co(II)의 Co(III)으로의 전기화학적 산화는 측기인 카르복시산과 비불안정성 Co(III)-피리딘 복합체를 생성할 것이다. 적당한 항원, 항체, 촉매 항체 또는 다른 부위 특이적 포착제(trapping agent)의 부착은 다른 방식으로 달성하기 매우 어려운 분자를 선택적으로 분리(친화성 크로마토그래피)할 수 있게 할 것이다. 흡착된 물질을 제거하기 위하여 전극을 세척한 후, 표적 분자를 함유하는 Co(III) 복합체는 전기화학적으로 환원하여 불안정성 Co(II) 복합체를 회수할 수 있다. 표적 분자를 함유하는 Co(II) 상의 리간드는 그 다음 불안정성 Co(II) 리간드의 질량 작용 치환에 의해 회수될 수 있고, 이로써 다른 방식으로 수행하기가 매우 어렵거나 비용이 많이 드는 분자(예컨대, 키랄 약물)의 분리 및 회수를 실시할 수 있다.

종래에는 작용기 부착된 탄소 원섬유 매트 내의 소공이 유의적인 흐름을 전달하기에는 너무 작아서, 전극을 통한 흐름에는 유용하지 않은 것으로 생각되었다. 또한, 미립자 탄소 또는 다른 탄소계 소재(예컨대, 망상 유리질 탄소(RVC))를 전극 소재로서 사용 시, 관련된 문제점도 있었다. 예를 들어, 다공성 전극 소재는 동일계에서 형성될 수 없고, 지나치게 치밀하게 충전되며 공극 또는 채널(channel)을 형성했으며, 용매 및 흐름 조건의 변화 동안에 치수 불안정성을 나타내기 쉽고 매우 얇은 전극을 형성할 수 없었다. 흐름 전지(flow cell)의 전극으로서 작용기 부착된 탄소 원섬유의 사용은 이러한 문제점을 해결했다.

흐름 전지의 전극으로서 사용된 작용기 부착된 탄소 원섬유는 전기활성제로의 표면 처리에 의해 변형될 수 있다. 또한, 이러한 원섬유는 촉매 또는 전기촉매적 기능을 하거나 또는 흐름류로부터 물질의 흡착이나 불필요한 반응을 억제하는데 사용되는 비전기활성 물질로도 변형될 수 있다.

전극을 통한 이러한 흐름은 전기크로마토그래피, 전기화학적으로 개조된 친화성 크로마토그래피, 전기합성 또는 전기화학적으로 개조된 이온 교환 크로마토그래피와 같은 분리 기술에 유용하다. 또한, 탄소 원섬유 매트 상에 포착된 물질의 분리 및/또는 분석을 수행하는 진단 장치에도 사용될 수 있다.

작용기 부착된 탄소 원섬유 및 다른 섬유 또는 미립자로 구성된 복합 매트도 사용될 수 있다. 이러한 섬유 또는 미립자는 현탁액에 첨가되어 탄소 원섬유 매트의 최종 다공성 또는 전도성을 변경시킬 수 있다.

## 실시예 52

### 흐름 전지의 전극으로서 철 프탈로시아닌 작용기 부착된 원섬유의 용도

흑연 원섬유는 철(III) 프탈로시아닌-비스-피리딘(FePc-2Py)(Aldrich, 41,016-0)을 흡착시켜 변형시켰다. 원섬유 0.403g과 FePc-2Py 0.130g을 무수 에탄올 150ml에 첨가하고, 450와트 Branson 프로브 초음파처리기로 5분 동안 초음파처리했다. 수득되는 슬러리를 47mm 밀리포어 막 진공 필터 매니폴드의 0.45 $\mu$ m MSI 나일론 필터 위로 여과하고, 물로 세정한 뒤, 35°C에서 하룻밤 동안 진공 오븐에서 건조했다. 최종 중량은 0.528g이었고, 이것은 상당한 흡착을 나타냈다. 여과액의 분광분석으로 남은 FeP-2Py를 계산했다.

FePc-2Py 변형된 원섬유 5mg을 탈이온수 10ml에서 초음파처리로 분산시켰다. 이 분산액을 25mm 막 필터 패니폴드에 고정된 200메쉬 스테인리스강(SS) 직조 스크린 조각 위에 침착시키고, 실온에서 건조시켰다. 0.5인치 직경의 SS 스크린 원반에 지지된 원섬유 매트를 아치 펀치를 사용하여 절단했다.

전기화학적 흐름 전지는 13mm 직경의 원반형 금 메쉬(400메쉬, Ladd Industries)를 막 지지체 위에 놓고, 3 전극 일정전위기 회로의 작업 전극으로서 외부 접속을 위한 필터 홀더의 벽을 통해 유입된 Teflon® 열수축 관류로 절연된, 백금 선으로 스크린에 전기 접촉을 만들어, 13mm 플라스틱 스위니(Swinney) 타입 막 필터 홀더로 제작했다. 이러한 금 메쉬는 외측 가장자리 주위에 있는 최소량의 에폭시를 사용하여 제 위치에 고정되었다. 금박의 스트립을 고리로 만들어 필터 홀더의 바닥 하류 구역에 놓고 3전극 일정전위기 회로의 상대 전극으로서 접속시키기 위한 절연된 Pt선 납에 접속시켰다. 1M HCl에서 전기화학적으로 산화된 0.5mm 직경의 은 전선 고리를 대조 전극으로서 접속시키기 위해 절연 납으로 필터 홀더의 상단에 설치했다.

0.5인치 직경의 원반형 FePc-2Py 변형된 CN을 흐름 전지에 설치한 뒤, EG&G PAR 273 일정전위기의 적당한 납에 접속시켰다. 이 흐름 전지는, pH 7.0인 0.1M 인산칼륨 완충액 중의 0.1M KCl이 충전된 세이지(Sage) 실린지 펌프에 연결시켰다. 순환전압전류도(CV)는 20mv/sec의 전위 스캔 속도에서 무흐름(정지) 및 흐름(0.4ml/min) 하에서 기록했다(도 6 참조). CV는 흐름 중 및 무흐름 하에서 거의 동일했고, 표면에 한정된 FePc-2Py와 일치하는 2개의 지속적인 가역성 산화 및 환원파를 나타냈다. 유체 흐름 조건 하에서 산화환원 피크의 지속은 FePc-2Py가 탄소 원섬유에 강하게 결합되었고, 철 프탈로시아닌 변형된 원섬유의 이용이 전극 소재를 통한 흐름에 양호하게 기능하는 것을 증명한다.

3차원 구조의 또 다른 예는 원섬유-세라믹 복합체이다.

## 실시예 53

### 알루미나-원섬유 복합체(185-02-01)의 제조

질산 산화된 원섬유(185-01-02) 1g을 U/S 분쇄기를 사용하여 100c 탈이온수에 고도로 분산시켰다. 이 원섬유 슬러리를 90°C까지 가열하고, 20cc 프로판올 중에 용해된 0.04mol 삼부특시화알루미늄 용액을 천천히 첨가했다. 환류를 4시간 동안 지속한 후, 알콜 배출을 위해 응축기를 떼어냈다. 30분 후, 다시 응축기를 장착하고 슬러리를 100°C에서 하룻밤 동안 환류시켰다. 그 결과, 외관이 균일한 흑색 졸이 수득되었다. 이 졸을 RT까지 냉각하고, 1주 후 표면이 평활한 흑색 겔이 형성되었다. 이 겔을 공기 중에서 300°C로 12시간 동안 가열했다.

알루미나-원섬유 복합체를 SEM으로 조사했다. 균열된 표면의 현미경사진은 겔에 원섬유가 균일하게 분산된 것을 보여주었다.

## 실시예 54

**실리카-원섬유 복합체(173-85-03)의 제조**

질산 산화된 원섬유(173-83-03) 2g을 초음파를 사용하여 200c 에탄올 상에 고도로 분산시켰다. 이러한 슬러리에, 0.1mol 테트라에톡시실란을 50cc 에탄올에 용해시킨 용액을 실온에서 서서히 첨가한 후, 3cc 농염산을 첨가했다. 이 혼합물을 85℃까지 가열하고, 부피가 100cc로 감소될 때까지 이 온도에서 유지시켰다. 이 혼합물을 냉각하고 흑색 고체 겔이 형성될 때까지 방치했다. 이 겔은 300℃ 공기중에서 가열했다.

실리카-원섬유 복합체는 SEM으로 조사했다. 균열된 표면의 현미경사진은 겔에 원섬유가 균일하게 분산된 것을 보여주었다.

다른 세라믹, 예컨대 지르코니아, 티타니아, 희토 산화물 뿐만 아니라 3원 산화물을 가지고 유사 제조물도 제조할 수 있다.

**7. 중합체 비드 위에 흑연 나노튜브의 병합**

Dynal 등에 의해 제조된 것과 같은 중합체 비드, 특히 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 코어를 함유한 자성 중합체 비드는 진단학에서 다양한 용도로 사용된다. 하지만, 이러한 비드는 이용가능한 표면적이 나노튜브보다 작다. 이러한 비드의 표면 위에 작용기 부착된 원섬유를 병합할 수 있고, 이러한 중합체/원섬유 복합체는 분리 또는 분석용 고체 지지체로서 사용될 수 있다(예컨대, 전기화학발광 분석, 효소 고정화용).

**실시예 55**

**작용기 부착된 비드에 작용기 부착된 원섬유의 부착**

자성 토실 활성화된 Dynabeads M-450(30mg/ml) 비드(Dynal, Oslo, Norway) 7.5mg을 0.1M 인산나트륨 완충액 pH 7.5로 3회 세척했다. 그 다음, 이 비드에 0.1M 인산나트륨 완충액(pH 8.4) 0.9ml를 첨가하고, 아민 원섬유 0.1ml를 첨가했다. 이 혼합물을 실온에서 16 내지 24시간 동안 회전시켰다.

현미경 조사 시, 원섬유 표면에 비드를 보유한 원섬유 덩어리가 분명히 보였다.

당업자라면, 앞의 실시예 1 내지 55에 게시된 임의의 방법을 통상의 실험에 따라 직경이 5 나노미터 미만인 단일벽 탄소 나노튜브를 가지고 반복함으로써 원하는 작용기화 결과를 획득할 수 있음을 잘 알 것이다.

**실시예 56**

**메틸렌 블루 흡수 증명**

SWNT(University of Kentucky)를 임의의 금속 불순물을 제거하기 위하여 6M HCl로 72시간 동안 처리했다. 산 세척된 나노튜브를 초음파처리로 탈이온수에 분산시키고 여과했다. 이 처리를 4회 반복하여 중성 pH까지 세정했다.

이러한 SWNT를 탈이온수에 재현탁시키고 초음파처리로 분산시켰다. 2X 연속 희석물을 8개의 PP 원심분리관에 만들었다. 메틸렌블루 용액을 일정량 첨가하고, 이 원심분리관을 회전기 상에 놓고 4시간 동안 진탕시켰다. 이 원심분리관을 4분 동안 원심분리하여, 그 관의 바닥에 펠릿화된 SWNT를 수득했다. SWNT가 최고 농도인 관은 여과액이 투명했고, SWNT 농도가 가장 낮은 2개의 관은 대조군 MB 용액과 색이 유사했다. SWNT 농도가 중간인 6개의 관은 농도가 감소함에 따라 청색이 증가했다.

**철 프탈로시아닌 흡수 증명**

SWNT(University of Kentucky)를 임의의 금속 불순물을 제거하기 위하여 6M HCl로 72시간 동안 처리했다. 산 세척된 나노튜브를 초음파처리로 탈이온수에 분산시키고 여과했다. 이 처리를 4회 반복하여 중성 pH까지 세정했다.

철 프탈로시아닌-비스 피리딘(FePc-2Py) 7mg을 40ml 에탄올에 초음파처리로 용해시켰다. SWNT 22mg을 첨가하고 5분 동안 초음파처리를 지속했다. 용액을 냉각하고 초음파처리를 반복했다. 고온 용액을 0.45미크론 PVDF 막위로 건조 상태로 여과하고, 새로운 EtOH로 세정했다. 건조할 때까지 여과했다. 건조 중량 = 27mg. FePc-2Py 5mg이 SWNT 상에 흡착되었다.

SWNT/FePC 부착된 필터 막을 탈이온수 40ml에 첨가하고 초음파처리하여 막으로부터 SWNT를 해리시켰다. 현탁액으로부터 막을 제거하고 와트만 #42 필터지 20mg을 첨가했다. SWNT의 결합체로서 작용하도록 WH42 지를 펄프화하기 위하여 고전력(40% 작업량 주기) 하에 2x5'간 초음파처리했다. 현탁된 물질을 0.45 미크론 PVDF 필터 상에 여과하고 탈이온수로 3X 세척했다. 건조할 때까지 여과했다. 150°C 핫플레이트 상에서 1시간 동안 건조했다. 건조된 SWNT/WH42 매트 는 막으로부터 순수 매트(36mm 직경; 약 25 미크론 두께)로서 분리되었다. 시트 비저항은 1500ohm/면적으로 측정되었다. 매트 의 최종 중량은 45mg; WH42 성분의 중량 = 20mg; SWNT wt=22mg; FePc-2Py wt는 SWNT의 표면 위에 흡착된 5mg인 것으로 추정되었다.

### SWNT 위에 흡착된 FePc-2Py의 전기화학

전극은 집전장치로서 사용하기 위하여 400x400 메쉬 SS 메쉬 사이에 매트 구역을 압착하여 제작했다. SS 메쉬의 한 가장자리는 유리 피펫에 삽입된 Cu 전선에 부착시켰다. 임의의 노출된 Cu는 에폭시로 절연시켰다. 이 전극을 5 minute 에폭시를 경화시키기 위하여 100°C에서 1시간 동안 가열했다.

전극은 SS 메쉬 상대 전극 및 Ag/AgCl 기준 전극에 대한 순환전압전류도로 검사했다. 전해질은 등장성 붕산염 완충 식염수를 사용했다. 2개의 피크가 관찰되었는데, 하나는 0.04 부근에서 관찰되었지만, 이는 H2 방출 전류로 인해 불분명했다. 제2 피크는 약 +0.1V vs Ag/AgCl를 중심으로 하여 나타났다. +0.1V vs Ag/AgCl을 중심으로 한 피크의 최고 전류는 스캔 속도에 따라 직선형이었고, 이는 표면에 한정된 전기활성제와 일치했다. 이러한 순환전압전류도 기록은 반복되었고, 이로써 FePc-2PY가 전극에 강하게 한정되어 있고 전해질로 유실되지 않음이 입증되었다.

앞의 상세한 설명과 실시예를 통해 예시한 바와 같이, 본 발명은 다양한 작용기 부착된 나노튜브의 제조 및 이의 용도에 이 용가능하다.

사용된 용어 및 표현은 한정이 아닌 설명을 위해 사용된 것이며, 이러한 용어 또는 표현의 사용이 본 발명의 일부로서 제시되어 설명된 특징들의 임의의 등가물을 제외하기 위한 의도는 전혀 없으며, 따라서 본 발명의 범위 내에서 다양한 변형이 가능하다는 것을 잘 알고 있어야 한다.

### **도면의 간단한 설명**

도 1은 기본 원섬유, 카르복시 원섬유 및 PEG 변형된 원섬유에 대한 BSA 결합성을 분석한 결과를 도시한 그래프이다.

도 2는 카르복시 원섬유 및 2가지 다른 방법으로 제조한 PEG 변형된 원섬유에 대한 β-락토글로불린 결합성을 분석한 결과를 도시한 그래프이다.

도 3은 3차 아민 원섬유 컬럼에서의 소 혈청 알부민(BSA)의 용출 프로필을 도시한 그래프이다.

도 4는 4차 아민 원섬유 컬럼에서의 BSA의 용출 프로필을 도시한 그래프이다.

도 5는 리신계 덴드리머형 원섬유를 제조하는 반응 순서이다.

도 6은 흐름 전지에서 철 프탈로시아닌 변형된 원섬유의 용도를 입증한 순환전압전류도 그래프이다.

도 7은 N<sub>ε</sub>-(tert-부톡시카르보닐)-L-리신을 첨가하여 이작용기성 원섬유를 제조하는 반응 순서를 도시한 것이다.

도 8은 원섬유에 고정된 리파제를 이용하여 에틸 부티레이트를 합성한 결과를 도시한 그래프이다.

도 9는 AP 억제제 변형된 원섬유를 이용하여 AP와 β-갈락토시다제(βG)의 혼합물로부터 알칼리성 포스파타제(AP)를 분리한 결과를 도시한 그래프이다.

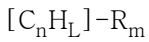
도 10은 βG 변형된 원섬유를 이용하여 AP와 βG의 혼합물로부터 βG를 분리한 결과를 도시한 그래프이다.

도 11은 단일벽 탄소 나노튜브를 생산할 수 있는 반응기를 도시한 것이다.

도 12는 도 11에 도시된 반응기의 기화기 구성부재를 도시한 것이다.

**발명의 상세한 설명**

본 발명은 일반적으로 하기 화학식으로 표시되는 합성물에 관한 것이다:



이 식에서, n은 정수이고, L은 0.1n 미만의 수이며, m은 0.5n 미만의 수이고,

R은 각각 동일한 것으로서, SO<sub>3</sub>H, COOH, NH<sub>2</sub>, OH, R'CHOH, CHO, CN, COCl, 할라이드, COSH, SH, COOR', SR', SiR'<sub>3</sub>, Si-(OR')<sub>y</sub>-R'<sub>3-y</sub>, Si-(O-SiR'<sub>2</sub>)-OR', R'', Li, AlR'<sub>2</sub>, Hg-X, TiZ<sub>2</sub> 및 Mg-X 중에서 선택되며,

y는 3 이하의 정수이고,

R'는 수소, 알킬, 아릴, 시클로알킬, 아르알킬, 시클로아릴 또는 폴리(알킬에테르)이며,

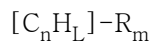
R''는 플루오로알킬, 플루오로아릴, 플루오로시클로알킬, 플루오로아르알킬 또는 시클로아릴이고,

X는 할라이드이고,

Z는 카르복실레이트 또는 트리플루오로아세테이트이다.

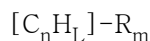
탄소 원자, C<sub>n</sub>은 직경이 실질적으로 일정한, 실질적으로 원기둥형인 흑연 나노튜브의 표면 탄소이다. 이러한 나노튜브는 길이 대 직경 비가 5보다 크고, 직경이 0.5μ 미만, 바람직하게는 0.1μ 미만인 것이다. 또한, 상기 나노튜브는 열분해 침착된 탄소가 실질적으로 없는, 실질적으로 원기둥형인 흑연 나노튜브일 수 있고, 더욱 바람직하게는 적어도 2개의 원섬유 직경 거리만큼 전개된 원섬유 축 상의 흑연 층 돌출부를 보유하고(하거나) c축이 원기둥 축에 실질적으로 수직인 원기둥형 흑연 시트를 보유하는 것을 특징으로 하는 나노튜브일 수 있다. 바람직한 양태에 따르면, 탄소 원자 C<sub>n</sub>은 직경이 실질적으로 일정하거나 또는 직경이 5 나노미터 미만인 실질적으로 원기둥형의 단일벽 탄소 나노튜브의 표면 탄소이다. 가장 바람직하게는, 탄소 원자 C<sub>n</sub>은 직경이 5 나노미터 미만인 단일벽 탄소 나노튜브의 표면 원자이다. 이러한 합성물은 각 R이 동일하다는 점에서 균일하다.

불균일하게 치환된 나노튜브도 제조된다. 이러한 나노튜브에는 하기 화학식으로 표시되는 합성물이 포함된다:



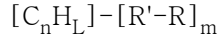
이 식에서, n, L, m, R 및 나노튜브 자체는 전술한 바와 같지만, 단 각 R이 산소를 함유하지 않거나, 또는 각 R이 산소 함유기인 경우에는 COOH가 아닌 것이어야 한다.

하기 화학식으로 표시되는 작용기 부착된 나노튜브도 본 발명에 포함된다:



이 식에서, n, L, m 및 R은 전술한 바와 같은 의미이고, 탄소 원자는 길이 대 직경 비가 5보다 큰 어골형(fishbone) 원섬유의 표면 탄소원자이거나 또는 직경이 5 나노미터 미만인 단일벽 탄소 나노튜브의 탄소원자이다. 이러한 나노튜브는 균일 또는 불균일하게 치환될 수 있다. 나노튜브는 열적 오버코트가 없고 직경이 0.5 $\mu$  미만인 것이 바람직하다.

또한, 본 발명에는 하기 화학식으로 표시되는 작용기 부착된 나노튜브도 포함된다:



이 식에서, n, L, m, R' 및 R은 전술한 바와 같은 의미를 갖는다. 탄소원자  $C_n$ 은 직경이 실질적으로 일정한 실질적으로 원기동형의 흑연 나노튜브의 표면 탄소이다. 이 나노튜브는 길이 대 직경 비가 5보다 크고 직경이 0.5 $\mu$  미만, 바람직하게는 0.1 $\mu$  미만이다. 이 나노튜브는 열분해 침착된 탄소가 실질적으로 없는 나노튜브일 수 있다. 또한, 이 나노튜브는 원섬유 측상에 적어도 2개의 원섬유 직경 거리만큼 전개된 흑연층의 돌출부가 있는 것 및/또는 c 축이 원기동 축에 실질적으로 수직인 원기동형 흑연 시트를 보유한 것이다. 바람직한 양태에서, 탄소원자  $C_n$ 은 직경이 실질적으로 일정하거나 또는 직경이 5 나노미터 미만인 실질적으로 원기동형의 단일벽 탄소 나노튜브의 표면 탄소이다. 가장 바람직하게는, 탄소원자  $C_n$ 은 직경이 5 나노미터 미만인 단일벽 탄소 나노튜브의 표면 원자이다.

균일 및 불균일하게 치환된 나노튜브에서, 표면 원자  $C_n$ 은 반응성이다. 흑연 원섬유의 표면 층에 존재하는 대부분의 탄소 원자는, 흑연에서와 같이 기초 평면 탄소(basal plane carbon)이다. 기초 평면 탄소는 화학적 공격에 비교적 불활성이다. 결합 부위, 예컨대 원섬유 둘레가 흑연 평면에 의해 완전히 싸여 있지 않은 부위에는 흑연 평면의 가장자리(edge) 탄소 원자와 유사한 탄소 원자가 존재한다 [가장자리 탄소 및 기초 평면 탄소에 대해서는 문헌 (Urry, *Elementary Equilibrium Chemistry of Carbon*, Wiley, New York, 1989)을 참조한다].

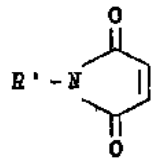
결합 부위에서는 나노튜브의 하부 내층의 가장자리 또는 기초 평면 탄소가 노출될 수 있다. 따라서, 표면 탄소란 용어에는 나노튜브의 최외각 층에 존재하는 기초 평면 및 가장자리의 모든 탄소뿐만 아니라 최외각 층의 결합 부위에서 노출될 수 있는 하부 층의 기초 평면 및/또는 가장자리 탄소도 포함된다. 가장자리 탄소는 반응성이고, 탄소 원자를 충족시키기 위해 약간의 헤테로원자 또는 기를 함유해야만 한다.

전술한 치환된 나노튜브는 바람직하게는 추가 작용기가 부착될 수 있다. 이러한 합성물에는 하기 화학식으로 표시되는 합성물이 있다:



이 식에서, 탄소는 전술한 나노튜브의 표면 탄소이고, n, L 및 m은 전술한 바와 같으며, A는 ON, NHY,

$\begin{matrix} \text{O} & \text{O} & \text{O} & \text{O} \\ | & | & | & | \\ \text{C-OY}, & \text{C-NR}'\text{Y}, & \text{C-SY}, & \text{C-Y}, \end{matrix}$   $-\text{CR}'_2-\text{OY}$ ,  $\text{N=Y}$ ,  $-\text{NHCY}$  또는  $\text{C=Y}$  중에서 선택되는 것이며, 여기서 Y는 단백질, 펩타이드, 아미노산, 효소, 항체, 뉴클레오타이드, 올리고뉴클레오타이드, 항원 또는 효소 기질, 효소 억제제 또는 효소 기질의 전이 상태 유사체의 적당한 작용기이거나 또는  $\text{R}'-\text{OH}$ ,  $\text{R}'-\text{NR}'_2$ ,  $\text{R}'\text{SH}$ ,  $\text{R}'\text{CHO}$ ,  $\text{R}'\text{CN}$ ,  $\text{R}'\text{X}$ ,  $\text{R}'\text{N}^+(\text{R}')_3\text{X}^-$ ,  $\text{R}'\text{SiR}'_3$ ,  $\text{R}'\text{Si}-(\text{OR}')_y-\text{R}'_{3-y}$ ,



$\text{R}'\text{Si}-(\text{O}-\text{SiR}'_2)-\text{OR}'$ ,  $\text{R}'-\text{R}''$ ,  $\text{R}'-\text{N}-\text{CO}$ ,  $(\text{C}_2\text{H}_4\text{O})_w-\text{H}$ ,  $-(\text{C}_3\text{H}_6\text{O})_w-\text{H}$ ,  $-(\text{C}_2\text{H}_4\text{O})_w-\text{R}'$ ,  $(\text{C}_3\text{H}_6\text{O})_w-\text{R}'$ ,  $\text{R}'$  및 중에서 선택되는 것이며, 여기서 w는 1보다 크고 200보다 작은 정수이다. 탄소원자  $C_n$ 은 직경이 실질적으로 일정한, 실질적으로 원기동형의 흑연 나노튜브의 표면 탄소이다. 이러한 나노튜브에는 길이 대 직경 비가 5보다 크고, 직경이 0.1 $\mu$  미만, 바람직하게는 0.05 $\mu$  미만인 것이 포함된다. 또한, 이 나노튜브는 열분해 침착된 탄소가 실질적으로 없는, 실질적으로 원기동형의 흑연 나노튜브일 수 있다. 더욱 바람직하게는, 원섬유 측 위에 적어도 2개의 원섬유 직경 거리 만큼 전개되어 있는 흑연 층의 돌출부를 보유한 것 및/또는 c 축이 원기동 축에 실질적으로 수직인 원기동형 흑연 시트로 구성된 것을 특

정으로 하는 것이다. 특히, 나노튜브는 열적 오버코트가 없고, 직경이 0.5 $\mu$  미만인 것이 바람직하다. 또한, 나노튜브는 직경이 실질적으로 일정하거나 직경이 5나노미터 미만인 실질적으로 원기동형의 단일벽 탄소 나노튜브일 수 있다. 가장 바람직하게는 탄소 원자  $C_n$ 은 직경이 5 나노미터 미만인 단일벽 탄소 나노튜브의 표면 원자인 것이다.

또한, 화학식  $[C_nH_L]-[R'-R]_m$ 으로 표시되는 작용성 나노튜브는 작용기 부착되어 화학식  $[C_nH_L]-[R'-A]_m$ 으로 표시되는 합성물을 생산할 수 있다[여기서, n, L, m, R' 및 A는 전술한 바와 같다]. 탄소원자  $C_n$ 은 직경이 실질적으로 일정한, 실질적으로 원기동형의 흑연 나노튜브의 표면 탄소이다. 이러한 나노튜브에는 길이 대 직경 비가 5보다 크고, 직경이 0.5 $\mu$  미만, 바람직하게는 0.1 $\mu$  미만인 것이 포함된다. 또한, 이 나노튜브는 열분해 침착된 탄소가 실질적으로 없는, 실질적으로 원기동형의 흑연 나노튜브일 수 있다. 더욱 바람직하게는, 원섬유 축 위에 적어도 2개의 원섬유 직경 거리 만큼 전개되어 있는 흑연 층의 돌출부를 보유한 것 및/또는 c 축이 원기동 축에 실질적으로 수직인 원기동형 흑연 시트를 보유한 것을 특징으로 하는 것이다. 특히, 나노튜브는 열적 오버코트가 없고, 직경이 0.5 $\mu$  미만인 것이 바람직하다. 또한, 나노튜브는 직경이 실질적으로 일정하거나 직경이 5나노미터 미만인 실질적으로 원기동형의 단일벽 탄소 나노튜브일 수 있다. 가장 바람직하게는 탄소 원자  $C_n$ 은 직경이 5 나노미터 미만인 단일벽 탄소 나노튜브의 표면 원자인 것이다.

또한, 본 발명의 합성물은 특정 고리형 화합물이 흡착된 나노튜브를 포함한다. 그 예에는, 화학식  $[C_nH_L]-[X-R_a]_m$ 으로 표시되는 소재의 합성물이 포함된다(이 식에서, n은 정수이고, L은 0.1n 미만의 수이며, m은 0.5n 미만의 수이고, a는 0 또는 10 미만의 수, X는 다핵 방향족 부, 이종다핵(polyheteronuclear) 방향족 부 또는 금속이종다핵(metallopolyheteronuclear) 방향족 부이거나, 또는 평면 금속 테트라티오옥살레이트이며, R은 전술한 바와 같은 것이다). 탄소원자  $C_n$ 은 직경이 실질적으로 일정한, 실질적으로 원기동형의 흑연 나노튜브의 표면 탄소이다. 이러한 나노튜브에는 길이 대 직경 비가 5보다 크고, 직경이 0.5 $\mu$  미만, 바람직하게는 0.1 $\mu$  미만인 것이 포함된다. 또한, 이 나노튜브는 열분해 침착된 탄소가 실질적으로 없는, 실질적으로 원기동형의 흑연 나노튜브일 수 있고, 더욱 바람직하게는, 원섬유 축 위에 적어도 2개의 원섬유 직경 거리 만큼 전개되어 있는 흑연 층의 돌출부를 보유한 것 및/또는 c 축이 원기동 축에 실질적으로 수직인 원기동형 흑연 시트를 보유한 것을 특징으로 하는 것이다. 특히, 나노튜브는 열적 오버코트가 없고, 직경이 0.5 $\mu$  미만인 것이 바람직하다. 또한, 나노튜브는 직경이 실질적으로 일정하거나 직경이 5나노미터 미만인 실질적으로 원기동형의 단일벽 탄소 나노튜브일 수 있다. 가장 바람직하게는 탄소 원자  $C_n$ 은 직경이 5 나노미터 미만인 단일벽 탄소 나노튜브의 표면 원자인 것이다.

바람직한 고리형 화합물은 문헌[Cotton and Wilkinson, *Advanced Organic Chemistry*]의 76쪽에 기술된 바와 같은 평면 거대고리(macrocyclic)이다. 흡착에 더욱 바람직한 고리형 화합물은 포피린 및 프탈로시아닌, 또는 Ni, Cu, Pd, Pt 또는 Ag의 테트라티오옥살레이트이다.

또한, 본 발명의 합성물에는 특정 평면 방향족 화합물이 단일벽 탄소 나노튜브의 벽에 흡착되어 있는, 직경이 5 나노미터 미만인 단일벽 탄소 나노튜브가 포함된다. 흡착된 분자 자체에 작용기가 부착되어 있다면 측벽은 물리적 구조를 구성함이 없이 효과적으로 작용기화("작용기 부착"과 혼용됨)된다. 이와 같이 작용기 부착된 단일벽 탄소 나노튜브는 그 다음 추가가 열되거나 또는 흡착된 분자가 탈착되지 않도록 부분 열분해로 처리될 수 있다. 흡착된 분자를 고정시키기 위하여 가교 또는 올리고머화(용해도 감소를 목적으로 한다)와 같은 다른 기구가 사용될 수도 있다. 흡착에 바람직한 평면 방향족 화합물에는 포피린 및 프탈로시아닌, 또는 Ni, Cu, Pd, Pt 또는 Ag의 테트라티오옥살레이트가 포함된다.

흡착된 고리형 화합물은 작용기 부착될 수 있다. 이러한 합성물에는 화학식  $[C_nH_L]-[X-A_a]_m$ 으로 표시되는 화합물이 포함된다[이 식에서, m, n, L, a, X 및 A는 전술한 바와 같고, 탄소는 전술한 바와 같은 실질적으로 원기동형의 흑연 또는 단일벽 탄소 나노튜브의 표면 탄소이다].

전술한 바와 같이 작용기 부착된 탄소 원섬유는 기질(matrix)에 혼입될 수 있다. 기질은 유기 중합체(예, 에폭시, 비스말레이미드, 폴리아미드 또는 폴리에스테르 수지와 같은 열경화성 수지; 열가소성 수지; 반응 사출성형 수지; 또는 탄성중합체, 예컨대 천연 고무, 스티렌-부타디엔 고무 또는 시스-1,4-폴리부타디엔); 무기 중합체(예, 중합체 무기 산화물, 예컨대 유리), 금속(예, 납 또는 구리), 또는 세라믹 재료(예, 포트랜드 시멘트)인 것이 바람직하다. 이러한 기질로부터, 원섬유가 혼입된 비드가 형성될 수 있다. 또는, 작용기 부착된 원섬유를 작용기 부착된 비드의 외각 표면에 부착할 수도 있다.



특정 이론에 국한하려는 것은 아니지만, 작용기부착된 원섬유는 변형된 표면 성질이 중합체와 더욱 화합성이기 때문에, 또는 변형된 작용기(특히 하이드록시 또는 아민 기)가 말단 기로서 중합체에 직접 결합하기 때문에 중합체 시스템에 더 양호하게 분산된다. 이러한 식으로, 폴리카보네이트, 폴리우레탄, 폴리에스테르 또는 폴리아미드/이미드와 같은 중합체 시스템은 원섬유에 직접 결합하여 원섬유가 개선된 접착성을 가지면서 더욱 용이하게 분산되게 한다.

또한, 본 발명은 탄소 원섬유를 이 원섬유의 표면을 산화시키기에 충분한 시간 기간 동안 강산화제와 접촉시키는 단계, 및 이러한 원섬유를 다시 산화된 표면에 작용기를 첨가하기에 적합한 반응물과 접촉시키는 단계를 통해 탄소 원섬유의 표면에 작용기를 도입시키는 방법을 제공한다. 본 발명의 바람직한 양태에 따르면, 산화제는 알칼리 금속 염소산염을 강산에 용해시킨 용액을 포함한다. 본 발명의 다른 양태에 따르면, 알칼리 금속 염소산염은 염소산나트륨 또는 염소산칼륨이다. 바람직한 양태에 따르면, 사용된 강산은 황산이다. 산화에 충분한 시간 기간은 약 0.5시간 내지 약 24시간 범위이다.

또 다른 바람직한 양태에 따르면, 화학식  $[C_nH_L]-[CH(R')OH]_m$  (이 식에서, n, L, R' 및 m은 전술한 바와 같다)으로 표시되는 합성물은 자유 라디칼 개시제, 예컨대 과산화벤조일의 존재 하에 나노튜브의 표면 탄소와  $R'CH_2OH$ 를 반응시켜 제조한다.

또한, 본 발명은 NHS 에스테르와 단백질의 아미노 기 사이에 공유 결합을 형성시켜 NHS 에스테르로 변형된 나노튜브에 단백질을 결합시키는 방법을 제공한다.

또한, 본 발명은 탄소 원섬유 또는 단일벽 탄소 나노튜브를, 이 탄소 원섬유 또는 단일벽 탄소 나노튜브의 표면을 산화시키기에 충분한 시간 기간 동안 접촉시키는 단계, 이와 같이 표면 산화된 탄소 원섬유 또는 단일벽 탄소 나노튜브를 이 탄소 원섬유 또는 단일벽 탄소 나노튜브의 표면에 작용기를 첨가하기에 적당한 반응물과 접촉시키는 단계, 및 이와 같이 표면에 작용기 부착된 원섬유를 이 탄소 원섬유 또는 단일벽 탄소 나노튜브의 망상구조를 생성하기에 효과적인 가교제와 추가로 접촉시키는 단계를 포함하는, 탄소 원섬유 또는 단일벽 탄소 나노튜브의 망상구조 생산방법을 제공한다.

또한, 작용기부착된 원섬유 또는 단일벽 탄소 나노튜브는 원섬유의 강성 망상구조(rigid network) 또는 단일벽 탄소 나노튜브의 망상구조를 제조하는 데에도 유용하다. 산 작용기부착된 원섬유 또는 단일벽 탄소 나노튜브의 분산이 양호한 3차원 망상구조는 강성 망상구조를 형성하기 위해, 예를 들어 산 기(원섬유내)를 폴리올 또는 폴리아민과 가교시킴으로써 안정화될 수 있다.

또한, 본 발명은 전술한 본 발명의 작용기부착된 원섬유 또는 단일벽 탄소 나노튜브를 결합시켜 형성된 3차원 망상구조를 제공한다. 이러한 복합체는 적어도 2개의 작용기부착된 원섬유 또는 단일벽 탄소 나노튜브가, 직접 결합시키거나 화학적 부를 통해 결합시키는 하나 이상의 링커에 의해 결합된 것을 포함한다. 이러한 망상구조는 소공(pore) 크기가 매우 균일하고 동일한 다공성 매체를 함유한다. 이러한 망상구조는 흡착제, 촉매 지지체 및 분리 매체로서 유용하다.

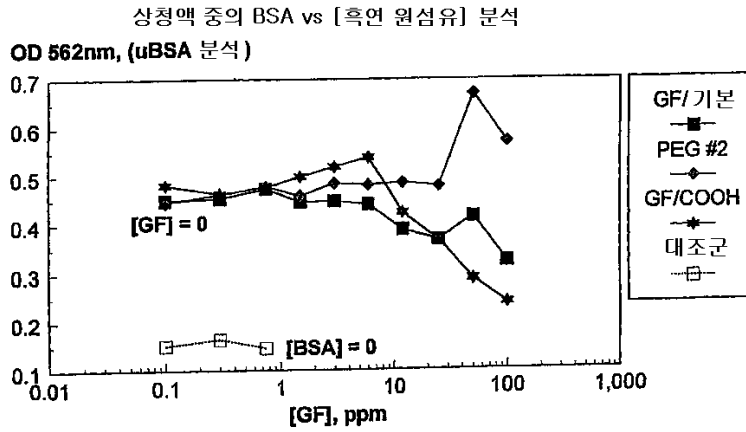
이러한 원섬유 또는 단일벽 탄소 나노튜브 사이의 열극(interstice)은 크기 및 형태가 불규칙하지만, 이 역시 소공으로 간주될 수 있고, 다공성 매체를 제조하는데 사용된 방법으로 제조할 수 있다. 이러한 망상구조에 존재하는 열극의 크기는 원섬유의 농도 및 분산 정도, 및 가교제의 농도 및 사슬 길이를 통해 조절할 수 있다. 이러한 소재는 구조화된 촉매 지지체로서 작용할 수 있고 특정 크기의 분자를 포함하거나 제외하도록 가공될 수 있다. 이러한 소재는 통상의 산업적 촉매반응 외에, 생물 촉매용의 큰 소공 지지체로서 특별한 용도로 사용될 수 있다.

강성 망상구조는 또한 분자 인식을 위한 생물학적 모방 시스템(biomimetic system)의 주쇄(backbone)으로서 작용할 수 있다. 이러한 시스템은 미국 특허 5,110,833 및 국제특허공개 번호 WO 93/19844에 설명되어 있다. 가교제 및 복합화제의 적당한 선택을 통해 특정 분자의 골격을 안정화할 수 있다.

**도면**

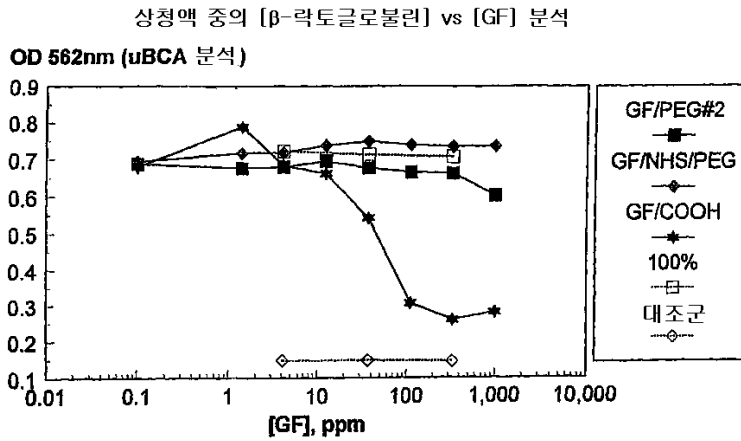
도면1

GF에 대한 917-101 BSA 결합



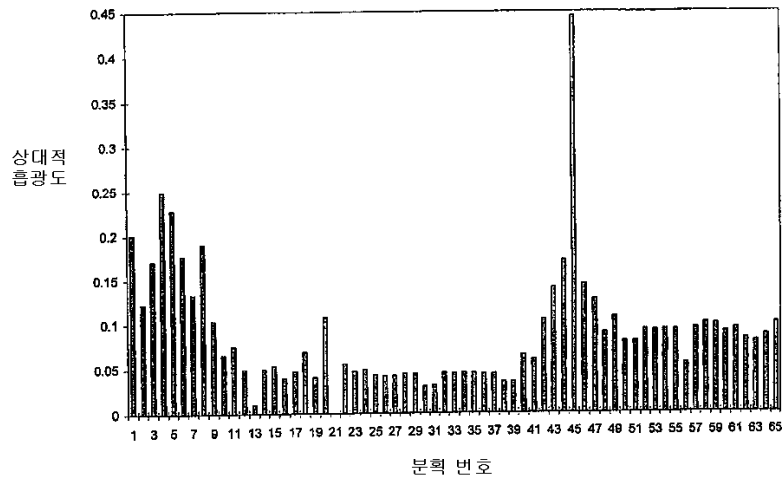
도면2

GF에 대한 917-105 β-락토글로불린 결합



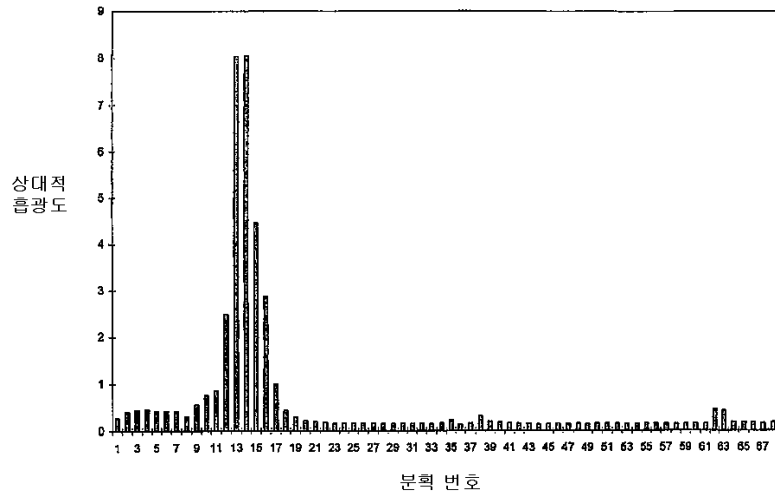
도면3

3차 아민 원섬유 컬럼 상에서 소혈청 알부민의 용출 프로필

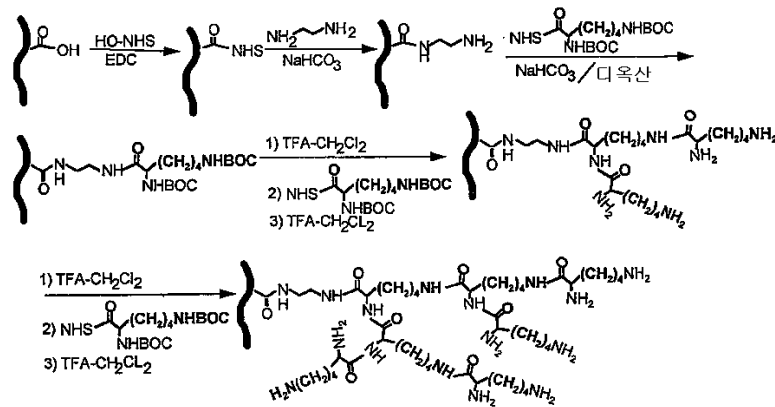


도면4

4차 아민 원섬유 컬럼 상에서 소혈청 알부민의 용출 프로파일

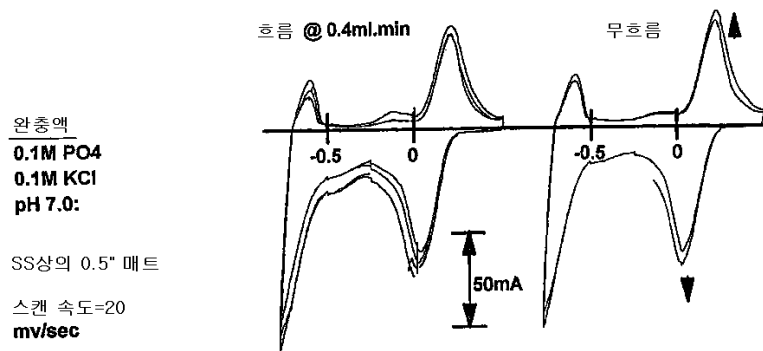


도면5

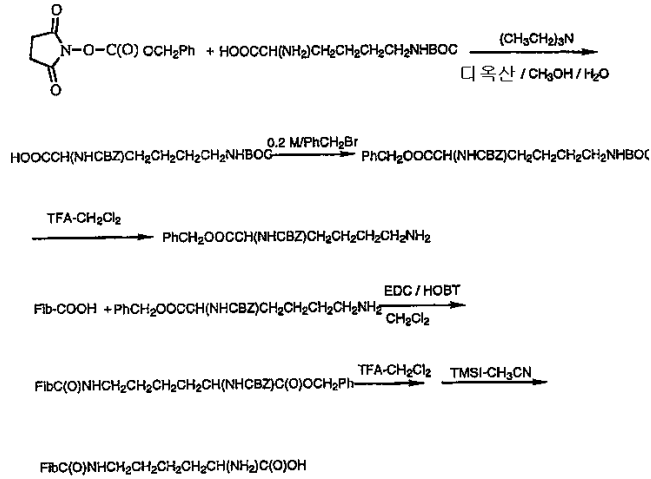


도면6

흐름 전지 중의 FePC 변형된 CN 전극

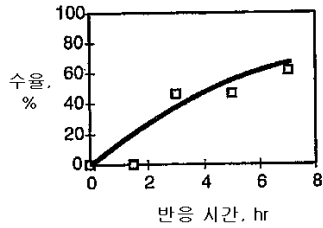
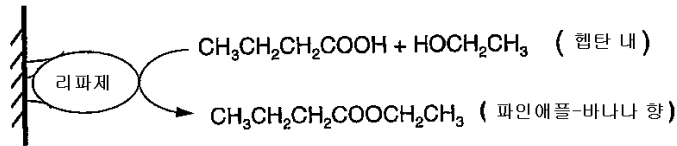


도면7



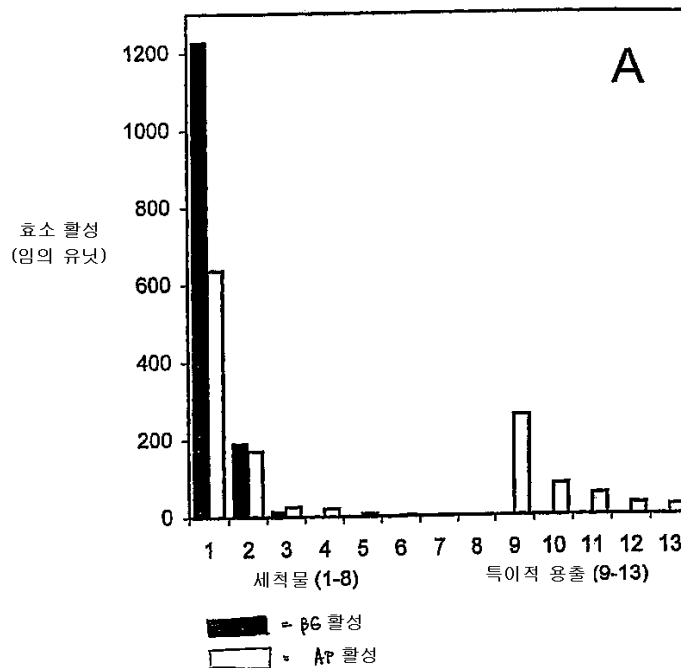
도면8

원섬유-리파제에 의해 촉매된 에스테르화

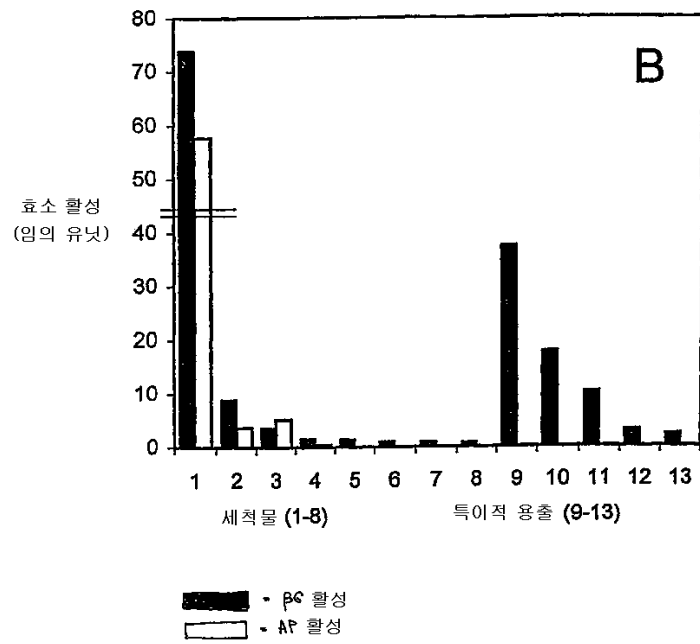


수율 : 7시간 동안 60%

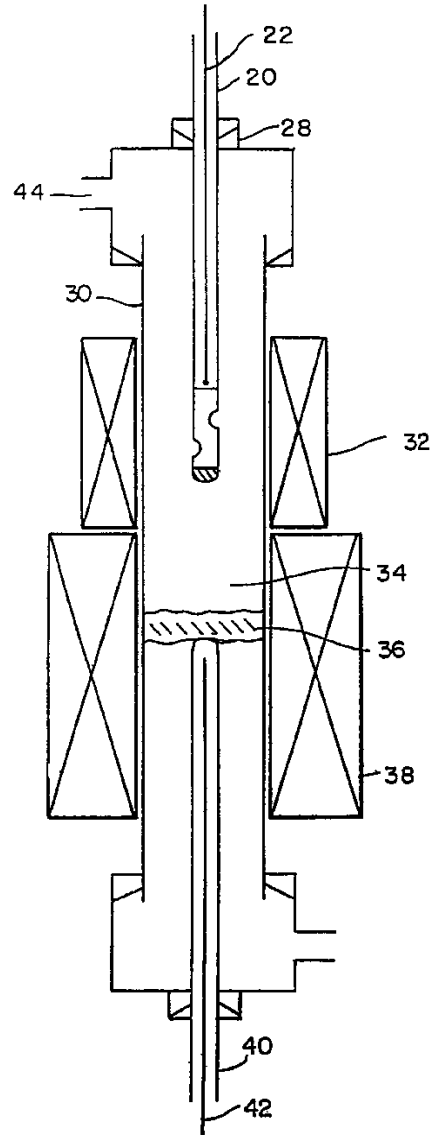
도면9



도면10



도면11



도면12

