(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2014-0094701
(43) 공개일자 2014년07월31일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 9/14 (2006.01) *A61K 47/48* (2006.01)
A61K 9/16 (2006.01)
(21) 출원번호 10-2013-0006444
(22) 출원일자 2013년01월21일
심사청구일자 2013년01월21일

(71) 출원인
조선대학교산학협력단
광주광역시 동구 필문대로 309 (서석동)
다미폴리켐 주식회사
전라북도 익산시 석암로1길 72 (팔봉동)
(72) 발명자
손홍래
광주 서구 풍암순환로 112, 301동 1902호 (풍암동, 중흥3차아파트)
조보민
광주 동구 지호로 62-1, B동 301호 (지산동, 푸른빌라)
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
특허법인세원

전체 청구항 수 : 총 12 항

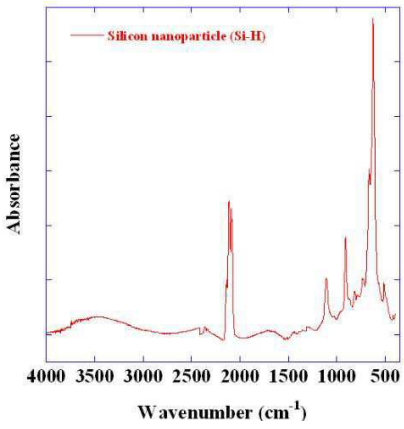
(54) 발명의 명칭 **광발광 실리콘 나노입자를 이용한 약물전달체 및 그의 제조방법**

(57) 요 약

본 발명은 광발광 실리콘 나노입자를 이용한 약물전달체 및 그의 제조방법에 관한 것이다.

본 발명은 적색 광발광 실리콘 나노입자의 산화표면(-SiOH)에 약물이 결합되고, 완충용액의 pH 4 내지 9 조건 하에서 약물이 선택적으로 방출되도록 설계된 약물전달체를 제공하며, 본 발명은 상기 광발광 실리콘 나노입자의 반응조건에 따라 그 발광세기 및 원하는 입자크기를 최적화할 수 있는 제조방법을 통해, 약물이 유도된 광발광 실리콘 나노입자에 대한 완충용액에서의 약물방출시험에서, 약물은 방출되어도 광발광 실리콘 나노입자의 발광세기가 안정적으로 유지되므로 약물전달체용의 형광 호스트로서 유용하다.

대 표 도 - 도1



(72) 발명자

이성기

전남 여수시 선소로 72-28, 1동 1502호 (신기동, 신화아파트)

엄성용

광주 서구 화정로 126, 201동 1405호 (화정동, 대주피오레)

김병희

전북 익산시 석암로1길 72, (팔봉동)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	2012H1B8A2026282
부처명	교육과학기술부
연구사업명	지역혁신인력양성사업
연구과제명	고굴절 고투명 유/무기-실록산 하이브리머 LED 봉지재 개발
기 여 율	1/1
주관기관	조선대학교 산학협력단
연구기간	2012.05.01 ~ 2015.03.31

특허청구의 범위

청구항 1

적색 광발광 실리콘 나노입자의 산화표면(-SiOH)에 결합된 약물이 완충용액의 pH 4 내지 9 조건 하에서 방출되도록 설계된, 광발광 실리콘 나노입자를 이용한 약물전달체.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 광발광 실리콘 나노입자가 약물방출 전·후 동일한 발광세기로 유지된 것을 특징으로 하는 상기 광발광 실리콘 나노입자를 이용한 약물전달체.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 약물이 캠토테신인 것을 특징으로 하는 상기 광발광 실리콘 나노입자를 이용한 약물전달체.

청구항 4

H-말단의 실리콘 나노입자를 열적 산화에 의해 하이드록시 말단으로 표면산화된 실리콘 나노입자를 준비하고,

상기 표면산화된 실리콘 나노입자를 전기화학적 에칭에 의해 적색 광발광 실리콘 나노입자를 합성하고,

상기 적색 광발광 실리콘 나노입자와 약물을 비활성기체 분위기 및 40 내지 50℃의 온도에서 교반 반응에 의해 준비된 약물이 유도된 실리콘 나노입자를 용액상에서 초음파 파쇄에 의해 입자화하는 것으로 이루어진 광발광 실리콘 나노입자를 이용한 약물전달체의 제조방법.

청구항 5

제4항에 있어서, 상기 H-말단의 실리콘 나노입자가 금속규소 및 염화에틸렌디암모늄간 용액상 반응에 의해 형성된 것을 특징으로 하는 상기 약물전달체의 제조방법.

청구항 6

제5항에 있어서, 상기 금속규소 및 염화에틸렌디암모늄간의 반응몰비가 1:1 내지 1: 5인 것을 특징으로 하는 상기 약물전달체의 제조방법.

청구항 7

제5항에 있어서, 상기 금속규소 및 염화에틸렌디암모늄간의 반응시간이 최대 72시간 미만 이내로 수행된 것을 특징으로 하는 상기 약물전달체의 제조방법.

청구항 8

제4항에 있어서, 상기 H-말단의 실리콘 나노입자가 5~15nm 크기로 분포된 것을 특징으로 하는 상기 약물전달체의 제조방법.

청구항 9

제4항에 있어서, 상기 H-말단의 실리콘 나노입자가 300~1200℃ 온도조건에서 1~3시간 동안 처리되어 그 표면이 -Si-OH로 열적 산화된 것을 특징으로 하는 상기 약물전달체의 제조방법.

청구항 10

제4항에 있어서, 상기 전기화학적 에칭이 물과 염화나트륨 존재하에 150 내지 200mA 및 60초 내지 90 동안 처리하는 것을 특징으로 하는 상기 약물전달체의 제조방법.

청구항 11

제4항에 있어서, 상기 약물이 유도된 실리콘 나노입자의 평균 입자크기가 100~200nm 크기로 분포된 것을 특징

으로 하는 상기 약물전달체의 제조방법.

청구항 12

제4항에 있어서, 상기 약물이 유도된 실리콘 나노입자가 완충용액의 pH 4 내지 9 조건 하에서 가수분해되어 pH에 따라 약물의 방출속도가 제어되는 것을 특징으로 하는 상기 약물전달체의 제조방법.

명 세 서

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 광발광 실리콘 나노입자를 이용한 약물전달체 및 그의 제조방법에 관한 것으로서, 더욱 상세하게는 적색 광발광 실리콘 나노입자의 산화표면(-SiOH)에 약물이 결합되고, 완충용액의 pH 4 내지 9 조건 하에서 약물이 선택적으로 방출되도록 설계된 약물전달체 및 그 제조방법에 관한 것이다.

배 경 기 술

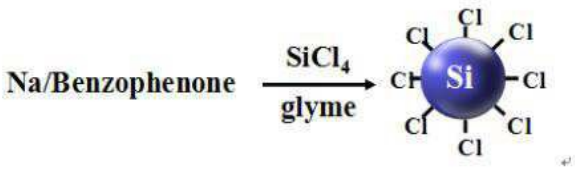
[0002] 지난 10년간, 나노입자 또는 양자도트는 높은 양자수율, 광변색에 대한 내구성, 좁은 발광영역 및 발광파장을 조절 가능한 점 등의 바람직한 성질로 인하여, 생의학 이미지, 광학 및 센서 분야에서의 적용가능한 유망한 재료로 각광받아왔다.

[0003] 최근 발전은 단분산 양자도트, 양자 도트 어레이, 발광다이오드 및 형광 프로브의 대량생산이 가능하다는 점이다. 특히, 형광 실리콘 나노입자는 그 생체적합성 때문에 다양한 생화학적 응용에 이상적인 재료로 예상된다.

[0004] 콜로이달 화학기술은 나노크기로 높은 함량의 도트를 합성하는데 이용되어 왔다. 이에, 실리콘 나노입자의 합성은 다양한 방법으로 시도되어 왔으나, 실리콘 나노입자에 대한 큰 관심에도 불구하고, 그 합성법에는 큰 진척이 없었다.

[0005] 최근, 실리콘 나노입자의 효율적인 용액합성법으로서 진틀염 나프탈레나이드(Zintl salt naphthalenide)와 소듐/벤조페논(sodium/benzophenone)과의 반응이 보고된 바 있다[S. Jang, J. Kim, Y. Koh, K. Jung, H.-G. Woo, and H. Sohn, *J. Nanosci. Nanotechnol.* 10, 3559 (2010)].

[0006] 반응식 1



[0007]

[0008] 생명과학에서 나노기술 발전은 진단과 치료측면의 생체의약품 개발에 지대한 영향력을 미치고 있다. 나노기술은 위치 특정과 약물의 시간조절에 의한 전달에 적절한 방법을 제공하기에, 약물전달분야에서 나노기술의 장점을 접목시키기 위해 많은 노력이 진행되고 있다.

[0009] 최근에, 약제학적 나노기술 접근은 생체적합성 나노형태로 치료 활성물질을 제형화하는데 집중하고 있다.

[0010] 실리콘 나노입자는 화학적 및 생화학적 센서와 생체의약장치 분야의 적용되어 왔다. 일례로 캔햄(Canham)에 의해 보고된 바에 의하며, 실리콘 나노입자의 생체 내 이용에 있어서 그 재흡수율과 생체적합성에 대하여 연구한 결과, 실리콘 나노입자가 호스트 매트릭스로 사용되어 스테로이드 덱사메타손, 이부프로펜, 독소루비신 및 기타 다른 약물들을 생체 내 방출한다고 보고하고 있다[M. E. Wall, M. C. Wani, K. H. Cook, A.T. McPhail, and G. A. Sim, *J. Am. Chem. Soc.* **1966**, *88*, 3888, M. E. Wall and M. C.Wani, *Cancer Res.* **1995**, *55*, 753].

[0011] 최근, 세일러(Sailor)에 의하면, 실리콘 나노입자가 암치료용으로 사용될 수 있다고 보고하고 있는데, 월(Wall)과 그 공동연구자들에 의해 중국 나무인 캄프토테카 아쿠미나타(*Camptotheca acuminata*)로부터 최초 분리한 캠토테신(Campotothecin), 펜타사이클릭 알카로이드가 종양세포주에 대한 강력한 세포독성을 보인다고 보고하고 있다[L. T. Canham, *Adv. Mater.* 1995, 7, 1033., L. T. Canham, C. L. Reeves, D. O. King, P. J. Branfileld, J. G. Crabb, and M. C. L. Ward, *Adv. Mater.*, **1996**, *8*, 850]. 그러나, 이러한 약물투여는 낮은

용해도로 인하여, 심각한 부작용을 야기한다. 이에, 캠토테신 약물의 치료효율을 높이기 위하여 제어방출 개선 요구가 요구된다.

[0012] 이에, 본 발명자들은 실리콘 나노입자를 이용한 약물전달체를 제공하고자 노력한 결과, 반응조건에 의해 최적화된 광발광 특성을 가지는 실리콘 나노입자를 얻고, 상기 실리콘 나노입자 표면에 약물을 유도하여 선택적으로 약물이 방출될 수 있도록 설계함으로써, 본 발명을 완성하였다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0013] 본 발명의 목적은 광발광 실리콘 나노입자를 이용한 약물전달체를 제공하는 것이다.

[0014] 본 발명의 다른 목적은 광발광 실리콘 나노입자를 이용한 약물전달체의 제조방법을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0015] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 적색 광발광 실리콘 나노입자의 산화표면(-SiOH)에 결합된 약물이 완충용액의 pH 4 내지 9 조건 하에서 방출되도록 설계된, 광발광 실리콘 나노입자를 이용한 약물전달체를 제공한다.

[0016] 본 발명의 광발광 실리콘 나노입자를 이용한 약물전달체에서, 상기 광발광 실리콘 나노입자는 장시간 동안 발광세기가 유지되어 안정적이며, 특히 약물방출 전·후 발광세기가 동일하게 유지됨으로써, 약물전달체용 형광 프로브로서 유용하다.

[0017] 이에, 본 발명은 바람직한 실시형태로서, 캠토테신으로 유도된 광발광 실리콘 나노입자를 약물전달체로 제공한다.

[0018] 본 발명은 광발광 실리콘 나노입자를 이용한 약물전달체의 제조방법을 제공한다. 더욱 구체적으로는

[0019] 1) H-말단의 실리콘 나노입자를 열적 산화에 의해 하이드록시 말단으로 표면산화된 실리콘 나노입자를 준비하고,

[0020] 2) 상기 표면산화된 실리콘 나노입자를 전기화학적 에칭에 의해 적색 광발광 실리콘 나노입자를 합성하고,

[0021] 3) 상기 적색 광발광 실리콘 나노입자와 약물을 비활성기체 분위기 및 40 내지 50℃의 온도에서 교반 반응에 의해 준비된 약물이 유도된 실리콘 나노입자를 용액상에서 초음파 파쇄에 의해 입자화하는 것으로 이루어진다.

[0022] 본 발명의 제조방법에 있어서, 상기 단계 1)의 상기 H-말단의 실리콘 나노입자는 금속규소 및 염화에틸렌디암모늄간의 용액상 반응에 의해 형성되는 것을 특징으로 한다.

[0023] 이때, 상기 금속규소 및 염화에틸렌디암모늄간의 반응몰비는 1:1 내지 1: 5이 바람직하며, 상기 금속규소 및 염화에틸렌디암모늄간의 반응시간은 최대 72시간 미만 이내로 수행됨으로써, 얻어지는 실리콘 나노입자의 발광세기 및 입자크기를 제어할 수 있다. 이상으로부터, 본 발명의 단계 1)의 H-말단의 실리콘 나노입자는 5~15nm 크기로 분포된다.

[0024] 단계 1)은 상기 H-말단의 실리콘 나노입자를 300~1200℃ 온도조건에서 1~3시간 동안 처리되어 그 표면이 -Si-OH로 열적 산화시켜, 하이드록시 말단으로 표면산화된 실리콘 나노입자를 얻는다.

[0025] 본 발명의 제조방법에서 단계 2)는 상기 단계 1)에서 얻어진 표면산화된 실리콘 나노입자를 물과 염화나트륨 존재하에 150 내지 200mA 및 60초 내지 90 동안 처리하는 전기화학적 에칭에 의하여 광발광 실리콘 나노입자를 합성한다.

[0026] 이후, 단계 3)에서는 단계 2)의 광발광 실리콘 나노입자와 약물을 비활성기체 분위기에서 40 내지 50℃에서 교반 반응에 의해 약물이 유도된 실리콘 나노입자를 용액상에서 초음파 파쇄에 의해 입자화하는데, 이때, 약물이 유도된 실리콘 나노입자의 평균 입자크기가 100~200㎚ 크기로 분포된다.

[0027] 본 발명의 제조방법에서 제조된 약물이 유도된 실리콘 나노입자는 완충용액의 pH 4 내지 9 조건 하에서 가수분해되어 약물이 방출되며, 그 방출속도가 제어될 수 있다.

발명의 효과

[0028] 본 발명에 따라, 적색 광발광 실리콘 나노입자의 산화표면(-SiOH)에 결합된 약물이 완충용액의 pH 4 내지 9 조건 하에서 방출되도록 설계된, 광발광 실리콘 나노입자를 이용한 약물전달체를 제공할 수 있다.

[0029] 또한, 본 발명은 최적조건으로 광발광 실리콘 나노입자를 제조하여 장시간 동안에도 발광세기 변화없이 유지되는 높은 안정성과 약물 방출시에도 발광세기 변화없이 유지됨으로써, 광발광 실리콘 나노입자는 약물전달체용 형광 프로브로서 유용하다.

[0030] 이에, 본 발명의 약물이 유도된 실리콘 나노입자가 완충용액의 pH 4 내지 9 조건 하에서 가수분해되어 약물의 방출속도가 제어될 수 있는 약물전달체의 제조방법을 제공할 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0031] **도 1**은 본 발명의 H-말단의 실리콘 나노입자에 대한 FT-IR 스펙트럼 결과이고,

도 2는 본 발명의 제조방법에서 반응 몰비에 따른 발광 실리콘 나노입자의 형광(PL) 스펙트럼을 비교한 것이고,

도 3은 본 발명의 제조방법에서 반응 시간에 따라 제조된 H-말단의 실리콘 나노입자에 대한 UV-Vis 흡수피크의 변화를 관찰한 결과이고,

도 4는 본 발명의 제조방법에서 반응 시간 조건변화에 따라 제조된 H-말단의 실리콘 나노입자에 대한 광발광 스펙트럼 변화를 관찰한 결과이고,

도 5는 본 발명의 실리콘 나노입자의 투사전자현미경(TEM) 사진이고,

도 6은 본 발명의 캠토테신으로 유도된 실리콘 나노입자의 FT-IR 스펙트럼 결과이고,

도 7은 본 발명의 캠토테신으로 유도된 실리콘 나노입자의 FE-SEM 결과이고,

도 8은 본 발명의 캠토테신으로 유도된 실리콘 나노입자에 대한 시간별 캠토테신 방출결과를 도시한 것이고,

도 9는 본 발명의 캠토테신으로 유도된 실리콘 나노입자의 약물방출시 실리콘 나노입자의 시간별 발광효율변화에 따른 안정성 결과이고,

도 10은 본 발명의 캠토테신으로 유도된 실리콘 나노입자의 약물방출시 캠토테신 방출에 따른 형광 스펙트럼 변화를 측정한 평가결과이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0032] 이하, 본 발명을 상세히 설명하고자 한다.

[0033] 본 발명은 적색 광발광 실리콘 나노입자의 산화표면(-SiOH)에 결합된 약물이 완충용액의 pH 4 내지 9 조건 하에서 방출되도록 설계된, 광발광 실리콘 나노입자를 이용한 약물전달체를 제공한다.

[0034] 본 발명의 약물전달체에 적용되는 약물은 본 발명의 실시예에서 바람직한 일례로 캠토테신(camptothecin, CPT)을 사용하여 설명하고 있으나, 이에 한정되지 않고, 본 발명의 배경기술에 포함된 약물은 물론 광발광 실리콘 나노입자의 산화된 표면의 -SiOH 작용기와 결합할 수 있는 하이드록시 작용기를 가진 약물이라면 적용될 수 있다.

[0035] 이에, 본 발명은 바람직한 실시형태로서, 캠토테신으로 유도된 광발광 실리콘 나노입자를 약물전달체로 제공함으로써, 캠토테신의 낮은 용해도로 인하여, 약물전달시 야기되는 부작용 문제를 해소할 수 있다.

[0036] 본 발명의 약물전달체에 사용되는 실리콘 나노입자는 형광(PL) 스펙트럼상에서, 400nm에서 여기파장을 가지고 450nm 영역에서 발광파장이 관찰되며, UV-vis 스펙트럼에서는 630 내지 660nm에서 흡수피크를 가지는 적색 광발광 실리콘 나노입자이다.

[0037] 이에, 본 발명의 실시예에서 실시한 캠토테신으로 유도된 실리콘 나노입자에 대한 시간별 발광효율변화에 따른 안정성 평가결과로서, 12시간 이내의 실험조건에서 광발광 세기변화가 관찰되지 않음으로써, 캠토테신으로 유도된 실리콘 나노입자의 우수한 안정성을 확인할 수 있다. 본 발명의 실시예에서는 12시간으로 한정하여 실시하였으나, 발광세기감소폭 없이 일정하게 관찰됨으로써, 그 이상의 시간조건에서도 안정성을 확보할 수 있다.

[0038] 또한, 본 발명의 캠토테신으로 유도된 실리콘 나노입자로부터 상기 캠토테신 방출시 완충용액에서의 형광 스펙트럼 측정 결과, 방출된 캠토테신에 의한 형광(PL) 세기는 증가하나, 실리콘 나노입자의 형광(PL) 세기 역시 방

출 전·후 변하지 않고 유지됨으로써, 광발광 실리콘 나노입자는 약물전달체 용도의 형광 프로브로서 유용하다.

[0039] 이에, 본 발명은 광발광 실리콘 나노입자를 이용한 약물전달체의 제조방법을 제공한다. 더욱 구체적으로는

[0040] 1) H-말단의 실리콘 나노입자를 열적 산화에 의해 하이드록시 말단으로 표면산화된 실리콘 나노입자를 준비하고,

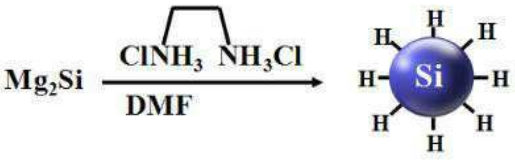
[0041] 2) 상기 표면산화된 실리콘 나노입자를 전기화학적 에칭에 의해 적색 광발광 실리콘 나노입자를 합성하고,

[0042] 3) 상기 적색 광발광 실리콘 나노입자와 약물을 비활성기체 분위기 및 40 내지 50℃의 온도에서 교반 반응에 의해 준비된 약물이 유도된 실리콘 나노입자를 용액상에서 초음파 파쇄에 의해 입자화하는 것으로 이루어진다.

[0043] 본 발명의 제조방법에 있어서, 단계 1)은 H-말단의 실리콘 나노입자를 열적산화에 의해 하이드록시 말단으로 표면산화된 실리콘 나노입자를 준비하는 단계로서, 먼저 H-말단의 실리콘 나노입자의 제조방법에 대하여 설명한다.

[0044] 본 발명의 H-말단의 실리콘 나노입자는 하기 반응식 2에 표시된 바와 같이, 금속규소 및 염화에틸렌디암모늄을 상대적으로 낮은 온도의 용액상 반응에 의해 형성되는 것을 특징으로 한다.

[0045] 반응식 2



[0046]

[0047] 이때, 금속규소로서, 본원발명의 실시예에서 규소마그네슘을 사용하고 있으나, Si와의 금속결합이 가능한 금속종이면 사용할 수 있다.

[0048] 또한, 상기 금속규소에 환원제로서 염화에틸렌디암모늄의 함량과 반응시간을 조절함으로써, 얻어지는 H-말단의 실리콘 나노입자의 광발광세기 및 입자크기를 최적화할 수 있다.

[0049] 이에, 금속규소 및 염화에틸렌디암모늄간의 반응몰비는 1:1 내지 1:5이 바람직하며, 상기 1:5를 초과하는 몰비율로 반응하여, 환원제의 함량이 증가할수록 광발광 효율이 감소하여 바람직하지 않다[**도 2**].

[0050] 또한, 상기 금속규소 및 염화에틸렌디암모늄간의 반응시간은 최대 72시간 미만 이내로 수행되는 것이 바람직하며, 더욱 바람직하게는 24내지 48시간 내에서 수행되는 것이다. 이때, 반응시간이 72시간을 초과하면, 반응시간 동안 실리콘 나노입자의 평균크기가 증가되어 흡수피크가 장파장 쪽으로 이동된다[**도 3**]. 또한, 반응시간에 따라 제조된 H-말단의 실리콘 나노입자에 대한 형광(PL) 스펙트럼 결과 역시, 에서 발광피크의 변화를 반응시간 24시간 및 48시간조건으로 제조된 실리콘 나노입자의 경우, 발광피크의 변화는 거의 없었으나, 반응시간 72시간이 경과된 이후에는 실리콘 나노입자의 발광피크가 장파장 방향으로 급격히 이동되었다[**도 4**].

[0051] 이상의 H-말단의 실리콘 나노입자를 제조시 반응몰비 및 반응시간을 조절함으로써, 얻어지는 실리콘 나노입자는 5~15㎚ 크기로 분포된다[**도 5**].

[0052] 이후, 단계 1)은 이상에서 제조된 H-말단의 실리콘 나노입자를 300~1200℃ 온도조건에서 1~3시간 동안 처리되어 그 표면이 -Si-OH로 열적 산화시켜, 하이드록시 말단으로 표면산화된 실리콘 나노입자를 형성한다.

[0053] 본 발명의 제조방법에서 단계 2)는 상기 단계 1)에서 얻어진 표면산화된 실리콘 나노입자를 물과 염화나트륨 존재 하에 150 내지 200㎃ 및 60초 내지 90 동안의 전기화학적 에칭에 의하여 적색의 광발광 실리콘 나노입자를 합성한다.

[0054] 이후, 단계 3)은 단계 2)에서 합성된 광발광 실리콘 나노입자 및 약물을 비활성기체 분위기 및 40 내지 50℃의 온도에서 교반 반응에 의해 준비된 약물이 유도된 실리콘 나노입자를 용액상에서 초음파 파쇄에 의해 입자화하여 제조한다. 이때, 약물이 유도된 실리콘 나노입자의 평균 입자크기가 100~200㎚크기로 분포된다[**도 7**].

[0055] 이상의 제조방법에서 제조된 약물이 유도된 실리콘 나노입자는 완충용액의 pH 4 내지 9 조건 하에서 가수분해되어 약물의 방출되는데, pH 9일 때 가장 빠른 방출속도를 보이고, 각 pH 조건에 따라 방출속도가 제어할 수 있다[**도 8**].

[0056] 또한, 본 발명의 약물이 유도된 실리콘 나노입자는 12시간 이내의 실험조건에서 광발광 세기변화가 전혀 관찰되지 않음으로써, 캠토테신으로 유도된 실리콘 나노입자의 우수한 안정성을 확인할 수 있다[**도 9**]. 이때 시간은 12시간으로 한정되어 있으나, 12시간내 발광세기감소폭 없이 일정하게 관찰됨으로써, 그 이상의 시간조건에서도 안정성을 예상할 수 있다.

[0057] 또한, 본 발명의 약물이 유도된 실리콘 나노입자의 약물방출시험에서 캠토테신 방출로 인하여 켐토테신의 형광(PL) 세기는 증가하나, 실리콘 나노입자의 형광(PL) 세기 역시 방출 전·후 변하지 않고 유지됨으로써, 광발광 실리콘 나노입자는 약물전달체 용도의 형광 프로브로서 유용하다[**도 10**].

[0058] 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 보다 상세히 설명하고자 한다.

[0059] 이는 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로서, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 한정되는 것은 아니다.

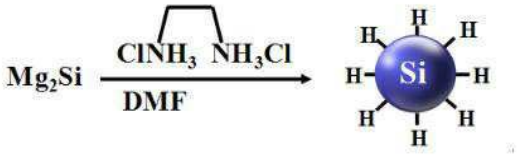
[0060] **<실시예 1>**

[0061] 단계 1: H-말단의 실리콘 나노입자 제조

[0062] 상온의 플라스크에 40㎖의 THF에 5g(83mmol)의 에틸렌디아민(Aldrich, 99.5%)이 함유되어 빠르게 교반되는 용액에 염산((83 mmol)을 천천히 첨가하여 염화에틸렌디암모늄을 얻고, 흰색고체를 여과하여 감압하여 건조하였다.

[0063] 0.3g(4mmol)의 규소 마그네슘(Mg_2Si, Aldrich, 99%)를 동일 몰비율로 염화에틸렌디암모늄이 용해된 40㎖의 DMF 용액에 넣고 아르곤 분위기와 상온조건에서 슈랭크 진공관내에서 24시간 동안 반응시켜 H-말단의 실리콘 나노입자를 제조하였다. 상기 반응물을 15분간 교반하면, 용액색상이 보라색의 에멀젼으로 변하였다. 상기 에멀젼 혼합물을 아르곤 분위기에서 교반없이 150℃로 환류 반응시켰다. 반응종료 후, 에멀젼 혼합물을 여과하고 분석하였다.

[0064] 반응식 2

[0065] 

[0066] 상기에서 얻은 H-말단의 실리콘 나노입자의 표면을 300℃ 온도에서 열적 산화시켜, 상기 실리콘 나노입자의 표면이 H-말단에서 하이드록시 말단으로 전환한 다공성 실리콘 다이옥사이드(PSD) 필름으로 제조되었다. 이에, 상기 열적 산화된 실리콘 나노입자는 적색 발광이 거의 나타나지 않았다.

[0067] 단계 2: 전기화학적 에칭에 의한 광발광 나노입자 제조

[0068] n-타입의 실리콘 웨이퍼(P-doped, orientation, <10 0>, 각각 1-10-cm, Siltronix, Inc.)를 이용하고 HF 용액(48중량% 알드리치사 제품)과 고순도 에탄올(알드리치사 제품)을 1:1 부피비로 이루어진 에탄올함유 불산용액을 양극 에칭용액으로 사용하여 실리콘 나노입자를 제조하였다. 이때, 백금 카운터 전극과 두 개의 전극구성을 이용하여 테프론 셀에서 정전압방식에 의해 에칭되었다. 에칭되는 동안 300W의 텅스텐 필라멘트 전구가 장착된 조명조건에서 전류공급기(Keithley 2420)를 이용하여 일정전류로 유지되도록 하여 산화전류 150mA가 30초 동안 제공되었다. 에칭 이후, 모든 샘플을 에탄올로 수차례 세척하고, 사용 전에 아르곤 분위기로 건조하여 광발광 실리콘 나노입자를 제조하였다.

[0069] 상기에서 얻어진 실리콘 나노입자를 물과 염화나트륨 조건하에서 150 mA 전류를 60초 동안 흘려 전기화학적으로 에칭하여 표면산화된 적색 발광의 실리콘 나노입자를 제조하였다.

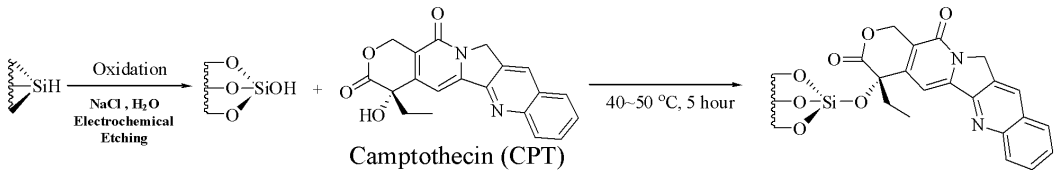
[0070] 단계 3: 캠토테신으로 유도된 실리콘 나노입자의 제조

[0071] 이후, 표면이 산화된 적색 발광의 실리콘 나노입자를 슈랭크 진공관에 넣고, 20㎖ 톨루엔에 용해된 1.4 mg의 (s)-(+)-캠토테신(camptothecin)(0.005 mmol, Aldrich Chemicals)과 함께 아르곤 분위기하에서 반응시키되, 상기 혼합물을 40℃에서 5시간 동안, 이후 상온에서 교반하였다. 이후, 캠토테신으로 유도된 실리콘 나노입자를 에탄올, 톨루엔 및 아세톤 순서로 세척하고 질소 분위기에서 건조하였다. 캠토테신으로 유도된 실리콘 나노입

자를 톨루엔 용액에서 3시간 동안 초음파파쇄에 의해 입자화하고, 상기 혼합용액을 원심분리하여 캠토테신으로 유도된 실리콘 나노입자를 수득하였다.

[0072] 반응식 3

반응식 3



[0073]

[0074] **<실시예 2~5>**

[0075] 상기 실시예 1에서 수행된 규소 마그네슘(Mg_2Si)과 염화에틸렌디암모늄간의 1:1 몰 비율 대신에, 각각 1:2, 1:3, 1:4 및 1:5의 몰 비율로 상기 염화에틸렌디암모늄의 함량을 변경하여 수행하는 것을 제외하고는, 상기 실시예 1과 동일하게 수행하여, 발광 실리콘 나노입자를 제공하였다.

[0076] **<비교예 1>**

[0077] 상기 실시예 1에서 수행된 규소 마그네슘(Mg_2Si)과 염화에틸렌디암모늄간의 1:1 몰 비율 대신에, 1:6의 몰 비율로 상기 염화에틸렌디암모늄의 함량을 변경하여 수행하는 것을 제외하고는, 상기 실시예 1과 동일하게 수행하여, 발광 실리콘 나노입자를 제공하였다.

[0078] **<실시예 6>**

[0079] 상기 실시예 1에서 수행된 24시간의 반응시간 대신에, 48시간 동안 수행하는 것을 제외하고는, 상기 실시예 1과 동일하게 수행하여, 발광 실리콘 나노입자를 제공하였다.

[0080] **<비교예 2>**

[0081] 상기 실시예 1에서 수행된 24시간의 반응시간 대신에, 72시간 동안 수행하는 것을 제외하고는, 상기 실시예 1과 동일하게 수행하여, 발광 실리콘 나노입자를 제공하였다.

[0082] **<실험예 1> FT-IR 분광학적 분석**

[0083] 상기 실시예 1의 단계 1에서 제조된 H-말단의 실리콘 나노입자에 대하여 FT-IR 분광기((Nicolet 5700)를 이용하여 합성여부를 확인하였다.

[0084] **도 1**은 본 발명의 H-말단의 실리콘 나노입자에 대한 FT-IR 스펙트럼 결과로서, υ(Si-H) 스트레칭과 δ(Si-H) 벤딩에 해당되는 피크가 2119 및 914cm^{-1}에서 확인되었고, υ(Si-Si) 스트레칭에 의한 강한 피크가 611cm^{-1}에서 확인됨에 따라, 실리콘과 수소원자만으로 구성된 실리콘 나노입자가 합성되었음을 확인하였다.

[0085] **<실험예 2> 반응 몰비에 따른 광발광(PL) 특성분석**

[0086] 상기 실시예 1~6에서 Mg_2Si/에틸렌디암모늄 클로라이드의 몰비율에 따라 각각 제조된 발광 실리콘 나노입자의 발광기(Perkin-Elmer luminescence spectrometer LS 50B)를 이용하여 측정하였다.

[0087] **도 2**는 본 발명의 제조방법에서 반응 몰비에 따른 발광 실리콘 나노입자의 형광 스펙트럼으로서, 실시예에서 금속규소와 환원제간의 반응에서 반응시간을 24시간으로 고정하고, 상기 환원제의 몰비율을 (a)1:1, (b) 1:2, (c) 1:3, (d)1:4, (e)1:5 및 (f)1:6으로 변경하여 제조된 발광 실리콘 나노입자의 형광분석결과를 비교한 것이다. 결론적으로 환원제가 증가할수록, 형광효율은 감소하나 발광피크는 이동하지 않았다.

[0088] **<실험예 3> 반응 시간에 따른 분광학적 특성분석**

[0089] 1. 반응 시간에 따른 UV-Vis 분광학적 거동분석

[0090] **도 3**은 본 발명의 제조방법에서 금속규소와 환원제간의 몰비를 1:1 반응에 의해 H-말단의 실리콘 나노입자를 제조할 때, 반응 시간 조건변화에 따라 제조된 H-말단의 실리콘 나노입자에 대한 UV-Vis 흡수피크의 변화를 관찰한 결과로서, 반응 시간 24시간 및 48시간에 따라 제조된 H-말단의 실리콘 나노입자의 흡수패턴은 유사하고,

320nm에서 흡수파장이 관찰되었다.

[0091] 반면에, 72시간 반응시간으로 수행한 결과, 320nm의 흡수피크가 사라지고 420nm에 새로운 흡수피크가 관찰되는데, 상기 반응시간 동안 실리콘 나노입자의 평균크기가 증가되었음을 예측할 수 있다.

[0092] 2. 반응시간에 따른 형광(PL) 특성분석

[0093] **도 4**는 본 발명의 제조방법에서 반응 시간 조건변화에 따라 제조된 H-말단의 실리콘 나노입자에 대한 광발광 스펙트럼에서 발광피크의 변화를 관찰한 결과로서, 반응 시간 첫 이틀(~48시간)동안 제조된 실리콘 나노입자의 경우, 발광피크의 변화는 거의 없었으나, 반응시간 72시간이 경과된 이후에는 실리콘 나노입자의 발광피크가 장파장 방향으로 급격히 이동되었다. 즉, 반응시간 24시간 및 48시간에 의해 제조된 실리콘 나노입자는 400nm 여기 파장을 가지고 각각 450nm 및 460nm에서 발광피크가 관찰되었다. 반면에, 반응시간 72시간 동안 제조된 실리콘 나노입자는 475nm 여기 파장을 가지고, 540nm에서 발광피크가 관찰되었다.

[0094] **<실험예 4> 실리콘 나노입자의 전자현미경을 통한 표면관찰**

[0095] **도 5**는 본 발명의 제조방법에서 72시간 반응시간에 따라 제조된 실리콘 나노입자의 투사전자현미경(TEM) 사진으로서, 실리콘 나노입자의 크기분포는 5~15nm로 확인되었다.

[0096] **<실험예 5> 캄토테신으로 유도된 실리콘 나노입자의 분광학적 특성**

[0097] **도 6**은 본 발명의 캄토테신으로 유도된 실리콘 나노입자의 합성여부에 대한 FT-IR 스펙트럼 결과로서, (a)는 실리콘 나노입자이고, (b)는 표면산화된 실리콘 나노입자이고, (c)는 캄토테신으로 유도된 실리콘 나노입자의 FT-IR 스펙트럼을 나타낸다.

[0098] 상세하게는 (a)의 실리콘 나노입자는 특성피크인 υ(Si-H) 스트레칭과 δ(Si-H) 벤딩에 의한 2119 및 914cm^{-1}에서 피크가 확인되었고, (b)의 표면산화된 실리콘 나노입자의 경우, 전기화학적 산화에 의한 다공성 실리콘은 Si-OH 존재로 인하여, υ(Si-OH), δ(OSi-H) 및 δ(OSi-H) 모드의 피크가 3000~3500, 2300 및 850cm^{-1}에서 관찰되었다.

[0099] 또한, (c)의 캄토테신으로 유도된 실리콘 나노입자는 캄토테신의 방향족 C=C 밴드로 인한, υ(C=C) 1630cm^{-1}의 특성피크가 관찰됨으로써, 합성을 확인하였다.

[0100] **<실험예 6> 캄토테신으로 유도된 실리콘 나노입자의 전자현미경을 통한 표면관찰**

[0101] **도 7**은 본 발명의 캄토테신으로 유도된 실리콘 나노입자의 FE-SEM 이미지로서, 캄토테신으로 유도된 실리콘 나노입자의 평균 입자크기는 100nm 수준이었으며, 크기분포는 좁게 나타난 것으로 확인되었다.

[0102] **<실험예 7> 캄토테신으로 유도된 실리콘 나노입자의 약물방출실험**

[0103] 상기 실시예 1에서 제조된 캄토테신으로 유도된 실리콘 나노입자를 369nm 파장에서 고정하고 시간대비 완충용액에서 12시간 동안 캄토테신 방출패턴을 실험하였다.

[0104] **도 8**은 본 발명의 캄토테신으로 유도된 실리콘 나노입자에 대한 시간별 캄토테신 방출결과를 도시한 것으로서, pH 9일 때, 가장 빠른 캄토테신 방출을 확인하였다.

[0105] 또한, 상기 도 8의 결과로부터, pH 4 및 pH 7의 경우 방출패턴 결과로부터, 캄토테신 방출속도를 제어할 수 있다.

[0106] **<실험예 8> 캄토테신으로 유도된 실리콘 나노입자의 안정성 평가**

[0107] 상기 실시예 1에서 제조된 캄토테신으로 유도된 실리콘 나노입자에 대하여, PBS 완충용액에서의 12시간 동안의 광발광 세기변화를 측정하여 안정성을 평가하였다.

[0108] **도 9**는 본 발명의 캄토테신으로 유도된 실리콘 나노입자에 대한 시간별 발광효율변화에 따른 안정성 평가결과로서, 12시간 동안의 광발광 세기변화가 관찰되지 않음으로써, 캄토테신으로 유도된 실리콘 나노입자의 우수한 안정성을 확인하였다.

[0109] **<실험예 9> 캄토테신 방출시 광발광(PL) 스펙트럼 거동분석**

[0110] 캄토테신으로 유도된 실리콘 나노입자에 있어서, 캄토테신은 실리콘 나노입자와 화학적으로 결합될 때, 에너지

이동이 캠토테신에서부터 실리콘 나노입자로 이동하기 때문에 캠토테신의 형광(PL) 세기는 사라진다.

[0111] 이에, **도 10**은 본 발명의 캠토테신으로 유도된 실리콘 나노입자로부터 캠토테신 방출을 분석하기 위하여 완충용액에서 형광 스펙트럼을 측정한 결과로서, 다공성 실리콘 다이옥사이드(PSD)과 캠토테신간의 가수분해에 의해 실리콘 나노입자로부터 캠토테신이 방출됨으로써, 캠토테신의 형광(PL) 세기는 증가하나, 실리콘 나노입자의 형광(PL) 세기는 변하지 않고 유지되었다.

[0112] 이상의 결과로부터, 본 발명의 실리콘 나노입자는 약물전달체 용도의 형광 프로브로서 우수함을 뒷받침한다.

산업상 이용가능성

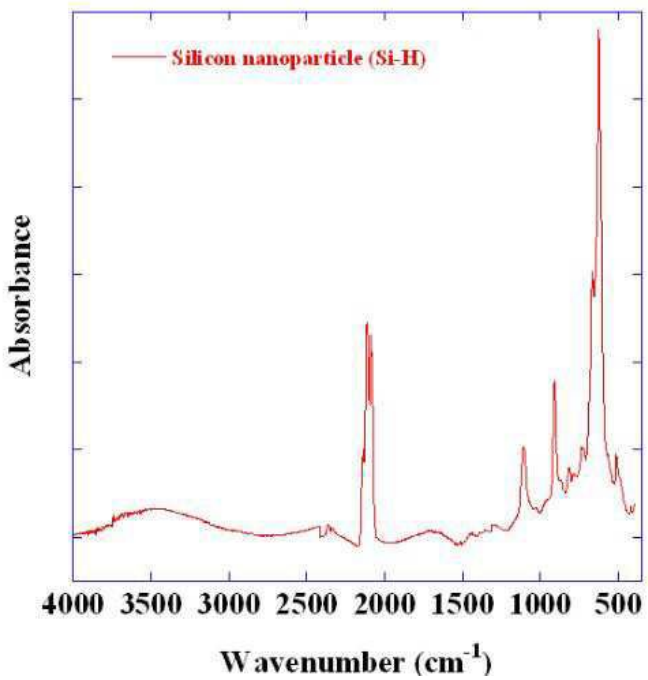
[0113] 상기에서 살펴본 바와 같이, 본 발명은 광발광 실리콘 나노입자를 약물전달체로 적용하며, 특히, 캠토테신으로 유도된 광발광 실리콘 나노입자를 약물전달체로 제공함으로써, 낮은 용해도로 인하여, 약물전달시 심각한 부작용을 야기한 종래 문제를 해소할 수 있다.

[0114] 본 발명은 광발광 실리콘 나노입자의 반응조건에 따라 그 발광세기 및 원하는 입자크기를 최적화할 수 있는 제조방법을 통해, 실리콘 나노입자를 제공하고, 열적산화에 의해 표면을 산화시키고, 전기화학적 에칭에 의해 얻은 적색 광발광 실리콘 나노입자의 표면에 약물을 결합시켜, 완충용액의 pH 4 내지 9 조건 하에서 약물이 선택적으로 방출되도록 하는 약물전달체의 제조방법을 제공하였다.

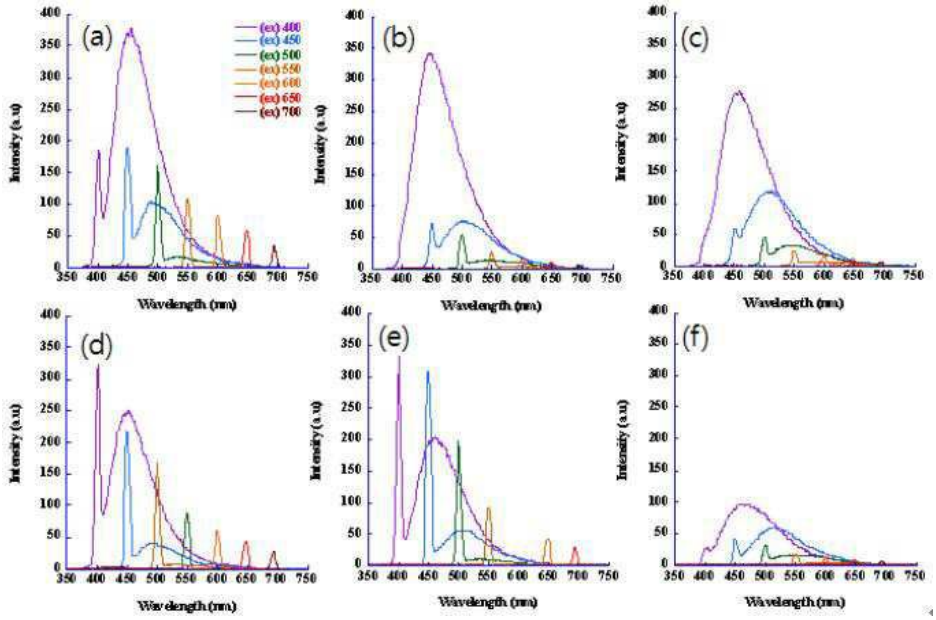
[0115] 이상에서 본 발명은 기재된 구체예에 대해서만 상세히 설명되었지만 본 발명의 기술범위 내에서 다양한 변형 및 수정이 가능함은 당업자에게 있어서 명백한 것이며, 이러한 변형 및 수정이 첨부된 특허청구범위에 속함은 당연한 것이다.

도면

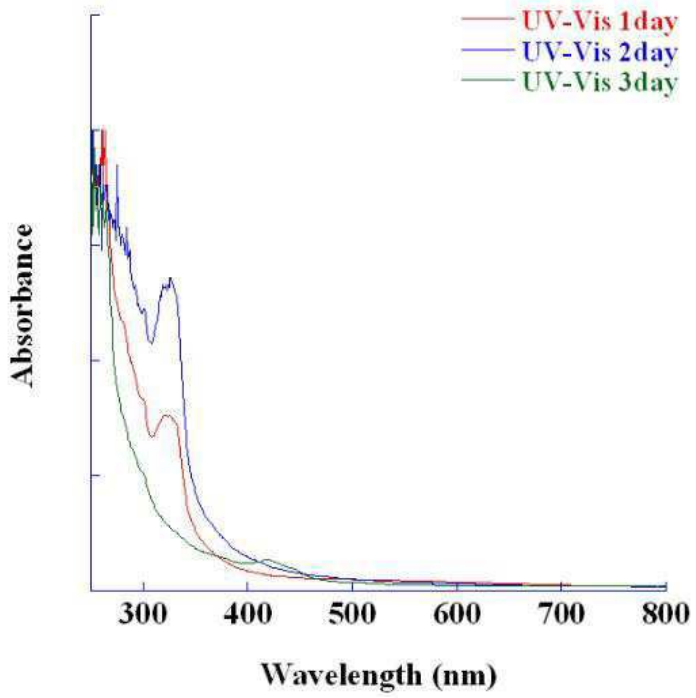
도면1



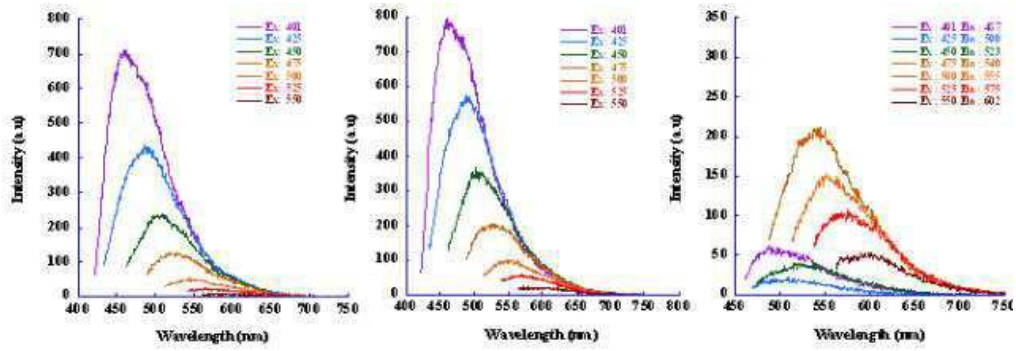
도면2


(a)
(b)
(c)
(d)
(e)
(f)
(ex) 400
(ex) 450
(ex) 500
(ex) 550
(ex) 600
(ex) 650
(ex) 700
Intensity (a.u)
Wavelength (nm)

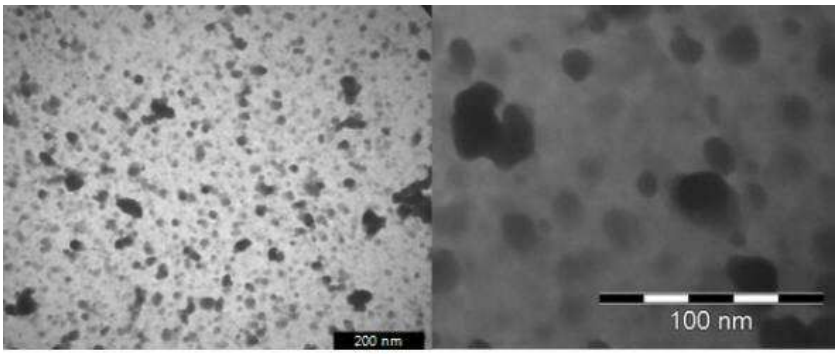
도면3


UV-Vis 1day
UV-Vis 2day
UV-Vis 3day
Absorbance
300
400
500
600
700
800
Wavelength (nm)

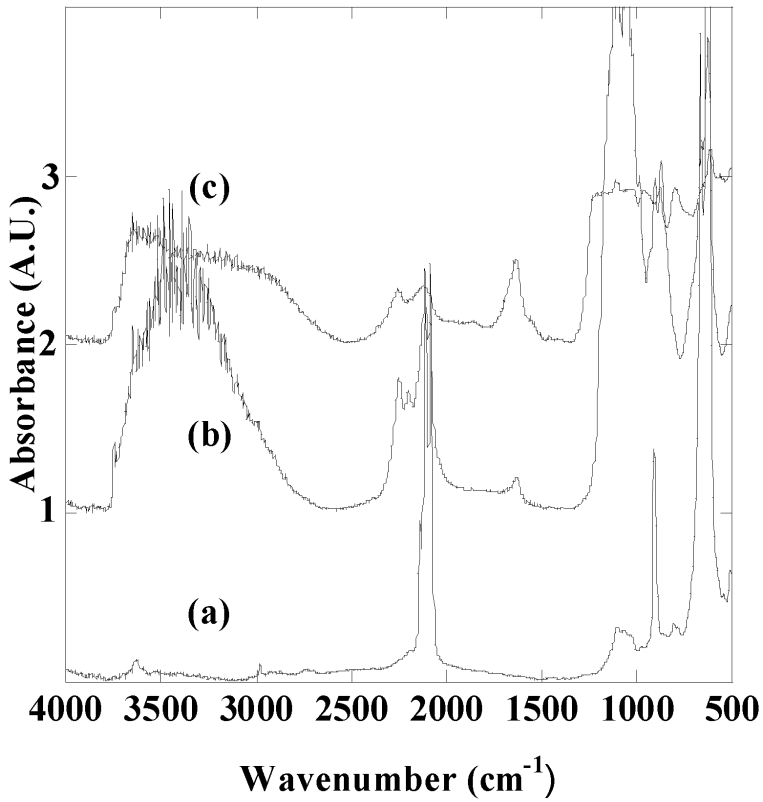
도면4


Intensity (a.u)
Wavelength (nm)

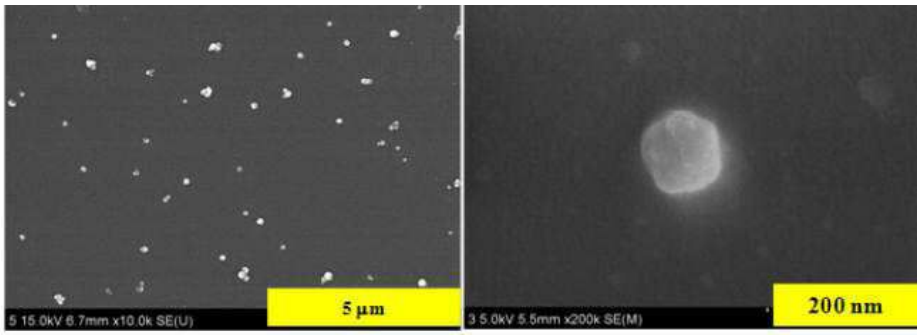
도면5


200 nm
100 nm

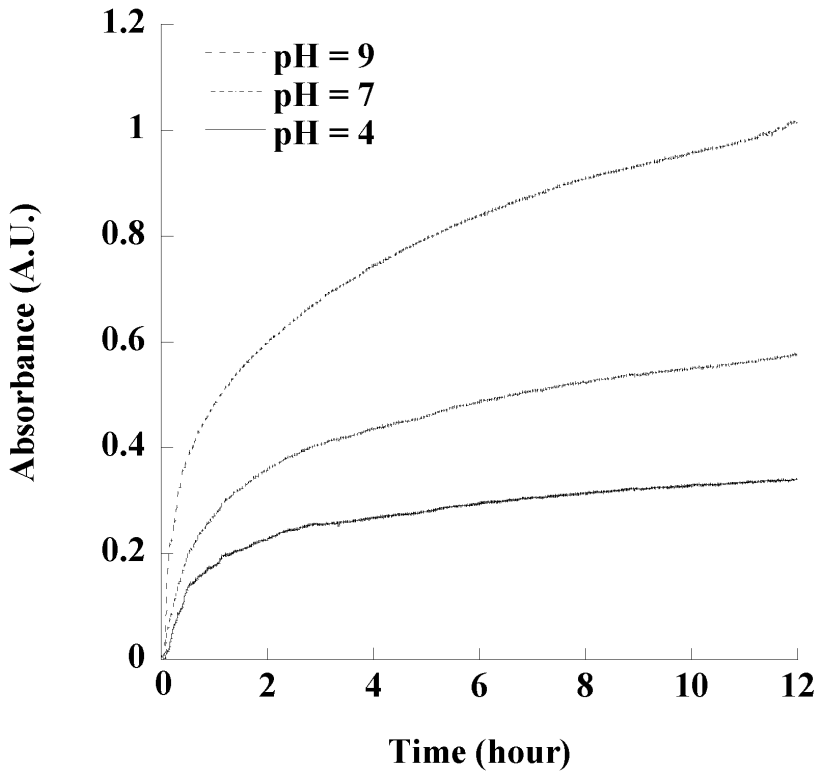
도면6


Absorbance (A.U.)
(c)
(b)
(a)
4000 3500 3000 2500 2000 1500 1000 500
Wavenumber (cm-1)

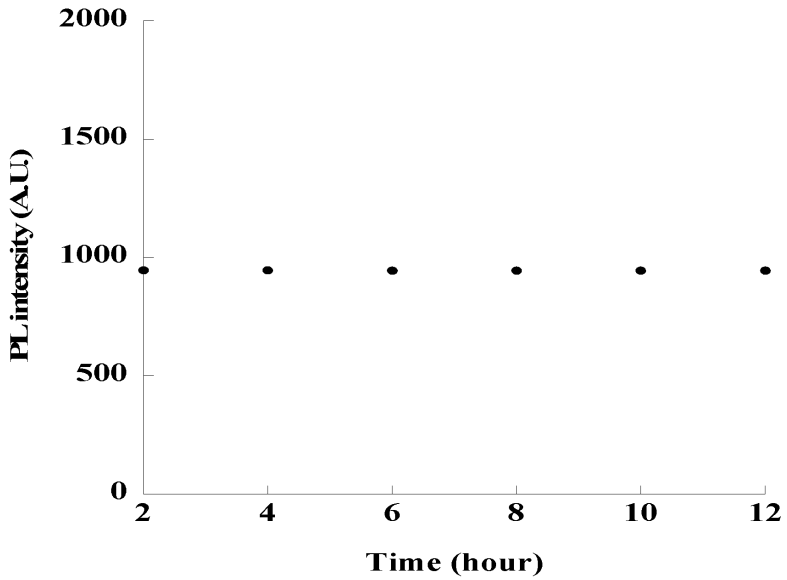
도면7


5 µm
200 nm

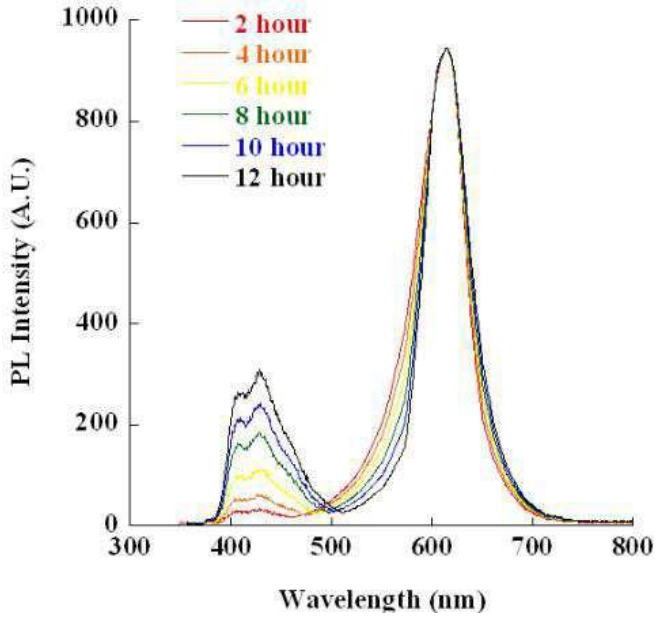
도면8


pH = 9
pH = 7
pH = 4
Absorbance (A.U.)
Time (hour)
0
0.2
0.4
0.6
0.8
1
1.2
0
2
4
6
8
10
12

도면9


2000
1500
1000
500
0
PL intensity (A.U)
2
4
6
8
10
12
Time (hour)

도면10


1000
800
600
400
200
0
PL Intensity (A.U.)
2 hour
4 hour
6 hour
8 hour
10 hour
12 hour
300
400
500
600
700
800
Wavelength (nm)