



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2007-0110084

(43) 공개일자 2007년11월15일

(51) Int. Cl.

A61K 9/51 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2007-7020788

(22) 출원일자 2007년09월11일

심사청구일자 없음

번역문제출일자 2007년09월11일

(86) 국제출원번호 PCT/AU2006/000193

국제출원일자 2006년02월14일

(87) 국제공개번호 WO 2006/084339

국제공개일자 2006년08월17일

(30) 우선권주장

2005900677 2005년02월14일 오스트레일리아(AU)

(71) 출원인

오스트레일리아 뉴클리어사이언스 앤드 테크놀로지
오거나이제이션

오스트레일리아, 뉴사우스웨일즈, 루카스헤이츠223
4, 뉴일라와라로드, 루카스헤이츠리서치러보러토리
즈

(72) 발명자

공 링젠

오스트레일리아 뉴사우스웨일스 2209, 나르위, 리
타 스트리트 27

바비 크리스토프 진 알렉산드르

오스트레일리아 뉴사우스웨일스 2046, 파이프 독,
가필드스트리트 119/4-12

(74) 대리인

황의만

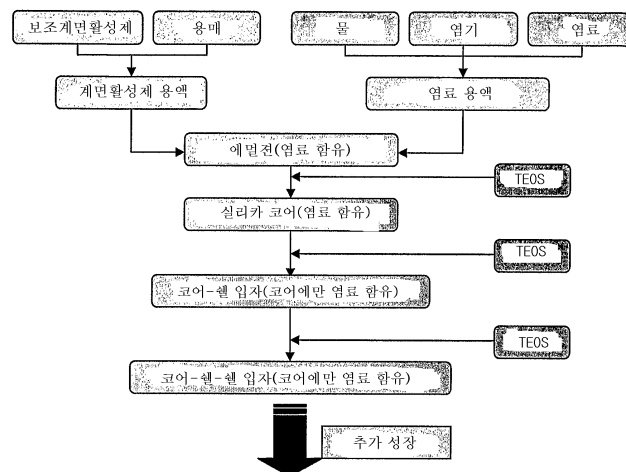
전체 청구항 수 : 총 34 항

(54) **총상 나노입자**

(57) 요약

본 발명은 제 1 액체에 코어 입자를 함유하는 현탁액을 제공하는 단계; 제 2 액체를 상기 현탁액에 첨가하는 단계; 및 상기 현탁액에 시약 또는 시약의 전구체를 첨가하는 단계를 포함하여 층상 나노입자를 형성하는 방법을 제공한다. 제 2 액체는 제 1 액체와 혼화될 수 없다. 시약이 상기 현탁액에 첨가되면 상기 시약이 반응하여 코어 입자위에 층을 형성하여 층상 나노입자를 형성한다. 시약의 전구체가 상기 현탁액에 첨가되면 상기 전구체가 시약으로 전환되고 형성된 이 시약이 반응하여 코어 입자위에 층을 형성함으로써 층상 나노입자를 형성한다.

대표도 - 도2



특허청구의 범위

청구항 1

제 1 액체에 코어 입자를 함유하는 현탁액을 제공하는 단계; 상기 제 1 액체와 혼합될 수 없는 제 2 액체를 상기 현탁액에 첨가하는 단계; 및 상기 제 2 액체를 함유하는 상기 현탁액에 시약 또는 시약의 전구체를 첨가하는 단계를 포함하며,

상기 시약이 상기 제 2 액체를 함유하는 상기 현탁액에 첨가되면 상기 시약이 반응하여 코어 입자위에 층을 형성하고, 상기 시약의 전구체가 상기 제 2 액체를 함유하는 상기 현탁액에 첨가되면 상기 전구체가 시약으로 전환되고 형성된 이 시약이 반응하여 코어 입자위에 층을 형성함으로써 층상 나노입자를 형성하는 것을 특징으로 하여, 층상 나노입자를 형성하는 방법.

청구항 2

제 1 항에 있어서, 상기 제 1 액체가 비극성 액체인 방법.

청구항 3

제 2 항에 있어서, 상기 현탁액이 제 1 계면활성제를 포함하며, 상기 방법이 시약 또는 시약의 전구체를 첨가하는 단계 이전에 제 2 비극성 액체 및 제 2 계면활성제를 첨가하는 단계를 포함하는 방법.

청구항 4

제 3 항에 있어서, 상기 제 2 비극성 액체가 상기 제 1 액체와 동일한 방법.

청구항 5

제 3 항에 있어서, 상기 제 1 계면활성제와 상기 제 2 계면활성제의 합에 대한 상기 제 1 액체와 상기 제 2 비극성 액체의 합의 비가 v/v , v/w , w/w , $v/\text{물}$ 또는 $w/\text{물}$ 기준으로 일정하게 유지하도록, 상기 제 2 비극성 액체 및 상기 제 2 계면활성제가 첨가되는 방법.

청구항 6

제 1 항에 있어서, 액체에 코어 입자를 제공하는 단계가 제 1 액체에 코어 입자를 형성하는 단계를 포함하는 방법.

청구항 7

제 1 항에 있어서, 상기 코어 입자가 그 안에 실질적으로 균일하게 분포된 코어 도펀트를 가지는 방법.

청구항 8

제 1 항에 있어서, 상기 층이 층 도펀트를 함유하도록 상기 제 2 액체가 층 도펀트를 포함하는 방법.

청구항 9

제 8 항에 있어서, 상기 층 도펀트가 방출가능 물질인 방법.

청구항 10

제 8 항에 있어서, 상기 시약의 반응이 상기 층 도펀트를 층 전체에 실질적으로 균일하게 분포하도록 하는 방법.

청구항 11

제 1 항에 있어서, 상기 코어 입자가 나노입자 또는 서브미크론(submicron) 입자인 방법.

청구항 12

제 1 항에 있어서, 상기 코어 입자 및 상기 층 중 적어도 하나가 다공성인 방법.

청구항 13

제 1 항에 있어서, 상기 제 2 액체를 첨가하는 단계와 상기 시약 또는 시약의 전구체를 첨가하는 단계를 1 회 이상 반복하여 복수의 층을 형성하는 방법.

청구항 14

제 1 항에 있어서, 상기 제 2 액체가 수성인 방법.

청구항 15

제 1 항에 있어서, 상기 전구체가 상기 현탁액에 첨가되면 상기 전구체가 제 2 액체와 반응하여 시약을 형성할 수 있는 방법.

청구항 16

제 1 항에 있어서, 상기 시약이 축합가능 종, 가교결합가능 종 또는 중합가능 종을 포함하는 방법.

청구항 17

제 1 항에 있어서, 상기 전구체가 가수분해하여 시약을 형성할 수 있는 가수분해가능 종이고, 상기 제 2 액체가 수성인 방법.

청구항 18

제 1 항에 있어서, 상기 전구체가 가수분해가능 실란인 방법.

청구항 19

제 1 항에 있어서, 상기 전구체가 가수분해가능 종이고 상기 제 2 액체가 수성 액체이며, 상기 방법이 가수분해가능 종을 수성 액체 중에서 가수분해하여 축합가능 종을 형성하는 단계; 및 상기 축합가능 종을 수성 액체 중에서 축합하여 층을 형성하는 단계를 포함하는 방법.

청구항 20

제 19 항에 있어서, 상기 가수분해가능 종을 가수분해시키는 단계가, 상기 가수분해가능 종을 가수분해시키는데 충분한 온도에서 충분한 시간 동안 상기 현탁액을 유지하는 단계를 포함하는 방법.

청구항 21

제 1 항에 있어서, 상기 제 1 액체로부터 층상 나노입자를 적어도 부분적으로 분리하는 단계; 상기 층상 나노입자를 수성 액체로 세척하는 단계; 상기 층상 나노입자를 유기 액체로 세척하는 단계; 상기 층상 나노입자를 건조 또는 동결-건조시키는 단계 중 하나 이상의 단계를 추가로 포함하는 방법.

청구항 22

제 1 항에 있어서, 현탁액을 제공하는 단계가, 상기 제 1 액체에 분산된 수성 드롭렛을 함유하는 에멀전으로서, 상기 에멀전이 계면활성제를 추가로 포함하며 상기 드롭렛이 가수분해시 축합가능 종을 축합시키는 촉매를 포함하는 에멀전을 제공하는 단계; 및 상기 수성 드롭렛 중에서 가수분해가능한 가수분해가능 종을 상기 에멀전에 첨가하여 축합가능 종을 형성하고, 이 축합가능 종이 촉매의 존재하에 축합하여 제 1 액체에서 코어 입자의 현탁액을 형성하는 단계를 포함하는 방법.

청구항 23

제 22 항에 있어서, 상기 에멀전이 마이크로에멀전인 방법.

청구항 24

다공성 코어 입자 및 상기 코어 입자를 적어도 부분적으로 둘러싸는 하나 이상의 층을 포함하며, 코어 및 하나 이상의 층으로부터 선택된 나노입자의 적어도 한 영역이 그 안에 실질적으로 균일하게 분포된 도펀트를 포함하

는 층상 나노입자.

청구항 25

제 24 항에 있어서, 코어 도펀트를 함유하는 다공성 코어 입자; 및 상기 코어 입자를 적어도 부분적으로 둘러싸며 층 도펀트를 함유하는 다공성 층을 포함하는 층상 나노입자.

청구항 26

제 25 항에 있어서, 상기 코어 도펀트 및 상기 층 도펀트 중 적어도 하나가 상기 층상 나노입자로부터 방출가능한 층상 나노입자.

청구항 27

제 26 항에 있어서, 상기 나노입자가 상기 층의 방출가능 도펀트와 상기 코어의 방출가능 도펀트를 순차적으로 방출할 수 있는 층상 나노입자.

청구항 28

제 1 액체에 코어 입자를 함유하는 현탁액을 제공하는 단계; 상기 제 1 액체와 혼합될 수 없는 제 2 액체를 상기 현탁액에 첨가하는 단계; 및 제 2 액체를 함유하는 상기 현탁액에 시약 또는 시약의 전구체를 첨가하는 단계를 포함하며, 상기 시약이 상기 제 2 액체를 함유하는 상기 현탁액에 첨가되면 상기 시약이 반응하여 코어 입자위에 층을 형성하고, 상기 시약의 전구체가 상기 제 2 액체를 함유하는 상기 현탁액에 첨가되면 상기 전구체가 시약으로 전환되고 형성된 이 시약이 반응하여 코어 입자위에 층을 형성함으로써 층상 나노입자를 형성하는 것을 특징으로 하는 방법에 의해 제조된 층상 나노입자.

청구항 29

다공성 코어 입자 및 상기 다공성 코어 입자를 적어도 부분적으로 둘러싸는 하나 이상의 층을 각각 가진 복수의 층상 나노입자를 포함하며, 좁은 입자 크기 분포를 가진 나노입자 물질.

청구항 30

제 29 항에 있어서, 상기 코어 및 상기 하나 이상의 층으로부터 선택된 나노입자의 적어도 한 영역이 그 안에 실질적으로 균일하게 분포된 도펀트를 포함하는 나노입자 물질.

청구항 31

다공성 코어 입자 및 상기 다공성 코어 입자를 적어도 부분적으로 둘러싸는 하나 이상의 층을 포함하며 상기 코어 입자 또는 상기 층들 중 적어도 하나에 실질적으로 균일하게 분포된 방출가능 물질을 가진 층상 나노입자를, 상기 층상 나노입자로부터 방출가능 물질을 적어도 부분적으로 방출할 수 있는 유체에 노출시키는 단계를 포함하여, 방출가능 물질을 유체로 전달하는 방법.

청구항 32

다공성 코어 입자 및 상기 다공성 코어 입자를 적어도 부분적으로 둘러싸는 하나 이상의 층을 포함하며 상기 코어 입자 또는 상기 층들 중 적어도 하나에 실질적으로 균일하게 분포된 약물을 가진 층상 나노입자를 환자에게 전달하는 단계를 포함하여, 약물을 환자에 투여하는 방법.

청구항 33

환자에게 약물을 투여하기 위한, 다공성 코어 입자 및 상기 다공성 코어 입자를 적어도 부분적으로 둘러싸는 하나 이상의 층을 포함하며 상기 코어 입자 또는 상기 층들 중 적어도 하나에 실질적으로 균일하게 분포된 약물을 가진 층상 나노입자의 용도.

청구항 34

혼합물의 적어도 한 성분을 선택적으로 흡수하기 위한, 다공성 코어 입자 및 상기 다공성 코어 입자를 적어도 부분적으로 둘러싸는 하나 이상의 층을 포함하는 층상 나노입자의 용도.

명세서

기술분야

<1> 본 발명은 종상 나노입자 및 이를 제조하는 방법에 관한 것이다.

배경기술

- <2> 일반적으로, 제어 약물 전달은 전형적으로 비특이적 독성에 기인한 심각한 부작용을 일으키는 항암 화학요법 약물의 안정성 및 임상적 효능을 개선할 수 있는 것으로 여겨진다. 이러한 문제점에 대한 하나의 접근법은 우선적으로 세포독성 약물을 종양에 전달하는 것이다. 적절한 물리-화학적 성질을 가진 직경 50-250 nm 범위의 나노스피어 입자의 경우 정맥 내 주사 후 1 내지 2 일의 기간에 걸쳐 대순환으로부터 종양 덩어리 내로 선택적으로 분포될 수 있다는 것이 몇몇 연구 그룹에 의해 확립되었다. 이는 다수의 종양 내 미소-혈관의 이상(aberrant) 구조에 의해 발생한다. 여러 가지 유형의 나노입자 전달 시스템이 실험적으로 사용된 바 있지만, 이들 대부분은 의료적 적용에 대한 이들의 궁극적인 용도를 배제하는 중요한 제한점을 가진다.
- <3> 주요 제한점은 다음과 같다:
- <4> 1) 이들의 물리적 안정성은 너무 부족하여 종양(예, 리포솜) 내로의 축적을 보증하는데 충분한 혈액 순환을 오랫동안 제공할 수 없고,
- <5> 2) 대부분의 형태의 나노입자로부터 방출되는 속도는 너무 빨라서 종양에 고농도의 투여량을 제공할 수 없으며,
- <6> 3) 지금까지 개발된 안정한 나노입자는 적절한 치료 용량을 전달하기에는 불충분한 매우 낮은 약물 부하(drug loading) 및 저속의 방출 속도를 가지며,
- <7> 4) 많은 유형의 나노입자 시스템은 면역계(즉, 그물내피계통)에 의해 신속하게 탐지되어 혈류로부터 제거됨으로써 종양에는 소량의 약물이 도달하게 된다.
- <8> 약물 전달체로서 사용되는 재료의 대부분은 본래 유기적이다: 폴리머, 리포솜, 덴드리머 등. 반대로, 세라믹 재료는 유기적인 전달 매트릭스를 통해 많은 이점을 제공한다. 예를 들어, 실리카 입자는 생물학적으로 비활성적이며 친수성 표면을 가진다. 이들은 또한 독성이 없고 생체적합성이 우수하며 약물의 분자 구조를 보존하기 위해 저온에서 합성될 수 있다. 또한, 이들의 크기 및 다공성은 광범위한 화학적 환경 내에서 안정하다. 무기적인 실은 중합 기술(도 1 참조)인 졸-겔 기술은 산화물 매트릭스 내에 유기 분자를 성공적으로 캡슐화하기 위해 사용된다.
- <9> 최근 몇 년동안, 본 발명자들은 제어 방출 적용을 위한 세라믹 입자를 제조하는 기술을 개발하였다(W001/62332). 이 기술은 졸-겔 화학법과 유중수(W/O) 에멀전 합성법의 결합법을 사용하여 활성 분자가 세라믹 입자 내에 캡슐화되게 한다. 입자의 크기는 에멀전 드롭렛(droplet)의 크기에 의해 제어되고, 방출 동태는 졸-겔화학법에 의해 제어된다. 이 방법을 사용하여 다분산(monodisperse) 나노입자를 제조하기 위해 안정한 마이크로에멀전이 사용된다. 이러한 시스템에서, 물 드롭렛(water droplet)의 크기는 수 내지 수십 나노미터로 통상 제한되며, 심지어 중요한 오스왈트 라이프닝(Ostwald ripening)의 존재하에서도 최종 입자 크기를 100 nm 미만으로 제한한다. 더 큰 입자 크기는 불안정한 에멀전 시스템을 사용하여 수득될 수 있지만, 생성된 입자는 예를 들어 입자 크기의 정밀 제어가 바람직한 종양의 수동적 표적화와 같은 적용에서는 바람직하지 못한 넓은 크기 분포를 나타낸다. 이와 같은 크기의 정밀 제어는 스토버(Stober) 방법(물은 배지에서 시드 성장)을 사용하여 달성될 수 있더라도, 이러한 유형의 방법은 겔 형성 동안 활성 재료의 캡슐화를 보증하는데 필요한 에멀전 내 국재화를 달성하지 못한다. 따라서, 스토버 방법은 제어 방출 적용을 위한 입자를 합성하기에는 부적당하다. 국제출원공개 제 W001/62332 호에 개시된 기술의 또 다른 제한점은 지연, 순차 또는 펄스 방출 순서를 가진 입자의 생산능력이 없다는 것이다. 세라믹 입자가 액체에 도입되면, 이들 입자들은 즉시 방출하기 시작한다. 이와 같은 단점은 빈 셸로 둘러싸인 코어 내에 활성 분자가 위치하며, 확산 장벽으로서 작용하여 활성 분자의 신속한 침출을 방지하는 코어-셸(core-shell) 구조를 생성함으로써 극복될 수 있다.
- <10> 지난 십 년 동안 특정 매트릭스로부터 활성 분자의 복합적이고 그에 맞게 고안된 방출 패턴을 달성하고자 하는 실질적인 작업이 수행되었다. 다양한 전달 수단으로부터 이러한 약물(들)의 지연-방출, 지속-방출 또는 순차-방출이 조사되었다. 이들 복합적인 방출 패턴을 달성하기 위해, 전달 시스템은 전달 재료의 물리-화학적 성질의 변경 또는 다층상(multi-layered) 구조의 사용과 같은 시스템 형태의 변경을 기초로 한다. 이 모든 시스템들은 폴리머 겔, 리포솜, 화이버, 마이크로캡슐, 타블렛 등과 같은 다양한 형태의 유기적 매트릭스를 사용한다.

특히 그리고 더욱 구체적으로 나노입자는 이러한 종류의 적용을 위해 연구되지 않았다.

<11> 그에 맞게 고안된 구조적, 광학적 및 표면 성질을 가진 코어-셸 콜로이드 재료가 지난 10 년에 걸쳐 집중적으로 연구되었다. 이러한 영역에서 조사는 광범위한 분야에서 이러한 콜로이드의 적용 가능성에 의해 이루어졌다. 대부분의 연구 노력은 상이한 재료의 셸 내에 그것을 코팅하거나 캡슐화함으로써 제시된 입자의 표면 성질을 변화시키는데 집중되었다. 코어는 금속 산화물, 반도체, 양자점, 자성 입자, 결정성 입자 등일 수 있는 반면, 셸은 통상 입자 표면의 전하, 작용성 및 반응성을 변화시키고 또한 콜로이드성 코어의 안정성 및 분산성을 향상시킬 수 있다. 바꾸어 말하면, 코어의 재료는 셸 재료와는 상이하고, 통상적으로 보고된 대부분의 코어-셸 구조는 폴리머 셸을 가진 세라믹 코어 또는 그 반대이다. 캡슐화된 활성 분자를 함유하고 상이한 종류의 세라믹 재료로 코팅된 세라믹 코어가 또한 문헌에 보고되었다.

<12> W/O 마이크로에멀전을 통한 졸-겔 합성법을 사용하여 세라믹 입자를 성장시키기 위한 몇 가지 방법에 문헌에 보고되었다. 이러한 방법의 하나는 합성 파라미터를 조정하여 큰 입자 크기를 수득하는 것에 의존한다. 입자 크기는 전구체 농도, 물 농도, pH, 온도, 이온 세기, 반응 시간과 같은 파라미터를 제어함으로써 조정될 수 있지만, 입자 성장에 제한점이 있다. 역 마이셀의 내재적 특징으로 인해 100 nm 보다 큰 단분산 입자를 생산하는데 이 방법을 사용하기는 어렵다. 문헌에 보고된 또 다른 방법은 입자 시드를 추출하고, 이들을 건조하며, 이어 신선한 W/O 마이크로에멀전에 이들 시드를 재분산한 다음 추가의 알콕시드 전구체를 첨가하여 입자를 성장시키는 것으로 이루어진다. 이 방법과 관련해서는 두 가지의 단점이 있다. 첫째로, 추출 및 건조 단계 동안 입자는 마이크론 크기의 덩어리로 비가역적으로 응집될 수 있고, 둘째로 이 방법은 액체로부터 고체 입자를 회수하기 위한 추가적인 별도의 단계가 도입되어 총 수율을 상당히 감소시킬 수 있다. 입자 크기를 증가시키는데 사용될 수 있는 또 다른 방법은 도 2에 개시되어 있다. 그러나, 이 경우에 활성 분자는 단지 코어 내에 캡슐화될 수 있다. 또한, 입자 성장은 알콕시드 전구체가 반응을 위해 물의 소비를 필요로 한다는 사실에 의해 제한된다. 물의 양은 W/O 에멀전의 형성에 의해 결정되기 때문에, 물의 제한적 공급만 이용가능하다. 사실, 일부 물은 계면활성제와 결합하기 때문에, 시스템에 도입된 모든 물이 졸-겔 반응에 이용가능한 것은 아니다. 알콕시드가 더 많이 도입될수록 더 많은 물이 소비되므로, 추가의 가수분해 및 성장에 이용가능한 물의 양은 더 적어진다.

<13> 따라서, 그 안에 도펀트(dopant)가 위치하고 나노입자의 코어 및/또는 코어를 둘러싸는 하나 이상의 층으로 한정되는 층상 나노입자, 및 이러한 나노입자를 제조하는 방법이 요구된다. 또한, 하나 보다 많은 캡슐화된 분자 종(도펀트)을 가지거나 서로 다른 별개의 위치 또는 층(즉, 셸)에 캡슐화된 활성 분자(도펀트)를 가진 코어-셸 세라믹 나노입자를 제조할 수 있는 방법이 요구된다. 이러한 방법은 상술한 약물의 제어 방출 이외에 광학적 저장, 데이터 암호화 또는 안전 잉크와 같이 폭넓은 신규한 잠재적 용도로 확대될 수 있다.

발명의 상세한 설명

<14> 발명의 목적

<15> 본 발명의 목적은 상술한 단점 중 적어도 하나를 극복하거나 실질적으로 개선하는 것이다. 추가의 목적은 상술한 요구 중 적어도 하나를 적어도 부분적으로 충족시키는 것이다.

<16> 발명의 요약

<17> 본 발명의 광범위한 형태로, 코어 입자의 존재하에 촉매를 시약에 노출시킴으로써 시약이 코어 입자 위에 층을 형성하도록 반응하여 층상 나노입자를 형성하는 단계를 포함하여 층상 나노입자를 형성하는 방법이 제공된다. 촉매, 시약 및 코어 입자는 유체 내에 배치될 수 있다. 유체는 액체일 수 있다. 촉매는 코어 입자의 위에 및/또는 내부에 및/또는 주위에 위치될 수 있다. 촉매는 시약의 반응을 일으키는 촉매일 수 있다. 촉매는 입자의 표면에 위치될 수 있다. 반응은 가수분해, 축합, 중축합, 가교결합, 중합, 침전형성 및 겔 형성 중 하나 이상을 포함할 수 있다. 코어 입자를 둘러싸는 도펀트가 존재할 수 있으며, 시약의 반응은 층 내에 도펀트를 캡슐화할 수 있다. 코어 입자는 층상 나노입자의 코어를 형성할 수 있다. 따라서, 일단 형성된 층상 나노입자는 층에 의해 적어도 부분적으로 둘러싸이거나 캡슐화된 코어 입자를 포함할 수 있다. 코어 입자는 층에 의해 완전히 둘러싸이거나 캡슐화될 수 있다. 코어 입자는 단일 입자 또는 둘 이상의 입자의 덩어리일 수 있다. 코어 입자는 층과 동일한 재료를 포함할 수 있거나 상이한 재료를 포함할 수 있다.

<18> 하나의 형태로, 본 발명은 제 1 액체에 코어 입자를 함유하는 현탁액을 제공하는 단계; 코어 입자의 존재하에 촉매를 시약에 노출시킴으로써 시약이 코어 입자 위에 층을 형성하도록 반응하여 층상 나노입자를 형성하는 단계를 포함하여, 층상 나노입자를 형성하는 방법을 제공한다.

- <19> 액체에 코어 입자를 제공하는 단계는 제 1 액체에 코어 입자를 형성하는 단계를 포함한다. 일례로, 입자는 노출 단계 이전에 제 1 액체로부터 분리되지 않는다. 제 1 액체는 비극성일 수 있다.
- <20> 노출 단계는 한번 이상 반복함으로써 다수의 층을 형성할 수 있다. 노출 단계는 촉매를 함유하는 제 2 액체를 현탁액에 첨가하는 단계 및 시약 또는 시약의 전구체를 현탁액에 첨가하는 단계를 포함할 수 있으며; 여기서 시약이 현탁액에 첨가되면 시약은 코어 입자 위에 층을 형성하도록 반응하고, 시약의 전구체가 현탁액에 첨가되면 전구체는 시약으로 전환된 다음 시약이 코어 입자 위에 층을 형성하도록 반응한다. 촉매는 제 2 액체에 용해될 수 있다. 제 2 액체는 제 1 액체와 혼화될 수 없다. 촉매는 전구체를 시약으로 전환시키고/전환시키거나 시약으로부터 층을 형성하는 촉매일 수 있다.
- <21> 다른 형태로, 본 발명은 제 1 액체에 코어 입자를 함유하는 현탁액을 제공하는 단계; 시약의 반응을 일으키는 촉매를 함유하는 제 2 액체를 상기 현탁액에 첨가하는 단계; 및 시약이 반응하여 코어 입자 위에 층을 형성할 수 있도록 상기 현탁액에 시약 또는 시약의 전구체를 첨가하는 단계를 포함하여, 층상 나노입자를 제조하는 방법을 제공한다.
- <22> 또 다른 형태로, 본 발명은 제 1 액체에 코어 입자를 함유하는 현탁액을 제공하는 단계; 상기 제 1 액체와 혼화될 수 없는 제 2 액체를 상기 현탁액에 첨가하는 단계; 및 제 2 액체를 함유하는 상기 현탁액에 시약 또는 시약의 전구체를 첨가하는 단계를 포함하는 것으로, 시약이 제 2 액체를 함유하는 현탁액에 첨가되면 시약이 반응하여 코어 입자 위에 층을 형성하고, 시약의 전구체가 제 2 액체를 함유하는 현탁액에 첨가되면 전구체가 시약으로 전환되고 이로써 형성된 시약이 반응하여 코어 입자 위에 층을 형성하는 것을 특징으로 하여, 층상 나노입자를 형성하는 방법을 제공한다. 제 2 액체는 촉매를 포함할 수 있다. 제 2 액체가 촉매를 포함하지 않으면, 시약은 그 자체로 촉매없이 층을 형성할 수 있고/있거나 전구체는 촉매없이 시약을 형성할 수 있다. 예를 들어, 제 2 액체가 수성이면, 전구체는 촉매의 부재하에 가수분해하는 실란일 수 있다.
- <23> 다른 형태로, 본 방법은 제 1 액체에 코어 입자를 함유하는 현탁액을 제공하는 단계; 시약의 반응을 일으키는 촉매를 함유하는 제 2 액체를 상기 현탁액에 첨가하는 단계; 및 전구체를 시약으로 전환시키고 이 시약을 반응시켜 코어 입자 위에 층을 형성하도록 상기 현탁액에 시약의 전구체를 첨가하는 단계를 포함한다.
- <24> 제 2 액체는 제 1 액체와 혼화될 수 없다. 제 2 액체를 첨가하는 단계는 코어 입자 위에, 예를 들어 코어 입자의 표면 위에 제 2 액체를 배치하는 단계를 포함한다. 전구체가 현탁액에 첨가되면, 전구체는 제 2 액체와 반응하여 시약을 형성할 수 있다, 즉 이것은 시약의 전구체일 수 있다. 시약은 축합가능 중, 가교결합가능 중 또는 중합가능 중일 수 있다. 시약의 반응은 코어 입자 위에 고체 층 또는 겔 층을 형성할 수 있고, 시약의 축합, 가교결합 및/또는 중합을 포함할 수 있다. 코어 입자는 나노입자일 수 있고, 그 직경이 약 5 내지 150 nm 일 수 있거나, 서브미크론 입자일 수 있고, 그 직경은 약 500 nm 미만일 수 있다. 코어 입자 및/또는 층은 고체일 수 있고, 다공성, 예를 들어 마이크로포러스(microporous) 및/또는 메조포러스(mesoporous)일 수 있다. 제 2 액체는 도펀트를 포함할 수 있으며, 이로써 층의 형성이 층 내에 도펀트를 캡슐화한다. 제 2 액체를 첨가하고 시약을 첨가하는 단계를 1 회 이상 반복하여 다수의 층을 형성할 수 있다. 코어 입자 및 각각의 층은 독립적으로 하나의 도펀트를 가질 수 있거나 가질 수 없고, 도펀트는 존재할 경우 동일하거나 상이할 수 있다. 도펀트 또는 각각의 도펀트는 방출가능 물질일 수 있고, 나노입자로부터 방출가능할 수 있다. 본 방법은 다수의 층상 나노입자를 포함하는 나노입자 물질을 생성할 수 있으므로, 현탁액을 제공하는 단계는 제 1 액체에 다수의 코어 입자를 함유하는 현탁액을 제공하는 단계를 포함한다. 코어 입자, 및 독립적으로 나노입자 물질의 층상 나노입자는 그 형태가 균일할 수 있거나 그 형태가 불균일할 수 있다. 이들은 단분산 될 수 있거나 좁은 입자 크기 분포를 가질 수 있거나 넓은 입자 크기 분포를 가질 수 있다.
- <25> 본 발명의 하나의 일면으로, a) 제 1 비극성 액체에 코어 입자, 제 1 계면활성제 및 임의로 제 1 보조계면활성제를 함유하는 현탁액을 제공하는 단계; b) 축합가능 중을 축합시키는 촉매 및 임의로 또한 도펀트 또는 도펀트의 배합물을 함유하는 수성 액체를 상기 현탁액에 첨가하는 단계; c) 제 1 비극성 액체와 혼화가능한 제 2 비극성 액체, 제 2 계면활성제 및 임의로 제 2 보조계면활성제를 첨가하는 단계; 및 d) 축합가능 중이 촉매의 존재하에 축합하여 코어 입자를 적어도 부분적으로 둘러싸는 층을 형성하도록 축합가능 중(시약)을 상기 현탁액에 제공하여 층상 나노입자를 생성하는 단계를 포함하여, 층상 나노입자를 제조하는 방법이 제공된다.
- <26> 제 2 비극성 액체는 제 1 비극성 액체와 동일하거나 상이할 수 있다. 제 2 계면활성제는 제 1 계면활성제와 동일하거나 상이할 수 있다. 제 2 보조계면활성제는 제 1 보조계면활성제와 동일하거나 상이할 수 있다. 제 2 비극성 액체, 제 2 계면활성제 및 제 2 보조계면활성제는, 제 1 비극성 액체와 제 2 극성 액체의 합 대 제 1 계면활성제와 제 2 계면활성제의 합 대 제 1 보조계면활성제와 제 2 보조계면활성제의 합의 비가 v/v , v/w , w/w ,

v/몰 또는 w/몰 기준으로 일정하게 유지하도록 첨가될 수 있다. 현탁액은 약 1 내지 70 °C의 온도에서 제공될 수 있거나, 방법은 현탁액의 온도가 약 1 내지 70 °C, 통상적으로는 약 15 내지 40 °C, 더욱 통상적으로는 20 내지 약 30 °C, 즉 주위온도로 되게 하는 단계를 포함할 수 있다. 온도가 분산상 또는 연속상을 모두 동결시키지 않는다면, 저온이 제공될 수 있다. 두 상의 휘발성과 비점 및 계면활성제의 전환 온도에 따라 때때로 고온이 사용될 수 있다. 단계 d)는 수성 액체 중에서 가수분해하여 축합가능 중을 형성할 수 있는 가수분해가능 중을 현탁액에 제공하여 층상 나노입자를 형성하는 단계를 포함할 수 있다. 단계 d)는 수성 액체 중에서 가수분해가능 중을 가수분해하는 단계 및 수성 액체 중에서 축합가능 중을 축합하여 층을 형성하는 단계를 포함할 수 있다. 방법은 현탁액을 충분한 시간(예를 들어 약 6 내지 96 시간) 동안 충분한 온도(예를 들어 약 1 내지 70 °C)로 유지하여 가수분해가능 중을 가수분해하고, 임의로 또한 축합가능 중을 축합하는 단계를 포함할 수 있다. 단계 b) 내지 d)는 적어도 한번 반복될 수 있거나, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 회 또는 10 회 이상 반복될 수 있다. 각각의 반복공정에서, 수성 액체는 도펀트 또는 도펀트의 배합물을 포함할 수 있거나 도펀트를 포함하지 않을 수 있으며, 존재할 경우, 임의의 어느 반복공정에서의 도펀트는 임의의 다른 반복공정에서의 도펀트와 동일하거나 상이할 수 있다. 각각의 반복공정은 층을 형성할 수 있고, 각각의 층은 도펀트를 포함할 수 있거나 도펀트를 포함할 수 없다. 도펀트 또는 각각의 도펀트는 방출가능 물질일 수 있거나 방출 불가능 물질일 수 있다. 코어 입자는 그 직경이 약 5 내지 150 nm 일 수 있거나 그 직경이 500 nm 미만일 수 있다. 층 또는 각각의 층은 약 1 내지 100 nm, 또는 약 1 내지 50 nm, 5 내지 75 nm 또는 5 내지 30 nm의 평균 두께를 가질 수 있다. 방법은 층 또는 각각의 층의 두께를 제어할 수 있다. 코어 입자는 다공성일 수 있고, 마이크로포러스일 수 있고/있거나 메조포러스일 수 있으며, 그의 기공 크기가 약 0.5 내지 20 nm 일 수 있다. 코어 입자는 도펀트를 포함할 수 있으며, 이는 층, 또는 층들 중 임의의 층 또는 모든 층에 있는 도펀트와 동일하거나 상이할 수 있다. 임의의 어느 반복공정에 존재하는 가수분해가능 중은 임의의 다른 반복공정에 존재하는 가수분해가능 중과 동일하거나 상이할 수 있다. 현탁액 및 수성 액체 중 하나 또는 둘 모두는 계면활성제를 포함할 수 있다. 방법은 다수의 층상 나노입자를 포함하는 나노입자 물질을 생성할 수 있으므로, 현탁액을 제공하는 단계는 제 1 비극성 액체에 다수의 코어 입자를 포함하는 현탁액을 제공하는 단계를 포함한다.

<27> 방법은 다음과 같은 단계 중 하나 이상의 단계를 추가로 포함할 수 있다: e) 제 1 비극성 액체로부터 층상 나노입자 또는 나노입자 물질을 적어도 부분적으로 분리하는 단계; f) 층상 나노입자 또는 나노입자 물질을 수성 액체로 세척하는 단계; g) 층상 나노입자 또는 나노입자 물질을 유기 액체로 세척하는 단계; h) 층상 나노입자 또는 나노입자 물질을 건조하는 단계.

<28> 단계 f)는 실온에서 수행될 수 있거나 80 °C와 같이 높은 온도에서 수행될 수 있다(예, 약 20, 30, 40, 50, 60, 70 또는 80 °C). 단계 g)의 유기 액체는 극성 또는 비극성일 수 있다. 그의 극성은 유기 액체 중의 도펀트의 용해도에 따라 선택될 수 있다. 단계 g)는 실온에서 수행될 수 있거나 70 °C와 같이 높은 온도에서 수행될 수 있으나(예, 약 20, 30, 40, 50, 60 또는 70 °C), 유기 액체의 비점 또는 그 이하에서 수행되어야 한다. 단계 f) 및 g)는 한번 이상 수행될 수 있으며, 임의의 순서로 수행될 수 있거나, 하나 또는 둘 모두 생략될 수 있다. 예를 들어, 방법은 (순서대로) 단계 e) 그리고 h), 또는 단계 e), f) 그리고 h), 또는 단계 e), g) 그리고 h), 또는 단계 e), f), g) 그리고 h), 또는 단계 e), g), f) 그리고 h), 또는 단계 e), g), f), g) 그리고 h)를 포함할 수 있거나, 일부 다른 순서의 단계들을 포함할 수 있다. 단계 h)는 응집을 방지하거나 억제하는 방식으로 수행될 수 있고, 예를 들어 단계 h)는 W01/62332 (Barbe 및 Bartlett, "제어 방출 세라믹 입자, 그의 조성물, 제조방법 및 사용방법")에 기술된 바와 같이 동결 건조 단계를 포함할 수 있다. 단계 h)는 단계 e) 직후에 수행될 수 있다. 이 경우, 이 단계에 존재하는 대량의 계면활성제가 입자 간의 물리적 접촉을 방지함으로써 응집을 억제할 수 있다.

<29> 일례로, a) 비극성 액체에 코어 입자, 계면활성제 및 임의로 보조계면활성제를 함유하는 안정한 현탁액을 제공하는 단계; b) 도펀트, 및 축합가능 중을 축합시키는 촉매를 함유하는 수성 액체를 상기 현탁액에 첨가하는 단계; c) 제 2 비극성 액체, 제 2 계면활성제 및 임의로 제 2 보조계면활성제를 첨가하는 단계; 및 d) 수성 액체에서 가수분해하여 축합가능 중을 형성할 수 있는 가수분해가능 중을 상기 현탁액에 첨가하여 그 안에 또는 그 위에 도펀트를 가진 층상 나노입자를 형성하는 단계를 포함하여, 그 안에 또는 그 위에 도펀트를 가진 층상 나노입자를 제조하는 방법이 제공된다.

<30> 현탁액 및 수성 액체 중 하나 또는 둘 모두는 계면활성제를 포함할 수 있다. 계면활성제는 수성 액체, 또는 현탁액, 또는 둘 모두에 용해될 수 있다.

<31> 다른 일례로, 방법은 a) 비극성 액체 중에 분산된 수성 드롭렛을 함유하는 에멀전으로서, 상기 에멀전이 계면활성제 및 임의로 보조계면활성제를 추가로 포함하고, 상기 수성 드롭렛이 가수분해시 제 1 축합가능 중을 축합시

키는 촉매를 함유하는 에멀전을 제공하는 단계; b) 상기 수성 드롭렛 중에서 가수분해하여 제 1 촉합가능 종을 형성할 수 있는 제 1 가수분해가능 종을 상기 에멀전에 첨가하여 비극성 액체에서 코어 입자의 현탁액을 형성하는 단계; c) 제 2 촉합가능 종을 촉합시키는 촉매를 함유하는 수성 액체를 상기 현탁액에 첨가하는 단계; d) 제 2 계면활성제 및 임의로 제 2 보조계면활성제의 용액을 상기 현탁액에 첨가하는 단계; 및 e) 수성 액체 중에서 가수분해하여 제 2 촉합가능 종을 형성할 수 있는 제 2 가수분해가능 종을 상기 현탁액에 첨가하는 단계를 포함한다.

<32> 에멀전은 유중수(W/O) 에멀전일 수 있다. 제 1 가수분해가능 종(단계 b)) 또는 제 2 가수분해가능 종(단계 e))의 첨가 후, 가수분해가능 종은 가수분해하여 각각 제 1 또는 제 2 촉합가능 종을 형성할 수 있고, 이어 촉매(들)의 작용에 의해 촉합하여 코어 입자를 적어도 부분적으로 둘러싸는 층을 형성할 수 있다. 제 1 가수분해가능 종 및 제 2 가수분해가능 종은 동일할 수 있거나 상이할 수 있다. 단계 c) 내지 e)는 적어도 한번 반복될 수 있거나, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 또는 10 회 이상 반복될 수 있으며, 각각의 반복공정은 코어 입자를 적어도 부분적으로 둘러싸는 층을 형성한다. 각각의 반복공정에서, 수성 액체는 도펀트를 포함할 수 있거나 도펀트를 포함하지 않을 수 있으며, 임의의 어느 반복공정에 존재하는 도펀트는 임의의 다른 반복공정에 존재하는 도펀트와 동일하거나 상이할 수 있다. 에멀전 및/또는 수성 액체는 도펀트를 포함할 수 있고, 코어 입자 및 층(들)로 구성된 그룹 중에서 선택된 적어도 하나의 영역은 적어도 하나의 도펀트를 포함할 수 있다.

<33> 다른 일례로, a) 계면활성제 및 비극성 액체, 및 임의로 보조계면활성제를 함유하는 계면활성제를 제공하는 단계; b) 제 1 촉합가능 종을 촉합시키는 촉매 및 임의로 또한 제 1 도펀트(코어 도펀트)를 함유하는 수성 용액을 계면활성제 용액에 첨가하는 단계; c) 상기 계면활성제 용액 및 상기 수성 용액으로부터 에멀전을 형성하는 단계; d) 수성 용액 중에서 가수분해하여 제 1 촉합가능 종을 형성할 수 있는 제 1 가수분해가능 종을 상기 에멀전에 첨가하는 단계; e) 제 1 가수분해가능 종으로부터 코어 입자의 현탁액을 형성하기에 충분한 온도에서 충분한 시간 동안 에멀전을 유지하는 단계; f) 제 2 촉합가능 종을 촉합시키는 촉매 및 임의로 제 2 도펀트(층 도펀트)를 함유하는 수성 액체를 상기 현탁액에 첨가하는 단계; g) 제 2 계면활성제 및 임의로 제 2 보조계면활성제의 용액을 상기 현탁액에 첨가하는 단계; 및 h) 수성 액체 중에서 가수분해하여 제 2 촉합가능 종을 형성할 수 있는 제 2 가수분해가능 종을 상기 현탁액에 첨가하여 층상 나노입자를 형성하는 단계를 포함하여, 층상 나노입자를 제조하는 방법이 제공된다.

<34> 제 1 가수분해가능 종 또는 제 2 가수분해가능 종의 첨가 후, 가수분해가능 종은 가수분해하여 각각 제 1 또는 제 2 촉합가능 종을 형성할 수 있고, 이어 촉매(들)의 작용에 의해 촉합할 수 있다. 상기 에멀전은 마이크로에멀전일 수 있다.

<35> 또 다른 일례로, a) 계면활성제 및 비극성 액체, 및 임의로 보조계면활성제를 함유하는 계면활성제 용액을 제공하는 단계; b) 제 1 촉합가능 종을 촉합시키는 촉매, 및 임의로 또한 제 1 도펀트를 함유하는 수성 용액을 상기 계면활성제 용액에 첨가하는 단계; c) 계면활성제 용액 및 수성 용액으로부터 에멀전을 형성하는 단계; d) 수성 용액에서 가수분해하여 제 1 촉합가능 종을 형성할 수 있는 제 1 가수분해가능 종을 상기 에멀전에 첨가하는 단계; e) 제 1 가수분해가능 종으로부터 코어 입자의 현탁액을 형성하기에 충분한 온도에서 충분한 시간 동안 상기 에멀전을 유지하는 단계; f) 제 2 촉합가능 종을 촉합시키는 촉매, 및 임의로 제 2 도펀트를 함유하는 수성 액체를 상기 현탁액에 첨가하는 단계; g) 제 2 계면활성제 및 임의로 제 2 보조계면활성제의 용액을 상기 현탁액에 첨가하는 단계; h) 수성 액체 중에서 가수분해하여 제 2 촉합가능 종을 형성할 수 있는 제 2 가수분해가능 종을 상기 현탁액에 첨가하여 층상 나노입자를 형성하는 단계; i) 비극성 액체로부터 층상 나노입자를 적어도 부분적으로 분리하는 단계; j) 상기 층상 나노입자를 유기 액체로 세척하는 단계; k) 상기 층상 나노입자를 수성 액체로 세척하는 단계; l) 상기 층상 나노입자를 유기 액체(단계 j)의 유기 액체와 동일하거나 상이할 수 있음)로 세척하는 단계; 및 m) 상기 층상 나노입자를 건조하는 단계를 포함하여, 층상 나노입자를 제조하는 방법이 제공된다.

<36> 본 발명의 다른 일면으로, 코어 입자(즉, 코어) 및 상기 코어 입자를 적어도 부분적으로 둘러싸는 하나 이상의 층을 포함하는 층상 나노입자가 제공된다. 층상 나노입자는 구형일 수 있다. 코어 입자는 고체일 수 있고, 다공성 고체, 예를 들어 마이크로포러스 또는 메조포러스 고체일 수 있으며, 구형일 수 있거나 구형이 아닐 수 있다. 코어의 평균 직경은 약 5 내지 500 nm 일 수 있다. 층 또는 각각의 층은 독립적으로 고체 층 또는 겔 층일 수 있다. 코어 및 하나 이상의 층들로 구성된 그룹 중에서 선택된 층상 나노입자의 적어도 하나의 영역은 하나의 도펀트 또는 다수(예를 들어 2, 3, 4, 5 또는 5 개 이상)의 도펀트를 포함할 수 있다. 따라서, 코어 도펀트 및/또는 하나 이상의 층 도펀트일 수 있다. 도펀트 또는 각각의 도펀트는 상기 도펀트를 포함하는 영역에 실질적으로 균일하게 도포될 수 있다. 즉, 예를 들어 나노입자가 코어 및 단일 층을 포함하고 코어가 코어 도

펀트를 포함하며 층이 층 도펀트를 포함하면, 코어 도펀트는 코어 내에 실질적으로 균일하게 분포될 수 있고, 층 도펀트는 층 내에 실질적으로 균일하게 분포될 수 있다. 층상 나노입자는 마이크로포러스 또는 메조포러스 세라믹 나노입자일 수 있다. 코어 및 하나 이상의 층들은 각각 독립적으로 마이크로포러스 또는 메조포러스일 수 있다. 층 또는 각각의 층, 및 임의로 코어 입자는 독립적으로 가수분해된 실란, 예를 들어 가수분해된 알콕시실란을 포함할 수 있고, 실리카 및/또는 폴리실세스퀴옥산을 포함할 수 있다. 층 또는 각각의 층, 및 임의로 코어 입자는 독립적으로 세라믹 또는 산화물(예, 금속 산화물)을 포함할 수 있다. 코어 및 하나 이상의 층들 중 하나 이상이 도펀트를 포함하면, 이들의 각각에 존재하는 도펀트들은 동일할 수 있거나 상이할 수 있다. 도펀트 또는 각각의 도펀트는 독립적으로 방출가능하거나 방출 불가능할 수 있다. 층상 나노입자는 방출가능 도펀트 중 하나 이상을 연속 방출 및/또는 지연 방출할 수 있다. 층상 나노입자의 평균 직경은 약 10 내지 500 nm 일 수 있다. 코어 및 층 또는 각각의 층은 독립적으로 마이크로포러스 또는 메조포러스일 수 있고, 약 0.5 내지 10 nm의 기공을 가질 수 있다. 층 또는 각각의 층은 독립적으로 약 1 내지 50 nm의 평균 두께를 가질 수 있다. 도펀트는 무기 물질 또는 유기 물질일 수 있다. 이는 염, 또는 염료, 촉매, 활성 재료 또는 활성 물질, 예 생물학적으로 활성인 물질(예, 단백질, 폴리사카라이드, 효소, 약물, 펩티드 등), 자성 물질, 방사성 중, 방사성 트레이서(radioactive tracer) 또는 일부 다른 형태의 도펀트일 수 있다.

- <37> 하나의 일례로, 제 1 도펀트를 함유하는 다공성 코어 입자 및 상기 코어 입자를 적어도 부분적으로 둘러싸는 제 2 도펀트를 함유하는 다공성 층을 포함하는 층상 나노입자가 제공된다. 제 1 및 제 2 도펀트 중 적어도 하나는 상기 층상 나노입자로부터 방출될 수 있다. 따라서, 나노입자는 제 1 방출가능 도펀트를 함유하는 다공성 코어 입자 및 상기 코어 입자를 적어도 부분적으로 둘러싸는 제 2 방출가능 도펀트를 함유하는 다공성 층을 포함할 수 있다. 상기 나노입자는 제 2 방출가능 도펀트 및 제 1 방출가능 도펀트를 순차적으로 방출할 수 있다.
- <38> 다른 하나의 일례로, 제 1 방출가능 도펀트를 함유하는 다공성 코어 입자, 상기 코어 입자를 둘러싸며 방출가능 도펀트를 함유하지 않는 제 1 다공성 층 및 제 1 다공성 층을 적어도 부분적으로 둘러싸며 제 2 방출가능 도펀트를 함유하는 제 2 다공성 층을 포함하는 층상 나노입자가 제공된다. 상기 나노입자는 제 2 및 제 1 도펀트의 방출 사이에 지연을 두고 제 2 방출가능 도펀트 및 제 1 방출가능 도펀트를 순차적으로 방출할 수 있다. 지연 길이는 제 1 층의 두께 및 다공성에 따라 좌우될 수 있다.
- <39> 또 다른 하나의 일례로, 방출가능 도펀트를 함유하지 않는 코어 입자 및 상기 코어 입자를 적어도 부분적으로 둘러싸는 방출가능 도펀트를 함유하는 다공성 층을 포함하는 층상 나노입자가 제공된다. 코어 입자는 방출 불가능 도펀트, 예를 들어 나노 입자를 착색하기 위한 방출 불가능한 안료를 포함할 수 있다. 코어는 다공성이거나 비다공성일 수 있다. 코어는 층상 나노입자가 자성을 띌도록 자성 재료를 포함할 수 있다.
- <40> 또 다른 일례로, 임의로 방출가능 도펀트를 함유하는 비다공성 코어 입자, 및 상기 코어 입자를 적어도 부분적으로 둘러싸며 방출가능 도펀트를 함유하지 않는 다공성 층을 포함하는 층상 나노입자가 제공된다. 나노입자는 지연 후 도펀트를 방출할 수 있다. 지연 길이는 다공성 층의 두께 및 다공도에 따라 달라질 수 있다. 층은 방출 불가능 도펀트, 예를 들어 나노입자를 착색하기 위한 방출 불가능 안료를 가질 수 있다.
- <41> 또한, 본 발명에 따른 다수의 층상 나노입자를 함유하는 나노입자 물질이 제공된다. 나노입자 물질은 단분산될 수 있거나, 좁은 입자 크기 분포를 가질 수 있다.
- <42> 또한, 본 발명의 방법에 의해 제조시 층상 나노입자가 제공될 수 있다. 본 발명에 따르거나 본 발명의 방법에 의해 제조시 다수의 층상 나노입자를 포함하는 나노입자 물질이 제공된다.
- <43> 본 발명의 다른 일면으로, 본 발명에 따른 층상 나노입자 또는 본 발명에 따른 다수의 층상 나노입자를 유체에 노출시키는 단계를 포함하여 방출가능 물질을 유체에 전달하는 방법이 제공되며, 여기서 상기 층상 나노입자(들)은 그 안에 및/또는 그 위에(예, 층들 또는 코어 입자 중 적어도 하나에) 방출가능한 물질을 가지며, 상기 유체는 상기 층상 나노입자(들)로부터 방출가능 물질을 적어도 부분적으로 방출가능하다.
- <44> 상기 유체는 수성 유체, 예를 들어 체액일 수 있거나 비수성 액체, 예를 들어 유기 용매일 수 있다. 노출 단계는 층상 나노입자(들)을 유체와 교반, 진탕, 스위링(swirling), 초음파분해(sonicating) 또는 휘젓기(agitating)하는 것을 포함할 수 있다. 본 방법은 유체 내로 방출가능 물질을 방출시키는 단계를 포함할 수 있고, 제어 방식으로 방출가능 물질을 방출하는 단계를 포함할 수 있다. 방출가능 물질의 방출은 제어 가변 방출일 수 있으며, 이로써 방출가능 물질의 방출 속도는 제어된 방식 및/또는 예정된 방식으로 경시적으로 변할 수 있다.
- <45> 하나의 일례로, 방출가능 물질은 약물이고, 유체는 체액, 예를 들어 환자의 혈액이다. 본 일례는 그 안에 및/

또는 그 위에 약물을 가진 본 발명에 따른 층상 나노입자 또는 본 발명에 따른 다수의 층상 나노입자를 환자(예, 환자의 혈액)에게 전달하는 단계를 포함하여, 환자에게 약물을 투여하는 방법을 포함한다. 약물은 예를 들어 항암제일 수 있다. 층상 나노입자(들)은 약 10 내지 500 nm, 또는 약 50 내지 300 nm의 직경을 가질 수 있다. 전달은 정맥 내(IV) 전달일 수 있고, 나노입자(들)을 함유하는 현탁액을 환자에게 주사하는 것을 포함할 수 있다. 현탁액은 현탁 유체를 포함할 수 있다. 주사에 적합한 현탁 유체는 널리 알려져 있으며, 염수, 링거 용액, 글루코스 용액, 플루토스 용액, 텍스트로즈 용액, 아미노산 용액, 단백질 가수분해물, 소듐 락테이트 용액 또는 일부 다른 수성 액체를 포함할 수 있다. 또한, 환자에게 약물을 투여하기 위한, 그 안에 및/또는 그 위에 약물을 가진 본 발명에 따른 층상 나노입자의 용도가 제공된다.

<46> 본 발명의 또 다른 일면으로, 방출가능 물질을 유체에 전달하는데 사용하는 경우, 본 발명에 따른 층상 나노입자, 또는 본 발명에 따른 다수의 층상 나노입자가 제공된다.

<47> 본 발명은 또한, 혼합물 중 적어도 하나의 성분을 선택적으로 흡착하기 위한 본 발명에 따른 층상 나노입자의 용도를 제공한다. 본 발명은 혼합물 중 적어도 하나의 성분을 선택적으로 흡착하기 위해 사용되는 경우 층상 나노입자를 추가로 제공한다.

<48> 바람직한 일례의 상세한 설명

<49> 본 발명은 무기/무기 입자 코어 셸 입자, 일부의 일례로 세라믹 코어 및 하나 이상의 세라믹 층 또는 셸을 가진 세라믹 재료로 만들어진 입자에 관한 것이다. 본 발명은 다양한 다공성 금속 산화물 셸 및 비다공성 또는 다공성 (산화물 또는 비산화물) 코어, 예를 들어 실리카에 적용가능하다.

<50> 실리카 코어-셸 입자는 염료가 편입된 실리카 입자, 실리카 코팅된 금속 클러스터, 염료가 편입된 코어-셸 오가노실리콘로 나눌 수 있다.

<51> 제 1 내지 제 3 카테고리는 캡슐화 및 코어-셸 입자로부터의 방출에 특히 흥미가 있다. 본 발명의 입자는 도펀트가 층들 중 임의의 층에 도핑될 수 있다는 점에서 선행 기술과 다르다. 따라서, 다수의 일례로 본 발명의 입자는 층 전체에 균일하게 분포되어 있고 방출될 수 있는 하나 이상의 도펀트를 함유하는 층 및 셸 중 적어도 하나를 가진 다층 나노입자로 고려될 수 있다.

<52> 다층 입자 중 개별 층 각각의 조성을 그에 맞게 조정하기 위해서, 마이셀 풀 조성(micelle pool composition)을 변화시키는 능력을 이용하는 것이 가능하다. 이는 본 명세서에 기술된 바와 같이 계면활성제/물 및 시약 전구체의 순차적 첨가에 의해 달성될 수 있다. 동일한 코어-셸 구조를 가진 균일한 다층 입자를 생성시킴으로써 상이한 조성을 가진 입자가 생성되지 않도록 하는 에멀전 조성(즉, 계면활성제-오일-물의 삼원상 다이어그램에서 동일한 스폿)을 유지하는 것이 중요할 수 있다. 따라서, 본 발명은 다층 입자의 생성을 촉진하는 전구체 및 에멀전의 순환식 첨가(cyclic addition)를 제공한다.

<53> 본 명세서는 유중수 마이크로에멀전(W/O) 시스템을 통해 층상 나노입자를 생성하기 위한 줄-겔 방법을 개시한다. 나노입자는 다층일 수 있다. 생성된 나노입자는 나노입자 내 상이한 위치에 캡슐화되고 제어 방식으로 방출될 수 있는 하나 이상의 활성 분자, 캡슐화제 및/또는 도펀트를 함유할 수 있다. 나노입자는 세라믹 나노입자일 수 있다. 이들은 (상이한) 활성 분자 (도펀트) 및 (상이한) 전구체 (또는 유기적으로 변형된 전구체), 및 신선한 W/O 에멀전을 순차적으로 첨가함으로써 합성될 수 있다. 층 입자 크기 및 코어 직경 및 각 층의 두께는 첨가되는 전구체의 양을 조절함으로써 조절할 수 있다. 각 층의 두께는 약 1 내지 50 nm 사이로 조절될 수 있다. 전구체는 가수분해가능 중(예, 가수분해가능 실란)일 수 있다. 이것은 가수분해하여 시약을 형성할 수 있다. 전구체는 실리콘 알콕시드로부터 다른 금속 알콕시드 또는 금속 알콕시드의 혼합물까지 다양할 수 있다. 다층 입자에서 이들의 위치에 따라, 활성 분자는 순차적으로 또는 구획 방식(예를 들어 방출-비방출-방출)으로 방출될 수 있다. 따라서, 예를 들어 코어 내 및 외부층 내에는 방출가능 물질을 함유하고 코어 및 외부층 사이의 내부층에는 방출가능 물질을 함유하지 않는 나노입자가 구축되면, 방출가능 물질의 방출은 단계적으로 진행되며, 방출-비방출-방출 단계가 순차적으로 일어난다.

<54> 본 발명의 방법에서, 코어 입자는 원위치에서 형성될 수 있거나 예비형성된 입자로서 첨가될 수 있다. 코어 입자는 임의의 종의 분말, 예를 들어 실리카 입자(예컨대 혼중 실리카, 콜로이드 실리카 또는 실리카 흙), 금속 산화물 입자(예컨대 인듐 산화물), 혼합 금속 산화물 입자(예컨대 인듐 산화물 도프 실리카 산화물), 반도체 입자, 양자점, 자성 입자, 결정성 입자 또는 일부 다른 형태의 입자일 수 있다. 코어 입자는 구형 또는 입방체일 수 있거나, 삼각기둥, 사면체, 다면체(예를 들어 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20 면체 또는 20 면체 이상), 플레이크(flake) 또는 불규칙 형태일 수 있다. 코어 입자는 결정 또는

비결정일 수 있거나 부분 결정일 수 있다. 이것은 다공성 또는 비다공성일 수 있다. 코어 입자는 그 직경이 약 5 내지 500 nm 일 수 있거나, 약 5 내지 450, 5 내지 400, 5 내지 300, 5 내지 200, 5 내지 100, 5 내지 50, 5 내지 20, 10 내지 500, 10 내지 400, 10 내지 200, 10 내지 100, 50 내지 500, 50 내지 400, 50 내지 200, 50 내지 100, 100 내지 500, 100 내지 400, 100 내지 200, 200 내지 500 또는 300 내지 500 nm일 수 있고, 예를 들어 그 직경이 약 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450 또는 500 nm 일 수 있거나 일부의 다른 직경일 수 있다. 비극성 액체(또는 둘 이상이 상이한 단계에 사용된 경우 각각의 비극성 액체)는 탄화수소일 수 있고, 5 내지 16 개, 또는 5 내지 12 개, 5 내지 8 개, 6 내지 12 개 또는 6 내지 10 개의 탄소 원자를 가질 수 있고, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 또는 16 개의 탄소 원자를 가질 수 있다. 이것은 직쇄, 분기쇄, 사이클릭 일 수 있고, 지방족 또는 방향족일 수 있다. 이것은 탄화수소의 혼합물일 수 있다. 다르게는, 이것은 일부 다른 비극성 액체, 예를 들어 할로알칸 또는 할로방향족 액체 또는 저점도 실리콘, 예를 들어 저점도 디메틸실리콘 또는 저점도 플루오로실리콘일 수 있다. 저점도 실리콘은 선형 실리콘 또는 사이클릭 실리콘일 수 있다. 실리콘의 점도는 약 100 cS 이하, 또는 약 50, 20, 10, 5, 2 또는 1 cS 이하일 수 있고, 약 0.5, 1, 2, 3, 4, 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 또는 100 cS 이하일 수 있다. 선형 실리콘은 트리메틸실록시 종결 실리콘일 수 있다. 사이클릭 실리콘은 D3, D4, D5, D6, D7 또는 D8 사이클릭 실리콘일 수 있거나 이들 중 임의의 둘 이상의 혼합물일 수 있다. 사용될 수 있는 전형적인 탄화수소는 사이클로헥산이다. 비극성 액체는 재생이용이 가능할 수 있다. 촉매는 졸-겔 방법에 대한 촉매일 수 있다. 이것은 촉합가능 종을 촉합시키는 촉매일 수 있고, 예를 들어 강산(예컨대 황산, 염산), 유기산(예컨대 아세트산, 트리플루오로아세트산), 염기(예를 들어 KOH, NaOH, 수성 암모니아와 같은 수산화물), 아민(예를 들어 APTES(아미노프로필트리에톡시실란)과 같은 아민으로 작용성화된 ORMOSIL), 플루오라이드(예를 들어, HF, NaF, KF, NH₄F), 또는 전이금속 알콕시드(예를 들어 티타늄 알콕시드, 바나듐 알콕시드)일 수 있다. 수성 액체 중의 촉매의 농도는 약 0.1 내지 5 M 일 수 있고, 약 0.1 내지 2, 0.1 내지 1, 0.1 내지 0.5, 0.5 내지 5, 1 내지 5, 3 내지 5, 0.5 내지 2 또는 1 내지 2 M 일 수 있으며, 약 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9, 1, 1.1, 1.2, 1.3, 1.4, 1.5, 2, 2.5, 3, 3.5, 4, 4.5 또는 5 M 일 수 있다. 수성 액체의 pH는 약 8 내지 14, 또는 약 8 내지 13, 8 내지 12, 8 내지 11, 8 내지 10, 9 내지 13, 10 내지 13, 11 내지 13, 9 내지 12, 10 내지 12 또는 11 내지 12 일 수 있고, 약 8, 8.5, 9, 9.5, 10, 10.5, 11, 11.5, 12, 12.5, 13, 13.5 또는 14일 수 있다. 코어 입자의 현탁액에 대한 수성 액체의 비는 v/v 기준으로 약 0.1 내지 10 %, 또는 약 0.1 내지 5, 0.1 내지 2, 0.1 내지 1, 0.5 내지 10, 1 내지 10, 5 내지 10, 0.5 내지 5, 0.5 내지 2 또는 1 내지 2 %일 수 있고, 약 0.1, 0.5, 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 3.5, 4, 4.5, 5, 5.5, 6, 6.5, 7, 7.5, 8, 8.5, 9, 9.5 또는 10 %일 수 있다. 수성 액체에 대한 가수분해가능 종의 비는 w/w, w/v, v/v 또는 몰랄 기준으로 약 0.5 내지 10 %일 수 있고, 약 0.5 내지 5, 0.5, 내지 2, 0.5 내지 1, 1 내지 10, 5 내지 10 또는 2 내지 5 %일 수 있으며, w/w, w/v, v/v 또는 몰랄 기준으로 약 0.5, 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 3.5, 4, 4.5, 5, 5.5, 6, 6.5, 7, 7.5, 8, 8.5, 9, 9.5 또는 10 %일 수 있다. 가수분해가능 종은 가수분해가능 금속 종, 예를 들어 가수분해가능 실리콘, 알루미늄 또는 티타늄 종일 수 있다. 가수분해가능 종은 알콕시드, 예컨대 금속 알콕시드(예, 실리콘 알콕시드, 티타늄 알콕시드 또는 알루미늄 알콕시드)일 수 있다. 알콕시드는 C1 내지 C6의 직쇄 또는 분기쇄 알콕시드 일 수 있거나 이러한 알콕시드의 혼합물일 수 있다. 다르게는, 가수분해가능 종은 아릴옥시드, 예를 들어 페녹시드, 실리콘 알카노에이트, 예를 들어 실리콘 프로피오네이트, 및 아미노실란, 아미도실란 또는 일부의 다른 가수분해가능 실란일 수 있다. 금속은 평균적으로 분자당 2 내지 4 개의 가수분해가능 그룹을 가질 수 있고, 평균적으로 분자당 약 2, 2.5, 3, 3.5 또는 4 개의 가수분해가능 그룹을 가질 수 있다. 적합한 가수분해가능 종으로는 트리- 및 테트라-알콕시실란, 예컨대 테트라메톡시실란(TMOS), 테트라에톡시실란(TEOS), 테트라부톡시실란(TBOS), 테트라프로폭시실란(TPOS), 메틸트리메톡시실란(MTMS), 메틸트리에톡시실란(MTES), 에틸트리에톡시실란(ETES), 에틸트리메톡시실란(ETMS), 옥틸트리에톡시실란(OTES), 옥틸트리메톡시실란(OTMS), 헥사데실트리메톡시실란(HDTMS), 헥사데실트리에톡시실란(HDTES), 옥타데실트리메톡시실란(ODTMS), 옥타데실트리에톡시실란(ODTES), 및 메틸폴리실리케이트(MPS), 에틸폴리실리케이트(EPS), 폴리디에톡시실란(PDES), 헥사메틸디실리케이트, 헥사에틸디실리케이트 또는 작용성 트리알콕시실란, 예컨대 메타크릴로일 옥시프로필트리메톡시실란, 페닐트리에톡시실란(PTES), 페닐트리메톡시실란(PTMS), 글리시독시프로필트리메톡시실란(GLYMO), 글리시독시프로필트리에톡시실란(GLYEO), 머캅토프로필트리에톡시실란(MPTES), 머캅토프로필트리메톡시실란(MPTMS), 아미노프로필트리메톡시실란(APTMS), 아미노프로필트리에톡시실란(APTES), 3-(2-아마노에틸아미노)프로필트리메톡시실란(DATMS), 3-[2-(2-아미노에틸아미노)에틸아미노]프로필트리메톡시실란(TATMS), [2-(사이클로헥세닐)에틸]트리에톡시실란(CHEETES), 비닐트리메톡시실란(VTMS), 비닐트리에톡시실란(VTES) 및 이들의 혼합물이 포함되나 이들에 한정되지 않는다. 가수분해가능 종은 가수분해하여 촉합가능 종을 생산할 수 있다. 촉합가능 종은 상기 가수분해 종의 임의의 부분 또는 완전 가수분해물 일 수 있다. 이것은 실라놀 종일

수 있고, 분자당 1, 2, 3 또는 4 개의 실라놀 그룹, 또는 분자당 4 개 이상의 실라놀 그룹을 가질 수 있다. 이것은 분자당 1 개 이상의 실라놀 그룹을 가진 적어도 부분적으로 축합된 재료일 수 있다. 이것은 실라놀 종의 혼합물일 수 있다. 따라서, 코어 및 하나 이상의 층은 독립적으로 실리카, 폴리실세스퀴옥산, 알루미늄, 티타니아 또는 일부 다른 금속 산화물을 포함할 수 있다. 가수분해가능 종이 유기작용성이면, 이것은 유사한 유기작용성인 축합가능 종을 제공할 수 있고, 결국 코어 및 층(들) 중 하나 이상에 유사한 유기작용성, 임의로 선택적인 유기작용성인 나노입자에 이르게 할 수 있다. 이것은 유기작용성 코어 및/또는 층(들)에 대한 도펀트 또는 다른 종의 선택적 친화성을 제공할 수 있다. 다르게는, 이것은 목적하는 화합물의 전구체를 가진 코어 및 전구체를 목적하는 화합물로 전환시키는 촉매 및/또는 시약(들)을 가지며 상기 코어를 둘러싸는 하나 이상의 층을 가진 입자를 제공할 수 있다. 사용중, 전구체는 코어로부터 방출될 수 있고 입자로부터 방출하게 하는 촉매 및/또는 시약(들)에 의해 목적하는 화합물로 전환될 수 있다. 이것은 목적하는 화합물의 안전성이 제한되고/되거나 전구체가 목적하는 화합물보다 더욱 안정한 경우에 특히 사용될 수 있다. 가수분해하기에 충분한 온도는 약 1 내지 70 °C, 약 1 내지 50, 1 내지 30, 1 내지 20, 1 내지 10, 1 내지 5, 10 내지 50, 10 내지 40, 10 내지 30, 10 내지 20, 15 내지 40, 20 내지 50, 50 내지 70, 30 내지 50, 20 내지 40 또는 20 내지 30 °C일 수 있고, 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65 또는 70 °C일 수 있다. 충분한 시간은 약 6 내지 96 시간, 또는 약 6 내지 72, 6 내지 48, 6 내지 24, 12 내지 96, 24 내지 96, 36 내지 96, 48 내지 96, 60 내지 96, 12 내지 72, 24 내지 60, 36 내지 60 또는 36 내지 48 시간일 수 있고, 약 6, 12, 18, 24, 36, 48, 60, 72, 84 또는 96 시간일 수 있거나, 96 시간 이상일 수 있다. 코어 입자는 약 1 내지 70 °C의 온도에서 제공될 수 있거나, 약 1 내지 70 °C, 또는 약 10 내지 70 °C 또는 약 1 내지 10 °C 또는 약 1 내지 50 °C 또는 약 1 내지 20 °C 또는 약 10 내지 50 °C, 또는 약 10 내지 40, 10 내지 30, 10 내지 20, 20 내지 50, 50 내지 70, 30 내지 60, 30 내지 50, 20 내지 40 또는 20 내지 30 °C의 온도에서 제공될 수 있으며, 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65 또는 70 °C에서 제공될 수 있다.

<55> 도펀트는 염(예, 구리 테트라민과 같은 금속 착이온을 포함함), 염료, 촉매, 생물학적 활성 물질(예, 단백질, 폴리사카라이드, 효소, 약물, 펩티드 등), 자성 물질, 방사성 트레이서 또는 다른 방사성 종, 또는 일부 다른 형태의 도펀트일 수 있다. 나노입자 내 상이한 위치에 상이한 도펀트가 존재할 수 있다(예, 코어 및 하나 이상의 층 각각은 상이한 도펀트를 포함할 수 있다). 나노입자 내 상이한 위치에 동일한 도펀트가 위치할 수 있다(예, 코어 및 하나 이상의 층 각각은 동일한 도펀트를 포함할 수 있다). 도펀트 또는 각각의 도펀트는 방출가능하거나 방출 불가능하다. 하나 이상의 도펀트가 존재하면, 적어도 하나의 도펀트는 방출가능하고 적어도 하나의 도펀트는 방출 불가능할 수 있거나, 모든 도펀트가 방출가능하거나 모든 도펀트가 방출 불가능할 수 있다. 코어 또는 층에 존재하는 도펀트는 상기 코어 또는 층 전체에 분포될 수 있고, 상기 코어 또는 층 전체에 균일 또는 불균일하게 분포될 수 있다. 하나의 도펀트로 언급된 경우 이는 다수의 도펀트(예를 들어 2, 3, 4, 5 또는 5 개 이상의 도펀트)를 포함할 수 있는 것으로 이해될 것이다. 코어 입자 또는 층들 중 어느 것이 다수의 도펀트를 포함하는 경우, 이들은 모두 방출가능하거나, 적어도 하나가 방출가능하고 적어도 하나가 방출 불가능하거나, 이들 모두가 방출 불가능할 수 있다. 예를 들어, 하나의 층은, 동시에 방출될 수 있도록 방출가능 도펀트의 혼합물을 포함할 수 있거나, 층에 다수의 성질 또는 복합적 성질(예를 들어 두 개의 상이한 염료가 단일 층에 편입된 경우와 같이)을 부가하기 위해 방출 불가능 도펀트(예, 염료 및 자성 도펀트)의 혼합물을 포함할 수 있거나, 입자를 둘러싸는 환경으로 방출하기 위한 방출가능 도펀트를 방출 불가능 도펀트(예를 들어, 염료)와 함께 포함할 수 있다.

<56> 코어 입자 내에 도펀트는 존재할 경우 코어 입자 전체에 실질적으로 균일하게 분포될 수 있다. 층, 또는 층들 중 임의의 층(하나 이상의 층이 존재하는 경우) 내에 존재하는 도펀트는 그 층 전체에 실질적으로 균일하게 분포될 수 있다.

<57> 예로, 층상 나노입자는 방출 불가능 염료(예, 적색)를 가진 코어 입자를 포함할 수 있고, 이 코어 입자는 상이한 색(예, 녹색)의 방출가능 염료를 함유하는 다공성 층에 의해 둘러싸일 수 있다. 따라서, 층상 나노입자는 방출가능 염료의 색(예, 녹색) 및 방출가능 염료와 방출 불가능 염료의 복합 색(예, 갈색)을 취할 수 있다. 층상 나노입자가 방출 불가능 염료(예, 적색)의 색을 취하면, 사용자는 방출가능 염료가 방출된다는 사실을 알 수 있다. 특정예로, 다공성 층은 방출가능 염료 이외에 제 2 방출가능 도펀트(예, 화학 반응을 위한 시약)를 포함한다. 층상 나노입자가 방출 불가능 염료의 색을 취하면, 사용자는 방출가능 도펀트의 연속 방출을 보증하기 위해 나노입자를 추가로 첨가할 필요가 있다는 사실을 알 수 있다.

<58> 코어 입자는 예를 들어 방출 불가능 염료로서 작용할 수 있는 양자점을 포함할 수 있다. 코어 입자는 임의의

적합한 입자, 예를 들어 다공성 또는 비다공성 입자일 수 있다. 이것은 나노입자일 수 있다.

- <59> 도펀트는 고정화 시약 또는 촉매를 포함할 수 있다. 예를 들어, 나노입자는 코어 입자 및 이 코어 입자를 둘러싸는 층을 포함할 수 있다. 코어 입자는 나노입자의 환경에 방출하게 될 화합물(예, 약물)의 전구체인 도펀트를 포함할 수 있고, 층은 도펀트를 화합물로 전환시키는 촉매를 포함할 수 있다. 나노입자가 적합한 환경에 노출되면, 도펀트는 코어 입자로부터 층을 통과하여 촉매의 영향하에 화합물로 전환된 다음 나노입자로부터 방출될 수 있다. 이것은 장기 안정성이 제한되는 화합물의 경우에 유용할 수 있다.
- <60> 층은 방출 불가능 도펀트의 형태로 또는 그 자체 층 재료의 형태로 방출속도 조절제(modifier)를 포함할 수 있다. 방출속도 조절제는 층 내 또는 코어 입자에 더 가까운 층 내에 또는 코어 입자에 편입된 방출가능 도펀트의 방출속도를 조절할 수 있다. 방출속도 조절제는 방출가능 도펀트의 방출을 촉진하거나 감소시킬 수 있다. 예를 들어, 코어는 산성 그룹을 가진 방출가능 도펀트를 포함할 수 있다. 코어를 둘러싸는 층은 방출가능 도펀트의 방출 속도를 감소시키는 아민 그룹을 포함할 수 있다.
- <61> 코어 또는 하나 이상의 층은 방출 불가능 도펀트의 형태로 또는 그 자체의 층 재료의 형태로 흡착제를 포함할 수 있다. 예를 들어, 코어 입자 또는 층은 방출 불가능 아민 도펀트를 포함할 수 있거나, 코어 입자 또는 층의 재료는 산성 종의 흡착을 위해 아민 그룹(예를 들어 코어 입자 또는 층을 제조하는데 사용된 아미노프로필트리에톡시실란으로부터 유도됨)을 포함할 수 있다. 이러한 재료의 사용에는 고분자량 산의 존재하에 저분자량 산의 선택적 흡착일 수 있다. 따라서, 아미노프로필트리에톡시실란, 아미노프로필트리에톡시실란 또는 아미노에틸아미노프로필트리에톡시- 또는 트리에톡시-실란으로부터 유도된 아민 그룹을 가진 다공성 코어 입자는 거기에 도포되어 본 발명에 따른 나노입자를 형성하는 중성의 다공성 층을 가질 수 있다. 저분자량 산 및 고분자량 산을 포함하는 액체에 노출되면, 저분자량 산은 코어 입자 내로 흡착되도록 층을 통과할 수 있는 반면, 고분자량 산은 코어 입자를 통과하는 것이 방해될 수 있다. 고분자량 산은 코어 입자 내에서 아민 그룹으로부터 보호됨으로써, 나노입자와 고분자량 산 사이의 상호작용에 기인한 액체의 응집을 방지한다. 이 방식으로, 저분자량 산은 액체의 응집없이 혼합물로부터 선택적으로 제거될 수 있다. 이러한 재료의 또다른 사용에는 독성이 강한 재료의 흡착일 수 있다. 따라서, 예를 들어 중성의 다공성 층에 의해 둘러싸인 아민 그룹을 가진 다공성 코어 입자를 함유하는 나노입자는 독성이 강한 산성 재료를 안전하게 흡착하기 위해 사용될 수 있다. 독성의 산성 재료를 포함하는 액체에 노출되면, 나노 입자는 액체로부터 아미노산 작용성 코어 입자 내로 독성의 산성 재료를 흡착하여, 중성의 다공성 층이 본질적으로 독성의 산성 재료를 함유하지 않게 한다. 나노입자의 외부층이 독성의 산성 재료를 함유하지 않기 때문에 독성의 산성 재료가 흡착된 생성된 나노입자는 취급하는데 안전할 수 있다.
- <62> 더욱 일반적으로, 층상 나노입자는 화학종 또는 화학종 부류의 선택적 흡착을 제공하기 위해 특히 특정 화학종 또는 화학종 부류와 상호작용할 수 있는 킬레이트화 및/또는 착화 그룹을 (코어 및/또는 하나 이상의 층에) 포함할 수 있다. 킬레이트화 및/또는 착화 그룹은 방출 불가능 도펀트의 형태로 또는 그 자체 층 재료의 형태, 또는 두 형태 모두일 수 있다. 이러한 층상 나노입자는 예를 들어 독성 화학물질, 예컨대 중금속의 흡착을 위해 사용될 수 있다. 따라서, 납을 킬레이트화할 수 있는 그룹(예, 결합 EDTA 그룹)을 포함하는 방출 불가능 도펀트를 가진 층상 나노입자는 용액으로부터 납을 제거하기 위해 사용될 수 있다.
- <63> 평균 나노입자 벌크 밀도의 범위는 0.075 g/cm^3 내지 2.2 g/cm^3 , 또는 약 0.15 내지 1.5, 0.18 내지 1.0, 0.5 내지 1.0, 0.5 내지 0.75 또는 0.25 g/cm^3 일 수 있고, 약 0.075, 0.1, 0.15, 0.2, 0.25, 0.3, 0.35, 0.4, 0.45, 0.5, 0.55, 0.6, 0.65, 0.7, 0.75, 0.8, 0.85, 0.9, 0.95, 1, 1.1, 1.2, 1.3, 1.4, 1.5, 1.6, 1.7, 1.8, 1.9, 2, 2.1 또는 2.2 g/cm^3 일 수 있다.
- <64> 나노입자 물질은 단분산될 수 있거나 좁은 입자 크기 분포를 가질 수 있다. 입자 크기 분포는 입자의 50% 이상, 또는 45%, 40%, 35%, 30%, 25%, 20%, 15% 또는 10% 이상이 평균 입자 크기의 10% 이내에 있는 것과 같을 수 있거나, 입자의 약 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70 또는 80%가 평균 입자 크기의 10% 이내에 있는 것과 같을 수 있다.
- <65> 나노입자 물질은 그의 평균 입자 직경이 약 10 내지 500 nm, 또는 약 10 내지 100, 50 내지 500, 50 내지 300, 50 내지 100, 100 내지 500, 250 내지 500, 100 내지 300 또는 200 내지 300 nm 일 수 있고, 약 10, 20, 30, 40, 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450 또는 500 nm일 수 있거나, 더 큰 평균 입자 직경을 가질 수 있다. 나노입자 물질의 입자는 하나의 코어 및 상기 코어를 적어도 부분적으로 둘러싸는 1 내지 10 개의 층을 포함할 수 있다. 1 내지 8 개, 1 내지 5 개, 1 내지 3 개, 2 내지 10 개, 5 내지 10 개, 2 내지 8 개 또는 2 내지 5 개의 층일 수 있고, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10 개의 층일 수 있거나, 10 개 보다 많은 층일

수 있다. 코어의 평균 직경은 약 5 내지 500 nm, 또는 약 5 내지 150, 100 내지 500, 100 내지 500, 100 내지 400, 100 내지 300, 100 내지 200, 100 내지 150, 5 내지 125, 5 내지 100, 5 내지 80, 5 내지 50, 5 내지 30, 10 내지 100, 30 내지 100, 50 내지 100, 100 내지 150, 100 내지 130, 130 내지 150, 10 내지 80, 20 내지 70 또는 30 내지 70 nm일 수 있고, 약 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 110, 120, 130, 140, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450 또는 500 nm일 수 있다. 각 층 또는 층의 평균 두께는 독립적으로 약 1 내지 50 nm, 또는 역 1 내지 30, 1 내지 20, 1 내지 10, 5 내지 30, 5 내지 10, 10 내지 50, 10 내지 40, 10 내지 30, 10 내지 20, 20 내지 50, 30 내지 50, 40 내지 50, 20 내지 40 또는 20 내지 30 nm 일 수 있고, 약 1, 2, 3, 4, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45 또는 50 nm 일 수 있다. 하나 이상의 층 또는 셀이 존재하는 경우, 이들은 그 두께가 상이하거나 동일할 수 있다. 코어 및/또는 층은 다공성일 수 있고, 마이크로포러스 또는 메조포러스일 수 있으며, 그의 평균 기공 크기가 약 0.5 내지 20 nm, 또는 약 0.5 내지 10, 0.5 내지 5, 0.5 내지 4, 0.5 내지 3, 0.5 내지 2, 0.5 내지 1.7, 0.5 내지 1, 1 내지 5, 2 내지 5, 3 내지 5, 4 내지 5, 5 내지 10, 7 내지 10, 10 내지 20, 5 내지 15, 5 내지 7, 1 내지 3 또는 1 내지 2 nm 일 수 있고, 그 기공 크기가 약 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9, 1, 1.1, 1.2, 1.3, 1.4, 1.5, 1.6, 1.7, 1.8, 1.9, 2, 2.5, 3, 3.5, 4, 4.5, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20 nm 일 수 있다. 따라서, 예를 들어 코어 및 모든 층이 모두 다공성일 수 있거나, 코어가 비다공성이고 층이 다공성일 수 있거나, 코어 및 내부층이 비다공성이고 외부층이 다공성일 수 있다. 코어 입자 및 층 또는 각각의 층은 독립적으로 약 0 내지 80%, 또는 약 0 내지 70, 0 내지 60, 0 내지 50, 0 내지 40, 0 내지 30, 0 내지 20, 0 내지 10, 2 내지 80, 10 내지 80, 30 내지 80, 50 내지 80, 10 내지 50, 30 내지 50, 20 내지 60 또는 20 내지 40%의 다공률을 가질 수 있고, 약 0, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70 또는 80%의 다공률을 가질 수 있다. 도펀트는 코어의 약 0 내지 100 wt%로 존재할 수 있다(즉, 코어는 도펀트를 가질 수 없거나, 하나 이상의 층에 도펀트를 가질 수 있거나 가질 수 없는 활성 물질일 수 있으며; 코어는 예를 들어 In_2O_3 나노결정의 예에서와 같이 미분 약물 입자 또는 마커(marker) 또는 양자점을 포함할 수 있다). 도펀트는 코어의 약 0 내지 50, 0 내지 25, 0 내지 10, 0 내지 5, 10 내지 100, 50 내지 100, 5 내지 95, 10 내지 50 또는 25 내지 50wt%로 존재할 수 있고, 코어의 약 0, 1, 2, 3, 4, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 96, 97, 98, 99 또는 100wt%로 존재할 수 있다. 도펀트는 코어를 둘러싸는 임의의 특정 층의 약 0 내지 25wt%, 또는 약 0 내지 20, 0 내지 15, 0 내지 10, 0 내지 5, 5 내지 25, 10 내지 25, 15 내지 25, 20 내지 25, 5 내지 20 또는 10 내지 20wt%로 존재할 수 있고, 코어를 둘러싸는 임의의 특정 층의 약 0, 0.1, 0.5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24 또는 25wt%로 존재할 수 있다.

<66> 층상 나노입자(들)를 적어도 부분적으로 분리하는 단계는 여과, 정밀여과(microfiltering), 원심분리, 초원심분리(ultracentrifuging), 침전, 경사분리(decanting) 또는 이들의 조합을 포함할 수 있다. 또한, 현탁액을 탈안정화(destabilising)하는 단계를 포함할 수 있는데, 탈안정화 공정은 상술한 여과, 정밀여과, 원심분리, 초원심분리 또는 침전 공정 이전에 수행될 수 있다.

<67> 탈안정화 단계는 현탁액에 탈안정화 액체를 첨가하는 단계를 포함할 수 있다. 탈안정화 액체는 극성일 수 있고, 비극성 액체와 혼합될 수 있다. 탈안정화 액체는 물과 혼합될 수 있다. 예를 들어 아세톤, 에탄올, 메탄올 또는 일부 다른 액체일 수 있다. 탈안정화 단계는 예를 들어 현탁액이 불안정한 온도로 온도를 변화시키는 단계를 포함할 수 있다. 상태도에 따라, 변화 단계는 가열 단계일 수도 있거나 냉각 단계일 수도 있다.

<68> 세척 단계는 층상 나노입자(들)를 세척 액체(수성 또는 유기성)와 접촉시키는 단계 및 세척 액체로부터 층상 나노입자(들)를 분리하는 단계를 포함할 수 있다. 예를 들어 세척 단계의 일부 또는 모두는 세척 액체 중에 층상 나노입자(들)를 현탁시키는 단계, 임의로 모아진 세척 액체와 층상 나노입자(들)를 교반하는 단계, 및 예를 들어 상술한 분리 방법 중 임의의 방법을 사용하여 세척 액체로부터 층상 나노입자(들)를 분리하는 단계를 포함할 수 있다. 다르게는, 세척 단계의 일부 또는 모두는 세척액이 예를 들어 필터 내에 보유될 수 있는 층상 나노입자(들)를 지나고/지나거나 통과하도록 하는 단계를 포함할 수 있다. 세척은 상 분리에 의해 경사분리 깔때기(decantation funnel) 내에서 수행될 수 있다. 수성 세척 액체는 물 또는 수성 액체, 예를 들어 염 용액일 수 있다. 유기성 세척 액체는 용매일 수 있고, 극성 또는 비극성 용매, 예를 들어 메탄올, 에탄올, 이소프로판올, 아세톤, 디클로로메탄, 클로로포름, 에틸아세테이트, 톨루엔 또는 일부 다른 용매일 수 있으며, 용매의 혼합물일 수 있다. 세척 단계는 또한 약 10 내지 70 °C, 또는 약 10 내지 50, 10 내지 30, 10 내지 20, 20 내지 70, 50 내지 70, 20 내지 50 또는 30 내지 50 °C로 현탁액을 가열하거나 냉각하는 단계를 포함할 수 있고, 약 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65 또는 70 °C로 현탁액을 가열하거나 냉각하는 단계를 포함할 수 있다. 가열 또는 냉각은 시스템의 상태도를 변화시킴으로써 시스템이 단일의 안정한 상을 형성하는 것을 방지

하는 온도일 수 있다. 시스템은 또한 용매의 혼합물을 사용하여 상태를 변화시킴으로써 안정한 단일상을 형성하는 것이 방지될 수 있다.

- <69> 건조 단계는 증상 나노입자(들)를 가열하는 단계를 포함할 수 있다. 도펀트(들)가 존재하는 경우 분해하거나 저하되는 온도 이하의 온도로 가열될 수 있으며, 예를 들어 약 30 내지 80 °C, 또는 약 30 내지 60, 30 내지 40, 40 내지 80, 60 내지 80 또는 40 내지 60 °C일 수 있고, 약 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75 또는 80 °C일 수 있다. 다르거나 추가로, 건조 단계는 예를 들어 W01/62332(Barbe 및 Bartlett, "제어 방출 세라믹 입자, 그의 조성물, 제조방법 및 사용방법")에 기술된 바와 같이 동결-건조 단계를 포함할 수 있다. 건조 단계는 추가로 또는 다르게는 기체의 흐름을 증상 나노입자(들)의 위로 및/또는 그를 통과시키는 단계를 포함할 수 있다. 기체는 증상 나노입자 및 그 안에 및/또는 그 위에 존재하는 임의의 도펀트에 대해 불활성인 기체일 수 있으며, 예를 들어 공기, 질소, 아르곤, 헬륨, 이산화탄소 또는 이들의 혼합물이 수 있고, 건조될 수 있다. 건조 단계는 추가로 또는 다르게는 증상 나노입자(들)에 부분 진공을 가하는 단계를 포함할 수 있다. 부분 진공은 예를 들어 약 0.01 내지 0.5 대기, 또는 약 0.01 내지 0.1, 0.01 내지 0.05, 0.1 내지 0.5, 0.25 내지 0.5, 0.05 내지 0.1 또는 0.1 내지 0.25 대기의 절대 압력을 가질 수 있고, 약 0.01, 0.05, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 또는 0.5 대기의 절대 압력을 가질 수 있다.
- <70> 본 발명에 따른 방법의 일례로, 비극성 액체에 코어 입자를 함유하는 현탁액을 제공하는 단계는 다음의 단계를 포함할 수 있다:
- <71> - 비극성 액체에 분산된 수성 드롭렛을 포함하는 에멀전을 제공하는 단계로서, 상기 드롭렛이 가수분해시 제 1 축합가능 종을 생성할 수 있는 제 1 가수분해가능 종을 가수분해시키는 촉매를 포함하는 단계; 및
- <72> - 제 1 가수분해가능 종이 드롭렛 내에서 가수분해하여 비극성 액체에서 코어 입자의 현탁액을 형성하도록 제 1 가수분해가능 종을 상기 에멀전에 첨가하는 단계.
- <73> 수성 드롭렛은 그 직경이 약 5 내지 150 nm, 또는 약 5 내지 125, 5 내지 100, 100 내지 130, 120 내지 150, 5 내지 80, 5 내지 50, 5 내지 30, 10 내지 100, 30 내지 100, 50 내지 100, 10 내지 80, 20 내지 70 또는 30 내지 70 nm 일 수 있고, 그 직경이 약 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 110, 120, 130, 140 또는 150 nm 일 수 있다.
- <74> 에멀전을 제공하는 단계는 다음의 단계를 포함할 수 있다:
- <75> - 계면활성제 및 비극성 액체, 및 임의로 보조계면활성제를 함유하는 계면활성제 용액을 제공하는 단계;
- <76> - 제 1 축합가능 종을 축합시키는 촉매 및 임의로 제 1 도펀트를 함유하는 수성 용액을 상기 계면활성제 용액에 첨가하는 단계;
- <77> - 상기 계면활성제 용액 및 수성 용액으로부터 에멀전을 형성하는 단계.
- <78> 계면활성제는 음이온성, 양이온성, 비이온성 또는 양성 계면활성제일 수 있고, 모노머 또는 폴리머 계면활성제일 수 있다. 적합한 계면활성제로는 노닐페녹시폴리에톡시에탄올, $C_9H_{19}C_6H_4(OCH_2CH_2)_nOH$ (NP 시리즈), 또는 옥틸페녹시폴리에톡시에탄올 $C_8H_{17}C_6H_4(OCH_2CH_2)_nOH$ (Triton 시리즈)가 포함되며, 여기서 n은 4 내지 15, 또는 4 내지 9 또는 9 내지 15 또는 7 내지 12이고, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 또는 15일 수 있다. 적합한 보조계면활성제로는 C5 내지 C10 n-알콜(1-펜타놀, 1-헥사놀, 1-헵타놀, 1-옥타놀, 1-노나놀, 1-데카놀)이 포함된다. 계면활성제 용액 중의 계면활성제의 농도는 적합한 양의 물 및 보조계면활성제와 결합하여 안정한 마이크로에멀전을 형성하기에 충분할 수 있으며, 약 0.05 내지 1M, 또는 약 0.05 내지 0.5, 0.05 내지 0.2, 0.05 내지 0.1, 0.1 내지 1, 0.5 내지 1, 0.1 내지 0.5 또는 0.1 내지 0.2M일 수 있고, 약 0.05, 0.06, 0.07, 0.08, 0.09, 0.1, 0.15, 0.2, 0.25, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9 또는 1M 일 수 있거나, 일부 다른 적합한 농도일 수 있다. 계면활성제 용액 중의 보조계면활성제의 농도는 약 0 내지 1M, 또는 약 0.05 내지 1, 0.05 내지 0.5, 0.05 내지 0.2, 0.05 내지 0.1, 0.1 내지 1, 0.5 내지 1, 0.1 내지 0.5 또는 0.1 내지 0.2M일 수 있고, 약 0, 0.05, 0.06, 0.07, 0.08, 0.09, 0.1, 0.15, 0.2, 0.25, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9 또는 1M일 수 있다. 계면활성제에 대한 보조계면활성제의 물 비는 약 0 내지 10 또는 약 0 내지 5, 0 내지 2, 0 내지 1.5, 0 내지 1, 0 내지 0.5, 0 내지 0.2, 0 내지 0.1, 0.5 내지 2, 1 내지 2, 1.5 내지 2, 0.5 내지 1.5 또는 0.8 내지 1.2, 0.5 내지 10, 1 내지 10, 2 내지 10, 5 내지 10, 0.5 내지 5 또는 1 내지 5일 수 있고, 약 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9, 1, 1.1, 1.2, 1.3, 1.4, 1.5, 1.6, 1.7, 1.8, 1.9, 2, 2.5, 3, 3.5, 4, 4.5, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10일 수 있다. 계면활성제에 대한 수성 액체 중 물의 비율은 w/w, w/v,

v/v 또는 몰랄 기준으로 약 2:1 내지 10:1, 또는 약 2:1 내지 5:1, 3:1 내지 10:1, 4:1 내지 10:1, 5:1 내지 10:1, 3:1 내지 8:1 또는 4:1 내지 6:1일 수 있고, 약 2:1, 3:1, 4:1, 5:1, 6:1, 7:1, 8:1, 9:1 또는 10:1일 수 있다.

<79> **나노입자의 합성**

<80> 도 3은 본 발명에 따른 방법을 간략히 설명한다. 방법은 다음과 같이 기술될 수 있다:

<81> 1. 계면활성제 및 보조계면활성제를 사이클로헥산과 같은 비극성 용매에 용해시켜 계면활성제 용액을 형성한다.

<82> 2. 캡슐화할(예, 염료 또는 약물) 활성 분자(도펀트)를 졸-겔 반응의 촉매(예, 염기)와 혼합하여 수성 용액을 형성한다.

<83> 3. 이어, 상술한 바와 같이 생성된 계면활성제와 수성용액을 혼합하여 안정한 마이크로에멀전을 제조한다. 이어, 알콕시드 전구체(예, TEOS)를 상기 마이크로에멀전에 첨가한 다음 가수분해가 이루어지는 물 풀(water pool)(즉, 에멀전 드롭렛의 코어)에 서서히 확산시킨다.

<84> 4. 금속 알콕시드를 적어도 48 시간 동안 가수분해 및 축합한 후, 반응 온도를 1 시간 동안 55 ± 5 °C로 올려 반응을 완료시킨다. 이 단계에서 코어(또는 시드) 입자가 생성된다.

<85> 5. 이어 추가의 수성 용액(또 다른 활성 분자를 함유할 수 있음)을 첨가한다. 이 혼합물을 55 ± 5 °C에서 6 시간 동안 교반하여 첨가된 물이 코어 입자의 표면으로 이동하게 한다. 이것은 이차핵형성의 원천일 수 있는 빈 마이셀 형성을 방지하기 위해 중요하다. 이어, 계면활성제, 보조계면활성제 및 비극성 용매를 함유하는 계면활성제 용액을 첨가한다. 시스템을 실온으로 냉각시킨 후, 추가의 전구체(예, TEOS)를 첨가하여 최초 코어 입자 주위에 층을 형성함으로써 입자를 성장시킨다. 물 대 계면활성제의 몰 비, 계면활성제의 농도와 같은 합성 파라미터를 이들 단계동안 일정하게 유지한다.

<86> 6. 단계 4 및 5를 1 회 이상 반복하여 층상 나노입자에 필요한 수의 층을 생성한다. 이 방법을 사용함으로써, 상이한 도펀트가 층상 나노입자의 상이한 위치(즉, 층)에 편입될 수 있음을 유념하기 바란다.

<87> 7. 층상 나노입자가 형성된 후, 극성 용매(예, 아세톤)를 상기 혼합물에 첨가하여 에멀전 시스템을 탈안정화시키고 침전 또는 원심분리에 의해 입자를 추출한다. 필요에 따라, 추가의 용매를 사용하여 잔류 계면활성제를 제거할 수 있다.

<88> 8. 염 용액을 첨가한 다음, 입자를 클로로포름으로 추가로 세척하고, 분리 깔때기에 수집한 다음 W01/62332(Barbe 및 Bartlett, "제어 방출 세라믹 입자, 그의 조성물, 제조방법 및 사용방법")에 기술된 방법을 사용하여 동결-건조한다. 입자는 또한 현탁액 중에서 처리될 수 있다. 극성 용매(예, 아세톤)를 상기 혼합물에 첨가하여 에멀전 시스템을 탈안정화시키고 침전 또는 원심분리에 의해 입자를 추출한다. 필요에 따라, 추가의 용매를 사용하여 계면활성제 잔류물을 추가로 제거할 수 있다.

<89> 최종 입자의 크기 및 크기 분포를 제어하는 인자로는 에멀전 파라미터(예, 계면활성제 농도, 계면활성제/물 비율, 전구체/물 비율), 금속 전구체의 성질 및 양, 단계 4 및 5의 사이클 시간이 포함된다. 층의 수는 단계 4 및 5를 얼마나 많이 반복하는 지에 따라 달라진다. 활성 분자(도펀트)의 형태 및 농도는 각각의 사이클에서 변화될 수 있다. 각각의 활성 분자의 위치는 활성 분자들이 언제 공정에 도입되는 지에 따라 달라지며, 각 층의 두께는 첨가되는 전구체의양에 의해 조절될 수 있다.

<90> **문헌에 보고된 다른 성장 방법과의 비교**

<91> 문헌에 보고된 실험과는 반대로, 본 발명에 다른 방법은 시드 성장 기술을 사용하여 동일한 오일-물-계면활성제(임의로 보조계면활성제와 함께) 상태도(phase diagram)를 유지함으로써 코어-셸 층상 나노입자를 생성한다. 이는 각 층의 성장 동안 반응 시스템에 신선한 W/O 마이크로에멀전 또는 신선한 계면활성제 및 비극성 용매를 첨가함으로써 달성될 수 있다. 따라서, 제 2 비극성 용매의 첨가는 오일-물-계면활성제 상태도를 유의적으로 변경시키지 않아야 하며, 제 2 비극성 용매는 처음에 사용된 비극성 용매와 혼화될 수 있어야 한다. 본 방법은 시드를 추출하지 않고 연속적으로 진행될 수 있다. 본 발명의 또 다른 유익한 특징은 신선한 마이크로에멀전을 각각 첨가하는 동안 새로운 활성 분자의 도입 가능성이다. 따라서, 신규의 접근법은 코어-셸 층상 나노입자를 형성하기 위해 개발될 수 있으며, 그것에 의해 하나 이상의 도펀트가 코어 또는 선택된 셸(들)(층(들))에 캡슐화될 수 있다. 그 후, 캡슐화된 분자는 다층 구조 내의 그들의 위치에 따라 예정된 방출 순서로 방출될 수 있다. 각 층에서 페이로드(payload)를 제어하는 능력은 지연(빈 층+부하 코어), 및 펄스(빈 층 또는 충전 층의

교대) 및 순차적 방출(상이한 페이로드로 충전된 층) 시스템의 설계를 가능케한다. 또한, 층 입자 크기가 조절되는 것 뿐만 아니라 코어 및 각 층의 두께가 조정될 수 있고, 따라서 어쩌면 방출 사이클의 길이를 조절할 수 있다. 입자 또는 막에 다수의 활성 분자의 캡슐화는 널리 연구되지 않았지만, 본 발명자들은 이와 같은 진보된 제어 방출 기술이 식품, 화학물질, 살생물제, 살충제, 약제 및 화장품과 같은 제어 방출 시스템의 전통적인 적용에 뿐만 아니라 광학 센서, 바이오센서, 암호 및 정보 기술과 같은 다른 영역에서 그 적용예를 발견할 수 있을 것으로 판단한다.

실시예

<132> 실시예

<133> 재료

<134> 용인된 NP-9[노닐페녹시폴리에톡시에탄올, $C_9H_{19}C_6H_4(OCH_2CH_2)_nOH$, $n=9$] (Fluka: MW 630, HLB 13.0)을 사용하였다 (즉, Karl Fisher 적정에 의해 결정된바 0.08 wt% 미만의 물을 함유함). 용인된 시그마-알드리치(Sigma-Aldrich)로부터의 테트라에틸오르토실리케이트(TEOS)(98%)를 사용하였다. 유기 용매(사이클로헥산, 1-펜타놀, 아세톤, 클로로포름)는 ACS 분광광도 등급(99+%(시그마-알드리치)이었다. 사용된 다른 모든 화학 시약은 A.R. 등급이었다. 모든 수성 용액의 제조에 고순도의 Milli-Q 물(밀리포어, Millipore)을 사용하였고; 그의 저항률은 18.2 MΩ cm 이상이였다. 모든 시료는 암실에 저장하였다.

<135> 캡슐화제 (도펀트) 용액의 제조:

<136> 구리(II) 테트라민 니트레이트의 제조: 감청색 용액이 형성될 때까지 기지량의 구리(II) 니트레이트-하이드레이트에 25 wt% 암모니아를 소량씩 적가하여 구리(II) 테트라민 니트레이트 용액을 제조하였다. 이 용액을 100 mL 부피 플라스크에 옮긴 다음, 진한 암모니아의 25 부피 퍼센트의 희석물(즉, 25 wt% NH_3)을 첨가하여 부피가 100 mL가 되도록 조정하였다. 제조된 용액은 16.69 mg/mL의 구리를 함유하였고, 그의 pH는 11.86으로서 측정되었다.

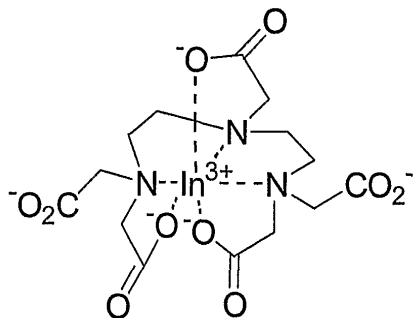
<137> 코발트(III) 헥사민 니트레이트의 제조: 진한 암모니아(25 wt% NH_3)에 의한 코발트-니트레이트-하이드레이트의 용해 동안 용액을 비등하도록 20 분 동안 가열하여 가용성 코발트(III) 헥사민 착체를 형성한 것을 제외하고는, 구리(II) 테트라민 니트레이트 용액에 대하여 상기 기술된 방법과 유사한 방법으로 코발트(III) 헥사민 니트레이트 용액을 제조하였다. 최종 용액은 16.69 mg/mL의 코발트를 함유하였고, pH는 11.82이었다.

<138> Rubpy의 제조: 2.5 mg/mL 농도의 Rubpy 용액을 제조하기 위해 고정량의 루테튬 착체를 고정 부피의 희석 암모니아(진한 25 wt% NH_3 의 10 vol%)에 용해시켜 Rubpy [(트리스(2,2'-바이피리딜)디클로로루테튬(II) 헥사하이드레이트] 용액을 제조하였다.

<139> CuPC의 제조: 5 mg/mL 농도의 CuPC 용액을 제조하기 위해 고정량의 구리 착체를 고정부피의 희석 암모니아(진한 25wt% NH_3 의 10 vol%)에 용해시켜 CuPC [구리(II) 프탈로시아닌-테트라설포산 테트라소듐 염] 용액을 제조하였다.

<140> FITC의 제조: 5 mg/mL 농도의 플루오레세인 용액을 제조하기 위해 고정량의 플루오레세인을 고정부피의 희석 암모니아(진한 25wt% NH_3 의 10 vol%)에 용해시켜 플루오레세인 이소티오시아네이트 용액을 제조하였다.

<141> In-DTPA 또는 Ga-DTPA 용액의 제조: 기지량의 $InCl_3$ 또는 $GaCl_3$ 를 100 mL 비이커에서 칭량하고, 10 g의 Milli-Q 물을 첨가하여 염을 용해시켰다. DTPA 대 금속 원소의 몰 비가 1.1:1로 유지되도록 고정량의 디에틸렌트리아민 펜타아세트산(DTPA)을 첨가하였다. 혼합물을 자기적으로 교반시키면서 진한 암모니아(25 wt% NH_3)을 소량씩 적가하였다. 모든 DTPA가 용해된 후, 화학식 $[Me-DTPA]^{2-}$ 및 다음의 구조를 가진 금속-DTPA 킬레이트가 형성되었다:



<142>

<143>

용액의 pH가 11.50 이상이고 총 부피가 100 mL 바로 아래가 될 때까지 진한 암모니아를 계속 첨가하였다. 이 용액을 100 mL 부피의 플라스크에 정량적으로 옮기고 최종 부피가 100 mL가 되도록 물을 첨가하였다.

<144>

50 nm 실리카 코어의 전형적인 제조방법

<145>

7.56 g의 NP-9(12 밀리몰)를 250 mL 스크류 캡 용기 중에서 60 mL 사이클로헥산에 용해시켰다. 이어, 1.304 mL(12 밀리몰)의 1-펜타놀을 첨가하였다. 이 혼합물을 약 1 분 동안 격렬히 진탕하여 계면활성제 용액을 제조하였다. 그 후, 염료와 같은 활성 분자를 함유하는 1.333 몰/L의 암모니아 용액(NH₄OH (pH 약 11.86) 1.296 mL(즉, 72 밀리몰의 물))을 첨가하였다. 이 혼합물을 약 30 분 동안 격렬히 교반하여 마이크로에멀전 시스템을 생성하였다. 자기적으로 교반한 마이크로에멀전에 0.546 mL의 TEOS(2.4 밀리몰)를 첨가한 다음 실온(22±22 °C)에서 고정 시간(48-72 시간) 동안 교반하였다. 그 후, 50 mL의 건조 아세톤을 첨가하여 마이크로에멀전을 탈안정화시켰다. 이 시스템을 약 10 분 동안 추가로 격렬히 교반하였다. 실리카 입자는 통상 응집되어 경사분리에 의해 분리될 수 있는데; 유의적인 침전이 관찰되지 않은 경우 혼합물을 4000 rpm으로 10 분 동안 원심분리하였다. 침전 또는 원심분리 후, 입자를 유기상으로부터 분리하고 50 mL의 건조 아세톤(매회)으로 3 회 세척하여 계면활성제를 제거하였다. 아세톤을 경사분리 한 후, 약 20 mL의 NaCl 수성 용액을 입자와 혼합하고, 경사분리 갈때기에 도입하였다. 생성된 현탁액을 클로로포름(매회 50 mL)을 사용하여 추가로 6 회 세척하여 잔류하는 계면활성제를 제거한 다음, 초음파분해하고 Flexi-dry-84D 동결-건조기(FTS Systems, Inc., Stone Ridge, NY)을 사용하여 동결-건조하였다. 이 방법을 사용하였더니, NaCl 매트릭스 내에 균일하게 분포된 나노입자의 형태로 144 mg의 실리카가 생성되었다. TEM은 입자 크기의 범위가 55±5 nm이었음을 나타낸다(도 4 및 도 5-A). 나노입자가 응집되는 것을 방지하기 위한 보호 매트릭스로서 염화나트륨을 사용하였고, 실리카와 염화나트륨의 중량비는 약 15%로 유지하였다.

<146>

100 nm, 150 nm 및 200 nm 실리카 나노입자를 제조하는 전형적인 실험방법

<147>

제법 2: 100 nm (코어+1 셸):

<148>

● 상술한 방법을 사용하여 50 nm 시드를 생성;

<149>

● 마이크로에멀전을 탈안정화시키기 위해 아세톤을 첨가하는 대신, 온도를 55±5 °C로 올리고 1 시간 동안 교반;

<150>

● 이어, 2.952 mL의 1.333 몰/L NH₄OH(pH 약 11.86)(즉, 상응하는 물 144 밀리몰)를 첨가하고 55±5 °C에서 6 시간 교반한 다음, 실온으로 냉각;

<151>

● 1-펜타놀(24 밀리몰) 2.608 mL 및 사이클로헥산 120 mL와 혼합된 NP-9 15.12 g (24 밀리몰)을 첨가하고 20 분 동안 교반;

<152>

● 이 혼합물에 2.184 mL의 TEOS(9.6 밀리몰)를 첨가;

<153>

● 48-72 시간 교반;

<154>

● 전형적인 방법에 기술된 바와 같이 입자를 세척, 추출 및 건조하여 상기한 50 nm의 실리카 코어를 생성;

<155>

이 방법은 단분산의 100 nm 실리카 나노입자 720 mg을 생성한다. 상응하는 TEM 현미경사진을 도 5-B에 나타내었다.

<156>

제법 3: 150 nm (코어+2 셸):

- <157> ● 상술한 바와 같이 100 nm 입자를 제조;
- <158> ● 마이크로에멀전을 탈안정화시키기 위해 아세톤을 첨가하는 대신, 에멀전을 두 개의 알리퀴트로 분리;
- <159> ● 하나의 알리퀴트를 취하고, 그의 온도를 55 ± 5 °C로 올린 다음 1 시간 동안 교반. 이어, 2.952 mL의 1.333 몰/L NH_4OH (pH 약 11.86)(즉, 상응하는 물 144 밀리몰)를 첨가하고 55 ± 5 °C에서 6 시간 교반;
- <160> ● 1-펜타놀(24 밀리몰) 2.608 mL 및 사이클로헥산 120 mL와 혼합된 NP-9 15.12 g (24 밀리몰)을 첨가하고 20 분 동안 교반;
- <161> ● 이 혼합물에 2.184 mL의 TEOS(9.6 밀리몰)를 첨가;
- <162> ● 48-72 시간 교반;
- <163> ● 전형적인 방법에 기술된 바와 같이 입자를 세척, 추출 및 건조하여 상기한 50 nm의 실리카 코어를 생성;
- <164> 이 방법은 비교적 단분산의 150 nm 실리카 나노입자 936 mg을 생성한다. 상응하는 TEM 현미경사진을 도 5-C에 나타내었다.
- <165> 제법 4: 200 nm (코어+3 셸):
- <166> ● 상술한 바와 같이 150 nm 입자를 제조;
- <167> ● 마이크로에멀전을 탈안정화시키기 위해 아세톤을 첨가하는 대신, 에멀전을 두 개의 알리퀴트로 분리;
- <168> ● 하나의 알리퀴트를 취하고, 55 ± 5 °C까지 가열한 다음 1 시간 동안 교반하고, 2.952 mL의 1.333 몰/L NH_4OH (pH 약 11.86)(즉, 상응하는 물=144 밀리몰)를 첨가하고 55 ± 5 °C에서 6 시간 교반;
- <169> ● 사이클로헥산 120 mL 중의 1-펜타놀(24 밀리몰) 2.608 mL와 혼합된 NP-9 15.12 g (24 밀리몰)을 첨가하고 20 분 동안 교반;
- <170> ● 이 시스템에 2.184 mL의 TEOS(9.6 밀리몰)를 첨가;
- <171> ● 48-72 시간 교반;
- <172> ● 전형적인 방법에 기술된 바와 같이 입자를 세척, 추출 및 건조하여 상기한 50 nm의 실리카 코어를 생성;
- <173> 이 방법은 비교적 단분산의 200 nm 실리카 나노입자 1044 mg을 생성한다. 상응하는 TEM 현미경사진을 도 5-D에 나타내었다.
- <174> **입자 특성화**
- <175> 투과형 전자현미경(JEOL 2000 FXII 또는 JEOL 2010F)을 사용하여 실리카 입자의 크기 및 형태를 모니터링하였다.
- <176> 잔류하는 계면활성제의 양을 모니터링하기 위해, Setaram TGA 24를 사용하여 TGA/DTA 실험을 수행하였다. 미도프(Undoped) 시료를 10 °C/분의 속도로 900 °C까지 가열하였다. 전형적인 다이어그램을 도 6에 나타내었다. 두 가지의 상이한 분해 반응, 즉 물과 다른 휘발성 성분의 증발과 관련된 약 100-200 °C에서의 흡열반응 및 계면활성제의 소성과 관련된 약 400 °C에서의 발열반응을 DTA에 의해 관찰하였다. 결합 계면활성제의 양을 450 °C에서의 중량 손실과 250 °C에서의 중량 손실의 차로써 산출하였다. 클로로포름으로 5 회 세척 후 실리카 입자와 관련된 계면활성제 잔류량은 실리카 건조 중량의 약 3.0 wt%이다. 이것은 50 nm 입자당 약 1.65 몰의 NP-9에 상응한다.
- <177> **염료의 방출 속도**
- <178> 원심분리에 의해 수성상으로부터 실리카 입자를 분리한 후, 이 입자를 20 mL의 모의 체액(SBF, pH 7.4/25 °C)에 재현탁시켰다. SBF의 조성은 문헌[P. Kortessuo; M. Ahola; S. Karlsson; I. Kangasniemi; A. Yli-Urpo; J. Kiesvaara, "Silica xerogel as an implantable carrier for controlled drug delivery - evaluation of drug distribution and tissue effects after implanation", Biomater., 21, 193-198 (2000)]으로부터 알 수 있다. 현탁액을 3000rpm으로 30 분 동안 원심분리하고 UV-가시 분광법을 사용하여 상등액에 방출된 도펀트의 농도를 측정하여 방출량을 측정하였다. 방출량을 조사하는 동안, 시료를 37 °C의 물 배쓰에 저장하고 암실에 유지하였다.

- <179> **결과 및 토론**
- <180> **시드 크기에 대한 에멀전 파라미터의 영향**
- <181> 하기 3 개의 시스템은 코어 크기에 대한 물 대 알콕시드 비율의 영향을 나타낸다. 상응하는 TEM 현미경사진을 도 7에 나타내었다.
- <182> ● 시스템 1: NP-5:0.2 몰/L; 사이클로헥산 50 mL; 촉매:1.333 몰/L NH_4OH (pH 약 11.86); TMOS:3 밀리몰; $[\text{H}_2\text{O}]/[\text{TMOS}]=20$, $[\text{H}_2\text{O}]/[\text{NP-5}]=6$; 24 시간 숙성. 입자 직경: 약 7.6 nm.
- <183> ● 시스템 2: NP-9:0.2 몰/L; 사이클로헥산 30 mL; 촉매:1.333 몰/L NH_4OH (pH 약 11.86); $[\text{NP-9}]/[1\text{-펜타놀}]=1$, TMOS:1.2 밀리몰; $[\text{H}_2\text{O}]/[\text{TMOS}]=30$, $[\text{H}_2\text{O}]/[\text{NP-9}]=6$; 24 시간 숙성. 입자 직경: 약 20 nm.
- <184> ● 시스템 3: Triton X-100:23.9 wt%; 톨루엔:71.4 wt%; 물:4.7 wt%(5 g); 촉매:1.333 몰/L NH_4OH ; TMOS:8 밀리몰, $[\text{H}_2\text{O}]/[\text{TMOS}]=34.7$. 입자 직경: 약 25 nm.
- <185> **전구체의 순차적 첨가에 의한 입자 성장(추가 에멀전 없이)**
- <186> 실리콘 전구체로서 TMOS 및 TEOS를 사용하여 두 가지 실험을 수행하였다.
- <187> ● 실험 1: NP-9:0.2 몰/L; 사이클로헥산 50 mL; 촉매:1.333 몰/L NH_4OH ; $[\text{NP-9}]/[1\text{-펜타놀}]=1$, $[\text{H}_2\text{O}]/[\text{NP-9}]=6$. 입자 크기는 추가의 실리콘 전구체를 순차적으로 첨가함에 따라 서서히 증가하였고, 성장 과정은 도 2에 나타내었다. 결과를 도 8에 연속적으로 표시하였다.
- <188> ● 실험 2: NP-9:0.2 몰/L; 사이클로헥산 30 mL; 촉매:1.333 몰/L NH_4OH ; $[\text{NP-9}]/[1\text{-펜타놀}]=1$, $[\text{H}_2\text{O}]/[\text{NP-9}]=6$. TMOS를 사용하는 대신, TEOS를 실리콘 전구체로서 사용하였고, TEM 이미지를 도 9에 나타내었다.
- <189> TEOS가 TMOS 보다 현저하게 더 중요한 입자 성장을 제공한다는 것이 TEM 현미경사진으로부터 명백하지만, 초기 코어의 크기 및 두 경우 모두에 첨가되는 양을 고려할 필요가 있다. TMOS의 경우, 초기 코어는 22 nm이었고 사이클당 첨가되는 평균량이 1.2 밀리몰이었으며, 4 번째 첨가 후 평균 직경이 36 nm에 도달하였다. 이것은 사이클당 3 nm의 성장 또는 첨가되는 TMOS의 밀리몰당 2.5 nm의 성장을 나타낸다. 반대로, TEOS의 경우 초기 코어는 50 nm 이고, 총 15.6 밀리몰의 5 번째 첨가 후 평균 직경은 137 nm이다. 이는 첨가되는 TEOS 밀리몰당 5.6 nm의 성장을 나타낸다. 이와 같은 성장 속도의 차이는 두 경우에 존재하는 핵(즉, 코어 입자) 수의 차이에 의해 설명될 수 있다. 모든 실리콘 알콕시드가 실리카로 전환되면, 실리카의 당량에 대해, TMOS 합성에서 관찰된 더 작은 코어의 수가 TEOS 합성에서 관찰된 더 큰 코어의 수보다 많아야 한다. 사실, 실리카의 총 부피가 일정하기 때문에 코어 입자 개체의 차이는 그의 크기에 반비례하여야 한다. 또한, 실리콘 알콕시드의 당량 첨가의 경우, 코팅될 코어 입자의 수가 2 배로 많으면, 코어-셸 크기의 증가는 거의 2 배로 적을 것으로 기대될 것이다. 따라서, TMOS에서 더 적은 성장이 관찰되었다.
- <190> **마이크로에멀전 시스템 선택의 중요성**
- <191> 전체 입자 성장 공정 동안 마이크로에멀전을 생성하기 위해 NP-9이 선택되었다. 일반적으로, 마이크로에멀전 상태도가 알콜 함량에 민감하므로, 알콜 농도가 증가하면 입자의 다분산성이 점차 증가하는 것으로 여겨진다. 이것은 전구체가 가수분해동안 알콜을 생성하기 때문에 총 첨가된 알콕시드 전구체의 최대 농도를 제한한다. 계면활성제로서 NP-9을 함유하는 마이크로에멀전은 알콜 함량에 대해 덜 민감하므로, 입자 성장 공정 동안 고농도의 알콕시드 전구체가 이용될 수 있다. 보조계면활성제로서 1-펜타놀의 존재는 역 마이셀(reverse micelle)을 더욱 견고하게 하므로 마이크로에멀전을 불안정한 상태에서 안정한 상태로 변화시키며, 또한 마이셀 크기 및 후속적으로 고체 입자 크기의 균일성을 향상시킨다. 또한, NP-9 마이크로에멀전은 $[\text{물}]/[\text{계면활성제}]$ 값이 크기 때문에, 마이크로에멀전의 안정성 및 입자 크기의 균일성을 유지하면서 더 큰 입자의 생성을 가능하게 한다.
- <192> **마이크로에멀전과 실리콘 알콕시드의 순차적 첨가에 의한 입자 성장**
- <193> 알콕시드 전구체의 순차적 첨가에 의해 입자를 성장시키는 것이 가능하더라도, 입자 성장은 마이셀 코어 내 자유수의 제한된 공급에 의해 어느 정도 제한된다. 또한, 이 방법에서 활성 분자는 단지 입자의 코어에 부하될 수 있다.
- <194> 본 명세서 기술된 다른 방법은 알콕시드 가수분해 및 축합을 지속하여 입자를 성장시키기 위해 추가적인 마이크

로에멀전의 형태로 물의 추가적인 공급을 제공하는 데 있다. 공정의 개략도를 도 10에 제공하였다. 시드(코어) 입자가 생성되면, 신선한 마이크로에멀전이 시드(코어 입자)의 현탁액에 첨가된다. 혼합동안, 신선한 마이크로에멀전으로부터 새로 첨가된 물 드롭렛은 시드 입자를 함유하는 친수성 드롭렛과 응집되고, 물은 기존의 코어 입자의 표면에 흡착된다. 알콕시드 전구체의 첨가시, 이것은 입자의 표면에 흡착된 물과 반응하고 가수분해한 다음 입자 표면에 존재하는 하이드록실 그룹과 축합한다. 알콕시드 농도가 일정 수준이하로 유지되면, 실리온 전구체의 농도는 과포화 수준 이하로 유지되며 추가의 핵이 형성되지 않는다. 입자는 핵 첨가에 대한 고전적인 모노머에 의해 점차로 성장한다. 이 방법을 사용하여 성장된 입자의 예를 도 5에 나타내었다.

<195> 각 사이클마다 마이크로에멀전 형태의 물의 추가는 다른 단계에 상이한 농도를 가진 활성 분자의 도입을 가능하게 한다. 이로써, 세라믹 나노입자 내 상이한 위치에 하나 이상의 형태의 활성 분자를 캡슐화할 수 있다. 그 후, 외부 셀에 존재하는 중은 코어 또는 내부 셀 내에 위치한 분자보다 빨리 방출될 수 있다. 이들 코어-셀 구조의 일부 전형적인 TEM 이미지를 도 11에 나타내었다. 전자빔은 시료를 손상시켜 입자 내 금속을 재분산시키기 때문에, EDX 선 프로파일을 사용하여 각 셀의 정밀한 조성 분석을 수행할 수 없다(도 12 참조).

<196> 이와 같은 합성 방법을 사용하면, 50-500 nm, 통상 10-300 nm의 크기 범위를 가진 단분산 세라믹 입자가 생성될 수 있다. 세라믹 입자의 최종 크기는 (a) 계면활성제의 형태, 보조계면활성제, 용매, 물 대 계면활성제의 물 비, 계면활성제 대 보조계면활성제의 물 비 및 물 풀의 pH를 비롯한 마이크로에멀전의 성질; (b) 알콕시드 전구체의 형태 및 그의 농도; (c) 사이클의 수; (d) 각 사이클마다 첨가되는 전구체의 양; 및 (e) 다른 졸-겔 반응 조건(예컨대 온도, pH 등)에 따라 달라진다.

<197> 본 발명의 방법을 이용하면, 층상 나노입자는 염기(pH 11 이상)의 존재하에 실리카 입자를 생성하도록 상기 언급된 바와 같이 생성될 수 있다. 조건 및 시약을 적절히 선택하면, 합성 조건은 아마도 실리카 이외의 다른 세라믹 재료를 사용하여 중성, 약산, 심지어 중간 내지 강산 환경으로 변경할 수 있다.

<198> **입자 다분산성에 대한 상이한 실험 파라미터의 영향**

<199> **첨가 방법의 영향**

<200> 도 13은 신선한 마이크로에멀전 조성물을 첨가하는 상이한 방법을 나타낸다. 다음의 시스템(NP-9 3 밀리몰, 사이클로헥산 15 mL, 1-펜타놀 3 밀리몰, 1.33M NH₄OH 0.324 mL, 물 18 밀리몰, TEOS 0.6 밀리몰, 48 시간 숙성)을 사용하여 시드를 제조하였다. 이어, 추가의 마이크로에멀전(시드에 최초 사용된 부피의 2 배) 및 TEOS를 다음과 같이 첨가하였다:

<201> ● 마이크로에멀전의 첨가, 55 °C에서 6 시간 교반 및 TEOS 첨가, 이어 68 시간 숙성;

<202> ● 먼저 계면활성제, 1-펜타놀 및 사이클로헥산을 첨가하고 10 분 후 암모니아 용액을 첨가. 55 °C에서 6 시간 교반 및 TEOS 첨가 후 68 시간 숙성;

<203> ● 먼저 암모니아 용액을 첨가하고 10 분 후 계면활성제, 1-펜타놀 및 사이클로헥산의 첨가. 55 °C에서 6 시간 교반 및 TEOS 첨가 후 68 시간 숙성;

<204> ● 먼저 암모니아 용액을 첨가하고 55 °C에서 6 시간 교반. 이어, 계면활성제, 1-펜타놀 및 사이클로헥산을 첨가한 다음 TEOS를 첨가하고 현탁액을 68 시간 동안 숙성.

<205> 모든 상이한 방법이 동일한 크기를 가진 입자를 생성하였다. 모든 후속 공정으로, 마지막 방법을 사용하였다.

<206> **셀 수의 영향**

<207> 다분산성에 대한 크기 제한을 연구하기 위해, 200 nm 입자(즉, 코어+3 셀)의 현탁액을 두 개의 알리퀴트로 분리하였다. 하나의 알리퀴트를 1 시간 동안 교반하면서 55±5 °C로 가열하였다. 이어, 2.592 mL의 NH₄OH 1.333 mol/L(pH 약 11.86)(상응하는 물 144 밀리몰)을 첨가하고 생성된 혼합물을 55±5 °C에서 6 시간 동안 교반하였다. 15.12 g의 NP-9(24 밀리몰), 2.608 mL의 1-펜타놀(24 밀리몰) 및 120 mL의 사이클로헥산을 상기 현탁액에 첨가하였다. 20 분간 교반한 후, 2.184 mL의 TEOS(9.6 밀리몰)을 시스템에 첨가하고 추가로 48-72 시간 동안 교반하였다. 그 후, 위에 50 nm 실리카 코어를 생성하는 전형적인 제법에서 설명된 바와 같이 입자를 세척, 추출 및 건조시켰다. 생성된 입자(즉, 코어+4 셀)의 TEM 현미경사진을 도 14-a에 나타내었다. 같은 방법을 사용하여, 추가 셀을 가진 입자(즉, 코어+5 셀)를 생성하였다(도 14-b 참조). 도 14는 200 nm 이상의 순차적 성장은 다분산 입자를 생성한다는 것을 입증한다. 도 14-a는 표적의 230 nm 입자 이외에 크기 약 150 nm의 더 작은 입자를 가진 바이모달(bimodal) 분포를 보인다. 한번 더 반복하면 100 nm 내지 325 nm 범위의 다분

산 크기 분포가 생성된다. 이와 같은 더 적은 입자의 단계적인 양상은 입자를 함유하는 드롭렛과 첨가된 마이크로에멀전의 불완전 응집에 의해 일어나는 새로운 실리카 핵의 형성을 제시한다. 보다 일반적으로, 나노입자가 클수록 크기 분포가 넓어진다. 큰(>250 nm) 입자의 다분산성을 보존하기 위한 방법은 침전에 의해 분류하여 제 2 생성 (소) 나노입자를 제거하는 것이다.

<208> 큰 입자의 순차적 성장에 관한 실제적 제한점은 전체 사이클을 완료하는데 필요한 시간이다. 전형적으로 3 개의 셀(즉, 직경 200 nm)을 구축하기 위해서는 8-10일이 소요될 수 있다. 처리 시간을 감소시키는 하나의 방법은 반응 온도를 증가시키는 것일 수 있다. 다르게는, 추가의 가수분해가능 알콕시드 전구체를 사용하여 입자의 성장 속도를 높힐 수 있다.

<209> **신선한 에멀전/시드 에멀전 부피비의 영향**

<210> 실험 결과(도 15a 및 도 15b)는 신선한 마이크로에멀전에 의한 시드 에멀전의 회석이 항상 균일한 입자를 생성하는 것은 아님을 나타낸다. 회석물(신선한 에멀전의 부피/시드 에멀전의 부피)이 3 보다 크면, 다분산 입자가 생성된다. 이는 기존 입자와 편입될 수 있는 물의 양이 특정 값 이상일 수 없다는 것을 제시한다. 추가의 물이 첨가되면, 새로운 유중수 역 마이셀이 형성되고 새로운 실리카 입자의 형성을 위한 핵 중심으로서 작용하여 다분산 입자를 생성시킨다.

<211> **혼합 방법의 영향**

<212> 도 16은 시드 입자를 함유하는 에멀전을 신선한 마이크로에멀전과 혼합하기 위해 사용된 방법의 중요성을 나타낸다. 시드를 함유하는 기존의 드롭렛과 신선한 에멀전의 드롭렛의 응집을 유도하여 단분산 입자를 생성하기 위해 몇 가지 다른 방법이 사용될 수 있다. 첫 번째 접근법은 생성된 에멀전 혼합물을 매우 높은 전단 속도(8000 rpm)로 전단 혼합(shear mixing)하여 드롭렛의 충돌 및 응집을 촉진하는 데 있다. 두 번째 접근법은 혼합된 에멀전의 온도를 증가시키는 것에 의해 드롭렛의 충돌 속도를 증가시키는데 의존한다. 실온에서 18 시간 교반한 후 수득된 다분산 시료에 의해 입증된 바와 같이, 이론상으로는 충분한 응집이 실온에서 달성될 수 있더라도, 이것을 달성하는데 요구된 시간은 그것을 실행 불가능하게 한다는 것에 주의하지 않으면 안 된다. 도 16-b에서 관찰되는 바이모달 분포에 의해 입증된 바와 같이, 초음파분해(장시간 동안이라도)는 드롭렛의 응집을 유도하지 않는다.

<213> **실리콘 전구체 반응성의 영향**

<214> 앞서 논의된 바와 같이, TEOS와 같은 반응성이 낮은 실리카 전구체는 TMOS와 같은 반응성이 큰 전구체보다 큰 코어를 생성한다. TMOS가 TEOS와 동일한 물 비로 50 nm의 예비-형성된 코어 입자에 첨가되면, 75 nm의 코어-셀 입자와 더 작은 21 nm의 이차 입자를 가진 바이모달 분포가 수득된다(도 17 참조). 21 nm 입자는 TMOS를 사용하여 수득된 코어에 정확하게 상응한다(도 7-b 참조). 이것은 이차 핵형성 단계의 존재를 제시하는 것으로, 이것은 기존 코어와의 축합이라기 보다 이차 핵형성에 의해 과포화에 신속히 도달하고 변화되는 가수분해 TMOS의 농도에 기인한다. 반대로, 반응성이 낮은 TEOS의 경우, 가수분해 모노머의 농도는 더욱 서서히 상승하며, 따라서 이들은 그의 농도가 과포화에 도달하여 핵형성을 유도하기 전에 코어 표면과의 반응에 의해 소비될 수 있다.

<215> **유기적 변형 실리카 (ORMOSIL) 코어-셀 구조의 나노입자**

<216> 염기 중에서의 졸-겔 합성에 의해, 일반적으로 페이로드(전형적으로 유기 염료 또는 소 약물 분자 < 2 nm)의 신속한 비 제어 방출을 나타내는 메조포러스 입자(즉, 큰 기공 크기: 약 4 nm)가 생성된다. 세라믹 나노입자 내에 캡슐화된 분자를 유지하고 세척 단계 중 침출을 방지하기 위해, 세라믹 매트릭스는 캡슐화된 분자와 화학결합을 형성하게 되는 활성 그룹(예컨대 $-NH_2$, $-SH$, $-COOH$ 등)에 의해 작용성화 될 수 있다. 이러한 방법을 사용할 경우, 형광 염료(플루오레세인 이소티오시아네이트(FITC))는 아민 그룹(APTES)에 의해 작용성화 된 실리카 입자 내에 성공적으로 캡슐화된다. 그 후, 활성 분자-매트릭스 상호작용의 절단 또는 스크리닝에 의해 염료의 방출이 일어난다.

<217> 앞서 기술된 실험 조건에 따라 층상 나노입자를 합성하였다. ORMOSIL은 입자 코어 안에 또는 제 2 셀 안에 집적된다. TEOS의 비율은 75 몰% 또는 25 몰%이다. 이들 실험에 사용된 ORMOSIL 전구체는 아미노프로필트리에톡시실란(APTES)이다. 상응하는 TEM 이미지를 도 18에 나타내었고, ORMOSIL 코어-셀 입자의 조성을 표 1에 표시하였다.

표 1: ORMOSIL 코어-셸 입자의 조성

도18의 이미지	코어	셸-1	셸-2	직경 (nm)
이미지-a	TEOS (100 몰 %)			48-61
이미지-b	TEOS (75 몰 %) APTES (25 몰 %)			43-65
이미지-c	TEOS (75 몰 %) APTES (25 몰 %)	TEOS (100 몰 %)		80-104
이미지-d	TEOS (100 몰 %)	TEOS (100 몰 %)		85-90
이미지-e	TEOS (75 몰 %) APTES (25 몰 %)	TEOS (100 몰 %)	TEOS (100 몰 %)	122-152
이미지-f	TEOS (100 몰 %)	TEOS (100 몰 %)	TEOS (75 몰 %) APTES (25 몰 %)	150-160

상이한 위치에서 2 개의 활성 분자에 의해 캡슐화된 코어-셸 구조 나노입자

본 방법의 또 다른 이점은 코어 입자 또는 셸들 중 임의의 셸에 하나 이상의 도펀트를 캡슐화할 수 있다는 점이다. 각 분자는 나노입자의 서로 다른 위치에 선택적으로 캡슐화될 수 있고, 그의 농도는 또한 각각의 성장 사이클마다 제어될 수 있다. 본 방법에 의해 전체 크기가 제어될 수 있을 뿐만 아니라 각 셸의 두께 및 코어 크기 모두가 조정될 수 있으므로, 상이한 방출 속도 및 방출 사이클의 길이를 제어할 수 있다. 다음의 실시예는 캡슐화 방법의 제어성 및 유연성 뿐만 아니라 본 기술의 다용도성을 입증하는데 도움이 된다.

표 2는 나노입자의 상이한 위치에 도프된 $\text{Cu}(\text{NH}_3)_4^{2+}$ 및 $\text{Ru}(\text{bPy})_3^{2+}$ 을 함유하는 상이한 시료의 조성을 열거한다. 상응하는 TEM 이미지를 도 19에 도시하였고, 아세톤에 현탁된 입자의 사진을 도 20에 나타내었다. 표 3은 나노입자의 상이한 위치에 도프된 $\text{Cu}(\text{NH}_3)_4^{2+}$ 및 $\text{Co}(\text{NH}_3)_6^{3+}$ 을 함유하는 상이한 시료의 조성을 열거한다. 상응하는 TEM 이미지를 도 21에 도시하였고, 아세톤에 현탁된 입자의 사진을 도 22에 나타내었다. 표 4는 나노입자의 상이한 위치에 도프된 CuPC^{2-} 및 $\text{Ru}(\text{bPy})_3^{2+}$ 을 함유하는 상이한 시료의 조성을 열거한다. 도 23은 상응하는 동결-건조 분말(SiO_2/NaCl 중량비:15%) 및 수중에 재현탁된 입자를 나타낸다.

표 2: 생성물 1의 성분, 도펀트로서 $\text{Cu}(\text{NH}_3)_4^{2+}$ 및 $\text{Ru}(\text{bPy})_3^{2+}$

시료	코어	셸-1	셸-2
LNK-704	Cu: 10.82 mg SiO ₂ : 72.00 mg	Ru: 3.24 mg SiO ₂ : 288.00 mg	
LNK-705	Ru: 1.62 mg SiO ₂ : 72.00 mg	Cu: 21.63 mg SiO ₂ : 288.00 mg	
LNK-706	Cu: 10.82 mg SiO ₂ : 72.00 mg	SiO ₂ : 288.00 mg	
LNK-707	Ru: 1.62 mg SiO ₂ : 72.00 mg	SiO ₂ : 288.00 mg	
LNK-708	Cu: 10.82 mg SiO ₂ : 72.00 mg	SiO ₂ : 288.00 mg	Ru: 6.48 mg SiO ₂ : 576.00 mg
LNK-709	Ru: 1.62 mg SiO ₂ : 72.00 mg	SiO ₂ : 288.00 mg	Cu: 43.26 mg SiO ₂ : 576.00 mg

표 3: 생성물 2의 성분 및 입자 크기, 도펀트로서 $\text{Cu}(\text{NH}_3)_4^{2+}$ 및 $\text{Co}(\text{NH}_3)_6^{3+}$

시료	코어	셸-1	셸-2	직경
LNK-753	Cu: 10.82 mg SiO ₂ : 72.00 mg Cu/ SiO ₂ : 15 wt. %			44-50 nm
LNK-754	Cu: 10.82 mg SiO ₂ : 72.00 mg Cu/ SiO ₂ : 15 wt. %	Co: 21.63 mg SiO ₂ : 288.00 mg Co/SiO ₂ : 7.5 wt. %		80-90 nm
LNK-755	Cu: 10.82 mg SiO ₂ : 72.00 mg Cu/ SiO ₂ : 15 wt. %	SiO ₂ : 288.00 mg		76-88 nm
LNK-756	Cu: 10.82 mg SiO ₂ : 72.00 mg Cu/ SiO ₂ : 15 wt. %	SiO ₂ : 288.00 mg	Co: 43.26 mg SiO ₂ : 576.00 mg Co/ SiO ₂ : 7.5 wt. %	102-132 nm
LNK-757	Co: 10.82 mg SiO ₂ : 72.00 mg Co/ SiO ₂ : 15 wt. %			38-60 nm

LNK-758	Co: 10.82 mg SiO ₂ : 72.00 mg Co/ SiO ₂ : 15 wt. %	Cu: 21.63 mg SiO ₂ : 288.00 mg Cu/ SiO ₂ : 7.5 wt. %		77-88 nm
LNK-759	Co: 10.82 mg SiO ₂ : 72.00 mg Co/ SiO ₂ : 15 wt. %	SiO ₂ : 288.00 mg		76-87 nm
LNK-760	Co: 10.82 mg SiO ₂ : 72.00 mg Co/ SiO ₂ : 15 wt. %	SiO ₂ : 288.00 mg	Cu: 43.26 mg SiO ₂ : 576.00 mg Cu/ SiO ₂ : 7.5 wt. %	104-135 nm

표 4: 생성물 3의 성분, 도펀트로서 CuPC^{2-} 및 $\text{Ru}(\text{bPy})_3^{2+}$

시료	코어	셸-1	셸-2
LNK-819	Ru: 1.62 mg SiO ₂ : 72.00 mg	SiO ₂ : 288.00 mg	
LNK-820	CuPC: 3.24 mg SiO ₂ : 72.00 mg	SiO ₂ : 288.00 mg	
LNK-821	Ru: 1.62 mg SiO ₂ : 72.00 mg	SiO ₂ : 288.00 mg	SiO ₂ : 576.00 mg
LNK-822	Ru: 1.62 mg SiO ₂ : 72.00 mg	SiO ₂ : 288.00 mg	CuPC: 12.96 mg SiO ₂ : 576.00 mg
LNK-823	CuPC: 3.24 mg SiO ₂ : 72.00 mg	SiO ₂ : 288.00 mg	SiO ₂ : 576.00 mg
LNK-824	CuPC: 3.24 mg SiO ₂ : 72.00 mg	SiO ₂ : 288.00 mg	Ru: 6.48 mg SiO ₂ : 576.00 mg

- <230> 이전에 언급된 바와 같이 전자빔 손상에 기인하여 원소 분석 및 프로빙(probing)이 가능하지 않더라도, 일부 투명한 코어 쉘 구조는 TEM에 의해 입증될 수 있다. "양과"형 구조(도 21-b, d, e, f, g)의 존재는 특정의 도펀트를 가진 특정 쉘의 선택적 도핑 가능성을 입증한다. 나노입자의 상이한 층에 위치한 도펀트를 가진 도 20, 22 및 23에서 관찰된 색 변화는 본 기술의 광학적 적용 잠재성을 추가로 나타낸다.
- <231> **고체 코어의 캡슐화**
- <232> 본 발명의 추가적인 특징은 금속 산화물의 쉘 내에 고체 입자를 캡슐화하는 능력이다. 코어는 금속 산화물, 반도체, 양자점, 자성 입자 또는 결정 입자와 같은 임의의 종의 분말일 수 있다.
- <233> 쉘(들)은 하나의 금속 산화물 또는 하나 이상의 상이한 금속 산화물, 혼합 금속 산화물 또는 도펀트를 함유하는 금속 산화물을 포함할 수 있다. 실리카 쉘 내에 결정 In_2O_3 나노결정을 제조하고 캡슐화하는 예가 이하에 설명된다.
- <234> In_2O_3 나노결정을 다음과 같이 제조하였다: 1.017g의 InCl_3 를 10 mL의 순수한 물에 용해시켰다. 10M의 NH_4OH 10 mL를 교반하면서 상기 용액에 적가하고 침전물을 형성시켰다. 암모니아의 냄새가 검출되지 않을 때까지, Cl^- 및 NH_4^+ 이온을 연속 세척(매회 물 50 mL로 5-10회)에 의해 제거하였다. 그 후, 0.92 mL의 HNO_3 (1M)를 첨가하여 침전물을 교질용액으로 만들고 현탁액을 $55 \pm 5^\circ\text{C}$ 에서 밤새 교반하였다. 추가의 0.45 mL의 HNO_3 1몰/L을 첨가하고 현탁액을 다시 $55 \pm 5^\circ\text{C}$ 에서 밤새 교반하였다. 최종 pH는 2.284로 측정되었고 TEM은 경계가 명료한 면을 가진 50 nm*10 nm의 결정을 나타내었다.
- <235> 이어, 하기 방법을 사용하여 결정을 코팅하였다. 6 밀리몰의 NP-9, 6 밀리몰의 1-펜타놀, 30 mL의 사이클로헥산, 0.972 mL의 NH_4OH (6.667 몰/L)을 함유하는 용액 A를 투명해질 때까지 교반하였다.
- <236> 현탁액 중에 6 밀리몰의 NP-9, 6 밀리몰의 1-펜타놀, 30 mL의 사이클로헥산, 0.324 mL의 In_2O_3 나노결정을 함유하는 용액 B를 투명해질 때까지 교반하였다.
- <237> 두 용액 A 및 B를 함께 혼합하고, 2.4 밀리몰의 TEOS를 혼합물에 첨가하였다. 용액을 72 시간 동안 숙성시켰다. 이어, 50 ml의 건조 아세톤을 생성된 현탁액에 첨가하여 마이크로에멀전을 탈안정화시킨 다음 입자를 회수하였다. 입자를 아세톤으로 수회 세척하고 TEM에 의해 조사하였다(도 24 참조). TEM 현미경사진을 통해 실리카 나노입자 내에 50 nm의 로드가 캡슐화되었음이 명백하게 입증되었다.
- <238> **코어 또는 쉘 내에 방사성 트레이서의 캡슐화**
- <239> 실리카 입자의 임의의 선택 위치(코어 또는 선택 쉘)에 In-DTPA 및 Ga-DTPA와 같은 킬레이트 종의 캡슐화를 성공적으로 달성하였다. EDS에 의해 분석된 바 금속 함량은 전형적으로 실리카의 1-2 wt%이었다. 입자 크기 및 크기 분포는 도펀트의 존재 또는 부재와 관계없는 것으로 밝혀졌다. 이는 본 발명의 방법에 의해 달성된 입자 크기 및 내부 구조에 대한 독립적 제어의 수행 능력을 입증한다.
- <240> ^{67}Ga -DTPA와 같은 방사성 트레이서는 또한 실리카 나노입자 내에 쉽게 도핑될 수 있으므로, 생체 내에서 추적가능한 입자를 생성한다. 이와 같은 입자는 하기 방법에 의해 제조될 수 있다. 0.1 몰/L HCl 용액 중에서 2 GBq/mL의 활성을 가진 $^{67}\text{GaCl}_3$ ($t_{1/2}$:3.261일)를 ANSTO-Cyclotron으로부터 입수하였다. 이 용액을 물을 사용하여 1/10으로 희석하였다. DTPA 3.9 mg/l을 함유하는 진한 암모니아(25 wt% NH_3) 0.428 mL을 pH 약 2의 $^{67}\text{GaCl}_3$ 용액 0.22 mL에 첨가하였다.
- <241> 코어 내에, 외부 쉘 내에 또는 전체 입자에 걸쳐 활성 갈륨을 함유하는 입자를 생성하기 위해, 생성된 용액을 앞서 기술된 방법에서 수성 용액으로서 사용될 수 있다. 검출 방법으로서 감마 카운팅(gamma counting)을 사용하여 래트(rat) 내 실리카 입자의 위치를 조사하기 위해, 이들 입자를 생체 내 분포 연구에 사용할 수 있다. 이러한 나노입자의 적용 가능성은 방사선치료(radiotherapy) 및 방사성-이미지(radio-imaging) 둘 다에서 예측될 수 있다.
- <242> **코어-쉘 입자로부터의 방출**
- <243> 앞서 언급된 바와 같이, 염기촉매 졸-겔 합성에 의해 페이로드의 신속하고 비제어된 방출을 나타내는 메조포러스 입자(즉, 약 4 nm)가 생성된다. 이에 대해 주목해야할 예외점은 금속 양이온과 실리카 표면 사이에 일부 상

호작용을 나타낼 수 있는 유기금속 착체의 캡슐화이다. 이 경우에, 착체와 표면의 상호작용은 실리카 나노입자 구조 내 물분자의 캡슐화 및 일시적인 록킹(locking)을 보증한다. 입자가 수성상에 현탁됨에 따라, 물에 대한 실리카 표면의 강한 친화력은 활성 유기금속 착체와의 흡착 평형을 서서히 변화시키고, 이로써 실리카 매트릭스로부터 분자를 방출시킨다. 대부분의 경우, 방출은 실리카 매트릭스의 점진적 용해에 의해 달성될 수 있다.

<244> 순차적 방출에 대한 가능성을 입증하기 위해, 코어 및 외부 셀에 상이한 도펀트를 가진 두 세트의 나노입자를 합성하였다: a) 외부 셀에 CuPC 및 코어에 Rubpy를 가진 시료 LNK-824 및 b) 외부 셀에 Rubpy 및 코어에 CuPC를 가진 시료 LNK-824. 이들 두 시료로부터의 방출을 UV-가시 분광분석법을 사용하여 모니터링하였다. 수중에서 두 염료의 UV 가시 스펙트럼을 도 25에 나타내었고, SBF에서 침출 32 일후 두 시료(LNK 822 및 824)의 스펙트럼을 도 26에 나타내었다. CuPC의 최대 흡수는 556 nm이고, Rubpy의 최대 흡수는 390 nm이다. 두 피크 사이의 중첩은 작아서 일차적 근사로 무시될 수 있다. pH에 의한 최대 흡수 파장(CuPC 및 Rubpy에 대해)의 이동은 pH 1-12(입자 합성 범위에 상응함)에서는 관찰되지 않는다. 매질이 SBF로 전환될 경우, 약 60 nm의 적색 이동은 염료 둘 다에서 관찰되었다(Rubpy의 경우 390 nm에서 450 nm, CuPC의 경우 556 nm에서 615 nm)(도 26 참조). 시료 LNK-824의 경우 소량의 CuPC가 방출되었음을 제시하는 약한 흡수를 615 nm에서 볼 수 있는 반면, 이 영역에서 Rubpy에 대한 흡수는 없다. 그러나, 450 nm에서 CuPC의 약한 흡수의 존재로 인해, 특히 소량인 경우 Rubpy 방출을 정량화하기는 어렵다.

<245> 두 코어-셀 입자에 대한 상응하는 방출 곡선을 도 27에 나타내었다. CuPC가 외부 셀 내에 캡슐화되었을 때, 10 일 경과 후 점차 방출되었다. 그 이후, 일정 농도의 CuPC의 수일간 관찰되었는데, 이는 대부분의 염료가 방출되었음을 제시하는 것이다. 추출량이 용이하게 정량화되지는 않지만, 코어로부터 매우 소량의 Rubpy가 또한 방출되었다. 흥미롭게도, 외부 셀로부터 CuPC의 방출 후, 초기에 녹색(도 23 참조)이었던 LNK-822의 색이 주황색(즉 Rubpy 도프된 나노입자의 색)으로 변하였고, 따라서 CuPC의 순차적 방출을 가시적으로 확인할 수 있다. 한편, Rubpy가 외부 셀에 도핑되고 CuPC가 코어에 도핑된 경우((LNK824), 방출 곡선은 5 일후 대부분의 Rubpy가 침출되었음을 나타낸다. 코어로부터 CuPC의 어떤 검출가능한 침출도 관찰되지 않았다. 침출 동안, 입자의 색은 황색에서 녹색/청색(CuPC만 함유하는 입자의 초기 색)으로 변했다. 이러한 실험은 이들 다층 입자가 순차적 방출 적용에 사용될 수 있음을 입증한다.

<246> 분자와 실리카 기공 표면 사이에 강한 상호작용이 존재하지 않는 경우, 세라믹 매트릭스는 캡슐화된 분자와 화학결합을 형성할 수 있는 활성 그룹(예컨대 $-NH_2$, $-SH$, $-COOH$ 등)에 의해 작용성화 될 수 있다. 이러한 방법을 사용할 경우, 형광 염료(플루오레세인 이소티오시아네이트 (FITC))는 아민 그룹(APTES)에 의해 작용성화된 실리카 입자 내에 성공적으로 캡슐화된다. 그 후, 활성 분자-매트릭스 상호작용의 절단 또는 스크리닝에 의해 염료의 방출이 일어난다. 메조포러스 입자 내에 소 분자를 캡슐화할 수 있는 또 다른 가능성은 이들을 캡슐화 이전에 텍스트란 또는 덴드리머와 같은 큰 분자와 컨쥬게이트 시키는 것이다.

<247> 본 발명은 코어-셀 구조를 가지며 나노입자의 상이한 위치(즉, 셀 또는 층)에 캡슐화된 하나 이상의 활성 분자 또는 도펀트를 함유하는 층상 나노입자의 제조방법을 제공한다. 본 기술의 이점은 전체 입자 크기, 코어 크기, 셀 두께, 각 셀에 존재하는 활성 종의 농도, 및 각각의 캡슐화된 도펀트의 방출 순서 및 방출 속도를 정밀하게 제어할 수 있는 능력을 포함한다.

<248> 본 발명자들은 작은 유기금속 분자가 입자 내에 캡슐화될 수 있음을 입증하였다. 이들 분자로는 금속 착체 화합물(예, 구리 테트라민, 코발트 헥사민, 인듐-DTPA, 갈륨-DTPA); Rubpy[(트리스(2,2'-바이피리딜)디클로로루테튬(II) 헥사하이드레이트], CuPC[구리(II) 프탈로시아닌-테트라설푼산 테트라소듐 염]와 같은 무기 염료; 및 형광 염료 FITC(플루오레세인 이소티오시아네이트)가 포함된다. 심지어 In_2O_3 나노결정과 같은 착체물도 캡슐화될 수 있다. 더욱 중요하게도, 본 발명자들은 상이한 부하값을 가지고 나노입자 내 상이한 위치에 하나 이상의 도펀트를 캡슐화할 수 있음을 보여주었다. 나노입자 구조, 즉 코어 크기 및 층 두께는 첨가되는 전구체의 성질 및 양과 같은 공정 파라미터에 의해 정밀하게 제어될 수 있다. 각 사이클마다 첨가되는 물이 모두 기존 입자의 표면으로 이동하는 것을 보증함으로써, 입자의 단분산성이 성장 공정내내 유지될 수 있다. 잔류하는 빈 물 드롭렛(즉, 입자를 함유하지 않음)은 이차 핵형성의 중심으로서 작용할 수 있다. 전구체의 양을 증가시키거나 촉매를 첨가하거나 시드 재료를 덜 사용하는 것에 의해 성장 동태가 가속화될 수 있지만, 네 번째 사이클 후에 다분산성이 도입된다. 또한, 에멀전의 극단적 희석에 의해 다분산성 나노입자가 생성된다.

<249> 본 방법에 의해 생성된 나노입자는 정맥 내 약물 전달에 적합하지만, 이들 입자는 고밀도 광학 기억 장치, 특수 광학 센서 또는 바이오센서용 정보 기술, 및 층돌/산화, 소결 및 응집, 표면 성질(표면, 전하, 제타 전위, 현탁성)의 변화 등으로부터 나노입자의 보호/표면 변형에도 적용할 수 있다. 장기적으로, 본 기술은, 활성 약물 표

적화 적용을 위해 항체 또는 펩티드에 의해 쉽게 작용화 될 수 있는 $-NH_2$, $-SH$, $-COOH$ 와 같은 작용 그룹을 가진 유기적으로 변형된 세라믹 전구체를 함유하는 쉘(들)에 의해 코팅된 캡슐화된 활성 분자를 가진 코어 입자를 포함하는 나노입자를 개발하는데 이용될 수 있다.

<250> 도 28a 내지 도 28f는 본 발명에 따른 일부 상이한 층상 나노입자의 개략도를 나타낸다. 이들 도면이 본 발명에 따라 제조될 수 있는 다수의 상이한 형태를 가진 나노입자 중 몇 가지만을 나타내고 있으며, 나노입자를 사용하기 위한 특정 방법이 단지 예인 것을 유념해야 한다. 다른 형태의 입자 및 이를 사용하는 방법이 가능하며 본 명세서에서 구상된다. 따라서, 이하의 설명은 단지 예로서 채택된 것이지만 본 발명의 범위를 한정하는 임의의 방법으로서 채택된 것이 아니다.

<251> 도 28a와 관련하여, 층상 나노입자(10)는 제 1 방출가능 도펀트(A)를 함유하는 다공성 코어 입자(15) 및 코어 입자(15)를 둘러싸며 제 2 방출가능 도펀트(B)를 함유하는 다공성 층(20)을 포함한다. 나노입자(10)가 적합한 액체 환경에 위치하는 경우, 방출가능 도펀트(B)가 먼저 나노입자(10)로부터 방출되고, 이어 방출가능 도펀트(A)가 방출된다. 도펀트(B)가 방출되는 시간은 층(20)의 두께에 따라 달라질 수 있으며, 도펀트(A)가 방출되는 시간은 층(20)의 두께 및 코어 입자(15)의 크기에 따라 달라질 수 있다. 방출 속도는 도펀트들의 성질, 및 코어 입자(15)와 층(20)의 성질 및 기공 크기에 따라 달라질 수 있다. 다르게는, 도펀트(A)가 방출 불가능 염료이면, 나노입자(10)는 도펀트(A)에 의한 색을 나타낼 것이고, 방출가능 도펀트(B)를 방출할 것이다. 추가의 대안으로서, 도펀트(B)가 방출 불가능 염료이고 도펀트(A)가 방출가능 도펀트이면, 나노입자(10)는 도펀트(B)에 의한 색을 나타낼 것이고 도펀트(A)를 방출할 것이다.

<252> 도 28b와 관련하여, 층상 나노입자(30)는 방출가능 도펀트(A)를 가진 다공성 코어 입자(35) 및 방출가능 도펀트를 갖지 않은 다공성 층(40)을 포함한다. 다공성 층(40)은 코어 입자(35)를 둘러싼다. 나노입자(30)가 적합한 액체 환경에 위치한 경우, 방출가능 도펀트(A)는 지연 후 나노입자(10)로부터 방출된다. 지연 길이는 다공성 층(40)의 두께 및 다공률에 따라 달라진다.

<253> 도 28c와 관련하여, 층상 나노입자(50)는 제 1 방출가능 도펀트(A)를 가진 다공성 코어 입자(55), 상기 코어 입자(55)를 둘러싸는 제 1 다공성 층(60) 및 상기 제 1 다공성 층(60)을 둘러싸는 제 2 다공성 층(65)을 포함한다. 제 1 층(60)은 방출가능 도펀트(A)를 포함하지 않고, 제 2 다공성 층(65)은 제 2 방출가능 도펀트(B)를 포함한다. 나노입자(50)가 적합한 액체 환경에 위치하면, 도펀트(B)와 도펀트(A)의 방출간에 지연을 두고 제 2 방출가능 도펀트(B)와 제 1 방출가능 도펀트(A)가 순차적으로 방출된다. 지연 길이는 제 1 다공성 층(60)의 두께 및 다공률에 의존한다.

<254> 도 28d와 관련하여, 층상 나노입자(70)는 제 1 방출가능 도펀트(A)를 가진 다공성 코어 입자(75), 상기 코어 입자(75)를 둘러싸며 제 2 방출가능 도펀트(B)를 가진 제 1 다공성 층(80) 및 상기 제 1 다공성 층(80)을 둘러싸며 제 3 방출가능 도펀트(C)를 가진 제 2 다공성 층(85)을 포함한다. 나노입자(70)가 적합한 액체 환경에 위치하면, 먼저 나노입자(70)로부터 방출가능 도펀트(C)가 방출된 다음, 방출가능 도펀트(B)가 방출되고 마지막으로 방출가능 도펀트(A)가 방출된다. 나노입자(70)의 도펀트(A), 도펀트(B) 및 도펀트(C)의 방출 시간은 층(80 및 85)의 두께와 다공률 및 코어 입자(75)의 크기에 의존한다.

<255> 도 28e와 관련하여, 나노입자(90)는 다공성 코어 입자(95) 및 상기 코어 입자(95)를 둘러싸는 동심원 다공성 층들(100, 105, 110 및 115)을 포함한다. 코어 입자(95) 및 동심원 층들(105 및 115)은 각각 방출가능 도펀트(A, B 및 C)를 함유하며, 반면 층(100 및 110)은 방출가능 도펀트를 함유하지 않는다. 나노입자(90)가 적합한 액체 환경에 위치하면, 먼저 나노입자(70)로부터 방출가능 도펀트(C)가 방출되고, 이어 방출가능 도펀트(B)가 방출되고 마지막으로 방출가능 도펀트(A)가 방출된다. 도펀트(C)와 도펀트(B)의 방출 사이에 지연을 두며, 도펀트(B)와 도펀트(A)의 방출 간에도 또 다른 지연을 둔다. 이러한 지연은 각 층(110 및 100)의 두께 및 다공률에 의해 제어될 수 있다.

<256> 도 28f와 관련하여, 나노입자(120)는 방출가능 도펀트(A)를 함유하는 다공성 코어 입자(125) 및 상기 코어 입자(125)를 둘러싸는 다공성 층(130)을 포함한다. 다공성 층(130)은 방출가능 도펀트(B 및 C)를 함유한다. 나노입자(120)가 적합한 액체 환경에 위치하면, 나노입자(120)로부터 먼저 도펀트(B 및 C)가 방출되고, 이어 도펀트(A)가 방출된다. 다르게는, 도펀트(A)가 방출 불가능 염료이면, 나노입자(120)는 도펀트(A)에 의한 색을 나타낼 것이며, 방출가능 도펀트(B 및 C)를 방출할 것이다. 추가적인 대안으로서, 도펀트(B)가 방출 불가능 염료이고 도펀트(A 및 C)가 방출가능 도펀트이면, 나노입자(120)는 도펀트(B)에 의한 색을 나타낼 것이며 도펀트(C 및 A)를 순차적으로 방출할 것이다.

<257> 다염료 캡슐화

<258> 상술한 실험에서, CuPC^{2-} 및 $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ 는 실리카 나노입자 내에 캡슐화될 수 있으며, 여기서 CuPC^{2-} 는 코어 내에 $\text{Ru}(\text{bPy})_3^{2+}$ 는 외부 셸 내에 존재하며 그와 반대일 수도 있다. 시료-I의 코어와 시료-II의 외부 셸 중에 존재하는 각 염료의 양은 상이하다. 따라서, 이들 두 시료는 가시적으로 상이한 색을 나타낸다(도 23, 시료 LNK-822 및 LNK-824). 하기 실험에서, 표 5에 나타난 바와 같이, 상이한 시료에 동일한 양의 각 염료가 도포되었다. 합성 및 동결-건조 후 입자는 가시적으로 동일한 색을 나타내었는데, 이는 나노입자의 색이 나노입자에서의 그의 위치라기보다는 염료 성분 및 그의 농도에 의존한다는 것을 제시하는 것이다.

<259> 표 5: 염료 도포된 나노입자의 성분

시료	코어	셸-1	셸-2
LNK-879	Ru: 3.24 mg	SiO ₂ : 288.00 mg	CuPC: 6.48 mg
	SiO ₂ : 72.00 mg		SiO ₂ : 576.00 mg
LNK-880	CuPC: 6.48 mg	SiO ₂ : 288.00 mg	Ru: 3.24 mg
	SiO ₂ : 72.00 mg		SiO ₂ : 576.00 mg

<260> 도 29는 37 °C PBS(인산 완충 용액)에서 각 시료의 염료 방출을 나타낸다. 다층 입자에 의해 방출된 대부분의 염료는 외부 셸에 캡슐화된 것, 즉 LNK879(도 29-A) 및 LNK880(도 29-B)에 대해 각각 CuPC 및 $\text{Ru}(\text{bPy})_3^{2+}$ 이다. LNK879의 경우, CuPC 의 농도는 18 일 내지 40 일 사이에 거의 일정하다. 그 이후, 대폭 감소되었다. 본 발명자들은 이것이 CuPC 의 분해 또는 용기의 벽과 CuPC 의 회합에 의해 일어날 수 있다고 가정하였다. 방출 프로파일의 초기 단계에서, CuPC 의 농도는 증가하였거나 실질적으로 일정하게 유지되었다. 본 발명자들은 이것이 염료 방출 속도가 분해 속도보다 높다는 것을 나타낼 수 있다고 가정하였다. 도 29-A는 코어 내 염료[$\text{Ru}(\text{bPy})_3^{2+}$]가 약 30 일후 방출되기 시작하였음을 나타내는 것으로, 이는 다층 입자의 성분이 순차적으로 방출되지 않았음을 제시하는 것이다. 도 29-B에서, 소량의 CuPC 는 동시에 침출된 다음 50 일후에 분해된 반면, 셸 내에 존재하는 염료[$\text{Ru}(\text{bPy})_3^{2+}$]는 64 일까지 연속적인 방출되었다. 방출 속도 프로파일이 입자의 상이한 위치에 존재하는 상이한 도펀트들의 성질에 따라 조정될 수 있음을 이들 결과로부터 알 수 있다. 도 29-A는 최초 2 주간 동안 셸로부터 염료가 최초로 방출되고 30 일후에 코어로부터 또 다른 염료가 방출되는 것을 보여준다. 셸로부터 염료의 세기의 감소는 도 29-B로부터도 명백한 CuPC 이 시간에 따른 감소에 의해 설명될 수 있다(코어 내 CuPC). 도 29-B29-B순차적 방출이 아니라 셸로부터 루테튬 염료가 서서히 방출되고 코어로부터 작은 버스트(burst)가 방출되는 것을 보여준다.

<262> 유기 염료의 캡슐화를 향상시키기 위한 ORMOSIL 셸의 형성

<263> 앞서 기술된 실험에서, 형광 염료 플루오레세인 이소티오시아네이트(FITC)는 이소티오시아네이트($-\text{N}=\text{C}=\text{S}$) 그룹과 아민 그룹 사이의 화학 결합 때문에 APTES와 같은 결합체의 존재하에 실리카 매트릭스 내에 캡슐화되었다. 본 실험에서, ORMOSIL 셸(들)로 코팅된 실리카 나노입자 내에 유기 염료를 캡슐화하고자 하는 시도가 있었다. 이는 기공 크기가 좁아 염료의 방출 속도가 감소한 것으로 예측되었다. 실험의 흐름도를 도 30에 나타내었고, 상응하는 TEM 이미지를 도 31에 나타내었다. 앞서 기술된 바와 같이 합성은 전형적인 방법에 의해 이루어졌다. 입자 표면을 변형시키기 위해 몇몇 선택사항이 조사되었다. 각 시료의 성분 및 상응하는 최종 생성물의 입자 크기를 표 6에 나타내었다. 입자(a)는 TEOS로만 제조된 초기 코어를 나타낸다. 입자(b)는 75% TEOS와 25% APTES의 전구체 혼합물을 사용하여 제조된 코어이다. 입자(c)는 TEOS로만 제조된 코어-셸 입자이다. 입자(d) 및 (e)는 입자(d)의 경우 30 몰% APTES 및 입자(e)의 경우 50 몰% APTES에 의한 ORMOSIL 변형 셸을 가진다. 입자(f)는 ORMOSIL 코어 및 ORMOSIL 셸을 가진다. 모든 입자들의 입자 크기는 거의 동일하였지만, ORMOSIL 변형 입자는 약간 넓은 입자 크기 범위를 보였다.

<264> 합성 및 세척 공정 동안 유기상을 모은 후 UV/가시 흡수에 의해 오렌지-II의 캡슐화 효율을 측정하였다. 오렌지-II는 유기 염료로서, 순수한 유기물이고 실리카 표면과 강하게 상호작용하지 않는다는 점에서 Rubpy와 CuPC

의 이전 실시예와 큰 차이가 있다. 외부 쉘에 APTES를 함유하지 않거나 외부 쉘에 30몰% APTES를 함유하는 시료 3개(LNK 1120, LNK1121 및 LNK1123)의 값의 평균은 약 5-14 wt%이었으나, 외부 쉘 내에 50몰% APTES를 가진 시료(LNK1122)의 캡슐화 효율은 약 45 wt%이었다. 유기 염료의 캡슐화 효율은 다른 인자를 가운데 염료의 성질, 그의 양, 염료 대 실리카의 중량비, ORMOSIL 몰퍼센트 및 층을 가진 ORMOSIL의 두께에 의존하는 것으로 보인다. 이는 ORMOSIL 전구체의 유기 그룹이 합성 및 세척 공정 동안 실리카 매트릭스로부터 염료가 침출되는 것을 막는 역할을 할 수 있음을 나타낸다. 또한, 이 효과는 각 ORMOSIL 전구체의 작용 그룹에 따라 달라질 것으로 보인다. 염료가 매우 신속하게 침출되는 것을 방지하는 데 있어 GLYMO(에폭시 작용성 실란)이 대부분의 ORMOSIL 보다 더욱 효과적이었음이 밝혀졌다.

표 6: ORMOSIL 쉘 입자의 성분 및 입자 크기

시료	LNK-1120 (도31c)	LNK-1121 (도31d)	LNK-1122 (도31e)	LNK-1123 (도31f)
코어내 오렌지-II	2.592 mg	2.592 mg	2.592 mg	2.592 mg
코어 전구체	TEOS: 2.4 밀리몰	TEOS: 2.4 밀리몰	TEOS: 2.4 밀리몰	TEOS: 1.80 밀리몰 APTES: 0.60 밀리몰
코어크기	50-60 nm	50-60 nm	50-60 nm	43-65 nm
쉘 전구체	TEOS: 9.6 밀리몰	TEOS: 6.72 밀리몰 APTES: 2.88 밀리몰	TEOS: 4.8 밀리몰 APTES: 4.8 밀리몰	TEOS: 6.72 밀리몰 APTES: 2.88 밀리몰
입자크기	95-115 nm	86-126 nm	80-130 nm	84-122 nm
캡슐화 효능	13.1 wt.%	5.0 wt.%	44.8 wt.%	13.9 wt.%

입자 단분산성을 유지하면서 입자 크기를 증가시키는 다른 방법

고농도의 계면활성제

입자 크기가 100 nm 이상이면 에멀전 시스템이 흐려지고 입자가 물 드롭렛으로부터 침전하기 시작하여 최종적으로 교반하지 않고도 두 개의 물리적 상을 형성하는 것이 관찰되었다. 보조계면활성제가 그의 기능을 손실시키고 고농도의 계면활성제가 현탁액 중에 입자를 유지하게 할 수 있다는 하나의 가정을 할 수 있다. 도 32는 각종 계면활성제 조건을 사용하여 생성된 실리카 입자의 TEM 이미지를 나타낸다. 초기 시드(도 32a 및 도 32b에 도시된 바와 같이 74 내지 86 nm의 직경을 가진 코어-쉘 입자)는 [물]/[NP-9]의 몰 비가 6인 0.2 몰/L NP-9 및 0.2 몰/L 1-펜타놀을 가지고 전형적인 합성 방법을 사용하여 생성되었다.

상기 생성된 시드로부터 코어+2-층 및 코어+3-층 입자를 형성하였다. 추가의 보조계면활성제(1-펜타놀)의 첨가 없이, 계면활성제 농도를 0.4 몰/L ([물]/[NP-9] 몰 비=3) 및 0.6 몰/L ([물]/[NP-9] 몰비=2)로 증가시켰다. 도 32c 및 도 32e는 추가의 보조계면활성제없이 제 1 쉘의 첨가가 단분산성 입자를 생성한다는 것을 보여준다. 그러나, 또 다른 층이 성장함에 따라(도 32d 및 32f), 약 20 nm의 직경을 가진 작은 입자가 생성된다. 이러한 결과는 입자가 약 100 nm 보다 크고 침전이 시작된 경우에도 보조계면활성제의 존재가 단분산성 입자의 형성에 결정적임을 제시하는 것이다.

계면활성제와 보조계면활성제 모두가 0.2 몰/L에서 0.4 몰/L로 증가된 경우, 둘 또는 세 개의 쉘을 가진 입자는 좁은 크기 분포를 유지하지만(도 32g 및 도 32h), 0.2 몰/L의 계면활성제를 가지고 합성된 것들에 비해 상당히 큰 성장은 없다.

- <272> **두 가지 성장 방법의 결합**
- <273> 상술된 바와 같이, 입자 크기는 에멀전에 도입되는 실리콘 전구체가 많아질수록 서서히 증가한다(도 2). 그러나, 알콕시드만 첨가하면(물을 추가하지 않음) 빈 셀에 의해 둘러싸이며 활성 도펀트를 함유하는 코어를 가진 입자가 형성된다. 또한, 특정량의 알콕시드 첨가 후에는 물 풀 중의 물이 모두 소비되어 더 이상의 성장이 불가능하다. 물 풀에 존재하는 소량 퍼센트의 물만이 자유로와 알콕시드의 축합에 참여할 수 있기 때문에, 마이크로에멀전을 더욱 악화시킨다. 계면활성제의 극성 두부(head)에 대해 물이 용매화함에 따라, 대부분의 물은 마이셀 벽에 결합된다.
- <274> 본 발명을 실시하는 하나의 형태로, 더 많은 에멀전이 첨가되면 추가의 물은 몇 시간 동안의 고온(약 55 °C) 배양 단계에 의해 기존의 입자 표면 위로 이동된다(도 3). 그럼에도 불구하고, 수 회의 성장 사이클 후, 실리콘 입자는 다분산성이 된다. 이는 각각의 배양 공정 동안 물이 기존 입자 표면에 분포할 뿐만 아니라 새로운 빈 물 드롭렛을 형성한다는 사실에 의해 설명될 수 있다. 고려해야 할 또 다른 인자는 입자 크기가 증가함에 따라 에멀전 시스템이 더 이상 균일하지도 열동력학적으로 안정하지도 않아 입자가 침전될 수 있다는 것이다. 결과적으로, 단분산성을 유지하거나 다분산성을 가능한 한 좁히기 위해 배양 공정의 수는 최소로 유지되어야 한다.
- <275> 도 33은 상술된 두 가지 성장 기술을 결합하여 층상 나노입자를 제조하는 방법을 설명한다(즉, TEOS의 다수-첨가가 에멀전 성분의 첨가에 의해 변화됨). 각각의 배양 사이클 동안, 전형적인 방법에서 실리콘 전구체는 한 번이 아니라 2회 첨가된다. 도 34는 전체 공정 동안 물 대 계면활성제의 물 비가 6인 각각의 성장 단계에 있는 입자의 TEM 이미지를 나타낸다. 초기 시드는 약 55 nm 이었다. 3 회의 배양 사이클 후, 초기 시드는 7 층으로 코팅되었고, 입자의 직경 범위가 대략 200-240 nm이었다. 이 시점에서, 물 대 실리콘 알콕시드의 물 비는 4 보다 약간 높았다. 이 새로운 방법의 결과는 더 적은 수의 배양 단계를 사용하여 입자 크기를 200 nm 이상으로 증가시킬 수 있음을 보여준다.
- <276> 전체 성장 공정 동안, 더 큰 물 대 계면활성제의 물 비가 사용되어야 하므로 시스템에 더 많은 물을 제공한다는 것이 논의될 수 있다. 도 35는 성장 단계 동안 물 대 계면활성제의 물 비가 9로서 합성된 입자의 TEM 이미지이다. [물]/[계면활성제]=6 시스템과 비교하면, [물]/[계면활성제]=9 시스템의 경우 초기 시드는 더 크지 않다. 그러나, 동일한 성장 방법하에 후자의 경우 입자 크기가 더 빠르게 증가하였다. 코어+3-층 입자의 경우, 후속 첨가한 경우만 크기가 약 158-172 nm로 증가하였고, 작은 입자가 생성되었는데, 이것은 단분산 입자가 높은 물 대 계면활성제 비를 사용할 경우 그다지 우수하게 성장될 수 없음을 나타내는 것이다.
- <277> **고온 합성**
- <278> 이전에 언급한 바와 같이, 층상 나노입자를 생성하기 위해서는 수 일이 소요될 수 있다. 반응 시간을 줄이고자 하는 시도로 실험을 고온에서 수행하였다. 도 36은 35 °C 또는 50 °C에서 합성된 나노입자의 TEM 이미지를 나타낸다. 35-50 nm 입자는 35 °C에서 20 시간 숙성한 경우에 생성되었다. 입자 크기는, 같은 온도에서 48 시간 숙성한 경우 약 48-62 nm로 증가하였다. 50 °C에서, 숙성 시간을 20 시간에서 48 시간으로 증가시켰더니 입자 크기가 37-52 nm에서 48-70 nm로 증가하였다. 상대적으로, 실온에서 나노입자의 크기 범위는 48 시간 숙성한 경우에 약 50-60 nm이었다(도 34a-a). 결과는 입자 크기가 시간 경과에 따라 증가하지만 반응 온도에는 대부분 독립적인 것으로 나타났다. 고온 반응은 졸-겔 반응을 신속하게 완료시킬 수 없었지만 넓은 크기 분포를 가진 입자를 생성하였다.
- <279> 도 37은 물 대 계면활성제 물 비=8을 가진 고온 반응에서 생성된 코어-셀 입자를 나타낸다. 반응 온도에 상관 없이(35 또는 50 °C) 반응 시간이 20 시간에서 48 시간으로 증가함에 따라 평균 입자 크기는 약 10-15 nm로 증가하였다.
- <280> **입자 크기에 대한 배양 효과**
- <281> 앞서 언급한 바와 같이, 층상 나노입자를 생성하기 위해서는 대부분의 TEOS가 완전히 반응하도록 보증하기 위해 시드를 실온에서 제조한 다음 55±5 °C, 1 시간의 배양 단계를 거쳤다. 그 후, 새로운 에멀전 성분을 현탁액에 첨가한 다음 혼합물을 55±5 °C에서 6 시간 동안 배양하여 새로 첨가된 물 모두를 기존의 입자 표면에 흡착하게 하였다. 도 38은 상이한 배양 단계에 존재하는 실리카 입자 크기를 나타낸다. 배양 이전에, 입자의 크기 범위는 대략 76-88 nm이었다. 55±5 °C에서 1 시간 배양 후, 입자 크기는 약 82-96 nm로 약간 증가하였다. 그러나, 추가의 물을 첨가한 다음 시스템을 55±5 °C에서 6 시간 동안 배양하였더니 평균 입자 크기가 거의 변하지 않았고, 약간 넓은 크기 분포를 나타내었다. 배양 시간인 긴 경우에도 입자 크기의 증가는 관찰되지 않았고, 이는 거의 모든 실리콘 알콕시드가 1 시간 후 반응하였다는 것을 제시하는 것이다.

도면의 간단한 설명

도면의 간단한 설명

이제 본 발명의 바람직한 형태가 첨부도면을 참고로 하여 실시예에 의해 기술될 것이다:

도 1은 염기의 존재하에서의 졸-겔 반응 순서를 나타내며;

도 2는 코어에만 도펀트를 함유하는 다층 나노입자를 생성하는 방법에 대한 흐름도를 나타내고;

도 3은 다수의 도펀트를 가진 다층 나노입자를 생산하는 방법에 대한 흐름도를 나타내며;

도 4는 NP-9/1-펜타놀/사이클로헥산/ NH_4OH /TEOS 시스템에서 생산된 입자의 TEM 현미경사진을 나타내고(평균 크기 55 ± 5 nm);

도 5는 코어-셸 구조를 가진 균일한 실리카 입자의 TEM 이미지를 나타내며;

도 6은 실리카 입자 위 계면활성제 잔기의 TGA/DTA 측정 그래프를 나타내고;

도 7은 다음의 마이크로에멀전 시스템에서 생성된 실리카 입자의 TEM 현미경사진으로서, a) NP-5/사이클로헥산/ NH_4OH /TMOS, b) NP-9/1-펜타놀/사이클로헥산/ NH_4OH /TMOS, 및 c) Triton X-100/톨루엔/ NH_4OH /TMOS를 나타내며;

도 8은 TMOS의 순차적 첨가에 의한 입자 성장을 설명하는 TEM 현미경사진으로서, a) 코어(22 nm), b) 1.2 몰 TMOS의 제 1 첨가(27 nm), c) 제 2 첨가(31 nm), d) 제 3 첨가(33 nm), e) 제 4 첨가(36 nm)를 나타내고;

도 9는 TEOS의 순차적 첨가에 의한 입자 성장을 설명하는 TEM 현미경사진으로서, a) 코어(50 nm), b) 1.2 몰 TMOS의 제 1 첨가(83-92 nm), c) 제 2 첨가(91-106 nm), d) 제 3 첨가(102-120 nm), e) 제 4 첨가(108-129 nm), f) 제 5 첨가(128-146 nm)를 나타내며;

도 10은 신규한 성장 방법의 원리를 설명하는 개략도를 나타내고;

도 11은 코어-셸 구조의 TEM 현미경사진으로서, a) 밝은 부분 이미지(어두운 영역은 중원소를 나타냄), b) 어두운 부분 이미지(밝은 영역은 중원소를 나타냄)를 나타내며;

도 12는 빔 손상을 나타내는 코어-셸 구조의 TEM 현미경사진을 나타내고: a) 밝은 부분 이미지, b) EDX 선 프로파일 이후 어두운 부분 이미지;

도 13은 코어-셸 입자 크기에 대한 첨가 방법의 영향을 설명하는 현미경사진을 나타내며;

도 14는 4 사이클(코어 + 4 개의 셸) 및 b) 5 사이클(코어 + 5 개의 셸)을 사용하여 합성된 입자의 TEM 현미경사진을 나타내며;

도 15는 회석물(신선한 에멀전의 부피/시드 에멀전의 부피)이 A) 2, B) 3, C) 4, D) 5인 상이한 회석물을 사용하여 성장된 입자의 TEM 현미경사진으로서, a) 시료 1, 도프된 실리카 코어 구리, $\text{Cu}(\text{NH}_3)_4^{2+}$ 의 형태로 Cu 10.14 mg/mL을 함유하는 과량 첨가된 수성상 1.333 몰/L NH_4OH , b) 시료 2, 도프된 실리카 코어 구리, 구리를 함유하지 않은 과량 첨가된 수성상 1.333 몰/L NH_4OH 를 나타내고;

도 16은 시드 에멀전과 신선한 에멀전의 상이한 혼합 방법을 사용하여 제조된 입자의 TEM 현미경사진을 나타내며;

도 17은 TEOS를 사용하여 형성된 입자 코어 및 TMOS를 사용하여 형성된 셸의 TEM 현미경사진을 나타내고(합성 조건은 도 5에 사용된 조건과 동일함);

도 18은 ORMOSIL 셸로 코팅된 실리카 코어의 TEM 현미경사진을 나타내며;

도 19는 표 2에 열거된 조성을 가진 시료의 TEM 현미경사진을 나타내고;

도 20은 표 1에 열거된 조성을 가지며 아세톤 중에 현탁된 시료의 사진을 나타내며;

도 21은 표 3에 열거된 조성을 가진 시료의 TEM 현미경사진을 나타내고;

도 22는 표 3에 열거된 조성을 가지며 아세톤 중에 현탁된 시료의 사진을 나타내며;

- <116> 도 23은 표 4에 열거된 조성을 가진 시료의 사진으로서, a) 동결-건조된 것(SiO_2/NaCl 중량비: 15%), b) Milli-Q 물에 현탁된 것을 나타내고;
- <117> 도 24는 현탁액 중에 존재하고 실리카 셸로 코팅된 I_2O_3 나노결정의 현미경사진을 나타내며;
- <118> 도 25는 중성수에서의 CuPC(흑색선, λ_{max} : 556 nm) 및 Rubpy(회색선, λ_{max} : 390 nm)의 UV-가시 스펙트럼을 나타내고;
- <119> 도 26은 32 일후 SBF에서의 시료 LNK-822(흑색선, λ_{max} : 615 nm) 및 LNK-824(회색선, λ_{max} : 450 nm)의 UV-가시 스펙트럼을 나타내며;
- <120> 도 27은 a) 시료 LNK-822(37 °C, 20 mL SBF 중의 동결-건조 분말 1.022g, λ_{max} =615 nm) 및 b) 시료 LNK-824(37 °C, 20 mL SBF 중의 동결-건조 분말 0.6055g, λ_{max} =450 nm)의 방출률 곡선을 나타내고(여기서 동결-건조 분말은 15 wt%의 SiO_2 및 85 wt%의 NaCl을 함유함);
- <121> 도 28a 내지 28f는 본 발명에 따른 상이한 층상 나노입자의 개략도를 나타내며;
- <122> 도 29는 UV/가시 흡수를 사용하여 측정된 시료 (A) LNK-879 및 (B) LNK-880의 방출 속도 곡선을 나타내고(37 °C, 20 mL SBF에 현탁된 동결-건조 분말 2 g, 여기서 동결-건조 분말은 15 wt% SiO_2 및 85 wt% NaCl을 함유함):
▲ CuPC, λ_{max} =615 nm, ■ Rubpy, λ_{max} =450 nm;
- <123> 도 30은 추가의 에멀전 성분의 첨가에 의한 ORMOSIL 표면과 염료 캡슐화된 실리카 나노입자의 합성에 대한 흐름도를 나타내며;
- <124> 도 31은 추가의 에멀전 성분의 첨가에 의해 생성된 ORMOSIL 표면을 가진 실리카 나노입자의 TEM 이미지를 나타내고: 표 6에 설명된 바와 같이 (a) TEOS에 의한 시딩(seeding); (b) 혼합 전구체에 의한 시딩; (c) TEOS에 의한 코어셸 입자; (d) 및 (e) ORMOSIL 셸을 가진 실리카 코어, (f) ORMOSIL 코어 및 셸;
- <125> 도 32는 각종 계면활성제 농도에서의 실리카 입자의 TEM 이미지를 나타내며: (a, b) 0.2 몰/L NP-9 및 0.2 몰/L 1-펜타놀에 의해 제조된 시드 입자, 74-86 nm; (c) 1-펜타놀없이 0.4 몰/L NP-9에 의해 제조된 코어+2층 입자, 109-123 nm; (d) 1-펜타놀없이 0.4 몰/L NP-9에 의해 제조된 코어+3-층 입자, 132-152 + 20 nm; (e) 1-펜타놀없이 0.6 몰/L NP-9에 의해 제조된 코어+2-층 입자, 106-126 nm; (f) 1-펜타놀없이 0.6 몰/L NP-9에 의해 제조된 코어+3-층 입자, 132-145 + 20 nm; (g) 0.4 몰/L NP-9, 0.4 몰/L 1-펜타놀에 의해 제조된 코어+2-층 입자, 100-131 nm; (h) 0.4 몰/L NP-9, 0.4 몰/L 1-펜타놀에 의해 제조된 코어+3-층 입자, 128-179 nm;
- <126> 도 33은 본 발명에 따른 두 가지 성장 기술을 조합하여 층상 실리카 나노입자를 형성하는 흐름도를 나타내고;
- <127> 도 34는 $[\text{H}_2\text{O}]/[\text{계면활성제}]$ 의 몰 비=6에서 두 가지 성장 기술을 조합하여 생성된 실리카 입자의 TEM 이미지를 나타내며: (a) 시드: 50-60 nm, TEOS 1.2 밀리몰, H_2O 36 밀리몰, $[\text{H}_2\text{O}]/[\text{TEOS}]=30$; (b) 코어+1-층: 61-76 nm, TEOS 4.8 밀리몰, H_2O 36 밀리몰, $[\text{H}_2\text{O}]/[\text{TEOS}]=7.5$; (c) 코어+2-층: 95-113 nm, TEOS 9.6 밀리몰, H_2O 72 밀리몰, $[\text{H}_2\text{O}]/[\text{TEOS}]=7.5$; (d) 코어+3-층: 100-135 nm, TEOS 14.4 밀리몰, H_2O 72 밀리몰, $[\text{H}_2\text{O}]/[\text{TEOS}]=5$; (e) 코어+4-층: 136-166 nm, TEOS 24 밀리몰, H_2O 144 밀리몰, $[\text{H}_2\text{O}]/[\text{TEOS}]=6$; (f) 코어+5-층: 146-172 nm, TEOS 33.6 밀리몰, H_2O 144 밀리몰, $[\text{H}_2\text{O}]/[\text{TEOS}]=4.3$; (g) 코어+7-층: 200-240 nm, TEOS 52.8 밀리몰, H_2O 216 밀리몰, $[\text{H}_2\text{O}]/[\text{TEOS}]=4.1$;
- <128> 도 35는 $[\text{H}_2\text{O}]/[\text{계면활성제}]$ 의 몰 비=9에서 두 가지 성장 기술을 조합하여 생성된 실리카 입자의 TEM 이미지를 나타내고: (a) 시드: 50-61 nm, TEOS 1.2 밀리몰, H_2O 54 밀리몰, $[\text{H}_2\text{O}]/[\text{TEOS}]=45$; (b) 코어+1-층: 70-87 nm, TEOS 4.8 밀리몰, H_2O 54 밀리몰, $[\text{H}_2\text{O}]/[\text{TEOS}]=11.3$; (c) 코어+2-층: 95-117 nm, TEOS 9.6 밀리몰, H_2O 162 밀리몰, $[\text{H}_2\text{O}]/[\text{TEOS}]=16.9$; (d) 코어+3-층: 158-172 nm, TEOS 14.4 밀리몰, H_2O 162 밀리몰, $[\text{H}_2\text{O}]/[\text{TEOS}]=11.3$; (e) 코어+4-층: 두 가지 크기의 나노입자, TEOS 24 밀리몰, H_2O 378 밀리몰, $[\text{H}_2\text{O}]/[\text{TEOS}]=15.8$; (f) 코어+5-층: 확대 크기의 나노입자, TEOS 33.6 밀리몰, H_2O 378 밀리몰, $[\text{H}_2\text{O}]/[\text{TEOS}]=11.3$;

<129> 도 36은 $[H_2O]/[계면활성제]=6$ 의 물 비를 가진 고온에서 합성된 실리카 나노입자의 TEM 이미지를 나타내며: (a) $35\pm 2\text{ }^\circ\text{C}$ 에서 20 시간 숙성, 35-50 nm; (b) $35\pm 2\text{ }^\circ\text{C}$ 에서 48 시간 숙성, 48-62 nm; (c) $50\pm 2\text{ }^\circ\text{C}$ 에서 20 시간 숙성, 37-52 nm; (d) $50\pm 2\text{ }^\circ\text{C}$ 에서 48 시간 숙성, 48-70nm;

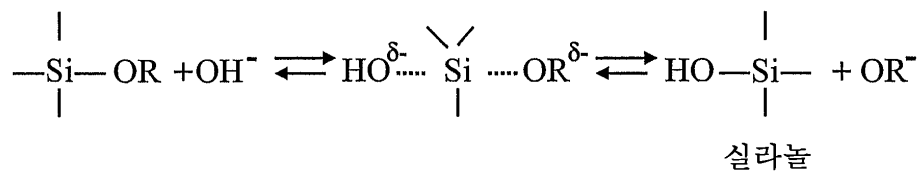
<130> 도 37은 $[H_2O]/[계면활성제]$ 의 물 비=8를 가지고 고온에서 합성된 실리카 나노입자의 TEM 이미지를 나타내고: (a) 시트: 35-68 nm, 실온 $35\pm 2\text{ }^\circ\text{C}$ 에서 48 시간 숙성: 코어-셸 입자: (b) 75-100 nm, $35\pm 2\text{ }^\circ\text{C}$ 에서 20 시간 숙성; (c) 78-113 nm, $35\pm 2\text{ }^\circ\text{C}$ 에서 28 시간 숙성; (d) 81-117 nm, $35\pm 2\text{ }^\circ\text{C}$ 에서 48 시간 숙성; (e) 78-105 nm, $50\pm 2\text{ }^\circ\text{C}$ 에서 20 시간 숙성; (f) 80-107 nm, $50\pm 2\text{ }^\circ\text{C}$ 에서 28 시간 숙성; (g) 86-120 nm, $50\pm 2\text{ }^\circ\text{C}$ 에서 48 시간 숙성;

<131> 도 38은 상이한 배양 단계에 존재하는 실리카 입자의 TEM 이미지를 나타낸다: (a) 배양전(76-88 nm); (b) 추가의 물을 첨가하기 전 1 시간 동안 $55\pm 5\text{ }^\circ\text{C}$ 배양(82-96 nm); (c) 추가의 물 첨가 후 6 시간 동안 $55\pm 5\text{ }^\circ\text{C}$ 배양 (74-100 nm).

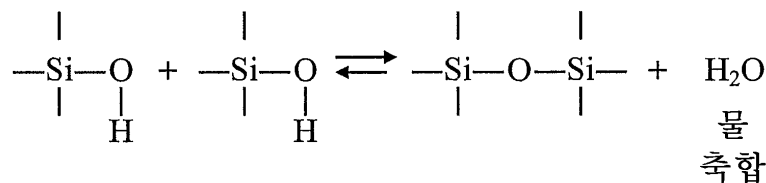
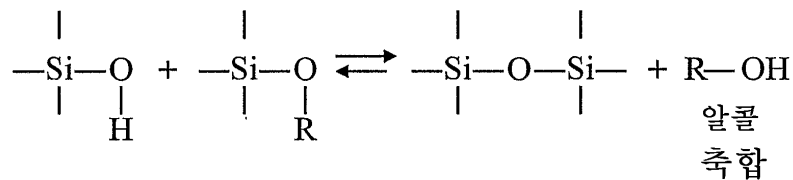
도면

도면1

가수분해

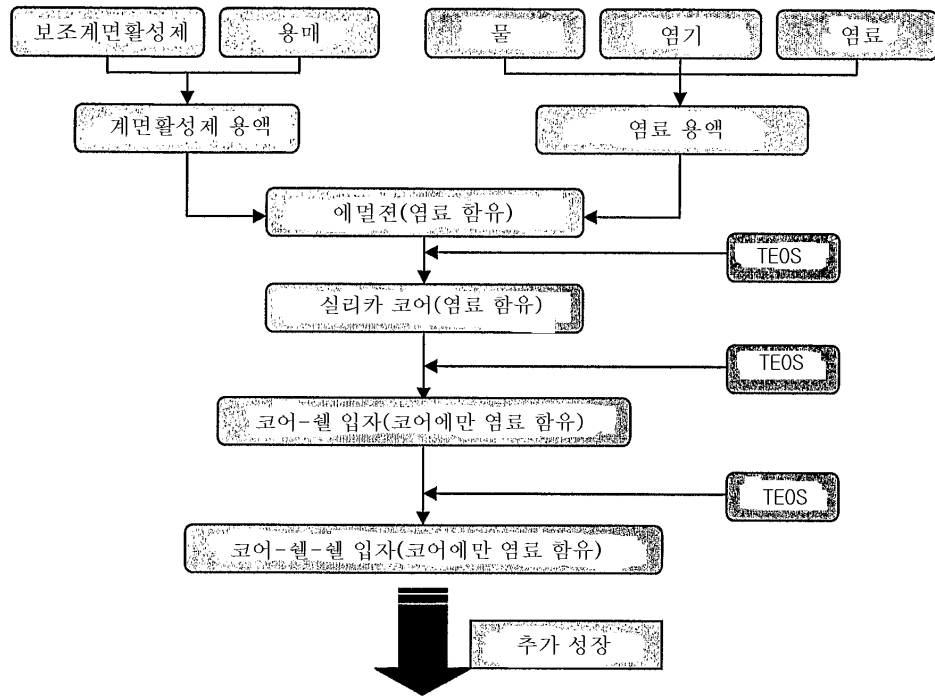


축합

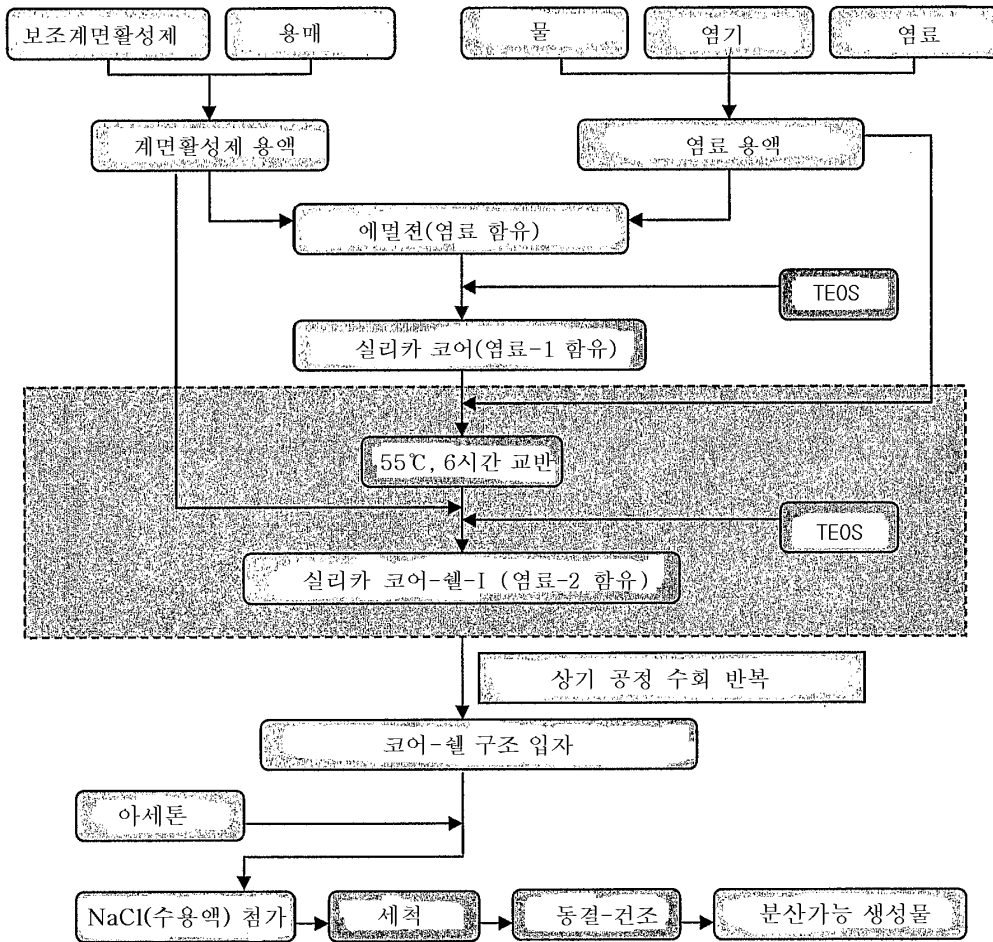


실록산

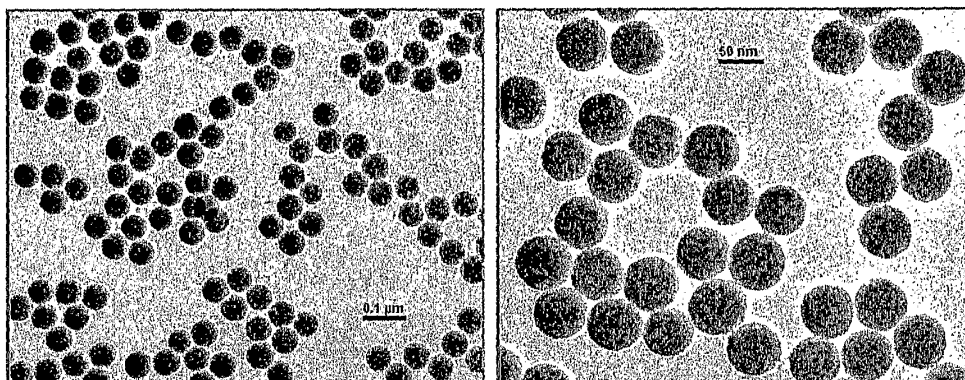
도면2



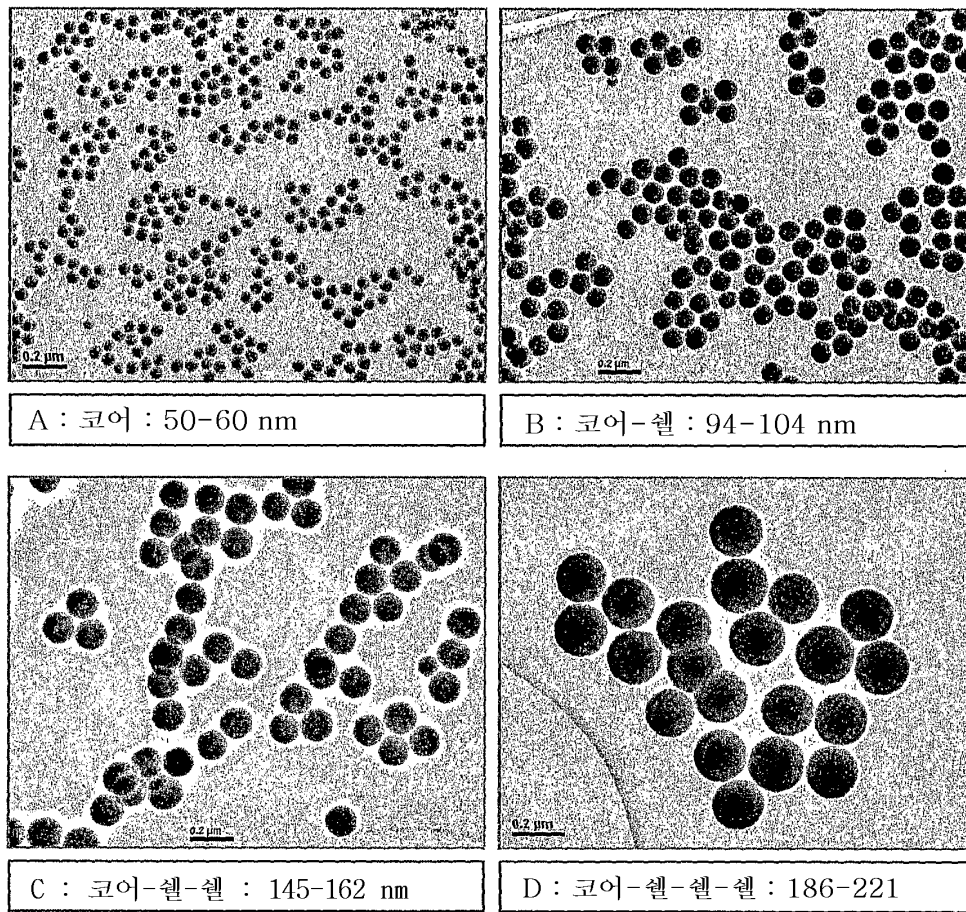
도면3



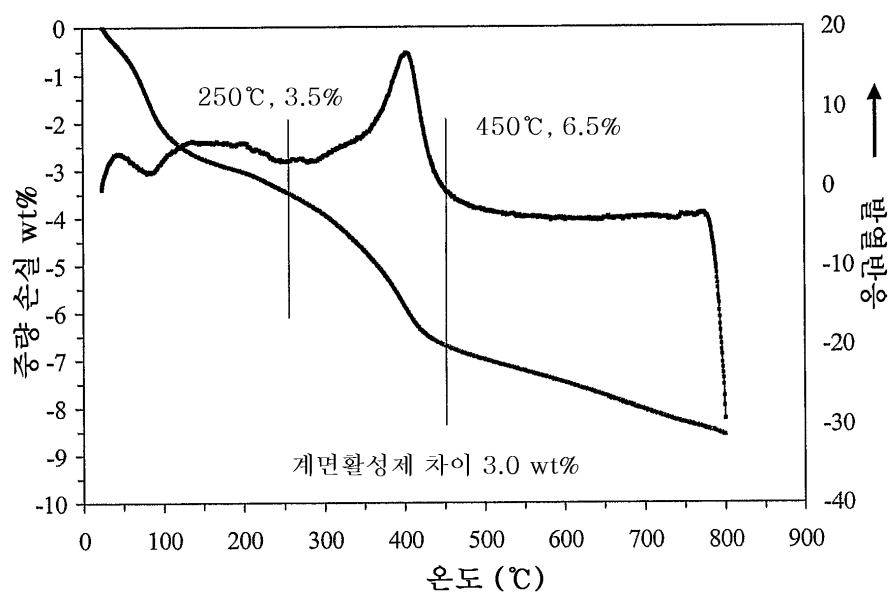
도면4



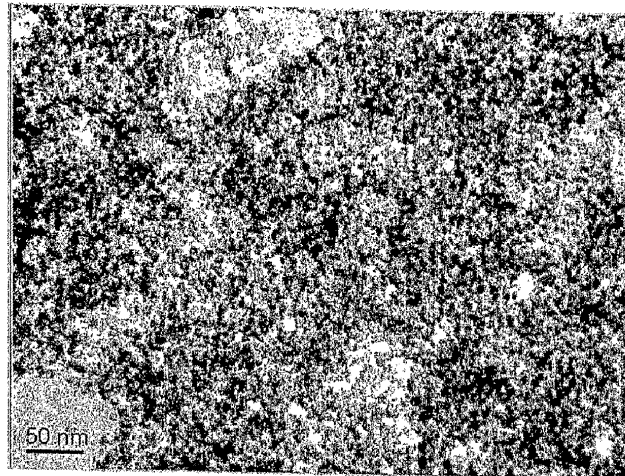
도면5



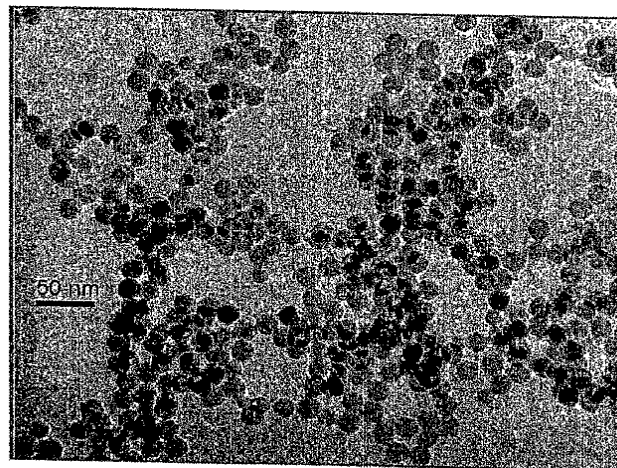
도면6



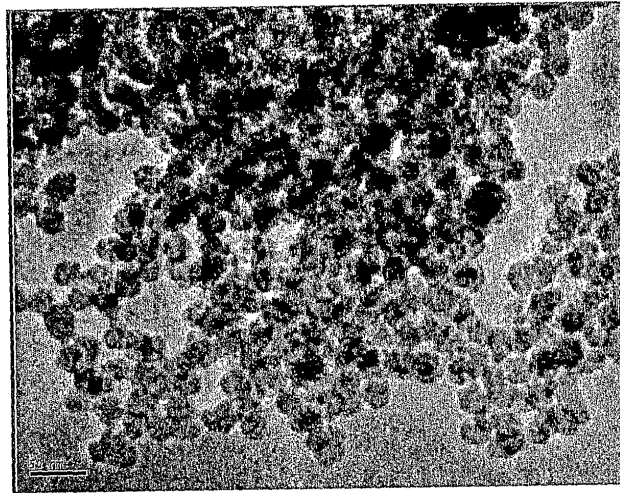
도면7a



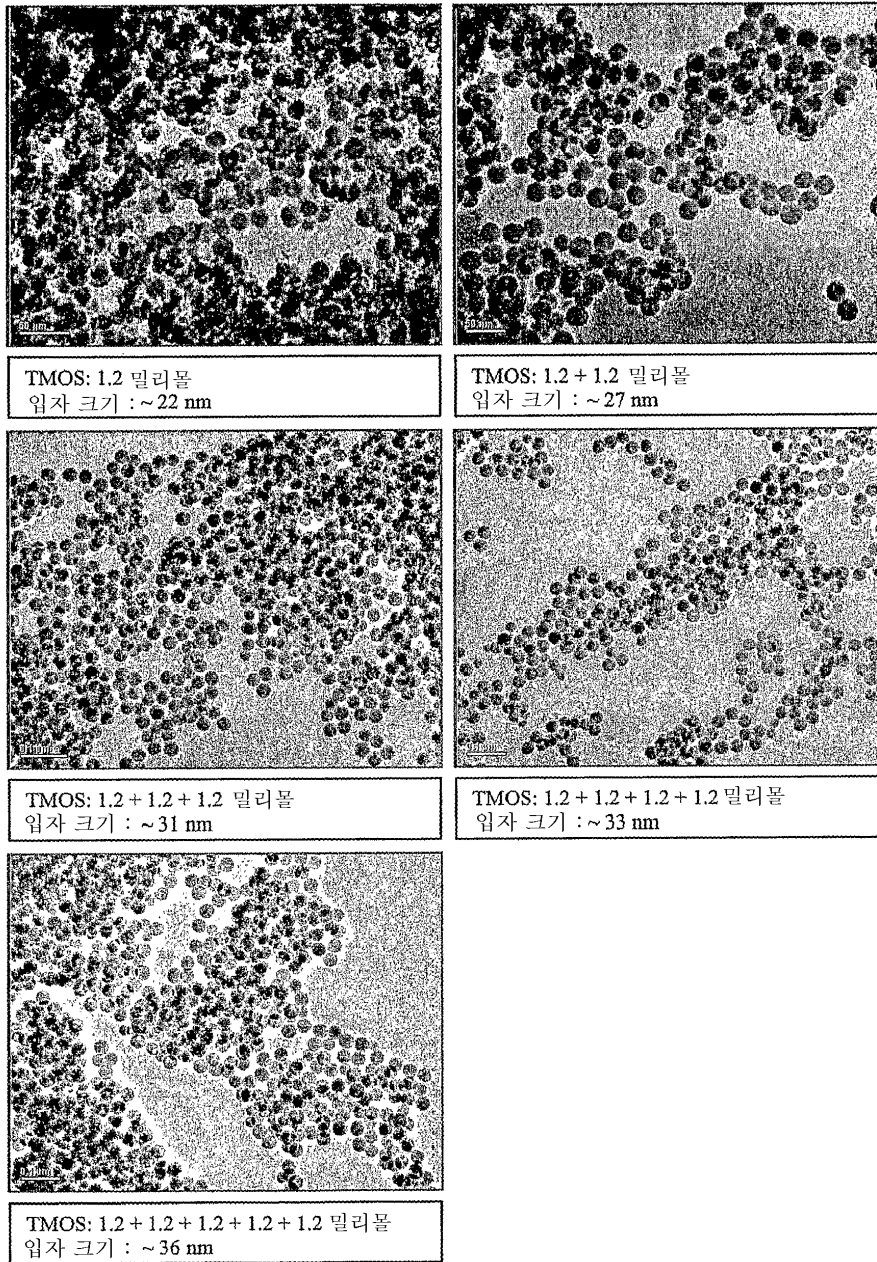
도면7b



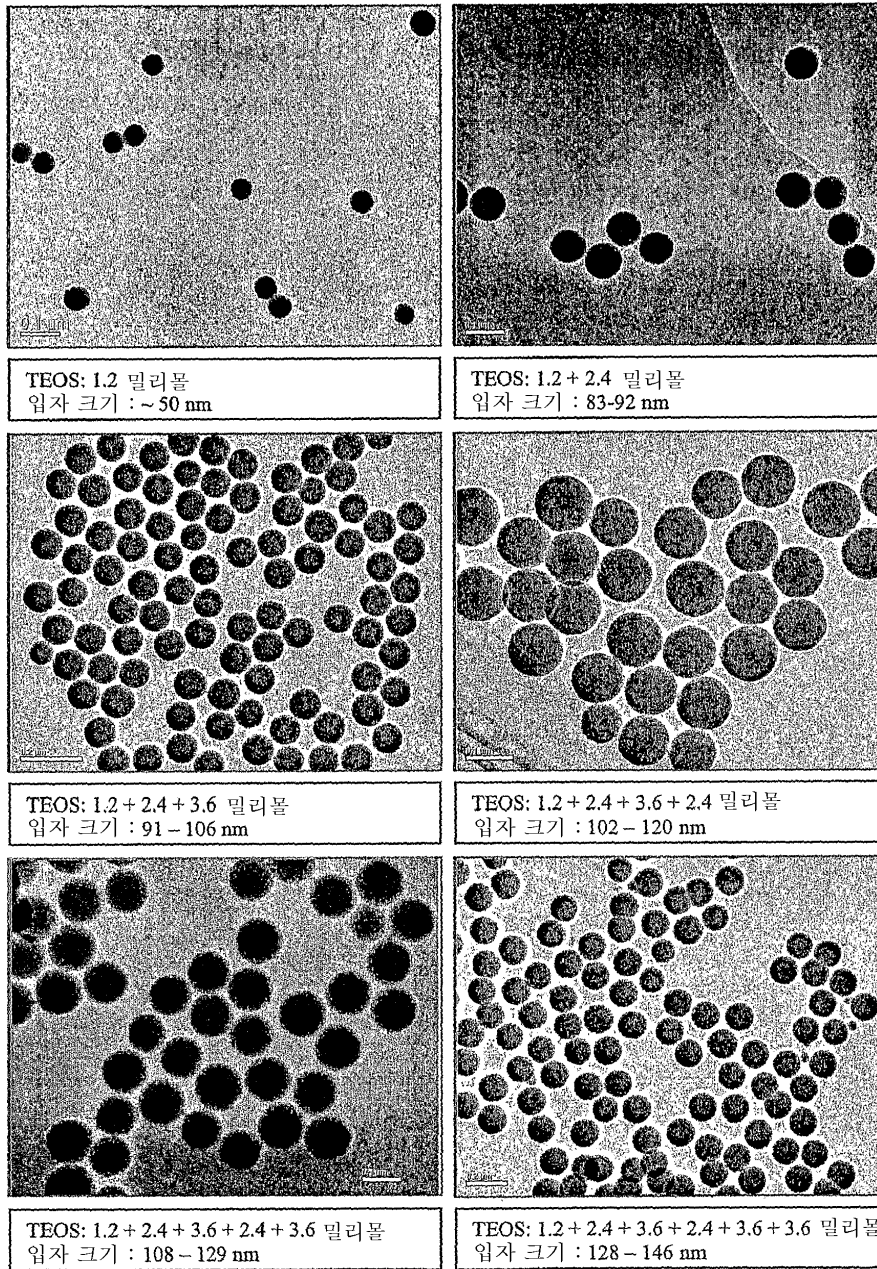
도면7c



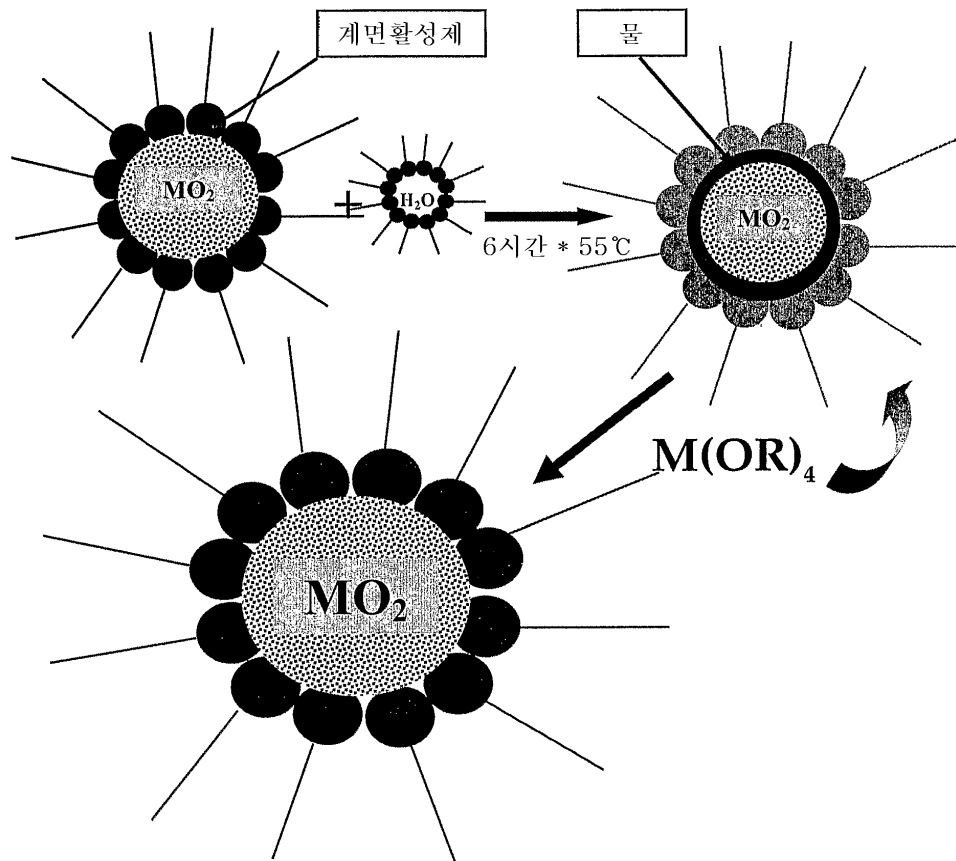
도면8



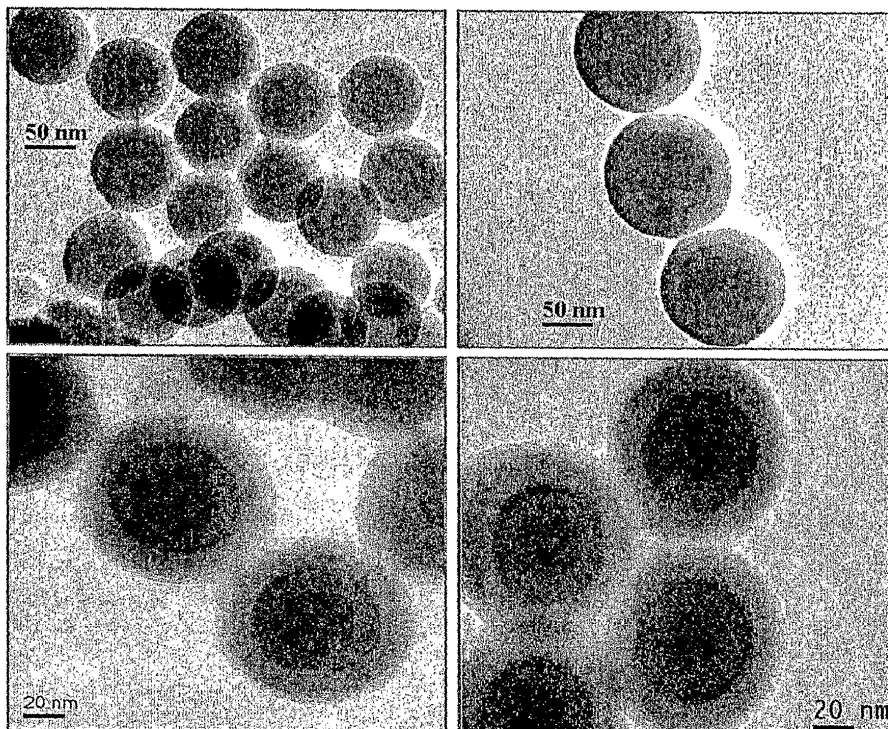
도면9



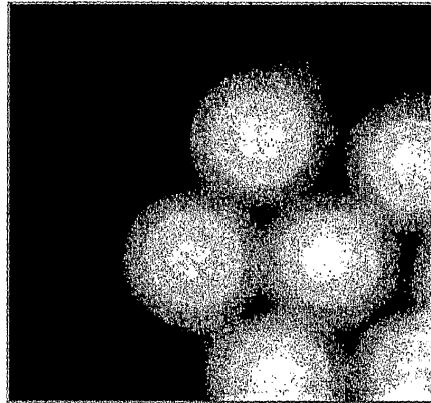
도면10



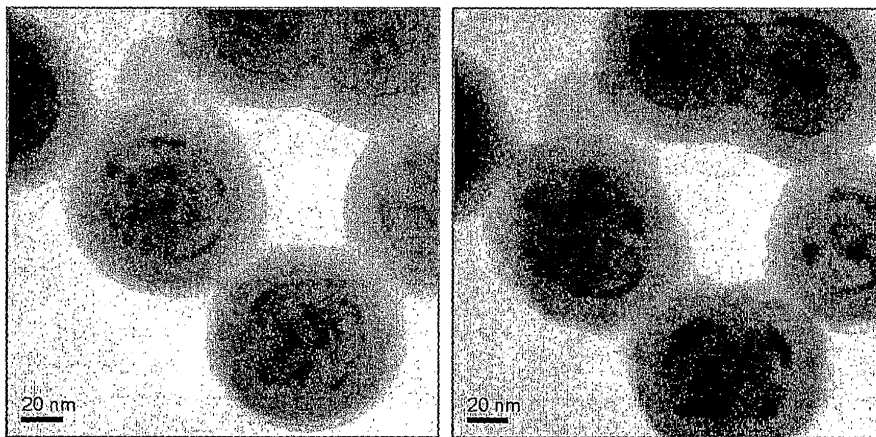
도면11a



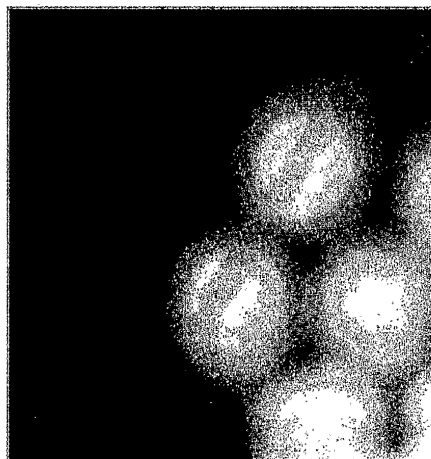
도면11b



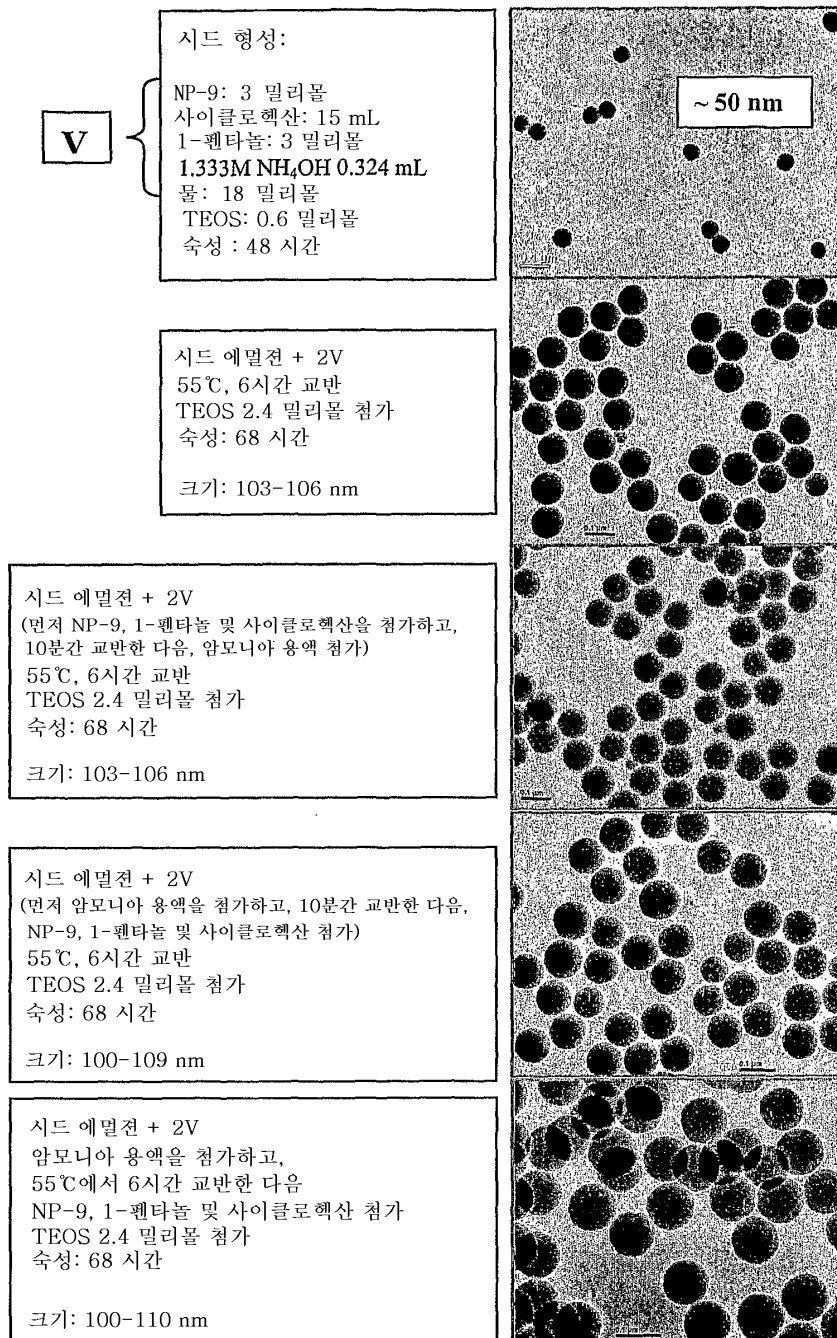
도면12a



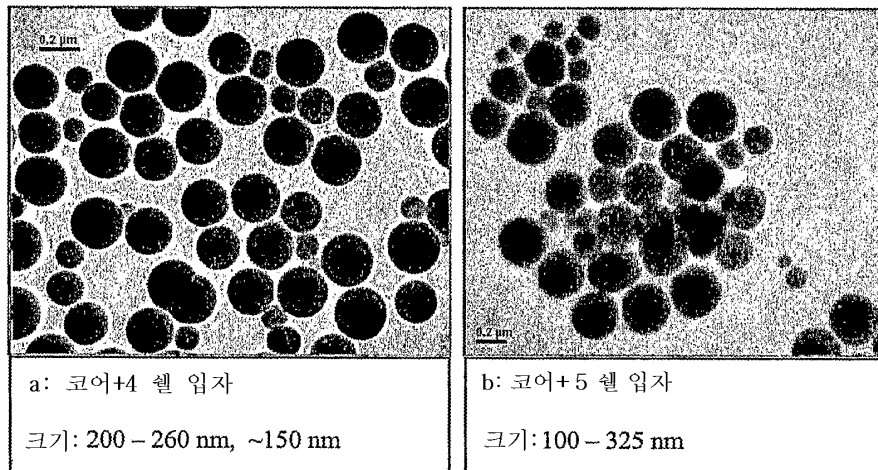
도면12b



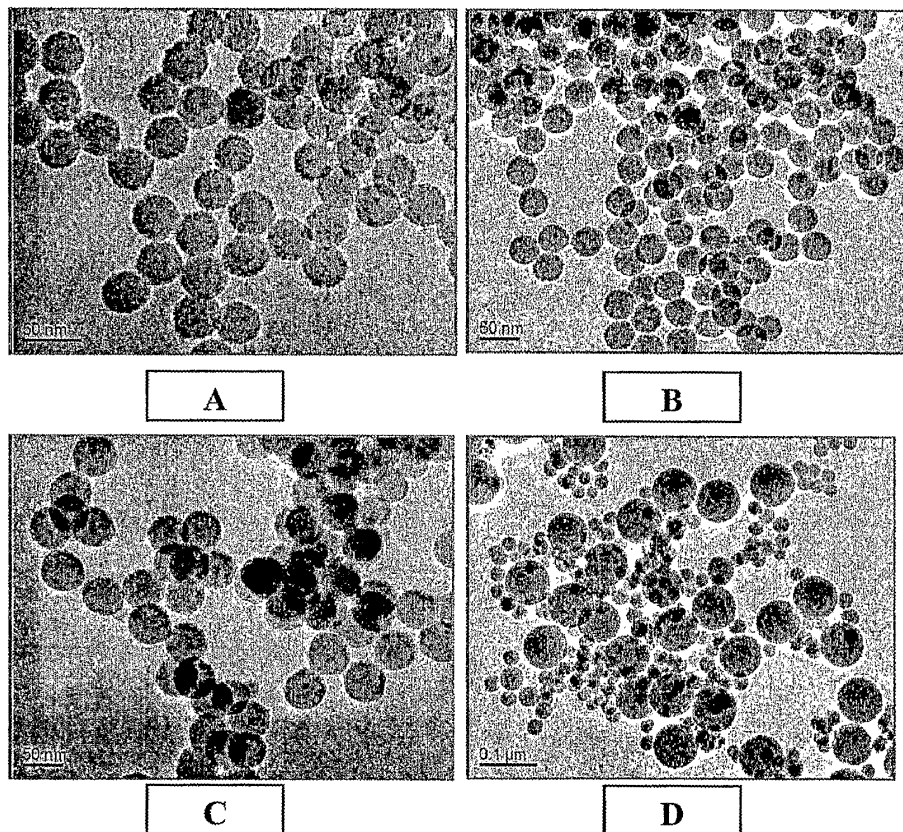
도면13



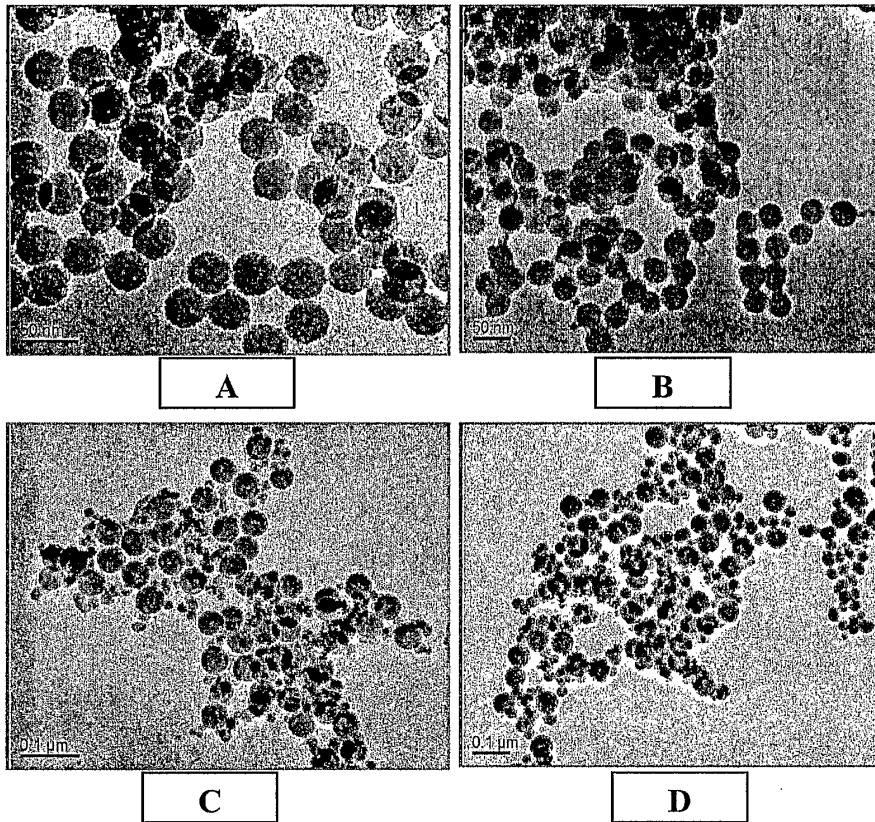
도면14



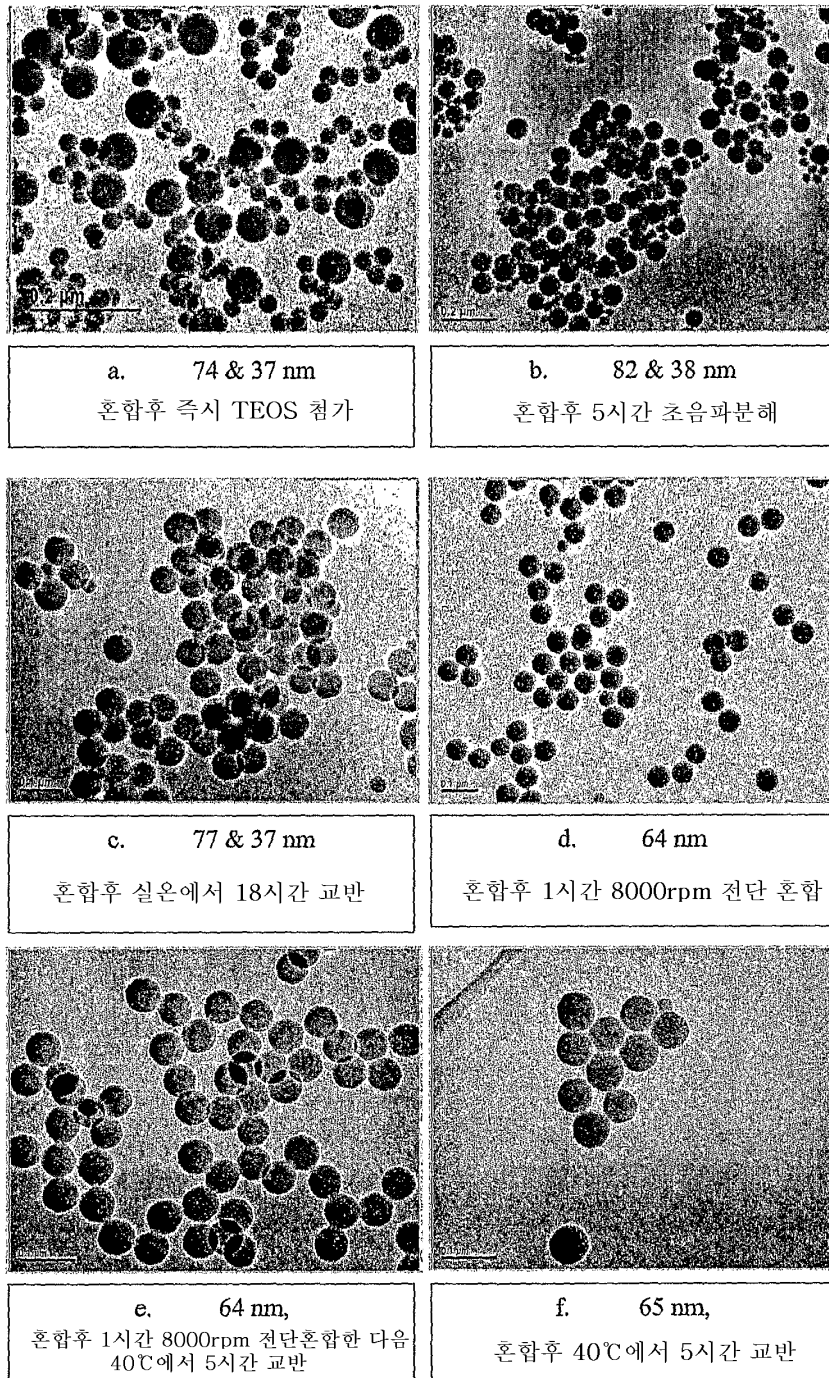
도면15a



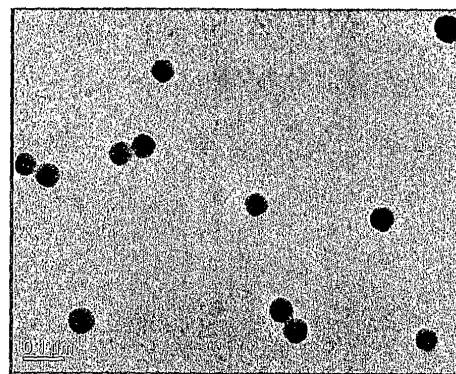
도면15b



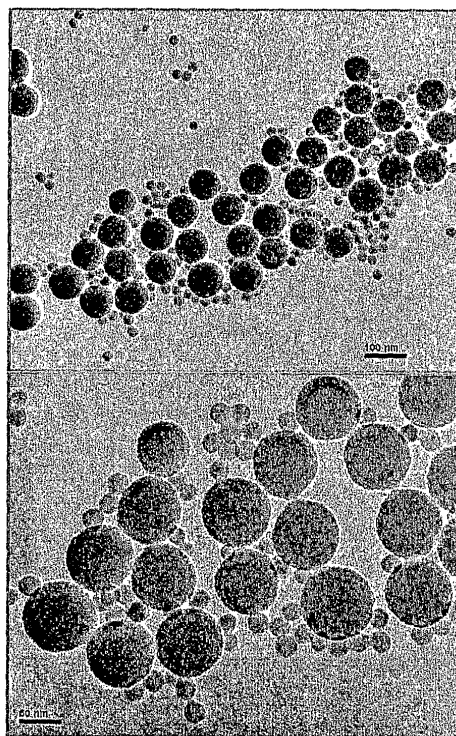
도면16



도면17

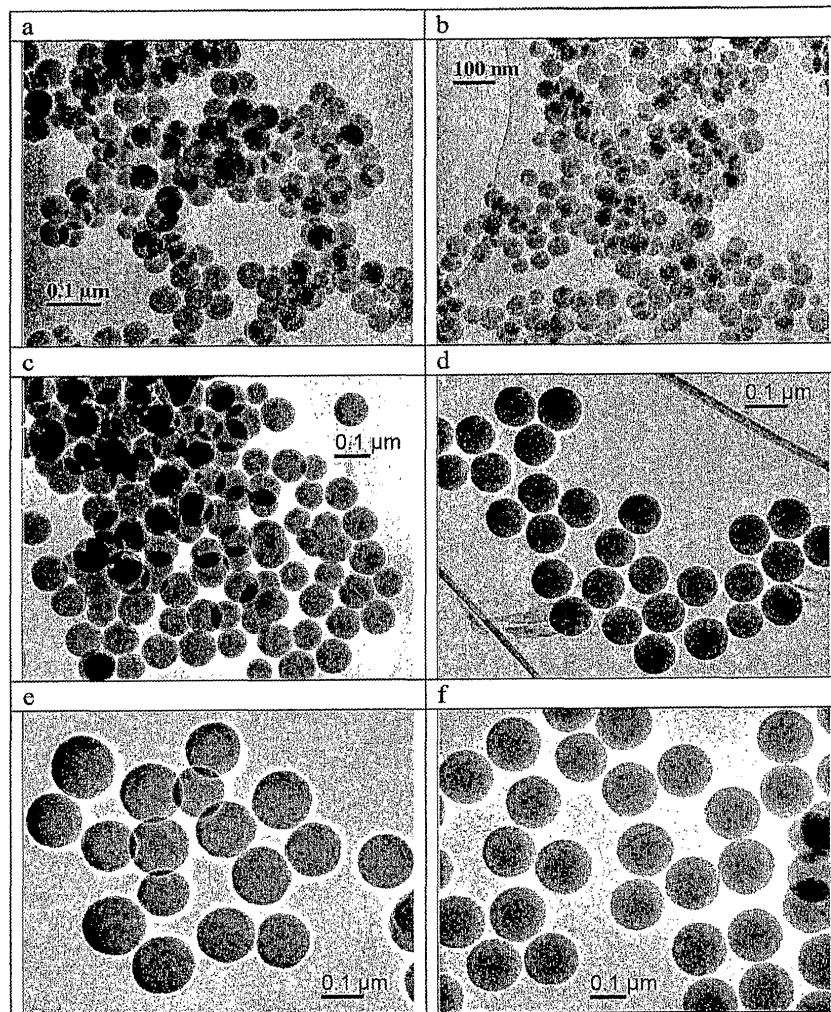


TEOS에 의해 형성된 코어, ~ 50nm

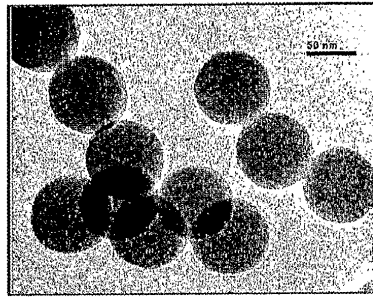


TMOS에 의해 형성된 셸, 64-87nm+ 21nm

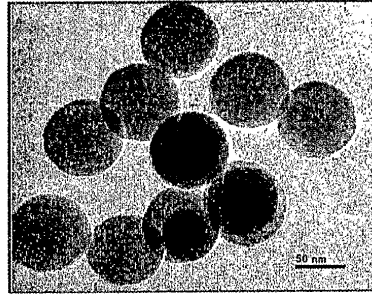
도면18



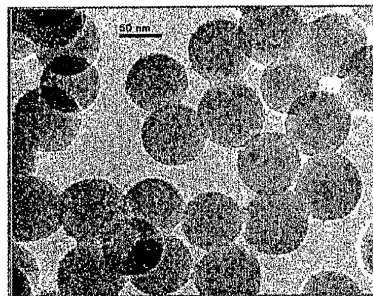
도면19



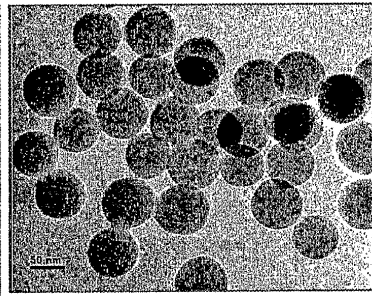
LNK-704



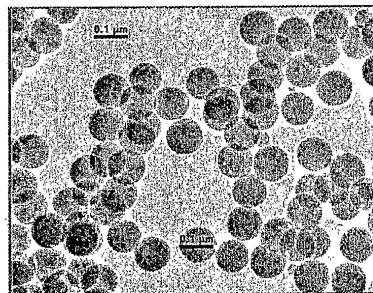
LNK-705



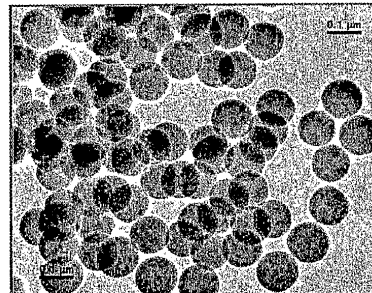
LNK-706



LNK-707

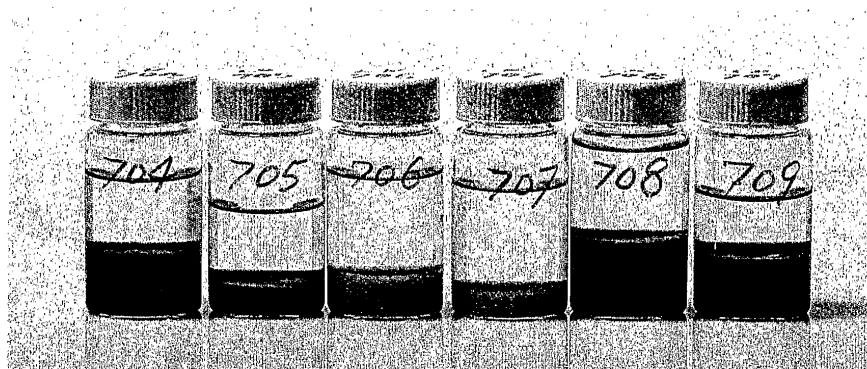


LNK-708

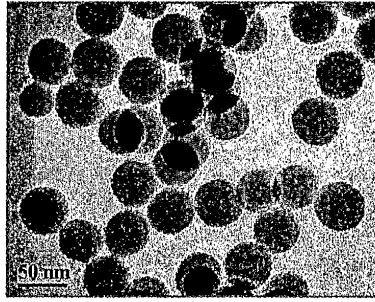


LNK-709

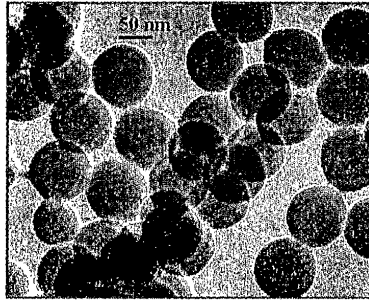
도면20



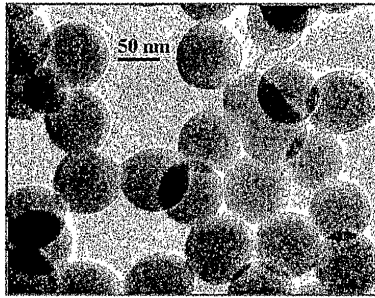
도면21



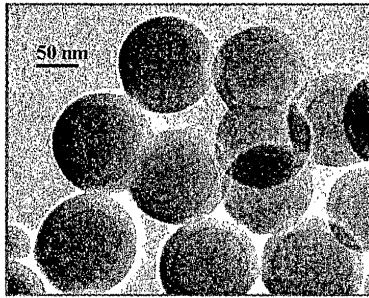
LNK-753



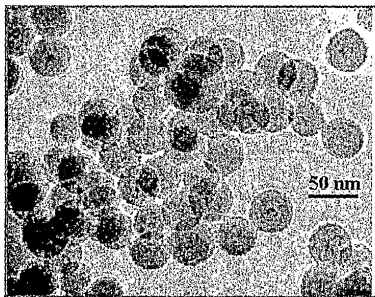
LNK-754



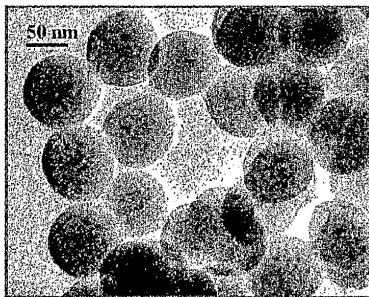
LNK-755



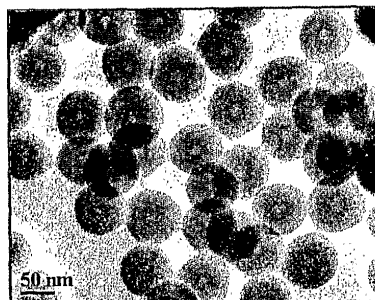
LNK-756



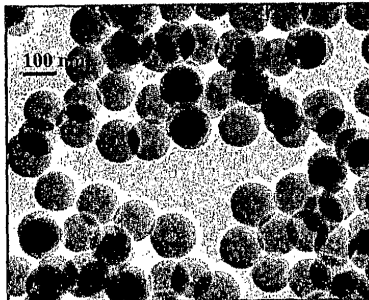
LNK-757



LNK-758

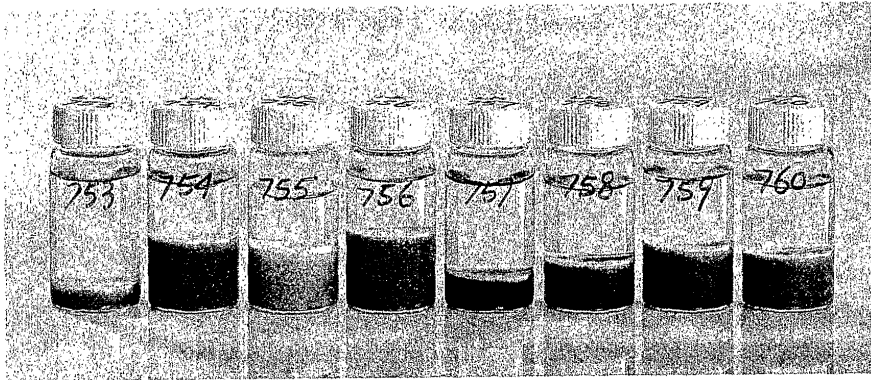


LNK-759

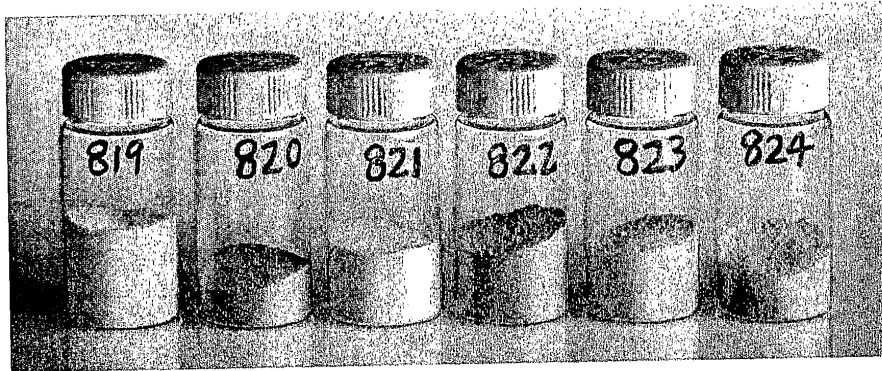


LNK-760

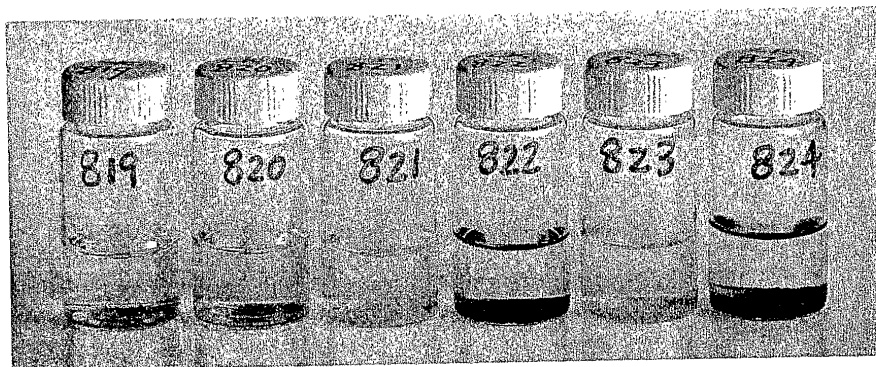
도면22



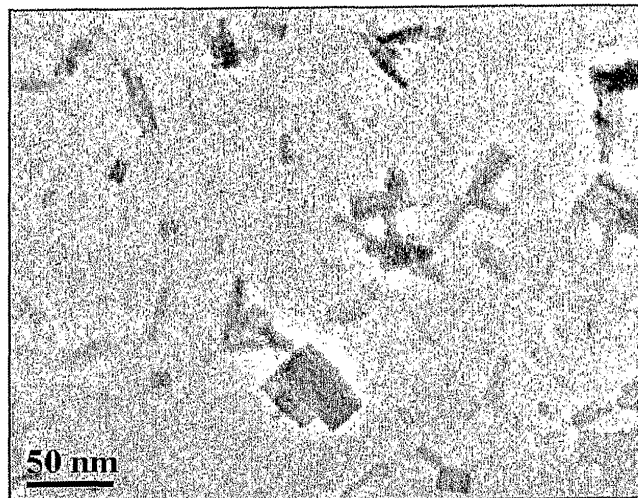
도면23a



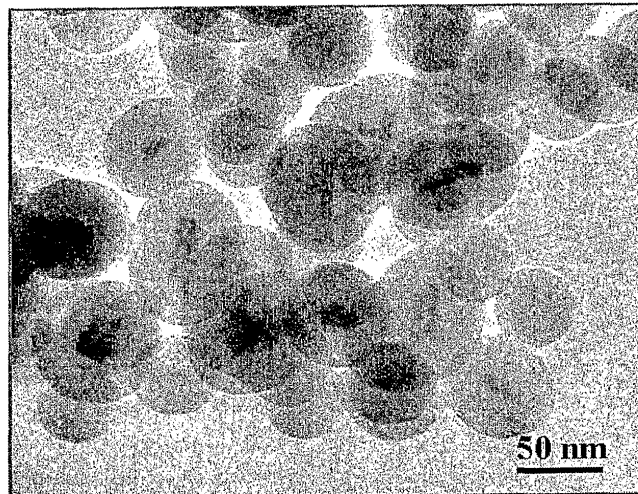
도면23b



도면24

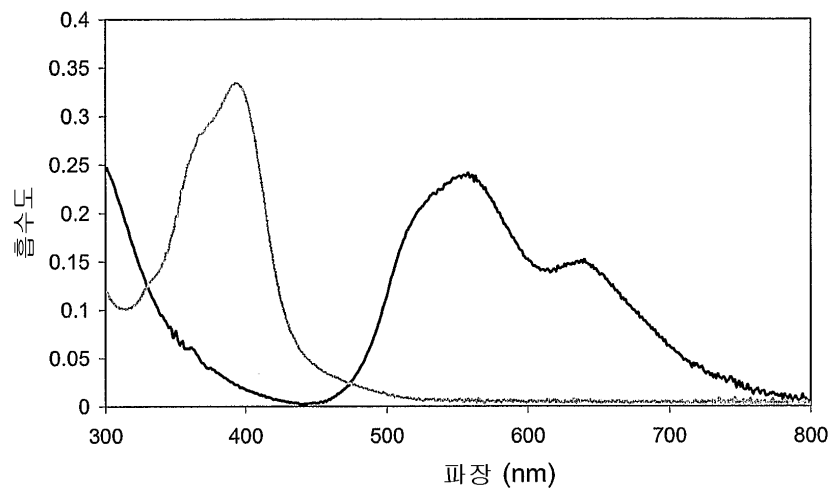


In₂O₃ 나노결정

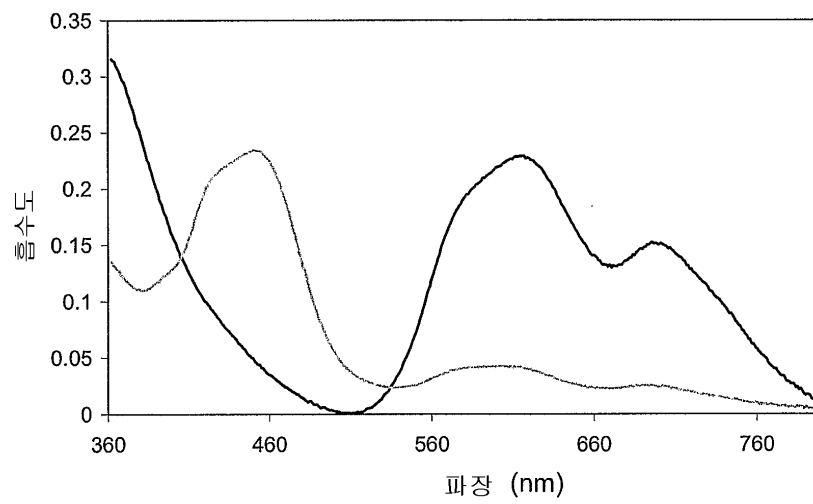


SiO₂ 나노입자내 In₂O₃

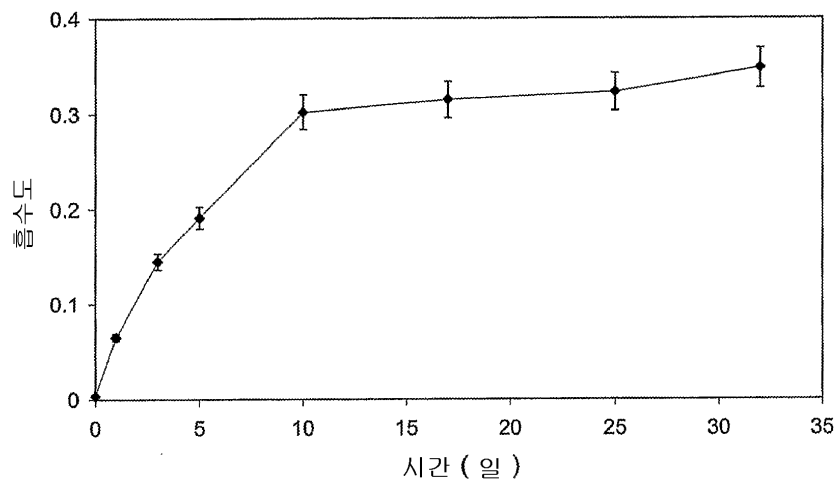
도면25



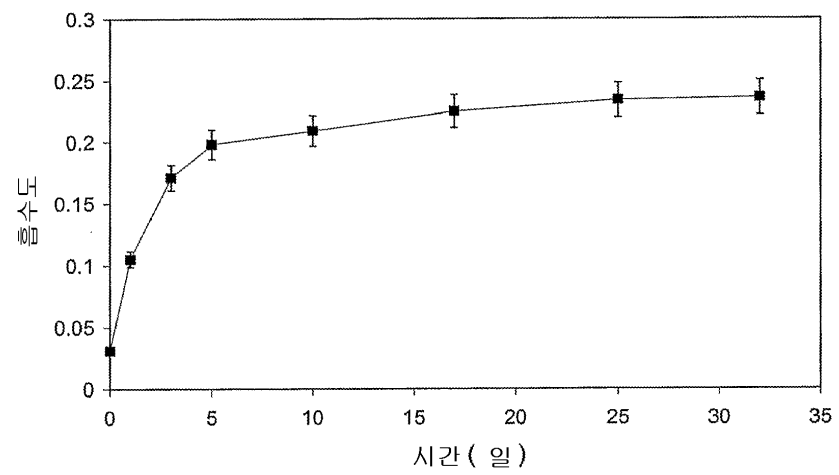
도면26



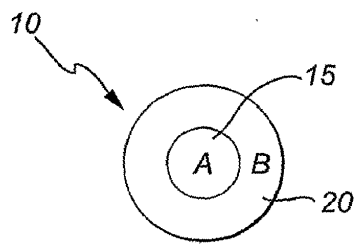
도면27a



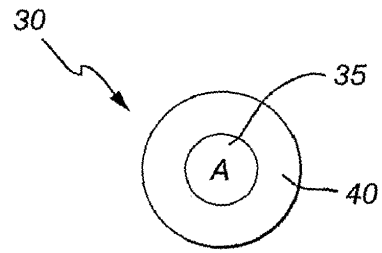
도면27b



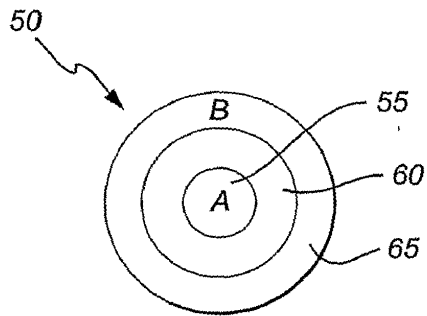
도면28



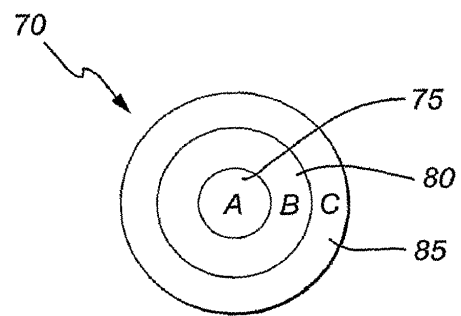
도 28a



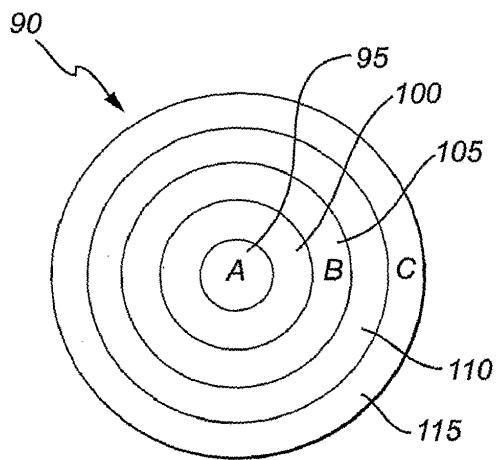
도 28b



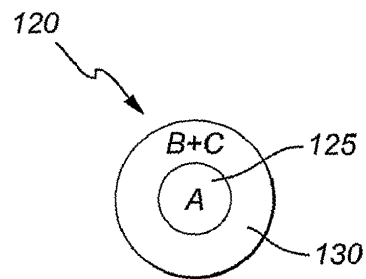
도 28c



도 28d

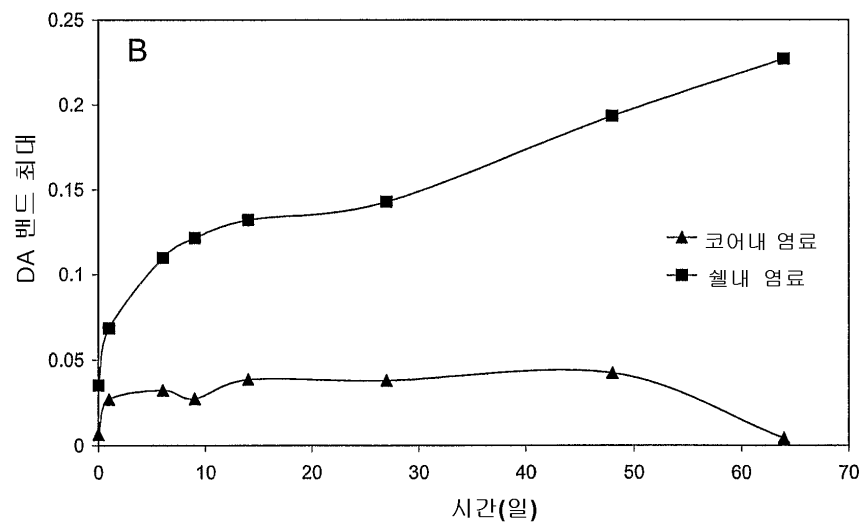
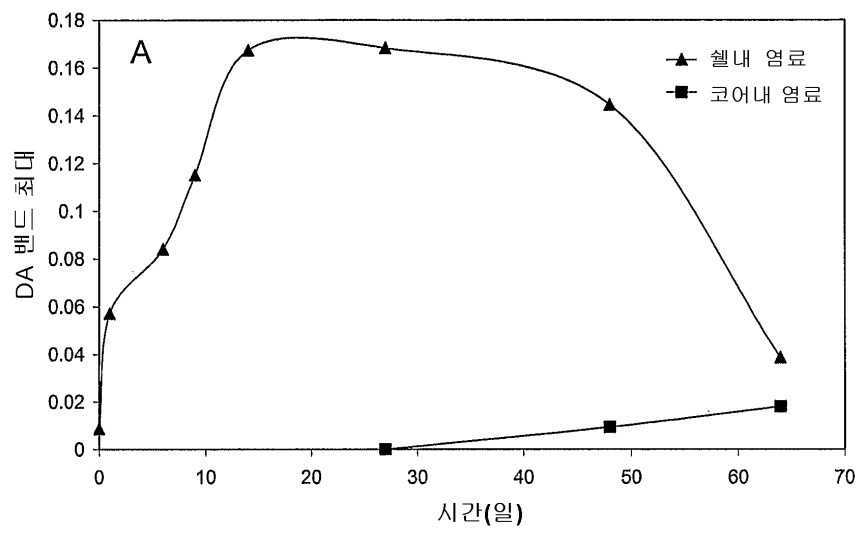


도 28e

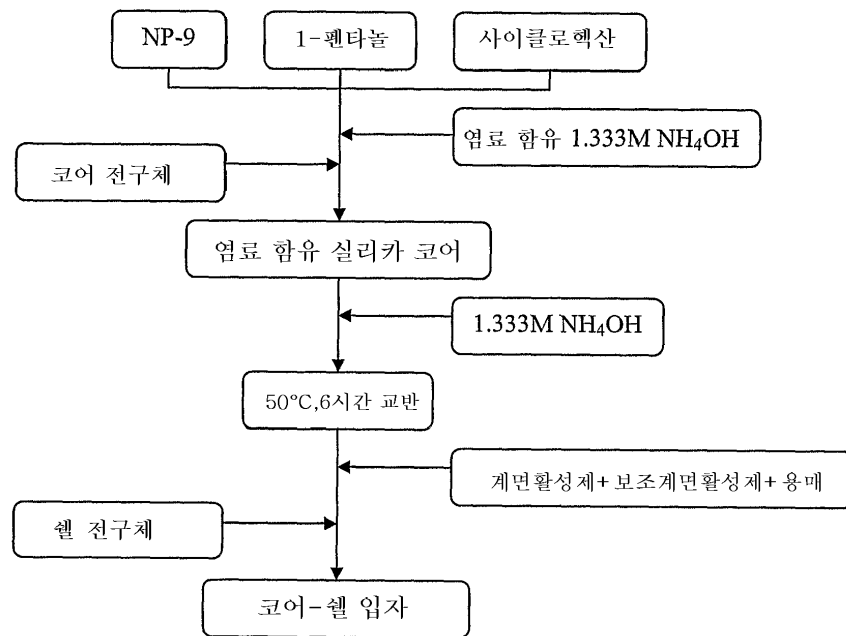


도 28f

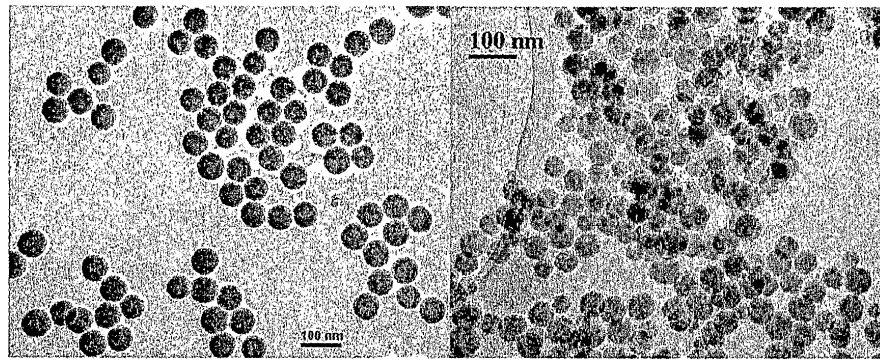
도면29



도면30

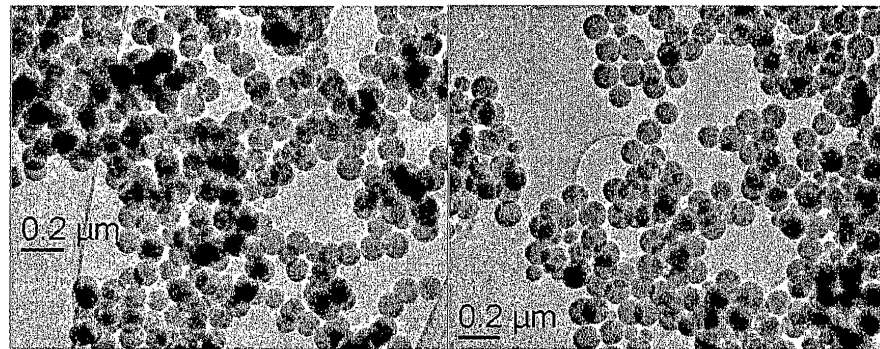


도면31



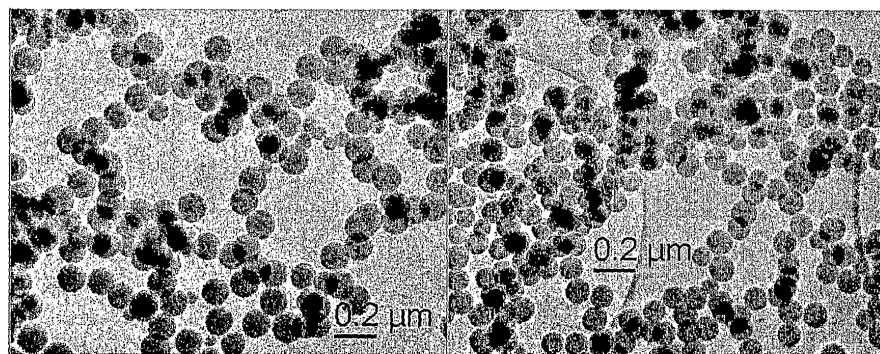
a (\times = 100 nm)

b (\times = 100 nm)



c (\times = 200 nm)

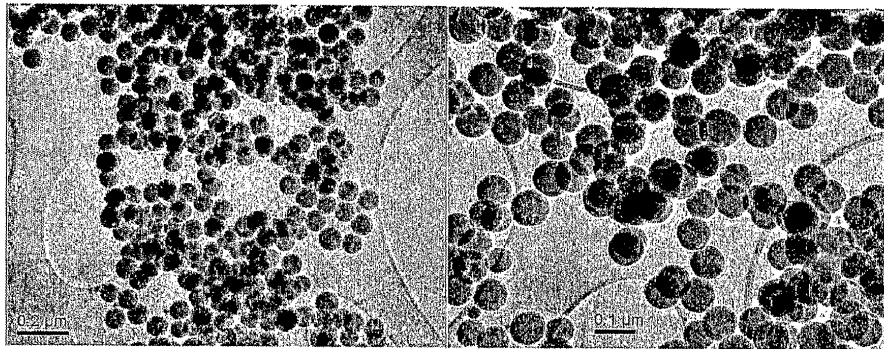
d (\times = 200 nm)



e (\times = 200 nm)

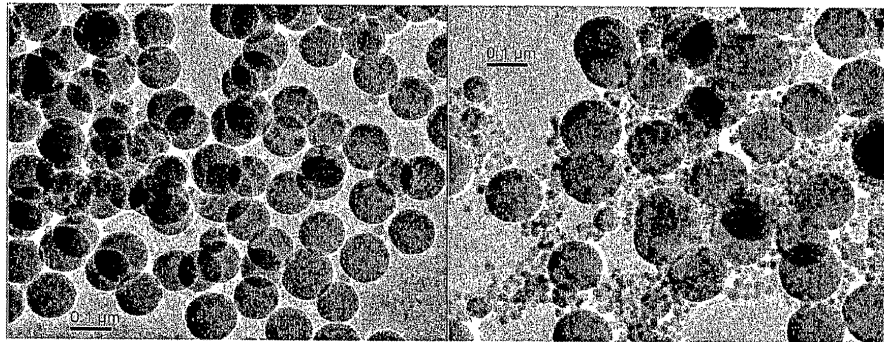
f (\times = 200 nm)

도면32



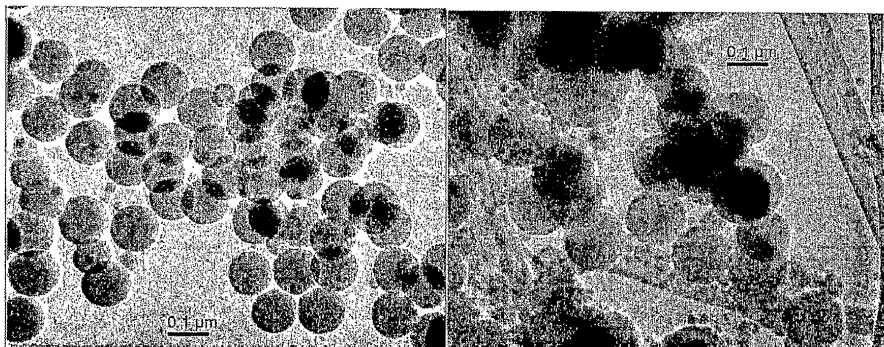
a (배 = 200 nm)

b (배 = 100 nm)



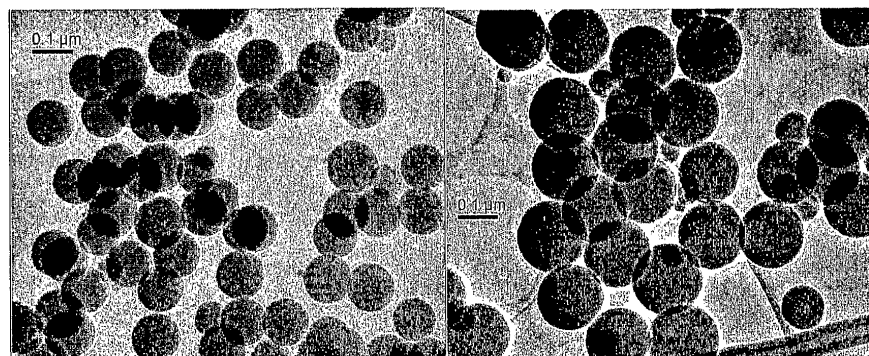
c (배 = 100 nm)

d (배 = 100 nm)



e (배 = 100 nm)

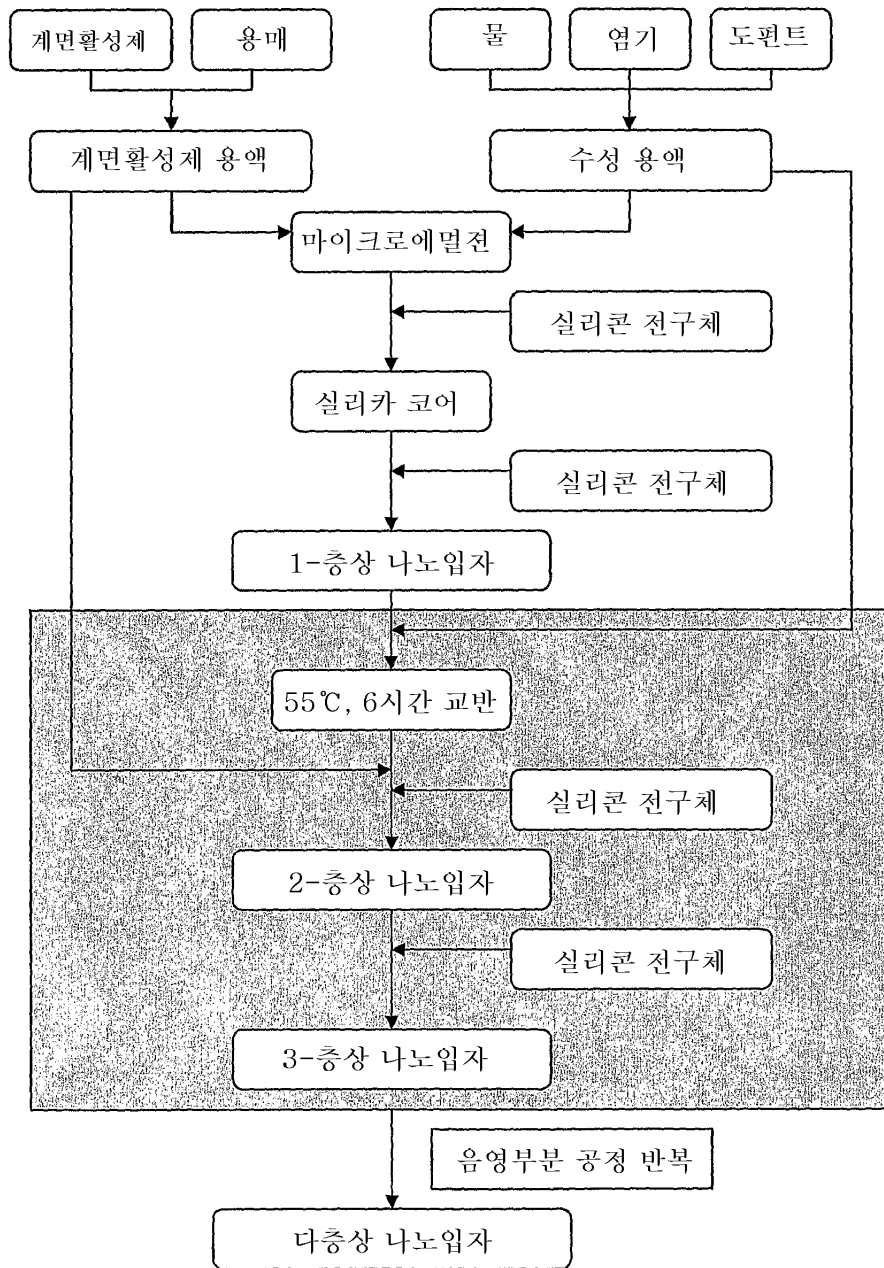
f (배 = 100 nm)



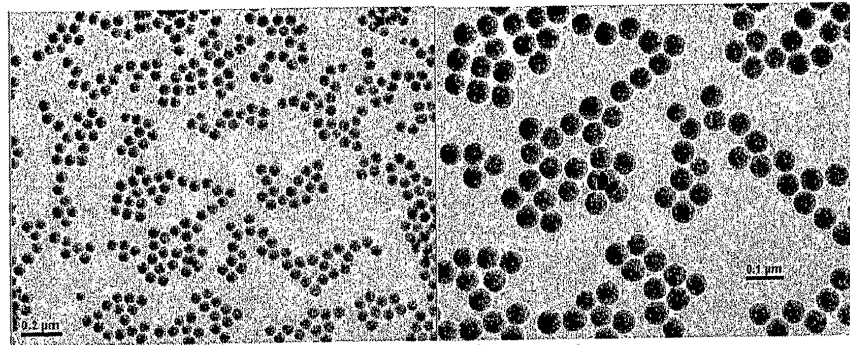
g (배 = 100 nm)

h (배 = 100 nm)

도면33

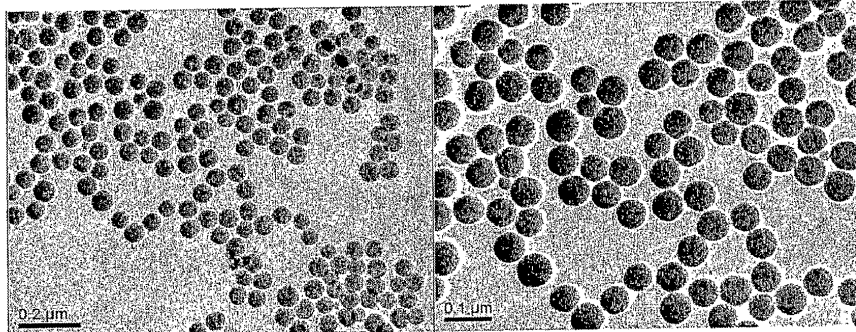


도면34a



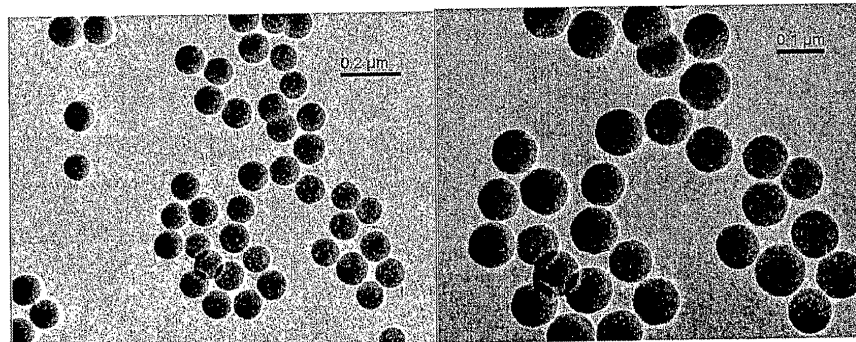
a: 시드 (배=200 nm)

(배=100 nm)



b: 코어+1-층 (배=200 nm)

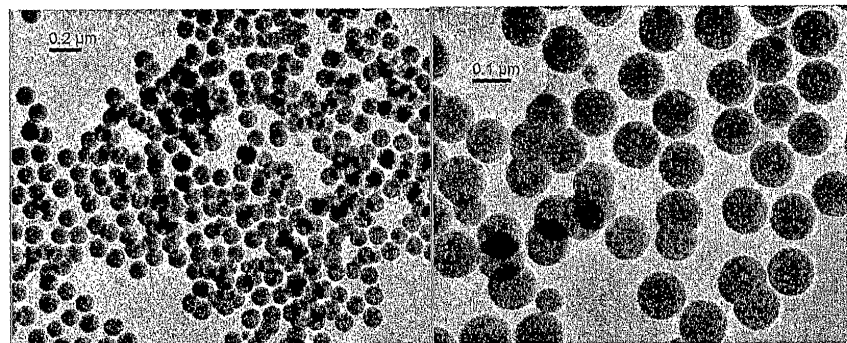
(배=100 nm)



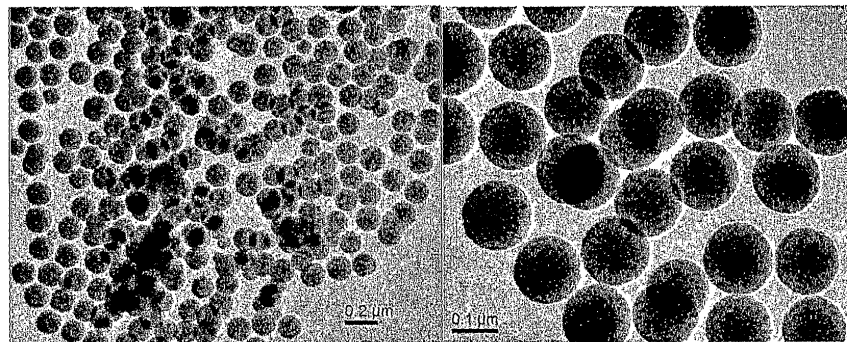
c: 코어+2-층 (배=200 nm)

(배=100 nm)

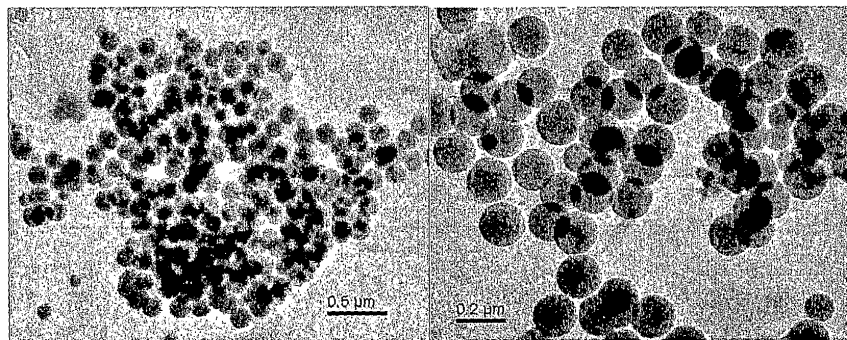
도면34b



d: 코어+3-층 (바=200 nm) (바=100 nm)

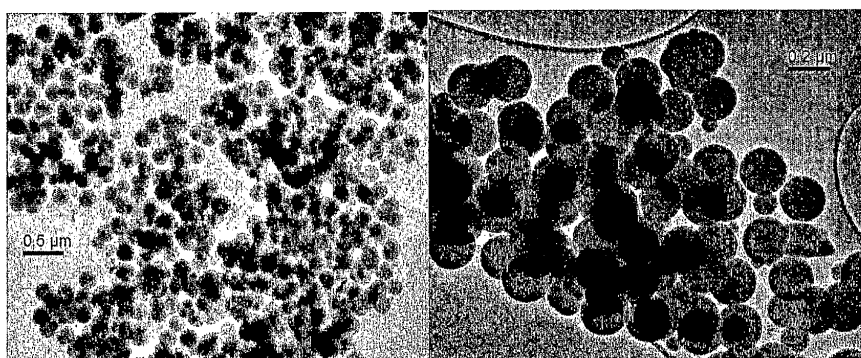


e: 코어+4-층 (바=200 nm) (바=100 nm)



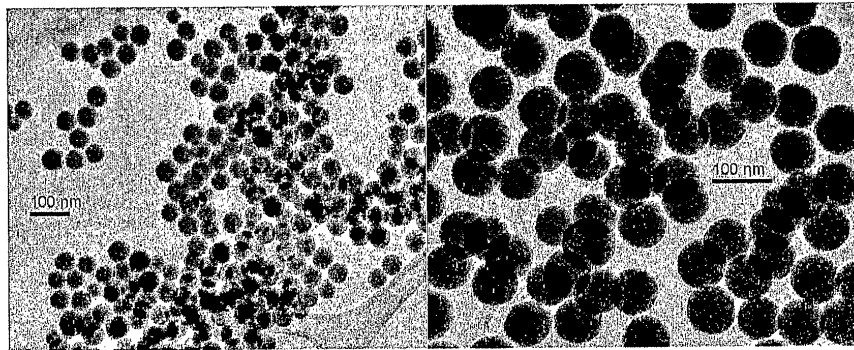
f: 코어+5-층 (바=500 nm) (바=200 nm)

도면34c



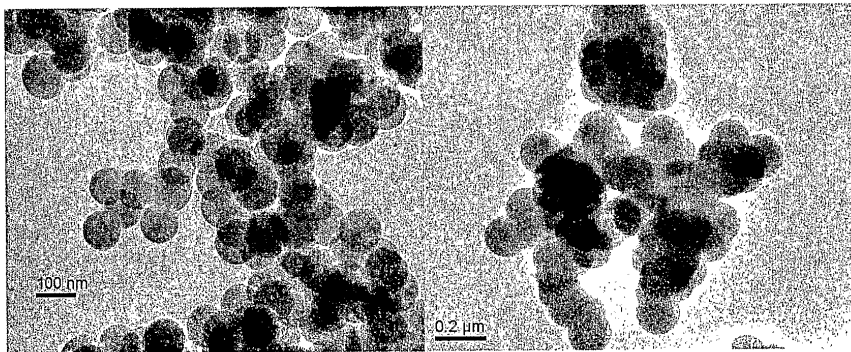
g: 코어+7-층 (바=500 nm) (바=200 nm)

도면35



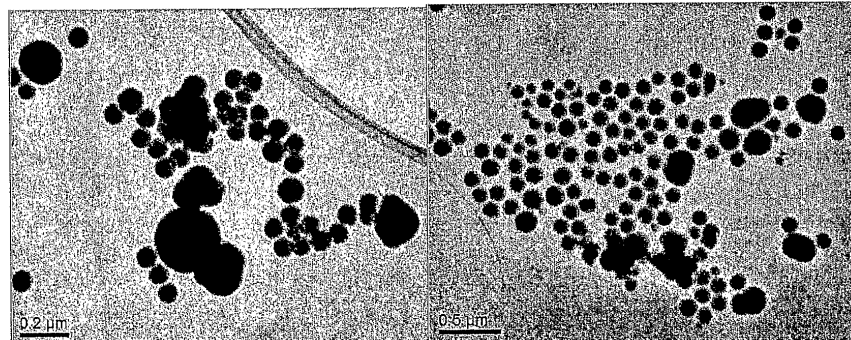
a: 코어(바=100 nm)

b: 코어+1- 층 (바=100 nm)



c: 코어+2- 층 (바=100 nm)

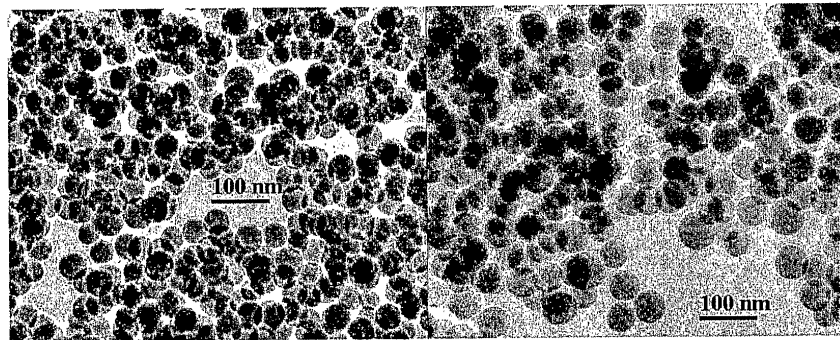
d: 코어+3- 층 (바=200 nm)



e: 코어+4- 층 (바=200 nm)

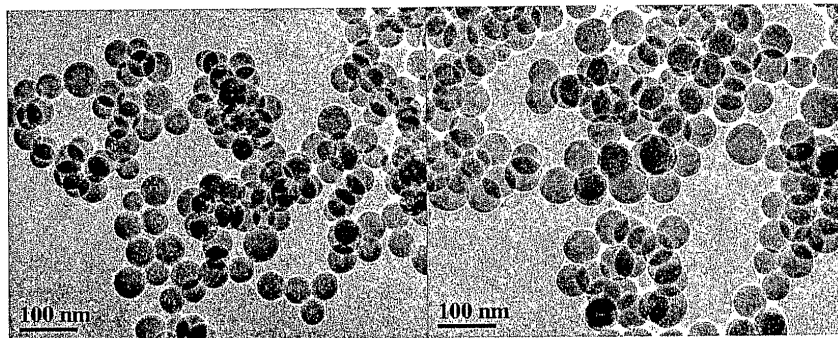
f: 코어+5- 층 (바=500 nm)

도면36



a (H=100 nm)

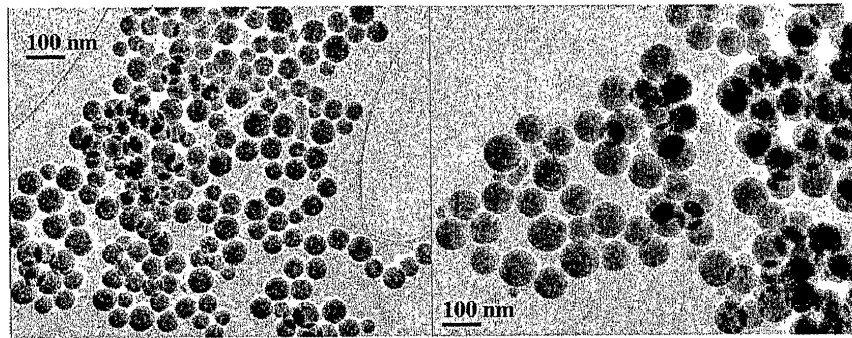
b (H=100 nm)



c (H=100 nm)

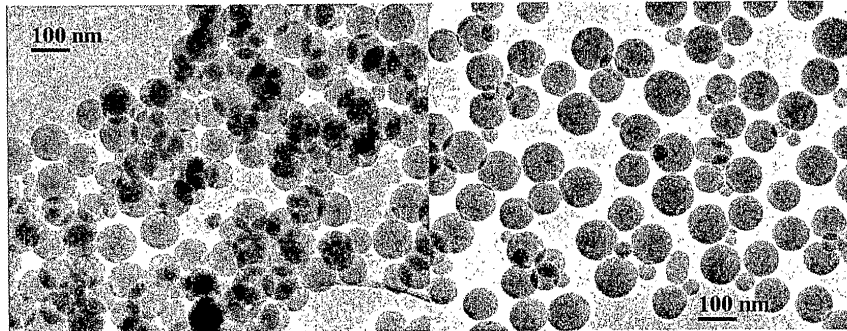
d (H=100 nm)

도면37



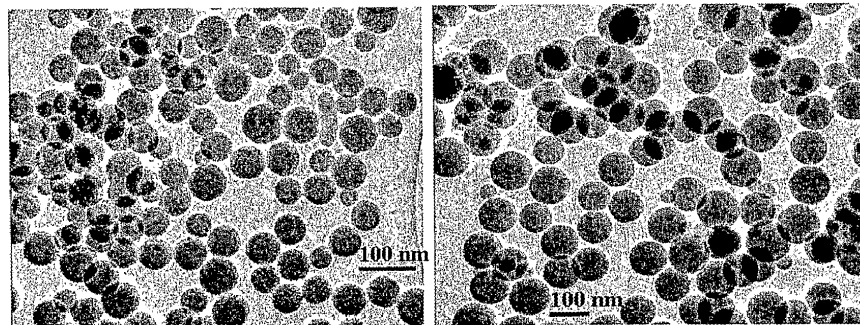
a (H=100 nm)

b (H=100 nm)



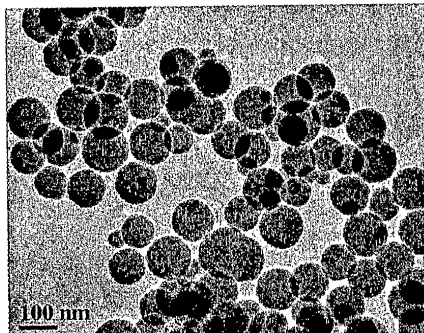
c (H=100 nm)

d (H=100 nm)



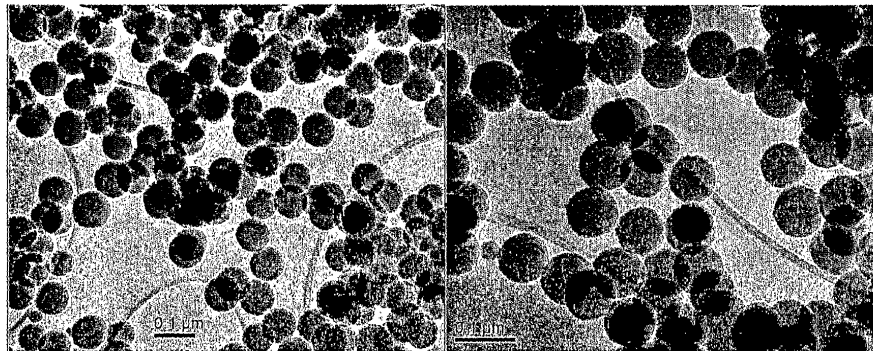
e (H=100 nm)

f (H=100 nm)

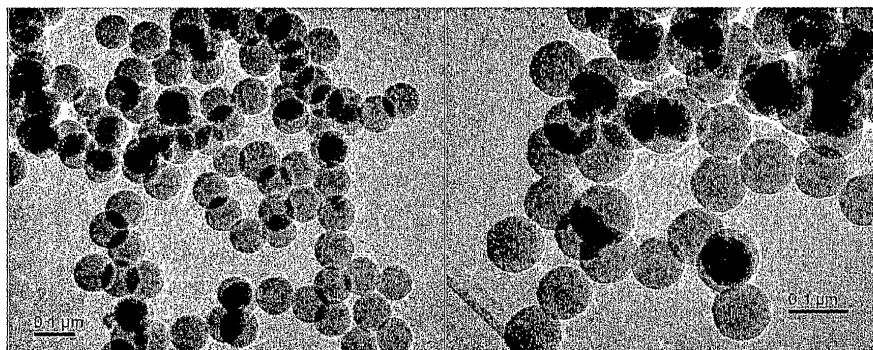


g (H=100 nm)

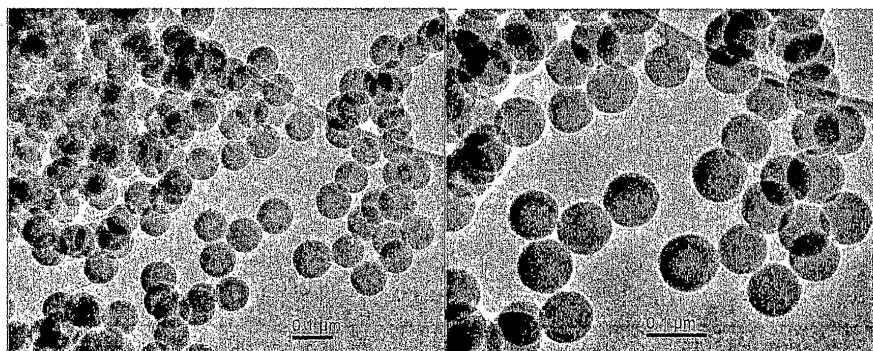
도면38



a ($|H| = 100$ nm)



b ($|H| = 100$ nm)



c ($|H| = 100$ nm)