



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2020-0033021

(43) 공개일자 2020년03월27일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C01B 33/18 (2006.01) *A61K 8/02* (2006.01)
A61K 9/16 (2006.01) *A61Q 19/00* (2006.01)

(52) CPC특허분류
C01B 33/18 (2013.01)
A61K 8/0279 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2018-0112412

(22) 출원일자 2018년09월19일
 심사청구일자 2018년09월19일

(71) 출원인
 이화여자대학교 산학협력단
 서울특별시 서대문구 이화여대길 52 (대현동, 이화여자대학교)

한국과학기술원
 대전광역시 유성구 대학로 291(구성동)

(72) 발명자
 박지훈
 서울특별시 서대문구 이화여대길 52, 이화여자대학교 진선미관동 240호(대현동)

최인성
 대전광역시 유성구 대학로 291 (구성동)

(74) 대리인
 유미특허법인

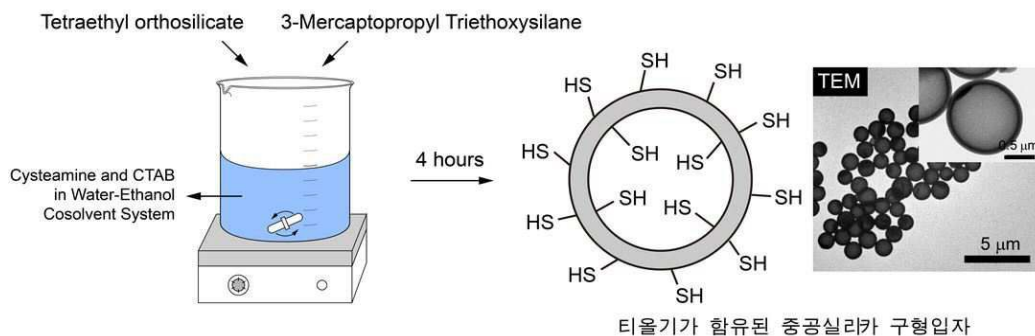
전체 청구항 수 : 총 18 항

(54) 발명의 명칭 One-pot 합성법을 이용한 티올기를 함유한 메조다공성 중공실리카 마이크로스피어의 제조방법

(57) 요약

본 발명은 티올기를 갖는 실리카의 메조다공성 껍질과 내부 중공을 포함하는 중공실리카 마이크로스피어의 제조 방법에 관한 것이다. 본 발명의 제조방법은 간단한 공정으로 시간적, 경제적으로 높은 생산 효율을 가지며, 마이크로미터 크기의 티올기를 갖는 메조다공성 중공실리카 마이크로스피어를 제조할 수 있고 마이크로스피어의 직경과 실리카껍질 너비를 조절하는 수치적 기준을 제시함으로써, 다양한 입자크기와 실리카껍질의 두께를 갖는 마이크로스피어를 제조할 수 있다. 또한, 중공, 메조기공이 존재하고, 실리카껍질에 티올기를 포함해, 다양한 분야에서 응용될 수 있다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A61K 9/1611 (2013.01)

A61Q 19/00 (2013.01)

C01P 2004/34 (2013.01)

C01P 2004/61 (2013.01)

C01P 2006/16 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 2018R1C1B5045778

부처명 과학기술정보통신부

연구관리전문기관 한국연구재단

연구사업명 기초연구사업(학술진흥) (2018)-신진연구자지원사업-생애첫연구사업

연구과제명 난각막을 이용한 생체모방광물화 반응 연구

기 여 율 1/1

주관기관 이화여자대학교산학협력단

연구기간 2018.03.01~2021.02.28

명세서

청구범위

청구항 1

세틸트리메틸암모늄 브로마이드(Cetyltrimethylammonium bromide, CTAB), 시스테아민(Cysteamine) 및 물을 포함하는 촉매 전구체 용액에 알코올을 첨가한 촉매 용액과, 실리카 전구체를 혼합하여 반응하는 단계를 포함하는, 티올기를 갖는 실리카의 메조다공성 겹질과 내부 중공을 포함하는 중공 실리카 마이크로스피어의 제조 방법으로서,

상기 실리카 전구체는 테트라에틸 오르토실리케이트(Tetraethyl orthosilicate, TEOS)과 3-머캅토프로필 트리에톡시실레인(3-mercaptopropyl triethoxysilane, 3-MPTES)을 포함하는 것인, 중공 실리카 마이크로스피어의 제조 방법.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 중공 실리카 마이크로스피어는 0.1 μm 내지 5.0 μm 의 평균입경을 갖는 것인 제조 방법.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 중공 실리카 마이크로스피어는 50nm 내지 150nm의 실리카 겹질의 두께를 갖는 것인, 제조 방법.

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 제조방법은 마이크로스피어 제조용 주형을 사용하지 않는 것인, 제조 방법.

청구항 5

제1항에 있어서, 상기 촉매 전구체 용액은, CTAB 용액, 시스테아민 용액, 및 물의 혼합물이며, 상기 CTAB 용액의 농도는 촉매용액 기준으로 1 mM 내지 10 mM 인 것인, 제조 방법.

청구항 6

제1항에 있어서, 상기 촉매 전구체 용액은, CTAB 용액, 시스테아민 용액 및 물의 혼합물이며, 상기 시스테아민 용액의 농도는 촉매용액 기준으로 25 mM 내지 100 mM인 것인, 제조 방법.

청구항 7

제1항에 있어서, 상기 촉매 용액에 포함된, 촉매 전구체 용액과 알코올 혼합 부피비율(=물/알코올)은 0.5 내지 5인, 제조방법.

청구항 8

제1항에 있어서, 상기 알코올은 메탄올, 에탄올, 1-프로판올, 2-프로판올, 이소프로판올, 및 부탄올로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나 이상인 것인, 제조 방법.

청구항 9

제1항에 있어서, 상기 촉매용액과 실리카 전구체를 혼합한 용액을 기준으로 측정된 실리카 전구체 용액의 농도가 80 mM 내지 100 mM인 것인, 제조 방법.

청구항 10

제1항에 있어서, 상기 실리카 전구체 용액에 포함된 TEOS의 함량이 15% 내지 75%인 것인, 제조 방법.

청구항 11

제1항에 있어서, 상기 촉매 용액은, 촉매 전구체 용액과 알코올 혼합 부피비율(=물/알코올)이 2 내지 4이고, 상기 실리카 전구체는 TEOS 용액 및 MPES 용액의 부피비가 1 : 1 내지 3 : 2이고, 실리카 전구체 용액의 농도가 80 mM 내지 100 mM을 갖는 실리카 전구체 용액으로 제조하여, 평균입경 $1\mu\text{m}$ 내지 $1.2\mu\text{m}$ 와 실리카 껍질의 두께가 80nm 내지 100nm를 갖는 중공 실리카 마이크로스피어를 제조하는 것인, 제조방법.

청구항 12

제1항에 있어서, 상기 반응은 25°C 내지 35°C 에서 수행되는 것인, 제조 방법.

청구항 13

제1항에 있어서, 상기 반응은 3.5 내지 7시간 동안 수행되는 것인, 제조 방법.

청구항 14

세틸트리메틸암모늄 브로마이드(Cetyltrimethylammonium bromide, CTAB), 시스테아민(Cysteamine) 및 물은 포함하는 촉매 전구체 용액에 알코올을 첨가한 촉매 용액과, 실리카 전구체를 혼합하여 반응혼합물을 제조하여 반응하는 단계를 포함하며,

상기 반응혼합물에서 실리카 전구체 용액의 농도, 실리카 전구체 용액에 포함된 TEOS 용액과 MPES 용액의 혼합비율, 촉매용액에 있어 촉매 전구체 용액과 에탄올 용액의 혼합비율, 및 반응시간으로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나 이상을 조절하여,

티올기를 갖는 실리카의 메조다공성 껍질과 내부 중공을 포함하는 중공 실리카 마이크로스피어의 입자 크기 및 실리카 껍질의 두께를 조절하는 방법.

청구항 15

제1항 내지 제13항 중 어느 하나의 방법으로 제조된 메조다공성 중공실리카 마이크로스피어로서, 중공을 갖는 코어부, 상기 코어부를 둘러싸고 있으며, 티올(Thiol)기를 포함하는 메조다공성 실리카 실리카껍질을 포함하는, 크기가 $1.0\mu\text{m}$ 내지 $2.0\mu\text{m}$ 이고 실리카껍질의 두께가 80nm 내지 100 nm인, 중공 실리카 마이크로스피어.

청구항 16

제15항에 따른 메조다공성 중공실리카 마이크로스피어, 및

상기 메조다공성 중공실리카 마이크로스피어의 중공 또는 실리카껍질에 봉입된 화학물질을 포함하는, 화학물질 전달체.

청구항 17

제 16항에 있어서, 상기 화학물질은 약제학적 활성성분, 화장료, 조직 재생 성분, 세포 분화 촉진제, 골 재생 촉진제, 비타민, 식음료 향미성분, 및 생체대사 촉매제로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나 이상인, 화학물질 전달체.

청구항 18

제16항에 있어서, 상기 화학물질은 약제학적 활성 성분이며,

상기 약제학적 활성 성분은 항암제, 항생제, 호르몬, 호르몬 길항제, 인터루킨, 인터페론, 성장 인자, 종양 괴사 인자, 엔도톡신, 림포톡시, 유로키나제, 스트렙토키나제, 조직 플라스미노겐 활성제, 프로테아제 저해제, 알킬포스포콜린, 방사선 동위원소 표지 물질, 계면활성제, 심혈관계 약물, 위장관계 약물 및 신경계 약물로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상인 것을 특징으로 하는, 화학물질 전달체.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 티올기를 함유한 메조다공성 중공실리카 마이크로스피어의 제조방법 및 상기 제조방법으로 제조한 메조다공성 중공실리카 마이크로스피어에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 실리카는 다양한 응용분야에 사용되는 기반물질로, 코어 부분에 속 빈 공간이 존재하는 중공실리카 입자는 중공 부분에 다양한 유용물질들을 담지할 수 있어 다양한 산업분야에 응용가능성이 높다. 특히 중공실리카 입자의 크기와 실리카겔질의 너비를 조절할 수 있다면, 중공실리카 입자의 물리적, 광학적 성질을 조절할 수 있어 중공실리카의 응용범위가 확장된다. 따라서, 중공실리카 입자를 형성하고 입자의 크기와 실리카겔질의 너비를 조절하는 방법에 관한 다수의 연구가 진행되고있다.

[0003] 현재까지 일반적으로 사용되는 중공실리카 입자 제조방법 중 가장 잘 알려진 것은, 미리 만들어 놓은 플라스틱 입자 핵을 제조하고, 핵 표면에 나노미터 수준의 막을 형성한 뒤, 플라스틱 입자 핵을 제거하는 단계를 거쳐, 중공입자를 형성하는 방법이다.

[0004] 하지만, 이러한 방법은 값비싼 플라스틱 입자를 주형으로 사용하기에 비용면에서 부담이 크며, 공정상 다수의 단계를 거쳐 중공실리카 입자를 형성하기에 수율이 낮고 시간적, 경제적으로 비효율적이다. 또한, 플라스틱 입자 핵을 제조하는 방법은 나노미터(nm) 수준의 나노입자의 제조에 적합하며, 마이크로 미터(μm) 수준의 입자를 제조할 경우, 핵 표면을 둘러싼 막이 불안정해져 균열(crack)이 생기고 균일한 크기의 구형 마이크로스피어를 제조하기 어려워 수율이 현저히 감소하는 단점이 있다.

[0005] 이에 보다 간단하면서 경제적이고 높은 생산효율을 갖는 마이크로 미터 수준의 중공실리카 마이크로스피어의 제조방법의 개발이 필요한 실정이다.

[0006] 나노 다공성 물질은 그 기공의 크기에 따라 마이크로포러스(microporous, 2nm 이하), 메조포러스(mesoporous, 2~50nm), 그리고 매크로포러스(macroporous, 50 nm 이상)으로 분류된다. 메조포러스 다공성을 갖는 물질인 메조다공성 중공실리카 마이크로스피어는 상대적으로 넓은 표면적과 활물질 담지에 적합한 크기의 기공을 가져, 다른 다공성 물질에 비해 다양한 분야로의 응용가능성이 높다.

[0007] 티올기는 다양한 무기물질들과 강한 상호작용을 가지며, 금, 은, 백금, 철 등의 중금속, 각종 무기물 들과 반응할 수 있어, 화합물의 반응성에 큰 영향을 미친다. 따라서, 현재까지 다양한 나노 다공성 물질, 티올기를 함유하는 나노입자 등의 제조방법이 연구되어 왔다.

[0008] 그러나 아직까지 코어부분의 중공을 둘러싸면서 티올기를 포함한 메조다공성 겔질을 갖는 실리카 마이크로스피어의 One-pot 합성법에 관해서는 알려진 바가 없다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0009] One-pot 합성법을 이용한 티올기를 포함하는 메조다공성 중공실리카 마이크로스피어의 제조방법을 제공한다.

[0010] 또한 본 발명은, 상기 코어부분의 중공을 둘러싸면서 티올기를 포함한 메조다공성 실리카 겔질을 갖는 실리카 마이크로스피어를 제공한다.

[0011] 본 발명의 추가 일예는 상기 코어부분의 중공을 둘러싸면서 티올기를 포함한 메조다공성 실리카 겔질을 갖는 실리카 마이크로스피어에 화학물질을 담지한 화학물질의 전달체를 제공한다.

과제의 해결 수단

[0013] 본 발명은 One-pot 합성법을 이용한 티올기를 포함하는 메조다공성 중공실리카 마이크로스피어의 제조방법을 제공한다. 본 발명자는 플라스틱 입자 주형이 필요하지 않고, 공정이 간단한 One-pot 합성법을 이용한 메조다공성 중공실리카 입자의 제조방법을 개발함으로써 본 발명을 완성하였다.

[0014] 본 발명의 One-pot 제조방법에 따르면, 중공실리카 입자의 크기를 엄밀히 제어할 수 있으며, 생성된 중공을 둘러싸는 실리카 겔질에 티올기를 함유하여 다양한 화학적 기능화에 활용될 수 있으며, 여러 분야에 응용될 수 있다.

- [0015] 본 발명의 일 예는 촉매 및 용매를 포함하는 촉매 용액과 실리카 전구체를 혼합하여 반응하는 단계를 포함하는, 티올기를 갖는 실리카의 메조다공성 겹질과 내부 중공을 포함하는 중공 실리카 마이크로스피어를 제조하는 방법에 관한 것이다.
- [0016] 더욱 자세하게는, 본 발명의 중공 실리카 마이크로스피어를 제조하는 방법은, 촉매 및 용매를 포함하는 촉매 용액과 실리카 전구체를 혼합하여 반응하는 단계를 포함하며, 상기 상기 촉매 용액은 세틸트리메틸암모늄 브로마이드(Cetyltrimethylammonium bromide, CTAB), 시스테인(Cysteamine) 및 용매를 포함하고, 상기 실리카 전구체는 테트라에틸 오르토실리케이트(Tetraethyl orthosilicate, TEOS)과 3-머캅토프로필 트리에톡시실레인(3-mercaptopropyl triethoxysilane, 3-MPTES)을 포함하는 것일 수 있다.
- [0017] 본 발명의 추가 일예는 티올기를 갖는 실리카의 메조다공성 겹질과 내부 중공을 포함하는 중공 실리카 마이크로스피어에 관한 것이다.
- [0018] 본 발명은 상기 코어부분의 중공을 둘러싸면서 티올기를 포함한 메조다공성 겹질을 갖는 실리카 마이크로스피어에 화학물질을 포함하는 화학물질 전달체를 제공한다.
- [0019] 본 발명은 중공 실리카 마이크로스피어의 입자크기와 실리카겹질의 두께를 다양하게 조절할 수 있어, 마이크로스피어의 화학적, 물리적 및 광학적 성질을 조절할 수 있어 다양한 분야에 응용될 수 있다. 예를 들어, 건조된 중공 실리카 마이크로스피어는 그 내부에 공기가 있기 때문에 고투명성 굴절율 조절막을 합성할 수 있으며, 실리카 겹질에 굴절율 조절물질을 담지하게 되면 더욱 세밀하게 굴절율의 조절할 수 있다.
- [0021] 이하, 본 발명을 더욱 자세히 설명하고자 한다.
- [0022] 본 발명은 티올기를 갖는 실리카의 메조다공성 겹질과 내부 중공을 포함하는 중공 실리카 마이크로스피어 및 이를 제조하는 방법에 관한 것이다.
- [0023] 본 발명의 "메조다공성 중공 실리카 마이크로스피어"는, 코어의 속 빈 공간(중공)과 실리카 겹질을 포함하는 마이크로스피어로서, 티올기를 갖는 실리카의 메조다공성 겹질이, 그 내부 중공을 둘러싸고 있는 구조를 갖는다. 본 발명에서 마이크로스피어에 포함된 "메조다공성"실리카 겹질은 실리카 겹질벽 부분에 다수의 작은 구멍을 갖고 있으며, 따라서, 메조다공성 중공 실리카 마이크로스피어는 내부 코어 중공이 존재하며 실리카 겹질에 다수의 메조 기공이 분산되어 있다. 그러므로, 실리카 겹질의 티올기가 마이크로스피어의 겹질 외부면, 내부면, 또는 실리카 겹질의 메조 기공의 빈 공간으로 분산되어 존재한다. 도 1은 본 발명의 일 예에 따라 티올기를 함유한 메조다공성 중공실리카 입자의 모식도를 나타낸다.
- [0024] 본 발명에 따른 중공 실리카 입자는 나노입자 수준이 아닌, 마이크로 미터 크기의 마이크로스피어를 제조할 수 있는 방법에 관한 것이다. 본 발명은 티올기를 갖는 실리카의 메조다공성 겹질과 내부 중공을 포함하는 중공 실리카 마이크로스피어에 관한 것이다.
- [0025] 본 발명에 따른 중공 실리카 입자는 평균직경이 0.1 내지 5.0 마이크로미터(μm), 0.5 내지 5.0 μm , 1.0 내지 5.0 μm , 0.1 내지 3.0 μm , 0.5 내지 3.0 μm , 1.0 내지 2.0 μm , 1.0 μm 내지 1.8 μm , 1.0 μm 내지 1.5 μm , 1.0 μm 내지 1.3 μm 또는 1.0 μm 내지 1.2 μm 의 직경을 갖는다.
- [0026] 상기 마이크로스피어를 구성하는 실리카 겹질은 두께가 50 nm 내지 150 nm, 또는 70 nm 내지 130 nm, 바람직하게는 80 nm 내지 100 nm일 수 있으며, 실리카 겹질에 포함된 기공의 평균직경이 2 nm 내지 10 nm 인 메조 다공성을 갖는다. 또한, 실리카 겹질이 둘러싸고 있는 내부 중공은 평균직경이 0.2 μm 내지 2 μm , 바람직하게는, 0.5 μm 내지 1.5 μm , 더욱 바람직하게는 0.8 μm 내지 1.0 μm 일 수 있다.
- [0027] 본 발명은 메조다공성 형태의 중공실리카입자를 제조하기 위한 촉매 용액의 원료로 실리카겹질 미세구조의 구조결정인자(structure-directing agent)인 CTAB(cetyltrimethylammonium bromide)를 사용하였다. 합성된 실리카 겹질에는 나노미터수준의 작은 구멍인 메조기공이 다수 분포하며, 메조다공성 실리카겹질을 갖는 중공실리카 입자가 형성되었음을 확인할 수 있었다.
- [0028] 상기 실리카 전구체로 사용되는 MPTES(3-Mercaptopropyl triethoxysilane)는 티올기(-SH)를 함유하고 있으며, TEOS와 함께 실리카겹질을 이루는 원료이기에, 본 발명의 실시예로 제조한 중공 실리카 입자의 실리카겹질은 티올기(thiol group)를 포함한다.
- [0029] 본 발명의 One-Pot 합성법으로 제조한 티올기를 함유하는 메조다공성 중공실리카입자는 다양한 무기물질들과 강

한 상호작용을 가지며, 중공실리카-무기물 입자를 제조할 수 있음을 확인할 수 있었다. 또한, 금과 같은 금속이온을 환원과정을 통해 메조다공성 중공실리카 입자의 벽에 고정시킴으로써, 반응축매로 활용할 수 있으며, 새로운 반응 플랫폼으로 응용가능성을 확인하였다.

- [0030] 제조한 중공실리카 입자의 실리카겍질은 메조기공을 포함하고 있어 다양한 물질들을 담지할 수 있다. 항암제로 사용되는 Doxorubicin을 중공실리카 입자의 실리카겍질에 담지할 수 있다.
- [0031] 본 발명의 방법으로 제조한 중공실리카 입자는 실리카겍질은 물론, 비어있는 내부 중공에 원하는 물질을 담지할 수 있다. 예를 들면, 중공실리카 입자의 실리카겍질에 Cy5, 입자 내부에 Nile red 형광물질이 담지되어 중공실리카 입자의 내부와 실리카겍질에 각기 다른 형광물질을 담지할 수 있다.
- [0033] 본 발명은 축매 및 용매를 포함하는 축매 용액과 실리카 전구체를 혼합하여 반응하는 단계를 포함하는, 티올기를 갖는 실리카의 메조다공성 겍질과 내부 중공을 포함하는 중공 실리카 마이크로스피어를 제조하는 방법에 관한 것이다. 상기 제조방법은, 축매 용액을 용기에 투입하고, 실리카 전구체 용액을 순차 또는 일시로 투입하여 혼합하여 한단계(one-spot)으로 중공 실리카 마이크로스피어를 제조한다.
- [0034] 상기 One-Pot 합성법이란 모든 반응물질을 하나의 반응용기에서 혼합하는 합성방법을 의미한다. One-Pot 합성법을 이용할 경우, 하나의 단계로 중공실리카 입자를 제조할 수 있기에, 기존에 알려진 합성방법보다 간단하고 시간효율성이 높다.
- [0035] 상기 축매 용액은 세틸트리메틸암모늄 브로마이드(Cetyltrimethylammonium bromide, CTAB), 시스테아민(Cysteamine) 및 물을 포함하는 축매 전구체 용액과 알코올을 포함한다. 상기 축매 용액은 CTAB 용액, 시스테아민 용액 및 물을 포함하는 축매 전구체를 제조하고, 알코올을 추가하여 제조할 수 있다. 상기 알코올은 메탄올, 에탄올, 1-프로판올, 2-프로판올, 이소프로판올, 및 부탄올로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나 이상일 수 있으며, 바람직하게는 에탄올이다.
- [0036] 상기 축매 용액에 포함된, 축매 전구체 용액과 알코올의 혼합 부피비율은, 1 : 1 내지 5 : 1, 또는 1 : 1 내지 4 : 1, 바람직하게는 1 : 1 내지 3 : 1, 또는 1 : 1 내지 2.5 : 1, 가장 바람직하게는 1 : 1 내지 2.25 : 1일 수 있다.
- [0037] 알코올 대비 축매 전구체(CTAB 용액 부피, Cysteamine 용액 부피, 탈이온수 부피의 총합)의 비율이 증가할수록 중공 실리카 입자의 크기가 작아지며 실리카겍질의 두께가 감소한다. 축매 전구체 용액 및 알코올의 부피비가 5 : 1을 초과할 경우, 과도하게 크기가 작은 실리카 입자가 형성되고 실리카겍질이 과하게 얇아 입자가 쉽게 부서지며, 안정성이 떨어지는 문제가 있다.
- [0038] 반면, 알코올 대비 축매 전구체(CTAB 용액 부피, Cysteamine 용액 부피, 탈이온수 부피의 총합)의 비율이 감소할수록 중공 실리카 입자의 크기가 커지며, 실리카겍질의 두께가 두꺼워진다. 축매 전구체 용액 및 에탄올의 부피비가 1 : 1 미만일 경우, 중공실리카의 크기가 과하게 증가하고 동공과 실리카 겍질에 존재하는 메조 기공이 외부 표면과 접촉하는 면의 비율이 감소해, 그 활용도가 현저히 떨어진다는 단점이 있다.
- [0039] 상기 CTAB 용액의 농도는 축매용액 기준으로 1 mM 내지 10 mM, 바람직하게는, 2 mM 내지 8 mM, 더욱 바람직하게는 3 mM 내지 7 mM 또는 4 mM 내지 6 mM 일 수 있다. 1 mM 미만의 CTAB 용액을 사용할 경우, 중공 실리카 마이크로스피어의 실리카 겍질이 견고하게 생성되지 않아 표면이 울퉁불퉁하고 불균일한 마이크로스피어가 생성되며, 10 mM 초과 CTAB 용액을 사용할 경우, 상대적으로 시스테아민이 소량 투입되어 실리카 구조체를 합성하는 시간이 오래걸리고, 짧은 시간 내에서는 실리카 겍질이 견고하게 생성된 완벽한 구형 형태의 중공실리카 마이크로스피어가 생성되지 않는 바, 상기 수치범위 농도를 갖는 CTAB 용액을 사용하는 것이 바람직하다.
- [0040] 상기 시스테아민(cysteamine) 용액의 농도는 축매용액 기준으로 측정된 시스테아민 용액의 농도가 25 mM 내지 100 mM, 바람직하게는 30 mM 내지 90 mM, 더욱 바람직하게는 40 mM 내지 80 mM, 또는 40 mM 내지 70 mM, 또는 40 mM 내지 60 mM 농도일 수 있다. 시스테아민 용액의 농도가 25 mM 미만일 경우, 실리카 구조체를 합성하는 시간이 매우 오래 걸리는 바, 실리카 구조체의 형성 시간을 단축하기 위해 상기 농도 범위의 시스테아민을 사용하는 것이 바람직하다.
- [0042] 본 발명에 따른 제조방법에 사용되는 실리카 전구체는 테트라에틸 오르토실리케이트(Tetraethyl orthosilicate,

TEOS)과 3-머캅토프로필 트리에톡시실레인(3-mercaptopropyl triethoxysilane, 3-MPTES)을 포함하며, 특히 실리카 전구체로 사용되는 MPTES(3-Mercaptopropyl triethoxysilane)는 티올기(-SH)를 함유하는 TEOS와 함께 실리카겔질을 이루는 원료이기에, 본 발명의 실시예로 제조한 중공 실리카 입자의 실리카겔질은 티올기(thiol group)를 포함한다.

- [0043] 상기 실리카 전구체 용액에 포함된 TEOS의 함량은 15 내지 75 몰분율, 30 내지 75, 45 내지 75, 더욱 바람직하게는 50 내지 70, 가장 바람직하게는 55 내지 65 몰분율일 수 있다. TEOS함량이 15 몰분율 미만일 경우, 중공 실리카 입자의 구조가 관찰되나 안정한 실리카겔질을 형성하지 못하여 일정한 구형 구조의 마이크로스피어가 생성되지 않으며, TEOS함량이 75 몰분율을 초과할 경우, MPTES의 함량 미달로 중공구조가 생성되지 않고 속이 꽉 찬 실리카 구조체가 형성되므로, 상기 범위의 TEOS 함량을 갖는 실리카 전구체 용액을 사용하는 것이 바람직하다.
- [0044] 상기 실리카 전구체 용액에 포함된 TEOS 용액과 MPTES 용액의 혼합 부피비가 1 : 4 내지 4 : 1일 수 있으며, 예를 들면 TEOS 용액과 MPTES 용액의 혼합 100%를 기준으로 TEOS 용액 60%와 MPTES 용액 40%를 포함할 수 있다.
- [0045] 본 발명의 일 예에 따르면, 상기 실리카 전구체 용액(3-MPTES 및 TEOS의 혼합물)의 농도가 80 mM 내지 100 mM, 바람직하게는 85 mM 내지 95 mM, 더욱 바람직하게는 85 mM 내지 90 mM 일 수 있다. 상기 농도 범위를 벗어날 경우, 제조된 중공실리카 마이크로스피어의 균일성 및 완결성이 떨어진다는 단점이 있는 바, 상기 농도 범위의 실리카 전구체 용액을 사용하는 것이 바람직하다.
- [0047] 본 발명의 일 예에 따르면, 촉매전구체 용액 및 알코올을 2 : 1 내지 4 : 1 부피비로 포함하는 촉매용액을 사용하고, TEOS 용액 및 MPTES 용액의 부피비가 1 : 1 내지 3 : 2이고, 실리카 전구체 용액의 농도가 80 mM 내지 100 mM 인, 실리카 전구체 용액을 하나의 용기에 동시 또는 순차로 투입하고 혼합함으로써, 크기가 1 μm 내지 1.2 μm 이고 실리카겔질의 두께가 80 nm 내지 100 nm인 티올기를 포함하는 다공성 중공실리카 마이크로스피어를 제조할 수 있다.
- [0048] 아래 실시예 및 실험예에서 살펴본 바와 같이, 상기 반응 조건은 크기가 1 μm 내지 1.2 μm 이고 실리카겔질의 두께가 80 nm 내지 100 nm인 티올기를 포함하는 다공성 중공실리카 마이크로스피어를 제조할 수 있는 최적 반응 조건이다.
- [0049] 본 발명의 또 다른 일 예에 따르면, 상기 제조방법은 반응혼합물을 순차 또는 일시로 용기에 투입한 후, 3.5 내지 7 시간, 바람직하게는 3.5 내지 6시간, 더욱 바람직하게는 3.5 내지 5시간 동안 반응시키는 것일 수 있다.
- [0050] 반응시간이 7시간을 초과할 경우, 중공실리카 입자들 간의 clustering이 일어나, 별개의 분리된 속빈 중공 실리카 입자(discrete hollow silica particle)를 분리하기 어렵다는 문제가 있으며, 반응시간이 3.5 시간 미만일 경우, 중공 실리카 입자의 실리카겔질이 완벽하게 만들어지 지않아 구형의 안정한 실리카 마이크로스피어를 제조할 수 없다는 문제가 있으므로, 상기 반응시간 범위에서 반응할 때, 완전한 구형을 가지며, 중공을 둘러싼느 치밀한 실리카 겔질이 형성된 마이크로스피어 입자를 효율적으로 제조할 수 있다(실험예 9, 도 12, 도 13 참조).
- [0051] 또한, 본 발명의 또 다른 예는 상기 제조방법을 상온 조건, 바람직하게는 25℃ 내지 35℃에서 수행할 수 있다. 본 발명의 제조방법은 가열, 냉각 등의 단계를 거치지 않고 모든 반응을 상온 조건에서 수행하는 바, 보다 간편한 제조방법을 제공할 수 있다.
- [0052] 본 발명의 일 예는, 상기 반응혼합물에서 실리카 전구체 용액의 농도, 실리카 전구체 용액에 포함된 TEOS 용액과 MPTES 용액의 혼합 비율, 촉매용액에 있어 촉매 전구체 용액과 에탄올 용액의 혼합비율, 및 반응시간으로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나 이상을 조절하여, 티올기를 함유하는 다공성 중공실리카 입자의 크기 또는 실리카겔질의 두께를 조절하는 방법을 제공한다.
- [0053] 본 발명의 일 예에 따르면, 실리카 전구체의 TEOS와 MPTES의 전체 농도를 90 mM로 고정한 후, 총 90 mM 실리카 전구체 중 TEOS 60 %, MPTES 40 %의 비율로 실리카 전구체를 첨가한 조건에서, 평균 직경이 1.70 μm 이상 ~ 2.00 μm 미만인 중공실리카 입자를 생성하기 위해서는, 촉매전구체 용액/에탄올의 혼합 부피비율을 1.0 이상 ~ 1.3 미만으로 조절하는 것이 적절하며, 평균 직경이 1.40 μm 이상 내지 1.70 μm 미만인 중공실리카 입자를 생성하기 위해서는, 촉매전구체/에탄올의 비율을 1.3/1.0 이상 ~ 1.8:1.0 미만으로 조절하는 것이 적절하고, 평균

직경이 1.15 μm 이상 ~ 1.40 μm 미만인 중공실리카 입자를 생성하기 위해서는, 촉매전구체/에탄올의 비율을 1.8/1.0 이상 ~ 2.3/1.0 미만으로 조절하는 것이 적절하며, 평균 직경이 1.00 μm 이상 ~ 1.15 μm 미만인 중공실리카 입자를 생성하기 위해서는, 촉매전구체/에탄올의 비율을 2.3/1.0 이상 ~ 2.75/1.0 미만으로 조절하는 것이 적절하고, 평균 직경이 0.52 μm 이상 ~ 0.70 μm 미만인 중공실리카 입자를 생성하기 위해서는, 촉매전구체/에탄올의 비율을 3.25/1.0 이상 ~ 3.75/1.0 미만으로 조절하는 것이 적절하며, 평균 직경이 0.30 μm 이상 ~ 0.52 μm 미만인 중공실리카 입자를 생성하기 위해서는, 촉매전구체/에탄올의 비율을 3.75/1.0 이상 ~ 4.0/1.0 미만으로 조절하는 것이 적절하다(실험예 1 참조).

[0054] 본 발명의 또 다른 일 예에 따르면, 본 발명의 메조다공성 중공실리카 마이크로스피어는 내부 코어 공간이 비어 있기 때문에 원하는 화학물질, 화합물 등을 담지하는 캐리어로 활용할 수 있다. 또한, 실리카는 생체독성이 적은 생체친화적인 물질 (biocompatible material)이므로 의약품질이나 코스메틱 산업에 응용되는 물질들을 담지하여 원하는 조직에 직접 전달하는 표적전달체로도 (targeted delivery) 활용할 수 있다.

[0055] 상기 화학물질은 그 종류를 한정하지 않으나, 약제학적 활성 성분, 미용 및 화장품 관련 성분, 조직 재생 물질, 세포 분화 촉진제, 골 재생 촉진제, 비타민, 식음료 향미 성분, 생체 대사 촉매제 등을 포함할 수 있다.

[0056] 예를 들어, 본 발명은 메조다공성 중공실리카 마이크로스피어, 및 상기 메조다공성 중공실리카 마이크로스피어의 중공 또는 실리카 실리카겔질에 봉입된 약제학적 활성 성분을 포함하는, 약물 전달체를 제공할 수 있다. 상기 메조다공성 중공실리카 마이크로스피어에는 코어에 존재하는 중공과 실리카 겔질에 존재하는 기공 각각에 서로 다른 약물을 담지 할 수 있다.

[0057] 상기 약제학적 활성 성분은 항암제, 항생제, 호르몬, 호르몬 길항제, 인터루킨, 인터페론, 성장 인자, 종양 괴사 인자, 엔도톡신, 림포톡시, 유로키나제, 스트렙토키나제, 조직 플라스미노겐 활성제, 프로테아제 저해제, 알킬포스포콜린, 방사선 동위원소 표지 물질, 계면활성제, 심혈관계 약물, 위장관계 약물 및 신경계 약물로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상일 수 있다.

[0059] 본 발명에 따르면, 메조다공성 중공실리카 마이크로스피어의 크기와 실리카겔질의 너비를 조절할 수 있어, 마이크로스피어 물리적, 광학적 성질을 조절할 수 있어 다양한 분야에 응용, 활용될 수 있다. 예를 들어, 건조된 중공실리카 입자의 경우 내부에 공기층이 있기 때문에 고투명성 굴절율 조절막을 합성하는 것이 가능하며, 실리카 겔질에 굴절율 조절물질을 담지하게 되면 더욱 세밀하게 굴절율의 조절할 수 있다.

[0060] 또한, 본 발명의 방법으로 합성한 메조다공성 중공실리카 마이크로스피어는 실리카겔질에 티올기를 함유하고 있기 때문에 티올기와 선택적 결합을 수행하는 다양한 유기 작용기를 부착할 수 있다. 예를 들어, maleimide 작용기는 티올기와 선택적으로 결합할 수 있으며, 형광물질(Cy5)에 maleimide가 부착되어 있는 유기물질의 경우 이 유기물질의 수용액을 준비하여 중공실리카와 섞어주는 간단한 과정만으로도 형광물질을 실리카겔질에 고정시킬 수 있다. 이에 더 나아가 이황화결합(disulfide bond)을 형성하는 orthopyridyl disulfide기가 함유된 특정 물질을 중공실리카 입자에 처리하게 되면 이황화결합(disulfide bond)을 이루어 특정 물질을 실리카겔질에 고정시키고, 향후 disulfide exchange reaction으로 고정된 물질을 방출할 수도 있다.

[0061] 종래의 실리카 나노입자 제조방법에 따라 제조된 나노입자의 대부분은 pure silica, 즉 SiO_2 로만 이루어진 것이 대부분이나, 본 발명의 One-pot 합성법을 사용할 경우, 티올(thiol)기가 함유된 중공 실리카 마이크로스피어를 형성할 수 있다는 점이 장점이 있다.

[0062] 마이크로스피어의 실리카 겔질에 포함되어 있는 티올기(-SH)는 다양한 무기물질들과 강한 상호작용할 수 있으며, 예를 들어, 금, 은, 백금, 철이온 등 도 환원과정을 통해 실리카겔질에 고정시킬 수 있다. 이렇게 합성된 중공실리카-무기물 입자는 화학반응의 촉매로 사용되어 새로운 반응 플랫폼으로 응용될 수 있다.

발명의 효과

[0063] 본 발명은 one-pot 공정을 사용해 시간 및 경제적으로 효율적인 티올기를 갖는 실리카의 메조다공성 겔질과 내부 중공을 포함하는 중공 실리카 마이크로스피어의 제조방법을 제공하며, 중공 실리카 마이크로스피어의 크기를 마이크로미터 수준으로 조절과 실리카 겔질의 두께를 조절할 수 있고 메조다공성 실리카 겔질에 티올기가 존재해 상기 마이크로스피어를 약물, 촉매, 생체효소 등의 전달체, 새로운 화학반응을 개발하는 화학적 플랫폼 등으로 활용할 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0064]

도 1은 본 발명의 일 예에 따라 티올기를 함유한 메조다공성 중공실리카 입자의 one-pot 합성법의 개략도를 나타낸다.

도 2는 실시예 3에 따라, 중공실리카 입자의 주사전자현미경(SEM) 사진을 나타낸다. X축은 총 90 mM의 실리카 전구체 농도 중 TEOS의 농도비율을 나타내고, Y축은 최종 촉매용액 중 에탄올과 증류수의 부피 비율을 나타낸다.

도 3은 실시예 3에 따라, 중공실리카 입자의 투과전자현미경(TEM) 사진을 나타낸다. X축은 총 90mM의 실리카 전구체 농도 중 TEOS의 농도비율을 나타내고, Y축은 최종 촉매용액 중 에탄올과 증류수의 부피 비율을 나타낸다.

도 4는 실시예 4에 따라, 총 90 mM의 실리카 전구체 중 TEOS 60 %, MP TES 40 %의 비율로 실리카 전구체가 첨가되어 제조된 중공실리카 입자의 주사전자 현미경 사진 및 평균 직경을 나타낸다.

도 5는 실시예 5에 따라, 중공실리카 입자의 ^{29}Si solid NMR 스펙트럼 결과를 나타낸다.

도 6은 실시예 6에 따라, 중공실리카 입자의 실리카겔질을 확대한 투과전자현미경 사진을 나타낸다.

도 7은 실시예 7에 따라, 중공실리카 입자의 실리카겔질에 금(Au)을 입힌 시료의 주사-투과전자현미경(STEM) 사진 및 원소 분석 결과를 나타낸다.

도 8은 실시예 8에 따라, 중공벽에 Doxorubicin이 담지된 중공실리카 입자의 형광 현미경 사진을 나타낸다.

도 9는 실시예 9에 따라, 중공실리카 입자의 실리카겔질에 Cy5, 입자 내부에 Nile red 형광물질이 담지된 시료의 형광현미경 사진을 나타낸다.

도 10a는 실시예 10에 따라, 총 90 mM의 실리카 전구체 중 TEOS 60%, MP TES 40%을 포함하는 실리카 전구체 혼합물의 ^{29}Si 핵자기공명 스펙트럼 결과(위쪽 그래프)와 중공실리카입자 형성과정을 3시간 동안 진행한 후, 제조된 중공실리카 입자의 ^{29}Si 핵자기공명 스펙트럼 결과(아래쪽 그래프)를 나타낸다.

도 10b는 실시예 10에 따라, 3시간 동안 반응시킨 후, 생성된 중공실리카 입자의 구조 모식도를 나타낸다. 생성된 중공실리카 입자의 외부에 실리카 겔질(Silica wall)이 생성되었으나 내부 코어(Core)은 MP TES Oil phase로 존재한다.

도 11은 실시예 11에 따라, 실리카 전구체의 전체 농도가 90mM이고, TEOS와 MP TES의 혼합 비율이 TEOS:MP TES=60%:40%이며, 용매조성이 촉매전구체=4.5mL, Ethanol=2mL일 때, 형성된 마이크로스피어의 반응시간에 따른 외관의 변화를 주사전자현미경으로 측정한 결과를 나타낸다.

도 12는 실시예 11에 따라, 실리카 전구체의 전체 농도가 90mM이고, TEOS와 MP TES의 혼합비율이 TEOS:MP TES=60%:40%이며, 용매조성이 촉매전구체=4.5mL, Ethanol=2mL일 때, 30분간 반응시킨 후 형성된 마이크로스피어의 투과전자현미경 사진을 나타낸다.

도 13은 실시예 11에 따라, 실리카 전구체 전체농도가 90mM이고, TEOS와 MP TES의 혼합비율이 TEOS:MP TES=60%:40%이며, 용매조성이 촉매전구체=4.5mL, Ethanol=2mL일 때, 240분간 반응시킨 후 형성된 마이크로스피어의 투과전자현미경 사진을 나타낸다.

도 14는 실시예 12에 따라, 실리카 전구체 전체농도가 90mM이고, TEOS와 MP TES의 혼합비율이 TEOS:MP TES=60%:40%이며, 용매조성이 촉매전구체=4.5mL, Ethanol=2mL이고, 촉매로 Ammonia(NH_3)를 동일한 농도로 사용했을 때 제조된 마이크로스피어의 주사전자 현미경 사진을 나타낸 것이다.

도 15는 1 mM 농도의 CTAB 용액을 사용해 제조한 마이크로스피어의 주사전자 현미경 사진을 나타낸 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0065]

이하 본 발명을 상세히 설명한다. 다만, 하기 실시예 및 실험예는 본 발명을 보다 쉽게 이해하기 위하여 제공되는 것일 뿐, 실시예 및 실험예에 의해 본 발명의 내용이 한정되는 것은 아니다.

[0067] **실시예 1. 중공실리카 마이크로스피어의 제조를 위한 촉매용액 제조**

[0068] 중공 실리카 입자 제조를 위한 촉매용액을 제조하기 위해, 에탄올 (ethanol, Merck, ACS grade), Cetyltrimethylammonium bromide (CTAB, Sigma Aldrich, =99%), Cysteamine (Sigma, ~95%), 및 증류수 (deionized water, 18.2 MΩ $\cdot$ cm)를 사용했으며, CTAB 농도가 40mM, Cysteamine 농도가 500mM이 되도록 계량하고 증류수 50mL를 이용하여, CTAB와 cysteamine solution을 준비하였다.

[0069] 중공 실리카 입자의 형성을 위해 사용할 촉매용액은 아래의 표 1의 조성과 함량으로 배합하여 반응용기에 투입하였으며, 5분 동안 교반하였다. 표 1은 촉매용액의 조성 및 함량을 나타낸다. 촉매 전구체 용액에 CTAB 용액, Cysteamine 용액, 및 탈이온수가 포함되어 있으며, 촉매 전구체 용액과 에탄올을 혼합하여, 최종 촉매 용액을 제조한다. CTAB 용액의 최종농도인 5 mM은 최종 촉매 용액 기준에서 측정된 CTAB 용액의 농도이다. Cysteamine 용액의 최종농도인 50 mM은 최종 촉매 용액 기준에서 측정된 Cysteamine 용액의 농도이다.

표 1

[0070]

구분	Ethanol	촉매 전구체 용액			Total
		CTAB solution (40mM)	Cysteamine solution (500mM)	Deionized Water	
첨가량	2000 μ L	830 μ L	664 μ L	3006 μ L	6500 μ L
Ethanol: 촉매전구체 부피	2000 μ L	4500 μ L	4500 μ L	4500 μ L	6500 μ L

[0071] **실시예 2. 중공실리카 마이크로스피어의 제조**

[0072] 실리카 전구체를 제조하기 위해, Tetraethyl orthosilicate (TEOS, Aldrich, 99.999% trace metals basis) 와 3-mercaptopropyl triethoxysilane (3-MPTES, Gelest, 95%)을 준비하였으며, 전체 TEOS 80 μ L (TEOS와 MPTES의 혼합물기준 최종 농도 : 54 mM) 와 MPTES 57.723 μ L (TEOS와 MPTES의 혼합물기준 최종 농도 : 36 mM) 를 준비하고 두 실리카 전구체를 실시예 1에서 제조한 촉매용액이 담겨있는 반응 용기에 첨가한 후, 잘 섞일 수 있도록 800 rpm 내지 1000 rpm 속도로 빠르게 교반하고 침전물이 생기지 않도록 100 rpm 내지 200 rpm 속도로 느리게 교반하면서 상온에서, 4시간 동안 반응을 지속시켰다. 다음으로, 합성된 물질을 분리하기 위해 반응용액을 원심분리(14,000rpm, 30분)한 뒤, 상층액을 버리고 침전물에 에탄올(Ethanol) 5mL를 첨가하여 세척하였다. 분리와 세척 과정을 2회 반복하고 마지막으로 세척한 후, 증류수에 분산시켰다.

[0073] 상기 제조된 중공 실리카 입자의 외관을 주사전자 현미경으로 촬영하였으며, 평균 직경을 측정하였다. 그 결과, 약 1 μ m의 직경과 100nm의 실리카겟질 두께를 갖는 중공 실리카 입자를 제조할 수 있었다.

[0074] 상기 합성방법을 사용하면 촉매 전구체 용액(CTAB 용액 부피, Cysteamine 용액 부피, 탈이온수 부피의 총합) 대비 Ethanol의 부피비를 100mL/225mL 비율로 유지시킨 상태에서, 실리카 전구체 물질의 합성 최종 농도를 90mM(TEOS 최종농도 54 mM, MPTES 최종농도 36mM)로 유지하면서 전체 촉매용액의 양과 실리카 전구체의 첨가량을 증가시켜 성공적으로 중공실리카 입자를 대량 합성할 수 있다.

[0076] **실시예 3. TEOS 함량 및 용매 혼합비에 따른 중공실리카 마이크로스피어의 제조**

[0077] 실리카 전구체인 TEOS와 3-MPTES의 전체 농도를 90 mM로 고정된 후, TEOS의 함량을 10 내지 100%(10% 간격)으로 조정(X축)하고, 최종 촉매용액 중 에탄올대비 촉매전구체의 부피 비율(촉매전구체/에탄올)을 1, 1.5, 2, 2.25, 3 및 4로 조정(Y축)한 후, 상기 성분들의 함량 외에는 실시예 1 및 2와 동일한 방법을 사용하여, 입자의 크기 및 실리카겟질 두께를 조절된 중공 실리카 입자를 제조하였다.

[0078] 다음으로, 각각의 조건에서 제조된 중공 실리카 입자의 외관을 주사전자현미경(SEM, Scanning Electron Microscope) 및 투과전자현미경 (TEM, Transmission electron microscope)으로 촬영하였으며, 그 결과를 도 2 및 도 3에 나타냈다.

[0079] 도 2 와 도 3에 나타낸 바와 같이, TEOS와 3-MPTES의 전체 농도를 90mM로 유지한 상태에서 에탄올과 증류수의 비율 및 실리카 전구체에 포함된 TEOS의 함량 %을 조절할 경우, 다양한 크기와 실리카겟질 너비를 갖는 중공 실리카 입자를 제조할 수 있음을 알 수 있었다.

- [0080] 구체적으로, TEOS함량이 15% 미만일 경우, 중공 실리카 입자의 구조가 관찰되나 안정한 실리카겔질을 형성하지 못하여 일정한 구형 구조의 마이크로스피어가 생성되지 않았으며, TEOS함량이 75%를 초과할 경우, MPTES의 함량 미달로 중공구조가 생성되지 않고 속이 꽉찬 실리카 구조체가 형성되었다. 따라서, 중공실리카 입자 형성시 TEOS 함량은 15% 내지 75%로 유지하는 것이 적절하며, 바람직하게는 TEOS 함량을 45% 내지 75%, 바람직하게는 50 내지 70%, 더욱 바람직하게는 55 내지 65% 로 제조할 수록, 일정한 구형을 갖는 중공 실리카 마이크로스피어를 생성할 수 있었다. 이로부터, TEOS와 3-MPTES의 전체 농도를 유지시킨 상태에서 TEOS의 함량을 조절하여 속이 빈 구형의 마이크로스피어를 제조할 수 있으며, 마이크로스피어 크기, 중공 크기 및 실리카겔질의 너비를 조절할 수 있음을 확인하였다.
- [0081] 또한, 에탄올 대비 촉매 전구체(CTAB + Cysteamine + 탈이온수)의 비율을 변화시켜 중공 실리카 마이크로스피어의 크기와 실리카겔질의 너비를 조절할 수 있음을 확인하였다. 구체적으로, 도 3 및 도 4에 나타난 바에 따르면, 실리카 전구체에 포함된 TEOS 함량이 55% 내지 65%인 경우, 에탄올 대비 촉매 전구체(CTAB 용액 부피, Cysteamine 용액 부피, 탈이온수 부피의 총합)의 비율이 증가할수록 중공 실리카 마이크로스피어의 크기가 작아졌으며, 그에 따라 실리카겔질의 너비가 감소하였다. 반면, 에탄올 대비 촉매 전구체(CTAB 용액 부피, Cysteamine 용액 부피, 탈이온수 부피의 총합)의 비율이 감소할수록 중공 실리카 마이크로스피어의 크기가 커지며, 실리카겔질의 너비 또한 두꺼워졌다.
- [0082] 중공 실리카 마이크로스피어의 형성은 TEOS 함량이 45% 내지 75%, 바람직하게는 50 내지 70%, 더욱 바람직하게는 55 내지 65%, 예를 들어 60%이고, 에탄올대비 촉매전구체의 부피 비율(촉매전구체/에탄올)이 1.5 내지 3.0, 바람직하게는 1.5 내지 2.5, 더욱 바람직하게는 1.5 내지 2.3, 가장 바람직하게는 2 내지 2.5 일 때, 실리카겔질의 너비가 80 내지 120 nm 인 1 내지 1.2 μm 크기의 중공실리카 마이크로스피어가 잘 생성되었다.
- [0083] 따라서, TEOS와 3-MPTES의 전체 농도를 일정하게 유지시킨 상태에서 실리카전구체에 포함된 TEOS의 함량을 조절하고, 에탄올과 촉매 전구체(CTAB 용액 부피, Cysteamine 용액 부피, 탈이온수 부피의 총합)의 비율을 조절해 중공 실리카 마이크로스피어의 크기 및 실리카겔질의 너비를 조절할 수 있음을 알 수 있었다.
- [0085] **실시예 4. 용매 혼합비에 따른 중공실리카 마이크로스피어의 제조**
- [0086] 실리카 전구체인 TEOS와 3-MPTES의 전체 농도를 90 mM로 고정한 후, 총 90 mM 실리카 전구체 중 TEOS 60 %, 3-MPTES 40 %의 비율로 실리카 전구체를 첨가하고, 에탄올대비 촉매전구체의 부피 비율(촉매전구체/에탄올)을 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0, 3.5, 또는 4.0 으로 조절한 후, TEOS 함량 비율 및 용매 비율을 제외하고는 실시예 1 및 실시예 2와 동일한 방법을 사용해 중공실리카 입자를 제조하였다.
- [0087] 제조한 중공실리카 입자의 외관을 주사전자 현미경으로 촬영하였으며, 평균 직경을 측정해 그 결과를 도 4에 나타냈다.
- [0088] 도 4에 나타난 바와 같이, 촉매전구체/에탄올의 부피비율에서 촉매전구체의 함량이 높아질수록 제조되는 중공실리카 입자의 직경이 감소함을 알 수 있었다. 촉매전구체/에탄올의 부피비율이 1.0 일 때는 평균 직경 1.83 μm 인 중공실리카 입자가 생성되었으며, 촉매전구체/에탄올의 부피비율이 1.5일 때는 평균 직경 1.62 μm 인 중공실리카 입자가 생성되었고, 촉매전구체/에탄올의 부피비율이 2.0 일 때는 평균 직경 1.18 μm 인 중공실리카 입자가 생성되었으며, 촉매전구체/에탄올의 부피비율이 2.5 일 때는 평균 직경 1.12 μm 인 중공실리카 입자가 생성되었고, 촉매전구체/에탄올의 부피비율이 3.0 일 때는 평균 직경 0.89 μm 인 중공실리카 입자가 생성되었으며, 촉매전구체/에탄올 부피비율 3.5 일 때는 평균 직경 0.58 μm 인 중공실리카 입자가 생성되었고, 촉매전구체/에탄올의 비율이 4.0 일 때는 평균 직경 0.48 μm 인 중공실리카 입자가 생성되었다.
- [0090] **실시예 5. 중공실리카 마이크로스피어의 티올기의 존재 확인**
- [0091] 실리카 전구체로 사용되는 MPTES(3-Mercaptopropyl triethoxysilane)는 티올기(-SH)를 함유하고 있으며, TEOS와 함께 실리카겔질을 이루는 원료이기에, 본 발명의 실시예로 제조한 중공 실리카 입자의 실리카겔질은 티올기(thiol group)를 포함한다.
- [0092] 합성한 중공실리카 입자의 티올기의 존재를 ^{29}Si solid NMR 분석법으로 확인하였다. 촉매전구체/에탄올의 부피비율이 2.25 이고 총 실리카 전구체 90 mM 중 TEOS 60 %, MPTES 40 % 비율로 포함하는 촉매용액 조성으로부터, 실

시에 1 및 실시예 2의 방법을 사용해 중공실리카 입자를 제조하였으며, 제조한 중공실리카 입자를 세척 및 건조한 시료를 ^{29}Si solid NMR 분석법으로 분석한 결과를 도 5에 나타냈다.

[0093] 도 5에 나타낸 바와 같이, solid NMR 분석 스펙트럼의 Q4, Q3, 및 Q2 피크는 TEOS의 축합반응으로부터 얻어지는 Si-O-Si에 관련된 피크이고, T3, T2 피크는 Si-C에 관련된 피크로서, 중공실리카 입자에 MPTES가 존재함을 직접적으로 확인할 수 있었다. 전체 피크의 그래프 면적을 T3, T2 피크 면적과 비교해 중공실리카 입자 벽면에 존재하는 MPTES의 평균비율을 구하였으며, 전체 피크 면적 중 T3가 차지하는 비율이 4.66 %, T2가 차지하는 비율이 1.92 %로 전체 실리카 실리카겔 중 7.58 %는 MPTES의 축합반응으로 합성됨을 확인할 수 있었다.

[0095] 실시예 6. CTAB를 이용한 메조다공성 중공실리카 마이크로스피어의 제조

[0096] 본 발명은 메조다공성 겔질을 갖는 실리카 마이크로스피어를 제조하기 위한 촉매 용액의 원료로 실리카겔질 미세구조의 구조결정인자(structure-directing agent)인 CTAB(cetyltrimethylammonium bromide)를 사용하였다. 구체적으로, 최종 촉매용액에서 CTAB의 최종 농도가 5mM이 되도록 촉매용액을 제조하였으며, 상기 촉매용액을 사용해 합성한 중공실리카 입자의 실리카겔질의 투과전자현미경 사진을 촬영하여, 도 6에 나타냈다.

[0097] 도 6에서 확인할 수 있는 바와 같이, 합성된 실리카겔질에 나노미터수준의 작은 구멍인 메조기공이 다수 분포하며, 메조다공성 실리카 실리카겔질을 갖는 중공실리카 마이크로스피어가 형성되었음을 확인할 수 있었다.

[0099] 실시예 7. 실리카겔질에 금(Au)을 코팅한 중공 실리카 마이크로스피어의 제조

[0100] 실시예 5에서 확인한 바와 같이, 본 발명의 제조방법으로 제조한 마이크로스피어의 메조다공성 실리카 겔질에는 티올기(thiol)가 존재한다. 티올기를 함유한 본 발명의 마이크로스피어에 티올기와 높은 상호작용력을 갖는 HAuCl_4 를 첨가하고 수소화붕소나트륨(NaBH_4) 환원제를 함께 첨가하여, 중공실리카 입자의 실리카겔질에 금(gold)을 입힌 중공실리카 마이크로스피어를 제조하였다. 제조한 금을 코팅한 중공실리카 마이크로스피어의 주사-투과전자현미경 (STEM) 사진 및 에너지분산형 분광분석법 (X-ray energy dispersive spectroscopy) 원소 분석 결과를 도 7에 나타냈다.

[0101] 도 7에 나타낸 바와 같이, 금, 실리콘 원소분석 결과 실리카 겔질에서 금과 실리콘 원소가 검출되는 것을 관찰할 수 있었다. 이로부터, 본 발명의 제조방법으로 제조한 티올기를 갖는 실리카의 메조다공성 겔질과 내부 중공을 포함하는 중공 실리카 마이크로스피어는 다양한 무기물질들과 강한 상호작용할 수 있으며, 중공실리카 마이크로스피어-무기물 입자를 제조할 수 있음을 확인할 수 있었다. 또한, 금과 같은 금속이온을 환원과정을 통해 메조다공성 중공실리카 입자의 벽에 고정시킴으로써, 반응촉매로도 활용할 수 있으며, 새로운 반응 플랫폼으로 응용가능하다.

[0103] 실시예 8. 실리카겔질의 메조기공에 약물을 담지한 메조다공성 겔질과 내부 중공을 포함하는 중공 실리카 마이크로스피어의 제조

[0104] 실시예 1 및 실시예 2의 방법으로 제조한 중공실리카 마이크로스피어의 실리카겔질은 메조기공을 포함하고 있어 다양한 물질들을 담지할 수 있다.

[0105] 항암제로 사용되는 Doxorubicin을 중공실리카 마이크로스피어의 실리카겔질에 담지하기 위해, Doxorubicin 수용액에 실시예 1 및 실시예 2의 방법으로 제조한 중공실리카 마이크로스피어를 첨가한 뒤 빠르게 교반하고 원심분리를 수행한 후 세척하였다. 제조된 중공실리카 마이크로스피어를 형광현미경으로 관찰하였으며, 그 결과를 도 8에 나타냈다.

[0106] 도 8에 나타낸 바와 같이, 붉은색으로 나타난 부분이 Doxorubicin이며, Doxorubicin이 메조다공성 중공실리카 입자의 실리카겔질에 담지되어 있음을 확인할 수 있었다.

[0108] 실시예 9. 내부 중공에 화학물질을 담지한 중공실리카 마이크로스피어의 제조

[0109] 본 발명의 방법으로 제조한 티올기를 갖는 실리카의 메조다공성 겔질을 갖는 중공실리카 마이크로스피어는 실리

카 겹질에 형성되어 있는 다수의 메조기공은 물론, 비어있는 내부 중공에 다양한 화학물질을 담지 할 수 있다.

[0110] 이를 확인하기 위해, 실시예 1 및 실시예 2의 방법으로 제조한 건조된 중공 실리카 입자를 물과 섞이지 않는 decane에 분산 시키고, 지용성 물질이면서 형광을 띄는 Nile red 형광 물질을 녹여 중공실리카 마이크로스피어의 내부 동공에 담지하였다. 이후 원심분리를 통해 Nile red가 용해된 decane을 담지한 중공 실리카 마이크로스피어를 분리하고 증류수로 3번 세척하여 Nile red 형광물질이 담지되고 물에 분산된 중공 실리카 입자를 얻어내었다. 이후, Nile red 형광물질이 담지된 중공 실리카 입자를 Cy5-maleimide 형광물질 수용액에 분산시켜, 실리카 겹질의 thiol기와 maleimide기의 결합으로 Cy5 형광물질을 고정시켰고, 여분의 Cy5-maleimide 용액을 원심분리를 통해 증류수로 3번 세척한뒤 형광 현미경으로 관찰하였다. 그 결과는 도 9에 나타내었다.

[0111] 도 9에 나타난 바와 같이, 중공실리카 입자의 실리카겹질에 Cy5, 입자 내부에 Nile red 형광물질이 담지되어 중공실리카 입자의 내부와 실리카겹질에 각기 다른 형광물질을 담지 할 수 있음을 확인하였다.

[0113] 실시예 10. 중공실리카 마이크로스피어 제조시 최적 반응시간

[0114] 본 발명의 티올기를 갖는 실리카의 메조다공성 겹질과 내부 중공을 포함하는 중공 실리카 마이크로스피어의 제조시 최적 반응시간을 확인하기 위해, 실시예 1 및 실시예 2에 따른 중공 실리카 입자의 제조방법에서 반응시간(3시간)만 달리하여 중공실리카 입자 형성 반응을 진행한 후, 핵자기공명 스펙트럼 Chemical shift를 측정해 제조된 중공실리카 입자의 구조를 확인하였으며, 그 결과를 도 10a 및 도 10b에 나타냈다.

[0115] 도 10a의 두 개의 스펙트럼은 ^{29}Si 를 측정하는 핵자기공명 스펙트럼이다. 위쪽 스펙트럼은 액체상태의 MPTES와 TEOS의 혼합물의 ^{29}Si 핵자기공명 스펙트럼 실험 결과로, 중공실리카 마이크로스피어를 형성하는 반응조건과 동일하게, TEOS 60%, MPTES 40%을 포함하는 실리카 전구체 혼합물을 제조해 핵자기공명 스펙트럼을 얻어낸 것이다. 스펙트럼 분석 결과, MPTES와 TEOS에서 Si 원자의 화학적 분위기가 다르므로 (MPTES는 Si-O 결합이 3개, Si-C 결합이 1개이지만, TEOS는 Si-O 결합이 4개이다) 각각 다른 Chemical shift 값을 나타냈다.

[0116] 도 10a의 아래에 있는 스펙트럼은 실시예 1 및 2에 따라, 중공실리카 마이크로스피어를 형성하는 반응을 끝마친 뒤, 형성된 중공 실리카 마이크로스피어를 원심분리를 통해 분리하고 용매를 제거한 후, 세척 과정 없이 핵자기공명 스펙트럼을 얻은 것이다. 세척과정 전이기에 중공 실리카입자 내부에 어떤 물질이 함유 되어있는지를 알 수 있다. 실험결과 TEOS에 해당하는 피크는 보이지 않고, MPTES에 해당하는 피크가 나타나는 것으로 보아, 중공 실리카입자 내부에는 액체상태의 MPTES가 존재함을 확인할 수 있었다.

[0117] 상기 실험결과를 근거로, 도 10b에 중공 실리카 입자 형성반응을 3시간 동안 진행한 후에 형성된 중공실리카 입자의 구조 모식도를 나타냈다. 3시간 동안 반응을 진행했을 때는 외부에 실리카 겹질이 생성되었으나 내부 코어(Core)는 MPTES가 Oil phase로 존재하여, 완전한 중공을 갖는 중공 실리카 마이크로스피어가 생성되지 않음을 확인하였다.

[0119] 실시예 11. 반응시간에 따른, 중공실리카 마이크로스피어의 외관 변화 확인

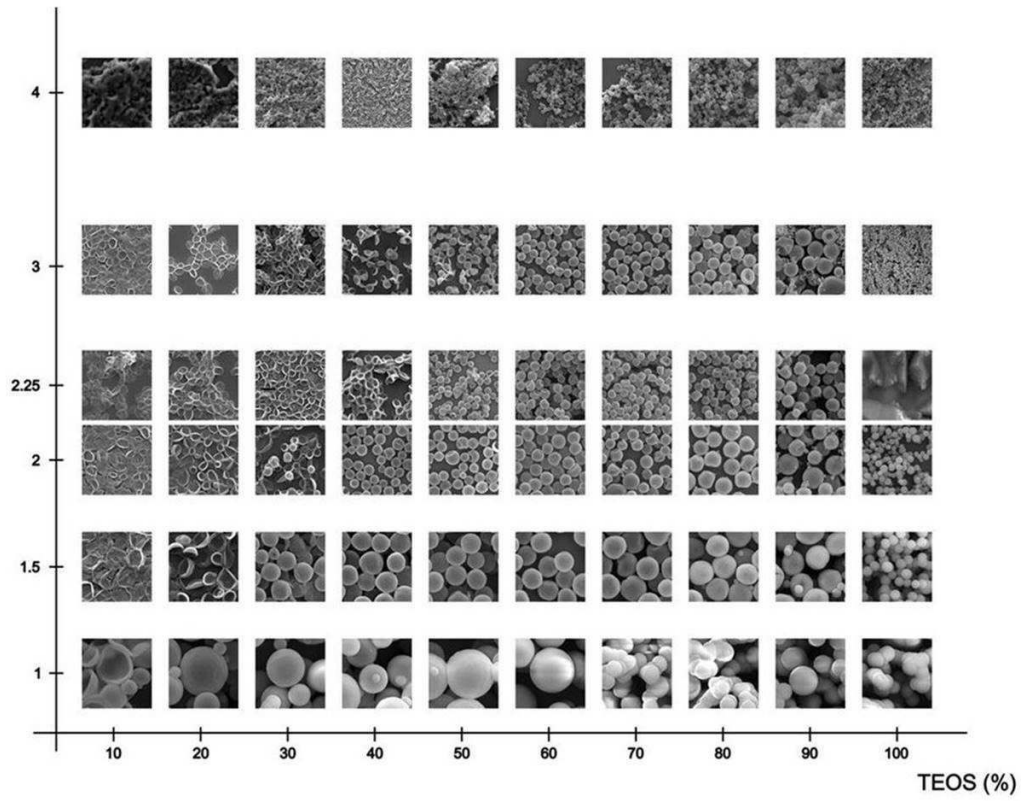
[0120] 반응시간에 따른 중공실리카 마이크로스피어의 외관 변화를 확인하기 위해, 실리카 전구체의 전체 농도가 90mM 이고, TEOS와 MPTES의 혼합 비율이 TEOS:MPTES=60%:40% 이며, 촉매전구체(CTAB 용액 부피, Cysteamine 용액 부피, 탈이온수 부피의 총합)=4.5mL, 에탄올=2mL인 조건에서 실시예 2에 따른 실험방법으로 반응 시킨 후, 반응시간 30분, 60분, 90분, 120분, 150분, 240분이 경과한 후, 형성된 중공실리카 마이크로스피어의 외관의 변화를 주사전자현미경으로 측정하였으며, 그 결과를 도 11에 나타냈다.

[0121] 30분동안 반응시킨 후 형성된 마이크로스피어를 투과전자현미경으로 관찰한 결과를 도 12에 나타냈다. 도 12에 나타난 바와 같이, 30분간 반응시킨 중공 실리카 입자는 실리카겹질이 완벽하게 만들어지지 않아 구형의 안정한 실리카 구조체를 형성하지 못하였으며, 전자현미경 관찰에 필요한 높은 진공도로 인해 구조가 변형되는 것을 확인할 수 있었다

[0122] 240분(4시간)동안 반응시킨 후 형성된 마이크로스피어를 투과전자현미경으로 관찰한 결과를 도 13에 나타냈다. 도 13에 나타난 바와 같이, 240분간 반응 시켰을 때 중공 실리카 마이크로스피어가 완전한 구형으로 생성됨을 확인할 수 있었다. 도 12의 결과와 비교하였을 때, 중공을 둘러싼 치밀한 실리카겹질 구조를 확인할 수 있었고, 전자현미경 관찰에 필수적인 높은 진공도 조건에서도 실리카 구조가 변형되지 않고, 구형을 유지하는 것을 확인

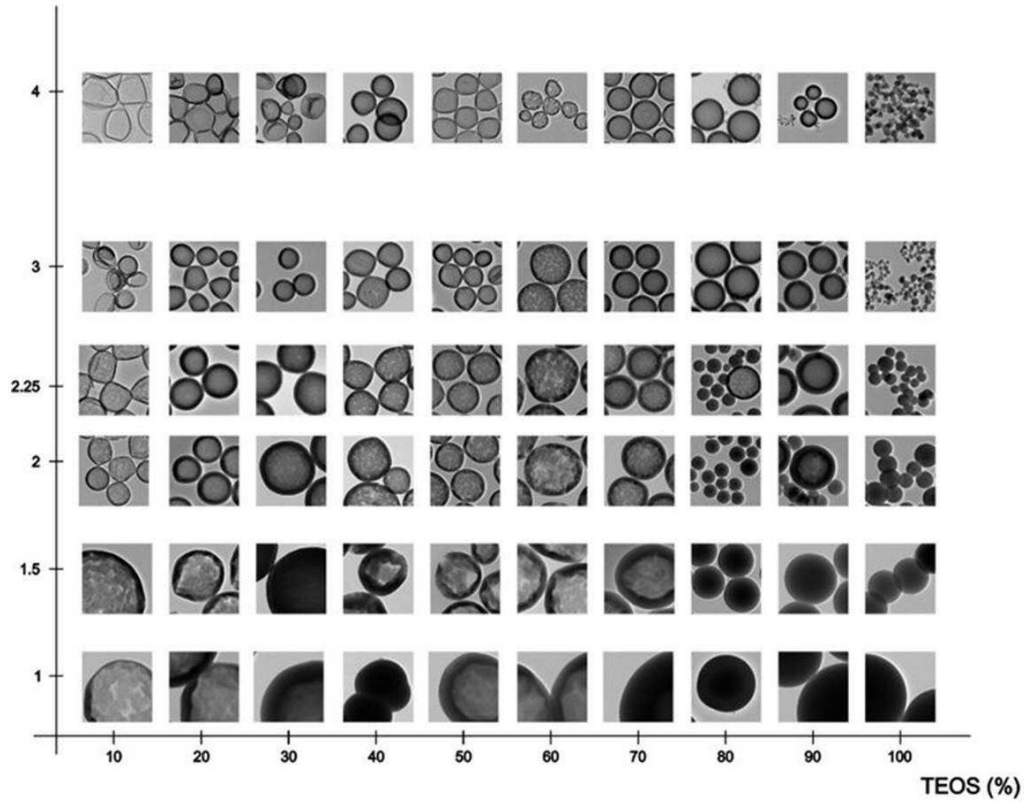
도면2

축매전구체/에탄올

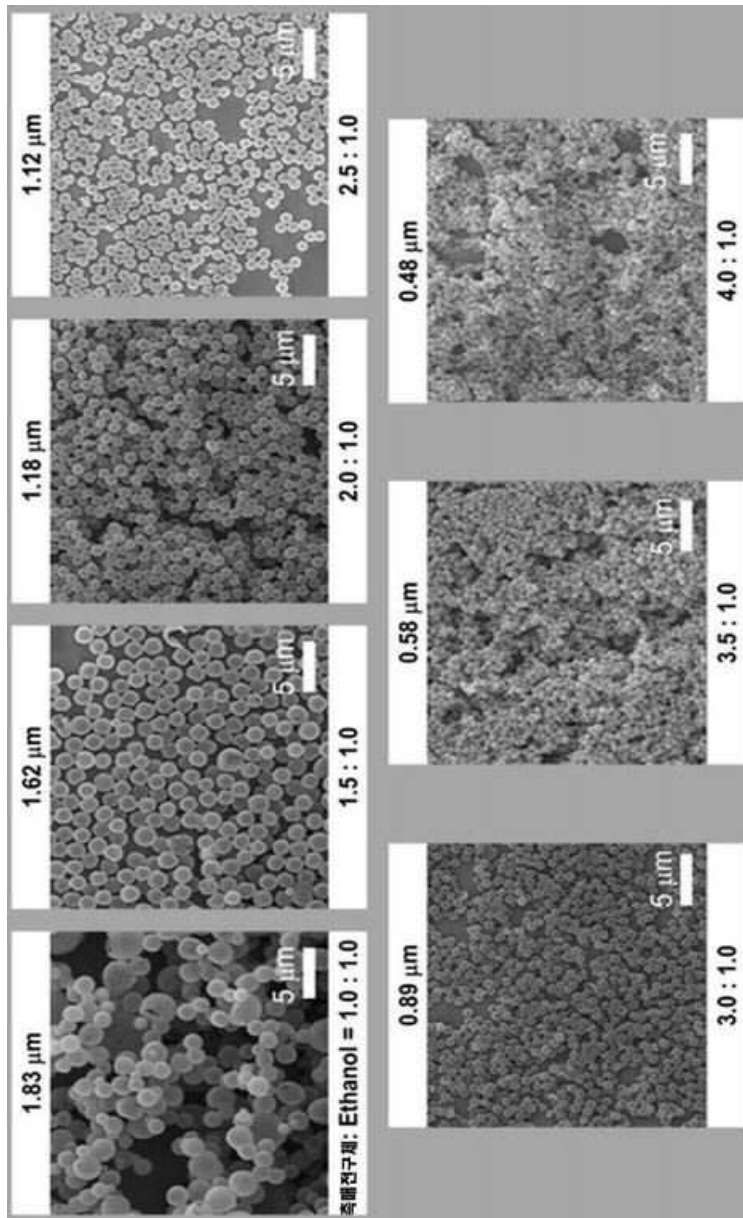


도면3

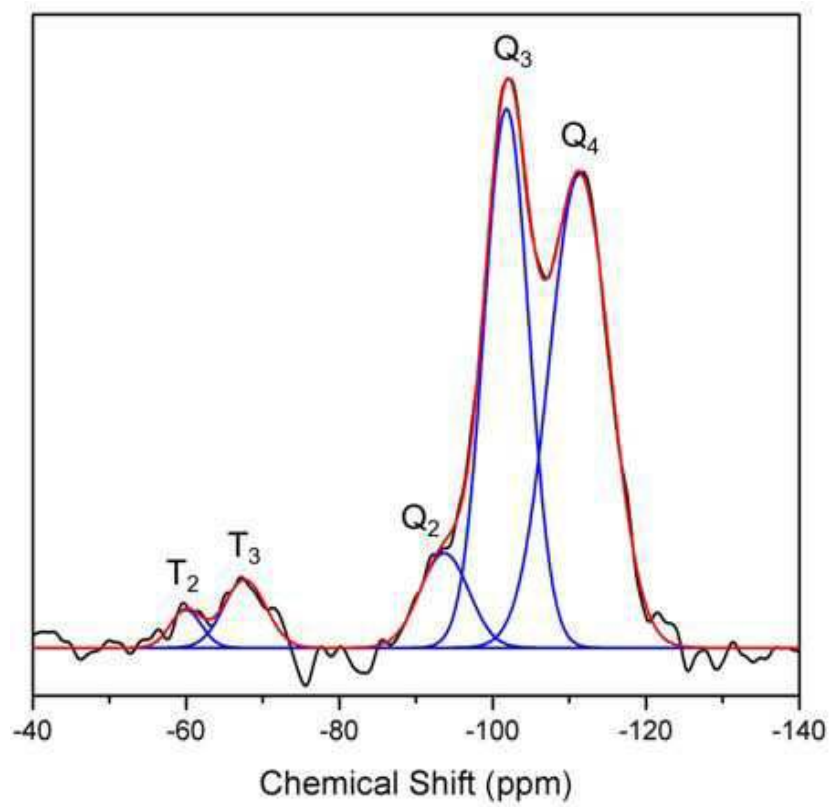
축매전구체/에탄올



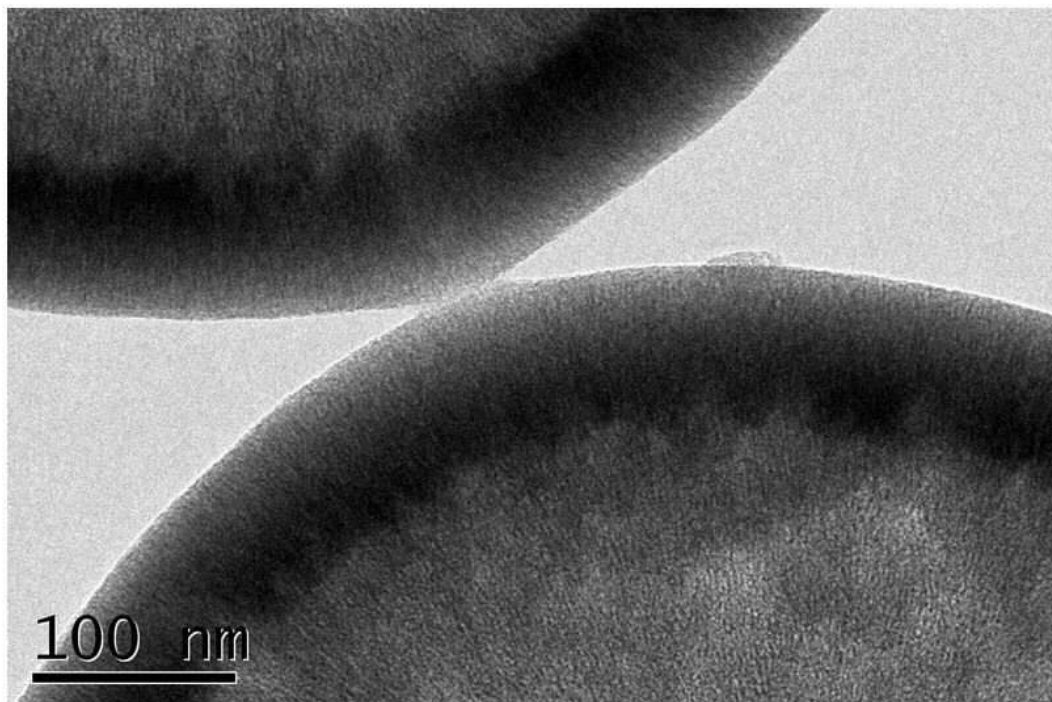
도면4



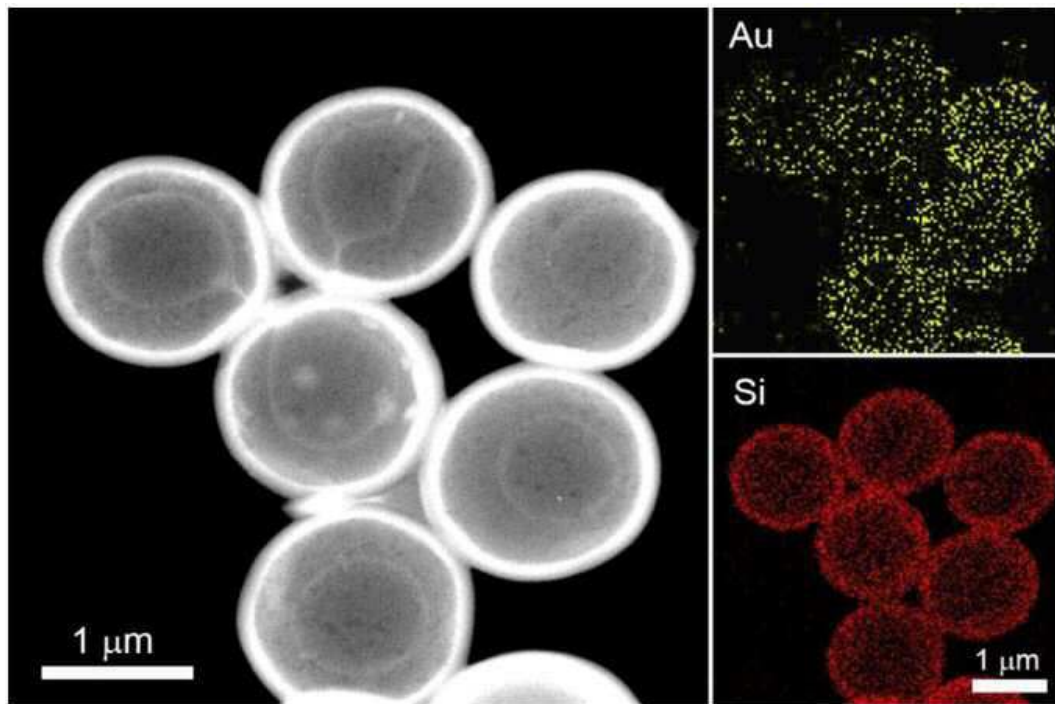
도면5



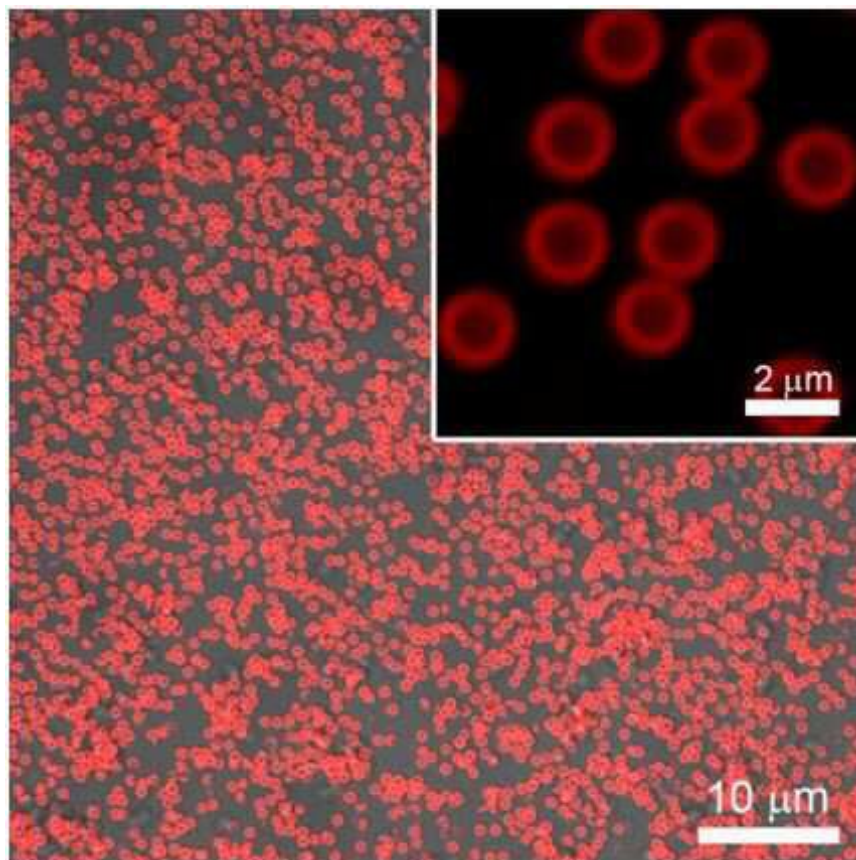
도면6



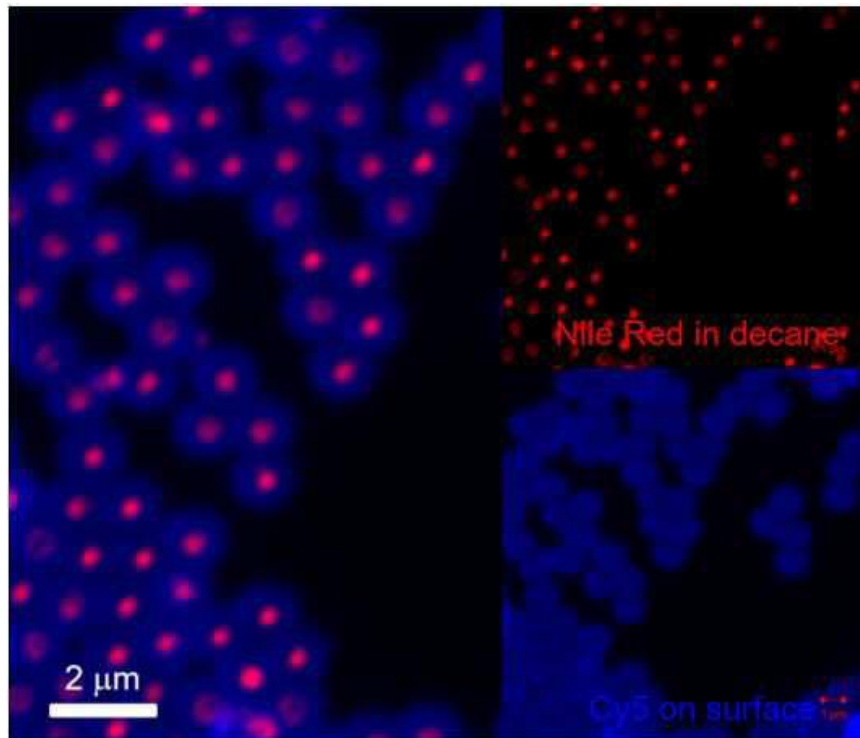
도면7



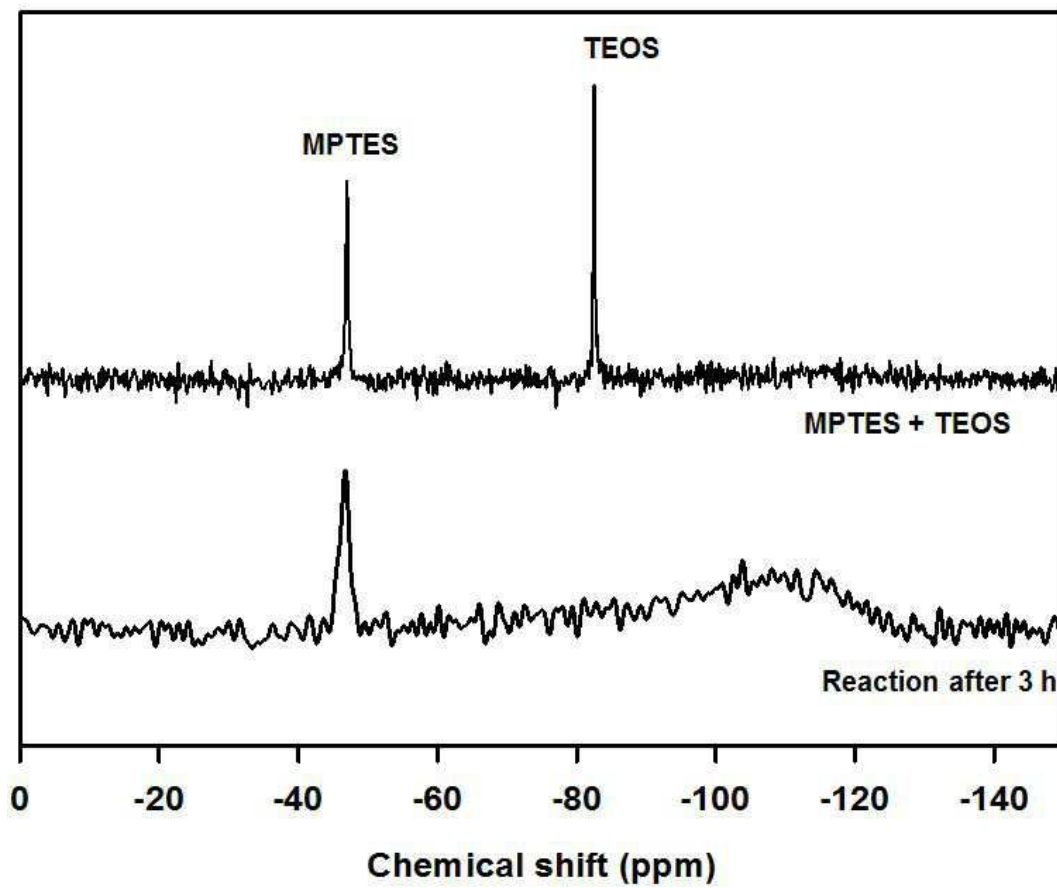
도면8



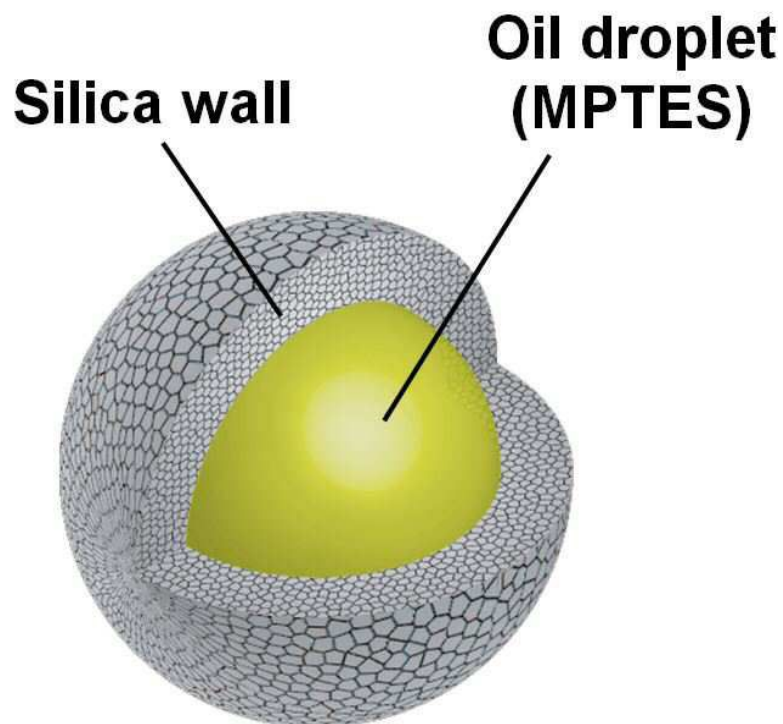
도면9



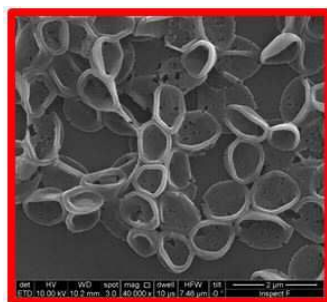
도면10a



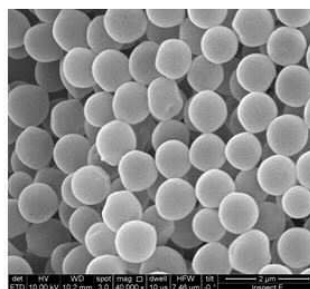
도면10b



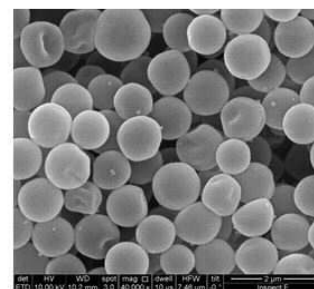
도면11



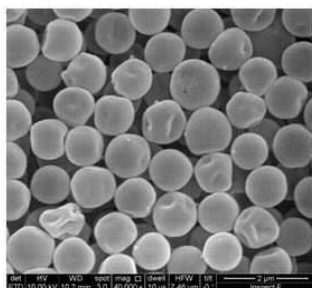
반응시간 : 30분



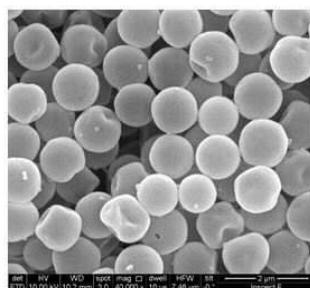
반응시간 : 60분



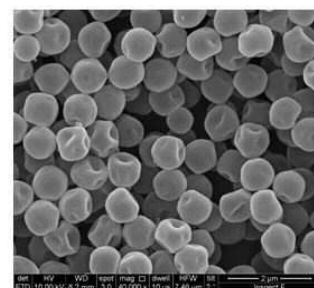
반응시간 : 90분



반응시간 : 120분

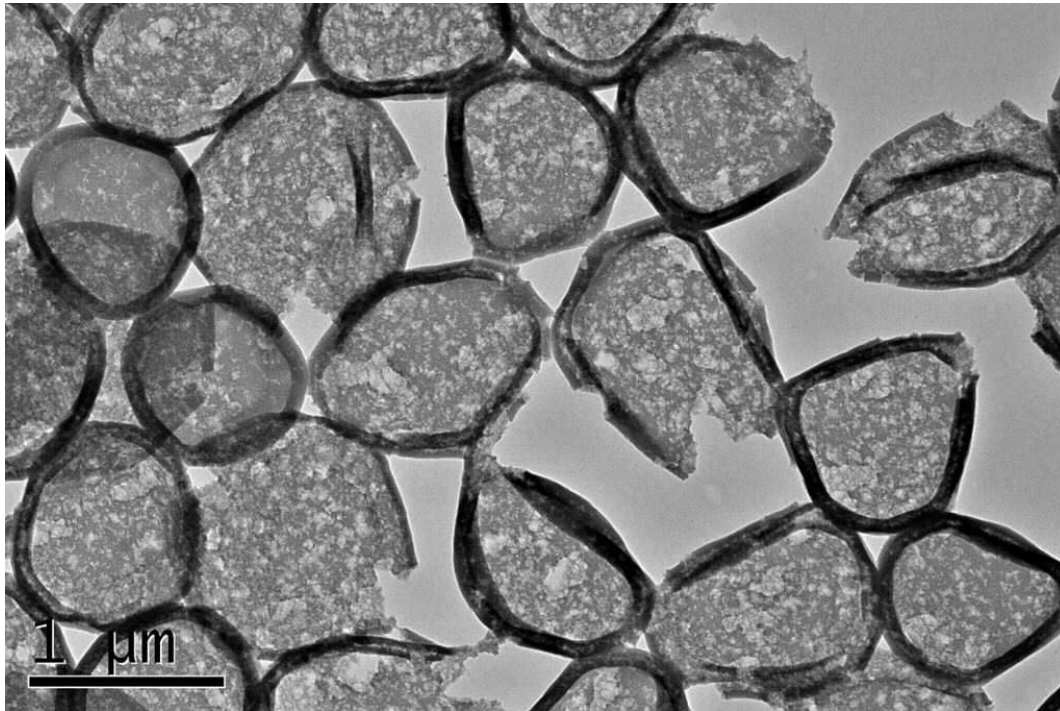


반응시간 : 150분

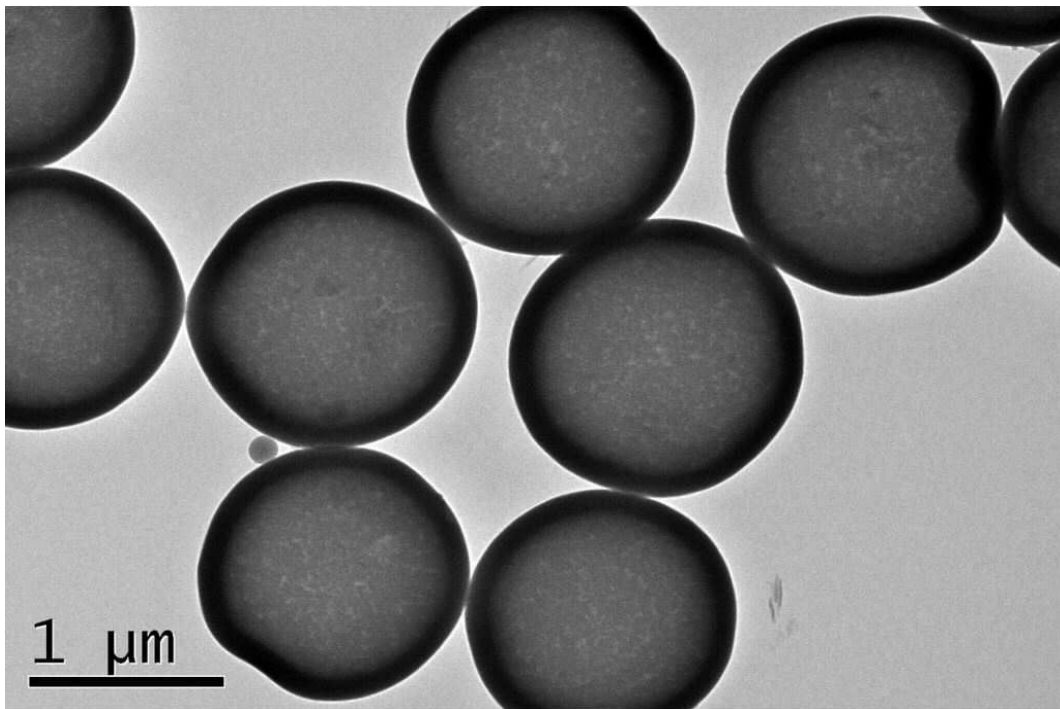


반응시간 : 240분

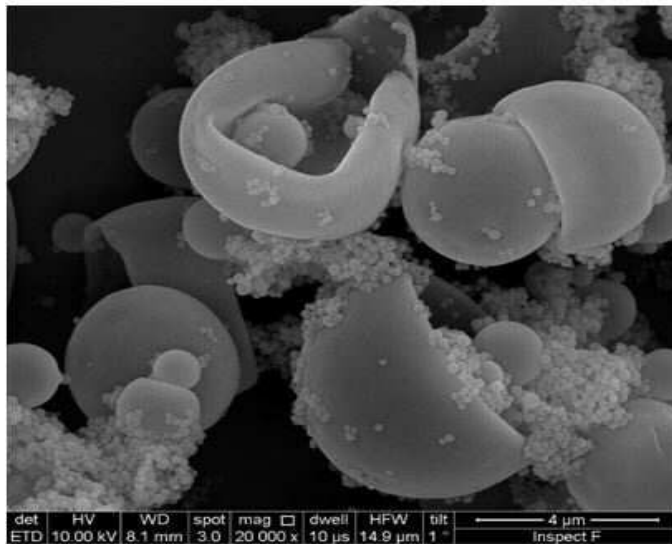
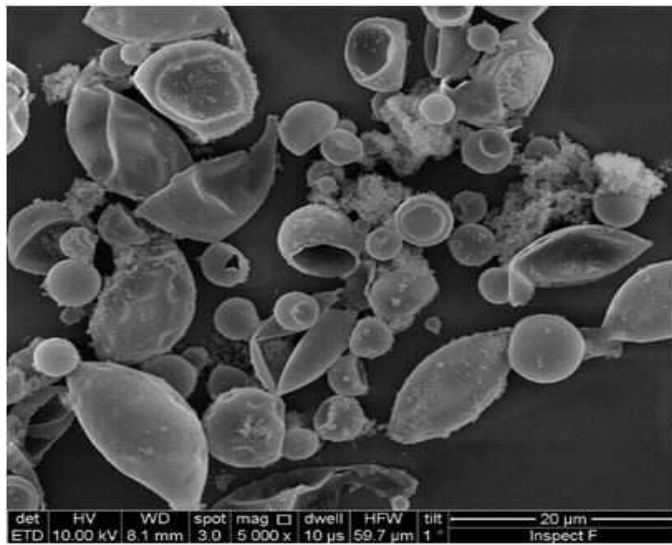
도면12



도면13



도면14



도면15

