

(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구
국제사무국

(43) 국제공개일

2018년 2월 22일 (22.02.2018)



(10) 국제공개번호

WO 2018/034464 A1

- (51) 국제특허분류:
H01F 41/02 (2006.01) B82B 1/00 (2006.01)
H01F 1/20 (2006.01) B82B 3/00 (2006.01)
- (21) 국제출원번호: PCT/KR2017/008740
- (22) 국제출원일: 2017년 8월 11일 (11.08.2017)
- (25) 출원언어: 한국어
- (26) 공개언어: 한국어
- (30) 우선권정보:
10-2016-0105671 2016년 8월 19일 (19.08.2016) KR
- (71) 출원인: 주식회사 아모라이프사이언스 (AMOLIFESCIENCE CO., LTD.) [KR/KR]; 06527 서울특별시 서초구 나루터로 56, 3층, Seoul (KR). 부산대학교 산학협력단 (PUSAN NATIONAL UNIVERSITY INDUSTRY-UNIVERSITY COOPERATION FOUN-

DATION) [KR/KR]; 46241 부산광역시 금정구 부산대학로63번길 2, Busan (KR).

- (72) 발명자: 김성일 (KIM, Sung-Il); 25616 강원도 강릉시 성덕로 328-15, 102동 1203호, Gangwon-do (KR). 최민영 (CHOI, Min-Young); 10077 경기도 김포시 김포한강11로 158, 404동 203호, Gyeonggi-do (KR). 이명렬 (LEE, Myoung-Yeol); 13581 경기도 성남시 분당구 분당로 190, 101동 1703호, Gyeonggi-do (KR). 이재범 (LEE, Jae-Beom); 18482 경기도 화성시 동탄순환대로21길 54, 1331동 204호, Gyeonggi-do (KR). 짬반탄 (TRAN, Van Tan); 50463 경상남도 밀양시 삼랑진읍 삼랑진로 1268-50, Gyeongsangnam-do (KR). 김정효 (KIM, Jeong-Hyo); 50463 경상남도 밀양시 삼랑진읍 삼랑진로 1268-50, Gyeongsangnam-do (KR). 오상진 (OH, Sang-Jin); 50463 경상남도 밀양시 삼랑진읍 삼랑진로 1268-50, Gyeongsangnam-do (KR).

(54) Title: METHOD FOR PRODUCING SUPERPARAMAGNETIC NANOCOMPOSITE AND SUPERPARAMAGNETIC NANOCOMPOSITE PRODUCED USING SAME

(54) 발명의 명칭: 초상자성 나노복합체의 제조방법 및 이를 이용하여 제조된 초상자성 나노복합체

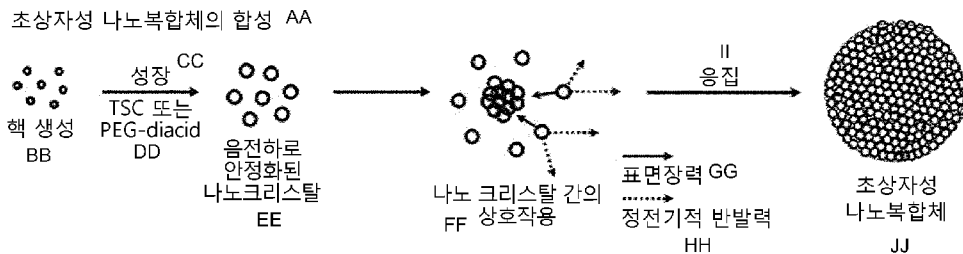


FIG. 1

- AA ... Synthesis of superparamagnetic nanocomposite
- BB ... Generation of nuclei
- CC ... Growth
- DD ... TSC or PEG-diacid
- EE ... Nanocrystals stabilized by negative charge
- FF ... Interaction among nanocrystals
- GG ... Surface tension
- HH ... Electrostatic repulsion
- II ... Aggregation
- JJ ... Superparamagnetic nanocomposites

(57) Abstract: The present invention relates to a method for producing a superparamagnetic nanocomposite and a superparamagnetic nanocomposite produced using same, and specifically, to a method for producing a superparamagnetic nanocomposite capable of being used for the purpose of magnetic separation for detecting a biological target substance, and a superparamagnetic nanocomposite produced using same. The method for producing a superparamagnetic nanocomposite, according to the present invention, may enable a superparamagnetic nanocomposite having excellent properties such as an even size and particle size distribution, a high degree of aqueous solution dispersibility, a maintained degree of superparamagnetism and a high degree of magnetization to be mass-produced at a high yield, without undergoing a complicated process and at a high speed compared to conventional methods for producing a



WO 2018/034464 A1

- (74) 대리인: 한양특허법인 (HANYANG PATENT FIRM);
06296 서울시 강남구 논현로38길 12, 한양빌딩, Seoul
(KR).
- (81) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 국
내 권리의 보호를 위하여): AE, AG, AL, AM, AO, AT,
AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH,
CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC,
EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU,
ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KW, KZ,
LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK,
MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA,
PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD,
SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR,
TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.
- (84) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 역
내 권리의 보호를 위하여): ARIPO (BW, GH, GM, KE,
LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM,
ZW), 유라시아 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 유
럽 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI,
FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK,
MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI
(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML,
MR, NE, SN, TD, TG).

공개:

— 국제조사보고서와 함께 (조약 제21조(3))

magnetic nanoparticle for magnetic separation, and the superparamagnetic nanocomposite produced by the method maintains a degree of superparamagnetism and has a high degree of magnetization.

(57) 요약서: 본 발명은 초상자성 나노복합체의 제조방법 및 이를 이용하여 제조된 초상자성 나노복합체에 관한 것으로, 구체적으로 생체 표적 물질 검출에 자기 분리의 목적으로 사용이 가능한 초상자성 나노복합체의 제조방법 및 이를 이용하여 제조된 초상자성 나노복합체에 관한 것이다. 본 발명에 따른 초상자성 나노복합체의 제조방법은 기존의 자기분리용 자성나노입자의 제조방법에 비해 높은 수율로 복잡한 공정을 거치지 않고 빠른 속도로, 균일한 크기 및 입도분포를 가지고, 높은 수용액 분산성을 가지며, 초상자성을 유지하고 높은 자화도를 가지는 우수한 특성의 초상자성 나노복합체를 대량으로 제조할 수 있고, 상기 방법에 의해 제조된 초상자성 나노복합체는 초상자성을 유지하고 높은 자화도를 가진다.

명세서

발명의 명칭: 초상자성 나노복합체의 제조방법 및 이를 이용하여 제조된 초상자성 나노복합체

기술분야

- [1] 본 발명은 초상자성 나노복합체의 제조방법 및 이를 이용하여 제조된 초상자성 나노복합체에 관한 것으로, 구체적으로 생체 표적 물질 검출에 적용이 가능한 초상자성 나노복합체의 제조방법 및 이를 이용하여 제조된 초상자성 나노복합체에 관한 것이다.

배경기술

- [2] 질병의 진단, 신약 개발 등 의약학 및 생명과학의 분야에서 표적 바이오마커(biomarker)와 같은 생체분자를 고감도로 검출하고 정량하는 방법의 개발은 매우 중요하게 여겨 지고 있다. 가장 일반적으로는 표적 물질에 따라 항원-항체 면역 반응(antigen-antibody immune reaction), DNA 혼성화(DNA hybridization) 또는 수용체 반응(receptor reaction)등을 기반으로 한 결합 반응 에세이(binding assay)가 널리 사용 되고 있고, 표적 분자에 대한 결합 반응 여부를 측정 가능한 신호로 바꿔주는 신호변환 물질(signal transducer)에 의해 표적 분자(target molecule)의 존재를 판단한다.
- [3] 이러한 결합 반응 에세이에서 자력을 이용한 자성 나노입자 기반 분리(magnetic nanoparticle mediated isolation) 기술은 여러가지 불순물 또는 비표적 물질들이 혼재한 현탁 용액으로부터 표적 생체분자만 농축화 하여 얻어 낼 수 있거나(positive isolation), 또는 비표적 분자들의 제거(negative isolation)를 통해, 에세이의 단순화, 공정의 용이성, 민감도, 특이성 향상, 고속 대용량 처리(high throughput screening), 스케일 업의 가능성(scalability) 등의 이점을 제공한다.
- [4] 자성나노입자 기반 분리 기술은 표적 분자와 특이 결합을 하는 리간드(ligand) 물질을 입자에 접합하고, 혼합 용액상에서 리간드 물질의 표적 분자 인식 및 결합, 외부 자력을 이용한 자성 입자의 분리의 과정에 따라 진행 된다. 이때 표적 분자 감지 플랫폼(sensing platform)으로서 자성 입자는 (i) 현탁 용액 내에 다양한 비특이적 물질로부터의 비특이적 흡착(non-specific adsorption)을 최소화 할 수 있어야 하고, (ii) 다양한 생화학적 환경으로부터 콜로이드 입자 안정을 유지 할 수 있어야 하며, (iii) 여러가지 관능기의 표면 접합에 용이해야 한다. 비부착성(non-fouling)의 우수한 생계면(bio-interface)를 가지기 위해서는 친수성(hydrophilicity)과 중성(neutral)을 띄고, 수소결합 수용체(hydrogen bond acceptors)를 포함 하는 특성을 가지는 것이 좋다. 이러한 목적을 위해, 폐길화(PEGylation), 즉, 입자의 표면에 생체적합성 고분자의 하나인 poly(ethylene glycol)로 코팅하는 것은 현재까지 가장 성공적인 비부착성 생계면의 나노입자를 디자인하는 한가지 방법으로 여겨진다. 정교하게 흡착된

PEG 층은 위에 열거한 조건들을 만족하며, 입자의 비특이적 흡착을 줄이고, 안정성을 높여준다.

- [5] 본 발명자들은 생체 표적 물질 검출을 위한 자기 분리의 목적으로 사용될 수 있는 초상자성 나노복합체, 즉, 초상자성 산화철 나노복합체의 제조방법을 제공하여, 기존의 자기분리용 자성나노입자의 제조방법에 비해 높은 수율로 복잡한 공정을 거치지 않고 빠른 속도로, 균일한 크기 및 입도분포를 가지고, 높은 수용액 분산성을 가지며, 초상자성을 유지하고 높은 자화도를 가지는 우수한 특성의 초상자성 나노복합체를 제조함으로써 본 발명을 완성하였다.

발명의 상세한 설명

기술적 과제

- [6] 본 발명의 목적은 높은 수율로 복잡한 공정을 거치지 않고 빠른 속도로, 균일한 크기 및 입도분포를 가지고, 높은 수용액 분산성을 가지며, 초상자성을 유지하고 높은 자화도를 가지는 우수한 특성의 초상자성 나노복합체를 대량으로 생산할 수 있는 제조 방법 및 상기 방법에 의해 제조된 초상자성 나노복합체를 제공하는 데에 있다.

과제 해결 수단

- [7] 본 발명은 철전구체, 용매, 안정화제 및 환원제를 혼합하는 단계; 상기 혼합하는 단계에서 혼합된 용액을 150 ~ 300°C, 바람직하게는 200 ~ 240°C, 더 바람직하게는 200 °C의 온도, 및 1.5 ~ 10 바(bar), 바람직하게는 1.5 ~ 6 바(bar), 더 바람직하게는 1.5 ~ 2.5 바(bar)의 압력 조건에서 수열 합성하여 나노클러스터화된 형태의 초상자성 나노복합체를 합성하는 단계; 및 합성된 초상자성 나노복합체를 분리하는 단계를 포함하는 초상자성 나노복합체를 제조하는 방법을 제공한다.
- [8] 본 발명에 따른 초상자성 나노복합체를 제조하는 방법에 있어서, 상기 분리된 초상자성 나노복합체를 극성용매로 세척하는 단계를 더 포함할 수 있다.
- [9] 본 발명에 따른 초상자성 나노복합체를 제조하는 방법에 있어서, 상기 철전구체는 염화철육수화물($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), 염화철(II), 염화철사수화물(II), 염화철(III) 및 질산철 구수화물($\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$)로 이루어진 군에서 선택될 수 있다. 바람직하게는 상기 철전구체는 염화철육수화물($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), 염화철(II), 염화철사수화물(II) 및 염화철(III)로 이루어진 군에서 선택될 수 있고 더 바람직하게는 염화철육수화물($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$)일 수 있다.
- [10] 본 발명에 따른 초상자성 나노복합체를 제조하는 방법에 있어서, 상기 용매는 에틸렌 글리콜, 디 에틸렌 글리콜, 트리 에틸렌 글리콜, 테트라 에틸렌 글리콜, 디 프로필렌 글리콜 및 글리세롤로 이루어진 군에서 선택될 수 있다. 바람직하게는 상기 용매는 에틸렌 글리콜일 수 있다.
- [11] 본 발명에 따른 초상자성 나노복합체를 제조하는 방법에 있어서, 상기 안정화제는 카르복시기를 가지는 화합물일 수 있다.

- [12] 본 발명에 따른 초상자성 나노복합체를 제조하는 방법에 있어서, 상기 안정화제는 트리스-소듐 시트레이트 디하이드레이트 ($\text{HOC}(\text{COONa})(\text{CH}_2\text{COONa})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$; $\text{C}_6\text{H}_5\text{Na}_3\text{O}_7$ 및 분자량 500 내지 50,000, 바람직하게는 분자량 2000 내지 8000, 더 바람직하게는 분자량 2000의 디카복실 폴리(에틸렌 글리콜)로 이루어진 군에서 선택될 수 있다.
- [13] 본 발명에 따른 초상자성 나노복합체를 제조하는 방법에 있어서, 상기 환원제는 소듐 아세테이트, 소듐 아크릴레이트, 요소, 소듐 포메이트 및 암모늄 아세테이트로 이루어진 군에서 선택될 수 있다. 바람직하게는 상기 환원제는 소듐 아세테이트일 수 있다.
- [14] 본 발명에 따른 초상자성 나노복합체를 제조하는 방법에 있어서, 철전구체와 용매는 1:10 내지 1:300의 몰 비율, 바람직하게는 1:40 내지 1:200의 몰 비율로 혼합될 수 있다.
- [15] 본 발명에 따른 초상자성 나노복합체를 제조하는 방법에 있어서, 철전구체와 안정화제는 1:0.0000013 내지 1:1의 몰 비율, 바람직하게는 1:0.0000013 내지 1:0.8의 몰 비율로 혼합될 수 있다.
- [16] 본 발명에 따른 초상자성 나노복합체를 제조하는 방법에 있어서, 철전구체와 환원제는 1:1 내지 1:20의 몰 비율, 바람직하게는 1:3 내지 1:15의 몰 비율, 더 바람직하게는 1:7 내지 1:15의 몰 비율로 혼합될 수 있다.
- [17] 본 발명에 따른 초상자성 나노복합체를 제조하는 방법에 있어서, 상기 극성용매는 에탄올, 물, 메탄올, 아세톤, 액체암모니아, 아세트산에틸, 에테르, 테트라하이드로퓨란, 수산화칼륨, 수산화나트륨, 및 디클로로메탄로 이루어진 군에서 선택될 수 있다.
- [18] 본 발명에 따른 초상자성 나노복합체를 제조하는 방법에 있어서, 상기 합성된 초상자성 나노복합체를 분리하는 단계는 원심분리기 또는 자성을 이용하여 분리할 수 있다. 상기 합성된 초상자성 나노복합체를 분리하는 단계는 원심분리기 또는 자성을 이용하여 자성나노입자를 분리하는 방법은 통상적으로 사용하고 있는 방법들을 이용하여 수행될 수 있다.
- [19] 본 발명에 따른 초상자성 나노복합체를 제조하는 방법에 있어서, 상기 분리된 초상자성 나노복합체를 극성용매로 세척하는 단계는 상기 합성된 초상자성 나노복합체를 분리하는 단계에서 분리된 초상자성 나노복합체를 극성용매로 세척하여 불순물을 제거함으로써, 초상자성 나노복합체가 높은 안정성과 균일한 입자 분포도를 갖도록 하는 단계이다. 상기 극성용매는, 에탄올, 알코올, 액체암모니아, 아세톤, 메탄올, 클로로포름, 아세트산에틸, 에테르, 테트라하이드로퓨란, 수산화칼륨, 수산화나트륨, 디클로로메탄 및 물 중 어느 하나를 사용할 수 있다. 상기 분리된 초상자성 나노복합체를 극성용매로 세척하는 단계를 진행함에 있어, 극성용매로 3회 세척하는 것이 바람직하다. 이때 3회 세척하는 것에 국한되는 것이 아니라, 1회 내지 수회에 걸쳐 세척을 진행할 수도 있는바, 이와 같은 세척 횟수에 대한 단순 실시변형은 모두 본

발명의 범주에 속한다 할 것이다.

- [20] 한편, 상기 분리된 초상자성 나노복합체를 극성용매로 세척하는 단계를 진행하지 않은 상태로 초상자성 나노복합체를 제조해도 무방하나, 기 설명한 바와 같이 높은 안정성과 균일한 입자 분포도를 갖도록 하기 위해서는 상기 분리된 초상자성 나노복합체를 극성용매로 세척하는 단계를 진행함이 바람직하다. 상기 분리된 초상자성 나노복합체를 극성용매로 세척하는 단계는 통상적으로 사용하고 있는 방법들 중 어느 하나를 사용할 수 있다. 이때 상기 분리된 초상자성 나노복합체를 극성용매로 세척하는 단계는 통상적인 방법 중 하나인 원심분리기를 사용하는 방법으로 진행할 수도 있는바, 상기 합성된 초상자성 나노복합체를 분리하는 단계에서 초상자성 나노복합체를 분리하며 세척까지 완료하는 것은 본 발명의 범주에 속한다 할 것이다. 이는, 상기 합성된 초상자성 나노복합체를 분리하는 단계를 1차, 2차 등으로 구분하여 진행하며 분리와 세척을 함께 진행하는 단계로 이루어질 수 있기 때문이다.
- [21] 본 발명에 따른 초상자성 나노복합체를 제조하는 방법에 있어서, 상기 분리된 초상자성 나노복합체를 극성용매로 세척하는 단계는 상기 분리된 초상자성 나노복합체를 에탄올 용매를 이용하여 세척하는 단계 및 상기 에탄올 용매로 세척된 초상자성 나노복합체를 물 용매를 이용하여 세척하는 단계로 이루어질 수 있다. 상기 에탄올 용매를 이용하여 세척하는 단계는 용매 및 환원제를 용해하기 쉬운 극성용매인 에탄올 용매로 세척함으로써, 최종 제조된 초상자성 나노복합체가 표면 전하 등의 특성 측면에서 유리해질 수 있다. 또한, 상기 에탄올 용매로 세척된 초상자성 나노복합체를 물 용매를 이용하여 세척하는 단계는 생체 표적 물질 검출을 위한 자기 분리의 목적으로 사용하기 위해서는 탈이온수 수용액 분산을 시킬 수 있다는 측면에서 유리해질 수 있다.
- [22] 본 발명에 따른 초상자성 나노복합체를 제조하는 방법에 있어서, 상기 초상자성 나노복합체는 안정화제의 카르복실레이트(COO⁻) 기에 의해 수용액에서의 분산성이 조절될 수 있다.
- [23] 본 발명에 따른 초상자성 나노복합체를 제조하는 방법에 있어서, 상기 초상자성 나노복합체는 직경이 100 nm 내지 450 nm일 수 있다. 상기 초상자성 나노복합체는 직경이 바람직하게는 150 nm 내지 400nm 더 바람직하게는 200 nm 내지 350 nm일 수 있다.
- [24] 본 발명은 상기 초상자성 나노복합체를 제조하는 방법으로 제조되는 초상자성 나노복합체를 제공한다.
- [25] 본 발명에 따른 초상자성 나노복합체에 있어서, 초상자성 나노복합체는 직경이 100 nm 내지 450 nm일 수 있다. 상기 초상자성 나노복합체는 직경이 바람직하게는 150 nm 내지 400nm 더 바람직하게는 200 nm 내지 350 nm일 수 있다.
- [26] 본 발명에 따른 초상자성 나노복합체에 있어서, 상기 초상자성 나노복합체는 0초과 10nm 이하의 직경을 가지고 카르복실레이트(COO⁻) 기에 의해 표면이

안정화된 자성 나노 크리스탈을 포함하며, 복수 개의 자성 나노 크리스탈이 응집되어 직경이 100 nm 내지 450 nm인 나노클러스터화된 형태를 가지며 수용액에서 분산되는 친수성을 가질 수 있다. 상기 초상자성 나노복합체는 직경이 바람직하게는 150 nm 내지 400nm인 나노클러스터화된 형태 더 바람직하게는 200 nm 내지 350 nm인 나노클러스터화된 형태일 수 있다.

[27] 본 발명에 따른 초상자성 나노복합체에 있어서, 상기 자성 나노 크리스탈은 0초과 10nm 이하의 직경을 가지는 Fe_3O_4 일 수 있다.

[28] 본 발명은 0초과 10nm 이하의 직경을 가지고 카르복실레이트(COO-) 기에 의해 표면이 안정화된 Fe_3O_4 인 자성 나노 크리스탈을 포함하며, 복수 개의 자성 나노 크리스탈이 응집되어 직경이 100 nm 내지 450 nm인 나노클러스터화된 형태를 가지며 수용액에서 분산되는 친수성을 갖는 초상자성 나노복합체를 제공한다. 상기 초상자성 나노복합체는 직경이 바람직하게는 150 nm 내지 400nm인 나노클러스터화된 형태 더 바람직하게는 200 nm 내지 350 nm인 나노클러스터화된 형태일 수 있다.

발명의 효과

[29] 본 발명에 따른 초상자성 나노복합체의 제조방법은 기존의 자기분리용 자성나노입자의 제조방법에 비해 높은 수율로 복잡한 공정을 거치지 않고 빠른 속도로, 균일한 크기 및 입도분포를 가지고, 높은 수용액 분산성을 가지며, 초상자성을 유지하고 높은 자화도를 가지는 우수한 특성의 초상자성 나노복합체를 대량으로 제조할 수 있고, 상기 방법에 의해 제조된 초상자성 나노복합체는 초상자성을 유지하고 높은 자화도를 가지므로, 생체 표적 물질 검출을 위한 자기 분리의 목적으로 사용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[30] 도 1은 실시예 1 및 2에 따른 자성 나노 클러스터 형태의 초상자성 나노복합체(구체적으로, 초상자성 산화철 나노복합체)의 제조 방법을 나타낸 모식도이다.

[31] 도 2는 실시예 1 및 실시예 2의 초상자성 나노복합체들을 주사전자현미경으로 관찰한 결과를 나타낸 것이다.

[32] 도 3은 실시예 1의 초상자성 나노복합체의 크기 측정 결과를 나타낸 것이다.

[33] 도 4는 실시예 1의 초상자성 나노복합체의 제타전위 측정 결과를 나타낸 것이다.

[34] 도 5는 실시예 2의 초상자성 나노복합체의 크기 측정 결과를 나타낸 것이다.

[35] 도 6은 실시예 2의 초상자성 나노복합체의 제타전위 측정 결과를 나타낸 것이다.

[36] 도 7은 실시예 1의 초상자성 나노복합체의 자성도 측정 결과를 나타낸 것이다.

[37] 도 8은 실시예 2의 초상자성 나노복합체의 자성도 측정 결과를 나타낸 것이다.

[38] 도 9는 적혈구 포집 전 후의 튜브 사진과 포집된 초상자성 나노복합체,

상층액에 대한 현미경 이미지를 나타낸 것이다.

발명의 실시를 위한 최선의 형태

[39] 이하, 본 발명을 실시예 등을 이용하여 더욱 상세하게 설명한다. 그러나 하기 실시예 등은 본 발명을 예시하기 위한 것으로서, 본 발명은 하기 실시예 등에 의해 한정되지 않고 다양하게 수정 및 변경될 수 있다.

[40] 본 발명에서 초상자성 나노복합체는 수 나노미터 급(0 초과 10nm 이하의 직경을 가지는)의 단일의 자성입자 즉, 자성 나노 크리스탈이 클러스터의 형태로 덩어리화 된 100 내지 450 나노미터 급의 초상자성 입자, 바람직하게는 150 내지 400 나노미터 급, 더 바람직하게는 200 내지 350 나노미터 급의 초상자성 입자를 의미한다.

[41] 본 발명에서 상온은 온도를 승온하거나 감온하지 않고 작업자가 가장 편하게 반응할 수 있는 15 ~ 25°C를 의미하나 이에 국한되는 것이 아니다. 즉, 주변의 여건 및 환경에 따라 그 이하 또는 그 이상의 온도도 될 수 있다.

[42] 이때, 상기 초상자성은, 자기력을 이용하여 제어할 수 있고 자기력이 없으면 재분산이 될 수 있는 성질이므로, 초상자성 나노복합체는 초상자성을 갖는 자성나노입자를 요구하는 다양한 분야에 사용할 수 있다.

[43]

[44] 참조예 1. 재료 준비

[45] 아이언(III) 클로라이드 헥사하이드레이트 ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, ACS reagent, 97%, MW=270.30), 트리스-소듐 시트레이트 디하이드레이트 ($\text{HOC}(\text{COONa})(\text{CH}_2\text{COONa})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$; $\text{C}_6\text{H}_5\text{Na}_3\text{O}_7$, 99%, MW= 294.10), 소듐 아세테이트 언하이드러스 ($\text{C}_2\text{H}_3\text{NaO}_2$, MW= 82.03), 에틸렌 글리콜 언하이드러스($\text{C}_2\text{H}_6\text{O}_2$, 99.8%, MW= 62.07)는 Sigma-Aldrich사(St. Louis, MO, USA)로 구입하였으며, 디카복실 폴리(에틸렌 글리콜)(PEG-diacid; polyethylene glycol diacid)(COOH-PEG-COOH , MW= 2000)는 Jenkem Technology사(Beijing, China)로부터 구입하였다. 초순수 워터(nanopure H_2O ; >18.0 M Ω)는 Milli-Q water purification 시스템으로 정제하였다.

[46]

[47] 실시예 1. 초상자성 나노복합체의 제조 방법

[48] 실시예 1의 자성 나노 클러스터 형태의 초상자성 나노복합체(구체적으로, 초상자성 산화철 나노복합체)는 도 1에 도시된 방법으로 합성되었다.

[49] $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 1.08 g (0.1 M, 3.996 mmol)을 40 mL의 에틸렌 글리콜에 녹이고, 30분간 교반시켰다. 이후, 0.8 g (0.034 M, 2.720 mmol)의 트리스-소듐 시트레이트 디하이드레이트(Tri-sodium citrate dehydrate; TSC)를 상기 교반시킨 혼합물에 첨가한 뒤 다시 1시간 동안 900 rpm의 속도로 교반시켰다. 트리스-소듐 시트레이트가 완전히 녹은 것을 확인 한 후, 2.4 g (0.731 M, 58.515 mmol)의 소듐 아세테이트를 혼합물에 첨가하였고, 다시 30분간 900 rpm의

속도로 교반시켜 주었다. 이후 교반시킨 혼합물은 수열 합성용 테플론 튜브 (Teflon tube)에 담았고, 스테인레스 스틸 용기에 감싸 완전히 밀봉시킨 후 수열 합성기에 넣어 상온에서 200°C까지 분당 7°C 속도로 승온시켜 200°C를 유지시키면서 8시간 내지 12시간 반응을 시켰으며, 최고 온도(200°C)에 도달 후 밀봉된 합성 튜브 내의 내부 압력은 1.5 내지 2.5 바(bar)로 유지시켰다.

[50] 수열 합성기 반응을 통해 합성된 합성물은 상층액을 자성포집을 통해 제거 한 후, 합성된 입자는 30 mL의 에탄올에서 5회, 탈이온 수(deionized water)에서 5회 세척하였고, 세척 후 건조시켜 초상자성 나노복합체를 제조하였다. 상기 자성 포집은 네오디뮴(Neodymium) 영구자석에 샘플을 올려놓고, 입자를 모아서 상층액을 제거하는 식으로 입자를 분리하였다. 합성된 입자는 원심분리 방법으로도 분리될 수 있다.

[51]

[52] 도 1에 나타난 바와 같이, 트리스-소듐 시트레이트 디하이드레이트 분자의 카르복실레이트(COO-)기에 의해 표면이 안정화(즉, 트리스-소듐 시트레이트 디하이드레이트 분자의 카르복실레이트(COO-)기와 Fe-OH 간의 화학적 흡착(chemisorbing, anchoring))된 자성 나노 크리스탈, 즉, 자철석 나노 크리스탈(magnetite nanocrystal)들이 형성되고, 트리스-소듐 시트레이트 디하이드레이트 분자의 카르복실레이트(COO-)기에 의해 입자는 음전하로 정전 반발(electrostatic repulsion)을 형성하여 안정화된다. 한편, 자성 나노 크리스탈의 높은 표면 에너지를 줄이기 위해서 서로 응집되는 방향으로 표면장력이 동시에 작용하게 되는데, 상기 정전 반발과 표면장력의 균형을 통해서 균일한 크기의 초상자성 나노복합체가 형성되었다.

[53]

[54] 실시예 2. 초상자성 나노복합체의 제조 방법

[55] 실시예 1의 자성 나노 클러스터 형태의 초상자성 나노복합체(구체적으로, 초상자성 산화철 나노복합체)는 도 1에 도시된 방법으로 합성되었다.

[56] $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 2.16 g (0.2 M, 7.991 mmol)을 40 mL의 에틸렌 글리콜(Ethylene glycol)에 녹이고, 30분간 교반시켰다. 이후, 0.8 g (0.034 M, 2.720 mmol)의 PEG-diacid(분자량 2000의 polyethylene glycol diacid) 0.02g (0.25mM, 0.01mmol)를 상기 교반시킨 혼합물에 첨가한 뒤 다시 1시간 동안 교반시켰다. PEG-diacid가 완전히 녹은 것을 확인 한 후, 2.4 g (0.731 M, 58.515 mmol)의 소듐 아세테이트를 혼합물에 첨가하였고, 다시 30분간 교반시켜 주었다. 이후 교반시킨 혼합물은 수열 합성용 테플론 튜브 (Teflon tube)에 담았고, 스테인레스 스틸 용기에 감싸 완전히 밀봉시킨 후 수열 합성기에 넣어 상온에서 200°C까지 분당 7°C 속도로 승온시켜 200°C를 유지시키면서 8시간 내지 12시간 반응을 시켰으며, 최고 온도(200°C)에 도달 후 밀봉된 합성 튜브 내의 내부 압력은 1.5 내지 2.5 바(bar)로 유지시켰다.

[57] 수열 합성기 반응을 통해 합성된 합성물은 상층액을 자성포집을 통해 제거 한

후, 합성된 입자는 30 mL의 에탄올에서 5회, 탈이온 수(deionized water)에서 5회 세척하였고, 세척 후 건조시켜 자성 나노입자를 제조하였다. 상기 자성 포집은 네오디뮴(Neodymium) 영구자석에 샘플을 올려놓고, 입자를 모아서 상층액을 제거하는 식으로 입자를 분리하였다. 합성된 입자는 원심분리 방법으로도 분리될 수 있다.

- [58] 도 1에 나타난 바와 같이, PEG-diacid 분자의 카르복실레이트(COO) 기에 의해 표면이 안정화(즉, PEG-diacid 분자의 카르복실레이트(COO) 기와 Fe-OH 간의 화학적 흡착(chemisorbing, anchoring))된 자성 나노 크리스탈, 즉, 자철석 나노 크리스탈(magnetite nanocrystal)들이 형성되고, PEG-diacid 분자의 카르복실레이트(COO) 기에 의해 입자는 음전하로 정전 반발(electrostatic repulsion)을 형성하여 안정화된다. 한편, 자성 나노 크리스탈의 높은 표면에너지를 줄이기 위해서 서로 응집되는 방향으로 표면장력이 동시에 작용하게 되는데, 상기 정전 반발과 표면장력의 균형을 통해서 균일한 크기의 초상자성 나노복합체가 형성되었다.

[59]

[60] 실험예 1. 초상자성 나노복합체의 물리화학적 특성

[61] 1-1. 주사전자현미경(SEM, Scanning Electron Microscope)을 통한 초상자성 나노복합체의 형상 관찰

[62] 상기 실시예 1 및 실시예 2의 초상자성 나노복합체들을 주사전자현미경(SEM, Scanning Electron Microscope)(S-4700, Hitachi, Tokyo, Japan)을 통해 크기 및 형상을 관찰하였고, 그 결과를 도 2에 나타내었다.

[63] 도 2는 실시예 1 및 실시예 2의 초상자성 나노복합체들을 주사전자현미경으로 관찰한 결과를 나타낸 것이다.

[64] 도 2에 나타난 바와 같이, 주사전자현미경 이미지에서 나노크리스탈의 응집된 구조가 클러스터의 표면에서 관찰되고, 초상자성 나노복합체들의 입도는 실시예 1이 305.9 ± 24.7 nm, 실시예 2가 241.7 ± 20.1 nm 의 분포를 가짐을 확인하였다.

[65] 실시예 1 및 실시예 2의 초상자성 나노복합체들의 주사전자현미경 사진에서 확인할 수 있는 바와 같이, 초상자성 나노복합체들의 분포도 측정에서 상대적 표준 편차(relative standard deviation)가 15% 이내로 나오는 것을 확인할 수 있었다.

[66] 이 결과로부터, 실시예 1 및 실시예 2의 초상자성 나노복합체들이 균일한 크기 및 입도 분포를 가진다는 것을 확인할 수 있었다.

[67]

[68] 1-2. 초상자성 나노복합체들의 사이즈, 분포도 및 표면 제타 전위(Surface zeta-potential) 분석

[69] 실시예 1 및 실시예 2의 초상자성 나노복합체들의 사이즈, 분포도 및 표면 제타 전위는 동적 광산란 입도분석을 이용하는 제타사이저 (Malvern사, 모델명 Nano

ZS)를 이용하여 측정하였다.

[70] 실시예 1 및 실시예 2의 초상자성 나노복합체들의 평균 유체역학적 크기(hydrodynamic diameter), PDI(polydispersity index) {PDI = (입도의 표준편차/입도의 평균값)²} 및 표면 제타 전위(Surface zeta-potential)를 분석하였으며 (3회 반복 측정), 그 결과를 표 1 내지 2와 도 3 내지 6에 나타내었다.

[71] 구체적으로, 표 1 및 2는 각각 실시예 1 및 2의 초상자성 나노복합체들의 평균 유체역학적 크기, PDI 및 표면 제타 전위 결과를 나타낸 것이다. 도 3은 실시예 1의 초상자성 나노복합체의 크기 측정 결과를 나타낸 것이며, 도 4는 실시예 1의 초상자성 나노복합체의 제타전위 측정 결과를 나타낸 것이고, 도 5는 실시예 2의 초상자성 나노복합체의 크기 측정 결과를 나타낸 것이며, 도 6은 실시예 2의 초상자성 나노복합체의 제타전위 측정 결과를 나타낸 것이다.

[72] [표 1]

[73]

구분	크기(nm)	PDI	제타전위(mV)
1차 측정	255.8	0.067	-15.4
2차 측정	254.3	0.086	-15.0
3차 측정	252.6	0.066	-15.0
평균	254.2	0.073	-15.1

[74] [표 2]

[75]

구분	크기(nm)	PDI	제타전위(mV)
1차 측정	268.7	0.100	+24.3
2차 측정	273.1	0.136	+25.7
3차 측정	273.4	0.077	+26.0
평균	271.7	0.104	+25.3

[76] 측정된 실시예 1 및 실시예 2의 초상자성 나노복합체들의 PDI는 수치에 따라 다음과 같이 0~0.1 매우 우수한 단분산 샘플(nearly monodisperse sample), 0.1~0.7 중간 범위의 다분산(Mid-range polydisperse), >0.7 침강(Sedimentation)로 판단할 수 있는데, 실시예 1 및 실시예 2의 PDI 값은 0.073 및 0.104인 바, 0.1 미만 내지 약 0.1에 해당하므로, 아주 우수한 단분산성을 가지는 것을 확인할 수 있었다. 다시 말해, 실시예 1 및 실시예 2의 초상자성 나노복합체들은 균일한 크기와 입도 분포를 가진다는 것을 확인할 수 있었다.

[77] 또한, 실시예 1 및 2의 초상자성 나노복합체들의 제타전위는 각각 -15.1 mV 및 +25.3 mV 인바, $\pm 10\text{-}30$ mV 범위의 제타전위에 해당하는데, 이는 정전기적 척력에 의해 초상자성 나노복합체 입자들이 잘 분산 되어질 수 있는 범위로 판단할 수 있었다. 실시예 1 및 2의 초상자성 나노복합체들은 카르복실레이트(COO)기에 의해 안정화됨으로써, $\pm 10\text{-}30$ mV 범위의 제타전위를 가져 수용액 분산성이 우수한 것을 확인할 수 있었다.

[78]

[79] **1-3. 초상자성 나노복합체들의 자성도 분석**

[80] 본 발명에 따른 실시예 1 및 실시예 2의 초상자성 나노복합체가 초상자성 특성을 가지면서도 높은 자화도를 가져 자기분리용으로 이용되기 위한 우수한 분리력을 가지는지를 확인 하기 위하여, 초전도 양자간섭 소자를 이용하여 자성도 측정을 하였으며, 그 결과도 도 7 및 도 8에 나타내었다. 도 7 및 도 8은 초상자성 나노복합체의 자기 이력 곡선 (magnetic hysteresis loop)으로, 자성도 측정 결과를 나타낸다.

[81] 도 7 및 도 8에 나타난 바와 같이, 실시예 1 및 실시예 2의 초상자성 나노복합체는 300K의 온도에서 초상자성을 나타내었으며, 실시예 1은 76 emu/g, 실시예 2는 87 emu/g 의 포화 자화 값을 나타내었다.

[82] 강자성체의 경우 잔류 자화도가 높아 반복적으로 외부 자장에 의해 영향을 받을 경우, 입자의 응집이 강력하게 일어날 수 있기 때문에, 자성나노입자 기반 분리 기술로의 응용에 적합 하지 않는다. 그러나, 일반적으로 상온에서 자성체들이 초상자성을 유지하는 것은 어렵고, 특히 어떤 구조체의 자성체 및 자성 복합체이든, 단일 도메인(single domain)들을 어떻게 잘 조절 하느냐에 따라 쉽게 초상자성-강자성 전이(superpara-ferromagnetism transition)가 일어난다. 본 발명에 따른 실시예 1 및 실시예 2의 초상자성 나노복합체는 초상자성 나노 크리스탈 단위체 수만개가 응집(clustrer)되었음에도, 최종 응집체인 200~300 nm급 초상자성 나노복합체가 강자성 전이(ferromagnetism transition)를 일으키지 않고 초상자성(superparamagnetism)을 잘 유지하는 것을 확인 할 수 있었다.

[83] 또한, 본 발명에 따른 실시예 1 및 실시예 2의 초상자성 나노복합체는 높은 자화도를 가져 자기분리용으로 이용되기 위한 우수한 분리력을 가지는 것을 확인할 수 있었다.

[84]

[85] **실험예 2. 초상자성 나노복합체의 자기 분리능 분석**

[86] **2-1. 초상자성 나노복합체를 이용한 전혈 (Whole blood)에서의 적혈구(RBCs, Red blood cells) 포집 실험**

[87] 실시예 1의 초상자성 나노복합체의 자기 분리능을 확인 하기 위해, 전혈 혈액 내에서 적혈구만 포집하여 분리 후 분리능을 확인하는 실험을 진행하였다.

[88] 자성 나노 크리스탈이 나노클러스터화된 실시예 1의 초상자성 나노복합체의 표면에 항적혈구 항체(anti RBC antibody; anti-red blood cell antibody)(Fitzgerald,

Human RBC antibody, Cat# 20R-RR006)를

EDC(1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)-carbodiimide)/Sulfo-NHS(N-hydroxysulfosuccinimide) 매개 공유결합 유도의 방법으로 자성입자에 항체기능화 하였다. 우선 10 mg/500 μ L의 초상자성 나노복합체 입자에 10 mg/mL의 EDC와 sulfo-NHS 50 μ L를 넣어준 뒤, 상온에서 15분간 섞어 주었다. 그런 뒤, 1 mg의 항적혈구 항체와 섞어주고, 상온에서 2시간 동안 섞어준 뒤, PBS(Phosphate-buffered saline) 완충제(pH 7.4)로 5회 세척해 주었다. 항적혈구 항체로 기능화된 초상자성 나노복합체 0.5 mg/ 25 μ L의 PBS-완충제(pH 7.4)를 25 μ L의 전혈 샘플에 섞어준 뒤, 상온에서 5분간 반응 후 자석 포집을 하여 항적혈구 항체로 기능화된 초상자성 나노복합체를 분리 시켰다. 이후, 포집된 항적혈구 항체로 기능화된 초상자성 나노복합체와 상층액을 현미경 측정을 통해 관찰하여 적혈구의 수를 확인하였고, 하기 수학식 1에 따라 적혈구의 분리능(%)을 계산하였으며, 그 결과를 도 9에 나타내었다.

- [89] 도 9는 적혈구 포집 전 후의 튜브 사진과 포집된 초상자성 나노복합체, 상층액에 대한 현미경 이미지를 나타낸 것이다.
- [90] [수학식 1]
- [91] 적혈구의 분리능(%) = 포집 적혈구 수 / (포집 적혈구 수 + 미 포집 적혈구 수) X 100
- [92]
- [93] 도 9에 나타난 바와 같이, 전혈 샘플과 항적혈구 항체로 기능화 된 초상자성 나노복합체가 섞여 있는 왼쪽 튜브 사진에서 적혈구는 초상자성 나노복합체 표면의 항체와 특이적으로 반응하여 포획되고, 외부 자장에 의해 자성입자만 분리 해주면, 초상자성 나노복합체에 의해 포집하게 되어서, 붉은 색의 전혈이 투명하게 보이게 됨을 확인하였다. 포집된 적혈구와 항체에 의해 적혈구와 결합한 초상자성 나노복합체를 현미경으로 관찰 하면, 적혈구(열은 색)와 초상자성 나노복합체(상대적으로 짙은 검은 색 부분)가 잘 결합되어 있는 형상을 관찰 할 수 있고, 적혈구만 따로 존재하는 부분은 관찰 되지 않음을 확인하였다. 반면에, 상층액의 현미경 이미지는 적혈구의 형상이 관찰되지 않는 것을 대조적으로 확인하였다.
- [94] 상기의 수학식 1을 통해서 계산된 초상자성 나노복합체의 적혈구 분리능은 99.5% 였다. 이로서 자성입자를 이용해, 5분의 짧은 반응시간만으로 비표적 면역 글로불린이 과량으로 존재하는 전혈 혈액 내에서도 표적인 적혈구만 특이적으로 포획하여, 신속히 분리해 낼 수 있음을 확인 하였다.

청구범위

- [청구항 1] 철전구체, 용매, 안정화제 및 환원제를 혼합하는 단계;
 상기 혼합하는 단계에서 혼합된 용액을 150 ~ 300°C의 온도 및 1.5 ~ 10 바(bar)의 압력 조건에서 수열 합성하여 나노클러스터화된 형태의 초상자성 나노복합체를 합성하는 단계; 및
 합성된 초상자성 나노복합체를 분리하는 단계를 포함하며,
 상기 안정화제는 카르복시기를 가지는 화합물이고,
 상기 초상자성 나노복합체는 0초과 10nm 이하의 직경을 가지고
 카르복실레이트(COO-) 기에 의해 표면이 안정화된 자성 나노 크리스탈을 포함하며, 복수 개의 자성 나노 크리스탈이 응집되어 직경이 100 nm 내지 450 nm 인 나노클러스터화된 형태를 가지며 수용액에서 분산되는 친수성을 갖는 초상자성 나노복합체를 제조하는 방법.
- [청구항 2] 제1항에 있어서, 상기 분리된 초상자성 나노복합체를 극성용매로 세척하는 단계를 더 포함하는 초상자성 나노복합체를 제조하는 방법.
- [청구항 3] 제1항에 있어서, 상기 혼합하는 단계에서 혼합된 용액을 200 ~ 240°C의 온도 및 1.5 ~ 6 바(bar)의 압력 조건에서 수열 합성하여 나노클러스터화된 형태의 초상자성 나노복합체를 합성하는 것인 초상자성 나노복합체를 제조하는 방법.
- [청구항 4] 제1항에 있어서, 상기 철전구체는 염화철육수화물($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), 염화철(II), 염화철사수화물(II), 염화철(III) 및 질산철 구수화물($\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$)로 이루어진 군에서 선택된 초상자성 나노복합체를 제조하는 방법.
- [청구항 5] 제1항에 있어서, 상기 용매는 에틸렌 글리콜, 디 에틸렌 글리콜, 트리 에틸렌 글리콜, 테트라 에틸렌 글리콜, 디 프로필렌 글리콜 및 글리세롤로 이루어진 군에서 선택된 초상자성 나노복합체를 제조하는 방법.
- [청구항 6] 제1항에 있어서, 상기 안정화제는 트리스-소듐 시트레이트 디하이드레이트 ($\text{HOC}(\text{COONa})(\text{CH}_2\text{COONa})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$; $\text{C}_6\text{H}_5\text{Na}_3\text{O}_7$ 및 분자량 500 내지 50,000의 디카복실 폴리(에틸렌 글리콜)로 이루어진 군에서 선택된 초상자성 나노복합체를 제조하는 방법.
- [청구항 7] 제1항에 있어서, 상기 환원제는 소듐 아세테이트, 소듐 아크릴레이트, 요소, 소듐 포메이트 및 암모늄 아세테이트로 이루어진 군에서 선택된 초상자성 나노복합체를 제조하는 방법.
- [청구항 8] 제1항에 있어서, 철전구체와 용매는 1 : 10 내지 1 : 300의 몰 비율로 혼합되는 것인 초상자성 나노복합체를 제조하는 방법.
- [청구항 9] 제1항에 있어서, 철전구체와 안정화제는 1 : 0.0000013 내지 1 : 1의 몰 비율로 혼합되는 것인 초상자성 나노복합체를 제조하는 방법.
- [청구항 10] 제1항에 있어서, 철전구체와 환원제는 1 : 1 내지 1 : 20의 몰 비율로 혼합된 것인 초상자성 나노복합체를 제조하는 방법.

- [청구항 11] 제2항에 있어서, 상기 극성용매는 에탄올, 물, 메탄올, 아세톤, 액체암모니아, 아세트산에틸, 에테르, 테트라하이드로퓨란, 수산화칼륨, 수산화나트륨, 및 디클로로메탄로 이루어진 군에서 선택된 초상자성 나노복합체를 제조하는 방법.
- [청구항 12] 제2항에 있어서, 상기 분리된 초상자성 나노복합체를 극성용매로 세척하는 단계는 상기 분리된 초상자성 나노복합체를 에탄올 용매를 이용하여 세척하는 단계 및 상기 에탄올 용매로 세척된 초상자성 나노복합체를 물 용매를 이용하여 세척하는 단계로 이루어진 초상자성 나노복합체를 제조하는 방법.
- [청구항 13] 제1항에 있어서, 상기 초상자성 나노복합체는 안정화제의 카르복실레이트(COO)기에 의해 수용액에서의 분산성이 조절되는 초상자성 나노복합체를 제조하는 방법.
- [청구항 14] 제1항의 제조방법으로 제조되는 0초과 10nm 이하의 직경을 가지고 카르복실레이트(COO)기에 의해 표면이 안정화된 자성 나노 크리스탈을 포함하며, 복수 개의 자성 나노 크리스탈이 응집되어 직경이 100 nm 내지 450 nm 인 나노클러스터화된 형태를 가지며 수용액에서 분산되는 친수성을 갖는 초상자성 나노복합체.
- [청구항 15] 제14항에 있어서, 상기 자성 나노 크리스탈은 0초과 10nm 이하의 직경을 가진 Fe_3O_4 인 초상자성 나노복합체.
- [청구항 16] 0초과 10nm 이하의 직경을 가지고 카르복실레이트(COO)기에 의해 표면이 안정화된 Fe_3O_4 인 자성 나노 크리스탈을 포함하며, 복수 개의 자성 나노 크리스탈이 응집되어 직경이 100 nm 내지 450 nm인 나노클러스터화된 형태를 가지며 수용액에서 분산되는 친수성을 갖는 초상자성 나노복합체.

[도 1]

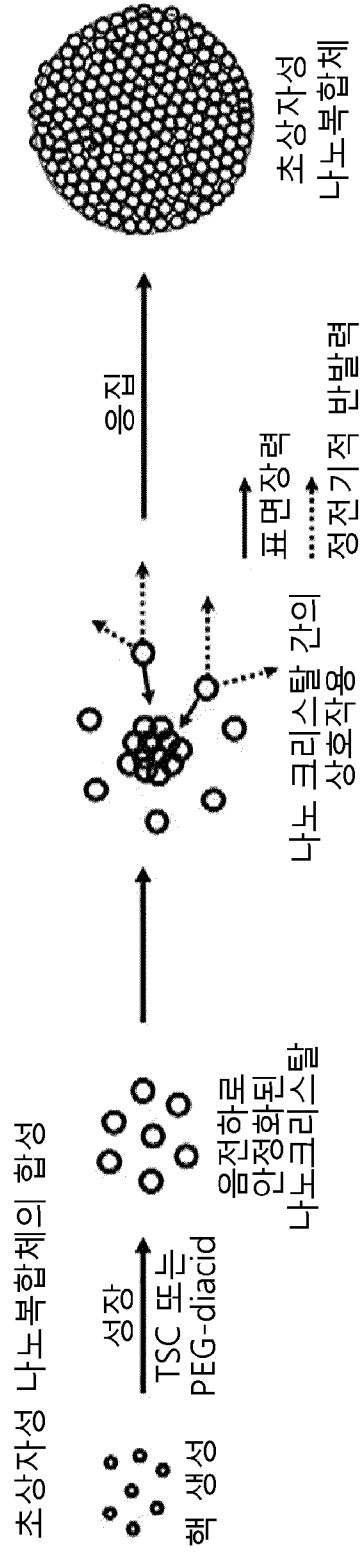
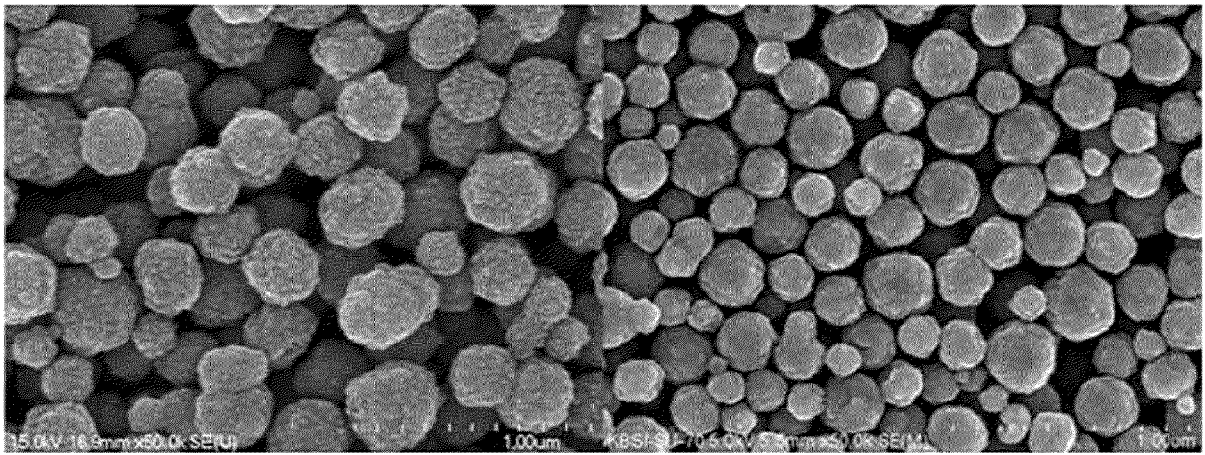


FIG. 1

[도2]



실시예 1

실시예 2

FIG. 2

[도3]

입도 분포

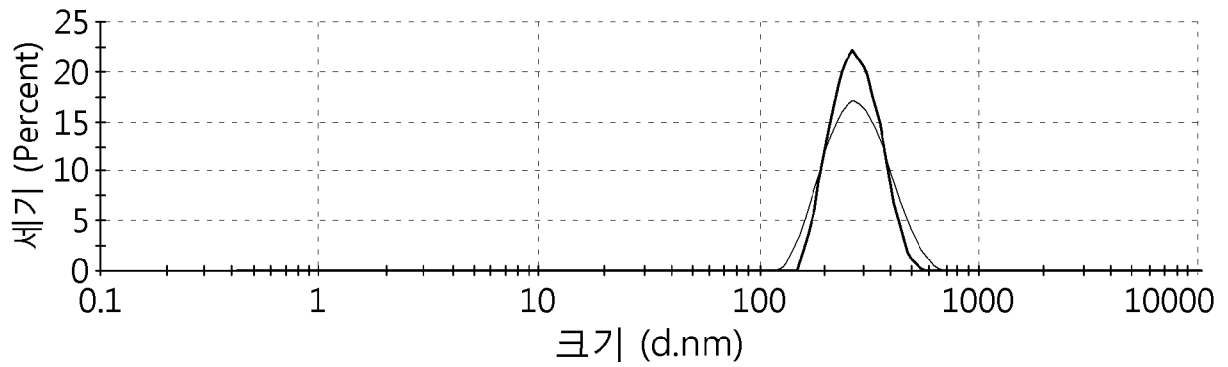


FIG. 3

[도4]

제타 전위 분포

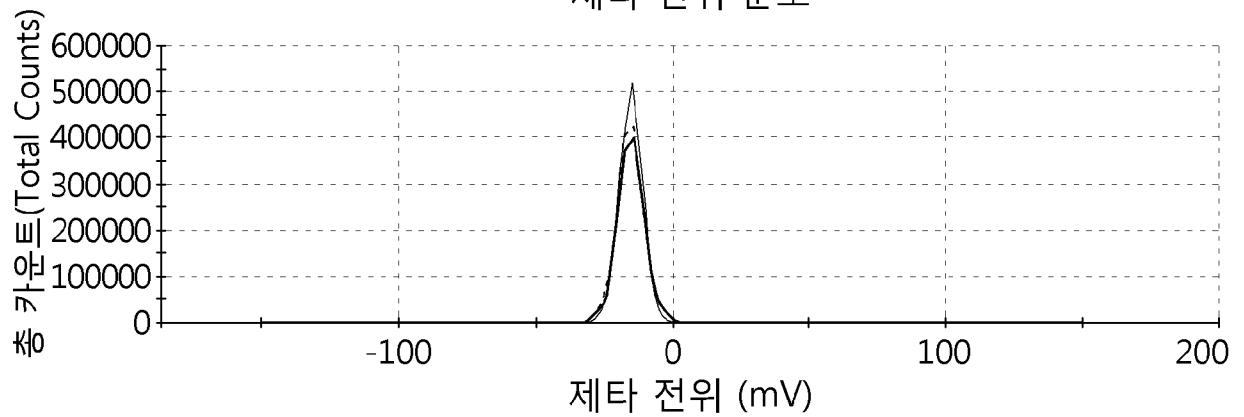
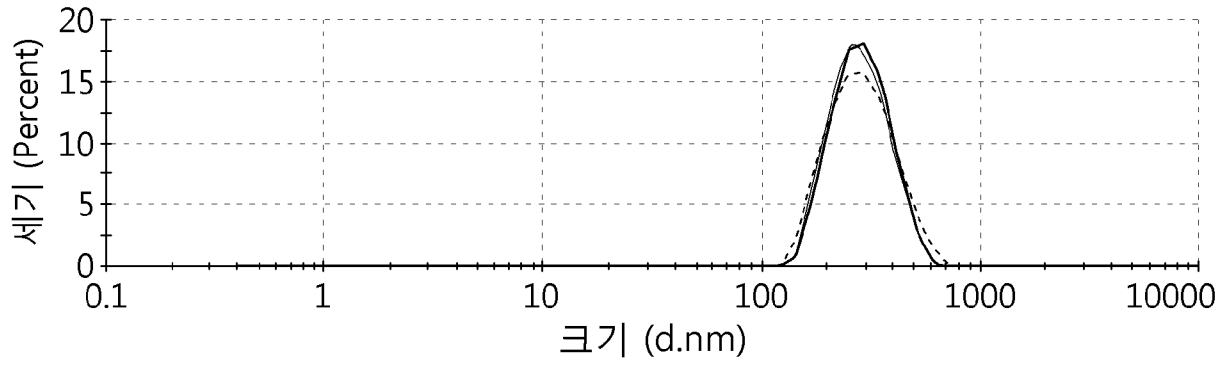


FIG. 4

[도5]

입도 분포

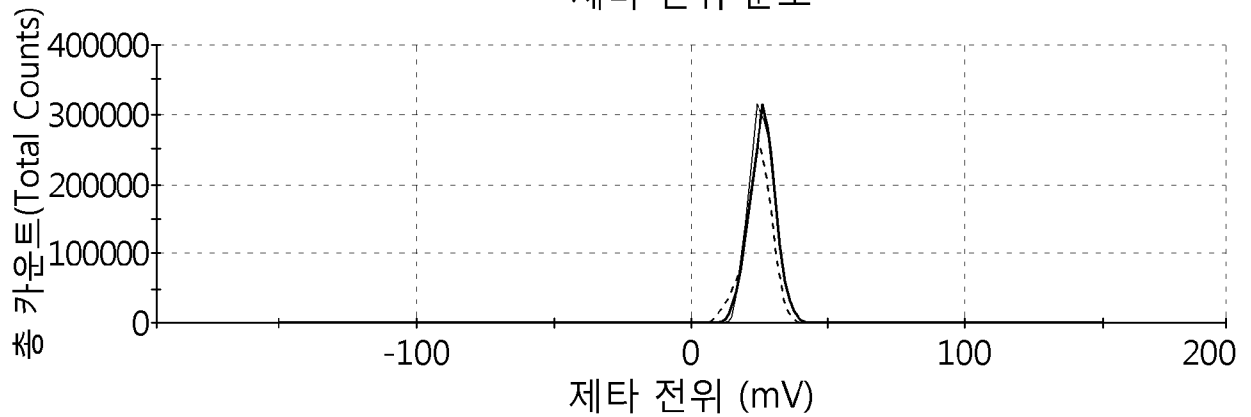


- Record 1: L-X-38_bare(PEG 2000) 1
- Record 2: L-X-38_bare(PEG 2000) 2
- Record 3: L-X-38_bare(PEG 2000) 3

FIG. 5

[도6]

제타 전위 분포



- Record 4: L-X-38_bare(PEG 2000) 1
- Record 5: L-X-38_bare(PEG 2000) 2
- Record 6: L-X-38_bare(PEG 2000) 3

FIG. 6

[도7]

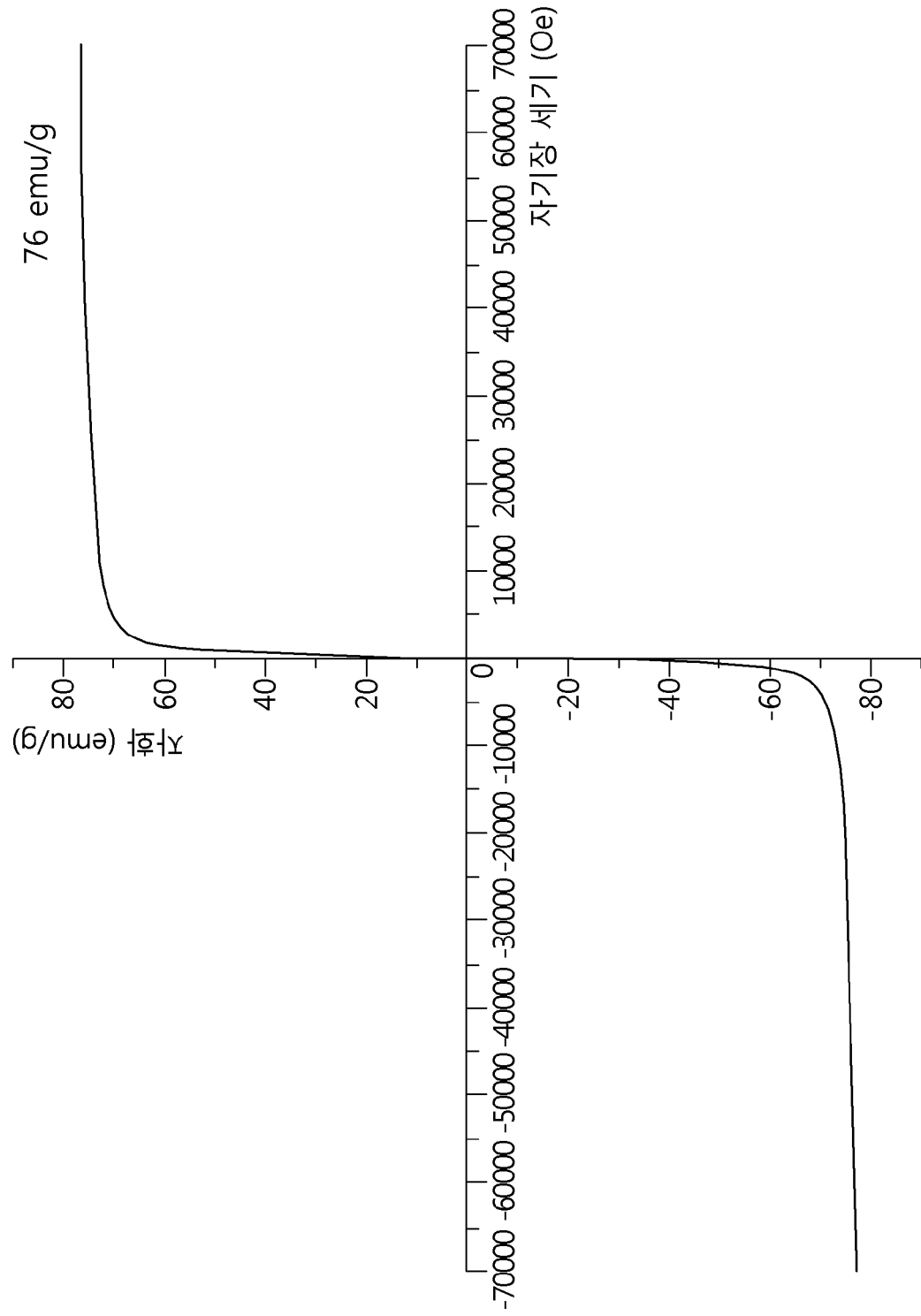


FIG. 7

[도8]

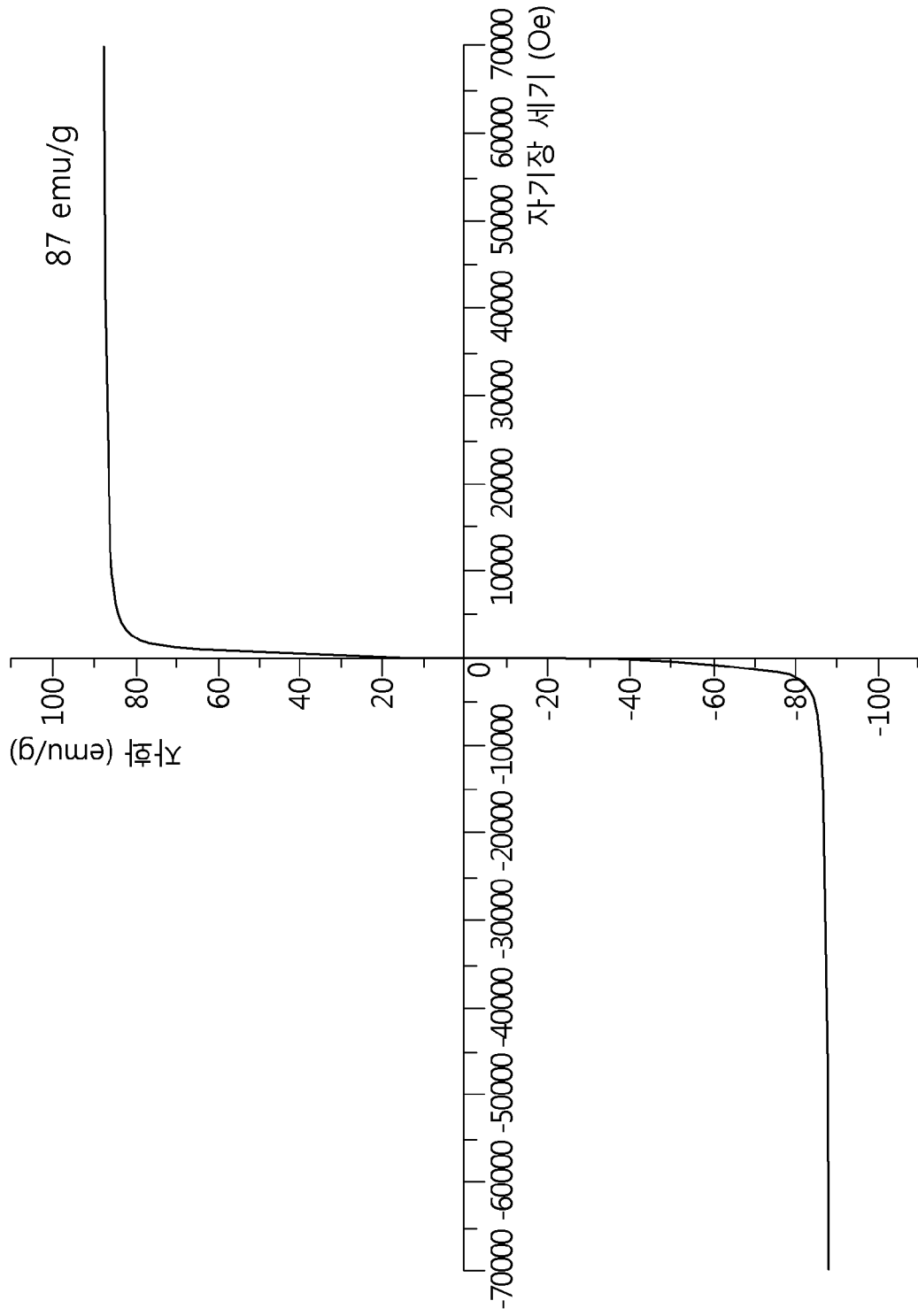


FIG. 8

[도9]

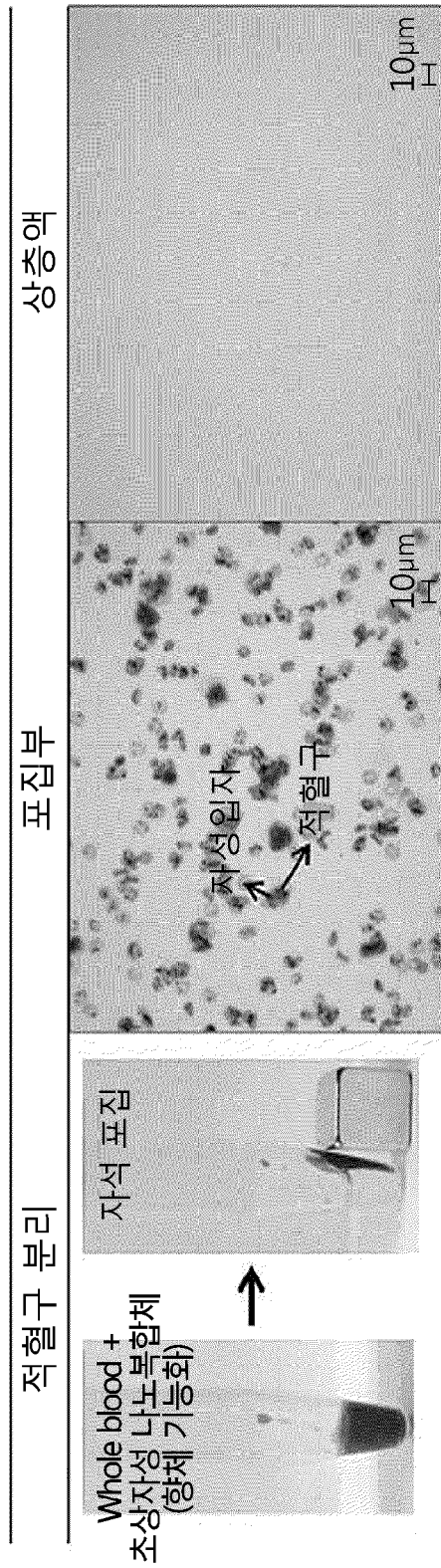


FIG. 9

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2017/008740

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

H01F 41/02(2006.01)i, H01F 1/20(2006.01)i, B82B 1/00(2006.01)i, B82B 3/00(2006.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

H01F 41/02; H01F 1/11; B82Y 40/00; B82B 3/00; C01G 49/02; B22F 1/00; B22F 9/24; H01F 1/20; B82B 1/00

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Korean Utility models and applications for Utility models: IPC as above

Japanese Utility models and applications for Utility models: IPC as above

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

eKOMPASS (KIPO internal) & Keywords: magnetic, magnet, ferrite, magnet, iron, nano, hydrothermal, pressure

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	KR 10-2014-0122223 A (GOSHEN BIO BEAD CORP.) 17 October 2014 See claim 1 and figure 1.	1-16
A	KR 10-2012-0035013 A (KOREA RESEARCH INSTITUTE OF CHEMICAL TECHNOLOGY) 13 April 2012 See claim 8 and figure 1.	1-16
A	KR 10-2012-0017556 A (NATIONAL CANCER CENTER) 29 February 2012 See paragraphs [0020]-[0026] and figure 1.	1-16
A	KR 10-2012-0128050 A (GANGNEUNG-WONJU NATIONAL UNIVERSITY INDUSTRY ACADEMY COOPERATION GROUP) 26 November 2012 See paragraphs [0042]-[0045] and figure 1.	1-16
A	KR 10-2010-0044432 A (SOGANG UNIVERSITY RESEARCH FOUNDATION) 30 April 2010 See the entire document.	1-16



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

20 NOVEMBER 2017 (20.11.2017)

Date of mailing of the international search report

20 NOVEMBER 2017 (20.11.2017)

Name and mailing address of the ISA/KR

Korean Intellectual Property Office
Government Complex-Daejeon, 189 Sconsa-ro, Daejeon 302-701,
Republic of Korea

Facsimile No. +82-42-481-8578

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/KR2017/008740

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member	Publication date
KR 10-2014-0122223 A	17/10/2014	KR 10-1516345 B1 WO 2014-142378 A1	04/05/2015 18/09/2014
KR 10-2012-0035013 A	13/04/2012	KR 10-1253765 B1	12/04/2013
KR 10-2012-0017556 A	29/02/2012	JP 2012-044130 A KR 10-1244140 B1 US 2012-0045399 A1	01/03/2012 14/03/2013 23/02/2012
KR 10-2012-0128050 A	26/11/2012	KR 10-1227090 B1	28/01/2013
KR 10-2010-0044432 A	30/04/2010	KR 10-1064353 B1	14/09/2011

A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC)) H01F 41/02(2006.01)i, H01F 1/20(2006.01)i, B82B 1/00(2006.01)i, B82B 3/00(2006.01)i		
B. 조사된 분야 조사된 최소문헌(국제특허분류를 기재) H01F 41/02; H01F 1/11; B82Y 40/00; B82B 3/00; C01G 49/02; B22F 1/00; B22F 9/24; H01F 1/20; B82B 1/00 조사된 기술분야에 속하는 최소문헌 이외의 문헌 한국등록실용신안공보 및 한국공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC 일본등록실용신안공보 및 일본공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC		
국제조사에 이용된 전산 데이터베이스(데이터베이스의 명칭 및 검색어(해당하는 경우)) eKOMPASS(특허청 내부 검색시스템) & 키워드: 자성, 자석, 페라이트, 마그네트, 철, 나노, 수열, 압력		
C. 관련 문헌		
카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
A	KR 10-2014-0122223 A (고센바이오비드 주식회사) 2014.10.17 청구항 1 및 도면 1 참조.	1-16
A	KR 10-2012-0035013 A (한국화학연구원) 2012.04.13 청구항 8 및 도면 1 참조.	1-16
A	KR 10-2012-0017556 A (국립암센터) 2012.02.29 단락 [0020]-[0026] 및 도면 1 참조.	1-16
A	KR 10-2012-0128050 A (강릉원주대학교산학협력단) 2012.11.26 단락 [0042]-[0045] 및 도면 1 참조.	1-16
A	KR 10-2010-0044432 A (서강대학교산학협력단) 2010.04.30 전문 참조.	1-16
<input type="checkbox"/> 추가 문헌이 C(계속)에 기재되어 있습니다. <input checked="" type="checkbox"/> 대응특허에 관한 별지를 참조하십시오.		
* 인용된 문헌의 특별 카테고리: “A” 특별히 관련이 없는 것으로 보이는 일반적인 기술수준을 정의한 문헌 “E” 국제출원일보다 빠른 출원일 또는 우선일을 가지나 국제출원일 이후에 공개된 선출원 또는 특허 문헌 “L” 우선권 주장에 의문을 제기하는 문헌 또는 다른 인용문헌의 공개일 또는 다른 특별한 이유(이유를 명시)를 밝히기 위하여 인용된 문헌 “O” 구두 개시, 사용, 전시 또는 기타 수단을 언급하고 있는 문헌 “P” 우선일 이후에 공개되었으나 국제출원일 이전에 공개된 문헌 “T” 국제출원일 또는 우선일 후에 공개된 문헌으로, 출원과 상충하지 않으며 발명의 기초가 되는 원리나 이론을 이해하기 위해 인용된 문헌 “X” 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌 하나만으로 청구된 발명의 신규성 또는 진보성이 없는 것으로 본다. “Y” 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌이 하나 이상의 다른 문헌과 조합하는 경우로 그 조합이 당업자에게 자명한 경우 청구된 발명은 진보성이 없는 것으로 본다. “&” 동일한 대응특허문헌에 속하는 문헌		
국제조사의 실제 완료일 2017년 11월 20일 (20.11.2017)	국제조사보고서 발송일 2017년 11월 20일 (20.11.2017)	
ISA/KR의 명칭 및 우편주소  대한민국 특허청 (35208) 대전광역시 서구 청사로 189, 4동 (둔산동, 정부대전청사) 팩스 번호 +82-42-481-8578	심사관 이동욱 전화번호 +82-42-481-8163	

국제조사보고서에서 인용된 특허문헌	공개일	대응특허문헌	공개일
KR 10-2014-0122223 A	2014/10/17	KR 10-1516345 B1 WO 2014-142378 A1	2015/05/04 2014/09/18
KR 10-2012-0035013 A	2012/04/13	KR 10-1253765 B1	2013/04/12
KR 10-2012-0017556 A	2012/02/29	JP 2012-044130 A KR 10-1244140 B1 US 2012-0045399 A1	2012/03/01 2013/03/14 2012/02/23
KR 10-2012-0128050 A	2012/11/26	KR 10-1227090 B1	2013/01/28
KR 10-2010-0044432 A	2010/04/30	KR 10-1064353 B1	2011/09/14