



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2016-0142976
(43) 공개일자 2016년12월14일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C09K 11/02 (2006.01) C08L 83/04 (2006.01)
C09K 11/06 (2006.01)
(52) CPC특허분류
C09K 11/02 (2013.01)
C08L 83/04 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2015-0078917
(22) 출원일자 2015년06월04일
심사청구일자 2015년06월04일

(71) 출원인
건양대학교산학협력단
충청남도 논산시 대학로 121 (내동)
(72) 발명자
김도경
대전광역시 서구 관저북로 87 원앙마을1단지아파트 106동 1903호
김민철
서울특별시 용산구 이촌로64길 15 LG한강자이아파트 103동 1202호
(74) 대리인
김대영

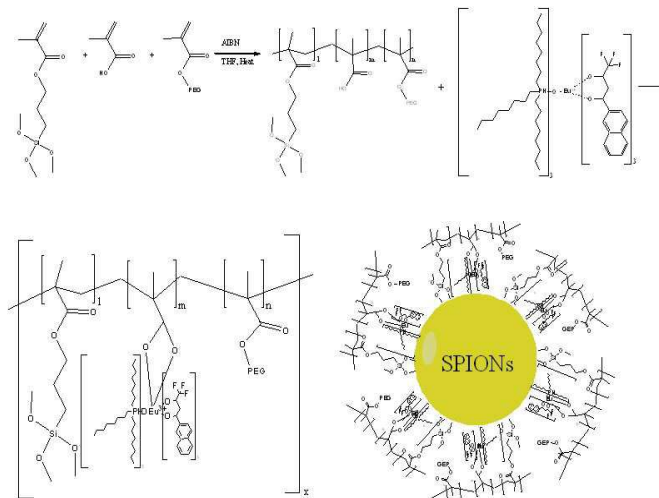
전체 청구항 수 : 총 7 항

(54) 발명의 명칭 란타나이드 금속착제 및 실리콘이 포함된 수용성 고분자로 코팅된 형광나노입자 제조방법

(57) 요약

본 발명은 (a) 실리콘계 화합물 및 수용성 고분자를 포함하는 공중합체를 합성하는 단계, (b) 나노입자의 코어물질을 제조하는 단계, (c) 란타나이드 금속착제를 제조하는 단계, (d) 상기 (a) 및 (c) 단계에서 얻어진 각각의 물질을 질량대비 1:0.2 내지 1:0.5로 혼합하여 혼합물을 (b) 단계에서 얻어진 코어물질과 질량대비 (혼합물:코어물질) 1:0.5 내지 1:1로 혼합하여 코팅하는 단계 및 (e) 상기 (d)에서 얻어진 입자에 열을 가하여 가교결합하는 단계의 형광 나노입자 및 이의 제조방법을 제공한다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

C09K 11/06 (2013.01)

C09K 2211/18 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

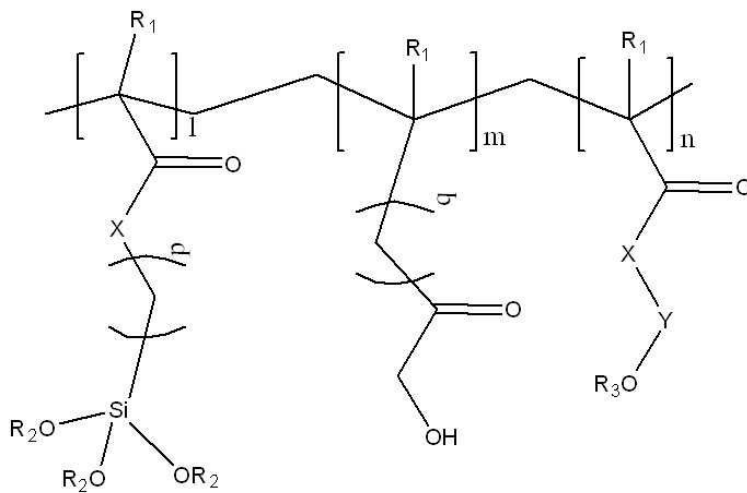
- (a) 실리콘계 화합물 및 수용성 고분자를 포함하는 공중합체를 합성하는 단계;
 (b) 나노입자의 코어물질을 제조하는 단계;
 (c) 란타나이드 금속착제를 제조하는 단계;
 (d) 상기 (a) 및 (c) 단계에서 얻어진 각각의 물질을 질량대비 1:0.2 내지 1:0.5로 혼합하여 합성 고분자와 (b) 단계에서 얻어진 코어물질과 질량대비 (혼합물:코어물질) 1:0.5 내지 1:1로 혼합하여 코팅하는 단계; 및
 (e) 상기 (d)에서 얻어진 입자에 열을 가하여 가교결합하는 단계; 를 포함하는 것을 특징으로 하는 형광 나노입자.

청구항 2

제 1 항에 있어서,

상기 (a) 단계에서 실리콘계 화합물 및 수용성 고분자를 포함하는 공중합체는 하기 [화학식 1]인 것을 특징으로 하는 형광 나노입자.

[화학식 1]



상기 화학식 1에서,

R₁ 내지 R₃는 각각 서로 동일하거나 상이하고, 서로 독립적으로 수소, 탄소수 1 내지 5의 알킬기 중에서 선택되며;

X는 산소, 황, 질소 중에서 선택되는 어느 하나이며;

Y는 폴리에틸렌글리콜, 텍스트란, 폴리비닐피롤리돈, 폴리프로필렌글리콜, 폴리에틸렌글리콜 중에서 선택되는 어느 하나이며;

l, m 및 n은 1내지 10,000의 정수이며,

p 및 q는 1-20의 정수이다.

청구항 3

제 1 항에 있어서,

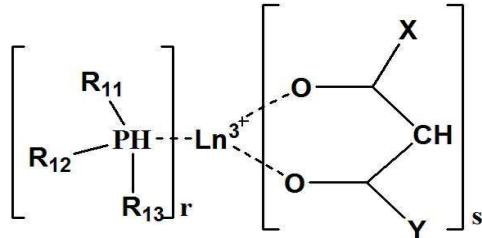
상기 (b) 단계에서 코어물질은 초상자성 산화철 나노입자 또는 폴리스타일렌, 폴리메틸 메타크레이트, 실리카, 다공성실리카, 지르코니아, 티타니아 중에서 선택되는 어느 하나인 것을 특징으로 하는 형광 나노입자.

청구항 4

제 1 항에 있어서,

상기 (C) 단계에서 란타나이드 금속착제는 하기 [화학식 2]인 것을 특징으로 하는 형광 나노입자.

[화학식 2]



상기 화학식 2에서,

R_{11} 내지 R_{13} 은 각각 서로 동일하거나 상이하고, 서로 독립적으로 수소, 탄소수 1 내지 20의 알킬기, 페닐기 중에서 선택되는 어느 하나이고,

X는 탄소수 6 내지 50의 방향족 탄화수소 고리, 탄소수 3 내지 40의 방향족 헤테로고리 중에서 선택되는 어느 하나이고,

Y는 탄소수 1 내지 10의 플루오로탄화수소이고,

Ln은 란타나이드족 희토류 원소 중 선택되는 어느 하나이며,

r 및 s는 1 내지 6의 정수이다.

청구항 5

제 3 항에 있어서,

상기 초상자성 산화철 나노입자는 산화철(II), 산화철(III), 코발트 페라이트, 징크 페라이트, 니켈 페라이트, 망간 페라이트, 철, 코발트, 니켈, 망간, FeAu, FePt, CoNi 중에서 선택되는 어느 하나인 것을 특징으로 하는 형광 나노입자.

청구항 6

제 2 항에서,

상기 [화학식 1]에서 주골격은 폴리아크릴산, 폴리아크릴산 유도체, 폴리메타아크릴산, 폴리메타아크릴산 유도체, 폴리아크릴아미드, 폴리아크릴아미드 유도체, 폴리엔테세노산, 폴리엔테세노산 유도체 및 이들의 공중합체 중에서 선택되는 어느 하나 이상인 것을 특징으로 하는 형광 나노입자.

청구항 7

(a) 실리콘계 화합물 및 수용성 고분자를 포함하는 공중합체를 합성하는 단계;

(b) 나노입자의 코어물질을 제조하는 단계;

(c) 란타나이드 금속착제를 제조하는 단계;

(d) 상기 (a) 및 (c) 단계에서 얻어진 각각의 물질을 질량대비 1:0.2 내지 1:0.5로 혼합하여 합성 고분자와 (b) 단계에서 얻어진 코어물질과 질량대비 (혼합물:코어물질) 1:0.5 내지 1:1로 혼합하여 코팅하는 단계; 및

(e) 상기 (d)에서 얻어진 입자에 열을 가하여 가교결합하는 단계; 를 포함하는 것을 특징으로 하는 형광 나노입자의 제조방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 형광나노입자 및 이의 제조방법에 관한 것으로, 보다 구체적으로 자성의 나노입자, 코어물질에 실리 콘이 포함된 수용성 고분자 및 란타나이드 금속착제를 제조하여, 상기 자성의 나노입자에 수용성 고분자 및 란타나이드 금속착제를 코팅하여 제조되어지는 형광 나노입자 및 이의 제조방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 최근 형광 나노입자는 그 크기 범주가 기능성 생체물질과 유사하므로, 생체 친화적인 나노입자는 생체 및 의학 응용에 있어 획기적인 발전을 예상 할 수 있다. 예를 들면, 반도체성 양자점은 그 발광특성이 기존의 생체광학 영상에 사용되던 유기 발광체보다 훨씬 우수하며, 크기에 따라 발광색이 변하기 때문에 이러한 특징으로 영상기술, 센서 기술, 마이크로어레이와 같은 생물학적 응용을 위한 형광표지 (probe) 및 광자 공급원으로서 관심이 고조되어 지고 있다.

[0003] 형광 나노입자를 여러 분야로 응용하기 위해서는 고차원의 복잡한 구조로 배열되거나 생물학적 거대분자와 결합이 가능해야 하며, 여기와 발광의 조절이 가능한 단분 자 나노입자가 연구되어야 한다.

[0004] 일반적으로 양자점의 형광은 전도대에서 가전자대로 들뜬 상태의 전자가 내려오면서 발생하는 빛으로 일반적 형광염료와는 다른 성질을 많이 보여주고 있다. 양자점은 같은 물질의 중심으로 구성되더라도 입자의 크기에 따라 형광파장이 달라지며 입자의 크기가 적어질수록 짧은 파장의 형광을 나타내며, 양자점의 입자크기를 조절하여 가시광선영역의 전파장 형광을 거의 구현할 수있다. 또한 일반적인 유기형광화합물과 달리, 발광파장을 임의로 선택해도 형광을 얻을 수 있으므로, 여러 가지 양자점이 공존할 때 하나의 파장으로 발광시킬 경우 여러 가지 색의 형광을 한꺼번에 관찰할 수 있다.

[0005] 하지만, 양자점의 우수한 특성에도 불구하고 규제물질인 카드뮴으로 인해 연구목적이나 대단위 태양광전지 이외에는 사용이 제한적으로, 이를 해결할 수 있는 좀 더 안전한 형광나노입자의 개발이 필요한 실정이다.

[0006] 일반적으로 형광물질보다 훨씬 강한 형광을 줌은 파장대에서 발생하는 양자점은 나노크기의 II-IV 반도체 입자 (CdSe, CdTe, CdS 등)이 중심(core)을 이루는 입자이며, 란타나이드계 금속착물의 경우 긴 발광 시간과 강한 발광, 긴 스톱스 쉬프트, 좁은 반치폭 (FWHM) 등의 물리 화학적 우수한 특성으로 형광 표지 및 OLED등 다양한 분야에 적용되어지고 있다.

[0007] 형광물질 기반 영상기술은 의학분야에서 광범위하게 이용되고 있는 기술이며 특히 마이크로 나노입자를 이용하여 진단용 키트나 분자단위의 물질을 추적하는 형광 염색제등 다양한 응용범위로 연구되어지고 있다. 최근에는 배경 노이즈를 제거하여 원하는 발광 파장대에서의 형광 세기값을 극대화 하여 특정한 활성도를 진단할 수 있는 특수한 라벨링 기술이 요구되어지고 있다. 형광물질 이외에도 새로운 형태의 나노입자 기반 형광물질 라벨링 기술의 개발은 기기분석의 감도를 향상시킬 수 있다.

[0008] 최근 란타나이드계 착제 복합체를 서브 마이크로 크기의 입자와 결합시키는 연구 및 터비움 (III)과 유로퓸 (III)을 라벨링한 실리카 입자를 전립선암 특이적인 항원과 결합하는 연구가 진행되고 있다.

[0009] 란타나이드계 이온(Ln^{3+})의 전자구조는 [Xe]구조로부터 계속하여 4f 궤도함수가 순서대로 채워지는 $4f^n$ ($n=1\sim 14$)의 구조를 갖는다. 이러한 란타나이드 기반 형광물질이 주목 받고 있는 이유는 반치폭 (FWHM)이 좁고 높은 형광강도를 나타내기 때문으로 이러한 내인적인 분광학적 특성으로 많은 산업적 응용이 가능하다. 특히 란타나이드계 물질과 착화물을 형성하는 리간드는 Cryptands, calixarenes, β -diketones, macrocyclic ligands, carboxylic acid derivatives, heterobiary ligand과 같은 여러 가지 물질이 보고되어 지고 있는데 이중에서도 β -diketones과 란타나이드계의 착물에 대한 연구가 많이 이루어지고 있다.

[0010] 또한, 초상자성 나노입자는 나노의학 분야, 즉 자기공명 이미지 조영제, 표적지향형 약물전달체, 고주파 온열암치료등 여러 분야에 사용이 가능한 물질이다. 특히 초상자성 나노입자는 능동형 또는 수동형 표적지향 형태로 치료약물을 세포내부로 전달할 수 있는 획기적인 기술로 인지되어 지고 있다. 특히 수용체매개 세포내 이입과 확산에 의한 침투는 수동형 세포막 투과의 일종으로 나노입자나 생체 분자와 같은 세포외부의 물질이 세포내부로 모여지는 원인이다. 직접적인 세포수용과는 다르게 수용체매개 세포내 이입에 의한 약물전달법은 입자의 크기나 분자량에 제한을 받지 않으므로 좀 더 광범위하게 적용이 가능한 기술이다.

[0011] 형광 나노입자에 대한 종래기술로는 공개특허 제10-2012-0072671호(2012.07.04.)에서는 소수성 형광 고분자와 실리카 전구체를 유기용매, 계면활성제 및 물이 혼합된 용매에서 혼합하여 형광 고분자 코어 및 실리카 셸 형태의 코어-셸 나노입자를 제공한다.

[0012] 하지만, 다양한 파장대의 나노입자를 제조할 수는 있지만 높은 형광 강도와 긴 형광 수명의 문제점이 있어 본 발명에서는 란타나이드 금속착제, 초상자성 산화철 나노입자를 포함하는 형광 나노입자를 제조함으로써 상기의 문제점을 해결하고자 한다.

선행기술문헌

특허문헌

[0013] (특허문헌 0001) 공개특허 제10-2012-0072671(2012.07.04.)

발명의 내용

해결하려는 과제

[0014] 본 발명은 형광 안정성이 향상된 란타나이드 금속착제를 포함하는 무독성 형광 나노입자 및 그 제조방법을 제공한다.

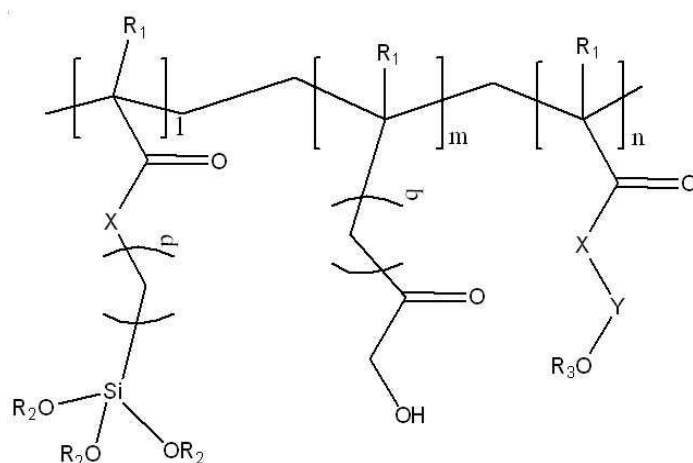
[0015] 또한 본 발명에서는 공중합체와 란타나이드 금속착제를 나노입자 표면에 열경화를 통해 가교결함으로써, UV 여기하에서 빨간색으로 발광하는 형광물질의 제조방법을 제공한다.

과제의 해결 수단

[0016] 본 발명은 (a) 실리콘계 화합물 및 수용성 고분자를 포함하는 공중합체를 합성하는 단계, (b) 나노입자의 코어 물질을 제조하는 단계, (c) 란타나이드 금속착제를 제조하는 단계, (d) 상기 (a) 및 (c) 단계에서 얻어진 각각의 물질을 질량대비 1:0.2 내지 1:0.5로 혼합하여 합성 고분자와 (b) 단계에서 얻어진 코어물질과 질량대비 (혼합물:코어물질) 1:0.5 내지 1:1로 혼합하여 코팅하는 단계 및 (e) 상기 (d)에서 얻어진 입자에 열을 가하여 가교결합하는 단계의 형광 나노입자를 제공한다.

[0017] 일 실시예로, 상기 (a) 단계에서 실리콘계 화합물 및 수용성 고분자를 포함하는 공중합체는 하기 [화학식 1]일 수 있다.

[0018] [화학식 1]

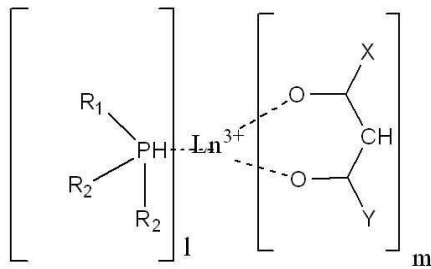


[0019]

[0020] 일 실시예로, 상기 (b) 단계에서 코어물질은 초상자성 산화철 나노입자 또는 폴리스타일렌, 폴리메틸 메타크레이트, 실리카, 다공성실리카, 지르코니아, 티타니아 중에서 선택되는 어느 하나일 수 있다.

[0021] 일 실시예로, 상기 (C) 단계에서 란타나이드 금속착제는 하기 [화학식 2]일 수 있다.

[0022] [화학식 2]



[0023]

[0024] 본 발명은 (a) 실리콘계 화합물 및 수용성 고분자를 포함하는 공중합체를 합성하는 단계, (b) 나노입자의 코어 물질을 제조하는 단계, (c) 란타나이드 금속착제를 제조하는 단계, (d) 상기 (a) 및 (c) 단계에서 얻어진 각각의 물질을 질량대비 1:0.2 내지 1:0.5로 혼합하여 합성 고분자와 (b) 단계에서 얻어진 코어물질과 질량대비 (혼합물:코어물질) 1:0.5 내지 1:1로 혼합하여 코팅하는 단계 및 (e) 상기 (d)에서 얻어진 입자에 열을 가하여 가교결합하는 단계의 형광 나노입자의 제조방법을 제공한다.

발명의 효과

[0025] 본 발명에서 초상자성 산화철 나노입자의 표면에 란타나이드 금속착제 및 실리콘계 화합물을 포함하는 수용성 고분자 공중합체를 결합시킴으로써 높은 형광 강도와 긴 형광 수명의 효과를 나타낸다.

[0026] 또한, 본 발명의 형광 나노입자는 나노의학 관련 무독성 형광표지 물질 뿐만아니라 LED, OLED, 태양광발전용 소자 등의 광범위한 분야에 응용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0027] 도 1은 본 발명의 일 실시예에 따른 형광 나노입자 제조방법의 모식도이다.

도 2는 본 발명의 일 실시예에 따른 초상자성 나노입자 및 형광 나노입자의 투과전자 현미경 사진이다.

도 3은 본 발명의 일 실시예에 따라 제조된 공중합체 및 형광 나노입자의 DSC 열분석 그래프이다.

도 4는 본 발명의 일 실시예에 따라 제조된 혼합물 및 형광 나노입자의 농도변화에 따른 발광과 여기 스펙트럼이다.

도 5는 본 발명의 일 실시예에 따라 제조된 혼합물 및 형광 나노입자의 형광등 및 UV 조건에서의 사진이다.

도 6은 본 발명의 일 실시예에 따라 제조된 형광 나노입자의 독성실험 결과이다.

도 7은 본 발명의 일 실시예에 따라 제조된 형광 나노입자를 U373MG 세포와 배양 후 공침현미경을 이용하여 세포의 형상을 관찰한 사진이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0028] 이하, 첨부된 도면을 참조하여 본 발명이 속하는 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자가 본 발명을 용이하게 실시할 수 있는 바람직한 실시 예를 포함한 발명의 구성을 상세히 설명한다. 본 발명의 각 도면에 있어서, 구조물들의 사이즈나 치수는 본 발명의 명확성을 기하기 위하여 실제보다 확대하거나 축소하여 도시한 것이고, 특징적 구성이 드러나도록 공지의 구성들은 생략하여 도시하였으므로 도면으로 한정하지는 아니한다. 본 발명의 바람직한 실시 예에 대한 원리를 상세하게 설명함에 있어 관련된 공지 기능 또는 구성에 대한 구체적인 설명이 본 발명의 요지를 불필요하게 흐릴 수 있다고 판단되는 경우에는 그 상세한 설명을 생략한다.

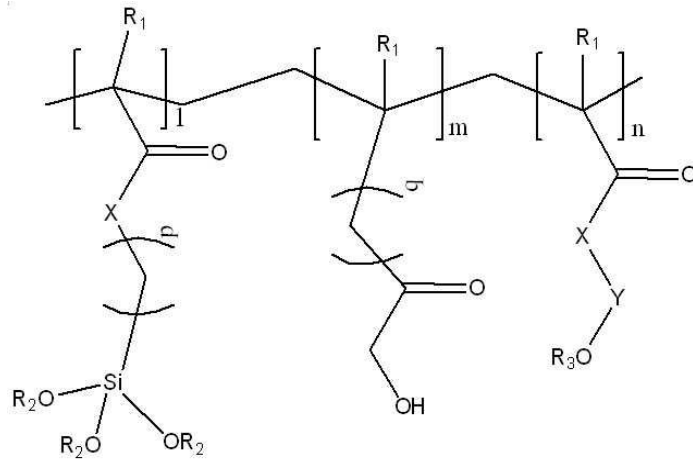
[0029] 본 발명은 도 1에서 알 수 있듯이, 고분자 공중합체와 란타나이드 금속착제로 이루어진 합성 고분자가 나노입자의 코어물질 표면에 코팅되는 구조로 이루어진 형광 나노입자인 것을 알 수 있다.

[0030] 본 발명은 (a) 실리콘계 화합물 및 수용성 고분자를 포함하는 공중합체를 합성하는 단계, (b) 나노입자의 코어 물질을 제조하는 단계, (c) 란타나이드 금속착제를 제조하는 단계, (d) 상기 (a) 및 (c) 단계에서 얻어진 각각의 물질을 질량대비 1:0.2 내지 1:0.5로 혼합하여 얻어진 합성 고분자와 (b) 단계에서 얻어진 코어물질과 질량

대비 (합성 고분자:코어물질) 1:0.5 내지 1:1로 혼합하여 코팅하는 단계 및 (e) 상기 (d)에서 얻어진 입자에 열을 가하여 가교결합하는 단계를 포함하는 형광 나노입자를 제공한다.

상기 (a) 실리콘계 화합물 및 수용성 고분자를 포함하는 공중합체를 합성하는 단계에서 상기 공중합체는 하기 [화학식 1]일 수 있다.

[화학식 1]



상기 화학식 1에서,

R_1 내지 R_5 는 각각 서로 동일하거나 상이하고, 서로 독립적으로 수소, 탄소수 1 내지 5의 알킬기 중에서 선택되며,

X는 산소, 황, 질소 중에서 선택되는 어느 하나이며,

Y는 폴리에틸렌글리콜, 텍스트란, 폴리비닐피롤리돈, 폴리프로필렌글리콜, 폴리에틸렌글리콜 중에서 선택되는 어느 하나이며,

l, m 및 n은 1 내지 10,000의 정수이며,

p 및 q 는 1 내지 20의 정수일 수 있다.

여기서, 상기 Y는 바람직하게 폴리에틸렌글리콜일 수 있으며, 수용성으로 생체 내의 단백질 및 세포가 나노입자에 결합하는 것을 방지하는 항-바이오파울링 작용을 할 수 있다.

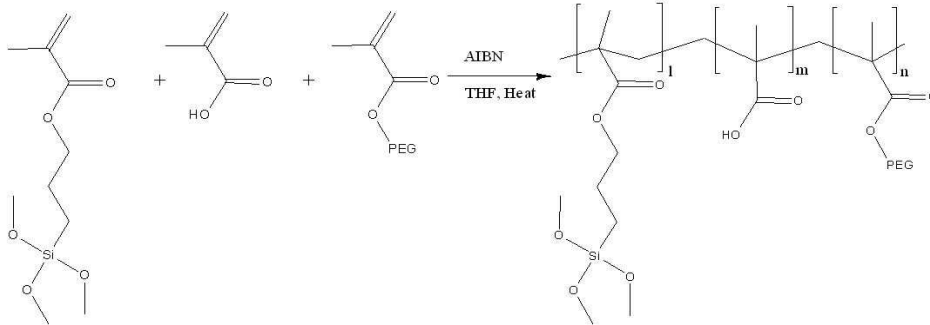
본 발명에서 상기 실리콘계 화합물은 아크릴 함유 실란 화합물일 수 있으며, 일 예로 3-메톡시실릴프로필 메타크릴레이트, 3-에톡시실릴프로필 메타크릴레이트, 3-메톡시실릴프로필 아크릴레이트, 3-에톡시실릴프로필 아크릴레이트, 3-메톡시실릴부틸 메타크릴레이트, 3-에톡시실릴부틸 메타크릴레이트, 3-메톡시실릴부틸 아크릴레이트, 3-에톡시실릴부틸 아크릴레이트, 3-메톡시실릴펜틸 메타크릴레이트, 3-에톡시실릴펜틸 메타크릴레이트, 3-메톡시실릴펜틸 아크릴레이트, 3-에톡시실릴펜틸 아크릴레이트, 3-메톡시실릴헥실 메타크릴레이트, 3-에톡시실릴헥실 메타크릴레이트, 3-메톡시실릴헥실 아크릴레이트, 3-에톡시실릴헥실 아크릴레이트, 3-메톡시실릴헵틸 메타크릴레이트, 3-에톡시실릴헵틸 메타크릴레이트, 3-메톡시실릴헵틸 아크릴레이트, 3-에톡시실릴헵틸 아크릴레이트, 3-메톡시실릴옥틸 메타크릴레이트, 3-에톡시실릴옥틸 메타크릴레이트, 3-메톡시실릴옥틸 아크릴레이트, 3-에톡시실릴옥틸 아크릴레이트, 3-메톡시실릴노닐 메타크릴레이트, 3-에톡시실릴노닐 메타크릴레이트, 3-메톡시실릴노닐 아크릴레이트, 또는 3-에톡시실릴노닐 아크릴레이트 중에서 선택되는 어느 하나일 수 있으며, 바람직하게는 3-트리메톡시실릴 프로필 메타아크릴레이트일 수 있으며, 이에 한정된 것은 아니다.

상기 공중합체는 실리콘계 화합물이 공유결합된 수용성 고분자로, 상기 [화학식 1]에서 주골격일 수 있다. 여기서, 상기 수용성 고분자는 폴리아크릴산, 폴리아크릴산 유도체, 폴리메타아크릴산, 폴리메타아크릴산 유도체, 폴리아크릴아미드, 폴리아크릴아미드 유도체, 폴리엔테세노산, 폴리엔테세노산 유도체 및 이들의 공중합체 중에서 선택되는 어느 하나일 수 있으며, 이들의 유도체 또는 공중합체일 수 있다. 바람직하게는 상기 수용성 고분자는 폴리아크릴산 또는 그 유도체, 또는 상기 고분자의 공중합체일 수 있으며, 바람직하게는 폴리메타아크릴산일 수 있다.

[0043] 본 발명에서 상기 공중합체는 실리콘을 포함하는 반복단위와 폴리에틸렌글리콜의 고분자를 포함하는 반복단위가 순차적으로 배열되어 있는 블록 공중합체의 구조를 가질 수 있으며, 바람직하게는 랜덤 공중합체일 수 있다.

[0044] 또한, 상기 (a) 단계에서 공중합체는 실리콘 25 내지 35 중량%, 폴리에틸렌글리콜 50내지 70 중량%, 수용성 고분자 5 내지 15 중량%를 포함할 수 있으며, 추가적으로 라디칼 반응 개시제 아조비스아이소부틸로나이트릴 (azobisisobutyronitrile: AIBN)를 첨가하여 중합반응을 진행할 수 있고, 바람직하게는 poly(TMSMA-r-PEGMA-r-MAA)형태일 수 있다. 또한, 상기 (a)단계의 공중합체 제조 과정은 [반응식 1]일 수 있다.

[0045] [반응식 1]



[0046]

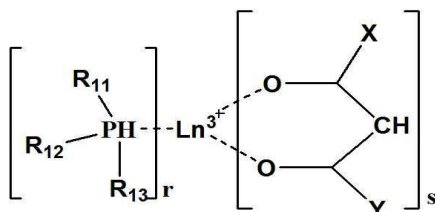
[0047] 상기 반응식 1에서, l, m, n은 앞서 설명된 화학식 1에서의 l, m, n과 동일하다.

[0048] 본 발명에서 상기 (b) 나노입자의 코어물질을 제조하는 단계에서 코어물질은 초상자성 산화철 나노입자 또는 폴리스타일린, 폴리메틸 메타크레이트, 실리카, 다공성실리카, 지르코니아, 티타니아 중에서 선택되는 어느 하나일 수 있으며, 바람직하게는 초상자성 산화철 나노입자일 수 있다.

[0049] 이때, 상기 초상자성 산화철 나노입자는 산화철(II), 산화철(III), 코발트 페라이트, 징크 페라이트, 니켈 페라이트, 망간 페라이트, 철, 코발트, 니켈, 망간, FeAu, FePt, CoNi 중에서 선택되는 어느 하나일 수 있으며, 바람직하게는 산화철(II), 산화철(III)일 수 있다.

[0050] 본 발명에서 상기 (C) 란타나이드 금속착체를 제조하는 단계에서 란타나이드 금속착체는 하기 [화학식 2]일 수 있다.

[0051] [화학식 2]



[0052]

[0053] 상기 화학식 2에서,

[0054] R₁₁ 내지 R₁₃는 각각 서로 동일하거나 상이하고, 서로 독립적으로 수소, 탄소수 1 내지 20의 알킬기, 페닐기 중에서 선택되는 어느 하나이고,

[0055] X는 탄소수 6 내지 50의 방향족 탄화수소 고리, 탄소수 3 내지 40의 방향족 헤테로고리 중에서 선택되는 어느 하나이고,

[0056] Y는 탄소수 1 내지 10의 플루오로탄화수소이고,

[0057] Ln은 란타나이드족 희토류 원소 중 선택되는 어느 하나이며,

[0058] r 및 s는 1-6의 정수이다.

[0059] 여기서, Ln은 바람직하게 유로퓸, 테르븀, 가돌리늄, 사마리움, 이트륨, 네오디뮴, 란타넘 및 세륨 중 선택되는 어느 하나이고, 보다 바람직하게는 유로퓸일 수 있다.

[0060] 본 발명에서 란타나이드계 물질과 착화물을 형성하는 리간드는 Cryptands, calixarenes, β -diketones, macrocyclic ligands, carboxylic acid derivatives, heterobiary ligand 중에서 선택되는 어느 하나이며, 바람직하게는 β -diketones계 착화합물 일 수 있으며, 보다 바람직하게는 트리옥틸포스파인옥사이드일 수 있다.

[0061] 일반적으로 β -diketones은 란타나이드계 물질에 대한 연구가 많이 진행되고 있으며, 여기 과장이나 에너지 전달 효능은 β -diketones의 골격에 첨가되는 치환기에 영향을 받을 수 있다. 즉, β -diketones 착 화합물의 감응된 발광세기는 메틸, 트리플루오르메틸, 페닐, 치오펜, 폴리 방향족 단위체 등과 같은 여러 가지 치환체에 크게 영향을 받을 수 있으며, 본 발명에서 바람직하게는 치환체로 4,4,4-트리플루오르-1-(2-나프틸)-1,3-브타디온 일 수 있다.

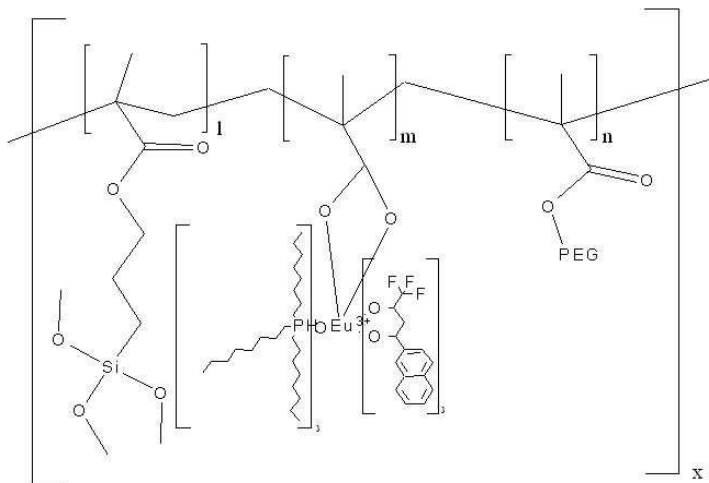
[0062] 또한, 특히 β -diketones 리간드와 란타나이드계 물질로 이루어진 착화물의 경우 지용성 물질로 수용액상에서 사용은 불가능하기 때문에 수용액에서 분산이 가능한 나노입자의 코어물질에 β -diketones 리간드와 란타나이드계 착화물을 결합시켜 입자를 제조하는 경우 수용액 분산성을 향상시킬 수 있다.

[0063] 상기 란타나이드 금속착제를 제조하기 위해서는 바람직하게는 유로퓸, 4,4,4-트리플루오르-1-(2-나프틸)-1,3-브타디온, 트리옥틸포스파인옥사이드를 1:2:2 내지 1:3:3의 몰비로 사용할 수 있으며, 혼합 후, 50 내지 70 °C에서 중탕방법을 통해 30 내지 60분 동안 가열할 수 있다.

[0064] 본 발명에서 (d) 상기 (a) 및 (c) 단계에서 얻어진 각각의 물질을 질량대비 1:0.2 내지 1:0.5로 혼합하여 얻어진 합성 고분자와 (b) 단계에서 얻어진 코어물질과 질량대비 (합성 고분자:코어물질) 1:0.5 내지 1:1로 혼합하여 코팅하는 단계; 및 (e) 상기 (d)에서 얻어진 입자에 열을 가하여 가교결합하는 단계를 통해 형광 나노입자가 제조될 수 있다.

[0065] 상기 (d) 단계에서 (a) 및 (c) 단계에서 얻어진 각각의 물질을 혼합하여 얻어지는 합성 고분자는 [화학식 3]일 수 있다.

[0066] [화학식 3]



[0067] 상기 [화학식 3]에서, l, m, n은 앞에서 설명된 화학식 1에서의 l, m, n과 동일하며, x 는 1 내지 10의 정수이다.

[0069] 또한, 상기 합성 고분자와 (b) 단계에서 얻어진 코어물질을 혼합함으로써, 코어물질의 표면에 합성 고분자가 코팅될 수 있으며, 열을 가하여 코팅이 완전하게 이루어지도록 할 수 있다.

[0070] 여기서, 상기 실리콘이 포함된 수용성 고분자는 열에 의해 실리콘 원소 사이의 가교결합을 통하여 코어 물질 표면에 열경화되는 것으로, 즉 실리콘 원소와 코어 물질사이에 물리적인 접착이 일어남으로써, 코어물질과 고분자간의 결합력이 향상되어 코어물질 자체의 안정성을 크게 증대시킬 수 있다. 이때, 상기 열경화는 70 내지 90 °C의 온도에서 이루어질 수 있다.

[0071] 본 발명은 (a) 실리콘계 화합물 및 수용성 고분자를 포함하는 공중합체를 합성하는 단계, (b) 나노입자의 코어물질을 제조하는 단계, (c) 란타나이드 금속착제를 제조하는 단계, (d) 상기 (a) 및 (c) 단계에서 얻어진 각각의 물질을 질량대비 1:0.2 내지 1:0.5로 혼합하여 혼합물을 (b) 단계에서 얻어진 코어물질과 질량대비 (혼합

물:코어물질) 1:0.5 내지 1:1로 혼합하여 코팅하는 단계 및 (e) 상기 (d)에서 얻어진 입자에 열을 가하여 가교 결합하는 단계의 형광 나노입자의 제조방법을 제공한다.

[0072] 이하, 본 발명을 실시예를 통해 자세히 설명한다.

[0073] (실시예)

[0074] 실시예 1

[0075] 실시예 1-1. 폴리에틸렌글리콜-실리콘-카르복실산(PEG-Silicone-COOH) 공중합체의 합성

[0076] 3-트라이메톡시실릴프로필메타아크릴레이트(TMSMA) 0.25 g (1 mmol), 폴리에틸렌글리콜메타아크릴레이트(PEGMA) 0.475 g (1 mmol), 메타크릴산 (MAA) 0.086 g (1 mmol)을 10 ml 테트라하이드로퓨란 (THF) 에 용해 후, 20분 간 질소 가스를 흘려준다. 그 후, 아조비스아이소부틸로나이트릴 (AIBN) 10 mg (0.1 mmol)을 첨가한 후, 70 °C의 온도에서 24 시간 동안 합성 반응을 진행하여 수용성의 폴리에틸렌글리콜-실리콘(PEG-Silicone) 공중합체를 합성한다.

[0077] 실시예 1-2 : 초상자성 산화철 나노입자의 합성

[0078] 20 mL 증류수에 질소가스를 30 분간 흘려주어 산소를 제거한 후, $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0.05 g (0.185 mmol), $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 0.0184 g (0.0925 mmol)를 투입하여 용해한 후 4 °C의 온도로 냉각하여 철 스톡용액을 제조한다.

[0079] 그 후 철 스톡용액에 냉각시킨 2 mL 암모니아수를 첨가하고, 교반하면서 온도를 승온하여 85 °C에서 1시간 동안 반응한다. 이후, 증류수로 3 회 이상 세척 한 후, 얻어진 침전물을 증류수에 초음파를 이용하여 재분산한 후 4 °C에서 보관한다.

[0080] 실시예 1-3 : $\text{Eu}(\text{NTA})_3(\text{TOPO})_3$ 합성

[0081] Europium oxide (Eu_2O_3 , Fw = 356.92 g/mol) 0.3569 g (1 mmol)을 1 mL 질산에 넣은 후 50 °C에서 중탕 가열하여 용해한 후, 5 mL H_2O 를 넣고 질산이 증발하도록 1 시간동안 가열한다. 그 후 최종 농도가 0.02 mmol이 되도록 용액을 만든다.

[0082] 또한, 4,4,4-트리플루오르-1-(2-나프틸)-1,3-브타디온 (NTA) 0.2662 g (1 mmol)을 에탄올에 녹인 후, 최종 농도가 0.02 mmol이 되도록 용액을 만든다.

[0083] 또한, 트리옥틸포스파인옥사이드 (TOPO) 0.3866 g (1 mmol)을 에탄올에 녹인 후, 최종 농도가 0.02 mmol이 되도록 용액을 만든다.

[0084] 상기 제조된 Eu (0.02 mmol) 1mL 와 NTA (0.02 mmol) 3 mL , TOPO (0.02 mmol) 3 mL를 혼합 후, 60 °C에서 중탕으로 1 시간 동안 가열한다.

[0085] 실시예 1-4 : $\text{poly}(\text{TMSMA-r-PEGMA-r-MAA})\text{Eu}(\text{NTA})_3(\text{TOPO})_3$ 코팅된 형광 나노입자 합성

[0086] 실시예 1-1에서 제조된 $\text{poly}(\text{TMSMA-r-PEGMA-r-MAA})$ 30 mg을 10 mL 증류수와 10 mL 에탄올 혼합물에 녹인다. 그 후 실시예 1-3에서 제조된 $\text{Eu}(\text{NTA})_3(\text{TOPO})_3$ 10 mg을 혼합하여 한 후 교반한다.

[0087] 이후, 실시예 1-2에서 제조된 초상자성 산화철 나노입자 30 mg과 합성고분자 30 mg을 증류수에 혼합하여 80 °C에서 1 시간 가열한다. 이후, 분자량 12,500 cut off인 삼투압백을 이용하여 추가적인 이온 검출이 없을 때까지 세척한다.

[0088] (실험예)

[0089] 형광 나노입자의 평가

[0090] 형광 나노입자의 코팅 여부에 따른 입도 및 입형은 투과전자 현미경으로 분석하였으며, 형광스펙트럼을 이용하여 농도변화에 따른 형광물질이 코팅된 산화철 나노입자의 여기와 발광 파장 및 강도를 분석하였다. 또한 $\text{poly}(\text{TMSMA-r-PEGMA-r-MAA})\text{Eu}(\text{NTA})_3(\text{TOPO})_3$ 코팅된 산화철 나노입자의 세포내 uptake특성 및 독성실험을 행하였으며 공침현미경을 이용하여 제조한 형광표지의 세포내 uptake를 관찰 하였다.

[0091] 실험예 1 : 투과전자 현미경을 이용한 입경 및 입형 측정

- [0092] 본 발명에서 형광 나노입자의 코팅 여부에 따른 입도 및 입형은 투과전자 현미경(JEOL 2100F, 200 kV)으로 분석하였으며, 이는 도 2에 나타냈다.
- [0093] 도 2 (a) 실시예 1-2에서 제조된 초상자성 산화물 나노입자, (b) 실시예 1-4에서 제조된 산화철 나노입자의 투과전자 현미경 사진을 확인 할 수 있으며, 결과적으로 도 2 (a) 및 (b)에서 평균적으로 13 nm 구형의 입자가 확인되며, 도 2 (b)의 경우 코팅 후에 응집된 것이 확인되나 입자 크기에는 변화가 없는 것을 확인 할 수 있다. 상기 입자의 크기는 최대 15 nm 미만으로 형광 내 주사에 용이할 것으로 사료된다.
- [0094] 실험예 2 : DSC 열분석을 이용한 고분자 물질의 코팅 여부 측정
- [0095] 본 발명에서 형광 나노입자의 물리화학적 특성 및 표면의 코팅여부는 DSC 열분석으로 확인하였으며, 이는 도 3에 나타냈다.
- [0096] 도 3은 실시예 1-1에서 제조된 공중합체 및 1-4에서 제조된 산화철 나노입자 DSC 분석 결과로, 공중합체의 경우 2개의 흡열피크를 산화철 나노입자의 경우 5개의 흡열피크를 확인할 수 있다. 산화철 나노입자 분석에서 50 °C의 PEG 관련 피크가 확인되지 않는 것으로, 표면에 코팅된 후 PEG 흡열피크가 사라지는 것을 알 수 있으며, 80.5 °C 부근의 흡열피크를 통해 산화철 나노입자 표면에 실란그룹이 실리카 층으로 전이 되는 것을 알 수 있다. 또한, 106.7 °C 와 111.8 °C의 피크는 유로퓸 착화제로 사용한 NTA와 TOPO, 127 °C 부근의 강력한 피크는 산화철 나노입자 표면의 물리적인 흡착수로 인한 피크이며, 결과적으로 입자표면에 유기물 코팅물질이 결합되어 있음을 알 수 있다.
- [0097] 실험예 3 : 형광스펙트럼 분석
- [0098] 본 발명에서는 형광스펙트로미터(Shimadzu, RF-5301PC)를 이용하여 농도변화에 따른 형광물질이 코팅된 산화철 나노입자의 여기와 발광 파장 및 강도를 분석하였으며, 이는 도 4에 나타냈다.
- [0099] 도 4 (a)는 실시예 1-4에서 합성고분자가 코팅된 형광 나노입자의 농도변화에 따른 발광파장 스펙트럼이다. 4 (a)에서 알 수 있듯이, 모든 발광 스펙트럼은 유로퓸³⁺의 전형적인 f-전이특성을 보이며 빨간색의 발광을 나타낸다. 또한, 가장 강한 발광피크는 $^5D_0 \rightarrow ^7F_2$ 전이가 나타나는 621 nm 범위이고, $^5D_0 \rightarrow ^7F_1$ 전이는 592 와 597 nm에서, $^5D_0 \rightarrow ^7F_0$ 전이는 580과 587 nm 그리고 $^5D_1 \rightarrow ^7F_6$ 전이는 700 nm에서 일어나는 것을 확인할 수 있다.
- [0100] 또한, 도 4 (b)는 실시예 1-4에서 합성고분자가 코팅된 형광 나노입자의 농도변화에 따른 여기파장 스펙트럼으로, 여기파장이 300 - 400 nm로 광범위하며, 최고 여기파장은 350 nm 정도의 값을 확인할 수 있다. 여기서, 여기 파장이 광범위한 경우는 전형적인 유로퓸 착물의 특징으로 사료된다.
- [0101] 실험예 4 : MTT에 의한 세포독성 측정
- [0102] 상기 실시예 1-4에서 제조한 형광 나노입자의 세포독성을 측정하였으며, 이는 도 5에 나타냈다. 세포독성 측정은 U373MG 세포를 DMEM (10 % fetal bovine serum (FBS), 2 mM L-glutamine, 1 % penicillin/streptomycin)을 이용하여 100 mm 세포플라스크에서 습기가 있는 5 % CO₂, 37 °C 분위기하에서 세포를 배양하였다. 세포의 생존도는 MTT 에세이를 이용하여 측정하였다. U373MG 세포를 96 well 플라스크에 1 x 10⁵개의 세포수로 5 % CO₂, 37 °C 분위기하에서 24 시간 배양한다. 그 후 합성된 나노입자의 농도를 변화 시키며 나노입자를 세포에 넣은 후 다시 동일한 조건에서 24 시간 배양한다. 그 후 10 uL의 MTT 용액(5 mg/mL)을 플라스크에 첨가한 후 동일조건에서 4 시간 배양한다. DMSO에 녹인 100 uL 포마잔을 첨가한 후 540 nm에서 ELISA로 측정하였다.
- [0103] 본 발명의 도 5에서 ① 샘플은 실시예 1-4에서 합성한 유로퓸 착물과 고분자의 결합물질, ② 샘플은 합성한 유로퓸 착물과 고분자 결합물질을 코팅한 형광 나노입자로 (a) 형광등 조건에서의 사진, (b) UV 조건에서의 사진이다. ① 샘플의 경우 (a) 형광등하에서 우윳빛을 띠며, (b) UV 하에서는 빨간색의 형광을 띠는 것을 확인할 수 있고, 또한 ② 샘플의 경우에도 (b) UV 하에서 빨간색의 형광을 띠는 것을 확인할 수 있다.
- [0104] 일반적으로 형광물질의 경우 무기질 물질과 공존하는 경우 형광강도가 크게 낮아지거나 없어지는 현상을 보이나 본 발명에서 개발한 무독성 형광나노입자의 경우 발광강도가 크게 변화가 없음을 알 수 있다.
- [0105] 실험예 5 : 공침현미경에 의한 세포내 자성나노입자 uptake 및 세포생존 측정
- [0106] 본 발명에서 도 6은 상기 실시예 1-4에서 제조된 형광 나노입자에 포함된 초상자성 산화철 나노입자의 함량에

따른 독성실험을 통해 세포 생존율을 측정한 결과를 나타냈다.

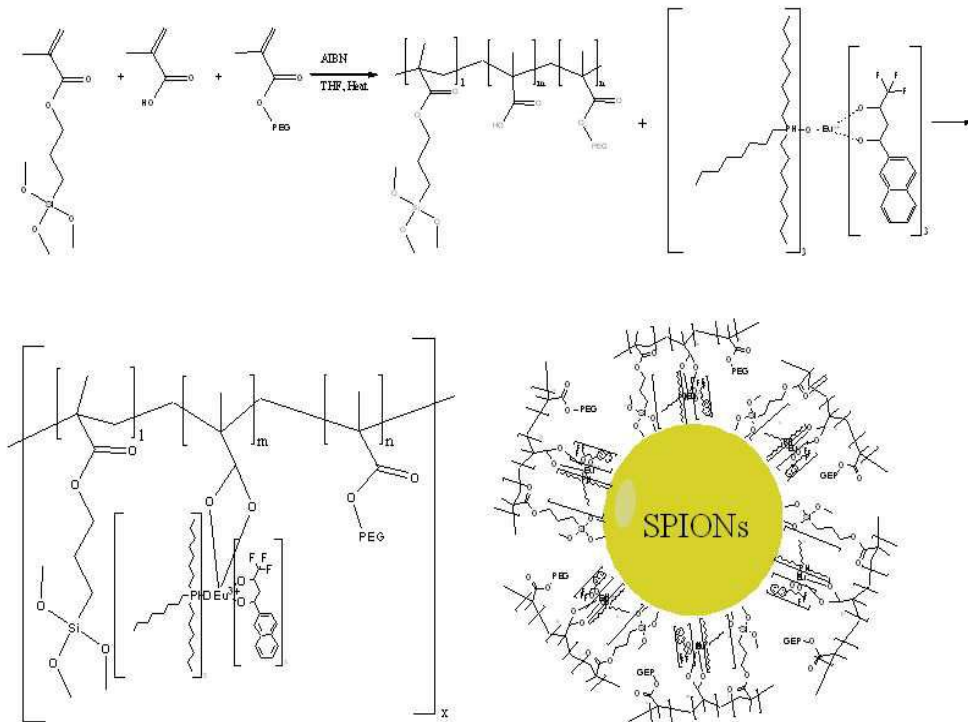
[0107] 독성 실험을 위해 24 well 플라스틱 디쉬에서 커버슬립당 10^5 개의 세포를 배양한 후 나노입자를 일정 농도별로 세포와 함께 배양하였다. 37 °C에서 24 시간 배양 후 PBS를 이용하여 두 번 세척하였다. 세포는 4 % 파라포름알데하이드 용액에서 4 °C에서 15 분간 고정하였으며, 추가적으로 변색을 막기 위해 상층을 커버글라스로 마운팅하여 측정하였다.

[0108] 도 6에서 알 수 있듯이, 10 내지 300 ug/mL 범위의 농도에서는 세포 생존율이 평균 80 %이며, 농도가 500 ug/mL 범위부터는 세포 생존율이 감소되는 것을 확인할 수 있다.

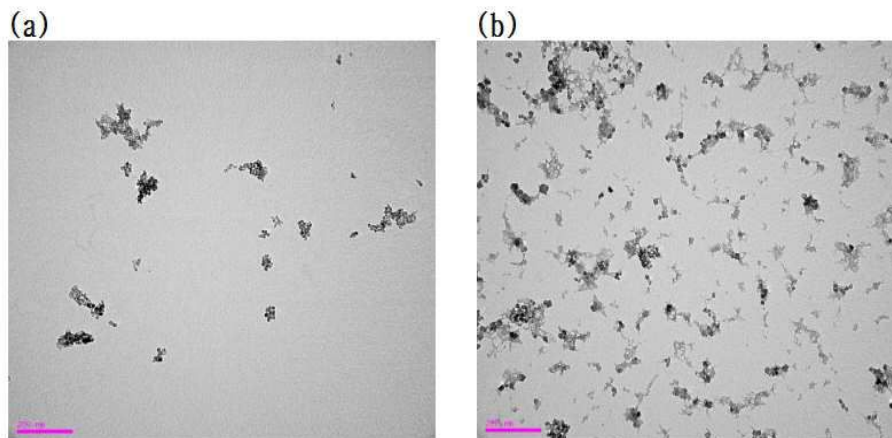
[0109] 또한, 본 발명의 도 7은 상기 실시예 1-4에서 제조된 형광 나노입자를 U373MG 세포와 24 시간 배양 후 공침현미경을 이용하여 세포의 형상을 관찰한 결과로, 세포사진상의 붉은색 부분은 poly(TMSMA-r-PEGMA-r-Eu(NTA)₃(MAA)(TOPO)₃)@SPIONs이 세포내부의 세포질영역으로 잘 들어간 것으로 사료되며, 이는 본 발명에서 합성한 고분자 형광 물질이 부착된 나노입자가 독성을 띠지 않으며 세포표지효율을 증가시켰음을 보여주는 결과이다.

도면

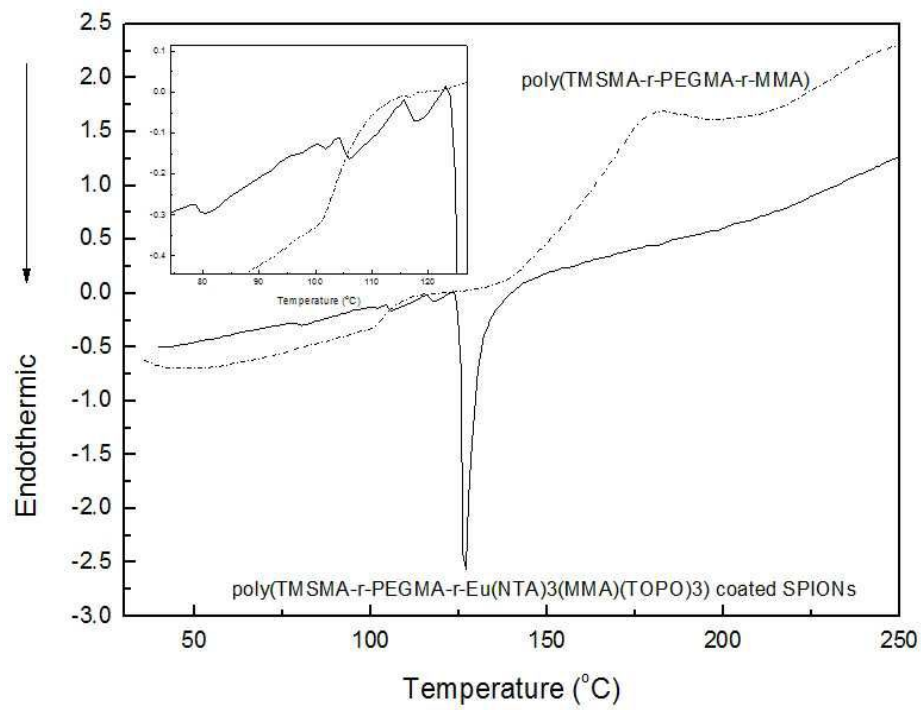
도면1



도면2

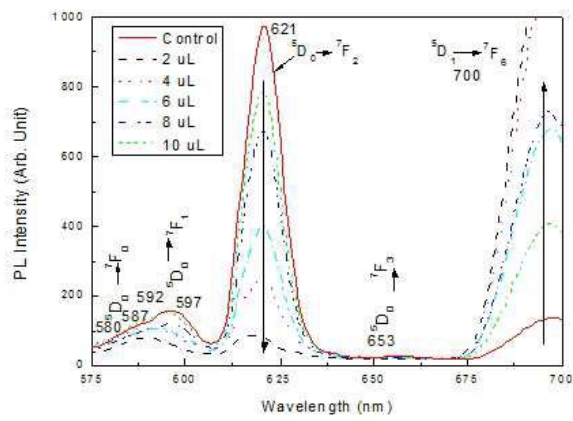


도면3

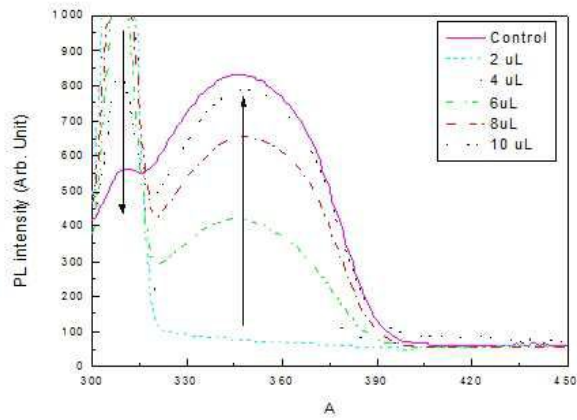


도면4

(a)

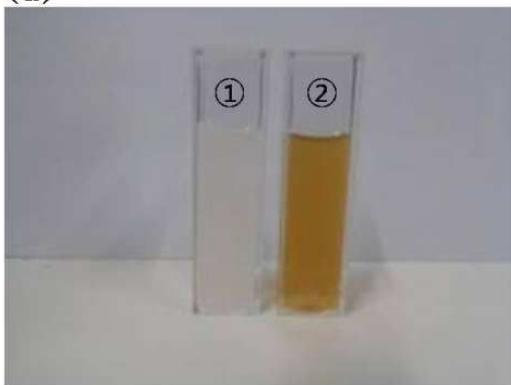


(b)

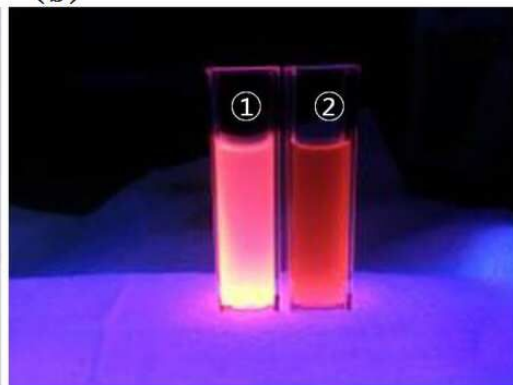


도면5

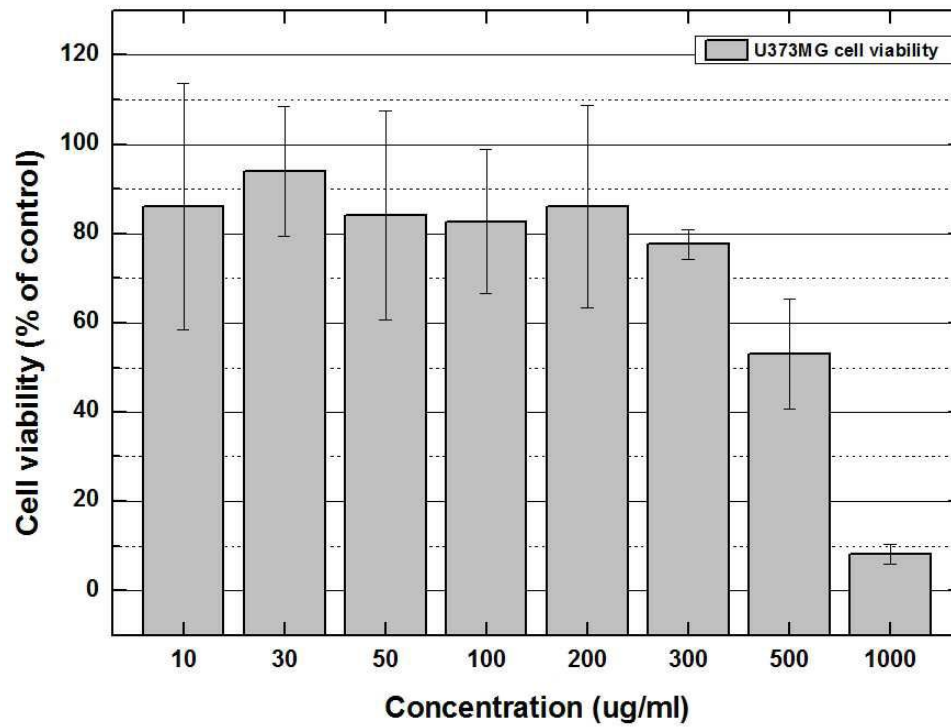
(a)



(b)



도면6



도면7

