(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2023-0087179
(43) 공개일자 2023년06월16일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 41/00 (2020.01) *A61P 35/00* (2006.01)
C01B 33/12 (2006.01) *C09K 11/07* (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 41/0057 (2013.01)
A61K 41/0052 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2021-0175902
(22) 출원일자 2021년12월09일
심사청구일자 2021년12월09일

(71) 출원인
충남대학교산학협력단
대전광역시 유성구 대학로 99 (궁동, 충남대학교)
(72) 발명자
이택승
대전광역시 유성구 배울2로 78 대덕테크노밸리6단지아파트 611동 2001호
조선영
대전광역시 대덕구 대청로64번길 41 대우새여울아파트 301동 202호
(74) 대리인
이근완

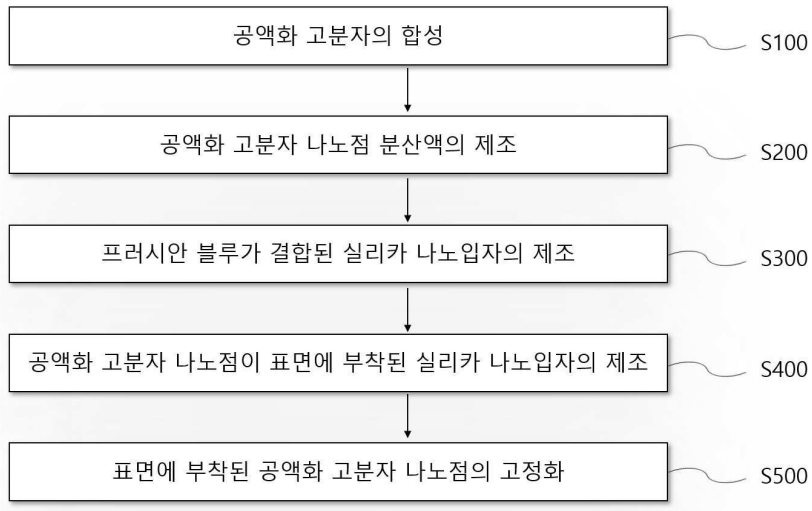
전체 청구항 수 : 총 3 항

(54) 발명의 명칭 **광역동 및 광열 치료용 공액화 고분자 나노점 및 프러시안 블루가 도입된 실리카 나노입자 및 이의 제조방법**

(57) 요 약

본 발명은 광열효과를 갖는 프러시안 블루가 담지된 실리카 나노입자 표면에 광역동 효과를 갖는 공액화 고분자 나노점을 복합화함으로써, 암세포에 대한 광역동 및 광열 치료 기능을 동시에 갖는 공액화 고분자 나노점 및 프러시안 블루가 도입된 실리카 나노입자에 관한 것으로서, 생체적합성이 우수하고, 암세포의 형광 이미징이 가능하며, 또한 한 가지의 레이저 조사시에 광역동 및 광열효과를 나타낼 수 있어 비침습성 치료에 효과적으로 이용될 수 있는 공액화 고분자 나노점 및 프러시안 블루가 도입된 실리카 나노입자에 관한 것이다.

대 표 도 - 도1



(52) CPC특허분류
A61P 35/00 (2018.01)
C01B 33/12 (2013.01)
C09K 11/07 (2013.01)
C01P 2004/64 (2013.01)
C01P 2006/60 (2013.01)
C01P 2006/90 (2013.01)
C09K 2211/1483 (2013.01)

명 세 서

청구범위

청구항 1

레이저 조사에 의해 암세포에 대한 광역동 및 광열효과를 동시에 갖는 공액화 고분자 나노점 및 프러시안 블루가 도입된 실리카 나노입자(100)로서,

실리카 나노입자(10);

상기 실리카 나노입자의 표면에 부착되어 고정화된 공액화 고분자 나노점(20); 및

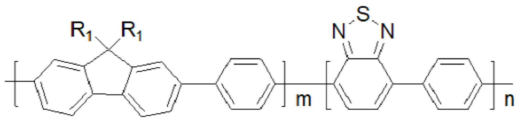
상기 실리카 나노입자와 구조적으로 결합된 프러시안 블루;를 포함하는 공액화 고분자 나노점 및 프러시안 블루가 도입된 실리카 나노입자(100).

청구항 2

청구항 1에 있어서,

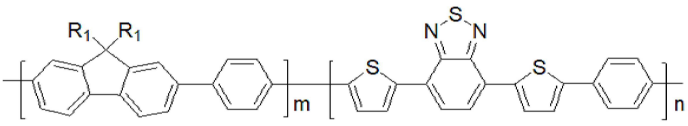
상기 공액화 고분자 나노점(20)은 아래의 [화학식 1] 내지 [화학식 8] 중 어느 하나의 구조를 갖는 것을 특징으로 하는 공액화 고분자 나노점 및 프러시안 블루가 도입된 실리카 나노입자(100).

[화학식 1]



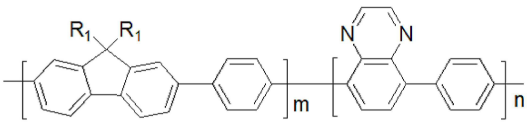
R_1=H 또는 C_1~C_{10} 인 알킬기

[화학식 2]



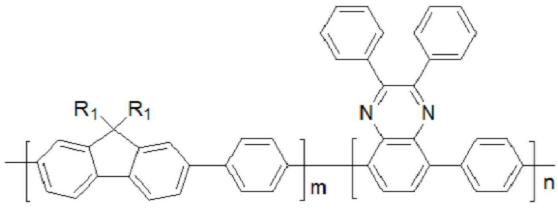
R_1=H 또는 C_1~C_{10}인 알킬기

[화학식 3]



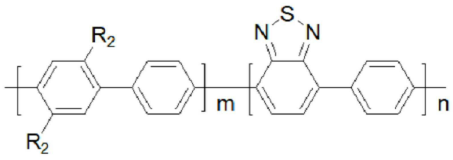
R_1=H 또는 C_1~C_{10}인 알킬기

[화학식 4]



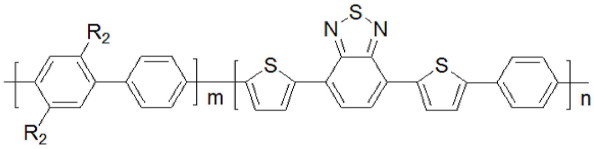
R_1=H 또는 C_1~C_{10}인 알킬기

[화학식 5]



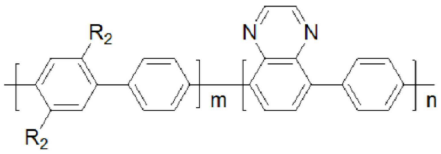
R_2=H, C_1~C_{10}인 알킬기 또는 OR_3 (R_3= C_1~C_{10} 인 알킬기)

[화학식 6]



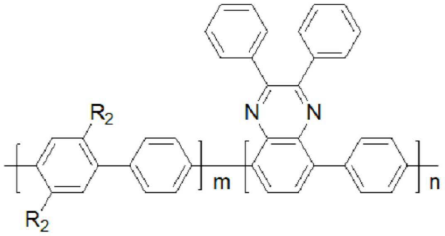
R_2=H, C_1~C_{10}인 알킬기 또는 OR_3 (R_3= C_1~C_{10} 인 알킬기)

[화학식 7]



R_2=H, C_1~C_{10}인 알킬기 또는 OR_3 (R_3= C_1~C_{10} 인 알킬기)

[화학식 8]



R_2=H, C_1~C_{10}인 알킬기 또는 OR_3 (R_3= C_1~C_{10} 인 알킬기)

청구항 3

공액화 고분자 나노점(20) 및 프러시안 블루가 도입된 실리카 나노입자(100)의 제조방법으로서,

ⅰ) 공액화 고분자를 합성하는 제 1 단계(S100);

ii) 상기 제 1 단계(S100)에서 합성된 공액화 고분자를 이용하여 공액화 고분자 나노점 분산액을 제조하는 제 2 단계(S200);

iii) 프러시안 블루가 도입된 실리카 나노입자(10)를 제조하는 제 3 단계(S300);

vi) 상기 제 2 단계(S200)에서 제조된 공액화 고분자 나노점 분산액을 이용하여 상기 공액화 고분자 나노점(20)을 제 3 단계(S300)에서 제조된 프러시안 블루가 도입된 실리카 나노입자(10)의 표면에 부착하는 제 4 단계(S400); 및

ⅴ) 상기 제 4 단계(S400)에서 프러시안 블루가 도입된 실리카 나노입자(10)의 표면에 부착된 공액화 고분자 나노점(20)을 고정화하는 제 5 단계(S500);를 포함하는 공액화 고분자 나노점 및 프러시안 블루가 도입된 실리카 나노입자(100)의 제조방법

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 광역동 치료 및 광열 치료 기능을 동시에 갖는 실리카 나노입자에 관한 것으로서, 광열 효과를 갖는

프러시안 블루가 도입된 실리카 나노입자 표면에 광역동 효과를 갖는 공액화 고분자 나노점을 고정화시켜 암세포를 치료할 수 있는 공액화 고분자 나노점 및 프러시안 블루가 도입된 실리카 나노입자와 이의 제조방법에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0003] 암의 진단이나 치료과정에서 기존 방법인 외과 수술, 방사선 요법, 약물 요법의 부작용이나 치료 후 휴우증 등의 문제를 해소하기 위한 대안으로 최근 나노재료를 이용해 정상세포의 손상없이 암을 진단하고 표적 치료할 수 있는 방법이 주목받고 있다. 최근에는 분자영상이나 광학영상 진단 기술이 발전되면서 진단과 치료를 융합하는 '테라노스틱'(theranostic) 나노재료의 개발이 기능성의 용이함과 표적성을 바탕으로 미래융합의료 기술에 큰 발전을 기여하고 있다.

[0004] 광감각제(photosensitizer)를 사용하는 광역동 치료(photodynamic therapy)는 일반적으로 3가지 요소가 필요하며, 이는 광원, 광감각제, 산소로 구성된다. 광감각제는 빛에 노출되지 않으면 세포독성을 나타내지 않다가 특정 파장의 빛에 의해 활성화되면 광감각제가 암세포에 직접 작용하거나 활성산소종(reactive oxygen species)을 생성하여 표적세포에 작용한다. 활성산소종은 일항산소(singlet oxygen), 산소 라디칼(oxygen radical), 초과산화물(superoxide), 과산화물(peroxide) 등을 일컫으며, 세포내에서 활성산소종의 농도가 높아지면 세포막이나 생체분자에 반응하여 전자 혹은 수소원자의 운송 중에 발생하는 라디칼의 산화반응을 통해 세포독성을 일으키며 결과적으로 세포의 사멸을 유도한다. 특히, 일항산소는 불포화지방산, 콜레스테롤, 단백질, DNA 등에 반응하여 세포독성을 일으킨다.

[0005] 한편, 광열 치료(photothermal therapy)는 암세포에 직접 열을 가하여 소멸시키거나, 항암치료가 더 효과적으로 작용하도록 빛을 흡수하여 열을 발생하는 물질을 주입하여 표적위치에 축적시키고, 빛을 조사하여 치료하는 방법이다. 빛의 광원은 주로 근적외선, 적외선 등을 사용하는데 이 영역대의 빛은 피하조직까지 투과할 수 있어 생체 내에서의 국지적 치료가 가능하며 광열 물질이 축적된 위치를 제외한 다른 조직의 피해를 최소화할 수 있다.

[0007] 종래기술로서, 대한민국 공개특허공보 제10-2015-0035430호에는 덱스트란이 코팅된 탄소나노튜브를 포함하는 표적 특이적 광열 치료용 조성물을 이용하여 염증세포를 선택적으로 사멸시키기 위한 광열 치료 방법이 개시되어 있고, 10-2013-0144905호에는 탄소 나노점의 표면에 선형 고분자로 패시베이션하고 세포 수용체 결합성의 리간드 화합물로 기능화한 탄소 나노 점 유도체에 광감각제를 담지시켜 바이오이미징 및 표적 광역동 치료 기능을 동시에 갖는 고형광성의 탄소 나노점 유도체가 개시되어 있고. 대한민국 공개특허공보 제10-2016-0004810호에는 단일 근적외 선 조사에 의하여 활성산소와 열을 함께 발생하는 광 치료용 광분해성 나노입자가 개시되어 있다.

[0008] 하지만 앞서 언급한 광치료의 효율을 극대화하기 위해서는 광역동 및 광열의 두 가지 효과를 동시에 극대화할 필요가 있으나, 상기 종래기술에 따른 나노입자를 사용하면, 광역동 치료 및 광열 치료 등의 두가지 치료효과를 동시에 만족이 어렵다. 즉, 일반적으로 두 가지 치료효과를 나타내기 위해서는 하나의 지지체에 각자의 효과를 내는 재료를 복합해야 하는데, 재료를 합성하는 과정이 매우 복잡하며 두 가지 감광제의 시너지 효과를 나타내기 위해서는 정밀한 합성방법이 요구된다. 또한 광역동 치료 또는 광열 치료에 필요한 광원이 서로 다르므로, 두 개의 광원을 사용하기 위해서는 시간차가 발생하기 때문에 치료효과가 떨어지고, 치료에 소요되는 시간이 오래 걸리는 단점이 있다.

[0009] 따라서 하나의 레이저 조사로 광역동 및 광열효과를 동시에 나타낼 수 있는 복합 나노입자를 제조하여 기존의 광치료 요법의 단점을 극복할 수 있고, 또한 암세포의 형광 이미징이 가능함으로써, 보다 효과적인 암세포 치료제로 응용할 수 있는 복합 나노입자의 개발이 요구된다.

발명의 내용

해결하려는 과제

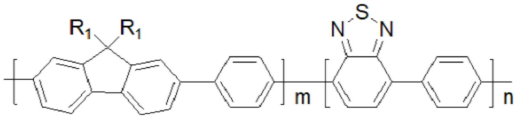
[0011] 본 발명은 하나의 레이저로 광역동 및 광열 치료가 가능하고, 또한 형광 이미징이 가능하도록 프러시안 블루가

도입된 실리카 나노입자를 합성하고, 그 표면에 공액화 고분자 나노점을 부착하여 고정한 공액화 고분자 나노점 및 프러시안 블루가 도입된 실리카 나노입자 및 그 제조방법을 제공하기 위한 것이다.

과제의 해결 수단

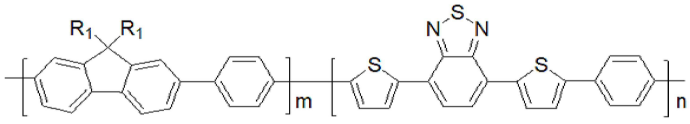
[0013] 상기한 목적을 달성하기 위한 본 발명의 공액화 고분자 나노점 및 프러시안 블루가 도입된 실리카 나노입자는 녹색광 또는 적색광의 레이저로 형광 이미징과 광역동 및 광열 치료가 가능하도록 실리카 나노입자; 상기 실리카 나노입자의 표면에 부착되어 고정화된 공액화 고분자 나노점; 및 상기 실리카 나노입자와 구조적으로 결합된 프러시안 블루;를 포함하고, 상기 레이저 파장은 532 nm 또는 635 nm이며, 상기 공액화 고분자 나노점은 아래의 [화학식 1] 내지 [화학식 8] 중 어느 하나의 구조를 갖는 것이 바람직하다.

[0015] [화학식 1]

[0016] 

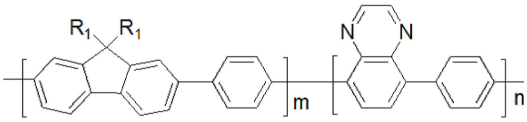
R_1=H 또는 C_1~C_{10} 인 알킬기

[0018] [화학식 2]

[0019] 

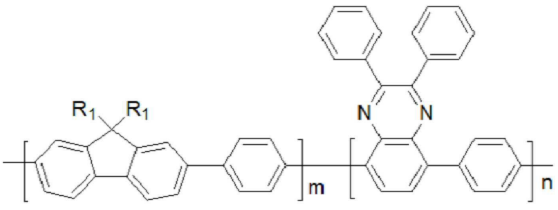
R_1=H 또는 C_1~C_{10}인 알킬기

[0021] [화학식 3]

[0022] 

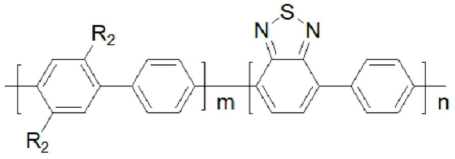
R_1=H 또는 C_1~C_{10}인 알킬기

[0024] [화학식 4]

[0025] 

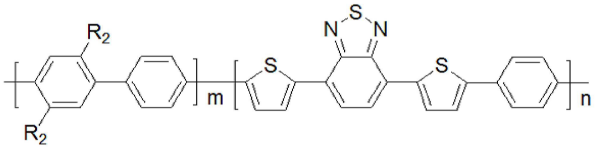
R_1=H 또는 C_1~C_{10}인 알킬기

[0027] [화학식 5]

[0028] 

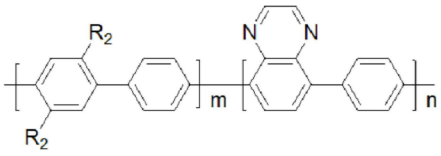
R_2=H, C_1~C_{10}인 알킬기 또는 OR_3 (R_3= C_1~C_{10} 인 알킬기)

[0030] [화학식 6]



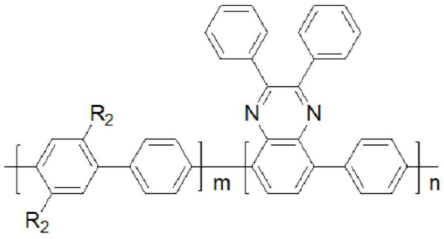
[0031] R_2=H, C_1~C_{10}인 알킬기 또는 OR_3 (R_3= C_1~C_{10} 인 알킬기)

[0033] [화학식 7]



[0034] R_2=H, C_1~C_{10}인 알킬기 또는 OR_3 (R_3= C_1~C_{10} 인 알킬기)

[0036] [화학식 8]



[0037] R_2=H, C_1~C_{10}인 알킬기 또는 OR_3 (R_3= C_1~C_{10} 인 알킬기)

[0039] 또한, 상기 공액화 고분자 나노점의 직경은 25 ~ 75 nm 이고, 상기 프러시안 블루가 도입된 실리카 나노입자의 직경은 300 ~ 500 nm이며, 상기 레이저의 세기는 2 mW 내지 200 mW이고, 레이저 조사 거리는 1 내지 5 cm이며, 조사 시간은 20분 이하인 것이 바람직하다.

[0040] 그리고, 본 발명에 따른 공액화 고분자 나노점 및 프러시안 블루가 도입된 실리카 나노입자의 제조방법은, ⅰ) 공액화 고분자를 합성하는 제 1 단계(S100); ii) 상기 제 1 단계(S100)에서 합성된 공액화 고분자를 이용하여 공액화 고분자 나노점 분산액을 제조하는 제 2 단계(S200); iii) 프러시안 블루가 도입된 실리카 나노입자를 제조하는 제 3 단계(S300); vi) 상기 제 2 단계(S200)에서 제조된 공액화 고분자 나노점 분산액을 이용하여 상기 공액화 고분자 나노점을 제 3 단계(S300)에서 제조된 프러시안 블루가 도입된 실리카 나노입자의 표면에 부착하는 제 4 단계(S400); 및 ⅴ) 상기 제 4 단계(S400)에서 프러시안 블루가 도입된 실리카 나노입자의 표면에 부착된 공액화 고분자 나노점을 고정화하는 제 5 단계(S500);를 포함하는 것이 바람직하다.

발명의 효과

[0042] 본 발명에 따른 공액화 고분자 나노점 및 프러시안 블루가 도입된 실리카 나노입자는 암세포 치료용으로 사용이 가능하고, 독성을 나타내지 않아 생체적합성이 우수한 효과를 갖는다. 또한 하나의 파장을 갖는 녹색광 또는 적색광의 레이저로 광역동 및 광열 치료 효과를 동시에 나타내며, 암세포에 대한 형광 이미징이 가능한 효과를 갖는다.

[0043] 그리고 본 발명에 따른 공액화 고분자 나노점 및 프러시안 블루가 도입된 실리카 나노입자는 비침습적 요법으로 부작용 및 치료 후 휴유증이 적고, 조직 손상이 적어 암세포에 대한 치료 시간이 비교적 짧은 장점을 갖는다.

[0044] 특히, 상기 공액화 고분자 나노점 및 프러시안 블루가 도입된 실리카 나노입자의 제조시 공유결합과 같은 복잡

한 합성과정이 필요없고, 정전기적 상호작용으로 제조됨으로써, 합성방법이 간단하고 내구성이 높은 장점을 갖는다.

도면의 간단한 설명

[0046] 도 1은 본 발명에 따른 공액화 고분자 나노점 및 프러시안 블루가 도입된 실리카 나노입자의 제조방법에 대한 흐름도이며,

도 2는 본 발명에 따른 프러시안 블루가 도입된 실리카 나노입자의 모식도이고,

도 3은 본 발명에 따른 공액화 고분자 나노점 및 프러시안 블루가 도입된 실리카 나노입자의 주시전자현미경(a) 및 투과전자현미경(b) 사진이며,

도 4는 본 발명에 따른 공액화 고분자 나노점 및 프러시안 블루가 도입된 실리카 나노입자에 대한 원소별 이미지 사진이며,.

도 5는 본 발명에 따른 공액화 고분자 나노점 및 프러시안 블루가 도입된 실리카 나노입자를 암세포에 주입한 후 24시간 배양후 형광 이미징 사진이며,

도 6은 본 발명에 따른 공액화 고분자 나노점 및 프러시안 블루가 도입된 실리카 나노입자의 532 nm 레이저 조사시 일항산소 생성율(%)을 나타낸 그래프이며,

도 7은 본 발명에 따른 공액화 고분자 나노점 및 프러시안 블루가 도입된 실리카 나노입자의 암세포에 주입한 후, 532 nm 레이저 조사시 온도변화를 나타낸 그래프이며,

도 8은 본 발명에 따른 공액화 고분자 나노점 및 프러시안 블루가 도입된 실리카 나노입자를 암세포에 주입한 후, 532 nm 레이저의 세기별로 10분 간 조사한 뒤, 암세포의 생존율을 나타낸 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

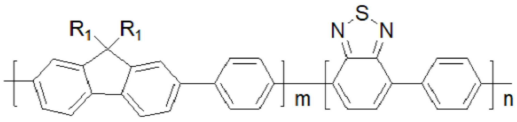
[0047] 이하, 첨부된 도면들을 참조하여 본 발명의 실시예를 상세히 설명하면 다음과 같다. 그러나 본 발명은 이하에서 개시되는 실시예에 한정되는 것이 아니라 서로 다른 다양한 형태로 구현될 수 있는 것으로, 이하의 실시예는 본 발명의 개시가 완전하도록 하며, 통상의 지식을 가진 자에게 발명의 범주를 완전하게 알려주기 위해 제공되는 것이다. 또한 설명의 편의를 위하여 도면에서는 구성 요소들이 그 크기가 과장 또는 축소될 수 있다. 도면들에 있어서, 예를 들면, 제조 기술 및/또는 공차(tolerance)에 따라, 도시된 형상의 변형들이 예상될 수 있다. 따라서, 본 발명은 본 명세서에 도시된 영역의 특정 형상에 제한된 것으로 해석되어서는 아니 되며, 예를 들면 제조상 초래되는 형상의 변화를 포함하여야 한다.

[0049] 이하에서 본 발명에 따른 공액화 고분자 나노점 및 프러시안 블루가 도입된 실리카 나노입자(100) 및 이의 제조방법에 대하여 상세히 설명한다.

[0051] 본 발명에 따른 공액화 고분자 나노점 및 프러시안 블루가 도입된 실리카 나노입자(100)의 제조방법은 도 1에 도시된 바와 같이, ⅰ) 공액화 고분자를 합성하는 제 1 단계(S100); ⅱ) 상기 제 1 단계(S100)에서 합성된 공액화 고분자를 이용하여 공액화 고분자 나노점 분산액을 제조하는 제 2 단계(S200); ⅲ) 프러시안 블루가 도입된 실리카 나노입자(10)를 제조하는 제 3 단계(S300); ⅵ) 상기 제 2 단계(S200)에서 제조된 공액화 고분자 나노점 분산액을 이용하여 상기 공액화 고분자 나노점을 제 3 단계(S300)에서 제조된 프러시안 블루가 도입된 실리카 나노입자(10)의 표면에 부착하는 제 4 단계(S400); 및 ⅴ) 상기 제 4 단계(S400)에서 프러시안 블루가 도입된 실리카 나노입자(10)의 표면에 부착된 공액화 고분자 나노점(20)을 고정화하는 제 5 단계(S500);를 포함하는 것이 바람직하다.

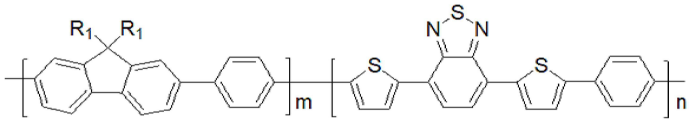
[0053] 본 발명에 따르면, 상기 제 1 단계(S100)의 공액화 고분자는 하기 [화학식 1] 내지 [화학식 8]로 표시되는 구조를 갖는 것이 바람직하다.

[0055] [화학식 1]

[0056] 

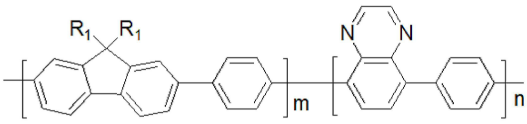
R_1=H 또는 C_1~C_{10} 인 알킬기

[0058] [화학식 2]

[0059] 

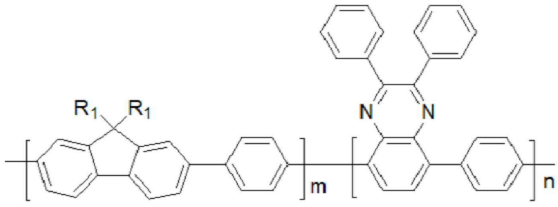
R_1=H 또는 C_1~C_{10}인 알킬기

[0061] [화학식 3]

[0062] 

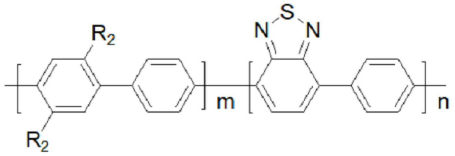
R_1=H 또는 C_1~C_{10}인 알킬기

[0064] [화학식 4]

[0065] 

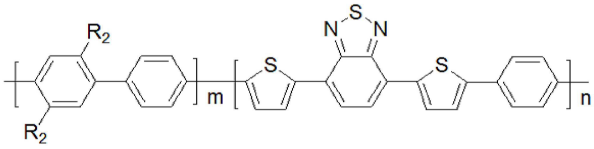
R_1=H 또는 C_1~C_{10}인 알킬기

[0067] [화학식 5]

[0068] 

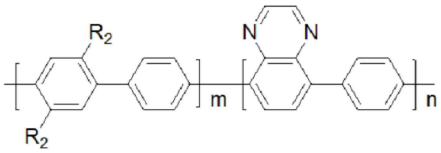
R_2=H, C_1~C_{10}인 알킬기 또는 OR_3 (R_3= C_1~C_{10} 인 알킬기)

[0070] [화학식 6]

[0071] 

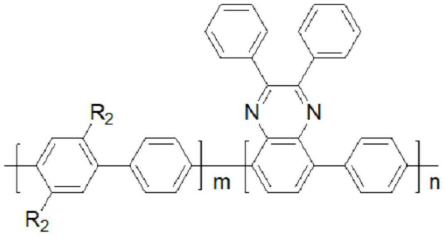
R_2=H, C_1~C_{10}인 알킬기 또는 OR_3 (R_3= C_1~C_{10} 인 알킬기)

[0073] [화학식 7]



[0074] R_2=H, C_1~C_{10}인 알킬기 또는 OR_3 (R_3= C_1~C_{10} 인 알킬기)

[0076] [화학식 8]



[0077] R_2=H, C_1~C_{10}인 알킬기 또는 OR_3 (R_3= C_1~C_{10} 인 알킬기)

[0079] 본 발명에서 사용되는 상기 [화학식 1] 내지 [화학식 8]로 표시되는 공액화 고분자는 스즈키 커플링 (Suzuki coupling) 반응에 의해 합성된 것이나, 이에 한정되는 것은 아니며 공지된 다양한 합성경로를 통해 제조될 수 있다.

[0081] 본 발명에 따른 제 2 단계(S200)에서 공액화 고분자 나노점 분산액을 제조하는 방법은 상기 제 1 단계(S100)에서 합성한 공액화 고분자를 재침전법을 사용하여 나노크기를 갖는 입자의 수분산액으로 제조할 수 있다. 상세하게는 상기 [화학식 1] 내지 [화학식 8]의 구조를 갖는 공액화 고분자를 증류수와 섞일 수 있는 소량의 유기용매에 녹인 뒤, 초음파처리 하에서 과량의 증류수에 빠르게 주입함으로써 상기 공액화 고분자 나노점을 제조할 수 있다.

[0082] 즉, 본 발명에 따르면, 상기 [화학식 1] 내지 [화학식 8] 중 어느 하나의 공액화 고분자 1 mg을 tetrahydrofuran 1 mL에 녹인 뒤, 초음파 처리하에서 12 mL의 3차 증류수에 주입하여 30분간 처리하였다. 다음으로 상기 3차 증류수에 혼합되어 있는 tetrahydrofuran을 제거하기 위하여 질소기체를 30분간 주입하고 0.8 마이크로미터의 직경을 갖는 syringe filter를 사용하여 여과함으로써, 직경이 50 내지 100 나노미터의 크기를 갖는 공액화 고분자 나노점을 얻을 수 있다.

[0084] 상기 제 2 단계(S200)에서 공액화 고분자 나노점의 제조시 투입되는 공액화 고분자의 양과 유기용매 및 3차 증류수의 부피 등은 제조되는 공액화 고분자 나노점의 크기 또는 분산성을 고려하여 적절하게 조절 가능하다.

[0086] 본 발명에 따른 공액화 고분자 나노점 및 프러시안 블루가 도입된 실리카 나노입자(100)의 제조방법의 제 3 단계(S300)로서, 프러시안 블루가 도입된 실리카 나노입자(10)를 제조하는 단계는 실리카 나노입자(10) 합성시 용매로 사용되는 물 대신에 프러시안 블루 분산액을 사용함으로써, 도 2에 도시된 바와 같이, 상기 프러시안 블루가 도입된 실리카 나노입자(10)를 제조할 수 있다.

[0087] 즉, 상기 제 3 단계(S300)시 실리카 나노입자(10) 합성시 용매로 사용되는 물 대신에 프러시안 블루 분산액을 사용함으로써, 도 2와 같이 실리카 나노입자의 형성시 구조 내부에 프러시안 블루가 도입된 실리카 나노입자를 제조할 수 있다.

[0088] 본 발명에 따른 제 3 단계(S300)는 먼저 프러시안 블루를 물에 분산하여 0.5 mg/mL의 농도를 갖는 프러시안 블루 나노입자 분산액을 제조한 후, 상기 프러시안 블루 나노입자 분산액 14 mL와 에탄올 25 mL를 플라스크에 넣고 잘 섞이도록 교반한다. 다음으로 상기 에탄올이 혼합된 프러시안 블루 나노입자 분산액에 tetraethyl

orthosilicate 1.5 mL를 침전물이 생기지 않도록 천천히 주입한 뒤, 28 중량% 암모니아 수용액(ammonia aqueous solution) 6 mL를 방울 형태로 떨어뜨리면서 첨가한다. 이후에 2시간 동안 반응시킨 후, 상기 프러시안 블루 나노입자의 표면을 양전하를 띠도록 하기 위하여 (3-aminopropyl)triethoxysilane 0.5 mL와 tetraethyl orthosilicate 0.5 mL 혼합액 1 mL를 첨가한 뒤 2시간 추가로 반응시켰다. 상기 반응의 종료 후 3,300 rpm으로 원심분리하여 결합되지 않은 프러시안 블루를 제거하고, 물로 세척하여 회수한 뒤 건조하면 300 내지 500 나노미터의 크기를 갖는 프러시안 블루가 도입된 실리카 나노입자(10)가 제조된다.

[0090] 상기 프러시안 블루가 도입된 실리카 나노입자(10)는 상기 제조방법으로 한정되는 것이 아니며, 상기 프러시안 블루가 도입된 실리카 나노입자(10)의 크기 및 결합된 프러시안 블루의 양 등을 조절하기 위해서 교반시간, 촉매인 암모니아 수용액의 양, 촉매의 종류, 교반 속도, 반응 온도, 프러시안 블루의 양, 실리카 전구체의 양, 물과 에탄올의 투입양 등을 적절히 조절하여 제조할 수 있다.

[0092] 또한, 본 발명에 따른 제 4 단계(S400)는 제 2 단계(S200)에서 제조된 공액화 고분자 나노점(20)을 제 3 단계(S300)에서 제조된 프러시안 블루가 도입된 실리카 나노입자(10)의 표면에 부착하는 단계를 가리킨다. 즉, 상기 제 4 단계(S400)에서 공액화 고분자 나노점(20)을 프러시안 블루가 도입된 실리카 나노입자(10)의 표면에 부착하는 방법은 제 2 단계(S200)에서 제조한 공액화 고분자 나노점 분산액에 제 3 단계(S300)에서 제조한 프러시안 블루가 도입된 실리카 나노입자(10)를 분산시켜 정전기적 결합으로 부착할 수 있다.

[0093] 상기 공액화 고분자 나노점(20)은 -5 내지 -30 mV의 음전하를 띄고 있고, 상기 프러시안 블루가 도입된 실리카 나노입자(10)는 (3-aminopropyl)triethoxysilane로 처리하여 양전하를 띄도록 하였기 때문에 두 입자 사이의 정전기적 인력으로 쉽게 결합함으로써 부착이 가능하다.

[0094] 본 발명에 따르면, 상기 공액화 고분자 나노점 분산액 30 mL에 프러시안 블루가 도입된 실리카 나노입자(10) 30 mg을 초음파처리하에서 30분 동안 분산시킨 뒤, 24시간 동안 안정화를 시킨 후에 상기와 같이 공액화 고분자 나노점(20)이 표면에 부착된 프러시안 블루가 도입된 실리카 나노입자(10)를 원심분리하여 회수할 수 있다.

[0096] 상기 제 4 단계(S400)는 상기 방법으로 한정되는 것은 아니며, 공액화 고분자 나노점(20)의 도입량, 요구하는 표면전하를 적절히 고려하여 공액화 고분자 나노점(20)의 부피, 프러시안 블루가 도입된 실리카 나노입자(10)의 양, 초음파처리 시간, 안정화 시간 등을 고려하여 적절히 조절할 수 있다.

[0098] 이후에 수행되는 제 5 단계(S500)는 상기 프러시안 블루가 도입된 실리카 나노입자(10)의 표면에 부착된 공액화 고분자 나노점(20)을 고정화하는 단계로서, 상기 제 4 단계(S400)에서 제조된 공액화 고분자 나노점(20)이 표면에 부착된 프러시안 블루가 도입된 실리카 나노입자(10)는 정전기적 결합으로 부착되어 있기 때문에 상기 공액화 고분자 나노점(20)이 탈리하는 문제점을 개선하기 위한 것이다.

[0100] 상기 제 5 단계(S500)는 상기 프러시안 블루가 도입된 실리카 나노입자의 표면에 부착된 공액화 고분자 나노점을 고정화하고, 세포의 접근성을 향상시키기 위해 (3-aminopropyl)triethoxysilane의 졸-젤 반응을 통해 수행될 수 있다. 즉, 상기 (3-aminopropyl)triethoxysilane은 80 ℃에서 열처리시 말단의 ethoxy기로부터 ethyl기가 떨어지면서 서로 연결되면서 상기 프러시안 블루가 도입된 실리카 나노입자(10)의 표면에 부착된 공액화 고분자 나노점(20)을 고정화하게 된다.

[0102] 본 발명에 따르면, 제 5 단계(S500)에서는 30 mL 물에 제 4 단계(S400)에서 제조한 공액화 고분자 나노점(20)이 표면에 부착된 플러시안 블루가 도입된 실리카 나노입자(10)를 재분산 시킨 후, (3-aminopropyl)triethoxysilane을 0.1 mL 첨가하여 12시간 동안 천천히 교반한 뒤, 80 ℃에서 1시간 동안 건조 오븐에서 열처리함으로써 상기 프러시안 블루가 도입된 실리카 나노입자(10)의 표면에 부착된 공액화 고분자 나노점(20)을 고정화할 수 있다.

[0104] 상기 제 5 단계(S500)는 위와 같이 한정되는 것은 아니며, 상기 공액화 고분자 나노점(20)의 고정화 정도, 요구하는 표면전하에 따라 (3-aminopropyl)triethoxysilane의 양, 열처리 온도, 시간 등을 적절히 조절할 수 있다.

[0106] 상기와 같은 제조방법으로 제조된 공액화 고분자 나노점 및 프러시안 블루가 도입된 실리카 나노입자(100)는 암세포 치료용으로 사용이 가능하다. 즉, 상기 공액화 고분자 나노점 및 프러시안 블루가 도입된 실리카 나노입자(100)는 상기 공액화 고분자 나노점(20)에 의해 녹색광 또는 적색광의 레이저 조사시에 일항산소를 발생하게 된다. 또한 상기 레이저 조사시에 프러시안 블루에 의해 열을 발생하고, 상기 형광 이미징이 가능하게 되는 특징을 갖는다.

[0107] 상기와 같이 본 발명에 따른 공액화 고분자 나노점 및 프러시안 블루가 도입된 실리카 나노입자(100)로부터 일항산소의 발생을 확인하기 위해서 지시제인 1,3-diphenylisobenzofuran(이하, 1,3-DPIBF)을 사용하였으며, 상기 1,3-DPIBF는 일항산소와 반응하여 1.2-dibenzoylbenzene으로 구조가 변화하고, 이에 따라 상기 1,3-DPIBF의 흡수 파장인 416 nm의 흡광도가 감소하는 것을 통해 일항산소의 발생을 확인할 수 있다.

[0108] 본 발명에서는 일항산소의 발생확인을 위해 일항산소의 지시제인 1,3-DPIBF를 사용하였으나 공지된 다른 일항산소의 지시제를 사용하는 것도 가능하다.

[0109] 이때 상기 공액화 고분자 나노점 및 프러시안 블루가 도입된 실리카 나노입자(100)에 조사되는 레이저의 세기는 2 mW 내지 200 mW인 것이 바람직하고, 레이저 조사 거리는 1 내지 5 cm이며, 조사 시간은 20분 이내로 조사하는 것이 바람직하다.

[0110] 또한 상기 레이저 조사시에 상기 공액화 고분자 나노점 및 프러시안 블루가 도입된 실리카 나노입자(100)에 도입된 공액화 고분자 나노점(20)에 의해 형광이 발생하며, 상기 프러시안 블루는 상기 형광을 흡수함으로써 발열하게 된다. 상기와 같은 발열은 적외선 카메라를 이용하여 확인할 수 있다.

[0112] 상기와 같이 본 발명에 따른 공액화 고분자 나노점 및 프러시안 블루가 도입된 실리카 나노입자(100)는 상기 레이저의 조사시 공액화 고분자 나노점(20)에 의해 일항산소 및 형광이 발생하고, 또한 상기 프러시안 블루는 상기 공액화 고분자 나노점(20)에서 발생하는 형광을 흡수함으로써 발열하게 된다. 이에 따라 본 발명에 따른 공액화 고분자 나노점 및 프러시안 블루가 도입된 실리카 나노입자(100)는 하나의 레이저의 조사로 암세포에 대한 광역동 및 광열효과를 동시에 나타낼 수 있다. 또한 생체적합성이 우수한 암세포 치료용으로 사용이 가능하고, 형광 이미징이 가능한 효과를 갖는다.

[0114] 이하에서는 본 발명에 대하여 실시예로서 상세하게 설명하기로 한다. 그러나 이들 실시예는 본 발명을 구체적으로 설명하기 위한 것으로서, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 한정되는 것은 아니다.

[0116] [제조예 1] : 제 1 단계(S100)인 공액화 고분자의 합성

[0118] (제조예 1-1)

[0120] 상기 [화학식 1]에 있어서 R_1은 탄소수 8의 알킬기이고, m은 7이며, n은 3인 플루오렌계 공액화 고분자를 제조하기 위하여, 3-neck round bottom flask에 0.7 mmol인 9,9-Dioctyl-2,7-dibromofluorene과, 1 mmol인 1,4-Benzenediboronic acid bis(pinacol) ester 및 0.3 mmol인 4,7-Dibromobenzo[c]-1,2,5-thiadiazole과, 촉매인 0.05 mmol인 tetrakis(triphenylphosphine)palladium을 넣고 환류기를 장착하여 아르곤 기체로 퍼징(purging)하였다. 이후에 습기가 제거된 12 mL의 toluene을 넣고 촉매와 상기 반응물인 9,9-Dioctyl-2,7-dibromofluorene과, 1,4-Benzenediboronic acid bis(pinacol) ester 및 4,7-Dibromobenzo[c]-1,2,5-thiadiazole을 녹인 뒤, 2 M인 K_2CO_3 수용액 3 mL를 넣고 90 °C에서 48시간 동안 교반하여 반응을 진행하였다.

상기 반응 후 상온으로 냉각하고 메탄올에 투입하여 고체를 석출시킨 다음 석출물을 여과하였다. 수득한 고체를 메탄올 또는 아세톤으로 Soxhlet 정제한 뒤, 건조하여 공액화 고분자-1(conjugated Polymer-1, 이하 CP-1이라 하며, 나머지도 같은 방법으로 칭한다)을 얻었다.

[0122] 상기와 같이 제조된 CP-1은 ^{1}H-NMR을 이용하여 아래와 같이 그 제조를 확인하였다.

[0124] ^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ=8.2~7.6 ppm (8.8H, 방향족), 3.2~2.9 ppm (2.8H, 알킬기), 2.2 ppm (2.8H, 알킬기), 1.29~0.92 ppm (11.2H, 알킬기)

[0126] (제조예 1-2)

[0128] 상기 [화학식 2]에 있어서 R_1은 탄소수 8의 알킬기이고, m은 7이며, n은 3인 플루오렌계 공액화 고분자를 제조하기 위하여, 3-neck round bottom flask에 0.7 mmol인 9,9-Dioctyl-2,7-dibromofluorene과, 1 mmol인 1,4-Benzenediboronic acid bis(pinacol) ester 및 0.3 mmol인 4,7-Dibromobenzo[c]-1,2,5-thiadiazole과, 촉매인 0.05 mmol인 tetrakis(triphenylphosphine)palladium을 넣고 환류기를 장착하여 아르곤 기체로 퍼징하였다. 이후에 습기가 제거된 12 mL의 toluene을 추가하여 촉매와 반응물인 9,9-Dioctyl-2,7-dibromofluorene과 1,4-Benzenediboronic acid bis(pinacol) ester 및 4,7-Dibromobenzo[c]-1,2,5-thiadiazole을 녹인 뒤, 2 M인 K_2CO_3 수용액 3 mL를 넣고 90 °C에서 48시간 동안 교반하여 반응을 진행하였다. 상기 반응 후 상온으로 냉각하고 메탄올에 부어 고체를 석출시킨 다음 석출물을 여과하였다. 수득한 고체를 메탄올 또는 아세톤으로 Soxhlet 정제한 뒤, 건조하여 CP-2를 얻었다.

[0130] 상기와 같이 제조된 CP-2는 ^{1}H-NMR을 이용하여 아래와 같이 그 제조를 확인하였다.

[0132] ^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ=8.4~7.6 ppm (10H, 방향족), 3.1~2.7 ppm (2.8H, 알킬기), 2.4 ppm (2.8H, 알킬기), 1.27~0.94 ppm (11.2H, 알킬기)

[0134] (제조예 1-3)

[0136] 상기 [화학식 3]에 있어서 R_1은 탄소수 8의 알킬기이고, m은 7이며, n은 3인 플루오렌계 공액화 고분자를 제조하기 위하여, 3-neck round bottom flask에 0.7 mmol인 9,9-Dioctyl-2,7-dibromofluorene과, 1 mmol인 1,4-Benzenediboronic acid bis(pinacol) ester 및 0.3 mmol인 5,8-dibromoquinoxaline과, 촉매인 0.05 mmol인 tetrakis(triphenylphosphine)palladium을 넣고 환류기를 장착하여 아르곤 기체로 퍼징(purging) 하였다. 이후에 습기가 제거된 12 mL의 toluene을 넣고 촉매와 반응물인 9,9-Dioctyl-2,7-dibromofluorene과 1,4-Benzenediboronic acid bis(pinacol) ester 및 5,8-dibromoquinoxaline을 녹인 뒤, 2 M인 K_2CO_3 수용액 3 mL를 넣고 90 °C에서 48시간 동안 교반하여 반응을 진행하였다. 상기 반응 후 상온으로 냉각하고 메탄올에 투입하여 고체를 석출시킨 다음 석출물을 여과하였다. 수득한 고체를 메탄올 또는 아세톤으로 Soxhlet 정제한 뒤, 건조하여 CP-3를 얻었다.

[0138] 상기와 같이 제조된 CP-3는 ^{1}H-NMR을 이용하여 아래와 같이 그 제조를 확인하였다.

[0140] ^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ=8.5~7.6 ppm (9.4H, 방향족), 3.3~2.6 ppm (2.8H, 알킬기), 2.7 ppm (2.8H, 알킬기), 1.32~0.94 ppm (11.2H, 알킬기)

[0142] (제조예 1-4)

[0144] 상기 [화학식 4]에 있어서 R_1은 탄소수 8의 알킬기이고, m은 7이며, n은 3인 플루오렌계 공액화 고분자를 제조하기 위하여, 3-neck round bottom flask에 0.7 mmol인 9,9-Dioctyl-2,7-dibromofluorene과, 1 mmol인 1,4-Benzenediboronic acid bis(pinacol) ester 및 0.3 mmol인 5,8-dibromoquinoxaline과, 촉매인 0.05 mmol인 tetrakis(triphenylphosphine)palladium을 넣고 환류기를 장착하여 아르곤 기체로 퍼징(purging) 하였다. 이후에 습기가 제거된 12 mL의 toluene을 넣고 촉매와 반응물인 9,9-Dioctyl-2,7-dibromofluorene과 1,4-Benzenediboronic acid bis(pinacol) ester 및 5,8-dibromoquinoxaline을 녹인 뒤, 2 M인 K_2CO_3 수용액 3 mL를 넣고 90 °C에서 48시간 동안 교반하여 반응을 진행하였다. 상기 반응 후 상온으로 냉각하고 메탄올에 투입하여 고체를 석출시킨 다음 석출물을 여과하였다. 수득한 고체를 메탄올 또는 아세톤으로 Soxhlet 정제한 뒤, 건조하여 CP-4를 얻었다.

[0146] 상기와 같이 제조된 CP-4는 ^{1}H-NMR을 이용하여 아래와 같이 그 제조를 확인하였다.

[0148] ^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ=8.1~7.3 ppm (11.8H, 방향족), 3.4~2.8 ppm (2.8H, 알킬기), 2.4 ppm (2.8H, 알킬기), 1.23~0.89 ppm (11.2H, 알킬기)

[0150] (제조예 1-5)

[0151] 상기 [화학식 5]에 있어서 R_2는 탄소수 6의 알콕시기(OC_6)이고, m은 7이며, n은 3인 플루오렌계 공액화 고분자를 제조하기 위하여, 3-neck round bottom flask에 0.7 mmol인 1,4-dibromo-2,5-bis(hexyloxy)benzene와, 1 mmol인 2,5-bis(hexyloxy)phenyldiboronic acid 및 0.3 mmol인 4,7-Dibromobenzo[c]-1,2,5-thiadiazole과, 촉매인 0.05 mmol인 tetrakis(triphenylphosphine)palladium을 넣고 환류기를 장착하여 아르곤 기체로 퍼징(purging) 하였다. 이때 상기 알콕시기(alkoxy group)는 산소와 결합된 알킬기를 나타낸다.

[0152] 이후에 습기가 제거된 12 mL의 toluene을 넣고 촉매와 반응물인 1,4-dibromo-2,5-bis(hexyloxy)benzene과 2,5-bis(hexyloxy)phenyldiboronic acid 및 4,7-Dibromobenzo[c]-1,2,5-thiadiazole을 녹인 뒤, 2 M인 K_2CO_3 수용액 3 mL를 넣고 90 °C에서 48시간 동안 교반하여 반응을 진행하였다. 상기 반응 후 상온으로 냉각하고 메탄올에 투입하여 고체를 석출시킨 다음 석출물을 여과하였다. 수득한 고체를 메탄올 또는 아세톤으로 Soxhlet 정제한 뒤, 건조하여 CP-5를 얻었다.

[0154] 상기와 같이 제조된 CP-5는 ^{1}H-NMR을 이용하여 아래와 같이 그 제조를 확인하였다.

[0156] ^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ=8.1~7.2 ppm (4H, 방향족), 4.2~3.9 ppm (2.8H, 알킬기), 3.4~3.1 ppm (2.8H, 알킬기), 1.81~1.75 ppm (2.8H, 알킬기), 1.47~1.23 (3.5H, 알킬기)

[0158] (제조예 1-6)

[0160] 상기 [화학식 6]에 있어서 탄소수 6의 알콕시기(OC_6)이고, m은 7이며, n은 3인 플루오렌계 공액화 고분자를 제조하기 위하여, 3-neck round bottom flask에 0.7 mmol인 1,4-dibromo-2,5-bis(hexyloxy)benzene와, 1 mmol인 2,5-bis(hexyloxy)phenyldiboronic acid 및 0.3 mmol인 4,7-Dibromobenzo[c]-1,2,5-thiadiazole과, 촉매인 0.05 mmol인 tetrakis(triphenylphosphine)palladium을 넣고 환류기를 장착하여 아르곤 기체로 퍼징(purging) 하였다. 이후에 습기가 제거된 12 mL의 toluene을 넣고 촉매와 반응물인 1,4-dibromo-2,5-bis(hexyloxy)benzene과 2,5-bis(hexyloxy)phenyldiboronic acid 및 4,7-Dibromobenzo[c]-1,2,5-thiadiazole을 녹인 뒤, 2 M인 K_2CO_3 수용액 3 mL를 넣고 90 °C에서 48시간 동안 교반하여 반응을 진행하였다. 상기 반응 후 상온으로 냉각하고 메탄올에 투입하여 고체를 석출시킨 다음 석출물을 여과하였다. 수득한 고체를 메탄올 또는 아세톤으로 Soxhlet 정제한 뒤, 건조하여 CP-6를 얻었다.

[0162] 상기와 같이 제조된 CP-6는 ^{1}H-NMR을 이용하여 아래와 같이 그 제조를 확인하였다.

[0164] ^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ=8.5~7.3 ppm (7.2H, 방향족), 4.3~3.7 ppm (2.8H, 알킬기), 3.3~2.9 ppm (2.8H, 알킬기), 1.80~1.74 ppm (2.8H, 알킬기), 1.46~1.22 (3.5H, 알킬기)

[0166] (제조예 1-7)

[0168] 상기 [화학식 7]에 있어서 탄소수 6의 알콕시기(OC_6)이고, m은 7이며, n은 3인 플루오렌계 공액화 고분자를 제조하기 위하여, 3-neck round bottom flask에 0.7 mmol인 1,4-dibromo-2,5-bis(hexyloxy)benzene과, 1 mmol인 2,5-bis(hexyloxy)phenyldiboronic acid 및 0.3 mmol인 5,8-dibromoquinoxaline과, 촉매인 0.05 mmol인 tetrakis(triphenylphosphine)palladium을 넣고 환류기를 장착하여 아르곤 기체로 퍼징(purging) 하였다. 이후에 습기가 제거된 12 mL의 toluene을 넣고 촉매와 반응물인 1,4-dibromo-2,5-bis(hexyloxy)benzene과 2,5-bis(hexyloxy)phenyldiboronic acid 및 5,8-dibromoquinoxaline을 녹인 뒤, 2 M인 K_2CO_3 수용액 3 mL을 넣고 90 °C에서 48시간 동안 교반하여 반응을 진행하였다. 상기 반응 후 상온으로 냉각하고 메탄올에 투입하여 고체를 석출시킨 다음 석출물을 여과하였다. 수득한 고체를 메탄올, 아세톤으로 Soxhlet 정제한 뒤, 건조하여 CP-7을 얻었다.

[0170] 상기와 같이 제조된 CP-7은 ^{1}H-NMR을 이용하여 아래와 같이 그 제조를 확인하였다.

[0172] ^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ=8.2~7.3 ppm (6.6H, 방향족), 4.2~3.6 ppm (2.8H, 알킬기), 3.1~2.7 ppm (2.8H, 알킬기), 1.82~1.73 ppm (2.8H, 알킬기), 1.45~1.23 (3.5H, 알킬기)

[0174] (제조예 1-8)

[0176] 상기 [화학식 8]에 있어서 탄소수 6의 알콕시기(OC_6)이고, m은 7이며, n은 3인 플루오렌계 공액화 고분자를 제조하기 위하여, 3-neck round bottom flask에 0.7 mmol인 1,4-dibromo-2,5-bis(hexyloxy)benzene과, 1 mmol인

2,5-bis(hexyloxy)phenyldiboronic acid 및 0.3 mmol인 5,8-dibromo-2,3-diphenylquinoxaline과, 촉매인 0.05 mmol인 tetrakis(triphenylphosphine)palladium을 넣고 환류기를 장착하여 아르곤 기체로 퍼징(purging) 하였다. 이후에 습기가 제거된 12 mL의 toluene을 넣고 촉매와 반응물인 1,4-dibromo-2,5-bis(hexyloxy)benzene과 2,5-bis(hexyloxy)phenyldiboronic acid 및 5,8-dibromo-2,3-diphenylquinoxaline을 녹인 뒤, 2 M인 K_2CO_3 수용액 3 mL를 넣고 90 °C에서 48시간 동안 교반하여 반응을 진행하였다. 상기 반응 후 상온으로 냉각하고 메탄올에 투입하여 고체를 석출시킨 다음 석출물을 여과하였다. 수득한 고체를 메탄올, 아세톤으로 Soxhlet 정제한 뒤, 건조하여 CP-8을 얻었다.

[0178] 상기와 같이 제조된 CP-8은 ^{1}H-NMR을 이용하여 아래와 같이 그 제조를 확인하였다.

[0180] ^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ=8.3~7.1 ppm (9H, 방향족), 4.1~3.9 ppm (2.8H, 알킬기), 3.0~2.8 ppm (2.8H, 알킬기), 1.81~1.74 ppm (2.8H, 알킬기), 1.43~1.22 (3.5H, 알킬기)

[0182] [제조예 2] : 제 2 단계(S200)인 공액화 고분자 나노점 분산액의 제조

[0184] 본 발명에 따른 공액화 고분자 나노점 분산액은 상기 [제조예 1]에서 합성한 공액화 고분자 즉 CP-1 내지 CP-8을 이용하여 제조하였다. 상기 공액화 고분자 나노점 분산액의 제조방법은 다음과 같다.

[0185] 즉, CP-1 내지 CP-8을 각각 1 mg/mL의 농도로 tetrahydrofuran에 녹인 뒤, 상기 CP-1 내지 CP-8이 용해된 tetrahydrofuran을 초음파 처리 하에서 12 mL의 3차 증류수에 재빠르게 주입한다. 이후 30분 동안 초음파 처리한 뒤, 질소 기체를 불어넣어 tetrahydrofuran을 제거하게 된다. 상기 tetrahydrofuran은 휘발성이 강한 용매이므로, 휘발하여 질소 기체와 함께 용이하게 제거될 수 있다.

[0186] 그리고 0.8 마이크로미터 크기의 syringe filter로 이를 여과하여 공액화 고분자 나노점 분산액(Conjugated Polymer Nanodots Dispersion, 이하 CPD-1)을 얻는다. 상기와 동일한 방법으로 CP-2 내지 CP-8를 이용하여 공액화 고분자 나노점 분산액인 CPD-2 내지 CPD-8을 제조하였다.

[0188] [제조예 3] : 제 3 단계(S300)인 프러시안 블루가 도입된 실리카 나노입자의 제조

[0190] [제조예 3]에서는 본 발명에 따라 제조되는 공액화 고분자 나노점 및 프러시안 블루가 도입된 실리카 나노입자(100)의 광열 효과를 개선하기 위하여 프러시안 블루를 실리카 나노입자 구조 내부로 도입하게 된다.

[0191] 즉, 실리카 나노입자의 합성시 사용되는 물 대신에 프러시안 블루가 물에 분산된 수분산액을 사용하여 실리카 나노입자를 제조하게 되면, 상기 프러시안 블루가 도 2와 같이 실리카의 미반응 하이드록실기(-OH)와 결합하여 프러시안 블루가 도입된 실리카 나노입자를 제조할 수 있다.

[0192] 즉, 0.5 mg/mL의 농도를 갖는 프러시안 블루 수분산액 14 mL와 에탄올 25 mL를 플라스크에 넣고 잘 섞이도록 교반했다. 이후에 tetraethyl orthosilicate 1.5 mL를 침전물이 생기지 않도록 천천히 주입한 뒤, 28 중량%의 농도를 갖는 암모니아 수용액 6 mL를 방울 형태로 떨어뜨리면서 첨가하였다. 이후 2시간 동안 반응시켜 상기 프러시안 블루가 도입된 실리카 나노입자를 제조하게 된다.

[0193] 또한 상기와 같이 제조되는 프러시안 블루가 도입된 실리카 나노입자의 표면을 양전하를 띠도록 하기 위하여 (3-aminopropyl)triethoxysilane 0.5 mL와 tetraethyl orthosilicate 0.5 mL의 혼합액 1 mL를 추가로 첨가한 뒤 2시간 더 반응을 시킨다.

[0194] 상기 반응의 종료 후 3,300 rpm으로 원심분리하여 미반응 프러시안 블루를 제거하고, 물로 세척하여 회수한 뒤 건조함으로써, 프러시안 블루가 도입된 실리카 나노입자(Silica Nano Particle-Prussian Blue, 이하 SNP-PB)를

제조하였다.

[0196] [제조예 4] : 제 4 단계(S400)인 공액화 고분자 나노점이 부착된 프러시안 블루가 도입된 실리카 나노입자의 제조

[0198] 상기 [제조예 4]는 [제조예 2]에서 제조된 CPD-1 내지 CDP-8을 [제조예 3]에서 제조한 SNP-PB의 표면에 부착하는 단계를 가리킨다.

[0199] 즉, [제조예 2[에서 제조된 CPD-1 30 mL에 [제조예 3]에서 제조된 SNP-PB 30 mg을 넣고 30분 동안 초음파 처리하여 분산시킨 뒤, 12시간 동안 원심분리하여 상기 SNP-PB의 표면에 CPD-1에 포함된 공액화 고분자 나노점이 부착된 프러시안 블루가 도입된 실리카 나노입자(이하, SNP-PB-CPD-1)을 회수하였다.

[0200] 상기와 동일한 방법으로 CPD-2 내지 CPD-8를 이용하여 SNP-PB-CPD-2 내지 SNP-PB-CPD-8을 제조하였다.

[0202] [제조예 5] : 제 5 단계(S500)인 표면에 부착된 공액화 고분자 나노점의 고정화

[0204] [제조예 5]는 상기 [제조예 4]에서 제조된 SNP-PB-CPD-1 내지 SNP-PB-CPD-8로부터 표면에 부착된 공액화 고분자 나노점(20)을 고정화하는 단계를 가리킨다.

[0205] 즉, 상기 SNP-PB-CPD-1의 표면에 부착된 공액화 고분자 나노점(20)을 부착하기 위해 30 mL 물에 상기 [제조예 4]에서 제조된 SNP-PB-CPD-1을 재분산 시키고, (3-aminopropyl)triethoxysilane 0.1 mL 첨가하여 12시간 동안 천천히 교반한다. 이후에 80 °C에서 1시간 동안 건조 오븐에서 열처리함으로써, 도 3과 같이 표면에 부착된 공액화 고분자 나노점(20)이 고정화된 SNP-PB-CPD-1을 얻었다.

[0206] 상기 SNP-PB-CPD-1에 대한 TEM 이미지를 기반으로 원소별 이미지 사진을 도 4에 나타내었다. 도 4의 (a)는 상기 SNP-PB-CPD-1를 구성하는 각 원소 이미지 사진의 병합사진이고, 도 4의 (b)는 상기 SNP-PB-CPD-1를 구성하는 원소별 이미지 사진이다.

[0207] 도 4의 (b)에 나타난 바와 같이 상기 SNP-PB-CPD-1를 구성하는 원소로서, 실리카 나노입자로부터 기인하는 규소(Si)와 산소(O)의 이미지 사진과, 공액화 고분자 나노점으로부터 기인하는 탄소(C), 질소(N) 및 황(S)의 이미지 사진 및 프러시안 블루로부터 기인하는 철(Fe)의 이미지 사진을 확인할 수 있다.

[0208] 즉, 본 발명에 따라 제조된 SNP-PB-CPD-1는 실리카 나노입자(10)에 공액화 고분자 나노점(20) 및 프러시안 블루가 함께 도입되어 제조된 것을 확인할 수 있다.

[0209] 상기와 동일한 방법으로 표면에 부착된 공액화 고분자 나노점(20)이 고정화된 SNP-PB-CPD-2 내지 SNP-PB-CPD-8을 제조하였다.

[0211] [비교제조예 1] : 프러시안 블루가 도입되지 않고 공액화 고분자 나노점이 고정화된 실리카 나노입자의 제조

[0213] 본 발명에 따른 공액화 고분자 나노점 및 프러시안 블루가 도입된 실리카 나노입자(100)와 물성의 비교를 위하여, 공액화 고분자 나노점(20)은 표면에 고정화되되, 프러시안 블루가 도입되지 않은 실리카 나노입자(10)를 다음과 같은 방법으로 제조했다.

[0214] 즉, 물 14 mL와 에탄올 25 mL를 플라스크에 넣고 잘 섞이도록 교반했다. 다음으로 tetraethyl orthosilicate 1.5 mL를 침전물이 생기지 않도록 천천히 주입한 뒤, 28 중량%의 농도를 갖는 암모니아 수용액 6 mL를 방울 형태로 떨어뜨리면서 첨가하였다. 이후 2시간 동안 반응한 뒤, 제조된 실리카 나노입자의 표면가 양전하를 띠게 하도록 (3-aminopropyl)triethoxysilane 0.5 mL와 tetraethyl orthosilicate 0.5 mL 혼합액 1 mL를 첨가한 뒤 2시간 더 반응했다.

[0215] 상기 반응 종료 후 3,300 rpm으로 원심분리하고 물로 세척하여 회수한 뒤 건조하여 실리카 나노입자(10)를 제조

하고, [제조예 2]에서 제조된 공액화 고분자 나노점 분산액인 CPD-1 30 mL에 실리카 나노입자 30 mg을 30분 동안 초음파 처리하여 분산시킨 뒤, 12시간 동안 두고 원심분리하여 나노입자를 회수했다. 나노입자 표면에 붙은 공액화 고분자 니노점을 고정화 하기 위해 30 mL 물에 재분산시키고 (3-aminopropyl)triethoxysilane을 0.1 mL 첨가하여 12시간 동안 천천히 교반한 뒤, 80 °C에서 1시간 동안 건조 오븐에서 열처리함으로써, 공액화 고분자 나노점(20)은 도입되되, 프러시안 블루가 도입되지 않은 SNP-CPD-1을 얻었다.

[0216] 상기와 동일한 방법으로 CPD-2 내지 CPD-8를 사용하여 공액화 고분자 나노점(20)은 도입되되, 프러시안 블루가 도입되지 않은 SNP-CPD-2 내지 SNP-CPD-8을 제조하였다.

[0218] [실시예 1] : 532 nm 레이저 조사시 일항산소의 발생 실험

[0220] [실시예 1]에서는 [제조예 5]에서 제조한 SNP-PB-CPD-1 내지 SNP-PB-CPD-8로 구성되는 시료 8종을 이용하여 532 nm 레이저 조사시 일항산소의 생성율(%)을 측정하였고, 상기 시료 8종에 대한 측정 결과를 [실시예 1-1] 내지 [실시예 1-8]로 나타내었다.

[0221] 532 nm 레이저 조사시 일항산소의 발생 실험을 수행하기 위하여, 먼저 1,3-DPIBF를 *dimethyl sulfoxide(이하,* DMSO)에 용해하고, 상기 1,3-DPIBF가 용해된 DMSO에 상기 [제조예 5]에서 제조한 SNP-PB-CPD-1 내지 SNP-PB-CPD-8 각각을 분산시킨다. .

[0222] 이때 상기 1,3-DPIBF는 일항산소의 지시제로서, 상기 일항산소와 반응하여 1.2-dibenzoylbenzene으로 구조가 변화하게 된다. 이에 따라 418 nm 레이저의 흡광도가 감소하게 되고, 이를 이용하여 일항산소의 발생을 확인할 수 있다.

[0223] 이후에 상기 SNP-PB-CPD-1 내지 SNP-PB-CPD-8가 각각 분산된 용액에 532 nm 레이저(200 mW)를 조사하게 된다. 이때 시료와의 조사거리는 5 cm, 레이저 조사시간은 5분으로 하여 532 nm 레이저를 조사하였다. 상기와 같이 레이저의 조사t1 시간별로 용액을 채취하여 418 nm에서의 흡광도를 측정하고, 이로부터 (식 1)을 이용하여 각 시료의 일항산소의 (%)을 측정하였다.

[0225] 상기 [실시예 1-1] 내지 [실시예 1-8]은 상기 [제조예 5]에서 제조한 SNP-PB-CPD-1 내지 SNP-PB-CPD-8을 이용하여 523 nm 레이저의 조사전후에 418 nm의 흡광도를 측정하여 (식 1)에 의거하여 일항산소 생성율(%)을 측정하고, 그 결과를 [표 1]에 나타내었다.

[0227]
$$\text{일항산소 생성율}(\%) = \left(1 - \frac{\text{레이저 조사후 418 nm에서의 흡광도}}{\text{레이저 조사전 418 nm에서의 흡광도}}\right) \times 100 \quad \cdots \quad (\text{식 1})$$

[0229] [비교예 1]: 532 nm 레이저 조사시 일항산소의 발생 실험

[0231] [비교예 1]은 [비교제조예 1]에서 제조한 제조된 SNP-CPD-1 내지 SNP-CPD-8과, [제조예 3]에서 제조된 SNP-PB로 구성되는 시료 9종을 이용하여 532 nm 레이저 조사시 일항산소의 생성율(%)을 측정하였고, 상기 시료 9종에 대한 측정 결과를 [비교예 1-1] 내지 [비교예 1-9]로 [표 1]에 나타내었다. 이때 실험 방법은 상기 [실시예 1]과 동일한 방법으로 수행하였다.

표 1

[0233]

실시예 1	일항산소 생성율 (%)	비교예 1	일항산소 생성율 (%)
실시예 1-1	93.2	비교예 1-1	64.2
실시예 1-2	89.4	비교예 1-2	57.1

실시예 1-3	96.3	비교예 1-3	66.8
실시예 1-4	92.3	비교예 1-4	63.4
실시예 1-5	88.7	비교예 1-5	49.7
실시예 1-6	99.2	비교예 1-6	58.4
실시예 1-7	87.9	비교예 1-7	62.3
실시예 1-8	95.4	비교예 1-8	67.9
		비교예 1-9	2.8

[0235] [표 1]에 기재된 바와 같이, 본 발명에 따른 공액화 고분자 나노점 및 프러시안 블루가 도입된 실리카 나노입자(100)인 SNP-PB-CPD-1 내지 SNP-PB-CPD-8을 이용한 [실시예 1-1] 내지 [실시예 1-8]은 532 nm 레이저 조사시에 공액화 고분자 나노점(20)이 상기 레이저를 흡수하여 주변의 산소를 일항산소로 전환시키기 때문에 일항산소에 의한 1,3-DPIBF의 구조가 변화하여 418 nm으 흡광도가 크게 감소하고, 상기 418 nm에서의 흡광도를 이용하여 (식 1)에 의거하여 계산된 일항산소 생성율(%)이 최대 99.2%인 것으로 나타났다.

[0237] 이에 반하여 [비교예 1-1] 내지 [비교예 1-8]의 공액화 고분자 나노점(20)은 도입되되, 프러시안 블루가 도입되지 않은 실리카 나노입자(10) 즉, SNP-CPD-1 내지 SNP-CPD-8은 발열체로 작용하는 프러시안 블루가 없기 때문에 발열에 의한 일항산소 생성율이 상대적으로 작은 것을 확인할 수 있다.

[0238] 특히 [제조예 3]에서 제조된 SNP-PB를 사용한 [비교예 1-9]는 공액화 고분자 나노점(20)이 도입되지 아니하여 일항산소의 발생이 2.8%로 최소값을 나타내는 것을 확인할 수 있다.

[0239] 또한, 도 6을 살펴보면, [비교예 1-6] 즉, SNP-CPD-6의 경우에는 5분 동안의 532 nm 레이저의 조사시 58.4 %의 일항산소를 발생하고, [비교예 1-9] 즉, SNP-PB의 경우에는 일항산소가 거의 발생하지 않는 것을 알 수 있다.

[0241] [실시예 2]: 532 nm 레이저 조사시의 발열 실험

[0243] [실시예 2]에서는 [제조예 5]에서 제조된 SNP-PB-CPD-1 내지 SNP-PB-CPD-8로 구성되는 시료 8종에 532 nm 레이저 조사하고, 적외선 카메라로 온도변화를 측정하여 상기 시료 8종에 대한 발열실험 결과를 [실시예 2-1] 내지 [실시예 2-8]로 나타내었다.

[0244] 즉, [제조예 5]에서 제조된 SNP-PB-CPD-1 내지 SNP-PB-CPD-8로 구성되는 시료 8종을 각각 10 mg씩 10 mL 물에 분산시킨 뒤, 532 nm 레이저를 조사하여 적외선 카메라로 온도변화를 측정했다. 이때 레이저 조사 거리는 5 cm로 하고 조사 시간은 30분으로 설정했다.

[0245] [실시예 2]는 상기와 같이 발열 실험을 실시하였으며, 상기 532 nm 레이저 조사전후의 온도의 차이를 온도변화로 측정하였고, 그 결과를 [표 2]에 나타내었다.

[0247] [비교예 2]: 532 nm 레이저 조사시의 발열 실험

[0249] [비교예 2]는 [비교제조예 1]에서 제조한 제조된 SNP-CPD-1 내지 SNP-CPD-8과, [제조예 3]에서 제조된 SNP-PB로 구성되는 시료 9종을 이용하여 발열 실험을 수행하였다.

[0250] 상기 시료 9종에 대한 측정 결과를 [비교예 2-1] 내지 [비교예 2-9]로 [표 2]에 나타내었으며, 이때 실험 방법은 상기 [실시예 2]와 동일한 방법으로 수행하였다.

표 2

[0252]

실시예 2	온도 변화	비교예 2	온도 변화
실시예 2-1	7.7 ℃	비교예 2-1	1.2 ℃
실시예 2-2	7.2 ℃	비교예 2-2	1.3 ℃
실시예 2-3	8.4 ℃	비교예 2-3	2.1 ℃
실시예 2-4	6.8 ℃	비교예 2-4	0.4 ℃
실시예 2-5	6.6 ℃	비교예 2-5	0.7 ℃
실시예 2-6	7.9 ℃	비교예 2-6	1.3 ℃
실시예 2-7	8.2 ℃	비교예 2-7	1.2 ℃
실시예 2-8	6.7 ℃	비교예 2-8	0.8 ℃
		비교예 2-9	4.3 ℃

[0254] [표 2]에 나타난 바와 같이, 본 발명에 따른 SNP-PB-CPD-1 내지 SNP-PB-CPD-8는 532 nm 레이저 조사시에 공액화 고분자 나노점(20)이 레이저를 흡수하여 형광을 발생하고, 상기와 같이 발생된 형광을 프러시안 블루가 흡수함으로써 열을 방출하게 된다. 이에 따라 상기 532 nm 레이저 조사전후의 온도 변화가 최소 6.7 ℃ 이상으로 나타났으며, 최대 8.4 ℃까지 온도변화가 있는 것으로 측정된다.

[0255] 반면 [비교예 2-1] 내지 [비교예 2-8] 즉 SNP-CPD-1 내지 SNP-CPD-8은 구조내에 발열을 할 수 있는 프러시안 블루가 없기 때문에 온도 상승에 큰 변화가 없는 것을 알 수 있다. 또한 [비교예 2-9] 즉 SNP-PB는 프러시안 블루가 도입되어 있으나. 532 nm 레이저를 흠수하여 발광하는 공액화 고분자 나노점(20)이 없기 때문에 상기 SNP-CPD-1 내지 SNP-CPD-8 보다는 온도변화가 크지만, 본 발명에 따른 SNP-PB-CPD-1 내지 SNP-PB-CPD-8 대비 상대적으로 온도변화가 크지 않은 것을 확인할 수 있다. 상기와 같은 결과는 도 7에서도 확인할 수 있다.

[0257] [실시예 3]: 532 nm 레이저 조사시에 암세포 광독성 실험

[0259] [실시예 3]에서는 [제조예 5]에서 제조된 SNP-PB-CPD-1 내지 SNP-PB-CPD-8로 구성되는 시료 8종을 대상으로 MTT assay 분석을 실시하여 532 nm 레이저 조사시에 암세포를 사멸하는 암세포 광독성 결과를 확인하였다. 상기 MTT assay 분석은 세포독성도 조사로서 어떤 물질이 암세포에 어느 정도의 독성을 나타내는지 확인하는 실험을 가리킨다.

[0260] 즉, 상기 [제조예 5]에서 제조한 SNP-PB-CPD-1 내지 SNP-PB-CPD-8을 800 μg/mL의 농도로 물에 분산하여 분산액을 제조하고, 상기 분산액 10 μL를 무한증식하는 암세포인 HeLa 세포가 분산되어 있는 세포액에 주입한다. 이후에 상기 세포액을 24시간 동안 배양하고 수세했다.

[0261] 이후에 상기 세포액에 532 nm(100 mW) 레이저를 10분 동안 조사한 뒤, 염료인 수용성 테트라졸륨 염(water soluble tetrazolium salts, 이하 WST-1)을 이용하여 사멸된 암세포를 3시간 동안 염색하고 상기 세포액의 흡광도를 측정했다.

[0262] 상기와 같이 측정된 레이저 조사후의 흡광도를 (식 2)에 대입하여 상기 HeLa 세포의 생존율(viability, %)를 측정하였다.

[0264] 참고로 도 5는 상기 HeLa 세포에 [제조예 5]에서 제조된 SNP-PB-CPD-6의 분산액과, [비교제조예 1]에서 제조한 SNP-CPD-6의 분산액을 주입한 뒤, 24시간 동안 배양한 후, 상기 HeLa 세포에 524 nm의 레이저를 조사하여 여기시킨 후, 650 nm에서 발광하는 형광을 관찰한 사진이다.

[0265] 상기 도 5에서 BF는 Bright field의 이미지이고, FL은 Fluorescence field의 이미지이며. Merge는 상기 두 이미지를 중첩한 사진을 가리킨다. 또한 λex는 형광현미경으로 세포사진을 측정할 때의 여기 파장을 나타내고, λem은 발광 파장을 나타낸다.

[0266] 상기 도 5에 나타난 바와 같이, 본 발명에 따른 SNP-PB-CPD-6의 분산액과, 프러시안 블루가 도입되지 않은 SNP-

CPD-6의 분산액은 모두 암세포인 HeLa 세포 내부로 용이하게 확산되는 것을 알 수 있다.

[0268] 상기 생존율(%)의 값이 낮을수록 암세포의 사멸에 효험이 있다는 것을 의미한다. [실시예 3-1] 내지 [실시예 3-8]은 상기 [제조예 5]에서 제조된 SNP-PB-CPD-1 내지 SNP-PB-CPD-8을 이용하여 분산액을 제조하고, 상기 분산액을 HeLa 세포액에 주입한 후 (식 2)에 의거하여 생존율(%)를 측정하였다.

[0270] $$\text{생존율}(\%) = \left(\frac{\text{광조사후 분산액을 주입하지 않은 세포액의 460nm에서의 흡광도}}{\text{광조사후 분산액을 주입한 세포액의 460nm에서의 흡광도}}\right) \times 100 \quad \cdots \quad (\text{식 } 2)$$

[0272] 상기 시료 8종에 대한 MTT assay 분석 결과를 [표 3]에 [실시예 3-1] 내지 [실시예 3-8]로 나타내었다.

[0274] [비교예 3]: 532 nm 레이저 조사시에 암세포 광독성 실험

[0276] [비교예 3]은 [비교제조예 1]에서 제조한 제조된 SNP-CPD-1 내지 SNP-CPD-8과, [제조예 3]에서 제조된 SNP-PB로 구성되는 시료 9종을 이용하여 MTT assay 분석을 수행하였다.

[0277] 상기 시료 9종에 대한 측정 결과를 [비교예 3-1] 내지 [비교예 3-9]로 [표 3]에 나타내었으며, 이때 실험 방법은 상기 [실시예 3]과 동일한 방법으로 수행하였다.

표 3

[0279]

실시예	생존율(%)	비교예	생존율(%)
실시예 3-1	28.2	비교예 3-1	97.7
실시예 3-2	30.7	비교예 3-2	87.4
실시예 3-3	20.4	비교예 3-3	93.2
실시예 3-4	23.1	비교예 3-4	95.6
실시예 3-5	21.1	비교예 3-5	88.2
실시예 3-6	15.4	비교예 3-6	94.6
실시예 3-7	19.2	비교예 3-7	89.7
실시예 3-8	16.4	비교예 3-8	98.7
		비교예 3-9	97.6

[0281] [표 3]에 기재된 바와 같이, [제조예 5]에서 제조한 SNP-PB-CPD-1 내지 SNP-PB-CPD-8는 532 nm 레이저 조사하에서 발열 및 일항산소의 발생에 의해 낮은 암세포의 생존율(viability, %)를 나타내는 것을 확인할 수 있다.

[0282] 반면에 [비교제조예 1]에서 제조된 SNP-CPD-1 내지 SNP-CPD-8과, [제조예 3]에서 제조된 SNP-PB 상대적으로 높은 암세포의 생존율(%)를 나타내는 것을 확인할 수 있다.

[0284] 또한, 도 8은 532 nm 레이저의 세기에 따른 암세포의 생존율(%)를 나타내는 그래프이다. 상기 도 8을 살펴보면, [비교예 3-6]인 SNP-CPD-6과 [비교예 3-9]인 SNP-PB는 532 nm 레이저의 세기가 증가하여도 생존율(%)에 큰 변화가 없으나, 본 발명에 따른 SNP-PB-CPD-6는 532 nm 레이저의 세기에 비례하여 암세포의 생존율(%)이 떨어지는 것을 확인할 수 있다. 즉, 본 발명에 따른 공액화 고분자 나노점 및 프러시안 블루가 도입된 실리카 나노입자(100)는 조사되는 532 nm 레이저의 세기가 증가할수록 암세포에 대한 사멸효과가 증가되는 것을 확인할 수 있다.

[0285]

[0286] 위에서 살핀 바와 같이, 본 발명에 따른 공액화 고분자 나노점 및 프러시안 블루가 도입된 실리카 나노입자(100)는 도입된 상기 공액화 고분자 나노점(20)에 의해 532 nm 레이저의 조사시 일항산소가 발생하고, 또한 형광이 발생하게 된다.

[0287] 상기 실시예에서 녹색광인 532 nm인 레이저를 사용하여 실험을 진행하였으나, 본 발명에 따른 공액화 고분자 나노점 및 프러시안 블루가 도입된 실리카 나노입자(100)는 적색광인 635 nm 레이저를 사용하여도 동일한 결과를 확인할 수 있다.

[0288] 상기와 같이 발생된 형광은 프러시안 블루가 흡수함으로써 발열하게 된다. 이에 따라 본 발명에 따른 공액화 고분자 나노점 및 프러시안 블루가 도입된 실리카 나노입자(100)는 하나의 레이저 조사로 광역동 및 광열효과를 동시에 나타낼 수 있고, 암세포에 대하여 치료 효과가 있는 것을 알 수 있다. 또한 도입된 프러시안 블루에 의해 형광 이미징이 가능한 효과를 갖는다.

[0290] 본 발명은 도면에 도시된 실시예를 참고로 설명되었으나, 이는 예시적인 것에 불과하며, 당해 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자라면 이로부터 다양한 변형 및 균등한 다른 실시예가 가능하다는 점을 이해할 것이다. 따라서 본 발명의 진정한 기술적 보호범위는 첨부된 특허청구범위의 기술적 사상에 의하여 정해져야 할 것이다.

부호의 설명

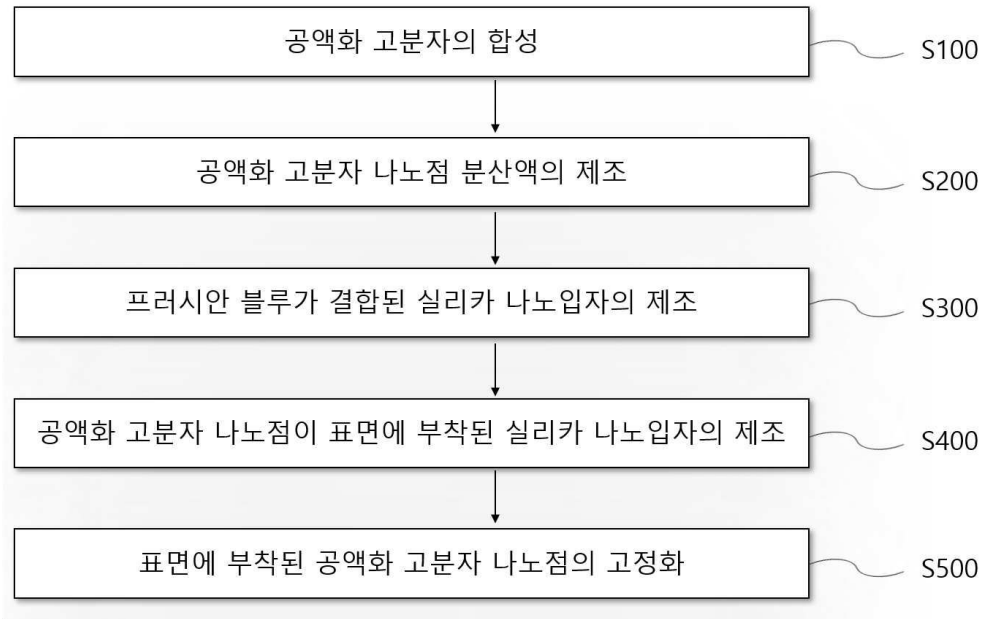
[0292] 10 : 실리콘 나노입자

20 : 공액화 고분자 나노점

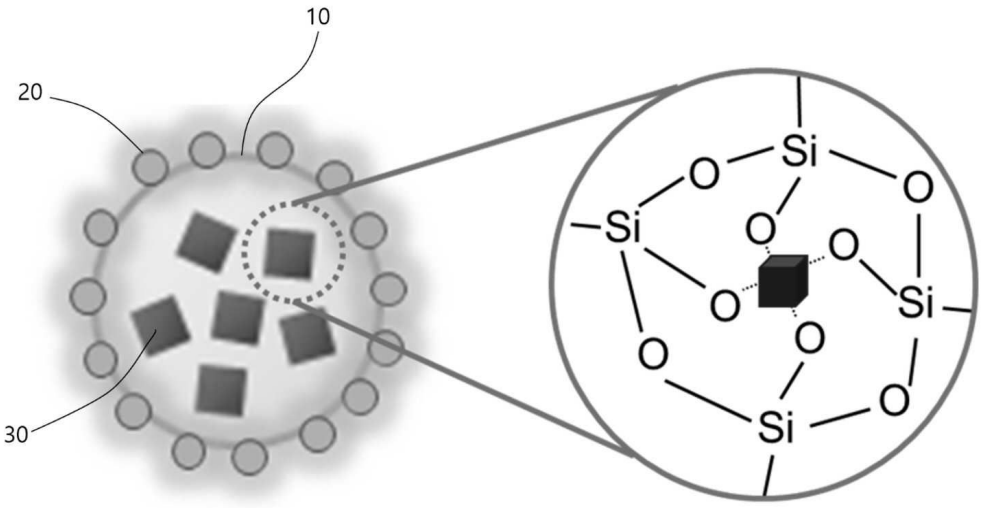
100 : 공액화 고분자 나노점 및 프러시안 블루가 도입된 실리카 나노입자

도면

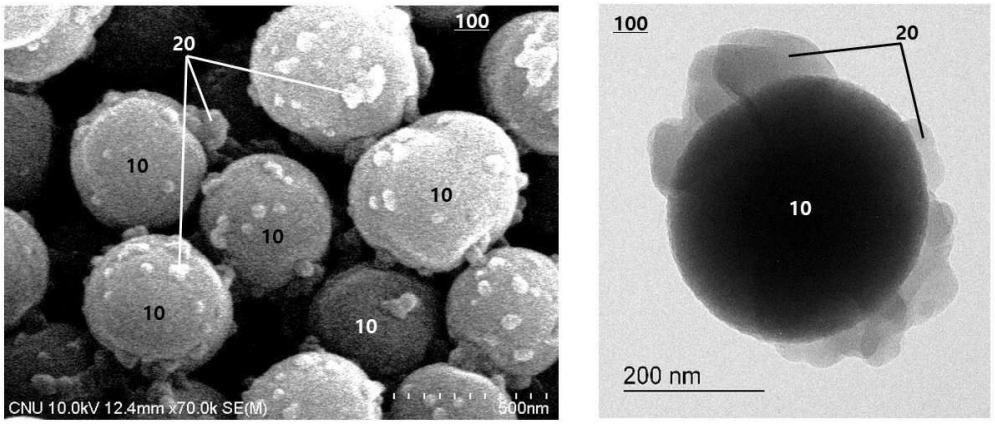
도면1



도면2

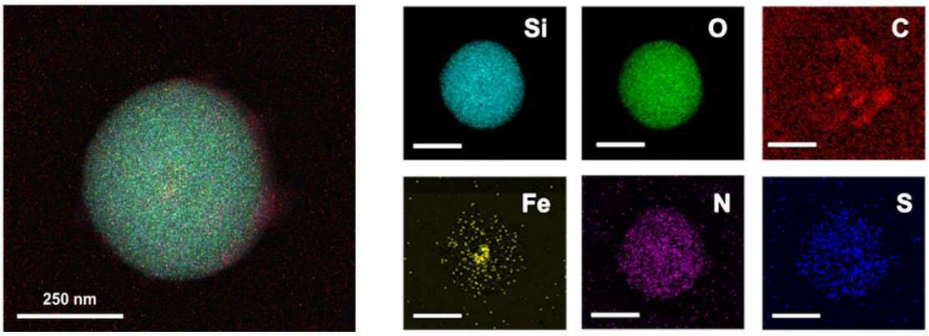

10
20
30
Si
O
Si
O
Si
O
O
O
O
O
O
O
O
Si
O

도면3


100
20
10
10
10
10
10
CNU 10.0kV 12.4mm x70.0k SE(M)
500nm
100
20
10
200 nm

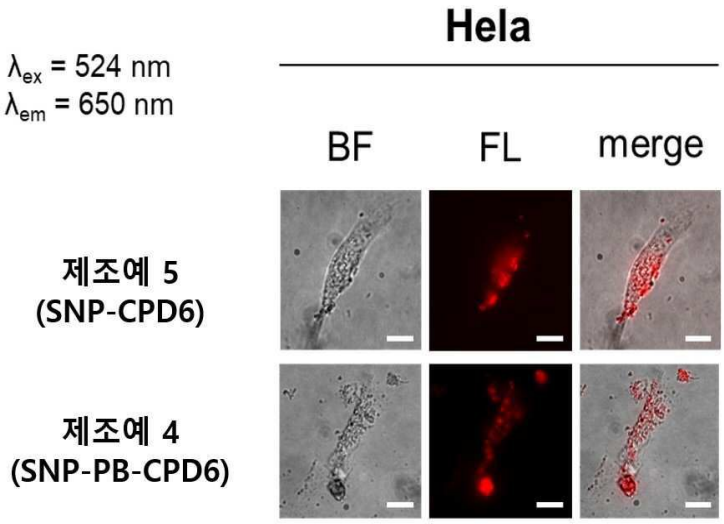
(a) (b)

도면4

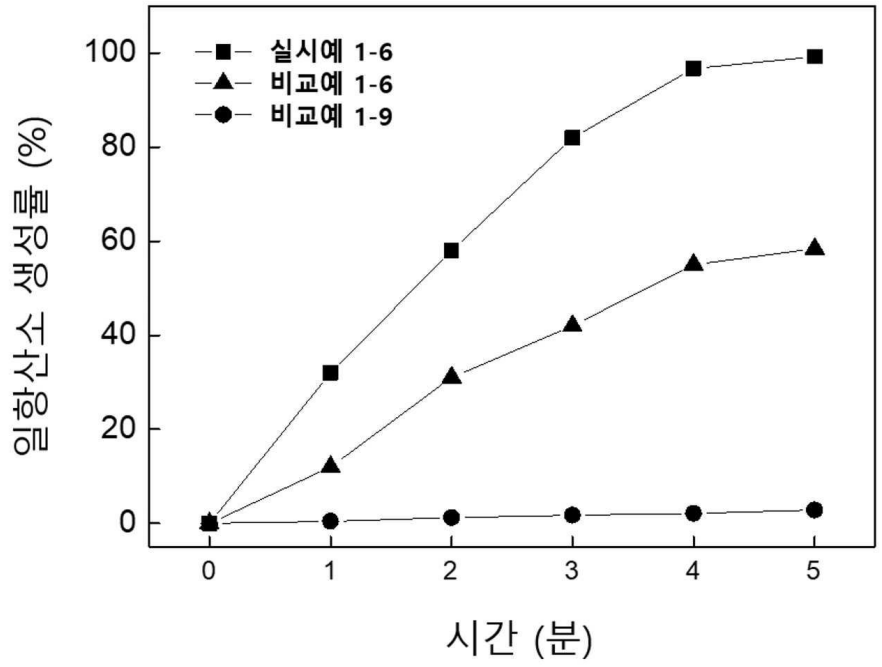

250 nm
Si
O
C
Fe
N
S

(a) (b)

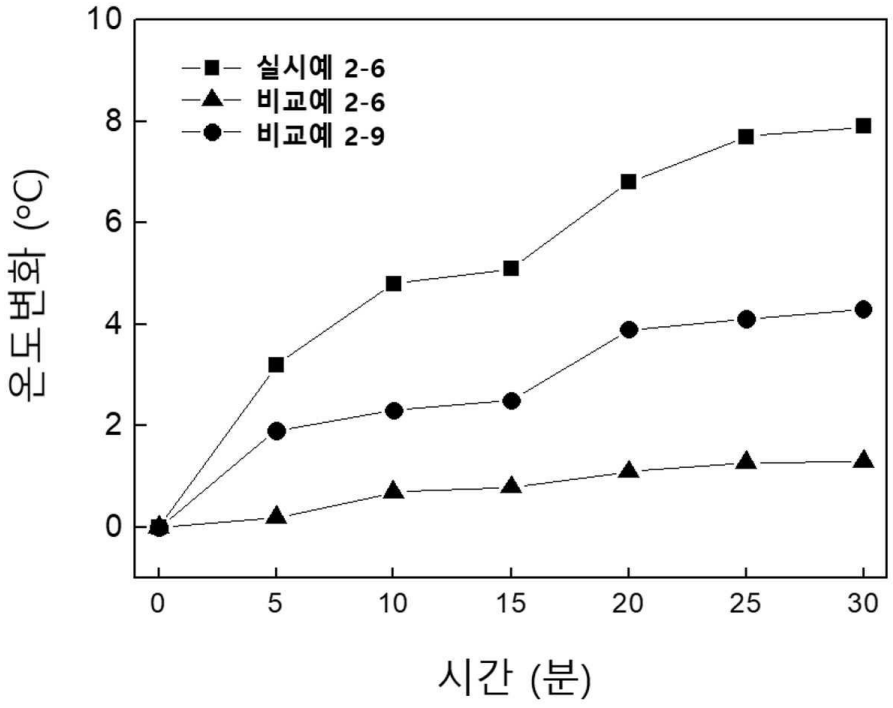
도면5


Hela
λex = 524 nm
λem = 650 nm
BF
FL
merge
제조예 5
(SNP-CPD6)
제조예 4
(SNP-PB-CPD6)

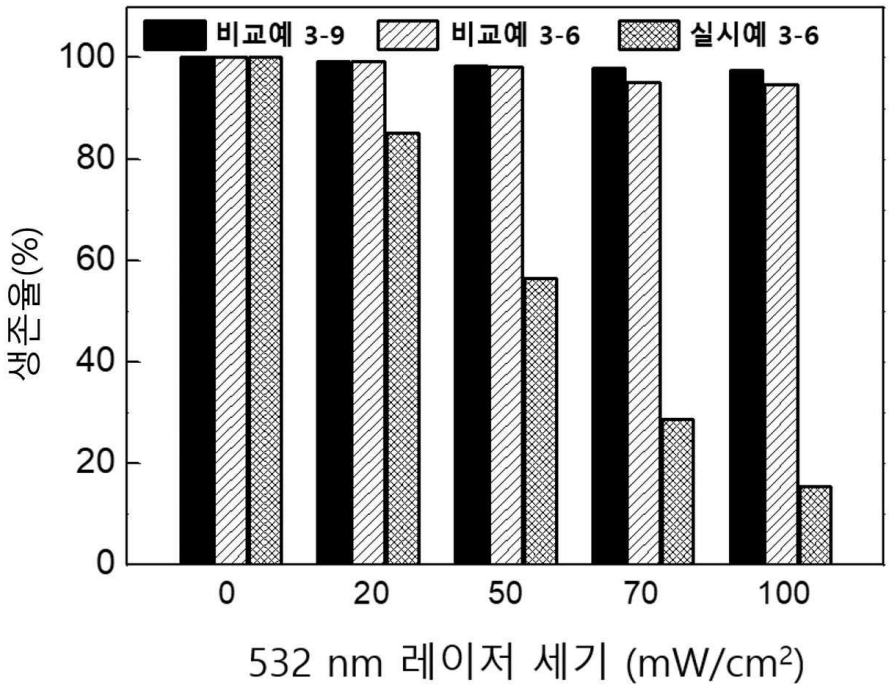
도면6


실시예 1-6
비교예 1-6
비교예 1-9
일항산소 생성률 (%)
시간 (분)
0
20
40
60
80
100
0
1
2
3
4
5

도면7


실시예 2-6
비교예 2-6
비교예 2-9
온도변화 (°C)
시간 (분)
0
2
4
6
8
10
0
5
10
15
20
25
30

도면8


비교예 3-9
비교예 3-6
실시예 3-6
생존율(%)
100
80
60
40
20
0
0
20
50
70
100
532 nm 레이저 세기 (mW/cm²)