



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2023년12월05일

(11) 등록번호 10-2609429

(24) 등록일자 2023년11월29일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 9/51 (2006.01) A61K 49/18 (2006.01)

(52) CPC특허분류
A61K 9/5123 (2013.01)
A61K 49/1833 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2021-0043406

(22) 출원일자 2021년04월02일

심사청구일자 2021년04월02일

(65) 공개번호 10-2021-0124072

(43) 공개일자 2021년10월14일

(30) 우선권주장
1020200041213 2020년04월03일 대한민국(KR)

(56) 선행기술조사문헌
W02007146680 A1*
Cesar M. Laureano-Anzaldo et al., Cellulose,
2019, vol. 26, pp.9207-9227(2019.09.03. 온라인 공개)

KR101528741 B1

*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자

연세대학교 산학협력단

서울특별시 서대문구 연세로 50 (신촌동, 연세대학교)

(72) 발명자

홍진기

서울특별시 서대문구 연세로 50 연세대학교

정성원

서울특별시 서대문구 연세로 50 연세대학교

(74) 대리인

특허법인 플러스

전체 청구항 수 : 총 4 항

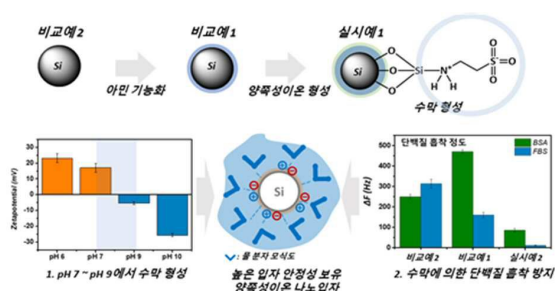
심사관 : 최홍석

(54) 발명의 명칭 양쪽성 이온으로 표면 치환된 나노입자의 제조방법

(57) 요약

본 발명은 양쪽성 이온으로 표면 치환된 나노입자 제조방법에 관한 것으로, 보다 상세하게는 나노입자의 표면을 양쪽성 화합물로 치환하여, 분산성이 우수하고 이물질 흡착능이 낮은 나노입자에 관한 것이다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A61K 9/5192 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 1711090618

과제번호 NRF-2017R1E1A1A01074343

부처명 과학기술정보통신부

과제관리(전문)기관명 한국연구재단

연구사업명 전략공모

연구과제명 피부세포의 노화억제를 위한 산화질소 나노전달체 개발에 관한
연구(3/6)(2017.11.1~2022.10.31)

기 여 율 1/1

과제수행기관명 연세대학교

연구기간 2019.03.01 ~ 2020.02.29

명세서

청구범위

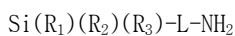
청구항 1

나노입자를 하기 화학식 1로 표시되는 아미노실란계 화합물로 처리하여 아민기로 표면 치환된 나노입자를 제조하는 제1 개질 단계; 및

상기 아민기로 표면 치환된 나노입자를 하기 화학식 2로 표시되는 설통계 화합물과 공유결합하는 제2 개질 단계;

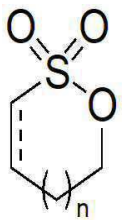
를 포함하는 것인, 양쪽성 이온으로 표면 치환된 나노입자의 제조방법.

[화학식 1]



(R_1 , R_2 및 R_3 는 각각 독립적으로 (C_1-C_6) 알콕시기 또는 히드록시기이며, L은 C_1-C_{10} 알킬렌기이다.)

[화학식 2]



(n은 0 내지 2이며, --- 는 단일 결합 또는 이중결합이다.)

청구항 2

삭제

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 제1 개질 단계에서 나노입자를 아미노실란계 화합물로 처리단계에 사용되는 용매는 증류수 및 에탄올 공용매인 것인, 양쪽성 이온으로 표면 치환된 나노입자의 제조방법.

청구항 4

삭제

청구항 5

제 1항에 있어서,

상기 양쪽성 이온으로 표면 처리된 나노입자는 상기 나노입자 100 중량부에 대하여 아미노실란계 화합물 0.1 내지 5 중량부 및 설통계 화합물 0.1 내지 5 중량부로 개질된 것인, 양쪽성 이온으로 표면 치환된 나노입자의 제조방법.

청구항 6

제1항에 있어서,

상기 양쪽성이온 나노입자는 pH 7 내지 9 범위에서 제타전위 절대값이 20 mV 이하인 양쪽성 이온으로 표면 치환된 나노입자의 제조방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 양쪽성 이온으로 표면 치환된 나노입자 제조방법에 관한 것으로, 보다 상세하게는 나노입자의 표면을 양쪽성 화합물로 치환하여, 분산성이 우수하고 이물질 흡착능이 낮은 나노입자에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 나노입자는 전자, 정보저장, 촉매 등 여러 분야에 응용되고 있으며 최근에는 광전자, 센싱, 이미징을 비롯하여, 생체 내의 약물전달체 및 조영제 등의 의학 및 약학 분야에서도 폭넓게 활용되고 있다.

[0003] 나노입자를 기반으로 한 약물전달시스템은 약물의 분해를 방지하고 특정 세포에서 약물의 전달을 집중화할 수 있어 효과적인 치료를 얻음과 동시에 부작용을 줄일 수 있어 이에 대한 연구가 활발하게 진행되고 있다.

[0004] 그러나 나노입자는 표면적이 크고 표면에너지가 대체로 높기 때문에 다양한 혈장 단백질 및 염 등이 표면에 부착하는 바이오파울링(biofouling) 현상이 발생하기 쉽다. 바이오파울링에 의해 나노입자는 혈액 내에서 장시간 순환되지 못하고 간에서 쉽게 제거되거나 나노입자간 응집이 발생할 가능성이 증가하게 된다.

[0005] 이러한 현상을 방지하기 위하여, 선행기술 W02007-146680A에서는 양쪽성 이온 화합물을 나노입자 표면에 부착하여 단백질 등의 이물질 흡착을 방지하는 방법을 제시하였다.

[0006] 상기 선행기술에서는 양전하(+)와 음전하(-)가 동시에 공존하는 구조를 가진 양쪽성 이온 화합물을 나노입자 표면에 치환함으로써, 상기 나노입자 표면에 수막을 형성할 수 있음을 개시하고 있다. 상기 수막은 단백질과 같은 이물질들이 상기 나노입자표면에 흡착되는 것을 방지할 수 있다.

[0007] 하지만 나노입자에 치환되는 양쪽성 이온화합물은 상대적으로 높은 분자량을 가지고 있어, 양쪽성 이온화합물 간의 입체장애(steric hindrance)로 인하여, 나노입자 단위 표면적당 양쪽성 이온화합물의 결합밀도가 낮은 문제점이 있다.

[0008] 나노입자에 결합되는 양쪽성 이온화합물의 결합밀도가 낮아 수막의 안정성이 저하되어, 단백질 등 이물질의 흡착 확률이 높아질 수 있으며, 분산성 또한 낮아질 수 있어, 생체 내에서 장기 순환성을 가져야 하는 약물전달체 및 조영제 등으로 사용하기에는 여전히 어려움이 있다.

선행기술문헌

특허문헌

[0009] (특허문헌 0001) 대한민국 등록특허공보 제10-1631311호 (2016.06.10)

발명의 내용

해결하려는 과제

[0010] 상기와 같은 문제점을 해결하기 위한 본 발명의 목적은 나노입자에 양쪽성 이온화합물을 표면 치환하여, 상기 나노입자 표면에 바이오파울링을 현상을 억제할 수 있는 양쪽성 이온 화합물로 표면 치환된 나노입자를 제공하는 것이다. 구체적으로, 나노입자에 결합되는 양쪽성 이온화합물의 결합밀도를 높여 수막의 안정성을 향상시키며 생체 내에 존재하는 다양한 이물질의 흡착을 억제할 수 있는 나노입자의 제조방법을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0011] 본 발명은 나노입자를 아미노실란계 화합물로 처리하여 아민기로 표면 치환된 나노입자를 제조하는 제1 개질 단계; 및

[0012] 상기 아민기로 표면 치환된 나노입자를 선통계 화합물과 공유결합하는 제2 개질 단계;

[0013] 를 포함하는 양쪽성 이온으로 표면 치환된 나노입자의 제조방법을 제공한다.

[0014] 본 발명의 일 양태에 따르면, 상기 아미노실란계 화합물은 하기 화학식 1의 구조의 화합물인 것 일 수 있다.

[0015] [화학식 1]

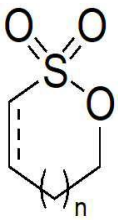
[0016] $\text{Si}(\text{R}_1)(\text{R}_2)(\text{R}_3)-\text{L}-\text{NH}_2$

[0017] (R_1 , R_2 및 R_3 는 각각 독립적으로 (C_1-C_6) 알콕시기 또는 히드록시기이며, L은 치환 또는 비치환된 (C_1-C_{10}) 알킬렌기이다.)

[0018] 본 발명의 일 양태에 따르면, 상기 제1 개질 단계에서 나노입자를 아미노실란계 화합물로 처리단계에 사용되는 용매는 증류수 및 에탄올 공용매인 것일 수 있다.

[0019] 본 발명의 일 양태에 따르면, 상기 선통계 화합물은 하기 화학식 2의 구조의 화합물인 것 일수 있다.

[0020] [화학식 2]



[0021]

[0022] (n 은 0 내지 2이며, --- 는 단일 결합 또는 이중결합이다.)

[0023] 본 발명의 일 양태에 따르면, 상기 양쪽성 이온으로 표면 처리된 나노입자는 상기 나노입자 100 중량부에 대하여 아미노실란계 화합물 0.1 내지 5 중량부 및 선통계 화합물 0.1 내지 5 중량부로 개질된 것 일수 있다.

[0024] 본 발명의 일 양태에 따르면, 상기 양쪽성이온 나노입자는 pH 7 내지 9 범위에서 제타전위 절대값이 20 mV 이하인 것일 수 있다.

발명의 효과

[0025] 본 발명의 제조방법에 따르면, 양쪽성 이온 화합물이 나노입자 표면에 고밀도로 치환될 수 있으며, 이를 통해 단백질 등의 이물질들이 상기 나노입자 표면에 부착되는 현상을 더욱 효과적으로 억제할 수 있다.

[0026] 또한, 상기 방법으로 제조된 나노입자는 수막이 안정적으로 생성되어 체액이나 혈액 속에서 분산성이 우수한 효과를 가질 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0027] 도 1은 본 발명에 따른 양쪽성 이온으로 표면 치환된 나노입자의 제조과정을 보여주는 모식도이다.

도 2는 실시예 1 및 실시예 2에서 제조된 양쪽성이온으로 표면 치환된 나노입자의 열중량 변화를 열중량분석기 (Thermogravimetric analysis, TGA)로 측정한 그래프이다.

도 3은 비교예 2의 실리카 입자 및 실시예 1의 양쪽성이온으로 표면 치환된 나노입자의 라만 분광기 스펙트럼 (Raman spectroscopy) 이미지이다.

도 4는 비교예 2의 실리카 입자, 비교예 1의 아미노실란계 화합물로 표면 치환된 나노입자 및 실시예 1의 양쪽성이온으로 표면 치환된 나노입자의 XPS(X-ray photoelectron spectroscopy) 이미지이다.

도 5는 양쪽성이온으로 표면 치환된 나노입자의 크기와 형태를 보여주는 투과전자현미경 (Transmission electron microscopy, TEM) 이미지이다.

도 6은 양쪽성이온으로 표면 치환된 나노입자가 포함된 용액의 pH 별 표면 전하 값의 변화를 보여주는 제타 포

텐셜 이미지이다.

도 7은 pH 변화에 따른, 실시예 1의 양쪽성이온으로 표면 치환된 나노입자에 형성된 수막의 크기를 측정한 수정 진동자저울(Quartz Crystal Microbalance, QCM) 그래프이다.

도 8의 (가)는 비교예 2의 실리카 입자, 비교예 1의 아미노실란계 화합물로 표면 치환된 나노입자 및 실시예 1의 양쪽성이온으로 표면 치환된 나노입자의 수력학적 입경을 동적광산란법(Dynamic Light Scattering)을 통해 측정한 이미지이며, (나)는 실시예 1의 pH에 따른 수력학적 입경을 측정한 이미지이다.

도 9는 비교예 2의 실리카 입자, 비교예 1의 아미노실란계 화합물로 표면 치환된 나노입자 및 실시예 1의 양쪽성이온으로 표면 치환된 나노입자의 용액 별 안정성을 보여주는 자외선 가시광선 분광법(UV-vis spectrophotometer) 그래프이다.

도 10은 비교예 2의 실리카 입자, 비교예 1의 아미노실란계 화합물로 표면 치환된 나노입자 및 실시예 1의 양쪽성이온으로 표면 치환된 나노입자가 코팅된 기관에 BSA 단백질 흡착 정도를 보여주는 수정진동자저울(Quartz Crystal Microbalance, QCM) 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0028] 이하 첨부된 도면들을 포함한 구체에 또는 실시예를 통해 본 발명을 더욱 상세히 설명한다. 다만 하기 구체에 또는 실시예는 본 발명을 상세히 설명하기 위한 하나의 참조일 뿐 본 발명이 이에 한정되는 것은 아니며, 여러 형태로 구현될 수 있다.
- [0029] 또한 달리 정의되지 않는 한, 모든 기술적 용어 및 과학적 용어는 본 발명이 속하는 당업자 중 하나에 의해 일반적으로 이해되는 의미와 동일한 의미를 갖는다. 본 발명에서 설명에 사용되는 용어는 단지 특정 구체예를 효과적으로 기술하기 위함이고 본 발명을 제한하는 것으로 의도되지 않는다.
- [0030] 또한 명세서 및 첨부된 특허청구범위에서 사용되는 단수 형태는 문맥에서 특별한 지시가 없는 한 복수 형태도 포함하는 것으로 의도할 수 있다.
- [0031] 또한 명세서 및 첨부된 특허청구범위에서 사용되는 '나노입자'(Nanoparticle)는 1000nm미만의 직경을 가지는 나노 단위의 입자를 말한다. 일부 실시예에 있어서, 상기 나노입자는 National Science Foundation에서 정의한 것에 따르면, 300nm 이하의 직경을 가질 수 있다.
- [0032] 또한 어떤 부분이 어떤 구성요소를 "포함"한다고 할 때, 이는 특별히 반대되는 기재가 없는 한 다른 구성요소를 제외하는 것이 아니라 다른 구성요소를 더 포함할 수 있는 것을 의미한다.
- [0033] 양쪽성 이온으로 표면 치환된 나노입자는 양이온 화합물 또는 음이온 화합물로 표면 치환된 통상의 나노입자와는 다르게, 나노입자의 표면전하가 pH 값에 따라 양 및 음 전하로 변화될 수 있으며, 혈액 및 체액과 유사한 중성 pH 값 내에서 입자는 총합 0의 전하를 지니며 물분자와의 안정적인 정전기적 인력에 의해 높은 분산성을 지닌다.
- [0034] 또한, 상기 나노입자가 양쪽성 이온 화합물로 치환됨으로써, 상기 나노입자 표면에 수막이 형성될 수 있다. 이는 양쪽성 이온 화합물이 가지는 전하의 특이성으로 인해 발휘되는 효과로서, 상기 양쪽성 이온 화합물에 물 분자들이 강하게 응집되어 나노입자 표면에 나타나는 현상이다.
- [0035] 상기 수막은 증류수일 때보다 생체 내부와 같이 약간의 염이 용해된 용액에서 더욱 크게 형성될 수 있다. 친수성 나노입자의 표면에 수막이 형성됨으로써 이물질과 친수성 나노입자 사이의 상호작용이 열역학적으로 감소되기 때문에 단백질 등의 이물질이 나노입자표면으로 흡착되는 것이 방지될 수 있고, 이로 인하여 상기 나노입자의 분산성이 향상될 수 있다. 그러나 나노입자의 표면에 존재하는 수막은 양쪽성 이온 화합물의 밀도 또는 농도에 비례하기 때문에 표면밀도가 낮을 경우 수막이 외부 환경의 변화에 따라 쉽게 파괴될 수 있기 때문에 강인한 수막의 형성을 위해서는 양쪽성 이온 화합물의 표면밀도가 증가되어야 한다.
- [0036] 이에 따라, 본 발명은 나노입자에 1차적으로 저분자량의 작용성 제1화합물을 높은 밀도로 반응시키고, 이어서 2차적으로 상기 저분자량의 작용성 제1화합물과 반응할 수 있는 제2화합물과 반응시킴으로써 양쪽성 이온 화합물의 표면밀도가 증가된 나노입자가 제조되어 강인한 수막이 형성되어 나노입자의 표면에 단백질이 흡착되는 것을 방지할 수 있음을 발견하고, 본 발명을 완성하였다.
- [0037] 또한, 상기 1, 2차로 단계를 나누어 양쪽성 이온으로 표면 치환된 나노입자를 제조하는 방법은 종래의 양쪽성

이온을 먼저 합성하고 이를 나노입자에 증착시키는 방법보다, 나노입자 표면에 양쪽성 이온이 더욱 치밀하게 결합될 수 있는 장점이 있다.

- [0038] 본 발명에 따른 나노입자의 제조방법은 나노입자를 아미노실란계 화합물로 처리하여 아민기로 표면 치환된 나노입자를 제조하는 제1 개질 단계; 및 상기 아민기로 표면 치환된 나노입자를 선통계 화합물과 공유결합하는 제2 개질 단계;를 포함한다.
- [0039] 이하, 제1 개질단계에 대하여 자세하게 설명한다.
- [0040] 본 발명의 나노입자는 10 nm 내지 1000nm일 수 있고, 구체적으로 10 nm 내지 300nm의 직경일 수 있으며, 더욱 구체적으로 50nm 내지 200 nm의 직경일 수 있으나 이에 제한받지 않는다. 또한 상기 나노입자는 비한정적으로, 구 형태의 나노입자일 수 있다.
- [0041] 상기 나노입자의 재질은 금속, 세라믹 또는 고분자 등일 수 있으며, 생체에 사용될 수 있는 재질의 소재라면 제한받지 않는다.
- [0042] 나노입자에 사용될 수 있는 고분자로는 생체 적합성을 가진 고분자가 사용될 수 있으며, 예시적으로, 폴리락타이드, 폴리락타이드-글리콜라이드 공중합체, 폴리카프로락톤 또는 폴리에틸렌글리콜일 수 있다.
- [0043] 나노입자에 사용될 수 있는 금속으로는 생체 적합성을 가진 금속이 사용될 수 있으며, 티타늄, 스테인리스 스틸, 철, 백금 또는 금일 수 있다.
- [0044] 나노입자에 사용될 수 있는 세라믹으로는 칼슘 포스페이트, 실리카, 티타니아, 알루미늄 또는 지르코니아일 수 있다.
- [0045] 구체적인 일 예로, 나노입자에 사용될 수 있는 소재로는 생체 적합성이 뛰어나고, 표면에 반응기를 가지는 실리카 나노입자일 수 있다. 상기 실리카 나노입자는 제조과정이 단순하며, 특히 낮은 비용으로 대량 생산될 수 있는 장점이 있다.
- [0046] 제1단계에서, 나노입자는 아미노실란계 화합물로 표면치환되어, 아민기가 나노입자의 표면에 수식될 수 있다.
- [0047] 상기 아미노실란계 화합물은 하기 화학식 1의 구조의 화합물일 수 있다.
- [0048] [화학식 1]
- [0049] $\text{Si}(\text{R}_1)(\text{R}_2)(\text{R}_3)\text{-L-NH}_2$
- [0050] R_1 , R_2 및 R_3 는 각각 독립적으로 ($\text{C}_1\text{-C}_6$) 알콕시기 또는 히드록시기이며, L은 치환 또는 비치환된 ($\text{C}_1\text{-C}_{10}$) 알킬렌기이다.
- [0051] 상기 화학식 1에 포함된 R_1 , R_2 및 R_3 는 각각 독립적으로 ($\text{C}_1\text{-C}_6$) 알콕시기 또는 히드록시기 등의 관능기일 수 있다.
- [0052] 상기 L이 치환될 경우 ($\text{C}_1\text{-C}_{10}$) 알킬렌기 중 적어도 하나의 메틸렌 단위가 카보닐(C=O), 에스테르(COO), 아미노(NH), 아마이드(CONH) 또는 에테르(O)기로 치환될 수 있는 것을 의미한다.
- [0053] 상기 나노입자가 아민기로 치환됨에 따라, 카복실기, 히드록시기 및 선통기 등과 같은 작용기들을 포함하는 화합물과 후속적인 공유결합을 형성할 수 있다.
- [0054] 구체적으로, 상기 화학식 1의 아미노실란계 화합물에 있어서, L은 치환 또는 치환된 ($\text{C}_1\text{-C}_{10}$) 알킬렌기일 수 있다.
- [0055] 상기 화학식 1에서 R_1 , R_2 및 R_3 관능기가 알콕시기이며 L이 비치환된 ($\text{C}_1\text{-C}_{10}$) 알킬렌기인 화합물의 일 예로는, 아미노메틸트리메톡시실란, 아미노에틸트리메톡시실란, 아미노프로필트리메톡시실란, 아미노부틸트리메톡시실란, 아미노펜틸트리메톡시실란, 아미노헥실트리메톡시실란, 아미노헵틸트리메톡시실란, 아미노옥틸트리메톡시실란, 아미노노닐트리메톡시실란, 아미노데실트리메톡시실란, 아미노메틸트리에톡시실란, 아미노에틸트리에톡시실란, 아미노프로필트리에톡시실란, 아미노부틸트리에톡시실란, 아미노펜틸트리에톡시실란, 아미노헥실트리에톡시실란, 아미노헵틸트리에톡시실란, 아미노옥틸트리에톡시실란, 아미노노닐트리에톡시실란 및 아미노데실트리에톡시실란등 일수 있으며, 바람직하게는 아미노에틸트리에톡시실란, 아미노프로필트리에톡시실란, 아미노부틸트리에톡시실란

일 수 있다.

[0056] 상기 화학식 1에서 R_1 , R_2 및 R_3 관능기가 히드록시기이며 L이 비치환된 (C_1-C_{10}) 알킬렌기인 화합물의 일 예로는, 아미노메틸실란트리올, 아미노에틸실란트리올, 아미노프로필실란트리올, 아미노부틸실란트리올, 아미노펜틸실란트리올, 아미노헥실실란트리올, 아미노헵틸실란트리올, 아미노옥틸실란트리올, 아미노노닐실란트리올 및 아미노데실실란트리올 등인 것일 수 있으며, 바람직하게는 아미노메틸실란트리올, 아미노에틸실란트리올, 아미노프로필실란트리올인 것 일수 있으나 이에 제한되는 것은 아니다.

[0057] 반응 용매로는 물, 알코올 또는 이의 공용매일 수 있다. 알코올은 메탄올, 에탄올, 프로판올 등의 (C_1-C_4) 알코올일 수 있으며, 바람직하게 반응용매는 물과 알코올의 공용매일 수 있으며, 물과 알코올은 2:1 내지 1:2의 중량비로 혼합된 것일 수 있다. 상기 공용매를 사용함으로써 나노입자가 반응 용매 내에 균일하게 분산될 수 있어 바람직할 수 있다.

[0058] 반응 용매로 알코올 또는 물만을 사용하였을 때 보다, 물과 알코올이 2:1 내지 1:2 중량비로 혼합된 것을 사용하였을 경우, 상기 나노입자표면에 아미노 실란계 화합물 중량이 1.5 배 이상, 바람직하게는 1.5 내지 3 배 정도 더 증착이 될 수 있다.

[0059] 제1 개질 단계에서, 나노입자와 혼합되는 아미노실란계 화합물의 함량은, 상기 나노입자 100 중량부에 대하여 아미노실란계 화합물이 0.1 내지 5 중량부로, 바람직하게는 0.2 내지 4 중량부, 더욱 바람직하게는 0.3 내지 3 중량부일 수 있다. 아미노실란계 화합물이 상기 중량부로 혼합됨으로써, 상기 나노입자에 상기 아미노실란계 화합물이 고밀도로 표면 치환될 수 있으며, 또한 미반응 아미노실란계의 화합물의 함량이 최소화되어, 후속 정제 공정이 효율적으로 수행될 수 있다. 이로 인해, 상기 제2 개질단계에 투입되는 설튼계 화합물과의 불필요한 반응을 방지할 수 있어, 정제공정이 보다 간편해질 수 있으며, 상기 나노입자 표면의 양쪽성 이온 화합물간의 응집되는 현상이 방지될 수 있다.

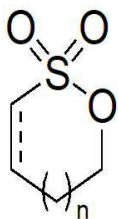
[0060] 제1 개질 단계의 반응 조건의 온도는 10 내지 50℃, 구체적으로 20 내지 40℃ 일 수 있으며, 반응시간은 1시간 내지 60시간, 구체적으로 2 시간 내지 10 시간일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0061] 제1 개질 단계의 완료 후, 혼합용액은 원심분리를 통해 반응 생성물인 아민기로 표면 치환된 나노입자를 상등액으로부터 분리할 수 있다. 상기 분리 과정은 복수회 수행되어 미반응 화합물과 용매로부터 아민기로 표면 치환된 나노입자를 분리하고, 건조과정을 통해 순수한 아민기로 표면 치환된 나노입자 고체 분말을 수득할 수 있다.

[0062] 다음으로 본 발명의 제2 개질단계에 대하여 상세하게 설명한다. 제2 개질단계에서는 아민기로 표면 치환된 나노입자를 설튼계 화합물과 공유결합하여 양쪽성 이온 화합물로 표면 치환된 나노입자가 제조된다.

[0063] 상기 설튼계 화합물은 하기 화학식 2의 구조의 화합물인 것일 수 있다.

[0064] [화학식 2]



[0065]

[0066] (n 은 0 내지 2이며, --- 는 단일 결합 또는 이중결합이다.)

[0067] 상기 설튼계 화합물은 일 예로 1,3-프로판 설튼, 1,4-부탄설튼 또는 1,3-프로펜설튼 등이 될 수 있으며, 바람직하게는 1,3-프로판설튼 또는 1,3-프로펜설튼인 것일 수 있다.

[0068] 아민기로 표면 치환된 나노입자에 대한 설튼계 화합물의 함량은, 상기 아민기로 표면 치환된 나노입자 100 중량부에 대하여 설튼계 화합물 0.1 내지 5 중량부가 혼합될 수 있으며, 바람직하게는 0.2 내지 4 중량부, 더 바람직하게는 0.3 내지 3 중량부가 혼합될 수 있다. 설튼계 화합물이 상기 중량부로 혼합됨으로써, 나노입자의 표면에 존재하는 아민기가 모두 설튼계 화합물과 반응하여 양쪽성 이온으로 전환될 수 있다.

- [0069] 반응 용매로는 물, (C₁-C₄) 알코올 또는 이의 공용매일 수 있다. 바람직하게 반응용매는 물일 수 있다.
- [0070] 제2 개질 단계의 반응 조건의 온도는 30 내지 80℃, 구체적으로 40 내지 70℃ 일 수 있으며, 반응시간은 1시간 내지 60시간, 구체적으로 2 시간 내지 10 시간일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0071] 바람직하게, 제1 개질 단계에서 투입되는 아미노실란계 화합물과 제2 개질 단계에서 투입되는 설통계 화합물은 물비로 1:1 초과 1:3 미만일 수 있다. 보다 바람직하게, 설통계 화합물은 아미노실란계 화합물 대비 과량으로 투입되어 나노입자의 표면에 존재하는 아민기가 모두 설통계 화합물과 반응하도록 하여 나노입자의 표면이 고밀도의 양쪽성 이온으로 표면 치환될 수 있다.
- [0072] 이에 따라, 상기 나노입자 표면에 양쪽성 이온 화합물이 고밀도로 부착되어, 상기 나노입자 표면에 수막 형성이 매우 안정적으로 생성될 수 있으며, 이로 인하여 단백질 등의 이물질이 나노입자 표면에 흡착되는 것을 방지할 수 있다. 또한 수막 층으로 인하여 나노입자간의 응집되는 현상이 저하되어 분산도가 향상될 수 있다.
- [0073] 제2 개질 단계의 완료 후, 혼합용액은 원심분리를 통해 반응 생성물인 양쪽성 이온으로 표면 치환된 나노입자를 상등액으로부터 분리할 수 있다. 상기 분리 과정은 복수회 수행되어 미반응 화합물과 용매로부터 양쪽성 이온으로 표면 치환된 나노입자를 분리할 수 있다.
- [0074] 선택적으로, 제2 개질 단계의 완료 후, 세척 단계가 더 포함될 수 있으며, (C₁-C₄) 알코올 세척 단계 및 물에 의한 세척 단계로 이루어질 수 있다.
- [0075] 분리 및 세척 단계 이후, 건조과정을 통해 순수한 양쪽성 이온으로 표면 치환된 나노입자 고체 분말을 수득할 수 있다.
- [0076] 본 발명의 일 양태에 따른, 상기 양쪽성이온 나노입자는 pH 7 내지 9 범위에서 제타전위 절대값이 20 mV 이하일 수 있다.
- [0077] 양쪽성 이온으로 표면 치환된 나노입자는 pH 7 내지 9의 범위 이내, 보다 구체적으로 생체 내의 pH 범위인 pH 7 내지 8 범위 내에서 제타전위 절대값이 20 mV 이하의 값을 가질 수 있으며, 제타전위의 절대값이 낮은 값을 가짐에 따라 단백질 등의 이물질의 흡착이 현저히 저감된 효과를 가진다.
- [0078] 이하 실시예 및 비교예를 바탕으로 본 발명을 더욱 상세히 설명한다. 다만 하기 실시예 및 비교예는 본 발명을 더욱 상세히 설명하기 위한 하나의 예시일 뿐, 본 발명이 하기 실시예 및 비교예에 의해 제한되는 것은 아니다.
- [0079] [물성 측정]
- [0080] 1. 제타전위
- [0081] Horiba 사의 SZ-100으로 제타전위를 측정하였다. 측정 조건으로는, 나노입자를 증류수에 1mg/ml로 희석한 샘플을 제조하고, 상기 샘플을 200 μ l 함량으로 투입하여 측정하였다.
- [0082] 2. 양쪽성 이온으로 표면 치환된 나노입자의 용액 내 안정성 평가
- [0083] 양쪽성 이온으로 표면 치환된 나노입자와 아민기 기능화 나노입자와 실리카 입자를 각 0.1 mg/ml로 3차 증류수(DW), 1X PBS, FBS 10%를 포함한 Growth media 내에 분산시켜 분산용액을 제조하고, 상기 분산용액의 상태를 초기 가시광선 투과도를 UV-vis를 이용하여 측정하였다. 이후 상기 분산용액을 원심분리기를 500rpm에서 1.5분간 사용하여 1차 용액 안정성을 측정하였다. 위 과정을 3번 반복하여 각 입자별로 가시광선 투과도의 변화폭을 계산하여 제조한 나노입자의 용액 내 안정성을 평가하였다.
- [0084] 3. 양쪽성이온 나노입자의 단백질 흡착 평가
- [0085] 나노입자 표면에 단백질 흡착을 평가하기 위하여 각 입자를 QCM 전극에 스핀코팅을 이용하여 3번 코팅하였다. 코팅한 후 BSA(Bovine serum albumin) 용액과 FBS(Fetal bovine serum) 용액에 각각 10분간 담지하여 QCM을 통해 전극에 흡착된 단백질을 정량적으로 분석하였다.
- [0086]
- [0087] [실시예 1]
- [0088] 1. 아미노 실리카 나노입자 제조단계
- [0089] 3차 증류수와 에탄올을 1:1 부피비로 혼합하여 제조한 혼합 용액에 입자 크기가 100 nm인 실리카 입자를 100 중

량을 첨가하고 이를 소니케이터(sonicator)를 이용하여 10분간 분산시켰다. 상기 실리카 입자가 분산된 혼합 용액에 아미노프로필트리에톡시실란(3-Aminopropyl)triethoxysilane) 3 중량부를 투입한 후에 25℃에서 6시간동안 500 rpm으로 교반하여 아미노프로필트리에톡시실란이 코팅된 아미노 실리카 나노입자를 제조하였다. 교반 후 상기 혼합용액을 원심분리(centrifuge)를 사용하여 제거하고, 얻어진 아미노 실리카 나노입자를 에탄올 용매에 2번 정제하였다. 이후, 상기 정제된 아미노 실리카 나노입자를 50℃의 진공 오븐에서 건조하여 건조된 아미노 실리카 나노입자를 제조하였다.

[0091] 2. 양쪽성 이온 나노입자 제조단계

[0092] 3차 증류수에 상기 아미노 실리카 나노입자 100 중량부를 포함하고, 이를 소니케이터를 사용하여 분산시켰다. 상기 아미노 실리카 나노입자가 분산된 톨루엔을 500 rpm으로 교반하면서 60℃에서 4시간동안 1,3 프로판설통(1,3-propanesultone) 3 중량부를 적가하였다. 이때 용액의 온도는 오일배스(oil bath) 내에서 60℃로 4시간동안 반응시켜 양쪽성 이온 나노 입자를 제조하였다. 상기 반응 후 에탄올로 상기 양쪽성 이온 나노 입자를 1회, 3차 증류수로 2회 세척한 후에 80℃의 진공오븐에서 건조시켜 건조된 양쪽성 이온으로 표면 치환된 실리카 나노 입자를 제조하였다.

[0093] 상기 제조된 양쪽성 이온으로 표면 치환된 나노입자에 대하여 pH에 따른 표면전하 및 수막 크기를 측정하여 표 1에 기재하였으며 BSA 흡착도를 측정하여 표 2에 기재하였다.

[0095] [실시예 2]

[0096] 실시예 1에서 3차 증류수와 에탄올을 1:1 부피비로 혼합하여 제조한 혼합 용액 대신에 에탄올만 사용하여 아미노 실리카 나노입자를 제조한 것을 제외하고는 동일하게 실시하였다.

[0098] [비교예 1]

[0099] 3차 증류수와 에탄올을 1:1 부피비로 혼합하여 제조한 혼합 용액에 입자 크기가 100 nm인 실리카 입자를 100 중량부를 첨가하고 이를 소니케이터(sonicator)를 이용하여 10분간 분산시켰다. 상기 실리카 입자가 분산된 혼합 용액에 상기 실리카 입자 100 중량부에 대하여, 아미노프로필트리에톡시실란(3-Aminopropyl)triethoxysilane) 3 중량부를 투입한 후에 25℃에서 6시간동안 500 rpm으로 교반하여 아미노프로필트리에톡시실란이 코팅된 아미노 실리카 나노입자를 제조하였다. 교반 후 상기 혼합용액을 원심분리(centrifuge)를 사용하여 제거하고, 얻어진 아미노 실리카 나노입자를 에탄올 용매에 2번 정제하였다. 이후, 상기 정제된 아미노 실리카 나노입자를 50℃의 진공 오븐에서 건조하여 건조된 아미노 실리카 나노입자를 제조하였다.

[0100] 상기 제조된 아미노 실리카 나노입자에 대하여 pH에 따른 표면전하 를 측정하여 표 1에 기재하였으며 BSA 흡착도를 측정하여 표 2에 기재하였다.

[0101] [비교예 2]

[0102] 실시예 1과 동일한 실리카 나노입자를 사용하되, 표면처리 하지 않은 실리카 나노입자에 대하여 pH에 따른 표면전하를 측정하여 표 1에 기재하였으며 BSA와 FBS의 흡착도를 측정하여 표 2에 기재하였다.

표 1

	pH에 따른 나노입자 표면에 대한 제타전위 값(mV)			
	pH 6	pH 7	pH 8	pH 9
실시예 1	+20	+18	-5	-23
비교예 1	+42	+37	+29	+21
비교예 2	-66	-65	-70	-72
	pH에 따른 수막의 크기에 대한 QCM 값 ΔF(Hz)			
	pH 8	pH 8.5	pH 9	
실시예 1	-387	-770	-727	

표 2

	나노입자 표면에 BSA 흡착 QCM 값(Hz)	
	BSA	FBS
실시예 1	106	11
비교예 1	471	160

비교예 2	250	313
-------	-----	-----

- [0106] 표 1과 도 6은 pH에 따른 나노입자 표면에 대한 제타전위값 및 수막의 크기를 측정한 것으로서, 실시예 1의 경우 pH 6 에서는 +20 mV이며, pH 9에서는 -23 mV이다. 이에 따라 나노입자의 표면이 양쪽성 이온으로 표면 치환됨에 따라 중성 pH 부근을 중심으로 전하가 변경되는 것을 확인할 수 있다. 이에 반해 비교예 1 내지 비교예 2의 경우, 양쪽성 이온을 포함하지 않기 때문에 pH 변화에 따라 전하의 변경이 없는 것을 확인할 수 있다.
- [0107] 표 1과 도 7은 pH 변화에 따른, 실시예 1의 양쪽성이온으로 표면 치환된 나노입자에 형성된 수막의 크기를 측정 한 수정진동자저울(Quartz Crystal Microbalance, QCM) 그래프 및 수치값이다.
- [0108] 상기 표 1을 참조하면, pH 8.0에서 - 387 ΔF로 측정되고 pH 8.5 에서 - 770 ΔF로 측정된 것으로 나타나, 상기 pH 8.0 이 pH 8.5 보다 밀도가 더 높음을 알 수 있다. 이에 따라, 상기 수막의 크기는 밀도와 반비례하여 pH 8.5가 pH 8.0보다 더 큰 것을 알 수 있으므로, 실시예 1의 양쪽성이온으로 표면 치환된 나노입자에 형성된 수막의 크기는 pH에 영향을 받는 것을 확인할 수 있다.
- [0109] 도 8의 (가)는 비교예 1, 2 및 실시예 1의 수력학적 입경을 동적광산란법 (Dynamic Light Scattering, DLS)을 통해 측정한 도면이며, (나)는 실시예 1의 pH에 따른 수력학적 입경을 측정한 도면이다.
- [0110] 상기 DLS로 수력학적 입경을 측정하였을 시, 도 8의 (가)에서 실시예 1이 비교예 1 내지 2보다 지름이 큰 것을 확인할 수 있으며, 이는 상기 실시예 1의 수막의 크기가 비교예 1 또는 2보다 큰 것을 시사하는 것이다. 또한 도 8의 (나)에서는 pH 가 8에서 DLS 로 측정한 지름이 pH 4 또는 pH 6보다 큰 것을 확인 할 수 있다.
- [0111] 결론적으로, 표 1 내지 2 및 도 6 내지 8에서는 상기 실시예 1의 양쪽성 이온 나노입자가 pH에 따라 수막의 크기가 변화되는 것을 확인할 수 있으며, 이 중 pH 8.0 내지 pH 9.0 에서 수막의 크기가 가장 큰 것으로 확인할 수 있다.
- [0112] 상기 표 2와 도 10은 실시예 및 비교예들의 BSA(Bovine serum albumin)의 흡착정도를 QCM으로 측정한 것으로서, 실시예 1이 BSA 흡착이 가장 낮은 것을 관측할 수 있다. 이는 실시예1의 나노입자의 수막형성으로 인하여 발생 되는 효과로써, 나노입자의 표면을 둘러싼 수막에 의해 BSA가 나노입자 표면에 흡착되지 못하는 현저한 효과를 가질 수 있다.
- [0113] 또한, 도 2 (가)에서 실시예 1의 양쪽성 이온 나노입자와 실시예 2의 양쪽성 나노입자에 대한 TGA 분석 비교시, 실시예 1의 양쪽성 이온의 중량%이 실시예 2의 중량% 값보다 2배 정도 차이나는 것을 확인할 수 있다.
- [0114] 이는, 상기 실리카 입자가 분산된 혼합 용액 제조시 사용되는 용매가 에탄올만 사용하였을 때보다, 에탄올과 3 차 증류수의 함량비를 1:1로 혼합하였을 때, 실리카 입자에 아미노프로필트리에톡시실란이 높은 함량으로 증착하는 것을 시사하는 것이다.
- [0115] 한편 도 2(나)를 참조하면, 비교예 2의 실리카 입자와 비교해서 실시예 1 및 실시예 2에서 제조된 양쪽성 이온 나노입자는 약 3500cm^{-1} 에서 피크가 감소하는 것으로 나타나 실리카 입자에 존재하는 실라놀기가 아미노프로필트리에톡시실란으로 치환되었음을 나타낸다.
- [0116] 도 3은 실시예 1 및 비교예 2의 화학적 결합을 확인하기 위한 라만 분광기 스펙트럼(Raman spectroscopy) 이미지이다. 상기 도 3의 실시예 1의 경우 1040 cm^{-1} 대에서 양쪽성 이온 말단의 존재하는 SO_3^- 기를 확인할 수 있었으며, 2800 내지 3000 cm^{-1} 대에서 비교예 2에서는 존재하지 않는 CH_2 기의 피크를 확인함으로써, 상기 실리카 나노입자 표면에 양쪽성 이온이 결합된 것을 확인할 수 있다.
- [0117] 도 4는 실시예 1, 비교예 1 및 비교예 2의 XPS(X-ray photoelectron spectroscopy) 이미지이며, 상기 도 4에서 실시예 1의 양쪽성 이온 S=O기 S2p 피크인 168.5 eV 를 확인할 수 있다.
- [0118] 즉, 상기 168.5 eV 피크는 비교예 1 내지 비교예 2에서는 존재하지 않는 피크로써, 이를 통해 양쪽성이온이 실리카 나노입자 표면에 증착된 것을 확인할 수 있다.
- [0119] 또한, 도 9는 실시예 및 비교예들의 나노입자들을 PBS 및 Growth media에서의 양쪽성이온 나노입자의 용액 내 안정성 평가를 한 것으로서, 3번의 centrifuge 이후에 실시예 1의 투과도 변화량이 상대적으로 비교예 1 내지 비교예 2보다 UV-VIS의 투과도 변화량이 낮은 것을 확인할 수 있었다. 이는 실시예 1이 비교예 1 내지 비교예 2

보다 분산성 및 안정성이 우수한 것을 나타내는 것으로서, 생체 용액 내에서도 분산성이 높은 것을 확인할 수 있다.

[0120] 이는 상기 제타전위 절대값이 20 mV 미만일 때, 양쪽성 이온으로 표면 치환된 나노입자의 수막이 형성된 것으로 확인되었으며, 이에 따라 분산성이 높아지고, 이물질 흡착이 저하되는 것을 확인할 수 있었다.

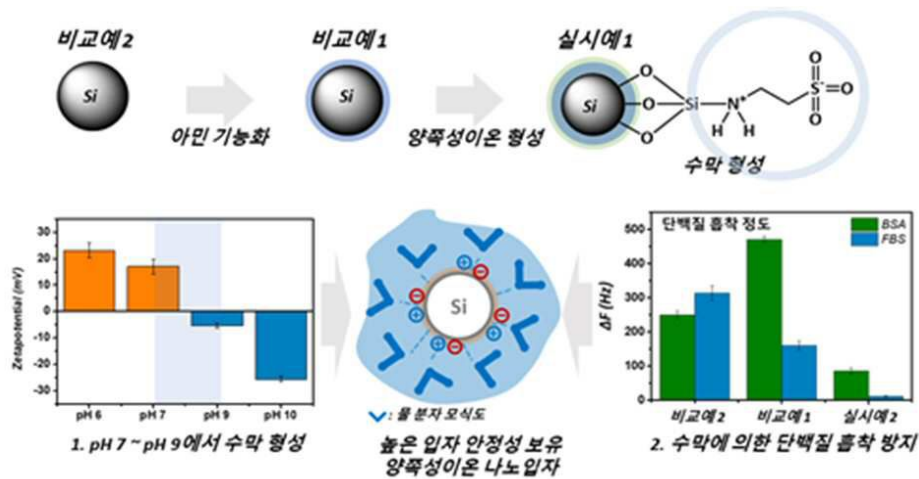
[0121]

[0122] 이상과 같이 본 발명에서는 특정된 사항들과 한정된 실시예에 의해 설명되었으나 이는 본 발명의 보다 전반적인 이해를 돕기 위해서 제공된 것일 뿐, 본 발명은 상기의 실시예에 한정되는 것은 아니며, 본 발명이 속하는 분야에서 통상의 지식을 가진 자라면 이러한 기재로부터 다양한 수정 및 변형이 가능하다.

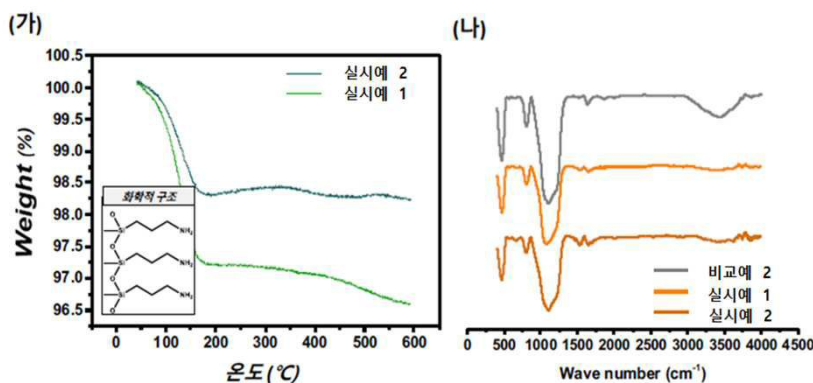
[0123] 따라서, 본 발명의 사상은 설명된 실시예에 국한되어 정해져서는 아니되며, 후술하는 특허청구범위뿐 아니라 이 특허청구범위와 균등하거나 등가적 변형이 있는 모든 것들은 본 발명 사상의 범주에 속한다고 할 것이다.

도면

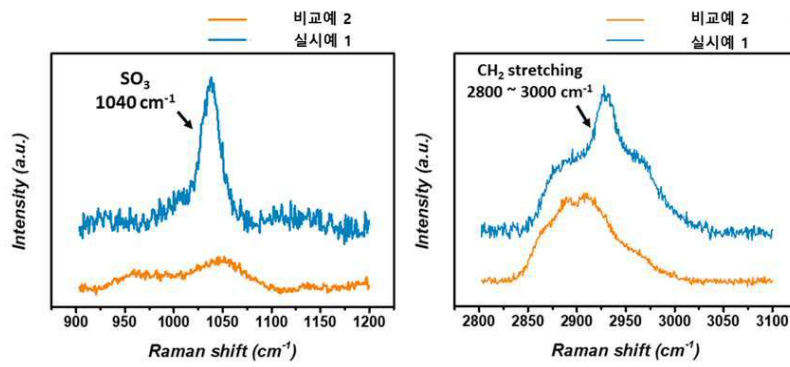
도면1



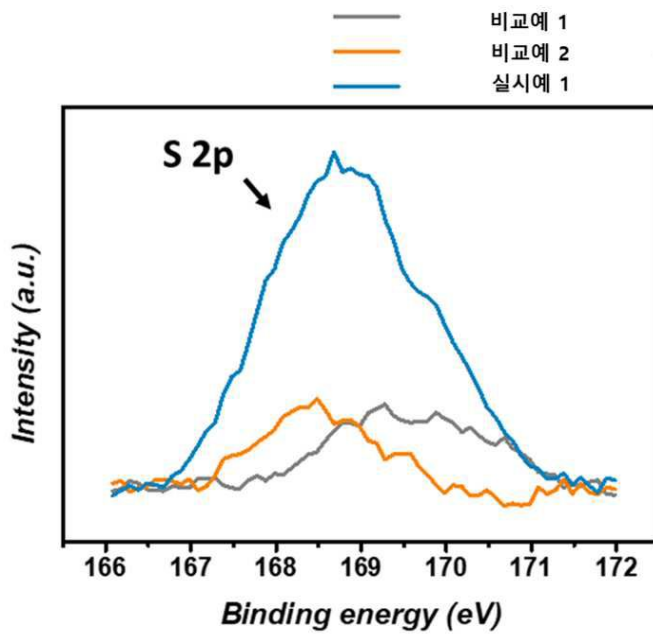
도면2



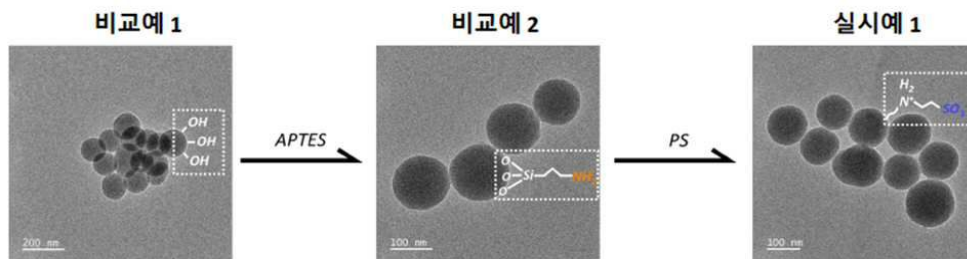
도면3



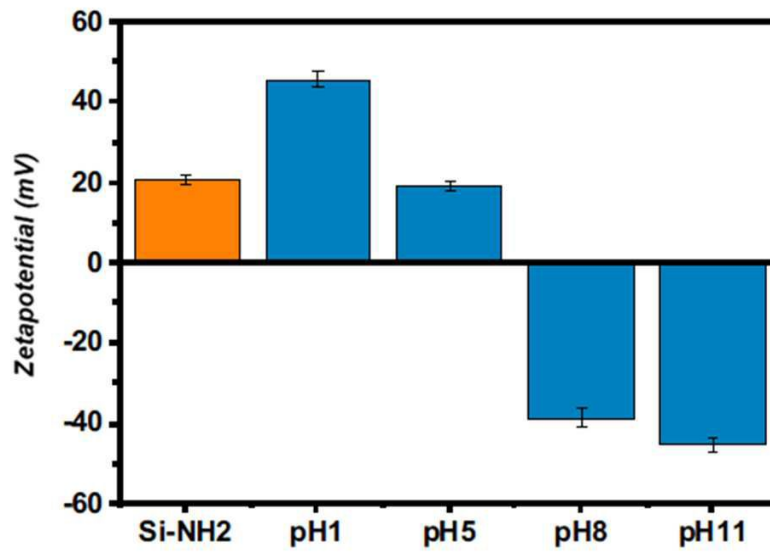
도면4



도면5

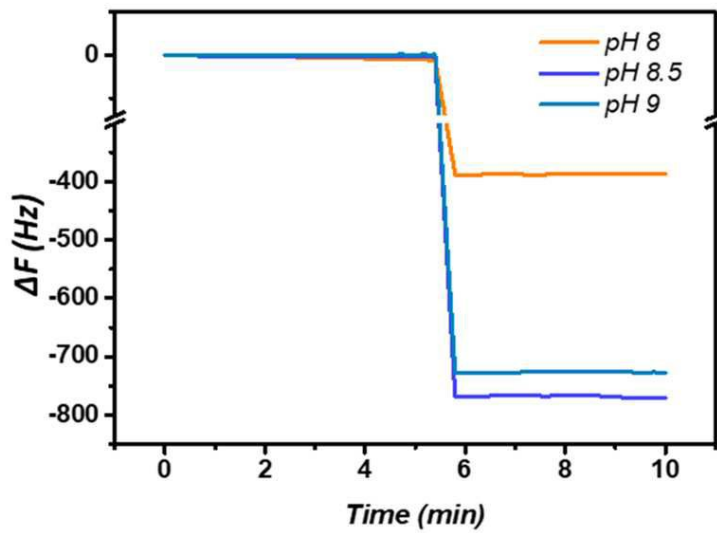


도면6

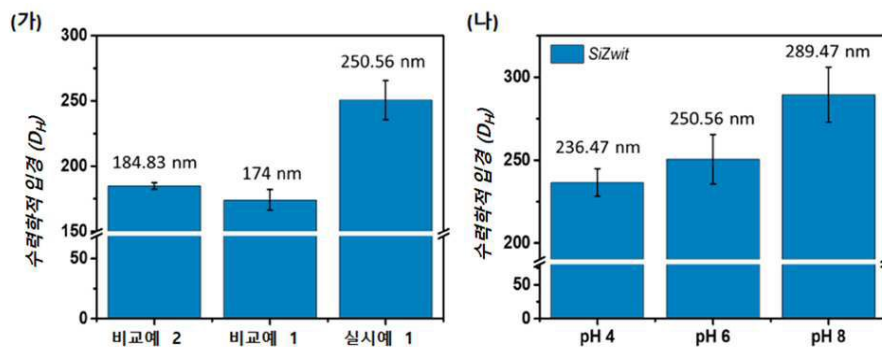


도면7

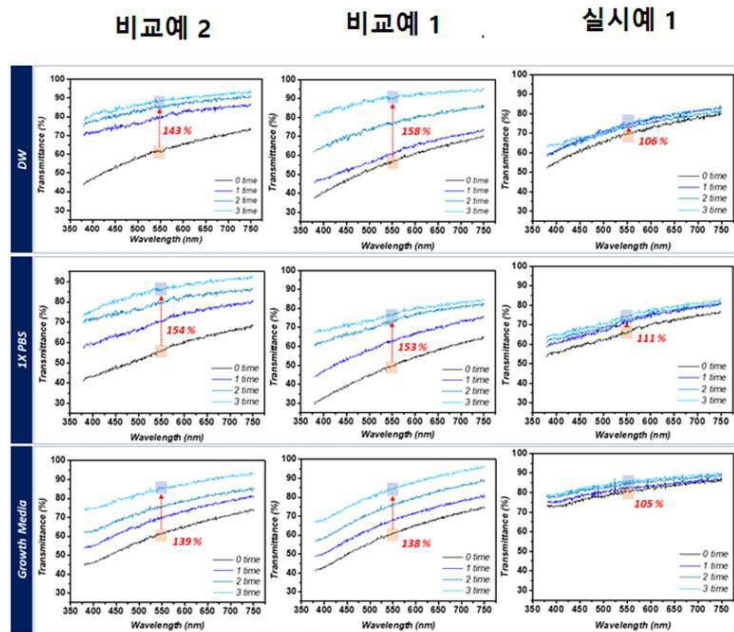
pH에 따른 QCM 결과



도면8



도면9



도면10

