

의학적 응용을 위한 생체 고분자로 피복 된 자성 나노 입자와 미소구체의 제조

고상길 · 조준희 · 안양규*

건양대학교 나노바이오화학학과 충남 논산시 내동 320-711

송기창

건양대학교 화공생명공학과 충남 논산시 내동 320-711

최은정

건양대학교 안경광학과 대전광역시 서구 가수원동 302-718

(2006년 5월 8일 받음, 2006년 8월 16일 최종수정본 받음)

균일한 마그네타이트 나노 입자를 합성하기 위해 음향화학법을 이용한 공침 기술을 적용해 합성 하였다. 입자의 크기를 제어 하고 응집을 막기 위해 계면활성제로 올레인산을 사용하였다. 이 방법으로 합성한 마그네타이트 나노입자를 의학적으로 이용 하기 위해 나노 입자의 표면을 개질하고 자성 미소구체를 제조 하였다. 마그네타이트 입자의 표면 개질과 자성 미소 구체를 제조 하기 위해 저독성, 생분해성, 생체 친화성의 특징을 갖고 있는 키토산과 β -글루칸을 사용하였다. 생체 고분자로 마그네타이트 나 노 입자를 피복하기 위해 묽은 초산 용액을 이용하여 키토산을 용해하고 β -글루칸은 묽은 수산화나트륨에 용해하여 사용 하였다. 나노 입자의 피복은 자성유체를 초음파를 가해주면서 용해시킨 각각의 생체 고분자 용액을 서서히 가하여 나노 입자를 피복하였 다. 자성 미소구체는 2% 키토산과 5%의 β -글루칸 수용액을 이용해 제조 하였다. 마그네타이트를 생체 고분자에 분산 시켜 주 기 위해 콜로이드 상으로 제조 하고 초음파를 조사 해주어 분무 장치를 통해 미소 구체를 제조하였다. SQUID(Superconducting Quantum Interference Device)를 측정 한 결과 피복한 나노 입자와 미소구체에서 모두 초상자성을 나타내고 있었으며 MRI(Magnetic Resonance Imaging) 측정 결과 MRI 조영제와 색전 물질로서 사용하기 적합 하다는 것을 확인 할 수 있었다.

주제어 : 마그네타이트, 음향화학법, 키토산, β -글루칸, 미소구체

1. 서 론

나노 크기의 초미립자 자성체는 입자의 크기가 작아 마이크로 크기의 자성체에서는 나타나지 않는 물리적, 화학적 및 자기적 특성을 나타낸다. 이러한 특성을 가지고 있어 새로운 응용에 기대가 커지면서 활발한 연구가 이루어지고 있다[1]. 자 성 나노 입자는 외부 자장을 걸어 주었을 때 치료하고자 하는 부위로의 이동이 가능한 특성을 갖고 있어 생의학적인 응용에 많은 장점을 지니고 있다. 나노 입자를 제조 시에 입자 크기의 분포가 좁아야 하며 입자들 사이에 응집이 없어야 하고 다음 사용이 용이하도록 제조해야 한다[2]. 또한 약물전달 시스템용 재료로서 요구 되는 고분자의 특성은 생체적합성, 생분해성, 화학적·생물학적 무독성 등이 필수 조건으로 요구 된다[3].

본 연구에서는 음향화학법을 이용하여 균일한 크기의 마그 네타이트 나노 입자를 제조 하고자 하였으며, 입자들 사이의 응집이 없고 용매에 쉽게 분산 시킬 수 있도록 표면 개질을 하고 다음 단계의 활용이 하도록 하였다[4]. 본 연구의 목적 이 의학적 응용인 만큼 MRI 조영제와 색전제로의 활용 가능

성에 최종 목적을 두었다. MRI 조영제는 현재 MRI 혈관 조영술, 관류 영상에 이르기 까지 MRI 조영제의 사용 영역 이 점차 증가 하는 추세에 있다[5]. 색전제 또한 기존의 색전 제는 불균일한 형태를 하고 있고 생체 영구 물질이기 때문에 새로운 색전제가 필요한 현실이다[6]. 우리는 제조한 마그네 타이트 나노입자는 XRD(X-Ray Diffractometer) 회절 분석을 이용하여 결정구조를 확인 하였다. AFM(Atomic Force Microscope), TEM(Transmission Electron Microscope)을 이 용하여 나노 입자의 크기와 형태를 알아보았고 DLS (Dynamic Light Scattering) 입도분석을 통해 입자들의 분포 를 측정하였다. 생체 고분자로 피복 된 마그네타이트 나노 입 자와 마그네타이트가 분산 된 생체 고분자 미소 구체를 광학 현미경을 통하여 형태와 입자의 크기를 분석하였다. SQUID 를 이용하여 마그네타이트 나노 입자와 생체 고분자로 처리 된 시료의 자기적 특성을 측정하였다. MRI의 측정을 통하여 조영제로서의 특성을 가지고 있는지를 분석하였다.

2. 실험 방법

본 연구에서는 마그네타이트 나노 입자를 합성하기 위해

*Tel: (041) 730-5224, E-mail: ykahn@konyang.ac.kr

FeCl₂ · 4H₂O(Merck, 99%)와 FeCl₄ · 6H₂O(Merck 99%)을 출발 물질로 사용 하였다. 나노 입자의 크기와 응집을 막기 위해 올레인 산(Samchun)을 사용 해 주었다. 물과 올레인 산의 몰 농도 비 R=[물]/[계면활성제]를 88에서 133 범위에서 조절하여 마그네타이트의 크기를 제어하였다. 금속염과 올레인산의 혼합 용액을 70°C를 유지 하면서 초음파를 조사해준 후 침전제를 서서히 가하여 주었다. 침전제는 1.2 M의 Tetramethylammonium hydroxide 용액을 넣어 주었다. 이렇게 합성 된 마그네타이트 나노 입자는 증류수에 희석하여 저온 고속 원심분리 해서 탈수 케익으로 만들었고 pH 9 염기성 용액에 분산 시켜 콜로이드 상태의 자성유체를 제조하였다.

나노 자성 입자를 생체 고분자로 피복 하기 위해 초산 수용액을 이용해 0.07% 키토산 수용액을 제조 하였고, NaOH 수용액을 이용해 0.1% β-글루칸 수용액을 제조 하였다. 자성 나노 입자에 생체 고분자를 피복하기 위해 위에서 제조한 콜로이드 상태의 자성유체에 초음파를 조사해 주면서 자성유체와 같은 부피로 0.07% 키토산 수용액을 서서히 가하여 주었다. 20분간 초음파를 조사 시켜준 후 원심 분리 하여 동결 건조하여 분말 시료를 얻었다. 자성 나노 입자에 β-글루칸을 피복하는 방법은 위의 키토산을 피복한 방법과 동일하게 콜로이드 상의 자성유체와 0.1% β-글루칸 용액을 같은 부피 비로 사용하여 β-글루칸이 자성 나노 입자에 피복 되도록 하였다.

마그네타이트 나노 입자가 담지 된 미소 구체를 제조하기 위해 2% 키토산 수용액 150 ml을 제조하고 7.5% 자성유체 10 ml을 혼합해 주고 초음파를 15분간 조사해 주었다. 키토산은 알칼리에서 침전이 되는 특성을 이용해 분무장치를 이용해서 알칼리 수용액에 분사해 주어 미소 구체를 제조 하였다. 알칼리 수용액은 부피 비로 1:2의 에탄올 수용액에 1 M의 NaOH를 녹여서 사용하였다.

또한 β-글루칸은 키토산과 반대의 성질을 갖는 특성을 이용해서 미소 구체를 제조 하였다. β-글루칸은 키토산과 다른 점성을 가지고 있어 5% β-글루칸 수용액을 이용하였고 자성유체는 키토산-마그네타이트 미소구체를 제조 할 때 사용한 것과 동일한 것으로 사용하였다. 5% β-글루칸 수용액 150 ml와 자성유체 10 ml를 혼합한 용액을 15분간 초음파를 조사하여 β-글루칸-마그네타이트 용액을 제조하고 β-글루칸은 산성 수용액에서 침전이 되는 특성을 이용해 1:2의 부피비로 제조된 에탄올 수용액에 1 M의 초산 용액을 만들어 이 용액에 분무하여 미소 구체를 제조 하였다. 이렇게 두 가지의 생체 고분자로 제조한 미소구체는 체를 이용하여 입자들을 크기별로 분리 하였고 pH가 중성이 될 때 까지 수회증류수로 세척해 주었다.

합성한 마그네타이트 나노입자는 XRD를 측정하여 결정 구

조를 확인하였다. AFM과 DLS 입도 분석기를 이용하여 입자의 형태, 크기 그리고 분포를 알아보았다. 생체 고분자로 피복된 나노 입자 또한 AFM과 DLS 입도 분석기를 이용하여 입자의 분포와 피복 여부를 확인 하였으며 미소 구체는 광학 현미경과를 통하여 자성 나노 입자가 고분자내에 고르게 분포 하고 있는지와 미소구체의 형태를 관찰 할 수 있었다. 마그네타이트와 생체 고분자로 피복된 자성 나노입자 그리고 미소구체의 자기적 특성을 알아보기 위해 실온에서 SQUID를 이용하여 분석한 결과 모두 초상자성 거동은보이는 것으로 나타났다. MRI를 측정하여 MRI 조영제로서의 활용 가능성을 분석하였다.

3. 실험 결과 및 고찰

XRD 회절 분석을 통하여 우리가 제조한 마그네타이트의 결정이 이루어 졌는지를 확인 할 주된 봉우리로 선정된 (220), (311), (400), (422), (511), (440)면들의 주된 회절 봉우리가 Fig. 1에서 2θ 값이 각각 30.09, 35.49, 43.29, 54.09, 57.29, 62.89에서 관찰 할 수 있었다. 이 결과를 통해 마그네타이트 나노 입자가 성공적으로 합성 되었는지를 확인할 수 있었다.

마그네타이트 나노 입자에 생체 고분자를 이용 하여 피복한 입자의 크기가 피복하기 전의 입자보다 커진 것을 입도 결과로 확인 할 수 있었다. DLS 입도분석기로 분석한 결과 마그네타이트 입자의 크기가 7.4 nm로 측정이 되었는데 키토산을 피복한 나노 입자의 크기는 10.1 nm, β-글루칸을 피복한 나노 입자의 크기는 10.7 nm로 측정이 되었다. 생체 고분자를 피복한 마그네타이트 나노입자의 DLS 입도 분석한 결과는 Fig. 2에 나타내었다. 마그네타이트 나노 입자에 키토산과 β-글루칸이 피복 된 나노 입자의 형태와 입자의 크기를 알아보기 위해 AFM을 측정한 결과 마그네타이트 나노입자

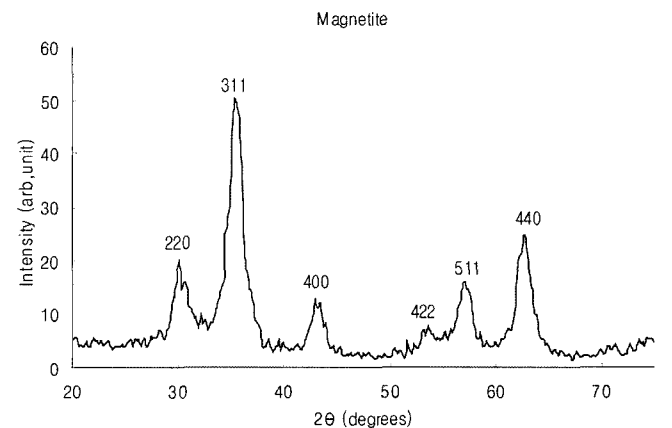


Fig. 1. XRD patterns of nano particle; R=[water]/[sulfactant]=133.

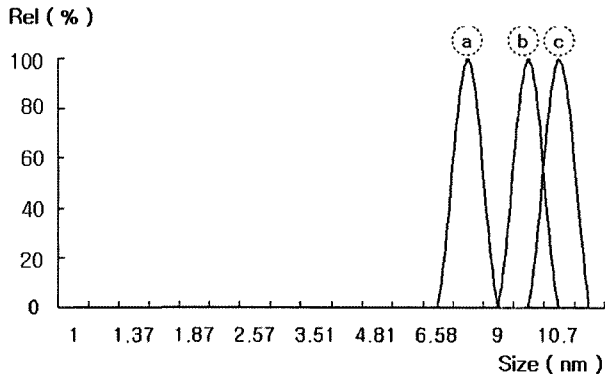


Fig. 2. (a) Size distribution of magnetite nanoparticles (size : 7.4 nm). (b) Size distribution of chitosan coated magnetite nanoparticle (size : 10.1 nm). (c) Size distribution of β -glucan coated magnetite nanoparticle (size : 10.7 nm).

와 동일하게 구 형태를 이루고 있는 것을 확인 하였다. 나노 입자의 크기 또한 마그네타이트 입자의 크기가 7.4 nm로 측정이 되었고 키토산을 피복한 나노 입자의 크기는 10.1 nm로 측정이 되었다. β -글루칸으로 피복한 나노 입자 또한 AFM으로 측정된 결과 피복한 나노 입자의 크기는 10.7 nm로 측정이 되었고 형태 또한 구 형태를 가지고 있는 것으로 측정이 되었다. AFM 측정 결과는 Fig. 3에 나타났다. 이는 마그네타이트 나노 입자에 생체 고분자들이 피복 된 것을 이로써 알 수 있었다. 또한 피복된 두께는 두 가지의 생체 고분자 모두 3 nm 정도로 피복이 된 것을 알 수 있었다.

마그네타이트 나노 입자가 담지 된 미소구체의 결과를 보면 투과 광학현미경으로 마그네타이트 나노입자의 분산 여부와 형태를 관찰 하였다. Fig. 4에서 보는 바와 같이 키토산과

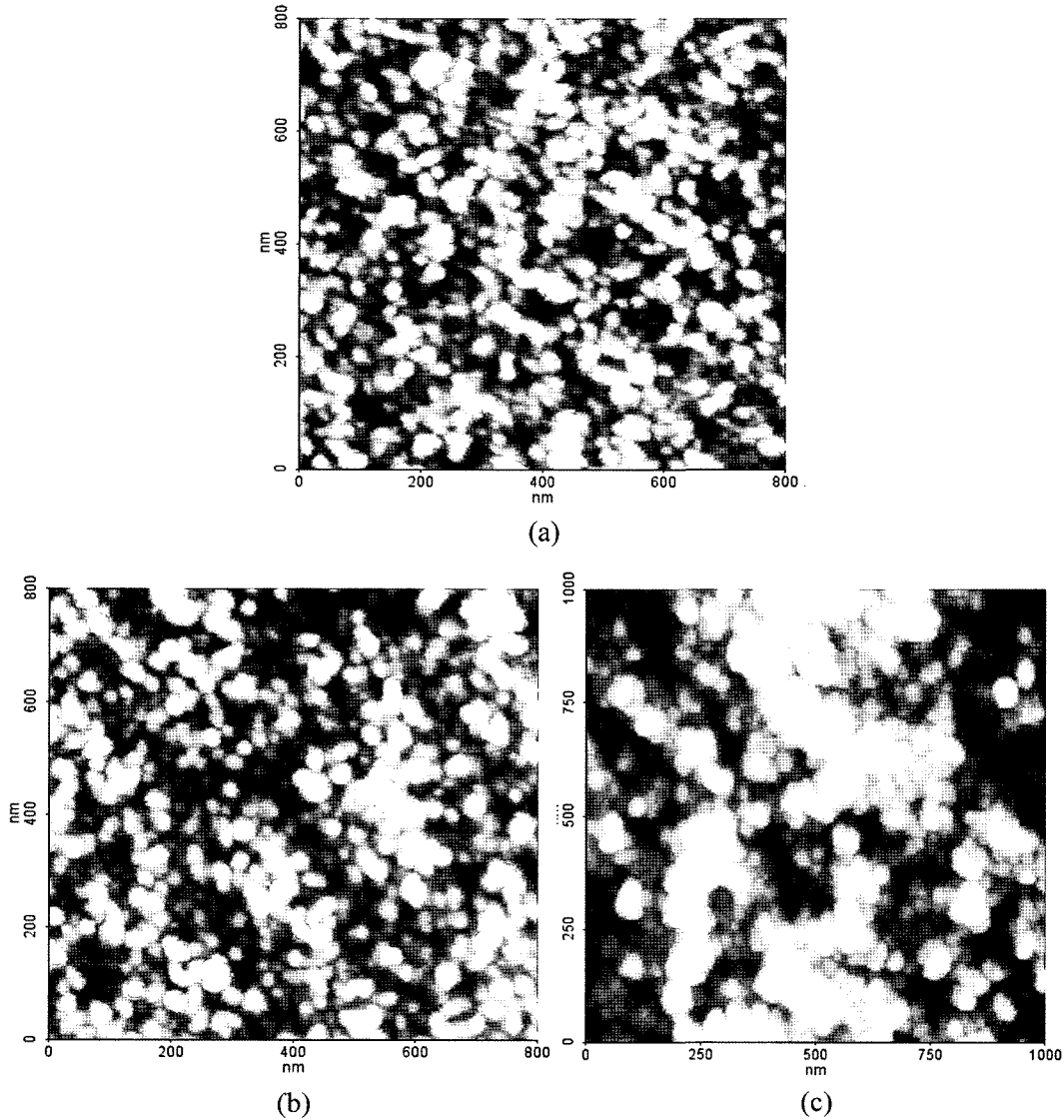


Fig. 3. AFM images of magnetite nanoparticles, chitosan-coated magnetite nanoparticles and β -glucan-coated magnetite nanoparticles (a) magnetite nanoparticles. (b) chitosan-coated magnetite nanoparticles. (c) β -glucan-coated magnetite nanoparticles.

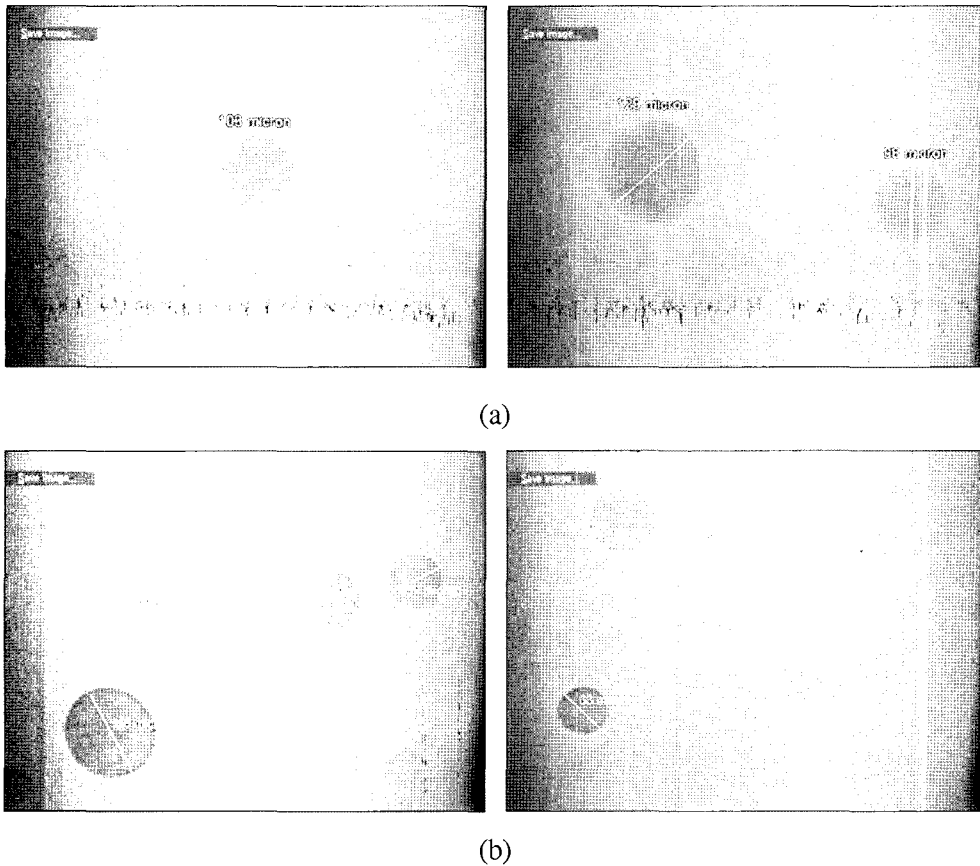


Fig. 4. Images of Optical microscope (a) chitosan microspheres (b) β -glucan microspheres.

β -글루칸 미소구체 모두에서 구 형태를 이루고 있고 마그네타이트 나노 입자도 뭉침 없이 고르게 분포 하고 있음을 확인 할 수 있었다. 이 때 측정된 시료는 키토산 미소구체의 경우 $100\ \mu\text{m}$ 이상의 큰 것을 사용하였고, β -글루칸의 경우에는 $50\sim 100\ \mu\text{m}$ 사이의 시료를 이용하여 측정 하였다. 이때의 광학현미경의 배율은 100배의 배율로 측정하였다.

마그네타이트 나노 입자와 키토산에 피복된 마그네타이트 나노 입자와 키토산-마그네타이트 미소구체의 자기적 특성을 알아보기 위해 실온에서 SQUID를 측정해 보았다. Fig. 5에서 나타낸 바와 같이 세 개의 시료 모두 $+20\ \text{kOe}$ 에서 $-20\ \text{kOe}$ 의 외부 자기장 하에서 측정을 실시하였다. Fig. 4의 (a)는 $7.4\ \text{nm}$ 크기의 마그네타이트 나노 입자의 자기 이력 곡선으로 자기장을 인가 했을 때는 자화 값을 가지지만 자기장을 제거 하면 자화 값이 “0”이 되는 초상자성 거동을 보이고 $20\ \text{kOe}$ 에서의 자화 값이 $46.67\ \text{emu/g}$ 으로 측정이 되었다. (b)의 측정 결과는 키토산이 피복된 마그네타이트 나노 입자로 마그네타이트 나노 입자와 동일하게 초상자성 거동을 보였으며 $20\ \text{kOe}$ 에서의 자화 값도 $45.88\ \text{emu/g}$ 으로 측정이 되었다. 마그네타이트 나노 입자와 키토산을 피복한 마그네타이트 나노 입자의 자화 값이 $1\ \text{emu/g}$ 정도 차이가 나타나는데

이는 마그네타이트 나노 입자에 피복된 키토산에 의한 자기 밀도 저하에 따른 것으로 판단이 된다. 미소구체의 역시 초상자성의 거동을 나타냈으며 $20\ \text{kOe}$ 에서 자화값이 $2.11\ \text{emu/g}$ 으로 측정이 되었다. 측정 결과 값 또한 미소구체 내에서 마그네타이트 나노 입자가 분산되어서 자기 밀도 저하에 따른 것으로 생각 된다. β -글루칸으로 피복한 나노 입자와 미소구체 또한 자기적 특성을 알아보기 위해 SQUID 실험을 실시하였는데 β -글루칸을 피복한 마그네타이트 나노 입자는 $20\ \text{kOe}$ 에서의 자화 값이 $46.29\ \text{emu/g}$ 로 측정이 되었다. β -글루칸을 이용해 미소구체를 제조 했을 경우에는 $20\ \text{kOe}$ 에서의 자화 값이 $1.08\ \text{emu/g}$ 로 측정이 되었다. 또한 키토산으로 피복과 미소구체를 제조 했을 때와 동일하게 β -글루칸을 이용해 피복과 미소구체를 제조 했을 때에도 초상자성 거동을 나타내는 것을 확인할 수 있었다.

우리는 이번 연구의 최종 목표인 의학적 응용에 있어서 생체 고분자를 피복한 마그네타이트 나노입자와 미소구체의 활용 여부를 알아보기 위해 MRI를 측정해 보았다. MRI를 측정된 T1 이미지와 T2 이미지를 Fig. 6에 나타내었다. (a)는 MRI를 측정하기 위해 네 가지의 시료의 배치와 각각의 시료의 마그네타이트의 함량을 나타내어 도식화 하였다. 자성 미

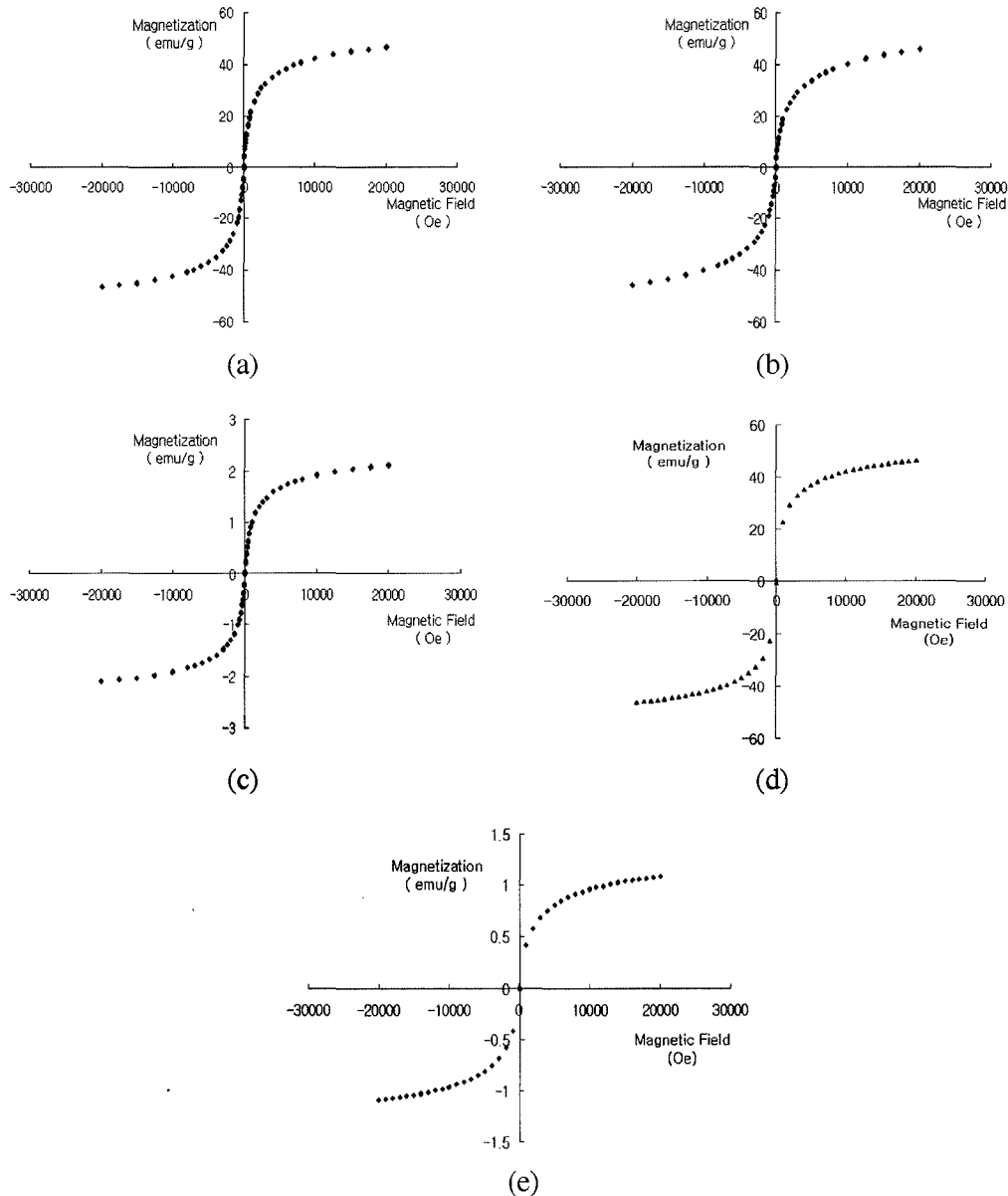


Fig. 5. Magnetic hysteresis loops. (a) magnetite nanoparticles. (b) chitosan-coated of magnetite nanoparticle. (c) magnetic-chitosan microspheres. (d) β-glucan-coated of magnetite nanoparticle. (e) β-glucan-chitosan microspheres.

소 구체는 생체 고분자 용액에 나노 입자가 분산 된 혼합 용액의 마그네타이트 함량이 $1.5 \times 10^{-3} \% (w/v) \sim 1.5 \times 10^{-6} \% (w/v)$ 이 되게 하여 MRI 측정을 하였다.

자성 미소구체의 MRI T1 이미지와 T2 이미지를 보면 T1 이미지에서 마그네타이트의 함량이 $1.5 \times 10^{-4} \sim 1.5 \times 10^{-6}$ 에서 이미지가 측정되었으나 T2 이미지에서는 마그네타이트의 함량이 $1.5 \times 10^{-5} \sim 1.5 \times 10^{-6}$ 에서만 측정이 되었다. T1 이미지와 T2 이미지가 대조적으로 측정이 되어야 생체 내에서 조영제로 사용했을 때 가장 효과적이다. 자성 미소 구체의 경우 마그네타이트의 함량이 1.5×10^{-4} 일 때의 측정 결과를 보면 T1 이미지에서는 이미지가 나타나지만 T2 이미지에서는

이미지가 나타나지 않거나 T1 이미지에서 보다는 약한 신호를 나타냈기 때문에 미소 구체의 경우에는 마그네타이트의 함량이 1.5×10^{-4} 의 함량을 가질 때 조영제로서의 활용이 가능할 것으로 관찰이 되었다. 또한 미소 구체의 특성을 이용하여 색전술의 색전 물질로 이용이 가능하고 색전술 시 미소구체가 원하는 곳에서 색전 효과를 나타내고 있는지도 알 수 있을 것으로 기대가 된다. 생체 고분자가 피복 된 마그네타이트 나노 입자 콜로이드상의 마그네타이트 함량이 $1.5 \sim 1.5 \times 10^{-4}$ 가 되게 시료를 제조 하여 MRI 측정을 하였다. 생체 고분자를 피복한 나노 입자에서의 T1 이미지에서 마그네타이트의 함량이 1.5×10^{-3} 일 때 이미지가 나타났는데 T2 이미

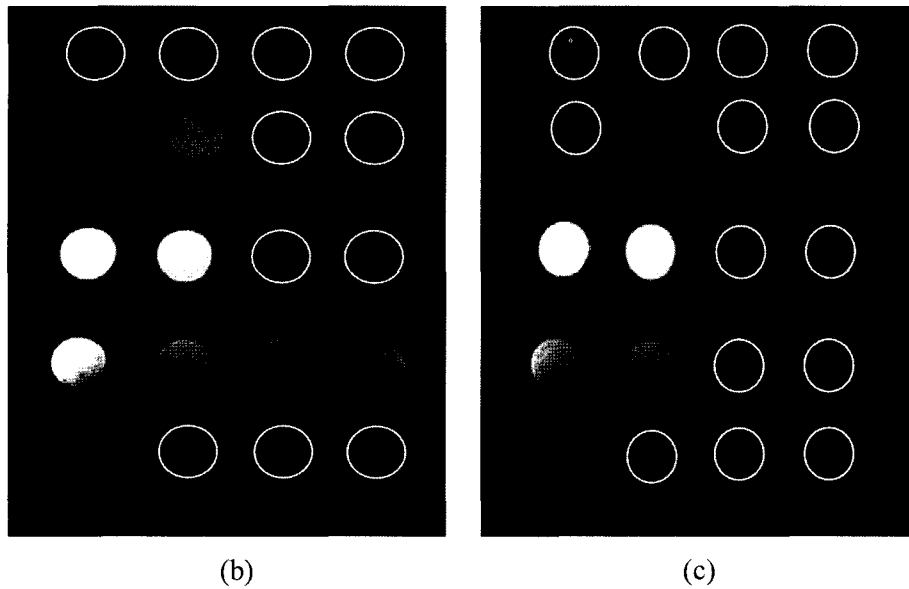
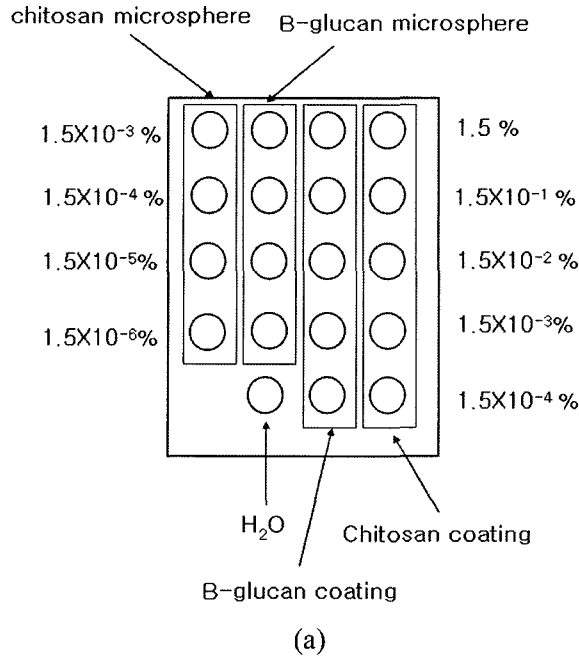


Fig. 6. MRI images of polymer coated magnetite nanoparticles and microspheres. (a) MRI sample. (b) MRI T1 image. (c) MRI T2 image.

지에서는 이미지가 나타나지 않는 것으로 보아 생체 고분자로 마그네타이트 나노 입자를 피복했을 경우에는 마그네타이트의 함량을 1.5×10^{-3} 으로 제조했을 때 가장 효율적으로 사용이 가능 한 것으로 판단 된다.

4. 결 론

우리는 음향화학법을 적용한 공침법으로 합성한 마그네타이트 나노 입자를 X-선 회절 분석 한 결과 성공적으로 합성된 것으로 나타났다. 계면활성제의 비율 $R = \frac{[물]}{[계면활성제]}$

을 조절하여 나노 입자의 크기를 제어 할 수 있었다. 또한 계면활성제를 가하여 주어 나노 입자의 분포가 균일하게 형성 된다는 것을 DSL 입도 분석을 통해 알 수 있었다. 마그네타이트 나노 입자를 원자 현미경으로 측정 한 결과 구 형태를 이루고 있는 것을 관찰 할 수 있었다.

이렇게 합성한 마그네타이트 나노 입자를 생의학적으로 활용하기 위해 생체고분자를 이용하여 나노 입자의 피복하고 미소구체를 제조 하였는데, 생체 고분자로 피복 된 나노 입자는 균일하고 구 형태를 유지하고 있는 것을 원자 현미경을 통해 확인 할 수 있었다. 자성 미소구체를 광학 현미경을 이

용하여 관찰한 결과 모두 구 형태를 이루고 있으며 마그네타이트 나노 입자가 담지 된 자성 미소구체 안에 마그네타이트 나노 입자가 균일하게 분포 되어 있음을 관찰 할 수 있었다. 또한 미소구체가 서로 응집 되지 않고 균일하게 분포 되어있음을 관찰 할 수 있었다. 생의학적으로 적용하기 위해 생체 고분자로 피복된 나노입자와 자성 미소구체의 자기적 특성을 SQUID를 통하여 측정 실험을 한 결과 생체 고분자로 피복된 나노 입자와 자성 미소구체에서 모두 초상자성의 거동을 보이는 것으로 나타났다. 이러한 성질을 이용해 생체 내에서 우리가 원하는 곳으로 이동이 가능 할 것으로 기대가 된다. 생체 고분자로 피복 된 마그네타이트 나노 입자와 자성 미소구체를 조영제로 사용하기에 적합한지를 알아보기 위해 MRI 을 측정 하였다.

MRI을 측정 결과 생체 고분자로 피복 된 마그네타이트 나노 입자와 자성 미소 구체 모두 에서 T1 이미지와 T2 이미지에서 대조적인 영상을 보이며 조영제로의 활용성이 클 것으로 기대 된다. 또한 자성 미소 구체의 경우에는 색전술에

사용할 수 있는 색전제 로서 사용이 가능 하며 색전 물질이 원하는 부위에서 색전 효과를 나타내는지의 여부를 확인 할 수 있을 것으로도 기대가 된다.

참고문헌

- [1] K. Landfester and L. P. Ramirez, *J. Phys. Condens. Matter*, **15**, S1345 (2003).
- [2] H. Peniche, A. Osorio, N. Acosta, A. de la Campa, and C. Peniche, *J. Appl. Poly. Sci.*, **98**, 651 (2005).
- [3] D. K. Kim, M. Mikhaylova, Y. Zhang, and M. Muhammed, *Chem. Mater*, **15**, 1617 (2003).
- [4] J. N. Park, K. J. An, and T. H. Hyeon, *Nature Materials*, **3**, 891 (2004).
- [5] 조선행, 김문석, 강길선, 김정안, 이해방, 한국고분자학회지: 고분자과학과기술, **15**(4), 438 (2004).
- [6] 한상문, 광병국, 심형진, 대한민국특허청, **10-2001-0047157** (2001).

Preparation of Biopolymer coated Magnetite And Magnetic Biopolymer Microsphere Particles for Medical Application

Sang Gil Ko, Jun Hee Cho, and Yangkyu Ahn*

Department of Nanochemistry & Biochemistry, Konyang University, Nonsan, Chungnam 320-711, Korea

Ki-Chang Song

Department of Chemical Engineering, Konyang University, Nonsan, Chungnam 320-711, Korea

Eun Jung Choi

Department of Ophthalmic Optics, Konyang University, Daejeon 320-718, Korea

(Received 8 May 2006, in final form 16 August 2006)

We have synthesized uniform nanometer sized magnetite particles using chemical coprecipitation technique through a sonochemical method with surfactant such as oleic acid. Magnetite phase nanoparticles could be observed from X-ray diffraction. Magnetite nanoparticles is surface phase morphology and biopolymer-microspheres for Application Medical. Magnetite nanoparticles coated biopolymer. Atomic Force Microscope (AFM) was used to image the coated nanoparticles. Magnetic colloid suspensions containing particles with sodium oleate, chitosan and β -glucan have been prepared. The morphology of the magnetic biopolymer microsphere particles were characterized using optical microscope. Magnetic hysteresis measurement were performed using a superconducting quantum interference device (SQUID) magnetometer at room temperature to investigate the magnetic properties of the biopolymer microspheres and magnetite coated biopolymer including magnetite nanoparticles. Magnetic Resonance (MR) imaging was used to investigate biopolymer coated nanoparticles and biopolymer microspheres.

Key words : magnetite, sonochemistry, chitosan, β -glucan, microspheres