



저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.



비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.



변경금지. 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#)

이 학 석 사 학 위 논 문

PEO-*b*-PPO-*b*-PEO 를 이용한
금 나노입자와 자성 나노입자의
물성 조절

2017년 2월

부 경 대 학 교 대 학 원

화 학 과

김 미 진

이 학 석 사 학 위 논 문

PEO-*b*-PPO-*b*-PEO 를 이용한
금 나노입자와 자성 나노입자의
물성 조절

지도교수 곽 민 석

이 논문을 이학석사 학위논문으로 제출함.

2017년 2월

부 경 대 학 교 대 학 원

화 학 과

김 미 진

김미진의 이학석사 학위논문을 인준함.

2017년 2월 24일

위 원 장 공학박사 유 성 일 (인)

위 원 이학박사 박 선 주 (인)

위 원 이학박사 곽 민 석 (인)

목차

목차	i
표 목록	iii
그림 목록	iv
요약 (한글)	vi
Abstract (English)	vii
I. 서론	1
1. 연구 배경	1
2. 연구 개요	3
2.1. 소수성 자성 나노 입자(MNP)와 F127의 혼성화	5
2.2. 금 나노 입자와 F127 sIPN의 혼성화	5
II. 자성 나노 입자(Fe_3O_4)와 F127 혼성 나노 입자 제조	8
1. 소수성의 자성 나노 입자 합성	8
1.1. MNP의 여러 용매 내에서의 분산과 자기적 성질 확인	10
1.2. 투과전자현미경(TEM) 분석	11
2. OA-MNP를 담지한 F127 sIPN의 제조	11
2.1. MNP-F127 마이셀과 sIPN의 제조	12
2.2. UV/Vis 분광법을 이용한 MNP-F127 마이셀과 sIPN의 분광학적 특성과 안정성 비교	14
2.3. 투과전자현미경(TEM) 분석	20
3. 자성 테스트	22
3.1. 정성적 측정	22
3.2. 흡광도를 이용한 정량적 측정	24
III. 금 나노 입자와 F127 sIPN 혼성화 입자 제조	26
1. Citrate 금 나노 입자(AuNP) 합성	26
1.1. DLS	27

1.2. 투과전자현미경(TEM) 분석	28
1.3. 흡광도 측정	30
2. Lipoic acid F127 (LA-ester-F127)의 합성	31
2.1. $^1\text{H-NMR}$	33
2.2. IR 분광법	34
3. LA-ester-F127 blending sIPN - Au 혼성체 제조	36
3.1. LA-ester-F127 blending sIPN - Au 혼성체 제조	37
3.2. LA-ester-F127 blending sIPN - Au 혼성체의 흡광도 측정	39
3.3. LA-ester-F127 blending sIPN - Au 혼성체의 형광 측정	41
3.4. 아가로스 겔 전기영동	43
3.5. 투과전자현미경(TEM) 분석	45
4. Lipoic acid <i>N</i> -Hydroxysuccinimide ester (LA-NHS ester)의 합성	46
4.1. $^1\text{H-NMR}$	47
5. NH_2 -F127 blending sIPN 제조	48
5.1. NH_2 -F127 blending sIPN 제조	49
5.2. NH_2 -F127 blending sIPN 흡광도 측정	51
5.3. NH_2 -F127 blending sIPN 형광 측정	53
6. NH_2 -F127 blending sIPN의 일차 아민과 LA-NHS ester와의 반응	54
6.1. 용액 준비	55
6.2. 반응	56
IV. 결론	57
V. 참고문헌	59

표 목 록

표 1. 자성 나노 입자 합성에 사용되는 시약	8
표 2. MNP-F127 마이셀, sIPN 용액의 농도별 흡광도(480 nm)	17
표 3. MNP-F127 마이셀, sIPN 용액의 T_M 결정	25
표 4. 금 나노 입자 합성에 사용된 시약	26
표 5. AuNP의 입자 크기와 흡광도로부터의 농도 결정	30
표 6. LA-F127 합성에 사용된 시약	32
표 7. LA-ester-F127 blending sIPN - Au 혼성체의 흡광도(339 nm)	40
표 8. LA-ester-F127 blending sIPN - Au 혼성체의 흡광도(525 nm)	41
표 9. LA-ester-F127 blending sIPN - Au 혼성체의 형광 측정(374 nm)	42
표 10. 그림 28의 각 Lane 별 샘플 정보	43
표 11. LA-NHS ester 합성에 사용된 시약	46
표 12. NH_2 -F127 blending sIPN 의 흡광도 측정(337 nm)	52
표 13. NH_2 -F127 blending sIPN 의 형광 측정(373 nm)	54
표 14. LA-amide-F127 sIPN 합성에 사용된 시약	54

그림 목록

그림 1. Pluronic F127의 구조	3
그림 2. Pluronic F127의 마이셀화와 sIPN 구조의 형성 과정	4
그림 3. 금 나노 입자와 F127 sIPN의 -Au-S- 공유결합으로 인한 혼성화	6
그림 4. AuNP와 F127 sIPN의 당량 조절에 따른 혼성체의 구조 예측	6
그림 5. 자성 나노 입자 합성 과정	9
그림 6. MNP의 여러 용매 내에서의 분산과 자기적 성질	10
그림 7. OA-MNP TEM 이미지	11
그림 8. MNP-F127 sIPN 제조 과정	12
그림 9. 농도별 MNP-F127 마이셀 용액	15
그림 10. 농도별 MNP-F127 sIPN 용액	15
그림 11. MNP-F127 마이셀 용액의 농도별 흡광도 측정 그래프	16
그림 12. MNP-F127 sIPN 용액의 농도별 흡광도 측정 그래프	17
그림 13. MNP-F127 마이셀과 sIPN의 MNP 농도에 따른 흡광도 변화 그래프 (480 nm)	18
그림 14. MNP-F127 마이셀 TEM 이미지	20
그림 15. MNP-F127 sIPN TEM 이미지	21
그림 16. 0.2% MNP-F127 마이셀 용액	23
그림 17. 0.2% MNP-F127 sIPN 용액	23
그림 18. MNP-F127 마이셀, sIPN 용액의 시간에 따른 흡광도 그래프(480 nm)	24
그림 19. DLS 측정을 통한 citrate AuNP의 크기 분포 그래프	28
그림 20. Citrate AuNP의 TEM 이미지	29
그림 21. TEM 이미징을 통한 citrate AuNP의 크기 분포 그래프	30
그림 22. Citrate AuNP의 흡광도 그래프	31

그림 23. F127과 LA의 반응과 구조식	32
그림 24. 합성한 LA-ester-F127의 $^1\text{H-NMR}$ 결과	34
그림 25. LA-ester-F127의 IR 결과 그래프	35
그림 26. Hydration 방법을 이용한 LA blending sIPN 제조 과정	36
그림 27. LA-ester-F127 blending sIPN - Au 혼성체의 흡광도 측정 결과 그래프	40
그림 28. LA-ester-F127 blending sIPN - Au 혼성체의 형광 측정 결과 그래프	42
그림 29. 아카로즈 겔 전기영동 결과	44
그림 30. LA-ester-F127 blending sIPN - Au 혼성체의 TEM 이미지	45
그림 31. LA-NHS ester 합성 반응식	47
그림 32. 합성한 LA-NHS ester의 $^1\text{H-NMR}$ 결과	48
그림 33. $\text{NH}_2\text{-F127}$ 합성 구조식	49
그림 34. $\text{NH}_2\text{-F127}$ sIPN 제조 과정	51
그림 35. $\text{NH}_2\text{-F127}$ blending sIPN 흡광도 측정 결과 그래프	52
그림 36. $\text{NH}_2\text{-F127}$ blending sIPN 형광 측정 결과 그래프	53
그림 37. Amide bond 형성 반응과 구조식	55
그림 38. LA-amide-F127 합성 구조식	55

PEO-*b*-PPO-*b*-PEO 를 이용한
금 나노입자와 자성 나노입자의 물성 조절

김 미 진

부 경 대 학 교 대 학 원 화 학 과

요 약

금 콜로이드나 철 산화물과 같은 금속 나노 입자들은 다양한 활용 가능성 때문에 오랜 시간 많은 연구가 되어왔다. 특히 생물학적 활용을 위하여 나노 입자들은 입자 자체로 분산될 수 있어야 하고 생체 친화적 소재여야 하며 수용액에서 화학적으로 안정해야 한다. 이를 위하여 양친매성 물질인 Pluronic F127을 이용하기로 한다. F127 은 poly(ethylene oxide)-*b*-poly-(propylene oxide)-*b*-poly(ethylene oxide) (PEO-*b*-PPO-*b*-PEO) 으로 이루어진 고분자로 PEO 블록은 소수성이며 PEO 블록은 친수성이다. Pluronic 수용액은 특정 온도와 농도에서 자가 조립하여 마이셀을 형성하는데 PEO 블록은 마이셀의 코어에 PPO 블록은 마이셀의 셸 부분에 자리하게 된다. F127 의 말단을 금 나노 입자와 결합할 수 있도록 lipoic acid 로 치환하고 마이셀과 -Au-S- 공유결합을 만든다. 또 소수성의 자성 나노 입자를 F127 코어에 담지하여 나노 입자의 안정성을 높이고 수용액 내에서 분산되도록 한다.

Tuning physical properties of gold and magnetic nanoparticles
using PEO-*b*-PPO-*b*-PEO

Mi Jin Kim

Department of Chemistry, The Graduate School,
Pukyong National University

Abstract

Metallic nanoparticles (NPs) such as gold colloid and iron oxide have received great attention due to their wide spectrum of potential applications. For biological applications, nanomaterials require monodispersed size, solution compatibility, biocompatibility, chemostability and functionalizability. To enhance the requirement, we investigated hybrid materials of metallic nanoparticles and amphiphilic polymer. Pluronic F127 is a triblock copolymer consisting of poly(ethyleneoxide)-*b*-poly(propyleneoxide)-*b*-poly(ethylene oxide)(PEO-*b*-PPO-*b*-PEO). Due to micro separation F127 self-assembles into spherical micelle with PPO core and PEO corona. The termini of F127 were functionalized to form Au-S bond to induce aggregation of Au NPs. Furthermore, within the core of F127 micelles, hydrophobic magnetic NPs were loaded to enhance the stability and solvent compatibility of the hybrid.

I. 서론

1. 연구 배경

무기 나노 입자는 벌크 상태와는 다른 독특한 물리, 화학적 특성 때문에 한 세기 이상 나노 기술의 한 분야로써 활발한 연구가 이루어져 왔다. 주로 금이나 은 콜로이드, 철 산화물, 양자점 등이 연구되었는데 최근에는 나노 입자의 높은 표면적을 골조로 하여 다른 소재와 혼성하는 사례가 늘고 있다^[1]. 혼성 소재는 고분자나 펩타이드, 단백질, 핵산 등으로 매우 다양하며 나노 입자와의 혼성방법 또한 많이 알려져 있어 무기 나노 입자 혼성체는 여러 분야에서 응용 가능한 소재로 거듭나고 있다^{[2], [3]}.

특히 생물학적 응용을 위한 연구가 활발한데 나노 크기의 입자는 세포 수준에서 세포 표면 분자와 상호작용하기에 적합하며 입자의 표면 개질을 통해 다양한 물리화학적 특성을 가질 수 있기 때문이다. 생물학적 응용을 위해서 나노 입자는 높은 안정성과 생체친화성 또 특정 부위에서만 작용하기 위한 특이적 반응 등이 요구된다. 주로 입자 표면에 코팅제가 사용되는데 코팅제는 입자의 안정성을 증가시킬 뿐 아니라 생체 면역 시스템을 피해 혈액 속에 오래 머무를 수 있게 하는 역할을 한다. 또한 약물이나 표지 분자 등과 결합하여 입자의 기능성을 향상시킨다^[4].

자성 나노 입자(magnetic nanoparticle, MNP)인 Fe_3O_4 는 superparamagnetic 성질을 가지며 조영제나 약물 전달체 등으로 활용되고 있다^{[5]-[12]}. 자성 나노 입자의 표면에 약물이나 단백질, 효소, 항체, 핵산 등을

결합시킨 사례들이 발표되었으며 최근 Cai 는 자성 나노 입자 표면을 poly(γ -glutamic acid), poly(L-lysine) 의 고분자로 코팅하고 여기에 금 나노 입자를 포함하는 folic acid (FA) 덴드리머가 결합된 나노 입자 제안하기도 하였다. 이 입자는 암세포 특이적으로 세포섭취가 가능하며 CT 와 MR 에 모두 활용될 수 있다^[13].

금 나노 입자는 표면 플라즈몬 공명 현상(surface plasmon resonance, SPR)으로 인한 독특한 광학적 성질을 가지며 thiol, mercaptan, phosphine, amine 등의 작용기와 표면 결합 형성이 가능하여 생체 소재로서 많은 연구가 이루어져 왔다^{[14]-[23]}. 특히 암세포 특이적으로 친화성을 높여 세포 섭취를 증가시키고 빛을 이용하여 암세포를 치료하는 photothermal therapy (PTT) 가 각광받고 있다^{[24], [25]}.

무기 나노 입자 혼성체의 이점과 여러 바이오 응용 사례들을 통해 무기 나노 입자와 고분자를 혼성하여 보다 일반적이면서도 수용액에서 안정된 구조를 가지도록 개질하는 것에 대해 연구해 보기로 하였다.

2. 연구 개요

나노 입자의 안정성뿐 아니라 바이오 응용을 위해서 코팅제를 사용하는데 고분자 소재로는 poly(ethylene glycol) (PEG), poly(glycolic acid) (PGA), chitosan, poly(lactide acid) 등이 많이 이용되고 있다. 이 연구에서는 Pluronic F127 고분자를 사용하기로 하였다 (그림 1).

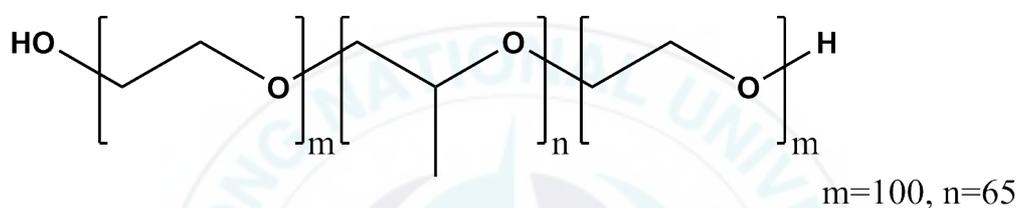


그림 1. Pluronic F127의 구조

Pluronic은 중심에 소수성 사슬인 poly(propylene oxide)가 있고 양 옆으로 친수성 사슬인 poly(ethylene oxide)로 구성되어 있는 nonionic triblock copolymer이다. Pluronic 수용액은 특정 온도와 농도에서 자가조립하여 마이셀을 형성한다. 낮은 온도와 농도에서는 Pluronic 단위체는 unimer 로 존재하지만 이보다 높은 온도와 농도에서는 단위체들의 마이셀화가 일어난다.

마이셀화가 일어나면 응집체의 코어에는 소수성 블록이, 셸에는 친수성 블록이 자리하게 된다. 마이셀화가 시작되는 농도와 온도는 고분자의 구성요소(분자량, 친수성/소수성 몰비)에 따라 달라진다. Pluronic의 길이는 고분자의 블록으로 조정 될 수 있기 때문에 다른 특성을 가지는 여러 Pluronic 가 존재할 수 있다. 마이셀은 임계미셀농도(CMC: critical micelle concentration)와 임계미셀온도(CMT: critical micelle temperature)의

영향을 받는다. 임계미셀농도는 마이셀이 형성되어 계에 가해진 모든 단위체가 마이셀이 되는 계면 활성제의 농도이며 임계미셀온도는 마이셀을 형성하는 최소의 온도이다. 마이셀의 다양한 활용을 위해서는 그 형태를 안정적으로 유지할 수 있어야 한다. 이를 위해 Petrov 그룹에서는 sIPN(Semi-Interpenetrating polymer network) 시스템을 도입하였다. sIPN은 PETA (Pentaerythritol tetraacrylate)를 Pluronic의 마이셀 코어에 담지한 후 UV 영역의 빛을 조사하여 만들어 진다 (그림 2). 마이셀 코어 내부에서 PETA의 가교결합으로 인해 임계미셀농도와 임계미셀온도의 영향을 덜 받는 보다 안정한 나노 입자를 얻을 수 있다.

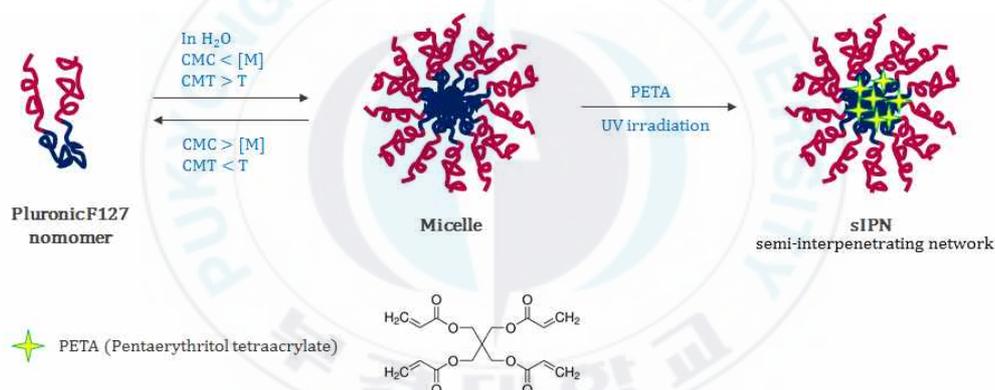


그림 2. Pluronic F127의 마이셀화와 sIPN 구조의 형성 과정

이전의 실험들에서 소수성의 유, 무기물이 마이셀 코어에 담지되어 비교적 장기간 안정한 상태로 남아있는 것을 확인하였다. 또 비교적 제법이 간단하고 Pluronic 말단의 하이드록시기를 다른 작용기로 치환하는 것이 가능하기 때문에 다양한 활용이 가능할 것으로 보인다^{[26]-[29]}.

2.1. 소수성 자성 나노 입자(MNP)와 F127의 혼성화

이 연구에서는 coprecipitation 방법으로 소수성을 띠는 Iron oxide (Fe_3O_4)를 합성하고 이 입자를 다양한 농도에서 F127 코어에 담지하여 마이셀과 sIPN 구조체를 만들어 볼 것이다. 마이셀이나 sIPN 형성되어 MNP-polymer 의 혼성체가 되었을 때 수용액상에 안정적으로 분산이 되는지 또 여전히 입자가 자성을 띠고 있는지를 알아보고 바이오 응용 가능성에 대해 살펴볼 것이다.

2.2. 금 나노 입자와 F127 sIPN의 혼성화

금 나노 입자(Au nanoparticle, AuNP)의 표면 플라즈몬 공명 현상은 나노 입자간의 거리에 큰 영향을 받는다. 각각의 입자가 독립적으로 존재하면서도 수 나노 미터의 일정한 거리에 위치할 때 특정 파장에서 더욱 증폭된 장을 발생 할 수 있기 때문이다. 금 나노 입자간 간격을 조절하기 위하여 oligo DNA를 금 입자 표면에 결합시키고 긴 가닥의 DNA를 template로 하여 매우 정밀하게 거리를 조절할 수 있는 방법이 연구되기도 하였다^[30].

이 연구에서는 금 나노 입자간 수 나노 미터의 일정한 간격을 만드는 재료로 F127 고분자를 이용할 것이다. 먼저 환원제이자 passivation layer인 citrate를 이용하여 금 나노 입자를 합성한다. 다음으로 F127의 말단에 금 나노 입자와 공유결합 가능한 lipoic acid를 도입한 후 소수성의 형광체인 pyrene을 담지한 sIPN 을 만든다. 그 후 sIPN와 금 나노 입자를 반응 시켜 sIPN의 말단에 금 나노 입자를 -Au-S- 공유 결합 시킨다. AuNP-F127 sIPN 혼성체가 되면 sIPN 으로 인해 금 나노 입자 사이 간

격이 sIPN의 지름(20 nm) 정도로 일정하게 유지되게 된다. 또 금 나노 입자가 sIPN으로 둘러싸인 구조가 되면서 수용액 내에서 입자의 안정성도 커지게 될 것이다. 금 나노 입자뿐 아니라 sIPN 내부의 형광체도 금 나노 입자 사이에 매우 가깝게 분포하게 되어 플라즈몬 공명 에너지 전이 효과를 높여 증가된 형광 효율을 기대할 수 있다 (그림 3).

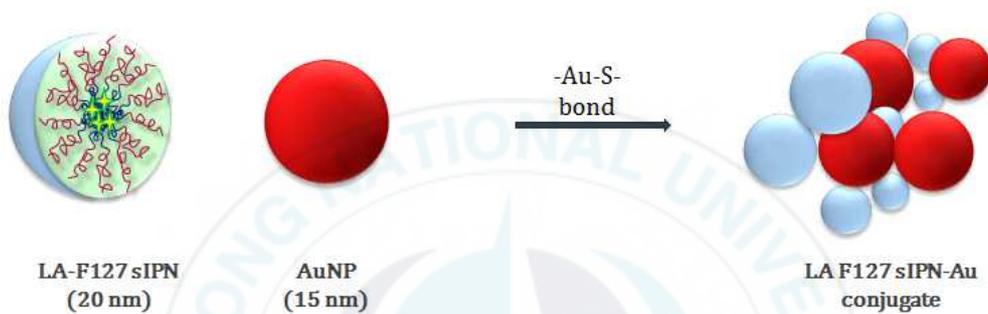


그림 3. 금 나노 입자와 F127 sIPN의 -Au-S- 공유결합으로 인한 혼성화

구조적으로는 금 나노 입자와 sIPN의 당량 조절을 통해 다른 morphology를 가지는 나노 입자를 만들 수 있을 것으로 예상된다 (그림 4).

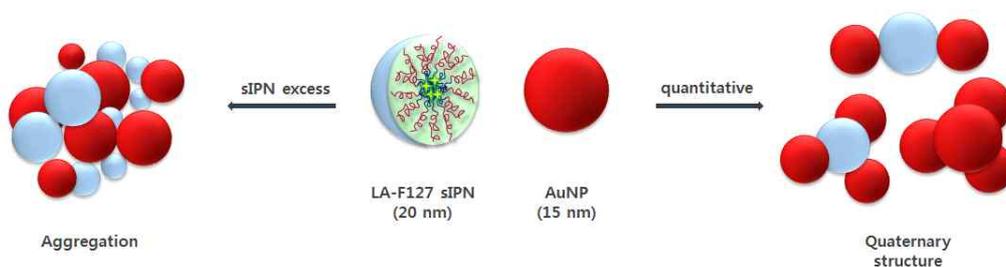


그림 4. AuNP와 F127 sIPN의 당량 조절에 따른 혼성체의 구조 예측

F127 고분자를 이용하여 자성 나노 입자와 금 나노 입자를 수용액상에서 안정하게 분산 시키고 UV/Vis 분광법, 형광 분광법, $^1\text{H-NMR}$, dynamic light scattering (DLS), transmission electron microscopy (TEM), 겔 전기영동 등 다양한 분석법을 통해 합성된 물질의 특성을 알아 볼 것이다.



II. 자성 나노 입자(Fe_3O_4)와 F127 의 혼성 나노 입자 제조

1. 소수성의 자성 나노 입자 합성

자성 나노 입자(Fe_3O_4)는 microemulsions, sol-gel syntheses, sonochemical reactions, hydrothermal reactions 등의 합성법이 알려져 있으며 일반적으로 철 염 (Fe^{2+} , Fe^{3+}) 의 coprecipitation 법을 사용한다^{[31]-[33]}. 이 합성법은 입자 크기를 조절하는 것이 용이하지 않지만 대량 합성이 가능한 장점이 있다 (그림 5).

다음의 합성 과정은 Thabo J. Matshaya 의 2014 년 <Distinctive Interactions of Oleic Acid Covered Magnetic Nanoparticles with Saturated and Unsaturated Phospholipids in Langmuir Monolayers> *Langmuir* 논문을 인용하였다^[34].

표 1. 자성 나노 입자 합성에 사용되는 시약

Material	Process
Iron(II) chloride tetrahydrate	reagent
Iron(III) chloride hexahydrate	reagent
Oleic acid	coating reagent
Toluene	solvent
Pure ethanol	washing

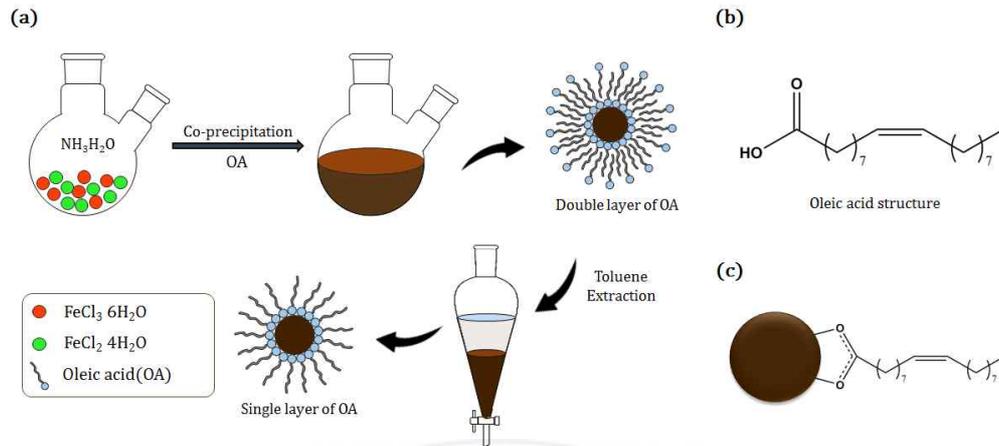


그림 5. 자성 나노 입자 합성 과정 (a) Coprecipitation 방법, (b) Oleic acid 구조, (c) Fe-oleic acid 결합 형성

1.5 g (7.5 mmol) ferrous chloride tetrahydrate ($\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$)와 4.1 g (15.2 mmol)의 ferric chloride hexahydrate ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$)를 120 ml 증류수에 녹인다 (85 °C). 이 용액을 강하게 교반하면서 20 ml 28% (wt%) $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 를 빠르게 넣어준다. $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 넣은 직후 용액 색깔이 오렌지색에서 검정색으로 변하면서 침전이 생성된다. 이때 1 ml의 oleic acid (OA) (3 mmol)를 반응 용액에 천천히 떨어뜨린다 (80 °C). 수용액상에서 반응하므로 OA가 이중층으로 코팅된 자성 나노 입자를 얻게 된다. 이 과정들은 공기 중에서 반응할 시 Fe_3O_4 가 쉽게 산화되어 Fe_2O_3 가 되므로 아르곤이나 질소 기체를 흘려주면서 반응하여야 한다.

소수성의 자성 나노 입자를 얻기 위해 추출을 통해 OA 이중층을 단일층으로 만들어 준다. 수용액상에 분산된 자성 나노입자 50 ml와 toluene 50 ml를 분별 깔때기에 넣는다. 소량의 sodium chloride를 첨가하고 Fe_3O_4 -OA 를 toluene phase로 이동시킨다. 이때 OA 이중층의 바깥쪽 층은 물층에 남아있고 Fe_3O_4 -OA 단일층은 toluene 층으로 이동한다.

toluene 을 제거하여 20 ml 정도의 부피로 만들고 검은색 침전물은 pure ethanol 로 3번 씻어준다.

1.1. MNP의 여러 용매 내에서의 분산과 자기적 성질 확인

반응 직후 Fe_3O_4 용액이 OA bilayer- Fe_3O_4 상태로 물층에 분산되고 추출 후에는 OA monolayer- Fe_3O_4 상태로 극성이 낮은 hexane에 분산 되는 것으로 보아 소수성임을 알 수 있고 자석에 끌리는 성질이 있음을 확인하였다 (그림 6).

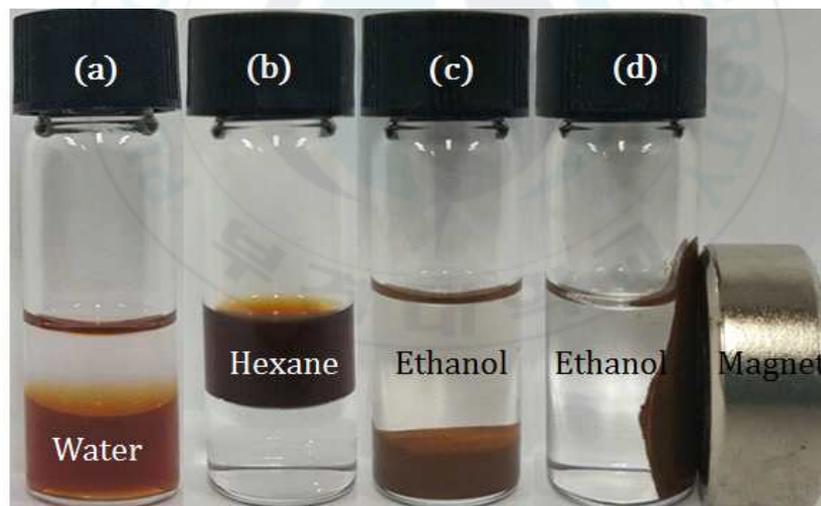


그림 6. MNP의 여러 용매 내에서의 분산과 자기적 성질 (a) Oleic acid (OA)가 이중층으로 코팅된 Fe_3O_4 , (b) 추출 후 OA가 단일층으로 코팅된 Fe_3O_4 , (C) 추출 후 pure ethanol로 세척 후 침전, (d) 자석을 가져갔을 때 자석에 끌리는 모습

1.2. 투과전자현미경(TEM) 분석

TEM 결과 직경이 10–20 nm 사이의 MNP가 합성되었음을 확인하였다 (그림 7). CHCl_3 에 분산시킨 후 상온에서 측정하였다.

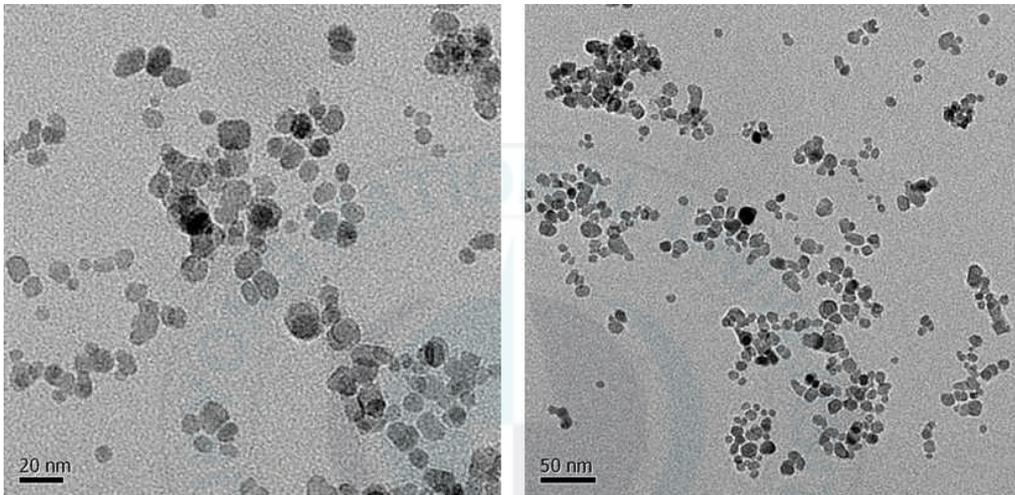


그림 7. OA-MNP TEM 이미지

2. OA-MNP를 담지한 F127 sIPN의 제조

유기 용매에 분산되어있는 OA-MNP를 수용액에 분산시키기 위해 F127 과 함께 필름을 만들고 그 후에 증류수를 더하여 hydration 하는 방법을 이용한다. PETA를 OA-MNP 와 함께 필름을 만들고 UV를 조사 하면 sIPN 을 제조할 수 있다 (그림 8).

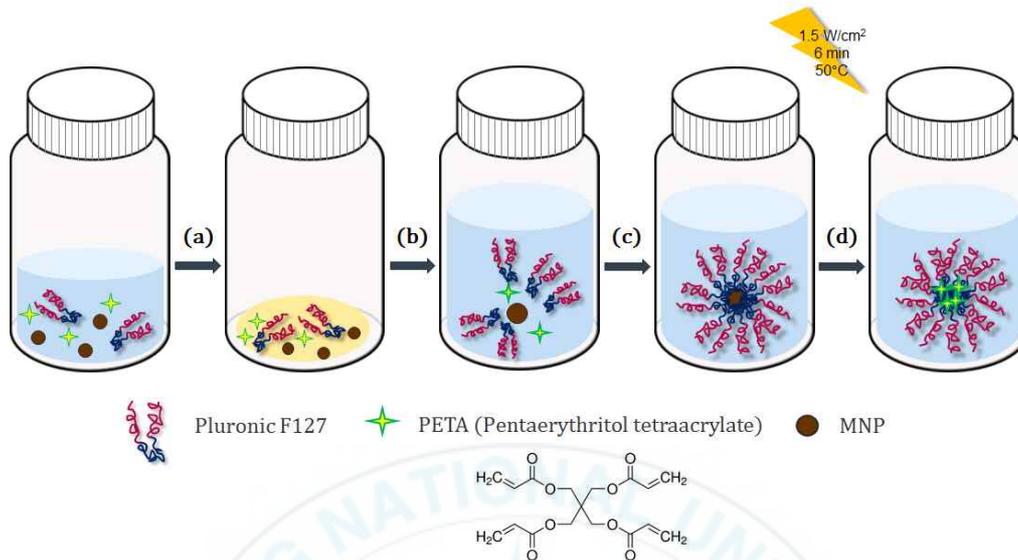


그림 8. MNP-F127 sIPN 제조 과정 (a) Solvent evaporation at ambient temperature, (b) Hydration of dried PETA-MNP-F127, (c) Overnight shaking, (d) UV irradiation

2.1. MNP-F127 마이셀과 sIPN의 제조

(1) MNP-F127 마이셀 제조

F127과 OA-MNP는 CHCl_3 에 0.25 g/ml, 1 mg/ml로 녹여 각각 준비한다. PETA는 acetone에 100 mg/ml의 농도로 녹인다.

20 ml vial에 MNP/F127의 혼합 비율이 0.05, 0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 wt%가 되도록 OA-MNP 용액을 첨가한다. F127 용액은 최종농도가 10%가 되도록 2 ml를 넣어준다. 용액이 완전히 마를 때까지 상온에서 말린다. 여기에 5 ml 증류수를 넣고 Shaker에서 200 rpm으로 흔들면서 OA-MNP가 마이셀의 소수성 부분에 녹아 들어가도록 한다.

(2) MNP-F127 sIPN의 제조

20 ml vial에 MNP/F127의 혼합 비율이 0.05, 0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 wt%가 되도록 OA-MNP 용액을 첨가한다. PETA 용액은 pluronic 무게를 기준으로 2.5 wt%로 125 μ l씩 첨가한다. F127 용액은 최종농도가 10%가 되도록 2 ml를 넣어준다. 용액이 완전히 마를 때까지 상온에서 말린다. 여기에 5 ml 증류수를 넣고 shaker 에서 200 rpm으로 흔들면서 OA-MNP와 PETA가 마이셀의 소수성 부분에 녹아 들어가도록 한다. UV를 조사하기 전 마이셀 용액 내부를 Ar 가스로 채우고 50 $^{\circ}$ C에서 10 분 동안 예열한다. 예열이 끝나면 Lumen Dynamic (OmniCure series 2000, filter 320-500 nm)의 파워를 1.5 W/cm²로 고정하여 6분 동안 UV를 조사해준다. 최종 생성물은 0.2 μ m syringe filter 로 걸러준다.

(3) CMT 테스트

CMT 테스트는 sIPN 용액을 CMT 이하(4 $^{\circ}$ C)에 하루 동안 보관한 후 흡광도를 측정하여 상온에서 측정한 값과 비교해보는 실험이다. 마이셀 구조에 비해 sIPN이 되면 구조의 안정성이 증가하면서 CMT이하의 온도에서도 마이셀 구조가 유지되어 소수성의 물질이 빠져 나오지 못한다. 따라서 흡광도도 감소율을 통해 sIPN 구조가 잘 형성되었는지의 여부를 알 수 있다.

MNP-F127 마이셀과 sIPN 용액 샘플을 냉장고에 하루 동안 넣어두고 4 $^{\circ}$ C에서 10 분간 12,000 rpm으로 원심분리 한다. 원심분리 후 상층액을 큐벳에 넣고 흡광도를 측정하고 MNP-F127 마이셀과 sIPN 을 비교해 본다.

2.2. UV/Vis 분광법을 이용한 MNP-F127 마이셀과 sIPN의 분광학적 특성과 안정성 비교

OA-MNP 입자는 UV/Vis 영역에서 특정 파장을 흡수하지는 않지만 색깔을 띠고 있어 가시광선 영역에서 흡광도가 나타난다. 이를 이용하여 MNP-F127 마이셀과 sIPN 용액을 MNP 농도에 따른 흡광도를 측정하고 분광학적 특성을 알아보았다. 또 CMT 테스트를 통해 MNP-F127 마이셀과 sIPN 구조의 안정성을 비교해 보았다.

(1) MNP-F127 마이셀과 sIPN 제조

MNP-F127 마이셀과 sIPN 제조 후 MNP의 함량이 높을수록 용액의 색이 진한 갈색을 띠는 것을 관찰하였다 (그림 9, 10). MNP가 F127의 소수성 부분에 들어가 수용액내에 분산되어 있는 것을 확인하기 위하여 MNP/F127 wt%가 0.8인 마이셀 용액과 sIPN 용액을 극성이 낮은 hexane에 넣고 섞어 보았다 (그림 9, 10). 그 결과 MNP 용액은 hexane에 섞이지 않고 물층에 여전히 남아있는 것을 볼 수 있었다.



그림 9. 농도별 MNP-F127 마이셀 용액



그림 10. 농도별 MNP-F127 sIPN 용액

(2) MNP-F127 마이셀과 sIPN의 MNP 농도별 흡광도 측정
 400-600 nm 영역에서 MNP-F127 마이셀과 sIPN 의 흡광도를 측정하였다 (그림 11, 12). 측정 후 두 물질을 비교해보기 위해 480 nm에서의 흡광도를 이용하여 그래프를 그려보았다 (그림 13).

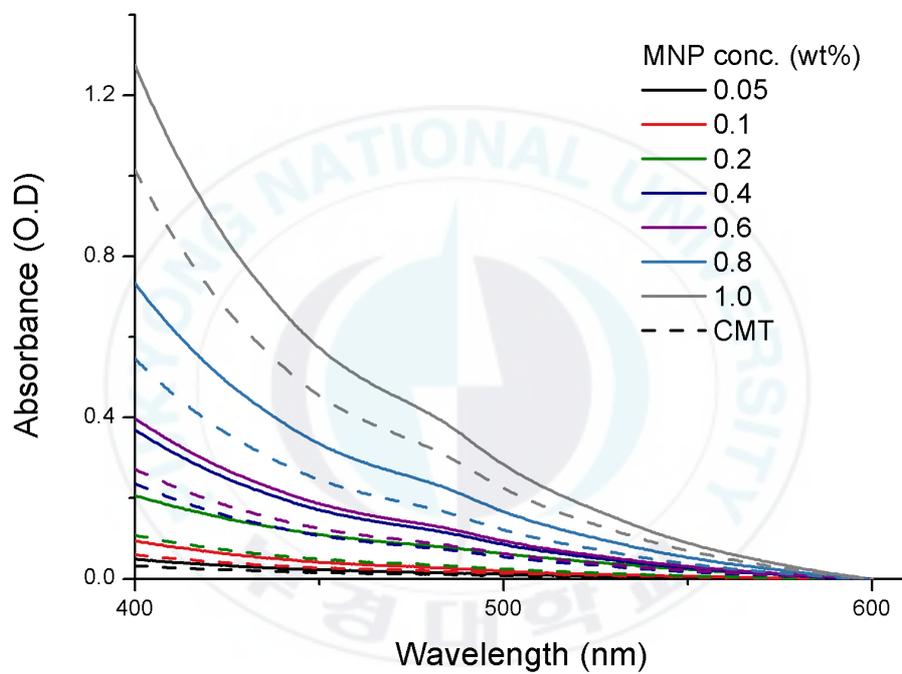


그림 11. MNP-F127 마이셀 용액의 농도별 흡광도 측정 그래프

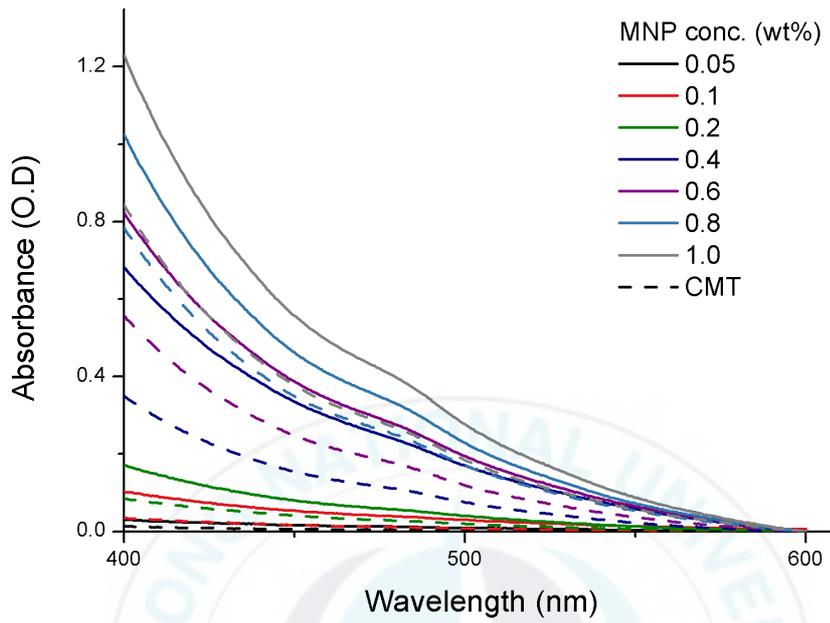


그림 12. MNP-F127 sIPN 용액의 농도별 흡광도 측정 그래프

표 2. MNP-F127 마이셀, sIPN 용액의 농도별 흡광도(480 nm)

MNP conc. (wt%)	Abs. of micelle		Abs. ratio (4℃/ 25℃)	Abs. of sIPN		Abs. ratio (4℃/ 25℃)
	25℃	4℃		25℃	4℃	
0.05	0.016	0.011	0.69	0.012	0.004	0.33
0.1	0.029	0.020	0.69	0.039	0.012	0.31
0.2	0.082	0.035	0.43	0.057	0.028	0.49
0.4	0.122	0.077	0.63	0.237	0.110	0.46
0.6	0.133	0.089	0.67	0.276	0.175	0.63
0.8	0.239	0.176	0.74	0.330	0.249	0.75
1.0	0.410	0.326	0.80	0.398	0.268	0.67

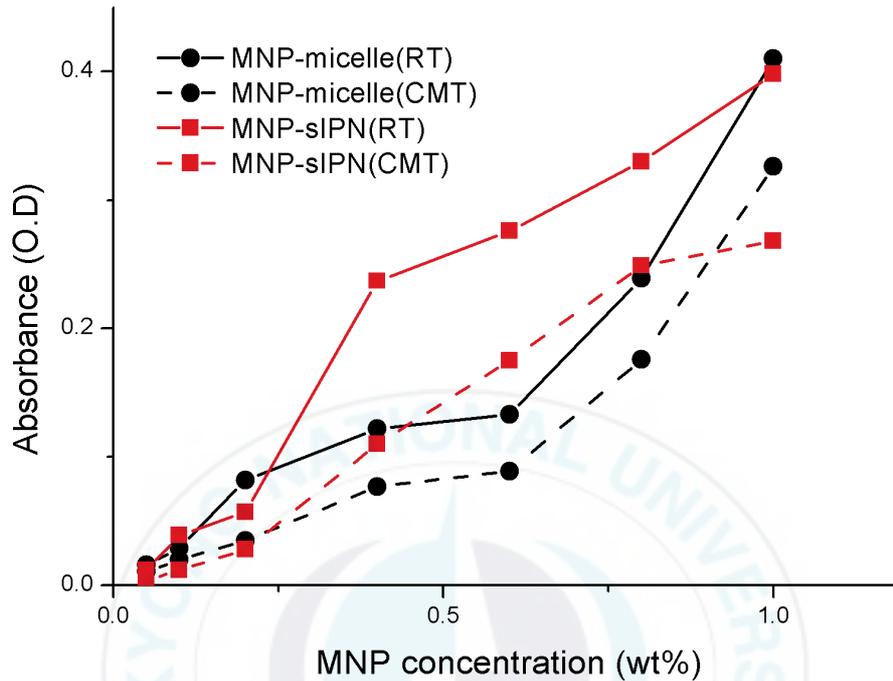


그림 13. MNP-F127 마이셀과 sIPN의 MNP 농도에 따른 흡광도 변화 그래프(480 nm)

MNP-F127 마이셀과 sIPN의 MNP 농도별 흡광도 측정 결과 MNP의 농도가 증가할수록 흡광도가 증가하는 경향을 보였다. 마이셀과 sIPN의 흡광도가 증가하는 정도를 비교해 보기 위하여 480 nm의 흡광도 값으로 그래프를 그려본 결과 이차 곡선 형태로 나타나는 것을 알 수 있었다. 마이셀의 경우 처음에는 흡광도 변화가 작지만 MNP 농도가 0.6% 이상에서는 점점 변화가 커지고 sIPN의 경우에는 처음에 흡광도 변화가 크다가 점차 완만한 곡선으로 난다.

CMT 테스트 결과 평균적으로 MNP-F127 마이셀은 35% 정도의 흡광도 감소를 보였고 MNP-F127 sIPN은 50%의 흡광도 감소를 보였다. 예상

과는 달리 마이셀 구조에서 흡광도 감소율이 더 작게 나타났다. F127의 소수성 부분에 MNP와 함께 PETA가 잘 들어가지 못하고 이 때문에 PETA의 가교결합이 소수성 중심에서 효과적으로 일어나지 않아 생긴 결과라고 예측할 수 있다. UV를 조사하는 시간이나 파워, PETA의 농도 등이 최적 농도가 아닐 가능성도 있다.

흡광도와 CMT 테스트를 통해 마이셀과 sIPN을 encapsulation 시켰을 때 상이한 구조를 가질 것으로 예상된다. 따라서 먼저 구조를 분석할 필요가 있다.



2.3. 투과전자현미경 (TEM) 분석

MNP-F127 마이셀과 sIPN 의 구조적 차이를 알아보기 위하여 TEM 이미징 하였다. MNP/F127 wt%가 1.0인 마이셀 용액과 sIPN 용액을 고분자의 농도가 1 wt%가 되도록 10배 희석하여 상온에서 측정하였다. (그림 14. 15)

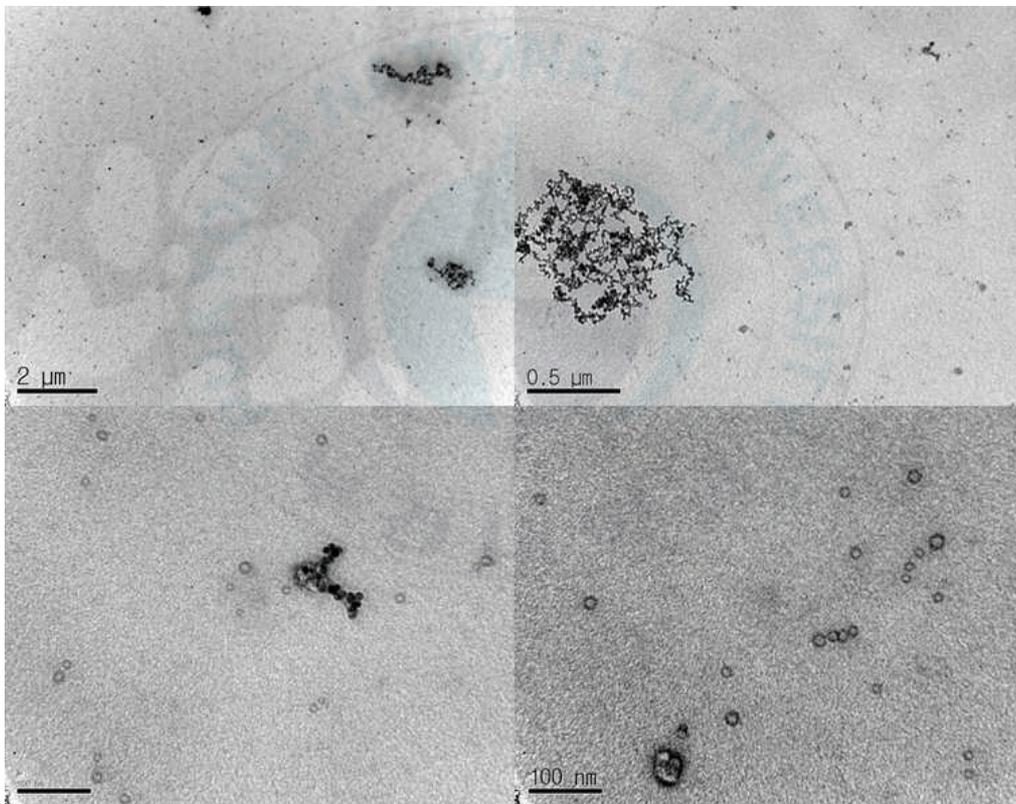


그림 14. MNP-F127 마이셀 TEM 이미지

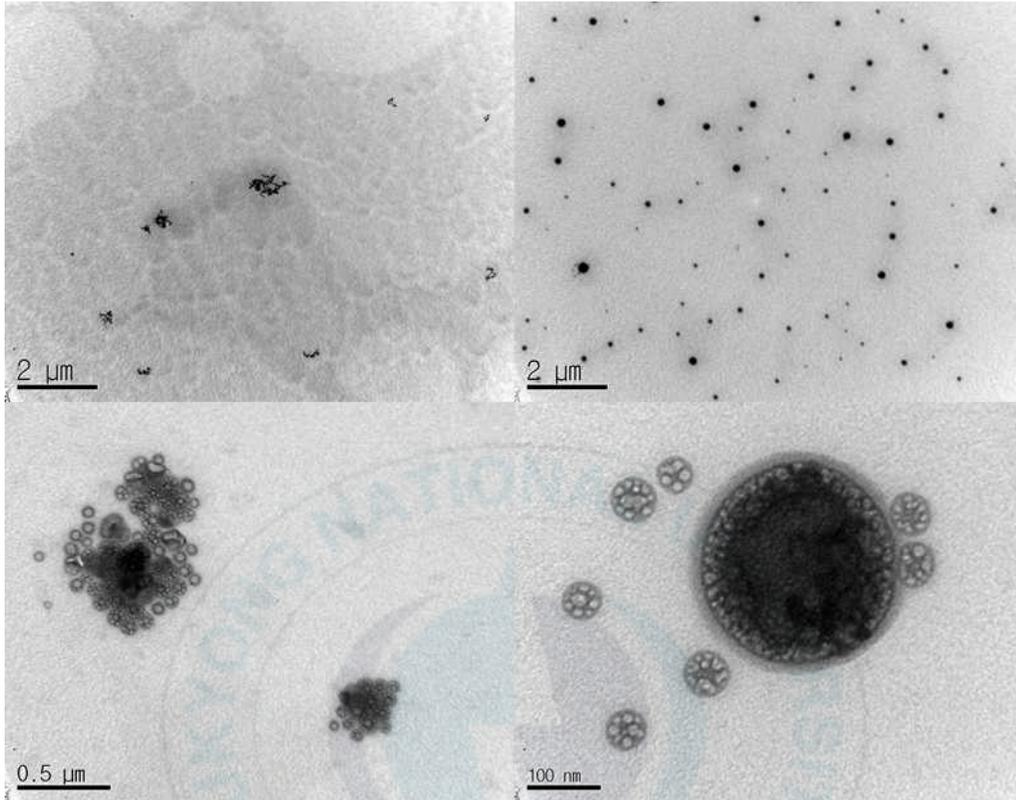


그림 15. MNP-F127 sIPN TEM 이미지

MNP-F127 마이셀의 경우 MNP encapsulation된 부분과 입자가 aggregation된 부분, F127 마이셀 자체 구조를 함께 관찰할 수 있었다. MNP-F127 sIPN의 경우는 MNP 입자가 aggregation된 부분과 함께 large vesicular micelle이 형성되는 독특한 구조를 발견하였다. Foam-like structure로 MNP나 F127 자체 크기인 20 nm 정도보다 크고 구형의 입자이다. TEM 이미지만으로는 이 구조의 내부에 MNP가 존재하는지 또 어디에 위치하는지는 알기 어렵다.

3. 자성 테스트

합성한 OA-MNP가 F127 에 담지되어 수용액상에 분산되어 있을 때 여전히 자성을 가지는지 관찰하였다. 자성이 있을 때 시간에 따른 MNP 용액의 흡광도를 측정하여 시간당 얼마만큼의 입자가 이동하는지를 정량적으로 분석해 보았다.

3.1. 정성적 측정

MNP/F127 wt%가 0.2인 마이셀 용액과 sIPN 용액을 사용하였고 30 분 간격으로 120 분 동안 사진을 촬영하였다 (그림 16, 17). 30 분이 지나면 자석에 끌려온 MNP-F127 마이셀, sIPN 을 볼 수 있고 이로부터 MNP 용액의 자기적 성질을 확인할 수 있었다.

마이셀과 비교하여 sIPN 용액이 더 빨리 자석에 끌려왔다. 마이셀 용액은 시간이 지날수록 자석에 끌려오는 입자의 양이 늘어나지만 sIPN 용액은 60 분과 120 분 후가 큰 차이가 없다.

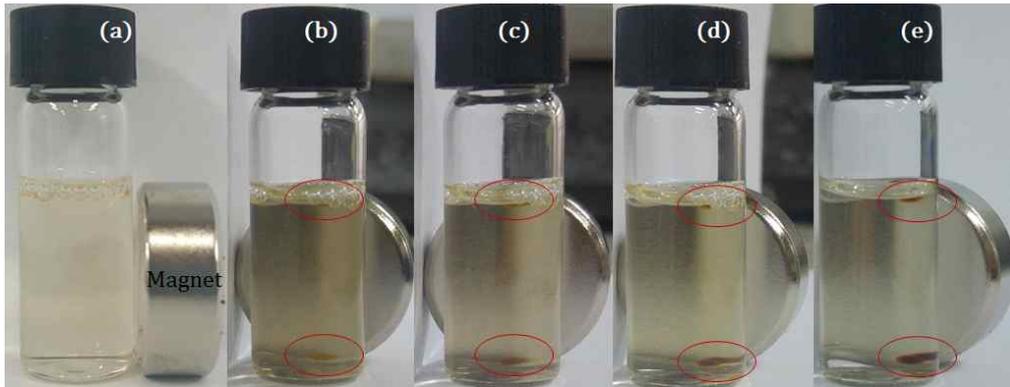


그림 16. 0.2% MNP-F127 마이셀 용액 (a) 용액에 자석을 대고 용액의 자기적 성질 관찰, (b) 30 분 후, (c) 60 분 후, (d) 90 분 후, (e) 120 분 후

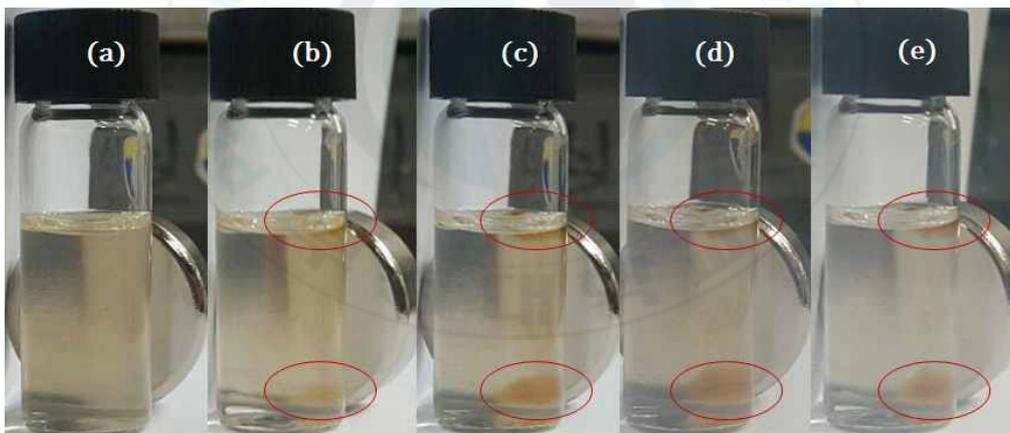


그림 17. 0.2% MNP-F127 sIPN 용액 (a) 용액에 자석을 대고 용액의 자기적 성질 관찰, (b) 30 분 후, (c) 60 분 후, (d) 90 분 후, (e) 120 분 후

3.2. 흡광도를 이용한 정량적 측정

MNP/F127 wt% 가 0.6 인 마이셀 용액과 sIPN 용액을 사용하였고 30분 간격으로 150 분 동안 480 nm 의 흡광도를 측정하였다 (그림 18).

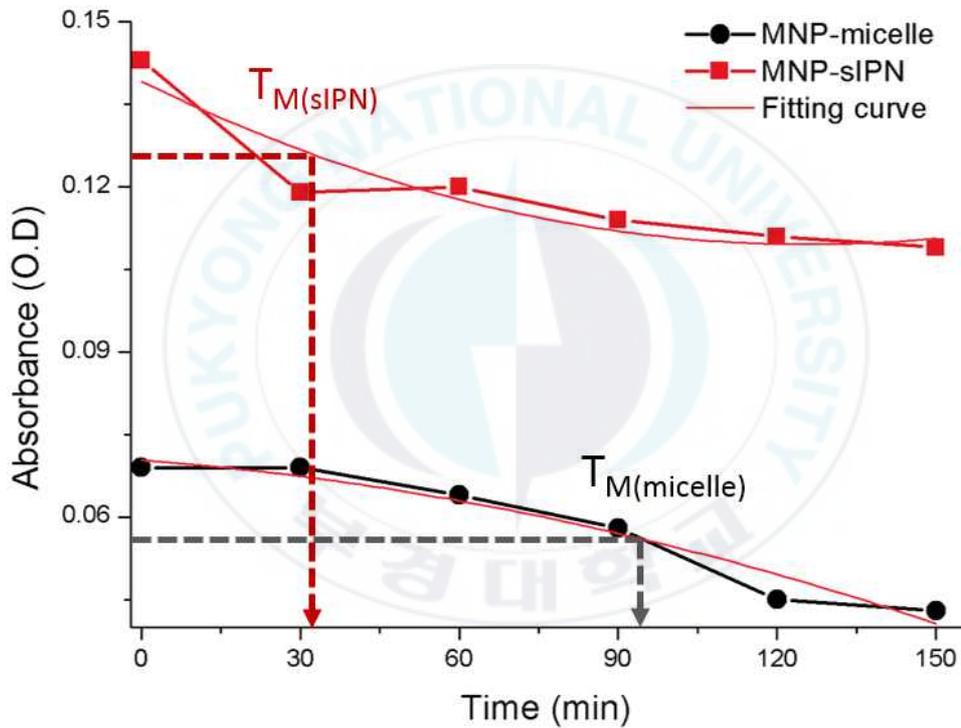


그림 18. MNP-F127 마이셀, sIPN 용액의 시간에 따른 흡광도 그래프(480 nm)

표 3. MNP-F127 마이셀, sIPN 용액의 T_M 결정

	Fitting curve	R^2	* T_M (min)
MNP-micelle	$- 8.333 \cdot 10^{-7} x^2 - 7.31010^{-5} x + 0.0704$	0.918	94.7
MNP-sIPN	$1.865 \cdot 10^{-6} x^2 - 4.70210^{-4} x + 0.139$	0.807	31.6

* T_M : half of MNP absorbance (concentration) after moving to magnet

정량적 비교를 위하여 마이셀과 sIPN 각각의 흡광도 곡선식을 구하고 T_M 값을 구해보았다. 처음 흡광도에서 시간이 지남에 따라 MNP가 자석에 끌려 용액의 흡광도는 감소하는데 T_M 값은 처음의 흡광도가 반이 되었을 때의 시간을 말한다. 마이셀과 sIPN의 T_M 값은 각각 95 분, 32 분으로 약 3 배 정도 sIPN이 빠르게 자석으로 이동하였다. 이 결과는 TEM 이미지에서 보듯이 sIPN 구조에서 aggregation 된 구조가 더 많이 발견되고 때문에 입자가 자석에 끌려가는 속도가 빠른 것으로 볼 수 있다. 또한 자성을 유지하는 것으로 보아 각각의 MNP 입자가 aggregation된 구조(그림 15) 내에서도 MNP 가 사이즈의 변화 없이 각각 독립적으로 존재하는 것으로 생각할 수 있다.

Ⅲ. 금 나노 입자와 F127 sIPN

혼성화 입자 제조

1. Citrate 금 나노 입자(AuNP) 합성

표 4. 금 나노 입자 합성에 사용된 시약

Material	Process
Concentrated nitric acid, hydrochloric acid	washing
Sodium citrate tribasic dehydrate	reducing/capping
Gold(III) chloride trihydrate	reagent

Citrate 를 이용한 금 나노 입자의 합성방법으로 Steven D. Perrault 의 방법을 사용하였다.

먼저 250 ml erlenmeyer flask에 magnetic stir bar와 100 ml의 물을 넣고 magnetic stirrer에서 rpm을 높이면서 관찰한다. 최대의 rpm에서 stir bar가 움직이지 않고 안정적으로 돌아가는 erlenmeyer flask를 선택한 후 왕수(염산과 질산을 3:1 의 부피 비로 섞어준 용액)로 erlenmeyer flask를 세척한다. 왕수를 제거하고 증류수로 여러 번 세척하여 완전히 말린다.

합성에 앞서 stirrer를 미리 예열시킨다 (~360°C). Erlenmeyer flask에 증류수 99 ml와 25 mM gold chloride 용액 1 ml를 넣는다. Erlenmeyer flask를 예열된 stirrer에 올리고 끓을 때까지 stir bar를 천천히 돌려준다. 용액이 100°C에 가까워지면 stir bar가 안정적으로 회전하는 한 최대한 속도를 높인다. 그 후 3.3% (w/v%) citrate 용액 1 ml를 1 ml pipette을 이용하여 flask 중심에 빠르게 넣어준다. Citrate 용액은 Au³⁺를 Au⁰로 환원시키는 환원제이며 AuNP의 표면을 코팅하여 AuNP를 안정화 시키는 역할을 한다. Citrate 용액을 넣어준 직후에는 용액의 색이 밝은 노란색에서 투명해지는 것을 관찰할 수 있고 점차 밝은 빨강색 용액이 되는 것을 볼 수 있다. 더 이상 색 변화가 없을 때까지 반응 시킨다 (10-15 분). 반응이 끝난 용액을 상온까지 식힌 후 냉장 보관한다. Transmission electron microscopy (TEM), dynamic light scattering (DLS), absorbance spectrum scan 의 방법 등으로 금 나노 입자의 합성 여부와 물성을 알 수 있다.

1.1. DLS

용액을 4 배 희석하여 25°C에서 측정하였다. 측정 결과 입자의 평균 크기는 18.9 nm였으며 비교적 균일한 크기 분포를 보였다 (그림 19). DLS는 hydrodynamic radius 를 측정하므로 실제 입자의 크기보다 더 큰 결과를 보일 것을 예상 할 수 있다. ZETASIZER Nano-ZA90로 측정하였다.

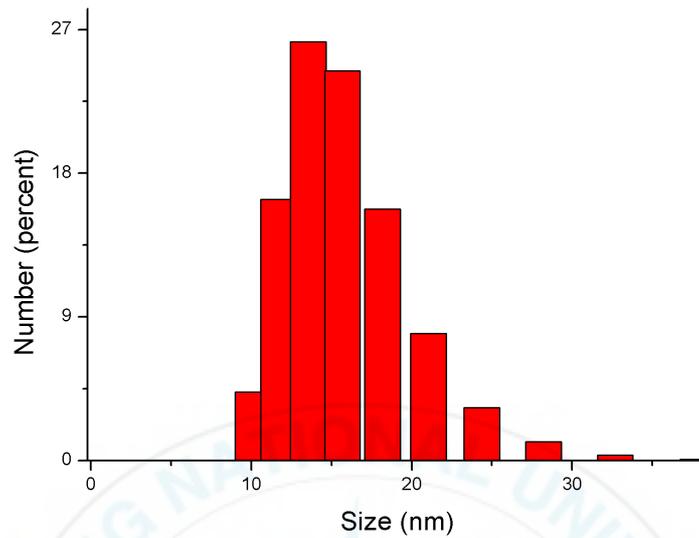


그림 19. DLS 측정을 통한 citrate AuNP의 크기 분포 그래프

1.2. 투과전자현미경(TEM) 분석

TEM 결과 단일 입자로 분산된 15–20 nm 사이의 구형의 AuNP가 합성되었음을 확인하였다 (그림 20).

TEM 이미징 후 각각의 입자의 지름을 포토샵을 이용하여 기록한 후 히스토그램으로 처리하였다 (그림 21). 측정된 입자는 300 개이며 평균 크기는 16.8 ± 1.2 nm로 균일한 크기를 보인다. 모양도 대부분 구형으로 나타난다.

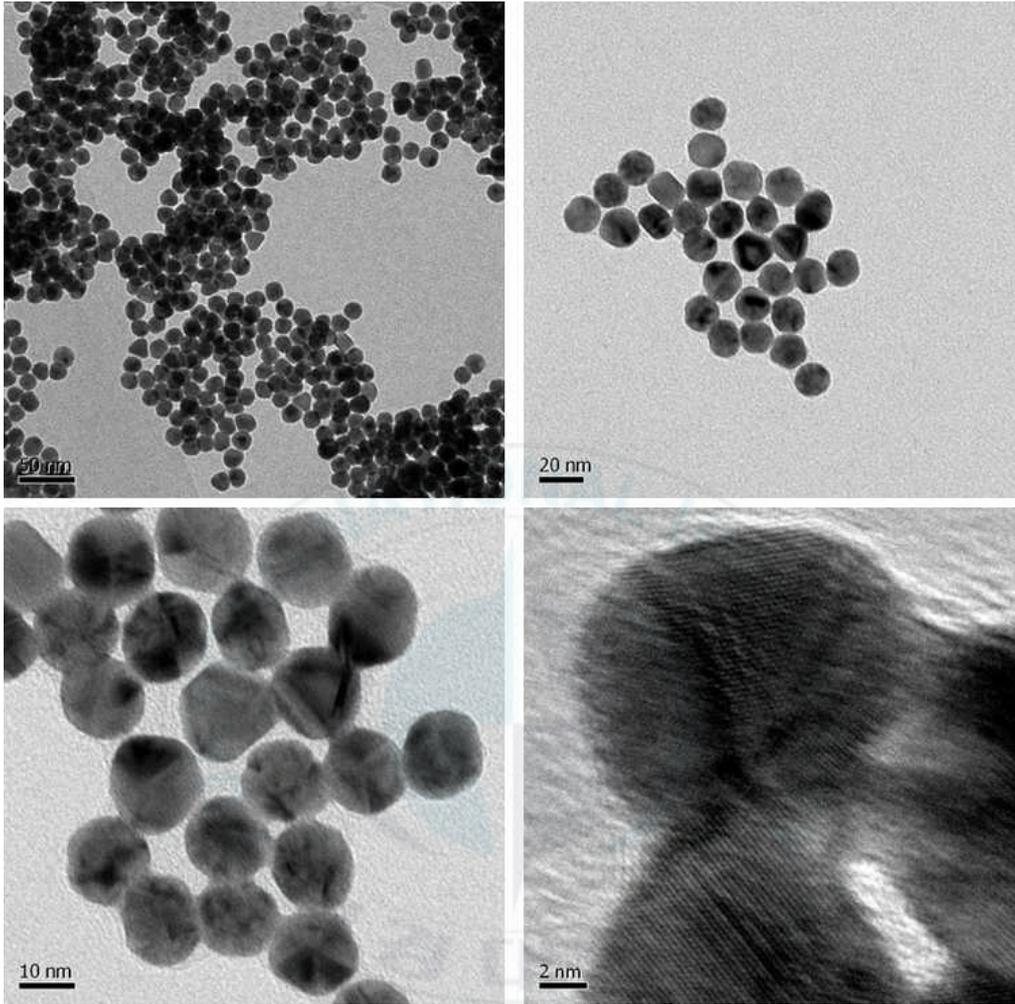


그림 20. Citrate AuNP의 TEM 이미지

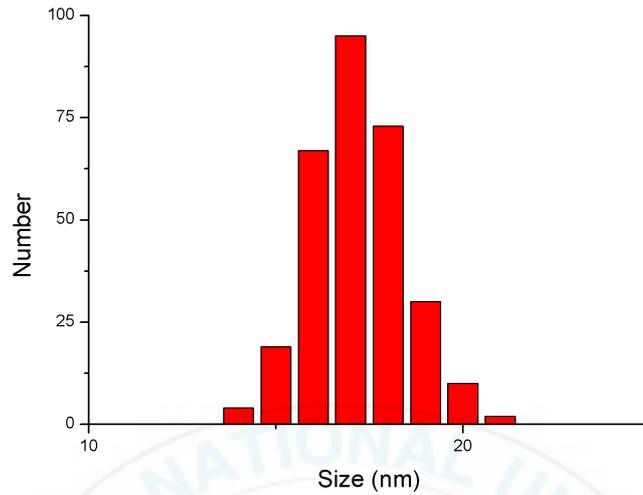


그림 21. TEM 이미징을 통한 citrate AuNP의 크기 분포 그래프

1.3. 흡광도 측정

2 배 희석 하여 상온에서 측정하였다 (그림 22). TEM 측정으로 입자의 크기를 결정하고 금 나노 입자의 흡광 계수와 흡광도를 이용하여 정확한 농도를 구할 수 있다 (표 5).

표 5. AuNP의 입자 크기와 흡광도로부터의 농도 결정

Determined Diameter	16.8 nm
Maximum Absorption Wavelength	520 nm
Absorption at maximum	0.44
Dilution of stock	0.5
Extinction Coefficient	$5.28 \times 10^8 \text{ cm}^{-1}\text{M}^{-1}$
Concentration	$1.68 \times 10^{-9} \text{ M}$

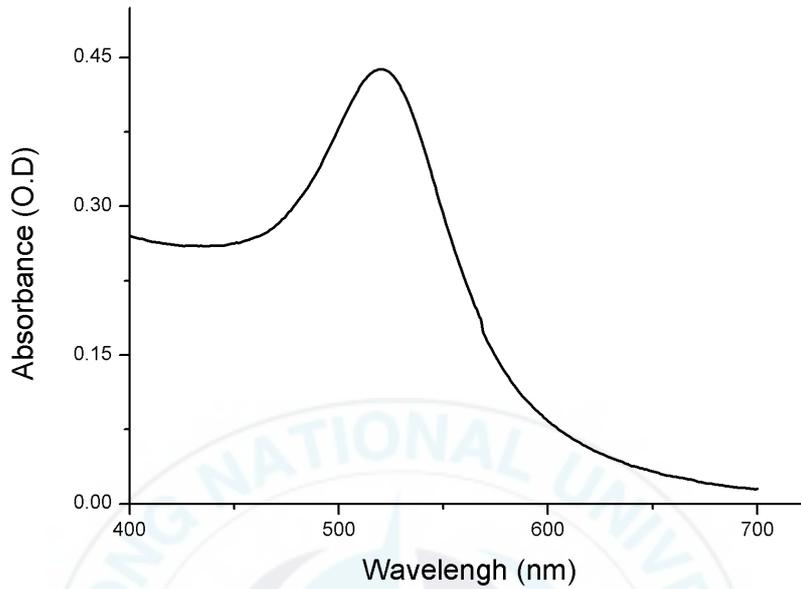


그림 22. Citrate AuNP의 흡광도 그래프

2. Lipoic acid F127 (LA-ester-F127)의 합성

F127 말단에 AuNP와 공유결합 할 수 있는 lipoic acid를 도입하기 위한 과정이다. Lipoic acid의 1,2-dithiolane기는 AuNP와 두 개의 -Au-S- 결합을 이룰 수 있어 thiol 기와 한 개의 결합을 하는 것보다 강하게 결합할 수 있는 장점이 있다.

다음의 합성 과정은 Zi Ling Li 의 2009 년 < Synthesis and Self-Assembling Behaviors of Biotinylated Pluronic/Poly(lactic

acid) Biocompatible Block Copolymers in Aqueous Solutions>
Applied Polymer Science 를 인용하였다^[35] (그림 23).

표 6. LA-F127 합성에 사용된 시약

Material	Process
F127	reagent 1
lipoic acid	reagent 2
<i>N,N</i> -Dicyclohexylcarbodiimide (DCC)	coupling reagent
4-Dimethylaminopyridine (DMAP)	Catalyst
Dichloromethane	Solvent
Sodium hydroxide	extraction
diethyl ether	precipitation

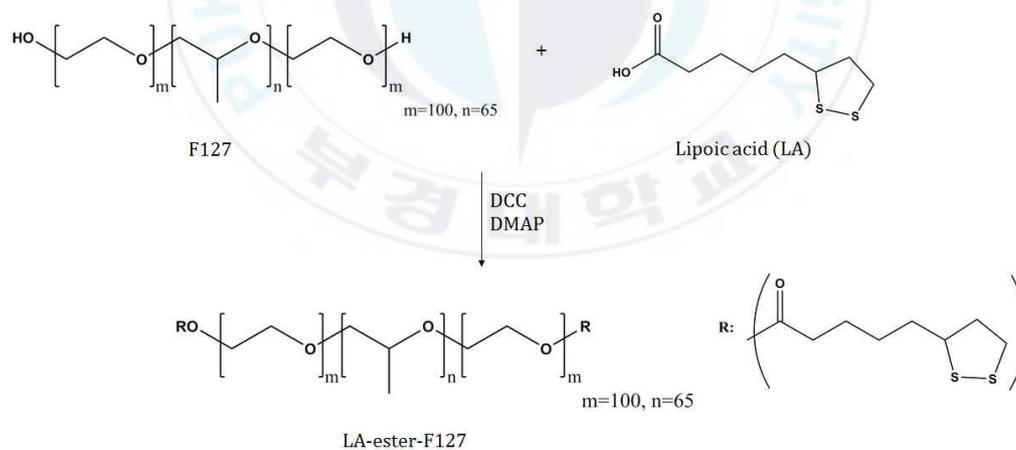


그림 23. F127과 LA의 반응과 구조식

Pluronic F127 (20 g, 1.59 mmol)을 dichloromethane 300 ml에 녹인다. 녹인 후 lipoic acid (0.82 g, 3.97 mmol)와 DMAP (0.029 g, 0.238 mmol)를 반응 플라스크에 넣고 용액을 0°C 까지 냉각시킨다. Dropping funnel에 DCC (0.65 g, 3.17 mmol)를 넣고 반응 용액에 30 분 이상 천천히 넣어준다. DCC를 넣어준 후 상온에서 48 시간 동안 반응시킨다.

반응이 끝나면 반응하지 않고 남아있는 lipoic acid를 제거하기 위해 10%의 sodium hydroxide 용액을 넣고 추출한다. 물층을 제거하고 남은 유기층은 냉장고에 밤새 놓아두고 침전이 생기면 필터하여 제거한다. 남은 용액에 차가운 diethyl ether 를 넣어 생성물을 침전시킨다. 이 과정을 2 번 반복한다. 생성된 고분자 물질은 필터하고 진공 건조시킨다. $^1\text{H-NMR}$, IR 분광법으로 물질의 합성여부를 확인한다. (합성수율: 17.593 g, 85%)

2.1. $^1\text{H-NMR}$

용매는 CDCl_3 를 사용하였다. F127, LA 만의 피크를 비교하여 각각의 피크를 assign한다 (그림 24). NMR 결과로 부터 정성적으로 LA-ester-F127 합성되었다는 것을 알 수 있지만 F127 의 하이드록시기에 LA 가 얼마만큼 반응하였는지는 알기 어렵다.

δ (ppm, CDCl_3): 1.07-1.09 (m, $-\text{OCH}_2-\text{CH}(\text{CH}_3)-$), 1.44-2.38 (m, $-(\text{CH}_2)_3-\text{CH}_2-\text{COO}-$), 3.48-3.59 (m, $-\text{OCH}_2-\text{CH}_2-$, $-\text{OCH}_2-\text{CH}(\text{CH}_3)-$)

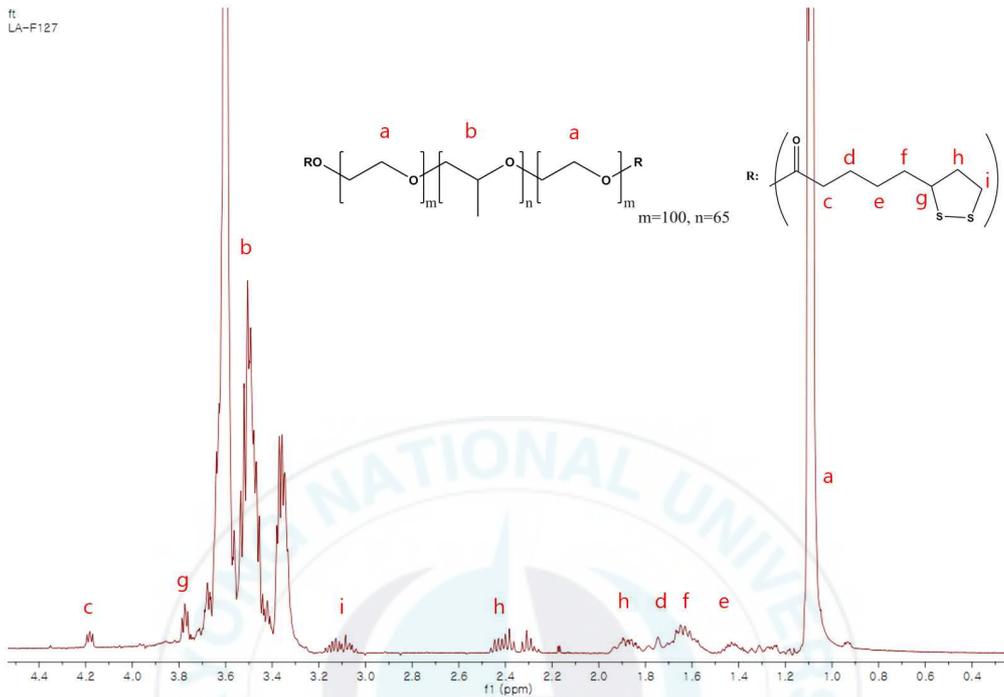


그림 24. 합성한 LA-ester-F127의 $^1\text{H-NMR}$ 결과

2.2. IR 분광법

KBr pellet 법을 이용하였다. F127 만을 측정하고 LA-ester-F127 을 측정하여 비교해 보았다 (그림 25). NMR 분석과 마찬가지로 정성적으로 합성 여부를 알 수 있지만 정량적으로 반응 수율을 알기 어렵다.

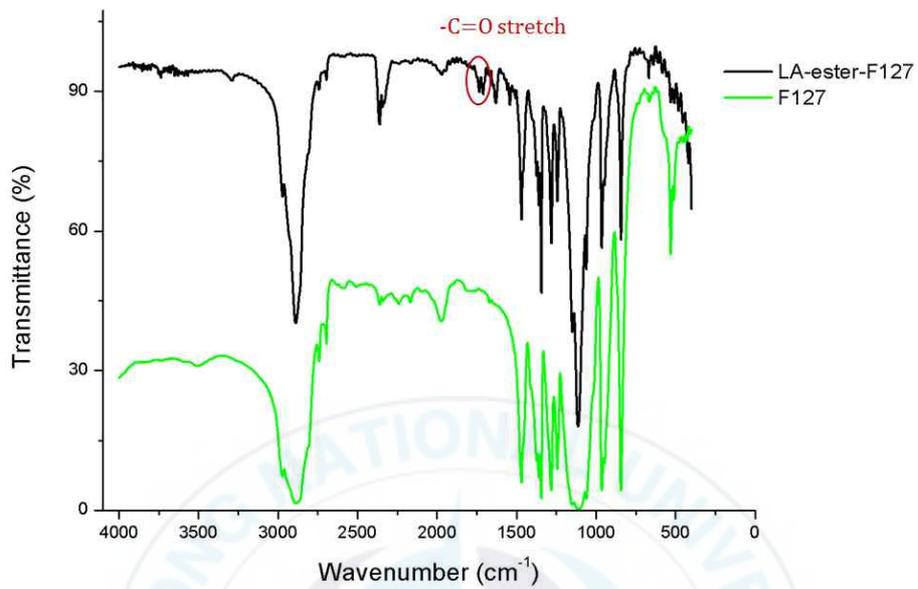


그림 25. LA-ester-F127의 IR 결과 그래프

LA 고유한 IR 피크는 $3300-2400$, 1690 , 1250 , 945 cm^{-1} 에서 나타나는데 F127과 피크가 겹쳐 보이지 않는다. Ester의 $-C=O$ stretch 피크는 $1750-1735 \text{ cm}^{-1}$ (aliphatic)와 $1730-1715 \text{ cm}^{-1}$ (α , β -unsaturated)에서 나타나고 $-C-O$ stretch 피크는 $1300-1000 \text{ cm}^{-1}$ 에서 나타난다.

3. LA-ester-F127 blending sIPN - Au 혼성체 제조

LA가 F127 말단에 치환되면 극성이 낮아져 물에서의 용해도가 낮아지므로 F127와 LA-ester-F127을 유기용매에 녹여 먼저 필름을 만든 후 Au 용액을 넣어 hydration 시킨다. Au 용액이 LA와 반응하면서 마이셀이 만들어지면 열을 가해 sIPN 을 제조한다 (그림 26).

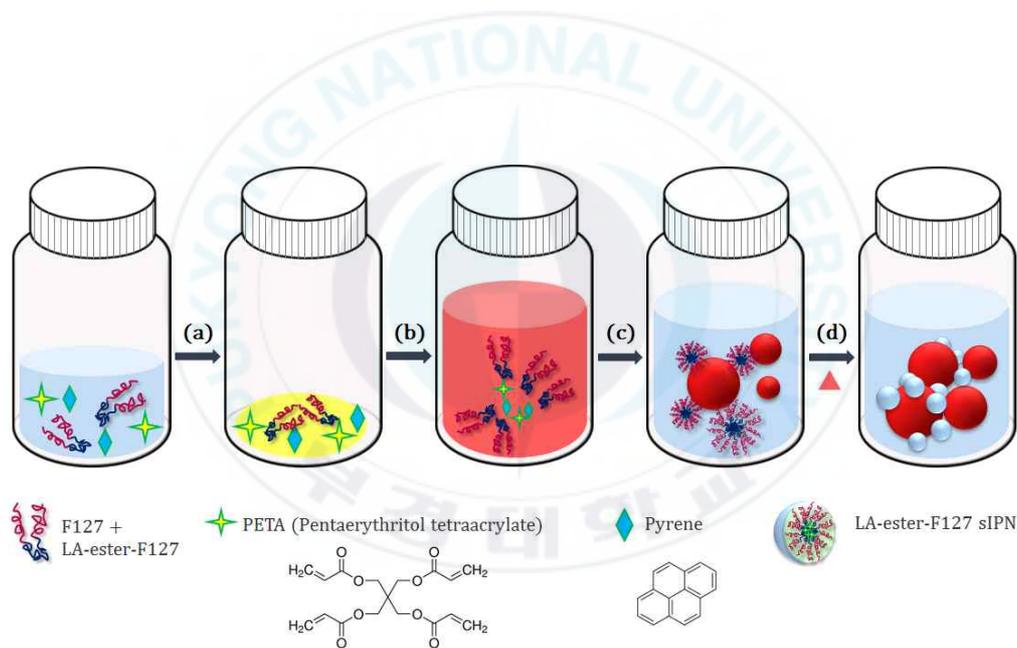


그림 26. Hydration 방법을 이용한 LA blending sIPN 제조 과정 (a) Solvent evaporation at ambient temperature, (b) Hydration of dried PETA-pyrene-F127-LA F127, (c) Overnight shaking, (d) Heating

3.1. LA-ester-F127 blending sIPN - Au 혼성체 제조

(1) 용액 준비

Pyrene과 PETA는 각각 5 mg/ml, 100 mg/ml 가 되도록 acetone에 녹여 준비한다. Pyrene과 PETA 용액은 빛을 차단하기 위해 용기를 호일로 감싸서 보관한다.

Citrate AuNP는 농축을 위하여 표면 코팅제를 염에 강한 Bis(*p*-sulfonatophenyl) phenylphosphine dihydrate dipotassium salt (BSPP) 리간드로 치환하여 준비한다^[36]. Citrate AuNP 37.5 ml에 BSPP 22.5 mg를 넣는다. 30 분간 반응시키고 상온에 밤새 둔다. 그 후 고체 sodium chloride를 붉은색에서 보라색이 될 때까지 넣는다(~0.4 g). 용액의 색이 변하면 3,500 rpm으로 10 분간 원심 분리한다. 상층액은 제거하고 2 ml BSPP buffer (1 mg BSPP in 1 ml H₂O)에 재분산한다. 정량을 위해 UV를 측정한다. 이 실험에서 당량 조절을 위해 두 가지 다른 농도의 용액을 사용하였는데 낮은 용액의 농도는 5.641×10^{-10} M 이며 높은 용액의 농도는 6.587×10^{-9} M 이다.

(2) LA-ester-F127 blending sIPN - Au 혼성체 제조

2 ml vial에 LA-ester-F127을 각각 1.25, 2.5, 5.0, 2.5 mg과 F127을 23.75, 22.5, 20.0, 22.5 mg을 넣고 총 50 mg을 최소량의 dichloromethane (DCM)을 이용하여 녹인다. LA-ester-F127은 총 Pluronic의 무게 대비 5, 10, 20 wt% 이다. Pyrene (5 mg/ml in

acetone) 5 μ l와 PETA (100 mg/ml in acetone) 6.25 μ l을 정량하여 vial 에 넣는다. Pyrene과 PETA의 양은 Pluronic 무게를 기준으로 각각 0.1, 2.5 wt% 이다.

용매 (acetone, DCM)를 완전히 제거하고 BSPP-AuNP 용액 500 μ l를 vial에 넣는다. LA-ester-F127 10 wt% blending sIPN에는 당량 조절을 위하여 저농도와 고농도 Au를 용액을 각각 넣어준다. Shaker 에서 하루 동안 200 rpm으로 흔들면서 hydration 시킨다. Au solution이 UV 하에서 변성됨으로 heating block에서 PETA 가교결합을 시켜준다 (85 $^{\circ}$ C, 15-20 분 유지).

이 후 용액을 필터하고 4 $^{\circ}$ C에서 5 분간 12,000 rpm으로 원심 분리한다. 상층액을 덜어 UV와 형광을 측정하고 겔 전기영동, TEM 등으로 물질을 분석해 본다.

(3) CMT 테스트

CMT 테스트는 sIPN 용액을 CMT 이하(4 $^{\circ}$ C)에 하루 동안 보관한 후 흡광과 형광을 측정하여 상온에서 측정한 값과 비교해보는 실험이다. 마이셀 구조에 비해 sIPN 이 되면 구조의 안정성이 증가하면서 CMT 이하의 온도에서도 마이셀 구조가 유지되어 소수성의 형광물질이 빠져 나오지 못한다. 따라서 흡광과 형광 세기 감소율을 통해 sIPN 구조가 잘 형성되었는지의 여부를 알 수 있다. sIPN 용액 샘플을 냉장고에 하루 동안 넣어두고 4 $^{\circ}$ C에서 10 분간 12,000 rpm 으로 원심분리 한다. 원심분리 후 상층액을 큐벳에 넣고 흡광과 형광을 측정한다.

3.2. LA-ester-F127 blending sIPN - Au 혼성체의 흡광도 측정

흡광도 측정 결과 520 nm 부근에서 Au의 피크와 300-400 nm 부근에서 pyrene 피크가 함께 나타난다 (그림 27). LA-ester-F127의 blending 비율이 5% 에서 20% 로 높아질수록 pyrene 피크는 감소하는 경향을 보이는데 이는 LA F127 의 증가와 함께 용해도가 감소하면서 sIPN 구조가 잘 형성되지 않아 생긴 결과라고 생각할 수 있다. 20% 에서 pyrene 피크가 나타나지 않는 것으로 보아 blending %가 높아지면 sIPN이 만들어지지 않는다. CMT 테스트 결과 모든 샘플에서 pyrene은 40%, Au는 20% 정도의 흡광도 감소율을 보인다. Pyrene의 흡광도 감소율을 마이셀과 비교할 때 sIPN에서 더 낮은 감소율을 보이므로 sIPN 구조가 만들어 졌다고 생각할 수 있다. 또 pyrene과 Au의 흡광도 피크가 함께 나타나는 것으로 sIPN-Au 혼성체가 되었음을 예측할 수 있다.

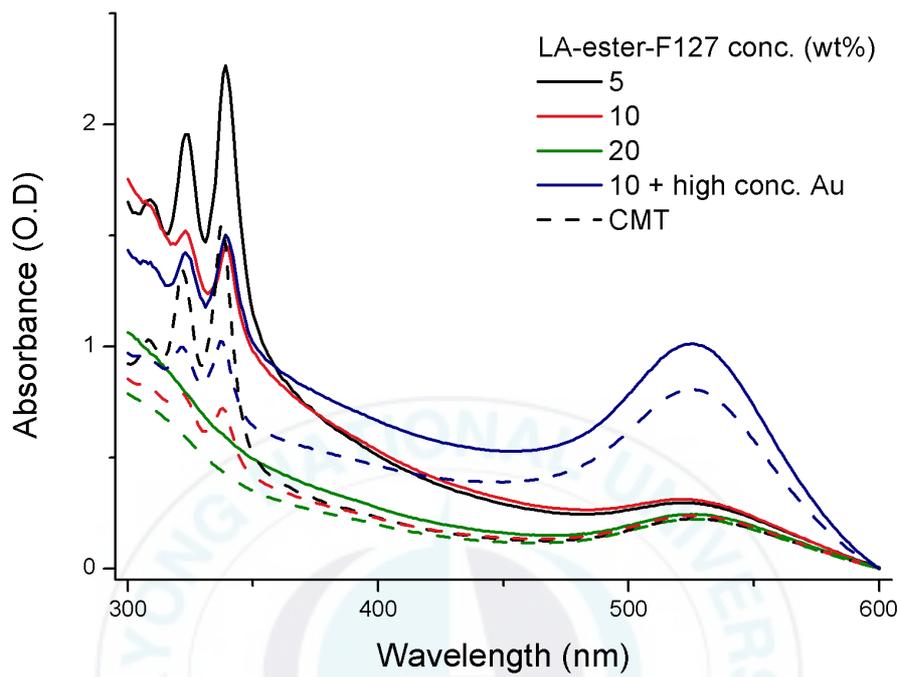


그림 27. LA-ester-F127 blending sIPN - Au 혼성체의 흡광도 측정 결과 그래프

표 7. LA-ester-F127 blending sIPN - Au 혼성체의 흡광도(339 nm)

LA-ester-F127 blending conc. (wt%)	Abs. at 339 nm		Abs. ratio (4°C/ 25°C)
	25°C	4°C	
5	2.26	1.46	0.64
10	1.45	0.71	0.49
20	0.592	0.428	0.72
10 +high conc. Au	1.502	0.988	0.66

표 8. LA-ester-F127 blending sIPN - Au 혼성체의 흡광도(525 nm)

LA-ester-F127 blending conc. (wt%)	Abs of sample at 525 nm		Abs. ratio (4°C/ 25°C)
	25°C	4°C	
5	0.30	0.22	0.76
10	0.31	0.24	0.76
20	0.25	0.22	0.91
10 +high conc. Au	1.01	0.81	0.80

3.3. LA-ester-F127 blending sIPN - Au 혼성체의 형광 측정

형광 측정 결과 pyrene 피크가 350-400 nm 부근에서 나타난다 (그림 28). 흡광도 측정 결과와 유사한 경향을 보이며 blending 20% 일 때 pyrene 의 형광이 나타나지 않는다. CMT 이후에도 형광의 세기는 거의 동일하게 유지되는 것으로 보아 LA-ester-F127 blending sIPN - Au 의 구조가 안정하다고 할 수 있다.

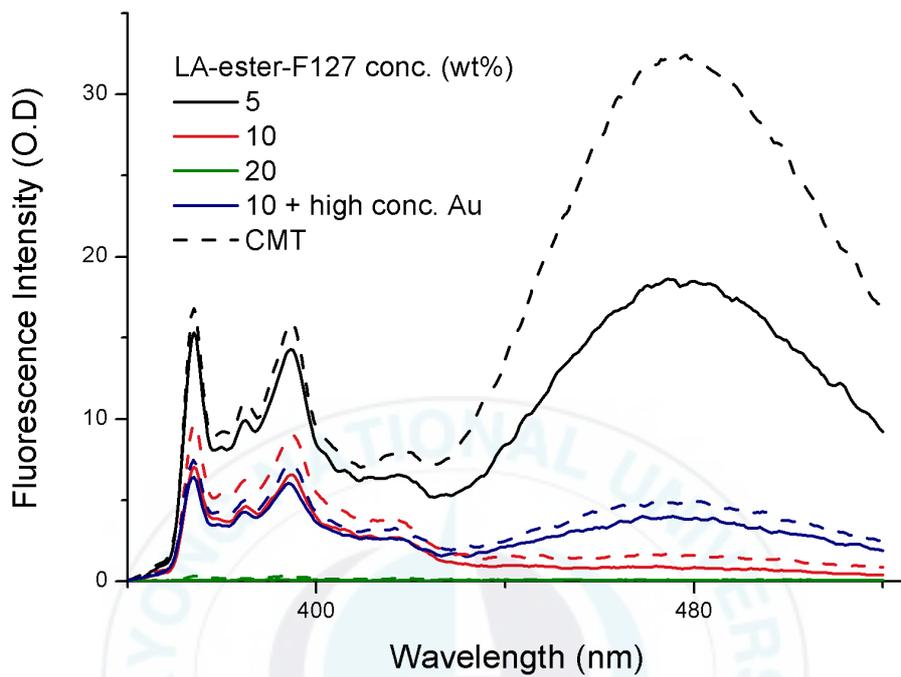


그림 28. LA-ester-F127 blending sIPN - Au 혼성체의 형광 측정 결과 그래프

표 9. LA-ester-F127 blending sIPN - Au 혼성체의 형광 측정 (374 nm)

LA-ester-F127 blending conc. (wt%)	PL at 374 nm		PL ratio (4°C/ 25°C)
	25°C	4°C	
5	15.32	16.83	1.10
10	7.03	9.68	1.38
20	6.42	7.46	1.16
10 +high conc. Au	-	-	-

3.4. 아가로즈 겔 전기영동

AuNP 는 표면의 BSPP 리간드에 의해 음전하를 띠고 있으므로 겔에서 (+) 방향, 아래쪽으로 내려가며 붉은색 밴드로 나타난다. F127 sIPN은 소수성 중심부에 담지 된 형광체의 형광밴드가 나타나는데 pyrene은 365 nm 파장에서 푸른색의 밴드로 보인다 (그림 29). 이전의 실험에서 pyrene을 담지한 F127 sIPN의 경우 (-) 방향으로 올라가는 경향을 보였다. 각각의 물질과 LA-ester-F127 blending sIPN - Au 혼성체를 함께 전기영동 하였을 때 각각의 이동도에 따라 반응한 conjugate 의 밴드를 분리해 낼 수 있을 것으로 예측할 수 있다. 아가로즈는 2 %를 사용하였고 100V에서 70 분간 전기영동 하였다.

표 10. 그림 28의 각 Lane 별 샘플 정보

#1	#2	#3	#4	#5	#6
AuNP (BSPP)	LA-ester-F127 100%	LA-ester-F127 5%	LA-ester-F127 10%	LA-ester-F127 20%	LA-ester-F127 10% (high)

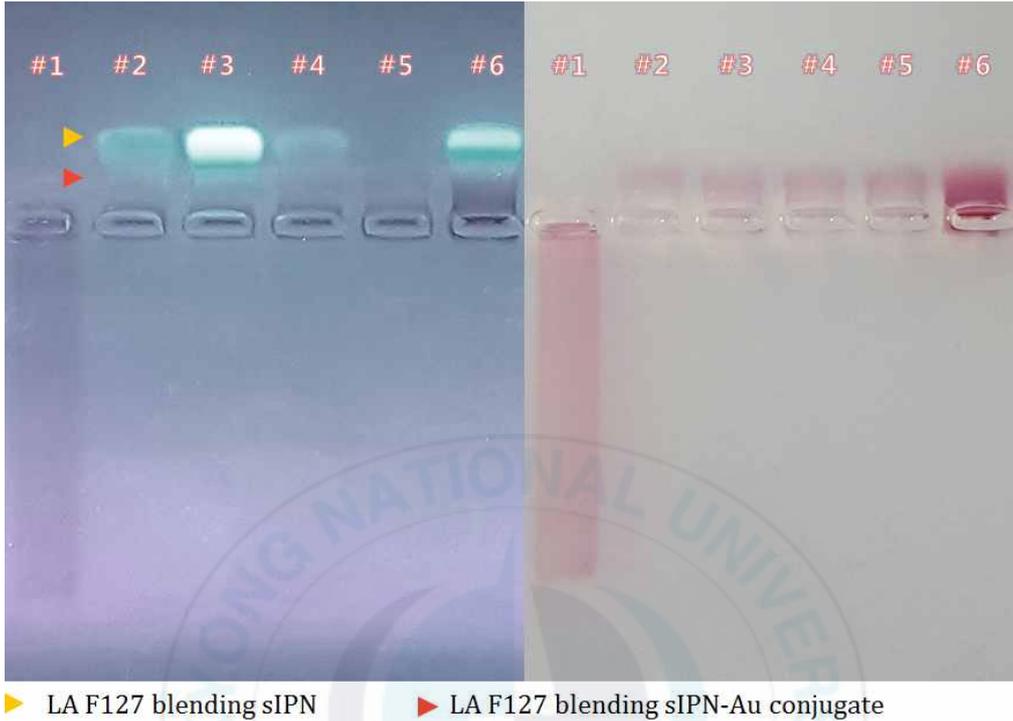


그림 29. 아가로스 겔 전기영동 결과

365 nm 파장에서 F127의 함량이 높아질수록 pyrene 로딩양이 증가하여 밴드가 선명하게 보인다. 두개의 밴드가 보이는데 위의 밴드는 LA-F127 blending sIPN 으로 보이고 아래 밴드는 LA F127 blending sIPN-Au conjugate 로 보여 진다. Au가 F127 sIPN 의 영향으로 (-) 방향으로 이동하는 것을 볼 수 있고 sIPN-Au 혼성체의 aggregation으로 인한 입자 크기의 증가로 이동속도가 느려지는 것을 관찰하였다.

3.5. 투과전자현미경(TEM) 분석

TEM 결과 100 nm 이상의 큰 입자들이 발견되는데 이는 다수의 AuNP 와 고분자의 aggregation으로 인한 결과로 보여 진다 (그림 30). 고분자의 농도가 높아 이미지상으로 구조를 알기 어렵다.

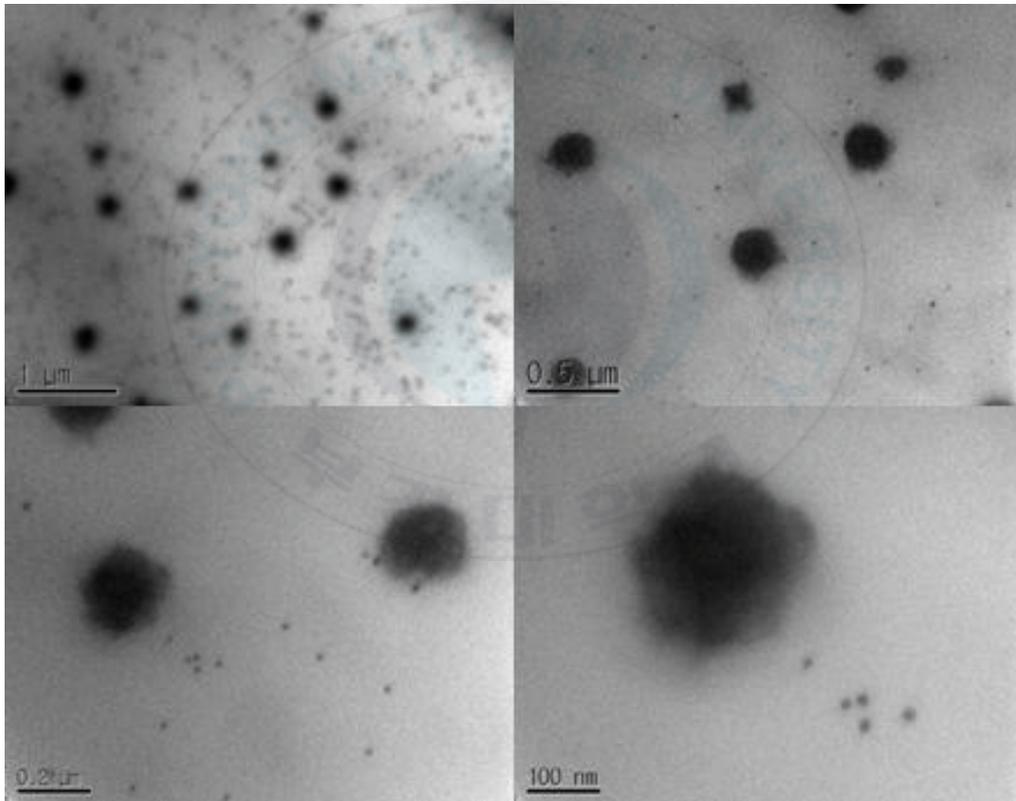


그림 30. LA-ester-F127 blending sIPN - Au 혼성체의 TEM 이미지

4. Lipoic acid *N*-Hydroxysuccinimide ester (LA-NHS ester) 의 합성

LA-ester-F127은 F127의 말단 하이드록시기를 LA로 치환되어 F127에 비해 극성이 떨어지고 수용액에서 용해도가 매우 낮다. 이 문제를 극복하기 위하여 NH₂-F127 blending sIPN을 먼저 제조한 뒤 LA-NHS ester를 sIPN 말단의 아민과 반응시킨다. 그 결과 sIPN의 용해도가 증가하고 AuNP와의 당량 조절이 용이해 질 수 있다.

다음의 합성과정은 Jaswinder Sharma의 2008년 <Toward Reliable Gold Nanoparticle Patterning On Self-Assembled DNA Nanoscaffold> *Journal of American Society* 논문을 인용하였다^[36] (그림 31).

표 11. LA-NHS ester 합성에 사용된 시약

Material	Process
Lipoic acid	reagent 1
<i>N</i> -Hydroxysuccinimide	reagent 2
<i>N,N</i> -Dicyclohexylcarbodiimide (DCC)	coupling reagent
Tetrahydrofuran (THF)	solvent
Toluene	solvent

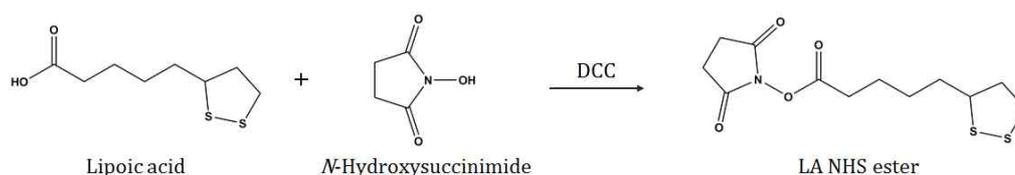


그림 31. LA-NHS ester 합성 반응식

N,N-Dicyclohexylcarbodiimide (DCC) 2.10 g (0.01 mol)와 lipoic acid 2.06 g (0.01 mol)를 tetrahydrofuran (THF) 10 ml에 녹인다. 그 후 *N*-Hydroxysuccinimide (NHS) 1.15 g (0.01 mol)를 넣고 72 시간 동안 교반하고 침전물은 필터 페이퍼를 이용하여 걸러준다. 걸러진 용액의 용매를 완전히 제거하고 toluene으로 재결정하여 정제한다. 얻어진 노란색 결정을 ¹H-NMR (DMSO)로 구조 분석하여 확인한다.

(반응수율: 2.46 g, 81%)

δ (ppm, DMSO): 3.59 (q, 1H), 3.17 (m, 1H), 3.12 (m, 1H), 2.80 (s, 4H), 2.67 (t, 2H), 2.40 (m, 1H), 1.87 (m, 1H), 1.65 (m, 4H), 1.45 (m, 2H)

4.1. ¹H-NMR

합성 후 ¹H-NMR 로 구조 분석 하였다. 각각의 피크를 assign하고 적 분한 결과로부터 LA-NHS ester가 합성되었음을 확인하였다. 그림 32 내 구조에서 f 위치의 수소의 피크면적을 1로 잡고 나머지를 적분했다.

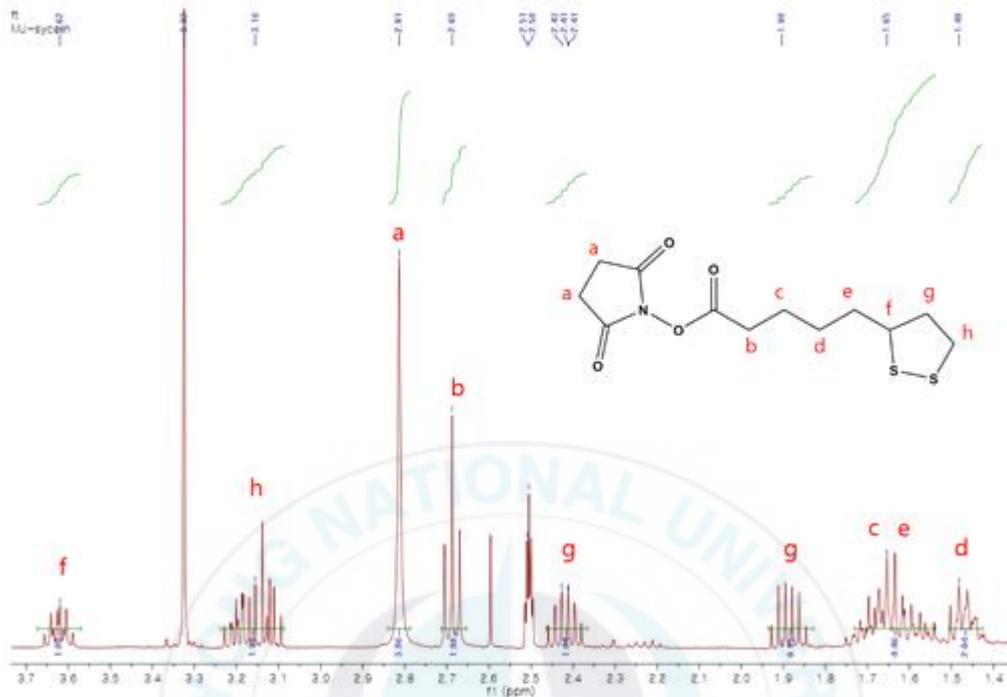


그림 32. 합성한 LA-NHS ester의 ¹H-NMR 결과

5. NH₂-F127 blending sIPN 제조

NH₂-F127는 F127의 말단의 하이드록실기를 1-amino-2-ethyl carbamate로 치환한 합성 고분자이다 (그림 33). 순도가 약 23%로 합성된 것을 사용하였다. NH₂-F127와 F127를 사용하여 blending sIPN을 제조하였다.

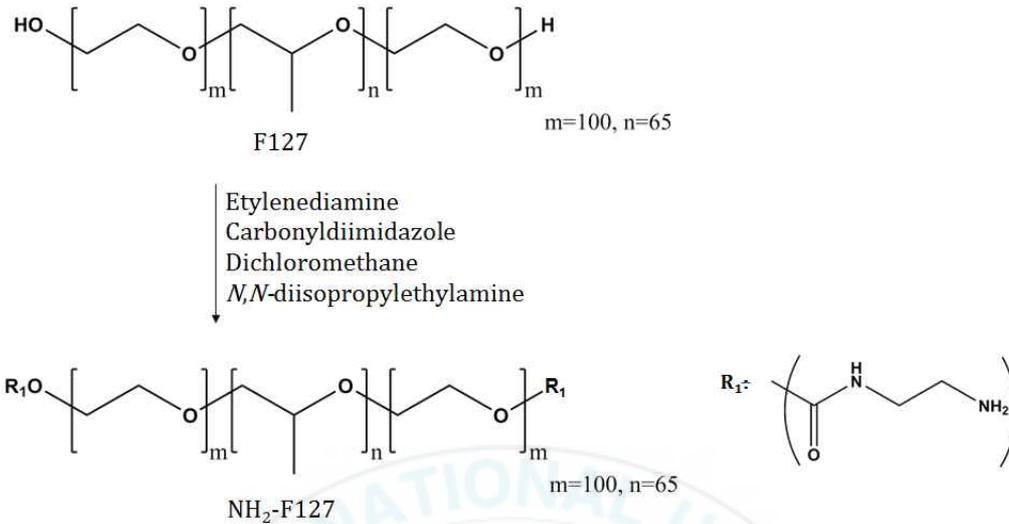


그림 33. NH₂-F127 합성 구조식

5.1. NH₂-F127 blending sIPN 제조

(1) 용액 준비

50 ml conical tube에 NH₂-F127이 10 wt%가 되도록 NH₂-F127과 증류수의 무게를 재어 넣고 완전히 녹을 때까지 냉장고에 보관한다. 완전히 녹인 후 끓는 물에 tube 를 넣고 상온까지 천천히 식혀 사용한다. F127 10 wt% 용액도 동일하게 만든다. Pyrene과 PETA는 각각 1 mg/ml, 100 mg/ml가 되도록 acetone에 녹여 준비한다. Pyrene과 PETA 용액은 빛을 차단하기 위해 용기를 호일로 감싸서 보관한다.

(2) NH₂-F127 마이셀 형성

20 ml vial 에 pyrene 용액 500 μ l와 PETA 용액 125 μ l를 넣고 빛을 차단한 후 상온에서 건조시킨다. Pyrene과 PETA의 양은 pluronic 무게를 기준으로 각각 0.1, 2.5 wt%이다. Pyrene-PETA 필름이 만들어지면 5%와 25% blending sIPN을 제조하기 위해 열처리가 끝난 NH₂-F127 용액과 F127 용액을 5, 25 v/v% 으로 총 5 ml 넣는다. Shaker에서 하루 동안 200 rpm으로 흔들면서 pyrene과 PETA가 마이셀의 소수성 부분에 녹아 들어가도록 한다.

(3) NH₂-F127 sIPN 제조

마이셀에 UV를 조사하면 마이셀 코어부분에 PETA 간 가교결합으로 망상 구조를 형성한다 (그림 34). UV 를 조사하기 전 마이셀 용액 내부를 Ar 가스로 채우고 50 $^{\circ}$ C 에서 10 분 동안 예열한다. 이는 CMT (critical micelle temperature) 이상으로 온도를 높여 PETA가 마이셀 소수성 중심부에 더 잘 들어가게 하기 위함이다. 예열이 끝나면 Lumen Dynamic (OmniCure series 2000, filter 320-500 nm)의 파워를 1.5 W/cm²로 고정하여 6 분 동안 UV를 조사해준다. 최종 생성물은 0.2 μ m syringe filter로 걸러준다. sIPN 내부의 pyrene의 흡광과 형광을 측정하고 CMT 테스트를 통해 sIPN이 얼마나 잘 만들어 졌는지를 알 수 있다.

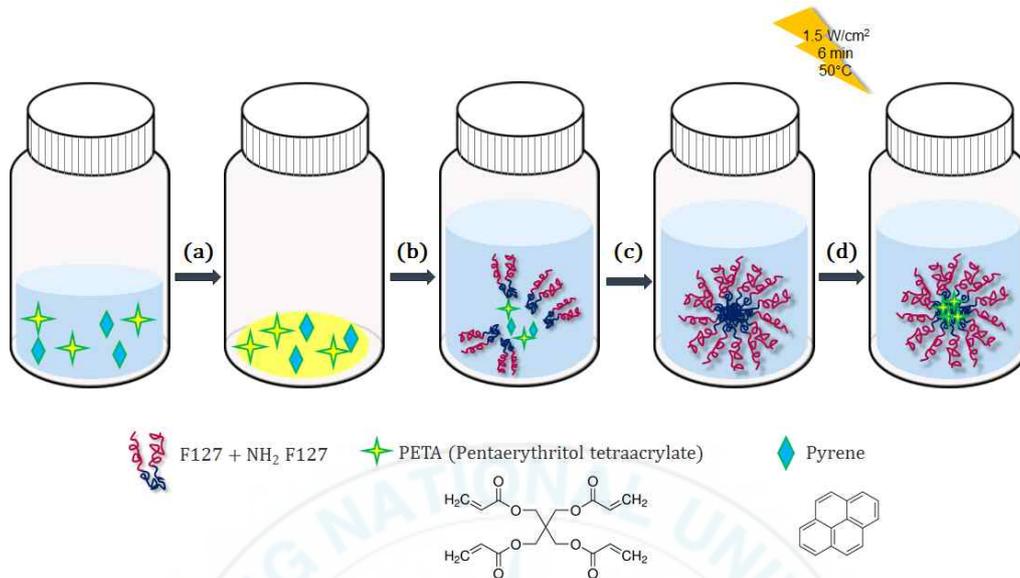


그림 34. NH_2 -F127 sIPN 제조 과정 (a) Solvent evaporation at ambient temperature, (b) Hydration of dried PETA-pyrene with 10% NH_2 -F127 blending solution, (c) Overnight shaking, (d) UV irradiation

5.2. NH_2 -F127 blending sIPN 흡광도 측정

Pyrene의 흡광도를 통해 pyrene이 F127 마이셀 소수성 부분에 녹아 수용액상에 잘 분산되어 있는 것을 알 수 있다 (그림 35). 5%, 25% blending sIPN 의 차이는 거의 없는데 F127 하이드록시기를 다른 작용기로 치환시켜도 마이셀을 형성하는데 큰 영향이 없는 것을 관찰하였다. CMT 테스트 결과 남아있는 pyrene의 비율이 약 40% 정도인데 마이셀에 비해 높은 비율을 보인다. 이는 sIPN 구조가 만들어져 CMT 이하의 낮은 온도에서도 비교적 안정한 상태임을 나타낸다.

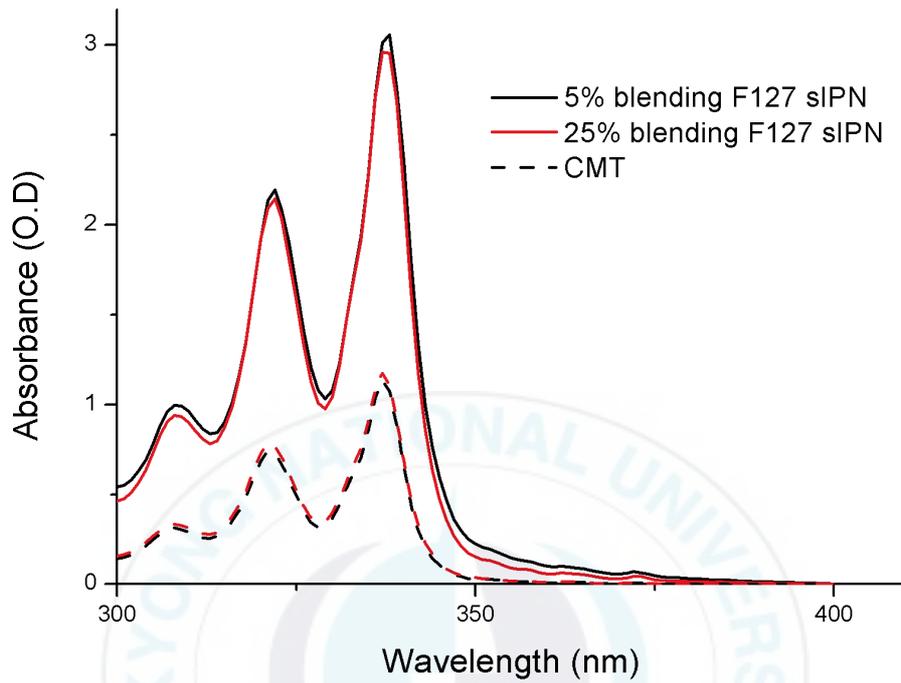


그림 35. NH₂-F127 blending sIPN 흡광도 측정 결과 그래프

표 12. NH₂-F127 blending sIPN 의 흡광도 측정 (337 nm)

NH ₂ -F127 blending conc. (wt%)	Abs. at 337 nm		Abs. ratio (4°C/ 25°C)
	25°C	4°C	
5	3.01	1.14	0.38
25	2.96	1.17	0.40

5.3. NH₂-F127 blending sIPN 형광 측정

Pyrene의 형광 측정을 통해 pyrene이 F127 마이셀 소수성 부분에 녹아 수용액상에 잘 분산되어 있는 것을 알 수 있다 (그림 36). 500 nm 근처에서 pyrene의 excimer 피크가 나타나는데 CMT 테스트 이후에는 pyrene 분자간 상호작용이 줄어들어 excimer 피크가 감소하는 경향을 보인다.

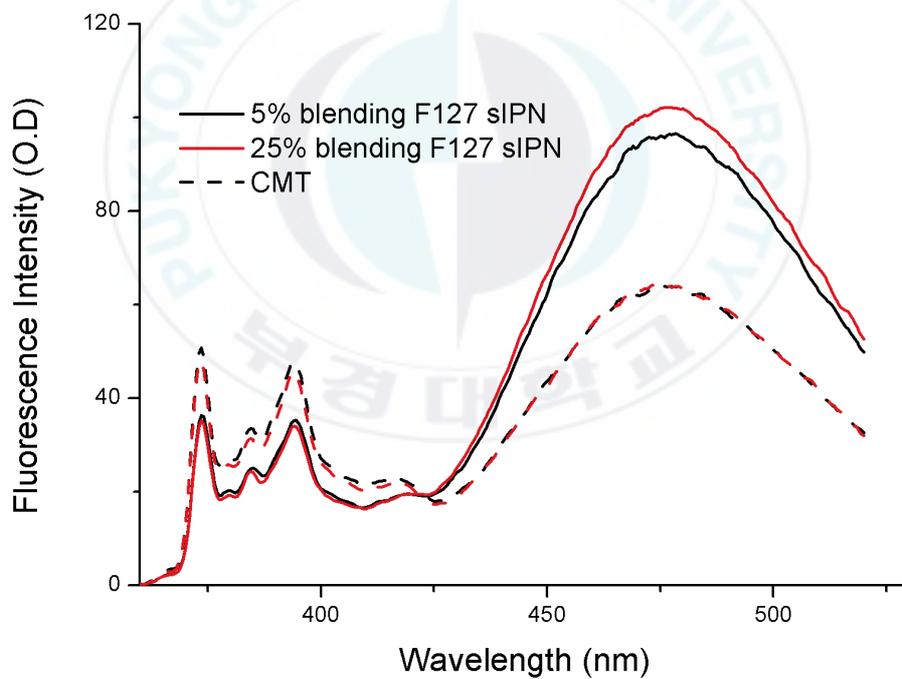


그림 36. NH₂-F127 blending sIPN 형광 측정 결과 그래프

표 13. NH₂-F127 blending sIPN 의 형광 측정(373 nm)

NH ₂ -F127 blending conc. (wt%)	PL at 373 nm		PL ratio (4°C/ 25°C)
	25°C	4°C	
5	34.64	49.53	1.43
25	33.71	47.14	1.40

6. NH₂-F127 blending sIPN의 일차 아민과 LA-NHS ester와의 반응

이 반응은 carboxylate가 carbodiimide-activation된 NHS ester와 일차 아민이 알칼리 조건에서 반응하여 amide 결합을 만든다 (그림 37). sIPN 말단과 Au 입자가 -Au-S- 공유결합 할 수 있도록 이 실험에서는 LA-NHS ester와 NH₂-F127 blending sIPN을 반응시켜 LA-amide-F127 blending sIPN을 합성 할 것이다 (그림 38).

표 14. LA-amide-F127 sIPN 합성에 사용된 시약

Material	Process
LA-NHS ester	reagent 1
NH ₂ -F127 sIPN	reagent 2
Sodium tetraborate	buffer
HCl	pH

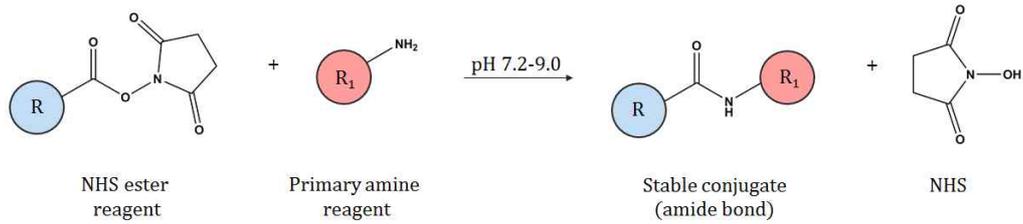


그림 37. Amide bond 형성 반응과 구조식

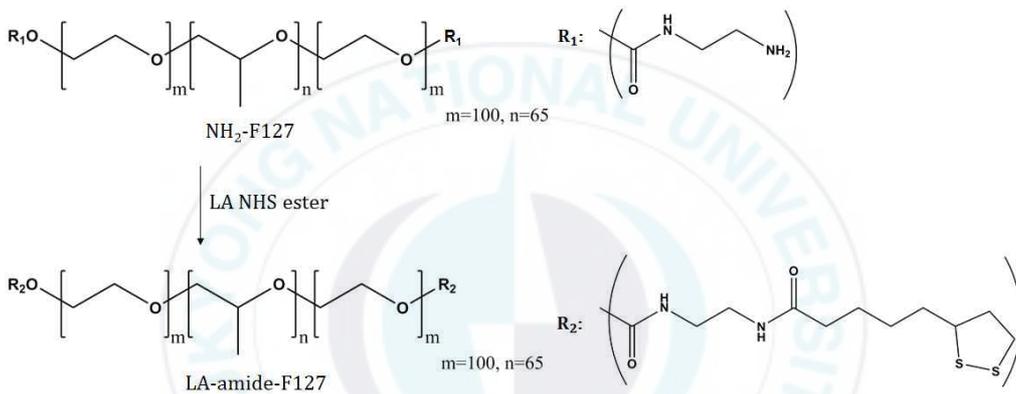


그림 38. LA-amide-F127 합성 구조식

6.1. 용액 준비

0.1 M sodium tetraborate 버퍼 용액 (pH 8.5)

위의 반응의 생성물인 amide 결합을 안정화시키기 위해 알칼리 조건에서 반응시킨다. sodium tetraborate 380 mg을 10 ml 증류수에 녹여 최종농도가 0.1 M가 되도록 한다. 이 용액에 35-37% HCl을 대략 65 μ l 첨가

하여 pH 8.5 에 맞춘다.

LA-NHS ester 용액

5, 25% blending NH_2 -F127 sIPN 5 ml내에 들어있는 일차 아민을 기준으로 하여 5 당량의 LA-NHS ester를 계산하여 THF 에 녹여 준비한다. (5%: 5.94 mg/2 ml, 25%: 29.69 mg/3 ml)

6.2. 반응

5, 25% blending NH_2 -F127 sIPN 5 ml에 0.1 M sodium tetraborate 버퍼 5 ml를 넣고 30 분 동안 교반한다. LA-NHS ester 용액을 5, 25% blending NH_2 -F127 sIPN에 각각 2, 3 ml 첨가한 후 18 시간 동안 교반하면서 반응한다. 반응이 종결되면 반응하지 않고 남아있는 LA-NHS ester와 반응 후 생성되는 NHS, THF 를 제거하기 위해 투석한다. 투석막(MWCO 2 kD)은 THF에 의해 용해될 수 있으므로 THF 가 포함된 용액량의 5 배 이상의 증류수를 더 넣어준다. 2-3 일 동안 투석한 후 생성물은 동결 건조하여 냉동실에 보관한다.

IV. 결론

자성 나노 입자(magnetic nanoparticle, MNP) 를 합성하고 이 입자를 다양한 농도에서 F127 코어에 담지하여 마이셀과 sIPN 구조체를 만들어 보았다. 마이셀과 sIPN 형성되어 MNP-polymer 의 혼성체가 되었을 때 수용액상에 분산이 가능하였고 입자가 자성을 띠고 있는 것도 확인하였다. MNP-마이셀과 sIPN 성질을 비교한 결과 MNP 농도에 따른 흡광도의 증가율이나 자석에 끌려가는 이동도 등에서 서로 다른 경향을 보였다. 마이셀과 sIPN 의 구조적인 차이로부터 나타나는 결과라고 생각된다.

CMT 테스트로부터 MNP-마이셀과 MNP-sIPN 을 비교한 결과 예상과는 달리 마이셀 구조에서 더 안정한 결과를 얻었다. MNP 의 지름이 대략 10-20 nm 정도로 F127 마이셀 코어에 비해 크기 때문에 중심부에서 PETA 의 가교결합이 효과적으로 일어나지 않아 생긴 결과라고 예측할 수 있다. 다른 물성을 가지는 Pluronic 을 마이셀화 하거나 sIPN 구조를 만들 때 Pluronic 의 성질에 따라 입자의 직경이 달라지므로 이들을 적절히 blending 하여 크기를 조절한다면 sIPN에서 더 안정한 구조를 만들 수 있을 것이라고 생각된다^[28]. 또한 TEM 결과로 관찰된 독특한 vesicle의 실제 구조를 알아내는 것도 기능 개선에 도움이 될 것이다.

안정적으로 MNP-sIPN 를 만들 수 있다면 Pluronic 의 말단을 다른 작용기로 치환하는 표면 개질을 통해 약물 전달체, 분자 탐지제, MRI/CT 이

미징 등 다양한 응용이 가능할 것으로 기대된다.

3장에서는 금 나노 입자(Au nanoparticle, AuNP) 를 합성하고 DLS, TEM, UV 로 분석했다. F127 의 말단에 금 나노 입자와 공유결합 가능한 lipoic acid 를 도입한 후 소수성의 형광체인 pyrene 을 담지한 sIPN 을 만들고 sIPN 의 말단을 금 나노 입자와 -Au-S- 공유 결합 하였다. pyrene 의 흡광도와 형광 특성, 겔 전기영동, TEM 등의 분석을 통해 AuNP-sIPN 혼성체가 합성된 것을 확인하였다. 그러나 LA F127 의 용해도가 낮아 수용액에서 쉽게 침전되고 LA-ester-F127 와 F127 의 혼합 비율이 20% 가 넘어갈 때에는 sIPN 이 잘 만들어지지 않는 문제가 있다. 또 AuNP 의 농도가 Pluronic 에 비해 매우 낮기 때문에 당량 조절을 통한 morphology 의 변화를 주는 것이 어렵다. 이를 해결하기 위하여 먼저 NH₂-F127 sIPN 을 만든 후에 sIPN 의 말단에 lipoic acid 를 도입시켰다. NH₂-F127 은 물에서 용해도가 높고 안정적으로 sIPN 을 만들 수 있으며 F127 과 blending 을 통해 lipoic acid 의 당량을 효과적으로 조절할 수 있는 장점이 있다. 앞으로 지속적 연구를 통해 LA-amide-F127 sIPN - Au 혼성체를 안정적으로 만들게 되면 소수성의 SERS reporter 형광체를 sIPN 내부에 담지하여 세포 이미징 등으로 적용할 수 있을 것으로 기대한다^{[37]-[39]}.

V. 참고문헌

1. Mody, V. V., Siwale, R., Singh, A., &Mody, H. R. (2010). Introduction to metallic nanoparticles. *Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences*, 2(4), 282.
2. Elzoghby, A. O., Hemasa, A. L., &Freag, M. S. (2016). Hybrid protein-inorganic nanoparticles: From tumor-targeted drug delivery to cancer imaging. *Journal of Controlled Release*.
3. Claridge, S. A., Liang, H. W., Basu, S. R., Fréchet, J. M., &Alivisatos, A. P. (2008). Isolation of Discrete Nanoparticle- DNA Conjugates for Plasmonic Applications. *Nano letters*, 8(4), 1202-1206.
4. Lohse, S. E., &Murphy, C. J. (2012). Applications of colloidal inorganic nanoparticles: from medicine to energy. *Journal of the American Chemical Society*, 134(38), 15607-15620.
5. Choo, E. S. G., Tang, X., Sheng, Y., Shuter, B., &Xue, J. (2011). Controlled loading of superparamagnetic nanoparticles in fluorescent nanogels as effective T₂-weighted MRI contrast agents. *Journal of Materials Chemistry*, 21(7), 2310-2319.
6. Qin, J., Laurent, S., Jo, Y. S., Roch, A., Mikhaylova, M., Bhujwala, Z. M., ... &Muhammed, M. (2007). A High-Performance Magnetic Resonance Imaging T₂ Contrast Agent. *Advanced Materials*, 19(14), 1874-1878.
7. Tian, Y., Yu, B., Li, X., &Li, K. (2011). Facile solvothermal

synthesis of monodisperse Fe₃O₄ nanocrystals with precise size control of one nanometre as potential MRI contrast agents. *Journal of Materials Chemistry*, 21(8), 2476-2481.

8. Lee, N., &Hyeon, T. (2012). Designed synthesis of uniformly sized iron oxide nanoparticles for efficient magnetic resonance imaging contrast agents. *Chemical Society Reviews*, 41(7), 2575-2589.
9. Xiao, L., Li, J., Brougham, D. F., Fox, E. K., Feliu, N., Bushmelev, A., ... &Fadell, B. (2011). Water-soluble superparamagnetic magnetite nanoparticles with biocompatible coating for enhanced magnetic resonance imaging. *Acs Nano*, 5(8), 6315-6324.
10. Wang, L., Neoh, K. G., Kang, E. T., Shuter, B., &Wang, S. C. (2009). Superparamagnetic Hyperbranched Polyglycerol-Grafted Fe₃O₄ Nanoparticles as a Novel Magnetic Resonance Imaging Contrast Agent: An In Vitro Assessment. *Advanced Functional Materials*, 19(16), 2615-2622.
11. Majeed, M. I., Lu, Q., Yan, W., Li, Z., Hussain, I., Tahir, M. N., ... &Tan, B. (2013). Highly water-soluble magnetic iron oxide (Fe₃O₄) nanoparticles for drug delivery: enhanced in vitro therapeutic efficacy of doxorubicin and MION conjugates. *Journal of Materials Chemistry B*, 1(22), 2874-2884.
12. Fahmi, M. Z., Chen, J. K., Huang, C. C., Ling, Y. C., &Chang, J. Y. (2015). Phenylboronic acid-modified magnetic nanoparticles as a platform for carbon dot conjugation and doxorubicin delivery.

Journal of Materials Chemistry B, 3(27), 5532-5543.

13. Cai, H., Li, K., Li, J., Wen, S., Chen, Q., Shen, M., ... & Shi, X. (2015). Dendrimer-Assisted Formation of Fe₃O₄/Au Nanocomposite Particles for Targeted Dual Mode CT/MR Imaging of Tumors. *Small*, 11(35), 4584-4593.
14. Lentka, Ł., Kotarski, M., Smulko, J., Cindemir, U., Topalian, Z., Granqvist, C. G., ... & Ionescu, R. (2016). Fluctuation-enhanced sensing with organically functionalized gold nanoparticle gas sensors targeting biomedical applications. *Talanta*, 160, 9-14.
15. Dey, S., Sherly, M. C. D., Rekha, M. R., & Sreenivasan, K. (2016). Alginate stabilized gold nanoparticle as multidrug carrier: Evaluation of cellular interactions and hemolytic potential. *Carbohydrate polymers*, 136, 71-80.
16. Bhuvana, M., & Dharuman, V. (2016). Influence of alkane chain lengths and head groups on tethering of liposome-gold nanoparticle on gold surface for electrochemical DNA sensing and gene delivery. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 223, 157-165.
17. Li, R. D., Yin, B. C., & Ye, B. C. (2016). Ultrasensitive, colorimetric detection of microRNAs based on isothermal exponential amplification reaction-assisted gold nanoparticle amplification. *Biosensors and Bioelectronics*, 86, 1011-1016.
18. Alele, N., Streubel, R., Gamrad, L., Barcikowski, S., & Ulbricht, M. (2016). Ultrafiltration membrane-based purification of bioconjugated gold nanoparticle dispersions. *Separation and Purification*

Technology, 157, 120-130.

19. Chamorro-Garcia, A., dela Escosura-Muñiz, A., Espinosa-Castañeda, M., Rodriguez-Hernandez, C. J., de Torres, C., &Merkoçi, A. (2016). Detection of parathyroid hormone-like hormone in cancer cell cultures by gold nanoparticle-based lateral flow immunoassays. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 12(1), 53-61.
20. Mandl, A., Filbrun, S. L., &Driskell, J. D. (2016). Asymmetrically Functionalized Antibody-Gold Nanoparticle Conjugates to Form Stable Antigen-Assembled Dimers. *Bioconjugate Chemistry*.
21. Scott, A. W., Garimella, V., Calabrese, C. M., &Mirkin, C. A. (2016). Universal Biotin-PEG-Linked Gold Nanoparticle Probes for the Simultaneous Detection of Nucleic Acids and Proteins. *Bioconjugate Chemistry*.
22. Saa, L., Grinyte, R., Sánchez-Iglesias, A., Liz-Marzán, L. M., &Pavlov, V. (2016). Blocked Enzymatic Etching of Gold Nanorods: Application to Colorimetric Detection of Acetylcholinesterase Activity and Its Inhibitors. *ACS applied materials &interfaces*, 8(17), 11139-11146.
23. Pandey, P. C., Pandey, G., &Narayan, R. J. (2016). Controlled synthesis of polyethylenimine coated gold nanoparticles: Application in glutathione sensing and nucleotide delivery. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*.
24. Song, J., Kim, J., Hwang, S., Jeon, M., Jeong, S., Kim, C., &Kim, S. (2016). "Smart" gold nanoparticles for photoacoustic

- imaging: an imaging contrast agent responsive to the cancer microenvironment and signal amplification via pH-induced aggregation. *Chemical Communications*, 52(53), 8287-8290.
25. Nam, J., Won, N., Jin, H., Chung, H., & Kim, S. (2009). pH-induced aggregation of gold nanoparticles for photothermal cancer therapy. *Journal of the American Chemical Society*, 131(38), 13639-13645.
26. Kim, J. Y., Choi, W. I., Kim, Y. H., & Tae, G. (2013). Brain-targeted delivery of protein using chitosan-and RVG peptide-conjugated, pluronic-based nano-carrier. *Biomaterials*, 34(4), 1170-1178.
27. Xiong, X. Y., Guo, L., Gong, Y. C., Li, Z. L., Li, Y. P., Liu, Z. Y., & Zhou, M. (2012). In vitro & in vivo targeting behaviors of biotinylated pluronic F127/poly (lactic acid) nanoparticles through biotin-avidin interaction. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 46(5), 537-544.
28. Petrov, P., Bozukov, M., & Tsvetanov, C. B. (2005). Innovative approach for stabilizing poly (ethylene oxide)-b-poly (propylene oxide)-b-poly (ethylene oxide) micelles by forming nano-sized networks in the micelle. *Journal of Materials Chemistry*, 15(14), 1481-1486.
29. Lee, Y., Chung, H. J., Yeo, S., Ahn, C. H., Lee, H., Messersmith, P. B., & Park, T. G. (2010). Thermo-sensitive, injectable, and tissue adhesive sol-gel transition hyaluronic acid/pluronic composite hydrogels prepared from bio-inspired

- catechol-thiol reaction. *Soft Matter*, 6(5), 977-983.
30. Akiyama, Y., Shikagawa, H., Kanayama, N., Takarada, T., &Maeda, M. (2015). Modulation of Interparticle Distance in Discrete Gold Nanoparticle Dimers and Trimers by DNA Single-Base Pairing. *Small*, 11(26), 3153-3161.
 31. Wongwailikhit, K., &Horwongsakul, S. (2011). The preparation of iron (III) oxide nanoparticles using W/O microemulsion. *Materials Letters*, 65(17), 2820-2822.
 32. Han, L. H., Liu, H., &Wei, Y. (2011). In situ synthesis of hematite nanoparticles using a low-temperature microemulsion method. *Powder Technology*, 207(1), 42-46.
 33. Xu, H., Zeiger, B. W., &Suslick, K. S. (2013). Sonochemical synthesis of nanomaterials. *Chemical Society Reviews*, 42(7), 2555-2567.
 34. Matshaya, T. J., Lanterna, A. E., Granados, A. M., Krause, R. W., Maggio, B., &Vico, R. V. (2014). Distinctive interactions of oleic acid covered magnetic nanoparticles with saturated and unsaturated phospholipids in langmuir monolayers. *Langmuir*, 30(20), 5888-5896.
 35. Li, Z. L., Xiong, X. Y., Li, Y. P., Gong, Y. C., Gui, X. X., Ou-Yang, X., ... &Xie, J. L. (2010). Synthesis and self-assembling behaviors of biotinylated pluronic/poly (lactic acid) biocompatible block copolymers in aqueous solutions. *Journal of applied polymer science*, 115(3), 1573-1580.
 36. Sharma, J., Chhabra, R., Andersen, C. S., Gothelf, K. V., Yan,

- H., &Liu, Y. (2008). Toward reliable gold nanoparticle patterning on self-assembled DNA nanoscaffold. *Journal of the American Chemical Society*, *130*(25), 7820-7821.
37. Taylor, R. W., Esteban, R., Mahajan, S., Aizpurua, J., &Baumberg, J. J. (2016). Optimizing SERS from Gold Nanoparticle Clusters: Addressing the Near Field by an Embedded Chain Plasmon Model. *The Journal of Physical Chemistry C*, *120*(19), 10512-10522.
38. Wei, H., Rodriguez, K., Renneckar, S., Leng, W., &Vikesland, P. J. (2016). Correction: Preparation and evaluation of nanocellulose –gold nanoparticle nanocomposites for SERS applications. *Analyst*, *141*(6), 2072-2072.
39. Chen, Y., Bai, X., Su, L., Du, Z., Shen, A., Materny, A., &Hu, J. (2016). Combined Labelled and Label-free SERS Probes for Triplex Three-dimensional Cellular Imaging. *Scientific reports*, *6*.

감사의 글

먼저 석사 과정 동안 연구 외에도 실험실 생활 전반에 걸쳐 많은 지도를 해주신 곽민석 교수님께 깊이 감사드립니다. 석사 과정동안 학부에서 배우지 못했던 많은 지식과 경험이 제가 발전하는 계기가 되었고 석사 생활을 잘 마무리 할 수 있게 하였습니다.

또한 실험을 할 수 있도록 물질을 제공해 주신 고려대 임동권 교수님과 분석에 도움을 주신 고분자 공학과 유성일 교수님, 충남대 이은지 교수님께 감사드립니다. 바쁜 시간에도 심사에 도움을 주시고 지도해 주신 유성일 교수님, 박선주 교수님께도 다시 한 번 감사의 말을 전하고 싶습니다. 그리고 수업을 통해 많은 가르침을 주신 교수님들과 아쉽게 수업은 듣지 못했지만 직간접적으로 도움을 주신 화학과 교수님들께도 감사드립니다.

처음 경험하는 실험실 생활에 많은 도움을 주고 의지가 되었던 박해인 언니와 인도네시아 친구였던 Listiana와 Andry, 함께 연구를 시작하여 마지막까지 함께 한 동기 황주영과 동생들 강민경, 김해주, 김소영에게 특히 고마움을 전합니다. 함께 했던 기간이 오래도록 기억에 남을 것 같습니다.

끝으로 늘 저의 든든한 버팀목이 되어주는 사랑하는 가족들에게 감사하다는 말을 전합니다.

2017. 01. 23

김미진