

AFe₂O₄(A=Mn, Fe, Co) 나노 입자의 물성 및 생체적합성 연구

안현호¹, 문지현², 이경태¹, 김태형¹, 노현정¹, 권호찬¹, 이남섭², 김성백^{1*}

¹건양대학교 의료신소재학과

²건양대학교 의과대학

The magnetic properties and biocompatibility study of AFe₂O₄(A=Mn, Fe, Co) nanoparticle

Hyun Ho AN¹, Gyung Tae LEE¹, Ji Hyun MOON², Tae Hyung KIM¹, Hyun-Jeong NOH¹, Ho Chan KWON¹,

Nam Seob LEE², Sung Beak KIM^{1*}

¹Department of Biomedical materials, Konyang University, Korea

²Department of Anatomy, College of Medicine, Konyang University, Korea

*physics@konyang.ac.kr

Abstract

Magnetic nanoparticles (MNPs) are very useful, especially for biomedical applications. We synthesized AFe₂O₄(A=Mn, Fe, Co) MNPs using the process High-temperature thermal decomposition (HTTD) method. Samples are characterized by X-ray diffraction, vibrating sample magnetometer, and Mössbauer spectroscopy to analyze the physical and magnetic properties of synthesized AFe₂O₄(A=Mn, Fe, Co) MNPs. In addition, an LDH assay was performed to examine the biocompatibility of the synthesized MNPs. Fe₃O₄ and CoFe₂O₄ MNPs are non-toxic. MnFe₂O₄ MNPs were encapsulated with a biocompatible material (PLLA-PVA) to prevent their toxicity.

1. 연구 배경

2020년 기준, 대한민국 사망 원인을 암이 차지하고 있다. 암에 의한 사망감소와 환자의 고통을 경감시키기 위한 연구가 계속되고 있다. 암 치료 방법 중 온열치료법(Hyperthermia)은 암 조직을 39~42 °C 정도로 가열하여 암세포를 괴사시키는 치료 방법이다[1]. 암 조직과 같은 종양조직은 특유의 복잡한 맥관구조를 가지고 있어, 정상 조직에 비해 열에 민감하여 가열되면 혈액순환이 저하되어 조직 내부가 산성화, 저산소화, 영양부족 상태로 변환되며, 이러한 맥관구조는 정상조직보다 열을 적게 발산하므로 온열치료에 의해 더 많은 손상을 입게 된다.

이러한 온열치료법은 환자에게 부담이 적어 새로운 치료법으로써 주목을 받고 있다. 온열치료에 사용되는 체내 발열체로는 자성 나노 입자를 발열체로 하는 자성유체가 항암 온열치료법에 적당한 방법이라고 생각된다[2].

이러한 온열치료에 사용되는 자성 나노 입자는 적절한 크기를 가져야 하며, 적절한 포화자화, 낮은 보자력을 가져야 한다.

이러한 자성 나노 입자는 체내에서 이동하며 혈관을 막거나, 조직에 피해를 주지 않아야 하므로 조직 내 세포간 공간(약 20~30nm)보다 작은 구형의 형태를 가지는 것이 바람직할 것이다. 또한, 인가 자기장이 인체에 영향을 주지 않는 선에서 온열치료에 적절한 온도에 도달해야 하므로 적절한 포화자화를 가져야 할 것이며, 인가 자기장이 제거되었을 때 서로 뭉치지 않고 흩어져야 하므로 작은 보자력을 가져야 할 것이다.

발열체로서 산화철은 타 금속에 비해 낮은 자화값과 Curie 온도를 가지므로 인체 사용에 적합한 것으로 알려져 있다. 하지만 최근에는 Fe₃O₄가 대사에 관여하는 약산성 환경에서 쉽게 산화되어 상자성체인 α-Fe₂O₃로 되어 자성을 상실하는 경우가 종종 관찰된다. 그래서 Fe₃O₄보다 안정하면서 자성을 갖는 γ-Fe₂O₃ 나노 입자의 이용이 주목을 받고 있다. 이를 약물형태로 주사하고, 주사된 약물을 자기장을 환부에 집중시켜 자성입자를 환부에 이동시키거나, 코팅된 약물에 의해 혈액을 따라 체내를 돌다가 환부에 고정, 자기장을 인

가하여 온열치료를 시행하는 방법도 있다. 약물 주입 방법에는 주로 자성유체가 이용되며, 자성유체를 이용하는 온열치료는 magnetic fluid hyperthermia(MFH)라고 하여 많은 연구가 진행 중이다[3].

따라서, 본 연구에서는 높은 포화자화 및 자화율 값을 나타내는 초상자성 나노 입자 물질질을 탐색하고, 의학 및 생명공학 분야 응용에 가장 적합한 최적 조성의 물질을 찾아내고 이들 물질의 물리적 특성을 연구하고자 한다.

2. 연구 방법

Fe(III) acac, Mn(II), acac Co(II) acac를 시작 물질로, Benzyl ether, Oleic acid, Oleylamine을 용매로 사용하여 AFe₂O₄(A=Mn, Fe, Co) 나노 입자를 고온열분해법(HTTD, High Temperature Thermal Decomposition)으로 제조하였다[4]. Fe(III) acac 0.2mmol, A(II) acac(A=Mn, Co) 0.1mmol, Oleylamine 0.01 mol, Oleic acid 0.01 mol, Benzyl ether 20ml의 반응 원액을 삼구 플라스크에 넣고, 자성 회전체를 회전시켜 섞이도록 하였다. 온도 조절기를 이용하여 2.0°C/min의 온도 증가율로 200°C까지 증가시켰으며, 200°C에서 1시간 유지하였다. 그 후, 2.0°C/min의 온도 증가율로 298°C까지 증가시켰으며, 298°C에서 30분 유지하였다. 용액을 상온까지 식힌 뒤, EtOH를 첨가하여 15분간 교반한 뒤, 원심 분리(7500rpm, 15min)하여 나노 입자를 분리하였다. 분리된 나노 입자는 에탄올과 헥세인에 분산시킨 뒤, 원심 분리하는 과정을 3회 반복하여 잔여 용매를 분리 제거한 뒤, 진공에서 건조하여 AFe₂O₄(A=Mn, Fe, Co)나노 입자들을 얻었다.

제조한 나노 입자를 캡슐화하여 Core-Shell을 형성하기 위하여, PLLA(0.1g)을 DCM(10mL)에 녹인 용액과 PVA(0.2g)을 증류수(19.8g)에 녹인 용액을 제조한 나노 입자와 혼합시킨 뒤, 초음파 파쇄하여 Core-Shell을 제조하였다.

3. 연구 결과

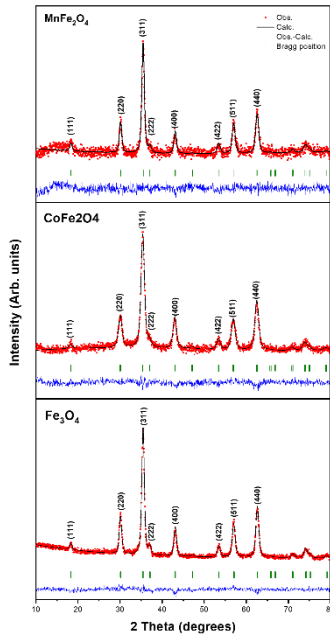


그림 1. 합성된 나노 입자의 X-ray 회절 실험 결과

제조된 페라이트 나노 입자는 물성 분석을 위한 XRD, VSM, Mössbauer 분광분석, 생체 적합성 분석을 위한 LDH assay를 시행하여 분석하였다. 구조 분석을 위한 XRD 분석 결과, 각각 격자상수 $a_0 = 8.3840\text{\AA}$ (MnFe_2O_4), $a_0 = 8.3831\text{\AA}$ (Fe_3O_4), $a_0 = 8.3960\text{\AA}$ (CoFe_2O_4)을 갖는 cubic spinel 구조임을 알 수 있었으며, Scherrer equation을 이용하여 이론적으로 계산한 나노 입자의 크기는 각각 12.75nm (MnFe_2O_4), 12.8nm (Fe_3O_4),

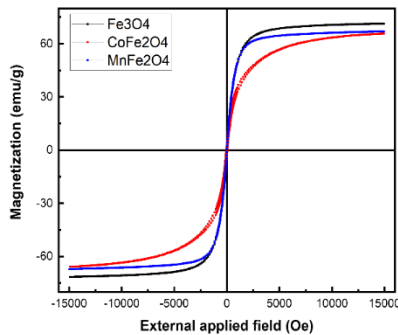


그림 2. 합성된 나노 입자의 VSM 실험 결과

9.80nm (CoFe_2O_4)이었다[4]. VSM 측정 결과, 보자력은 각각 28.49 Oe (MnFe_2O_4), 10.25 Oe (Fe_3O_4), 57.46 Oe (CoFe_2O_4)로 나타났다.

그림 2은 원자 간 초미세 상호작용 특성을 분석하기 위해 Mössbauer spectroscopy를 시행한 결과이다. Mössbauer spectroscopy 결과, MnFe_2O_4 와 CoFe_2O_4 는 전형적인 Lorentzian 6 line 2 set으로 나타났으며, A-site와 B-site의 Fe 이온가는 모두 +3가인 것으로 나타났다. Fe_3O_4 의 경우 Lorentzian 6 line 3 set으로 나타났으며, A-site는 Fe 3가 이온이, B-site에는 Fe 3가이온과 Fe 2가 이온이 2:1로 점유되어 있음을 나타내었다.

또한, 제조한 나노 입자가 체내에 투여되었을 때의 생체 적합성을 알아보기 위해 이용하여 LDH assay를 시행한 결과,

Fe_3O_4 와 CoFe_2O_4 나노 입자의 경우 약 40 mg/ml 의 농도까지 20% 미만의 세포가 사멸한 것으로 보아, 제조된 CoFe_2O_4 나노 입자는 별다른 표면 처리 없이 체내 적용이 가능할 것으로 예상되나, MnFe_2O_4 의 경우에는 세포 독성이 나타나 추가적 처리가 필요할 것으로 생각된다. 따라서 생체적합성 물질인 PVA를 이용하여 Core-Shell을 제조하였다. 제조한 Core-Shell 형태의 MnFe_2O_4 나노 입자의 크기는 약 34.84nm 으로 측정되었다.

제조한 자성 나노 입자들은 적절한 포화 자화값과 낮은 잔류 자화, 높은 생체 적합성을 가지므로, 온열 치료용으로서의 용도만이 아닌, 암세포나 종양 등 병변부위 진단을 위한 MRI 조영제, 체내 약물 전달용으로서의 DDS(Drug delivery system), 세포의 분리, 유전자 클로닝, 바이오센서 등 의료 분야에서 여러 방면으로의 활용이 가능할 것으로 생각된다[5].

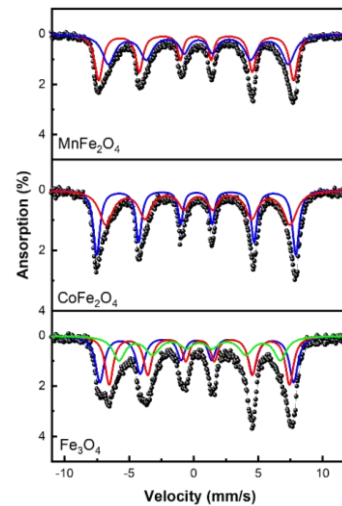


그림 3. 제조한 나노 입자의 Mössbauer spectroscopy 시행 결과

또한, 추가적으로 생체물질(탄수화물, 폴리머, 지질, 단백질 등)으로 표면을 개질하여 DNA나 단백질, 펩타이드를 분리하거나 정제하는 데 효과적으로 이용할 수 있을 것으로 전망된다.

4. 참고 문헌

- [1] Paulina K. Wrzal and Diana A. Averill-Bates, "Hyperthermia: Cancer Treatment and Beyond", (2013).
- [2] Zhaleh Behrouzki, Zahra Joveini, Behnaz Keshavarzi, Nazila Eyvazzadeh, and Reza Zohdi Aghdam, "Hyperthermia: How Can It Be Used?"
- [3] Das, Pradip, Miriam Colombo, and Davide Prosperi. "Recent advances in magnetic fluid hyperthermia for cancer therapy." Colloids and Surfaces B: Biointerfaces 174 (2019): 42-55.
- [4] Sun, S., Zeng, H., Robinson, D. B., Raoux, S., Rice, P. M., Wang, S. X., & Li, G. (2004). Monodisperse MFe_2O_4 ($\text{M} = \text{Fe}, \text{Co}, \text{Mn}$) Nanoparticles. Journal of the American Chemical Society, 126(1), 273–279.
- [5] Patterson, A. L. "The Scherrer formula for X-ray particle size determination." Physical review 56.10 (1939): 978.
- [6] Amiri, S., and H. Shokrollahi. "The role of cobalt ferrite magnetic nanoparticles in medical science." Materials Science and Engineering: C 33.1 (2013): 1-8.