

## 광감제가 코팅된 자성유체의 제조와 광역학 치료용 장치의 구성

권순광 · 김종오 · 김중희\*†

충남대학교 공과대학 재료공학과

\*고기능성자성재료연구센터

### Preparation of Photosensitizer-Coated Ferrofluids and Fabrication of a Device for Photodynamic Therapy

S.K. Kwon, C.O. Kim and J.H. Kim\*†

Division of Materials Engineering, Chungnam National University

\*Research Center for Advanced Magnetic Materials

(2002년 2월 8일 받음, 2002년 3월 14일 최종수정본 받음)

**Abstract** For the purpose of annihilating tumor in body, hematoporphyrin as a photosensitizer was coated onto magnetic particles of  $Fe_3O_4$ , prepared by coprecipitation which could be concentrated around the tumor by magnetic field. The photosensitizer was applied differently before, during and after adsorbing the 1st surfactant on the particles. Its added amount was  $5 \times 10^{-4}$  mol, and the coating reaction proceeded at temperatures of 60, 70 and 80°C. The amounts of photosensitizer coated on the magnetic particles were obtained by calculating an optical density with the maximum UV spectrum. As a result of the UV analysis, the coating amount of photosensitizer increased with higher reaction temperatures. When applied at 80°C after adsorbing the 1st surfactant, the photosensitizer was coated with a maximum value of  $3.8 \times 10^{-3}$  mol/ℓ. The TGA analysis revealed that the ferrofluids included the particles of 30.115 g/ℓ. It was suggested that the magnetite particles was coated with photosensitizer of  $1.26 \times 10^{-4}$  mol/g. A small-sized device for magnetic field and light emission was designed, in which LED sheets covered the permanent magnet of Nd-Fe-B. The LED sheet was connected in series circuit and also protected with a silicon tube. The power was supplied with rechargeable battery of 9V and 100-120mA.

**Key words** : ferrofluid, photosensitizer, surfactant, magnetic particle, photodynamic therapy

### 1. 서 론

photosensitizer를 사용하는 광역학 요법 (photodynamic therapy : PDT)<sup>1,2)</sup>은 일반 항암제와는 달리 특정 파장대의 빛을 받아 암 또는 악성종양을 치료하는 방법이다. 정맥에 주사된 photosensitizer는 정상조직보다 비정상조직에 더 많이 축적되어 특정한 파장의 빛과 반응함으로써 singlet oxygen을 생성하기 때문에 정상조직의 파괴를 최소화시킬 수 있다.<sup>3,4)</sup> 그러나 현재의 PDT 시스템은 photosensitizer를 환부내에 고착시켜 주는 기구적 장치가 없어 일단 인체내에 흡수된 photosensitizer도 혈류나 액체성분에 의해서 내부의 정상조직으로 들어가 생체세포를 파괴시킬 수 있을 뿐만 아니라 또한 종양제거를 위해서는 과다한 량의 photosensitizer가 필요하다. 이러한 단점을 보완하고 PDT의 효율적인 활용을 위하여 본 연구에서는 Fig. 1과 같이 자성미립자의 표면에 photosensitizer를 coating한 후 환부 내부에서 자기장과 빛을 함께 공급하여 자기장에 의해 환부에 집중된 자성미립자를 빛에너지로서 photosensitizer를 활성화시킴으로써 단지 적정량의 약제만으로 거의 100%

에 가까운 효율을 가질 수 있는 system을 고안하였다. 제조된 magnetite는 나노 크기의 강자성 미립자로서 각 입자는 single domain의 형태를 가지며 상온에서 잔류자화와 보자력이 없는 초상자성<sup>5)</sup>의 특성을 나타낸다. 이러한 magnetite를 액상에 분산시킨 자성유체는 가동부 회전체의 sealing<sup>6)</sup>, 스피커의 댐핑<sup>7)</sup>, 자성잉크<sup>8)</sup>, 발전기의 열교환기<sup>9)</sup>, 운환제<sup>10)</sup>, 자기센서<sup>11)</sup>와 자기광학효과<sup>12)</sup>, 초음파에 의한 비파괴검사<sup>13)</sup>, 의료용 기기 등에 사용되고 있다.

photosensitizer가 coating된 자성미립자를 물에 안정하게 분산시켜 중력장이나 자기장 하에서도 고·액의 분리가 일어나지 않는 자성유체<sup>14)</sup>를 제조함으로써 외관상 강자성 처럼 거동하도록 하였으며<sup>15)</sup>, photosensitizer의 최적 coating조건을 선정하기 위하여 photosensitizer의 도입시기와 온도에 따라 부착량이 어떻게 변화하는지를 조사하였다. photosensitizer로는 PDT용으로 현재 널리 사용되고 있는 hematoporphyrin을 선택하였다.

### 2. 실험 방법

magnetite의 미립자 제조를 위해 iron(II) chloride

† E-mail: sjh@cnu.ac.kr

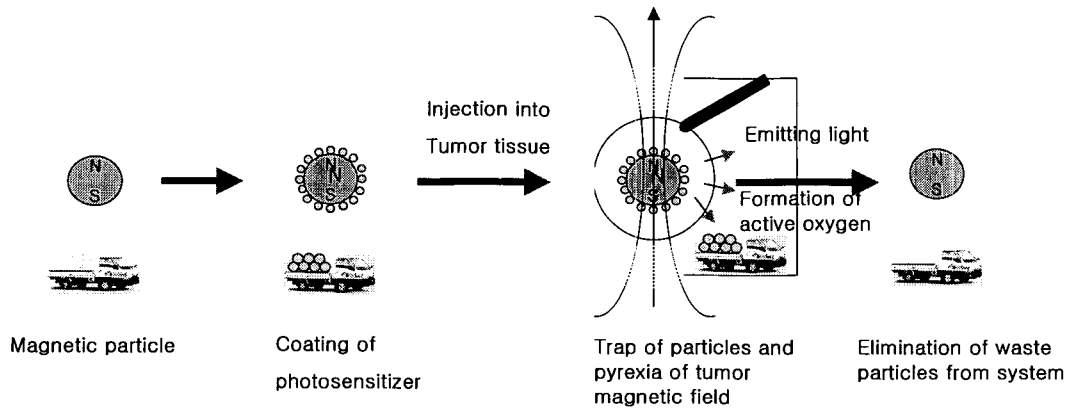


Fig. 1. Schematic diagram of PDT with photosensitizer-coated ferrofluids.

tetrahydrate (99% pure,  $FeCl_2 \cdot 4H_2O$ ) 및 iron(III) chloride hexahydrate (97% pure,  $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ )와 중화제인 암모니아수 ( $NH_4OH$ )를 사용하여 공침시켰으며, 이어서 1차 계면활성제인 decanoic acid를 과량으로 첨가하였다. 이 침전물로부터 decanoic acid와 전해질을 분리하기 위해 pH 3.5인 산성수용액이 첨가되었다.

$Fe_3O_4$  2g은  $FeCl_2 \cdot 4H_2O$  1.72g과  $FeCl_3 \cdot 6H_2O$  4.7g을 증류수 80ml에 용해하여 ( $Fe^{2+}:Fe^{3+}=1:2$ ) 삼구플라스크에 주입한 후, 80°C까지 온도를 증가시키면서 300회/min의 속도로 교반하고  $NH_4OH$ 를 첨가함으로써 얻어질 수 있었다.

hematoporphyrin은  $2 \times 10^{-4}$ ,  $5 \times 10^{-4}$  및  $1 \times 10^{-3}$ mol로 구분하여 첨가하고, 그 결과로부터 적정 첨가량이 판단되었다. hematoporphyrin 도입시기에 따른 실험은 1차 계면활성제의 적용시점을 기준으로 하여 전 (before), 중 (during) 및 후 (after)로 구분하여 행하였으며, 모든 실험 조건에서 magnetite 미립자의 응집을 방지하기 위하여 소량의 decanoic acid를 아세톤에 용해시켜  $NH_4OH$  첨가에 앞서 미리 넣어주었다. coating 온도에 따른 실험에 있어서는 magnetite 침전물에 hematoporphyrin을 60, 70 및 80°C에서 각각 45, 40 및 30min동안 유지시켜 교반하였다.

### 3. 결과 및 고찰

#### 3.1. Photosensitizer의 적정 첨가량

자성유체에 첨가되는 photosensitizer의 양에 따라 자성 미립자에 부착되는 정도를 측정하기 위하여  $2 \times 10^{-4}$ ,  $5 \times 10^{-4}$  및  $1 \times 10^{-3}$ mol의 hematoporphyrin을 투입하여 coating 반응을 관찰하였다. Fig. 2는 80°C에서 1차 계면활성제와 동시에 hematoporphyrin을 첨가하여 교반을 실시한 후 UV-spectrometer로 측정된 결과이다. hematoporphyrin의 첨가량이  $2 \times 10^{-4}$ 에서  $5 \times 10^{-4}$ mol로 증가된 경우에는 부착량이 두배 이상 크게 증가하였으나,  $5 \times 10^{-4}$ 에서  $1 \times 10^{-3}$ mol로 증가한 경우에는 단지 10% 정도만 증가하였다. 이 현상은  $5 \times 10^{-4}$ mol을 첨가할 경우 hematoporphyrin이

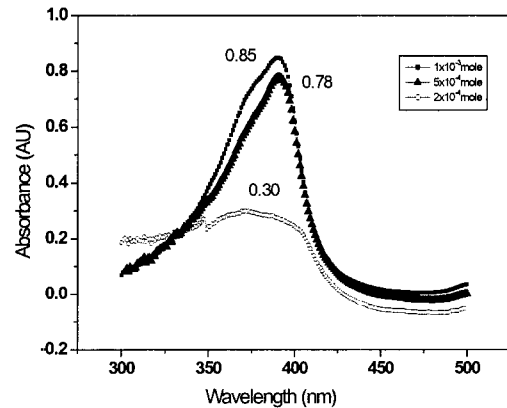


Fig. 2. UV-spectra of ferrofluids for finding an optimum dosage of hematoporphyrin.

과잉으로 공급되기 때문에 magnetite 미립자에 미처 부착되지 못하고 용액 중에 분산상태로 존재함으로써 수세과정에서 제거된 것으로 판단된다.

#### 3.2. Photosensitizer의 미립자 코팅량

자성유체의 미립자에 부착된 hematoporphyrin의 양은 UV-spectrometer를 사용해서 분석한 흡광도 (optical density)를 가지고 산출하였다. optical density는 hematoporphyrin 첨가량의 몰농도, 몰흡수계수 및 측정시편의 두께에 직접적으로 비례한다. 여기서는 1cm의 단위두께를 가진 시편 holder를 사용하였다. 정확한 몰흡수계수를 구하기 위해 hematoporphyrin  $2.5 \times 10^{-5}$ ,  $5 \times 10^{-5}$  및  $7.5 \times 10^{-5}$ mol을 base 물질인 자성유체 5ml에 혼합한 후 증류수로 100배 희석하여 흡광도를 측정하였다. Fig. 3은 첨가된 hematoporphyrin의 양을 UV-spectrometer로부터 측정된 결과이며, 이로부터 몰흡수계수를 계산하여  $2.6 \times 10^4$ 이라는 평균값을 얻을 수가 있었다.

자성유체 미립자에 대한 hematoporphyrin의 최적 부착 조건을 판단하기 위해서  $5 \times 10^{-4}$ mol의 첨가량을 가지고 실험을 실시하였으며, Fig. 4는 hematoporphyrin의 도입시기에 따른 부착량의 변화를 60, 70 및 80°C의 온도에서 관찰한 결과를 보여주고 있다. hematoporphyrin의 코팅량

Table 1. Molar concentration(mol/ ℓ ) of hematoporphyrin coated on magnetic particles with addition of  $5 \times 10^{-4}$  mol at different conditions

Coating temp.(°C)	Application time		
	before 1st surfactant	during 1st surfactant	after 1st surfactant
60	$1.146 \times 10^{-3}$	$1.584 \times 10^{-3}$	$3.177 \times 10^{-3}$
70	$1.892 \times 10^{-3}$	$2.461 \times 10^{-3}$	$3.680 \times 10^{-3}$
80	$3.023 \times 10^{-3}$	$3.369 \times 10^{-3}$	$3.800 \times 10^{-3}$

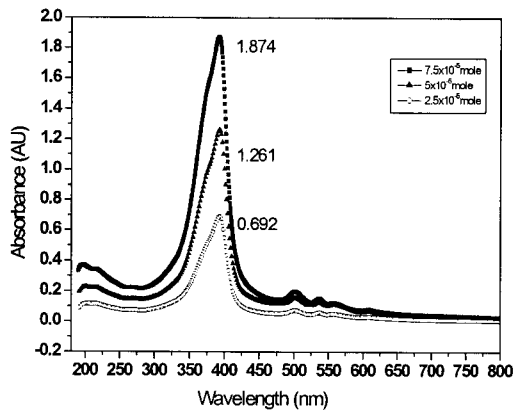
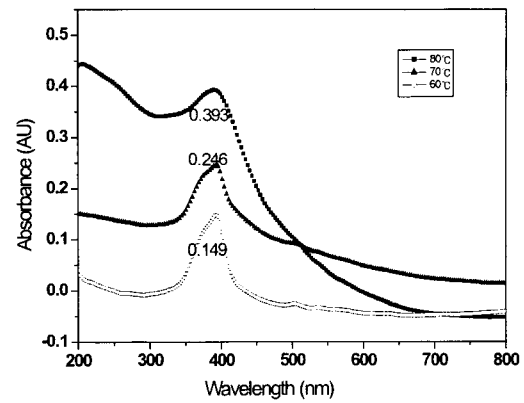


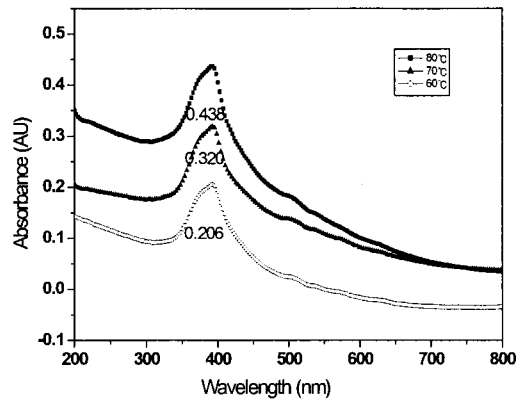
Fig. 3. UV-spectra of ferrofluids for obtaining absorption coefficient of hematoporphyrin.

은 1차 계면활성제에 대한 적용시기에 관계없이 80°C, 70°C, 60°C의 순으로 감소하였고, 이것은 온도가 높을수록 hematoporphyrin 분자의 부착률이 증가함을 의미한다. Table 1에서 hematoporphyrin의 도입시기 및 반응온도에 따른 UV-absorbance로부터 몰흡수계수를 통하여 코팅량을 계산한 값을 몰농도 (mol/ ℓ)로 정리하였다. 그 결과로부터 photosensitizer는 1차 계면활성제의 흡착 후와 더 높은 온도에서 부착이 잘되는 것을 알 수 있다. 따라서 magnetite의 입자표면에 1차 계면활성제가 흡착된 후 photosensitizer를 coating하고 그리고 2차 계면활성제를 흡착시키는 것이 가장 효과적이며, 그 이유는 1, 2차 계면활성제가 그 가운데에 부착된 photosensitizer를 고착하기 때문이라고 생각된다. 또한 1차 계면활성제의 흡착 후  $5 \times 10^{-4}$  mol의 hematoporphyrin을 첨가시킨 자성유체는 최종공정에서 60cc가 생성됨을 감안할 경우에 80°C의 반응온도에서  $3.8 \times 10^{-3}$  mol/ ℓ의 농도를 가지고 부착하게 된다.

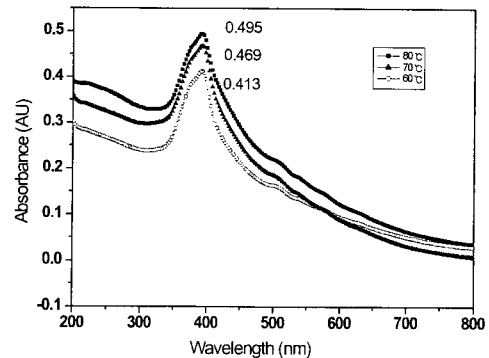
Fig. 5는 hematoporphyrin이 가장 많이 부착되는 1차 계면활성제의 흡착 후 80°C에서 photosensitizer를 coating한 자성유체를 TGA로 분석한 중량감소 곡선을 보여준다. 처음 34.633mg의 용액은 100°C까지 H<sub>2</sub>O의 증발로 많은 감소량을 나타내고, 170°C까지 입자 내부에 존재하는 잔류수증기가 제거되면서 지속적으로 감소하고 있다. 그 이후에는 극히 미량으로 감소하여 600°C 부근에서 최종적으로 1.043mg이 남게 되는데, 이것은 유기물인 계면활성제와 hematoporphyrin이 모두 증발한 순수 무기물인 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>로 판단된다. 그러므로 자성유체 34.633mg에 함유된 magnetite



(a)



(b)



(c)

Fig. 4. UV-spectra of ferrofluids coated on magnetic particles with addition of hematoporphyrin  $5 \times 10^{-4}$  mol (a) before, (b) during and (c) after adsorption of 1st surfactant.

의 양은 1.043mg으로, 비례식을 통해 1 ℓ에는 30.115g을 포함하고, photosensitizer의 부착률이  $3.8 \times 10^{-3}$  mol/ ℓ에 있어서는 magnetite 미립자 1g 당  $1.26 \times 10^{-4}$  mol의 hematoporphyrin이 coating되어 있다.

### 3.3. PDT 장치

PDT 장치는 자성유체를 환부내에 고정하기 위하여 자기장을 발생시키는 자석부분, photosensitizer를 활성화하기

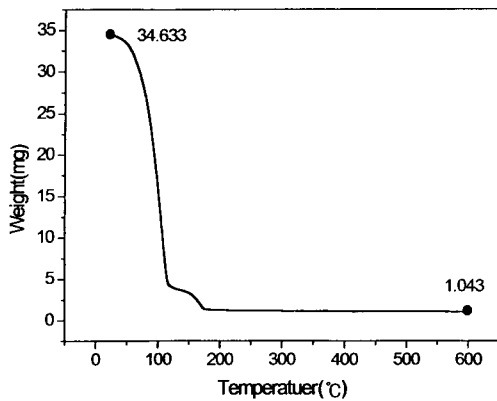


Fig. 5. TGA curve of ferrofluid coated on magnetic particles with addition of hematoporphyrin  $5 \times 10^{-4}$  mol at  $80^\circ\text{C}$  after adsorption of 1st surfactant.

위해 빛에너지를 공급하는 LED 그리고 장치를 작동시키는 power supply로 구성되어 있다.

자성재료로는 alnico보다 5~10배의 강한 자기장을 보유한 Nd-Fe-B를 사용함으로써 전자석에 비해 power supply의 부피를 크게 감소시킬 수 있었으며, 종양부위의 크기에 따라 ball, ring 등의 형태 변경이 가능하였다. LED는 640nm의 직렬회로로 구성되어 laser에 비해 경제적으로 저렴하고 더욱 적은 에너지가 소모되므로 소형으로 제작할 수 있어 치료 중에도 운반하기가 쉽다. 또한 전원은 9V 및 100-120mA의 충전기를 적용할 수 있다.

Fig. 6과 같이 자석과 LED는 probe 형태로 단일화되어 있으며, 그 probe의 크기는 L22×W 10×H6mm로 빛의 투과성이 양호할 뿐만 아니라, 인체에 무해하고 응혈방지가 가능하도록 불활성의 생체친화적 물질인 실리콘 또는 테프론™으로 얇게 감싸져 있다.

#### 4. 결 론

PDT 개발을 위하여 공침법으로 제조된 magnetite 미립자로부터 친수성 자성유체를 제조하였다. hematoporphyrin의 coating은 도입시기와 반응온도를 변수로 하여 실시

되었으며, 이때 얻어진 자성유체는 UV-spectrometer와 TGA로 측정함으로써 다음과 같은 결론을 얻었다.

1) magnetite 2g을 hematoporphyrin으로 coating하기 위한 적정량은  $5 \times 10^{-4}$  mol이며, 이보다 적은 양에서는 부착량도 비례적으로 감소하고, 많을 경우에 과잉의 hematoporphyrin은 coating되지 못하고 용액중에 부유된다.

2) hematoporphyrin 도입은 1차 계면활성제의 흡착 후가 효과적이고 반응온도가 높을수록 부착량은 증가하며, 이 경우  $3.8 \times 10^{-3}$  mol/l의 coating 형성이 가능하다.

3) 자성유체 1 l에 magnetite 미립자는 30.115g이 포함되었으며, 자성유체 1 l 당 hematoporphyrin이  $3.8 \times 10^{-3}$  mol이 부착되어 있는 것을 고려하면 magnetite 1g의 입자 표면에  $1.26 \times 10^{-4}$  mol의 hematoporphyrin이 coating된다.

#### 감사의 글

PDT장치를 제작하여 주신 성광반도체의 정화춘 사장님께 감사드립니다. 이 연구는 한국과학재단이 우수연구센터로 지정한 충남대학교 고기능성자성재료연구센터의 지원에 의하여 수행되었습니다.

#### 참 고 문 헌

1. Raphaela M. Waidelech, Proceedings of the Laser Florence '99-A Window on the Laser Medicine World, 134-137 (1999).
2. Alfreda Graczyk, Mirosław Kwasny, Zygrnunt Mierczyk, Proceedings of SPIE Laser Technology VI: Applications, 52-60 (1999).
3. Anne C.E. Moor, Michael Hmblin, Kelly Molpus, Linda R. Duska, Imran Rizvi, Tayyaba Hasan, Progress in Biomedical Optics-Optical Methods for Tumor Treatment and Detection: Mechanisms and Techniques in Photodynamic Therapy IX, 30-33 (2000).
4. A.A. Stratonnikov, G.A. Meerovich, V.B. Loschenov,

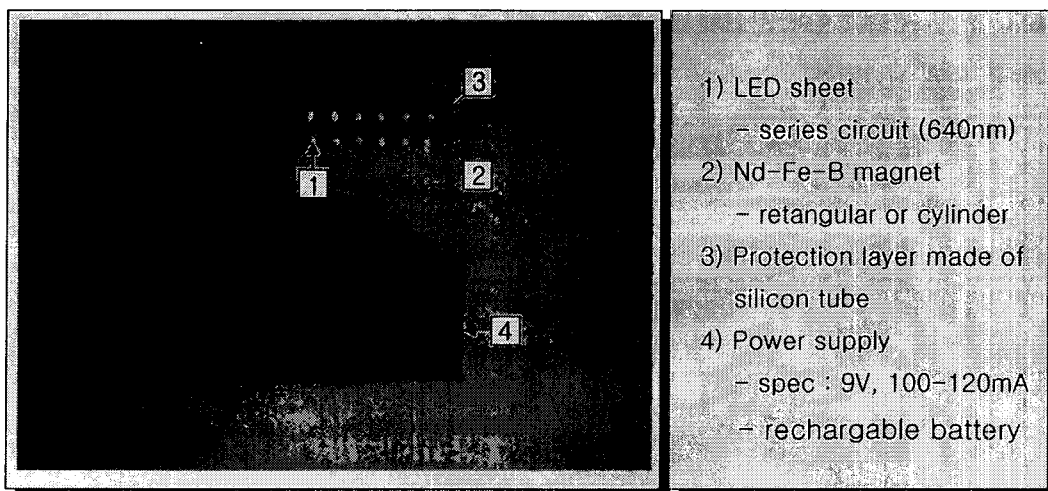


Fig. 6. A small-sized PDT device designed for test.

- Optical Methods for Tumor Treatment and Detection : Mechanisms and Techniques in Photodynamic Therapy IX, 81-91 (2000).
5. B.D. Cullity, Introduction to Magnetic Materials, pp.410-422, Addison-Wesley Publishing Company, (1972).
  6. H. Goldowky, IEEE Trans. Magn. Mag-16, 382 (1980).
  7. 이효숙, 유제광, J. of The Korean Magnetic Society, 8 (2), (1998).
  8. C.J. Sambucetti, IEEE Trans. Magn. Mag-16, 364-367 (1980).
  9. E.L. Resler Jr., R. E. Rosensweig, J. Engin Power, 399 (1967).
  10. 伊藤博幸, 工業材料, 29 (9), 85 (1981).
  11. Y. Kouzaki, K. Yamasawa and Nakamura, J. Mag. Mag Mat., 65, 393 (1987).
  12. S. Taketomi, JPN. J. Appl. Phys. 22, 1137 (1983).
  13. D.Y. Chung, J. Mag. Mag. Mat., 65, 369 (1987).
  14. R.E. Rosensweig, Ferro hydrodynamics, Cambridge University Press, Cambridge, (1985).
  15. M.B. Bever, Encyclopedia of Materials : Science and Engineering, p.2677, MIT press, 4, (1986).