



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2022-0113161
(43) 공개일자 2022년08월12일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61N 1/05 (2006.01) A61L 27/44 (2006.01)
A61L 27/56 (2006.01) A61L 27/58 (2006.01)

(52) CPC특허분류

A61N 1/0551 (2013.01)
A61L 27/446 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2021-0017010

(22) 출원일자 2021년02월05일
심사청구일자 2021년02월05일

(71) 출원인

울산과학기술원

울산광역시 울주군 언양읍 유니스트길 50

(72) 발명자

김지윤

울산광역시 울주군 언양읍 유니스트길 50

최준규

울산광역시 울주군 언양읍 유니스트길 50

(74) 대리인

특허법인 무한

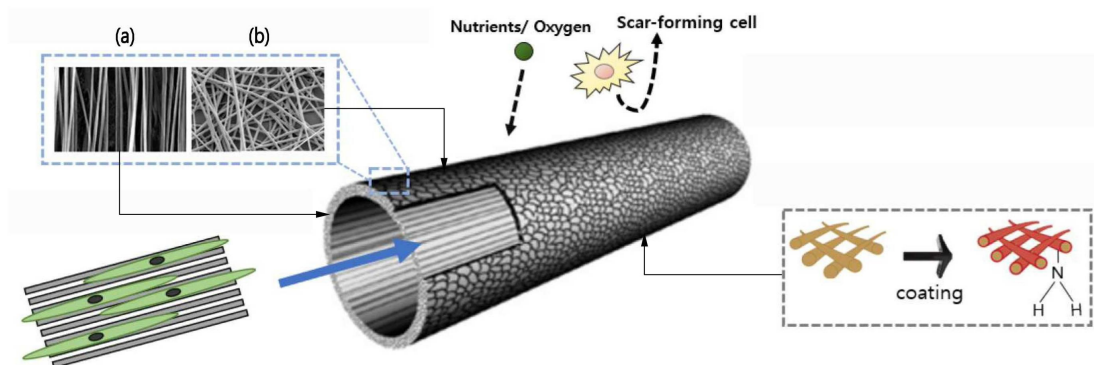
전체 청구항 수 : 총 21 항

(54) 발명의 명칭 생체 모방적 나노섬유 복합체 및 이를 포함하는 말초 신경 재생 치료를 위한 무선 전기자극 장치

(57) 요약

본 발명은, 생체 모방적 나노섬유 복합체 및 이를 포함하는 말초 신경 재생 치료를 위한 무선 전기자극 장치에 관한 것으로, 보다 구체적으로, 정렬된 나노섬유를 포함하는 제1층; 및 상기 제1층 상에 형성되고, 랜덤하게 배열된 나노섬유를 포함하는 제2층; 을 포함하고, 상기 제1층은, 상기 정렬된 나노섬유 내에 임베딩된 납-프리 MEN(Magnetoelectric nanocomposite)을 포함하는 것인, 생체 내 무선 전기자극 발생을 위한, 나노섬유 복합체, 이의 제조방법 및 이를 포함하는 무선 전기자극 장치 및 무선 전자약에 관한 것이다.

대표도



(52) CPC특허분류

A61L 27/56 (2013.01)

A61L 27/58 (2013.01)

A61N 1/36103 (2013.01)

A61L 2400/12 (2013.01)

A61L 2430/32 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1711120881
과제번호	2020R1A2C2102842
부처명	과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	개인기초연구(과기정통부)(R&D)
연구과제명	차세대 초지능형 사물플랫폼을 위한 프로그래머블 메타모픽 디바이스 개발
기 여 율	1/2
과제수행기관명	울산과학기술원
연구기간	2020.09.01 ~ 2021.08.31

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1415169725
과제번호	20012352
부처명	산업통상자원부
과제관리(전문)기관명	한국산업기술평가관리원
연구사업명	산업기술알키미스트프로젝트(R&D)
연구과제명	바이오 융합 기술 기반 면역반응 차단 이식용 신장 통합 모듈 개발
기 여 율	1/2
과제수행기관명	제주대학교산학협력단
연구기간	2020.09.01 ~ 2021.04.30

명세서

청구범위

청구항 1

정렬된 나노섬유를 포함하는 제1층; 및

상기 제1층 상에 형성되고, 랜덤하게 배열된 나노섬유를 포함하는 제2층;

을 포함하고,

상기 제1층은, 상기 정렬된 나노섬유 내에 임베딩된 납-프리 MEN(Magnetoelectric nanocomposite)을 포함하는 것인,

생체 내 무선 전기자극 발생을 위한, 나노섬유 복합체.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 나노섬유 복합체는,

말초 신경 재생 치료를 위한 생체 이식형이고,

나노섬유 기반 생체 모방형인 것인,

나노섬유 복합체.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 나노섬유 복합체는,

시트형 또는 도관형인 것인,

나노섬유 복합체.

청구항 4

제1항에 있어서,

상기 제1층 및 제2층의 나노섬유의 직경은, 각각 200 nm 내지 700 nm이고,

상기 제1층의 정렬된 나노섬유에 의해 형성된 기공 면적은, $10 \mu\text{m}^2$ 이하인 것인,

나노섬유 복합체.

청구항 5

제1항에 있어서,

상기 제1층 및 제2층은, 각각,

폴리락트산(Poly-L-Lactic Acid, PLLA), 폴리글리콜산(Polyglycolic acid, PGA), 폴리락트산-글리콜산공중합체(Poly(lactic-co-glycolic acid), PLGA), 폴리-ε-(카프로락톤)(Polycaprolactone, PCL), 폴리안하이드리드

(Polyanhydrides), 폴리오르토에스테르(Polyorthoester), 폴리다이옥사논(Polydioxanone, PDO), 폴리비닐알콜(Polyvinylalcohol), 폴리에틸렌글리콜(Polyethyleneglycol), 폴리아크릴산(Polyacrylic acid), 폴리-N-이소프로필아크릴아마이드(Poly-N-isopropyl acrylamide), 폴리(에틸렌옥사이드)-폴리(프로필렌옥사이드)-폴리(에틸렌옥사이드) 공중합체(Poly ethylene oxide)-poly propylene oxide-poly ethylene oxide copolymer), 폴리하이드록시알카노에이트(Polyhydroxyalkanoates, PHA), 키토산(Chitosan), 녹말, 콜라겐, 알부민, 젤라틴 및 텍스트란(Dextran)으로 이루어진 군에서 선택된 적어도 하나 이상; 및 이들의 공중합체;로 이루어진 군에서 선택된 적어도 하나 이상의 생분해성 고분자를 포함하는 것인,

나노섬유 복합체.

청구항 6

제1항에 있어서,

상기 제2층 상에 정렬된 나노섬유를 포함하는 제3층;

을 더 포함하는 것인,

나노섬유 복합체.

청구항 7

제1항에 있어서,

상기 MEN은, 코어/셸 나노입자를 포함하고,

상기 코어 및 셸은, 각각 자왜 자성 물질, 압전 물질 또는 이 둘을 포함하는 것인,

나노섬유 복합체.

청구항 8

제7항에 있어서,

상기 자왜 자성 물질은, 스피넬계 자왜 자성 물질(AB_2O_4)을 포함하고,

상기 압전 물질은, 페로브스카이트계 압전 물질(ABO_3)을 포함하는 것인,

나노섬유 복합체.

청구항 9

제1항에 있어서,

상기 MEN은, 상기 제1층 중 5 중량% 내지 20 중량%로 포함되고,

상기 MEN의 입자 크기는, 20 nm 내지 100 nm인 것인,

나노섬유 복합체.

청구항 10

제1항에 있어서,

상기 MEN의 표면은, 탄소수 5 내지 22의 지방산, 카르복실산 및 이 둘로 표면처리된 것인,

나노섬유 복합체.

청구항 11

제1항에 있어서,

상기 MEN은, 제1층의 나노섬유 형성 물질과 함께 전기방사되어 상기 나노섬유 내부, 표면 또는 이 둘에 임베딩되고,

상기 MEN의 형상은, 구형, 니들, 다각형, 섬유 및 도관형 중 적어도 하나를 포함하는 것인,
나노섬유 복합체.

청구항 12

제1항에 있어서,

상기 제2층의 나노섬유의 표면은, 친수성 코팅층

을 더 포함하는 것인,

나노섬유 복합체.

청구항 13

제12항에 있어서,

상기 친수성 코팅층은, 친수성 아미노산, 친수성 고분자 또는 이 둘을 포함하고,

상기 친수성 코팅층은, 알지닌, 라이신, 히스티딘, 폴리-L-라이신(poly-L-lysine), 폴리아스파르트산(Poly-aspartic acid), 폴리비닐알콜(Polyvinyl alcohol), 폴리라이신(Polylysine), 폴리아크릴산(Polyacrylic acid), 폴리아크릴아민(Polyacrylamide), 폴리(아크릴로니트릴-코-아크릴산)(Poly(acrylonitrile-co-acrylic acid), 폴리에틸렌 글리콜(Polyethylene glycol), 및 폴리에틸렌이민(Polyethyleneimine)로 이루어진 군에서 선택된 적어도 하나 이상을 포함하는 것인,

나노섬유 복합체.

청구항 14

납-프리 MEN(Magnetoelectric Nanocomposite)를 준비하는 단계;

상기 MEN; 과 나노섬유 형성을 위한 단량체, 고분자 또는 이 둘;을 혼합하여 제1 방사용액을 형성하는 단계;

상기 제1 방사용액을 전기방사하여 정렬된 나노섬유를 포함하는 제1층을 형성하는 단계; 및

제2 방사용액을 상기 제1층 상에 전기방사하여 랜덤하게 배열된 나노섬유를 포함하는 제2층을 형성하는 단계;
를 포함하는,

생체 내 무선 전기자극 발생을 위한, 나노섬유 복합체의 제조방법.

청구항 15

제14항에 있어서,

상기 제1층을 형성하는 단계에서 전기방사는, 1 ml 내지 10 ml 유량, 10 kV 내지 14 kV 전압 및 10 cm 내지 15

cm의 팁과 수집기 사이의 거리(Tip to Collector Distance)에서 이루어지는 것인,
나노섬유 복합체의 제조방법.

청구항 16

제14항에 있어서,
상기 제1층을 형성하는 단계는, 500 RPM 내지 3000 RPM으로 회전하는 드럼 수집기 상에 전기방사하는 것인,
나노섬유 복합체의 제조방법.

청구항 17

제14항에 있어서,
상기 제2층의 나노섬유 표면에 친수성 코팅층을 형성하는 단계;
를 더 포함하는 것인,
나노섬유 복합체의 제조방법.

청구항 18

제14항에 있어서,
상기 제2층 상에 정렬된 나노섬유를 포함하는 제3층을 형성하는 단계;
를 더 포함하는 것인,
나노섬유 복합체의 제조방법.

청구항 19

제1항의 나노섬유 복합체를 포함하고, 신경에 전기 자극을 가하는 무선 전기 자극부;
를 포함하는,
신경 재생 치료를 위한, 무선 전기자극 장치.

청구항 20

제19항에 있어서,
상기 나노섬유 복합체는, 나노크기의 직경을 갖는 도관형이고,
상기 전기 자극부는, 생체 내 말초 신경에 이식되어 전기자극을 가하는 것인,
무선 전기자극 장치.

청구항 21

제1항의 나노섬유 복합체를 포함하고, 생체 조직, 세포 또는 신경에 전기 자극을 가하는 무선 전기 자극부;
를 포함하는,

생체 이식형 무선 전자약.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은, 생체 모방적 나노섬유 복합체 및 이를 포함하는 말초 신경 재생 치료를 위한 나노스케일 무선 전기 자극 장치에 관한 것이며, 또한, 상기 나노섬유 복합체를 포함하는 무선 전자약에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 말초 신경 손상(PNI, Peripheral nerve injuries)은 심각한 사회 경제적 부담을 주는 임상적 문제이며, 이러한 손상은, 부분적 또는 영구적 마비, 무감각 및 난치성 신경 병성 통증을 유발하고, 손상된 말초 신경이 손실된 축삭돌기(axons)를 재생시킬 수 있지만, 불행히도 대부분의 PNI는 완전히 회복되는 것이 어렵다.

[0003] 재생성 근위 섬유(Regenerating proximal nerve fibers)를 원위 신경 스템 엔드투엔드(Distal nerve stump end-to-end)로 연결하기 위해서, 말초 신경 재생을 개선시키기 위해 수많은 전략이 연구되고 있으며, 최근에는 PNI 치료를 위한 표준은 자가 신경 이식(Autologous nerve grafting)이 제시되었다. 이러한 치료 방법은, 도너 이식 수확(Donor graft harvest) 이후에 전달된 신경 말단에 연결하기 위한 이식을 포함하고, 높은 성공률과 함께, 자가 신경 이식은 외부 면역 반응 없이 재생을 촉진하는 지지 구조를 제공하는 것이다. 그러나, 복잡한 수술 절차의 필요성, 기증자 신경의 가용성, 영구 기증자 이환율 및 크기 불일치로 인해 주변 혈관계로부터의 관류의 제한 등과 같은 몇 가지 단점이 있습니다.

[0004] 다른 전략으로, 생체 물질 기반 신경 유도 도관(NGC, implanting biomaterial-based nerve guide conduits) 이 식이 자가 이식의 한계를 극복할 수 있는 잠재적인 해결책으로 관심을 받고 있다. NGC는 부상 부위를 연결하고 신경 재생을 위한 기계적 템플릿을 제공하도록 설계된다. 일부 NGC는 FDA 승인을 받았지만, 신경 재생에 중요한 모든 생체 모방 특성(Crucial biomimetic properties)을 제공할 수 없다. 즉, 생체 적합성, 생분해성, 반투과성, 생리학적으로 적절한 기계적 특성 및 세포 상호 작용을 촉진하는 친수성이 요구되고, 성능은 아직도 자가 이식의 성능을 능가하지 못하고 있다.

[0005] John A. Rogers의 그룹은 손상된 신경 조직의 전기 자극을 통해 생체 내에서 무선으로 강화된 신경 재생 및 기능 회복을 최초로 성공적으로 시연하였다. Rogers et al. 전극, 안테나, 다이오드 및 커패시터와 같은 무선 작동을 위한 회로 요소 조합을 이식하여 기존 프로토콜의 수술 중 한계를 극복하였다. 그러나, 전체 플랫폼(platform)은, 높은 체적 공간이 필요하여, 손상되지 않은 조직의 넓은 공간을 침습하고, 복잡한 수술 공정 및 제한된 주변 공간을 갖는 손상된 신경에 적용하는 것이 어려운 문제점이 있다.

[0006] 최근에 MEN은 강력한 세포의 기능을 제어할 수 있는 생의학 어플리케이션으로 제안되었으며, 예를 들어, Sakhrat Khizorev 그룹은 MEN(Magnetoelectric Nanocomposite)을 사용하여 체외에서 난소암 세포를 박멸하기 위해 높은 특이성과 주문형 약물 방출을 성공적으로 입증하였다. 약물 코팅된 MEN은 원격 자기장에 의해 제어되는 국소 전기장을 생성하여 전기 천공(Electroporation) 부위를 생성하고 약물을 방출하는 암 세포막의 포텐셜을 조절하는 것을 제시하였다[7]. 최근 Sakhrat Khizorev 그룹은 생체 내에서 뇌 뉴런을 자극하기 위해 MEN을 사용하는 연구를 수행하였고, MEN을 마우스의 꼬리 정맥에 정맥 주사하고 D.C. 필드 구배를 통해 혈액-뇌 장벽을 통과하도록 하였다. 하지만, MEN은 무선으로 전기장을 유도할 수 있는 나노 스케일 변환기로서 현재 말초 신경 재생 치료의 임상적 한계들을 극복할 가능성이 대두되고 있으나, 구조, 구성 및 물질적 합성법이 최적화되지 않았고, 신경재생 요법 등에서 아직 연구가 초기 단계이거나 임상적으로 적용하고 충분한 기능적 효과를 만족할 수 있는 연구가 진행되지 않고 있다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0007] 본 발명은, 상기 언급한 문제점을 해결하기 위해서, 가장 에너지 변환이 효율적이고 균일한 특성을 가진 세포에 비독성적인 MEN(Magnetoelectric Nanocomposite)과 생체 내에서 기계적 유도, 예를 들어, 뉴런의 기계적인 유도가 가능하고, NFC(Nanofibrous conduit)으로 활용할 수 있는 생체 모방적 나노섬유와 결합된, 생체 내 무선

전기 자극 발생 및 인가를 위한, 나노섬유 복합체를 제공하는 것이다.

- [0008] 본 발명은, 생물의학적 어플리케이션에 필요한 구조, 구성 및 합성법을 최적화하여 가장 에너지 변환이 효율적이고 균일한 특성을 가진 세포에 비독성적인 MEN를 합성하고, 상기 MEN을 NFC(Nanofibrous conduit) 기능을 갖는 생체 모방적 나노섬유에 결합하는 공정을 통해서, 생체 내 무선 전기 자극 발생 및 인가를 위한, 나노섬유 복합체의 제조방법을 제공하는 것이다.
- [0009] 본 발명은, 신경 재생 및 기능 회복을 위한 신경 치료에 활용할 수 있는, 본 발명에 의한 생체 모방적 나노섬유 복합체를 포함하는, 신경 재생 치료를 위한, 무선 전기자극 장치를 제공하는 것이다.
- [0010] 본 발명은, 질환, 질병 및/또는 장애 치료에 활용할 수 있는, 본 발명에 의한 생체 모방적 나노섬유 복합체를 포함하고, 치료 대상 및 목적에 따라 생체에 전기자극을 가하는, 생체 이식형 무선 전자약을 제공하는 것이다.
- [0011] 그러나, 본 발명이 해결하고자 하는 과제는 이상에서 언급한 것들로 제한되지 않으며, 언급되지 않은 또 다른 과제들은 아래의 기재로부터 해당 분야 통상의 기술자에게 명확하게 이해될 수 있을 것이다.

과제의 해결 수단

- [0012] 본 발명의 일 실시예에 따라, 정렬된 나노섬유를 포함하는 제1층; 및 상기 제1층 상에 형성되고, 랜덤하게 배열된 나노섬유를 포함하는 제2층;을 포함하고, 상기 제1층은, 상기 정렬된 나노섬유 내에 임베딩된 납-프리 MEN(Magnetoelectric nanocomposite)을 포함하는 것인, 생체 내 무선 전기자극 발생을 위한, 나노섬유 복합체에 관한 것이다.
- [0013] 본 발명의 일 실시예에 따라, 상기 나노섬유 복합체는, 말초 신경 재생 치료를 위한 생체 이식형이고, 나노섬유 기반 생체 모방형인 것일 수 있다.
- [0014] 본 발명의 일 실시예에 따라, 상기 나노섬유 복합체는, 시트형 또는 도관형인 것일 수 있다.
- [0015] 본 발명의 일 실시예에 따라, 상기 제1층 및 제2층의 나노섬유의 직경은, 각각 200 nm 내지 700 nm이고, 상기 제1층의 정렬된 나노섬유에 의해 형성된 기공 면적은, $10 \mu\text{m}^2$ 이하인 것일 수 있다.
- [0016] 본 발명의 일 실시예에 따라, 상기 제1층 및 제2층은, 각각, 폴리락트산(Poly-L-Lactic Acid, PLLA), 폴리글리콜산(Polyglycolic acid, PGA), 폴리락트산-글리콜산공중합체(Poly(lactic-co-glycolic acid), PLGA), 폴리-ε-(카프로락톤)(Polycaprolactone, PCL), 폴리안하이드리드(Polyanhydrides), 폴리오르토에스테르(Polyorthoester), 폴리다이옥사논(Polydioxanone, PDO), 폴리비닐알콜(Polyvinylalcohol), 폴리에틸렌글리콜(Polyethyleneglycol), 폴리아크릴산(Polyacrylic acid), 폴리-N-이소프로필아크릴아마이드(Poly-N-isopropyl acrylamide), 폴리(에틸렌옥사이드)-폴리(프로필렌옥사이드)-폴리(에틸렌옥사이드) 공중합체(Poly ethylene oxide)-poly propylene oxide-poly ethylene oxide copolymer), 폴리하이드록시알카노에이트(Polyhydroxyalkanoates, PHA), 키토산(Chitosan), 녹말, 콜라겐, 알부민, 젤라틴 및 덱스트란(Dextran)으로 이루어진 군에서 선택된 적어도 하나 이상; 및 이들의 공중합체;로 이루어진 군에서 선택된 적어도 하나 이상의 생분해성 고분자를 포함하는 것일 수 있다.
- [0017] 본 발명의 일 실시예에 따라, 상기 제2층 상에 정렬된 나노섬유를 포함하는 제3층;을 더 포함하는 것일 수 있다.
- [0018] 본 발명의 일 실시예에 따라, 상기 MEN은, 코어/셸 나노입자를 포함하고, 상기 코어 및 셸은, 각각 자왜 자성 물질, 압전 물질 또는 이 둘을 포함하는 것일 수 있다.
- [0019] 본 발명의 일 실시예에 따라, 상기 자왜 자성 물질은, 스피넬계 자왜 자성 물질((AB_2O_4))을 포함하고, 상기 압전 물질은, 페로브스카이트계 압전 물질(ABO_3)을 포함하는 것일 수 있다.
- [0020] 본 발명의 일 실시예에 따라, 상기 MEN은, 상기 제1층 중 5 중량% 내지 20 중량%로 포함되고, 상기 MEN의 입자 크기는, 20 nm 내지 100 nm인 것일 수 있다.
- [0021] 본 발명의 일 실시예에 따라, 상기 MEN의 표면은, 탄소수 5 내지 22의 지방산, 카르복실산 및 이 둘로 표면처리된 것일 수 있다.
- [0022] 본 발명의 일 실시예에 따라, 상기 MEN은, 제1층의 나노섬유 형성 물질과 함께 전기방사되어 상기 나노섬유 내부, 표면 또는 이 둘에 임베딩되고, 상기 MEN의 형상은, 구형, 니들, 다각형, 섬유 및 도관형 중 적어도 하나를

포함하는 것일 수 있다.

- [0023] 본 발명의 일 실시예에 따라, 상기 제2층의 나노섬유의 표면은, 친수성 코팅층을 더 포함하는 것일 수 있다.
- [0024] 본 발명의 일 실시예에 따라, 상기 친수성 코팅층은, 친수성 아미노산, 친수성 고분자 또는 이 둘을 포함하고, 상기 친수성 코팅층은, 알지닌, 라이신, 히스티딘, 폴리-L-라이신(poly-L-lysine), 폴리아스파르트산(Poly-aspartic acid), 폴리비닐알콜(Polyvinyl alcohol), 폴리라이신(Polylysine), 폴리아크릴산(Polyacrylic acid), 폴리아크릴아민(Polyacrylamide), 폴리(아크릴로니트릴-코-아크릴산)(Poly(acrylonitrile-co-acrylic acid), 폴리에틸렌 글리콜(Polyethylene glycol), 및 폴리에틸렌이민(Polyethyleneimine)로 이루어진 군에서 선택된 적어도 하나 이상을 포함하는 것일 수 있다.
- [0025] 본 발명의 일 실시예에 따라, 납-프리 MEN(Magnetoelectric Nanocomposite)를 준비하는 단계; 상기 MEN; 과 나노섬유 형성용 단량체, 고분자 또는 이 둘;을 혼합하여 제1 방사용액을 형성하는 단계; 상기 제1 방사용액을 전기방사하여 정렬된 나노섬유를 포함하는 제1층을 형성하는 단계; 및 제2 방사용액을 상기 제1층 상에 전기방사하여 랜덤하게 배열된 나노섬유를 포함하는 제2층을 형성하는 단계; 를 포함하는, 생체 내 무선 전기자극 발생을 위한, 나노섬유 복합체의 제조방법에 관한 것이다.
- [0026] 본 발명의 일 실시예에 따라, 상기 제1층을 형성하는 단계에서 전기방사는, 1 ml 내지 10 ml 유량, 10 kV 내지 14 kV 전압 및 10 cm 내지 15 cm의 팁과 수집기 사이의 거리(Tip to Collector Distance)에서 이루어지는 것일 수 있다.
- [0027] 본 발명의 일 실시예에 따라, 상기 제1층을 형성하는 단계는, 500 RPM 내지 3000 RPM으로 회전하는 드럼 수집기 상에 전기방사하는 것일 수 있다.
- [0028] 본 발명의 일 실시예에 따라, 상기 제2층의 나노섬유 표면에 친수성 코팅층을 형성하는 단계; 를 더 포함하는 것일 수 있다.
- [0029] 본 발명의 일 실시예에 따라, 상기 제2층 상에 정렬된 나노섬유를 포함하는 제3층을 형성하는 단계; 를 더 포함하는 것일 수 있다.
- [0030] 본 발명의 일 실시예에 따라, 본 발명에 의한 나노섬유 복합체를 포함하고, 신경에 전기 자극을 가하는 무선 전기 자극부; 를 포함하는, 신경 재생 치료를 위한, 무선 전기자극 장치에 관한 것이다.
- [0031] 본 발명의 일 실시예에 따라, 상기 나노섬유 복합체는, 나노크기의 직경을 갖는 도관형이고, 상기 전기 자극부는, 생체 내 말초 신경에 이식되어 전기자극을 가하는 것일 수 있다.
- [0032] 본 발명의 일 실시예에 따라, 본 발명에 의한 나노섬유 복합체를 포함하고, 생체 조직, 세포 또는 신경에 전기 자극을 가하는 무선 전기 자극부; 를 포함하는 생체 이식형 무선 전자약에 관한 것이다.

발명의 효과

- [0033] 본 발명은, MEN(Magnetoelectric nanocomposite)을 이용한 생물의학적 어플리케이션에 필요한 구조, 구성 및 재료 합성법을 최적화하여 가장 에너지 변환이 효율적이고 균일한 특성을 가지면서 생체 세포(인간, 포유류 등)에 비독성적인 MEN 합성물을 제공할 뿐만 아니라, MEN과 나노섬유를 결합하여, 생체 전기자극을 위한 어플리케이션, 즉 나노스케일의 MEN-NFC(Nanofibrous conduit)로 활용가능하고, 생체 적합성, 독성, 기계적 특성 등이 개선된 나노섬유 복합체를 제공할 수 있다. 또한, 상기 나노섬유 복합체는, 생체 내 치료 및/또는 기능회복이 필요한 조직, 세포, 신경, 예를 들어, 말초 신경 부위에 고정할 수 있는 무선 전기 자극 플랫폼, 질병, 질환 및/또는 장애 치료를 위한 전자약(Electroceutical) 플랫폼으로 적용할 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0034] 도 1은, 본 발명의 일 실시예에 따라, 본 발명에 의한 나노섬유 복합체의 구성을 예시적으로 나타낸 것이다.
- 도 2는, 본 발명의 일 실시예에 따라, MEN의 코어/셸 구조의 구성을 예시적으로 나타낸 것이다.
- 도 3은, 본 발명의 일 실시예에 따라, 본 발명에 의한 MEN-NFC의 이미지를 예시적으로 나타낸 것이다.
- 도 4는, 본 발명의 일 실시예에 따라, 본 발명에 의한 MEN의 구성 성분의 XRD 패턴 및 EDS 원소 분석 결과를 나타낸 것이다.

도 5는, 본 발명의 일 실시예에 따라, 본 발명에 의한 MEN의 코어를 구성하는 입자의 SEM 이미지를 나타낸 것이다.

도 6은, 본 발명의 일 실시예에 따라, 본 발명에 의한 MEN의 코/셸 입자의 SEM 이미지를 나타낸 것이다.

도 7은, 본 발명의 일 실시예에 따라, 본 발명의 나노섬유 복합체의 랜덤하게 배열된 나노섬유 및 정렬된 나노섬유의 SEM 이미지를 나타낸 것이다.

도 8은, 본 발명의 일 실시예에 따라, 본 발명의 나노섬유 복합체의 기공 분포를 예시적으로 나타낸 것이다.

도 9는, 본 발명의 일 실시예에 따라, 본 발명에 의한 나노섬유 복합체 내에 임베딩된 MEN의 TEM 이미지를 나타낸 것이다.

도 10은, 본 발명의 일 실시예에 따라, 본 발명에 의한 나노섬유 복합체 상에 배양된 세포 이미지를 나타낸 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0035] 이하 첨부된 도면을 참조하여 본 발명의 실시예들을 상세히 설명한다. 본 발명을 설명함에 있어서, 관련된 공지 기능 또는 구성에 대한 구체적인 설명이 본 발명의 요지를 불필요하게 흐릴 수 있다고 판단되는 경우에는 그 상세한 설명을 생략할 것이다. 또한, 본 명세서에서 사용되는 용어들은 본 발명의 바람직한 실시예를 적절히 표현하기 위해 사용된 용어들로서, 이는 사용자, 운용자의 의도 또는 본 발명이 속하는 분야의 관례 등에 따라 달라질 수 있다. 따라서, 본 용어들에 대한 정의는 본 명세서 전반에 걸친 내용을 토대로 내려져야 할 것이다. 각 도면에 제시된 동일한 참조 부호는 동일한 부재를 나타낸다.
- [0036] 명세서 전체에서, 어떤 부재가 다른 부재 "상에" 위치하고 있다고 할 때, 이는 어떤 부재가 다른 부재에 접해 있는 경우뿐 아니라 두 부재 사이에 또 다른 부재가 존재하는 경우도 포함한다.
- [0037] 명세서 전체에서, 어떤 부분이 어떤 구성요소를 "포함"한다고 할 때, 이는 다른 구성요소를 제외하는 것이 아니라 다른 구성 요소를 더 포함할 수 있는 것을 의미한다.
- [0038] 이하, 본 발명의 나노섬유 복합체, 나노섬유 기반 무선 전기자극 장치 및 전자약 및 이의 제조방법에 대하여 실시예 및 도면을 참조하여 구체적으로 설명하도록 한다. 그러나, 본 발명이 이러한 실시예 및 도면에 제한되는 것은 아니다.
- [0039] 본 발명은, 나노섬유 복합체에 관한 것으로, 본 발명의 일 실시예에 따라, 상기 나노섬유 복합체는, MEN(Magnetoelectric Nanocomposite) 및 나노섬유 결합체를 포함하는 것으로, 정렬된 나노섬유를 포함하는 제1층; 및 랜덤하게 배열된 나노섬유를 포함하는 제2층을 포함하고, 상기 제1층의 정렬된 나노섬유 내에 임베딩된 (또는, 임플라트된) MEN을 포함할 수 있다.
- [0040] 본 발명의 일 실시예에 따라, 도 1을 참조하면, 도 1의 (a)에서 상기 제1층은, 일정한 방향으로 정렬된 나노섬유(Aligned-Nanofiber)를 포함하고, 상기 정렬된 나노섬유는, 나노스케일의 MEN, 예를 들어, 수십 나노미터의 MEN을 임베딩할 수 있는 플랫폼일뿐만 아니라 기계적 가이드 기능을 제공할 수 있다.
- [0041] 예를 들어, 도 2를 참조하면, 상기 정렬된 나노섬유는, 손상된 신경에 감싸면서 MEN을 손상된 신경에 집중하여 분포시킬 수 있으며, 이는 종래 기술에서 혈관에 MEN을 주입하여 타겟 부위만 집중하여 분포하기 어려움을 해결할 수 있는 기술적 수준에 해당되고, 손상된 말초신경에서 재생하는 세포들의 연결성과 방향성을 높이는 기계적 유도 기능을 제공하는 것으로, 신경 발달 또는 신경 연결 방향에 따라 정렬 및 배열된 생체 모방형 나노섬유는, 신경 세포와 맞닿는 계면을 형성하고 재생하는 말초 신경 세포의 축삭돌기를 절단된 신경 말단에 구조적으로 유도할 수 있다.
- [0042] 본 발명의 일 예로, 상기 나노섬유 복합체는, 제1층 및 제2층이 적층된 적층체이며, 시트형 또는 도관형일 수 있다. 예를 들어, 말초 신경 재생 치료를 위해 손상 또는 절단된 신경을 연결하기 위해 신경을 감싸도록 도관 형태로 생체 내 이식될 수 있다. 상기 도관형태에서 제1층은 세포와 집적적으로 접촉하여 접촉 계면을 형성하는 내부층이고, 제2층은 외부층에 해당된다.
- [0043] 본 발명의 일 예로, 상기 제2층은, 랜덤하게 배열된 나노섬유(Random-Nanofiber)를 포함하고, 이는 제1층의 정렬된 나노섬유의 낮은 강도를 보완할 수 있으며, 상기 제1층 및 제2층의 나노섬유의 직경은, 각각 200 nm 내지 1000 nm; 200 nm 내지 800 nm; 또는 200 nm 내지 700 nm이고, 상기 범위 내에 포함되던 나노크기의 MEN가 나

노섬유에 임베딩 및 결합이 잘 이루어지고, 기계적 특성을 개선시킬 수 있다.

- [0044] 본 발명의 일 예로, 상기 나노섬유 복합체는, 투명하고 제1층 및/또는 제2층의 나노섬유의 밀도, 기공 및/또는 두께 등으로 광투과성을 제어할 수 있다.
- [0045] 본 발명의 일 예로, 상기 나노섬유 복합체는, 기공에 의한 투과성(Permeability)을 가지면, 이는 영양분, 산소 등의 공급을 원활하게 하는 동시에 신경 재생을 막는 흉터 형성 세포를 물리적으로 막기 위해서, 각 층의 나노섬유의 기공 크기 및/또는 기공 면적으로 조절할 수 있다. 예를 들어, 상기 나노섬유 복합체에서 상기 제1층의 정렬된 나노섬유에 의해 형성된 기공 면적은, $10 \mu\text{m}^2$ 이하; $8 \mu\text{m}^2$ 이하; $5 \mu\text{m}^2$ 이하; $3 \mu\text{m}^2$ 내지 $5 \mu\text{m}^2$; 또는 $3 \mu\text{m}^2$ 내지 $4 \mu\text{m}^2$ 이고, 상기 제1층 및 제2층의 기공크기는 각각 50 nm 내지 5 μm 일 수 있다.
- [0046] 본 발명의 일 실시예에 따라, 상기 나노섬유 복합체는, 생친화적 환경과 생체 이식 및 치료 이후에 제거 수술 없이 안정적으로 제거할 수 있도록 생분해성 성분을 포함할 수 있다. 상기 제1층 및 제2층은, 생체 적합성 고분자 및 생분해성 고분자를 포함하고, 상기 제1층 및 제2층은, 각각, 폴리락트산(Poly-L-Lactic Acid, PLLA), 폴리글리콜산(Polyglycolic acid, PGA), 폴리락트산-글리콜산공중합체(Poly(lactic-co-glycolic acid), PLGA), 폴리- ϵ -(카프로락톤)(Polycaprolactone, PCL), 폴리안하이드리드(Polyanhydrides), 폴리오르토에스테르(Polyorthoester), 폴리다이옥사논(Polydioxanone, PDO), 폴리비닐알콜(Polyvinylalcohol), 폴리에틸렌글리콜(Polyethyleneglycol), 폴리아크릴산(Polyacrylic acid), 폴리-N-이소프로필아크릴아마이드(Poly-N-isopropyl acrylamide), 폴리(에틸렌옥사이드)-폴리(프로필렌옥사이드)-폴리(에틸렌옥사이드) 공중합체(Poly ethylene oxide)-poly propylene oxide-리하이드록시알카노에이트(Polyhydroxyalkanoates, PHA), 키토산(Chitosan), 녹말, 콜라겐, 알부민, 젤라틴 및 덱스트란(Dextran)으로 이루어진 군에서 선택된 적어도 하나 이상; 및 이들의 공중합체;로 이루어진 군에서 선택된 적어도 하나 이상을 포함할 수 있다. 또한, 생체 적합성 고분자 및/또는 생분해성 고분자는, 공중합체 내의 모노머의 비율, 분자량 등을 제어하여 생체 내 분해 속도를 조절할 수 있다. 예를 들어, 고분자의 분자량은, 4k 내지 115k (중량평균분자량)일 수 있다. 폴리락트산-글리콜산공중합체(Poly(lactic-co-glycolic acid)에서 락트산 모노머 대 글리콜산 모노머의 중량비율은 50 : 50 ~ 75 : 25일 수 있다.
- [0047] 본 발명의 일 실시예에 따라, 상기 제2층 상에 나노섬유를 포함하는 제3층을 더 포함할 수 있고, 상기 제3층은, 정렬된 나노섬유 또는 랜덤하게 배열된 나노섬유를 포함할 수 있다. 또한, 상기 제3층의 나노섬유는, 상기 제2층에서 언급한 바와 같은, 친수성으로 표면 코팅된 것일 수 있다. 상기 제3층은, 정렬된 나노섬유를 포함할 경우에 제1층에서 언급한 바와 같은 나노섬유로 구성되고, 랜덤하게 배열된 나노섬유를 포함할 경우에 제2층에서 언급한 바와 같은 나노섬유로 구성될 수 있다.
- [0048] 본 발명의 일 실시예에 따라, 도 1을 참조하면, 상기 제2층의 나노섬유의 표면은 친수성 코팅층을 더 포함할 수 있으며, 이는 세포가 나노섬유에 원활하게 부착되고 성장하기 위한 부착 인자에 해당된다. 본 발명의 일 예로, 상기 친수성 코팅층은, 친수성 아미노산, 친수성 고분자 또는 이 둘을 포함하고, 예를 들어, 상기 친수성 코팅층은, 알지닌, 라이신, 히스티딘, 폴리-L-라이신(poly-L-lysine), 폴리아스파르트산(Poly-aspartic acid), 폴리비닐알콜(Polyvinyl alcohol), 폴리라이신(Polylysine), 폴리아크릴산(Polyacrylic acid), 폴리아크릴아민(Polyacrylamide), 폴리(아크릴로니트릴-코-아크릴산)(Poly(acrylonitrile-co-acrylic acid), 폴리에틸렌 글리콜(Polyethylene glycol), 및 폴리에틸렌이민(Polyethyleneimine)로 이루어진 군에서 선택된 적어도 하나 이상을 포함할 수 있다.
- [0049] 본 발명의 일 실시예에 따라, MEN(Magnetoelectric nanocomposite)은, 생체 내 또는 외에서 무선으로 전기장을 유도할 수 있는 나노 스케일 변환기에 해당되며, 상기 MEN과 뉴런의 기계적인 유도가 가능한 생체 모방적 나노섬유와 결합하여 무선 전기 자극 플랫폼을 형성하고, 이는 치료의 효과성, 안정성을 높이고 시술의 복잡성과 한계를 낮출 수 있다. 예를 들어, MEN과 본 발명에 의한 나노섬유가 융합된 MEN-NFC를 통해, 1) 생체 내에서 기능회복의 극대화와 2) 치료후에는 추가적인 제거 수술 없이 생체 내에서 생분해되는 이점이 있다.
- [0050] 본 발명의 일 실시예에 따라, 상기 MEN은 균일한 입자 분포와 높은 자기전기효과(magnetoelectric coefficient = E/H (ratio of the electric field α $\Delta \Delta$ change in response to the change of magnetic field))를 제공하기 위해서, 자왜 및 압전 물질(magnetostrictive and piezoelectric phases)이 기계적으로 커플링된 코어/셸 나노복합체를 포함할 수 있다.
- [0051] 본 발명의 일 예로, 상기 코어/셸 나노구조체는 “MEN(Magnetoelectric Nanocomposite)”에 해당되며, 상기 코어/셸 나노구조체는 자성물질 및 압전물질을 포함하고, 예를 들어, 코어는 자왜성질을 갖도록 자성물질을 포함

하고, 상기 셀은 압전물질을 포함하고, 이는 셀로서 압전효과를 가지면서 코어와 커플링을 통해 MEN이 외부 자기장으로부터 전기장을 생성하도록 한다.

[0052] 본 발명의 일 예로, 상기 코어 및 셀은, 각각 자왜 자성 물질, 압전 물질 또는 이 둘을 포함하고, 독성을 최소화하거나 무독성 성분으로 구성되고 바람직하게는 납-프리 (lead-free) 물질을 포함할 수 있다. 예를 들어, 도 2를 참조하면, 압전 효과 및 자왜 효과를 개선시키고 최적화하기 위해서, 페로브스카이트계 압전 물질(ABO_3)과 스피넬계 자왜 자성 물질(AB_2O_4)을 포함할 수 있다. 예를 들어, 상기 페로브스카이트계 압전 물질(ABO_3)에서 A 및 B는, 각각 Ba, Na, Bi 및 Ti에서 선택될 수 있다. 예를 들어, 상기 스피넬계 자왜 자성 물질(AB_2O_4)에서 A 및 B는 각각 Co, Fe 및 Ni에서 선택될 수 있다.

[0053] 본 발명의 일 예로, 상기 MEN은, 주어진 부피 내에서 기계적 커플링 효과를 최적화하기 위해서 코어/셀 나노복합체의 구조적 형상을 제어할 수 있고, 예를 들어, 예를 들어, 코어/셀 나노복합체의 형상은, 구형, 실린더, 구형, 니들, 다각형 및 섬유 중 적어도 하나를 포함할 수 있다. 상기 코어/셀 나노복합체는, 20 nm 내지 100 nm; 20 nm 내지 90 nm; 20 nm 내지 60 nm; 또는 20 nm 내지 50 nm 크기이고, 상기 크기는 직경, 길이, 두께 등을 의미할 수 있다.

[0054] 본 발명의 일 예로, 상기 MEN은, 주어진 부피 내에서 기계적 커플링을 최적화하기 상기 코어 대 셀의 부피비를 제어하고, 상기 부피비는 2 : 8 내지 4 : 6일 수 있다.

[0055] 본 발명의 일 예로, 상기 MEN은, 상기 제1층 중 5 중량% 내지 20 중량%; 또는 5 중량% 내지 15 중량%로 포함되고, 상기 범위 내에 포함되면 상기 나노섬유 내에 임베딩이 잘 이루어지고, 외부 신호에 의한 자기장 생성을 효과적으로 발생시킬 수 있다.

[0056] 본 발명의 일 예로, 상기 MEN은, 탄소수 5 내지 22의 지방산, 카르복실산 및 이 둘로 표면처리되어 상기 나노섬유에 임베딩될 수 있다. 예를 들어, 상기 카르복실산은, 글루콘산, 시트르산, 프로피온산, 부티르산 등일 수 있다. 예를 들어, 상기 지방산은, 포화 또는 불포화 지방산이며, 예를 들어, 올레산(Oleic acid), 펜타데실산(Pentadecanoic acid), 아라키돈산(Arachidonic acid), 미리스트산(Myristoleic acid), 팔미톨레산(Palmitoleic acid), 사피에닉산(Sapienic acid), 엘라이드산(Elaidic acid), 박센산(Vaccenic acid), 스테아르산(stearic acid), 이소스테아르산, 팔미트산(palmitic acid), 라우린산(lauric acid), 미리스틴산(Myristic Acid), 리놀산(linoleic acid) 등일 수 있다.

[0057] 본 발명은, 본 발명에 의한 나노섬유 복합체의 제조방법에 관한 것으로, 본 발명의 일 실시예에 따라, 상기 제조방법은, MEN(Magnetolectric Nanocomposite)를 준비하는 단계; 상기 MEN; 과 나노섬유 형성용 단량체, 고분자 또는 이 둘;을 혼합하여 제1 방사용액을 형성하는 단계; 상기 제1 방사용액을 전기방사하여 정렬된 나노섬유를 포함하는 제1층을 형성하는 단계; 및 제2 방사용액을 상기 제1층 상에 전기방사하여 랜덤하게 배열된 나노섬유를 포함하는 제2층을 형성하는 단계;를 포함할 수 있다.

[0058] 본 발명의 일 실시예에 따라, MEN(Magnetolectric Nanocomposite)를 준비하는 단계는, 에너지 변환이 효율적이고 균일한 특성을 가진 세포에 비독성적이고, 생물의학적 어플리케이션에 필요한 구조 및 구성을 갖는 MEN 합성물을 제공하는 것이다. 예를 들어, 자기변형(Magnetostrictive)과 압전(Piezoelectric) 특성을 가진 코어@셀 구조의 MEN 합성물을 제공할 수 있다. 상기 코어@셀 구조의 MEN 합성물은, 코어 및 셀 형성을 위한 반응원료, 전구체 등을 적절하게 배합하여 졸겔, 수열합성법 등을 이용하여 제조할 수 있다. 예를 들어, 상기 수열합성법은, 50 °C 내지 300 °C 온도, 30 분 내지 20 시간 및 비활성 가스, 에어, 공기 또는 이들의 혼합된 분위기의 공정 조건을 이용할 수 있다.

[0059] 본 발명의 일 실시예에 따라, 제1 방사용액을 형성하는 단계는, 상기 MEN; 과 나노섬유 형성용 단량체, 고분자 또는 이 둘;을 혼합하여 제1 방사용액을 형성하는 단계이다.

[0060] 본 발명의 일 실시예에 따라, 상기 제1 방사용액을 형성하는 단계 이전에 상기 MEN의 표면 처리 단계를 더 포함하고, 상기 표면처리단계는, 상기 MEN에 카르복실산, 지방산 또는 이 둘로 표면처리하고, 상기 MEN 전체 중량에 대해 카르복실산, 지방산 또는 이 둘은 0.01 중량% 내지 1 중량%; 0.05 중량% 내지 0.5 중량%; 또는 0.05 중량% 내지 0.1 중량%로 표면처리되고, 상기 범위 내에 포함되면 나노섬유 내에 MEN의 임베딩을 효과적으로 유도하고, 임베딩된 MEN의 함량으로 증가시킬 수 있다.

[0061] 본 발명의 일 실시예에 따라, 제1층을 형성하는 단계는, 상기 제1 방사용액을 전기방사하여 정렬된 나노섬유를 포함하는 제1층을 형성하는 단계이며, 상기 MEN은, 제1층의 나노섬유 형성 물질과 함께 전기방사되어 상기 나노

섬유 내부, 표면 또는 이 둘에 임베딩되고, 상기 MEN은 나노섬유와 결합되어 치료가 필요한 타겟 부위, 예를 들어, 신경 부위에 효과적으로 고정하여 전기자극 효율을 향상시킬 수 있다.

- [0062] 본 발명의 일 예로, 상기 전기방사는, 1 ml 내지 10 ml; 1 ml 내지 5 ml; 또는 1 ml 내지 2 ml 유량, 10 kV 내지 14 kV 전압 및 10 cm 내지 15 cm; 또는 11 cm 내지 13 cm의 팁과 수집기 사이의 거리(Tip to Collector Distance)에서 이루어질 수 있다. 상기 전기방사 조건을 제어하여 제1층의 기공 크기, 기공 부피, 나노섬유 직경 등을 제어하여 투과성, 투명성 등을 조절할 수 있다.
- [0063] 본 발명의 일 예로, 상기 전기방사는, 회전하는 드럼 수집기 상에서 전기 방사하여 정렬된 나노섬유 다발을 형성할 수 있다. 상기 드럼 수집기는 500 rpm 내지 3000 rpm; 또는 1500 rpm 내지 2500 rpm으로 회전할 수 있다.
- [0064] 본 발명의 일 실시예에 따라, 제2층을 형성하는 단계는, 제2 방사용액을 상기 제1층 상에 전기방사하여 랜덤하게 배열된 나노섬유를 포함하는 제2층을 형성하는 단계이다. 상기 전기방사는, 1 ml 내지 10 ml; 1 ml 내지 5 ml; 또는 1 ml 내지 2 ml 유량, 10 kV 내지 14 kV 전압 및 6 cm 내지 15 cm; 또는 9 cm 내지 11 cm의 팁과 수집기 사이의 거리(Tip to Collector Distance)에서 이루어질 수 있다. 상기 전기방사 조건을 제어하여 제2층의 기공 크기, 기공 부피, 나노섬유 직경 등을 제어하여 투과성, 투명성 등을 조절할 수 있다. 상기 전기방사는, 플레이트 수집기 상에서 전기 방사하여 랜덤하게 배열된 나노섬유 메쉬를 형성할 수 있다.
- [0065] 본 발명의 일 실시예에 따라, 상기 제2층의 나노섬유 표면에 친수성 코팅층을 형성하는 단계;를 더 포함할 수 있다. 상기 친수성 코팅층은, 상기 제2층에서 언급한 친수성 코팅성분을 이용할 수 있다.
- [0066] 본 발명의 일 실시예에 따라, 상기 제2층 상에 제3층을 형성하는 단계를 더 포함할 수 있다. 상기 제3층은, 정렬된 나노섬유를 포함하거나 또는 랜덤하게 배열된 나노섬유를 포함할 수 있으며, 제1층 또는 제2층의 형성하는 단계의 공정 조건을 이용할 수 있다.
- [0067] 본 발명은, 본 발명에 의한 나노섬유 복합체를 생체 내 무선전기 자극을 이용한 다양한 생물학적 어플리케이션에 관한 것으로, 본 발명의 일 실시예에 따라, 본 발명에 의한 나노섬유 복합체는 생체 내 타겟에 이식되어 무선 전기자극을 인가하여 신경 재생 치료, 예를 들어, 말초 신경 세포의 재생 및 기능 회복을 위한 무선 전기 자극 장치에 적용될 수 있다. 예를 들어, 상기 나노섬유 복합체는, 생체 내에서 무선으로 전류 등을 발생하고 타겟에 전기자극을 가하는 생체 이식형 무선 전기자극 발생부로 적용될 수 있다.
- [0068] 본 발명의 일 실시예에 따라, 다양한 질병, 질환 및/또는 장애를 대상으로 하는 무선 전자약으로 활용될 수 있으며, 예를 들어, 상기 나노섬유 복합체는, 생체 내에서 무선으로 전류 등을 발생하고 타겟에 이식되거나 생체 내 이식되어, 즉 생체 조직, 세포 또는 신경에 전기자극을 가하는 생체 이식형 무선 전기 자극부를 포함하는 생체 이식형 무선 전자약일 수 있다. 상기 생체 이식형 무선 전자약은, MEN의 집합체가 전기 자극을 주기 때문에 뉴런 단위의 자극이 가능하고, 배터리의 장착 없이 시술이 가능하다. 즉, 기존의 전자약은 배터리를 포함한 전자기기 구성 요소들이 몸 안에 삽입되어 시술의 복잡성과 부작용 등을 일으키지만 MEN-NFC는 다른 구성 요소가 필요 없는 간단한 구조로 활용될 수 있다.
- [0069] 본 발명의 일 예로, 상기 무선 전자약에서 상기 나노섬유 복합체는, 시트 또는 도판형으로 적용되고, 예를 들어, 나노크기의 직경을 갖는 도판형으로 적용될 수 있다.
- [0070] 이하, 본 발명에 대해 실시예 및 도면을 참조하여 구체적으로 설명하도록 한다. 그러나, 본 발명이 이러한 실시예 및 도면에 제한되는 것은 아니다.
- [0071] **실시예**
- [0072] **MEN(Magnetoelectric Nanocomposite)의 제조**
- [0073] **1. 코어-셸 나노입자의 제조**
- [0074] **(1) CoFe_2O_4 나노입자(Core)의 합성**
- [0075] MEN의 코어로서 자왜성질을 갖는 CoFe_2O_4 Nanoparticle (Core)를 합성하였다.
- [0076] Sol 1: 코발트 및 철 전구 물질의 졸 제조
- [0077] $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (0.058g) 및 $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ (0.16g)를 15mL DI water 내에 넣고 혼합하여 졸을 제조하였다.
- [0078] Sol 2: 계면활성제 PVP 와 환원제 수소화붕소나트륨의 졸 제조

- [0079] 폴리비닐피롤리돈(Polyvinylpyrrolidone, 0.2g) 및 소듐 보로하이드라이드(Sodium borohydride, 0.9g)를 5mL DI water에 넣고 혼합하여 졸을 제조하였다. 6ml DI water, 0.24g PVP 및 1.08 g NaBH₄의 졸을 제조하였다.
- [0080] Sol 3: Sol 1에 Sol 2를 부어(비커에서 Stirring, RT, 최대한 빨리 넣어서 size distribution 최소화하였다)혼합하여 졸을 제조하였다.
- [0081] Sol 3 용액 (20 ml)을 반응기에 넣고 120 °C 및 12 hr (Air condition)에서 Hydrothermal 공정을 진행한 이후에 DI water dispersion & Magnetic separation 공정 (Sonication, 네오디뮴 자석 사용) 3회 반복하였다. 다음으로, 진공 하에서 120 °C 및 24 hr 동안 건조하고 상온(RT)에서 보관하였다.
- [0082] 제조된 코어 나노입자의 XRD, EDS 및 TEM 이미지를 측정하였으며, 그 결과는 도 3 및 도 4에 나타내었다. 도 3에서 XRD 및 EDS 원소분석을 통해서 CoFe₂O₄ 나노입자가 형성된 것을 확인할 수 있다. 또한, 도 3의 SEM 이미지에서 PVP의 농도 및 반응 시간 변경 0.5 hr 내지 2 hr 조건을 변경하여 1000 nm 내지 5 nm의 균일한 크기를 갖는 나노입자를 획득할 수 있다.
- [0083] **(2) BaTiO₃ 전구체 용액 (젤)의 제조**
- [0084] MEN의 젤로서 압전효과를 가지며, 코어와 커플링을 통하여 코어젤 MEN 물질은 외부 자기장으로부터 전기장을 생성한다.
- [0085] Sol 4: 바륨 전구 물질, 계면활성제 구연산 및 용매의 졸 제조
- [0086] BaCO₃ (0.029g) 및 구연산 (citric acid, 0.1g)를 30 ml DI water 내에 넣고 혼합하여 졸을 제조하였다.
- [0087] Sol 5: 티타늄 전구 물질, 계면활성제 구연산 및 용매의 졸 제조
- [0088] 티타늄 이소프로폭사이드 (Titanium isopropoxide, 0.048ml) 및 구연산 (citric acid, 1g)을 30 ml 에탄올에 넣고 완전히 용해될 때까지 혼합하여 졸을 제조하였다.
- [0089] **(3) 졸-젤 방법에 의한 코어/젤 나노입자의 제조**
- [0090] Sol 6: 상기 제조된 Sol 4, Sol 5 및 CoFe₂O₄ NP (0.1g)를 용기에 넣고 120 min 동안 소니케이션을 가하여 졸을 제조하였다.
- [0091] Sol 6은 100 °C 및 12 hr 동안 200 rpm 교반하면서 건조하였다(Air, on hotplate). 다음으로, box-furnace 내에 넣고 650 °C 및 5 hr 동안 소결(calcination)한 이후 52 °C/min로 냉각시켰다. 약 30 nm 크기의 코어-젤 나노입자를 획득하였다.
- [0092] 제조된 코어/젤 나노입자의 XRD, EDS 및 TEM 이미지를 측정하였으며, 그 결과는 도 5 및 도 6에 나타내었다. 도 5의 XRD에서 CoFe₂O₄ 및 BaTiO₃에 의한 코어/젤 구조가 형성된 것을 확인하고, EDS 원자비율과 ICP-OES로 원자비율을 확인하였다. 또한, 도 5의 SEM 이미지에서 800 nm에서 40 nm, 30 nm의 코어/젤 구조체를 확인할 수 있다.

표 1

[0093]

ICP-OES	Weight(%)	Atomic(%)
Co	16.1316	8.62
Fe	29.9361	16.89
Ba	13.0195	2.99
Ti	6.6147	4.35

[0094] 2. 나노섬유(Nanofiber) 형성을 위한 방사 용액의 제조

- [0095] MEN, OA(Oleic acid) 30 wt%, 물 및 HFP를 90 °C에서 30 min 동안 교반하여 MEN에 OA를 코팅시켜 표면 처리하였다.
- [0096] 24 hr (400rpm, RT) 동안 교반하고, 1hr 동안 초음파 처리(ultrasonication)하여 HFP(1,1,1,3,3,3-Hexafluoro-2-propanol) 내에 용해된 PLGA(poly(lactic-co-glycolic acid)) (inherent viscosity 0.75dL/g)의 용액(15 w/v%)을 준비하였다. 표면처리된 MEN(10wt%)를 PLGA 용액에 넣고 혼합하여 나노섬유 형성을 위한 방사 용액을

제조하였다.

[0097] **MEN- NFC(Nanofibrous Conduit)의 제조**

[0098] 상기 제조된 방사 용액을 하기의 조건에 따라 전기방사(Electrospinning)하였다.

[0099] 상기 공정을 통하여 MEN(CoFe_2O_4 코어/ BaTiO_3 쉘)이 정렬된 PLGA 나노섬유 내부에 분포된 형태의 Sheet를 제조하였다.

[0100] (1) 전기 방사 조건

[0101] 흐름속도(flow rate): 1~2ml/hr

[0102] 전압(voltage): 12~14kV

[0103] 수집기와 팁 간의 거리(plate to collector distance): 13cm

[0104] 습도(humidity): 30% 미만

[0105] 온도: 실온(RT)

[0106] 수집기 종류(collector type): flat collector, drum collector (2000 rpm) all on Al foil or glass slide.

[0107] **특성 분석**

[0108] (1) 드럼 수집기 상에 전기방사하여 정렬된 나노섬유층을 제조한 이후, 평평한 수집기 상에 정렬된 나노섬유층을 위치시키고 랜덤하게 배열된 나노섬유층을 제조하였다.

[0109] (2) 정렬된 나노섬유층(도 7의 (b)) 및 랜덤하게 배열된 나노섬유층(도 7의 (a))의 SEM 이미지를 측정하여 도 7에 나타내었다. 표 1은 드럼 수집기의 회전 속도에 따라 나노섬유의 평균 지름을 나타내었다.

표 2

회전 속도	100 rpm	500 rpm	2000 rpm
Mean(μm)	1.753	1.372	0.780
Standard dev. (μm)	0.145	0.178	0.950

[0111] (3) 정렬된 나노섬유층의 전기방사 시간에 따른 나노섬유의 SEM 이미지를 측정하고 이를 기반으로 하여 나노섬유의 구멍 면적을 가우시안 분포 피팅으로 분석하여 표 2에 나타내었다. 도 7은 회전 속도 30 min으로 제조된 나노섬유층의 구멍 분포를 나타낸 것이다.

표 3

회전 속도	1 min	10 min	30 min
Mean pore area (μm^2)	11,700	9.25	4.10
Standard dev. (μm^2)	5,100	12.9	7.12

[0113] (4) 정렬된 나노섬유층의 TEM을 측정하여 나노입자 임베딩(embedding)을 확인하였으며, 그 결과는 도 9에 나타내었다.

[0114] 도 9에서 코어/쉘 나노입자의 표면 처리 시 첨가되는 OA 함량(5wt% 및 15 wt%)에 따라 나타낸 것이다. OA 함량이 15 wt%인 경우(도 9의 (b) 및 (c))에 나노섬유 내에 나노입자 embedding이 증가한 것을 확인할 수 있다.

[0115] **3. In vitro 실험**

[0116] 도 10에 나타낸 바와 같이, 뉴런과 같은 PC12 세포를 sheet 형태의 MEN 결합된 나노 복합체 상에 배양하면서 무선 전기 자극으로 인한 세포의 분열, 분화, 형태 변화를 관찰하였다. 전기 자극 조건은 30~100 mV/mm, 10~100hz frequency 및 1~8hr/day duration이고, 도 10에서 무선전기 자극의 효과는 in vitro로 면역 염색에서 성공적으로 세포 배양된 것을 확인할 수 있다.

[0117] 4. *in vivo* 실험

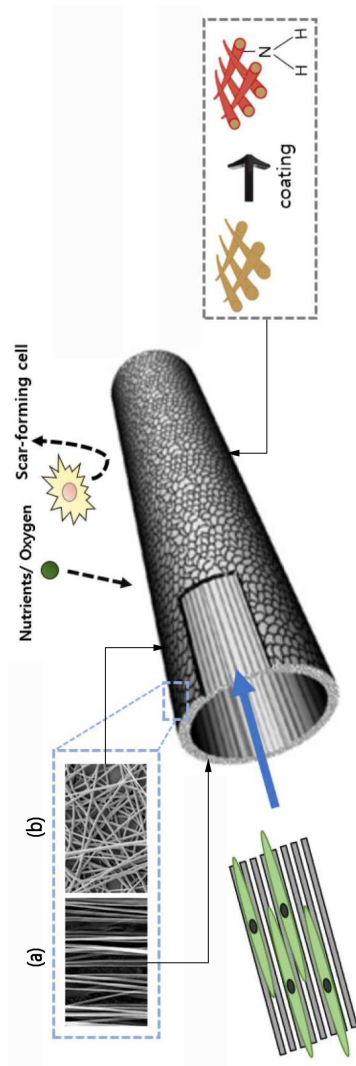
[0118] 제조된 sheet 형태의 MEN 결합된 나노 복합체는 마우스의 절단된 말초신경의 지름에 맞게끔 말아서 도관형의 MEN-NFC(Nanofibrous Conduit)를 제조하고 수술을 통해서 손상된 말초신경에 이식하였다. MEN-NFC(Nanofibrous Conduit)에 의한 무선 전기 자극의 작동 및 구현은 상질 신경(sciatic nerve)에서 실시하였다. 가속화된 재생 및 기능 회복은 EMGs(analyzing electromyograms) 및 “force of reinnervated muscle”에 의해서 측정하였다. 무선 전기 자극으로 신경 연결이 끊어진 근육의 기능 회복과 근육의 무게의 증가도 확인하였다.

[0119] 본 발명은, MEN(CoFe_2O_4 코어, BaTiO_3 셸)이 정렬된 PLGA 나노섬유(nanofiber) 내부에 분포되어 있는 MEN-결합된 나노섬유를 성공적으로 제조하였다. 상기 MEN-결합된 나노섬유는 외부 신호에 의해서 자기장을 형성하여 생체 세포의 증식, 분화를 증폭시키고, 재생 및 기능 회복에 도움을 줄 수 있다. 또한, MEN-결합된 나노섬유를 생체 내에 손상된 말초신경의 지름에 맞게끔 말아서 나노크기의 도관형 MEN-NFC를 제조하고, 이는 외과적 수술을 통해서 손상된 말초신경에 이식하여 재생 및 기능 회복을 가능하게 하는, 생체 삽입형 치료제 및 치료 시스템으로 활용할 수 있다. 즉, 상기 MEN-NFC는 신경에 전기 자극을 주어 신경의 재생을 증진함과 동시에 신경을 절단된 신경 말단에 기계적 유도를 하기 때문에 효과적인 신경 재생을 구현할 수 있다. 또한, MEN-NFC는 생체 모방적이기 때문에 안정적으로 치료할 수 있고, 다른 부피가 큰 구성 요소 없이 무선작동이 가능하므로 시술 과정도 단순하고 효율적이다. 또한, MEN-NFC는 말초 신경 재생 치료뿐만 아니라 다양한 질병을 치료할 수 있는 전자약으로 활용할 수 있다.

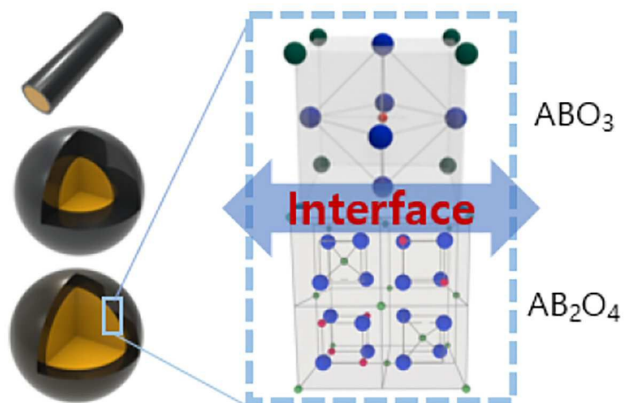
[0120] 이상과 같이 실시예들이 비록 한정된 실시예와 도면에 의해 설명되었으나, 해당 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자라면 상기의 기재로부터 다양한 수정 및 변형이 가능하다. 예를 들어, 설명된 기술들이 설명된 방법과 다른 순서로 수행되거나, 및/또는 설명된 구성요소들이 설명된 방법과 다른 형태로 결합 또는 조합되거나, 다른 구성요소 또는 균등물에 의하여 대치되거나 치환되더라도 적절한 결과가 달성될 수 있다. 그러므로, 다른 구현들, 다른 실시예들 및 특허청구범위와 균등한 것들도 후술하는 특허청구범위의 범위에 속한다.

도면

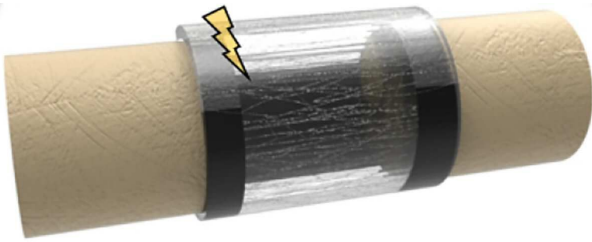
도면1



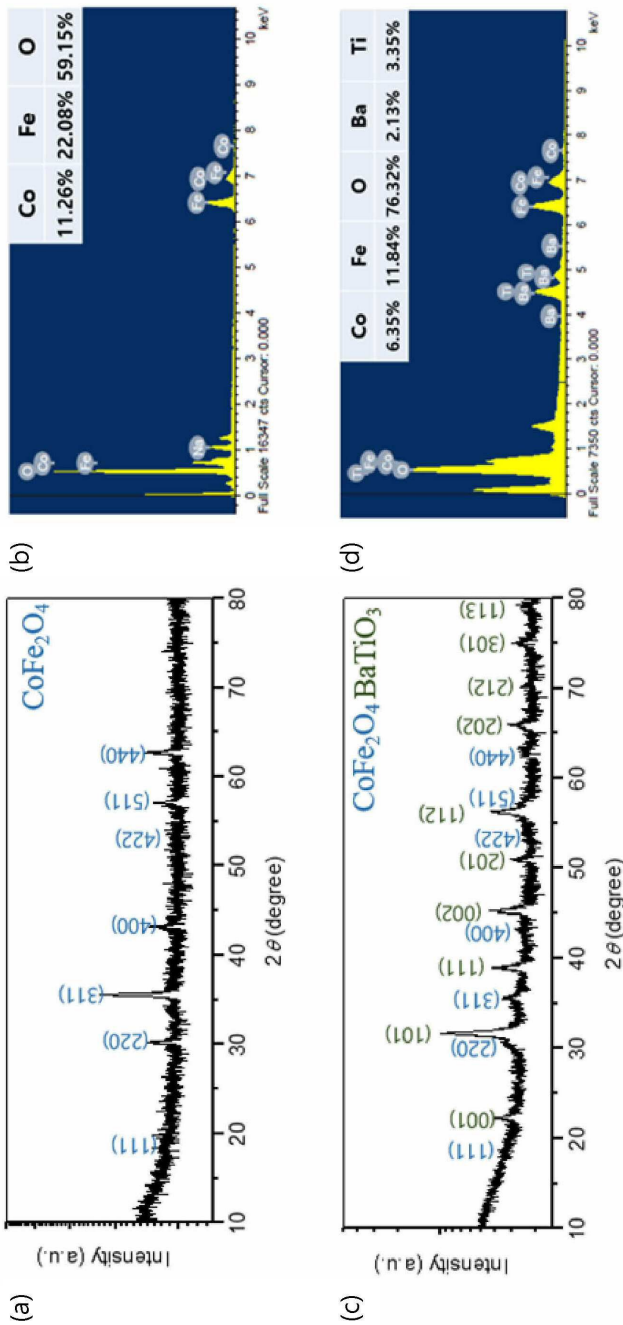
도면2



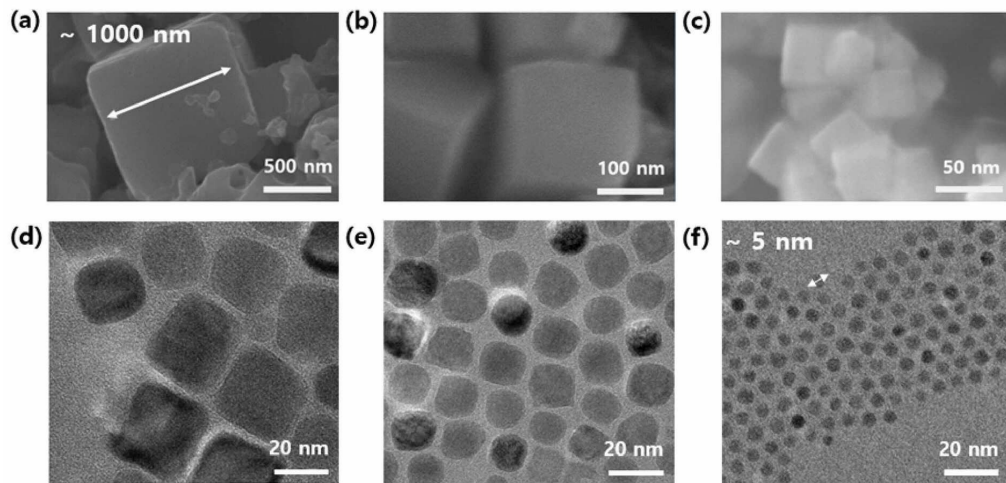
도면3



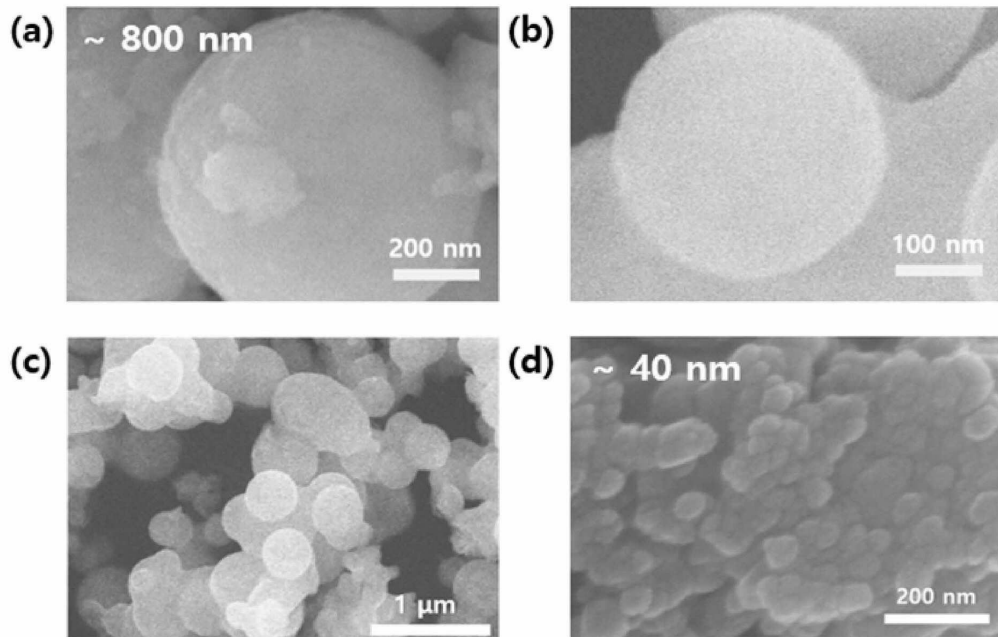
도면4



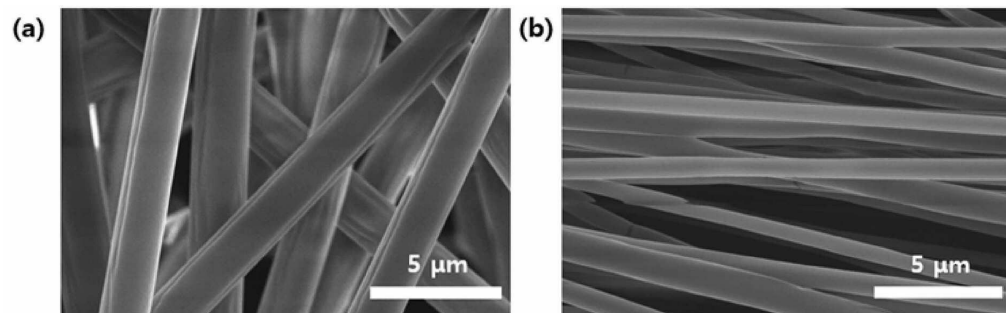
도면5



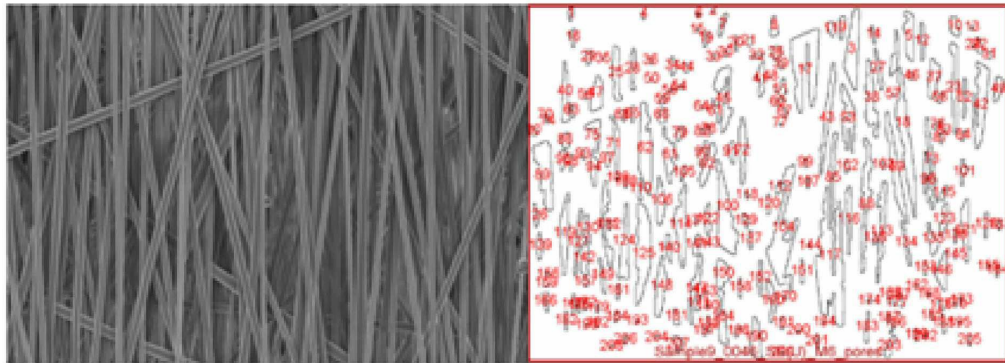
도면6



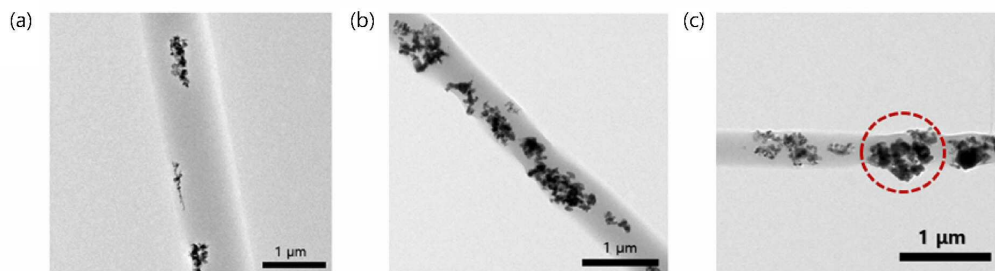
도면7



도면8



도면9



도면10

