(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2016-0009891
(43) 공개일자 2016년01월27일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61L 27/56 (2006.01) *A61F 2/28* (2006.01)
A61L 27/14 (2006.01) *A61L 27/58* (2006.01)
(21) 출원번호 10-2014-0090385
(22) 출원일자 2014년07월17일
심사청구일자 2014년07월17일

(71) 출원인
고려대학교 산학협력단
서울특별시 성북구 안암로 145, 고려대학교 (안암동5가)
(72) 발명자
고영학
경기도 용인시 수지구 성복2로76번길 31(성복동, 대우푸르지오)
신관하
서울특별시 성북구 동소문로 248, 101동 803호(길음동, 삼부아파트)
김종우
경기도 군포시 당산로135번길 49, 나동 101호(금정동, 성균아파트)
(74) 대리인
특허법인다나

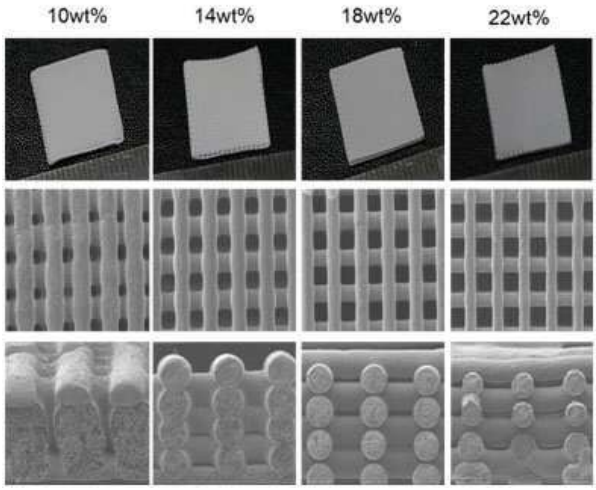
전체 청구항 수 : 총 11 항

(54) 발명의 명칭 **매크로 / 마이크로 이중 기공구조형 3차원 다공성 지지체의 제조 방법 및 이에 의해 제조된 매크로 / 마이크로 이중 기공구조형 3차원 다공성 지지체**

(57) 요 약

본 발명은 용매와 비용매간 상 교환을 통한 상 분리 기술 기반 3차원 적층 시스템을 이용하여 3차원적으로 제어된 매크로/마이크로 기공구조를 동시에 갖는 이중기공 구조형 다공성 고분자 지지체를 제조하는 방법 및 그에 의해 제조된 지지체에 관한 것으로, 기존의 임의형상제조법에 의해 제조된 지지체에 비해 월등히 높은 다공도와 표면적 증가로 인해, 추후 약물이나 성장인자를 탑재할 경우 탑재 효율이 높아질 수 있다.

대 표 도 - 도2



이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 HI11C0388040013
부처명 보건복지부
연구관리전문기관 한국보건산업진흥원
연구사업명 보건의료연구개발사업
연구과제명 [3차년도]골형성 단백질 탑재기술 향상을 위한 융합소재 개발
기 여 율 1/1
주관기관 고려대학교 산학협력단
연구기간 2013.04.01 ~ 2014.03.31

명 세 서

청구범위

청구항 1

생분해성 합성 고분자를 용매에 녹인 생분해성 합성 고분자 용액을 비용매에 담가 3D 프린터로 상 교환시켜 매크로/마이크로 이중기공구조형 3차원 다공성 지지체를 제조하는 단계

를 포함하는 매크로/마이크로 이중기공구조형 3차원 다공성 지지체의 제조 방법.

청구항 2

제 1 항에 있어서,

상기 생분해성 합성 고분자는 폴리카프로락톤(Polycaprolactone, PCL), 폴리락타이드(Polylactide, PLA), 폴리락타이드글리콜라이드 랜덤 공중합체(Polylactide glycolide, PLGA), 폴리글리콜라이드(Polyglycolide, PGA) 또는 이들의 혼합물인 3차원 다공성 지지체의 제조 방법.

청구항 3

제 1 항에 있어서,

상기 용매는 다이클로로에탄(Dichloroethane, DCE) 및 테트라하이드로퓨란(Tetrahydrofuran, THF), 클로로포름(Choloroform), 아세톤(Acetone), 메틸에틸케톤(Methylethylketone, MEK) 및 헥사플루오르-2-프로판올(hexafluoro-2-propano, HFP)로 이루어진 군에서 선택된 2종 이상인 3차원 다공성 지지체의 제조방법.

청구항 4

제 1 항에 있어서,

비용매는 증류수, 알콜류 및 케톤류로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상인 3차원 다공성 지지체의 제조 방법.

청구항 5

제 1 항에 있어서,

상기 생분해성 합성 고분자 용액의 농도는 12 내지 25 wt%인 3차원 다공성 지지체의 제조 방법.

청구항 6

제 1 항에 있어서,

상 교환은 1 내지 5 ㎜/s의 속도로 실시하는 3차원 다공성 지지체의 제조 방법.

청구항 7

제 1 항에 있어서,

압축 공기는 10 내지 350 kPa로 처리하는 3차원 다공성 지지체의 제조 방법.

청구항 8

제 1 항 내지 제 7 항 중에서 선택된 어느 한 항에 따른 방법으로 제조된 매크로/마이크로 이중기공 구조형 3차원 다공성 지지체.

청구항 9

제 8 항에 있어서,

인장 강도가 1.0 MPa 내지 2.5 MPa인 3차원 다공성 지지체.

청구항 10

청구항 8의 3차원 다공성 지지체를 포함하는 골 대체재.

청구항 11

청구항 8의 3차원 다공성 지지체를 포함하는 골 충진재.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 매크로/마이크로 이중 기공구조형 3차원 다공성 지지체의 제조 방법 및 이에 의해 제조된 매크로/마이크로 이중 기공구조형 3차원 다공성 지지체에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 다공성 지지체는 손상된 골 또는 조직부위의 재생 효과를 돕기 위해 사용되는 의료용 소재로서, 치과, 성형외과 및 정형외과 등 여러 분야에서 폭 넓게 사용되고 있다. 특히, 3차원적으로 서로 연결된 기공 구조는 골 및 조직 세포의 부착과 분화를 유도할 수 있기 때문에 기공구조를 제어할 수 있는 기술 개발이 활발히 진행 중에 있다.

[0003] 전기방사법은 적당한 점도의 고분자 용액에 고전압을 인가하여 나노 섬유 형태의 다공성 지지체를 제조할 수 있는 방법이나 지지체 내부의 기공 구조를 제어하기에는 많은 제약이 있다[비특허문헌 1-3].

[0004] 용매 캐스팅(solvent casting) 방법은 고분자를 용매에 용해한 후 이를 다양한 형판에 주입하고 용매를 증발시킴으로 다공성 지지체를 제조할 수 있는 방법이나, 지지체의 표면에 비교적 치밀한 층(dense layer)이 형성되어지며, 기공 구조를 제어하기 위해서는 다양한 변수들을 조절해야 하는 단점이 있다[비특허문헌 4-6].

[0005] 최근, 임의 형상제작법(solid freeform fabrication)은 원하는 형상과 기공 구조를 직접 제어할 수 있는 장점이 있으나, 지지체를 이루는 골격(framework, filament)이 대부분 치밀한 구조로 이루어져 있다[비특허문헌 7-9].

[0006] 따라서, 지지체를 이루는 고분자 골격의 내부 및 표면에 기공구조를 형성하기 위한 다양한 방법이 시도되고 있으나, 현재까지 탁월한 신기술이 개발되지 못하고 있는 현실이기 때문에, 원하는 형상의 지지체의 크기, 모양, 기공 구조를 모두 제어할 수 있는 신기술 개발이 필요하다.

선행기술문헌

비특허문헌

[0007] (비특허문헌 0001) Guimares, A., et al., solving cell infiltration limitations of electrospun

nanofiber meshes for tissue engineering applications. Journal of Nanomedicine, 2010. 5(4): p. 539-554.

(비특허문헌 0002) Leong, M.F., et al., In vitro cell infiltration and in vivo cell infiltration and vascularization in a fibrous, highly porous poly(D,L-lactide) scaffold fabricated by cryogenic electrospinning technique. J Biomed Mater Res A, 2009. 91(1): p. 231-240.

(비특허문헌 0003) Phipps, M.C., et al., Increasing the pore sizes of bone-mimetic electrospun scaffolds comprised of polycaprolactone, collagen I and hydroxyapatite to enhance cell infiltration. Biomaterials, 2012. 33(2): p. 524-534.

(비특허문헌 0004) Lin, W., Q. Li, and T. Zhu, Study of solvent casting/particulate leaching technique membranes in pervaporation for dehydration of caprolactam. Journal of Industrial and Engineering Chemistry, 2012. 18(3): p. 941-947.

(비특허문헌 0005) Tang, Z.G., et al., Surface properties and biocompatibility of solvent-cast poly[-caprolactone] films. Biomaterials, 2004. 25(19): p. 4741-4748.

(비특허문헌 0006) Jones, D.S., et al., Poly(e-caprolactone) and poly(e-caprolactone)-polyvinylpyrrolidoneiodine blends as ureteral biomaterials characterisation of mechanical and surface properties, degradation and resistance to encrustation in vitro. biomaterials 2002. 23: p. 4449-4458.

(비특허문헌 0007) Shim, J.H., et al., Development of a hybrid scaffold with synthetic biomaterials and hydrogel using solid freeform fabrication technology. Biofabrication, 2011. 3(3): 034102.

(비특허문헌 0008) Shor, L., et al., Fabrication of three-dimensional polycaprolactone/hydroxyapatite tissue scaffolds and osteoblast-scaffold interactions in vitro. Biomaterials, 2007. 28(35): p. 5291-5297.

(비특허문헌 0009) Mondrinos, M.J., et al., Porogen-based solid freeform fabrication of polycaprolactone-calcium phosphate scaffolds for tissue engineering. Biomaterials, 2006. 27(25): p. 4399-4408.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0008] 기존의 임의형상제조법(SFF) 기술의 한계를 극복하기 위해, 임의형상제조법과 용매와 비용매의 상 교환을 통한 기공 구조를 형성 기술을 결합하여 원하는 형상의 기공 구조와 높은 다공도를 지닌 다공체를 제조하는 방법을 개발함으로써 본 발명을 완성하게 되었다.

[0009] 따라서, 본 발명은 생분해성 고분자 용액을 비용매 수조에서 3차원으로 적층함으로써 다공성 구조를 이루는 고분자 골격 내 다양한 크기의 기공 및 기공 구조가 제어한 매크로/마이크로 이중 기공구조형 3차원 다공성 지지체를 제조하는 방법을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0010] 상기 과제를 해결하기 위한 수단으로서, 본 발명은

[0011] 생분해성 합성 고분자를 용매에 녹인 생분해성 합성 고분자 용액을 비용매 수조 내에서 미리 디자인된 구조를 3D프린터로 3차원 적층하여 용매와 비용매간 상교환 과정을 거쳐 매크로/마이크로 이중 기공구조형 3차원 다공성 지지체를 제조하는 단계

[0012] 를 포함하는 매크로/마이크로 이중 기공구조형 3차원 다공성 지지체의 제조방법을 제공한다.

[0013] 또한, 상기 과제를 해결하기 위한 다른 수단으로서, 본 발명은

[0014] 상기 방법에 의해 제조된 매크로/마이크로 이중 기공구조형 3차원 다공성 지지체를 제공한다.

[0015] 또한, 상기 과제를 해결하기 위한 또 다른 수단으로서, 본 발명은

[0016] 상기 매크로/마이크로 이중 기공구조형 3차원 다공성 지지체를 포함하는 골 충진재 또는 골 대체재를 제공한다.

발명의 효과

[0017] 본 발명은 임의형상제조법을 이용하여 3차원 형상의 다공성 지지체의 기공 구조 및 기공도를 제어할 수 있는 방법임과 동시에 상 분리 기술을 접목함으로 인해 다공성 지지체를 이루는 고분자 골격(framework, fliament) 내부에도 3차원적으로 연결된 기공 구조를 지닌 지지체를 제조할 수 있는 신기술이다

[0018] 또한, 본 발명에서 제시한 방법으로 다공체를 제조하게 되면, 기존의 임의형상제조법에 의해 제조된 지지체에 비해 월등히 높은 다공도와 표면적 증가로 인해, 추후 약물이나 성장인자를 탑재할 경우 탑재 효율이 높을 것으로 기대한다.

도면의 간단한 설명

[0019] 도 1은 본 발명에 따른 3차원적으로 연결된 기공 구조를 갖는 다공성 지지체의 제조과정을 나타내는 모식도이다 [좌: 3차원 적층 가능한 3D 프린터, 중: 용매와 비용매간 상 교환 유도에 따른 지지체 내부의 기공형성 과정, 우: 완성된 다공성 지지체]

도 2는 실시예 1에 따라 PCL 용액의 농도를 10~22wt%가 되도록 하여 5mmm/s의 속도로 3D 프린팅하여 제조된 3차원 PCL 다공성 지지체의 실제 사진(상)과 주사전자 현미경으로 확대하여 관찰한 표면 구조(중), 파단면 구조(하)이다.

도 3은 18wt%의 PCL 용액을 이용하여 상 교환 속도를 달리하여 제조한 PCL 지지체의 파단면 이미지를 나타낸 것이다.

도 4는 18wt%의 PCL 용액을 3D 적층 시 적층 속도를 3mm/s와 5mm/s로 서로 달리하여 제조한 3차원 다공성 지지체의 파단면 이미지를 통해 기공 폭(높이 방향)을 나타낸 그래프이다.

도 5는 실시예 1에 따라 제조된 18wt%의 PCL 용액을 3D 적층 시 적층 속도를 5mm/s로 하여 제조한 3차원 다공성 지지체의 화학적 성분 및 결정화 정도를 각각 EDS 장비와 DSC 장비를 이용하여 분석한 결과이다.

도 6은 실시예 1에 따라 제조된 18wt%의 PCL 용액을 3D 적층 시 적층 속도를 5mm/s로 하여 제조한 3차원 다공성 지지체의 기계적 물성 평가를 위해 압축 강도 시험과 인장 강도 시험을 진행한 결과이다.

도 7은 실시예 1에 따라 제조된 18wt%의 PCL 용액을 3D 적층 시 적층 속도를 5mm/s로 하여 제조한 3차원 다공성 지지체의 생체 특성을 평가하기 위해 지지체의 표면에 전조골세포(preosteoblast cell)인 MC3T3-E1 세포를 분주하고, 24 시간 경과한 후 공초점 주사현미경(CLSM)으로 관찰한 이미지이다[세포핵: 청색, 액틴: 적색].

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0020] 본 발명은

[0021] 생분해성 합성 고분자를 용매에 녹인 생분해성 합성 고분자 용액을 비용매에 담가 3D 프린터로 상 교환시켜 매크로/마이크로 이중 기공구조형 3차원 다공성 지지체를 제조하는 단계

[0022] 를 포함하는 매크로/마이크로 이중 기공구조형 3차원 다공성 지지체의 제조방법에 관한 것이다.

[0023] 구체적으로, 생분해성 합성 고분자를 용매에 녹여 고분자 용액을 제조하는 단계; 상기 용액을 이용하여 3차원 적층 시스템이 가능한 3D 프린터에서 고분자 용액을 비용매 수조에서 적층하는 단계; 및 다공성 지지체로부터 잔존 용매 및 비용매를 제거하는 단계; 를 포함하는 3차원 적층 시스템을 이용한 다공성 지지체의 제조방법에 관한 것이다.

[0024] 상기 3차원 적층 시스템을 이용한 다공성 지지체의 제조방법을 구체적으로 설명하면 다음과 같다.

[0025] 먼저, 생분해성 합성 고분자를 용매에 녹여 생분해서 합성 고분자 용액을 제조한다.

[0026] 상기 생분해성 합성 고분자는 폴리카프로락톤(Polycaprolactone, PCL), 폴리락타이드(Polylactide, PLA), 폴리락타이드글리콜라이드 랜덤 공중합체(Polylactide glycolide, PLGA) 및 폴리글리콜라이드(Polyglycolide, PGA)로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상이 바람직하나, 이에 제한되지 않는다.

[0027] 상기 용매는 다이클로로에탄(Dichloroethane, DCE), 테트라하이드로퓨란(Tetrahydrofuran, THF), 클로로포름(Choloroform), 아세톤(Acetone), 메틸에틸케톤(Methylethylketone, MEK) 및 헥사플루오르-2-프로판올(hexafluoro-2-propano, HFP)로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상이 바람직하나, 이에 제한되지 않는다.

[0028] 상기 비용매는 증류수, 알콜류 및 케톤류로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상이 바람직하나, 이에 제한되지 않는다.

[0029] 상기 알콜류는 에탄올(Ethanol), 메탄올(Methanol), 부탄올, 프로판올 등이 바람직하고, 상기 케톤류는 아세톤(Acetone), 다이메틸 케톤(DIMETHYL KETONE), 프로판온(Propanone) 등이 바람직하다.

[0030] 또한, 3차원 적층 시스템을 이용하여 용매를 적층하기 위한 적당한 점도 조절 등의 이유로 바람직한 생분해성 합성 고분자 용액의 농도는 12 내지 25 wt%이며, 12 wt% 미만이면 균일한 형상을 유지하기 힘들고 수직 방향으로 붕괴되는 문제가 있으며, 25 wt%를 초과하면 생분해성 합성 고분자를 용매에 완전 용해하기 어려우며 점도가 급격히 증가하기 때문에 공기압력을 조절하여 용액을 주사기의 노즐 팁으로부터 토출시키기 어려운 문제가 있다.

[0031] 본 발명에서는 생분해성 합성 고분자 용액 제조 시 자석 교반법을 사용하였으며, 이 외에도 기계적 교반법, 보어텍싱(vortex)법 등이 가능하다.

[0032] 다음은 상기 고분자 용액을 이용하여 3차원 적층 시스템이 가능한 3D 프린터에서 고분자 용액을 비용매 수조에서 적층한다. 고분자 용해액을 비용매 수조에서 3차원으로 적층함으로 다공성 구조를 이루는 고분자 골격 내 다양한 크기의 기공 및 기공구조가 제어된 다공성 지지체를 제조할 수 있다.

[0033] 상기 생분해성 합성 고분자 용액을 이용하여 3차원 적층시 고분자 용액의 적당한 고형화를 유도하기 위해 용매와 비용매 간의 상 교환은 적층 속도가 1 내지 5 mm/s의 속도로 실시하는 것이 바람직하다. 만일 1mm/s 속도 미만이면 3차원 적층시 이미 적층된 파이버와 파이버 사이로 상부의 필라멘트가 중력 방향으로 붕괴되거나 형상제어가 어려운 문제가 있으며, 만일 5 mm/s 속도 초과하면 고분자 용액이 고형화되는 속도에 비해 적층 속도가 빠르게 되어 수직방향으로의 기공구조 붕괴현상이 일어나는 문제가 있다.

[0034] 상기 적층 시 압축 공기는 10 내지 350 kPa로 처리하는 것이 고분자 용액의 농도가 증진됨에 따라 용액의 점도가 증진되기 때문에 정확한 적층을 위해 서는 압축공기를 제시된 바와 같은 범위로 조절하여야 이유로 바람직하다.

[0035] 추가적으로 다공성 지지체로부터 잔존 용매 및 비용매를 제거한다.

[0036] 용매를 제거하는 방법으로는 동결 건조, 진공 건조, 자연 건조 등을 사용할 수 있다.

[0037] 본 발명에서 동결 건조를 사용할 수 있으며, 동결 건조는 -80 내지 -10 ℃, 구체적으로 -50 내지 -20 ℃의 온도에서 수행될 수 있다. 상기 온도 범위에서 성형체의 적층물의 손상 없이 동결매체가 용이하게 제거될 수 있다.

[0038] 상기 동결 건조에 의해 성형체 내부에 일방향으로 정렬된 동결매체가 제거되어 성형체(파이버) 내부에는 일방향성 마이크로 기공이 형성된다(상기 일방향성은 파이버가 다층으로 형성된 다공성 지지체에서 파이버들이 일정 간격으로 적층된 하나의 층을 기준으로 한 쪽 방향으로 향함을 의미함).

[0039] 이렇게 제조된 3차원 다공성 지지체는 고분자 골격 내 다양한 크기의 기공 및 기공구조가 제어된 다공성 지지체 구조인 것을 특징으로 한다. 특히 3차원으로 적층 가능한 3D 프린트 기술을 활용하여 원하는 형상의 지지체의 크기, 모양, 기공 구조를 모두 제어할 수 있는 능력이 뛰어났다.

[0040] 본 발명은, 또한 상기 방법으로 제조된 매크로/마이크로 이중 기공구조형 3차원 다공성 지지체에 관한 것이다.

[0041] 특히, 상기 3차원 다공성 지지체는 적층시 지지체를 이루는 성형체(파이버)는 각 층마다 일방향으로 정렬되어 있는 구조이며, 일방향 정렬된 성형체(파이버)사이의 간격은 매크로 크기의 기공구조를 부여하게 되며 성형체

(파이버) 내부에는 용매와 비용매간 상교환을 통해 마이크로 사이즈의 기공구조를 갖는다. 보다 구체적으로는 상기 3차원 다공성 지지체는 평균 직경(지름)이 1 내지 50 ㎛, 구체적으로 1 내지 20 ㎛인 마이크로 기공 구조를 가진 성형체(파이버)가 하나의 층마다 일방향으로 형성되며, 파이버의 평균 직경은 150 내지 400 ㎛인 것이 바람직하며, 파이버들 간의 평균 직경(지름)이 5 내지 300 ㎛인 매크로 기공 구조를 동시에 가진다.

[0042] 또한, 상기 3차원 다공성 지지체는 기공율은 70% 이상이며, 인장 강도가 1.0 MPa 내지 2.5 MPa이고, 압축 강도는 1.0 MPa 내지 5.0 MPa의 범위 내에 포함될 수 있다.

[0043] 본 발명은, 또한 상기 3차원 다공성 지지체를 포함하는 제품에 관한 것이다.

[0044] 본 발명에 따른 3차원 다공성 지지체는 매크로/마이크로 이중 기공구조 및 우수한 물성을 가지므로, 골 대체재 또는 골 충진재, 즉 다공성 인공 이식재료 및 자가골 대체용 인공 이식재료로 널리 사용될 수 있다.

[0045] 이하, 본 발명에 따르는 실시예를 통하여 본 발명을 보다 상세히 설명하나, 본 발명의 범위가 하기 제시된 실시예에 의해 제한되는 것은 아니다.

[0046] **실시예 1: 매크로/마이크로 이중기공구조형 3차원 다공성 지지체의 제조**

[0047] 본 실시예에서 특별히 제한하지 않는 한, 모든 시약은 시그마-알드리치로부터 구입하였다.

[0048] 합성 고분자로 기계적 물성이 우수하며 생분해성 재료인 PCL(Mn= 80,000)을 사용하였으며, 용매로는 THF(tetrahydrofuran)을 사용하였다.

[0049] 우선, 다양한 농도(10, 14, 18, 22 wt%)의 PCL 용액을 제조하기 위해 용매인 THF 100 ml에 PCL을 각각 10g, 15g, 20g, 25g (10~22wt%)을 첨가하여 약 40 ℃의 온도에서 자석 교반기를 이용하여 완전 용해하였고 이후 용액의 온도가 상온이 되도록 식혀주었다.

[0050] 준비된 PCL 용액을 노즐 직경이 약 260 ㎛인 주사기에 주입하였고 3D 프린팅 하기 위해 압축공기를 주사기에 주입하여 노즐 팁으로부터 고분자 용액이 토출되도록 하였다.

[0051] PCL 용액의 Feeding rate는 각 PCL 용액의 농도(10, 14, 18, 22 wt%)에 따라 각각 1.7ml/h, 1.7ml/h, 1.6ml/h, 1.1ml/h로 설정하였다.

[0052] 이때, 10 ~ 20 ℃의 에탄올 수조 내에서 PCL 용액을 토출하는 방법을 사용함으로 PCL의 용매인 THF와 비용매인 에탄올이 상 교환되도록 유도하여 지지체를 이루는 필라멘트 내부에 다공성 구조를 부여할 수 있도록 하였다.

[0053] 3D 프린터로는 컴퓨터 조절 로봇(Ez-Robo5, Iwachita, Japan)를 사용하였으며, 적층 속도는 초당 5 mm로 미리 디자인된 구조의 선을 따라 이동하였고, 압축 공기는 PCL 용액의 농도에 따라 달리(50 ~ 300 kPa)하여 미리 디자인된 지지체의 구조를 축성하였다.

[0054] 이후, 잔존 용매 및 비용매를 제거하기 위해, -40 내지 -50 ℃ 온도에서 동결건조기를 이용하여 1 내지 7일 동안 동결 건조하였다.

[0055] 다양한 농도에 따라 제조된 3차원적인 매크로 사이즈의 기공을 지닌 PCL 지지체의 기공구조는 주사전자 현미경[FE-SEM, JSM-6701F, JEOL, Techniques, Tokyo, Japan]을 이용해 관찰하였고, 기공의 폭(가로, 세로, 높이 등)은 주사전자 현미경으로 관찰한 이미지로부터 추정하였다. 더욱이, 수은 침투법(AutoPore IV 9500, Micromeritics Instrument Co., Norcross, GA)을 이용하여 마이크로 사이즈의 기공 구조를 분석하였으며, 전체 기공율은 제조된 시편의 부피와 무게로부터 계산하였다.

[0056] 하기 표 1은 다양한 농도의 PCL 용액을 이용하여 3D 프린팅 하기 위한 공정변수로서 PCL 용액의 농도에 따라 달리 적용된 압축 공기 압력과 3D 프린팅 조건을 예시로서 제시하고 있다.

표 1

Working condition of the RP technique					
PCL Content [wt%]	Air Pressure [kPa]	Needle size [μm]	Velocity [mm/s]	Working temperature [℃]	Freezing temperature [℃]
10	10	514	5	10~20	- 40~ -50
14	50				
18	150				
22	300				

[0057]

[0058] 하기 표 2는 상 분리 기술을 기반의 3차원 적층 시스템을 이용하여 제조한 다공성 지지체의 기공 크기 및 기공 벽의 두께(파이버의 직경)를 나타낸다.

표 2

Pore size and wall thickness of the PCL scaffolds					
	Direction	10wt%	14wt%	18wt%	22wt%
Pore size [um]	X	176.6±30.9	235.3±8.0	234.8±11.2	281.4±9.0
	Y	157.4±31.0	218.7±6.2	243.6±13.2	252.8±14.1
	Z	N/M	17.6±3.9	24.5±3.4	37.9±6.9
Wall thickness [um]	X	279.3±15.7	227.1±6.8	195.8±7.2	164.8±9.5
	Y	289.8±14.1	245.7±24.4	212.3±16.4	177.9±15.9
	Z	N/M	184.8±11.6	178.2±7.8	147.8±16.0
Porosity [%]		77.8±2.0	75.8±1.9	74.2±2.2	72.2±4.5

[0059]

[0060] 상기 표 2에 나타낸 바와 같이, 실시예 1에 따른 다공성 지지체는 PCL 용액의 농도가 10,14,18,22 wt%로 증가될수록 성형체를 이루는 파이버의 직경은 290±14㎛(10wt%), 246±24㎛(14wt%), 212±16㎛(18wt%), 178±16㎛(22wt%)으로 감소하였으며, 또한 PCL 용액의 농도가 10,14,18,22 wt%로 증가될수록 성형체 사이의 간격인 기공 크기가 가로 방향으로는 177±31㎛(10wt%), 235±8㎛(14wt%), 235±11㎛(18wt%), 281±9㎛(22wt%)로 증가하였으며, 세로 방향으로는 157±31㎛(10wt%), 219±6㎛(14wt%), 244±13㎛(18wt%), 252±14㎛(22wt%)로 증가하였고, 높이 방향으로는 10wt%인 경우 수직 방향으로 붕괴되어 측정할 수 없었으나, PCL 용액의 농도가 14wt%에서 22wt%까지 증가될수록 18±4㎛(14wt%), 25±3㎛(18wt%), 38±7㎛(22wt%)로 기공 크기가 증가하였다. 또한, 성형체(파이버)를 이루는 마이크로 기공 크기는 PCL의 농도가 10wt%에서 18wt%까지 증진될수록 10.03.4(10wt%), 6.81.3(14wt%), 4.21.0(18wt%),로 작아지는 경향을 보였으며, 기공율(porosity)은 PCL의 농도가 10 내지 18wt%일 때 78%(10wt%), 76%(14wt%), 74%(18wt%)로 나타났다.

[0061] **실험예 1: 적층 속도에 따른 다공성 지지체의 기공 구조 변화**

[0062] 실시예 1에 따라 제조하되, 보다 정교한 3차원 기공 구조 형성을 위해 용매와 비용매간 상 교환 속도와 용액의 적층 속도가 서로 부합되어야 하기 때문에, 이를 제어하기 위해 동일 농도인 18wt%의 PCL 용액을 이용하여 적층 속도를 3mm/s, 5mm/s로 조절하여 용매와 비용매간 상 교환되는 속도 대비 적층 속도에 따른 기공구조 변화를 관찰하여 확인하였다.

[0063] 주사전자현미경을 이용하여 적층 속도를 달리한 PCL 지지체의 파단면을 관찰한 결과 용매와 비용매간 상 교환

속도에 비해 적층 속도가 빠른 경우, 각 층간 간격(기공 구조)가 붕괴되는 현상이 관찰되었다[도 3].

[0064] 보다 자세히, 적층 속도를 달리하여 제조한 지지체의 파단면 이미지를 통해 기공 폭(높이 방향)을 계산한 결과, 5㎜/s의 속도로 적층한 경우 수직 방향의 기공 폭은 25±3㎛의 크기로 관찰되었고 3㎜/s의 속도로 적층한 경우 91±16㎛의 크기로 관찰되었다. 5㎜/s의 적층 속도보다 3㎜/s의 적층 속도로 지지체를 제조하게 되면 수직 방향으로의 기공 구조 붕괴 현상이 대폭 줄어든 지지체를 제조할 수 있을 것으로 판단되며, 이러한 결과를 바탕으로 지지체를 이루는 기공 구조를 정밀 제어하기 위해서는 용매와 비용매간 상 교환 속도에 대비 적층 속도를 정밀 제어하여야 한다고 볼 수 있다[도 4].

[0065] **실험예 2: 화학적 성분 분석 및 결정화 분석 확인**

[0066] 도 5는 실시예 1에서 제조된 18wt%의 PCL 용액을 이용하여 5㎜/s의 적층 속도로 제조한 다공성 지지체의 화학적 성분 및 결정화 정도를 각각 EDS 장비와 DSC 장비를 이용하여 분석한 결과이다.

[0067] 원소를 정성 및 정량 분석하는 장치인 EDS를 통해 PCL 스캐폴드 고유의 화학적인 조성을 평가하였으며, 고분자가 가열될 때 일어나는 변화를 시차주사 열량계를 이용하여 실험하여 PCL 스캐폴드의 결정화 정도를 분석하였다.

[0068] PCL 용액을 제조 후 이를 에탄올 수조에서 3차원 적층한 결과, 3차원 지지체에서 PCL 고유의 화학성분 이외 별다른 성분은 검출되지 않았으며, 순수 PCL 폴리머의 결정화 정도와 비교해보았을 때 약간 결정화가 증진되었으나 순수 PCL 폴리머와 비슷한 정도인 것으로 관찰되어졌다.

[0069] **실험예 3: 기계적 물성 측정**

[0070] 1) 실험과정

[0071] 실시예 1에서 제작된 매크로/마이크로 이중 기공구조형 3차원 다공성 지지체에 대하여 정렬된 기공 구조를 확인하기 위하여 주사전자현미경(FE-SEM; JSM-6701F; JEOL Techniques, Tokyo, Japan)으로 관찰하였다.

[0072] 상기 다공성 지지체의 전체 기공율(porosity)은 그 단면적과 무게로 계산되었다. 기공의 크기는 샘플을 액체 질소 내에서 충격을 가하여 파단 후 주사전자현미경으로 관찰하여 계산되었다. 정렬된 기공구조를 가지는 다공성 지지체의 압축 강도를 측정하였다.

[0073] 또한, 다공성 PCL 지지체의 기계적 특성을 평가하기 위해, 시편을 6.5㎜ x 6.5㎜ x 0.8㎜의 사각형 형태로 만들어 압축 강도 시험을 시행하였고, 3㎜ x 0.8㎜ x 10㎜의 크기로 만들어 인장 강도 시험을 진행하였다.

[0074] 상기 압축 강도는 만능재료시험기(OTU-05D, Oriental TM Corp., Korea)의 크로스헤드 스피드를 1 ㎜/min하여 측정하였다.

[0075] 상기 인장 강도는 크로스 헤드 스피드를 5㎜/min 하여 측정하였다.

[0076] 그 결과는 도 6에 나타내었으며, PCL 용액의 농도가 14 wt%에서 22 wt%까지 증가함에 따라 인장 강도 값이 1.2MPa에서 2.1MPa까지 증진됨을 확인하였다. 압축강도의 경우, 샘플의 높이가 낮고 다공도가 높아 샘플이 치밀화(densification)되어 정확한 압축 강도 값을 산출할 수는 없으나, 압축 강도 값은 1.0 내지 5.0 MPa의 범위 내에 있는 것으로 나타났다.

[0077] **실험예 4: 생체 특성 평가**

[0078] 실시예 1에서 제작된 매크로/마이크로 이중기공 구조형 제조된 다공성 지지체의 생체 특성을 평가하기 위해, 지지체의 표면에 전조골세포(preosteoblast cell)인 MC3T3-E1 세포를 분주하고 24시간 경과한 후 공초점 주사현미경(CLSM)으로 관찰하였다.

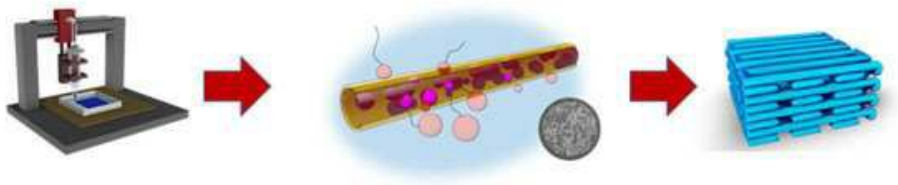
[0079] 그 결과를 도 7에 나타내었으며, 제조된 시편의 표면에 세포가 잘 부착되어있고 액틴이 활기차게 펼쳐진 형상을 지닌 것으로 확인되었다.

[0080] 이러한 결과를 바탕으로 다공성 PCL 지지체를 생체 내 매식 시 독성이 없을 것으로 판단되며, 골 조직 재생에

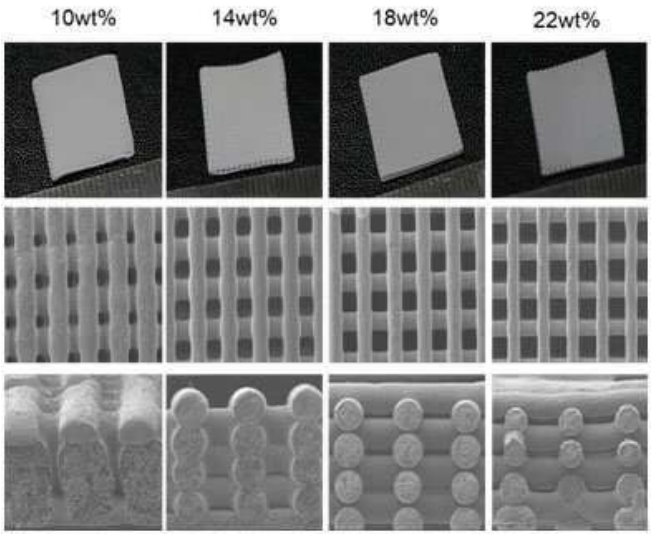
효율적인 지지체로 사용될 수 있을 것으로 사료된다.

도면

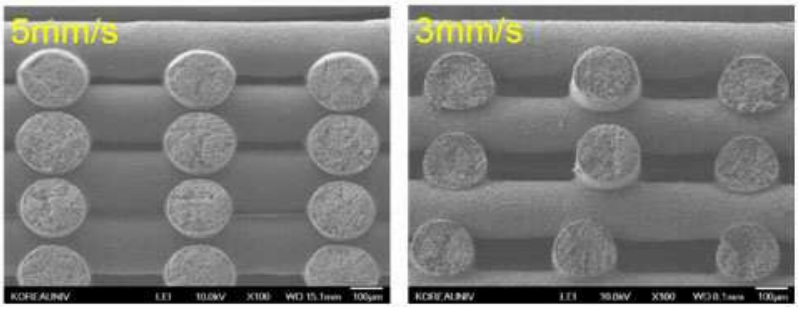
도면1



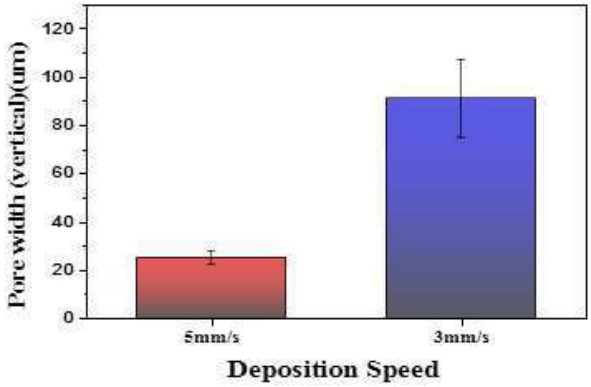
도면2



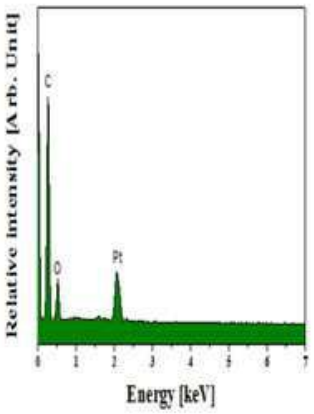
도면3



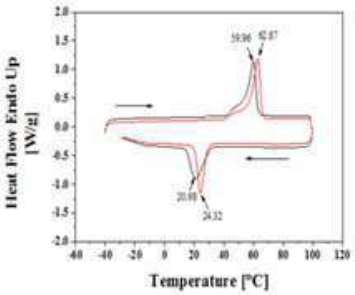
도면4



도면5



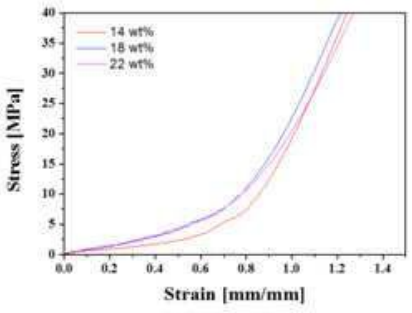
화학적 성분 분석



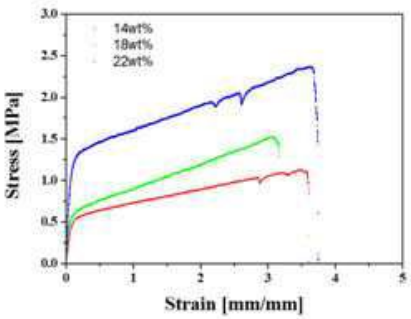
Type	T_m (℃)	T_c (℃)	H_m (℃)	C (%)
Bare PCL	59.96	20.98	43.09	31.7
PCL scaffold	62.87	24.32	48.13	35.4

결정화 분석

도면6



압축강도 시험



인장강도 시험

도면7

