



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2017-0087356
(43) 공개일자 2017년07월28일

- | | |
|--|--|
| <p>(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
 <i>A61L 27/46</i> (2006.01) <i>A61L 27/12</i> (2006.01)
 <i>A61L 27/18</i> (2006.01) <i>A61L 27/58</i> (2006.01)</p> <p>(52) CPC특허분류
 <i>A61L 27/46</i> (2013.01)
 <i>A61L 27/12</i> (2013.01)</p> <p>(21) 출원번호 10-2016-0007266
 (22) 출원일자 2016년01월20일
 심사청구일자 2016년01월20일</p> | <p>(71) 출원인
 건양대학교산학협력단
 충청남도 논산시 대학로 121 (내동)</p> <p>(72) 발명자
 송기창
 대전광역시 유성구 전민로 18 (전민동)
 전성현
 대전광역시 유성구 유성대로1628번길 64</p> <p>(74) 대리인
 김대영</p> |
|--|--|

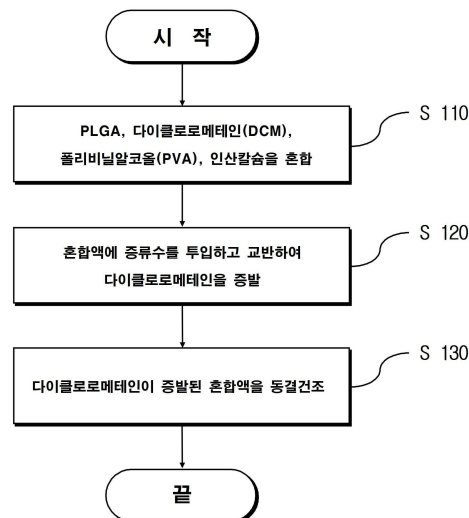
전체 청구항 수 : 총 5 항

(54) 발명의 명칭 **주입형 인산칼슘-PLGA 복합 뼈수복재의 제조방법**

(57) 요약

본 발명은 생분해성 고분자의 일종인 PLGA를 사용하여 인산칼슘이 PLGA 내에 함입된 HA/PLGA 복합 뼈수복재로, PLGA가 분해되면서 인산칼슘이 서서히 방출되므로 뼈 형성 효과가 장시간 지속되는 주입형 인산칼슘-PLGA 복합 뼈수복재의 제조방법에 관한 것이다.

대표도 - 도2



(52) CPC특허분류

A61L 27/18 (2013.01)

A61L 27/58 (2013.01)

A61L 2430/02 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 2015-B-0014-010105

부처명 교육부

연구관리전문기관 한국연구재단

연구사업명 산학공동기술개발지원사업

연구과제명 주입형 인산칼슘/PLGA 복합 뼈수복재 개발

기 여 율 1/1

주관기관 건양대학교산학협력단

연구기간 2015.06.01 ~ 2015.12.31

명세서

청구범위

청구항 1

PLGA, 다이클로로메테인(DCM), 폴리비닐알코올(PVA), 인산칼슘을 혼합하여 혼합액을 만드는 단계(S 110);

상기 혼합액에 증류수를 투입하고 교반하여 다이클로로메테인을 증발시키는 단계(S 120);

다이클로로메테인이 증발된 혼합액을 동결건조하는 단계(S 130); 이루어지는 것을 특징으로 하는 주입형 인산칼슘-PLGA 복합 뼈수복재의 제조방법.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 PLGA는 락타이드와 글리콜라이드의 물비가 75:25 내지 50:50이고,

상기 폴리비닐알코올은 1 내지 5 wt%의 농도를 갖는 것을 특징으로 하는 주입형 인산칼슘-PLGA 복합 뼈수복재의 제조방법.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 혼합액을 만드는 단계(S 110)는

PLGA를 다이클로로메테인(DCM)에 중량대비 1:8 내지 1:12로 투입하여 PLGA 용액을 만드는 단계(S 111)와,

폴리비닐알코올(PVA) 용액에 인산칼슘을 중량대비 1:0.2 내지 1:0.6으로 투입하고 교반하여 PVA 용액을 만드는 단계(S 112)와,

상기 PLGA 용액 및 PVA 용액을 중량대비 1:4 내지 1:6으로 혼합한 혼합액을 만드는 단계(S 113)로 이루어지는 것을 특징으로 하는 주입형 인산칼슘-PLGA 복합 뼈수복재의 제조방법.

청구항 4

제1항에 있어서,

상기 혼합액을 만드는 단계(S 110)는

PLGA와 인산칼슘을 다이클로로메테인(DCM)에 중량대비 1:1:8 내지 1:3:12로 투입하여 PLGA 용액을 만드는 단계(S 111')와,

상기 PLGA 용액에 폴리비닐알코올(PVA)을 중량대비 1:4 내지 1:6으로 혼합하여 혼합액을 만드는 단계(S 112')로 이루어지는 것을 특징으로 하는 주입형 인산칼슘-PLGA 복합 뼈수복재의 제조방법.

청구항 5

제1항에 있어서,

상기 증발시키는 단계(S 120)는

상기 다이클로로메테인(DCM)과 중량대비 1: 180 내지 220의 증류수를 사용하는 것을 특징으로 하는 주입형 인산

칼슘-PLGA 복합 뼈수복재의 제조방법.

발명의 설명

기술 분야

- [0001] 본 발명은 생분해성 고분자의 일종인 PLGA를 사용하여 인산칼슘이 PLGA 내에 함입된 HA/PLGA 복합 뼈수복재로, PLGA가 분해되면서 인산칼슘이 서서히 방출되므로 뼈 형성 효과가 장시간 지속되는 주입형 인산칼슘-PLGA 복합 뼈수복재의 제조방법에 관한 것이다.

배경 기술

- [0002] 일반적으로 사고에 의한 골절 또는 골다공증 등의 질병으로 인하여 뼈 조직의 상실 또는 결손이 발생할 경우 생체의 형태학적 변화 및 기능적 장애가 나타난다. 이와 같은 뼈 결손 부위의 수복을 위해 골다공증 치료제를 복용하거나, 뼈이식(bone-grafting) 또는 뼈충진(bone-filling) 방법이 사용되고 있으며, 자가 뼈이식(allograft), 이종 뼈이식, 금속재료, 고분자재료, 세라믹 등을 활용한 충전 방식이 사용되고 있다.
- [0003] 뼈 이식 또는 뼈 충전은 뼈의 결손부분을 보완하는 물질(뼈수복재, bone-filler)을 사용하며, 최근 키를 늘이거나 왜소한 턱을 교정하기 위한 골신연술이 빈번하게 시행됨에 따라 뼈수복재의 수요가 증가하고 있다.
- [0004] 뼈충진재 및 뼈이식재는 인간의 몸에 삽입되는 바이오 소재(bio-material)로서, 인체에 삽입되면 염증과 독성을 유발하지 않으나 생체조직과 결합하지 않는 생체불활성 소재(bioinert material), 생체친화성이 높아 인체에 삽입되면 주위 조직과 생화학적으로 결합하는 생체활성 소재(bioactive material), 이식 후 체내에서 완전히 흡수 또는 분해되는 생체분해성 소재(biodegradable material)로 구분된다.
- [0005] 또한, 재료에 따라 금속, 세라믹 재료(무기물) 및 고분자로 구분할 수 있으며, 최근에는 각 재료가 갖는 장점을 살려 세라믹을 고분자와 복합화하거나 금속과 세라믹을 혼합하여 사용하기도 한다.
- [0006] 한편, 무기물인 인산칼슘(hydroxyapatite, HA)은 인체뼈를 구성하는 미네랄과 조성 및 결정상이 유사하며 생체 적합성이 뛰어난 물질로 체내 주입 시 주변 세포에 의해 재흡수가 잘되고 칼슘 이온과 인산염 이온으로 용해됨으로 뼈 결손이 발생하였을 때 새로운 뼈 형성을 증진시키는 것으로 잘 알려져있다.
- [0007] 하지만, 인산칼슘을 단독으로 뼈수복재로 사용할 경우에는 체내 주입 시 용해속도가 빠르므로 뼈 형성 효과가 지속되지 못한다는 단점이 있었다.

선행기술문헌

특허문헌

- [0008] (특허문헌 0001) 한국공개특허 제10-2005-0050609호(2005.05.31 공개.)

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0009] 본 발명은 상기와 같은 문제점을 해결하기 위하여 창출된 것으로, 본 발명의 목적은 생분해성 고분자인 PLGA에 인산칼슘을 함침시켜 10 ~ 1000 μ m 크기의 마이크로 입자형태를 갖도록 함으로 체내에서 뼈충진재인 인산칼슘이 서서히 방출될 수 있도록 하는 주입형 인산칼슘-PLGA 복합 뼈수복재의 제조방법을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

- [0010] 상기와 같은 목적을 위해 본 발명은 PLGA, 다이클로로메테인(DCM), 폴리비닐알코올(PVA), 인산칼슘을 혼합하여 혼합액을 만드는 단계; 상기 혼합액에 증류수를 투입하고 교반하여 다이클로로메테인을 증발시키는 단계; 다이클로로메테인이 증발된 혼합액을 동결건조하는 단계; 이루어지는 것을 특징으로 한다.
- [0011] 이때 상기 PLGA는 락타이드와 글리콜라이드의 몰비가 75:25 내지 50:50이고, 상기 폴리비닐알코올은 1 내지 5 wt%의 농도를 갖는 것이 바람직하다.

[0012] 또한, 상기 혼합액을 만드는 단계는 PLGA를 다이클로로메테인(DCM)에 중량대비 1:8 내지 1:12로 투입하여 PLGA 용액을 만드는 단계와, 폴리비닐알코올(PVA) 용액에 인산칼슘을 중량대비 1:0.2 내지 1:0.6으로 투입하고 교반하여 PVA 용액을 만드는 단계와, 상기 PLGA 용액 및 PVA 용액을 중량대비 1:4 내지 1:6으로 혼합한 혼합액을 만드는 단계로 이루어질 수 있다.

[0013] 또한, 상기 혼합액을 만드는 단계는 PLGA와 인산칼슘을 다이클로로메테인(DCM)에 중량대비 1:1:8 내지 1:3:12로 투입하여 PLGA 용액을 만드는 단계와,

[0014] 상기 PLGA 용액에 폴리비닐알코올(PVA)을 중량대비 1:4 내지 1:6으로 혼합하여 혼합액을 만드는 단계로 이루어질 수 있다.

[0015] 또한, 상기 증발시키는 단계는 상기 다이클로로메테인(DCM)과 중량대비 1: 180 내지 220의 증류수를 사용하는 것이 바람직하다.

발명의 효과

[0016] 본 발명을 통해 생분해성 고분자인 PLGA에 인산칼슘을 함침시켜 10 ~ 1000 μ m 크기의 마이크로 입자형태를 갖도록 함으로 체내에서 뼈충진제인 인산칼슘이 서서히 방출될 수 있도록 하는 주입형 인산칼슘-PLGA 복합 뼈수복제의 제조가 가능하다

도면의 간단한 설명

[0017] 도 1은 본 발명에서 사용된 주요 시약들의 구조식,
 도 2는 본 발명에 따른 주입형 인산칼슘-PLGA 복합 뼈수복제의 제조 공정도,
 도 3은 본 발명의 제1실시예에 따라 제조된 HA/PLGA 마이크로 입자의 SEM 사진,
 도 4는 HA가 담지된 HA/PLGA 마이크로 입자의 FT-IR 스펙트럼,
 도 5는 본 발명의 제2실시예에 따라 제조된 HA/PLGA 마이크로 입자의 SEM 사진,
 도 6은 본 발명의 제3실시예에 따라 제조된 HA/PLGA 마이크로 입자의 SEM 사진,
 도 7은 본 발명의 제4실시예에 따라 제조된 HA/PLGA 마이크로 입자의 SEM 사진,
 도 8은 본 발명의 제5실시예에 따라 제조된 HA/PLGA 마이크로 입자의 SEM 사진이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0018] 이하, 첨부된 도면을 참조하여 본 발명 주입형 인산칼슘-PLGA 복합 뼈수복제의 제조방법을 구체적으로 설명한다.

[0019] 도 1은 본 발명에서 사용된 주요 시약들의 구조식이다.

[0020] 본 발명에서 DDS(Drug Delivery System)를 위한 생분해성 고분자는 Poly(Lactide-co-Glycolide) copolymer (PLGA, Aldrich)를 사용하였다.

[0021] 생분해성 고분자인 PLGA는 인체 내에서의 무해성과 안정성을 장점으로 하며 생체 친화성이 있으므로 약물전달시스템에 많이 사용되고 있다. 또한, poly(lactic acid) (PLA)와 poly(glycolic acid) (PGA)의 성분비율에 따라 인체 내에서 분해되는 속도가 좌우되어 전달체가 분해되면서 약물이 방출되는 속도가 조절될 수 있다.

[0022] 이때 상기 PLGA는 락타이드(lactide)와 글리콜라이드(glycolide)의 몰비가 50:50과 75:25인 것을 사용하였으며 용매 증발법(solvent evaporation)에 적합한 PLGA의 용매로는 유기 용매인 다이클로로메테인(dichloromethane, DCM, SAM, 99.8% Mw : 84.83g/mol)을 사용하였다.

[0023] 또한, 안정화제로는 폴리비닐알코올(poly vinyl alcohol, PVA, Ardrich)을 사용하였으며, 바람직하게는 1 내지 5 wt%의 농도를 갖는 PVA를 사용하게된다.

[0024] 뼈수복제로는 하이드록시아파타이트(hydroxyapatite, HA)인 인산3칼슘(TCP, tricalcium phosphate, Ca₃(PO₄)₂)을 사용하였다.

- [0025] 도 2는 본 발명에 따른 주입형 인산칼슘-PLGA 복합 뼈수복재의 제조 공정도이다.
- [0026] 기본적으로 본 발명은 첫 번째 단계(S 110)로서 PLGA, 다이클로로메테인(DCM), 폴리비닐알코올(PVA), 인산칼슘을 혼합하여 혼합액을 만드는 단계와, 두 번째 단계(S 120)로서 상기 혼합액에 증류수를 투입하고 교반하여 다이클로로메테인을 증발시키는 단계와, 마지막 세 번째 단계(S 130)로 다이클로로메테인이 증발된 혼합액을 영하 50 내지 100℃의 온도에서 24시간 동안 동결건조하는 단계로 이루어진다.
- [0027] 이때 두 번째 단계(S 120)는 상기 첫 번째 단계(S 110)에서 얻어진 혼합물에 증류수는 상기 다이클로로메테인(DCM)과 중량대비 1: 180 내지 220의 증류수를 사용할 수 있으며, 2회에 걸쳐 분할하여 증류수를 투입할 수도 있다. 상기 1차로 투입되는 증류수는 상기 다이클로로메테인(DCM)과 중량대비 1: 90 내지 110 중량비의 증류수일 수 있으며, 이는 상온에서 5 내지 10분 동안 교반되면서 상기 첫 번째 단계(S 110)에서 얻어진 에멀전의 안정화에 사용될 수 있다. 또한, 2차로 동일한 양의 증류수를 투입 후 상온에서 3 내지 5시간 동안 교반하면서 유기 용매를 증발하도록 할 수 있다.
- [0028] 또한, 상기 혼합액을 만드는 단계(S 110)에서 주재료가 되는 PLGA, 다이클로로메테인(DCM), 폴리비닐알코올(PVA), 인산칼슘의 비율 및 혼합순서는 후술되는 실시예의 범위 내에서 조절되며, 하기의 분석방법을 통해 입자의 크기 및 HA의 함침량을 확인하였다.
- [0030] 1. 분석방법
- [0031] 시료의 분석은 본 발명에 따라 제작된 HA/PLGA 마이크로 입자를 대상으로 다음과 같은 방법을 사용하여 수행하였다.
- [0032] (1) FT-IR 분석
- [0033] HA/PLGA 마이크로 입자의 화학적 변화 차이를 보기 위하여 FT-IR (Cary 630 FT-IR, Agilent Technology)분석기를 사용하였다.
- [0034] (2) HR FE-SEM
- [0035] HA/PLGA 마이크로 입자의 형상, 크기 및 크기 분포를 보기 위하여 HR FE-SEM (High resolution field emission scanning microscope, TESCAN)을 사용하였다.
- [0037] 2. 제조과정 및 분석결과
- [0038] 1) 제1실시예 - PVA 용액에 HA를 첨가하여 제조
- [0039] 본 발명의 제1실시예에서는 먼저 PLGA(75:25) 0.1g을 DCM 1mL에 용해하여 오일(oil)상의 PLGA 용액을 제조하였다. 그 후 1 wt%의 PVA 용액 5mL에 각각 0g, 0.1g, 0.2g, 0.3g으로 첨가량이 조절된 HA 분말을 투입하고 교반하여 균질한 PVA 용액을 만든 후 앞서 제조한 PLGA 용액과 혼합하여 혼합액인 Oil/Water emulsion을 제조하였다.
- [0040] 이후, PLGA 용액 중에 포함된 유기 용매인 DCM을 제거하기 위하여 증류수 200mL를 상기 혼합액에 첨가하여 4시간 동안 교반하여 DCM을 증발시켰다. 그 후 동결건조기를 사용하여 -50℃에서 24시간 동안 건조시켜 물을 제거하여 최종의 PLGA 마이크로 입자를 제조하였다.
- [0041] 도 3은 본 발명의 제1실시예에 따라 제조된 HA/PLGA 마이크로 입자의 SEM 사진이다.
- [0042] 도 3의 a)와 b)는 각각 HA를 첨가하지 않고 PLGA만을 사용하여 얻어진 PLGA 마이크로 입자의 200배와 2,000배 확대 사진이며, a)에서 평균 100 μ m 크기의 구형 입자가 제조된 것을 알 수 있으며, b)에서는 HA 입자가 부착되지 않음으로 인해 표면이 매끈한 것을 알 수 있다.
- [0043] 도 3 c)와 d)는 HA를 0.1g을 첨가하여 제조된 HA/PLGA 마이크로 입자의 200배와 2,000배 확대 사진으로, c)에서 평균 80 μ m 크기의 구형 입자가 제조된 것을 알 수 있으며, d)에서는 표면에 HA 입자가 부착되어 매끈하지 못함을 알 수 있다.
- [0044] 도 3 e)와 f)는 HA를 0.2g을 첨가하여 제조된 HA/PLGA 마이크로 입자의 200배와 2,000배 확대 사진으로, e)에서 평균 70 μ m 크기의 구형 입자가 제조된 것을 알 수 있으나, c)에 비해 생성된 PLGA 입자의 개수가 적으며, PLGA

에 함침 되지 못한 많은 양의 HA가 존재함을 알 수 있으며, f)에서는 입자 표면에 HA 입자가 부착되어 매끈하지 못함을 알 수 있다.

[0045] 도 3 g)와 h)는 HA를 0.3g을 첨가하여 제조된 HA/PLGA 마이크로 입자의 200배와 2,000배 확대 사진으로, g)에서 평균 $60\mu\text{m}$ 크기의 적은 수의 구형 입자가 제조된 것을 알 수 있으며, PLGA에 함침 되지 못한 많은 양의 HA가 존재함을 알 수 있다. 또한, h)에서는 입자 표면에 HA 입자가 부착되어 매끈하지 못함을 알 수 있다.

[0046] 이상의 결과로부터 HA 입자의 첨가량이 많아질수록 HA/PLGA 마이크로 입자의 크기가 $100\mu\text{m}$ 에서 $60\mu\text{m}$ 으로 작아지며 또한 PLGA에 함침 되지 못한 HA 입자의 양이 많아지는 것을 확인할 수 있다.

[0047] 도 4는 HA가 담지된 HA/PLGA 마이크로 입자의 FT-IR 스펙트럼이다.

[0048] 도 4 a)의 PLGA 75:25의 스펙트럼에서는 1758cm^{-1} 에서의 -COO^- 그룹의 stretching vibration에 기인된 PLGA의 특성 피크가 나타나고 있으며, b)의 HA의 스펙트럼에서는 1036cm^{-1} 와 1094cm^{-1} 에서의 -PO_4^{3-} 그룹의 stretching vibration에 기인된 HA의 특성 피크가 나타나고 있다. c)의 HA가 담지된 PLGA 캡슐에서는 1758cm^{-1} 에서의 PLGA 특성 피크와 1036cm^{-1} 와 1094cm^{-1} 에서의 HA의 특성 피크가 동시에 나타나고 있어, HA가 PLGA 마이크로 입자 중에 성공적으로 담지 되었다는 것을 알 수 있다.

[0050] 2) 제2실시에 - PVA 용액에 HA를 첨가하여 제조

[0051] 제2실시예에서는 PLGA(75:25) 0.1g과 함께 0g, 0.1g, 0.2g, 0.3g으로 각각 첨가량이 조절된 HA 분말을 DCM 1ml에 용해하고 교반하여 균질한 용액을 만들어 오일상의 PLGA 용액을 제조하였다. 이후 1 wt%의 PVA 용액 5ml를 앞서 제조한 PLGA 용액과 혼합하여 O/W emulsion인 혼합액을 제조하였다.

[0052] 또한, 혼합액 중에 포함된 유기 용매인 DCM을 제거하기 위하여 증류수 200ml를 상기 혼합액에 첨가하여 4시간 동안 교반하여 DCM을 증발시켰다.

[0053] 이후 동결건조기를 사용하여 -50°C 에서 24시간 동안 건조시켜 물을 제거하여 최종의 PLGA 마이크로입자를 제조하였다.

[0054] 도 5는 본 발명의 제2실시예에 따라 제조된 HA/PLGA 마이크로 입자의 SEM 사진이다.

[0055] 도 5 a)와 b)는 각각 HA를 첨가하지 않고 PLGA만을 사용하여 얻어진 PLGA 마이크로 입자의 200배와 2,000배 확대 사진으로, a)에서 평균 $150\mu\text{m}$ 크기의 구형 입자가 제조된 것을 알 수 있으며, b)의 2,000배 확대 사진에서는 HA가 부착되지 않아 표면이 매끈한 것을 알 수 있다.

[0056] 도 5 c)와 d)는 HA를 0.1g을 첨가하여 제조된 HA/PLGA 마이크로 입자의 200배와 2,000배 확대 사진으로, c)에서 평균 $100\mu\text{m}$ 크기의 구형 입자가 제조된 것을 알 수 있으며, d)에서는 표면에 HA 입자가 부착되어 매끈하지 못함을 알 수 있다.

[0057] 도 5 e)와 f)는 HA를 0.2g을 첨가하여 제조된 HA/PLGA 마이크로 입자의 200배와 2,000배 확대 사진으로, e)에서 평균 $80\mu\text{m}$ 크기의 구형 입자가 제조된 것을 알 수 있으나 c)에 비해 생성된 PLGA 입자의 개수가 적으며, PLGA에 함침 되지 못한 많은 양의 HA가 바닥에 존재함을 알 수 있다. 또한, f)에서는 입자 표면에 HA 입자가 부착되어 매끈하지 못함을 알 수 있다.

[0058] g)와 h)는 HA를 0.3g을 첨가하여 제조된 HA/PLGA 마이크로 입자의 200배와 2,000배 확대 사진으로 g)에서 평균 $70\mu\text{m}$ 크기의 적은 수의 구형 입자가 제조된 것을 알 수 있으며, PLGA에 함침 되지 못한 많은 양의 HA가 존재함을 알 수 있다. 또한, h)에서는 입자 표면에 HA 입자가 부착되어 매끈하지 못함을 알 수 있다.

[0059] 이상의 결과로부터 HA 입자의 첨가량이 많아질수록 HA/PLGA 마이크로 입자의 크기가 $150\mu\text{m}$ 에서 $80\mu\text{m}$ 로 작아지며, 또한 PLGA에 함침되지 못한 HA 입자의 양이 많아지는 것을 알 수 있다. 또한, PVA 용액에 HA를 첨가한 경우보다는 PLGA 용액에 HA를 첨가한 경우가 입자 크기가 커짐을 알 수 있다.

[0061] 3) 제3실시에 - PLGA 종류의 영향

- [0062] 제3실시예에서는 PLGA 75:25를 사용한 제1 및 2 실시예와는 달리 락타이드와 글리콜라이드의 몰비가 50:50인 PLGA를 사용하여 PLGA 종류의 변화가 마이크로 입자 크기에 미치는 영향을 살펴보았다.
- [0063] 먼저 PLGA(50:50) 0.1g을 DCM 1ml에 용해하여 오일상의 PLGA 용액을 제조하였다. 그 후 1 wt%의 PVA 용액 5ml에 첨가량이 0g, 0.1g, 0.2g, 0.3g으로 조절된 HA 분말을 투입하고 교반하여 균질한 용액을 만든 후 앞서 제조한 PLGA 용액과 혼합하여 O/W emulsion의 혼합액을 제조하였다. 또한, PLGA 용액 중에 포함된 유기 용매인 DCM을 제거하기 위하여 증류수 200ml를 상기 혼합액에 첨가하여 4시간 동안 교반하여 DCM을 증발시켰다.
- [0064] 그 후 동결건조기를 사용하여 -50℃에서 24시간 동안 건조시켜 물을 제거하여 최종의 PLGA 마이크로 입자를 제조하였다.
- [0065] 도 6은 본 발명의 제3실시예에 따라 제조된 HA/PLGA 마이크로 입자의 SEM 사진으로, PLGA 50:50을 사용하고 HA 첨가량을 달리하여 제조된 HA/PLGA 마이크로 입자의 SEM 사진이다.
- [0066] 도 6 a)와 b)는 각각 HA를 첨가하지 않고 PLGA만을 사용하여 얻어진 PLGA 마이크로 입자의 200배와 2,000배 확대 사진으로, a)에서 평균 80 μ m 크기의 구형 입자가 제조된 것을 알 수 있으며, b)에서는 HA가 부착되지 않아 표면이 매끈한 것을 알 수 있다.
- [0067] c)와 d)는 HA를 0.1g을 첨가하여 제조된 PLGA/HA 마이크로입자의 200배와 2,000배 확대 사진으로, c)에서 평균 70 μ m 크기의 구형 입자가 제조된 것을 알 수 있으며, d)에서는 표면에 HA 입자가 부착되어 매끈하지 못함을 알 수 있다.
- [0068] e)와 f)는 HA를 0.2g을 첨가하여 제조된 PLGA/HA 마이크로입자의 200배와 2,000배 확대 사진으로, e)에서 평균 50 μ m 크기의 구형 입자가 제조된 것을 알 수 있으나 PLGA에 함침되지 못한 많은 양의 HA가 존재함을 알 수 있다. 또한, f)에서는 입자 표면에 HA 입자가 부착되어 매끈하지 못함을 알 수 있다.
- [0069] g)와 h)는 HA를 0.3g을 첨가하여 제조된 HA/PLGA 마이크로 입자의 200배와 2,000배 확대 사진으로, g)에서 평균 40 μ m 크기의 적은 수의 구형 입자가 제조된 것을 알 수 있으며, PLGA에 함침되지 못한 많은 양의 HA가 존재함을 알 수 있다. 또한, h)에서는 입자 표면에 HA 입자가 부착되어 매끈하지 못함을 알 수 있다.
- [0070] 이상의 결과로부터 HA 입자의 첨가량이 많아질수록 HA/PLGA 마이크로 입자의 크기가 80 μ m에서 40 μ m으로 작아지며, PLGA에 함침되지 못한 HA 입자의 양이 많아지는 것을 알 수 있다. 또한, 락타이드와 글리콜라이드의 몰비가 75:25인 PLGA를 사용한 경우에 비해 50:50인 PLGA를 사용할 경우 입자 크기가 작아짐을 알 수 있다.
- [0072] 4) 제4실시예 - PVA 용액의 첨가량 변화 영향
- [0073] 제4실시예에서는 유화제인 PVA 용액 함량이 HA/PLGA 마이크로 입자의 크기에 미치는 영향을 살펴보았다. 먼저 PLGA(75:25) 0.1g을 DCM 1ml에 용해하여 오일상의 PLGA 용액을 제조하였다. 이후 1 wt%의 PVA 용액의 함량을 5ml, 10ml, 15ml, 20ml로 각각 변화시킨 후 HA 분말 0.1g씩을 투입하고 교반하여 균질한 용액을 만든 후 앞서 제조한 PLGA 용액과 혼합하여 O/W emulsion의 혼합액을 제조하였다.
- [0074] 또한, PLGA 용액 중에 포함된 유기 용매인 DCM을 제거하기 위하여 증류수 200ml를 상기 혼합액에 첨가하여 4시간 동안 교반하여 DCM을 증발시켰다. 이후 동결건조기를 사용하여 -50℃에서 24시간 동안 건조시켜 물을 제거하여 최종의 PLGA 마이크로 입자를 제조하였다.
- [0075] 도 7은 본 발명의 제4실시예에 따라 제조된 HA/PLGA 마이크로 입자의 SEM 사진으로, 1 wt% PVA 용액의 첨가량을 5ml, 10ml, 15ml, 20ml로 각각 변화시키고 HA 첨가량을 0.1g으로 고정시켜 제조된 HA/PLGA 마이크로 입자를 나타낸다.
- [0076] 도 7 a)와 b)는 각각 PVA 용액 함량을 5ml로 조절하여 얻어진 HA/PLGA 마이크로 입자의 200배와 2,000배 확대 사진으로, a)에서 평균 200 μ m 크기의 구형 입자가 제조된 것을 알 수 있으며, b)에서는 표면에 HA 입자가 조금 부착된 것을 알 수 있다.
- [0077] c)와 d)는 PVA 용액의 함량을 10ml로 조절하여 얻어진 HA/PLGA 마이크로 입자의 200배와 2,000배 확대 사진으로, c)에서 평균 180 μ m 크기의 구형 입자가 제조된 것을 알 수 있으며, d)에서는 표면에 HA 입자가 약간 부착되어 매끈하지 못함을 알 수 있다.
- [0078] e)와 f)는 PVA 용액의 함량을 15ml로 조절하여 얻어진 HA/PLGA 마이크로 입자의 200배와 2,000배 확대

사진으로, e)에서 평균 180 μ m 크기의 구형 입자가 제조된 것을 알 수 있으며 f)에서는 입자 표면에 HA 입자가 비교적 많이 부착되어 매끈하지 못함을 알 수 있다.

[0079] g)와 h)는 PVA 용액의 함량을 20ml로 조절하여 얻어진 HA/PLGA 마이크로 입자의 200배와 2,000배 확대 사진으로, g)에서 평균 180 μ m 크기의 구형 입자가 제조된 것을 알 수 있으며 h)에서는 입자 표면에 HA 입자가 비교적 많이 부착되어 매끈하지 못함을 알 수 있다.

[0080] 이상의 결과로부터 PVA 용액의 첨가량의 증가에도 입자 크기는 200 μ m에서 180 μ m으로 큰 변화가 없음을 알 수 있다. 그러나 PVA 용액의 첨가량을 증가시키에 따라 PLGA 입자에 부착된 HA 입자의 양은 많아지는 것을 알 수 있다.

[0082] 5) 제5실시에 - PVA 용액의 농도 변화 영향

[0083] 5실시예에서는 PLGA 75:25를 사용하고 HA 0.1g을 PVA 용액 5ml에 첨가하여 분말을 제조할 때 PVA 용액의 농도를 다양하게 변화시켜 이 변화가 HA/PLGA 마이크로 입자의 크기에 미치는 영향을 살펴보았다.

[0084] 먼저 PLGA(75:25) 0.1g을 DCM 1ml에 용해하여 오일상의 PLGA 용액을 제조하였다. 그 후 농도를 1 wt%, 2 wt%, 3 wt%, 5 wt%로 변화시킨 PVA 용액 5ml에 HA 분말을 0.1g를 투입하고 교반하여 균질한 용액을 만든 후 앞서 제조한 PLGA 용액과 혼합하여 O/W emulsion의 혼합액을 제조하였다.

[0085] 또한, PLGA 용액 중에 포함된 유기 용매인 DCM을 제거하기 위하여 증류수 200 ml를 상기 혼합액에 첨가하여 4시간 동안 교반하여 DCM을 증발시켰다. 그 후 동결건조기를 사용하여 -50℃에서 24시간 동안 건조시켜 물을 제거하여 최종의 PLGA 마이크로 입자를 제조하였다.

[0086] 도 8은 본 발명의 제5실시에 따라 제조된 HA/PLGA 마이크로 입자의 SEM 사진으로, PVA 용액의 농도를 1 wt%, 2 wt%, 3 wt%, 5 wt%로 변화시키고 HA 첨가량을 0.1g으로 고정시켜 제조된 HA/PLGA 마이크로 입자를 나타내고 있다.

[0087] 도 8 a)와 b)는 각각 1 wt% PVA 용액을 사용하여 얻어진 HA/PLGA 마이크로 입자의 200배와 2,000배 확대 사진으로, a)에서 평균 100 μ m 크기의 구형 입자가 제조된 것을 알 수 있으며, b)에서는 표면에 HA 입자가 부착된 것을 알 수 있다.

[0088] c)와 d)는 2 wt% PVA 용액을 사용하여 얻어진 HA/PLGA 마이크로 입자의 200배와 2,000배 확대 사진으로, c)에서 평균 80 μ m 크기의 구형 입자가 제조된 것을 알 수 있으며, d)에서는 표면에 HA 입자가 부착되어 매끈하지 못함을 알 수 있다.

[0089] e)와 f)는 3 wt% PVA 용액을 사용하여 얻어진 HA/PLGA 마이크로 입자의 200배와 2,000배 확대 사진으로, e)에서 평균 70 μ m 크기의 구형 입자가 제조된 것을 알 수 있으며 f)에서는 입자 표면에 HA 입자가 부착되어 매끈하지 못함을 알 수 있다.

[0090] g)와 h)는 5 wt% PVA 용액을 사용하여 얻어진 HA/PLGA 마이크로 입자의 200배와 2,000배 확대 사진으로, g)에서 평균 50 μ m 크기의 구형 입자가 제조된 것을 알 수 있으며, PLGA에 함침 되지 못한 많은 HA 입자가 존재함을 알 수 있다. 또한, h)에서는 입자 표면에 HA 입자가 부착되어 매끈하지 못함을 알 수 있다.

[0091] 이상의 결과로부터 PVA 용액의 농도를 증가시키면 입자의 평균 크기가 100 μ m에서 50 μ m로 감소함을 알 수 있다.

[0092] 상기와 같은 실시예를 통해 HA/PLGA 마이크로 입자 제조 시 HA 첨가량 변화, PLGA 종류 및 유화제인 PVA 농도 등의 제조 조건에 따른 입자의 크기와 모양 변화를 조사하여 다음과 같은 결론을 도출할 수 있다.

[0093] 기본적으로 PLGA에 HA를 함침시켜 주입형 인산칼슘/PLGA 뼈수복재를 개발하는 과제이므로 HA의 함침량이 많아지도록 가급적 입자크기가 클수록 유리하며, 바람직하게는 생성된 입자의 크기가 100 μ m 이상이면서 HA를 많이 함침할 수 있는 것이 좋다.

[0094] 이를 위한 조건으로서 1) 락타이드와 글리콜라이드의 몰비가 75:25일 때 보다 50:50인 PLGA를 사용시보다 입자 크기가 크다.

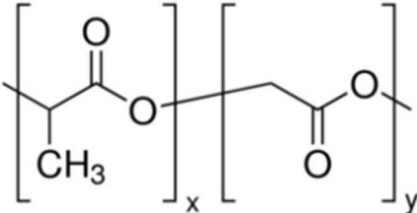
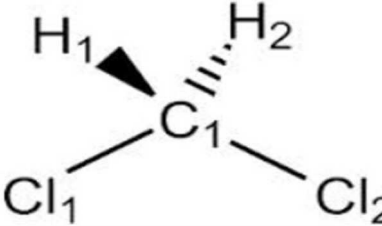
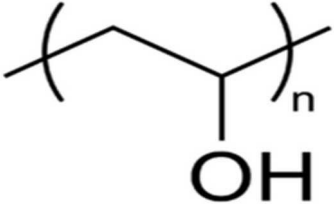
[0095] 2) HA양이 많이 첨가될수록 입자크기가 작아지므로 적은 첨가량인 HA 0.1g이 최적량으로 확인된다.

[0096] 3) HA를 PLGA 용액에 첨가하는 경우가 PVA 용액에 첨가시보다 입자 크기가 크다.

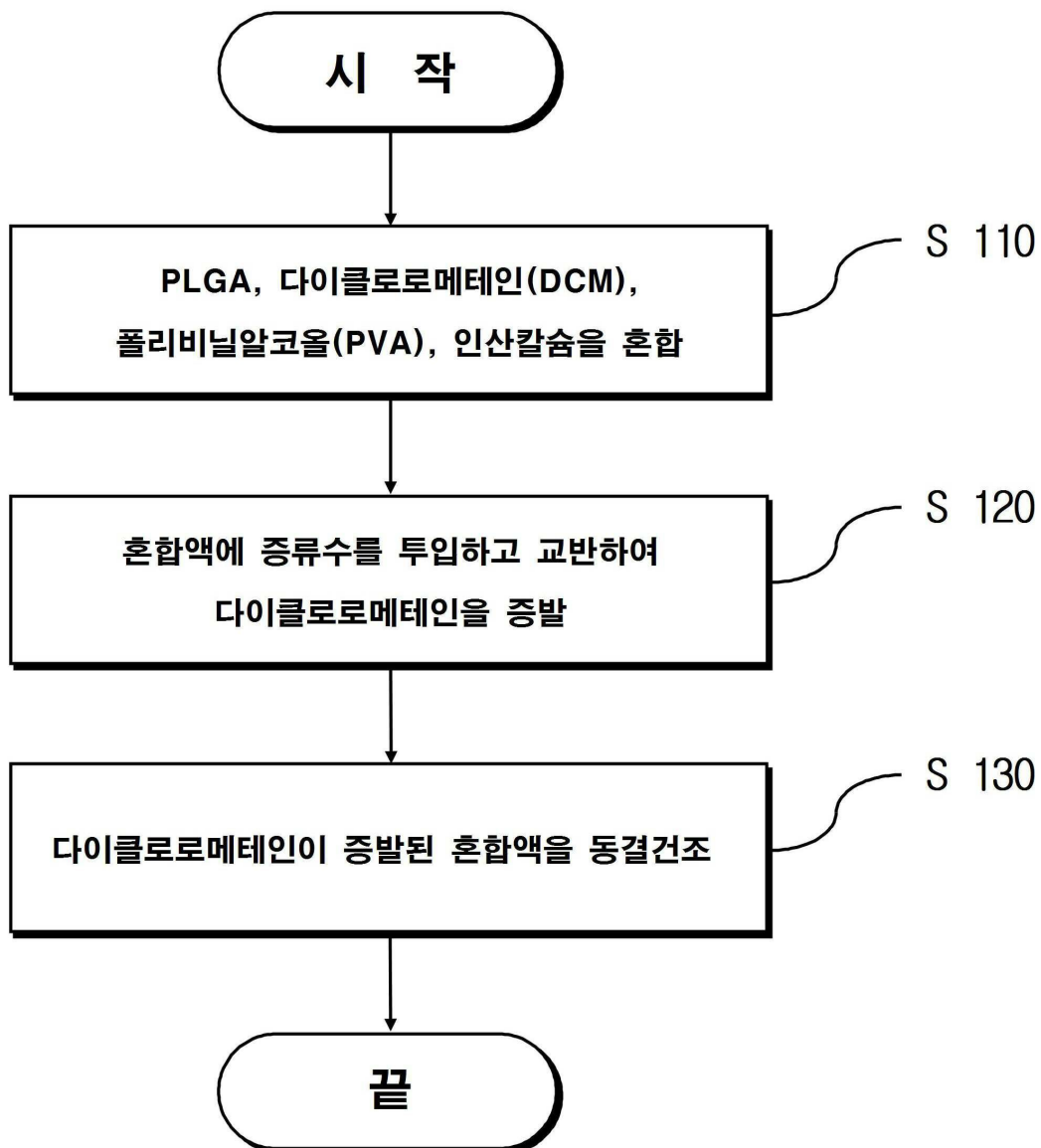
- [0097] 4) PVA 첨가량은 입자크기에 영향을 주지 않는다.
- [0098] 5) PVA 농도가 클수록 입자 크기가 작아진다.
- [0099] 따라서 실질적인 최적 조건은 락타이드와 글리콜라이드의 몰비가 75:25인 PLGA를 사용하되 HA 첨가량은 0.1g이며, HA 첨가방식은 PVA 용액보다는 PLGA 용액에 HA를 첨가하되, PVA용액 농도는 1wt%를 사용하는 조건이라 할 수 있다.
- [0100] 본 발명의 권리는 위에서 설명된 실시예에 한정되지 않고 청구범위에 기재된 바에 의해 정의되며, 본 발명의 분야에서 통상의 지식을 가진 자가 청구범위에 기재된 권리범위 내에서 다양한 변형과 개작을 할 수 있다는 것은 자명하다.

도면

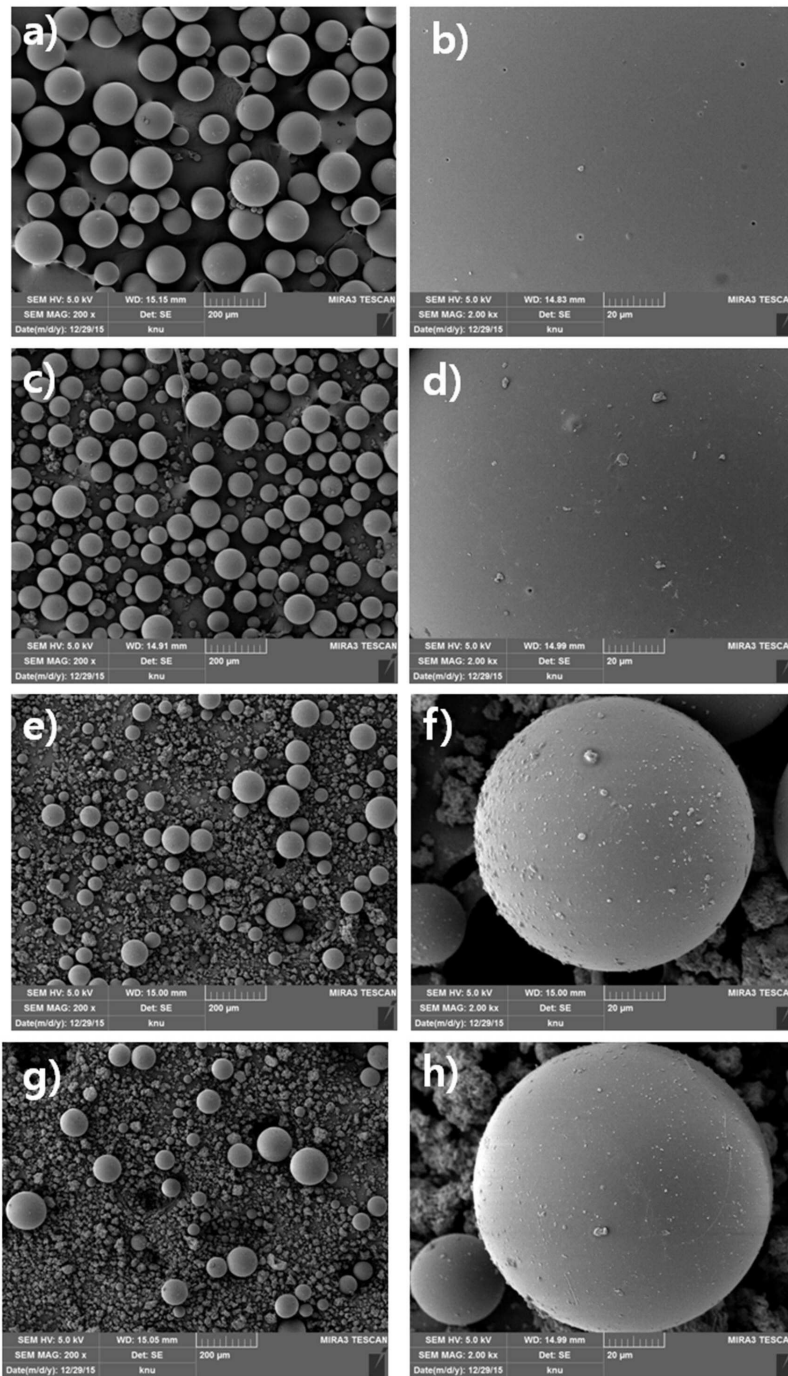
도면1

시약명	약어	화학구조식
Poly(Lactide-co-Glycolide) copolymer	PLGA	
Dichloro methane	DCM	
Poly(vinyl alcohol)	PVA	
Hydroxyapatite	HA	$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$

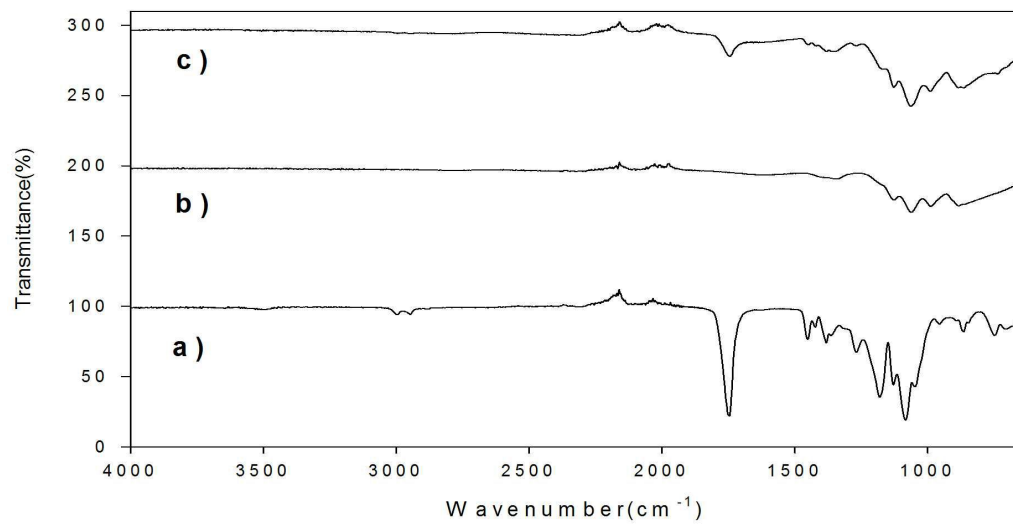
도면2



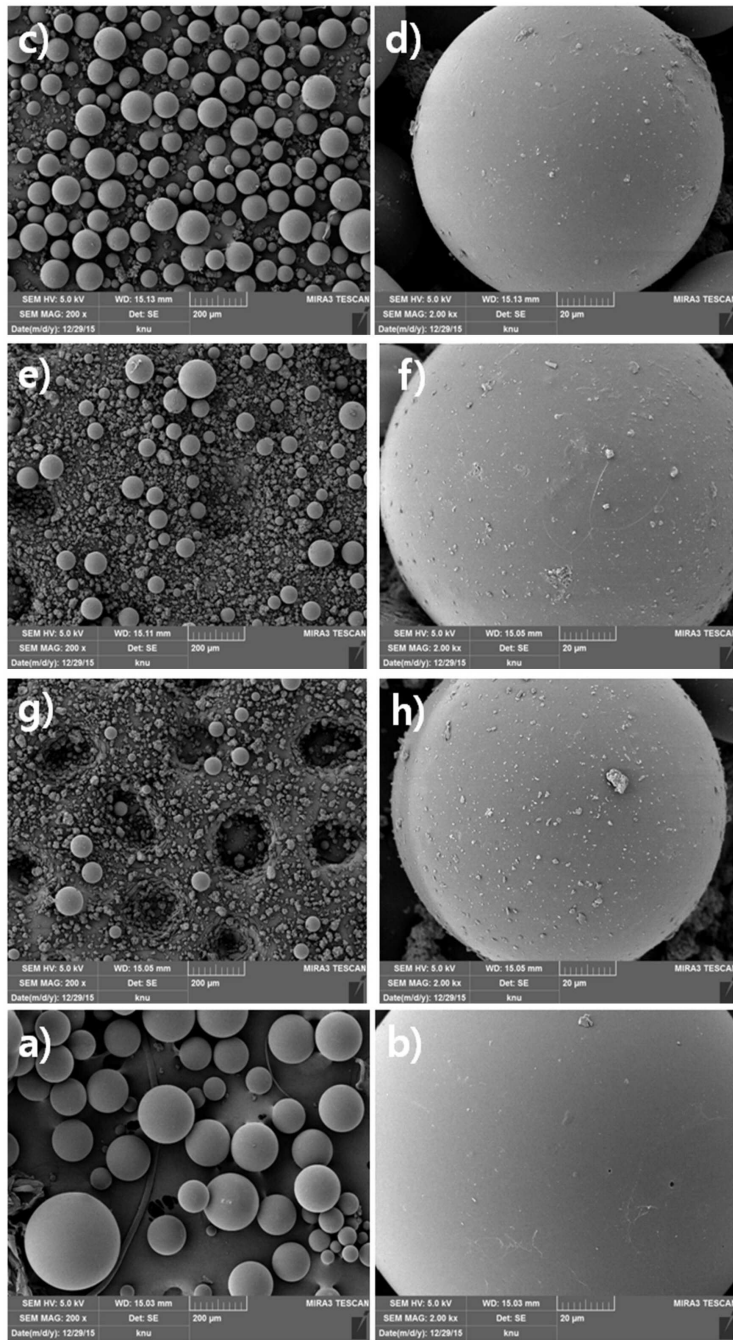
도면3



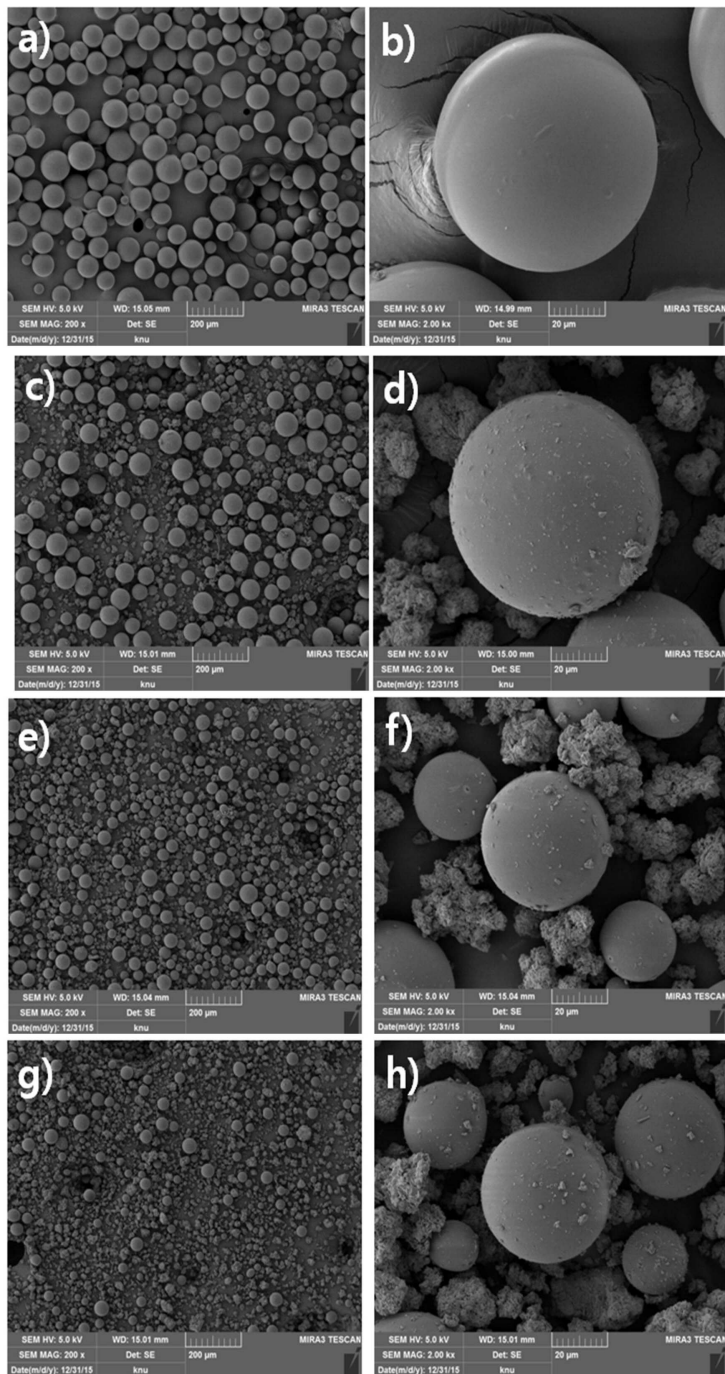
도면4



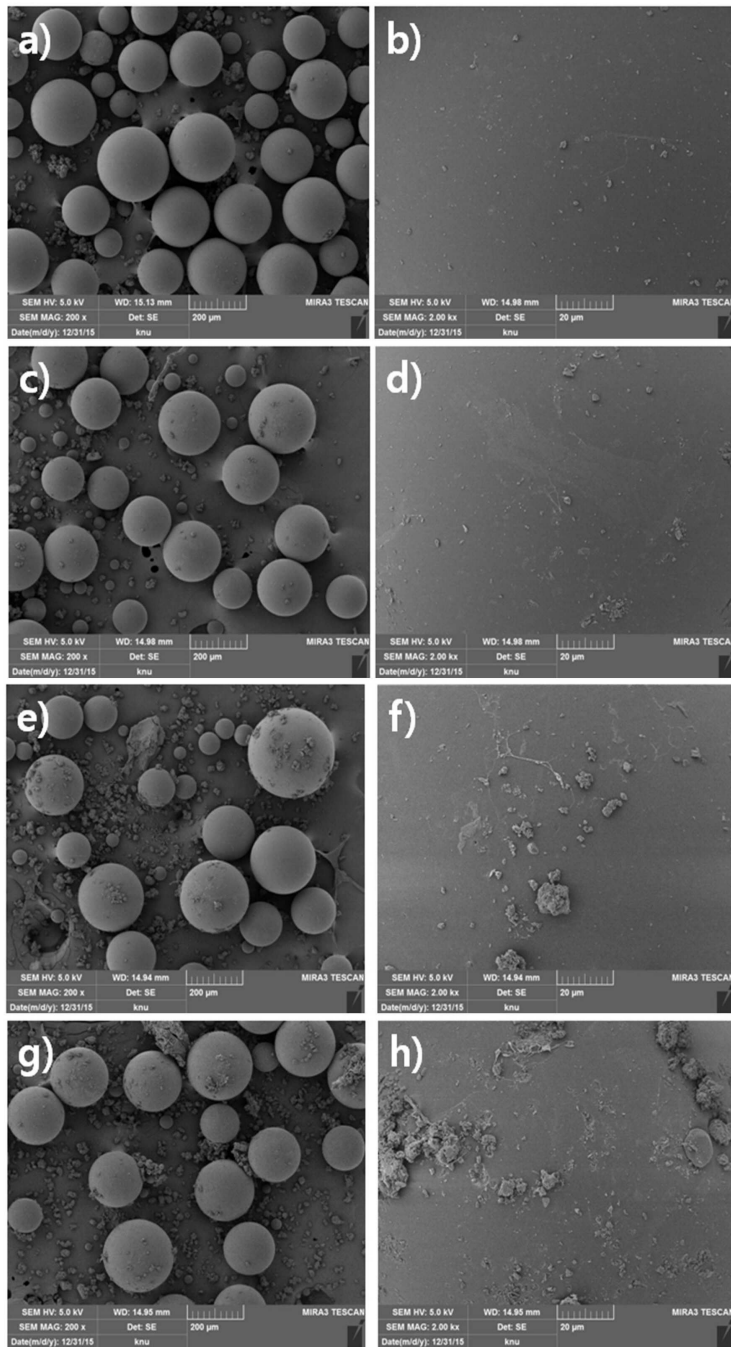
도면5



도면6



도면7



도면8

