

(19) 세계지식재산권기구
국제사무국(43) 국제공개일
2012년 5월 10일 (10.05.2012)(10) 국제공개번호
WO 2012/060592 A9

- (51) 국제특허분류:
A61L 27/34 (2006.01) B82B 1/00 (2006.01)
A61L 27/30 (2006.01) A61L 29/08 (2006.01)
- (21) 국제출원번호: PCT/KR2011/008193
- (22) 국제출원일: 2011년 10월 31일 (31.10.2011)
- (25) 출원언어: 한국어
- (26) 공개언어: 한국어
- (30) 우선권정보:
10-2010-0107561 2010년 11월 1일 (01.11.2010) KR
- (71) 출원인 (US을(를) 제외한 모든 지정국에 대하여): 경상대학교 산학협력단 (INDUSTRY-ACADEMIC CO-OPERATION FOUNDATION GYEONGSANG NATIONAL UNIVERSITY) [KR/KR]; 경상남도 진주시 가좌동 900, 660-701 Gyeongsangnam-do (KR).
- (72) 발명자: 곽
- (75) 발명자/출원인 (US에 한하여): 강동우 (KHANG, Dong Woo) [KR/KR]; 경상남도 진주시 초전동 푸르지오 2단지 203동 2102호, 660-797 Gyeongsangnam-do (KR). 남태현 (NAM, Tae Hyeon) [KR/KR]; 경상남도 진주시 평거동 191번지 들말홍한타운아파트 110-405호, 660-776 Gyeongsangnam-do (KR).

(74) 대리인: 김순웅 (KIM, Soon Woong); 서울시 구로구 구로동 197-22번지 에이스테크노 5차 601호, 152-766 Seoul (KR).

(81) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 국내 권리의 보호를 위하여): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 역내 권리의 보호를 위하여): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 유라시아 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), 유럽 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

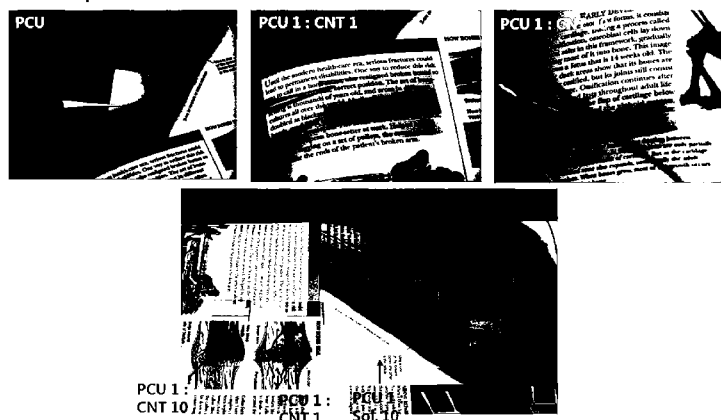
[다음 쪽 계속]

(54) Title: CARBON NANOTUBE POLYMER COMPOSITE COATING FILM WHICH SUPPRESSES TOXICITY AND INFLAMMATION AND HAS IMPROVED BIOCOMPATIBILITY AND ADJUSTED SURFACE STRENGTH

(54) 발명의 명칭 : 생체 적합성의 향상, 표면 강도의 조절, 독성 및 염증을 억제하는 탄소나노튜브 폴리머 복합체 코팅막 및 그의 제조방법

[Fig. 3]

Sample



(57) Abstract: The present invention relates to a coating film having a thickness of no more than 200 nm in which carbon nanotubes are mixed with a biocompatible polymer, and the invention is advantageous in that it has been confirmed that adjusting the synthesis proportions of the polymer and the carbon nanotubes can increase the biocompatibility and adjust the mechanical strength and can suppress toxicity and inflammation of the coating film having an ultra-thin-film thickness, and these characteristics can be used in articles of medical equipment which are inserted into microvessels in the body such as nano-sized medical devices and wire coatings.

(57) 요약서:

[다음 쪽 계속]

**공개:**

- 국제조사보고서 없이 공개하며 보고서 접수 후 이를 별도 공개함 (규칙 48.2(g))
- 규칙 91.3(b) 규정에 의한 명백한 잘못의 정정 허가에 관한 정보와 함께 (규칙 48.2(i))

(48) 본 정정판 공개일:

2012 년 6 월 28 일

(15) 정정사항에 관한 정보:

2012 년 6 월 28 일 자 공지 참조

본 발명은 생체 적합 폴리머에 탄소나노튜브를 혼합하여 200nm 이하의 두께를 가지는 코팅막 및 그의 제조방법에 관한 것으로서, 상기 폴리머와 탄소나노튜브의 합성 비율을 조절함으로써 상기 초박막 두께를 갖는 코팅막의 생체 적합성의 증가시키고 기계적 강도를 조절할 수 있으며 독성 및 염증을 억제할 수 있음을 밝혔고, 이러한 특징을 이용하여 나노의료기 및 와이어 코팅 등 생체 내 미세혈관에 삽입되는 의료기기에 적용할 수 있는 효과가 있다.

명세서

발명의 명칭: 생체 적합성의 향상, 표면 강도의 조절, 독성 및 염증을 억제하는 탄소나노튜브 폴리머 복합체 코팅막 및 그의 제조방법

기술분야

- [1] 본 발명은 생체적합한 폴리머 및 탄소나노튜브를 포함하고 나노 (nanometer) 및 서브마이크론 (submicron-meter)의 두께를 갖는 생체 삽입 폴리머 코팅막 및 그의 제조방법에 관한 것이다. 보다 구체적으로, 본 발명은 생체적합한 폴리머에 탄소나노튜브를 합성하여 제조된 마이크론 이하의 초박막 두께를 가지며, 생체 적합성의 향상 및 표면 강도를 조절할 수 있고, 독성 및 염증을 억제하는 생체 삽입 의료기기용 코팅막 및 그의 제조방법에 관한 것이다.

배경기술

- [2] 일반적으로, 탄소나노튜브는 흑연면(graphite sheet)이 나노 크기의 직경으로 둥글게 말려 관 모양을 이루고 있으며 관의 지름이 수~ 수십 나노미터 수준으로 극히 작은 영역의 물질이다. 이와 같은 탄소나노튜브가 우수한 기계적 강도, 전기 전도도 및 열전도도, 뛰어난 전계 방출 특성, 고효율의 수소 저장매체 특성 등을 지니는 신소재로 알려지면서, 이들 특성을 이용하여 고성능 첨단 신소재를 제조하기 위한 노력이 활발하다.
- [3] 또한, 생명공학기술 및 나노기술의 발달에 힘입어 탄소나노튜브를 의료분야, 예를 들면 분자진단기술, 나노-약물 복합체의 개발에 적용하려는 시도가 활발해지고 있으며, 재생조직 공학 및 임플란트용 나노 신물질에 대한 연구 또한 활발해지고 있는 실정이다. 특히, 생체 내 미세혈관에 삽입되는 인공혈관의 경우, 초박막 두께를 가지면서도 내구성이 있고 생체 적합성이 우수한 코팅제로 코팅되는 것이 요구된다. 그리고, 생체 내 적용에 요구되는 물성을 갖추고 활용도를 높이기 위해서는 이러한 초박막 두께를 가지는 코팅막의 물성을 조절할 수 있는 방법 또한 필요하다.
- [4] 그러나, 종래에 탄소나노튜브를 이용한 폴리머 복합체를 제조하는 방법은 알려져 있었으나, 이러한 복합체의 구조는 수십 마이크론 이상의 두께를 가지는 것이어서 미세혈관과 같은 생체 조건에서 활용되기 어려우며 얇은 박막 조건에서 인체 조직세포와의 생체 적합성 향상 및 면역 독성 완화, 그리고 내구성과 관련있는 표면 강도를 조절할 수 있는 나노 표면 성질을 조절할 수 없는 단점이 있다. 다시 말하면, 지금까지 초박막 두께를 갖는 코팅막에서 나노 표면 에너지 및 표면 강도를 동시에 조절하는 기술은 전혀 보고된 바가 없다.
- [5] 이에 본 발명자는 생체 내 미세혈관에 삽입되는 의료기기에 적용할 수 있는 초박막 두께의 코팅막을 제조하기 위해 예의 노력한 결과, 생체 적합 폴리머에 탄소나노튜브를 혼합하여 200nm 이하의 두께를 가지는 코팅막을 개발하였으며,

상기 폴리머와 탄소나노튜브의 합성 비율을 조절함으로써 상기 초박막 두께를 갖는 코팅막의 생체 적합성을 증가시키고 기계적 강도를 조절할 수 있으며, 독성 및 염증을 억제할 수 있음을 최초로 밝혀 본 발명을 완성하였다.

발명의 상세한 설명

기술적 과제

- [6] 본 발명의 목적은 생체적합한 폴리머 및 탄소나노튜브를 포함하고 나노 (nanometer) 및 서브마이크론 (submicron-meter) 의 두께를 갖는 폴리머 복합체 코팅막을 제공하는 것이다.
- [7] 본 발명의 다른 목적은 상기 코팅막의 제조방법 및 상기 코팅막의 나노 표면 거칠도 및 표면 장력을 조절하는 방법을 제공하는 것이다.

과제 해결 수단

- [8] 상기 목적을 달성하기 위한 하나의 양태로서, 본 발명은 생체적합한 폴리머 및 탄소나노튜브를 포함하고 나노 (nanometer) 및 서브마이크론 (submicron-meter)의 두께를 가지며 독성 및 염증을 억제하는 폴리머 복합체 코팅막을 제공한다.
- [9] 본 발명에서 용어 "생체적합한 폴리머(biocompatible polymer)"란 혈액 또는 세포조직과 친화력을 가지고 있어서 생체에 적용하였을때 외부의 이물질로 인식되지 않고 혈전형성이나 염증, 물성의 변화 등의 바람직하지 않은 장기적 효과를 유도하지 않는 고분자를 의미한다. 일반적으로 고분자 재료가 혈액과 접촉했을때 재료표면에서는 혈액과 접촉 후 수초 내에 혈액 단백질 성분의 흡착이 일어나고 혈소판 혈전 반응 및 적색혈전이 나타나게 되는데, 본 발명의 생체적합한 폴리머는 혈액적합성을 높이기 위해 표면 개질된 폴리머를 포함한다. 본 발명에서 사용될 수 있는 생체적합한 폴리머는 폴리에틸렌 글리콜, 폴리아크릴 아마이드 등 친수성이 높은 고분자 물질로 표면개질한 고분자를 포함한다. 또한, 상기 생체적합한 폴리머는 세포적합성을 가진 고분자를 포함하며 세포의 수나 성장, 세포막 유지, 생합성 과정이나 효소 활성화에 미치는 영향이 적거나 없는 고분자를 포함한다.
- [10] 본 발명의 목적에 따르면, 본 발명의 생체적합한 폴리머는 비분해성 고분자를 의미할 수 있으며, 폴리올레핀, 폴리스티렌, 폴리에틸렌옥사이드, 폴리염화비닐, 폴리아마이드, 폴리메틸메타크릴레이트, 폴리우레탄, 폴리에스테르 또는 이들의 조합을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 바람직하게는 우수한 혈액 적합성을가지고 있어서 혈액과 직접 접촉하는 인공혈관, 인공심장 등에 널리 사용되는 폴리우레탄계, 기계적 및 열적 저항성이 우수하여 심장이나 폐 보조 기구, 인공심장판막 개폐기 등에 응용되는 폴리카보네이트계 등이다. 더욱 바람직하게 본 발명의 생체적합한 폴리머는 폴리카보네이트 우레탄(polycarbonate urethane, 이하 PCU이라고 함)일 수 있다. 상기 PCU는 심장판막, 반월판 또는 인공혈액과 같은 임상 적용에 있어서 FDA 허가를 받은 고분자 의료용 폴리머이며, 산소에 의해 분해되지 않기 때문에 체액 내에서도

일정한 기계적 강도를 유지할 수 있다. 상기 PCU는 매트릭스로서 탄소나노튜브와 합성되어 좋은 분산성을 보일 수 있다.

- [11] 본 발명에서 용어 "탄소나노튜브"란 탄소 원자 1개가 3개의 다른 탄소 원자와 결합되어 이루어진 벌집모양의 평면형 탄소구조가 말려서 튜브모양을 가지며, 통상 직경이 1 내지 100나노미터(nm)이고, 길이는 수 나노미터(nm)부터 수십 마이크로미터(μm)인 높은 종횡비(aspect ratio)를 갖는 탄소재료를 말한다. 상기 탄소나노튜브에는 여러가지 종류가 있으며, 그 중 길이 방향을 축으로 감싸고 있는 벽의 개수에 따라서 2개 이상의 벽으로 이루어진 다중벽 나노튜브(multi-walled nanotube, MWCNT), 1개의 벽만으로 이루어진 단일벽 나노튜브(single-walled nanotube, SWCNT)로 나눌 수 있다. 본 발명에서 탄소나노튜브는 이들 모두를 종류의 제한없이 포함하나, 바람직하게는 다중벽 탄소나노튜브이다. 본 발명에서 사용가능한 탄소나노튜브의 직경은 1 내지 100nm일 수 있다.
- [12] 본 발명의 상기 폴리머 복합체 코팅막은 생체 삽입 의료기기를 코팅하는데 사용될 수 있다.
- [13] 본 발명에서 용어 "생체삽입 의료기기"는 미세 혈관용 의용기구, 인공 혈관 지지체, 혈관 내의 융합전원 전극 소스 또는 전원 공급 전선, 바이오칩, 나노로봇, 임플란트, 인공심장판막, 인공 방광 및 인공 요로, 인공 반월판, 인공혈관, 인공심장, 심장 박동 조율기 절연체, 카테터, 및 스텐트로 이루어진 군으로부터 선택된 것일 수 있으나 생체 내로 삽입되는 것이면 이에 제한되지 않는다.
- [14] 본 발명의 코팅막에 포함되는 생체적합한 폴리머와 탄소나노튜브의 함량은 1:1 내지 1:10 중량% 비율로 포함될 수 있다. 상기 코팅막은 상기 생체적합한 폴리머와 탄소나노튜브를 합성한 폴리머-나노 복합체로 이루어지며, 본 발명에서는 상기 폴리머-나노 복합체가 본 발명에 개시된 코팅막의 특징을 모두 갖는다.
- [15] 본 발명에서 용어 "복합체(composite)"는 둘 이상의 개별적 물질이 합성된 것을 의미한다.
- [16] 본 발명의 상기 폴리머 복합체 코팅막은 나노(nanometer) 및 서브마이크론(submicron-meter)의 두께를 가질 수 있으며, 바람직하게 30 내지 200 nm의 두께를 가지며 투명한 것을 특징으로 한다. 상기 나노미터 두께는 10억분의 1m를 가리키며, 본 발명의 목적상 100nm 이하 두께 범위를 의미한다. 또한, 상기 서브마이크론은 100nm 내지 1 μm 의 두께 범위를 의미한다.
- [17] 본 발명에서는 생체적합한 폴리머와 탄소나노튜브를 나노 및 서브마이크론 미터의 두께로, 바람직하게 100nm 이하의 두께로 조절함으로써 미세혈관 및 관상동맥의 내에 삽입되는 생체 의료기기의 코팅을 형성할 수 있으며, 투명하기 때문에 살아있는 세포의 활동을 분석하는데 사용할 수 있다.
- [18] 또한, 상기 코팅막은 탄소카본나노튜브(CNT)가 첨가됨에 따라 독성(NO:Nitrite) 및 항염증성 인자(TNF-alpha, IL-1beta)가 감소하고, CNT를

합성하여 나노토포를 만들면 면역세포의 활동성도 억제시킬 수 있다 (도 12, 13 참조).

[19] 또한, 상기 코팅막은 탄소나노튜브가 상기 생체적합한 폴리머의 표면에 직접 노출되지 않은 구조를 가지고 있는 것을 특징으로 한다. 탄소나노튜브가 표면에 직접 노출되지 않기 때문에 생체적합한 폴리머의 화학적인 성분은 유지하되, 탄소나노튜브에 의한 나노형상을 생체적합한 폴리머에 생성함으로써 생체 적합성 및 독성을 기존의 생체 폴리머 물질과 비교하여 향상시킬 수 있고 기계적 강도를 탄소나노튜브의 합성비율로 조절할 수 있다. 도 6에서 보듯이, 열을 가해주었을 때 생기는 폴리머 구 (sphere) 가 탄소나노튜브 위에서도 발생하는 것으로 볼 때 (30 nm 두께) 탄소나노튜브가 표면 위로 노출되지 않고 30nm 정도의 초박막으로 덮혀져 있는 것을 확인할 수 있었다.

[20] 또한, 상기 코팅막은 의료용으로서 정보통신기기에서 사용되는 폴리머-탄소나노튜브 복합체와는 달리 절연성을 가진다.

[21]

[22] 다른 하나의 양태로서, 본 발명은 생체적합한 폴리머와 탄소나노튜브를 1:1 ~ 1:10 중량%의 합성 비율로 각각의 용매에 넣은 후 각각 초음파 처리하는 단계; 상기 초음파 처리된 두 개의 용액을 혼합하는 단계; 상기 혼합용액을 스핀 코터(spin coater)를 사용하여 유리 위에 코팅하는 단계; 상기 혼합용액이 코팅된 유리를 실온에서 건조하는 단계; 및 상기 건조된 유리를 자외선을 조사하여 살균 및 소독하는 단계를 포함하는, 나노 (nanometer) 및 서브마이크론 (submicron-meter)의 두께를 갖는 폴리머 복합체 코팅막의 제조방법을 제공하는 것이다.

[23]

[24] 본 발명의 제조방법에서 상기 생체적합한 폴리머에 대하여는 앞서 개시한 내용이 동일하게 적용되며, 바람직하게는 폴리카보네이트계이며, 더욱 바람직하게는 폴리카보네이트 우레탄일 수 있다.

[25] 본 발명의 제조방법에서 상기 탄소나노튜브의 용매는 물, 1,2-디클로로에탄, 테트라하이드로퓨란, 디메틸포름아미드, 톨루엔(toluene), 에탄올 및 이들의 혼합물로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나 이상일 수 있으며, 바람직하게는 1,2-디클로로에탄일 수 있다.

[26] 상기 폴리카보네이트 우레탄의 용매는 클로로포름이 바람직하다.

[27] 상기 초음파 처리 단계에서 tip 및 bath 초음파 장비를 사용할 수 있으며 초음파 처리시간은 1 내지 24 시간일 수 있으나, 이에 제한되지 않으며, 목적에 따라 당업자에 의해 용이하게 선택될 수 있다.

[28] 본 발명의 구체적 실시예에서는 폴리카보네이트 우레탄을 클로로포름과 혼합하고, 탄소나노튜브를 1,2-디클로로에탄과 혼합한 후 각각의 용액을 초음파처리하여 분산시킨 후 스핀 코터를 사용하여 유리 위에 코팅한 후 실온에서 건조시키고 자외선으로 살균 및 소독하여 100nm 이하의 두께를

가지는 코팅막을 제조하였다.

- [29] 상기 코팅막은 생체 삽입 의료기기의 피복재료로 사용할 수 있으며, 상기 생체삽입 의료기기는 앞서 개시한 내용이 동일하게 적용되며, 바람직하게 미세 혈관용 의용기구, 인공 혈관 지지체, 혈관 내의 융합전원 전극 소스 또는 전원 공급 전선, 나노로봇, 임플란트, 인공심장판막, 인공 방광 및 인공 요로, 인공 반월판, 인공혈관, 인공심장, 심장 박동 조율기 절연체일 수 있다.
- [30]
- [31] 본 발명의 제조방법은 상기 생체적합한 폴리머와 상기 탄소나노튜브의 합성 비율을 조절하여 상기 코팅막의 표면 강도를 조절하는 단계를 추가로 포함할 수 있다.
- [32] 종래에는 생체 적합성이 우수한 나노 및 서브마이크론 미터의 두께를 갖는 단일막의 생체 폴리머-나노 복합체의 공정기술이 개발되지 않았으며, 아울러 지금까지 초박막 두께를 갖는 코팅막에서 나노 표면 에너지 및 표면 강도를 동시에 조절하는 기술은 전혀 보고된 바가 없었다. 본 발명에서는 생체적합한 폴리머와 탄소나노튜브 간의 합성시 탄소나노튜브의 중량 % 함량비율을 늘림에 따라 기계적 표면 강도가 증가함을 밝힘으로써 초박막 나노 코팅막의 표면 강도를 조절할 수 있음을 밝혔다.
- [33] 또한, 본 발명의 제조방법은 상기 생체적합한 폴리머와 상기 탄소나노튜브의 합성 비율을 조절하여 상기 코팅막의 나노 스케일에서의 거침도를 조절함으로써 생체 적합성 여부를 확인하는 단계를 추가로 포함할 수 있다.
- [34] 본 발명에서는 생체적합한 폴리머와 탄소나노튜브 간의 합성시 탄소나노튜브의 중량 % 함량비율을 늘림에 따라 나노 코팅막의 나노 스케일에서의 거침도가 증가하고 표면 에너지가 증가함을 밝혀, 나노 및 서브마이크론 미터의 두께를 가지는 폴리머-나노 복합체 코팅막에서 표면 에너지를 증가시켜 생체 내 단백질의 흡착을 조절함으로써 생체 적합성을 증가시킬 수 있음을 확인하였다.
- [35] 본 발명의 구체적 실시예에서는 생체적합한 폴리머와 탄소나노튜브를 1:1 ~ 1:10의 비율로 합성하고 복합체의 물성의 경향성을 알아보기 위해 합성 비율을 달리해가면서 실험한 결과, 상기 폴리카보네이트 우레탄에 1,2-디클로로에탄을 첨가하면 할수록 표면 에너지가 감소하고 표면 강도가 부드러워짐을 확인할 수 있었으며, 상기 폴리카보네이트 우레탄에 탄소나노튜브의 합성비율을 높이면 높일수록 표면 에너지가 증가하여 나노 스케일에서의 거침도가 증가하고 표면 강도가 증가하는 것을 알 수 있었다 (도 8 참조). 이러한 사실로부터 나노 및 서브마이크론 미터의 두께를 가지는 생체적합한 폴리머와 나노 복합체가 폴리머와 탄소나노튜브의 합성비율을 조절함으로써 표면 에너지 및 표면 강도를 조절할 수 있음을 알 수 있다.
- [36] 또한, 상기 나노 표면의 거침도를 생체 내의 단백질의 흡착을 조절할 수 있어서 폴리머-나노 복합체의 생체 적합성을 적합하도록 제조할 수 있다. 본 발명의

구체적 실시예에서는 탄소나노튜브-폴리카보네이트 우레탄 복합체의 생체 내 단백질에 대한 흡착 조절 효과를 알아보기 위하여, 혈장, 혈청 결합조직에 존재하는 세포접착성 당단백질인 비트로넥틴(vitronectin)과 동물 혈액 내, 배양세포 배지의 필수 단백질로 사용되는 FBS의 흡착도를 조사해본 결과, 비트로넥틴 및 FBS의 경우 탄소나노튜브의 함량 비율을 증가시킴에 따라 흡착이 잘 됨을 알 수 있었다. 도 9에서 보듯이, 탄소나노튜브가 증가할수록 단백질이 많이 흡착되며, 단백질 흡착에는 표면 에너지보다는 나노 표면의 거칠도가 영향을 더 미치는 것을 확인할 수 있었다. 또한, 탄소나노튜브가 증가하면 나노 표면 거칠도가 증가하고 이에 따라 표면 장력이 증가하고(도 7 참조), 표면 장력이 증가하면 면역세포의 흡착이 증가하고 이러한 증가된 흡착에 의하여 증식도 증가함을 알 수 있다(도 10 참조).

[37] 상기와 같은 본 발명의 조절 방법을 통해, 인체 삽입형 기구에 생체 폴리머를 코팅할 경우 생체폴리머에 나노튜브를 합성하여 나노 토포를 형성함으로써 표면 장력을 조절하여, 생체 적합성 및 독성을 기존의 생체 폴리머 물질에 비교하여 향상시킬 수 있고, 또한 기계적 강도를 나노튜브의 합성비율로 조절하여 역학적 성질을 조절함으로써 보다 많은 임플란트 폴리머 응용분야에 적용할 수 있음을 알 수 있다.

[38] 상기 제조방법에 의해 제조된 나노 및 서브마이크론 미터의 두께를 가지는 코팅막 즉, 나노튜브 폴리머 초박막 구조체는 인공 혈관 지지체, 인공 방광 및 인공 요로, 혈관 내의 융합 전원 전극 소스 코팅 및 전원소스의 전원공급 전선의 바이오 피복 재료로 사용할 수 있다. 상기 초박막 구조체는 인체 면역 독성을 억제하는 효과를 가지는데, 본 발명의 제조방법은 조직세포(또는 줄기세포)의 생체 적합성을 향상시키고 대표적인 면역 활성 세포인 대식세포(macrophage)의 활동을 억제함으로써 면역독성을 줄일 수 있는 바, 보다 구체적으로 탄소카본나노튜브(CNT)가 첨가됨에 따라 독성(NO:Nitrite) 및 항염증성 인자(TNF-alpha, IL-1beta)가 감소하고, 또한 CNT를 합성하여 나노토포를 만들면 면역세포의 활동성이 억제될 수 있다(도 12, 13 참조). 상기 폴리머-나노 복합체 또는 코팅막은 모든 생체 삽입형 의료장비에 사용될 수 있으며, 나노토포를 유지하면서 초미세 두께를 이용해야 하는 모세혈관 및 미세 혈관 삽입과 같은 환경에 적합할 수 있다.

발명의 효과

[39] 본 발명은 생체 적합 폴리머에 탄소나노튜브를 혼합하여 나노(nanometer) 및 서브마이크론(submicron-meter)의 두께를 가지는 코팅막 및 그의 제조방법에 관한 것으로서, 상기 폴리머와 탄소나노튜브의 합성 비율을 조절함으로써 상기 초박막 두께를 갖는 코팅막의 생체 적합성의 증가시키고 기계적 강도를 조절할 수 있으며, 독성 및 염증을 억제할 수 있음을 밝혔고, 이러한 특징을 이용하여 나노의료기 및 와이어 코팅 등 생체 내 미세혈관에 삽입되는 의료기기에 적용할

수 있는 효과가 있다.

도면의 간단한 설명

- [40] 도 1은 본 발명에 따른 코팅막의 하나의 적용예로서 전원공급 와이어 및 전극소스 모듈의 표면을 코팅한 것을 나타낸 것이다.
- [41] 도 2는 본 발명에 따른 코팅막의 제조과정을 개략적으로 나타낸 것이다.
- [42] 도 3은 CNT와 PCU의 합성비율을 달리하면서 제조한 코팅막의 샘플을 나타낸 것이다.
- [43] 도 4는 본 발명에 따른 폴리머 코팅막의 두께를 측정한 결과의 일례를 나타낸 것이다. (하단의 그림은 탄소나노튜브와 폴리머 복합체의 두께 (AFM 분석)를 나타내고 있으며 31 nm 정도의 두께를 가지고 있다.)
- [44] 도 5는 본 발명에 따른 폴리머 코팅막의 두께를 측정한 결과의 또다른 일례를 나타낸 것이다. (하단의 그림은 탄소나노튜브와 폴리머 복합체의 두께 (AFM 분석)를 나타내고 있으며 31 nm 정도의 두께를 가지고 있다.)
- [45] 도 6은 열을 가해 주었을 때 생기는 폴리머 구 (sphere) 가 탄소나노튜브 위에서도 발생하는 것으로 볼 때 (30 nm 두께) 탄소나노튜브가 표면 위로 노출되지 않고 30nm 정도의 초박막으로 덮혀져 있는 것을 확인할 수 있다.
- [46] 도 7은 CNT와 PCU의 합성비율을 달리하면서 제조한 코팅막의 나노 스케일 표면 거칠기를 원자 현미경 (AFM) 으로 나타낸 것이다. 하단 도표는 탄소나노튜브의 합성에 따른 표면 장력의 변화를 나타낸 것이다 (y 축은 측정값 (angle)을 나타냄)나노튜브가 증가하면 표면 거칠도가 증가하고 이에 따라 표면 장력이 증가한다.
- [47] 도 8은 CNT와 PCU의 중량의 합성비율을 달리하면서 제조한 코팅막의 다이내믹 경도 측정 결과를 나타낸 것이다. 카본 나노 튜브가 증가할수록 표면경도가 증가하는 것을 알 수 있다 (CNT 중량을 10배 증가하였을 경우 표면 경도값은 두배 이상 증가함).
- [48] 도 9는 본 발명의 코팅막에서 CNT와 PCU 중량의 합성비율에 따른 단백질 흡착 정도를 나타낸 것이다. 표면 에너지보다는 나노 표면의 거칠도가 단백질 흡착에 영향을 주는 것을 확인할 수 있다. 탄소나노튜브가 증가할수록 단백질이 많이 흡착되는 것을 알 수 있다. 하단 그림은 코팅막의 합성비율에 따른 비트로넥틴의 흡착 정도를 나타낸 것으로, 탄소나노튜브 비율이 증가할수록 단백질이 많이 흡착되는 것을 알 수 있다.
- [49] 도 10은 본 발명의 코팅막에서 CNT와 PCU의 합성비율에 따른 면역세포의 흡착 및 증식을 나타낸 것(상단 그림)으로 표면 장력이 증가하면 면역세포의 흡착이 증가함을 볼 수 있다 (3시간). 또한 증가된 흡착에 의하여 증식(24 시간)도 증가함을 알 수 있다. 하단 그림은 중간엽 줄기세포 (mesenchymal stem cell)의 흡착 및 증식도를 나타낸 것으로, 증가된 나노 거칠도 및 단백질의 흡착 정도에 따라서 증식(self-renewal)이 조절됨을 알 수 있다.

- [50] 도 11은 순수한 PCU(좌) 및, CNT와 합성된 PCU/CNT 복합체(우)의 코팅막 두께 및 그에 따른 형상을 각각 비교하여 나타낸 사진이다.
- [51] 도 12는 본 발명의 코팅막에서 CNT와 PCU의 합성비율에 따른 면역세포의 활동성이 억제되는 양상을 나타낸 사진 및 그래프이다. 이를 통해 본 발명과 같이 CNT를 합성하여 나노포토를 만들면 면역세포의 활동성이 억제됨을 알 수 있다.
- [52] 도 13은 본 발명의 코팅막에서 탄소카본나노튜브(CNT)가 첨가됨에 따라 독성(NO: Nitrite) 및 항염증성 인자(TNF-alpha, IL-1beta)가 감소함을 나타낸 그래프이다. 이를 통해 본 발명이 독성 및 항염증성 인자가 억제됨을 알 수 있다.

발명의 실시를 위한 형태

- [53] 이하, 본 발명을 실시예를 통하여 보다 상세하게 설명한다. 그러나 이들 실시예는 본 발명을 예시적으로 설명하기 위한 것으로 본 발명의 범위가 이들 실시예에 한정되는 것은 아니다.

[54]

[55] 실시예 1: CNT-PCU 복합체 코팅막의 제조

- [56] 클로로포름 16ml에 폴리카보네이트 우레탄(Lubrizol, PC-3575A) 1g을 주입하여 용액을 제조하였다. 1, 2-Dichloroethane 60ml에 탄소나노튜브 0.3g을 주입하여 용액을 제조하였다. 그런 다음, 폴리카보네이트 우레탄은 1시간, 탄소나노튜브는 24시간 동안 각각 상온에서 초음파를 가하였다. 그런 다음, 상기 두 용액을 혼합하였다. 이로써, 상기 폴리카보네이트 우레탄 대비 탄소나노튜브의 함량은 100 및 1000 중량%가 된다. 그런 다음, 두 스핀 코터(Spin Coater)를 사용하여 유리 위에 코팅시킨 후 실온에서 진공상태에서 건조시켰다. 그리고 UV를 쬔어줌으로써 살균 및 소독시켜 CNT-PCU를 제조하였다. 특정 조합을 만들기 위한 chemical solution 혼합 정도는 아래와 같다.

[57]

- [58] (1) PCU: 1, 2-Dichloroethane (1: 1) → 2ml: 25ml
- [59] (2) PCU: 1, 2-Dichloroethane (1: 10) → 0.2ml: 25ml
- [60] (3) PCU: CNT (1: 1) → 2ml: 25ml
- [61] (4) PCU: CNT (1: 10) → 0.2ml: 25ml

[62]

- [63] Sonication (PCU+1, 2-Dichloroethane = 30min, PCU+CNT = 1hr) 후 Spin Coater를 사용하여 glass 위에 각각의 composite solution을 코팅한다. 그런 다음, 건조(상온에서 진공상태)한 후 UV를 쬔어줌으로써 살균 및 소독한 상태로 보관한다.

- [64] 그 결과, 100 또는 200 nm 이하의 두께를 가진 나노 박막구조를 가지는 코팅막을 얻을 수 있었다 (도 4, 5, 11 참조).

[65]

[66] 실시예 2: CNT-PCU 복합체 코팅막의 표면 특성 조사[67] 투명도

[68] 본 발명의 CNT-PCU 복합체 코팅막의 투명한 정도를 조사해본 결과, 도 3에서와 같이 탄소나노튜브가 100nm 이하로 코팅되어 있기에 투명한 상태를 유지하고 있음을 알 수 있었다.

[69] 표면 경도의 측정: Dynamic 정도

[70] 표면 경도는 현재 JIS(일본 공업 규격)화 되고 있는 새로운 정의의 정도인 Dynamic 정도를 측정하였다. 상기 Dynamic 정도는 압자가 시료에 얼마나 침입했는지를 측정하는 방식으로 압자를 밀어 넣어가는 과정의 시험력과 indent 깊이로부터 얻을 수 있는 정도이며, 본 발명에서는 시험력 P[mN] 압자의 시료에의 침입량(Indent 깊이) D[μm]로 할 때에 하기 식에서 정의되는 Dynamic 정도 DH를 이용하여 정도를 구하였다:

[71]

$$[72] \quad DH = \alpha \times P / D^2$$

[73] (α 는 압자 형상에 의한 정수임. 115°삼각 피라미드형 압자: $\alpha=3.8584$ 로 주어짐)

[74]

[75] 그 결과, 도 8에서 보듯이 PCU에 대한 CNT 합성비율을 늘림에 따라 정도가 증가하는 것을 확인할 수 있었다. CNT를 첨가할수록 표면 에너지가 증가하고 (나노 스케일에서의 거침도가 증가) 표면 강도 (hardness)이 증가하는 것을 알 수 있었다. 또한, 화학적으로 PCU에 1, 2-디클로로에탄을 첨가할수록 표면에너지가 감소하고 표면강도가 부드러워짐을 알 수 있었다. 이를 통해, 100nm 이하의 두께를 가지는 생체 폴리머 나노 복합체의 박막구조에서 폴리머에 대한 CNT 비율을 조절하여 표면 에너지 및 표면 강도를 조절할 수 있음을 알 수 있었다.

[76]

[77] 실시예 3: CNT-PCU 복합체 코팅막의 생체 내 단백질 흡착 조절 효과

[78] CNT-PCU 복합체 코팅막에 대한 단백질 흡착 테스트(ELISA 또는 absorbance KIT)를 하기 위해, 세포 배양용 단백질 원액 (FBS, Gibco)을 1/5로 희석한 후 각 샘플의 표면에 흡착 실험을 실시하여 진행하였다. 3시간 경과 후 세제 (SDS 1%)를 써서 단백질을 떼어낸 후 단백질 흡광도 측정 키트 (coomassie 595nm, Thermo)을 사용하여 단백질의 흡광도를 ELISA reader 기로 측정하였다.

[79] 또한, 비트로넥틴 (V 8379, Sigma)을 사용하여 흡착 실험을 실시하였다. 3시간 경과 후 세제 (SDS 1%)를 써서 단백질을 떼어낸 후 단백질 흡광도 측정 키트 (coomassie 595nm, Thermo)을 사용하여 단백질의 흡광도를 ELISA reader 기로 측정하였다.

[80] 그 결과, 코팅막의 단백질 흡착 정도는 CNT/PCU 비율에 따라 증가함을 알 수 있었다. 또한, 단백질 흡착에 있어서는 나노스케일 표면 거침도가 매우 중요함을 알 수 있었으며, 비트로넥틴 흡착 역시 CNT/PCU 비율에 따라 증가함을 확인할

수 있었다. 따라서, 코팅막의 CNT/PCU 비율을 조절하여 표면 에너지를 조절하면, 생체내의 단백질의 흡착을 조절할 수 있어서 더욱 생체에 적합하도록 할 수 있음을 확인하였다 (도 9 참조).

[81]

[82] **실시예 4: CNT-PCU 복합체의 세포 내 부착 및 증식에 미치는 영향**

[83] 코팅된 각각의 샘플에 대식세포 (J774, ATCC) 를 100000/cm² 로 배양시킨 후 3시간 및 24시간 후에 세포의 갯수를 MTT로 측정하였다. 또한, 코팅된 각각의 샘플에 줄기세포 (MSC, Lonza)를 2500/cm² 로 배양시킨 후 3시간 및 24시간 후에 세포의 갯수를 Dapi (형광 현미경 사용) 측정 방법을 이용하여 측정하였다.

[84] 그 결과, 코팅막의 면역세포 및 중간엽줄기세포에 대한 부착 및 증식은 CNT/PCU 비율에 따라 증가함을 알 수 있었다. 따라서, 본 발명의 코팅막의 줄기세포 및 면역세포와의 상호작용에 있어서도 부착 정도를 향상시키고, 증식도 많이 하는 것을 보아 본 발명의 코팅막은 CNT/PCU 비율을 조절하여 생체 적합성을 향상시킬 수 있음을 확인할 수 있었다.

[85]

[86] **실시예 5: CNT-PCU 복합체의 세포 내 독성 억제 및 면역세포 활동성 억제: CNEs상 대식세포 유래의 전구염증 사이토카인**

[87] 제조업체의 프로토콜에 따라, TNF- α 와 IL-6 수준은 마우스 TNF- α 와 IL-6의 상용 ELISA 키트(Quantikine: R&D 시스템, 미네폴리스, MN)를 사용하여 측정되었다. 각 정해진 시점 (4h, 12h, 24, 36h 및 48h)의 끝 부분에, 각 상등액 샘플이 수집되고 -80°C에서 저장되었으며, 또한, 동시에 마이크로플레이트 리더기에 의해 세번 반복 측정되었고, 평균표본오차에 의해 나타나졌다. 재조합 TNF- α 와 IL-6는 각 사이토카인 분석에 표준 대조군으로 사용되었다.

[88] 이러한 분석 범위는 TNF- α 에 대해서는 15.6-1000pg/ml, 또한, IL-6에 대해서는 7.8-500pg/ml이다. 대식세포로부터 유래된 전구염증 사이토카인의 측정을 위해, 대식세포 배지가 회수되었고, IL-6와 TNF- α 에 대한 ELISA 실험을 위해 사용되었다. ELISA 실험으로부터 data가 계산되었고, 광학밀도 단위가 상기 생존도 및 세포자살 실험에서 얻은 살아있는 세포의 숫자로 나누어져 pg/10⁴ 세포로 변환되었다.

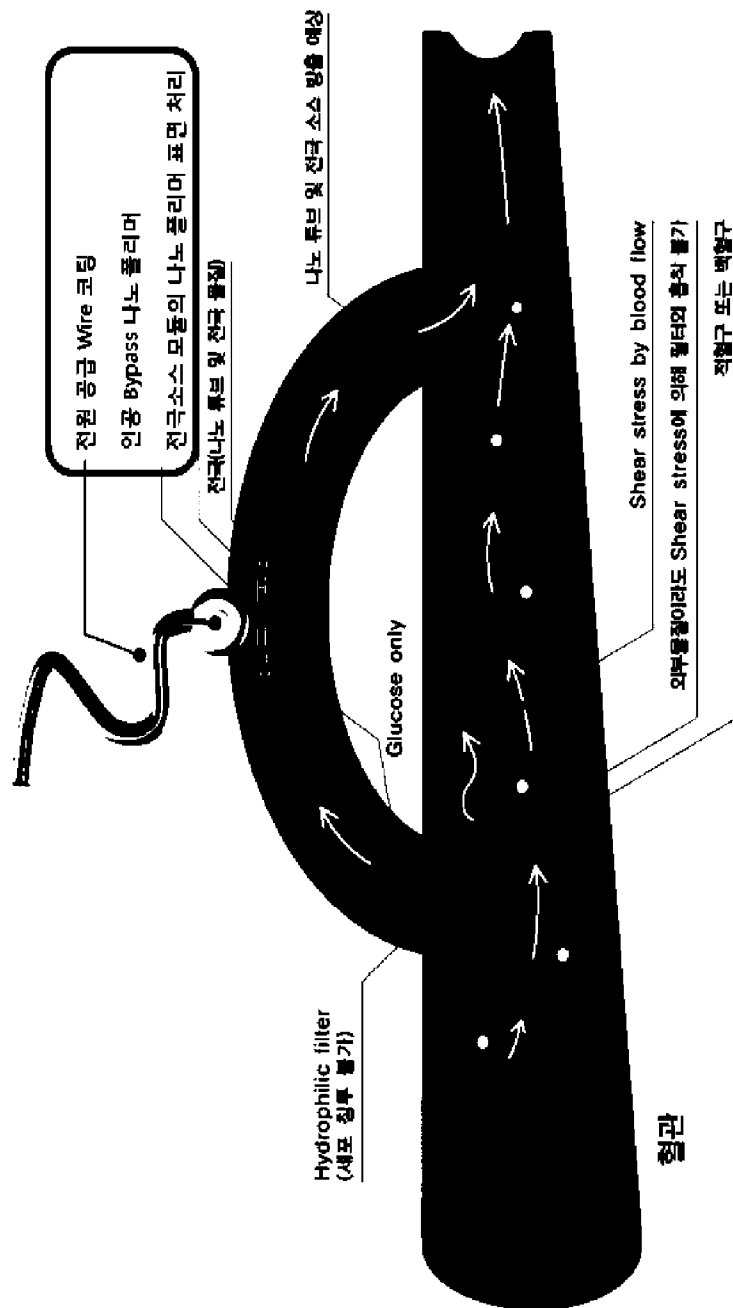
[89] 시간 경과에 따른 전구염증 사이토카인 방출을 결정하기 위하여, 대식세포 유래의 전구염증 사이토카인(TNF- α 와 IL-6)이, 37°C의 0-4h, 4-12h, 12-24h, 24-36h 및 48h에서 배지를 수거하며 DPBS로 세포를 세척하고, 신선한 배지를 제공하며 측정되어졌다. 모든 회수된 배지는 -80°C에서 저장되었고, 또한 동시에 측정되어졌다.

[90] 그 결과, 상기 본원 발명의 복합체 코팅막은 탄소카본나노튜브(CNT)가 첨가됨에 따라 독성(NO:Nitrite) 및 항염성증 인자(TNF-alpha, IL-1beta)가 감소하고, CNT를 합성하여 나노토포를 만들면 면역세포의 활동성도 억제시킬 수 있는 효과를 지니고 있음을 확인할 수 있었다 (도 12, 13 참조).

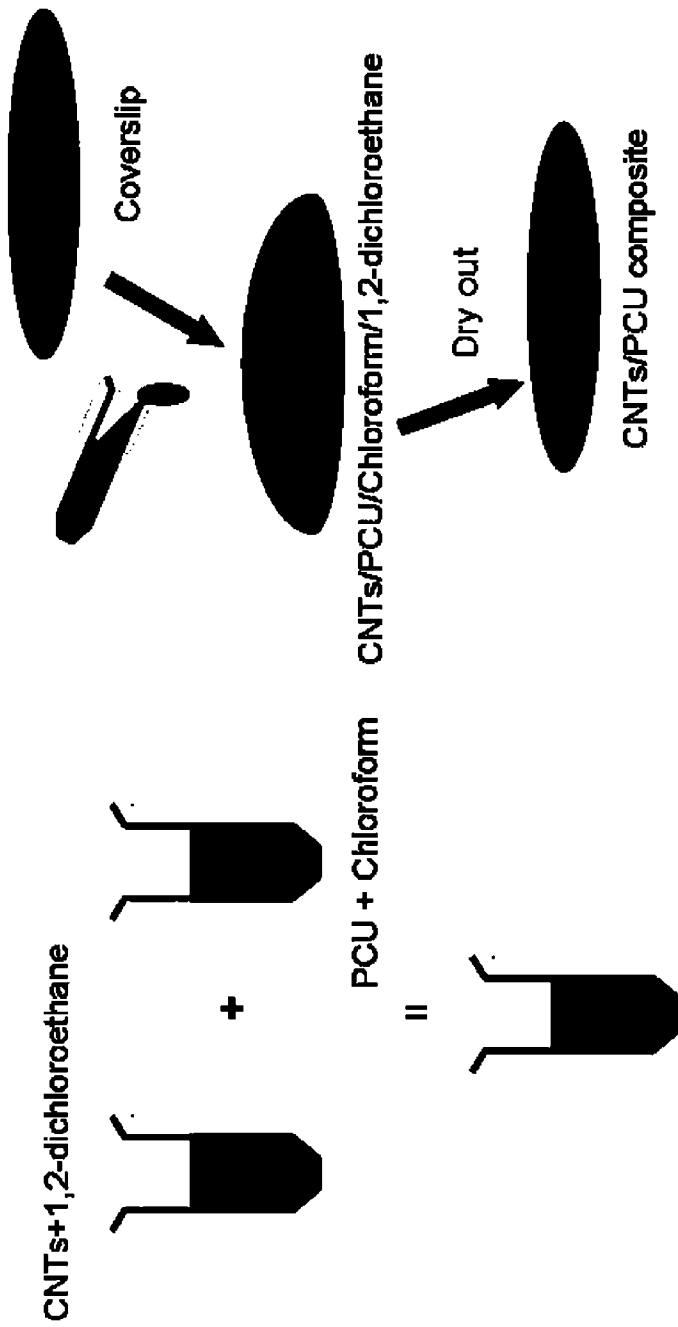
청구범위

- [청구항 1] 생체적합한 폴리머 및 탄소나노튜브를 포함하고 나노 (nanometer) 및 서브마이크론 (submicron-meter)의 두께를 갖고 독성 및 염증을 억제하는, 폴리머 복합체 코팅막.
- [청구항 2] 제1항에 있어서, 상기 코팅막은 탄소나노튜브가 상기 생체적합한 폴리머의 표면에 직접 노출되지 않은 구조를 가지는 것을 특징으로 하는 코팅막.
- [청구항 3] 제1항에 있어서, 상기 생체적합한 폴리머는 폴리카보네이트 우레탄(polycarbonate urethane)인 코팅막.
- [청구항 4] 제1항에 있어서, 상기 코팅막은 30~200nm의 두께를 갖는 코팅막.
- [청구항 5] 생체적합한 폴리머와 탄소나노튜브를 1:1 ~ 1:10 중량%의 합성 비율로 각각의 용매에 넣은 후 각각 초음파 처리하는 단계;
상기 초음파 처리된 두 개의 용액을 혼합하는 단계;
상기 혼합용액을 스핀 코터(spin coater)를 사용하여 유리 위에 코팅하는 단계;
상기 혼합용액이 코팅된 유리를 실온에서 건조하는 단계; 및
상기 건조된 유리를 자외선을 조사하여 살균 및 소독하는 단계를 포함하는, 나노 (nanometer) 및 서브마이크론 (submicron-meter)의 두께를 갖는 폴리머 복합체 코팅막의 제조방법.
- [청구항 6] 제5항에 있어서, 상기 생체적합한 폴리머는 폴리카보네이트 우레탄(polycarbonate urethane)인 제조방법.
- [청구항 7] 제5항에 있어서, 상기 탄소나노튜브의 용매는 물, 1,2-디클로로에탄, 테트라하이드로퓨란, 디메틸포름아미드, 톨루엔(toluene), 에탄올 및 이들의 혼합물로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나 이상인 것을 특징으로 하는 제조방법.
- [청구항 8] 제6항에 있어서, 상기 폴리카보네이트 우레탄의 용매는 클로로포름인 제조방법.
- [청구항 9] 제5항에 있어서, 상기 생체적합한 폴리머와 상기 탄소나노튜브의 합성 비율을 조절하여 상기 코팅막의 표면 강도를 조절하는 단계를 추가로 포함하는 제조방법.
- [청구항 10] 제5항에 있어서, 상기 생체적합한 폴리머와 상기 탄소나노튜브의 합성 비율을 조절하여 상기 코팅막의 나노 스케일에서의 거침도를 조절함으로써 생체 적합성 여부를 확인하는 단계를 추가로 포함하는 제조방법.

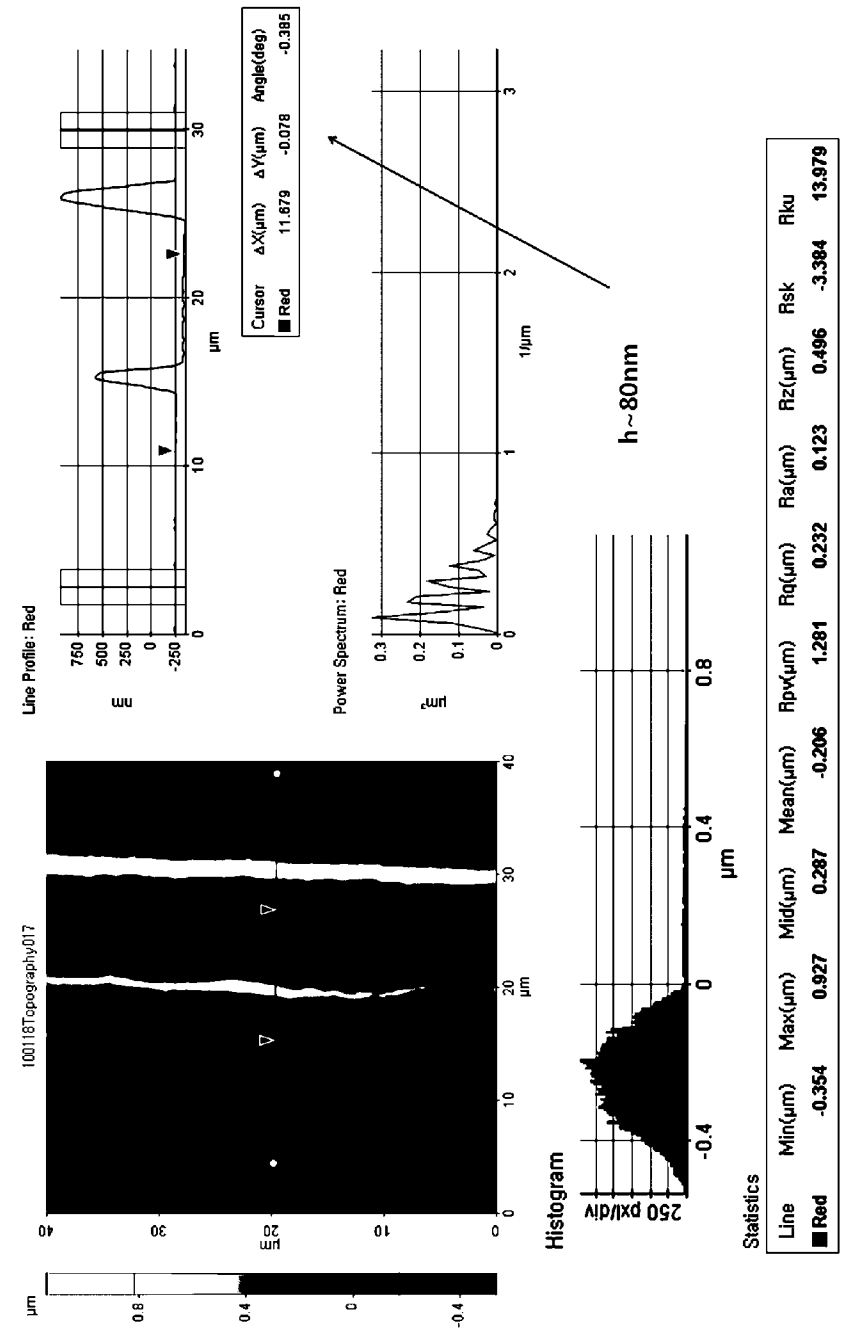
[Fig. 1]



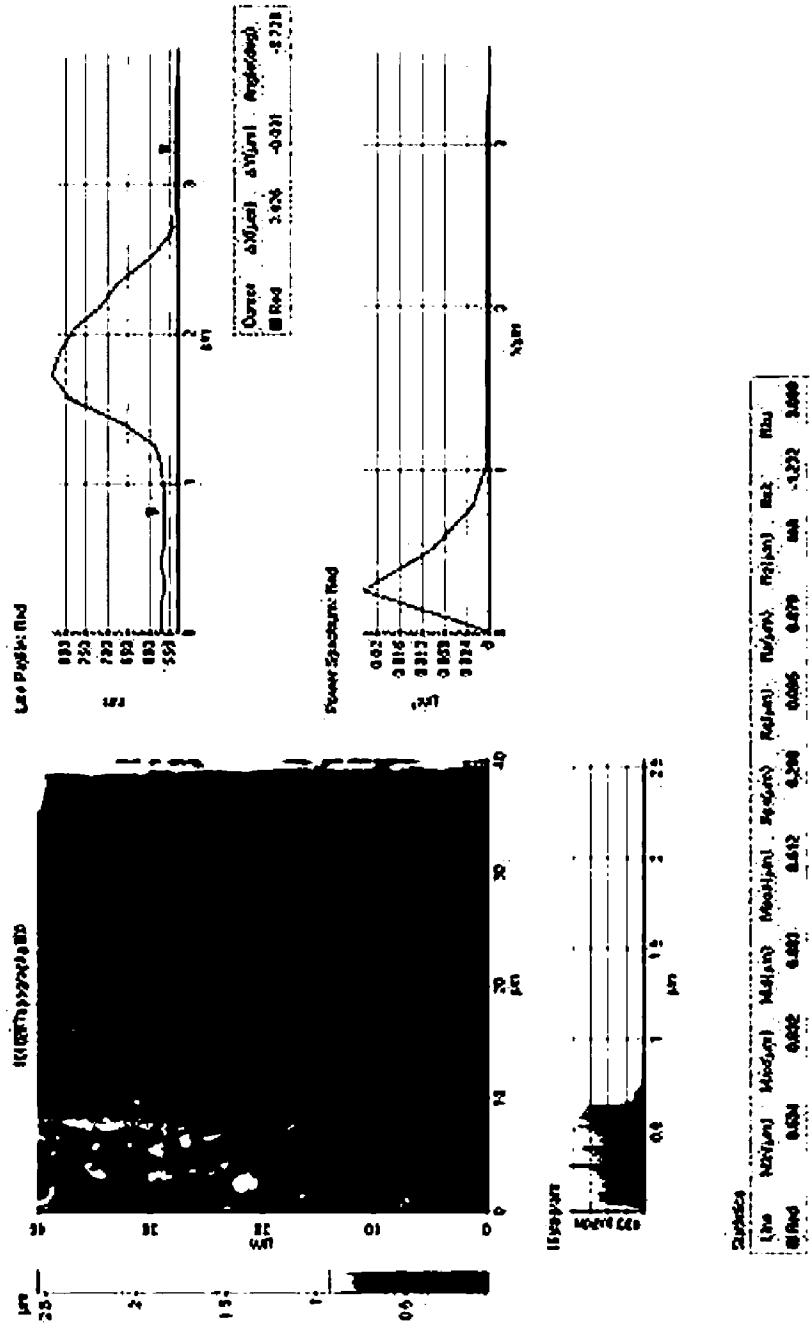
[Fig. 2]



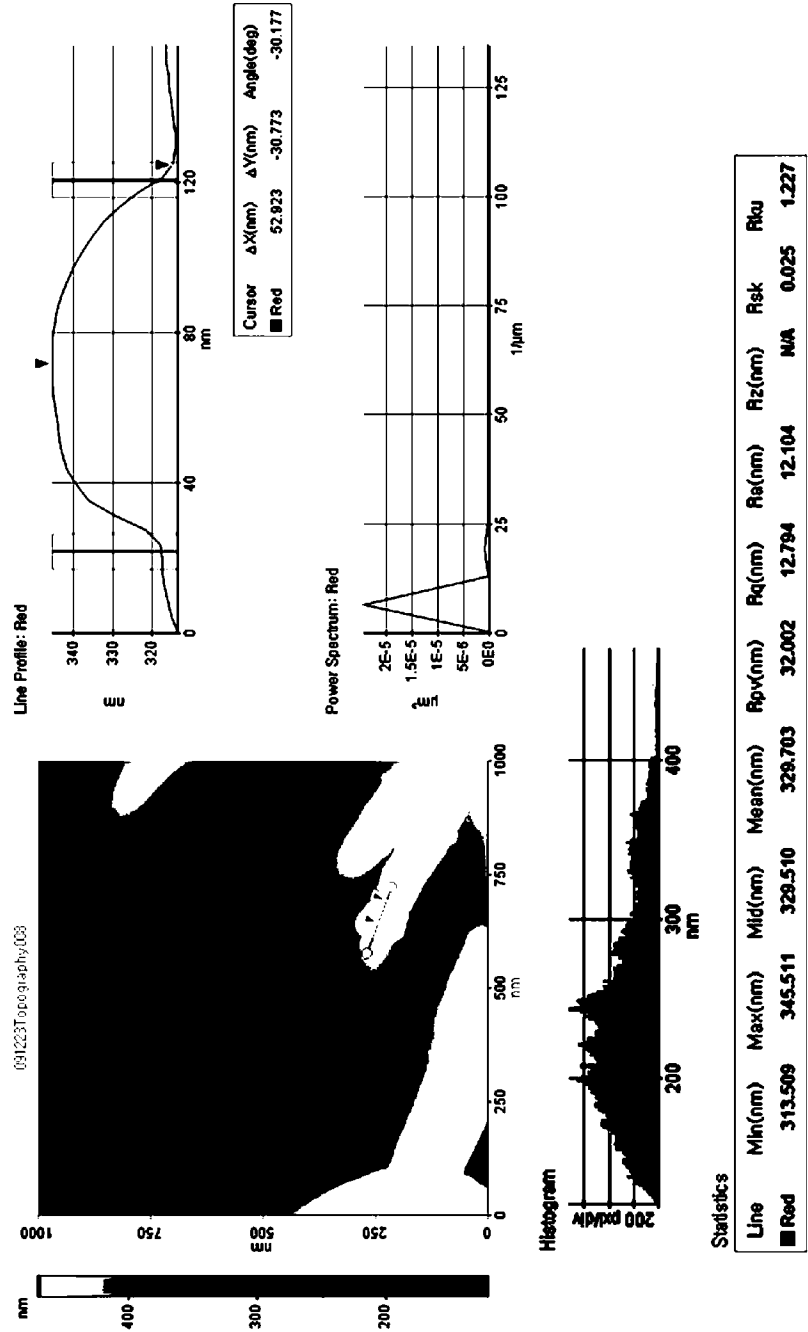
[Fig. 4]



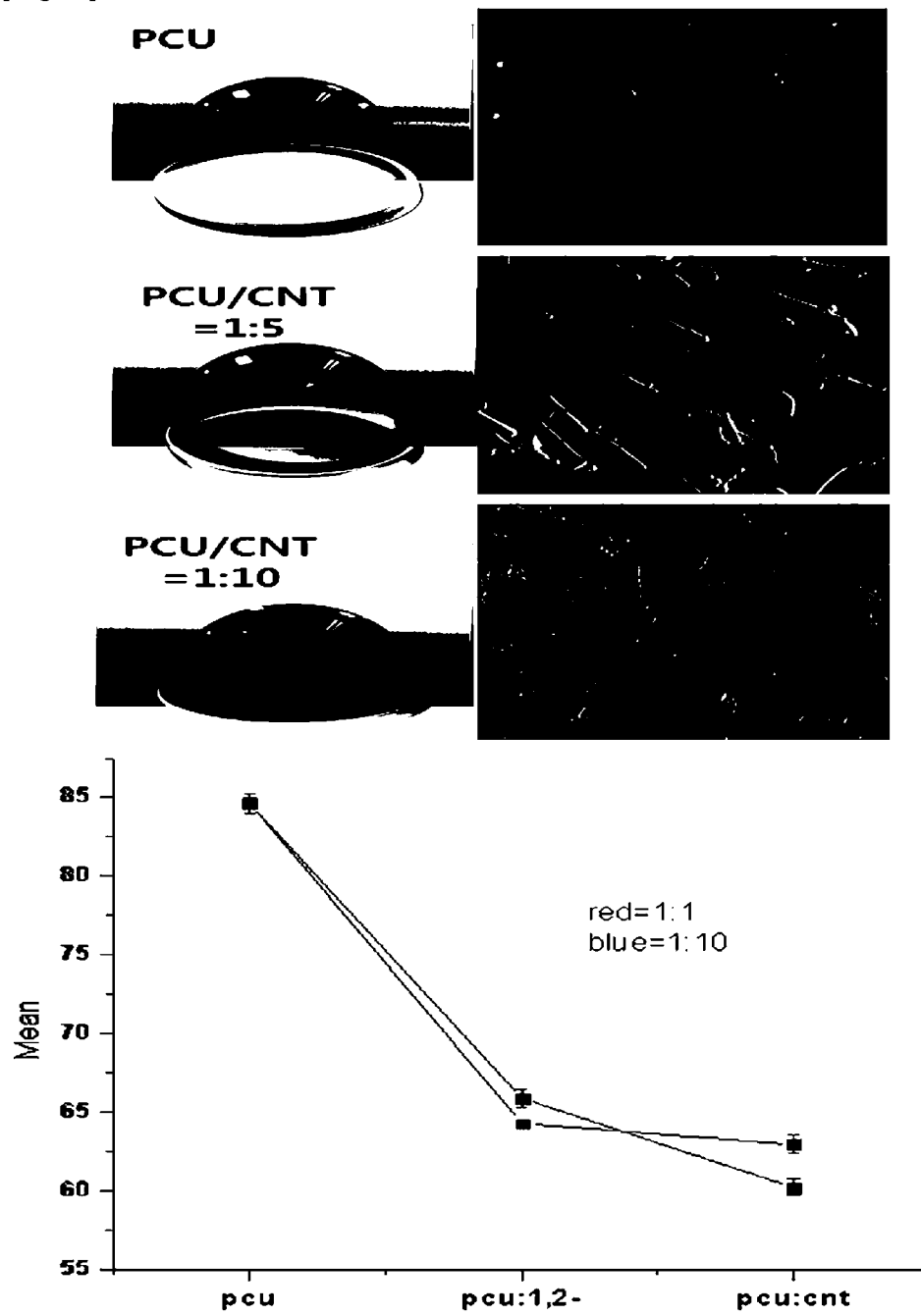
[Fig. 5]



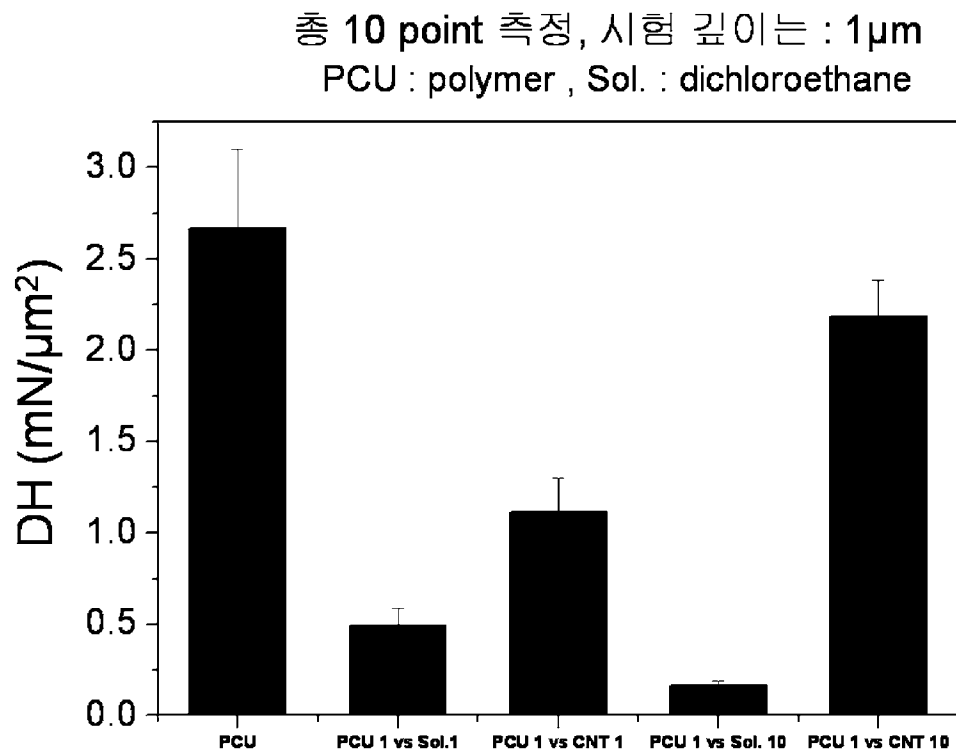
[Fig. 6]



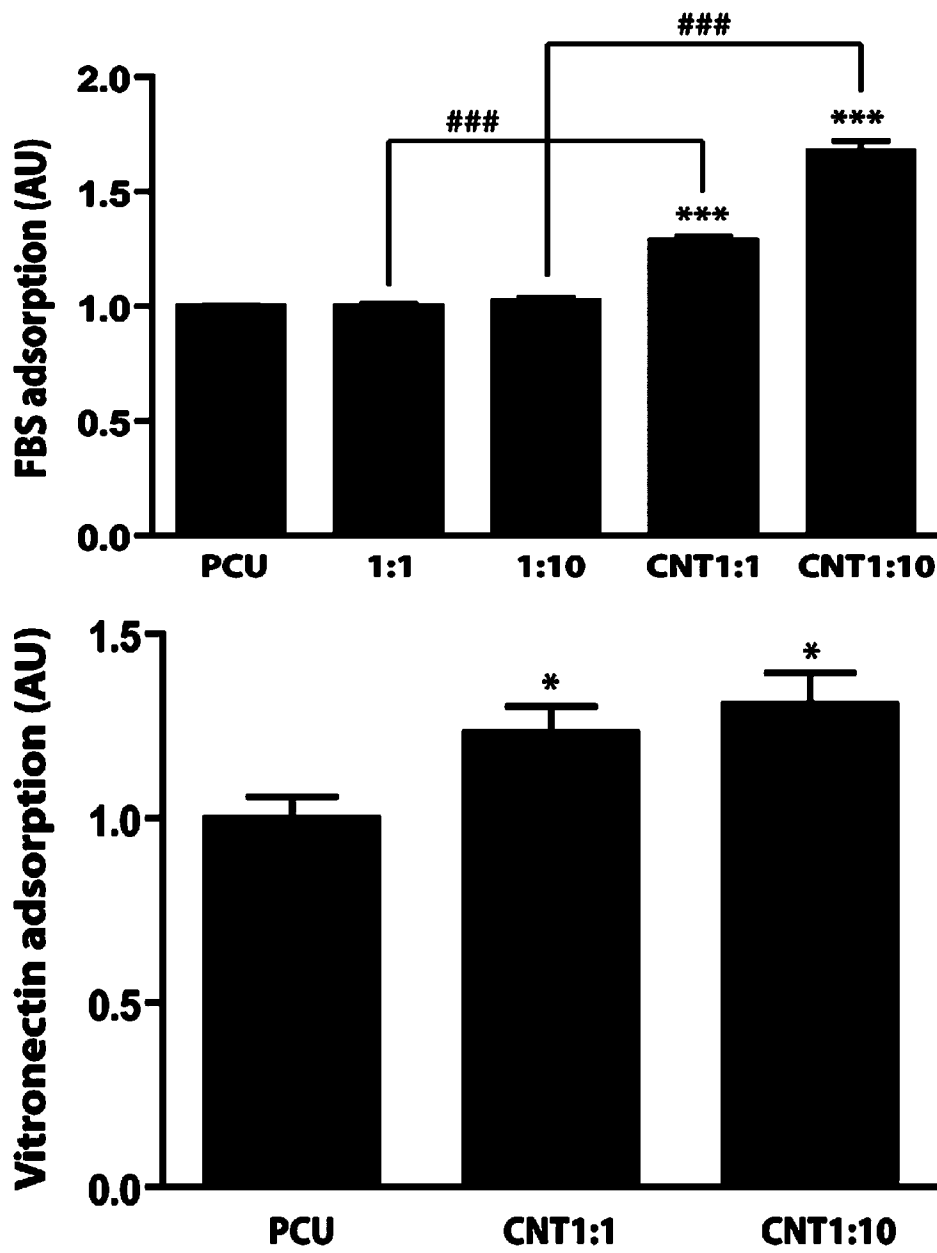
[Fig. 7]



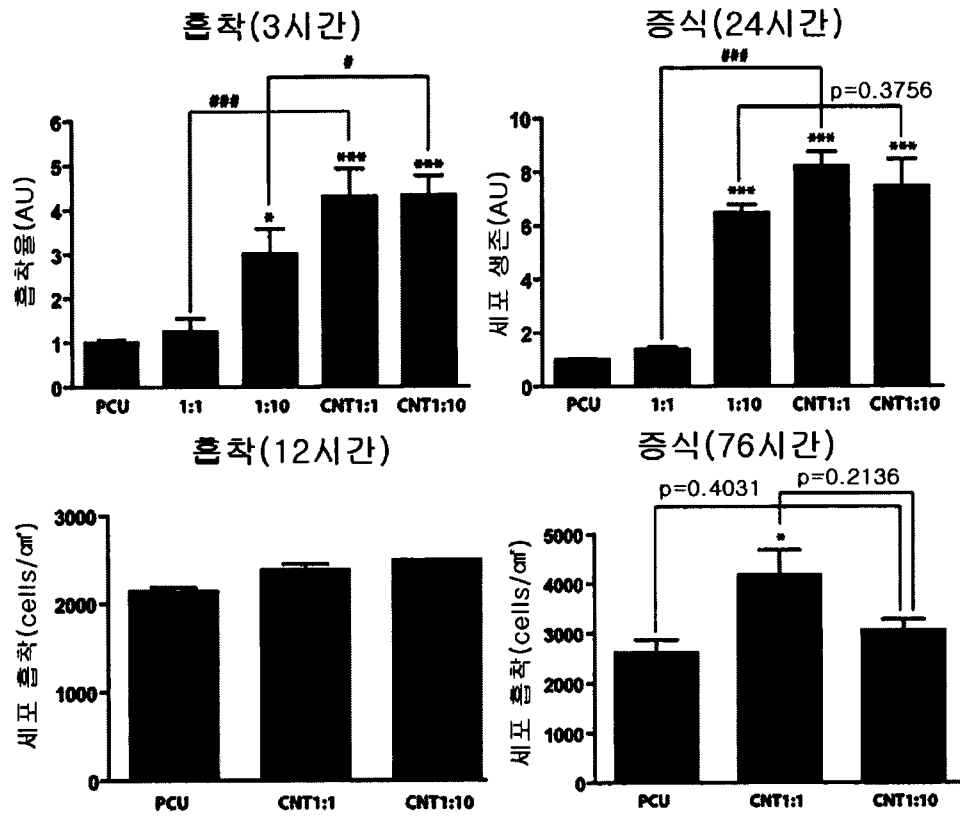
[Fig. 8]



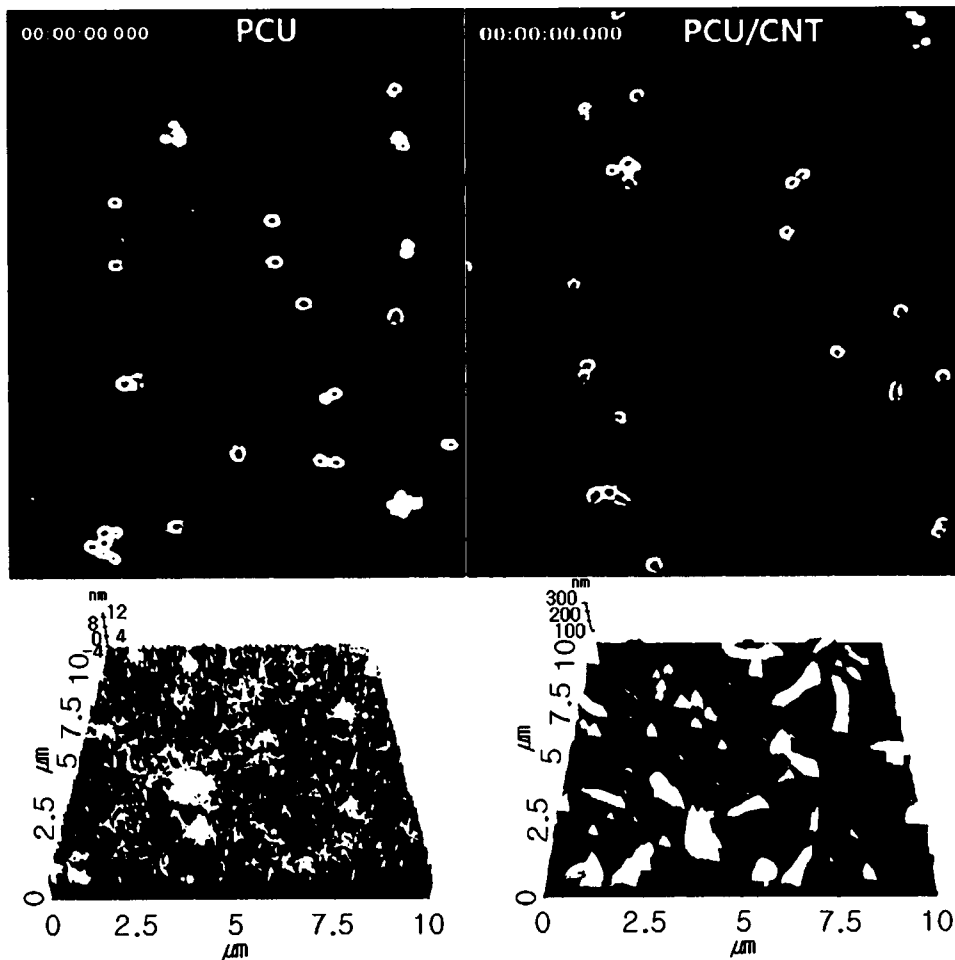
[Fig. 9]



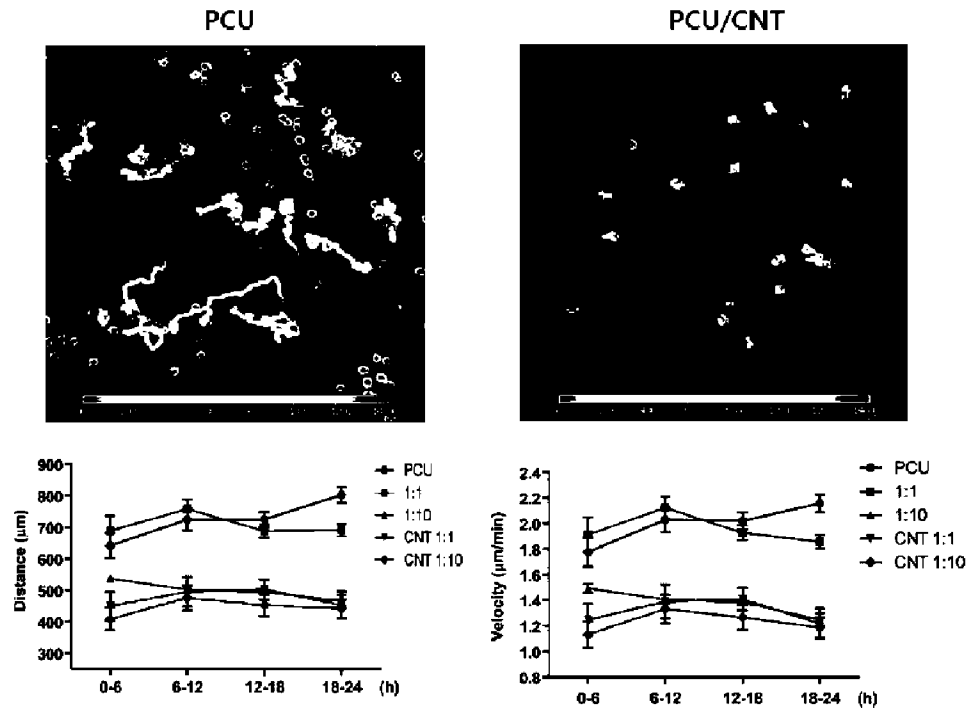
[Fig. 10]



[Fig. 11]



[Fig. 12]



[Fig. 13]

