



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2015년08월05일

(11) 등록번호 10-1541999

(24) 등록일자 2015년07월29일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61L 27/26 (2006.01) A61F 2/04 (2006.01)

A61L 27/24 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2014-0036430

(22) 출원일자 2014년03월28일

심사청구일자 2014년03월28일

(56) 선행기술조사문헌

KR1020090024249 A*

KR100247892 B1*

KR1020000057129 A*

KR100718073 B1*

*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자

동국대학교 산학협력단

서울특별시 중구 필동로1길 30 (필동3가, 동국대학교)

한양대학교 산학협력단

서울특별시 성동구 왕십리로 222(행당동, 한양대학교내)

이화여자대학교 산학협력단

서울특별시 서대문구 이화여대길 52 (대현동, 이화여자대학교)

(72) 발명자

김성민

경기 고양시 일산서구 대화2로 68, 204동 1201호 (대화동, 대화마을2단지아파트)

권지연

인천 연수구 해돋이로 107, 2동 405호 (송도동, 더샵퍼스트월드)

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

특허법인다나

전체 청구항 수 : 총 6 항

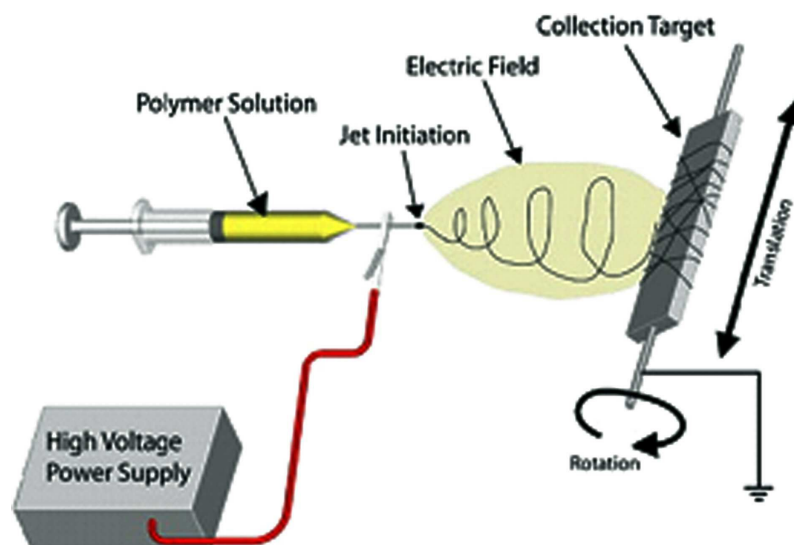
심사관 : 정재철

(54) 발명의 명칭 신경도관의 제조방법 및 이에 따라 제조된 신경도관

(57) 요약

본 발명은 (a) 용매에 각각 혼합한 PLLA(poly-L-lactic Acid) 용액과 PLGA(poly-lactic-co-glycolic acid)용액을 혼합하여, 고분자 용액을 제조하는 단계; (b) 전기방사 장치를 이용하여, 상기 고분자 용액을 전기방사 수집부에 토출시켜 나노 섬유튜브를 제조하는 단계; 및 (c) 상기 나노 섬유튜브 내부에 신경재생용액을 삽입하는 단계; 를 포함하는 신경도관의 제조방법에 관한 것이다.

대표도 - 도1



(72) 발명자

김재광

서울 서초구 신반포로23길 41, 106동 1001호 (잠원동, 신반포한신아파트)

신홍수

서울 서초구 서초대로23길 74, 101동 701호 (방배동, 방배씨티아파트)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 HI10C2013010013

부처명 보건복지부

연구관리전문기관 한국보건산업진흥원

연구사업명 보건의료기술연구

연구과제명 동국대학교 성장형 가치 창출 의료기기 개발 촉진 센터 [4/5]

기 여 율 1/1

주관기관 동국대학교 산학협력단

연구기간 2013.04.01 ~ 2014.03.31

명세서

청구범위

청구항 1

(a) PLLA(poly-L-lactic Acid) 용액과 PLGA(poly-lactic-co-glycolic acid)용액을 혼합하여, 고분자 용액을 제조하는 단계;

(b) 전기방사 장치를 이용하여, 상기 고분자 용액을 전기방사 수집부에 토출시켜 나노 섬유튜브를 제조하는 단계; 및

(c) 상기 나노 섬유튜브 내부에 신경재생용액을 삽입하는 단계; 를 포함하며,

상기 신경재생용액은 콜라겐, 뉴로트로핀 3 및 라미닌으로 구성되며, 상기 콜라겐, 뉴로트로핀 3 및 라미닌은 각각 HEPES(hydroxyethyl piperazineethanesulfonic acid)와 NaHCO_3 (탄산수소나트륨)에 중화시키는 단계; 및 상기 중화된 콜라겐, 뉴로트로핀 3 및 라미닌을 7 내지 12 : 2.5 내지 5 : 1의 부피비로 혼합시키는 단계; 를 거쳐 얻어지는 것을 특징으로 하는 신경도관의 제조방법.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 PLLA(poly-L-lactic Acid) 용액과 PLGA(poly-lactic-co-glycolic acid)용액은 각각 용매에 용해시켜 0.5 내지 5 중량 % 농도로 제조하는 것을 특징으로하는 신경도관의 제조방법.

청구항 3

제2항에 있어서,

상기 용매는 HFIP(hexafluoroisopropanol), chloroform(CHCl_3), 및 THF(tetrahydrofuran) 에서 선택된 적어도 하나인 것을 특징으로하는 신경도관의 제조방법.

청구항 4

제1항에 있어서,

상기 고분자 용액은

상기 PLLA(poly-L-lactic Acid) 용액과 PLGA(poly-lactic-co-glycolic acid)용액이 2 내지 3 : 1의 부피비로 혼합된 것을 특징으로 하는 신경도관의 제조방법.

청구항 5

제1항에 있어서,

상기 전기방사 수집부는

길이방향으로 확장되어 일정속도로 회전하는 것을 특징으로 하는 신경도관의 제조방법.

청구항 6

삭제

청구항 7

삭제

청구항 8

제1항에 있어서,

상기 나노 섬유튜브는

에탄올에 침지시켜 상기 나노 섬유튜브를 불용화 시킨 후 상기 신경재생용액을 삽입하는 것을 특징으로 하는 신경도관의 제조방법.

청구항 9

삭제

청구항 10

삭제

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 생분해성 신경도관의 제조방법 및 이에 따라 제조된 신경도관에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 사고나 수술 등으로 절단된 손발의 신경은 그 절단부위를 치밀하게 봉합하지 않으면 연결이 어렵다. 그러나 절단면들이 5mm 이상 떨어져 있으면 직접 봉합이 불가능하며, 이런 경우에 자가 신경 이식 이외에는 방법이 없지만, 자가이식에는 자신의 신경을 사용해야 하는 단점이 있고, 채취 가능한 신경에도 제한이 있는 등의 단점이 존재한다.

[0003] 따라서, 신경 결손 부위가 클 경우, 그 기능을 회복하기 위한 방법의 하나로 신경도관을 이용하는 방법이 연구되었다. 신경도관이란 절단된 신경의 양쪽 끝을 인공으로 만든 튜브 안에 고정하고 그 튜브 안으로 신경의 연결을 유도하는 관을 의미한다. 이러한 신경도관은 신경재생을 방해하는 반흔 조직의 침투를 막을 수 있고, 올바른 방향으로 축삭의 성장을 유도할 수 있으며, 신경 자체에서 분비되는 재생촉진 물질들이 관내에 유지되는 반면 재생을 방해하는 물질은 외부로부터 차단되는 이점을 가지고 있다.

[0004] 최초의 신경도관으로 비분해성인 실리콘 튜브가 사용되었다. 그러나, 신경이 재생된 후에도 체내에 남아 만성적인 염증, 실리콘의 칼슘화 및 재생된 신경을 압박하여 고통을 야기하는 문제가 있으며, 신경이 완전히 수복된 후에 재수술하여 튜브를 제거해야 하는 번거로움이 있었다.

[0005] 그래서, 최근에는 생체 내에서 녹아버리는 생분해성 고분자 재료인 폴리글리콜산(Polyglycolic acid; PGA)을 이용한 신경도관이 개발되어 임상에 적용되고 있다.

[0006] 그러나, 속이 비어있는 도관 형태로 개발되어 신경의 재생 도중 도관이 함몰되는 문제가 발생하여 근본적인 해결책으로는 미흡한 점이 있다.

선행기술문헌

특허문헌

[0007] (특허문헌 0001) KR 등록 제10-0718073호

발명의 내용

해결하려는 과제

[0008] 본 발명은 튜브 형태를 유지할 수 있으며, 우수한 신경재생 효과를 나타낼 수 있는 생분해성 고분자 신경도관의 제조방법 및 이에 따라 제조된 신경도관을 제공하고자 한다.

과제의 해결 수단

[0009] 본 발명은 (a) 용매에 각각 혼합한 PLLA(poly-L-lactic Acid) 용액과 PLGA(poly-lactic-co-glycolic acid)용액을 혼합하여, 고분자 용액을 제조하는 단계; (b) 전기방사 장치를 이용하여, 상기 고분자 용액을 전기방사 수집부에 토출시켜 나노 섬유튜브를 제조하는 단계; 및 (c) 상기 나노 섬유튜브 내부에 신경재생용액을 삽입하는 단계;를 포함하는 신경도관의 제조방법을 제공한다.

[0010] 또한, 본 발명은 상기 제조방법으로 제조된 신경도관을 제공한다.

발명의 효과

[0011] 본 발명에 따른 신경도관은 생체 적합성이 우수하며, 나노 섬유튜브 내에 신경재생용액이 삽입됨으로써 튜브의 형태를 유지할 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0012] 도 1은 전기방사를 이용하여 고분자 용액으로 나노 섬유튜브를 제작하는 공정을 나타낸 모식도이다.

도 2는 고분자 용액이 전기방사 수집부에 분사되어 나노 섬유튜브가 만들어지는 과정을 나타내는 도면이다.

도 3은 나노 섬유튜브 내부에 신경재생용액을 삽입하는 과정을 나타내는 도면이다.

도 4는 본 발명의 일 실시예에 따른 신경도관 제조방법으로 제조된 신경도관을 나타내는 도면이다.

도 5는 본 발명의 일 실시예에 따라 제조된 신경도관을 동결건조시키는 과정을 나타내는 도면이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0013] 본 발명은 튜브 형태를 유지할 수 있으며, 우수한 신경재생 효과를 나타낼 수 있는 생분해성 고분자 신경도관의 제조방법 및 이에 따라 제조된 신경도관에 관한 것이다.

[0014] 이하, 본 발명을 상세히 설명한다.

[0015] 본 발명은 고분자 용액으로 나노 섬유튜브를 제조하고, 상기 나노 섬유튜브 내부에 신경재생용액을 삽입하여 신경도관을 제조하는 것을 특징으로 한다.

[0016] 보다 구체적으로, (a) 용매에 각각 혼합한 PLLA(poly-L-lactic Acid) 용액과 PLGA(poly-lactic-co-glycolic acid)용액을 혼합하여, 고분자 용액을 제조하는 단계; (b) 전기방사 장치를 이용하여, 상기 고분자 용액을 전기방사 수집부에 토출시켜 나노 섬유튜브를 제조하는 단계; 및 (c) 상기 나노 섬유튜브 내부에 신경재생용액을 삽입하는 단계;를 포함한다.

[0017] 먼저, 고분자 용액을 제조하는 단계는 용매에 생분해성 고분자를 용해시켜 고분자 용액을 제조하는 것으로, 생분해성 고분자라 함은 생체내에서 녹아버리는 고분자 물질로서, 본 발명에서는 PLLA(poly-L-lactic Acid)와 PLGA(poly-lactic-co-glycolic acid)를 사용한다.

[0018] 특히, 상기 PLLA(poly-L-lactic Acid) 용액과 PLGA(poly-lactic-co-glycolic acid)용액은 각각 용매에 용해시켜 0.5 내지 5 중량 % 농도, 1 내지 3%의 농도 또는 2 중량%의 농도로 제조할 수 있다. 일 예로, 2 중량 %의 농도로 제조할 수 있다. 이는, 용액의 농도에 따라 물성이나 분해속도, 표면특성에 영향을 미쳐 전기방사의 효과가 다르게 나타나는 것으로, PLLA(poly-L-lactin acid) 용액과 PLGA(poly-lactic-co-glycolic acid)용액의 농도가 상기 범위 미만인 경우, 고분자의 함량이 너무 낮아 전기방사 시간이 길어지거나 최종 신경도관의 두께가 너무 얇아지는 문제점이 발생하고, 상기 범위를 초과한 경우, 농도가 너무 높아 전기방사하기 위한 에너지가 과도하게 들어 방사시 나노크기의 섬유를 얻을 수 없어, 기계적 강도의 유지가 가능한 신경도관의 제조에 어려움이 있다.

[0019] 이에 더하여, 상기 용매는 HFIP(hexafluoroisopropanol), chloroform(CHCl_3) 및 THF(tetrahydrofuran)에서 선택된 적어도 하나일 수 있으며, 일 예로 HFIP(hexafluoroisopropanol)일 수 있다.

- [0020] 한편, 고분자 용액은 PLLA(poly-L-lactic Acid) 용액과 PLGA(poly-lactic-co-glycolic acid)용액을 혼합시킨 것으로, 상기 PLLA(poly-L-lactic Acid) 용액과 PLGA(poly-lactic-co-glycolic acid)용액이 2 내지 3 : 1의 부피비로 혼합된 것을 특징으로 한다. 일 예로, 상기 PLLA(poly-L-lactic Acid) 용액과 PLGA(poly-lactic-co-glycolic acid)용액을 7:3의 부피비로 혼합할 수 있다. 이러한 부피비는 신경도관의 외관상 형태 및 내부물질의 보존 및 유지를 위한 것이다.
- [0021] 이후 상기와 같이 얻어진 고분자 용액을 전기방사 장치를 이용하여 나노 섬유튜브를 제조한다. 상기 전기 방사 장치는 전기 방사에 통상적으로 사용될 수 있는 것으로 특별히 제한하지 아니하며, 일반적인 고전압(5 내지 50kV)을 걸어줄 수 있는 전기방사장치가 널리 사용될 수 있다.
- [0022] 하나의 양태로서, 상기 전기방사는 일정속도로 회전하는 전기방사 수집부에 상기 고분자 용액을 토출시켜 나노 섬유튜브를 제조하는데, 이때 전기방사 수집부는 직경이 작은 봉형태일 수 있다. 일 예로 철사를 사용할 수 있다. 또한, 전기방사시 제조될 고분자 용액의 농도 및 신경도관의 직경을 고려하여 토출속도 및 전압을 조절할 수 있다. 이때, 상기 토출속도는 1 내지 5 ml/h 일 수 있으며, 전압은 10 내지 20kV의 전압을 걸어줄 수 있다. 일 예로 토출속도는 2ml/h 일 수 있으며, 전압은 13kV의 전압을 걸어줄 수 있다.
- [0023] 상기와 같이 제조된 나노 섬유튜브 내에 신경재생용액을 삽입할 수 있다.
- [0024] 이때, 상기 신경재생용액은 콜라겐, 뉴로트로핀 3 및 라미닌을 중화시키는 단계; 및 상기 중화된 콜라겐, 뉴로트로핀 3 및 라미닌을 7 내지 12 : 2.5 내지 5 : 1의 부피비로 혼합시키는 단계;를 거쳐 얻어진 신경재생용액일 수 있다.
- [0025] 보다 구체적으로, 중화시키는 단계는 각각의 콜라겐, 뉴로트로핀 3 및 라미닌을 HEPES(hydroxyethyl piperazineethanesulfonic acid), NaHCO_3 (탄산수소나트륨)과 혼합하여 중화시킬 수 있다.
- [0026] 일 예로, HEPES(hydroxyethyl piperazineethanesulfonic acid), NaHCO_3 (탄산수소나트륨)과 1% 콜라겐을 1:1:100 비율로 혼합하여 중화시켰으며, 뉴로트로핀 3과 라미닌도 HEPES(hydroxyethyl piperazineethanesulfonic acid), NaHCO_3 (탄산수소나트륨)와 혼합하여 중화시켰다. 보다 구체적으로, HEPES(hydroxyethyl piperazineethanesulfonic acid), NaHCO_3 (탄산수소나트륨)과 뉴로트로핀 3을 1:1:100의 비율로 혼합하여 중화시켰으며, HEPES(hydroxyethyl piperazineethanesulfonic acid), NaHCO_3 (탄산수소나트륨)과 라미닌을 1:1:100 비율로 혼합하여 중화시켰으며, 이때의 비율은 부피비일 수 있다.
- [0027] 여기서, 1% 콜라겐이라 함은 중류수 100중량부에 대비하여 1중량부의 콜라겐을 포함하는 1중량 % 콜라겐을 의미할 수 있다.
- [0028] 다음으로, 중화된 콜라겐, 뉴로트로핀 3 및 라미닌을 7 내지 12 : 2.5 내지 5 : 1의 부피비로 혼합시킬 수 있으며, 일 예로, HEPES(hydroxyethyl piperazineethanesulfonic acid), NaHCO_3 (탄산수소나트륨)에 중화시킨 각각의 1% 콜라겐, 뉴로트로핀 3 및 라미닌 용액의 부피를 10: 3: 1의 비율로 혼합할 수 있다. 이는 후에 동물실험에서 축삭의 수 및 신경세포의 증가가 다른 조건에 비하여 가장 우수한 신경조직 재생능을 보여 이는 곧 본 조건이 손상된 말초신경의 재생증진에 유익한 영향을 미친다는 것을 알 수 있다.
- [0029] 특정양태로서, 상기 나노 섬유튜브 내에 신경재생용액을 삽입하기에 앞서서, 상기 나노 섬유튜브를 에탄올에 침지시켜 불용화시킨 후에 파이펫을 이용하여 상기 나노 섬유튜브내에 주입하여 채워줄 수 있다. 일 예로 70% 에탄올에 침지시킬 수 있다.
- [0030] 상기와 같이 제조된 생분해성 신경도관은 전기방사 수집부의 외부 직경의 크기와 동일한 크기의 내부 직경을 갖는 튜브 형태인 것을 특징으로 한다. 신경도관의 모양과 크기는 상기 전기방사 수집부의 모양과 크기에 따라 달라질 수 있으며, 바람직하게는 내부 직경이 2 내지 10mm의 신경도관을 얻을 수 있다. 일 예로, 내부 직경이 5mm, 길이가 15mm의 신경도관을 제작할 수 있다.

[0031] 이하, 본 발명의 이해를 돕기 위하여 실시예를 들어 상세하게 설명하기로 한다. 다만 하기의 실시예는 본 발명의 내용을 예시하는 것일 뿐 본 발명의 범위가 하기 실시예에 한정되는 것은 아니다. 본 발명의 실시예는 당업계에서 평균적인 지식을 가진 자에게 본 발명을 보다 완전하게 설명하기 위해 제공되는 것이다.

[0032] <실시예>

[0033] 실시예 1. 생분해성 신경도관의 제조

[0034] 1-1. 재료 및 장치

[0035] 본 발명의 실시예에서 사용한 전기방사 기구는 NanoNC에서 구입한 ESR-1000을 사용하였으며, 본 발명의 실시예에서 사용된 시약 및 물품의 구입처는 하기 표 1과 같다.

표 1

시약 및 물품	구입처
PLLA(poly-L-lactic Acid, evonik)	CMI BIO
PLGA(poly-lactic-co-glycolic acid, evonik)	
HFIP(Hexafluoroisopropanol, wako)	
HEPES(hydroxvethyl piperazineethanesulfonic acid, sigma)	
Laminin (sigma)	
Collagen (sigma)	
Neurotrophin 3 (peprotech)	
bobine serum albumin (sigma)	
Ethanol 99.9% (sigma)	
Sodium hydrogen carbonate (sigma)	
forcep	
50 ml tube, beaker 등 실험에 필요한 기초용품	

[0037] 1-2. 고분자 용액의 제조 및 나노 섬유튜브 제작

[0038] 전기방사를 위한 고분자 용액을 제조하였으며, 상기 전기방사를 위한 고분자 용액은 PLLA와 PLGA 의 중량을 7:3 의 비율로 혼합하여 사용하였다. 보다 구체적으로, 각각 HFIP 에 2 중량%가 되도록 용해시켰으며, HFIP에 용해시킨 각각의 PLLA용액과 PLGA용액을 혼합시켜 고분자 용액을 제조하였다.

[0039] 상기 고분자 용액을 주사기에 채우고 상기 주사기를 니들펌프에 장착하였으며, 전기방사장치를 이용하여 일정속도로 회전하는 콜렉터상에 고분자 용액을 토출시켜 전기방사하여 길이가 10cm이고, 직경이 3mm인 고분자 합성 나노 섬유튜브를 제조하였다.

[0040] 보다 구체적으로, 상기 콜렉터는 길이 10cm에 내경이 3mm이었으며, 고분자 용액이 토출될 때에는 도 1에 나타나는 바와 같이 트위스터 모양으로 만들며, 상기 콜렉터를 감싸주도록 하였다. 특히, 도 2에서는 고분자 용액이 나노미터 크기의 실 형태로 분사되어 도 3에서 나타나는 바와 같이 상기 콜렉터에 하얀 도관이 형성되는 것을 확인할 수 있었다.

[0041] 이때, 상기 전기방사장치는 ESR-1000을 이용하였으며, 상기 전기방사장치에 인가된 전압은 13 kV로 조절하였다. 이 후 상기 나노 섬유튜브는 정전기 방지를 위해서 양쪽끝을 테프론 테이프로 마감하였으며, 상기 나노 섬유튜브는 25℃로 유지되는 진공건조기에서 2일 동안 건조시켜 여분의 용매를 완전히 제거하였다.

[0042] 1-3. 신경도관의 제조

[0043] 본 발명에서는 도관에 콜라겐, 성장촉진인자, 세포접착 및 신경돌기의 신전 촉진 작용요소를 신경 도관의 내벽에 부착한다면 일반적인 도관에 비하여 더욱 많은 신경의 재생을 할 수 있을 것으로 예상하여, 생분해성 신경도

관을 제조하였다.

[0044] 이때, 성장촉진인자로 는 뉴로트로핀 3을 사용하였으며, 세포접착 및 신경돌기의 신전 촉진 작용 요소로는 라미닌을 사용하였다.

[0045] 먼저, HEPES(hydroxyethyl piperazineethanesulfonic acid), NaHCO_3 (탄산수소나트륨)과 1% 콜라겐을 1:1:100 비율로 혼합하여 중화시켰으며, 뉴로트로핀 3과 라미닌도 HEPES(hydroxyethyl piperazineethanesulfonic acid), NaHCO_3 (탄산수소나트륨)와 혼합하여 중화시켰다. 보다 구체적으로, HEPES(hydroxyethyl piperazineethanesulfonic acid), NaHCO_3 (탄산수소나트륨)과 뉴로트로핀 3을 1:1:100의 비율로 혼합하여 중화시켰으며, HEPES(hydroxyethyl piperazineethanesulfonic acid), NaHCO_3 (탄산수소나트륨)과 라미닌을 1:1:100의 부피비로 혼합하여 중화시켜서 3개의 용액을 준비하였다.

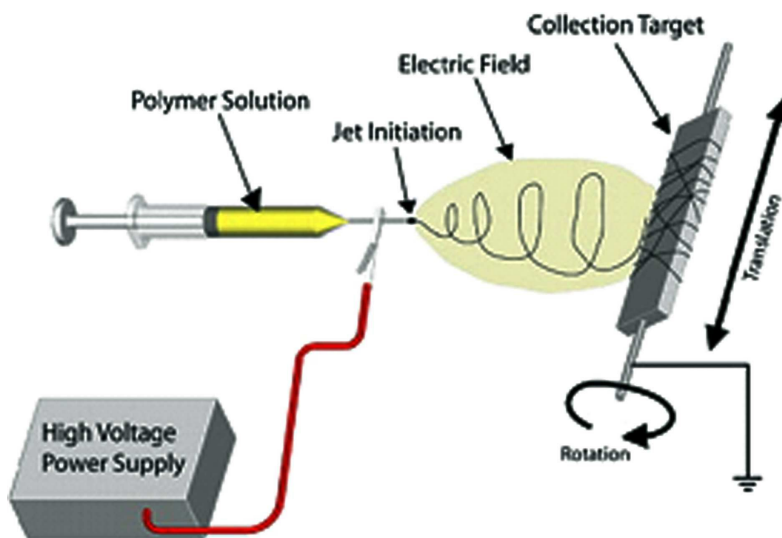
[0046] 다음으로, HEPES(hydroxyethyl piperazineethanesulfonic acid), NaHCO_3 (탄산수소나트륨)에 중화시킨 각각의 1% 콜라겐, 뉴로트로핀 3 및 라미닌 용액의 부피를 10: 3: 1의 비율로 혼합하였다. 상기 1% 콜라겐은 $1660\mu\text{g/L}$, 뉴로트로핀 3은 $500\mu\text{g/L}$, 라미닌은 $166\mu\text{g/L}$ 로 혼합하였으며, 상기 혼합용액을 제조하여 놓은 나노 섬유튜브에 채워주었다.

[0047] 보다 구체적으로, 상기 나노 섬유튜브를 도 4와 같이, 70% 에탄올에 적신 후 파이펫을 이용하여, 만들어 놓은 혼합용액을 기포가 생기지 않도록 주입하여 채워주었다. 이때, 70% 에탄올이라 함은 99.9%의 에탄올을 증류수로 희석하여 사용하였다.

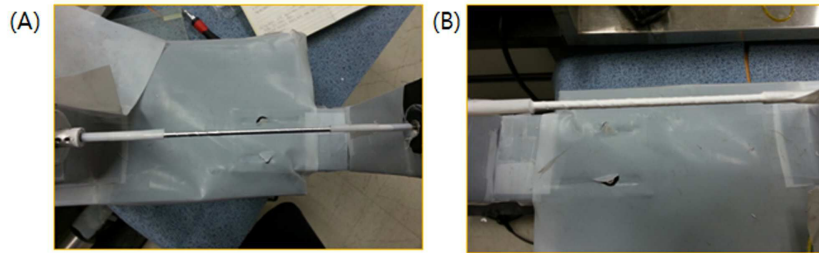
[0048] 그 후, 도 5와 같이, 혼합용액을 채운 나노 섬유튜브의 일측을 집게로 고정한 후 남은 한쪽은 포셉으로 잡고 바로 질소에 담가 얼려주었으며, 다시 꺼내어 녹기 전에 1.5cm의 길이로 잘라주고 동결 건조하여 생분해성 신경도관을 제조하였다.

도면

도면1



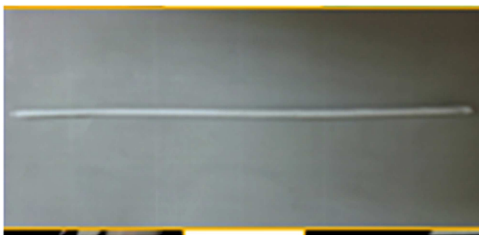
도면2



도면3



도면4



도면5

