



**(19) 대한민국특허청(KR)**  
**(12) 공개특허공보(A)**

(11) 공개번호 10-2023-0118861  
(43) 공개일자 2023년08월14일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
A61L 27/24 (2006.01) A61L 27/36 (2006.01)  
A61L 27/58 (2006.01)
- (52) CPC특허분류  
A61L 27/24 (2013.01)  
A61L 27/3608 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2023-7020298
- (22) 출원일자(국제) 2021년12월09일  
심사청구일자 없음
- (85) 번역문제출일자 2023년06월15일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2021/062524
- (87) 국제공개번호 WO 2022/125728  
국제공개일자 2022년06월16일
- (30) 우선권주장  
63/124,469 2020년12월11일 미국(US)

- (71) 출원인  
오스테오지닉스 바이오메디칼, 인크.  
미국 텍사스 79424, 러복, 71번가 빌딩 78, 4620
- (72) 발명자  
바티 배리  
미국, 텍사스 79424, 러복, 4620 71 스트리트  
카인 에반  
미국, 텍사스 79424, 러복, 4620 71 스트리트
- (74) 대리인  
특허법인한얼

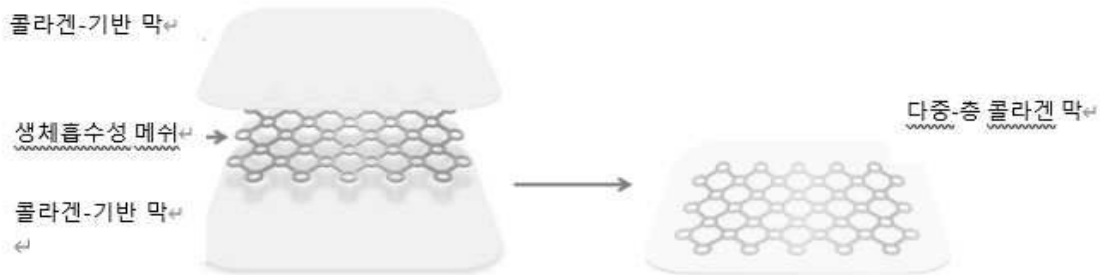
전체 청구항 수 : 총 31 항

(54) 발명의 명칭 **다중-층 콜라겐-기반 막**

**(57) 요약**

제1 탈세포화 천연 콜라겐-기반 막 및 제2 탈세포화 천연 콜라겐-기반 막 사이에 임베딩된 생체흡수성 메쉬를 포함하는 다중-층 콜라겐-기반 막이 제공된다. 생체흡수성 메쉬는 합성 중합체 또는 탈염 층상골(demineralized lamellar bone)로 형성될 수 있다. 임베딩된 생체흡수성 메쉬를 갖거나 갖지 않는 다중-층 콜라겐-기반 막을 제조하는 2 가지 방법이 또한 제공된다.

**대표도** - 도1



(52) CPC특허분류

**A61L 27/3683** (2013.01)

**A61L 27/58** (2013.01)

A61L 2400/16 (2013.01)

A61L 2430/40 (2013.01)

---

## 명세서

### 청구범위

#### 청구항 1

제1 탈세포화 천연 콜라겐-기반 막과 제2 탈세포화 천연 콜라겐-기반 막 사이에 임베딩된(embedded) 생체흡수성 메쉬(bioresorbable mesh)를 포함하는 다중-층 콜라겐-기반 막(multi-layer collagen-based membrane)으로서, 여기에서 제1 및 제2 탈세포화 천연 콜라겐-기반 막이 서로 가교결합되고 다중-층 콜라겐-기반 막은 90° 에서 5-250 N/m의 박리 강도(peel strength)를 갖는 다중-층 콜라겐-기반 막.

#### 청구항 2

제1항에 있어서,

생체흡수성 메쉬가 탈염 층상골(demineralized laminar bone)로 형성되는 다중-층 콜라겐-기반 막.

#### 청구항 3

제1항에 있어서,

생체흡수성 메쉬가 합성 중합체 메쉬이며, 여기에서 합성 중합체 메쉬는 다중-층 콜라겐-기반 막에 형상 기억을 제공하는 다중-층 콜라겐-기반 막.

#### 청구항 4

제3항에 있어서,

합성 중합체 메쉬가 폴리락티드(PLA), 폴리글리콜리드(PGA), 폴리카프로락톤(PCL), 트리메틸렌 카르보네이트 (PTMC), 폴리(락틱-코-글리콜산)(PLGA) 및 폴리(락티드-코-ε-카프로락톤)(PLCL), 또는 이의 혼합물로 구성된 그룹 중에서 선택된 중합체를 함유하는 단독-중합체(homo-polymer) 또는 공-중합체(co-polymer)로 형성되는 다중-층 콜라겐-기반 막.

#### 청구항 5

제4항에 있어서,

합성 중합체 메쉬가 25:75 내지 75:25의 락트산 대 글리콜산 단량체 비를 갖는 PLGA로 형성되는 다중-층 콜라겐-기반 막.

#### 청구항 6

제1항에 있어서,

제1 탈세포화 천연 콜라겐-함유 막이 섬유 측면(fibrous side) 및 장막 측면(serosal side)을 가지며, 제2 탈세포화 천연 콜라겐-함유 막도 섬유 측면 및 장막 측면을 가지는 다중-층 콜라겐-기반 막.

#### 청구항 7

제6항에 있어서,

제1 탈세포화 천연 콜라겐-함유 막의 섬유 측면이 제2 탈세포화 천연 콜라겐-함유 막의 섬유 측면과 접촉하고 이에 가교결합되는 다중-층 콜라겐-기반 막.

#### 청구항 8

제6항에 있어서,

제1 탈세포화 천연 콜라겐-함유 막의 섬유 측면이 제2 탈세포화 천연 콜라겐-함유 막의 장막 측면과 접촉하고 이에 가교결합되는 다중-층 콜라겐-기반 막.

**청구항 9**

제6항에 있어서,

제1 탈세포화 천연 콜라겐-함유 막의 장막 측면이 제2 탈세포화 천연 콜라겐-함유 막의 장막 측면과 접촉하고 이에 가교결합되는 다중-층 콜라겐-기반 막.

**청구항 10**

제1 탈세포화 천연 콜라겐-함유 막을 얻는 단계;

제2 탈세포화 천연 콜라겐-함유 막을 얻는 단계;

제2 탈세포화 천연 콜라겐-함유 막을 제1 탈세포화 천연 콜라겐-함유 막 위에 위치시킴으로써 막 어셈블리(assembly)를 형성하는 단계;

막 어셈블리에 걸쳐 균일하게 분포된 웨이트(weight) 하에 막 어셈블리를 건조시키는 단계로서, 여기서 웨이트는 수분이 빠져나가도록 허용하는 개구(opening)를 포함하는 단계; 및

막 어셈블리의 층들 사이에 가교결합이 형성되도록 막 어셈블리를 가교결합제에 노출시킴으로써 다중-층 콜라겐-기반 막을 형성하는 단계를 포함하며,

여기에서 다중-층 콜라겐-기반 막의 각 층들은 생체내 이식되는 경우 본질적으로 동일한 속도로 재흡수되며 공정 중에 접착제는 이용되지 않는, 다중-층 콜라겐-기반 막의 제조 방법.

**청구항 11**

제10항에 있어서,

가교결합제가 화학적 가교결합제 또는 자외선(UV) 방사(radiation)인 방법.

**청구항 12**

제11항에 있어서,

가교결합제가 UV 방사이고, 방법이 UV 방사에 의해 생성된 휘기제 화합물(odorant compound)을 제거하는 단계 및 다중-층 콜라겐-기반 막을 건조시키는 단계를 추가로 포함하는 방법.

**청구항 13**

제12항에 있어서,

노출 단계가 1,200 내지 216,000 mJ/m<sup>2</sup>의 에너지 수준의 UV 방사를 사용하여 건조된 막 어셈블리의 상단 측면 및 하단 측면을 조사(irradiating)함으로써 달성되는 방법.

**청구항 14**

제13항에 있어서,

건조된 막 메쉬 어셈블리의 상단 측면 및 하단 측면이 1 내지 210 분 동안 조사되는 방법.

**청구항 15**

제13항에 있어서,

UV 방사가 14,000 내지 20,000 mJ/m<sup>2</sup>의 에너지 수준을 갖는 방법.

**청구항 16**

제15항에 있어서,

건조된 막 메쉬 어셈블리의 상단 측면 및 하단 측면이 5 내지 20 분 동안 조사되는 방법.

**청구항 17**

제10항에 있어서,

제1 탈세포화 천연 콜라겐-함유 막이 제1 천연 심낭(pericardium) 막에서 유래되며 섬유 측면 및 장막 측면을 갖는 방법.

**청구항 18**

제17항에 있어서,

제2 탈세포화 천연 콜라겐-함유 막이 제2 천연 심낭 막에서 유래되며 섬유 측면 및 장막 측면을 갖는 방법.

**청구항 19**

제18항에 있어서,

제1 탈세포화 천연 콜라겐-함유 막의 섬유 측면이 제2 탈세포화 천연 콜라겐-함유 막의 섬유 측면과 접촉하여 위치하는 방법.

**청구항 20**

제18항에 있어서,

제1 탈세포화 천연 콜라겐-함유 막의 장막 측면이 제2 탈세포화 천연 콜라겐-함유 막의 섬유 측면과 접촉하여 위치하는 방법.

**청구항 21**

제18항에 있어서,

제1 탈세포화 천연 콜라겐-함유 막의 장막 측면이 제2 탈세포화 천연 콜라겐-함유 막의 장막 측면과 접촉하여 위치하는 방법.

**청구항 22**

제17항에 있어서,

제1 천연 심낭 막이 돼지(porcine)인 방법.

**청구항 23**

제10항에 있어서,

생체흡수성 메쉬가 제1 탈세포화 천연 콜라겐-함유 막과 제2 탈세포화 천연 콜라겐-함유 막 사이에 개재되도록 생체흡수성 메쉬를 제1 탈세포화 천연 콜라겐-함유 막 위에 위치시킨 후 제2 탈세포화 천연 콜라겐-함유 막을 제1 탈세포화 천연 콜라겐-함유 막 위에 위치시키는 단계를 추가로 포함하는 방법.

**청구항 24**

제23항에 있어서,

생체흡수성 메쉬가 폴리락티드(PLA), 폴리글리콜리드(PGA), 폴리카프로락톤(PCL), 트리메틸렌 카르보네이트(PTMC), 폴리(락틱-코-글리콜산)(PLGA) 및 폴리(락티드-코-ε-카프로락톤)(PLCL), 또는 이의 혼합물로 구성된 그룹 중에서 선택된 중합체를 함유하는 단독-중합체 또는 공-중합체로 형성된 합성 중합체 메쉬이며 합성 중합체 메쉬가 다중-층 콜라겐-기반 막에 형상 기억(shape memory)을 제공하는 방법.

**청구항 25**

제24항에 있어서,

합성 중합체 메쉬가 25:75 내지 75:25의 락트산 대 글리콜산 단량체 비를 갖는 PLGA로 형성되는 방법.

**청구항 26**

제25항에 있어서,  
단량체 비가 50:50인 방법.

**청구항 27**

제23항에 있어서,  
생체흡수성 메쉬가 탈염 층상골(demineralized laminar bone)로 형성되는 방법.

**청구항 28**

제1 건조된 탈세포화 천연 콜라겐-함유 막을 얻는 단계;  
생체흡수성 합성 중합체 메쉬를 얻으며, 메쉬는 형상 기억을 갖는 단계;  
생체흡수성 합성 중합체 메쉬를 제1 건조된 탈세포화 천연 콜라겐-함유 막 위에 위치시키는 단계;  
제1 건조된 탈세포화 천연 콜라겐-함유 막을 수화시켜 제1 수화된 막을 형성하는 단계;  
제2 건조된 탈세포화 천연 콜라겐-함유 막을 얻는 단계;  
제2 건조된 탈세포화 천연 콜라겐-함유 막이 제1 수화된 막으로부터 수분을 끌어당겨 수화되도록 제2 건조된 탈세포화 천연 콜라겐-함유 막을 생체흡수성 합성 중합체 메쉬 위에 위치시킴으로써 막 메쉬 어셈블리를 형성하는 단계;  
막 메쉬 어셈블리에 걸쳐 균일하게 분포된 웨이트 하에 막 메쉬 어셈블리를 건조시키며, 웨이트는 수분이 빠져나가도록 허용하는 개구를 포함하는 단계; 및  
막 메쉬 어셈블리의 층들 사이에 가교결합이 형성되도록 건조된 막 메쉬 어셈블리를 가교결합체에 노출시킴으로써 다중-층 콜라겐-기반 막을 형성하는 단계를 포함하며,  
여기에서 다중-층 콜라겐-기반 막의 각 층들은 본질적으로 동일한 속도로 재흡수되고, 생체흡수성 합성 중합체 메쉬는 다중-층 콜라겐-기반 막에 형상 기억을 제공하며, 공정 중에 접착제는 이용되지 않는 방법.

**청구항 29**

제28항에 있어서,  
가교결합체가 화학적 가교결합제 또는 UV 방사선 방법.

**청구항 30**

제28항에 있어서,  
수화 단계가 콜라겐 겔을 제1 건조된 탈세포화 천연 콜라겐-함유 막에 적용함으로써 실행되는 방법.

**청구항 31**

제29항에 있어서,  
콜라겐 겔이 2 mg/mL 내지 10 mg/mL의 농도를 갖는 방법.

**발명의 설명**

**기술 분야**

본 발명은 다중-층 콜라겐-기반 막(multi-layer collagen-based membrane)에 관한 것이다.

**배경 기술**

콜라겐은 수술 분야의 생체재료로서 광범위하게 사용되며, 조직 재생의 특정 분과에서의 이의 용도에 대한 오랜 역사가 있다. 예를 들어, 미국 특허 제5206028호 및 제5837278호는 각각 조직 재생용 단일 층 콜라겐 디바이스를 기술하고 있다. 콜라겐 디바이스는 재구성 콜라겐으로부터 조작되고 이로 형성될 수 있다. 대안적으로, 이들

[0001]

[0002]

은 천연 유래될 수 있다. 즉, 채취된 조직으로부터 이들의 천연 상태로 제조되고 조직의 물리적 치수에서의 현저한 변화없이 생체재료로서 사용하기 위하여 처리될 수 있다. 천연 조직에서 유래된 콜라겐 디바이스의 하나의 단점은 최종 디바이스의 두께 및 전체 크기가 표적 조직에 의해 지시된다는 점이다. 따라서, 두께 및 크기를 변형하기 위한 전략이 개발되었다(미국 특허 제5955110호 및 제5885619호 참조).

[0003] 보강(reinforcement)은 콜라겐 디바이스의 물리기계적 특성을 변형하기 위한 다른 전략이다. 콜라겐을 제2 생체 재료와 조합함으로써, 디바이스의 강도 또는 취급 특성을 변형시키는 한편 콜라겐의 생물학적 이득을 유지할 수 있다. 예를 들어, 미국 특허 출원 공개 제2014/0067058호는 스택킹(stackings), 압축, 및 건조에 의한 콜라겐 및 제2 생체적합성 메쉬의 레이어링(layering)을 기재한다.

[0004] 임상적 조직 재생 절차, 특히 치유 단계 중에 호스트 조직의 실질적 이동이 있는 악골안면 영역에서, 단정 가능한 치유를 위해서는 안정성이 요구된다. 임의의 적층 디바이스의 탈층은 전형적으로 상처 내부에 데드 스페이스(dead space)를 생성하며 이는 감염 및 절차의 실패에 기여할 수 있다. 탈층은 또한 보강 구성요추면의 안정성의 상실을 유발하여 조직 천공 및 피해를 초래할 수 있는 규정준수 문제를 유발할 수 있다. 따라서, 적층의 안정성 및 지속성은 적층 디바이스에 있어서 가장 중요하다.

[0005] 광범위한 경조직 및 연조직 재생 절차에서 천연 유래 콜라겐 막을 사용하는 것에는 이점이 있다. 그러나, 기원 조직의 내재적 한계, 즉, 두께, 취급 특성 및 전체 크기는 임상적 용도를 위한 이상적 형태를 달성하기 위한 변형을 필요로 할 수 있다. 여러 개의 콜라겐 시트를 함께 연결하거나, 이들의 전체 두께를 변형하거나, 이들을 시트 사이의 중간 구성요추면과 적층화하는 능력을 갖는 것은 유리할 것이다. 또한, 적층 강도는 임상적 성공을 달성하기에 적절한 시간 동안 생물학적 유체에 의해 젖어드는 경우 탈층을 견디기에 적절하여야 한다.

### 발명의 내용

#### 해결하려는 과제

[0006] 상기 언급된 결점들을 갖지 않는, 다중 층을 갖는 콜라겐-기반 막에 대한 필요가 존재한다.

#### 과제의 해결 수단

[0007] 이러한 필요를 충족시키기 위하여, 제1 탈세포화 천연 콜라겐-기반 막과 제2 탈세포화 천연 콜라겐-기반 막 사이에 임베딩된(embedded) 생체흡수성 메쉬를 포함하는 다중-층 콜라겐-기반 막이 제공된다. 제1 및 제2 탈세포화 천연 콜라겐-기반 막은 서로 가교결합되고 다중-층 콜라겐-기반 막은 90° 에서 5-250 N/m의 박리 강도(peel strength)를 가진다.

[0008] 또한, 다중-층 콜라겐-기반 막을 제조하는 방법이 제공된다. 방법은 제1 및 제2 탈세포화 천연 콜라겐-함유 막을 얻는 단계, 제2 탈세포화 천연 콜라겐-함유 막을 제1 탈세포화 천연 콜라겐-함유 막 위에 위치시켜 막 어셈블리(assembly)를 형성하는 단계, 막 어셈블리에 걸쳐 균일하게 분포된 웨이트(weight) 하에 막 어셈블리를 건조시키며, 웨이트는 수분이 빠져나가도록 허용하는 개구(opening)를 포함하는 단계, 및 막 어셈블리의 층들 사이에 가교결합이 형성되도록 막 어셈블리를 가교결합체에 노출시키는 단계에 의해 실행된다. 다중-층 콜라겐-기반 막의 각 층들은 생체내 이식되는 경우 본질적으로 동일한 속도로 재흡수되며 공정 중에 접착제는 이용되지 않는다.

[0009] 다중-층 콜라겐-기반 막을 제조하는 제2 방법이 또한 개시된다. 본 방법은 제1 및 제2 건조된 탈세포화 천연 콜라겐-함유 막을 얻는 단계, 생체흡수성 합성 중합체 메쉬를 얻는 단계, 생체흡수성 합성 중합체 메쉬를 제1 건조된 탈세포화 천연 콜라겐-함유 막 위에 위치시키는 단계, 제1 건조된 탈세포화 천연 콜라겐-함유 막을 수화시켜 제1 수화된 막을 형성하는 단계, 제2 건조된 탈세포화 천연 콜라겐-함유 막이 제1 수화된 막으로부터 수분을 끌어당겨 수화되도록 제2 건조된 탈세포화 천연 콜라겐-함유 막을 생체흡수성 합성 중합체 메쉬 위에 위치시키는 단계, 막 메쉬 어셈블리에 걸쳐 균일하게 분포된 웨이트 하에 막 메쉬 어셈블리를 건조시키는 단계, 및 막 메쉬 어셈블리의 층들 사이에 가교결합이 형성되도록 건조된 막 메쉬 어셈블리를 가교결합체에 노출시키는 단계를 포함한다. 제1 방법과 마찬가지로, 본 제2 방법은 다중-층 콜라겐-기반 막을 형성하며 여기에서 각 층들은 생체내에서 본질적으로 동일한 속도로 재흡수되고, 생체흡수성 합성 중합체 메쉬는 다중-층 콜라겐-기반 막에 형상 기억을 제공하며, 공정 중에 접착제는 이용되지 않는다.

[0010] 하나 이상의 실시 형태의 상세 사항들은 하기 발명의 상세한 설명 및 실시예에서 설명된다. 다른 특징, 대상, 및 이점은 발명의 상세한 설명, 도면, 및 첨부된 특허청구범위로부터 명백해질 것이다.

**도면의 간단한 설명**

- [0011] 하기 발명의 상세한 설명은 첨부된 도면을 참조한다:  
 도 1은 본 발명의 다중-층 콜라겐-기반 막의 다이어그램이고;  
 도 2는 다중-층 콜라겐-기반 막을 제조하는 공정의 순서도이며;  
 도 3은 본 발명의 다중-층 콜라겐-기반 막에 대한 예시적인 제조 방법과 임상적 용도를 보여준다. 1, 3 = 콜라겐-기반 막; 2 = 생체흡수성 메쉬; 4 = 다중-층 콜라겐 막 어셈블리; 5 = 자외선 가교결합 장치; 6 = 완성된 다중-층 콜라겐-기반 막; 7 = 전완 상처를 덮는데 사용된, 완성된 다중-층 콜라겐-기반 막

**발명을 실시하기 위한 구체적인 내용**

- [0012] 상기 요약한 바와 같이, 본 발명의 다중-층 콜라겐-기반 막은 제1 탈세포화 천연 콜라겐-기반 막과 제2 탈세포화 천연 콜라겐-기반 막 사이에 임베딩된 생체흡수성 메쉬를 포함한다. 예시적인 다중-층 콜라겐-기반 막에서, 생체흡수성 메쉬는 다중-층 콜라겐-기반 막의 가장자리까지 연장되지 않고 생체흡수성 메쉬가 없는 가장자리 주변 경계를 남긴다.
- [0013] 생체흡수성 메쉬는 탈염 층상골(demineralized lamina bone)로 형성될 수 있다. 층상골은 포유류, 예를 들어, 인간, 측면, 양, 말, 및 돼지로부터 유래될 수 있다. 탈염 층상골은, 예를 들어, 다이-커팅(die-cutting) 또는 레이저 커팅(laser cutting)에 의해 형성된 메쉬의 형태이다.
- [0014] 대안적인 다중-층 콜라겐-기반 막에서, 생체흡수성 메쉬는 다중-층 콜라겐-기반 막에 형상 기억을 부여하는 합성 중합체 메쉬이다. 합성 중합체 메쉬는 폴리락티드("PLA"), 폴리글리콜리드("PGA"), 폴리카프로락톤("PCL"), 및 트리메틸렌 카르보네이트("PTMC")를 포함하지만 이로 제한되지 않는 단일중합체로 형성될 수 있다. 대안적으로, 합성 중합체 메쉬는 상기 언급된 중합체에 포함되는 단량체의 공-중합체, 예를 들어, 폴리(락틱-코-글리콜산)("PLGA") 및 폴리(락티드-코-ε-카프로락톤)("PLCL")으로 형성될 수 있다. 측면정의 실시 형태에서, 단독-중합체(mono-polymer) 또는 공-중합체(co-polymer)에 특정 거울상이성체가 사용될 수 있다. 예를 들어, 중합체, 예컨대 폴리(L-락티드)("PLLA"), 폴리(D-락티드)("PDLA"), 또는 폴리(DL-락티드)("PDLLA")가 합성 중합체 메쉬에 사용될 수 있다.
- [0015] 합성 중합체 메쉬는, 예를 들어, 레이저 커팅, 다이 커팅, 압축 성형, 3D 인쇄, 및 압출에 의해 제조될 수 있다.
- [0016] 예시적인 다중-층 콜라겐-기반 막은 25:75 내지 75:25의 락트산 대 글리콜산 단량체 비를 갖는 PLGA로 형성된 합성 중합체 메쉬를 가진다. 특정 다중-층 콜라겐-기반 막에서, 락트산 대 글리콜산 단량체 비는 50:50이다. 다른 실시예에서, 다중-층 콜라겐-기반 막은 70:30 비의 락트산 단량체 대 카프로락톤 단량체의 PLCL로 형성된 합성 중합체 메쉬를 가진다.
- [0017] 측면정의 다중-층 콜라겐-기반 막에서, 합성 중합체 메쉬는 또한 칼슘 미네랄을 함유한다. 칼슘 미네랄은 천연 골 미네랄에서 유래된 칼슘 포스페이트, β-트리칼슘 포스페이트, 칼슘 설페이트, 하이드록시아파타이트, 및 칼슘 아파타이트일 수 있으나 이로 제한되지 않는다. 칼슘 미네랄은 불측면(예: 플루오르아파타이트) 및 마그네슘과 같은 첨가제를 함유할 수 있다.
- [0018] 다른 다중-층 콜라겐-기반 막에서, 합성 중합체 메쉬는 재조합 성장 인자, 예를 들어, rhPDGF-BB, rhBMP-2, 및 FGF를 함유한다. 대안적으로 또는 함께, 항생제 및 항-염증제와 같은 의약품이 합성 중합체 메쉬에 포함될 수 있다.
- [0019] 전술한 바와 같이, 다중-층 콜라겐-기반 막은 제1 탈세포화 천연 콜라겐-기반 막 및 제2 탈세포화 천연 콜라겐-기반 막을 포함한다. 제1 탈세포화 천연 콜라겐-함유 막, 제2 탈세포화 천연 콜라겐-함유 막, 또는 양자 모두는 천연 심낭막에서 유래되며 섬유 측면(fibrous side) 및 장막 측면(serosal side)을 가진다. 바람직하게, 탈세포화 천연 콜라겐-함유 막은 포유류, 예를 들어, 인간, 소(bovine), 양(ovine), 말(equine), 및 돼지(porcine)의 벽쪽심낭에서 유래된다. 더욱 바람직하게, 탈세포화 천연 콜라겐-함유 막은 돼지의 벽쪽심낭에서 유래된다.
- [0020] 본 발명의 다중-층 콜라겐-기반 막에서, 제1 탈세포화 천연 콜라겐-함유 막의 섬유 측면은 (i) 제2 탈세포화 천연 콜라겐-함유 막의 섬유 측면 또는 (ii) 제2 탈세포화 천연 콜라겐-함유 막의 장막 측면과 접촉하고 이에 가교결합될 수 있다.

- [0021] 대안적인 다중-층 콜라겐-기반 막에서, 제1 탈세포화 천연 콜라겐-함유 막의 장막 측면은 (i) 제2 탈세포화 천연 콜라겐-함유 막의 섬유 측면 또는 (ii) 제2 탈세포화 천연 콜라겐-함유 막의 장막 측면과 접촉하고 이에 가교결합될 수 있다.
- [0022] 본 발명의 다중-층 콜라겐-기반 막은 90° 에서 5-250 N/m, 예를 들어, 5-250, 10-250, 20-250, 30-250, 40-250, 및 50-250 N/m의 건조 박리 강도(dry peel strength)를 가질 수 있다. 박리 강도는 전체 다중-층 콜라겐-기반 막에 걸쳐 균일하지 않다. 전술한 바와 같이, 측면정의 실시예에서, 생체흡수성 메쉬는 다중-층 콜라겐-기반 막의 가장자리까지 연장되지 않는다. 생체흡수성 메쉬가 없는 이들 가장자리는 가장 강력한 건조 박리 강도, 즉, 50-250 N/m를 갖는 한편, 생체흡수성 메쉬를 포함하는 다중-층 콜라겐-기반 막의 영역은 메쉬의 기하학적 구조, 예를 들어, 메쉬 크기에 따라 가변적인 박리 강도, 예를 들어, 5-250 N/m를 가진다.
- [0023] 또한 상기에는 다중-층 콜라겐-기반 막을 제조하기 위한 2 가지 방법이 요약되어 있다.
- [0024] 제1 방법은 (i) 제1 및 제2 탈세포화 천연 콜라겐-함유 막을 얻는 단계, (ii) 제2 탈세포화 천연 콜라겐-함유 막을 제1 탈세포화 천연 콜라겐-함유 막 위에 위치시켜 막 어셈블리를 형성하는 단계, (iii) 막 어셈블리에 걸쳐 균일하게 분포된 웨이트 하에 막 어셈블리를 건조시키는 단계, 및 (iv) 막 어셈블리의 층들 사이에 가교결합이 형성되도록 막 어셈블리를 가교결합제에 노출시키는 단계에 의해 실행된다.
- [0025] 제1 및 제2 탈세포화 천연 콜라겐-함유 막은 천연 심낭막에서 유래되며 섬유 측면 및 장막 측면을 가진다. 바람직하게, 탈세포화 천연 콜라겐-함유 막은 포유류, 예를 들어, 인간, 소, 양, 말, 및 돼지의 벽쪽심낭에서 유래된다. 더욱 바람직하게, 탈세포화 천연 콜라겐-함유 막은 돼지의 벽쪽심낭에서 유래된다.
- [0026] 예시적인 방법에서, 제1 탈세포화 천연 콜라겐-함유 막의 섬유 측면은 제2 탈세포화 천연 콜라겐-함유 막의 섬유 측면과 접촉하여 위치시켜 막 어셈블리를 형성한다. 대안적으로, 제1 탈세포화 천연 콜라겐-함유 막의 장막 측면은 제2 탈세포화 천연 콜라겐-함유 막의 섬유 측면과 접촉하여 위치시켜 막 어셈블리를 형성한다. 다른 실시예에서, 제1 탈세포화 천연 콜라겐-함유 막의 장막 측면은 제2 탈세포화 천연 콜라겐-함유 막의 장막 측면과 접촉하여 위치시켜 막 어셈블리를 형성한다.
- [0027] 특정 방법에서, 콜라겐 겔은 이들을 서로 접촉하여 위치시키기 전에 2 개 탈세포화 천연 콜라겐-함유 막의 하나 또는 양자 모두에 적용된다. 본 방법에서, 탈세포화 천연 콜라겐-함유 막을 먼저 간단히 건조시켜 콜라겐 겔의 적용 전에 과잉 수분을 제거한다.
- [0028] 콜라겐 겔은 조직을 탈세포화한 다음 콜라겐을 가수분해하고 미분화함으로써 인간, 소, 양, 말, 및 돼지 심낭으로부터 제조할 수 있다. 겔 중 콜라겐의 농도는 2.5 mg/mL 내지 10.0 mg/mL일 수 있다. 바람직하게, 농도는 10 mg/mL이다.
- [0029] 이론에 의해 구애되지 않고, 콜라겐 겔은 막 층들 사이의 콜라겐 표면적 접촉을 증가시킴에 의해 탈세포화 천연 콜라겐-함유 막의 어셈블리 및 적층화를 돕는 것으로 믿어진다.
- [0030] 건조 단계 후에, 막 어셈블리에 노출 단계를 적용하며, 이때 이는 막 어셈블리의 층들 사이에 가교결합이 형성되도록 가교결합제에 노출된다. 가교결합제는, 예를 들어, 화학적 가교결합제, 자외선("UV") 방사(radiation), 가교결합 효소, 및 플라스틱 압축일 수 있다.
- [0031] 사용될 수 있는 화학적 가교결합제는 글루타르알데히드 또는 글루타르알데히드 증기, 포름알데히드 또는 포름알데히드 증기, 환원당, 예컨대 리보스 및 글루코스, 제니핀, 카르보다이미드, 예를 들어, N-(3-디메틸 아미노프로필)-N'-에틸카르보다이미드 및 N-하이드록시석신이미드, 디알데히드 전분, UVA 방사를 동반하는 리보플라빈, 이미도에스테르, 예를 들어, 디메틸 수베리미데이트, 디메틸 아디피미데이트, 디메틸 프리멜리미데이트, 및 디메틸 디티오비스프로피온이미데이트, 아실 아지드, 및 4-아름(arm) 폴리에틸렌 글리콜 석신이미드 글루타레이트를 포함하지만 이로 제한되지 않는다.
- [0032] 가교결합은 또한 효소적으로, 예를 들어, 트랜스글루타미나제 또는 리실 옥시다제를 사용하여 실행될 수 있다.
- [0033] 마지막으로, 가교결합은 플라스틱 압축과 함께 실행될 수 있으며 여기에서 콜라겐 섬유는 가교결합제에 노출되기 전에 단일 방향의 섬유에 물리적 힘을 적용하여 정렬된다.
- [0034] UV 방사가 가교결합체로서 사용되는 경우, 1 내지 210 min 동안 1,200 내지 216,000 mJ/m<sup>2</sup>의 총 에너지 수준의 UV 방사로 건조된 막 어셈블리의 상단 측면 및 하단 측면을 조사(irradiating)함으로써 노출 단계가 달성된다. 예시적인 방법에서, UV 방사는 12,000 내지 48,000 mJ/m<sup>2</sup>의 에너지 수준 및 10 내지 40 분의 노출 시간을 가진다.

- [0035] UV 방사가 가교결합체인 본 발명의 소정의 방법에서, 노출 단계에 화학적 가교결합체는 이용되지 않는다.
- [0036] 특정 실시예에서, 노출 단계 후, UV 방사에 의해 생성된 휘기제 화합물(odorant compound)을 제거하는 단계가 포함된다. 제거될 수 있는 휘기제 화합물은 지방산, 아미노산, 및 펩티드의 휘발성 분해 및 산화 부산물들이다. 이들 화합물은 2-메틸 부탄알, 3-메틸 부탄알, 1-헵텐, 1-옥텐, 1-노넨, 황화수소, 이산화황, 메르캅토메탄, 디메틸 설펜이드, 메틸 티오아세테이트, 디메틸 디설피드, 및 디메틸 트리설피드일 수 있으나 이로 제한되지 않는다.
- [0037] 제거 단계는, 예를 들어, 막 어셈블리를 H<sub>2</sub>O로 행구고/행구거나 막 어셈블리를 H<sub>2</sub>O 배스에서 1회 이상, 예를 들어, 1회, 2회, 3회, 및 4회 진탕함에 의해 달성될 수 있다. H<sub>2</sub>O로 행구기 전에, 막 어셈블리를 완충액, 예를 들어, 포스페이트 완충 식염수("PBS")로 행굴 수 있다.
- [0038] 방법은 또한 최종 건조 단계를 포함할 수 있다. 건조는 공기 건조에 의해 또는 진공 하 건조에 의해 달성될 수 있다. 건조는 5 °C 내지 45 °C, 바람직하게 실온에서 60 min 내지 300 min 동안 이루어질 수 있다. 진공 하에 건조시키는 경우, 진공은 50 mTorr 내지 500 mTorr이어야 한다.
- [0039] 소정의 실시 형태에서, 방법은 또한 제2 탈세포화 천연 콜라겐-함유 막을 제1 탈세포화 천연 콜라겐-함유 막 위에 위치시키기 전에 생체흡수성 메쉬를 제1 탈세포화 천연 콜라겐-함유 막 위에 위치시키는 단계를 포함한다.
- [0040] 생체흡수성 메쉬는 상기 구체적으로 기재되어 있다. 이는, 예를 들어, PLA, PGA, PCL, PTMC, PLLA, PDLA, PDLA, PLGA, PLCL 또는 앞에 설명한 단량체 비를 갖는 이들 중합체의 혼합물로 형성된 합성 중합체 메쉬일 수 있다.
- [0041] 칼슘-미네랄(calcium-mineral), 예를 들어, 인산칼슘, 황산칼슘, 및 하이드록시아파타이트를 중합체에 첨가하는 부가적인 단계가 방법의 일부일 수 있다. 칼슘-미네랄은, 예를 들어, 중합체를 칼슘-미네랄 용액 중에 침지시킴에 의해 첨가될 수 있다.
- [0042] 대안적으로, 생체흡수성 메쉬는 상기 기재된 바와 같은 탈염 층상골로 형성될 수 있다.
- [0043] 다중-층 콜라겐-기반 막을 제조하는 제2 방법이 또한 상기 요약되어 있다. 이 공정은 (i) 제1 건조된 탈세포화 천연 콜라겐-함유 막을 얻는 단계, (ii) 생체흡수성 합성 중합체 메쉬를 얻는 단계, (iii) 생체흡수성 합성 중합체 메쉬를 제1 건조된 탈세포화 천연 콜라겐-함유 막 위에 위치시키는 단계, (iv) 제1 건조된 탈세포화 천연 콜라겐-함유 막을 수화시켜 제1 수화된 막을 형성하는 단계, (v) 제2 건조된 탈세포화 천연 콜라겐-함유 막을 얻는 단계, (vi) 제2 건조된 탈세포화 천연 콜라겐-함유 막이 제1 수화된 막으로부터 수분을 끌어당겨 수화되도록 제2 건조된 탈세포화 천연 콜라겐-함유 막을 생체흡수성 합성 중합체 메쉬 위에 위치시키는 단계, (vii) 막 메쉬 어셈블리에 걸쳐 균일하게 분포된 웨이트 하에 막 메쉬 어셈블리를 건조시키는 단계, 및 (viii) 막 메쉬 어셈블리의 층들 사이에 가교결합이 형성되도록 건조된 막 메쉬 어셈블리를 가교결합체에 노출시키는 단계에 의해 실행된다. 제1 방법과 마찬가지로, 본 제2 방법은 다중-층 콜라겐-기반 막을 형성하며 여기에서 각 층들은 생체내에서 본질적으로 동일한 속도로 재흡수되고, 생체흡수성 합성 중합체 메쉬는 다중-층 콜라겐-기반 막에 형상 기억을 제공하며, 공정 중에 접착제는 이용되지 않는다.
- [0044] 제1 및 제2 탈세포화 천연 콜라겐-함유 막은 제1 방법에 대해 상기 기재한 바와 같고, 합성 생체흡수성 중합체 메쉬도 이와 같다. 또한 제1 방법과 마찬가지로, 제2 방법은 노출 단계를 이용할 수 있으며, 여기에서 건조된 막 메쉬 어셈블리는 상기 제시된 강도 및 시간으로 UV 방사에 노출된다. 제2 방법에 의해 형성된 막 메쉬 어셈블리를 또한 제1 방법에 포함되는 제거 및 건조 단계에 적용할 수 있다. UV 방사가 가교결합체인 제2 방법의 특정 실시예에서, 화학적 가교결합체는 노출 단계에 이용되지 않는다.
- [0045] 제1 건조된 탈세포화 천연 콜라겐-함유 막 위에 H<sub>2</sub>O를 적용함에 의해 수화 단계가 실행될 수 있다.
- [0046] 대안으로서, 상기 기재된 콜라겐 겔을 제1 건조된 탈세포화 천연 콜라겐-함유 막에 적용함으로써 수화가 달성될 수 있다. 다시금, 인간, 소, 양, 말, 및 돼지의 심낭으로부터 제조된 콜라겐 겔은 2.5 mg/mL 내지 10.0 mg/mL의 콜라겐 농도를 가질 수 있다.
- [0047] 본 발명은 다중-층 콜라겐-기반 막을 제조하기 위한 상기 2 가지 방법의 변형을 포괄하며, 여기에서 가교결합은 화학적 가교결합체, UV 방사, 또는 가교결합 효소에 부가된 또는 이외의 다른 수단에 의해 달성된다. 예를 들어, 제1 및 제2 방법의 건조 단계는 막 메쉬 어셈블리 내의 콜라겐-함유 막들 사이에 탈수열처리(dehydrothermal) 가교결합이 일어나도록 실행될 수 있다. 소정의 방법에서, 탈수열처리 가교결합은 UV 방사에

대한 노출 부재하에 이용된다.

- [0048] 추가의 정교화 없이, 당업자는 본원 개시내용에 기초하여, 본 발명을 최대한으로 이용할 수 있으리라 믿는다. 따라서, 하기 구체적인 실시예는 단지 설명하는 것일 뿐, 그것이 무엇이든 어떤 방식으로든 발명의 나머지 부분을 제한하는 것으로 해석되지 않는다. 본원에 인용된 모든 간행물 및 특허 문서는 그 전체 내용이 원용에 의해 본원에 포함된다.
- [0049] 실시예
- [0050] 실시예 1: 다중-층 콜라겐-기반 막의 제조 공정
- [0051] 층 어셈블리
- [0052] 공-중합체 PLGA(50:50 또는 70:30의 락트산 대 글리콜산의 단량체 비)로 형성된 0.22 mm(0.0085 in.) 두께를 가진 재흡수성 중합체 메쉬를 하나의 동결건조된 돼지 심낭막 위에 놓았다. 막이 막아질 때까지 충분한 양의 역-삼투 탈이온 H<sub>2</sub>O를 막에 적용하였다. 제2 막이 제1 막으로부터 H<sub>2</sub>O를 끌어당겨 수화되도록, 제1 수화된 돼지 심낭막의 섬유 측면 상단 위에 제2 동결건조된 돼지 심낭막을 이의 섬유 측면으로 위치시켰다. 충분히 수화되지 않은 임의의 남아 있는 백색 영역에 추가의 H<sub>2</sub>O를 첨가하였다.
- [0053] 막의 중앙으로부터 시작하여 압력을 인가하여 과잉 H<sub>2</sub>O를 양자 모두의 막으로부터 제거하였다. 과잉 H<sub>2</sub>O가 제거됨에 따라, 막들은 함께 확실하게 흡인되었다.
- [0054] H<sub>2</sub>O가 그들 주위에 풀링되는 지점까지 막이 과도하게 습윤되지 않도록 주의하였다. 막들 사이의 계면의 온건성은 완성된 다중-층 콜라겐-기반 막의 선명성 및 시각적 균일성에 효과를 가진다. 막들 사이의 과잉 H<sub>2</sub>O를 가진 영역들은 H<sub>2</sub>O가 증발해버림에 따라 완전히 건조되지 않을 수 있다. 이들 영역은 건조시 백색으로 또는 탁하게 보일 수 있다. 흥미롭게도, H<sub>2</sub>O를 막 외부로 압력을 가할 때 인가되는 압력의 양은 디바이스의 건조 두께에 효과를 가질 수 있다.
- [0055] 균일한 플랫 웨이트(uniform flat weight) 하에서 어셈블링된 심낭 층이 건조되도록 하였다. 웨이트는 그레이트(grate)의 형태로 구멍을 함유하여 어셈블링된 심낭 층들이 빨리 건조되도록 하였다. 어셈블링된 심낭 층들은 개방된 공기 중에 건조되는 경우 말리거나 주름이 생기는 경향을 가진다. 웨이팅된 그레이트 하의 건조는 막들이 납작하게 건조되도록 하며 막 시트들이 접촉을 유지하도록 돕는다.
- [0056] 또한, 레이어링된 막들이 어느 정도 그것이 건조된 형상의 기억을 유지하는 것으로 발견되었다. 부가적으로, 웨이팅된 그레이트 하의 건조는 이식에 따른 바이오버든(bioburden)을 허용가능한 수준으로 감소시키기에 충분히 심낭 층을 건조하도록 허용하지 않았던 공정인, 24 h 이하 동안 실리콘 매팅 재료로 막을 가압 건조하는 것보다 예기치 않게 우수한 것으로 발견되었다.
- [0057] 가교결합
- [0058] 건조된 어셈블링된 막을 자외선 광 챔버(ultraviolet light chamber) 내에 위치시켜 가교결합시켰다. 어셈블링된 막의 가교결합은 사용 중 다중-층 콜라겐-기반 막이 H<sub>2</sub>O와 접촉하게 될 때의 탈층을 방지하기 위해 필수적이다.
- [0059] 막 어셈블리를 15 min 동안 254 nm의 광, 즉, UV 방사선의 75 와트 전구 광원으로부터 6 인치에 위치시켰다. 이어서 막 어셈블리를 뒤집어서 다른 측면 상에도 동일 수준의 UV 방사가 되도록 추가의 15 분 동안 노출시켰다. 본 노출 시간은 막 표면에 대략 14,000-22,000 mJ/cm<sup>2</sup>의 에너지 작용량을 전달한다.
- [0060] 이론에 의해 구애되지 않고, UV 방사는 막 어셈블리 내부로 침투하는 것으로 믿어진다. 막 어셈블리를 뒤집는 것은 가능한 한 균일하게 가교결합 공정이 이루어지도록 수행된다.
- [0061] 각 측면 당 15 min 미만의 처리 시간으로 적절한 가교결합이 달성될 수 있음이 주목되어야 한다. 상기 조건 하에 본 처리 시간은 분해를 최소화하면서 가교결합을 증진시키는 최대량의 UV 노출을 제공한다.
- [0062] 중요한 것은, 화학적 및 탈수열처리 가교결합과 같이 더욱 관용적인 방법 대신에 UV 방사가 가교결합에 사용되었다는 점이다. UV 방사는 잔류 화학적 가교결합제로 인한 오염을 피하며, 또한 탈수열처리 가교결합중에 보이는 변성을 피하므로 유리하다. 더욱이, UV 방사는 콜라겐 기반의 막의 재흡수 시간을 제어하고/하거나 연장하기

위한 신규 방법이다.

- [0063] 흥미롭게도, 전력원과 가교결합체 가교결합 유닛 사이의 전용 규제된 110 V 전원은 UV-전구로부터 더욱 균일하고 반복 가능한 출력을 초래할 것으로 예상된다. 이는 전기 그리드로부터 공급된 전력 변화의 조절에 기인한다.
- [0064] *원치않는 냄새의 제거*
- [0065] 가교결합 공정에서의 UV 방사는 심낭 내에 강한 기피성 카프릴산-유사 냄새를 갖는 화합물을 방출한다. 이들 화합물은 극성이며 H<sub>2</sub>O에 의한 수회의 연속적인 세척에 의해 제거될 수 있다. 새로운 H<sub>2</sub>O를 30 s 동안 막 어셈블리 위로 흘려보낸 다음, 이를 1 L의 H<sub>2</sub>O와 함께 트레이에 위치시키고 15-20 min 동안 회전 진탕기 상에서 진탕하였다. 막 어셈블리를 30 s 동안 새로운 H<sub>2</sub>O로 다시 세척하였다.
- [0066] 세척된 막 어셈블리를 깨끗한 실리콘 표면 상에 위치시키고 막 어셈블리가 팽팽하게(taught and flat) 되도록 충분한 갯수의 깨끗한 강철 압정으로 가장자리를 고정시켰다. 막 어셈블리를 완전히 공기 건조되도록 하였다.
- [0067] *진공 건조*
- [0068] 막 어셈블리를 진공 건조기 안에 위치시키고 50 mTorr에서 300 min 동안 18 °C로 건조시켰다.
- [0069] 수분은 PLGA 공-중합체 프레임의 분해에 기여할 수 있는 것으로 공지되어 있다. 이러한 건조 단계는 PLGA 프레임의 유통 기한을 보전할 뿐아니라 바이오버튼을 낮출 목적으로 디바이스 내의 H<sub>2</sub>O 양을 최소화한다.
- [0070] *다이 커팅*
- [0071] 다중-층 콜라겐-기반 막을 완성된 생성물의 목적하는 치수보다 약간 큰 심낭 층들과 어셈블링하였다. 다이-커팅에 의해, 다이가 위치한 곳을 선택함으로써 중합체 메쉬를 완성된 생성물의 중심에 오도록 할 수 있다. 이 공정 중에 디바이스 내의 중합체 메쉬가 보일 수 있도록 다이의 커팅 가장자리는 깨끗한 표면 상에 탑재되어야 한다.
- [0072] 원래의 심낭 가장자리가 어셈블리 중에 완벽하게 정렬될 수 없으므로, 이 단계에서의 생성물의 다이 커팅은 또한 다중-층 콜라겐-기반 막에 깨끗하고 말끔한 일직선의 가장자리를 제공한다.
- [0073] 다중-층 콜라겐-기반 막을 다이 커팅할 때, 이는 막의 임의의 자연적인 말림의 반대 방향으로 다이가 가압되는 배향으로 돌려져야 한다. 이는 말림에 반대로 작용하고 다중-층 콜라겐-기반 막의 외관을 가능한 한 납작하게 하기 위하여 수행된다.
- [0074] *멸균*
- [0075] 에틸렌 옥사이드("EO")로 다중-층 콜라겐-기반 막을 멸균하였다.
- [0076] 멸균 사이클은 하기 이유로 다중-층 콜라겐-기반 막을 멸균하는데 필요한 최소량의 열 및 수분으로 작업되어야 한다. 첫째, EO 사이클의 수분이 중합체 메쉬 내에 잔류하여 유통기한을 단축시킬 수 있다. 둘째, 열이 중합체 메쉬를 분해하여, 또한 유통기한을 단축시킨다. 셋째, 과도한 열이 중합체 메쉬를 용융시켜 이의 구조적 온전성을 변형 또는 변화시킬 수 있다. 마지막으로, 과도한 수분은 다중-층 콜라겐-기반 막 내의 콜라겐이 주름지게 할 수 있다.
- [0077] 다중-층 콜라겐-기반 막은 E-빔에 의해 멸균되어서는 안된다. 이러한 성질의 방사는 중합체 메쉬를 취성으로 만드는 것으로 나타났다.
- [0078] *실시예 2: 콜라겐 겔의 제조*
- [0079] 정제 콜라겐을 제조하는 표준 기술에 의해 돼지의 심낭을 탈세포화하였다. 극저온 및 사이클론 제분에 의해 콜라겐을 미분화하고, 이어서 pH 2.0-3.2에서 시트르산 중에 소화시켰다. 겔을 냉각 상태로 유지하여 변성을 최소화하였다.
- [0080] 다중-층 콜라겐-기반 막을 어셈블링하기 위해, 수산화나트륨을 사용하여 콜라겐 겔의 pH를 6.8-7.2의 범위로 다시 정규화한 다음 이를 사용하여 막을 수화시켰다. 필요한 경우, 포스페이트 소듐 일염기성 및 염화나트륨을 첨가하였다.
- [0081] 기타 실시 형태
- [0082] 본 명세서에 개시된 모든 특징은 임의의 조합으로 조합될 수 있다. 본 명세서에 개시된 각각의 특징은 동일하게

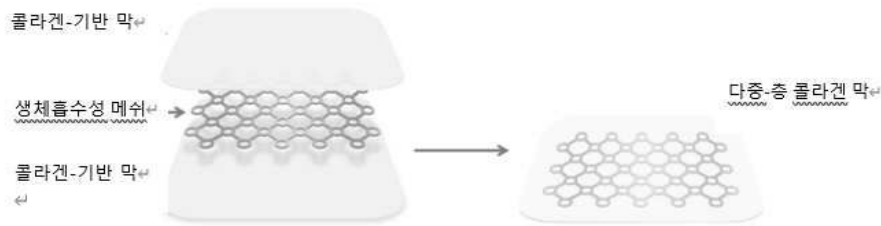
나, 균등하거나, 유사한 목적을 제공하는 대안적인 특징에 의해 대체될 수 있다. 따라서, 명시적으로 달리 언급되지 않는 한, 개시된 각각의 특징은 균등하거나 유사한 특징의 포괄적 시리즈의 일 실시예일 뿐이다.

[0083]

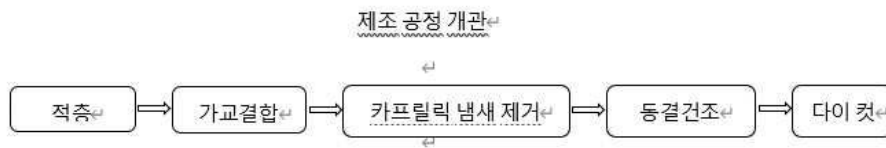
상기 기재로부터, 당업자는 본 발명의 필수적 특성을 쉽게 확인할 수 있으며, 이의 사상 및 범위로부터 벗어나지 않고 본 발명을 다양한 용도 및 조건에 적응시키기 위하여 다양한 발명의 변화 및 변형을 만들 수 있다. 따라서, 다른 실시 형태도 하기 청구범위의 범위 내에 있다.

도면

도면1



도면2



도면3

