



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2022-0154749
(43) 공개일자 2022년11월22일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61L 27/52 (2006.01) A61L 27/16 (2006.01)
A61L 27/18 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61L 27/52 (2013.01)
A61L 27/16 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2022-7035527
(22) 출원일자(국제) 2021년03월17일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2022년10월12일
(86) 국제출원번호 PCT/EP2021/056753
(87) 국제공개번호 WO 2021/185881
국제공개일자 2021년09월23일
(30) 우선권주장
FR2002619 2020년03월17일 프랑스(FR)

(71) 출원인
뉴로바이오패트
프랑스 74160 아르상 뒤 조르쥬 드 메스트랄 72
아테나 1 시떼 다르샹
(72) 발명자
외를리 스테판
프랑스 74160 생 쥘리앵 앙 즈네부아 뒤 데 메장
쥬 2 르 프레 리앙 1
(74) 대리인
특허법인코리아나

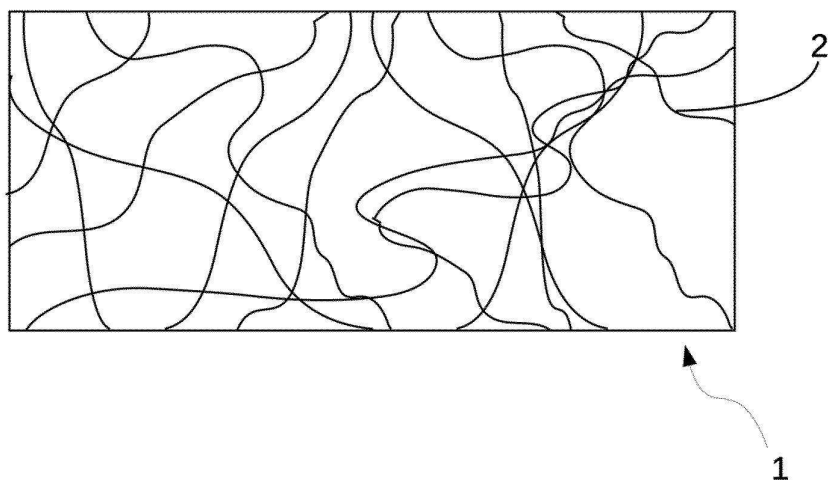
전체 청구항 수 : 총 22 항

(54) 발명의 명칭 하이브리드 이종 하이드로겔, 이의 제조 방법, 및 비-분해성 인-시튜 필터 임플란트로서의 이의 용도

(57) 요약

필터 임플란트는 에틸렌 라디칼에 의해 관능화된 텐드리머 단량체, N-치환된 메타크릴아미드 및 N-치환된 아크릴아미드에서 선택되는 아크릴아미드 화합물, 가교제 및 생체활성 공중합성 물질을 포함하는 공중합체에 의해 형성되는 하이브리드 이종 하이드로겔로부터 제조되는 스캐폴드를 포함한다. 스캐폴드는 1.5 마이크론 내지 10 마이크론의 직경을 갖는, 중량 기준으로 아크릴아미드 화합물을 주로 함유하는 마이크로비드에 의해 형성된다. 마이크로비드는 서로 조립되어 5 내지 50 개의 마이크로비드를 함유하는 응집체를 형성한다. 응집체는 가교점에 의해 연결되어 3 차원 침투 경로를 정의하는 관통 다공성 배열을 정의한다. 관통 다공성 배열은 기공 부피의 대부분이 10 내지 30 마이크론의 직경을 가지는 기공에 의해 형성된다. 스캐폴드는 1 내지 200 kPa의 탄성 계수를 갖는 점탄성 성질을 가진다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A61L 27/18 (2013.01)

C08J 7/12 (2013.01)

C08L 101/005 (2013.01)

C08L 33/26 (2013.01)

A61L 2300/622 (2013.01)

A61L 2400/06 (2013.01)

A61L 2430/34 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

하기 단량체 중 3 개 이상으로부터 유도되는 공중합체에 의해 형성되는 하이브리드 이종 하이드로겔:

- 불포화 에틸렌 라디칼이 제공된 단일 분지에 의해 관능화된 덴드리머 단량체,
- N-치환된 메타크릴아미드 및 N-치환된 아크릴아미드에서 선택되는 아크릴아미드 화합물, 및
- 가교제,

상기 하이브리드 이종 하이드로겔은, 주로 N-치환된 메타크릴아미드 및 N-치환된 아크릴아미드를 중량 기준으로 함유하는, 1.5 마이크론 초과 10 마이크론 미만의 직경을 갖는 다수의 마이크로비이드에 의해 하이브리드 이종 하이드로겔이 주로 형성되는 것을 특징으로 하고, 상기 마이크로비이드는 20 nm 미만의 크기를 갖는 밀폐된 비-연통 미세기공을 정의하며, 상기 마이크로비이드는 서로 조립되어 5 내지 50 개의 마이크로비이드를 함유하는 응집체를 형성하고, 상기 응집체는 가교점에 의해 서로 결합되어 3 차원 침투 경로를 정의하는 관통 다공성 배열을 정의하며, 상기 관통 다공성 배열은 기공을 정의하고, 이의 다공성 분획의 대부분은 10 내지 30 마이크론의 직경을 갖는 기공에 의해 형성되며, 30 내지 300 마이크론의 직경을 갖는 기공의 분획은 20 % 초과이고, 여기에서 상기 하이브리드 이종 하이드로겔은 점탄성 성질을 가지며, 1 내지 200 kPa 의 탄성 계수를 가짐.

청구항 2

제 1 항에 있어서, 마이크로비이드가 주로 2 내지 5 마이크론의 직경을 가지는 하이브리드 이종 하이드로겔.

청구항 3

제 1 항 또는 제 2 항에 있어서, 마이크로비이드가 90 중량% 이상의 아크릴아미드 화합물을 포함하는 하이브리드 이종 하이드로겔.

청구항 4

제 3 항에 있어서, 마이크로비이드가 가교된 아크릴아미드 화합물에 의해 구성되는 하이브리드 이종 하이드로겔.

청구항 5

제 1 항 내지 제 4 항 중 어느 한 항에 있어서, 응집체가 10 내지 30 개의 마이크로비이드를 함유하는 하이브리드 이종 하이드로겔.

청구항 6

제 1 항 내지 제 5 항 중 어느 한 항에 있어서, 응집체가 압축시 변형 가능한 하이브리드 이종 하이드로겔.

청구항 7

제 1 항 내지 제 6 항 중 어느 한 항에 있어서, 관능화된 덴드리머 단량체가 폴리옥시에틸렌의 하나 이상의 거대분자 수지상 분지를 포함하고, 상기 폴리옥시에틸렌의 하나 이상의 거대분자 수지상 분지는 복합 당의 유도체, 조직 접착 펩티드의 유도체 및 지질 유도체에 대해 지시된 항체와 결합된 중합체 접합체의 유도체로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상의 생체활성 공중합성 물질에 의해 관능화되며, 상기 하나 이상의 생체활성 공중합성 물질은 3 차원 침투 배열의 벽을 덮는 하이브리드 이종 하이드로겔.

청구항 8

제 1 항 내지 제 7 항 중 어느 한 항에 있어서, 3 차원 침투 배열의 벽이 여러 상이한 생체활성 공중합성 물질에 의해 관능화되는 하이브리드 이종 하이드로겔.

청구항 9

제 1 항 내지 제 8 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 하나 이상의 활성 분자가 복합 당의 유도체, 조직 접착 펩티드 또는 혈관신생 활성을 갖는 펩티드의 유도체, 신경 재생을 자극하는 펩티드의 유도체, 세포 증식 및 분화를 자극하는 펩티드의 유도체, 지질 유도체에 대해 지시된 항체와 결합된 중합체 접합체의 유도체, 및 기질 유래 인자-1 (SDF-1) 클래스의 케모카인으로 이루어진 군에서 선택되는 하이브리드 이종 하이드로겔.

청구항 10

제 1 항 내지 제 9 항 중 어느 한 항에 있어서, 관능화된 텐드리머 단량체가 중심 코어 A, 및 중합성 아크릴레이트 또는 메타크릴레이트 라디칼에 의해 관능화된 수지상 분자 중 하나 이상을 갖는 폴리옥시에틸렌의 거대분자 수지상 분자를 포함하는 하이브리드 이종 하이드로겔.

청구항 11

제 1 항 내지 제 10 항 중 어느 한 항에 있어서, 아크릴아미드 화합물이 N-(2-히드록시프로필)메타크릴아미드 (HPMA) 이고, 관능화된 텐드리머 단량체가 조직 재생을 위한 생체활성 특성을 부여하는 생체활성제로 주변이 관능화된 폴리옥시에틸렌의 수지상 분자를 포함하는 하이브리드 이종 하이드로겔.

청구항 12

장기 또는 조직의 해부학적 결합의 예지 사이에 삽입되도록 설계된 영구적인 필러 임플란트로서의 제 1 항에 따른 하이브리드 이종 하이드로겔의 용도.

청구항 13

제 12 항에 있어서, 중추 신경계의 실질내 공동을 채우기 위한, 필러 임플란트로서의 하이브리드 이종 하이드로겔의 용도.

청구항 14

제 12 항에 있어서, 중추 신경계 또는 이분 척추의 선천적 기형을 교정하기 위한, 필러 임플란트로서의 하이브리드 이종 하이드로겔의 용도.

청구항 15

제 12 항에 있어서, 공동에서 임플란트의 설치 및 공동에서 임플란트의 탈수 전에, 임플란트 및 임플란트를 수용하도록 설계된 공동의 측벽의 부분적 탈수를 포함하는, 필러 임플란트로서의 하이브리드 이종 하이드로겔의 용도.

청구항 16

다음을 포함하는 하이브리드 이종 하이드로겔의 제조 방법:

- 하기 단량체 중 3 개 이상을 포함하는 반응 혼합물로부터 45 °C 내지 55 °C 의 온도에서 공중합 및 자유 라디칼 공중합에 의해 유도된 상 분리에 의한 마이크로비이드의 형성;
- 불포화 에틸렌 라디칼을 포함하는 단일 분자에 의해 관능화된 텐드리머 단량체, 다른 분자는 에틸렌 라디칼이 없음,
- N-치환된 메타크릴아미드 및 N-치환된 아크릴아미드에서 선택되는 아크릴아미드 화합물, 및
- 2 개의 반응성 비닐 결합을 포함하는 하나 이상의 이관능성 불포화 에틸렌 가교제, 및
- 자유 라디칼 개시제,

상기 마이크로비이드는 20 nm 미만의 크기를 갖는 밀폐된 비-연통 미세기공을 정의하고, 상기 마이크로비이드는 N-치환된 메타크릴아미드 및 N-치환된 아크릴아미드를 중량 기준으로 주로 함유하는, 1.5 마이크로론 초과 10 마이크로론 미만의 직경을 가지며, 상기 마이크로비이드는 서로 조립되어 5 내지 50 개의 마이크로비이드를 함유하는 응집체를 형성하고, 상기 응집체는 가교점에 의해 서로 결합되어 3 차원 침투 경로를 정의하는 관통 다공성 배열을 묘사하는 하이브리드 이종 하이드로겔을 정의하며, 상기 관통 다공성 배열은 기공을 정의하고, 이의 다

공성 분획의 대부분은 10 내지 30 마이크론의 직경을 갖는 기공에 의해 형성되며, 30 내지 300 마이크론의 직경을 갖는 기공의 분획은 20 % 초과이고, 여기에서 상기 하이브리드 이중 하이드로겔은 점탄성 성질을 가지며, 1 내지 200 kPa 의 탄성 계수를 가지고; 여기에서 중합은 마이크로비이드를 형성하기 위해서 첫번째 온도 안정기, 이어서 두번째 안정기 또는 온도 구배로 수행되며, 상기 안정기의 온도는 45 °C 내지 55 °C 이고, 두번째 안정기 또는 온도 구배는 첫번째 안정기의 온도보다 적어도 5 °C 높은 온도를 가지며, 여기에서 상기 반응 혼합물은 단단한 원통형 열전도 금형에 주입됨.

청구항 17

제 16 항에 있어서, 관능화된 텐드리머 단량체와 가교제 사이의 몰비가 0.1 내지 0.8 인 하이브리드 이중 하이드로겔의 제조 방법.

청구항 18

제 17 항에 있어서, 관능화된 텐드리머 단량체가 6,220 g/mol 내지 23,280 g/mol 의 분자량을 가지는 하이브리드 이중 하이드로겔의 제조 방법.

청구항 19

제 16 항 내지 제 18 항 중 어느 한 항에 있어서, 생체활성 공중합성 물질이 마이크로비이드를 형성하는 반응 혼합물에 존재하고, 상기 생체활성 공중합성 물질은 복합 당의 유도체, 조직 접착 펩티드의 유도체 및 지질 유도체에 대해 지시된 항체와 결합된 중합체 접합체의 유도체로 이루어진 군에서 선택되는 하이브리드 이중 하이드로겔의 제조 방법.

청구항 20

제 16 항 내지 제 19 항 중 어느 한 항에 있어서, 반응 혼합물이 금속으로 제조된 금형에 주입되고, 이의 내벽은 폴리테트라플루오로에틸렌으로 덮여 있으며, 금형은 바람직하게는 물 중탕에 의해 가열되는 하이브리드 이중 하이드로겔의 제조 방법.

청구항 21

제 16 항 내지 제 20 항 중 어느 한 항에 있어서, 반응 혼합물을 제 1 온도에서 80 분 이상 동안 중합시켜 마이크로비이드를 형성한 후, 금형 및 반응 혼합물의 온도를 적어도 5 °C 상승시키는 것을 포함하는 하이브리드 이중 하이드로겔의 제조 방법.

청구항 22

제 16 항에 따른 하이브리드 이중 하이드로겔의 마이크로비이드 응집체를 형성하고, 3 차원 프린팅 방법에 의해 상기 응집체를 서로 조립하여 필러 임플란트를 형성하는 것을 포함하는 필러 임플란트의 제조 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 하이브리드 이중 하이드로겔, 및 보다 구체적으로는 필러 임플란트로서의 이의 용도에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 국소적 외상, 허혈, 종양의 외과적 제거 또는 혈관 기형 또는 기타 원인의 연속성 여부에 관계없이, 척수의 신경 실질에 대한 손상은 뇌에 의해 전달되는 운동 기능을 지시하는 신경 임펄스의 전달을 차단하는 신경 섬유 연결의 절단을 초래하며, 대신에 감각 기능의 치료를 방해한다. 그 결과, 완전 또는 부분 마비가 발생한다.

[0003] 척수 손상의 경우, 압박이나 기타 척추 수질 충격에 의한 병변은 병변의 진원지에서 원심력으로 발달하여 초기 손상의 만성 단계로 진행되는 신경퇴행성 현상을 통해 진행된다. 만성 단계에서, 병변은 신경교 세포, 섬유아세포, 혈관주위세포 및 수막 세포, 특히 프로테오글리칸 및 콜라겐의 세포외 기질 분자로 구성된 이질적 흉터 조직에 의해 격리되고 둘러싸인 낭포성 공동으로 표시된다. 골수강과 동일한 방식으로 이러한 형태의 치유는 유입 및 유출되는 축삭 경로의 신경 섬유 복구 실패의 원인이다.

- [0004] 재생 요법은 수질 손상의 만성 단계에서 낭포성 공동의 세포 복구, 및 2 개에서 6 개 까지의 척추체 높이의 다양한 크기로 부피의 큰 손실을 나타낼 수 있는 손상된 부위의 혈관재생을 수행하려고 한다. 재생 요법은 또한 척추 신경 회로의 재연결을 촉진하고 운동 및 감각 기능을 재수립하기 위해서, 이러한 낭포성 공동을 통해 신경 섬유를 성장시키려고 한다. 이 전략은 재생장 중인 신경 섬유와 손상 수준에서의 손상되지 않은 뉴런 사이의 릴레이 회로를 개혁할 수 있는 신경계의 손상 후 가소성을 고려한다. 조직 공학에서 사용되는 전략은 병변 수준 (급성 단계 또는 만성 단계) 에서 다공성 허용 기질을 도입하여, 내인성 세포, 혈관 및 신경 조직의 조직학적 재건으로 이어지는 신경 복구 과정을 위한 물리적, 화학적 및 기계적 스캐폴드 역할을 하는 것이다.
- [0005] 실험 수준과 임상 시험에서 일반적으로 사용되는 스캐폴드는 특정 부류의 생체물질인 하이드로겔로 대표된다. 이들은 수분-포화, 가교된 거대분자 배열을 형성하는 중합체 매트릭스이다. 이들은 특히 신경계가 관련된 조직 공학에서 사용된다. 이들은 일시적으로 불안정한 다공성 구조를 구성하기 위해서 분해성 또는 생체 재수착성 중합체로부터 제조된다. 이들 중합체는 천연 기원 - 알기네이트, 아가로오스, 키토산, 콜라겐, 히알루론산, 피브린 또는 펩티드이거나, 또는 이들은 폴리카프로락톤, 폴리(히드록시부티레이트), 폴리(오르토에스테르), 폴리(α -히드록시에스테르) 또는 폴리무수물과 같은 합성이다. 따라서, 분해성 및/또는 생체 재수착성 하이드로겔은 실험 모델 또는 인간의 임상 시험에서 척수 손상의 신경 재생을 촉진하기 위해서 제안되었다.
- [0006] 생분해성 하이드로겔은 일단 살아있는 유기체에 주입되면, 폴리무수물, 폴리(오르토 에스테르) 및 폴리(α -히드록시 에스테르)에 대한 자발적인 화학적 가수분해에 의해 분해되는 것이다. 티오에테르-에스테르는 물의 존재하에서 분해되며, 생물학적 중합체 (올리고펩티드, 단백질 또는 다당류) 는 효소 또는 세포에 의해 생성된 기타 단백질의 작용으로 인해 분해된다.
- [0007] 예를 들어, 미국 특허 제 7,163,545 호는 치료제와 함께 축삭 재생을 위한 안내 채널을 포함하는 폴리(락트산-코-글리콜산) 매트릭스를 개시하고 있다. 미국 특허 제 8,377,463 호는 치료제 및/또는 줄기 세포와 조합될 수 있는, 30 일 내지 60 일 사이에 인-시튜 분해되는 척수 손상의 급성기를 치료하기 위해서 폴리(락트산-코-글리콜산)으로부터 형성되는 장치를 보고하고 있다. 문헌 US 2018/0037865 는 중합체의 성질에 따라 다양한 속도로 인-시튜 분해되는, 줄기 세포 및 치료제 분자와 함께 히알루론산, 콜라겐, 피브린, 키토산, 메틸셀룰로오스, 폴리옥시에틸렌 또는 이들의 조합의 분해성 매트릭스를 포함하는 복합 하이드로겔을 기재하고 있다. 문헌 US 2006/0002978 은 락트산 및/또는 글리콜산 및/또는 폴리(카프로락톤)의 단독- 또는 공중합체로부터 형성되는 다공성 중합체 물질을 함유하는 관형 매트릭스를 개시하고 있다. 중합체 매트릭스는 지방족 폴리에스테르, 폴리무수물, 폴리포스파진, 폴리비닐 알코올, 폴리펩티드 또는 알기네이트를 포함할 수 있다. 미국 특허 제 8,877,498 은 신경 섬유의 유도된 재생을 가능하게 하는 벽을 따라 고도로 정렬된 채널 및 융기를 갖는 계층 구조를 포함하며, 키토산, 키틴, 셀룰로오스, 알기네이트, 젤라틴, 히알루론산, 콜라겐, 엘라스틴 또는 이들의 조합을 포함하는 조성물을 제시하는 매트릭스를 보고하고 있다. 문헌 WO 2014/013188 은 척수 손상을 치료하기 위해서 마이크로겔 현탁액 형태 또는 2 내지 3 mm 겔 형태의 아세틸화된 키토산 생체물질을 개시하고 있다. 문헌 US 2015/0166786 A1 및 WO 2013/010087 A1 은 인간의 척수의 급성 손상을 치료하기 위해서 폴리(락트산-코-글리콜산)으로 구성되거나 또는 폴리(L-리신)과 조합된 폴리(ϵ -카프로락톤)를 포함하는 하이드로겔을 공개하고 있다. 문헌 US 2015/0044259 A1 은 신경 섬유의 성장을 촉진하기 위해서 폴리-D 리신 및 펩티도글리칸으로 구성된 매트릭스를 기재하고 있다. 문헌 EP 2347763 A1 및 문헌 US 2011/0177170 A1 은 중추 신경계 병변의 치료에서 세포 이식편과 함께 이식을 위한 펩티드, 우론산 및 헥소사민으로 구성된 균질한 겔에 포함된 콜라겐 미세 입자로 구성된 매트릭스를 기재하고 있으며, 이의 분해는 몇 주에서 몇 달 사이에 발생한다. 문헌 WO 2013/084137 은 인간의 완전한 척수 손상의 치료를 위한 성장 인자와 조합된 평행 기하학 채널을 포함하는 황산 칼슘 반수화물을 사용하는 분해성 임플란트를 개시하고 있다.
- [0008] 문헌 US 8,815,277 또는 문헌 WO 2011/002249 에 제시된 것과 같은 생분해성 하이드로겔이 또한 제안된다. 이들 시스템은 침습적이지 않다는 장점이 있는 것으로 나타났다. 즉, 이들은 이식을 위해 척수의 개복 수술이 필요하지 않다. 일반적으로, 이들 시스템은 재생 공정에 비해 매우 빠른 2 주 만에 인-시튜 분해된다.
- [0009] 폴리(락트산-코-글리콜산) 염기로부터 제조된 하이드로겔은 또한 척수의 신경 채널을 복구하기 위해서 제안된다. 이러한 하이드로겔은 래트에서 30 내지 60 일 내에 분해되며, 이는 이들 결과를 인간에게 이식하는 경우 성공적인 조직 재생을 위해서는 매우 불충분한 시간이다. 비교 연구는 격리된 축삭의 성장 시간이 래트보다는 인간에서 더 길고, 재생 속도는 3 배 더 느리다는 것을 나타냈다 (Gordon 2007, The potential of electrical stimulation to promote functional recovery after peripheral nerve injury-comparisons

between rats and humans; Acta Neurochir Suppl. 2007; 100:3-11). 척수의 경우, 기능적 운동 회복을 달성하기 위해서 많은 수의 신경 섬유가 다시 성장해야 하기 때문에, 시간이 훨씬 더 오래 걸린다. 손상 수준 아래에서 척수 분절의 적절한 목표에 도달할 때까지, 외과적 복구 부위를 통한 축삭의 성장은 느리고 비동기적이다.

- [0010] 척수 손상을 복구하려는 이들 방법은, 손상된 수질 분절의 해부학적 구조를 복구함과 동시에, 신경학적 기능의 기능적 회복을 달성할 수 없기 때문에, 인간에게 적용되는 중추 신경 조직의 재생 효율이 매우 제한적이고 불완전하다.
- [0011] 일단 장기에 이식되면, 분해성 하이드로겔 매트릭스는 조직 리모델링 과정에서 발생하는 세포, 혈관 및 재생하는 신경 섬유의 이동 및 집락화와 동시에 중합체 사슬의 절단에 의해 분해된다. 이러한 방식으로, 척수의 조직 재건이 수행될 때, 신경 신생 조직의 형성을 촉진하기 위해서 분해성 하이드로겔 매트릭스는 높은 분해 속도를 나타내므로, 초기 기계적 지지 특성의 빠른 손실을 초래한다. 조직 재생이 최적, 즉, 제시간에 완료되기 위해서는, 하이드로겔 스캐폴드가 조직 리모델링 과정 전반에 걸쳐 공간과 시간에서 특정한 구조적 무결성을 보존하는 것이 필수적이다.
- [0012] 또한, 폴리(α -히드록시산)의 에스테르 결합의 가수분해는, 이들이 이식 부위에서 축적될 때 pH 를 더 낮추는 산 화합물을 방출하는 것이 분명하다. 문헌 [Bostman OM and Pihlajamaki HK (2000) Adverse tissue reactions to bioabsorbable fixation devices. Clin Orthop Rel Res 371 : 216-227] 에서 설명한 바와 같이, pH 가 낮아지면, 표면에 비해 임플란트 중심부에서 가수분해 속도가 빨라져, 임플란트의 초기 기계적 특성의 급속한 손실 및 이물질에 대한 국소 반응을 일으킨다.
- [0013] 문헌 WO 2010/097524 는 하기 단량체로부터 유도되는 공중합체인 하이브리드 이중 하이드로겔을 개시하고 있다:
- [0014] - 중심 코어 A, 아크릴레이트 또는 메타크릴레이트 라디칼에 의해 관능화된 수지상 분지 중 하나 이상을 갖는 폴리옥시에틸렌의 거대분자 수지상 분지를 포함하는 덴드리머 단량체,
- [0015] - N-치환된 메타크릴아미드 또는 N-치환된 아크릴아미드, 및
- [0016] - 복합 당의 유도체, 조직 접착 펩티드의 유도체 및 지질 유도체에 대해 지시된 항체와 결합된 중합체 접합체의 유도체로 이루어진 군에서 선택되는 생체활성 공중합성 물질.

발명의 내용

- [0017] 본 발명의 한가지 목적은 이들 단점을 개선하는데 있으며, 보다 구체적으로는 선행 기술의 하이드로겔과 비교하여 더 낮은 분해 속도를 나타내고, 세포 집락화와 관련된 기계적 응력에 더 적합한 하이드로겔로부터 제조된 임플란트를 제공하는데 있다.
- [0018] 본 발명의 하나의 특징에 따르면, 하기 단량체 중 3 개 이상으로부터 유도되는 공중합체에 의해 형성되는 하이브리드 이중 하이드로겔이 제안된다:
- [0019] - 불포화 에틸렌 라디칼이 제공된 단일 분지에 의해 관능화된 덴드리머 단량체,
- [0020] - N-치환된 메타크릴아미드 및 N-치환된 아크릴아미드에서 선택되는 아크릴아미드 화합물, 및
- [0021] - 가교제.
- [0022] 하이브리드 이중 하이드로겔은, 주로 N-치환된 메타크릴아미드 및 N-치환된 아크릴아미드를 중량 기준으로 함유하는, 1.5 마이크론 초과 10 마이크론 미만의 직경을 갖는 다수의 마이크로비드에 의해 하이브리드 이중 하이드로겔이 주로 형성되는 것을 특징으로 하고, 상기 마이크로비드는 서로 조립되어 5 내지 50 개의 마이크로비드를 함유하는 응집체를 형성하며, 상기 응집체는 가교점에 의해 서로 결합되어 3 차원 침투 경로를 정의하는 관통 다공성 배열을 정의하고, 상기 관통 다공성 배열은 기공을 정의하며, 이의 다공성 분획의 대부분은 10 내지 30 마이크론의 직경을 갖는 기공에 의해 형성되고, 여기에서 하이브리드 이중 하이드로겔은 점탄성 성질을 가지며, 1 내지 200 kPa 의 탄성 계수를 가진다.
- [0023] 하나의 개발에 따르면, 마이크로비드는 2 내지 5 마이크론의 직경을 가진다.
- [0024] 바람직하게는, 마이크로비드는 90 중량% 이상의 아크릴아미드 화합물을 포함한다. 더욱 바람직하게는, 마이크로비드는 가교된 아크릴아미드 화합물에 의해 구성된다.

- [0025] 특정한 구현예에 있어서, 응집체는 10 내지 30 개의 마이크로비이드를 함유한다. 압축시 변형 가능한 응집체를 제공하는 것이 유리하다.
- [0026] 유리하게는, 관능화된 덴드리머 단량체는 폴리옥시에틸렌의 하나 이상의 거대분자 수지상 분지를 포함하고, 상기 폴리옥시에틸렌의 하나 이상의 거대분자 수지상 분지는 복합 당의 유도체, 조직 접착 펩티드의 유도체 및 지질 유도체에 대해 지시된 항체와 결합된 중합체 접합체의 유도체로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상의 생체활성 공중합성 물질에 의해 관능화되며, 상기 하나 이상의 생체활성 공중합성 물질은 3 차원 침투 배열의 벽을 덮는다.
- [0027] 바람직한 방식에 있어서, 3 차원 침투 배열의 벽은 여러 상이한 생체활성 공중합성 물질에 의해 관능화된다.
- [0028] 유리한 구성에 있어서, 상기 하나 이상의 활성 분자는 복합 당의 유도체, 조직 접착 펩티드 또는 혈관신생 활성을 갖는 펩티드의 유도체, 신경 재생장을 자극하는 펩티드의 유도체, 세포 증식 및 분화를 자극하는 펩티드의 유도체, 지질 유도체에 대해 지시된 항체와 결합된 중합체 접합체의 유도체, 및 기질 유래 인자-1 (SDF-1) 클래스의 케모카인으로 이루어진 군에서 선택된다.
- [0029] 중심 코어 A, 중합성 아크릴레이트 또는 메타크릴레이트 라디칼에 의해 관능화된 수지상 분지 중 하나 이상을 갖는 폴리옥시에틸렌의 거대분자 수지상 분지를 포함하는 관능화된 덴드리머 단량체를 제공하는 것이 더욱 유리하다.
- [0030] 또다른 구성에 따르면, 아크릴아미드 화합물은 N-(2-히드록시프로필)메타크릴아미드 (HPMA) 이며, 관능화된 덴드리머 단량체는 조직 재생을 위한 생체활성 특성을 부여하는 생체활성제로 주변이 관능화된 폴리옥시에틸렌의 수지상 분지를 포함한다.
- [0031] 본 발명의 또다른 목적은 장기 또는 조직의 해부학적 결합의 에지 사이에 삽입되도록 설계된 필러 임플란트로서의, 전술한 구성 중 하나에 따른 하이브리드 이종 하이드로겔의 용도에 있다.
- [0032] 바람직하게는, 하이브리드 이종 하이드로겔은 중추 신경계의 실질내 공동을 채우기 위한 필러 임플란트로서 사용된다.
- [0033] 유리한 방식에 있어서, 하이브리드 이종 하이드로겔은 중추 신경계 또는 이분 척추의 선천적 기형을 교정하기 위한 필러 임플란트로서 사용된다.
- [0034] 본 발명의 하나의 특징에 따르면, 공업적 생산을 위해 실시하기 용이한 하이브리드 이종 하이드로겔의 제조 방법이 제안되며, 이로써 특히 물리적-화학적 사양에 관한 한, 필러 임플란트의 형성에 보다 적합한 하이브리드 이종 하이드로겔이 제조될 수 있다.
- [0035] 하이브리드 이종 하이드로겔의 제조 방법은 다음을 포함한다는 점에서 주목할 만하다:
- [0036] - 하기 단량체 중 3 개 이상을 포함하는 반응 혼합물로부터 45 °C 내지 55 °C 의 온도에서 공중합 및 자유 라디칼 공중합에 의해 유도된 상 분리에 의한 마이크로비이드의 형성;
- [0037] - 불포화 에틸렌 라디칼을 포함하는 단일 분지에 의해 관능화된 덴드리머 단량체, 다른 분지는 에틸렌 라디칼이 없음,
- [0038] - N-치환된 메타크릴아미드 및 N-치환된 아크릴아미드에서 선택되는 아크릴아미드 화합물, 및
- [0039] - 2 개의 반응성 비닐 결합을 포함하는 하나 이상의 이관능성 불포화 에틸렌 가교제, 및
- [0040] 자유 라디칼 개시제,
- [0041] N-치환된 메타크릴아미드 및 N-치환된 아크릴아미드를 중량 기준으로 주로 함유하는, 1.5 마이크론 초과 10 마이크론 미만의 직경을 갖는 마이크로비이드,
- [0042] 상기 마이크로비이드는 서로 조립되어 5 내지 50 개의 마이크로비이드를 함유하는 응집체를 형성하며, 상기 응집체는 가교점에 의해 서로 결합되어 3 차원 침투 경로를 정의하는 관통 다공성 배열을 묘사하는 하이브리드 이종 하이드로겔을 정의하고, 상기 관통 다공성 배열은 기공을 정의하며, 이의 다공성 분획의 대부분은 10 내지 30 마이크론의 직경을 갖는 기공에 의해 형성되고,
- [0043] 여기에서 하이브리드 이종 하이드로겔은 점탄성 성질을 가지며, 1 내지 200 kPa 의 탄성 계수를 가지고;

- [0044] 여기에서 반응 혼합물은 단단한 원통형 열전도 금형에 주입됨.
- [0045] 하나의 개발에 있어서, 관능화된 텐드리머 단량체와 가교제 사이의 몰비는 0.1 내지 0.8 이다. 바람직하게는, 관능화된 텐드리머 단량체는 6,220 g/mol 내지 23,280 g/mol 의 분자량을 가진다.
- [0046] 바람직하게는, 생체활성 공중합성 물질은 마이크로비드를 형성하기 위해서 반응 혼합물에 존재하며, 상기 생체활성 공중합성 물질은 복합 당의 유도체, 조직 접착 펩티드의 유도체 및 지질 유도체에 대해 지시된 항체와 결합된 중합체 접합체의 유도체로 이루어진 군에서 선택된다.
- [0047] 유리한 구성에 있어서, 반응 혼합물은 금속 금형에 주입되며, 이의 내벽은 폴리테트라플루오로에틸렌으로 덮혀 있다. 금형은 바람직하게는 물 증탕에 의해 가열된다. 바람직하게는, 반응 혼합물의 중합은 제 1 온도에서 80 분 이상 동안 수행되어 마이크로비드를 형성하며, 이어서 금형 및 반응 혼합물의 온도는 적어도 5 °C 씩 상승한다.
- [0048] 유리한 방식에 있어서, 전술한 구성 중 하나에 따른 하이브리드 이중 하이드로겔의 마이크로비드의 응집체의 형성 방법은 필터 임플란트의 제조 방법에서 실시된다. 필터 임플란트의 제조 방법은 하이브리드 이중 하이드로겔의 마이크로비드의 응집체를 형성하고, 3 차원 프린팅 방법에 의해 응집체를 서로 조립하여 필터 임플란트를 형성하는 것을 포함한다.

도면의 간단한 설명

- [0049] 다른 이점 및 특징은 비제한적인 예시 목적으로만 제공되며 첨부된 도면에 나타난 본 발명의 특정한 구현에 및 실시 모드에 대한 하기의 설명으로부터 더욱 명백해질 것이다:
- 도 1 은 3 차원 관통 채널을 정의하는 하이브리드 이중 하이드로겔이 제공된 임플란트를 개략적으로 예시한다;
- 도 2 는 PTFE 로부터 제조된 표면으로 벽이 덮인 4 개의 원통형 웰을 정의하는 금속체를 예시한다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0050] 하이드로겔 베이스로부터 제조된 임플란트는 체적 조직 손실을 나타내는 공동, 예를 들어 수질 공동에 이식되도록 설계된다. 하이드로겔의 분해 속도 (V_d) 가 세포 재생 속도 (V_r) 보다 빠른 경우, 조직 재건에 대한 지원은 더이상 빠르게 이루어지지 않는다. 조직 재건은 이식 영역 주변으로 제한될 것이며, 세포 재생 과정은 불완전할 것이다. 또한, 수질 손상에 이식된 중합체의 스캐폴드의 생분해는 임플란트의 몸체와 척수 조직 사이의 물리적 분리를 유도한다. 조직으로부터 임플란트를 분리하는 공간은 뇌척수액으로 채워지며, 하이드로겔이 신경 조직에 통합되는 것을 방지한다. 이것은 또한 재생 과정에서 축삭이 임플란트에 의해 형성된 스캐폴드의 몸체에 도달하는 것을 방지한다.
- [0051] 산 분해 생성물의 생성은 급성 염증 반응을 유발할 수 있다. 다른 분해 생성물은 세포 수준에서 독성 효과를 가질 수 있으며, 기관의 항상성을 방해할 수 있다. 이들 분해 생성물은 중합체 지지체가 완전히 파괴될 때까지 경시적으로 생성된다. 분해 생성물은 전신 순환에 의해 수송되어 표적 기관에 순차적으로 축적될 수 있으며, 이의 장기적 결과는 기관에 손상을 줄 수 있다.
- [0052] 재생 과정이 최적이고 완전하기 위해서는, 임플란트의 중합체 배열의 분해 속도가 조직 복구 속도와 일치해야 하며, 이로써 진행 중인 세포 바이오버든의 부피가 증가함에 따라 겔의 총 부피 감소가 일정하게 유지되어, 척수 기관과의 계면 상에 기계적 압축 응력을 가하지 않도록 해야 한다. 이러한 응력은 허혈성 압박에 의해 병변을 유발할 것이다. 엄격하게 통제된 실험 조건하에 생체 외에서 중합체 하이드로겔의 분해 속도를 제어하는 것이 가능하지만, 생체 내에서 하이드로겔 매트릭스의 분해 속도를 제어하고, 생체 내에서 세포 바이오버든에 대한 중합체 매트릭스의 분해 속도를 모니터링하는 것은 불가능하다. 그러므로, 생분해성 임플란트를 재생 과정에서 효율적으로 사용하는 것은 불가능하다.
- [0053] 일반적으로, 세포 재생 과정과 임플란트의 분해 과정은 척수와 접촉하는 계면에서 시작하여 공동 내부로 확장된다. 또한, 하이드로겔 매트릭스의 중심은 완전히 분해되지 않으며, 성장 기질의 구조와 기능을 상실한 울리고머 사슬의 형태로 남아 있다. 임플란트는 기계적 지지를 제공하지 않으며, 결국 재건을 방해하여 더이상 사용 가능하지 않다.
- [0054] 매트릭스의 분해는 하이드로겔의 구조로 이동한 세포 사이에 존재하는 연결의 해리를 추가로 유도할 수 있다.

이들 연결은 기능적 조직의 형성과 응집에 필수적이다.

- [0055] 그러므로, 특히 신경계의 조직의 부피 손실을 최적으로 복구하기 위해 조직 공학에서 임플란트로서 분해성 중합체 하이드로겔의 사용은, 새로운 생물학적 조직이 형성될 때까지 구조적 무결성을 보존하기 위해 사용 과정에서 하이드로겔 매트릭스의 기계적 거동의 진화 및 또한 실제 생체내 분해 속도를 모두 고려해야 한다. 이것은, 분해됨에 따라 매트릭스가 점진적으로 구조적 지형을 상실하고, 따라서 초기 구조에 의해 정의된 기계적 특성을 상실하기 때문에 불가능하다. 임플란트의 구조적 무결성은 경시적으로 유지될 수 없다. 그러나, 임플란트의 구조적 완전성은 조직 재건 전반에 걸쳐 조직 재건의 형성을 유지하는데 필수적인 특성이다.
- [0056] 손상 후, 신경 섬유는 신장 또는 부수적 발아에 의해 자연적으로 재생되는 능력을 가진다. 이러한 능력은, 재생 섬유의 끝 부분인 성장 원뿔이 부착되어 길어질 기질을 발견하지 못하는 경우, 크게 감소한다.
- [0057] 그러나, 매트릭스가 분해되면, 축삭 재생 과정에서 성장 원뿔이 진행될 수 있는 기질이 연속적이지 않을 수 있다. 그러므로, 조직의 재생 속도 V_r 이하인 분해 속도 V_d 를 갖는 하이드로겔로부터 제조된 임플란트를 사용하는 것이 유리하다.
- [0058] 비-분해성인, 즉, 재생 속도보다 낮은 분해 속도를 갖는 하이브리드 이중 하이드로겔을 사용하는 것이 특히 유리하다. 바람직하게는, 비-분해성 하이브리드 이중 하이드로겔이 의미하는 것은, 인체를 대표하는 생리학적 조건하에서 화학적 또는 효소적 가수분해 반응에 의한 인-시튜 분해 또는 광분해에 의한 절단에 영향을 받지 않는 중합체 조성물이다. 예를 들어, 화학적 분해는 적어도 1 년 또는 2 년의 기준 기간 동안에 낮거나 또는 0 이다.
- [0059] 하이브리드 이중 하이드로겔 분해성 연구는 유리하게는 pH 가 1 인 산 용액 및 pH 가 14 인 알칼리 용액 중에서 40 °C 에서 수행된다. 하이드로겔 조각을 이들 용액 각각에 넣고, 각각의 용액을 예를 들어 핫 플레이트를 사용하여 40 °C 에서 유지한다. 용액을 교반한다. 하이브리드 이중 하이드로겔 샘플 및 용액을 정기적으로 관찰한다. 예를 들어, 1 주일 후, 비-분해성 하이브리드 이중 하이드로겔은 양상이 변하지 않고, 용액이 투명하게 유지되는 것으로 관찰된다. 용액에서 샘플의 부유 잔류물은 관찰되지 않는다. 하이드로겔의 질량 손실도 관찰되지 않는다.
- [0060] 산 용액은 유리하게는 0.1 mol/L 의 염산 용액이다. 알칼리 용액은 유리하게는 1 mol/L 의 소다 용액이다.
- [0061] 하이브리드 이중 하이드로겔은 또한 고성능 액체 크로마토그래피에 의해 분석한다. 25 부피% 의 메탄올 및 75 부피% 의 물을 함유하는 혼합물이 바람직하게는 용리액으로서 사용된다. 용리액의 유속은 유리하게는 1 mL/min 이다. 사용된 컬럼은 Nova-Pack C18 150 mm 3.9 mm 역상 유형일 수 있다. 크로마토그램의 분석은 성분을 검색하여 하이드로겔의 분해를 감지할 수 있다.
- [0062] 비-분해성 하이브리드 이중 하이드로겔을 사용하면, 크로마토그램의 분석은 경시적으로 새로운 피크를 거의 나타내지 않는다. 예를 들어, 크로마토그램은 본 발명에 따른 하이드로겔, 예를 들어 HPMA (N-(2-히드록시프로필) 메타크릴아미드) 를 함유하는 하이드로겔의 주 성분을 모니터링하기 위해서 분석하였다. 고성능 액체 크로마토그래피 분석은 HPMA-기반 하이드로겔의 분해를 나타내지 않는다. 이들 관찰은 HPMA-기반 겔이 척수에 이식된 "생체내" 시험에 의해 확증된다. 전기영동에 의한 뇌척수액의 분석은 뇌척수액에서 올리고머 유형의 분해 생성물을 나타내지 않는다. 이러한 분해 생성물의 부재는 하이드로겔의 분해의 부재를 나타낸다.
- [0063] 또한, 생체 재수착성이 없고, 압축 가능한 하이드로겔을 갖는 것이 유리하다. 이러한 하이드로겔은 필터 임플란트로서 사용될 수 있으며, 예를 들어 신경계 및 특히 외상후 수질내 낭포성 공동의 기관의 해부학적 결함의 에지 사이에 삽입될 수 있다.
- [0064] 그러나, 임플란트는 거의 또는 전혀 분해되지 않기 때문에, 임플란트의 부피가 세포 재건을 방해해서는 안된다. 임플란트 내에서 세포 재생을 허용하는 관통 구멍을 갖는 다공성 하이브리드 이중 하이드로겔로부터 제조된 스캐폴드를 포함하는 필터 임플란트를 형성하는 것이 특히 유리하다. 도 1 에 도시한 바와 같이, 하이브리드 이중 하이드로겔 (1) 이 다공성 구조를 갖는 것이 특히 유리하며, 이의 기공은 겔의 부피의 3 차원에서 침투 배열 (2) 을 생성하기 위해서 서로 연통한다. 기공에 의해 형성된 관통 배열은 세포가 하이드로겔의 코어까지 이동 및 증식할 수 있게 하며, 세포 대사에 필요한 영양소의 수송 및 확산으로 인해 결합 및 생존할 수 있게 한다.
- [0065] 하이드로겔은 비-분해성이기 때문에, 기공 배열은 기공에서의 독성 또는 자극 분자의 정체와 함께 하이드로겔의 분해 증가를 유도하지 않는다.

- [0066] 임플란트는 하이드로겔의 3 차원에서 침투 경로를 정의하기 위해 임플란트를 통과하는 열린 기공이 있는 다공성 구조이다. 열린 기공은 조직으로부터 임플란트 코어까지의 세포 및 혈관 집락화를 향상시킬 뿐만 아니라, 임플란트를 통한 생물학적 유체, 세포 성장 인자, 세포 복구 인자 및 생리학적 영양소의 순환을 향상시킨다. 임플란트를 통한 다양한 유체의 흐름은 임플란트에서 생성된 조직의 혈관화를 촉진한다. 임플란트는 세포, 신경 섬유 및 혈관의 성장을 안내하는 기공을 통해 3 차원 지지 매트릭스를 형성한다. 세포 성장은 임플란트가 없는 것보다 임플란트와 접촉시에 품질이 더 양호하다. 임플란트는 하이드로겔에 의해서만 형성되어야 한다.
- [0067] 바람직한 방식에 있어서, 임플란트를 형성하는 하이드로겔의 다공성 분획은 부피가 85 % 초과, 보다 바람직하게는 90 % 이상, 및 더욱 바람직하게는 92 % 이상이다. 다공성 분획은 수은 다공성 측정 기술로 계산할 수 있다.
- [0068] 10 내지 30 마이크론의 직경을 갖는 기공에 의해 형성되는 다공성 분획의 대부분이 하이브리드 이중 하이드로겔을 갖는 것이 바람직하다. 바람직하게는, 다공성 분획의 60 % 이상은 10 내지 30 마이크론의 직경을 갖는 기공에 의해 형성된다. 다시 말해서, 기공 부피의 60 % 이상은 10 내지 30 마이크론의 직경을 갖는 기공에 의해 구성된다.
- [0069] 또한, 30 내지 300 마이크론의 직경을 갖는 기공이 10 마이크론 미만의 직경을 갖는 기공의 분획보다 큰 분획을 나타내는 하이브리드 이중 하이드로겔을 갖는 것이 유리하다. 바람직한 방식에 있어서, 30 내지 300 마이크론의 직경을 갖는 기공의 분획은 20 % 초과, 더욱 바람직하게는 30 % 초과이다. 30 내지 300 마이크론의 직경을 갖는 기공의 분획은 다세포 조직과 같은 큰 크기의 생물학적 물체를 수용하는데 특히 유리하다. 유리하게는, 10 마이크론 미만의 직경을 갖는 기공의 분획은 15 % 미만, 더욱 바람직하게는 10 % 미만이다. 하이브리드 이중 하이드로겔은 관통 다공성 배열에서 1 마이크론 미만의 크기를 갖는 기공을 부피 기준으로 2 % 미만으로 포함하는 것이 추가로 유리하다.
- [0070] 기공 치수의 이러한 분포는 생물학적 화합물이 생체 조직의 생물학적 화합물의 전체 치수 스펙트럼을 덮는 임플란트를 통과하도록 한다. 이것은 회복될 기관의 조직 등가물로서 임플란트를 사용하여 구현하는 것을 더 쉽게 한다.
- [0071] 임플란트의 기공은 염증 세포에 의해 분비되는 케모카인의 순환과 호환 가능하다. 임플란트의 구성은 신경 교 세포, 중간엽 세포, SDF-1 인자를 분비하는 연수막과 관련된 줄기/전구 세포 및 신경 분화 가능성이 있는 중심 채널의 상피와 관련된 줄기/전구 세포의 침투, 혈관의 침투 및 재생 신경 섬유의 성장을 가능하게 한다.
- [0072] 또한, 세포 집락화 또는 세포 바이오버튼의 양에 따라 점진적으로 다공성 배열의 구성을 변화시키는 특성을 나타내는 물질로부터 하이브리드 이중 하이드로겔을 형성하는 것이 유리하다. 하이브리드 이중 하이드로겔은 세포 집락화 및/또는 세포 바이오버튼에 의해 적용되는 응력하에서 변형될 수 있다. 임플란트는 재생이 발생함에 따라 세포 조직에 의해 가해지는 압력하에서 점진적으로 변형된다. 하이드로겔은 세포 바이오버튼의 기계적 응력으로 변형되어, 침투 채널을 유지하는 구조를 가능하게 해야 한다.
- [0073] 하이드로겔이 비-분해성 하이브리드 이중 하이드로겔로서 간주되기에 충분히 낮은 분해 속도로 점탄성 방식으로 변형 가능한 다공성 하이브리드 이중 하이드로겔로 제조된 스케폴드를 포함하는 필터 임플란트를 형성하는 것이 특히 유리하다. 다공성 임플란트가 차지하는 부피는 하이드로겔 주변 및 내부의 재생 속도와 일치하도록 부분적으로 적응하기 위해서 재생이 발생함에 따라 변형될 것이다.
- [0074] 세포 및 신경 재생이 발생하는 경우, 하이브리드 이중 하이드로겔의 거대분자 골격은 일정하게 또는 실질적으로 일정한 부피로 변형된다. 임플란트에 세포가 축적되는 동안, 및 형성 중인 신생조직이 확장되는 동안, 중합체 배열은 세포 축적에 의해 가해지는 기계적 압력하에서 변형된다. 임플란트의 구조는 세포 바이오버튼에 의해 적용되는 응력에 적응하기 위해서 1 내지 200 KPa의 탄성 계수를 갖는 물질로 제조된다. 탄성 계수 값은 절단 전 변형의 50 %에서 측정할 수 있다.
- [0075] 세포 바이오버튼이 점진적으로 증가함에 따라, 임플란트는 임플란트에서의 세포 바이오버튼에 의해 도입되는 기계적 응력에 따라서 변형된다. 임플란트는 특히 관통 채널에서 세포 성장을 방해하지 않도록 탄성적으로 변형된 후에 점탄성적으로 변형된다. 변형에도 불구하고, 임플란트는 완전한 조직 재생을 보장하기 위해서 신장하는 3 차원 침투 배열을 유지한다. 일단 조직이 재건되면, 임플란트의 잔류 중합체 배열은 기계적 변형을 가하여 형성되는 신생조직을 안정화시키는 세포간 지지 매트릭스 역할을 한다.

- [0076] 임플란트의 표면은 큰 거칠기를 가지며, 이는 임플란트와 접촉하는 조직의 세포 사이의 접촉 표면을 증가시켜 숙주 조직과의 양호한 접착을 만들고, 이는 두 환경 사이의 접착을 촉진할 것이다. 침투 배열에 연결되는 임플란트의 표면에서의 열린 기공은 세포에 필요한 생물학적 유체, 세포 성장 인자 및 생리학적 영양소의 순환과 동시에 접촉하는 조직으로부터 임플란트 코어까지 세포 및 혈관 집락화를 촉진한다.
- [0077] 기관 및/또는 조직 재생의 치료 및 복구에 적합한 탄성 특성 및 다공성 구조를 갖는 매트릭스를 형성할 수 있는 하이브리드 이중 하이드로겔의 사용, 및 특히 이식 가능한 생체물질로서의 이의 사용은 문헌 FR 2942408로부터 공지되어 있다. 이러한 물질은 세포 조직의 재생 속도보다 낮은 분해 속도를 가진다는 것을 관찰하였다.
- [0078] 문헌 FR 2942408로부터 공지된 하이브리드 이중 하이드로겔을 개선하여, 3 차원에서 침투 채널을 구체적으로 정의하며, 탄성 계수가 1 내지 200 kPa 인 점탄성 거동을 갖는 다공성 구조를 가지는 비-분해성 스케폴드를 형성하는 것이 특히 유리하다.
- [0079] 3 개 이상의 단량체 - 에틸렌 라디칼에 의해 관능화된 덴드리머 단량체, 아크릴아미드 단량체 및 가교제로부터 유도되는 공중합체인 하이브리드 이중 하이드로겔을 사용하는 것이 유리하다. 특정한 구성에 있어서, 하이브리드 이중 하이드로겔은 생체활성 공중합성 물질을 포함한다. 또다른 특정한 구성에 있어서, 하이브리드 이중 하이드로겔은 임의의 생체활성 공중합성 물질을 함유하지 않는다. 생체활성화는 형성된 하이드로겔 상에서 후속적으로 수행될 수 있다.
- [0080] 생체활성 공중합성 물질은 복합 당, 조직 접착 펩티드 및 지질 유도체에 대해 지시된 항체와 결합된 중합체 접합체의 유도체를 포함하는 군에서 선택된다. 바람직하게는, 생체활성 공중합성 물질은 복합 당, 조직 접착 펩티드 및 지질 유도체에 대해 지시된 항체와 결합된 중합체 접합체의 메타크릴로일 또는 메타크릴아미드 유도체이다.
- [0081] 생체활성 공중합성 물질은 바람직하게는 예를 들어 글루코사민, N-아세틸-글루코사민, N-디글리시딜-글루코사민, N-아세틸갈락토사민, N-아세틸뉴라민산 (시알산) 및 폴리시알산에서 선택되는 복합 당의 메타크릴로일 또는 메타크릴아미드 유도체일 수 있다.
- [0082] 생체활성 공중합성 물질은 바람직하게는 Arg-Gly-Asp, Ile-Lys-Val-Ala-Val, Ala-His-Ala-Val-Ser-Glu, Tyr-Ile-Gly-Ser-Arg 와 같은 아미노산 서열을 함유하는 조직 접착 올리고펩티드, 조직 분화 분자의 올리고펩티드 유도체, 예를 들어 골 형태형성 단백질 또는 SDF-1 (기질 세포 유래 인자-1) 패밀리의 단백질, CXCR4 수용체를 발현하는 내인성 줄기 세포를 동원하고 유인하는 능력 및 조직 재생이 일어날 때 축삭의 성장을 자극하는 능력을 가지는 케모카인에서 선택되는 조직 접착 펩티드의 메타크릴로일 또는 메타크릴아미드 유도체일 수 있다.
- [0083] 생체활성 공중합성 물질은 바람직하게는 축삭과 관련된 미엘린 및 이의 지질 유도체에 대한 항체와 결합된 중합체 접합체의 메타크릴로일 또는 메타크릴아미드 유도체일 수 있다.
- [0084] 아크릴아미드 단량체는 유리하게는 N-치환된 메타크릴아미드 또는 N-치환된 아크릴아미드이다. 탄성 계수의 값은 하이드로겔의 가교 밀도, 즉, 아크릴아미드 단량체로부터 형성되는 거대분자 사슬 사이의 공유 결합의 수에 의해, 바람직하게는 거대분자 HPMA 사슬 사이의 공유 결합의 수를 모니터링함으로써 부분적으로 정의된다.
- [0085] N-치환된 메타크릴아미드는 바람직하게는 N-모노알킬메타크릴아미드, N,N-디알킬메타크릴아미드, N-히드록시알킬메타크릴아미드, 바람직하게는 N-(2-히드록시프로필)메타크릴아미드 (HPMA), N-알킬, N-히드록시알킬메타크릴아미드 및 N,N-디히드록시알킬메타크릴아미드로 이루어진 군에서 선택된다.
- [0086] N-치환된 아크릴아미드는 바람직하게는 N-모노알킬아크릴아미드, N-히드록시알킬아크릴아미드, N,N-디알킬아크릴아미드, N-알킬, N-히드록시알킬아크릴아미드 및 N,N-디히드록시알킬아크릴아미드로 이루어진 군에서 선택된다.
- [0087] 덴드리머 단량체는 바람직하게는 중심 코어 A 및 폴리에틸렌 옥사이드 (PEO) 의 거대분자 수지상 분지를 포함한다. 수지상 분지 중 단지 하나는 유리하게는 말단 위치에서 에틸렌 라디칼에 의해 관능화된다. 에틸렌 라디칼은 하나 이상의 반응성 비닐 이중 결합을 포함하는 단량체와 반응하기 위해서 불포화된다. 다른 수지상 분지는 바람직하게는 히드록실 관능기로 말단화되며, 에틸렌 라디칼이 없다. 이들은 또한 에스테르 또는 아미드 관능기와 같은 다른 관능기에 의해 공중합 전에 관능화될 수 있다. 에틸렌 라디칼은 유리하게는 아크릴레이트 또는 메타크릴레이트 라디칼이다. 덴드리머의 성상 구조는 다관능성 가변 기하구조가 하이드로겔에 도입되어, 특정한 방식으로 다른 물질과 예상되는 다중 상호 작용에 반응할 수 있도록 한다. 분지 중 하나만이 관능화된다는 표시는, 평균적으로 덴드리머 단량체가 불포화 에틸렌 라디칼이 제공된 단일 분지에 의

해 관능화되는 것을 나타내는 통계적 결과에 해당한다.

[0088] 하이브리드 이종 하이드로겔에서의 관능성 히드록실기는 독립체, 예를 들어 폴리펩티드, 활성 성분, 리간드, 중합성 기 또는 올리고당과 같은 생체활성제를 부착함으로써 개질될 수 있다.

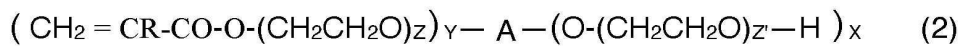
[0089] 특정한 구현예에 따르면, 중심 코어 A 는 카르보실란, 폴리카르보실란, 성상-구조 폴리카르보실란, 또는 하기 화학식 (1) 에 따른 기에서 선택되는 기이다:

[0090] $-(CH_2)_n-Si-(CH_2)_n-$ (1)

[0091] (식 중, n 은 1 내지 20, 바람직하게는 6 의 정수이다).

[0092] 변형에 따르면, 중심 코어 A 는 폴리(디비닐벤젠)이다.

[0093] 바람직한 구현예에 따르면, 덴드리머 단량체는 하기 화학식 (2) 에 따른다:



[0094]

[0095] (식 중:

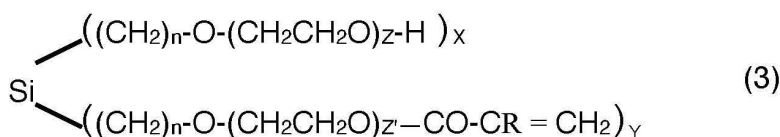
[0096] R 은 H 또는 CH_3 이고,

[0097] X 및 Y 는 1 내지 100 의 정수이고, 합 X+Y 는 4 배수이며,

[0098] Z 및 Z' 는 동일하거나 상이하고, 1 내지 100 이며,

[0099] A 는 바람직하게는 카르보실란, 폴리카르보실란, 성상-구조 폴리카르보실란, 또는 화학식 (1) 에 따른 기이다).

[0100] 또다른 바람직한 구현예에 따르면, 덴드리머 단량체는 하기 화학식 (3) 에 따른다:



[0101]

[0102] (식 중:

[0103] R 은 H 또는 CH_3 이고,

[0104] n 은 1 내지 20, 바람직하게는 6 의 정수이고,

[0105] Z 및 Z' 는 동일하거나 상이하고, 1 내지 100 이며,

[0106] X 는 1, 2 또는 3 이고,

[0107] Y 는 식 $Y=4-X$ 에 따른다).

[0108] 유리하게는, 덴드리머 단량체는 메틸 메타크릴레이트 라디칼에 의해 관능화되며, PEO 의 4 개의 수지상 분지 및 헥산을 브릿지, 즉, 화학식 (3) (식 중, R = CH_3 , n = 6, X = 3, Y = 1 및 Z = Z') 의 구조를 갖는 실란 중심 코어 A 를 가진다. 명확성의 이유로, 이러한 덴드리머 단량체는 표기 Si-PEO4-MMA 로 식별될 것이다.

[0109] 하이드로겔의 기계적 및 화학적 특성은 또한 수지상 분지의 유리 히드록실 말단 상에 친수성, 소수성 및/또는 인장활성 특성과 같은 특정한 특성을 가지는 그래프팅 기능에 의해 조정될 수 있다. 히드록실 관능기는 산소 원자의 친핵체 특성으로 인해 용이하게 관능화될 수 있다. 이 관능기는, 예를 들어 염기성 처리에 의해 용이하게 활성화되는 것으로 알려져 있다. 또한, 하이브리드 이종 하이드로겔의 고유 특성은 하이드로겔 골격에 통합된 덴드리머 단량체의 수와 중심 코어 A 의 성질을 변화시킴으로써 개질될 수 있다. 수지상 분지의 수는 물 및 유기 용매에서 거대분자의 용해도를 제어한다.

[0110] 하이브리드 이종 하이드로겔은 서로 조립되어 관통 다공성 배열을 정의하는 다수의 마이크로비이드에 의해 주로 형성되거나 또는 구성된다. 마이크로비이드는 구형 또는 실질적으로 구형을 나타내며, 주로 1.5 마이크로

초과 10 마이크로미터의 직경을 나타낸다. 바람직한 방식에 있어서, 마이크로비이드는 세포 바이오버튼에 의해 적용되는 응력에 따라 채널의 변형을 보다 양호하게 제어하기 위해서 2 내지 5 마이크로미터의 직경을 주로 나타낸다.

[0111] 3 차원 침투 배열의 형태를 보다 양호하게 제어하기 위해서, 5 개 이상의 마이크로비이드 내지 50 개 미만의 마이크로비이드, 및 바람직하게는 10 개 이상의 마이크로비이드를 포함하는 응집체 형태의 하이드로겔 마이크로비이드를 응집시키는 것이 바람직하다. 유리한 방식에 있어서, 마이크로비이드는 서로 응집되어 10 내지 30 개의 마이크로비이드 그룹의 응집체를 형성한다. 또한, 하이드로겔 마이크로비이드는 스캐폴드의 양호한 변형성을 보장하면서 효율적인 다공성 배열의 형성을 용이하게 하는 "포도 다발" 이라고 하는 구성으로 서로 응집되는 것이 특히 유리하다. 응집체는 5 내지 10 마이크로미터의 직경을 갖는 마이크로비이드에 의해 형성되는 것이 바람직하다. 응집체는 바람직하게는 하이드로겔 매트릭스의 1 차 배열을 형성한다. 응집체는 하나의 응집체가 다른 응집체에 대해 이동할 수 있도록 하는 부착 지점에 의해 서로 고정된다. 포도 다발 형태에서, 단면은 한쪽 끝에서 다른쪽 끝까지 증가하며, 단면은 응집체의 길이에 수직으로 실질적으로 원통형이다. 포도 다발 형태는 세포와 임플란트 사이의 상호 작용을 촉진하여, 다세포 조직 구조의 형성 및/또는 신경 섬유 성장의 성장을 촉진하기 위해서 선형 형태보다 더 유리하다. 포도 다발 형태는 또한 접착력을 향상시킨다.

[0112] 응집체에서, 마이크로비이드는 변형 가능한 가교점에 의해 서로 고정되어 마이크로비이드가 서로에 대해 이동하고, 적용된 기계적 응력에 따라서 하이드로겔 이중 하이드로겔 스캐폴드의 형태를 적응시킬 수 있다. 응집체는 압축될 수 있다. 중합체 사슬은 연신에 의해 가교점 사이에서 변형된다. 가교점은 서로 멀어지게 이동하여 하이드로겔의 다공성 분획이 증가한다. 세포 및 신경 재생이 일어나는 경우, 임플란트의 총 다공성 부피는 이방성 구성으로 일정한 부피로 증가한다.

[0113] 마이크로비이드 응집체는 마이크로비이드의 표면과 접촉하는 이동 세포에 의해 가해지는 모세관 압력에 반응하여 마이크로비이드 응집체의 수축을 허용하도록 서로에 대해 이동 방식으로 구성된다. 마이크로비이드 응집체는 후자의 수축이 다공성 배열을 확장하고, 형성 조직의 확장에 사용할 수 있는 다공성 부피를 증가시키는 효과를 갖도록 구성된다.

[0114] 응집체는 서로 고정되어 메조다공성 및 거대다공성 영역을 포함하는 다공성 배열을 형성한다. 응집체에 의해 정의되는 여러 기공은 서로 연결되어, 특정한 비틀림을 나타내고 초기 구성에서 하이드로겔을 통과하는 침투 배열을 형성한다. 현미경 수준에서, 조직 생체 재건 과정이 발생할 때, 침투 배열은 3 차원 공간에서 하이드로겔을 통해 세포, 혈관 및 신경 섬유의 침투를 허용한다. 병행하여, 마이크로비이드는 20 nm 미만의 크기, 바람직하게는 1.5 내지 11 나노미터 범위 내에서 변하며, 6 나노미터의 평균 직경을 갖는 크기를 가지는 미세기공을 정의한다. 이들 미세기공은 단혀 있으며, 소통되지 않는다. 미세기공은 마이크로비이드의 표면에서 크레이터를 형성하며, 이는 하이드로겔 마이크로비이드를 별집 모양의 표면으로 만든다. 이들 미세기공은 표면을 생성하며, 이들 하이드로겔 마이크로비이드로부터 형성되는 거대분자 하이드로겔 배열의 내부 비표면적의 증가에 기여한다. 거대분자 배열 표면의 이러한 증가와 마이크로비이드의 표면 지형은 세포막과의 상호작용, 특히 이동하는 세포의 국소 접촉을 촉진한다.

[0115] 바람직하게는, 침투 배열은 25 m²/g 이상, 유리하게는 50 m²/g 이상의 큰 내부 비표면적을 정의한다.

[0116] 선행 기술에서, 하이드로겔 매트릭스의 분해로 인해, 세포 바이오버튼 질량이 시간에 따라 증가하고, 하이드로겔 매트릭스에 의해 손실된 부피를 부분적으로 채우는 것이 관찰되었다. 또한, 하이드로겔의 분해 속도는 임플란트가 초기에 차지한 부피에서 바이오버튼의 분포를 복잡하게 하는 세포 집락화 속도보다 높다는 것이 분명하다. 이에 반해, 다공성 및 점탄성 변형 가능한 비-분해성 하이드로겔 하이드로겔을 사용하면, 하이드로겔의 압축 및 변형의 이점을 이용하여 조직 결함의 부피 단위 당 바이오버튼이 증가한다. 세포 집락화는 보다 양호하게 습득된다. 변형 가능한 거대분자 배열은 기능적 신생조직을 형성하기 위해서 자율적인 방식으로 조직, 이동 및 분화하는 세포의 성장과 함께 경시적으로 개질된다.

[0117] 불균일한 가교 밀도를 갖는 임플란트를 형성하는 것이 특히 유리하다. 가교도의 차이는 사용되는 제조 방법에 의해 정의될 수 있다. 반응 혼합물의 상 분리를 시행하는 방법에 의해 하이드로겔의 공중합을 사용하는 것이 바람직하며, 또한 열적 수단을 통해 유도되는 중합으로부터 상 분리가 발생하는 공중합 방법을 시행하는 것이 유리하다. 정의된 온도 범위에서 가교를 수행하여 상 분리를 제어하는 것이 특히 유리하다. 예를 들어, 양호한 결과는 40 °C 내지 60 °C 의 상 분리로 수득되었다. 보다 양호한 성능을 갖는 스캐폴드는 45 °C 내지 55 °C 의 가교로 수득되었다. 더욱 양호한 성능을 갖는 스캐폴드는 49 °C 내지 51 °C 의 가교로 수

득되었다. 이러한 온도 범위의 사용은 마이크로비이드의 치수를 보다 양호하게 정의할 수 있게 한다.

- [0118] 또한, 양호한 기계적 성능 및 관통 채널을 연관시키는 하이드로겔의 형성을 보장하기 위해서 중합 속도를 제한하는 것이 유리하다. 바람직한 방식에 있어서, 가교 시간은 임플란트를 형성하기 위해서 6 시간 초과 또는 심지어 12 시간 초과이다.
- [0119] 가교 밀도가 높은 응집체가 하이드로겔 배열의 영역인 임플란트를 제조하는 것이 특히 유리하다. 하이드로겔은 약하게 가교된 영역에 의해 서로 강하게 가교된 응집체에 의해 형성된다. 강하게 가교된 응집체는 약하게 가교된 영역에 의해 서로에 대해 이동할 수 있는 기계적 지지 영역을 형성한다.
- [0120] 응집체 사이의 가교점은 공유 결합, 즉, 비-분해성으로서 간주될 수 있는 화학 결합에 의해 형성되며, 이는 응집체 사이에 양호한 기계적 강도를 생성한다. 중합체 사슬 농도가 높은 영역 및 중합체 사슬 농도가 낮으며 자유수를 함유하는 공동을 형성하는 영역을 정의하는 하이드로겔 부피에서 통계적인 방식으로 분포되는 응집체를 제공하는 것이 유리하다.
- [0121] 강하게 가교된 영역에서 2 개의 가교점 사이의 평균 거리는 약하게 가교된 영역에서 2 개의 가교점 사이의 평균 거리의 20 % 미만, 바람직하게는 약하게 가교된 영역에서 2 개의 가교점 사이의 평균 거리의 10 % 미만이다.
- [0122] 강하게 가교된 영역의 비율은 하이드로겔 침입의 총 부피의 60 % 이상을 나타내는 것이 바람직하다. 또한, 강하게 가교된 영역의 비율은 하이드로겔 침입의 총 부피의 80 % 미만을 나타내는 것이 유리하다.
- [0123] 임플란트의 표면은 편평하지 않다. 이것은 마이크로비이드의 조립에서 비롯된 결합, 예를 들어 돌기를 나타낸다.
- [0124] 마이크로비이드가 90 중량% 이상 또는 심지어 95 중량% 이상을 포함하거나, 또는 아크릴아미드 화합물, 예를 들어 N-치환된 메타크릴아미드 또는 N-치환된 아크릴아미드에 의해 구성되어, 세포 버든으로 임플란트의 변형을 보장하는 마이크로비이드 탄성 특성을 제공하는 하이브리드 이중 하이드로겔을 제조하는 것이 특히 유리하다. 특정한 방식으로, 아크릴아미드 화합물로 주로 또는 독점적으로 제조된 마이크로비이드는 1.5 내지 10 마이크로론, 바람직하게는 2 내지 5 마이크로론의 직경을 가진다.
- [0125] 바람직한 방식에 있어서, 마이크로비이드는 중량 기준으로 HPMA, 바람직하게는 강하게 가교된 HPMA 를 주로 함유한다. 유리한 방식에 있어서, 강하게 가교된 마이크로비이드는 1 mol% 초과와 가교제의 가교 속도를 가진다. 이러한 가교 속도의 사용은 하이드로겔의 부피 단위 당 선형 중합체 사슬 사이의 횡방향 화학 결합의 충분한 수의 존재를 보장한다. 이러한 구성은 최종 질량의 96 % (물 g / 건조 물질 g) 의 평형에서 팽윤 비율에 대해 중합체 배열, 예를 들어 HPMA 의 충분한 응집력을 하이드로겔에 제공한다. 이 경우, 이러한 비율은 바람직하게는 0.95 mol% 이다. 더 약하게 가교된 물질 (예를 들어, HPMA) 을 사용하여, 마이크로비이드 사이의 결합을 형성하고 마이크로비이드 응집체를 정의할 수 있다.
- [0126] 관능화된 덴드리머 단량체가 폴리옥시에틸렌의 하나 이상의 거대분자 수지상 분지를 포함하는, 마이크로비이드에 의해 묘사되는 임플란트의 관통 채널을 제공하는 것이 특히 유리하다. 폴리옥시에틸렌의 거대분자 수지상 분지는 하나 이상의 활성 분자, 예를 들어 상지에서 기술한 생체활성 공중합성 물질 중 하나에 의해 관능화된다. 그러면, 침투 배열의 표면을 관능화시켜, 임플란트 내에서 세포 재건을 촉진하는 것이 가능하다.
- [0127] 활성 분자는 복합 당의 유도체, 조직 접착 펩티드 또는 혈관신생 활성을 갖는 펩티드의 유도체, 신경 재생을 자극하는 펩티드의 유도체, 세포 증식 및 분화를 자극하는 펩티드의 유도체, 지질 유도체에 대해 지시된 항체와 결합된 중합체 접합체의 유도체, 및 기질 유래 인자-1 (SDF-1) 클래스의 케모카인으로 이루어진 군에서 선택된다.
- [0128] 또한, 아크릴아미드 화합물이 N-(2-히드록시프로필) 메타크릴아미드 (HPMA) 이고, 에틸렌 라디칼에 의해 관능화된 덴드리머 단량체가 조직 재생을 위한 생체활성 특성을 부여하는 생체활성제로 주변이 관능화된 폴리옥시에틸렌 덴드리머를 포함하는 마이크로비이드의 사용을 제공하는 것이 유리하다.
- [0129] 문헌 FR 2942408 과 동일한 방식으로, 하이브리드 이중 하이드로겔은 라디칼 공중합에 의해 제조될 수 있다. 바람직한 중합 방법은 극성 유기 매질, 및 유리하게는 이중-유기 극성 매질, 예를 들어 아세톤/DMSO 혼합물 중에서 수행된다.
- [0130] 유리한 방식에 있어서, 라디칼 공중합 이외에, 공중합은 중합-유도된 상 분리 (PIPS) 와 연관된다. 이러한 방식으로, 단량체와 극성 용매의 초기 균질한 용액은 공중합 동안에 분리되어 마이크로비이드를 형성한다.

유리하게는, 관능화된 텐드리머 단량체와 가교제 사이의 몰비는 0.1 내지 0.8 이며, 예를 들어 PEO-MMA / MbisAA 비는 0.1 내지 0.8 이다. 이러한 비율 값을 사용하면, 상 분리는 코일이라고 하는 원사의 볼을 정의하여 마이크로비이드를 형성한다. 45 °C 내지 55 °C 의 온도 범위에서, 직경이 1.5 내지 10 마이크로인 아크릴아미드 화합물로부터 제조된 코일을 주로 수득하는 것이 더 용이하다. 이러한 비율 값은 또한 3 차원 침투 배열의 형성을 허용한다. 6,220 g/mol 내지 23,280 g/mol 의 분자량을 갖는 관능화된 텐드리머 단량체를 선택함으로써, 생성된 코일의 수 및 코일의 크기 분포를 제어하는 것이 훨씬 더 용이하다. 이러한 특정 한 범위에서, 관능화된 텐드리머 단량체의 몰 질량이 증가하면, 코일의 수가 증가하고 크기 분포가 감소한다.

[0131] 하이브리드 이중 하이드로겔의 형성 방법은 코일 형상의 중합체 사슬로 구성된 불용성 핵을 형성하는 반응 혼합물의 반응의 첫번째 단계를 포함한다. 도 2 에 도시한 바와 같이, 반응 혼합물은 반응 혼합물과 접촉하는 PTFE 로부터 제조된 벽 (4) 을 갖는 단단한 원통형 열전도 금형 (3) 에 주입된다. 반응 혼합물은 아르곤으로 탈기될 수 있다.

[0132] 마이크로비이드는 결합되어 응집체를 형성하며, 응집체는 서로 연결되어 필러 임플란트를 형성하도록 설계된 하이브리드 이중 하이드로겔을 형성한다.

[0133] 또한, 마이크로비이드 응집체를 공급하고, 3 차원 프린팅 방법에 의해 응집체를 서로 조립하여 필러 임플란트를 형성하는 것이 가능하다. 임플란트의 형태는 3 차원 프린팅 장비에 의해 직접 정의된다.

[0134] 공중합은 가교제를 사용하여 수행된다. 가교제는 메틸렌 비스아크릴아미드 (MbisAA) 와 같은 아크릴아미드, 이의 전구체 또는 디비닐벤젠 (DVB) 과 같은 디비닐 화합물일 수 있다. 자유 라디칼 중합 개시제는 아조비스이소부티로니트릴 (AIBN) 또는 벤조일 퍼옥사이드와 같은 공지의 개시제로부터 선택된다.

[0135] 가교제는 바람직하게는 2 개의 비닐기를 갖는 메틸렌 비스아크릴아미드 (MbisAA) 이다. 메틸렌 비스아크릴아미드는 단지 하나의 비닐기를 갖는 N-(2-히드록시프로필)메타크릴아미드 (HPMA) 와 비교해서 더 큰 반응성을 허용한다. 이것은 마이크로비이드를 형성하기 전에 핵을 형성하는 성장 사슬에서 메틸렌 비스아크릴아미드의 보다 빠른 혼입을 가능하게 한다.

[0136] 폴리옥시에틸렌이 신경막에 대한 신경보호 효과를 나타내며, 병변 후 산화적 응력을 감소시키기 때문에, 폴리옥시에틸렌 하이드로겔을 사용하는 것이 특히 유리하다 (Luo et al. Polyethylene glycol immediately repairs neuronal membranes and inhibits free radical production after spinal cord injury. J. Neurochem. 83, 471, 2002). 특히 혈중 단백질의 비-특이적 흡수를 방지함으로써 하이드로겔의 생체적합성을 향상시키고, 이로써 식세포의 동원에 관여하는 펩티드에의 C3 단백질의 절단에 의해 보체의 활성화를 감소시킴으로써 국소 염증 반응을 조절하는 폴리옥시에틸렌 분자를 갖는 분지형 성장 구조의 하나 이상의 중합체로부터 형성된 하이드로겔을 사용하는 것이 바람직하다 (Nilsson, B., et al. The role of complement in biomaterial-induced inflammation. Mol Immunol 44, 82, 2007).

[0137] 이들 분지형 분자는 폴리옥시에틸렌 분자의 말단 위치에서 생체접합에 의해 펩티드, 생체활성 당, 및 케모카인의 부류의 관능기로 개질될 수 있다. N-(2-히드록시프로필) 메타크릴아미드로 구성된 구조 및 관능기의 분지형 폴리옥시에틸렌 중합체 백터에 의해 형성되는 분지형 구조를 포함하는 스캐폴드에서 형성되는 다공성 구조를 갖는 하이드로겔 물질을 형성하는 것이 특히 유리하다. 관능기는 바람직하게는 세포의 인테그린 수용체와 상호 작용하는 올리고펩티드와 같은 짧은 펩티드, 예를 들어 비제한적으로, 하기의 서열 Arg-Gly-Asp, (RGD), Arg-Gly-Asp-Ser (RGDS), Ile-Lys-Val-Ala-Val (IKVAV) 이다. 다른 관능기는 하나 이상의 시알산, 예를 들어 시알릴락토오스 (Neu5Ac- α 2,3-Gal- β 1,4-Glc), 및 또한 술페이트 올리고당, 예컨대 HNK1 (SO₄-3-Glc β 1-4Gal β 1-4GlcNac-R) 또는 푸코실화 올리고당, 예를 들어 Fuc α (1-2)Gal 과의 올리고머 접합체일 수 있다. 생체활성제는 또한 BDNF ("뇌 유래 신경영양 인자"), IGF-1 ("인슐린 유사 성장 인자"), NT-3 ("뉴로트로핀"), GDNF ("신경교 유래 신경영양 인자") 를 비제한적으로 포함하는 축삭 재생을 자극하는 성장 인자에서 선택될 수 있거나; 또는 FGF ("섬유아세포 성장 인자"), 및 EGF ("상피 성장 인자"), PDGF ("혈소판 유래 성장 인자"), VEGF ("혈관내피 성장 인자"), PlGF ("태반 성장 인자"), NGF ("신경 성장 인자") 및 TGF ("변환 성장 인자") 와 같은 신경 전구체의 증식을 자극하는 성장 인자는 POE 와 접합될 수 있다.

[0138] 수용체 CXCR4 를 발현하는 내인성 줄기 세포를 유인하는 능력 및 조직 재생이 일어날 때 축삭의 성장을 자극하는 능력을 가지는 SDF-1 (기질 유래 인자-1) 케모카인과 같은 전구체 줄기 세포의 동원을 자극하는 생체활성제, G-CSF (과립구 집락 자극 인자), GM-CSF (과립구-대식세포 집락 자극 인자) 또는 SCF (줄기 세포 인자) 사이토카인 및 인터루킨 (IT-8).

- [0139] 하이드로겔의 하나의 구현예는 유리하게는 불활성 분위기에서 제조되며, 반응 혼합물의 총 중량의 30.4 중량%에 대해 100:1의 몰비로 2개의 비닐기를 포함하는, N-(2-히드록시프로필) 메타크릴아미드와 가교제 N,N'-메틸렌비스아크릴아미드 또는 N,N'-메틸렌비스메타크릴아미드를 결합하는 하이드로겔; 이중-유기 극성 용매 아세톤/DMSO (93/7 v/v)를 포함한다.
- [0140] 반응 혼합물은 아르곤으로 탈기되며, 반응 혼합물과 접촉하는 PTFE로 제조된 벽이 있는 단단한 원통형 열전도 금형에 주입된다. 유리한 방식에 있어서, 초기 반응 혼합물은 바람직하게는 스테인리스 강으로부터 제조된 금속 금형에 배치되며, 이의 내벽은 폴리테트라플루오로에틸렌 (PTFE)으로 덮혀 있다. 반응 혼합물은 금형 내부에서 직접 불활성 기체로 퍼지된다. 바람직하게는, 금형은 직경 크기의 2배 이상의 높이를 갖는 원통형 단면을 가진다. 금속 금형의 사용은, 중합 동안에 금형 및 반응 혼합물의 온도를 고정시키는 물 중탕과 함께 이것을 사용하는 것을 보다 용이하게 한다. 이러한 구성은 마이크로비이드 및 기공의 치수를 보다 양호하게 제어할 수 있다.
- [0141] 라디칼 중합 반응은 바람직하게는 아조비스이소부티로니트릴 개시제의 존재하에 50 °C에서 수행된다. 중합 과정에서 금형 및 반응 혼합물의 온도를 5 °C 이상, 바람직하게는 10 °C 이상 상승시키는 것이 특히 유리한 것으로 관찰되었다. 온도 상승은 20 °C 미만인 것이 유리하다. 또한, 물로 포화되기 전에 크세로겔, 즉, 하이드로겔을 분해시키지 않도록 하기 위해서, 중합의 최대 온도는 70 °C 미만, 및 더욱 바람직하게는 65 °C 미만인 것이 유리하다. 이러한 온도 상승은 하이드로겔에서 중합체 사슬의 보다 균일한 분포를 가능하게 하며, 보다 양호한 효율을 수득할 수 있다. 바람직한 방식에 있어서, 온도 상승은 마이크로비이드 또는 대부분의 마이크로비이드의 형성 후에 수행된다. 온도 상승은 적어도 중합 80분 후, 더욱 바람직하게는 중합 90분 후에 일어날 수 있다. 중합은 마이크로비이드를 형성하는데 사용되는 첫번째 온도 안정기, 예를 들어 45 °C 내지 55 °C, 바람직하게는 50 °C의 온도 안정기로 수행될 수 있다. 이어서, 첫번째 온도 안정기 다음에는 두번째 온도 안정기, 또는 가능하게는 첫번째 안정기의 온도보다 적어도 5 °C 높은 온도로의 온도 구배 또는 또다른 형태의 어닐링이 후속된다. 2개의 상이한 온도 범위의 사용은 마이크로비이드의 치수를 보다 양호하게 제어할 수 있으며, 달성하고자 하는 응집체의 치수를 보다 양호하게 제어할 수 있다. 바람직하게는, 첫번째 온도 안정기 동안에, 올리고머 농도가 올리고머의 축합에 의해 보다 긴 사슬이 형성될 수 있게 하는 임계 값에 도달할 때까지 중합이 수행된다. 올리고머의 축합은 상이한 밀도를 갖는 적어도 2개의 상의 출현을 유도한다. 중합 온도를 변경하여 상 분리를 수행하는 것이 유리하다.
- [0142] 임계 올리고머 농도에 도달했는지를 감지하기 위해서는, 반응의 흡광도 신호를 모니터링하는 것이 유리하다. 예를 들어, 흡광도 신호는 자외선-가시광선 범위에서 흡수 분광법 (광학 밀도)에 의해 모니터링한다. 올리고머의 축합에 의해 수득된 장치의 충분한 양의 감지는 임계 흡광도 값 또는 임계 값에 도달하는 흡광도의 진행 속도에 해당할 수 있다. 임계 값이 감지되면, 장치는 충분한 양인 것으로 알려져 있다. 두번째 중합 단계는 더 높은 온도에서, 바람직하게는 이전 안정기보다 적어도 5 °C 높은 두번째 안정기를 사용하여 수행된다. 두번째 안정기는 핵 생성을 가속화하고 중합을 계속하여 공중합을 달성할 수 있게 한다. 가교된 올리고머 코일이 형성되어 마이크로비이드를 형성한다. 더 높은 온도에서의 두번째 중합 단계 동안에, 흡광도 값은 감소한다. 대안으로서, 두번째 안정기는 첫번째 안정기의 온도보다 적어도 5 °C 높은 최소 온도를 갖는 온도로의 온도 구배 또는 더 복잡한 온도 진행으로 대체된다.
- [0143] 중합 동안에, 예를 들어 유리하게는 시일 (5)과 관련된 폴리테트라플루오로에틸렌 커버를 사용하여 금형 (3)을 단단히 밀폐하는 것이 바람직하다. 커버의 사용은 반응 혼합물로부터 용매의 증발을 제한하고, 보다 양호한 재현성을 달성할 수 있게 한다.
- [0144] 바람직한 방식에 있어서, 금형의 치수는 금형으로부터 형성된 하이드로겔이 수화된 겔에 대해 175 mm의 직경 및 400 mm의 높이를 나타내도록 선택된다. 또한, 여러 웰 (6)의 형태로 여러 금형을 정의하는 하나의 동일한 금속 부품을 사용하는 것이 유리하다. 금형 (3)은 웰 (6)을 밀폐하기 위해서 스크류와 협력하도록 설계된 구멍 (7)을 포함할 수 있다.
- [0145] 중합의 종료시, 크세로겔은 건조 형태 또는 무수 형태이며, 금형에서 꺼낸다. 금형의 내벽을 폴리테트라플루오로에틸렌으로 덮는 것은, 건조 형태의 하이드로겔을 꺼내기 쉽게 만들어 손상을 방지하기 때문에 특히 유리하다. 금형에 존재하는 크세로겔은 잘 부서지기 때문에, 선행 기술의 방법에서 사용된 바이알로부터 추출할 때 쉽게 손상되는 깨지기 쉬운 물질이다.
- [0146] 에탄올/발열원-비함유 물에서 크세로겔의 세정을 수행하여, 96 %의 평형에서의 팽윤비에 도달할 수 있다. 대안으로서, 에탄올은 메탄올로 대체된다. 유리한 방식에 있어서, 크세로겔은 천공된 바스켓의 형태인 제 1

수용기에 전달되며, 상기 바스켓은 유리하게는 폴리테트라플루오로에틸렌으로부터 제조된다. 바람직한 방식에 있어서, 제 1 바스켓은 액체를 함유하는 제 2 바스켓에 설치된다. 액체는 물, 에탄올 또는 메탄올, 또는 물과 에탄올 또는 메탄올의 혼합물일 수 있다. 제 2 수용기의 액체는 제 1 수용기의 구멍을 통과하여 크세로겔을 세정한다.

[0147] 제 2 수용기는 가시광선에 대해 불투명한 것이 특히 유리하다. 제 2 수용기는 폴리카보네이트로부터 제조될 수 있다.

[0148] 제 1 수용기에 설치된 크세로겔은 유리하게는 여러 개의 연속적인 세척조의 적용을 포함하는 세척 사이클을 실시한다. 크세로겔을 세정하고 물로 포화시켜 하이드로겔을 형성하기 위해서, 상이한 세척조에서 물 함량은 증가한다.

[0149] 하이드로겔은 유리하게는 1 mol% 또는 실질적으로 또한 1 mol% 인 비율로 메틸렌비스아크릴아미드에 의해 가교되며, 이는 하이드로겔에 필러 임플란트로서 유리한 물리적 특성을 부여한다.

[0150] 무균 조건하에서 취급되는 필러 임플란트로서 수술에서 사용하려면, 제품의 멸균성이 보장되어야 한다. 겔은 유리하게는 겔의 화학적 성질과 상호 작용하지 않는 물질인 고등급 PTFE로부터 제조된 원통형 용기에 넣고, 발열원-비함유 주사 가능 등급의 물을 충전한다. 겔이 있는 PTFE 용기를 121 °C 에서 30 분 동안 오토클레이빙에 의해 멸균시키고, 용기를 나사로 고정된 덮개로 단단히 다시 밀폐시켜, 겔이 물로 포화되고 멸균 상태를 유지하도록 한다. 이 용기를 멸균 수술 부위에 열려 있는 "스냅 안전 캡" 을 구비한 폴리스티렌으로부터 제조된 제 2 용기에 넣는다. 따라서, PTFE 용기는 멸균 방식으로 취급될 수 있다. 폴리스티렌 제 2 용기는 높이 54 mm, 내부 직경 34 mm 및 두께 1.5 mm 를 나타낼 수 있다.

[0151] 하이브리드 이중 하이드로겔은 이의 다공성 기하학적 공간의 구성 및 이의 중합체 배열의 구성을 변화시키는 특성을 갖는 점탄성 매트릭스의 존재하에서 재생 현상에 의한 충전을 수행함으로써 자연 치유 현상을 개질시키기 위해서 충전 전략에서 유리하게 사용된다. 하이드로겔의 탄성 효과는 기질의 기계적 탄성 특성을 개질시킬 수 있으며, 생체내 세포에 가까운 기계적 환경을 재구성할 수 있다는 이점을 제공한다. 이러한 하이드로겔은 세포, 신경 섬유 및 혈관의 흐름을 수용하고 안내할 수 있다.

[0152] 하이브리드 이중 하이드로겔은 세포, 혈관 및 신경 재생 역학에 적응하는 기하학으로 비-분해성 및 비-생체 재수착성인 탄성적으로 변형 가능하고 연속적인 다공성 매질을 정의한다. 일단 절개된 부위에 이식되면, 하이드로겔 매트릭스는 척수에 고정되어, 하이드로겔 매트릭스가 척추의 움직임과 이 기관을 관개하는 동맥의 박동으로 인한 척추의 움직임을 따라갈 수 있으며, 따라서 이식 부위에 고정된 상태를 유지할 수 있게 한다. 임플란트는 세포 플럭스가 다공성 배열의 침투 경로를 따라 중합체 매트릭스로 이동할 수 있게 하는 개방형 다공성 구조로 인해 지지 구조를 형성한다.

[0153] 특정한 구현예에 있어서, 하이브리드 이중 하이드로겔은 이식편 공동, 예를 들어 수질내 공동에서 임플란트를 형성한다. 공동은 병변의 내부 에지로부터 살아 있지 않은 흉터 조직을 절개하고 제거함으로써 형성될 수 있다. 공동의 에지는 건강한 신경 조직에 의해 형성된다. 유리한 구현예에 있어서, 공동의 제공은 뇌척수액의 배출로 이어진다. 이것은 내인성 세포 복구 (줄기 세포의 동원, 신경 말단의 발아, 혈관신생) 의 염증 과정을 재활성화하는 급성 병변과 동등한 "새로운" 병변이 생성될 수 있도록 한다. 이식 방법은 또한 하이드로겔을 수질내 공동에 주사하여 외상후 공동을 충전하는 단계를 포함한다. 하이드로겔은 공동의 형상 및 기하학에 맞게 절단될 수 있다.

[0154] 하이드로겔은 공동에 삽입하기 전에 부분적으로 탈수시키는 것이 특히 유리하다. 공동에 설치한 후, 하이드로겔은 하이드로겔 임플란트가 공동의 표면 전체와 접촉하여 손상되지 않은 병변 주변 신경 조직의 백색 물질과 일체 (100 %) 인터페이스를 형성할 때까지, 공동에서 순환하는 유체와 접촉한 후에 팽창한다. 하이드로겔은 많은 양의 물을 흡수할 수 있으며, 물 및 물을 함유하는 생물학적 액체의 존재하에서 팽창될 수 있다. 하이드로겔은 평형 상태에서 80 % 이상 부피의 물을 함유하는 것이 유리하다. 75 % 이하 부피의 물 함량을 갖는 하이드로겔을 제공하는 것이 유리하다. 바람직하게는, 임플란트는 10 % 내지 30 % 의 부피 감소를 갖도록 탈수된다. 또한, 공동의 표면, 예를 들어 실질 표면의 탈수를 수행하는 것이 유리하다. 안과용 스폰지로 벽을 탈수시키는 것이 바람직하다. 이어서, 임플란트는 공동, 바람직하게는 실질내 공동에 삽입한 후, 초기 부피의 95 % 이상, 바람직하게는 초기 부피의 100 % 에 도달하도록 재수화시킨다. 초기 부피에 도달하기 위한 임플란트의 수화는 1 분 미만 내에 수행될 수 있다. 바람직한 방식에 있어서, 100 % 인 팽윤비를 갖는 임플란트의 부피는 충전될 공동의 부피의 80 % 내지 100 % 를 나타낸다. 일단 임플란트가 재수화되면,

임플란트의 다공성 표면이 공동의 표면과 접촉함으로써 접착력을 향상시킨다. 중앙 부분이 주변 부분보다 더 수화되는 탈수 속도의 구배를 갖는 것이 유리하다. 표면에서 더 큰 탈수는 공동의 벽과의 후속 접촉의 품질을 향상시킨다.

[0155] 임플란트와 공동의 벽의 접착력을 향상시키기 위해서, 접촉하도록 설계된 벽을 탈수시킨 후에 수화시키는 것이 바람직하다. 또한, 마이크로비드에 의해 형성된 다수의 포도 다발 형태로 제공되는 임플란트를 갖는 것이 바람직하다. 상기에서 언급한 마이크로비드가 있는 임플란트의 형태는 스파이크와 돌기가 있는 표면 거칠기를 정의한다. 30 마이크로미터 이하, 바람직하게는 15 마이크로미터 이하, 및 더욱 유리하게는 5 마이크로미터 이하의 거칠기를 갖는 것이 유리하다. 또한, 거칠기는 0.1 마이크로미터 이상인 것이 유리하다. 이러한 거칠기 범위는 하이드로겔의 표면과 실질 사이의 간질 유체의 순환을 촉진한다. 이러한 표면 질감은 하이드로겔 마이크로비드의 다발 구조에서 비롯된다. 접착력은 또한 나노미터 규모의 돌출부 상의 표면 기공에 의해 향상된다.

[0156] 유입, 유출 및 연관 신경 섬유를 포함하는 살아있는 병변 주변 백색 물질로 하이드로겔의 표면을 덮는 것이 특히 유리하다. 임플란트는 특히 공동의 표면의 기하학을 밀접하게 따르도록 설계된다. 이들 단계는 외상 부위 수준에서 척수의 해부학적 재건을 유도한다. 생물학적 조직과 임플란트의 생체접착 특성의 이점을 취하기 위해서, 유입, 유출 및 연관 신경 섬유를 포함하는 살아있는 병변 주변 백색 물질로 임플란트를 덮는 것이 특히 유리하다.

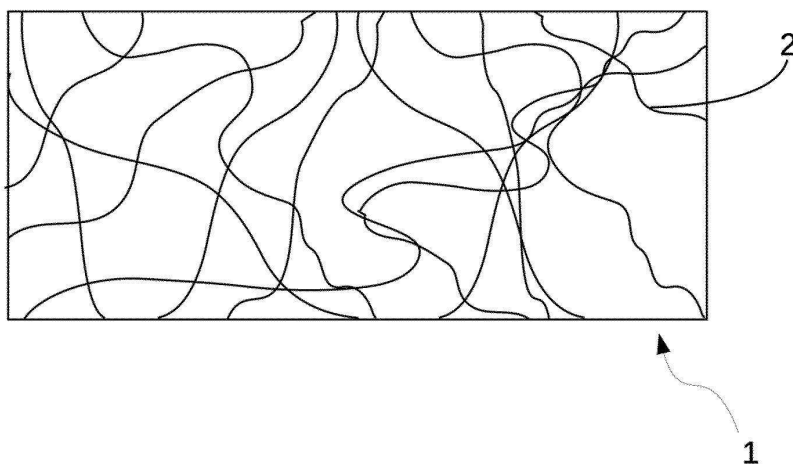
[0157] 재건의 품질을 향상시키기 위해서, 생체접착 특성 또는 개선된 생체접착 특성을 보유하는 임플란트를 가지는 것이 유리하다. 임플란트의 표면 특성을 조정함으로써, 임플란트와 생물학적 조직 사이의 접착력이 향상된다.

[0158] 임플란트가 개선된 생체접착 특성을 갖는 경우, 이것은 공동에 삽입할 수 있으며, 생물학적 조직을 이용한 외과적 봉합을 사용하지 않고도, 양질의 세포 재건을 수득할 수 있다.

[0159] 임플란트는 지혈, 및 보다 구체적으로 지혈의 1 차 단계를 적극적으로 자극하는 것이 특히 유리하다. 또한, 임플란트는 혈소판 응집을 적극적으로 자극하는 것이 유리하다. 이러한 방식으로, 임플란트는 혈액 응고를 유도하여 양호한 조직 재건을 보다 용이하게 달성할 수 있게 한다. 이러한 특정한 임플란트 구성은 미세한 출혈이 임플란트와 공동 사이의 계면에 가능한 한 가깝게 제어될 수 있도록 함으로써, 임플란트와 조직 사이의 저하된 계면의 형성을 방지한다. 생체의 혈액 응고 및 혈소판 응집 시험과 또한 생체내 시험은 임플란트에 의한 지혈의 만족스러운 조절을 강조하였다.

도면

도면1



도면2

