



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2016년06월24일
 (11) 등록번호 10-1633171
 (24) 등록일자 2016년06월17일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61L 27/56 (2006.01) *A61L 27/26* (2006.01)
 (21) 출원번호 10-2014-0031183
 (22) 출원일자 2014년03월17일
 심사청구일자 2014년03월17일
 (65) 공개번호 10-2015-0108484
 (43) 공개일자 2015년09월30일
 (56) 선행기술조사문헌
 Rogina, A., Applied Surface Science (2014.1.25.) Vol.296, pp.221-230*
 El-Fiqi, A. et al., Nanoscale (2012) Vol.4, pp.7475-7488*
 KR1020130060673 A
 *는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자
단국대학교 천안캠퍼스 산학협력단
 충청남도 천안시 동남구 단대로 119, 단국대학교천안캠퍼스내(안서동)
 (72) 발명자
김해원
 충남 천안시 서북구 광장로 260, 106동 101호 (불당동, 불당한화꿈에그린아파트)
엘피키, 아메드
 충남 천안시 동남구 단대로 119, 제3과학관 116-1호 (안서동, 단국대학교천안캠퍼스)
 (74) 대리인
손민

전체 청구항 수 : 총 7 항

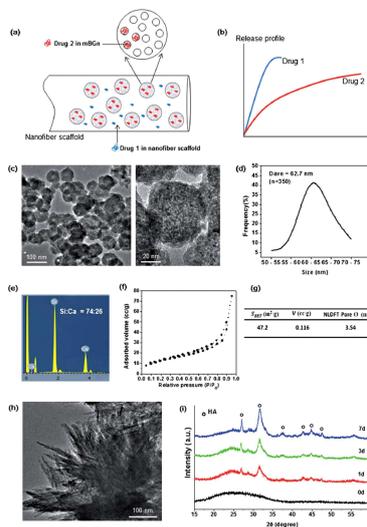
심사관 : 정재철

(54) 발명의 명칭 **이중 약물 순차적 전달용 생체활성 복합스캐폴드 및 그 제조방법**

(57) 요약

본 발명은 다중 약물의 순차적 방출을 특징으로 하는 메소세공 생체활성 유리나노구(mBGn)를 전기방사에 의해 제조하는 단계를 포함하는 메소세공 생체활성 유리나노구를 포함하는 스캐폴드의 제조방법을 제공하기 위한 것이다. 또한, 본 발명은 상기의 제조방법으로 제조된 메소세공 생체활성 유리나노구를 포함하는 스캐폴드를 제공하기 위한 것이다.

대표도 - 도1



이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 2009-0093829

부처명 교육과학기술부

연구관리전문기관 한국연구재단

연구사업명 대학중점연구소지원사업

연구과제명 조직재생공학을 위한 소재-세포-인자 융합연구

기 여 율 1/1

주관기관 단국대학교

연구기간 2009.09.01 ~ 2018.08.31

명세서

청구범위

청구항 1

1) 젤라틴 및 폴리(ϵ -카프로락톤)(poly(ϵ -caprolactone), PCL)을 포함하는 용액에 제1 약물을 첨가하고, 제2 약물이 담지된 메소세공 생체활성 유리 나노구(mBGn)을 첨가하여, 고분자 용액을 제조하는 단계; 및

2) 상기 단계 1)에서 제조된 메소세공 생체활성 유리나노구(mBGn)를 함유하는 고분자 용액을 전기방사시키는 단계를 포함하고,

상기 단계 1)의 젤라틴 및 PCL을 포함하는 용액에 포함된 젤라틴 및 PCL의 중량 기준으로 상기 mBGn이 1 내지 3의 중량 비율로 첨가되며,

상기 단계 1)의 젤라틴 및 PCL은 40:60 내지 60:40의 중량비이고,

메소세공 생체활성 유리나노구(mBGn) 및 고분자 나노섬유 매트릭스를 포함하는, 순차적 약물전달용 스캐폴드의 제조방법.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 단계 1)의 메소세공 생체활성 유리나노구(mBGn)는,

폴리에틸렌 글리콜(poly(ethylene glycol), PEG)를 용매에 첨가하고 교반하여 용해하는 단계;

상기 용액의 pH를 조절하는 단계;

상기 용액에 질산칼슘 4수화물(Calcium nitrate tetrahydrate, $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$)을 첨가하고 교반하여 복합 용액을 제조하는 단계;

테트라에틸 오소실리케이트(Tetraethyl orthosilicate, TEOS)를 용매에 용해시켜 용액을 제조하는 단계;

상기 복합 용액에 TEOS 용액을 첨가하고 교반하고 초음파 처리하여 반응 생성물을 제조하는 단계;

상기 반응 생성물을 원심분리하고 세척하는 단계; 및

상기 세척한 반응 생성물을 건조하고 PEG 형판을 제거하는 단계를 포함하여 제조되는 것을 특징으로 하는, 제조방법.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 단계 1)의 젤라틴 및 PCL을 포함하는 용액은, 2,2,2-트리플루오로에탄올(2,2,2-trifluoroethanol, TFE) 용매를 사용하고, 25 내지 55°C에서 교반 및 용해하는 과정을 통해 제조되는 것을 특징으로 하는, 제조방법.

청구항 4

삭제

청구항 5

삭제

청구항 6

삭제

청구항 7

제2항에 있어서, 상기 pH는 NH₄OH로 조절하는 것을 특징으로 하는, 제조방법.

청구항 8

제2항에 있어서, 반응 생성물은 Ca(NO₃)₂·4H₂O의 Ca 이온과 TEOS의 Si 이온의 비율이 15:85의 몰 비율을 가지는 것을 특징으로 하는, 제조방법.

청구항 9

제1항 내지 제3항, 및 제7항 내지 제8항 중 어느 한 항의 제조방법으로 제조되며, 메소세공 생체활성 유리나노구(mBGn) 및 고분자 나노섬유 매트릭스를 포함하는 스캐폴드.

청구항 10

제9항의 스캐폴드를 포함하는, 순차적 약물전달용 약제학적 제제로서, 제1약물이 고분자 나노섬유 매트릭스에 포함되어 있고, 제2약물이 메소세공 생체활성 유리나노구(mBGn) 내에 포함되어 있는 약제학적 제제.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 이중 약물을 순차적으로 전달하기 위한 생활성 복합스캐폴드 및 그 제조방법에 관한 것이다.

[0002] 또한, 상기 생활성 복합스캐폴드는 생체유리 나노구(mBGn) 및 고분자 섬유를 전기방사법을 이용하여 스캐폴드 형태로 제조하였으며, 생체유리 나노구 및 고분자 내부에 각각 다른 약물을 함유하여, 순차적 전달 시스템을 통한 신규 개념의 의료용 소재이다.

배경 기술

[0003] 치료용 분자를 적절하게 전달할 수 있는 스캐폴드의 개발은 현재 조직 재생 용량을 향상하기 위한 중요한 주제로 생각된다. 많은 기술적인 발전은 약물과 성장인자를 지속적이고 시간을 가지고 조절할 수 있도록 하여 전달하기 위해 물질을 스캐폴드로 만들고 심지어 치료의 조직 부위를 목표화할 수 있도록 제작하기에 이르렀다.

[0004] 그 밖의 것들 사이에서 최근에 생겨난 개념은 조직 재건과 재생 과정에서 시간이 다르고 독립적인 행동을 가지는 이종의 심지어 다중의 약물과 성장인자의 이용에 있다. 그러므로, 관련된 상처난 조직에 순차적으로 전달되는 약물은 같은 시간에 도달할 때보다 보다 효과적으로 작용할 것이다. 한 예는 골형성 약물이 골 형성의 훨씬 후기단계에 작용하는 반면에, 혈관신생인자는 조직 재건의 초기 단계에서 필요하다는 것이다. 항염증의 약물은 종종 상처난 조직의 초기상태에 필요하고, 조직 특이적 분화 인자는 좀 더 후기단계에 조직 형성에 주로 효과적이다.

[0005] 이런 목적을 위해 스캐폴드를 고안하기 위한 몇몇의 다른 방법들이 역시 제안되었다; 한 예는 약물의 다른 타입을 고정하기 위해 구별되는 성분을 포함하는 층상 구조이다. 두 개의 상태로 고안된 복합적 두 개의 다른 물질은 약물을 순차적으로 전달하기 위한 다른 유망한 방법이다. 스캐폴드의 모양과 크기를 포함하는 기하학적 요소가 먼저 고려되어야 하지만, 약물 방출 특징이 매트릭스의 분해에 일차적으로 의존하기 때문에, 사용되는 스캐폴드의 조성 또한 분해성 물질의 경우에 특히 중요한 계수이다.

[0006] 본 발명은 순차적인 방식으로 두 가지의 다른 약물을 전달할 수 있는 복합 스캐폴드를 제안한다. 게다가, 스캐폴드의 합성물은 골 재생의 목적을 위해 선택되었다. 전기방사된 섬유는 골을 포함하는 조직의 재건과 재생에

대해 잠재력있는 스캐폴드 매트릭스임이 이미 증명되었으므로, 본 발명에서 스캐폴드 매트릭스로서 약물 1을 피포하기 위해 전기방사된 섬유를 이용하였다. 다음으로 메소세공성 무기 나노담체는 약물 2를 포함하도록 하였다; 메소세공성 실리카 나노입자는 약물 나노담체로 잘 알려져 있는 반면에 느리고 빈약한 수산화 인회석 형성능력 때문에 골 재생 능력이 적다. 그러므로, 생고분자와 "생체활성" 무기 나노입자를 포함하는 나노합성 조성물, 특히 생체활성 유리나노입자(BGn)을 갖는 폴리카프로락톤-젤라틴(polycaprolactone-gelatin, PCL-Gel) 혼합 고분자를 이용하였다. BGn은 최근에 경조직재생에 대해 훌륭한 무기 나노물질로 증명되었다. 특히, 본 발명은 약물 분자를 적재하기 위한 목적을 가진 메소세공 BGn으로 발전시켰다.

[0007] 이런 이유로, 본 발명의 스캐폴드는 전기방사 섬유의 형태이고, 구성은 메소세공 BGn(mBGn)이 조합된 PCL-Gel 매트릭스이다. 순차적인 이중의 약물전달을 실현하기 위하여 약물의 한 종류는 빠른 방출을 위해 생고분자 섬유 안에 포함시킨 반면에 약물의 다른 종류는 보다 지속적인 방출을 위해 mBGn안에 적재하였다. 본 발명자들은 복합 스캐폴드의 합성과정과 그 특징을 묘사하고 두 모형 약물을 이용하여 스캐폴드의 순차적인 약물 전달 능력을 보여주기 위해 개념증명 연구를 실험하였다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0008] 본 발명은 이중 약물을 순차적으로 전달하기 위한 생활성 복합스캐폴드 및 그 제조방법을 제공하기 위한 것이다.

[0009] 또한, 본 발명의 생활성 복합스캐폴드는 생체유리 나노구(mBGn) 및 고분자 섬유를 전기방사법을 이용하여 스캐폴드 형태로 제조하였으며, 생체유리 나노구 및 고분자 내부에 각각 다른 약물을 함유하여, 순차적 전달 시스템을 통한 신규 개념의 의료용 소재를 제공하기 위한 것이다.

과제의 해결 수단

[0010] 상기 과제를 해결하기 위하여 본 발명은 하기의 단계를 포함하는, 메소세공 생체활성 유리나노구 및 고분자 나노섬유 매트릭스를 포함하는 스캐폴드의 제조방법을 제공한다:

[0011] 1) 젤라틴(Gel) 및 폴리(ε-카프로락톤)(poly(ε-caprolactone), PCL)을 포함하는 용액에 제1 약물을 첨가하고, 제2 약물이 담지된 메소세공 생체활성 유리 나노구(mBGn)을 첨가하여, 고분자 용액을 제조하는 단계; 및

[0012] 2) 상기 단계 1)에서 제조된 메소세공 생체활성 유리 나노구(mBGn)를 함유하는 고분자 용액을 전기방사시키는 단계.

[0013] 상기 제조방법은 메소세공 생체활성 유리나노구 및 고분자 나노섬유 매트릭스를 포함하는 스캐폴드를 제조하는 것으로,

[0014] 이하 상기 제조방법을 구체적으로 설명한다.

[0015] 상기 단계 1)은 젤라틴 및 폴리(ε-카프로락톤)(poly(ε-caprolactone), PCL)을 포함하는 용액에 메소세공 생체활성 유리 나노구(mBGn)을 첨가하는 단계이다. 젤라틴 및 폴리(ε-카프로락톤)(poly(ε-caprolactone), PCL)은 40:60 내지 60:40의 중량 비율로 혼합하는 것이 바람직하다. 상기 중량 비율 미만에서는 친수성이 떨어져 세포 반응이 더딘 단점이 있다. 또한, 상기 중량 비율 초과에서는 용해가 너무 빨리 일어나서 약물이 조기 방출될 가능성이 있는 단점이 있다. 상기 단계 2)에서 전기방사시키는 단계는 단계 1)에서 제조한 mBGn 함유 고분자 용액을 10ml 플라스틱 주사기로 23-니들팁으로 하여 주사펌프를 하는 것이 바람직하다.

[0016] 상기 단계 1)의 메소세공 생체활성 유리 나노구(mBGn)는 PEG를 형판으로 사용하고, SiO₂ 75% 및 CaO 25%(몰%)를

함유하는 조성물을 이용하여 졸-겔법에 의해 제조할 수 있다. 폴리에틸렌 글리콜(poly(ethylene glycol), PEG)를 순수한 메탄올에 첨가하고 교반하여 용해하여 제조한다. pH를 조절한 상기 PEG 용액에 질산칼슘 4수화물(Calcium nitrate tetrahydrate, $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$)을 첨가하고 교반하여 복합 용액을 제조하고 다른 바이알에 테트라에틸 오소실리케이트(Tetraethyl orthosilicate, TEOS)를 용매에 용해시켜 용액을 제조하여 상기 복합 용액에 따로 만든 TEOS 용액을 첨가하여 교반하고 초음파 처리하여 반응 생성물을 제조한다. 상기 메소세공 생체활성 유리 나노구(mBGn)는 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ Ca 이온과 TEOS의 Si 이온이 Ca:Si = 5:95 내지 45:55, 바람직하게는 15:85의 몰 비율을 가진다. Ca이 너무 많을 경우 구형입자의 형성이 어렵고, Si이 너무 많을 경우, 생체활성이 떨어지는 단점이 있다. 첨가하는 PEG의 양은 Si+Ca 대비 0.01 내지 0.001의 몰비율, 바람직하게는 0.0028의 몰비율을 가진다. PEG가 너무 적게 들어갔을 경우 작은 나노 입자 형성이 어려워지고, 너무 많이 들어갔을 경우, 나노입자 형성 이후 PEG를 완전히 제거하는데 어려움이 있다.

- [0017] 상기 반응 생성물을 5000 내지 9000rpm으로 하여 5분 이상을 원심분리하는 것이 바람직하다. 상기 반응물의 세척하는 단계에서 원심분리/분산을 하는 과정을 3회 이상하여 세척하는 것이 바람직하다.
- [0018] 상기 세척한 반응 생성물을 건조하고 PEG 형판을 제거하여 mBGn을 수득할 수 있으며, PEG 형판은 500 내지 700 °C에서 공기에서 5시간 이상 동안 가소하여 제거하는 것이 바람직하다.
- [0019] 상기 단계 1)의 젤라틴 용액 및 폴리(ε-카프로락톤)(poly(ε-caprolactone), PCL) 용액은 10wt% 용액으로 40 °C에서 제조한다. 상기 wt% 미만에서는 섬유에 비드가 형성되는 단점이 있다. 또한, 상기 wt% 초과에서는 직경이 수마이크론 이상의 너무 큰 섬유가 형성되는 단점이 있다.
- [0020] 상기 단계 1)의 젤라틴 용액과 PCL 용액은 각각 젤라틴과 PCL을 2,2,2-트리플루오에탄올(2,2,2-trifluoroethanol, TFE)에 25 내지 55°C에서 교반하여 용해시킨 것이 바람직하다.
- [0021] 상기 단계 1)의 젤라틴 및 PCL을 포함하는 용액에 포함된 젤라틴 및 PCL의 중량 기준으로 mBGn이 1 내지 3의 중량 비율로 첨가되는 것이 바람직하다.
- [0022] 상기 단계 1)의 젤라틴 및 PCL을 포함하는 용액의 제조는, 젤라틴과 PCL을 1:1의 무게 비로 혼합하는 것이 바람직하다. 제 1약물이 상기 단계 1)의 젤라틴 및 PCL 용액에, 제 2약물이 상기 단계1)의 mBGn에 포함되도록 하는 것이 바람직하다.
- [0023] 상기 PEG 용액의 pH는 11 내지 13범위에서 NH_4OH 로 조절하는 것이 바람직하다. 반응 생성물은 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 의 Ca 이온과 TEOS의 Si 이온의 비율이 15:85의 몰 비율을 가지는 것이 바람직하다.
- [0024] 또한, 본 발명은 상기의 제조방법으로 제조된 메소세공 생체활성 유리나노구 및 고분자 나노섬유 매트릭스를 포함하는 스캐폴드를 제공한다.
- [0025] 또한, 본 발명은 상기 스캐폴드를 포함하는 순차적 약물전달용 약제학적 제제로서, 제1약물이 고분자 나노섬유 매트릭스에 포함되어 있고, 제2약물이 메소세공 생체활성 유리나노구(mBGn) 내에 포함되어 있는 약제학적 제제를 제공한다.

발명의 효과

- [0026] 본 발명에 따른 생체유리 나노구(mBGn) 및 고분자 섬유를 전기방사법을 이용하여 스캐폴드 형태로 제조한 생체활성 복합스캐폴드는 이중 약물을 순차적으로 전달할 수 있는 효과를 가진다.
- [0027] 또한, 본 발명은 상기의 제조방법으로 제조된 생체활성 복합스캐폴드는 생체유리 나노구 및 고분자 내부에 각각 다른 약물을 함유하여, 순차적 전달 시스템을 통한 신규 개념의 의료용 소재로 이용될 수 있는 것을 특징으로

한다.

도면의 간단한 설명

- [0028] 도 1은, 본 발명의 일 실시예에 따른 (a) 약물 1을 포함하는 고분자 나노섬유와 약물 2가 적재된 mBGn로 구성된 순차적 약물 방출의 치료용 스캐폴드 구성도, (b) 약물 1이 빠르게 방출되는 반면에 약물 2는 보다 지속적으로 방출되는 특징을 보인 그래프, (c) 단분산 메소세공 나노구를 보여주는 저배율 및 고배율 TEM 이미지, (d) TEM 이미지로부터 측정된 mBGn의 크기 분포, (e) Si:Ca=74:26의 원자 조성이 나타나는 TEM-EDS 분석, (f) mBGn의 메소세공 성질, (g) 비표면적, 세공부피 및 세공크기의 요약, (h) SBF에 3일 동안 담궜진 mBGn의 TEM 이미지 및 (i) 다양한 시점 동안 SBF에서 형성된 생체모방 인회석의 형태를 나타낸 것이다.
- 도 2는, 본 발명의 일 실시예에 따른 (a)-(e)는 각각 0, 10, 20, 30 및 40%의 mBGn의 함량을 조합한 전기방사 섬유를 보여주는 SEM 이미지를 나타낸 것이고 (f)는 30% mBGn이 분산된 고분자 매트릭스의 TEM 이미지, (g)는 DEM 이미지로 측정된 SEM 이미지 및 (h) 0과 30%의 mBGn과 조합된 섬유의 FT-IR 스펙트럼을 나타낸 것이다.
- 도 3은, 본 발명의 일 실시예에 따른 (a) mBGn 첨가에 따라 친수성이 지속적으로 증가함을 보여주는 접촉각 측정, (b) SBF 시험 전과 후의 30% mBGn 시료의 XRD 패턴 및 (c) SBF 시험 후에 0과 30% mBGn에서 시료의 SEM 이미지 및 30% mBGn에서 EDS 분석을 나타낸 것이다.
- 도 4는, 본 발명의 일 실시예에 따른 ICP-AES에 의해 분석된 mBGn의 이온 방출 그래프를 나타낸 것이다.
- 도 5는, 본 발명의 일 실시예에 따른 (a) 약물 PCH가 적재된 mBGn 및 (b) mBGn로부터 지속적 방출 특징을 나타낸 그래프이다.
- 도 6은, 본 발명의 일 실시예에 따른 10% mBGn이 첨가된 나노화합물 섬유 스캐폴드로부터 이중 약물 방출 프로 필을 나타낸 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0029] 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 보다 상세히 설명한다. 다만, 이들 실시예는 본 발명을 예시적으로 설명하기 위한 것에 불과하므로 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 한정되는 것으로 해석되어서는 아니된다.

[0030] 실시예 1: 메소세공 생체활성 유리 나노구의 졸-겔 합성

[0031] 구형태와 메소세공 구조를 가지는 메소세공 생체활성 유리 나노구(mBGn)은 PEG를 형판으로 사용하고 새로운 초음파-지원 염기 촉매식(ultrasound-assisted base-catalyzed) 졸-겔 방법을 이용하여 제조하였다. 75%의 SiO₂와 25%의 CaO(mol%)의 조성물을 유리제조에 사용하였다. 전형적인 합성에서 5g PEG는 120ml 순수한 메탄올에서 교반기를 이용하여 용해하였고 그리고 나서 용액 pH는 NH₄OH를 첨가하여 12.5로 조정하였다. 이 투명 용액에 0.299 g Ca(NO₃)₂를 첨가하고 자석 교반기로 용해하였다. 다른 용기에 0.793g TEOS를 30ml 순메탄올에 녹이고 격렬하게 교반하고 동시에 20분간 강한 초음파처리를 적용하였다. 흰 침전을 24시간 동안 격렬하게 자기식 교반을 하여 얻고 분리하고 5000rpm으로 5분동안 원심분리/재분산을 3회하여 물/에탄올로 씻었다. 70℃에서 밤새 건조하고, PEG 형판제거를 위해 건조 분말로 600℃에서 공기에서 5시간동안 가소하였다. 가소된 나노분말은 진공에서 저장하였다.

[0032] 도 1a에서 묘사되어진 것처럼 나노섬유 합성 스캐폴드는 순차적인 약물 전달을 실험하기 위해 고안되어졌는데 메소세공 나노구(mBGn)를 포함하는 고분자 섬유매트릭스로 구성되었다. 약물 1은 초기기간에 빠르게 방출되도록 하기 위해, 섬유매트릭스에 직접적으로 분산되는 반면에, 약물 2는 도1b의 방출 프로파일처럼 보다 지속적이고 장기간 동안 방출되는 프로 필을 갖도록 mBGn안에 포함되어 있다.

[0033] 이러한 약물 전달 시스템을 실행하기 위해 본 발명자는 알카린 조건하에서 초음파지원 졸-겔 과정과 형판으로서 PEG를 이용하여 75% 산화규소-25% 산화칼슘(mol%)의 조성을 가지는 mBGn을 최초로 개발하였다. 생성된 나노입자들은 TEM(도 1c)에서 보여진다. 이 새로운 방법에 의해 균일한 크기의 나노입자가 잘 만들어졌다. 고배율 TEM 이미지로 메소세공 구조를 볼 수 있었다. TEM 이미지에 의해 분석된 나노입자 크기는 좁은 편차를 지닌 평균 62.7

nm±12.3의 크기를 가졌다(도 1d). TEM-EDS 분석은 Si/Ca=74/26(도 1e)을 가지는 mBGn의 원자 구성을 보여주었는데, 의도했던 조성(75SiO₂-25CaO)과 일치하였다.

[0034] mBGn의 메소세공 구조는 BET 방법에 의해 분석되었다. mBGn의 N₂ 흡착-탈착 곡선은 메소세공 나노물질의 전형적인 히스테리시스 루프를 나타내었다(도 1f). mBGn의 메소세공 크기 분포는 주로 3-4nm 크기 안에 메소세공의 짧은 범위에 존재하였다. 비표면적, 세공부피와 메소세공 크기는 각각 47.2 m² g⁻¹, 0.116 cm³ g⁻¹와 3.54 nm이다(도 1g)에 요약되었다). 본 발명에서 개발한 mBGn의 메소세공성(mesoporosity)은 구조안에 대량의 약물 분자를 포함시킬 수 있는 것으로 생각된다.

[0035] mBGn(75SiO₂-25CaO)을 유사생체용액(simulated body fluid: SBF)에서 HA 형태와 같은 골광질을 형성하는 골-생체활성인 것으로 개발하였으므로, 준비된 mBGn의 실험실내 HA 형성 능력은 SBF에서 실험하였다. SBF안에서 3일 동안 담겨진 mBGn의 TEM 이미지는 형태학적으로 유의적인 변화를 보여주는데 나노입자(도 1h)를 통해 나노 미결정같은 조각을 형성하는데 SBF에서 형성된 생체모방 인회석의 전형적인 형태이다. 다양한 시점(1,3과 7일) 동안 SBF 처리된 mBGn의 XRD패턴은 주된 피크가 2θ가 ~32° 를 포함하는 해당회절각도에서 피크가 생성됨을 보여주는데, 이는 특히 결정화가 적은 HA 광물의 특징이다.

[0036] 이렇게 개발된 mBGn는 높은 메소세공성과 ~3.5 nm의 메소세공 크기를 가지며, 크기가 60nm이고, HA광물상태를 형성하기 위한 훌륭한 골생체활성을 지닌 것으로 나타났다. 다음으로 mBGn을 약물이 적재되는 운반체로 이용하고, 전기방사에 의한 나노합성 섬유성 스케폴드를 생산하기 위해 이용하였다.

[0037] **실시예 2: mBGn을 포함하는 PCL-Gel 섬유의 전기방사**

[0038] PCL-Gel과 PCL-Gel-mBGn 섬유를 전기방사 기술에 의해 제조하였다. PCL-Gel 섬유의 경우, 10wt% Gel(소피부 유래 B타입 젤라틴)과 10wt% PCL(폴리(ε-카프로락톤), (C₆H₁₀O₂)_n, Mn=70000~90000) 용액을 TFE(2,2,2-trifluoroethanol)에서 40°C에서 교반하여 각각 제조한 다음, 두 용액을 1대 1의 무게비로 혼합하고 격렬하게 실온에서 교반하여 균질화하였다. PCL-Gel-mBGn 섬유의 경우, TFE 중의 10wt% Gel 및 10wt% PCL 용액에 mBGn을 각각 적당량(mBGn: Gel 및 PCL= 1:1, 2:1 or 3:1 wt%)으로 분산시킨 다음, 두 혼합물을 균질화하였다. 제조된 용액은 10ml 플라스틱 주사기로 23니들팁으로 하여 주사펌프를 하였다. 전기방사 섬유는 알루미늄 호일시트로 모았다. 마지막으로, 전기방사 섬유시트를 완전히 잔류 TFE 용매를 증발시키고, 건조기내 보관하였다.

[0039] 발전된 mBGn은 전기방사 과정으로 시행하기 위해 PCL-Gel으로 된 고분자성 용액에서 다양한 함량(0-40%)으로 조합되어졌다. 섬유망에서 나노조성 용액의 전기방사능력은 처음에 조사되어졌다. PCL-Gel 섬유는 균일화되었다(도 2a). 10% mBGn이 조합되었을때 섬유는 부드러운 표면으로 잘 생산되어졌다(도 2b). 20% mBGn이 첨가되었을 때 섬유는 역시 10% mBGn 경우와 유사한 형태로 형성되어졌다. 몇몇의 표면(20% mBGn)을 나노입자가 존재하는 안쪽에 의해 돌출되어 나타났다. 30% mBGn이 이용되어졌을 때 섬유는 역시 비드형성없이 성공적으로 형성되었다(도2d). 40% mBGn이 조합되었을때 뭉쳐진 나노입자때문에 비드형성이 시작하였는데 이 경우에 섬유크기는 비드를 따라 초박의 섬유를 보여주는데 획일성이 없다(도2e). 30% mBGn 시료의 TEM 이미지는 대표적으로 섬유의 안쪽 나노구조를 조사하였다(도 2f). 메소세공 나노구는 고분자 매트릭스안에서 잘 분포되었다. SEM 이미지로써 측정된 섬유 크기는 증가된 mBGn 함량을 가지고 약간 증가함을 보여주었는데(도 2g) 나노합성 용액의 가능한 증가된 점성도때문이다. 섬유 시료의 FT-IR 스펙트럼은 화합물의 화학적 결합 구조를 보여주는데 30% mBGn 시료가 mBGn과 관련된 첨가된 밴드(Si-O-Si)의 상당한 수준을 보여준다(도 2h).

[0040] 결과는 30% 까지 첨가된 mBGn은 전기방사 섬유 형태가 획일화된 크기를 가지고 잘 보존되었다는 것이 증명되었는데 나노입자가 분포된 고분자 매트릭스인 전형적인 나노합성물을 나타낸다. 그러나, 40% 이상 첨가는 높은 뭉쳐진 나노입자로부터 생긴 많은 비드가 형성되는 것을 보여주며 섬유형태를 붕괴시켰다. 나아가 연구들에서 30% mBGn까지 포함하는 조성물을 이용할 것이다.

[0041] **실험예 1: mBGn을 포함하는 PCL-Gel 섬유의 특징**

[0042] 메소세공 구조, 고분자 섬유 매트릭스 안에 mBGn의 입자크기와 mBGn의 분산은 에너지 분산형 X-ray 스펙트럼(EDX, Oxford Instruments)을 갖춘 고분능 투과전자현미경(HR-TEM, JEM-3010, JEOL, Japan)으로 관찰하였다. 준비된 mBGn과 섬유성 스케폴드의 형태는 전계방출 주사전자현미경(FE-SEM, Tescan, MIRA II LMH, Czech

Republic)에 의해 관찰되었다. 관찰 전에 스캐폴드는 자동 마그네트론 스퍼터 코팅기(Cressington 108 Auto sputter coater, UK)를 이용하여 120초 동안 백금을 코팅하였다. 섬유의 지름은 이미지 분석 소프트웨어를 이용한 SEM 마이크로그래프로부터 측정하였다. SBF에 담금 전후의 mBGn과 섬유 시료의 상태는 CuK α 방사선($\lambda = 1.5418 \text{ \AA}$)를 이용한 X-ray 회절기(XRD, Rigaku, Ultima IV, Japan)를 이용하여 분석하였다. X-ray는 40mA와 40kV에서 측정하였고 측정값은 0.02° 의 스텝크기와 스캔속도 2° 분^{-1} 를 갖는 4° 에서 70° 의 회절각도(2θ)에서 얻었다.

[0043] 준비된 mBGn의 비표면적, 세공부피와 세공크기는 N_2 흡착-탈착 측정에 의해 얻었다. N_2 흡착-탈착 등온선은 -196.15°C 에서 자동 비표면적측정기(Quadrascorb SI, Quantachrom instruments Ltd., USA.)로 얻었다. 시료는 분석에 앞서 300°C 에서 12시간 동안 진공에서 가스를 제거하였다. 비표면적은 Brunauer-Emmett-Teller (BET) 방법에 따라 계산하였다. 세공크기 분포는 비지역 밀도 범함수이론(NLDFT) 방법에 기초하여 얻어진 N_2 흡착-탈착 등온선의 N_2 탈착가치로부터 결정하였다. 다른 mBGn 함량을 갖는 SBF 담금 전후의 mBGn과 섬유 시료의 Attenuated total reflectance-Fourier transform infrared spectra (ATR-FTIR; Varian 640-IR, Australia)는 GladiATR diamond crystal accessory (PIKE Technologies, USA)를 이용하여 $4000\text{-}400\text{cm}^{-1}$ 범위안에서 4cm^{-1} 의 분해로 얻었다. 약물이 적재된 mBGn의 열중량분석은 $10^\circ\text{C} \text{ 분}^{-1}$ 의 열처리와 $40\text{ml} \text{ 분}^{-1}$ 의 질소 유량으로 열중량 분석기(TGA N-1500, Scinco Ltd., South Korea)로 얻었다. 나노입자로부터의 칼슘과 실리콘 이온의 누계의 방출은 37°C 에서 14일까지 측정하였다. 20mg의 나노입자는 10ml pH 7.4d의 트리-HCl 완충용액에 담겼다. 미리 결정된 시점에서 시료를 취해 15000rpm으로 15분 동안 원심분리하고 상층액을 고주파유도결합형 플라즈마 발광분석법(ICP-AES; OPTIMA 4300 DV, Perkin-Elmer, USA)으로 특성을 모았다. 세 개의 반복시료를 평가하고 평균값을 기록하였다.

[0044] 나노함성물 섬유성 스캐폴드는 특히 세포 배양과 골 재생에 대해 생물의학적 이용을 의미있는 성질에 관해 나아가 특징지어졌다. 처음에 섬유 스캐폴드의 친수성 성질은 접촉각도 실험에 의해 측정되었다. PCL-Ge1 조성물이 PCL과 동등한 양으로 첨가된 젤라틴때문에 $\sim 24^\circ$ 의 접촉각도를 가지는 높은 친수성을 보여줌에도 불구하고 mBGn의 첨가는 mBGn 첨가와 함께 접촉각의 지속적인 감소를 포함하는 나아가 성질을 향상시켰고 마침내 30% mBGn 첨가에서 완전히 젖었다(도 3a).

[0045] 다음으로 나노조성 섬유 스캐폴드의 인회석 형성능력은 SBF에서 실험하였다. SBF에서 4주동안 배양후에 스캐폴드의 XRD 패턴을 분석하였다(도 3b). 일반적으로 SBF 연구보다 상대적으로 긴 기간인 4주는 섬유를 통해 인회석 결정의 완전하고 확립화된 범위를 보여주었다. 담금 전에 오직 PCL 피크가 있는 반면에, SBF 담금후에 30% mBGn 시료에서 해당하는 결정평면에서 매우 강한 HA 피크가 발생되었다. SBF 실험 동안 스캐폴드의 SEM 이미지를 조사하였다. SBF 담금후에 0% mBGn 스캐폴드에서 어떤 뚜렷한 무기물화도 없으나, 30% mBGn 스캐폴드에서는 광물화의 상당한 수준이 발생되었는데, 고배율 SEM 확대 이미지에서 명백히 나타난 바와 같이, 섬유의 전체표면을 덮고 있었다(도 3c). 더군다나, Ca와 P 원자 피크는 1.63의 Ca/P 비율을 가지는 EDS 분석에 의해 강하게 신호가 나오는데, 이는 HA(Ca/P = 1.67)에 화학양론적으로 매우 가깝다. 섬유 스캐폴드의 광물화 행동은 골 생체활성같은 표면 활동성을 향상시키는 mBGn 함량의 역할을 잘 증명하였는데, 이러한 표면활동성은 특히 골 형성과 세포 광물화의 후기단계에서 스캐폴드의 계면과 세포의 상호작용에 유리하다. 스캐폴드의 표면에서 HA 광물화는 mBGn 안에서 포함되는 이온 특히 칼슘이온의 가능한 방출에 의해 일차적으로 유발되거나 가속되었다. 방출된 이온은 PCL-Ge1 표면에서 처음에 칼슘 퇴적을 가속하게 하는 칼슘 이온에 관하여 SBF 조건에서 과포화될 것이고 그리고 나서 포스페이트와 카보네이트 이온은 칼슘 포스페이트 화합물을 형성할 것이고 나아가 시간이 지남에 따라 HA 상태로 결정화될 것이다. PCL-Ge1은 실험동안 어떤 광물 유도도 보이지 않았기 때문에 PCL-Ge1 혼합 표면이 CaP 광물화를 유도하는 매우 낮은 선천성 능력을 가진다고 생각된다. SBF 배지를 매일 보충하였기 때문에 조건은 고정된 조건으로부터는 약간 다른 세미다이내믹으로 생각할 수 있다. SBF 배지를 보충하지 않은 경우, SBF에서 이온은 안정하게 광물화를 형성하게 되지만, 본 실험에서는 지속적인 배지 변화에 의해 광물화 형성이 크게 제한되었다.

[0046] **실험예 2: 실험실내 생체활성 평가**

[0047] mBGn과 섬유 스캐폴드의 실험실내 수산화인회석 형성 능력은 코쿠보(KoKubo)의 유사생체용액(SBF, pH 7.4)안에

37°C에서 실험하였다. SBF는 NaCl(142.0 mM), NaHCO₃ (4.2 mM), KCl (5.0 mM), K₂HPO₄·3H₂O(1.0 mM), MgCl₂·6H₂O (1.5 mM), CaCl₂ (2.5 mM) 및 Na₂SO₄ (0.5 mM)를 37°C에서 트리스-HCl 완충된 pH 7.4의 탈이온수에 녹여 준비하였다. 섬유망은 지름 15mm의 원형모양시료로 잘랐고 그 뒤로 각 웰에 10ml SBF를 포함하는 6개 웰플레이트에 놓았고 37°C에서 28일 동안 매일 SBF 용액을 보충하여 배양하였다. 시료를 배양한 후에는 섬유 스캐폴드를 SBF로부터 제거하였고 증류수로 세척하여 건조하였다. 섬유 스캐폴드의 표면에서 인회석 층같은 골형성은 XRD, SEM과 EDS(Bruker)에 의해 결정되었다.

[0048] mBGn이 첨가된 스캐폴드로부터의 이온 방출의 가능성은 순수한 mBGn로부터의 이온 방출과 관련되어 설명되었다. 10 ml의 pH 7.4의 트리스 완충배지에 담가진 20mg의 나노입자 시료로부터 방출된 Ca와 Si 이온은 ICP-AES 분석을 이용하여 측정되었다(도 4). Ca은 첫 1일동안에 ~8mM 방출된 반면에 Si 이온은 1일 동안에 절반 방출되었다. 이후에 Ca 이온은 ~15mM 기록되어 거의 직선형태로 14일까지 특징적으로 계속 방출되었다; 반면에 Si 이온은 주목할만하게 방출되지 않았으나 단지 ~5mM으로 기록되는 14일동안에 약간 변화만 있었다. 나노입자로부터 방출은 나노합성 스캐폴드로 외삽으로 할 수 있다. 예를 들면, 10mg의 30% mBGn을 첨가한 스캐폴드 시료를 생각할때, ~3mg의 mBGn이 초기에 1일안에 Ca 이온을 ~1.16mM와 Si 이온을 0.56 mM을 방출한 다음, 14일동안에 직선으로 ~1.16mM로부터 ~2.22m 까지 범위에서 Ca 이온을 방출하고, ~0.56mM로부터 ~0.74까지 범위에서 Si 이온을 방출할 수 있다. 그러나, mBGn이 섬유 매트릭스안에 들어있을때 이온의 방출은 PCL-Gel 확산장벽때문에 보다 느려지므로 외삽법은 다소 간단화되고 애매모호해지며, 그러므로 생각되어진 값은 대부분 상한값이 될 것이다. Ca 이온의 농도범위는 미디움의 과포화에 분명히 영향을 줄 것이고 순차적으로 스캐폴드의 광물화 행동에 영향을 줄 것이다. 이온 방출에서 중요한 다른 관점은 방출된 Ca와 Si 이온은 골 재생을 위해 나노합성의 스캐폴드를 이용할 수 있도록 도와주는 세포 확산과 골형성의 분화같은 세포의 행동에 영향을 줄 것이다. 몇몇 최근의 연구에서 세포의 반응에서 Ca와 Si 이온의 효과를 조사한 결과 골형성 분화에 대해 효과적인 농도 범위가 Ca의 경우 0.2-10mM이고, Si의 경우 0.02-2 mM이었으며, Si의 경우 그 범위가 훨씬 좁은 것을 알 수 있다. 본원에서의 기록치는 순수 mBGn 경우로부터의 결과를 통해 얻어진 것이지만, 권장 농도 범위내인 것으로 생각된다. 따라서, 가능한 효과적인 역할을 확인하기 위해 추가 세포 실험이 필요하다.

[0049] **실험예 3: 접촉각 측정**

[0050] 섬유 스캐폴드의 표면친수성은 benchtop Phoenix contact angle measurement system (PHX300, SEO, South Korea)를 가지고 정적법을 이용하여 실온에서 물 접촉 각 측정에 의해 측정되었다. 섬유 스캐폴드를 시료홀더 판위에 놓고 탈이온수(2 μl)의 한방울을 주사기 펌프와 연결된 주사바늘로 자동적으로 전달시켜 시료표면에 떨어뜨렸다. 그리고 나서 물방울의 이미지는 15초 안에 비디오 카메라 체계(CCD 카메라)를 이용하여 기록하였고 표면접촉각은 왼쪽와 오른쪽 접촉각의 수의 값에 주어진 이미지 XP 소프트웨어를 이용한 이미지를 이용하여 계산하였다. 실험된 시료의 접촉각의 평균값을 이용하였다.

[0051] **실험예 4: 약물적재 및 실험실내 방출 연구**

[0052] 약물 1(테트라사이클린 하이드로클로라이드, TCH)는 직접적으로 PCL-젤라틴 고분자 매트릭스에 5%로 적재하였는데, TCH는 고분자 용해에 앞서 TFE에 암조건에서 교반기를 이용하여 가용화시켰다. PCL-Gel 매트릭스에 TCH가 적재되는 양을 결정하기 위해 10mg의 정확한 무게의 시료를 TFE에 용해시키고, 약물 함량은 TCH 적정곡선을 이용하여 λ_{max} = 357nm의 특정 검출 파장에서 UV 측정에 의해 정량화하였다.

[0053] 약물 2(염산프로카인, PCH)는 mBGn에 적재하였고 적재용량은 수용액(pH 3)에서 10mg ml⁻¹의 농도로 mBG 나노구를 분산시켜 조사하였다. PCH가 적재된 양은 TGA로부터 결정되고 미디움에 첨가된 초기의 약물의 농도에 관하여 mBGn안에 PCH 용량이 적재되는 점들인 흡착 등온식에 의해 결정되었다. PCH가 적재된 양은 다음의 물질균형식에 따라서 구성하였다: q_e = (C_o - C_e) × (V/W)이고, 여기서 q_e는 약물(mg단위)이 mg mBGn당 흡수되는 양이고 C_o와 C_e는 각각 초기와 평형의 PCH의 농도(mg ml⁻¹)이고 W는 이용된 mBGn의 무게(mg)이다. q_e 대 C_e 곡선을 구성한 후에 수정된 랭뮤어 등온선은 다음식에 의해 곡선보정을 적용하였다: q_e = q_mKC_e/(1+KC_e)이고, 여기서 q_m은

최대 적재량이고 K는 결정할 수 있는 미지변수(열역학 상수)이다.

- [0054] 21.5% PCH가 적재된 mBGn를 선택하여, 약물이 적재된 PCL-Gel-mBGn 섬유를 제조하였다. 각 약물의 UV-VIS 방법 동안 어떤 가능한 방해도 피하기 위해 PCL-Gel-mBGn의 두 합성 용액을 제조하였다; 하나는 10 wt% PCH를 적재한 mBGn을 포함하고 다른 하나는 10% mBGn와 5wt% TCH를 포함한다. 용액들은 위에 언급한 것과 같은 조건에서 전기 방사되고 마지막으로 건조하고 압조건에서 건조보관하였다.
- [0055] 순수 mBGn과 섬유 스캐폴드로부터의 실험실내 약물 방출은 PBS 용액(pH 7.4)에서 측정하였고 방출량은 UV-VIS 스펙트럼(Libra S22, Biochrom, UK)을 이용하여 결정하였다. PBS에서 표준 PCH와 TCH 용액들을 제조하고, PCH와 TCH의 검량곡선을 0 내지 30 $\mu\text{g ml}^{-1}$ 범위의 PCH와 TCH 농도에 대해 λ_{max} 에서의 흡광도를 얻어서 결정하였다. 이 농도 범위에서 적정곡선은 Lambert and Beers' law를 적용한다: $A_{290} = 0.0727C - 0.0412(R_{\text{PCH}}^2 = 0.999)$, $A_{357} = 0.0316C(R_{\text{TCH}}^2 = 0.998)$ 로 여기서 A는 λ_{max} 에서 흡광도이고 C는 농도($\mu\text{g ml}^{-1}$)로 결정된다. mBGn로부터 PCH 방출의 결정을 위해 21.5% PCH가 적재된 5mg의 mBGn를 25ml PBS에 분산시켰고 37°C에서 다른 시점에 배양하였다. 섬유로부터 각각 PCH 혹은 TCH 방출의 결정을 위해 10mg의 정확한 무게 시료는 10ml PBS에 담겼고 37°C에서 다른 시점에 배양하였다. 각각의 미리 결정된 시점에서 1ml 방출 미디움을 분석을 위해 취하였다.
- [0056] mBGn이 첨가된 고분자 섬유 스캐폴드는 치료용 약물의 순차적인 전달을 시행하기 위해 개발되었다. 개념증명 연구는 각각 mBGn와 고분자 매트릭스에 해당하는 두 모형 약물, PCH와 TCH를 이용하여 전달하였다. PCH는 최근에 항암 활성으로 알려진 반면에 TCH는 항생제로 잘 알려져 있다. 두가지 약물 모두는 화학적 성질, 분자 크기와 전하성질이 유사하여 이중의 방출 특징을 기록할 수 있고, 또다른 잇점으로 약물-비의존적 매트릭스 효과를 조사할 수 있다. mBGn의 PCH 적재 용량과 그것의 실험실내 실험 방출 행동을 조사하였다. PCH는 초기에 증류수에서 다양한 농도(0-30 mg ml^{-1})로 있고 10mg의 mBGn는 약물 분자를 조합하기 위해 첨가하였다. 적재된 용량을 측정하여 mg mBGn 당 mg PCH로 나타내었다(도 5a). 5 mg PCH를 이용하였을때 적재량이 0.175 mg였고, 이는 담체 mBGn에 대해서 ~17.5%였다. PCH 농도가 높아짐에 따라 적재된 용량은 매우 천천히 증가하였고 PCH를 각각 10, 20와 25mg 사용하였을때, 적재용량은 0.215, 0.26와 0.285mg이었고, mBGn에 대해서는 ~22-28.5 %이었다. 적재 곡선은 가장 높은 PCH 농도(30mg)에 안정기를 보여주었고 그러므로 최대 적재 용량은 30 mg PCH가 이용되었을때 0.289 mg mg^{-1} 에 성취되었는데 mBGn에 관하여 ~29% 적재이다. 이 PCH에 대한 mBGn의 적재 용량은 매우 높게 생각되어지는데 mBGn은 PCH 같은 작은 약물 분자의 전달에 대해 상당히 효과적이다. 다음은 잘 알려진 수정된 랭뮤어 등은 모델이 그래프의 곡선이 잘 정돈된 실험적 자료로 적용되어졌다. 실험적 등은 곡선은 K와 q_m 은 0.342와 0.314로 각각 결정된 모형($R^2=0.991$)으로 상당히 잘 되어져 보인다.
- [0057] mBGn로부터의 PCH의 실험실내 방출을 기록하였다(도 5b). 이 경우에 0.215 mg mg^{-1} mBGn에 PCH가 적재된 시료(mBGn에 적재된 21.5% PCH)는 대표적인 시료로서 이용되어 진다. PCH의 방출은 매우 빠르고 24시간 안에 거의 완전한 방출을 한다. PCH 약물 분자는 mBGn와 매우 약한 화학적 상호작용을 형성하고 그러므로 생리식염 배지안에서 이온 교환이 쉽게 발생되어 PCH는 빠르게 방출된다. 역시 이온 용해와 mBGn의 물질 저하는 PCH 약물의 방출에 영향을 주는 것으로 보인다. 하루 안에 상대적으로 빠른 이온 방출(도 4)은 역시 표면에서 흡착된 약물 분자의 방출을 가속화시킨다.
- [0058] 이 mBGn로부터 약물 방출 행동에 기초하여 mBGn 약물 혼합물이 섬유 매트릭스 안에 조합되었을때 방출 행동은 나아가 느리게 될 것이다. 그러므로 mBGn-고분자 합성 섬유 스캐폴드의 고안은 mBGn안에 PCH와 고분자 매트릭스 안에 TCH인 두 약물의 전달을 만들었다. PCH가 적재된 농도는 21.5%로 되었고 mBGn 방출 실험에 대해 이용한 것도 조건은 같다. 섬유매트릭스 안에 mBGn-PCH 함량은 10%로 만들어진 반면에 TCH 중량%는 5%였다. 유사한 형태학적 모습은 약물이 적재된 혼합 섬유와 약물이 없는 스캐폴드에 대해 관찰되어졌는데 약물 분자가 전기방사에 의한 섬유 형성을 방해하지 않는 것을 확인하였다. TCH와 PCH 약물 방출 패턴은 도 6에 보여주었다. TCH 약물은 매우 빠르게 방출되었는데 거의 완전히 방출이 되는데 48시간 안에 되었고 친수성 TCH 약물 분자는 쉽게 PCL-Gel 매트릭스를 통해 분산되는것을 증명하였다.
- [0059] 반면에 PCH 방출 패턴은 TCH 방출에 현저하게 대조적이었다. PCH 방출은 약물 분자가 일주일안에 적재된 약물의 ~60.5%까지 초기에 오히려 빠르게 방출되고 나서 실험기간인 3주 이상 매우 지속적으로 거의 직선으로 보이도록

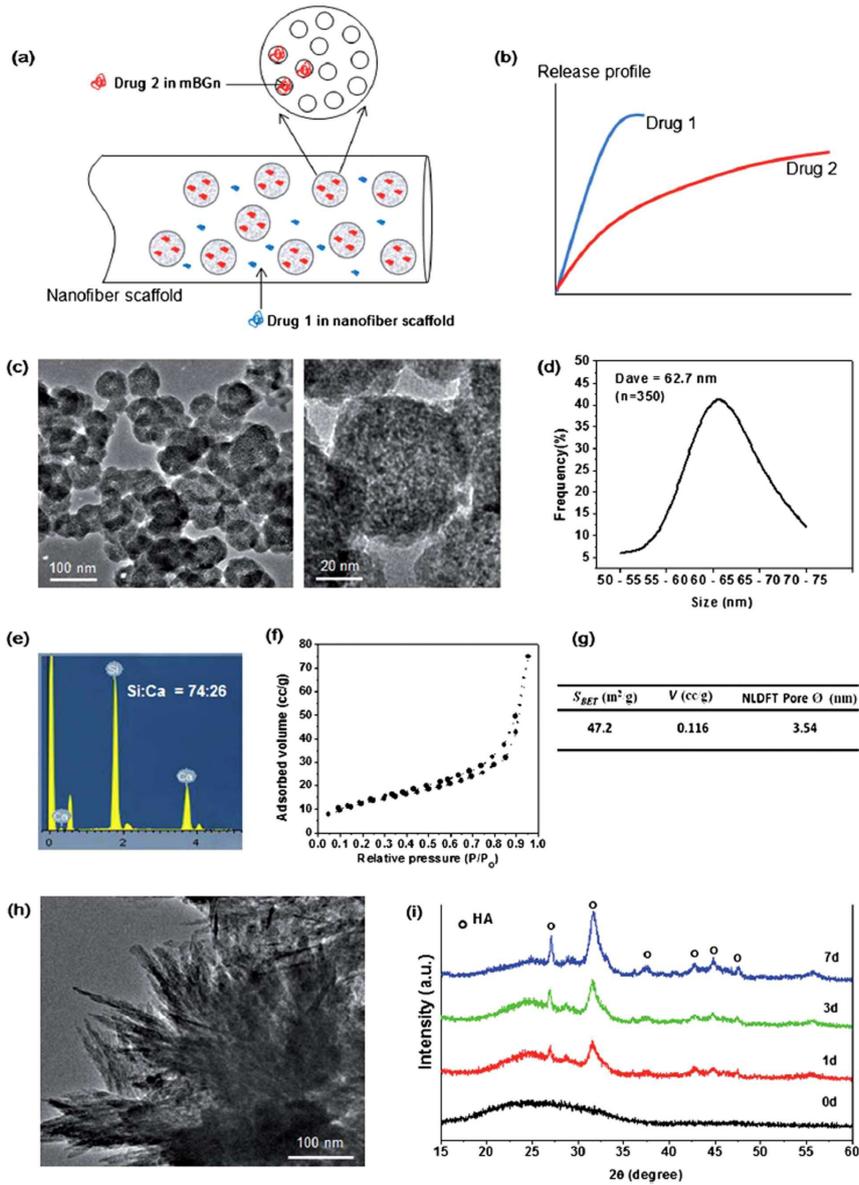
방출되는 장기간 방출패턴을 나타냈다. PCH 방출 사건은, PCH가 mBGn 세공 채널을 통해 분산되고, 그리고 나서 고분자 매트릭스를 통해 분산되므로, 즉 mBGn와 고분자 매트릭스 둘 모두에 의해 영향을 받기 때문에, 매우 복잡하다. PCH 분자는 mBGn 으로부터 분산되고 고분자 매트릭스에 적재하자마자 고분자를 통한 분산과 용해는 약물 방출에 영향을 줄 것이다. 이미 TCH의 경우에서 볼 수 있었던 것처럼, 고분자 매트릭스를 통한 약물 방출은 빠르다고 생각되었다. 그러므로 고분자 매트릭스를 통한 PCH 방출은 속도 결정과정이 아닌 것이다. 오히려 mBGn 로부터 PCH 방출이 보다 우세하게 방출 속도를 조절할 것이다. 순수 mBGn 으로부터 PCH가 빠르게 방출되지만, 이는 고분자 매트릭스 안에 mBGn가 들어있는 경우에는 유사하게 발생되지 않을 것이다. 방출과정은 지속적으로 느려질 것인데 왜냐하면 고분자 망에서 확산되어, 나아가 mBGn 표면에 흡착되는 PCH 약물 분자를 방출시켜야 하는 물분자의 작용이 제한되기 때문이다. 결과적으로 고분자 매트릭스는 PCH 약물의 방출을 느리게 하는데 주요한 역할을 한다고 생각되어지는데, 수분진입에 대한 확산장벽일 뿐만 아니라 물과 PCH 약물 사이에서 방출 반응 장벽이므로, 결과적으로 지속적으로 일주일 이상 한달의 약물방출이 된다. 실험 결과는 Ritger-Peppas의 경험식의 수정된 모형, 즉 $M_t/M_\infty = Kt^n$ 이고 여기서 M_t 와 M_∞ 는 각각 시간 t 와 무한대(∞)에서 방출된 약물의 양이고 K 는 약물 전달체의 구조와 기하학적 특성을 조합하는 각 식에서 방출속도 상수이고 n 은 약물 방출 메커니즘을 표시하는 방출 지수이다. 시료는 12.5의 K 값과 0.3의 n 값을 가지는 $R^2 = 0.983$ 으로 매우 잘 보정하였다. 확산하는 지수 특성에서 지수 n 은 약물이 친수성 고분자를 포함하는 팽윤 구조로부터 방출될 때 0.45로 규정한 반면에, 분해성 매트릭스는 보다 훨씬 높은 n 값을 가지는 변칙적 행동을 보여준다. 그러나, 본 발명에서 훨씬 낮은 지수 값($n=0.3$)을 얻었는데 mBGn의 메소세공 채널로부터 약물의 확산이 상당히 지속적이기 때문에 가능하였다. 페파스 모형안에서 $n \leq 0.5$ 는 확산 조절 메커니즘을 표시하는 것으로 또한 언급했다.

[0060]

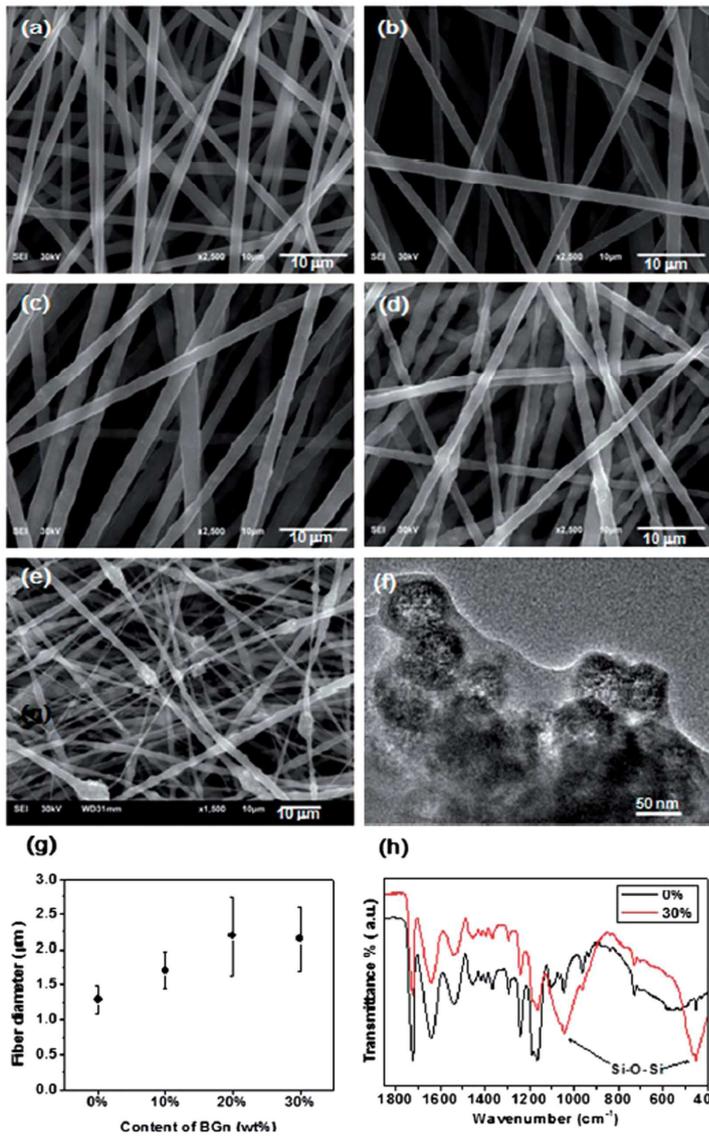
본 발명이 골재생에 정확하게 관련되지 않은 두 모형 약물을 이용하였음에도 불구하고 지속적인 약물 전달의 고안된 개념을 증명하였다. 이처럼 본 발명은 골결손에서 이식 후에 조직 반응과 골재생을 선호하는 다른 약물에도 적용할 수 있다. 한 가지 가능성은 골형성 약물(약물 2로써)와 함께 항염 약물(약물 1로써)을 이용할 수 있다.

도면

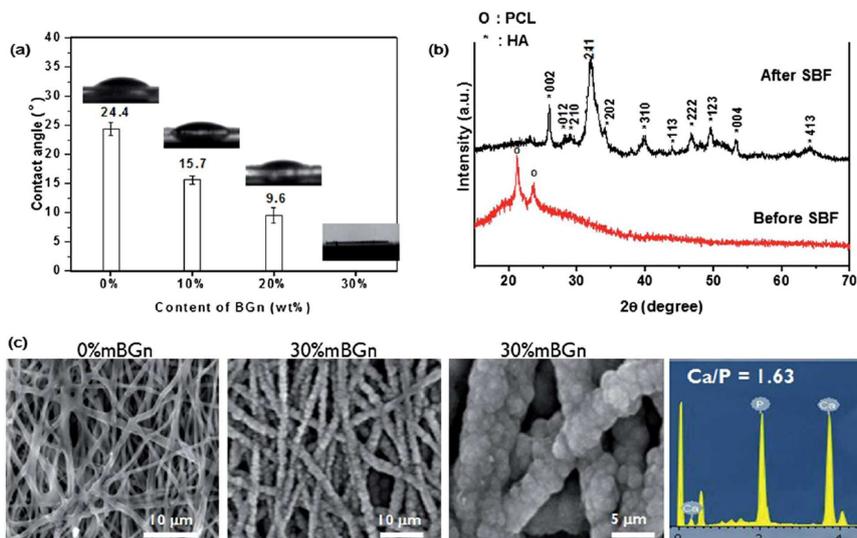
도면1



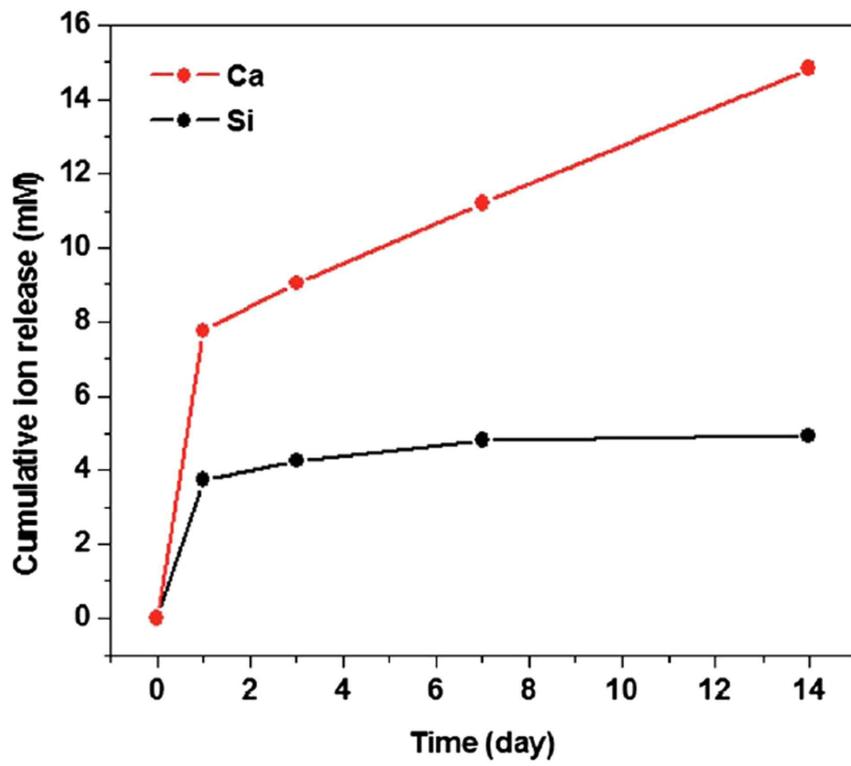
도면2



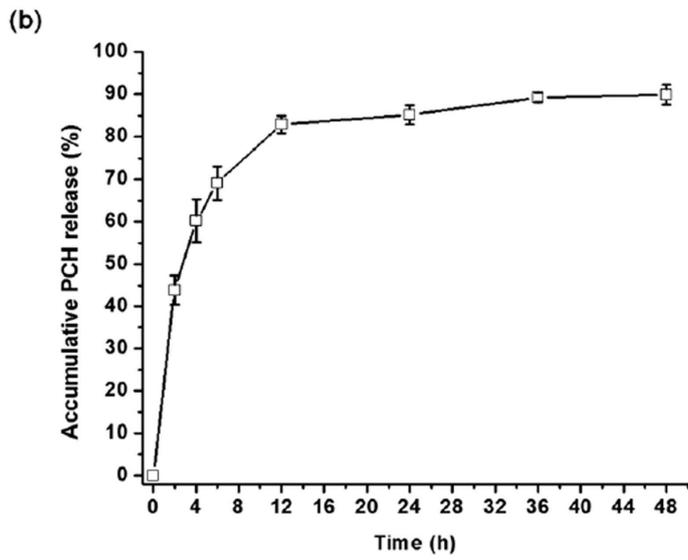
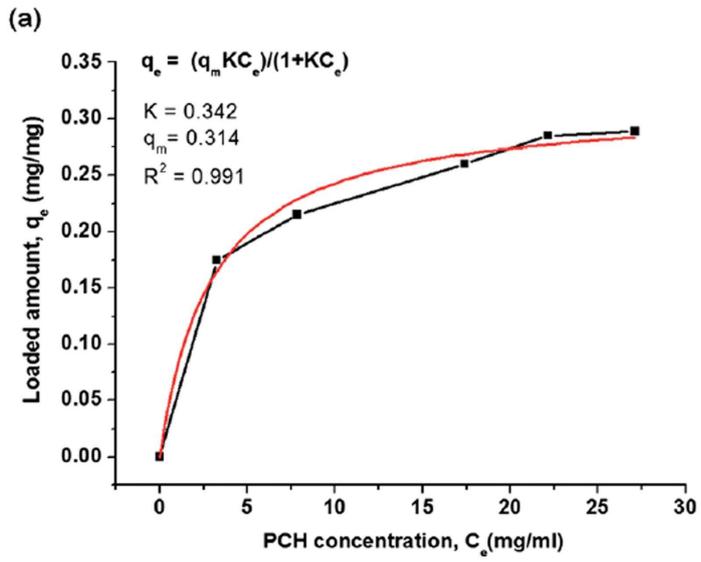
도면3



도면4



도면5



도면6

