



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2014-0130276
(43) 공개일자 2014년11월10일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61B 17/12 (2006.01) A61F 13/15 (2006.01)

A61L 15/32 (2006.01) A61L 15/22 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2013-0048180

(22) 출원일자 2013년04월30일

심사청구일자 2013년04월30일

(71) 출원인

대한민국(농촌진흥청장)

경기도 수원시 권선구 수인로 126 (서둔동, 농촌진흥청)

한림대학교 산학협력단

강원도 춘천시 한림대학길 1, 한림대학교(옥천동)

(72) 발명자

권해용

경기 수원시 영통구 동탄지성로488번길 22, 104동 808호 (망포동, 벽산e빌리지아파트)

조유영

경기 용인시 처인구 중부대로 1348, 102동 1304호 (김량장동, 삼환나우빌아파트)

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

나동규

전체 청구항 수 : 총 12 항

(54) 발명의 명칭 실크 피브로인을 함유하는 접착력을 갖는 지혈용 스펀지

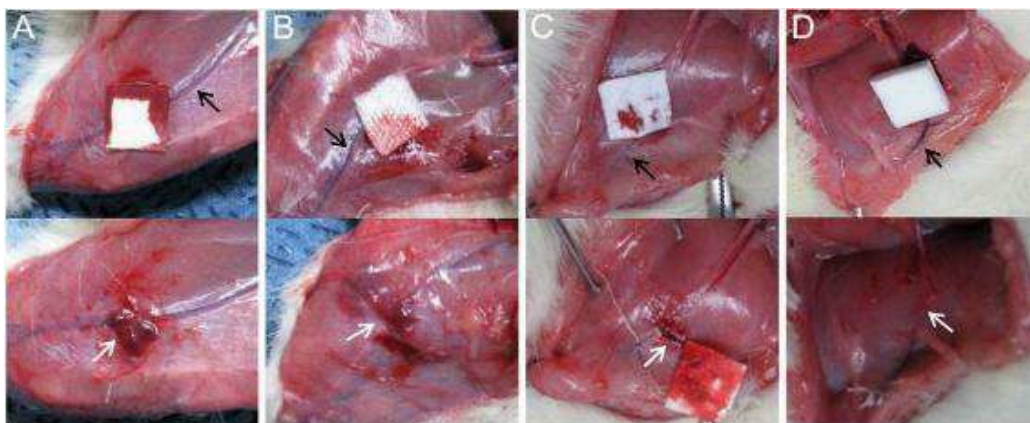
(57) 요약

본 발명은 실크 피브로인을 함유하는 접착력을 갖는 지혈용 스펀지에 관한 것이다.

본 발명의 지혈용 스펀지의 제조방법은, 누에고치로부터 세리신 및 불순물을 제거하여 실크 피브로인 용액을 얻는 제1단계, 상기 실크 피브로인에 폴리머를 넣고 혼합한 후, 이를 교반하여 거품형태로 이루어진 실크 피브로인/폴리머 혼합 수용액을 제조하는 제2단계 및, 상기 거품형태로 제조된 상기 실크 피브로인/폴리머 혼합 수용액을 동결건조 한 후 불용화 처리하여 지혈용 스펀지를 제조하는 제3단계를 포함하는 것이 특징이다.

본 발명에 의해, 적절한 공극과 지지구조를 유지하고 혈액 흡수가 빠르며 접착력을 가지고 있어 혈액 응고를 촉진시키고, 주변 조직의 창상 치유 효과를 나타내어 생분해성을 가지고 있어 인체 내부에도 사용이 가능한 지혈 효과를 극대화시킬 수 있는 지혈용 스펀지가 제공된다.

대표도 - 도6



(72) 발명자

이광길

경기도 수원시 권선구 탐동 42-1 우방ATP 105동 203호

이희삼

경기 수원시 영통구 인계로 165, 522동 603호 (매탄동, 주공5단지아파트)

박찬흠

강원 춘천시 지석로 67, 204동 1302호 (석사동, 현진에버빌2차)

이옥주

강원도 평창군 진부면 오대천로 703-2

주형우

경기 남양주시 도농로 34, 508동 2302호 (도농동, 부영그린타운)

문보미

서울 도봉구 마들로 735-8, 101동 808호 (도봉동, 현대성우아파트)

김정호

강원 춘천시 복골길 3, (후평동)

박현정

인천 중구 하늘달빛로 113, 우미린 753동 1501호 2단지 (중산동, 하늘도시우미린2단지)

Sheikh Faheem Arjamend

강원 춘천시 향교옆길15번길 16, 102호 (교동)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 PJ009051

부처명 농촌진흥청

연구관리전문기관 농촌진흥청

연구사업명 누에고치 단백질을 이용한 의료용 실크 소재 개발

연구과제명 실크단백질을 이용한 생체막 소재 개발진피용 실크조제 연구

기 여 율 1/1

주관기관 국립농업과학원

연구기간 2012.05.01 ~ 2012.12.31

특허청구의 범위

청구항 1

실크 피브로인을 함유하여 접착력 및 지혈능을 갖는 지혈용 스펀지.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 지혈용 스펀지는 150~500 μ m의 공극을 가져 혈액흡수능을 갖는 것이 특징인,

지혈용 스펀지.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 지혈용 스펀지는 Polyvinyl Alcohol(PVA), 히알루론산(Hyaluronic acid, HA), 젤라틴, 키토산, PEO(polyethylene oxide), PEG(polyethylene glycol) 중 선택된 어느 하나이상으로 이루어진 폴리머를 더 포함하는,

지혈용 스펀지.

청구항 4

누에고치로부터 세리신 및 불순물을 제거하여 실크 피브로인 용액을 얻는 제1단계;

상기 실크 피브로인에 폴리머를 넣고 혼합한 후, 이를 교반하여 거품형태로 이루어진 실크 피브로인/폴리머 혼합 수용액을 제조하는 제2단계 및,

상기 거품형태로 제조된 상기 실크 피브로인/폴리머 혼합 수용액을 동결건조 한 후 불용화 처리하여 지혈용 스펀지를 제조하는 제3단계;를 포함하는,

지혈용 스펀지의 제조방법.

청구항 5

제4항에 있어서,

상기 제1단계에서 상기 실크 피브로인 용액에는 6~8%의 실크피브로인이 함유되어 있는 것이 특징인,

지혈용 스펀지의 제조방법.

청구항 6

제4항에 있어서,

상기 제2단계에서 폴리머는 Polyvinyl Alcohol(PVA), 히알루론산(Hyaluronic acid, HA), 젤라틴, 키토산, PEO(polyethylene oxide), PEG(polyethylene glycol) 중 어느 하나 이상을 사용하는,

지혈용 스펀지의 제조방법.

청구항 7

제4항에 있어서,

상기 제2단계에서 상기 실크피브로인과 폴리머는 6~7:4~3 으로 혼합하는,
지혈용 스펀지의 제조방법.

청구항 8

제4항에 있어서,

상기 제2단계에서 상기 거품형태로 이루어진 실크 피브로인/폴리머 혼합 수용액에 계면활성제 또는 발포제를 더 포함하는 것이 특징인,
지혈용 스펀지의 제조방법.

청구항 9

제8항에 있어서,

상기 계면활성제로는 폴리에틸렌글리콜, 폴리에틸렌옥사이드, 디소듐라우레스설포석시네이트, 코코베타인, 데실 글루코사이드, 바바수아미도프로필베타인, 코카미도프로필베타인 중 어느 하나이상을 포함하는,
지혈용 스펀지의 제조방법.

청구항 10

제4항에 있어서,

상기 제3단계에서 상기 불용화처리는 메탄올, 에탄올, 프로판올 중 어느 하나를 사용하는 것이 특징인,
지혈용 스펀지의 제조방법.

청구항 11

제4항에 있어서,

상기 제3단계에서 상기 불용화처리는 80~90%의 습도에서 5~8시간동안 처리하는 수화처리 또는 80~160℃에서 2~4 시간동안 처리하는 고온처리 중 어느 하나로 이루어지는 것이 특징인,
지혈용 스펀지의 제조방법.

청구항 12

제4항 내지 제11항 중 선택된 어느 한항의 제조방법에 의해 제조되어,
접착력 및 지혈능을 갖으며 150~500 μ m의 공극을 가져 혈액흡수능을 갖는,
지혈용 스펀지.

명세서

기술분야

[0001] 본 발명은 실크 피브로인을 함유하는 접착력을 갖는 지혈용 스펀지에 관한 것으로서, 보다 상세하게는 실크 피브로인의 대량 생산성, 생분해성, 창상 재생 기능, 생체 접착 기능, 뛰어난 생체 적합성 그리고 생물학적 위험성이 없다는 장점을 이용하여 주변 출혈부위와 접착하여 지혈효과를 상승시키는 지혈용 스펀지에 관한 것이다.

배경 기술

- [0002] 출혈이란, 혈관의 손상에 의해 혈액이 혈관 밖으로 나오는 현상을 말하며 출혈이 일어나면 혈소판과 혈액응고 인자의 작용으로 혈전이 생성되어 손상된 혈관과 조직을 막음으로써 지혈된다. 혈소판과 혈액응고인자에 이상이 생기면 쉽게 멍이 들거나 작은 상처에도 출혈이 잘 일어나고 잘 멈추지 않는다.
- [0003] 혈액응고 기전은 혈액이 혈관 밖으로 나오면 혈액 내의 혈소판이 파괴되어 트롬보플라스틴이 생기고, 트롬보플라스틴은 혈액속의 칼슘이온과 함께 작용하여 혈장단백질의 하나인 프로트롬빈을 트롬빈으로 변화시킨다.
- [0004] 트롬빈은 피브리노겐에 작용하여 피브린이라고 하는 실 모양의 물질이 되며, 이 피브린은 그물모양으로 얽히고 그 속에 혈구를 가둔채 시간이 지날수록 점점 작아지게 되어 사라진다.
- [0005] 이러한 혈액응고는 생명을 유지하는 데 필수 불가결한 것으로 만일 혈액에 이 작용이 없으면 개체는 작은 출혈에도 혈액이 응고가 되지 못하여 결국 과다출혈에 의해 사망에 이르게 된다.
- [0006] 실제 의료 현장에서 다양한 종류의 지혈제가 사용되고 있는데, 그 하나로 지혈제 내에 생체내 지혈 응고 인자를 함유하여 혈액 응고를 촉진시키는 제제로, 트롬빈, 피브리노겐, 콜라겐, 아프로티닌을 포함하고 있는 스펀지 형태의 Tachcomb® Topical Thrombin 등의 지혈제가 있는데 이러한 지혈제들의 문제점은 소나 인체 혈액에서 추출된 피브리노겐, 트롬빈, 콜라겐 등을 함유하고 있어 광우병, AIDS 등이나 기타 인수 감염의 위험성이 있으며, 제조 원가가 높아 가격이 매우 비싸다.
- [0007] 또한 혈액을 흡수하여 혈액 응고 효과를 가지고 있는 지혈제로는 Surgicel®, Avitene®, ChitoClot®등이 있다. Surgicel®은 산화재생셀룰로오스가 주 성분인 거즈형태의 지혈제이고, Avitene®은 염산미세섬유교원질의 스펀지 형태이며 ChitoClot®은 의료용 키토산을 이용하여 제작된 스펀지타입의 국소지혈제이다.
- [0008] 그러나 이러한 지혈제의 경우 지혈 효과가 미미하거나, 가격이 비싸며, 생체적합성이 낮거나 생체내 흡수되지 않는 단점이 있으며, 또한 출혈 부위의 재생 효과는 미미하다.
- [0009] 따라서 지혈 효과는 뛰어나면서 저렴한 가격으로 공급이 가능하며 생체적합성이 뛰어나면서 출혈 부위의 재생을 도와 재 출혈을 방지할 수 있는 새로운 지혈제를 개발이 필요하다.
- [0010] 관련 선행기술로는 국제공개특허 WO 2011/0798336 " Hemostatic sponge" 및, 한국공개특허 10-2011-0023399 "지혈효과 및 기계적 물성이 우수한 지능형 피브린 생체적합제"에 관한 것이 공개되어 있다.
- [0011] 그러나, 상기 선행기술들은 부착성을 향상시키기 위해 별도의 가교성 성분을 추가물질을 함유한다거나 항균효과를 위한 별도의 항생제를 추가해야 하는 등의 제조과정이 다소 복잡하면서 제조원가가 높아 용이하게 사용하기 어려운 점이 있다.

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0012] 본 발명의 목적은 실크 피브로인의 대량 생산성, 생분해성, 창상 재생 기능, 생체 접착 기능, 뛰어난 생체 적합성 및 생물학적 위험성이 없다는 장점을 이용하여 주변 출혈부위와 접착하여 지혈효과를 상승시키는 실크 피브로인 함유하는 접착력을 갖는 지혈용 스펀지를 제공하는데 있다.
- [0013] 본 발명이 이루고자 하는 기술적 과제들은 이상에서 언급한 기술적 과제들로 제한되지 않으며, 언급되지 않은 다른 기술적 과제들은 아래의 기재로부터 본 발명이 속하는 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 명확하게 이해될 수 있을 것이다.

과제의 해결 수단

- [0014] 본 발명의 지혈용 스펀지는 실크 피브로인을 함유하여 접착력 및 지혈능을 갖는 것이 특징이다.
- [0015] 상기 지혈용 스펀지는 150~500 μ m의 공극을 가져 혈액흡수능을 갖는 것이 특징이다.
- [0016] 상기 지혈용 스펀지는 Polyvinyl Alcohol(PVA), 히알루론산(Hyaluronic acid, HA), 젤라틴, 키토산, PEO(polyethylene oxide), PEG(polyethylene glycol) 중 선택된 어느 하나이상으로 이루어진 폴리머를 더 포함하는 것이 특징이다.
- [0017] 본 발명의 지혈용 스펀지의 제조방법은 누에고치로부터 세리신 및 불순물을 제거하여 실크 피브로인 용액을 얻는 제1단계, 상기 실크 피브로인에 폴리머를 넣고 혼합한 후, 이를 교반하여 거품형태로 이루어진 실크 피브로인/폴리머 혼합 수용액을 제조하는 제2단계 및, 상기 거품형태로 제조된 상기 실크 피브로인/폴리머 혼합 수용액을 동결건조 한 후 불용화 처리하여 지혈용 스펀지를 제조하는 제3단계를 포함하는 것이 특징이다.
- [0018] 상기 제1단계에서 상기 실크 피브로인 용액에는 6~8%의 실크피브로인이 함유되어 있는 것이 특징이다.
- [0019] 상기 제2단계에서 폴리머는 Polyvinyl Alcohol(PVA), 히알루론산(Hyaluronic acid, HA), 젤라틴, 키토산, PEO(polyethylene oxide), PEG(polyethylene glycol) 중 어느 하나이상인 것이 특징이다.
- [0020] 상기 제2단계에서 상기 실크피브로인과 폴리머는 6~7:4~3 으로 혼합하는 것이 특징이다.
- [0021] 상기 제2단계에서 상기 거품형태로 이루어진 실크 피브로인/폴리머 혼합 수용액에 계면활성제 또는 발포제를 더 포함하는 것이 특징이다.
- [0022] 상기 계면활성제로는 폴리에틸렌글리콜, 폴리에틸렌옥사이드, 디소듐라우레스설포석시네이트, 코코베타인, 데실글루코사이드, 바바수아미도프로필베타인, 코카미도프로필베타인 중 어느 하나이상을 포함하는 것이 특징이다.
- [0023] 상기 제3단계에서 상기 불용화처리는 메탄올, 에탄올, 프로판올 중 어느 하나를 사용하는 것이 특징이다.
- [0024] 상기 제3단계에서 상기 불용화처리는 80~90%의 습도에서 5~8시간동안 처리하는 수화처리 또는 80~160℃에서 2~4시간동안 처리하는 고온처리 중 어느 하나로 이루어지는 것이 특징이다.

발명의 효과

- [0025] 본 발명에 의해, 적절한 공극과 지지구조를 유지하고 혈액 흡수가 빠르며 접착력을 가지고 있어 혈액 응고를 촉진 시키고, 주변 조직의 창상 치유 효과를 나타내어 생분해성을 가지고 있어 인체 내부에도 사용이 가능한 지혈 효과를 극대화 시킬 수 있는 지혈용 스펀지가 제공된다.

도면의 간단한 설명

- [0026] 도 1은 본 발명의 실크 피브로인 함유 지혈용 스펀지의 제조공정의 간략도를 나타낸 도면이다.
- 도 2는 본 발명의 실크 피브로인 함유 지혈용 스펀지의 주사 전자 현미경으로 관찰된 도면이다.
- A: 대조군(ChitoClot®)
- B: 실시예1(S-1)
- C: 실시예2(S-2)
- D: 실시예3(S-3)
- 도 3은 본 발명의 실크 피브로인 함유 지혈용 스펀지의 접착력 테스트를 위하여 사용된 장비 및 접착능에 대한 실험결과를 나타낸 도면이다.
- 도 4는 본 발명의 실크 피브로인 함유 지혈용 스펀지의 팽윤력 테스트 및 그 실험결과를 나타낸 도면이다.
- 도 5는 본 발명의 실크 피브로인 함유 지혈용 스펀지의 시간경과별 분해도를 나타낸 도면이다.

도 6은 본 발명의 실크 피브로인 함유 지혈용 스펀지의 지혈효과를 나타낸 도면이다.

A: 대조군(ChitoClot®)

B: 실시예1(S-1)

C: 실시예2(S-2)

D: 실시예3(S-3)

도 7은 본 발명의 실크 피브로인 함유 지혈용 스펀지의 지혈시간(Bleeding time)을 나타낸 도면이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0027] 이하, 본 발명을 상세하게 설명하며, 본 발명의 요지를 불필요하게 흐릴 수 있는 공지 기능 및 구성에 대한 상세한 설명은 생략한다.
- [0028] 실크는 누에로부터 얻을 수 있는 천연 고분자로서, 세리신 제거 과정을 통해 실크 피브로인을 얻을 수 있는 대량 생산이 가능한 천연 고분자 단백질이다.
- [0029] 이러한 실크 피브로인은 다른 합성 물질과는 달리 면역반응을 유발하지 않으며 FDA에서 의료용 소재로 사용 승인을 받은 고분자로 과거부터 수술용 봉합사 및 기타 의료용 소재로 사용되어 안전성이 입증된 천연 고분자이다. 이러한 장점으로 실크 피브로인을 이용한 다양한 의료용 소재가 최근 들어 속속 개발 되고 있다.
- [0030] 실크 피브로인은 누에에서 추출한 단백질로 대량 생산이 가능하여 기존의 의료용 지혈제에 비해 원가가 낮으며, 창상 회복 효과가 우수하고, 제조 형태 및 결정화 방법에 따라 생체내 분해도 조절이 가능한 생분해성 고분자인 실크 피브로인은 친수성과 소수성의 성질을 동시에 가지고 있어 생체 조직과의 접착력을 가지고 있다. 최근 이러한 물성을 이용하여 인체 조직 수복용 접착제로의 개발이 이루어 지고 있다.
- [0031] 이러한 실크 피브로인의 대량 생산성, 생분해성, 창상 재생 기능, 생체 접착 기능, 뛰어난 생체 적합성 및 생물학적 위험성이 없다는 장점을 이용하여 기존의 지혈제의 단점을 극복한 새로운 지혈제를 개발할 수 있다.
- [0032] 이에, 본 발명에서는 적절한 공극과 지지구조를 유지하고 혈액 흡수가 빠르며 접착력을 가지고 있어 혈액 응고를 촉진 시키고, 주변 조직의 창상 치유 효과를 나타내어 생분해성을 가지고 있어 인체 내부에도 사용이 가능한 지혈효과를 극대화 시킬 수 있으며, 결정화 과정 및 제제 형태에 따라 생분해 속도가 조절이 가능하여 지혈 부위에 따른 최적화 지혈 효과를 얻을 수 있는 지혈용 스펀지를 제공하고자 한다.
- [0033] 아울러, 본 발명의 실크 피브로인 함유 지혈용 스펀지는 국소 지혈제를 대체하기에 충분한 혈액 흡수력과 지혈 효과를 제공하므로, 외상 및 장기 손상에 의한 대량 출혈에도 출혈을 멎게 하는데 유용하게 사용될 수 있다.
- [0034] 본 발명의 실크 피브로인 함유 지혈용 스펀지는, 실크 피브로인 원액을 준비하는 공정, 혼합 및 공극을 형성하는 공정, 결정화 공정으로부터 제조된다.
- [0035] 상기 혼합 및 공극을 형성하는 공정에서는, 직조 방법, 염 추출법, 발포제를 이용한 방법, 동결 건조 방법, 전기 방사 방법 등을 다양한 방법으로 제작 될 수 있다.
- [0036] 따라서, 본 발명에서는 상기 혼합 및 공극을 형성하는 공정에 의해 혈액을 흡수 할 수 있는 공극을 가지며, 또한 그 공극 조절이 가능한 실크 피브로인 함유 지혈용 스펀지를 제조할 수 있게 된다.
- [0037] 한편, 제조된 상기 실크 피브로인 함유 지혈용 스펀지에 대해서는 불용화 처리 공정이 추가적으로 수행될 수 있다. 본 발명에서는 메탄올, 에탄올, 프로판올로 처리하거나, 또는 수화 과정 혹은 고온 처리를 함으로써 실크 피브로인 함유 지혈용 스펀지의 지지체 구조를 유지하게 된다.
- [0038] 이하, 본 발명인 실크피브로인 함유 지혈용 스펀지의 제조과정에 대하여 구체적으로 설명하면 다음과 같다.
- [0039] 1. 제1단계: 실크 피브로인 용액 제조
- [0040] 누에고치(Bombyx mori)로부터 세리신 단백질 및 불순물 등을 제거한다.
- [0041] 이때, 상기 누에고치는 탄산나트륨 등의 염기성 수용액에 넣고 가열한 후 증류수로 세척하는 과정을 거친다. 이 과정을 거쳐 얻은 실크 피브로인은 염화칼슘, 브롬화리튬 등의 염 용액에 넣고 용해시킨다.
- [0042] 그런 다음, 상기 용액으로부터 이온 성분을 제거하기 위해 증류수로 투석한다. 이때, 투석 시간은 36~72시간으

로 하며, 최종 실크 피브로인 용액의 농도를 6~8%를 한다.

- [0043] 2. 제2단계: 실크 피브로인/폴리머 혼합 수용액 제조
- [0044] 지혈용 스펀지의 지지 구조 및 접착력을 향상 시키기 위해 실크 피브로인/폴리머를 넣고 혼합하여 실크 피브로인/폴리머 혼합 수용액을 제조한다.
- [0045] 이때, 실크 피브로인과 첨가된 폴리머의 중량비는 7:3 내지 6:4로 하며, 제제의 형태에 따라서 비율은 변화될 수 있으며, 상기 폴리머는 Polyvinyl Alcohol(PVA), 히알루론산(Hyaluronic acid, HA), 젤라틴, 키토산, PEO(polyethylene oxide), PEG(polyethylene glycol) 중 선택된 하나 이상으로 이루어지는 것이 특징이다.
- [0046] 제조된 실크 피브로인/폴리머 혼합 수용액을 거품기 혹은 교반기(stirrer)로 900~1500rpm으로 10~30분동안 빠르게 혼합하여 거품 형태로 제조한다.
- [0047] 이때 일정한 공극 유지를 위해서는 균일한 크기의 거품을 유지하는 것이 중요하며 이를 위해 일정량의 위해 계면 활성제를 사용할 수 있다.
- [0048] 이때 사용되는 계면활성제로는 폴리에틸렌글리콜, 폴리에틸렌옥사이드, 디소듐라우레스설포석시네이트, 코코베타인, 데실글루코사이드, 바바수아미도프로필베타인, 코카미도프로필베타인 중 선택된 어느 하나 이상이다.
- [0049] 제조된 실크 피브로인/폴리머 혼합 수용액을 24~36시간 동안 동결 건조하면 일정한 공극을 가지고 있는 실크 피브로인 함유 지혈용 스펀지를 얻을 수 있다. 또한 이러한 공극 구조를 만들기 위해 발포제 등을 사용 후 건조하여 공극을 형성 할 수도 있다.
- [0050] 이때 사용되는 발포제로는 화학적 발포제, 물리적 발포제 중 선택된 어느 하나 이상이다.
- [0051] 3. 제3단계: 실크 피브로인 함유 지혈용 스펀지의 불용화 처리
- [0052] 상기 제작된 실크 피브로인 함유 지혈용 스펀지는 친수성으로 물에 쉽게 녹아 구조를 유지하기 어렵기 때문에, 생체내 분해도 조절 및 물성 유지를 위해 불용화 공정을 거친다. 불용화 공정으로는 메탄올, 에탄올, 프로판올에 3~5분동안 침지 또는 분무하여 불용화하거나, 또는 수화처리(80~90%의 습도, 상온(20~25℃)에서 5~7시간동안 노출) 또는 고온(80~160℃에서 2~4시간동안 노출)처리를 통한 불용화처리를 함으로써 실크 피브로인 함유 지혈용 스펀지의 지지체 구조를 유지한다.
- [0053] 이때 출혈 부위가 적은 창상 부위나 코피 등의 지혈 효과에 극대화 시키기 위해서는 수화 처리 과정 및 고온 처리를 통한 부분 불용화 과정으로 하는 것이 효율적이며, 대량의 출혈 부위나 출혈량이 많은 부위의 지혈하고자 하는 경우 메탄올, 에탄올, 프로판올을 이용한 완전 불용화하는 것이 효율적이다.
- [0054] 이하에서는 실시예 및 실험예를 들어 본 발명에 관하여 더욱 상세하게 설명할 것이나, 이들 실시예 및 실험예는 단지 설명의 목적을 위한 것으로 본 발명의 보호 범위를 제한하고자 하는 것은 아니다.
- [0055] <실시예 1> 본 발명의 실크 피브로인 함유 지혈용 스펀지 S-1 제조
- [0056] 우선 누에고치(Bombyx mori)를 탄산나트륨 수용액에 넣고 가열한 후 증류수로 세척하여 세리신 단백질 및 불순물을 제거한 후 실크 피브로인을 얻었다.
- [0057] 상기 얻어진 실크 피브로인은 브롬화리튬 용액에 넣고 용해시킨 다음 이온 성분을 제거하기 위해 증류수로 40시간동안 투석하여 최종 실크 피브로인 용액의 농도가 6% 존재하도록 하였다.
- [0058] 지혈용 스펀지의 지지 구조 및 접착력을 향상 시키기 위해 상기 실크 피브로인 용액에 폴리머혼합액(1%의 Polyvinyl Alcohol(PVA), 6%의 젤라틴)을 7:3로 혼합하여 실크 피브로인/폴리머 혼합 수용액을 제조하였다.
- [0059] 제조된 실크 피브로인/폴리머 혼합 수용액을 교반기(stirrer)로 900rpm에서 10분동안 빠르게 혼합하여 거품 형태로 제조하였다.
- [0060] 이때 일정한 공극 유지를 위해서 계면활성제인 폴리에틸렌글리콜을 첨가하였다.
- [0061] 이렇게 제조된 실크 피브로인/폴리머 혼합 수용액을 30시간 동안 동결 건조하였으며, 친수성으로 인해 물에 쉽

게 녹아 구조를 유지하기 어려운 문제점을 해결하기 위해 160℃에서 3시간동안 고온에서 노출시켜 불용화처리하여 일정한 공극을 가지고 있는 본 발명의 실크 피브로인 함유 지혈용 스펀지 S-1을 제조하였다(도 1).

[0062] <실시예 2> 본 발명의 실크 피브로인 함유 지혈용 스펀지 S-2 제조

[0063] 우선 누에고치(Bombyx mori)를 탄산나트륨 수용액에 넣고 가열한 후 증류수로 세척하여 세리신 단백질 및 불순물을 제거한 후 실크 피브로인을 얻었다.

[0064] 상기 얻어진 실크 피브로인은 브롬화리튬 용액에 넣고 용해시킨 다음 이온 성분을 제거하기 위해 증류수로 40시간동안 투석하여 최종 실크 피브로인 용액의 농도가 6% 존재하도록 하였다.

[0065] 지혈용 스펀지의 지지 구조 및 접착력을 향상 시키기 위해 상기 실크 피브로인 용액에 폴리머혼합액(1%의 Polyvinyl Alcohol(PVA), 6%의 히알루론산(Hyaluronic acid, HA))을 6:4로 혼합하여 실크 피브로인/폴리머 혼합 수용액을 제조하였다.

[0066] 제조된 실크 피브로인/폴리머 혼합 수용액을 교반기(stirrer)로 900rpm에서 10분동안 빠르게 혼합하여 거품 형태로 제조하였다.

[0067] 이때 일정한 공극 유지를 위해서 계면활성제인 폴리에틸렌글리콜을 첨가하였다.

[0068] 이렇게 제조된 실크 피브로인/폴리머 혼합 수용액을 30시간 동안 동결 건조하였으며, 친수성으로 인해 물에 쉽게 녹아 구조를 유지하기 어려운 문제점을 해결하기 위해 에탄올에 3분동안 침지하는 불용화처리를 하여 일정한 공극을 가지고 있는 본 발명의 실크 피브로인 함유 지혈용 스펀지 S-2를 제조하였다(도 1).

[0069] <실시예 3> 본 발명의 실크 피브로인 함유 지혈용 스펀지 S-3 제조

[0070] 상기 실시예 2와 같은 방법으로 제조하되, 에탄올 방법에 의한 불용화처리 대신 85%의 습도에서 8시간동안 수화 방법으로 불용화처리하여 일정한 공극을 가지고 있는 본 발명의 실크 피브로인 함유 지혈용 스펀지 S-3를 제조하였다(도 1).

[0071] <실험예 1> 실크 피브로인 함유 지혈용 스펀지의 공극 구조확인

[0072] 상기 실시예1 내지 3에서 제작된 실크 피브로인 함유 지혈용 스펀지(S-1, S-2, S-3)의 공극 구조를 확인하기 위하여 주사 전자 현미경을 이용하여 관찰 하였다.

[0073] 대조군으로는 상품화 되어 있는 키토산 동결 건조 지혈제인 ChitoClot®을 사용하였다.

[0074] 그 결과, 표 1과 도 2와 같이 나타났다.

표 1

	대조군	S-1	S-2	S-3
공극률 (Porosity, %)	49.3±16.4	36.0±10.0	69.5±7.1	57.9±9.1

[0076] 상기 표 1과 도 2에 나타나 있듯이, 본 발명의 상기 실시예1 내지 3에서 제작된 실크 피브로인 함유 지혈용 스펀지(S-1, S-2, S-3)가 통상적으로 사용되고 있던 기존 지혈제 상품인 지혈제인 ChitoClot®(대조군)와 유사한 공극구조를 가지고 있는 것으로서 이러한 공극 구조는 지혈제로 사용이 가능한 구조임을 나타낸다.

[0077] 특히 본 실크 피브로인 함유 지혈용 스펀지의 경우 약 150~500 μ m 크기를 가지고 있어 출혈된 혈액을 빠르게 흡수할 수 있는 공극 구조를 가지고 있음을 알 수 있다.

[0078] <실험예 2> 실크 피브로인 함유 지혈용 스펀지의 물리적 특성 및 지혈효과 확인

- [0079] 1) 접착력(Adhesive power)
- [0080] 상기 실시예 1 내지 3에서 제작된 실크 피브로인 함유 지혈용 스펀지(S-1, S-2, S-3)의 접착력을 확인하기 위해, 만능 물성 측정기를 이용하여 각 스펀지의 접착력을 확인하였다.
- [0081] 대조군으로는 ChitoClot®을 사용하였다.
- [0082] ① 실험방법
- [0083] 상기 실시예 1 내지 3에서 제작된 실크 피브로인 함유 지혈용 스펀지(S-1, S-2, S-3)를 1x1 cm 크기로 준비하고, 20 μ l의 살린(Saline)을 이용하여 적시고 10분간 접착력 테스트용 바이스에 접착시킨다.
- [0084] 그 후 만능 물성 측정기의 일정한 힘과 속도(5 min/min)로 떨어뜨리며 접착력을 확인하였다.
- [0085] ② 실험결과
- [0086] 상기 실험결과 도 3에 나타나 있듯이, ChitoClot®의 경우 1N 미만의 미미한 접착력을 보였으나, 상기 실시예 1 내지 3에서 제작된 실크 피브로인 함유 지혈용 스펀지(S-1, S-2, S-3)의 경우 3~5배 이상의 접착력을 확인하였고 이는 출혈된 부위를 밀봉 효과를 통한 출혈을 억제 할 수 있을 것으로 사료된다.
- [0087] 2) 팽윤력(Swelling power)
- [0088] ① 실험방법
- [0089] 상기 실시예 1 내지 3에서 제작된 실크 피브로인 함유 지혈용 스펀지를 1x1 cm 크기로 잘라 Saline에 3시간동안 침지시켜 팽윤력을 측정하였다.
- [0090] 이때 팽윤력(Swelling power)은 아래와 같은 식으로 계산되었다.
- $$Swelling\ power = \frac{Weight\ of\ sediment}{Weight\ of\ dry\ sample}$$
- [0091]
- [0092] ② 실험결과
- [0093] 상기 실험결과 도 4에 나타나 있듯이, 팽윤력은 기존의 지혈제인 ChitoClot®에서 가장 좋게 나타났으나, 상기 실시예 1 내지 3에서 제작된 실크 피브로인 함유 지혈용 스펀지(S-1, S-2, S-3)도 약 5~15 정도의 팽윤력을 보여주었으며 이는 출혈된 혈액을 충분히 흡수가 가능한 결과임을 알 수 있다.
- [0094] 3) 분해도(Degradability)
- [0095] ① 실험방법
- [0096] 상기 실시예 1 내지 3에서 제작된 실크 피브로인 함유 지혈용 스펀지(S-1, S-2, S-3)를 Saline에서 분해되는 정도를 상온에서 0시간, 3시간, 24시간 관찰하였다.
- [0097] ② 실험결과
- [0098] 상기 실험결과 도 5에 나타나 있듯이, 침지 직후 각 군은 큰 변화는 없었으나 수화 방법으로 실시예 3에서 제작된 실크 피브로인 함유 지혈용 스펀지(S-3)의 경우 시간이 경과함에 따라 실크 피브로인이 용해됨을 확인 할 수 있었다.
- [0099] 그러나 실시예 1과 2에서 제작된 Gelatin 함유 실크 피브로인 함유 지혈용 스펀지 및 에탄올로 불용화 처리된 실크 피브로인 함유 지혈용 스펀지(S-1, S-2)의 경우 불용화 정도 차이를 확인 할 수 있었다 이러한 결정화 정도에 따른 용해도의 차이는 인체에 적용할 출혈 부위에 맞추어 적용할 수 있는 용의성이 있다.
- [0100] 즉 코피와 같이 짧은 시간의 분해 및 용해가 필요한 경우 수화 방법을 이용한 결정화 방법을 이용한 한다면 인

체 적용시 용의 하계 사용될 수 있으며, 인체 내부 장기 출혈이나 대량 출혈의 경우 완전 불용화된 실크 피브로인 함유 지혈용 스펀지를 사용하는 것이 효율적인 것으로 사료된다.

[0101] 4) 지혈 효과

[0102] ① 실험방법

[0103] 상기 실시예 1 내지 3에서 제작된 실크 피브로인 함유 지혈용 스펀지의 지혈 효과를 확인하기 위해, 동물 모델에서의 지혈 효과를 확인 하였다.

[0104] 실험 동물로는 쥐를 사용하였으며, 편측 서혜부를 절개하여 대퇴 동맥과 대퇴 정맥을 노출시켰다. 이후 수술용 매스를 이용하여 노출된 혈관을 절단하는 시술을 시행하였다. 절단 시행 즉시 1x1 cm 크기의 실크 피브로인 함유 지혈제를 출혈부위에 덮고 5N의 힘으로 30초간 지혈하였다. 30초 후에는 실크 피브로인 함유 지혈용 스펀지를 제거하여 출혈 여부를 확인하였다.

[0105] ② 실험결과

[0106] 상기 실험결과 도 6에 나타나 있듯이, 출혈부위를 완전히 봉하여 30초 만에 지혈이 완료되었다. 이때, 실시예 1 내지 3에서 제작된 실크 피브로인 함유 지혈용 스펀지가 혈액을 흡수하며 혈액이 뭉치는 현상이 없이 깨끗한 지혈부위를 관찰할 수 있었다. 검정색 화살표는 대퇴동맥을 나타내며 흰색의 화살표는 지혈 부위를 가리킨다.

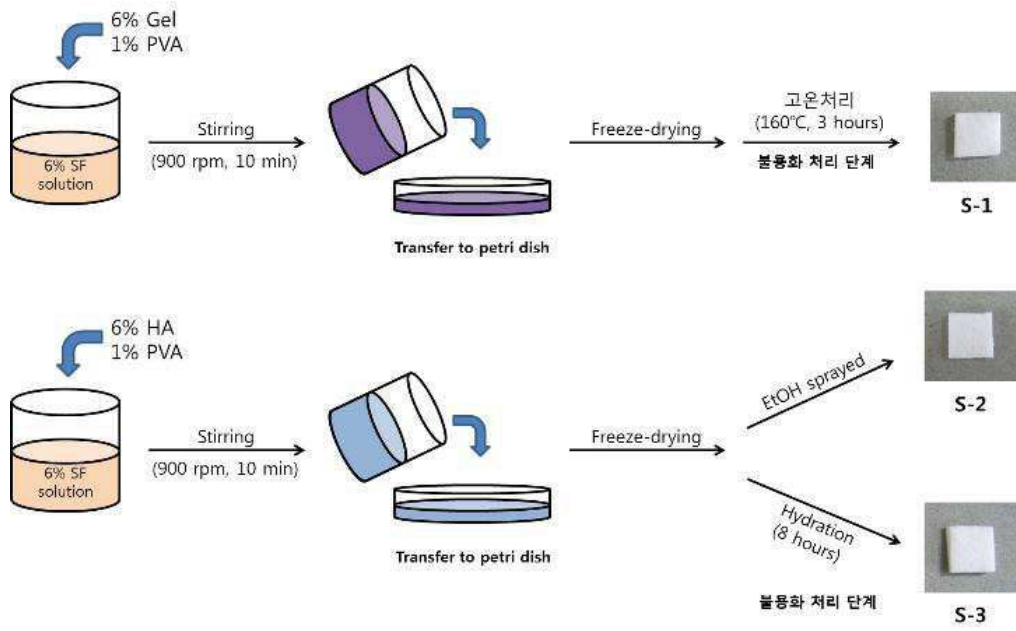
[0107] 또한, 도 7에 나타나 있듯이 지혈시간이 기존에 지혈제로 상품화된 ChitoClot®에 비해 실시예 1 내지 3에서 제작된 실크 피브로인 함유 지혈용 스펀지가 지혈시간이 더 짧게 나타나는 바, 본 발명의 실크 피브로인 함유 지혈용 스펀지의 우수한 지혈효과를 확인할 수 있었다.

[0108] 상기 결과로부터 본 발명의 실크 피브로인 함유 지혈용 스펀지는 지혈효과가 뛰어나고, 불용화 과정에 따라 접착력과 분해되는 정도를 조절할 수 있음을 알 수 있다. 따라서, 본 발명의 실크 피브로인 함유 지혈용 스펀지는 지혈 효과가 뛰어나고 접착 능력을 가지고 있으며 생체 적합성이 뛰어나 지혈제로 활용될 수 있다.

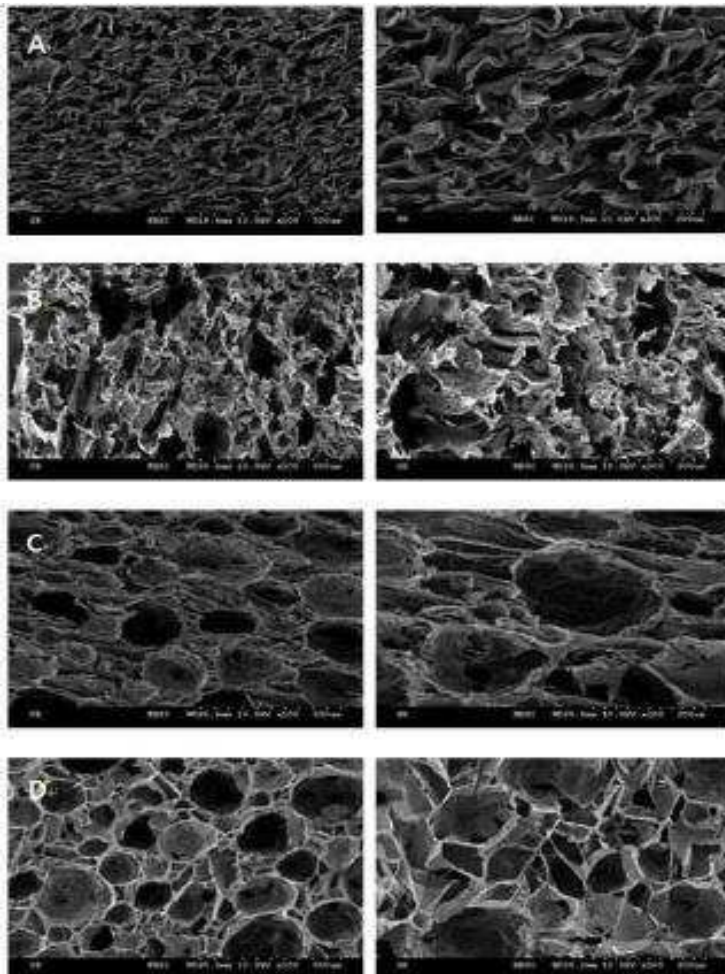
[0109] 상기의 본 발명은 바람직한 실시예 및 실험예를 중심으로 살펴보았으며, 본 발명이 속하는 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자는 본 발명의 본질적 기술 범위 내에서 상기 본 발명의 상세한 설명과 다른 형태의 실시예 및 실험예들을 구현할 수 있을 것이다. 여기서 본 발명의 본질적 기술범위는 특허청구범위에 나타나 있으며, 그와 동등한 범위 내에 있는 모든 차이점은 본 발명에 포함된 것으로 해석되어야 할 것이다.

도면

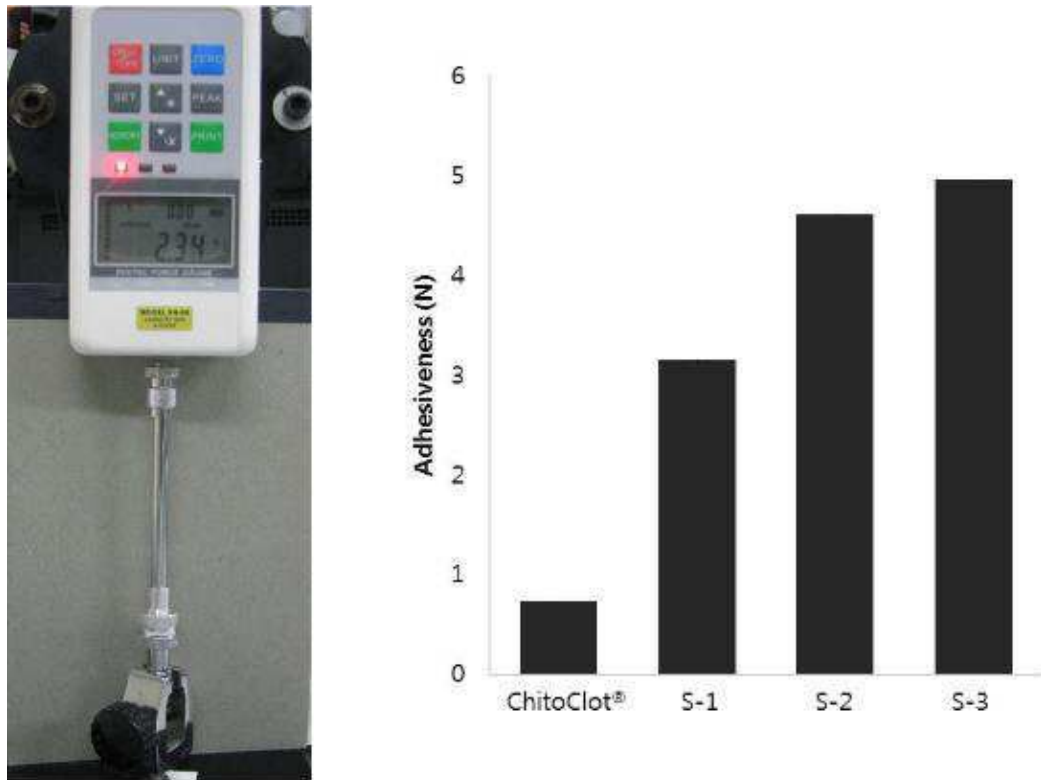
도면1



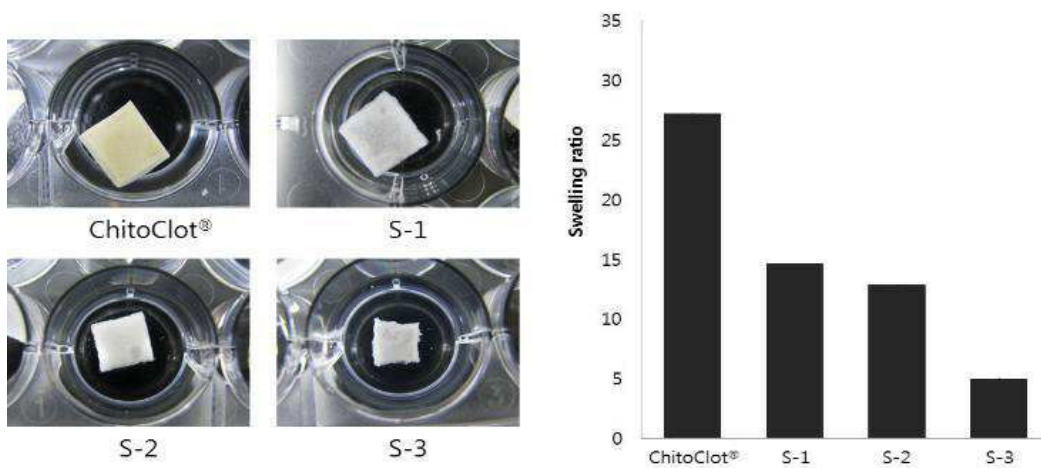
도면2



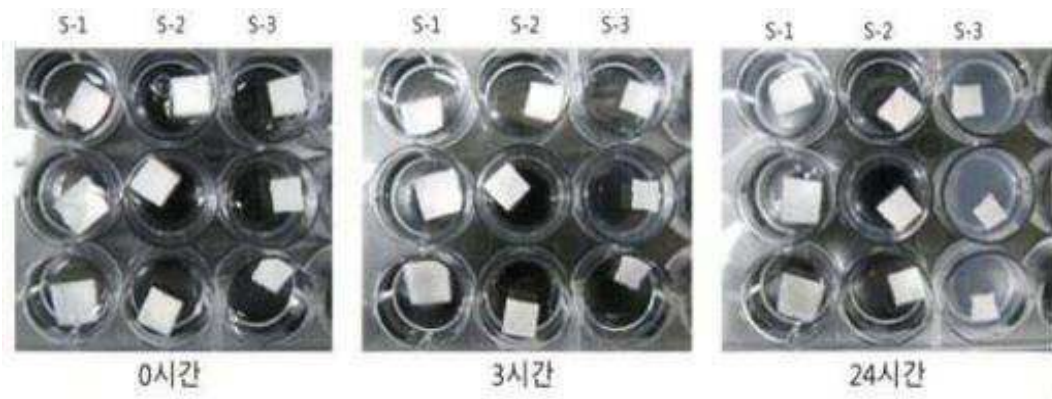
도면3



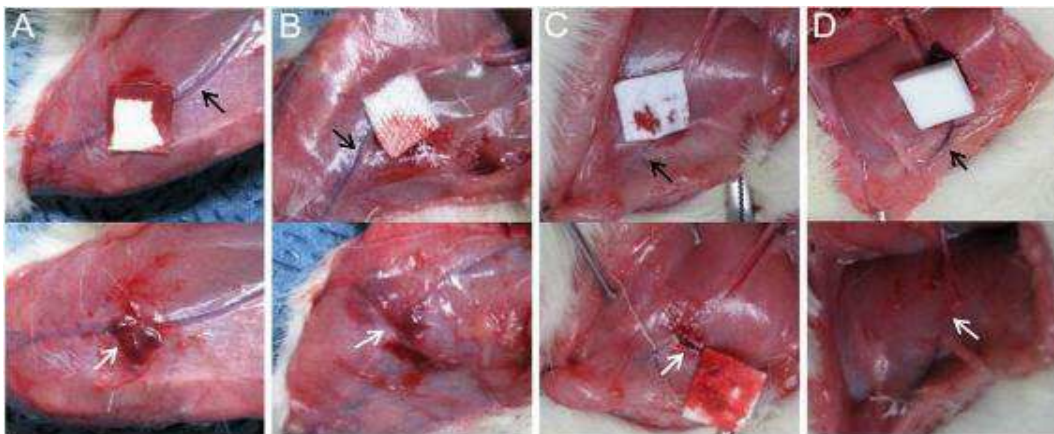
도면4



도면5



도면6



도면7

