(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0111443
(43) 공개일자 2024년07월17일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61L 24/08 (2006.01) *A61L 24/00* (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61L 24/08 (2013.01)
A61L 24/001 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2023-0003286
(22) 출원일자 2023년01월10일
심사청구일자 2023년01월10일

(71) 출원인
국립부경대학교 산학협력단
부산광역시 남구 용소로 45, 부경대학교내 (대연동)
(72) 발명자
오정환
부산광역시 남구 분포로 111 ,106동1006호(용호동,엘지메트로시티)
수딥 몬달
부산광역시 남구 유엔로157번나길 80, 1층 오른쪽
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
네이트특허법인

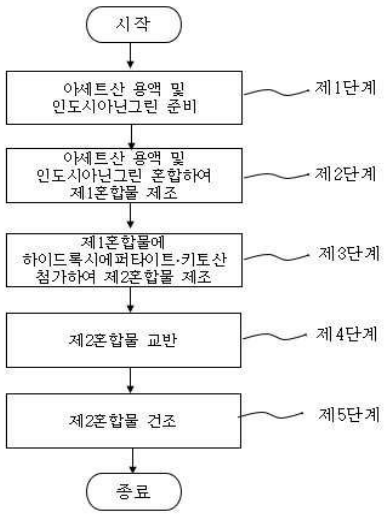
전체 청구항 수 : 총 17 항

(54) 발명의 명칭 **레이저 보조용 조직 접착(LATA) 필름 및 이의 제조방법**

(57) 요 약

생체적합성과 안정성이 우수하고, 접착강도가 개선된 레이저 보조용 조직 접착(LATA) 필름 및 이의 제조방법이 개시되어 있다. 이 개시된 레이저 보조용 조직 접착(LATA) 필름은 하이드록시아파타이트·키토산 복합체, 키토산 용해물질로서 산 성용액 및 형광발색제를 포함할 수 있다.

대 표 도 - 도1



(52) CPC특허분류
A61L 2300/442 (2013.01)
(72) 발명자
박수민
부산광역시 남구 수영로 324, A동 1015호
최재엽
부산광역시 해운대구 센텀동로 26, B동 1048호 한화꿈에그린센텀
도안 부 호앙 민
부산광역시 남구 조각공원로27번길 32, 아이빌 A동 304호

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1711172971
과제번호	2022R1A5A8023404
부처명	과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	집단연구지원
연구과제명	스마트짐 기반 액티브 시니어 헬스케어 중개연구 센터
기 여 율	1/1
과제수행기관명	부경대학교
연구기간	2022.06.01 ~ 2023.02.28

명 세 서

청구범위

청구항 1

레이저 보조용 조직 접착(LATA) 필름에 있어서,

하이드록시아파타이트·키토산 복합체;

키토산 용해물질로서 산성용액; 및

형광발색제를 포함하는 레이저 보조용 조직 접착(LATA) 필름.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 하이드록시아파타이트·키토산 복합체는 필름 전체 부피%에 대하여 1.5 ~ 5w/v%를 포함하는 것을 특징으로 하는 레이저 보조용 조직 접착(LATA) 필름.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 산성용액은 아세트산용액을 포함하고,

상기 아세트산용액은 필름 전체 부피%에 대하여 0.02 ~ 5v/v%를 포함하는 것을 특징으로 하는 레이저 보조용 조직 접착(LATA) 필름.

청구항 4

제1항에 있어서,

상기 형광발색제는 인도시아닌그린을 포함하고,

상기 인도시아닌그린은 필름 전체 부피%에 대하여 0.002 ~ 0.5w/v%를 포함하는 것을 특징으로 하는 레이저 보조용 조직 접착(LATA) 필름.

청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 필름은 접착강도가 17000 ~ 20000KPa인 것을 특징으로 하는 레이저 보조용 조직 접착(LATA) 필름.

청구항 6

제5항에 있어서,

상기 필름의 두께는 0.0001 ~ 0.6mm인 것을 특징으로 하는 레이저 보조용 조직 접착(LATA) 필름.

청구항 7

레이저 보조용 조직 접착(LATA) 필름 제조방법에 있어서,

산성용액 및 형광발색제를 준비하는 제1단계;

상기 산성용액과 상기 형광발색제를 혼합하여 제1혼합물을 제조하는 제2단계;

제조된 상기 제1혼합물을 소정의 용기에 옮긴 후, 하이드록시아파타이트·키토산 복합체(HAp/키토산)를 첨가하여 제2혼합물을 제조하는 제3단계;

상기 제2혼합물을 교반하는 제4단계; 및

교반된 상기 제2혼합물(LATA 용액)을 건조하는 제5단계를 포함하는 레이저 보조용 조직 접착(LATA) 필름 제조방법.

청구항 8

제7항에 있어서,

상기 제1단계에서,

상기 산성용액은 아세트산 용액을 포함하고,

상기 아세트산 용액은 증류수 전체 부피%에 대하여 2 ~ 4 v/v% 포함하며,

상기 형광발색제는 인도시아닌그린을 포함하고,

상기 인도시아닌그린은 필름 전체 부피%에 대하여 0.02 ~ 0.04w/v%를 포함하는 것을 특징으로 하는 레이저 보조용 조직 접착(LATA) 필름 제조방법.

청구항 9

제7항에 있어서,

상기 제2단계에서,

상기 제1혼합물은 상기 형광발색제에 소정의 상기 산성용액을 적하하여 제조되는 것을 특징으로 하는 레이저 보조용 조직 접착(LATA) 필름 제조방법.

청구항 10

제7항에 있어서,

상기 제3단계에서,

상기 제2혼합물은 상기 제1혼합물에 하이드록시아파타이트·키토산 복합체(HAp/키토산)를 필름 전체 부피%에 대하여 2 ~ 4w/v%를 포함하는 것을 특징으로 하는 레이저 보조용 조직 접착(LATA) 필름 제조방법.

청구항 11

제7항에 있어서,

상기 제4단계에서,

상기 교반은 제2혼합물을 실온에서 48 ~ 53h동안 250 ~ 300rpm으로 혼합하는 것을 특징으로 하는 레이저 보조용 조직 접착(LATA) 필름 제조방법.

청구항 12

제10항에 있어서,

상기 하이드록시아파타이트·키토산 복합체(HAp/키토산)는,

칼슘화합물과 인산염을 준비하는 제3-1단계;

상기 칼슘화합물과 인산염 각각을 실온에서 교반하는 제3-2단계;

상기 칼슘화합물과 인산염 각각에 수산화암모늄(NH4OH)을 첨가하여, pH를 9 ~ 11로 만드는 제3-3단계;

pH가 설정된 상기 칼슘화합물에 pH가 설정된 상기 인산염을 첨가하여 혼합물을 제조하는 제3-4단계;

pH가 설정된 상기 혼합물을 6 ~ 8h동안 600 ~ 650rpm으로 교반하는 3-5단계;

교반된 상기 혼합물을 증류수로 세수하는 제3-6단계;

세수된 상기 혼합물을 80 ~ 90℃에서 24h동안 건조후에, 분쇄하여 하이드록시아파타이트(Ca10(PO4)6(OH)2)를 획득하는 제3-7단계; 및

상기 하이드록시아파타이트(Ca10(PO4)6(OH)2)에 키토산을 첨가하여 복합체(HAp/키토산)를 생성하는 제3-8단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 레이저 보조용 조직 접착(LATA) 필름 제조방법.

청구항 13

제12항에 있어서,

상기 제3-1단계에서,

상기 칼슘화합물은 질산칼슘(Ca(NO3)24H2O)을 포함하고,

상기 질산칼슘(Ca(NO3)24H2O)은 증류수 300 ~ 400ml에 0.20 ~ 0.25M을 포함하며,

상기 인산염은 인산암모늄((NH4)2HPO4)을 포함하고,

상기 인산암모늄((NH4)2HPO4)은 증류수 200 ~ 300ml에 0.25 ~ 0.30M을 포함하는 것을 특징으로 하는 레이저 보조용 조직 접착(LATA) 필름 제조방법.

청구항 14

제12항에 있어서,

상기 제3-2단계에서,

상기 교반은 0.5 ~ 1h동안 160 ~ 180rpm으로 실시하는 것을 특징으로 하는 레이저 보조용 조직 접착(LATA) 필름 제조방법.

청구항 15

제12항에 있어서,

상기 제3-7단계가 완료된 하이드록시아파타이트의 평균 입자의 크기는 40 ~ 50nm인 것을 특징으로 하는 레이저 보조용 조직 접착(LATA) 필름 제조방법.

청구항 16

제12항에 있어서.

상기 제3-8단계에서,

상기 복합체는 하이드록시아파타이트(Ca10(PO4)6(OH)2)와 키토산이 1:1 ~ 1:1.2 중량비로 혼합되는 것을 특징으로 하는 레이저 보조용 조직 접착(LATA) 필름 제조방법.

청구항 17

제7항 내지 제16항 중 어느 한 항에 있어서,

제4단계가 완료된 제2혼합물의 점도는 2,000 ~ 100,000cps인것을 특징으로 하는 레이저 보조용 조직 접착(LATA) 필름 제조방법.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 레이저 보조용 조직 접착(LATA) 필름 및 이의 제조방법에 관한 것으로, 유기물질인 키토산을 기본으로 나노 하이드록시아파타이트(HAp)를 적용한 레이저 보조용 조직 접착(LATA) 필름 및 이의 제조방법에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0003] 일반적으로 수술, 외상 등으로 인한 조직의 손상부를 봉합하는데 봉합사가 널리 사용되고 있다. 봉합사는 비흡수성 또는 흡수성 실이나 선으로서, 접착강도로 인해 상처 봉합의 표준으로 남아 있다.

[0004] 하지만 이러한 장점에도 불구하고, 손상부가 클 경우에 봉합사의 사용길이와 봉합단위수가 증가됨에 따라, 봉합사가 지나간 부위가 흉터로 남아 심미적인 관점에서 좋지 않은 문제점이 있다. 또한, 봉합사는 때론 감염의 원상지로서, 상처 복구뿐만 아니라 기능적 조직 재생을 방해하는 문제가 발생할 수 있다.

[0005] 따라서 봉합사의 대안으로 피브린 글루, 시아노아크릴레이트 접착제, 젤라틴 글루, 우레탄계 접착제등이 개발되었다. 하지만 현재 개발된 상업용 접착제인 피부린 글루 같은 경우는 접착강도가 약하고, 시아노아크릴레이트 접착제의 경우는 조직 독성 및 생체 적합성 부족에 이르기까지 상당한 단점을 가지고 있다. 또한, 이러한 접착제는 겔 기반인 경우가 대부분으로, 경화시간이 길어 손상부에 적용시 제한이 될 수 있다.

[0006] 또다른 봉합사 대안으로 레이저 조직 용접(Laser Tissue Welding) 기술이 사용되고 있다. 레이저 조직 용접(Laser Tissue Welding)은 겔 기반의 접착제의 단점을 어느 정도 보완하였으나, 조직에 열손상 뿐만 아니라 DNA 손상을 유발할 수 있다.

[0007] 따라서 상기에서 기술된 문제점을 해결하기 위하여, 겔 기반인 접착제와 레이저 조직 용접(LTW)의 단점을 보완한 무봉합기술로서 레이저 보조용 접착 필름에 대한 연구가 진행되고 있다.

[0008] 아래의 특허문헌 1에는 상피세포성장인자를 포함하는 상처치료용 서방성 필름 제형이 개시되어 있고, 특허문헌 2에는 상처 치료용 필름형성 약제학적 조성물 및 그의 제조방법이 개시되어 있다. 특허문헌 1, 2에 개시된 발명은 키토산을 포함한 것으로 접착강도, 생체적합성, 안정성 등에서 미흡한 면이 있다.

선행기술문헌

특허문헌

[0010] (특허문헌 0001) 공개특허공보 10-2007-0051009호(공개일 2007.05.17.)

(특허문헌 0002) 공개특허공보 10-2014-0102026호(공개일 2014.08.21.)

발명의 내용

해결하려는 과제

[0011] 본 발명은 상기한 바와 같은 점들을 감안하여 창안된 것으로서, 유기물질인 키토산과 무기물질인 하이드록시아파타이트를 혼합한 복합체를 포함함으로써, 접착강도, 생체적합성, 안정성, 심미성이 개선되고, 손상부에 용이하게 적용할 수 있는 레이저 보조용 조직 접착(LATA) 필름 및 이의 제조방법을 제공하는데 목적이 있다.

과제의 해결 수단

[0013] 상기한 목적을 달성하기 위하여, 본 발명에 따른 레이저 보조용 조직 접착(LATA) 필름은 하이드록시아파타이트·키토산 복합체, 키토산 용해물질로서 산성용액 및 형광발색제를 포함할 수 있다.

[0014] 상기 하이드록시아파타이트·키토산 복합체는 필름 전체 부피%에 대하여 1.5 ~ 5w/v%를 포함할 수 있다.

[0015] 상기 산성용액은 아세트산용액을 포함하고, 상기 아세트산용액은 필름 전체 부피%에 대하여 0.02 ~ 5v/v%를 포함할 수 있다.

[0016] 상기 형광발색제는 인도시아닌그린을 포함하고, 상기 인도시아닌그린은 필름 전체 부피%에 대하여 0.002 ~ 0.5w/v%를 포함할 수 있다.

[0017] 상기 필름은 접착강도가 17000 ~ 20000Kpa이고, 상기 필름의 두께는 0.0001 ~ 0.6mm인 것을 특징으로 한다.

[0018] 상기한 목적을 달성하기 위하여, 본 발명에 따른 레이저 보조용 조직 접착(LATA) 필름 제조방법은 산성용액 및 형광발색제를 준비하는 제1단계, 상기 산성용액과 상기 형광발색제를 혼합하여 제1혼합물을 제조하는 제2단계, 제조된 상기 제1혼합물을 소정의 용기에 옮긴 후, 하이드록시아파타이트·키토산 복합체(HAp/키토산)를 첨가하여 제2혼합물을 제조하는 제3단계, 상기 제2혼합물을 교반하는 제4단계 및 교반된 상기 제2혼합물을 건조하는 제5단계를 포함할 수 있다.

[0019] 상기 제1단계에서, 상기 산성용액은 아세트산용액을 포함하고, 상기 아세트산용액은 증류수 전체 부피%에 대하여 2 ~ 4 v/v% 포함하며, 상기 형광발색제는 인도시아닌그린을 포함하고, 상기 인도시아닌그린은 필름 전체 부피%에 대하여 0.02 ~ 0.04w/v%를 포함할 수 있다.

[0020] 상기 제2단계에서, 상기 제1혼합물은 상기 형광발색제에 소정의 상기 산성용액을 적하하여 제조되는 것을 특징으로 한다.

[0021] 상기 제3단계에서, 상기 제2혼합물은 상기 제1혼합물에 하이드록시아파타이트·키토산 복합체(HAp/키토산)를 필름 전체 부피%에 대하여 2 ~ 4w/v%를 포함할 수 있다.

[0022] 또한, 상기 하이드록시아파타이트·키토산 복합체는 칼슘화합물과 인산염을 준비하는 제3-1단계, 상기 칼슘화합물과 인산염 각각을 실온에서 교반하는 제3-2단계, 상기 칼슘화합물과 인산염 각각에 수산화암모늄(NH4OH)을 첨가하여, pH를 9 ~ 11로 만드는 제3-3단계, pH가 설정된 상기 칼슘화합물에 pH가 설정된 상기 인산염을 첨가하여 혼합물을 제조하는 제3-4단계, pH가 설정된 상기 혼합물을 6 ~ 8h동안 600 ~ 650rpm으로 교반하는 3-5단계, 교반된 상기 혼합물을 증류수로 세수하는 제3-6단계, 세수된 상기 혼합물을 80 ~ 90℃에서 24시간 건조후에, 분쇄하여 하이드록시아파타이트(Ca10(PO4)6(OH)2)를 획득하는 제3-7단계 및 상기 하이드록시아파타이트(Ca10(PO4)6(OH)2)에 키토산을 첨가하여 복합체(HAp/키토산)를 생성하는 제3-8단계를 포함할 수 있다.

[0023] 상기 제3-1단계에서, 상기 칼슘화합물은 질산칼슘(Ca(NO3)24H2O)을 포함하고, 상기 질산칼슘(Ca(NO3)24H2O)은 증류수 300 ~ 400ml에 0.20 ~ 0.25M이 포함되며, 상기 인산염은 인산암모늄((NH4)2HPO4)을 포함하고, 상기 인산암모늄((NH4)2HPO4)은 증류수 200 ~ 300ml에 0.25 ~ 0.30M이 포함할 수 있다.

[0024] 상기 제3-2단계에서, 상기 교반은 0.5 ~ 1h 동안 160 ~ 180rpm으로 실시할 수 있다.

[0025] 상기 3-7단계가 완료된 하이드록시아파타이트의 평균 입자의 크기는 40 ~ 50nm 인 것을 특징으로 한다.

[0026] 상기 제3-8단계에서, 상기 복합체는 하이드록시아파타이트(Ca10(PO4)6(OH)2)와 키토산이 1:1 ~ 1:1.2 중량비로 혼합될 수 있다.

[0027] 상기 제4단계에서, 상기 교반은 제2혼합물을 실온에서 48 ~ 53h동안 250 ~ 300rpm으로 혼합하는 것을 특징으로

하고, 또한, 제4단계가 완료된 제2혼합물의 점도는 2,000 ~ 100,000cps인것을 특징으로 한다.

발명의 효과

[0029] 본 발명에 따른 레이저 보조용 조직 접착(LATA) 필름은 하이드록시아파타이트·키토산 복합체, 키토산 용해물질로서 산성용액 및 형광발색제를 포함함으로써, 생체적합성, 안정성, 심미성, 접착강도 등의 다양한 효과를 극대화함과 아울러 손상부에 용이 적용할 수 있다.

[0030] 본 발명에 따른 필름 제조방법은 산성용액 및 형광발색제를 준비하는 제1단계, 상기 산성용액과 상기 형광발색제를 혼합하여 제1혼합물을 제조하는 제2단계, 제조된 상기 제1혼합물을 소정의 용기에 옮긴 후, 하이드록시아파타이트·키토산 복합체(HAp/키토산)를 첨가하여 제2혼합물을 제조하는 제3단계, 상기 제2혼합물을 교반하는 4단계, 상기 제2혼합물(LATA 용액)을 건조하는 5단계를 포함하는 단순하고 효율적인 공정을 제공한다.

도면의 간단한 설명

[0032] 도 1은 본 발명의 실시예에 따른 레이저 보조용 조직 접착(LATA) 필름 제조공정을 나타낸다.

도 2는 본 발명의 실시예에 따른 하이드록시아파타이트·키토산 복합체의 제조공정을 나타낸다.

도 3은 본 발명의 비교예에 따른 건조전 키토산(a), 키토산 및 IR-783(b)을 함유한 필름이다.

도 4는 본 발명의 비교예에 따른 건조후 키토산(a), 키토산 및 IR-783(b)을 함유한 필름이다.

도 5는 본 발명의 실시예에 따른 건조후 2w/v% 하이드록시아파타이트·키토산 복합체(c), 4w/v% 하이드록시아파타이트·키토산 복합체(d)를 함유한 필름이다.

도 6은 본 발명의 제조예에 따른 하이드록시아파타이트·키토산 복합체의 TGA 측정결과이다.

도 7은 본 발명의 제조예에 따른 하이드록시아파타이트·키토산 복합체의 XRD 분석결과이다.

도 8은 본 발명의 합성예에 따른 하이드록시아파타이트의 주사전자현미경 사진이다.

도 9a 내지 도 9c는 본 발명의 비교예에 따른 기계적강도 나타낸 그래프이다.

도 10은 본 발명의 실시예에 따른 기계적강도를 나타낸 그래프이다.

도 11은 본 발명의 실시예에 따른 생체적합성 결과를 나타낸 그래프이다.

도 12는 본 발명의 실시예 및 비교예에 따른 세포부착성 결과를 나타낸 사진이다.

도 13은 본 발명의 실시예에 따른 레이저 보조용 조직 접착(LATA) 필름의 적용과정을 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0033] 본 명세서에 기재되는 모든 용어는 본 발명의 기능을 고려하여 현재 널리 사용되는 일반적인 용어를 선택하였으나, 이는 당해 기술분야의 통상의 기술자의 의도, 관례 또는 새로운 기술의 출현 등에 따라 달라 질 수 있다. 또한, 본 발명에서 발명자가 임의의 용어를 특정한 경우, 발명의 설명부분에서 그 의미를 기재할 것이다. 따라서 본 발명에서 사용되는 용어는 단순한 용어의 명칭이 아닌, 그 용어가 가지는 실질적인 의미와 본 발명의 설명에 기재된 전반에 걸친 내용을 토대로 해석되어야 한다.

[0034] 이하 첨부된 도면을 참조하여 본 발명의 실시예에 따른 레이저 보조용 조직 접착(LATA) 필름 및 이의 제조방법을 상세히 설명하기로 한다. 도면에서 본 발명을 명확하게 설명하기 위해서 설명과 관계없는 부분은 생략하였으며, 명세서 전체를 통하여 동일 또는 유사한 구성요소에 대해서는 동일한 참조 부호를 사용하기로 한다.

[0035] 본 발명은 레이저 보조용 조직 접착(LATA) 필름 및 이의 제조방법을 제공한다.

[0036] 본 발명의 실시예에 따른 레이저 보조용 조직 접착(LATA) 필름은 하이드록시아파타이트·키토산 복합체, 키토산 용해물질로서 산성용액 및 형광발색제를 포함한다.

[0037] 본 발명의 실시예에 따른 필름은 하이드록시아파타이트·키토산 복합체(HAp/키토산)를 포함할 수 있다.

[0038] 상기 하이드록시아파타이트(Hydroxyapatite, HAp)는 아파타이트라고도 호칭된다. 하이드록시아파타이트의 화학조성은 Ca10(PO4)6(OH)2으로 인간의 뼈와 주성분이 같은 세라믹이다. 인간의 뼈는 약 65%이상의 하이드록시아파타이트와 섬유소로 되어 있는데, 하이드록시아파타이트는 다른 세라믹 소재에 비해 유연성, 생체 친화성이 좋으므로 생체내에서 사용되는 바이오 세라믹으로서 이상적인 소재이다. 또한, 생체내에 이식된 하이드록시아파타이트는 빠른 시일 내에 생체 조직과 일체화 반응이 시작된다고 보고되고 있다.

[0039] 또한, 하이드록시아파타이트는 각 세포 단위 내의 44개 원자에 해당하는 P63/m의 육각형 구조를 가지고 있으므로, 다양한 양이온 및 음이온을 대체할 수 있기 때문에 매우 안정적이면서도 유연한 구조이다. 특히, 하이드록시아파타이트의 하이드록시기는 각종 유기산, 단백질과 특이하게 반응하는 것이 알려져 생체와의 일체화에 기여할 수 있다. 따라서 하이드록시아파타이트는 외상 등으로 인한 조직의 손상부를 봉합하는데 좋은 소재일 수 있다. 하이드록시아파타이트는 하기에서 설명하겠지만, 칼슘화합물과 인산염의 반응으로 합성될 수 있다. 또한, 본 발명에서 상기 하이드록시아파타이트 평균 입자의 크기는 40 ~ 50nm인 것을 특징으로 한다.

[0040] 상기 키토산은 D-글루코사민과 N-아세틸글루코사민으로 이루어진 선형 다당체이다. 키토산은 게, 가재, 새우 등의 갑각류 껍질에 포함되어 있는 키틴질을 수산화나트륨 염기로 화학 처리하여 얻어 질 수 있다. 키틴은 불활성이라 용매에 용해되지 않으므로, 강산으로 분해하여 녹일 수는 있으나 분자가 파괴되어 원래의 분자량을 유지하기 어려울 수 있다. 따라서 이러한 키틴을 유기산에 용해시켜 탈아세틸화시켜 얻어낸 물질이 키토산이다. 탈아세틸화도가 70% 이상의 키토산은 유기산에 용해되나 물에 녹지 않는다. 탈아세틸화 정도에 따라 다당체의 성질이 바뀌는데 탈아세틸화도가 80%인 키토산이 바람직하다. 본 발명에서는 주로 키토산의 아세틸화는 95%이상인 것을 이용할 수 있다.

[0041] 또한, 상기 키토산은 항균효과를 가지고 있다. 항균효과는 키토산의 분자량과 농도에 영향을 받을 수 있다. 본 발명에서 키토산은 저분자 또는 고분자를 이용할 수 있다. 저분자의 경우 키토산은 항균효과 뿐만 아니라 점증제 역할을 하기 때문에 피부에 적용하기 편할 수 있다. 따라서 본 발명에서는 주로 키토산의 점도는 600cps이상인 것을 이용할 수 있다. 또한, 키토산은 경구투여시, 체내에 과잉된 유해 콜레스테롤을 흡착, 배설하는 역할을 하므로, 혈관질환을 예방 및 개선하는데 큰 효과를 발휘할 수 있다. 또한, 키토산은 암 세포의 증식을 억제하는 항암 작용을 하는데 직접적인 암 세포 파괴가 아닌, 면역력 강화와 비정상 세포에 흡착하여, 암세포의 증식과 성장을 방해하는 역할을 할 수 있다.

[0042] 또한, 키토산은 유리염기 또는 염 형태일수 있다. 염 형태일 때는 산이 필요하지 않을 수 있다. 반면, 본 발명에서는 키토산이 유리염기 형태로서 산을 필요로 할 수 있다. 본 발명에서 키토산은 당 분야에 알려진 방법에 따라 제조되거나 시판된 것을 사용할 수 있다.

[0043] 따라서 상기 하이드록시아파타이트·키토산 복합체(HAp/키토산)는 하이드록시아파타이트(Ca10(PO4)6(OH)2)와 키토산이 1:1 ~ 1:1.2중량비로 혼합될 수 있다. 또한, 상기 하이드록시아파타이트·키토산 복합체는 필름 전체 부피%에 대하여 1.5 ~ 5w/v%를 포함할 수 있다. 또다른 예로서, 하이드록시아파타이트·키토산 복합체(HAp/키토산)를 필름 전체 부피%에 대하여 2 ~ 4w/v%를 포함할 수 있다. 하이드록시아파타이트·키토산 복합체의 중량비 또는 함량이 범위 미만인 경우에는 본 발명인 접착강도 등에 문제를 야기할 수 있다. 또한, 하이드록시아파타이트·키토산 복합체의 중량비 또는 함량이 범위 초과인 경우에도 다른 성분들의 함량과 적절한 배합이 이루어지지 않아 접착강도 등에 문제를 야기할 수 있다.

[0044] 본 발명의 실시예에 따른 필름은 산성용액을 포함할 수 있다. 상기 산성용액은 형광발색제 및 유기물질인 키토산을 용해하는 데 이용될 수 있다. 키토산을 용해하기 위한 산성용액은 아세트산용액, 시트르산용액, 젖산용액, 아스코르브산용액, 글루콘산용액, 말산용액 및 아디프산용액 중에서 적어도 어느 하나 이상 선택할 수 있다.

[0045] 따라서 산성용액은 필름 전체 부피%에 대하여 0.001 ~ 10v/v%를 포함할 수 있다. 또 다른 예로서, 상기 산성용액은 아세트산용액을 포함하고, 그 함량은 필름 전체 부피%에 대하여 0.02 ~ 5v/v% 또는 2 ~ 4v/v%를 포함할 수 있다. 상기 산성용액의 함량이 범위 미만인 경우에는 키토산 및 형광발색제가 용해되지 않아 응집되어 본 발명인 필름의 접착강도 등에 문제를 야기할 수 있다. 또한, 상기 산의 함량이 범위 초과인 경우에는 지나친 산성용액으로 생체적합성 및 안정성 등에 문제를 야기할 수 있다.

[0046] 본 발명의 실시예에 따른 필름은 형광발색제를 포함할 수 있다. 상기 형광발색제는 인도시아닌그린(Indocyanine green, ICG) 포함할 수 있다. 상기 인도시아닌그린은 음이온성, 수용성 및 형광성 분자이다. 상기 인도시아닌그린은 형광발색제로서 근적외선(Near-infrared, NIR) 파장 흡수 및 형광방출을 나타내므로, 형광 염료로 주로 림프계 뿐만 아니라 간 혈관 및 심장 염색에 사용되고 있으며 다양한 진단 등에 응용되고 있다. 특히, 인도시아닌

그린은 혈장 단백질과 강한 결합을 형성할 수 있다. 따라서 인도시아닌그린이 본 발명인 필름에 포함되어, 상처난 부위의 조직을 강하게 연결해 줄 수 있다. 즉, 레이저를 사용하는 동안 열을 발생시켜, 키토산 폴리머를 용해시켜 외상 부위에 부착시키는데 도움이 될 수 있다. 따라서 본 발명에 따른 필름은 외부 접착제나 봉합제가 필요하지 않을 수 있다.

[0047] 따라서 상기 인도시아닌그린은 필름 전체 부피%에 대하여 0.002 ~ 0.5w/v%를 포함할 수 있다. 또 다른 예로서 상기 인도시아닌그린은 필름 전체 부피%에 대하여 0.02 ~ 0.04w/v%를 포함할 수 있다. 상기 인도시아닌그린의 함량이 범위 미만인 경우에는 본 발명인 필름의 접착력이 약해질 수 있다. 또한, 상기 인도시아닌그린의 함량이 범위 초과인 경우에는 레이저에 의한 화학적 분해가 활발하게 되어 본 발명인 필름의 접착강도, 생체적합성 등에 문제를 야기할 수 있다.

[0048] 본 발명의 실시예에 따른 필름은 증류수를 포함할 수 있다. 상기 증류수는 탈이온수를 이용할 수 있다. 상기 증류수는 하이드록시아파타이트·키토산 복합체(HAp/키토산)의 제조 및 본 발명인 필름제조시 용매로서 이용될 수 있다.

[0049] 본 발명의 실시예에 따른 필름은 첨가제를 더 포함할 수 있다. 상기 첨가제는 점증제, 가소제, 항산화제등일 수 있다.

[0050] 상기 점증제는 하이드록시프로필메틸셀룰로오스, 하이드록시프로필셀룰로오스, 하이드록시에틸셀룰로오스, 잔탄검, 고거스트빈검, 아라비아검, 구아검, 카보머, 폴리에틸렌 옥사이드, 폴록사머, 잔탐검 및 풀루란 중에서 적어도 어느 하나 이상 선택할 수 있다. 점증제는 본 발명인 필름의 유화안정성을 증진하여 접착강도 등의 물성을 향상시킬 수 있다.

[0051] 따라서 상기 점증제는 필름 전체 부피%에 대하여 0.01 ~ 10 w/v%를 포함할 수 있다. 또 다른 예로서 점증제는 필름 전체 부피%에 대하여 0.02 ~ 5w/v%를 포함할 수 있다.

[0052] 상기 가소제는 폴리프로필렌글리콜, 폴리에틸렌글리콜, 폴리비닐피롤리돈, 트랜스큐톨, 플루롤 올레이크, 라우로글라이콜 및 글리세린 중에서 적어도 어느 하나 이상 선택할 수 있다. 가소제는 고분자에 배합되어 탄성률과 유연성을 부여할 수 있다. 상기 고분자는 사슬과 사슬간의 인력의 정도에 따라 물성이 결정될 수 있다. 강한 인력의 경우에는 강도가 높아지는 대신, 유동성이 감소하여 가공성이 낮아질 수 있다. 반면, 약한 인력의 경우에는 강도가 낮아지는 대신 유동성이 증가할 수 있다. 따라서 고분자의 기본 구조와 물성을 유지하면서 가공성을 향상시키기 위해 가소제를 첨가할 수 있다. 가소제는 본 발명인 필름의 유연성을 부여하여 피부의 신축에 의한 필름의 찢어짐을 방지할 수 있다.

[0053] 따라서 상기 가소제는 필름 전체 부피%에 대하여 0.01 ~ 10 w/v%를 포함할 수 있다. 또 다른 예로서 점증제는 필름 전체 부피%에 대하여 0.02 ~ 5w/v%를 포함할 수 있다. 가소제의 함량이 범위 미만인 경우에는 접착강도가 높아지는 대신 유동성이 감소하여, 상처가 난 손상부상의 필름의 찢어짐 등의 문제를 야기할 수 있다. 가소제의 함량이 범위 초과인 경우에는 필름의 유연성이 높아지는 대신, 접착강도가 낮아질 수 있다.

[0054] 상기 항산화제는 EDTA 및 비타민 C 중에서 적어도 어느 하나 이상을 선택할 수 있다. 항산화제는 전체 부피%에 대하여 0.01 ~ 10 w/v%를 포함할 수 있다. 또 다른 예로서 점증제는 필름 전체 부피%에 대하여 0.02 ~ 5w/v%를 포함할 수 있다.

[0055] 상기 첨가제로서 약학 조성물에 통상적으로 첨가되는 성분을 더 포함할 수 있다. 즉, 보존제, 안정화제, 소포제, 착향제, 기제, 보습제, 점착제, 유연제, 수렴제, 불투명화제 등일 수 있다.

[0056] 이와 같이 하이드록시아파타이트·키토산 복합체(HAp/키토산), 산성용액 및 형광발색제를 포함하는 레이저 보조용 조직 접착(LATA) 필름은 접착(기계적)강도가 17000 ~ 20000KPa이고, 필름의 두께가 0.0001 ~ 0.6mm인 것을 특징으로 한다.

[0057] 도 1은 본 발명의 실시예에 따른 레이저 보조용 조직 접착(LATA) 필름 제조공정을 나타낸다. 이하 도면을 참조하여 본 발명인 레이저 보조용 조직 접착(LATA) 필름의 제조방법을 상세히 설명하기로 한다.

[0058] 도 1을 참조하면, 본 발명의 실시예에 따른 레이저 보조용 조직 접착(LATA) 필름 제조단계는 크게 5가지 공정으로 이루어질 수 있다. 즉, 산성용액 및 형광발색제를 준비하는 제1단계, 산성용액과 형광발색제를 혼합하여 제1혼합물을 제조하는 제2단계, 제1혼합물에 하이드록시아파타이트·키토산 복합체(HAp/키토산)을 첨가하여 제2혼합물을 제조하는 제3단계, 제2혼합물을 교반하는 제4단계 및 제2혼합물을 건조하는 제5단계를 포함할 수 있다.

[0059] 제1단계는 산성용액 및 형광발색제를 준비하는 단계이다. 상기 산성용액은 아세트산용액, 시트르산용액, 젖산용액, 아스코르브산용액, 글루콘산용액, 말산용액 및 아디프산 용액 중에서 적어도 어느 하나 이상 포함할 수 있다. 본 발명에서는 주로 상기 산성용액은 아세트산용액을 포함하고, 증류수 전체 부피%에 대하여 2 ~ 4 v/v% 포함하며, 상기 형광발색제는 인도시아닌그린을 포함하고, 상기 인도시아닌그린은 필름 전체 부피%에 대하여 0.02 ~ 0.04w/v%를 포함할 수 있다.

[0060] 상기 아세트산용액은 유기물질로서 하기 키토산 및 형광발색제를 용해하기 위해 본 발명인 필름의 제조공정에 포함될 수 있다. 아세트산용액은 필름 전체 부피%에 대하여 0.02 ~ 5v/v%를 포함할 수 있다. 또다른 예로서 아세트산용액은 증류수인 탈이온수 부피%에 대하여 2 ~ 4 v/v%를 포함할 수 있다. 따라서 아세트산용액의 함량이 범위 미만이라면 키토산 및 형광발색제가 용해되지 않아 응집되어 본 발명인 필름의 접착강도 등에 문제를 야기할 수 있다. 또한, 아세트산용액의 함량이 범위 초과인 경우에는 지나친 산성용액으로 생체적합성 및 안정성 등에 문제를 야기할 수 있다.

[0061] 상기 인도시아닌그린(Indocyanine green, ICG)은 형광발색제로서 혈장단백질과 강한 결합을 형성하기 위해 본 발명인 필름의 제조공정에 포함될 수 있다. 인도시아닌그린은 필름 전체 부피%에 대하여 0.002 ~ 0.5w/v%를 포함할 수 있다. 또다른 예로서 인도시아닌그린은 필름 전체 부피%에 대하여 0.02 ~ 0.04w/v%를 포함할 수 있다. 따라서 인도시아닌그린의 함량이 범위 미만인 경우에는 본 발명인 필름의 접착력이 약해질 수 있다. 또한, 상기 인도시아닌그린의 함량이 범위 초과인 경우에는 레이저에 의한 화학적 분해가 활발하게 되어 본 발명인 필름의 접착강도, 생체적합성 등에 문제를 야기할 수 있다. 상기 인도시아닌그린은 빛의 투과에 의해 변질을 막기 위해 멸균튜브에 담은 다음, 알루미늄 호일등을 이용하여 감싼 후 보관할 수 있다.

[0062] 제2단계는 산성용액과 형광발색제를 혼합하여 제1혼합물을 제조하는 단계이다. 상기 산성용액은 아세트산용액을 포함하고, 상기 형광발색제는 인도시아닌그린을 포함할 수 있다. 인도시아닌그린이 들어있는 멸균튜브에 소정의 아세트산 용액을 적하하여 제1혼합물을 제조할 수 있다. 본 발명에서 상기 소정의 아세트산 용액은 1 ~ 5ml/min일 수 있다. 또다른 예로서 본 발명에 상기 소정의 아세트산 용액은 1 ~ 1.5ml/min일 수 있다. 아세트산용액을 적하시에는 피펫 등을 이용할 수 있다. 적하된 상기 아세트산 용액으로 인해 멸균튜브에 있는 인도시아닌그린이 용해될 수 있다. 제1혼합물이 들어 있는 멸균튜브는 빛의 투과를 방지하기 위해 호일로 감싸 보관할 수 있다.

[0063] 제3단계는 상기 제1혼합물에하이드록시아파타이트·키토산 복합체(HAp/키토산)을 첨가하여 제2혼합물을 제조하는 단계이다. 상기 제2혼합물은 상기 제2혼합물은 상기 제1혼합물에 하이드록시아파타이트·키토산 복합체(HAp/키토산)를 1.5 ~ 5w/v%를 포함할 수 있다. 또다른 예로서, 상기 제2혼합물은 상기 제1혼합물에 하이드록시아파타이트·키토산 복합체(HAp/키토산)를 필름 전체 부피%에 대하여 2 ~ 4w/v%를 포함할 수 있다. 즉, 아세트산용액에 의해 인도시아닌그린이 용해된 제1혼합물을 소정의 용기로 옮긴 후, 상기 제1혼합물에 상기 하이드록시아파타이트·키토산 복합체(HAp/키토산)를 필름 전체 부피%에 대하여 1.5 ~ 5w/v% 또는 2 ~ 4w/v%를 첨가하여 제2혼합물을 제조할 수 있다. 또한, 하이드록시아파타이트·키토산 복합체(HAp/키토산)가 포함된 제2혼합물은 파라필름(Parafilm)으로 소정의 용기를 덮은 다음, 알루미늄 호일로 감쌀 수 있다. 따라서 상기 제2혼합물에 하이드록시아파타이트·키토산 복합체(HAp/키토산)의 함량이 범위 밖인 경우에는 본 발명인 필름의 접착강도, 안정성 확보에 문제를 야기할 수 있다.

[0064] 도 2는 본 발명의 실시예에 따른 하이드록시아파타이트·키토산 복합체의 제조공정을 나타낸다. 이하 도면을 참조하여 상기 하이드록시아파타이트·키토산 복합체의 제조공정을 상세히 설명하기로 한다.

[0065] 도 2를 참조하면, 하이드록시아파타이트·키토산 복합체(HAp/키토산)는 크게 8가지공정으로 제조될 수 있다. 즉, 칼슘화합물과 인산염을 준비하는 제3-1단계, 칼슘화합물 및 인산염 각각 교반하는 제3-2단계, 수산화암모늄을 칼슘산화물 및 인산염 각각에 첨가하여 pH를 설정하는 제3-3단계, 인산염을 칼슘화합물에 첨가하여 혼합물을 제조하는 제3-4단계, 혼합물을 교반하는 제3-5단계, 교반된 혼합물을 세수하는 제3-6단계, 세수된 혼합물을 건조 및 분쇄하여 하이드록시아파타이트를 획득하는 제3-7단계 및 하이드록시아파타이트에 키토산을 첨가하여 복합체를 생성하는 3-8단계를 포함할 수 있다.

[0066] 제3-1단계는 칼슘화합물과 인산염을 준비하는 단계이다. 상기 칼슘화합물은 질산칼슘 및 질산칼륨 중에서 어느 하나 이상 선택할 수 있다. 본 발명에서 주로 질산칼슘을 이용할 수 있다. 상기 질산칼슘 (Ca(NO3)2·4H20)은 증류수 300~ 400ml에 0.20 ~ 0.25M 포함될 수 있다. 상기 인산염은 인산암모늄을 선택할 수 있다. 상기 인산암모늄((NH4)2HPO4)은 증류수 200 ~ 300ml에 0.25 ~ 0.30M 포함될 수 있다. 또 다른 예로서 질산칼슘 대신 질산칼륨을 이용할 수 있다. 상기 질산칼슘과 상기 인산암모늄을 준비하는 이유는 상기 하이드록시아파타이트가 기

본적으로 인산칼슘계열이기 때문이다.

[0067] 상기 질산칼슘은 무색의 조해성이 있는 결정체로서 물과 알코올에 잘 용해되고, 열을 가하면 산화칼슘과 산소와 산화질소로 분해될 수 있다. 상기 인산암모늄((NH4)2HPO4)은 인산의 수소원자가 모두 암모늄으로 바뀌어 만들어진 무색 결정의 물질로 물에 잘 녹는 성질을 갖는다.

[0068] 제3-2단계는 칼슘화합물과 인산염 각각을 실온에서 교반하는 단계이다. 상기 칼슘화합물과 인삼염은 각각 교반을 시행한다. 상기 교반은 자기 교반기를 사용할 수 있다. 상기 교반은 0.5 ~ 1시간 동안 160 ~ 180rpm으로 이루어질 수 있다. 상기 시간과 교반속도가 범위 미만인 경우에는 칼슘화합물과 인삼염이 불균일하게 혼합되어 하이드록시에퍼타이트 입자들이 응집되어 본 발명인 필름의 접착강도 등에서 원하는 효과가 발휘될 수 없다.

[0069] 제3-3단계는 칼슘화합물과 인산염 각각에 수산화암모늄(NH4OH)를 첨가하여, pH를 9 ~ 11로 만드는 단계이다. 즉, 칼슘화합물에 수산화암모늄을 첨가하여 pH를 9 ~ 11로 만들고, 인산염에 수산화암모늄(NH4OH)를 첨가하여 pH를 9 ~ 11로 만들 수 있다. 상기 칼슘화합물과 인산염에 수산화암모늄을 첨가하여 약염기성을 만드는 이유는 하이드록시아파타이트가 염기성 조건에서 더 안정적이기 때문이다. 반면, 하이드록시아파타이트가 산성 조건에서는 탈염될 수 있다.

[0070] 제3-4단계는 인산암모늄을 질산칼슘에 첨가하여 혼합물을 제조하는 단계이다. 즉, 상기 제3-3단계에서 pH가 확정된 칼슘화합물에 pH가 확정된 인산염을 첨가하여 혼합물을 제조할 수 있다. 인산염의 첨가량은 칼슘화합물 전체 부피에 대하여 0.25 ~ 0.30ml를 첨가할 수 있다. 인산염의 첨가 방식은 드롭 방식을 이용할 수 있다. 상기 드롭 방식을 이용한 적하 혼합은 고품질의 나노 입자를 성장시킬 수 있다. 즉, 반응 환경은 결정거동을 직접적으로 결정하고, 열역학적 공정의 에너지 장벽 높이와 핵생성 및 성장의 균형에 영향을 미칠 수 있다. 따라서 최종 생성물인 하이드록시아파타이트의 품질은 전구체 분자의 적하와 같은 반응 조건에 따라 영향을 받을 수 있다.

[0071] 제3-5단계는 상기 혼합물을 6 ~ 8시간 동안 600 ~ 650rpm으로 교반하는 단계이다. 즉, 화학반응이 완료되고, 나노 입자의 완전한 결합 및 성장을 위해서는 장시간의 혼합이 필요하다. 따라서 교반 시간 및 교반 속도가 범위 밖인 경우에는 합성된 나노 입자의 균질한 혼합 및 노화를 유지할 수 없다.

[0072] 제3-6단계는 교반된 상기 혼합물을 증류수로 세수하는 단계이다. 상기 세수는 혼합물에 증류수를 첨가하여 과량의 암모니아를 용해시키는 과정이다. 따라서 상기 세수는 혼합물에 증류수인 탈이온수를 첨가하여 1 ~ 2min동안 혼합할 수 있다. 또한, 상기 세수는 4 ~ 6번 진행할 수 있다. 세수가 완료된 상기 혼합물의 pH는 6.5 ~ 7.5일 수 있다. 바람직하게는 본 발명에서 세수가 완료된 혼합물의 pH는 7인 것을 특징으로 한다.

[0073] 제 3-7단계는 세수된 상기 혼합물을 건조후에, 분쇄하여 나노 하이드록시아파타이트를 획득하는 단계이다. 상기 건조는 80 ~ 90℃에서 24시간 진행할 수 있다. 건조후에 입자들을 수집하한 다음, 막자사발로 갈아 1차 분쇄하여 나노 하이드록시아파타이트 얻을 수 있다. 막자사발로 1차 분쇄된 나노 하이드록시아파타이트를 분쇄기를 이용하여 2 ~ 2.5시간 동안 300 ~ 350rpm으로 2차 분쇄하여 80nm 미만인 최종 하이드록시아파타이트를 할 수 있다. 2차 분쇄가 완료된 최종 하이드록시아파타이트 평균 입자 크기는 40 ~ 50nm일 수 있다. 따라서 상기 건조 온도 및 시간, 분쇄 시간 및 속도가 범위 미만인 경우에는 상기 하이드록시아파타이트의 합성이 제대로 이루어지지 않아 본 발명인 필름의 접착강도 등에 좋지 않은 영향을 끼칠 수 있다. 또한, 건조 온도 및 시간, 분쇄 시간 및 속도가 범위 초과인 경우에는 입자의 파괴를 초래해 본 발명인 필름의 접착강도 등에 또한 좋지 않은 영향을 끼칠 수 있다.

[0074] 제3-8단계는 하이드록시아파타이트에 키토산을 첨가하여 복합체를 생성하는 단계이다. 즉, 상기 제3-7단계에서 획득한 하이드록시아파타이트에 키토산을 첨가하여 복합체(HAp/키토산)을 제조하는 단계이다. 상기 복합체는 하이드록시아파타이트(Ca10(PO4)6(OH)2)와 키토산이 1:1 ~ 1:1.2 중량비로 혼합될 수 있다. 따라서 상기 하이드록시아파타이트와 키토산의 비율이 범위 밖인 경우에는 본 발명인 무기물질인 하이드록시아파타이트와 유기물질인 키토산과의 비율이 적합하지 않아 본 발명인 필름의 접착강도, 생체적합성, 안정성 등에 문제를 야기할 수 있다.

[0075] 이와 같이 상기 하이드록시아파타이트·키토산 복합체의 제조공정은 무기물질인 하이드록시아파타이트와 유기물질인 키토산에 의해 제조될 수 있다.

[0076] 제4단계는 상기 제3단계에서 제조된 제2혼합물을 교반하는 단계이다. 즉, 상기 교반은 제2혼합물을 실온에서 48 ~ 53시간동안 250 ~ 350rpm으로 혼합할 수 있다. 상기 제2혼합물을 장시간 교반하는 이유는 하이드록시아파타이트 입자가 균일하게 분포되어 균일한 용액을 만들기 위함이다. 또한, 상기 아세트산의 농도가 매우 낮기 때문에

키토산의 완전한 용해를 위해서 장시간 교반이 필요하다. 따라서 상기 교반 시간과 속도가 범위 미만인 경우에는 키토산이 다공성인 하이드록시아파타이트 사이에 균일하게 채워지지 않아 본 발명인 필름의 접착강도 등에 문제를 야기할 수 있다. 또한, 상기 교반 시간과 속도가 범위 초과인 경우에는 증발로 인해 액상이 손실될 수 있다. 제4단계가 완료된 제2혼합물인 레이저 보조용 조직 접착(LATA)의 용액의 점도는 2,000 ~ 100,000cps인 것을 특징으로 한다. 본 발명에서 교반이 완료된 제2혼합물은 레이저 보조용 조직 접착(LATA) 용액을 의미한다.

[0077] 제5단계는 교반된 제2혼합물을 건조하는 단계이다. 즉, 상기 건조는 제2혼합물을 30 ~ 35℃에서 24 ~ 30시간 동안 실시할 수 있다. 상기 건조 온도와 시간은 이에 제한되지 않는다. 즉, 상기 건조는 실온도와 습도 등의 환경적인 조건에 의해 상이할 수 있다. 상기 건조는 필름이 몰드로부터 깔끔하게 떨어져 나올 수 있는 조건 및 상황에서 건조가 적절히 되었다고 판단할 수 있다. 따라서 상기 건조 온도와 시간이 범위 미만인 경우에는 본 발명인 필름의 접착강도 등에 문제를 야기할 수 있다. 또한, 상기 건조 온도와 시간이 범위 초과인 경우에는 이미 원하는 기능을 지닌 필름이 완성된 바, 시간적 및 비용적인 측면에서 비효율적일 수 있다.

[0078] 따라서 건조는 입자들의 응집을 방지하여 키토산이 다공성인 하이드록시아파타이트에 균일하게 혼합되도록 하는 공정으로, 본 발명인 필름의 기능을 향상시킬 수 있다.

[0079] 위와 같은 공정을 통해, 하이드록시아파타이트·키토산 복합체, 산성용액, 형광발색제를 혼합하여 접착강도가 우수하고, 생체 적합하고 안정성이 좋은 레이저 보조용 조직 접착(LATA) 필름을 제조할 수 있다.

[0080] 이하, 제조예 및 실시예들을 예시한다. 하기의 제조예 및 실시예들은 본 발명의 이해를 돕도록 하기 위해 제공되는 것일 뿐이다.

[0082] <하이드록시아파타이트의 합성 및 하이드록시아파타이트·키토산 복합체 제조>

[0083] [합성예] -하이드록시아파타이트 합성

[0084] 증류수인 탈이온수 350ml에 칼슘화합물인 질산칼슘 0.24M, 탈이온수 250ml에 인산염인 인산암모늄 0.29M를 준비하였다. 상기 질산칼슘과 상기 인산암모늄을 실온에서 0.5시간 동안 160rpm으로 각각 교반하였다. 교반된 각각의 상기 질산칼슘과 상기 인산암모늄에 수산화암모늄을 첨가하여 pH를 10으로 설정하였다. 상기 pH가 설정된 상기 질산칼슘에 상기 인산암모늄 0.29ml를 드롭방식으로 혼합하여 혼합물을 제조하였다. 상기 혼합물을 6시간동안 600rpm으로 교반하였다. 교반된 상기 혼합물에 증류수를 추가하여 혼합물의 pH가 7이 되도록 4번 세수한 다음, 중성인 상기 혼합물을 85℃에서 24시간 건조하였다. 건조된 나노 입자들을 수집하고 막자 사발을 이용하여 1차 분쇄를 진행 후, 1차 분쇄된 나노 입자들을 볼밀링 머신(Retch PM 100, 독일)으로 2시간 동안 300rpm으로 2차 분쇄하여 하이드록시아파타이트 분말을 획득하였다.

[0086] [제조예] -하이드록시아파타이트·키토산 복합체 제조

[0087] 상기 합성예에 따라 제조된 하이드록시아파타이트에 키토산을 1:1의 중량비로 혼합하여 하이드록시아파타이트·키토산 복합체를 제조하였다.

[0089] <실시예 및 비교예>

[0090] [실시예 1] - ICG(인도시아닌그린)-HAp(하이드록시아파타이트)-키토산 필름 제조

[0091] 비이커에 증류수인 탈이온수로 아세트산용액 2v/v%를 준비하였다. 또한, 빛의 투과를 방지하기 위해 알루미늄 호일로 감싼 멸균튜브에 인도시아닌그린을 필름 전체 부피%에 대하여 0.02w/v%를 준비하였다. 상기 인도시아닌그린을 용해시키기 위해 1ml의 상기 아세트산 용액을 멸균튜브에 넣어 제1혼합물을 제조하였다. 상기 제1혼합물을 비커로 옮긴 후에, 상기 제조예에 따라 제조된 하이드록시아파타이트·키토산 복합체를 필름 전체 부피%에 대하여 2w/v%를 첨가하여 제2혼합물을 제조하였다. 상기 비커를 파라필름(Parafilm)으로 덮고, 빛의 투과를 방지하기 위해 알루미늄 호일로 감싼 다음. 실온에서 48시간 동안 250rpm으로 교반하였다. 교반된 상기 제2혼합물인 레이저 보조용 조직 접착(LATA) 용액을 레이저 보조용 조직 접착(LATA) 필름 제작 몰드(ASTM D882 표준 기준 적용 몰드)에 담아 필름이 몰드로부터 깔끔하게 떼어질 수 있을 정도로 30℃에서 24시간동안 건조하여 레이저 보조용 조직 접착(LATA) 필름을 제조하였다.

[0093] [실시예 2]- ICG(인도시아닌그린)-HAp(하이드록시아파타이트)-키토산 필름 제조

[0094] 하이드록시아파타이트·키토산 복합체를 필름 전체 부피%에 대하여 4w/v%를 첨가하여 제2혼합물을 제조하는 것을 제외하고 실시예 1과 동일하게 레이저 보조용 조직 접착(LATA) 필름을 제조하였다.

[0096] [비교예 1] - 키토산 필름 제조

[0097] 비이커에 증류수인 탈이온수로 아세트산용액 2v/v%를 준비하였다. 상기 아세트산용액에 키토산을 필름 전체 부피%에 대하여 2w/v%를 첨가하여 혼합물을 제조하였다. 상기 비커를 파라필름(Parafilm)으로 덮고, 빛의 투과를 방지하기 위해 알루미늄 호일로 감싼 다음. 실온에서 48시간 동안 250rpm으로 교반하였다. 교반된 상기 제2혼합물인 레이저 보조용 조직 접착(LATA) 용액을 레이저 보조용 조직 접착(LATA) 필름 제작 몰드(ASTM D882 표준 기준 적용 몰드)에 담아 필름이 몰드로부터 깔끔하게 떼어질 수 있을 정도로 건조하여 키토산 필름을 제조하였다.

[0099] [비교예 2] - ICG(인도시아닌그린)-키토산 필름 제조

[0100] 비이커에 증류수인 탈이온수로 아세트산용액 2v/v%를 준비하였다. 또한, 빛의 투과를 방지하기 위해 알루미늄 호일로 감싼 멸균튜브에 인도시아닌그린을 필름 전체 부피%에 대하여 0.02w/v%를 준비하였다. 상기 인도시아닌그린을 용해시키기 위해 1ml의 상기 아세트산 용액을 멸균튜브에 넣어 제1혼합물을 제조하였다. 상기 제1혼합물을 비커로 옮긴 후에, 상기 제1혼합물에 키토산을 필름 전체 부피%에 대하여 2w/v%를 첨가하여 제2혼합물을 제조하였다. 상기 비커를 파라필름(Parafilm)으로 덮고, 빛의 투과를 방지하기 위해 알루미늄 호일로 감싼 다음. 실온에서 48시간 동안 250rpm으로 교반하였다. 교반된 상기 제2혼합물인 레이저 보조용 조직 접착(LATA)용액을 레이저 보조용 조직 접착(LATA) 필름 제작 몰드(ASTM D882 표준 기준 적용 몰드)에 담아 필름이 몰드로부터 깔끔하게 떼어질 수 있을 정도로 건조하여 ICG-키토산 필름을 제조하였다.

[0102] [비교예 3] - HAp(하이드록시아파타이트)-키토산 필름 제조

[0103] 비이커에 증류수인 탈이온수로 아세트산용액 2v/v%를 준비하였다. 상기 아세트산용액에 하이드록시아파타이트·키토산 복합체를 필름 전체 부피%에 대하여 2w/v%를 첨가하여 혼합물을 제조하였다. 상기 비커를 파라필름(Parafilm)으로 덮고, 빛의 투과를 방지하기 위해 알루미늄 호일로 감싼 다음. 실온에서 48시간 동안 250rpm으로 교반하였다. 교반된 상기 제2혼합물인 레이저 보조용 조직 접착(LATA) 용액을 레이저 보조용 조직 접착(LATA) 필름 제작 몰드(ASTM D882 표준 기준 적용 몰드)에 담아 필름이 몰드로부터 깔끔하게 떼어질 수 있을 정도로 건조하여 HAp-키토산 필름을 제조하였다.

[0105] 표 1은 본 발명의 실시예 및 비교예에 따른 필름 성분을 나타낸다.

표 1

[0106]

	아세트산용액	인도시아닌그린(ICG)	키토산	하이드록시아파타이트
실시예 1	○	○	○(1%w/v)	○(1%w/v)
실시예 2	○	○	○(2%w/v)	○(2%w/v)
비교예 1	○	-	○	-
비교예 2	○	○	○	-
비교예 3	○	-	○	○

[0108] 도 3은 본 발명의 비교예에 따른 건조전 키토산(a), 키토산 및 IR-783(b)을 함유한 필름이고, 도 4는 본 발명의 비교예에 따른 건조후 키토산(a), 키토산 및 IR-783(b)을 함유한 필름이고, 도 5는 본 발명의 실시예에 따른 건조후 2w/v% 하이드록시아파타이트·키토산 복합체(c), 4w/v% 하이드록시아파타이트·키토산 복합체(d)를 함유한

필름이다. 본 발명에서 IR-783은 인도시아닌그린을 의미한다.

[0109] 도 3 및 도 4를 참조하면, 도 3은 건조전 키토산(a), 키토산 및 IR-783(b)을 함유한 필름으로서, 키토산만 함유한 필름(a)은 투명한 흰색이고, 키토산 및 IR-783(b)을 함유한 필름은 초록색으로 입자들이 응집되어 있는 것을 보여 주고 있다. 또한, 도 4는 건조후 키토산(a), 키토산 및 IR-783(b)을 함유한 필름으로서, 키토산(a)만을 함유한 필름은 흰색이고, 키토산 및 IR-783(b)을 함유한 필름은 갈색으로서 입자들이 응집되어 있는 것을 보여 주고 있다.

[0110] 반면, 도 5를 참조하면, 도 5는 건조후 2w/v%하이드록시아파타이트·키토산 복합체(c), 4w/v%하이드록시아파타이트·키토산 복합체(d)를 함유한 필름으로서, 2w/v% 또는 4w/v% 하이드록시아파타이트·키토산 복합체((c, (d))를 함유한 필름은 초록색으로 입자가 응집되어 있지 않고, 균일하게 흩어진 형태를 보여주고 있다.

[0112] < 시험예 >

[0113] [시험예 1] - 하이드록시아파타이트·키토산 복합체의 TGA 분석, XRD 측정 및 SEM 측정

[0114] 열중량 분석(Thermogravity Analysis) : TA Instruments 2050 TGA를 사용하였다.

[0115] XTD 측정 : 필름상에 존재하는 성분분석을 위해 XRD(PW1700, Philips. X-ray Diffractometer)를 사용하여 CuKa 10 ~ 60℃까지 측정하였다.

[0116] SEM 측정 : 필름상에 존재하는 하이드록시아파타이트 입자 크기를 확인하기 위하야 SEM을 측정하였다.

[0117] 도 6은 본 발명의 제조예에 따른 하이드록시아파타이트·키토산 복합체의 TGA 측정결과이고, 도 7는 본 발명의 제조예에 따른 하이드록시아파타이트·키토산 복합체의 XRD 분석결과를 나타낸다. 도 8는 본 발명의 제조예에 따른 하이드록시아파타이트의 주사전자현미경 사진이다.

[0118] 도 6를 참조하면, 온도가 상승함에 따라 하이드록시아파타이트·키토산 복합체내의 유기물질인 키토산이 약 50%까지 분해되었으며, 나머지는 무기물질인 하이드록시아파타이트가 존재하는 것을 확인하였다.

[0119] 도 7를 참조하면, XRD 측정결과 26℃, 32℃, 40℃ 부근의 peak로 볼 때, 이 무기물질인 하이드록시아파타이트임을 확인하였다.

[0120] 도 8를 참조하면, 하이드록시아파타이트 평균 입자의 크기는 40 ~ 50nm임을 확인할 수 있었다

[0122] [시험예 2] - 필름의 접착(기계적)강도

[0123] 시험방법 : 본 발명의 실시예 및 비교예에 따라 제조된 필름의 접착(기계적)강도를 Universal Testing Machine(LR5KPlus, USA)을 사용하여 측정하였다.

[0125] 표 2는 본 발명의 실시예 및 비교예에 따른 접착(기계적) 강도를 나타낸다.

표 2

[0126]

실시예 및 비교예	접착(기계적)강도(KPa)
실시예 1	20000
비교예 1	11000
비교예 2	11000
비교예 3	7000

[0128] 도 9a 내지 도 9c는 본 발명의 비교예에 따른 기계적 강도를 나타낸 그래프이고, 도 10은 본 발명의 실시예에 따른 기계적 강도를 나타낸 그래프이다.

[0129] 표 2, 도 9a 내지 도 10를 참조하면, 실시예 1(도 10)의 기계적 강도 20000KPa, 비교예 1(도 9a)의 기계적 강도 11000KPa, 비교예 2(도 9b)의 기계적 강도 110000KPa 및 비교예 3(도 9c)의 기계적 강도 7000KPa를 나타냈다.

따라서, 본 발명의 실시예 1에 따른 ICG-HAp-키토산를 함유한 필름(도 10)의 기계적 강도가 가장 우수한 것을 확인할 수 있었다. 반면, 비교예로서 키토산만 함유한 필름(도 9a)과 ICG-키토산(도 9b)을 함유한 필름이 강도면에서 그 다음 순위 되고, HAp-키토산만(도 9c)을 함유한 필름이 강도면에서 가장 취약한 것을 확인할 수 있었다.

[0131] [시험예 3] - 필름의 생체적합성 및 독성 시험

[0132] 시험방법 : MG-63 조골세포, MDA-MB-231 유방암 유래 세포를 배양후에, 하이드록시아파타이트·키토산 복합체(HAp-키토산)의 입자를 배양된 세포에 분포시킨 후, 24, 48 및 72시간 간격으로 세포의 생존율을 확인하는 MTT assay 기법으로 in vitro 단계내에서의 생체적합성을 평가하였다. 대조군(control)으로 키토산 입자만 분포된 세포를 사용하였다.

[0133] 평가방법 : 약 80%이상의 세포 생존율인 경우에 생체적합한 무독성으로 고려될 수 있다.

[0134] 도 11은 본 발명의 실시예에 따른 생체적합성 결과를 나타낸 그래프이다.

[0135] 도 11을 참조하면, 본 발명의 제조예에 따른 하이드록시아파타이트·키토산 복합체의 입자를 분포시킨 MG-63 및 MDA-MB-231 세포 각각의 세포 생존율을 확인한 결과, 대조군(control)과 비교하여 농도 100㎍/ml, 농도 200㎍/ml, 농도 300㎍/ml 및 농도 400㎍/ml에서 모두 80% 이상의 세포 생존율을 나타내었다. 따라서 본 발명의 제조예에 따른 하이드록시아파타이트·키토산 복합체는 독성이 없는 물질로서 생체적합한 물질이라는 것을 확인할 수 있었다.

[0137] [시험예 4] - 세포부착성

[0138] 시험방법 : 본 발명의 실시예 및 비교예에 따라 필름을 제조한 후에, 플레이트(plate)에 알맞게 필름을 8*8mm로 자른 다음, 플레이트에 넣고 세포배양액을 추가하였다. 해당 플레이트(plate)에 MDA-MB-231(유방암 유래 세포)를 24시간 배양후에, 20X배율로 현미경을 통해 세포를 관찰하였다.

[0139] 평가방법 : 세포가 필름 주위에 부착된 정도 즉, 세포의 모양, 세포의 수, 필름 근처의 부착성 등이 고려될 수 있다. 또한, 세포를 관찰하기 전에 세포배양액을 흡입한 후, 새로운 세포배양액을 주입한 채 관찰하여 세포가 필름 또는 플레이트(plate)에 부착된 세포의 형태가 온전한가를 기준으로 평가할 수 있다.

[0140] 도 12는 본 발명의 실시예 및 비교예에 따른 세포부착성 결과를 나타낸 사진이다.

[0141] 도 12를 참조하면, 보통 세포 배양 후 6시간이 지나면 세포가 필름 또는 플레이트(plate)에 부착하기 시작하는데 본 발명에서는 24시간 동안 관찰한 결과, 빈공간이 많은 비교예 1 및 비교예 2 필름에 비하여, 실시예 1(관찰지점을 달리하는 실시예 1의 사진 2개) 필름이 세포가 가장 많이 부착되어 있는 것을 확인할 수 있었다. 또한, 실시예 1(관찰지점을 달리하는 실시예 1의 사진 2개) 필름에는 원형에 꼬리가 달려있는 길쭉한 형태의 세포가 부착되어 있고, 비교예 1 및 비교예 2 필름에는 동그란 형태의 세포가 부착되어 있으므로, 실시예 1이 건강한 세포라는 것을 확인할 수 있었다.

[0143] [시험예 5] - 필름 적용 과정

[0144] 본 발명에서 사용된 동물실험은 동물 관리 서비스에 대한 제도적 규칙 및 규정을 준수하여 시행되었습니다.

[0145] 도 13은 본 발명의 실시예에 따른 레이저 보조용 조직 접착(LATA) 필름의 적용과정을 나타낸다.

[0147] 도 13의 레이저 보조용 조직 접착(LATA) 필름의 적용과정은 아래와 같다.

[0148] ① BALB/c 누드 마우스 피부이다.

[0149] ② 레이저 보조용 조직 접착(LATA) 필름과 함께 조직 접착 실험에 사용할 마우스 피부를 선택한다.

[0150] ③ 선택된 마우스 피부(길이 20mm, 너비 12mm) 및 레이저 보조용 조직 접착(LATA) 필름을 준비한다.

[0151] ④ 선택된 마우스 피부를 두 조각(각각 길이10mmm, 너비 6mm)으로 절개한다.

[0152] ⑤ 2조각으로 절개된 위치에 본 발명인 필름을 배치한다.

[0153] ⑥ 절개된 2개의 조직을 붙여주기 위해 40초 동안 NIR 808nm으로 레이저를 조사한다.

[0154] ⑦ 레이저 보조용 조직 접착(LATA)필름으로 부착된 조직(평면)을 나타낸다.

[0155] ⑧ 레이저 보조용 조직 접착(LATA)필름으로 부착된 조직(저면)을 나타낸다.

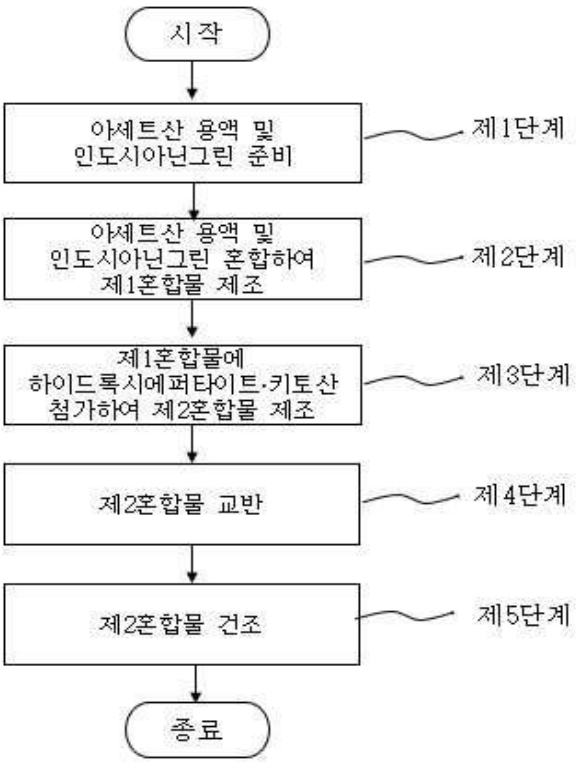
[0157] 따라서 접착강도등 뿐만 아니라, 손상부가 크더라도 흔적이 없는 봉합사로 본 발명인 필름은 심미적인 측면에서 우수한 효과가 있음을 알 수 있었다.

[0159] 이와 같이 본 발명의 실시예에 따라 제조된 필름은 생체에 적용하기에 적합하고, 안정성이 우수할 뿐만 아니라. 접착강도, 세포부착성 및 심미적인 측면에서 우수한 효과가 있음을 알 수 있었다.

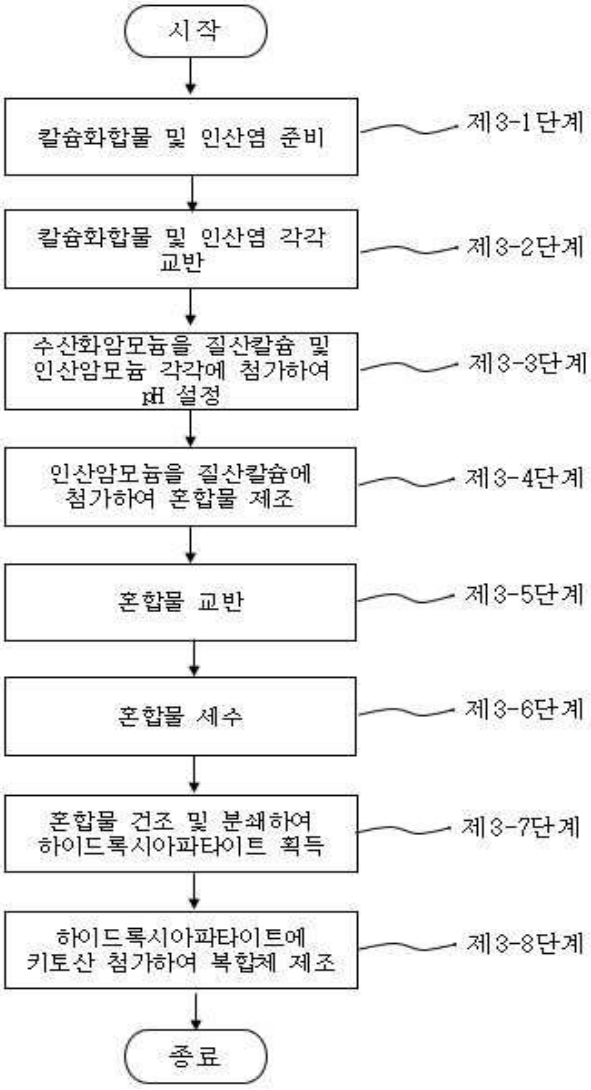
[0160] 상기 실시예들은 예시적인 것에 불과한 것으로, 본 발명이 속하는 기술분야에서 통상의 지식을 가진 사람이라면, 이로부터 다양한 변형 및 균등한 타 실시예가 가능하다. 따라서 본 발명의 진정한 기술적 보호범위는 청구범위에 기재된 발명의 기술적 사상에 의해 정해져야만 할 것이다.

도면

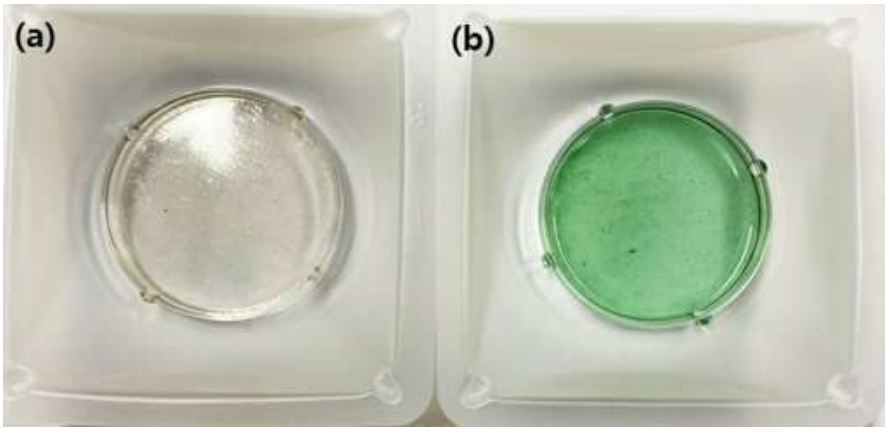
도면1



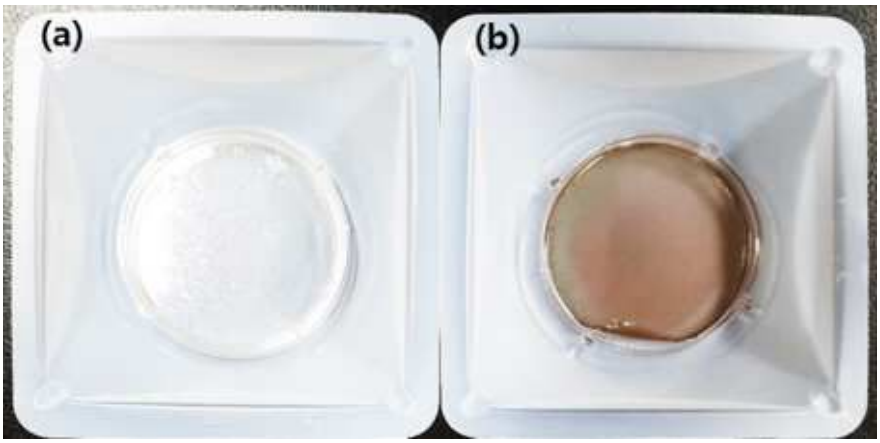
도면2


시작
칼슘화합물 및 인산염 준비
제3-1단계
칼슘화합물 및 인산염 각각 교반
제3-2단계
수산화암모늄을 질산칼슘 및 인산암모늄 각각에 첨가하여 pH 설정
제3-3단계
인산암모늄을 질산칼슘에 첨가하여 혼합물 제조
제3-4단계
혼합물 교반
제3-5단계
혼합물 세수
제3-6단계
혼합물 건조 및 분쇄하여 하이드록시아파타이트 획득
제3-7단계
하이드록시아파타이트에 키토산 첨가하여 복합체 제조
제3-8단계
종료

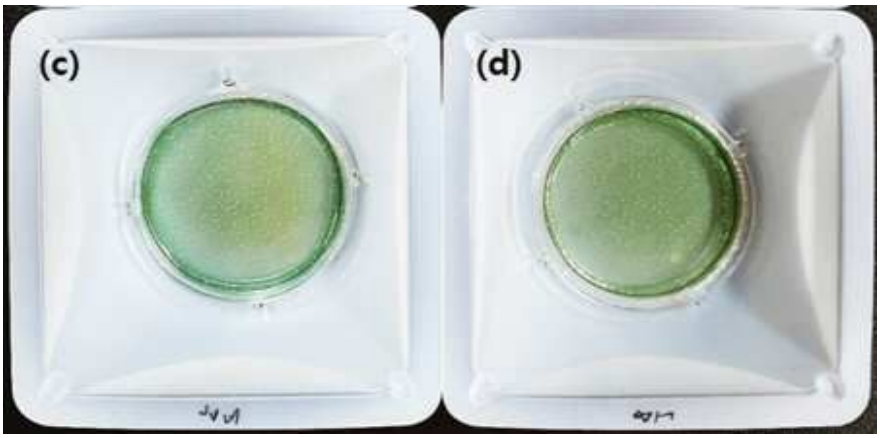
도면3


(a)
(b)

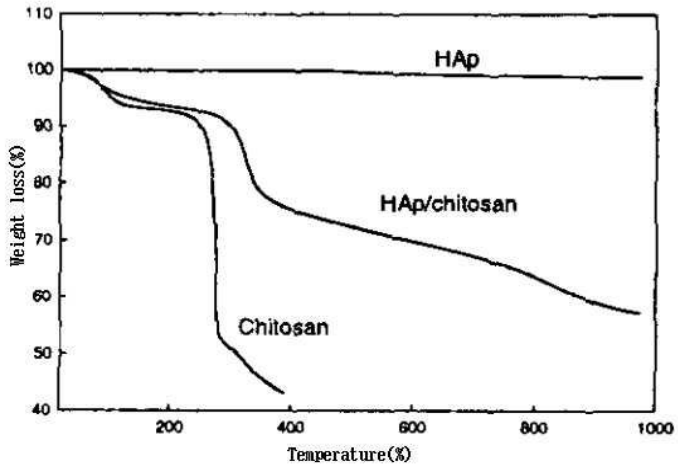
도면4


(a)
(b)

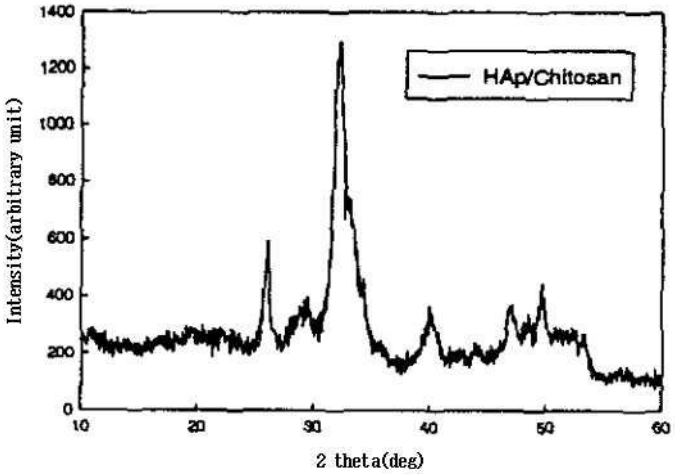
도면5


(c)
(d)

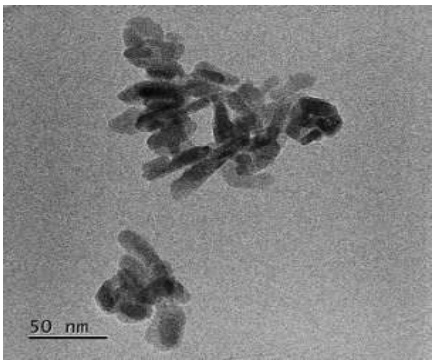
도면6


110
100
90
80
70
60
50
40
Weight loss(%)
200
400
600
800
1000
Temperature(%)
HAp
HAp/chitosan
Chitosan

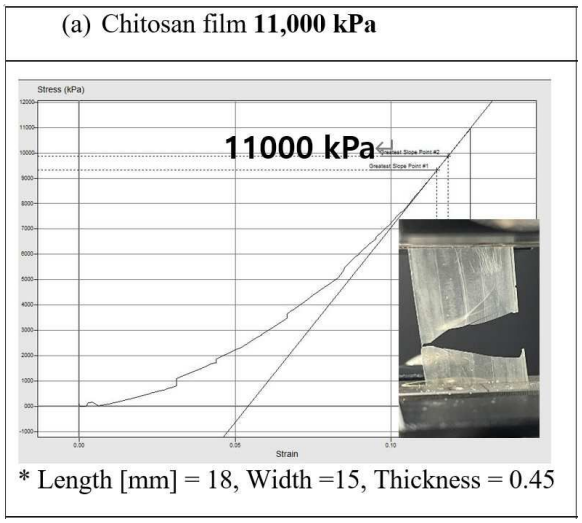
도면7


HAp/Chitosan
Intensity(arbitrary unit)
2 theta(deg)
1400
1200
1000
800
600
400
200
0
10
20
30
40
50
60

도면8

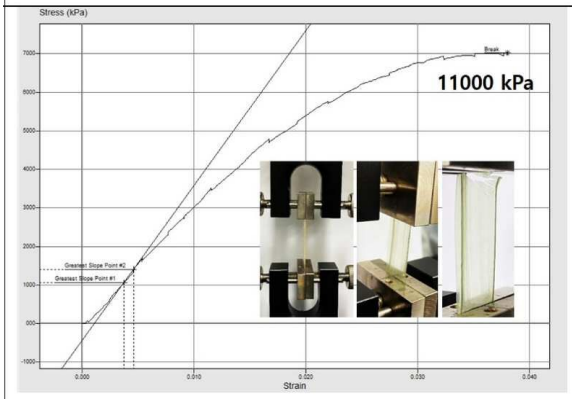

50 nm

도면9a


(a) Chitosan film 11,000 kPa
Stress (kPa)
11000 kPa
Strain
* Length [mm] = 18, Width =15, Thickness = 0.45

도면9b

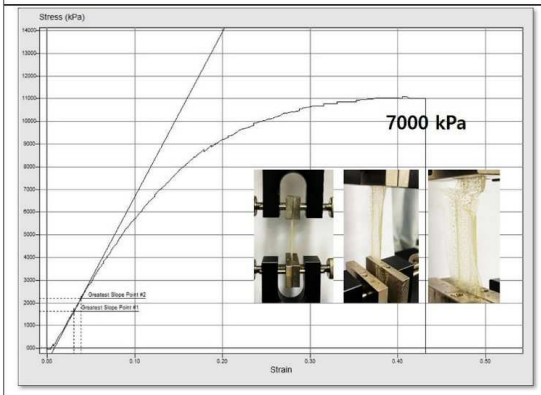
(b) ICG-Chitosan film **11,000 kPa**



* Length [mm] = 30, Width =15, Thickness = 0.45

도면9c

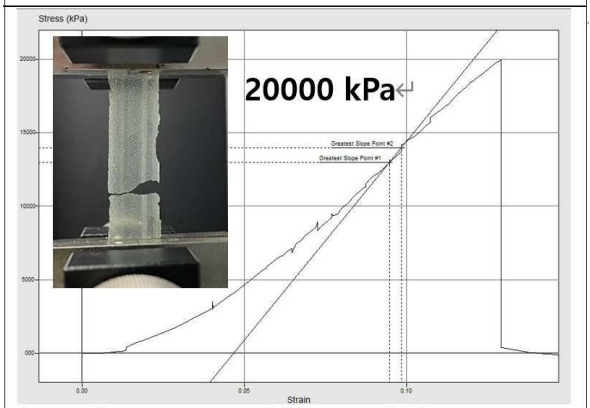
(c) HAp-Chitosan film **7,000 kPa**



* Length [mm] = 30, Width =15, Thickness = 0.45

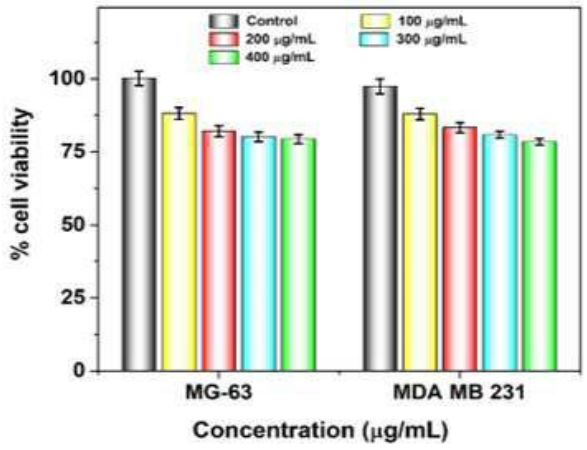
도면10

(d) ICG-HAp-Chitosan LATA film **20,000 kPa**

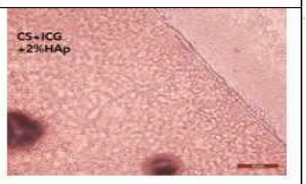
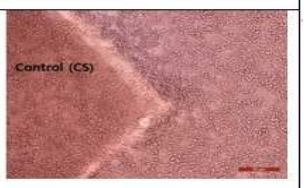
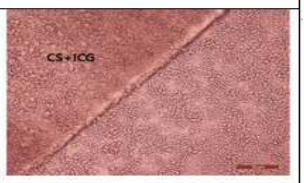


* Length [mm] = 30, Width =15, Thickness = 0.55

도면11



도면12

	필름	세포부착성 결과
실시예 1	ICG-HAp-키토산 (2w/w%)	
실시예 1	ICG-HAp-키토산 (2w/w%)	
비교예 1	키토산	
비교예 2	ICG-키토산	

도면13

