(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2023-0078256
(43) 공개일자 2023년06월02일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 9/00 (2006.01) *A61K 36/48* (2006.01)
A61K 47/36 (2017.01) *A61K 47/42* (2017.01)
A61K 47/46 (2017.01)
(52) CPC특허분류
A61K 9/006 (2013.01)
A61K 36/48 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2021-0165857
(22) 출원일자 2021년11월26일
심사청구일자 2021년11월26일

(71) 출원인
조선대학교산학협력단
광주광역시 동구 필문대로 309 (서석동)
(72) 발명자
문성용
광주광역시 서구 화운로 278, 104동 1302호(광천동, 광천 e편한세상)
김진
광주광역시 동구 밤실로 150, 105동 608호(산수동, 두암그린파크)
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
특허법인리채

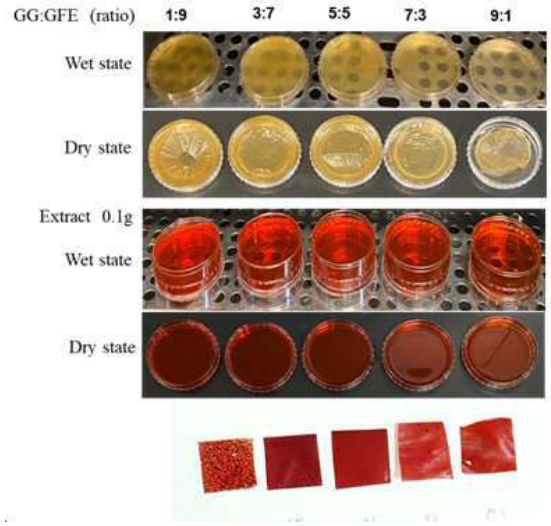
전체 청구항 수 : 총 5 항

(54) 발명의 명칭 **구강부착형 필름 및 이의 제조방법**

(57) 요 약

본 발명은 구강부착형 필름 및 이의 제조방법에 관한 것으로, 해파리 추출물 및 소목 추출물과 같은 천연 소재를 포함함으로써, 구강 부착시 부작용의 위험이 적고, 구강점막에 부착성이 우수하며 구강에서 붕해되면서 기능적 효과를 가지는 유효 성분들이 방출되어 구강질환의 치료에 효과적이다.

대 표 도 - 도3



(52) CPC특허분류
A61K 47/36 (2013.01)
A61K 47/42 (2013.01)
A61K 47/46 (2013.01)

(72) 발명자
이숙영
광주광역시 남구 봉선중앙로 46, 108동 201호(봉선동, 삼익아파트)

김춘성
광주광역시 남구 서문대로678번길 7, 101동 1002호(진월동, 대주아파트)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1525011797
과제번호	202106562
부처명	해양수산부
과제관리(전문)기관명	해양수산과학기술진흥원
연구사업명	빅데이터기반해양바이러스제어및마린바이오틱스개발(R&D)
연구과제명	해조류 기반 바이오 헬스케어 유효성 소재 실증 지원
기 여 율	1/1
과제수행기관명	조선대학교 산학협력단
연구기간	2021.04.01 ~ 2021.12.31

명 세 서

청구범위

청구항 1

해파리 외피 추출물, 젤란검 및 소목 추출물의 혼합물로 제조된 구강부착형 필름.

청구항 2

청구항 1에 있어서, 상기 해파리 외피 추추물은 콜라겐을 포함하는 것인, 구강부착형 필름.

청구항 3

청구항 1에 있어서, 상기 해파리 외피 추출물은 총 아미노산 함량 대비 글리신(Glycin) 및 프롤린(proline) 함량이 20% 이상인, 구강부착형 필름.

청구항 4

청구항 1에 있어서, 상기 해파리 외피 추출물 및 젤란검은 8:2 내지 2:8의 중량비로 포함되는, 구강부착형 필름.

청구항 5

해파리 외피 추출물, 젤란검 및 소목 추출물의 혼합물을 열 건조하는 단계; 및

상기 열 건조된 혼합물에 D-PBS(Dulbecco's Phosphate Buffered Saline)를 처리하여 필름을 제조하는 단계를 포함하는, 구강부착형 필름의 제조방법.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 구강부착형 필름 및 이의 제조방법에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0003] 최근에는 자연 생물 유래의 천연고분자를 사용하여 제조한 의료용 소재 개발이 활발하다. 대부분의 생물 유래의 천연 고분자는 생체에 접착, 도포, 이식 등 다양하게 처리하여도 독성이 적어 염증 반응 등이 발생하지 않고, 생분해성도 뛰어나기 때문에 의료용 소재에 매우 적합하다.

[0004] 한편, 해양콜라겐의 활용범위가 넓어짐에 따라 해양동물에서 추출되는 콜라겐에 대한 관심이 높아지고 있다. 해파리는 성체의 유성생식 및 폴립의 무성생식에 의해 환경이 양호할 경우 기하급수적으로 증가할 수 있는 생물학적 특성을 지니고 있으며, 현재의 해양 생태환경 및 추세를 고려할 때, 지속적인 해파리의 대량 발생뿐만 아니라, 종의 다양화 및 대형화가 예상된다. 또한 오염된 환경에도 적응력과 번식력이 강한 해파리류의 다량 출현은 치자어에서 소형 표층성 어류 등 다양한 크기의 어족자원을 포식하여 수산자원 및 해양생태계를 파괴하고 있다.

[0005] 그러나, 해파리에서 추출한 해양콜라겐 조성의 구강붕해 필름제의 개발 연구는 매우 미비하다. 현재 구강질환에 쓰이고 있는 치료제는 가글을 위한 액체 형태, 통증 부위에 뿌리는 스프레이 형태, 사탕 모양의 트로키 형태, 등으로 개발되고 있다.

[0006] 또한, 구강질환에 효과적인 천연소재의 약물과 해양 콜라겐 성분을 혼합함으로써, 면연력이 약한 환자들에게 사용 가능하며, 세척이 필요로 하지 않는 구강내 전용 가식성 필름을 개발이 요구되고 있다.

선행기술문헌

특허문헌

[0008] (특허문헌 0001) 한국등록특허 제2044515호

발명의 내용

해결하려는 과제

[0009] 본 발명은 구강부착형 필름을 제공하는 것을 목적으로 한다.

[0010] 본 발명은 구강부착형 필름의 제조방법으로 제공하는 것을 목적으로 한다.

과제의 해결 수단

[0012] 1. 해파리 외피 추출물, 젤란검 및 소목 추출물의 혼합물로 제조된 구강부착형 필름.

[0013] 2. 위 1에 있어서, 상기 해파리 외피 추추물은 콜라겐을 포함하는 것인, 구강부착형 필름.

[0014] 3. 위 1에 있어서, 상기 해파리 외피 추출물은 총 아미노산 함량 대비 글리신(Glycin) 및 프롤린(proline) 함량이 20% 이상인, 구강부착형 필름.

[0015] 4. 위 1에 있어서, 상기 해파리 외피 추출물 및 젤란검은 8:2 내지 2:8의 중량비로 포함되는, 구강부착형 필름.

[0016] 5. 해파리 외피 추출물, 젤란검 및 소목 추출물의 혼합물을 열 건조하는 단계; 및 상기 열 건조된 혼합물에 D-PBS(Dulbecco's Phosphate Buffered Saline)를 처리하여 필름을 제조하는 단계를 포함하는, 구강부착형 필름의 제조방법.

발명의 효과

[0018] 본 발명은 구강부착형 필름 및 이의 제조방법에 관한 것으로, 해파리 추출물 및 소목 추출물과 같은 천연 소재를 포함함으로써, 구강 부착시 부작용의 위험이 적고, 구강점막에 부착성이 우수하며 구강에서 붕해되면서 기능적 효과를 가지는 유효 성분들이 방출되어 구강질환의 치료에 효과적이다.

도면의 간단한 설명

[0020] 도 1은 해파리 외피에서 추출된 콜라겐의 subunit 조성을 확인한 것이다.

도 2는 소목 추출물의 항균능을 평가한 것이다.

도 3은 본 발명의 방법으로 제조된 필름의 사진이다.

도 4는 본 발명의 필름의 서방출을 확인한 것이다.

도 5는 본 발명의 필름의 가식성을 확인한 것이다.

도 6은 본 발명의 필름의 세포 부착능을 확인한 것이다.

도 7은 본 발명의 필름의 치아 착색능을 확인하여 소목 추출물이 차아의 상아질에 영향을 미침을 확인한 것이다.

도 8은 본 발명의 필름의 염증 저해 효과를 확인한 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0021] 이하, 본 발명을 상세히 설명한다.

[0023] 본 발명은 구강부착형 필름을 제공한다.

[0024] 본 발명은 해파리 외피 추출물, 젤란검 및 소목 추출물의 혼합물로 제조된다.

[0025] 본 발명은 해파리 외피 추출물 및 젤란검을 소목 추출물과 혼합하여 구강질환의 치유 효과를 증대시키고, 생체적합성이 우수하며, 구강 부착력이 향상될 수 있다. 또한, 구강에서 생분해됨으로 세척이 필요하지 않아 사용에 편의성이 있다.

[0026] 상기 해파리 외피 추출물은 당해 기술 분야의 공지된 방법 또는 수단을 이용하여 추출된 것일 수 있다. 예를 들어, 해피리에서 외피를 분리하여 산으로 처리한 후, 물로 가열하여 추출한 것일 수 있다. 또한, 해파리 외피 추출물은 동결 건조하여 분말화된 것일 수 있다.

[0027] 상기 산은 약산일 수 있으며, 예를 들어, 아세트산, 탄산, 시트르산, 아스코르브산, 옥살산 또는 구연산일 수 있으나 이에 제한되지 않는다.

[0028] 상기 해파리 외피 추추물은 콜라겐을 포함하는 것일 수 있다. 상기 해파리 외피 추출물은 총 아미노산 함량 대비 글리신(Glycin) 및 프롤린(proline) 함량이 예를 들어, 20%, 바람직하게는 30% 이상일 수 있다. 글리신 및 프롤린은 콜라겐 구성 성분으로 그 함량이 높아 해파리 외피 추출물은 다량의 콜라겐을 포함한다는 것을 알 수 있으며, 이에 따라 구강 부착 효과 및 구강 조직 재생 효과가 향상될 수 있다.

[0029] 상기 젤란검은 글루콘산, 람노오스, 포도당이 1 : 1 : 2로 구성된 복합 다당류로서, 무색투명하며, 산과 열에 잘 견디고, 이온 첨가를 통하여 막의 인장강도가 조절될 수 있다.

[0030] 상기 젤란검은 열을 가해야 용해되고, 여러 번 열을 가해도 필름의 인장강도는 저하되지 않는다. 상기 젤란검은 생체 적합성이나 물리화학적 특성이 뛰어나서 필름 형태로 사용되기에 적절하다.

[0031] 상기 젤란검의 분자량은 이에 제한되는 것은 아니지만, 예를 들어, 중량평균분자량 10,000 내지 1,000,000g/mol일 수 있고, 바람직하게는 100,000 내지 1,000,000g/mol일 수 있다. 상기 범위의 분자량을 가질 경우 구강 부착형 필름으로 제조되었을 때, 인장강도를 향상시켜 구강점막에서 형태를 유지할 수 있다.

[0032] 상기 해파리 외피 추출물 및 젤란검은 예를 들어, 8:2 내지 2:8, 7:3 내지 3:7 또는 6:4 내지 4:6의 중량비로 포함되는 것일 수 있다. 상기 범위로 제한되는 것은 아니나, 상기 범위의 중량비로 포함되는 경우, 필름 제형으로 제조가 용이하고, 물성이 우수하며 세포 부착능이 향상될 수 있다.

[0033] 상기 소목 추출물은 당해 기술분야에 공지된 방법 또는 수단을 이용하여 추출한 것일 수 있다. 예를 들어, 세절한 소목을 용매에 침지시킨 후, 원심분리하여 얻어진 것일 수 있으나 이에 제한되지 않는다.

[0034] 상기 혼합물은 예를 들어, 해파리 외피 추출물 및 젤란검을 용매에 용해시킨 후, 소목 추출물을 첨가한 것일 수 있다.

[0035] 구체적으로, 상기 혼합물은 해파리 외피 추출물 및 젤란검을 용매에 용해시켜 막을 형성한 후, 상기 막에 소목 추출물을 첨가하여 소목 추출물이 담지되도록 하는 것일 수 있다.

[0037] 본 발명은 구강부착형 필름의 제조방법을 제공한다.

[0038] 본 발명은 해파리 외피 추출물, 젤란검 및 소목 추출물의 혼합물을 열 건조하는 단계; 및 상기 열 건조된 혼합물에 D-PBS(Dulbecco's Phosphate Buffered Saline)를 처리하여 필름을 제조하는 단계를 포함한다.

[0039] 해파리 외피 추출물, 젤란검, 소목 추출물에 관하여는 전술한 바와 같다.

[0040] 상기 열 건조하는 단계는 당해 기술분야에 공지된 방법 또는 수단을 사용하여 수행될 수 있다. 예를 들어, 터널형 건조기, 상자형 건조기, 분무 건조기 등을 사용할 수 있다.

[0041] 상기 열 건조는 예를 들어, 40℃ 내지 80℃, 45℃ 내지 75℃ 또는 50℃ 내지 70℃에서 수행될 수 있으나 이에 제한되는 것은 아니다.

[0042] 상기 열 건조는 예를 들어, 5시간 이상, 7시간 이상, 9시간 이상 수행될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0043] 본 발명은 상기 열 건조된 혼합물에 D-PBS를 처리하는 단계를 포함함으로써, 물리적 강도를 현저히 향상시킬 수 있다. 구체적으로, 해파리 외피 추출물, 젤란검 및 소목 추출물의 혼합물을 열 건조하여 필름막을 제조하고, 제조한 막에 D-PBS의 처리를 통해 특정 가교 결합이 형성될 수 있다.

[0045] 이하, 본 발명을 구체적으로 설명하기 위해 실시예를 들어 상세하게 설명하기로 한다.

[0047] **재료 및 방법**

[0048] **1. 재료**

[0049] 본 실험에서 사용한 해파리(Jelly fish)는 노무라입깃해파리를 채집하여 사용하였다. 젤란검 (GG,Gellan gum, Mw 200Kda)은 Sigma Aldrich Co.,Ltd(St. Louis, MO, USA)에서 구입하여 사용하였다. 천연항균제로 선정한 소목은 ㈜ 퓨어마인그컴퍼니(Gyeongsangbuk-do, Korea)에서 구입하였다. 그 밖의 시약은 정제과정 없이 사용되었으며 증류수는 3차 증류수를 사용하였다.

[0051] **2. 해파리 추출물 제조**

[0052] 해파리의 외피를 분리시켜 약 1 kg의 해파리 외피를 물로 3회 세척 후, 90% 에틴올로 팽윤시킨 후 얻은 해파리 외피 조직을 열풍건조하여 0.2 N acetic acid 수용액에 3시간 동안 침지시켰다. 침지시킨 해파리를 꺼내어 2시간 동안 흐르는 물에 중화시켰다. 가열 용기에 해파리 무게 10배의 물을 채워 저온에서 초음파 처리 후 생성되는 불순물을 채로 걸렀다.

[0053] 일정량으로 농축되면 가열을 멈추고 식힌 뒤 12000 rpm에서 15분 간 원심 분리하여 상층액을 채로 걸러 정제하였다. 이 후 -70 ℃에서 급속냉동시킨 뒤 동결건조하였다. 동결건조된 추출물을 실험에 사용하였으며 이 추출물을 해파리추출물(JFE, Jelly fish extract)이라고 명명하였다. 해파리 추출물의 아미노산 함량 측정과 성분 분석을 통해 해양 단백질의 함량을 산출하였다.

[0054] 해파리 추출물은 5%의 수율을 확인하였다. 구성 아미노산 함량을 분석하여 콜라겐을 구성하는 glycine, proline, hydroxyproline중 glycine과 proline이 전체 구성아미노산에 31.05%의 함유량을 확인하였다.

[0056] **2. 해파리 외피에서 추출된 콜라겐의 SDS-PAGE 분석**

[0057] 펩신 처리로 분리한 가용성 콜라겐의 subunit 조성을 검토한 결과(20% amplitude), I형 콜라겐의 전형적인 구조인 α1및 β의 성분이 관찰되었다(도 1).

[0059] **3. 해피리 외피 추출물의 구성 아미노산 조성 및 분자량 측정**

[0060] 구성 아미노산의 분석은 AOAC법(2005)을 변형한 방법으로 아미노산을 분석 하였다. 시료 0.1~0.3 g을 분해관에 넣고, 6 N HCl 40 mL를 가한 다음 질소가스를 주입 하여 110 ℃ dry oven에 넣어 24시간 가수분해시켰다. 분해액을 농축 플라스크에 옮겨 감압농축기로 농축하여 염산을 제거 후, 증류수를 소량씩 가하여 농축하는 과정을 3회 반복하였다. 이를 여과하여 50 mL로 정용 후 0.2 ㎛로 필터하여 분석 시료로 사용하였다. 분석은 아미노산 자동분석기(L-8900 Amino acid auto analyzer, Hitachi, Japan)로 분석하였다(표 1).

[0061] Glycine(22.1%), Glutamic acid(14.57%), Aspartic acid(9.93%), Arginine(9.92%)으로 구성되어 있으며, 분자량은 30kDa으로 확인되었다.

표 1

[0063]

아미노산(Amino acid) (%)	해파리추출물
Aspartic acid	9.93
Threonine	3.62
Serine	3.60
Glutamic acid	14.57
Proline	8.95
Glycine	22.10
Alanine	7.71
Valine	3.67
Methionine	1.31
Isoleucine	2.75
Leucine	4.10
Tyrosine	1.56
Phenylalanine	1.29
Histidine	1.05
Lysine	3.86
Arginine	9.92
Total	100.00

[0065] **4. 소목 추출물의 제조**

[0066] 수세 후 건조한 소목(Caesalpinia sappan L.)은 세절하여 프레타놀(변성주정) 70%에 넣고 24시간 상온에서 침지시킨 후, 12,000rpm에서 20분간 원심 분리하여 얻어진 맑은 상층액을 여과한 추출액을 60℃ 이하로 감압 농축하여 동결건조해서 소목 추출물을 얻었다. 추출물은 25%의 수율을 확인하였다.

[0068] **5. 소목 추출물의 항균능**

[0069] 디스크 확산법(Disk diffusion method)을 이용하여 추출물 용액의 항균 활성을 측정하였다. 구강 관련 균주에 대한 추출물의 항균효과를 측정하기 위해 실험 균주들을 1×10^5 colony forming units (CFU)로 배양한 후, agar dish에 1 ㎖를 분주하여 도말하였다. 그런 다음 멸균된 paper disc (49005010; Advantec, Dublin,CA, USA)를 놓고, 추출물을 농도 별로 50 ㎕씩 각 paper disc에 천천히 점적한 후 최대한 밀착시켜 clean bench안에서 건조하였다. 37 ℃의 배양기에서 24시간 동안 배양 후 paper disc 주위에 생성된 생존 억제대의 직경(㎜)을 자로 잰 후 사진으로 촬영하였다(도 2). 표 2는 소목 추출물의 구강 박테리아에 대한 항균 활성에 대한 효과를 수치화한 것이다.

표 2

[0071]

Strains	Concentration (mg/mL)			
	1.25	2.5	5	10
	Diameter of clear zone (mm)			
S. aureus/KCTC 3881	7 ± 0.12	10 ± 0.1	12 ± 1.2	15 ± 1.2
S. epidermidis/KCCM35494	9 ± 0.23	14 ± 0.8	18 ± 1.2	27 ± 1.3
P. aeruginosa/KCOM1464	9 ± 0.21	14 ± 0.21	14 ± 1.8	17 ± 2.2
S. mutans/KCTC365	7 ± 0.18	8 ± 0.17	9 ± 0.92	13 ± 1.8

Paper Disc: 60mm

[0073] **6. 필름 제조**

[0074] 해파리 추출물 조성의 필름을 제조하기 위해 2% 젤란검과 2% 해파리 외피 추출물을 1:9, 3:7, 5:5, 7:3, 9:1의 비율로 각각 증류수 20㎖에 용해시킨 후, 소목 추출물을 1g 첨가하고 글리세린 0.1g를 첨가하였다. 각 비율의 조성물을 100℃에서 완전히 용해시키고, petri dish에 부은 다음 60℃ 열건조기에서 10시간 건조시킨 후, d-PBS를 처리하여 필름을 제조하였다. 제조된 필름의 형태는 도 3에 나타내었다.

[0075] 1:9 및 9:1의 비율인 경우에는 필름이 형성되지 않는 것을 알 수 있다.

[0077] **7. 필름의 물성평가**

[0078] 수분 손실량(moisture loss)은 제조된 필름의 무게를 측정한 후, 무수 염화칼슘이 들어있는 데시케이터에 3일 동안 보관하고 무게를 측정하였다.

[0079] 수분 흡수량(moisture uptake)은 제조된 필름의 무게를 측정한 후, 실온 (RH 70±5%)에서 7일 동안 보관하고 필름의 무게를 측정하였다.

[0080] 수분 손실량과 흡수량은 다음 식에 따라 계산하였다.

$$\%\ \text{moisture loss} = \frac{\text{Initial weight} - \text{Final weight}}{\text{Initial weight}} \times 100$$

[0081]
$$\%\ \text{moisture uptake} = \frac{\text{Final weight} - \text{Initial weight}}{\text{Initial weight}} \times 100$$

[0082] 팽창지수 (Swelling index)는 제조된 필름의 무게를 측정하여 미리 무게를 측정한 800 ㎛ mesh의 wire sieve에 넣고 정제수에 담근 다음, 24시간 후, sieve를 제거하여 무게를 측정하였다. SI(Swelling index) 의 정도는 다음 식에 따라 계산하였다. (Wt : 시간 t에서 필름의 무게, W0 : 시간 0에서 필름의 무게)

[0083]
$$\text{Swelling index} = \frac{Wt - Wo}{Wo}$$

[0084] 필름 물성 평가 결과는 표 3과 같다.

표 3

[0086]

	Sample ratio of GG/ GFE-CSE film		
	3:7	5:5	7:3
Moisture loss	91.27 ± 2.05	89.65 ± 0.8	87.14 ± 1.4
Moisture uptake	15.33 ± 9.84	13.23 ± 1.78	7.77 ± 1.81
Swelling index	20.38 ± 1.2	55.62 ± 2.32	27.5 ± 2.4

[0088] 해파리 외피 추출물의 함유량이 높을수록 수분 손실률과 수분 함유량이 높은 것을 확인하였다. 또한, 필름의 팽윤결과 젤란검과 해파리 외피 추출물의 조성이 5:5인 경우 가장 높은 것을 확인하였다.

[0090] **8. 필름의 서방출 확인**

[0091] 소목 담지 젤란검과 해파리 외피 추출물 필름으로부터 소목 방출속도를 평가하기 위해서 sink condition을 고려하였다. 필름을 각각 바이알에 넣고 PBS에 담궈 항온수조(BS-20, Jeio Tech)에서 37 ℃에서 100 rpm의 속도로 흔들어 주면서 3시간 동안 소목을 방출시켰다. 일정시간 간격으로 1 mL씩 시료를 취하여 Microplate reader(ELISA-Biotech, USA) 를 이용하여 소목의 방출거동을 확인하였다.

[0092] 젤란검 및 해파리 외피 추출물의 조성 비율이 7:3, 5:5, 3:7 조성 필름에서 5분 이내 초기방출 (initial burst) 경우 해피리 외피 추출물의 조성이 높을수록 빨랐으며, 3시간 이내 관찰 결과 5:5 조성 필름의 계속적으로 서방출을 확인하였다(도 4).

[0094] **9. 필름의 가식성 평가**

[0095] 3차 증류수 1000㎖에 염화나트륨 84mg, 염화마그네슘 5mg, 염화칼륨 120mg, 카르복시메틸셀룰로오스나트륨 1g, 소르비톨 3g, Mucin from porcine stomach 0.01g 조성의 인공타액에 Porcine dermic collagen membrane 조성 필름과 본 발명의 소목 담지 젤란검 및 해파리 외피 추출물 5:5 조성 필름을 침지시켜 37 ℃ 항온수조에 3시간 방치한 결과 본 발명의 소목 담지 필름의 형태가 무너져 있음을 확인하였다. 구강건조증 혹은 침(타액)이 부족한 사람이 사용시 빠른 시간 내에 적절히 분해 되는 가식성 필름의 소재로 매우 유용할 것으로 기대할 수 있다(도 5).

[0097] **10. 세포 부착능**

[0098] 본 발명의 필름을 직경 1 ㎜의 크기로 자르고 움직이지 않도록 양면테이프로 고정시 킨 뒤, cm^2당 3000개의 세포를 파종하고 1일 및 3일 동안 배양하였다. 시간이 경과한 후 배양액을 제거하고 PBS로 세척한 다음 2.5 % 글루타르알데히드로 24시간동안 고정한 후 에탄올 구배용액으로 30분 동안 탈수를 실시하였다. 준비된 시료는 SEM 관찰 전까지 수분이 침투하지 않도록 밀봉한 후 상온에서 보관하였다. 젤란검 및 해파리 외피 추출물의 3:7, 5:5, 7:3 조성의 필름막 표면에 세포증식능을 관찰한 결과 해파리 추출물 비율이 증가될수록 세포 부착능이 향상된 것을 확인하였다(도 6).

[0100] **11. 치아 착색능**

[0101] 본 발명의 필름 용액이 치아색에 미치는 영향을 측정하기 위하여 색조 색차계 (Shade Eye-NCC 150131, SHOFU Co., Japan)를 사용하였다. 착색 후와 각각의 세정 시행 후에 측정하였고, 모든 시편을 동일하게 건조시킨 상태에서 반복 측정하였으며, 색조 측정용 팁은 치아 시편 표면에서 0.5-1.0 ㎜의 상방에서 조사되었으며 팁이 시편에 대해 직각이 되게 하여 3부위를 측정한 후 평균하여 L*, a*, b* 값을 구하였으며, 미백 시행 전후의 색조 변화를 보기위해 각 △L*, △a*, △b*를 구한 후 전체 색조변화량 (ΔE*)을 아래의 식에 의해 계산하였다.

[0102] $$\Delta E^* = \{(\Delta L^*)^2+(\Delta a^*)^2+(\Delta b^*)^2\}^{\frac{1}{2}}$$

[0103] L*은 0에서 100까지의 범위로 물체에 대한 명도를 나타내는 입체 좌표로, 0에 가까울수록 검은색을 나타내고 100에 가까울수록 백색을 나타낸다. a*와 b*는 채도를 나타내는데, a*는 적색 채도 (red-green chromaticity)의 값을, b*는 황색채도 (yellowblue chromaticity)의 값을 나타내는 입체 좌표로, 이 공간에서의 색의 차이라는 것은 구에 가까운 색 공간에서 두색의 위치 간의 입체적 거리로 이 입체적 거리가 서로 멀면 색 차이가 많이 나는 것이고, 거리가 가까울수록 동일한 색으로 인지하게 된다.

[0104] 그결과, 10일에서 50일 동안 침지시킨 군에서 색차가 ΔE* =1.12, ΔE* =1.08로 법랑질의 색차는 매우 미비하였다. 하지만, 상아질부분에는 소목추출물이 착색이 확인되었으며, 치수강에 작은 통로는 상아질까지 이어지는 혈관과 신경에 영향을 주는데 소목의 염증저해 및 항균력은 잇몸에 영향을 줄 수 있을 것으로 기대할 수 있다(도 7 및 표 4).

표 4

[0106]

	L		a*		b*	
Period	전	후	전	후	전	후
10day	80.12±1.23	81.23±1.2	−0.87±1.11	−0.98±0.21	7.52±1.2	7.68±0.84
50day	80.14±1.18	79.2±0.75	−0.912±0.8	−1.02±0.24	7.42±2.1	7.95±1.5
100day	79.21±1.02	69.2±0.85	−0.95±0.2	−1.98±0.32	7.12±1.4	8.19±1.3

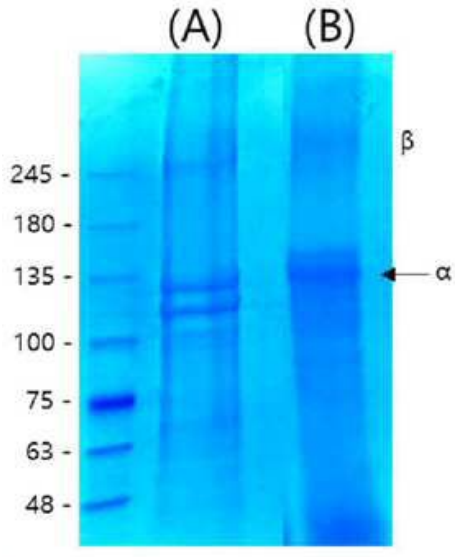
[0108] **12. 염증 저해 효과**

[0109] Nitric oxide (NO) 함량 측정은 RAW 264.7 세포를 1×10^5 cells/㎖의 농도로 48-well plate에 분주하여 24시간 배양한 후에 0.1g의 본 발명의 필름을 24시간 동안 용출시켜 얻은 추출액 10,000ppm, 5000ppm,1000ppm을 100 ㎍/㎖로 처리하고 4시간 후 LPS(100 ng/㎖)를 처리하여 20시간 배양하였다. 세포 배양액 100 ㎕와 Griess reagent (Promega, Madison, USA) 100 ㎕를 혼합하여 상온에서 10분 동안 반응시킨 후, microplate reader를 이용하여 550 nm에서 흡광도를 측정하였고 sodium nitrate로 표준곡선을 작성하여 NO 함량을 산출하였다.

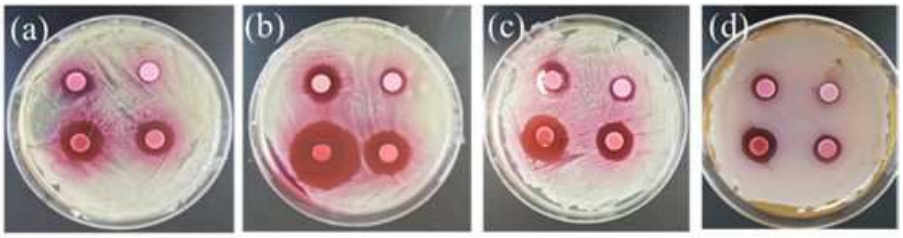
[0110] 젤란검 및 해파리 외피 추출물의 5:5 조성 필름에서 NO 저해능이 가장 높은 것을 확인하였다. 필름을 구성하는 젤란검 및 해파리 외피 추출물의 조성 농도에 따라 소목 추출물의 방출에 영향을 주는 것을 확인하였으며, 24시간 내에 소목 방출량이 가장 높았던 5:5 조성의 고농도 10000ppm(1%)에서 염증저해능이 효과적인 것을 확인하였다(도 8).

도면

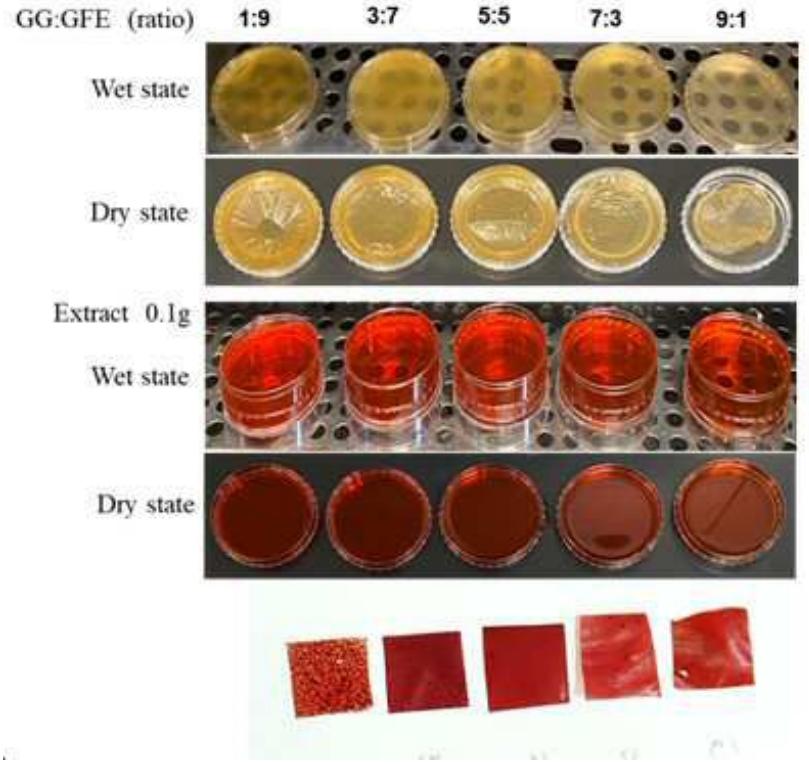
도면1



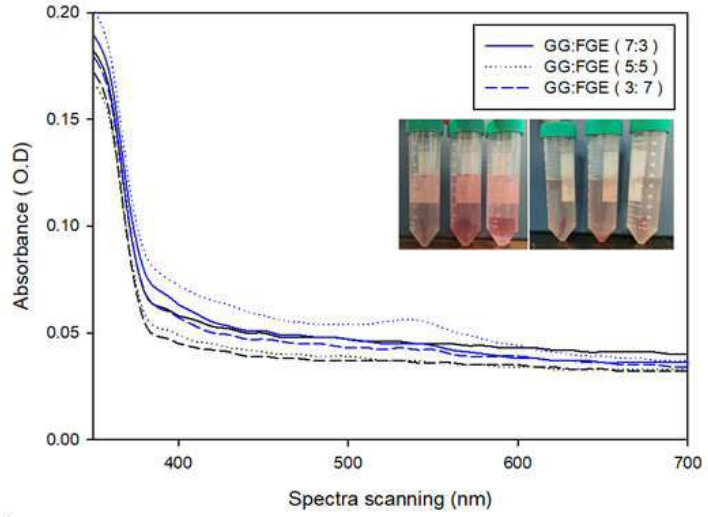
도면2


(a)
(b)
(c)
(d)

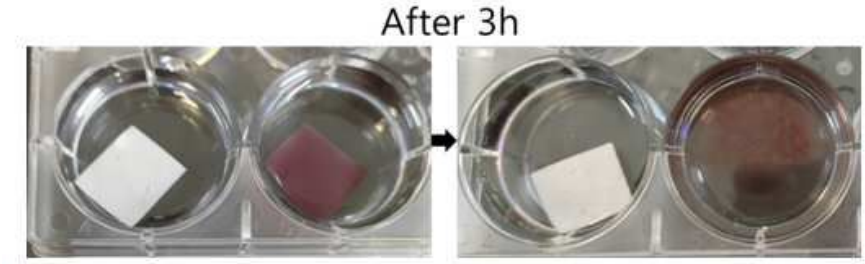
도면3


GG:GFE (ratio)
1:9
3:7
5:5
7:3
9:1
Wet state
Dry state
Extract 0.1g
Wet state
Dry state

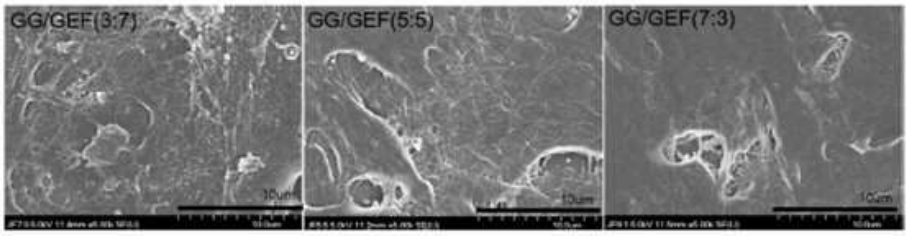
도면4



도면5



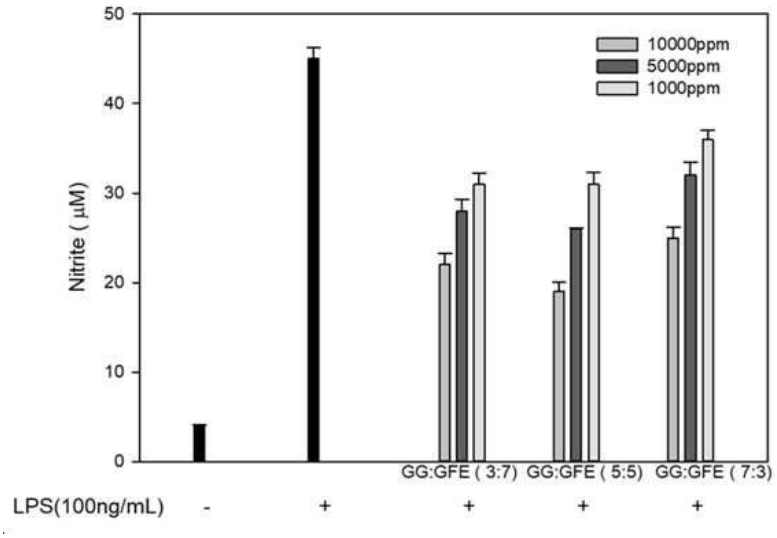
도면6



도면7



도면8


50
40
30
20
10
0
Nitrite (μM)
10000ppm
5000ppm
1000ppm
GG:GFE (3:7)
GG:GFE (5:5)
GG:GFE (7:3)
LPS(100ng/mL)
-
+
+
+
+