



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2025-0103177
(43) 공개일자 2025년07월07일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61L 26/00 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61L 26/0023 (2013.01)
A61L 26/0052 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2023-0195605
(22) 출원일자 2023년12월28일
심사청구일자 2023년12월28일

(71) 출원인
조선대학교산학협력단
광주광역시 동구 조선대길 126(서석동, 산학협력단)
(72) 발명자
김진
광주광역시 동구 밤실로 150 두암그린파크 105-608
문성용
광주광역시 서구 화운로 278 광천e편한세상 (뒷면에 계속)
(74) 대리인
기율특허법인

전체 청구항 수 : 총 6 항

(54) 발명의 명칭 **창상 피복재의 제조 방법 및 이에 의해 제조된 창상 피복재**

(57) 요약

본 발명은 도포된 젤란검 및 키토산 용액을 열 건조 및 동결 건조하는 단계를 포함함으로써, 우수한 생리 활성 작용과 세균 증식 억제 기능을 갖는 창상 피복재의 제조 방법 및 이에 의해 제조된 창상 피복재에 관한 것이다.

대표도 - 도1



(72) 발명자

박정선

광주광역시 북구 평교로 40 대주아파트 301-703

김병훈

광주광역시 북구 삼정로 108 현대아파트

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 1711184603

과제번호 2022R1A2C1011783

부처명 과학기술정보통신부

과제관리(전문)기관명 한국연구재단

연구사업명 개인기초연구(과기정통부)

연구과제명 어류콜라겐 기반- 생리활성인자 적재 지지체를 이용한 치아 구성 조직 재생 기술 개

발

기 여 율 1/1

과제수행기관명 조선대학교

연구기간 2023.03.01 ~ 2024.02.29

명세서

청구범위

청구항 1

도포된 젤란검 및 키토산 용액을 열 건조 및 동결 건조하는 단계를 포함하는 창상 피복재의 제조 방법.

청구항 2

청구항 1에 있어서, 젤란검 용액과 키토산 용액을 혼합하여 상기 젤란검 및 키토산 용액을 제조하는 단계를 더 포함하고, 상기 키토산 용액의 용매는 양이온 함유 용매인 창상 피복재의 제조 방법.

청구항 3

청구항 2에 있어서, 상기 혼합되는 젤란검 용액과 키토산 용액의 온도는 60 내지 90℃인 창상 피복재의 제조 방법.

청구항 4

청구항 1에 있어서, 상기 용액 내 젤란검과 키토산의 농도는 각각 0.5 내지 3 중량%인 창상 피복재의 제조 방법.

청구항 5

청구항 1에 있어서, 상기 용액 내 젤란검과 키토산의 중량비는 7:3 내지 3:7인 창상 피복재의 제조 방법.

청구항 6

청구항 1 내지 청구항 5 중 어느 한 항의 방법으로 제조된 창상 피복재.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 창상 피복재의 제조 방법 및 이에 의해 제조된 창상 피복재에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 피부는 외부의 미생물이나 자외선, 화학물질과 같은 여러 가지 유해 환경으로부터 인체를 보호할 뿐만 아니라 수분증발을 억제함으로써 탈수를 방지하고 체온을 조절하는 역할을 하는, 우리 몸에서 가장 큰 표면적을 차지하는 중요한 기관이다.

[0003] 한편, 산업 사회가 발전함에 따라, 심한 화상, 외상, 창상, 욕창 및 피부질환과 같은 다양한 원인에 의한 피부 손상의 가능성은 점점 더 커지고 있으며, 이때, 일차 봉합이 불가능한 창상은 피부 이식이 불가피한 심한 결함을 남기기도 한다.

[0004] 상기 창상(wound)이란 외부의 압력에 의하여 조직의 연속성이 파괴되는 상태를 의미한다. 피부의 창상은 다양한 종류의 원인에 의해 빈번히 발생되고, 창상의 치유를 위해서는 상처를 입은 조직의 성장과 재생을 유도하는 사이토카인(cytokines), 성장인자 등 다양한 분자들 간의 상호작용을 수반하는 복잡한 과정이 필요하다. 또한, 창상이 오래 열려 있는 경우, 세균 및 바이러스에 의한 감염 등 이차적인 합병증이 올 수 있고, 치료기간 동안 통증을 유발하거나 일상생활에서의 불편함을 동반할 수 있기 때문에 창상이 발생하면 조기에 치유되도록 하는 것이 매우 중요하다. 따라서 창상 발생 부위의 세균 감염 및 탈수로부터 피부를 보호하기 위하여 다양한 종류의 창상 피복재가 널리 사용되고 있다.

[0005] 종래에는 창상의 치유를 위하여 단순히 창상을 보호하는 개념의 건식 드레싱을 사용하였으나, 최근, 피부 창상

의 치유가 습윤 환경 하에서 탁월한 효과를 보이고, 이를 검증하는 많은 연구가 발표되면서 현재는 습윤/보온 환경을 유지하여 보다 효과적으로 상처를 치유할 수 있는 능동적인 보호개념의 습윤 드레싱을 사용하는 것으로 발전을 거듭해 오고 있다.

[0006] 즉, 과거에 사용되던 창상 피복재는 추가적인 감염을 예방하기 위하여 상처를 덮는데 그 초점이 맞춰졌으나, 최근에는 창상 피복재를 통해 효과적인 상처 치유 과정을 유도하기 위한 그 추가적인 기능에도 그 초점을 맞추고 있다.

선행기술문헌

특허문헌

[0007] (특허문헌 0001) 한국공개특허 제10-2022-0078805호
(특허문헌 0002) 한국등록특허 제10-2553868호

발명의 내용

해결하려는 과제

[0008] 본 발명은 창상 부위 재생에 탁월한 효과를 부여하는 창상 피복재를 제공하는 것을 목적으로 한다.

과제의 해결 수단

[0009] 상기와 같은 목적을 달성하기 위하여 본 발명의 일 실시예에 따르면, 도포된 젤란검 및 키토산 용액을 열 건조 및 동결 건조하는 단계를 포함하는 창상 피복재의 제조 방법이 제공된다.

[0010] 본 발명의 일 실시예에 따르면, 젤란검 용액과 키토산 용액을 혼합하여 상기 젤란검 및 키토산 용액을 제조하는 단계를 더 포함하고, 상기 키토산 용액의 용매는 양이온 함유 용매일 수 있다.

[0011] 본 발명의 일 실시예에 따르면, 상기 혼합되는 젤란검 용액과 키토산 용액의 온도는 60 내지 90 °C 일 수 있다.

[0012] 본 발명의 일 실시예에 따르면, 상기 용액 내 젤란검과 키토산의 농도는 각각 0.5 내지 3 중량% 일 수 있다.

[0013] 본 발명의 일 실시예에 따르면, 상기 용액 내 젤란검과 키토산의 중량비는 7:3 내지 3:7 일 수 있다.

[0014] 본 발명의 일 실시예에 따르면, 전술한 어느 하나의 방법으로 제조된 창상 피복재가 제공된다.

발명의 효과

[0015] 본 발명은 보다 치밀한 구조 및 개선된 물성을 갖는 창상 피복재를 제조할 수 있다.

[0016] 본 발명은 우수한 상처 치료 효과를 갖는 창상 피복재를 제조할 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0017] 도 1은 젤란검-키토산(GEL-WCC) 스펀지 제조 방법의 도식화 및 스펀지 디지털 현미경 관찰 사진이다.

도 2는 젤란검-키토산(GEL-WCC) 조성 스펀지의 분해도를 측정한 것이다.

도 3은 젤란검-키토산(GEL-WCC) 스펀지를 주시현미경으로 표면을 관찰한 결과이다.

도 4는 젤란검-키토산(GEL-WCC) 스펀지의 XRD 분석 결과이다.

도 5는 건조 방법에 따라 젤란검-키토산(GEL-WCC) 섬유의 분자 구조 변화를 FTIR로 확인한 결과이다.

도 6은 젤란검-키토산(GEL-WCC) 스펀지의 인장강도를 분석한 결과이다.

도 7은 젤란검-키토산(GEL-WCC) 스펀지의 열분석 결과이다.

도 8은 젤란검-키토산(GEL-WCC) 스펀지 표면의 접촉각을 측정한 것이다.

도 9는 젤란검-키토산(GEL-WCC) 스펀지의 혈액흡수 후 수축도를 관찰한 것이다.

- 도 10은 젤란검-키토산(GEL-WCC) 스펀지의 세포 독성을 평가한 것이다.
- 도 11은 젤란검-키토산(GEL-WCC) 스펀지의 혈액 흡수 속도를 관찰한 것이다.
- 도 12는 젤란검-키토산(GEL-WCC) 스펀지에 혈액을 흡수시킨 후 SEM을 통해 표면을 관찰한 것이다.
- 도 13은 젤란검-키토산(GEL-WCC)의 창상 재생 평가를 위한 동물실험 사진이다.
- 도 14는 젤란검-키토산(GEL-WCC) 조성 스펀지 처리 후 창상 치유율을 도시킨 것이다.
- 도 15는 젤란검-키토산(GEL-WCC) 조성 스펀지 처리 후 조직학적 평가를 나타낸 것이다.
- 도 16은 전체 농도 1.5 중량% 젤란검-키토산(GEL-WCC) 스펀지를 촬영한 사진이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0018] 이하, 본 발명에 대하여 상세히 설명하기로 한다. 이에 앞서, 본 명세서 및 특허청구범위에 사용된 용어 또는 단어는 통상적이거나 사전적인 의미로 한정해서 해석되어서는 아니되며, 발명자는 그 자신의 발명을 가장 최선의 방법으로 설명하기 위해 용어의 개념을 적절하게 정의할 수 있다는 원칙에 입각하여 본 발명의 기술적 사상에 부합하는 의미와 개념으로 해석되어야만 한다. 따라서, 본 명세서에 기재된 실시예에 기재된 구성은 본 발명의 가장 바람직한 일 실시예에 불과할 뿐이고 본 발명의 기술적 사상을 모두 대변하는 것은 아니므로, 본 출원 시점에 있어서 이들을 대체할 수 있는 다양한 균등물과 변형예들이 있을 수 있음을 이해하여야 한다.
- [0020] 본 발명의 일 실시예에 따르면, 도포된 젤란검 및 키토산 용액을 열 건조 및 동결 건조하는 단계를 포함하는 창상 피복재의 제조 방법이 제공된다.
- [0021] 본 발명에 있어서 젤란검(Gellan gum)은, 회백색의 무미, 무취한 분말의 물질로써 에로디아(Elodea) 속의 수초로부터 분리된 슈도모나스 엘로데아(Pseudomonas elodea)를 사용하여 탄수화물을 순수 배양하여 발효시켜 얻은 고분자 다당류 겐 물질을, 용매인 이소프로판올 써서 정제하고 건조, 분쇄해 얻은 것이다.
- [0022] 젤란검(Gellan gum)은 예를 들면 람노오스, 글루크론산 및 포도당이 1:1:2 로 구성된 헤테로 다당류일 수 있다.
- [0023] 젤란검은 증점 안정제의 일종으로 미생물을 발효시켜 생산되는 다당류인 커드란(Curdlan), 젤란검 및 잔탄검(Xanthan gum)과 같은 증점 안정제로, 식품과 의약품 등의 첨가제로 사용될 수 있다.
- [0024] 한편, 젤란검이 첨가된 필름의 경우 우수한 강도와 우수한 신장률을 가지고 있어 바이오 소재로 다양한 응용이 가능하다.
- [0025] 키토산(Chitosan)은 D-글루코사민과 N-아세틸글루코사민으로 이루어진 선형 다당류이다. 예를 들면, 대게, 새우와 같은 갑각류 껍데기를 수산화나트륨 염기로 처리하여 얻을 수 있다.
- [0026] 젤란검 및 키토산 용액은 젤란검과 키토산을 포함하는 용액을 의미하며, 바람직하게는 젤란검 용액과 키토산 용액을 각각 제조한 후 혼합한 것일 수 있다.
- [0027] 젤란검 용액은 일정한 비율의 젤란검을 맑고 투명한 용액이 될 때까지 용매로 용해시켜 제조한 것일 수 있다.
- [0028] 젤란검 용액의 용매는 젤란검을 용해시킬 수 있는 것이라면 제한없이 사용할 수 있으며, 예를 들어 물일 수 있다.
- [0029] 키토산 용액은 키토산을 맑고 투명한 용액이 될 때까지 용매로 용해시켜 제조한 것일 수 있다.
- [0030] 키토산 용액의 용매는 키토산을 용해시킬 수 있는 것이라면 제한없이 사용할 수 있으며, 예를 들어 물, 디메틸설폭시드(DMSO), 메탄올, 에탄올, 부탄올, 프로판올, 글리세린, 프로필렌글리콜, 부틸렌글리콜과 같은 각종 알코올 등의 수용성 용매를 사용할 수 있다.
- [0031] 키토산 용액의 용매는 양이온 함유 용매일 수 있다. 양이온은 젤란검을 가교시킬 수 있는 것으로서, 젤란검 용액의 용매가 양이온을 포함하는 경우 젤란검이 바로 가교되어 버리므로, 키토산 용액의 용매가 양이온을 함유할 수 있다.
- [0032] 양이온은 1가 또는 2가 양이온일 수 있고, 예를 들면 Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} 등일 수 있다.

- [0033] 양이온 함유 용매는 예를 들면 돌베코 인산완충생리식염수(D-PBS, Dulbecco's phosphate-buffered saline) 등 일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0034] 본 발명의 방법은 젤란검 용액과 키토산 용액을 혼합하여 상기 젤란검 및 키토산 용액을 제조하는 단계를 더 포함할 수 있다.
- [0035] 혼합되는 젤란검 용액과 키토산 용액의 온도는 젤란검 및 키토산이 맑고 투명한 용액으로 완전히 용해되어 있는 온도이고, 예를 들면 60 내지 90℃일 수 있다. 온도가 상기 범위 미만이면 상기 용액이 굳을 수 있고, 상기 범위 초과이면 열변형 될 수 있다.
- [0036] 혼합된 젤란검 및 키토산 용액 내 젤란검과 키토산의 농도는 각각 0.5 내지 3 중량% 일 수 있다. 각각의 농도가 0.5 중량% 미만인 경우 필름 형성에 불충분할 수 있고, 3 중량%를 초과하는 경우 용액이 고점도로 변하여 필름 형성이 어려우며, 제조된 필름의 두께 증가로 인해 구강 등에 적용했을 때 이물감이 드는 문제가 있다.
- [0037] 혼합된 젤란검 및 키토산 용액 내 젤란검과 키토산의 합계 농도는 필름 형성을 위하여 2 중량% 이상일 수 있다. 전체 농도가 2 중량% 미만인 경우 필름이 불충분하게 형성되어 찢김 현상이 발생할 수 있다.
- [0038] 상기 젤란검 및 키토산 용액 내 젤란검과 키토산의 중량비는 필름 형성 및 물성 확보를 위해 7:3 내지 3:7일 수 있으며, 예를 들어 6:4 내지 4:6일 수 있다.
- [0039] 혼합된 젤란검 및 키토산 용액은 전술한 비율대로 혼합한 후 3 내지 10초 동안 균질화(homogenizer) 한 후 도포하는 도포 단계를 더 포함할 수 있다.
- [0040] 도포된 젤란검 및 키토산 용액은 치밀한 구조를 형성하기 위해 열 건조될 수 있다.
- [0041] 열 건조 온도는 예를 들면 40 내지 80℃일 수 있다.
- [0042] 열 건조 시간은 예를 들면 5시간 내지 18시간 일 수 있다.
- [0043] 열 건조 조건은 도포된 용액의 두께, 용매의 함량 등에 따라 적정 수분 함량을 가지도록 적절히 조절될 수 있다. 과건조되는 경우에는 피복재가 찢어질 수 있다.
- [0044] 열 건조된 젤란검 및 키토산 용액은 동결 건조할 수 있으며, 동결 건조는 당해 기술 분야에서 적용하는 기술 및 조건은 모두 제한없이 적용할 수 있으며, 비제한적인 예로는 영하 10℃ 이하의 온도로 열 건조된 젤란검 및 키토산 용액을 열린 후 주변 압력을 낮추 고체 단계에서 기체 단계로 직접 승화시켜 건조시킬 수 있다.
- [0045] 본 발명의 일 실시예에 따라 전술한 어느 하나의 방법으로 제조된 창상 피복재가 제공된다.
- [0046] 본 발명의 창상 피복재는 폼 형태 또는 필름 형태일 수 있다.
- [0047] 본 발명의 창상 피복재는 연조직 및 경조직 모두에 적용할 수 있다.
- [0049] 이하 실시예를 바탕으로 본 발명을 더욱 상세히 설명한다. 다만 하기 실시예는 본 발명을 더욱 상세히 설명하기 위한 하나의 예시일 뿐, 본 발명이 하기 실시예에 의해 제한되는 것은 아니다.

[0051] 실시예

[0052] 본 실시예에 있어서, 설명의 용이성을 위해 젤란검은 GEL과 혼용되어 사용될 수 있으며, 키토산은 WCC로 혼용되어 사용될 수 있다. 한편, 열건조는 H와 혼용되어 사용될 수 있으며 동결 건조는 F와 혼용되어 사용될 수 있다.

[0054] 재료

[0055] CP Kelco Gellan Gum(GEL; Gelzan™, Mw=1000 KDa) 은 (주)주피터 인터내셔널(USA), 수용성 키토산(WCC; Mw=250 KDa)은 영키바이오인터내셔널에서 구입하였다. 또한, D-PBS(phosphate-buffered saline, pH 7.4)는 Gibco Invitrogen(Schweiz)에서 구입하였고, 이외의 모든 시약은 정제 과정 없이 사용되었으며, 3차 증류수를 사용하였다.

[0057] 젤란검-키토산(GEL-WCC) 스펀지 제조

[0058] 도 1은 젤란검-키토산(GEL-WCC) 스펀지 제조 방법의 도식화 및 스펀지 디지털 현미경 관찰 사진이다.

[0059] 도 1을 참조하면, 본 발명의 실시예는 젤란검(GEL)과 키토산(WCC)을 전체농도 2%로 고정시키고 각각의 조성비 GEL/WCC(0.7:0.3, 0.5:0.5, 0.3:0.7)로 창상 피복재를 제조하였다. 일정한 비율의 GEL을 3차 증류수로 90℃, 200 rpm 조건에서 맑고 투명한 용액이 될 때까지 용해시키고, GEL 용액과 혼합시 가교 반응을 일으키기 위해 WCC를 D-PBS 50% 용액에 90℃, 200rpm 조건에서 맑고 투명한 용액이 될 때까지 용해시켰다. 각각 용해시킨 고분자는 페트리 디쉬(petri dish)에 캐스팅(casting) 하기 전에 각 비율대로 혼합하여 5초 동안 균질화(homogenizer) 처리 후 캐스팅(casting)하고 50℃의 열 건조기에서 12시간 열 건조시킨 후 동결건조한 그룹(GEL-WCC-H/F)과, 캐스팅(casting) 후 바로 동결 건조(GEL-WCC-F) 한 두 그룹의 창상 피복재 시료를 얻었다. 대조군으로 GEL을 열건조후 동결건조하는 방법으로 제조한 그룹 GEL-H/F를 제조하여 비교실험을 진행하였다.

[0061] 평가예

[0062] 분해도 평가

[0063] 고분자 농도, 조성비, 건조 조건에 따라 상기 실시예 GEL-WCC 조성 스펀지의 생분해거동을 확인하기 위해 1 x 1cm²의 직사각형 크기로 시료를 제작하고, 유사체액(simulated body fluids, SBF, pH 7.4) 10ml가 들어있는 코니컬 튜브에 담아 37℃ 항온진탕수조에서 생분해를 진행하였다. 총 1, 3, 6, 12, 24, 48 시간 동안 생분해 실험을 진행하였고, 생분해 기간이 지난 후 PBS(Polybutylene Succinate)를 제거하고 진공건조기에서 5일간 건조시킨 후 질량감소량을 확인했다. 질량감소량은 다음의 식 (1)을 사용하였다.

[0064] 질량 감소량= mf/mi x 100- 식 (1)

[0065] (mi: 생분해 전 스펀지의 질량, mf: 생분해 후 스펀지의 질량 질량)

[0067] 유사체액 (SBF) 제조

[0068] 3차 증류수 1000 ml에 NaCl, NaHCO₃, KCl, K₂HPO₄ · 3H₂O, MgCl₂ · 6H₂O, CaCl₂ 및 Na₂SO₄를 각각 표 1의 순서로 정해진 용량을 첨가하고, 1M HCl 용액과 5mM tis(hydroxy methyl)-aminomethane, (CH₂OH)CNH₂ 용액을 이용하여 최종 pH를 7.4로 조절하였다.

표 1

[0070]

구분	성분	합량
1	Distilledwater	1,000ml
2	NaCl	7.996g
3	NaHCO ₃	0.350g
4	KCl	0.224g
5	K ₂ HPO ₄ · 3H ₂ O	0.228g
6	MgCl ₂ · 6H ₂ O	0.305g
7	CaCl ₂	0.278g
8	Na ₂ SO ₄	0.071g
9	1M HCl	40ml
10	(CH ₂ OH)CNH ₂	6.057g

[0072] 도 2는 젤란검-키토산(GEL-WCC) 조성 스펀지의 분해도를 측정한 것이다. 도 2를 참조하면, GEL 조성 그룹은 물성이 낮아 빠른 시간내에 분해가 이루어지며, 형태가 무너지는 것을 확인하였다. GEL/WCC 조성 열 건조 후 동결

건조 시킨 스펀지는 동결건조만 진행한 스펀지 보다 분해율이 더 낮았으며, 열 건조에 의해 치밀한 구조를 나타내는 스펀지의 내분에 수분이 빠르게 흡수되거나 형태가 더디게 무너지는 것을 확인할 수 있었다.

[0074] 주사전자현미경 (SEM)

[0075] 건조방법에 의해 제조된 창상피복재 섬유의 표면 및 구조를 관찰하기 위해 주사전자현미경 scanning electron microscope (SEM, JSM -6380, d=3.0 nmb, JEOL, Japan)을 사용하였다. 시료는 공기 중의 수분에 의해 분해 및 변형되는 것을 방지하기 위해 질소충진하여 진공포장 하였으며, 시료표면은 관찰하기 전 150초간 sputter coater(108auto, degree of vacuum: 0.001 mb, Cressington Scientific Instruments Inc., UK)를 이용하여 gold coating 처리하였다. 가속전압은 10~15 kV 로 관찰하였다.

[0077] SEM 표면구조 관찰

[0078] 도 3은 젤란검-키토산(GEL-WCC) 스펀지를 주시현미경으로 표면을 관찰한 결과이다. 도 3을 참조하면 제조한 창상 피복재 스펀지를 주시현미경으로 표면을 관찰한 결과 다공성 형태의 불균일한 층을 형성하는 것을 관찰하였다. GEL/WCC 조성 용액을 동결건조방법(A)으로 제조한 스펀지의 경우 불균일한 형태의 다층구조를 확인하였다. 열건조후-동결건조방법(B)의 스펀지의 경우 전체적인 스펀지의 두께가 더 얇게 압축되어 있는 형태를 관찰할 수 있었다. GEL/WCC 조성 용액 40 ml를 8cm petri dish에 casting 했을 때 동결건조방법(A)의 스펀지는 3.5~4 mm 를 형성하였고, 열건조후 - 동결건조방법(B)의 스펀지는 2.5~3 mm 사이즈가 관찰되었다. SEM에서 관찰한 것과 같이 열건조후-동결건조한 스펀지의 얇은 층이 더 겹겹히 적층을 이루는 형태를 관찰하였다.

[0080] XRD 측정

[0081] GEL, WCC, GEL/WCC 물리적 혼합물의 결정성을 X-ray diffractometer(XRD, X'pert XRD, PANalytical, Netherlands, 전남대학교 정밀소재센터)를 이용하여 분석하였다. XRD 분석은 시료를 상온에서 P_2O_5 와 함께 3일간 진공건조하여 수분을 완전히 제거하고, 입사각(2θ) $3^\circ \sim 90^\circ$ 범위에서 분석하였다.

[0083] 스펀지의 결정 특성

[0084] XRD 분석은 각 고분자의 결합 정보를 제공할 수 있기 때문에 제조된 스펀지의 결정학적 특성 규명에 중요한 역할을 한다. 각 고분자의 결정성을 규명하기 위하여 각 고분자 GEL, WCC 와 GEL/WCC의 물리적 혼합물(1/1, wt/wt) 등의 XRD 분석을 하였으며, 이 결과는 도 4에 나타내었다. 도 4를 참조하면, GEL과 WCC에서 결정성이 크지 않았지만, D-PBS가 처리된 GEL/WCC 스펀지에서 높은 강도의 고결정성 피크가 확인되었다. 특히, 열건조후-동결건조한 스펀지에서 GEL과 WCC의 결정성이 고결정성 피크와 복합적으로 관찰되었다. 이는 동결건조만 한 스펀지와 달리 열건조후-동결건조 처리한 스펀지에서 각 고분자들이 복합적으로 결합된 것을 확인할 수 있었다.

[0086] 적외선 분광법 (ATR-FTIR)

[0087] 고분자를 혼합하여 제조한 스펀지의 화학 관능기의 변화를 관찰하기 위해 적외선분광기 (8201PC, Shimadzu, Japan)를 사용하였다. 모든 시료는 질소 충전 보관하였으며, 진공 하에 흡광도 $650 \sim 4000\text{cm}^{-1}$ 범위에서 스캔하여 얻었다. 데이터는 스펙트럼 소프트웨어 (OPUS 6.5, USA)에 의해 기준(baseline)을 보정해서 사용했다.

[0089] FT-IR 이용 구조 분석

[0090] 도 5는 건조 방법에 따라 GEL/WCC 섬유의 분자 구조 변화를 FTIR로 확인한 결과이다. 도 5를 참조하면, 열 건조 후 동결건조와 단순 동결건조에 의한 분자구조의 큰 변화는 존재하지 않지만, 열건조후 동결건조한 섬유에서 주요 피크의 강한 결합 밴드를 확인할 수 있었다.

[0091] GEL의 주요 피크인 O-H($3200\sim3600\text{cm}^{-1}$), $-\text{CH}_2$ (2900cm^{-1}) 에스테르기 (este groups)의 C=O는 $1550\sim1650\text{cm}^{-1}$ 및 C-

0의 $1000\text{--}1100\text{ cm}^{-1}$ 의 특징적 피크를 관찰할 수 있었다. WCC의 분자구조 경우 O-H와 N-H의 진동은 3400 cm^{-1} 에서 넓게 분포되어 있으며 아민기 (amine)의 $\text{NH}_2(1596\text{ cm}^{-1})$ 피크를 확인할 수 있었다.

[0092] 키토산 용액에 첨가한 D-PBS의 양성자 Ca^+ , Mg^+ 에 의해 가교 결합된 GEL/WCC 조성막은 키토산의 NH_2 와 NH 로 인해 1516 cm^{-1} 에서 강한 결합 밴드를 확인하였다. 또한 열건조 후 동결건조한 창상 피복재에서 1632 및 1560 cm^{-1} 에서의 변화에 의해 대부분의 GEL과 WCC의 강한 결합에 증가된 양성화 (protonation)로 확인할 수 있다. WCC 용액에 첨가된 D-PBS는 GEL/WCC의 혼합용액은 열건조 후 동결 건조를 처리하여 얻은 피복재에서 강한 결합을 확인할 수 있었다.

[0094] 인장강도 평가

[0095] 창상 피복재 스펀지의 인장강도를 측정하기 위하여 인장시편 ($20\times 70\times 0.03\text{ mm}$)을 제작한 뒤, universal test machine(UTM, TO-102, Testone Co., Korea)을 이용하였다. Crosshead 속도는 5 mm/min 이다. 이때 사용된 시편은 24시간 동안 수분이 닿지 않게 보관 후 실험에 사용하였다.

[0097] 인장강도 측정

[0098] 도 6은 젤란검-키토산(GEL-WCC) 스펀지의 인장강도를 분석한 결과이다. 도 6을 참조하면, GEL/WCC 조성 스펀지는 열건조 후 동결건조 시킨 군에서 더 높은 인장강도 값이 산출되었다. 대조군으로 선정한 Bio gide 막은 $6.0\pm 0.23\text{ MPa}$ 이었고, 고분자 용액을 동결건조한 스펀지는 $3.42\pm 0.24\text{ MPa}$ 이고, 열건조 후 동결건조한 스펀지는 $5.23\pm 0.12\text{ MPa}$ 로 더 높은 인장강도 값이 관찰되었다. 열건조 처리는 GEL과 WCC의 수분을 증발시키면서 이온결합을 더 활발하게 하여 물리적 강도가 높아진 것으로 사료된다.

[0100] 열중량 분석

[0101] 제조된 필름의 열안정성과 열적거동을 알 수 있는 TGA/DTA 분석은 Thermogravimetric analyze (SDT Q600, TA, USA)를 이용하여 분석하였다. 측정은 질소 순환조건에서 시료를 20°C 에서 1000°C 까지 100 ml/min 의 속도로 측정하였다.

[0102] 도 7은 젤란검-키토산(GEL-WCC) 스펀지의 열분석 결과이다. 도 7을 참조하면, 고분자의 열분해가 일어나는 정도를 알 수 있다. GEL과 WCC의 220°C 에서 저분자 성분의 열분해가 일어나고, 300°C 부근에서 주쇄의 열분해가 있음을 보여주고 있다. 동결건조 방법과 열건조 후 동결건조한 스펀지의 열분해는 열건조 후 고분자들간의 가교에 의한 물성이 높아져서 열분해 후 잔여량도 더 높은 값을 확인하였다. 이는 열처리-동결건조 방법의 스펀지가 열분해 평가에서도 고분자 구조간의 물성이 더 높은 것을 나타낸다.

[0104] 표면 접촉각

[0105] GEL/WCC 조성 스펀지의 표면 특성 변화를 평가하기 위해 Contact Angle & Surface Tension Analyzer (Model: Phoenix 300, SEO Co. Ltd, Korea)를 이용한 sessile drop method (distilled water, $5\text{ }\mu\text{L}$)를 선택하여 각 스펀지의 물 접촉각을 분석하였다. 분석의 정확성을 위해 각 시트의 상에서 물방울을 5번 이상 위치를 바꾸어 측정하여 평균값 및 표준편차를 계산하였다.

[0106] 도 8은 젤란검-키토산(GEL-WCC) 스펀지 표면의 접촉각을 측정한 것이다. 도 8을 참조하면, GEL/WCC 조성 열건조 후-동결건조 처리군에서 더 높은 접촉각이 관찰되었다. 낮은 접촉각일수록 친수적 성질이 높으며 빠른 흡수력을 나타내지만 반대로 형태가 빨리 무너지는 성질을 가지고 있다. 열건조 후-동결건조한 스펀지의 경우 일정한 소수적 성질을 나타내는 것을 확인하였다.

[0108] 수축거동 평가

- [0109] GEL/WCC 조성 스펀지의 수축도를 평가하기 위해 각 시료를 직경 23 mm 인 원형으로 자르고 혈액에 충분히 함침시킨 후 상온에서 시간 건조하여 시편의 크기를 처음과 비교하여 수축도를 하였다.
- [0111] 수축도 평가
- [0112] 도 9는 젤란검-키토산(GEL-WCC) 스펀지의 혈액흡수 후 수축도를 관찰한 것이다. 도 9를 참조하면, 혈액 측정 GEL/WCC 조성 스펀지의 혈액 흡수시킨 후 형태 관찰 및 수축도를 확인하였다. 동결건조방법으로 제조한 스펀지의 경우 빠른 혈액흡수 후 분해가 일어나 90% 이상 수축하는 형태를 관찰하였다. 열건조 후 동결건조한 스펀지에서는 수축률은 10% 이내로 본래의 형태를 유지하는 것을 확인하였다.
- [0114] 체의 세포적합성 평가
- [0115] 세포독성 및 세포증식거동 평가는 GEL/WCC 조성 스펀지 세포독성 평가는 ISO 10993에 의거하여 쥐의 섬유아세포 NIH-3T3를 이용하여 평가하였다. 쥐의 섬유아세포 12 plate에 1×10^5 cells/well 농도로 분주 37℃, 5% 환경에서 24시간 배양한 후, 용출액을 처리하여 24hr 배양하였다. 그 후 WST-1 assay 처리하여 4시간 반응시킨 후 흡광도를 측정하여 정량화하였다. GEL/WCC 조성 스펀지 세포 증식거동을 정량적으로 평가하기 위해 각 시료를 직경 20 mm 인 원형으로 자르고 쥐의 섬유아세포인 NIH-3T3를 계대 배양하여 3×10^4 cell씩 파종 후 실험하였다. WST-1 assay 처리하여 4시간 반응시킨 후 흡광도를 측정하여 정량화하였다. 세포 배양 분위기는 37℃, 5% CO₂ 분위기의 인큐베이터 내에서 진행하였다.
- [0117] 세포독성 평가
- [0118] 창상 피복재 제조에 사용한 고분자 재료는 의료용 소재를 사용하였고, 제조 공정에서 그 밖의 화합물들이 적용되지 않아 순수 고분자로 피복재를 개발하였다. 도 10은 젤란검-키토산(GEL-WCC) 스펀지의 세포 독성을 평가한 것으로 도 10을 참조하면, 각 조성의 창상 피복재는 세포독성이 나타나지 않았으며, 특히 시간이 경과됨에 따라 세포 증식을 관찰할 수 있었다.
- [0120] 지혈능 평가
- [0121] 혈액 흡수 속도는 1cm x 1cm x 1cm (가로 x 세로 x 높이) 크기의 지혈용 다공성체에 구조체가 혈액(양으로부터 채취한 혈액) 3cc에 완전히 흡수되는데 소요되는 시간을 측정하여 평가하였고, 이로부터, 지혈용 드레싱으로의 적합성을 평가하고자 하였다.
- [0122] 흡수력 = $W_2 - W_1 / W_1$
- [0123] W1: 초기 무게 (g) , W2: 30분 후의 샘플 무게 (g)
- [0125] 혈액흡수력 평가
- [0126] 도 11은 젤란검-키토산(GEL-WCC) 스펀지의 혈액 흡수 전후의 사진으로 도 11을 참조하면, 각 스펀지를 혈액 3ml에 담귀 혈액 흡수력을 육안으로 관찰하였다.
- [0127] GEL과 WCC 조성 스펀지는 각 수용상에 녹는 고분자로 수초 이내의 빠른 혈액 흡수 특성을 보였고, 특히 동결건조방법으로 제조한 스펀지의 경우 혈액과 접촉하자마자 바로 흡수되는 특성을 보였다. 열건조 후 동결건조한 스펀지의 경우 흡수력은 더뎠지만, 무게 측정 결과 같은 양의 혈액을 흡수한 것을 확인하였다. 그림 12는 각 스펀지에 혈액을 흡수시킨 후 SEM을 통해 표면의 형태를 관찰한 것이다. 도 12를 참조하면, (A) GEL/WCC 동결건조 처리한 스펀지의 표면과 (B) GEL/WCC 조성 스펀지 열건조후- 동결건조 처리한 스펀지의 표면의 형상은 큰 차이는 없었지만, (A)의 경우 표면에 혈액성분이 분포되어 있고, (B)의 경우 스펀지 내에 혈액 성분이 담지되어 있는 형상이 관찰되었다. 이는 단순 동결건조만 한 스펀지보다 열 건조 후 동결건조한 스펀지의 내부 구조가 다층 구조로 더 치밀하여 이론 현상이 관찰된 것으로 판단된다.

- [0129] 창상 재생평가
- [0130] 실험동물은 수컷으로 무게는 200- 300g의 SD랫트를 Orient (Seongnam Korea)에서 구입하였다. 실험동물은 온도 $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ 및 습도 $55\pm 5\%$ 에 12시간 명암 주기로 제어되는 사육장에서 1주일 동안 안정화시켰다. 모든 실험동물의 취급 절차는 National Institutes of Health Guide for Care 및 조선대학교 동물실험윤리위원회 승인 (CIACUC2023-S0005)을 받고 동물실험을 진행하였다. 도 13은 젤란검-키토산(GEL-WCC)의 창상 재생 평가를 위한 동물실험 사진이다. 도 13을 참조하면, 실험 대상 SD rat을 마취 전 24시간 동안 절식시켰고, 물은 공급하였다. 모든 실험군에서 창상 유발 10 분전에, isoflurane으로 호흡 마취시킨 후, 전기제모기로 백서의 등 부위털을 제거하였다. 등 부위에 70% ethanol을 각각 도포하여 소독한 뒤, 등 부위에 소독된 수술용 가위를 이용하여 직경 2cm x 2cm의 크기로 진피층을 포함한 전층 결손 창상을 유발하였다. 총 네 그룹으로 나뉘어 실험을 진행하였다. 아무것도 처리하지 않고 생리식염수만 처리한 군, GEL 조성젤군, GEL/WCC 동결 건조 스펀지 그리고 GEL/WCC 조성 스펀지 열건조후-동결건조 처리그룹으로 나뉘어 창상 치유 효과를 측정하였다. 각각의 처치군은 4마리씩 실험에 사용하였다. 이 후 각 처치군의 동일한 환경을 제공하고자 멸균된 거즈 (Tegaderm; 3M Health Care, USA)를 덮고, 그 위에 탄력 밴드 (Coban1; 3M Health Care, USA)로 움직임에 지장이 없도록 감아주었다.
- [0132] 육안적 상처의 변화의 관찰
- [0133] 상처 치료의 진행 과정을 관찰하기 위해 창상 유발 시작 점부터 5일 간격으로 디지털 카메라(CAMEDIA, Olympus Co., Tokoy, Japan)를 이용하여 각 군별로 일정 거리에서 촬영하여 상처의 변화를 육안적으로 관찰하였다. 또한, 객관적인 지표로 나타내기 위하여 디지털 calliper(Mitutoyo Co., Kawasaki, Japan)로 창상의 면적을 측정하였다. 창상 치유율은 창상부의 면적 변화를 선행 연구에서 제시한 방법으로 계산하였다.
- [0134] 창상 치유율(%)= $100 \times (W_0 - U_i) / W_0$
- [0135] W_0 : 창상 유발 직후 창상부 면적
- [0136] U_i : 측정일 창상부 면적
- [0138] 조직학적 검사
- [0139] 창상유발 후 21일 경과한 후 실험동물은 보건복지부고시 실험동물 관리 지침서 등에 관한기준에 명시된 60-70%의 이산화탄소를 5분간 사용하여 조직 검사용 실험동물을 안락사 시켰다. 창상 전체가 포함된 조직을 채취하고, 10% 중성 formalin 용액에 24시간 고정한 후, 창상 중양을 통과하는 절편을 취하여 탈수시킨 후 paraffin 블록에 포매하였다. 조직을 조직 절편기를 이용하여 절단한 다음 polylysine으로 코팅된 slide에 붙여 paraffin 제거 및 함수 과정을 거친 후 H & E(haematoxylin and eosin Y) 및 Masson Trichrome staining 염색을 실시했다.
- [0140] SD rat 피부의 H&E 및 masson trichrome 염색 후 대조군과 실험군의 조직을 관찰하였다. 대조군의 조직에서는 혈전생성과 적혈구가 삼출되는 것을 관찰할 수 있었다.
- [0141] 단일 물질 GEL조성 겔을 처리한 군은 GEL/WCC 동결건조 스펀지군, GEL/WCC 조성 열건조후-동결건조 처리한 스펀지와 확연한 차이가 있었다.
- [0142] 확연히 비교가 되는 조직학적평가에서는 GEL/WCC 조성 스펀지 처리군에서 염증 침윤 세포도 감소하고 조직이 치밀하게 형성된 것을 확연히 관찰할 수 있었다. 특히, GEL에 WCC가 함유된 스펀지는 일차적으로 scar에 습윤 및 항균 상태가 유지되고, WCC 성분은 섬유아세포의 증식 및 교원질의 형성을 돕고 염증침윤세포를 저해하여 창상 부위의 재생에 효과적인 것을 관찰할 수 있었다. 상처유발 후 상처 초기의 관리와 처치는 상피층에 표피가 형성되면서 scar에 많은 영향을 주는 것을 관찰할 수 있었으며, WCC 고분자는 창상치유에 활용 가능한 소재임이 확인되었다. 또한, 열 건조 후 동결건조시킨 스펀지를 처리한 군에서는 확실히 상처개선에 효과가 좋은 것을 조직학적 평가를 통해 입증되었다.

[0144] 전체 농도 1.5 중량% 젤란검-키토산(GEL-WCC) 스펀지 제조

[0145] 젤란검(GEL)과 키토산(WCC)을 전체농도 1.5 중량%로 고정시키고 각각의 조성비 GEL/WCC(0.5:0.5)로 창상 피복재를 제조하였다. 일정한 비율의 GEL을 3차 증류수로 90℃, 200 rpm 조건에서 맑고 투명한 용액이 될 때까지 용해시키고, GEL 용액과 혼합시 가고 반응을 일으키기 위해 WCC를 D-PBS 50% 용액에 90℃, 200 rpm 조건에서 맑고 투명한 용액이 될 때까지 용해시켰다. 각각 용해시킨 고분자는 페트리 디쉬(petri dish)에 캐스팅(casting) 하기 전에 각 비율대로 혼합하여 5초 동안 균질화(homogenizer) 처리 후 캐스팅(casting)하고 50℃의 열 건조기에 서 12시간 열 건조시킨 후 동결건조하여 창상 피복재 시료를 얻었다.

[0146] 도 16은 전체 농도 1.5 중량% 젤란검-키토산(GEL-WCC) 스펀지를 촬영한 사진으로, 도 16을 참조하면 용액 내 젤란검과 키토산의 전체 농도가 2 중량% 미만이면 표면에 찢김 현상이 발생함을 확인하였다.

[0148] 각각 농도 3.5 중량% 젤란검-키토산(GEL-WCC) 스펀지 제조

[0149] 젤란검(GEL)과 키토산(WCC) 각각의 농도를 3.5 중량%로 고정시키고 각각의 조성비 GEL/WCC(0.5:0.5)로 창상 피복재를 제조하였다. 일정한 비율의 GEL을 3차 증류수로 90℃, 200 rpm 조건에서 맑고 투명한 용액이 될 때까지 용해시키고, GEL 용액과 혼합시 가고 반응을 일으키기 위해 WCC를 D-PBS 50% 용액에 90℃, 200 rpm 조건에서 맑고 투명한 용액이 될 때까지 용해시켰다. 각각 용해시킨 고분자는 페트리 디쉬(petri dish)에 캐스팅(casting) 하기 전에 각 비율대로 혼합하여 5초 동안 균질화(homogenizer) 처리하였으나, 균질화하는 동안 굳어져 캐스팅(casting)이 불가능하였다.

[0150] 이는 젤란검(GEL)과 키토산(WCC) 각각의 농도가 3 중량%를 초과하면 고점도로 변하여 필름 제조가 어렵다는 것을 보여준다.

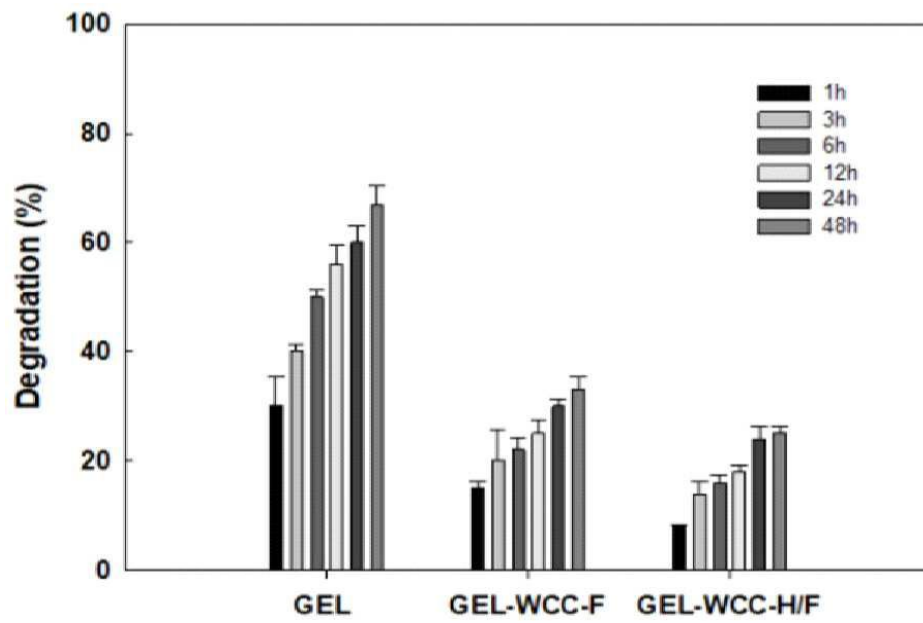
[0152] 상술한 바와 같이, 본 발명의 바람직한 시험예를 참조하여 설명하였지만 해당 기술분야의 숙련된 당업자라면 하기의 특허청구범위에 기재된 본 발명의 사상 및 영역으로부터 벗어나지 않는 범위내에서 본 발명을 다양하게 수정 및 변경시킬 수 있음을 이해할 수 있을 것이다.

도면

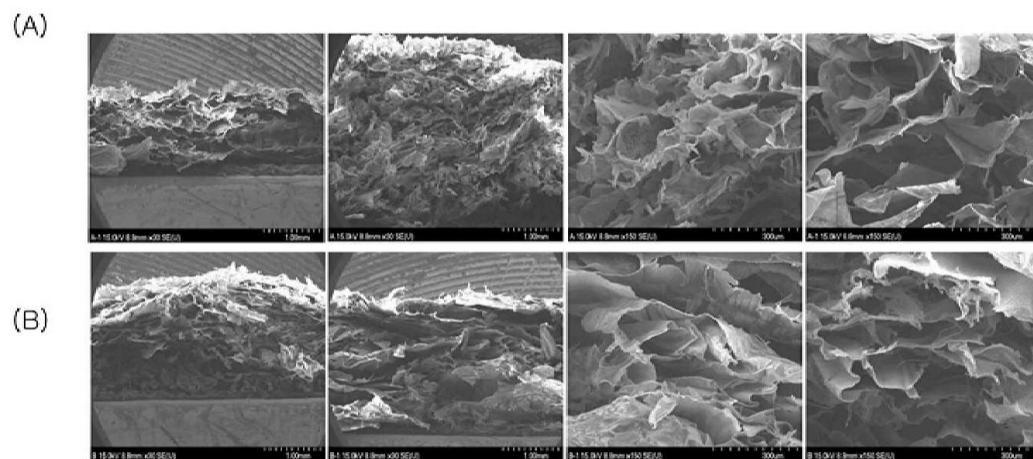
도면1



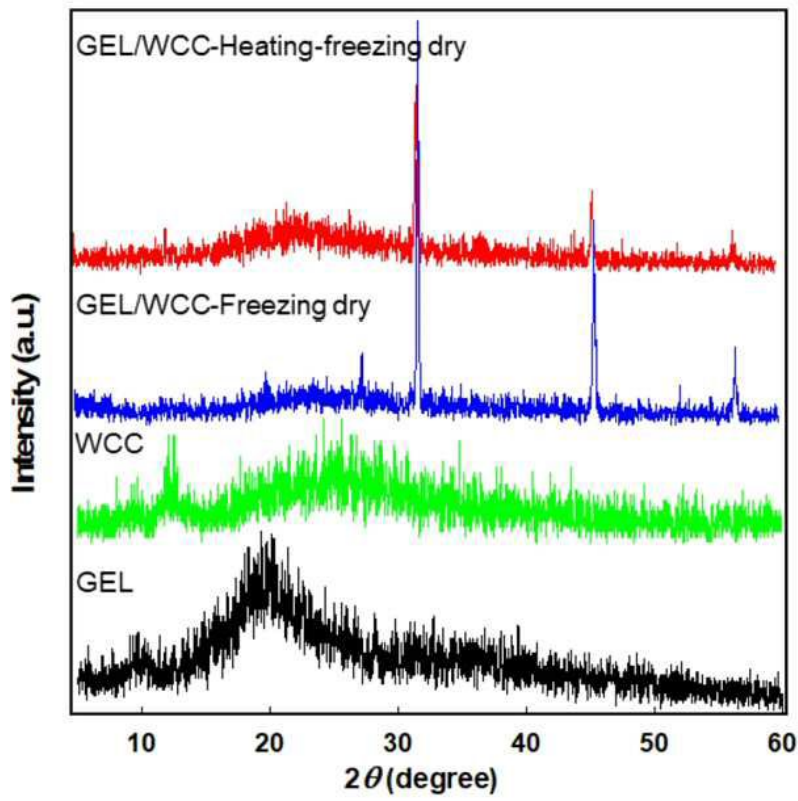
도면2



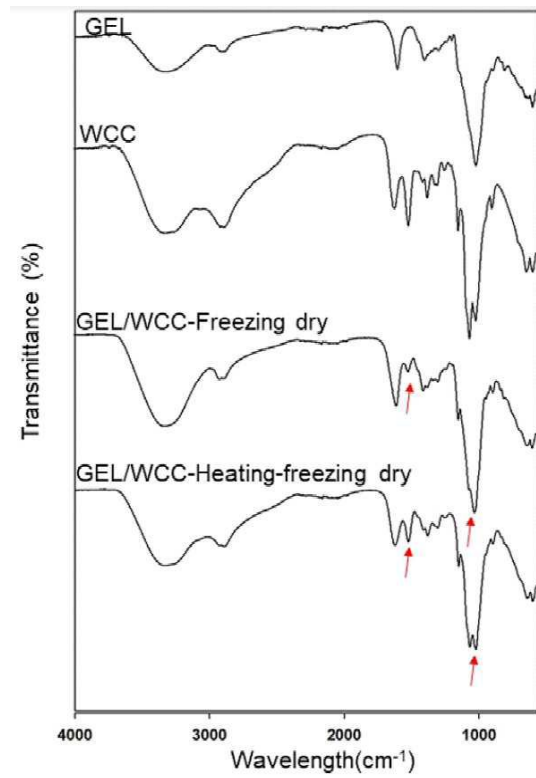
도면3



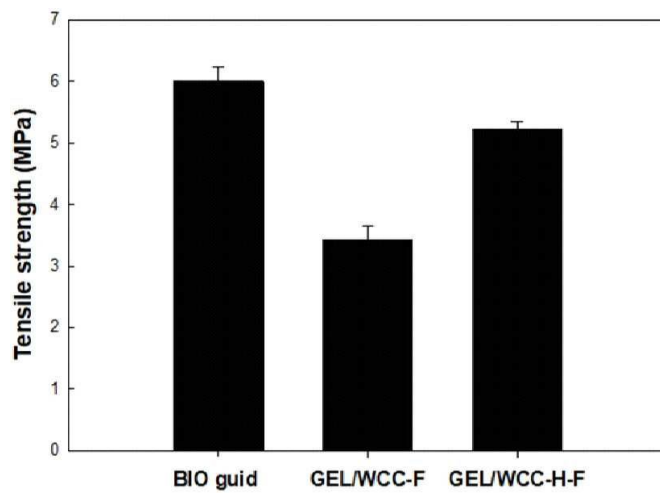
도면4



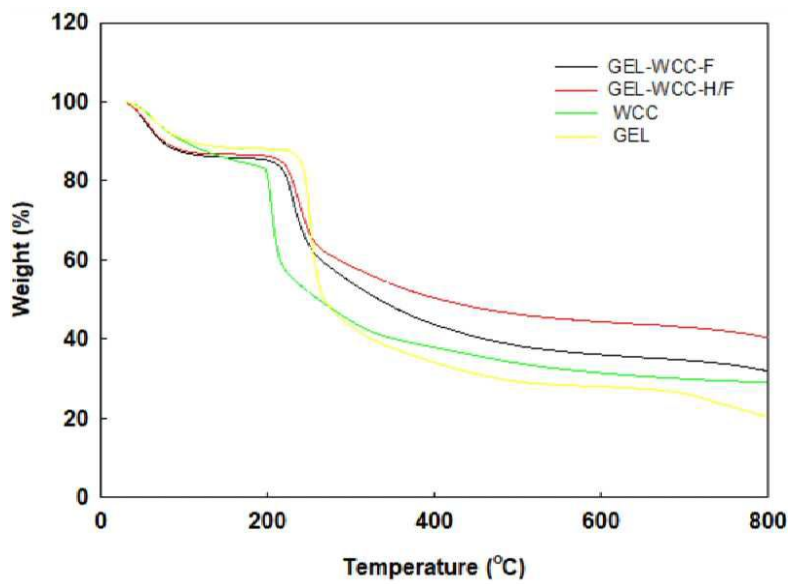
도면5



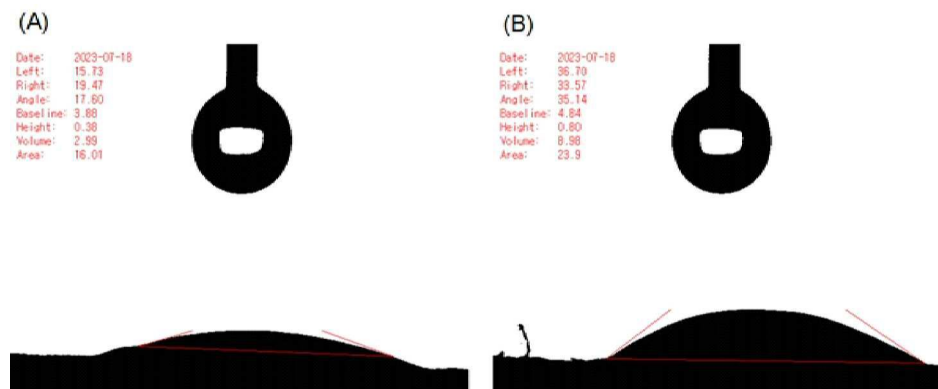
도면6



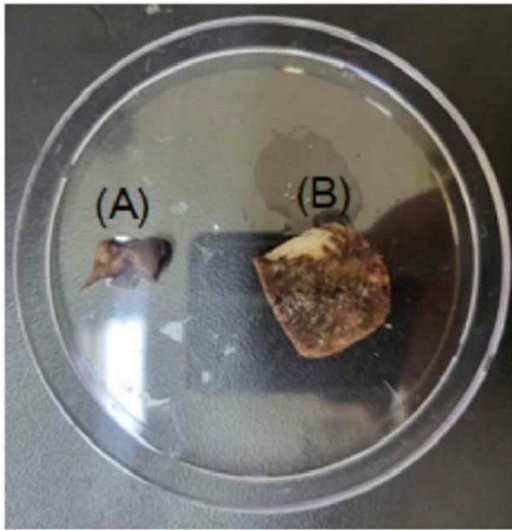
도면7



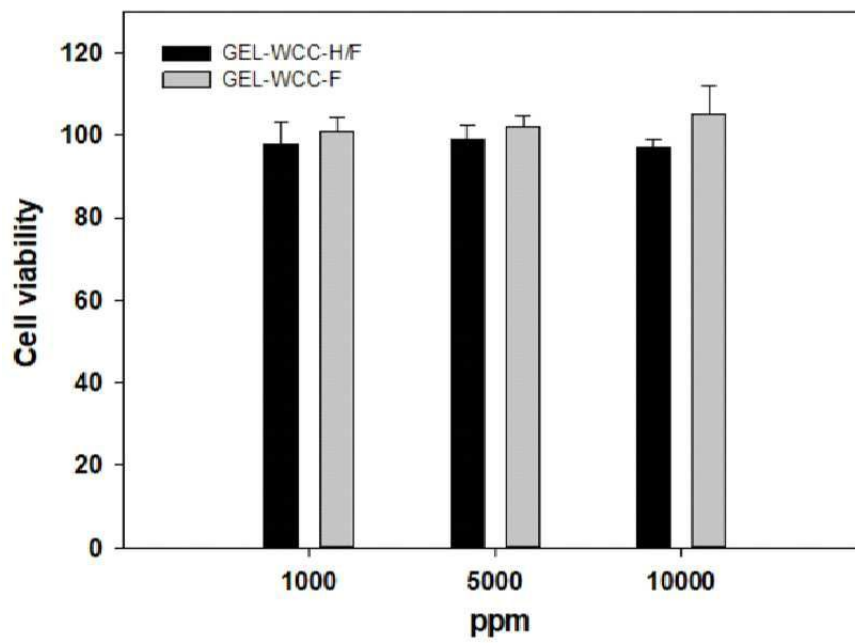
도면8



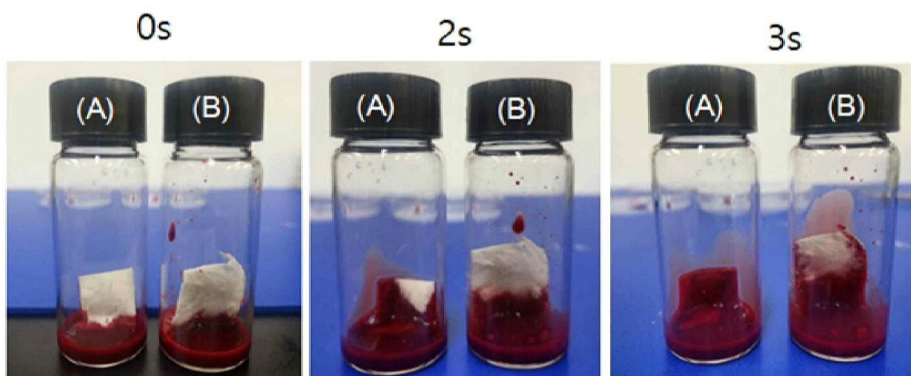
도면9



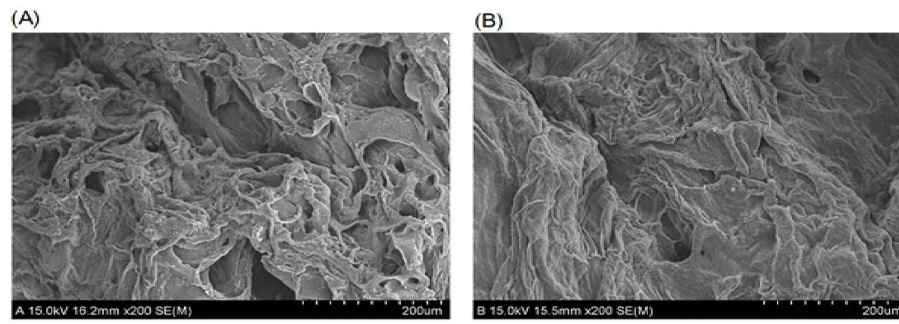
도면10



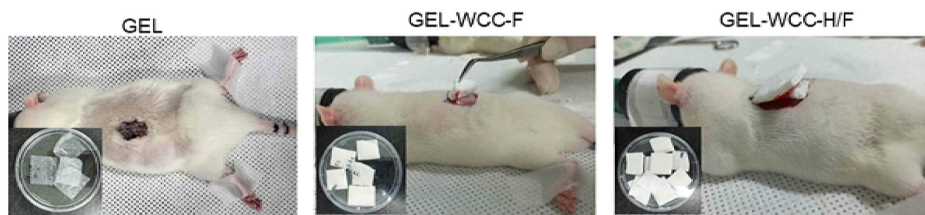
도면11



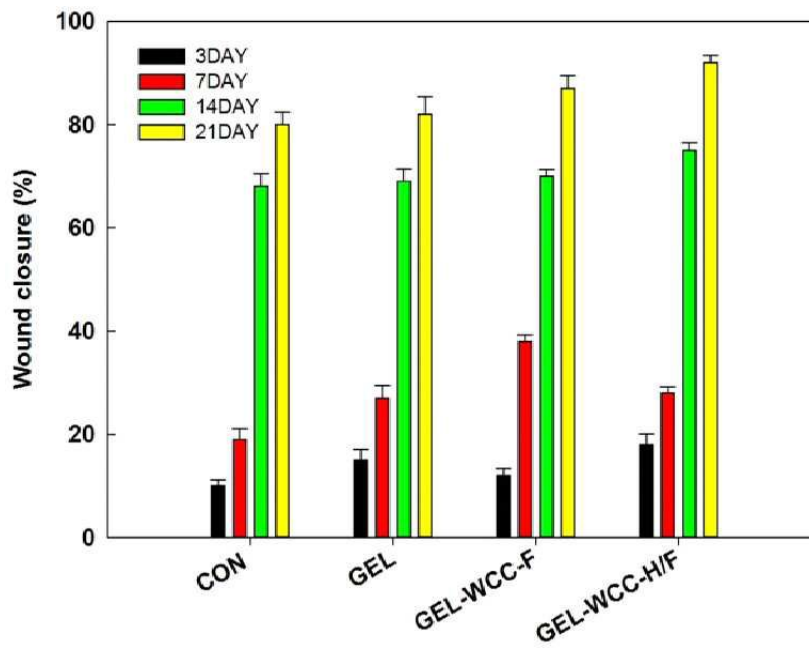
도면12



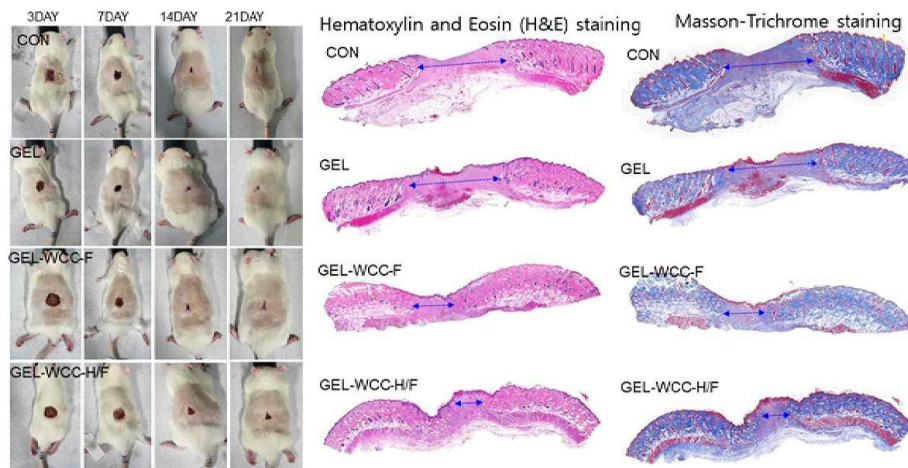
도면13



도면14



도면15



도면16

