(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0017378
(43) 공개일자 2024년02월07일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61L 17/14 (2006.01) *A61B 17/00* (2022.01)
A61B 17/06 (2006.01) *A61L 17/00* (2006.01)
A61L 17/10 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61L 17/14 (2013.01)
A61B 17/06166 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2024-0008320(분할)
(22) 출원일자 2024년01월18일
심사청구일자 2024년01월18일
(62) 원출원 특허 10-2020-0038372
원출원일자 2020년03월30일
심사청구일자 2021년04월13일

(71) 출원인
서강대학교산학협력단
서울특별시 마포구 백범로 35 (신수동, 서강대학교)
(72) 발명자
신관우
서울특별시 강남구 선릉로 221, 402동 1204호
어거스티나 세티아와티
서울특별시 마포구 신촌로20길 38
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
특허법인에스알비

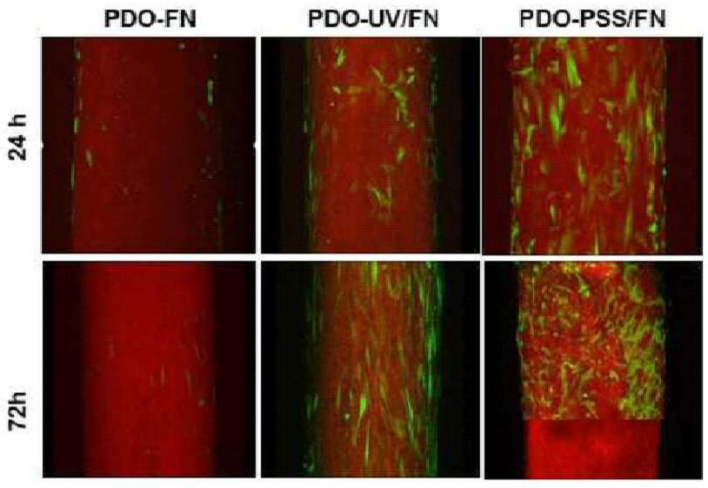
전체 청구항 수 : 총 5 항

(54) 발명의 명칭 **생체적합성 및 저마찰성이 우수한 수술용 봉합사 및 이의 제조방법**

(57) 요 약

본 발명은 생체적합성 및 저마찰성이 우수한 수술용 봉합사 및 이의 제조방법에 관한 것으로, 본 발명에 따른 봉합사는 생체적합성 및 저마찰성이 우수하여 봉합 시 환자에게 발생할 수 있는 통증을 감소시키고, 봉합 부위의 세포에서 염증 발생을 최소화하면서도 세포와의 접촉성이 우수하여, 다양한 내과용 및 외과용 수술에 활용될 수 있다.

대 표 도 - 도5



(52) CPC특허분류
A61L 17/005 (2013.01)
A61L 17/10 (2013.01)
A61L 17/145 (2013.01)
A61B 2017/00526 (2013.01)
A61B 2017/0084 (2013.01)
A61B 2017/00893 (2013.01)
A61L 2400/10 (2013.01)
A61L 2400/18 (2013.01)
(72) 발명자
김창호
서울특별시 노원구 노원로 29, 2동 605호
유수련
서울특별시 마포구 숭문길 98, 104동 2103호
정광환
경기도 성남시 분당구 양현로 192, 1021동 102호
주봉건
서울특별시 성북구 돌곶이로8길 22, 104동 402호

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1345315497
과제번호	2018R1A6A1A03024940
부처명	교육부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	이공학학술연구기반구축(R&D)
연구과제명	바이오계면연구소
과제수행기관명	서강대학교
연구기간	2020.03.01 ~ 2021.02.28

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1711110551
과제번호	2019R1A2C2084638
부처명	과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	개인기초연구(과기정통부)(R&D)
연구과제명	바이오 분자 소재의 다차원 계층 구조 연구
과제수행기관명	서강대학교
연구기간	2020.03.01 ~ 2021.02.28

명 세 서

청구범위

청구항 1

다음의 단계를 포함하는 상처 치유 또는 피부 재생 촉진용 봉합사의 제조 방법:

원사 바디를 준비하는 단계;

상기 원사 바디의 표면에 자외선-오존 조사 방식 또는 폴리스티렌 설포네이트 (polystyrene sulfonate; PSS)를 딥 코팅 방식으로 전처리하는 개질 단계; 및

상기 표면이 개질된 원사 바디 표면에 피브로넥틴을 침지 방식으로 흡착시켜 피브로넥틴층을 형성하는 흡착 단계.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 원사 바디는 폴리디옥사논 (polydioxanone; PDO)인 것인, 방법.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 개질 단계는 1분 내지 5분 동안 자외선-오존을 조사하는 것인, 방법.

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 개질 단계는 폴리스티렌 설포네이트를 28% 내지 35%의 농도로 용매와 혼합하여 딥 코팅 방식으로 전처리하는 것이고,

60 ℃ 내지 100 ℃의 온도 조건에서 4시간 내지 12시간 동안 폴리스티렌 설포네이트를 경화시키는 경화 단계를 추가로 포함하는 것인, 방법.

청구항 5

제1항에 있어서, 상기 흡착 단계는 피브로넥틴을 인산완충생리식염수 (phosphate buffered saline; PBS) 또는 유사생체용액 (simulated body fluid; SBF)과 혼합하는 혼합 단계를 추가로 포함하는 것이고,

상기 흡착 단계에서 흡착된 피브로넥틴의 흡착량은 30 ng/㎟ 내지 75 ng/㎟인 것인, 방법.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 생체적합성 및 저마찰성이 우수한 수술용 봉합사 및 이의 제조방법에 관한 것으로, 더욱 상세하게는 생체적합성이 높고, 마찰력이 적어 환자의 세포조직에서 발생할 수 있는 염증 반응 및 통증을 최소화할 수 있는 봉합사 및 이의 제조방법에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 봉합사 (Suture)는 외상으로 인한 상처 또는 수술 등으로 손상된 인체 부위를 꿰매는 실을 의미한다.

[0003] 초기에는, 봉합사로서 양, 돼지, 말의 창자나 힘줄 등의 장기 추출물로 만든 장선 (catgut)이 널리 사용되어 왔으나 낮은 강도로 인해 사용이 부적합하였으며, 조직 거부 반응과 동물 유래 질병 발생의 염려로 인해 그 사용이 점차 감소되었다.

[0004] 이후 합성 고분자 물질인 나일론이나 실크 등의 대체 물질이 개발되어 널리 사용되었으나, 인체내에서 분해되지 않고 생체적합성이 떨어져 사용 후 일정 시간 이 경과한 뒤에 추가적으로 제거해야되는 불편함을 야기하였다.

[0005] 이로 인해 1970년대 이후 수용성 조건 하에서 장시간 노출 시 분해되는 에스테르 결합을 포함하는 합성 고분자 봉합사의 개발과 활용에 대한 연구가 꾸준하게 이루어졌으며, 최근에는 폴리디옥사논 (Polydioxanone; PDO) 고

분자 등이 봉합사 소재로 널리 사용되고 있다.

[0006] 폴리디옥사논 봉합사는 분해성을 갖고 있어 주로 내과적 수술에 사용되었다. 하지만, 에스테르 결합을 갖는 폴리디옥사논 등의 흡수성 봉합사의 경우, 사용 초기에 발생하는 이물 거부 반응으로 인한 부작용의 염려를 가지고 있었으며, 체내에서 체액 등에 의해 분해된다 하더라도 잔물이 체내에 장기간 존재하게 되는 문제를 가지고 있었다. 또한, 봉합사 표면의 마찰력이 높아 봉합 시술시에 환자의 피부조직에서 염증 반응을 일으키거나, 통증을 크게 유발하는 문제점도 존재하였다.

[0007] 이에 최근에는 봉합사 표면의 마찰력이 적어 봉합 시에 통증을 적게 유발하며, 조직세포와의 마찰로 인한 염증 반응을 최소화하고, 일정 기간 경과 후 봉합사가 체내에 잔류하게 되는 경우에도 높은 생체적합성을 통해 부작용을 발생시키지 않는 봉합사에 대한 수요가 증대되고 있는 실정이다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0008] 이에 본 발명자들은 자외선 및/또는 폴리스티렌 설포네이트 (polystyrene sulfonate; PSS)로 표면을 개질시킨 봉합사 및 이의 표면에 피브로넥틴을 흡착시킨 봉합사를 제작하였고, 본 발명에 따른 봉합사는 저마찰성이고, 염증 등의 부작용을 최소화하며, 생체적합성이 월등히 우수한 것을 확인하였다.

[0009] 이에, 본 발명의 목적은, 자외선 및/또는 폴리스티렌 설포네이트로 표면을 개질시킨 봉합사 및 이의 표면에 피브로넥틴을 흡착시킨 봉합사를 제공하는 것이다.

[0010] 본 발명의 또 다른 목적은, 자외선 및/또는 폴리스티렌 설포네이트로 표면을 개질시킨 봉합사 및 이의 표면에 피브로넥틴을 흡착시킨 봉합사를 제조하는 방법을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0011] 본 발명은 생체적합성 및 저마찰성이 우수한 수술용 봉합사 및 이의 제조방법에 관한 것으로, 본 발명에 따른 봉합사는 봉합 시술에 적용 시 통증을 적게 유발하며 세포조직에서 발생할 수 있는 염증 반응을 최소화할 수 있는 효과를 가진다.

[0012] 본 발명자들은 이에 본 발명에 따른 봉합사는 피브로넥틴 흡착률이 높고, 습윤성 및 친수성이 높아 봉합사 표면이 작은 마찰력을 가지며, 생체적합성이 우수한 것을 확인하였다.

[0013] 이하 본 발명을 더욱 자세히 설명하고자 한다.

[0014] 본 발명의 일 양태는, 원사 바디에 자외선 및/또는 폴리스티렌 설포네이트 (polystyrene sulfonate; PSS)를 처리하여 원사 바디의 표면을 개질한, 수술용 봉합사이다.

[0015] 본 발명의 일 구현예에서, 봉합사는 원사 바디에 자외선을 처리하여 원사 바디의 표면을 개질한 것일 수 있다.

[0016] 본 발명에 있어서 자외선 처리는 당업계에서 통상적으로 사용되는 자외선 처리 방법인 것일 수 있으며, 예를 들어, UV-오존 플라즈마를 이용한 자외선-오존 처리 방법인 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

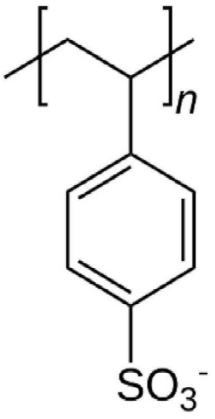
[0017] 본 발명의 일 구현예에서, 봉합사는 자외선-오존 처리하여 원사 바디의 표면을 개질한 것일 수 있다.

[0018] 본 발명에 따른 봉합사는 자외선-오존 처리를 통해 봉합사의 표면이 -OH기 (친수성 작용기)를 포함하는 표면으로 개질된 것일 수 있다.

[0019] 본 발명의 일 구현예에서, 봉합사는 원사 바디에 폴리스티렌 설포네이트를 처리하여 원사 바디의 표면을 개질한 것일 수 있다.

[0020] 본 발명에 있어서 폴리스티렌 설포네이트는 하기 화학식 1로 표현되는 화합물인 것일 수 있다.

[0021] [화학식 1]



[0022]

[0023] 본 발명에 있어서 폴리스티렌 설포네이트는 용매와 혼합되어 봉합사에 처리되는 것일 수 있다.

[0024] 본 발명에 있어서 용매는 물, 유기용매 또는 이들의 혼합물인 것일 수 있으며, 예를 들어, DMF, 아세톤, 탄소수 1 내지 6의 저급 알코올, 에틸아세테이트, 메틸렌클로라이드 및 클로로포름으로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상인 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0025] 본 발명에 있어서 탄소수 1 내지 6의 저급 알코올은 메탄올, 에탄올, 프로판올, 부탄올, 노말-프로판올, 이소-프로판올, 노말-부탄올, 1-펜탄올, 2-부톡시에탄올 또는 에틸렌글리콜로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상인 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0026] 본 발명에 있어서 봉합사에 처리되는 폴리스티렌 설포네이트의 농도는 과도하게 높은 경우 코팅 시에 봉합사 표면에 코팅용액이 달라붙는 양이 지나치게 많아지고 코팅용액의 점도가 높아져 코팅이 어려울 수 있고, 낮은 폴리스티렌 설포네이트 농도는 피브로넥틴의 흡착이 원할하지 않을 수 있어, 폴리스티렌 설포네이트의 농도는 봉합사에 따라 적절하게 선택될 수 있으며, 예를 들어, 0.01 내지 99.9%, 1 내지 99%, 10 내지 90%, 15 내지 60%, 20 내지 50%, 25 내지 40%, 28 내지 35% 또는 30% 일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0027] 본 발명의 일 구현예에서, 폴리스티렌 설포네이트는 딥 코팅 (Dip coating), 침지 (dipping), 분무 (spraying), 닦아내기 (wiping), 브러싱 (brushing) 등의 방법으로 처리될 수 있으며, 예를 들어, 딥 코팅 방식으로 처리될 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0028] 본 발명에 있어서 표면이 개질된 봉합사의 수용성 용액에 대한 접촉각은 95도 이하, 90도 이하, 85도 이하, 80도 이하, 75도 이하, 70도 이하, 65도 이하인 것일 수 있고, 예를 들어, 90도 이하인 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0029] 본 발명에 있어서 수용성 용액은 물, 식염수, 혈청으로 이루어진 군에서 선택되는 1 종 이상인 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0030] 본 발명의 일 구현예에서, 원사 바디는 편조사 (Braided), 모노필라멘트 (monofilament) 및 멀티필라멘트 (multifilament)로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상인 것일 수 있으며, 예를 들어, 모노필라멘트인 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0031] 본 발명에 있어서 봉합사의 원사 바디는 실크 피브로인 (Silk fibroin), 폴리디옥사논 (Polydioxanone), 폴리프로필렌 (polypropylene), 폴리글락틴 (Polyglactin), 나일론 (Nylon), 장선 (Catgut) 및 폴리글리콜산 (Polyglycolic acid)으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상을 포함하는 것일 수 있으며, 예를 들어, 폴리디옥사논을 포함할 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0032] 본 발명의 일 구현예에서, 표면이 개질된 봉합사의 표면 상측에 피브로넥틴 (Fibronectin)층을 추가로 포함할 수 있다.

[0033] 본 명서서 상의 용어 "피브로넥틴"은 다른 세포외 기질 단백질뿐만 아니라 인테그린에 결합하는 세포외 기질의 고분자량 (약 440kDa)의 당단백질로, 세포의 부착, 이동 및 분화에 결정적인 역할을 하는 단백질을 의미한다.

[0034] 본 발명의 일 구현예에서, 피브로넥틴층의 피브로넥틴 흡착량은 15 내지 100 ng/mm^2, 20 내지 90 ng/mm^2, 25 내

지 80 ng/mm^2, 30 내지 75 ng/mm^2, 35 내지 70 ng/mm^2, 40 내지 60 ng/mm^2 일 수 있고, 예를 들어, 30 내지 60 ng/mm^2 일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0035] 본 발명의 일 구현예에서, 피브로넥틴은 침지 (dipping), 분무 (spraying), 닦아내기 (wiping), 브러싱 (brushing) 등의 방법으로 표면이 개질된 봉합사에 흡착되어 피브로넥틴층을 형성할 수 있고, 예를 들어, 침지 방식으로 흡착될 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0036] 본 발명의 다른 양태는, 다음의 단계를 포함하는 수술용 봉합사 제조방법이다:

[0037] 원사 바디를 준비하는 준비 단계; 및

[0038] 원사 바디에 자외선 또는 폴리스티렌 설포네이트를 처리하여 원사 바디의 표면을 개질하는 개질 단계.

[0039] 본 발명의 일 구현예에서, 원사 바디는 편조사 (Braided), 모노필라멘트 (monofilament) 및 멀티필라멘트 (multifilament)로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상인 것일 수 있으며, 예를 들어, 모노필라멘트인 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0040] 본 발명에 있어서 준비 단계에서의 원사 바디는 실크 피브로인 (Silk fibroin), 폴리디옥사논 (Polydioxanone), 폴리프로필렌 (polypropylene), 폴리글락틴 (Polyglactin), 나일론 (Nylon), 장선 (Catgut) 및 폴리글리콜산 (Poly glycolic acid)으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상을 포함하는 것일 수 있으며, 예를 들어, 폴리디옥사논을 포함하는 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0041] 본 발명에 있어서 표면이 개질된 봉합사의 수용성 용액에 대한 접촉각은 95도 이하, 90도 이하, 85도 이하, 80도 이하, 75도 이하, 70도 이하, 65도 이하인 것일 수 있고, 예를 들어, 90도 이하인 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0042] 본 발명에 있어서 수용성 용액은 물, 식염수, 혈청으로 이루어진 군에서 선택되는 1 이상의 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0043] 본 발명의 일 구현예에서, 개질 단계는 원사 바디에 자외선을 처리하여 원사 바디의 표면을 개질하는 것일 수 있다.

[0044] 본 발명에 있어서 자외선 처리는 당업계에서 통상적으로 사용되는 자외선 처리 방법인 것일 수 있으며, 예를 들어, UV-오존 플라즈마를 이용한 자외선-오존 처리 방법인 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0045] 본 발명의 일 구현예에서, 개질 단계는 원사 바디에 자외선-오존을 처리하여 원사 바디의 표면을 개질하는 것일 수 있다.

[0046] 본 발명의 일 구현예에서, 개질 단계는 원사 바디에 폴리스티렌 설포네이트를 처리하는 폴리스티렌 설포네이트 처리 단계를 포함하는 것일 수 있다.

[0047] 본 발명의 일 구현예에서, 개질 단계는 폴리스티렌 설포네이트 처리 단계 이후에 폴리스티렌 설포네이트를 경화시키는 경화 단계를 추가로 포함하는 것일 수 있다.

[0048] 본 발명에 있어서 경화 단계는 30 내지 120℃, 40 내지 110℃, 50 내지 105℃, 60 내지 100℃에서 수행되는 것일 수 있고, 예를 들어, 65℃에서 수행되는 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0049] 본 발명의 일 구현예에 있어서, 경화 단계는 4 내지 12 시간, 4 내지 10 시간, 4 내지 8 시간, 4 내지 6 시간 동안 수행되는 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0050] 본 발명에 있어서 폴리스티렌 설포네이트 처리 단계는 폴리스티렌 설포네이트를 용매와 혼합하여 봉합사에 처리하는 것일 수 있다.

[0051] 본 발명에 있어서 용매는 물, 유기용매 또는 이들의 혼합물인 것일 수 있으며, 예를 들어, DMF, 아세톤, 탄소수 1 내지 6의 저급 알코올, 에틸아세테이트, 메틸렌클로라이드 및 클로로포름으로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상인 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0052] 본 발명에 있어서 탄소수 1 내지 6의 저급 알코올은 메탄올, 에탄올, 프로판올, 부탄올, 노말-프로판올, 이소-프로판올, 노말-부탄올, 1-펜탄올, 2-부톡시에탄올 또는 에틸렌글리콜로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상인 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0053] 본 발명의 일 구현예에서, 폴리스티렌 설포네이트 처리 단계의 폴리스티렌 설포네이트의 농도는 0.01 내지 99.9%, 1 내지 99%, 10 내지 90%, 15 내지 60%, 20 내지 50%, 25 내지 40%, 28 내지 35% 또는 30% 일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0054] 본 발명의 일 구현예에서, 폴리스티렌 설포네이트는 딥 코팅 (Dip coating), 침지 (dipping), 분무 (spraying), 닦아내기 (wiping), 브러싱 (brushing) 등의 방법으로 처리될 수 있고, 예를 들어, 딥 코팅 방식으로 처리될 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0055] 본 발명에 있어서 제조방법은 표면이 개질된 봉합사에 피브로넥틴을 흡착시켜 피브로넥틴층을 형성하는 흡착 단계를 더 포함할 수 있다.

[0056] 본 발명의 일 구현예에서, 피브로넥틴층의 피브로넥틴 흡착량은 15 내지 100 ng/mm^2, 20 내지 90 ng/mm^2, 25 내지 80 ng/mm^2, 30 내지 75 ng/mm^2, 35 내지 70 ng/mm^2, 40 내지 60 ng/mm^2 일 수 있고, 예를 들어, 30 내지 60 ng/mm^2 일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0057] 본 발명의 일 구현예에서, 흡착 단계는 피브로넥틴과 인산완충생리식염수 (phosphate buffered saline; PBS) 및 SBF (simulated body fluid) 용액으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상과 혼합하는 혼합 단계를 더 포함하는 것일 수 있다.

[0058] 본 발명의 일 구현예에서, 피브로넥틴은 침지 (dipping), 분무 (spraying), 닦아내기 (wiping), 브러싱 (brushing) 등의 방법으로 표면이 개질된 봉합사에 흡착될 수 있고, 예를 들어, 침지 방식으로 흡착될 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

발명의 효과

[0059] 본 발명은 생체적합성 및 저마찰성이 우수한 수술용 봉합사 및 이의 제조방법에 관한 것으로, 본 발명에 따른 봉합사는 생체적합성 및 저마찰성이 우수하여 봉합 시 환자에게 발생할 수 있는 통증을 감소시키고, 봉합 부위의 세포에서 염증 발생을 최소화하면서도 세포와의 접촉성이 우수하여, 다양한 내과용 및 외과용 수술에 활용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0060] 도 1은 본 발명의 일 실시예에 따른 폴리디옥사논 봉합사 (PDO 봉합사), 피브로넥틴이 흡착된 자외선 처리 봉합사 (PDO-UV/FN 봉합사) 및 피브로넥틴이 흡착된 PSS 처리 봉합사 (PDO-PSS/FN 봉합사)의 표면을 주사 전자 현미경 (scanning electron microscope; SEM)을 통해 촬영한 사진이다.

도 2는 본 발명의 일 실시예에 따른 PDO-UV/FN 봉합사를 푸리에 변환 적외선 분석기 (Fourier transform infrared spectrometer; FT-IR)를 통해 FT-IR 스펙트럼 측정한 결과를 나타내는 그래프이다.

도 3은 본 발명의 일 실시예에 따른 PDO-PSS/FN 봉합사를 푸리에 변환 적외선 분석기를 통해 FT-IR 스펙트럼 측정한 결과를 나타내는 그래프이다.

도 4는 본 발명의 일 실시예에 따른 PDO 봉합사, PDO-UV 봉합사, PDO-PSS 봉합사의 표면에 흡착된 피브로넥틴의 흡착량을 나타내는 그래프이다.

도 5는 본 발명의 일 실시예에 따른 피브로넥틴이 흡착된 PDO 봉합사 (PDO-FN 봉합사), PDO-UV/FN 봉합사, PDO-PSS/FN 봉합사에 배양시킨 섬유아세포 (fibroblast cell)를 촬영한 형광 현미경 3D 이미지이다.

도 6은 본 발명의 일 실시예에 따른 PDO-FN 봉합사, PDO-UV/FN 봉합사, PDO-PSS/FN 봉합사에 배양시킨 섬유아세포의 세포수를 측정한 결과를 나타낸 그래프이다.

도 7은 본 발명의 일 실시예에 따른 PDO-FN 봉합사, PDO-UV/FN 봉합사, PDO-PSS/FN 봉합사가 봉합사 주변의 벌어진 섬유아세포를 봉합하는 정도를 나타내는 그래프이다.

도 8은 본 발명의 일 실시예에 따른 PDO-FN 봉합사, PDO-UV/FN 봉합사, PDO-PSS/FN 봉합사가 봉합사 주변의 벌어진 섬유아세포를 봉합하는 정도를 나타내는 사진이다.

도 9는 본 발명의 일 실시예에 따른 PDO 봉합사, PDO-UV 봉합사, PDO-UV/FN 봉합사, PDO-PSS 봉합사, PDO-

PSS/FN 봉합사의 물에 대한 접촉각을 측정한 결과를 나타내는 그래프이다.

도 10는 본 발명의 일 실시예에 따른 PDO 봉합사, PDO-UV 봉합사, PDO-UV/FN 봉합사, PDO-PSS 봉합사, PDO-PSS/FN 봉합사의 식염수에 대한 접촉각을 측정한 결과를 나타내는 그래프이다.

도 11는 본 발명의 일 실시예에 따른 PDO 봉합사, PDO-UV 봉합사, PDO-UV/FN 봉합사, PDO-PSS 봉합사, PDO-PSS/FN 봉합사의 혈청에 대한 접촉각을 측정한 결과를 나타내는 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0061] 이하, 본 발명을 하기의 실시예에 의하여 더욱 상세히 설명한다. 그러나 이들 실시예는 본 발명을 예시하기 위한 것일 뿐이며, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의하여 한정되는 것은 아니다.

[0063] **실시예 1: 봉합사 제조**

[0064] **1-1. 자외선 처리 봉합사 제조**

[0065] 자외선 (자외선-오존) 처리 봉합사를 제조하기 위해 삼양사 바이오팜 (Samyang Biopharm, 대한민국)에서 구입한 Monosorb® 폴리디옥사논 봉합사 (PDO 봉합사) 제품을 봉합사의 원사로써 사용하였다.

[0066] 폴리디옥사논 봉합사에 UV ozone 플라즈마 (UVO plasma) 발생기 장비인 UV OZONE CLEANER (㈜아텍엘티에스, 대한민국) 장비로 4분동안 오존 플라즈마를 조사하여 봉합사의 표면에 -OH기를 도입하여 친수성 표면으로 개질한 자외선 처리 봉합사 (PDO-UV 봉합사)를 제조하였다.

[0068] **1-2. 폴리스티렌 설포네이트 처리 봉합사 제조**

[0069] 삼양사 바이오팜에서 구입한 Monosorb® 폴리디옥사논 봉합사를 딥 코팅 (Dip coating) 방식으로 폴리스티렌 설포네이트 (Polystyrene sulfonate; PSS)를 코팅하였다. 이후, PSS를 경화시키기 위해 오븐에서 65℃ 온도로 최소 4 시간 동안 봉합사의 표면을 경화시켜, 폴리스티렌 설포네이트 표면 처리된 봉합사 (PDO-PSS 봉합사)를 제조하였다.

[0071] **실시예 2: 피브로넥틴 흡착 봉합사 제조 및 흡착 정도 측정**

[0072] **2-1. 피브로넥틴 흡착 봉합사 제조**

[0073] 실시예 1-1, 1-2에서 제조한 PDO-UV 봉합사 및 PDO-PSS 봉합사의 표면에 흡착시키기 위한 피브로넥틴 (Fibronectin; FN)으로 Thermo Fisher Scientific사의 Fibronectin Human, Plasma 제품을 사용하였다.

[0074] 피브로넥틴을 PBS 용액에 50 ㎍/㎖ 농도로 묽혀 피브로넥틴 용액을 제조하고, 피브로넥틴 용액에 PDO-UV 봉합사 및 PDO-PSS 봉합사를 침지 시킨 후, 37℃의 인큐베이터안에서 조심스럽게 흔들어 주면서 (gentle shaking) 72 시간 인큐베이션하여 표면 처리된 봉합사 표면에 피브로넥틴이 골고루 잘 흡착되도록 하였다. 인큐베이션 후에는 봉합사를 PBS 용액으로 수 회 세척하였다. 그리고, 하기 봉합사 표면 분석 실험 및 FT-IR 적외선 분광 스펙트럼 측정시에는 봉합사의 표면을 공기중에서 말린 이후 실험을 실시하였다.

[0075] 또한, 상기 PDO 봉합사 이외에 실크피브로인 봉합사 (Black Silk®, Mersilk®), 폴리디옥사논 봉합사 (PDS®II), 폴리프로필렌 봉합사 (Prolene®), 폴리글락틴 봉합사 (Vicryl®), 나일론 봉합사 (Blue Nylon®), 장선 봉합사 (Chromic®), 폴리글리콜산 봉합사 (Surgifit®)도 전술한 방법과 동일하게 자외선 처리 혹은 PSS 표면 처리 후, 피브로넥틴을 흡착시켰다.

[0077] **2-2. 봉합사 표면 분석**

[0078] 피브로넥틴 흡착 후, 주사 전자 현미경 (scanning electron microscope; SEM)을 통해 PDO 봉합사, 피브로넥틴이 흡착된 자외선 처리 봉합사 (PDO-UV/FN 봉합사) 및 피브로넥틴이 흡착된 PSS 처리 봉합사 (PDO-PSS/FN 봉합

사)의 표면을 관찰하였으며, 그 결과를 도 1에 나타내었다.

[0079] 도 1에 나타난 바와 같이, PDO-UV/FN 봉합사 및 PDO-PSS/FN 봉합사에서는 대조군인 PDO 봉합사에서 나타나지 않는 불규칙한 모양의 물질들이 미소 섬유 표면에 부착된 것을 확인할 수 있었고, 이를 통해 PDO-UV 봉합사 또는 PDO-PSS 봉합사에 피브로넥틴이 부착된 것으로 예측하였다.

[0081] **2-3. FT-IR 흡수 스펙트럼 측정**

[0082] 피브로넥틴 흡착 후, PDO-UV/FN 봉합사 및 PDO-PSS/FN 봉합사 각각을 푸리에 변환 적외선 분석기 (Fourier transform infrared spectrometer; FT-IR)를 통해 FT-IR 스펙트럼을 측정하였다. 적외선 흡수 스펙트럼은 Cary640 (Agilent Technologies, USA) 적외선 분광기의 전반사 방법을 통해 ATR 액세서리 (MIRacle쩨 Single Reflection ATR, PIKE Technologes, USA)로 측정하였다. 봉합사 샘플들을 ATR 액세서리의 ZnSe crystral 위에 위치시켜 고정한 후, 4 cm^{-1} 해상도를 가지고 600 ~ 4000 cm^{-1} (Wavenumber) 범위를 64번 스캔하여 평균값을 얻는 방식으로 스펙트럼을 얻었다. 그리고, 그 결과를 도 2 및 도 3에 나타내었다.

[0084] FT-IR 분석 결과, 도 2 및 도 3의 그래프에 나타난 바와 같이 PDO-UV/FN 봉합사 및 PDO-PSS/FN 봉합사는 Amide Ⅰ, Amide Ⅱ에 의해 1600cm^{-1} 근방에서 흡수 피크를 나타냈고, Amide A에 의해 3300 cm^{-1} 근방에서 흡수 피크를 나타냈다. 반면, PDO 봉합사와, 피브로넥틴이 흡착되지 않은 PDO-UV 봉합사 또는 PDO-PSS 봉합사는 해당 파수에서 흡수 피크를 나타내지 않았다.

[0085] 상기 실험 결과로, PDO-UV/FN 봉합사 PDO-PSS/FN 봉합사 모두 표면에 피브로넥틴이 잘 흡착된 것을 알 수 있었다.

[0086] 그리고, 피브로넥틴을 흡착시킨 실크피브로인 봉합사 (Black Silk®, Mersilk®), 폴리디옥사논 봉합사 (PDS® II), 폴리프로필렌 봉합사 (Prolene®), 폴리글락틴 910 봉합사 (Vicryl®), 나일론 봉합사 (Blue Nylon®), 장선 봉합사 (Chromic®), 폴리글리콜산 봉합사 (Surgifit®)의 FT-IR 스펙트럼을 확인하였고 (미도시), PDO-UV 봉합사 및 PDO-PSS 봉합사와 동일하게 봉합사 표면에 피브로넥틴이 잘 흡착된 것을 확인하였다.

[0088] **2-4. 피브로넥틴 흡착량 측정**

[0089] 피브로넥틴의 정확한 흡착량을 확인하기 위해 2cm 길이의 PDO 봉합사, PDO-UV 봉합사, PDO-PSS 봉합사 샘플을 준비하여 각 봉합사의 표면에 상기 실시예 2-1.과 동일하게 피브로넥틴을 흡착시켰다.

[0090] 피브로넥틴 흡착량은 단백질 정량법인 Pierce modified Lowry 방법을 이용하여 정량화 하였으며, 피브로넥틴 흡착 과정에서 인큐베이션 전, 후의 피브로넥틴 용액을 96-웰 플레이트 (96-well plate)에 모았다. 모은 피브로넥틴 용액에 Modified Lowry 시약을 200 ㎕ 가하고 10분 동안 상온에서 천천히 흔들어 주고, 추가로 Folin-Ciocalteu 시약을 섞은 후 30초동안 흔들어 주었다. 이후, 96-웰 플레이트를 알루미늄 호일을 이용하여 빛을 차단시키고 30분 동안 상온에서 인큐베이션시켰다. 그리고, multiple reader (EnSpire, PerkinElmer)를 이용하여 750 nm 파장에서 각 웰의 흡광도를 측정하였고 정량 흡광도 표준곡선을 통하여 피브로넥틴 단백질의 농도를 확인하였다. 피브로넥틴 흡착 전 용액농도와 흡착 후의 피브로넥틴 용액농도를 비교하여 흡착된 피브로넥틴 농도를 결정하였으며 흡착된 피브로넥틴 농도를 봉합사 샘플의 표면적 (surface area)으로 나눠주어 ng/mm^2 단위로 흡착 양을 표시하였고, 그 결과를 도 4 및 하기 표 1에 나타내었다.

표 1

[0091]

	PDO	PDO-UV	PDO-PSS
흡착된 피브로넥틴 양 (ng/mm^2)	14.70 ±1.12	34.22 ±1.15	48.28 ±0.98

[0093] 도 4 및 표 1에 나타난 바와 같이, PDO-UV 봉합사 및 PDO-PSS 봉합사는 대조군인 PDO 봉합사에 비해 피브로넥틴이 흡착되는 양이 유의적으로 증가하였다.

[0094] 이들 결과로, PDO-UV 봉합사 및 PDO-PSS 봉합사의 표면에는 피브로넥틴이 흡착 가능하며, 그 흡착력도 우수한 것을 확인하였다. 특히, PDO-PSS 봉합사의 피브로넥틴 흡착력이 가장 우수하였다.

[0095] 이에 따라, 자외선 또는 폴리스티렌 설포네이트를 통한 봉합사의 표면 처리가 봉합사 표면의 피브로넥틴의 흡착능을 상승시키는 것으로 추정된다.

[0097] **실시예 3: 생체적합성 확인**

[0098] **3-1. 세포 밀도 측정**

[0099] 배양용 접시의 표면을 Pluronic™ F127 용액 5 % 농도로 코팅한 후 정제수 (Di-water)를 이용하여 세척하였고 자외선을 이용하여 소독하였다. 이후, 소독시킨 배양접시에 배양액과 PDO 봉합사, PDO-UV 봉합사 또는 PDO-PSS 봉합사를 위치시키고 GFP 형광발현하는 섬유아세포를 (fibroblast cell)을 시딩 (seeding)하였다. 24 시간 동안 섬유아세포를 배양시킨 샘플군과 72시간 동안 섬유아세포를 배양시킨 샘플군을 만들었다.

[0100] 배양 이후 배양접시에서 봉합사를 분리하고 새로운 배양용액이 담긴 배양접시에 이동시킨 이후, 공초점현미경 장비 (TCS SP8, Leica)를 통하여 봉합사 위에 녹색으로 발현되어 자란 섬유아세포를 Z-stack 이미지로 측정하여 봉합사 3D-이미지를 촬영하였다. 촬영한 공초점 형광 현미경 3D-이미지 결과는 도 5에서 나타내었다.

[0101] 공초점 형광 현미경 3D-이미지 결과에서 봉합사내 섬유아세포를 Image J (Fiji, 일본) 소프트웨어의 3D object counter 플러그인을 이용하여 세포 개수를 측정하였다. 이를 통하여 피브로넥틴을 흡착시킨 폴리디옥사논 원사 (PDO-FN 봉합사), PDO-UV/FN 봉합사 및 PDO-PSS/FN 봉합사 표면의 세포 밀도를 측정하였고, 그 결과를 도 6 및 표 2에 나타내었다.

표 2

[0102]

세포 밀도 (per mm^2)	PDO-FN	PDO-UV/FN	PDO-PSS/FN
24 hours culture	86.89 ±8.25	384.14 ±80.61	447.16 ±77.81
72 hours culture	461.98 ±96.77	1680.69 ±269.72	2258.71 ±193.62

[0104] 도 5, 도 6 및 표 2에서 확인할 수 있듯이, PDO-UV/FN 봉합사 및 PDO-PSS/FN 봉합사에서 측정된 세포밀도가 대조군인 PDO-FN 봉합사에 비해 유의적으로 높은 것을 확인하였다.

[0106] **3-2. 세포 이동 (Cell migration)/세포 재생 (Cell healing) 정도 측정**

[0107] 섬유아세포 (confluent fibroblast)를 플레이트에 배양 성장시켜 도말 후에, cell scrapper를 이용해 도말한 섬유아세포의 중앙에 1mm 직경으로 홈을 형성하였다. 이 후, PDO-FN 봉합사, PDO-UV/FN 봉합사 및 PDO-PSS/FN 봉합사를 섬유아세포 중앙에 형성된 홈에 두고, 섬유아세포를 low serum media 배양액으로 다시 배양하였다. 그리고, 배양 후 0 시간, 24 시간에서 벌어진 섬유아세포가 닫힌 정도를 측정하여 비교하였으며, 그 결과를 도 7 내지 8, 표 3에 나타내었다.

표 3

[0108]

	PDO-FN	PDO-UV/FN	PDO-PSS/FN
Cell enclosure (%)	3.05 ±0.25	13.64 ±0.77	17.83 ±0.55

[0110] 도 7에서 확인할 수 있듯이, PDO-UV/FN 봉합사 및 PDO-PSS/FN 봉합사는 PDO-FN 봉합사에 비해 세포 이동/세포

재생 정도가 4 배 이상으로 큰 것으로 확인되었다.

[0111] 이들 결과로, PDO-UV/FN 봉합사 및 PDO-PSS/FN 봉합사는 봉합사 표면의 세포 배양밀도, 세포 이동(재생) 정도 모두 표면이 개질되지 않은 PDO-FN에 비해 우수한 것을 알 수 있었다.

[0112] 따라서, PDO-UV/FN 봉합사 및 PDO-PSS/FN 봉합사 모두 생체적합성이 우수한 것을 확인하였으며, 본 발명에 따른 봉합사를 봉합 시술에 적용할 시, 상처 부위 및 인접한 세포조직과 봉합사 간의 결합이 안정적이고, 주변 조직에서의 거부 반응을 최소화할 것으로 기대된다.

[0114] **실시예 4: 물리화학적 특성 측정**

[0115] 봉합사의 친수성 및 습윤성 측정하기 위하여, PDO 봉합사를 대조군으로 하여, PDO-UV 봉합사, PDO-UV/FN 봉합사, PDO-PSS 봉합사, PDO-PSS/FN 봉합사의 물, 식염수 및 혈청에 대한 각각의 접촉각 (Contact angle, θ)을 접촉각 측정 장비인 Phoenix 500 (SEO, 대한민국)을 이용하여 측정하였다. 각 봉합사 위에 물, 식염수 및 혈청 방울을 위에 올려 방울지게 한 후 장비의 CCD 카메라로 촬영하여 촬영된 영상을 통해 접촉각을 측정하였고, 그 결과를 도 9 내지 11 및 표 4에 나타내었다.

표 4

[0116]

Contact angle	PDO	PDO-UV	PDO-UV/FN	PDO-PSS	PDO-PSS/FN
물 (°)	107.8	73.1	68.6	82.7	68.2
식염수 (°)	117.8	71.4	78.7	82.3	61.9
혈청 (°)	97.1	69.8	67.9	65.2	50.7

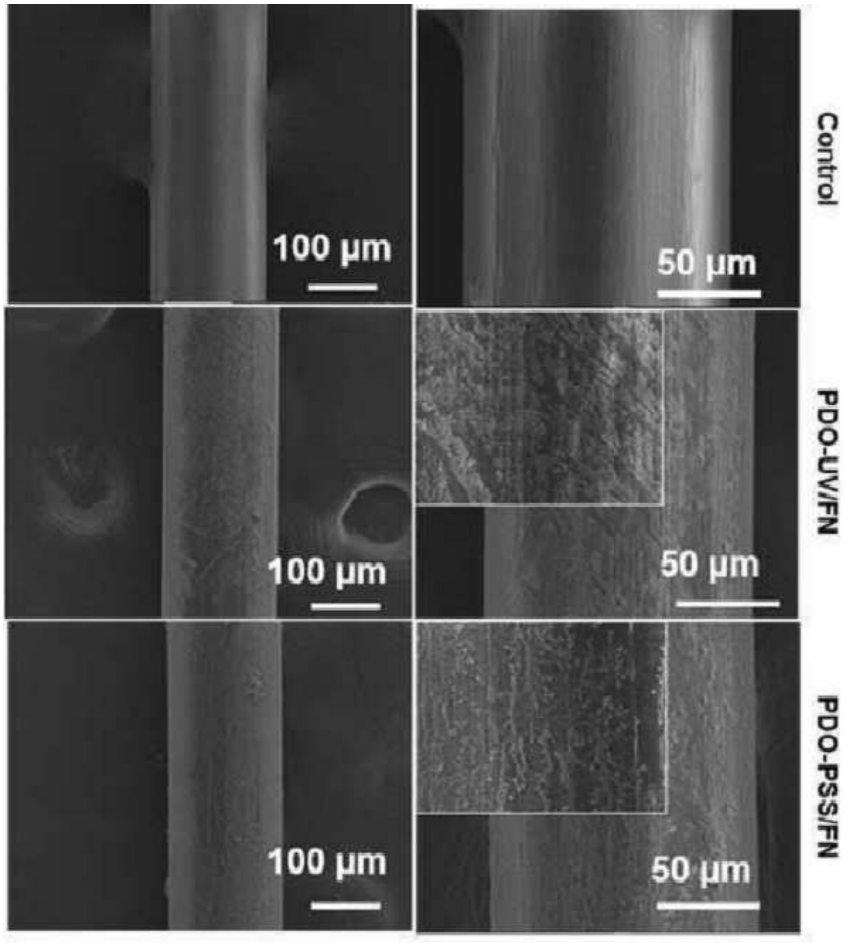
[0118] 일반적으로 접촉각이 90 도 이상이면 측정 물질이 소수성 (Hydrophobicity) 성질을 가지고 있는 것으로 보며, 90 도 이하이면 친수성 (Hydrophilicity)을 가지는 것으로 본다. 실험 결과, PDO 봉합사는 물, 식염수, 혈청 모두에서 접촉각이 90 도 이상으로 나타나 봉합사의 표면이 소수성을 타내고 있는데 반하여, PDO-UV, PDO-UV/FN, PDO-PSS, PDO-PSS/FN 봉합사는 모두 물, 식염수 및 혈청에 대해서 접촉각이 90 도 이하로 나타났다. 따라서, 표면처리에 의해 봉합사의 표면이 소수성에서 친수성 및 습윤성의 성질로 바뀐 것을 확인할 수 있었다.

[0120] 이러한 결과로, PDO-UV 봉합사, PDO-UV/FN 봉합사, PDO-PSS 봉합사, PDO-PSS/FN 봉합사 모두 친수성 및 습윤성이 우수한 것을 확인할 수 있었다. 그리고, 이러한 결과는 상기 봉합사들이 인체의 세포조직과 접촉 시에 마찰력이 적다는 것을 의미한다.

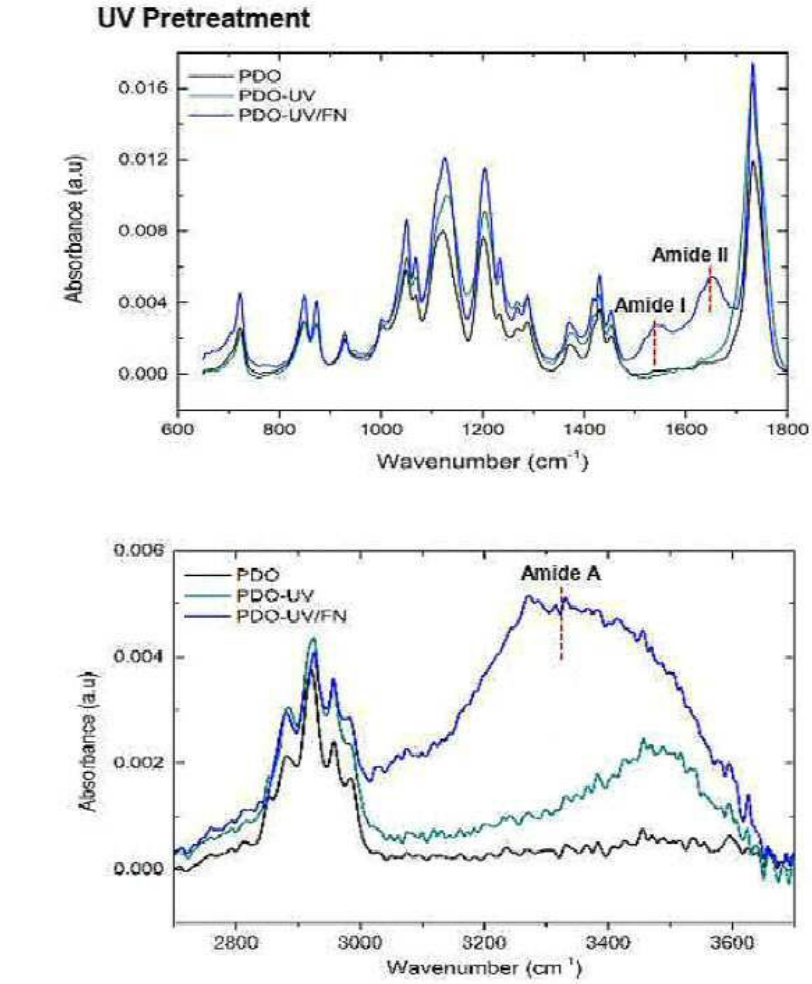
[0121] 따라서, PDO-UV 봉합사, PDO-UV/FN 봉합사, PDO-PSS 봉합사, PDO-PSS/FN 봉합사 봉합사들은 낮은 마찰력으로 인해, 상처 봉합 시에 환자의 고통을 감소시키고 봉합 시 발생할 수 있는 세포조직의 염증 반응을 최소화할 것으로 기대된다.

도면

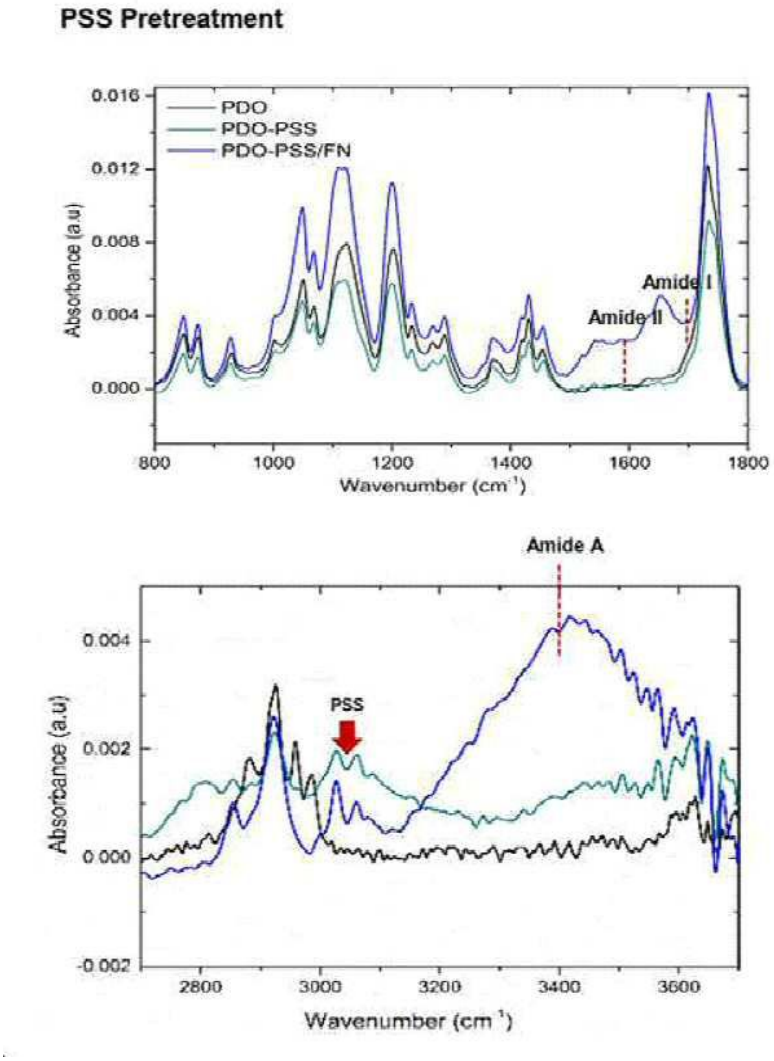
도면1



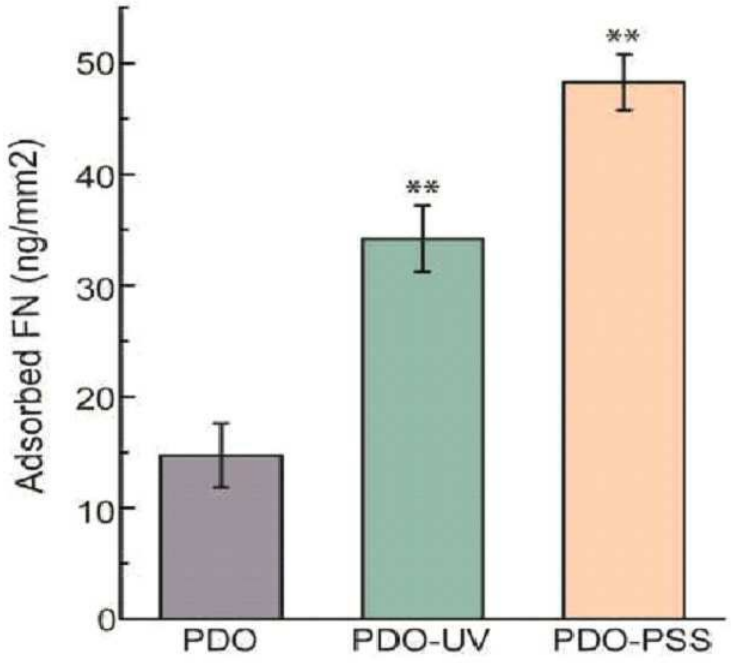
도면2


UV Pretreatment
PDO
PDO-UV
PDO-UV/FN
Absorbance (a.u)
0.016
0.012
0.008
0.004
0.000
Amide II
Amide I
600
800
1000
1200
1400
1600
1800
Wavenumber (cm-1)
PDO
PDO-UV
PDO-UV/FN
Amide A
Absorbance (a.u)
0.006
0.004
0.002
0.000
2800
3000
3200
3400
3600
Wavenumber (cm-1)

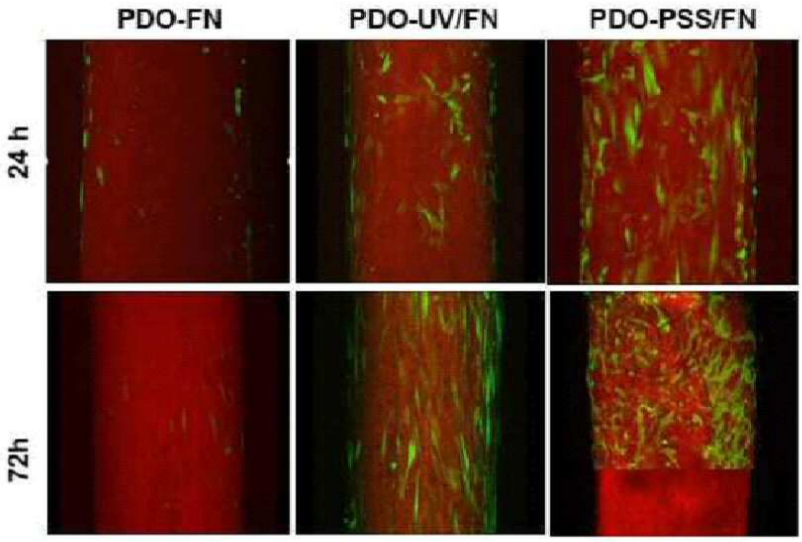
도면3


PSS Pretreatment
PDO
PDO-PSS
PDO-PSS/FN
Absorbance (a.u)
0.016
0.012
0.008
0.004
0.000
Amide I
Amide II
800
1000
1200
1400
1600
1800
Wavenumber (cm-1)
Amide A
PSS
0.004
0.002
0.000
-0.002
2800
3000
3200
3400
3600
Wavenumber (cm-1)

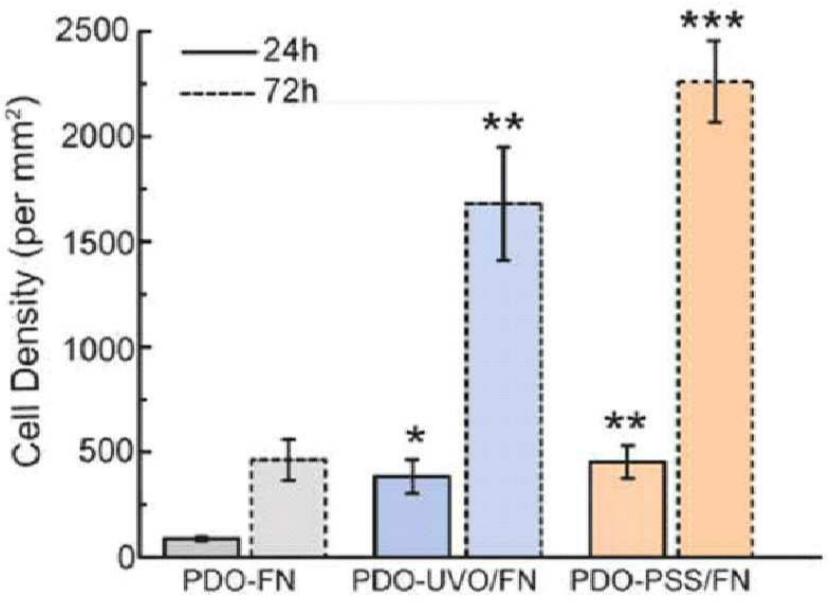
도면4


Adsorbed FN (ng/mm2)
50
40
30
20
10
0
**
**
PDO
PDO-UV
PDO-PSS

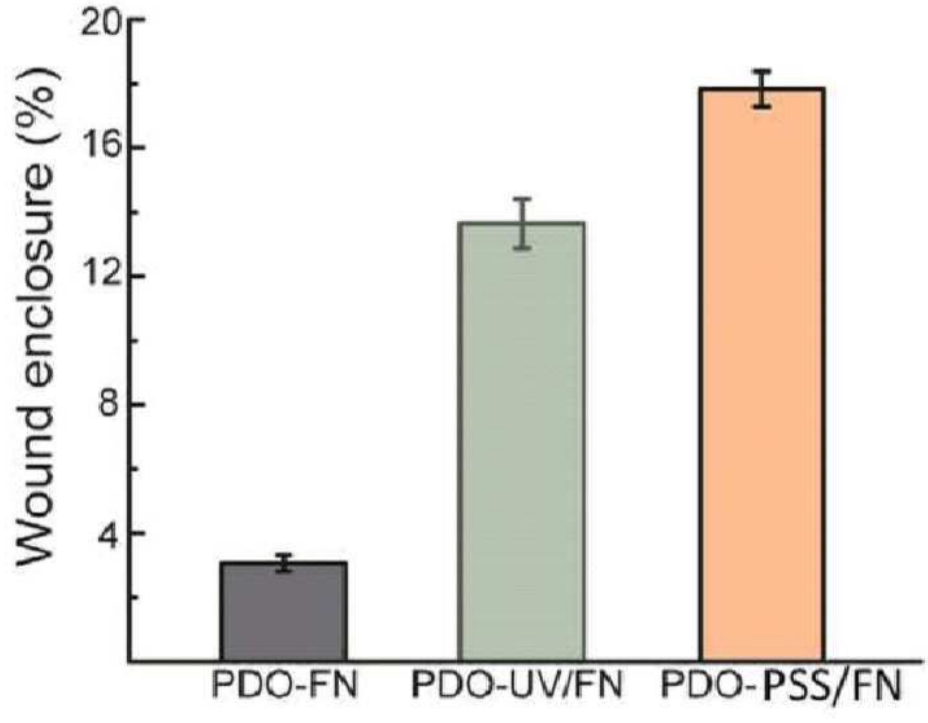
도면5


PDO-FN
PDO-UV/FN
PDO-PSS/FN
24 h
72h

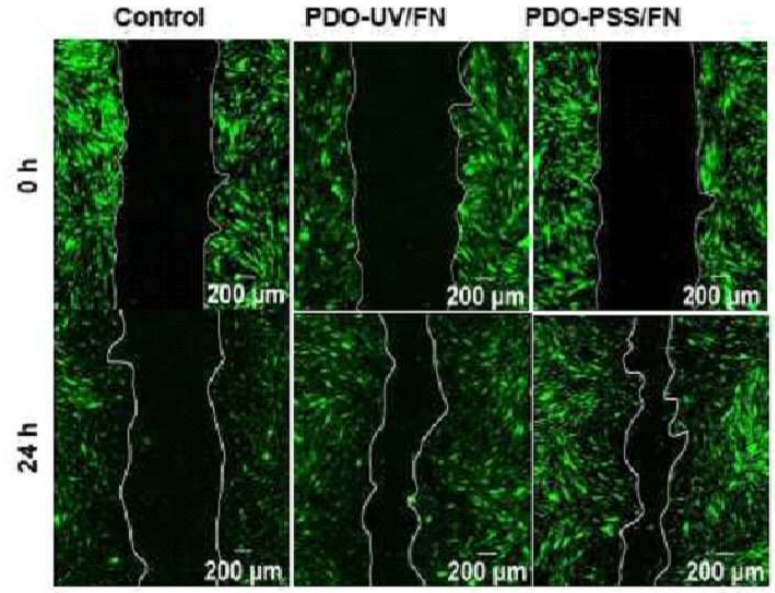
도면6


2500
2000
1500
1000
500
0
Cell Density (per mm²)
24h
72h
*
**
**
***
PDO-FN
PDO-UVO/FN
PDO-PSS/FN

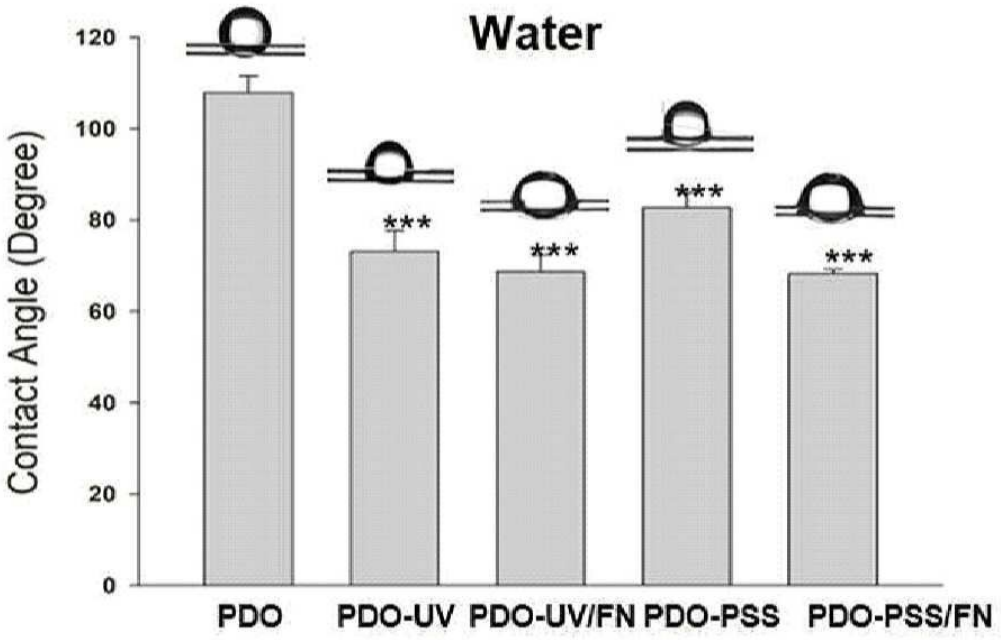
도면7


20
16
12
8
4
Wound enclosure (%)
PDO-FN
PDO-UV/FN
PDO-PSS/FN

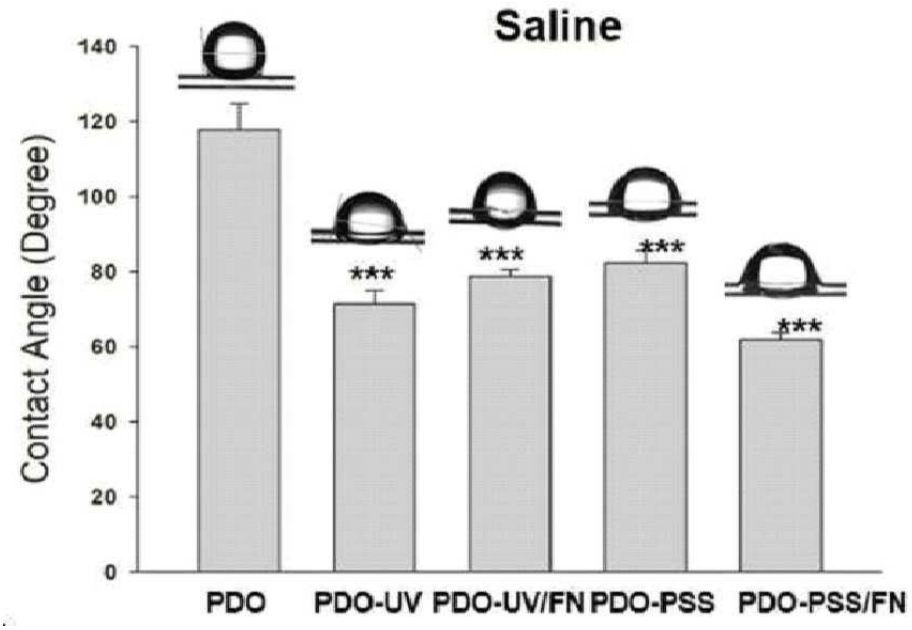
도면8


Control
PDO-UV/FN
PDO-PSS/FN
0 h
24 h
200 μm
200 μm
200 μm
200 μm
200 μm
200 μm

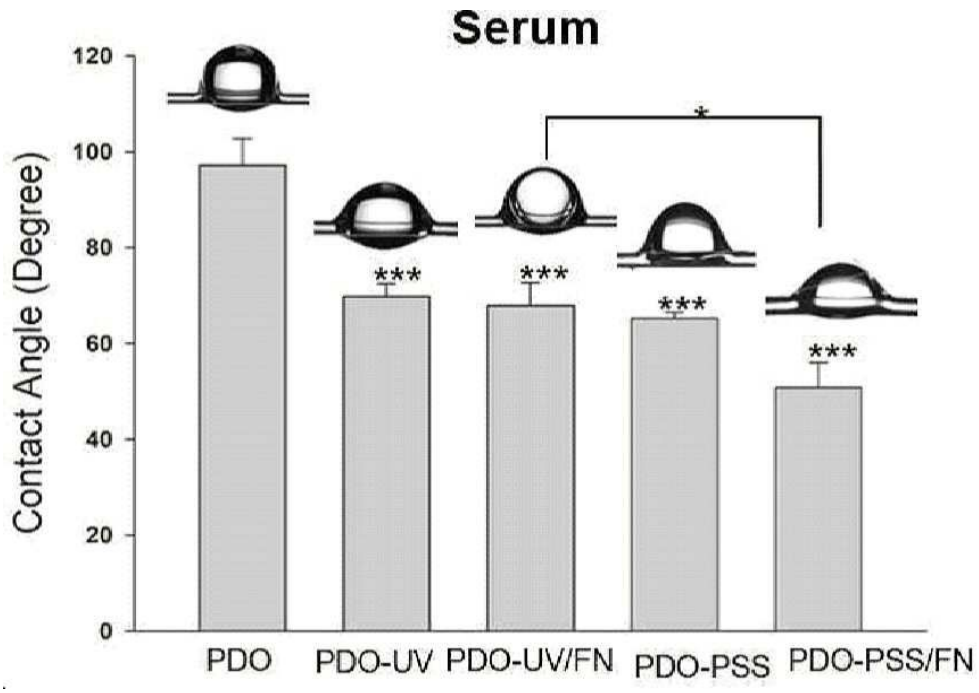
도면9


Water
Contact Angle (Degree)
120
100
80
60
40
20
0
***
***
***
***
PDO
PDO-UV
PDO-UV/FN
PDO-PSS
PDO-PSS/FN

도면10


Saline
Contact Angle (Degree)
140
120
100
80
60
40
20
0
***
***
***
***
PDO
PDO-UV
PDO-UV/FN
PDO-PSS
PDO-PSS/FN

도면11


Serum
Contact Angle (Degree)
120
100
80
60
40
20
0
*
***
***
***
***
PDO
PDO-UV
PDO-UV/FN
PDO-PSS
PDO-PSS/FN