명세서

발명의 명칭: 방사선 가교화된 콜라겐 겔 및 그 제조방법과 사용방법

기술분야

[1] 본 발명은 방사선 가교화된 콜라겐 겔 및 그 제조방법과 사용방법에 관한 것으로, 보다 상세하게는 화학적 가교에 의한 방법이 아닌 물리적인 가교방법을 이용하여 제형화된 콜라겐 겔을 제조할 수 있고, 특히 생체적합한 물질을 혼합하여 제형화하는 한편 가교화되어 하이드로겔화된 콜라겐을 창상피복재, 이식재 그리고 세포배양 등으로 사용 가능한 방법을 제공하게 되고 따라서 산업적으로 간편하고 안전한 제조방법을 제공하게 되는 것이며, 이로 인해 제품의 품질과 신뢰성을 대폭 향상시켜 소비자로 하여금 좋은 이미지를 심어줄 수 있도록 한 것이다.

배경기술

[2] 주지하다시피 콜라겐은 구조 단백질 성분인데, 진피(dermis), 건/힘줄(tendon/ligament), 혈관 등 연조직 그리고 뼈와 같은 경조직을 구성되어, 포유류의 경우, 전체 단백질의 1/3 정도를 차지하고 있다.

[3] 콜라겐의 형태는 20가지 이상으로 알려져 있으며, 피부나 건/힘줄, 뼈 등을 구성하는 콜라겐 1형(type I) 이 콜라겐 중 90% 정도를 차지하고 있다.

[4] 콜라겐의 구조는 3가닥으로 구성된 분자량(molecular weight) 300,000 달톤(Dalton) (한가닥 100,000 Dalton 정도) 의 단백질이고, 아미노산 중 가장 작은 단위(분자량이 가장 작은)인 글리신(Glycine)이 반복적으로(- G X Y - ; Glycine은 계속 반복적으로, X, Y 는 달라지는 구성) 연결되어 있다.

[5] 콜라겐을 현재 의료용으로 사용하고 있는 분야는 재료분야는 지혈제, 창상피복재, 인공혈관, 주름개선용 재료 등으로 사용되고 있으며, 지혈제의 경우엔 1974년 우피(calf skin)에서 추출한 콜라겐 분말형태인 아비텐(Aviten)이라는 제품이 최초로 개발되어 현재까지도 사용되고 있다.

[6] 이러한, 콜라겐은 낮은 항원성 / 높은 생체적합성 및 생체흡수성 / 세포의 부착, 성장 및 분화 유도 / 혈액 응고 / 지혈 효과 / 다른 고분자와의 적합성 등의 장점을 가지고 있다.

[7] 하지만, 콜라겐을 순수하게 이용하여 만드는 제품의 경우에는 물성(인장강도, 탄성, 분해성 등)이 약하여 물성이 요구되는 시술에는 다소 어려움이 있다. 따라서 다른 고분자의 물성을 활용하여 인장강도나 찢김강도를 생체적합물질 (합성고분자, 생체단백질, 탄수화물 및 기타 화합물)을 혼합하여 제품화되고 있다.

[8] 또한, 제품의 물성의 보강은 화학물질을 이용하여 제형화하고 있는데, 대부분 사용되는 화합물은 인체에 유해한 물질이다.

[9] 종래의 선행기술 문헌으로는 대한민국특허등록 제0837858호(출원번호 제2006-0129466호)(명칭: 방사선 조사에 의한 돈피 콜라겐의 수용성 올리고펩타이드의 제조방법)가 등록된 바 있다.

[10] 즉, 상기한 종래의 기술은 돈피 콜라겐을 50~300kGy 범위 γ-ray의 방사선 조사를 실시하고, 상기 방사선 조사를 실시한 돈피 콜라겐을 돈피 콜라겐의 5~10배량(W/V)의 0.05~0.1M NaCl 용액하에서 용출시켜 수용화시키는 단계와, 수용화된 콜라겐에 효소로서 파파인을 0.5~1% 첨가하고 0.5~4시간 동안 처리하여 분자량이 각각 10,000~5,000 dalton, 5,000~3,000 dalton, 3,000~1,000 dalton인 맞춤형 올리고 펩타이드로 분획시키는 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 방사선 조사에 의한 돈피 콜라겐의 수용성 올리고 펩타이드의 제조방법을 제공한다.

[11] 상기한 종래 기술은,

[12] (제 1단계; 돈피 콜라겐의 수용화 기술)

[13] 돈피 콜라겐의 수용화는 돈피에 붙어 있는 협잡물(과도한 지방 및 불순물)을 제거한 후 수세하는 공정과, 수세한 돈피를 적당한 크기로 세절하여 초파을 이용하여 조분쇄하는 공정과, 조분쇄된 돈피를 50~300kGy로 방사선조사하여 시료의 5~10배량(W/V)의 0.10M NaCl 용액 이하, 바람직하게는 0.05~0.1M NaCl 용액의 염 농도에서 용출하는 공정으로 구성된다. 이때 수용화의 적정 조건은 100kGy 이상에서 나타났다. 기존의 방법은 많은 양의 산과 알카리의 화학물질을 사용하여야 하는 데, 반하여 산 또는 염을 사용하지 않아도 매우 높은 수율(기존의 4배 이상)의 수용성 저분자물질을 생산할 수 있다.

[14] (제 2단계; 효소를 이용한 맞춤형 올리고펩타이드의 제조)

[15] 방사선 처리한 돈피에 파파인과 같은 가수분해효소를 첨가하여 수용화 성분을 분리하는 것이다. 방사선 처리한 돈피에 0.5~1% 파파인을 첨가하여 0.5~4시간 동안 처리하면 종래의 방법 보다도 저분자화가 빠르게 일어나게 하는 공정과, 저분자화된 성분은 한외 여과법을 이용하여 분자량별로 분획하는 공정과, 각각의 분획된 펩타이드 성분을 동결건조하여 돈피 콜라겐 유래 맞춤형 올리고 펩타이드의 제조하는 공정을 포함한다.

[16] 그러나 상기한 종래의 기술도 다음과 같은 많은 문제점이 발생 되었다.

[17] 즉, 상기 종래의 기술은 콜라겐을 고분자화 시킨 것이 아니고 저분자화하는 기술이기 때문에 콜라겐 자체로의 제형화 및 생체적합한 물질과 혼합하여 제형화하지 못하는 커다란 문제점이 발생되었다.

[18] 따라서 상기 종래의 기술은 콜라겐이 저분자화되어 하이드로겔화된 제형을 만들지 못하기 때문에 창상피복재, 이식재 그리고 세포배양 등으로 사용 가능한 방법을 제공하지 못하는 커다란 문제점도 발생 되었다.

[19] 결과적으로 상기 종래의 기술은 산업적으로 목적에 부합하고 간편하며 안전한 제조방법을 제공하지 못하는 문제점도 발생 되었다.

발명의 상세한 설명

기술적 과제

[20] 본 발명은 상기와 같은 종래 기술의 제반 문제점을 해소하기 위하여 안출한 것으로, 액상의 콜라겐에 방사선을 조사(照射)하여 콜라겐 가교물질을 제조하는 것을 제1목적으로 한 것이고, 상기한 기술적 구성에 의한 본 발명의 제2목적은 화학적 가교에 의한 방법이 아닌 물리적인 가교방법을 이용하여 제형화된 콜라겐 겔을 제조할 수 있도록 한 것이며, 제3목적은 특히 생체적합한 물질을 혼합하여 제형화하는 한편 가교화되어 하이드로 겔화된 콜라겐을 창상피복제, 이식재 그리고 세포배양 등으로 사용 가능한 방법을 제공하게 되고, 제4목적은 따라서 산업적으로 간편하고 안전한 제조방법을 제공하게 되는 것이며, 제5목적은 이로 인해 제품의 품질과 신뢰성을 대폭 향상시켜 소비자로 하여금 좋은 이미지를 심어줄 수 있도록 한 방사선 가교화된 콜라겐 겔 및 그 제조방법과 사용방법을 제공한다.

과제 해결 수단

[21] 이러한 목적 달성을 위하여 본 발명은 액상의 콜라겐에 방사선을 조사(照射)하여 콜라겐 가교물질을 제조함을 특징으로 하는 방사선 가교화된 콜라겐 겔의 제조방법을 제공한다.

[22] 또한. 생체적합한 물질을 액상의 콜라겐과 혼합하여 방사선 조사하여 가교화 물질을 제조하는 방법과 상처치유를 위한 조직수복재, 피부이식재, 뼈이식재 등으로 사용할 수 있는 방법을 제공한다.

[23] 또한, 화장품성분과 혼합하여 하이드로겔로 사용하거나 또는 화장품성분을 하이드로겔에 혼합하여 마스크팩으로 사용하거나 또는 하이드로겔 창상피복제로 사용하는 방법을 제공한다.

[24] 또한 본 발명은 저선량을 이용한 콜라겐의 방사선 가교를 통해 부분 가교화를 유도하되, 부분가교화된 콜라겐과 겔화용액을 주형에 부어 겔화시킨 후 상기 겔화시킨 겔에 세포와 배양액을 부어서 겔 위에 세포를 배양하여 제조된 이식재는 손상된 피부에 사용하거나 또는 피부이식에 사용함을 특징으로 하는 방사선 가교화된 콜라겐 겔의 사용방법을 제공한다.

[25] 또한 본 발명은 저선량을 이용한 콜라겐의 방사선 가교를 통해 부분 가교화를 유도하되, 부분가교화된 콜라겐은 겔화용액과 혼합하여 겔을 형성하며, 상기 겔을 건조하여 필름과 같은 얇은 막을 형성하고, 이후 상기 막에 세포와 배양액을 부어 세포 배양을 하며, 이렇게 배양된 각막세포를 막에 배양하여 안구에 이식하여 사용함을 특징으로 하는 방사선 가교화된 콜라겐 겔의 사용방법을 제공한다.

[26] 또한 본 발명은 저선량을 이용한 콜라겐의 방사선 가교를 통해 부분 가교화를 유도하되, 부분가교화된 콜라겐과 겔화용액 그리고 세포를 상호 혼합하여 배양하고 이후 상기 배양된 제조물을 잘게 분쇄하여 주사용기에 담아서

주입상의 피부 또는 뼈의 이식재로 사용함을 특징으로 하는 방사선 가교화된 콜라겐 겔의 사용방법을 제공한다.

발명의 효과

[27] 상기에서 상세히 살펴본 바와 같이 본 발명은 액상의 콜라겐에 방사선을 조사(照射)하여 콜라겐 가교물질을 제조하는 것이다.

[28] 상기한 기술적 구성에 의한 본 발명은 화학적 가교에 의한 방법이 아닌 물리적인 가교방법을 이용하여 제형화된 콜라겐 겔을 제조할 수 있도록 한 것이다.

[29] 특히 본 발명은 생체적합한 물질을 혼합하여 제형화하는 한편 가교화되어 하이드로 겔화된 콜라겐을 창상피복재, 이식재 그리고 세포배양 등으로 사용 가능한 방법을 제공하게 된다.

[30] 따라서 본 발명은 산업적으로 간편하고 안전한 제조방법을 제공하게 되는 것이다.

[31] 본 발명은 상기한 효과로 인해 제품의 품질과 신뢰성을 대폭 향상시켜 소비자로 하여금 좋은 이미지를 심어줄 수 있도록 한 매우 유용한 발명인 것이다.

도면의 간단한 설명

[32] 도 1 은 본 발명 방사선을 이용한 콜라겐 가교화 개념도.

[33] 도 2 내지 6은 본 발명 방사선 가교화된 콜라겐 겔의 사진.

[34] 도 7 및 도 8은 본 발명 부분 가교화된 콜라겐을 이용한 하이드로겔화의 사진.

[35] 도 9 내지 11은 본 발명 방사선 선량에 따른 콜라겐의 부분 가교화된 정도 비교표.

[36] 도 12는 본 발명 방사선 가교화된 콜라겐 하이드로겐의 사진.

[37] 도 13은 본 발명 방사선 가교화된 콜라겐 필름의 사진.

[38] 도 14 내지 16은 본 발명 방사선을 이용한 하이드로겔을 파티클화한 이식재의 사진.

[39] 도 17 내지 19는 본 발명 세포와 혼합하여 겔화시키는 각각의 방법을 도시한 구성도.

발명의 실시를 위한 최선의 형태

[40] 이하에서는 이러한 효과 달성을 위한 본 발명의 바람직한 실시 예를 첨부된 도면에 따라 상세히 설명하면 다음과 같다.

[41] 본 발명에 적용된 방사선 가교화된 콜라겐 겔 및 그 제조방법과 사용방법은 도 1 내지 도 19에 도시된 바와 같이 구성되는 것이다.

[42] 하기에서 본 발명을 설명함에 있어, 관련된 공지 기능 또는 구성에 대한 구체적인 설명이 본 발명의 요지를 불필요하게 흐릴 수 있다고 판단되는 경우에는 그 상세한 설명은 생략할 것이다.

[43] 그리고 후술되는 용어들은 본 발명에서의 기능을 고려하여 설정된 용어들로서

이는 생산자의 의도 또는 관례에 따라 달라질 수 있으므로 그 정의는 본 명세서 전반에 걸친 내용을 토대로 내려져야 할 것이다.

[44] 먼저, 본 발명 방사선을 활용하여 제형화하는 기술은 자유 라디칼의 가교화로써 설명할 수 있는데, 방사선 가교화에 사용될 수 있는 방법은 감마선 조사, 전자선 조사, X-ray 조사 등이 있다.

[45] 감마선은 코발트-60 방사선동위원소에서 나오는 단파장 빛으로, 고침투력을 가진 파장으로 주로 의료용 제품의 멸균 뿐만 아니라 고분자 소재의 물성개선 및 보석의 착색 등 다양한 분야에 사용되고 있다.

[46] 전자선은 전기적으로 고열로 가열된 텅스텐에서 생성되는 열전자에 고전압을 가해 가속함으로써 높은 운동에너지를 가진 광속의 전자파이다. 전자선은 감마선이나 X선과 같은 이온화에너지로써 활용목적에 따라 선량을 조절할 수 있고 다양한 산업분야에 적용할 수 있다.

[47] 방사선 조사는 화학적 물질이 첨가되지 않는 조건에서 온도, 습도, 압력의 영향을 거의 받지 않는 상태에서 조사가 가능하며 멸균방법이 간단하여 처리비용도 저렴하여 경제적으로 유용한 방법이다.

[48] 방사선을 이용하는 방법은 다른 일반적인 포름알데히드 등을 사용하는 화학적 가교 반응과 비교하여 유해한 잔류 가교제를 제거할 필요가 없고 고체상태나 저온에도 화학반응을 일으킬 수 있다. 그리고 방사선 조사량을 조절하여 조성물을 변화시키지 않고 물리적 특성을 자유롭게 활용가능하므로 방사선을 이용한 고분자 가공방법은 상처 및 화상치료용 하이드로겔, 생체재료 산업 등 다양한 분야에서 연구 개발되고 있다.

[49] 수용성 용매 내의 일반적인 방사선 화학 이론에 따라 콜라겐 용액은 방사선 조사로 생선된 하이드록실 라디칼(Hydroxyl radical(0H)로 가교반응이 일어나며, 방사선을 이용한 콜라겐 가교가 가능하다.

[50] 가교반응은 라디칼 중합(Radical polymerization)에 의해 진행되는데, 연쇄반응인 라디칼 중합은 일반적으로 개시, 전파 도는 성장, 정지 및 이동 등의 반응으로 진행된다. 이 때, 라디칼을 이용하여 물질을 고분자화하기 위한 개시반응에서 개시제로써 라디칼 생성을 해야 하는데, 쉽게 제어하기 위한 과산화물이나 아조화합물과 같은 화학물질을 사용한다. 반면에, 개시제로써 화학물질을 사용하지 않고 열, 빛 및 방사선 등의 에너지에 의해서도 라디칼이 생성되는데, 화학물질을 사용하지 않고 가교화가 가능하다. 방사선에 의한 라디칼은 액상의 물분자에 에너지가 공급되거나 물질에 에너지가 공급되어 자유 라디칼이 생성되는데, 이 자유 라디칼이 물질의 가교화에 영향을 미친다. 방사선 조사선량에 따라 가교화의 정도가 진행되며 생성된 자유라디칼이 소모되면 정지/이동되는 단계를 거치게 된다. 이렇게, 방사선 조사선량을 조절함으로써 물질의 가교화 정도를 조절할 수 있다.

[51] 방사선 처리된 물질은 가교화 정도에 따라 고분자화된 용액의 형태나 하이드로겔의 형태를 띄게 된다.

[52] 콜라겐은 상전이고분자의 특성을 갖는다. 상전이고분자는 온도, pH, 전기장 그리고 빛 등과 같은 외부자극에 민감하게 감응하여 물성이 변화하는 고분자를 말한다. 이 때, 온도에 의해 물성이 변화되는 고분자를 온도감응성 고분자라고 한다. 특히, 콜라겐은 온도감응성 고분자의 특성을 갖는다. 콜라겐은 온도가 낮으면 액상이었다가 저온임계온도 범위에 놓이면 불투명의 겔상으로 변한다.

[53] 이는 저온임계용액온도(LCST) 이하의 온도에서는 물과 수소결합으로 인해 용해되어 있다가 온도가 증가하면서 수소결합이 해리되어 고분자끼리 엉기면서 겔화 또는 침전이 형성되는 것으로 해석되고 있다. 이 때, 겔이 형성될 때의 결합은 물리적인 결합으로 공유결합과 같은 강한 결합이 아닌 소수성 결합이나 극성 결합 등의 분자간은 힘에 기인하고, 일반적으로 중성화된 고분자에 있어서는 소수성 상호작용에 의해 생성되는 것으로 알려져 있다.

[54] 방사선으로 부분적으로 가교된 콜라겐 용액 또한, 온도감응성 고분자의 특성을 갖는다. 특히, 부분적으로 가교된 콜라겐 용액은 고분자화되어 겔을 형성하였을 때, 투명/반투명한 제형을 뿐만 아니라 상대적으로 높은 탄성을 보여주고 있다.

[55] 부분 가교화된 콜라겐 용액은 세포 배양을 위한 도구로써 이용될 수 있다. 일반 순수한 콜라겐을 이용한 제형에서는 겔화되었을 때, 불투명한 제형과 낮은 탄성을 보여주고 있다. 또한, 겔화시간도 부분가교화된 콜라겐 용액을 사용하면 단축할 수 있는 장점이 있다.

[56] 부분적으로 가교화된 콜라겐 용액은 조직공학 분야와 화장품 분야 등에서 사용할 수 있다. 특히, 조직공학 분야에서 세포배양을 통한 지지체로써 사용가능하며 콜라겐 겔을 생성하여 배양하는 방법, 콜라겐 막을 생성하여 배양하는 방법 그리고 세포와 혼합하여 겔화시켜 배양하는 방법으로 활용될 수 있다. 특히, 이렇게 배양된 배양물은 세포의 특성 및 제형에 따라 각각의 의도된 용도로 사용되고 있다.

[57] 방사선 가교를 통한 콜라겐 하이드로겔은 크리스탈화된 콜라겐(Crystalized collagen) 형태를 띄게 되는데, 생체적합성, 합성물의 유연한 물성 및 요구되는 물성으로의 제형화 등으로 창상피복, 화장품 및 재생의학 등 다양한 분야에서 바이오티슈(Bio-Tissue) 개념으로 사용되고 있다. 물리적 가교에 의해 형성된 겔은 인체에 해로운 화학적 가교제를 사용하지 않기 때문에 의료용 재료로써 주목받고 있다. 이러한 방법으로 제조된 제품은 제품화하기 쉽고, 인간 및 환경에 안전한 물질형태이며 다양한 제형화가 가능하다는 장점이 있다.

[58] 따라서 이러한 고분자는 약물전달체, 세포전달체, 주입형 세포외기질로 조직공학분야에 사용될 수 있는 좋은 재료이다.

[59] 방사선을 이용한 기술은 물질을 바탕으로 의료기기의 개발도 기대할 수 있다. 콜라겐을 응용한 물질과 방사선을 활용한 기기 (예로써, X-ray나 감마나이프)가 적용되는 시술이 연구개발되면 조직공학적으로 큰 발전으로 이끌 수 있을 것으로 판단된다.

[60] 상기 방사선 가교화된 콜라겐 겔은 다음과 같이 구성된다.

[61] 즉, 본 발명은 도 1 에 도시된 바와 같이 액상의 콜라겐에 방사선을 조사(照射)하여 콜라겐 가교물질을 제조함을 특징으로 하게 된다.

[62] 이때 상기 방사선은 감마선 또는 전자선 또는 X-ray 중에서 선택된 어느 하나를 사용할 수 있음은 물론이다.

[63] 그리고 상기 본 발명에 적용된 콜라겐의 농도는 0.1~10%(W/V)가 포함되고, 방사선의 선량(선율×시간)은 1kGy/hr을 기준으로 0.1~40킬로그레이(kGy)가 포함됨이 바람직하다.

[64] 이때 상기 콜라겐의 농도가 0.1% 이하일 경우에는 부분 가교된 콜라겐이 겔화를 시키기에 가교정도가 낮기 때문에 사용목적에 벗어나는 문제점이 있고, 상기 콜라겐의 농도가 10% 이상일 경우에는 현재의 기술로 일정한 분포의 농도를 혼합하기 어려움이 있기 때문에 상기 콜라겐의 농도는 0.1~10%(W/V)가 포함됨이 바람직하다.

[65] 그리고 상기 방사선의 선량이 0.1 이하일 경우에는 부분 가교된 콜라겐이 겔화를 시키기에 가교정도가 낮기 때문에 사용목적에서 벗어나는 문제점이 있고, 상기 방사선의 선량이 40 이상일 경우에는 콜라겐이 부분적으로 가교가 아닌 분해가 일어나는 현상이 발생하기 때문에 상기 방사선의 선량은 0.1~40킬로그레이(kGy)가 포함됨이 바람직하다.

[66] 한편, 상기 본 발명에 적용된 방사선 가교화된 콜라겐 겔의 제조방법은 다음과 같이 이루어진다.

[67] 즉, 콜라겐 3%(W/V)과 합성고분자인 플루로닉(Pluronic)(F-127)3%(W/V), PEO(Polyethylen oxide, M.W. = 100,000) 1%(W/V) 및 하이드록시아파타이트(Hydroxyapatite)3%(W/V)를 각각 혼합 후 감마선을 조사하여 가교시켜 제조할 수 있다.

[68] 또한 상기 본 발명에 적용된 방사선 가교화된 콜라겐 겔의 다른 제조방법은 다음과 같다.

[69] 즉, 콜라겐 3%(W/V)와 생체고분자인 히알루론산(hyaluronic acid)(M.W. = 2,000 K)3%(W/V), 콘드로이틴 설페이트(Chondroitin sulfate)3%(W/V)를 각각 혼합 후 감마선을 조사하여 가교시켜 제조할 수 있음은 물론이다.

[70] 또한 상기 본 발명에 적용된 방사선 가교화된 콜라겐 겔의 또 다른 제조방법은 다음과 같다.

[71] 즉, 콜라겐 3%(W/V)와 실리콘원액(Dow cornign, 7-9800), 3%(W/V) 글리세린과 콜라겐, 6%(W/V) 콜라겐과 PBS를 각각 혼합한 후 감마선을 조사하여 가교시키되, 상기 PBS 성분은 최종 부피의 1 mL 당 인산 나트륨(2.8 mg)과 염화 나트륨(7.6 mg)이 포함되어 방사선 가교화된 콜라겐 겔을 제조할 수 있게 된다.

[72] 본 발명은 상기한 방법에 의해 도 2 내지 6과 같은 방사선 가교화된 콜라겐 겔을 얻을 수 있게 된다.

[73] 한편 본 발명은 상기의 구성부를 적용함에 있어 다양하게 변형될 수 있고 여러 가지 형태를 취할 수 있다.

[74] 그리고 본 발명은 상기의 상세한 설명에서 언급되는 특별한 형태로 한정되는 것이 아닌 것으로 이해되어야 하며, 오히려 첨부된 청구범위에 의해 정의되는 본 발명의 정신과 범위 내에 있는 모든 변형물과 균등물 및 대체물을 포함하는 것으로 이해되어야 한다.

[75] 상기와 같이 구성된 본 발명 방사선 가교화된 콜라겐 겔 및 그 제조방법과 사용방법의 작용효과를 설명하면 다음과 같다.

[76] 우선, 본 발명은 화학적 가교에 의한 방법이 아닌 물리적인 가교방법을 이용하여 제형화된 콜라겐 겔을 제조할 수 있고, 특히 생체적합한 물질을 혼합하여 제형화하는 한편 가교화되어 하이드로 겔화된 콜라겐을 창상피복제, 이식재 그리고 세포배양 등으로 사용 가능한 방법을 제공하게 되고 따라서 산업적으로 간편하고 안전한 제조방법을 제공하게 되는 것이다.

발명의 실시를 위한 형태

[77] (제1 실시예)

[78] 가. 방사선 조사량, 5 - 40 kGy에 따른 3% - 10% 콜라겐의 가교화 정도 분석

[79] 목적 : 콜라겐 농도와 감마선 조사선량에 따른 물성 분석

[80] [방법]

[81] 1) 농도 3%, 6%, 10%의 콜라겐을 container에 준비한다.

[82] 2) 각각의 콜라겐은 5, 25, 40 kGy 의 선량으로 감마선 조사한다.

[83] 3) 각 조건별 가교화된 콜라겐의 물성 분석을 진행한다.

[84] 가) 성상 (투명도, 겔화 경향) 을 육안확인한다.

[85] 나) 하이드로겔의 수축율 (부피감소율) 을 확인한다.

[86] 다) 물성측정기를 이용하여 겔강도(최대응력)을 확인한다.

[87] - 기기: Rheo meter (CR-500DX)

[88] - 조건: 측정항목 (겔강도), 진입거리 (2.5 mm), 테이블 스피드 (50 mm/min), 아답터 (No. 1 Φ15mm)

[89] 라) 분해성을 콜라게나제 조건에서 잔류일수로써 확인한다.

[90] - 콜라게나제 농도 : 0.1 mg/mL in PBS

[91] 마) 가교된 콜라겐을 동결건조 후 무게와 수화시킨 후의 무게를 비교하여 수분함량(함수가용비)을 분석한다.

[92] [결과]

[93] 1) 성상 : 투명한 겔상 (40 kGy에서는 약한 노란빛 띰)

[94] 2) 수축율 (부피감소율) (%)

[95] = (감마조사된 검체의 총무게 (g) - 겔 덩어리의 무게 (g)) / 감마조사된 검체의 총무게 (g) X 100

[96] 표 1

[Table 1]

수축율 (%)	감마선 조사량 (kGy)		
농도 (%)	5	25	40
3	0.0	2.8	18.0
6	0.0	0.0	0.0
10	0.0	0.0	0.0

[97] 3) 겔강도(최대응력)

[98] 표 2

[Table 2]

겔강도 (N)	감마선 조사량 (kGy)		
농도 (%)	5	25	40
3	23.9	40.9	35.0
6	6.9	45.2	39.7
10	9.8	58.6	79.6

[99] 4) 분해도(잔류일수)

[100] 표 3

[Table 3]

분해도	감마선 조사량 (kGy)		
농도 (%)	5	25	40
3	**	**	*
6	***	***	***
10	***	****	****

[101] 분해도(잔류일수) - * 1일 이내, ** 2일 이내, *** 7일이내, **** 7일 이상

[102] 5) 수분함량(함수가용비)

[103] = (수분함수 무게 (g) - 동결건조된 콜라겐 가교화 겔 무게 (g)) / 동결건조된 콜라겐 가교화 겔 무게 (g)

[104] 표 4

[Table 4]

수분함량(함수가용비, 배)	감마선 조사량 (kGy)		
농도 (%)	5	25	40
3	36.9	26.3	26.7
6	20.2	8.3	21.1
10	18.8	9.1	8.8

[105] (제2 실시예)

[106] 나. 방사선 조사량, 5 - 40 kGy에 따른 3% - 10% 젤라틴의 가교화 정도 분석

[107] 목적 : 젤라틴 농도와 감마선 조사선량에 따른 물성 분석하고자 한다.

[108] [방법]

[109] 1) 농도 3%, 6%, 10%의 젤라틴을 container에 준비한다.

[110] 2) 각각의 젤라틴은 5, 25, 40 kGy 의 선량으로 감마선 조사한다.

[111] 3) 각 조건별 가교화된 젤라틴의 물성 분석을 진행한다.

[112] 가) 성상 (투명도, 겔화 경향) 을 육안확인한다.

[113] 나) 하이드로겔의 수축율 (부피감소율) 을 확인한다.

[114] 다) 물성측정기를 이용하여 겔강도(최대응력)을 확인한다.

[115] - 기기: Rheo meter (CR-500DX)

[116] - 조건: 측정항목 (겔강도), 진입거리 (2.5 mm), 테이블 스피드 (50 mm/min), 아답터 (No. 1 Ø 15mm)

[117] 라) 분해성을 콜라게나제 조건에서 잔류일수로써 확인한다.

[118] - 콜라게나제 농도 : 0.1 mg/mL in PBS

[119] 마) 가교된 젤라틴을 동결건조 후 무게와 수화시킨 후의 무게를 비교하여 수분함량(함수가용비)을 분석한다.

[120] [결과]

[121] 1) 성상(투명도)

[122] 표 5

[Table 5]

성상	감마선 조사량 (kGy)		
농도 (%)	5	25	40
3	**	*	*
6	***	***	***
10	****	****	****

[123] 성상(투명도) - * 불투명, ** 반투명, *** 투명, **** 투명(노란빛)

[124] 2) 수축율 (부피감소율) (%)

[125] = (감마조사된 검체의 총무게 (g) - 겔 덩어리의 무게 (g)) / 감마조사된 검체의 총무게 (g) X 100

[126] 표 6

[Table 6]

수축율 (%)	감마선 조사량 (kGy)		
농도 (%)	5	25	40
3	4.8	31.0	35.1
6	2.1	22.1	32.5
10	0.0	9.9	15.6

[127] 3) 겔강도(최대응력)

[128] 표 7

[Table 7]

겔강도 (N)	감마선 조사량 (kGy)		
농도 (%)	5	25	40
3	4.5	2.9	2.6
6	4.9	9.6	7.1
10	3.2	4.8	8.6

[129] 4) 분해도(잔류일수)

[130] 표 8

[Table 8]

분해도	감마선 조사량 (kGy)		
농도 (%)	5	25	40
3	*	*	*
6	*	*	*
10	*	*	*

[131] 분해도(잔류일수) - * 1일 이내, ** 2일 이내, *** 7일이내, **** 7일 이상

[132] 5) 수분함량(함수가용비)

[133] = (수분함수 무게 (g) - 동결건조된 콜라겐 가교화 겔 무게 (g)) / 동결건조된 콜라겐 가교화 겔 무게 (g)

[134] 표 9

[Table 9]

수분함량(함수가용비, 배)	감마선 조사량 (kGy)		
농도 (%)	5	25	40
3	33.1	25.7	26.2
6	25.9	11.7	15.1
10	13.1	9.8	9.3

[135] (제3 실시예)

[136] 다. 콜라겐과 합성고분자의 혼합물질의 방사선 가교 제조물

[137] 목적 : 콜라겐과 합성고분자의 혼합물질을 혼합하여 제형화 가능성을 확인하고자 한다.

[138] [방법]

[139] 1) 콜라겐 3%와 3%(w/v) Pluronic (F-127), PEO(Polyethylen oxide, M.W. = 100,000) 1% 및 3% Hydroxyapatite 를 각각 혼합 후, 감마선 (5, 25 kGy) 가교시킨다.

[140] 2) 가교화된 혼합물의 물성 분석을 진행한다.

[141] 가) 성상 (투명도, 겔화 경향) 을 육안확인한다.

[142] 나) 하이드로겔의 수축율 (부피감소율) 을 확인한다.

[143] 다) 물성측정기를 이용하여 겔강도(최대응력)을 확인한다.

[144] - 기기: Rheo meter (CR-500DX)

[145] - 조건: 측정항목 (겔강도), 진입거리 (2.5 mm), 테이블 스피드 (50 mm/min), 아답터 (No. 1 Ø 15mm)

[146] 라) 분해성을 콜라게나제 조건에서 잔류일수로써 확인한다.

[147] - 콜라게나제 농도 : 0.1 mg/mL in PBS

[148] 마) 가교된 혼합물을 동결건조 후 무게와 수화시킨 후의 무게를 비교하여 수분함량(함수가용비)을 분석한다.

[149] [결과]

[150] 1) 성상(투명도)

[151] 표 10

[Table 10]

성상	콜라겐과 혼합된 합성고분자		
감마선 조사량 (kGy)	Hydroxyapatite	PEO (M.W. = 100K)	Pluronic F-127
5	** (Hap 분포)	**	**
25	-	**	**

[152] 성상(투명도) - * 불투명, ** 반투명, *** 투명, **** 투명(노란빛)

[153] 2) 수축율 (부피감소율) (%)

[154] = (감마조사된 검체의 총무게 (g) - 겔 덩어리의 무게 (g)) / 감마조사된 검체의 총무게 (g) X 100

[155] 표 11

[Table 11]

수축율 (부피감소율) (%)	콜라겐과 혼합된 합성고분자		
감마선 조사량 (kGy)	Hydroxyapatite	PEO (M.W. = 100K)	Pluronic F-127
5	0.0	0.0	0.0
25	-	2.1	0.0

[156] 3) 겔강도(최대응력)

[157] 표 12

[Table 12]

겔강도(최대응력) (N)	콜라겐과 혼합된 합성고분자		
감마선 조사량 (kGy)	Hydroxyapatite	PEO (M.W. = 100K)	Pluronic F-127
5	11.3	40.3	3.9
25	-	57.3	16.0

[158] 4) 분해도(잔류일수)

[159] 표 13

[Table 13]

분해도 (잔류일수)	콜라겐과 혼합된 합성고분자		
감마선 조사량 (kGy)	Hydroxyapatite	PEO (M.W. = 100K)	Pluronic F-127
5	**	*	*
25	-	*	*

[160] 분해도(잔류일수) - * 1일 이내, ** 2일 이내, *** 7일이내, **** 7일 이상

[161] 5) 수분함량(함수가용비)

[162] = (수분함수 무게 (g) - 동결건조된 콜라겐 가교화 겔 무게 (g)) / 동결건조된 콜라겐 가교화 겔 무게 (g)

[163] 표 14

[Table 14]

수분함량(함수가용비, 배)	콜라겐과 혼합된 합성고분자		
감마선 조사량 (kGy)	Hydroxyapatite	PEO (M.W. = 100K)	Pluronic F-127
5	13.6	22.8	45.6
25	-	22.4	27.0

[164] (제4 실시예)

[165] 라. 콜라겐과 생체고분자의 혼합물질의 방사선 가교 제조물

[166] 목적 : 콜라겐과 생체고분자의 혼합물질을 혼합하여 제형화 가능성을 확인하고자 한다.

[167] [방법]

[168] 1) 콜라겐 3%와 3% Hyaluronic acid (M.W. = 2,000 K) 와 3% Chondroitin sulfate를 각각 혼합 후, 감마선 (5, 25 kGy) 가교 시킨다.

[169] 2) 가교화된 혼합물의 물성 분석을 진행한다.

[170] 가) 성상 (투명도, 겔화 경향) 을 육안확인한다.

[171] 나) 하이드로겔의 수축율 (부피감소율) 을 확인한다.

[172] 다) 물성측정기를 이용하여 겔강도(최대응력)을 확인한다.

[173] - 기기: Rheo meter (CR-500DX)

[174] - 조건: 측정항목 (겔강도), 진입거리 (2.5 mm), 테이블 스피드 (50 mm/min), 아답터 (No. 1 Ø 15mm)

[175] 라) 분해성을 콜라게나제 조건에서 잔류일수로써 확인한다.

[176] - 콜라게나제 농도 : 0.1 mg/mL in PBS

[177] 마) 가교된 혼합물을 동결건조 후 무게와 수화시킨 후의 무게를 비교하여 수분함량(함수가용비)을 분석한다.

[178] [결과]

[179] 1) 성상(투명도)

[180] 표 15

[Table 15]

성상	콜라겐과 혼합된 합성고분자	
감마선 조사량 (kGy)	Hyaluronic acid	Chondroitin sulfate
5	**	*
25	**	*

[181] 성상(투명도) - * 불투명, ** 반투명, *** 투명, **** 투명(노란빛)

[182] 2) 수축율 (부피감소율) (%)

[183] = (감마조사된 검체의 총무게 (g) - 겔 덩어리의 무게 (g)) / 감마조사된 검체의 총무게 (g) X 100

[184] 표 16

[Table 16]

수축율 (부피감소율) (%)	콜라겐과 혼합된 합성고분자	
감마선 조사량 (kGy)	Hyaluronic acid	Chondroitin sulfate
5	0.0	0.0
25	0.0	0.0

[185] 3) 겔강도(최대응력)

[186] 표 17

[Table 17]

겔강도(최대응력) (N)	콜라겐과 혼합된 합성고분자	
감마선 조사량 (kGy)	Hyaluronic acid	Chondroitin sulfate
5	2.5	0.9
25	13.5	20.8

[187] 4) 분해도(잔류일수)

[188] 표 18

[Table 18]

분해도(잔류일수)	콜라겐과 혼합된 합성고분자	
감마선 조사량 (kGy)	Hyaluronic acid	Chondroitin sulfate
5	**	**
25	**	*

[189] 분해도(잔류일수) - * 1일 이내, ** 2일 이내, *** 7일이내, **** 7일 이상

[190] 5) 수분함량(함수가용비)

[191] = (수분함수 무게 (g) - 동결건조된 콜라겐 가교화 겔 무게 (g)) / 동결건조된 콜라겐 가교화 겔 무게 (g)

[192] 표 19

[Table 19]

수분함량(함수가용비, 배)	콜라겐과 혼합된 합성고분자	
감마선 조사량 (kGy)	Hyaluronic acid	Chondroitin sulfate
5	33.3	39.0
25	23.6	20.5

[193] (제5 실시예)

[194] 마. 콜라겐과 화학물질의 혼합물질의 방사선 가교 제조물

[195] 목적 : 콜라겐과 화학물질의 혼합물질을 혼합하여 제형화 가능성을 확인하고자 한다.

[196] [방법]

[197] 1) 콜라겐 3%와 1X 실리콘원액 (Dow cornign, 7-9800), 3% 글리세린과 콜라겐 6%와 PBS 를 혼합 후, 감마선 (5 kGy) 가교 시킨다. PBS 성분은 최종 부피의 1 mL 당 인산 나트륨 (2.8 mg) 과 염화 나트륨 (7.6 mg) 이 포함되어 있다.

[198] 2) 가교화된 혼합물의 물성 분석을 진행한다.

[199] 가) 성상 (투명도, 겔화 경향) 을 육안확인한다.

[200] 나) 하이드로겔의 수축율 (부피감소율) 을 확인한다.

[201] 다) 물성측정기를 이용하여 겔강도(최대응력)을 확인한다.

[202] - 기기: Rheo meter (CR-500DX)

[203] - 조건: 측정항목 (겔강도), 진입거리 (2.5 mm), 테이블 스피드 (50 mm/min), 아답터 (No. 1 Ø 15mm)

[204] 라) 분해성을 콜라게나제 조건에서 잔류일수로써 확인한다.

[205] - 콜라게나제 농도 : 0.1 mg/mL in PBS

[206] 마) 가교된 혼합물을 동결건조 후 무게와 수화시킨 후의 무게를 비교하여 수분함량(함수가용비)을 분석한다.

[207] [결과]

[208] 1) 성상(투명도)

[209] 표 20

[Table 20]

성상	콜라겐과 혼합된 합성고분자		
	실리콘	글리세린	PBS
감마선 조사량 (5 kGy)	*	***	*

[210] 성상(투명도) - * 불투명, ** 반투명, *** 투명, **** 투명(노란빛)

[211] 2) 수축율 (부피감소율) (%)

[212] = (감마조사된 검체의 총무게 (g) - 겔 덩어리의 무게 (g)) / 감마조사된 검체의

총무게 (g) X 100

[213] 표 21

[Table 21]

수축율 (부피감소율) (%)	콜라겐과 혼합된 합성고분자		
	실리콘	글리세린	PBS
감마선 조사량 (5 kGy)	0.0	0.0	0.0

[214] 3) 겔강도(최대응력)

[215] 표 22

[Table 22]

겔강도(최대응력) (N)	콜라겐과 혼합된 합성고분자		
	실리콘	글리세린	PBS
감마선 조사량 (5 kGy)	-	2.1	11.5

[216] 4) 분해도(잔류일수)

[217] 표 23

[Table 23]

분해도 (잔류일수)	콜라겐과 혼합된 합성고분자		
	실리콘	글리세린	PBS
감마선 조사량 (5 kGy)	****	**	***

[218] 분해도(잔류일수) - * 1일 이내, ** 2일 이내, *** 7일이내, **** 7일 이상

[219] 5) 수분함량(함수가용비)

[220] = (수분함수 무게 (g) - 동결건조된 콜라겐 가교화 겔 무게 (g)) / 동결건조된 콜라겐 가교화 겔 무게 (g)

[221] 표 24

[Table 24]

수분함량(함수가용비, 배)	콜라겐과 혼합된 합성고분자		
	실리콘	글리세린	PBS
감마선 조사량 (5 kGy)	11.4	55.9	13.9

[222] (제6 실시예)

[223] 바. 전자선을 이용한 콜라겐 가교

[224] 목적 : 저선량을 이용한 콜라겐의 방사선 가교를 통한 부분 가교화를 유도하고자 한다. 부분 가교화된 콜라겐을 이용하여 겔화 용액을 혼합하여 농도 및 선량에 따른 조건별로 겔화됨을 확인한다(도 9 내지 도 11).

[225] [방법]

[226] 1) 0.5, 1.0% 농도의 콜라겐 용액(pH 3.0)을 준비한다.

[227] 2) 1.0% 콜라겐은 0.1, 0.5, 1.0 kGy 전자선량을 조사한다.

[228] 3) 0.5% 콜라겐은 0.5, 1.0, 3.0 kGy 전자선량을 조사한다.

[229] 4) 전자선 조사된 검체의 성상을 비교한다.

[230] 5) 부분 가교된 용액과 겔화 용액을 혼합하여 겔화 현상을 관찰한다.

[231] (겔화 용액 : 2.2 g NaHCO3 in 100 mL of 0.05N NaOH and 200 mM HEPES)

[232] 가) 겔화성상을 육안 및 Spectrophotometer (410 nm) 로 확인한다.

[233] 나) 물성측정기를 이용하여 겔강도(최대응력)을 확인한다.

[234] 표 25

[Table 25]

용액성상	전자선 조사량 (kGy)			
농도 (%)	0.1	0.5	1.0	3.0
1.0	*	*	**	-
0.5	-	*	***	****

[235] 용액성상 - * 투명용액, ** 투명용액(점도상승), *** 부분 덩어리, **** 전체 덩어리

[236] 1) 겔화 성상 (육안관찰)

[237] 표 26

[Table 26]

겔화성상	전자선 조사량 (kGy)				
농도 (%)	0.0	0.1	0.5	1.0	3.0
1.0	***	***	***	*	*
0.5	***	*	**	*	*

[238] 겔화성상 - * 겔형성 불가, ** 반투명 겔, *** 불투명 겔

[239] 2) 겔화성상 (Spectrophotometer, 410 nm)

[240] 표 27

[Table 27]

겔화성상	전자선 조사량 (kGy)		
농도 (%)	0.0	0.1	0.5
1.0	2.34	2.22	1.72
0.5	1.70	-	0.92

[241] 3) 겔강도(최대응력)

[242] 표 28

[Table 28]

겔강도(최대응력, N)	전자선 조사량 (kGy)		
농도 (%)	0.0	0.1	0.5
1.0	0.01	0.06	0.11
0.5	0.00	-	0.25

[243] (제7 실시예)

[244] 사. 전자선을 이용한 콜라겐 부분 가교화 경향 확인

[245] 목적 : 전자선을 이용하여 콜라겐의 부분 가교화되어 고분자화됨을 확인하고자 한다.

[246] [방법]

[247] 1) 1.0% 농도의 콜라겐을 0.1, 0.5 kGy 전자선량을 조사한다.

[248] 2) 다음과 같은 조건으로 각 검체를 HPLC 분석한다.

[249] 가) 기기 : Waters HPLC system

[250] 나) 컬럼 : Ultrahydrogel 250, 1000

[251] 다) 샘플농도 : 0.1% (1 mg/mL)

[252] 라) 주입용량 : 50 uL

[253] 마) 흐름속도 : 1 mL / min

[254] 바) 분석시간 : 15 분

[255] (제8 실시예)

[256] 아. 방사선가교된 콜라겐의 하이드로겔화 및 회복률, 창상피복제, 화장품(마스크팩) 용도 등으로써의 사용 가능성

[257] 목적: 방사선 가교된 콜라겐이 하이드로겔화로 제조됨과 건조시 필름형으로 제조가능함을 확인하고자 한다. 또한, 필름형으로 제조된 제형이 수분이 포함되어 회복됨을 확인하고자 한다. 본 실험은 하이드로겔의 형태로 적용하기 위한 기초실험으로 진행하고자 한다.

[258] [방법]

[259] 1) 3%, 6% 콜라겐을 dish에 준비한다.

[260] 2) 각각의 콜라겐은 5, 25 kGy 의 선량으로 감마선 조사한다.

[261] 3) 하이드로겔화된 콜라겐을 실온 건조시킨다.

[262] 4) 필름형태의 탄성 확인 후, 증류수를 포함시켜 하이드로겔화 시켜 회복률을 확인한다.

[263] [결과]

[264] 표 29

[Table 29]

		필름제형의 탄성	수분 회복률 (%)
3%	5 kGy	***	80
	25 kGy	***	30
6%	5 kGy	**	100
	25 kGy	*	40

[265] 필름제형의 탄성 정도 - * 부서짐, ** 딱딱함, *** 휘어짐

[266] 수분 회복률 (%) = (수분 흡수된 하이드로겔의 두께 (mm) / 건조 전 하이드로겔의 두께 (mm)) X 100

[267] (제9 실시예)

[268] 자. 방사선 가교된 콜라겐의 이식재로써의 사용

[269] 목적 : 방사선 가교된 하이드로겔 제형을 파티클화하여 이식재로써 제형화 여부를 확인하고자 한다.

[270] [방법]

[271] 1) 방사선 가교된 하이드로겔 제형을 호모게나이저를 이용하여 분쇄한다.

[272] 2) 하이드로겔을 분쇄하는 조건은 다음과 같다.

[273] 가) 기기 : Homogenizer (IKA T25 digaital ultra-turrax)

[274] 나) 분쇄조건 : rpm = 4.0 - 240.0, 1/min X100

[275] 3) 실린지에 충전시킨 후, 주사침을 장착하여 주사한다.

[276] (제10 실시예)

[277] 차. 방사선 가교화된 콜라겐의 열안전성

[278] 목적 : 방사선 가교된 콜라겐의 열에 의한 안정성을 확인하고자 한다. 이때, 열에 의한 변성 및 열처리 후 하이드로겔의 특성을 유지 정도도 확인한다.

[279] [재료 및 실험조건]

[280] 1) 재료 : 3% 콜라겐 (pH 3.0)

[281] 2) 가교 조건 : 콜라겐 용액, 5 kGy, 25 kGy, 40 kGy (감마가교)

[282] 3) 열처리 조건 : 40, 60, 80℃ (열처리 시간 : 1시간)

[283] [방법]

[284] 1) 방사선 가교된 콜라겐을 적당 크기로 준비하여 무게 측정한다.

[285] 2) 적당 크기로 준비된 가교화 콜라겐을 용기에 담고 수조에서 1시간 동안 각각의 온도 조건을 가한다.

[286] 3) 온도 가열 후, 콜라겐 겔의 성상 및 무게를 확인한다.

[287] 4) 열처리에 따른 무게 변화를 확인한다. 단, 가교화되지 않은 콜라겐의 변성 여부는 냉장온도 조건에서 겔화됨으로써 확인한다.

[288] (잔존율 (%) = 100 - {(최초무게 - 열처리 무게) / 최초무게 * 100})

[289] 5) 변형된 콜라겐 겔의 수화여부를 확인한다. 수화 조건은 물에서 1시간 및

24시간 동안 진행한다.

[290] (회복함수율 (%) = 회복함수무게 / 콜라겐하이드로겔 최초무게 * 100)

[291] 6) 60℃ 조건에서는 물이 포함된 상태에서 겔 성상 변화 여부를 확인한다.

[292] [결과]

[293] 표 30

[Table 30]

40℃	열처리후 성상	잔존율 (%)	회복율 (%, 1시간)	회복율 (%, 24시간)	비고
0 kGy	점도 감소	-	-	-	콜라겐 변성
5 kGy	투명 축소겔	64.5	128.5	142.3	
25 kGy	투명 축소겔	70.1	97.2	107.9	
40 kGy	투명 축소겔	73.2	91.3	104.3	

[294] 표 31

[Table 31]

60℃	열처리후 성상	잔존율 (%)	회복율 (%, 1시간)	회복율 (%, 24시간)	비고
0 kGy	점도 감소	-	-	-	콜라겐 변성
5 kGy	유연 물성	-	-	-	변성 진행
25 kGy	투명 축소겔	33.0	60.4	85.8	
40 kGy	투명 축소겔	34.2	59.0	84.5	

[295] 표 32

[Table 32]

80℃	열처리후 성상	잔존율 (%)	회복율 (%, 1시간)	회복율 (%, 24시간)	비고
0 kGy	점도 감소	-	-	-	콜라겐 변성
5 kGy	액상 물성	-	-	-	콜라겐 변성
25 kGy	투명 축소겔	29.0	64.7	98.6	
40 kGy	투명 축소겔	31.2	59.3	90.6	

[296] 표 33

[Table 33]

60℃ / 물 포함	열처리후 성상	잔존율 (%)	회복율 (%, 24시간)	비고
0 kGy	점도 감소	-	-	콜라겐 변성
5 kGy	액상 변화	-	-	콜라겐 변성
25 kGy	투명 축소겔	55.4	99.5	
40 kGy	투명 축소겔	67.2	99.3	

[297] 상기한 본 발명은 방사선을 이용하여 콜라겐을 가교화시키는 방법으로써 하이드로겔화시켜 창상피복재, 이식재 등으로 활용하는 것을 목적으로 한다. 모든 가교화는 실온조건에서 진행된다.

[298] 이를 위해 본 발명은 다음과 같은 다양한 사용방법으로 방사선 가교화된 콜라겐 겔을 사용하게 된다.

[299] 첫번째로, 도 17과 같이 저선량을 이용한 콜라겐의 방사선 가교를 통해 부분 가교화를 유도하되, 부분가교화된 콜라겐과 겔화용액을 주형에 부어 겔화시킨 후 상기 겔화시킨 겔에 세포와 배양액을 부어서 겔 위에 세포를 배양하고 이렇게 배양된 제조물을 화장품성분과 혼합하여 하이드로겔로 사용하거나 또는 화장품성분을 하이드로겔에 혼합하여 마그크팩으로 사용하거나 또는 하이드로겔 창상피복제로 사용하거나 또는 손상된 피부에 사용하거나 또는 피부이식에 사용할 수 있도록 함은 물론이다.

[300] 두번째로, 도 18과 같이 저선량을 이용한 콜라겐의 방사선 가교를 통해 부분 가교화를 유도하되, 부분가교화된 콜라겐은 겔화용액과 혼합하여 겔을 형성하며, 상기 겔을 건조하여 필름과 같은 얇은 막을 형성하고, 이후 상기 막에 세포와 배양액을 부어 세포 배양을 하며, 이렇게 배양된 각막세포를 막에 배양하여 안구에 이식하여 사용할 수 있도록 함은 물론이다.

[301] 세번째로, 도 19와 같이 저선량을 이용한 콜라겐의 방사선 가교를 통해 부분 가교화를 유도하되, 부분가교화된 콜라겐과 겔화용액 그리고 세포를 상호 혼합하여 배양하고 이후 상기 배양된 제조물을 잘게 분쇄하여 주사용기에 담아서 주입상의 피부 또는 뼈의 이식재로 사용할 수 있도록 함은 물론이다.

[302] 이때 상기 본 발명에 적용된 상기 겔화용액은 탄산수소나트륨(NaHCO3)과 수산화나트륨(NaOH) 및 헤페스(HEPES)가 혼합됨이 바람직하다.

산업상 이용가능성

[303] 본 발명 방사선 가교화된 콜라겐 겔 및 그 제조방법과 사용방법의 기술적 사상은 실제로 동일결과를 반복 실시 가능한 것으로, 특히 이와 같은 본원발명을 실시함으로써 기술발전을 촉진하여 산업발전에 이바지할 수 있어 보호할 가치가 충분히 있다.

청구범위

[청구항 1] 액상의 콜라겐에 방사선을 조사(照射)하여 콜라겐 가교물질을 제조함을 특징으로 하는 방사선 가교화된 콜라겐 겔의 제조방법.

[청구항 2] 청구항 1 에 있어서,
상기 방사선은 감마선 또는 전자선 또는 X-ray 중에서 선택된 어느 하나로 이루어지는 것을 특징으로 하는 방사선 가교화된 콜라겐 겔의 제조방법.

[청구항 3] 청구항 1 에 있어서,
상기 콜라겐의 농도는 0.1~10%(W/V)가 포함되고, 방사선의 선량(선율×시간)은 1kGy/hr을 기준으로 0.1~40킬로그레이(kGy)가 포함됨을 특징으로 하는 방사선 가교화된 콜라겐 겔의 제조방법.

[청구항 4] 청구항 1 에 있어서,
상기 방사선 가교화된 콜라겐 겔의 제조방법은,
콜라겐 3%(W/V)과 합성고분자인
플루로닉(Pluronic)(F-127)3%(W/V), PEO(Polyethylen oxide, M.W. = 100,000) 1%(W/V) 및
하이드록시아파타이트(Hydroxyapatite)3%(W/V)를 각각 혼합 후 감마선을 조사하여 가교시킴을 특징으로 하는 방사선 가교화된 콜라겐 겔의 제조방법.

[청구항 5] 청구항 1 에 있어서,
상기 방사선 가교화된 콜라겐 겔의 제조방법은,
콜라겐 3%(W/V)와 생체고분자인 히알루론산(hyaluronic acid)(M.W. = 2,000 K)3%(W/V), 콘드로이틴 설페이트(Chondroitin sulfate)3%(W/V)를 각각 혼합 후 감마선을 조사하여 가교시킴을 특징으로 하는 방사선 가교화된 콜라겐 겔의 제조방법.

[청구항 6] 청구항 1 에 있어서,
상기 방사선 가교화된 콜라겐 겔의 제조방법은,
콜라겐 3%(W/V)와 실리콘원액(Dow cornign, 7-9800), 3%(W/V) 글리세린과 콜라겐, 6%(W/V) 콜라겐과 PBS를 각각 혼합한 후 감마선을 조사하여 가교시키되, 상기 PBS 성분은 최종 부피의 1 mL 당 인산 나트륨(2.8 mg)과 염화 나트륨(7.6 mg)이 포함됨을 특징으로 하는 방사선 가교화된 콜라겐 겔의 제조방법.

[청구항 7] 청구항 1 의 방법으로 제조된 방사선 가교화된 콜라겐 겔.

[청구항 8] 저선량을 이용한 콜라겐의 방사선 가교를 통해 부분 가교화를 유도하되, 부분가교화된 콜라겐과 겔화용액을 주형에 부어 겔화시킨 후 상기 겔화시킨 겔에 세포와 배양액을 부어서 겔 위에 세포를 배양하고 이렇게 배양된 제조물을 화장품성분과 혼합하여

하이드로겔로 사용하거나 또는 화장품성분을 하이드로겔에 혼합하여 마그크팩으로 사용하거나 또는 하이드로겔 창상피복제로 사용하거나 또는 손상된 피부에 사용하거나 또는 피부이식에 사용함을 특징으로 하는 방사선 가교화된 콜라겐 겔의 사용방법.

[청구항 9] 저선량을 이용한 콜라겐의 방사선 가교를 통해 부분 가교화를 유도하되, 부분가교화된 콜라겐은 겔화용액과 혼합하여 겔을 형성하며, 상기 겔을 건조하여 필름과 같은 얇은 막을 형성하고, 이후 상기 막에 세포와 배양액을 부어 세포 배양을 하며, 이렇게 배양된 각막세포를 막에 배양하여 안구에 이식하여 사용함을 특징으로 하는 방사선 가교화된 콜라겐 겔의 사용방법.

[청구항 10] 저선량을 이용한 콜라겐의 방사선 가교를 통해 부분 가교화를 유도하되, 부분가교화된 콜라겐과 겔화용액 그리고 세포를 상호 혼합하여 배양하고 이후 상기 배양된 제조물을 잘게 분쇄하여 주사용기에 담아서 주입상의 피부 또는 뼈의 이식재로 사용함을 특징으로 하는 방사선 가교화된 콜라겐 겔의 사용방법.

[청구항 11] 청구항 8 내지 10 에 있어서,
상기 겔화용액은,
탄산수소나트륨(NaHCO3)과 수산화나트륨(NaOH) 및 헤페스(HEPES)가 혼합된 것임을 특징으로 하는 방사선 가교화된 콜라겐 겔의 사용방법.