

11-
1543000
-002727
-01

발간등록번호

11-1543000-002727-01

구강건조증 개선을 위한 가식성 히알루론산 필름 소재 개발 및 제품화

최종 보고서

2019

농림축산식품부

고부가가치식품기술개발 R&D Report

구강건조증 개선을 위한 가식성
히알루론산 필름 소재 개발 및
제품화

최종보고서

2019. 6. 14.

주관연구기관 / (주)진우바이오
협동연구기관 / 상명대학교

농림축산식품부

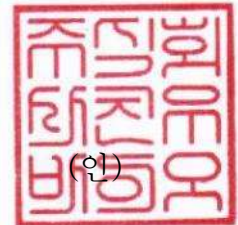
제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

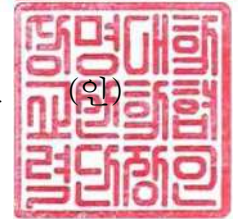
본 보고서를 “구강건조증 개선을 위한 가식성 히알루론산 필름 소재 개발 및 제품화”
(개발기간 : 2016.06.15 ~ 2018.12.31)과제의 최종보고서로 제출합니다.

2019 . 2. 7.

주관연구기관명 : (주)진우바이오 (대표자) 권 동 건 (인)



협동연구기관명 : 상명대학교산학협력단 (대표자) 유 진 호 (인)



주관연구책임자 : 권 동 건

협동연구책임자 : 한 정 아

국가연구개발사업의 관리 등에 관한 규정 제18조에 따라
보고서 열람에 동의 합니다.

보고서 요약서

과제고유번호	117071-02	해 당 단 계 연 구 기 간	2018.01.01. ~ 2018.12.31	단 계 구 분	(해당단계)/ (총 단 계)
연구사업명	단 위 사 업				
	사 업 명	고부가가치식품개발사업			
연구과제명	대 과 제 명	(해당 없음)			
	세 부 과 제 명	구강건조증 개선을 위한 가식성 히알루론산 필름 소재 개발 및 제품화			
연구책임자	권동건	해당단계 참여연구원 수	총: 10명 내부: 10명 외부: 0명	해당단계 연구개발비	정부: 200,000천원 민간: 66,667천원 계: 266,667천원
		총 연구기간 참여연구원 수	총: 14명 내부: 14명 외부: 0명	총 연구개발비	정부: 360,000천원 민간: 120,000천원 계: 480,000천원
연구기관명 및 소속부서명	(주)진우바이오			참여기업명	
국제공동연구	상대국명:			상대국 연구기관명:	
위탁연구	연구기관명:			연구책임자:	

※ 국내외의 기술개발 현황은 연구개발계획서에 기재한 내용으로 같음

연구개발성과의 보안등급 및 사유	보안 (과제 수행에 의해 특허 출원 및 등록되어 일부 특허권 확보하여 공개해도 무방하지만, PCT 출원과 등록 완료를 위해 가능하다면 3년 정도 보안 유지가 필요함)
-------------------------	--

9대 성과 등록·기탁번호

구분	논문	특허	보고서 원문	연구시설 ·장비	기술요약 정보	소프트 웨어	화합물	생명자원		신품종	
								생명 정보	생물 자원	정보	실물
등록·기탁 번호	○	○	○								

국가과학기술종합정보시스템에 등록한 연구시설·장비 현황

구입기관	연구시설·장비명	규격 (모델명)	수량	구입연월일	구입가격 (천원)	구입처 (전화)	비고 (설치장소)	NTIS 등록번호

요약

1. 가식성 필름으로의 활용을 위한 HA 필름 제조 기술 확립: 특허 출원 4건, 등록 1건, PCT 출원 1건
2. 천연물에서 유래된 침샘자극물질 탐색 및 추출 조건 확립: 비SCI 논문 1건, 학술 발표 4건
3. HA를 주원료로 하는 최적 가식성 필름 제형 확립: 학술 발표 4건, 특허 출원 4건
4. 최종 제품화 기술 확보: 대량생산 기술 확보를 통한 제조 원가 파악
5. 기술이전: 기술이전 진행 중 (2019년 내 완료 예정)

보고서 면수

68

<국문 요약문>

<p>연구의 목적 및 내용</p>	<p>I. 연구 목적 1. 가식성 필름으로 활용하기 위한 히알루론산 (HA) 필름 제조 기술 확립 2. 천연물에서 유래된 침샘자극물질 탐색 및 추출 조건 확립 3. HA를 주원료로 하는 최적 가식성 필름 제형 확립 4. 최종 제품화 기술 확보를 통한 기술이전</p> <p>II. 내용 1. 가식성 필름으로 활용하기 위한 HA 필름 제조기술 확립 - 가식성 필름 제조 위한 HA 최적 분자량 설정 및 대량생산 기술 확보 - 다양한 방법에 의한 필름 HA 제조 기술 확보 - 필름의 물리적 특성 확인(기계적 물성, 용해성, 봉해도 등) 2. 천연물에서 유래된 침샘자극물질 탐색 및 추출 조건 확립 - 침샘 자극물질을 함유한 천연물 확인 및 그 추출물의 최적 추출조건 확인 3. HA를 주원료로 하는 최적 가식성 필름 제형 확립 - 천연물과 HA 등의 최적 비율 확인 - 최종 제형화된 필름의 물리적 특성 확인(기계적 물성, 용해성, 봉해도 등) - 관능검사를 통해 식감과 효능이 우수한 조성 확인 4. 최종 제품화 기술 확보 - 다양한 필름 제조 방법을 적용하여 최적 제품화 기술 확보/시제품 생산 5. 기술이전 완료 (국내)</p>				
<p>연구개발성과</p>	<p>특허 출원 4건, PCT출원 1건, 특허 등록 1건, 비SCI 논문 1건, 학술발표 4건, 고용창출 1명, 인력양성 2명</p>				
<p>연구개발성과의 활용계획 (기대효과)</p>	<p>I. 제품화 1. 시제품 생산을 통한 제조 원가 파악 2. 특허 출원과 등록을 통해 제품화 관련 원천기술 확보 3. 자체 사업화 또는 관련 업체 기술이전</p> <p>II. 판로 확보 계획 1. 국내 판매 - 제약 기반 건강식품 전문업체 활용 예정 2. 수출 관련 1) 중국 시장 중점 공략 - 1차로 당사가 보유한 1차로 산둥과 심양 및 광저우 지역에 위치한 관련 업체 활용 / 기술이전 또는 완제품 수출 시도 2) 미국과 유럽 시장 - 당사가 보유한 에이전트 활용한 시장 공략 또는 - 해외 마케팅 역량 보유한 국내 제약 기반 전문 업체에 사업권 또는 제품화 관련 기술이전 3) 일본 시장 -당사가 보유한 에이전트 활용한 시장 공략</p> <p>III. 기대효과 1. 현재 구강건조증 개선을 위한 건강기능식품 개발 전무 2. 현재 HA를 주원료로 하는 복용과 휴대가 용이한 가식성 필름 형태 개발 전무 3. HA 활용한 구강건조증 개선 건강기능식품 개발 전무 4. HA를 주원료로 하는 구강건조증 개선 필름이 성공적으로 개발 시 기술적 차별성으로 시장 확보가 용이할 것으로 사료됨 5. HA 활용한 고부가가치 제품화 가능 6. 특허 확보로 글로벌 마케팅 가능</p>				
<p>국문핵심어 (5개 이내)</p>	<p>히알루론산</p>	<p>구강건조증</p>	<p>가식성 필름</p>	<p>천연식품추출물</p>	<p>타액 분비 촉진</p>
<p>영문핵심어 (5개 이내)</p>	<p>Hyaluronic Acid</p>	<p>Xerostomia</p>	<p>Edible film</p>	<p>Natural Food Extract</p>	<p>Stimulating salivary secretion</p>

< SUMMARY >

		코드번호	D-02			
Purpose& Contents	<p>I. Purpose</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Establishment of manufacturing technology the edible fim using HA 2. Optimize the extraction condition of substance stimulating salivary gland from food materials, and the mixing ratio of hyaluronic acid with the substance 3. Optimize the edible film formula using HA as main material 4. Establishment of commercialization technology for HA edible film & Technology Transfer <p>II. Contents</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Establishment of HA film manufacturing technology <ul style="list-style-type: none"> - with various HA molecular weight - with checking physical properties of HA edible film - with appling to several film manufacturing methods 2. Searching for salivary secretion promoting function material and optimal extraction condition 3. Check the optimal HA edible film formula 4. Establishment of Commercialization technology for optimal HA edible film 5. Technology Transfer 					
Results	Patent application 4, PCT application 1, Patent registration 1, Paper(Non-SCI) 1, Academic presentation 4, Job creation 1, Human resource training 2					
Expected Contribution	<ol style="list-style-type: none"> 1. Commercialization <ul style="list-style-type: none"> - Check the raw cost for HA edible film by pilot test - Secure IP - Check the regulation 2. Marketing <ul style="list-style-type: none"> - Export <ul style="list-style-type: none"> ▪ Cowork with Chinese Partner and Agent in US and Europe - Domestic Launching <ul style="list-style-type: none"> ▪ Cowork with Professional Trade Agent for edible film 					
Keywords	Hyaluronic Acid	Xerostomia	Edible film	Natural Food Extract	Stimulating salivary secretion	

< Contents >

1. Overview	8
2. Contents	16
3. Research objective achievement and Contribution	55
4. Application plan	56
Attachment. Reference	59

<Appendix> Statement of Supervision Institution's Self-evaluation opinion

< 목 차 >

1. 연구개발과제의 개요	8
2. 연구수행 내용 및 결과	16
3. 목표 달성도 및 관련 분야 기여도	55
4. 연구결과의 활용 계획 등	56
붙임. 참고 문헌	59

<별첨> 주관연구기관의 자체평가의견서

1. 연구개발과제의 개요

1-1. 연구개발 목적

가. 구강건조증 (Xerostomia)

- 침샘이 너무 적은 양의 타액을 생산하여 입안이 건조해지는 증상으로, 발생 즉시 질환을 일으키지 않으나 방치하게 되면 심한 고통을 동반하며, 음식 섭취부터 구강 건강에 이르기까지 질병 유발의 원인이 됨 (Fox et. al., 1985)
- 타액이 없을 경우, 충치발생 가능성, 치주염, 구강점막염 등 구강 질병이 나타날 가능성이 높아짐
- 일반적으로 안정된 상태에서의 타액 분비량이 분당 0.1ml 이하이면 구강건조증으로 진단할 수 있는데, 그 원인으로는 쇼그렌 증후군, 빈혈, 당뇨, 영양소 결핍, 노화 등의 전신적인 원인과 다양한 약물 복용, 신경계 질환에 의해 발생하고, 우울증 등의 정신적인 질환, 항암제 투여 및 침샘 근처의 방사선 치료도 타액 분비에 영향을 줄 수 있음
- 증상은 미각기능이 감소되고 저작기능 및 연하기능의 장애가 나타나며 타액 내 항균 작용이 있는 여러 물질과 면역 단백질이 결핍이 될 수 있고 혀의 돌기가 없어지고 입술이 갈라지며 타액 내 석회화시키는 작용이 감소하고 치근면 부위에 충치가 증가하기도 함
- 특히, 노인들의 경우 침 분비가 현저히 줄어드는 이유로는 입 주변의 근력이 약해지고 타액선에 자극이 전달되지 않기 때문임
- 현대 사회가 고령화됨에 따라 노령 인구의 증가로 구강건조증 치료에 대한 관심이 증가하는 추세임
- 현재까지 연구된 구강건조증의 예방 및 방지법은 구강 청결과 충분한 수분 섭취이며, 무설탕 껌, 신맛 나는 과일, 사탕 등을 먹어 침샘을 자극하는 방법도 있지만, 노인의 경우 신맛은 견디기 힘든 맛일 뿐만 아니라 설탕이나 사탕 등의 과다 섭취는 당뇨와 열량과다를 유발함
- 치료법으로는 주로 부교감신경자극제나 인공타액이 이용되고 있는데, 부교감신경자극제는 발한 빈뇨, 홍조 및 전신적 부작용 발생 가능성이 있고, 인공타액은 지속시간이 짧아 증상 완화가 일시적이어서 두 가지 치료법 모두 한계가 있음 (Shiboski et. al., 2007)
- 따라서, 이러한 문제점들을 해결하기 위해 부작용이 없고 처치가 간편하며 효과적인 구강건조개선제품의 개발이 필요함

나. 히알루론산 (hyaluronic acid, Sodium hyaluronate, HA)

(1) HA란?

- 콘드로이친과 헤파린의 중간체인 글리코사미노글리칸(GAG)의 일종으로 인체 피부, 근육, 연골, 혈관 등에서 광범위하게 존재하는 생체 고분자 물질 (Lapcik. et. al., 1998)
- 백색의 분말이나 물에 녹이면 무색 투명의 액체가 되며, 분자 내 많은 수산기(-OH)를 보유하고 있어 높은 보수력을 지님 (Becker et. al., 2009)
- 인체의 각종 세포 증식과 활성화에 중요물질이며, 특히 노화에 따라 체내에 분해 감소되어 노화가 촉진되는 항노화 관련 핵심 요소 (Bonte et. al., 2007, Karakiulakis et. al., 2012)
- 최근에는 피부 재생과 보습 및 탄력 유지를 통한 주름 개선 효과가 확인되어 미용 관

런, 화장품, 식품, 의약품 필러 등의 제품에 사용되어 수요가 급격히 증가하고 있음

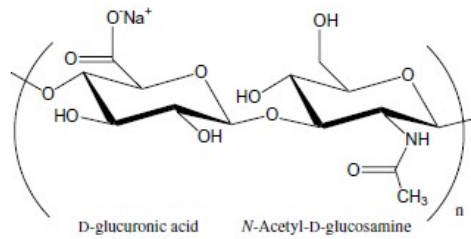


그림 1. HA의 구조

(2) HA 용도 및 적용 분야

- 현재 항노화 관련 화장품용 피부 보습용 소재와 의료용 관련 관절 주사제 및 성형 필러 등으로 활용 중임
- 고점도성, 보습성, 생체 적합성 등의 특징을 지닌 수용성 다당류의 생체 고분자 물질로, 1g당 6,000ml의 수분을 머금을 수 있어 ‘수분 저장고’로도 알려져 있음
- 피부의 건조를 방지시키는 화장품 보습제로 널리 사용됨
- 일반적으로 HA가 수분과 접촉 시 고점성으로 인해 경구 복용이 불가능
- 현재까지 식용 필름으로 활용하기 위한 기술 개발 전무

다. 침샘 자극 기능을 함유한 천연 유래 물질 탐색과 추출 조건 탐색 관련

- 침샘 자극 가능할 것으로 사료되는 썬바귀 추출물, 복분자 추출물, 블루베리 추출물, 맥문동, 갈근, 사삼, 구기자, 구연산, 사과산 등 확인 (특히, KR10-1601778B1)
- 상기 천연물들은 식물 추출물로서 구강건조증 치료를 위해 현재 판매되고 있는 약물이거나 인공타액제 보다 부작용 유발 가능성이 낮을 것으로 기대됨



그림 2. 침샘자극물질의 작용 기전

라. 침샘 자극기능을 지닌 천연 유래 물질을 함유한 HA 가식성 필름

- 지금까지 개발된 인공타액제 내 사용된 HA는 각종 유효 성분을 제형화하기 위한 부영제 역할과 일부 보습 효과를 기대
- HA가 사용된 기존 제품은 액상의 형태로서 HA의 액상으로 존재 시 미생물 오염 및 안정성이 저하되어 장기간 사용이 우려됨

- 본 과제에서 추진하고자하는 제품은 취침 직전 간편하게 복용할 수 있는 HA를 주원료로 하는 가식성 필름의 형태로써 제형 내 타액 분비 촉진 천연물에 의해 생성된 타액 또는 취침 전 복용한 물에 의해 주성분이 HA가 구강 내 용해되어 취침 시간동안 호흡 등으로 구강 내 건조되는 현상을 방지하는 역할을 기대
- 본 제품은 화학적으로 합성된 약물이나 인공타액제가 아닌 인체 안전성이 입증되고 수분 보유력이 뛰어난 HA를 주원료로 이용함
- 보습뿐만 아니라 천연에서 유래된 물질로 침샘을 자극시켜 구강건조증을 개선하는 이중 효과 기대
- 인공 타액은 액상 형태로 보관이나 유통되어 미생물 오염 등의 위험요소가 있고 보관 공간 확보에 따른 경비 발생으로 경제성이 떨어지는 단점을 가지나 HA를 필름화하여 제품 내 수분함유량을 최소화 할 경우 제품의 안전성과 안정성 및 경제성이 매우 우수함

1-2. 연구개발의 필요성

가. 기존 기술

(1) 구강건조증 치료 관련

- 구강건조증 치료를 위해 pilocarpine이나 cevimeline 등의 부교감신경자극제나 인공타액이 주로 이용되는데, 부교감신경자극제는 발한, 빈뇨, 홍조, 전신적 부작용이 발생할 수 있고, 인공타액은 지속시간이 짧아 증상완화가 일시적인 한계점이 있음
- 인공타액 제품은 무설탕 껌, 치약, 구강청결제 등의 형태로 판매되고 있어서 취침 직전 사용이 아닌 취침 전에 시간적 여유를 두고 사용해야하는 불편함이 있음
- 기존 HA를 주원료로 하는 제품 개발은 전무함
- HA를 주원료로 하는 필름 형태의 제품은 전무함

나. 당사 기술의 차별성

(1) 수분 보유력이 탁월한 HA 원료 확보

- 당사의 기술력으로 생산된 우수한 품질과 다양한 분자량을 지닌 HA 원료 공급 가능
- 구강용해성 필름의 특성을 고려하여 최적의 분자량을 선정하여 이용 예정임

(2) 구강건조증에 효능이 있는 천연 추출물 이용

- 화학적 화합물로 이루어진 약물이 아닌 구강건조증 치료에 효과가 있을 것으로 예상되는 천연 유래 물질을 추출하여 필름에 접목함

(3) HA 기능성 활용

- HA가 항균 물질과 상호작용하여 효과적인 인공타액 개발에 중요하다고 보고됨 (Kang et. al., 2011)
- 수분 보유력이 현존 물질 중 최고로 우수하여 의약품, 화장품, 식품용으로 광범위하게 사용 중

(4) HA를 주원료로 한 필름화 제품 개발은 전무함

- HA는 주로 액상 형태의 제품으로 생산되어 유통되지만, 미생물 오염이 쉽기 때문에 보관이 용이하지 않음
- 액상으로 큰 부피를 차지하기 때문에 보관 공간을 확보하기 위해 비용이 발생함

- 또한 HA는 높은 수분 보유력으로 고점성을 나타내므로 경구 형태로 직접 복용 불가
- 경구 복용을 통한 구강 내 타겟 방출을 위한 최적 분자량 대의 HA 설정을 통한 고체 형태인 필름의 경우는 이러한 문제점들의 해결이 가능함
- 기존 제품의 경우, 액체 또는 사탕 등의 형태로 일시적으로 타액을 증가시키는 역할을 하나, 본 개발 제품은 주원료로 사용된 HA가 부원료로 사용된 식물 추출물 내 침샘자극물질에서 야기된 타액 또는 취침 직전 복용한 음용수 내 수분을 취침 시간동안 보존하여 구강건조증 예방과 개선이 가능함
- 기존 제형에 비해 단순한 제조공정으로 제조 단가를 낮출 수 있으며, 완제품 생산시간을 단축할 수 있음
- HA가 향균 물질과 상호작용하여 효과적인 인공타액 개발에 중요하다고 보고됨 (Kang et. al., 2011)
- 따라서, 구강건조증 치료에 HA 필름이 사용될 경우 긍정적인 효과를 기대할 수 것으로 사료됨

다. 중요성

- 구강건조증으로 고통 받는 인구의 증가로 인해 치료제 시장이 점점 증가하는 추세임 (2006년 미국시장 기준, 20억 달러)
- 구강건조증은 인구 고령화에 따른 노화 문제 중 하나로, 환자의 고통을 감안할 때 그 해결이 시급함
- 액상 형태 인공타액이나 화학적으로 제조된 약물보다 HA 구강용해성 필름은 구강건조증개선 제품으로 제품화할 때 고부가가치화 가능함
- 기존 제품과 달리 구강 내에서 집중 작용하여 구강건조증의 개선이 가능함(효과적 약물 전달 시스템 활용)

【구강건조증 개선을 위한 고기능성 히알루론산염 필름 제조와 제품화 기술 확보】

본 연구팀에서는 구강건조증 개선을 위해 천연 보습제로 알려진 히알루론산염과 천연에서 유래된 타액분비촉진기능을 함유한 물질을 최적 비율로 혼합하여 HA를 주원료 하는 가식성 필름을 제조한 후, 필름의 물리적 특성을 확인하고 관능검사를 통해 최종적으로 구강건조증 개선이 가능한 HA 가식성 필름 제품화 기술을 확립할 예정이다. **현재 HA를 주원료로 하는 구강건조증 예방을 위한 필름 제품은 국내·외 모두 전무한 상황임.** 따라서 본 연구를 통하여 기존에 판매되고 있는 구강건조증 약물이나 인공타액제의 단점(지속성이 짧고, 인체 부작용 유발, 제품 유통과 보관의 불편)을 해결할 수 있으며, 우수한 제품 개발을 통해 경제적 및 산업적으로 고부가가치를 제공할 것으로 기대됨.

라. 국내 기술 수준 및 시장 현황

(1) 연구 기술 현황

(가) 인공타액 제품 개발 현황

- 인체 타액과 유사한 점탄성, 향균 활성 및 살진균 활성을 보유하는 인공타액 조성물

이 개발됨

- 소재는 히알루론산을 포함하여 리소자임, 락토퍼옥시다아제, 글루코스옥시다아제 등이 포함됨
- 히알루론산을 함유한 인공타액은 구강건조증 또는 구강 건조와 관련된 질환의 치료나 예방에 효과가 큰 것으로 나타남
- 히알루론산을 함유한 인공타액까지 개발되었으나 가식성 필름 형태로는 전무한 상황임
- 히알루론산 함유한 기존 제품의 경우 대부분 마시는 형태로 구강 내 집중 또는 서방성 제제로서 활용 불가능
- 또한 인공 타액 내 주요 성분으로 활용되는 기존 항균 소재 또는 기타 분해 효소 등의 경우 매우 고가로 인해 고 농도 함유 불가능
- HA의 경우 가식성 필름 제조 시 4×4cm 기준 원료가격 100원 정도로서 매우 저렴

(나) 시장현황

- 본 연구에서 개발하고자 하는 구강용해성 필름(oro-dispersible films for oromucosal application, ODF)의 경우, 서울제약, 씨티바이오, (주)씨엘팜, (주)CMG 제약 등에서 연구 및 실제 생산 중이나 HA를 사용하지 않고 필름 형성제로서 플루란 등의 다당체 사용하여 생산 중임
- 또한, 이러한 필름 형태 제품들의 용도는 구강 건조증 개선이 아닌 염증 또는 구강청정제 용도 등이 대부분임
- 구강건조증 예방용 필름 제품은 전무
- HA를 활용한 구강건조증 예방용 필름 제품 역시 전무

(2) 경쟁기관현황

○ HA 원료 관련

- 일동제약: 발효를 통해 저분자량부터 초고분자량에 이르기까지 다양한 분자량의 고품질 히알루론산 원료 생산이 가능함. 또한 점안액, 슬관절주사제 등의 상용화를 완료했으며, 유착방지제, 필러 등의 제품도 개발 중 / 식품용 전무
- 휴메딕스: 히알루론산을 주요 원재료로 하여 응용제품을 연구개발, 생산 및 판매하는 기업으로, 의약품(바이오 의약품 포함), 의료기기, 화장품 및 이들의 기초가 되는 기능성소재를 포함하는 헬스케어 전반을 사업 분야로 두고 있으며 식품용 개발은 전무함

○ 필름화 관련 - (주)씨엘팜

- 구강용해필름 생산방식 중 가장 정확한 약물 로딩이 가능하고 생산에서 높은 수율을 나타내는 캐스팅 방식의 장비를 제작하여 특허 취득 후 실제 보유하고 있음
- 구강건조증과 관련된 제품은 보유하고 있지 않음
- 따라서, 과제 종료 후 보유한 기술을 (주)씨엘팜 등에 기술이전도 가능할 것으로 사료됨

(3) 지식재산권현황

- HA를 주원료로 하는 필름화 기술 개발은 전무
- 또한, 필름 형태의 구강건조증 예방 제품 역시 전무

■ 구강건조증 관련 국내 지적재산권현황

지적재산권명	출원인	출원/등록번호(출원/등록일)
① 자동 침분비 촉진 장치	경북대산학협력단	1012245220000(2013.1.15)
② 타액분비 촉진에 유효한 구강위생 조성물	롯데제과(주)	101335535000(2013.11.26)
③ 씹바귀 추출물로부터 분리된 화합물을 유효 성분으로 함유하는 구강건조증의 예방 및 치료 용 조성물	전북대산학협력단	101601778000(2016.3.3)

마. 국외 기술 수준 및 시장 현황

(1) HA 원료 관련

- 화장품과 식품 원료는 중국산 제품이 시장의 주류이며 일본산 제품도 일부 고급 시장을 장악함
- 한국산 제품 가격 경쟁력 악화로 시장에서 퇴출 중임

(2) HA 활용 완제품 관련

- HA를 주원료로 하는 필름형 제품은 전무하며, 주로 경구용으로 섭취하는 캡슐이나 정제 형태임



그림 4. 해외(미국, 일본) 판매 중인 HA 제품들

(3) 경구 복용을 위한 필름화 관련

- 필름 형태로 한 구강 용해 필름 시장은 앞으로 25년 이내에 기존 캡슐, 정제 형태 제품군의 약 20% 정도를 대체 할 것으로 예측되어 필름화 기술 개발 필요성 증대
- Kaur 등(2012)의 보고에 따르면, 이러한 필름화 기술 관련 2007년 약 500만 달러에서 앞으로 2억 달러까지 매출을 일으킬 것으로 전망됨

(4) 경쟁기관 현황

- 국외 판매되는 HA 제품은 건강보조식품의 개념으로 관절, 머리카락 및 손톱 영양 개선용으로 다수 판매되고 있음
- GNC, Neocell, DHC 등 주로 일반화된 제품 개발, 정제 캡슐 등

(5) 지적재산권 현황

- 현재 구강건조증 개선 또는 치료를 목적으로 하는 지적재산권 전무함
- 주로 HA 원료 제조방법 관련 특허 위주로 출원 및 등록됨

■ 국외 HA관련 지적재산권 현황

지적재산권명	출원인	출원/등록번호(출원/등록일)
① 카르복실메틸기 함유 수식 히알루론산 및/또는 그 염 및/또는 그 제조 방법	큐피가부시키 가이샤(일본)	1020167011049(2016.4.26)
② 히알루론산이 정제 방법 및 제조방법	덴카주식회사 (일본)	1016391050000(2016.7.6)

(6) 특허 회피 방안

- 구강건조증 예방을 위한 제품의 경우 대부분 액상 형태로 필름 형태의 제품 개발 전무
- 기존 필름화 제품의 경우, HA를 주원료로 하는 제품 개발은 전무함
- 따라서 HA를 주원료로 하며 복용이 용이한 필름 형태로 한 구강건조증 예방용 필름 개발 시 특허권 확보가 용이할 것임

1-3. 연구개발 범위

가. 가식성 필름으로 활용 위한 HA 필름 제조 기술 확립

- 가식성 필름 제조 위한 HA 최적 분자량 설정/대량생산 기술 확보
- 다양한 방법에 의한 필름 HA 제조 기술 확보
- 필름의 물리적 특성 확인 (기계적 물성, 용해성, 봉해도 등)

나. 천연물 유래 침샘자극물질 탐색 및 추출 조건 확립

- 천연 후보 물질 중 침샘 자극물질 확인 및 그 추출물의 최적 추출조건 확인

다. HA를 주원료로 하는 최적 가식성 필름 제형 확립

- 천연물과 HA 등의 최적 비율 확인
- 최종 제형화된 필름의 물리적 특성 확인 (기계적 물성, 용해성, 봉해도 등)
- 관능검사를 통해 식감과 효능이 우수한 조성 확인

라. 최종 제품화 기술 확보

- 다양한 필름 제조 방법을 적용하여 최적 제품화 기술 확보
- 시제품 생산

마. 기술이전

- 국내 및 해외업체 기술이전 또는 전략적 투자 유치를 진행 중
 - 국내업체: 한국 콜마, 메디플란트 등
 - 해외업체: 일본 오카하타, 중국 Medechi 등

2. 연구수행 내용 및 결과

(주관) 구강건조증 개선을 위한 가식성 히알루론산 필름 소재 개발 및 제품화

※ 1차년도

가. 가식성 필름 제조를 위한 HA의 최적 분자량 설정 및 대량생산 기술 확보

○ HA 대량생산 기술 확보

- 최종 본 배양기(5t) 기준 대량생산 조건 확립
 - 리터당 8~12g 생산성 확보
 - 5t 본 배양 기준 배치당 32~60kg HA 생산
- 당사 보유 2개의 균주를 사용
 - KFCC 11860P (저분자 및 중분자 HA 생산용) : 0.3~1.2MDa HA
 - KFCC 11861P (고분자 HA 생산용) : 2.0MDa 이상
- 2개 종류의 배지 사용
 - KFCC 11860P의 경우 yeast extract 등의 식물성 배지를 주원료 사용하여 저·중분자 HA 생산
 - KFCC 11861P의 경우 tryptone 등의 동물성 배지를 주원료 사용하여 고분자 HA 생산
- 상세 정제 공정 확립
 - 저분자, 중분자, 고분자 HA 모두 그림 1의 대량생산 공정 적용
 - 3단계 1차 정제 시, 열처리 정도와 최종 분말화를 위한 5단계 2차 결정화 후 열처리 유무와 열처리 시간 조정을 통해 다양한 분자량을 갖는 HA 생산기술 확보
- 대량생산 가능 최적 분자량 설정
 - 분자량 HA(4종)
 - : 0.3MDa대, 0.8MDa대, 1.2MDa대, 2.0MDa대
- 스펙 확인
 - HA 함량 95%, 단백질 0.1% 이하, 미생물 10cfu 이하
 - 식품과 화장품 사용에 적합
- 생산 관련 문서 구비 완료
 - 시생산 3회 이상 반복 완료
 - 제조공정서(SOP)와 배치레코더 (batch recorder) 구비 완료

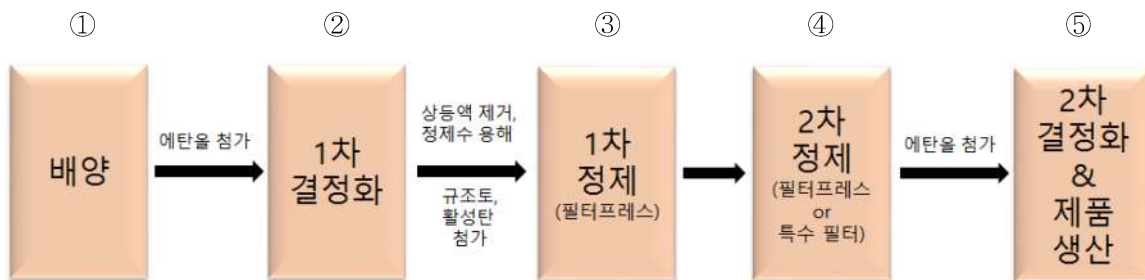


그림 5. HA 대량생산 도식도

나. 가식성 필름으로 활용하기 위한 HA 필름 제조기술 확립

1. 용매 캐스팅(solvent casting)에 의한 필름 제조

○ 실험방법

- HA 용액 (60~80g)을 원형틀(지름 9cm, 높이 1cm)에 넣어 일반 열풍 건조 (40℃)와 진공 건조 (0.02Mpa/40℃) 및 항온 항습 건조 (RH 40~60%, 40℃)로 제작

○ 실험결과

- 건조방법에 따른 필름 형성능 확인
- 열풍 건조와 진공 건조는 표면이 균일한 필름 제조할 수 없음
- 그러나 항온 항습 건조는 표면이 균일한 필름 제조가 가능한 것을 확인함



그림 6. 열풍건조와 진공건조로 제조된 필름의 표면

2. 자동 도포기에 의한 필름 제조



그림 7. 자동 도포기 (Automatic Control Coater)

○ 실험방법

- 각 분자량별 HA 용액을 0.5%, 1.0%, 1.5%의 농도로 제조
- 지지판 위에 PE필름(이형필름)을 깔고 어플리케이터(applicator)를 장착

- 원하는 캐스팅 두께로 조절한 후, 준비된 용액을 부어 캐스팅함
- 지지판 채로 열풍건조, 진공건조, 항온 항습 건조 방법으로 건조시킴

○ 실험결과

• 필름 제조 조건

- 다양한 분자량의 HA를 다양한 농도로 용해하여 다양한 점성을 갖는 HA 용액 제조
- 분자량에 상관없이 용액의 점도가 4,000 cPs 이상인 경우 필름 형성 가능 확인
- 가식성 필름으로 사용하기 위해 어플리케이터의 두께를 최소화(500 μ m)하여 필름 제조 조건 확립
- 항온 항습 건조 조건 하에서 필름이 잘 형성됨을 확인

다. HA의 분자량별 필름 생성능과 용해성 등 테스트를 통한 최적 분자량 설정

○ HA 분자량별 필름 생성능 확인

- 분자량이 각각 다른 네 종류의 HA를 정제수에 0.5%, 1%, 1.5%의 농도로 충분히 용해하여 필름 생성능 확인

표 1. HA 분자량별 농도에 따른 필름 형성

분자량 농도	0.3MDa	0.8MDa	1.2MDa
0.5%	×	×	○
1.0%	×	○	○
1.5%	×	○	○



그림 8. 분자량 0.8~2.0MDa, 1% 이상 농도일 때의 제조된 HA 필름

○ 1차 사용감 테스트 평가

(1) 분자량별 피부 테스트

- 일정 수분 피부 도포 후 분자량별 HA 필름을 부착하여 시간에 따른 거동을 관찰함
- 0.8MDa 이하 HA 필름은 시간 경과에 따라 피부에 일정 부분이 흡수되어 겔 형성이 안 된

것을 확인함



그림 9. 0.8MDa 이하의 HA 필름의 피부테스트 결과

- 1.2MDa 이상 HA 필름은 겔 형성이 되어 끈적거리는 현상 발생



그림 10. 1.2MDa 이상의 HA 필름 피부테스트 결과

(2) 구강 내 용해성 테스트

- 0.8MDa 이하 HA 필름 제품을 구강 내 혀 앞쪽 부위에 부착하고 일정 시간 경과에 따라 자연스럽게 용해되었을 때 침의 분비를 촉진하여 구강 내 수분이 증가하는 것을 확인함



그림 11. HA 필름(0.8MDa 이하)의 구강 내 테스트 결과

- 1.2MDa 이상 HA 필름은 구강 내 부착 시 시간 경과에 따라 입 안이 점조하게 변하여 매우 불편해짐을 확인

▶ 가식성 필름으로 사용을 위한 최적 분자량 설정

- 제조된 HA 필름 시료를 통해 가식성 필름화하기에 적합한 필름의 생성능을 확인하였으며, 구강 내에서 용해되었을 때 이물감이 없고 침 분비량을 증가시키기를 확인함
- 따라서 최적 분자량은 0.8MDa 이하임 (이 때, 캐스팅 두께는 500~3000 μ m)

라. 대량생산 기술 확보를 위한 필름 제조조건 변경

○ 용매 캐스팅에 의한 필름 제조

- 건조된 최종 두께를 HA 용액의 증량으로 조정해야하는 번거로움이 있음

○ 자동 도포기를 이용한 필름 제조

- 용매 캐스팅 시 용액량으로 건조 두께를 조정하는 불편을 해결하기 위한 필름 제조방법
- 어플리케이터의 두께를 조절하여 필름의 두께를 원하는 대로 보다 편리하게 조절할 수 있고 건조 시간이 단축됨



그림 12. 자동 도포기에 장착한 어플리케이터로 두께를 조절하여 성형된 필름(건조 전)

○ 건조 조건

- 일반 열풍건조기(convection oven)에서 40 $^{\circ}$ C로 건조된 필름은 표면이 말리거나 주름이 생겨 고르지 못하게 형성됨
- 항온 항습 (RH 60%, 40 $^{\circ}$ C) 건조 조건에서 필름이 잘 형성됨을 확인

마. 용매 캐스팅 등의 최종 필름화 방법 선정

○ 용매 캐스팅에 의한 필름 제조

- 저분자 HA (0.3MDa과 0.8MDa)는 고농도 HA 용액(1.5%)을 사용하여야 필름 형성이 가능함
- 건조조건: 40 $^{\circ}$ C, RH 60%, 12~24시간

○ 자동 도포기에 의한 필름 제조

- 다양한 HA의 분자량별 용액이 일정 수준의 점도에 도달하면 필름의 제조가 가능한 것을 확인함
- 건조조건: 40 $^{\circ}$ C, RH 60%, 3~12시간

○ 대량생산을 위한 필름 제조

- 위의 연구 결과, 가식성 HA 필름 제조에는 용매 캐스팅에 의한 공정보다 필름의 두께 조절과 제작 방법이 용이하고 건조 시간도 단축됨
- 용매 캐스팅에 의한 필름 제조는 필름 표면의 균일성에 차이가 있어 두께를 제어하지 못하

는 단점이 있음

- 이를 대량생산에 적합하도록 자동 도포기에 어플리케이터를 장착 후 캐스팅 두께를 조절하여 균일한 필름 제조 가능

※ 2차년도

가. HA를 주원료로 하는 최적 가식성 필름 제형 확립

○ 최종 본 배양기(20t) 기준 대량생산 조건 확립

- L당 8~12g으로 생산성 확보

- 20t 본 배양 기준 배치당 200~220kg HA 생산

○ 당사 보유 2개의 균주 중 KFCC 11860P (중분자 HA 생산용) 사용

- Yeast extract 등의 식물성 배지를 주원료 사용하여 중분자 HA 생산

○ 구강용/가식성 필름으로서 최적 관능을 갖는 중분자량 (0.5~0.8Da) HA 최적 생산 공정 확립

- 그림 1의 대량생산 공정 적용

- 3단계 1차 정제 시, 열처리 정도와 최종 분말화를 위한 5단계 2차 결정화 후 열처리 시간 조정을 통해 중분자량 (0.5~0.8MDa)을 갖는 HA 생산기술 확보

○ 상세 분자량 확인

- 구강 내 사용을 위한 최적 분자량 HA의 생산 관리를 위해 HA 분자량은 다음의 방법에 의해 중점 관리

- 고유 점도 측정에 의한 분자량 측정 (약전에 기재된 방법에 의해 측정) → 10~15dL/g으로 관리

- Laurent method

$$[\eta]=3.6 \times 10^{-4} \times M_w^{0.78} \quad ([\eta]= \text{dL/g})$$

- HPLC 분석을 통한 분자량 확인

HPLC 분석 방법	
HA시료	40°C 에서 5시간 용해 후 분석
Column	OHpak SB-803HQ(8×300mm, Shodex, Japan)
Detector	Refractive index(RI) detector(Shodex RI-71, Japan)
Flow rate	0.4ml/min
Eluent	0.5M NaCl
Injection vol.	100uL
Standard	Pullulan STD 180, 5900, 11800, 112000 (4종)

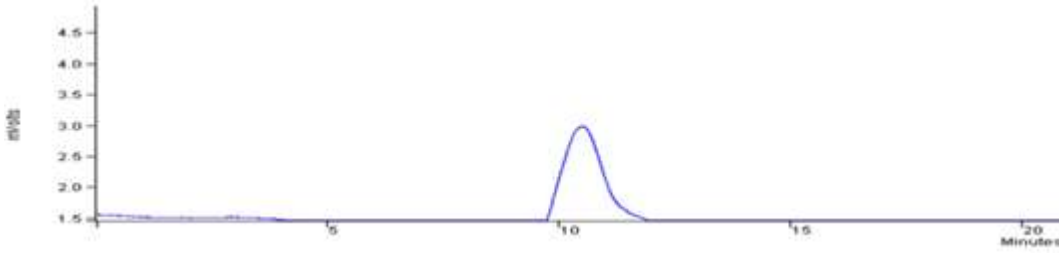


그림 8. HPLC 분석을 통한 HA 분자량 chromatogram

- 1% 용액 점도 변화 측정

점도 측정 방법	
시료	1% HA 용액
점도계	Viscometer(DV2T, Brookfield, USA)
Spindle	#5, #7
Speed(rpm)	12

- 1% 용액 점도 측정에 의한 분자량 관리: 1,000~2,500 cPs로 관리

나. 천연물과 HA 등의 최적 비율 확인

- 협동기관인 상명대의 연구 수행에서 타액 축진 물질로 확인된 갈근, 구기자, 쑥바귀 추출물 등을 첨가하여 타액분비량이 증가함
- 갈근과 구기자 추출물 및 쑥바귀 추출물 등의 첨가에 따른 HA 필름의 구강 내 사용 시 선호도와 관능 평가 및 기타 타액 분비량 증대 유무를 확인한 결과, 유의적 차이를 보이지 않음
- 또한 타액 축진 물질을 첨가하지 않고 순수 HA 필름만으로 충분한 구강건조증 개선 효과를 확인함
- 따라서 본 과제에서는 순수 HA를 최적 조성으로 하여 진행하였다.

▶ 추후 제품화 시 맛 또는 선호도 개선을 위한 단순 첨가물 사용을 통해 보다 선호도가 높은 HA를 주성분으로 하는 가식성 필름 제조가 가능할 것으로 사료됨

다. 최적 제품화 기술 및 대량생산 기술 확보와 시제품 생산

- 구강용 가식성 HA 필름의 제품화에 필요한 최종 가능성을 위해 1차년도에 당사 연구 결과를 기반으로 자동 도포기를 이용하여 패치생산 전문업체를 활용하여 제품 최적화를 위한 대량생산을 진행함
- 이를 통해 확보된 제품화 조건으로 최종적으로 시제품 생산을 통해 최종 제조원가 등을 확인하여 제품화에 반영할 예정임

(1) 대량생산 공정

- 생산업체: (주)바이오에스텍 (충북 음성 소재, 화장품용 패치 및 점막용 필름 전문제조업체)

○ 최종 대량생산 공정 확인

• 대량생산 조건

- 시생산 규모: HA 수용액 100L
- 필름화 벨트 이동 속도: 0.8~2.0m/min
- 건조 온도: 40~60℃
- Casting 두께: 500~3000 μ m
- 1일 기준 총 폭 1m × 길이 300m 제조 가능

• 제조 원가 파악

- HA 필름의 크기: A4 기준
- HA 원가 50원 + 필름 제작공임비 등 100원 → 총 150원 정도로 확인

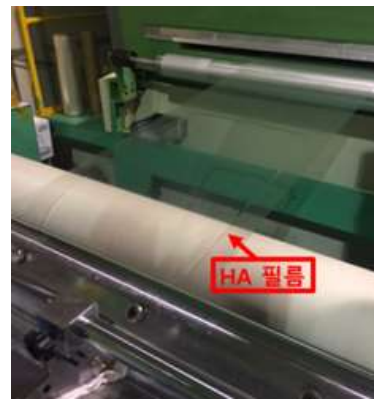


그림 13. 필름화 대량생산 설비

라. 온도, 습도 변화에 제품 안정성 확인

(1) 제품 안정성 확인 실험

○ 대량생산 공정에서 확보된 조건을 생산된 HA 필름 시제품의 안정성을 포장 전과 후로 구분하여 다음의 조건 하에서 측정함

- 일반 조건 (실온), 포장 전후의 변화 확인
- 12주 동안 수분함량 변화 측정
- 외관 상 변화를 육안으로 확인
- 미생물 오염 확인

표 3. 온도와 습도 변화에 따른 HA 필름의 물성 변화 결과 (12주 경과 시)

확인사항	결과
필름 무게 및 필름 내 수분함량	변화 없음
외관	변화 없음
미생물 오염	0 cfu/g
기계적 물성(인장강도)	초기와 거의 동일 (50MPa)

▶ 필름화된 HA는 기존 액상형 HA 제품에 비해 안정성이 매우 증가됨

7) 기술이전

- 본 과제 수행을 통해 확보된 구강 내 사용을 위한 HA 필름의 제품화 기술은 현재 한국 콜마와 아이큐머 등과 제품화 관련 기술이전 진행 중임
- NDA 체결 계약서

한국 콜마 측 기술 이전 진행 확인서

비밀유지계약서

(주)전우바이오(이하 "갑"이라 한다)와(주) 한국콜마(이하 "을"이라 한다)은(는) 다음과 같이 비밀유지계약서를 체결한다.

제1조 (계약의 목적) 본 계약은 갑·을이 상호 자신의 비밀정보를 제공함에 있어 계약 당사자의 관련 비밀정보를 보호하기 위함을 목적으로 한다.

제2조 (비밀의 내용) 본 계약상 비밀정보란 갑·을간의 업무진행 과정에서 본 계약의 이행 당시자가 상대방에게 제공하거나 상대방 혹은 그 직원으로부터 지적 혹은 취득하는 상대방의 일체의 영업 혹은 기술상의 정보 및 이와 같은 영업 혹은 기술상의 정보에 근거하여 자사가 개발하거나 도출하는 일체의 영업 혹은 기술상의 정보(이하 "비밀정보"라 한다)를 말한다. 이와 같은 비밀정보는 서면, 구두 혹은 기타 방법으로 제공되는 모든 노하우, 공학, 도면, 설계, 실험결과, 샘플, 소위, 데이터, 공여, 영업, 프로그램, 가격표, 거래명세서, 영수 코드, 선전상의 아이디어, 사업정보 등을 모두 포함한다.

제3조 (비밀의 표시) 갑·을은 상대방에게 서면이나 서구 형태로 비밀정보를 제공하는 경우 서면상에 비밀임을 알리는 문구("비밀")를 명확히 표시해야 하며 서면이나 서구 이외의 형태 즉 구두나 영상 또는 당사자의 시선, 청취 등을 기타 공백들을 관찰하거나 조사함으로써 비밀정보를 제공할 경우에는 갑·을 시 상대방에게 본 정보가 비밀에 속한다는 것을 알리고 또한 공개일로부터 (10)일 이내에 서면으로 비밀임을 알리는 문구를 표시하여 상대방에게 확인시켜야 한다.

제4조 (정보의 사용 용도 제한) 본 계약의 당사자는 상대방으로부터 제공받은 비밀정보를 관련 계약서에 명시된 본래의 목적에만 사용해야 하며, 계약의 수행을 위하여 상대방에 관련된 비밀정보를 상대방의 승인없이 제3자에게 제공할 수 없으며, 승인 후 제공할 경우에도 당해 제3자의 별도의 비밀유지계약 체결하여야 한다.

제5조 (정보회수) 본 계약의 당사자는 상대방으로부터 제공받은 비밀정보를 자사 조직 내 목적상 부합하는 직명들에 한하여 이용하도록 조치하여야 하며 적법 각자에게 비밀유지의무를 주지시켜야 한다. 또한 상대방이 요구하는 경우 자사의 관계직원들이 대하여 당해 직원이 본 계약상의 비밀유지의무를 이행하였다는 내용의 각서를 청구하는 등

제10조 (계약의 불가항력) 본 계약 중 어느 규정이 법원에 의하여 정본, 무효 또는 집행불가능하다고 선언될 경우, 이는 본 계약의 나머지 규정의 유효성에 영향을 미치지 아니한다.

제11조 (계약의 수정) 본 계약의 수정이나 변경은 양 당사자의 경당한 대표자가 서명한 서면합의로만 이루어질 수 있다.

제12조 (손해배상) ① 본 계약을 위반한 당사자는 비밀유지의무 위반행위로 인하여 상대방이 입은 모든 손해를 배상한다.

제13조 (계약기간) 본 계약은 본 계약 체결일로부터 (5)년간 그 효력을 가진다.

제14조 (본계약의 해금) 본 계약과 관련하여 분쟁이 발생한 경우 당사자의 상호 합의에 의한 해결을 도모하고, 분쟁에 관한 합의가 이루어지지 아니한 경우에는 서울중앙지방법원을 합의관할로 하여 소송을 통해 분쟁을 해결하기로 한다.

본 계약의 체결사실 및 계약내용을 증명하기 위하여 본 계약서를 2통 작성하여 계약 당사자가 각각 서명 또는 날인할 후 각 1통씩 보존한다.

2019년 1월 15일

(갑) 전우바이오
주소: 서울 성북구 동소문로14길, 5, 한국과학기술연구원 (KIST) H-1동 903AE
상호: (주)전우바이오
성명: 대표 권 동 권 (인)

(을) 한국콜마
주소: 서울특별시 서초구 사일대로 18
상호: 한국콜마(주)
성명: 개발본부 본부장 최동재 (인)

(협동) 침샘자극물질을 함유한 천연물 탐색 및 추출조건 확립

※ 1차년도

가. 천연유래 타액분비 유효물질 탐색

- 1) 타액분비에 효과가 있다고 알려진 물질을 찾기 위해 특허 및 논문검색
 - ‘침샘자극’, ‘타액분비’, ‘구강건강’ 등의 key word로 문헌 및 특허 탐색
 - 논문, 특허, 포스터 발표자료 등을 검색하여 구강건조 및 타액분비 관련 정보 수집
 - 후보물질 선정:
씀바귀, 도라지, 맥분동, 갈근, 수삼 등의 천연물질과 베리류 및 유기산 대상

나. 추출조건 확립

(1) 실험방법

실험 재료

본 실험에서 사용한 썸바귀(*Ixeridium dentatum*), 갈근(*Pueraria lobata* Ohwi), 구기자(*Lycium chinense* Miller)는 서울특별시 동대문구에 위치한 경동시장에서 구입하였고 건조된 것을 구입하여 믹서기로 분쇄 후 150mesh체를 통과 시킨 후 냉동 보관하여 사용하였다(Fig 1).



Fig. 1. Ground samples before extraction

추출 조건

가루 상태의 썸바귀, 갈근, 구기자 5 g을 500 mL 비커에 넣고 증류수와 주정을 각각 넣어 1%의 농도로 만들고 초음파 분쇄기를 사용하여 50, 70도 각각의 항온수조에서 30분과 3시간동안 추출하였다. 추출 후 filter paper 150 nm (Whatman)을 이용하여 걸러준 후 conical tube에 담아 냉장 보관하였다.

색도 분석

분말과 추출물은 색차계를 이용하여 L, a, b 로 측정하였다. 이때 표준 백색 판의 값은 L: 96.86, a:+0.27, b:+1.94 이었다.

HPLC를 이용한 추출물의 분석

씀바귀, 갈근, 구기자의 HPLC 분석은 특허(Chae et. al., 2016)를 참고하여 측정하였다. 위의 방법으로 추출한 시료 중 1% 농도로 각각 증류수와 주정에서 70℃에서 30분간 추출물을 0.45µm membrane filter에 여과시킨 후 HPLC 분석에 사용하였다. HPLC 분석 조건은 다음 (Table 1)

과 같다.

Table 1. HPLC condition of extraction

Items	conditions			
column	Acclaim™ C18 (5µm 120A 4.6 X 150mm)			
Mobile phase	Gradient	Time (min)	DW (%)	Acetonitrile (%)
		0	95	5
		0.5	95	5
		10	75	85
		13	50	50
		16	5	95
		21	95	5
Flow rate	1 mL/min			
Injection volume	10µL			
detector	210nm			

UPLC-QTOF-MS 분석 조건

썸바귀 추출시료는 추가적으로 UPLC-QTOF-MS 분석을 진행하였다. 썸바귀를 증류수와 주정에서 각각 1%의 농도로 50°C 30분, 70°C 30분, 70°C 3시간 추출한 시료를 각각 0.45µm membrane filter에 여과시킨 후 UPLC-QTOF-MS 분석에 사용하였다. 분석조건은 Table 2와 같다.

Table 2. UPLC-QTOF-MS condition

LC Condition (Waters® ACQUITY™ UPLC)			
Column	CORTECS™ UPLC® C18 1.6 µm (2.1x100mm)		
	Temperature : 40 °C		
Mobile phase	A : 0.1% formic acid in water, v/v		
	B : 0.1% formic acid in acetonitrile, v/v		
Gradient	Time (min)	A (%)	B (%)
	0	95	5
	0.5	95	5
	10	75	85
	13	50	50
	16	5	95
	21	95	5
Flow rate	0.35 ml/min		
Injection volume	5 µl		
MS Condition (SYNAPT™ G2)			
Ionization Mode	ESI+		
Capillary	3.1 kv		
Sampling cone	35 V		
Extraction cone	4.0		
Source	120 °C		
Desolvation	350 °C		
Cone gas	100 L/h		
Desolvation gas	800 L/h		

관능검사

세 시료 썸바귀, 구기자, 갈근 1% 추출물의 타액 분비 효과를 다음과 같이 측정하였다. 먼저 안정된 상태에서 입안에 있는 타액을 다 삼키게 한 후 1% 추출물을 1ml씩 입에 넣고 5분간 자세를 유지하며 침을 모으도록 하였다. 그 후 50ml conical 튜브에 침을 뱉게 한 후 타액의

양을 측정하였다. 시료와 시료 사이에는 충분한 휴식을 주어 침 분비에 영향을 주지 않도록 하였다.

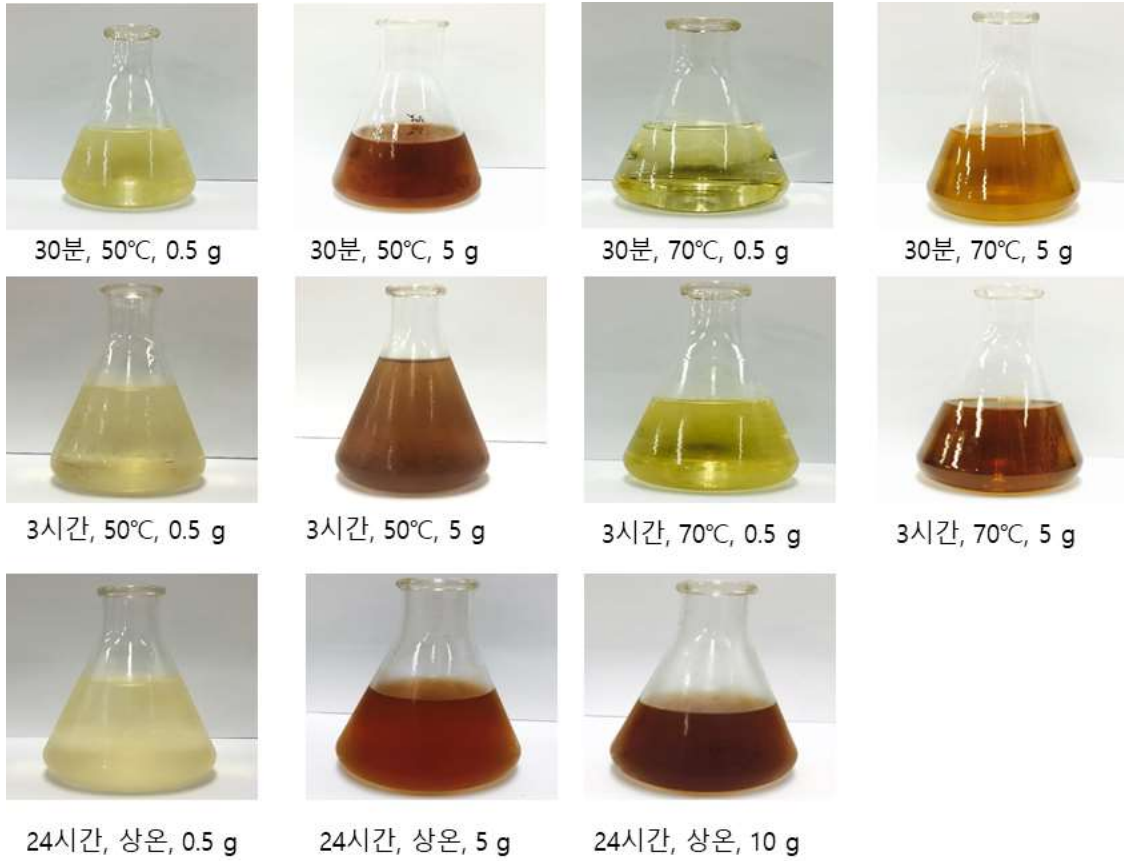


Fig 2. Distilled water extract of *Ixeridium dentatum*



Fig. 3. Ethanol extract of *Ixeridium dentatum*



Fig. 4. Color value of extract by conditions

(2) 실험 결과

색도 특성 결과

갈근, 구기자, 썸바귀 분말의 색도는 위의 Table 1과 Figure 1을 통해 나타냈다. L (lightness) 값에서는 구기자가 가장 높은 값을 보였고 썸바귀가 가장 낮은 값을 보였다. a (redness)에서도 역시 구기자가 가장 높고 썸바귀가 가장 낮다. b (yellowness)값은 구기자가 가장 높은 값을 보였으며 갈근이 가장 낮은 값을 보였다.

Table 3. Chromaticity values of powder

	L* (lightness)	a* (redness)	b* (yellowness)
씀바귀	87.4480 ^c	-12.1460 ^c	3.6100 ^b
갈근	97.8450 ^b	0.2875 ^b	0.8825 ^c
구기자	111.1440 ^a	24.2500 ^a	24.2500 ^a

Table 4. Chromaticity values of extract

추출용매	재료	L* (lightness)	a* (redness)	b* (yellowness)
DW	씀바귀	76.4700 ^b	-0.7340 ^c	8.4920 ^c
	갈근	73.8360 ^a	-0.0420 ^{de}	5.1020 ^b
	구기자	74.1120 ^a	-0.4220 ^{cd}	14.4000 ^d
주정	씀바귀	74.0540 ^a	-18.4980 ^a	27.9220 ^e
	갈근	76.3640 ^b	0.3060 ^e	-1.6060 ^a
	구기자	79.0920 ^c	-9.8260 ^b	34.1020 ^f

갈근, 구기자, 썸바귀 추출물의 색도는 Table 2과 Figure 2~4에 나타나있다. 갈근과 구기자에 서는 증류수 추출 보다 주정 추출에서 L*(lightness)값이 높았으나 썸바귀는 주정추출보다 증 류수 추출에서 L*(lightness)값이 높았다. a*(redness)값은 썸바귀의 주정추출에서 가장 낮은

값을 보였고 같은 주정 추출에서 가장 높은 값을 나타냈다. b*(yellowness)값에서는 구기자 주정추출이 가장 높고 그 다음으로 썸바귀 주정이 높다. 같은 주정추출에서는 가장 낮은 값을 나타내었다.

HPLC분석 결과

썸바귀, 같은, 구기자는 증류수와 주정 추출물 모두에서 17분과 21분 부근에서 공통적인 peak를 확인할 수 있었다.

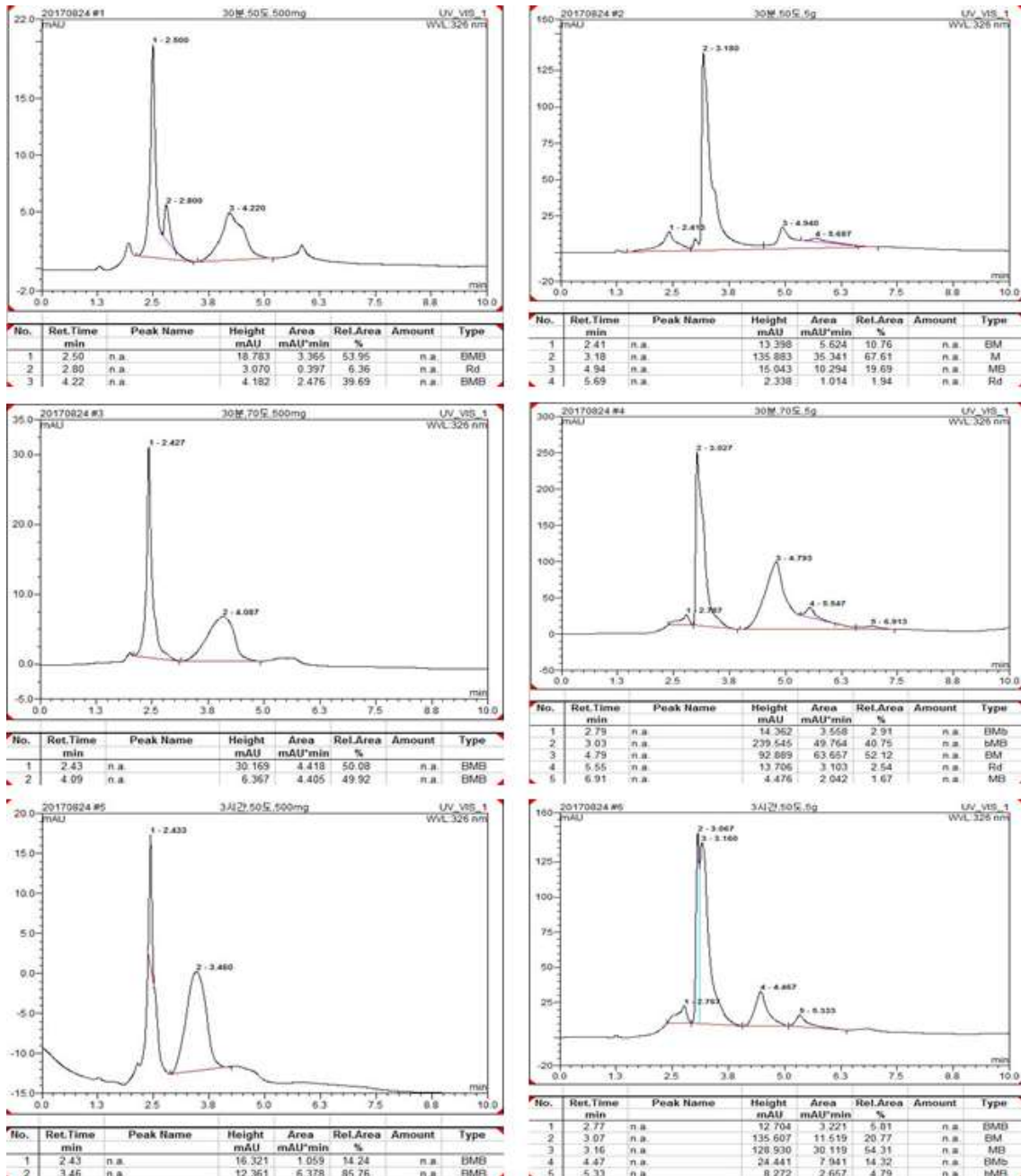


Fig. 5. Peak in HPLC Ixeridium dentatum

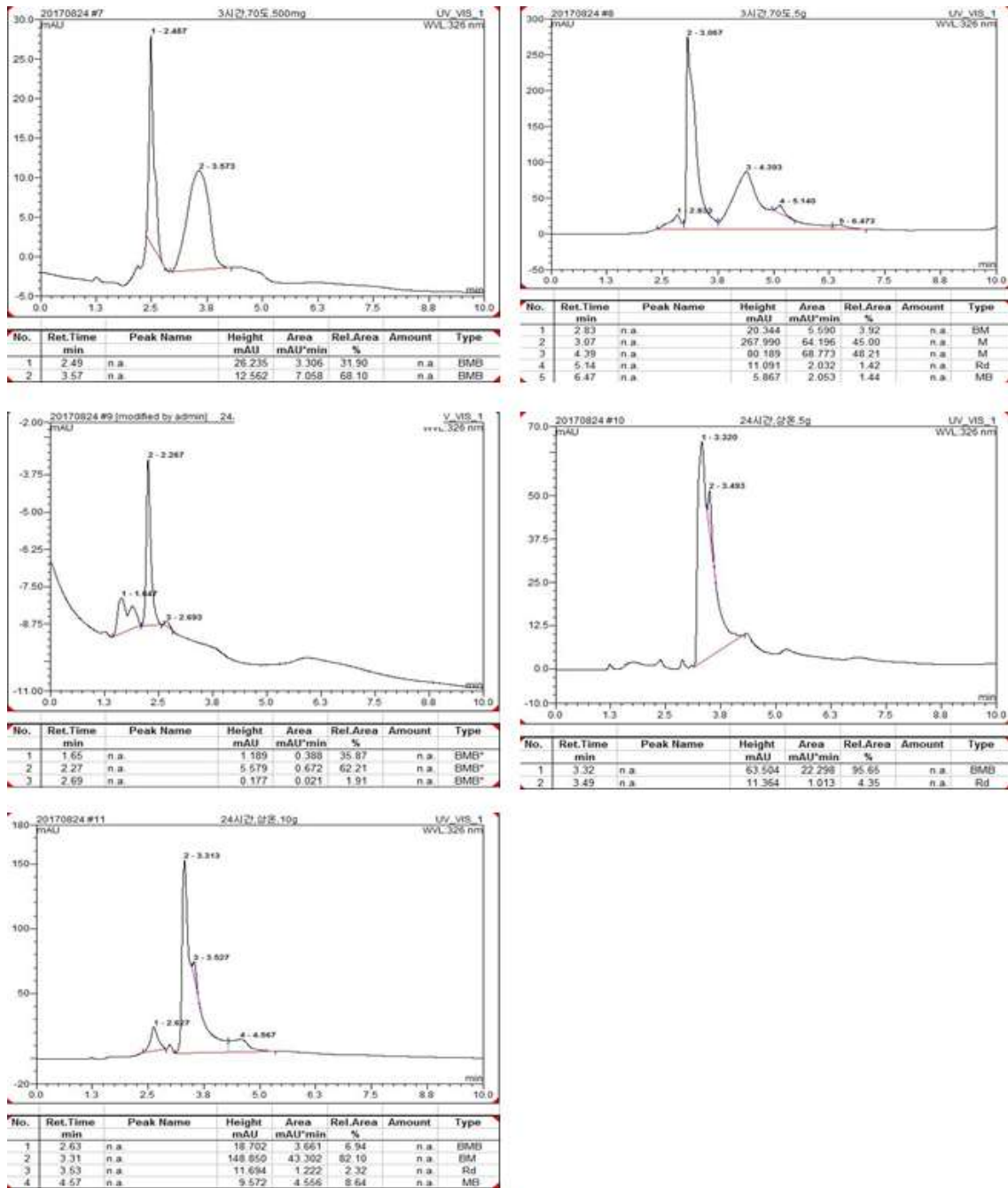


Fig 6. Peak in HPLC of *Ixeridium dentatum* in various condition

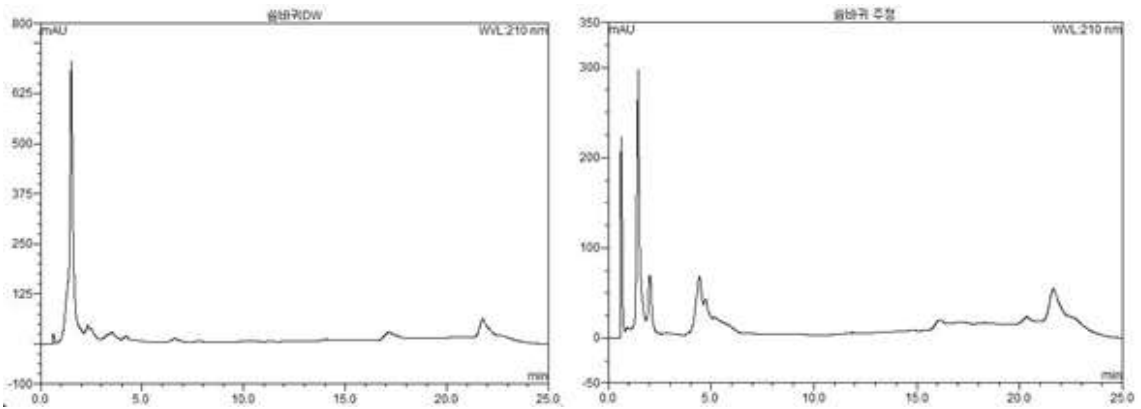


Fig. 7. Peak in HPLC of *Ixeridium dentatum*

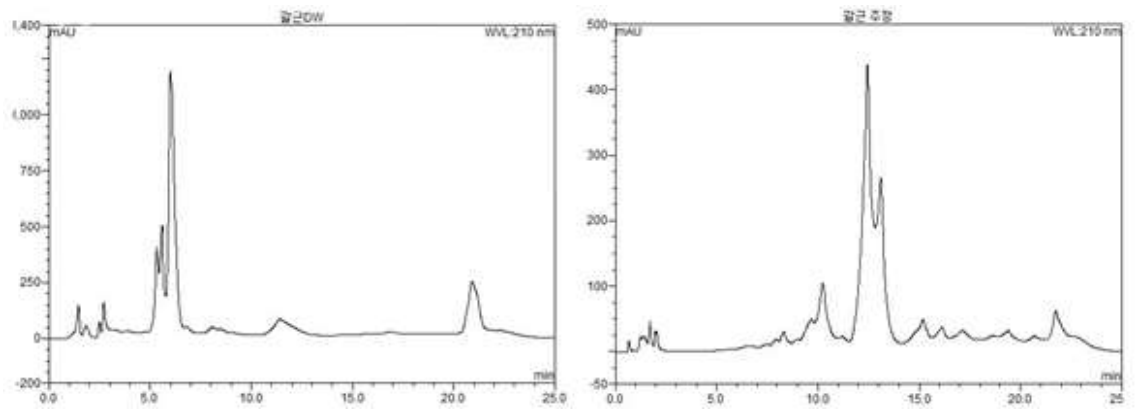


Fig. 8. Peak in HPLC of *Pueraria lobata* Ohwi

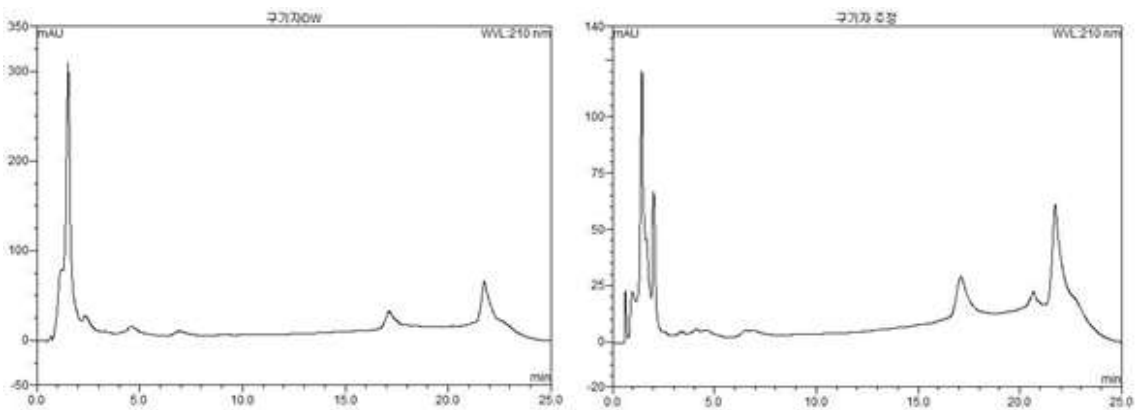


Fig. 9. Peak in HPLC of *Lycium chinense* Miller

UPLC-QTOF-MS 분석 결과

썩바귀 추출물 분석 결과

- 썩바귀(*Ixeridium dentatum*)는 식용 뿐 아니라 약용으로 사용되며 소염제나 소화불량 특히 식욕 증진 등에 사용되는 국화과 식물로서 aliphatics, triterpenoids, sesquiterpene glycoside 등 성분을 포함하고 있는 것으로 알려져 있음.
- UPLC 분석결과 썩바귀 추출 조건 별 성분차이는 크게 확인되지 않았음. 썩바귀 쓴맛 성분은 Luteolin 배당체인 cynaroside(분자량: 448.37)로 알려져 있으며, 분석결과 추정 6.82분 대에 m/z 463을 base peak으로 한 m/z 449.10이 확인되었으나 전형적인 luteolin의 m/z 286대가 확인되지 않음으로 mass이외에 추가 분석이 필요할 것으로 보임.
- 모든 조건의 주청 추출시료에서 7.24분 대와 썩바귀 70°C 추출시료 7.31분 대 확인된 분리물은 동일한 mass spectrum을 나타내었으며, 50°C 추출물에서 거의 확인되지 않았음.
- 위 시간대 확인된 물질은 추가적인 분리작업 후 구조확인 과정이 필요하겠지만, 모두 m/z 551을 base peak로 나타내고 m/z 303을 공통적으로 갖는 것으로 보아 **quercetin 배당체**로 예상되며 이 외에도 m/z 150와 m/z 130 확인되어 flavonol 임을 예측할 수 있어 썩바귀추출물에서 기능성 지표물질로의 가능성을 나타내었음.
-

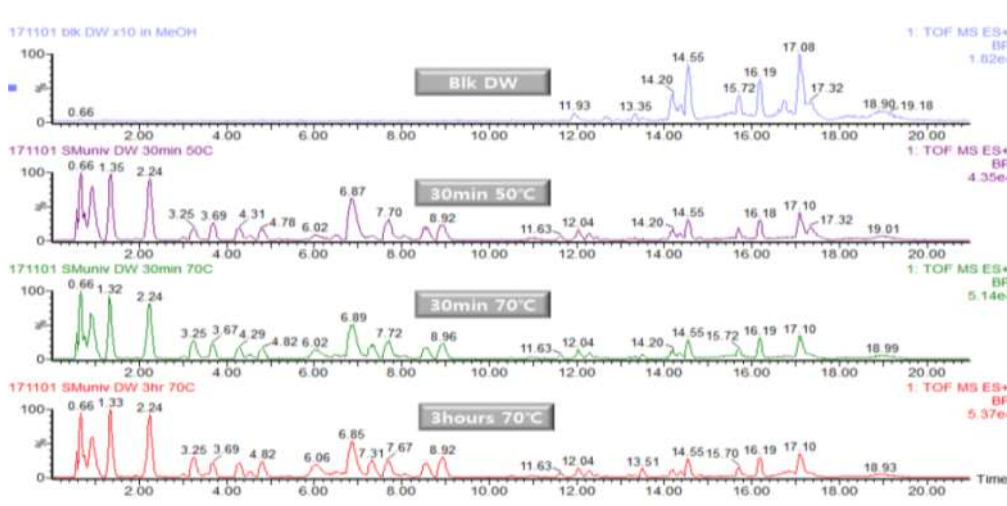


Fig. 10. Peak in UPLC-Mass of *Ixeridium dentatum*

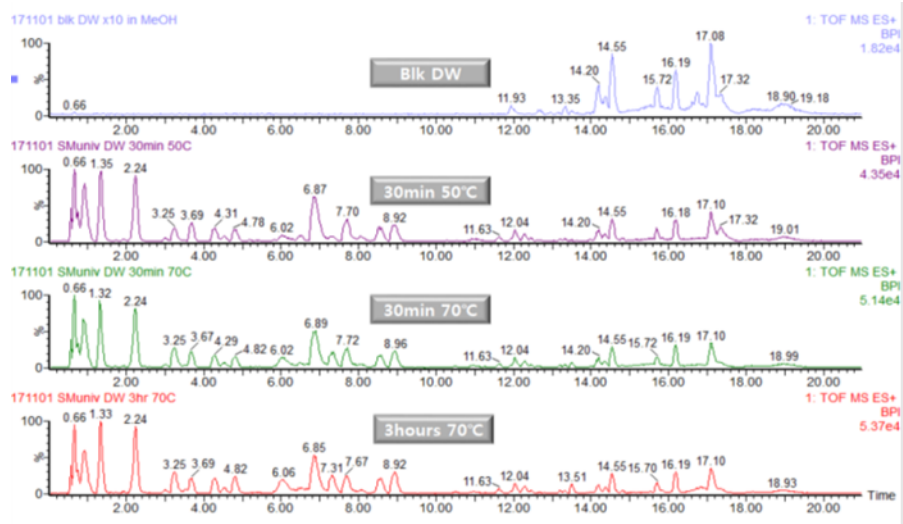


Fig. 11. Peak in UPLC–Mass of *Ixeridium dentatum*

갈근 추출물 분석 결과

- 갈근(*Pueraria lobata*)은 콩과의 식물로 발열, 설사 및 구토 완화효과로 상한론, 본초강목 등의 다수의 본초서에 약용으로 소개되고 있으며, 그 성분으로 isoflavonoid, triterpenoid 등 있으며 특히 isoflavonoid계 puerarin 성분은 이미 주사, 캡슐 및 정제의 형태로 관상동맥질환, 협심증, 심근경색, 뇌혈관 질환, 당뇨 치료 등의 임상에 사용되는 물질임.
- 썬바귀를 이용한 실험결과 70 °C 정도의 추출 온도를 필요로 하며 추출용매별 성분차이가 크지 않아, 갈근 추출 첨가물의 지표물질 선정을 위해 증류수를 이용하여 70°C에서 각각 30분과 3시간 추출한 시료를 대상으로 Table 4 조건으로 UPLC-QTOF-MS 분석하였음.
- 갈근 추출시료의 UPLC 결과와 특정 피크에 따른 mass spectrum 분석 결과, 갈근의 기능성 성분으로 알려진 isoflavonoid계 puerarin (분자량: 461.38)은 UPLC결과 가장 높은 농도로 분리된 4.31분 대의 분리물의 mass spectrum에서 (m/z 417.11) 확인되어 갈근 추출물의 기능성 지표물질로의 가능성을 나타내었음.
- 더불어 5.30 분대의 분리물의 분자 peak는 m/z 417을 base peak로 나타내고 있으며 동시에 m/z 255으로 콩과 식물의 또 다른 isoflavonoid계 daidzein 배당체 **daidzin**으로 추정됨.

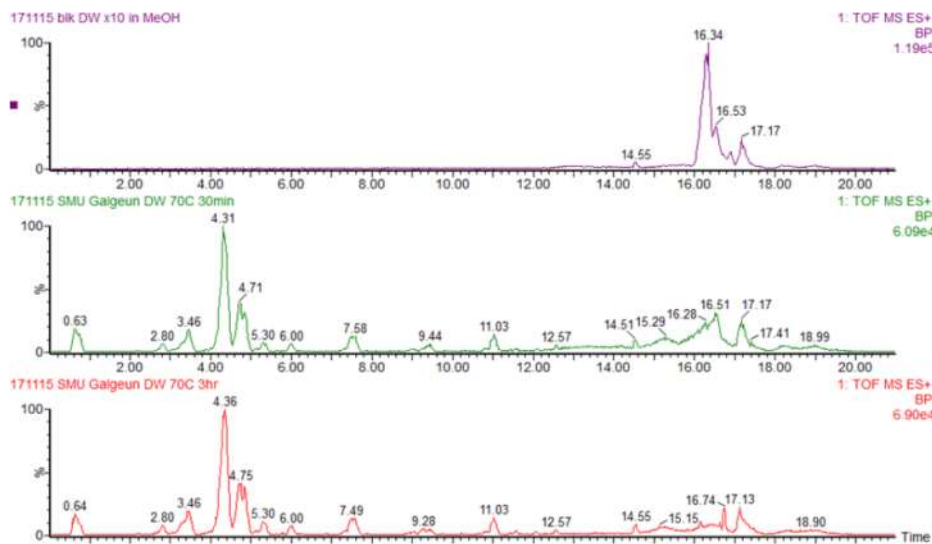


Fig. 13. Peak in UPLC-Mass of *Pueraria lobata*

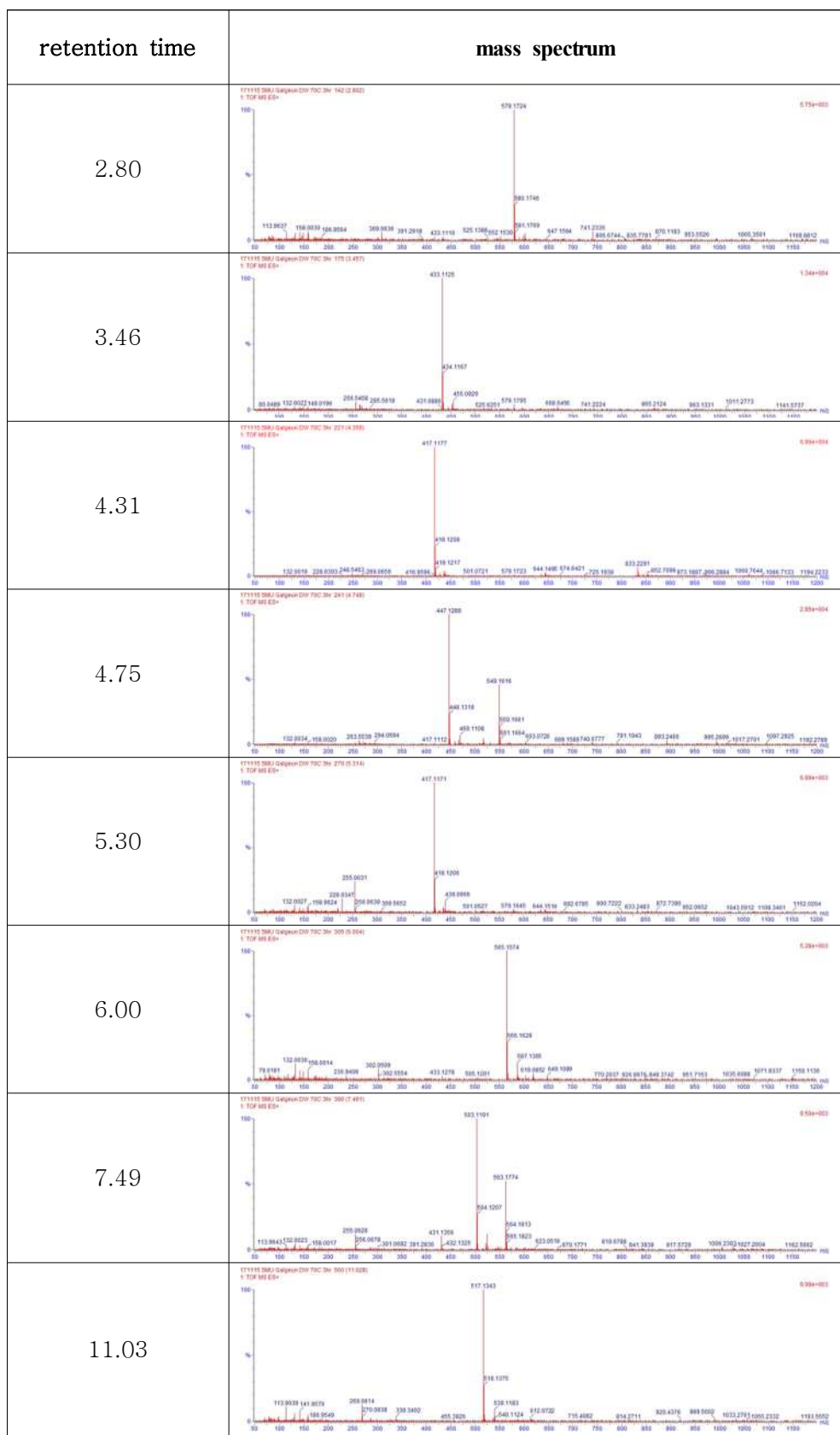


Fig. 14. UPLC-MS spectra of *Pueraria lobata*

구기자 추출물 분석결과

- 구기자 (*Lycium chinense*)는 가지과 식물로 그 맛은 쓰고 달며, 비특이성면역증강 작용, 조혈작용, 콜레스테롤강하작용, 항지방간작용, 혈압강하, 혈당강하, 성장촉진, 항암작용 등의 약리 효과가 보고되었으며, 그 성분은 zeaxanthin, betaine, carotene 등으로 알려져 있음.
- 구기자 추출시료의 UPLC 결과와 특정 피크에 따른 mass spectrum 분석 결과, 구기자의 기능성 성분으로 알려진 tetraterpenoid인 carotenoid 계 zeaxanthin (분자량: 568.88)은 xanthophyll dihydroxy 유도체로 carotenoid류 화합물은 분자 특성상 휘발성이 낮으며 쉽게 분해되기 때문에 mass spectrum으로 분자량 확인이 힘든 것으로 알려져 있어 실제 분자량을 비교 분석할 수 없었음. 확실한 carotenoid류 화합물 확인과 정량을 위해 Thin layer chromatography(TLC) 등 분석이 추가되어야 하겠지만, UPLC결과 가장 높은 농도로 확인된 0.63 분대의 분리물에서 기존 caotenoid mass spectrum과 동일한 양상을 확인 할 수 있어 구기자 추출물 지표물질 가능성을 확인하였음.

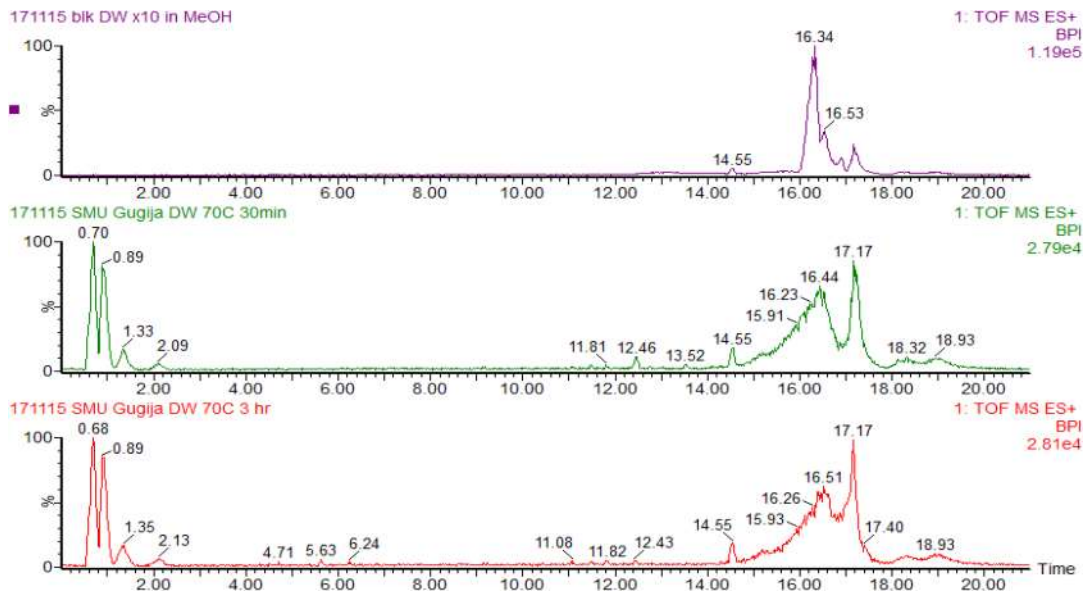


Fig. 15. Peak in UPLC-Mass of *Lycium chinense*

retention time	mass spectrum
0.68	
0.89	
1.33	
2.13	
12.46	

Fig. 16. UPLC-MS spectra of *Lycium chinense*.

관능검사 분석 결과

증류수를 대조군으로 하여 세 추출물의 타액 분비 효과를 측정한 결과는 표 5와 같다. 대조군이 2.25ml로 가장 적었으며, 갈근, 썸바귀, 구기자 추출물은 각각 2.44, 2.66, 2.82ml로 유의적 차이를 보였으며, 타액 분비에 가장 효과가 있는 천연 추출물은 구기자로 확인되었다.

Table 5. Salivary secretion effect of extracts

Samples	Salivary amount
대조군 (증류수)	2.2500 ^a
썸바귀	2.6578 ^c
갈근	2.4444 ^b
구기자	2.8235 ^d

※ 2차년도

가. HA-천연추출물의 필름 제조 최적조건 확립 및 물리적 특성 평가

(1) 실험방법

시료

본 실험에서 사용한 Hyaluronic acid (HA, from *Streptococcus equi sub*)는 (주)진우바이오에서 제공하였으며, 시료는 진공 상태로 상온에 보관하여 사용하였다.

필름형성을 위한 용액의 제조

분자량이 다른 3종의 HA(800, 1,200, or 2,300 kDa)를 대상으로 용해가 가능한 각 시료의 최대 농도를 알아본 결과 용해가 가능한 농도는 분자량 별 각 3.0, 1.5, 1.0%로 나타났다. 따라서, 10% 에탄올을 함유한 증류수에 각 농도에 해당하는 양을 넣고 교반하면서 완전히 용해시켰다.

필름의 제조

필름은 Automatic film-coating apparatus (COAD 411, Ocean Sci., Uiwang, Korea)를 이용하여 제조하였다. Film apparatus 유리판 (45cm×30cm)위에 OHP필름(297mm×420mm)을 올린 뒤 필름 용액을 분자량별 두께를 달리한 3종의 필름을 만들기 위해 한 분자량 당 용액을 150, 100, 50ml을 부어 3 mm/sec의 속도로 coating하여 제조하였다. 필름을 건조하기 위해 항온항습기(TH-PH-065, Jeio Tech. Seoul, Korea)를 사용하였으며 온도 40℃, 상대습도 60%의 조건 하에 건조하였다.

추출물 제조

가루 상태의 썸바귀(*Ixeridium dentatum*, SS)와 구기자(*Lycium chinense Miller*) 5g을 500ml 용량의 비커에 넣고 주정을 넣어 1%의 농도로 만든 후, 초음파 분쇄기(IKA® T25 digital Ultra-Turrax, Germany)를 사용하여 70℃의 항온수조에서 30분 동안 추출하였다. 추출 후 여과지 (150nm, Whatman)을 이용하여 걸러준 후 약 40배 농축하여 냉장 보관하여 사용하였다.

사전 실험을 거쳐 분자량 800 kDa의 HA 농도 3%로 제조한 필름에 첨가하는 추출물의 농도는 Table 1과 같이 선정하였고, 각각 800F-3+GG2.5+SS1, 800F-3+GG2.5+SS1+CA1, 800F-3+GG5.0, 800F-3+GG5.0+SS1+CA1로 명명하였다.

Table 1. Addition ratio of *Ixeridium dentatum* (SS) and *Pueraria lobata Ohwi* (GG) for HA film preparation

Sample	<i>Ixeridium dentatum</i> (SS, %)	<i>Lycium chinense Miller</i> (GG, %)	Citric acid (CA, %)
800F-3+GG2.5+SS1	2.5	1	0
800F-3+GG2.5+SS1+CA1	2.5	1	1
800F-3+GG5.0	5	0	0
800F-3+GG5.0+SS1+CA1	5	1	1

[필름 분석]

점도 측정

필름 제조를 위해 분자량이 다른 HA를 이용하여 제조한 용액의 점도는 50ml conical tube에 40ml씩 넣은 후, 점도계(RVDV-II+Pro, Brookfield, USA)를 이용하여 spindle 7, 50rpm 조건에서 5회 반복하여 측정하였다.

두께 측정

각 필름의 두께는 0.01mm의 정밀도를 갖는 캘리퍼스(D15HA 505-685, Mitutoyo, Japan)을 사용하여 측정하였다. 각 필름의 부위를 달리하여 총 7번 측정된 뒤 가장 큰 값과 작은 값을 제외하고 나머지 측정값의 평균을 사용하였다.

투명도 측정

필름의 투명도 측정을 위해 필름을 150mm×100mm크기로 절단하여 준비하였고, 분광 광도계(UV-160A, Shimadzu, Japan)을 이용하여 600nm에서 필름의 광 투과율을 분석하였다. 투명도는 다음 방정식에 의해 계산되었다. 투명도 = $(\log \%T)/b$, 여기서, %T는 600 nm에서의 광 투과율이고, b는 필름의 두께 (mm)이다.

인장강도 측정

필름의 인장강도는 Texture Analyser (TA-XT2, Stable Micro Systems, UK)를 이용하여 측정하였다. 이 때 초기 grip간의 거리는 40 mm, cross-head의 속도는 1.00mm/sec이었다. 필름의 인장강도는 필름이 끊어질 때까지 기록된 최대의 장력을 필름 초기의 단면적으로 나누어 계산하였으며 계산법은 다음과 같다.

$$TS = F_{\max}/cm^2$$

(F_{\max} 는 필름이 끊어질 때까지 작용한 최대 강도)

Focus group을 대상으로 필름의 최적조건 결정

20~40대 10명의 focus group을 선정하여 고령자 대상 타액 분비와 관능검사 시료 최종조건을 결정하기 위한 다음의 실험을 진행하였다.

필름 부착 위치에 따른 기호도 평가

본 test를 위한 시료는 20×3mm의 크기의 분자량 800 kDa, 두께 3mm의 필름(800F-3)을 이용하였다. 안정을 취한 상태에서 구강 내의 타액을 모두 삼키도록 한 후 시료를 각각 입천장, 혀, 볼점막에 부착하도록 한 후, 불편감(1: 매우 불편함→9: 매우 편함), 타액분비정도(1: 매우 적음→9: 충분히 많음), 전반적인 선호도(1: 전혀 선호하지 않음→9: 매우 선호함)의 세 항목에 대해 9점 척도법을 사용하여 실시하였다.

필름 부착 유무에 따른 타액분비량 비교

필름 부착 유무에 따른 타액분비량 비교를 위한 시료로는 20×30mm의 크기의 분자량 800 kDa, 두께 3 mm의 필름(800F-3)을 이용하였다. 필름을 부착한 상태와 필름을 부착하지 않은 상태를 각각 실험군과 대조군으로 설정하였으며 실험군은 20×30mm 크기의 분자량 800 kDa, 두께 3 mm의 필름(800F-3)을 부착한 상태에서, 대조군은 필름을 부착하지 않은 상태에서 구강 내의 타액을 모두 삼키도록 한 후 10분 동안 분비되는 타액을 50ml의 tube에 모두 빨도록 하였다. 실험군과 대조군 사이에는 충분한 휴식을 주었다.

HA분자량을 달리하여 제조한 필름의 타액분비량 비교

HA분자량을 달리하여 제조한 필름의 타액분비량 측정은 필름 미부착 상태(대조군)와 비교 실험군으로는 800F-3, 1200F-3, 2300F-3의 시료를 사용하였다. 먼저, 안정을 취한 상태에서 구강 내의 타액을 모두 삼키도록 한 후 시료를 입천장에 부착하여 10분 동안 분비되는 타액을 50 ml의 tube에 모두 빨도록 하였다. 시료와 시료 사이에는 10분 이상 충분한 휴식을 주었다.



Fig. 1. Sensory evaluation

추출물을 첨가한 HA필름의 기호도 평가

추출물을 첨가하여 제조한 HA필름의 기호도 평가를 위해 사전 예비실험을 거쳐 추출물인 씌바귀와 구기자 추출물을 달리하여 제조한 총 4종의 필름을 대상으로 측정하였다. 안정을 취한 상태에서 구강 내의 타액을 모두 삼키도록 한 후에 시료를 부착하여 각각의 느낌을 서술하도록 하였다. 시료와 시료 사이에는 충분한 휴식을 주었다.

분자량을 달리하여 제조한 HA필름의 용해도 측정

분자량을 달리하여 제조한 HA필름의 구강 내 용해도는 20-40대 60명을 대상으로 하여 진행하였다. 측정시료로는 800F-3, 1200F-3, 2300F-3의 세 시료를 이용하였으며, 피험자들이 각 필름을 입천장에 붙인 시점으로부터 완전히 용해된 시점의 시간을 측정하였다. 시료와 시료 사이에는 충분한 휴식을 주었다.

분자량을 달리하여 제조한 HA필름의 단면 및 두께 측정

필름의 표면과 단면의 미세구조는 Environmental Scanning Electron Microscopy (E-SEM, Regulus 8230, Hitachi, Japan)를 사용하여 측정하였다.

나. 고령자 대상 최적조건에서 제조된 구강필름의 타액분비량 및 기호도 평가

- 추출물 첨가 유무에 따른 타액분비량 및 필름의 기호도 평가는 65세 이상 고령자 30명을 대상으로 하여 진행하였다. 비교시료로는 사전 검사에서 가장 선호도가 높았던 분자량 80만, 두께 3 mm 필름(800F-3)과 이 시료에 구기자추출물 2.5%와 씬바귀추출물 1%를 첨가한 필름 (800F-3+GG5+SS1)을 이용하였다. 필름 미부착 상태인 대조군과, 각각 800F-3, 800F-3+GG5+SS1시료 순서로 부착하도록 하였으며, 측정은 연구원과 피험자 일대일 검사로 진행하였다.
- 고령자들은 타액이 적어 빨아내는 방법을 매우 힘들어했기 때문에 고령자 대상 타액분비량 비교는 Kumar 등의 논문(2014)을 참고하여 schirmer test strip (특수제작, 눈금 최대 35mm)을 혀 아래 침샘부분에 대고 3분간 분비되는 타액을 종이가 젖은 정도를 눈금으로 파악하였다. 기호도 검사는 외관, 맛, 불편함, 촉촉한 정도, 전반적인 기호도로 항목을 구성하였으며 9점 척도법을 사용하여 실시하였다.



Fig. 2. Sensory evaluation with Schirmer test strip

통계처리

본 실험에서 수집된 관능검사의 결과는 SPSS Statistics(ver. 23.0, IBM Corp., Armonk, NY, USA) t-검정과 f검정을 이용하여 처리하였으며 5%를 통계적 유의수준으로 분석하였다.

(2) 연구 결과

필름 형상

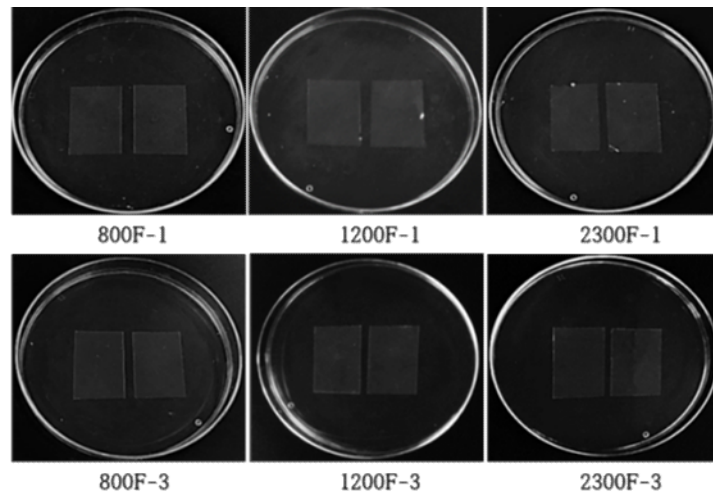


Fig. 3. HA film with different molecular weight. 800, 1200, 2300 means molecular weight of HA; F means film, 1 and 3 means application thickness.

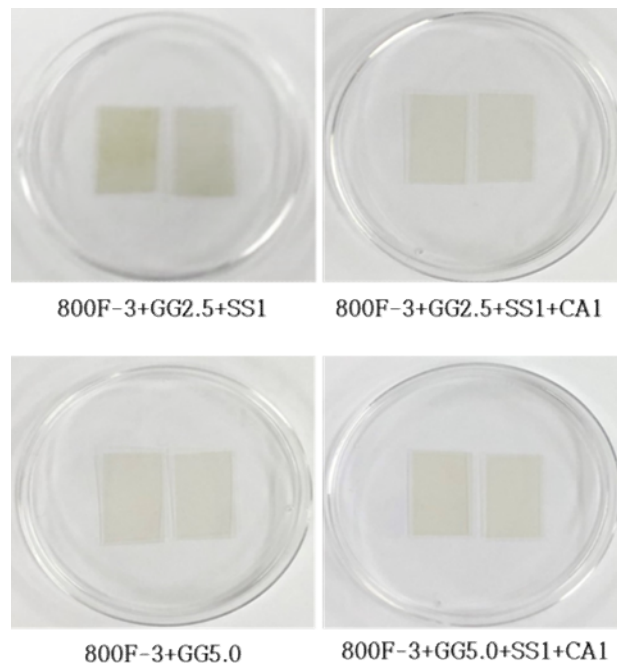


Fig. 4. HA film with extraction of *Ixeridium dentatum* (SS) and *Pueraria lobata Ohwi* (GG). CA means citric acid, numbers mean % concentration.

점도 측정 결과

점도 측정 결과는 Table 2에 나타냈다. 점도는 HA4 시료에서 가장 높게 측정됐고 HA6 시료

에서 가장 낮게 측정되었다. 이는 분자량별 최대 첨가가능농도가 각각 3%, 1.5% 1%로 hyaluronic acid 첨가량이 다르기 때문이라고 사료된다.

Table 2. Viscosity of HA solution for film preparation

Samples	Viscosity (cP)
800F-3	23101.5 ^a
1200F-3	10092.3 ^b
2300F-3	7073.3 ^c

800, 1200, 2300 means molecular weight of HA; F means film, 3 means application thickness.

필름의 두께, 투명도 및 기계적 물성(인장강도) 측정 결과

필름의 두께, 투명도, 인장강도 측정 결과는 Table 3에 나타냈다. 분자량 230만으로 제조한 2300F-3 필름의 두께가 24 μ m로 가장 얇았고, 다음이 1200F-3, 800F-3의 순서였다. 즉, 분자량이 작을수록 녹을 수 있는 HA의 농도가 증가하여 가장 많은 용질의 양을 녹일 수 있었던 80만 분자량 필름의 두께가 가장 두꺼운 것으로 측정되었다 (Kim et. al., 2015). 필름의 투명도는 분자량이나 농도와 무관하게 94.85~94.98로 시료 간 유의적 차이를 보이지 않았다. 인장강도는 800F-3시료에서 가장 높게 측정됐고 2300F-3시료에서 가장 낮게 측정되었다. 이는 분자량별 최대 첨가가능농도가 3%, 1.5%, 1%로 hyaluronic acid 첨가량이 달라 건조 후 필름의 두께가 800F-3가 가장 두껍고 2300F-3이 가장 얇기 때문이라고 사료된다.

Table 3. Tensile strength values of HA film with different molecular weight

Samples	¹⁾ Thickness(μ m)	Opacity	Tensile strength
800F-3	57 \pm 2.1 ^a	94.98 ^{ns}	621.2 ^a
1200F-3	33 \pm 2.0 ^b	94.97	452.0 ^b
2300F-3	24 \pm 1.5 ^c	94.85	355.1 ^c

800, 1200, 2300 means molecular weight of HA; F means film, 3 means application thickness.

Focus group을 대상으로 test한 필름의 최적조건

필름 부착 위치에 따른 기호도 평가 결과

필름 부착 위치에 따른 기호도 평가결과는 Table 4에 나타냈다. 불편함 항목에서는 필름을 혀에 부착하였을 때 가장 불편하다고 하였으며, 입천장에 부착 시 가장 편하다고 평가되었다. 타액 분비 정도는 입천장에 필름을 부착하였을 때 상대적으로 가장 많은 타액이 분비된다고 하였으며, 볼점막에 부착 시 가장 적은 것으로 나타났다. 전반적인 기호도 항목에서는 입천장에 필름을 부착하였을 때가 가장 높은 기호도를 나타냈다. 피험자들의 기타 의견으로는 혀에 필름을 부착하였을 경우는 필름이 오그라들면서 건조한 느낌이 나며 짠 맛이 두드러지게 느껴지며, 이물감이 가장 많이 느껴지지만 천장에 붙일 경우는 입 전체에 수분감이 느껴지며 정확히 붙이기에 편하다는 의견이 있었다. 또한 볼점막에 필름을 붙일 경우 근처 치아에 붙어 뭉치고 타

액분비가 덜하다는 의견이 있었다. 이러한 의견들을 종합하여 최종적으로 입천장에 필름을 붙여 관능을 진행하였다.

Table 4. Preference depending on film attachment position

	palate	tongue	buccal mucosa
Inconvenience	6.9 ^a	2.6 ^c	4.4 ^b
Saliva secretion	7.1 ^a	5.4 ^b	3.4 ^c
Overall acceptability	6.2 ^a	3.5 ^c	4.2 ^b

필름 부착 유무에 따른 타액분비량 측정 결과

필름 부착 유무에 따른 타액분비량의 결과는 Table 5에 나타냈다. 필름을 붙인 실험군의 평균은 6.96g으로 붙이지 않은 대조군의 평균인 4.56g 보다 유의적으로 많은 값을 보였다. 이로써, HA필름에 의해 타액분비가 촉진됨이 확인되었다.

Table 5. Salivary flow depending on film attachment

Samples	타액분비량(g)
Control	4.56 ^b
800F-3	6.96 ^a

800 means molecular weight of HA; F means film, 3 means application thickness.

Hyaluronic acid 분자량에 따른 타액분비량 측정 결과

Hyaluronic acid 분자량에 따른 타액분비량 측정 결과는 Table 6에 나타냈다. 필름 미부착 상태의 타액분비량의 평균은 1.77g으로 가장 낮았으며, 800F-3필름을 부착하였을 때 타액분비량이 유의적으로 가장 높은 값을 나타냈다. 이로써 타액분비 촉진을 위한 최적 필름은 분자량 800 kDa을 이용, 두께를 3mm로 제조하는 것이 가장 바람직한 것으로 보인다.

Table 6. Salivary flow depending on the MW of the Hyaluronic acid

Samples	타액분비량(g)
CON	1.77 ^c
800F-3	3.37 ^a
1200F-3	2.56 ^b
2300F-3	2.67 ^{ab}

800, 1200, 2300 means molecular weight of HA; F means film, 3 means application thickness.

추출물 첨가에 따른 기호도 측정 결과

추출물 첨가에 따른 기호도 측정 결과는 Table 7과 같다. 피험자 대부분이 구연산의 산미가 필름과 어우러지지 않는다고 응답하였다. 또한 구기자의 첨가율이 높을 경우, 구기자의 텁텁한 맛이 느껴져 기호도가 낮았고 썬바귀의 첨가율이 높을 경우 썬썬한 맛이 강해 기호도가 낮았

다. 이러한 의견들을 종합하여 약 40배 농축한 구기자 2.5%와 쑥바귀 1%를 첨가한 필름으로 관능을 진행하였다.

Table 7. Sensory test of HA film containing *Ixeridium dentatum* (SS) and *Pueraria lobata Ohwi* (GG) with different ratio

Samples	Appearance	Taste	Overall acceptability
800F-3	6.00 ^{ns}	5.98 ^a	5.41 ^a
800F-3+GG2.5+SS1	5.89	5.87 ^a	5.65 ^a
800F-3+GG2.5+SS1+CA1	5.86	4.92 ^b	4.52 ^c
800F-3+GG5.0	5.64	5.63 ^a	5.19 ^b
800F-3+GG5.0+SS1+CA1	5.83	4.43 ^c	4.72 ^c

분자량을 달리하여 제조한 HA 필름의 구강 내 용해도

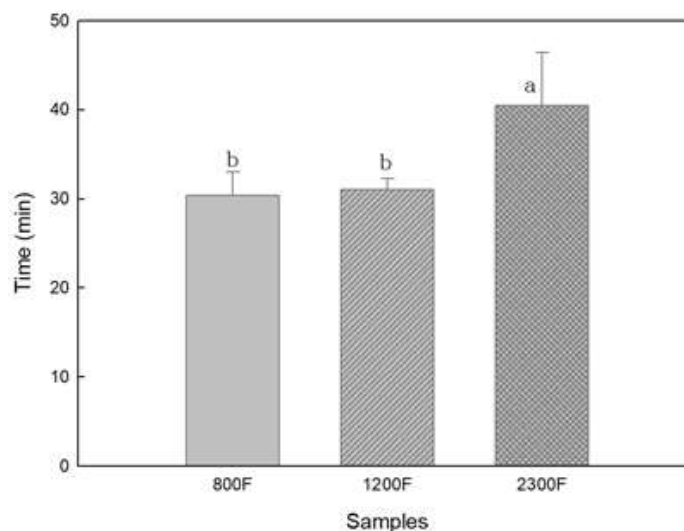


Fig. 5. Duration time of HA film with different molecular weight in mouth

분자량을 달리하여 제조한 HA 필름의 표면과 단면특성

HA 분자량 별로 제조된 800F-3, 1200F-3, 2300F-3 필름의 표면과 단면 및 두께를 SEM을 통해 확인한 결과는 그림 6과 같다. 필름의 표면 측정 결과 분자량 별로 제조된 필름은 각 시료 별로 비교적 균질한 형태를 보이며 표면이나 단면에서 큰 차이를 확인 할 수 없었으나 표면을 $\times 50,000$ 로 확대했을 때는 분자량이 커질수록 단면이 약간 거칠어지는 양상을 보였다. 단면을 $\times 500$ 로 확대하여 두께를 측정한 결과 800F-3, 1200F-3, 2300F-3 시료 순으로 52.6, 30.8, 20.2 μm 로 확인되었다.

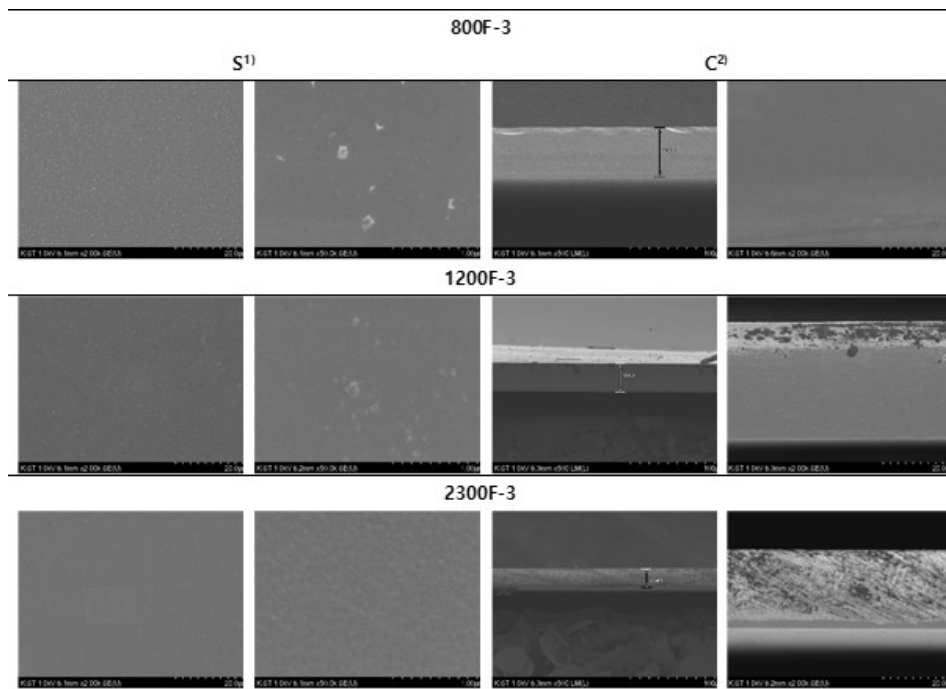


Fig 6. SEM images of the HA film (Mw 80, 120 and 230 HA films): ¹surface of the film, ²cross section of the film.

나. 관능검사를 통한 고령자 대상 최적조건에서 제조된 구강필름의 타액분비량 및 기호도 평가

추출물 첨가 유무에 따른 타액분비량 측정 결과

추출물 첨가 유무에 따른 타액분비량 측정 결과는 Table 8과 같다. 필름을 부착한 경우가 필름을 부착하지 않은 경우보다 33% 타액분비량이 증가하였으나, 구기자와 씹바귀 추출물을 첨가한 필름은 HA만으로 제조한 필름과 타액분비 면에서 유의적 차이를 보이지 않았다. 이는 1차년도에 천연추출물을 입게 머금고 타액분비량을 비교했을 때는 증류수를 사용한 대조군보다 유의적으로 타액분비량이 많았으나(씹바귀 추출물은 20%, 구기자 추출물은 33%), 본 실험에서 HA 필름에 첨가된 양은 소량이고, 추출물의 첨가유무에 상관없이 HA의 타액분비 효과가 높아 그 효과가 가려진 것으로 보인다. 즉, 타액분비 자극에는 추출물보다 HA가 더 큰 영향을 미치는 것으로 보여진다.

Table 8. Effect of HA film with/without extraction on saliva secretion

Samples	타액분비량(mm)
Control	28.5±4.25 ^b
800F-3	37.9±3.66 ^a
800F-3+ GG2.5+ SS1	38.7±3.51 ^a

800 means molecular weight of HA; F means film; 3 means application thickness; GG 2.5 means Pueraria lobata Ohwi 2.5% addition; SS1 means Ixeridium dentatum 1% addition

관능검사를 통한 추출물 첨가 유무에 따른 필름의 선호도 평가 결과

추출물 첨가 유무에 따른 기호도 평가의 결과는 Table 9와 같다. 각 항목의 평균은 5~7점대의 결과가 나타났다. 800F-3시료를 부착하였을 때와 800F-3+GG2.5+SS1시료를 부착하였을 때, 모든 항목에서 큰 차이를 보이지 않았으며 불편함 정도를 제외하면 다른 항목들은 5점에서 6점대의 점수를 나타냈다. 피험자들의 기타 의견 중에서는 화하고, 강하고, 상쾌한 향과 맛을 첨가했으면 좋겠다는 의견이 공통적으로 많이 나타났다. 이는 청량감을 주는 추출물의 첨가를 통해 필름의 전반적인 기호도를 보완할 필요가 있다고 사료된다.

Table 9. Sensory results of HA film with/without extraction

	800F-3	800F-3+GG2.5+SS1
Appearance	6.00 ^a	5.83 ^b
Taste	5.22 ^{ns}	5.43
Inconvenience	7.41 ^{ns}	7.39
moistness	6.54 ^{ns}	6.74
Overall acceptability	5.41 ^{ns}	5.72

800 means molecular weight of HA; F means film; 3 means application thickness; GG 2.5 means Pueraria lobata Ohwi 2.5% addition; SS1 means Ixeridium dentatum 1% addition

○ 연구개발 추진전략 및 방법

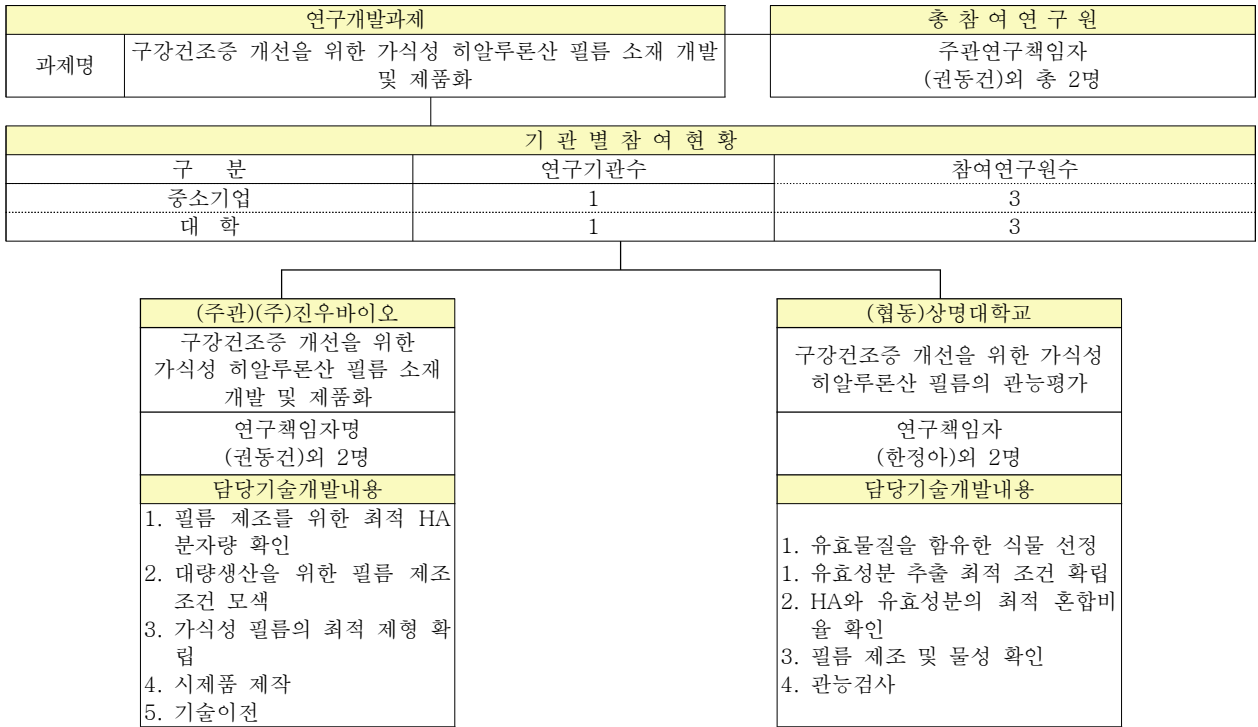
1차년도



2차년도



○ 연구개발 추진체계



○ 연구개발 추진일정

1차년도																
일련번호	연구내용	월별 추진 일정												연구개발비 (단위: 천원)	책임자 (소속기관)	
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12			
1	천연유래 유효식물 선정														20,000	한정아 (상명대)
2	최적 추출조건 확인														30,000	한정아 (상명대)
3	필름 제조를 위한 최적 HA 분자량 설정/대량 생산 기술 확보														80,000	권동건 (진우바이오)
4	HA 필름의 제조기술 확보														83,333	권동건 (진우바이오)
2차년도																
1	추출물과 HA 의 최적 비율 확인														15,000 53,333	한정아 (상명대) 권동건 (진우바이오)
2	가식성 필름의 최적 제형 확립/대량 생산 기술 확보														88,334	권동건 (진우바이오)
3	관능검사 및 타액관련 검사														40,000	한정아 (상명대)
4	시제품 생산과 기술 이전														70,000	권동건 (진우바이오)

가. 연구개발성과

(1) 성과목표에 대한 자체평가

성과목표	자 체 평 가
특허 관련 (출원 2건, 등록 1건)	달성 ○ (국내 출원 4건, 등록 1건, PCT출원 1건)
기술이전	달성 △ (보다 유리한 조건의 기술이전을 위한 조율 중, 국내 2개 업체)
고용창출 (1명)	달성 ○ (신규채용: 1명)
투자유치 (1백만원)	달성 ○ (2017년 12월)
논문 발표(SCI 1건, 비SCI 1건)	달성 △ (비SCI 논문 발표 1건, SCI는 현재 심사 중)
학술발표 4건	달성 ○ (총 4건)
인력양성 2명	달성 ○ (총 2명)

(2) 상세 연구 성과

(가) 논문게재 성과

게재연도	논문명	저자명	학술지명	Vol.(No.)	국내외 구분	SCI구분
2018	씀바귀와 갈근의 추출성분 및 타액분비효과 비교	한정아 외 4명	Korean J. Food Cook Sci.	34(4) 358-365	국내	×
2019	Confirmation of saliva secretion effect of edible film based on hyaluronic acid	한정아 외 4명	LWT-Food Science and Technology	심사 중	국외	○

(나) 특허성과

① 출원

출원 연도	특허명	출원인	출원국	등록번호
2017	자동 도포기에 의한 히알루론산염 필름의 제조방법 및 이로부터 제조된 히알루론산염 필름	(주)진우 바이오	대한민국	10-2017-0125213
2018	자동 도포기에 의한 구강건조 개선용 가식성 히알루론산염 필름의 제조방법 및 이로부터 제조된 구강건조 개선용 가식성 히알루론산염 필름	(주)진우 바이오	대한민국	10-2018-0000182

2018	히알루론산염 필름의 제조방법 및 이로부터 제조된 히알루론산염 필름	(주)진우 바이오	대한민국	10-2018-0027063
2018	히알루론산-폴리데옥시리보뉴클레오타이드 복합체와 이를 활용한 필름 및 이의 제조방법	(주)진우 바이오	대한민국	10-2018-0140876
2018	히알루론산염 필름의 제조방법 및 이로부터 제조된 히알루론산염 필름	(주)진우 바이오	해외	PCT/KR2018/002727 (PCT/KR2017/015633 보완 후 재 출원)

② 등록

등록연도	특허명	등록인	등록번호
2019	용매 캐스팅에 의한 히알루론산염 필름의 제조방법 및 이로부터 제조된 히알루론산염 필름	(주)진우바이오	10-1937681

③ 보고서 원문

등록연도	보고서 구분
2018	중간보고서 제출
2019	최종보고서 제출

④ 기타

㉠ 학술발표

발표일시	발표제목	발표자	장소, 국명
2017.09.21	히알루론산(hyaluronic acid)을 활용한 고부가가치 완제품 개발	홍주연	서울aT센터, 한국
2017.11.10	열수추출조건을 달리하여 추출한 썸바귀의 특성 및 타액분비 증진 효과 규명	한정아, 장진희	HICO(경주), 한국
2018.06.28	Characterization of hyaluronic acid(HA) as a thickener in foods	김선민 외 3명	BEXCO(부산), 한국
	Preparation of edible film containing hyaluronic acid and its saliva secretory effect for the elderly	정나희 외 5명	

㉡ 고용창출 및 연구인력양성

연도	구분	이름	소속	비고
2017	고용창출	방지현	(주)진우바이오	신규채용
2018	인력양성	장진희	상명대학교산학협력단	박사후 연구원
2018	인력양성	설유나	상명대학교산학협력단	학사

㉔ 전시회 참석

연도	유형	행사명칭	전시품목	장소
2017	전시회	FI KOREA 2017	HA	서울aT센터, 한국
2018	전시회	Suppliers' Day	HA 필름	Javits Convention Center, 미국

㉕ 사업화 현황

- HA 필름 제조 기술이전 관련 한국 콜마와 아이큐어 등 기술이전 협의 진행 중

나. 연구 결과

(1) 기술적 성과

1) 가식성 필름 제조 기술 확보

- HA 수분 보유력에 기인한 여러 항노화 효과 중 수분 보유력을 활용한 구강건조증 개선용 HA 필름 제조 기술 세계 최초로 확보
- 지금까지는 HA를 주원료로 하는 가식성 필름 전무, 셀룰로오스 또는 플루란 등의 다당체 또는 전분류 등을 필름화 성분으로 활용하여 필름 제조, HA는 항 노화 소재로 소량 첨가하여 흡수성이 향상된 구강용 미용 기능 식품용 필름화 기술만 존재

2) 가식성 필름 제조 기술 확보를 통한 추가 필름 용도 개발

- 본 과제를 통해 확보된 HA 필름화 기술을 활용하여 추가적으로 화장품용 고흡수성 경피용 HA 필름 제품화 기술 개발 진행 중
- 추가적으로 중기청 창업성장기술개발사업 수행 중
 - 과제번호: S2648353
 - 연구 기간: 2018년 10월~19년 9월
 - 정부지출연금: 1.99억
- 또한 추가적으로 의료기기용 유착방지제용 HA 필름 제품화 기술 개발 진행 중

(2) 경제적 성과

1) 매출 관련

- 본 과제 수행을 통해 얻은 HA 필름화 기술이전을 전제로 하여 한국 콜마와 한국 야쿠르트 등에 1차적으로 당사가 생산/판매하고 있는 HA 원료의 우선 공급자로 선정 되어 신규 유저 확보 통한 원료 판매 중
- 추가적으로 현재 국외 건강기능식품 전문업체 기술이전 진행 중
 - 일본: R사, K사 등

2) 관련 사업 기여도

- 구강건조증 개선을 위한 가식성 필름 제조 기술 확보를 통해 구강건조증 개선을 위한 건강 기능식품 뿐만 아니라 추가적으로 기존의 HA 활용한 미용 식품의 일반적인 제형 (음료, 캡슐 등)과의 차별성 부각을 통한 고부가가치화를 통한 신규 시장 창출 가능
- 기존의 미용 식품은 경구 투여에 의한 인체 내 흡수 통해 효능 발휘
- 필름의 경우 구강 내 사용을 점막 흡수를 통한 고효율 기대 가능

다. 결론

(1) 주관기관

- HA를 주원료로 하는 가식성 필름의 대량생산 기술 확보와 제품화 성공적 수행
- 관련 제품 자체적으로 시장 진입 완료: 추가적으로 한국과 일본의 메이저 업체 상대로 기술이전 진행 중

(2) 협동기관

- 가식성 HA 필름으로 물리 화학적 특성 분석 성공적 수행
- 다양한 필름 조성 (분자량과 필름 농도 및 두께 등)의 관능 평가를 통한 최적 가식성 필름 제형 확립 성공적 수행
- 최종적으로 연구 성과와 사업성과 모두 성공적으로 수행 완료

라. 사업화 성과

- HA 관련 건강 기능 식품 완제품 시장 기준

항목	세부항목			성 과
사업화 성과	매출액	개발제품	개발후 현재까지	-
			향후 3년간 매출 예상	20억원
		관련제품	개발후 현재까지	-
			향후 3년간 매출	30억원
	시장 점유율	개발제품	개발후 현재까지	-
			향후 3년간 매출	국내 : 5% 국외 : 1%
		관련제품	개발후 현재까지	-
			향후 3년간 매출	국내 : 10% 국외 : 2%
	세계시장 경쟁력 순위	현재 제품 세계시장 경쟁력 순위		1위
		3년 후 제품 세계 시장경쟁력 순위		1위

3. 목표 달성도 및 관련 분야 기여도

3-1. 목표

구분	내용
최종목표	1. 가식성 필름으로 활용하기 위한 HA 필름 제조 기술 확립 (특허출원 1개 이상) 2. 천연물에서 유래된 침샘자극물질 탐색 및 추출 조건 확립 3. HA를 주원료로 하는 최적 가식성 필름 제형 확립 (논문 1개 이상, 학술발표 2건 이상) 4. 최종 제품화 기술 확보 (시제품 제작 1개 이상) 5. 기술이전

3-2. 목표 달성여부

구분	내용	달성 여부
정성적 목표	1. 가식성 필름으로 활용하기 위한 HA 필름 제조 기술 확립 2. 천연물에서 유래된 침샘자극물질 탐색 및 추출 조건 확립 3. HA를 주원료로 하는 최적 가식성 필름 제형 확립 4. 최종 제품화 기술 확보 5. 기술 이전 (진행 중)	○
정량적 목표	1. 특허 출원 4건, 등록 1건, PCT 출원 1건 2. 기술이전 진행 중 3. 고용창출 1명 4. 투자유치 2.98억 5. 논문 SCI 1건 심사 중, 비SCI 1건 게재 6. 학술발표 4건 7. 인력양성 2명	○

3-3. 목표 미달성 시 원인(사유) 및 차후대책(후속연구의 필요성 등)

구분	원인/사유	차후대책
기술이전	원천 특허 확보를 통해 기술이전을 위한 최종 업체 선정이 현재 진행 중에 있으며, 보다 유리한 조건으로의 계약 체결을 위해 조율 중	2019년 내 계약 완료 예정
SCI 논문	관능검사에 필요한 시료 수와 참여인원의 증가로 결과 취합 후 통계처리가 다소 지연됨	LWT-Food Science and Technology 심사 중

4. 연구결과의 활용 계획 등

4-1. 활용 분야 및 활용 방안

(1) 가식성 필름

- 최근 HA를 활용한 미용과 관절 등의 건강기능식품 제형 인기
- 차별화된 기술 또는 특허 등이 없어 가격 경쟁력을 기반으로 한 제품군 난무
- HA 필름화 기술 관련 차별화된 특허를 기반으로 하여 기술이전 또는 자체 제품화를 통해 고부가가치 (구강건조증 개선) 식품 시장 진입 예정
- 건강기능식품으로 개발 가능
 - 현재 히알루론산은 식약처에 동일 규격으로 식품용, 건강기능식품 및 의약품 원료로 모두 사용 가능
 - 구강건조증 개선과 관련하여 인체 시험 조건에 의해 건강기능식품과 의료기기 등으로의 진행이 가능함

(2) 경피용 패치 관련

- 가격 경쟁이 치열한 기존 마스크 팩을 대체하는 특허권이 확보 가능하여 고부가가치 제품화가 가능한 HA 패치 또는 마스크 팩으로 제품화 예정

(3) 점막용 패치 관련

- 비강, 구강 등에 염증 발생 시 현재 사용하는 연고 차입이 아닌 점착이 가능한 점막용 필름 소재로 활용 예정
- 제품 사용과 보관이 용이 할 뿐만 아니라 점막 등의 상처 부위에 점착이 용이하여 상처 치료 및 보호 기능이 탁월하므로 고부가가치 제품화가 가능함

4-2. 추가 연구의 필요성

- 피부 기능성과 염증 억제 및 조직 재생 기능 자료 확보를 통한 의약품 개발 진행 예정

4-3. 타 연구에의 응용

- 당사가 원천 기술 개발 후 제품화 진행하고 있는 의약과 의료기기용 100% 필름의 기능성 개선 제품 (인공 피부, 유착방지제 등) 개발 진행 예정
- 추가적으로 고분자량의 HA를 사용한 필름 제조 공정 확보를 통해 장기 수술 후 사용되는 유착 방지제용 필름 제조 기술 개발 진행 예정
- 유착 방지제용으로 활용 예정인 HA 필름의 경우 PDRN (polydeoxyribonucleotide) 도입에 의해 조직 재생 능력과 인체 내 흡수 정도 증대를 통해 제품 가치 업그레이드 진행 예정

4-4. 기업화 추진 방안

- 현재 당사가 개발 진행 중인 HA 활용한 고체형 제품 (실과 필름)을 활용한 의약/의료기기 제품 시장 진입을 위한 생산 공장 구비를 위한 투자 작업 진행 중
 - 투자 진행 규모: 50~80억
 - 투자 완료 시기: 2019년 6월 내

- 공장 구비 완료 시기: 2019년 12월 내
- 공장 구비 시 당사 사정과 생산 설비 규모 등을 감안하여 일반 식품용이 아닌 의약외품 등으로의 HA 필름 제품군은 직접 생산 판매 검토 예정

4-5. 기술이전

- 기술이전을 위한 최종 업체 선정은 현재 진행 중임
- 본 과제 수행으로 개발된 히알루론산 필름 대량생산 기술의 제품화를 위해 국내 및 해외업체 기술이전이나 전략적 투자유치 작업이 진행 중에 있음
 - 국내업체: 한국 콜마, 메디플란트 등
 - 해외업체: 일본 오카하타, 중국 Medechi 등
- 기술이전 결과 건강기능식품으로 개발까지의 로드맵



[첨부] 한국 콜마와의 기술이전 진행 상황

보낸사람: Mark Kim

받는사람: 허현행

참조: Mike Kang, 이영록, 박동민, 권동권, 진우바이오

날짜: 19.03.22 19:15 GMT +0900

제목: Re: [진우바이오] 투자 관련 필요한 자료를 요청드립니다.

2019. 3. 22. 오후 6:44, 허현행 작성:

권 민성 대표님

일전에 진우바이오 권 대표님과는 의미있는 미팅 시간을 가졌습니다.

사업적 기회 뿐만 아니라 투자 제안도 같이 주신걸로 이해하고 있습니다. 이와 관련하여 당사 내부 프로세스상 투자를 위한 예비 투자심의위원회에 투자 타당성에 관한 보고서를 올려야 합니다.

보고서를 작성하다 보니 필요한 자료들이 있어 대표님께 연락드립니다 (투자와 관련해서는 권대표님과 논의하는 것으로 이해하고 있습니다). 필요한 자료를 List up 하여 첨부하였습니다 (NDA는 권대표님께 미팅시간에 직접 드렸습니다).

또한 실질적인 업무 진행을 위해 실무진을 배정해 주셔도 좋을 것 같습니다. 저희 쪽은 박영민 부장이 향후 진행에 필요한 연락을 드리게 될 것입니다.

관련하여 궁금하신 사항 있으시면 언제든지 알려주세요.
감사합니다.

허 현행 배상

허현행



한국콜마(주)

<진우바이오 요청자료리스트-기록 2-190322-v1.xlsx>

붙임. 참고문헌

저자	제목/명칭	저널명	Vol.(No.) & pages	연도
Fox et. al.	Xerostomia: evaluation of a symptom of increasing significance	J. Am. Dent. Assoc.	110, 519-525	1985
CH Shiboski et. al.	Management of salivary hypofunction during and after radiotherapy	Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod	103 Suppl:S66, 1-19	2007
L.Lapcik, Jr. et. al.	Hyaluronan: Preparation, Structure, Properties, and Applications	Chemical Reviews	98(8), 2663-2684	1998
L. C. Becker et. al.	Final Report of the Safety Assessment of Hyaluronic Acid, Potassium Hyaluronate, and Sodium Hyaluronate	Int. J. Toxicology	28(4S), 5-67	2009
Frederic Bonte et. al.,	Skin hydration: a review on its molecular mechanisms	J. Cosmetic Dermatology	6, 75-82	2007
G. Karakiulakis et al.	Hyaluronic acid A key molecule in skin aging	Dermato-Endocrinology	4(3), 253-258	2012
Kaur et. al.	A NOVEL APPROACH IN ORAL FAST DISSOLVING DRUG DELIVERY SYSTEM - A REVIEW	Amerian J. Pharmtech Research	2(1), 88-104	2012
JA Ship et. al.	Safety and effectiveness of topical dry mouth products containing olive oil, betaine, and xylitol in reducing xerostomia for polypharmacy-induced dry mouth	J. Oral Rehabilitation	10, 724-732	2007
J.B. Riana et.al.	Orally disintegrating film (ODF) for delivery of probiotics in the oral cavity – Development of a novel product for oral health	Innovation Food Science & Emerging Technologies	19, 277-232	2013
J.-H. Kng et. al.	Influences of hyaluronic acid on the anticandidal activities of lysozyme and the peroxidase system	Oral Disease	17(6), 577-583	2011
N.N. Kumar et. al.	Modified schirmer test - A screening tool for xerostomia among subjects on antidepressants	Archives of oral biology	59(8), 829-834	2014
S.R. Kim et. al.	Improvement of water solubility and humidity stability of tapioca starch film by informporating various gums	LWT-Food Science and Technology	64(1), 475-482	2015

[별첨 1]

연구개발보고서 초록

과 제 명	(국문) 구강건조증 개선을 위한 가식성 히알루론산 필름 소재 개발 및 제품화 (영문) Development of edible hyaluronic acid film for xerostomia treatment and its commercialization technology				
주관연구기관	(주)진우바이오		주 관 연 구 책 입 자	(소속) (주)진우바이오	
참 여 기 업	-			(성명) 권 동 건	
총연구개발비 (480,000천원)	계	480,000	총 연 구 기 간	2017.06.15.~2018.12.31.(1년 6개월)	
	정부출연 연구개발비	360,000	총 참 연 구 원 수	총 인 원	14
	기업부담금	120,000		내부인원	14
	연구기관부담금	0		외부인원	-

○ 연구개발 목표 및 성과

- 1) 가식성 필름으로 활용을 위한 HA 필름 제조 기술 확립
(특허 출원 4건, 등록 1건, PCT 출원 1건)
- 2) 천연물에서 유래된 침샘자극물질 탐색 및 추출 조건 확립
SCI 논문 1건, 학술발표 4건
- 3) HA를 주원료로 하는 최적 가식성 필름 제형 확립
SCI 논문 1건, 학술발표 4건, 특허 출원 4건
- 4) 최종 제품화 기술 확보: 대량생산 기술 확보를 통한 제조 원가 파악
- 5) 기술이전: 기술이전 진행 중 (2019년 6월 중 완료 예정)

○ 연구내용 및 결과

1. 가식성 필름으로 활용하기 위한 HA 필름 제조기술 확립
 - 가식성 필름 제조 위한 HA 최적 분자량 설정 및 대량생산 기술 확보
: 관능 평가 등을 통해 0.8MDa HA가 구강용 필름으로서 최적임을 확인, 대량생산 기술 확보
 - 다양한 방법에 의한 필름 HA 제조 기술 확보
: 용매 캐스팅과 자동 도포기에 의한 HA 필름 제조 기술 확보
 - 필름의 물리적 특성 확인(기계적 물성, 용해성, 기계적 강도 등)
: 분자량별, 필름의 두께별 필름의 물성 등 확인
2. 천연물에서 유래된 침샘자극물질 탐색 및 추출 조건 확립
 - 침샘 자극물질을 함유한 천연물 확인 및 그 추출물의 최적 추출조건 확인
: 갈근과 씌바귀 추출물 등의 추출 조건 확립
3. HA를 주원료로 하는 최적 가식성 필름 제형 확립
 - 천연물과 HA 등의 최적 비율 확인
: 기타 추출물 첨가 없이 기존 HA만으로 충분한 구강건조증 개선 효과 확인
 - 최종 제형화된 필름의 물리적 특성 확인(기계적 물성, 용해성 등)
: 최적 설정된 가식성 필름 조성 (분자량 0.5~0.8MDa, 필름 두께)의 기계적 물성과 투명도 등 확인
 - 관능검사를 통해 식감과 효능이 우수한 조성 확인
: 인체 관능평가를 통해 최적 가식성 필름 제형 조성 확립
4. 최종 제품화 기술 확보
 - 다양한 필름 제조 방법을 적용하여 최적 제품화 기술 확보
: 자동 도포기에 의한 대량생산 조건 확립
 - 시제품 생산
: 1일 가로 1m, 길이 300m의 HA 필름 대량생산 조건 확립을 통한 원가 파악 완료

5. 기술이전 완료

- 국내업체 중 한국 콜마, 아이큐어와 기술이전 협의 중

○ 연구 성과 활용 실적 및 계획

1. 제품화 관련

- 1) 대량생산 공정을 확보하여 시제품 생산을 통해 원가 파악 완료 (가식성 필름)
- 2) 특허 출원하여 기술 확보 완료
- 3) 용도별 제품화 위한 법규 검토 중이며, 1차로 가식성 필름으로 전문업체에 기술이전하여 진행 예정
- 4) 추가로 2019년에 구비할 의약품, 의료기기, 의약외품 관련 당사 GMP 생산기지에서 생산 판매를 진행하며 고가의 의약외품은 직접 진입도 검토 중임

2. 판로 확보 계획

1) 수출 관련

- 프랑스 S사
- 일본 R사 D사
- 중국 C사, H사, S 사 등 통해 기술이전 또는 제품 인허가 관련 법규 등록을 통해 판매 진행 예정

2) 내수 판매 관련

- 국내 건강기능식품/제약/의약외품, 의료기기 전문업체와 제휴나 기술이전으로 판매 진행 예정

3. 기대 효과

1) HA 필름화 기술 확보를 통해 고부가가치의 차별화된 시장 진입 가능

- 1차로 일반 가식성 필름
- 기능성 확보를 통한 구강건조증 개선용 건강기능식품
- 화장품용 경피용 패치
- 점막용 건조증 개선을 위한 의약외품용 패치
- 구강 염증 치료를 위한 의약외품용 패치
- 최종 고가의 수술용 유착방지제로 활용 가능

2) 가격경쟁력 치열한 기존의 정제와 캡슐 및 음료 형태의 미용과 건강 기능성 식품에 특허권이 확보된 HA 필름화 기술을 적용하여 고부가가치의 구강 내 사용 가능한 가식성 필름 제품화 가능

3) 최종 국내·외 기술이전 등 통해 빠른 시장 진입 통한 매출 확대 가능

자체평가의견서

1. 과제현황

		과제번호		117071-02	
사업구분	고부가가치식품개발사업				
연구분야	농림식품융복합/농생명신소재·시스템/기능성소재		과제구분	단위	
사업명	고부가가치식품개발사업			주관	
총괄과제	기재하지 않음		총괄책임자	기재하지 않음	
과제명	구강건조증 개선을 위한 가식성 히알루론산 필름 소재 개발 및 제품화		과제유형	(기초,응용, <u>개발</u>)	
연구기관	(주)진우바이오		연구책임자	권동건	
연구기간 연구비 (천원)	연차	기간	정부	민간	계
	1차연도	2017.06.15.~ 2018.12.31.	160,000	53,333	213,333
	2차연도	2018.01.01.~ 2018.12.31.	200,000	66,667	266,667
	계		360,000	120,000	480,000
참여기업	-				
상대국	-	상대국연구기관	-		

2. 평가일 : 2019년 2월 1일

3. 평가자(연구책임자) :

소속	직위	성명
(주)진우바이오	대표	권동건

4. 평가자(연구책임자) 확인 :

본인은 평가대상 과제에 대한 연구결과에 대하여 객관적으로 기술하였으며, 공정하게 평가하였음을 확약하며, 본 자료가 전문가 및 전문기관 평가 시에 기초자료로 활용되기를 바랍니다.

확약	권동건
----	-----

I. 연구개발실적

1. 연구개발결과의 우수성/창의성

■ 등급 : (아주우수, 우수, 보통, 미흡, 불량)

본 연구는 국내외에서 연구된 바 없으며, 그 결과물로 HA 원료의 고부가가치화가 가능해짐

2. 연구개발결과의 파급효과

■ 등급 : (아주우수, 우수, 보통, 미흡, 불량)

화학적 약품 사용과 일시적인 효과를 지닌 현재 시판되고 있는 액상 구강건조증 제품의 단점을 보완하기 위하여 본 과제 수행을 통해 사용 편의성과 경제성이 부여된 제품이 출시되면 시장 진입에 용이할 것으로 예상됨

3. 연구개발결과에 대한 활용가능성

■ 등급 : (아주우수, 우수, 보통, 미흡, 불량)

결과물인 구강건조증 개선 HA 필름을 의약품으로 활용 예정

4. 연구개발 수행노력의 성실도

■ 등급 : (아주우수, 우수, 보통, 미흡, 불량)

연구 목표 달성을 위해 주관기관과 협동기관 연구자들이 매우 성실히 수행하였음

5. 공개발표된 연구개발성과(논문, 지적소유권, 발표회 개최 등)

■ 등급 : (아주우수, 우수, 보통, 미흡, 불량)

계획된 목표에 따라 특허 출원 및 등록을 완료하였고 추가적으로 해외특허 출원을 위한 PCT 출원이 완료되었고 논문 및 학술발표를 통해 연구의 질을 높였음

II. 과제 기한 내 연구목표 달성도

세부연구목표 (연구계획서상의 목표)	비중 (%)	달성도 (%)	자체평가
가식성 필름 제조	20	100	<ul style="list-style-type: none"> • 달성 • 특허 출원(4건) 및 등록(1건) • PCT 출원 (1건) • 비SCI 논문 게재, SCI 투고 준비 중
타액분비율	20	100	<ul style="list-style-type: none"> • 달성 • 대조군 대비 타액분비량이 35% 이상 증가된 것을 확인함 • 결과 관련 특허 출원과 논문으로 달성 완료
관능검사	20	100	<ul style="list-style-type: none"> • 달성 • IRB 허가 후 임상 수행 통해 가식성 필름 최적 제형 확인
특허 출원	20	100	<ul style="list-style-type: none"> • 달성 • 특허 출원 및 등록
시제품 생산	20	100	<ul style="list-style-type: none"> • 달성 • 1일 기준 폭 1m, 길이 300m 이상의 HA 필름 대량생산 기술 확보
합계	100점	100%	

III. 종합의견

1. 연구개발결과에 대한 종합의견

- 당초 목표로 HA 필름 관련 원천 기술 확보 완료
- 1차로 구강 내 사용을 위한 가식성 필름 최적 제형 확립 완료
- 기존 생산 설비를 이용한 대량생산 공정 확보를 통한 제품화 공정 확보 완료

2. 평가시 고려할 사항 또는 요구사항

- 당사는 항노화 미용 관련 바이오 소재 개발과 이를 활용한 신규 의약, 의료기기 완제품 개발 전문 기업으로, 전문화된 의약/의료기기 분야 이외의 식품, 화장품 분야 관련 개발된 기술은 과감히 기술이전을 통한 사업화 추진이 기본 기업 방침임
- 현재 가식성 필름 관련 한국의 복수 업체와 진행 중이나 업체별로 진행 조건이 달라서 최적의 기술이전 업체 선정을 통해 진행 예정임
- 따라서 기술이전 관련 성과는 2019년 내에 완료 할 예정

3. 연구결과의 활용방안 및 향후조치에 대한 의견

- 본 과제를 통해 확보된 HA 필름화 기술을 활용하여 1차로 가식성 필름으로 활용 예정
- 기능성 확인을 통해 구강건조증 개선용 건강기능식품으로 활용 예정
- 최종 경피용 패치 뿐만 아니라 의약, 의료기기 제품화 관련 진행 예정

IV. 보안성 검토

1. 연구책임자의 의견

본 과제 수행으로 확보된 원천 특허는 국내 등록되어 공개해도 무방하나, PCT 출원과 등록 완료를 위해 가능하다면 3년 정도 보안 유지가 필요함

2. 연구기관 자체의 검토결과

과제 수행에 의해 특허 출원 및 등록되어 일부 특허권 확보하여 공개해도 무방하지만, PCT 출원과 등록 완료를 위해 가능하다면 3년 정도 보안 유지가 필요함

[별첨 3]

연구성과 활용계획서

1. 연구과제 개요

사업추진형태	<input checked="" type="checkbox"/> 자유응모과제 <input type="checkbox"/> 지정공모과제	분 야	농림식품융복합/농생명신소재·시스템 /기능성소재	
연구과제명	구강건조증 개선을 위한 가식성 히알루론산 필름 소재 개발 및 제품화			
주관연구기관	(주)진우바이오		주관연구책임자	권동건
연구개발비	정부출연 연구개발비	기업부담금	연구기관부담금	총연구개발비
	360,000	120,000		480,000
연구개발기간	2017.06.15 ~ 2018.12.31			
주요활용유형	<input checked="" type="checkbox"/> 산업체이전 <input type="checkbox"/> 교육 및 지도 <input type="checkbox"/> 정책자료 <input type="checkbox"/> 기타() <input type="checkbox"/> 미활용 (사유:)			

2. 연구목표 대비 결과

당초목표	당초연구목표 대비 연구결과
가식성 필름으로 활용하기 위한 HA 필름 제조기술 확립	<ul style="list-style-type: none"> • 가식성 필름 제조를 위한 HA 최적 분자량 설정 및 대량생산 기술 확보 • 다양한 방법에 의한 필름 HA 제조 기술 확보 • 필름의 물리적 특성 확인(기계적 물성, 용해성 등)
천연물에서 유래된 침샘자극물질 탐색 및 추출 조건 확립	<ul style="list-style-type: none"> • 침샘 자극물질을 함유한 천연물 확인 및 그 추출물의 최적 추출조건 확인
HA를 주원료로 하는 최적 가식성 필름 제형 확립	<ul style="list-style-type: none"> • 천연물과 HA 등의 최적 비율 확인 • 최종 제형화된 필름의 물리적 특성 확인(기계적 물성, 용해성 등) • 관능검사를 통해 식감과 효능이 우수한 조성 확인
최종 제품화 기술 확보	<ul style="list-style-type: none"> • 다양한 필름 제조 방법을 적용하여 최적 제품화 기술 확보 • 시제품 생산
기술이전 완료 (국내)	<ul style="list-style-type: none"> • 국내 한국 콜마와 아이큐어 등 기술이전 협의 진행 중

3. 연구목표 대비 성과

성과 목표	사업화지표										연구기반지표									
	지식 재산권			기술 실시 (이전)		사업화					기술 인증	학술성과				교육 지도	인력 양성	정책 활용·홍보		기타 (타 연구 활용 등)
	특허 출원	특허 등록	품종 등록	건 수	기술 료	제품 화	매출 액	수출 액	고용 창출	투자 유치		논문		논문 평균 IF	학술 발표			정책 활용	홍보 전시	
												SCI	비 SCI							
단위	건	건	건	건	백 만원	백 만원	백 만원	백 만원	명	백 만원	건	건	건	건	명	건	건			
가중치	20	20		20		10			20	10										
최종 목표	2	1		1	10 0				1	1		1	1	4	2					
연구 기간내 달성 실적	5	1							1	29 8		0.5	1	4	2					
달성율 (%)	25 0	10 0							10 0	29 80		50	10 0	10 0	10 0					

4. 핵심기술

구분	핵심 기술 명
①	분자량별 HA 필름 제조 기술
②	분자량별 HA 필름의 대량생산 기술
③	구강건조증 개선을 위한 HA 필름 최적 제형화 기술
④	구강건조증 개선을 침샘 자극과 침 분비율 측정 기술

5. 연구결과별 기술적 수준

구분	핵심기술 수준					기술의 활용유형(복수표기 가능)				
	세계 최초	국내 최초	외국기술 복	외국기술 제	외국기술 소화흡수 개선개량	특허 출원	산업제이전 (상품화)	현장애로 해	정책 자료	기타
①의 기술	✓	✓				✓				
②의 기술	✓	✓				✓				
③의 기술	✓	✓				✓				
④의 기술	✓	✓				✓				

6. 각 연구결과별 구체적 활용계획

핵심기술명	핵심 기술 별 연구결과활용계획 및 기대효과
① 분자량별 HA 필름 제조 기술	<ul style="list-style-type: none"> 분자량 별 HA 필름 제조 기술 추가 아이템으로 개발 중인 경피용 필름과 의료기기용 필름화 기술 개발에 활용
② 분자량별 HA 필름의 대량생산 기술	<ul style="list-style-type: none"> 분자량별 HA 필름 대량생산 기술 추가 아이템으로 개발 중인 경피용 필름과 의료기기용 필름화 기술 개발을 통한 제품화 시 활용 예정
③ 구강건조증 개선을 위한 HA 필름 최적 제형화 기술	<ul style="list-style-type: none"> 구강건조증 개선을 위한 HA 필름 최적 제형화 기술 국내 전문 업체 기술이전 시 활용 예정
④ 구강건조증 개선을 침샘 자극과 침 분비율 측정 기술	<ul style="list-style-type: none"> 구강건조증 개선을 침샘 자극과 침 분비율 측정 기술 구강건조증 관련 기능성 취득을 위한 개별 인정 진행 시 활용 예정

7. 연구종료 후 성과창출 계획

성과목표	사업화지표										연구기반지표								
	지식 재산권			기술 실시 (이전)		사업화					기술 인정	학술성과			교육 지도	인력 양성	정책 활용·홍보		기타 (타 연구활용 등)
	특허 출원	특허 등록	품종 등록	건수	기술료	제품화	매출액	수출액	고용 창출	투자유치		논문		학술 발표			정책 활용	홍보 전시	
												SCI	비SCI						
단위	건	건	건	건	백만원	건	백만원	백만원	명	백만원	건	건	건	건	명				
가중치	20	20		20		10			20	10									
최종목표	2	1			200	1	3,000	1,000	3	1		1	1		4		2		
연구기간 내 달성실적	5	1							1	298			1		4		2		
연구종료 후 성과창출 계획				2	200	1	3,000	1,000	2			1							

8. 연구결과의 기술이전조건(산업체이전 및 상품화연구결과에 한함)

- 기술이전 업체와 계약 조건 협의 중

주 의

1. 이 보고서는 농림축산식품부에서 시행한 고부가가치식품기술개발사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표하는 때에는 반드시 농림축산식품부에서 시행한 고부가가치식품기술개발사업의 연구 결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니됩니다.