

(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구
국제사무국

(43) 국제공개일
2023년 1월 12일 (12.01.2023)

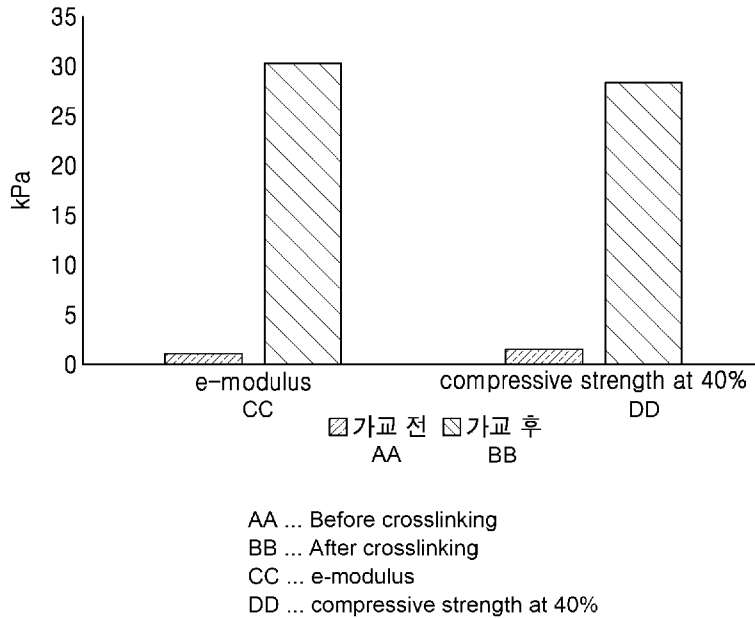


(10) 국제공개번호
WO 2023/282658 A1

- (51) 국제특허분류: *A61L 27/52* (2006.01) *A61L 15/28* (2006.01)
A61L 27/20 (2006.01) *A61F 2/00* (2006.01)
A61L 31/14 (2006.01) *C08L 5/08* (2006.01)
A61L 31/04 (2006.01) *C08K 3/32* (2006.01)
A61L 15/60 (2006.01) *C08K 5/053* (2006.01)
- (21) 국제출원번호: PCT/KR2022/009842
- (22) 국제출원일: 2022년 7월 7일 (07.07.2022)
- (25) 출원언어: 한국어
- (26) 공개언어: 한국어
- (30) 우선권정보: 10-2021-0089206 2021년 7월 7일 (07.07.2021) KR
- (71) 출원인: 주식회사 메디팜 (MEDIFAB CO., LTD.) [KR/KR]; 08594 서울특별시 금천구 가산디지털1로 5, 417호, Seoul (KR).
- (72) 발명자: 차미선 (CHA, Mi Sun); 08016 서울특별시 양천구 신목로 7, 101동 1202호, Seoul (KR). 김수희 (KIM, Su Hee); 07916 서울특별시 양천구 남부순환로 64길 23, 101동 101호, Seoul (KR). 이수희 (LEE, Soo Hee); 08603 서울특별시 금천구 범안로 1212, 103동 1913호, Seoul (KR).
- (74) 대리인: 리앤목 특허법인 (Y.P.LEE, MOCK & PARTNERS); 06292 서울특별시 강남구 언주로 30길 13 대림아크로텔 12층, Seoul (KR).
- (81) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 국내 권리의 보호를 위하여): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CV, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IQ, IR, IS, IT, JM, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW,

(54) Title: COMPOSITION FOR PREPARING MULTI-CROSSLINKED TEMPERATURE-SENSITIVE HYDROGEL, AND USE THEREOF

(54) 발명의 명칭: 다중 가교된 온도감응성 하이드로겔 제조용 조성물 및 이의 용도



(57) Abstract: The present application relates to a composition for preparing a temperature-sensitive hydrogel and to a use thereof, and provides a temperature-sensitive hydrogel composition and a method for preparing a temperature-sensitive hydrogel composition by using same composition, the temperature-sensitive hydrogel composition comprising: a first agent of a liquid formulation including an aqueous solution containing chitosan and phosphate ion; and an aqueous solution containing 0.05-3.5% by weight of chitosan and 0.1-40% by weight of phosphate ion with respect to the total weight of the first agent composition.

(57) 요약서: 본 출원은 온도감응성 하이드로겔 제조용 조성물 및 이의 용도에 관한 것으로서, 키토산 및 인산 이온이 함유된 수용액을 포함하는 액상 제형의 1 제를 포함하며, 상기 1 제 조성물 전체 중량에 대하여, 0.05 내지 3.5 중량%의 키토산, 0.1 내지 40 중량%의 인산 이온이 함유된 수용액을 포함하는 온도감응성 하이드로겔 조성물, 및 상기 조성물을 이용한 온도감응성 하이드로겔 조성물을 제조하는 방법을 제공한다.



WO 2023/282658 A1

SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN,
TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW.

- (84) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 역
내 권리의 보호를 위하여): ARIPO (BW, GH, GM, KE,
LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM,
ZW), 유라시아 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 유
럽 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI,
FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK,
MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI
(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML,
MR, NE, SN, TD, TG).

공개:

- 국제조사보고서와 함께 (조약 제21조(3))

명세서

발명의 명칭: 다중 가교된 온도감응성 하이드로겔 제조용 조성물 및 이의 용도

기술분야

- [1] 본 출원은 2021년 7월 7일 출원된 대한민국 특허출원 제 10-2021-0089206호를 우선권으로 주장하고, 상기 명세서 전체는 본 출원의 참고문헌이다.
- [2] 다중 가교된 온도감응성 하이드로겔 제조용 조성물 및 이의 용도에 관한 것이다.

배경기술

- [3] 인체 피부의 조직은 콜라겐, 엘라스틴 등의 단백질과 글리코사미노글리칸을 포함하는 세포외기질에 의해 그 구조를 유지하고 있다. 이러한 피부 조직은 외부의 충격, 질병, 수술 또는 노화 등으로 인해 피부 조직의 결손이 발생할 수 있다. 따라서 생체재료를 통한 피부 조직 증강이 의학 및 미용 목적으로 사용하여 왔다. 이러한 증강은 성형수술을 통해 외과적으로 이루어지거나, 해당 부위에 생체 조직이나 합성 고분자 화학물질을 주입 또는 부착하여 피부 조직을 회복, 복원, 교정하여 왔다.
- [4] 이러한 피부 조직 증강에 사용되는 생체재료 중 피부조직과 유사한 성분으로 특정 부위에 삽입되어 연부조직을 확장시킴으로써 미용상으로 볼, 입술, 가슴, 엉덩이 등의 부피를 확대시키고, 피부의 잔주름 및 깊은 주름의 감소를 통한 주름개선이나 윤곽교정 등에 사용되는 물질을 연부조직 확장제(soft tissue augmentation material)라 하는데 일반적으로 피부용 필러(dermal filler)라고 한다.
- [5] 유착(adhesion)은 외과적인 수술 후에 피부나 복강 내부에 형성된 상처의 치유과정에서 섬유조직이 과도하게 생성되거나 유출된 혈액이 응고되어 주변의 장기나 조직이 상처 부위와 서로 달라붙어 결합되는 현상을 의미한다. 종래에는 유착이 예상되는 부위에 물리적 장벽을 형성함으로써 수술 부위와 정상 조직 사이에서 유착이 일어나는 것을 방지하기 위한 생체재료로서 유착방지제를 주로 사용해왔다.
- [6] 또한, 생체재료 중 창상피복재는 외부의 충격, 질병, 수술 또는 노화 등으로 인하여 피부 조직이 손상되었을 때, 손상 부위에 습윤 환경을 제공함으로써 회복 및 치유를 촉진할 수 있다.
- [7] 이러한 생체재료에 사용될 수 있는 고분자 중, 하이드로겔은 다량의 수분을 함유하는 고분자 네트워크 구조를 가진 물질로 단일중합체 또는 공중합체 등에 의해 형성되는 물질을 지칭한다. 합성 고분자로 만든 하이드로겔은 가교 결합을 통해 분자들 사이에 화학적 공유결합과 같은 강한 결합력을 가지고 있기 때문에 천연 고분자와 달리 강한 기계적 물성을 가지고 있어 온도와 외력 등 외부 자극에 대해 하이드로겔 형태가 손상되는 경우가 비교적 드물다. 그러나, 합성

고분자 기반의 하이드로젤의 경우, 생체 적합성, 효능 유지 및 적응증에 따른 제조 방법의 차이 등의 측면에서의 개선이 필요한 실정이다.

- [8] 이러한 합성 고분자 기반의 하이드로젤은 가교율(또는 교차 결합율)에 따라 필러의 점성, 탄성, 체내 안정성 등의 물성이 달라진다. 따라서, 생체재료의 물성을 변화시켜, 적응증 등의 용도에 따라 사용할 수 있는 기술에 대한 연구 개발이 활발하게 이루어지고 있으나(한국등록특허 10-2100506), 아직은 미비한 실정이다. 예를 들어, 높은 물성의 겔이 필요한 적응증의 경우, 주입력이 너무 높아서 활용이 제한적인 문제점이 있다. 따라서 기존 천연/합성 폴리머를 이용한 제형의 장점을 극대화하면서 단점들을 보완하고, 체내 안정성이 높으면서도, 적응증에 따라 적절한 수준의 점성 및 탄성을 변화시킬 수 있는 새로운 개념의 차세대 생체재료의 개발이 요구된다.

발명의 상세한 설명

기술적 과제

- [9] 일 양상은 키토산 및 인산 이온이 함유된 수용액을 포함하는 액상 제형의 1제를 포함하는 온도감응성 하이드로젤 조성물을 제조하기 위한 조성물로서, 상기 1제 조성물 전체 중량에 대하여, 0.05 내지 3.5 중량%의 키토산, 0.1 내지 40 중량%의 인산 이온이 함유된 수용액을 포함하는 것인, 온도감응성 하이드로젤 조성물을 제조하기 위한 조성물을 제공하는 것이다.
- [10] 다른 양상은 키토산 이온을 포함하는 용액 및 인산 이온이 함유된 수용액을 혼합하여 액상 제형의 1제를 제조하는 단계 및 상기 액상 제형의 1제를 안정화시키는 단계를 포함하는, 온도감응성 하이드로젤 조성물을 제조하는 방법을 제공하는 것이다.
- [11] 또 다른 양상은 상기 방법에 의해 제조된 온도감응성 하이드로젤 조성물을 제공하는 것이다.
- [12] 또 다른 양상은 상기 방법에 의해 제조된 온도감응성 하이드로젤 이용한 시술 방법을 제공하는 것이다.

과제 해결 수단

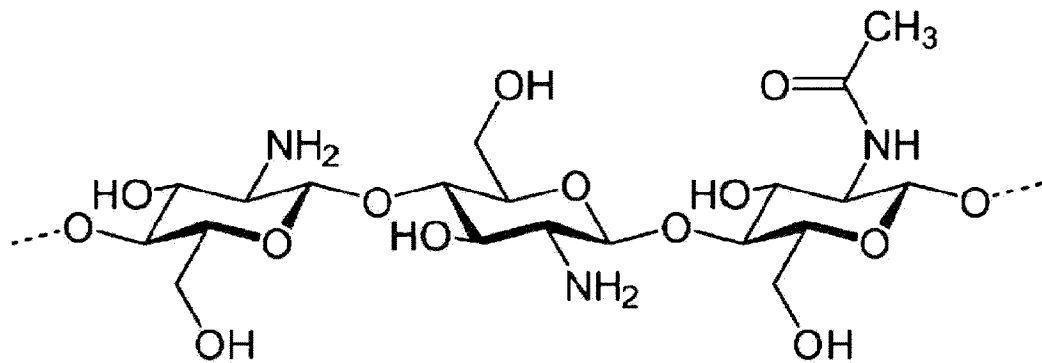
- [13] 일 양상은 키토산 및 인산 이온이 함유된 수용액을 포함하는 액상 제형의 1제를 포함하는 온도감응성 하이드로젤 조성물을 제조하기 위한 조성물을 제조하기 위한 조성물을 제공하는 것이다.
- [14] 본 명세서에서 용어 "하이드로젤(hydrogel)"은 친수성 고분자가 공유 또는 비공유 결합으로 가교되어 만들어진 3차원 망상구조물을 의미할 수 있다. 구성 물질의 친수성으로 인해 수용액 내 및 수성 환경 하에서 많은 양의 물을 흡수하며 팽윤하지만 가교 구조에 의해 용해되지 않는 성질을 가지고 있다. 따라서 구성성분과 제조방법에 따라 다양한 형태와 성질을 가진 하이드로젤이 만들어질 수 있으며 일반적으로 다량의 수분을 함유하고 있으므로 액체와 고체의 중간 성질을 갖는 것일 수 있다.

- [15] 일례로서, 상기 "하이드로겔"은 용어 "조직 수복용 생체재료" 또는 "조직 수복용 생체재료 조성물"과 상호 교환적으로 사용될 수 있다.
- [16] 일 실시예에서, 상기 하이드로겔은 조직 수복용 생체재료일 수 있으며, 이는 조직 수복에 사용되는 물질일 수 있다. 예를 들어, 주름이 자리한 피부 또는 볼륨이 필요한 부위에 주입되는 연부 조직과 유사한 충전 물질, 수술 부위와 정상 조직 사이에서 유착 방지 물질, 조직 접착 물질, 인공 피부를 위한 창상 피복 물질 등을 지칭하는 것일 수 있다. 상기 하이드로겔은 예를 들어, 미간, 이마, 눈밑애교살, 눈가주름, 팔자주름, 볼, 입가주름, 턱 등의 신체 부위에 적용될 수 있다. 상기 하이드로겔은 인체에 직접적으로 적용되는 물질로서 생체 적합성을 지니고 있어야 한다. 예를 들어, 하이드로겔이 볼륨이 필요한 부위에 충전된 경우, 주입 후 오랜 기간 볼륨감을 형성할 수 있도록 겔 형상에 대한 우수한 유지력/지속력이 필요하다. 하이드로겔이 수술 부위에 유착 방지를 위해 사용되는 경우, 상처 부위에서의 조직 적합성을 가지며, 세포 독성이 적거나 없어야 한다. 창상 피복 물질로 사용되는 경우, 부착 및 도포 상태를 유지할 수 있도록 우수한 유지력/지속력이 필요하다. 또한, 하이드로겔 시술 조건에 따라, 피부 표면이 울퉁불퉁하게 변하거나 시술 결과가 바람직하지 않을 수 있으므로, 체내 형성된 하이드로겔을 용이하게 분해 또는 변형시킬 수 있어야 한다.
- [17] 본 명세서에서 용어 "조직 수복용"은 손상 또는 노화된 조직의 구조와 기능을 복원시키는 것을 지칭하며, 예를 들어, 미용용 필러 용도, 유착방지제 용도, 접착제 용도, 창상 피복제 용도, 성형용 보형물 용도 등을 포함할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [18] 본 명세서에서 용어 "온도감응성"은 주변 온도에 따라 그 제형이 변화되는 물리적 특성을 의미하는 것으로서, 실온 조건, 예를 들어, 4 내지 25°C 조건에서는 액상 제형, 즉, 졸 형태로 존재하되, 예를 들어, 25 내지 60°C 조건에서는 겔 형태로 전환되는 특성을 지칭하는 것일 수 있다.
- [19] 본 명세서에서 용어 "다중 가교"는 1종 이상의 가교제 (예를 들어, 인산 이온, 글리세롤 또는 이들의 조합)를 이용하여 여러 번 가교된 것을 의미하는 것으로서, 1종 이상의 가교제를 이용하여 다중 가교함으로써 하이드로겔의 기계적 물성 및 분해속도 등을 조절할 수 있다. 상기 하이드로겔에 포함된 1종 이상의 가교제의 중량비를 다양하게 조절하여 점탄성 및 분해속도를 조절할 수 있으며, 이를 통해 주입력 조절 및 다양한 적응증에 활용할 수 있다.
- [20] 일 실시예에서, 상기 다중 가교는 체외에서 1차 가교를 통해 겔화가 된 소재가 체내로 주입이 된 후, 체내 조건에서 2차 가교되어 수행될 수 있다. 예를 들어, 높은 물성의 하이드로겔을 필요로 하는 적응증의 경우, 1차 가교를 통해 주입력을 조절하고, 2차 가교를 체내에서 수행하여 고물성을 구현할 수 있다.
- [21] 본 명세서에서 "체내 조건"이란 개체의 체온, 체액 성분, 체내 pH, 체내 염도 등 2차 가교될 수 있는 조건이라면 제한되지 않는다. 예를 들어, 상기 체내 조건은 염기성 조건일 수 있다.

- [22] 일 구체예에 있어서, 상기 1제는 키토산 및 인산 이온이 함유된 수용액을 포함하는 액상 제형의 조성물일 수 있다.
- [23] 본 명세서에서 용어 “키토산(chitosan)”은 D-글루코사민과 N-아세틸글루코사민으로 이루어진 선형 다당류를 의미할 수 있다. 상기 키토산은 하기 구조식 1로 표시될 수 있으며 대게, 새우와 갑각류 껍데기를 수산화나트륨 염기로 처리함으로써 수득할 수 있으나, 이에 제한되지 않는다. 상기 키토산은, 순수 키토산 외에, 키토산 유도체를 포함할 수 있다. 예를 들어, 상기 키토산 유도체는 프탈화 키토산, 에스터화 키토산, 아미드화 키토산, 또는 포르밀화 키토산 중에서 적어도 어느 하나를 포함할 수 있다:

[24] [구조식 1]

[25]



- [26] 본 명세서에서 용어, “인산 이온”은 키토산의 아민기와 결합하여 상기 1제 및 실온 조건에서 형성된 온도감응성 하이드로겔의 강도를 강화시키는데 기여하는 성분으로서, 일례로서, 인산 이온이 함유된 수용액 형태로 제공될 수 있다. 상기 인산 이온이 함유된 수용액은 예를 들어, 인산나트륨 이염기, 인산나트륨 일염기, 인산 암모늄 이염기성, 인산 이수소, 인산 트리나트륨, 인산칼륨 이염기성, 인산칼륨 일염기성, 다이메틸포스페이트, 모노마그네슘 인산염, 마그네슘 인산염 이염기, 리튬 디수소 인산염, 리튬 인산염, 칼슘수소인산염 수화물, 칼슘수소인산염으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 적어도 1 이상의 인산염을 포함하는 것일 수 있으나, 상기 인산 이온이 함유된 수용액은 키토산의 아민기와 결합할 수 있는 인산기 또는 인산염을 제공할 수 있는 물질이라면, 비제한적으로 확장 적용될 수 있다.
- [27] 상기 키토산이 함유된 수용액은 1제 조성물 전체 중량에 대하여, 0.01 내지 5 중량%, 0.01 내지 4 중량%, 0.05 내지 4 중량%, 또는 0.05 내지 3.5 중량%의 키토산이 함유된 수용액일 수 있다.
- [28] 예를 들어, 상기 키토산이 함유된 수용액의 함유량은 1제 조성물 총 중량에 대하여, 0.05 내지 3.5 중량%일 수 있다. 이때, 상기 키토산이 함유된 수용액의 함유량이 상기 범위 미만인 경우, 키토산 함량이 낮아서 체내 지속성이 떨어진다는 문제점이 있고, 상기 키토산이 함유된 수용액의 함유량이 상기 범위 이상인 경우, 키토산이 석출될 가능성이 있고, 점도가 높아 필터링 공정이

어렵다는 문제점이 존재한다.

- [29] 상기 인산 이온이 함유된 수용액은 1제 조성물 전체 중량에 대하여, 0.01 내지 50 중량%, 0.01 내지 45 중량%, 0.01 내지 40 중량%, 또는 0.1 내지 40 중량%으로 인산 이온이 함유된 수용액일 수 있다.
- [30] 예를 들어, 상기 인산 이온이 함유된 수용액의 함유량은 1제 조성물 총 중량에 대하여, 0.1 내지 40 중량%일 수 있다. 이때, 상기 인산 이온이 함유된 수용액의 함유량이 상기 범위 미만인 경우, 가교를 위한 인산 이온량이 충분하지 않아 하이드로겔을 형성하지 못한다는 문제점이 있고, 상기 인산 이온이 함유된 수용액의 함유량이 상기 범위 이상인 경우, 실온에서 가교 반응이 진행되어 실온 조건에서 주입이 가능한 온도감응성의 특징을 잃어버리는 동시에 pH 상승으로 키토산이 석출될 수 있다.
- [31] 일 양상에 따른 조성물은 키토산 및 인산 이온을 포함하고, 상기 키토산은 인산 이온에 의해 가교결합된 것일 수 있다. 상기 키토산은 키토산이 인산 이온과 가교 결합하여 키토산 중합체를 형성하는 것일 수 있다. 상기 가교결합은 공유결합 또는 비공유 결합일 수 있다. 일 구체예에서, 상기 키토산 인산 이온에 의해 비공유 결합을 형성하는 것일 수 있다.
- [32] 즉, 일 양상에 따른 온도감응성 하이드로겔 조성물은 키토산이 인산 이온에 의해 공유결합 및/또는 비공유 결합을 형성함에 따라 인산 이온의 종류 및 함량 조절을 통해 하이드로겔 조성물의 물성 (점성, 강도 등)을 조절할 수 있다. 따라서, 하이드로겔 조성물의 조직 수복 용도에 따라 하이드로겔 조성물의 물성을 조절하여 사용할 수 있다.
- [33] 상기 1제는 실온 조건에서 안정화된 것일 수 있다. 상기 1제는 예를 들어, 실온 조건에서 10일 이상 노출시키는 것일 수 있으며, 구체적으로 1시간 내지 10일, 12시간 내지 10일, 1 내지 10일, 1 내지 7일, 10일 내지 14일, 10일 내지 21일, 10일 내지 28일, 10일 내지 35일, 10일 내지 42일, 15일 내지 21일, 15일 내지 28일, 15일 내지 35일, 15일 내지 42일, 20일 내지 28일, 20일 내지 35일, 또는 20일 내지 42일일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 상기 안정화 과정은 1제 내 키토산의 아민기와 인산 이온간 이온 결합 수준을 조정하여, 하이드로겔의 물성 조절에 기여할 수 있다.
- [34] 일 구체예에서, 일 양상에 따른 온도감응성 하이드로겔 조성물은 1.5 내지 3.5% 키토산이 함유된 키토산이 함유된 수용액 및 인산 이온이 함유된 수용액을 혼합하여 제조한 것일 수 있다. 일 실시예에서, 상기 1제는 키토산이 함유된 수용액 1 중량부 당 인산 이온이 함유된 수용액을 0.01 내지 0.3 중량부, 0.02 내지 0.3 중량부, 0.03 내지 0.3 중량부, 0.04 내지 0.3 중량부, 0.05 내지 0.3 중량부, 0.06 내지 0.3 중량부, 0.07 내지 0.3 중량부, 0.08 내지 0.3 중량부, 0.09 내지 0.3 중량부, 0.1 내지 0.3 중량부, 0.1 내지 0.25 중량부, 0.1 내지 0.2 중량부, 0.1 내지 0.19 중량부, 0.1 내지 0.18 중량부, 0.11 내지 0.18 중량부, 0.115 내지 0.175 중량부, 0.12 내지 0.17 중량부, 0.12 내지 0.15 중량부, 0.12 내지 0.14 중량부, 0.12 내지

0.13 중량부, 0.13 내지 0.18 중량부, 0.13 내지 0.17 중량부, 0.13 내지 0.16 중량부, 0.13 내지 0.15 중량부, 0.14 내지 0.19 중량부, 0.15 내지 0.19 중량부, 0.16 내지 0.19 중량부 또는 0.16 내지 0.18 중량부로 포함할 수 있다. 일 실시예에서, 상기 1제는 2.5% 키토산이 함유된 수용액 1 중량부 당 인산나트륨 이염기가 함유된 수용액을 0.126 내지 0.169 중량부로 포함할 수 있다.

- [35] 일 구체예에서, 상기 키토산이 함유된 수용액 및 인산 이온이 함유된 수용액의 중량비는 1:0.10 이상 0.135 미만, 1:0.10 이상 0.13 미만, 1:0.101 이상 0.13 미만, 1:0.102 이상 0.13 미만, 1:0.103 이상 0.13 미만, 1:0.104 이상 0.13 미만, 1:0.105 이상 0.13 미만, 1:0.106 이상 0.13 미만, 1:0.107 이상 0.13 미만, 1:0.108 이상 0.13 미만, 1:0.109 이상 0.13 미만, 1:0.11 이상 0.13 미만, 1:0.111 이상 0.13 미만, 1:0.112 이상 0.13 미만, 1:0.113 이상 0.13 미만, 1:0.114 이상 0.13 미만, 1:0.115 이상 0.13 미만, 1:0.116 이상 0.13 미만, 1:0.117 이상 0.13 미만, 1:0.118 이상 0.13 미만, 1:0.119 이상 0.13 미만, 1:0.12 이상 0.13 미만, 1:0.121 이상 0.13 미만, 1:0.122 이상 0.13 미만, 1:0.123 이상 0.13 미만, 1:0.124 이상 0.13 미만, 1:0.11 내지 0.13, 1:0.11 내지 0.129, 1:0.11 내지 0.128, 1:0.11 내지 0.127, 1:0.115 내지 0.13, 1:0.115 내지 0.129, 1:0.115 내지 0.128, 1:0.115 내지 0.127, 1:0.12 내지 0.13, 1:0.12 내지 0.129, 1:0.12 내지 0.128, 1:0.12 내지 0.127 또는 1:0.123 내지 0.129 미만일 수 있다.
- [36] 일 구체예에서, 상기 키토산이 함유된 수용액 및 인산 이온이 함유된 수용액의 중량비는 1:0.13 이상 0.165 미만, 1:0.13 이상 0.16 미만, 1:0.13 이상 0.155 미만, 1:0.131 이상 0.15 미만, 1:0.132 이상 0.15 미만, 1:0.133 이상 0.15 미만, 1:0.134 이상 0.15 미만, 1:0.135 이상 0.15 미만, 1:0.13 이상 0.145 미만, 1:0.131 이상 0.145 미만, 1:0.132 이상 0.145 미만, 1:0.133 이상 0.145 미만, 1:0.134 이상 0.145 미만, 1:0.135 이상 0.145 미만, 1:0.13 이상 0.14 미만, 1:0.131 이상 0.14 미만, 1:0.132 이상 0.14 미만, 1:0.133 이상 0.14 미만, 1:0.134 이상 0.14 미만, 1:0.135 이상 0.14 미만, 1:0.13 이상 0.139 미만, 1:0.131 이상 0.139 미만, 1:0.132 이상 0.139 미만, 1:0.133 이상 0.139 미만, 1:0.134 이상 0.139 미만, 1:0.135 이상 0.139 미만, 1:0.13 이상 0.138 미만, 1:0.131 이상 0.138 미만, 1:0.132 이상 0.138 미만, 1:0.133 이상 0.138 미만, 1:0.134 이상 0.138 미만, 1:0.135 이상 0.138 미만, 1:0.13 이상 0.137 미만, 1:0.131 이상 0.137 미만, 1:0.132 이상 0.137 미만, 1:0.133 이상 0.137 미만, 1:0.134 이상 0.137 미만 또는 1:0.135 이상 0.137 미만일 수 있다.
- [37] 일 구체예에서, 상기 키토산이 함유된 수용액 및 인산 이온이 함유된 수용액의 중량비는 1:0.14 내지 0.19, 1:0.14 내지 0.18, 1:0.14 내지 0.17, 1:0.145 내지 0.19, 1:0.145 내지 0.18, 1:0.145 내지 0.17, 1:0.15 내지 0.19, 1:0.15 내지 0.18, 1:0.15 내지 0.17, 1:0.155 내지 0.19, 1:0.155 내지 0.18, 1:0.155 내지 0.17, 1:0.16 내지 0.19, 1:0.16 내지 0.18, 1:0.16 내지 0.17, 1:0.161 내지 0.17, 1:0.162 내지 0.17, 1:0.163 내지 0.17, 1:0.164 내지 0.17, 1:0.165 내지 0.17, 1:0.166 내지 0.17, 1:0.167 내지 0.17 또는 1:0.168 내지 0.17일 수 있다.

- [38] 일 구체예에서, 상기 키토산이 함유된 수용액 및 인산 이온이 함유된 수용액의 중량비가 1: 0.12 이상 0.13 미만의 범위에 해당하는 경우, 하이드로겔 조성물의 탄성 수준을 의미하는 복합 점도값이 500 Pa·s 이하의 수준으로 조정될 수 있으며, 이에 따라, 상기와 같이 제조된 조성물은 눈 주위 필러와 같은 미세 연부조직의 수복용 조성물, 창상 피복제, 주입/도포형 창상 피복제의 소재로 활용될 수 있다. 예를 들어, 상기 키토산이 함유된 수용액 및 인산 이온이 함유된 수용액의 중량비가 1: 0.13 이상 0.15 미만의 범위에 해당하는 경우, 하이드로겔 조성물의 복합 점도값이 500 Pa·s 내지 3000 Pa·s 범위의 수준으로 조정될 수 있으며, 이에 따라, 상기와 같이 제조된 조성물은 안면부 연부조직의 수복용 조성물, 관절강 활액 대체물, 창상 피복제, 또는 부착형 창상 피복제의 소재로 활용될 수 있다. 예를 들어, 상기 키토산이 함유된 수용액 및 인산 이온이 함유된 수용액의 중량비가 1: 0.16 내지 0.18의 범위에 해당하는 경우, 하이드로겔 조성물의 복합 점도값이 3000 Pa·s 내지 7000 Pa·s 범위의 수준으로 조정될 수 있으며, 이에 따라, 상기와 같이 제조된 조성물은 콧대 또는 이마 등의 조직 수복용 조성물, 또는 부착형 창상 피복제의 소재로 활용될 수 있다.
- [39] 즉, 일 양상에 따른 온도감응성 하이드로겔 조성물은 키토산 또는 인산 이온을 포함하는 용액간 부피비 조절을 통해 하이드로겔 조성물의 물성 (점성, 강도 등)을 조절할 수 있고, 하이드로겔 조성물의 조직 수복 용도에 따라 하이드로겔 조성물의 물성을 조절하여 사용할 수 있다. 상기 언급한 각 성분의 조성을 통해서, 보다 오랜 기간 안정적으로 물리적 특성을 유지시킬 수 있다.
- [40] 상기 1제 조성물은 예를 들어, 실온 조건에서 10일 이상 노출시키는 안정화 기간을 거칠 수 있으며, 또는 실온 조건에서 1 내지 7일 이하의 안정화 기간을 거칠 수 있다. 상기 안정화 기간을 통해서, 보다 오랜 기간 안정적으로 물리적 특성을 유지시킬 수 있다.
- [41] 상기 1제 조성물은 pH 5.0 내지 8.0, pH 5.5 내지 8.0, pH 5.5 내지 7.5, 또는 pH 5.5 내지 7.0를 나타낼 수 있다. 상기 pH가 상기 범위 초과인 경우, 생체소재가 석출될 수 있으며, 상기 pH가 상기 범위 미만인 경우 피부 pH에 영향을 미칠 수 있다.
- [42] 상기 1제 조성물은 탈세포 기질을 더 포함하는 것일 수 있다.
- [43] 본 명세서에서 사용된 용어 “탈세포 기질”은 “탈세포 조직”, “탈세포화된 세포외기질” 또는 “탈세포 소재”와 상호 교환적으로 사용될 수 있다. 상기 탈세포 기질은 사람, 또는 돼지나 소 등 동물의 조직, 장기에 탈세포화(decellularization)를 수행해 세포외 기질을 제외한 다른 세포 성분, 예를 들면 핵, 세포막, 핵산 등을 제거한 것을 의미한다. 이렇게 탈세포화된 세포외기질인 탈세포 기질의 경우, 세포가 성장 및 분화하기에 더욱 자연스러운 생체모방 미세환경을 제공할 수 있다.
- [44] 본 명세서에서 사용된 용어 “세포외기질(extracellular matrix, ECM)”은 은 조직내 또는 세포외의 공간을 채우고 있는 생체고분자의 복잡한 집합체를

의미한다. 세포외기질은 섬유성 단백질, 프로테오글리칸과 같은 복합 단백질, 피브로넥틴, 라미닌 등의 세포 부착성 단백질 등 세포에 의해 합성되고 세포외에 분비 축적된 다양한 종류의 분자로 구성된다. 따라서 세포외기질은 유래 세포의 종류 또는 세포의 분화 정도에 따라 그 성분이 달라질 수 있다.

- [45] 일 실시예에서, 상기 탈세포 기질은 1제 조성물 전체 중량에 대하여, 0.05 내지 20중량% 로 포함된 것일 수 있으며, 0.06 내지 20중량%, 0.07 내지 19중량%, 0.08 내지 18중량%, 0.09 내지 17중량%, 0.1 내지 16중량%, 0.15 내지 15중량% 또는 0.20 내지 15중량%일 수 있다.
- [46] 상기 탈세포 기질은 이에 제한되는 것은 아니나, 피부조직, 심장조직 또는 지방조직에서 유래된 것일 수 있다. 또한, 상기 생체환경감응성 하이드로겔 조성물은 피부조직 유래 탈세포 기질, 심장조직 유래 탈세포 기질 및 지방조직 유래 탈세포 기질로 구성된 군에서 선택되는 하나 이상을 포함하는 것일 수 있다.
- [47] 일례로서, 상기 탈세포 기질은 지방조직 유래 탈세포 기질에 대하여 심장조직 유래 탈세포 기질의 중량비가 1 : 0.01 내지 1, 1 : 0.1 내지 0.9, 1 : 0.1 내지 0.8, 1 : 0.1 내지 0.7, 1 : 0.1 내지 0.6, 1 : 0.1 내지 0.5, 1 : 0.1 내지 0.4, 1 : 0.15 내지 0.4, 1 : 0.15 내지 0.35 또는 1 : 0.2 내지 0.3 일 수 있고, 바람직하게는 1 : 0.25일 수 있다.
- [48] 또한, 상기 탈세포 기질은 피부조직 유래 탈세포 기질에 대하여 심장조직 유래 탈세포 기질의 중량비가 1 : 0.01 내지 1, 1 : 0.1 내지 0.9, 1 : 0.1 내지 0.8, 1 : 0.1 내지 0.7, 1 : 0.1 내지 0.6, 1 : 0.1 내지 0.5, 1 : 0.1 내지 0.4, 1 : 0.15 내지 0.4, 1 : 0.15 내지 0.35 또는 1 : 0.2 내지 0.3 일 수 있고, 바람직하게는 1 : 0.25일 수 있다.
- [49] 탈세포 기질이 상기 범위의 중량비로 포함되는 경우, 뛰어난 혈관화 지방조직 유도능을 보여주나, 범위를 벗어나는 경우, 혈관화 지방조직 유도능이 현저하게 감소할 수 있다.
- [50] 한편, 상기 탈세포 기질은 분산력을 높이기 위하여, 효소가 포함된 산성 용액에 용해된 것일 수 있다. 상기 산성 용액의 pH는 3 내지 6.5, pH는 3.5 내지 6.5, pH는 4 내지 6.5, pH는 4.5 내지 6.5, pH는 5 내지 6.5, 5.2 내지 6.3, 5.4 내지 6.1, 5.6 내지 5.9일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [51] 상기 효소의 경우, 단백질을 분해하는 단백질분해효소(protease)일 수 있으며, 예컨대, 펩신(pepsin), 펩티데이스(peptidase), 트립신(trypsin) 또는 파파인(papain)일 수 있으며, 바람직하게는 펩신일 수 있으나 이에 제한되는 것은 아니다.
- [52] 일 구체예에서, 상기 다중 가교된 온도감응성 하이드로겔 조성물을 제조하기 위한 조성물은 글리세롤이 함유된 액상 제형의 2제를 더 포함할 수 있다.
- [53] 상기 2제는 안정화된 상기 1제와 혼합되어 혼합물 내부의 공유 결합 또는 비공유 결합 수준을 조정하여, 하이드로겔에 점탄성 특성 부여하는 것일 수 있다.
- [54] 상기 2제는 글리세롤 원액 또는 글리세롤이 함유된 수용액을 함유하는 것일 수

있으며, 예를 들어, 상기 글리세롤 원액을 포함하는 경우 2제는 100% 글리세롤을 100 중량%로 함유할 수 있다.

[55] 일 구체예에서, 상기 키토산 및 글리세롤에 의해 공유결합을 형성하는 것일 수 있다. 다른 구체예에서, 상기 키토산 인산 이온에 의해 비공유 결합을 형성하는 것일 수 있다. 따라서, 상기 키토산 중합체는 인산기와의 비공유결합 및 글리세롤과의 공유결합을 모두 포함할 수 있다.

[56] 즉, 일 양상에 따른 온도감응성 하이드로겔 조성물은 키토산이 글리세롤 및/또는 인산 이온에 의해 공유결합 및/또는 비공유 결합을 형성함에 따라 가교제의 종류 및 함량 조절을 통해 조성물의 물성 (점성, 강도 등)을 조절할 수 있다.

[57] 일 실시예에서, 상기 2제는 상기 1제의 키토산이 함유된 수용액 1 중량부 당 글리세롤을 0.01 내지 0.3 중량부, 0.01 내지 0.25 중량부, 0.01 내지 0.2 중량부, 0.01 내지 0.15 중량부, 0.01 내지 0.10 중량부, 0.01 내지 0.08 중량부, 0.01 내지 0.07 중량부, 0.01 내지 0.06 중량부, 0.01 내지 0.05 중량부, 0.01 내지 0.04 중량부, 0.015 내지 0.2 중량부, 0.015 내지 0.15 중량부, 0.015 내지 0.10 중량부, 0.015 내지 0.08 중량부, 0.015 내지 0.07 중량부, 0.015 내지 0.06 중량부, 0.015 내지 0.05 중량부, 0.015 내지 0.04 중량부, 0.015 내지 0.03 중량부, 0.02 내지 0.10 중량부, 0.02 내지 0.08 중량부, 0.02 내지 0.07 중량부, 0.02 내지 0.05 중량부, 0.02 내지 0.04 중량부, 0.02 내지 0.03 중량부, 0.03 내지 0.10 중량부, 0.03 내지 0.09 중량부, 0.03 내지 0.08 중량부, 0.03 내지 0.07 중량부, 0.03 내지 0.065 중량부, 0.04 내지 0.10 중량부, 0.04 내지 0.09 중량부, 0.04 내지 0.08 중량부, 0.04 내지 0.07 중량부, 0.04 내지 0.065 중량부, 0.05 내지 0.10 중량부, 0.05 내지 0.09 중량부, 0.05 내지 0.08 중량부, 0.05 내지 0.07 중량부, 0.05 내지 0.065 중량부, 0.06 내지 1.0 중량부, 0.06 내지 0.09 중량부, 0.06 내지 0.08 중량부, 0.06 내지 0.07 중량부, 0.06 내지 0.065 중량부, 0.07 내지 0.15 중량부, 0.07 내지 0.14 중량부, 0.07 내지 0.13 중량부, 0.08 내지 0.15 중량부, 0.08 내지 0.14 중량부, 0.08 내지 0.13 중량부, 0.09 내지 0.15 중량부, 0.09 내지 0.14 중량부, 0.09 내지 0.13 중량부, 0.10 내지 0.15 중량부, 0.10 내지 0.14 중량부, 0.10 내지 0.13 중량부, 0.11 내지 0.15 중량부, 0.11 내지 0.14 중량부, 0.11 내지 0.13 중량부, 0.12 내지 0.15 중량부, 0.12 내지 0.14 중량부 또는 0.12 내지 0.13 중량부로 포함할 수 있다. 일 실시예에서, 상기 2제는 상기 1제의 2.5% 키토산이 함유된 수용액 1 중량부 당 100% 글리세롤을 0.024 내지 0.122 중량부로 포함할 수 있다.

[58] 일 구체예에서, 상기 다중 가교된 온도감응성 하이드로겔 조성물을 제조하기 위한 조성물은 상기 2제를 상기 글리세롤을 상기 1제의 키토산이 함유된 수용액 1 중량부 당 0.001 내지 0.06 중량부, 0.001 내지 0.05 중량부, 0.001 내지 0.04 중량부, 0.001 내지 0.03 중량부, 0.01 내지 0.06 중량부, 0.01 내지 0.05 중량부, 0.01 내지 0.04 중량부, 0.01 내지 0.03 중량부, 0.015 내지 0.06 중량부, 0.015 내지 0.05 중량부, 0.015 내지 0.04 중량부, 0.015 내지 0.03 중량부, 0.02 내지 0.06

중량부, 0.02 내지 0.05 중량부, 0.02 내지 0.04 중량부, 0.02 내지 0.03 중량부, 0.021 내지 0.06 중량부, 0.021 내지 0.05 중량부, 0.021 내지 0.04 중량부, 0.021 내지 0.03 중량부, 0.022 내지 0.06 중량부, 0.022 내지 0.05 중량부, 0.022 내지 0.04 중량부, 0.022 내지 0.03 중량부, 0.023 내지 0.06 중량부, 0.023 내지 0.05 중량부, 0.023 내지 0.04 중량부, 0.023 내지 0.03 중량부, 0.02 내지 0.029 중량부, 0.02 내지 0.028 중량부, 0.02 내지 0.027 중량부, 0.02 내지 0.026 중량부, 0.02 내지 0.025 중량부 또는 0.022 내지 0.026 중량부로 포함할 수 있다.

- [59] 일 구체예에서, 상기 다중 가교된 온도감응성 하이드로겔 조성물을 제조하기 위한 조성물은 상기 2제는 상기 글리세롤을 상기 1제의 키토산이 함유된 수용액 1 중량부 당 0.025 내지 0.120 중량부, 0.03 중량부 내지 0.115 중량부, 0.03 중량부 내지 0.11 중량부, 0.03 내지 0.105 중량부, 0.03 내지 0.1 중량부, 0.03 내지 0.09 중량부, 0.03 내지 0.08 중량부, 0.03 내지 0.07 중량부, 0.04 중량부 내지 0.115 중량부, 0.04 중량부 내지 0.11 중량부, 0.04 내지 0.105 중량부, 0.04 내지 0.1 중량부, 0.04 내지 0.09 중량부, 0.04 내지 0.08 중량부, 0.04 내지 0.07 중량부, 0.05 중량부 내지 0.115 중량부, 0.05 중량부 내지 0.11 중량부, 0.05 내지 0.105 중량부, 0.05 내지 0.1 중량부, 0.05 내지 0.09 중량부, 0.05 내지 0.08 중량부, 0.05 내지 0.07 중량부, 0.06 중량부 내지 0.115 중량부, 0.06 중량부 내지 0.11 중량부, 0.06 내지 0.105 중량부, 0.06 내지 0.1 중량부, 0.06 내지 0.09 중량부, 0.06 내지 0.08 중량부 또는 0.06 내지 0.07 중량부로 포함할 수 있다.

- [60] 일 구체예에서, 상기 다중 가교된 온도감응성 하이드로겔 조성물을 제조하기 위한 조성물은 상기 2제를 상기 글리세롤을 상기 1제의 키토산이 함유된 수용액 1 중량부 당 0.062 내지 0.2 중량부, 0.065 내지 0.2 중량부, 0.07 내지 0.2 중량부, 0.08 내지 0.2 중량부, 0.09 내지 0.2 중량부, 0.1 내지 0.2 중량부, 0.11 내지 0.2 중량부, 0.12 내지 0.2 중량부, 0.062 내지 0.19 중량부, 0.065 내지 0.19 중량부, 0.07 내지 0.19 중량부, 0.08 내지 0.19 중량부, 0.09 내지 0.19 중량부, 0.1 내지 0.19 중량부, 0.11 내지 0.19 중량부, 0.12 내지 0.19 중량부, 0.07 내지 0.18 중량부, 0.08 내지 0.18 중량부, 0.09 내지 0.18 중량부, 0.1 내지 0.18 중량부, 0.11 내지 0.18 중량부, 0.12 내지 0.18 중량부, 0.07 내지 0.17 중량부, 0.08 내지 0.17 중량부, 0.09 내지 0.17 중량부, 0.1 내지 0.17 중량부, 0.11 내지 0.17 중량부, 0.12 내지 0.17 중량부, 0.07 내지 0.16 중량부, 0.08 내지 0.16 중량부, 0.09 내지 0.16 중량부, 0.1 내지 0.16 중량부, 0.11 내지 0.16 중량부, 0.12 내지 0.16 중량부, 0.07 내지 0.15 중량부, 0.08 내지 0.15 중량부, 0.09 내지 0.15 중량부, 0.1 내지 0.15 중량부, 0.11 내지 0.15 중량부, 0.12 내지 0.15 중량부, 0.07 내지 0.14 중량부, 0.08 내지 0.14 중량부, 0.09 내지 0.14 중량부, 0.1 내지 0.14 중량부, 0.11 내지 0.14 중량부, 0.12 내지 0.14 중량부, 0.07 내지 0.13 중량부, 0.08 내지 0.13 중량부, 0.09 내지 0.13 중량부, 0.1 내지 0.13 중량부, 0.11 내지 0.13 중량부, 0.12 내지 0.13 중량부 또는 0.115 내지 0.125 중량부로 포함할 수 있다.

- [61] 상기 2제 조성물은 탈세포 기질을 더 포함하는 것일 수 있다.

- [62] 일 구체예에서, 1제의 총 부피 중 키토산이 함유된 수용액과 인산 이온이 함유된 수용액의 중량비가 1: 0.11 이상 0.13 미만 인 경우에는 2제의 글리세롤 함량의 증가에 따라 생체소재 조성물의 탄성력이 증가할 수 있다. 예를 들어, 상기 키토산이 함유된 수용액 및 인산 이온이 함유된 수용액의 중량비가 1: 0.12 이상 0.013 미만의 범위에 해당하는 경우, 여기에 첨가되는 2제 조성물 내 글리세롤의 수준에 따라 20 내지 500 Pa·s 범위 내에서 글리세롤 함량의 증가는 생체 소재 조성물에 대한 강화된 탄성력을 부여할 수 있다.
- [63] 다른 구체예에서, 1제의 총 부피 중 키토산이 함유된 수용액과 인산 이온이 함유된 수용액의 중량비가 1: 0.16 내지 0.18의 범위인 경우에는, 오히려 2제의 글리세롤의 함량의 증가에 따라 생체소재 조성물의 탄성력이 감소할 수 있다. 예를 들어, 상기 키토산이 함유된 수용액 및 인산 이온이 함유된 수용액의 부피비가 1: 0.16 내지 0.18의 범위에 해당하는 경우, 여기에 첨가되는 2제 조성물 내 글리세롤의 수준에 따라 3000 내지 7000 Pa·s 범위 내에서 글리세롤 함량의 감소는 생체 소재 조성물에 대한 강화된 탄성력을 부여할 수 있다. 즉, 상기 1제 및 2제간 중량 비율의 조정은 생체 소재 조성물의 탄성력에 대한 2차적으로 조절을 가능하게 할 수 있다.
- [64] 상기 1제 및 2제의 중량 비율은 1:10 내지 10000:1일 수 있으며, 예를 들어, 상기 1제 및 2제의 중량 비율은 예를 들어, 1:5 내지 10000:1, 1:3 내지 10000:1, 또는 1:2 내지 10000:1일 수 있다. 예를 들어, 상기 1제 및 2제의 중량 비율은 2:1 내지 10000:1일 수 있다. 이때, 상기 중량 비율이 상기 범위 미만인 경우, 겔화가 일어나지 않거나 형성된 하이드로겔의 강도 수준이 매우 약하다는 문제점이 있고 상기 중량 비율이 상기 범위 이상인 경우, 겔화가 일어나지 않거나 형성된 하이드로겔의 강도 수준이 매우 약하다는 문제점이 존재한다. 1제의 비율이 높아 인산기의 농도가 과할 경우, 실온에서도 1제 내의 겔화가 진행되어 액상 상태에서 주입되어 체내 겔화가 진행된다는 온도감응성 필러만의 특성을 잃어버리게 되고, 2제의 비율이 높아 글리세롤의 농도가 과할 경우, 용액의 농도가 묽어져 체내 및 고온에서 겔화가 일어나지 않거나 형성된 하이드로겔의 물성이 매우 약해진다는 문제점이 있다.
- [65] 일 실시예에서, 조성물은 총 중량 대비 키토산이 함유된 수용액을 70 내지 90 중량%, 75 내지 90 중량%, 80 내지 90 중량%, 81 내지 90 중량%, 82 내지 90 중량%, 83 내지 90 중량%, 84 내지 90 중량%, 85 내지 90 중량%, 86 내지 90 중량%, 70 내지 89 중량%, 75 내지 89 중량%, 80 내지 89 중량%, 81 내지 89 중량%, 82 내지 89 중량%, 83 내지 89 중량%, 84 내지 89 중량%, 85 내지 89 중량%, 86 내지 89 중량%, 70 내지 88 중량%, 75 내지 88 중량%, 82 내지 88 중량%, 83 내지 88 중량%, 84 내지 88 중량%, 85 내지 88 중량%, 86 내지 88 중량%, 70 내지 87 중량%, 75 내지 87 중량%, 80 내지 87 중량%, 81 내지 87 중량%, 82 내지 87 중량%, 83 내지 87 중량%, 84 내지 87 중량%, 85 내지 87 중량% 또는 86 내지 87 중량%로 포함할 수 있다.

- [66] 일 실시예에서, 조성물은 총 중량 대비 인산 용액을 1 내지 20 중량%, 5 내지 20 중량%, 5 내지 17 중량%, 7 내지 17 중량%, 8 내지 17 중량%, 9 내지 17 중량%, 10 내지 17 중량%, 5 내지 15 중량%, 7 내지 15 중량%, 8 내지 15 중량%, 9 내지 15 중량%, 10 내지 15 중량%, 7 내지 14.5 중량%, 7 내지 13 중량%, 8 내지 13 중량%, 9 내지 13 중량%, 10 내지 13 중량%, 7 내지 12 중량%, 8 내지 12 중량%, 9 내지 12 중량%, 10 내지 14.5 중량%, 10 내지 12 중량%, 10 내지 11 중량% 또는 10.5 내지 12 중량%로 포함할 수 있다.
- [67] 일 실시예에서, 조성물은 총 중량 대비 글리세롤을 0.1 내지 20 중량%, 0.1 내지 15 중량%, 0.5 내지 15 중량%, 1 내지 15 중량%, 0.5 내지 13 중량%, 1 내지 13 중량%, 1 내지 12 중량%, 1 내지 11 중량%, 1 내지 10 중량%, 1.5 내지 15 중량%, 1.5 내지 13 중량%, 1.5 내지 12 중량%, 1.5 내지 11 중량%, 2 내지 15 중량%, 2 내지 13 중량%, 2 내지 12 중량%, 2 내지 11 중량% 또는 2 내지 10 중량%로 포함할 수 있다.
- [68] 일 구체예에 있어서, 상기 온도감응성 하이드로겔 조성물을 제조하기 위한 조성물은 하이드로겔 조성물의 강도 변화를 위한 염기성 수용액이 함유된 액상 제형의 3제를 더 포함할 수 있다. 일 실시예에서, 상기 하이드로겔 조성물에 3제를 더 포함하는 경우, 하이드로겔 조성물의 강도를 변화시킬 수 있다.
- [69] 본 명세서에서 3제에 포함된 "염기성 수용액"은 형성된 온도감응성 하이드로겔의 강도를 강화시키는데 기여할 수 있으며, 일례로서, 염기성 이온이 함유된 수용액 형태로 제공될 수 있다. 상기 염기성 수용액은 예를 들어, 암모니아, 수산화리튬, 수산화나트륨, 수산화칼륨, 수산화칼슘, 수산화마그네슘, 수산화아연, 수산화세슘, 수산화바륨, 수산화루비듐, 수산화제1철, 수산화제2철, 수산화알루미늄, 메틸아민, 에틸아민, n-프로필아민, n-부틸아민, 탄산칼슘, 중탄산칼륨, 탄산나트륨 및 중탄산나트륨 용액으로 이루어진 군으로부터 선택된 1종 이상을 포함하는 것일 수 있으나, 상기 염기성 이온은 염기성을 띠는 이온이라면 비제한적으로 확장 적용될 수 있다.
- [70]
- [71] 일 구체예에 있어서, 상기 1제 및 2제는 용기 내 분리된 공간에 격리되어 있는 것일 수 있다. 따라서, 사용하기 전 조건에서 키토산 및 인산 이온이 함유된 1제 및 글리세롤이 함유된 2제는 각각 액상 제형으로 유지 및 보관될 수 있다.
- [72] 일 구체예에서, 상기 1제 및 2제는 순차적인 혼합 및 안정화 공정으로 거쳐 체내 조건에서 겔화가 진행되는 온도감응성 하이드로겔을 형성하는 것일 수 있다. 도 1에 나타낸 바와 같이, 상기 1제는 키토산 및 인산 이온이 함유된 수용액간 혼합 및 안정화 과정을 통해 키토산의 아민기 및 인산 이온간 이온 결합을 형성하며, 이러한 과정은 하이드로겔의 강도 수준을 결정하는데 관여할 수 있다. 이후 상기 안정화된 1제와 글리세롤이 함유된 2제간 혼합은 키토산의 잔여 아민기와 글리세롤간 공유 결합을 형성하며, 이러한 과정은 하이드로겔의 점탄성을 결정하는데 관여할 수 있다.

- [73] 일 구체예에 있어서, 상기 1제 및 2제는 혼합되어 있는 것일 수 있다. 따라서, 사용하기 전 조건에서 키토산 및 인산 이온이 함유된 1제 및 글리세롤이 함유된 2제는 혼합된 상태의 액상 제형 또는 겔 제형으로 유지 및 보관될 수 있으며, 필요에 따라, 장기간 보관을 위하여 동결된 상태로도 보관될 수 있다.
- [74] 일 구체예에서, 상기 1제 및 2제는 순차적인 혼합 및 안정화 공정으로 거쳐 체외에서 겔화가 진행되는 온도감응성 하이드로겔을 형성하는 것일 수 있다.
- [75]
- [76] 다른 양상은 키토산 이온을 포함하는 용액 및 인산 이온이 함유된 수용액을 혼합하여 액상 제형의 1제를 제조하는 단계 및 상기 액상 제형의 1제를 안정화시키는 단계를 포함하는, 온도감응성 하이드로겔 조성물을 제조하는 방법을 제공한다.
- [77] 다른 양상은 상기 안정화시키는 단계 이후에 상기 안정화된 액상 제형의 1제와 글리세롤이 함유된 액상 제형의 2제를 혼합하는 단계를 더 포함하는 온도감응성 하이드로겔 조성물을 제조하는 방법을 제공한다.
- [78] 다른 양상은 상기 1제 및 2제의 액상 제형 혼합물을 체내 조건에서 다중 가교시키는 단계를 더 포함하는, 온도감응성 하이드로겔 조성물을 제조하는 방법을 제공한다.
- [79] 다른 양상은 하이드로겔 조성물의 강도 변화를 위한 염기성 수용액을 포함하는 3제를 추가로 혼합하는 단계를 더 포함하는 온도감응성 하이드로겔 조성물을 제조하는 방법을 제공한다.
- [80] 다른 양상은 키토산 이온을 포함하는 용액 및 인산 이온이 함유된 수용액을 혼합하여 액상 제형의 1제를 제조하는 단계 및 상기 액상 제형의 1제를 안정화시키는 단계; 및 상기 안정화된 액상 제형의 1제와 글리세롤이 함유된 액상 제형의 2제를 혼합하는 단계; 상기 혼합된 액상 제형의 조성물을 개체의 피내에 주입하는 단계를 포함하는, 온도감응성 하이드로겔 조성물을 시술하는 방법을 제공한다.
- [81] 상기 온도감응성 하이드로겔 조성물을 제조하는 방법, 또는 온도감응성 하이드로겔 조성물을 시술하는 방법은 전술한 온도감응성 하이드로겔 조성물을 제조하기 위한 조성물 그대로 포함하거나, 이를 이용하기 때문에, 이 둘 사이에 공통된 내용은 기재 생략한다.
- [82]
- [83] 일 양상에 따르면, 상기 방법에 의해 제조된 온도감응성 하이드로겔은 시술자에게 적응증 적용에 대한 편의성을 제공할 뿐만 아니라, 기존의 하이드로겔 조성물에 비해 체내 조건에서 오래동안 그 형상을 유지할 수 있고, 하이드로겔의 물리적 특성, 구체적으로 탄성 및 강도를 용이하게 조절 가능하므로, 다양한 형태의 조직의 형태 및 특성에 부합하는 하이드로겔을 제공할 수 있다.

발명의 효과

- [84] 일 양상에 따른 1제 및 2제가 혼합된 액상 제형의 하이드로겔 조성물은 주입 후 체내 조건에서 겔화가 진행되는 온도감응성 하이드로겔을 형성함으로써, 유통 및 하이드로겔 시술의 편의성을 제공함과 동시에 기존의 하이드로겔 조성물에 비해 체내 조건에서 오래동안 그 형상을 유지할 수 있다.
- [85] 또한, 일 양상에 따른 조성물에 따르면, 수산화나트륨 수용액 등과 같은 염기성 수용액을 적용함으로써, 형성된 하이드로겔 조성물의 강도를 간편하게 변화시킬 수 있다. 일 양상에 있어서, 적응증에 따라 상기 하이드로겔 조성물의 탄성 및 강도를 변화시킬 수 있으므로, 다양한 조직의 형태 및 특성에 부합하는 하이드로겔을 제공할 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [86] 도 1a는 일 실시예에 따른 온도감응성 하이드로겔의 시간의 경과에 따른 결합 형성을 나타낸 도이다.
- [87] 도 1b는 일 실시예에 따른 온도감응성 하이드로겔의 온도의 변화에 따른 물성 변화를 개략적으로 나타낸 도이다.
- [88] 도 2는 일 실시예에 따른 액상 형태의 1제 및 2제의 혼합 과정을 나타낸 도이다.
- [89] 도 3은 일 실시예에 따른 키토산 및 인산 이온을 포함하는 1제에서, 시간의 경과에 따른 점도 변화를 평가한 결과이다.
- [90] 도 4는 실시예 2.2.1 내지 2.2.9의 1제 및 2제의 성분의 비율에 따른 겔화 정도를 나타낸 도이다.
- [91] 도 5a는 실시예 2.2.1(G1) 내지 2.2.3(G3)의 1제 및 2제의 성분비에 따른 겔화 점도를 나타낸다.
- [92] 도 5b는 실시예 2.2.4(G4) 내지 2.2.6(G6)의 1제 및 2제의 성분비에 따른 겔화 점도를 나타낸다.
- [93] 도 5c는 실시예 2.2.7(G7) 내지 2.2.9(G9)의 1제 및 2제의 성분비에 따른 겔화 점도를 나타낸다.
- [94] 도 6a는 실시예 2.2.1(G1) 내지 2.2.9(G9)의 angular frequency에 따른 복합 점도(complex viscosity)를 나타낸 도이다.
- [95] 도 6b는 실시예 2.2.1(G1) 내지 2.2.9(G9)의 손실 탄성률(Loss modulus)에 대해 나타낸 도이다.
- [96] 도 6c는 실시예 2.2.1(G1) 내지 2.2.9(G9)의 저장 탄성률(Storage modulus)에 대해 나타낸 도이다.
- [97] 도 7a는 액상 제형의 1제와 2제를 혼합한 후, 37°C 조건에서 형성된 하이드로겔을 촬영한 도이다.
- [98] 도 7b는 액상 제형의 1제와 2제를 혼합한 후, 37°C 조건에서 형성된 하이드로겔의 1, 2, 3 및 4주치의 압축강도를 비교한 도이다.
- [99] 도 8a는 액상 제형의 1제와 2제를 혼합한 후, 37°C 조건에서 형성된

- 하이드로겔의 압력에 따른 압축 후 회복율을 비교한 도이다.
- [100] 도 8b는 액상 제형의 1제와 2제를 혼합한 후, 37°C 조건에서 형성된 하이드로겔의 압력에 따른 회복율을 정량화하여 나타낸 그래프이다.
- [101] 도 8c는 실시예 2.2.7(G7) 내지 2.2.9(G9)의 액상 제형의 1제와 2제를 혼합한 후, 37°C 조건에서 형성된 하이드로겔의 압축 후 변형을 비교한 도이다.
- [102] 도 9는 1제, 2제 및 NaOH를 포함하는 3제를 첨가하여 1시간 동안 가교하기 전과 후의 점성을 나타낸다.
- [103] 도 10a는 일 실시예에 따른 액상 제형의 1제와 2제를 마우스에 주입하고 마우스의 피내에서 형성된 하이드로겔의 형상을 육안 또는 현미경을 통해 확인한 결과이다.
- [104] 도 10b는 일 실시예에 따른 액상 제형의 1제와 2제를 마우스에 주입한 다음 시간에 따른 E-modulus 및 마우스 피내에서의 E-modulus를 비교한 도이다.
- [105] 도 10c는 일 실시예에 따른 액상 제형의 1제와 2제를 마우스에 주입한 다음 시간에 따른 E-modulus 정도 및 마우스 피내에서의 Compressive strength를 비교한 도이다.
- [106] 도 11a는 일 실시예에 따른 액상 제형의 1제와 2제를 마우스에 주입하고 1주일이 경과했을 때, 마우스의 외관을 관찰한 도이다.
- [107] 도 11b는 일 실시예에 따른 액상 제형의 1제와 2제를 혼합하여 마우스 피내에 주입하고 1주일이 경과했을 때, 하이드로겔을 마우스의 체외로 꺼내어 확인한 도이다.
- [108] 도 12a는 마우스에 PBS를 주입한 다음, 체내 면역 반응 여부를 확인한 결과이다.
- [109] 도 12b는 일 실시예에 따른 액상 제형의 1제와 2제를 주입한 다음, 마우스의 피내에서 형성된 키토산 필러(하이드로겔)에 의한 체내 면역 반응 여부를 확인한 결과이다.
- [110] 도 12c는 PBS 및 키토산 필러(하이드로겔)의 CD68 염색 영역을 3일, 7일, 14일에서 비교한 도이다.
- [111] 도 12d는 PBS 및 키토산 필러(하이드로겔)의 CD206 염색 영역을 3일, 7일, 14일에서 비교한 도이다.
- [112] 도 13은 온도 및 체액 동시 감응 겔화에 따른 물성 증가를 확인한 도이다.
- [113] 도 14a는 체외에서 온도 감응 겔화 후, 체액과 감응시킨 하이드로겔을 육안으로 확인한 도이다.
- [114] 도 14b는 액상 제형의 1제와 2제를 혼합한 후, 마우스의 피내에서 형성된 하이드로겔(분리형) 및 액상 제형의 1제와 2제를 혼합하여 체외에서 겔화한 후, 마우스의 피내에서 체액 감응 겔화한 하이드로겔(일체형)의 E-modulus를 비교한 도이다.
- [115] 도 14c는 액상 제형의 1제와 2제를 혼합한 후, 마우스의 피내에서 형성된 하이드로겔(분리형) 및 액상 제형의 1제와 2제를 혼합하여 체외에서 겔화한 후,

마우스의 피내에서 체액 감응 겔화한 하이드로겔(일체형)의 Compressive strength를 비교한 도이다.

- [116] 도 15는 액상 제형의 1제와 2제를 혼합한 후, 마우스의 피내에서 형성된 하이드로겔(분리형) 및 액상 제형의 1제와 2제를 혼합하여 체외에서 겔화한 후, 마우스의 피내에서 체액 감응 겔화한 하이드로겔(일체형)의 물성을 비교한 도이다.
- [117] 도 16은 일 실시예에 따른 액상 제형의 1제와 2제를 혼합한 후, 마우스의 피내에서 형성된 하이드로겔의 가교제 농도에 따른 분해속도를 비교한 결과이다.
- [118] 도 17은 일 실시예에 따른 탈세포 소재가 포함된 액상 제형의 1제와 2제를 혼합한 후, 마우스에 주입하기 전후의 하이드로겔의 모습 및 혼합된 액상 제형의 1제 및 2제를 주입한 마우스를 관찰한 도이다.
- [119] 도 18은 상기 도 17에서 확인한 체내 주입 전후 하이드로겔의 탄성도를 정량화한 결과이다.

발명의 실시를 위한 최선의 형태

- [120] 이하, 본 발명의 이해를 돕기 위하여 바람직한 실시예를 제시한다. 그러나 하기의 실시예는 본 발명을 보다 쉽게 이해하기 위하여 제공되는 것일 뿐, 하기 실시예에 의해 본 발명의 내용이 한정되는 것은 아니다.

[121]

[122] [실시예]

[123] 실시예 1. 온도감응성 하이드로겔 제조용 조성물의 제조

[124] 실시예 1.1. 키토산 및 인산 이온을 포함하는 1제의 제조

[125] 본 실시예에서는 35~37%의 HCl 용액 44.05ml와 증류수 455.95ml를 혼합하여 1N HCl 수용액 500ml를 제조하였다. 또한, 키토산 파우더 125g을 증류수 4500ml에 첨가하고, 이를 교반하여 키토산 파우더를 분산시켰다. 여기에 1N HCl 수용액 500ml을 첨가하고, 60°C의 물 중탕 조건에서 약 1시간 동안 혼합하여 키토산이 함유된 수용액을 제조하였다.

[126] 한편, 인산나트륨 이염기 (Sodium phosphate dibasic, Na_2HPO_4) 98.49g을 증류수 550ml에 완전히 용해시킨 후, 이를 0.45 μm 필터로 한 차례 여과하여, 인산나트륨 이염기 용액을 제조하였다. 이후, 상기 키토산이 함유된 수용액 5000ml를 계속 교반시키면서, 여기에 상기 인산나트륨 이염기 용액 550ml을 적정하여, 일 실시예에 따른 액상 제형의 1제를 제조하였다. 이후, 1ml 시린지에 상기 혼합 용액을 1.1ml씩 충전하고 고압증기 멸균을 진행한 후, 이를 실온에 보관하였다.

[127]

[128] 실시예 1.2. 글리세롤을 포함하는 2제의 제조

[129] 본 실시예에서는 100% glycerol을 사용하여 2제를 제조하였다.

[130]

[131] 실시예 2. 액상 제형의 조성물의 제조

[132] 실시예 2.1. 1제를 포함하는 조성물의 제조

[133] 본 실시예에서는 상기 실시예 1에서 제조된 액상 제형의 1제를 사용하여, 겔 제형을 형성하는 하이드로겔 조성물을 제조하고자 하였다. 상기 1제를 충분히 혼합한 뒤, 액상 제형의 하이드로겔 조성물을 제조하였다.

[134]

[135] 실시예 2.2. 1제 및 2제를 포함하는 조성물의 제조

[136] 본 실시예에서는 상기 실시예 1에서 제조된 액상 제형의 1제 및 2제를 사용하여, 겔 제형을 형성하는 하이드로겔 조성물을 제조하고자 하였다. 실온에서 액상 형태인 하이드로겔 조성물의 제조 과정의 일례는 도 2에 나타난 바와 같다. 구체적으로, 상기 1제 또는 2제가 각각 담긴 주사기의 밀봉캡을 열어 준 후, 커넥터를 사용하여 이들을 연결하였다. 이후, 양쪽 주사기의 밀대를 이동시켜 상기 1제 및 2제를 충분히 혼합한 뒤, 상기 혼합물을 하나의 주사기로 이동시켜, 액상 제형의 하이드로겔 조성물을 제조하였다.

[137]

[138] 상기 1제 및 2제에 포함된 키토산이 함유된 수용액, 인산나트륨 이염기 용액 및 글리세롤의 중량비는 하기 표 1과 같다.

[139] [표1]

실시예	키토산이 함유된 수용액	인산 용액	글리세롤
2.2.1 (G1)	1	0.126	0.024
2.2.2 (G2)			0.061
2.2.3 (G3)			0.122
2.2.4 (G4)		0.136	0.024
2.2.5 (G5)			0.061
2.2.6 (G6)			0.122
2.2.7 (G7)		0.169	0.024
2.2.8 (G8)			0.061
2.2.9 (G9)			0.122

[140] (단위: 중량부)

[141] [실험예]

[142] 실험예 1. 키토산 및 인산 이온을 포함하는 1제의 점도 평가

[143] 본 실험예에서는 액상 제형 1제의 점도를 시간의 경과에 따라 평가하여, 2제와의 혼합 전, 목적하는 물성 변화를 유도할 수 있는 1제의 안정화 기간을

도출하고자 하였다. 상기 제조된 액상 제형의 1제를 각각 1주, 2주, 3주, 4주간 실온에서 밀봉하여 보관하였고, 이에 따른 점도 변화를 평가하였다. 총 16ml의 1제를 대상으로 브룩필드 점도계 DV2TLV, Small sample adapter-spindle를 사용하여, 실온, 30초 간격으로 5분 동안 총 10포인트 측정(Multipoint 방법)하는 조건에서 점도를 평가하였다.

[144] 도 3은 키토산 및 인산 이온을 포함하는 1제의 점도 변화를 시간의 경과에 따라 평가한 결과이다. 도 3에 나타낸 바와 같이, 액상 제형의 1제를 제조하여 고압증기 멸균 공정을 수행한 직후와 실온에서 일정 기간 안정화한 후의 점도 특성은 명백하게 상이하였으며, 이러한 물리적 특성은 1제를 제조한 후 실온에서 약 수 일이 지난 후부터 어느 정도 안정화되는 경향을 나타내었다.

[145]

[146] **실험예 2. 온도감응성 하이드로겔의 성능 평가**

[147] 본 실험예에서는 액상 제형의 1제와 2제를 혼합한 후 겔화 전 액상 제형의 주입력, 37°C 조건에서 형성된 하이드로겔의 점탄성, 1제 및 2제의 성분의 비율에 따른 겔화 정도 및 상기 겔화에 따른 점도를 평가하였다. 주입력 평가에서, 상기 액상 제형의 1제를 실온에서 1주, 2주, 3주 또는 4주간 보관한 뒤, 이를 액상 제형의 2제와 혼합하였다. 이후, 26G 바늘을 연결하고 AND MCT-2150를 사용하여, 실온, 10 mm/min의 테스트 속도로 주입력을 평가하였다.

[148] 또한, 점탄성 평가에서, 상기 액상 제형의 1제를 실온에서 1주, 2주, 3주 또는 4주간 보관한 뒤, 이를 액상 제형의 2제와 혼합하였다. 이후, 액상 제형의 필터 조성물을 37°C 인큐베이터에서 24시간 보관한 뒤, 이에 따라 형성된 조직 수복용 하이드로겔의 점탄성을 회전형 레오미터(TA instrument Ltd., ARES-G2)를 사용하여, 25°C, 0.628 ~ 198 rad/s의 조건에서 측정하였다. 한편, 비교군으로는 현재 시판중인 Allergan 사의 필터 조성물을 사용하였다.

[149] 도 4는 실시예 2.2.1 내지 2.2.9의 1제 및 2제의 성분의 비율에 따른 겔화 정도를 나타낸 도이다. 본 실험예에서는 인산 나트륨 이염기 및/또는 글리세롤의 함량이 하이드로겔 조성물의 겔 형성에 미치는 영향을 확인하고자 하였다. 상기 실시예 2.2.1 내지 2.2.9의 각 성분 비율을 기준으로 하여, 키토산, 인산나트륨 이염기 용액을 포함하는 1제, 글리세롤을 포함하는 2제를 혼합하여 총 9개의 액상 제형의 하이드로겔 조성물을 제조하였다. 이후, 상기 조직 수복용 하이드로겔 조성물을 37°C 인큐베이터에서 약 24시간 보관한 뒤, 이들의 겔화 진행 여부를 평가하였다.

[150] 도 4에 나타낸 바와 같이, 인산나트륨 이염기 및 글리세롤의 비율에 따라 하이드로겔의 물성을 변화시킬 수 있으며, 그러한 물성 변화에 따라 상기 하이드로겔을 이용하려는 조직을 대체할 수 있는 수준의 겔화가 진행됨을 확인할 수 있었다.

[151] 도 5는 실시예 2.2.1 내지 2.2.9의 1제 및 2제의 성분의 비율에 따른 겔화에 따른 점도를 나타낸 도이다. 도 5에 나타낸 바와 같이, 인산이온 및 글리세롤의 비율이

증가할 수록 겔화 시간이 빠르게 나타났다. 구체적으로, 2.2.5 및 2.2.6의 겔화에 따른 점도값 증가가 가장 컸으며, 2.2.6이 점도 증가 시기는 2.2.5에 비해 더 이른 시점에 나타났다.

[152] 또한, 표 2와 도 6은 실시예 2.2.1 내지 2.2.9의 angular frequency에 따른 물성 변화를 확인한 결과이다. 도 6A는 실시예 2.2.1 내지 2.2.9의 angular frequency에 따른 복합 점도(complex viscosity)를 나타낸 도이다. 도 6B는 실시예 2.2.1 내지 2.2.9의 손실 탄성률(Loss modulus)에 대해 나타낸 도이다. 도 6C는 실시예 2.2.1 내지 2.2.9의 저장 탄성률(Storage modulus)에 대해 나타낸 도이다. 도 6A 내지 6C에 나타낸 바와 같이, 제1 및 2제에 포함된 키토산, 인산나트륨 이염기 및 글리세롤의 비율을 조정함으로써, 생성된 겔화 조성물의 탄성을 변화시킬 수 있음을 확인하였다.

[153] [표2]

0.5 rad/s	G1	G2	G3	G4	G5	G6	G7	G8	G9	cross-linked hyaluronic acid
Complex Viscosity (Pa·s)	25.634	202.38	432.94	231.88	950.86	1670.9	4200	4052.3	2111.7	497.93
Storage Modulus (Pa)	12.285	101.18	216.47	115.72	475.32	835.35	2011.1	1964.1	1042.2	246.51
Loss Modulus (Pa)	3.652	0.8764	1.2363	7.0733	10.54	13.411	503.123	497.68	169.34	34.885

[154] 실험예 3. 온도감응성 하이드로겔의 압축 강도 평가

[155] 본 실험예에서는 액상 제형의 1제와 2제를 혼합한 후, 37°C 조건에서 형성된 하이드로겔의 압축 강도를 평가하였다. 상기 액상 제형의 1제는 실온에서 1주, 2주, 3주 또는 4주간 보관한 뒤, 이를 액상 제형의 2제와 혼합하였다. 이후, 액상 제형의 하이드로겔 조성물을 37°C 인큐베이터에서 각각 2시간 또는 4시간 보관한 뒤, 이에 따라 형성된 하이드로겔의 압축 강도를 측정하였다. 샘플의 크기는 직경 12mm, 길이 8.7mm 수준으로 조정하였으며, AND MCT-2150를 사용하여, 실온, 10 mm/min의 테스트 속도로 압축 강도를 평가하였다.

[156] 도 7은 액상 제형의 1제와 2제를 혼합한 후, 37°C 조건에서 형성된 하이드로겔의 압축 강도를 평가한 결과이다. 도 7에 나타낸 바와 같이, 액상

제형의 하이드로겔 조성물은 37°C 조건에서 약 2시간이 경과한 후부터 하이드로겔 형태로 전환되었으며, 시간이 경과함에 따라 압축 강도가 증가되는 것을 확인하였다. 이러한 실험 결과는 일 양상에 따른 1제 및 2제가 혼합된 액상 제형의 하이드로겔 조성물은 실온 조건에서 체내 주입 또는 주사 가능한 형태로 존재하며, 주입 후 체내 조건에서 겔화가 진행되는, 온도감응성 하이드로겔을 제조하는데 적용될 수 있음을 나타낸 것이다.

[157] 도 8은 액상 제형의 1제와 2제를 혼합한 후, 37°C 조건에서 형성된 하이드로겔의 압축 후 회복율을 확인한 결과이다. 압축 후 회복율 확인을 위해 특정 변형을만큼 압축하고, 5초 방치 후 Load를 제거하였다. Load 제거 후 하이드로겔의 높이 측정하여 회복율 계산하였다. 그 결과, 도 8A에 나타난 바와 같이, 10% 내지 45%의 strain을 가한 후에 회복율을 나타내었다. 도 8B 및 8C는 실시예 2.2.7 내지 2.2.9의 하이드로겔의 strain에 따른 회복율을 나타낸다. 도 8A 내지 8C에 나타난 바와 같이, 글리세롤의 비율을 조정함으로써, 생성된 겔화 조성물의 회복율을 변화시킬 수 있음을 확인하였다.

[158] 도 9는 1제 및 2제를 혼합한 하이드로겔에, NaOH를 포함한 3제를 처리하여 3차 가교한 하이드로겔의 압축 강도를 평가한 결과이다. 일 실시예에서, 1제(2.5% chitosan 10mL, 0.5M dibasic 0.8mL) 및 2제 (glycerol 1.2mL)를 혼합 Homogenizing 및 printing하였다. 그 후 30mM NaOH를 첨가하여 1시간 동안 3차 가교하였다. 그 결과, 3차 가교 후에 하이드로겔의 압축 강도가 증가되는 것을 확인하였다. 이러한 실험 결과는 일 양상에 따른 1제, 2제 및 3제가 혼합된 액상 제형의 하이드로겔 조성물은 실온 조건에서 1제 및 2제만이 혼합된 액상 제형의 하이드로겔 혼합물에 비해 큰 압력을 견딜 필요가 있는 제형에 적용될 수 있음을 나타낸 것이다.

[159]

[160] 실험예 4. 동물 모델을 이용한 온도감응성 하이드로겔의 평가

[161] 실험예 4.1. 액상형으로 후 체내 주입

[162] 본 실험예에서는 동물 모델을 이용하여, 액상형으로 체내 주입시 형성된 온도감응성 하이드로겔의 물성 변화, 체내 면역반응을 평가하고자 하였다.

[163] 구체적으로, 1제 및 2제가 혼합된, 실시예 2.2.1 내지 2.2.9의 액상 제형의 하이드로겔 조성물을 마우스의 피내에 0.1ml씩 이식하였다. 이후 각각 2주, 4주, 12주가 경과된 시점에 부검하여 하이드로겔의 형상을 관찰하고, 조직 샘플을 파라핀 블록으로 제조 후 섹션하여 H&E 및 MT staining을 진행하였다.

[164] 도 10은 일 실시예에 따른 액상 제형의 1제와 2제를 혼합한 후, 마우스의 피내에서 형성된 하이드로겔의 형상을 육안 또는 현미경을 통해 확인한 결과이다. 도 14에 나타난 바와 같이, 일 실시예에 따른 온도감응성 하이드로겔은 액상형으로 체내 주입 즉시 겔화가 시작되었으며, 시작 후 30분 내에 겔화가 완료되었다.

[165] 도 11은 일 실시예에 따른 액상 제형의 1제와 2제를 혼합한 후, 마우스의

피내에서 형성된 하이드로겔을 1주일 후에 관찰한 결과이다.

- [166] 도 12는 일 실시예에 따른 액상 제형의 1제와 2제를 혼합한 후, 마우스의 피내에서 형성된 하이드로겔에 의한 체내 면역 반응 여부를 확인한 결과이다. 도 12에 나타낸 바와 같이, 마우스 피내 염증 반응을 포함하는 병리학적 소견은 관찰되지 않았다.
- [167] 도 13은 온도 및 체액 동시 감응 겔화에 따른 물성 증가를 확인한 도이다. 1제 및 2제를 혼합한 액상 상태의 소재를 SD-rat 체내 주입 30분 후에, 40%의 Strain으로 압축하여 물성을 확인하였다. 그 결과, 온도 및 체액 감응 겔화 후 온도감응성 하이드로겔의 물성이 증가한 것을 확인할 수 있었다.

[168]

[169] **실험예 4.2. 겔화 후 체내 주입**

- [170] 본 실험예에서는 동물 모델을 이용하여, 1제 및 2제를 혼합하여 체외에서 겔화된 형성된 온도감응성 하이드로겔을 체내 주입시의 물성 변화를 평가하고자 하였다.

- [171] 구체적으로, 실시예 2.2.1 내지 2.2.9의 비율로 혼합된 1제 및 2제의 혼합물을 체외에서 겔화시킨 후 마우스의 피내에 0.1ml씩 이식하였다. 이후 각각 2주, 4주, 12주가 경과된 시점에 부검하여 하이드로겔의 형상을 관찰하고, 조직 샘플을 파라핀 블록으로 제조 후 색션하여 H&E 및 MT staining을 진행하였다.

- [172] 도 14는 체외에서 온도 감응 겔화 후, 체액과 감응시킨 경우 하이드로겔의 물성 증가를 확인한 도이다. 구체적으로, 상기 1제와 2제가 혼합한 된, 액상 제형의 조직 수복용 하이드로겔 조성물을 37°C 인큐베이터에서 약 24시간 보관하여 겔화를 진행하였다. 상기 겔화된 하이드로겔을 SD-rat 체내 주입하고 30분 후에, 40%의 Strain으로 압축하여 물성을 확인하였다. 그 결과, 체액 감응에 따라 소재의 물성이 추가로 향상된 것을 확인하였다.

- [173] 도 15는 액상 제형의 1제와 2제를 혼합한 후, 마우스의 피내에서 형성된 하이드로겔 (분리형) 및 액상 제형의 1제와 2제를 혼합하여 체외에서 겔화한 후, 마우스의 피내에서 체액 감응 겔화한 하이드로겔 (일체형)의 물성을 비교한 도이다.

[174]

[175] **실험예 5. 온도감응성 하이드로겔의 지속성 평가**

- [176] 본 실험예에서는 체내 조건에서 형성된 온도감응성 하이드로겔의 지속성을 평가하고자 하였다. 구체적으로, 상기 1제와 2제가 혼합한 된, 액상 제형의 하이드로겔 조성물을 37°C 인큐베이터에서 약 24시간 보관하여 겔화를 진행하였다. 이후, 형성된 하이드로겔을 0.2ml씩 잘라 1.5ml의 PBS에 담아 밀봉하여 37°C 인큐베이터에서 보관하였다. 이후, 시간의 경과에 따라, PBS를 제거하면서 각 하이드로겔의 부피를 측정하였다.

- [177] 도 16은 일 실시예에 따른 액상 제형의 1제와 2제를 혼합한 후, 마우스의 피내에서 형성된 하이드로겔의 가교제 농도에 따른 분해속도를 비교한

결과이다. 도 16에 나타낸 바와 같이, 가교제의 농도가 높은 경우에 하이드로겔의 분해 속도가 더 느린 것을 확인할 수 있었다.

[178]

[179] **실험예 6. 탈세포 기질을 포함한 하이드로겔의 겔화 확인**

[180] 본 실험예에서는 하이드로겔에 탈세포 기질을 포함시키는 경우, 혈관화 지방조직 유도능이 우수할 것으로 예상하여 이에 대한 실험을 수행하였다. 구체적으로, 상기 1제에 탈세포 기질을 포함시켰다. 마우스에 주입전, 상기 1제 및 2제를 혼합한 다음, 마우스의 체내에 주입하여 체내 조건에서 하이드로겔의 겔화를 확인하였다.

[181] 도 17는 일 실시예에 따른 탈세포 소재가 포함된 액상 제형의 1제와 2제를 혼합한 후, 마우스에 주입하기 전후의 하이드로겔의 모습 및 혼합된 액상 제형의 1제 및 2제를 주입한 마우스를 관찰한 도이다. 도 17에 나타낸 바와 같이, 체내 조건에서 겔화가 우수하게 진행된 것을 확인할 수 있었다.

[182] 도 18은 상기 도 17에서 확인한 체내 주입 전후 하이드로겔의 탄성도를 확인한 결과이다. 도 18에서 나타낸 바와 같이, 상기 탈세포 기질을 포함시킨 1제와 2제를 단순히 혼합했을 때보다, 체내에 주입했을 때, 탄성도가 현저한 수준으로 증가하는 것을 확인하였다. 따라서, 탈세포 기질을 포함하는 하이드로겔은 체내 조건에 반응하여 현저한 수준의 겔화가 이뤄지는 것을 확인할 수 있었다.

[183]

[184] 전술한 본 발명의 설명은 예시를 위한 것이며, 본 발명이 속하는 기술분야의 통상의 지식을 가진 자는 본 발명의 기술적 사상이나 필수적인 특징을 변경하지 않고서 다른 구체적인 형태로 쉽게 변형이 가능하다는 것을 이해할 수 있을 것이다. 그러므로 이상에서 기술한 실시예들은 모든 면에서 예시적인 것이며 한정적이 아닌 것으로 이해해야만 한다.

청구범위

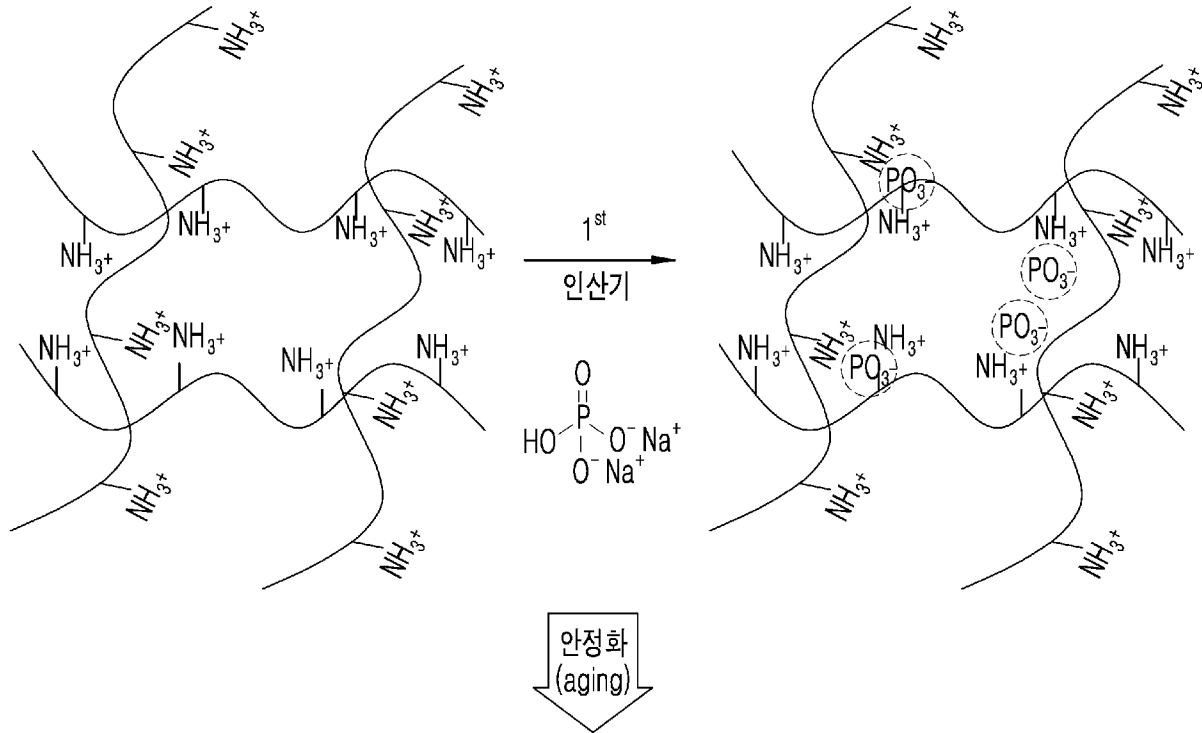
- [청구항 1] 키토산 및 인산 이온이 함유된 수용액을 포함하는 액상 제형의 1제를 포함하는 온도감응성 하이드로겔 조성물을 제조하기 위한 조성물로서, 상기 1제 조성물 전체 중량에 대하여, 0.05 내지 3.5 중량%의 키토산, 0.1 내지 40 중량%의 인산 이온이 함유된 수용액을 포함하는 것인, 온도감응성 하이드로겔 조성물을 제조하기 위한 조성물로서, 상기 1제에 포함된 상기 키토산이 함유된 수용액 및 인산 이온이 함유된 수용액의 중량비는 1: 0.01 내지 0.3 중량부인 것인, 조성물.
- [청구항 2] 청구항 1에 있어서, 상기 액상 제형의 1제는 실온 조건에서 1시간 내지 7일간 안정화시킨 것인, 조성물.
- [청구항 3] 청구항 1에 있어서, 상기 인산 이온이 함유된 수용액은 인산나트륨 이염기, 인산나트륨 일염기, 인산 암모늄 이염기성, 인산 이수소, 인산 트리나트륨, 인산칼륨 이염기성, 인산칼륨 일염기성, 다이메틸포스페이트, 모노마그네슘 인산염, 마그네슘 인산염 이염기, 리튬 디수소 인산염, 리튬 인산염, 칼슘수소인산염 수화물, 칼슘수소인산염으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 적어도 1 이상의 인산염을 포함하는 것인, 온도감응성 하이드로겔 조성물을 제조하기 위한 조성물.
- [청구항 4] 청구항 1에 있어서, 상기 키토산이 함유된 수용액 및 인산 이온이 함유된 수용액의 중량비는 1: 0.16 내지 0.18인 것인, 온도감응성 하이드로겔 조성물을 제조하기 위한 조성물.
- [청구항 5] 청구항 1에 있어서, 상기 액상 제형의 1제는 탈세포 기질을 더 포함하는 것인, 조성물.
- [청구항 6] 청구항 1에 있어서, 글리세롤이 함유된 액상 제형의 2제를 더 포함하는, 다중 가교된 온도감응성 하이드로겔 조성물을 제조하기 위한 조성물.
- [청구항 7] 청구항 6에 있어서, 상기 액상 제형의 2제는 탈세포 기질을 더 포함하는 것인, 조성물.
- [청구항 8] 청구항 6에 있어서, 상기 2제는 상기 글리세롤을 상기 1제의 키토산이 함유된 수용액 1 중량부 당 0.10 내지 0.14 중량부로 포함하는 것인, 다중 가교된 온도감응성 하이드로겔 조성물을 제조하기 위한 조성물.
- [청구항 9] 청구항 1에 있어서, 상기 조성물은 하이드로겔 조성물의 강도 변화를 위한 염기성 수용액을 포함하는 3제를 추가로 포함하는 것인, 온도감응성 하이드로겔 조성물을

- 제조하기 위한 조성물.
- [청구항 10] 청구항 6에 있어서,
상기 1제 및 2제는 용기 내 분리된 공간에 격리되어 있는 것인,
온도감응성 하이드로겔 조성물을 제조하기 위한 조성물로서,
상기 조성물은 상기 1제 및 2제의 혼합물이 체내에 주입된 후, 겔 제형을 형성하는 것인, 온도감응성 하이드로겔 조성물을 제조하기 위한 조성물.
- [청구항 11] 청구항 6에 있어서,
상기 1제 및 2제는 혼합되어 있는 것인, 온도감응성 하이드로겔 조성물을 제조하기 위한 조성물로서,
상기 조성물은 상기 1제 및 2제의 혼합물이 체내에 주입되기 전, 겔 제형을 형성하는 것인, 온도감응성 하이드로겔 조성물을 제조하기 위한 조성물.
- [청구항 12] 키토산 이온을 포함하는 용액 및 인산 이온이 함유된 수용액을 혼합하여 액상 제형의 1제를 제조하는 단계로서,
상기 1제에 포함된 상기 키토산이 함유된 수용액 및 인산 이온이 함유된 수용액의 중량비는 1: 0.01 내지 0.3 중량부인 것인, 온도감응성 하이드로겔 조성물을 제조하는 방법.
- [청구항 13] 청구항 12에 있어서,
상기 하이드로겔 조성물을 제조하는 방법은 상기 액상 제형의 1제를 1시간 내지 7일간 안정화시키는 단계를 더 포함하는 것인, 온도감응성 하이드로겔 조성물을 제조하는 방법.
- [청구항 14] 청구항 12에 있어서, 상기 액상 제형의 1제와 글리세롤이 함유된 액상 제형의 2제를 혼합하는 단계를 더 포함하는, 온도감응성 하이드로겔 조성물을 제조하는 방법.
- [청구항 15] 청구항 14에 있어서, 상기 1제 및 2제의 액상 제형 혼합물을 체내 조건에서 다중 가교시키는 단계를 더 포함하는, 온도감응성 하이드로겔 조성물을 제조하는 방법.
- [청구항 16] 청구항 12에 있어서, 하이드로겔 조성물의 강도 변화를 위한 염기성 수용액을 포함하는 3제를 추가로 혼합하는 단계를 더 포함하는, 온도감응성 하이드로겔 조성물을 제조하는 방법.

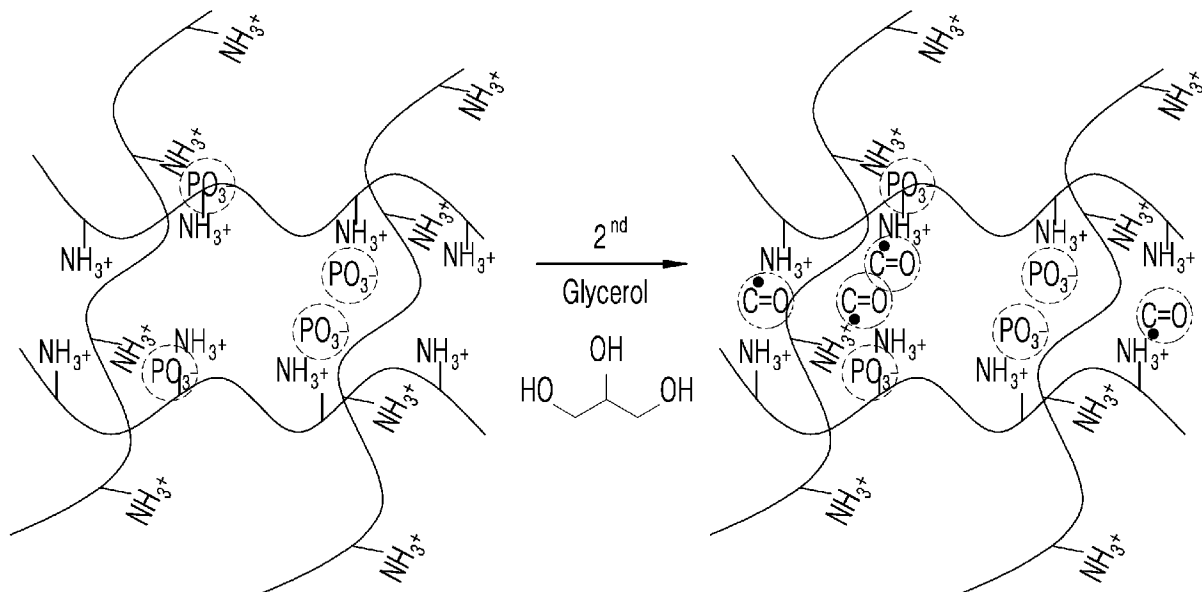
[도 1a]

1단계: dibasic 혼합

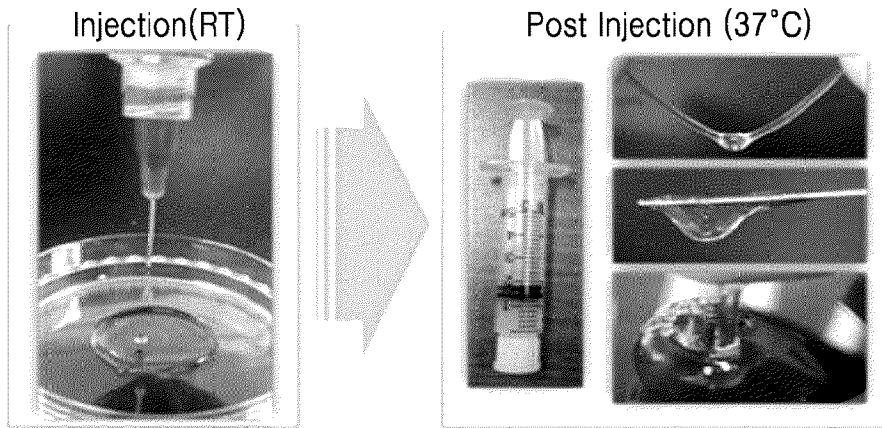
키토산

1st 이온결합

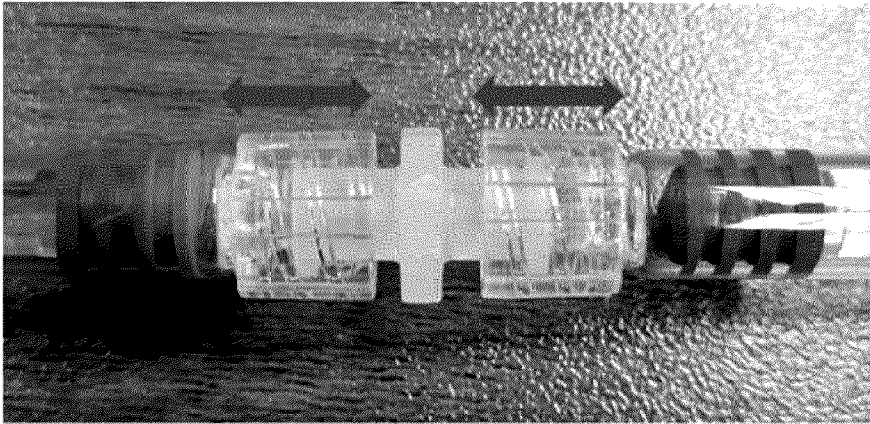
2단계: glycerol 혼합

1st 이온결합2nd 공유결합

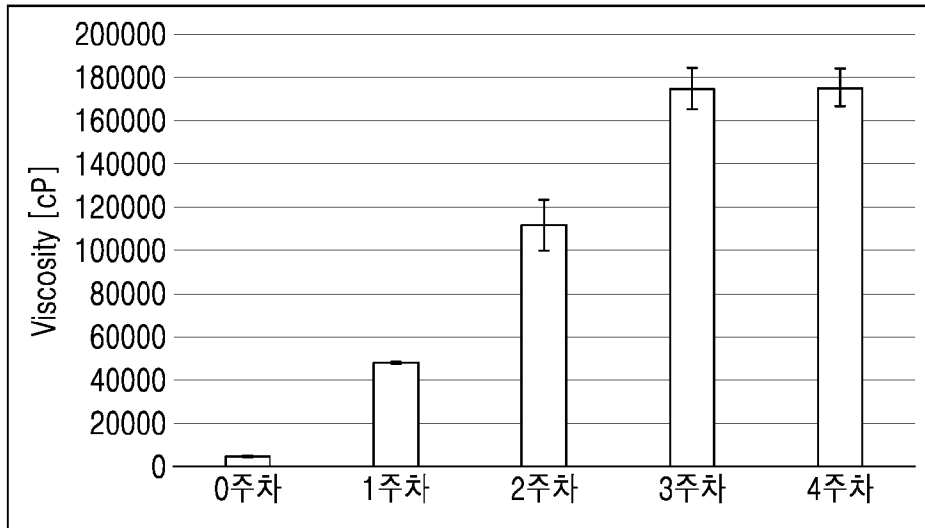
[도1b]



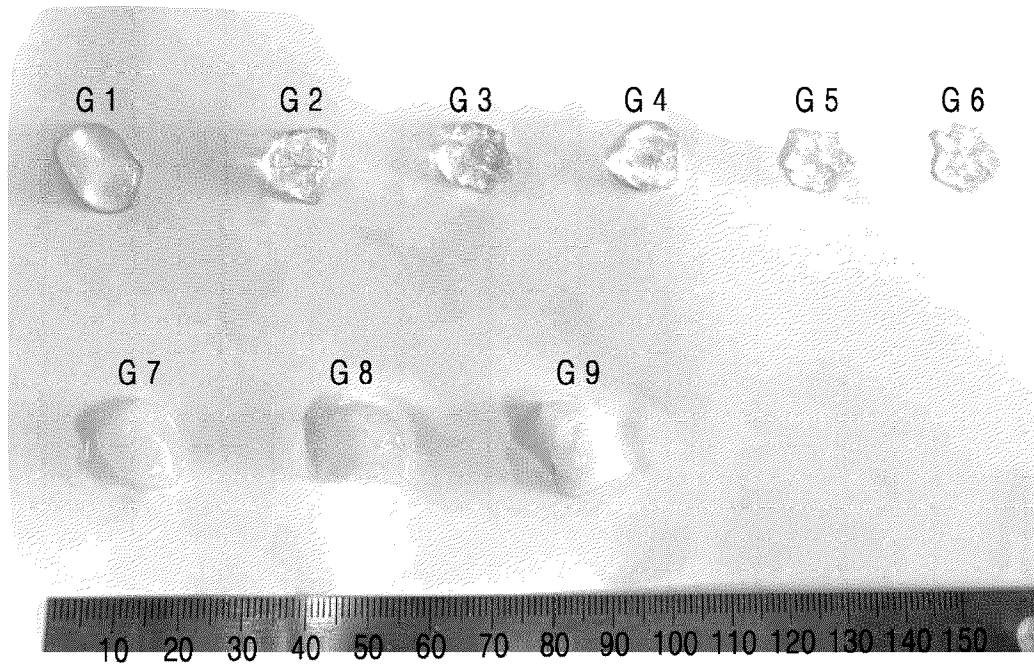
[도2]



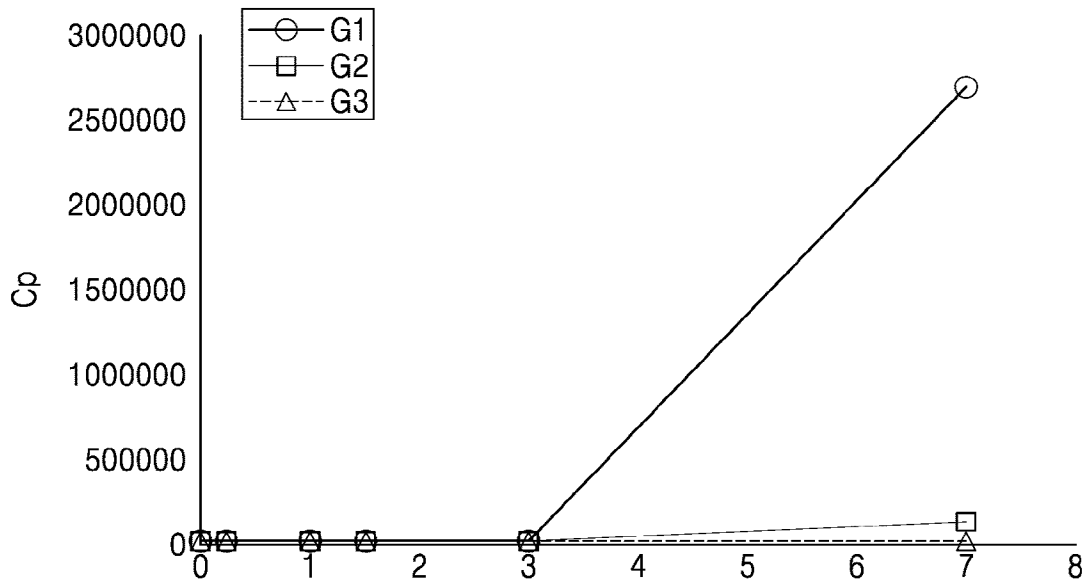
[도3]



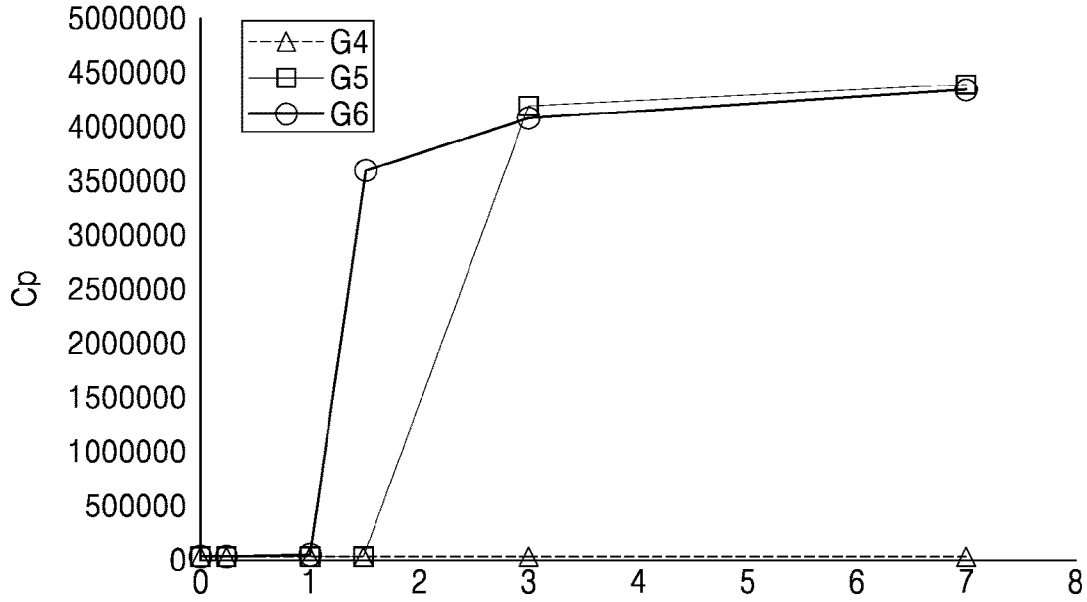
[도4]



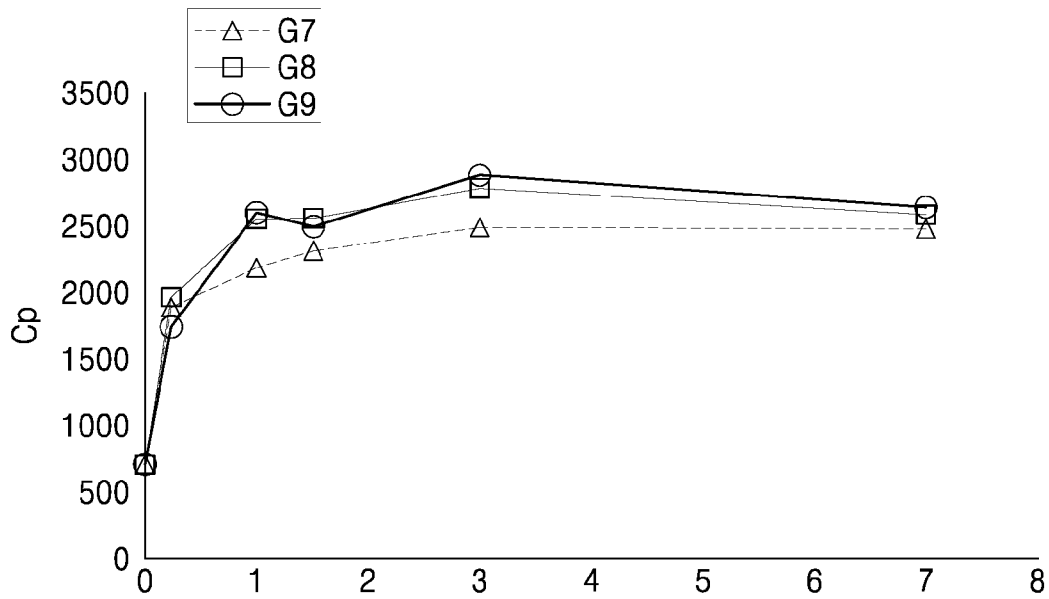
[도5a]



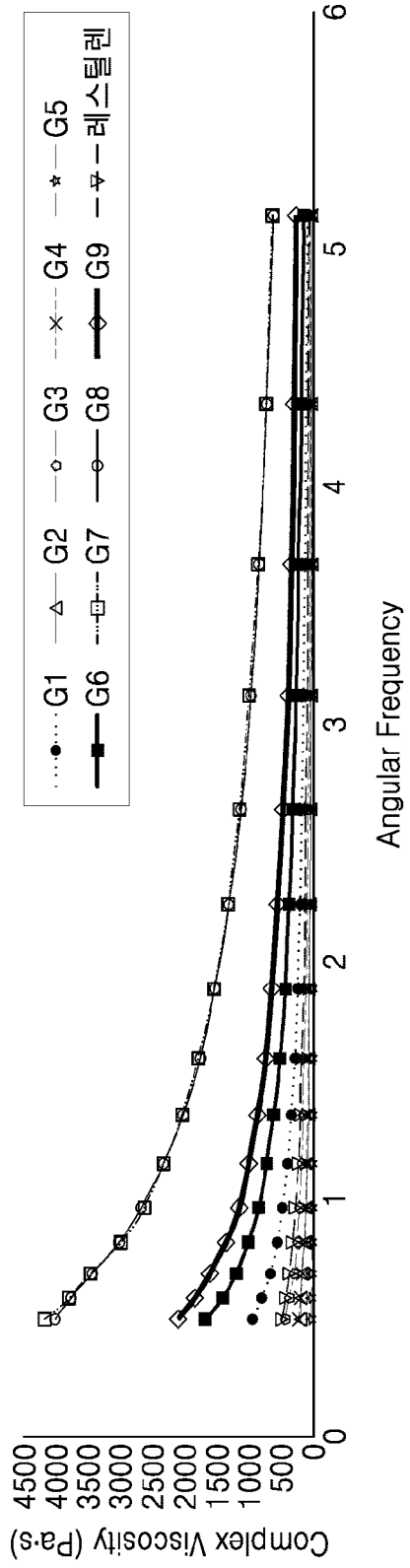
[도5b]



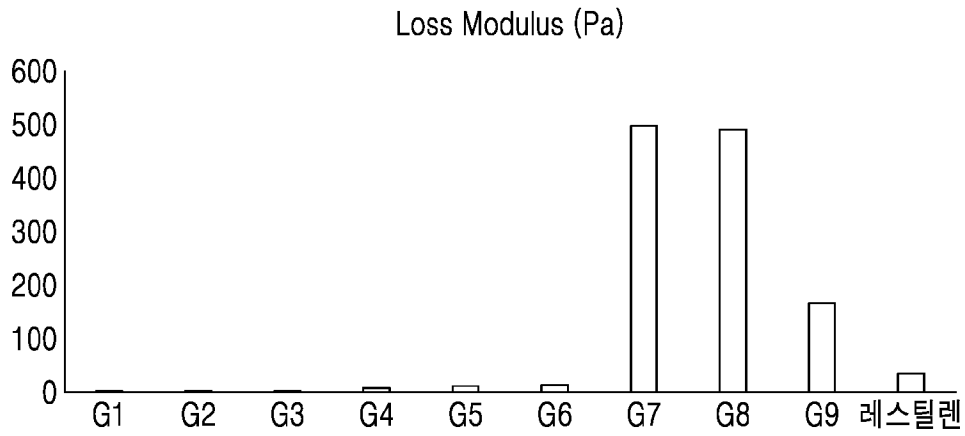
[도5c]



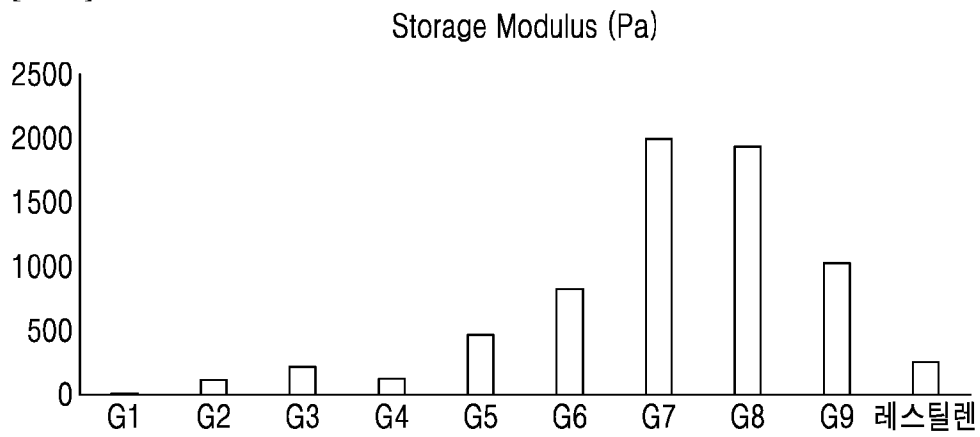
[도 6a]



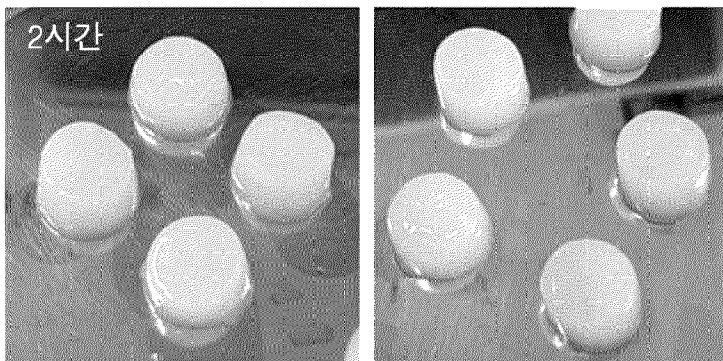
[도6b]



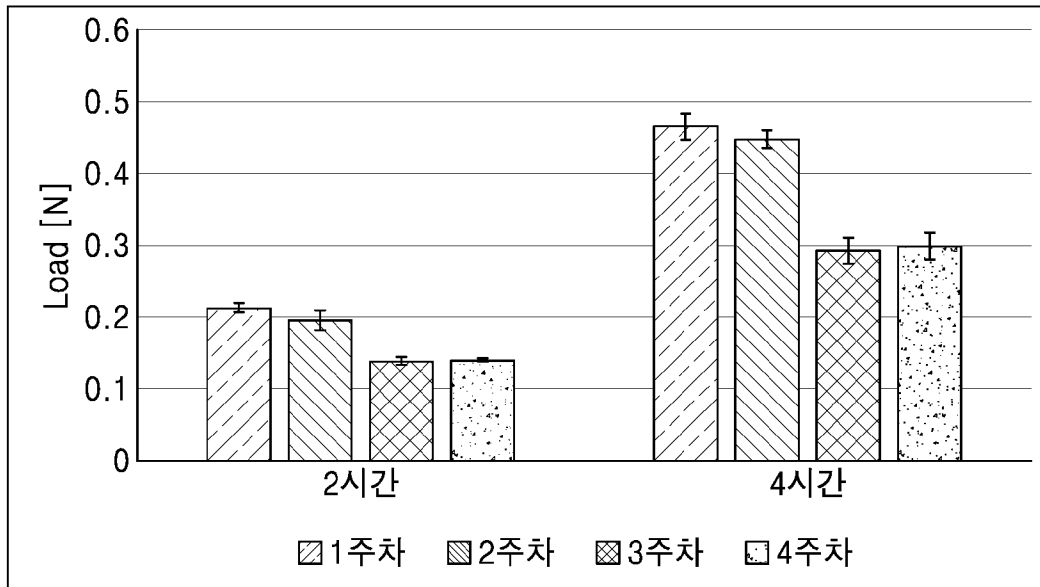
[도6c]



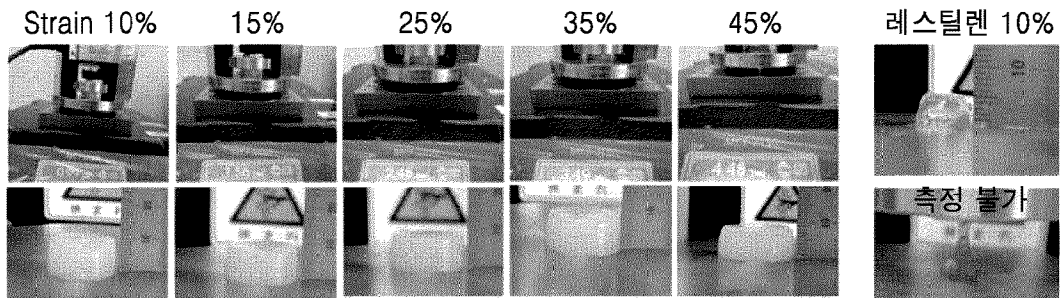
[도7a]



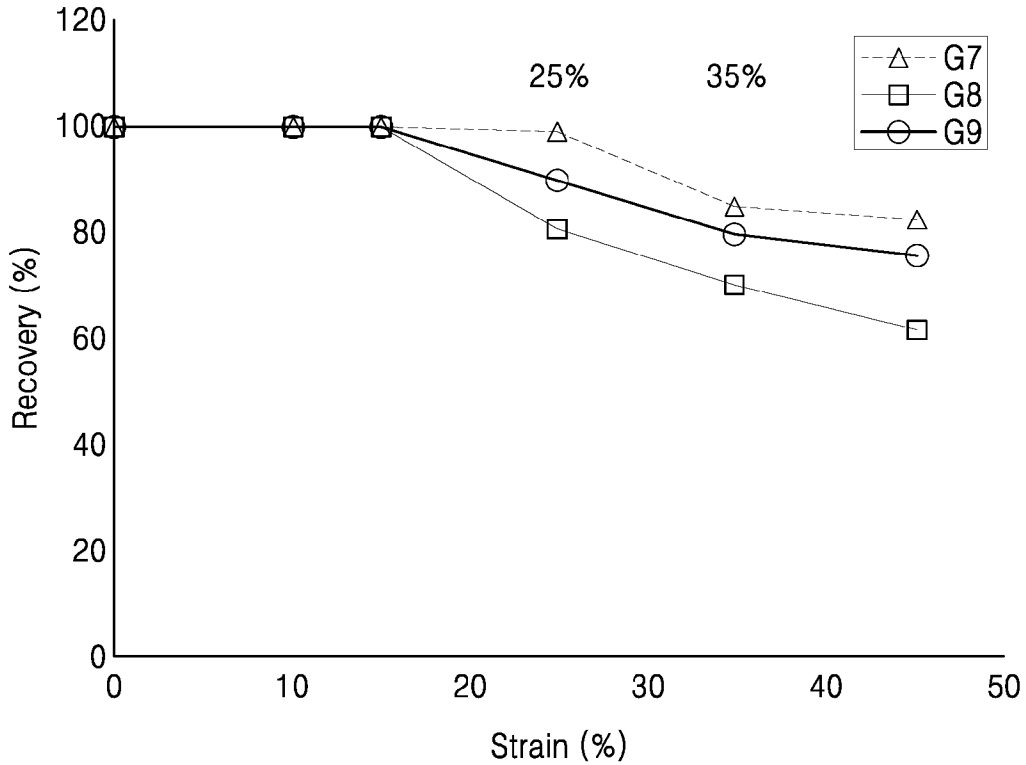
[도7b]



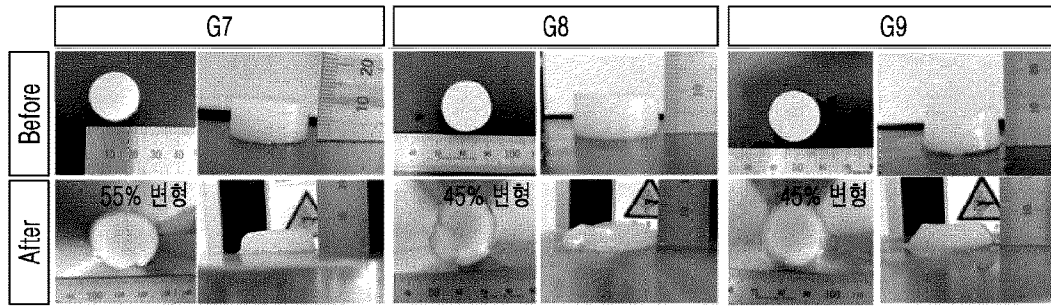
[도8a]



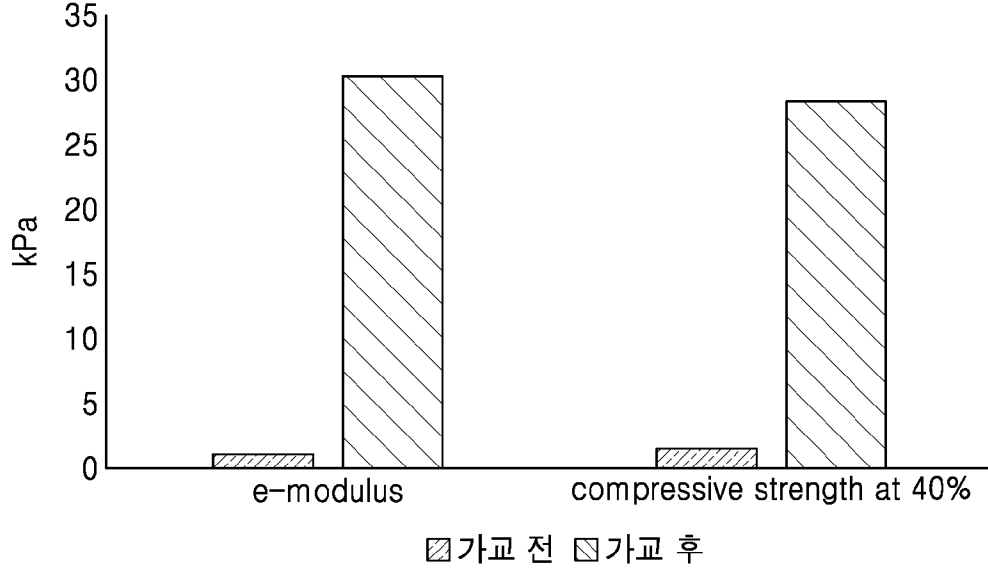
[도8b]



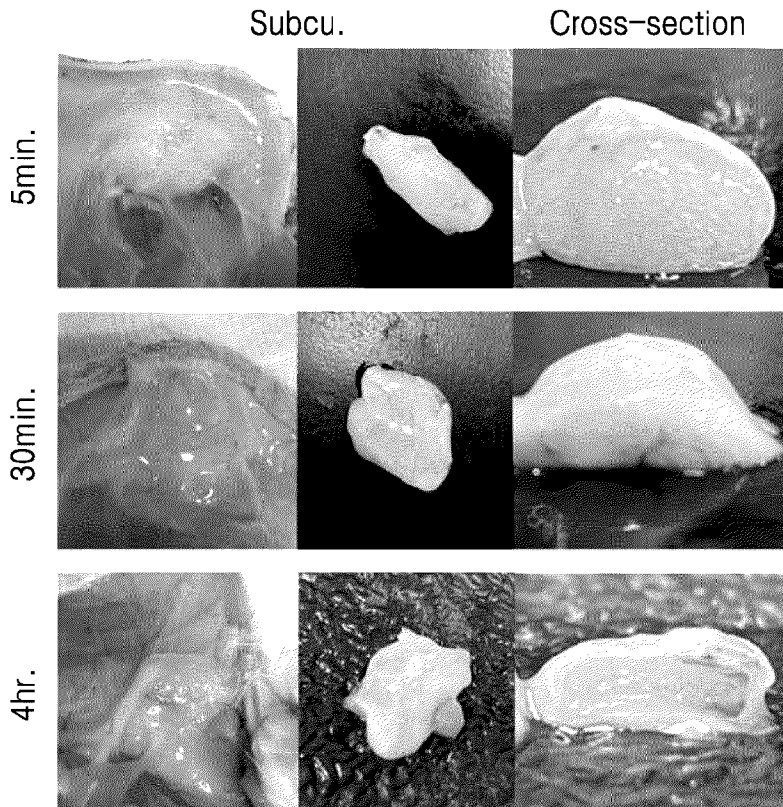
[도8c]

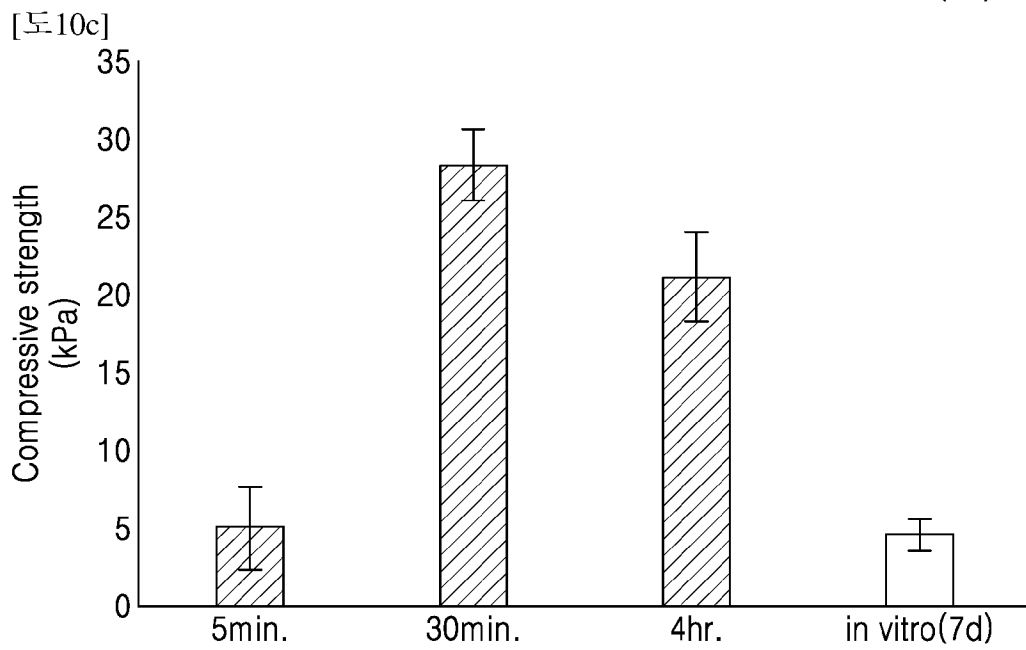
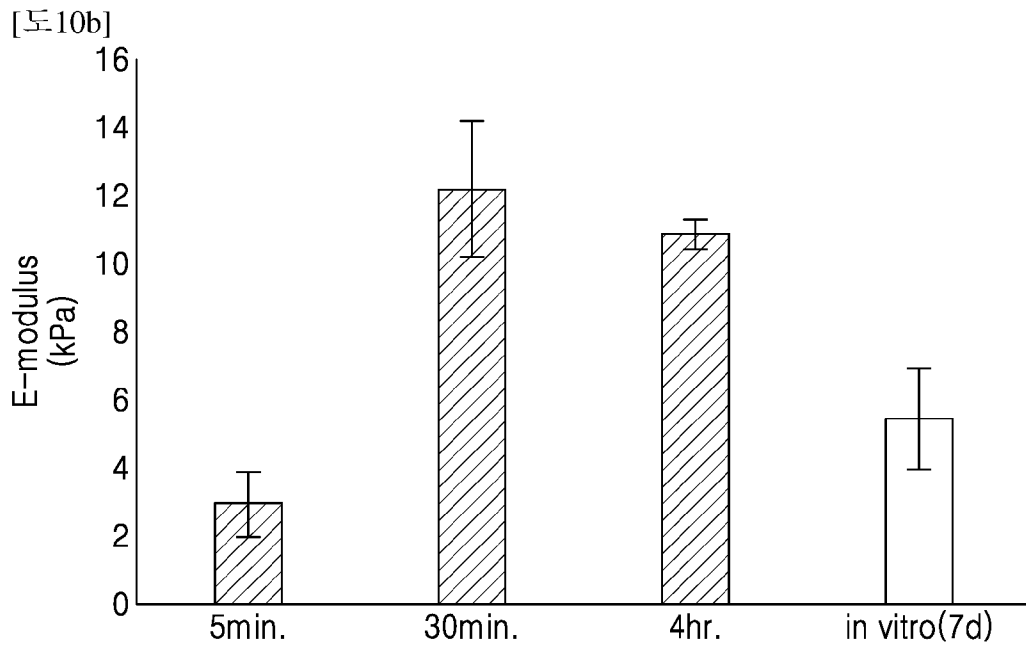


[도9]

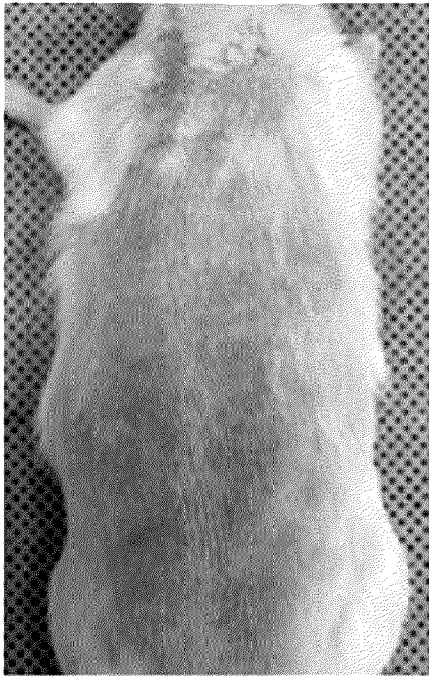


[도10a]



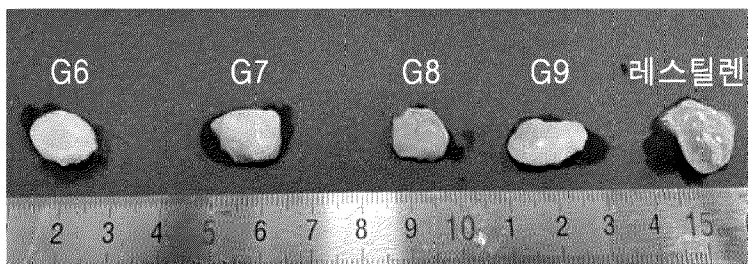
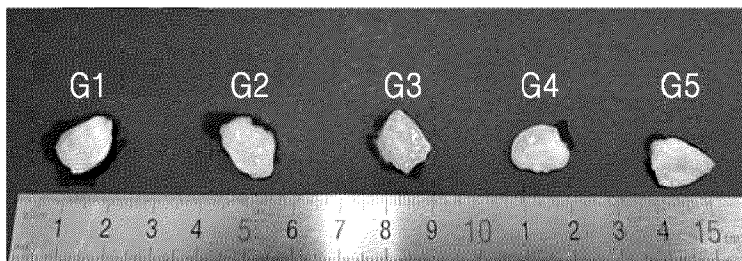


[도 11a]

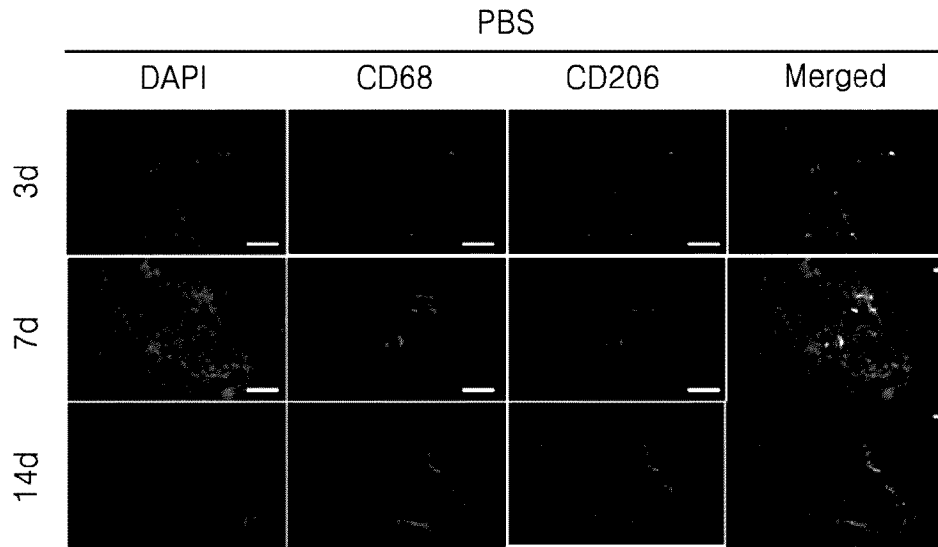


[도 11b]

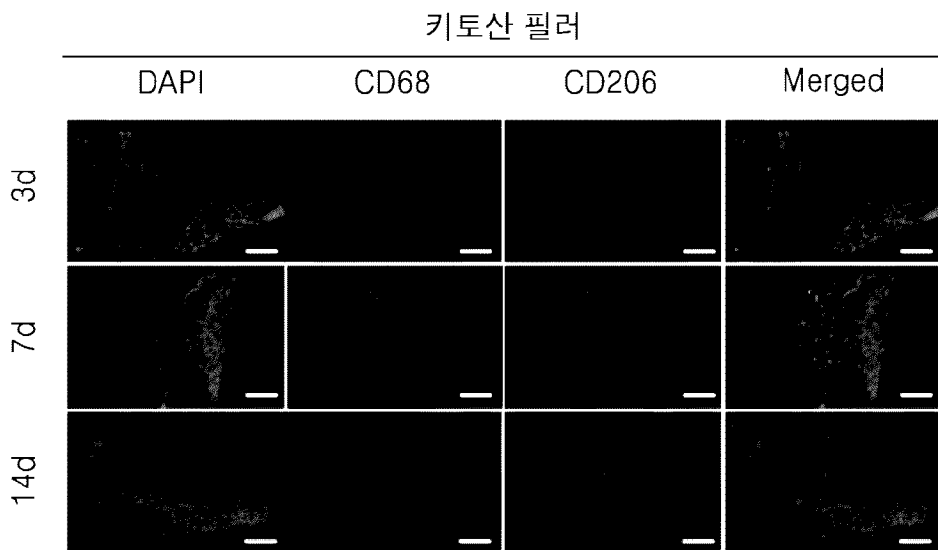
In vivo 1w



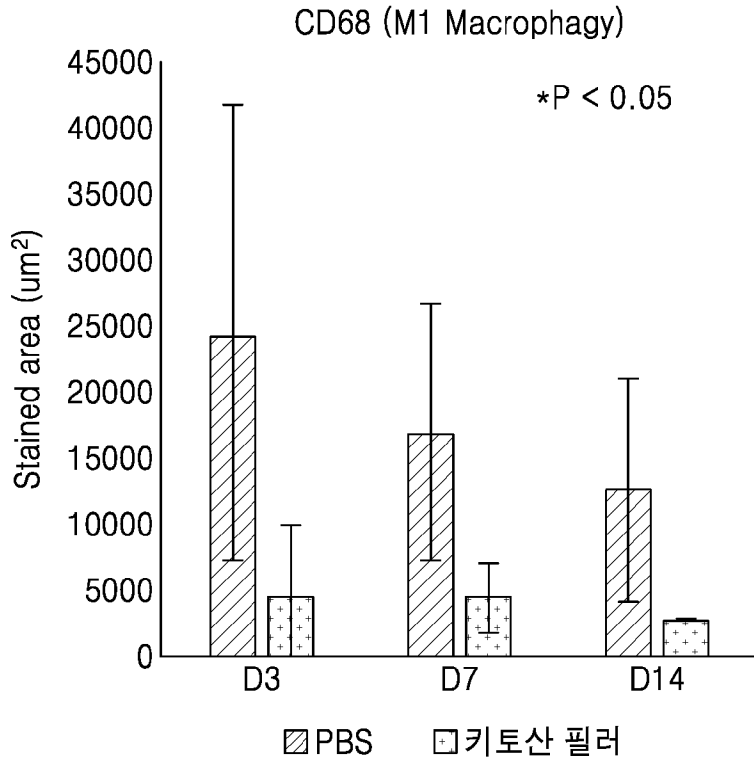
[도 12a]



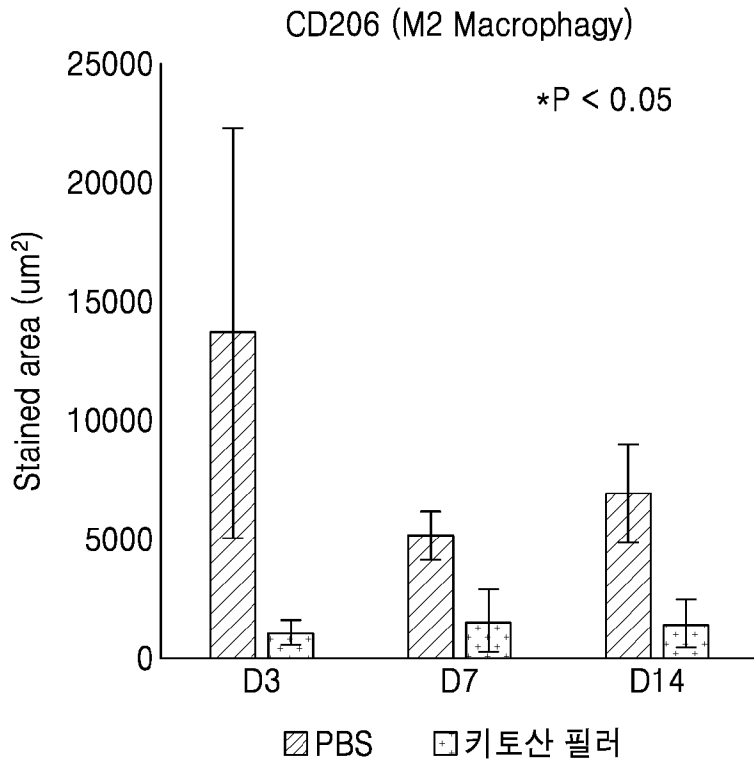
[도 12b]



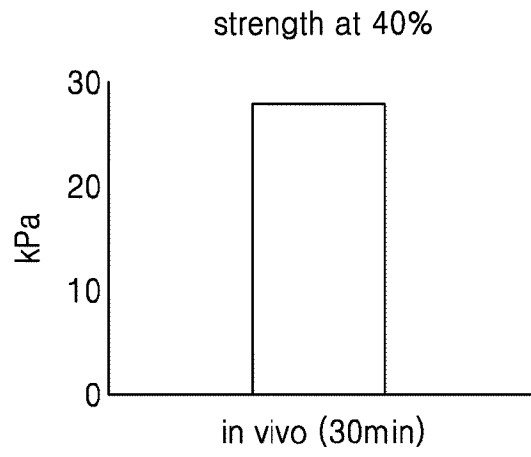
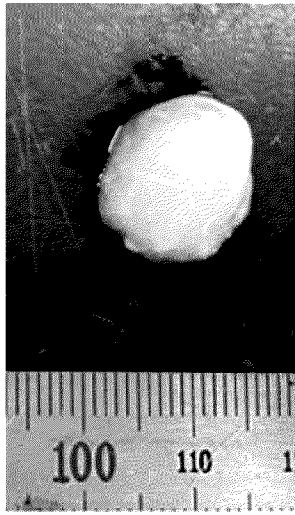
[도 12c]



[도 12d]



[도13]

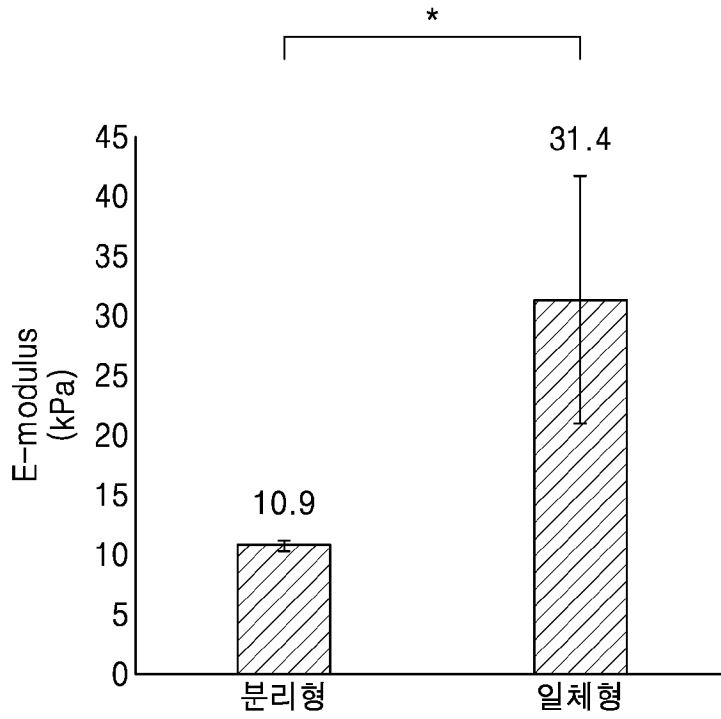


[도14a]

In vivo - 4hr

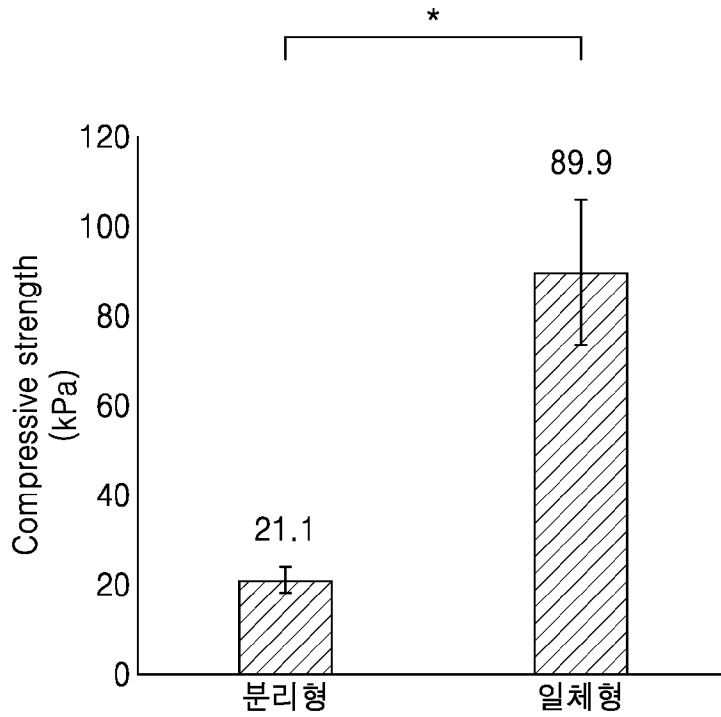


[도 14b]



*P < 0.05

[도 14c]



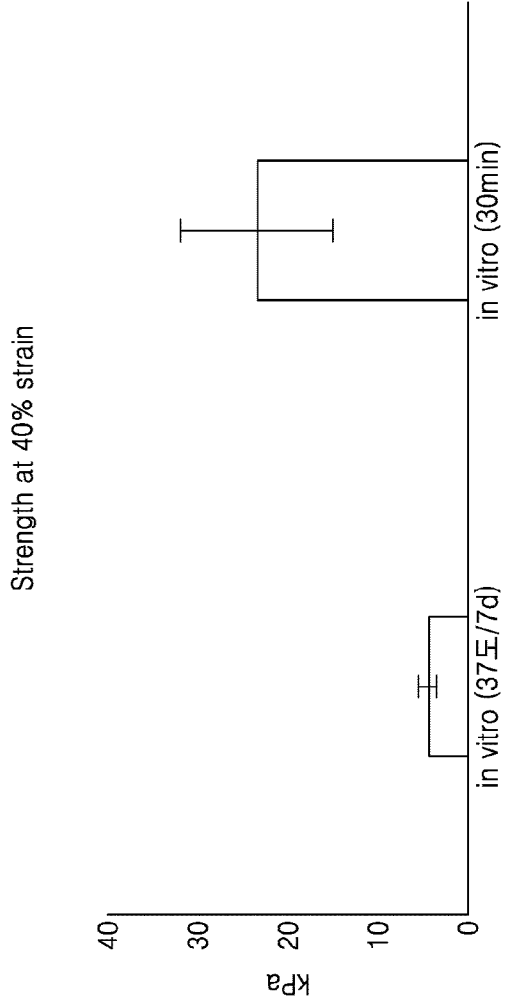
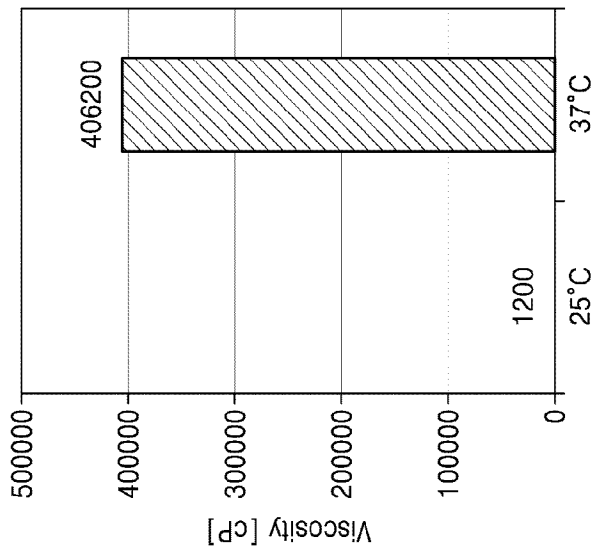
*P < 0.05

[도 15]

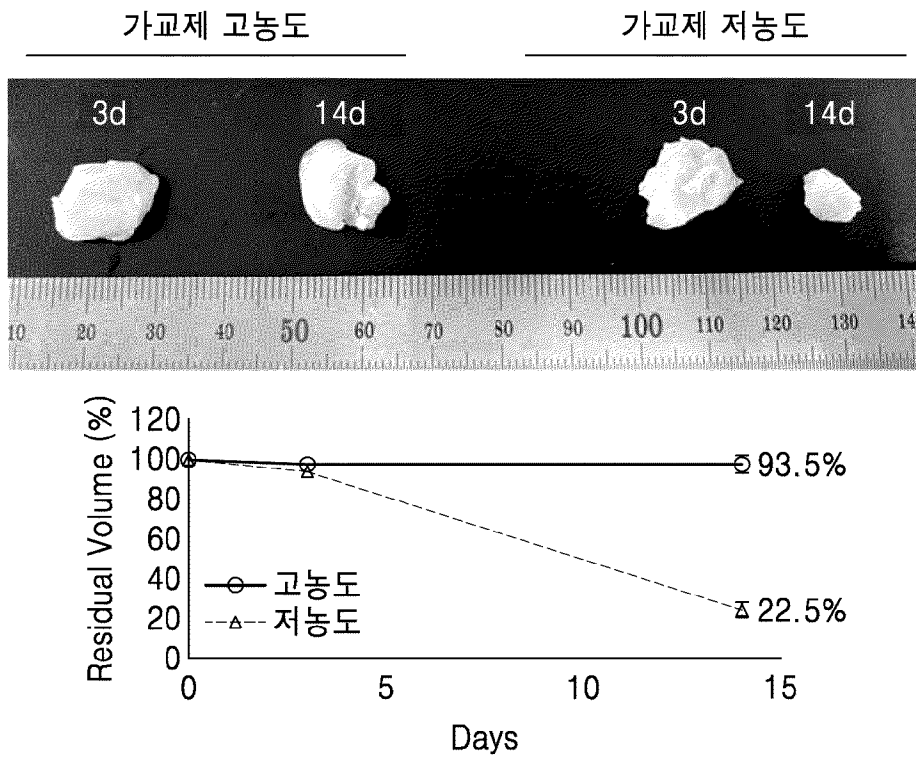
2단계 : 온도 +체액 감응 겔화

1단계 : 온도 감응 겔화

■ 온도에 따른 점도 변화



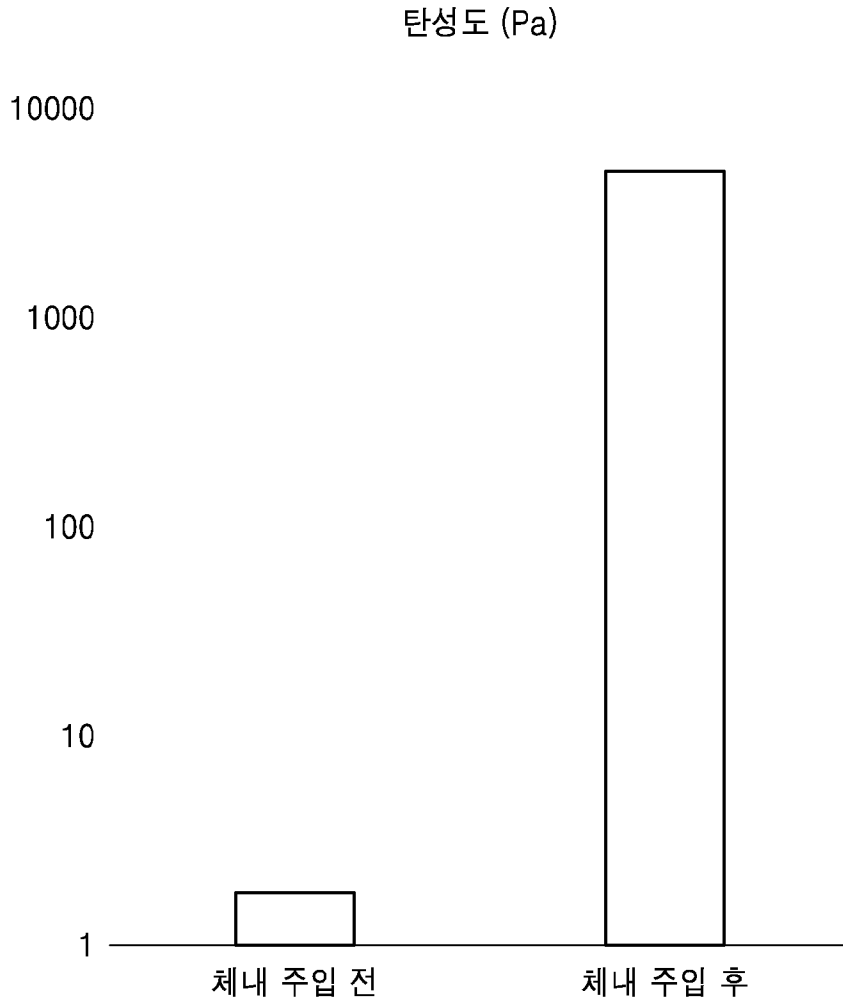
[도16]



[도17]



[도18]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2022/009842

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
A61L 27/52(2006.01)i; A61L 27/20(2006.01)i; A61L 31/14(2006.01)i; A61L 31/04(2006.01)i; A61L 15/60(2006.01)i; A61L 15/28(2006.01)i; A61F 2/00(2006.01)i; C08L 5/08(2006.01)i; C08K 3/32(2006.01)i; C08K 5/053(2006.01)i		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) A61L 27/52(2006.01); A61F 2/00(2006.01); A61K 8/65(2006.01); A61L 27/20(2006.01); A61M 5/19(2006.01); B33Y 70/00(2015.01)		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Korean utility models and applications for utility models: IPC as above Japanese utility models and applications for utility models: IPC as above		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) eKOMPASS (KIPO internal) & keywords: 다중 가교(multi cross-linking), 온도감응성(thermosensitive), 하이드로겔(hydrogel), 키토산(chitosan), 인산이온(phosphate ion), 글리세롤(glycerol), 염기성 수용액(alkaline solution)		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
DY	KR 10-2100506 B1 (MEDIFAB CO., LTD.) 13 April 2020 (2020-04-13) See abstract; claims 1 and 9; and paragraphs [0015]-[0027].	1-16
Y	KR 10-2013-0021385 A (DONGGUK UNIVERSITY INDUSTRY-ACADEMIC COOPERATION FOUNDATION) 05 March 2013 (2013-03-05) See abstract; claim 1; paragraphs [0004]-[0009]; and figure 1.	1-16
Y	KIM, E. J. et al. Injectable and Thermosensitive Soluble Extracellular Matrix and Methylcellulose Hydrogels for Stem Cell Delivery in Skin Wounds. Biomacromolecules. 2015, vol. 17, no. 1, pp. 4-11. See abstract; pages 5-7; and figure 1.	5,7
Y	MEKHAIL, M. et al. Injectable Chitosan-Based Scaffolds in Regenerative Medicine and their Clinical Translatability. Advanced Healthcare Materials. 2014, vol. 3, pp. 1529-1545. See page 1531.	9,16
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "D" document cited by the applicant in the international application "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 13 October 2022		Date of mailing of the international search report 13 October 2022
Name and mailing address of the ISA/KR Korean Intellectual Property Office Government Complex-Daejeon Building 4, 189 Cheongsaro, Seo-gu, Daejeon 35208 Facsimile No. +82-42-481-8578		Authorized officer Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2022/009842

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	KR 10-2018-0117417 A (KOREA INSTITUTE OF SCIENCE AND TECHNOLOGY) 29 October 2018 (2018-10-29) See entire document.	1-16
PX	KR 10-2415342 B1 (MEDIFAB CO., LTD.) 04 July 2022 (2022-07-04) See claims 1-20. ※ This document is the published patent of an earlier application that serves as a basis for claiming priority of the present international application.	1-4,6,8-16

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/KR2022/009842

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
KR	10-2100506	B1	13 April 2020	CN	113038975	A	25 June 2021
				US	2022-0202989	A1	30 June 2022
				WO	2020-262817	A1	30 December 2020
KR	10-2013-0021385	A	05 March 2013	KR	10-1776675	B1	20 September 2017
				WO	2011-126294	A2	13 October 2011
				WO	2011-126294	A3	15 March 2012
KR	10-2018-0117417	A	29 October 2018	KR	10-2019-0016535	A	18 February 2019
KR	10-2415342	B1	04 July 2022	None			

A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC)) A61L 27/52(2006.01)i; A61L 27/20(2006.01)i; A61L 31/14(2006.01)i; A61L 31/04(2006.01)i; A61L 15/60(2006.01)i; A61L 15/28(2006.01)i; A61F 2/00(2006.01)i; C08L 5/08(2006.01)i; C08K 3/32(2006.01)i; C08K 5/053(2006.01)i		
B. 조사된 분야 조사된 최소문헌(국제특허분류를 기재) A61L 27/52(2006.01); A61F 2/00(2006.01); A61K 8/65(2006.01); A61L 27/20(2006.01); A61M 5/19(2006.01); B33Y 70/00(2015.01) 조사된 기술분야에 속하는 최소문헌 이외의 문헌 한국등록실용신안공보 및 한국공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC 일본등록실용신안공보 및 일본공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC 국제조사에 이용된 전산 데이터베이스(데이터베이스의 명칭 및 검색어(해당하는 경우)) eKOMPASS(특허청 내부 검색시스템) & 키워드: 다중 가교(multi cross-linking), 온도감응성(thermosensitive), 하이드로겔(hydrogel), 키토산(chitosan), 인산이온(phosphate ion), 글리세롤(glycerol), 염기성 수용액(alkaline solution)		
C. 관련 문헌		
카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
DY	KR 10-2100506 B1 (주식회사 메디랩) 2020.04.13 요약; 청구항 1, 9; 단락 [0015]-[0027]	1-16
Y	KR 10-2013-0021385 A (동국대학교 산학협력단) 2013.03.05 요약; 청구항 1; 단락 [0004]-[0009]; 도면 1	1-16
Y	KIM, E. J. 등, "Injectable and Thermosensitive Soluble Extracellular Matrix and Methylcellulose Hydrogels for Stem Cell Delivery in Skin Wounds", Biomacromolecules, 2015, 제17권, 제1호, 페이지 4-11 요약; 페이지 5-7; 도면 1	5,7
Y	MEKHAIL, M. 등, "Injectable Chitosan-Based Scaffolds in Regenerative Medicine and their Clinical Translatability", Advanced Healthcare Materials, 2014, 제3권, 페이지 1529-1545 페이지 1531	9,16
A	KR 10-2018-0117417 A (한국과학기술연구원) 2018.10.29 전문	1-16
<input checked="" type="checkbox"/> 추가 문헌이 C(계속)에 기재되어 있습니다. <input checked="" type="checkbox"/> 대응특허에 관한 별지를 참조하십시오.		
* 인용된 문헌의 특별 카테고리: "A" 특별히 관련이 없는 것으로 보이는 일반적인 기술수준을 정의한 문헌 "D" 본 국제출원에서 출원인이 인용한 문헌 "E" 국제출원일보다 빠른 출원일 또는 우선일을 가지나 국제출원일 이후에 공개된 선출원 또는 특허 문헌 "L" 우선권 주장에 의문을 제기하는 문헌 또는 다른 인용문헌의 공개일 또는 다른 특별한 이유(이유를 명시)를 밝히기 위하여 인용된 문헌 "O" 구두 개시, 사용, 전시 또는 기타 수단을 언급하고 있는 문헌 "P" 우선일 이후에 공개되었으나 국제출원일 이전에 공개된 문헌 "T" 국제출원일 또는 우선일 후에 공개된 문헌으로, 출원과 상충하지 않으며 발명의 기초가 되는 원리나 이론을 이해하기 위해 인용된 문헌 "X" 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌 하나만으로 청구된 발명의 신규성 또는 진보성이 없는 것으로 본다. "Y" 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌이 하나 이상의 다른 문헌과 조합하는 경우로 그 조합이 당업자에게 자명한 경우 청구된 발명은 진보성이 없는 것으로 본다. "&" 동일한 대응특허문헌에 속하는 문헌		
국제조사의 실제 완료일	국제조사보고서 발송일	
2022년10월13일 (13.10.2022)	2022년10월13일 (13.10.2022)	
ISA/KR의 명칭 및 우편주소	심사관	
대한민국 특허청 (35208) 대전광역시 서구 청사로 189, 4동 (둔산동, 정부대전청사)	허주형	
팩스 번호 +82-42-481-8578	전화번호 +82-42-481-5373	

C. 관련 문헌		
카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
PX	KR 10-2415342 B1 (주식회사 메디랩) 2022.07.04 청구항 1-20 * 위 문헌은 본 국제출원의 우선권주장의 기초가 되는 선출원의 등록공보임	1-4,6,8-16

국제조사보고서에서 인용된 특허문헌	공개일	대응특허문헌	공개일
KR 10-2100506 B1	2020/04/13	CN 113038975 A US 2022-0202989 A1 WO 2020-262817 A1	2021/06/25 2022/06/30 2020/12/30
KR 10-2013-0021385 A	2013/03/05	KR 10-1776675 B1 WO 2011-126294 A2 WO 2011-126294 A3	2017/09/20 2011/10/13 2012/03/15
KR 10-2018-0117417 A	2018/10/29	KR 10-2019-0016535 A	2019/02/18
KR 10-2415342 B1	2022/07/04	없음	