(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구
국제사무국

(43) 국제공개일
2022 년 12 월 22 일 (22.12.2022)

WIPO | PCT

(10) 국제공개번호
WO 2022/265182 A1

(51) 국제특허분류:
C08J 3/075 (2006.01) *C08L 89/00* (2006.01)
C08K 3/04 (2006.01)

(21) 국제출원번호: PCT/KR2022/002079

(22) 국제출원일: 2022 년 2 월 11 일 (11.02.2022)

(25) 출원언어: 한국어

(26) 공개언어: 한국어

(30) 우선권정보:
10-2021-0076883 2021 년 6 월 14 일 (14.06.2021) KR

(71) 출원인: 광주과학기술원 (**GWANGJU INSTITUTE OF SCIENCE AND TECHNOLOGY**) [KR/KR]; 61005 광주 광역시 북구 첨단과기로 123, Gwangju (KR).

(72) 발명자: 이재영 (**LEE, Jae Young**); 61005 광주광역시 북구 첨단과기로 123, Gwangju (KR). 박중건 (**PARK, Jung Geon**); 61005 광주광역시 북구 첨단과기로 123, Gwangju (KR).

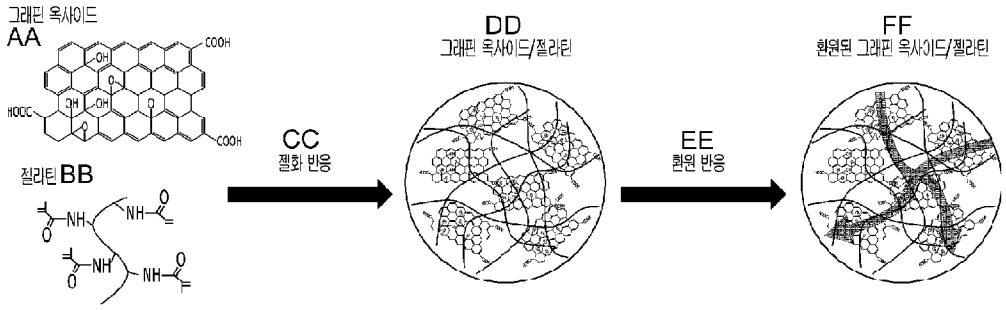
(74) 대리인: 특허법인 지담 (**JIDAM IP LAW FIRM**); 13494 경기도 성남시 분당구 대왕판교로 670, 유스페이스2 A-201, Gyeonggi-do (KR).

(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, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, 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, 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 역내 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), 유럽 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI,

(54) **Title:** GRAPHENE-GELATIN COMPOSITE HYDROGEL

(54) **발명의 명칭:** 그래핀 젤라틴 복합체 수화젤



AA ... Graphene oxide
BB ... Gelatin
CC ... Gelation reaction
DD ... Graphene oxide/gelatin
EE ... Reduction reaction
FF ... Reduced graphene oxide/gelatin

(57) **Abstract:** The present invention provides: a composite hydrogel comprising gelatin and reduced graphene oxide; a preparation method therefor; and a conduit or film manufactured using same. The composite hydrogel of the present invention overcomes the low conductivity and brittleness of a conventional functional hydrogel to maintain, through excellent elasticity and excellent ductility, high electrical conductivity and mechanical properties even if repeatedly compressed and bent, thereby being variously usable as a platform material of a conductive hydrogel, and thus can be effectively used, in a field requiring a conductive hydrogel, as an in vivo tissue engineering scaffold, a drug delivery system, a flexible body-implantable electrode and an electronic device, which move a lot.

(57) **요약서:** 본 발명은 젤라틴 및 환원된 그래핀 옥사이드를 포함하는 복합체 수화젤, 이의 제조방법 및 이를 이용하여 제조된 도관 또는 필름을 제공한다. 본 발명의 복합체 수화젤은 기존의 기능성 수화젤의 낮은 전도성 및 부서지기 쉬운 문제점을 극복하여, 우수한 탄성 및 우수한 연성으로 인해 반복 압축, 구부림에도 기계적 특성뿐만 아니라 높은 전기전도도를 유지하여, 전도성 하이드로젤의 플랫폼 소재로서 다양한 활용이 가능하므로, 전도성 하이드로젤이 요구되는 분야에서 움직임이 많은 생체 내 조직공학용 지지체, 약물전달체, 유연한 인체 삽입형 전극 및 전자소자로서 유용하게 사용될 수 있다.

WO 2022/265182 A1

[다음 쪽 계속]

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: 그래핀 젤라틴 복합체 수화젤

기술분야

[1] 본 발명은 젤라틴을 포함하는 수화젤에 관한 것으로, 더욱 상세하게는 젤라틴 및 환원된 그래핀 옥사이드를 포함하는 복합체 수화젤에 관한 것이다.

배경기술

[2] 수화젤(hydrogel)은 우수한 생체적합성, 높은 함수율, 우수한 자가치유 및 자가회복과 같은 고유한 특성을 가진 연질 재료로서, 의공학적 응용 및 조직공학에 중요한 재료다. 최근에는 수화젤에 항산화성, 기계적 내구성, 전도성과 같은 기능을 부여한 기능성 수화젤의 개발 및 연구가 많아지고 있다. 전도성 수화젤은 전도성 특성을 가지고 있어 생체 신호 감지 센서, 전기활성 조직, 공학작동 장치 및 동작장치 등 고급 응용 분야에 활용될 수 있다. 특히, 젤라틴(gelatin)은 콜라겐의 가수분해로 얻어지는 단백질 기반의 생체 고분자로 우수한 생체적합성, 생분해성, 생물학적 기능으로 식품, 화장품, 의료기기에 광범위하게 사용되고 있다.

[3] 하지만, 젤라틴의 젤화를 위해서는 추가적인 가교가 필요하고, 젤라틴 수화젤 고분자에 전도성 부여를 위한 금속 나노입자, 탄소 기반 소재 그리고 전도성 고분자 등의 전도성 물질이 추가되는데, 이러한 전도성 물질이 추가되면 얻어지는 결과물은 전도성이 보통 매우 낮거나, 제조된 복합물질은 보통 부서지기 쉬운 특성을 갖게 되거나, 기계적 경도가 크게 증가한다. 특히, 이러한 부서지기 쉬운 특성을 갖는 전도성 수화젤은 움직임이 많은 생체 내에 조직공학 플랫폼으로 사용하기에는 곤란하고, 구부림이나 반복되는 피로에 대해 구조 깨짐으로 인해 전도성을 잃기 때문에 전자 소자로의 활용도 불리하다. 따라서, 위와 같은 특성은 전도성 수화젤에 있어서 여전히 한계점으로 남아있다.

[4] 이에, 젤라틴 고유의 생물학적 특성을 유지하면서, 기계적인 안정성 및 전기적 특성이 부가된 새로운 개념의 기능성 수화젤 기술이 필요하다.

발명의 상세한 설명

기술적 과제

[5] 본 발명이 해결하고자 하는 과제는 그래핀과 수화젤 네트워크 사이의 상호작용이 유지되며 전체적으로 분산된 네트워크를 형성하여 기계적 특성 및 전기적 특성이 향상된 수화젤을 제공하는 것이다.

[6] 또한, 본 발명의 해결 과제는 기존의 기능성 수화젤의 부서지기 쉬운 특성의 문제점을 극복하며, 구부림이나 피로 반복에도 전도성 및 기계적 연성, 탄성을 유지하여 움직임이 많은 생체 내에 조직공학 및 전자소자로 플랫폼으로의 활용이 가능한 기능성 수화젤을 제공하는 것이다.

[7] 본 발명이 해결하고자 하는 과제는 이상에서 언급한 해결 과제로 제한되지

않으며, 언급되지 않은 또 다른 기술적 과제들은 아래의 기재로부터 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 명확하게 이해될 수 있을 것이다.

과제 해결 수단

[8] 상기 해결 과제를 달성하기 위하여, 본 발명의 일 측면에 따라, 젤라틴 및 환원된 그래핀 옥사이드를 포함하는 복합체 수화젤이 제공된다.

[9] 일 구현예에서, 상기 젤라틴은 복합체 수화젤 총 량에 대하여 2 ~ 40 %(w/v)로 포함될 수 있다.

[10] 일 구현예에서, 상기 젤라틴은 젤라틴 메타크릴레이트, 젤라틴 아크릴레이트 및 이들의 혼합물에서 선택된 1종일 수 있다.

[11] 일 구현예에서, 상기 젤라틴이 젤라틴 메타크릴레이트인 경우에는 메타크릴레이트 기 피크 및 젤라틴의 아민기 피크를 기준으로 중합체 치환도 10 ~ 100일 수 있다.

[12] 일 구현예에서, 상기 환원된 그래핀 옥사이드는 복합체 수화젤 총 량에 대하여 0.05 %(w/v) 이상으로 포함될 수 있다.

[13] 일 구현예에서, 상기 젤라틴 및 상기 환원된 그래핀 옥사이드는 2000 : 1 ~ 10 : 1의 중량비로 포함될 수 있다.

[14] 일 구현예에서, 상기 복합체 수화젤은 라만 스펙트럼에서의 D-밴드와 G-밴드 강도의 비율(I_D/I_G)이 1.0 이상일 수 있다.

[15] 본 발명의 다른 측면에 따라, 젤라틴, 그래핀 옥사이드 및 가교제를 포함하는 혼합용액을 제조하는 단계; 상기 혼합용액의 가교를 유도시켜 가교된 결과물을 얻는 단계; 및 상기 가교된 결과물을 환원시키는 단계를 포함하는, 그래핀 옥사이드/젤라틴 복합체 수화젤의 제조방법이 제공된다.

[16] 일 구현예에서, 상기 환원은 상기 가교된 결과물을 아스코르브산 용액에서 인큐베이션하는 것일 수 있다.

[17] 일 구현예에서, 상기 인큐베이션은 30 ~ 45 ℃에서 수행될 수 있다.

[18] 일 구현예에서, 상기 젤라틴은 젤라틴 메타크릴레이트이고, 상기 가교제는 열중합 개시제이고, 상기 가교를 유도시키는 것은 온도를 상승시키는 것일 수 있다. 이 경우, 상기 열중합 개시제는 암모늄 퍼설페이트일 수 있으며, 상기 온도를 상승시키는 것은 온도를 50 ~ 80 ℃로 되게 하는 것일 수 있다.

[19] 일 구현예에서, 상기 젤라틴은 젤라틴 메타크릴레이트이고, 상기 가교제는 광중합 개시제이고, 상기 가교를 유도시키는 것은 자외선을 조사하는 것일 수 있다. 이 경우, 상기 광중합 개시제는 이가큐어 2959(Irgacure 2959, 2-Hydroxy-4′-(2-hydroxyethoxy)-2-methylpropiophenone)일 수 있으며, 상기 자외선을 조사하는 것은 UV 광원으로 10 ~ 1,000 초 동안 조사하는 것일 수 있다.

[20] 본 발명의 또 다른 측면에 따라, 상기 복합체 수화젤로 제조된 도관이 제공된다.

[21] 본 발명의 또 다른 측면에 따라, 상기 복합체 수화젤로 제조된 필름이 제공된다.

발명의 효과

[22] 본 발명에 의해, 젤라틴 및 환원된 그래핀 옥사이드를 포함하는 복합체 수화젤이 기존의 전도성 수화젤의 낮은 전도성 및 부서지기 쉬운 특성의 문제점을 극복하여, 우수한 탄성 및 우수한 연성으로 인해 반복 압축, 구부림에도 기계적 특성뿐만 아니라 높은 전기전도도를 유지하는 것이 밝혀졌다.

[23] 따라서, 본 발명의 그래핀 옥사이드/젤라틴 복합체 수화젤은 전도성 하이드로젤의 플랫폼 소재로서 다양한 활용이 가능하므로, 전도성 하이드로젤이 요구되는 분야에서 움직임이 많은 생체 내 조직공학용 지지체, 약물전달체, 유연한 인체 삽입형 전극 및 전자소자로서 유용하게 사용될 수 있다.

[24] 본 발명의 효과는 상기한 효과로 한정되는 것은 아니며, 본 발명의 설명 또는 특허청구범위에 기재된 발명의 구성으로부터 추론 가능한 모든 효과를 포함하는 것으로 이해되어야 한다.

도면의 간단한 설명

[25] **도 1**은 화학적으로 가교된 GO/젤라틴 수화젤 제작과 이후의 r(GO/젤라틴)에 대한 약한 화학적 환원으로 구성된 r(GO/젤라틴) 수화젤 필름의 사진이다.

[26] **도 2**는 젤라틴 및 GelMA의 ^{1}H NMR 스펙트럼이다.

[27] **도 3**은 GO/GelMA 복합체 수화젤의 중합과 이후의 r(GO/GelMA)에 대한 약한 화학적 환원으로 구성된 전도성 r(GO/GelMA) 수화젤의 제작 과정이다.

[28] **도 4**는 자외선 조사를 이용하여 광중합한 GO/GelMA 복합체 수화젤의 중합과 이후의 r(GO/GelMA)에 대한 약한 화학적 환원으로 구성된 전도성 r(GO/GelMA) 수화젤 필름의 사진이다.

[29] **도 5**는 환형(anulus)의 몰드 및 도관 제작 과정의 사진이다.

[30] **도 6**은 제작된 GelMA, GO/GelMA, r(GO/GelMA)의 환형 도관의 사진이다(눈금자: 800 μm).

[31] **도 7**은 젤라틴-기반 전도성 수화젤의 특성 평가 결과로서, (A) GO/GelMA 및 다양한 환원 시간에 따라 얻어진 r(GO/GelMA)의 라만 스펙트럼의 강도(intensity) 결과이고, (B) 라만 스펙트럼에서의 D-밴드와 G-밴드 강도의 비율(I_D/I_G)을 나타낸 결과이고, (C) GelMA, GO/GelMA 및 r(GO/GelMA) 수화젤의 영 모듈러스(Young's modulus) 및 (D) 전기전도도(conductivity)이고, (D) 다양한 수화젤의 전기화학적 임피던스 스펙트럼(electrochemical impedance spectrum, EIS)의 보데 플롯(Bode plot)이다.

[32] **도 8**은 GelMA, GO/GelMA 및 r(GO/GelMA)의 순환 전압전류도로서, 각 샘플을 전극에 부착하고 0.05V s^{-1}의 스캔 속도로 PBS(10mM, pH 7.4)에서 순환 전압전류법을 수행한 결과이다.

[33] **도 9**는 상이한 rGO 함량으로 제조된 다양한 r(GO/GelMA) 샘플의 EIS

스펙트럼으로서, EIS는 PBS에서 측정되었다.

[34] **도 10**은 37 ℃에서 PBS에서 r(GO/GelMA)의 시험관내 전기적 및 전기화학적 안정성을 나타낸 결과로서, 전도도 및 임피던스는 0, 1, 3, 5 및 7 일에 측정하였다(n = 3).

[35] **도 11**은 r(GO/GelMA) 도관의 특성 평가 결과로서, r(GO/GelMA) 도관의 (A) 구부러지는 시점의 사진 및 (B) 케이블과 LED 전구와 연결된 상태의 사진이다.

[36] **도 12**는 다양한 샘플에 대한 반복적 스트레스 시험을 통한 피로 시험 결과이다(각 도관은 최대 100회 반복까지 30 % 변형으로 압축되었고, 사진은 압축(100회 반복) 후 도관의 사진임).

[37] **도 13**은 항산화 활성 분석으로서, (A) 600 μl의 2 mM $FeSO_4$와 500 μl의 360 μg ml^{-1} 사프라닌 O(safranin O)를 사용하여 시료 1 개당 하이드록실 라디칼 용액을 준비하였다. 4 mm 길이의 각 도관을 6 wt% H_2O_2 용액에서 55 ℃에서 1 시간 동안 인큐베이션한 다음, 상기 용액을 하이드록실 라디칼 용액에 혼합하였다. (B) 0.1 mM의 스톡 용액을 80 % 메탄올로 희석하여 517 nm에서 0.7 흡광도의 DPPH 용액을 제조하였다. 각 도관을 DPPH 용액에서 25 ℃에서 1 시간 동안 인큐베이션하였다. (C) DPBS로 DPBS 중 2.6 mM 과황산칼륨 및 7.4 mM ABTS 스톡 용액으로 732 nm에서의 0.7 흡광도의 ABTS 용액을 제조하였다. 각 도관은 25 ℃에서 30분 동안 ABTS 용액에서 인큐베이션하였다. (D) 1X PBS(pH 7.4) 중 니코틴 아미드 아데닌 디뉴클레오타이드(468 μM), 니트로블루 테트라 졸륨(156 μM) 및 페나진 메토설페이트(60 μM)로 슈퍼옥사이드 라디칼 용액을 제조하였다. 각 도관은 25 ℃에서 30분 동안 슈퍼옥사이드 라디칼 용액에서 인큐베이션하였다. 마이크로플레이트 플레이트 판독기(Varioskan™ LUX 멀티모드 마이크로플레이트 판독기)를 사용하여, 각 용액(하이드록실, DPPH, ABTS 및 슈퍼옥사이드 라디칼)의 흡광도를 각각 492, 517, 732 및 560 nm에서 측정하였다. 제거 활성은 하기 계산식 1로 계산하였다.

[38] <계산식 1>

[39] 제거 활성(%) = (100 - 샘플)/대조군 × 100

발명의 실시를 위한 최선의 형태

[40] 본 발명은 젤라틴(gelatin) 및 환원된 그래핀 옥사이드를 포함하는 복합체 수화젤을 제공한다.

[41] 본 발명에서는 젤라틴 기반의 수화젤을 만들기 위하여, 젤라틴, 그래핀 옥사이드, 및 화학가교제를 혼합하여 가교시켜 그래핀 옥사이드가 균일하게 분산된 젤라틴 수화젤을 제조하였다. 다른 방법으로 젤라틴에 메타크릴레이트를 중합시킨 젤라틴 변형제(GelMA, 젤마)를 합성하여 포함시켰고, 분산도를 위해 젤마와 그래핀 옥사이드를 혼합하고 열 개시제 또는 광 개시제를 추가한 후 열 또는 광 개시 중합을 유도해 그래핀 옥사이드가 균일하게 분산된 젤마 수화젤을 제조하였다. 그 후, 경미한 조건의 환원 과정을

거쳐, 그래핀과 젤라틴 사이의 상호작용은 유지한 채 전도도 및 기능성이 증가된, 환원된 그래핀 옥사이드/젤라틴 복합체 수화젤을 얻었다.

[42] 본 발명의 복합체 수화젤에는 젤라틴이 포함된다. 젤라틴은 동물조직(피부 등)에서 가수분해 과정을 거쳐 얻어지는 물질로서, 젤라틴에는 아민 그룹, 카복실 그룹 등 많은 기능화 그룹들이 존재한다. 젤라틴의 이러한 기능화 기(group)는 산화 그래핀과 수소결합, 전하 상호작용 등을 통하여 새로운 결합 및 네트워크를 형성하며 이로 인해 기계적 특성이 강화된다. 또한, 위와 같은 전하 상호작용 등으로 인해 젤라틴 네트워크 내에서 그래핀의 분산도가 증가되므로 전체적으로 전기전도성 경로가 형성되는데 기여할 수 있다.

[43] 일 구현예에서, 상기 젤라틴은 복합체 수화젤 내에서 젤라틴 네트워크를 형성할 수 있는 농도라면 제한 없이 사용될 수 있으며, 예를 들어, 복합체 수화젤 총 량에 대하여 2 ~ 40 %(w/v), 바람직하게는 10 ~ 30 %(w/v), 더욱 바람직하게는 15 ~ 25 %(w/v)로 포함될 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[44] 일 구현예에서, 상기 젤라틴은 젤라틴 메타크릴레이트, 젤라틴 아크릴레이트 및 이들의 혼합물에서 선택된 1종일 수 있다.

[45] 일 구현예에서, 상기 젤라틴이 젤라틴 메타크릴레이트인 경우에는 젤라틴의 아민기를 메타크릴레이트 기로 치환시켜 젤라틴 메타크릴레이트를 얻을 수 있으며, 이 때 NMR 스펙트럼에서 메타크릴레이트 기의 피크 및 젤라틴의 아민기 피크를 기준으로 중합체 치환도 10 ~ 100, 바람직하게는 20 ~ 90, 더욱 바람직하게는 30 ~ 80, 가장 바람직하게는 40 ~ 70일 수 있다.

[46] 본 발명에서 사용되는 환원된 그래핀 옥사이드는 복합체 수화젤 총 량에 대하여 0.05 %(w/v) 이상으로 포함될 수 있다. 환원된 그래핀 옥사이드가 0.05 %(w/v) 이상으로 포함된 복합체 수화젤은 이보다 낮은 농도로 환원된 그래핀 옥사이드를 포함하는 복합체 수화젤보다 임피던스 값이 낮았으며, 이는 수화젤 내에서 환원된 그래핀 옥사이드 함량 0.05 %(w/v)가 전도성 침투 네트워크를 형성하는데 임계적이라는 것을 나타낸다.

[47] 본 발명의 복합체 수화젤에 있어서, 이에 포함되는 젤라틴 및 환원된 그래핀 옥사이드는 2000 : 1 ~ 10 : 1의 중량비로 포함될 수 있으며, 바람직하게는 1000 : 1 ~ 20 : 1의 중량비, 더욱 바람직하게는 200 : 1 ~ 20 : 1의 중량비로 포함될 수 있다.

[48] 본 발명의 복합체 수화젤은 이에 포함되는 그래핀 옥사이드의 환원 정도를 조절할 수 있으며, 이 때 라만 스펙트럼에서의 D-밴드와 G-밴드 강도의 비율(I_D/I_G)을 환원 정도의 지표로 할 수 있다. 일 구현예에서, 상기 복합체 수화젤은 라만 스펙트럼에서의 D-밴드와 G-밴드 강도의 비율(I_D/I_G)이 1.0 이상일 수 있으며, 바람직하게는 1.05 이상일 수 있다.

[49] 또한, 본 발명은 젤라틴, 그래핀 옥사이드 및 가교제를 포함하는 혼합용액을 제조하는 단계; 상기 혼합용액의 가교를 유도시켜 가교된 결과물을 얻는 단계; 및 상기 가교된 결과물을 환원시키는 단계를 포함하는, 그래핀 옥사이드/젤라틴 복합체 수화젤의 제조방법을 제공한다.

[50] 본 발명의 그래핀 옥사이드/젤라틴 복합체 수화젤은 전도성 수화젤로서 젤라틴(예로서, 젤라틴 메타크릴레이트(gelatin methacrylate, GelMA))과 그래핀 옥사이드(GO)를 사용하여 제조된다. 젤라틴은 다양한 조직공학 응용 분야에서 수화젤 합성에 널리 사용되어 왔으며 다양한 조직재생에 긍정적인 영향을 미치는 것으로 알려져 있다. 상기 그래핀 옥사이드/젤라틴 복합체 수화젤에 전도성 및 항산화성의 성분으로 GO가 포함되어 있고, 수화젤의 전기적 특성 및 기능성을 향상시키기 위하여 GO는 환원된 상태의 수화젤, 즉 r(GO/젤라틴)으로서 제공된다. 본 발명에서는 화학적 환원을 후-수행하였고, 이에 의해 환원된 GO(rGO)의 응집을 최소화하면서 sp^2-탄소 결합을 복원함으로써 GO-포함 수화젤의 전기적 특성이 증가된다는 것을 확인하였다. 이러한 제조 과정에 의하여 rGO가 수화젤 네트워크 중에 분산된 상태를 유지함으로써, 전기전도성을 나타냄과 동시에 기계적 연성을 유지하는 복합체 수화젤을 얻을 수 있다.

[51] 본 발명의 그래핀 옥사이드/젤라틴 복합체 수화젤의 제조방법은 젤라틴, 그래핀 옥사이드 및 가교제를 포함하는 혼합용액을 제조하는 단계를 포함한다. 상기 단계는 그래핀 옥사이드와 젤라틴 혼합 용액을 제조한 후 여기에 화학 가교제를 추가하는 단계이다. 상기 단계에서 사용되는 화학 가교제는 통상적으로 사용되는 가교제, 즉 젤라틴을 화학적으로 가교할 수 있다면 제한 없이 사용될 수 있다. 예를 들어, 글루타르알데하이드 (glutaraldehyde)일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[52] 본 단계에서는 그래핀 옥사이드와 젤라틴 혼합 용액에 가교제를 추가하고 하기 설명할 중합 조건(온도 상승 또는 자외선 조사)을 맞추어 주면 중합 반응이 곧바로 일어나므로, 중합 반응이 일어나기 전 반응에 필요한 구성 물질을 혼합하는 단계이다. 상기 단계에서, 젤라틴 및 그래핀 옥사이드는 상기에서 설명한 바와 같다. 본 단계에서 사용되는 가교제는 통상적으로 사용되는 가교제, 즉 젤라틴(예로서, 젤라틴 메타크릴레이트)을 열중합시키거나 광중합시킬 수 있는 개시제라면 제한 없이 사용할 수 있다. 예를 들어, 열중합의 경우 암모늄 퍼설페이트일 수 있으며, 광중합의 경우 이가큐어 2959(Irgacure 2959, 2-Hydroxy-4′-(2-hydroxyethoxy)-2-methylpropiophenone)일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[53] 본 발명의 그래핀 옥사이드/젤라틴 복합체 수화젤의 제조방법은 상기 혼합용액의 가교를 유도시켜 가교된 결과물을 얻는 단계를 포함한다.

[54] 일 구현예에서, 상기 젤라틴은 젤라틴 메타크릴레이트이고, 상기 가교제는 열중합 개시제이고, 상기 가교를 유도시키는 것은 온도를 상승시키는 것일 수 있다. 이 경우, 상기 열중합 개시제는 암모늄 퍼설페이트일 수 있다. 상기 단계에서 온도를 상승시키는 것은 젤라틴 메타크릴레이트의 중합 반응이 진행되는 온도까지 상승시키는 것을 의미하여, 예를 들어, 온도를 50 ~ 80 ℃, 바람직하게는 55 ~ 70 ℃, 더욱 바람직하게는 58 ~ 65 ℃까지 상승시킬 수 있다.

상기 중합 반응은 당해 기술 분야에서 통상적으로 사용되는 중합 반응의 시간 동안 수행될 수 있다. 이러한 과정에서 젤라틴 메타크릴레이트는 중합되어 젤라틴 네트워크를 형성하고, 그래핀 옥사이드는 젤라틴 네트워크 내에서 분산도가 증가되어, 전체적으로 전기전도성 경로가 연결되어 있는 복합체 수화젤이 얻어질 수 있다.

[55] 일 구현예에서, 상기 젤라틴은 젤라틴 메타크릴레이트이고, 상기 가교제는 광중합 개시제이고, 상기 가교를 유도시키는 것은 자외선을 조사하는 것일 수 있다. 이 경우, 상기 광중합 개시제는 이가큐어 2959(Irgacure 2959, 2-Hydroxy-4′-(2-hydroxyethoxy)-2-methylpropiophenone)일 수 있다. 상기 단계에서 자외선을 조사하는 것은 조사되는 자외선에 의해 젤라틴 메타크릴레이트의 중합 반응을 유도하는 것을 의미한다. 자외선을 조사하는 시간은 젤라틴 메타크릴레이트의 중합 반응이 유도될 수 있는 시간을 말하며, 예를 들어, UV 광원으로 10 ~ 1,000 초, 바람직하게는 1 ~ 600 초, 더욱 바람직하게는 10 ~ 300 초, 가장 바람직하게는 30 ~ 180 초 동안 자외선을 조사하는 것을 말한다.

[56] 본 발명의 그래핀 옥사이드/젤라틴 복합체 수화젤의 제조방법은 상기 중합된 결과물을 환원시키는 단계를 포함한다. 상기 단계에서는 그래핀 옥사이드/젤라틴 복합체 수화젤에 포함된 그래핀 옥사이드의 환원도를 증가시키는 단계이다. 상기 환원은 당해 기술 분야에서 통상적으로 사용되는 환원 공정이라면 제한 없이 사용될 수 있으며, 예를 들어, 상기 중합된 결과물을 아스코르브산 용액에서 인큐베이션하는 것일 수 있다. 상기 아스코르브산 용액의 농도는 0.2 ~ 20 mg/ml일 수 있으며, 바람직하게는 0.5 ~ 10 mg/ml일 수 있다. 일 구현예에서, 상기 인큐베이션은 30 ~ 45 ℃, 바람직하게는 33 ~ 42 ℃, 더욱 바람직하게는 35 ~ 40 ℃에서 수행될 수 있다. 또한, 상기 인큐베이션은 당해 기술 분야에서 통상적으로 사용되는 환원 반응에 필요한 시간일 수 있으며, 바람직하게는 1 ~ 60 시간, 더욱 바람직하게는 12 ~ 36 시간일 수 있다.

[57] 본 발명은 또한, 상기 복합체 수화젤로 제조된 도관과 필름을 제공한다. 본 발명의 복합체 수화젤은 도관 및 필름과 같은 다양한 형태의 조직공학용 지지체로 제작될 수 있다. 즉, 상기 복합체 수화젤의 제조 과정을 그대로 이용하고, 주조 몰드 등을 이용하여 목적하는 모양의 결과물로 제조할 수 있다. 예를 들어, 환형의 몰드를 이용하여 도관 모양으로 제조할 수 있으며, 평판을 이용하여 필름 형태로 제작할 수 있다. 이렇게 제조된 환형의 도관 또는 필름은 환원 후에도 그 모양을 잘 유지하며, 화학적 환원에 의해 갈색에서 진한 검은색으로 색상이 변화된다.

[58]

[59] 이하, 본 발명을 실시예를 통하여 더욱 상세히 설명한다. 그러나, 하기 실시예는 본 발명을 예시하기 위한 것으로, 본 발명의 범위가 이에 제한되는 것은 아니다.

[60]

[61] **<실시예>**

[62] **1. 실험**

[63] **(1) 물질 및 시약**

[64] 메타실산 무수물(methacylic anhydride), 암모늄 퍼설페이트(ammonium persulfate, APS) 및 L-아스코르브산은 Sigma-Aldrich(미국 미주리 주 세인트 루이스)에서 입수하였다. GO 수용액(6mg mL^{-1})은 Graphene Supermarket Inc. (Calverton, NY, USA)에서 구입하였다. DPBS(Dulbecco's phosphate-buffered saline)는 Gibco(Rockville, MD, USA)에서 구입하였다.

[65]

[66] **(2) r(GO/젤라틴) 필름 제작**

[67] 하이드로젤 사전 용액 (pre-solution)은 젤라틴 20 %(w/v)와 GO 0.2 %(w/v)를 물에 녹여 제조되었다. 이후 글루타르알데하이드 0.75 %(v/v)를 투입하고 빠르게 교반 후 캐스팅 몰드에 넣어 반응을 진행했다. 이후 몰드에서 제조된 수화젤을 빼내어 3차 증류수에서 세척을 하여 GO/젤라틴 수화젤을 수득하였다. 이후 2 mg/ml 농도의 아스코르브산 용액에 위의 수득한 GO/젤라틴 수화젤을 넣고 37 ℃에서 24시간 동안 환원을 시켜 r(GO/젤라틴) 수화젤을 제작하였다. 이후 수화젤을 빼내어 3차 증류수에서 세척을 하여 최종적으로 r(GO/젤라틴) 수화젤을 수득하였다.

[68]

[69] **(3) 젤라틴 메타크릴레이트(GelMA)의 합성**

[70] 젤라틴(10 %(w/v))을 60 ℃에서 DPBS에 완전히 용해시켰다. 젤라틴 그램 당 0.8 mL의 메타크릴 산 무수물을 격렬하게 교반하면서 젤라틴 용액에 적가하였다. 혼합물을 60 ℃에서 2 시간 동안 추가로 교반한 다음, 예열된 DPBS로 희석하여 반응을 종결시켰다. 용액을 40 ℃에서 5 일 동안 10 kDa 막(Spectrum Laboratories Inc, USA)으로 투석하였다. 투석 후 0.2 μm 필터를 사용하여 용액을 여과하고 동결건조하여 -20 ℃에서 보관하였다. 합성된 GelMA의 치환도는 ^{1}H-NMR 분광법에 의해 결정되었다(도 2). 합성된 GelMA의 치환도는 5-6 ppm의 피크(메타크릴레이트 기)와 2.9 ppm(젤라틴)의 아민기 피크를 기준으로 하여 51.5 ± 3.5로 계산되었다.

[71]

[72] **(4) r(GO/GelMA) 수화젤 필름 제작**

[73] 하이드로젤 사전 용액 (pre-solution)은 GelMA 20 %(w/v)와 GO 0.2 %(w/v)를 물에 녹여 제조되었다. 이후 광 개시제인 이가큐어 2959(Irgacure 2959 1 %(v/v)를 투입하고 빠르게 교반 후 UV 광원 아래에서 5-10 분 동안 반응을 진행했다. 이후 몰드에서 제조된 수화젤을 빼내어 3차 증류수에서 세척을 하여 GO/GelMA 수화젤을 수득하였다. 이후 2 mg/ml 농도의 아스코르브산 용액에 위의 수득한 GO/GelMA 수화젤을 넣고 37 ℃에서 24시간 동안 환원을 시켰다. 이후 수화젤을 빼내어 3차 증류수에서 세척을 하여 최종적으로 환원된 r(GO/GelMA) 수화젤 필름을 수득하였다.

[74]

[75] **(5) r(GO/GelMA) 수화젤 도관의 제작**

[76] 20 %(w/v) GelMA, 0.2 %(w/v) GO 및 2 %(w/v) 암모늄 퍼설페이트의 프리폴리머(pre-polymer) 용액을 제조하여 GO 포함 GelMA를 제작하였다(즉, GO/GelMA). 혼합된 프리폴리머 용액을 다양한 주조 몰드로 옮겼다. 도관 몰드는 유리관(내경 2.2 mm)과 스테인리스 스틸 막대(직경 1.2 mm)로 구성되어 막대가 유리관의 중앙에 고정되었다. 수화젤 필름의 제조를 위해 2개의 평행 유리판으로 0.5mm 간격을 두어 평평한 몰드를 구성하였다. 각 주조 몰드에 혼합된 프리폴리머 용액을 넣고 60 ℃에서 6 시간 동안 인큐베이션하여 중합하였다.

[77] GO/GelMA 수화젤을 2 mg mL^{-1} L-아스코르브산 용액에서 37 ℃에서 24 시간 동안 인큐베이션하여 화학적 환원시켜 r(GO/GelMA)를 제조하였다.

[78]

[79] **(6) 다양한 수화젤 도관의 특성 평가**

[80] 수화젤에 포함된 GO 구성 요소의 화학적 환원을 라만 분광분석을 수행하여 조사하였다. 각 수화젤을 37 ℃에서 밤새 2.5 U mL^{-1}의 콜라게나아제 1로 분해시켰다. 다음으로, 용액을 100 ℃에서 깨끗한 슬라이드 유리에 드롭-캐스트(drop-cast)하고 라만 분광기(UniRaman; UniThink Inc., 한국)의 532 nm 레이저로 분석하였다.

[81] 수화젤의 기계적 특성을 평가하기 위해 레오미터(Kinexus; Malvern Instruments, UK Worcestershire)를 사용하여 37 ℃에서 0.1 ~ 10 Hz의 주파수 범위에서 0.5 % 변형률로 전단 계수(shear modulus)를 측정하였다. 영 모듈러스(Young's modulus)는 앞서 설명한대로 1 Hz 주파수에서 전단 계수로부터 계산되었다.

[82] 전도성 수화젤의 EIS 및 전기전도도를 측정하였다. EIS 측정을 위해 평평한 수화젤 디스크를 준비하고 DPBS에서 사전 인큐베이션한 다음 두 개의 평행한 금 코팅 유리 전극 사이에 배치하였다. 10 mV의 대체 정현파(sinusoidal) 전위는 컴퓨터-보조 전기화학 장치(VersaSTAT3, Princeton Applied Research, Princeton, NJ, USA)를 사용하여 1 ~ 10^5 Hz의 주파수 범위에서 적용하였다. 수화젤의 전도도를 측정하기 위해 4점 프로브 방법을 사용하였다. 면 저항(sheet resistance)은 선형 주사 전압전류법(linear scanning voltammetry)에 의해 50 mV s^{-1}의 주사율로 측정하였고, 전도도는 앞서 설명한 면저항으로부터 계산하였다.

[83]

[84] **(7) 통계 분석**

[85] 모든 결과는 통계적 분석하였으며 평균±표준편차로 나타내었다. 통계 분석은 달리 명시되지 않는 한 0.05의 유의수준에서 Tukey의 사후 테스트와 함께 일원 분산 분석(one-way ANOVA)을 사용하여 수행하였다.

[86]

[87] **2. 결과**

[88] **(1) 복합체 수화젤의 제조**

[89] GO/젤라틴 복합체 수화젤은 화학 가교제를 이용하여 합성할 수 있었으며(도 2), 전기전도도를 향상시키기 위해 추가적으로 온화한 조건(2 mg mL^{-1} L-아스코르브산, 37 ℃)에서 화학적 환원시켜 r(GO/젤라틴) 필름을 얻었다. GO/젤라틴 필름의 약한 화학적 환원은 갈색에서 진한 검은색으로 색상 변화를 일으켜 복합체 수화젤에서 GO 성분의 환원을 나타내었다.

[90] 광중합 시에는 GO/GelMA 복합체 수화젤을 UV 광중합으로 합성하였으며, 전기전도도를 향상시키기 위해 추가적으로 온화한 조건(2 mg mL^{-1} L-아스코르브산, 37 ℃)에서 화학적 환원시켜 r(GO/GelMA) 복합체 필름을 얻었다(도 4). GO/GelMA 필름의 약한 화학적 환원은 갈색에서 진한 검은색으로 색상 변화를 일으켜 복합체 수화젤에서 GO 성분의 환원을 나타내었다.

[91] 열중합 시에는 하이드로젤 사전 용액 (pre-solution)에 열을 가하여 GO/GelMA 복합체 수화젤을 합성하였으며, 전기전도도를 향상시키기 위해 추가적으로 온화한 조건(2 mg mL^{-1} L-아스코르브산, 37 ℃)에서 화학적 환원시켜 r(GO/GelMA)를 얻었다(도 6). GelMA, GO/GelMA 및 r(GO/GelMA) 도관은 유사한 치수의 환형 몰드를 사용하여 성공적으로 제작하였다(도 5 및 도 6). 이 도관의 내경과 벽 두께는 각각 약 1.2 mm 및 0.5 mm였다. 이러한 결과로부터 GO-포함 도관의 모양과 크기가 환원 후에도 잘 유지됨을 알 수 있다. GO/GelMA 도관의 약한 화학적 환원은 갈색에서 진한 검은색으로 색상 변화를 일으켜 복합체 수화젤에서 GO 성분의 환원을 나타내었다.

[92]

[93] **(2) 복합체 수화젤의 재료 특성: 라만 분광 분석**

[94] r(GO/GelMA)에서 GO 성분의 환원은 라만분광법을 사용하여 조사하였다(도 7A). 피크 강도의 D-밴드(I_D) 대 G-밴드(I_G) 비율을 rGO의 환원 정도를 나타내는 지표로 하여 비교하였다(도 7B). 샘플의 I_D/I_G 비율은 환원 시간이 24 시간으로 증가함에 따라 0.909 ± 0.05에서 1.09 ± 0.05로 점차 증가하였다. 6 시간 이상 환원된 r(GO/GelMA) 샘플은 환원되지 않은 GO/GelMA(0 시간)에 비해 상당히 높은 I_D/I_G 비율 값을 나타냈다. 특히, 24 시간 동안 환원된 r(GO/GelMA)는 다른 샘플에 비해 현저히 높은 I_D/I_G 비율을 나타냈다. 후속 실험에는 24 시간 동안 환원된 수화젤을 사용하였다.

[95]

[96] **(3) 복합체 수화젤의 기계적 및 전기적 특성**

[97] GO가 포함되지 않은 GelMA 수화젤의 영 모듈러스는 20 ± 6 kPa로 측정되었다. GelMA에 GO를 포함시키면(0.2 mg mL^{-1}) 탄력성이 약 3 배 증가하였다. 이러한 결과는 GO와 젤라틴 간의 추가 분자 상호작용이 수화젤의 기계적 특성을 개선시켰음을 나타낸다. 또한, GO/GelMA의 영 모듈러스(59 ± 16 kPa) 및 r(GO/GelMA)의 영 모듈러스(57 ± 13 kPa)는 통계적으로 다르지 않았으며(도 7C), 이는 본 발명에서 수행된 약한 화학반응이 GO(또는 rGO)와 GelMA 간의 분자

상호작용에 실질적인 변화를 일으키지 않았음을 의미한다.

[98] 다양한 수화젤 샘플의 전기적 특성은 전기전도도와 전기화학적 임피던스 스펙트럼(EIS)으로 조사하였다. GO/GelMA는 GelMA(1.1 ± 0.1 mS cm^{-1})보다 높은 전기전도도(4.4 ± 0.4 mS cm^{-1})를 나타냈다(도 7D). r(GO/GelMA)는 가장 높은 전도도(8.7 ± 1.6 mS cm^{-1})를 나타냈고, 이는 전도성 rGO 부분이 복합체 수화젤(즉, r(GO/GelMA))에서의 기여도를 나타낸다. 또한, GelMA는 시험된 모든 주파수(0.1 - 10^5 Hz)에서 높은 임피던스를 보였지만, GO 또는 rGO를 포함시킨 복합체 GelMA 수화젤은 임피던스가 낮은 것으로 측정되었다. r(GO/GelMA)는 모든 주파수에서 가장 낮은 임피던스를 나타냈다(도 7E). 예를 들어 1Hz에서 GelMA, GO/GelMA 및 r(GO/GelMA)의 임피던스 값은 각각 193 ± 13 kΩ, 98 ± 8 kΩ 및 10 ± 1 kΩ이었다. 이러한 결과는 r(GO/GelMA)는 전기적으로 전도성이 있고 기계적으로 유연하여 움직임이 있는 생체조직 응용 분야에 적합할 것으로 예상되었다. 샘플의 순환 전압전류법 결과(도 8)로부터, GelMA는 양극 및 음극 피크를 나타내지 않고, r(GO/GelMA)는 GO/GelMA보다 더 높은 전류와 커패시턴스를 나타낸다는 것을 알 수 있다. 이러한 결과는 r(GO/GelMA)의 전기전도도와 전도 영역이 증가했음을 나타낸다(도 8). 또한, rGO 농도가 전기화학적 특성에 미치는 영향을 알아보기 위해 r(GO/GelMA) 중 rGO 함량을 달리하여 실험하였다(도 9). rGO 0.1 % 이상의 농도로 제조된 r(GO/GelMA)의 임피던스 값이 rGO를 이보다 적게 포함하는 샘플보다 실질적으로 낮았으며, 이는 수화젤 내에서 rGO 함량 0.1 %가 전도성 침투 네트워크를 형성하는 데 임계적이라는 것을 나타낸다. 또한, 7 일 동안 PBS에서 r(GO/GelMA)의 전기적 및 전기화학적 특성의 안정성을 시험하였다(도 10). 7 일의 인큐베이션 후, r(GO/GelMA)의 1 Hz에서의 전도도와 임피던스는 1 Hz(0 일)에서의 원래 전도도와 임피던스와 비교하여 유사하게 유지되었다.

[99] 또한, 전도성 수화젤 기반 도관의 조직공학 이식체로의 사용 가능성을 알아보기 위하여 이들의 유연성 및 내구성을 평가하였다. 도 11A에서 볼 수 있듯이 r(GO/GelMA) 도관은 매우 유연하여 구조적 손상없이 구부릴 수 있었다. 또한, 약 90 °로 구부러진 동안에도 도관은 전기 전도성을 유지하고 발광 다이오드(light emitting diode, LED) 전구의 불빛을 유지하였다(도 11B). 따라서, r(GO/GelMA) 도관의 이러한 유연성과 전도도 특성은 기존과는 다른 성능을 제공한다. 다양한 도관의 기계적 내구성은 연속적인 반복 압축으로 시험하였다(도 12). 압축하는 동안 GelMA 도관은 점차적으로 기계적 강도를 잃어 100회 반복 압축 후에는 초기 압축 응력의 약 37.5 %를 나타내었고 심각한 구조적 손상을 나타내었다. 이와는 대조적으로, GO/GelMA 및 r(GO/GelMA) 도관은 반복되는 압축 동안에도 높은 수준의 압축 응력을 나타냈다. GO/GelMA 및 r(GO/GelMA) 도관은 초기 압축 응력의 약 85 % 정도를 나타냈고, 우수한 구조적 완전성을 나타냈다.

[100]

[101] **3. 결론**

[102] 기존 젤라틴 기반의 수화젤에 새로운 기능부가 및 기능개선을 목표로, GO와 젤라틴(또는 GelMA)를 중합한 후 화학적 환원을 통해 최종적으로 환원된 그래핀 젤라틴 복합체 수화젤을 형성함으로써 전기 전도성과 기계적 특성이 향상된 수화젤을 제작하였다. 상기 소재는 낮은 영 모듈러스(57 ± 13 kPa), 우수한 전기전도도(8.7 ± 1.6 mS cm^{-1}), 넓은 주파수 범위에서의 낮은 임피던스, 유연성 및 내구성(최대 500 반복 압축)성을 나타내었다. 또한, 향상된 항산화의 특성을 나타내었다. 본 연구에서 얻어진 다기능성 수화젤은 다양한 생체 조직의 재생, 생체전극 및 인터페이스 소재에 적용될 가능성이 있다.

[103]

[104] **4. 요약**

[105] 산화 그래핀(GO)과 젤라틴을 젤화(중합)시키고 화학적으로 환원시켜 환원된 그래핀 옥사이드/젤라틴 복합체를 제조하였다. 얻어진 소재는 우수한 전기 전도성, 유연성 및 기계적 안정성을 나타내어 다양한 의공학, 화장품 등의 소재로 활용하기에 적합하다. 본 연구에서 제작된 전기전도성 수화젤은 조직공학용 지지체, 유연한 인체 삽입형 전극, 신경재생 개선 등을 위한 기능적 도관 등 전도성 하이드로젤이 응용되는 많은 분야에 활용될 수 있다.

[106]

[107] 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. 예를 들어, 단일형으로 설명되어 있는 각 구성 요소는 분산되어 실시될 수도 있으며, 마찬가지로 분산된 것으로 설명되어 있는 구성 요소들도 결합된 형태로 실시될 수 있다.

[108]

[109] 본 발명의 범위는 후술하는 청구범위에 의하여 나타내어지며, 청구범위의 의미 및 범위 그리고 그 균등 개념으로부터 도출되는 모든 변경 또는 변형된 형태가 본 발명의 범위에 포함되는 것으로 해석되어야 한다.

청구범위

[청구항 1] 젤라틴 및 환원된 그래핀 옥사이드를 포함하는 복합체 수화젤.

[청구항 2] 제1항에 있어서, 상기 젤라틴이 복합체 수화젤 총 량에 대하여 2 ~ 40 %(w/v)로 포함되는 것을 특징으로 하는 복합체 수화젤.

[청구항 3] 제1항에 있어서, 상기 젤라틴이 젤라틴 메타크릴레이트, 젤라틴 아크릴레이트 및 이들의 혼합물에서 선택된 1종인 것을 특징으로 하는 복합체 수화젤.

[청구항 4] 제3항에 있어서, 상기 젤라틴 메타크릴레이트가 메타크릴레이트 기 피크 및 젤라틴의 아민기 피크를 기준으로 중합체 치환도 10 ~ 100인 것을 특징으로 하는 복합체 수화젤.

[청구항 5] 제1항에 있어서, 상기 환원된 그래핀 옥사이드가 복합체 수화젤 총 량에 대하여 0.05 %(w/v) 이상으로 포함되는 것을 특징으로 하는 복합체 수화젤.

[청구항 6] 제1항에 있어서, 상기 젤라틴 및 상기 환원된 그래핀 옥사이드가 2000 : 1 ~ 10 : 1의 중량비로 포함되는 것을 특징으로 하는 복합체 수화젤.

[청구항 7] 제1항에 있어서, 상기 복합체 수화젤이 라만 스펙트럼에서의 D-밴드와 G-밴드 강도의 비율(I_D/I_G)이 1.0 이상인 것을 특징으로 하는 복합체 수화젤.

[청구항 8] 젤라틴, 그래핀 옥사이드 및 가교제를 포함하는 혼합용액을 제조하는 단계;
상기 혼합용액의 가교를 유도시켜 가교된 결과물을 얻는 단계; 및
상기 가교된 결과물을 환원시키는 단계
를 포함하는, 그래핀 옥사이드/젤라틴 복합체 수화젤의 제조방법.

[청구항 9] 제8항에 있어서, 상기 환원이 상기 가교된 결과물을 아스코르브산 용액에서 인큐베이션하는 것을 특징으로 하는, 그래핀 옥사이드/젤라틴 복합체 수화젤의 제조방법.

[청구항 10] 제9항에 있어서, 상기 인큐베이션이 30 ~ 45 ℃에서 수행되는 것을 특징으로 하는, 그래핀 옥사이드/젤라틴 복합체 수화젤의 제조방법.

[청구항 11] 제8항에 있어서, 상기 젤라틴이 젤라틴 메타크릴레이트이고, 상기 가교제가 열중합 개시제이고, 상기 가교를 유도시키는 것이 온도를 상승시키는 것을 특징으로 하는, 그래핀 옥사이드/젤라틴 복합체 수화젤의 제조방법.

[청구항 12] 제11항에 있어서, 상기 열중합 개시제가 암모늄 퍼설페이트인 것을 특징으로 하는, 그래핀 옥사이드/젤라틴 복합체 수화젤의 제조방법.

[청구항 13] 제11항에 있어서, 상기 온도를 상승시키는 것이 온도를 50 ~ 80 ℃로 되게 하는 것을 특징으로 하는, 그래핀 옥사이드/젤라틴 복합체 수화젤의 제조방법.

[청구항 14] 제8항에 있어서, 상기 젤라틴이 젤라틴 메타크릴레이트이고, 상기 가교제가 광중합 개시제이고, 상기 가교를 유도시키는 것이 자외선을 조사하는 것을 특징으로 하는, 그래핀 옥사이드/젤라틴 복합체 수화젤의 제조방법.

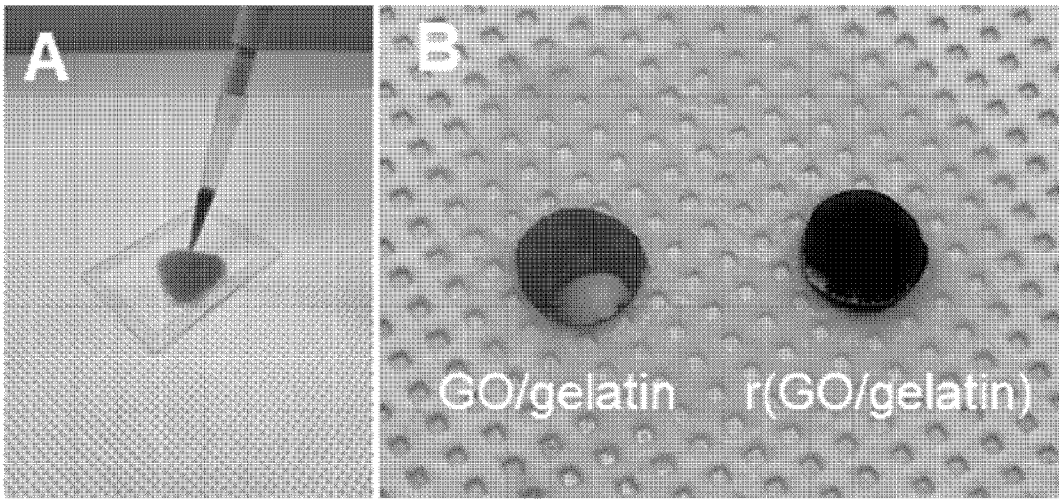
[청구항 15] 제14항에 있어서, 상기 광중합 개시제가 이가큐어 2959(Irgacure 2959, 2-Hydroxy-4′-(2-hydroxyethoxy)-2-methylpropiophenone)인 것을 특징으로 하는, 그래핀 옥사이드/젤라틴 복합체 수화젤의 제조방법.

[청구항 16] 제14항에 있어서, 상기 자외선을 조사하는 것이 UV 광원으로 10 ~ 1,000 초 동안 조사하는 것을 특징으로 하는, 그래핀 옥사이드/젤라틴 복합체 수화젤의 제조방법.

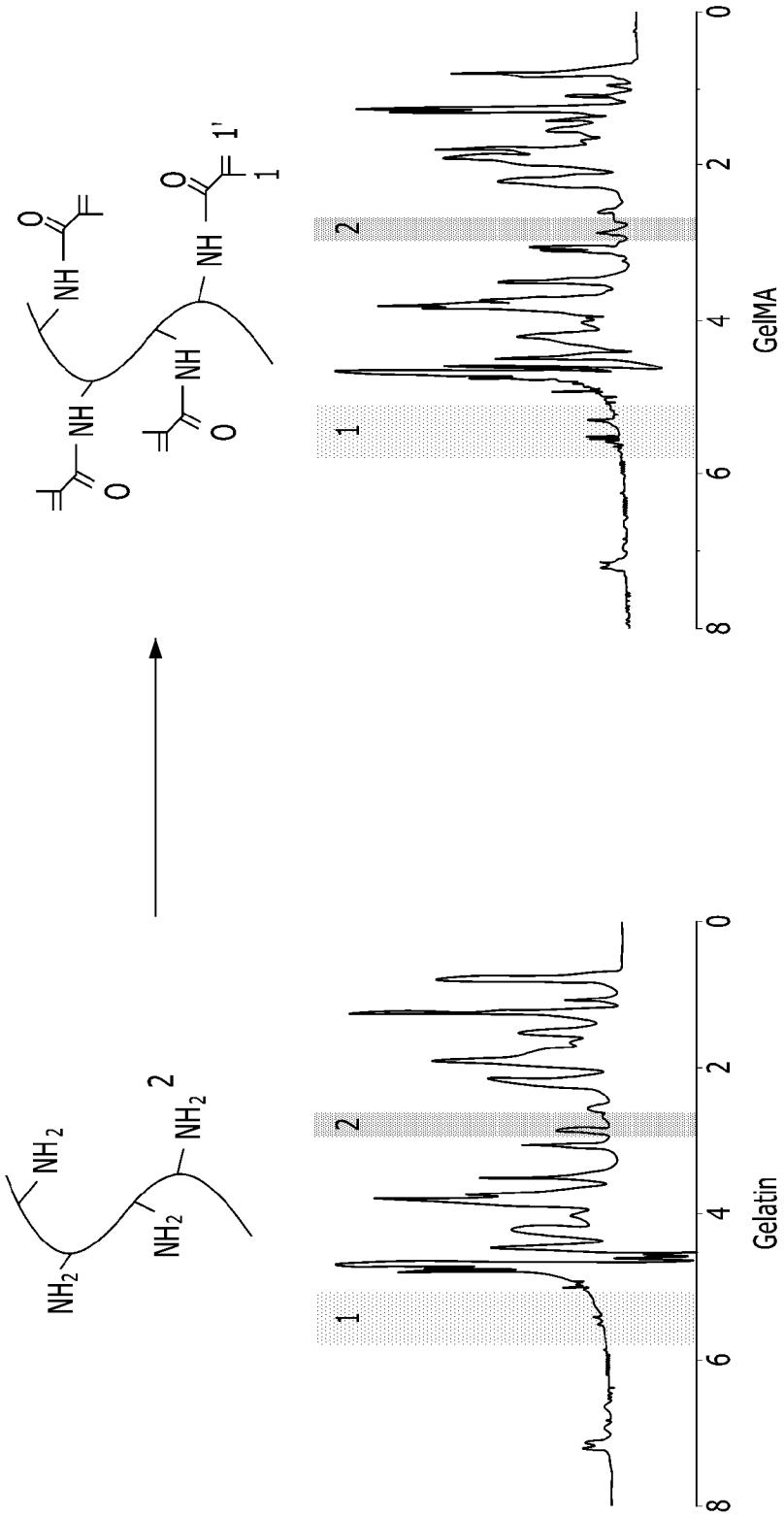
[청구항 17] 제1항 내지 제7항 중 어느 한 항의 복합체 수화젤로 제조된 도관.

[청구항 18] 제1항 내지 제7항 중 어느 한 항의 복합체 수화젤로 제조된 필름.

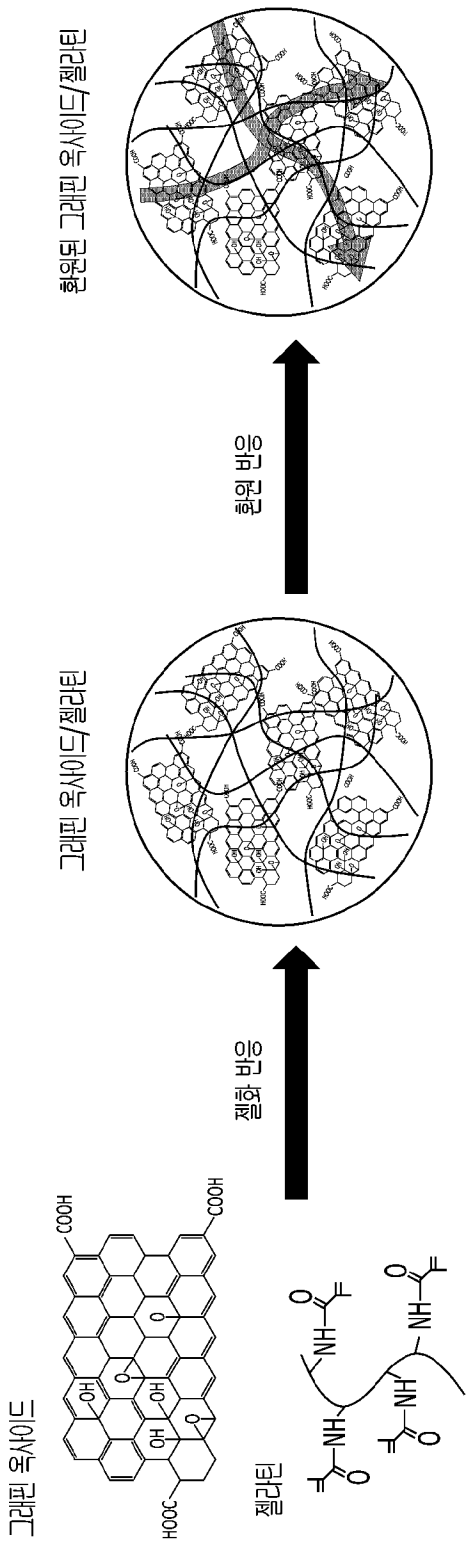
[도1]



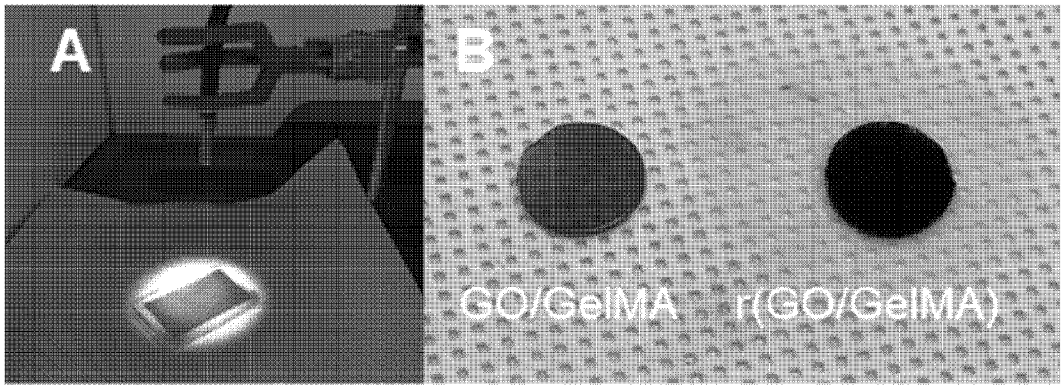
[도2]



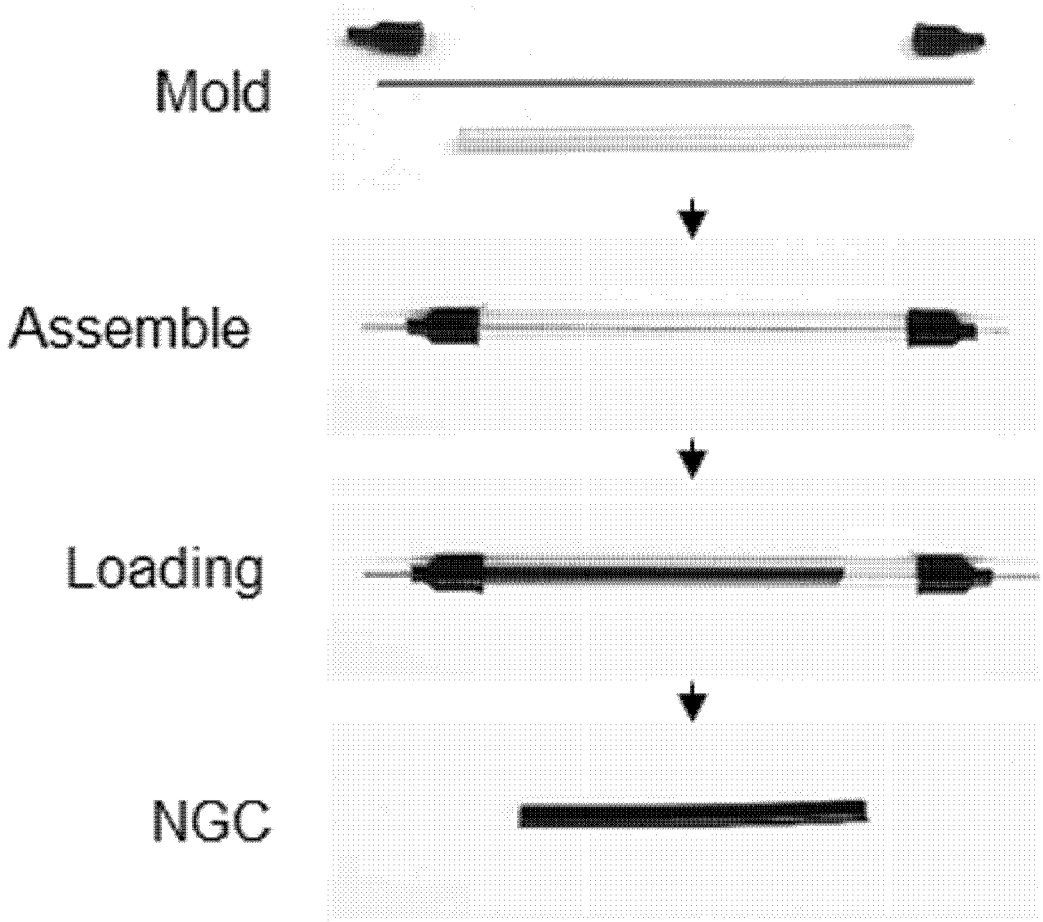
[도3]



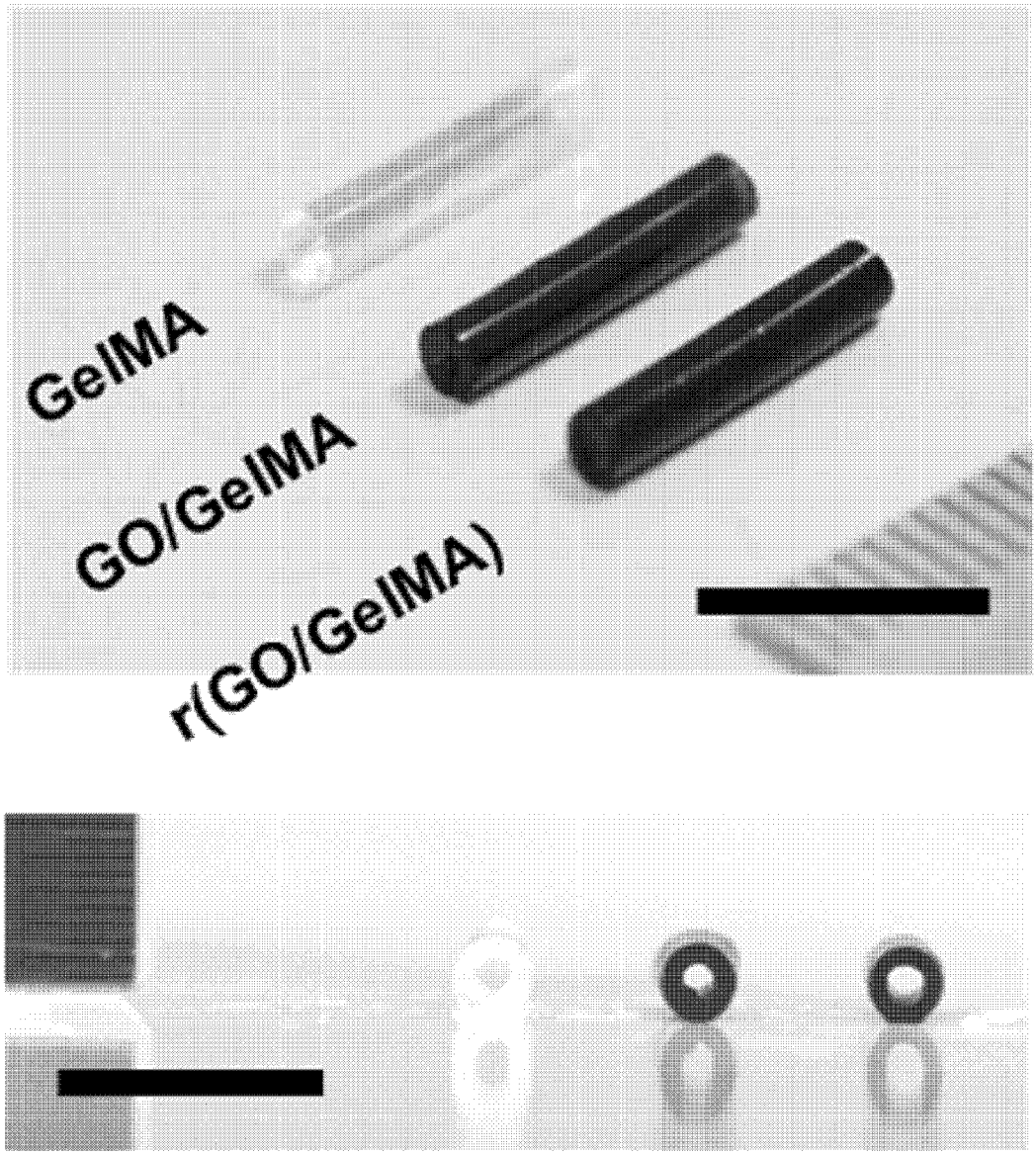
[도4]



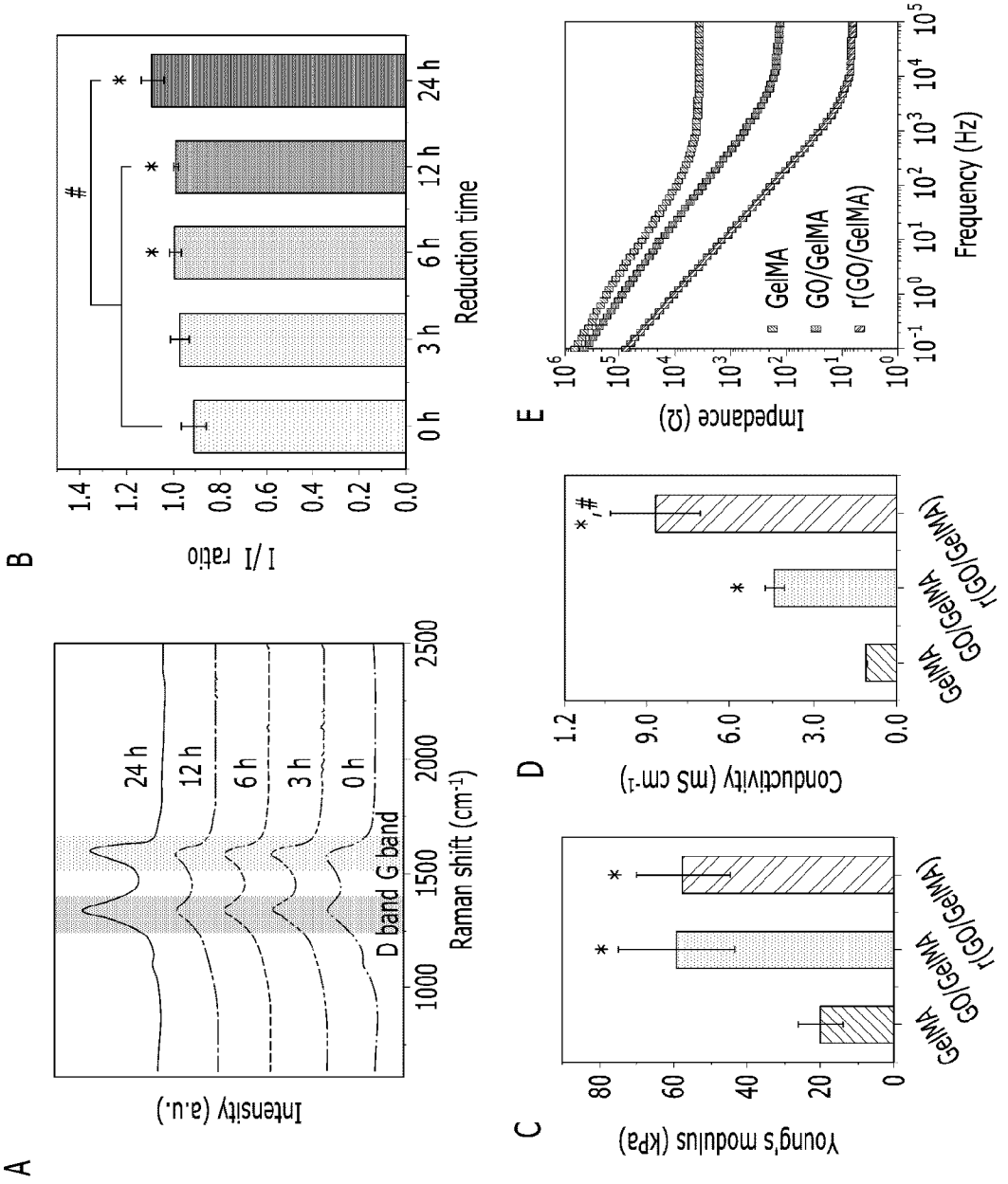
[도5]



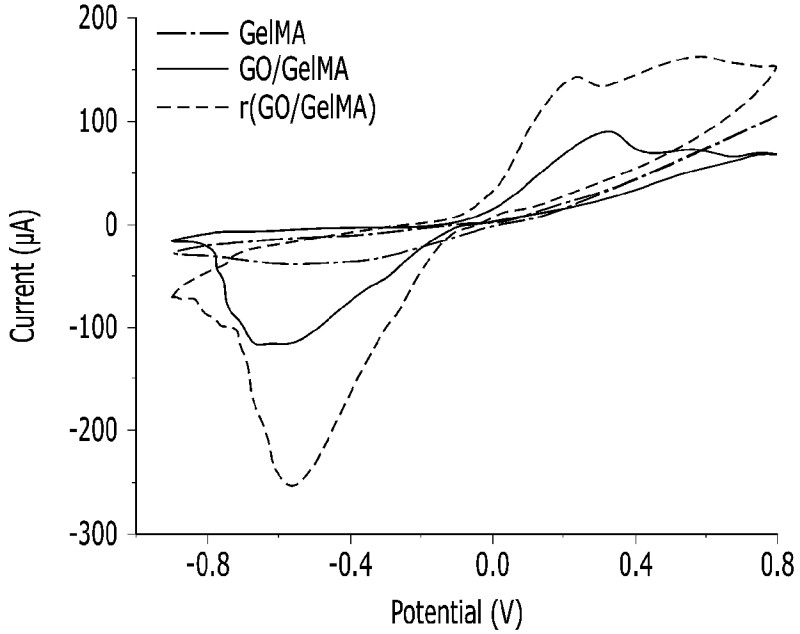
[도6]



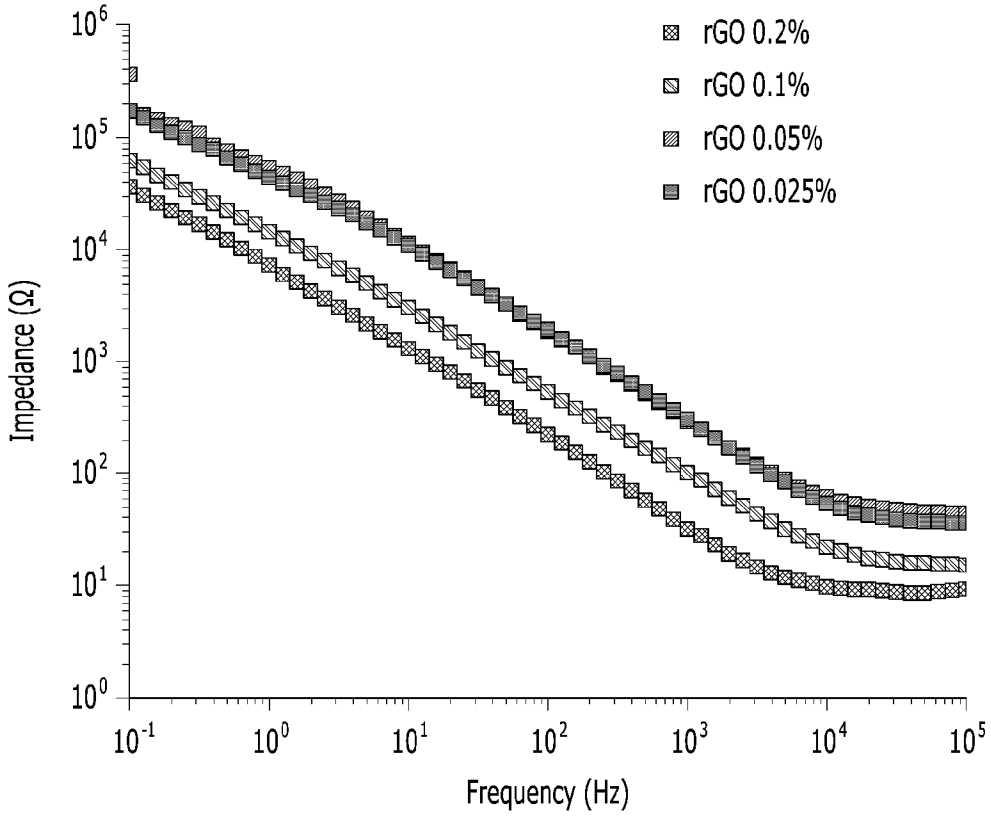
[도7]


A
Intensity (a.u.)
Raman shift (cm-1)
D band
G band
24 h
12 h
6 h
3 h
0 h
B
I /I ratio
Reduction time
C
Young's modulus (kPa)
GelMA
GO/GelMA
r(GO/GelMA)
D
Conductivity (mS cm-1)
E
Impedance (Ω)
Frequency (Hz)
GelMA
GO/GelMA
r(GO/GelMA)

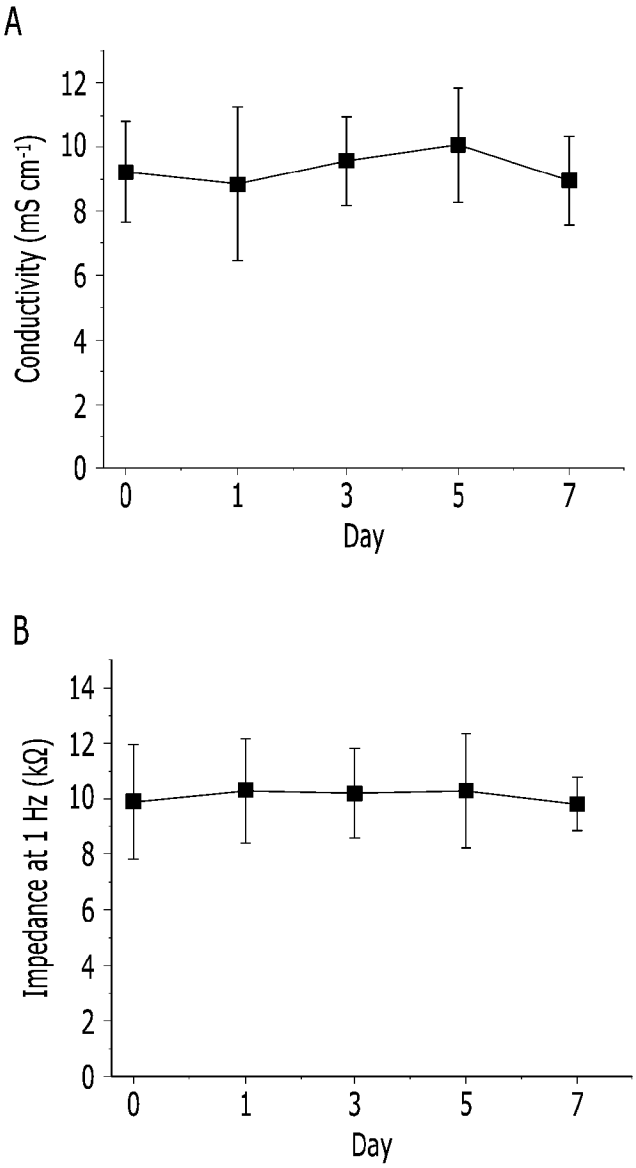
[도8]


GelMA
GO/GelMA
r(GO/GelMA)
Current (μA)
Potential (V)
200
100
0
-100
-200
-300
-0.8
-0.4
0.0
0.4
0.8

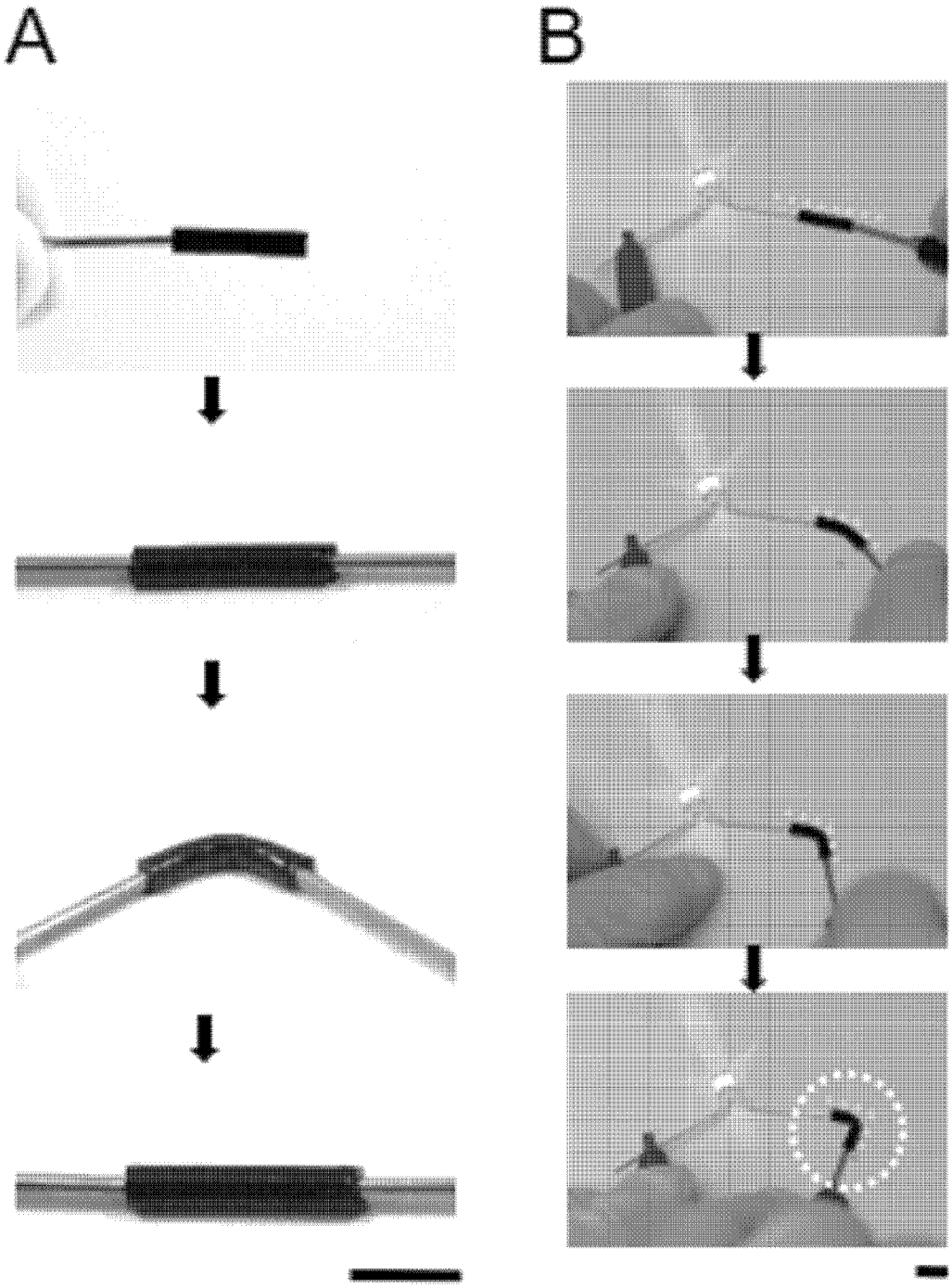
[도9]


rGO 0.2%
rGO 0.1%
rGO 0.05%
rGO 0.025%
Impedance (Ω)
Frequency (Hz)
10^6
10^5
10^4
10^3
10^2
10^1
10^0
10^-1
10^0
10^1
10^2
10^3
10^4
10^5

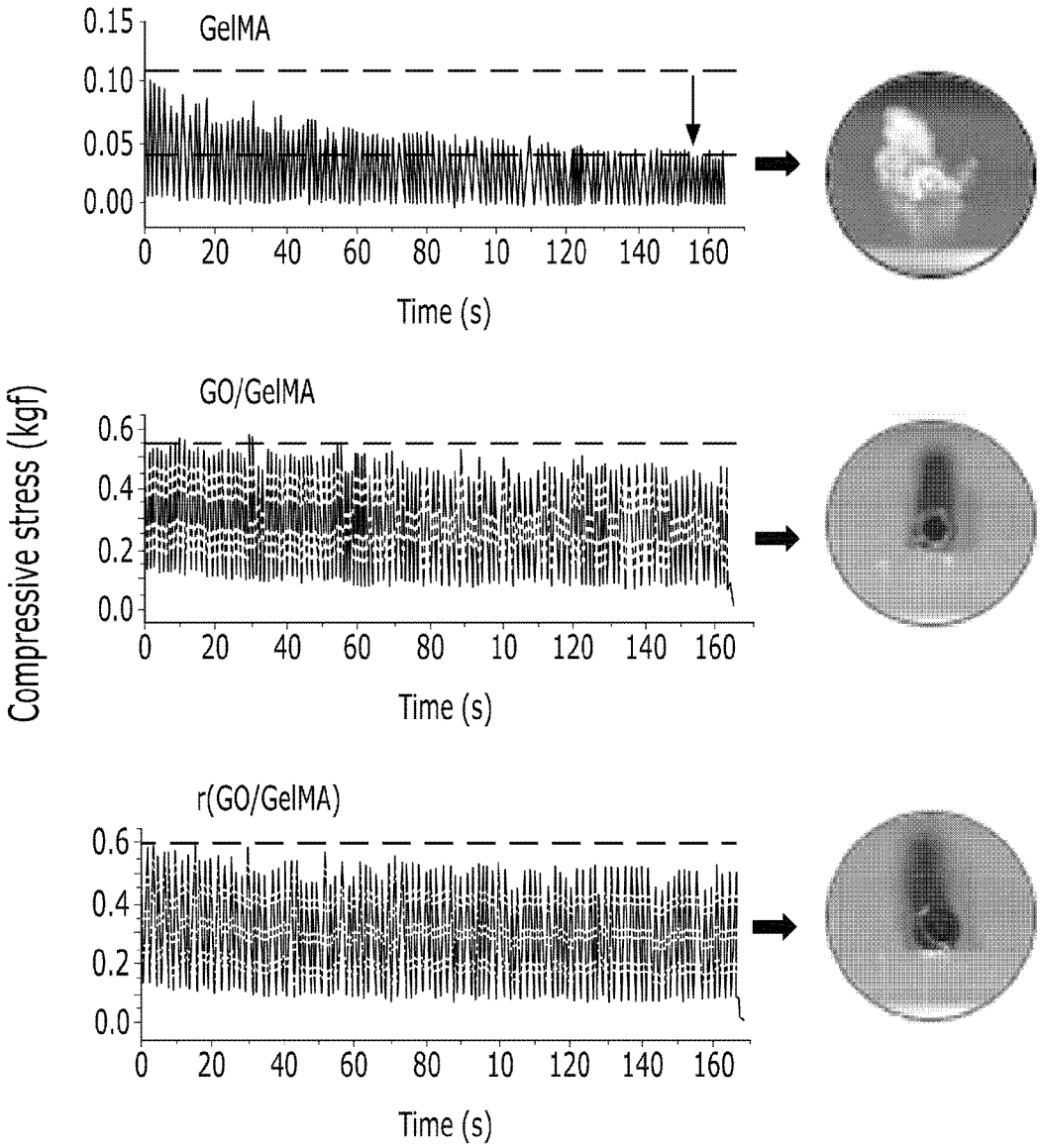
[도10]


A
Conductivity (mS cm-1)
0
2
4
6
8
10
12
0
1
3
5
7
Day
B
Impedance at 1 Hz (kΩ)
0
2
4
6
8
10
12
14
0
1
3
5
7
Day

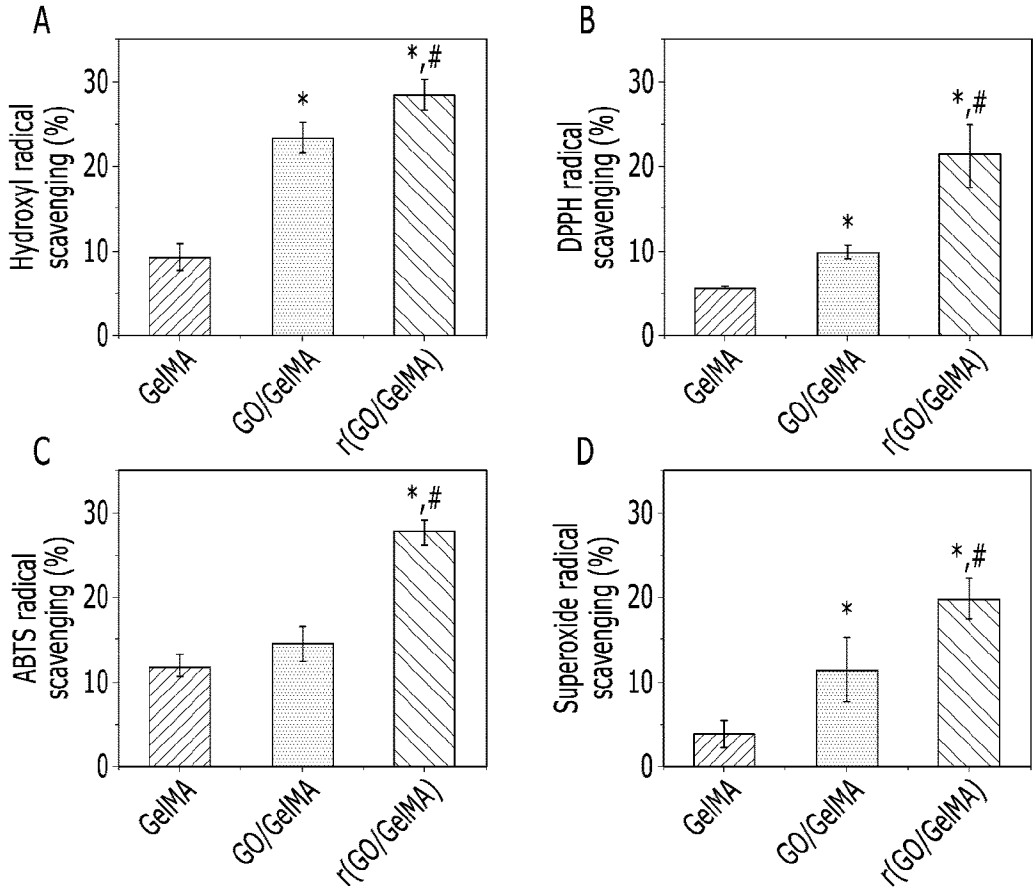
[도11]



[도12]


GelMA
GO/GelMA
r(GO/GelMA)
Compressive stress (kgf)
Time (s)
0.15
0.10
0.05
0.00
0.6
0.4
0.2
0.0
0 20 40 60 80 10 120 140 160

[도13]


A
Hydroxyl radical scavenging (%)
0
10
20
30
*
*,#
GelMA
GO/GelMA
r(GO/GelMA)
B
DPPH radical scavenging (%)
0
10
20
30
*
*,#
GelMA
GO/GelMA
r(GO/GelMA)
C
ABTS radical scavenging (%)
0
10
20
30
*,#
GelMA
GO/GelMA
r(GO/GelMA)
D
Superoxide radical scavenging (%)
0
10
20
30
*
*,#
GelMA
GO/GelMA
r(GO/GelMA)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/KR2022/002079

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C08J 3/075(2006.01)i; **C08K 3/04**(2006.01)i; **C08L 89/00**(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)

C08J 3/075(2006.01); A61K 8/04(2006.01); A61K 9/06(2006.01); C02F 1/28(2006.01)

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: 젤라틴(gelatin), 그래핀 옥사이드(graphene oxide), 메타크릴레이트(methacrylate), 아크릴레이트(acrylate), 환원(reduction), 복합체 수화젤(composite hydrogel), 가교(crosslink), 개시제(initiator)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
	SHIN, Su Ryon et al. Reduced graphene oxide-GelMA hybrid hydrogels as scaffolds for cardiac tissue engineering. Small. 02 June 2016 (online publication date), vol. 12, no. 27, pp. 3677-3689.	
X	See abstract; pages 3682, 3684 and 3687; figures 3 and 6; and formula 1.	1-6,17,18
Y		7-16
	KR 10-2016-0113859 A (GWANGJU INSTITUTE OF SCIENCE AND TECHNOLOGY) 04 October 2016 (2016-10-04)	
Y	See paragraphs [0015]-[0036], [0041]-[0046] and [0058]-[0061].	7-16
	UR REHMAN, Syed Raza et al. Reduced graphene oxide incorporated GelMA hydrogel promotes angiogenesis for wound healing applications. International Journal of Nanomedicine. 05 December 2019 (online publication date), vol. 14, pp. 9603-9617.	
X	See abstract; pages 9604-9606 and 9615; table 1; and figure 1.	1-6,17,18
Y		7-16

☑ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☑ 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	Date of mailing of the international search report
20 May 2022	**20 May 2022**

Name and mailing address of the ISA/KR	Authorized officer
Korean Intellectual Property Office **Government Complex-Daejeon Building 4, 189 Cheongsa-ro, Seo-gu, Daejeon 35208**	
Facsimile No. **+82-42-481-8578**	Telephone No.

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
	KR 10-2016-0126208 A (GWANGJU INSTITUTE OF SCIENCE AND TECHNOLOGY) 02 November 2016 (2016-11-02)	
X	See paragraphs [0015]-[0039].	1-6,17,18
Y		7-13
	이배훈. Gelatin methacryloyl-공학적으로 개질된 광경화성 젤라틴 유도체. Kosen Expert Insight . 17 January 2018 (online publication date), pp. 1-4, non-official translation (LEE, Bae Hun. Gelatin methacryloyl-Engineered Modified Photocurable Gelatin Derivatives.)	
A	See entire document.	1-18

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/KR2022/002079

Patent document cited in search report	Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
KR 10-2016-0113859 A	04 October 2016	CN 107690355 A	13 February 2018
		CN 107690355 B	07 May 2021
		KR 10-1824667 B1	01 February 2018
		US 2018-0193261 A1	12 July 2018
		WO 2016-153272 A1	29 September 2016
KR 10-2016-0126208 A	02 November 2016	KR 10-1693497 B1	09 January 2017

국 제 조 사 보 고 서

국제출원번호
PCT/KR2022/002079

A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC))

C08J 3/075(2006.01)i; **C08K 3/04**(2006.01)i; **C08L 89/00**(2006.01)i

B. 조사된 분야

조사된 최소문헌(국제특허분류를 기재)

C08J 3/075(2006.01); A61K 8/04(2006.01); A61K 9/06(2006.01); C02F 1/28(2006.01)

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: 젤라틴(gelatin), 그래핀 옥사이드(graphene oxide), 메타크릴레이트(methacrylate), 아크릴레이트(acrylate), 환원(reduction), 복합체 수화젤(composite hydrogel), 가교(crosslink), 개시제(initiator)

C. 관련 문헌

카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
X	SHIN, SU RYON 등, "Reduced graphene oxide-GelMA hybrid hydrogels as scaffolds for cardiac tissue engineering", Small, 2016년 6월 2일(온라인 공개일), 12권, 27호, 페이지 3677-3689 요약; 페이지 3682, 3684, 3687; 도면 3, 6; 도식 1	1-6,17,18
Y		7-16
Y	KR 10-2016-0113859 A (광주과학기술원) 2016.10.04 단락 [0015]-[0036], [0041]-[0046], [0058]-[0061]	7-16
X	UR REHMAN, SYED RAZA 등, "Reduced graphene oxide incorporated GelMA hydrogel promotes angiogenesis for wound healing applications", International Journal of Nanomedicine, 2019년 12월 5일(온라인 공개일), 14권, 페이지 9603-9617 요약; 페이지 9604-9606, 9615; 표 1; 도면 1	1-6,17,18
Y		7-16
X	KR 10-2016-0126208 A (광주과학기술원) 2016.11.02 단락 [0015]-[0039]	1-6,17,18
Y		7-13

☑ 추가 문헌이 C(계속)에 기재되어 있습니다.

☑ 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
2022년05월20일(20.05.2022)	**2022년05월20일(20.05.2022)**

ISA/KR의 명칭 및 우편주소

대한민국 특허청
(35208) 대전광역시 서구 청사로 189, 4동 (둔산동, 정부대전청사)

팩스 번호 **+82-42-481-8578**

심사관

허주형

전화번호 **+82-42-481-5373**

국 제 조 사 보 고 서

국제출원번호
PCT/KR2022/002079

C. 관련 문헌

카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
A	이배훈, "Gelatin methacryloyl-공학적으로 개질된 광경화성 젤라틴 유도체", Kosen Expert Insight, 2018년 1월 17일(온라인 공개일), 페이지 1-4 문서 전체	1-18

국 제 조 사 보 고 서
대응특허에 관한 정보

국제출원번호
PCT/KR2022/002079

국제조사보고서에서 인용된 특허문헌	공개일	대응특허문헌	공개일
KR 10-2016-0113859 A	2016/10/04	CN 107690355 A	2018/02/13
		CN 107690355 B	2021/05/07
		KR 10-1824667 B1	2018/02/01
		US 2018-0193261 A1	2018/07/12
		WO 2016-153272 A1	2016/09/29
KR 10-2016-0126208 A	2016/11/02	KR 10-1693497 B1	2017/01/09