



저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.



비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.



변경금지. 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#)

치의학석사학위논문

인산완충수용액 중에서
OSTEON™의 용해도 평가

2015년 2월

서울대학교 대학원

치의학과

서 미 경

인산완충수용액 중에서 OSTEON™의 용해도 평가

지도교수 : 이 상 훈

이 논문을 치의학석사학위논문으로 제출함

2014년 10월

서울대학교 대학원

치 의 학 과

서 미 경

서미경의 석사학위논문을 인준함

2014년 11월

위 원 장 임 범 순 (인)

부 위 원 장 이 상 훈 (인)

위 원 안 진 수 (인)

인산완충수용액 중에서 OSTEON™의 용해도 평가

서미경

서울대학교 치의학대학원

치의학과

이상인산칼슘은 수산화아파타이트를 생분해성 재료인 β -제삼인산칼슘 [β - $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$]과 혼합하여 사용함으로써, 수산화아파타이트의 체내 안정성과 β -제삼인산칼슘의 생분해성을 결합하고자 하는 재료이다. 이상인산칼슘은 이식부에서 점차적으로 용해되어 칼슘이온과 인산이온을 방출함으로써 표면에 저결정성 탄산아파타이트를 형성하는 것으로 알려져 있으며, 이는 수혜부의 골과 직접적으로 강한 결합을 형성할 수 있다.

본 연구에서는 이상인산칼슘인 (주)제노스사의 OSTEON™을 인산완충수용액에 침적 시 무게변화와 칼슘 및 수산화 이온의 변화를 통하여 이 제품의 분해거동을 알아보하고자 했다.

(주)제노스사의 OSTEON™ 시리즈 중 입자크기가 1.0 - 2.0mm 범위인

제품을 실험에 사용하였으며 이를 0.2g씩 분주하여 총 12개의 시편을 준비하였다. 분주된 시편들은 각각 pH7.4로 제조한 인산완충수용액에 침적하였다. 이 시편들은 3개씩 총 4개의 그룹으로 나누었으며, 각 그룹은 침적시점으로부터 1W, 2W, 3W, 4W가 지난 후 용액과 OSTEON™시편을 분리하였다. 분리된 OSTEON™ 시편은 건조 시킨 후 무게를 측정하여 무게 변화를 평가하였으며, 인산완충수용액은 칼슘이온농도와 수산화이온농도 변화를 평가하였다.

실험 결과 OSTEON™시편의 무게는 시간에 따라 감소하였으며 인산완충식염수 용액의 pH값은 큰 변화를 보이지 않았고, 칼슘이온 농도는 시간에 따라 증가하였다. 따라서 OSTEON™ 시편의 무게변화는 β -제삼인산칼슘의 용출로 인한 것으로 추정되며, 무게변화는 칼슘이온의 변화에 크게 의존적인 것으로 알 수 있다.

목차

I. 서론	1
II. 실험방법	3
III. 실험결과	5
IV. 토의	12
참고문헌	14

그림 및 표 목차

그림 1. 침적시간에 따른 OSTEON™시편의 무게 변화.....	7
그림 2. 침적시간에 따른 인산완충수용액의 pH 변화	9
그림 3. 침적시간에 따른 인산완충수용액 내의 칼슘이온 농도 변화 ...	11
표 1. 침적시간에 따른 OSTEON™시편의 무게 변화.....	6
표 2. 침적시간에 따른 인산완충수용액의 pH 변화	8
표 3. 침적시간에 따른 인산완충수용액 내의 칼슘이온 농도 변화	10

I. 서론

합성골은 자가골 이식에서 나타날 수 있는 병적 상태, 통증, 이식할 수 있는 양이 제한되어있는 문제나, 동종골이식에서 나타날 수 있는 술 후 감염, 질병 전파의 위험성 등의 합병증을 줄일 수 있는 재료로 널리 이용되어왔다 [1,2]. 이들 중 수산화아파타이트[$C_{10}(PO_4)_6(OH)_2$]는 대표적인 합성골로 합성방법, 기계적 강도, 지지체로의 사용 등 다양한 방면으로 연구되고 있다 [1,3,4].

수산화아파타이트는 생분해성이 낮은 안정적인 재료로 오랫동안 골 형성을 위한 지지체로 작용할 수 있다는 장점이 있는 반면, 생분해성이 낮아 골 형성능이 낮다는 단점을 가지고 있다 [5-7]. 이러한 문제를 해결하기 위해 이상인산칼슘 즉, 수산화아파타이트를 생분해성 재료인 β -제삼인산칼슘[β - $Ca_3(PO_4)_2$]과 혼합하여 사용함으로써, 하고자 하는 재료가 개발된 수산화아파타이트의 체내 안정성과 β -제삼인산칼슘의 생분해성을 결합하였다. 이러한 이상인산칼슘은 빠르게 골 형성을 유도하는 동시에 골 이식재가 지속적으로 용출되도록 한다 [8,14-16].

이상인산칼슘은 이식부에서 점차적으로 용해되어 칼슘이온과 인산이온을 방출함으로써 표면에 저결정성 탄산아파타이트를 형성하는 것으로 알려져 있으며, 이는 수혜부의 골과 직접적으로 강한 결합을 형성할 수 있다 [8-10,14,17,18]. 이러한 점에서 이상인산칼슘은 골 형성 능력이 떨어지는 수산화아파타이트보다 강점을 보인다 [8,11-13,14].

(주)제노스의 OSTEON™은 해면골과 유사한 다공성 구조를 가진 합성골이식재이다. 이는 수산화아파타이트 70%와 β -제삼인산칼슘 30%으로 이루어져있으며, 다공성의 수산화아파타이트 지지체에 β -제삼인산칼슘이 코팅되어있다. OSTEON™은 생분해 속도가 느린 수산화아파타이트 지지

체를 사용하여 장기적인 지지체 역할을 가능하게 함과 동시에 β -제삼인산칼슘을 코팅함으로써 저결정성 탄산아파타이트가 형성되게 하여 빠르게 골유착이 되도록 한 치과용 골이식재로 임상에서 널리 이용되고 있다 [8,14].

OSTEON™의 두 성분 중 β -제삼인산칼슘이 용출되어 나올 경우 칼슘이온과 인산이온으로 용해되어 나올 것이며, 수산화아파타이트가 용출되어 나올 경우 칼슘이온과 인산이온, 수산화이온으로 용해되어 나올 것이다[16,20]. 따라서 수산화아파타이트나 β -제삼인산칼슘이 용출되어 나올 경우 시편의 질량의 변화에 동반하여 칼슘이온, 인산이온, pH에 변화가 생길 것이며, 이를 통해 OSTEON™시편이 실제 어떻게 분해되는가를 파악할 수 있을 것이다.

본 연구에서는 (주)제노스사의 OSTEON™을 인산완충수용액에 침적 시 무게변화와 칼슘 및 수산화 이온의 변화를 통하여 실제로 OSTEON™에서 β -제삼인산칼슘이 주로 용출되는 것을 평가함으로써 이 제품의 분해거동을 알아보고자 했다.

II. 실험 방법

2-1. 실험 재료

(주)제노스사의 OSTEON™ 시리즈 중 입자크기가 1.0 - 2.0mm 범위인 제품을 실험에 사용하였다. OSTEON™ 과립을 0.2g씩 분주하여 총 12개의 시편을 준비하였다(: i는 initial을 의미한다.).

2-2. 실험 방법 및 측정

분주된 시편들은 각각 pH7.4로 제조한 30ml의 인산완충수용액에 침적하여 인큐베이터에 보관하였다. 시편들은 3개씩 총 4개의 그룹으로 나누었으며, 그룹1W(W는 week를 의미한다.)은 침적 시점으로부터 1주 후, 그룹2W는 2주 후, 그룹3W는 3주 후, 그룹4W는 4주 후에 용액과 OSTEON™ 시편을 분리하였다. 각 그룹 내에서는 3개의 시편을 시편1, 시편2, 시편3으로 명명하였다.

분리된 OSTEON™ 시편은 증류수로 세척하고, 일주일간 70℃ 오븐에서 건조 시킨 후 무게를 측정하였다(W_f : f는 final을 의미한다.). 실험 후의 용액은 칼슘측정기(HORIBA #6583-10C)를 이용하여 칼슘이온농도를 측정하였다. 용액의 수산화이온농도 변화를 평가하기 위해 pH미터(HORIBA D-23)를 이용하여 36.5℃에서 pH를 측정하였다. 이때 시편이 침적되지 않은 인산완충수용액을 대조군으로 사용하였다.

2-3. 분석

인산완충수용액에 침적한 시간에 따른 OSTEON™ 시편의 무게변화를 평가하기 위해 침적 전 무게에 대한 침적 후 무게의 비율(W_i)을 구하여 상대적인 무게변화를 파악하였다. 실험결과는 각 그룹에 해당하는 3개 시료의 평균값과 표준편차를 구하여 분석 하였다. 시편 침적 후 인산완충 수용액의 pH와 칼슘이온 농도 역시 그룹별 평균값과 표준편차를 이용하여 분석하였다.

III. 실험 결과

OSTEON™시편의 무게변화와 관련된 결과를 표 1에 나타내었다. 각 시편의 인산완충수용액에 침적 전 무게(), 해당시간 동안 침적 후 무게 (W_f), 침적 전 무게에 대한 침적 후 무게의 비율(W_i)에 대한 평균±표준편차를 측정된 결과이다.

그림 1은 침적 전 무게에 대한 침적 후 시편 무게비율(W_f / W_i) 변화를 시간에 따라 측정한 것이다. 각 그룹에 대한 평균값으로 그래프를 나타내었으며, 0주차 에는 무게변화가 없으므로 W_f / W_i 를 1로 나타내었다.

실험결과 시간에 따라 시편의 무게가 점차적으로 감소하고 있음을 확인할 수 있었다. 침적 전 무게에 대한 침적 후 무게의 비율은 4주 동안 1에서 0.9928 ± 0.0020 까지 감소하였다. 4주 후의 평균 무게감소량은 $0.0014 \pm 0.0004\text{g}$ 으로 본래 시편 무게의 평균인 0.2002g 의 $0.7158 \pm 0.2008\%$ 가 감소했음을 확인할 수 있었다.

표 1. 침적시간에 따른 OSTEBON™시편의 무게 변화

	1W		2W		3W		4W	
	침적 전 무게(g) (W_1)	침적 후 무게(g) (W_2)	침적 전 무게(g) (W_1)	침적 후 무게(g) (W_2)	침적 전 무게(g) (W_1)	침적 후 무게(g) (W_2)	침적 전 무게(g) (W_1)	침적 후 무게(g) (W_2)
시편 1	0.2009	0.1994	0.9925	0.1991	0.2006	0.1994	0.2005	0.1986
			침적 전 무게에 대한 침적 후 무게의 비율 (W_2/W_1)	0.9945	침적 전 무게에 대한 침적 후 무게의 비율 (W_2/W_1)	0.9940	침적 전 무게에 대한 침적 후 무게의 비율 (W_2/W_1)	0.9905
시편 2	0.2006	0.1995	0.9945	0.1991	0.2009	0.1996	0.2001	0.1989
			침적 전 무게에 대한 침적 후 무게의 비율 (W_2/W_1)	0.9940	침적 전 무게에 대한 침적 후 무게의 비율 (W_2/W_1)	0.9935	침적 전 무게에 대한 침적 후 무게의 비율 (W_2/W_1)	0.9940
시편 3	0.2005	0.1996	0.9955	0.1991	0.2005	0.1990	0.2000	0.1988
			침적 전 무게에 대한 침적 후 무게의 비율 (W_2/W_1)	0.9925	침적 전 무게에 대한 침적 후 무게의 비율 (W_2/W_1)	0.9925	침적 전 무게에 대한 침적 후 무게의 비율 (W_2/W_1)	0.9940
평균	0.2007	0.1995	0.9942	0.1991	0.2007	0.1993	0.2002	0.1988
			침적 전 무게에 대한 침적 후 무게의 비율 (W_2/W_1)	0.9937	침적 전 무게에 대한 침적 후 무게의 비율 (W_2/W_1)	0.9934	침적 전 무게에 대한 침적 후 무게의 비율 (W_2/W_1)	0.9928
표준편차	0.0002	0.0001	0.0015	0.0000	0.0002	0.0003	0.0003	0.0002
			침적 전 무게에 대한 침적 후 무게의 비율 (W_2/W_1)	0.0010	침적 전 무게에 대한 침적 후 무게의 비율 (W_2/W_1)	0.0008	침적 전 무게에 대한 침적 후 무게의 비율 (W_2/W_1)	0.0020

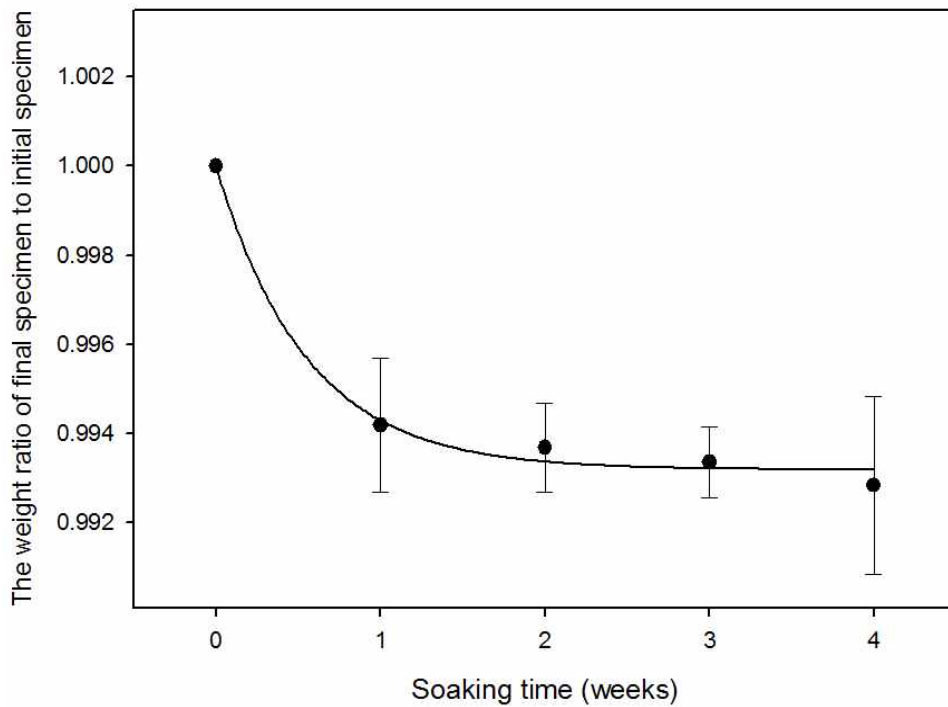


그림 1. 침적 시간에 따른 OSTEON™시편의 무게 변화.

표 2는 인산완충수용액 중에 OSTEON™ 시편을 해당 시간동안 침적한 후 인산완충수용액의 pH값의 측정결과이다. 해당하는 결과값을 그림 2에 표시하였으며, 시편 침적 전의 인산완충수용액의 pH인 7.4를 대조군으로 사용하였다. 실험 결과 pH는 시간에 따라 거의 변화가 없었다.

표 2. 침적 시간에 따른 인산완충수용액의 pH 변화

	1W	2W	3W	4w
시편 1	7.40	7.41	7.37	7.39
시편 2	7.39	7.40	7.39	7.39
시편 3	7.40	7.41	7.40	7.40
평균	7.40	7.41	7.39	7.39
표준편차	0.01	0.01	0.02	0.01

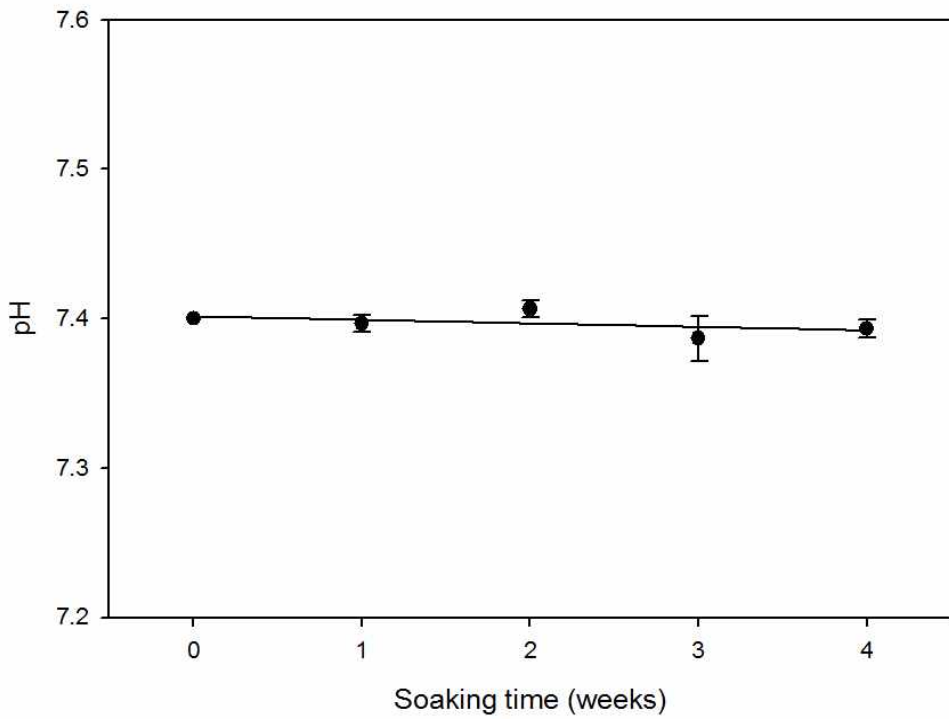


그림 2. 침적시간에 따른 인산완충수용액의 pH 변화.

표 3은 각 그룹별로 해당시간이 지난 후 인산완충수용액의 칼슘이온농도를 측정된 값이며, 평균값±표준편차로 나타내었다. 그림 3은 이를 그래프로 나타낸 것이다. 실험결과 칼슘이온농도가 시간에 따라 점차적으로 증가한다는 것을 확인하였다. 인산완충수용액 내에 OSTEON™ 시편을 4주간 침적한 결과 평균 126.3±2.0 µg/L의 칼슘이온이 용출 되었으며 이는 침적 전 시편의 평균 무게인 0.2002±0.0003g의 0.0019±0.0000% 이다.

표 3. 침적 시간에 따른 인산완충수용액 내의 칼슘이온농도 변화 (µg/L)

	1W	2W	3W	4W
시편 1	70.6	86.1	111.5	127.5
시편 2	71.2	91.0	111.0	124.0
시편 3	66.0	83.6	97.4	127.5
평균	69.3	86.9	106.6	126.3
표준편차	2.8	3.8	8.0	2.0

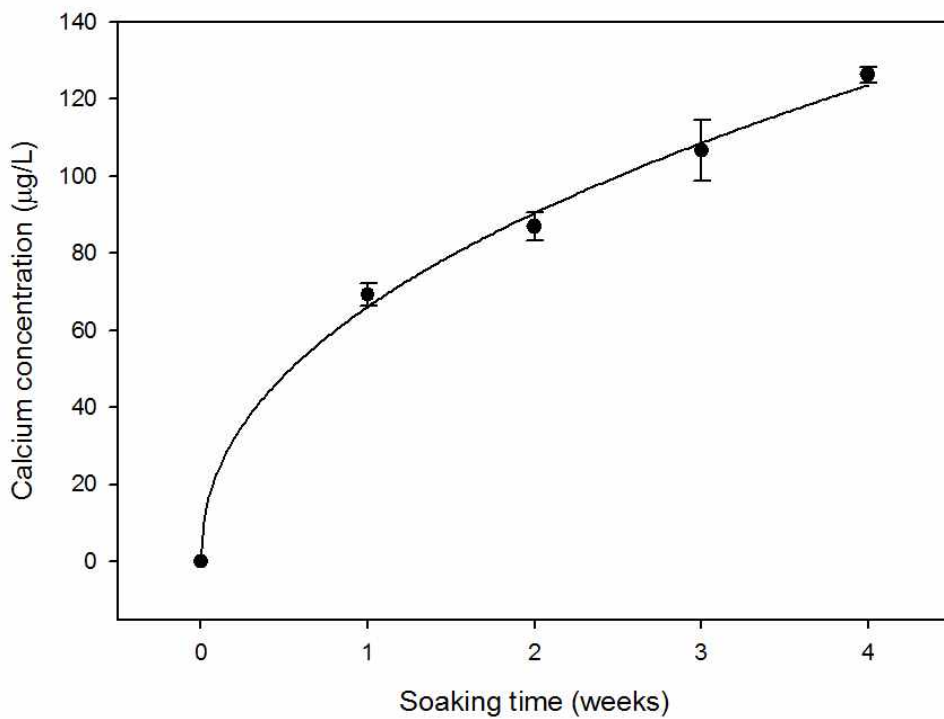


그림 3. 침적시간에 따른 인산완충수용액 내의 칼슘이온농도 변화.

IV. 토의

(주)제노스의 OSTEON™은 수산화아파타이트 지지체에 β -제삼인산칼슘이 코팅되어있는 제품이다. 대표적인 합성골 이식재인 수산화아파타이트는 체내 용해도가 낮아 골형성을 위한 지지체로 안정되게 작용할 수 있으나, 골형성능이 낮은 단점을 가지고 있다 [5]. OSTEON™은 용해도가 낮은 수산화아파타이트 지지체 표면에 용해도가 높은 재료인 β -제삼인산칼슘을 코팅한 재료로 빠른 골 유착이 가능하도록 한 제품이다.

OSTEON™ 중 수산화아파타이트를 인산완충수용액에 침적시에는 칼슘과 인산, 수산화 이온이 용출되며, 그 결과 시편의 무게는 감소하게 되며, 칼슘이온의 농도는 증가하고 수산화이온으로 인해 pH는 증가하게 된다. 반면 β -제삼인산칼슘의 경우에는 칼슘과 인산 이온으로 용출되고, 따라서 시편의 무게는 감소하고 칼슘이온의 농도는 증가하지만 수산화 이온의 변화가 없다 [16].

실험결과 OSTEON™시편의 무게는 시간에 따라 감소하였으며 인산완충식염수 용액의 pH값은 큰 변화를 보이지 않았고, 칼슘이온 농도는 시간에 따라 증가하였다. 따라서 OSTEON™ 시편의 무게변화는 β -제삼인산칼슘의 용출로 인한 것으로 추정되며, 무게변화는 칼슘이온의 변화에 크게 의존적인 것으로 알 수 있다.

본 실험결과로는 예상과 달리 침적시간에 따른 무게변화가 크지 않았는데, 이는 정역학적 상황에서 실험했기 때문이라고 생각되며 실제 체내에서는 동역학적인 상황이기 때문에 본 실험결과와 상이한 결과가 도출될 것이라고 예상된다. 동역학적 상황인 인체 내에서는 본 실험결과보다 무게변화가 더 클 것으로 예상된다 [21]. 또한 인체 내에서는 효소나 체내 이온 구성에 의해 골이식재의 용출양상이 달라질 수 있으므로, 인체 내에

서 용출양상이 어떠한가는 추가적인 실험이 필요하다 [16,22].

본 실험의 단점은 정확한 칼슘이나 인산 이온의 변화를 측정할 수 없었는데, 후속 연구에서는 유도결합플라스마 원자방출분광기(ICP-AES)를 이용하여 좀 더 정밀한 변화를 확인해볼 필요가 있다. 또한 골전도도의 평가를 위해 사람의 체액과 유사한 의사체액(SBF) 중에서 실험한 후 전자현미경을 이용하여 OSTEON™ 시편의 표면에 저 결정성 아파타이트가 형성되는 것을 확인해볼 필요가 있다.

참고문헌

- [1] William RM, Stephen E, Graves IB, Gregory IB. Synthetic bone graft substitute. ANZ J Surg 2001;71:354-61.
- [2] Simon C. A biomaterials success story. J Commerce Biotechnol 2007;13:111-9.
- [3] Constantino PD, Freidman CD. Synthetic bone graft substitutes. Otolaryngol Clin North Am 1994;27:1037-73.
- [4] Amit KN. Hydroxyapatite synthesis methodologies: An overview. Int J ChemTech Res 2010;2:903-7.
- [5] Rabiee SM, Mortazavi SMJ, Moztarzadeh F, Sharifi D, Sharifi SH, Solati-Hashjin M et al. Mechanical behavior of a new biphasic calcium phosphate bone graft. Biotechnol Bioprocess Eng 2008;13:204-9.
- [6] Hollinger JO, Brekke J, Gruskin E, Lee D. Role of bone substitutes. Clin Orthop Relat Res 1996;324:55-65.
- [7] Yamaguchi K, Hirano T, Yoshida G, Iwasaki K. Degradation-resistant character of synthetic hydroxyapatite blocks filled in bone defects. Biomaterials 1995;16:983-5.
- [8] Daculsi G. Biphasic calcium phosphate concept applied to artificial bone, implant coating and injectable bone substitute. Biomaterials 1998;19:1473-8.
- [9] Daculsi G, LeGeros RZ, Nery E, Lynch K, Kerebel B. Transformation of biphasic calcium phosphate in vivo: ultrastructural and physico-chemical characterization. J Biomed Mat

Res 1989;23:883-94.

- [10] Daculsi G, LeGeros RZ, Mitre D. Crystal dissolution of biological and ceramic apatites. *Calcif Tissue Int* 1989;45:95-103.
- [11] Hench LL. Bioceramics: from concept to clinic. *J Am Ceram Soc* 1994;74:1487-510.
- [12] Hench LL, Splinter RJ, Allen WC, Greelee TK. Bonding mechanisms at the interface of ceramic prosthetic materials. *J Biomed Mater Res* 1971;2:117-41.
- [13] Daculsi G, LeGeros RZ, Deudon C. Scanning and transmission electron microscopy and electron probe analysis of the interface between implants and host bone. *Scan Micr* 1990;4:309-14.
- [14] LeGeros RZ, Lin S, Rohanizad R, Mijares D, LeGeros JP. Biphasic calcium phosphate bioceramics: preparation, properties and applications. *J Mater Sci* 2003;14:201-7.
- [15] Strobel LA, Rath SN, Maier AK, Beier JP, Arkudas A, Greil P et al. Induction of bone formation in biphasic calcium phosphate scaffolds by bone morphogenetic protein-2 and primary osteoblasts. *J Tissue Eng Regen Med* 2014;8:176-85.
- [16] Ducheyne P, Radin S, Linda K. The effect of calcium phosphate ceramic composition and structure on in vitro behavior. I. Dissolution. *J Biomed Mater Res* 1993;27:25-34.
- [17] Fujui T, Ogino M. Difference of bone bonding behavior among surface active glasses and sintered apatite. *J Biomed Mater Res* 1984;18:845-59.
- [18] Ducheyne P, Lemons JE. Bioceramics: material characteristics

versus in vivo behavior. N Y Acad Sci 1988;523:54-71.

- [19] Guy D, Oliver L, Oliver M, Pierre W. Current state of the art of biphasic calcium phosphate bioceramics. J Mater Sci 2003;14:195-200.
- [20] Mahendra G. Dedhiya, Fudah Y, William I. Higuchi. Mechanism of hydroxyapatite dissolution. Synergistic effects of solution fluoride, strontium, and phosphate. J Phys Chem. 1974;78:1273-1274.
- [21] Yunqing K, Xiujuan X, Guangfu Y, Aizheng C, Li L, Yadong Y et al. A comparative study of the in vitro degradation of poly(L-lactic acid)/ β -tricalcium phosphate scaffold in static and dynamic simulated body fluid. Eur Polym J 2007;43:1768-78.
- [22] Koeneman J, Lemons J, Ducheyne P, Lacefield W, Magee F, Calahan T et al. Workshop on characterization of calcium phosphate materials. J Appl Biomater 1990;1:79-90.

Abstract

Solubility evaluation of OSTEONTM in phosphate-buffered saline

Seo, Meekyung

Department of Dentistry

School of Dentistry

Seoul National University

Biphasic calcium phosphate(BCP) is a synthetic bone material composed of hydroxyapatite(HAp) and β -tricalcium phosphate(β -TCP). By combining two materials, BCP can take both stability of HAp and biodegradability of β -TCP.

BCP dissolves HAp and β -TCP gradually after implantation, subsequently lead to the precipitation of low crystalline hydroxyl carbonate apatite. Low crystalline hydroxyl carbonate apatite can develop a strong direct bond with host bone surface and consequently create a strong interface compared to biotolerant or bioinert materials.

The aim of this study was to evaluate the dissolution property of OSTEON™, by examining the change of weigh of specimen and concentration of calcium and hydroxyl ion.

Among OSTEON™ series, a product that had 1.0-2.0mm particle size was used in experiment. The material was divided into 12 specimens and each weight was 0.2g. The specimens were immersed in phosphate buffered saline(PBS) at pH7.4 respectively. The specimen was divided into 4 groups and each group had 3 specimens. After several weeks from immersed point, the OSTEON™ particle separated from PBS. Each groups had different soaking time. We evaluated the weight change of OSTEON™ particle and the concentration change of calcium and phosphate ion in PBS.

According to the result of this study, the weight of OSTEON™ decreased, concentration of calcium increased and concentration of hydroxyl ion showed no change. In conclusion weight change of specimen was attributed to dissolution of β -TCP and weight change is depend on concentration change of calcium ion.

.....
Keywords : biphasic calcium phosphate, OSTEON™. hydroxyapatite, β -tricalcium phosphate, low crystalline hydroxyl carbonate apatite
Student Number : 2011-22457