

Dissolution behavior of octacalcium phosphate added hydroxyapatite

Yebeen Ha, Kyung-Hyeon Yoo, Somin Kim and Seog Young Yoon[†]

School of Materials Science and Engineering, Pusan National University, Busan 46241, Korea

(Received August 17, 2021)

(Revised September 30, 2021)

(Accepted October 1, 2021)

Abstract Octacalcium phosphate(OCP, $\text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_6 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) is one of biodegradable calcium phosphate materials with osteoconductivity and biocompatibility. It has the advantage of rapid bone formation and resorption due to the property of stimulating stromal cells to differentiate into osteoblasts. However, if OCP is inserted in body, it is immediately decomposed without maintaining of its shape as scaffolds due to their weak cohesive force between powder. On the other hand, hydroxyapatite (HA, $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$), which has a crystal structure similar to that of OCP, remains in the body without decomposition until the bone defect is restored. In this study, the degradation behavior of OCP/HA disc with different amount of HA in SBF (simulated body fluid) solution was characterized in terms of the weight loss, pH variation and microstructure change with immersion duration in SBF solution. As a result, the OCP/HA disc was not quickly decomposed and maintained its own shape for 2 weeks regardless of HA content. In particular, the surface of 40HA specimen was uniformly dissolved and then CDHA (calcium deficient hydroxyapatite) phase were formed onto the surface of disc after 7 days in SBF solution. It would be suggested that the 40HA specimen would be suitable candidate material as the scaffolds for the restoration of bone defect.

Key words Octacalcium phosphate, Hydroxyapatite, Crystal growth, Degradation behavior

수산화아파타이트가 첨가된 옥타칼슘포스페이트의 분해거동

하예빈, 유경현, 김소민, 윤석영[†]

부산대학교 재료공학과, 부산, 42641

(2021년 8월 17일 접수)

(2021년 9월 30일 심사완료)

(2021년 10월 1일 게재확정)

요약 옥타칼슘포스페이트(OCP, $\text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_6 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)는 골전도성과 생체적합성을 가진 생분해성 인산칼슘계 재료 중 하나이다. 기질세포를 자극하여 조골세포로 분화하는 성질을 가지고 있어 빠른 골형성 및 재흡수되는 장점을 가지고 있다. 그러나 OCP가 체내에 삽입되면 분말 사이의 약한 응집력으로 인해 지지체의 형태를 유지하지 못하고 빠르게 분해된다. 반면, OCP와 유사한 결정구조를 갖는 수산화인회석(HA, $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$)은 골결손이 회복된 이후까지도 분해되지 않고 체내에 남아있다. 이 연구에서는 SBF(simulated body fluid) 용액에 HA 첨가량이 다른 OCP/HA disc을 침적한 후 시간에 따른 Weight loss, pH 변화 및 미세구조 변화의 측면에서 분해거동을 조사하였다. 그 결과 OCP/HA disc는 HA 함량에 관계없이 2주 동안 형태를 유지하였다. 특히, 40HA 시편의 표면이 균일하게 용해되는 양상을 보였고 SBF 용액 침적 후 7일 후부터 disc의 표면에 CDHA(calcium deficient hydroxyapatite)가 형성되었다. 이러한 결과는 40HA 시편이 골결손부의 회복을 위한 지지체로 적합하다는 것을 보여준다.

1. 서론

Calcium phosphate(CaP)는 칼슘과 인산염으로 이루어져 있는 대표적인 생체적합성 재료이다. 최초 치료 목적으로 CaP 화합물의 시도는 1920년 Albee에 의해 보고

된 뼈 결함부의 성공적인 복구였다[1,2]. 그 이후 다수의 CaPs가 개발되었고 치료용 목적으로 사용되기 시작하였다. CaP는 골생성 기능은 없으나 뼈 조직의 성장을 위해 조골세포의 지지체 역할을 하며 골전도 기능을 가지고 있는 것으로 보고되고 있다. CaP는 calcium과 phosphorus의 비율에 따라 다양하게 분류된다. Ca/P 비율에 따라 합성하는 방법과 조건에 차이가 있고 체내에서의 용해도 및 생체특성이 다르게 나타난다[1-4]. 최근 개발되고 있

[†]Corresponding author
E-mail: syy3@pusan.ac.kr

는 골 대체용 인공골의 경우 체내의 뼈와 비교하였을 때 강도가 거의 동등하며 일상생활을 영위하는데 충분하다. 그러나 강도면에서 충분하더라도 자연골은 무기질 부분인 hydroxyapatite(HA)가 유기질인 collagen 등 유연성이 풍부한 부분과 함께 복합적으로 존재하기 때문에 인공골은 자연골에 비하여 충격 저항성이 낮다. 그러므로 급격하게 힘을 가하게 되면 깨지거나 부러지기 쉽다는 위험성을 내포하고 있어 현재는 인공골 자체를 이용해 자연골을 대체하기 보다는 골 결손부에서의 새로운 뼈 형성 및 재흡수 과정을 촉진하여 뼈를 온전히 회복시키는 방향으로 연구가 진행되고 있다[2,3,5-8]. 재료의 유연성을 위해 재료의 복합화를 위한 연구도 꾸준히 이루어지고 있다. 특히 PLANA 다른 고분자 물질을 사용하여 재료에 유연성을 추가하는 방법에 대한 연구가 많이 진행되고 있다[9,10]. 재료의 복합화에 대한 관점에서, 1985년 biphasic calcium phosphate(BCP)의 대표적인 예로 HA와 β -TCP의 혼합상이 제시된 이후 α -TCP와 HA로 이루어진 BCP에 대한 연구를 시작으로 α -TCP와 β -TCP의 BCP와 HA, α -TCP, β -TCP로 이루어진 triphasic calcium phosphate 등 지속적인 연구가 수행되었다. 또한 HA와 β -TCP로 이루어진 BCP 경우 단독 상으로 존재하는 HA나 β -TCP 대비 개선된 골 유도 특성을 나타냈다. 여러 가지 상을 혼합하여 CaP 재료를 제작할 때 주요 상의 비율을 조정하여 생체 내 흡수 및 생체 활성을 제어하고 향상시킬 수 있다고 보고 되고 있다[6,8,11-15].

최근 연구에 의하면, HA와 유사한 결정 구조를 가진 OCP가 기질세포의 조골세포의 분화 및 파골세포의 활성도를 향상시킬 수 있다고 보고 되고 있다[2,4,8,16]. 새로운 뼈의 형성은 기본적으로 조골세포의 통제하에 이루어지고 뼈가 형성된 후 재흡수 되는 과정은 보통 파골세포에 의해 이루어지므로 다양한 결합이 있는 골의 재생에 OCP를 사용하게 되면 새로운 뼈의 빠른 형성 뿐 아니라 형성된 뼈의 재흡수에도 효과적일 수 있다. 특히, OCP는 대식세포부터 연골 세포와 치아 모세포까지 다양한 방면에서 세포를 자극할 수 있다. OCP에 의해 유도된 다양한 세포 반응은 OCP에서 HA로의 상변화에 수반되는 물리 화학적 변화의 영향을 받는다. HA로의 상변화에 대한 정확한 메커니즘은 밝혀지지 않았다. 다만 OCP를 SBF에 침적시켰을 때 OCP의 용해는 일부 발생했지만 CDHA나 HA로의 상변화가 일어나지 않았다는 연구 결과가 보고 되었다[17]. 따라서 체내에서 OCP가 CDHA 혹은 HA로 상변화가 이루어질 때 주변 조직 환경과 상호작용을 하면서 calcium과 phosphorus의 용출 및 흡수 프로세스를 거치게 되고 이를 통해 조골세포를 자극하는 메커니즘을 가지고 있을 가능성이 높다. 그러나 OCP 사용에 다소 제한적인 요소는 열역학적 불안정성으로 OCP의 합성이 간단하지 않고 다른 재료와 함께 복합 재료로

개발하기가 쉽지 않다는 것이다. OCP 분말은 주로 판형상으로 생성되기 때문에 분말 압축 성형을 통해 scaffold로 형태로 제작하더라도 체내에 삽입 후 OCP의 용해가 진행될 때 분말 간 응집력이 약해져 빠른 속도로 분해하는 단점을 가지고 있다[1,8]. 본 실험에서는 OCP의 장점을 유지하고 단점을 보완하기 위하여 열역학적으로 안정적인 HA를 일정한 비율로 첨가하여 OCP/HA disc를 제조하고자 한다. 이때 HA는 열역학적 안정성이 높아 체내 환경에서 쉽게 분해되지 않으므로 OCP의 용해에 의해 disc의 응집력이 약해지더라도 HA가 disc의 형태를 지지하여 disc의 분해를 제어할 것이며, 이로 인해 OCP의 분해거동에 영향을 미칠 것으로 기대한다. 첨가되는 HA의 함량을 조절하여 제조된 OCP/HA disc를 유사 체액에 침적 시켜 침적 시간에 따른 disc의 유지력과 용해도, 유사 체액의 pH의 변화, 결정상의 변화, 그리고 미세구조의 변화를 조사하여 체내에 적용하기 위한 적합한 최적의 혼합 비율을 확인하고자 한다.

2. 실험 방법

2.1. 분말 합성

HA 분말을 얻기 위하여 diammonium hydrogen phosphate ($(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$, Junsei Chemical Co., Ltd., 95%)와 calcium nitrate tetrahydrate($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, Junsei Chemical Co., Ltd., 95%)를 출발 물질로 공침법으로 합성하였다[12,18]. 각각의 출발 물질을 이차 이온 증류수에 녹인 후 두 용액을 혼합하여 침전물을 생성시키고 암모니아수(NH_4OH , Junsei Chemical Co., Ltd., 28%)를 첨가하여 pH 11이 되도록 하였다. 24시간 동안 40°C water bath에서 Aging 후 염기성이 강한 상청액을 따라버리고 침전물을 filtering 후 여분의 수분을 제거하기 위하여 80°C로 24시간 동안 건조하였다. 건조된 분말은 유발을 사용하여 분쇄한 후, 전기로에서 5°C/min으로 승온시켜 1150°C에서 2시간 동안 하소하였다. 한편, OCP 분말을 얻기 위하여 calcium acetate monohydrate($\text{Ca}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$)와 sodium phosphate monobasic dihydrate($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)를 출발 물질로 사용하였다. 합성 방법은 일반적으로 알려진 Legelos 침전법을 이용하였다[12,18,19]. 출발 물질인 $\text{Ca}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 와 $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 를 이차 이온 증류수를 사용하여 각각 수용액으로 제작하였다. 이후 $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 수용액의 pH를 측정하여 4.0 이하로 떨어지기 전에 암모니아수를 투여하여 pH를 6.1까지 조절하였다. pH가 6.1로 조정된 $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 수용액에 피펫을 이용하여 $\text{Ca}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 수용액을 천천히 첨가하였다. 이때 온도는 90°C로 교반 속도는 400 rpm으로 3시간 동안 교반하였다. 교반

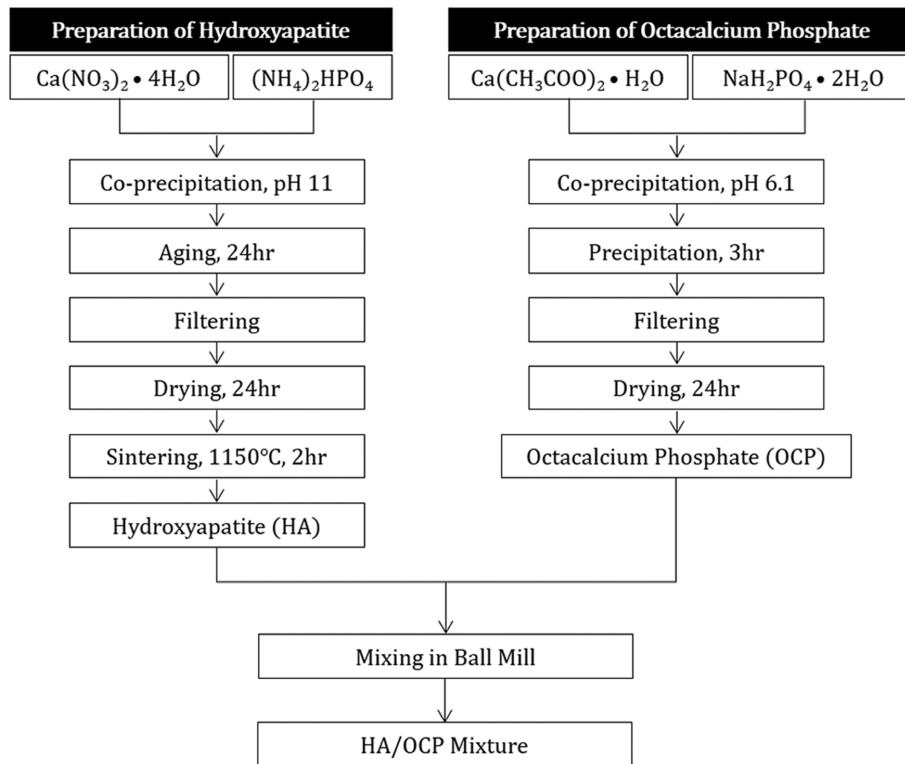


Fig. 1. Schematic diagram for fabricating the OCP/HA disc.

Table 1
Designation for OCP/HA discs

Denotation	Ratio (wt)		Amount (g)	Pressure (MPa)	Size (mm) Diameter × Height
	HA	OCP			
20HA	20	80	0.270	13	10 × 2.0
40HA	40	60	0.275		

후 반응생성물을 filtering하고 80°C에서 24시간 이상 건조하였다. OCP는 결정 내에 Hydrate layer가 존재하여 170°C 이상으로 가열할 시 탈수 현상이 일어나게 된다. 따라서 하소 같은 후속 과정 없이 건조된 분말을 유발로 분쇄하였다. 위 합성 과정들을 Fig. 1에 나타내었다.

2.2. OCP/HA disc 제조 및 분해거동

OCP의 급격한 분해거동을 제어하기 위하여 OCP를 주상으로 하고 HA상이 첨가된 biphasic calcium phosphate disc를 만들기 위하여 합성된 OCP 분말과 HA 분말을 소정의 중량비로 산정한 후 ball mill을 활용하여 두 분말이 균일하게 혼합될 수 있도록 24시간 동안 190 rpm으로 ball milling 하였다. Ball milling 후 혼합된 분말을 이용하여 제작된 disc의 명칭은 Table 1에 나타내었다.

OCP/HA disc의 분해거동을 확인하기 위해 Human Blood Plasma와 가장 유사한 이온 성분으로 이루어진

SBF 용액을 사용하였다. SBF 용액의 이온 구성은 142 mM Na⁺, 5 mM K⁺, 2.54 mM Ca²⁺, 1.54 mM Mg²⁺, 147.94 mM Cl⁻, 4.2 mM HCO³⁻, 1 mM HPO₄²⁻, 0.5 mM SO₄²⁻가 포함되어 있으며 초기 pH는 7.4로 체내 조건과 동일하다. 분해거동 실험을 위해 SBF 용액 10 ml에 하나의 시편을 침적 시켜 시편의 모든 면에 SBF 용액이 닿아 용해가 진행될 수 있도록 하였다. SBF 용액의 온도는 37°C로 체내 온도와 동일하게 설정하였으며 50 rpm의 회전 속도를 유지하며 실험을 수행하였다. 분해거동 실험을 위한 침적 기간은 1 day, 5 days, 7 days, 그리고 14 days로 설정하였다.

2.3. 특성 평가

공침법으로 합성한 OCP와 HA 분말의 결정상 및 SBF 용액 침적 후 OCP/HA disc의 결정상 변화를 확인하기 위하여 X-선 회절분석장치(X-ray diffraction, XRD, Xpert

3, Cu target)를 이용하였다. SBF 용액 내 OCP/HA disc의 침적 기간에 따라 SBF 용액의 pH 변화와 disc의 weight loss를 확인하였다. 이를 통해 OCP와 HA의 용해 정도 및 침적 기간에 따른 pH와 Weight loss의 경향성을 분석하였다. 한편, SBF 용액 침적 전 OCP/HA disc의 표면과 침적 기간에 따른 disc의 표면 변화를 관찰하기 위하여 주사전자현미경(scanning electron microscopy, SEM, SUPRA25)을 이용하였으며, 특히, 에너지 분산형 X선 분광법(energy dispersive X-ray spectrometer, EDS, OXFORD)를 통해 용해 전과 후 그리고 침적 기간에 따른 calcium과 phosphorous의 atomic % 변화를 분석하여 분해거동의 경향성을 분석하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 합성 분말의 특성 평가

공침법으로 합성한 OCP 분말과 HA 분말의 XRD Patterns을 Fig. 2에 나타내었다. Figure 2에서 볼 수 있듯이, 합성 HA의 XRD Pattern과 ICDD No. 01-074-0566 (HA)를 비교한 결과 31.7° 부근에서 main peak이 확인되었고 전체적으로 HA 외에 다른 상은 확인되지 않았다. 또한 합성 OCP의 XRD Pattern과 ICDD No. 00-026-1056(OCP)와 비교한 결과 4.7° 부근에서 main peak이 확인되었으며, OCP 외 다른 상은 확인되지 않았다. 이를 통해 OCP와 HA 분말이 제대로 합성되었음을 확인하였다. ball mill을 통한 기계적 혼합을 수행한 후 20HA와 40HA의 XRD pattern 또한 Fig. 2에 나타내었다. 그 결과 OCP 및 HA의 XRD pattern과 비교했을 때 HA 침

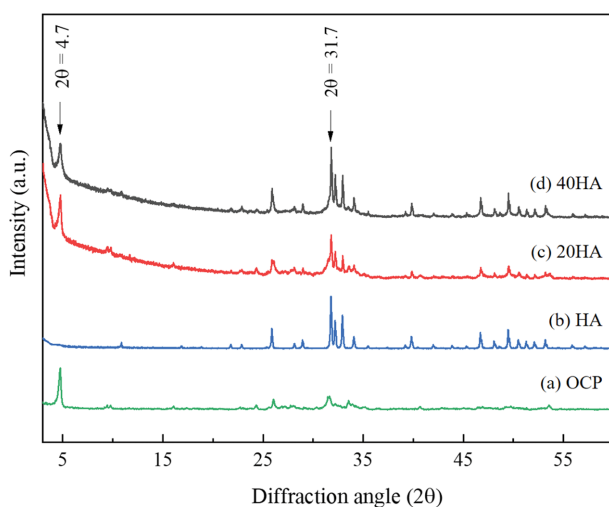


Fig. 2. XRD Patterns of OCP (a), HA (b), 20HA (c) and 40HA (d) before immersion in SBF solution.

가량이 증가할수록 31.7° 부근에서의 HA의 main peak intensity가 높아지고 4.7° 부근에서 OCP의 main peak intensity가 낮아지는 것을 확인할 수 있었다.

3.2. 용해 거동

3.2.1. 침적 후 OCP/HA disc 형태 변화

OCP 단독 분말의 경우 압축성형으로 scaffold를 제작하여 in vitro 실험 시 아주 짧은 시간 내에 형태를 유지하지 못하는 예비 실험결과와 일반적으로 알려진 OCP의 분말 간 응집력이 약하다는 기 보고된 자료[1,8]를 기반으로 본 실험에서는 이를 보완하기 위하여 HA를 혼합하여 disc를 제작하여 분해거동을 관찰하였다. 침적 기간에 따른 20HA의 형태 변화를 Fig. 3에 나타내었다. Figure 3에서 볼 수 있듯이 SBF 용액 내에 OCP/HA disc를 침적시켰을 때 14일 동안 disc가 전체적으로 분해되지 않고 형태가 유지되고 있음을 확인하였다. 하지만, 침적 5일 이후부터 모서리부에서 넓은 범위의 분해가 일어났음을 볼 수 있다. 이는 OCP의 빠른 용해에 의해 disc 표면 상 응집력 약화가 일어나 응력이 집중되었던 모서리부에서 넓은 범위의 분해가 일어난 것으로 판단된다. 이러한 결과는 disc 표면 전체를 지지하기 위해 첨가된 HA의 양이 비교적 충분하지 않기 때문에 나타난 것으로 보인다. 또한 침적 기간에 따른 40HA의 형태 변화를 Fig. 4에 나타내었다. 40HA는 SBF 침적 1일차부터 표면에 수 μm 크기의 구멍들이 나타나기 시작했다.

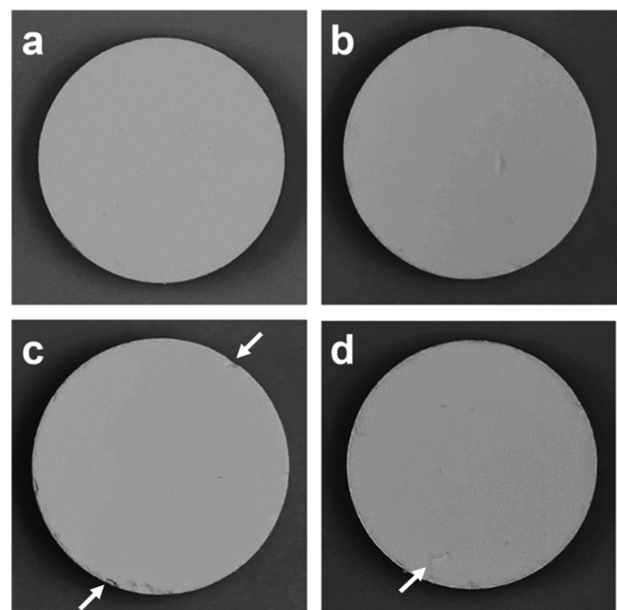


Fig. 3. Morphology of 20HA surface after immersed in SBF solution with different immersion times; a: before immersion, b: after 1 day immersion, c: after 5 days immersion and d: after 14 days immersion.

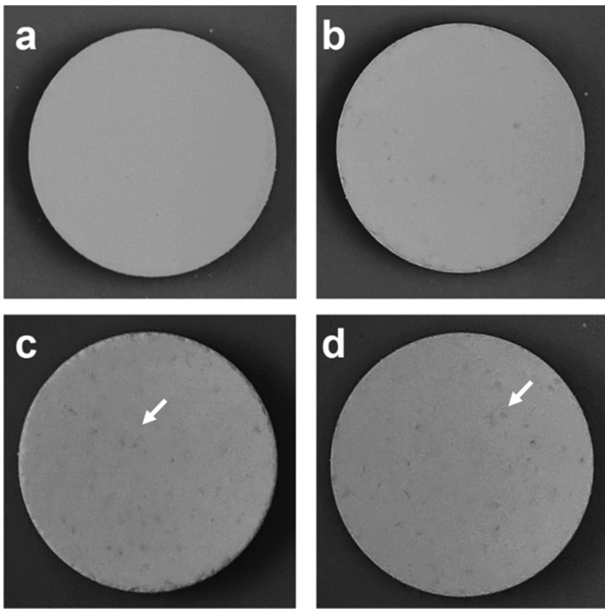


Fig. 4. Morphology of 40HA surface after immersed in SBF solution with different immersion times; a: before immersion, b: after 1 day immersion, c: after 5 days immersion and d: after 14 days immersion.

이러한 결과는 40HA의 표면 OCP 용해가 진행되어 disc 표면의 응집력이 약해질 때, 20HA 대비 다량 포함되어 있는 HA가 disc를 전체적으로 지지해주어 큰 범위의 분해 없이 표면이 균일하게 용해된 것으로 보인다.

3.2.2. 침적 후 무게 및 pH 변화

20HA와 40HA를 SBF 용액에 침적한 후 시간에 따른 Disc의 무게 변화를 Fig. 5에 나타내었다. 침적 시간이 길어짐에 따라 20HA와 40HA 모두 꾸준히 무게가 감소

하는 경향을 볼 수 있다. 20HA의 경우 침적 기간이 증가함에 따라 표면에서 지속적인 용해가 진행되었는데 침적 5일 이후부터 무게 편차 범위가 넓어지는 양상을 보인다. 이는 일부 20HA 시편의 모서리부에서 넓은 범위의 분해가 발생했기 때문으로 판단된다. 40HA의 경우 침적 1일 이후부터 전체 표면에서 구멍 형태의 용해가 진행되었기 때문에 전체 침적 기간 동안 무게 편차가 비교적 크지 않고 꾸준히 무게가 감소하는 경향을 나타냈다. OCP/HA disc의 SBF 용액에 침적 후 용해 거동을 확인하기 위하여 침적 시간에 따른 SBF 용액의 pH 값의 변화를 Fig. 6에 나타내었다. 20HA와 40HA 모두 침적 기간 동안 pH 값이 꾸준히 감소하는 경향을 확인할 수 있었다. SBF 용액의 pH 감소는 OCP의 용해에 의해 수소 이온이 발생하였을 때 나타나는 현상으로 disc 침적 기간이 증가함에 따라 SBF 용액의 pH값 감소가 이루어지는 것은 disc의 표면 용해가 지속적으로 진행되었다는 사실을 확인할 수 있다. 한편, 40HA의 경우 20HA 대비 침적 시간에 따른 SBF 용액의 pH 감소 속도가 빠른 것으로 나타났다. 이는 염기성 용액에서 빠르게 용해되는 OCP의 용해 특성과 산성 용액에서 빠르게 용해가 진행되는 HA의 용해 특성에 의해 영향을 받은 것으로 앞선 연구 결과와 일치하는 것으로 판단된다[17]. 40HA disc 표면에서의 용해 과정을 Fig. 7에 도식적으로 나타내었다. Figure 7에서 볼 수 있듯이, 40HA를 SBF에 침적하였을 때 표면의 OCP 용해가 진행되는데 이때 수소 이온의 용출로 인해 SBF 용액의 전체 pH가 낮아져 국소 부위에서 SBF 용액의 pH가 7 이하로 낮아지면서 표면에 분포되어 있는 HA 분말의 용해를 자극하게 된다. 이 과정에서 국소적으로 수산화 이온이 발생하여 해당 부위에서 SBF 용액의 pH가 높아지게 되어 또다시 근처

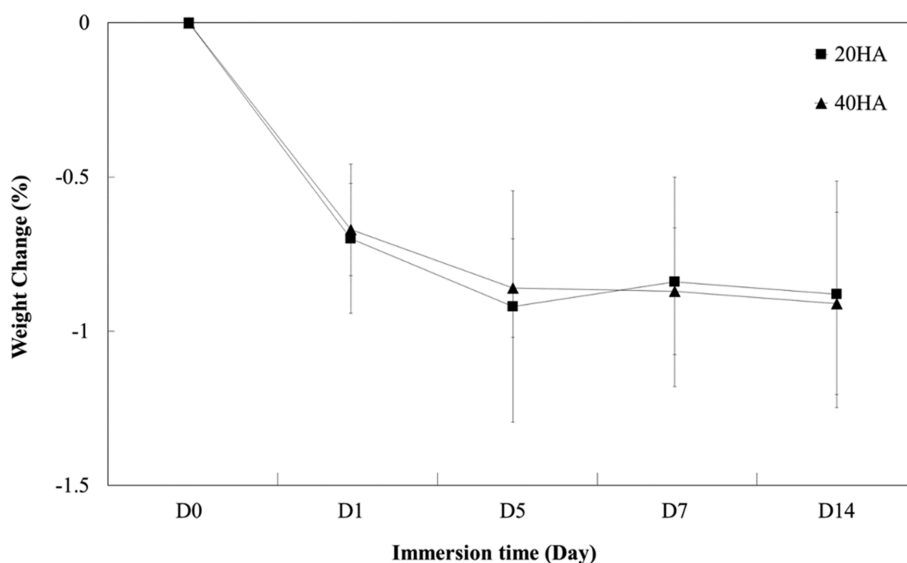


Fig. 5. The weight variation for 20HA and 40HA with the different immersion times.

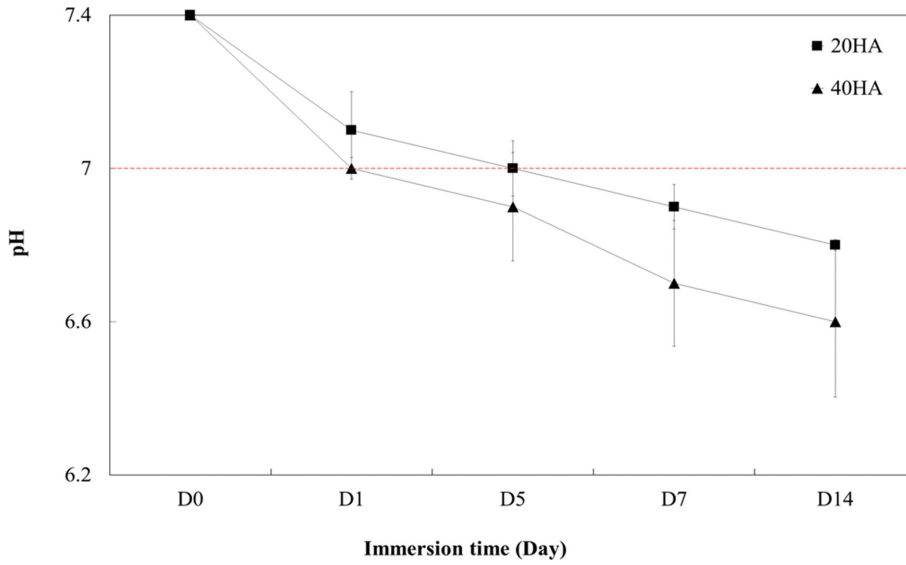


Fig. 6. The pH variation for 20HA and 40HA according to immersion time.

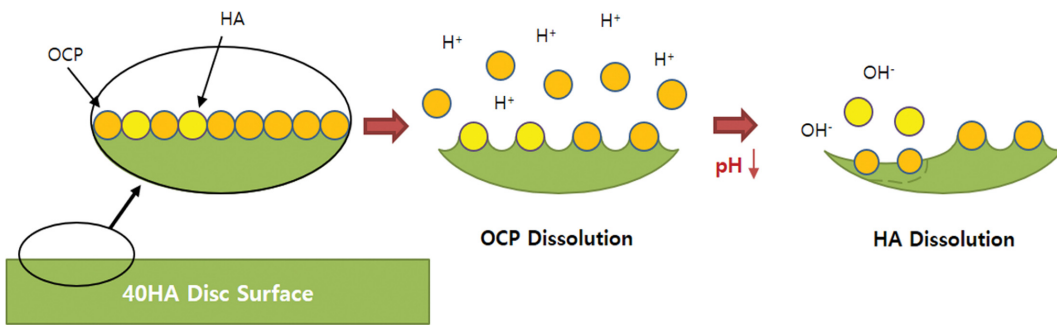


Fig. 7. Schematic diagram of dissolution process onto the 40HA disc surface.

OCP 용해가 자극된다. 이와 같이 국소 범위에서 HA와 OCP의 용해가 반복적으로 자극되는 mechanism에 의해 40HA의 표면에 구멍 형태의 용해가 일어나는 것으로 해석된다. 반면 20HA의 경우 SBF에 침적 후 OCP의 용해가 진행되어 HA의 용해가 진행되더라도 국소 부위의 SBF 용액의 pH에 영향을 주기에 비교적 적은 양이 분포되어 있기 때문에 표면에서의 OCP와 HA의 반복 용해가 40HA 대비 크게 나타나지 않은 것으로 판단된다. 따라서 40HA는 OCP와 HA의 반복 용해가 유도되는 적절한 혼합 비율을 가지고 있어 disc 표면에 균일하게 구멍 형태의 용해가 발생하게 되고 20HA 대비 OCP의 용해가 더 빠르게 진행이 일어났다고 판단된다. 결과적으로, disc의 무게 변화와 SBF 용액의 pH 변화를 종합해 보았을 때, 20HA 경우 모서리부에서 넓게 분해가 발생하였고 40HA 경우 표면에서 구멍 형태의 용해가 빠르게 진행되었으며, 이로 인해 20HA 경우 무게가 빠르게 감소한 반면 40HA에서는 OCP와 HA의 반복 용해가 빠르게 진행되며 무게 변화가 일어났기 때문에 전체 disc의 무게 감소량에는 큰 차이가 없었다.

3.2.3 침적 후 결정상 및 미세구조 변화

Figure 8과 Fig. 9는 각각 침적 기간에 따른 20HA와 40HA의 상변화를 나타내고 있다. XRD pattern에서 볼 수 있듯이, 20HA와 40HA 모두 HA 상과 OCP 상들만 존재하고 다른 결정상의 생성을 볼 수가 없다. 이는 SBF

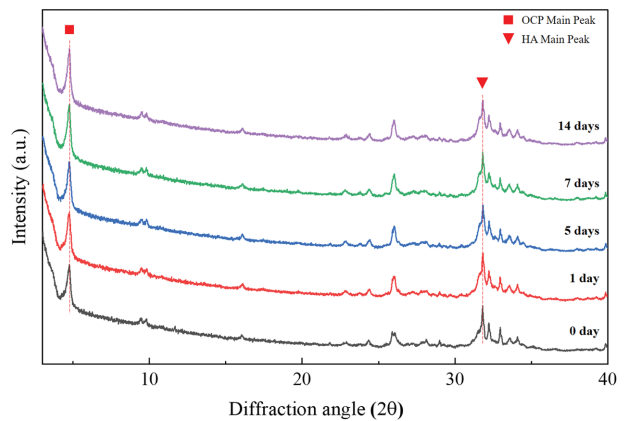


Fig. 8. XRD patterns for 20HA with the different immersion times.

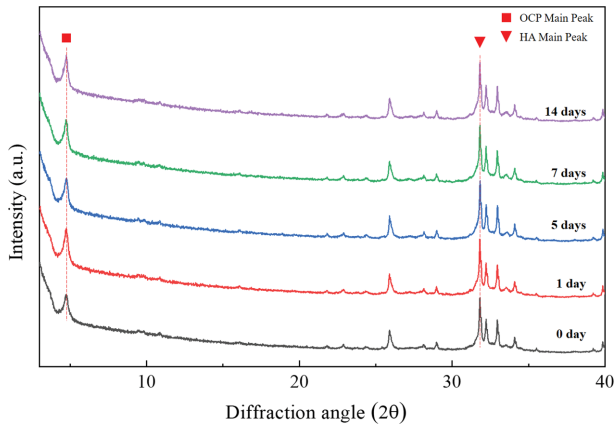


Fig. 9. XRD patterns for 40HA with the different immersion times.

용액에 침적 시 용해 과정만 일어나고 disc 표면 위에 새로운 결정상이 형성되지 않은 것으로 판단된다. 이를 보다 알아보기 위하여 침적 기간에 따른 disc의 표면 미세 구조를 주사전자현미경으로 관찰하였으며 그 결과를 Fig. 10과 Fig. 11에 나타내었다. Figure 10에서 볼 수 있듯이, 20HA의 경우 침적 1일차부터 용해가 진행되어 분말끼리 뭉쳐지는 모습과 동시에 분말의 크기가 작아지는 양상을 보이고 있다. 그 후 5일차부터는 표면에 여러 크기의 구멍 형태로 용해가 진행되어 침적 기간이 증가함에 따라 더 많은 용해가 진행되고 있음을 관찰할 수 있다. 특히, 침적 14일차 경우 disc 표면의 분말들이 침적 전 대비 균일하게 작아진 형태를 보였다. 또한 침적 14일차 disc의 표면에서 수십 μm 수준의 균열이 발생한

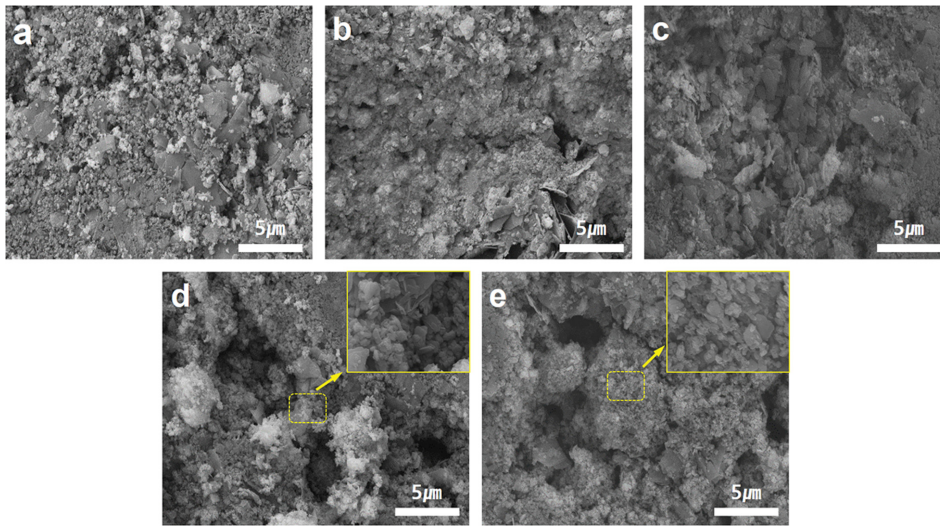


Fig. 10. SEM images of 20HA with different immersion times; a: before immersion, b: after 1 day, c: after 5 days, d: after 7 days and e: after 14 days.

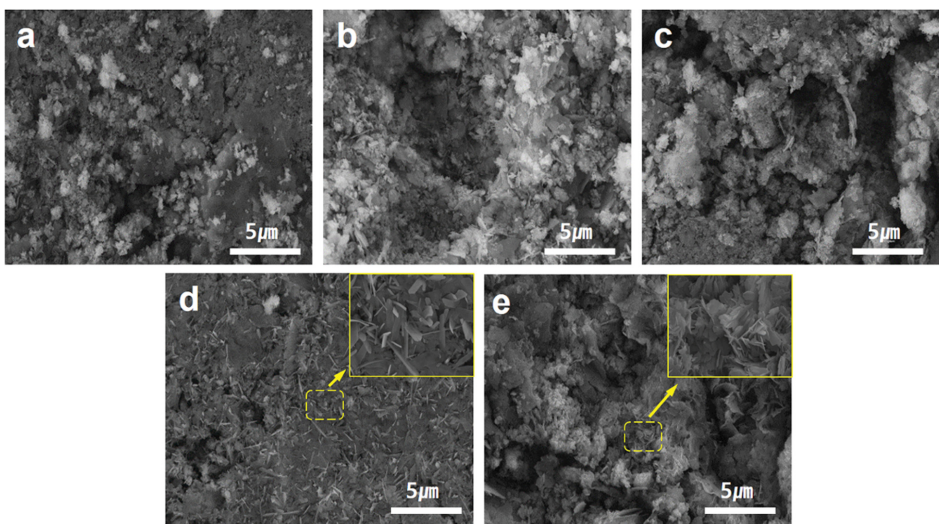
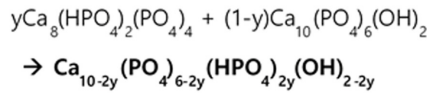
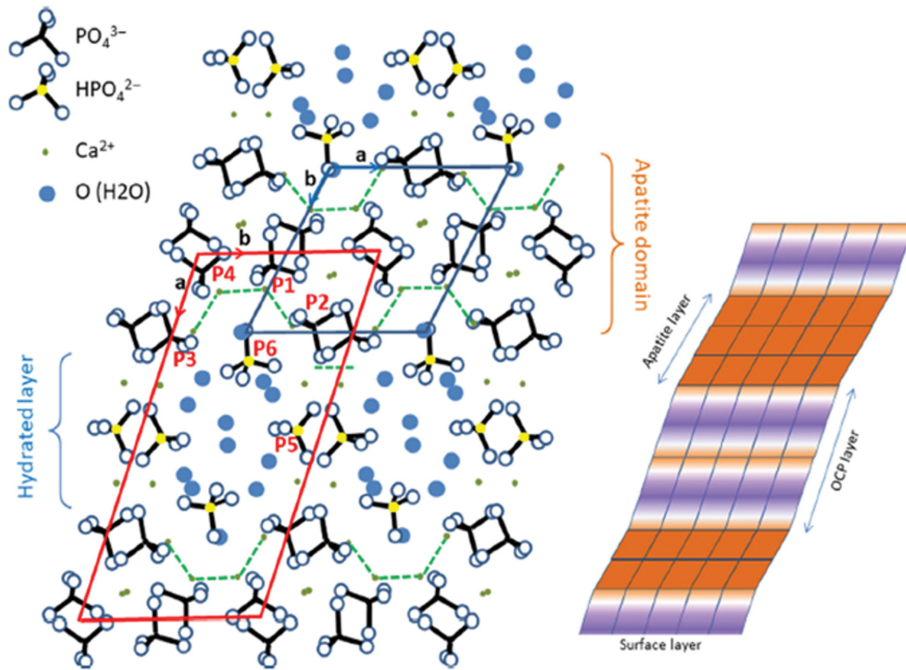


Fig. 11. SEM images of 40HA with different immersion times; a: before immersion, b: after 1 day, c: after 5 days, d: after 7 days and e: after 14 days.



y is the molar fraction of OCP in the interlayered crystal.

Fig. 12. Diagram of transformation mechanism from OCP to calcium deficient hydroxyapatite (CDHA) [20].

것을 확인할 수 있다. 이와 같은 수십 μm 수준의 큰 균열은 SBF 용액에 침적 후 20HA 표면의 OCP가 용해될 때 HA가 disc 표면을 전체적으로 지지하지 못하여 일어난 것으로 판단된다. 한편 40HA의 경우 침적 1일차부터 표면에 구멍 형태의 용해가 일어나고 있음을 Fig. 11에서 확인할 수 있다. 그러나 20HA와 달리 침적 7일차가 되었을 때 표면에 한 방향으로 성장한 thin plate-like 결정상이 생성되었고 해당 결정상은 침적 14일차에 여러 방향으로 성장한 양상을 보이고 있다. 또한, 20HA disc와 다르게 침적 14일차에도 표면에서 큰 범위의 분해나 균열이 발생하지 않았으며 표면 곳곳에 구멍 형태의 용해가 지속적으로 진행되고 있음을 확인할 수 있다. 한편, 침적 14일차 40HA 표면에 존재하는 thin plate-like 결정상의 형성 mechanism은 Fig. 12에 나타내었다. OCP의 표면에 존재하는 hydrate layer가 용해될 때 해당 부위에 apatite layer가 형성된다는 것을 알 수 있다. 이때 hydrate layer가 용해된 OCP layer와 HA의 layer가 반복해서 적층 되는 경우 disc 표면에 calcium deficient hydroxyapatite(CDHA)가 생성될 수 있다는 것을 보여준다[20]. 40HA 표면에 형성된 thin plate-like 결정상의 EDS 분석 결과 Ca/P 비가 1.44로 확인되었으며, 이는 앞서 설명한 CDHA 생성 mechanism을 재확인하는 결과이다.

4. 결 론

본 연구에서는 HA와 OCP 분말을 공침법으로 합성하여 기계적 혼합으로 HA와 OCP가 일정 비율로 혼합된 20HA와 40HA Disc를 제조하였다. in vitro 실험을 통해 SBF에 침적된 20HA와 40HA가 14일차까지 Disc의 형태를 유지하고 있음을 확인하였고 HA의 첨가를 통해 OCP Disc의 단점인 약한 응집력을 보완할 수 있다는 가능성을 제시하였다. 또한 SBF 침적 기간에 따른 OCP/HA Disc의 weight 변화와 SBF 용액의 pH 변화를 조사하여 20HA와 40HA가 Disc의 형태를 유지하면서 표면 용해가 일어난다는 사실을 확인할 수 있었다. SBF 침적 5일차 이후부터 일부 20HA 시편의 표면 모서리 부에서 큰 범위의 분해가 발생하였으나 40HA의 표면 용해가 빠르게 진행되었기 때문에 전체적으로 Disc의 무게 감소량에는 큰 차이가 없었다. 또한 침적 기간에 따른 20HA와 40HA의 XRD Patterns의 확인 결과 기존 존재하던 HA와 OCP Peak 외에 다른 상이 발견되거나 소멸하는 양상은 보이지 않았다. 그리고 SEM을 통해 20HA와 40HA의 표면 미세 구조를 확인해 본 결과 침적 기간이 증가함에 따라 20HA와 40HA 모두 분말이 균일하게 작아지는 양상을 보였으며 표면에 구멍 형태의 용해가 보

이는 등 전체 침적 기간 동안 용해가 지속적으로 진행되는 것을 확인할 수 있었다. 20HA의 경우 침적 14일차에 표면에 수십 μm 수준의 균열이 발생하였는데 이를 통해 Disc 전체를 지지하기에 20HA에 포함된 HA의 양이 부족하다고 판단된다. 40HA의 경우 균일하게 용해가 진행되며 침적 7일차 이후부터 표면에 Thin Plate-like 결정이 성장한 것을 볼 수 있었다. 해당 결정상은 OCP의 수화층이 용해 됨에 따라 해당 부위에 HA층이 형성되며 나타나는 CDHA로 판단된다. 결론적으로 20HA와 40HA의 분해거동을 확인해 보았을 때 40HA의 경우 표면에 분포된 HA의 지지력이 더 우수하고 표면에서 균일하게 용해가 진행되었다. 또한 침적 7일차 이후부터 40HA의 표면에 형성된 CDHA는 Calcium phosphate 재료를 체내에 삽입 하였을 때 재료와 자연골의 접합이 이루어지는 과정에서 그 계면에 형성되는 물질로 골형성에 도움을 준다. 따라서 체내에 적용되어 골결손부의 회복을 위하여는 40HA가 보다 적합하다고 판단된다.

감사의 글

이 논문은 2020년도 정부(과학기술정보통신부)의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 연구임(No. 2020R1A2C1014586).

References

- [1] M. Canillas, P. Pena, H. Antonio and M.A. Rodriguez, "Calcium phosphates for biomedical applications", BOL SOC ESP CERAM V. 56 (2017) 91.
- [2] B. Ratner, A. Hoffman, F. Schoen and J. Lemons, "Biomaterials science", 3rd ed., B. Ratner, A. Hoffman, F. Schoen, J. Lemons, Ed. (Academic Press, 2012).
- [3] V. Uskokovic and T.A. Desai, "Phase composition control of calcium phosphate nanoparticles for tunable drug delivery kinetics and treatment of osteomyelitis. I. preparation and drug release", J. Biomed. Mater. Res. Part A 101A (2013) 1416.
- [4] J.R. Davis, "Handbook of materials for medical devices" (ASM International, 2003).
- [5] M. Iijima, H. Kamemizu, N. Wakamatsu, T. Goto, Y. Doi and Y. Moriwaki, "Effects of Ca addition on the formation of octacalcium phosphate and apatite in solution at pH 7.4 and at 37°C", J. Cryst. Growth 193 (1998) 182.
- [6] Y. Toshiki, A. Yasuda, R.I. Makkonen and S. Kamakura, "Bone augmentation by octacalcium phosphate and collagen composite coated with poly-lactic acid cage", Clin. Exp. Dent. 6 (2020) 391.
- [7] W.E. Brown, J.R. Lehr, J.P. Smith and A.W. Frazier, "Crystallography of octacalcium phosphate", J. Am. Chem. Soc. 79 (1957) 5318.
- [8] S. Morimoto, T. Anada, Y. Honda and O. Suzuki, "Comparative study on in vitro biocompatibility of synthetic octacalcium phosphate and calcium phosphate ceramics used clinically", J. Biomed. Mater. Res. 7 (2012) 045020.
- [9] W. Pompe, H. Worch, W.J.E.M. Habraken, P. Simon, R. Kniep, H. Ehrlich and P. Paufler, "Octacalcium phosphate - a metastable mineral phase controls the evolution of scaffold forming proteins", J. Mater. Chem. B 3 (2015) 5318.
- [10] R. Ichikawa, S. Kajiyama, M. Imura and T. Kato, "Tuning the c-axis orientation of calcium phosphate hybrid thin films using polymer templates", Langmuir 35 (2019) 4077.
- [11] N. Ito, M. Kamitakahara and K. Ioku, "Preparation and evaluation of spherical porous granules of octacalcium phosphate/hydroxyapatite as drug carriers in bone cancer treatment", Mater. Lett. 120 (2014) 94.
- [12] R.Z. LeGeros, S. Lin, R. Rohanizadeh, D. Mijares and J.P. LeGeros, "Biphase calcium phosphate bioceramics: preparation, properties and applications", J. Mater. Sci.: Mater. Med. 14 (2003) 201.
- [13] O. Suzuki, "Biological role of synthetic octacalcium phosphate in bone formation and mineralization", J. Oral Biosci. 52 (2010) 6.
- [14] M.H. Hong, "Mechanical and biological properties of biphasic calcium phosphate scaffold depending on different nanoparticle fabrication methods", J. Ceram. Sci. Technol. 8 (2017) 541.
- [15] Y. Zhang, J. Ai, D. Wang, Z. Hong, W. Li and Y. Yokogawa, "Dissolution properties of different compositions of biphasic calcium phosphate bimodal porous ceramics following immersion in simulated body fluid solution", Ceram. Int. 39 (2013) 6751.
- [16] O. Suzuki, "Octacalcium phosphate: osteoconductivity and crystal chemistry", Acta Biomater. 6 (2010) 3379.
- [17] S. Sakai, T. Anada, K. Tsuchiya, H. Yamazaki, H.C. Margolis and O. Suzuki, "Comparative study on the resorbability and dissolution behavior of octacalcium phosphate, β -tricalcium phosphate, and hydroxyapatite under physiological conditions", Dent. Mater. J. 35 (2016) 216.
- [18] R.Z. Legeros, "Preparation of octacalcium phosphate (OCP): A direct fast method", Calcif. Tissue Int. 37 (1985) 194.
- [19] Y. Taishi, I.Y. Kim and C. Ohtsuki, "Mineralization of calcium phosphate on octacalcium phosphate in a solution mimicking in vivo conditions", Phosphorus Res. Bull. 26 (2012) 71.
- [20] C. Rey, C. Combes and C. Drouet, "Biomaterials, octacalcium phosphate biomaterials", ed., O. Suzuki, G. Insley, Ed. (Woodhead, 2020), p. 177.