(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2020-0056282
(43) 공개일자 2020년05월22일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61L 27/46 (2006.01) *A61F 2/28* (2006.01)
A61F 2/30 (2006.01) *A61L 27/12* (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61L 27/46 (2013.01)
A61F 2/28 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2019-0103723
(22) 출원일자 2019년08월23일
심사청구일자 2019년08월23일
(30) 우선권주장
1020180139288 2018년11월13일 대한민국(KR)

(71) 출원인
한국기계연구원
대전광역시 유성구 가정북로 156 (장동)
(72) 발명자
윤희숙
경상남도 창원시 진해구 경화로21번길 37 The Avenue (경화동)
라자나렌
경상남도 창원시 성산구 상남동
박홍현
경상남도 창원시 성산구 가음동
(74) 대리인
이원희

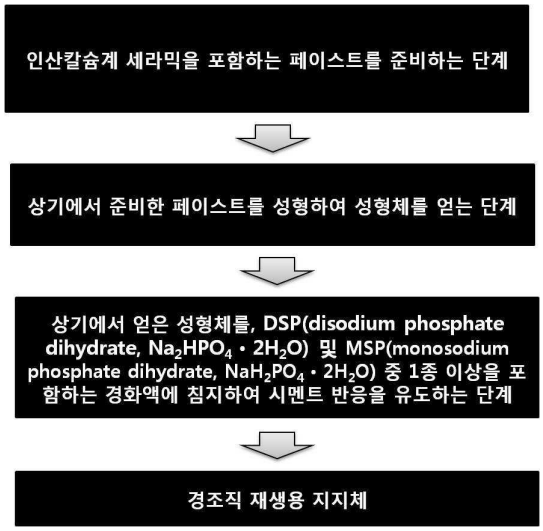
전체 청구항 수 : 총 13 항

(54) 발명의 명칭 **인산칼슘 지지체의 경화속도 제어방법**

(57) 요 약

인산칼슘계 세라믹을 포함하는 페이스트를 준비하는 단계; 상기에서 준비한 페이스트를 성형하여 성형체를 얻는 단계; 및 상기에서 얻은 성형체를, DSP(disodium phosphate dihydrate, $Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$) 및 MSP(monosodium phosphate dihydrate, $NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$)로 이루어지는 군으로부터 선택되는 1종 이상을 포함하는 경화액에 침지하여 시멘트 반응을 유도하는 단계;를 포함하는 경조직 재생용 지지체의 제조방법이 개시된다.

대 표 도 - 도1



(52) CPC특허분류
A61F 2/30942 (2013.01)
A61L 27/12 (2013.01)
A61F 2002/30985 (2013.01)
A61L 2430/02 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 PMI9480
부처명 산업통상자원부
연구관리전문기관 한국산업기술평가관리원
연구사업명 산업핵심기술개발사업
연구과제명 이식환경 맞춤형 바이오세라믹 3D프린팅 소재 및 저온 (40° C이하) 공정기술 개발(4/5)
기 여 율 1/1
주관기관 한국산업기술평가관리원
연구기간 2019.01.01 ~ 2019.12.31

명 세 서

청구범위

청구항 1

인산칼슘계 세라믹을 포함하는 페이스트를 준비하는 단계;

상기에서 준비한 페이스트를 성형하여 성형체를 얻는 단계; 및

상기에서 얻은 성형체를, DSP(disodium phosphate dihydrate, $Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$) 및 MSP(monosodium phosphate dihydrate, $NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$)로 이루어지는 군으로부터 선택되는 1종 이상을 포함하는 경화액에 침지하여 시멘트 반응을 유도하는 단계;를 포함하는 경조직 재생용 지지체의 제조방법.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 페이스트는 약물을 더 포함하는 경조직 재생용 지지체의 제조방법.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 인산칼슘계 세라믹은 α-TCP(α-Tricalcium phosphate), ββphosphate), 하이드록시아파타이트(Hydroxyapatite), DCPD(Dicalcium phosphate dihydrate), MCPM(Monocalcium phosphate monohydrate), DCPA(Dicalcium phosphate anhydrous) 및 BCP(Biphasic Calcium Phosphate)로 이루어지는 군으로부터 선택되는 1종 이상을 포함하는 경조직 재생용 지지체의 제조방법.

청구항 4

제2항에 있어서,

상기 약물은 비스포스포네이트계 화합물로 이루어지는 군으로부터 선택되는 1종 이상을 포함하는 경조직 재생용 지지체의 제조방법.

청구항 5

제1항에 있어서,

상기 페이스트는 하이드록시프로필 메틸셀룰로오즈(HPMC), 하이드록시 에틸 셀룰로오스(HEC), 메틸셀룰로오스(Methyl cellulose), 카르복시메틸셀룰로오스(CMC), 알지네이트(Alginate), 젤라틴(Gelatin), 콜라겐(Collagen), 파이브리노젠(fibrinogen), 키토산(Chitosan), 아가(Agar), 마트리겔(Matrigel), 스타치(Starch), 펙틴(Pectin), 폴리비닐 알콜(Polyvinyl alcohol), 폴리우레탄(Polyurethane), 폴리에틸렌 글라이콜(Poly(ethylene glycol)), 폴리프로필렌 글라이콜(Poly(propylene glycol)), 히알루로난(Hyaluronan) 및 폴리비닐피롤리돈(Poly(vinylpyrrolidone))으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 1종 이상의 점증제를 더 포함하는 경조직 재생용 지지체의 제조방법.

청구항 6

제1항에 있어서,

상기 페이스트는 메탄올, 에탄올, 프로판올 및 부탄올로 이루어지는 군으로부터 선택되는 1종 이상의 알코올을 더 포함하는 경조직 재생용 지지체의 제조방법.

청구항 7

제2항에 있어서,

상기 약물의 함량은 전체 페이스트에 대하여 0.01 중량% 내지 5 중량%인 경조직 재생용 지지체의 제조방법.

청구항 8

제1항에 있어서,

상기 성형은 적층조형법으로 수행되는 경조직 재생용 지지체의 제조방법.

청구항 9

제1항에 있어서,

상기 경화액의 pH 값은 2 내지 14 범위인 경조직 재생용 지지체의 제조방법.

청구항 10

제1항에 있어서,

상기 경화액의 DSP 및 MSP로 이루어지는 군으로부터 선택되는 1종 이상의 함량은 전체 경화액에 대하여 0.1 중량% 내지 5 중량%인 경조직 재생용 지지체의 제조방법.

청구항 11

제1항에 있어서,

상기 성형체를 경화액에 침지시키는 것은 0.5시간 내지 8시간 동안 수행되는 경조직 재생용 지지체의 제조방법.

청구항 12

인산칼슘계 세라믹 및 비스포스포네이트계 화합물을 포함하는 약물을 포함하는 페이스트를 준비하는 단계;

상기에서 준비한 페이스트를 성형하여 성형체를 얻는 단계; 및

상기에서 얻은 성형체를, MSP(monosodium phosphate dihydrate, $NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$)를 포함하는 경화액에 침지하여 시멘트 반응을 유도하는 단계;를 포함하는 경조직 재생용 지지체의 제조방법.

청구항 13

인산칼슘계 세라믹을 포함하는 페이스트를 준비하는 단계;

상기에서 준비한 페이스트를 성형하여 성형체를 얻는 단계; 및

상기에서 얻은 성형체를, DSP(disodium phosphate dihydrate, $Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$) 및 MSP(monosodium phosphate

dihydrate, $NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$)로 이루어지는 군으로부터 선택되는 1종 이상을 포함하는 경화액에 침지하여 시멘트 반응을 유도하는 단계;를 포함하는 제조방법을 통해 제조되는 경조직 재생용 지지체.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 인산칼슘 지지체의 경화속도 제어방법에 관한 것이며, 구체적으로 인산칼슘계 세라믹을 이용하여 경조직 재생용 지지체를 제조하는 방법 및 이를 통해 제조된 경조직 재생용 지지체에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0003] 사고, 질병 및 노화 등으로 손실된 신체기능을 기존의 대체(replacement) 개념의 치료가 아닌 재생(regeneration)시켜 복원시키고자 하는 조직공학은 생명과학과 공학 등 여러 가지 분야가 조합하여 이루어지는 다학제간 기술분야이다. 조직공학을 이루는 주요 3요소(세포, 지지체 및 생체활성분자) 중 지지체는 구성재료 선택과 구조제어 기술이 매우 중요하다. 즉, 지지체는 자가복구기능을 손실한 조직을 재생시키기 위하여 조직과 조직을 이어주는 다리와 같은 역할을 하며, 이를 위하여 조직재생이 원활히 이루어지도록 세포친화성이 뛰어나고, 세포가 3차원 적으로 잘 자라며 영양분 및 배설물 등의 교환이 잘 이루어질 수 있도록 일정한 크기영역에서 3차원적으로 잘 연결되어 있는 기공구조를 가지고, 조직의 재생속도에 맞추어 분해되어 없어지는 생분해성과 재생되는 동안 형태를 유지 시켜줄 기계적 강도를 가져야하며, 생체안전성이 뛰어나야 한다.

[0004] 특히 뼈와 치아와 같은 경조직 재생에 있어서는 재생부위에 따른 기계적 물성확보가 중요하다. 이러한 지지체에 요구되는 기능 중 3차원 기공구조와 기계적 물성은 지지체의 디자인 및 제조기술로 나머지 생분해성, 생체적합성 및 기계적 물성 등은 주로 적합한 소재의 선택 및 합성기술로 제어가 가능하다.

[0005] 경조직 재생용 지지체의 대표적 3차원 기공구조 제조기술에는 다양한 고분자나 유기물질을 이용하는 주형(template)법, 입자 침출(particle leaching)법, 가스를 이용한 거품성형 (gas foaming)법, 섬유망사(fibermeshes)법, 상분리 (phase separation)법 및 동결유탁 (emulsion freeze drying) 등이 있으나, 기공크기와 연결성 제어가 어렵고 구조의 재현성이 낮은 단점이 지적되고 있다. 이를 극복하기 위한 공정 기술로 3D프린팅 기술이 주목받고 있다.

[0006] 한편, 지지체를 구성하는 재료로는 고분자를 중심으로 연구가 이루어지고 있으나 경조직 재생에 있어서 고분자는 충분한 생체활성 및 기계적 물성의 확보가 어려운 단점이 있다. 경조직 중 뼈는 약 70%의 무기질과 20%의 유기질, 그리고 10%의 물로 구성되어 있으며 이를 모방하여 지지체를 구성하는 소재로 세라믹 혹은 세라믹-고분자 복합체를 이용하여 고분자 소재의 단점을 극복하고자 하는 연구가 다수 진행되고 있다. 즉, 세라믹을 재료로 하고 3D프린팅 기술로 3차원구조를 제어하면 종래기술의 단점이 보완된 지지체 개발을 기대할 수 있다.

[0007] 경조직 재생용 소재로 이용되는 대표적인 세라믹에는 뼈 광물상과의 화학적 유사성을 가진 인산칼슘계 세라믹이 있다. 인산칼슘계 세라믹은 일반적으로 분말상으로 존재하며 이것을 원료로 하여 3D프린팅법으로 3차원 지지체를 제작하기 위해서는 세라믹분말과 유기물 바인더의 조합으로 형상제조 후 고온소결 (>1000° C)을 통하여 유기물을 제거하고 세라믹 분말입자간 결합을 형성시켜 구조적으로 안정성을 가진 지지체를 얻거나, 고분자로 3차원 형상을 제조한 후 이를 주형으로 이용하여 세라믹분말과 유기물 바인더와의 복합체를 주입한 후 고온소성시켜 고분자 및 유기물 바인더를 제거하는 공정이 적용된다.

[0008] 이와 같이 세라믹을 이용한 3차원 지지체 제조에는 반드시 고온소결 공정이 요구된다. 하지만, 고온에서의 열처리는 예기치 않은 결정화와 이로 인한 생분해성 및 생체활성 저하와 더불어 수축 및 균열로 인한 불안정한 기계적 물성을 초래하기도 한다. 따라서 세라믹 지지체의 고온 열처리를 하지 않는 저온공정 개발이 요구된다. 한편, 세라믹 분말은 고온 소결로 인한 벌크화 외에 분말과 경화용액의 혼합을 통한 수화 혹은 산염기반응으로 벌크화 할 수 있다. 이와 같은 반응을 시멘트반응이라고 한다. 인산칼슘은 대표적인 골시멘트 소재로 그 결과물에 따라서 아파타이트계과 부루사이트계로 구분된다. 하지만 인산칼슘계 특히 부루사이트계 시멘트의 경우 종종 낮은 기계적 강도와 용액 침적시 인산용출로 인한 강한 산성을 띄는 것이 문제로 지적되고 있다. 또한 빠른 경화반응으로 3차원 성형체의 구조제어에는 한계점이 있다.

[0009] 이와 같이, 종래 고온 열처리를 하지 않고 저온에서 3차원 형상이 제어된 인산칼슘을 제조하는 기술(대한민국

공개특허 제10-2018-0055960호) 및 인산마그네슘을 포함하는 경조직 재생용 지지체에 대한 기술(대한민국 등록특허 제10-1562556호)이 개발되었으나, 빠른 경화반응으로 직접 골시멘트를 3D프린팅에 사용할 수 없어 후 골시멘트 원료분말을 이용하여 제조한 페이스트를 3D프린팅하여 3차원 형상을 만든 후 경화반응을 유도하는 과정을 거치어 골시멘트를 3D프린팅 기술에 적용하기 위한 기술적 한계점을 극복하였다. 하지만, 이때 분말에 직접 경화액을 혼합하지 않고 3D프린팅된 구조물을 경화액에 침지시키는 공정을 이용하므로 3D프린팅을 위한 충분한 시간은 확보가능하나, 선행기술에 사용된 경화액의 경우 경화반응 유도가 늦어 경화액의 구조 내 침투가 어려운 큰 구조물이거나 약물 등 기능성 물질의 도입으로 인해 분말과 경화액의 접촉이 저해되어 경화반응이 더 늦어지는 경우 1) 구조체 안정성 저하로 인한 경화액 침지와 동시에 3D프린팅된 구조체의 붕괴가 발생하기도 하고, 2) 기능성 물질 도입에 따른 경화반응 지연으로 인한 3D프린팅된 구조체의 붕괴로 지지체 형상유지가 불가능하기도 하며, 3) 경화에 필요한 시간이 길어 공정시간이 길어지고, 또한 4) 충분하지 못한 경화반응으로 인한 지지체로 사용하기에 충분하지 못한 낮은 기계적 물성과 관련된 문제를 여전히 남기고 있다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0011] 본 발명의 일 측면에서의 목적은 3D 프린팅 후 골시멘트 경화반응을 도입할 경우 늦은 경화 반응으로 인해 3D프린팅된 구조체 붕괴, 긴 공정시간 및 지지체의 불충분한 기계적 물성과 관련된 발생하는 문제점을 해결하는 데 있다.

과제의 해결 수단

[0013] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명의 일 측면에서

[0014] 인산칼슘계 세라믹을 포함하는 페이스트를 준비하는 단계;

[0015] 상기에서 준비한 페이스트를 성형하여 성형체를 얻는 단계; 및

[0016] 상기에서 얻은 성형체를, DSP(disodium phosphate dihydrate, $Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$) 및 MSP(monosodium phosphate dihydrate, $NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$)로 이루어지는 군으로부터 선택되는 1종 이상을 포함하는 경화액에 침지하여 시멘트 반응을 유도하는 단계;를 포함하는 경조직 재생용 지지체의 제조방법이 제공된다.

[0018] 또한, 본 발명의 다른 측면에서

[0019] 인산칼슘계 세라믹 및 비스포스포네이트계 화합물을 포함하는 약물을 포함하는 페이스트를 준비하는 단계;

[0020] 상기에서 준비한 페이스트를 성형하여 성형체를 얻는 단계; 및

[0021] 상기에서 얻은 성형체를, MSP(monosodium phosphate dihydrate, $NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$)를 포함하는 경화액에 침지하여 시멘트 반응을 유도하는 단계;를 포함하는 경조직 재생용 지지체의 제조방법이 제공된다.

[0023] 나아가, 본 발명의 다른 일 측면에서

[0024] 인산칼슘계 세라믹을 포함하는 페이스트를 준비하는 단계;

[0025] 상기에서 준비한 페이스트를 성형하여 성형체를 얻는 단계; 및

[0026] 상기에서 얻은 성형체를, DSP(disodium phosphate dihydrate, $Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$) 및 MSP(monosodium phosphate dihydrate, $NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$)로 이루어지는 군으로부터 선택되는 1종 이상을 포함하는 경화액에 침지하여 시멘트 반응을 유도하는 단계;를 포함하는 제조방법을 통해 제조되는 경조직 재생용 지지체가 제공된다.

발명의 효과

[0028] 본 발명의 일 측면에서 제공되는 경조직 재생용 지지체의 제조방법을 도입할 경우 인산칼슘계 세라믹의 늦은 경화반응으로 인하여 발생하는 문제점을 해결할 수 있다. 더욱이, 경조직 재생용 지지체의 안정성 저하 및 기능성 물질 도입에 따른 경화반응 지연으로 인한 지지체 붕괴를 해소하여 지지체 형성이 가능하며, 제조시간을 단축할 수 있고, 제조되는 지지체는 높은 기계적 물성을 가진다.

도면의 간단한 설명

[0030] 도 1은 본 발명의 일 측면에서 제공되는 제조방법을 나타낸 순서도이고;

도 2는 실시예 1 및 비교예 1에서 사용된 경화액에 따른 수화반응 기반 상전이 시간을 나타낸 그래프이고;

도 3은 실시예 2 및 비교예 2에서 사용된 경화액에 따른 산-염기반응 기반 상전이 시간을 나타낸 그래프이고;

도 4는 실시예 1 및 비교예 1에서 사용된 경화액에 따른 상전이를 관찰한 그래프이고;

도 5는 실시예 2 및 비교예 2에서 사용된 경화액에 따른 상전이를 관찰한 그래프이고;

도 6은 실시예 1 및 비교예 1에서 사용된 경화액에 따른 반응 종료시간을 나타낸 그래프이고;

도 7은 실시예 2 및 비교예 2에서 사용된 경화액에 따른 반응 종료시간을 나타낸 그래프이고;

도 8은 실시예 1, 실시예 2, 비교예 1 및 비교예 2에서 제조된 지지체를 육안으로 관찰한 사진이고;

도 9는 실시예 1, 실시예 2, 비교예 1 및 비교예 2에서 제조된 지지체를 FE-SEM으로 관찰한 사진이고;

도 10은 실시예 1, 실시예 2, 비교예 1 및 비교예 2에서 각각의 경화액에 따른 지지체 경화 반응을 정리한 그래프이고;

도 11은 실시예 12 내지 14 및 비교예 12 내지 14에서 사용된 경화액에 따른 상전이를 확인한 XRD 그래프이고;

도 12는 실시예 15 내지 17 및 비교예 15 내지 17에서 사용된 경화액에 따른 상전이를 확인한 XRD 그래프이고;

도 13은 실시예 18 내지 20 및 비교예 18 내지 20에서 사용된 경화액에 따른 상전이를 확인한 XRD 그래프이고;

도 14는 실시예 1, 실시예 2, 비교예 1 및 비교예 2에서 제조된 지지체의 기계적 물성을 나타낸 그래프이고;

도 15는 친수성 생체활성물질인 알렌드로네이트를 도입한 지지체(실시예 13 및 비교예 13)를 XRD로 분석한 그래프이고;

도 16은 실시예 1, 실시예 2, 비교예 1 및 비교예 2에서 제조된 지지체의 세포반응성을 분석한 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0031] 본 발명의 일 측면에서

[0032] 인산칼슘계 세라믹을 포함하는 페이스트를 준비하는 단계;

[0033] 상기에서 준비한 페이스트를 성형하여 성형체를 얻는 단계; 및

[0034] 상기에서 얻은 성형체를, DSP(disodium phosphate dihydrate, $Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$) 및 MSP(monosodium phosphate dihydrate, $NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$)로 이루어지는 군으로부터 선택되는 1종 이상을 포함하는 경화액에 침지하여 시멘트 반응을 유도하는 단계;를 포함하는 경조직 재생용 지지체의 제조방법이 제공된다.

[0036] 이때, 본 발명의 일 측면에서 제공되는 경조직 재생용 지지체의 제조방법의 일례를 나타낸 순서도를 도 1에 나타내었으며,

[0037] 이하, 본 발명의 일 측면에서 제공되는 경조직 재생용 지지체의 제조방법에 대하여 각 단계별로 상세히 설명한다.

[0039] 먼저, 본 발명의 일 측면에서 제공되는 경조직 재생용 지지체의 제조방법은 인산칼슘계 세라믹을 포함하는 페이스트를 준비하는 단계를 포함한다.

[0040] 상기 단계에서는 경조직 재생용 지지체의 세라믹 물질로, 인산칼슘계 세라믹 물질을 사용하여 페이스트를 제조한다.

[0042] 여기서, 상기 인산칼슘계 세라믹은 자가 경화 반응을 유도할 수 있는 생체 세라믹 원료가 사용될 수 있으며, α-TCP(α-Tricalcium phosphate), ββTricalcium phosphate), 하이드록시아파타이트(Hydroxyapatite), DCPD(Dicalcium phosphate dihydrate), MCPM(Monocalcium phosphate monohydrate), DCPA(Dicalcium phosphate anhydrous) 및 BCP(Biphasic Calcium Phosphate) 중 적어도 하나 이상을 사용할 수 있고, 바람직하게는 α-TCP(α-Tricalcium phosphate)를 사용할 수 있다.

[0044] 상기 페이스트는 하이드록시프로필 메틸셀룰로오즈(HPMC), 하이드록시 에틸 셀룰로오스(HEC), 메틸셀룰로오스(Methyl cellulose), 카르복시메틸셀룰로오스(CMC), 알지네이트(Alginate), 젤라틴(Gelatin), 콜라겐(Collagen), 파이브리노젠(fibrinogen), 키토산(Chitosan), 아가(Agar), 마트리겔(Matrigel), 스타치(Starch), 펙틴(Pectin), 폴리비닐 알콜(Polyvinyl alcohol), 폴리우레탄(Polyurethane), 폴리에틸렌 글라이콜(Poly(ethylene glycol)), 폴리프로필렌 글라이콜(Poly(propylene glycol)), 히알루로난(Hyaluronan) 및 폴리비닐피롤리돈(Poly(vinylpyrrolidone)) 중 적어도 하나 이상의 점증제를 포함할 수 있다.

[0045] 또한, 상기 점증제의 함량은 전체 페이스트에 대하여 0.1 중량% 내지 5 중량%일 수 있으며, 0.5 중량% 내지 3 중량%일 수 있고, 0.7 중량% 내지 2 중량%일 수 있다. 상기 범위로 점증제를 사용함으로써 페이스트에 적절한 유동성을 부여하여 성형을 수행할 수 있으며 우수한 기계적 물성을 확보할 수 있다.

[0046] 나아가, 상기 점증제는 용매를 포함할 수 있으며, 용매의 종류는 특별히 한정하지 않으나, 바람직하게는 증류수, 테트라하이드로퓨란, 디옥산, 에틸에테르, 1,2-디메톡시에탄, 디메틸포름아미드, 디메틸설폭사이드, 디클로로메탄, 디클로로에탄 및 C_1 내지 C_4 알콜을 더 포함할 수 있으며, 더욱 바람직하게는 에탄올을 포함할 수 있다. 여기서, 상기 용매를 포함하는 점증제를 사용함으로써 페이스트의 성형이 용이하면서도 이루고자 하는 형태가 잘 형성되도록 점도를 조절할 수 있다. 상기 페이스트의 점도는 바람직하게는 10,000 내지 1,000,000 cP 범위로 조절될 수 있으며, 바람직하게는 50,000 내지 500,000 cP, 더욱 바람직하게는 100,000 내지 300,000 cP 범위로 조절될 수 있다.

[0047] 나아가, 상기 페이스트는 메탄올, 에탄올, 프로판올 및 부탄올 중 적어도 하나 이상의 1종 이상의 알코올을 포함할 수 있으며, 상기 알코올을 1종 이상 포함하는 알코올 수용액을 포함할 수 있다.

[0049] 또한, 상기 페이스트는 약물을 더 포함할 수 있다. 상기 약물은 퀴세틴(Quercetein), 제네스테인(Genistein), 커큐민(Curcumin), 사우로락탐(Saurolactam), 사우치논(Sauchinone), 바이카린(Baicalin), 다이드제인(Daidzein), 루틴(Rutin), 안토시아니딘(Anthocyanidin), 피세틴(Fisetin), 이카린(Icariin), 캠퍼롤(Kaempferol), 코리아눔 나케이(E. Koreanum Nakei), 이쿠올(Equol), 알렌드로네이트(alendronate), 리세드로네이트(risedronate), 에티드로네이트(etidronate), 클로드로네이트(clodronate), 네리드로네이트(neridronate), 이반드로네이트(ibandronate), 졸레드로네이트(zoledronate), 올파드로네이트(olpadronate) 및 비스포스포네이트계 화합물 중 적어도 하나 이상일 수 있다. 상기 페이스트는 세라믹의 시멘트 경화 과정 중에 나타나는 상변화에 영향을 주지 않는 퀴세틴, 제네스테인 등을 사용할 수 있으나, 본 발명에서는 인(phosphorous)을 포함하여 시멘트 경화 반응에 영향을 주는 약물로 알렌드로네이트 등의 비스포스포네이트(bisphosphonate)을 사용할 수 있다.

[0050] 상기 약물의 함량은 전체 페이스트에 대하여 0.01 중량% 내지 5 중량%일 수 있으며, 0.05 중량% 내지 3 중량%일 수 있고, 0.1 중량% 내지 2 중량%일 수 있다.

[0052] 상기 페이스트는 인산칼슘계 세라믹, 약물 및 점증제를 볼 밀(ball mill) 장치를 사용하여 분쇄 및 혼합하여 제조될 수 있다. 상기 인산칼슘계 세라믹과 상기 용매를 더 포함하는 점증제 수용액을 볼 밀(ball mill) 장치를 이용하여 페이스트를 준비할 수 있다. 이때, 상기 인산칼슘계 세라믹의 분말 평균 입자크기는 1 ㎛ 내지 50 ㎛으로 분쇄될 수 있으며, 2 ㎛ 내지 25 ㎛으로 분쇄될 수 있고, 3 ㎛ 내지 6 ㎛로 분쇄될 수 있다.

[0054] 다음으로, 본 발명의 일 측면에서 제공되는 경조직 재생용 지지체의 제조방법은 상기에서 준비한 페이스트를 성형하여 성형체를 얻는 단계를 포함한다.

[0055] 상기 단계에서는 전단계에서 준비된 페이스트를 다양한 방법을 사용하여 성형하여 성형체를 얻는다.

[0057] 구체적으로, 상기에서 준비한 페이스트를 3D 프린팅 기술을 통하여 3차원 구조의 성형체로 얻을 수 있다. 상기 3D 프린팅 기술은 디지털화된 3차원 제품 디자인을 2차원 단면으로 연속적으로 재구성한 후, 원료소재를 한 층씩 인쇄하여 제품을 제조하는 기술이다.

[0058] 3D프린터에 적용되는 다양한 크기의 노즐을 사용하여 지지체의 기둥두께를 조절할 수 있으며, 컴퓨터 프로그램을 통해 다양한 형상(기둥간격, 기공크기, 기공형상, 지지체의 형상 등)으로 성형될 수 있다.

[0060] 다음으로, 본 발명의 일 측면에서 제공되는 경조직 재생용 지지체의 제조방법은 상기에서 얻은 성형체를, DSP(disodium phosphate dihydrate, $Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$) 및 MSP(monosodium phosphate dihydrate, $NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$)로 이루어지는 군으로부터 선택되는 1종 이상을 포함하는 경화액에 침지하여 시멘트 반응을 유도하는 단계를 포함한다.

[0061] 상기 성형체는 시멘트 반응이 일어나지 않은 상태이므로 불안정하여 경화반응을 일으키지 않는 용액 내에서는 쉽게 분해되나 공기 중에서는 안정하여 형상을 유지할 수 있다. 이러한 성형체는 골시멘트를 직접 사용하지않아 3D프린팅 중 경화반응이 유도되지 않으므로 3차원 형상 및 기공구조 제어를 위한 충분한 시간을 확보할 수 있으며, 이에 면밀한 구조제어가 가능하다.

[0062] 3D프린팅된 구조체의 안정화는 3차원 형상제어 후 경화액에 침지시키는 것으로 페이스트에 적용된 원료분말의 시멘트 경화반응에 의하여 확보된다.

[0063] 이때, 종래에 사용되던 경화액은 늦은 경화반응으로 인해 경화액에 침지시 구조체의 즉각 혹은 순차적 붕괴, 오랜 경화시간으로 인한 긴 공정시간 및 지지체로 사용하기에 불충분한 낮은 기계적 물성 등의 문제와 더불어, 약물 등의 기능성 물질을 도입하는 경우 기능성 물질이 원료분말과 경화액의 반응을 지연시켜 3D프린팅된 구조체를 유지하지 못하고 경화 도중 붕괴되는 문제 등이 있었다.

[0064] 이에, 본 발명에서는 경화액으로 DSP 및 MSP 중 1종 이상을 도입함으로써 종래 사용되던 PBS 및 MCPM(monocalcium phosphates monohydrate) 보다 월등히 우수한 속도로 경화반응이 진행되고, 약물 도입에 따라 발생하는 구조체 붕괴의 문제도 크게 개선할 수 있다.

[0066] 구체적으로, 상기 경화액의 pH 값은 2 내지 12 범위일 수 있다. 이때, DSP를 포함하는 경화액의 pH 값은 8 내지 12 범위일 수 있고, 9 내지 11의 범위일 수 있으며, MSP를 포함하는 경화액의 pH 값은 2 내지 6의 범위일 수 있고, 3 내지 5의 범위일 수 있다. 만약, 상기 경화액의 pH 값이 2 미만인 경우에는 지나치게 높은 산성으로 인하여 기능성물질 도입시 변성되는 문제가 있으며, 지나치게 빠른 경화반응으로 3D 구조체 외부만 경화반응이 일어나 치밀층이 형성되어 내부까지 경화액의 침투가 어려워 경화반응이 완료되지 못할 수 있으며, 외부에 먼저 형성되는 부르사이트의 결정상의 지나친 성장으로 외부층의 벗겨짐 현상 및 부르사이트의 빠른 생분해로 인한 체내 삽입시 지지체 주변 환경을 산성분위기로 만들어 염증 혹은 세포괴사를 초래하는 문제가 있다.

[0067] 또한, 상기 경화액의 DSP 및 MSP 중 1종 이상의 함량은 전체 경화액에 대하여 0.1 중량% 내지 5 중량%인 것이 바람직하고, 0.5 중량% 내지 4 중량%일 수 있고, 1 중량% 내지 3 중량%일 수 있으며, 2 중량% 내지 3 중량%일 수 있다. 농도로 보면, 상기 경화액의 농도는 0.01 M 내지 0.5 M일 수 있으며, 0.05 M 내지 0.4 M일 수 있고, 0.1 M 내지 0.2 M일 수 있다. 경화액 내 DSP 또는 MSP의 농도 범위가 상기 범위를 벗어나는 경우 상변화가 충분

히 유도되지 않거나, 과도한 상변화로 인해 지지체의 물성을 확보할 수 없는 문제가 있다.

[0068] 나아가, 상기 성형체를 경화액에 침지시키는 것은 0.5시간 이상 수행될 수 있으며, 1시간 이상 수행될 수 있고, 3시간 이상 수행될 수 있으며, 5시간 이상 수행될 수 있고, 6시간 이상 수행될 수 있다. 또, 24시간 이하로 수행될 수 있고, 12시간 이하로 수행될 수 있으며, 8시간 이하로 수행될 수 있다.

[0070] 상술한 바와 같이, 본 발명의 일 측면에서 제공되는 경조직 재생용 지지체의 제조방법은 인산칼슘계 세라믹의 늦은 경화반응으로 인하여 발생하는 문제점을 해결할 수 있는 것으로, 경조직 재생용 지지체의 안정성 저하 및 기능성 물질 도입에 따른 경화반응 지연으로 인한 지지체 붕괴를 해소하여 지지체 형성이 가능하며, 지지체의 생물학적 기능성을 높이고, 제조되는 지지체는 높은 기계적 물성을 가진다.

[0072] 또한, 본 발명의 다른 측면에서

[0073] 인산칼슘계 세라믹 및 비스포스포네이트계 화합물을 포함하는 약물을 포함하는 페이스트를 준비하는 단계;

[0074] 상기에서 준비한 페이스트를 성형하여 성형체를 얻는 단계; 및

[0075] 상기에서 얻은 성형체를, MSP(monosodium phosphate dihydrate, $NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$)를 포함하는 경화액에 침지하여 시멘트 반응을 유도하는 단계;를 포함하는 경조직 재생용 지지체의 제조방법이 제공된다.

[0077] 알렌드로네이트와 같이 비스포스포네이트계 화합물은 인 또는 인산기를 포함하는 약물의 경우 인산칼슘계 세라믹으로 형성된 성형체의 시멘트 반응을 방해할 수 있다. 또한, 이러한 친수성 약물은 OH기를 다수 포함하므로 인산칼슘분말의 수화반응에 의한 경화반응을 방해할 수 있으며, 이로 인해 경화액 침지시 3D 구조체가 경화되지 못하고 붕괴된다. 종래의 MCPM (monocalcium phosphates monohydrate)의 경우 산-염기반응과 수화반응을 동시에 이용하는 반응으로 단순 수화반응을 이용하는 PBS (phosphorus buffer solution)의 수화반응만을 이용한 경화반응에 비해 빠른 반응이나 여전히 친수성 약물도입 시 불충분한 경화반응으로 구조체의 붕괴가 확인된다. 이때, 경화액으로 MSP를 적용함으로써 빠른 경화반응과 산-염기반응으로 생성되는 부루사이트로 외부 결정상 전환이 보다 안정적으로 유도되어 특정 약물을 포함하는 경우에도 지지체의 안정성이 저하되거나 경화반응 지연으로 인해 구조체가 붕괴되는 문제를 해소할 수 있으며, 이를 통해 기계적 물성이 향상되는 효과가 있다. 종래 PBS와 같은 수화반응만을 이용한 경우는 DSP로 용액을 전환하여 빠른 수화반응을 유도하는 것으로 상기에 지적한 문제점을 해결할 수 있다.

[0079] 나아가, 본 발명의 다른 일 측면에서

[0080] 인산칼슘계 세라믹을 포함하는 페이스트를 준비하는 단계;

[0081] 상기에서 준비한 페이스트를 성형하여 성형체를 얻는 단계; 및

[0082] 상기에서 얻은 성형체를, DSP(disodium phosphate dihydrate, $Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$) 및 MSP(monosodium phosphate dihydrate, $NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$)로 이루어지는 군으로부터 선택되는 1종 이상을 포함하는 경화액에 침지하여 시멘트 반응을 유도하는 단계;를 포함하는 제조방법을 통해 제조되는 경조직 재생용 지지체가 제공된다.

[0084] 본 발명의 다른 측면에서 제공되는 경조직 재생용 지지체는 인산칼슘계 세라믹의 늦은 경화반응으로 인하여 발생하는 문제점을 해결하여 제조되는 경조직 재생용 지지체로 높은 기계적 물성을 나타낸다.

[0086] 이하, 실시예 및 실험예를 통하여 본 발명을 상세히 설명한다.

[0087] 단, 하기의 실시예 및 실험예는 본 발명을 설명하기 위한 것일 뿐, 본 발명의 내용이 하기의 실시예 및 실험예에 의하여 한정되는 것은 아니다.

[0089] **<실시예 1> 경화액으로 DSP를 사용한 지지체의 제조 1**

[0090] 단계 1: α-TCP(α-Tricalcium phosphate) 분말을 하이드록시프로필 메틸 셀룰로오스(hydroxypropyl methyl cellulose)를 1 wt% 포함한 30% 에탄올 수용액에 분액비 1:0.5 - 1:0.67로 조절하여 혼합하고, 대표적인 3D 프린터인 ME (material extruding) 시스템을 이용하여 페이스트를 준비하였다.

[0092] 단계 2: 상기 단계 1에서 제조한 페이스트를 압출용기에 넣고 3D 프린터를 이용하여 3차원 형상의 지지체를 제작한 후 이를 37℃의 온도에서 24시간 동안 건조시켰다.

[0094] 단계 3: 0.14 M의 DSP(disodium phosphate dihydrate, $Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$) 수용액을 경화액으로 사용하여 해당용액에 상기 단계 2에서 제조된 지지체를 0 내지 48시간 침지시켜 경화반응을 유도하였다.

[0096] 단계 4: 상기 단계 3에서 제조된 지지체를 증류수로 여러 번 세척한 후 이를 건조하여 지지체를 제조하였다.

[0097]

[0098] **<실시예 2> 경화액으로 MSP를 사용한 지지체의 제조 2**

[0099] 상기 실시예 1의 단계 3에서 경화액으로 0.16 M의 MSP(Disodium phosphate dihydrate, $Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$) 수용액을 사용한 것을 제외하고 상기 실시예 1과 동일하게 수행하여 지지체를 제조하였다.

[0101] **<실시예 3-5> 경화액으로 DSP를 사용한 쿼세틴 함유 지지체의 제조 1-3**

[0102] 상기 실시예 1의 단계 1에서 페이스트에 쿼세틴(Quercetein)을 혼합한 것을 제외하고 상기 실시예 1과 동일하게 수행하여 지지체를 제조하였으며, 이때 쿼세틴의 함량은 각각 0.1 중량%, 0.5 중량% 및 1.0 중량%이다.

[0104] **<실시예 6-8> 경화액으로 DSP를 사용한 제네스테인 함유 지지체의 제조 1-3**

[0105] 상기 실시예 1의 단계 1에서 페이스트에 제네스테인(Genistein)을 혼합한 것을 제외하고 상기 실시예 1과 동일하게 수행하여 지지체를 제조하였으며, 이때 제네스테인의 함량은 각각 0.1 중량%, 0.5 중량% 및 1.0 중량%이다.

[0107] **<실시예 9-11> 경화액으로 DSP를 사용한 알렌드로네이트 함유 지지체의 제조 1-3**

[0108] 상기 실시예 1의 단계 1에서 페이스트에 알렌드로네이트(alendronate)를 혼합한 것을 제외하고 상기 실시예 1과 동일하게 수행하여 지지체를 제조하였으며, 이때 알렌드로네이트의 함량은 각각 0.1 중량%, 0.5 중량% 및 1.0 중량%이다.

[0110] **<실시예 12-14> 경화액으로 MSP를 사용한 쿼세틴 함유 지지체의 제조 1-3**

[0111] 상기 실시예 2의 단계 1에서 페이스트에 쿼세틴(Quercetein)을 혼합한 것을 제외하고 상기 실시예 2와 동일하게 수행하여 지지체를 제조하였으며, 이때 쿼세틴의 함량은 각각 0.1 중량%, 0.5 중량% 및 1.0 중량%이다.

[0113] **<실시예 15-17> 경화액으로 MSP를 사용한 제네스테인 함유 지지체의 제조 1-3**

[0114] 상기 실시예 2의 단계 1에서 페이스트에 제네스테인(Genistein)을 혼합한 것을 제외하고 상기 실시예 2와 동일하게 수행하여 지지체를 제조하였으며, 이때 제네스테인의 함량은 각각 0.1 중량%, 0.5 중량% 및 1.0

중량%이다.

[0116] **<실시예 18-20> 경화액으로 MSP를 사용한 알렌드로네이트 함유 지지체의 제조 1-3**

[0117] 상기 실시예 2의 단계 1에서 페이스트에 알렌드로네이트(alendronate)를 혼합한 것을 제외하고 상기 실시예 2와 동일하게 수행하여 지지체를 제조하였으며, 이때 알렌드로네이트의 함량은 각각 0.1 중량%, 0.5 중량% 및 1.0 중량%이다.

[0119] <비교예 1> 경화액으로 PBS를 사용한 지지체의 제조

[0120] 상기 실시예 1의 단계 3에서 경화액으로 1X의 PBS(Phosphate buffer saline) 수용액을 사용한 것을 제외하고 상기 실시예 1과 동일하게 수행하여 지지체를 제조하였다.

[0122] <비교예 2> 경화액으로 MCPM을 사용한 지지체의 제조

[0123] 상기 실시예 1의 단계 3에서 경화액으로 0.1 M의 MCPM(monocalcium phosphates monohydrate) 수용액을 사용한 것을 제외하고 상기 실시예 1과 동일하게 수행하여 지지체를 제조하였다.

[0125] <비교예 3-5> 경화액으로 PBS를 사용한 쿼세틴 함유 지지체의 제조 1-3

[0126] 상기 비교예 1의 단계 1에서 페이스트에 쿼세틴(Quercetein)을 혼합한 것을 제외하고 상기 비교예 1과 동일하게 수행하여 지지체를 제조하였으며, 이때 쿼세틴의 함량은 각각 0.1 중량%, 0.5 중량% 및 1.0 중량%이다.

[0128] <비교예 6-8> 경화액으로 PBS를 사용한 제네스테인 함유 지지체의 제조 1-3

[0129] 상기 비교예 1의 단계 1에서 페이스트에 제네스테인(Genistein)을 혼합한 것을 제외하고 상기 비교예 1과 동일하게 수행하여 지지체를 제조하였으며, 이때 제네스테인의 함량은 각각 0.1 중량%, 0.5 중량% 및 1.0 중량%이다.

[0131] <비교예 9-11> 경화액으로 PBS를 사용한 알렌드로네이트 함유 지지체의 제조 1-3

[0132] 상기 비교예 1의 단계 1에서 페이스트에 알렌드로네이트(alendronate)를 혼합한 것을 제외하고 상기 비교예 1과 동일하게 수행하여 지지체를 제조하였으며, 이때 알렌드로네이트의 함량은 각각 0.1 중량%, 0.5 중량% 및 1.0 중량%이다.

[0134] <비교예 12-14> 경화액으로 MCPM을 사용한 쿼세틴 함유 지지체의 제조 1-3

[0135] 상기 비교예 2의 단계 1에서 페이스트에 쿼세틴(Quercetein)을 혼합한 것을 제외하고 상기 비교예 2와 동일하게 수행하여 지지체를 제조하였으며, 이때 쿼세틴의 함량은 각각 0.1 중량%, 0.5 중량% 및 1.0 중량%이다.

[0137] <비교예 15-17> 경화액으로 MCPM을 사용한 제네스테인 함유 지지체의 제조 1-3

[0138] 상기 비교예 2의 단계 1에서 페이스트에 제네스테인(Genistein)을 혼합한 것을 제외하고 상기 비교예 2와 동일하게 수행하여 지지체를 제조하였으며, 이때 제네스테인의 함량은 각각 0.1 중량%, 0.5 중량% 및 1.0 중량%이다.

[0140] <비교예 18-20> 경화액으로 MCPM을 사용한 알렌드로네이트 함유 지지체의 제조 1-3

[0141] 상기 비교예 2의 단계 1에서 페이스트에 알렌드로네이트(alendronate)를 혼합한 것을 제외하고 상기 비교예 2와 동일하게 수행하여 지지체를 제조하였으며, 이때 알렌드로네이트의 함량은 각각 0.1 중량%, 0.5 중량% 및 1.0 중량%이다.

[0144] **<실험예>**

[0145] 도 2에 나타낸 바와 같이, 수화 반응 기반 칼슘결핍 하이드록시아파타이트(calcium deficient hydroxyapatite, CDHA)로의 상전이를 살펴보면, 경화액으로 PBS를 사용한 비교예 1에 비해 경화액으로 DSP를 사용한 실시예 1의 경우 빠른 경화반응을 나타냄을 확인할 수 있다. PBS의 경우 CDHA로 완전 상전이를 위해 최소 12시간이 필요한 것에 반해 DSP의 경우 6시간에 완전 상전이가 가능한 것을 확인할 수 있었다. 즉, 경화공정 시간을 반으로 감축시킬 수 있다.

[0146] 도 3에 나타낸 바와 같이, 산-염기 반응과 수화반응 기반 디칼슘 포스페이트 디하이드레이트(dicalcium phosphate dihydrate, DCPD)-하이드록시아파타이트(calcium deficient hydroxyapatite, CDHA)로의 상전이를 살펴보면, 경화액으로 MSP를 사용한 실시예 2와 경화액으로 MCPM을 사용한 비교예 2에서 DCPD의 경우 비슷한 속도로 생성되나, CDHA의 경우 MCPM보다 MSP가 더 빨리 생성되는 것을 확인할 수 있었다. 즉, 보다 빠른 내부구조 경화와 이를 통한 구조안정성 확보가 가능하다.

[0147] 도 4 및 도 6에 나타낸 바와 같이, PBS에 비해 DSP가 빠르게 반응이 종료되는 현상을 관찰할 수 있었다.

[0148] 도 5 및 도 7에 나타낸 바와 같이, MCPM에 비해 MSP가 빠르게 반응이 종료되는 현상을 관찰할 수 있었다.

[0150] 도 8은 실시예 1, 실시예 2, 비교예 1 및 비교예 2에서 제조된 지지체를 육안으로 관찰한 사진이고, 도 9는 실시예 1, 실시예 2, 비교예 1 및 비교예 2에서 제조된 지지체를 FE-SEM으로 관찰한 사진이다.

[0151] 도 8 및 도 9와 더불어, XRD, FE-SEM 및 이온용출 결과를 정리한 도 10의 그래프에 나타낸 바와 같이, DSP (실시예 1)를 사용하는 경우 PBS (비교예 1)를 사용하는 경우보다 경화가 빠르게 유도되는 것을 확인할 수 있었으며, MSP를 사용하는 경우(실시예 2), MCPM을 사용하는 경우(비교예 2)보다 지지체 경화반응이 빠르게 유도되는 것을 확인할 수 있었다.

[0153] 도 11 내지 도 13에 세 종류의 약물이 담지된 지지체에 대해 약물의 친수성/소수성 여부에 따른 경화반응을 관찰한 결과를 나타내었다. 도 11 내지 도 13에 기재된 Q는 소수성 약물인 쿼세틴이 담지된 지지체를 의미하고, G는 소수성 약물인 제네스테인이 담지된 지지체를 의미하며, A는 친수성 약물이며 phosphorous기를 포함한 알렌드로네이트가 담지된 지지체를 의미한다.

[0154] 도 11에 나타낸 바와 같이, 쿼세틴의 경우 소수성 물질로 시멘트 경화 반응에 영향을 주는 인자를 포함하지 않는 약물이기 때문에 약물 담지 농도에 관계 없이 지지체 경화 반응이 유도되어 a-TCP가 CDHA로 치환되는 것을 확인할 수 있었다. 도 12에 나타낸 바와 같이, 제네스테인의 경우에도 소수성 물질로 시멘트 경화 반응에 영향을 주는 인자를 포함하지 않는 약물이기 때문에 약물 담지 농도에 관계 없이 a-TCP가 CDHA로 치환되는 시멘트 경화반응이 진행되어 지지체 경화 반응이 유도되는 것을 확인할 수 있었다. 한편, 도 13에 나타낸 바와 같이, 알렌드로네이트의 경우 시멘트 경화 반응에 영향을 미치는 phosphorus기를 함유하고 있고 친수성 물질이므로 지지체 경화에 활용되는 수화반응을 방해하여 약물의 함량이 0.1 중량%으로 낮은 경우에는 반응액의 종류와 관계없이 경화반응이 일어나나 MSP에 있어서 CDHA상이 가장 빨리 생성되는 것이 확인되며, 5배로 약물의 높인 0.5 중량% 인 경우에는 종래의 PBS에서의 반응에서는 경화반응이 일어나지 못하여 a-TCP상만이 관찰되고, MCPM의 경우에도 경화반응이 완료되지 못하고 일부 a-TCP가 우선적으로 발생하는 산-염기반응으로 DCPD로만 치환되고 수화반응의 결과물인 CDHA로 치환되지 못하는 것이 확인된다. 한편, 본 발명에서 제시하는 MSP를 경화액으로 사용하는 경우에는 모든 a-TCP가 CDHA로 치환되어 완전한 경화반응이 유도되는 것을 확인할 수 있었다.

[0156] 도 14에 나타낸 바와 같이, PBS에서 반응시킨 지지체 보다 DSP에서 반응시킨 지지체의 기계적 물성이 향상되며

MCPM에서 반응시킨 지지체 보다 MSP에서 반응시킨 지지체의 기계적 물성이 향상되는 것이 확인되며 이 중 MSP에서 반응시킨 구조체가 가장 높은 기계적 물성을 나타내는 것을 확인할 수 있었다.

[0157] 즉, 경화반응 속도제어를 통해 기계적 물성 향상을 확보할 수 있음을 확인할 수 있었다.

[0159] 수화 반응(CDHA로 전이)의 경우 친수성 생체활성물질 도입에 의하여 반응이 억제되거나 방해될 수 있다. 즉, 3D 프린팅된 구조물의 시멘트반응을 유도하지 못함으로 인해서 경화되지 못해 3D 프린팅된 구조물을 유지할 수 없게 되는 것이다.

[0160] 친수성 물질인 알렌드로네이트를 a-TCP에 직접 혼합하는 경우, 산-염기 반응과 수화반응을 동시 유도하는 MCPM과 MSP의 경우 경화반응이 유도되어 구조체가 유도되나 24시간 반응 후에도 전이되지 못한 a-TCP가 남아 있는 MCPM에 반하여, 빠른 경화반응을 유도하는 MSP의 경우 알렌드로네이트 도입 전에 비교하여서는 늦은 경화반응이 유도되나 완전히 CDHA와 DCPD로 전이되며 안정한 구조체를 형성할 수 있음을 확인할 수 있다(도 15 참조).

[0161] 즉, 경화반응 속도제어를 통하여 생체활성물질 도입에 의한 3D 구조체의 붕괴없이 안정적으로 지지체를 제작할 수 있음을 확인할 수 있었다.

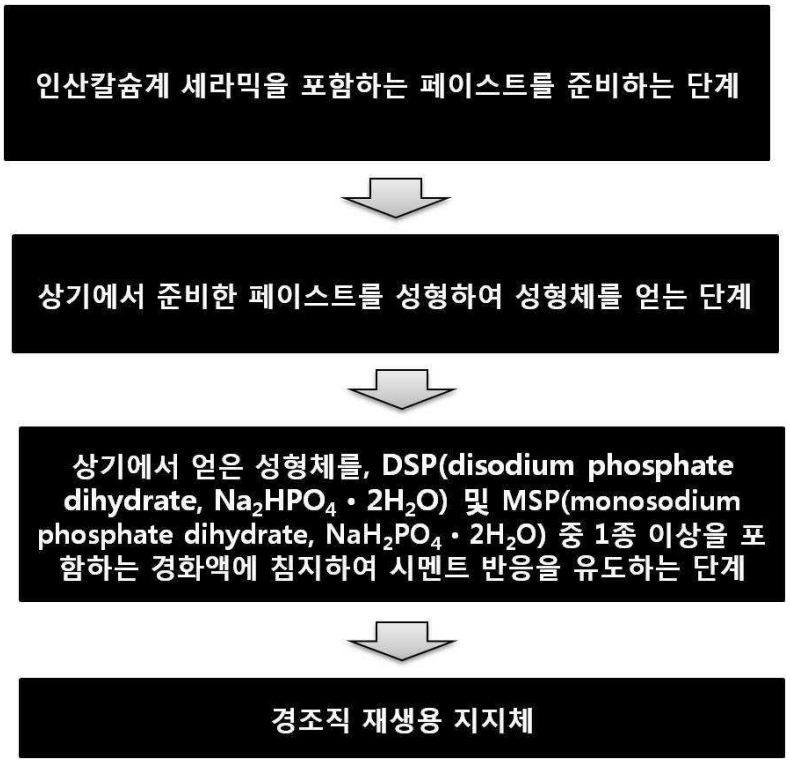
[0162] 나아가, 골지지체 경화 시 시멘트 경화속도를 빠르게 제어하는 본 발명의 제조방법으로만 친수성 물질이며 골다공증의 대표적 치료제인 알렌드로네이트(비스포스포네이트계 약물)를 안정하게 담지할 수 있음을 확인할 수 있었다.

[0164] 도 16에 나타낸 바와 같이, pH 중성인 PBS와 비교하였을 때 염기성인 DSP 반응액에서 경화시킨 지지체의 경우 증식의 경우 유의한 차이가 없으나 분화의 경우 다소 낮은 것을 확인할 수 있었다. 하지만, 강산 영역 반응액인 MCPM에 비해서는 약산 반응액인 MSP는 우수한 세포 증식 및 분화거동이 확인되었다.

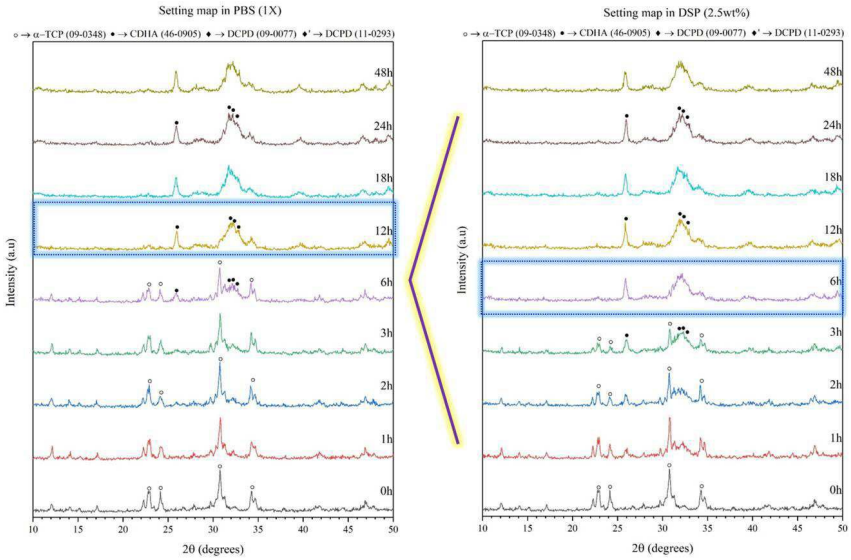
[0165] 이상의 결과로, 지지체에 대한 안정성, 기계적 물성 및 생체활성물질 도입 용이성과 세포반응성에 있어 경화속도를 빠르게 유도할 수 있는 MSP를 경화액으로 사용하는 것이 가장 바람직하며, DSP와 MSP를 PBS와 MCPM 용액을 대신하여 사용하는 것으로 기 언급한 기존 반응의 문제점을 해결할 수 있는 것이 검증되었다.

도면

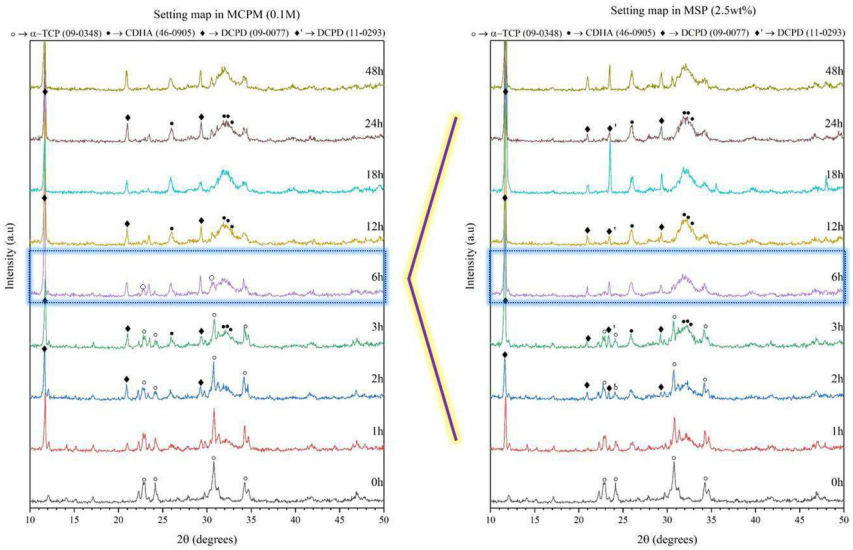
도면1


인산칼슘계 세라믹을 포함하는 페이스트를 준비하는 단계
상기에서 준비한 페이스트를 성형하여 성형체를 얻는 단계
상기에서 얻은 성형체를, DSP(disodium phosphate dihydrate, $Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$) 및 MSP(monosodium phosphate dihydrate, $NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$) 중 1종 이상을 포함하는 경화액에 침지하여 시멘트 반응을 유도하는 단계
경조직 재생용 지지체

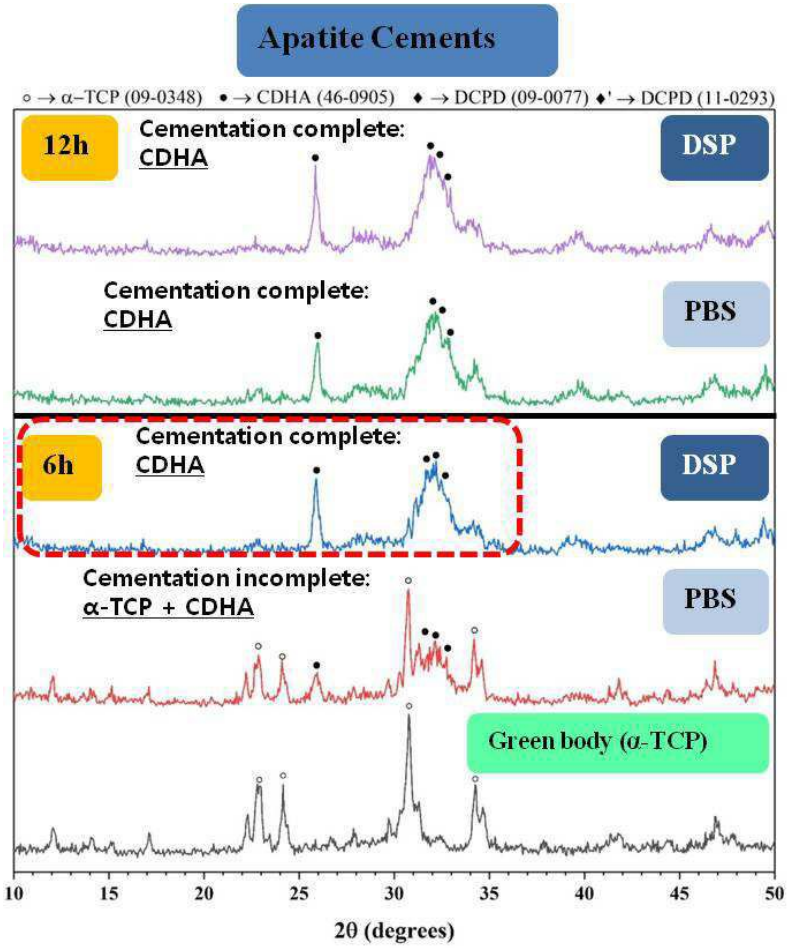
도면2


Setting map in PBS (1X)
Setting map in DSP (2.5wt%)
○ → α-TCP (09-0348) ♦ → CDHA (46-0905) ♦ → DCPD (09-0077) ♦' → DCPD (11-0293)
48h
24h
18h
12h
6h
3h
2h
1h
0h
Intensity (a.u)
2θ (degrees)

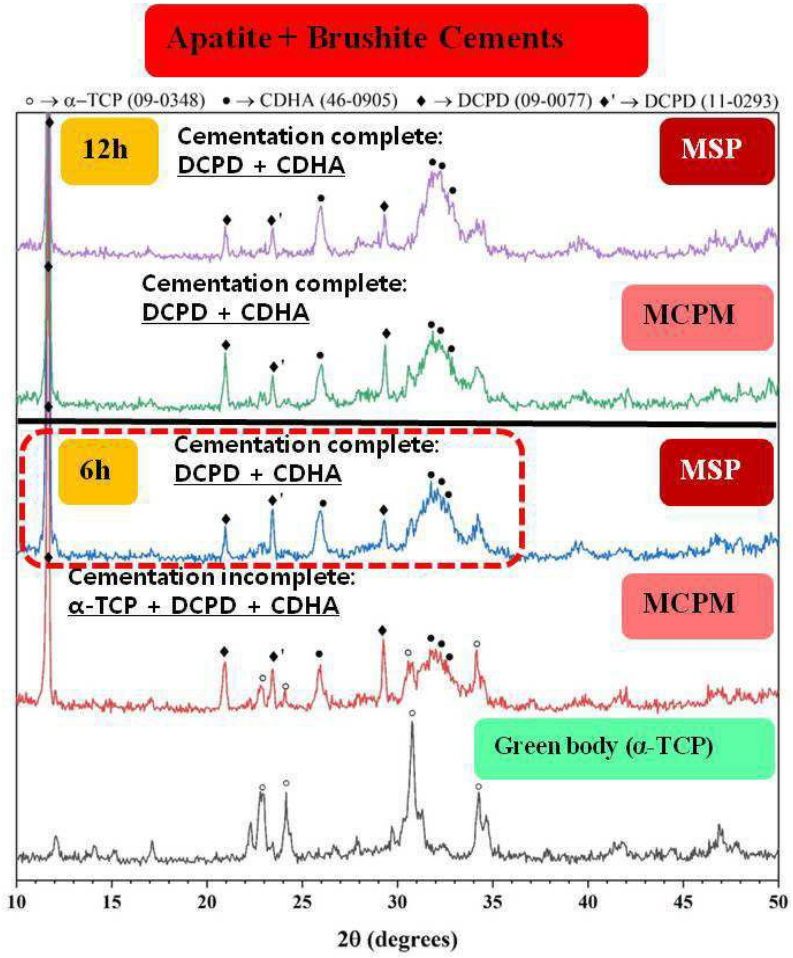
도면3


Setting map in MCPM (0.1M)
Setting map in MSP (2.5wt%)
○ → α–TCP (09-0348) • → CDHA (46-0905) ♦ → DCPD (09-0077) ♦' → DCPD (11-0293)
48h
24h
18h
12h
6h
3h
2h
1h
0h
Intensity (a.u)
2θ (degrees)

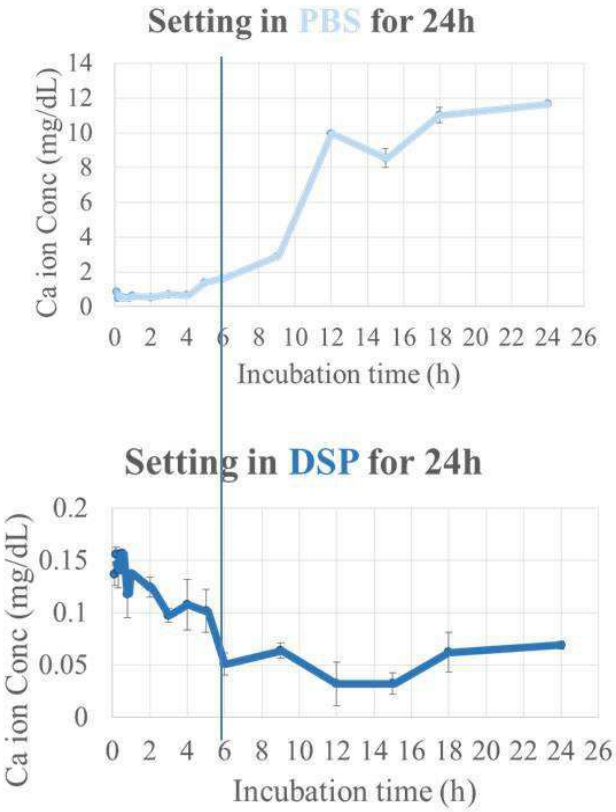
도면4


Apatite Cements
○ → α–TCP (09-0348) • → CDHA (46-0905) ♦ → DCPD (09-0077) ♦' → DCPD (11-0293)
12h
Cementation complete:
CDHA
DSP
Cementation complete:
CDHA
PBS
6h
Cementation complete:
CDHA
DSP
Cementation incomplete:
α-TCP + CDHA
PBS
Green body (α-TCP)
2θ (degrees)

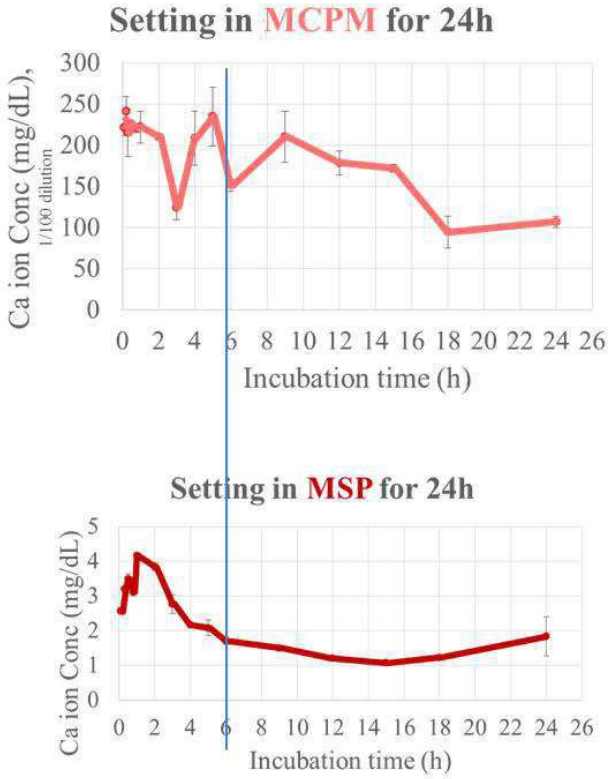
도면5


Apatite + Brushite Cements
○ → α–TCP (09-0348) • → CDHA (46-0905) ♦ → DCPD (09-0077) ♦' → DCPD (11-0293)
12h
Cementation complete:
DCPD + CDHA
MSP
Cementation complete:
DCPD + CDHA
MCPM
6h
Cementation complete:
DCPD + CDHA
MSP
Cementation incomplete:
α-TCP + DCPD + CDHA
MCPM
Green body (α-TCP)
10
15
20
25
30
35
40
45
50
2θ (degrees)

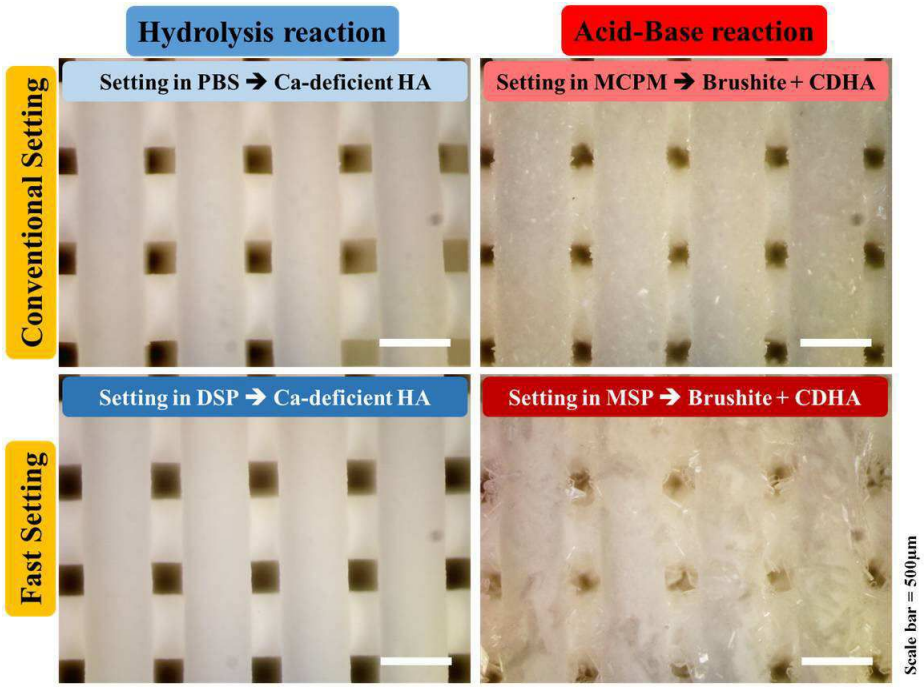
도면6


Setting in PBS for 24h
Ca ion Conc (mg/dL)
Incubation time (h)
Setting in DSP for 24h
Ca ion Conc (mg/dL)
Incubation time (h)

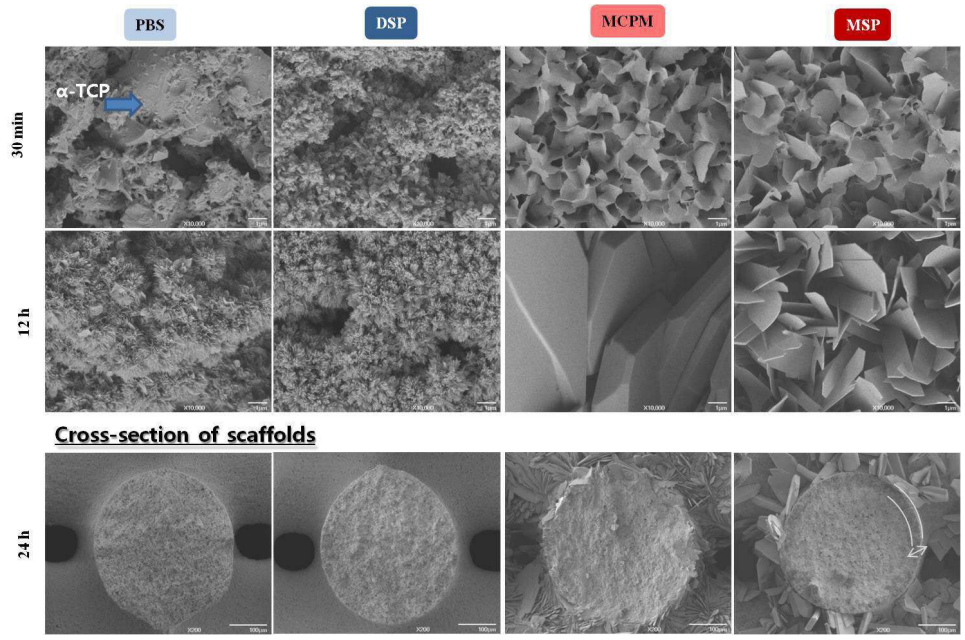
도면7


Setting in MCPM for 24h
Ca ion Conc (mg/dL), 1/100 dilution
Incubation time (h)
Setting in MSP for 24h
Ca ion Conc (mg/dL)
Incubation time (h)

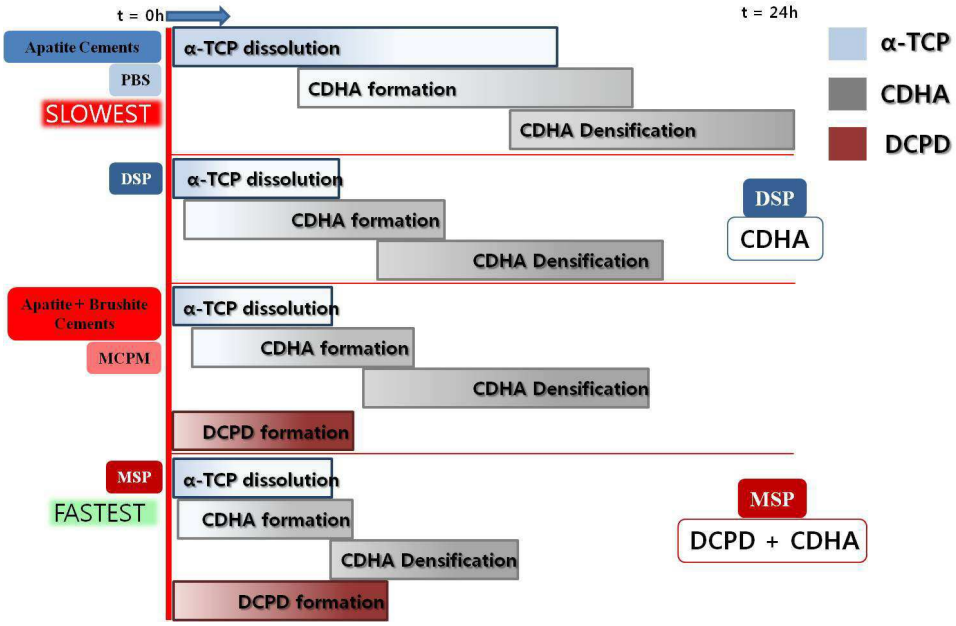
도면8


Hydrolysis reaction
Acid-Base reaction
Conventional Setting
Setting in PBS → Ca-deficient HA
Setting in MCPM → Brushite + CDHA
Fast Setting
Setting in DSP → Ca-deficient HA
Setting in MSP → Brushite + CDHA
Scale bar = 500μm

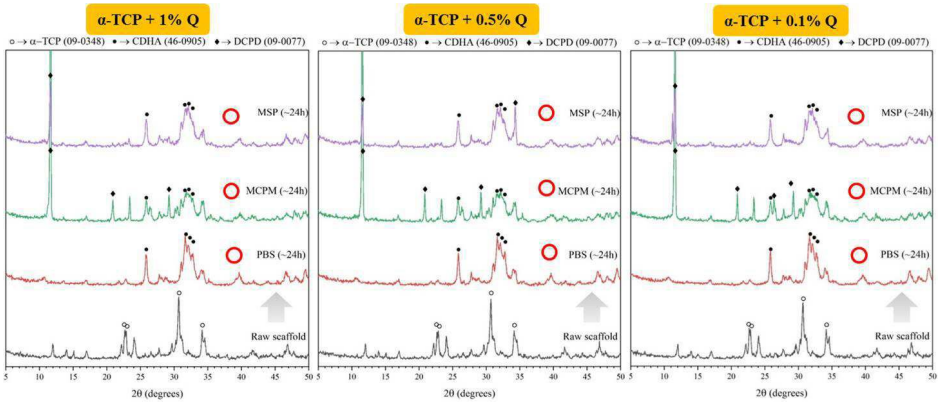
도면9


PBS
DSP
MCPM
MSP
30 min
α-TCP
12 h
Cross-section of scaffolds
24 h

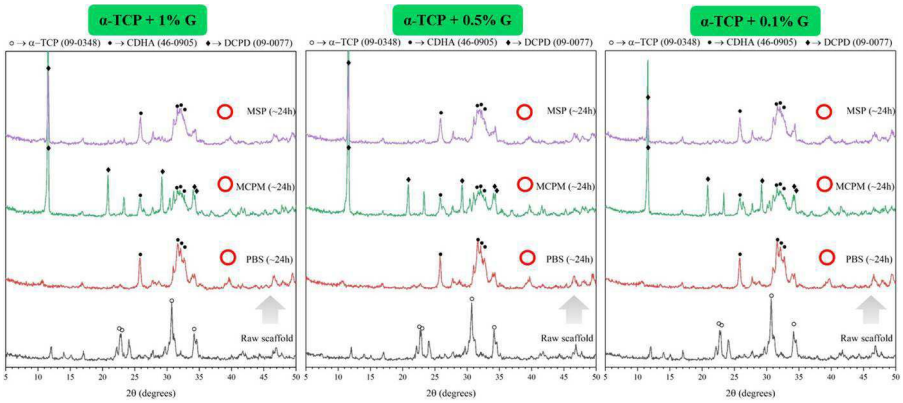
도면10



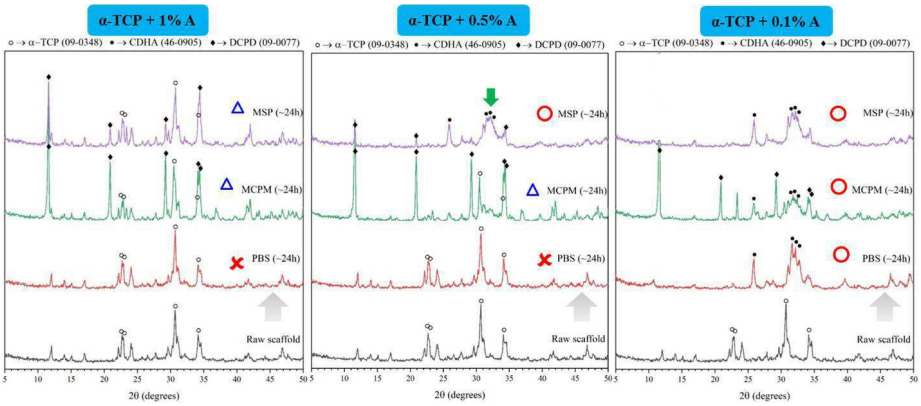
도면11



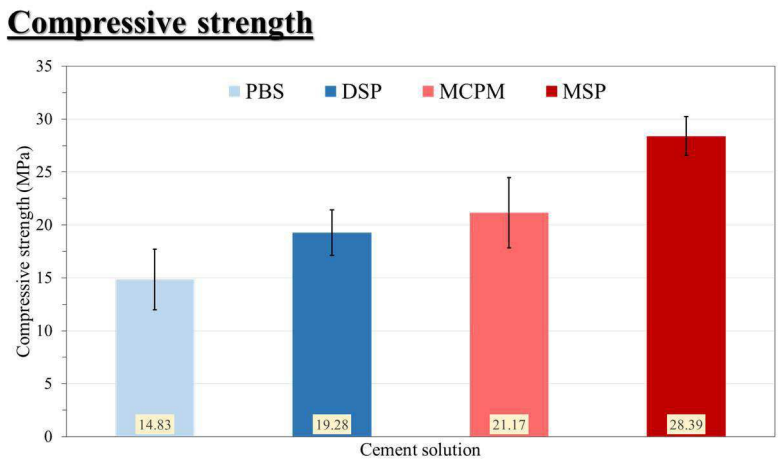
도면12



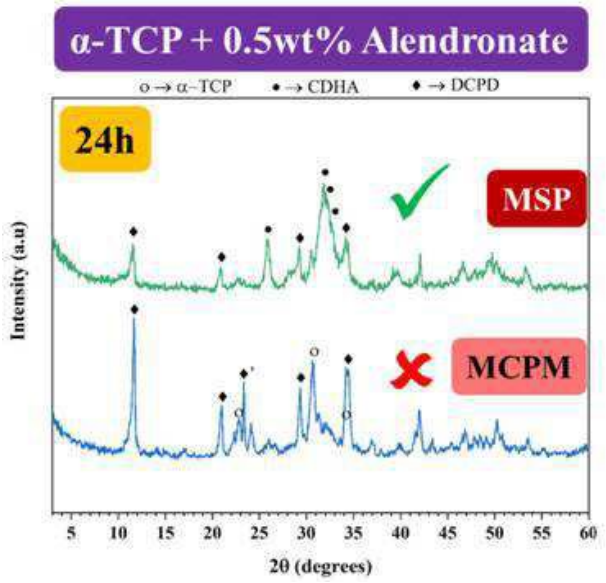
도면13



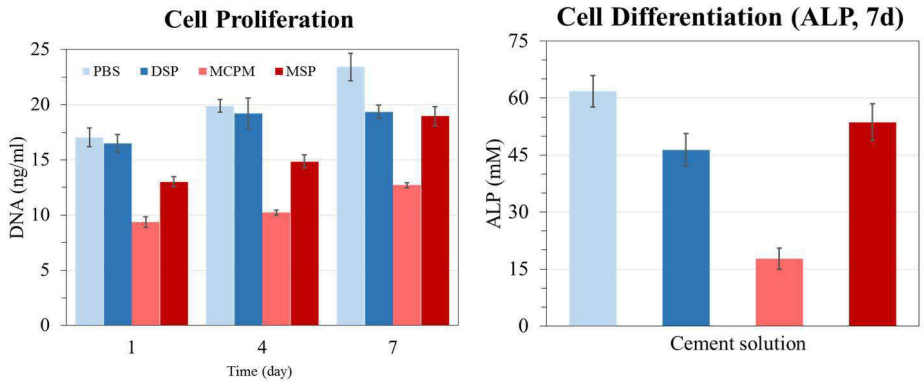
도면14



도면15



도면16


Cell Proliferation
PBS
DSP
MCPM
MSP
DNA (ng/ml)
25
20
15
10
5
0
1
4
7
Time (day)
Cell Differentiation (ALP, 7d)
ALP (mM)
75
60
45
30
15
0
Cement solution