



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2015-0090332
(43) 공개일자 2015년08월06일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61L 27/30 (2006.01) A61F 2/28 (2006.01)

A61L 27/28 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2014-0010132

(22) 출원일자 2014년01월28일

심사청구일자 2014년01월28일

(71) 출원인

조선대학교산학협력단

광주광역시 동구 필문대로 309 (서석동)

(72) 발명자

김수관

광주광역시 서구 풍암중앙로 68, 104동 503호(풍암동 금호아파트)

김경수

대구광역시 동구 신용동 737 부영아파트 101-1004

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

김은구, 송해모

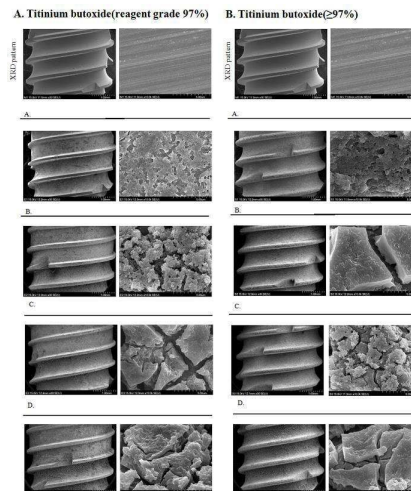
전체 청구항 수 : 총 6 항

(54) 발명의 명칭 티타니아 나노분말을 이용한 임플란트 표면처리 방법 및 그 방법에 의해 제조된 임플란트

(57) 요약

본 발명은 임플란트 표면처리 방법 및 그 방법에 의해 제조된 임플란트에 관한 것으로, 구체적으로 티타늄 알콕사이드와 알코올을 혼합하는 제 1단계; 상기 제 1단계에서 혼합한 용액을 가열 및 교반하여 졸을 생성하는 제 2단계; 및 상기 제 2단계에서 생성된 졸을 임플란트 표면에 코팅하는 제 3단계;를 포함하는 것을 특징으로 하는 티타니아 나노분말을 이용한 임플란트의 표면처리 방법 및 그 방법에 의해 제조된 임플란트에 관한 것이다.

대표도 - 도9



(72) 발명자

이숙영

광주광역시 남구 봉선중앙로 46, 108동 201호

김재성

광주광역시 북구 일곡로 80번지 102동 1401호

오지수

광주광역시 동구 운림길 27, 남해오네뜨 101-202

정재용

광주광역시 동구 무등로 374 계림동 두산위브 113동 501호

문대선

광주 광산구 왕버들로132번길 35, 605동 901호 (수완동, 대방노블랜드6차아파트)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 B0008940

부처명 산업통상자원부

연구관리전문기관 한국산업기술진흥원

연구사업명 지역혁신센터사업

연구과제명 치과용 정밀장비 및 부품지역혁신센터

기 여 율 1/1

주관기관 조선대학교 산학협력단

연구기간 2013.03.01 ~ 2014.02.28

명세서

청구범위

청구항 1

티타늄 알콕사이드와 알코올을 혼합하는 제 1단계;

상기 제 1단계에서 혼합한 용액을 가열 및 교반하여 졸을 생성하는 제 2단계; 및

상기 제 2단계에서 생성된 졸을 임플란트 표면에 코팅하는 제 3단계;를 포함하는 것을 특징으로 하는 임플란트의 표면처리 방법.

청구항 2

제 1항에 있어서,

상기 임플란트는 임플란트의 픽스처 표면에 상기 졸을 코팅한 것을 특징으로 하는 임플란트의 표면처리 방법.

청구항 3

제 1항에 있어서,

상기 티타늄 알콕사이드는 티타늄 프록사이드(Titanium(IV) propoxide), 티타늄 이소프로폭사이드(Titanium(IV) isopropoxide), 티타늄 디이소프로폭사이드(Titanium(IV) diisopropoxide), 티타늄 부톡사이드(Titanium(IV) butoxide), 티타늄 에톡사이드(Titanium(IV) ethoxide), 및 티타늄 메톡사이드(Titanium(IV) methooxide)로 이루어진 군에서 적어도 하나 선택되는 것을 특징으로 하는 임플란트의 표면처리 방법.

청구항 4

제 1항에 있어서,

상기 알코올은 탄소수가 1 ~ 4 인 것을 특징으로 하는 임플란트의 표면처리 방법.

청구항 5

티타늄 알콕사이드와 알코올을 혼합하여 생성된 졸을 임플란트 표면에 코팅한 것을 특징으로 하는 임플란트.

청구항 6

제 5항에 있어서,

상기 임플란트는 임플란트의 픽스처 표면에 상기 졸을 코팅한 것을 특징으로 하는 임플란트.

발명의 설명

기술 분야

[0001]

본 발명은 우수한 골 유착을 유도하는 티타니아 나노분말을 이용한 임플란트 표면처리 방법 및 그 방법에 의해 제조된 임플란트에 관한 것이다.

배경 기술

[0002]

임플란트는 티타늄이 연조직의 개재 없이 골과 직접 접촉하는 골유착의 개념 하에 결손치아를 대체하는 방법으로 임상에서 많은 발전이 있었다. 성공적인 임플란트 식립을 위하여 임플란트의 표면은 골 유착에 영향을 미치는 중요한 요소이다. 임플란트 표면의 산화막을 변화시켜 임플란트 식립 후 치유기간을 단축시키고, 임플란트와 골의 안정적인 결합을 얻기 위해 임플란트 표면에 대한 지속적인 연구가 진행되어 왔다. 임플란트 골 유착에 관여하는 여러 요소 중에서, 임플란트 자체의 표면성질이 골 유착 속도에 중요한 영향을 끼치며, 특히 최적의 골 유착을 얻기 위해서 임플란트 표면특성 즉, 표면 거칠기(roughness), 표면 에너지(surface energy), 표면 조성(composition), 표면 형태(topography)의 정확한 조합이 필요하며, 이러한 임플란트 표면 특성이 임플란트 식립

후 초기 치유과정에서 세포 부착 및 증식, 단백질 흡착에 중요한 역할을 한다. 표면 거칠기를 부여하는 표면처리 방법으로는 블라스팅, 산에칭, 양극산화법, 졸겔법(sol-gel) 등이 있다.

[0003] 표면 거칠기를 변화시키는 것뿐만 아니라, 산화막의 화학적 처리와 조성을 변화시킴으로써 생체 활성도를 높이고자 하는 다양한 시도들도 있다. 화학적 처리를 통해 임플란트 표면을 전기적으로 음으로 하전시킴으로써 생체 내 칼슘 이온의 빠른 흡착을 피하기도 하고, 칼슘, 인, 마그네슘, 불소 이온과 같은 골 성장에 친숙한 특정 이온들을 임플란트 표면에 주입시키는 방법들도 이용되고 있다.

[0004] 일반적으로 졸겔 공정이라 함은 유동성을 띤 졸(sol)로부터 반고체와 같은 점탄성 특성을 나타내는 겔(gel)로의 전이를 포함하는 일련의 과정을 일컫는다. 즉, 출발물질을 가수분해 및 중·축합 반응시켜 1 μ m 크기 이하인 콜로이드 입자가 분산되어 있는 졸 상태의 화합물로 만든 후 이 입자들이 3차원적으로 결합된 망목구조를 갖는 겔을 형성시킨 다음 calcination 또는 pyrolysis하여 산화물 또는 복합 산화물을 만드는 방법이다. 출발원료는 가용성의 알콕사이드(alkoxide), 염, 산화물, 수산화물 및 착물들이 있지만 이중 가장 보편적으로 사용되고 있는 것은 알콕사이드이다. 1950년대에 시작된 이 방법은 1980년대까지 많은 관심을 끌지 못하였으나, 현재 졸겔법은 세라믹스 분말, 모놀리스(monolith), 섬유상 및 박막 제조 등을 위하여 산업계 및 학계에서 활발하게 연구되고 있는 제조 공정이다. 티타늄 알콕사이드를 졸겔법에 의하여 이산화티타늄을 제조하는 방법은 일반적인 제조공정으로 알콕사이드를 알코올 등의 용매에 용해시키고, 별도로 제조한 물을 포함한 알코올 등과 일정비로 혼합하여 알콕사이드를 가수 분해시키고 겔과, 건조, 소성하여 TiO₂를 제조할 수 있다. 이 공정은 가수 분해된 졸의 상태로 기판에 도포하는데도 사용이 가능하며 졸 용액은 알콕사이드 농도, 알콕사이드/물의 비 등의 변화에 의해서 물성과 안정도가 영향을 받는다. 이 밖에도 많은 제조방법들이 있으며 많은 연구가 이루어지고 있다.

[0005] 최근에는 나노기술의 발전으로 재료 표면의 나노처리가 가능하게 되었고, 나노구조(nano-scale)에 대한 세포 반응 관찰이 가능해짐에 따라, 세포가 주변 미세 환경에 민감하게 반응한다는 다수의 연구가 보고되고 있는데 1997년 Chen 등은 세포의 생사가 주위 환경의 지형(geometry)에 의해 결정된다고 하였고, Engler 등은 세포의 운명이 미세 환경의 탄성(elasticity)에 영향을 받는다고 하였다(Chen CS, *et al.*, 1997 ; Engler AJ, *et al.*, 2006). 이에 생체 재료 표면에 세포와 거의 같거나 더 작은 크기의 구조를 가지는 나노크기의 구조를 제조하여 세포의 거동, 형태 및 진화를 탐구하는 노력이 있어왔다.

[0006] 최근 반도체 성질의 나노크기 금속산화물 또는 광촉매 반응의 활용범위가 광범위하고 반응성의 우수함이 부각되어 나노구조의 티타니아(Titania, titanium dioxide, TiO₂)를 이용한 연구가 관심을 받고 있다(도 1A, 1B). 티타니아는 anatase와 rutile, brookite의 3가지 결정이 존재한다. 티타니아는 도 1C와 같은 구조식을 띄고 있으며, 그 중에서 anatase 상은 약간 높은 띠풀간격을 가지며, 광 효율도 높다고 한다.

[0007] 이러한 티타니아 나노구조는 나노 단위의 골성물질(hydroxyapatite)를 생성시키며, 조골세포의 부착, 증식 및 형태학적 신장, 중간엽 줄기 세포의 조골세포로의 분화에 영향을 주었다는 연구 보고가 있다(Brammer KS, *et al.*, 2009 ; Oh S, *et al.*, 2005 ; Oh S, *et al.*, 2006 ; Oh S, *et al.*, 2006). 티타니아는 독성이 없고 광활성이 우수하며 화학적으로 안정하고 비교적 값이 저렴하다는 장점이 있어 항균타일, 자기 정화형 램프, anti-fogging 거울 그리고 탈취 fiber 등의 제품에 응용되어 시중에 판매되고 있다. 덴탈 임플란트 분야에서는 아르곤가스와 고온 분사 방식을 이용한 티타니아 입자의 픽스처 표면으로의 코팅처리에 관한 연구가 이루어졌으나 분사입자가 표면에서 박리되어 주변 골에 잔존할 가능성이 있고, 표면의 거칠기가 커서 금속이온 용출이 발생하므로 골 유착이 감소한다는 보고가 있다.

[0008] 그러나 다양한 코팅처리법에 의한 임플란트 픽스처 표면개질에 관하여 국내외적으로 거의 연구되어지지 않았으며, 티타니아의 표면개질을 위한 소재로서의 가치평가에 관한 연구도 미약한 상태다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0009] 상기 문제점을 해결하기 위하여, 본 발명은 우수한 골 유착을 유도하기 위해 졸겔법을 이용하여 티타니아 나노분말을 이용한 임플란트 표면처리 방법 및 그 방법에 의해 제조된 임플란트를 제공하는 것을 목적으로 한다.

과제의 해결 수단

[0010] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 우수한 골 유착을 유도하기 위해 졸겔법을 이용하여 티타니아 나노분

말을 이용한 임플란트 표면처리 방법 및 그 방법에 의해 제조된 임플란트를 제공한다.

발명의 효과

[0011] 본 발명의 티타니아 나노분말을 이용한 임플란트 표면처리 방법에 의해 제조된 임플란트는 세포독성이 없으며, 임플란트의 표면이 균일한 거칠기를 형성하여 구강 내 식립 시, 골 유착을 유도하는 데 효과적으로 작용할 수 있다는 것을 확인하였다.

도면의 간단한 설명

[0012] 도 1은 본 발명의 일 실시예에 따른 티타니아 나노분말을 이용한 표면처리 방법 절차를 나타내는 흐름도이다.
 도 2는 티타니아 나노분말의 형태와 그 화학 구조를 나타낸 것이다.
 도 3은 티타니아 나노분말의 졸-겔 형성 흐름도이다.
 도 4는 코팅 횟수에 따른 박막의 결정상의 특성을 확인하기 위한 임플란트 픽스처 위에 코팅한 TiO_2 박막의 XRD 형태이다.
 도 5는 코팅 횟수에 따른 박막의 화학적 성분 특성을 분석하기 위한 임플란트 픽스처 위에 코팅한 TiO_2 박막의 EDS 맵핑(mapping) 분석 결과이다.
 도 6은 코팅 횟수에 따른 박막의 화학적 성분 특성을 분석하기 위한 임플란트 픽스처 위에 코팅한 TiO_2 박막의 EDS 데이터 분석 결과이다.
 도 7은 코팅 횟수에 따른 박막의 거칠기를 분석하기 위한 임플란트 픽스처 위에 코팅한 TiO_2 박막의 AFM 분석 결과이다.
 도 8은 픽스처 표면의 미세 구조적 변화를 분석하기 위한 임플란트 픽스처 위에 코팅한 TiO_2 박막의 SEM 분석 결과이다.
 도 9는 픽스처 표면의 박막이 치밀하게 형성되었는지 분석하기 위한 임플란트 픽스처 위에 코팅한 TiO_2 박막의 SEM 분석 결과이다.
 도 10은 티타니아 나노분말로 표면 처리된 임플란트 픽스처의 세포 독성을 수행한 결과이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0013] 이하, 본 발명의 일부 실시예들을 예시적인 도면을 통해 상세하게 설명한다. 각 도면의 구성요소들에 참조부호를 부가함에 있어서, 동일한 구성요소들에 대해서는 비록 다른 도면상에 표시되더라도 가능한 한 동일한 부호를 가지도록 하고 있음에 유의해야 한다. 또한, 본 발명을 설명함에 있어, 관련된 공지 구성 또는 기능에 대한 구체적인 설명이 본 발명의 요지를 흐릴 수 있다고 판단되는 경우에는 그 상세한 설명은 생략한다.

[0014] 또한, 본 발명의 구성 요소를 설명하는 데 있어서, 제 1, 제 2, A, B, (a), (b) 등의 용어를 사용할 수 있다. 이러한 용어는 그 구성 요소를 다른 구성 요소와 구별하기 위한 것일 뿐, 그 용어에 의해 해당 구성 요소의 본질이나 차례 또는 순서 등이 한정되지 않는다. 어떤 구성 요소가 다른 구성요소에 "연결", "결합" 또는 "접속"된다고 기재된 경우, 그 구성 요소는 그 다른 구성요소에 직접적으로 연결되거나 또는 접속될 수 있지만, 각 구성 요소 사이에 또 다른 구성 요소가 "연결", "결합" 또는 "접속"될 수도 있다고 이해되어야 할 것이다.

[0015] 본 발명은 우수한 골 유착을 유도하는 티타니아 나노분말을 이용한 임플란트 표면처리 방법 및 그 방법에 의해 제조된 임플란트를 제공한다.

[0016] 본 발명은 티타늄 알콕사이드와 알코올을 혼합하는 제 1단계; 상기 제 1단계에서 혼합한 용액을 가열 및 교반하여 졸을 생성하는 제 2단계; 및 상기 제 2단계에서 생성된 졸을 임플란트 표면에 코팅하는 제 3단계;를 포함하는 것을 특징으로 하는 임플란트 표면처리 방법을 제공한다.

[0017] 본 발명은 티타늄 알콕사이드와 알코올을 혼합하는 제 1단계; 상기 제 1단계에서 혼합한 용액을 가열 및 교반하여 졸을 생성하는 제 2단계; 및 상기 제 2단계에서 생성된 졸을 임플란트의 픽스처 표면에 코팅하는 제 3단계;를 포함하는 것을 특징으로 하는 임플란트 표면처리 방법을 제공한다.

[0018] 상기 티타늄 알콕사이드는 티타늄 프록사이드(Titanium(IV) propoxide), 티타늄 이소프로폭사이드(Titanium(IV) isopropoxide), 티타늄 디이소프로폭사이드(Titanium(IV) diisopropoxide), 티타늄 부톡사이드(Titanium(IV) butoxide), 티타늄 에톡사이드(Titanium(IV) ethoxide), 및 티타늄 메톡사이드(Titanium(IV) methooxide)로 이루어진 군에서 적어도 하나 이상 선택될 수 있다.

[0019] 상기 알코올은 탄소수가 1 ~ 4 인 것이 바람직하다.

[0020] 상기 티타늄 알콕사이드와 알코올은 알코올 100 중량부에 티타늄 알콕사이드 5 ~ 10 중량부로 혼합하는 것이 바람직하다.

[0021] 본 발명은 티타늄 알콕사이드와 알코올을 혼합하여 생성된 졸을 임플란트 표면에 코팅한 것을 특징으로 하는 임플란트를 제공한다.

[0022] 본 발명은 티타늄 알콕사이드와 알코올을 혼합하여 생성된 졸을 임플란트의 픽스처 표면에 코팅한 것을 특징으로 하는 임플란트를 제공한다.

[0023] 본 발명의 일 실시예에 따른 우수한 골 유착을 유도하는 티타니아 나노분말을 이용한 임플란트 표면처리 방법 및 그 방법에 의해 제조된 임플란트에 대하여 상세히 설명한다.

[0024] 실시예 1: 실험방법

[0025] 1. 실험재료

[0026] 직경 4.3mm, 길이 10mm의 표면처리가 되지 않은 임플란트 10개(DENTIS, DENTIS, Dae-Gu, The republic of Korea)를 사용하였다. 임플란트는 internal submurg의 형식으로 2개는 대조군으로, 8개는 실험군으로 사용하였다.

[0027] 본 실험에서 사용한 TiO_2 는 Titanium butoxide(IV)(244112, reagent grade 97%, Sigma-Aldrich Co., Oakville, Canada)과 Titanium butoxide(IV)(86910, purum, $\geq 97\%$, gravimetric, Sigma-Aldrich Co., Oakville, Canada)에서 구입하여 사용하였다.

[0028] 2. 실험장비

[0029] 박막 코팅의 표면을 확인하기 위하여 XRD(X-ray diffraction) (D/MAX-2200/PC, Rigaku Co., Tokyo, Japan) 및 EDS(Energy Dispersive Spectroscopy)(S-4700, Hitachi Co., Tokyo, Japan)를 사용하였고, 표면 거칠기를 측정하기 위해 AFM(Atomic force microscope)(XE-100, Park Systems Co., CA, USA)를 이용하였다. 그리고 표면 변화를 관찰하기 위해 주사전자현미경(SEM, Scanning Electron Microscope)(S-800, Hitachi Co., Tokyo, Japan)을 이용하였다.

[0030] 3. 티타니아 졸의 제조

[0031] 졸은 Titanium butoxide(IV)(244112, reagent grade 97%, Sigma-Aldrich Co., Oakville, Canada)과 Titanium butoxide(IV)(86910, purum, $\geq 97\%$, gravimetric, Sigma-Aldrich Co., Oakville, Canada), Iso propyle alcohol을 혼합하여 제조하였다. 조성은 Titanium butoxide : Iso propyle alcohol = 5 : 95 중량비로 하였다.

[0032] 먼저, Hot plate에서 peptization 온도로 맞추고 Titanium butoxide를 넣은 다음 magnetic bar로 교반시키면서 peptization 시켰다. 반응 초기에는 반응에서 수반되는 알코올을 날려 보내기 위해 sealing을 하지 않았으며 알코올이 완전히 날아간 후에 sealing을 하였다. 졸겔법을 이용한 과정을 도 3과 같이 간단한 모식도로 정리할 수 있다.

[0033] 4. 티타니아 졸을 이용한 픽스처 표면처리

[0034] 실험에 사용된 유리 기판은 슬라이드 글라스를 사용하였고, 절단된 유리는 코팅 시에 막의 부착능력을 강화하기

위하여 유리 기판에 있는 기름, 때를 아세톤과 증류수에서 각각 30분씩 초음파세척을 실시하고 상온에서 건조하여 사용하였다.

[0035] 각 시편은 제조된 졸을 이용하여 dip coating법에 의해 친수성 막을 형성하였다. dip coating법은 코팅 용액에 기판을 침지한 후 인상하는 방법으로 코팅막을 제조하는 방법 중 가장 간단하고 편리한 방법일 뿐만 아니라 용액을 다시 사용할 수 있는 장점을 가지고 있다. 이 실험에서 합성된 모든 졸은 점도가 매우 낮았으며, 또한 비교를 위하여 막의 두께는 100nm로 일정하게 하기 위해 코팅조건은 세척한 5 x 5cm²의 판유리를 기판으로 하고 제조된 졸을 적하하고 600rpm의 회전속도로 30초 동안 수회에 걸쳐서 코팅하였다.

[0036] 5. 픽스처 표면에 형성된 티타니아 박막의 물리화학적 특성 분석

[0037] 5.1. 티타니아 박막의 결정상 분석

[0038] 줄겔법으로 제조된 티타니아 박막의 정량 분석을 하기 위하여 XRD(X-ray diffraction)(D/MAX-2200/PC, Rigaku Co., Tokyo, Japan)를 이용하여 확인하였다. 상온에서 2θ = 5° - 80° 범위에서 측정하였다. 측정조건은 CuKα 타겟을 사용하였으며, 전압은 40kV와 전류는 30mA, 스캔 스피드는 분당 4° 로 시행하였다. XRD는 Bragg's law로 나타내며 이는 보강간섭이 일어날 때 적용되며 이 X선 회절 현상을 이용하여 각종 물질의 물질구조를 밝히는 데 폭넓게 사용되어진다.

[0039] 5.2. 박막 표면의 화학적 성분 분석

[0040] 줄겔법으로 제조된 티타니아 박막의 원소 분석을 확인하기 위하여 EDS(Energy Dispersive Spectroscopy)(S-4700, Hitachi Co., Tokyo, Japan)를 이용하였다. EDS는 지금 0.1μm 정도의 미세한 영역에 가속전자를 조사하여 시료 내로 입사된 전자와 시료를 구성하는 원자들간의 상호작용으로 발생하는 특성 X-선(characteristic x-ray)로부터 시료의 구성요소들의 성분과 조성을 알아내는 분석법으로 사용되고 있다. 상온에서 입사전자빔의 에너지는 4.5 ~ 49.0keV의 범위로 0.5keV씩 증가시키면서 분석하였으며 θ=0° , ψ=35° 로 고정시켜 수행하였다.

[0041] 5.3. 박막 표면의 거칠기 분석

[0042] 표면처리에 따른 표면 거칠기 비교 분석을 위하여 AFM(Atomic force microscope)(XE-100, Park Systems Co., CA, USA)를 이용하여 측정모드는 non-contact로 Scan size 30 x 30μm, Scan Rate : 0.3Hz로 분석하였다.

[0043] 5.4. 픽스처 표면의 미세 구조적 변화 관찰

[0044] 박막 시편들의 표면 상태를 관찰하기 위해서 SEM(주사전자 현미경 : Scanning Electron Microscope, Hitachi Co., Tokyo, Japan, S-800)을 이용하였다.

[0045] 그 후, 각각의 사진을 관찰하고 분석하여 임플란트 미세표면 구조변화 유무 및 티타니아 나노 입자 크기와 모양 및 배열상태를 알아보았다.

[0046] 6. 티타니아 표면처리 픽스처의 in vitro 생체 안전성 분석

[0047] 6-1. 세포주 및 세포배양

[0048] 본 실험에 사용한 Human Normal Oral Keratinocyte(HNOK)는 Science Cell Research Laboratories(ATCC, Manassas, VA, USA)로부터 구입하여 사용하였다. HNOK는 10% FBS(Gibco, Grand Island, NY, USA), 100U/mL penicillin, 100μg/mL streptomycin(Gibco BRL, Grand Island, NY, USA)를 첨가한 Dulbecco's Modified Eagle's medium(DMEM, Gibco, Grand Island, NY, USA)을 사용하여 배양하였다.

[0049] 6-2. MTT 분석을 이용한 용출물 처리 및 세포 생존율 분석

[0050] 세포독성 분석은 픽스처들의 무게를 재고 121℃에서 멸균시킨 후, 0.2g/mL에 따라 픽스처에 적당량의 DMEM(Gibco, Grand Island, NY, USA)을 주입하고 37℃에서 72시간 용출하였다. 용출 용액 200μL씩 HNOK에 처리하여 37℃에 반응시키고 20시간 후, 3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-Diphenyltetrazolium Bromide, A Yellow Tetrazole(MTT) Solution(Sigma Co., St. Louis, MO, USA)를 20μL씩 각각 첨가하여 37℃에서 반응하였다. 4시간 후, MTT가 들어있는 배양액을 모두 제거하고 세포를 200μL Dimethyl Sulfoxide (DMSO, Sigma Co., St. Louis, MO, USA)에 용해하고, ELISA microplate reader(Bio-Tek Instruments Inc., Winooski, VT)를 사

용하여 흡광도를 540nm에서 측정해 시행하였으며, 독립적인 동일 실험을 3회 반복하여 수행하였다.

[0051] 실시예 2: 픽스처 표면에 형성된 티타니아 박막 특성 분석

[0052] 1. 티타니아 박막에 형성된 결정상의 특성

[0053] XRD 측정에 의해 용매에 따른 시험 1, 2군의 피크 변화와 코팅 횟수에 따른 박막의 특성을 조사하였다. 도 4와 5는 코팅 횟수에 따른 픽스처 위에 코팅한 TiO_2 박막의 XRD pattern이다. 여기서 TiO_2 박막은 인상속도가 상온에서 $2\theta = 5^\circ - 80^\circ$ 범위에서 측정하였다. 스캔 스피드는 분당 4° 로 실험군의 코팅 횟수는 1, 2, 3, 4회로 시행하였다. XRD 결과, 도 4에서 보이듯이 대조군에서는 35, 39, 41, 59° 에서 결정 피크가 관찰됨으로써 일반적인 타이타늄 결정 피크와 동일한 모습을 보였다. Titanium butoxide(reagent grade 97%)를 사용한 실험 1군에서도 일반적인 타이타늄과 동일한 구간에서 피크를 보였으나 25° 부근에서 피크가 발생하였다. 이는 방향성 및 TiO_2 화되면서 발생한 미지의 화합물이 생성된 것으로 볼 수 있다.

[0054] 두 번째 실험 2군에서는 Titanium butoxide($\geq 97\%$)를 사용한 군으로 실험 1군과 동일한 조건으로 수행하였으며, 1군과 같이 일반적인 타이타늄과 비슷한 rutile상이 분석되었으며, 피크의 끝이 날카로워지고 25° 부근에서 다시 한 번 피크가 발생하였다. 결론적으로, XRD 촬영결과를 통합적으로 분석하여 볼 때, 모든 실험군에서 Ti의 함량이 높아졌으나 미지의 화합물이 발생하였다(도 4).

[0055] 2. 박막표면의 화학적 성분 특성

[0056] EDS(Energy Dispersive Spectroscopy)(S-4700, Hitachi Co., Tokyo, Japan)를 이용하여 에너지전자빔의 에너지는 4.5 ~ 49.0keV의 범위로 0.5keV씩 증가시키면서 분석하였으며 $\theta = 0^\circ$, $\psi = 35^\circ$ 로 표면의 원소를 비교 분석하였다. 도 5에서 보이듯이 실험 1, 2군의 대조군에서는 O가 발생하지 않고, Ti함량이 97, 98% 정도로 매우 높게 나타났으며, Ce를 비롯한 기타 화합물이 2 ~ 3%정도 발생하였다.

[0057] 하지만, 실험 1군(Titanium butoxide(reagent grade 97%))에서는 Ti 함량이 각각 51, 51, 42, 29%로 대조군에서 비하여 O의 함량이 검출되고 기타 원소의 출현이 없었으므로 TiO_2 코팅이 이루어진 것으로 판단된다. 실험 2군(Titanium butoxide($\geq 97\%$))에서도 1군과 마찬가지로 Ti와 O의 함량만 검출됨으로써 모든 실험군의 원소 분석 결과, 덴탈 임플란트 픽스처의 표면에 Ti와 O를 포함한 산화물로 이루어진 것을 확인할 수 있다(도 6).

[0058] 실시예 3: 티타니아 입자를 이용한 임플란트 픽스처 표면처리의 최적 조건

[0059] 1. 박막 표면에 형성된 거칠기의 특성

[0060] AFM(Atomic force microscope) (XE-100, Park Systems Co., CA, USA)를 이용하여 측정모드는 non-contact로 Scan size 30 x 30 μm , Scan Rate : 0.3Hz로 표면 거칠기를 비교 측정하였다. 본 연구에서 제조된 대조군 A, B의 박막의 경우는 각 201nm, 151nm였으며, 도 7과 같이 실험 1군(Titanium butoxide(reagent grade 97%))은 19 ~ 50nm로 평균 32.5nm, 실험 2군(Titanium butoxide($\geq 97\%$))에서는 27 ~ 81nm로 평균 45nm였다. 모든 실험군에서 대조군에 비하여 거칠기가 좋아졌음을 알 수 있으나, 실험 1군과 2군 모두 3회 이상 dip coating시 표면의 크랙이 발생하여 거칠기가 균일하지 못했다고 판단되며 각 실험군의 1, 2회 코팅한 시편에서 거칠기가 균일한 것을 볼 수 있다.

[0061] 2. 픽스처 표면의 미세 구조적 변화

[0062] 박막 시편들의 표면 상태를 관찰하기 위해서 SEM(주사전자 현미경 : Scanning Electron Microscope, Hitachi Co., Tokyo, Japan, S-800)을 이용하여 티타니아 나노입자 표면처리군의 파절계면의 SEM 분석을 하였다. 도 8과 같이 실험 1군(Titanium butoxide(reagent grade 97%))에서는 13 ~ 24nm로 평균 18nm의 입자 사이즈가 관찰되

었으며, 실험 2군(Titanium butoxide($\geq 97\%$))에서는 16 ~ 34nm로 평균 25nm의 입자 사이즈를 관찰할 수 있다.

[0063] 실험군과 대조군 모두 300배, 10,000배 비율로 각각 촬영하여 분석한 결과, 도 9에서 보이듯이 각 대조군에서는 아무런 처리가 되지 않은 상태이므로 비교적 균질하고 매끄러운 표면을 관찰할 수 있다. 실험 1군(Titanium butoxide(reagent grade 97%))에서 1, 2회 코팅 시 티타니아 나노입자들이 치밀하게 형성된 것을 관찰할 수 있었던 반면에 3, 4회 코팅을 실시한 C, D에서는 코팅 박막이 깨져서 균질한 코팅이 이루어지지 않았음을 확인할 수 있다. 이와 달리 실험 2군(Titanium butoxide($\geq 97\%$))에서는 1회 코팅된 A에서만 박막이 치밀하게 형성되었음을 확인할 수 있다.

[0064] 본 SEM 촬영 분석결과, Titanium butoxide(reagent grade 97%) 사용하여 1, 2회 졸겔법에 의한 dip coating 시, 좋은 결과를 도출해낼 수 있을 것으로 확인된다.

[0065] 실시예 4: 티타니아 표면처리 픽스처의 in vitro 생체안전성 분석

[0066] 졸겔법을 이용한 티타니아 나노입자로 표면처리 된 덴탈 임플란트 픽스처에서의 세포 독성을 알아보기 위하여 HNOK에 픽스처 용출 용액을 24시간 동안 처리한 후, MTT assay를 수행하였다.

[0067] 픽스처들의 무게를 잰 후, 0.2g/mL 조건 아래 적당량의 DMEM을 넣어 37℃에 72시간 용출시킨 후, 용출 용액을 HNOK에 24시간 동안 처리하여 MTT assay를 수행하였다. 도 10의 결과를 보면, 실험 2군(Titanium butoxide($\geq 97\%$))의 D를 제외한 나머지 실험 1, 2군 모두 대조군에 비하여 세포 성장 억제 능에 영향을 미치지 않았음을 확인할 수 있다. 이 결과, Titanium butoxide($\geq 97\%$)를 사용하여 4회 이상 dip coating을 할 경우, 세포 독성이 발견될 수 있으며, 1, 2회 수준으로 코팅을 하는 것이 보다 용이한 표면을 얻는 것을 확인하였다.

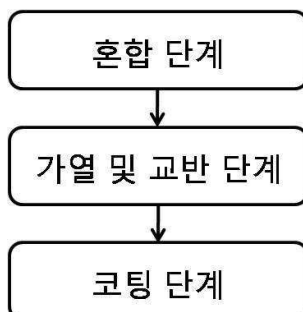
[0068] 상기 살펴본 바와 같이, 졸겔법을 이용하여 임플란트의 표면을 티타니아 나노입자로 고르게 표면 처리할 수 있는 것을 확인하였다. 티타니아 나노입자로 처리된 임플란트 및 픽스처의 표면 거칠기는 Titanium butoxide의 순도에 상관없이 1 ~ 2회 코팅한 경우 균일한 거칠기를 형성하는 것을 확인하였으며, 특히 Titanium butoxide(reagent grade 97%)를 이용하여 코팅 시, 임플란트 표면에 더욱 균일하게 박막을 형성하는 것을 확인하였다.

[0069] 또한, 세포독성 평가를 수행한 결과, 실험 2군의 D 경우를 제외하고는 대조군보다 세포 생존율이 높은 것을 확인하였다.

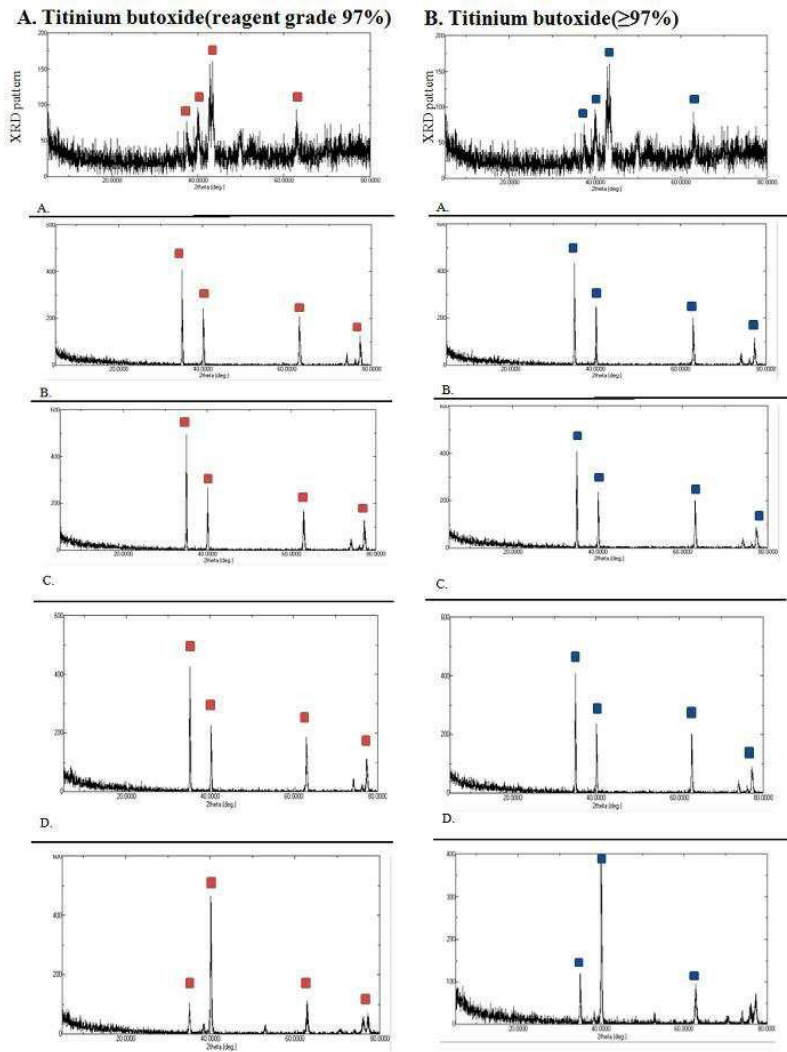
[0070] 즉, 티타니아 나노분말을 이용한 임플란트 표면처리 방법에 의해 제조된 치과용 임플란트는 세포독성이 없고 표면 구조가 양호하여 구강 내 식립 시, 골 유착을 유도하는 데 효과적으로 작용할 수 있다는 것을 확인하였다.

도면

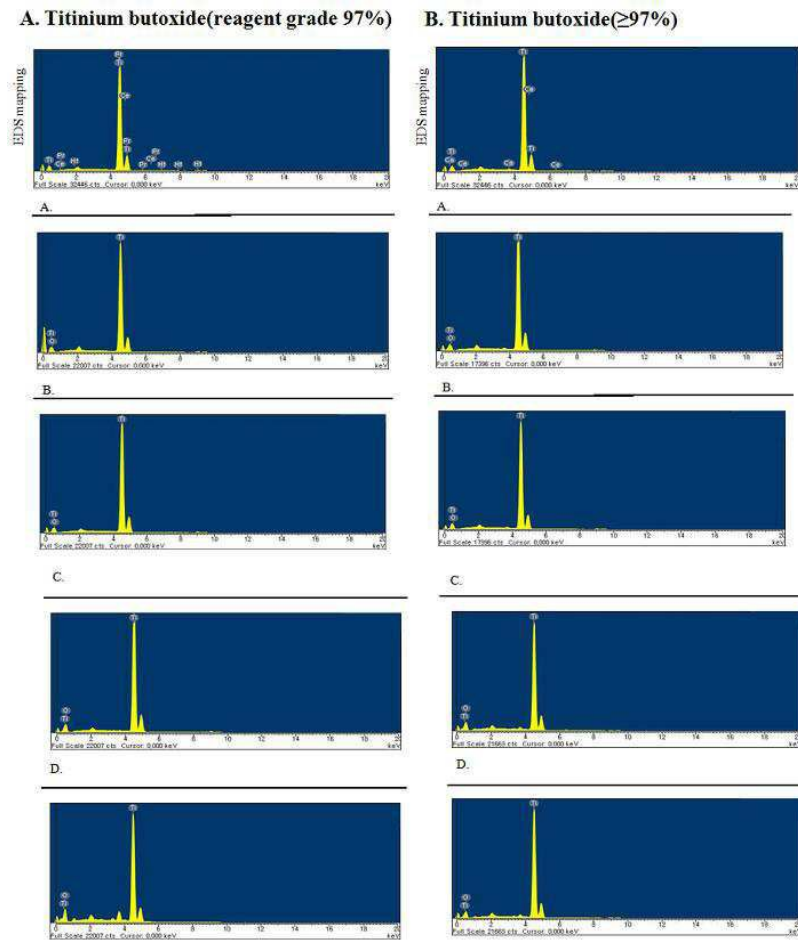
도면1



도면4



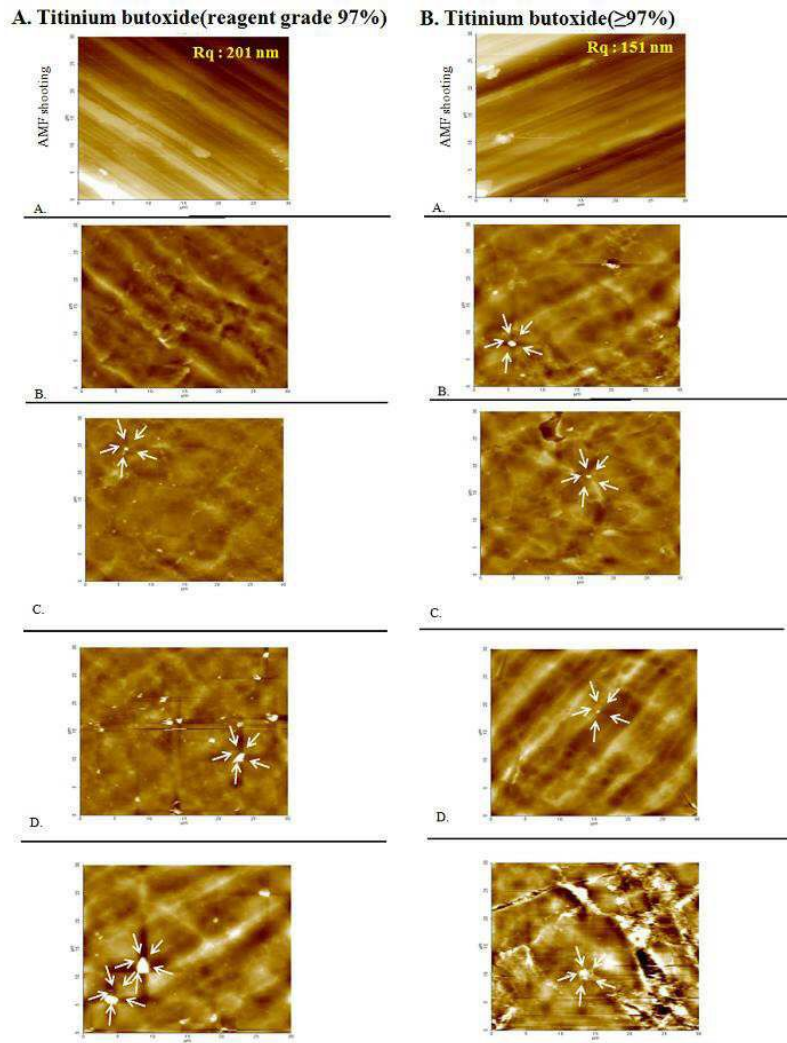
도면5



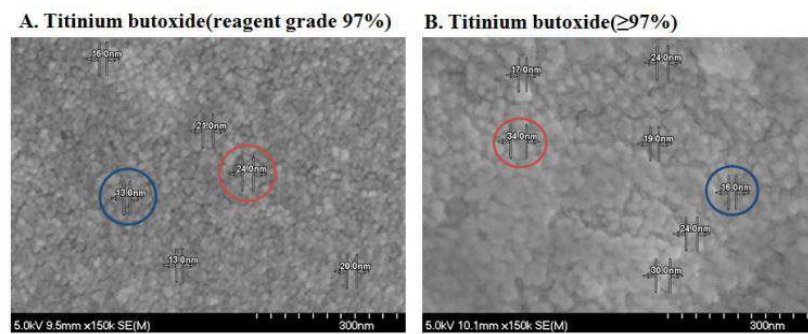
도면6

ATOMIC (%)	A1	A2	A3	A4	B1	B2	B3	B4	Control A	Control B
O	48.99	48.58	58.66	70.59	48.73	40.74	63.55	58.82	-	-
Ti	51.01	51.42	41.34	29.41	51.27	59.28	36.45	41.18	97.91	98.86
Ce	-	-	-	-	-	-	-	-	1.19	0.89
Pr	-	-	-	-	-	-	-	-	0.46	-
HF	-	-	-	-	-	-	-	-	0.44	-
Cl	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.48
total	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100

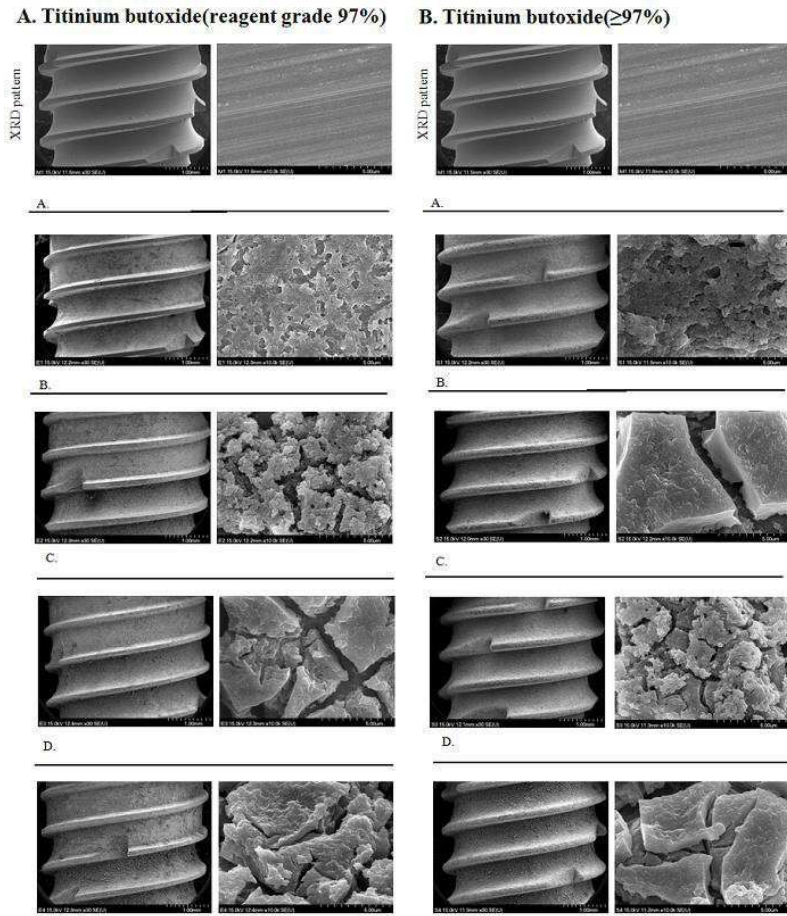
도면7



도면8



도면9



도면10

