

# Pluronic<sup>®</sup> F127 하이드로젤과 규산칼슘 하이브리드 골수복재의 탐색 연구

노지연<sup>1</sup>, 김광만<sup>2\*</sup>

연세대학교 원주의과대학 치위생학과<sup>1</sup>,  
BK 21 PLUS Project, 연세대학교 치과대학 치과생체재료공학교실 및 연구소<sup>2</sup>

〈Abstract〉

## Investigational Study of Hybrid Bone Graft Materials with Calcium Silicate and Pluronic<sup>®</sup> F127-based Hydrogel

Jiyeon Roh<sup>1</sup>, Kwang-Mahn Kim<sup>2\*</sup>

Department of Dental Hygiene, Wonju College of Medicine, Yonsei University, 20 Ilsan-ro, Wonju-si, Gangwon-do, 26426, Korea<sup>1</sup>,  
BK 21 PLUS Project, Department and Research Institute of Dental Biomaterials and Bioengineering, Yonsei University College of Dentistry, 50-1 Yonsei-ro, Seodaemun-gu, Seoul 03722, Korea<sup>2</sup>

Calcium silicate cement, which is known as Mineral trioxide aggregate, usually mixed with distilled water. It showed limitation in manipulation and setting mechanism. To overcome its character, we modified the liquid to thermoreversible hydrogel, F-127. So, we developed hybrid bone graft materials with calcium silicate and hydrogel. And we measured their phase transition temperature using differential scanning calorimetry (DSC) and evaluated physical properties, film thickness, surface texture, ability to manipulation and flow change according to temperature change. Various concentration of hydrogel (5, 10, 20, 30 and 40 wt%) was mixed with calcium silicate cement in 1:0.3 ratios and was coded H5, H10, H20, H30 and H40. The original calcium silicate cement with distilled water was used as control (MDW). To evaluate their physical characteristics, film thickness was measured according to ISO 9917-1 and surface texture and flow properties were compared. As the concentration of F-127 increased, the transition temperature was decreased. In H20 and H30 showed significantly lower film thickness with creamy texture and gelation at 37°C. In conclusion, the hybrid with hydrogel and calcium silicate cement, especially H20 and H30, was candidate combinations might be a candidate as useful bone graft materials.

*Key words*: Calcium silicate cement, Thermoreversible Hydrogel, F127, Bone graft materials, Physical properties

## I . INTRODUCTION

Mineral trioxide aggregate (MTA)로 알려진 규산칼슘시멘트는 치과 보존영역에서 많이 사용이 되어 오고 있으며 다양

한 제형으로 개발되어 오고 있다. MTA는 80%의 규산칼슘시멘트와 20%의 방사선 조영제를 포함하고 있으며 여러 특징 중, 수분이 있는 조건에서도 경화할 수 있는 수경화성 성질로 각광받고 있다. 이전 연구에서 MTA의 생체 친화성 및 생활성을 *in vitro*와 *in vivo* 논문에서 많이 보고가 되었으며, 제품으로 출시된 경우는 여러 임상사례에서 긍정적인 효과로 보고가 되고 있다. 대부분의 MTA 제품의 경우 제조회사에서 제공하는 증류수와 1:0.3의 혼수비로 혼합하여 사용하며, 치아 내

\* Correspondence: 김광만 (ORCID ID: 0000-0002-5235-0294)  
서울시 서대문구 연세로 50-1 연세대학교 치과대학 5층 505호  
치과생체재료공학교실  
Tel: +82-2228-3082, Fax: +82-364-9961  
E-mail: KMKIM@yuhs.ac

적용을 한 후에도 완전한 경화를 위하여 충분한 수분 공급이 이루어져야 한다. 여러 장점에도 불구하고 오랜 경화시간과 이로 인하여 임상에서 즉시 적용이 불편한 요소가 되어 많은 연구자들이 이에 대한 많은 연구를 진행하였다.

Eduardo Antunes Bortoluzzi 등은 규산칼슘 분말에 염화칼슘을 첨가하여 경화시간을 조절하였으며(Bortoluzzi et al., 2008; Bortoluzzi et al., 2009), Maria Giovanna Gandolfi 등은 광중합형 레진을 혼합하여 즉시 경화되는 광중합형 MTA를 개발하기도 하였고 TheraCal™ 과 같은 제품이 출시되기도 하였다 (Gandolfi et al., 2011). 그러나 여러 형태로 변형된 MTA의 경우 직접치수복조술과 같이 살아있는 치수에 직접 적용한 실험을 진행하였을 때 세포독성을 보인다고 보고가 되었으며, 여러 논문에서 변형된 MTA의 세포생존율이 매우 낮게 보고 되었다 (Parirokh, Asgary, Eghbal, Kakoei, & Samiee, 2011).

하이드로젤은 수화젤이라고도 불리며, 수용성 고분자가 물리적 또는 화학적인 결합에 의해 3 차원의 가교를 형성하고 있는 망상구조이다. 대부분의 하이드로젤은 90% 이상의 물을 함유하고 있고 가공이 용이하여 다양한 형태로 응용할 수 있다. 의료계에서는 하이드로젤의 높은 흡수율과 세포의 기질과의 물리적 유사성으로 인하여 높은 생체 적합성을 가지며, 조직재생분야에 다양하게 응용이 되기도 한다. 또한 하이드로젤의 물리적 구조는 다공성의 구조가 약물을 서서히 방출하는 성질을 가지고 있어 약물전달분야에서도 많이 응용을 하기도 한다. 다양한 하이드로젤 중에서 산도, 온도 또는 다양한 환경요인에 의해 그 형태가 변하는 고분자가 있기도 하다. Pluronic F-127 (F127, PEO100-PPO65-PEO100)는 열 가역성

하이드로젤로 시중에서 구매가 가능하며 농도에 따라 상온에서는 액체상태를 보이다가 체내와 유사한 농도에서 겔화되는 성질을 갖는다. 이는 수용성 고분자로 이전 연구들에서 15-20%의 농도에서 체내 주입식 약물 방출용 고분자로 응용이 되어 왔다.

지속적인 수분공급이 있어야 경화되는 MTA와 수분을 오랫동안 함유하고 체내에서 겔화되는 성질을 갖는 열 가역성 하이드로젤을 혼합하여 기존의 MTA의 경화시간과 조작성을 개선할 수 있을 것이라 생각되어 다양한 농도의 열 가역성 하이드로젤을 제조하여 그 물성에 대한 실험을 진행하였고, 증류수와 혼합하여 사용하던 규산칼슘시멘트를 물 대신 열 가역성 하이드로젤 F-127와 혼합하여, 피막도, 조작성 및 흐름성을 비교하여 향후 골 이식재료의 사용 가능성을 위한 탐색 연구를 하였다.

본 연구의 귀무가설은 '기존의 증류수와 혼합한 규산칼슘시멘트와 하이드로젤-규산칼슘하이브리드 사이에 피막도, 조작성 및 흐름성에 차이가 없을 것이다' 이었다.

## II. MATERIALS AND METHODS

### 1. 하이드로젤의 및 규산칼슘-하이드로젤 하이브리드 제조

본 연구에 사용된 하이드로젤은 Pluronic F-127 powder (Sigma Aldrich, MO, USA)를 증류수 (Gibco, CA, USA)와 Table 1과 같은 농도로 혼합하여 5종을 제작하였다. 열 가역성 하이드로젤인 F-127은 고온에서 겔화가 일어나므로 4℃

**Table 1.** Various concentrations of hydrogel and mixing ratio of test groups

Hydrogel concentration in DW (%)	Hydrogel	DW	Calcium silicate cement	Code
5	0.3			H5
10	0.3			H10
20	0.3	-	1.0	H20
30	0.3			H30
40	0.3			H40
0		0.3		MDW

의 magnetic stirrer plate (Corning, NY, USA)에서 혼합하였고, 5%, 10%, 20%, 30%, 40% 농도의 하이드로젤을 제조하였다. 제조된 하이드로젤은 규산칼슘시멘트와 혼합할 때까지 4℃에서 냉장 보관하였다.

규산칼슘-하이드로젤 하이브리드는 규산칼슘시멘트 (Union, Seoul, Korea)와 하이드로젤을 1:0.3의 무게비율로 혼합하여 제조하였다 (Table 1). 그리고 5%, 10%, 20%, 30%, 40% 하이드로젤과 혼합한 하이브리드는 각각 H5, H10, H20, H30 및 H40으로 명명하였다. 규산칼슘시멘트와 물을 혼합한 군은 대조군으로서 동일한 1:0.3 비율로 혼합하였으며, 이를 MDW로 하였다.

## 2. 하이드로젤의 열적 거동 분석

제조한 다양한 농도의 하이드로젤은 시차주사열량계 (DSC 200 F3, Maia NETZSCH, Selb, Germany)를 이용하여 상전이 온도를 분석하였다. 알루미늄 캡에 소량의 하이드로젤을 계량하여 DSC 에 위치하였으며 액화 질소를 이용하여 -20℃부터 60℃까지 1℃/ min 속도로 승온하며 열적 거동을 분석하였다.

## 3. 피막도

물 또는 하이드로젤과 혼합한 규산칼슘시멘트의 피막도를 측정하기 위해서 ISO 9917-1 의 방법을 응용하였다. 각각의 무게가 20 g 이고 넓이가 20 cm<sup>2</sup> 인 두 장의 유리판을 겹쳐두고 마이크로미터를 이용하여 두께를 측정하였다 (T<sub>0</sub>). 한 면의 유리판을 깔고, 표 1 에 제시된 비율로 혼합한 시료 (0.1±0.05) ml를 유리판에 덜어서 나머지 유리판으로 덮는다. 이 작업은 혼합 후 (180 ± 10)초 이내에 시행하고 150 N의 힘을 수직으로 가하였다. 10 분 후에 하중을 제거하고 재료와 두 장의 유리판 두께를 측정하였다 (T<sub>a</sub>). T<sub>a</sub> 에서 T<sub>0</sub> 를 뺀 값을 피막도 값으로 하였고 각 군당 3 회 반복하였다.

## 4. 균질성

규산칼슘-하이드로젤 하이브리드의 혼합 도중과 경화 후의 표면 상태와 균질성을 혼합자를 통해서 느껴지는 감촉과 육안

관찰로 비교 평가하였다.

## 5. 흐름도

열 가역성 하이드로젤은 온도 변화에 따라 상이 변하므로 규산칼슘-하이드로젤 하이브리드의 온도에 따른 흐름성의 변화를 측정하였다. 실험 방법은 바니쉬의 흐름성을 알아보기 위한 vertical slope test 방법을 참고하였다. 우선 12℃와 37℃의 유리판을 각각 준비하였다. 4℃로 준비된 각 실험군의 분말과 하이드로젤 또는 물을 60초 이내에 혼합하여 1 ml의 동일양을 유리판의 가장 끝에 올린 후 유리판을 수직으로 세워 중력에 의해 시료가 흘러내릴 수 있도록 하였다. 재료가 충분히 고정된 10분 후, 재료가 흐른 길이를 자로 측정하였고, 실험 군당 3회 반복하였다.

## 6. 통계분석

피막도와 흐름도의 실험 결과는 IBM<sup>®</sup> s SPSS statistics 20 (IBM, USA) 소프트웨어를 이용하여 분석하였고, 분석방법은 실험군간에는 일원분산분석(one-way analysis of variance)에 Tukey 사후검정을 실시하였다. 흐름도의 동일군 내에서의 온도에 따른 결과는 독립표본 t 검정을 이용하였다. 통계적 유의 수준은 0.05 로 설정하였다.

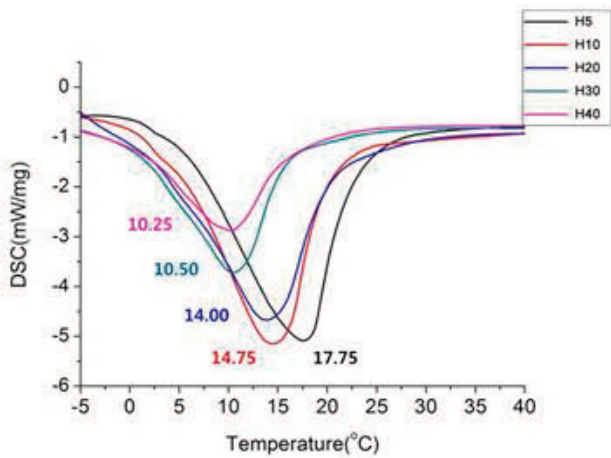
# III. RESULTS

## 1. 하이드로젤의 상전이 온도

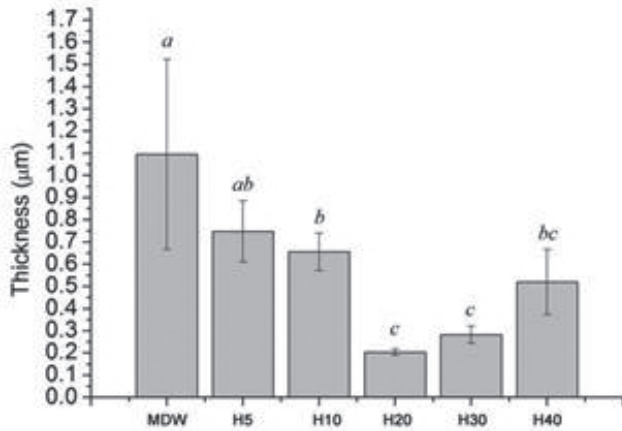
하이드로젤 각 시험군의 DSC 분석 결과는 Figure 1 과 같았다. F-127 의 농도가 증가할수록 상전이 온도가 낮아지는 것을 알 수 있었다. H5, H10, H20, H30 및 H40 각각의 상전이 온도는 17.75℃, 14.75℃, 14.00℃, 10.50℃ 및 10.25℃로 나타났다.

## 2. 피막도

규산칼슘-하이드로젤 하이브리드의 피막도 측정 결과는 피막도의 결과는 Figure 2 와 같았다. MDW 가 가장 높은 피막



**Figure 1.** Graphs of Low temperature DSC. The letters in graph mean transition temperature of each groups.

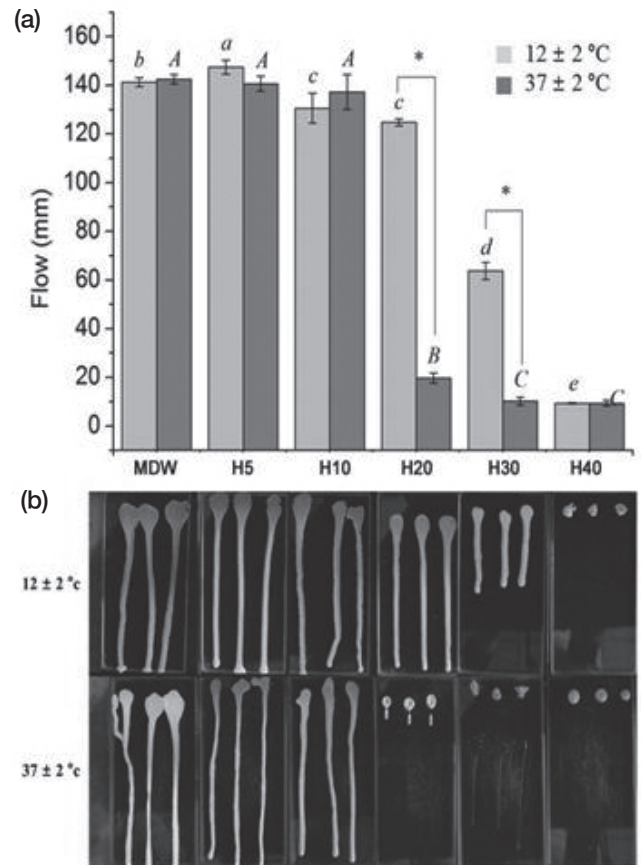


**Figure 2.** Graphs and figure of Film thickness ( $\mu\text{m}$ ) of test groups. The same letters mean no significant differences ( $p > 0.05$ ). The test groups were shown in each photo

도를 보였고, H20 과 H30 에서 가장 낮은 피막도 값을 보였다 ( $p < 0.05$ ).

### 3. 균질성

규산칼슘 분말과 하이드로젤을 혼합시 H20 과 H30 에서 가장 편한 조작성을 보였으며, 표면도 creamy 한 형상을 관찰할 수 있었다. H40 은 상온에서 겔화가 일어나 혼합하기 어려웠고, 따라서 불균질상을 보였다.



**Figure 3.** Graphs and figure of flow (mm) of test groups. The same letters mean no significant differences ( $p > 0.05$ ). The test groups were shown in each photo.

### 4. 흐름도

흐름도를 측정한 결과와 그 양상은 Figure 3 과 같았다. MDW, H5 및 H10 은 온도변화에 따른 흐름도의 변화가 없었으나, H20 과 H30 은 온도변화에 따라 흐름도가 유의하게 감소하였다 ( $p < 0.05$ ). H40 의 경우는 12°C에서도 겔화가 급속하게 진행되어 흐름성을 보이지 않았다.

## IV. DISCUSSION

MTA 로 알려진 칼슘규산 시멘트는 직접치수복조 또는 근관내 역충전 재료로 치과에서 빈번히 사용되는 재료이다. 이



는 수경화되는 성질과 함께 생체 친화성을 갖고 여러 임상 사례에서 dentin bridge 형성을 하면서 좋은 결과를 보였다 (Darvell & Wu, 2011). 그러나 긴 경화시간으로 chair-side 에서 즉시 적용하는데 한계가 있었고 충전 후 지속적인 수분 공급이 이루어 져야 완전한 경화가 이루어진다.

Ber 등과 Alanezi 등은 2%의 염화칼슘이 경화시간을 짧게 해준다고 보고하였으며 (AlAnezi, Zhu, Wang, Safavi, & Jiang, 2011; Ber, Hatton, & Stewart, 2007) 일부 연구자들은 광중합형 MTA의 개발로 경화기전을 변경하기도 하였다 (Gandolfi et al., 2011). 그러나 2%의 염화칼슘은 건조되면서 수축의 위험성이 커진다고 보고하였으며 (Ber et al., 2007), 광중합형 MTA의 경우는 생체친화성에서 세포독성을 보인다고 보고하였다 (Gandolfi et al., 2011).

하이드로젤은 다양한 제품으로 응용이 되어왔으며 약물 전달 및 체내 주입용 재료로도 많이 사용이 될 정도로 생체 친화성을 갖고 있다. 그 중 Pluronic F-127® (Ploxamer)는 열가역성 하이드로젤로 (Nie, Hsiao, Pan, & Yang, 2011) 생체 친화성이 매우 좋으며 농도에 따라 상온에서는 젤, 체온유사 온도에서 겔의 형태를 띈다 (Kang et al., 2007; Moreno et al., 2014; Wenzel et al., 2002). 저온 시차주사열량측정법을 이용하여 상 변이 온도를 확인한 결과, 20% 이하 농도의 하이드로젤에서 가장 이상적인 농도를 보였다. 그러나 30% 이상의 하이드로젤 농도에서는 상온 조작에 한계를 보였으며 40% 농도에서는 상온에서 완전한 겔 형태를 보이고 있어 임상 적용하는 데 있어서 한계를 보인다고 판단되었다. Antunes 등은 동일한 하이드로젤을 응용한 결과 약 15~18%의 F-127 하이드로젤 농도에서 좋은 주입성을 보인다고 보고하기도 하였다 (Antunes, Gentile, Oliviero Rossi, Tavano, & Ranieri, 2011).

아직 MTA와 관련된 국제 규격이 나와있지 않아, 수용성 시멘트 규격 ISO 9917-1에 따라 피막도 실험을 진행하였다. 물과 혼합된 MTA에서는 혼합 후 조작을 하는 과정에서 젓은 모래와 같은 질감을 보이며, 이를 이용하여 피막도 실험을 진행하게 되면 이는 150 N의 힘을 가하면서 균일하게 혼합된 paste가 유리판에 퍼지면서 피막도를 보이는 것이 아니라, 규산칼슘시멘트 분말들 사이에 물만 빠져 나오는 효과를 확인할 수 있다. 따라서 균질한 혼합을 하였더라도 paste가 퍼지지 않고 높은 피막도 값을 보이는 것이다. 이는 injectable

bone cement에서 보이는 filter pressing 효과로도 볼 수 있다. 즉, 혼합된 반죽을 주사기에 넣고 힘을 가하면, 균질해 보이지만 경화되기 이전에 분말과 물이 분리되어 물만 빠져 나오는 현상이다. 반면 하이드로젤을 이용한 실험군에서 H20과 H30에서는 하이드로젤이 윤활역할을 하여 물과 분말이 분리되지 않고 크리미한 점도로 혼합에 용이하여 조작성을 매우 좋게 향상한 것을 확인할 수 있었고, 이는 paste를 고르게 퍼지게 하여 낮은 피막도 값을 보였다. 그리고 이는 injectable한 제품의 개발로도 연관 지어 생각해 볼 수 있다. 그러나 H5와 H10에서는 물의 함량이 하이드로젤의 함량보다 더 커서 하이드로젤의 특성을 보이지 않았으며, 너무 높은 H40에서는 고농도와 고점도의 하이드로젤의 성질로 인하여 조작하는데 한계를 보였다.

규산칼슘과 하이드로젤을 혼합한 하이브리드 재료는 H20과 H30에서 물과 혼합한 MDW보다 우수한 피막도 및 조작성을 보였고, 온도변화에 따른 열 가역성 하이드로젤의 열적 거동을 관찰할 수 있었다. 따라서 서론에서 제시한 이 논문의 귀무가설은 기각하였다. 본 연구는 규산칼슘과 하이드로젤의 하이브리드 골이식 재료로서의 사용 가능성에 대한 탐색 연구로서, 앞으로 생체적합성이나 골재생 능력 등에 관한 연구가 추가되면 골 결손부에 이식되었을 때, 온도 변화에 의해 즉시 겔화되어 형태를 유지하는 한편, 규산칼슘시멘트의 우수한 골 전도력을 갖는 효과적인 골이식재료의 개발이 가능할 것으로 사료된다.

## V. CONCLUSION

결론적으로, 20%와 30% F-127 하이드로젤과 혼합한 규산칼슘은 기존의 증류수와 혼합한 MTA보다 우수한 피막도 및 조작성을 보이는 동시에 체내 온도에서 신속히 겔화가 일어나 형태 유지가 가능할 것으로 사료되는 바, 효과적인 골이식재료 사용 가능할 것으로 전망되며, 이를 위해서 추가적인 물성 및 생체 친화성에 대한 연구가 진행되어야 할 것으로 사료된다.

## Acknowledgement

This study was supported by the Yonsei University College of Dentistry Fund (6-2014-0077).

## VI. REFERENCES

- AlAnezi, A. Z., Zhu, Q., Wang, Y.-H., Safavi, K. E., & Jiang, J. (2011). Effect of selected accelerants on setting time and biocompatibility of mineral trioxide aggregate (MTA). *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*, *111*(1), 122-127. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tripleo.2010.07.013>
- Antunes, F. E., Gentile, L., Oliviero Rossi, C., Tavano, L., & Ranieri, G. A. (2011). Gels of Pluronic F127 and nonionic surfactants from rheological characterization to controlled drug permeation. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, *87*(1), 42-48. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.colsurfb.2011.04.033>
- Ber, B. S., Hatton, J. F., & Stewart, G. P. (2007). Chemical Modification of ProRoot MTA to Improve Handling Characteristics and Decrease Setting Time. *Journal of Endodontics*, *33*(10), 1231-1234. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.joen.2007.06.012>
- Bortoluzzi, E. A., Broon, N. J., Bramante, C. M., Consolaro, A., Garcia, R. B., de Moraes, I. G., & Bernadineli, N. (2008). Mineral Trioxide Aggregate with or without Calcium Chloride in Pulpotomy. *Journal of Endodontics*, *34*(2), 172-175. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.joen.2007.09.015>
- Bortoluzzi, E. A., Broon, N. J., Bramante, C. M., Felipe, W. T., Tanomaru Filho, M., & Esberard, R. M. (2009). The Influence of Calcium Chloride on the Setting Time, Solubility, Disintegration, and pH of Mineral Trioxide Aggregate and White Portland Cement with a Radiopacifier. *Journal of Endodontics*, *35*(4), 550-554. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.joen.2008.12.018>
- Darvell, B. W., & Wu, R. C. T. (2011). "MTA" —An Hydraulic Silicate Cement: Review update and setting reaction. *Dental Materials*, *27*(5), 407-422. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.dental.2011.02.001>
- Gandolfi, M. G., Taddei, P., Siboni, F., Modena, E., Ciapetti, G., & Prati, C. (2011). Development of the foremost light-curable calcium-silicate MTA cement as root-end in oral surgery. Chemical-physical properties, bioactivity and biological behavior. *Dental Materials*, *27*(7), e134-e157. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.dental.2011.03.011>
- Kang, M. L., Jiang, H.-L., Kang, S. G., Guo, D. D., Lee, D. Y., Cho, C.-S., & Yoo, H. S. (2007). Pluronic® F127 enhances the effect as an adjuvant of chitosan microspheres in the intranasal delivery of Bordetella bronchiseptica antigens containing dermonecrototoxin. *Vaccine*, *25*(23), 4602-4610. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.vaccine.2007.03.038>
- Moreno, E., Schwartz, J., Larrañeta, E., Nguewa, P. A., Sanmartín, C., Agüeros, M.,... Espuelas, S. (2014). Thermosensitive hydrogels of poly(methyl vinyl ether-co-maleic anhydride) – Pluronic® F127 copolymers for controlled protein release. *International Journal of Pharmaceutics*, *459*(1-2), 1-9. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpharm.2013.11.030>
- Nie, S., Hsiao, W. L. W., Pan, W., & Yang, Z. (2011). Thermoreversible Pluronic® F127-based hydrogel containing liposomes for the controlled delivery of paclitaxel: in vitro drug release, cell cytotoxicity, and uptake studies. *International Journal of Nanomedicine*, *6*, 151-166. doi: [10.2147/IJN.S15057](http://dx.doi.org/10.2147/IJN.S15057)
- Parirokh, M., Asgary, S., Eghbal, M. J., Kakoei, S., & Samiee, M. (2011). A Comparative Study of Using a Combination of Calcium Chloride and Mineral Trioxide Aggregate as the Pulp-capping Agent on Dogs' Teeth. *Journal of Endodontics*, *37*(6), 786-788. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.joen.2011.03.010>

Wenzel, J. G. W., Balaji, K. S. S., Koushik, K., Navarre, C., Duran, S. H., Rahe, C. H., & Kompella, U. B. (2002). Pluronic® F127 gel formulations of Deslorelin and GnRH reduce drug degradation and sustain drug

release and effect in cattle. *Journal of Controlled Release*, 85(1-3), 51-59. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S0168-3659\(02\)00271-7](http://dx.doi.org/10.1016/S0168-3659(02)00271-7)