

다공성 폴리(ϵ -카프로락톤)/실리카 복합체의 제조 및 특성평가

손시원 · 최지은 · 조 훈 · 강대준 · 이득용[†] · 김진태* · 장주웅**

대림대학교 의공융합과, *네오바이오텍 치과재료연구소, **셀루메드 생체재료의공학연구소
(2014년 9월 2일 접수, 2014년 9월 18일 수정, 2014년 9월 20일 채택)

Synthesis and Characterization of Porous Poly(ϵ -caprolactone)/Silica Nanocomposites

Siwon Son, Ji-Eun Choi, Hun Cho, DaeJun Kang, Deuk Yong Lee[†], Jin-Tae Kim*, and Ju-Woong Jang**

Department of Biomedical/Materials Engineering, Daelim University, Anyang 431-715, Korea

*R&D Center, Neobiotech Co., Ltd., Seoul 152-789, Korea

**R&D Laboratory, Cellumed Co., Ltd., Seoul 153-782, Korea

(Received September 2, 2014; Revised September 18, 2014; Accepted September 20, 2014)

초록: 졸-겔법을 이용한 전기방사법과 캐스팅법으로 폴리(ϵ -카프로락톤)(PCL) 나노섬유와 PCL/실리카 막을 각각 제조하였다. 용매에 *N,N*-dimethylformamide(DMF)를 혼합한 경우 부드럽고 연속적인 PCL 나노섬유가 제조되었다. PCL 지지상에 tetraethyl orthosilicate(TEOS) 농도가 0에서 40 vol%로 증가함에 따라 PCL/silica의 강도는 12에서 8 MPa로 감소하였지만, 7주까지 phosphate buffered saline solution(PBS) 침지에 따른 강도값의 변화는 없었다. 실리카 첨가에 따른 인장강도의 감소는 기공도의 증가에 기인하였다. PCL/실리카 막의 결정구조는 사방정계로 실리카 농도가 0에서 40 vol%로 증가함에 따라 crystallite 크기는 57에서 18 nm로 감소하였다. 세포독성 실험결과, PCL/실리카는 시편의 수축 및 변형이 없고, 검체 주위에서 변색이나 L-929 세포의 이상이 관찰되지 않는 무독성이었다.

Abstract: Poly(ϵ -caprolactone) (PCL) nanofibers and PCL/silica membranes were synthesized by sol-gel derived electrospinning and casting, respectively. Smooth PCL nanofibers were obtained from the precursor containing *N,N*-dimethylformamide (DMF). PCL/silica membranes were prepared by varying the tetraethyl orthosilicate (TEOS) contents from 0 to 40 vol% to investigate the effect of silica addition on mechanical properties and cytotoxicity of the membranes. Although the strength of the membranes decreased from 12 to 8 MPa with increasing the silica content, the strength remained almost constant 7 weeks after dipping in phosphate buffered saline solution (PBS). The strength reduction was attributed to the presence of a patterned surface pores and micro-pores present in the walls between pores. The crystal structure of the membranes was orthorhombic and the crystallite size decreased from 57 to 18 nm with increasing the silica content. From the agar overlay test, the PCL/silica membranes exhibited neither deformation and discoloration nor lysis of L-929 fibroblast cells.

Keywords: membrane, poly(ϵ -caprolactone), silica, pore, cytotoxicity.

서 론

자연 뼈는 콜라겐 지지상에 HA(hydroxyapatite, $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$)의 복합체로 구성되어 있고 단순한 세라믹에 비해 유연성이 우수하다.¹ HA는 뼈의 주성분으로 조직과 생체 내에서 생체친화성이 우수하다. 특히, 세포배양에서 세포지지체로서 골아세포를 비롯하여 각종 세포의 기질배양용 소재로 응용된다. PCL(poly(ϵ -caprolactone), $(\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_2)_n$)은 생분해성 및 생체적합성 고분자로 에스테르기의 $(-\text{COO}-)$ 존재로 가수분해되어 체내에서 완전 방출 후, 별도의 제거과정 없이 사용

이 가능하다.¹⁻⁷ 하지만, PCL은 세포의 증식과 이동, 재생하려는 조직세포의 표면점착과 분화에 영향을 미치는 세포 친화성(affinity)과 강성(stiffness)이 낮은 문제점을 갖고 있다. 상기 문제점을 해결하기 위하여 PCL에 생체활성(bioactive) 무기질 재료인 calcium phosphate($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$)나 생체유리를 복합화하는 방법이 사용되고 있다. 최근에는, 상온에서 졸-겔법을 이용한 PCL/실리카 하이브리드(hybrid) 복합체가 널리 사용된다. 실리카는 다공성 구조로서 높은 소결온도가 요구되는 무기재료와 달리 생체적합성이 우수하여 약물(drug) 및 성장인자(growth factor) 전달에 적합하다.^{2,3} 실리카 나노입자는 유사체액(SBF, simulated body fluid) 하에서 HA 생성과 PCL/실리카 복합체의 기계적 특성 향상에 기여한다고 발표되었다.¹ 실리카 나노입자는 calcium phosphate의 핵생성(nucleation)

[†]To whom correspondence should be addressed.

E-mail: dylee@daelim.ac.kr

©2015 The Polymer Society of Korea. All rights reserved.

site 역할을 하여 HA 생성을 촉진시키는 것으로 보고되었다.¹

본 연구내용은 크게 세 가지로 첫 번째는 PCL을 이용하여 나노섬유를 제조하고 가장 적합한 용매를 선택하였다. 두 번째로는 PCL의 생체적합성 특성을 증진하고자 최적화된 용매를 이용한 졸-겔법으로 PCL/실리카 하이브리드 막을 제조하였다. 마지막으로 실리카 농도에 따른 PCL/실리카 복합체의 기계적 특성 및 생물학적 안정성을 평가하였다.

실 험

PCL 나노섬유 제조. PCL(Mw=80000, Sigma-Aldrich, USA)과 용매로 DCE(1,2-dichloroethane, ACS reagent, >99%, Sigma-Aldrich, USA), 클로로포름(>99.8%, Sigma-Aldrich, USA)을 비용매로 DMF(*N,N*-dimethylformamide, 99.5%, Junsei, Japan)를 사용하였다.⁵ PCL 나노섬유용 용액은 PCL/(용매+비용매) 중 PCL을 중량비로 8~16%가 되도록 하고, 용매중 용매/DMF의 부피비는 75/25로 하여 전기방사용 졸을 제조하였다.

PCL 나노섬유는 전기방사법을 이용하여 제조하였다. 전기방사장치는 주사기 펌프(KDS-200, Stoelting Co., USA), 22-게이지 B-D 스테인리스 주사바늘, 콜렉터(collector), 고전압 발생 장치(ES30P-5W, Gamma High Voltage Research Inc., USA)로 구성되어 있다. 전기방사용 졸은 5 mL B-D Luer-lok 주사기를 통해 주사기 펌프의 0.003~0.5 mL/h의 속도로 금속 노즐로 공급되어 진다. 자세한 실험방법은 참고문헌에 언급되어 있다.⁸⁻¹⁰

PCL/실리카 막 제조. PCL 분말 8 g을 30 mL DCE와 10 mL DMF의 혼합용액에 용해하여 PCL 용액을 제조하였다. 실리카 졸은 TEOS(tetraethyl orthosilicate, 98%, Si(OC₂H₅)₄, Sigma-Aldrich, USA), 증류수, 에탄올을 몰비(molar ratio) 1:1:1로 하여 혼합하고 1 N HCl 촉매를 1% 첨가하여 2 시간 교반하였다. 최종 졸은 PCL 졸 대비 TEOS를 부피비로 0, 20, 30, 40% 첨가하여 멤브레인용 PCL/실리카 졸을 제조하였다. PCL/실리카 졸은 석영판 위에 blade를 이용하여 casting 하고 상온에서 12시간 건조하여 PCL/실리카 막을 제조하였다.

PCL/실리카 막 물성 평가. 건조된 막은 열분석기(Netzsch STA 409 PC/PG, Germany)를 이용하여 200 °C까지 10 °C/min 승온속도로 중량 및 열변화(TG/DSC) 측정하였다. 실리카 함량에 따른 결정구조 및 조직변화를 관찰하기 위하여 XRD(X-ray diffraction, Mac Science, KFX-987228-SE, Japan)와 SEM(scanning electron microscope, Hitachi S-3000H, Japan)을 이용하였다.

막의 기계적 특성인 인장강도는 35×2×0.1 mm³ 크기 시편을 준비하여 만능시험기기(ElectroPlus E1000, Instron, USA)를 이용하여 건조강도(dry strength)와 젖음강도(wet strength)를 측정하였다.⁴ 젖음강도는 37 °C PBS(phosphate buffered

saline solution) 40 mL에 침적하여 7주까지 시간별로 건조강도와 동일한 방법으로 측정하였다. 분해능과 팽윤도는 시편(30×30 mm²) 무게가 0.3 g이 되도록 준비하여 37 °C PBS 20 mL에 침적한 후 7주까지 시간별로 무게 변화를 측정하여 평가하였다.¹¹⁻¹³

PCL/실리카 세포독성 평가. PCL은 독성이 없고 에스테르기의 존재로 가수분해되어 체내에서 별도의 제거과정없이 사용이 가능한 생분해성 고분자이다. 생분해성 PCL에 TEOS 함량에 따른 시편의 생물학적 안정성을 평가하고자 한천확산 방식인 세포독성실험을 ISO 10993:5:2009와 의료기기 생물학적 안전에 관한 공통기준규격(식품의약품안전청고시 제 2014-115호)에 의거 수행하였다.¹²⁻¹⁴ 세포주로는 L-929(CCL-1, ATCC, USA)를 사용하였고, 양성 및 음성 대조군으로는 0.1% zinc diethyldithiocarbamate가 함유된 폴리우레탄 필름(RM-A, Hatano Research Institute, Japan)과 고밀도 폴리에틸렌 필름(RM-C, Hatano Research Institute, Japan)을 각각 사용하였다.

결과 및 토론

PCL 나노섬유. PCL/실리카 막을 제조하기 전에 PCL 특성을 조사하기 위하여 다공성 막 제조가 가능한 PCL 나노섬유를 제조하였다. PCL 용매로 클로로포름과 DCE(dichloroethane)를 사용하였고, 비용매로는 DMF(dimethylformamide)를 사용하였다. 용매/비용매 부피비는 75/25로 하였다.⁵ 나노섬유 실험결과를 Figures 1과 2에 나타내었다. PCL 용매로 클로로포름만 사용 시 나노섬유가 관찰되지 않았다. 하지만, 용매인

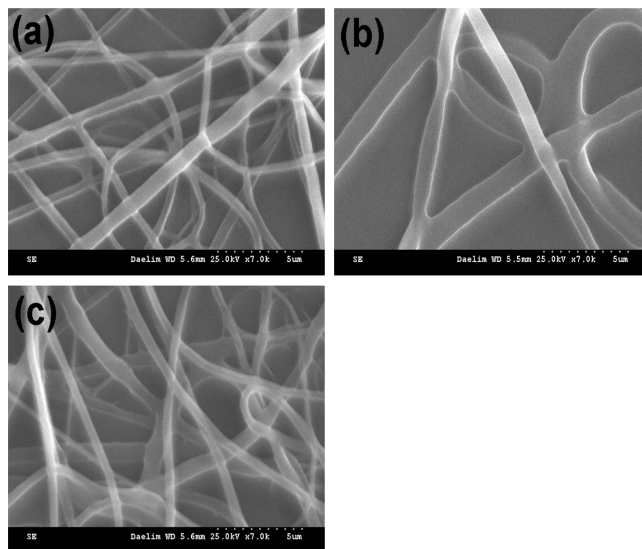


Figure 1. Effect of flow rate on the morphology of 12% (w/v) PCL/solvent [dichloroethane/DMF=75/25(v/v)] nanofibers. Note that flow rates are (a) 0.003 mL/h; (b) 0.005 mL/h; (c) 0.007 mL/h.

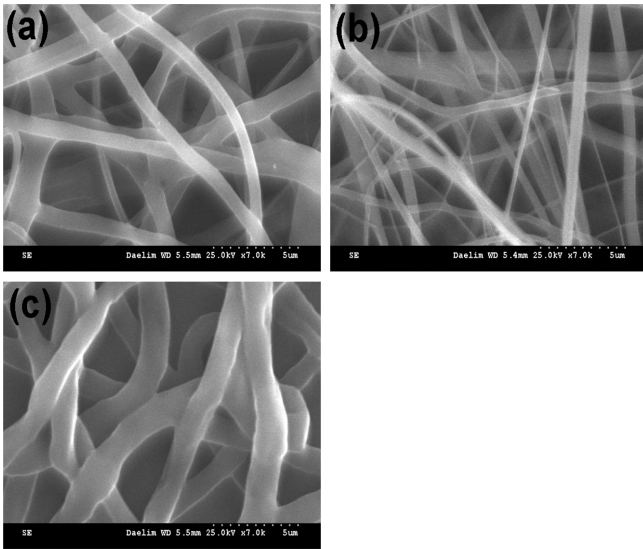


Figure 2. Effect of flow rate on the morphology of 12% (w/v) PCL/solvent [chloroform/DMF=75/25(v/v)] nanofibers. Note that flow rates are (a) 0.005 mL/h; (b) 0.05 mL/h; (c) 0.5 mL/h.

클로르포름이나 DCE를 비용매인 DMF와 75/25 부피비로 혼합하여 제조 시 Figures 1과 2에서 보는 것처럼 부드럽고 연속성을 가진 나노섬유가 관찰되었다. 나노섬유 제조 시 1.875 kV/cm 전기장 하에서 flow rate를 0.003에서 0.007 mL/h로 변화시킨 결과, flow rate의 변화량이 작아 나노섬유 직경의 큰 차이는 관찰되지 않았다. 하지만, Figure 2에서 보는 것처럼 flow rate를 0.005에서 0.5 mL/h로 급격하게 증가시킨 결과, 나노섬유의 직경도 증가하였다. 실험결과, 비용매인 DMF 첨가가 PCL 나노섬유 형성에 지대한 영향을 미치는 것으로 관찰되었다.

PCL/실리카 막의 물성. PCL 전구체의 최적의 용매조건은 DCE/DMF의 75/25 부피비였다. PCL 전구체에 실리카 졸을 첨가하여 PCL/실리카 복합 막을 제조하였다. Solution casting법으로 제조한 PCL/실리카 막의 열분석 결과는 Figure 3에 나타내었다. PCL에 TEOS를 0%에서 40%까지 부피비로 첨가함에 따라 DSC의 heat flow의 흡열피크에서 보이는 것처럼 용융온도(T_m)는 65.2에서 62.5 °C로 감소하였고, TG 곡선의 급격한 무게 감소가 관찰되었다. 또한 PCL 기지상에 첨가하는 실리카 농도가 PCL/실리카 복합체 용융온도에 영향을 미치는 것으로 관찰되었다. PCL/silica 막 결정구조는 XRD를 이용하여 10~60° 범위에서 분석하였다. 2 θ 가 21.4, 22.0, 23.7°에서 사방정계(orthorhombic crystal) 결정구조를 가진 PCL (110), (111), (200) 면의 XRD 피크가 Figure 4에서 관찰되었다.⁶ TEOS 농도가 증가함에 따라 2 θ 가 낮은 각도로 전이되고, XRD 피크 면적은 점점 넓어지는 것이 관찰되었다. TEOS 농도가 0에서 40 vol%로 증가함에 따라 21.16°의 Si XRD 피크(JCPDS 01-0787)의 영향으로 PCL/실리카 막의

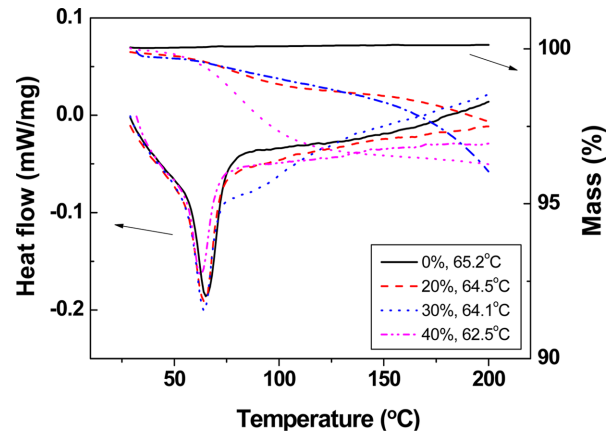


Figure 3. TG/DSC curves of the PCL/silica composite membranes having different TEOS concentrations.

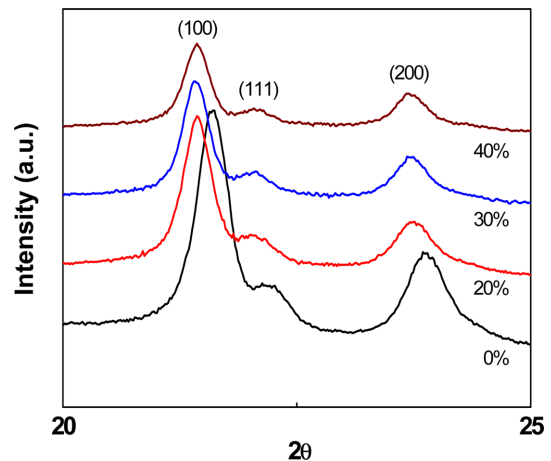


Figure 4. XRD patterns of the PCL/silica membranes having different TEOS concentrations. Note that PCL contains three strong reflections at $2\theta=21.4^\circ$, 22.0° , and 23.7° , corresponding to the (110), (111), and (200) planes of orthorhombic crystal.

XRD 피크가 21.6에서 21.4°로 변화했다. Bragg 법칙($d_{hkl}=\lambda/2\sin\theta$)에 의거하면, 2 θ 가 낮은 각도로 이동한 것은 (hkl) 면간 거리가 증가한 것을 의미한다. XRD 실험결과, 사방정계의 결정구조가 유지된 것으로 보아 PCL 격자에 TEOS의 Si 첨가가 격자상수(면간거리)의 변화를 초래하지는 못하였다. 하지만, 첨가된 Si이 PCL의 성장을 효과적으로 억제하여 2 θ 가 감소한 것으로 사료된다. PCL (110) XRD 피크 면적의 증가는 PCL 결정 크기와 결정성이 TEOS 첨가에 따라 감소하였다.¹⁵ Scherrer 수식을 이용한 PCL 결정 크기는 TEOS 농도가 0에서 40%로 증가함에 따라 57에서 18 nm로 감소하였다.

PCL/실리카 복합체 막 표면 조직 사진을 SEM을 이용하여 관찰하였다. Figure 5(a)에서 보는 것처럼, TEOS가 첨가되지 않은 PCL 시편의 표면에만 미세기공이 존재하고 매우 치밀하고 평활한 조직이 관찰되었고 PCL 시편 내부에는 기공이

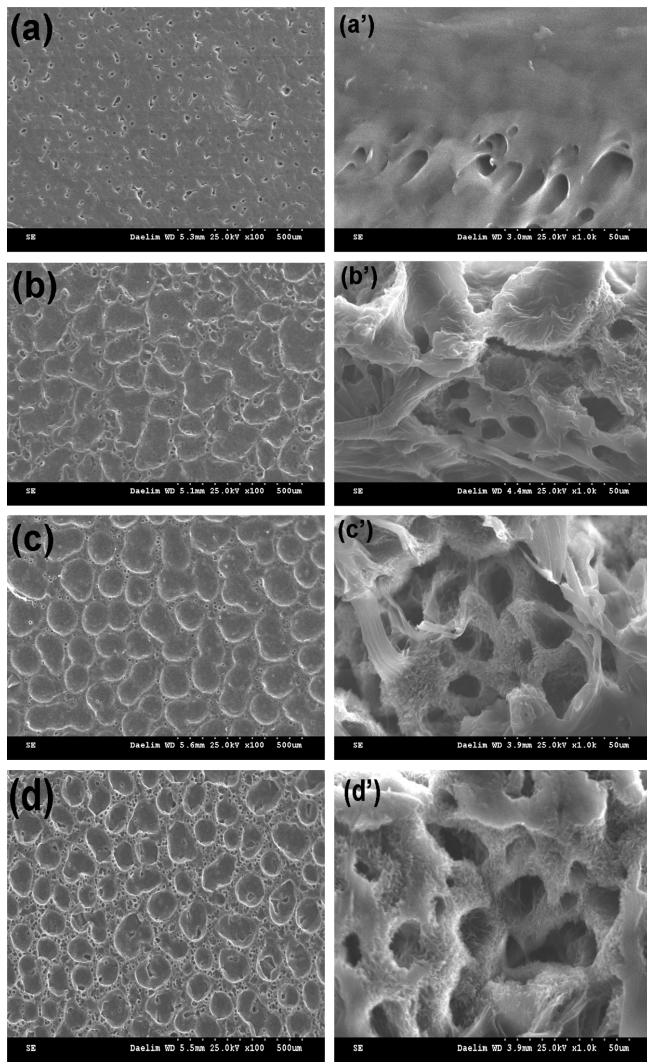


Figure 5. SEM images of the surfaces (a-d) and the cross-sections (a'-d') of the PCL/silica membranes having different TEOS concentrations: (a)(a') 0 vol%; (b)(b') 20 vol%; (c)(c') 30 vol%; (d)(d') 40 vol%.

존재하지 않았다(Figure 5(a')). 하지만, TEOS가 첨가된 PCL/실리카 복합체 막은 pattern된 매크로 기공(macro-pore)이 표면에서 막 내부까지 형성된 다공체이었다. 매크로 기공의 형성은 선구체 용액 제조 시 첨가한 비용매(DMF, 에탄올, 증류수)가 시편 표면에서 느린 휘발속도(evaporation)와 TEOS의 가수분해 반응에 기인한다고 발표되었다.^{3,7} 높은 증기압을 가진 DCE 용매는 캐스팅 후 휘발되면서 실리카 성분이 분포된 PCL을 고상화한다. 상대적으로 휘발속도가 느린 비용매인 DMF가 내부 기공을 형성한다. PCL/실리카 막의 매크로 기공 크기는 TEOS의 농도가 증가함에 따라 감소하였으나, 기공간 벽의 두께는 증가하였고 두께 부분에 2~3 μm 크기인 마이크로 기공이 관찰되었다. 파단면의 두께부분은 마이크로 기공으로 인하여 딴플(dimple)이 관찰되었다. 실리카 조성별

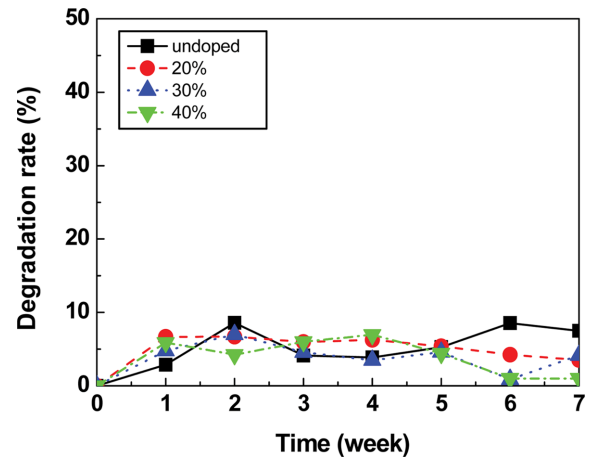


Figure 6. Degradation rates of PCL/silica membranes in PBS.

(20, 30, 40%) PCL/실리카 복합체 막 표면의 매크로 기공 크기는 Figure 5에서 보는 것처럼 130, 120, 90 μm로 감소하였다. 치밀한 구조를 가진 PCL은 세포 친화성이 낮지만 실리카는 반대로 생체활성 무기질 재료이다. PCL의 단점은 실리카를 첨가한 PCL/실리카 다공성 복합체를 제조하여 해결하였다. 기공의 존재로 PCL/실리카 막의 기계적 강도가 감소하였지만, 막 내부 구조를 다공체로 제조하여 세포 친화성과 약물전달 능력이 향상되었다. PCL/실리카 복합체 막의 매크로/마이크로 기공 존재는 골성장(bone ingrowth)에 매우 효과적인 것으로 보고되었다.^{7,16,17}

PCL/실리카 복합체 막의 분해능(degradation rate)을 측정하기 위하여 37 °C PBS에 침적하여 7주 동안 무게 감량을 조사하였다. 실험결과, Figure 6에서 보는 것처럼 7주까지 PCL에 실리카 첨가와 상관없이 유의한 무게 감량은 관찰되지 않았다. 하지만, PCL의 팽윤도는 3주까지 거의 변화가 없다가 4주부터 증가하였다. 증가한 이유는 Figure 5(a)에서 보는 것처럼 소수성 PCL 막 표면에 제조 시 발생한 기공 때문으로 추정된다. 20% 실리카가 첨가된 PCL/실리카 복합체는 6주까지 변화가 없다가 7주차에 팽윤도가 증가하였다. 실리카 첨가량이 증가함에 따라 팽윤도는 Figure 7에서 보는 것처럼 6주차에서 팽윤도의 증가가 관찰되었다. 40% 실리카가 첨가된 복합체의 7주차 팽윤도는 13%까지 증가하였다. 팽윤도의 증가는 TEOS를 0에서 40 vol% 첨가에 따라 기공도가 2.2에서 49.7%로 증가에 기인한 것으로 사료된다.

PCL/실리카 복합체 막을 7주간 PBS 용액 침지 후 젖음강도 실험결과 Figure 8에 나타나 있다. 실험결과, 침지시간과 실리카 조성에 상관없이 PCL/실리카 막의 인장강도 값의 큰 변화는 관찰되지 않았다. PCL 기지상에 실리카 농도가 0에서 40 vol%로 증가함에 따라 건조강도는 12에서 8 MPa로 감소하였지만, 침지시간에 따른 강도값의 변화는 크지 않았다. SEM에서 보는 것처럼 실리카 첨가에 따른 pattern된 기공간 벽에 존재하는 마이크로 기공과 기공도의 증가로 인하

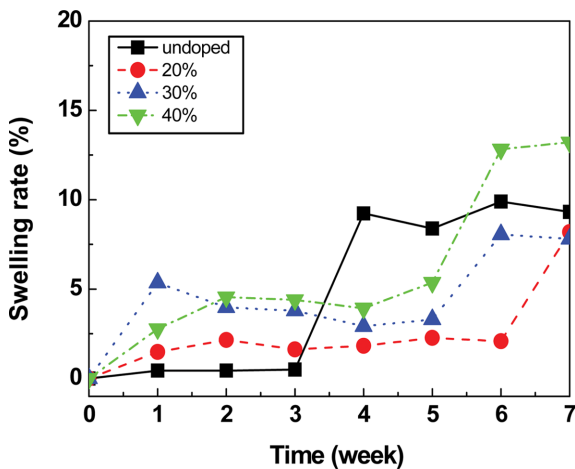


Figure 7. Swelling rates of PCL/silica membranes in PBS.

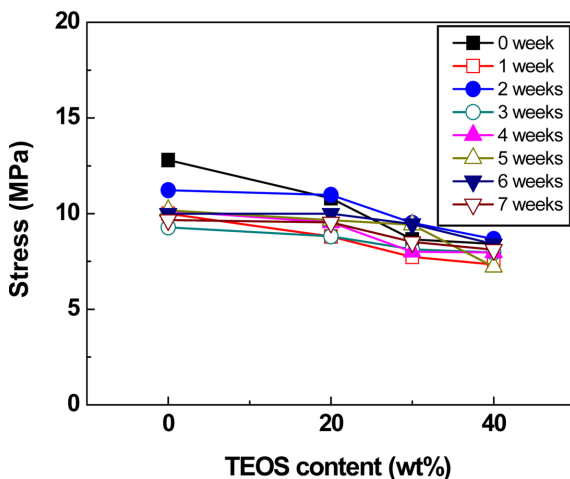


Figure 8. Tensile strength of PCL/silica membranes.

여 표면이 치밀한 PCL보다 PCL/실리카 막의 인장강도가 감소한 것으로 추정된다. 또한 Figure 6에서처럼 7주 동안 PBS에 침적한 후에도 분해능에서 유의한 무게감소가 없는 것처럼 강도값의 변화는 미미하였다.

PCL/실리카 막의 세포독성. 한천확산 방식에 의한 세포독성 시험은 24시간 후 PCL/실리카 시료를 제거하고 현미경을 통해 세포 모양 및 세포내 탈색변화를 관찰하였다.^{13,14} 모든 음성대조군에서 세포의 이상 및 탈색이 관찰되지 않는 cytotoxicity scale 0이었고 모든 양성 대조군에서는 세포의 이상 및 탈색이 발생하는 cytotoxicity scale 3으로 관찰되었다. 모든 PCL/실리카 시료에서 시료의 수축 및 변형이 일어나지 않았다. Figure 9에서 보는 것처럼 검체 주위에서는 변색이나 L-929 세포의 이상이 관찰되지 않았다. 세포의 이상 및 탈색 부위가 검체의 바로 밑에만 발생하는 세포독성 반응이 2등급으로 ISO 10993-5:2009 규정에 따라 PCL/실리카 막은 독성이 없는 것으로 검증되었다. 무독성인 PCL/실리카 복합체 막

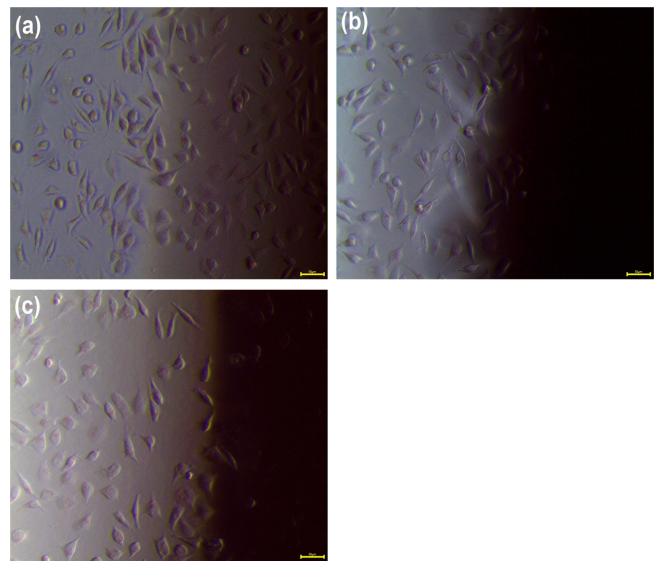


Figure 9. Agar overlay test: (a) PCL/20% TEOS; (b) PCL/30% TEOS; (c) PCL/40% TEOS showed neither discoloration nor lysis of L-929 fibroblast cells.

표면의 마이크로 기공 존재는 골성장에 효과적으로 약물전달용 스캐폴드 및 골 결손부의 차폐막으로 적용 가능하다.

결론

-PCL 용매로 클로로포름만을 사용 시 나노섬유는 생성되지 않았으나 용매인 클로로포름 혹은 DCE를 비용매인 DMF와 혼합하여 제조한 경우 부드럽고 연속성을 가진 PCL 나노섬유를 제조할 수 있었다.

-TEOS가 0에서 40%로 증가함에 따라 용융온도가 65.2에서 62.5°C로 감소하였으며 온도에 따른 무게 감소도 비례하여 일어나는 것이 관찰되었다.

-PCL 지지상에 TEOS 농도가 0에서 40 vol%로 증가함에 따라 PCL/실리카 막의 건조강도는 12에서 8 MPa로 감소하였지만, 7주까지 PBS 침지시간에 따른 건조 및 젖음강도 변화는 없었다.

-TEOS 첨가에 따른 pattern된 기공간 벽에 존재하는 마이크로 기공과 기공도의 증가로 인하여 표면이 치밀한 PCL보다 PCL/실리카 막의 인장강도가 감소하였다.

-PCL/실리카 막 결정구조는 사방정계 구조를 가진 PCL이었다. TEOS 농도가 0에서 40 vol%로 증가함에 따라 21.16°의 Si XRD 피크의 영향으로 PCL/실리카 막의 XRD 피크가 21.6°에서 21.4°로 변하였다. Scherrer 수식으로 측정한 결정 크기는 TEOS 농도가 0에서 40%로 증가함에 따라 57에서 18 nm로 감소하였다.

-한천확산 방식에 의한 세포독성 시험결과, PCL/실리카 시료에서 시료의 수축 및 변형이 일어나지 않았고, 검체 주위

에서 변색이나 L-929 세포의 이상이 관찰되지 않는 무독성이었다.

감사의 글: 본 연구는 중소기업청 기술혁신개발사업(과제 번호: S2087373)의 연구지원에 의하여 이루어졌으며 이에 감사드립니다.

References

1. L. Calandrelli, M. Annunziata, F. D. Ragione, P. Laurienzo, M. Malinconico, and A. Oliva, *J. Mater. Sci. - Mater. Med.*, **21**, 2923 (2010).
2. S. Park, K. Kim, B. Min, and S. Hong, *Polymer(Korea)*, **28**, 103 (2004).
3. K. Shin, Y. Koh, W. Choi, and H. Kim, *Mater. Lett.*, **65**, 1903 (2011).
4. S. Lee, J. Lee, S. Choi, K. Kim, K. Kim, and Y. Lee, *Korean Soc. Dent. Mater.*, **34**, 411 (2007).
5. J. P. Jeun, Y. M. Lim, and Y. C. Nho, *J. Ind. Eng. Chem.*, **11**, 573 (2005).
6. E. Chen and T. Wu, *Polym. Degrad. Stabil.*, **92**, 1009 (2007).
7. Z. G. Tang, R. A. Black, J. M. Curran, J. A. Hunt, N. P. Rhodes, and D. F. Williams, *Biomater.*, **25**, 4741 (2004).
8. D. Y. Lee, J. Kim, J. Park, Y. Kim, I. Lee, M. Lee, and B. Kim, *Curr. Appl. Phys.*, **13**, 1301 (2013).
9. D. Y. Lee, M. Lee, and N. Cho, *Curr. Appl. Phys.*, **12**, 1229 (2012).
10. W. J. Kim, Y. M. Shin, J. S. Park, H. J. Gwon, Y. S. Kim, H. Shin, Y. C. Nho, Y. M. Lim, and M. S. Chong, *Polymer(Korea)*, **36**, 124 (2012).
11. J. T. Kim, D. Y. Lee, Y. S. Oh, J. W. Bang, C. Hyun, T. Kim, and J.H. Choi, *Biomater. Res.*, **17**, 37 (2013).
12. J. Kim, D. Y. Lee, E. Kim, J. Jang, and N. Cho, *Tissue Eng. Reg. Med.*, **11**, 32 (2014).
13. J. Kim, D. Y. Lee, T. Kim, Y. Song, and N. Cho, *Met. Mater. Int.*, **20**, 555 (2014).
14. D. Kim, M. Lee, D. Y. Lee, and J. Han, *J. Biomed. Mater. Res. (Appl. Biomater.)*, **53**, 438 (2000).
15. D.Y. Lee, J. Park, Y. Kim, M. Lee, and N. Cho, *Curr. Appl. Phys.*, **14**, 421 (2014).
16. M. Hong, Y. H. Kim, D. Ganbat, D. Kim, C. Bae, and D.S. Oh, *J. Mater. Sci. - Mater. Med.*, **25**, 1991 (2014).
17. D. S. Oh, Y. H. Kim, D. Ganbat, M. Han, P. Lim, J. Back, F. Y. Lee, and H. Tawfeek, *Ceram. Intl.*, **39**, 8401 (2013).