

## Biomimetic 공정을 이용한 표면개질된 실리콘 기판상에서의 Hydroxyapatite 코팅

노현정, 최규웅, 조규진, 문일식  
순천대학교 화학공학과

Hydroxyapatite Coating on Surface Modified Silicon Wafer  
by Biomimetic Process

Hyun-Chung Noh, Gyou-Woong Choi, Gyou-Jin Cho, Il-Shik Moon  
Department of Chemical Engineering, Sunchon National University

### 서론

모든 생물은 늙어가면서 그 생물체를 이루고 있는 생체조직들이 낡게 되고 약해지기 마련이다. 이러한 자연 노쇠현상 이외에도 자동차 사고, 무기에 의하여, 연장의 사용중 또는 운동중 이들 생체 장기의 손상을 가져올 수도 있다. 이렇게 손상받은 장기의 기능을 일부나마 회복시키기 위하여 인간은 인공 생체 이식 재료를 생각하게 되었다. 이러한 생체재료는 복잡한 물리화학적, 생물학적, 의학적 문제들을 모두 만족시켜야 한다. 따라서 독성, 발암성 등 유해작용이 없어야 하며, 생체 조직과 좋은 친화성을 가져야 하고 주변의 조직과 강한 화학 결합을 이루어야 한다. 강도, 경도, 탄성 등 기계적 성질도 뼈와 같거나 그 이상의 성질을 가져야 하며 관절 재료의 경우 내마모성도 좋아야 한다<sup>1</sup>.

현재까지 주로 사용되어 온 생체 재료는 Stainless Steel, Co-Cr 합금, Ti합금 등 내부식성을 갖는 금속 재료나 PMMA, 고밀도 폴리에틸렌 등 생체 내에서 비교적 안정한 고분자 재료가 이용되었다. 그러나 금속재료들은 생체 조직과 좋은 친화성을 나타내지 못하고 고분자 재료는 내구성이 떨어지는 단점이 있다. 이에 반하여 바이오세라믹스는 생체가 갖고 있는 Ca, P, K, Na, Si 등의 원소로 이루어져 있기 때문에 일반적으로 독성이 없고 생체와의 친화성이 우수하다. 특히 최근에는 생체에 이식시켰을 경우 뼈나 살과 강한 화학결합을 이루는 성질 때문에 바이오 세라믹스에 대한 관심이 증대되고 있다.

바이오세라믹스는 HA[Hydroxyapatite,  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ ]와 TCP(Tricalcium phosphate, 인산3칼슘), 바이오글라스, 카본세라믹스, 알루미나 등이 있다. 이중 HA는 생체와 관계가 깊다. 예를 들면, 이의 에나멜질의 95% 이상이 이 물질이며, 뼈는 섬유성 단백질의 콜라겐과 약 65%의 HA의 복합체이다. 또한 인체 경조직의 무기질 성분으로서 생체조직에 높은 친화성을 가지고 있다<sup>2</sup>. 이는 HA가 체내에 이식되었을 때 계면에서 기존 조직과의 매우 빠른 생화학 반응이 일어나 단단한 계면 결합을 쉽게 형성하기 때문이다. 또한 우수한 이온교환을 가지면 인체조직을 구성하고 있는 성분 원소들과의 이온교환에 의해 생체친화성을 향상시킨다<sup>3,4</sup>.

따라서 본 연구에서는 기관의 표면을 생체 이식후, 단백질의 흡착과 세포점착 등의 문제점을 해결하는데 도움이 되는 silanated PEG(Poly ethyleneglycol)<sup>5</sup>로 개질시킨 후, 그 위에 HA를 코팅 하였다. 또한 기존의 HA 합성방법이 고온의 실험분위기와 고가의 재료, 설치비를 요구하며 합성되는 기간 또한 수달이 걸리는 단점을 보완하기 위하여 인체의 혈장과 유사 성분을 가진 SBF(Simulated Body Fluid)용액을 이용하여 생체와 유사한 분위기를 만들어 스스로 합성, 코팅되는 생화학모식공정을 통해 HA의 합성 및 기관위에 코팅하는 공정을 선택 함으로써 합성방법의 어려움을 줄이는 동시에 생체적합성 또한 뛰어난 HA 생체재료를 얻고자 한다.

### 실험재료 및 방법

#### 1. 실험재료

HA 성장을 위한 기관으로 실리콘 기관을 사용하였으며 m-PEG(poly(ethylene glycol) methylether : M.W. 5000, Aldrich), IPTS(3-isocyanatopropyltriethoxysilane, Aldrich), dibutyltin dilaurate(Cat.: $\geq 95\%$ , Aldrich)는 silanated PEG를 합성하는데 사용되었다. 벤젠(GC용:99.96%, FLAMMABLE), THF(증류해서 사용:99%, Aldrich), p-Xylene ( $\geq 99.99\%$ , Aldrich)은 각각 m-PEG 수분제거, silanated PEG의 합성, 표면개질에 용매로 사용되었다. 헥산(95%, J.T.Baker)은 합성된 silanated PEG를 침전시키는데 사용하였다. NaCl, NaHCO<sub>3</sub>, KCl, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>·3H<sub>2</sub>O, MgCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O, CaCl<sub>2</sub>, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>는 SBF 용액을 제조하는데 모두 Aldrich 제품을 사용되었다. tris-Base(tris(hydroxymethyl)aminomethane, 50mM)와 HCl(45mM)은 제조된 SBF용액의 pH를 맞추는데 사용되었다<sup>6</sup>.

## 2. silanated PEG 합성

합성에 필요한 m-PEG는 수분을 제거한 후 사용하였는데, 수분 제거 방법은 벤젠에 m-PEG를 넣고 단순증류장치를 이용해 12시간 동안 refluxing 한 다음 벤젠의 2/3정도를 제거하고, 남은 벤젠은 freeze dry를 통해 제거시켰다. silanated PEG 합성은 둥근바닥플라스크에 수분이 제거된 m-PEG를 증류된 THF에 넣고 IPTS와 촉매를 넣고 계속 교반하면서 48 시간동안 질소 분위기에서 반응하였으며 silanated PEG는 헥산을 이용해 침전시켜 얻을 수 있었다. 침전된 silanated PEG는 다시 헥산으로 세척한 후 진공데시케이터에서 건조시킨다<sup>7</sup>.

## 3. 기관수식방법

실리콘 기관은 HCl을 이용해 표면 산처리 한후, 증류수로 세척하여 실온에서 건조시켜 사용하였다. 건조된 기관과 silanated PEG를 100ml 둥근플라스크에 넣고 플라스크 안을 질소로 채운다음 용매로 사용된 p-Xylene을 넣고 12시간 동안 80°C로 refluxing 하여 기관의 표면을 개질시켰다. 실험과정은 모두 질소 분위기에서 진행되었다.

## 4. SBF용액 제조

기관위에 HA를 생화학모식공정을 통하여 코팅하기 위해서는 HA를 성장시킬 매체가 필요한데 그 매체로 SBF 용액을 사용하였다. SBF 용액은 인체의 혈장과 매우 유사한 물질로서 Table 1에 나타난 이온농도조성을 가지며 본 실험에서는 3배의 SBF 용액을 사용하였다. NaCl, NaHCO<sub>3</sub>, KCl, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>·3H<sub>2</sub>O, MgCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O, CaCl<sub>2</sub>, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 등을 CO<sub>2</sub> 가스를 버블링 해주면서 하나씩 증류수에 용해 시킨 후, tris-Base와 HCl 용액을 이용하여 pH를 7.4로 맞추어 실험하였다<sup>8</sup>.

Table 1 Ion Concentrations of Examined Fluids and human Blood Plasma

	Ion concentration(mM)							
	Na <sup>+</sup>	K <sup>+</sup>	Ca <sup>2+</sup>	Mg <sup>2+</sup>	Cl <sup>-</sup>	HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	HPO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>
SBF	142	5.0	2.5	1.5	148	4.2	1.0	0.5
3SBF	426	15.0	7.5	4.5	444	12.6	3.0	1.5
Blood plasma	142	5.0	2.5	1.5	103	27	1.0	0.5

## 5. HA 성장방법

처음에 제조된 3SBF 용액은 투명하지만 pH를 7.4로 맞추면 하얀 침전이 생긴다. 이 침전물과 함께 용액을 교반하면서 개질된 기관과 개질되지 않은 기관을 넣어 수일동안 두면서 HA의 성장 여부를 확인하였다. 체온과 유사한 37°C와 반응시간의 단축을 위하여 80°C에서 각각 하였으며 현재 실험이 진행중에 있다<sup>1</sup>.

## 6. 분석기기

silanated PEG의 합성은 NMR을 이용해 확인한다. 기관의 표면개질은 접촉각 측정으로 확인하고 AFM이미지를 통하여 표면변화를 확인한다. HA의 합성여부는 SBF 용액의 침전물을 건조시켜 FT-IR( $400-4000\text{cm}^{-1}$ )과 PXRD(CuK $\alpha$ )를 통해 확인할 수 있으며 기관에 코팅된 HA는 TF-XRD를 통하여 확인한다.

## 결과 및 토론

Fig.1은 합성된 silanated PEG의 NMR 결과이다. 클로로포름에 합성된 silanated PEG를 녹여 측정한 결과 각각  $\delta$  1.2(t,  $-\text{OCH}_2\text{CH}_3$ ), 1.6(m,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Si}$ ), 3.8(m,  $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n-$ ) 위치에서 silanated PEG를 확인할 수 있는 피크를 얻을 수 있었다. 세척과 산처리를 마친 실리콘 기관은 약  $40^\circ$  정도의 접촉각을 유지한다. 그리고 silanated PEG로 개질시킨 기관의 접촉각은 약  $60^\circ \sim 80^\circ$ 를 유지한다. 또한 Fig. 2의 AFM 이미지는 처리한지 않은 기관(a)과 silanated PEG로 개질된 기관(b)의 차이를 확연히 나타내어 표면 개질을 확인할 수 있다.

Fig. 3은 3SBF 용액의 pH 7.4에서 침전된 물질의 FT-IR 결과이다.  $1100\text{cm}^{-1}$ 과  $580\text{cm}^{-1}$  지점에서 P-O의 피크가 나타났으며,  $900\text{cm}^{-1}$ 에서는 carbonated apatite의 특성피크가 확인되었으며, 일반적인 HA의 특성피크를  $1450\text{cm}^{-1}$ 에서 확인할 수 있었다. 따라서 침전물이 calcium phosphates 계열의 물질이라는 것을 확인할 수 있었다. 또한 XRD 결과를 통하여서도  $32^\circ, 46^\circ, 53^\circ$  부근에서 HA[PDF No. 03-0747]의 특성피크를 확인할 수 있었다. 하지만 일반적으로 HA의 합성은 수일(10일 ~ 1년이상)의 시간이 소요되는 것이 일반적이거나, 본 연구의 결과는 4일간 진행된 것으로 HA의 특성피크가 매우 약하게 나타났다.

$80^\circ\text{C}$  3SBF용액에서 HA 성장시킨 기관의 TF-XRD 결과를 보면 표면의 Si 피크가 없어진 것을 확인할 수 있었다. 하지만 HA의 특성피크 또한 확인할 수 없었다. 이는 현재 기관위에 HA가 코팅이 되긴 하였으나 HA가 완전히 기관위에 형성되지는 않은 것으로 보여진다. 현재 시간을 늘려 기관위에 HA 성장에 대한 실험을 진행중에 있으며 앞으로 HA가 개질된 기관위에서 선택적으로 성장하는 조건을 찾아내어 실제 생체재료로서 사용될 수 있는 양질의 HA를 얻을 수 있을것으로 기대된다.

## 참고문헌

1. Feng-Huei Lin, Yao-Shan Hsu, Shih-Hsun Lin, Jui-Sheng Sun, *Biomaterials* 23, 4029-4038, 2002
2. Ivana Soten, Geoffrey A., Ozin, *Journal of Materials Chemistry*, 9, 2573-2582, 1999
3. Kyuseog Hwang, Jongeun Song, Boan Kang, Yeongjoo Park, *Surface and Coatings Technology* 123, 252-255, 2000
4. Wenjian Weng, J. L. Baptista, *Journal of materials science : Materials in Medicine*, 9, 159-163, 1998
5. Fu Zhang, E.T.Kang, K.G.Neoh, Peng Wang, K.L.Tan, *Biomaterials* 22, 1541-1548, 2001
6. Qing Liu, Jiang Ding, Francis K. Mante, Stephanie L. Wunder, George R. Baran, *Biomaterials* 23, 3103-3111, 2002
7. Seongbong Jo, Kinam Park, *Biomaterials* 21, 605-616, 2000
8. M. Stigter, K. de Groot, P. Layrolle, *Biomaterials* 23, 4143-4153, 2002

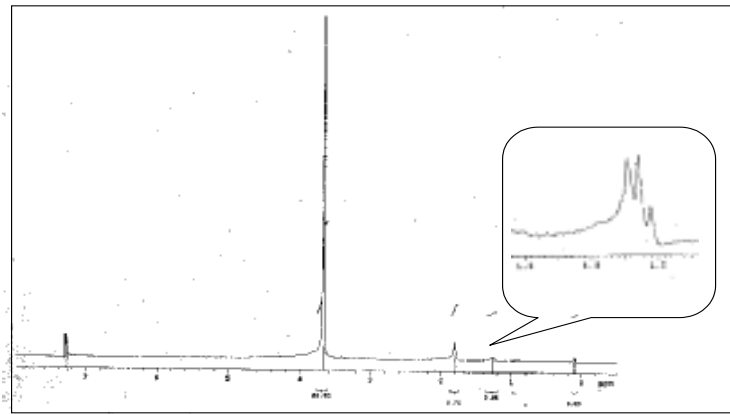


Fig. 1 NMR spectrum of silanated PEG

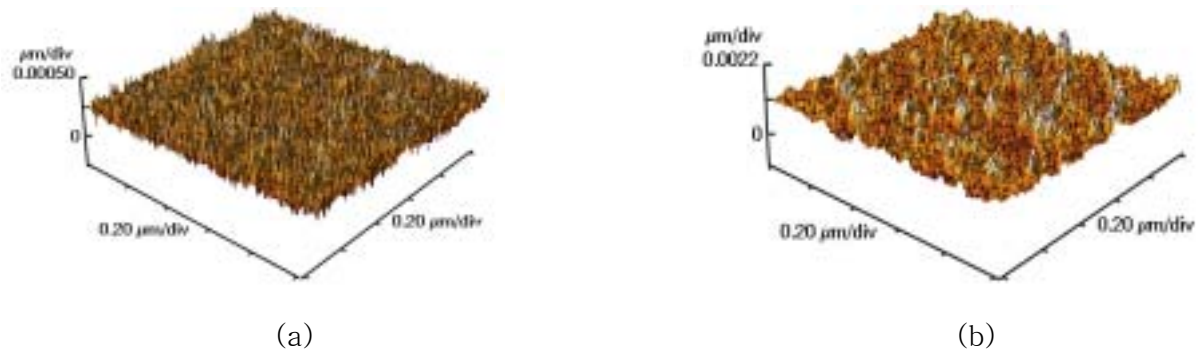


Fig. 2 AFM images of silicon wafers (a) bare , (b) modified with silanated PEG

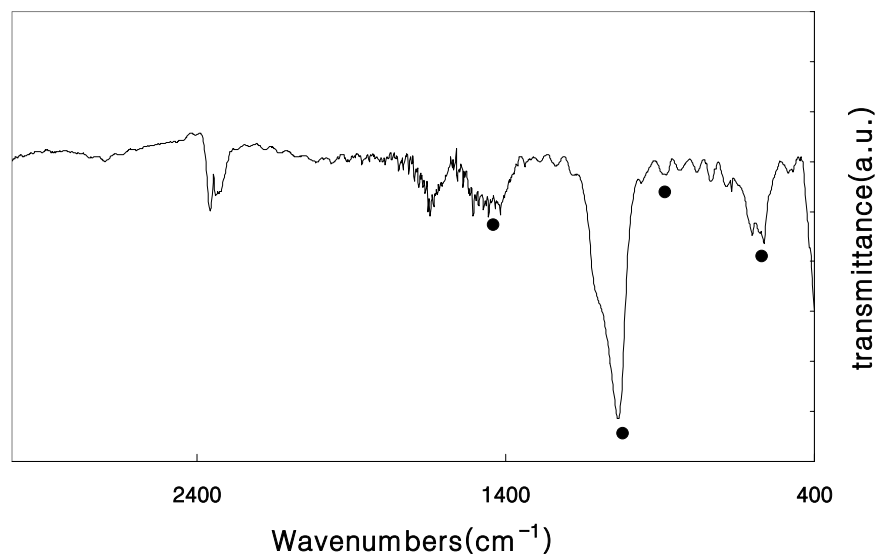


Fig. 3 FT-IR spectra of precipitate of 3SBF solution