

Diamond-like carbon 및 titanium nitride 박막의 혈액적합성 연구

윤주영 · 배진우* · 박기동* · 구현철** · 박형달*** · 정광화†

한국표준과학연구원 진공센터, *아주대학교 분자과학기술학과
(주)덴키스트 생체재료연구소, *특허청 약품화학심사담당관실
(논문접수일 : 2005년 3월 28일)

Study on blood compatibility of diamond-like carbon and titanium nitride films

Ju-Young Yun, Jin-Woo Bae*, Ki-Dong Park*, Hyun-Chul Goo**, Hyung-Dal Park***, Kwang-Wha Chung†

Vacuum center, Korea Research Institute of Standards and Science, Daejeon, 305-340

**Department Molecular Science & Technology, Ajou University, Suwon, 442-729*

***Dentkist, Inc. Biomaterials Research Institute, Gunpo, Gyeonggi, 435-831*

****Pharmaceutical Exam. Div., Korean Intellectual Property Office, Daejeon, 302-701*

(Received March 28, 2005)

요 약

의료용 임플란트의 혈액적합성 개선을 위하여 박막코팅에 대한 관심이 증대하고 있다. 특히 diamond-like carbon(DLC)과 titanium nitride(TiN) 박막은 우수한 화학, 물리적 성질은 물론 생체적합 특성까지 갖추고 있다. 따라서 이들 박막의 혈액 적합성과 물리적 특성과의 관계를 연구하기 위하여 박막표면의 모폴로지 및 젖음성과 fibrinogen 흡착 특성을 비교 분석하였다. 혈액응고 원인이 되는 fibrinogen의 흡착량은 DLC보다 TiN의 경우가 적어, 보다 우수한 특성을 보였으며, 이것은 TiN박막 표면의 높은 친수성으로 인한 것으로 판단된다. 박막표면의 fibrinogen 흡착을 줄이기 위해 플라즈마 처리 및 노(爐) 열처리를 각각 수행하였다. 산소 플라즈마 및 열처리를 하였을 경우 DLC 박막은 큰 효과가 없는 반면 TiN 박막의 경우 fibrinogen 흡착량이 크게 줄어 보다 개선된 결과를 보였다.

주제어 : 생체재료, 혈액적합성, 친수성, diamond-like carbon, titanium nitride

Abstract

There is an increasing interest in developing novel coating to improve the blood compatibility of medical implants. Diamond-like carbon(DLC) and titanium nitride(TiN) films have been proposed as potential biomedical coatings due to their chemical & physical properties and moderate biocompatibility. To study the correlation between blood compatibility and physical properties of the films, the fibrinogen adsorption on the surface as well as morphology & wettability were investigated. The quantity of fibrinogen adsorption are lower for TiN than DLC, which correlates with a higher hydrophilicity of TiN film. To reduce the quantity of fibrinogen adsorption on the film, plasma treatment and furnace annealing were performed, respectively. With the use of oxygen plasma and furnace annealing, the amount of fibrinogen adsorption on TiN film was remarkably reduced, while there was no decrease of the quantity with DLC.

Key Words : biomaterials, blood compatibility, hydrophilicity, diamond-like carbon, titanium nitride

1. 서 론

생체재료는 질병의 진단, 치료, 및 예방의 수단으로 생체조직에 직접 접촉하는 소재를 총칭하며 특히 손상되었거나 기능을 상실한 인체조직 및 기관을 대체하여 사용되는 인공조직 및 인공장기의 기본 재료이다. 생체재료의 요건은 첫째로 체내에서 생리학적 적합성(생체 적합성)이 양호하여야 하고, 둘째로 대체된 인체부위의 기능을 수행하여야 하며, 셋째로 기계적물성이 우수하여야 하고 동시에 체내에서 물성의 저하가 없어야 한다. 의료용 재료는 용도 즉 사용부위, 사용시간 및 필요기능에 따라 요구되는 특성이 다르며 크게 인공장기, 인공조직 및 치료용 제품으로 분류된다. 재료의 생체적합성이란 생체조직 또는 혈액과 접촉하여 조직을 폐사시키거나 혈액을 응고시키지 않아야 하는 조직적합성(tissue compatibility) 및 혈액적합성(blood compatibility)을 말한다 [1,2]. 특히 인공의 의료용 재료로 널리 사용되고 있는 스텐트, 인공심장 판막 등 혈액과 접촉하고 있는 경우 그 재료의 제작시 가장 문제되는 점이 혈액 적합성이다 [3]. 특히, 인공심장판막은 선천적 또는 후천적으로 결손된 심장 판막 대신 이식되어 사용된다. 이는 생체조직 판막 또는 티타늄 등의 금속재료로 만들어진 기계식 판막이다. 이 중 생체조직 판막은 생체적합성은 좋으나 석회화 등으로 인하여 체내 내구성이 떨어지는 단점이 있고, 기계식 판막은 내구성은 우수하지만 혈전이 생성되기 쉬운 문제가 있다 [4,5]. 또한, 스텐트는 혈관의 재협착을 방지하기 위하여 시술 후 혈관 내벽에 삽입되어 혈관을 지지하는 스프링 모양의 금속 이식물로서, 최근에 널리 사용되고 있다. 스테인레스 스틸, 탄탈륨, 티타늄, 티타늄 합금 등이 사용된다. 그러나, 스텐트 역시 혈전의 생성으로 인한 문제점을 내포하고 있다 [6-8]. 즉, 인공 보철물 등을 혈류내에 삽입시키게 되면, 혈액이 응고되어 의료용 장기 또는 부품의 기능이 저하되는 문제점이 발생된다. 이러한 생체재료의 항혈전성을 개선하기 위한 많은 노력이 있어 왔다. 그 중의 하나가 금속물질의 표면에 PEO(Poly Ethylene Glycol) 등의 고분자 또는 약제를 함유하는 고분자를 코팅하는 것이다 [9]. 그러나, 이러한 방법은 금속 표면

에 고분자 물질을 단순히 코팅시키는 것이기 때문에, 접착력이 우수하지 못하고 항혈전성 또한 응용하기에 적절한 수준은 아니다. 또한 그 공정이 복잡하고 생산 비용이 고가인 문제가 있다.

따라서 최근에는 재료의 혈액적합성을 개선하기 위하여 표면개질(surface modification)을 하는 연구들이 진행되고 있고 특히 스퍼터링(sputtering)이나 화학증착(Chemical Vapor Deposition) 등 진공증착법을 사용해 표면개질 하는 연구가 특히 주목을 받고 있다 [10,11]. 일반적으로 diamond-like carbon(DLC), silicon carbide(SiC), aluminum oxide(Al_2O_3) 및 titanium nitride(TiN) 등을 표면 진공증착하는 방법들이 보고되었으며 이 중에서도 DLC와 TiN 박막은 뛰어난 강도와 내마모성 등의 특성으로 의료용 코팅 박막재료로 소개되었고 최근에는 우수한 혈액적합성으로 주목을 받고 있다 [12-15]. 따라서 혈액과 접하게 되는 인공심장판막, 스텐트 등의 생체재료에 적용될 수 있을 것으로 기대되고 있다. 그러나 혈액적합성과 이들 재료특성과의 관련성 및 생체적합성 개선 등에 대해서는 많은 연구가 이루어지지 않고 있는 형편이다. 본 연구에서는 DLC와 TiN 박막을 진공증착하여 혈액적합성을 각각 비교하고 개선 방법에 대해 알아본다.

2. 실험 및 방법

DLC 박막은 stainless steel(AISI316L, 2 cm × 2 cm) 기판 위에 electron cyclotron resonance(ECR) chemical vapor deposition(CVD) 공정을 이용하여 증착하였다. Acetylene(C_2H_2)과 argon(Ar)을 0.6의 유량비로 넣고 microwave power는 400W에 고정하였다. 증착 중 bias voltage를 기판 홀더에 13.56 MHz의 rf power로 가하였다. 이러한 조건을 통하여 1 μ m 두께로 DLC박막을 증착하였다. 한편 TiN은 DC magnetron sputtering 방식을 사용, 350W의 파워에서, 같은 두께로 stainless steel 위에 증착하였다. 한편 증착된 샘플들은 각각 산소, 질소 플라즈마 (100 sccm, 600 W, 5분) 및 열처리 (500 °C, 30분)의 조건에서 각각 표면처리를 하였다. Fibrinogen 흡착실험을 통하여 이들의 혈액적합성을 *in-vitro* 테스트 하였다. 우선 샘플을 15 ml human

plasma fibrinogen(HPF) 용액(40g/ml)에 넣고 37°C에서 incubation 후 enzyme-linked immunosorbent assay(ELISA) 방법을 이용하여 표면에 흡착된 fibrinogen의 양을 검출하였다.

또한 접촉각 측정 및 atomic force microscope (AFM)와 X-ray photoelectron spectroscopy(XPS)를 이용하여 박막표면의 물리, 화학적 성질을 관찰하였다.

3. 결과 및 고찰

혈액과 접촉하는 인공장기 및 부품재료의 임상학적 주요 문제점은 혈액과 접촉시 혈액응고가 생겨, 혈전이 발생한다는 것이다. 생체내에서의 혈액은 응고와 용해 작용이 항상 평형을 이루고 있으며, 정상적으로 순환하고 있는 동안에는 혈전이 생성되지 않는다. 그러나, 생체재료 또는 혈액과 접촉하는 기구 등 여러 가지 원인으로 이러한 균형이 깨지면 혈전이 생성되어 혈관을 막게 되므로 결국은 혈액의 순환이 방해되어 조직으로의 영양분 및 산소공급이 중단되는 등의 심각한 상황이 발생한다 [16]. 그러므로 혈액에 접촉하는 기구나 생체재료 등이 혈액 또는 혈액 성분에 미치는 영향을 알아보기 위한 시험이 필요하다. 일반적으로 혈액응고 작용이 시작되면 혈액응고 인자인 fibrinogen이 활성화되어 혈전생성에 참여하게 된다. 따라서 표면에 흡착된 fibrinogen의 양을 측정하여 혈액적합성을 판단할 수 있다. 즉 흡착량이 적을수록 혈전형성이 적어 혈액적합성이 우수하며 반대로 흡착량이 많은 경우 혈액적합성은 나빠진다.

혈액적합성에 영향을 미치는 요인은 완벽히 밝혀지지는 않았지만 크게 두 가지 요인을 들 수가 있다. 첫째는 표면 모폴로지이다. 모폴로지가 거칠 경우 표면에 혈액단백질 등의 흡착이 쉬워 혈액응고를 일으켜 혈액적합성을 떨어뜨릴 수 있다 [14,17]. 또 하나는 재료표면의 친수성 정도이다. 우리 생체가 친수성이기 때문에 일반적으로 친수성이 좋지 않은 물질이 체내에 들어올 경우 혈전이 형성되기 쉬운 것으로 알려져 있다. 반면 실리콘같이 재료가 매우 소수성을 가질 경우에도 오히려 혈전이 응고되지 않는 보고도 있다 [18,19]. 따라서 혈전 응고

메카니즘은 매우 복잡하고 특히 이러한 관련 연구도 대개 유기, 고분자재료 등에 국한되어 있으며 무기, 금속박막의 표면의 경우 관련 연구가 매우 부족한 상황이다. 따라서 본 연구에서는 의료용 재료로 가능성이 높은 DLC 및 TiN 박막의 혈액적합성 실험 및 원인분석 노력을 하였다.

Fig. 1은 DLC와 TiN의 fibrinogen 흡착특성을 비교하였다. Fibrinogen 흡착평가 결과 stainless steel의 경우 9.4 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$, DLC의 경우는 12.9 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 의 fibrinogen이 흡착된 반면 TiN의 경우 7.2 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 흡착되어, 가장 우수한 특성을 보였다. 즉 탄소 성분 등으로 이루어진 DLC에 비해 TiN의 fibrinogen 흡착특성이 우수한 것을 확인하였다. 한편 TiN에 탄소성분이 함유된 TiCN을 증착하여 같은 실험을 하였을 때 TiN 보다 훨씬 높은 16.1 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 의 fibrinogen 흡착특성을 보였다. 반면 TiCN 위에 TiN을 이중박막으로 올린 경우는 6.4 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 의 흡착특성을 보였다. 즉 TiCN의 경우 흡착특성이 DLC와 큰 차이가 나지 않는 반면 TiCN위에 TiN박막을 이중으로 덮은 TiN/TiCN 박막의 경우는 TiN과 비슷한 좋은 특성을 보였다. 이러한 결과로 박막의 표면특성이 매우 중요하다는 것을 확인할 수 있었고 탄소 성분이 박막표면에 있을 경우 fibrinogen 흡착이 증가하며 표면에 TiN 성분만이 있을 때에 fibrinogen 흡착을 줄일 수 있음을 확인할 수 있었다.

일반적으로 표면이 거칠수록 fibrinogen같은 혈액 단백질들이 많이 흡착되는 것으로 알려져 있다 [17]. 따라서 DLC와 TiN의 fibrinogen 흡착특성

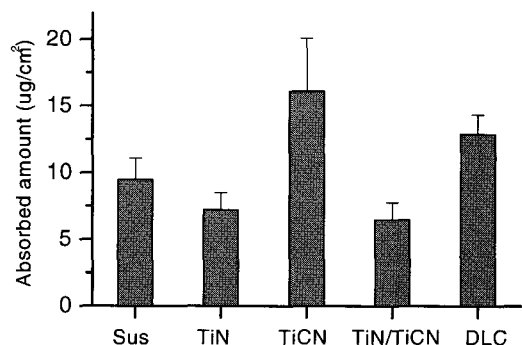


Fig. 1. The quantity of adsorbed fibrinogen on the films

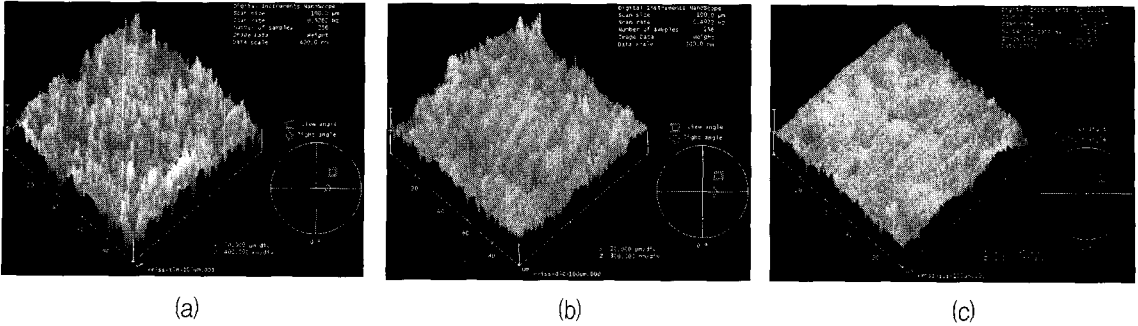


Fig. 2. AFM images of the films (a) TiN (b) DLC (c) Sus

차이의 원인분석을 위해 AFM을 이용, 모폴로지를 비교하였다(Fig. 2). TiN의 경우 root mean square (r.m.s.) 값이 107 Å 이었으나 DLC의 경우 67 Å로 상대적으로 표면이 매끈하였다. 즉 fibrinogen 흡착량이 더 적었던 TiN 표면이 오히려 거칠기 표면임이 관찰되어 표면 거칠기와 fibrinogen 흡착량은 별 관련이 없는 것으로 판단되었다. 특히 TiN 보다 fibrinogen의 흡착량이 많았던 stainless steel 표면 역시 r.m.s.값이 48 Å에 불과해 표면거칠기와 fibrinogen 흡착량은 관련성이 없는 것으로 판단된다. 이러한 원인은 fibrinogen 크기가 수 μm 나 되기 때문에 수십 Å 정도의 표면 거칠기 차이는 큰 영향을 주지 않았던 것으로 판단된다.

표면 친수성과 혈액적합성과의 관련성을 관찰하기 위하여 각각 박막표면의 접촉각을 측정하였다(Fig. 3). 관찰 결과 stainless steel 67°, DLC 66°이었고, TiN은 54°, TiCN 67°, TiN/TiCN 57°로 TiN이 stainless steel, DLC, TiCN 등에 비해 접촉각이

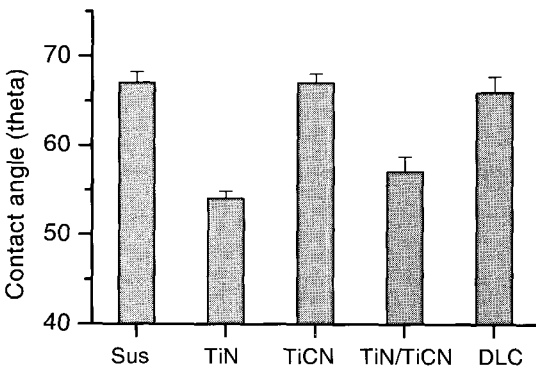


Fig. 3. Contact angles of the films

작아 친수성인 것으로 확인되었다. 이러한 친수성 결과는 Fig. 1의 fibrinogen 흡착특성 경향과도 일치하는 결과를 보였다. 즉 표면이 친수성일수록 fibrinogen 흡착이 억제되는 것으로 보인다. 이러한 원인은 TiN의 경우 표면에 Ti와 산소간에 결합력이 강하기 때문에 TiN표면에 다량의 산소가 흡착, 산화층이 되기 때문에 친수성이 향상되는 반면, DLC의 경우 carbon 성분이 주성분이라 Ti에 비해 산소와의 결합력이 약해 산화층 형성 등이 어려워 친수성이 좋지 못한 것으로 판단된다 [20,21].

Fig. 4는 DLC와 TiN의 XPS 깊이분석 결과이다. TiN의 경우 상대적으로 강한 Ti-O 결합피크가 확인된 반면 C-O 결합피크는 거의 존재하지 않았다. 이러한 결과는 Fig. 4의 친수성 실험 결과를 뒷받침해주는 것으로 TiN 표면에 다량의 산소가 함유, 표면이 산화, 친수성이 증가되어 fibrinogen 흡착이 억제되는 것으로 판단된다.

한편 TiN 표면에 더 많은 산화막을 형성하기 위해 플라즈마 처리 및 열처리를 한 후 각각 fibrinogen 흡착특성을 조사하였다(Fig. 5). TiN에 산소 플라즈마와 열처리를 한 경우 각각 4.6, 4.2 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 의 결과를 보여 표면산화처리를 하였을 때 보다 개선된 결과를 확보하였다. 반면 질소 플라즈마의 경우는 13.4 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 의 특성을 보여 오히려 처리하지 않은 경우보다도 더 특성이 나빠짐이 관찰되었다. 이것은 질소 플라즈마가 TiN 표면에 있는 기존의 산화막 층을 오히려 제거시킨 때문으로 보인다. 한편 DLC의 경우는 산소 플라즈마와 열처리를 각각 하였으나 별 효과가 없었다. TiN과 달리 DLC 표면은 주로 탄소 성분으로 이루어져 표면산화가 어

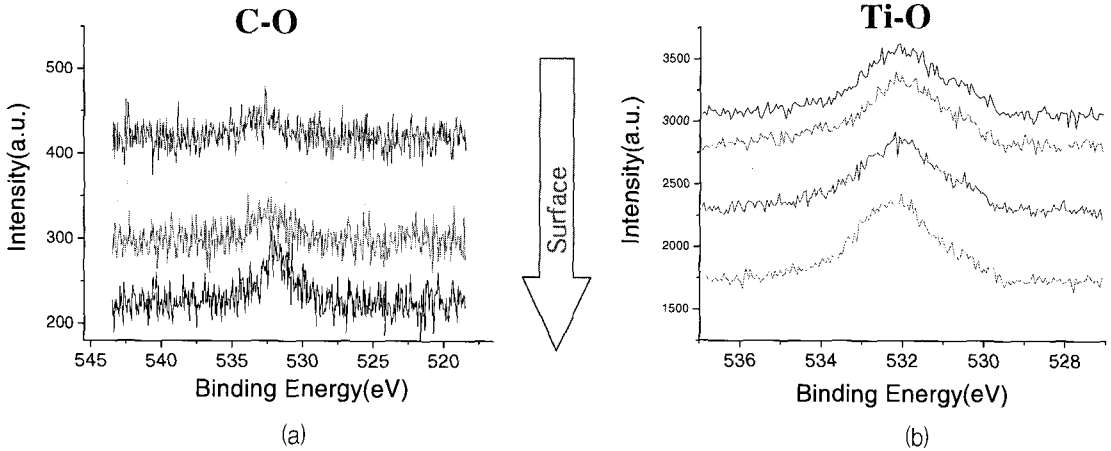


Fig. 4. XPS oxygen peaks of the films

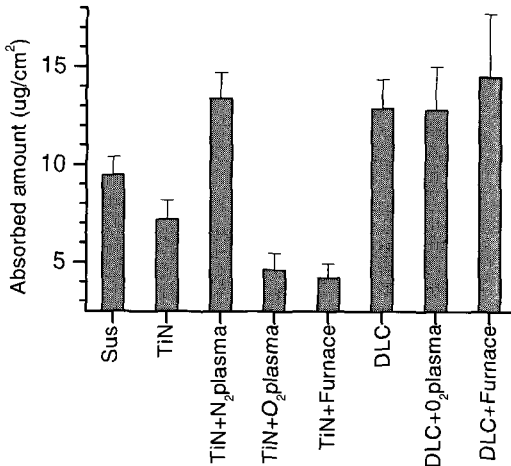


Fig. 5. The quantity of adsorbed fibrinogen on the films

러워 산소 플라즈마 처리 등에도 별다른 효과가 없는 것으로 판단된다. 이러한 표면 처리에 따른 fibrinogen 흡착특성에 대한 자세한 원인규명은 현재 연구 중이다.

4. 결 론

DLC와 TiN의 혈액 단백질 흡착 특성 비교결과 TiN에 더 적은 fibrinogen이 흡착, 보다 우수한 혈액적합성을 갖음이 확인되었다. 이러한 원인은 TiN의 경우 산소와의 결합력이 강해 표면에 쉽게 산화층이 형성, 친수성표면을 이루어, fibrinogen 흡착

을 억제하는 것으로 판단된다. 반면 DLC의 경우 대부분 조성이 탄소성분이라 표면 산화막 형성이 어려워 상대적으로 친수성이 저하, fibrinogen 흡착량이 높은 것으로 판단된다. 반면 모폴로지의 경우 fibrinogen 흡착에 큰 영향을 주지 못하는 것으로 관찰되었다. 한편 이러한 박막표면의 산화층 형성강화를 위해 산소 플라즈마나 열처리를 하였을때 TiN은 더욱 fibrinogen 흡착이 억제되는 것으로 확인되었으나 DLC의 경우 효과가 없었다. 즉, 의료용 임플란트 등에 유망한 코팅 박막재료인 DLC와 TiN의 혈액 적합성 평가 결과 TiN 박막이 보다 우수함을 확인하였다.

참 고 문 헌

- [1] S. Mändl and B. Rauschenbach, *Surface and Coatings Technology* **156**, 276 (2002).
- [2] Y. H. Kim, D. K. Han, K. D. Park, and S. H. Kim, *Biomaterials* **24**, 2213 (2003).
- [3] F. Z. Cui and D. J. Li, *Surface and Coatings Technology* **99**, 577 (2000).
- [4] K. D. Park, W. K. Lee, J. Y. Yun, D. K. Han, S. H. Kim, Y. H. Kim, H. M. Kim, and K. T. Kim, *Biomaterials* **18**, 47 (1997).
- [5] F. Zhang, X. Liu, Y. Mao, N. Huang, Y. Chen, Z. Zheng, Z. Zhou, A. Chen, and Z. Jiang, *Surface and Coatings Technology* **103-**

- 104, 136 (1998).
- [6] K. Christensen, R. Larsson, H. Emanuelsson, G. Elgue, and A. Larsson, *Thrombosis Research* **115**, 245 (2005).
- [7] E. Grenadier, A. Roguin, I. Hertz, B. Peled, M. Boulos, E. Nikolsky, S. Amikam, A. Kerner, S. Cohen, and R. Bayer, *Catheterization and Cardiovascular Interventions* **55**, 303 (2002).
- [8] H. T. Spijker, R. Graaff, P. W. Boonstra, H. J. Busscher, and W. van Oeveren, *Biomaterials* **24**, 4717 (2003).
- [9] O. F. Bertrand, R. Sipehia, R. Mongrain, J. Rodés, J. Tardif, L. Bilodeau, G. Côté, and M. G. Bourassa, *J Am Coll Cardiol.* **32**, 562 (1998).
- [10] S. Muhl and J. M. Méndez, *Diamond and Related Materials* **8**, 1809 (1999).
- [11] F. Z. Cui and D. J. Li, *Surface and Coatings Technology* **131**, 481 (2000).
- [12] O. Durand-Drouhin, M. Benlahsen, M. Clin, and R. Bouzerar, *Applied Surface Science*, ??? (2003).
- [13] H. Clemens, D. W. Schubert, G. Dehm, C. Scheu, J. L. Buttstaedt, *Applied Surface Science* **219**, 329 (2003).
- [14] F. Berme, J. Buttstaedt, and G. Emig, *Thin Solid Films* **377-378**, 755 (2000).
- [15] I. Tsyganov, M. F. Maitz, E. Wieser, E. Richter, and H. Reuther, *Surface and Coatings Technology* (2005).
- [16] K. M. Hansson, S. Tosatti, J. Isaksson, J. Wetterö, M. Textor, T. L. Lindahl, and P. Tengvall, *Biomaterials* **26**, 861 (2005).
- [17] N. Huang, P. Yang, Y. X. Leng, J. Y. Chen, H. Sun, J. Wang, G. J. Wang, P. D. Ding, T. F. Xi, and Y. Leng, *Biomaterials* **24**, 2177 (2003).
- [18] J. S. Cho, Y. W. Beag, S. Han, K. H. Kim, J. Cho, and S. K. Koh, *Surface and Coatings Technology* **128-129**, 66 (2000).
- [19] L. Sirghi, T. Aoki, and Y. Hantanaka, *Thin Solid Films* **422**, 55 (2002).
- [20] M. Takeuchi, Y. Onozaki, Y. Matsumira, H. Uchida, and T. Kuji, *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research, B* **206**, 259 (2003).
- [21] M. I. Jones, I. R. McColl, D. M. Grant, K. G. Parker, and T. L. Parker, *Diamond and Related Materials* **8**, 457 (1999).