

MoS₂ 코팅된 치과용 임플란트의 표면특성과 생체적합성

권민기¹ · 이준식² · 김미은² · 최한철^{3,†}

¹조선대학교 광기술공학과, 광주광역시 동구 조선대 1길 10

²조선대학교 생명과학과, 광주광역시 동구 조선대 3길 30

³조선대학교 치과대학, 광주광역시 동구 조선대길 7

(2024년 2월 9일 접수, 2024년 2월 22일 수정, 2024년 2월 23일 채택)

Surface Characteristics and Biocompatibility of MoS₂-coated Dental Implant

Min-Ki Kwon¹, Jun-Sik Lee², Mi Eun Kim², and Han-Cheol Choe^{3,†}

¹Department of Photonic Engineering, Chosun University, 10 Chosundae 1-gil, Dong-gu, Gwangju, 61452, Republic of Korea

²Department of Biological Science, Chosun University, 30 Chosundae 3-gil, Dong-gu, Gwangju, 61452, Republic of Korea

³College of Dentistry, Chosun University, 7 Chosundae-gil, Dong-gu, Gwangju, 61452, Republic of Korea

(Received February 09, 2024; Revised February 22, 2024; Accepted February 23, 2024)

The Ti-6Al-4V alloy is widely used as an implant material due to its higher fatigue strength and strength-to-weight ratio compared to pure titanium, excellent corrosion resistance, and bone-like properties that promote osseointegration. For rapid osseointegration, the adhesion between the titanium surface and cellular biomolecules is crucial because adhesion, morphology, function, and proliferation are influenced by surface characteristics. Polymeric peptides and similar coating technologies have limited effectiveness, prompting a demand for alternative materials. There is growing interest in 2D nanomaterials, such as MoS₂, for good corrosion resistance and antibacterial, and bioactive properties. However, to coat MoS₂ thin films onto titanium, typically a low-temperature hydrothermal synthesis method is required, resulting in the synthesis of films with a toxic 1T@2H crystalline structure. In this study, through high-temperature annealing, we transformed them into a non-toxic 2H structure. The implant coating technique proposed in this study has good corrosion resistance and biocompatibility, and antibacterial properties.

Keywords: Dental implant, MoS₂ surface coating, Corrosion resistance, Biocompatibility, Ti-6Al-4V

1. 서론

금속 생체 재료는 인간 몸의 경질 조직인 치아와 관절과 같은 부위에 사용되어 손상이 발생하기 쉬운 부위를 영구적으로 대체하는 데 사용되었다. 다양한 금속 생체 재료 중 우수한 생체적합성, 내식성, 화학적 안정성 등을 갖는 티타늄 합금이 치과용 임플란트 소재로 널리 사용되고 있다 [1]. 하지만 생체활성이 다소 낮기 때문에 인체 내에서의 골결합 특성을 높이기 위한 연구가 다양하게 진행되고 있다. 또한 티타늄 이식물 표면에 발생한 세균 감염은 환자의 통증, 지연된 치유 및 신규 골 형성 억제로 이어질 수 있다 [2]. 더 심각한 상황은 세균 바이오 필름의

형성으로, 이는 호스트 면역 체계와 일반 항생제 치료의 효과를 방해할 수 있다 [3]. 생체 활성을 높이고 세균 감염의 위험을 줄이기 위해서는 나노입자/로드 코팅, 항균 펩타이드 코팅, 고분자 코팅, 표면 개질 등 티타늄 기반 이식물의 표면 개조 방법이 연구되고 있다 [4-10]. 하지만 고분자, 펩타이드 등 일반적인 코팅의 경우에는 코팅의 효과가 짧은 시간 동안에만 유지되며, 분해가 8 ~ 12일 후에 발생한다고 보고되어 있어 치료 기간 동안 지속적인 효과를 얻기 어렵다 [11,12]. 또한 생체 활성을 위한 티타늄 재료의 표면 에칭 방법은 골유착 향상 등 장점이 있지만 세균 증식 및 바이오필름 형성뿐만 아니라 표면 단백질 층 형성에도 영향을 줄 수 있다는 단점이 있다. 따라서 이를 대체하기 위한 소재에 대한 연구가 요구되고 있다. 최근 전이 금속 이황화물(TMD:

[†]Corresponding author: hcchoe@chosun.ac.kr

권민기: 교수, 이준식: 교수, 김미은: 연구원, 최한철: 교수

Transition-metal dichalcogenide) 나노 물질은 우수한 전자, 화학 및 광학적 특성을 가지고 있어 다양한 응용 분야에서 활용 가능한 나노소재로 부상하였다 [13-17]. 특히, 수용액에서 고분자, 단백질 또는 DNA의 높은 흡착력은 TMD 나노소재가 다양한 생체 응용에 이르도록 하고 있다 [18,19]. 최근에는 TMD 나노소재가 다양한 산화 경로를 통해 직접 라디칼 종을 소거하는 항산화제로서의 역할을 하는 것이 밝혀졌다 [20]. 이를 이용한 TMD 물질의 임플란트 코팅은 생체활성을 촉진하고 세균 감염을 억제하는 효과를 얻을 수 있는 소재로 접근 가능하다. 그러나 TMD의 임플란트 적용에 대한 연구는 거의 없는 상태이다 [21,22].

본 연구에서 임플란트 표면에 코팅을 하기 위해서는 타이타늄의 변형을 억제하기 위해 고온이 필요한 화학기상증착법, 스퍼터링이 아닌 저온 박막 합성 및 코팅 기술이 요구되어 수열합성 방법을 이용한 TMD 합성이 필요하다. 하지만 수열합성된 TMD 박막은 금속의 1T (octahedral)를 갖게 되면 독성을 갖는다는 것이 알려져 있다 [23]. 따라서 2H (trigonal prismatic) 구조의 반도체상을 확보하는 것은 필수적이다. 연구에서는 TMD 물질 중 대표적인 물질인 이황화몰리브덴(MoS₂)에 대한 연구를 진행하였고 저렴하여 대량생산이 가능한 수열합성 및 drop-casting의 코팅방법으로 임플란트 표면에 코팅을 한 후 표면특성과 생체적합성을 조사하였다.

2. 실험방법

2.1 MoS₂ 합성제조

Fig. 1은 MoS₂ 합성 및 임플란트 표면에 코팅하는

과정을 보여준다. 코팅된 MoS₂는 수열 합성법으로 합성되었다. 수열 합성법은 금속염이나 산화물, 수화물 등을 현탁액 상태로 만들어 물질의 용해도, 압력, 온도, 농도 등으로 조절하여 원하는 결정을 성장시키는 방법이다. 먼저 Na₂MoO₄·2H₂O 0.15 g과 CH₃CSNH₂ 0.3 g을 DI water 50 mL 용액이 담긴 비커에 완벽히 용해 시켰다. 다음으로 수열합성 반응기에 200 °C의 온도로 26시간 동안 반응시킨 후 원심분리기를 통해 MoS₂만 따로 분리하였고 남은 용액은 폐기하였다. 분리된 MoS₂는 DI water 로 세척후 MoS₂의 결정 구조를 변화하기 위해서 원심분리된 MoS₂를 급속 고온 열처리 장비를 이용하여 700 °C에서 5분 동안 열처리를 진행하였다. 다음 열처리된 MoS₂와 DI water를 섞어 5000 rpm으로 교반하였고 Drop-casting 방법으로 Ti-6Al-4V 합금의 임플란트 나사 표면에 도포 하는 방식으로 코팅을 진행하였다.

2.2 코팅막의 표면분석

코팅된 표면은 Raman분석과 XRD (X-ray Diffraction)를 이용하여 표면특성 및 결정구조를 조사하였다. 광라만 분광계(XperRam_S, 나노베이스(주))는 올림푸스의 업라이트 현미경과 함께 사용되었습니다. 이 현미경은 40배의 오브젝티브, 0.65의 수치개통(NA), 그리고 Andor의 과학 등급 TE (Thermoelectric)냉각 CCD (Charge-Coupled Device)가 장착되어 있다. 라만 발광 파장은 532 nm로 설정되었으며, 출력은 100 mW, 적분 시간은 1초, 스펙트럼 해상도는 2.5 cm⁻¹로 설정되었다. 이번 연구에서 XRD 스펙트럼을 얻기 위해 사용한 회절기는 Bragg-Brentano 형태의 구조를 가진 고분해능 X선 회절분석기(X'pert Pro

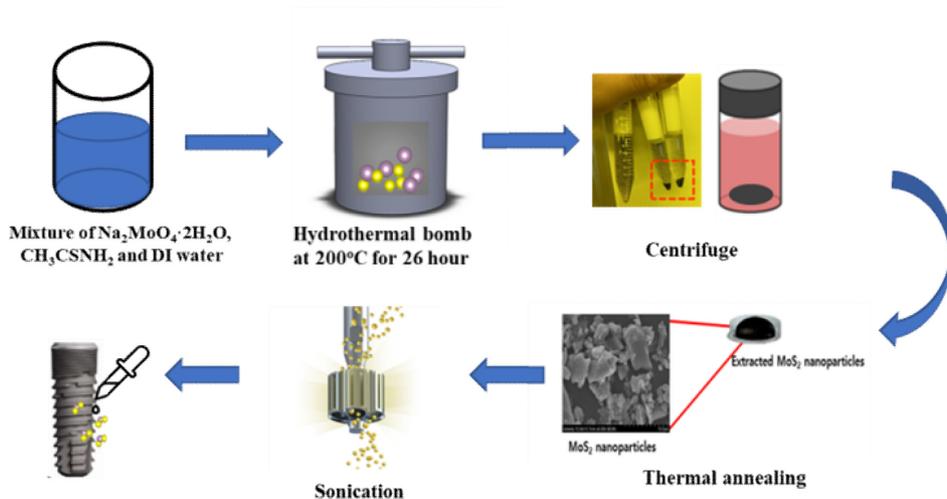


Fig. 1. Synthesis and coating of MoS₂

MRD) 장비를 이용하였다. Cu K- α (파장: 0.154 nm) X-선을 사용하여 측정 각도(2θ)에 따른 회절범의 강도를 측정하였다.

2.3 코팅표면의 부식특성 조사

시편의 부식 특성을 평가하기 위해 Potentiostat (PARSTAT MC, AMETEK, USA)을 사용하여 36.5 ± 1 °C의 일정온도에서 전위차(PDP: Power Delay Product) 및 AC (Alternating Current) 임피던스 시험을 하였으며 이때 부식액은 0.9% NaCl용액을 사용하였다. 고밀도 탄소를 보조전극으로, 포화 칼로멜 전극(SCE: Saturated calomel reference electrode)을 기준 전극으로, 시편을 작업 전극으로 하여 3전극 시스템을 사용하였다. 탈기된 전해액을 유지하기 위해 부식시험 중에 아르곤 가스를 NaCl 용액에 흘려 보냈으며 PDP 테스트에서 인가전위는 -1000 mV에서 최종 전위 1500 mV까지 1.67 mV/s의 주사속도로 시편에 가하여 시험하였다. 시험 후 Tafel 라인 분석을 사용하여 부식전위와 부식전류밀도를 결정하였다. 전기화학적 임피던스 분광법(EIS: Electrochemical Impedance Spectroscopy)의 경우 개방 회로 전압을 적용하였으며 주파수는 100 kHz ~ 0.001 Hz의 범위에서 약 ± 20 mV의 정현파 전압을 가하였다. 실험데이터는 ZSimpWin 프로그램을 이용하여 구성된 등가회로로 피팅하여 각각의 값을 구하였다. 부식시험은 치과재료에 대한 ISO 10271에 따라 0.9 wt% NaCl 용액에서 수행하였다. 모든 측정은 일관된 실험 조건에서 최소 5회 반복시험하였다.

2.4 생체적합성시험

Human fibroblast인 HGF-1 cell (CRL-2014)은 ATCC에서 분양받아 사용하였으며 세포는 37 °C 5% CO₂에서 10% FBS, 200 IU/ml penicillin, 200 μ g/ml streptomycin이 첨가된 Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM)에서 키워졌다. Mouse osteoblastic cell인 MC3T3-E1 세포주는 조선대학교 치과 병원에서 제공받았다. 세포는 37 °C 5% CO₂에서 10% FBS, 200 IU/mL penicillin, 200 μ g/mL streptomycin이 첨가된 Minimum Essential Medium Eagle, Alpha Modification (Alpha MEM, without L-ascorbic acid)에서 키워졌다.

2.4.1 세포독성 시험

합성된 MOS₂파우더를 UV 10분 조사 후 DMEM 배지에 1 mg/mL 농도로 녹였다. 녹인 MOS₂ DMEM

solution를 0.45 μ m syringe filter를 이용해 거른 후 희석해서 사용하였다. HGF-1 cell은 96-well culture plate에 2×10^4 cells/well로 seeding 후 37 °C, 5% CO₂에서 overnight 후 MOS₂를 DMEM에 농도별로 희석 후 처리하여 37 °C, 5% CO₂에서 24시간 동안 배양하였다. 이후 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) 시약을 각 well에 약물처리(0.5 mg/mL) 한다. Culture plate를 차광하여 37 °C, 5% CO₂에서 4시간 배양 후 MTT 시약을 제거 후 formazan product를 solubilization solution (1:1=DMSO:ethanol)으로 녹여 570 nm에서 흡광도를 측정하였다.

2.4.2 세포부착 시험

MOS₂가 코팅된 합금을 48-well cell culture plate에 넣고 UV 10분 살균하였다. MC3T3-E1 cell을 3×10^4 cells/well로 seeding 후 37 °C, 5% CO₂에서 24시간 배양하였다. 이후 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) 시약을 각 well에 약물처리(0.5 mg/mL)하였다. Culture plate를 차광하여 37 °C, 5% CO₂에서 4시간 배양 후 MTT 시약을 제거 후 formazan product를 solubilization solution (1:1=DMSO:ethanol)로 녹인 후, 녹인 formazan product를 96-well culture plate로 옮겨 570 nm에서 흡광도를 측정하였다.

2.4.3 항균시험

Staphylococcus aureus (S.aureus)를 Tryptic Soy Broth (TSB)에 넣어 37 °C의 shaking incubator에서 24시간 배양하였다. 배양된 S.aureus 100 μ L를 96-well plate에 넣어 600 nm에서 흡광도를 측정, 측정값이 0.6이 되었을 때 1×10^4 으로 희석해 100 μ L를 Tryptic Soy Agar (TSA)에 평판 도말하였다. 도말된 배지에 MOS₂가 코팅된 면이 배지에 닿게 임플란트를 올리고 37 °C의 incubator에서 24시간 동안 배양하여 측정하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1 수열합성 및 열처리의 온도에 따른 MoS₂결정구조 변화

임플란트 표면에 drop casting 방법을 이용하여 MoS₂를 코팅을 위해서는 나노 구조를 가져야 한다. 또한 drop casting 후 서로 응집하여야 하기 때문에 이러한 특성을 보이는지 확인하기 위해 주사전자현미경(SEM) 및 투과전자현미경(TEM)을 이용하여 합

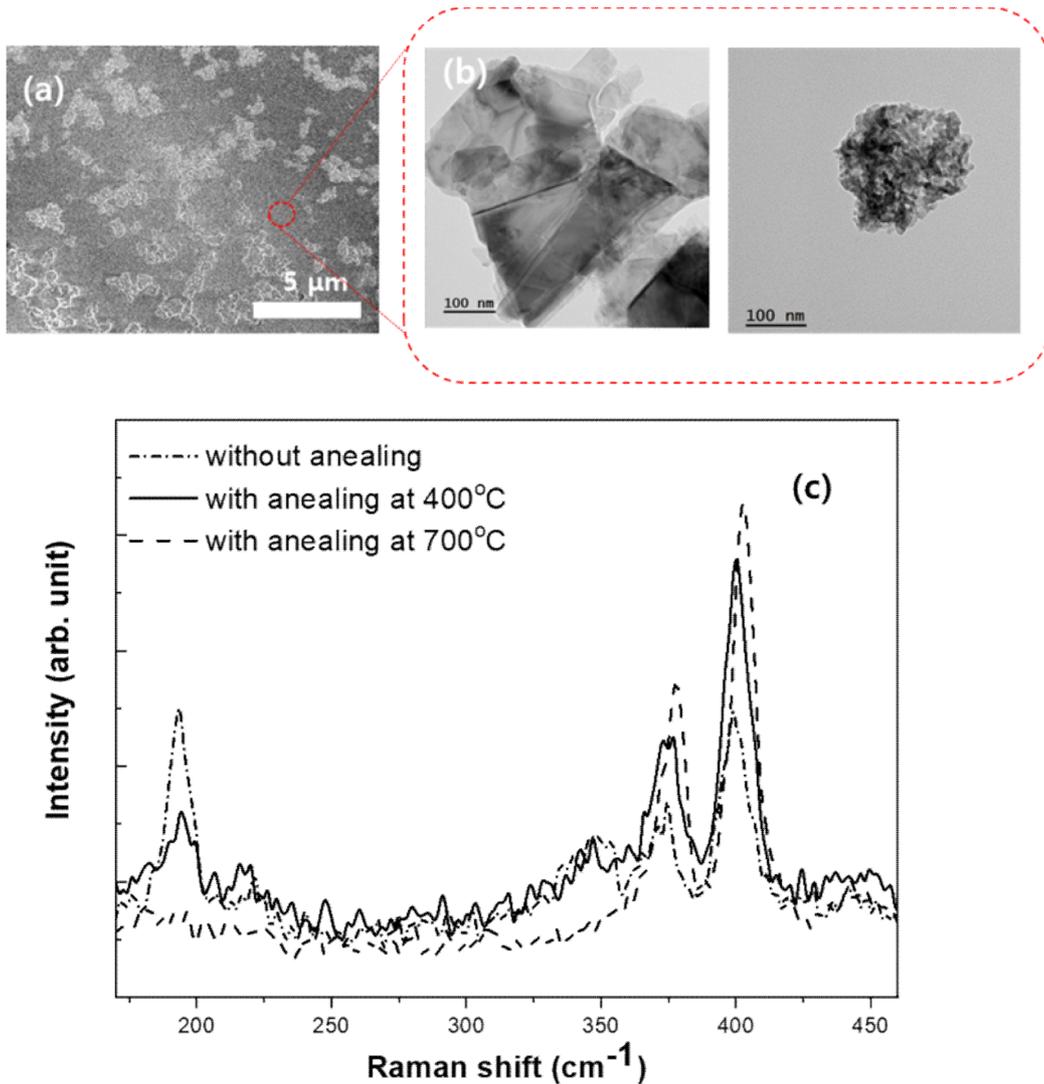


Fig. 2. (a) SEM image of MoS₂, (b) Magnified image of MoS₂ with TEM, (c) Raman spectrum of MoS₂ without and with thermal annealing

성된 MoS₂ 박막을 코팅후 이미지를 확인하였다. Fig. 2a와 (b)에서 보듯이 합성된 MoS₂ 박막은 서로 응집되어 있으며 각각의 입자는 약 100 nm 크기를 갖는 것을 알 수 있다. 앞서 보고 하였듯이 수열 합성된 MoS₂ 박막이 무독성의 반도체 2H 상을 띄는지 확인하기 위해 라만 분석을 진행하였다. 라만 분석법은 빛이 특정 매질을 통과시 산란 된 빛의 세기를 주파수에 따라서 반복된 피크(Peak)로 표시하여 나오는 스펙트럼을 분석하여 박막의 결정구조, 두께, 결함등을 분석해 내는 방법이다. 보통 수평방향과 수직방향의 진동피크가 발생하게 되고 MoS₂는 380 cm⁻¹ 부분의 수평진동을 나타내는 E_{2g}¹ 와 405 cm⁻¹ 부분의 수직 진동을 나타내는 A_{1g} peak이 있다. Fig. 2c에서 보듯이 열처리 하지 않은 박막은 약 382 cm⁻¹

와 406 cm⁻¹에서 수평 및 수직 진동 피크를 보여 MoS₂ 박막이 잘 합성되었음을 확인할 수 있다. 따라서 피크 간격으로 보아 2~3층의 다층 박막이 형성됨을 알 수 있다 [24]. 또한 200 cm⁻¹영역에서 추가적인 피크가 보이는 것을 확인할 수 있다. 이 피크는 일반적으로 MoS₂ 박막에 1T의 금속상의 섞여 있을 때 나타난다 [25]. 앞선 선행연구에서 1T 구조의 TMD물질은 독성을 띄기 때문에 이를 2H 구조로 변환해 주는 연구가 필수적이다 [23]. 본 연구에서는 고온 급속 열처리 기술을 이용하여 MoS₂ 박막이 재결정할 수 있는 에너지를 공급함으로써 인해 1T@2H 구조에서 2H 구조로 변환되도록 유도하였다. 열처리는 400 ~ 700 °C까지 증가해가며 진행하였고 Fig. 2c에서 보듯이 열처리 온도를 증가시킴에 따

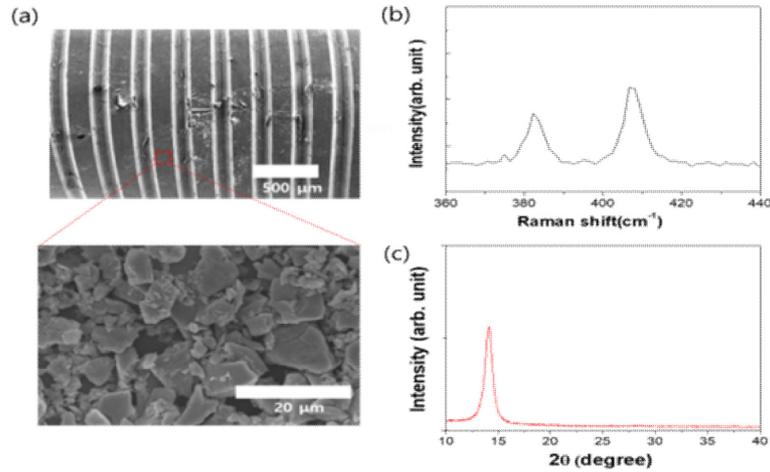


Fig. 3. (a) SEM images, (b) Raman spectrum, and (c) XRD spectrum of coated MoS₂ film on Ti-6Al-4V implant

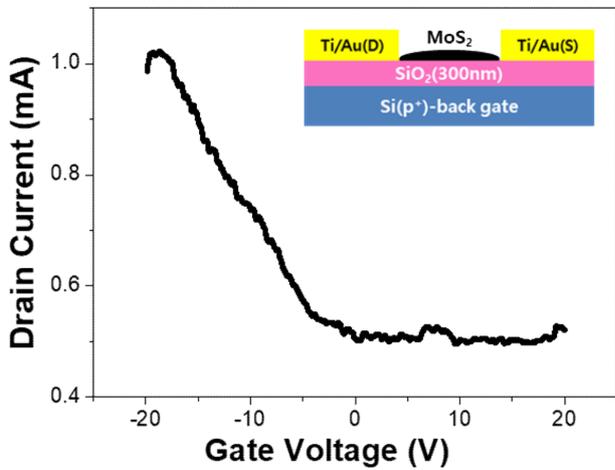


Fig. 4. V_g and I_d curve of MoS₂ based thin film transistor

라 200 cm⁻¹의 라만 피크가 감소하며 700 °C 이상에서는 완전히 사라지는 것을 확인할 수 있다. 고온 열처리를 통해 독성이 없는 2H 구조의 확보가 가능함을 확인할 수 있다.

3.2 Ti-6Al-4V 합금 코팅

열처리된 MoS₂ 나노입자를 임플란트 나사 위에 코팅이 잘 되는지 확인하기 위해 나사 표면에 DI water와 희석해서 분산시킨 용액을 임플란트 나사 표면에 drop casting 방법으로 도포 후 건조한 다음 표면에 대한 SEM 및 라만, XRD 측정을 진행하였다. Fig. 3에서 보듯이 Ti-6Al-4V 합금 표면 위에 균일하게 MoS₂ 박막이 증착된 것을 확인할 수 있고 라만, XRD에서 보듯이 2H 결정 구조의 MoS₂ 박막이 성공적으로 임플란트 표면에 성공적으로 전사된 것을 확인할 수 있다.

합성된 MoS₂ 박막의 전기적 특성을 알아보기 위해 SiO₂/Si 기판에 합성된 박막을 도포하고 Ti/Au 전극을 장착하여 backgate 방식의 TFT (Thin film transistor) 구조를 제작하고 Gate 전압을 변화해 가며 Drain 전류를 측정하였다. Fig. 4와 같이 Gate 전압이 증가함에 따라 Drain 전류가 감소하는 결과를 얻었고 이는 합성된 MoS₂ 박막이 반도체적 특성을 가지며 p형 특성을 갖는 것을 알 수 있다. 비록 도펀트를 주입하지 않았지만 합성과정에서 발생한 S 결함이 p형 도펀트로 작용한다고 볼 수 있다 [26]. 임플란트 표면의 양전하는 조골세포의 활성화를 증가시켜 골세포 증식 및 골광화 작용을 증가시킨다고 보고되고 있다 [27].

3.3. 전기화학적 표면특성

Fig. 5는 36.5 ± 1 °C의 0.9% NaCl 용액에서 전위차 테스트 후 검사된 모든 샘플에 대한 동전위 분극곡선을 나타낸 것이다. Table 1은 음극 베타, 양극 베타, 부동태 피막형성전위(E_{pp}), 부동태피막 전류 밀도($I_{passive}$), 임계 양극 전류 밀도(I_c)를 나타내며 Tafel 외삽 방법을 사용하여 계산된 부식 전류 밀도(I_{corr}), 분극저항(R_p) 값 및 부식전위(E_{corr})를 보여준다. E_{corr} 값은 -535.1 및 -547.5 mV이고 I_{corr} 값은 non-MoS₂ 값과 MoS₂시편에서 각각 2.1×10^{-8} 및 2.4×10^{-8} A/cm²를 보인다. 분석 결과, MoS₂ 시편의 분극 곡선이 non-MoS₂시편에 비해 왼쪽으로 이동하여 더 나은 부동태화를 나타냄을 확인할 수 있다. 좋은 부동태 특성을 나타내는 이유는 독특한 MoS₂의 구조적 및 화학적 안정성 때문이며 몰리브덴 원자가 황원자와 얽혀 있는 층상 결정 구조를 갖아 부식을 유발하는 음이온에 대한 부동태역할을 하여 기지로의 공격을 억

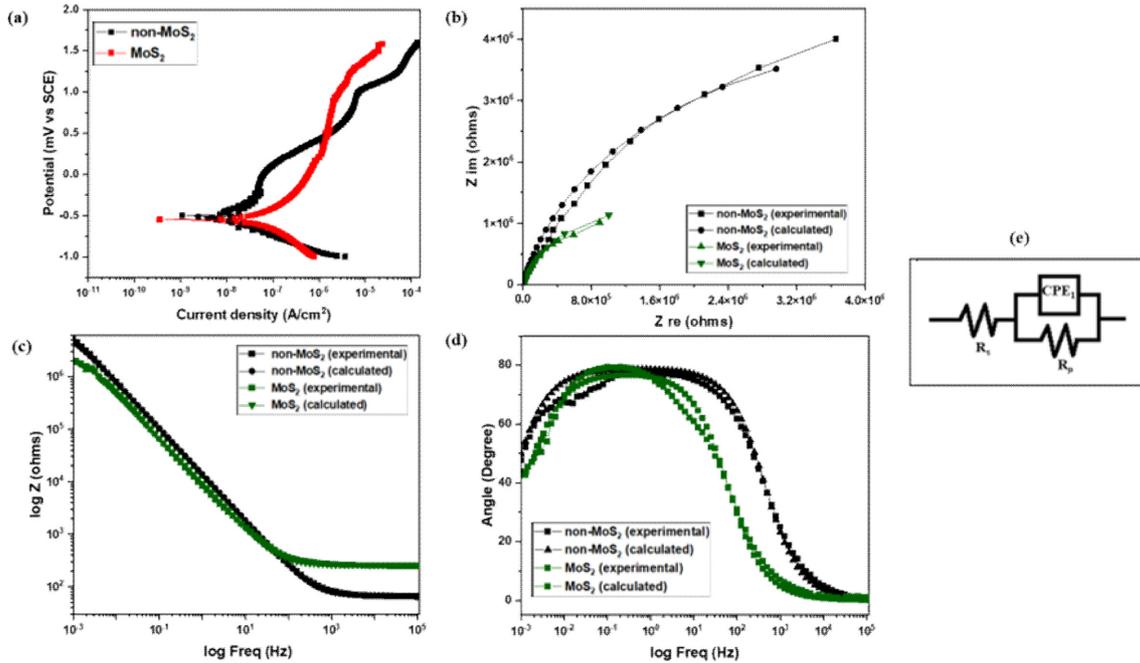


Fig. 5. Polarization curves after the potentiodynamic test and AC impedance curves for all specimens in 0.9% NaCl solution at 36.5 ± 1 °C with equivalent circuits; (b) Nyquist plots, (c) Bode-plots, (d) Bode-frequency plots, and (e) Equivalent circuits for non-MoS₂ coated and MoS₂-coated specimens

Table 1. The corrosion parameters for all inspected samples after the potentiodynamic test in 0.9% NaCl solution at 36.5 ± 1 °C

Groups	E _{corr} (mV)	I _{corr} (A/cm ²)	β _a (mV)	β _c (mV)	E _{pp} (mV)	I _c (A/cm ²)	I _{pass} (A/cm ²)
Non-MoS ₂	-535.1	2.1 × 10 ⁻⁸	104.3	295.9	-0.07	5.6 × 10 ⁻⁸	7.3 × 10 ⁻⁶
MoS ₂	-547.5	2.4 × 10 ⁻⁸	550.5	470.8	0.15	8.1 × 10 ⁻⁷	4.0 × 10 ⁻⁶

제하는 효과 때문으로 생각된다 [28].

특히, MoS₂는 부식 과정의 일반적인 촉매제인 산소와 물이 풍부한 환경에서 화학적 불활성을 나타내며 이러한 불활성은 부식을 유발하는 화학 반응에 대한 재료의 민감성을 감소시키는 효과가 있다 [28]. 또한, MoS₂는 표면에 얇은 부동태막을 형성하여 부식제에 대한 보호막 역할도 한다. 이러한 코팅막은 금속을 주변 환경으로부터 화학적으로 격리함으로써 재료의 부식저항성을 크게 향상시킬 수 있다. MoS₂는 황원자 이동으로 인해 보호층의 붕괴가 자발적으로 복원되어 부동태화 효과를 나타낼 수 있는 자기복원특성을 나타낼 수 있다 [29]. non-MoS₂ 시편은 더 높은 부식전위를 보였지만 부동태피막 형성 영역에서 다소 낮은 특성을 보였다. 이는 주로 TiO₂로 구성된 안정적인 산화물층이 표면에 형성되기 때문이며 코팅되지 않은 Ti-6Al-4V는 내식성을 향상시키는 보호 산화물층의 안정성이 부동태피막의 형성여부와 관계가 있음을 알 수 있다. 즉 고온, 특정 화학물질

Table 2. The corrosion parameters for all examined samples after the AC impedance test in 0.9% NaCl solution 36.5 ± 1 °C

Groups	R _s (Ω)	CPE1, (μF/cm ² ·S ⁿ)	n ₁	R _p (Ω)
Non-MoS ₂	6.7 × 10 ¹	1.5 × 10 ⁻⁵	0.8	9.3 × 10 ⁵
MoS ₂	2.6 × 10 ²	2.2 × 10 ⁻⁵	0.8	3.0 × 10 ⁴

에 대한 노출 또는 기계적 응력과 같은 요인은 균일하고 안정적인 산화물층의 형성을 방해하여 부동태피막형성을 감소시킬 수 있다.

Fig. 5b-d는 36.5 ± 1 °C에서 0.9% NaCl 용액의 모든 시편에 대한 AC 임피던스 곡선(Nyquist, Bode 및 Bode-phase 플롯)을 각각 색을 달리하여 나타내었다. 적용한 등가회로는 Fig. 5e에 나타내었다. 각 시편의 AC 임피던스 값은 Table 2에 나와 있으며 Table 2에서 R_s는 용액 저항을 나타내고, CPE₁과 R_p는 시편의 constant phase element와 분극저항을 나타낸다. 특

히, 이러한 코팅층의 ‘n’ 값은 거의 -1이며 이는 이상적인 커패시터와 유사한 동작을 보임을 알 수 있다. R_s 값은 6.7×10^1 및 $2.6 \times 10^2 \Omega$ 이고 R_p 값은 MoS_2 및 non- MoS_2 시편의 경우 각각 9.3×10^5 및 $3.0 \times 10^4 \Omega$ 이다. 모든 곡선을 통하여 non- MoS_2 시편은 주로 TiO_2 산화막 형성으로 인해 더 높은 임피던스 특성을 나타냈으며 MoS_2 코팅된 시편은 코팅하지 않은 것과 비슷한 임피던스 특성을 나타내었다. non- MoS_2 샘플은 자연적으로 산화물층을 형성하는 반면, MoS_2 코팅은 표면에 얇은 부동태화 역할을 하는 막을 형성하고 화학적으로 불활성인 피막이 형성되었기 때문에 분극 저항 값이 높게 나타남을 알 수 있다. 또한 두 재료 모두 적당한 전기 전도성을 나타내어 전극-전해질 계면에서 효율적인 전하 이동이 가능함을 보였다 [30,31]. 따라서 결론적으로, 미세 구조, 표면형태, 환경조건과 같은 요소도 임피던스 특성에 영향을 미치는 데 [32-35] 중요한 역할을 하며 표면 거칠기, 다공성, 온도 및 pH와 같은 환경 요인의 변화는 두 재료 모두에 대해 비슷한 임피던스 값의 결과로 부동태피막 산화물층의 안정성과 전기화학 반응의 동적거동에 영향을 미친 것으로 판단되며 MoS_2 코팅으로 내식성이 개선됨을 확인하였다.

3.4 MoS_2 코팅된 임플란트의 생체적합성

코팅소재로 사용된 2H 구조의 MoS_2 가 코팅이된 임플란트의 생체적합성을 평가하기 위하여 잇몸을 구성하는 세포인 Human gingival fibroblast (HGF-1)를 이용하여 Fig. 6과 같이 세포독성을 평가하였다. 독성을 평가하기 위해 MoS_2 를 DI water 와 1:500에서 1:2000 wt% 비율로 희석해가며 진행하였다. 그림에서 보듯이 MoS_2 의 양에 관계없이 HGF-1에 처리한 결과, 세포독성이 관찰되지 않았으므로 이는 MoS_2 를 코팅한 임플란트가 임상에 적용하기에 적합하다고 판단되었다. 이는 선행연구에서 1T 구조가 갖는 독성이 반도체 상인 2H 구조에서 제거 될수 있다는 것을 보여준다 [23].

3.5 인간 치주인대 섬유아세포에서 MoS_2 코팅된 임플란트와 뼈의 접촉률(BIC : Bone-to-implant contact) 평가

앞선 실험에서 확인된 세포독성이 없는 MoS_2 의 코팅비율에 따라, 본 연구에서는 BIC를 확인하기 위해 Fig. 7과 같이 HGF-1와 MoS_2 가 코팅된 임플란트를 함께 배양하였다. Fig. 7에서 보듯이 HGF-1 이 MoS_2 와 함께 코팅되었을 때 골-임플란트 접촉률이 향상되는 것을 확인할 수 있다. 이러한 효과는 MoS_2 가

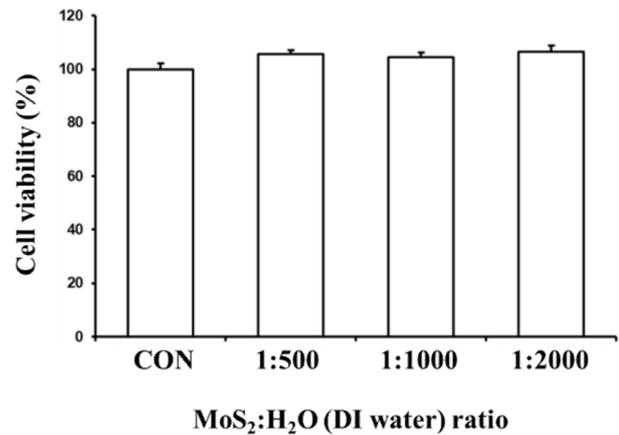


Fig. 6. Cell viability as a function of MoS_2 :DI water dilution ratio

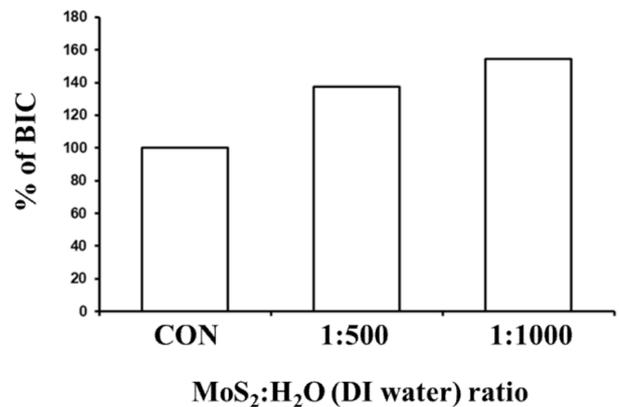


Fig. 7. % of BIC as a function of MoS_2 :DI water dilution ratio

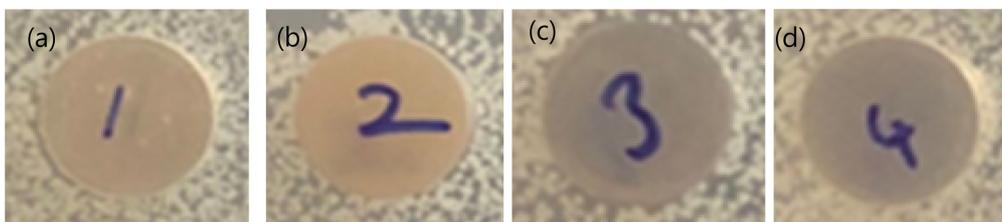


Fig. 8. Antibacterial effect of Ti disk non- MoS_2 and with MoS_2 as a function of MoS_2 :DI water dilution ratio (b) 1:500 (c) 1:1000 (d) 1:2000

표면에 친수성을 향상시켜 세포와 생체 재료간의 친화력을 향상시키기 때문에 판단된다 [22]. 다만 그림에서 보듯이 희석비율을 1:500보다 1:1000의 비율로 코팅된 임플란트의 접촉률이 60% 이상 증가하였음이 관찰되었으므로 표면에 코팅할 때 MoS₂ 양을 최소한으로 코팅할 수 있는 조건의 확보가 필요하다고 판단할 수 있다.

3.6 MoS₂ 코팅 임플란트의 항균 효과

임플란트 이식을 오래 유지하려면 항균 효능이 있는 임플란트의 개발이 중요하다. 본 연구에서는 앞서 확립된 2H 구조의 MoS₂가 코팅된 임플란트에 대한 항균 효능을 확인하였다. Fig. 8에서 알 수 있듯이 MoS₂가 코팅된 임플란트의 모든 군에서 항균 효능이 높게 나타남이 관찰되었으므로 MoS₂가 코팅된 임플란트가 BIC와 함께 항균 효능도 보유함이 관찰되었다. 그러므로 이러한 결과로부터 MoS₂는 생체 적합성이 높고 항균 효능을 보유한 새로운 임플란트의 코팅소재로 사용이 가능하다고 판단된다. 일반적으로 MoS₂가 코팅된 막에서 hydroxyl radicals ($\cdot\text{OH}$), superoxide radicals ($\text{O}_2^{\cdot-}$) and singlet oxygen ($^1\text{O}_2$)과 같은 활성산소가 발생되어 항균효과가 발생함을 보고하였고 독성이 없는 2H구조의 MoS₂표면에서 이러한 활성산소 생성에 의해 항균 효과가 발생하였다고 생각된다 [34].

4. 결론

본 연구에서는 임플란트 의 타이타늄 소재의 변형을 억제하면서 항균 및 생체활성 코팅이 가능한 MoS₂ 박막의 수열 합성 조건 및 보고된 독성인 1T 구조를 제거하기 위한 고온 급속 열처리 기술을 통해 확보한 2H 결정 구조를 통해 내식성이 우수하며 생체 활성을 개선할 수 있고 항균 효과를 나타내어 임플란트 치료 효과를 크게 향상시킬 수 있는 결과를 얻었다. 사전 골 전구 세포 MC3T3-E1과 대장균(E. coli) 박테리아 모델을 사용한 In vitro 실험에 따라 MoS₂ 나노 소재의 코팅 조건을 최적화하게 되면 표면의 활성 산소 생성 및 표면의 전하변화 등을 통해 골-유착 향상, 세포 성장 향상 및 항균 효과를 얻을 수 있음을 확인하였다. 본 연구에서 제시한 MoS₂의 코팅은 Ti-6Al-4V 기반의 임플란트의 생착 기간 단축 및 박테리아등의 오염에 대한 방어가 가능하여 치료 기간을 크게 단축할 수 있을것으로 보인다.

감사의 글

본 연구는 중소기업벤처부의 지역특화산업육성+(R&D) S3270844 및 한국연구재단 기본연구 (2022 R1F1A1074660) 의 지원에 의해 수행되었다.

References

1. R. Tejero, E. Anitua, G. Orive, Toward the biomimetic implant surface: Biopolymers on titanium-based implants for bone regeneration, *Progress Polymer Science*, **39**, 1406 (2014). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2014.01.001>
2. X. Xie, C. Mao, X. Liu, Y. Zhang, Z. Cui, X. Yang, K. W. K. Yeung, H. Pan, P. K. Chu, S. Wu, Synergistic bacteria killing through photodynamic and physical actions of graphene oxide/ag/collagen coating, *ACS Applied Materials & Interfaces*, **9**, 26417 (2017). Doi: <https://doi.org/10.1021/acsami.7b06702>
3. L. Tan, J. Li, X. M. Liu, D. Cui, X. J. Yang, S. L. Zhu, Z. Y. Li, X. B. Yuan, Y. F. Zheng, K. W. K. Yeung, H. Pan, X. B. Wang, S. L. Wu, Rapid biofilm eradication on bone implants using red phosphorus and near-infrared light, *Advanced Materials*, **30**, 1801808 (2018). Doi: <https://doi.org/10.1002/adma.201801808>
4. L. Zhang, C. Y. Ning, T. Zhou, X. M. Liu, K. W. K. Yeung, T. J. Zhang, Z. S. Xu, X. B. Wang, S. L. Wu, P. K. Chu, Polymeric nanoarchitectures on Ti-based implants for antibacterial applications, *ACS Applied Materials & Interfaces*, **6**, 17323 (2014). Doi: <https://doi.org/10.1021/am5045604>
5. D. L. Yang, B. Du, Y. X. Yan, H. Q. Li, D. Zhang, T. X. Fan, Rice-Husk-templated hierarchical porous TiO₂/SiO₂ for enhanced bacterial removal, *ACS Applied Materials & Interfaces*, **6**, 2377, (2014). Doi: <https://doi.org/10.1021/am500206g>
6. T. Diu, N. Faruqui, T. Sjöström, B. Lamarre, H. F. Jenkinson, B. Su, M. G. Ryadnov, Cicada-inspired cell-instructive nanopatterned arrays, *Scientific Reports*, **4**, 7122 (2014). Doi: <https://doi.org/10.1038/srep07122>
7. L. Zhao, Y. Hu, D. W. Xu, K.Y. Cai, Surface functionalization of titanium substrates with chitosan-lauric acid conjugate to enhance osteoblasts functions and inhibit bacteria adhesion, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, **119**, 155 (2014). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2014.05.002>
8. H. Qin, H. Cao, Y. C. Zhao, C. Zhu, T. Cheng, Q. J.

- Wang, X. C. Peng, M. Q. Cheng, J. X. Wang, G. D. Jin, Y. Jiang, X. L. Zhang, X. Y. Liu, P. K. Paul, *In vitro* and *in vivo* anti-biofilm effects of silver nanoparticles immobilized on titanium, *Biomaterials*, **35**, 9114 (2014). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2014.07.040>
9. Z. Yuan, P. Liu, Y. S. Hao, Y. Ding, K. Y. Cai, In vitro and in vivo anti-biofilm effects of silver nanoparticles immobilized on titanium, *Colloids and Surfaces B: Bio-interfaces*, **171**, 597, (2018). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2018.07.064>
 10. M. K. Narbat, B. F. L. Lai, C. F. Ding, J. N. Kizhakke-dathu, R. E. W. Hancock, R. Z. Wang, Multilayered coating on titanium for controlled release of antimicrobial peptides for the prevention of implant-associated infections, *Biomaterials*, **34**, 5969 (2013). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2013.04.036>
 11. L. G. Harris, S. Tosatti, M. Wieland, M. Textor and R. G. Richards, *Staphylococcus aureus* adhesion to titanium oxide surfaces coated with non-functionalized and peptide-functionalized poly(L-lysine)-grafted-poly(ethylene glycol) copolymers, *Biomaterials*, **25**, 413 (2004). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2003.11.033>
 12. K. G. Neoh, X. F. Hu, D. Zheng and E. T. Kang, Balancing osteoblast functions and bacterial adhesion on functionalized titanium surfaces, *Biomaterials*, **33**, 2813 (2012). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2012.01.018>
 13. M. Chhowalla, H. S. Shin, G. Eda, L. J. Li, K. P. Loh, H. Zhang, The chemistry of two dimensional layered transition metal dichalcogenide nanosheets, *Nature Chemistry*, **5**, 263 (2013). Doi: <https://doi.org/10.1038/Nchem.1589>
 14. S. Manzeli, D. Ovchinnikov, D. Pasquier, O. V. Yazyev, A. Kis, 2D transition metal dichalcogenides, *Nature Reviews Materials*, **2**, 17033 (2017). Doi: <https://doi.org/10.1038/natrevmats.2017.33>
 15. R. J. Smith, P. J. King, M. Lotya, C. Wirtz, U. Khan, S. De, A. O'Neill, G. S. Duesberg, J. C. Grunlan, G. Moriarty, J. Chen, J. Z. Wang, A. I. Minett, V. Nicolosi, J. N. Coleman, Large-scale exfoliation of inorganic layered compounds in aqueous surfactant solutions, *Advanced Materials*, **23**, 3944 (2011). Doi: <https://doi.org/10.1002/adma.201102584>
 16. C. Zhang, D. F. Hu, J. W. Xu, M. Q. Ma, H. B. Xing, K. Yao, J. Ji, Z. K. Xu, Polyphenol-assisted exfoliation of transition metal dichalcogenides into nanosheets as photothermal nanocarriers for enhanced antibiofilm activity, *ACS Nano*, **12**, 12347 (2018). Doi: <https://doi.org/10.1021/acsnano.8b06321>
 17. V. Agarwal, K. Chatterjee, Recent advances in the field of transition metal dichalcogenides for biomedical applications, *Nanoscale*, **10**, 16365 (2018). Doi: <https://doi.org/10.1039/c8nr04284e>
 18. L. Liu, Z. Q. Liu, P. Huang, Z. Wu, S. Y. Jiang, Protein-induced ultrathin molybdenum disulfide (MoS₂) flakes for a water-based lubricating system, *RSC Advances*, **6**, 113315 (2016). Doi: <https://doi.org/10.1039/c6ra23786j>
 19. G. S. Bang, S. Cho, N. Son, G. W. Shim, B. K. Cho, S. Y. Choi, DNA-assisted exfoliation of tungsten dichalcogenides and their antibacterial effect, *ACS Applied Materials & Interfaces*, **8**, 1943 (2016). Doi: <https://doi.org/10.1021/acsami.5b10136>
 20. D. Yim, J. E. Kim, H. I. Kim, J. K. Yang, T. W. Kang, J. Nam, S. H. Han, B. Jun, C. H. Lee, S. U. Lee, J. W. Kim, J. H. Kim, Adjustable intermolecular interactions allowing 2D transition metal dichalcogenides with prolonged scavenging activity for reactive oxygen species, *Small*, **14**, 1800026 (2018). Doi: <https://doi.org/10.1002/smll.201800026>
 21. M. H. Shin, S. M. Baek, A. V. Polyakov, I. P. Semenova, R. Z. Valiev W. Hwang, S. K. Hahn and H. S. Kim, Molybdenum disulfide surface modification of ultrafine-grained titanium for enhanced cellular growth and antibacterial effect, *Scientific reports*, **8**, 9907 (2018) Doi: <https://doi.org/10.1038/s41598-018-28367-0>
 22. Z. Yuan, B. Tao, Y. He, J. Liu, C. Lin, X. Shen, Y. Ding, Y. Yu, C. Mu, P. Liu, K. Cai, Biocompatible MoS₂/PDA-RGD coating on titanium implant with antibacterial property via intrinsic ROS-independent oxidative stress and NIR irradiation, *Biomaterials*, **217**, 119290 (2019). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2019.119290>
 23. Y. So, D. Yim, W. Son, H. Lee, S. Lee, C. Choi, C. S. Yang, J. Kim, Deciphering the therapeutic mechanism of topical WS₂ nanosheets for the effective therapy of burn injuries, *Applied Materials Today*, **29**, 101591 (2022). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.apmt.2022.101591>
 24. X. Gan, L. Y. S. Lee, K. Wong, T. W. Lo, K. H. Ho, D. Y. Lei, and H. Zhao, 2H/1T phase transition of multilayer MoS₂ by electrochemical incorporation of s vacancies, *ACS Applied Energy Materials*, **1**, 4754 (2018). Doi: <https://doi.org/10.1021/acsaem.8b00875>
 25. S. Xiao, P. Xiao, X. Zhang, D. Yan, X. Gu, F. Qin, Z. Ni, Z. J. Han and K. Ostrikov, Atomic-layer soft plasma etching of MoS₂, *Scientific Reports*, **6**, 19945 (2016). Doi: <https://doi.org/10.1038/srep19945>
 26. J. Lee, M. J. Kim, B. G. Jeong, C. Kwon, Y. Cha, S. H.

- Choi, K. K. Kim, M. S. Jeong, Electrical role of sulfur vacancies in MoS₂: Transient current approach, *Applied Surface Science*, **613**, 155900 (2023). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2022.155900>
27. J. Quinn, R. McFadden, C. Chan, L. Carson, Titanium for Orthopedic Applications: An overview of surface modification to improve biocompatibility and prevent bacterial biofilm formation, *iScience*, **23**, 101745 (2020). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.isci.2020.101745>
 28. D. Gupta, V. Chauhan, R. Kumar, A comprehensive review on synthesis and applications of molybdenum disulfide (MoS₂) material: Past and recent developments, *Inorganic Chemistry Communications*, **121**, 108200 (2020). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.inoche.2020.108200>
 29. Z. He, W. Que, Molybdenum disulfide nanomaterials: Structures, properties, synthesis and recent progress on hydrogen evolution reaction, *Applied Materials Today*, **3**, 23 (2016). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.apmt.2016.02.001>
 30. X. Li, H. Zhu, Two-dimensional MoS₂: Properties, preparation, and applications, *Journal of Materiomics*, **1**, 33 (2015). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.jmat.2015.03.003>
 31. D. Prando, A. Brenna, M. V. Diamanti, S. Beretta, F. Bolzoni, M. Ormellese, and M. Pedferri, Corrosion of Titanium: Part 1: Aggressive environments and main forms of degradation, *Journal of Applied Biomaterials & Functional Materials*, **15**, 291 (2017). Doi: <https://doi.org/10.5301/jabfm.5000387>
 32. S. K. Park, H. C. Choe, Effects of ta-C coatings on surface characteristics of dental Ni-Ti files, *Corrosion Science and Technology*, **22**, 368 (2023). Doi: <http://doi.org/10.14773/cst.2023.22.5.368>
 33. J. E. Go, J. K. Lee, H. C. Choe, Effects of wollastonite coating on surface characteristics of plasma electrolytic oxidized Ti-6Al-4V alloy, *Corrosion Science and Technology*, **22**, 257 (2023). Doi: <https://doi.org/10.14773/cst.2023.22.4.257>
 34. Q. Li, B. Hu, Q. Yang, X. Cai, M. Nie, Y. Jin, L. Zhou, Y. Xu, Q. Pan, L. Fang, Interaction mechanism between multi-layered MoS₂ and H₂O₂ for self-generation of reactive oxygen species, *Environmentals Research*, **191**, 110227 (2020). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.envres.2020.110227>
 35. Y. S. Kim, Synergistic effect of nitrogen and molybdenum on localized corrosion of stainless steels, *Corrosion Science and Technology*, **9**, 20 (2010). Doi: <https://doi.org/10.14773/cst.2010.9.1.020>