약제학회지(2007), 제 37 권 제 1 호
J. Kor. Pharm. Sci., Vol. 37, No. 1, 7-13 (2007)

안정된 스텐트 코팅막을 형성하기 위해 금속표면과 고분자 사이의 화학적 결합을 이용한 고분자 코팅법 개발

남대식 · 이우경†
인제대학교 공과대학 나노공학부
(2007년 1월 19일 접수 · 2007년 2월 13일 승인)

Development of Polymer Coating Method for Stable Stent Coating Using Chemical Bond Between Metal Surface and Polymer

Dae-Sik Nam and Woo-Kyoung Lee†
School of Nano Engineering, Inje University, Gimhae 621-749, Korea
(Received January 19, 2007 · Accepted February 13, 2007)

ABSTRACT – To produce stable polymer coating layer using the interaction between metal stent and polymer layer, Ahx-HSAB was synthesized by coupling 6-aminoheanoic acid (Ahx) with N-Hydroxy succinimidyl 4-azidobenzonate (HSAB) containing photo reactive group. Then, Ahx-HSAB was applied to self-assembled monolayer (SAM) on TiO_2-coated surface, since one end of Ahx-HSAB was carboxyl acid which was known to be able to interact with TiO_2 surface. That SAM layer was incubated in 1% polycaprolacton (PCL) solution and photoreacted by ultraviolet light (254 nm) to produce the chemical bond between SAM and polymer layer, followed by PCL polymer coating (~5 μm) by the method of spray coating. The surface change was investigated by measuring of contact angle of the surface. The contact angle values of stainless steel (SS) surface, TiO_2-coated surface, SAM layer by Ahx-HSAB, photoreacted surface with PCL and PCL layer by spray coating were 70.48±1.89, 38.57±3.31, 60.14±2.21, 54.91±2.70 and 56.47±2.12, respectively. The stability of polymer layers was tested by incubation of PCL-coated plates in 0.1M PBS buffer (pH 7.4, 0.05%, Tween 80) with vigorous shaking (200 rpm). While the polymer layer prepared by these processes showed the intact surface morphology over 3 days, the polymer layers prepared by spray coating of PCL onto SS plate (control 1) and TiO_2-coated SS plate (control 2) were peeled off in 3 days. Thus, the polymer coating method using SAM and photoreaction seems to be a effective method to obtain the stable polymer layer onto SS surface.

Key words – SAM, Stent, Polymer coating, Photoreaction, PCL

관상동맥 질환의 심각성이 높아지고 있는 가운데 이를 위한 다양한 치료법이 개발되고 있다. 그 중 스텐트 삽입술이 가장 널리 사용되고 있으나 시술 후 발생하는 재협착이 임상적 문제점으로 대두되고 있다.[1] 재협착은 스텐트 삽입 시 손상 받은 혈관 주위에 모여든 혈소판에서 분비되는 성장인자에 의한 혈관 재형성 및 혈관 내 평활근 세포 증식 등에 의해 발생한다.[2] 이러한 재협착과 혈전의 형성을 방지하기 위해 약물용출스텐트(Drug-eluting stent, DES),[3] 방사선방출스텐트[4,5] 등이 개발되고 있다.

약물용출스텐트는 스텐트 표면에 생체적합성 물질을 코팅하고, 재협착의 주 기전인 신내막 증식을 억제할 수 있는 약물이 서서히 주위 조직에 국소적으로 유리되게 하여 혈관내막 과증식을 억제하는 새로운 치료법이다. 21세기에 들어서 항증식작용 혹은 항염증 작용이 있는 수많은 물질들이 약물용출스텐트에 시도되고 있지만 현재까지는 시롤리무스(sirolimus)와 파클리탁셀(paclitaxel)을 코팅한 스텐트가 보편적으로 사용되어지고 있다.[6-9] 이들 약물용출스텐트에 약물이 지속적으로 용출되도록 하기 위해서 스텐트에 주로 침염법과 스프레이법을 이용하여 코팅되고 있는데, 스텐트의 코팅막이 협착부분에 도달하는 동안에 거치게 되는 가혹한 환경을 견디기 위해서는 보다 안정된 막의 형성이 필요할 것이다.

스텐인레스스틸은 현재 스텐트에 가장 많이 쓰이는 재질 중의 하나이다. 그것은 스텐인레스스틸이 기계적 성질과 부식에 견디는 능력이 뛰어나기 때문이다.[10] 하지만 스텐인레스스틸 재질의 이식물에서 방출되는 니켈이 알레르기반응을 가지고 있고,[11] 특히 스텐인레스스틸 스텐트에서 방출되는

†본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로
Tel : 055)320-3875, E-mail : wlee@inje.ac.kr

니켈, 크롬, 몰리브덴 이온이 국부적인 면역반응과 염증반응을 일으켜 신내막의 과증식을 유도함으로 혈관재협착이 일어남이 보고되었다.[12] 또 스텐인레스스틸 그자체로는 특정한 작용기와 결합력을 가지지 않는 비활성 금속이기 때문에 일반적인 침염법과 스프레이 코팅법으로는 스텐인레스스틸 표면과 고분자사이의 강한 결합을 유지하기 쉽지 않을 것이다.

따라서 본 연구에서는 생체 적합한 물질로 알려진 티타늄[13,14]을 이용하여 현재까지 스텐트의 재질로 가장 많이 쓰이는 스텐인레스스틸 표면을 코팅한 후 카르복실산과 티타늄 산화막과의 결합력을 이용하여[15] 보다 안정된 고분자 코팅막을 형성하는 방법에 대해 기술하고자 한다.

실험 방법

시료, 시약 및 기기

Polycarprolactone(PCL, MW 14,000, MW 80,000)과 6-Aminocaproic acid(Ahx), Triethyleneamine(TEA), Anhydrous magnesium sulfate은 Aldrich chemical Co.(USA)의 제품을 사용하였고, Tween 80, N-Hydroxysuccinimidyl-4-Azidobenzoate(HSAB)은 Sigma chemical Co.(USA)의 제품을 사용하였다. 기타 용매와 시약은 시판제품 중 시약급 이상을 사용하였다.

TiO_2 코팅

두께 1 mm의 스테인레스스틸(Stainless steel, SS) 시편(1 cm×1 cm)을 에탄올에 담근 채로 초음파세척기를 이용하여 세척한 후, 질산용액에 30분 동안 담그고 증류수로 다시 세척하였다. 세척된 SS시편은 이온플레이팅코팅법(ion plating coating method)을 이용하여 TiO_2 코팅하였으며, 신한진공㈜(부천)에 의뢰하여 제작하였다.

Ahx-HSAB의 합성 (Scheme 1)

HSAB와 그의 유도체를 이용한 실험은 자외선을 이용한 가교반응을 시행하기 전에는 빛이 차단된 조건에서 시행하였다. HSAB(0.12 mmol)과 Ahx(0.58 mmol)을 3 ml DMF에 녹인 후 TEA(0.58 mmol)을 첨가한 후 실온에서 12시간 교반하였다. 반응 후 혼합물은 과량의 클로로포름(30 ml)을 첨가하였고 1 N의 염산과 50 ml의 증류수로 두 번 씻어준 후 무수 황산마그네슘에서 1시간 건조하고 걸러주었다.

Ahx-HSAB의 자기조립단층막(self-assembled monolayer, SAM) 형성

SS 시편 위에 TiO_2 코팅된 시편(TiO_2시편)에 Ahx-HSAB의 자기조립단층막을 형성하기 하여, TiO_2시편을 25 ml의 1% Ahx-HSAB 용액에 12시간 동안 담근 후, 용액은 제거하였다. 여분의 결합하지 않은 Ahx-HSAB를 제거하기 위해 과량의 클로로포름으로 세척하였고, 이후 질소가스로 건조하였다.

자외선을 이용한 가교반응 및 고분자 코팅

Ahx-HSAB의 자기조립단층막이 형성된 시편(SAM시편)을 1% 폴리카프로락톤(polycaprolacton, PCL) 용액에 담근 후 254 nm의 자외선으로 10분 동안 조사하였다. 광가교반응 후, 시편은 과량의 MC로 두 번 세척하고, 질소가스로 건조시켰다. 건조시킨 시편은 0.1% PCL용액으로 스프레이 코팅하였다. 스프레이 코팅은 대한스프레이시스템(시흥)에서 제작된 스프레이 시스템을 사용하였다. 코팅의 최종 두께는 약 5 μm가 되도록 하였다. 대조군으로는 SS시편에 자기조립단층막을 형성시키지 않고 PCL 스프레이 코팅만 시행한 것(대조군 1)과 TiO_2시편에 자기조립단층막을 형성시키지 않고 PCL 스프레이 코팅만 시행한 것(대조군 2)을 준비하였으며, 코팅 조건은 실험군과 동일하게 하였다.

접촉각 측정

표면의 특성 변화를 관찰하기 위하여 Sessile drop 방법을 이용하여 접촉각을 측정하였으며, DGD Fast/60 contact angle goniometer(GBX, France)를 이용하였다. 상온에서 종류마다 각 5개의 시편을 측정하였고, 각 시편에서는 최소한 5군데 이상의 위치에서 접촉각을 측정하였다.

코팅막의 안정도 평가

형성된 고분자 막의 안정도를 평가하기 위해 SS시편과 TiO_2시편에 자기조립단층막을 형성시키지 않고 PCL 스프레이 코팅만 시행한 대조군과 자기조립단층막과 가교반응을 시행한 후 PCL 스프레이 코팅을 시행한 실험군을 50 ml 튜브에 넣은 후 0.1 M 인산완충용액(pH 7.4, 0.05% Tween80)으로 채웠다. 튜브는 궤도형 진동기(orbital shaker)에 두어 연속적인 회전(200 rpm)을 유지했다. 이후에 표면의 코팅막에 손상이 있는지 확인하였으며 2주 동안 계속 관찰하였다.

전자현미경을 이용한 표면의 형태 관찰

표면의 형태는 전자현미경(JSM 840-A, Jeol Ltd., Tokyo, Japan)을 이용하여 관찰하였다. 시편은 sputter를 이용하여 약 100 Å 두께의 금막을 형성하였고, 이후에 전자현미경을 통해 시표의 표면 형태를 관찰하였다.

Table I–*Static Contact Angle*

	Sample	Contact angle (°)
1	SS	70.48±1.89
2	SS-TiO_2	38.57±3.31
3	SS-TiO_2-(Ahx+HSAB)	60.14±2.21
4	SS-TiO_2-(Ahx+HSAB)-PCL	54.91±2.70
5	SS-TiO_2-(Ahx+HSAB)-PCL-PCL	56.47±2.12
6	SS-PCL (control 1)	57.85±2.05
7	SS-TiO_2-PCL (control 2)	55.08±1.59

The contact angle of modified surfaces was measured by the Sessile drop method. The contact angles were obtained using a DGD Fast/60 contact angle goniometer (GBX, France) at constant room temperature under ambient laboratory conditions. Five plates of each surface were measured and the measurements of at least five spots on each plate sample were recorded.

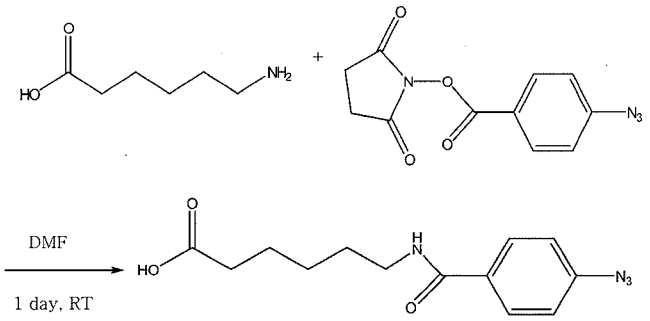
결과 및 고찰

TiO_2시편 제작

서론에 언급하였듯이, 스텐인레스스틸 자체로는 그 표면과 고분자사이의 강한 결합을 유도해 내기 어렵기 때문에, 그 표면을 TiO_2로 코팅한 TiO_2시편을 제작하였다. 이는 티타늄[13] 이 생체적합성을 띠며,[14] 그 표면이 카르복실산과 결합력을 가짐[15]이 알려져 있기 때문이다. TiO_2 코팅은 이온플레이팅코팅법을 이용하여 코팅하였으며, 코팅의 유무를 확인하이 위하여 접촉각을 측정하였다(Table I). 표에서 나타난 바와 같이 대조군인 SS시편(sample 1)은 접촉각이 70.48±1.89(°)로 그 표면이 비교적 소수성을 띠었다. 하지만 SS시편을 TiO_2로 코팅한 후의 접촉각(sample 2)은 38.57±3.31(°)로 변화의 폭이 매우 컸으며, SS시편과 비교하였을 때 친수성 표면으로 전환된 것을 알 수 있다. 따라서 SS시편의 표면에 친수적인 변화가 생겼음을 알 수 있으며 이를 통해 극성을 띠는 티타늄산화막의 산소원자에 의해 접촉각이 줄어들었고 따라서 TiO_2로 코팅이 제대로 되었다는 것을 예상할 수 있다.

자기조립단층막의 형성

TiO_2 표면이 카르복실산과 결합력이 있다는 것은 알려져 있기 때문에, TiO_2시편 위에 자기조립단층막을 형성하기 위해서는 한쪽 끝에 카르복실산 작용기를 가질 필요가 있다. 또 제작된 자기조립단층막과 이후에 코팅될 고분자막과의 결합력을 증대시키기 위해서는 공유결합과 같은 화학적 결합을 유도하는 것이 좋을 것이다. 이를 위해 본 연구에서는 광반응에 의해 비특이적인 화합결합을 유도할 수 있는 azide 작용기를 도입하였다.[16] 따라서 한쪽 끝에는 카르복실산 작용기를 가지고 한쪽 끝에는 광유도 화학결합을 위한 azide 작용기를 가지며, 그 중축은 소수성의 사슬을 가지는 화합물을 합성하였으며, 그 합성과정은 Scheme 1과 같다.



Scheme 1–Synthesis of Ahx+HSAB. HSAB (0.12 mmol) and Ahx (0.58 mmol) were dissolved in 3 ml DMF, followed by addition of TEA (0.58 mmol). This mixture was stirred continuously for overnight in room temperature, poured to excess chloroform (30 ml) and washed with 1 N HCl and twice with water.

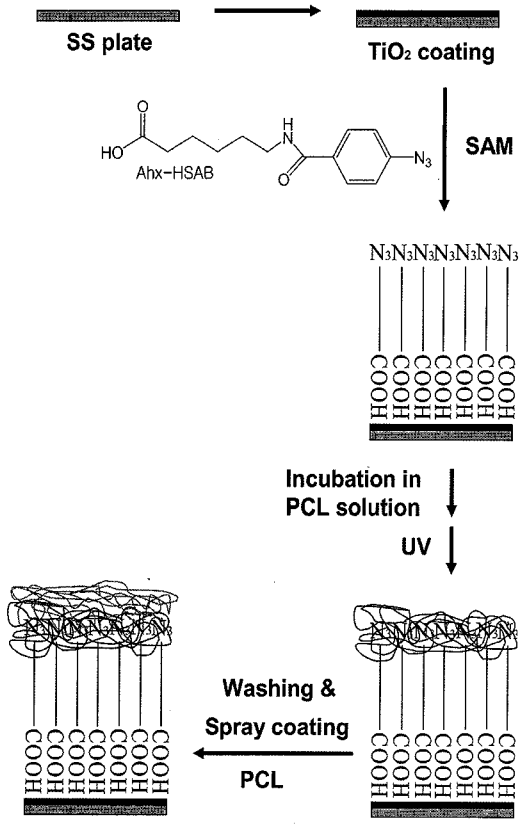


Figure 1–Coating processes to obtain the stable PCL polymer layer onto SS plate.

상기에 언급된 Ahx-HSAB을 이용하여, 자기조립단층막을 형성시키고 이후에 광반응을 통한 가교반응과 고분자의 스프레이 코팅을 통하여 안정된 코팅막 형성을 시도하였으며, 이 과정을 Figure 1에 요약되어 있다.

먼저, Ahx-HSAB을 이용하여 형성된 자기조립단층막의 특성을 평가하기 위해 접촉각을 측정하였다. Table I에서 보는 바와 같이, 자기조립단층막의 형성 이후에 측정된 접촉각(sample 3)은 60.14±3.21(°)로 이전 단계인 TiO_2시편의 접촉각보다 상당히 증가된 것을 알 수 있다. 즉, 친수적인 표면이 소수적인 표면으로 변화되었으며, 이는 Ahx-HSAB로 생성된 자기조립단층막에 의한 것이라 생각된다. 비특이적으로 흡착되어 있는 Ahx-HSAB와 자기조립단층막 형성 이후 남아있는 Ahx-HSAB는 유기용매에 의한 세척과정을 통해 모두 제거하였기 때문에 접촉각의 변화는 비특이적으로 남아있는 Ahx-HSAB에 의한 것은 아니라고 판단된다. 그리고 접촉각이 큰 값으로 변화함으로써 자기조립단층막의 형성 또한 TiO_2 코팅막과 카르복실산 작용기 사이의 결합력에 의해 생성되었다는 것도 알 수 있다. 만약 반대의 방향 즉, 카르복실산 작용기가 표면 바깥쪽의 방향으로 단층막이 형성되었다면, 친수성 막을 형성하여 보다 작은 접촉각을 가질 것으로 예상되기 때문에, 접촉각 측정을 통하여 TiO_2 코팅막과 카르복실산 작용기 사이의 결합력에 의해 자기조립단층막이 형성되었음을 알 수 있다.

고분자 코팅막의 형성

지금까지의 과정을 통해 생성된 자기조립단층막 위에 약물을 함유하는 안정된 고분자층을 형성하기 위해 광반응을 이용한 가교반응을 유도하였다. 즉, 자기조립단층막이 형성된 시편을 1%의 PCL 고분자 용액 속에 둔 채로 254 nm의 자외선을 조사함으로써 PCL 고분자와 자기조립단층막 사이에 화학적 결합을 유도하였다. 가교반응 후에는 스프레이 코팅법을 이용하여 추가로 약 5 μm 두께의 PCL 고분자층을 형성하였다. PCL 가교반응 후의 접촉각(sample 4)은 54.91±2.70(°)이었고, 고분자층을 형성한 후의 접촉각(sample 5)은 56.47±2.12(°)이었다(Table I). 이들의 값은 자기조립단층막을 형성한 후의 접촉각의 값과 비교했을 때 소량 감소한 값이었다. 특히 가교반응 후의 줄어든 접촉각의 값은 자기조립단층막의 접촉각의 값에 비해 오차범위를 벗어난 것으로 의미있는 변화라고 볼 수 있다. 따라서 광반응을 통한 PCL의 가교반응 이후의 생긴 유의미한 표면변화는 자기조립단층막과 PCL 사이에 생긴 화학결합에 의한 것이라 생각된다. 가교반응 이후에 비특이적으로 붙어있는 고분자들은 세척을 통해 제거하였기 때문에 남아있는 PCL에 의해 표면의 변화가 일어났다고 할 수 있으며, 이는 자기조립단층막과 PCL 사이에 생각 화학적 결합에 의한 것이라고 할 수 있을 것이다.

PCL 고분자층의 접촉각은 가교반응 이후의 접촉각에 비해 약간 높은 값이지만, 오차범위 내로 같은 고분자의 특징

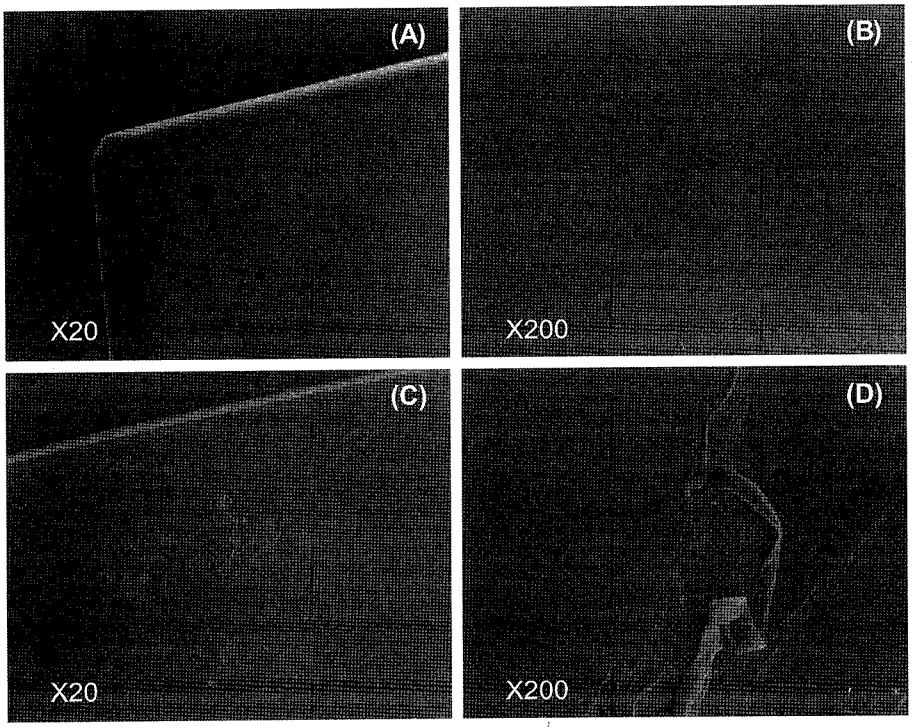


Figure 2–SEM images of polymer layer surface before [(A), (B)] and after [(C), (D)] vigorous shaking. PCL coating layer (control 1) was prepared by spray coating of PCL onto SS plate. The stability of PCL coating layer was tested by incubation of sample plate in 0.1 M PBS buffer (pH 7.4, 0.05% Tween 80) with vigorous shaking (200 rpm).

을 반영한다고 볼 수 있을 것이다. 이 값은 대조군 1(sample 6, SS시편 위에 PCL 고분자를 스프레이 코팅)과 대조군 2 (sample 7, TiO_2시편위에 PCL 고분자를 스프레이 코팅)의 접촉각과 비교했을 때도 비슷한 값을 보였다. 따라서 모두 PCL 고분자 코팅막의 접촉각을 반영한다고 할 수 있다.

코팅막의 안정도 평가

상기와 같이 형성된 코팅막의 안정도를 평가하기 위해, 대조군 1, 대조군 2와 실험군(자기조립단층막과 가교반응 이후에 PCL 고분자를 스프레이 코팅)을 0.1 M 인산완충용액(pH 7.4, 0.05% Tween80)에 넣고 200 rpm의 빠른 회전상태에 두어 시간에 따라 막의 형태를 관찰하였다. Figure 2와 Figure 3에서 보는 바와 같이, 대조군 1과 대조군 2의 안정도 평가 시행 전의 표면 상태는 매우 깨끗하였다. 하지만 3일 후에 전자현미경으로 관찰하였을 때, 표면의 고분자 코팅막에 손상이 생겼고 일부는 벗겨져 버린 것을 관찰할 수 있었다. 반면에, 실험군의 경우에는 3일 후에도 코팅막에 변화가 없었으며(Figure 4), 자료로 제시되지는 않았지만 2주 후에도 원래의 상태로 유지되었다. 따라서 가정했던 것과 같이 TiO_2와 카르복실산 사이의 결합력을 이용하여 자기조립단층막을 형성하고 가교반응을 통해 고분자막과 화학적 결합을 유도하였을 때 코팅막이 훨씬 더 안정한 상태로 유지될 수 있다는 것을 알 수 있다.

물론, 본 연구에서 제시하는 방법을 통해 약물의 방출양상도 달라지는 지는 추가의 연구가 필요할 것이다. 하지만 약물의 방출양상이 대조군과 비슷하다고 하더라도, 보다 안정된 코팅막을 스텐트에 코팅할 수 있다면, 이 후 스텐트 시술시 스텐트가 병변부위에 도달할 때까지 거치게 되는 가혹한 환경들을 극복함에 있어서 보다 긍정적인 효과를 기대할 수 있을 것으로 생각된다.

결 론

본 연구에서는 스텐트의 재질로 가장 많이 쓰이고 있는 스텐인레스스틸의 표면위에 TiO_2 코팅을 한 후, 합성된 Ahx-HSAB로 TiO_2와 카르복실산 사이의 결합력을 이용하여 자기조립단층막을 형성하였다. 이후에 광반응 통한 가교반응을 이용하여 자기조립단층막과 PCL 고분자 사이에의 화학결합을 유도하여 보다 안정된 코팅막을 형성하였고, 접촉각 측정을 통해 코팅의 단계들을 확인하였다. 이와 같이 형성된 코팅막의 안정성을 평가하였을 때, 금속표면위에 스프레이 코팅만을 시행한 코팅막에 비해 더욱 오랜 기간 동안 코팅

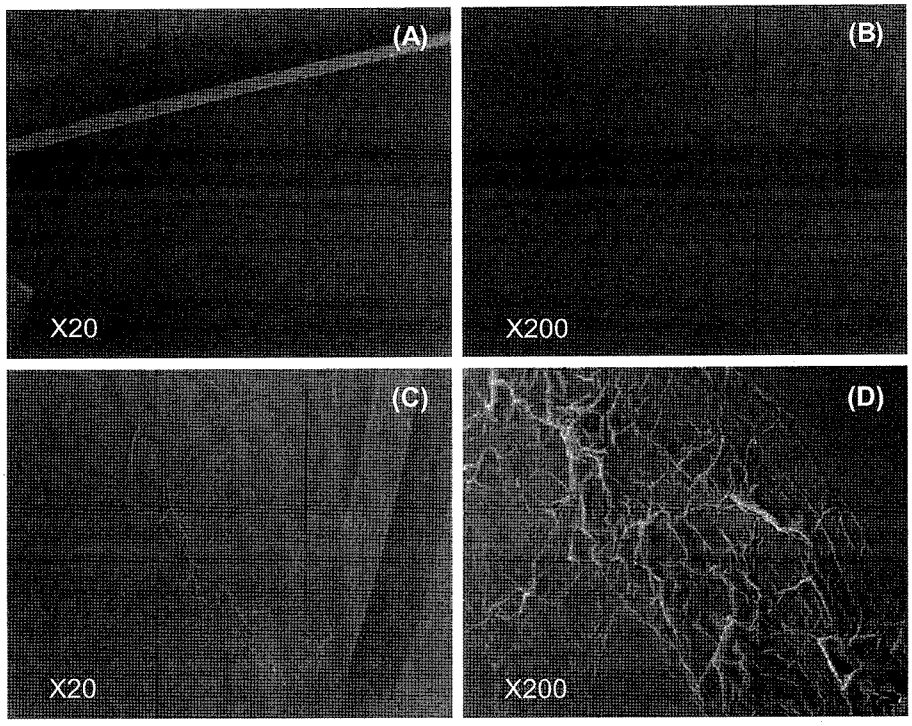


Figure 3–SEM images of polymer layer surface before [(A), (B)] and after [(C), (D)] vigorous shaking. PCL coating layer (control 2) was prepared by spray coating of PCL onto TiO_2-coated SS plate. The stability of PCL coating layer was tested by incubation of sample plate in 0.1 M PBS buffer (pH 7.4, 0.05% Tween 80) with vigorous shaking (200 rpm).

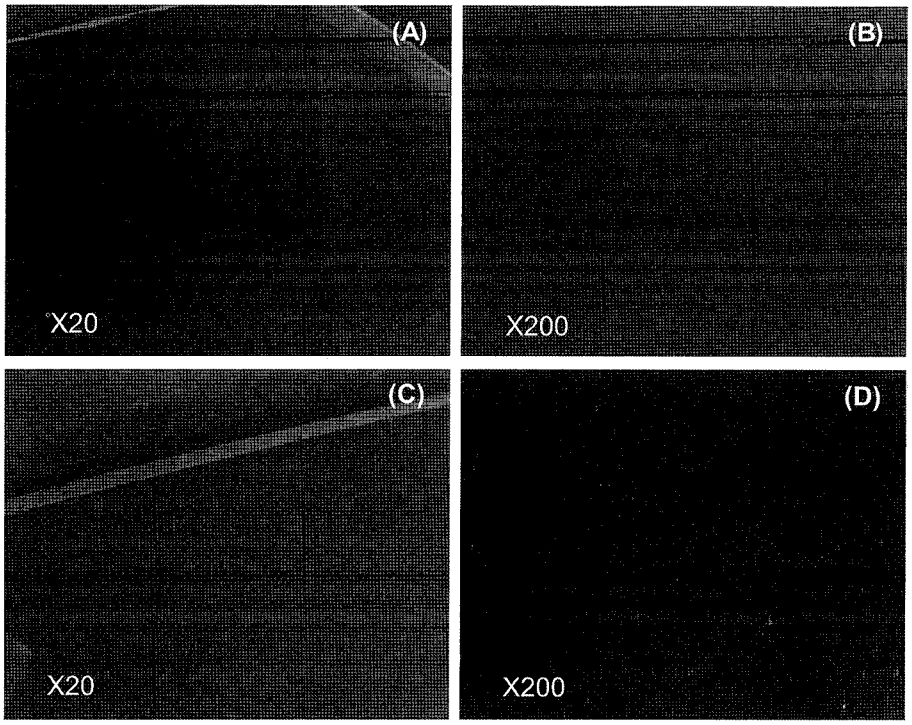


Figure 4–SEM images of polymer layer surface before [(A), (B)] and after [(C), (D)] vigorous shaking. PCL coating layer was prepared by coating processes of SAM, photoreaction and spray coating of PCL onto TiO_2-coated SS plate as shown in Figure 1. The stability of PCL coating layer was tested by incubation of sample plate in 0.1 M PBS buffer (pH 7.4, 0.05% Tween 80) with vigorous shaking (200 rpm).

막이 처음의 상태로 유지되는 것을 확인할 수 있었다. 따라서 금속표면과 코팅되는 고분자 사이에 화학적 결합력을 이용하여 코팅막을 형성한다면, 보다 안정된 코팅막을 형성할 수 있음을 보여주는 연구라 할 수 있을 것이다.

감사의 말씀

본 연구는 2006년도 인제대학교 학술연구조성비의 지원에 의해 수행되었습니다.

참고문헌

1) E. J. Topol, Coronary artery stents : gauging, gorging, and gouging, *N. Engl. J. Med.*, **339**, 1702-1704 (1998).
2) P. J. Casterella, Restenosis: an overview, *Front. Radiat. Ther. Oncol.*, **35**, 147-171 (2001).
3) R. Fattori and T. Piva, Drug-eluting stents in vascular intervention, *Lancet*, **361**, 247-249 (2003).
4) H. S. Kim, R. C. Chan, M. Kollum, A. Au, F. O. Tio, H. A. Yazdi, A. E. Ajani, and R. Waksman, Effects of 32P radioactive stents on in-stent restenosis in a double stent injury model of the porcine coronary arteries, *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, **51**, 1058-1063 (2001).
5) A. J. Wardeh, A. H. Knook, I. P. Kay, M. Sabate, V. L. Coen, D. P. Foley, J. N. Hamburger, P. C. Levendag, W.J. van der Giessen, and P. W. Serruys, Clinical and angiographical follow-up after implantation of a 6-12 microCi radioactive stent in patients with coronary artery disease, *Eur. Heart J.*, **22**, 669-675 (2001).
6) E. Grube, S. Silber, K. E. Hauptmann, L. Buellesfeld, R. Mueller, V. Lim, U. Gerckens, and M. E. Russell, Two-year-plus follow-up of a paclitaxel-eluting stent in de novo coronary narrowings (TAXUS I), *Am. J. Cardiol.*, **96**, 79-82 (2005).
7) V. Y. Lim, L. Buellesfeld, U. Gerckens, R. Mueller, T. Schmidt, and E. Grube, Use of Taxus polymer-coated paclitaxel-eluting stents for treatment of in-stent restenosis in real world patients: results of clinical and angiographic follow-up at six months in a single-center registry, *Catheter Cardiovasc. Interv.*, **68**, 343-348 (2006).
8) E. Schampaert, J. W. Moses, J. Schofer, M. Schluter, A. H. Gershlick, E. A. Cohen, D. A. Palisaitis, G. Breithardt, D. J. Donohoe, H. Wang, J. J. Popma, R. E. Kuntz, and M. B. Leon, Sirolimus-eluting stents at two years: a pooled analysis of SIRIUS, E-SIRIUS, and C-SIRIUS with emphasis on late revascularizations and stent thromboses, *Am. J. Cardiol.*, **98**, 36-41 (2006).
9) P. W. Serruys, M. Degertekin, K. Tanabe, A. Abizaid, J. E. Sousa, A. Colombo, G. Guagliumi, W. Wijns, W. K. Lindeboom, J. Ligthart, P. J. de Feyter, and M. C. Morice,

Intravascular ultrasound findings in the multicenter, randomized, double-blind RAVEL (RAndomized study with the sirolimus-eluting Velocity balloon-expandable stent in the treatment of patients with de novo native coronary artery Lesions) trial, *Circulation*, **106**, 798-803 (2002).

10) G. Mani, M. D. Feldman, D. Patel, and C. M. Agrawal, Coronary stents: A materials perspective, *Biomaterials*, **28**, 1689-1710 (2007).

11) P. Haudrechy, J. Foussereau, B. Mantout, and B. Baroux, Nickel release from 304 and 316 stainless steels in synthetic sweat. Comparison with nickel and nickel-plated metals. Consequences on allergic contact dermatitis, *Corros. Sci.*, **35**, 329-336 (1993).

12) R. Koster, D. Vieluf, M. Kiehn, M. Sommerauer, J. Kahler, S. Baldus, T. Meinertz, and C. W. Hamm, Nickel and molybdenum contact allergies in patients with coronary in-stent restenosis, *Lancet*, **356**, 1895-1897 (2000).

13) J. Breme, E. Steinhauser, and G. Paulus, Commercially pure titanium Steinhauser plate-screw system for maxillofacial surgery, *Biomaterials*, **9**, 310-313 (1988).

14) M. Browne and P. J. Gregson, Effect of mechanical surface pretreatment on metal ion release, *Biomaterials*, **21**, 385-392 (2000).

15) S. J. Lee, S. W. Han, M. Yoon, and K. Kim, Adsorption characteristics of 4-dimethylaminobenzoic acid on silver and titania: diffuse reflectance infrared Fourier transform spectroscopy study, *Vibrational Spectroscopy*, **24**, 265-275 (2000).

16) N. Kon and R. J. Suhadolnik, Identification of the ATP binding domain of recombinant human 40-kDa 2',5'-oligoadenylate synthetase by photoaffinity labeling with 8-azido-[alpha-32P]ATP, *J. Biol. Chem.*, **271**, 19983-19990 (1996).