



저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.



비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.



변경금지. 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#)

2021년 8월

박사학위 논문

생체친화적 친수성 소재가 적용된  
기능성 하이드로겔 콘택트렌즈의  
개발

조선대학교 대학원

탄소소재학과

민 일 기

# 생체친화적 친수성 소재가 적용된 기능성 하이드로겔 콘택트렌즈의 개발

Development of hydrogel contact lenses functionalized  
with biocompatible hydrophilic chemicals

2021년 8월 27일

조선대학교 대학원

탄소소재학과

민 일 기

# 생체친화적 친수성 소재가 적용된 기능성 하이드로겔 콘택트렌즈의 개발

지도교수 김 호 중

이 논문을 이학박사학위신청 논문으로 제출함.

2021년 4월

조선대학교 대학원

탄소소재학과

민 일 기

## 민일기의 박사학위논문을 인준함

위원장 조선대학교 교수 이재관 (인)

위원 조선대학교 교수 김호중 (인)

위원 조선대학교 교수 최철웅 (인)

위원 전남대학교 교수 홍창국 (인)

위원 전남대학교 교수 조성 (인)

2021년 6월

조선대학교 대학원

TABLE OF CONTENTS

---

TABLE OF CONTENTS..... i  
 LIST OF SYMBOLS AND ABBREVIATIONS..... iii  
 LIST OF TABLE..... iv  
 LIST OF FIGURES..... v  
 ABSTRACT.....viii

**1. Introduction** ..... 1

**2. Experiment** ..... 12

2.1 콘택트렌즈의 제조..... 12  
 2.2 양쪽이온성 분자가 적용된 콘택트렌즈의 제조 ..... 12  
 2.3 PEG의 carboxylation ..... 13  
 2.4 PEG가 적용된 콘택트렌즈 제조 ..... 14  
 2.5 함유율측정 ..... 14  
 2.6 접촉각측정 ..... 14  
 2.7 인공눈물의 제조 ..... 15  
 2.8 콘택트렌즈의 단백질 흡착량 측정 ..... 15  
 2.9 콘택트렌즈의 세균 흡착량 측정 ..... 16  
 2.10 콘택트렌즈의 세포독성 측정 ..... 17

**3. Results and Discussion** ..... 19

3.1 PEG가 적용된 콘택트렌즈 제조 ..... 19  
 3.1.1 PEG가 적용된 콘택트렌즈의 제조 ..... 19  
 3.1.2 PEG가 적용된 콘택트렌즈의 물성 ..... 22

3.1.3 PEG가 적용된 콘택트렌즈의 단백질 비흡착성.....	25
3.2 양쪽이온성 소재가 적용된 콘택트렌즈 .....	27
3.2.1 양쪽이온성 소재가 적용된 콘택트렌즈 제조 .....	27
3.2.2 양쪽이온성 소재가 적용된 콘택트렌즈의 물성 .....	27
3.2.3 양쪽이온성 소재가 적용된 콘택트렌즈의 세균 비흡착성 .....	28
3.3 양쪽이온성 소재가 공중합된 콘택트렌즈 .....	31
3.3.1 양쪽이온성 소재가 공중합된 콘택트렌즈 제조.....	31
3.3.2 양쪽이온성 소재가 공중합된 콘택트렌즈의 물성.....	32
3.3.3 양쪽이온성 소재가 공중합된 콘택트렌즈의 단백질 비흡착성 .....	35
3.3.4 양쪽이온성 소재가 공중합된 콘택트렌즈의 세균 비흡착성.....	36
3.4 Hyaluornic acid 및 폴리페놀이 적용된 콘택트렌즈 .....	38
3.4.1 Methacrylated hyaluornic acid의 합성.....	38
3.4.2 Hyaluornic acid을 이용한 하이드로겔 렌즈로의 IPN 구조체 형성 및 폴리페놀 고정.....	40
3.4.3 Hyaluronic acid 및 폴리페놀이 적용된 콘택트렌즈의 물성 분석 .....	40
3.4.4 Hyaluronic acid 및 폴리페놀이 적용된 콘택트렌즈의 세균 비흡착성 분석 .....	42
3.4.5 Hyaluronic acid 및 폴리페놀이 적용된 콘택트렌즈의 세포독성 평가 .....	44
<b>4. Conclusion</b> .....	46
<b>5. Reference</b> .....	48

## LIST OF SYMBOLS AND ABBREVIATIONS

HEMA	2-Hydroxyethyl methacrylate
EGDMA	Ethylene glycol dimethacrylate
AIBN	Azobisisobutyronitrile
PEG	Poly(ethylene glycol)
MPC	2-Methacryloyloxyethyl phosphorylcholine
DMAPS	[2-(methacryloyloxy)ethyl]dimethyl-(3-sulfopropyl)ammonium hydroxide
NVP	N-vinyl- pyrrolidone
DMA	dimethylacrylate
EDC	(1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodi imide hydrochloride



## LIST OF TABLES

표 1	현재 및 미래의 국내·외 시장규모
표 2	소프트 콘택트렌즈 재질의 FDA 분류
표 3	제조된 렌즈의 이름
표 4	인공눈물의 성분
표 5	제조된 렌즈의 이름
표 6	제조된 렌즈의 물성
표 7	시간에 따른 공렌즈, 갈릭산 코팅렌즈 배양액의 UV 흡광도 및 균성장 저해성 비교(%)
표 8	향균렌즈 용출액 세포독성 평가

## LIST OF FIGURES

- 그림 1 세계, 국내 콘택트렌즈시장 현황 (2016, KHIDI)
- 그림 2 세균에 오염된 콘택트렌즈 사용으로 인해 발병된 안질환 관련 사진
- 그림 3 화학살균에 사용되는 다목적용액(MPS, multi purpose solution)
- 그림 4 콘택트렌즈 살균제 성분의 기사내용 (적절한 관리교육의 필요성 강조)
- 그림 5 렌즈표면에서의 바이오필름 생성 및 세균흡착을 방지하기 위해서는 초기단계에서 세균의 흡착을 방지해야함(출처: Optical Engineering, 56(11), 111708 (2017))
- 그림 6 양쪽이온성 분자로 개질된 표면은 단백질 및 세균비흡착 기능을 갖음 (출처: Applied Surface Science, 2018, 427, 517-524)
- 그림 7 세균비흡착성 표면 제조 방법 (출처: Polymers, 2012, 4, 46-71)
- 그림 8 천연 탄수화물의 분자구조
- 그림 9 HEMA 렌즈와 탄수화물 network간의 IPN 구조 형성
- 그림 10 항균효능을 갖는 다양한 폴리페놀 분자들 (출처: Journal of Nutrition, 2011, 141(5), 989S-1009S)
- 그림 11 하이드로겔 콘택트렌즈 중합 및 수화과정 모식도
- 그림 12 사용된 렌즈소재의 분자구조
- 그림 13 Carboxylated PEG164의  $^1\text{H-NMR}$  spectrum

- 그림 14 Carboxylated PEG2000의  $^1\text{H-NMR}$  spectrum
- 그림 15 콘택트렌즈의 가시광선 투과율
- 그림 16 (a) HEMA-L, (b) HEMA-P164, (c) HEMA-P2000의 접촉각 사진
- 그림 17 렌즈당 흡착된 라소자임의 양
- 그림 18 렌즈당 흡착된 알부민의 양
- 그림 19 공중합 후 표면중합을 통한 세균비흡착성 하이드로겔 렌즈의 개발 모식도
- 그림 20 제조된 양쪽이온성 소재가 적용된 콘택트렌즈의 사진(HEMA-A)
- 그림 21 접촉각 사진 (a) HEMA-L, (b) HEMA-A, (c) HEMA-B
- 그림 22 렌즈에서의 시간에 따른 공렌즈, 양쪽이온성 분자 코팅렌즈 배양액의 UV 흡광도
- 그림 23 단백질과 세균 비흡착기능을 갖는 poly(2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine)와 poly(2-hydroxyethyl methacrylate)가 공중합된 하이드로겔 렌즈의 제조
- 그림 24 콘택트렌즈의 가시광선 투과율
- 그림 25 제조된 콘택트렌즈의 접촉각 사진 (4.5  $\mu\text{L}$ ) (a) p(HEMA-co-5%MPC) (b) p(HEMA-co-10%MPC) (c) p(HEMA-co-15%MPC) (d) p(HEMA-co-20%MPC)
- 그림 26 렌즈당 흡착된 라이소자임과 알부민의 양
- 그림 27 렌즈에서의 시간에 따른 공렌즈, 양쪽이온성 분자가 공중합된

렌즈 배양액의 UV 흡광도

- 그림 28 Methacrylated hyaluonic acid (MHA)의 합성 과정
- 그림 29 Methacrylated hyaluronic acid의  $^1\text{H-NMR}$  spectrum
- 그림 30 MeHA IPN-DA 하이드로겔 렌즈의 absorbance spectra와 도파민의 표준검량곡선
- 그림 31 (A) 제조 직후 렌즈; (B) 제조 3개월 후 렌즈에서의 시간에 따른 공렌즈, 항균코팅렌즈 배양액의 UV 흡광도

## ABSTRACT

### Development of hydrogel contact lenses functionalized with biocompatible hydrophilic chemicals

Min Ilgi

Advisor : Prof. Kim Ho-Joong, Ph.D,

Department of Carbon Materials

Graduate School of Chosun University

In order to increase the protein non-adsorption and surface wettability of hydrogel contact lenses, poly(ethylene glycol) (PEG) chains were introduced into the lens surface. The PEG-coated lenses showed superior surface wettability than the general HEMA-based contact lenses. It was confirmed that the PEG-applied lens reduced the adsorption of lysozyme and albumin compared to the non-PEG lens.

In addition, lenses were manufactured by applying hydrophilic zwitterionic materials, and the physical properties and non-adsorption of bacteria were analyzed. The surfaces of HEMA-A and HEMA-B were coated with zwitterionic materials MPC and DMAPS, resulted in the significant reduction of protein and bacteria adsorption.

The lens modification methods studied in this paper improves the wearability by increasing the surface wettability and non-adsorption of proteins and bacteria to the HEMA-based contact lenses, and is evaluated as a method that is fairly easy to apply to lenses. Therefore, it is expected that it can be applied not only to the development of functional hydrogel contact lenses, but also to related medical devices.

# 1. Introduction

하이드로겔 콘택트렌즈는 시력교정 목적으로 착용되어져 왔으나, 근래에는 미용 컬러-콘택트렌즈 외에 안구 건강을 위한 헬스케어 및 기능성 렌즈 영역으로까지 확대되고 있다. 세계 콘택트렌즈 시장은 약 1조3000억원 이상이며 점유율을 보면, J&J(Accuve), Alcon(Civa vision), Cooper, Bauche Lomb 등의 메이저 4사가 시장의 80%를 과점하고 있으며 나머지 20%를 로컬 업체와 ODM 업체들이 점유하고 있다 (그림 1).

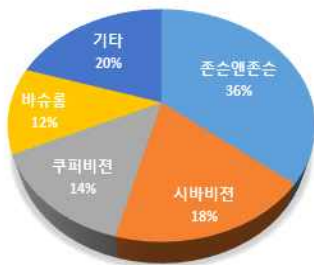
세계 콘택트렌즈, 렌즈 세정 및 소독액 시장 전망, 2012~2019

(단위 : 백만 달러, %)

	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	CAGR
Rigid Gas Permeable Contact Lenses	715	715	715	715	716	716	717	718	0.1
Soft Contact Lenses	9,386	9,885	10,442	11,035	11,568	12,255	13,065	13,962	5.8
Contact Lens Cleaning and Disinfecting Solutions	1,852	1,922	1,995	2,078	2,165	2,268	2,380	2,505	4.4
Total	11,953	12,522	13,152	13,828	14,448	15,239	16,162	17,184	5.3

출처 : Ophthalmic Devices [Vision Care, Contact Lenses, Contact Lens Cleaning and Disinfecting Solutions] Market, Global, 2012-2019, USD Constant Millions, Global Data

세계 콘택트렌즈 시장



국내 콘택트렌즈 시장

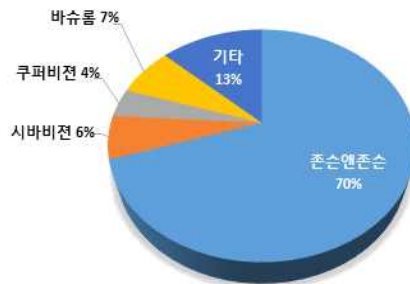


그림 1. 세계, 국내 콘택트렌즈시장 현황 (2016, KHIDI)

국내 콘택트렌즈 시장은 2500억원 이상으로 조사되고 있으며 (표 1), 점유율면에서는 4대 외국 메이저 제조회사의 과점 상황이 심하여 87%에까지 이르

고 있다. 후발주자인 국내업체들은 위탁생산이나, 경쟁력을 확보할 수 있는 미용렌즈인 컬러렌즈 위주로 생산하며, 중국, 인도네시아 등 신흥 시장 수출에 주력하고 있다.

표 1. 현재 및 미래의 국내·외 시장규모

(단위 : 억원)

구 분	현재의 시장규모(2016년)	예상 시장규모(2019년)
세계 시장규모	131,541	167,544
국내 시장규모	2,500	3,000
산출 근거	의료기기 품목시장 리포트 (KHDI(한국보건산업진흥원)2013.8.31)	

1960년 Wichterle에 박사 연구팀에 의해 친수성 콘택트렌즈 재질인 HEMA (2-hydroxyethyl methacrylate)가 개발되면서 렌즈 착용감이 혁신적으로 개선되어 오늘날까지 주로 사용되고 있다. 기본 단량체인 HEMA, 가교제인 EGDMA (ethylene glycol dimethacrylate), 중합개시제인 AIBN (azobisisobutyronitrile) 등을 기본 재료로 구성하고, 추가적으로 고탄수용 친수성 단량체 DMA (dimethylarylate), GMA (glycerol monomethacrylate), PVP (poly N-vinyl-pyrrolidone), NVP (N-vinyl-pyrrolidone) 등을 첨가하여 콘택트렌즈 몰드내에서 공중합할 경우, 3차원적으로 가교되어 다량의 물을 포함하여도, 렌즈의 성질을 갖는 소프트 하이드로겔 콘택트렌즈가 제조되고 있다. 중합된 poly(HEMA) 콘택트렌즈는 저렴하고, 유연할 뿐만 아니라, 3차원적인 형태 구조 제조에 적합하여 렌즈의 재료로써 주류를 이루고 있다. 소프트 콘택트렌즈는 함유율과 이온성 여부에 따라 FDA (food and drug administration, USA)에 의해 분류되고 있다 (표2). 이러한 분류는 렌즈의 구성 재료 및 함유 성분비에 의해 좌우되며, 분류에 따라 콘택트렌즈의 인장강도, 산소투과율 (Dk), 습윤성 및 누액성분의 침착 정도 등의 렌즈 기본적인 성질들이 결정되고 있다. 콘택트렌즈는 안구에 직접 착용하는 의료용기기로서, 안전성과 유효성을 유지하며 렌즈 자체의 안구 친화적인 특성을 유지해야 한다. 콘택트렌즈가 가져야 할 안구 친화적인 특성으로는 눈물층의 흐름을 원활히 하며, 눈꺼풀 및 안구 표면과 과도한 마찰을

피해야 한다. 또한, 대기로부터 산소가 적절하게 공급되어 안구에 전달되어야 한다. 가장 중요한 점으로는, 콘택트렌즈는 착용 시 각막에 직접 닿는 것이므로 관리를 소홀히 하는 경우 눈에 통증, 충혈, 각막염 등 부작용이 발생할 수 있어 철저한 위생관리가 필수적이다.

표 2. 소프트 콘택트렌즈 재료의 FDA 분류

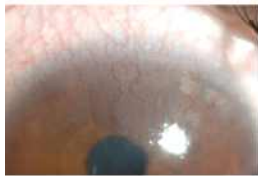
Commercial name	Manufacturer	USAN	Water Content	Monomers	FDA Group
Frequency 38	CooperVision	polymacon	38.0	HEMA	I
Optima FW	B & L	polymacon	38.0	HEMA	I
Preference	CooperVision	tetrafilcon	42.5	HEMA, MMA, NVP	I
Biomedics 55	Ocular Sciences	ocufilcon D	55.0	HEMA, MA	IV
Focus (1-2 wks)	CIBA Vision	vifilcon	55.0	HEMA, PVP, MA	IV
1-Day Acuvue	Vistakon	etafilcon	58.0	HEMA, MA	IV
Acuvue 2	Vistakon	etafilcon	58.0	HEMA, MA	IV
Proclear Compatibles	CooperVision	omafilcon	62.0	HEMA, PC	II
Soflens 66	B & L	alphafilcon	66.0	HEMA, NVP	II
Focus Dailies	CIBA Vision	nelfilcon	69.0	Modified PVA	II
Soflens One Day	B & L	hilafilcon	70.0	HEMA, NVP	II
Precision UV	CIBA Vision	vasurfilcon	74.0	MMA, NVP	II

HEMA 2-hydroxyethylmethacrylate; MA methacrylic acid; MMA methyl methacrylate; NVP *N*-vinyl pyrrolidone; PC phosphorylcholine; PVA poly vinyl alcohol; PVP polyvinyl pyrrolidone

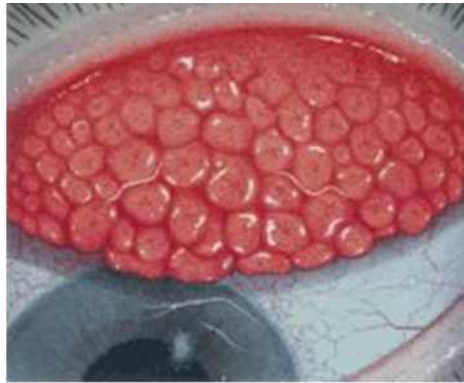
(출처: Modern Contact Lens Materials: A Clinical Performance Update)

현재 세균성 감염 안질환 (각막염, 결막염) 발병은 매년 증가하고 있다. 특히, 당뇨병, 과다영양섭취, 고혈압 등의 안질환 유발 요인의 증가와 봄철 심해지는 황사는 세균성 안질환 발병을 크게 증가시키고 있다. 현재 대중화된 라식수술 후 필수적인 보호 렌즈의 사용도 세균에 의한 오염이 우려될 수 있으며 이때, 항균성 렌즈의 사용은 세균성 안질환 발생의 위험을 줄여줄 수 있다. 콘택트렌즈 착용시 세균 및 진균으로 인한 각막염, 각막궤양, 각막혼탁, 시력장애 등을 예방하기 위해 사용되는 다목적액도 미생물 감염을 일으킬 수 있어 항생제, 보존료, 삼투압 조절제, 완충제, 점도유지제, 계면활성제 등이 첨가되고 있다. 또한 청소년들의 무분별한 콘택트렌즈 사용과 관리 부족으로 인한 안과 질환이 사회적으로 이슈가 되고 있다 (그림 2).





신생 혈관



거대유두결막염

그림 2. 세균에 오염된 콘택트렌즈 사용으로 인해 발병된 안질환 관련 사진

콘택트렌즈를 살균하는 대표적인 방법으로 열소독과 화학소독이 있으며, 열소독은 가장 확실한 콘택트렌즈 살균방법이나 살균과정이 번거롭고 물성의 변화를 야기하므로 현재는 사용하지 않고 있다. 현재 가장 많이 사용하고 있는 살균방법은 다목적용액을 이용한 화학 소독방법이며, 콘택트렌즈의 관리에 주로 사용되는 다목적용액(multi-purpose solution, MPS)은 의약외품으로 렌즈의 세척·보존·소독·살균·단백질제거·헹굼 등을 목적으로 사용되는 콘택트렌즈 관리용품이다 (그림 3). 다목적용액 성분 중 polyhexamethylene biguanide (PHMB)는 낮은 농도에서도 미생물을 억제할 수 있는 살균력이 우수한 물질로 콘택트렌즈 관리용품 뿐만 아니라 수술 시 피부소독제, 거즈 소독제, 수술도구 등 의료기기 소독제, 방역소독제, 주방기기 살균제, 수영장 소독제 등 광범위하게 사용되고 있다 (그림 4). 그러나 이러한 화학 첨가물은 살균 후 충혈, 부종, 각막염 등을 일으킬 수 있으며 환경파괴의 문제를 야기하고 있다.

지속적으로 확대 및 성장하고 있는 콘택트렌즈 시장에서 우수한 기술력으로 우위를 점하기 위해서는 콘택트렌즈 착용 및 관리시 발생할 수 있는 세균의 오염원 혹은 활성화요인을 제거하여 우수한 착용감과 항균기능성을 극대화할 수 있는 천연물 유래 생체친화적 소재를 적용한 콘택트렌즈의 개발이 필수적이다.



그림 3. 화학살균에 사용되는 다목적용액(MPS, multi purpose solution)



그림 4. 콘택트렌즈 살균제 성분의 기사내용 (적절한 관리교육의 필요성 강조)

콘택트렌즈의 또 다른 문제점은 각막 표면에 직접 접촉하여 착용하므로 눈에 물에 포함된 단백질, 지방, 점액, 칼슘 등의 침전물이 렌즈 표면에 부착된다는 것이다. 하이드로겔 콘택트렌즈의 표면이 소수성이나 이온성 물질이 있기 때문에 누액에 존재하는 단백질이 많이 흡착되고 있다. 특히 누액에 존재하는 라이소자임은 분자량이 작고 표면에 양전하를 띄고 있어 렌즈의 표면의 다공성 부위와 음이온을 띄는 부분과 강하게 결합하며, 렌즈표면에 단백질 침전물이 형성될 수 있다. 단백질 침전물은 심한 경우 결막염, 결막 충혈

및 윤부충혈 등의 부작용을 유발시킬 수 있으며, 형성된 침전물은 렌즈의 수분을 제거하여 습윤성을 저하시키고 착용감을 저하시키고, 염증질환, 세균 감염, 렌즈의 변색 등의 부작용을 발생시킬 수 있다. 단백질 침전물의 제거를 위해 계면활성세척액, 효소세척액, 다목적 용액 및 초음파 등에 의한 세척방법이 사용되고 있으나 부착된 침전물을 완전히 제거하는 데는 한계가 있다.

단백질의 표면에는 소수성 부분과 친수성 부분이 있을 수 있으며, 이중 친수성 부분은 다시 비이온성과 이온성 부분으로 나뉘어질 수 있다. 단백질 표면의 소수성 부분과 렌즈 표면의 소수성 부분과의 인력에 의해 서로간 흡착할 수 있다. 또한, 이온성의 친수성 부분간에 인력에 의해 단백질 흡착이 일어날 수 있다. 이 경우, 렌즈와 단백질 표면간의 정전기적인 인력으로 인한 결합이 가장 강하며, 단백질의 흡착을 증가시키는 요인으로 알려져 있다. 단백질 흡착은 일반적으로 누액상에서 일어나므로, 비이온성의 친수성의 단백질 표면과 렌즈의 표면은 물분자 매개체의 방해로 인하여 상대적으로 인력이 작아 단백질 흡착이 방지된다. 또한, 이온성의 친수성 부분간의 정전기적인 반발력이 일어날 경우에도 단백질-렌즈 표면간의 흡착이 약해지게 된다.

최근 정전기적 반발력을 이용하여 단백질 비흡착 기능성 콘택트렌즈가 제조되고 있다. 생체세포막과 같은 인지질 (phospholipid) 이중구조를 가지는 2-methacryloyloxylethyl phosphorylcholine (MPC)는 양이온과 음이온을 동시에 갖는 양쪽이온성 생체분자모방 단량체이다. MPC는 양쪽이온성이기 때문에 단백질 표면의 양이온 또는 음이온 모두에 정전기적 반발력을 나타내며, 추가적으로 친수성이 매우 우수하기 때문에 단백질의 흡착을 방지할 수 있다. MPC가 5~15%로 HEMA와 공중합되어 판매되는 콘택트렌즈의 경우, 표면습윤성과 단백질 비흡착성이 개선되었다. 정전기적 반발력의 도입이외에 또 다른 단백질 비흡착 전략으로, 비이온성의 친수성 고분자들이 렌즈에 도입되고 있다. Polyethylene glycol (PEG)는 비이온성이며 친수성의 ethylene ether를 작용기를 반복적으로 가지고 있어, 단백질 표면과의 정전기적 인력이나 소수성 인력을 배제하여, 우수한 단백질 흡착 방지 기능을 보인다. PEG가 화학적 혹은 정전기적으로 렌즈 표면에 결합되어, 렌즈의 습윤성과 윤활성을 증가시킬 뿐 아니라 바이오필름 생성과 단백질 흡착을 방지하여 렌즈의 착용

강을 증가시킬 수 있다 (그림 5).

최근에는 친수성과 소수성 부분을 함께 가지고 있는 양친매성 분자를 이용하여 렌즈표면에 단백질을 포함한 침전물의 부착을 구조적으로 억제하기 위한 연구가 진행되고 있다. 이들은 대부분 블록 공중합체나 지방산 등이 치환된 그래프트 공중합체 등의 형태이며, CMC (critical micelle concentration) 이상의 농도에서 자기조립에 의해 구형의 입자를 형성한다. 높은 용해도를 가지고 있는 점에서 수용성 고분자와 같은 성질을 가지지만 수용액 상에서 소수성 블록들은 물과의 접촉을 최소화하기 위해 그들의 상호작용에 의해 뭉치려는 경향을 보이며, 이는 자유에너지의 감소에 기인한다. 이렇게 뭉쳐진 소수성 집합체 내에는 미셀 (micelle) 영역이 형성되고, 친수성 고분자가 외부에 둘러싸여 분자 간 물리적 결합을 하고 있는 고분자입자가 형성되어 수용액에 대한 전체적인 용해도가 증가된다.

비이온성 혹은 양쪽이온성 친수성 소재들은 단백질 비흡착 기능외에 세균의 흡착도 방지할 수 있다 (그림 6). 세균의 외부막은 음이온성을 띄기 때문에 콘택트렌즈의 표면에 음이온성의 분자가 코팅되어 있을 때 정전기적인 반발력을 통해 세균의 흡착이 방지될 수 있다 (그림 7). 또한, PEG와 같은 중성의 친수성 고분자는 낮은 표면장적으로 인해 세균과의 흡착력이 약해질 수 있으며, bulky한 고분자들의 큰 입체장애는 세균의 접근을 막아 항균 기능의 표면개질에 이용될 수 있다.

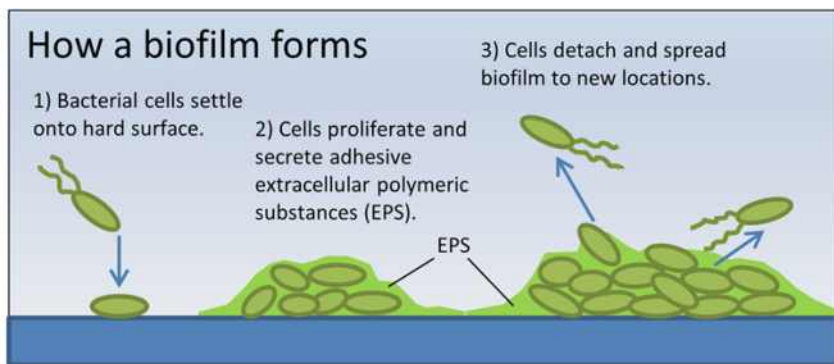


그림 5. 렌즈표면에서의 바이오필름 생성 및 세균흡착을 방지하기 위해서는 초기단계에서 세균의 흡착을 방지해야함(출처: Optical Engineering, 56(11), 111708 (2017))

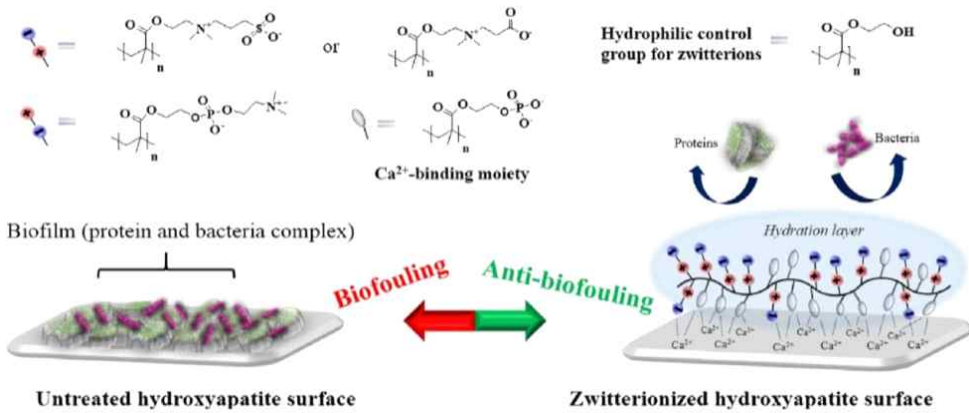


그림 6 양쪽이온성 분자로 개질된 표면은 단백질 및 세균비흡착 기능을 갖음 (출처: Applied Surface Science, 2018, 427, 517-524)

의료기기 표면에 세균의 흡착 방지, 괴사, 항생제 방출 등의 방법을 이용한 다양한 항균성 재료 및 표면개질법이 개발되고 있으며, 언급한바와 같이 하이드로겔 표면이 음전하를 띠면 음전하의 세포벽을 갖는 세균의 흡착을 막을 수 있다. 그러나 음전하를 띠는 이온성 하이드로겔은 이온결합을 통한 단백질흡착 증가의 부작용이 생길 수 있으며, 항생제-방출 하이드로겔의 경우, 항생제의 오남용 및 내성화의 문제가 생길 수 있으며, 새로운 합성 고분자의 적용은 생체적합성에 문제를 일으킬 수 있다.

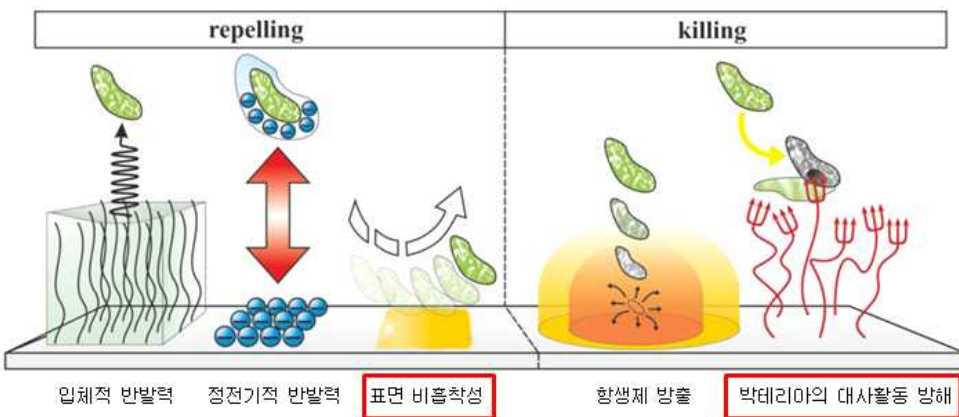


그림 7. 세균비흡착성 표면 제조 방법 (출처: Polymers, 2012, 4, 46-71)

따라서 비이온성, 친수성, 생체적합성 고분자 및 natural 항균성 물질이 하이드로겔에 도입되면 세균 비흡착성을 얻을 수 있다. 키토산과 히알루론산은 생체적합성 natural 고분자이다 (그림 8). Succinyl기가 도입된 숙시닐 키토산 혹은 methacrylate기가 도입된 히알루론산을 상호 침입 고분자 망상 (interpenetrating polymer network: IPN) 구조 적용 방법으로 하이드로겔 렌즈 표면에 고정시킬 수 있다 (그림 9). Gallic acid (갈릭산)과 같은 폴리페놀은 뛰어난 항균성을 띄는 것으로 보고되고 있어서, 키토산의 아민기 등에 natural 항균성 물질인 gallic acid (갈릭산) 등을 아미드결합을 통하여 다량으로 고정시켜 항균성 하이드로겔 렌즈를 제조할 수 있다. (그림 10).

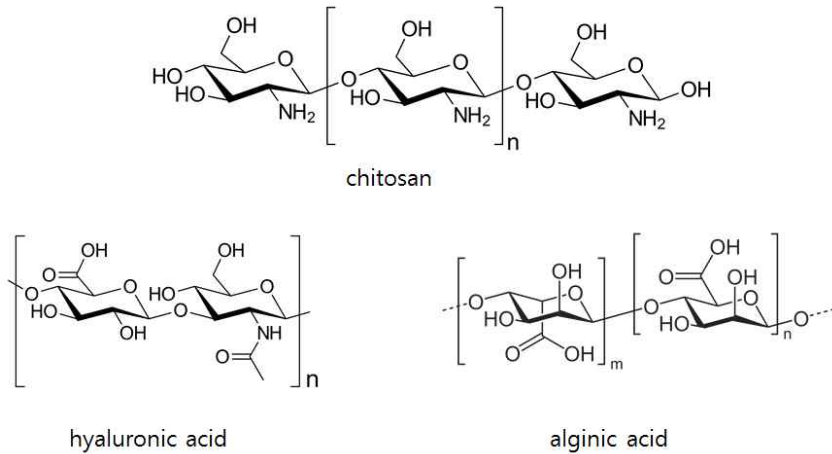


그림 8. 천연 탄수화물의 분자구조

### Interpenetrating polymer network (IPN)



그림 9 HEMA 렌즈와 탄수화물 network간의 IPN 구조 형성

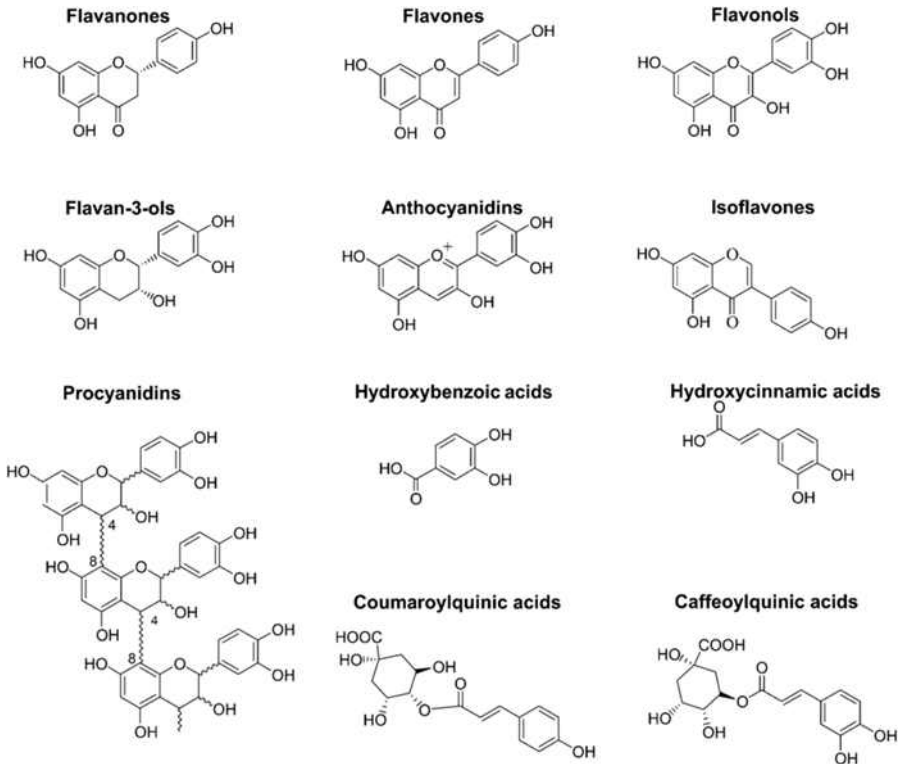


그림 10. 항균효능을 갖는 다양한 폴리페놀 분자들 (출처: Journal of Nutrition, 2011, 141(5), 989S-1009S)

본 논문에서는 화학적 공유결합을 통해 친수성의 비이온성 물질 혹은 양쪽이온성 물질을 렌즈 표면에 고정하였고, 이들의 생체적합성과 세균 및 단백질 비흡착 기능을 분석하였다. 물리적 첨가가 아닌, 화학적 결합을 통해 세균 및 단백질 비흡착 기능의 물질을 렌즈 표면에 고정하기 때문에 검증되지 않고 유해한 살균제의 용출이 없으며, 세균흡착을 방지하며 긴 유통기간을 가질 수 있었다. 살균제의 사용 및 용출없이, 세균 및 단백질 흡착 방지용 분자들을 렌즈 표면에 적용한 생체친화적 공정이며, 단백질이나 세균흡착을 초기에 방지하면서 바이오필름 생성을 감소시킬 수 있었다.



## 2. Experiment

### 2.1 콘택트렌즈의 제조

콘택트렌즈 제조에 사용된 HEMA는 진공 증류하여 불순물과 중합방지제를 제거한 후 사용하였다. 하이드로겔 렌즈 제조를 위해 HEMA (99.2%), 가교제 EGDMA (0.4%), 개시제 AIBN (0.4%)의 배합을 사용하였다. 재료를 혼합한 후 30분 동안 상온에서 교반하였다. 혼합된 단량체들은 콘택트렌즈 polypropylene (PP) 하몰드에 주입하고 polybutylene terephthalate (PBT) 상몰드로 덮은 뒤, drying oven (HST-501S, Hanst)에서 120 °C, 1시간동안 중합하였다. 몰드에서 렌즈를 제거한 후 최소 2일 이상 증류수 vial에 담구며, 반응하지 않은 단량체들과 개시제를 제거하였다 (그림 11). 제조된 렌즈는 HEMA-L로 명명하며, 대조군으로 사용하였다.



그림 11 하이드로겔 콘택트렌즈 중합 및 수화과정 모식도

### 2.2 양쪽이온성 분자가 적용된 콘택트렌즈의 제조

제조된 콘택트렌즈(HEMA-L) 표면에 양쪽이온성 단량체 2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine (MPC)와 [2-(methacryloyloxy)ethyl]dimethyl-(3-sulfopropyl)ammonium hydroxide (DMAPS)를 표면중합시키고자 아래와 같이 반응을 진행하였다 (그림 12, 표 3). MPC는 양전하를 띄는 ammonium작용기와 음전하를 띄는 phosphoryl작용기를 가지고 있다. DMAPS는 양전하를 띄는 ammonium작용기와 음전하를 띄는 sulfonate작용기를 동시에 가지고 있는 단량체이다. 렌즈들을 benzophenone 함유 acetone (10 mg/mL) 용액에 상온에서 1분간 담구고, 1시간 동안의 진공

처리를 통해 용매를 제거하였다. 얻어진 렌즈들을 0.1 M의 양쪽이온성 단량체 수용액 10 mL에 넣고, UV-B(320 nm파장, 15W) 빛을 15분간 조사하여, 공중합시켰다. Acetone과 증류수로 반복적인 세척을 통해 미반응물들을 제거하고, 분석하였다.

표 3. 제조된 렌즈의 이름

사용된 양쪽이온성 단량체	제조된 콘택트렌즈 이름
없음 (대조군)	HEMA-L
MPC	HEMA-A
DMAPS	HEMA-B

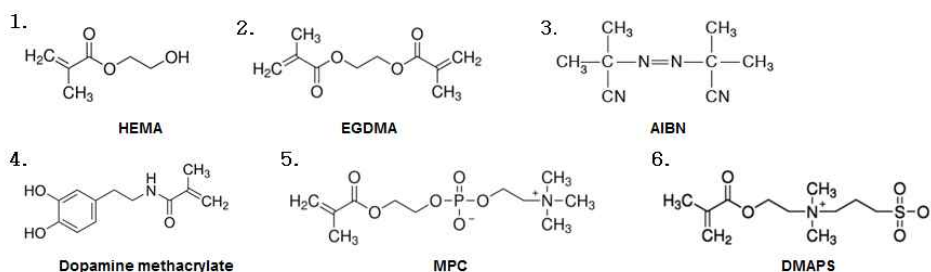


그림 12 사용된 렌즈소재의 분자구조

## 2.3 PEG의 carboxylation

Carboxylated PEG는 Fishman method에 의거해 합성하였다. 대표적으로 triethylene glycol monomethyl ether (분자량 164) 5 g (30.45 mmol)을 100 mL의 round bottom flask 에서 넣고, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 3M solution (8 mL 의 sulfuric acid)를 첨가하였다. 상온에서 교반시킨 후, CrO<sub>3</sub> (3.65 g, 36.54 mmol)을 천천히 dropwise 시켰다. 추가적인 12시간의 상온교반 후, 녹색색의 결과물을 methylene chloride (3x100 mL)로 추출하고, 증류수 (2x50 mL)와 포화된 brine 용액 (50 mL)으로 씻어내었다. MgSO<sub>4</sub>을 이용 하여 유기용액층에서 수분을 제거하였고, 유기용매를 감압 증발시켜 무색액체인 carboxylated PEG 164를 얻었다 (3 g, 수율 60%). <sup>1</sup>H NMR 데이터는 JEOL oxford YH300-300MHz spectrometer를 통해 얻었다.

<sup>1</sup>H NMR(300MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm): δ 4.18(s, 2H), 3.75–3.58(m, 8H), 3.39(s, 3H).

Carboxylated PEG 2000은 polyethylene glycol monomethyl ether(분자량 2000)을 이용하여carboxylated PEG 164과 같은 방법으로 합성되었다 (4.7 g, 수율 94%).

<sup>1</sup>H NMR (300MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm): δ 4.16(s, 2H), 3.72–3.58(m, 172H), 3.38(s, 3H).

## 2.4 PEG가 적용된 콘택트렌즈 제조

제조된 콘택트렌즈(HEMA-L) 5개, carboxylated PEG 164 (50 mg, 0.333 mmol), dimethylformamide(DMF) 20mL, *N,N'*-dicyclohexylcarbodiimide(DCC) (75.0 mg, 0.363 mmol), 4-dimethylaminopyridine(DMAP) (7.74 mg, 0.063 mmol) 등을 25 mL 바이알에 넣었다. 상온에서 24시간 교반 후에, 최소 2일 이상 에탄올, 증류수 등으로 세척하며, 반응하지 않은 시약들을 제거하였다. Carboxylated PEG 164가 적용된 렌즈를 Lens P164로, carboxylated PEG 2000 이 적용된 렌즈를 Lens P2000으로 명명하였다.

## 2.5 함수율측정

제조한 렌즈를 48시간 동안 과량의 물에 담근 후 수화시켰으며, 표면의 수분을 제거해 질량을 측정하였다. 수화된 렌즈를 건조시켜 질량을 측정하고 아래의 식을 통해 함수율을 측정하였다. 각 시료별로 4회 실험을 진행하였고, 가장 기본이 되는 HEMA-L의 함수율은 38.5± 1.8 wt%로 측정되었다.

$$\text{함수율(\%)} = \frac{\text{완전 수화된 렌즈의 무게} - \text{완전 건조된 렌즈의 무게}}{\text{완전 건조된 렌즈의 무게}} \times 100$$

## 2.6 접촉각측정

5 μL인 물방울을 렌즈 표면에 놓은 후, 3분 후에 HI-SCOPE/HS-300U를 이

용하여, 접촉각을 측정하였음

## 2.7 인공눈물의 제조

제조된 콘택트렌즈의 단백질 흡착 특성을 살펴보기 위해 인체의 눈물과 비슷한 조성을 갖는 인공 눈물(pH=7.4)을 제조하였다. 인공눈물은 표 4에 나타낸 조성대로 lysozyme(chicken egg lysozyme,  $\geq 90\%$ , Aldrich), albumin(bovine serum albumin,  $\geq 96\%$ , Aldrich), NaCl, KCl,  $\text{CaCl}_2$ ,  $\text{NaHCO}_3$ 을 증류수에 용해시켜 실험에 사용하였다.

표 4. 인공눈물의 성분

Ingredients	Amount(g) / L
Lysozyme	1.20 g
Albumin	3.88 g
NaCl	7.00 g
KCl	1.70 g
$\text{CaCl}_2$	0.05 g
$\text{NaHCO}_3$	2.20 g

## 2.8 콘택트렌즈의 단백질 흡착량 측정

3.88 g/L의 bovine serum albumin (알부민)과 1.20 g/L의 lysozyme (라이소자임)을 포함하는 phosphate buffered saline (PBS, pH 7.4)의 인공눈물을 제조하였다. 6개의 렌즈씩 37 °C의 5 mL 인공눈물에서 12 시간 동안 배양하였다. 배양 후, 렌즈를 PBS용액으로 세척하여, 렌즈 표면에 결합되지 않은 단백질을 제거하였다. 렌즈를 암실에서 0.2 wt % trifluoroacetic acid의 acetonitrile 추출용액에서 24 시간 배양하였다. 콘택트렌즈로부터 추출된

단백질의 농도는 역상 고성능 액체 크로마토그래피 (reverse phase high-performance liquid chromatography(RP-HPLC))를 사용하여 정량화하였다. HPLC 시스템 (Shimadzu, Japan)는 LC-10AVP 펌프, LC-20AD 오토 샘플러 및 SPD-10A UV 검출기로 구성되어 있다. 추출된 100  $\mu\text{L}$ 의 라이소자임 용액 또는 10  $\mu\text{L}$ 의 알부민은 900 또는 990  $\mu\text{L}$ 의 이동상 용액과 각각 혼합하였다. 이 혼합물의 20  $\mu\text{L}$ 를 C18컬럼 (LUNAC18, 4.6 $\times$ 150 mm, 5  $\mu\text{m}$ ; Phenomenex, Torrance, CA, USA)에 주입하였다. 0.1 wt % trifluoroacetic acid 함유하는 acetonitrile 50%/물 50% 혼합물로 단백질을 용리하였다. 실행 시간과 유량은 각각 4.5 분 및 1.0 mL/분으로 설정하고 샘플 220 nm에서 분석하였다.

## 2.9 콘택트렌즈의 세균 흡착량 측정

대한약전 11개정 일반시험법의 ‘항생물질의 미생물학적 역가시험법’을 바탕으로 고안하여 항균성 평가를 수행하였다. 정량적 평가법에서는 일상생활에서 가장 빈번히 노출, 감염될 우려가 높은 균인 E. Coli 균을 모델 균주로 선택하여 항균성 평가를 수행하였다.

Mueller-Hinton 배지를 사용해 21 g/L 의 농도로 배지 용액 50 mL를 만들어 200 mL 용량의 삼각 플라스크에 채워준 후 고압증기멸균법으로 121  $^{\circ}\text{C}$ , 15 분 동안 멸균 후, 실온에서 37  $^{\circ}\text{C}$ 까지 냉각한 후 E.coli stock solution을 1 mL 가하고 37  $^{\circ}\text{C}$  shaker incubator에서 6 시간 동안 배양하였다. 앞의 방법과 동일하게 2 L 삼각 플라스크 두 개에 각각 200 mL씩 Mueller-Hinton 배지를 채워 멸균 후 실온에서 37  $^{\circ}\text{C}$ 까지 냉각한 후 앞서 제조한 E.coli 배양액을 2 mL씩 가하고 37  $^{\circ}\text{C}$  shaker incubator에서 12 시간 동안 배양하여 E.coli 균 액을 준비하였다. 콘택트렌즈를 70% 에탄올 용액에 멸균 후, 멸균 증류수를 사용하여 잔류 에탄올 용액을 세척하였다. 준비해둔 렌즈를 스테인레스 재질의 망에 넣고 E.coli 균 액 400 mL에 잠기게 하고 용기를 밀봉 후 orbital shaker로 6 시간 동안 혼합하여 렌즈 표면에 균이 고루 접촉할 수 있게 하였다. 이러한 오염 과정을 마친 렌즈를 균액에서 꺼내 50 mL 멸균증류수에 1 분간 담궈준 후, 멸균된 20 mL Mueller-Hinton 액체 배지에 넣어 37  $^{\circ}\text{C}$  shaker incubator에서 표면균을 배양하였다. 정해진 시간 (1.5, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 시간) 마다 1 mL씩 샘플을 취하여 UV Spectrophotometer를 사

용해 595 nm 파장에서 배양액 샘플들의 흡광도를 측정하여 단백질 비흡착 기능의 렌즈와 공렌즈(HEMA-L)간 흡착량을 비교 평가하였다.

## 2.10 콘택트렌즈의 세포독성 측정

### ◎ 세포 배양

본 연구에 사용된 배양세포는 mouse fibroblast 일종인 L929 cell line을 이용하였으며, L929 세포는 한국 세포주은행으로부터 분양 받아 사용하였다. L929 세포는 alpha minimum essential medium( $\alpha$ -MEM, GIBCO Co. USA)에 10%의 fetal bovine serum(FBS; CAMBREX, Co. USA)와 fungizone( $3\mu\text{l}/\text{ml}$ ) 및 antibiotics( $10\mu\text{l}/\text{ml}$ )를 첨가해 사용하였다.

세포 배양은 75cm<sup>2</sup>의 배양용 flask(NUNC, Co. USA)에 일정량의 배양액을 넣어 37°C, 5% CO<sub>2</sub>로 조정된 CO<sub>2</sub> 항온기(Forma Co. USA)에서 배양하였고, 배양액은 3일 마다 교환하였다. 세포증식 저해를 조사하기 위해 배양된 세포는 0.25% trypsin-EDTA(Ethylene-diamine tetra-acetic acid)로 부유 시킨 후 0.4% trypan-blue로 염색하여 혈구계산기(hemocytometer)로 세포 수를 산정하였다.

세포생존을 실험은 배양된 세포를 96 well-plate(Nunc Co., USA)에  $1 \times 10^4$  cell/well 이 되도록 세포 부유액을 200  $\mu\text{l}/\text{well}$ 로 분주하여 배양한 후 실험에 사용하였다.

### ◎ MTT assay

3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl) 2, 5-diphenyl tetrazolium bromide (MTT, Sigma Co., USA) assay는 Mosmann(1983)방법에 따라 시행하였다. MTT assay는 세포소기관 중 미토콘드리아의 숙신산 탈수소효소 (succinate dehydrogenase)의 활성도를 측정하여 세포생존을 측정하는 방법이다. 용해성 노란색 MTT tetrazolium이 succinate dehydrogenase에 의해 불용성의 보라색 MTT formazan으로 환원되는 정도를 흡광도로 측정하는 방법으로 trypan blue에 의한 dye-exclusion 방법보다 민감하여 세포사 진행과정의 초기시점에서 세포의 생존율을 보다 정확히 측정할 수 있는 장점이 있다. MTT는 수용액 속에서는 무색이지만 살아있는 세포의 미토콘드리아 내의 효소인 succinate dehydrogenase에 의해서 물에 녹지 않는 보라색 색소로 전환되므로, 색소의 농도를 ELISA 비색계로 측정하여 살아있는 세포의 증식과 독성을 측정할 수 있다. 세포독성 검정을 위해 L929 세포는  $\alpha$ -MEM (GIBCO Co, USA)에 10%

FBS, fungizone ( $3 \mu\text{l/ml}$ ) 및 antibiotics( $10 \mu\text{l/ml}$ )를 첨가해 배양하여  $1 \times 10^4$  cell/well를 96 well-plate에 각각  $200 \mu\text{l/well}$ 씩 분주하여 세포가 well 당 80% 정도 채워졌을 때 처리하였다. 처리된 세포는 MTT  $200 \mu\text{g/ml}$ 가 포함된 배양액으로 교환하고 3시간 반응시켰다. 3시간 후 배양액을 버리고 dimethylsulfoxide (DMSO; Sigma CO. USA)를  $200 \mu\text{l/well}$  씩을 넣어 5분간 실온 방치하여 푸른색 결정인 formazan을 용해시킨 후 ELISA plate reader (Bio-Tech, USA)로 570 nm에서 흡광도를 측정하여 대조군과 비교하였다.

◎ 향균 하이드로겔 콘택트렌즈 용출액

제조직후, 1, 2, 3 개월 경과 렌즈를 생리식염수 20 mL에 담아 밀봉하여  $70 \pm 2^\circ\text{C}$ 에서  $24 \pm 2$ 시간 동안 가열 후 병에 남아있는 용출물을 각막 온도에 맞게  $37^\circ\text{C}$ 에서 24시간 동안 정치하였고, 세포에 적용하기 전에 여과시켜 사용하였다.

◎ 세포독성 평가

제조된 렌즈의 용출액에 대한 독성검증은 식품의약품안전처 (고시 제 2014-82호)의 세포독성검사에서 제시한 방법에 의해 mouse fibroblast 일종인 L929 cell line을 이용하여 세포증식 저해정도를 MTT assay에 의해 검증하였다. 세포독성 평가 기준은 호주의 뉴 사우스 웨일즈 (New South Wales) 대학의 부설 Cooperative Research Center for Eye Research and Technology (CRCERT)에서 시행한 세포 증식 저해 염색법을 사용한 잠재 독성평가 보고서를 기준으로 하였다. 용출액을 24시간 처리하여 MTT 비색검정인 세포 증식 저해율이 30% 이상이면 독성이 있는 것으로 판정하고 대조군은 배양액을 사용하였다.

## 3. Results and Discussion

### 3.1 PEG가 적용된 콘택트렌즈

#### 3.1.1 PEG가 적용된 콘택트렌즈 제조

하이드로겔 콘택트렌즈에 PEG를 ester 결합으로 연결 하고자 PEG에 carboxyl 작용기를 도입하였다. 분자량 164, 2000의 2가지 길이의 PEG monomethyl ether 에 chromium trioxide을 이용한 Jones oxidation 반응을 통해 carboxylated PEG 를 합성하였다 (각각 PEG164와 PEG2000으로 명명함).  $^1\text{H-NMR}$ (nuclear magnetic resonance) spectrometry 분석을 통해, Jones oxidation 반응 후 4.2 ppm 근처에 integral 2의 새로운 peak이 생성되었으며, carboxylation 반응이 성공적으로 수행됨을 확인하였다 (그림 13, 14). 개시제(AIBN), 가교제(EGDMA), HEMA 등을 이용하여 HEMA-기반의 하이드로겔 콘택트렌즈 (HEMA-L)를 제조하였다. HEMA-L 은 다량의 알콜(OH) 작용기를 가지고 있어, carboxylated PEG의 carboxyl 작용기와 ester결합이 가능하였다. 건조된 HEMA-L을 DMF용액에 담그고 DMAP, DCC, carboxylated PEG 를 첨가하여 esterification 반응을 수행하였다. PEG가 ester 결합으로 고정된 하이드로겔 렌즈들은 각각 HEMA-P164, HEMA-P2000이라 명명하였으며, 숫자는 PEG 의 분자량을 뜻한다 (표 5). HEMA-P164의 경우 렌즈당,  $1.91 \pm 0.003 \text{ mg}$  ( $12.73 \pm 0.017 \text{ } \mu\text{mol}$ )의 PEG164 가 결합되었고, HEMA-P2000에는  $2.23 \pm 0.002 \text{ mg}$  ( $1.12 \pm 0.020 \text{ } \mu\text{mol}$ )의 PEG2000이 결합됨을 확인하였다(표 5). PEG의 길이와 상관없이 렌즈 표면에 결합 된 PEG양은 약 2 mg으로 일정하였으며, 건조된 렌즈와 수화된 렌즈의 무게가 각각 약 180, 300 mg임을 고려하면 상당히 적은 양의 PEG가 렌즈의 표면에 결합되었다. PEG164는 PEG2000 보다 약 11배 mol수 이상으로 렌즈에 고정됨으로 계산되었고, 이는 PEG2000이 PEG164보 다 훨씬 길기 때문에 입체적으로 방해를 받아 esterification 반응의 효율성이 떨어져 결합된 PEG2000의 수가 적다고 유추할 수 있다.





그림 13 Carboxylated PEG164의  $^1\text{H-NMR}$  spectrum.

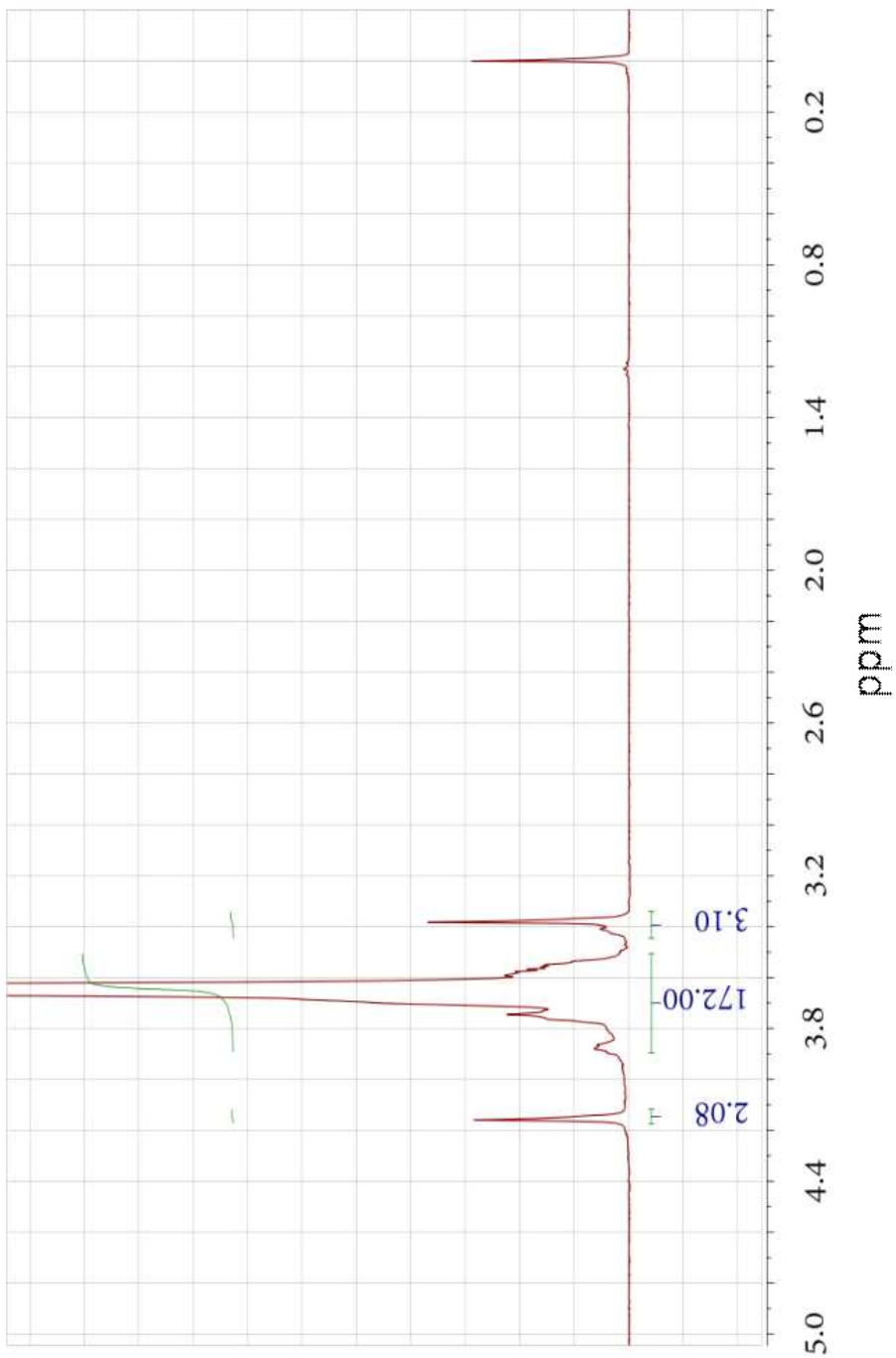


그림 14 Carboxylated PEG 2000의  $^1\text{H-NMR}$  spectrum.

### 3.1.2 PEG가 적용된 콘택트렌즈의 물성

UV-VIS absorption spectroscopy를 통해 투과스펙트럼을 얻은 후, 가시광선 (파장범위: 380~780 nm) 투과율을 측정하였다 (그림. 15). HEMA-기반의 하이드로겔 렌즈뿐 아니라 PEG가 적용된 렌즈 모두 90% 이상의 높은 가시광선 투과율을 확인할 수 있었다. 이는 PEG와 p(HEMA) 계면에서 거시적인 상분리 현상 없이 균일하게 섞여 있음을 보여주며, 높은 광학 투명도를 보임을 알 수 있다.

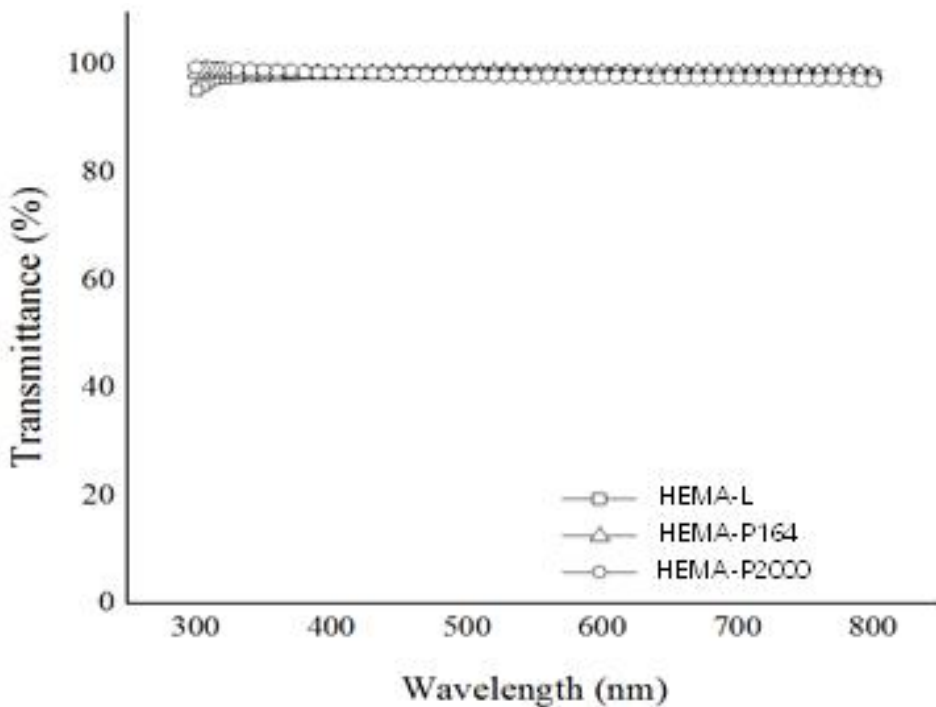


그림 15 콘택트렌즈의 가시광선 투과율

콘택트렌즈의 함수율은 평균 가시광선 투과율과 더불어 중요한 물리적 특성 중 하나로, 렌즈의 착용감 및 물리적 강도에 큰 영향을 미친다. 본 연구에서 렌즈의 함수율 측정은 렌즈당 3번씩 측정한 값을 평균하여 계산하였고, 얻어진 수치를 표 5에 표기하였다. 측정 결과, 모든 렌즈 시료에서 평균 함수율이 40% 근처의 값을 나타내었다. 이는 PEG가 렌즈의 표면에 미량으로 덮여있으며, 전체 p(HEMA)의 중량에 비해 극소량의 PEG는 함수율에 큰 변화를 주지 않음을 알 수 있다. PEG적용에 따른 렌즈 표면의 친수성 변화를 살펴보기 위해, 접촉각 측정을

수행하였다. 제조된 콘택트렌즈의 접촉각을 측정한 결과는 그림 16과 표 5에 나타나 있다. PEG 가 적용된 렌즈들의 접촉각은 각각 67.7°(HEMA- P164), 58.3°(HEMA-P2000)의 값을 나타내어, 대조군인 HEMA값 73.3°보다 감소함을 확인하였다. 이는 PEG의 적용 이 HEMA-기반 하이드로겔 렌즈의 표면 친수성을 증가 시킴을 뜻한다. 또한, HEMA-P164의 접촉각이 분자량 이 더 큰 PEG2000이 적용된 HEMA-P2000의 접촉각 보다 크게 측정되었음을 알 수 있다. 이는 PEG의 분자량이 커질수록 렌즈의 표면 친수성이 증가됨을 뜻한다. 렌즈 표면의 친수성 증가는 렌즈와 안구 사이에 윤활제 역할을 하는 수분의 함량이 증가됨을 뜻하며, 렌즈의 착용감을 개선시키는 것으로 알려져 있다.

표 5.

Hydrogel lenses <sup>c</sup>	Amounts of conjugated PEG (mg) <sup>a</sup>	Amounts of conjugated PEG (μmol) <sup>a</sup>	Equilibrium Swelling Ratio (%) <sup>b</sup>	Contact angle(°) <sup>c</sup>
HEMA-L	--		38.5 ± 1.8	73.3 ± 6.4
HEMA-P164	1.91 ± 0.003	12.73 ± 0.017	40.0 ± 1.0	67.7 ± 15.1
HEMA-P2000	2.23 ± 0.002	1.12 ± 0.020	41.1 ± 2.2	58.3 ± 7.2

<sup>a</sup> Data are means ± SD (n = 10). <sup>b</sup>Data are means±SD(n=3).<sup>c</sup>Data are means±SD(n=7).

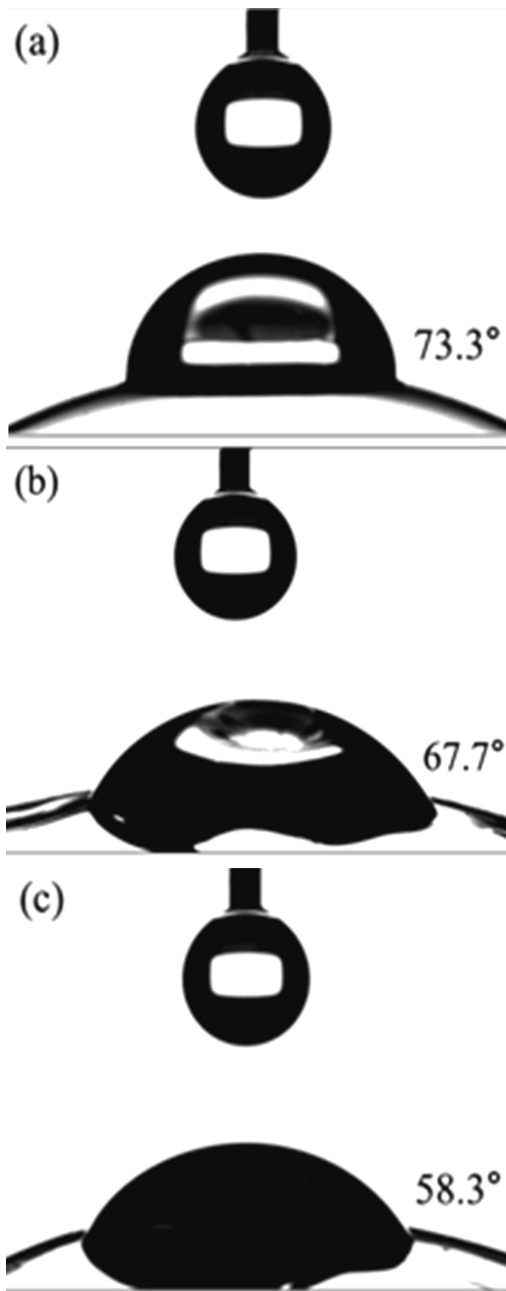


그림 16 (a) HEMA-L, (b) HEMA-P164, (c) HEMA-P2000의 접촉각 사진.

### 3.1.3 PEG가 적용된 콘택트렌즈의 단백질 비흡착성

하이드로겔 콘택트렌즈 표면에 적용된 PEG가 단백질 비흡착 기능을 보일 수 있는지, 단백질 흡착 및 정량실험을 수행하였다. 누액에는 라이소자임과 알부민이 주로 존재하여 이들 단백질을 포함하는 인공누액을 제조하였고, 콘택트렌즈와의 교반을 통해 단백질을 흡착시켰다. 0.2 wt % trifluoroacetic acid의 acetonitrile 용액을 통한 추출 및 RP-HPLC를 이용한 정량실험에서, PEG164와 PEG2000의 코팅이 렌즈의 단백질 흡착을 방지함을 확인할 수 있었다. 렌즈 1개당 흡착된 라이소자임의 양은 1.81  $\mu\text{g}$ (HEMA-P164), 1.11  $\mu\text{g}$ (HEMA-P2000)으로 분석되었고, 이는 PEG가 개질되지 않은 대조군인 HEMA-L의 라이소자임 흡착량(3.66  $\mu\text{g}$ )에 비해 각각 약 51, 70% 씩 감소한 수치이다 (그림. 17). 이는 친수성의 PEG 사슬이 렌즈 표면에 수화층을 형성하여 라이소자임의 흡착을 방지하게 된 것이다. 또한, 라이소자임의 등전점(pI)은 10.7으로써 일반적인 생리적 pH에서는 표면이 양전하로 하전되어 있다. 따라서 음전하로 하전될 수 있는 HEMA의 hydroxyl 작용기 보다는 중성의 PEG와의 정전기적인 인력이 없기 때문에 라이소자임의 흡착이 감소될 수 있다. 사슬길이가 긴 PEG2000가 짧은 PEG164에 더 효과적인 단백질 비흡착성을 보여주었는데, 이는 표면 접촉각 실험에서 확인했듯이 긴 PEG가 렌즈 표면에 더욱 효율적으로 수화층을 형성하며 이로 인해, 라이소자임의 비흡착성이 더욱 증가됨을 나타낸다.

알부민 흡착 실험에서도 라이소자임의 경우와 유사한 결과를 보여주었다. 렌즈 1개당 흡착된 알부민의 양은 3.77  $\mu\text{g}$ (HEMA-P164), 2.78  $\mu\text{g}$ (HEMA-P2000)으로 분석되었고, 이는 PEG가 개질되지 않은 HEMA-L의 알부민 흡착량(7.11  $\mu\text{g}$ )에 비해 각각 약 47, 61% 씩 감소한 수치이다 (그림 18). 라이소자임 비흡착성과 같은 이유로, PEG의 수화층이 알부민의 흡착을 방지하며, 보다 긴 PEG2000가 더 높은 효율로 단백질 비흡착성을 보여주었다.

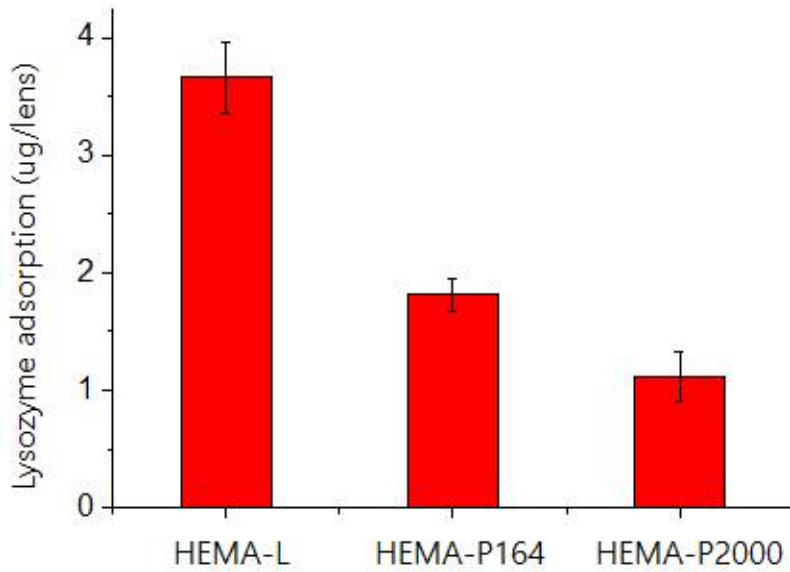


그림 17 렌즈당 흡착된 라소자임의 양

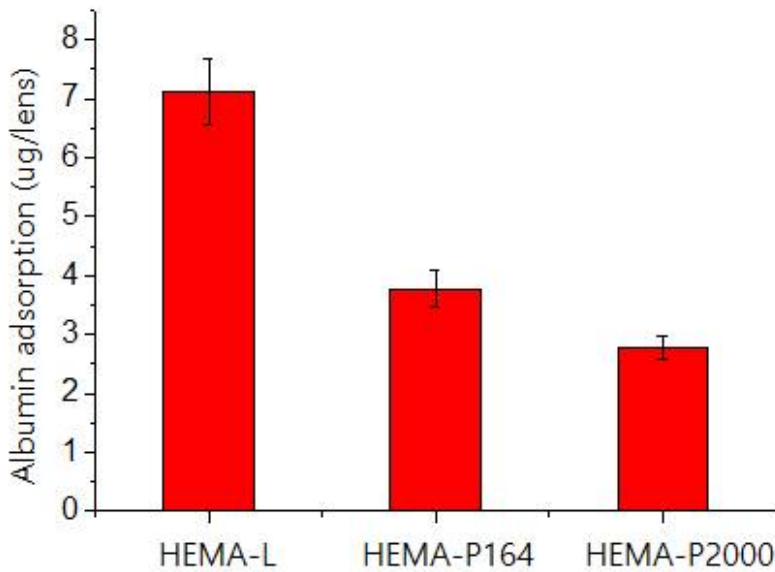


그림 18 렌즈당 흡착된 알부민의 양

### 3.2 양쪽이온성 소재가 적용된 콘택트렌즈

#### 3.2.1 양쪽이온성 소재가 적용된 콘택트렌즈 제조

HEMA-L은 개시제인 AIBN과 기본 단량체인 HEMA, 가교제인 EGDMA을 기본으로, 공중합 및 수화하여 제조되었다. 양쪽이온성 단량체인 MPC, DMAPS가 HEMA-L의 표면에 중합되어 각각 HEMA-A와 HEMA-B으로 제조되었다 (그림 19, 20). 제조한 3개의 렌즈 모두 93%이상의 우수한 광투과율을 가지므로 렌즈로서 적합함을 확인하였다.

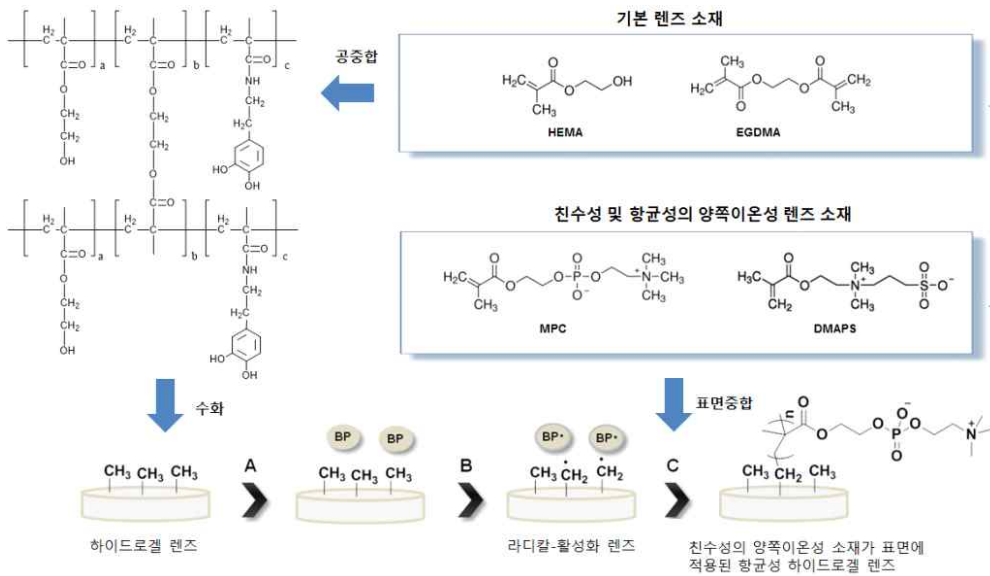


그림 19 공중합 후 표면중합을 통한 세균비흡착성 하이드로겔 렌즈의 개발 모식도

#### 3.2.2 양쪽이온성 소재가 적용된 콘택트렌즈의 물성

가장 기본이 되는 HEMA-L의 함유율은 39.24 wt%로 측정되었다. 양쪽이온성 MPC와 DMAPS가 적용된 HEMA-A와 HEMA-B의 함유율은 각각 40.52, 41.88 wt%로 측정되어 HEMA-L과 유사한 결과를 보여주었다. 접촉각의 실험의 경우, HEMA-L에서는 85.17°, HEMA-A에서는 75.18°, HEMA-B에서는 71.30°으로 측정되었다 (그림 21). HEMA-L의 값이 85°이상으로 크게 측정되며 표면 소수성이 큰 것으로 확인되었으며, HEMA-A와 HEMA-B은 76°이하로 표면 친수성이 크게 증가되었음을 확인하



였다.



그림 20 제조된 양쪽이온성 소재가 적용된 콘택트렌즈의 사진(HEMA-A)

### 3.2.3 양쪽이온성 소재가 적용된 콘택트렌즈의 세균 비흡착성

각 렌즈의 시간에 따른 흡광도 분석 결과를 그림 22에 나타내었다. 흡광도의 수치 증가는 E.coli 균의 증가를 의미하는 것으로 렌즈군 모두 시간이 경과함에 따라 E.coli 균의 수가 증가하는 결과를 보여주었다. 그러나, 양쪽이온성 단량체가 코팅된 렌즈군은 공렌즈군(HEMA-L)에 비하여 E.coli 균의 수가 증가의 경향이 느리며, 이는 양쪽이온성 표면이 E.coli 균의 수 증가를 저해함을 나타내는 결과이다. 특히 시간별 HEMA-L의 흡광도와 양쪽이온성 소재 코팅렌즈군의 흡광도를 비교한 균성장 저해성 비교 수치는 6, 7시간째에 각각 공렌즈군 E.coli 균 수의 약 50%만 존재하는 결과를 보여주었다. 평가 마지막 시간째인 9시간째에는 최종적으로 공렌즈군 E.coli 균 수의 약 70%만이 존재하는 것으로 나타나, 세균 비흡착 효과가 있는 것으로 평가되었다.

Date: 2020-09-02  
 Left: 84.74  
 Right: 85.59  
 Angle: 85.17  
 Baseline: 3.38  
 Height: 1.64  
 Volume: 10.27  
 Area: 18.16



(a)

Date: 2020-09-02  
 Left: 68.70  
 Right: 81.65  
 Angle: 75.18  
 Baseline: 3.12  
 Height: 1.39  
 Volume: 7.01  
 Area: 14.14



(b)

2020-09-02  
 : 63.11  
 : 79.48  
 : 71.30  
 ine: 3.95  
 t: 1.61  
 e: 11.76  
 20.02



(c)

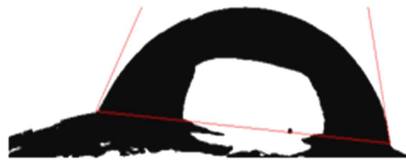


그림 21 접촉각 사진 (a) HEMA-L, (b) HEMA-A, (c) HEMA-B

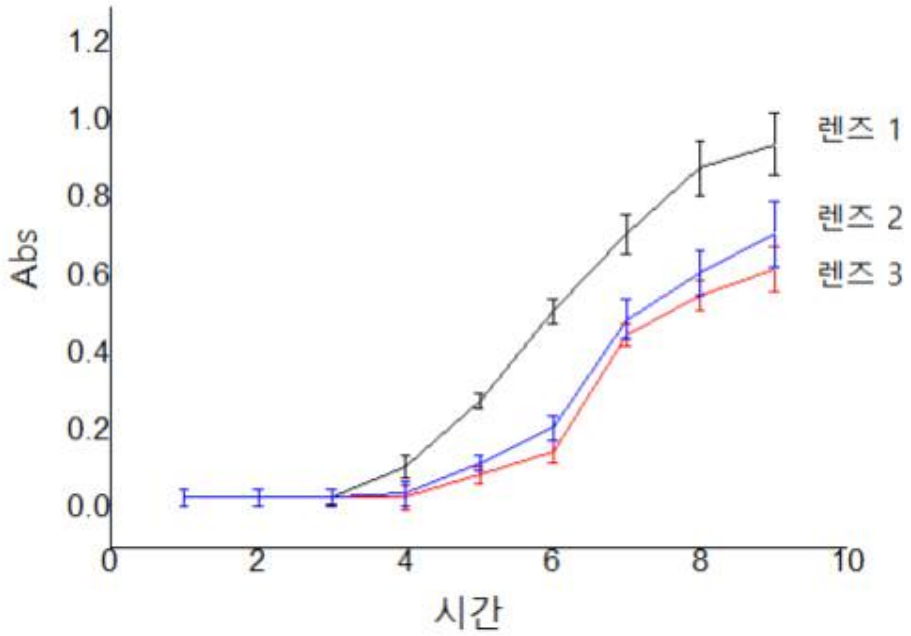


그림 22 렌즈에서의 시간에 따른 공렌즈, 양쪽이온성 분자 코팅렌즈 배양액의 UV 흡광도

### 3.3 양쪽이온성 소재가 공중합된 콘택트렌즈

#### 3.3.1 양쪽이온성 소재가 공중합된 콘택트렌즈 제조

HEMA 단량체를 80에서 95 wt%까지 사용하고, MPC를 5에서 20 wt%까지 조절하여 기본 렌즈 배합으로 구성하였다. 가교제는 EGDMA, 개시제는 AIBN으로 열중합을 통해 HEMA와 MPC를 4가지 비율별로 공중합하였다. 각각 MPC의 공중합 비율에 따라 p(HEMA-co-5%MPC), p(HEMA-co-10%MPC), p(HEMA-co-15%MPC), p(HEMA-co-20%MPC)라 명명하고, 표 6에 기술하였다 (그림 23). MPC가 없는 대조군의 HEMA-기반 렌즈는 p(HEMA)-H로 명명하였다.

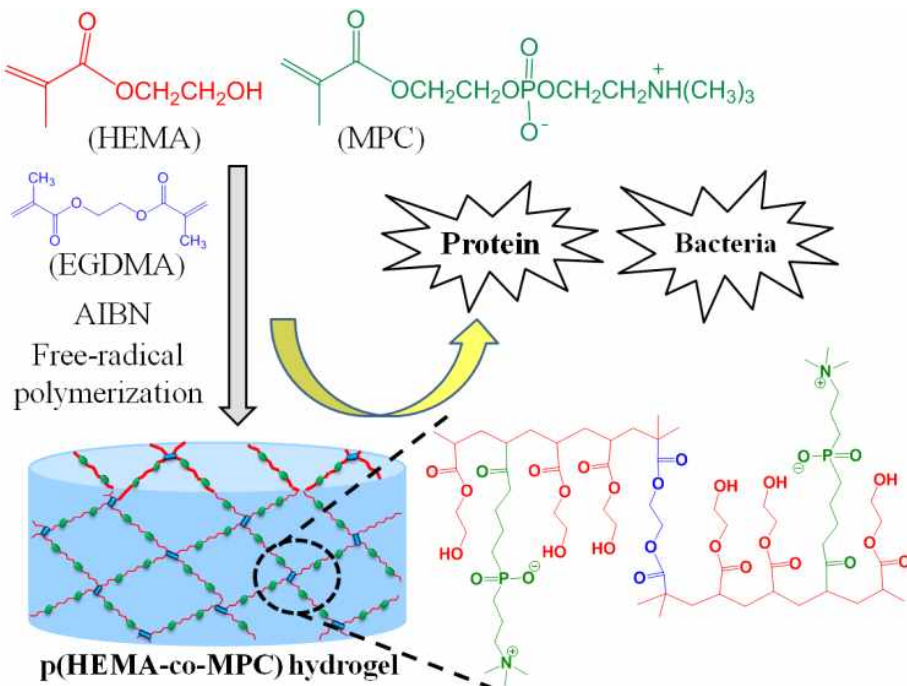


그림 23 단백질과 세균 비흡착기능을 갖는 poly(2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine)와 poly(2-hydroxyethyl methacrylate)가 공중합된 하이드로겔 렌즈의 제조

표 6. 제조된 렌즈의 물성

Hydrogel	Composition of monomers, crosslinker, and initiator (wt%)				Equilibrium swelling ratio (%) <sup>b</sup>	Water contact angle (°) <sup>c</sup>
	HEMA	MPC	EGDMA <sup>a</sup>	AIBN <sup>a</sup>		
p(HEMA)-H	100	0	0.4	0.5	46.1 ± 1.5	78.6 ± 9.6
p(HEMA-co-5%MPC)	95	5	0.4	0.5	79.4 ± 0.5	70.4 ± 8.8
p(HEMA-co-10%MPC)	90	10	0.4	0.5	100.1 ± 5.6	69.9 ± 5.7 <sup>d</sup>
p(HEMA-co-15%MPC)	85	15	0.4	0.5	141.8 ± 0.7	67.9 ± 4.1 <sup>d</sup>
p(HEMA-co-20%MPC)	80	20	0.4	0.5	201.9 ± 4.4	67.1 ± 7.6 <sup>d</sup>

<sup>a</sup>Relative to the combined weights of HEMA and MPC. <sup>b</sup>Data are mean ± SD (n = 3). <sup>c</sup>Data are mean ± SD (n = 10). <sup>d</sup>p < 0.05 compared to p(HEMA)-H.

### 3.3.2 양쪽이온성 소재가 공중합된 콘택트렌즈의 물성

UV-Vis absorption spectroscopy를 통해 투과스펙트럼을 얻은 후, 가시광선(파장범위: 380~780 nm) 투과율을 측정하였다(그림. 24). HEMA-기반의 하이드로겔 렌즈뿐 아니라 MPC가 공중합된 렌즈 모두 90% 이상의 높은 가시광선 투과율을 확인할 수 있었다. 이는 p(MPC)와 p(HEMA)가 공중합되어도 거시적인 상분리 현상 없이 균일하게 섞여 있음을 보여주며, 높은 광학 투명도를 보임을 알 수 있다.

렌즈의 함수율 측정은 렌즈당 3번씩 측정한 값을 평균하여 계산하였고, 얻어진 수치를 표 6에 표기하였다. 측정 결과, p(HEMA)-H의 함수율은 46.1%로 측정되었으며, MPC의 함량이 증가할 수록 79.4%에서 201.9%까지 함수율이 증가되었다. 모든 렌즈 시료에서 평균 함수율이 40% 근처의 값을 나타내었다. 이는 MPC가 표면에 중합된 콘택트렌즈와 달리 MPC가 공중합되었을 때 결합된 MPC의 절대량이 크기 때문에 함수율이 크게 증가된 것으로 판단된다.

MPC의 공중합에 따른 렌즈 표면의 친수성 변화를 살펴보기 위해, 접촉각 측정을 수행하였다. 제조된 콘택트렌즈의 접촉각을 측정한 결과는 그림 25와 표 6에 나타나 있다. MPC가 공중합된 렌즈들의 접촉각은 p(HEMA)-H의 경우, 78.6°로 측정되었고, p(HEMA-co-5%MPC)는 70.4°, p(HEMA-co-10%MPC)는 69.9°, p(HEMA-co-15%MPC)는 67.9°, p(HEMA-co-20%MPC)는 67.1°로 친수성인 MPC의 함량이 증가할수록 접촉각이 감소하며 표면습윤성이 증가함을 보여주었다.

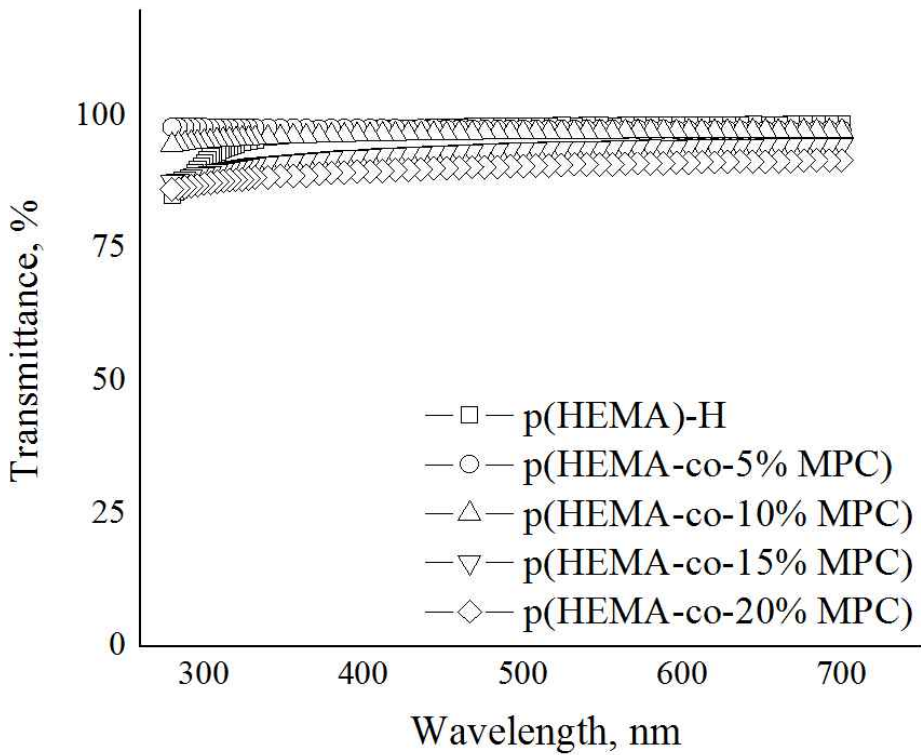


그림 24 콘택트렌즈의 가시광선 투과율

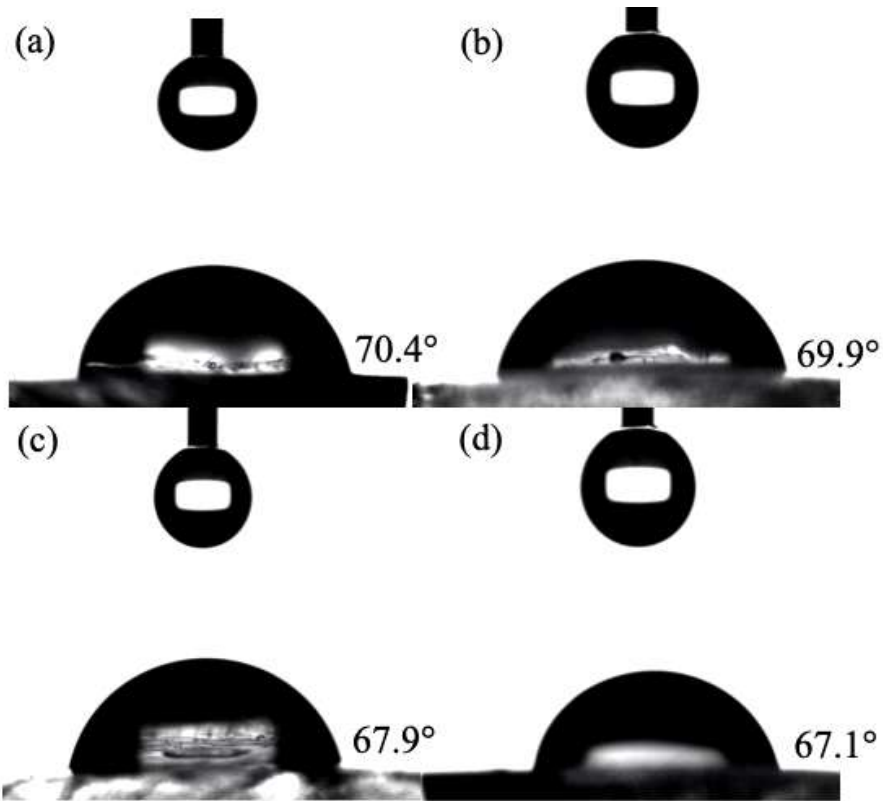


그림 25 제조된 콘택트렌즈의 접촉각 사진 (4.5  $\mu$ L) (a) p(HEMA-co-5%MPC) (b) p(HEMA-co-10%MPC) (c) p(HEMA-co-15%MPC) (d) p(HEMA-co-20%MPC).

### 3.3.3 양쪽이온성 소재가 공중합된 콘택트렌즈의 단백질 비흡착성

하이드로겔 콘택트렌즈 표면에 적용된 양쪽성이온 단량체인 MPC가 단백질 비흡착 기능을 보일 수 있는지, 단백질 흡착 및 정량실험을 수행하였다. 누액에는 라이소자임과 알부민이 주로 존재하여 이들 단백질을 포함하는 인공누액을 제조하였고, 콘택트렌즈와의 교반을 통해 단백질을 흡착시켰다. 0.2 wt % trifluoroacetic acid의 acetonitrile 용액을 통한 추출 및 RP-HPLC를 이용한 정량실험에서, 공중합된 MPC의 양에 따라 다양하게 렌즈의 단백질 흡착을 방지함을 확인할 수 있었다. 렌즈 1개당 흡착된 라이소자임의 양은 렌즈당 2.1 µg p(HEMA-co-5%MPC), 2.2 µg p(HEMA-co-10%MPC), 1.4 µg p(HEMA-co-15%MPC), 1.9 µg p(HEMA-co-20%MPC)으로 측정되었고, 이는 MPC가 공중합되지 않은 대조군의 라이소자임 흡착량(3.9 µg)에 비해 각각 약 47%, 44%, 67%, 52% 씩 감소한 수치이다 (그림 26). 이는 친수성의 공중합된 MPC가 렌즈 표면에 수화층을 형성하여 라이소자임의 흡착을 방지하게 된 것이다. 또한, 라이소자임의 등전점(pI)은 10.7으로써 일반적인 생리적 pH에서는 표면이 양전하로 하전되어 있다. 따라서 음전하로 하전될 수 있는 HEMA의 hydroxyl 작용기 보다는 양쪽이온성인 MPC와의 정전기적인 인력이 없기 때문에 라이소자임의 흡착이 감소될 수 있다. MPC의 함량이 15%가 될 때까지 단백질 비흡착성이 증가하였고, 20%일 때는 오히려 감소하였다.

알부민 흡착 실험에서도 라이소자임의 경우와 유사한 결과를 보여주었다. 렌즈 1개당 흡착된 알부민의 양은 렌즈당 4.4 µg p(HEMA-co-5%MPC), 4.6 µg p(HEMA-co-10%MPC), 2.3 µg p(HEMA-co-15%MPC), 2.5 µg p(HEMA-co-20%MPC)으로 측정되었고, 이는 MPC가 공중합되지 않은 대조군의 알부민 흡착량(7.6 µg)에 비해 각각 약 41%, 40%, 70%, 67% 씩 감소한 수치이다 (그림 26). 라이소자임 비흡착성과 같은 이유로, MPC의 수화층이 알부민의 흡착을 방지하였다.



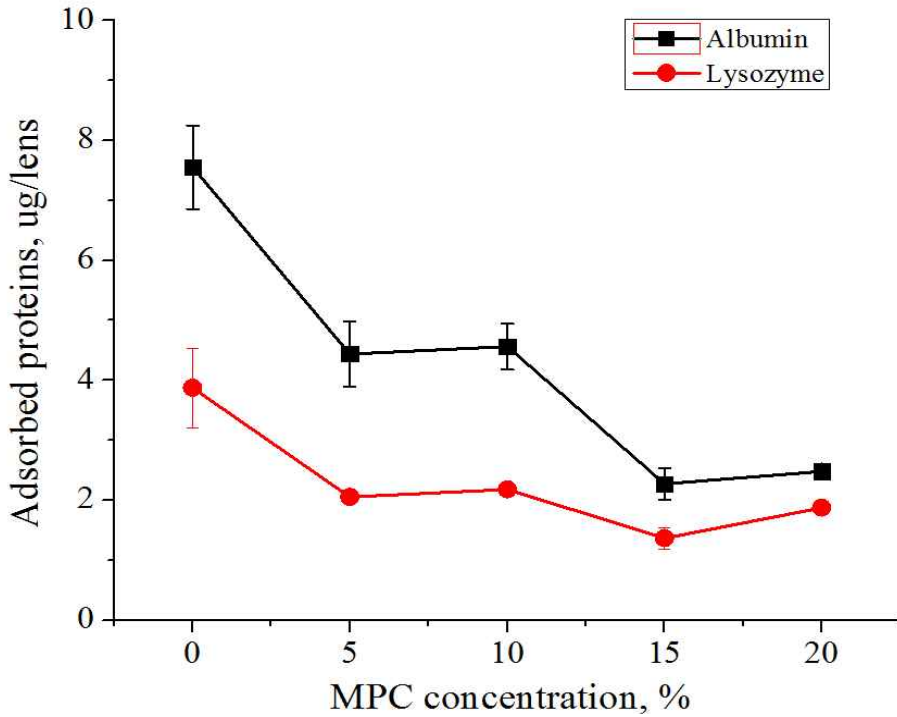


그림 26 렌즈당 흡착된 라이소자임과 알부민의 양

### 3.3.4 양쪽이온성 소재가 공중합된 콘택트렌즈의 세균 비흡착성

렌즈의 시간에 따른 흡광도 분석 결과를 그림 27에 나타내었다. 흡광도의 수치 증가는 E.coli 균의 증가를 의미하는 것으로 렌즈균 모두 시간이 경과함에 따라 E.coli 균의 수가 증가하는 결과를 보여주었다 (그림 27). 그러나, 양쪽이온성 단량체가 공중합된 렌즈균은 공렌즈균에 비하여 E.coli 균의 수가 증가의 경향이 느리며, 이는 양쪽이온성 표면이 E.coli 균의 수 증가를 저해함을 나타내는 결과이다. 특히 시간별 p(HEMA)-H의 흡광도와 양쪽이온성 소재 렌즈균의 흡광도를 비교한 균성장 저해성 수치를 비교하였을때 약 20%의 세균 비흡착 효과가 있는 것으로 평가되었다.

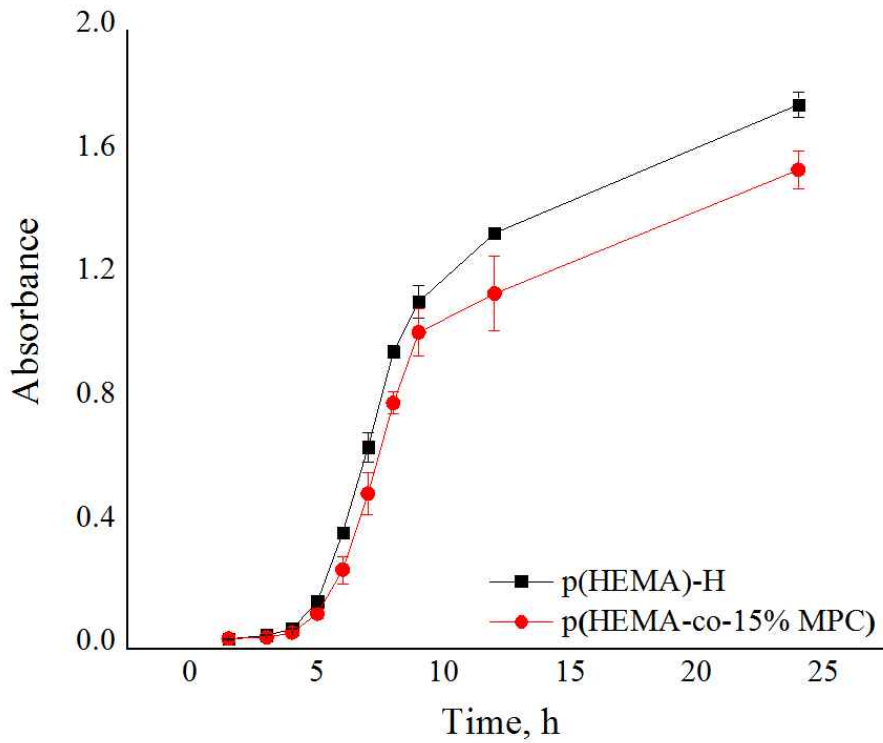


그림 27 렌즈에서의 시간에 따른 공렌즈, 양쪽이온성 분자가 공중합된 렌즈 배양액의 UV 흡광도

### 3.4 Hyaluornic acid 및 폴리페놀이 적용된 콘택트렌즈

#### 3.4.1 Methacrylated hyaluornic acid의 합성

1 g의 sodium hyaluronate (분자량 10kDa)을 증류수에 녹여 1 wt% 수용액을 제조하고 ice bath하에 온도를 낮추었다. 0.6 mL의 methacrylic anhydride를 용액에 첨가하고, 5M NaOH 용액을 첨가하여, pH를 7.5-8.5로 조정하고, 24시간 동안 추가반응을 시켰다. 3일 동안 투석하여, NaOH, methacrylic acid 등을 제거하였다. 동결건조 후  $^1\text{H-NMR}$  spectroscopy를 통하여 methacrylation의 정량분석 수행하였다 (그림 28, 29).  $\text{D}_2\text{O}$  NMR 용매하에서, 1.9 ppm에서의 hyaluronic acid의 methyl기 peak과 5.6과 6.0 ppm에서의 methacrylate peak의 면적을 비교하였을 때, hyaluronic acid의 repeating unit 당 methacrylation은 약 16%임을 확인하였다.

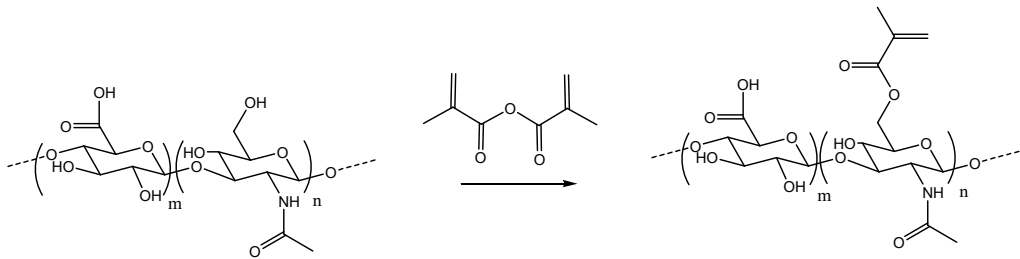


그림 28. Methacrylated hyaluornic acid (MHA)의 합성 과정

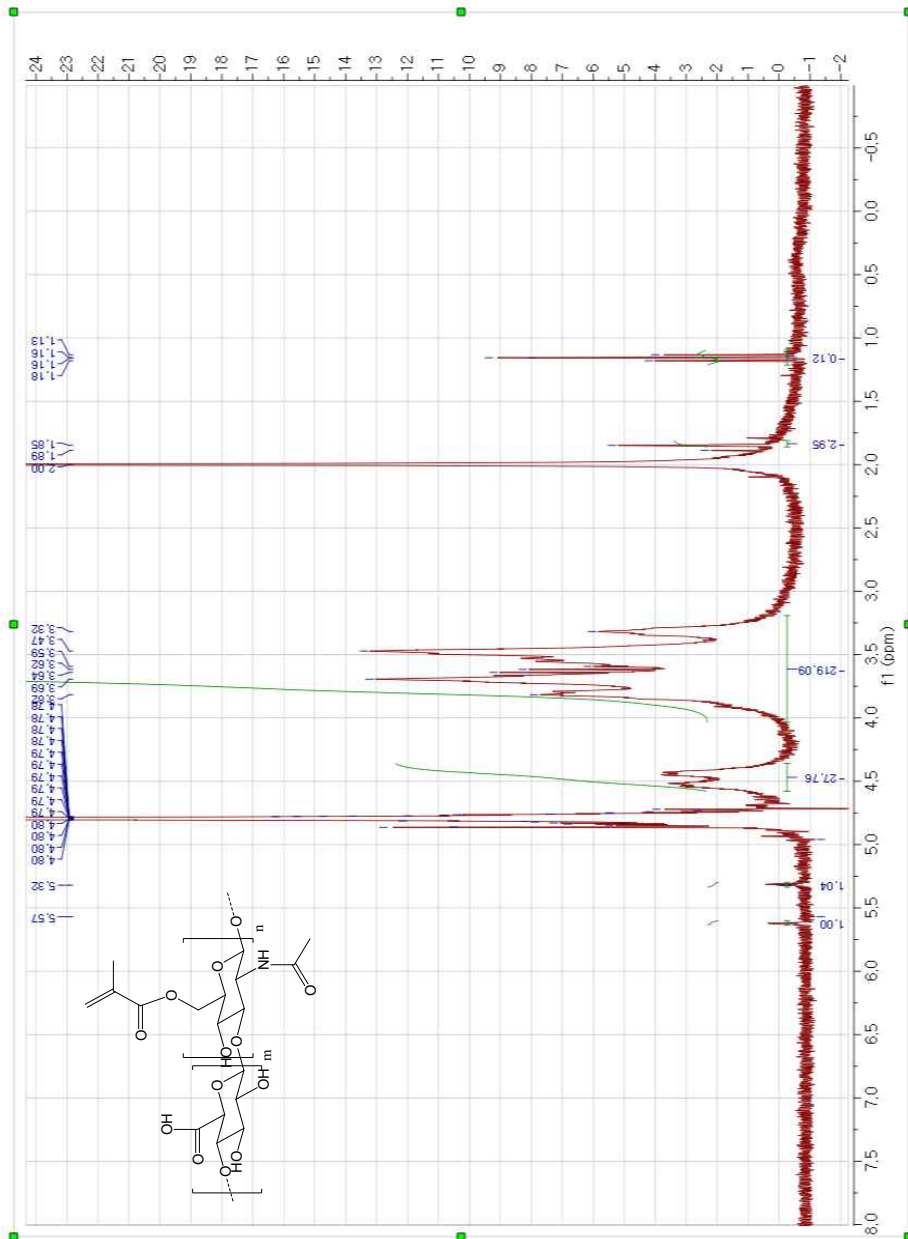


그림 29. Methacrylated hyaluronic acid의  $\text{H}^1$ -NMR spectrum

### 3.4.2 Hyaluornic acid을 이용한 하이드로겔 렌즈로의 IPN 구조체 형성 및 폴리페놀 고정

Methacrylated hyaluronic acid을 콘택트렌즈에 침투시켜 IPN 구조체를 제조하였다. 제조된 dry 콘택트렌즈를 1.3 w/v% methacrylated hyaluronic acid 수용액에 24시간 담궈, methacrylated hyaluronic acid가 swelling되는 하이드로겔 콘택트렌즈에 침투하게 하였다. 증류수로 세척하여 렌즈 표면에 과량으로 흡착되어 있는 methacrylated hyaluronic acid를 제거한 후, 10 mL의 ammonium persulfate (APS) (5 mg)와 sodium metabisulfite (SMBS) (5 mg) 수용액에 24시간 담궈어 hyaluronic acid가 하이드로겔 렌즈와 IPN 구조를 형성하게 제조하였다. 추가적으로, (1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide hydrochloride (EDC), N-hydroxysuccinimide (NHS), triethylamine, dopamine을 첨가하여 24시간 동안 상온에서 dopamine과 렌즈위의 hyaluronic acid 간의 amide 결합을 유도하였다. 2일 동안 증류수로 세척하여 반응하지 않은 chemical들을 제거하여 dopamine이 고정된 하이드로겔 콘택트렌즈를 얻었다 (MeHA IPN-DA).

### 3.4.3 Hyaluronic acid 및 폴리페놀이 적용된 콘택트렌즈의 물성 분석

Dopamine이 고정된 하이드로겔 콘택트 렌즈(MeHA IPN-DA)에서 렌즈당 표면에 결합된 dopamine의 양을 Beer-Lambert의 법칙을 이용하여 계산하였다. 순수한 dopamine의 0.05-0.2 mM 농도의 용액을 이용하여, 표준정량 곡선으로 구하였고, 288 nm에서 흡광도를 기준으로 dopamine을 정량하여 렌즈 표면 1개당에  $0.525 \pm 0.109 \text{ umol/cm}^2$ 의 양으로 존재함을 확인하였다 (그림 30).

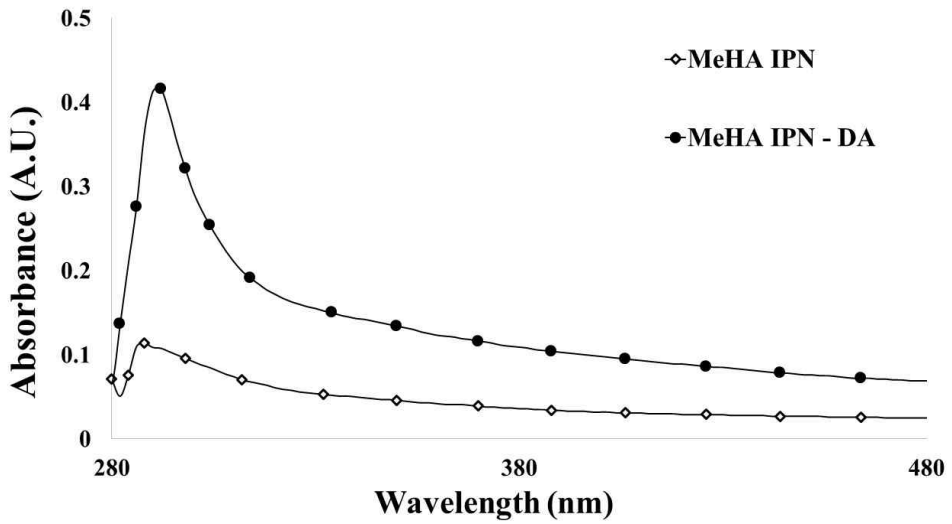


그림 30. MeHA IPN-DA 하이드로겔 렌즈의 absorbance spectra와 도파민의 표준검량곡선.

### 3.4.4 Hyaluronic acid 및 폴리페놀이 적용된 콘택트렌즈의 세균 비흡착성 분석

각 렌즈의 시간에 따른 흡광도 분석 결과를 그림 31과 표 7에 나타내었다. 흡광도의 수치 증가는 E.coli 균의 증가를 의미하는 것으로 두 렌즈군 모두 시간이 경과함에 따라 E.coli 균의 수가 증가하는 결과를 보여주었다. 그러나, 도파민이 코팅된 렌즈군은 공렌즈군에 비하여 E.coli 균의 수가 증가의 경향이 느리며, 이는 도파민 코팅 콘택트렌즈가 E.coli 균의 수 증가를 저해함을 나타내는 결과이다. 특히 시간별 공렌즈군의 흡광도와 도파민 코팅 렌즈군의 흡광도를 비교한 균성장 저해성 비교 수치는 6, 7시간째에 각각 공렌즈군 E.coli 균 수의 26, 27%만 존재하는 결과를 보여주었다. 평가 마지막 시간째인 9시간째에는 최종적으로 공렌즈군 E.coli 균 수의 67.5%만이 존재하는 것으로 나타나, 약 32.5%의 저해효과가 있는 것으로 평가되었다. 또한, 렌즈 제조 3개월 후 항균성에 대한 평가를 진행하여, 보관기간에 따른 렌즈의 항균성 영향 유무를 평가하였다. 그림 26과 표 6에서 나타나듯이, 제조 직후의 항균성과 비교시 차이가 없이 항균성을 유지하며, 오히려 제조 직후 보다 공렌즈 대비 항균성이 더 강화된 결과를 보여주었다. 이는 공렌즈의 항균성이 제조 직후보다 떨어져 상대적으로 항균렌즈가 더 높은 항균력을 갖는 것으로 평가된 것이다.

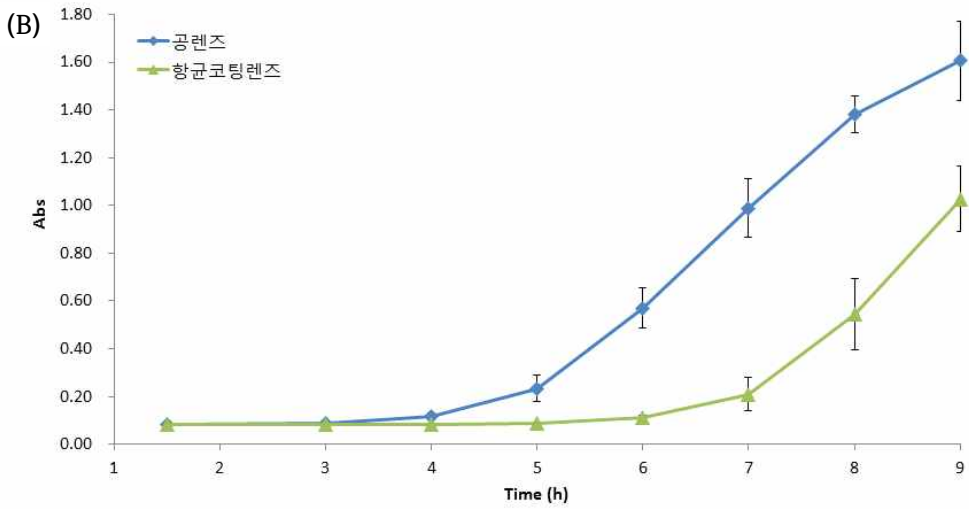
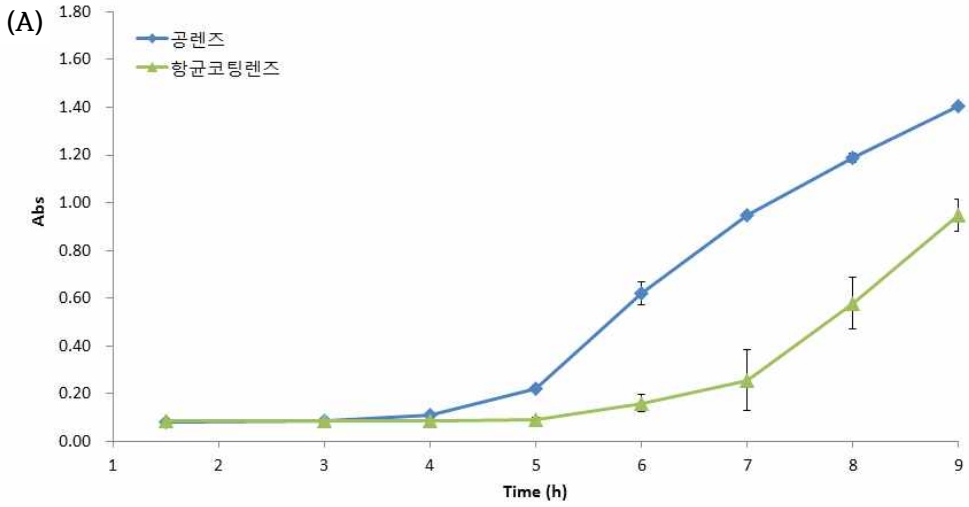


그림 31. (A) 제조 직후 렌즈; (B) 제조 3개월 후 렌즈에서의 시간에 따른 공렌즈, 항균코팅렌즈 배양액의 UV 흡광도



표 7. 시간에 따른 공렌즈, 갈릭산 코팅렌즈 배양액의 UV 흡광도 및 균성장 저해성 비교(%)

시간 (h)	제조 직후 렌즈			3개월 후 렌즈		
	UV Abs		공렌즈 대비 균성장 비율 (%) <sup>*</sup>	UV Abs		공렌즈 대비 균성장 비율 (%) <sup>*</sup>
	공렌즈	항균코팅 렌즈		공렌즈	항균코팅 렌즈	
1.5	0.082±0.002	0.085±0.001	103.3	0.083±0.001	0.084±0.001	100.4
3	0.089±0.001	0.085±0.001	95.5	0.090±0.003	0.085±0.001	94.4
4	0.113±0.001	0.086±0.001	76.4	0.116±0.014	0.084±0.001	72.5
5	0.222±0.012	0.093±0.010	41.9	0.234±0.055	0.090±0.004	38.4
6	0.620±0.048	0.161±0.037	26.0	0.571±0.082	0.110±0.013	19.2
7	0.948±0.011	0.258±0.050	27.1	0.989±0.123	0.210±0.069	21.2
8	1.189±0.020	0.580±0.057	48.8	1.381±0.078	0.544±0.150	39.4
9	1.406±0.002	0.948±0.066	67.5	1.606±0.165	1.026±0.137	63.9

<sup>\*</sup> 공렌즈 대비 균성장 비율 (%) = (공렌즈Abs<sub>t</sub> - 항균코팅렌즈Abs<sub>t</sub>)/공렌즈Abs<sub>t</sub> X 100; 공렌즈Abs<sub>t</sub>: t시간에서 UV 흡광도, 항균코팅렌즈Abs<sub>t</sub>: t시간에서 UV 흡광도

### 3.4.5 Hyaluronic acid 및 폴리페놀이 적용된 콘택트렌즈의 세포독성 평가

용출액을 24시간 처리하여 MTT 비색검정인 세포 증식 저해율이 30% 이상이면 독성이 있는 것으로 판정하고 대조군은 배양액을 사용하였다. 제조직후, 1, 2, 3 개월 경과 렌즈의 용출액에 대한 세포독성 평가 결과 용출액의 농도에 따라 73-95%의 세포생존율을 보여주어 평가 항목 기준인 세포 증식 저해율 30% 미만에 적합한 결과를 보여주었다 (표 8).

표 8. 항균렌즈 용출액 세포독성 평가

Initial		30 days		60 days		90 days	
농도 (%, v/v)	세포 생존율( %)*	농도 (%, v/v)	세포 생존율( %)	농도 (%, v/v)	세포 생존율( %)	농도 (%, v/v)	세포 생존율( %)
10	86.83±1 1.94	10	94.76±6. 18	10	84.95±1. 99	10	86.96±4. 53
20	78.58±6. 88	20	84.90±8. 42	20	81.72±5. 85	20	75.58±7. 87
30	82.30±6. 96	30	77.87±2. 24	30	78.32±5. 30	30	76.08±6. 52
40	78.09±1 0.21	40	81.41±6. 26	40	80.06±8. 00	40	78.67±5. 13
50	85.71±5. 16	50	79.39±3. 02	50	72.63±8. 73	50	78.06±4. 12

\* L929 세포에서 MTT assay로 평가

## 4. Conclusion

하이드로겔 콘택트렌즈의 단백질 비흡착성과 표면 습윤성을 증가시키기 위해 PEG 사슬을 렌즈 표면에 도입하였다. 분자량이 각각 164, 2000의 PEG사슬들을 콘택트렌즈 표면에 ester결합으로 고정하여, PEG의 적용 및 길이가 렌즈의 물성에 미치는 영향을 관찰하고자 하였다. 일반적인 HEMA 기반의 콘택트렌즈 HEAM-L보다 PEG가 코팅된 렌즈들(HEMA-P164, HEMA-P2000)이 우수한 표면 습윤성을 보여주었다. 또한, 렌즈의 상용화의 중요 요소인 가시광선투과율 분석실험에서도, HEAM-L, HEMAP164, HEMA-P2000 모두 90%이상을 보여주었다. 함수율 역시 PEG적용과는 상관없이 38~41%로 분석되어, PEG 코팅방법이 기존의 HEMA-기반 렌즈의 기계적 물성에 큰 영향을 주지 않음을 알 수 있었다. PEG가 적용된 렌즈는 그렇지 않은 렌즈 보다 라소자임과 알부민의 흡착이 약 50~70% 정도 감소됨을 확인할 수 있었다.

또한 양쪽이온성 소재를 적용하여 렌즈를 제조하고 물성 및 세균 비흡착성을 분석하였다. HEMA-A와 HEMA-B의 표면에 양쪽이온성 물질 MPC, DMAPS로 코팅되었다. 코팅과는 상관없이 렌즈의 함수율을 일정하게 38~42%값을 유지하였으며, 이는 렌즈의 코팅이 렌즈의 기계적 물성과 크기에 변화를 주지 못함을 뜻한다. 반면에, 양쪽이온성 물질의 코팅은 렌즈의 표면습윤성을 크게 증가시켜 눈물의 흡수를 최소화하며, 각막에 편안함을 줄 수 있을 것으로 판단된다. E.coli 균과 배양을 통해 균의 흡착성을 비교분석하였는데, 9시간의 배양을 통해 HEMA-A와 HEMA-B은 대조군 렌즈에 비해 세균흡착이 25%이상 감소함을 확인하여 항균성이 있음을 확인할 수 있었다.

탄수화물 당쇄가 수식된 하이드로겔 렌즈를 개발하였다. 여러 탄수화물중 hyaluronic acid을 선택하여 methacrylate 중합기를 연결하여 합성한 뒤, IPN 교합 결합을 이용하여 하이드로겔 렌즈 구조체 침투시켰다. 항균활성물질로서 도파민을 선정하여 항균성 하이드로겔 렌즈를 개발하였다. 새로 개발한 항균성 하이드로겔 렌즈는 우수한 함수율 및 가시광선 투과율을 갖는 특성을 보이며, 기존 콘택트렌즈 대비 약 60% 이상의 세균 성장 저해률을 가져 우수한 항균 기능을 띄고 있음을 확인하였다.

본 논문에서 연구된 렌즈 표면의 개질법은 HEMA 기반의 기존 콘택트렌즈에 표면 습윤성과 단백질 및 세균 비흡착성을 증가시켜 착용감을 개선시키며, 공정적으로 렌즈에 적용이 쉬운 방법으로 평가된다. 따라서, 기능성 하이드로겔 콘택트렌즈의 개발뿐 아니라 관련된 의료기기 등에도 응용될 수 있을 것으로 기대된다.

## 5. Reference

1. Shimizu T, Goda T et al.: Super-hydrophilic silicone hydrogels with interpenetrating poly(2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine) networks. *Biomaterials* 31(12), 3274-3280, 2010.
2. Luensmann D, Jones L: Protein deposition on contact lenses: The past, the present, and the future. *Cont Lens Anterior Eye* 35(2), 53-64, 2012.
3. Lord MS, Stenzel MH et al.: Lysozyme interaction with poly(HEMA)-based hydrogel. *Biomaterials* 27(8), 1341-1345, 2006.
4. Mutlu Z, Es-haghi SS et al.: Recent Trends in Advanced Contact Lenses. *Adv Healthc Mater.* 8(10), e1801390, 2019.
5. Mun J, Mok JW et al.: Drug-eluting contact lens containing cyclosporine-loaded cholesterolhyaluronate micelles for dry eye syndrome. *RSC Adv.* 2019(9), 16578-16585, 2019.
6. Hume E, Sack R et al.: Induction of cytokines from polymorphonuclear leukocytes and epithelial cells by ocular isolates of *Serratia Marcescens*. *Ocul Immunol Inflamm.* 12(4), 287-295, 2004.
7. Bengani LC, Leclerc J et al.: Lysozyme transport in p-HEMA hydrogel contact lenses. *J Colloid Interface Sci.* 386(1), 441-450, 2012.
8. Jee JP, Kim HJ: Development of Hydrogel Lenses with Surface-immobilized PEG Layers to Reduce Protein Adsorption. *Bull Korean Chem Soc.* 36(11), 2682-2687, 2015.

9. Lee CW, Kang B et al.: Development of Protein- Resistant Hydrogels via Surface Modification with Dendritic PEGs. *J Nanosci Nanotechnol.* 16(11), 11494-11499, 2016.
10. Furness EL, Ross A et al.: A hydrophobic interaction site for lysozyme binding to polyethylene glycol and model contact lens polymers. *Biomaterials* 19(15), 1361-1369, 1998.
11. HJ Kim, GC Ryu et al.: Hydrogel lenses functionalized with polysaccharide for reduction of protein adsorption. *Macromol Res.* 23(1), 74-78, 2015.
12. Lim HL, Kim HJ et al.: Development of hydrogel lenses functionalized with an interpenetrating chitosan network for reduction of protein adsorption. *J Nanosci Nanotechnol.* 16(11), 11952- 11956, 2016.
13. Singh A, Li P et al.: A hyaluronic acid-binding contact lens with enhanced water retention. *Cont Lens Anterior Eye* 38(2), 79-84, 2015
14. Xu L, Ma, P et al.: Anti-biofouling contact lenses bearing surface-immobilized layers of zwitterionic polymer by one-step modification. *RSC Adv.* 2014(4), 15030-15035, 2014.
15. Taddei P, Balducci F et al.: Raman, IR and thermal study of a new highly biocompatible phosphorylcholine-based contact lens. *J Mol Struct.* 744-747, 507-514, 2005.
16. Wang JJ, Liu F: Photoinduced graft polymerization of

2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine on silicone hydrogels for reducing protein adsorption. *J Mater Sci Mater Med.* 22(12), 2651-2657, 2011.

17. Goda T, Matsuno R et al.: Protein adsorption resistance and oxygen permeability of chemically crosslinked phospholipid polymer hydrogel for ophthalmologic biomaterials. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 89(1), 184-190, 2009.

18. Cheng G, Li G et al.: Zwitterionic carboxybetaine polymer surfaces and their resistance to longterm biofilm formation. *Biomaterials* 30(28), 5234-5240, 2009.

19. Beek MV, Jones L et al.: Hyaluronic acid containing hydrogels for the reduction of protein adsorption. *Biomaterials* 29(7), 780-789, 2008.

20. Li L, Xin Z: Surface-hydrophilic and proteinresistant tris(trimethylsiloxy)-3-methacryloxy propylsilane-containing polymer by the introduction of phosphorylcholine groups. *Colloid Surface A.* 384(1), 713-719, 2011.

21. Fishman A, Acton A, Lee-Ruff E: A Simple Preparation of PEG-Carboxylates by Direct Oxidation. *Synth Commun.* 34(12), 2309-2312. 2004.

22. Bozukova D, Pagnouille C et al.: Improved Performances of Intraocular Lenses by Poly (ethylene glycol) Chemical Coatings. *Biomacromolecules* 8(8), 2379-2387, 2007.

23. Michel R, Pasche S et al.: Influence of PEG Architecture on Protein Adsorption and Conformation. *Langmuir*. 21(26), 12327–12332, 2005.
  
24. Chen H, Brook MA et al.: Silicone elastomers for reduced protein adsorption. *Biomaterials* 25(12), 2273–2282, 2004
  
25. Vales TV, Jee JP, Lee WY, Min I, Cho S, Kim HJ: Protein Adsorption and Bacterial Adhesion Resistance of Cross-linked Copolymer Hydrogels Based on Poly(2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine) and Poly(2-hydroxyethyl methacrylate). *Bull Korean Chem Soc*. 41(4), 406–412, 2020.
  
26. Li R, Guan X, Lin X, Guan P, Zhang X, Rao Z, Du L, Zhao J, Rong J, Zhao J: Poly(2-hydroxyethyl methacrylate)/ $\beta$ -cyclodextrin-hyaluronan contact lens with tear protein adsorption resistance and sustained drug delivery for ophthalmic diseases. *Acta Biomaterialia*. 110(1), 105–118, 2020.
  
27. Santos L, Rodrigues D, Lira M, Oliveira M, Oliveira R, Vilar EYP, Azeredo J: The influence of surface treatment on hydrophobicity, protein adsorption and microbial colonisation of silicone hydrogel contact lenses. *Contact Lens and Anterior Eye*. 30(3), 183–188, 2007.
  
28. Deng X, Korogiannaki M, Rastegari B, Zhang J, Chen M, Fu Q, Sheardown H, Filipe CDM, Hoare T: “Click” Chemistry-Tethered Hyaluronic Acid-Based Contact Lens Coatings Improve Lens Wettability and Lower Protein Adsorption. *ACS Appl. Mater. Interfaces*. 8(24), 22064–22073, 2016.
  
29. Castillo EJ, Koenig JL, Anderson JM: Characterization of protein adsorption on soft contact lenses: IV. Comparison of in vivo spoilage with



the in vitro adsorption of tear proteins. *Biomaterials*. 7(2), 86–96, 1986.

30. Driest PJ, Allijn IE, Dijkstra DJ, Stamatialis, Grijpma DW: Poly(ethylene glycol)-based poly(urethane isocyanurate) hydrogels for contact lens applications. *Polymer International*. 69(2), 131–139, 2020.

31. Larimer C, Brann M, Suter JD, Addleman RS: Design of a dynamic biofilm imaging cell for white-light interferometric microscopy. *Optical Engineering*. 56(11), 111708, 2017.

32. Lee M, Kim H, Seo J, Kang M, Kang S, Jang J, Lee Y, Seo JH: Surface zwitterionization: Effective method for preventing oral bacterial biofilm formation on hydroxyapatite surfaces. *Applied Surface Science*. 427(1), 517–524, 2018.

33. Siedenbiedel F, Tiller JC: Antimicrobial Polymers in Solution and on Surfaces: Overview and Functional Principles. *Polymers*. 4, 46–71, 2012.

34. Hollman PCH, Cassidy A, Comte B, Heinonen M, Richelle M, Richling E, Serafini M, Scalbert A, Sies H, Vidry S: The Biological Relevance of Direct Antioxidant Effects of Polyphenols for Cardiovascular Health in Humans Is Not Established. *Journal of Nutrition*, 2011, 141(5), 989S–1009S.

35. Karlgard CCS, Wong NS, Jones LW, Moresoli C: In vitro uptake and release studies of ocular pharmaceutical agents by silicon-containing and p-HEMA hydrogel contact lens materials. *International Journal of Pharmaceutics*, 2003, 257(12), 141–151.

36. Phan CM, Walther H, Smith RW, Riederer D, Lau C, Lorenz KO, Subbaraman

LN, Jones L: Determination of the release of PEG and HPMC from nelfilcon  
A daily disposable contact lenses using a novel in vitro eye model, 2018,  
29(18), 2124-2136.