



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](#)

2022년 8월

박사학위 논문

생체 적합성이 우수한 기능성
컨택트렌즈에 관한 연구

조선대학교 대학원

화학과

이은수

생체 적합성이 우수한 기능성 컨택트렌즈에 관한 연구

A study on functional contact lenses with excellent
biocompatibility

2022년 8월 26일

조선대학교 대학원

화학과

이은수

생체 적합성이 우수한 기능성 컨택트렌즈에 관한 연구

지도교수 김 호 중

이 논문을 이학박사학위신청 논문으로 제출함.

2022년 4월

조선대학교 대학원

화 학 과

이 은 수

이은수의 박사학위논문을 인준함

위원장	조선대학교	교수	<u>임종국</u>	(인)
위원	조선대학교	교수	<u>김호중</u>	(인)
위원	조선대학교	교수	<u>이재관</u>	(인)
위원	조선대학교	교수	<u>조승주</u>	(인)
위원	동신대학교	교수	<u>유근창</u>	(인)

2022년 6월

조선대학교 대학원

Table of contents

Table of contents	i
List of schemes	v
List of figures	vi
List of tables	x
ABSTRACT	xi
<u>1. Introduction</u>	1
1.1. 이론적 배경	1
1.2. 연구 목적	8
<u>2. Experiment</u>	10
2.1. Materials	10
2.2. Synthesis of hydrogel contact lens	10
2.2.1. 친수성 단량체로 표면 기능화된 p(HEMA) 하이드로겔 렌즈 제조	10
2.2.1.1. p(HEMA) 하이드로겔 렌즈 합성	10
2.2.1.2. p(DMAPS), p(METAC), p(DMAPMA)를 사용한 p(HEMA) 렌즈 표면 기능화	11
2.2.2. p(HEMA-co-DMAPS) 하이드로겔의 합성	11
2.2.3. 도파민 단량체로 기능화된 황산화 하이드로겔 렌즈 제조	12

2.2.4. 도파민 단량체로 기능화된 항산화 상호 침투 알긴산 가교 구조 (MG-IPN) 하이드로겔 렌즈 제조	13
2.2.4.1. p(HEMA) 하이드로겔 합성	13
2.2.4.2. Methacrylate 알긴산 (MA)의 합성	13
2.2.4.3. 알긴산을 이용한 상호 침투 고분자 가교 구조 p(HEMA) 하이드로겔 (MA-IPN)의 합성과 도파민을 이용한 기능화	14
2.3. Characterization methods	14
2.3.1. 렌즈의 광학 투과율 측정	14
2.3.2. 하이드로겔 렌즈의 함수율 측정	14
2.3.3. 하이드로겔 렌즈의 접촉각 측정	15
2.3.4. 하이드로겔 렌즈의 단백질 흡착성 평가	15
2.3.5. 하이드로겔 렌즈의 항균성 평가	16
2.3.6. DPPH 라디칼 소거율 측정	17
3. Results and discussion	18
3.1. 친수성 단량체로 표면 기능화된 하이드로겔 렌즈의 단백질 및 박테리아 흡착 특성 연구	18
3.1.1. 함수율	19
3.1.2. 접촉각	20
3.1.3. 광 투과율	22
3.1.4. 단백질 흡착성 분석	24
3.1.5. 정량적 항균성 평가	27
3.2. 친수성 단량체와 공중합된 p(HEMA) 하이드로겔 렌즈의 단백질 및 박테리아 흡착 특성 연구	29
3.2.1. 함수율	31

3.2.2. 접촉각	31
3.2.3. 광 투과율	33
3.2.4. 단백질 흡착성 분석	34
3.2.5. 정량적 항균성 평가	37
3.3. 도파민으로 기능화된 하이드로겔 렌즈의 항산화 효과 연구	39
3.3.1. 함수율	40
3.3.2. 광 투과율	40
3.3.3. 항산화 특성 연구	42
3.4. 도파민 단량체로 기능화된 상호 침투 알긴산 가교 구조 (MA-IPN) 하이드로겔 렌즈의 항산화 효과 연구	46
3.4.1. 함수율	49
3.4.2. 광 투과율	49
3.4.3. 항산화 특성 연구	51
<u>4. Conclusions</u>	54
<u>5. References</u>	56

LIST OF SCHEMES

- Scheme 1. DMAPS의 화학 구조
- Scheme 2. METAC의 화학 구조
- Scheme 3. DMAPMA의 화학 구조
- Scheme 4. 표면 기능화된 p(HEMA) 기반 하이드로겔 렌즈의 개략도 ($p(\text{HEMA})/p(\text{DMAPS})$).
- Scheme 5. Schematic representation of the copolymer hydrogel lenses prepared by HEMA and DMAPS monomers, $p(\text{HEMA-co-DMAPS})$.
- Scheme 6. Synthesis of antioxidant contact lenses via condensation reaction between dopamine and MA of copolymer hydrogel.
- Scheme 7. Schematic representation for synthesis of alginate-interpenetrating polymer network (IPN) hydrogel lens functionalized with dopamine.

LIST OF FIGURES

- 그림 1. 콘택트 렌즈의 분류와 일반적으로 사용되는 재료
- 그림 2. Antifouling 메커니즘. (A) 입체 반발 (exclusion steric repulsion), (B) 정전기적 반발 (electrostatic repulsion), (C) 낮은 표면 에너지 (low surface energy), (D) 살생체 방출 (biocide releasing), (E) 활성 접촉 (contact-active)
- 그림 3. 방오성 개선을 위해 이용되는 양쪽 이온성 고분자의 화학 구조
- 그림 4. 눈에서의 활성 산소 종들의 생성 과정
- 그림 5. 여러 가지 형태의 폴리 페놀류

그림 6. 폴리 페놀류의 항산화 메커니즘

그림 7. (a) p(HEMA) hydrogel, (b) p(HEMA)/p(DMAPS)0.05,
 (c) p(HEMA)/p(DMAPS)0.1, (d) p(HEMA)/p(DMAPS)0.15,
 (e) p(HEMA)/p(METAC)0.1, (f) p(HEMA)/p(METAC)0.15,
 (g) p(HEMA)/p(METAC)0.05, (h) p(HEMA)/p(DMAPMA)0.05,
 (i) p(HEMA)/p(DMAPMA)0.1, (j) p(HEMA)/p(DMAPMA)0.15 접촉각 사진

그림 8. 친수성 단량체로 표면 기능화된 콘택트 렌즈들의 가시광선 투과율

그림 9. 콘택트렌즈당 라이소자임의 흡착량, (1) p(HEMA),
 (2) p(HEMA)/p(DMAPS)0.05, (3) p(HEMA)/p(DMAPS)0.1,
 (4) p(HEMA)/p(DMAPS)0.15

그림 10. 콘택트렌즈당 라이소자임의 흡착량, (1)일반렌즈,
 (2) p(HEMA)/p(METAC)0.05, (3) p(HEMA)/p(METAC)0.1,
 (4) p(HEMA)/p(METAC)0.15

그림 11. 콘택트렌즈당 알부민의 흡착량
 (1)일반렌즈, (2) p(HEMA)/p(DMAPS)0.05,
 (3) p(HEMA)/p(DMAPS)0.1, (4) p(HEMA)/p(DMAPS)0.15

그림 12. 콘택트렌즈당 알부민의 흡착량
 (1)일반렌즈, (2) p(HEMA)/p(METAC)0.05,
 (3) p(HEMA)/p(METAC)0.1, (4) p(HEMA)/p(METAC)0.15

그림 13. 8시간 E.coli 배양에서의 콘택트렌즈당 배양약의 흡광도
 (1)일반렌즈, (2) p(HEMA)/p(DMAPS)0.05,
 (3) p(HEMA)/p(DMAPS)0.1, (4) p(HEMA)/p(DMAPS)0.15

그림 14. 8시간 E.coli 배양에서의 콘택트렌즈당 배양약의 흡광도
 (1)일반렌즈, (2) p(HEMA)/p(METAC)0.05,
 (3) p(HEMA)/p(METAC)0.1, (4) p(HEMA)/p(METAC)0.15

그림 15. (a) p(HEMA) hydrogel, (b) p(HEMA-Co-5%DMAPS),
 (c) p(HEMA-Co-10%DMAPS), (d) p(HEMA-Co-5%METAC),
 (e) p(HEMA-Co-10%METAC)의 접촉각

그림 16. 친수성 단량체와 공중합된 콘택트 렌즈들의 가시광선 투과율.

- 그림 17. 콘택트렌즈당 라이소자임의 흡착량, (1)일반렌즈,
 (2) p(HEMA-Co-5%DMAPS), (3) p(HEMA-Co-10%DMAPS)
- 그림 18. 콘택트렌즈당 라이소자임의 흡착량, (1)일반렌즈,
 (2) p(HEMA-Co-5%METAC), (3) p(HEMA-Co-10%METAC)
- 그림 19. 콘택트렌즈당 알부민의 흡착량, (1)일반렌즈,
 (2) p(HEMA-Co-5%DMAPS), (3) p(HEMA-Co-10%DMAPS)
- 그림 20. 콘택트렌즈당 알부민의 흡착량 (1)일반렌즈,
 (2) p(HEMA-Co-5%METAC), (3) p(HEMA-Co-10%METAC)
- 그림 21. 8시간 E.coli 배양에서의 콘택트렌즈당 배양약의 흡광도,
 (1)일반렌즈, (2) p(HEMA-Co-5%DMAPS), (3) p(HEMA-Co-10%DMAPS)
- 그림 22. 8시간 E.coli 배양에서의 콘택트렌즈당 배양약의 흡광도,
 (1)일반렌즈, (2) p(HEMA-Co-5%METAC), (3) p(HEMA-Co-10%METAC)
- 그림 23. 도파민 단량체로 기능화된 항산화 콘택트 렌즈들의 가시광선 투과율
- 그림 24. 도파민 단량체로 기능화된 항산화 콘택트 렌즈들의 사진
- 그림 25. 도파민으로 항산화 기능화된 콘택트 렌즈들의 시간 변화에 따른 UV 흡수 스펙트럼과 30분 후 DPPH 용액 사진
- 그림 26. 항산화 기능화된 콘택트 렌즈들의 아스코빅산과 비교한 상대적 라디칼 소거능
- 그림 27. 항산화 기능화된 렌즈3의 열처리 (90℃, 1시간) 전과 후의 UV 흡수 스펙트럼
- 그림 28. (a) 알긴산 (b) MA (methacrylate alginic acid)의 ¹H-NMR spectra
- 그림 29. MA-IPN 하이드로겔 콘택트 렌즈의 가시광선 투과율
- 그림 30. MA-IPN 하이드로겔 콘택트 렌즈의 시간에 따른 UV 흡수 스펙트럼
- 그림 31. 항산화 기능화된 MA-IPN 콘택트 렌즈의 아스코빅산과 비교한 상대적 라디칼 소거능
- 그림 32. 항산화 기능화된 MA-IPN 렌즈의 열처리 (90℃, 1시간) 전과 후의 UV 흡수 스펙트럼

LIST OF TABLES

Table 1. 공중합 가교 하이드로겔의 단량체, 가교제, 개시제의 중량비 조성

Table 2. 제조된 인공 눈물의 성분

Table 3. 친수성 단량체로 표면 기능화된 하이드로겔 렌즈의 함수율과 접촉각 측정 결과.

Table 4. 친수성 단량체와 공중합된 하이드로겔 렌즈의 함수율과 접촉각 측정 결과.

Table 5. 도파민 기능화된 하이드로겔 렌즈의 함수율 측정 결과.

Table 6. 도파민 기능화된 하이드로겔 렌즈의 흡광도와 라디칼 소거율.

Table 7. 도파민 기능화된 상호 침투 알긴산 가교 구조 (MA-IPN) 하이드로겔 렌즈의 함수율 측정 결과.

Table 8. 도파민 기능화된 상호 침투 알긴산 가교 구조 (MA-IPN) 하이드로겔 렌즈의 흡광도와 라디칼 소거율

ABSTRACT

A study on functional contact lenses with excellent biocompatibility

Eunsu Lee

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

Department of Chemistry

Graduate School of Chosun University

This study is to investigate the physical properties and antifouling or antioxidant abilities of 4 different functionalized p(HEMA) base hydrogel contact lenses. At first, to improve antifouling properties, hydrophilic DMAPS, METAC, DMAPMA each were introduced onto p(HEMA) hydrogel by two different methods, surface modification and copolymerization. The resulting functionalized hydrogel contact lenses showed high water content, enhanced surface wettability and good transmittance. Among the hydrophilic monomers, zwitterionic DMAPS exhibited superior antifouling properties and copolymerization method is better than surface modification to reduce protein and bacteria adsorption onto the hydrogel contact lenses.

Second, antioxidant hydrogels were prepared by introducing dopamine into p(HEMA) hydrogel by 2 different methods. Dopamine was introduced by condensation reaction with carboxylic acid of methacrylic acid of

hydrogel prepared by radical polymerization of HEMA, EGDMA and methacrylic anhydride. Another antioxidant hydrogels were synthesized by condensation reaction between dopamine and alginic acid of methacrylate alginic acid interpenetrating polymer network structure (MA-IPN) with p(HEMA). The resulting antioxidant hydrogel lenses exhibited more than 90% of visible light transmittance, high (about 50%) water contents. The antioxidant properties were evaluated using DPPH radical scavenging assay and measured antioxidant activities were comparable to 75~85% (copolymer of methacrylic acid), and about 50% (MA-IPN hydrogels) of ascorbic acid. As a result, the prepared antioxidant hydrogel contact lenses showed superior antioxidant activities although a small amount of dopamine group was employed.

This study indicates that these functionalized p(HEMA) hydrogels may facilitate to improve antifouling and antioxidant properties in biomedical devices and ophthalmic materials.

1. Introduction

1.1. 이론적 배경

콘택트 렌즈는 시력 교정의 목적으로 눈의 각막에 부착되는 반구형 장치이다. 일반적으로 재질에 따라 하드와 소프트로 나뉘며 전자의 경우 유리, 아크릴 수지와 같은 수분 흡수가 안 되는 단단한 재료인 반면 후자의 경우 하이드로겔 즉 친수성 고분자로 제조된다. 또한, 친수성 (hydrophilic, -filcon)과 소수성 (hydrophobic, -falcon) 렌즈로 분류되기도 한다.¹

콘택트 렌즈 재료로 사용되기 위해서는 산소 투과율이 중요하다. 눈의 각막은 혈관이 없으므로 외부 공기와 눈물로부터 산소를 공급받으며, 산소 투과율은 이러한 이유로 눈 건강과 상당한 밀접성을 지닌다.² 기체 투과가 가능한 하드 콘택트 렌즈는 1936년 Mülle와 Ohring에 의해 처음 개발되었으며, cellulose acetate butyrate (CAB), silicone, silicone acrylate, fluorocarbonate 등의 재료가 이용되고 있다 (그림 1).³

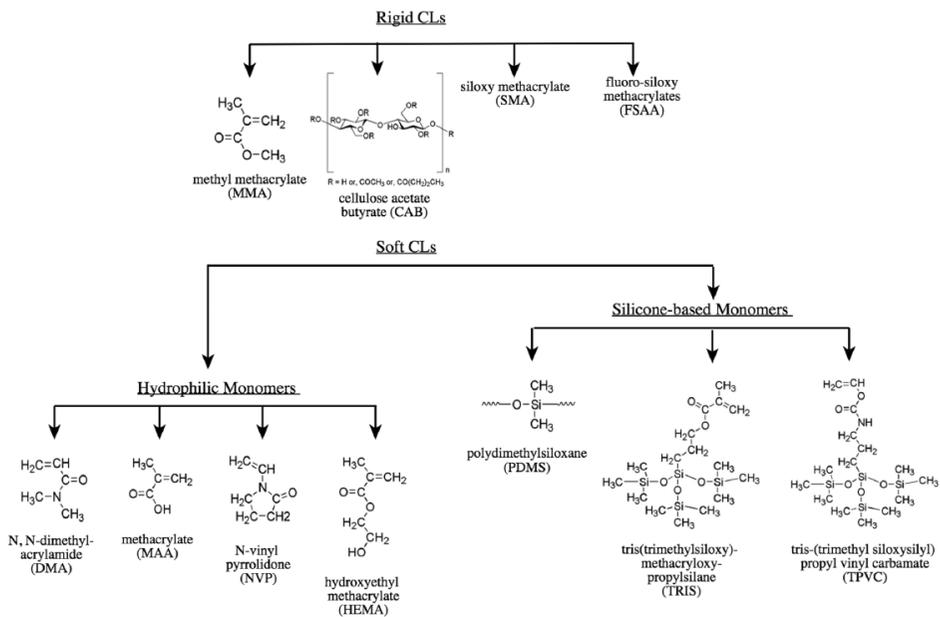


그림 1. 콘택트 렌즈의 분류와 일반적으로 사용되는 재료⁴

소프트한 하이드로겔 콘택트 렌즈의 소재는 크게 실리콘 기반의 하이드로겔과 hydroxyethyl methacrylate (HEMA)로 대표되는 친수성 단량체를 이용한 하이드로겔로 나눌 수 있다. 순수한 실리콘은 기체 투과율이 높고 기계적 물성이 우수한 장점이 있지만 소수성의 성질로 인해 함유율이 낮은 단점이 있다.⁵ 따라서, 대부분 실리콘 기반의 하이드로겔 렌즈는 표면 기능화를 통해 이런 단점을 개선하고 있다. 일반적으로 실리콘 기반 하이드로겔에 사용되는 물질은 PDMS (polydimethylsiloxane), TRIS (trimethylsiloxy silane), TPVS (tris-(trimethylsiloxy)silyl tropylyl vinyl carbamate) 등이 있다.

HEMA (hydroxyethyl methacrylate)를 가교제와 함께 중합하여 만든 p(HEMA)은 Otto Wichterle에 의해 개발되었으며, 생체 적합성이 우수하여 콘택트 렌즈를 비롯한 다양한 의료용 재료로 사용되고 있다.^{6,7} p(HEMA) 기반의 콘택트 렌즈는 가볍고, 산소 투과율이 높으며, 38% 이상의 함유율을 나타낸다. 또한, methacrylic acid (MA), N-vinylpyrrolidone (NVP)등 다양한 친수성 단량체를 도입함으로써 함유율 및 산소 투과율을 향상시킬 수 있다.^{8,9} 현재 150종 이상의 소프트 콘택트 렌즈가 상용화되어 있으며 이중 대부분이 p(HEMA) 기반의 콘택트 렌즈이다.

콘택트 렌즈는 각막에 직접적으로 접촉하여 착용하기 때문에 눈물에 포함된 단백질 성분이 렌즈 표면에 흡착하게 되어 렌즈의 수명이나 착용감 혹은 시력 저하를 유발할 수 있다. 또한, 단백질 흡착이 심할 경우에는 결막 유두, 윤부 충혈 또는 상안검 결막 출혈 등을 일으킬 수 있다.¹⁰⁻¹² 따라서, 콘택트 렌즈 표면에 단백질이나 박테리아의 흡착을 줄일 수 있는 방오 (antifouling) 특성을 개선하는 연구가 진행 중이다.^{13,14}

그림 2에서는 하이드로겔 표면에서 일어나는 단백질 및 박테리아 흡착 방지 (antifouling) 메커니즘을 나타냈다.¹⁵ 단백질과 같은 생체 물질의 흡착을 방지하는 방법은 배제 입체 반발, 정전기적 반발, 낮은 표면 에너지의 크게 3가지로 구분할 수 있다. 배제 입체 반발은 하이드로겔 표면에 형성된 고분자층이 물리적 장벽이 되어 단백질 및 세포등 생체 물질의 부착을 방지하는 것이고, 정전기적 반발의 경우 고분자층의 전하가 생체 물질의 부착을 억제한다.¹⁶

살생제를 이용한 방법은 표면에 흡착된 박테리아나 세포와 같은 생체 물질을 직접적으로 죽이는 방법으로 작용 메커니즘에 따라 4가지로 구분된다. 생체 물질의 세포벽의 생성을 억제하는 방법, 단백질 합성을 억제하는 방법, DNA와 같은 핵산의 합성을 억제하는 방법, 특정 신지 대사 단계 (metabolic step)을 억제하는 방법이 있다.¹⁵

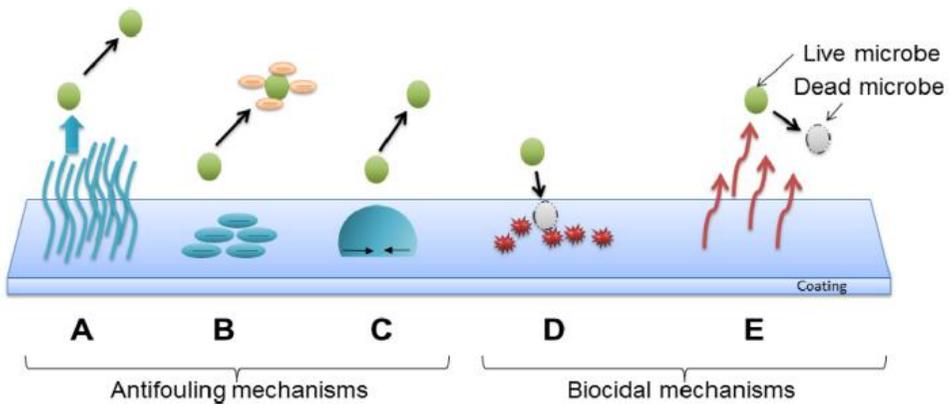


그림 2. Antifouling 메커니즘. (A) 입체 반발 (exclusion steric repulsion), (B) 정전기적 반발 (electrostatic repulsion), (C) 낮은 표면 에너지 (low surface energy), (D) 살생체 방출 (biocide releasing), (E) 활성 접촉 (contact-active)¹⁵

방오성 (antifouling) 개선을 위해 많이 연구되는 2가지 재료에는 PEG (polyethylene glycol)와 같은 친수성 물질과 양쪽 이온성 물질이 있다.¹⁷⁻²⁰ 이들 물질들은 하이드로겔 표면에 수소 결합이나 이온성 결합 (수화)을 통해 수층을 형성하고 형성된 수층이 오염 물질을 밀어내는 작용을 한다. 하이드로겔 표면으로 단백질이 다가오면 수층에서 물 분자가 방출되고 고분자는 수축하게 된다. 이 과정에서 고분자와 물 분자 사이의 2차 결합 (수소 결합 혹은 수화)이 감소하여 엔탈피가 증가하는 효과가 나타나며, 고분자의 수축 과

정에서 엔트로피가 감소하는 효과가 나타난다. 2가지 효과 모두 열역학적으로 불안정한 상태를 형성하여 단백질이 표면에 흡착하는 것을 방지하게 된다.^{21,22}

양쪽 이온성 물질은 양전하와 음전하 모두 갖는 전기적으로 중성의 물질이다. 양쪽 이온성 고분자 (zwitterionic polymer)를 갖는 하이드로겔은 정전기적 인력으로 표면에 수층을 형성한다.²³ 물 분자와 수소 결합을 형성하는 일반적인 친수성 고분자에 비해 강한 수층을 형성함으로써 생체 오염 물질의 흡착을 억제하는 효과가 크다. 하이드로겔 표면의 방오성을 개선하기 위한 목적으로 연구되는 대표적인 양쪽 이온성 물질은 phosphorylcholines, sulfobetaines, carboxylbetaines 등이 있다 (그림 3).²⁴ 이들 고분자 물질은 기계적 물성이 약하므로 하이드로겔을 제조하는 기본 물질로 이용하기는 어렵다. 따라서 하이드로겔 표면을 개질하는 목적으로 공중합체로 이용된다.

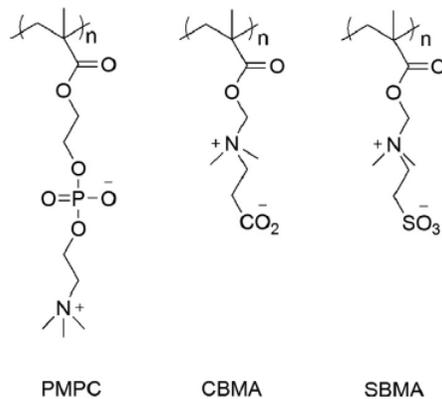


그림 3. 방오성 개선을 위해 이용되는 양쪽 이온성 고분자의 화학 구조¹⁵

콘택트 렌즈 사용에서 또 다른 문제점은 렌즈를 장시간 착용할 때, 렌즈 근처에서 생성되는 활성 산소 종 (reactive oxygen species, ROS)들이 안구에 축적되어 시력을 담당하는 황반 주변 세포를 파괴시킬 수 있다는 점이다. 과산화 음이온 라디칼로 알려져 있는 활성 산소 종들은 상처 치유 과정에서 중요한 역할을 수행한다고 알려져 있지만 청색광, 자외선 등에 의해 활성 산

소 종들이 다량 생성될 경우 (그림 4), 정상 세포들까지 손상시켜 염증 반응을 일으키게 된다.²⁵

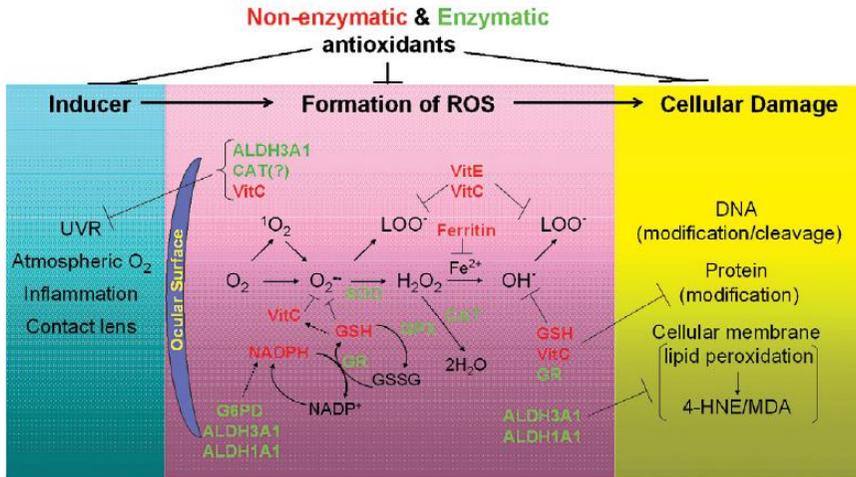
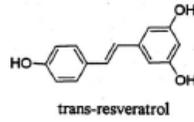


그림 4. 눈에서의 활성 산소 종들의 생성 과정²⁶

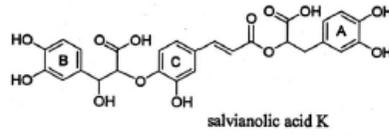
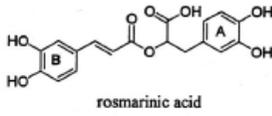
활성 산소 종들을 효과적으로 제거하기 위한 목적으로 폴리페놀 계열의 항산화 물질에 관한 연구가 진행 중이다. 페놀 계열의 물질은 식물의 신진 대사 과정에서 생성되며 약 8,000종 이상의 물질이 알려져 있다. 이 중, 폴리페놀은 적어도 2개 이상의 페놀 구조를 가지고 있으며 3개 이상의 페놀 구조를 갖는 물질은 탄닌 (tannins)으로 알려져 있다 (그림 5).^{27,28}

폴리 페놀류들의 항산화 특성은 3가지 주요 메커니즘으로 설명된다 (그림 6).²⁹ 주요 항산화 과정에서 폴리 페놀류는 수소 원자 전달 (hydrogen atom transfer, HAT) 혹은 홀전자 전달 (single electron transfer, SET) 과정을 통해 자유 라디칼을 비활성화 시킨다. 이 과정을 통해 자유 라디칼은 RH 혹은 R-의 안정한 화학종으로 변하며, $ArO\cdot$, 혹은 $ArOH^+\cdot$ 의 벤젠 구조를 갖는 라디칼이 형성되는데 벤젠 구조의 특성으로 인해 생성된 라디칼은 안정화되어 라디칼의 활성이 낮아지게 된다.³¹⁻³²

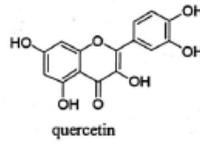
hydroxy stilbene



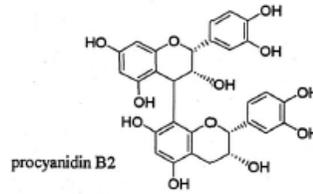
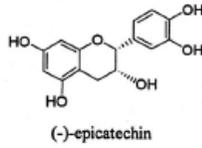
caffeic acid oligomers



flavonol



flavan-3-ols



hydrolyzable tannins

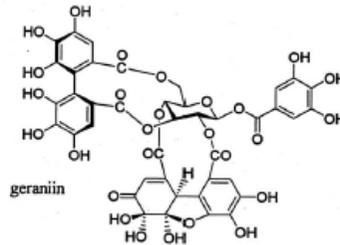
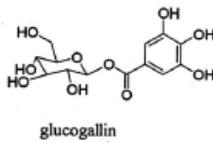
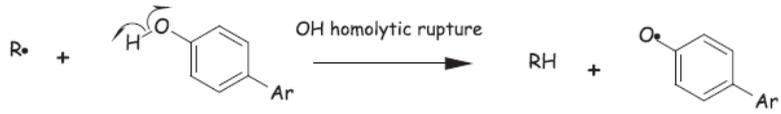
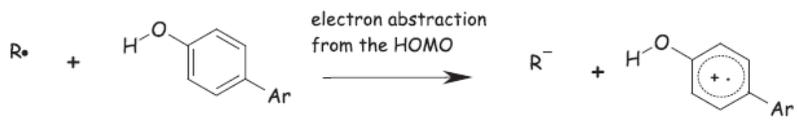


그림 5. 여러 가지 형태의 폴리 페놀류²⁸

1. Hydrogen Atom Transfer (HAT)



2. Single Electron Transfer (SET)



3. Transition Metals Chelation (TMC)

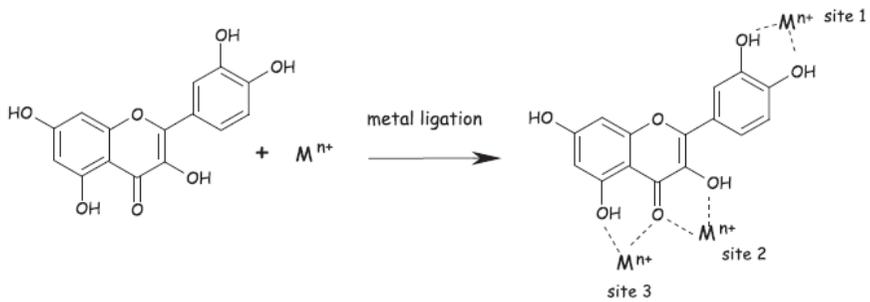


그림 6. 폴리 페놀류의 항산화 메커니즘²⁹

1.2. 연구 목적

시력 교정용 하이드로겔 콘택트렌즈는 시야가 넓고 안경의 착용에서 오는 미용상의 단점을 피할 수 있어 관련 시장이 지속적으로 성장하고 있는 추세이다.^{33,34} Poly(2-hydroxyethyl methacrylate), p(HEMA)를 기반으로 하는 하이드로겔은 기계적 물성, 생체 적합성, 함수율, 광 투과성 등이 우수하여 소프트 하이드로겔 콘택트렌즈 소재로 널리 사용되고 있다.⁴

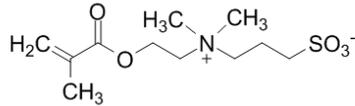
콘택트렌즈를 착용하면 눈물 속에 포함된 여러 성분들이 렌즈 표면에 흡착되어 콘택트렌즈의 습윤성 및 착용감 저하와 시력 저하, 염증 질환과 세균 감염과 같은 부작용이 발생할 수 있다. 이런 부작용을 줄이기 위해 콘택트렌즈 표면이 단백질과 박테리아 등의 흡착에 의해 오염되는 것을 막는 방오성 (antifouling) 개선 연구가 진행 중이다.³⁵⁻³⁷

방오성 (antifouling) 개선을 위해 이용되는 친수성 고분자는 다당류 (dextran, hyaluronic acid 등)³⁸, 폴리에틸렌 글리콜 (PEG), 생체막을 모방한 양쪽 이온성 고분자 (2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine (MPC), carboxybetaine methacrylate (CBMA)) 등이 있다. 이들 친수성 고분자들을 하이드로겔 표면에 도입하기 위해 물리적 흡착, 자기 조립 현상 (SAMs, LbL), 상호 침투 고분자 구조 (IPN) 등의 물리적 결합 방법과 일반적인 자유 라디칼 중합 및 원자 전달 라디칼 중합 (atom transfer radical polymerization, ATRP), 그래프팅 중합 등의 화학적 결합 방법이 적용되고 있다.³⁹⁻⁴¹

본 논문에서는 p(HEMA) 하이드로겔 렌즈의 단백질과 박테리아의 흡착성을 줄이기 위하여 친수성 단량체인 DMAPS, METAC, DMAPMA를 공중합과 렌즈 표면의 기능화라는 2가지 다른 방법으로 p(HEMA) 하이드로겔 렌즈에 도입하였다. 또한 콘택트렌즈 착용시 발생하는 활성 산소 종의 부작용을 줄이기 위해 p(HEMA) 하이드로겔 렌즈에 폴리페놀의 일종인 도파민을 도입하여 항산화 기능을 강화 하였다.

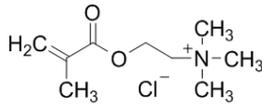
기능화된 하이드로겔 렌즈의 표면 습윤성, 평형 팽창 및 광학 투과율 등의

물성과 단백질 및 박테리아 흡착 특성, 항산화 특성을 조사하여 방오 및 항균 특성과 항산화 특성을 갖는 기능성 하이드로겔 컨택트 렌즈를 개발하고자 하였다.



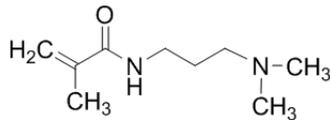
Scheme 1. DMAPS의 화학 구조

3-[[2-(Methacryloyloxy)ethyl]dimethylammonio]propane-1-sulfonate



Scheme 2. METAC의 화학 구조

[2-(Methacryloyloxy)ethyl]trimethylammonium chloride solution



Scheme 3. DMAPMA의 화학 구조

N-[3-(Dimethylamino)propyl]methacrylamide

2. Experiment

2.1. Materials

HEMA, EGDMA, DMAPS, METAC, DMAPMA, dopamine, methacrylic anhydride (MA)는 Sigma Aldrich (MO, USA)에서 구입하였다. Difco™ Mueller-Hinton broth medium은 Thermo Fisher Scientific (Leicestershire, UK)에서 구입하였고 AIBN과 benzophenone은 Junsei (Tokyo, Japan)와 Daejung Chemical & Metal Co.(Shiheung, Korea)에서 구매하였다. Acetone, trifluoroacetic acid 및 기타 용매는 분석 등급으로 추가 정제 없이 사용하였다.

2.2. Synthesis of hydrogel contact lenses

2.2.1. p(HEMA) 표면 기능화된 하이드로겔 렌즈의 제조

2.2.1.1. p(HEMA) 하이드로겔 합성

HEMA 단량체는 중합 전 진공 증류 방법으로 중합 방지제 및 불순물을 정제한 후 사용하였다. EGDMA 40 mg (0.2 wt%), V-65 16 mg (0.2 wt%), DMA 0.16 g (0.2 wt%)를 7.784 g (97.3 wt%)의 HEMA와 혼합하고 30분 동안 소니케이팅하였다. 혼합된 용액을 콘택트렌즈 몰드에 주입하고, 120℃의 오븐에서 30분간 열중합을 통해 콘택트렌즈를 제조하였다. 만들어진 렌즈가 몰드로부터 탈착되기 쉽도록 24시간동안 증류수에 담궈 두었다. 몰드에서 렌즈를 탈착한 후, 400mL 탈이온수에 넣어 미반응 단량체와 잔존하는 개시제를 완전히 제거하기 위해 투석하였다. 1일 3회 물을 갈아주면서 2일간 투석 과정을 진행하였다. 제조된 렌즈는 90℃의 오븐에서 1-2시간 건조시켰다.

2.2.1.2. p(DMAPS), p(METAC), p(DMAPMA)를 사용한 p(HEMA) 렌즈 표면 기능화

이전의 보고된 절차에 따라 p(HEMA) 하이드로겔 렌즈를 친수성 단량체인 DMAPS, METAC, DMAPMA를 이용하여 표면 기능화하였다.¹⁴ 모든 반응은 실온에서 진행하였다. 앞서 제조된 렌즈를 benzophenone 아세톤 용액 (10mg/mL)에 1분 동안 담근 후 1시간 동안 진공 건조시켰다. 이어서, benzophenone이 흡착된 p(HEMA) 렌즈를 0.10 M, 0.25 M 및 0.50 M의 일련의 DMAPS 수용액에 담그고 다음 단계에서 광중합을 실시하였다.

샘플은 15W G15T8E 램프(Sankyo-Denki, Tokyo, Japan) 8개로 된 램프 챔버로 옮겨져서 15분 동안 UV-B(~320 nm)를 이용하여 광중합되었다. 샘플을 램프 챔버에서 꺼낸 후, 아세톤과 물을 이용하여 미반응 단량체, 과량의 벤조페논, 반응 부산물인 벤조피나콜을 제거했다. p(HEMA) 하이드로겔과 화학 결합하지 않은 p(DMAPS) 고분자를 제거하기 위해 제조된 하이드로겔 렌즈를 과량의 아세톤과 탈이온수의 혼합액에 밤새 담갔다. 마지막으로 제조된 렌즈는 90°C의 오븐에서 1-2시간 건조시켰다. 동일한 과정을 METAC, DMAPMA 단량체를 이용하여 수행하였다.

2.2.2. p(HEMA-Co-DMAPS) 하이드로겔의 합성

HEMA 단량체의 중합방지제 및 불순물은 진공 증류를 통해 제거되었다. 이어서, 표 1에 열거된 다양한 단량체 제형에 따라 공중합 하이드로겔 렌즈를 제조하였다. 모든 제형에 대해 가교제, EGDMA, 개시제 및 AIBN의 양은 각각 0.4 및 0.5 중량 %로 유지되었다. 공중합체 하이드로겔(5wt% MPC)의 제조에 대해 간략하게 설명하면 9.42g의 HEMA 단량체, 0.50g의 DMAPS 공단량체, 0.04g의 EGDMA 및 0.05g의 AIBN을 바이알에 첨가하고 1시간 동안 초음파 처리하였다. 용액이 투명해지면, 생성된 용액을 콘택트렌즈 몰드에 주입하고, 120°C의 오븐에서 30분간 열중합하여 하이드로겔 콘택트 렌즈를 제조하였다. 몰드에서 콘택트렌즈를 탈착한 후, 남아있는 미반응 단량체와 개시제를 완전히 제거하기 위해 하루 세 번 물을 갈아주면서 이틀간 투석하였다. 제조된 렌즈는 90°C의 오븐에서 1-2시간 건조시켰다.

Table 1. 공중합 가교 하이드로겔의 단량체, 가교제, 개시제의 중량비 조성

하이드로겔	단량체, 가교제, 개시제 조성 (wt %)				
	HEMA	DMAPS	METAC	EGDMA	AIBN
p(HEMA)-H	100	-	-	0.4	0.5
p(HEMA-co-5% DMAPS)	95	5	-	0.4	0.5
p(HEMA-co-10% DMAPS)	90	10	-	0.4	0.5
p(HEMA-co-5% METAC)	95	-	5	0.4	0.5
p(HEMA-co-10% METAC)	90	-	10	0.4	0.5

2.2.3. 도파민 단량체로 기능화된 항산화 하이드로겔 렌즈 제조

HEMA 단량체는 진공 증류를 통해 중합 방지제 및 불순물을 정제한 후 사용하였다. EGDMA 0.08g, AIBN 0.1g, Methacrylic acid 0.6g을 HEMA 19.22g과 혼합한 후 1시간 동안 상온에서 교반하였다. 용액이 투명해지면, 생성된 용액을 콘택트 렌즈 몰드에 주입한 다음, 120°C의 오븐에서 30분간 열중합하여 콘택트렌즈를 제조하였다. 오븐에서 꺼낸 뒤 몰드로부터 렌즈를 쉽게 탈착하기 위하여 증류수에 24시간동안 담구어둔다. 몰드에서 콘택트렌즈를 탈착한 후, 남아있는 미반응 단량체와 개시제를 완전히 제거하기 위해 하루에 3회 물을 갈아주면서 이틀간 투석하였다. 이후 렌즈를 90°C의 오븐에서 1-2시간 건조시켰다.

제조된 렌즈에 dopamine을 도입하기 위하여 바이알에 제조된 하이드로겔 콘택트 렌즈, NHS 5.64mg, EDC 9.39mg을 넣고, Dopamine 각각 30mg, 60mg, 90mg을 넣어 3개의 바이알을 준비한다. 각 바이알을 shaking incubator로 24시간 동안 섞어준다. 에탄올에서 6시간동안 불순물을 제거한 후 불순물을 완전히 제거하기 위해 하루 3회 물을 갈아주면서 이틀간 투석하였다. 그 후, 제조된 렌즈를 90°C의 오븐에서 1-2시간 건조시켜 하이드로겔 콘택트 렌즈 3종을 제조하였다.

2.2.4. 도파민 단량체로 기능화된 항산화 상호 침투 알긴산 가교 구조 (MG-IPN) 하이드로겔 렌즈 제조

2.2.4.1. p(HEMA) 하이드로겔 합성

HEMA 단량체는 중합 전 진공 증류 방법으로 중합 방지제 및 불순물을 정제한 후 사용하였다. EGDMA 40 mg (0.2 wt%), V-65 16 mg (0.2 wt%), DMA 0.16 g (0.2 wt%)을 7.784 g (97.3 wt%)의 HEMA와 혼합하고 30분 동안 소니케이팅하였다. 혼합된 용액을 콘택트렌즈 몰드에 주입하고, 120°C의 오븐에서 30분간 열중합을 통해 콘택트렌즈를 제조하였다. 만들어진 렌즈가 몰드로부터 탈착되기 쉽도록 24시간동안 증류수에 담궈 두었다. 몰드에서 렌즈를 탈착한 후, 400mL 탈이온수에 넣어 미반응 단량체와 잔존하는 개시제를 완전히 제거하기 위해 투석하였다. 1일 3회 물을 갈아주면서 2일간 투석 과정을 진행하였다. 제조된 렌즈는 90°C의 오븐에서 1-2시간 건조시켰다.

2.2.4.2. methacrylate 알긴산 (MA)의 합성

탈이온수를 이용하여 알긴산 (alginate)의 1% 수용액을 제조한 후, 5N NaOH 수용액을 사용하여 pH 8로 조정하였다. 20배 과량의 Methacrylic anhydride (Sigma, St. Louis, MO) 468 μ L를 4°C에서 천천히 alginate 용액에 첨가하고 5N NaOH를 사용하여 pH를 주기적으로 8로 조정하였다 (24시간 반응 동안 15회). 용액을 4°C에서 24시간 동안 반응시킨 후 변형된 alginate를 48시간 동안 멸균수에 대한 투석을 통해 정제하여 과량의 메타크릴산 무수물을 제거하였다. 최종 생성물을 동결 건조에 의해 회수하였다.

알긴산에 도입된 methacrylate의 양은 용매로서 D₂O를 사용하여 ¹H NMR 분석을 사용하여 확인하였다. 탄수화물 양성자에 대한 메타크릴레이트 양성자 피크(메틸렌, d = 6.0 및 5.6ppm 및 메틸 피크, d = 1.8ppm)의 비를 사용하여 메타크릴화 물 퍼센트를 결정하였다. ¹H NMR 분석은 JNM-AL300 (JEOL, Tokyo, Japan)을 이용하였다.

2.2.4.3. 알긴산을 이용한 상호 침투 고분자 가교 구조 p(HEMA) 하이드로겔 (MA-IPN)의 합성과 도파민의 기능화

미리 동결 건조한 MA를 적당량 증류수에 녹여 2wt% 수용액으로 만들었다. 그런 다음, p(HEMA) 기반 하이드로겔 렌즈를 실온에서 MA 수용액에 담그었다. 24시간 후, p(HEMA) 기반 하이드로겔 렌즈를 증류수로 세척하고 10mL의 증류수에 담그고 중합 개시제인 Ammonium persulfate (APS)와 Sodium metabisulfite (SMBS)를 첨가하였다. 혼합물을 2시간 동안 방치하여 가교 반응이 완전히 진행되도록 하였다.

미반응 가교 결합제를 제거하기 위해 MA-IPN 하이드로겔 렌즈를 인산염 완충 식염수(PBS, pH 7.4)로 3일 동안 매일 최소 4~5회의 완충액을 교체하면서 세척하였다. 그 후, 도파민을 사용한 MA-IPN 하이드로겔의 기능화를 수행하였다. MA-IPN 하이드로겔 렌즈를 20mL의 증류수에 담그고 EDC-HCl, NHS 및 도파민을 첨가하여 수행되었다. 혼합물을 실온에서 24시간 동안 방치하였고, 이후 2일 동안 증류수에 담가 미반응 화학 물질을 완전히 제거하였다.

2.3. Characterization methods

2.3.1. 렌즈의 광학 투과율 측정

제조된 하이드로겔 콘택트렌즈들의 투과율은 가시 광선 영역에서의 transmittance 실험을 통해 조사하였다. Shimadzu, UV-1650PC 분광광도계 (Tokyo, Japan)를 사용하여 하이드로겔 렌즈의 투과 스펙트럼을 얻었다. 각 측정은 실온에서 300-800 nm의 파장 범위에서 수행되었으며 각 측정은 4번 수행하여 평균값을 표시하였다.

2.3.2. 하이드로겔 렌즈의 함수율 측정

제조된 하이드로겔 렌즈의 함수율은 상온에서 중량 측정법으로 측정하였다. 하이드로겔 렌즈를 평형 팽창 전에 완전히 건조시켜 무게를 측정한다 (Wd). 그 후, 하이드로겔 렌즈를 phosphate-buffered saline(PBS, pH 7.4)에

담근 후 24시간 유지하여 평형 상태로 팽윤시킨다. 샘플을 PBS에서 꺼낸 후 과도한 표면 물을 tissue paper로 닦아내고 팽윤된 하이드로겔 렌즈의 무게를 측정했다 (W_s). 함수율은 아래 식을 이용하여 계산했다.

$$\text{함수율(\%)} = [(W_s - W_d)/W_d] \times 100$$

W_s 와 W_d 는 각각 평형 팽윤 및 평형 건조 상태에서의 하이드로겔 렌즈의 중량이다. 3회 측정을 반복하여 평균값을 얻었다.

2.3.3. 하이드로겔 렌즈의 접촉각 측정

하이드로겔 렌즈의 접촉각을 측정하여 표면 습윤성을 평가하였다. 각 샘플의 접촉각을 측정하기 위하여 drop shape analyzer (DSA100, Krüss GmbH, Hamburg, Germany)를 사용하였다. 하이드로겔 표면에 nanopure water 한 방울 ($4.5 \mu\text{L}$)을 위치시키고 imaging software를 사용하여 정적 물 접촉각을 측정했다. 10회의 측정을 통해 평균값을 얻었다.

2.3.4. 하이드로겔 렌즈의 단백질 흡착성 평가

단백질인 라이소자임과 알부민을 포함하는 phosphate buffered saline (PBS, pH 7.4) 인공 눈물을 제조하였다 (Table 2). 하이드로겔 렌즈를 5 mL의 인공 눈물에 담근 후 37°C 에서 12 시간 동안 배양하였다. 배양 후, 렌즈 표면에 흡착되지 않은 단백질을 제거하기 위하여 PBS 용액으로 렌즈를 세척하였다. 렌즈를 암실에서 추출 용액 (0.2 wt% trifluoroacetic acid의 acetonitrile 용액)에 24시간 담귀 렌즈에 흡착된 단백질을 추출하였다.

콘택트렌즈에서 추출된 단백질의 농도는 역상 고성능 액체 크로마토그래피 (reverse phase high-performance liquid chromatography (RP-HPLC), Shimadzu, Japan, LC-10AVP 펌프, SPD-10A UV 검출기)를 사용하여 정량화하였다. 추출된 $100 \mu\text{L}$ 의 라이소자임 용액 또는 $10 \mu\text{L}$ 의 알부민 용액에 900 또는 $990 \mu\text{L}$ 의 이동상 용액 (0.1 wt % trifluoroacetic acid를 포함한 acetonitrile 50 % / 물 50 % 혼합 용액)을 혼합하여 총 $1,000 \mu\text{L}$ 로 만들었

다. 이 혼합 용액 20 μ L를 C18컬럼 (LUNA-C18, 4.6 \times 150 mm, 5 μ m; Phenomenex, Torrance, CA, USA)에 주입하여 분석하였다. HPLC 실행 시간은 4.5 분, 유량은 1.0mL/분으로 설정하였다.

Table 2. 제조된 인공눈물의 성분

Ingredients	Amount(g) / L
Lysozyme	1.20 g
Albumin	3.88 g
NaCl	7.00 g
KCl	1.70 g
CaCl ₂	0.05 g
NaHCO ₃	2.20 g

2.3.5. 하이드로겔 렌즈의 항균성 평가

Mueller-Hinton 배지를 사용해 21 g/L 농도의 배지 용액 50 mL를 제조한 후, 200 mL 삼각 플라스크에 넣었다. 이 배지 용액을 121 $^{\circ}$ C, 15 분 동안 고압 증기 멸균 후, 37 $^{\circ}$ C까지 냉각하였다. 여기에 E.coli stock solution을 1 mL 가하고 37 $^{\circ}$ C shaker incubator에서 6 시간 동안 배양하였다. 앞서 기술한 방법과 동일하게 2 L 삼각 플라스크 두 개에 Mueller-Hinton 배지 용액 200 mL 씩을 각각 채운 후 고압 증기 멸균을 실시하고 37 $^{\circ}$ C까지 냉각한다. 여기에 앞서 제조한 E.coli 배양액을 2 mL씩 가하고 37 $^{\circ}$ C shaker incubator에서 반나절(12시간) 동안 배양하여 E.coli 균 액을 준비하였다.

하이드로겔 렌즈를 70% 에탄올 수용액에서 멸균 처리한 후, 멸균 증류수를 사용하여 잔류 에탄올 용액을 세척한 후 세척한 렌즈를 스테인레스 재질의 망에 넣었다. E.coli 균 액 400 mL에 잠기게 하고 용기를 밀봉 후 orbital shaker로 6시간 동안 혼합하여 렌즈 표면에 E.coli 균이 고루 접촉할 수 있

게 하였다. 오염 과정을 마친 렌즈를 균 액에서 꺼내 50 mL 멸균 증류수에 1 분간 담근 후, 멸균된 20 mL Mueller-Hinton 액체 배지에 넣어 37 °C shaker incubator에서 표면균을 배양하였다. 8시간 후 1 mL의 샘플을 취하여 UV Spectrophotometer를 사용해 595 nm 파장에서 배양액 샘플들의 흡광도를 측정하였다. 일반렌즈 대비 균성장 비율(%)은 아래의 식을 통해 계산하였다.

일반렌즈 대비 균성장 비율 (%) = ((일반렌즈Abs - 기능화된 렌즈Abs)/일반렌즈Abs) × 100

(Abs: 8시간 E.coli 배양에서의 UV 흡광도)

2.3.6. DPPH 라디칼 소거율 측정

본 연구에서 제조된 하이드로겔 렌즈들의 항산화 가능성을 평가하기 위해 DPPH 용액 (0.2 mM)의 라디칼 소거 정도를 UV-vis spectrophotometer (SHIMADZU UV-2600)를 이용하여 측정하였다. DPPH 0.079 g을 100 mL의 에탄올에 녹여 DPPH 용액을 제조한 후, 10배 희석하여 DPPH 용액으로 사용하였다. 렌즈들을 20 mL 갈색 바이알에 각각 넣은 뒤, 0.2 mM DPPH 용액을 각 바이알에 2.7 mL를 첨가하였다. 37°C에서 시료들을 교반하면서 517 nm에서의 용액 흡광도 변화를 측정하였다. 아스코빅산의 경우, 0.04 M 농도의 아스코빅산 수용액 0.3 mL에 2.7 mL의 DPPH 용액을 첨가하여, 라디칼 소거율을 측정하였다.

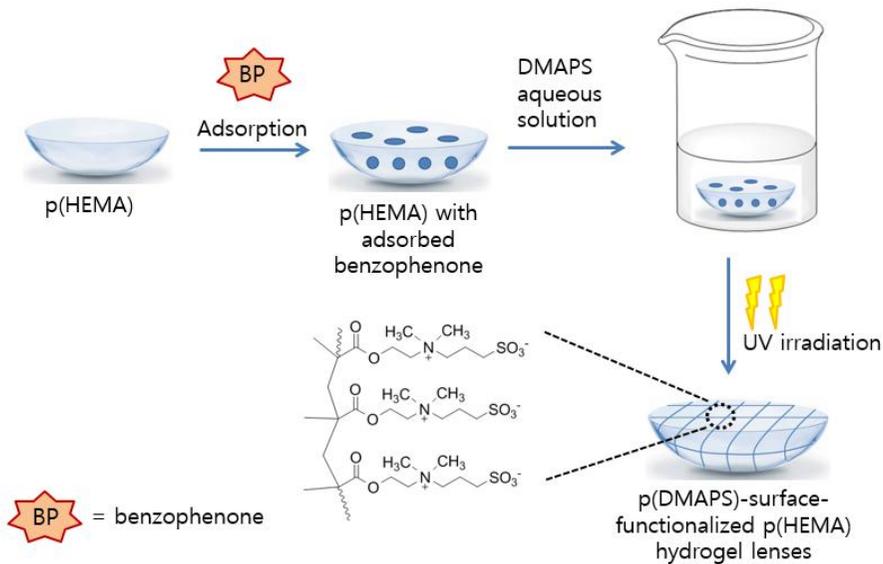
$$\text{라디칼 소거율(\%)} = 100 \times \frac{\text{최초 흡광도} - \text{항산화 렌즈 흡광도}}{\text{최초 흡광도}}$$

3. Results and discussion

3.1. 친수성 단량체로 표면 기능화된 하이드로겔 렌즈의 단백질 흡착 특성 연구

Scheme 4는 친수성 단량체인 DMAPS로 표면 기능화된 하이드로겔 렌즈의 제조 방법을 나타낸다. HEMA 단량체와 가교제인 EGDMA, 개시제인 AIBN이 혼합된 용액을 몰드에 넣고 열중합을 통해 p(HEMA) hydrogel 컨택트렌즈를 제조하였다. 위의 방법으로 만들어진 p(HEMA) 하이드로겔 표면에 벤조페논을 흡착시킨 후, DMAPS 수용액에서 빛에 의한 라디칼 중합을 통해 DMAPS 단량체들을 하이드로겔 표면에 그래프팅 중합시켰다. 하이드로겔의 표면 기능화는 DMAPS 농도가 0.05 M, 0.1 M, 0.15 M인 수용액 조건에서 이루어졌고 이렇게 제조된 컨택트렌즈를 각각 p(HEMA)/p(DMAPS)0.05, p(HEMA)/p(DMAPS)0.1, p(HEMA)/p(DMAPS)0.15 라고 명명하였다.

앞에서 기술한 방법을 이용하여 친수성 단량체를 DMAPS에서 METAC와 DMAPMA로 변화시켜 각각 p(HEMA)/p(METAC)0.05, p(HEMA)/p(METAC)0.1, p(HEMA)/p(METAC)0.15와 p(HEMA)/p(DMAPMA)0.05, p(HEMA)/p(DMAPMA)0.1, p(HEMA)/p(DMAPMA)0.15의 표면 기능화된 하이드로겔 컨택트렌즈 총 9종을 제조하였다.



Scheme 4. 표면 기능화된 p(HEMA) 기반 하이드로겔 렌즈의 개략도 (p(HEMA)/p(DMAPS)).

3.1.1. 함수율

P(HEMA) 하이드로겔 렌즈와 9종의 친수성 단량체로 표면 기능화된 하이드로겔 렌즈의 함수율 측정 결과를 표 3에 나타내었다. 일반적으로 하이드로겔의 함수율은 하이드로겔의 친수성/소수성 성질뿐만 아니라 이온성 고분자의 이온화 정도 및 상대 전하와의 인력 그리고 하이드로겔의 가교 정도 등에 영향을 받는다. 실험 결과 양이온성의 METAC로 표면 기능화된 하이드로겔의 함수율이 가장 높은 것으로 나타났으나 나머지 콘택트렌즈 샘플들과의 함수율 차이가 크지 않았다. 함수율의 경우 하이드로겔의 표면 개질 효과 보다는 p(HEMA) 하이드로겔의 가교 밀도 (crosslinking density)에 더 많이 영향을 받기 때문으로 판단된다.

3.1.2. 접촉각

제조한 하이드로겔 렌즈들의 습윤성을 알아보기 위해 접촉각을 측정한 결과 (표 2, 그림 3), 친수성 고분자로 표면 기능화를 실시한 콘택트렌즈들의 접촉각이 p(HEMA) 렌즈에 비해 감소하는 것을 알 수 있었다. P(DMAPS)의 함량이 증가할수록 접촉각이 더욱 많이 감소하였다. 이는 p(HEMA) 표면에 친수성 작용기가 많아짐에 따라 습윤성이 증가함을 나타낸다. 3가지 친수성 고분자들을 비교해보면, $p(\text{DMAPMA}) > p(\text{DMAPS}) > p(\text{METAC})$ 의 순서로 접촉각이 더 많이 감소하였다.

Table 3. 친수성 단량체로 표면 기능화된 하이드로겔 렌즈의 함수율과 접촉각 측정 결과.

	x	함수율 (%)	접촉각 (°)
p(HEMA)	-	35.9	81.9
p(HEMA)/p(DMAPS)x	0.05	39.0	75.3
	0.1	37.3	74.2
	0.15	38.9	69.4
p(HEMA)/p(METAC)x	0.05	38.6	79.7
	0.1	40.2	71.7
	0.15	41.7	77.0
p(HEMA)/p(DMAPMA)x	0.05	38.6	76.6
	0.1	36.6	70.1
	0.15	37.7	65.1

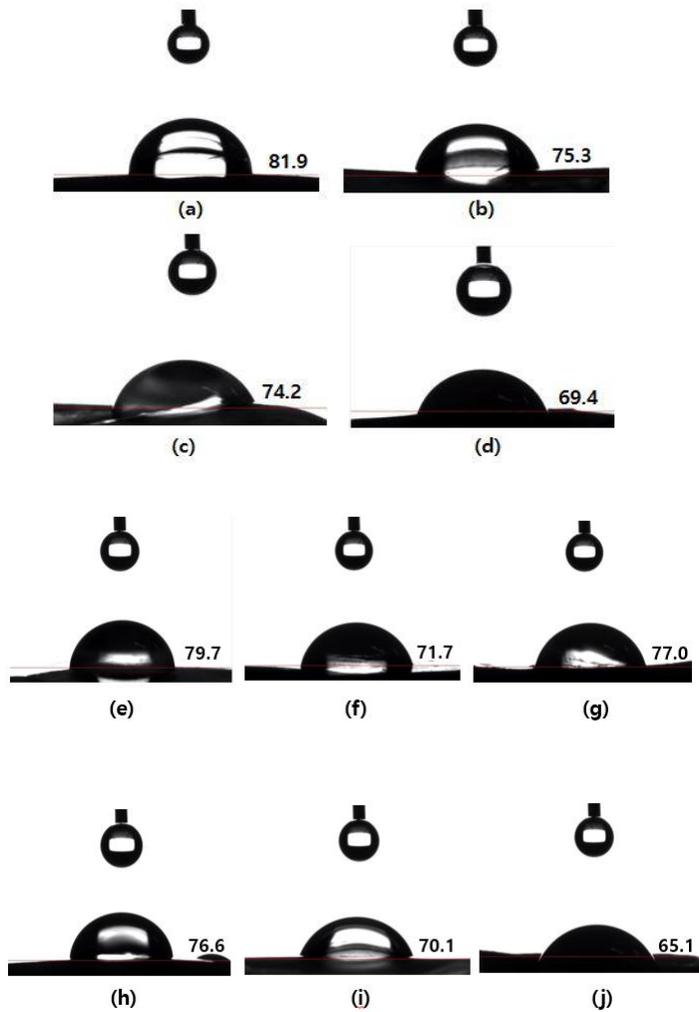


그림 7. (a) p(HEMA) hydrogel, (b) p(HEMA)/p(DMAPS)0.05,
 (c) p(HEMA)/p(DMAPS)0.1, (d) p(HEMA)/p(DMAPS)0.15,
 (e) p(HEMA)/p(METAC)0.1, (f) p(HEMA)/p(METAC)0.15,
 (g) p(HEMA)/p(METAC)0.05, (h) p(HEMA)/p(DMAPMA)0.05,
 (i) p(HEMA)/p(DMAPMA)0.1, (j) p(HEMA)/p(DMAPMA)0.15의 접촉각 사진

3.1.3. 광 투과율

하이드로겔이 비색 센서 및 콘택트 렌즈와 같은 안과 재료로 사용될 경우 요구되는 또 다른 필수적인 특성은 광학 투명도이다. 그림 8에서 볼 수 있듯이 모든 하이드로겔은 착용 가능한 콘택트 렌즈(92%)가 요구하는 광 투과율을 초과하는 높은 투과율 값(> 94%)을 가지고 있다. 잔류 광개시제의 존재로 인한 것일 수 있는 300~320 nm 범위 주변에서 하이드로겔 렌즈의 투과율 감소가 관찰되었지만, 이러한 투과율 감소는 상기 파장 주변에서 매우 일반적이다. 벤조페논이나 벤조트리아졸은 자외선을 흡수하기 위해 사용된다. 그럼에도 불구하고 제조된 DMAPS, METAC, DMAPMA 기능화된 하이드로겔 렌즈는 광학적으로 투명한 것으로 간주되어 가시광선 파장 범위에서 광 투과율 측면에서 접촉 생체 재료로서 적합성을 입증하였다. 단량체의 비혼화성이 하이드로겔의 전체 광 투과율을 크게 좌우한다는 것은 널리 알려져 있다. 하이드로겔의 높은 투과율은 p(DMAPS), p(METAC), p(DMAPMA)를 사용한 p(HEMA) 하이드로겔 렌즈의 표면 기능화가 불투명하거나 상 분리된 하이드로겔을 생성하지 않았음을 나타내며, 이는 DMAPS, METAC, DMAPMA와 HEMA 및 EGDMA를 포함하는 단량체 용액의 우수한 혼화성에 기인한다.

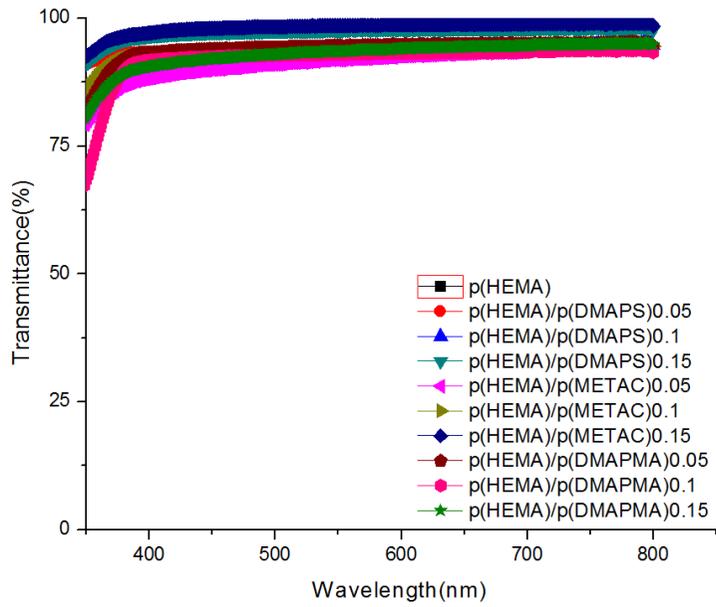


그림 8. 친수성 단량체로 표면 기능화된 콘택트 렌즈들의 가시광선 투과율

3.1.4. 단백질 흡착성 분석

친수성 단량체인 DMAPS, METAC 및 DMAPMA를 표면에 그래프팅 중합하여 기능화한 하이드로겔 콘택트렌즈들의 단백질 흡착 특성을 알아보기 위한 실험에서 모델 단백질로는 리소자임 (lysozyme)과 알부민 (bovine serum albumin, BSA)을 선정하였다. BSA의 경우, 순환계에 다량 존재하는 단백질로써 표면에 음전하를 띠는 것으로 알려져 있다. 이에 비해 리소자임은 양이온 전하를 띠는 단백질로 눈물, 침 등의 분비액에 존재한다.

단백질 흡착 실험의 결과는 그림 9~12에 나타내었다. p(HEMA) 하이드로겔에 의한 리소자임 단백질 흡착은 $4.52 \mu\text{g}/\text{lens}$ 이다. 이에 비해 p(HEMA)/p(DMAPS)0.05, p(HEMA)/p(DMAPS)0.1, p(HEMA)/p(DMAPS)0.15의 경우 각각 $3.81, 3.32, 3.10 \mu\text{g}/\text{lens}$ 로 측정되었다. 이 결과는 p(HEMA) 하이드로겔의 흡착과 비교하여 각각 15.7, 26.5, 31.4 %씩 감소한 결과다.

알부민 단백질을 이용한 단백질 흡착 실험에서도 비슷한 경향이 확인되었다. 대조군인 p(HEMA) 하이드로겔 콘택트렌즈의 알부민 흡착은 $8.55 \mu\text{g}/\text{lens}$ 이다. 이에 비해, 표면 기능화된 p(HEMA)/p(DMAPS)0.05, p(HEMA)/p(DMAPS)0.1, p(HEMA)/p(DMAPS)0.15의 경우 각각 $6.77, 5.86, 5.64 \mu\text{g}/\text{lens}$ 로 측정되었다. p(HEMA) 하이드로겔에 비해 양쪽 이온성인 DMAPS와 양이온성의 METAC 단량체를 이용하여 표면 기능화한 하이드로겔에서 단백질 흡착이 감소함을 확인할 수 있으며, DMAPS 혹은 METAC 단량체 함량이 증가할수록 단백질 흡착 감소 효과가 증가함을 확인할 수 있었다.

이 결과는 함수율 및 접촉각 실험 결과와 같이 양쪽 이온성의 DMAPS와 양이온성의 METAC 단량체가 갖는 이온과 물의 정전기적 인력에 의한 강한 수화층 형성으로 설명할 수 있다.

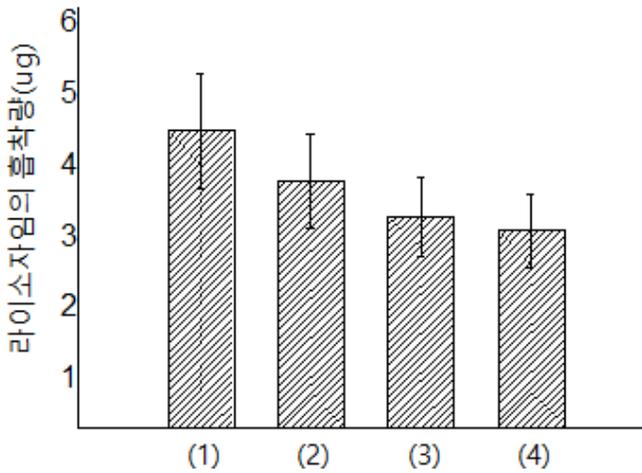


그림 9. 콘택트 렌즈당 라이소자임의 흡착량, (1)일반렌즈, (2) p(HEMA)/p(DMAPS)0.05, (3) p(HEMA)/p(DMAPS)0.1, (4) p(HEMA)/p(DMAPS)0.15

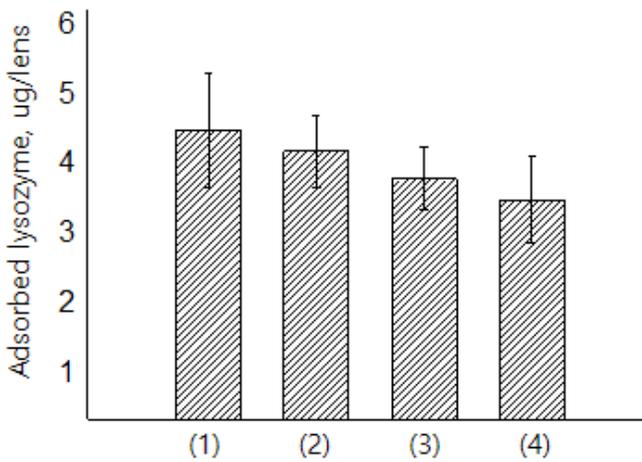


그림 10. 콘택트렌즈당 라이소자임의 흡착량, (1)일반렌즈, (2) p(HEMA)/p(METAC)0.05, (3) p(HEMA)/p(METAC)0.1, (4) p(HEMA)/p(METAC)0.15

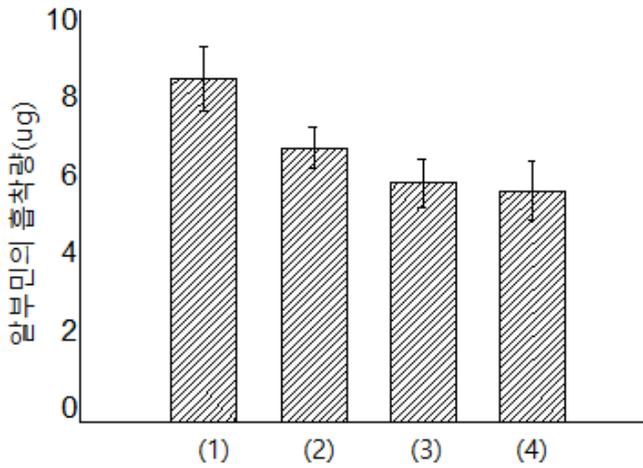


그림 11. 콘택트렌즈당 알부민의 흡착량
 (1) 일반렌즈, (2) p(HEMA)/p(DMAPS)0.05,
 (3) p(HEMA)/p(DMAPS)0.1, (4) p(HEMA)/p(DMAPS)0.15

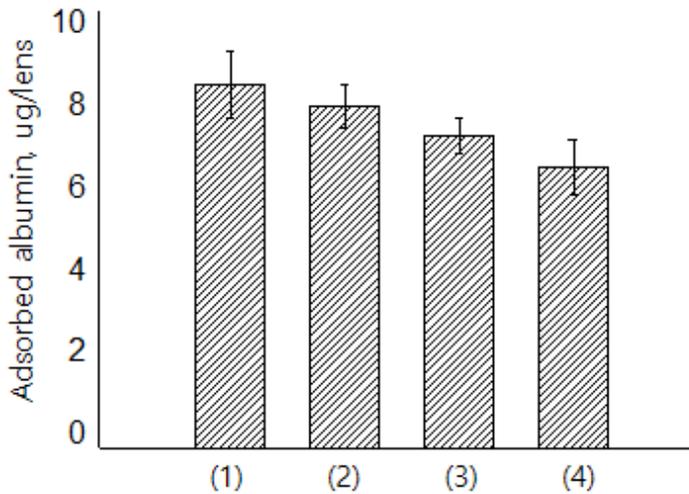


그림 12. 콘택트렌즈당 알부민의 흡착량
 (1) 일반렌즈, (2) p(HEMA)/p(METAC)0.05,
 (3) p(HEMA)/p(METAC)0.1, (4) p(HEMA)/p(METAC)0.15

3.1.5. 정량적 항균성 평가

친수성 단량체인 DMAPS, METAC 및 DMAPMA의 표면 기능화를 통해 제조된 하이드로겔 렌즈의 박테리아 흡착은 하이드로겔 샘플들의 흡광도를 측정하여 비교 평가하였다. 박테리아가 콘택트렌즈 표면에 흡착될수록 렌즈의 탁도가 증가하여 흡광도가 높아지게 된다. 박테리아 흡착 실험 결과, p(HEMA)의 흡광도와 비교하여 각각 약 38.4% ($p(\text{HEMA})/p(\text{DMAPS})0.05$), 48.0% ($p(\text{HEMA})/p(\text{DMAPS})0.1$), 46.1% ($p(\text{HEMA})/p(\text{DMAPS})0.15$)의 E.coli 균성장 저해 효과가 있는 것으로 평가되었다 (그림 21, 그림 22). 또한, 이번 실험 조건에서는 공중합된 DMAPS의 함량과 비례하는 균성장 저해 효과를 확인할 수는 없었다. DMAPS 및 METAC 공중합된 하이드로겔의 흡광도가 p(HEMA) 하이드로겔에 비해 16~27% 낮은 수치를 나타냄을 확인하였다. 이온성 단량체인 DMAPS와 METAC의 단백질과 박테리아의 흡착 감소 효과는 양쪽 이온성의 DMAPS가 우수하게 나타났다.

단백질 흡착 실험 결과와 마찬가지로 양쪽 이온성 및 양이온성 DMAPS, METAC 단량체를 HEMA에 도입함으로써 하이드로겔 표면에 강한 수화층을 형성하고, 형성된 수화층이 박테리아의 흡착에 대해 강한 반발력을 나타냄으로써 박테리아 흡착의 정도를 감소시키는 것으로 해석된다.

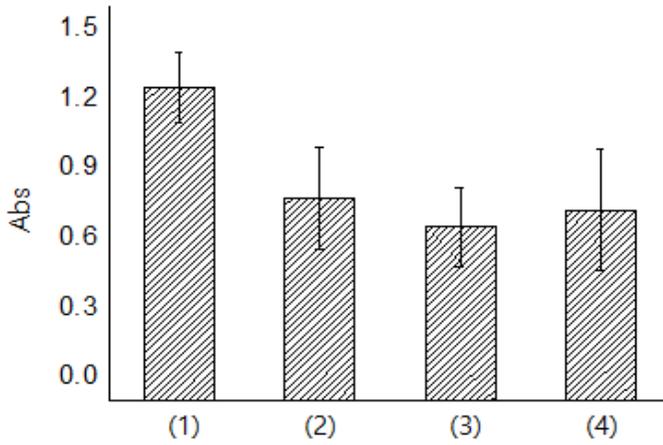


그림 13. 8시간 E.coli 배양에서의 콘택트렌즈당 배양액의 흡광도
 (1) 일반렌즈, (2) p(HEMA)/p(DMAPS) 0.05,
 (3) p(HEMA)/p(DMAPS) 0.1, (4) p(HEMA)/p(DMAPS) 0.15

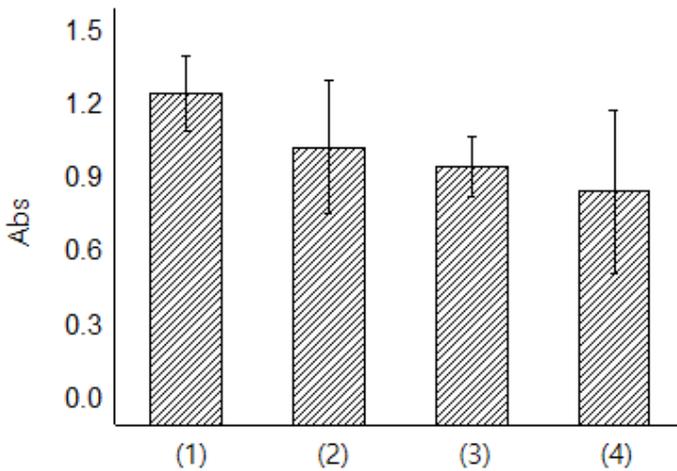
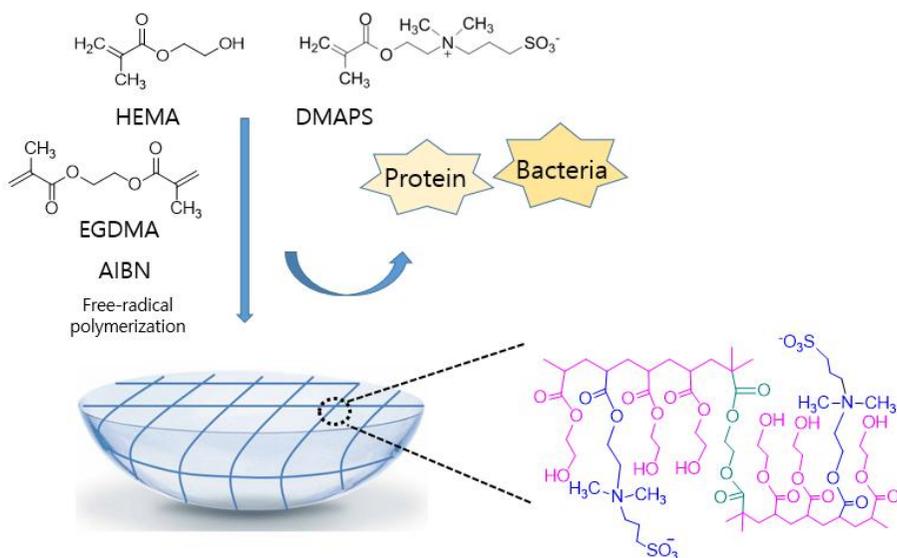


그림 14. 8시간 E.coli 배양에서의 콘택트렌즈당 배양액의 흡광도
 (1) 일반렌즈, (2) p(HEMA)/p(METAC) 0.05,
 (3) p(HEMA)/p(METAC) 0.1, (4) p(HEMA)/p(METAC) 0.15

3.2. 친수성 단량체와 공중합된 하이드로겔 렌즈의 단백질 흡착 특성 연구

다양한 중량비의 HEMA와 DMAPS 혹은 METAC 단량체로 구성된 일련의 가교 공중합체 하이드로겔 렌즈를 제조하였다. 표 1에 나타낸 바와 같이, 제조된 하이드로겔 렌즈는 이온성 단량체인 DMAPS 혹은 METAC에 비해 더 많은 HEMA 단량체를 함유했다. 이는 p(HEMA) 중합체가 이온성 고분자인 p(DMAPS) 혹은 p(METAC) 중합체보다 기계적으로 더 안정적이기 때문이다. 또한, 두 단량체의 공중합은 HEMA 단량체의 기계적 강도와 DMAPS 및 METAC의 단백질 및 박테리아 흡착 방지 특성을 결합하여 각 단량체의 중요한 특성을 나타내는 하이드로겔 렌즈를 생성하는 데 사용되었다. HEMA 단량체 함량은 90 내지 95 wt% 범위인 반면, DMAPS 단량체의 함량은 5 내지 10 wt% 범위였다. 공중합 반응은 자유 라디칼 개시제로서 AIBN 및 가교제로서 EGDMA를 사용하였으며, 이렇게 제조된 콘택트렌즈를 각각 p(HEMA-co-5%DMAPS), p(HEMA-co-10%DMAPS), p(HEMA-co-5%METAC), p(HEMA-co-10%METAC)로 명명하였다. 표 1에 표시된 바와 같이 이온성 단량체가 없는 대조군 하이드로겔 렌즈 p(HEMA)도 준비하였다.



Scheme 5. Schematic representation of the copolymer hydrogel lenses prepared by HEMA and DMAPS monomers, p(HEMA-co-DMAPS).

3.2.1. 함수율

제조된 하이드로겔의 함수율 측정 결과는 표 3에 나타내었다. HEMA에 비해 친수성이 높은 DMAPS 및 METAC 단량체를 공중합하여 제조된 하이드로겔이 p(HEMA) 하이드로겔에 비해 함수율이 높을 것으로 예상되며, 실제 측정 결과 DMAPS 및 METAC 단량체가 공중합된 하이드로겔의 경우 p(HEMA) 하이드로겔에 비해 함수율이 증가함을 알 수 있었다. 또한 METAC 단량체를 공중합한 경우가 DMAPS를 공중합한 하이드로겔에 비해 함수율이 증가하였다.

Table 4. 친수성 단량체와 공중합된 하이드로겔 렌즈의 함수율과 접촉각 측정 결과

	함수율 (%)	접촉각 (°)
p(HEMA)-H	42.1	91.0
p(HEMA-co-5% DMAPS)	43.9	81.3
p(HEMA-co-10% DMAPS)	57.3	71.3
p(HEMA-co-5% METAC)	69.6	72.7
p(HEMA-co-10% METAC)	82.2	67.9

3.2.2. 접촉각

제조된 하이드로겔 콘택트렌즈들의 습윤성을 알아보기 위해 접촉각을 측정한 결과 (표 4, 그림 15), 친수성 이온성 단량체인 DMAPS 및 METAC와 공중합한 콘택트렌즈들의 접촉각이 p(HEMA) 렌즈에 비해 감소하는 것을 알 수 있었다. 함수율 측정 결과와 마찬가지로 METAC 단량체를 공중합한 하이드로겔 콘택트렌즈가 DMAPS 단량체를 공중합한 콘택트렌즈에 비해 접촉각이 더 많이 감소하였다. 이 결과를 통해 DMAPS 단량체에 비해 METAC 단량체의 정전기적 인력으로 인한 수화 효과가 더 크다는 것을 알 수 있다.

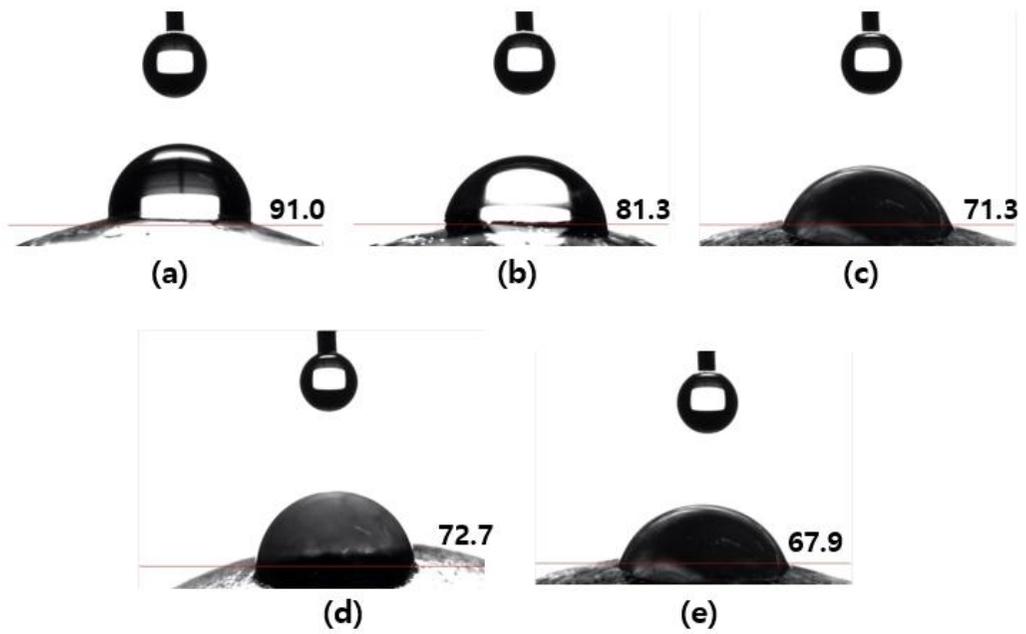


그림 15. (a) p(HEMA) hydrogel,
 (b) p(HEMA-Co-5%DMAPS), (c) p(HEMA-Co-10%DMAPS)
 (d) p(HEMA-Co-5%METAC), (e) p(HEMA-Co-10%METAC)의 접촉각

3.2.3. 광 투과율

하이드로겔이 비색 센서 및 콘택트 렌즈와 같은 안과 재료로 사용되기 위해 필요한 필수적인 특성은 광학 투명도이다. 여기에서 제조된 하이드로겔의 광투과율을 300-800 nm에서 측정하여 % 투과율로 보고하였다. 그림 16에서 볼 수 있듯이 모든 하이드로겔은 착용 가능한 콘택트 렌즈가 요구하는 광 투과율 (92%)을 초과하는 보다높은 투과율 값(> 94%)을 가지고 있다. DMAPS 및 METAC 공중합된 하이드로겔 렌즈는 광학적으로 투명한 것으로 간주되어 가시광선 파장 범위에서 광 투과율 측면에서 접촉 생체 재료로서 적합성을 입증하였다.

공중합으로 합성된 고분자의 경우, 각 단량체들의 상용성이 낮으면 상분리 현상으로 인해 하이드로겔의 전체 광 투과율이 떨어지게 된다. 제조된 하이드로겔 콘택트렌즈들의 높은 투과율은 DMAPS 및 METAC와 HEMA의 상용성이 뛰어나며 나타내며 공중합 하이드로겔 내에서 DMAPS 및 METAC 부분이 p(HEMA)에 균일하게 공중합된 형태임을 의미한다.

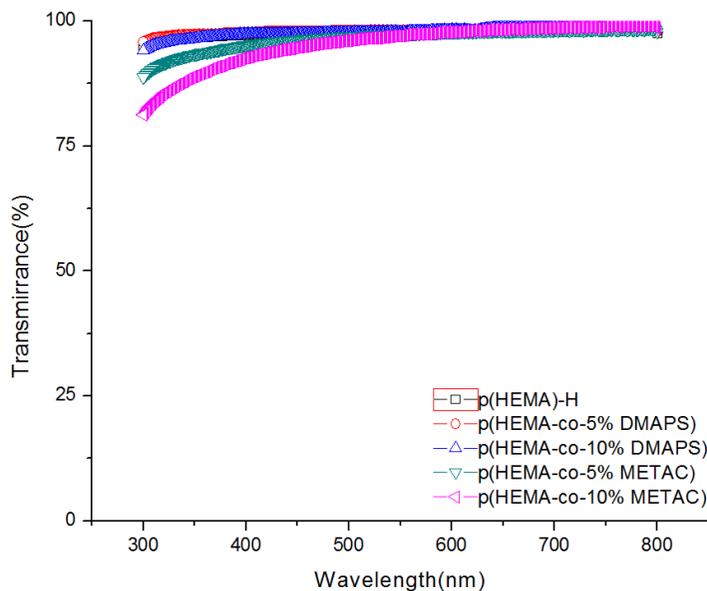


그림 16. 친수성 단량체와 공중합된 콘택트 렌즈들의 가시광선 투과율.

3.2.4. 단백질 흡착성 분석

이온성 단량체인 DMAPS 및 METAC와 공중합으로 제조된 하이드로겔 콘택트 렌즈들의 단백질 흡착 특성을 알아보기 위한 실험에서 모델 단백질로는 리소자임 (lysozyme)과 알부민 (bovine serum albumin, BSA)을 선정하였다. BSA의 경우, 순환계에 다량 존재하는 단백질로써 표면에 음전하를 띠는 것으로 알려져 있다. 이에 비해 리소자임은 양이온 전하를 띠는 단백질로 눈물, 침 등의 분비액에 존재한다.

단백질 흡착 실험의 결과는 그림 17~20에 나타내었다. p(HEMA) 하이드로겔에 의한 BSA 단백질 흡착은 $8.55 \mu\text{g/lens}$ 이다. 이에 비해 p(HEMA-co-5%DMAPS), p(HEMA-co-10%DMAPS)의 경우 각각 $8.01, 7.22 \mu\text{g/lens}$, p(HEMA-co-5%METAC), p(HEMA-co-10%METAC)의 경우 각각 $8.12, 7.72 \mu\text{g/lens}$ 로 측정되었다. 이 결과는 p(HEMA) 하이드로겔의 흡착에 비해 각각 93.7, 84.4, 95.0, 90.3 % 이다.

리소자임 단백질을 이용한 단백질 흡착 실험에서도 비슷한 경향이 확인되었다. 대조군인 p(HEMA) 하이드로겔 콘택트렌즈의 리소자임 단백질 흡착은 $4.50 \mu\text{g/lens}$ 이다. 이에 비해, 공중합 하이드로겔인 p(HEMA-co-5%DMAPS), p(HEMA-co-10%DMAPS)의 경우 각각 $4.10, 3.80 \mu\text{g/lens}$, p(HEMA-co-5%METAC), p(HEMA-co-10%METAC)의 경우 각각 $4.30, 4.09 \mu\text{g/lens}$ 로 측정되었다. p(HEMA) 하이드로겔에 비해 양쪽 이온성인 DMAPS와 양이온성의 METAC 단량체를 공중합한 하이드로겔에서 단백질 흡착이 감소함을 확인할 수 있으며, DMAPS 혹은 METAC 단량체 함량이 증가할수록 단백질 흡착 감소 효과가 증가함을 확인할 수 있었다.

이 결과는 함수율 및 접촉각 실험 결과와 같이 양쪽 이온성의 DMAPS와 양이온성의 METAC 단량체가 갖는 이온과 물의 정전기적 인력에 의한 강한 수화층 형성으로 설명할 수 있다.

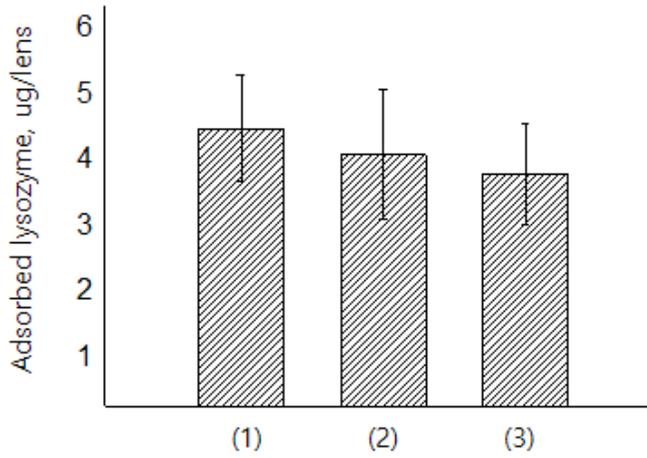


그림 17. 콘택트렌즈당 라이소자임의 흡착량,
 (1)일반렌즈, (2) p(HEMA-Co-5%DMAPS), (3) p(HEMA-Co-10%DMAPS)

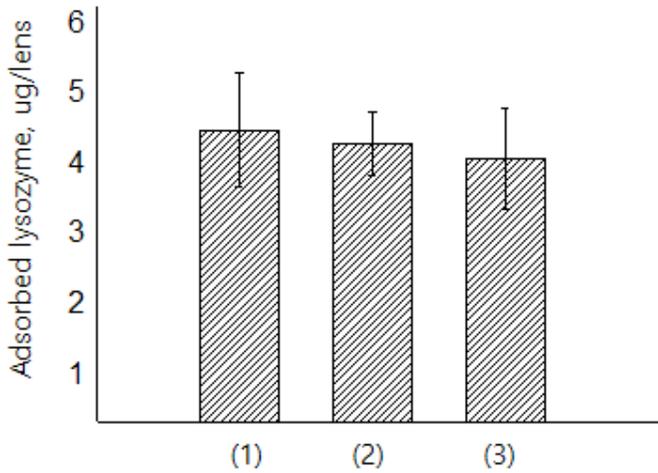


그림 18. 콘택트렌즈당 라이소자임의 흡착량,
 (1)일반렌즈, (2) p(HEMA-Co-5%METAC), (3) p(HEMA-Co-10%METAC)

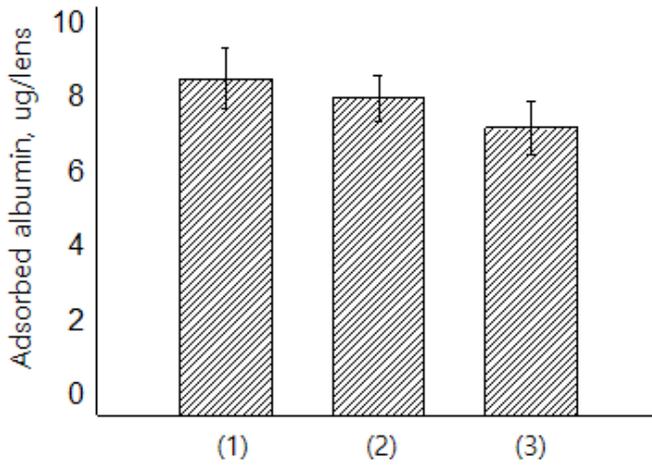


그림 19. 콘택트렌즈당 알부민의 흡착량
 (1)일반렌즈, (2) p(HEMA-Co-5%DMAPS), (3) p(HEMA-Co-10%DMAPS)

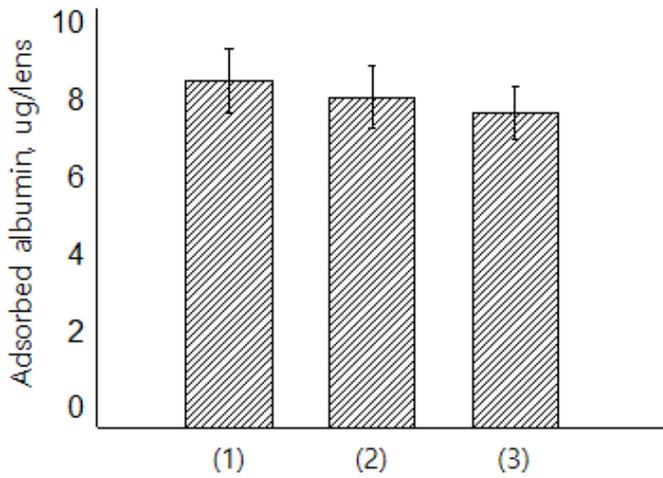


그림 20. 콘택트렌즈당 알부민의 흡착량
 (1)일반렌즈, (2) p(HEMA-Co-5%METAC), (3) p(HEMA-Co-10%METAC)

3.2.5. 하이드로겔 렌즈의 정량적 항균성 평가

DMAPS 및 METAC의 공중합을 통해 제조된 하이드로겔의 박테리아 흡착은 하이드로겔 샘플들의 흡광도를 측정하여 비교 평가하였다. 박테리아가 콘택트렌즈 표면에 흡착될수록 렌즈의 탁도가 증가하여 흡광도가 높아지게 된다. 박테리아 흡착 실험 결과, p(HEMA)의 흡광도와 비교하여 p(HEMA-co-5%DMAPS), p(HEMA-co-10%DMAPS)의 경우 각각 81.6, 72.8 %, p(HEMA-co-5%METAC), p(HEMA-co-10%METAC)의 경우 각각 84.0, 77.6 %를 나타내었다. (그림 21, 그림 22). DMAPS 및 METAC 공중합된 하이드로겔의 흡광도가 p(HEMA) 하이드로겔에 비해 16~27 % 낮은 수치를 나타냄을 확인하였다. 이온성 단량체인 DMAPS와 METAC의 단백질과 박테리아의 흡착 감소 효과는 양쪽 이온성의 DMAPS가 우수하게 나타났다.

단백질 흡착 실험 결과와 마찬가지로 양쪽 이온성 및 양이온성 DMAPS, METAC 단량체를 HEMA에 도입함으로써 하이드로겔 표면에 강한 수화층을 형성하고, 형성된 수화층이 박테리아의 흡착에 대해 강한 반발력을 나타냄으로써 박테리아 흡착의 정도를 감소시킨다.

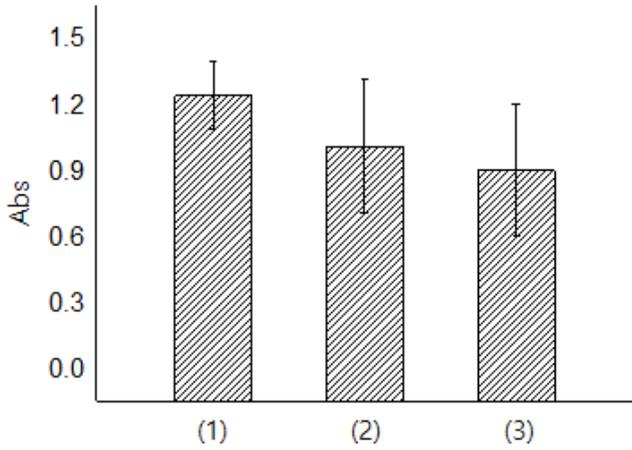


그림 21. 8시간 *E.coli* 배양에서의 콘택트렌즈당 배양액의 흡광도,
 (1)일반렌즈, (2) p(HEMA-Co-5%DMAPS), (3) p(HEMA-Co-10%DMAPS)

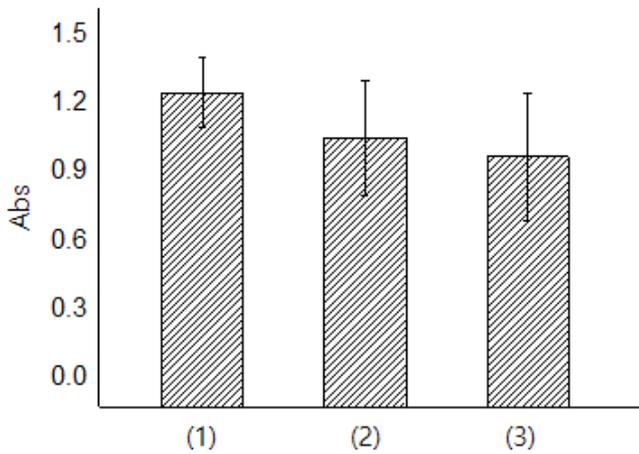
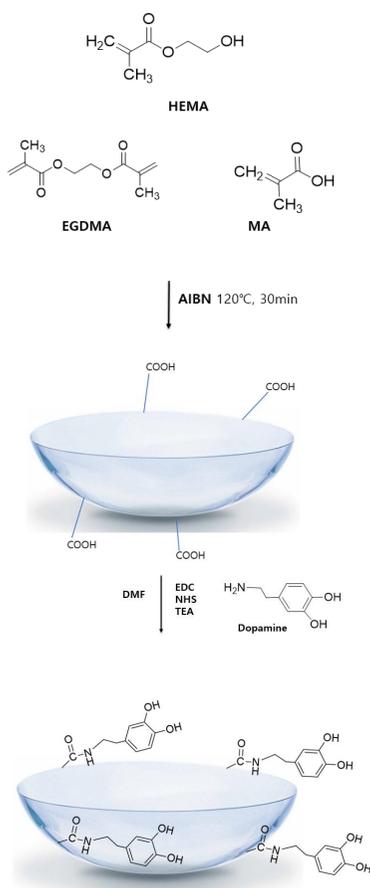


그림 22. 8시간 *E.coli* 배양에서의 콘택트렌즈당 배양액의 흡광도,
 (1)일반렌즈, (2) p(HEMA-Co-5%METAC), (3) p(HEMA-Co-10%METAC)

3.3. 도파민 기능화된 하이드로겔 렌즈의 항산화 효과 연구

항산화 콘택트 렌즈의 구체적인 제조 방법은 Scheme 6에 나타내었다. 먼저 개시제(AIBN), 가교제(EGDMA), HEMA 단량체, methacrylic acid(MA)를 혼합한 후, 열을 이용한 자유 라디칼 주합을 실시하여 공중합 하이드로겔 렌즈를 제조하였다. 이후, 도파민을 MA의 carboxylic acid group과의 아마이드 결합을 통해 하이드로겔 렌즈에 도입하였다. 이 때, 도파민의 함량을 조절하여 3가지 기능화된 렌즈들을 제조하였다.



Scheme 6. Synthesis of antioxidant contact lenses via condensation reaction between dopamine and MA of copolymer hydrogel.

3.3.1. 함수율

콘택트렌즈의 함수율은 렌즈 착용감에 큰 영향을 미치는 중요한 물리적 특성 중 하나이다. 항산화 렌즈의 함수율 측정 결과는 Table 5에 나타내었다. 측정 결과 모든 렌즈 시료에서 평균 함수율이 50% 근처의 값을 나타내었는데 이는 기능화하지 않은 p(HEMA) 하이드로겔 콘택트렌즈의 함수율 (38%)보다 10% 이상 향상된 값이다. 이 결과는 항산화 콘택트렌즈 제조 시 도입한 mecharcylic acid와 도파민의 hydroxy group의 친수성에 기인한 것으로 판단된다.

Table 5. 도파민 기능화된 하이드로겔 렌즈의 함수율 측정 결과.

Lens sample	1차 측정	2차 측정	3차 측정	Average PWC
Lens 1	51.4%	47.2%	49.4%	49.3%
Lens 2	55.2%	52.0%	51.8%	53.0%
Lens 3	46.7%	48.4%	49.9%	48.3%

3.3.2. 광 투과율

일반적으로, 콘택트렌즈에 있어서 필수적인 물리적 특성 중 하나로 광학 투명도가 요구된다. 제조된 하이드로겔의 광투과율을 300-800 nm에서 측정하여 % 투과율로 보고하였다. 그림 23에서 볼 수 있듯이 모든 하이드로겔은 착용 가능한 콘택트 렌즈가 요구하는 광 투과율을 초과하는 높은 투과율 값(> 95%)을 가지고 있다. 가시광선 전 영역의 평균 투과율은 95.0% (Lens 1), 95.2% (Lens 2), 96.2% (Lens 3)로 계산되어 도입된 도파민의 함량이 증가할수록 투과율이 증가하는 경향을 나타냈다.

분광법 결과와 유사하게 육안을 통해 렌즈를 관찰한 경우에도 렌즈의 전체 면적에서 투명한 것을 알 수 있었고 (그림 24), 이를 통해 도파민 기능화된 항산화 하이드로겔 렌즈들이 높은 광학 투명도를 갖는 것을 확인하였다.

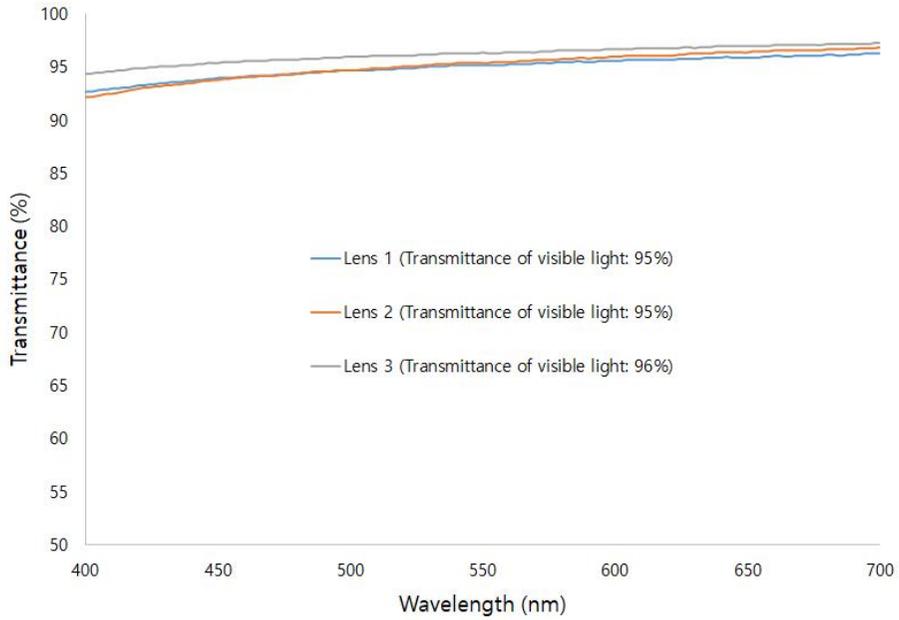


그림 23. 도파민 기능화된 항산화 콘택트 렌즈들의 가시광선 투과율

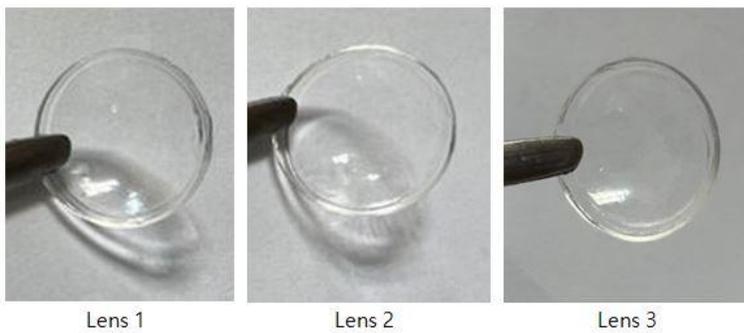


그림 24. 도파민 기능화된 항산화 콘택트 렌즈들의 사진

3.3.3. 항산화성 특성 연구

제조된 콘택트렌즈의 항산화 기능은 DPPH 라디칼 소거율 분석을 통해 평가하였다. 그림 25는 도파민 기능화된 항산화 하이드로겔 렌즈와 DPPH 라디칼의 반응에 따른 UV 흡수 스펙트럼 측정 결과이다. 30분의 시간이 경과함에 따라 518 nm에서 나타나는 DPPH 라디칼에 의한 흡수 피크가 사라짐을 확인할 수 있었다. 이러한 UV 흡수 스펙트럼의 변화는 DPPH 용액이 분홍색에서 노란색으로 변하는 색변화를 통해 눈으로도 확인 가능하였다. 이 결과는 항산화 하이드로겔 렌즈에 도입된 도파민이 DPPH 라디칼에 수소를 전달하여 안정한 hydrazin 형태 (DPPH-H)을 형성하기 때문이다.

Table 6은 UV 스펙트럼의 결과를 이용하여 도파민 기능화된 하이드로겔 렌즈의 시간에 따른 흡광도와 라디칼 소거율을 정리한 결과이다. 518 nm의 흡광도를 사용하여 라디칼 소거율을 계산하였으며 30분 경과 후 라디칼 소거율이 모든 렌즈에서 90%에 육박하는 값을 갖는다는 것을 알 수 있었으며, 도입된 도파민의 양이 증가함에 따라 소거율이 증가함을 알 수 있었다.

이 실험에서 제조된 항산화 하이드로겔 렌즈들은 비록 매우 소량의 도파민이 도입되었음에도 우수한 항산화 특성을 보였다. 또한 공중합을 통해 도파민 그룹을 p(HEMA) 내에 안정적으로 고정시킴으로써, 항산화 기능을 극대화하였기 때문으로 해석된다.

Table 6. 도파민 기능화된 하이드로겔 렌즈의 흡광도와 라디칼 소거율.

Time(min)	Lens 1 흡광도 (라디칼 소거율)	Lens 2 흡광도 (라디칼 소거율)	Lens 3 흡광도 (라디칼 소거율)
0	0.136	0.136	0.136
30	0.033(75.7%)	0.024(82.4%)	0.022(83.8%)

본 실험에서는 항산화 물질로 가장 잘 알려진 아스코빅산의 라디칼 소거율을 측정하여 도파민 기능화된 하이드로겔 렌즈의 항산화 성능을 비교하였다. 동일한 조건에서 아스코빅산의 DPPH 라디칼 소거율을 측정한 결과는 90.4% 이었다. 그림 26은 아스코빅산의 소거율을 100%로 하여 상대적으로 계산된 항산화 렌즈들의 라디칼 소거율 비교 결과이다. 반응시간 30분에서 계산된 상대 라디칼 소거율이 Lens 1과 Lens 2의 경우 91%, Lens 3의 경우 93%로 아스코빅산과 거의 유사한 항산화 능력을 보이는 것을 확인할 수 있었다.

우수한 항산화 능력은 콘택트 렌즈 제조 시 빠른 산화에 의한 갈변 등의 부작용을 일으킬 수 있다. 이를 확인하기 위해, 콘택트렌즈의 멸균 조건의 열처리 (탈염수, 100 °C에서 20분)를 수행한 후 렌즈의 변색 정도를 확인하였다. 그 결과, 육안으로 큰 색변화를 관찰할 수 없었을 뿐만 아니라, UV-vis 흡수 스펙트럼에서도 큰 변화를 관찰할 수 없었다 (그림 27).

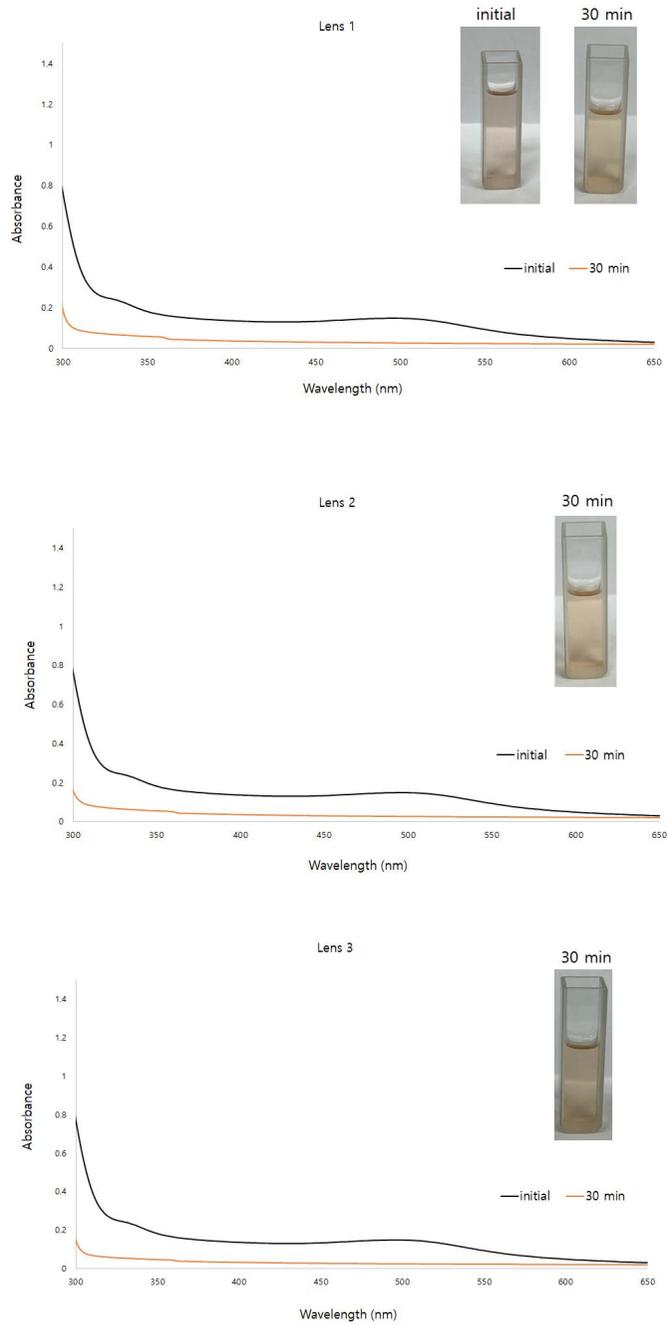


그림 25. 도파민으로 향산화 기능화된 콘택트 렌즈들의 시간 변화에 따른 UV 흡수 스펙트럼과 30분 후 DPPH 용액 사진

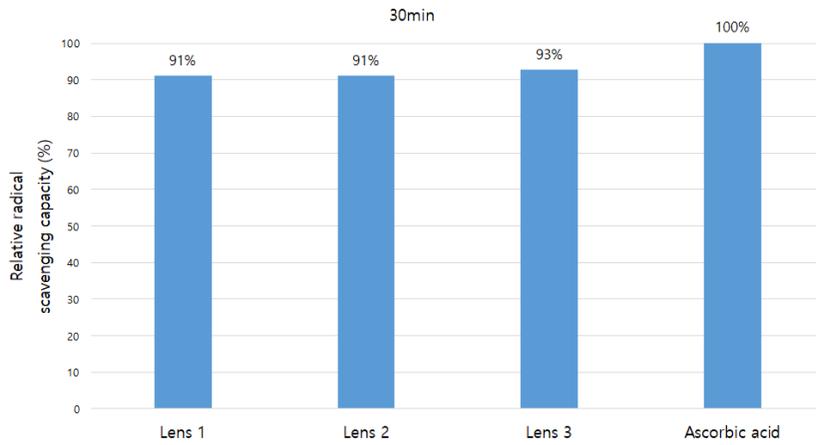


그림 26. 항산화 기능화된 콘택트 렌즈들의 아스코빅산과 비교한 상대적 라디칼 소거능

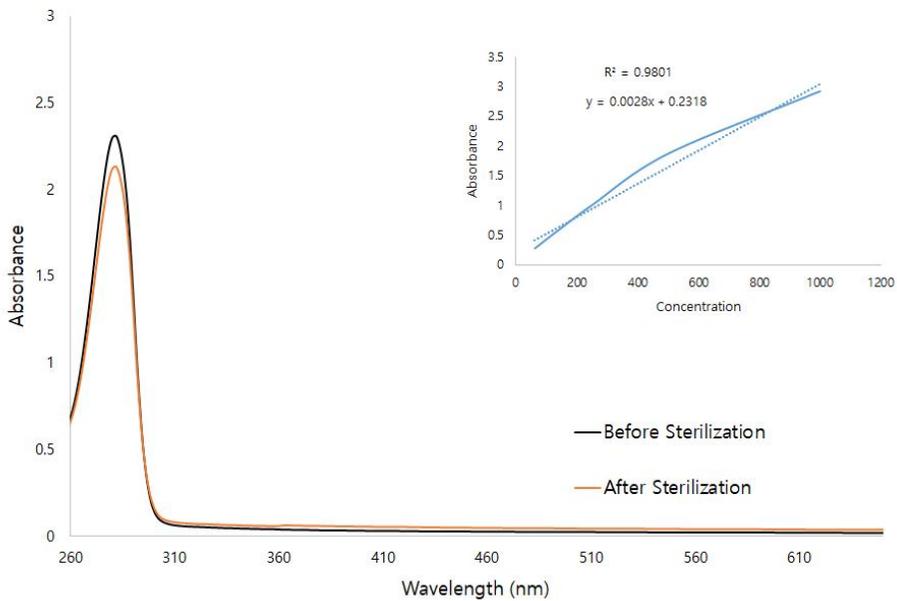


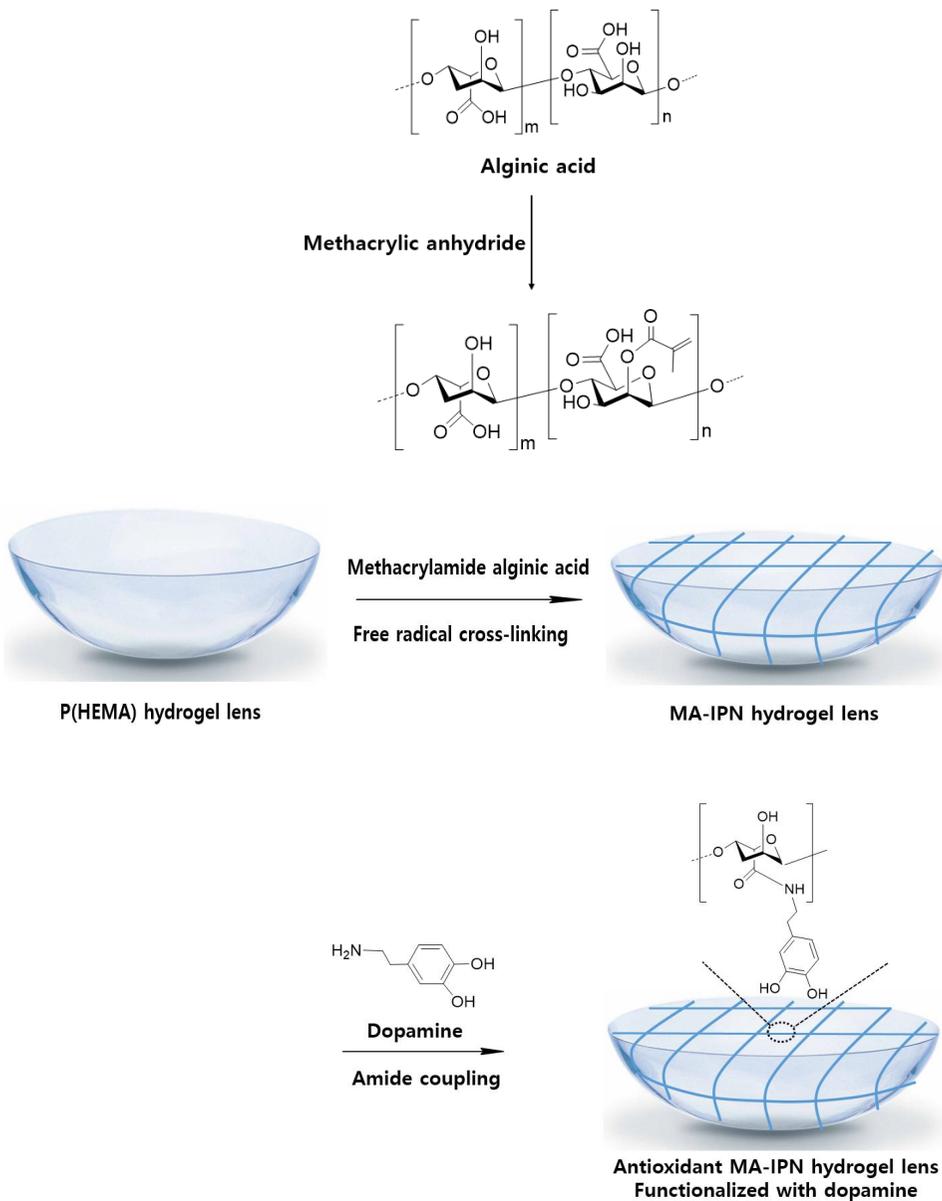
그림 27. 항산화 기능화된 렌즈3의 열처리 (90°C, 1시간) 전과 후의 UV 흡수 스펙트럼

3.4. 도파민 단량체로 기능화된 상호 침투 알긴산 가교 구조 (MA-IPN) 하이드로겔 렌즈의 항산화 효과 연구

상호 침투 고분자 가교 구조 (IPN)를 갖는 항산화 하이드로겔 렌즈는 3단계의 과정을 거쳐 합성되었다 (scheme 7). 먼저 HEMA 단량체와 가교제인 EGDMA, 개시제인 AIBN의 열중합을 통해 p(HEMA) 하이드로겔 렌즈를 합성하였다.

제조된 p(HEMA) 하이드로겔 렌즈와 IPN 구조를 형성하기 위해 알긴산에 methacrylate group을 도입한 methacrylate 알긴산 (MA)을 이용하였다. 알긴산에 존재하는 하이드록시 그룹과 methacrylic anhydride의 에스터 축합 반응을 통해 methacrylate 알긴산 (MA)를 합성하였다. MA의 합성은 ¹H-NMR의 methylene peak (6.03, 5.74 ppm)과 methyl peak(1.87ppm)를 통해 확인할 수 있었다 (Fig 28).

앞서 제조한 p(HEMA) 하이드로겔과 methacrylate 알긴산 (MA)를 혼합한 후 APS (ammonium persulfate)와 SMBS (sodium metabisulfite)를 개시제로 사용하여 methacrylate의 탄소 이중 결합을 자유 라디칼 중합 방법을 통해 고분자 중합을 실시함으로써 상호 침투 고분자 가교 구조를 갖는 MA-IPN 하이드로겔을 합성하였다. 마지막으로 제조된 MA-IPN 하이드로겔의 알긴산에 존재하는 카르복실 산 group과 도파민의 아민 group을 축합 반응 (amide coupling)하여 도파민으로 기능화된 MA-IPN 하이드로겔 렌즈를 제조하였다.



Scheme 7. Schematic representation for synthesis of methacrylate alginic acid-interpenetrating polymer network (MA-IPN) hydrogel lens functionalized with dopamine.

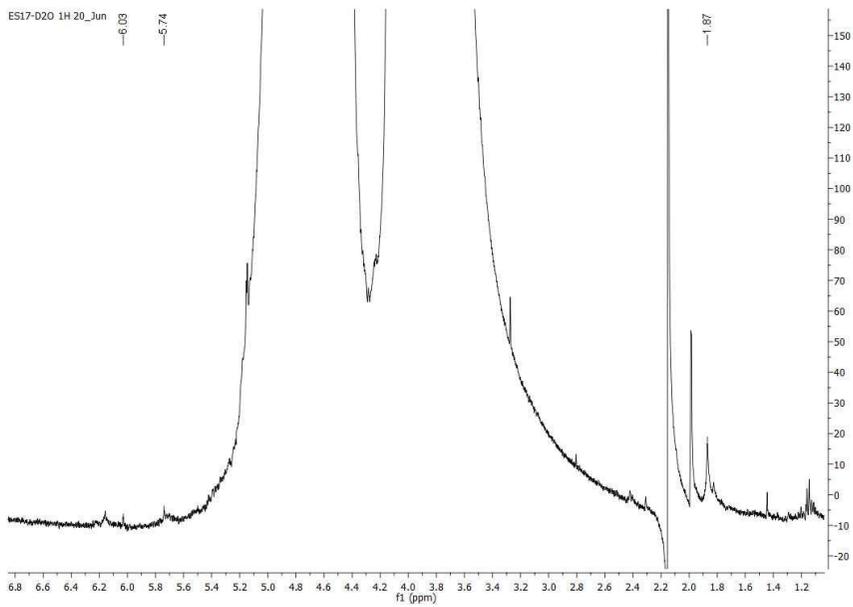


그림 28. MA (methacrylate alginate acid)의 $^1\text{H-NMR}$ spectra

3.4.1. 함수율

도파민으로 기능화된 MA-IPN 항산화 렌즈는 동일한 방법으로 3개의 렌즈를 제작하였으며, 각 렌즈에 대해 함수율 측정을 2회 실시하여 측정된 값을 평균하여 함수율 결과를 얻었다 (Table 7). 측정 결과, 모든 하이드로겔 렌즈 시료들이 평균 50% 근처의 함수율 값을 나타내었으며, 이는 일반 하이드로겔 콘택트 렌즈 (p(HEMA))의 함수율 (38%)보다 10% 이상 향상된 값이며 앞서 3.3.에서 기술한 도파민으로 항산화 기능화한 콘택트 렌즈들과 비슷한 함수율을 나타낸다. MA-IPN 항산화 렌즈의 경우 알긴산이 갖는 하이드록시 group 및 카르복시 산 group에 의해 친수성이 증가하여 함수율이 증가한 것으로 해석된다.

Table 7. 도파민 기능화된 상호 침투 알긴산 가교 구조 (MA-IPN) 하이드로겔 렌즈의 함수율 측정 결과.

Lens sample	1st	2nd	Average PWC
Lens 1	50.3%	49.8%	50.0%

3.4.2. 광 투과율

콘택트렌즈에 있어서 일반적으로 필수적인 물리적 특성 중 하나로 광학 투명도가 요구된다. 제조된 하이드로겔의 광투과율을 300–800 nm에서 측정하여 % 투과율로 보고하였다. 그림 29에서 볼 수 있듯이 도파민 기능화된 MA-IPN 하이드로겔은 착용 가능한 콘택트 렌즈(92%)가 요구하는 광 투과율을 초과하는 보다 높은 투과율 값(> 93%)을 가지고 있다. 제조된 MA-IPN 하이드로겔 렌즈는 광학적으로 투명한 것으로 간주되어 가시광선 파장 범위에서 광 투과율 측면에서 접촉 생체 재료로서 적합성을 입증하였다.

다른 종류의 고분자가 혼합된 경우, 각 고분자간의 상용성이 낮으면 상분리 현상으로 인해 하이드로겔의 전체 광 투과율이 떨어지게 된다. 제조된 하이드로겔 콘택트렌즈들의 높은 투과율은 p(HEMA) 고분자와 상호 침투 구조를 갖는 methacrylate 알긴산 (MA) 사이의 상용성이 뛰어난을 나타내며 균일한 형태로 상호 침투 고분자 구조 (IPN)를 형성함을 의미한다.

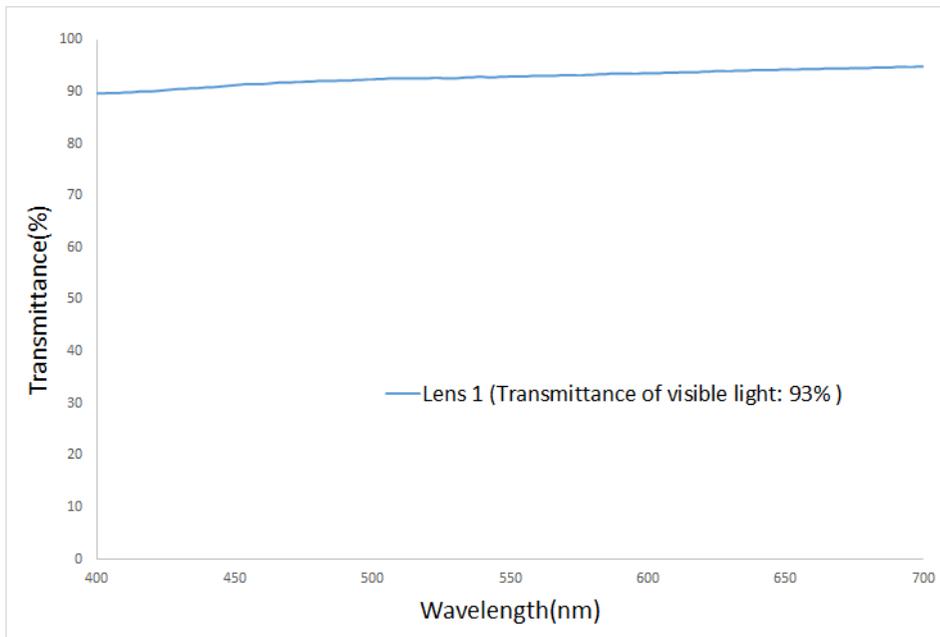


그림 29. MA-IPN 하이드로겔 콘택트 렌즈의 가시광선 투과율

3.4.3. 항산화성 특성 연구

그림 30은 도파민 기능화된 MA-IPN 항산화 하이드로겔 렌즈와 DPPH 라디칼의 반응에 따른 UV 흡수 스펙트럼 변화를 나타낸 결과이다. 30분의 시간이 경과함에 따라 518 nm에서 나타나는 DPPH 라디칼에 의한 흡수 피크의 형태가 사라짐을 확인할 수 있었다. 이러한 UV 흡수 스펙트럼의 변화는 DPPH 용액이 분홍색에서 노란색으로 변하는 색변화를 통해 눈으로도 확인 가능하였다. 이 결과는 MA-IPN 하이드로겔 콘택트 렌즈에 도입된 도파민이 DPPH 라디칼에 수소를 전달하여 안정한 hydrazin 형태 (DPPH-H)을 형성하기 때문이다. Table 8은 UV 스펙트럼의 결과를 이용하여 도파민 기능화된 상호 침투 알긴산 가교 구조 (MA-IPN) 하이드로겔 렌즈의 시간에 따른 흡광도와 라디칼 소거율을 정리한 결과이다. 518 nm의 흡광도를 사용하여 라디칼 소거율을 계산하였으며 30분 경과 후 라디칼 소거율은 42~50%로 확인되었다.

Table 8. 도파민 기능화된 상호 침투 알긴산 가교 구조 (MA-IPN) 하이드로겔 렌즈의 흡광도와 라디칼 소거율.

Time(min)	Lens 1 흡광도 (라디칼 소거율)	Lens 2 흡광도 (라디칼 소거율)	Lens 3 흡광도 (라디칼 소거율)
0	1.447	1.447	1.447
30	0.881(42%)	0.831(46%)	0.779(50%)

위 실험 결과를 아스코빅산을 이용하여 라디칼 소거율을 비교하였다. 동일한 조건하에 DPPH 용액에서 라디칼 소거율 측정 결과, 아스코빅산의 경우, 90.4%의 라디칼 소거율을 나타내었다. 그림 31은 아스코빅산의 소거율을 100%로 가정한 상태에서 상대적으로 계산된 렌즈들의 라디칼 소거율을 나타내고 있다. 본 실험에서 제조된 렌즈들의 반응시간 30분에서 계산된 상대 라디칼 소거율이 Lens 1의 경우 42% Lens 2의 경우 46%, Lens 3의 경우 50%로 확인되었다.

앞서 3.3.3에서 언급한 바와 같이 항산화 효과가 뛰어난 콘택트렌즈의 경우 열처리 시 갈변 등의 부작용이 발생할 수 있다. 이를 확인하기 위해, 콘택트렌즈 열균 조건의 열처리 과정을 수행한 후 렌즈 변색 정도를 확인하였다. 그 결과, 3.3.3에서 언급한 도파민 기능화된 항산화 하이드로겔 렌즈와 마찬가지로 MA-IPN 구조를 갖는 항산화 하이드로겔 렌즈도 육안으로 큰 색변화를 관찰할 수 없었고, 또한 UV-vis 흡수 스펙트럼에서도 큰 변화를 관찰할 수 없었다(그림 32). 이 같은 안정성은 도입된 도파민이 상호 침투 고분자가교 구조 (IPN) 내부에 위치하여, 산화 반응이 잘 일어나지 않는 것으로 판단된다.

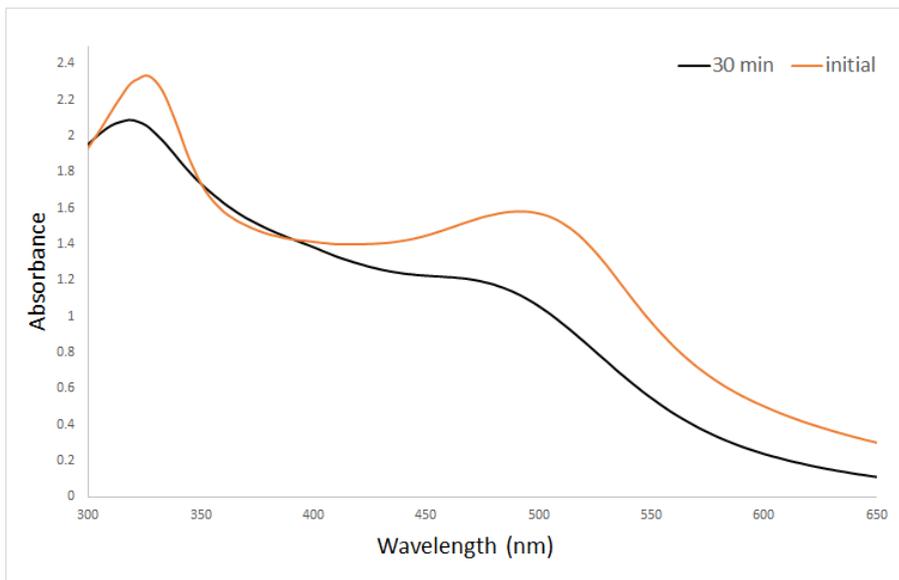


그림 30. MA-IPN 하이드로겔 콘택트 렌즈의 시간에 따른 UV 흡수 스펙트럼

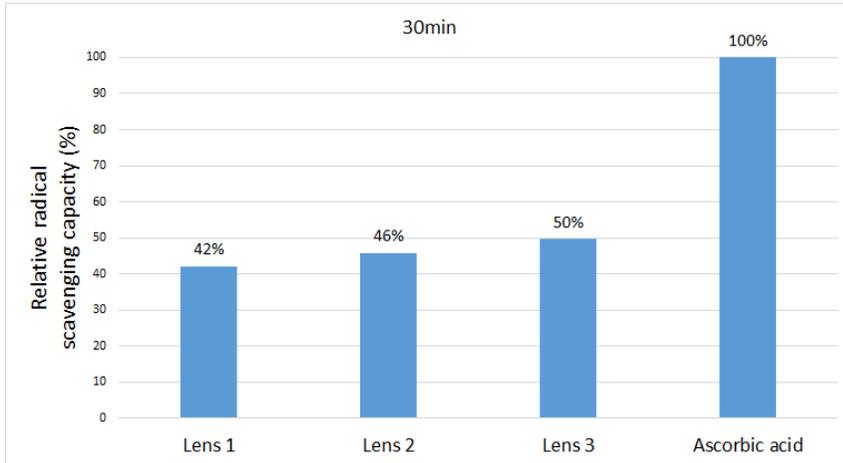


그림 31. 항산화 기능화된 MA-IPN 콘택트 렌즈의 아스코빅산과 비교한 상대적 라디칼 소거능

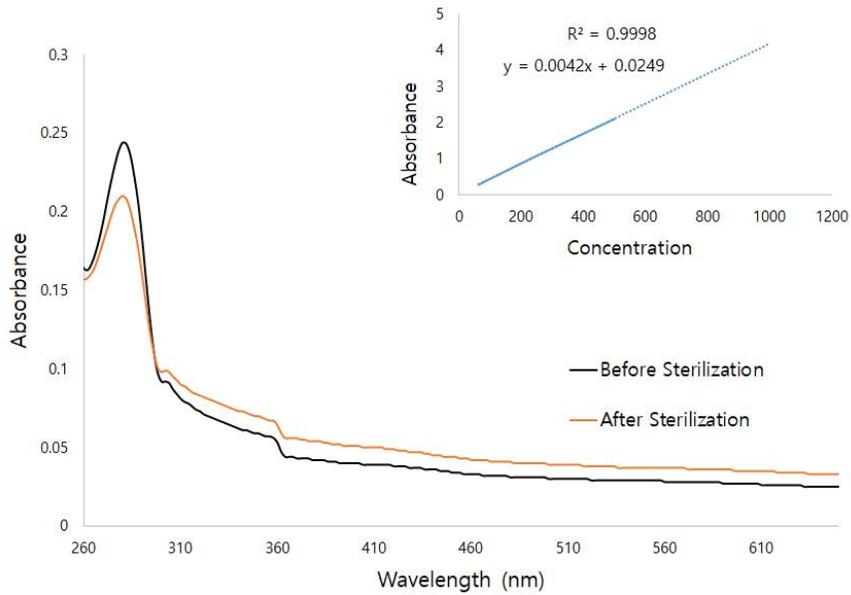


그림 32. 항산화 기능화된 MA-IPN 렌즈의 열처리 (90°C, 1시간) 전과 후의 UV 흡수 스펙트럼

4. Conclusions

본 연구에서는 p(HEMA) 하이드로겔 콘택트렌즈의 방오성 (antifouling)과 항산화성 (antioxidation)을 증가시키기 위해 다양한 하이드로겔 콘택트 렌즈를 제조하고 각각의 방오성 및 항산화성을 평가하였다.

먼저, 방오성을 증가시키기 위해 각각 양쪽 이온성, 양 이온성, 이온이 없는 친수성 성향을 가진 DMAPS, METAC, DMAPMA 단량체를 표면 기능화 및 공중합의 2가지 다른 방법을 통해 p(HEMA) 하이드로겔에 도입하였다. 표면 기능화된 하이드로겔 렌즈는 p(HEMA) 기질 합성, 하이드로겔 렌즈 표면에 광경제 흡착, UV에 의한 친수성 단량체의 자유 라디칼 중합의 3단계 경로를 통해 제조되었다. DMAPS, METAC, DMAPMA -변형 하이드로겔 렌즈의 물 접촉각의 감소를 통해 준비된 하이드로겔 렌즈의 표면 습윤성을 향상시키는 통합된 p(DMAPS), p(METAC), p(DMAPMA)의 고유 이온 기능을 확인하였다. 친수성 DMAPS, METAC, DMAPMA moieties 부분의 존재는 하이드로겔 렌즈 표면에 중합된 DMAPS, METAC, DMAPMA에 의해 형성된 조밀한 수화 층으로 인해 변형된 하이드로겔 렌즈에 대한 단백질 및 박테리아 흡착을 상당히 감소시킨다.

또한, 양쪽 이온성 DMAPS 및 양이온성 METAC 단량체를 HEMA와 공중합하여 단백질 및 박테리아 흡착에 대한 저항성이 개선된 기능성 생체 재료를 개발하기 위한 연구를 진행하였다. 공중합으로 제조된 하이드로겔 샘플들의 높은 함수율 및 작은 접촉각은 도입된 이온성 단량체들이 정전기적 인력으로 주위의 물 분자와 강한 결합을 형성한다는 것을 의미한다. 이렇게 형성된 수화층은 단백질과 박테리아와 반발력을 일으켜서 콘택트렌즈 표면에 흡착되는 것을 방지한다. 결과적으로 본 연구에서 제조된 DMAPS 및 METAC의 HEMA 공중합 하이드로겔은 우수한 방오 및 항균 특성을 가진 하이드로겔 렌즈 개발의 가능성을 보여준다.

폴리페놀 계열인 도파민을 p(HEMA) 하이드로겔 콘택트 렌즈에 2가지 다른 방법으로 도입함으로써 항산화성을 증진시키는 실험을 실시하였다. 첫 번째 방법에서는 HEMA, EGDMA, MA (methacrylic acid)와의 공중합을 통해 하이드로겔 콘택트 렌즈를 제조한 후 methacrylic acid의 카르복시 group에 도파민

의 amine group을 축합 반응하여 도파민을 도입하였다. 이 때, 도파민의 중량 ratio를 20, 40, 60으로 변화시켜 3가지 종류의 항산화 콘택트렌즈를 제조하였다. 또한, p(HEMA) 하이드로겔에 methacrylate 알긴산 (MA)을 자유 라디칼 중합을 실시하여 상호 침투 고분자 가교 구조를 갖는 MA-IPN을 합성한 후, 알긴산의 카르복시 group에 도파민의 amine group을 축합 반응시켜 항산화 기능을 가진 하이드로겔 콘택트렌즈를 제조하였다.

본 연구에서 제조된 항산화 하이드로겔 렌즈들은 모두 평균 가시광선 투과율이 95% 이상으로 우수한 광학 투명도를 나타내었다. 함유율 측정을 통해 렌즈 친수성을 조사한 결과, 모든 렌즈의 함유율은 50% 근처로 일반적인 p(HEMA) 렌즈에 비해 10% 이상 향상된 값을 나타냈으며 이러한 결과로부터 렌즈 표면의 친수성이 도파민과 methacrylic acid, 알긴산에 높게 유지하는 것을 알 수 있었다.

DPPH 용액의 라디칼 소거율 측정을 통해 렌즈들의 항산화 특성을 분석한 결과, methacrylic acid에 도파민을 도입한 항산화 렌즈는 30분 이내에 90%에 육박하는 라디칼 소거율을 보였으며, 이 수치는 아스코빅산의 항산화 기능 대비 98%를 해당하는 수치이다. 이에 반해, MA-IPN 하이드로겔 렌즈는 42~50%의 라디칼 소거율을 나타내어 상대적으로 항산화 효과가 떨어지는 것으로 확인되었다. 본 논문에서 진행한 도파민 기능화된 하이드로겔 렌즈 합성 실험은 매우 적은 양의 도파민 도입으로 우수한 항산화 효과를 나타냈으며, 높은 친수성으로 인하여 항산화 콘택트렌즈로의 상용화가 기대된다.

본 논문에서 진행한 실험에서 합성된 단백질 및 박테리아 흡착을 방해하는 방오성 콘택트렌즈의 제조 방법은 대량 생산 및 상업적인 응용성이 가능한 것으로 평가된다. 더 나아가 우수한 항산화 특성을 가진 하이드로겔 렌즈 개발의 가능성을 보여주어 이 새로운 다기능 생체 재료들이 다양한 생물 의학 및 생명 공학 응용 분야에 적용될 것으로 기대된다.

5. References

1. Carvalho IM, Marques CS, Oliveria RS, Coelho PB, Costa PC, Ferreira DC: J. Controlled Release, 76, 202, 2015
2. Tighe BJ, Mann A: The Development of Biomaterials for contact Lens Application: Effects of wear Modality on Materials Design, Elsevier Ltd, Amsterdam, 2016
3. McMahon TT, Zadnik K: Cornea, 19, 730, 2000
4. Mutlu Z, Es-haghi SS, Cakmak M: Recent trends in advanced contact lenses, Adv. Healthcare Mater., 1801390, 2019
5. Luensmann D, Zhang F, Subbaraman LN, Sheardown H, Jones L: Localization of lysozyme sorption to conventional and silicone hydrogel contact lenses using confocal microscopy, Curr. Eye Res., 34, 683, 2009
6. Hoffman AS: Hydrogels for biomedical applications, Adv. Drug Deliv. Rev. Biomed. Eng., 2, 9, 2000
7. Kopecek J: Hydrogels from soft contact lenses and implants to self-assembled nanomaterials, J. Polym. Sci. A: Polym. Chem., 47, 5929, 2009
8. Luensmann D, Jones L: Cont. Lens Anterior Eye, 35, 53, 2012
9. Garcia-Millan E, Soprivnik S, Otero-Espinar FJ: Int. J. Pharm., 487, 260, 2015
10. Brennan PB, Coles MC: Deposits and symptomatology with soft contact lens wear, Int Contact Lens Clin, 27(3), 75-100, 2000
DOI: [https://doi.org/10.1006/S0892-8967\(01\)00060-8](https://doi.org/10.1006/S0892-8967(01)00060-8)
11. Cheng L, Muller SJ et al.: Wettability of silicon hydrogel contact lenses in the presence of tear film components, Curr Eye Res., 28(2), 93-108, 2004
DOI: <https://doi.org/10.1076/ceyr.28.2.93.26231>
12. Michaud L, Giasson CJ: Overwear of contact lenses: increased severity

- of clinical signs as a function of protein adsorption. *Optom Vis Sci.*, 79(3), 184–192, 2002
- DOI: <https://doi.org/10.1097/00006324-200203000-00013>
13. Thissen H, Gengenbach T et al.: Clinical observations of biofouling on PEG coated silicon hydrogel contact lenses. *Biomaterials*. 31, 551–559, 2010
 14. Vales TP, Jee J-P et al.: Development of poly (2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine) functionalized hydrogels for reducing protein and bacterial adsorption. *Materials*. 13, 943–955, 2020
 15. Singha P, Locklin J, Handa H.: A review of the recent advances in antimicrobial coatings for urinary catheters, *Acta Biomaterialia*, 50, 20–40, 2017
 16. Campoccia D, Montanaro L, Aricola C.R., A review of the biomaterials technologies for infection-resistant surfaces, *Biomaterials*, 34 (34), 8533–8554, 2013
 17. Li L, Chen S, Zheng J, Ratner B.D., Jiang S, Protein adsorption on oligo(ethylene glycol)-terminated alkanethiolate self-assembled monolayers: the molecular basis for nonfouling behavior, *J. Phys. Chem. B*, 109 (7), 2934–2941, 2005
 18. Hamilton-Brown P, Gengenbach T, Griesser H.J., Meagher L, End terminal, poly(ethylene oxide) graft layers: surface forces and protein adsorption, *Langmuir*, 25 (16), 9149–9156, 2009
 19. Feng W, Zhu S, Ishihara K, Brash J.L., Protein resistant surfaces: comparison of acrylate graft polymers bearing oligo-ethylene oxide and phosphorylcholine side chains, *Biointerphases*, 1 (1), 50–60, 2006
 20. Zhang Z, Zhang M, Chen S, Horbett T.A., Ratner B.D., Jiang S, Blood compatibility of surfaces with superlow protein adsorption,

- Biomaterials, 29 (32), 4285-4291, 2008
21. Chen S, Li L, Zhao C, Zheng J, Surface hydration: principles and applications toward low-fouling/nonfouling biomaterials, *Polymer* 51 (23), 5283-5293, 2010
 22. Wang R, Kreuzer H, Grunze M, Molecular conformation and solvation of oligo (ethylene glycol)-terminated self-assembled monolayers and their resistance to protein adsorption, *J. Phys. Chem. B*, 101 (47), 9767-9773, 1997
 23. Chen S, Zheng J, Li L, Jiang S, Strong resistance of phosphorylcholine self-assembled monolayers to protein adsorption: insight into nonfouling properties of zwitterionic materials, *J. Am. Chem. Soc.*, 127 (41), 14473-14478, 2005
 24. Harding J.L., Reynolds M.M., Combating medical device fouling, *Trends Biotechnol.*, 32 (3), 140-146, 2014
 25. Senel O, Cetinkale O, Ozbay G, Ahcioglu F, Bulan R, *Ann Plast. Surg.*, 35, 443, 1997
 26. Chen Y, Mehta G, Vasiliou V, Antioxidant defenses in the ocular surface, *The ocular surface*, 7 (4), 176-183, 2009
 27. King A, Young G, Characteristics and occurrence of phenolic phytochemicals, *J. Am. Dietetic Ass.*, 99 (2), 213-218, 1999
 28. Wolf B, Christa M, Chemistry of the antioxidant effect of polyphenols, *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 957, 57-69, 2002
 29. Leopoldini M, Russo N, Toscano M, The molecular basis of working mechanism of natural polyphenolic antioxidants, *Food Chem.*, 125, 288-306, 2011
 30. Leopoldini M, Marino T, Russo N, Toscano M, Antioxidant properties of phenolic compounds: H-atom versus electron transfer mechanism, *J.*

- Phy. Chem. A, 188 (22), 4916–4922, 2004
31. Wright J.S., Johnson E.R., Dilabio G.A., Predicting the activity of phenolic antioxidants: Theoretical method, analysis of substituent effect and application to major families of antioxidants, J. Am. Chem. Soc., 123 (6), 1173–1183, 2001
 32. Brown J.E., Khodr. H, Hider R.C., Rice–Evans C.A., Structural dependence of flavonoid interactions with Cu²⁺ ions: implication for their antioxidant properties. Biochem. J., 330, 1173–1178, 1998
 33. Kim DH: Color soft contact lens and corneal thickness. Journal of Korean Clinical Health Science. 7(1), 1205–1214, 2019.
DOI: <https://doi.org/10.15205/kschs.2019.06.30.1205>
 34. Lee S, Hyung SM et al: The Effect of Circle Contact Lens on the Stability of Tear Film. Journal of Korean Ophthalmic Optics Society. 20(2), 125–131, 2015.
DOI: <https://doi.org/10.14479/jkoos.2015.20.2.125>
 35. Okano T, Nishiyama S et al.: Effect of hydrophilic and hydrophobic microdomains on made of interaction between block polymer and blood platelets. J. Biomed. Mater. Res. 15(3), 393–402, 1981
 36. Cho NR, Ryu GC et al.: The properties of hyaluronan addition on the protein adsorption at the silicon hydrogel contact lens. Korean J. Vis. Sci. 16(1), 99–109, 2014
 37. Lee CW, Kim HJ et al.: Development of protein resistant hydrogel via surface modification with dendritic PEGs. J. Nanosci. Nanotechnol. 16(11), 11494–11499, 2016
 38. Kim HJ, Ryu GC et al.: Hydrogel lenses functionalized with polysaccharide for reduction of protein adsorption. Macromol. Res. 23, 74–78, 2014

39. Olivier A, Meyer F et al.: Surface-initiated controlled polymerization as a convenient method for designing functional polymer brushes: From self-assembled monolayers to patterned surfaces. *Prog. Polym. Sci.* 37, 157-181, 2012
40. Yang WJ, Pranantyo D et al.: Layer-by-layer click deposition of functional polymer coatings for combating marine biofouling. *Biomacromolecules.* 13, 2769-2780, 2012
41. Iwasaki Y, Nakabayashi N et al.: Preservation of platelet function on 2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine-graft polymer as compared to various water-soluble graft polymers. *J. Biomed. Mater. Res.* 57, 72-78, 2001
43. Vales T.P., Jee J-P, Lee W.Y., Min I., Cho S., Kim H-J.: Protein adsorption and bacterial adhesion resistance of cross-linked hydrogels based on poly(2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine) and poly(2-hydroxyethyl methacrylate), *Bull. Korean Chem. Soc.*, 41, 406-412, 2020