

단백질흡착을 막는 소프트콘택트렌즈에 관한 연구

정영일 · 조중수 · 나재운* · 김성호**

전남대 고분자공학과, *순천대 고분자공학과, **조선대 약학대학

Study on protein adsorption resistant soft contact lens

Young-Il Jeong, Chong-Su Cho, Jae-Woon Na* and Sung-Ho Kim**

Dept. of Polymer Engineering, Chonnam National University, *Dept. of Polymer Science and Engineering, Sunchon National University, **College of Pharmacy, Chosun University

Abstract

Poly(ethylene glycol)(PEG) macromers terminated with acrylate groups and interpenetrating polymer networks(IPN) composed of poly(hydroxyethyl methacrylate)(HEMA) or poly(hydroxyethyl methacrylate-co-hydropropyl methacrylate-co-N-vinyl pyrrolidone) [P(HEMA-co-HPMA-co-NVP)] and PEG macromer were synthesized with the aim of obtaining protein adsorption resistant soft contact lens. Polymerization of PEG macromer resulted in the formation of cross-linked gels due to the multifunctionality of macromer. Crosslinked P(HEMA) or P(HEMA-co-HPMA-co-NVP) chains were interpenetrated into the cross-linked three-dimensional networks of PEG. It was found that albumin adsorption onto the contact lens prepared by P(HEMA)/PEG IPN decreases with a decrease of molecular weight of PEG whereas its adsorption onto the contact lens prepared by P(HEMA-co-HPMA-co-NVP)/PEG IPN decreases with an increase of molecular weight of PEG. Also, it was found that albumin adsorption onto the both contact lens decreases with an increase of concentration of PEG macromer in the IPN preparation. There are also more adequate in the bioinertness and bioadhesion for the contact lens by P(HEMA)/PEG IPN or P(HEMA-co-HPMA-co-NVP)/PEG IPN than that by P(HEMA) or P(HEMA-co-HPMA-co-NVP)

서 론

Hydrogel은 물에 팽윤되면서도 물에 녹지 않고 물의 함량이 20%이상 함유하는 고분자물질을 일컫는 것¹으로서 최근에 의용재료에의 응용이 더욱 증가되고 있다. Hydrogel이 의용재료로서 각광을 받고 있는 것은 이것이 생물조직과 비슷한 물성인 첫째 물의 함량이 많고, 둘째 부드럽고, 셋째 낮은 표면장력의 성질등을 가지고 있기 때문이다². 더욱이 물의 함량이 많고 기공성이 있고 투과성이 큰 것으로 중합과정에서 남은 바람직하지 않은 개시제, 용

매 등을 쉽게 제거할 수 있어 hydrogel이 실제로 생체내에서 사용되었을때 생물과의 거부반응을 줄이는 이른바 생체와의 적합성에서 효과적이기 때문이다.

Hydrogel은 여러 가지 중합법과 기존 고분자의 수식에 의하여 만들어지는데 우선 합성고분자에서 그 예를 보면 첫째 poly(hydroxyethyl methacrylate)를 들 수 있다. 그 중 poly(2-hydroxyethyl methacrylate)(P-HEMA)가 처음으로 Lim 등³에 의하여 합성되었다. 둘째로 poly(acrylamide)와 그의 유도체로서 소량의 가교제를 포함한 acrylamide의 radical중합에 의하여 얻어진다. 셋째는 poly(N-vinylpyrrolidone)(P-NVP)로서 물에 대한 용해도가 크고 독성이 적다⁴. 넷째는 poly(vinyl alcohol)(PVA)로서 수용성 PVA를 formaldehyde로 가교시켜 얻는다. 다섯째는 음이온의 고분자와 양이온의 고분자를 반응시켜 얻는 고분자간 전해질 복합체이다.

위에 열거한 hydrogel중에서도 의용재료로 가장 많이 시도되고 있는 것은 P-HEMA로서 조직배양체, 약물운반체, 혈액적합성재료, 봉합사, 혈액정제제, 뼈형성제로서이나 무엇보다 콘택트렌즈에의 이용은 여러종류의 상품으로까지 나와 시판되고 있는 실정이다⁵. 그러나 콘택트렌즈로 사용되려면 재료의 기계적 강도, 생체내의 적합성, 무독성, 재료의 투명도, 굴절율, 표면친수성, 기계투과성, 사용의 용이함, 연속착용성 등의 요구조건⁶을 충족시켜야 하는데 아직도 이러한 조건을 전부 만족시키기에는 P-HEMA계로서는 아직도 미흡하였기 때문에 지난번 연구에서는 P-HEMA보다는 수분함수율이 낮지만 기계적 성질이 우수한 poly(hydroxypropyl methacrylate)(PHPMA), 함수율을 높이기 위하여 P-NVP로 된 삼원공중합체를 합성하였을때 수분함량이 72%, 강도는 건조시에 340 kg/cm², 신도는 건조시에 15%, 산소투과도는 1.47 × 10⁻³(cm²/s · cmHg at 20°C)로서 기존의 콘택트렌즈보다도 우수한 것이 개발되어 현재 국내특허로서 등록되어 있고⁷ 시중에서 시판되고 있다.

그러나 위의 콘택트렌즈를 연속착용성으로 하기에는 아직도 착용중에 단백질의 흡착이 되어 재료의 투명도와 산소투과성이 문제가 되고 있기에 본 연구에서는 기존에 시판되고 있는 P(HEMA)계와 P(HEMA-co-HPMA-co-NVP)공중합체계로 된 콘택트렌즈재료에 단백질흡착을 막는 poly(ethylene

glycol)(PEG)를 interpenetrating polymer networks (IPN)시켜 새로운 소프트콘택트렌즈를 개발하려고 한다.

지금까지 콘택트렌즈의 재료인 고분자표면에 단백질의 흡착을 억제하기 위하여 친수성-소수성미크로상분리구조를 갖는 표면설계, PEG쇄의 graft에 의한 도입, PEG쇄의 블록공중합체에 의한 도입, 별(star)고분자에 PEG의 도입, 고분자에 인지질 극성기의 도입을 국외에서 시도하였고 국내에선 이 등에 의하여 silicone표면에 glow discharge방법에 의하여 PEG를 graft시켜 단백질의 흡착거동을 살펴 보았지만 본 연구팀이 시도하려고 하는 소프트콘택트렌즈표면에 PEG macromer를 IPN시켜 단백질흡착을 억제하려는 연구는 국내외를 망라하여 찾아 볼 수 없는 새로운 시도이다. PEG는 독성이 없고, 면역반응을 일으키지 않는 것으로 보고되고 있고⁸, 만약에 이것이 표면에 존재할때에는 혈액응고에 관여한 혈소판의 점착과 단백질의 흡착을 막는 다는 보고²⁶⁻²⁸가 있기 때문에 기존의 소프트콘택트렌즈 표면에 PEG를 처리함으로써 처리하지 않는 렌즈에 비해 단백질 흡착이 억제되리라 기대된다.

실 험

1. 시 료

HEMA(Aldrich Chemical Co.), HPMA(Aldrich Chemical Co.), NVP(Aldrich Chemical Co.)는 질소를 주입하면서 감압증류로 정제하였다. 분자량 1,000과 7,500의 PEG는 Wako Pure Chem.의 제품을 공비점 증류에 의하여 정제하였다. Acryloyl chloride는 Janssen of Reagent Chimica의 제품을, 가교제인 ethylene glycol dimethacrylate (EGDMA)와 개시제인 azobisisobutyronitrile (AIBN)는 Aldrich Chemical Co.의 제품을, 광개시제인 2-hydroxy isobutyl phenol는 Kansei Paint Co.의 제품을, albumin은 Sigma Chem. Co.의 제품을, 기타 시약은 특급시약을 정제하지 않고 그대로 사용하였다.

2. P(HEMA) 및 P(HEMA-co-HPMA-co-NVP)의 합성

P(HEMA)의 단일공중합체 및 P(HEMA-co-HPMA-co-NVP)의 삼원공중합체의 합성은 Peppas⁶의 방법에 의하여 소정량의 단량체, 가교제인 EGDMA와 개시제인 AIBN을 mold안에 넣고 15분간 질소로 bubble한 후 온도를 서서히 80°C까지 올리면서 bulk중합으로 합성하였다.

3. PEG macromer의 합성

PEG macromer는 Sawhney⁹의 방법과 비슷하게 정제된 PEG(분자량: 7,500) 12g을 둥근 플라스크의 150ml의 벤젠용액에 넣고 80°C로 가열한 후 0.46ml의 triethylamine과 0.61ml의 acryloyl chloride를 넣은 후에 80°C에서 3시간 반응시킨다. 반응후 triethanolamine hydrochloride를 거른 후에 이 상용액을 n-hexane에 침전시켜 PEG macromer를 얻었다. 이것을 40°C의 진공건조기에서 24시간 동안 건조시켜 사용하였다. 분자량 1,000과 20,000의 PEG macromer도 비슷한 방법으로 합성하였다.

4. Infrared spectroscopy(IR)의 측정

IR은 Bruker IFS-66 FT-IR분광계를 사용하여 측정하였다.

5. Nuclear magnetic resonance(NMR)의 측정

NMR은 Bruker WP 80 SY FT-NMR분광계를 사용하여 측정하였다.

6. 콘택트렌즈 제조

2에서 합성한 P(HEMA)계 및 P(HEMA-co-HPMA-co-NVP)계의 disc를 영국 Phase사의 기계를 이용하여 lathe cutting방법에 의하여 렌즈를 제조하였다.

7. P(HEMA)/PEG IPN계 및 P(HEMA-co-HPMA-co-NVP)/PEG IPN계의 콘택트렌즈 제조

6에서 만든 콘택트렌즈를 3에서 만든 소정농도의 PEG macromer수용액에 광개시제인 2-hydroxy isobutyl phenol의 수용액에 4°C의 암실에 침지시킨 후에 이것을 cover glass위에 올려 놓고 360nm에 최대 흡수를 갖는 UV lamp를 사용하여 5분간 조사하여 단일중합체계 및 공중합체계 IPN 콘택트렌즈를 제조하였다.

8. 함수율 측정

PEG network 및 7에서 만든 IPN계 콘택트렌즈의 함수율을 37°C의 증류수에서 측정하였다. 소정의 시간에 수화된 시료의 표면수를 필터지로 닦은 후 무게 증가법에 의하여 측정하였다. 함수율은 $(W_s - W_0) / W_s \times 100$ 의 식에서 구하였는데 W_s 는 습윤시의 무게, W_0 는 건조시의 무게를 나타낸다.

9. 단백질흡착실험

단일중합체/PEG IPN계 및 공중합체/PEG IPN계로 된 콘택트렌즈의 단백질의 흡착실험은 albumin을 phosphate buffered saline용액(pH 7.4, 0.1 M)에 37°C의 incubator를 이용하여 24시간 동안 흡착실험을 행하였다. 흡착실험후 이것을 동결 건조하여 37°C의 sodium dodecyl sulfate(SDS: 2%(wt/vol))용액에 24시간 탈착시킨 후 이것을 bicinchoninic acid(BCA) solution에 정색반응시켜 562nm에서 UV를 이용하여 흡착량을 산출하였다.

결과 및 고찰

PEG 1000과 그의 PEG macromer의 FT-IR spectra의 결과에서는 PEG의 FT-IR spectrum에서는 말단 OH기로 인한 흡수대가 3447cm⁻¹로 나타났는데 비해 PEG macromer에서는 acrylation으로 인하여 이 흡수대가 현저히 약화된 것을 알 수 있었다. PEG macromer에서는 acrylate기의 카르보닐기로 인한 새로운 흡수대가 1726cm⁻¹에 나타났다. 2872cm⁻¹의 흡수대는 PEG나 PEG macromer의 양쪽의 고분자에 있었는데 이것은 C-H stretching에 의한 흡수대라고 생각된다¹⁰.

PEG(분자량 1,000) macromer에 대한 NMR spectrum에서는 acrylate기로 인한 세 개의 프로톤의 작은 피크가 4.8, 5.0, 5.2 ppm에 나타났다. 위의 FT-IR과 NMR결과로부터 PEG의 말단 OH기가 acryloyl chloride와 반응하였다는 것을 알 수가 있었고, PEG는 두 개의 OH기가 있기 때문에 각각 PEG에 있어서 acrylic기는 두 개이리라 기대된다. 합성된 P(HEMA)단일중합체계와 P(HEMA-co-HPMA-co-NVP)계의 FT-IR결과에서 P(HEMA)와 P(HPMA)에서는 ester의 carbonyl기의 흡수대

가 1730cm^{-1} 부근에 P(NVP)의 carbonyl amide기가 1670cm^{-1} 부근에서 흡수대를 나타냈다(FT-IR 생략).

PEG분자량에 따른 PEG network의 37°C 의 증류수에서의 시간에 따른 함수율의 결과는 PEG의 분자량이 클수록 함수율은 증가하는 경향을 나타냈는데 이것은 PEG network의 가교밀도가 작기 때문에 함수율이 커진다고 생각된다. 수용성의 PEG macromer는 자유라디칼 메커니즘에 의하여 가교된 3차원의 network를 만들었는데 이것은 산소 존재하에서도 빠른 광중합으로 이루어졌다.

P(HEMA)/PEG IPN계와 P(HEMA-co-HPMA-co-NVP)/PEG IPN계의 37°C 의 증류수에 대한 함수율의 결과에서 P(HEMA) 단일중합체 및 P(HEMA-co-HPMA-co-NVP) 공중합체의 함수율이 각각 1시간후에 약 48과 50wt.-%였던 것이 PEG와 IPN시킴으로서 단일중합체계와 공중합체가 비슷하게 약 60wt.-%로 증가를 보였는데 이것은 PEG의 친수성의 영향으로 생각된다. 원래 PEG 단독 network에서와 같이 PEG의 분자량이 클수록 PEG macromer의 농도가 짙을수록 함수율의 증가를 기대하였는데 IPN처리시의 시료의 불균일과 콘택트렌즈의 크기가 작기 때문에 실험상의 오차가 심하기 때문에 기대한 경향을 얻을 수가 없었다.

P(HEMA)/PEG IPN계 콘택트렌즈에서 PEG의 분자량에 대한 알부민의 흡착결과는 control인 P(HEMA)계보다 PEG로 IPN처리한 시료가 단백질의 흡착량이 감소되었고 PEG의 분자량에 대한 영향은 분자량이 작을수록 효과가 커지는 결과를 얻었다. 일반적으로 PEG로 표면처리한 시료가 단백질흡착을 막는 이유로서는 분자량이 증가함에 따라 PEG의 배체체적과 사슬의 운동성으로 인한 표면의 입체적 안정성으로 설명되어지고 있다. 그러나 위에서의 결과는 분자량에 대한 영향이 별로 크지 않았던 것은 PEG사슬의 길이보다 PEG사슬이 P(HEMA)와 상혼합이 잘되어 표면에서의 PEG사슬 packing이 잘 되기 때문이라고 생각된다.

P(HEMA)/PEG IPN계 콘택트렌즈에서 PEG분자량이 1,000과 7,500에서 IPN을 만들때의 PEG의 농도에 따른 알부민의 흡착결과는 PEG분자량이 1,000이나 7,500에서도 PEG의 농도가 짙을수록 단백질의 흡착량이 감소되었는데 이것은 위에서도 언급한 바와 같이 농도가 짙을수록 P(HEMA)의 domain이 노출되지 않고 수화된 PEG의 밀집된 표면이 존재하기 때문에 단백질의 흡착이 감소되었다고 생각한다.

P(HEMA-co-HPMA-co-NVP)/PEG IPN계 콘택트렌즈에서 PEG의 분자량에 대한 알부민의 흡착결과는 control인 삼원공중합체보다 PEG와 IPN처리한 시료가 단백질의 흡착량은 감소되었고 PEG의 분자량의 영향은 P(HEMA)계와는 달리 분자량이 클수록 단백질의 흡착량이 감소하는 경향을 나타냈다. 이러한 결과는 P(HEMA)/PEG IPN계와 P(HEMA-co-HPMA-co-NVP)/PEG IPN계에서 PEG의 역할이 다른 기구로 단백질의 흡착을 억제하는 것을 시사하는 것으로 P(HEMA)의 단일중합체계에서는 분자량이 작은 PEG쪽이 상혼합이 잘 되기 때문에 알부민의 흡착이 감소되지만 P(HEMA-co-HPMA-co-NVP)의 공중합체에서는

PEG와 친화성이 좋은 domain과 친화성이 나쁜 domain으로 상분리되어서 친화성이 좋은 곳에서는 알부민의 흡착이 감소되고, 친화성이 나쁜 domain에서만 알부민의 흡착이 증가되는데 PEG와 친화성이 좋은 domain에서 알부민의 흡착에 좀더 우세하게 영향을 주기 때문에 PEG의 분자량이 커질수록 PEG사슬의 운동성의 증가로 알부민의 흡착량이 감소되리라고 생각된다.

P(HEMA-co-HPMA-co-NVP)/PEG IPN계 콘택트렌즈에서 PEG분자량이 1,000과 7,500에서 IPN을 만들때 PEG의 농도에 따른 알부민의 흡착결과는 PEG분자량이 1,000이나 7,500에서도 PEG의 농도가 짙을수록 단백질의 흡착량이 감소되었다. 이러한 결과는 농도가 짙은 쪽이 선택적으로 PEG와의 친화력이 좋은 domain위에 충분히 PEG로 coating되기 때문이라고 생각된다.

P(HEMA)/PEG IPN계와 P(HEMA-co-HPMA-co-NVP)/PEG IPN계로 된 콘택트렌즈를 환자에 게 1시간 착용하였을 때 P(HEMA)계와 P(HEMA-co-HPMA-co-NVP)계에 비하여 투명도와 친수성이 증가되었으며 특히 눈과의 적합성을 나타내는 착용감과 각막에 대한 압박감이 훨씬 양호하였다.

참 고 문 헌

1. D. Ratner and A.S. Hoffman, In *Hydrogels for medical and related applications*, J.D. Andrade, Ed., American Chemical Society Symposium Series, Washington, 1976, Vol.31, p. 2.
2. S.D. Bruck, *J. Biomed. Mater. Res.*, vol. 7, 387(1973).
3. O. Wichterle and D. Lim, *Nature*, vol. 185, 117(1960).
4. G. Mohn, *Acta Histochem.*, vol. 9, 76(1960).
5. M.F. Refojo, *Survey of Ophthalmology*, vol. 16, 233(1972).
6. L. Krejci and H. Krejcová, *Brit. J. Phthal.*, vol. 57, 675(1973).
7. 김범철, 조중수, 친수성 터폴리머, 대한민국 물질특허 제 8751호 (1987).
8. E. W. Merrill and E. W. Salzman, *ASAIO J.*, vol. 6, 60(1983).
9. A. S. Sawhney, C.P. Pathak and J.A. Hubbell, *Macromolecules*, vol. 26, 581(1993).
10. S. Andini, L. Ferrara, G. Maglio and R. Palumbo, *Makromol. Chem. Rapid Commun.*, vol. 9, 119(1988).