

Aspergillus itaconicus 유래 itaconic acid의 ester-monomer를 이용한 새로운 soft contact lens 소재 개발

유영현 · 남주형 · 김병길 · 김순복¹ · 문익재² · 김종필² · 서영배*

경북대학교 자연과학대학 생명공학부, ¹(주)미광콘택트렌즈, ²(주)웰진

Received March 30, 2009 / Accepted April 16, 2009

Development of New Soft Contact Lens Materials Using Ester-Monomers of Itaconic Acid from *Aspergillus itaconicus*. Young-Hyun You, Joo-Hyeung Nam, Bieong-Kil Kim, Soon bok Kim¹, Ik-Jae Moon², Jong-Pil Kim² and Young-Bae Seu*. *School of Lifescience and Biotechnology, Kyungpook National University, Daegu, 702-701, Korea, ¹Miwang contact lens, 116-2, Hyeopseok-ri, Namcheon-myeon, Gyeongsan-si, Gyeongsangbuk-do, 712-881, Korea, ²WelGENE Inc., 71B-4L, Hightech Sector 2, Sungseo Industrial Park 3, Dalseogu, Daegu, 704-230, Korea* - In this study, we confirmed water content and oxygen permeability of new polymeric materials synthesized from itaconic acid used for soft contact lenses. In this study, we polymerized materials for soft contact lenses using HEMA (2-hydroxyethyl methacrylate), the based-monomer of soft contact lenses, EGDMA (ethylene glycol dimethacrylate) as a cross linkage agent, and the new additives mono-ester or di-ester derived from itaconic acid commercially produced by the fermentation of *A. itaconicus*. New polymer materials for contact lenses were synthesized with the mixture of HEMA and mono- or di-ester at different ratios and water content and oxygen permeability (Dk) was analyzed. In polymerizing HEMA and mono-ester (15%), the water content and oxygen permeability of contact lenses were found to be of good value at 57.7% and 28.6 Dk respectively. The mixture of HEMA and mono-ester is more excellent than HEMA/di-ester in regards to water content and oxygen permeability. The water content and oxygen permeability of soft contact lenses made by new polymeric materials were highly represented.

Key words : Itaconic acid, HEMA, water content, oxygen permeability, soft contact lens

서 론

Contact lens의 소재로 수십 년간 사용되어진 PMMA (polymethyl methacrylate)는 거의 모든 contact lens의 대표적인 재질이었으나[5] 함유율이 전혀 없고 산소 투과성이 좋지 않다는 등의 단점이 많이 있었다[9]. 따라서 contact lens 소재는 PMMA (polymethyl methacrylate)에서 hard lens와 soft contact lens를 위한 hydrogel lens로 발전 되어 왔다[1]. 먼저, contact lens의 재질로 요구되는 특성에는 굴절률 (refractive), 생체적합성(biocompatibility), 광학적 투명성 (optical transparent), 함유율(water content), 산소투과도 (oxygen permeability), 습윤성(wettability) 등의 조건들을 충족시켜야 한다[7]. 그리고 우리 눈은 5 μ l oxygen/cm²/hr의 양의 산소가 필요하다고 보고 되어있다[2]. 우리 눈은 잠을 자고 일어난 후에는 2~4% 정도 부어오르고 다시 눈을 뜨고 활동을 하면 정상크기로 돌아온다[3]. 이러한 현상을 예방하기 위해서는 눈에 산소 공급이 필요하다. 그래서 산소의 공급이 필요한 우리 눈에 contact lens를 착용한다면 산소공급이 필요한 눈에 산소공급이 줄어들 것이며 많은 부작용 또한

예측되고 이러한 문제들로 인해서 산소투과 할 수 있는 재질로 이루어진 contact lens가 절실히 필요하다[6]. 그래서 alkyl siloxy group 등과 같은 탄소와 탄소 사이에 결합함으로써 탄소골격이 상대적으로 넓어져 산소분자의 통과가 자유로워진 RGP lens (rigid gas permeable lens)가 개발되었다. 하지만 RGP lens를 구성하는 monomer는 hydroxyl group이나 ionic group 등과 같은 극성기를 가지고 있지 않기 때문에 물 분자가 결합 할 수 없는 구조로 함유율이 낮은 단점을 가지고 있다. 그리고 안구와 같이 민감한 부위에 착용되는 contact lens 소재용 생체재료의 경우 광학적 안정성과 함께 산소투과도와 높은 함유율 그리고 생체친화성과 안전성이 요구되는데, HEMA (hydroxyethyl methacrylate)와 같은 기존 소재는 광학특성은 우수하지만 착용시의 이질감과 단백질 흡착 및 안구질환과 관계되는 상당한 문제점이 지적되고 있다[8,12,13]. 따라서, HEMA와 같은 아크릴 단량체는 탄소수가 작은 단순구조로서 수산기와 카복실기를 공유하면서 중합성 비닐기를 내재하고 있으므로 광학활성 생체고분자의 제조에 가장 많이 이용 되고 있지만 연속착용이 가능한 수준의 생체 공학적 특성은 구비하고 있지 못하다. Contact lens 소재용 polymer의 각종 monomer들은 기본적으로 acrylic acid를 기본골격으로 유도체들과 이의 이성체인 2-methylacrylic acid를 기본 골격으로 많이 사용되고 있는 HEMA를

*Corresponding author

Tel : +82-53-950-5380, Fax : +82-53-955-5522

E-mail : ybseu@mail.knu.ac.kr

비롯하여 이의 변형체 들이 대부분이다[4]. 그래서 38%의 함유율을 가지는 HEMA를 기본 monomer로 사용하며 여기에 친수성이나 소수성이 뛰어난 monomer를 개발하는 것이 필요하다.

Itaconic acid (methylene succinic acid; C₅H₆O₄)는 *Aspergillus terreus*, *Aspergillus itaconicus* 같은 사상 곰팡이로부터 생산되는 유기산으로 두개의 카르복실 그룹과 메틸렌 그룹간의 결합을 이용하여 이합체나 올리고머 등의 고분자로 중합되는 특성을 가지고 있다[11]. 이러한 결합 특성으로 인해 itaconic acid는 저가의 기초 원료로 폴리에스테르 수지나 N-치환 피롤리딘 및 스테렌부타디엔 등 고분자 물질의 중요한 전구체로서 섬유, 세척제, 코팅제, 화장품조제, 식품첨가제, 저분자 기초 원료와 SB latex Emulsion 안정제 등 제약 산업에 널리 이용되고 있다[1].

본 연구에서는 천연에서 쉽고 값싸게 얻어지는 미생물 대사산물의 고부가 가치화의 일환으로 미생물 *Aspergillus terreus*, *A. itaconicus* 등이 생산하는 itaconic acid를 기초원료로 선정하였으며, itaconic acid의 경우 polymerization에 필요한 olefin 부분 구조를 가진 C-4 골격에 양 말단이 acid 형태(di-acid)인 관계로 양 말단을 다양한 형태의 변형이 가능하다. 기존에 많이 사용되고 있는 C-3 골격의 HEMA (2-hydroxyethyl methacrylate)를 기본 monomer로 하여[10], 이보다 탄소 수가 한 개 더 많으며 확장성이나 변형이 용이한 양 말단을 acid group으로 가지는 C-4골격의 천연 발효산물인 itaconic acid를 유기합성으로 유도체로 변형하여 새로운 첨가제로 합성하였으며(Fig. 1) HEMA와 itaconic acid로부터 합성한 monomer를 적당한 혼합비율로 중합하여 함유율과 산소투과도가 뛰어난 새로운 소재의 soft contact lens를 제작하였다. 그리고 식약청 고시에 따른 한천중층실험과 세포성장저해실험 등을 실시하여[14] 독성이 없는 친생물학적인 소재로서 높은 산소 투과도와 함유율이 뛰어난 soft contact lens의 기능성 polymer 소재를 개발하였기에 보고하고자 한다.

재료 및 방법

시약 및 재료

Itaconic acid는 순도 99%를 Fluka사(Switzerland)에서 구입하였으며 HEMA (2-hydroxyethyl methacrylate)는 순도 98%를 Junsei사(Japan)에서 구입하였으며 순도를 높이기 위

해 재증류하여 사용하였다. 가교제로 EGDMA (ethylene glycol dimethacrylate)를 사용했으며 개시제로 α-α'-azobis를 사용하였다.

합성(Monomer synthesis)

mono-ester compound 1의 합성

탈수장치와 reflux condenser가 부착된 1 l round flask에 H₂SO₄를 산촉매로 사용하여 itaconic acid 65 g (0.5 mol)과 isopropyl alcohol 175 ml, H₂O 18 ml를 주입한 후 가열, 교반하였다. 온도 65°C를 유지 하면서 3일간 유지하였으며 TLC로 반응의 진행을 확인한 뒤 반응물을 NaHCO₃로 중화하고 농축하였다. Saturated NaHCO₃ 수용액으로 산을 완전히 씻어낸 뒤 brine 처리하고 재결정으로 4-isopropoxy-2-methylene-4-oxobutanoic acid 1을 합성하였다.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ=6.451(s, 1H), 5.818(s, 1H), 5.031(m, J=6.3, 1H), 3.306(s, 2H), 1.234(d, J=6.3, 6H)

di-ester compound 2의 합성

탈수장치와 reflux condenser가 부착된 1 l round flask에 H₂SO₄를 산촉매로 사용하여 itaconic acid 65 g (0.5 mol)과 isopropyl alcohol 250 ml를 넣어 가열, 교반 하였으며 65°C를 유지하면서 2일간 교반하였다. TLC로 반응의 진행을 확인한 뒤, 실온으로 냉각시켰다. 반응물을 NaHCO₃로 중화하고 감압 농축 후 SiO₂ column chromatography를 통하여 정제하여 diisopropyl-2-methylenesuccinate 2를 합성 하였다.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ=5.177(d, J=36, 2H), 4.542(s, 2H), 4.193(t, J=6.6, 2H), 2.627-2.474(m, 2H), 2.394(t, J=6.6, 2H), 1.207(d, J=11.1, 6H), 1.183(d, J=10.8, 6H).

Monomer의 중합(polymerization)

HEMA (2-hydroxyethyl methacrylate)와 monomer 간의 결합이 잘 이루어지도록 가교제(cross linking agent)인 EGDMA (ethylene glycol dimethacrylate) 0.5%, 개시제(α-α'-azobis)를 0.3%를 혼합하였다. 그리고 itaconic acid로부터 합성한 mono-ester 1 compound (4-isopropoxy-2-methylene-4-oxobutanoic acid)와 di-ester 2 compound (diisopropyl-2-methylenesuccinate)를 각각 2.5%~15%로 모두 10개의 sample을 준비하였고, 상온에서 혼합한 뒤 soft contact lens의 성형 틀에 주입하여 100°C에서 중합하였다(Fig. 2).

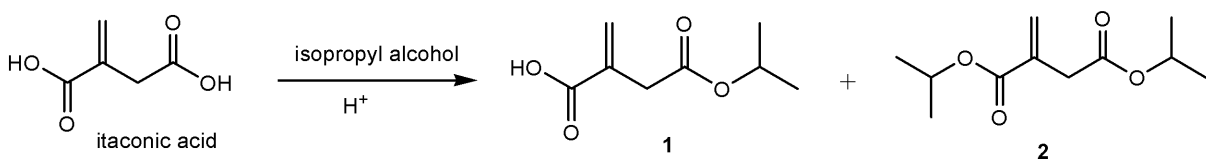


Fig. 1. Synthesis of mono-ester 1 and di-ester 2 from itaconic acid.

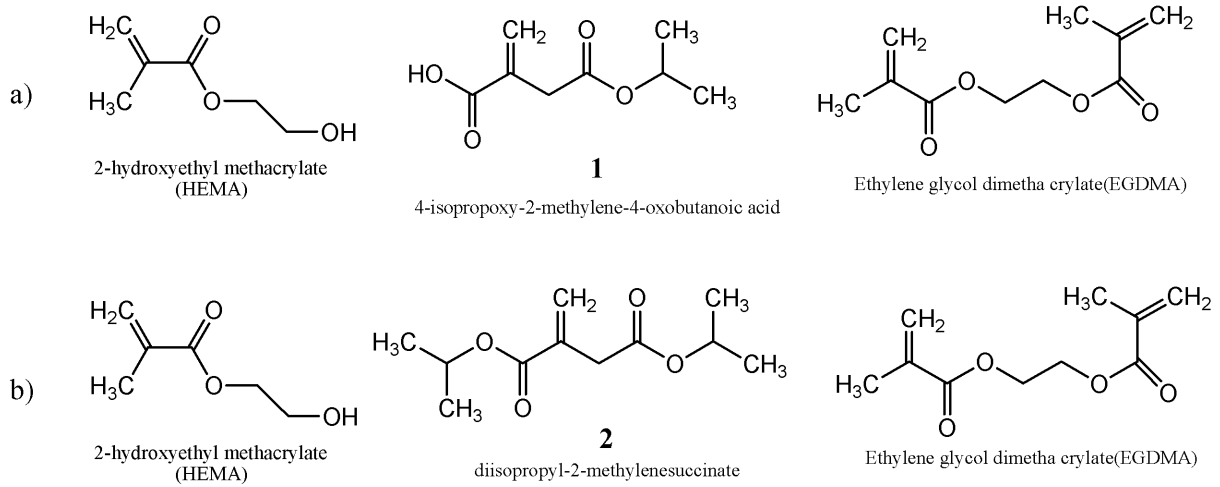


Fig. 2. Monomer compositions of the lens materials. a) The monomer 1 (4-isopropoxy-2-methylene-4-oxobutanoic acid) included. b) The monomer 2 (diisopropyl-2-methylene succinate) included.

Soft contact lens의 제작

원재료인 HEMA의 순도를 높이기 위하여 증류를 하여 사용하였고 monomer들을 혼합하여 2.5%~15%의 혼합비율로 sample을 만들었으며 성형 틀(mold)에 주입 한 후 중합하여 soft contact lens를 제작하였으며 절삭과 연마 등의 가공 처리를 하였다. 그리고 성형 틀에서 분리를 하여 세척과 열처리를 거친 뒤 불량여부를 확인하고 충전, 포장, 멸균(sterilization)을 단계적으로 처리하여 soft contact lens를 제작하였다(Fig. 3).

결과 및 고찰

함수율(water content)

함수율(water content)은 lens에 의해 흡수된 물의 양을 특정한 조건 하에서 전체의 %로 나타낸 값이며 soft contact lens가 눈 위에 있을 때 증발에 의해 수분이 탈수 되며, 온도와 피팅 상태에 따라 달라진다. 그리고 산소침투율과 굴절률, 보존액 및 소독 액에 대해서 영향을 받기도 한다. 본 실험에서는 HEMA에 첨가한 첨가제 mono-ester 1과 di-ester 2의 혼

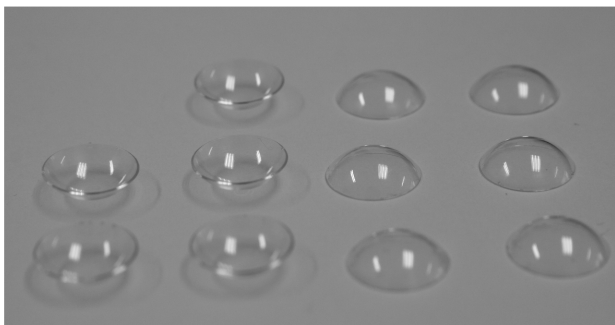


Fig. 3. Soft contact lenses produced by new itaconate additives.

합 비율에 따라 만든 soft contact lens의 함수율을 측정 하였으며, 첨가 monomer의 혼합 비율이 20% 이상에서는 중합반응의 효율이 떨어졌다. 첨가제로 mono-ester 1을 혼합하여 중합 반응으로 만든 soft contact lens의 경우 비율이 증가할수록 점차적으로 함수율이 높아지는 것을 알 수가 있었으며 혼합율 15%에서 57.7%의 높은 함수율을 나타내었다. 반면, di-ester 2를 혼합해서 만든 soft contact lens의 경우 비율이 높아질수록 함수율이 낮아지는 경향을 나타내었다(Fig. 4).

산소투과도(oxygen permeability: Dk)

산소투과도(oxygen permeability)는 일반적으로 Dk로써 나타내며 단위는 $10^{-11} \text{ cm}^2/\text{s} \cdot \text{ml O}_2/\text{ml} \times \text{mmHg}$ 을 사용하

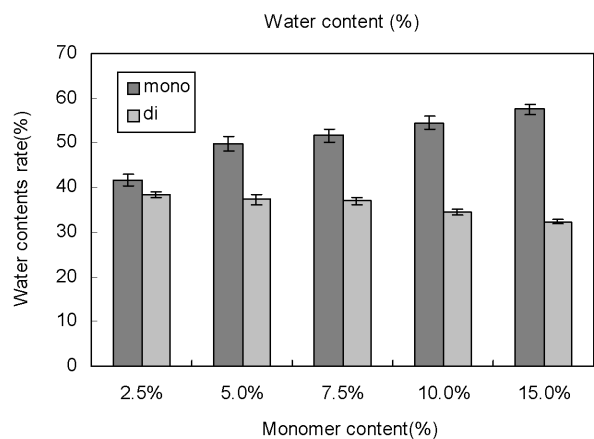


Fig. 4. The water content of soft contact lens. The rate of water content of new polymeric materials(containing mono-ester 1 or di-ester 2 unit) for soft contact lens ($p < 0.01$). Water content = $(A-B)/(A-C) \times 100\%$ (A, dry lens refractive; B, swelling lens refractive, and C, a saline solution refractive).

며 산소투과성(oxygen transmissibility)은 Dk/t 로 나타내며 단위는 $10^{-9} \text{ Cm/s} \cdot \text{ml O}_2/\text{ml} \times \text{mmHg}$ 을 사용한다. 특정한 lens에서 Dk/t 값은 산소를 contact lens 전면으로부터 후면으로 이동하게 하는 lens의 능력을 말한다. Soft contact lens 재료의 본질적인 물리적 성질이라고 볼 수 없으며 두께에 관련된 성질이다. 당량산소백분율(equivalent oxygen percentage)인 EOP는 soft contact lens의 아랫부분에 존재하는 각막 표면의 산소량을 말한다. 그리고 대기 중에 노출된 각막의 유효한 산소량은 20.9% 정도이고 눈을 감고 있을 때 받는 산소량은 8% 정도이다. 그리고 각막의 부종을 피하기 위한 산소량은 10% 이상($Dk/t=24.1$), 밤에 각막의 부종을 피하기 위한 산소량은 18% 이상($Dk/t=87$)으로 알려져 있으며 soft contact lens에서 산소투과도와 산소투과성이 상당히 중요하다[5].

본 실험에서는 HEMA와 *mono-ester* 1과 *di-ester* 2의 혼합 비율(2.5%~15%)에 따라 만든 soft contact lens의 산소투과도를 permeometer를 이용하여 측정하였으며 *mono-ester* 1의 중합으로 만든 soft contact lens의 경우 비율이 증가할수록 점차적으로 산소투과도가 높아지는 것을 알 수가 있었다. 반면, *di-ester* 2의 혼합으로 만든 soft contact lens의 경우 비율이 높아질수록 산소투과도가 적은 변화로 낮아지는 경향을 나타내었다(Fig. 5).

Soft contact lens는 산소투과도(oxygen permeability)와 함유율(water content)이 가장 중요한 요소이다. 본 실험에서 기존에 널리 이용되는 monomer인 HEMA에 itaconic acid로부터 합성한 ester-monomer를 사용하여 soft contact lens용 소재를 합성하여 그 물성을 검토한 결과 첨가제로 *mono-ester* 1을 첨가제로 이용하여 중합반응으로 제조한 soft contact lens의 함유율은 41%~57.7%로 기존 HEMA가 가지는 함유율 보다 더 좋은 결과를 보여주었으며 산소투과도는 13.4~28.6 Dk

를 나타내었다. 한편, 첨가제로 *di-ester* 2를 이용하여 제작한 soft contact lens의 경우는 함유율 32%~38% 산소투과도 4.8~8.4 Dk를 나타내었다. 따라서 HEMA에 보조 monomer첨가제로 이용된 *mono-ester* 1의 첨가비율이 높을수록 함유율과 산소투과도가 높아지는 것을 알 수가 있었다. Soft contact lens용 polymer의 합성에 있어서 HEMA에 첨가제로 *di-ester* 2를 사용하여 제작한 soft contact lens에 비해 *mono-ester* 1을 첨가제로 사용하였을 때 soft contact lens의 물성에서 높은 함유율과 산소투과도를 나타냄으로서 itaconic acid의 유도체인 *mono-ester* 1이 새로운 soft contact lens의 소재나 첨가제로서 개발 될 수 있는 가능성을 가지고 있음을 확인할 수 있었다. 그리고 한국식품의약품안전청(KFDA)에서 고시한 한천중층시험과 세포의 성장저해시험 등을 통하여 이번에 새롭게 만든 soft contact lens가 우리 눈에 미치는 영향에 대한 연구에서 본 실험에서 제작 한 lens 소재가 인체에 무해함을 알 수 있었으며, 앞으로 새로운 soft contact lens의 소재로서 응용이 기대된다.

요 약

본 연구는 itaconic acid로부터 합성한 새로운 soft contact lens 소재의 함유율과 산소투과도를 확인 하였다. Soft contact lens의 새로운 polymer소재 개발을 위하여 기본 monomer인 HEMA (2-hydroxyethyl methacrylate)와 가교제로서 EGDMA (ethylene glycol dimethacrylate) 그리고 A. itaconicus의 발효에 의해 생산된 itaconic acid로부터 얻어진 *mono-ester* 1과 *di-ester* 2를 새로운 첨가제로 사용하여 중합 반응을 시도하였다. Soft contact lens의 새로운 폴리머 소재 들은 HEMA와 *mono-ester* 1 또는 *di-ester* 2를 서로 다른 비율로 합성하여 함유율(water content)과 산소투과도(oxygen permeability)를 분석하였다.

Polymer 형성을 위한 HEMA와 additive의 혼합에서 HEMA/*mono-ester* 1의 혼합물은 HEMA/*di-ester* 2 보다 함유율과 산소투과도가 뛰어 났으며 HEMA와 첨가제 *mono-ester* 1 (15%)를 이용한 중합의 경우, 제작된 soft contact lens의 함유율과 산소투과도는 각각 57.7%와 28.6 Dk로 좋은 값을 나타냈다. 새로운 소재를 사용하여 만든 soft contact lens의 함유율과 산소투과도는 우수하게 나타났다.

감사의 글

본 연구는 교육과학기술부와 한국산업기술재단의 지역혁신인력양성사업으로 수행된 연구 결과임.

References

1. Bressler, E. and S. Braun. 2000. Conversion of citric acid

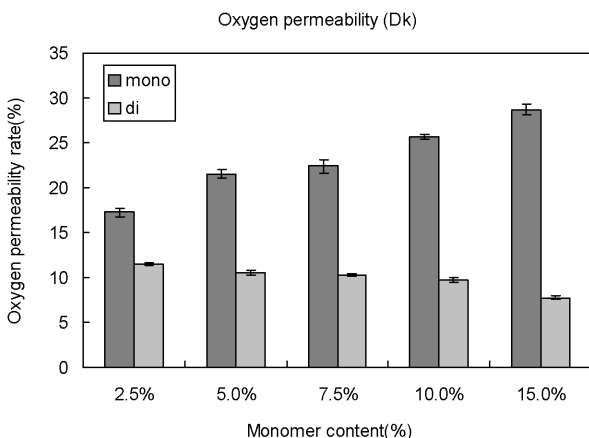


Fig. 5. The oxygen permeability of soft contact lens. The rate of oxygen permeability (Dk) of new polymeric materials (containing *mono-ester* 1 or *di-ester* 2 unit) for soft contact lens ($p<0.01$). Oxygen permeability (Dk)=oxygen transmission rate x center thickness.

- to itaconic acid in a novel liquid membrane bioreactor. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* **75**, 66-72.
2. Compan, V., A. Andrio, A. Lopez-Aleman, E. Riande, and M. F. Refojo. 2002. Oxygen permeability of hydrogel contact lenses with organosilicon moieties. *Biomaterials* **23**, 2767-2772.
 3. Hill, R. M. and I. Fatt. 1963. Oxygen uptake from a reservoir of limited volume by human cornea *in vivo*. *Science* **42**, 1295-1297.
 4. Karlgard, C. C. S., D. K. Sarkar, L. W. Jones, C. Moresoli, and K. T. Leung. 2004. Drying methods for XPS analysis of pure VisionTM, Focus[®] Night & DayTM and conventional hydrogel contact lenses. *A. Surface Science* **230**, 106-114.
 5. Kim, D. H. and A. Y. Sung. 2004. *An introduction of contact lens*. pp. 28-134, 1st ed., Hyunmoon. Seoul. Korea.
 6. Kim, T. H., A. Y. Sung, and J. I. Kong. 2006. Polymerization of hydrogel contact lens with high oxygen transmissibility. *J. Korean Oph. Opt. Soc.* **11**, 49-53.
 7. Kim, T. H., K. H. Ye, Y. S. Kwon, and A. Y. Sung. 2006. Polymerization of contact lens materials using silicone. *J. Korean Oph. Opt. Soc.* **11**, 143-149.
 8. Lai, T. C., A. C. Wilson, and S. G. Zantos. 1993. Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology. Vol. **7**, pp. 192-218, 4th eds., John Wiley, New York.
 9. Majeti, N. V. and R. Kumar. 2000. A review of chitin and chitosan applications. *Reactive & Functional Polymers* **46**, 1-32.
 10. Moradi, O., H. Modarress, and M. Noroozi. 2004. Experimental study of albumin and lysozyme adsorption on to acrylic acid (AA) and 2-hydroxyethyl methacrylate (HEMA) surfaces. *J. Colloid Interface Sci.* **271**, 16.
 11. Reddy, C. S. K. and R. P. Singh. 2002. Enhanced production of itaconic acid from corn starch and market refuse fruits by genetically manipulated *Aspergillus terreus* SKR 10. *Bioresour. Tech.* **85**, 69-71.
 12. Refojo, M. F. 1996. Polymeric Materials encyclopedia. CRC Press, New York. **2**, 1504-1509.
 13. Ruben, M. and M. Guillon. 1994. Contact Lens Practice. *Chapman & Hall Medical*. London.
 14. You, Y. H., J. H. Nam, B. K. Kim, S. B. Kim, I. J. Moon, J. P. Kim, and Y. B. Seu. 2009. Biosafety of the New Soft Contact Lens Materials in the Fibroblast L-929 Cell Line. *Kor. J. Microbiol. Biotechnol.* **37**, 75-79.