

Hyaluronic acid의 첨가방법에 따른 하이드로겔 콘택트렌즈의 물리적 특성과 lysozyme 흡착량 비교

임화림¹, 김호중², 전 진^{1,*}

¹동신대학교 안경광학과, 나주 58245

²조선대학교 화학과, 광주, 61452

투고일(2015년 8월 6일), 수정일(2015년 8월 27일), 게재확정일(2015년 9월 2일)

목적: 하이드로겔 콘택트렌즈에 HA(hyaluronic acid)를 IPN(interpenetrating polymer network)방법과 화학적 공유 결합 방법(CCB; Chemical covalent bonding)으로 첨가하였을 때 광투과율과 흡수율의 물리적 특성과 lysozyme 흡착량을 비교하여 하이드로겔 콘택트렌즈의 기능성 부여를 위한 효과적인 HA의 첨가방법을 살펴보고자 한다. **방법:** 실험실에서 제조한 하이드로겔 콘택트렌즈에 IPN과 CCB의 두 가지 방법으로 HA를 첨가하였다. 광투과율은 300~800 nm 범위에서 측정하였으며, 흡수율은 0.9% NaCl 생리 식염수를 사용하여 증량측정법으로 측정하였다. Lysozyme 흡착량은 lysozyme이 포함된 인공눈물을 제조하여 12시간동안 흡착시킨 후 HPLC로 정량하였다. **결과:** HA가 첨가된 하이드로겔 콘택트렌즈의 흡수율은 HA가 첨가되지 않은 렌즈에 비해 증가하였으며, CCB 방법에 비해 IPN 결합에서 흡수율이 더 높게 나타났다. 광투과율은 HA 첨가 전과 후 모두 90% 이상으로 나타났다. Lysozyme 흡착 감소율은 IPN 방법으로 제조한 콘택트렌즈는 60.0%이며, CCB 방법으로 제조한 콘택트렌즈에서는 40.4%로 나타났다. **결론:** CCB 방법은 기능성 물질을 렌즈 내부와 표면 전체에 화학적으로 균일하게 분포시키기에 적절한 방법이며, IPN 방법은 상분리 없이 렌즈 표면에 기능성을 부여하기에 적절한 방법으로 여겨진다.

주제어: 콘택트렌즈, Hyaluronic acid, IPN, 화학적 공유결합, 단백질 흡착, 흡수율, 하이드로겔

서 론

최근 들어 시력교정과 편리함을 이유로 많은 사람들이 콘택트렌즈를 사용하고 있다. 2013년 (사)대한안경사협회에서 실시한 '2013년 전국 안경 및 콘택트렌즈 사용자'에 따르면 안경과 콘택트렌즈 겸용 사용자가 47.1%였으며 콘택트렌즈의 사용률은 8%로 나타났다. 그러나 이러한 콘택트렌즈 착용자의 50% 이상이 건성안이나 이물질 침착으로 인한 세균 감염, 거대유두 결막염과 같은 염증성 합병증으로 불편함을 호소한다.^[1,2] 이러한 불편함을 줄이기 위해 콘택트렌즈 제조에 사용되는 단량체의 조합을 다양하게 하거나 기능성 물질의 첨가를 통해 콘택트렌즈의 물리적, 화학적인 성질을 변화시키는 연구가 활발히 진행되고 있다.^[3,4]

눈물 속에는 단백질, 지방, 점액, 칼슘, 염분 등의 다양한 성분이 포함되어 있다.^[5] 눈물 막에서 비롯된 단백질은 친수성 재질의 콘택트렌즈에 침착되어 불편감, 시력저하,

미생물 오염으로 인한 감염, 알러지(allergy)와 염증반응에도 영향을 미친다.^[6] 콘택트렌즈의 단백질 흡착은 렌즈 재질, 단백질 농도와 구조, 눈물 내 단백질 전하에 의해 영향을 받으며 단백질의 분자 크기 역시 중요한 역할을 한다.^[2,7] Lysozyme은 눈물의 주요 구성성분 중 하나로 콘택트렌즈 착용 시 가장 일반적으로 발견되는 단백질이며, 감염의 주요 원인 중에 하나이다.^[8,9] Lysozyme은 작고, 치밀한 공 모양의 단백질(14.5 kDa)로 큰 기공 크기를 가진 콘택트렌즈 속으로 흡착되기 쉬우며, 높은 표면 등전점(pI, isoelectric point=10.7)으로 인해 낮은 pH를 보이는 눈물에서는 양전하의 성질을 띠게 되어 음전하 성질인 콘택트렌즈와의 정전기적 인력에 의해 영향을 받게 된다.^[10]

Hyaluronic acid(HA)는 수분을 흡수하는 특성과 점탄성(viscoelasticity)을 가진 생체적합성이 뛰어난 다당류 물질이며, 안구의 유리체, 눈물샘, 각막상피, 결막과 누액에 주로 존재한다.^[11] HA는 hyaluronan의 산성 형태로 D-glucuronic acid과 D-N-acetylglucosamine이 $\beta(1-4)$ 와 $\beta(1-$

*Corresponding author: Jin Jun, TEL: +82-61-330-3551, E-mail: jinjun@dsu.ac.kr

본 논문의 일부내용은 2015년 대한시과학회 춘계학술대회에서 구연으로 발표되었음

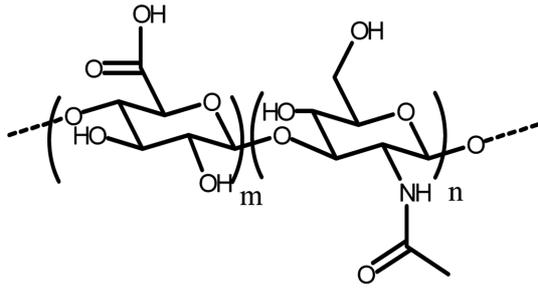


Fig. 1. Chemical structure of Hyaluronic acid (HA).

3)의 공유결합에 의해 연결된 형태이며 200,000~400,000 Da의 분자량을 갖는 고분자 화합물로서 화학적 구조식은 Fig. 1에 나타내었다.^[12,13] Hyaluronan은 안과용 재료로 많이 사용되는데 각막 상피를 보호하거나 각막 상피의 장벽 기능을 개선시키며, 눈물샘, 결막, 눈물막의 안정성에 기여하며 안구 수화를 돕는 역할을 한다.^[13] 또한 1000배에 달하는 수분을 보유할 수 있어 각막의 습윤성을 증가시켜 주고 건성안에서 눈물막 안정성을 제공하여 눈점안액으로 많이 사용된다.^[14] 이러한 HA는 고분자 물질이라는 특성 상 다른 모노머와 잘 섞이지 않고 상분리를 일으키기 때문에 하이드로겔이나 실리콘 하이드로겔 콘택트렌즈의 적용에 제한을 받고 있다.

Interpenetrating polymer networks(IPN) 방법은 물리적인 얽힘에 의해 다른 특성이나 기능을 가진 두 개 이상의 고분자 물질을 안정적으로 고정시키는 방법이다.^[15] 이러한 고분자의 얽힘은 소수성과 친수성 중합체가 서로 상분리 없이 좋은 혼화성과 치수안정성을 갖도록 할 수 있다.^[16] 화학적 공유결합(CCB; chemical covalent bonding)은 다른 단량체와 공유결합이 용이하도록 하기 위하여 사용되는 물질에 중합기를 화학적으로 부착한 다음 중합하는 방법이다.

본 연구에서는 하이드로겔 콘택트렌즈에 HA를 IPN과 CCB 방법으로 첨가하여 제조한 다음 함수율과 광투과율 등의 물리적인 특성과 lysozyme 흡착량을 비교하여 하이드로겔 콘택트렌즈의 기능성 부여를 위한 효과적인 HA의 첨가방법을 살펴보고자 한다.

대상 및 방법

1. 시약 및 재료

하이드로겔 콘택트렌즈 제조를 위해 HEMA(2-Hydroxyethyl methacrylate, Junsei, Japan), NVP (N-vinyl pyrrolidone, Junsei, Japan), GMMA (glycerol monomethacrylate, Melrob, UK), 중합개시제인 AIBN (azobis isobutyronitrile, Junsei, Japan)과 가교제인 EGDMA (ethylene glycol dimethacrylate,

Table 1. Sample name and principal monomer of hydrogel contact lenses used in the study

Hydrogel contact lens (Hy-CL)		
Sample name	Hy-ipn-HA	Hy-ccb-HA
HA ^{a)} Addition Method	IPN [*]	CCB ^{**}
Principal monomer	HEMA ^{b)} , NVP ^{c)} , GMMA ^{d)} , EGDMA ^{e)} , AIBN ^{f)}	
Principal Reagent used in HA Addition Method	PEI ^{g)} , EDC ^{h)}	Methacrylic anhydride

*: interpenetrating polymer network **: chemical covalent bonding
a)hyaluronic acid b)2-hydroxyethyl methacrylate
c)N-vinyl-2-pyrrolidone d)glycerol monomethacrylate
e)ethylene glycol dimethacrylate f)azobis isobutyronitrile
g)polyethylenimine
h)1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)-carbodiimide

Sigma Aldrich, USA)가 사용되었다. 렌즈에 기능성을 부여하기 위해 HA (hyaluronic acid, molecular weight 10 kDa, Life Core Biomedical, USA)를 사용하였다. IPN 방법을 위해 PEI (Polyethylenimine, Sigma Aldrich, USA)와 EDC (1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)-carbodiimide, Sigma Aldrich, USA)를 사용하였고 CCB 방법을 위한 중합기 부착에 Methacrylic anhydride(Sigma Aldrich, USA)가 사용되었다. 인공눈물 제조를 위해 lysozyme(chicken egg lysozyme, ≥90%, Sigma Aldrich, USA)이 사용되었다.

HA 첨가 방법에 따른 렌즈의 변화를 알아보기 위해 실험실에서 제조한 렌즈를 사용하였으며, 사용된 렌즈의 시료명과 구성된 모노머(monomer)를 Table 1에 나타내었다.

2. 실험 방법

1) 콘택트렌즈 제조

콘택트렌즈 제조에 사용된 HEMA는 회전감압농축기 (RV-10B, IKA, China)를 이용해 진공 증류하여 불순물과 첨가된 중합방지제(hydroquinone)를 제거한 후 사용하였다. 하이드로겔 콘택트렌즈를 제조하기 위해 Table 2와 같이 HEMA, NVP, GMMA, AIBN과 EGDMA를 구성비에 따라 혼합한 후 교반기(MS-2026, MISUNG S&I, Korea)를 이용하여 1시간 동안 상온에서 교반하였다. 콘택트렌즈의 제조는 cast mold 방식이 사용되었으며, 혼합된 모노머가 주입된 몰드는 90°C drying oven(HST-501S, Hanst, Korea)에서 6시간 동안 중합시킨 후 몰드에서 렌즈를 떼

Table 2. A component ratio of hydrogel contact lenses used in the study Unit: wt%

Hydrogel contact lens	HEMA	NVP	GMMA	AIBN	EGDMA
	62.2	12	25	0.4	0.4

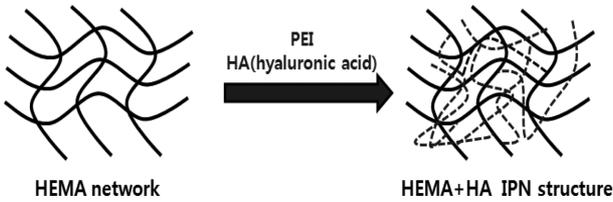


Fig. 2. Synthetic scheme of IPN structure.

어내고 증류수에 2일 동안 담가 두었다.

2) Hyaluronic acid의 첨가 방법

고분자인 HA의 특성상 다른 단량체와 잘 섞이지 않고 상분리를 일으키기 때문에 이를 방지하기 위해 두 가지의 HA 첨가 방법을 사용하였다.

(1) IPN 방법에 의한 HA 첨가

실험실에서 제조된 하이드로겔 콘택트렌즈(Hy-CL; hydrogel contact lens)를 HA(5 g/L) 용액과 PEI (0.5 g/L, in 30% ethanol/70% water)를 섞은 용액에 4일 동안 4°C에서 수화시킨 후 amide 결합으로 가교시키기 위해 EDC (5 g/L, 30% ethanol in water) 수용액에서 4°C에서 48시간 동안 유지하였다. 반응하지 않은 당쇄와 PEI는 증류수에 24시간 동안 교반시켜 제거시켰다. IPN 과정은 Fig. 2에 나타내었다.

(2) CCB 방법에 의한 HA 첨가

콘택트렌즈에 사용되는 단량체에 상분리 없이 HA를 첨가하기 위해 methacrylate가 결합된 HA를 합성하였다. HA 용액을 2% w/v가 되게 증류수에 녹인 뒤, HA에 methacrylic anhydride를 첨가하고, pH 8을 유지시키면서 5°C에서 2일간 교반시켰다. 반응 종료 후 원심분리를 통해 얻어진 침전물을 증류수와 알코올로 반복적으로 세척하며 과량의 methacrylic anhydride 및 methacrylic acid를 제거한 후 동결 건조시켰다. 하이드로겔 콘택트렌즈 제조에 필요한 모노머들과 일정 비율의 건조된 HA를 혼합하여 교반시킨 후 혼합된 모노머를 몰드에 주입하였다. 90°C drying oven(HST-501S, Hanst, Korea)에서 6시간 동안 증

합시킨 후 몰드에서 렌즈를 떼어내고 증류수에 2일 동안 담가 두었다. CCB의 과정은 Fig. 3에 나타내었다.

3) 인공눈물 제조

콘택트렌즈의 lysozyme 흡착 특성을 비교하기 위해 인체의 눈물과 비슷한 조성의 인공눈물을 제조하였다. 인공눈물은 1.2 mg/mL lysozyme, 7 mg/mL NaCl, 1.7 mg/mL KCl, 0.05 mg/mL CaCl₂, 2.2 mg/mL NaHCO₃를 증류수에 용해시켜 사용하였다.^[17]

3. 특성 분석

1) 광투과율(Optical transmittance)

건조 상태의 렌즈 5개를 선택하여 UV-Visible Spectrophotometer(GENOVA NANO, GENWAY, UK)를 이용하여 300 nm에서 800 nm까지의 파장 범위에서 각각의 렌즈에 대해 3번씩 측정 후 평균하여 사용하였다.

2) 함유율(Water content)

제조된 10개의 콘택트렌즈 샘플을 0.9% NaCl 생리 식염수에 24시간 동안 수화시켜 측정된 무게와 90°C drying oven에서 1시간 동안 건조시킨 렌즈의 무게를 비교하는 중량측정법으로 함유율을 측정하였다. 각각의 렌즈에 대해 3회 측정 후 평균값을 사용하였다.

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

3) Lysozyme 흡착량

Hy-CL와 IPN, CCB 방법으로 HA를 첨가한 콘택트렌즈 5개씩을 lysozyme이 포함된 인공눈물에 충분히 잠길 수 있도록 넣어준 후 12시간동안 37°C를 유지하면서 150 rpm으로 진탕회전(Shaking incubator, HB-201SF, Korea)시켜 렌즈에 lysozyme을 흡착시켰다. 콘택트렌즈 표면에 흡착된 lysozyme의 추출은 Keith D. 등^[18]의 방법에 따라 acetonitrile과 0.2%의 trifluoroacetic acid를 1:1로 혼합한 용액을 사용하였으며, 24시간동안 방치시켜 콘택트렌즈에

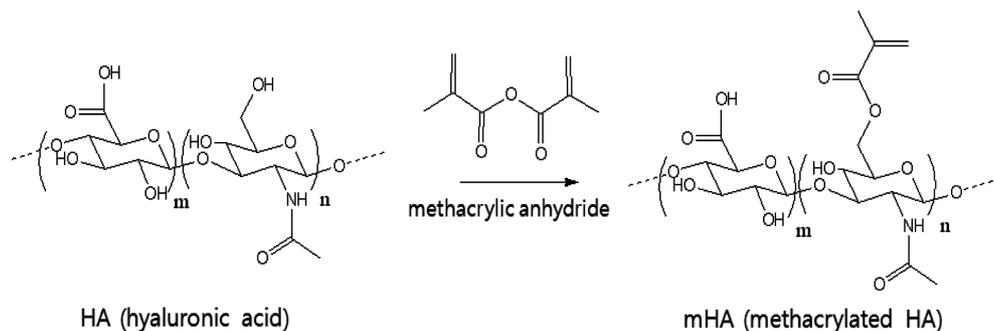


Fig. 3. Synthetic scheme of CCB.

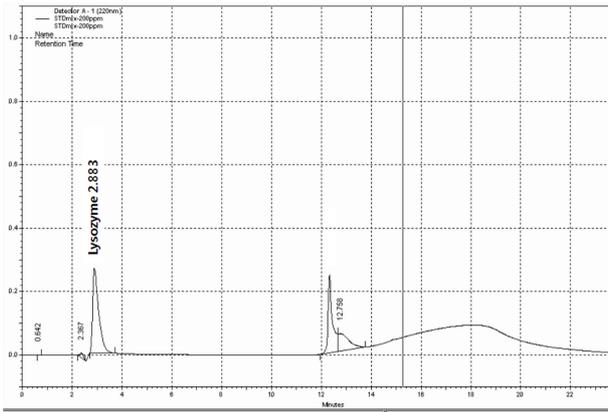


Fig. 4. Peak of separated lysozyme by HPLC.

침착된 lysozyme을 추출하였다.

4) 단백질 정량분석

Lysozyme을 흡착시킨 콘택트렌즈 샘플에서 추출된 용액 속의 단백질은 HPLC(high performance liquid chromatography, LC-10AVP, Shimadzu, Japan)를 이용하여 정량하였다. 추출된 용액은 syringe filter(pore size 2 μm)로 여과한 후 주입하였으며, FF-C18 column(75×4,6 mm, particle size 2 μ)을 이용하여 정량하였다. 이동상은 0.1% trifluoroacetic acid in acetonitrile과 0.1% trifluoroacetic acid in water를 1:1비율로 혼합한 용액을 사용하였고, UV-detector(SPD-10A, Shimadzu, Japan)를 이용하여 검출과장 220 nm에서 측정하였다. HPLC로 분리된 lysozyme의 피크(peak)는 Fig. 4에 나타내었다.

결과 및 고찰

1. 함유율

각 렌즈의 함유율 측정값을 Table 3에 나타내었다. 하이드로겔 콘택트렌즈(Hy-CL)의 함유율은 52.68±0.02%로 나타났으며, HA가 첨가된 하이드로겔 콘택트렌즈(Hy-ipn-HA, Hy-ccb-HA)의 함유율은 60.88±0.01%와 57.60±0.00%로 나타나 HA가 첨가된 렌즈에서 함유율이 증가하였으며 통계적으로 유의성을 보였다.(p=0.021) 첨가 방법에 따른 함유율은 IPN 방법에 의해 제조된 Hy-ipn-

Table 3. Water content of hydrogel contact lens with HA

Sample name	Water content (%)
Hy-CL	52.68 ± 0.02
Hy-ipn-HA	60.88 ± 0.01
Hy-ccb-HA	57.60 ± 0.00

HA 렌즈에서 약간 높게 나타났으며 통계적으로 유의성 유의성을 보였다(p=0.046). 렌즈의 함유율은 렌즈를 구성하는 모노머의 화학적 구조에 크게 의존하며, 특히 물분자와 수소결합이 가능한 하이드록실 그룹(OH, hydroxyl group)에 의한 영향이 절대적이다.^[9] 김 등^[12]의 연구에서 HA가 포함된 렌즈가 HA가 포함되지 않은 렌즈에 비해 표면 습윤성이 좋아 눈물층이 고르게 퍼지게 되어 눈물층의 안정성을 높여준다고 하였으며, Van Beek 등^[14]의 연구에서는 HA를 첨가하였을 때 습윤각이 작아져 렌즈의 습윤성이 좋아지는 결과를 나타내었다고 하였다. 본 연구에서는 OH group이 포함된 NVP나 GMMA와 같은 친수성 단량체를 사용하여 Hy-CL를 제조하였기 때문에 50%가 넘는 높은 함유율을 가지며, 분자량의 1000배에 달하는 수분 흡수력을 가진^[13] HA의 첨가로 인해 함유율이 증가한 것으로 생각된다. 또한 HA를 콘택트렌즈 표면과 내부에 화학적으로 고르게 분포시키는 공유결합에 비해 IPN 결합은 주로 렌즈 표면에 HA를 많이 분포시키기 때문에 함유율의 증가 효과가 높게 나타난 것으로 여겨진다.

2. 광투과율

300~800 nm에서 측정된 HA 첨가 전·후의 콘택트렌즈의 광투과율 변화를 Fig. 5에 나타내었다. UV spectrophotometer를 이용하여 300~800 nm 범위의 광투과율을 측정된 결과 모두 90% 이상으로 HA의 첨가 유무와 첨가 방법에 따른 차이가 거의 없는 것으로 나타났다. 두 가지의 HA 첨가방법 모두 HA와 콘택트렌즈 모노머와의 결합이 상분리 없이 잘 이루어졌기 때문에 첨가 후에도 90%가 넘는 광투과율이 나타난 것으로 보인다.

3. Lysozyme 흡착량

두 가지의 방법으로 HA를 첨가하여 제조한 하이드로겔

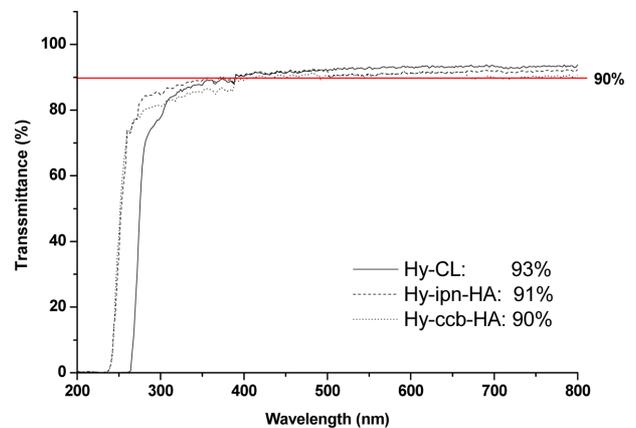


Fig. 5. Optical transmittance of hydrogel contact lens with polysaccharide.

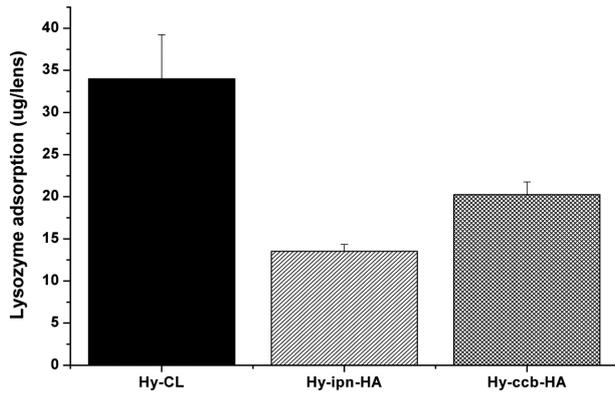


Fig. 6. Amount of lysozyme adsorbed on the hydrogel contact lenses.

콘택트렌즈를 12시간동안 인공눈물에 담근 후 lysozyme 흡착량을 비교하여 Fig. 6에 나타내었다.

Fig. 6에서 보는 바와 같이 Hy-CL에서 lysozyme 흡착량은 $33.97 \pm 5.22 \mu\text{g/lens}$ 이었으며, HA가 첨가된 Hy-ipn-HA 렌즈에서는 $13.51 \pm 0.84 \mu\text{g/lens}$, Hy-ccb-HA 렌즈는 $20.24 \pm 1.51 \mu\text{g/lens}$ 의 lysozyme이 흡착되어 HA가 첨가된 후 lysozyme 흡착량이 감소하였으며, 통계적으로 유의한 차이를 나타내었다($p=0.013$). HA가 첨가되지 않은 Hy-CL에 비해 Hy-ipn-HA 렌즈는 60.2%, Hy-ccb-HA 렌즈는 40.4%의 lysozyme 흡착 감소율을 각각 나타내었다. 두 첨가 방법에 따른 차이는 IPN 방법으로 HA를 첨가하였을 때 더 높은 감소율을 보였으나 통계적으로 유의성을 나타내진 않았다($p=0.209$). Takanori 등^[1]은 2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine(MPC)를 실리콘하이드로겔 렌즈에 본 연구와 동일한 방법으로 첨가하였을 때 단백질 흡착량이 감소되었다고 보고하였으며, Van Beek 등^[14,20]은 pHEMA, 실리콘 하이드로겔과 같은 재질에 HA가 교차결합되면 단백질 침착이 감소되었다고 보고하였다.

일반적으로 콘택트렌즈에 단백질 흡착은 함수율, 렌즈 표면의 전하와 단백질의 전하 등에 의해 많은 영향을 받게 된다.^[3] 성 등^[5]의 연구에 따르면 콘택트렌즈는 구성하는 성분에 따라 렌즈의 표면이 이온성을 갖게 되고 렌즈 표면의 전하 형태에 따라 단백질과의 상호작용이 결정되는데 이온성을 띠는 렌즈는 전하를 가진 단백질과의 정전기적 인력으로 인해 흡착이 일어나게 된다고 하였다. 또한 조 등^[19]과 Norde 등^[21]은 lysozyme의 경우 친수성 표면에 흡착이 잘 되지 않는 안정된 구조를 가졌기 때문에 렌즈 표면의 습윤성이 lysozyme의 흡착 방지에 중요한 요소라 하였다. 본 연구에서는 HEMA를 바탕으로 제조된 Hy-CL 표면이 음전하를 띠게 되고, 이로 인해 인공 눈물의 pH에서 양전하를 띠는 lysozyme과의 정전기적 인력으로 인해 lysozyme의 흡착량이 크게 증가된

것으로 생각된다. Table 2와 Fig. 6의 결과에 나타난 바와 같이 HA가 첨가된 렌즈에서 함수율이 증가되었으며, 단백질 흡착량은 크게 감소되었다. HA가 첨가된 렌즈에서는 HA의 첨가로 렌즈 내부나 표면에 OH group이 증가하게 되면서 물 분자와의 수소결합이나 정전기적 인력에 의해 친수성이 크게 증가하게 된다. 이와 더불어 렌즈 표면이 물 분자로 덮여지면서 단백질의 구조적 변화를 방지하게 되고 단백질의 흡착이 감소하게 된다.

HA 첨가 방법에 따른 단백질 흡착량을 살펴보면 CCB 방법에 의해 제조된 렌즈에서보다 IPN 방법을 사용한 렌즈에서 단백질 흡착률 더 크게 감소하였다. 이는 작용기가 부착된 HA와 monomer들이 공중합하는 CCB 방법에서는 HA가 렌즈 전체에 고르게 분포되는 반면, IPN 방법은 렌즈 표면에 HA를 침투-고정시켜 첨가하기 때문에 HA가 렌즈 표면에 많이 분포하게 되어 단백질 흡착 감소율이 더 크게 나타난 것으로 생각된다.

결 론

본 연구에서는 하이드로겔 콘택트렌즈에 IPN, CCB 방법으로 HA를 첨가한 다음 함수율, 광투과율, lysozyme 흡착량을 비교하여 보았다. HA를 첨가하기 전에 비해 HA를 첨가한 후 함수율이 증가하였고, lysozyme 흡착량은 감소하였으나 광투과율은 차이가 없었다. 비이온성-OH group을 가진 HA의 첨가로 인해 더 많은 물 분자와의 수소결합이 가능해졌으며, HA의 높은 수분보유력으로 인한 친수성의 증가로 함수율이 증가하였고, 표면에 덮여진 물 분자로 인해 단백질의 구조적 변화가 방지되어 단백질 흡착이 감소된 것으로 판단된다. 또한 CCB 방법에 비해 IPN 방법이 함수율 증가와 lysozyme 흡착 감소에 더 좋은 효과를 보였다. 이는 IPN 방법이 콘택트렌즈의 표면에 많은 HA를 분포시키기 때문에 더 많은 수분을 끌어당길 수 있어 더 높은 lysozyme 흡착 감소율을 나타낸 것으로 여겨진다. IPN 방법은 기능성 물질을 상분리없이 주로 렌즈 표면에 결합시켜 기능성을 부여하고자 할 때 적절한 방법으로 여겨지며, CCB 방법은 기능성 물질을 화학적으로 렌즈 전체에 균일하게 분포시킴으로써 렌즈 표면이나 내부에 그 기능성에 대한 영향을 주고자 할 때 사용하기 좋은 방법으로 생각된다.

REFERENCES

- [1] Takanori S, Tatsuro G, Norihiko M, Madoka T, Kazuhiko I. Super-hydrophilic silicone hydrogels with interpenetrating poly(2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine) networks. *Science Direct Biomaterials*. 2010;31:3274-3280.
- [2] Doerte L, Lyndon J. Protein deposition on contact lenses:

- The past, the present, and the future. *Contact Lens & Anterior Eye*. 2012;35(2):53-64.
- [3] Garrett Q, Laycock B, Garrett RW. Hydrogel lens monomer constituents modulate protein sorption. *Ophthalmology & Visual Science*. 2000;41(7):1687-1695.
- [4] Andrea W, Doerte L, Adrienne B, Lyndon J, Heather S. Hyaluronic acid as an internal wetting agent on model DMAA/TRIS contact lenses. *Journal of Biomaterials applications*. 2011;27(4):423-432.
- [5] Sung YJ, Ryu GC, Jun J. Adsorption properties of the lysozyme and albumin with physicochemical properties of the contact lens. *J Korean Ophthalmic Opt. Soc.* 2013; 18(3):261-270.
- [6] Lord MS, Stenzel MH, Simmons A, Milthorpe BK. Lysozyme interaction with poly(HEMA)-based hydrogel. *Biomaterials*. 2006;27(8):1341-1345.
- [7] Prager MD, Quintana RP. Radiochemical studies on contact lens soiling. I. Lens uptake of ^{14}C -lysozyme from simple and complex artificial tear solutions. *J Biomed Mater Res*. 1997;36(1):119-124.
- [8] Sack RA, Jones B, Antignani A, Libow R, Harvey H. Specificity and biological activity of the protein deposited on the hydrogel surface. *Invest Ophthalmol Visual Science*. 1987;28(5):842-849.
- [9] Hume E, Sack R, Stapleton F, Willcox M. Induction of cytokines from polymorphonuclear leukocytes and epithelial cells by ocular isolates of *Serratia Marcescens*. *Ocular Immunol Inflammation*. 2004;12(4):287-295.
- [10] Bengani LC, Leclerc J, Chauhan A. Lysozyme transport in p-HEMA hydrogel contact lenses, *J Colloid Interface Sci*. 2012;386(1):441-450.
- [11] Rah MJ. A review of hyaluronan and its ophthalmic applications. *American Optometric Association*. 2011;82:38-43.
- [12] Kim HJ, Kim SH, Kim JM. A study on improvement of wettability and comfort in contact lens with hyaluronic acid. *J Korean Ophthalmic Opt Soc.* 2011;16(3):255-264.
- [13] Mark VB, Lyndon J, Heather S. Hyaluronic acid containing hydrogels for the reduction of protein adsorption. *Science Direct Biomaterials*. 2008;29(7):780-789.
- [14] Scheuer CA, Fridman KM, Barniak VL, Burke SE, Venkatesh S, Venkatesh S. Retention of conditioning agent hyaluronan on hydrogel contact lenses. *Contact Lens & Anterior Eye*. 2010;33S:S2-S6.
- [15] Zhenyu F, Chunlian H, Hebing L, Chong Y, Limiao C, Jianhan H, et al. A novel hydrophilic-hydrophobic magnetic interpenetrating polymer networks(IPNs) and its adsorption towards salicylic acid from aqueous solution. *Chemical Engineering Journal*. 2015;279:250-257.
- [16] Jeong KS, Kim HJ, Lim HL, Ryu GC, Seo ES, You NH, et al. Synthesis and biocompatibility of silicone hydrogel functionalized with polysaccharide. *Bulletin of the Korean Chemical Society*. 2015;36(6):1649-1653.
- [17] Choi JY, Park JS, Kim SR, Park MJ. The change in refractive powers of soft contact lenses caused by the deposition of tear proteins. *J Korean Ophthalmic Opt Soc.* 2011;16(4): 383-390.
- [18] Keith D, Hong B, Christensen M. A novel procedure for the extraction of protein deposits from soft hydrophilic contact lenses for analysis. *Current Eye Research*. 1997; 16(5):503-510.
- [19] Cho NR, Ryu GC, Jun J. The properties of hyaluronan addition on the protein adsorption at the silicone hydrogel contact lens. *Korean J Vis Sci*. 2014;16(1):99-109.
- [20] van Beek M, Weeks A, Jones L, Sheardown H. Immobilized hyaluronic acid containing model silicone hydrogels reduce protein adsorption. *J Biomater Sci Polym Ed*. 2008;19(11):533-537.
- [21] Norde W, Lyklema J. Why proteins prefer interfaces. *J Biomater Sci Polym Ed*. 1991;2(3):183-202.

Development of Hyaluronic Acid-Functionalized Hydrogel Lens and Characterization of Physical Properties and Lysozyme Adsorption

Hwa-lim Lim¹, Ho-joong Kim², and Jin Jun^{1,*}

¹Dept. of Optometry and Optic Science, Dongshin University, Naju 58245, Korea

²Dept. of Chemistry, Chosun University, Gwangju 61452, Korea

(Received August 6, 2015; Revised August 27, 2015; Accepted September 2, 2015)

Purpose: The hydrogel lenses have been functionalized with HA(Hyaluronic Acid) using two different methods: construction of an IPN(Interpenetrating Polymer Networks) and formation of CCB(Chemical Covalent Bonding). The lysozyme adsorption and physical properties such as optical transmittance and water content of the hydrogel lenses have been investigated in order to determine whether method is suitable for the application potentials in contact lens industry. **Methods:** HA have been added to the hydrogel lenses prepared in the Lab using the two different method, e.g. IPN and CCB. The optical transmittance was measured in the wavelength range of 300~800 nm. The water content was measured by the gravimetric method using 0.9% NaCl saline solution. The amounts of adsorbed lysozyme on the contact lenses was analyzed by HPLC after incubation for 12h in artificial tears. **Results:** The water content of the HA added hydrogel contact lenses was increased, and the lens made by IPN method showed higher water content than the lens made by CCB method. The optical transmittance was over 90% both before and after addition of HA. Comparing the lysozyme adsorption reduction ratio, contact lens manufactured by IPN method was 60.0%, and the lens made by CCB method was 40.4%. **Conclusions:** CCB method is appropriate to distribute the functional material evenly throughout the lens, whereas IPN method is effective for the case of giving the functionality on the lens surface without phase separation.

Key words: Contact lens, Hyaluronic acid, IPN, Chemical Covalent Bonding, Lysozyme adsorption, Water contents, Hydrogel