

## Poly(2-hydroxyethylmethacrylate)와 아미노산과의 상호작용에 관한 FT-IR과 Raman 분광학적 연구(II)

†김 의 락 · 정 봉 진 · 정 성 옥 · 민 경 섭 · \*이 명 재 · 남 원 모 · 박 혜 정  
계명대학교 자연과학대학 화학과, \*가톨릭대학교 의과대학 자연과학교실

### FT-IR and Raman Spectroscopy for the Interaction between Poly(2-hydroxyethylmethacrylate) and Amino Acids.

Ui-Rak Kim<sup>†</sup>, Bong-Jin Jeong, Sung-Uk Jeong, Kyung-Sub Min,  
Myung-Jae Lee\*, Won-Mo Nam, and Hae-Jung Park

Department of Chemistry, Keimyung University, Taegu 704-701, Korea

\*Dept. of Natural Science, Medical College, The Catholic University of Korea, Seoul 137-701, Korea

#### ABSTRACT

The interaction between poly(2-hydroxyethylmethacrylate)(poly(HEMA)) which is a material of contact lens containing approximately 45% water and water soluble amino acids (alanine, arginine, glycine, lysine, methionine, proline, and serine) was investigated by using FT-IR and Raman spectroscopy. The results revealed that arginine and lysine had the strongest interaction with poly(HEMA) among amino acids. The interaction depended on the quantity of charges on amino acids. They interacted predominately with hydroxyl groups in poly(HEMA).

#### 서 론

Poly(2-hydroxyethylmethacrylate), poly(HEMA)는 1960년에 Wichterle와 Lim(1-2)이 처음으로 생체적합성 합성물질임을 발표한 이래, 의료용 고분자 물질로써의 이용가능성에 대하여 광범위한 연구가 진행되고 있다(3-10).

Poly(HEMA)는 소수성인  $\alpha$ -메틸기와 주사슬에서 떨어진 위치에 친수성의 히드록시기를 가지므로, 소수성과 친수성을 동시에 가지는 양쪽성(ampho-  
teric) 수화겔이다. 그리고 구조의 차이에 의하여 isotactic(11-13), syndiotactic(14) 그리고 hetero-

tactic(15) poly(HEMA)로 나눌 수 있고, 이들의 tacticity는 합성법에 따라 달라진다. Azobismethylisobutyrate(AMIB)를 개시제로 이용하는 자유라디칼 중합방법으로 합성된 poly(HEMA) 분자내에는 syndiotactic 구조가 65퍼센트, heterotactic 구조가 35퍼센트 그리고 1퍼센트 미만의 isotactic 구조를 포함하고 있다(15).

또한 물에 의하여 팽윤되며, 구조내에 많은 물을 함유할 수 있으므로 Jhon(16-17)은 이들 물을 3가지 종류로 나눌 수 있다고 제안 하였다. 즉 poly(HEMA)내의 친수성기에 강하게 붙어 있는 bound water와 poly(HEMA)의 분절사이의 소수성기에 붙어 있는 interfacial water와 수용액 속에 존재하는 bulk water와 유사한 free water로 구분하였다.

† Corresponding Author

또  $-15^{\circ}\text{C}$ 에서  $24^{\circ}\text{C}$ 까지의 온도범위에서 40퍼센트 물을 함유하는 poly(HEMA)내에는 bound water가 20퍼센트, interfacial water가 11.7퍼센트 그리고 bulk water가 8.3퍼센트 비로 존재한다고 발표하였다(18). 그러므로 40퍼센트 중 30퍼센트의 물이 poly(HEMA)와의 상호작용으로 함유되어 있다.

이와 같은 특성을 가진 poly(HEMA)는 contact lens 재료물질로 사용되어진다. 단백질 구성성분인 아미노산들은 구조나 크기 그리고 물리화학적 성질이 모두 다르므로 본 연구에서는 poly(HEMA)겔과 이들과의 상호작용이 어떻게 달라지는가를 FT-IR과 Raman 분광법으로 설명하고자 하였다.

### 시약 및 기기

본 실험에서 사용한 아미노산(alanine, arginine, glycine, lysine, methionine, proline, serine)은 Sigma Chemical Co.(St. Louis, MO, 미국) 제품을 구입하여 사용하였고, 2-hydroxyethylmethacrylate (HEMA)는 Polyscience Inc.(Warrington, PA, 미국)에서 구입하여 불순물을 제거하기 위하여 증류장치 내에 넣어,  $72^{\circ}\text{C} \sim 75^{\circ}\text{C}$ 에서, 5torr로 감압증류한 후, 증류수와 1:1로 물혀 alumina column을 통해 분류하였다. 이것을 헥산(hexane)으로 3회 추출하여 버리고, 무수  $\text{MgSO}_4$ 로 수분을 제거한 후 사용하였다. 기타 시약은 Sigma와 Aldrich(Milwaukee, WI, 미국) 제품의 일급 및 특급시약을 사용하였다. FT-IR 스펙트럼은 AT1 Mattson Research Series 1(Mattson사, 미국)을 사용하여 측정하였고, Raman 스펙트럼은 75mW  $\text{Ar}^+$  laser를 광원으로 PMT(photomultiplier tube)가 부착된 SPEX 1403 double spectrometer(SPEX사, 미국)로 측정하였다.

### 실 험

정제된 HEMA monomer 0.55mL와 증류수 0.45mL 그리고 ethylene glycol 0.1mL 비율로 혼합하고, 개시제인 AMIB를 0.01M의 농도로 넣은 다음, 용액에 녹아 있는 기체를 진공펌프로 30분간 뽑아낸 혼합용액을 모세관에 넣어, torch로 양쪽을 가열하여 봉합하였다. 이를  $60^{\circ}\text{C}$ 로 고정된 건조기(dry oven) 속에 넣어, 24시간 중합시켜 제조된 poly(HEMA)겔을 표준물질로 사용하였다.

그리고 증류수 대신 pH를 4, 7, 10으로 액성을

변화시킨 수용액을, 위와 같은 비율로 혼합한 후, 세 종류의 혼합용액에 glycine, alanine, serine, arginine, proline, lysine, methionine 등 각각의 아미노산을 1퍼센트씩의 농도가 되도록 녹인 후, 다시 pH를 4, 7, 10으로 맞춘 다음, 기체를 뽑아 내고, 모세관 속에 넣어 봉합한 후,  $60^{\circ}\text{C}$ 에서 24시간 중합시켜 제조된 poly(HEMA)를 FT-IR과 Raman 분광기 측정용 물질로 사용하였다.

### 결과 및 고찰

단백질의 구성물질인 아미노산은 카르복시기(carboxyl group)와 아미노기가  $\alpha$ -탄소원자에 결합( $^-\text{OOC}-\text{CHR}-\text{NH}_3^+$ ) 되어 있고, 결사슬(소위 R-기)의 종류에 따라 중성용액에서 alanine, proline, methionine과 같은 비극성기를 가지는 소수성 아미노산, glycine과 serine같이 극성이지만 전하를 띠지 않은 아미노산 그리고 lysine과 arginine같이 양전하를 가진 극성 아미노산 등으로 구분된다. Aspartic 산과 glutamic 산같이 중성용액에서 음전하를 가지는 아미노산도 있지만 물에 대한 용해도가 적기 때문에 본 연구에서는 사용하지 않았다.

또한 아미노산은 중성용액에서 양쪽성이온(zwitterionic,  $^-\text{OOC}-\text{CHR}-\text{NH}_3^+$ )이며, 산성용액에서는 양이온(cation,  $\text{HOOC}-\text{CHR}-\text{NH}_3^+$ )이고, 염기성용액에서는 음이온(anion,  $^-\text{OOC}-\text{CHR}-\text{NH}_2$ )으로 변하므로, 전자이동으로 쌍극자능률(dipole moment)이 달라진다. 이 때 존재하는 이온종과 상대적인 양을 Henderson-Hasselbalch 식  $\left( \text{pH} = \text{pKa} + \log \frac{[\text{A}^-]}{[\text{HA}]} \right)$ 을 사용하여 pH 4, 7, 10에서 계산하였으며, 그 결과는 Table 1, 2, 3에서와 같다. 그러므로 poly(HEMA)와의 상호작용력에는 차이가 생기게 되고, 그 안정성은 각 아미노산에 따라 모두 다를 것이다.

Poly(HEMA)와 아미노산은 구조상으로 볼 때 수소결합에 의한 상호작용이 가장 크게 영향을 미칠 것으로 예상되므로, 이들 간에 수소결합 형성을 측정하기 위하여 FT-IR과 Raman분광기를 사용하여 poly(HEMA)와 아미노산과의 상호작용을 조사하였다.

G. C. Pimentel과 A. L. McClellan(19)에 의하면 IR과 Raman스펙트럼이 비결합 X-H의 늘림띠(stretching band)는 비교적 뾰족하지만 수소결합, X-H...Y이 형성되면, 수소늘림띠는 낮은 파수(lower wavenumber)쪽으로 이동하고 더 넓게 퍼

Table 1. The Percentages of the Anionic, Zwitterionic and Cationic Species Existing in the Solutions at pH 4.

Net charge Amino acid	Percentage of species as				pKa*(22)			pI
	Anion	Zwitterion	Cation		pKa <sub>1</sub>	pKa <sub>2</sub>	pKa <sub>3</sub>	
	-1	0	+1	+2				
Ala	$1.96 \times 10^{-4}$	98.04	1.96		2.35	9.69		6.02
Met	$6.19 \times 10^{-4}$	98.04	1.96		2.28	9.21		5.75
Pro	$2.49 \times 10^{-5}$	99.01	0.99		1.99	10.60		6.10
Gly	$2.46 \times 10^{-4}$	98.04	1.96		2.34	9.60		5.98
Ser	$6.21 \times 10^{-4}$	98.04	1.56		2.21	9.15		5.68
Arg	0	$9.84 \times 10^{-4}$	98.44	1.56	2.17	9.04	12.48	10.76
Lys	0	$9.84 \times 10^{-4}$	98.44	1.56	2.18	8.95	10.53	9.74

\* pKa<sub>1</sub>(α-carboxyl), pKa<sub>2</sub>(α-amino), pKa<sub>3</sub>(side chain).

Table 2. The Percentages of the Anionic, Zwitterionic and Cationic Species Existing in the Solutions at pH 7.

Net charge Amino acid	Percentage of species as				pKa*(22)			pI
	Anion	Zwitterion	Cation		pKa <sub>1</sub>	pKa <sub>2</sub>	pKa <sub>3</sub>	
	-1	0	+1					
Ala	0.20	99.80	$1.99 \times 10^{-3}$		2.35	9.69		6.02
Met	0.63	99.37	$1.98 \times 10^{-3}$		2.28	9.21		5.75
Pro	$2.511 \times 10^{-2}$	99.97	$0.99 \times 10^{-3}$		1.99	10.60		6.10
Gly	0.25	99.75	$1.99 \times 10^{-3}$		2.34	9.60		5.98
Ser	0.63	99.37	$1.57 \times 10^{-3}$		2.21	9.15		5.68
Arg	$3.13 \times 10^{-6}$	0.99	99.01		2.17	9.04	12.48	10.76
Lys	$3.13 \times 10^{-4}$	0.99	99.01		2.18	8.95	10.53	9.74

\* pKa<sub>1</sub>(α-carboxyl), pKa<sub>2</sub>(α-amino), pKa<sub>3</sub>(side chain).

Table 3. The Percentages of the Anionic, Zwitterionic and Cationic Species Existing in the Solutions at pH 10.

Net charge Amino acid	Percentage of species as				pKa*(22)			pI
	Anion	Zwitterion	Cation		pKa <sub>1</sub>	pKa <sub>2</sub>	pKa <sub>3</sub>	
	-1	0	+1					
Ala	66.61	33.39	$6.66 \times 10^{-7}$		2.35	9.69		6.02
Met	86.32	13.68	$2.73 \times 10^{-7}$		2.28	9.21		5.75
Pro	20.08	79.92	$7.99 \times 10^{-7}$		1.99	10.60		6.10
Gly	71.53	28.47	$5.68 \times 10^{-7}$		2.34	9.60		5.98
Ser	86.32	13.68	$2.17 \times 10^{-7}$		2.21	9.15		5.68
Arg	0.29	90.65	9.06		2.17	9.04	12.48	10.76
Lys	22.33	70.61	7.60		2.18	8.95	10.53	9.74

\* pKa<sub>1</sub>(α-carboxyl), pKa<sub>2</sub>(α-amino), pKa<sub>3</sub>(side chain).

지며 또 IR스펙트럼은 더 강하게 나타난다. 그러므로 수소결합의 형성과 끊어짐의 확인은 스펙트럼의 이동, 띠나비(band width)와 띠세기(band intensity)로 알 수 있다. 그리고 스펙트럼의 이동은 X...Y의 거리에도 관계하는데 거리가 가까우면 가까울수록 이동이 커진다(20-21).

물을 흡수한 poly(HEMA)와 같은 수화젤은 망상구조를 하고 있고(23-24), 이들 구조내 물은 3가지로 구별되어진다(16-17). 그러므로 pH 변화에 따라 구조가 달라진 아미노산을 포함한 poly(HEMA)를 충분히 건조시키면 poly(HEMA)내의 interfacial water나 free water는 쉽게 증발될 것이지만 bound water는 쉽지 않기 때문에 액성은 어느 정도 유지하므로 아미노산의 구조도 변하지 않을 것이다. 그리고 bound water마저 증발할 때에는 poly(HEMA)의 구조가 단단히 굳어져 있고 또 아미노산과 poly(HEMA)사이의 거리가 매우 가까이 접근되어 있으므로, poly(HEMA)와 아미노산의 작용으로 물의 감소로도 구조변화를 하지 않고 poly(HEMA)와 작용을 할 수 있을 것이다.

이는 poly(HEMA)와 아미노산 간의 상호작용을 TGA(thermogravimetric analysis)와 DSC(differential scanning calorimetry)로 Kim(25) 등이 측정된 결과를 보면 250℃에서 전체 무게 중 30퍼센트가 감소하였으므로 45퍼센트의 물을 포함한 poly(HEMA) 내에는 250℃ 이상의 온도에서도 상당량의 물을 함유하고 있으므로 가능하다.

정제된 HEMA monomer 0.55mL와 pH 7로 조정된 증류수 0.45mL 그리고 ethylene glycol 0.1mL 비율로 혼합하고, 개시제인 AMIB를 0.01M의 농도로 넣은 다음, 용액에 녹아 있는 기체를 진공펌프로 30분간 뽑아낸 혼합용액을 모세관에 넣어 torch로 양쪽을 가열하여 봉합하였다. 이를 60℃로 고정된 건조기 속에 넣어 24시간 중합시켜 제조된 poly(HEMA) 겔을 표준물질로 하여 FT-IR 스펙트럼 측정을 하였다.

Poly(HEMA)의 구조가  $-(\text{CH}_2-\overset{\text{CH}_3}{\underset{\text{COOCH}_2\text{CH}_2\text{OH}}{\text{C}}})_n$  이므로 Fig. 1과 같이 측정된 FT-IR 스펙트럼과 비교하여 보면, OH,  $-\text{CH}_2-\text{OH}$ 의 CH, C=O, 그리고  $-\text{CH}_2-\overset{\text{CH}_3}{\underset{\text{COO-}}{\text{C}}}-\text{CH}_2-$ 의 CH<sub>3</sub>의 늘림진동수(stretching frequency)는 각각 3419.08cm<sup>-1</sup>, 2948.23cm<sup>-1</sup>, 1722.03cm<sup>-1</sup> 그리고 1467.31cm<sup>-1</sup>로 나타났다. HEMA monomer에 대

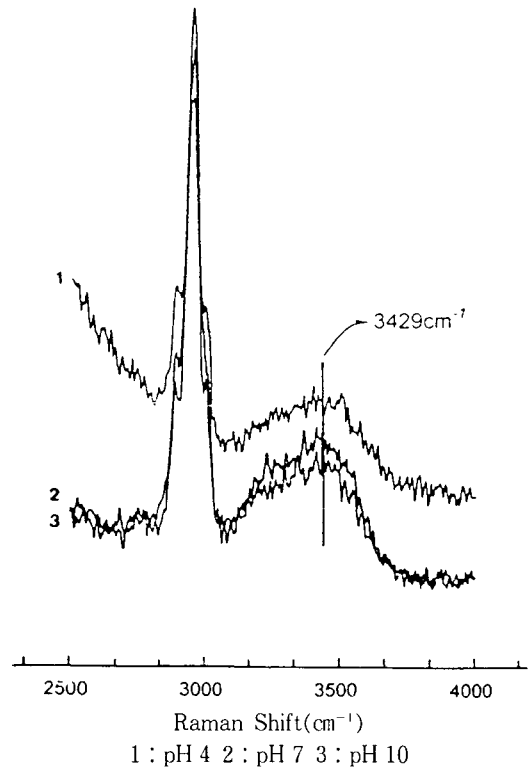


Fig. 1. The Raman spectrogram of poly(HEMA) at pH 4, pH 7 and pH 10.

한 FT-IR 스펙트럼을 측정하지 못하였으므로 poly(HEMA) 내의 각 부위들의 상호작용과 비교하여 볼 수 없으나 poly(HEMA)가 물을 흡수하여 젤이 되면 분자내에는 망상구조를 가진다. 여기에 poly(HEMA) 겔 표준물질 제조시 아미노산(alanine, arginine, glycine, lysine, methionine, proline, serine)을 각각 1퍼센트씩 넣어 그들이 poly(HEMA) 속에 들어감으로써 각 특성에 어떤 영향을 미치는가를 FT-IR과 Raman 스펙트럼을 조사하여 봄으로써 어느 아미노산이 가장 크게 작용하는가를 알 수 있고, 또 용액의 pH를 변화시켰을 때 pH 변화에 따라 아미노산의 이온종과 양의 차이가 생기므로써 상호작용의 크기가 달라질 것이다.

B. R. Ratner는 Urea(NH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>)를 poly(HEMA)에 작용시킬 때 분자내에서 수소결합 형성이 가능한 히드록시기와 카르보닐기 중 임체장애 효과로 카르보닐기와는 형성하지 않는 것으로 보고하고 있다(26).

Table 1, 2, 3에서와 같이 Henderson-Hasselbalch

Table 4. FT-IR Absorption Frequencies of HEMA Containing 7 kinds of Amino Acids at pH 4.

(Unit : cm<sup>-1</sup>)

	-OH	-CH <sub>2</sub> -OH (CH 늘림진동수)	-C=O	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\   \\ -\text{CH}_2-\text{C}-\text{CH}_2- \\   \\ \text{COO}- \\ (\text{CH}_3 \text{ 늘림진동수}) \end{array}$
HEMA	3412	2948	1720	1467
HEMA	3420	2951	1724	1468
+ Arg	(+8)	(+3)	(+4)	(+1)
HEMA	3412	2952	1724	1468
+ Ser	(0)	(+4)	(+4)	(+1)
HEMA	3426	2947	1722	1466
+ Lys	(+14)	(-1)	(+2)	(-1)
HEMA	3417	2950	1723	1469
+ Ala	(+5)	(+2)	(+3)	(+2)
HEMA	3413	2951	1722	1467
+ Gly	(+1)	(+3)	(+2)	(0)
HEMA	3411	2951	1723	1467
+ Met	(-1)	(+3)	(+3)	(0)
HEMA	3416	2950	1722	1467
+ Pro	(+4)	(+2)	(+2)	(0)

\* Numbers in parenthesis are spectral shifts with respect to HEMA.

식으로 계산하여 얻어진 각 pH 내에 존재하는 아미노산의 이온종과 양에 따른 영향을 FT-IR 스펙트럼으로 측정된 결과는 Table 4, 5, 6과 같다. 이 때 작용부위는 주로 히드록시기에서 일어났으며, 카르보닐기에서도 어느 정도 일어남을 알 수 있었다.

Ala, Pro, Met, Gly, Ser의 등전점(isoelectric point, pI)은 pH 6 근처이고 Arg과 Lys은 pH 10 부근이므로 pH 4 용액에서 존재하는 아미노산의 이온종과 존재량들이 poly(HEMA)와 상호작용을 함으로써 지금까지 poly(HEMA) 분자 내의 히드록시기들이 수소결합으로 망상구조를 하고 있던 것이 끊어짐으로 흡수진동수가 high field쪽으로 shift한다. 증가 진동수는 pI가 10 부근이고 cation의 존재량이 많은 Lys, Arg이 크게 나타나고, Zwitterion의 존재량은 많지만 pI가 6 부근인 Pro, Ser, Ala, Gly, Met은 pH 4 용액이기 때문에 전자이동이 적어 Lys과 Arg보다는 증가 진동수가 적었다.

pH 7에서는 Table 2와 같이 모든 아미노산이 양

Table 5. FT-IR Absorption Frequencies of HEMA Containing 7 kinds of Amino Acids at pH 7.

(Unit : cm<sup>-1</sup>)

	-OH	-CH <sub>2</sub> -OH (CH 늘림진동수)	-C=O	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\   \\ -\text{CH}_2-\text{C}-\text{CH}_2- \\   \\ \text{COO}- \\ (\text{CH}_3 \text{ 늘림진동수}) \end{array}$
HEMA	3419	2948	1722	1467
HEMA	3428	2950	1723	1467
+ Arg	(+9)	(+2)	(+1)	(0)
HEMA	3415	2948	1722	1466
+ Ser	(-4)	(0)	(0)	(-1)
HEMA	3431	2950	1723	1468
+ Lys	(+12)	(+2)	(+1)	(+1)
HEMA	3421	2952	1724	1468
+ Ala	(+2)	(+4)	(+2)	(+1)
HEMA	3422	2951	1724	1468
+ Gly	(+3)	(+3)	(+2)	(+1)
HEMA	3423	2952	1724	1468
+ Met	(+4)	(+4)	(+2)	(+1)
HEMA	3423	2950	1722	1467
+ Pro	(+4)	(+2)	(0)	(0)

쪽성 이온으로써 존재하는 양이 거의 대부분이고, 이 중 Lys와 Arg은 side-chain이 모두 cation으로 존재하므로 영향이 크고 다른 아미노산은 pI 영향과 존재량 비로 보아서, Table 5와 같이 그 영향이 크지 않음을 볼 수 있었다. pH 10에서는 Table 3과 같이 각 아미노산마다 전하를 가지는 이온들의 양의 증가로 poly(HEMA)내 망상구조의 끊어짐이 심하여 Table 6과 같이 모든 아미노산들이 high field쪽으로 이동하였다. 그러므로 pH 10에서, 각 아미노산이 poly(HEMA)와의 상호작용력이 커짐을 알 수 있다. 그러나 FT-IR은 물이 존재할 때 측정이 어려우므로 지금까지 얻은 결과를 확인하기 위하여, poly(HEMA)와 아미노산과의 상호작용을 물이 있어도 가능한 Raman 분광기로 측정된 결과를 보면, pH가 4, 7, 10인 수용액을 포함한 poly(HEMA)의 Raman 스펙트럼을 Fig. 1에서 볼 때, pH 4에서 띠나비가 가장 크고 pH 7과 pH 10에서는 비슷하였다. 이는 pH 4에서는 proton(H<sup>+</sup>)의 공급으로 poly(HEMA) 내의 히드록시기가 영향을 받아 띠나비가 커지고 broad하게 되었다.

pH 4에서 7가지의 아미노산을 각각 넣어

**Table 6. FT-IR Absorption Frequencies of HEMA Containing 7 kinds of Amino Acids at pH 10.**

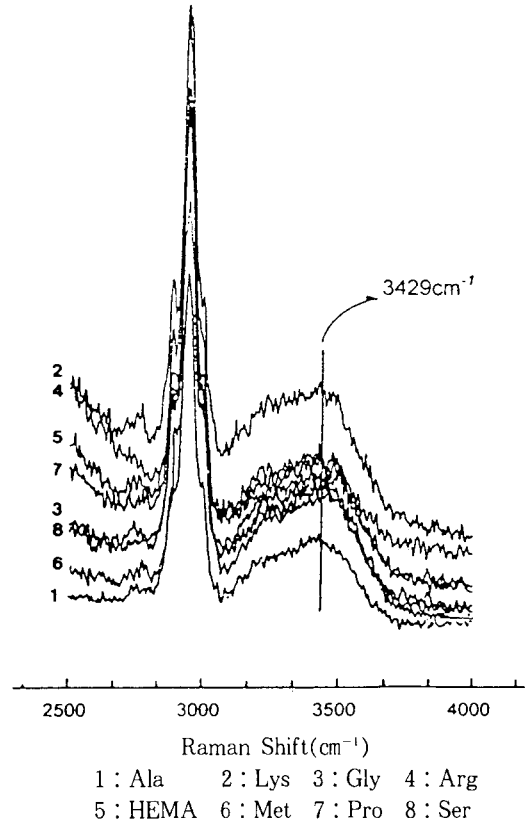
(Unit :  $\text{cm}^{-1}$ )

	-OH	-CH <sub>2</sub> -OH (CH 늘림진동수)	-C=O	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\   \\ -\text{CH}_2-\text{C}-\text{CH}_2- \\   \\ \text{COO}^- \\ (\text{CH}_3 \text{ 늘림진동수}) \end{array}$
HEMA	3416	2946	1714	1465
HEMA	3421	2950	1723	1467
+ Arg	(+5)	(+4)	(+9)	(+2)
HEMA	3424	2952	1721	1469
+ Ser	(+8)	(+6)	(+7)	(+4)
HEMA	3420	2952	1720	1468
+ Lys	(+4)	(+6)	(+6)	(+3)
HEMA	3422	2953	1721	1469
+ Ala	(+6)	(+7)	(+7)	(+4)
HEMA	3420	2952	1722	1468
+ Gly	(+4)	(+6)	(+8)	(+3)
HEMA	3424	2950	1722	1468
+ Met	(+8)	(+4)	(+8)	(+3)
HEMA	3418	2950	1721	1466
+ Pro	(+2)	(+4)	(+7)	(+1)

poly(HEMA)를 합성한 후 Fig. 2와 같이 Raman 스펙트럼을 찍어 보면  $3429\text{cm}^{-1}$ 에서 최대 흡광도가 나오고 Lys이 가장 넓은 띠나비를 가진다. 이는 Henderson-Hasselbalch 식으로 계산한 값과 비교하여 볼 때, pH 4에서 가장 많은 이온종을 가지므로 poly(HEMA)와의 상호작용이 큼을 알 수 있고, 그 다음이 Arg이다.

pI를 보면 Arg은 10.76이고 Lys은 9.74이나 pH 4의 용액에서 일어난 현상으로 볼 때, pI가 1차이로 써는 이온종의 양에 크게 영향을 미치지 않는 것으로 예상된다. 그 외에는 비슷한데 이는 이온종의 존재량과 pI의 값이 비슷하므로 상호작용도 비슷하게 나타난 것으로 생각된다.

pH 7에서는 Fig. 3과 같이  $3440\text{cm}^{-1}$ 에서 최대 흡광도가 나오며 pH 4에서 보다 high field로 shift 한 것은 H<sup>+</sup>의 양이 적어졌으므로 poly(HEMA) 분자간의 상호작용이 적고 망상구조가 깨어졌기 때문에 일어난 것이다. 각 아미노산 중 Arg이 가장 큰 띠나비가 생기고 다음이 Lys이다. 양이온 존재비는 비슷하나 pI의 차이가 있으므로 쌍극자 능력의 차이



**Fig 2. The Raman spectrogram of poly(HEMA) containing 7 kinds of amino acids at pH 4.**

로 나타난 결과이며, 그 외의 아미노산은 것의 비슷하다. 이는 계산된 이온종의 양과 거의 일치함을 볼 수 있다.

pH 10에서는 Fig. 4와 같이  $3451\text{cm}^{-1}$ 에서 최대 흡광도가 나오는 것은 히드록시 이온(OH<sup>-</sup>)의 다량 존재로 poly(HEMA)내의 망상구조의 변화로 인하여 high field로 shift하였고, Ser, Met, Ala 순으로 뒤은 지금까지 논의된 것과 같이 계산된 이온종의 양과 pI 값의 차이로서 생긴 결과이다. 이 때 다른 pH와는 달리 히드록시기 외의 각 부위에도 영향을 미친다는 것을 볼 수 있다. 그러나 이는 아미노산의 영향도 있겠지만 오히려 히드록시 이온(OH<sup>-</sup>)의 영향이 더 크게 작용한 것으로 생각된다. 그러므로 지금까지 조사한 결과를 보면 poly(HEMA)와 아미노산과의 상호작용력은 이온종의 종류와 양에 의존하며, 이는 pI 값에도 의존함을 알 수 있다.

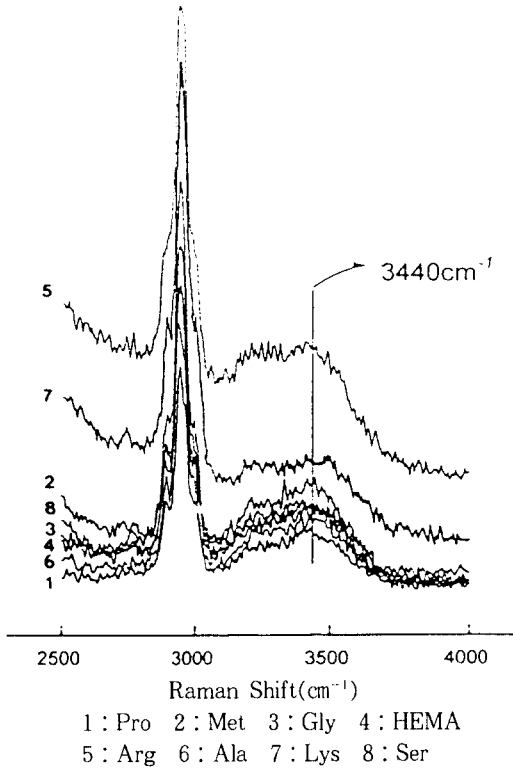


Fig 3. The Raman spectrogram of poly(HEMA) containing 7 kinds of amino acids at pH 7.

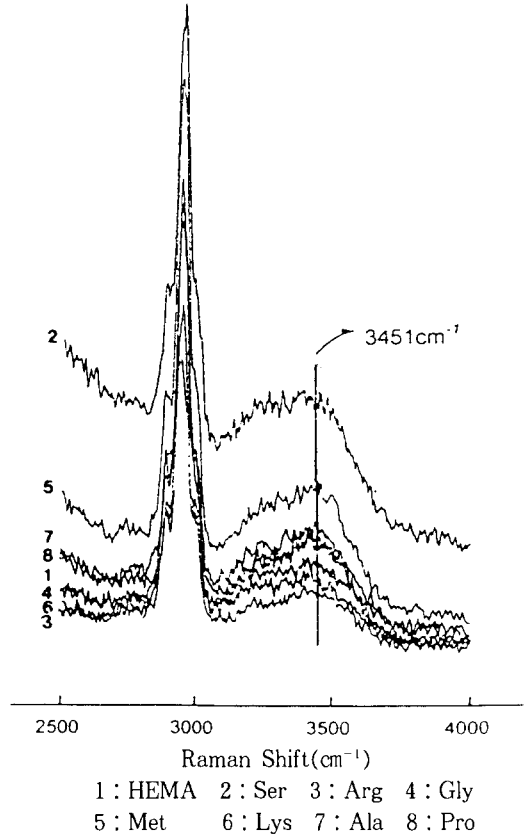


Fig 4. The Raman spectrogram of poly(HEMA) containing 7 kinds of amino acids at pH 10.

결론

Poly(HEMA) 겔과 단백질과의 상호작용을 규명하기 위하여 poly(HEMA) 합성시 단백질의 구성성분인 아미노산(alanine, arginine, glycine, lysine, methionine, proline, serine)을 1 퍼센트 넣고, pH를 변화시켜 가며 그들간의 상호작용을 FT-IR과 Raman 분광법으로 측정된 결과, Henderson-Hasselbach 식에 의하여 계산된 이온종과 존재량에 비례하여 변화였다. FT-IR 스펙트럼은 큰 shift가 나지 않았으나 경향성은 보였고, Raman 스펙트럼은 각 pH에 따라 아미노산의 작용력의 차이가 생겼다. 이때 작용부위는 히드록시기에서 주로 일어났으며, 다른 문헌과 달리 카보닐기에서도 어느 정도 작용함을 알 수 있었다. Raman 스펙트럼과 FT-IR 스펙트럼 분광법으로 측정된 결과 7가지 아미노산 중 pH 4와 pH 7에서는 Arg과 Lys의 작용이 가장 크고, pH 10에서는 Ser, Met, Ala이 큼을 알 수 있었다.

요약

Contact lens 재료물질로 사용되어지는 poly(2-hydroxyethylmethacrylate), poly(HEMA)는 물을 약 45퍼센트 포함하여 수화겔(hydrogel)을 만들 수 있는 고분자 물질이다. Poly(HEMA)와 단백질의 구성물질인 수용성 아미노산(alanine, arginine, glycine, lysine, methionine, proline, serine)과의 상호작용력과 작용위치에 대한 실험을 FT-IR과 Raman 분광법을 사용하여 행한 결과 Arg과 Lys이 가장 크게 작용하였고, 작용크기는 각 pH에 따라 존재하는 이온종과 양에 관계되며, 작용위치는 주로 poly(HEMA) 내에 존재하는 히드록시기에서 일어났다.

감사

본 연구는 계명대학교 비사연구비와 한국산학협동

재단 연구비로 이루어졌으며, 미광콘택트렌즈 김쌍기 사장에게 고마움을 전합니다.

### 참고 문헌

1. O. Wichterle and D. Lim(1960), *Nature*, **185**, 117.
2. O. Wichterle and D. Lim(March 28, 1961), *U. S. Patent* 2,976,576.
3. B. D. Ratner and A. S. Hoffman(1976), *Hydrogels for Medical and Related Applications*(J. D. Andrade ed.), ACS Symposium Series 31, p. 1, Amer. Chem. Soc., Washington, D. C.
4. D. G. Murray and J. S. Dow(1975), *J. Biomed. Mater. Res.*, **9**, 699.
5. M. Tollar, M. Stol, and K. Kliment(1969), *J. Biomed. Mater. Res.*, **3**, 305.
6. P. Nathan, E. J. Law, B. G. MacMillan, and D. F. Murphy(1976), *Trans. Amer. Soc. Artif. Int. Organs*, **XXII**, 30.
7. B. S. Levowitz, J. N. LaGuerre, W. S. Calem, F. E. Gould, J. Scherer, and H. Schoenfeld (1968), *Trans. Amer. Soc. Artif. Int. Organs*, **XIV**, 30.
8. P. Spacek and M. Kubin(1973), *J. Biomed. Mater. Res.*, **7**, 201.
9. M. F. Fefojo(1969), *J. Biomed. Mater. Res.*, **3**, 333.
10. M. F. Refojo(1972), *Survey of Opthamol.*, **16**, 233.
11. T. F. Fox and H. W. Schnecko(1962), *Polymer*, **3**, 575.
12. W. E. Goode, F. H. Owens, R. P. Fellman, W. H. Snyder, and J. E. More(1960), *J. Polymer Sci.*, **46**, 317.
13. C. E. H. Bown and A. Ledwith(1962), *Quart. Rev.*(London), **16**, 361.
14. T. G. Fox, W. E. Goode, S. Gratch, C. M. Huggett, J. F. Kincaid, A. Spell, and J. D. Stroupe(1985), *J. Polymer Sci.*, **31**, 173.
15. B. D. Ratner and A. S. Hoffman(1979), *Hydro-gels for Medical and Related Applications*(J. D. Andrade ed.) ACS Symposium Series 31, p. 147, Amer. Chem. Soc., Washington, D. C.
16. M. S. Jhon and J. D. Andrade(1973), *J. Biomed. Mater. Res.*, **7**, 509.
17. H. B. Lee, J. D. Andrade, and M. S. Jhon (1974), *Polym. Prepr. Amer. Chem. Soc. Div. Polym. Chem.*, **15**, 705.
18. H. B. Lee, M. S. Jhon, and J. D. Andrade (1975), *J. of Colloid and Interface Science*, **5** (2), 225.
19. G. C. Pimentel and A. L. McCellan(1960), *The Hydrogen Bond*, Freeman, San Francisco, California.
20. R. C. Lord and R. E. Merrifield(1953), *J. Chem. Phys.*, **21**, 166.
21. K. Nakamoto, M. Margoshes, and R. E. Rundle(1955), *J. Amer. Chem. Soc.*, **77**, 6480.
22. F. B. Armstrong(1989), *Biochemistry*, 3rd ed., Oxford University Press Inc., New York.
23. P. J. Flory(1953), *Principles of Polymer Chemistry*, Cornell University Press, Ithaca, New York.
24. I. Prigogine, A. Belleman, and A. Englert-Chowles(1956), *J. Chem. Phys.*, **24**, 518.
25. U. R. Kim, B. J. Jeong, S. U. Jeong, K. S. Min, M. J. Lee, W. M. Nam, and H. J. Park, submitted to *Journal of the Korean Chemical Society*.
26. B. D. Ratner and I. F. Miller(1972), *J. of Polymer Science Part A-1*, **10**, 2425.