

화상 치료용 개질 Gelatin-Poly(vinyl alcohol)의 성질

김 계 용 · 민 동 선 · 정 연 석

한양대학교 공과대학 공업화학과

(1988년 5월 2일 접수)

Properties of Modified Gelatin-Poly(vinyl alcohol) for Wound Covering Material

Kea-Yong Kim, Dong-Sun Min, and Yeon-Seok Chung

Dept. of Industrial Chemistry, College of Engineering, Hanyang University, Seoul 133-791, Korea

(Received May 2, 1988)

요 약 : Gelatin-poly(vinyl alcohol) complex에 *N*-vinyl pyrrolidone을 graft시켜 물에 녹지 않는 물질을 합성하여 인공피부로서의 사용가능성을 검토하였다. 함유율은 77~88%였으며 gelatin의 함유량이 클수록 증가하는 경향을 나타내었다. 인장강도는 건조시에 240 kg/cm²이며 습윤시는 2~4 kg/cm²으로 감소하였다. 신장율은 건조시 5%이었으나 습윤시는 220~350%로 증가하였다. 산소투과성은 2.2~4.5×10⁻⁷cm³(STP) cm/cm²·sec·cmHg로 우수하였으며 수증기투과성은 0.4g/cm²/day였다. 생체분해 속도는 초기에 빨랐으나 시간의 증가와 함께 서서히 감소하여 2~8일 이후에는 거의 평형상태에 도달하였다. 분해율은 gelatin의 함유량이 많을수록 증가하였으며 40~70%가 분해된 상태에서도 막의 형태를 그대로 유지하였다. Silver sulfadiazine에 의한 세균억제 실험결과, 초기 12시간에 70~80%의 항균제 방출로 충분한 살균효과를 나타내었으며 잔여 항균제의 서방성으로 사용기간중에 충분한 항균효과를 가져올 것으로 생각된다.

Abstract : Water-insoluble copolymer was synthesized by grafting *N*-vinyl pyrrolidone on gelatin-PVA complex for the possibility of artificial skin-substitute. The water content of copolymer ranged 77~88% and increased with gelatin contents. The tensile strength of synthesized film was 240 kg/cm² in dry state and 2~4 kg/cm² in wet state. Elongation was 5% in dry state and increased to 220~350% when the material soaked the water. The oxygen permeability of 2.2~4.5×10⁻⁷cm³(STP) cm/cm²·sec·cmHg was considered to be reasonably good. Water vapor transmission rate showed 0.4g/cm²/day, greater than that for a desired artificial skin. The rate of biodegradation was fast initially and reached to an equilibrium state after 2~8 days, and increased with gelatin contents. The shape of membrane was sustained even after 40~70% of degradation. The modified gelatin-PVA having antimicrobial (silver sulfadiazine) was prepared to evaluate the effect of the suppression of bacterial proliferation. The release rate of first 12 hours was 70~80%, meaning that this material was showed the effective suppression of bacterial proliferation. The residual antimicrobial

was believed to prevent the infection of bacteria during wound healing. The present material seems to be suitable for wound dressing.

서 론

인공피부는 크게 두가지 용도에 사용되고 있다.¹⁻³ 첫째 용도는 상처부위에 잘 부착하여 세균감염을 억제하고 적당한 수증기투과성을 갖추면서 단기간 사용하는 것이며, 둘째 용도는 장기간 사용하는 것으로 단기간용 인공피부가 지나야 할 물성을 모두 갖추며 이식후 항원성 및 독성을 일으키지 않고 상처부위에서 생분해되면서 치료를 더욱 촉진시키는 것이다.

지금까지 연구되어온 인공피부 재료는 많이 있으나 생체와의 거부반응, 기계적 강도, 밀착성 등의 여러가지 문제점으로 인공피부로서의 충분한 기능을 발휘하지 못하고 있다.⁴ 현재 연구개발이 활발히 진행되고 있는 것으로는 silicone 박막과 collagen-glycosaminoglycan으로 된 bilayer 형태¹, gelatin foam 형태⁵, collagen에 피부조직세포를 접종, 배양시킨 living skin 형태⁶, polyurethane과 polypeptide로 된 bilayer 형태⁷, 등이 있으며 상품으로는 Biobrane[®], Ivalon[®], Op-site[®], Meipac[®] 등이 있다.

본 연구에서는 동물의 생체조직을 이루는 collagen을 가수분해하여 얻은 gelatin이 합성 고분자들과는 달리 독성이 없고 생체분해성이 있으며 항원성을 억제할 수 있다⁸는 점을 이용하여 기본물질로 gelatin을 선택하였다. 그러나 gelatin은 물에 잘 녹으므로 그 자체를 그대로 사용하는대는 문제점이 있다. 이러한 문제점을 해결하기 위해 gelatin-poly(vinyl alcohol) complex에 N-vinyl pyrrolidone을 graft시켜 물에 녹지않고 유연성이 좋은 물질을 합성하였다.

합성된 물질을 인공피부로서의 사용가능성을 검토하기 위하여 건조 및 습윤시의 인장강도와 신장율, 산소 및 수증기투과도, 흡수율, 그리고 단

백질 분해 효소에 의한 생체분해성등을 측정하였다. 또한 이 합성물질에 항균제인 silver sulfadiazine을 첨가하여 항균제 방출거동과 세균을 이용한 항균실험을 하였다.

실 험

Gelatin은 점도가 45-55mps(60℃, 6.67%)이고 gel strength는 280-320g bloom(60℃, 6.67%)이며 pH가 4.0-5.5(1% solution)인 제약용(원희 무역상사)을, poly(vinyl alcohol) (PVA)은 중합도 1750±50이며 점화도 98-99mol%인 일본 Kuraray Co. 제품, PVA-117s를 각각 감압 건조하여 사용하였으며, N-vinyl pyrrolidone(NVP)은 Nakarai Chemicals 제품(1급시약)을 감압 증류하여 사용하였다. 효소 protease IV는 Sigma Co. 제품을 사용하였다. *Pseudomonas aeruginosa* (P.a.)는 균주 IID 1130(NC5)를 agar에 배양하여 사용하였다. 균배양 및 접종에 사용된 MacConkey agar와 nutrient agar는 미국 Difco Lab. 제품을 사용하였으며 그 외의 시약은 1급시약을 그대로 사용하였다.

Gelatin과 PVA를 일정비율로 pH 1의 산성수용액에 용해시키고 50℃ 및 70℃에서 개시제인 potassium persulfate를 0.01mol%로 넣고 NVP 모노머를 적하시켰다. 2시간후 중합용액을 과량의 아세톤에 부어 침전시킨후 여과, 건조시켰다. 건조된 침전물은 수일간 물로 추출하여 미반응 gelatin, PVA 및 NVP의 단일 중합체를 제거하였으며 순수한 합성중합체는 감압건조시켜 사용하였다. 각 합성물질의 명칭 및 조성과 반응조건은 Table 1과 같다.

합성한 중합체를 pH1의 염산-에탄올 혼합용액에 10wt%로 녹이고 불순물을 제거한 다음 아크

Table 1. Graft Copolymerization of NVP on the Gelatin-PVA Complex.

	Weight ratio			Temp. (°C)	Initiator (mole %)
	Gelatin	PVA	NVP		
GPV-1a	1	2	3	50	0.01
GPV-1b				70	0.01
GPV-2a	2	2	2	50	0.01
GPV-2b				70	0.01
GPV-3a	3	2	1	50	0.01
GPV-3b				70	0.01

릴판에 제막하여 상온에서 24시간 건조시킨 후 감압오븐에서 40°C로 4시간동안 건조시켰다. 또한 항균제를 함유한 막의 제조는 10wt% 시료용액에 항균제인 silver sulfadiazine을 합성물에 대해 1wt%로 첨가하여 제막하였다.

건조된 일정무게(x_1)의 막을 36°C물에 담구어 10분 간격으로 습윤상태의 무게(x_2)를 측정하여 다음식에서 함수율을 구하였다.

$$\text{함수율(\%)} = (x_2 - x_1) / x_2 \times 100$$

막을 폭 0.5cm, 길이 5cm로 절단한 후 인장시험기를 이용하여 건조상태와 무게변화가 일어나지 않을 때까지 팽윤시킨 습윤상태의 인장강도 및 신장율을 측정하였다. 산소투과계수와 수증기투과량은 전보^{9,10}와 같은 방법으로 측정하였다.

생체분해실험은 36°C의 pH 5, 0.1M phosphate buffer 용액에 protease IV를 넣어 효소용액 (1mg/ml)을 만들고 각 시료를 침지시킨 다음 2일 간격으로 시료를 꺼내어 증류수로 씻고 감압오븐에서 완전히 건조시킨 후 무게를 재어 그 감소에 따른 분해율을 측정하였다.

항균제 방출실험은 다음과 같이 실시하였다. Fig. 1과 같은 장치를 사용하여 D의 sealing rubber사이에 항균제를 함유한 막을 고정시키고 용기내에 0.9%생리식염수 150ml를 넣는다. 36°C에서 6시간마다 용액을 채취하여, UV spectrometer로 250nm에서 측정된 silver sulfadiazine의 농도에 따른 표준검량곡선으로부터 방출되는 항균제의 양을 계산하였다.

Fig. 2는 agar에 균을 접종시킨 후 항균제를 함

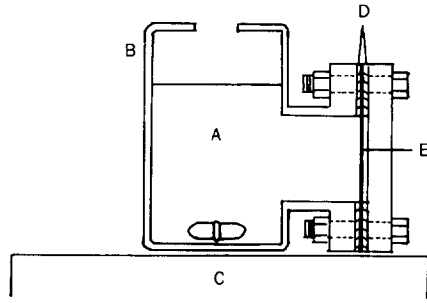


Fig. 1. Apparatus for release of antimicrobial drug.

- A : 0.9% NaCl solution
- B : PMMA compartment
- C : Magnetic stirrer
- D : Sealing Rubber
- E : Skin substitute

유한 막의 살균효과를 검토한 실험의 개략도이다. 균은 화상부위에서 가장 많이 존재하며 염증을 유발시키는 원인균인 *Pseudomonas aeruginosa* (P. a.)로 실험하였다. 균수측정은 McFarland nephelometer 방법으로 측정하였다.¹¹ P.a.를 McFarland scale에 따라 균액을 제조하고 원하는 균수만큼 균액을 취하여 nutrient agar에 접종시키고 그 위에 항균제를 함유한 1cm² 크기의 막을 놓고 일정기간(1, 2, 3, 4일) 배양시켰다. 일정기간이 경과한 후 막과 agar를 떼어내어 식염수에 분산시키고 이것을 모액으로 하여 계속 1ml씩 취하여 10ml로 계단 희석시켰다. 각각의 희석액으로부터 1ml를 다시 nutrient agar에 접종, 배양시켜 형성되는 colony수를 측정하여 균수를 산출하였다.

결과 및 고찰

Graft 공중합체의 조성은 Table 2와 같다. 반응시 가해진 gelatin의 양이 많을 수록 또는 NVP의 양이 적을수록 수율 및 graft 효율은 우수하였다. graft된 PVP의 조성은 거의 비슷하였으며 반응온도가 70°C인 경우 약간 큰 값을 보였다. Fig. 3은 합성된 GPV를 IR로 확인한 것이다. 1650cm⁻¹에서 수소결합을 한 >C=O의 신축진동에 속하는

화상 치료용 개질 Gelatin-Poly(vinyl alcohol)의 성질

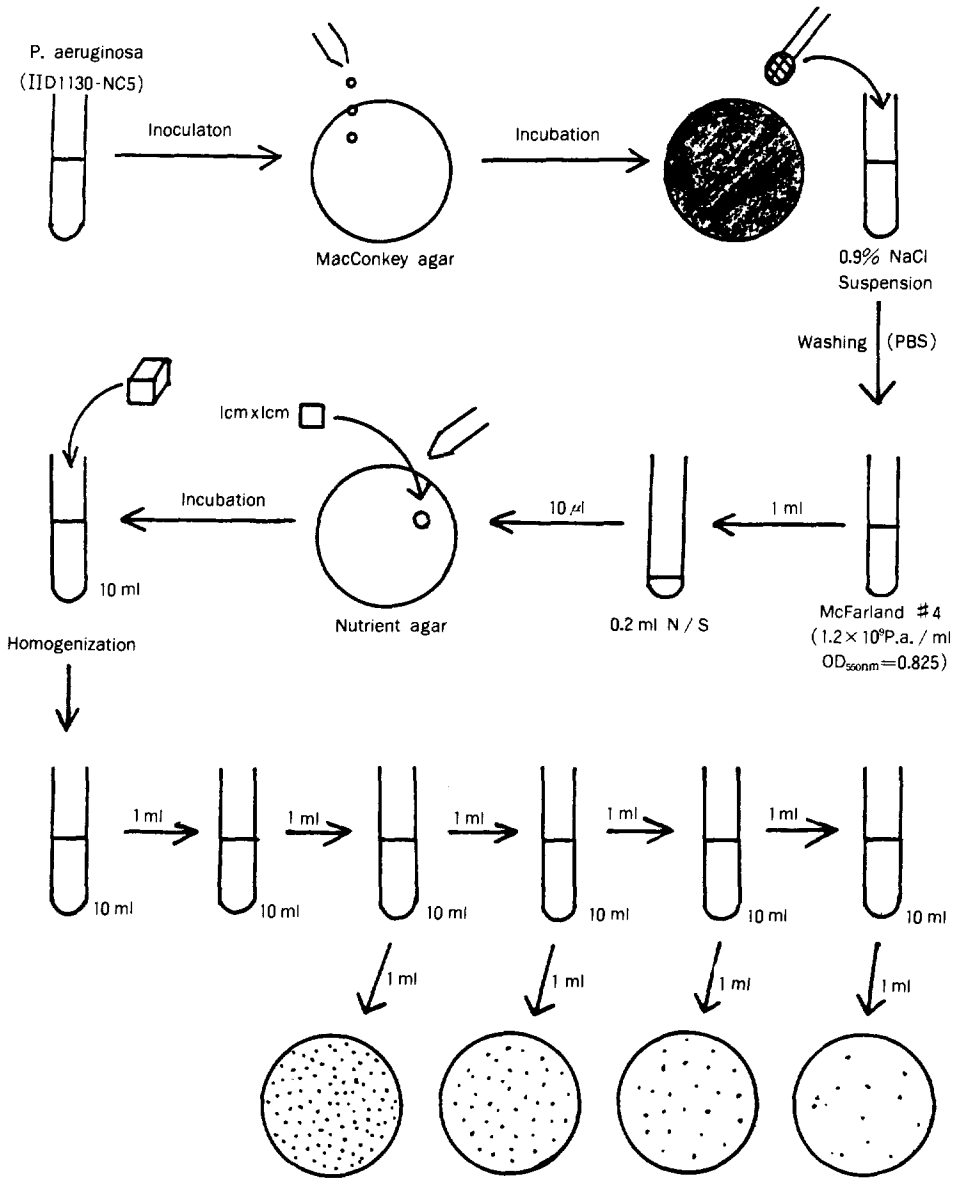


Fig. 2. Method for the count of the number of bacteria on agar surface.

amide I band, 1550cm^{-1} 에서 $>\text{NH}$ 의 굽힘진동에 속하는 amide II band가 나타남으로서 gelatin의 존재를 확인할 수 있었다. 또한 NVP의 C-N의 신축진동을 반영하는 spectrum이 1100cm^{-1} 에 나타나는 것으로 보아서 NVP가 graft되어진 것을 확인할 수 있었다.

Fig. 4와 Fig. 5는 36°C 에서 측정한 각 시료들의 함수율변화를 나타낸 것이다. 함수율은 처음 30분동안은 급격히 증가하였으나 그 이후는 완만히 증가하여 1시간이 지난 다음부터는 평형상태에 도달하였다. 평형상태에서의 각 시료들의 함수율은 gelatin의 함유량이 증가할 수록 큰 값을 나

Table 2. Composition of Copoly(Gelatin-PVA-g-PVP).

Sample	Composition (%) _i			Yield (%)	Grafting Efficiency (%)
	Gelatin	PVA	PVP		
GPV-1a	44.1	40.7	15.2	33.6	30.4
GPV-1b	35.3	46.0	18.7	55.1	37.5
GPV-2a	54.3	34.2	11.5	68.8	34.3
GPV-2b	45.1	35.8	19.1	73.6	56.9
GPV-3a	58.4	27.7	13.9	86.3	83.6
GPV-3b	52.6	32.4	15.0	87.1	90.1

$$\text{Grafting efficiency (\%)} = \frac{W_g}{W_h + W_g}$$

W_g = wt. of grafted PVP

W_h = wt. of PVP homopolymer

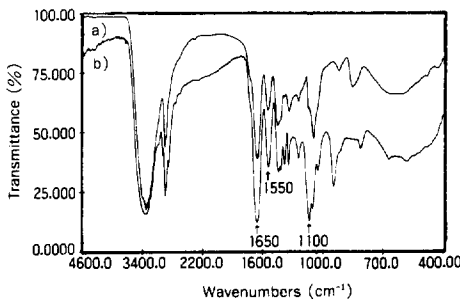


Fig. 3. Infrared spectra : a) Gelatin-PVA, b) GPV copolymer.

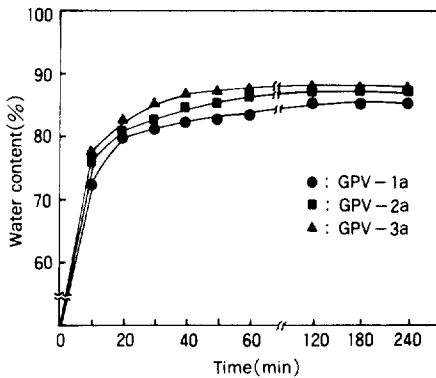


Fig. 4. Time dependence of water absorption of GPV (50°C) at 36°C.

타내었다. 상처부위에 인공피부가 접촉할 경우 인공피부가 흡수성이 없으면 분비액이 고여 fluid pocket이 형성되어 염증을 일으키기 때문에 상처 치료가 지연된다.¹ 따라서 인공피부는 어느정도의

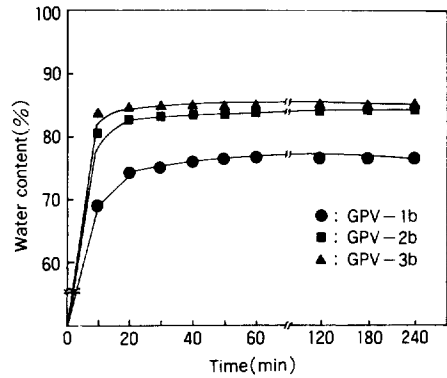


Fig. 5. Time dependence of water absorption of GPV (70°C) at 36°C.

Table 3. Mechanical Properties of GPV Copolymers.

	Tensile strength (kg/cm ²)		Elongation (%)	
	Dry	Wet	Dry	Wet
GPV-1a	233.4	2.1	138.0	357.5
GPV-1b	311.2	3.9	47.7	251.3
GPV-2a	237.3	-	5.1	-
GPV-2b	238.1	2.4	8.2	222.0
GPV-3a	252.7	-	3.6	-
GPV-3b	234.7	3.1	4.9	235.0

흡수성을 가지고 있어야 하는데 본 실험의 시료 들은 함유율이 77-88%로 상처부위의 분비액을 충분히 흡수할 수 있을 것으로 생각된다.

Table 3은 건조상태와 습윤상태에서의 인장강도 및 신장율의 측정결과이다. 인장강도는 건조상태보다 습윤상태에서 강도가 감소하는 경향을 나타내었으나 신장율은 반대로 증가하였다. 건조상태의 인장강도는 인공피부의 기준치가 100kg/cm² 이상¹²이나 본 시료는 230-250kg/cm²으로 우수하였으며 습윤상태에서의 신장율은 인공피부의 기준치가 100%이상¹²이나 본 시료는 220-350%로 우수하였다. 습윤상태에서의 인장강도가 2-4kg/cm²으로 낮은 값을 나타내지만 이것은 높은 신장율에 의해 보완될 수 있을 것으로 생각된다.

Table 4는 36°C에서 측정된 각 시료들의 산소 및 수증기투과성을 나타낸 것이다. 본 시료의 산

소투과계수는 $2.2-4.5 \times 10^{-7} \text{cm}^3(\text{STP}) \text{cm} / \text{cm}^2 \cdot \text{sec} \cdot \text{cmHg}$ 로 인공피부의 기준치, $10^{-8}-10^{-7} \text{cm}^3(\text{STP}) \text{cm} / \text{cm}^2 \cdot \text{sec} \cdot \text{cmHg}$ 를 만족시켰지만 수증기투과성은 $0.4 \text{g} / \text{cm}^2 \cdot \text{day}$ 로 정상피부의 $0.035 \pm 0.0150 \text{g} / \text{cm}^2 / \text{day}$ 에 비해 8-10배 큰값을 나타내었다. 일반적으로 상처부위에서 수분의 증발량은 정상피부의 20-40배¹³에 달하므로 본 시료는 과량의 체액손실을 방지할 수 있다고 생각

Table 4. Water Vapor and Oxygen Permeability of GPV.

	Water vapor (g / cm ² / day)	Oxygen($\frac{\text{cm}^3(\text{STP})\text{cm}}{\text{cm}^2 \cdot \text{sec} \cdot \text{cmHg}}$)
GPV-1b	0.3004	4.485×10^{-7}
GPV-2b	0.5448	2.216×10^{-7}
GPV-3b	0.4707	3.528×10^{-7}

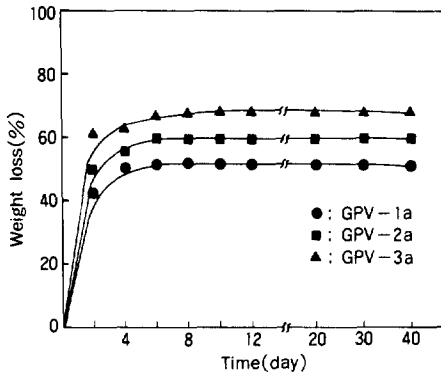


Fig. 6. Biodegradation of GPV(50°C) by protease at 36°C.

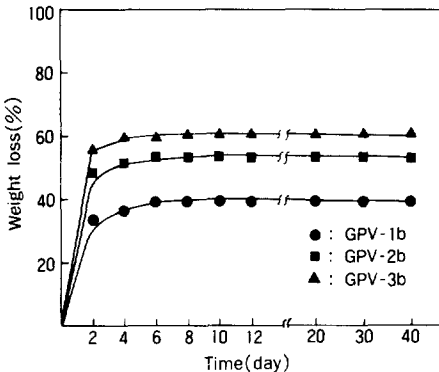


Fig. 7. Biodegradation of GPV(70°C) by Protease at 36°C.

되며 막의 두께를 조절함으로써 정상피부에 가까운 수증기투과성을 가질 수 있다고 본다.

Fig. 6과 Fig. 7은 체액에 존재하는 단백질 분해효소인 Protease IV를 사용하여 시료들의 분해 정도를 측정 한 값이다. 처음 2일까지는 35-60%가 급속히 분해하였으나 그 후부터는 분해곡선이 완만하여 10일 이후에는 거의 분해가 일어나지 않았다. 각 시료들의 분해율은 단백질 분해효소인 Protease IV가 공중합체에 존재하는 gelatin을 분해시켜 gelatin의 함량이 많은 시료가 분해율이 큰 경향을 보였다. 분해실험후 각 시료들은 막의 형태를 그대로 유지하고 있었다. 인공피부는 적당히 분해되어 상처의 치료를 촉진시키고 또 남아 있는 일부분은 인공피부로서의 기능을 유지해야 하는데⁹ 본 실험의 결과로부터 각 시료들은 어느 정도의 생체분해성을 가지고 있으면서도 막의 기능을 그대로 유지하므로 충분한 기능을 발휘할 것이라 생각된다.

Fig. 8은 본 실험에서 사용한 6가지의 시료중 막성능이 가장 우수한 GPV-1b와 GPV-2b를 선택하여 이들에 항균제인 silver sulfadiazine을 첨가한 시료로부터의 항균제방출량을 나타낸 것이다. 처음 12시간까지는 60-80%가 빠르게 방출되었으나 그 이후는 서서히 방출되었다. 이 방출실험에 따라 본 실험의 시료가 인공피부로 실제 상

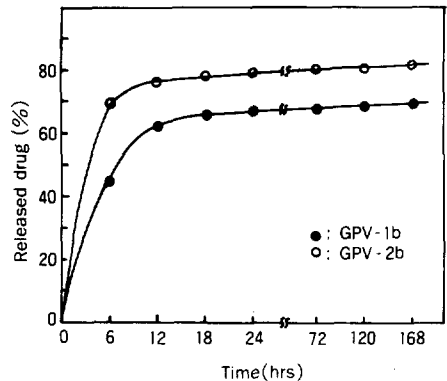


Fig. 8. Release of silver sulfadiazine from GPV in physiological solution.

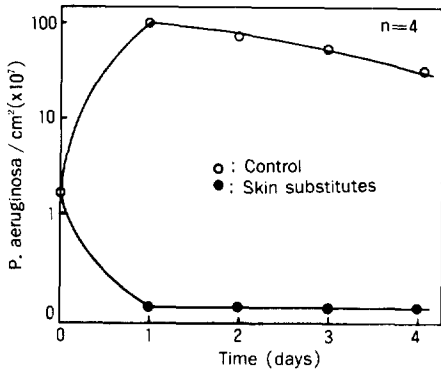


Fig. 9. Effect of the suppresion of bacterial proliferation.

처부위에 이식되었을 때 초기에 많은양의 항균제가 방출되어 이미 감염된 부위의 균을 사멸시킨 후, 서서히 방출되므로 이후에 상처부위에 침입하는 균들을 막을 수 있을 것으로 보인다.¹⁴

Fig. 9는 agar에 직접 균을 접종시켰을 때 항균제를 함유한 시료를 덮은 경우와 그대로 방치한 경우의 균수 변화를 측정 한 것이다. 약 10^7 P.a / cm² 농도의 균을 배양시켜 그대로 방치한 경우 18시간 경과후 10^9 P.a / cm² 농도로 균이 증식되었지만 항균제를 함유한 시료를 덮은 경우에는 균이 완전히 사멸되었다. 따라서 전항의 항균제방출거동에서 논한 내용을 확인할 수 있었다.

결 론

Collagen을 가수분해하여 얻은 gelatin을 기본물질로 하여 PVA와 NVP를 반응시켜 생성된 합성중합체에 대한 물리, 화학적 성질과 이 합성중합체에 항균제인 silver sulfadiazine을 첨가한 후 항균성실험을 하여 인공피부로서의 사용가능성을 검토하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1) 기계적 성질은 우수한 편으로 특히 신장율이 300%내외로 유연성이 좋았으며 습윤시 고무와 비슷한 성질을 나타내었다.

2) 함유율이 80%정도로 상처부위에서 배출되는 체액을 충분히 흡수할 수 있으며 체액의 고임을 방지함으로써 염증반응을 방지할 수 있다고

생각된다.

3) 산소투과성은 우수하였으며 수증기투과성은 다소 큰 값이지만 과량의 체액손실은 방지할 수 있다고 본다.

4) 생체분해실험으로부터 적당한 분해율로 상처치료를 촉진시킬 수 있으며 분해 후에도 막의 형태를 유지함으로써 치료기간동안 피복 보호의 기능을 발휘할 수 있다고 생각된다.

5) 항균제 방출실험과 세균실험으로부터 감염된 상처부위의 균을 사멸시킴과 동시에 세균침입을 방지할 수 있었다.

감사의 글 : 본 연구의 일부는 한양대학교 특별연구비로 수행되었으며 이에 감사드립니다.

참 고 문 헌

1. I. V. Yannas and J. F. Burke, *J. Biomed. Mater. Res.*, **14**, 65(1980).
2. G. B. Park, *Biomat. Med. Dev. Art. Org.*, **6**, 1(1978).
3. Sylvester G. and A. J. Pennings, *Makromol. Chem. ; Rapid Comm.*, **4**, 675(1983).
4. K. Y. Kim, K. H. Lee, and D. S. Min, *Polymer (Korea)*, **8**, 185(1984).
5. P. M. Neumann, B. Zur, and Y. Ehrenreich, *J. Biomed. Mater. Res.*, **15**, 9(1981).
6. E. Bell, H. P. Ehrlich, D. J. Buttle, and T. Nakatsuji, *Science*, **211**, 1052(1981).
7. 富士原行彦 外, 昭和 59年度版 通産省 工業技術院 特別研究報告集, 日本産業技術振興協會發行, p328(1984).
8. M. Sela and R. Arnon, *Biochem. J.*, **75**, 91(1960).
9. K. Y. Kim, D. S. Min, and H. J. Chun, *Polymer (Korea)*, **11**, 246(1987).
10. K. Y. Kim, D. S. Min, and S. J. Kim, *J. KOSOMBE*, **8**, 87(1987).

화상 치료용 개질 Gelatin-Poly(vinyl alcohol)의 성질

11. E. H. Lennete, A. Balows, W. J. Hausler Jr. and H. J. Shadomy, "Manual of Clinical Microbiology", 4th Ed., p1095(1985).
12. 富士原行彦, 工業材料, **33**, 50(1985).
13. L. O. Lamke, *Scan. J. Plast. Reconstr. Surg.*, **5**, 17(1971).
14. Seno M. and Kuroyanagi Y., *J. Membr. Sci.*, **27**, 241(1986).