Journal of Radiation Industry 12(4) : 349~353(2018)

이미다졸 기반 수화겔의 방사선 합성 및 특성 평가

권희정[1] · 정진오[1,2] · 정성린[1] · 박종석[1] · 임윤묵[1,*]

[1]한국원자력연구원 첨단방사선연구소 공업환경연구부, [2]광주과학기술원 신소재공학부

Characterization of Radiation Fabricated Imidazole Based Hydrogel

Hui-Jeong Gwon[1], Jin-Oh Jeong[1,2], Sung In Jeong[1], Jong-Seok Park[1] and Youn-Mook Lim[1,*]

[1]*Research Division for Industry & Environment, Advanced Radiation Technology Institute, Korea Atomic Energy Research Institute, 1266 Sinjeong-dong, Jeongeup-si, Jeollabuk-do 56212, Republic of Korea*
[2]*School of Materials Science and Engineering, Gwangju Institute of Science and Technology (GIST), Gwangju 61005, Republic of Korea*

Abstract - Metronidazole (MD), which is used as an antibiotic, is largely used as an oral and skin application agent, and has inhibiting effect on the production of the fungus causing malodor. However, the maximum drug inclusion concentration is 0.75% of skin ointment in commercially available. In this study, hydrogels containing high concentration of metronidazole were prepared by using radiation crosslinking technique based on biocompatible polymers, and release characteristics and antimicrobial properties were evaluated. This study was preliminary carried out to investigate whether it could be used effectively as antibacterial dressing materials.

Key words : Metronidazole, Hydrogel, Gamma-ray irradiation, Crosslinking, Drug release

서 론

일반적으로, 상처 치유 과정은 급성기, 수복기 및 반흔화 단계로 구분된다(Rosiak and Ulanski 1999). 급성기는 삼출기라고도 하며, 조직이 파괴되든지 이물질이 혼입된 손상된 부위에서 이들을 제거하기 위한 일련의 반응이 일어나는 단계로서, 이때 염증반응 및 혈액응고 반응이 수반된다. 수복기는 증식기라고도 하며, 혈관이 새로 생기고 손상된 부위가 늘어나 손상 부위의 회복이 일어나는 단계로서, 이 시기에서는 활발한 세포증식 또는 결합조직의 일종인 육아조직내의 세포간 물질인 콜라젠이나 프로테오글라이칸의 활발한 합성이 이루어져 표피 세포가 가동성을 획득하고, 분열증식하여 표피조직을 재생한다. 반흔화 단계는 활발한 세포의 증식은 느려지고, 콜라젠 섬유가 가교되면서 손상 부위의 물리적 강도가 증대되는 단계로서, 최종적으로, 혈관계도 퇴축하고 주위의 정상 조직과는 다른 조직이 손상 부위에 자리잡게 된다. 상기와 같은 단계를 반복함으로써 상처가 치유되게 된다(Kuroyanagi *et al*. 1991; Cho 2002). 한편, 상처 치유시 중요한 혈액공급이 부족할 경우 궤양(ulcer)이 나타난다. 궤양은 염증이나 괴사로 인해 그 상피가 탈락하여 조직표면이 국소적으로 결손되거나 함몰된 것을 의미하며, 조직의 염증이 진행되면 중성백혈구와 대식세포에서 나오는 리소좀 효소로 인해 조직이 파괴되나, 조직으로 산소와 영양분을 공급하는 동맥이나 정맥에 문제가 있어서 갑자기 또는 서서히 혈액공급이 안될 때 궤양이 발생할 수 있다(Phillips *et al*. 2000).

* Corresponding author: Youn-Mook Lim, Tel. +82-63-570-3087, Fax. +82-63-570-3079, E-mail. ymlim71@kaeri.re.kr

즉, 염증을 일으킬 수 있는 모든 원인은 궤양을 발생시키는 원인이 되고, 세균에 의한 감염으로 염증이 진행되고 농양이 형성되면 정상 조직의 일부가 파괴되고 이것이 더욱 진행되면 궤양으로 발전한다. 특히, 상처 또는 궤양 치료 과정에서 악취가 발생하게 되는데, 이는 상처에 존재하는 수많은 상재균에 의한 것이다. 대표적인 상재균으로 포도상구균인 스타필로코커스(Staphylococcus), 마이크로코커스(Micrococcus), 코리네박테리움(Corynebacterium), 프로피오니박테리움(Puropionibacterium), 피이티로스포룸(Pityrosporum), 대장균(E. coli) 등이 있으며 특히, 스타필로코커스, 대장균, 코리네박테리움 등이 궤양부위에서 가장 많이 발견되는 것으로 알려져 있다(Hartemann-Heurtier *et al*. 2004; Gomes *et al*. 2015; Domenico *et al*. 2017). 일반적으로 상처의 치료는 수분환경을 유지하는 경우가 건조한 상태보다 치료속도가 훨씬 빠른 것은 이미 공지의 사실인 바, 상처 치료를 위한 최적의 수화겔(hydrogels)을 제조하기 위한 노력이 진행되어 오고 있다(Gwon *et al*. 2009; Park *et al*. 2017). 일반적으로, 수화겔에 사용되는 고분자는 합성고분자, 천연고분자 또는 그들의 혼합으로 제조되며, 폴리비닐알콜, 폴리에틸렌옥사이드, 폴리하이드록시에틸메타크릴레이트, 폴리비닐피롤리돈 등의 친수성 합성고분자를 선택하여 사용할 수 있고, 천연고분자는 젤라틴, 아가(agar), 알긴산염(alginate), 콜라겐, 키토산 등을 선택하여 사용할 수 있다.

수화겔의 제조방법으로는 화학적인 방법 및 방사선 조사기술을 이용하는 방법이 있다. 이들 중 화학 가교제 또는 개시제를 첨가하여 제조하는 화학적 방법보다는 방사선을 조사함으로써, 화학 가교제나 개시제를 제거할 필요가 없고, 이들 물질의 잔류로 인한 독성문제를 해결하고, 가교와 동시에 멸균을 겸할 수 있는 방사선 조사기술을 이용하는 방법이 주목을 받고 있다. 일반적으로 상처 또는 궤양 치료용 수화겔의 조건으로는 체액을 흡수할 수 있어야 하고, 박테리아로부터 감염을 막을 수 있어야 하며, 상처 또는 피부에 탈부착이 용이하여야 한다. 또한, 투명성과 산소 투과성이 좋을 뿐만 아니라, 약물 제어가 가능하고, 취급이 용이하며, 저장성과 멸균력이 구비되어야 한다(Gwon *et al*. 2010; Park *et al*. 2012; Nho *et al*. 2014; Park *et al*. 2018). 하지만, 일반적인 수화겔은 상처 또는 궤양 부위에 발생하는 상재균의 생성을 억제하여 항균효과 및 악취를 예방하기에는 충분하지 못한 문제점이 있다.

한편, 메트로니다졸(metronidazole)은 치주염, 질염 등에 항생제로써 사용되는데, 크게 경구용과 피부적용제로 사용되어 악취를 유발하는 상기 상재균의 생성을 저해하는 효과가 있다. 메트로니다졸의 하루 투약 허용치는 2~4 g이며, 평균 7~10일 정도 투약해야 치료 효과가 나타나며, 물에서의 용해도가 매우 낮아(최대 0.01 g·mL^{-1}), 현재 시판되고 있는 피부 적용을 위한 연고젤 형태의 메트로니다졸 약품의 최대 약물 봉입 농도는 0.75%로 제한적인 단점이 있다(Yellanki *et al*. 2010; Lee 2001; Baik *et al*. 2016).

이에, 본 연구에서는 궤양, 상처 또는 화상 부위에 발생하는 상재균의 생성을 억제하여 악취를 예방함과 동시에 항균효과를 가지는 수화겔을 제조하고자 하였고, 방사선 가교기술을 이용하여 메트로니다졸을 고농도로 함유한 수화겔을 제조하고, 궤양, 상처 또는 화상 부위에서 특이적으로 발생하는 상재균을 효과적으로 억제하여 악취를 예방하고 항균효과를 나타낼 수 있는 수화겔 제재로 적용할 수 있는지를 확인해보고자 하였다.

재료 및 방법

1. 재료

폴리비닐피롤리돈(PVP)은 BASF사에서 구입하여 사용하였고, 카라기난은 MSC사에서 구입하여 사용하였으며, 1-비닐이미다졸은 Sigma-Aldrich사에서 구입하여 사용하였고, 폴리비닐알콜(PVA) (Mw 8.5×10^4~1.24×10^5)은 동양제철화학에서 구입하여 사용하였으며, 메트로니다졸(MD)은 Sigma-Aldrich사에서 구입하여 사용하였고, 모든 시약들은 정제과정 없이 사용하였다.

2. 방사선 이용 메트로니다졸 함유 수화겔 제조

생체적합성고분자로 폴리비닐피롤리돈 5 g, 폴리비닐알콜 3 g, 카라기난 2 g 및 1-비닐이미다졸 10 g을 메트로디나졸 0.1 g 및 글리세린 4 g과 함께 정제수 75.9 mL에 넣고, 덩어리가 없어질 때까지 교반하여 혼합시켰다. 이후 거품을 제거하기 위하여 60°C 항온수조(water bath)에 약 12시간 정도 담가놓았다. 다음으로, 상기 혼합용액을 칼집을 낸 EVA 필름을 삽입한 형틀에 붓고 밀봉한 후, 감마선을 10 kGy·hr^{-1} 선량율로 총 조사량이 각각 15, 25, 35, 50 및 70 kGy가 되도록 조사하여 메트로니다졸(0.1, 0.5, 1, 3, 5 wt%)을 함유한 수화겔을 제조하였다. 제조한 수화겔의 조성을 Table 1에 나타내었다.

3. 방사선 조사량에 따른 약물(메트로디나졸) 봉입율 평가

제조한 수화겔의 방사선 조사량에 따른 약물(메트로디나졸) 봉입율을 알아보기 위하여 다음과 같이 실험하였다. 구체적으로, 제조한 수화겔 각각 2 mg씩 증류수(50 mL)에 넣고 교반과 동시에 초음파로 분해시켰다. 다음으로, 원심분리하여 생성된 상층액에서 약물(메트로디나졸)농도를 UV 분광광도계를 이용하여 측정하고, 하기 수학식 1을 이용하여 수화겔에 봉입된 약물(메트로디나졸) 봉입율을 산출하였다.

Table 1. Preparation of MD loaded hydrogels

Irradiation dose (kGy)	PVP (g)	PVA (g)	Carrageenan (g)	1-vinylimidazole (g)	Glycerin (g)	MD (g)
15 (a)	5%	3%	2%	10%	4%	0.1% (1)
25 (b)	5%	3%	2%	10%	4%	0.3% (2)
35 (c)	5%	3%	2%	10%	4%	0.5% (3)
50 (d)	5%	3%	2%	10%	4%	1.0% (4)
70 (e)	5%	3%	2%	10%	4%	1.5% (5)

$$\text{약물봉입율}(\%) = \frac{W_a}{W_b} \times 100$$

W_a는 수화겔에서 분리된 약물의 중량이고, W_b는 수화겔 제조시 사용한 약물의 중량이다.

4. 방사선 이용 메트로니다졸 함유 수화겔의 항균성 평가

제조한 메트로니다졸 함유 수화겔과 대조군으로 메트로니다졸을 함유하지 않은 수화겔의 항균활성을 평가하기 위하여 페이퍼 디스크법(paper disc method)으로 다음과 같이 실험하였다. 구체적으로, 제조한 수화겔을 10% 농도로 에탄올 용매에 녹여 제조한 시료를 8 mm 페이퍼 디스크에 30 μL씩 점적하였다. 다음으로, 전배양된 스타필로코커스 아우레우스(Staphylococcus aureus), 스타필로코커스 에피더미디스(Staphylococcus epidermidis), 스타필로코커스 파이오젠스(Staphylococcus pyogenes) 및 대장균(E. coli)을 접종시킨 액상 배지(Nutrient Agar) 위에 상기에서 준비한 페이퍼 디스크를 올려놓고, 37°C에서 24시간 동안 배양한 후 형성된 시료별 균체의 생육저지환(growth inhibition zone)의 지름을 측정하였다.

5. 약물농도에 따른 약물방출량 평가

약물(메트로디나졸)농도를 달리하여 제조한 수화겔에서 약물 방출량을 알아보기 위하여 다음과 같이 실험하였다. 구체적으로, 약물투과 시험용 확산장치(PermeGear V6A Stirrer, (주)다일과학교역)의 수용상을 pH 7.4의 인산 완충액으로 채워 32±0.5°C로 유지시키고, 제조한 수화겔을 공여셀 크기에 맞게 절단하여 적용한 다음, 10, 20, 30분, 1, 2, 3, 4, 5 및 6시간마다 각각 1 mL씩 취하여 자외선분광광도계로 방출된 약물의 흡광도를 측정하여 약물방출량을 측정하였다.

결과 및 고찰

1. 방사선 조사량에 따른 약물(메트로디나졸) 봉입율 평가

Fig. 1은 제조된 수화겔의 약물 봉입율을 나타내는 그래프

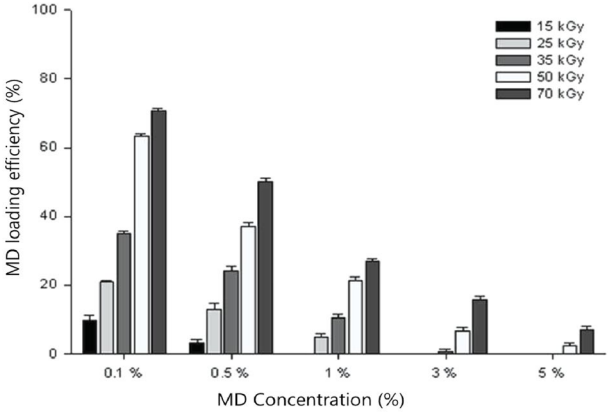

Fig. 1. MD loading efficiency as a function of radiation dose.

이다. 그림에 나타난 바와 같이, 방사선 조사량이 증가할수록 약물봉입율이 증가하는 것을 알 수 있었다. 이는 조사선량에 따라 라디칼 생성의 증가로 인한 가교율의 증가와 더불어 가교구조 내로 약물봉입이 증가된 것으로 사료된다(Rosiak and Ulanski 1999). 또한, 메트로디나졸 0.1 중량%에서 제조한 수화겔의 약물 봉입율은 최대 70% 이상으로 나타나 매우 높은 것을 알 수 있었다. 따라서, 본 연구의 메트로디나졸을 함유한 수화겔은 방사선 조사량에 따라 메트로디나졸 봉입율을 조절할 수 있을 뿐만 아니라, 메트로디나졸 봉입율이 매우 높아 제조과정에서 메트로디나졸의 손실을 효율적으로 낮출 수 있을 것으로 판단된다.

2. 방사선 이용 메트로니다졸 함유 수화겔의 항균성 평가

Fig. 2는 제조한 수화겔의 항균활성을 알아보기 위한 생육저지환의 지름을 측정한 사진이다. 그림에 나타낸 바와 같이, 메트로니다졸 함유 수화겔은 우수한 항균활성을 나타내는 것을 확인할 수 있었다. 또한, 메트로디나졸의 농도가 가장 적은 0.1 wt%에서 제조한 수화겔의 경우에도 충분히 우수한 항균활성이 나타난 것으로 보아, 메트로디나졸 함유량이 낮음에도 불구하고 항균활성이 우수함을 알 수 있었다. 따라서, 본 연구의 메트로니다졸 함유 수화겔은 궤양 부위에 발생하는 냄새 유발 미생물의 번식을 저해하는 항균효과가 우수하여 불쾌한 냄새의 발생을 억제하는 데에 유용하게 사용될 수 있을 것으로 판단된다.

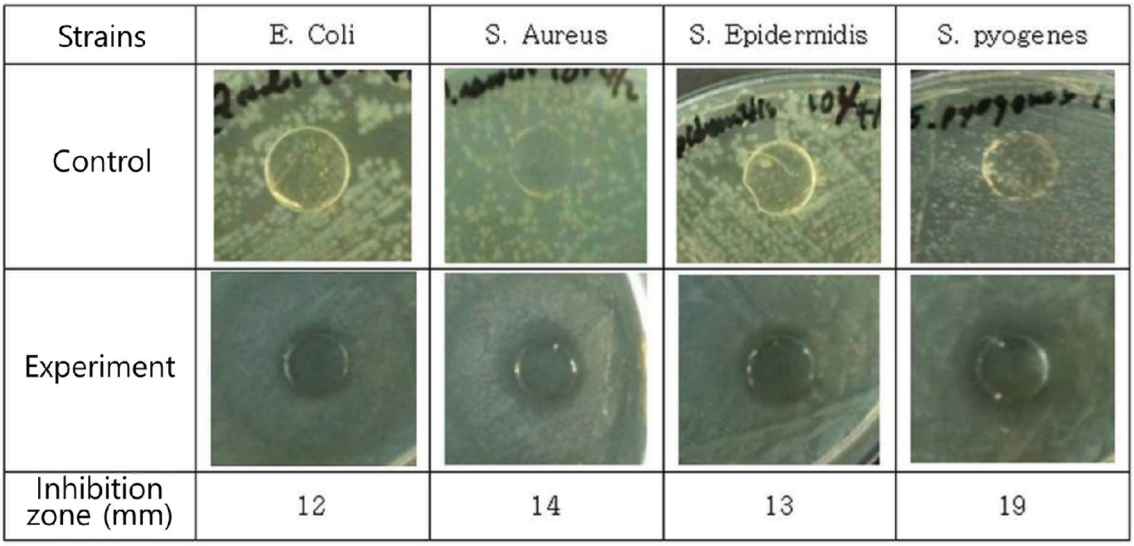

Fig. 2. Antibacterial test of MD hydrogels.

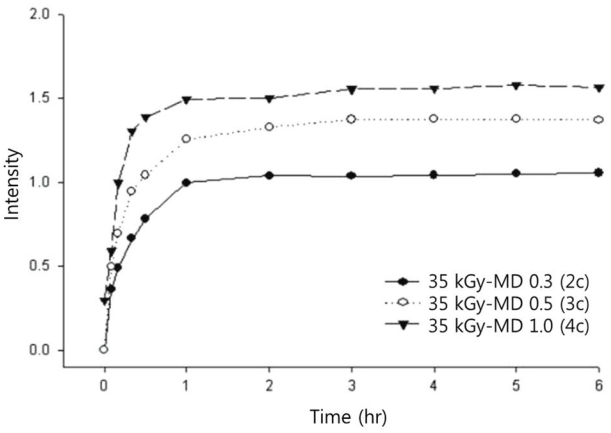

Fig. 3. MD release behavior as a function of MD dose.

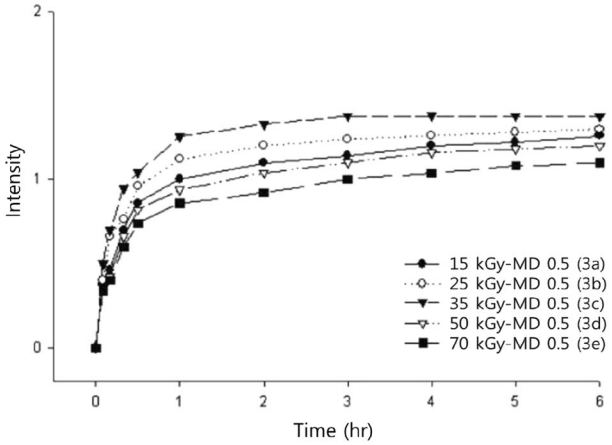

Fig. 4. MD release behavior as a function of radiation dose.

3. 약물농도에 따른 약물방출량 평가

Fig. 3은 약물농도를 달리하여 제조된 수화겔에서 방출된 약물의 흡광도를 나타낸 그래프이다. Fig. 4는 방사선 조사선량을 달리하여 제조된 수화겔에서 방출된 약물의 흡광도를 나타낸 그래프이다. 그림에서 나타난 바와 같이, 1시간 이내까지 약물방출량이 선형으로 급증하고, 1시간 이후부터는 약물이 일정하게 방출되는 것을 확인할 수 있었다. 또한, 약물농도를 달리하고 35 kGy의 동일한 조사선량으로 제조한 2c, 3c 및 4c의 수화겔의 경우 약물방출량은 서로 상이하지만, 1시간 이후부터는 거의 일정하게 방출되는 것을 확인할 수 있었다. 이는 방사선에 의한 최대 가교율에 따른 결과로 사료되며, 가교된 시료들이 1시간 이후에는 더 이상 팽윤되지 않음에 따라 가교구조 내에 봉입되어 있는 약물이 더 이상 방출되지 않기 때문으로 판단된다(Nho *et al*. 2014). 따라서, 본 연구의 메트로니다졸 함유 수화겔은 약물(메트로디나졸) 농도 및 방사선 조사선량을 조절하여 약물방출량 및 약물방출시간을 충분히 조절할 수 있을 뿐만 아니라 약물방출량이 일정하게 지속되는 것을 확인할 수 있었다.

결 론

본 연구는 화학 가교제 대신 방사선 에너지를 이용하여 메트로니다졸을 함유한 수화겔을 제조한 것으로, 제조된 수화겔은 궤양, 상처 또는 화상 치료용으로 사용하기 위한 기본 특성을 가지고 있었을 뿐만 아니라, 항균 효과가 있는 메트로니다졸을 방사선 조사량을 조절하여 수화겔 내부에 고농도로 봉입할 수 있어, 악취를 유발하는 상재균의 생성을

억제하는 효과가 우수하여, 향후 궤양, 상처 또는 화상 치료용 드레싱으로 유용하게 사용될 수 있을 것으로 사료된다.

사 사

본 연구는 과학기술정보통신부 지원 방사선기술개발사업(NRF-2017M2A2A6A02018535)에 의하여 수행되었으며 이에 감사 드립니다.

참 고 문 헌

Baik J, Park JS, Jeong JO, Jeong SI, Gwon HJ, Ahn SJ and Lim YM. 2016. Preparation and characterization of poly (vinyl alcohol) hydrogel contain metronidazole by irradiation. *J. Radi. Ind.* **10**:21-27.

Cho AR. 2002. Effect of silver sulfadiazine on the skin cell proliferation and wound healing process in hairless mouse 2nd degree burn model. *J. Kor. Pharm. Sci.* **32**:113-117.

Domenico EGD, Farulla I, Prignano G, Gallo MT, Vespaziani M, Cavallo I, Sperduti I, Pontone M, Bordignon V, Cilli L, Santis AD, Salvo FD, Pimpinelli F, Parola ILL, Toma L, and Ensoli F. 2017. Biofilm is a Major Virulence Determinant in Bacterial Colonization of Chronic Skin Ulcers Independently from the Multidrug Resistant Phenotype. *Int. J. Mol. Sci.* **18**:1077-1080.

Gomes RC, Brandino HE, Alves de Sousa NT, Santos MF, Martinez R and Roberto de Jesus Guirro R. 2015. Polarized currents inhibit in vitro growth of bacteria colonizing cutaneous ulcers. *Wound Repair Regen.* **23**:403-411.

Gwon HJ, Lim YM, An SJ, Youn MH, Han SH, Chang HN and Nho YC. 2009. Characterization of PVA/glycerin hydrogels made by γ-irradiation for advanced wound dressings. *Korean. J. Chem. Eng.*, **26**:1686-1688.

Gwon HJ, Lim YM, Vhang HN and Nho YC. 2010. Reduction of postsurgical adhesion formation with CM-chitosan hydrogel barriers prepared by using γ-irradiation. *J. Appl. Polym. Sci.* **116**:3682-3687.

Hartemann-Heurtier A, Robert J, Jacqueminet S, Van HG, Golmard JL, Jarlier V and Grimaldi A. 2004. Diabetic foot ulcer and multidrug-resistant organisms: Risk factors and impact. *Diabet. Med.* **21**:710-715.

Kuroyanagi Y, Kim E and shioya N. 1991. Evaluation of a synthetic wound dressing capable of releaseing silver sulfadiazine. *J. Care. Rehabil.* **12**:106-115.

Lee MA. 2001 Antimicrobial resistance helicobacter pylori. *Korean J. Clin. Microbiol.* **4**:73-77.

Nho YC, Park JS and Lim YM. 2014. Preparation of Poly (acrylic acid) Hydrogel by Radiation Crosslinking and Its Application for Mucoadhesives. *Polymers* **6**:890-898.

Park JS, Kim HA, Choi JB, Gwon HJ, Shin YM, Lim YM, Kill MS and Nho YC. 2012. Effects of annealing and the addition of PEG on the PVA based hydrogel by gamma ray. *Radiat. Phys. Chem.* **81**:857-860.

Park JS, An SJ, Jeong SI, Gwon HJ, Lim YM and Nho YC. 2017. Chestnut honey impregnated carboxymethyl cellulose hydrogel for diabetic ulcer healing. *Polymers* **9**:248-259.

Park JS, Lim YM, Baik J, Jeong JO, An SJ, Jeong SI, Gwon HJ and Khil MS. 2018. Preparation and evaluation of β-glucan hydrogel prepared by the radiation technique for drug carrier applications. *Int. J. Biol. Macromol.* **118**:333-339.

Phillips TJ, Machado F, Trout R, Porter J, Olin J and Falanga V. 2000. Prognostic indicators in venous ulcers. *J. Am. Acad. Dermatol.* **43**:627-630.

Rosiak JM and Ulanski P. 1999. Synthesis of hydrogels by irradiation of polymers in aqueous solution. *Radiat. Phys. Chem.* **55**:139-151.

Yellanki SK, Singh J and Manvi FV. 2010. Formulation, characterization and evaluation of metronidazole gel for local treatment of periodontitis. *IJPBS.* **1**:1-9.

Received: 5 November 2018
Revised: 2 December 2018
Revision accepted: 17 December 2018