

Algin을 이용한 화상연고제의 개발

정덕채 · 이기창*

인천대학교 화학과 · 명지대학교 화학공학과*
(1999년 7월 20일 접수 ; 1999년 8월 24일 채택)

Development of Burn Ointment using Algin

Duck Chae, Jung · Ki-Chang, Lee*

Department of chemistry, University of InChon
*Department of Chemical Engineering, Myong Ji Univ.
(Received July 20, 1999 ; Accepted August 24, 1999)

Abstract : Burns can be caused by fire, chemicals, heated object and fluids. Distinguishing a minor burn from a more serious burn involves determining the degree of damage to the tissues of the body. Algin is known as natural polymer from marine plants, we prepared the official burn ointment which is made by Algin. This burn ointment was covered on the skin wound of artificial burned and their effect of healing was investigated by the evaluation of histological and hematological change as a function of time. The result of rats test showed that burn ointments made from Algin was effective in formation of the new tissue and reduction of inflammation.

I. 서론

피부는 외부로부터의 자외선, 세균과 화학물질 등의 유해물질에 대한 장벽으로 수분과 염의 손실을 방지하는 생체유지의 필수적인 기능을 지니고 있다. 그러나 화상(burns) 및 외상과 같은 피부에 장애를 받으면 과량의 체액 방출로 인한 탈수증세와 세균감염 등의 생명을 위협받는 치명적인 결과가 발생한다. 5세 미만 소아의 사망원인 1위는 사고사이며, 이 사고사의 원인 중 높은 비율을 차지하고 있는 것이 화상이므로 화상은 아주 중요하고 심각한 질환이다.¹⁾ 화상은 일반적으로 열에 의해 피부세포가 파괴되거나 괴사되는 현상을 말한다. 화상은 끓는 물, 화염, 증기, 화학약품, 전기와 기름 등에 의해 일어나며 이들 중 끓는 물이나 화염에 의한 화상이 가장 흔하다. 화학약품에 의한 화학화상(chemical burn)이나 전기에 의한 전기화상(electrical burn)은 겉보기와는 달리 피부 심부조직의 손상이 심하므로 집중치료를 요하며, 밀폐된 공간에서의 화염에 의한 화상의 경우에는 뜨거운 증기를 흡입함으로써 기도내의 흡입화상(inhalation burn)을 유발하는 경우가 많아 사망률이 매우 높다. 이러한 화상은 치료 자체도 어렵지만 회복 후에도 외형상, 기능상 심한 후유증이 남는 것이 큰 문제이다. 이러한

화상은 그 정도에 따라서 1~3도 화상으로 나타낸다.²⁾ 1도 화상은 피부에 홍반현상이 나타나며 통증이 동반되나 수포는 생기지 않는다. 염증이 발생하지 않는다면 3~6일 이내에 흉터를 남기지 않고 치유된다. 2도 화상은 표피가 응고되고 진피에 깊은 손상을 받아 홍반이 나타나며 수포도 생기고 심한 통증이 있다. 흉터는 생기지 않으나 색소 침착이나 색소 탈락이 나타난다. 경중인 경우 15~20일 정도면 치유되나 심한 경우, 3주 이상 걸린다. 3도 화상은 피부가 흰색 또는 흑색으로 변성되고 딱딱하게 굳어서 탄력성이 없어진다. 신경손상이 동반되어 대개 통증이 없다. 피부 재생기능이 소실되어 피부 복원을 위해서는 반드시 피부이식을 해야한다.

한편, 연고제는 국소에 작용하는 약물로서 기계적 혹은 물리화학적 성질에 의해 효과를 나타내며 화상 및 외상과 같은 피부에 장애를 받으면 과량의 체액 방출로 인한 탈수증세와 세균감염 등의 생명을 위협받는 치명적인 결과가 발생하므로 피부의 보호 기능 측면에서 사용되고 있다.³⁾ 작용하는 방법에 따라서 점활제, 완화제, 흡착제, 피복제 등이 있다.

본 연구에서는 천연고분자이며 갈조류의 세포벽에서 30%를 차지하는 algin, 그리고 화상 후의 2차 감염예방을 위하여 상용 살균제로 알려진

nitrofurazone과 가소제로서 glycerine을 첨가하여 화상연고제를 제조하였다. 화상치료제로서의 사용 가능성을 검토하기 위하여 인위적으로 2도 화상을 입힌 rat에 대하여 혈액학적 검사, 조직재생도 등의 화상치료 효과를 연구하였다.

II. 실험방법

1. 시약 및 기기

천연고분자로서 미역, 다시마 등 갈조류의 30%를 차지하는 Algin(sodium alginate)은 Sigma사의 특급시약을 사용하였으며 연고제의 점할제(demulcents)로서 사용한 glycerine은 Aldrich사의 1급시약을 사용하였다. 화상연고제를 제조하는데 사용한 용매로서는 MILLIPORE사의 Milli-Q reagent water system을 사용하여 처리한 3차 증류수(초중류수)를 자외선으로 멸균하여 사용하였으며 에탄올 등의 용매는 국산제품을 정제하여 사용하였다. 화상치료 전후 혈액학적분석은 Technicon사의 HI system 자동혈구계산기를 사용하였다. 또한 본 실험의 대조군 설정을 위하여 현재 시중에서 상용되는 수용성 연고기제를 사용하였으며 이들의 조성 및 함량을 Table 1에 나타내었다.

Table 1. Composition of Water Soluble Ointments

| Materials | Amounts |
|------------------------------|--------------------|
| Wax | 38mg (Emollients) |
| Glycerine | 192mg (Demulcents) |
| Stearyl Alcohol | 116mg |
| Sodium Laurylsulfate | 9mg |
| Butyl-p-Hydroxybenzoate | - |
| Ethyl-p-Hydroxybenzoate | - |
| Water | - |
| Antibacterial(Nitrofurazone) | 3.5mg |

Unit : in 1.0g

2. 화상연고제의 제조

화상연고제의 제조를 위하여 비교 대조군으로 사용되는 수용성 연고기제를 사용하였는데 이때 유사 실험조건의 설정을 위하여 2차 감염 예방을 위한 살균제로서 nitrofurazone⁵⁾을 약전⁶⁾에 따라서 대조군과 각각의 연고제에 1g당 3.5mg씩 동량 첨가하였으며 완화제인 glycerine도 algin처치군에 대조한 기존 수용성 연고베이스의 양과 같이 동량 첨가하여 제조하였으며 나머지 첨가제는 사용하지 않고 수용액을 넣어 제조하였다. 예로서, 알긴 20.0g에

멸균한 초중류수 200ml를 넣고 여기에 0.7g의 nitrofurazone과 3.84mg의 glycerine을 첨가한 후 기계식 교반기를 이용하여 완전 분산시켰다.

3. 화상 실험조건 및 방법

본 실험은 algin을 이용한 화상연고제로의 가능성을 확인하고자 실험동물인 rat에 대한 생체적용 실험을 수행하였으며 화상 전후의 육안적, 혈액학적 변화와 조직 재생 정도를 분석하였다.

1) 실험동물 사육조건과 군 분리

실험동물은 (주)대한실험 동물센터에서 특정 병원체부재(SPF) 스킷 S/D계 100~150g의 rat를 분양 받아서 1주일간 순화시킨 후 건강한 동물을 선택하여 동일한 조건하에서 사육하여 실험동물의 군 분리를 시행하였으며^{7,8)} 각 군의 평균체중에 대한 군간의 차이를 최소화하여 실험하였다. 제조한 화상연고제 실험의 대조군으로는 자연치유에 의한 관찰을 위하여 negative군 각각 6수와 기존 수용성 연고베이스로 제조한 positive군 각각 3수 등의 두 군을 설정하고 제조한 algin 처치군으로 각각 3수로 구분하여 6일 관찰군과 12일 관찰군으로 실험하였으며, 이러한 군의 설정을 Table 2에 나타내었다.

Table 2. Grouping of Rats for Artificial Burn Experiments

| Materials | 6days | 12days |
|-----------|-------|--------|
| Negatives | 6* | 6 |
| Positives | 3 | 3 |
| Algin | 3 | 3 |
| Total | 12 | 12 |

* : The number of animals

2) 인위적 화상 방법^{9,10)}

먼저 실험동물인 rat의 등쪽 부위를 세발용 전기 면도기를 이용하여 25×25cm 정도의 크기로 제모하였으며, 1회용 면도기를 이용하여 잔털을 제거하고 70.0%의 알코올정제수로 제모한 피부를 소독하였다. 한편, rat에 인위적 화상을 발생시키기 위하여 공업용 실리콘오일(dimethyl polysiloxane, 비열: 0.34cal/g°C, 밀도: 0.963, 설정온도: -40~175°C) 800ml를 유리로 제작된 Oil Bath에 넣고 160°C까지 가열시켰다. 초당 약 40Kcal를 발생하도록 한 Oil Bath의 유리 벽면에 오일이 묻지 않도록 주의하면서 제모한 rat의 등부위를 10초간 밀착시켜 수포가 발생한 동전 크기의 2도 화상을 입혔다. 다음으로 시험군에 따라서 제조한 화상연고제를 시약스폰을 이용하여 환부에 바로고서 멸균 가아제로 감아주었

다. 이후 매일 1회씩 일정시간에 같은 방법으로 rat의 환부를 처리하였다.

3) 관찰 및 검사항목

가. 일반 검사 및 체중 측정

실험동물에 대하여 매일 일정시간에 관찰하여 일반상태의 변화, 화상부위의 상태, 중독증상 및 사망유무 등을 관찰하였으며 실험동물군의 체중은 시작체중과 부검직전 체중을 측정하였다.

나. 혈액학적 검사

부검 전 오전부터 절식시킨 후 경추 탈구하여 심장채혈 하였다. 혈액은 EDTA-Na로 항응고 처리하고 자동혈구계산기를 이용하여 백혈구수(White Blood Cell, WBC), 적혈구수(Red Blood Cell, RBC), 혈색소량(Hemoglobin, HGB), 적혈구용적(Hematocrit, HCT), 평균적혈구용적(Mean Corpuscular Volume, MCV), 평균적혈구혈색소량(Mean Corpuscular Hemoglobin, MCH), 평균적혈구혈색소농도(Mean Corpuscular Hemoglobin concentration, MCHC), 혈소판수(Platelet, PLT) 등을 측정하였다.

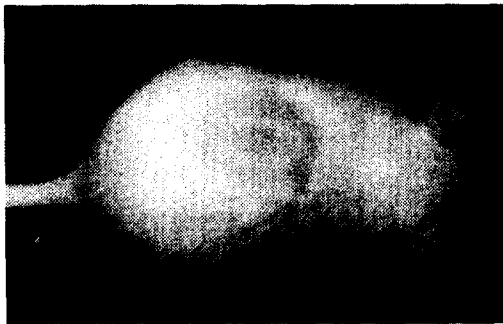


Fig. 1. Photographs of rat for an experimental burn.

다. 병리조직학적 검사

화상 치료전후 rat의 피부조직 변화관찰을 위하여 피부 조직의 준비는 rat를 경추 탈구시킨 후 화상을 입혔던 등 쪽의 피부를 떼어내어 filter paper

에 편평하게 부착한 후 10% 중성 포르말린에 고정하여 일반적인 조직처리 과정¹¹⁾을 거쳐서 Harris의 방법¹²⁾인 hematoxylin과 eosin으로 염색하여 현미경으로 배율 50~200배에서 관찰하였다.

III. 결과 및 고찰

1. 화상연고제의 치료효과

피부는 화상 및 외상과 같은 장애를 받으면 과량의 체액 방출로 인한 탈수증세와 세균감염 등의 생명을 위협받는 치명적인 결과가 발생하므로 상처부위를 적절히 피복하고 치료를 촉진시키는 것이 필요하다. 외상과 화상치료 방법의 하나로서 생체적합성이 우수한 재료에 대한 연구가 필요하다. 이러한 재료의 사용목적으로서 두 가지 장점이 있다. 첫째로는 단기용으로 상처부위에 잘 부착되며 산소투과성이 높고 세균으로부터의 감염을 억제하는 것이고, 둘째로는 장기간 사용하는 것으로 무독성이며 생분해되면서 항균작용과 피부조직재생과 같은 치료효과를 더욱 촉진시키는 것이다. 본 연구에서는 기존 수용성 연고베이스와 유사한 alg인을 이용한 연고베이스를 제조하여 rat의 피부에서의 6일, 12일 후의 육안적 화상 치료효과, 혈액학적 검사 및 병리조직학적 검사를 실시하였다. 우선, rat의 실험 시작과 종료 체중변화는 Table 3에서와 같이 대조군과 실험군에서 유사한 체중변화를 나타내었으며 단 자연치유에 의한 관찰군인 negative군은 면역성의 저하로 인하여 크지 않은 체중변화를 나타내었다.

2. 혈액학적 검사

인위적 화상전후 rat의 혈액학적 소견을 자동혈구 분석기로 분석하여 Table 4에 나타내었다. 백혈구(WBC)는 $6.60 \sim 12.6 \times 10^3 / \mu L$ ^{13, 14)}를 정상범위로 보면, 실험 6일 후에는 백혈구가 감소하였으나 12일 후에는 대부분의 실험군에서 백혈구가 증가하여 염증 발현의 가능성을 나타내었다. 특히, 자연치유군으로 설정한 negative군에서는 높은 백혈구 수치로 나타내었으며 이는 병리조직학적 결과에서 급성 염

Table 3. Body Weight Change during Burn Experimental Periods

| Materials | Time | start | | 1st | | 2nd |
|-----------|------|-------------|------------|------------|------------|------------|
| | | 6days | 12days | 6days | 12days | 12days |
| Alg인 | | 143.5±18.8* | 141.9±16.6 | 160.3±31.6 | 173.8±15.3 | 199.3±15.7 |
| Positive | | 161.7±13.5 | 161.6±18.1 | 190±46.3 | 196±34.5 | 222.6±34.4 |
| Negative | | 163.7±8.0 | 141.3±26.0 | 199.6±13.0 | 170.6±41.2 | 196±47.8 |

Unit : g for rat

* The values expressed as a mean±SD (n=3~6)

Table 4. Hematological Values of The Rats during Burn Experimental Periods

| Time | Group | WBC [$\times 10^3/\mu\text{L}$] | RBC [$\times 10^6/\mu\text{L}$] | HGB [g/dL] | HCT [%] | MCV [fL] | MCH [pg] | MCHC [g/dL] | PLT [$\times 10^3/\mu\text{L}$] |
|--------|----------|--------------------------------------|--------------------------------------|----------------|----------------|-----------------|----------------|----------------|--------------------------------------|
| | Standard | 6.6~12.6 | 6.7~9.75 | 13.4~15.8 | 44.4~50.4 | 49.8~69.0 | 14.3~21.0 | 26.2~35.4 | 150~450 |
| 6days | Algin | 5.9 \pm 1.5* | 6.55 \pm 0.7 | 7.4 \pm 0.8 | 50.5 \pm 2.8 | 76.8 \pm 5.5 | 12.1 \pm 2.7 | 14.3 \pm 0.7 | 733 \pm 118 |
| | Positive | 4.6 \pm 2.3 | 6.83 \pm 0.1 | 7.5 \pm 0.4 | 50.2 \pm 2.3 | 73.5 \pm 2.4 | 10.9 \pm 0.4 | 14.9 \pm 0 | 921 \pm 172 |
| | Negative | 3.0 \pm 0.6 | 7.07 \pm 0.6 | 7.9 \pm 0.5 | 50.7 \pm 2.7 | 78.87 \pm 5.1 | 11.3 \pm 0.7 | 14.7 \pm 0.6 | 883 \pm 70 |
| 12days | Algin | 12.4 \pm 4.1 | 6.16 \pm 0.7 | 13.2 \pm 1.4 | 45.4 \pm 6.2 | - | - | - | 446 \pm 137 |
| | Positive | 16.9 \pm 5.6 | 5.75 \pm 0.2 | 13.1 \pm 0.8 | 44.4 \pm 3.1 | - | - | - | 439 \pm 209 |
| | Negative | 20.1 \pm 1.8 | 5.87 \pm 0.6 | 13.3 \pm 1.8 | 41.7 \pm 2.1 | - | - | - | 413 \pm 67 |

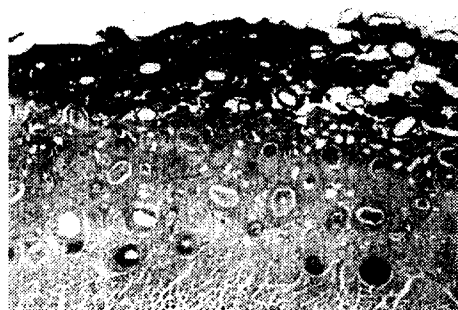
* The values expressed as a mean \pm SD (n=3~6)

중의 모습으로도 확인할 수 있었다.

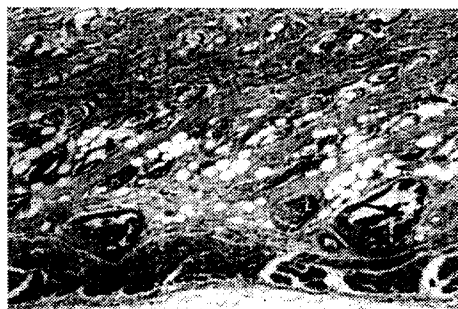
적혈구(RBC)는 정상범위가 6.76~9.75 $\times 10^6/\mu\text{L}$ ^{15, 16)}임을 감안하면, 각 시험군의 범위는 정상범위 내에 있는 것으로 판단되었고 대조군만이 화상 후 피부조직의 과다출혈에 의한 약간의 수치 감소를 확인할 수 있었다. 헤모글로빈(HGB)은 정상범위를 13.4~15.8g/dL^{13, 14)}로 보면, 초기에는 많은 수치의 감소를 나타내었으나 12일 후에는 정상범위 내에 있는 것으로 나타내었다. 혈구용적은 대부분의 시험군에서 정상범위 내의 회복을 나타내었다. 혈소판수(PLT)는 150~450 $\times 10^3/\mu\text{L}$ ^{13, 14)}를 정상범위로 보면, 초기에는 대조군을 포함한 각 실험군에서 모두 증가하였다. 이는 화상으로 인한 조직의 파괴 후 혈액응고 촉진작용에 의하여 일시적으로 증가한 수치를 나타내고 있으나 12일 후의 결과에서는 점차로 혈소판수가 정상범위에 근접해가고 있음을 확인할 수 있었다. 대체적으로 본 연구에서 사용한 algin 처치군의 혈액학적 수치가 대조군의 혈액학적 수치보다도 우수함을 확인할 수 있었다.

3. 병리조직학적 관찰

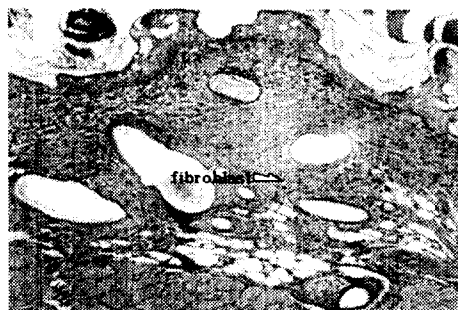
Rat의 화상 치료전후 피부의 병리조직학적 비교, 관찰을 위하여 먼저 Fig. 2(a)의 수포를 발생시킨 인위적인 2도 화상 후 조직의 사진을 보면 인위적인 화상에 의하여 피부의 상피세포가 광범위하게 괴사되어 있었고 진피 상부층 일부도 괴사되어 있었으며 모낭의 일부가 화상으로 인하여 검게 그을려 있었다. 또한 피부의 심부에는 다수의 단핵구와 형질세포 등과 같은 염증세포들이 미만성(diffuse)으로 침윤되어 급성 염증세포화 되어 있었다. Fig. 2(b)는 기존 수용성 연고베이스로 처치한 대조군인 positive군의 12일 후 조직인데 여전히 상피 층이 괴사되어 있었고 진피의 일부 모낭에 칼슘이 침착되어 있었으며 주변부와 하부 근육층에 다수의 대식구 및 소수의 단핵구 등의 염증세포가 미만성으로 침윤되어 혈액검사에서와 같이 급성 염증반응을



(a)



(b)



(c)

Fig. 2. Histological appearance of burned skin(a), burned 12days after treatment positive(b) and treatment algin(c), cross sectional view of skin tissues from rats (hematoxylin and eosin stain, original magnification $\times 100$).

나타내고 있었다. 그러나 Fig. 2(c)의 alg인 실험군 처치 12일 후 조직에서는 상피에 일부 가피(crust, 딱지)가 형성되어 있었으며 소수의 대식구 등과 같은 일부 염증세포가 침윤되어 있으나 심부 진피에 조직 재생의 척도인 섬유아세포(fibroblast)가 광범위하게 증식되고 있으므로 negative 또는 positive 군과는 달리 빠른 치료효과를 나타내었다.

IV. 결론

미역과 다시마 같은 갈조류에서 추출이 가능한 alg인을 이용하여 기존 상용의 화상연고제와 유사한 조성으로 화상연고제를 제조하여 rat에 대한 인위적 화상 전후의 육안적, 혈액학적 분석과 병리조직학적 관찰을 실시하여 화상치료 효과를 연구하여 본 결과 다음과 같은 결론을 얻을 수 있었다.

혈액학적 검사에서 백혈구(WBC)는 실험초기에 대조군과 실험군인 alg인 처치군에서 감소한 경향을 나타내었으나 시간이 지남에 따라 염증발현에 의하여 정상범위보다 증가한 수치를 나타내었다. 그러나 실험군인 alg인 처치군이 항염증성에 의하여 다른 대조군에 비하여 비교적 적은 백혈구 수치를 나타내었다.

혈소판수(PLT)는 초기에 대조군을 포함한 각 실험군에서 화상으로 인한 피부조직의 파괴 후 혈액응고 촉진작용에 의하여 일시적으로 증가한 수치를 나타내고 있으나 시간이 경과함에 따라 점차로 혈소판수가 정상범위에 근접해가고 있음을 확인할 수 있었다.

병리조직학적 검사에서 대조군인 positive와 negative군에서는 피부조직 재생의 척도인 섬유아세포(fibroblast)를 관찰할 수 없었으나 alg인 처치군에서는 시간이 경과함에 따라 피부 심부조직에서 섬유아세포를 관찰할 수 있었으며 대조군에 비하여 적은 양의 염증세포만이 관찰되었다.

참고문헌

- 1) URL: <http://www.mayohealth.org/mayo/firstaid/htm/sub4-fm.htm>
- 2) URL: <http://www.cooleburn.com/learn/index.html>
- 3) 서울대 의과대학 약리학교실, 국소에 작용하는 약물, 약리학, 고려의학, 814(1994).
- 4) 박선섭, 유일준, 조원순, 피부작용약, 약리학, 정문각, 253(1998).
- 5) 유기의약품 편집위원회, 외용살균방부제, 유기 의약품화학, 동명사, 서울, 589(1994).
- 6) S. C. Cocabo, D. B. Bromilow, "Topical Antiinfectives", KIMS, MIMS Korea, 8(3), 281(1994)
- 7) URL: <http://www.nap.edu/readingroom/books/labrats>
- 8) 이영순, 사육관리와 기술, 실험동물학, 서울대출판부, 서울, 298(1983).
- 9) Kim K. Y., Chung H. S., Hwang S. J., Development of Sponge-like Artificial Skin from Gelatin, *polymer(korea)*, 13(5), 454(1989).
- 10) S. Y. Yi, D. D. Jang, Ahn, R. M., Inhibitory Effects of Tannic Acid on the Skin Toxicity and Heat Shock Protein Induction by UVB Irradiation in Hairless Mouse, *Kor. J. of Toxicol.*, 13(1), 79(1997).
- 11) B. Edna, P. Bob, M. Jacquelyn, M. Arrington, Leslie, H. Sobin. "Laboratory Methods in Histotechnology", 1st Ed., Armed Forces Institute of Pathology, Washington, 1(1994).
- 12) J. B. William, M. W. Linda, Color atlas of veterinary histology, 1st Ed., Williams & Wilins, Hong Kong, 53(1990).
- 13) B. M. Mitruka, H. M. Rawnsley, "Clinical Biochemical and Hematological Reference Values in Normal Experimental Animals and Normal Humans", 2nd Ed., MASSON Publishing, New York, 58(1981).
- 14) H. J. Baker, J. R. Lindsey, S. H. Weisbroth, "The Laboratory Rat", Academic press, New York, 21(1979).