미노싸이클린 함유 폴리사카라이드 미소캡슐의 약물방출능, 생분해성, 항균력 및 세포독성 연구

박윤정** · 염혜리* · 이상철* · 이승진** · 정종평*

= Abstract =

Drug Release Kinetics, Biodegradability, Antimicrobial Activity and Cytotoxicity
of 2% Minocycline-Loaded Polysaccharide Microcapsules

Yoon-Jeong Park,** Hey-Ri Yeom,* Sang-Chul Lee,*

Seung-Jin Lee,** Chong-Pyoung Chung*

Department of Periodontology,* College of Dentistry, S.N.U.

Department of Industrial Pharmacy,** College of Pharmacy, Ewha Womans University, Seoul, Korea

Background : To achieve optimal drug delivery rate and duration to a specific target site with desirable biodegradability of the drug carriers in the intended time period, 2% minocycline-HCl loaded microcapsule composed of alginate and chitosan were fabricated.

Methods : Microcapsules were designed to maintain drug concentration in the intra-crevicular for 1 week. In vitro drug release experiments of 2% minocycline-HCl loaded microcapsules was performed in the simulated gingival crevicular fluid. In vivo biodegradability and release kinetics were evaluated by inserting 50mg of microcapsule into the pocket. The fluid concentration upto 7 days was checked by agar diffusion assay with Periapaper. And all the remnant was collected by washing technique and its biodegradability was examined by SEM. Antimicrobial activity of drug loaded microcapsules was ascertained by agar dilution and diffusion method. Cytotoxicity was investigated by MTT test to examine on the effect of drug-loaded and un-loaded microcapsule on cellular activity of gingival fibroblast.

Results : In vitro and in vivo drug release of the microcapsules showed zero order release kinetics with initial burst effects. The in vivo release rate was shown to 540µg in first 24 hours and gradually diminished of 9µg in 7days. in vivo biodegradability showed demolished shape of microcapsule at 7 days of insertion. Cytotoxicity of drug-loaded and un-loaded microcapsule showed no significant inhibitory effect on the growth of gingival fibroblast. Minocycline releasing media from 1 day to 7 days of release experiments showed sufficient microbial growth inhibitory activity.

*서울대학교 치과대학 치주과학교실

**이화여자대학교 약학대학 제약학과

교신저자 : 정종평, 서울시 종로구 연건동 28 서울대학교 치과대학 치주과

Conclusion : These results suggested that 2% chitosan-alginate microcapsule might be ideal tool for local drug delivery system for treatment of periodontal disease.

KEY WORDS : Minocycline loaded microcapsules · Biodegradability · Local drug delivery system · Periodontal disease.

서 론

18세기경 세균에 의한 치주질환 감염 연구가 시작된 이래 이에 따르는 항균제에 의한 치주낭내 치태세균의 제거에 대한 관심도가 높아지게 되었다. 20세기초 항생제가 발견된 후 많은 종류의 새로운 항생제가 치주질환의 예방과 치료에 이용되기 시작하였다. 그러나 이러한 항생제의 치주질환 응용은 전신 투여시 발생하는 부작용 때문에 많은 어려움을 가지게 되었다¹⁾. 따라서 부작용을 최소화하고 국소적 치료효과를 극대화하기 위한 방법의 하나로서 국소약물송달제제의 도입이 불가피하게 되었다. 1970년대초 국소약물송달에 의한 항균제의 사용이 시도되었는데, 이 방법의 장점은 항균제를 특정부위에 직접 투입 할 수 있고 투입시 원하는 양의 약물을 필요로 하는 기간동안 계속 방출함으로써 기대하는 만큼의 치료효과를 얻을 수 있다는 점에 있었다²⁾. 따라서 이러한 효과를 극대화하고자 각종 방법을 도입하여 국소약물송달제제를 개발하였다. 현재까지 제제로서 개발된 종류로는 tetracycline 함유 cellulose acetate hollow fibers³⁾, chlorhexidine 및 metronidazole 함유 dialysis tube⁴⁾, amine or stannous fluoride 함유 단순 겔형⁵⁾, tetracycline 함유 fiber^{6,7)}, minocycline 함유 polycaprolactone film⁸⁾, chlorhexidine 함유 acrylic strip⁹⁾, tetracycline 함유 collagen¹⁰⁾, metronidazole 함유 ethyl cellulose polymer¹¹⁾, minocycline 함유 hydroxyethyl cellulose 겔¹²⁾, metronidazole 함유 겔¹³⁾, ofloxacin 함유 cellulose strip¹⁴⁾ 등이 있다. 그러나 지금까지 개발된 제제는 약물송달조절 기능성이 없거나, 생분해성이 아니거나, 생분해성이 있더라도 약물송달 조절능력이 부족하기 때문에 필요로 하는 기간동안 적정농도를 유지하면서 충분한 항균효과를 나타낸 후에 생분해 되는 제제의 필요성이 요구되었다. 최근 들어 자연산 생분해성 고분자를 이용한 monolithic matrix, hy-

drogel, microspheres, nanoparticles, film, sponge 등을 응용한 국소약물송달제제 개발연구가 활발하며¹⁵⁾ 이러한 자연산 고분자 중 쉽게 얻을 수 있는 소재로서는 sodium alginate^{16,17)}, chitosan¹⁸⁾ 등의 다당류를 들 수 있다. 이러한 다당류 중 sodium alginate는 brown seaweeds에서 얻을 수 있고 쉽게 겔형태로 성형시킬 수 있어서 국소약물송달제제로 많이 이용되고 있다^{16,17)}. 한편 chitosan은 계의 겔질인 chitin에서 부터 만들어지는 glycosaminoglycan의 일종으로서 겔화능이 있으며 조직친화성, 지혈작용, 세포화학주성 등이 뛰어나고 생체내 lysozyme에 의하여 분해되는 특징을 가지고 있다^{18,19)}. 이러한 장점을 가지고 있는 천연산 다당류 고분자를 이용함으로써 약물 투여량, 기간, 그리고 생분해기간을 조절할 수 있는 연구가 진행되었다.

본 논문의 목적은 sodium alginate core에 2% minocycline-HCl을 함유시키고 난 후 chitosan으로 피복시켜 얻은 alginate-chitosan microcapsule의 생체의 및 생체내 약물용출, 생분해성, 항균효과 및 세포독성에 관하여 연구함에 있다.

연구대상 및 방법

1. 약물함유 alginate-chitosan microcapsule의 제조

2%(w/v) sodium alginate(Showa chemicals., Tokyo, Japan) 용액을 1.5%(w/v) 염화칼슘 수용액(Showa chemicals., Tokyo, Japan)에 압축공기가 통하는 droplet extruder nozzle을 이용하여 점적시켜 겔화시키고 세척한다. 수거한 겔상의 microsphere를 chitosan(Junsei chemicals., Tokyo, Japan)용액에 가하고 교반하여 피막을 입히고 세척, 수거하였다. 수거한 microcapsule을 minocycline·HCl(Dong Kook Pharmaceutical Co. Ltd., Seoul, Korea)을 봉입하고 건조하였다. 건조된 약물 함유 microcapsule을 연고기체와 혼합하

여 최종 약물 함량이 2%(w/w)이 되도록 하였다.

2. 약물 용출실험

약물이 함유된 microcapsule 50mg을 칭량하여 basket에 담고 이를 40ml의 증류수가 들어있는 vial에 가하였다. 이를 shaking water bath(Dongyang Science Co., Buchon, Korea)에서 37℃, 15rpm을 유지시키고 일정시간 간격으로 용출액을 교환하였다. 용출액을 UV-spectrophotometer를 사용하여 274nm에서 흡광도를 측정하고 검량선에 의해 용출된 약물의 양을 정량하였다.

3. 세포독성 실험

계대 배양한 치은염유아세포를 0.25% trypsin-EDTA (Gibco, Grand Island, N.Y. U.S.A.) 용액으로 처리한 후 원심분리하여 배양액으로부터 세포부유액을 만들고 표준 혈구 계산기로 well당 1×10^5 개의 세포수가 되게 하여 접종한 후 배양하였다. 24시간 후 배양액을 교환하고 48시간 후 배양액을 제거한 후 Hank's balanced salt solution(Gibco, Grand Island, N.Y. U.S.A.)으로 세척하였다. 시료로서는 2% minocycline-HCl 함유 microcapsule을 용출실험한 용출액으로 하여 50μl를 각 well에 넣고 배양액을 200μl가 되게 하였다. 이들을 24시간 배양하고 생리식염수에 용해한 methylthiazol-2-YL-2,5-diphenyl tetrazolium bromide(MTT)(Sigma, St. Louis, M.O., U.S.A.) 용액 50μl를 각 well에 넣고 4시간 동안 배양한 후 MTT용액을 제거하고 formazone 결정을 용해시키기 위해 dimethylsulfoxide(Sigma, St. Louis, M.O., U.S.A.)를 50μl씩 첨가하였다. Plate를 잘 흔든 후 ELISA reader(THERMO max, Molecular devices, Bohannon, CA, USA)로 570nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조군은 시료가 들어있지 않은 α-MEM 배양액 well을 사용하였고 모든 실험결과는 대조군에 대한 백분율로 계산하였다.

4. 항균력 실험

1) Agar dilution법에 의한 항균력 실험

1ml의 약물용출액을 18ml의 멸균된 한천배지와 혼합하고 1ml의 혈액을 가하여 혈액한천배지를 제조하였다.

미국 주립대학 Buffalo 치과대학으로부터 기증받은 3 종류의 표준 균주로서 *Porphyromonas gingivalis* 381, *Prevotella intermedia* NCTC 9336, *Actinobacillus actinomyces-cetemcomitans* Y4를 혈액한천배지에서 4~7일간 배양하고 Trypticase soy broth에 접종후 48~72 시간 동안 10% CO₂, 10% H₂, 80% N₂가 포함된 혐기성 배양기에서 37℃로 배양하여 세포의 수가 10^7 cell/ml이 되도록 하였다. 세포 현탁액 15μl를 약물방출액이 들어있는 혈액한천배지에 접종한 후 3~5일간 배양후 세균성장억제도를 관찰하였다. 세균성장억제도의 측정은 minocycline-HCl 농도별 표준액의 세균성장 억제도와 비교 환산하여 최소억제 농도(MIC)를 결정하였다.

2) Microcapsule의 약물확산법에 의한 세균 성장억제 실험

*Bacillus cereus*가 배양된 broth를 일정량 취하여 nutrient agar(Difco, Detroit M.I. USA)에 도말한 후 날짜별로 약물용출을 끝내고 건조된 microcapsule을 일정량 취하여 세균이 도말된 한천배지위에 정치하였다. 균주와 microcapsule이 접종된 한천배지는 다시 37℃, 10% CO₂ 배양기에서 24시간 배양한 후 세균성장 억제 부위의 지름을 mm단위로 측정하여 표준액의 지름과 비교환산하여 MIC를 결정하였다.

5. 치주낭내에서의 in vivo 약물용출실험

치주낭내에서의 약물용출실험은 2% minocycline-HCl을 함유한 chitosan-alginate microcapsule 50mg을 사용하였으며, 치주낭내에 삽입된 microcapsule로부터 시간이 지남에 따라 방출되는 minocycline-HCl의 농도는 생분석법에 따라 결정하였다. 50mg microcapsule을 5mm 이상의 치주낭내에 넣었으며 치주낭내에서의 minocycline-HCl의 농도는 치은열구액을 시간별로 filter paper strip(Harco, Tus-tin, C.A., USA)을 이용하여 채취하여 구하였는데, 채취량은 치은열구액이 strip의 청선까지 올라올때까지로 하였다. 채취시간은 microcapsule 삽입 후 1, 2, 4, 8 시간이었으며 다시 치주포대를 한 후 24시간 간격으로 7일간 시행한 후 strip을 사용시까지 건조하여 냉동(-20℃) 보관하였다. 각 strip에서의 minocycline-HCl의 농도는 *Bacillus cereus*를 배양하여 각 strip이 나타내는

세균성장억제 부위의 직경을 측정함으로써 구하였다. 즉, 10ml Nutrient broth(Difco, Detroit, M.I. USA)에 든 *Bacillus cereus* KCTC 1012(KIST 유전공학센터로부터 기증받음) 균주를 37℃, 10% CO₂ 배양기에서 배양하고 spectrophotometer로 550 nm에서 균의 혼탁도가 0.3이 되도록 하였다. 1.7% agar가 첨가된 Mueller-Hinton broth(Difco, Detroit, M.I., USA)를 멸균하고 이를 50℃로 식혀 broth-agar 100ml 당 Nutrient broth 2ml를 첨가하여 90 mm반경의 평판에 7ml씩 부어 굳힌 후, standard strip과 치주낭내에서 채취한 strip을 청선까지 잘라서 평판배지 위에 놓고 37℃, 10% CO₂ 배양기에서 24시간 배양하였다.

Standard strip은 minocycline을 증류수로 연속 희석하여 1,000~1μg/ml의 농도로 만들어 strip의 청선까지 용액을 흡수시켜 건조하였다. 배양 후 vernier caliper를 사용하여 장축과 단축에서 1mm 단위까지로 세균성장억제 부위의 직경을 측정하고 그 평균을 산출하였다.

6. Minocycline-HCl microcapsule의 생분해 실험

치주낭내에서의 minocycline-HCl 함유 microcapsule의 생분해정도를 실험하기 위하여 2% minocycline-HCl microcapsule 50mg을 5mm 깊이 치주낭내에 삽입한 후 치주포대로 치주낭 상부를 봉합하였다. 삽입 후 1주일후에 crevicular washing 법으로 삽입된 microcapsule을 수거하여 즉시 -70℃ 냉동실에 보관하였다. 시차주사현미경관찰을 위하여 치주낭에 삽입했던 minocycline-HCl microcapsule을 2.5% glutaraldehyde(0.1M 인산완충액, pH 7.4)을 사용하여 고정화 후 고정액을 제거하고 0.1M 인산완충 생리식염수로 5번 세척하였으며 1% osmium tetroxide(0.1M 인산완충액, pH 7.4)에서 후고정한 다음 인산완충 생리식염수로 세척하고 2% tannic acid(0.1M 인산완충액 pH 7.4)로 처리한 다음 순차적으로 에탈알콜로 탈

수하였다. 이를 임계점건조기를 이용하여 임계점온도로 건조시키고 ion coater를 이용하여 gold로 피복시킨 후 주사전자현미경(JEOL-JSM-3505, Japan)을 이용하여 시편의 형태를 관찰하였다.

결 과

2% minocycline-HCl microcapsule의 *in vitro* 약물 용출은 1일별로 연구한결과 1일까지는 1558μg이 용출되었다. 그러나 2일 후는 675μg, 3일후는 372μg, 4일후는 328μg, 5일후는 162μg, 6일후는 64μg, 7일후 78μg으로서 항균효과에 필요한 양보다도 높은농도의 약물이 적절한 시기에 용출되고 있음을 알 수 있다(Fig. 1). Minocycline-HCl 용출 농도의 세포독성을 연구하기 위하여 용출시 최고농도인 24시간후의 농도의 용출액을 취하여 치은섬유아세포의 활성도를 조사한 결과 대조군에서보다도 약간 높은 활성도를 나타냄으로서 세포독성이 없음을 알 수 있다(Table. 1).

또한 일별 *in vitro* 용출농도의 항균효과를 검정하고자 실시한 실험결과 용출 1일부터 7일까지의 농도에서 *P. gingivalis* 381, *P. intermedia* ATCC 25611, *A. actinomycetemcomitans* Y4에 대해서 모두 강한 항균효과가 존재함을 관찰할 수 있다(Table. 2-1). 2% minocycline-HCl 함유 microcapsule을 일별로 *in vitro* 약물용출 후 잔여 미세구의 항균효과를 연구한 결과 용출 후 1일의 microcapsule로부터 7일까지의 microcapsule에서는 강한 항균효과를 나타내고 있으며 이

Table 1. 2% minocycline-HCl microcapsule의 24시간 *in vitro* 약물용출액의 세포활성도

Sample	세포활성도 (mean ± S.D.(%))
α-MEM	100
2% minocycline-HCl 방출액 (1558μg)	111.6 ± 4.5

Table 2-1. Agar 희석법에 의한 2% 미노사이클린 함유 microcapsule의 *in vitro* 약물용출액의 항균효과

time & release rate(day)							
	24 hrs (1558μg)	48 hrs (675μg)	72 hrs (372μg)	96 hrs (328μg)	120 hrs (162μg)	144 hrs (64μg)	168 hrs (78μg)
<i>P. gingivalis</i> 381	-	-	-	-	-	-	-
<i>P. intermedia</i> ATCC 25611	-	-	-	-	-	-	-
<i>A. actinomycetemcomitans</i> Y4	-	-	-	-	-	-	-

Table 2-2. 확산법에 의한 2% 미노싸이클린 함유 microcapsule의 *in vitro* 대한 일일별 약물용출후 잔여 microcapsule의 항균 효과

microcapsule의 약물용출 시간(day) sample	1	2	3	4	5	6	7
2% minocycline-HCl microcapsule의 세균억제대(mm)	32.6 ± 2.3	30.5 ± 2.8	30.2 ± 2.6	29.4 ± 2.7	28.7 ± 1.8	27.2 ± 2.5	25.5 ± 1.7
약물비함유 microcapsule	-	-	-	-	-	-	-

*minocycline-HCl 약물농도 1000 μ g/ml의 세균억제대 크기 : 30-35mm

*이용한 세균 : *Bacillus cereus*

Fig. 1. 2% minocycline-HCl microcapsule의 *in vitro* 약물용출 실험결과.

러한 정도의 항균효과는 치주병인균에 대하여 충분한 치료효과를 보일 것으로 추정된다(Fig. 2)(Table. 2-2).

2% minocycline-HCl microcapsule의 생체내 약물용출을 조사하기 위하여 50mg의 2% minocycline-HCl microcapsule을 치은열구내에 주입후 일일별 약물용출 정도를 측정된 결과 1일후 용출량은 540 μ g이며 2일후 400 μ g, 3일후 130 μ g, 4일후 19 μ g, 5일후 10 μ g, 6일후 9 μ g, 7일후 9 μ g으로서 *in vitro* 보다 낮은 양으로 minocycline-HCl을 용출시켰으나 약물이 7일까지 용출되는 정도로 보아 치은열구내에서 충분한 항균효과가 지속된다고 볼 수 있다(Fig. 3). 2% minocycline-HCl 함유 microcapsule의 치은열구내에서의 생분해 양상을 분석하고자 microcapsule을 치은열구내에 삽입하고 7일후 수거하여 시차주사현미경을 통하여 조사분석한 결과 치은열구

Fig. 2. 2% minocycline-HCl 함유 microcapsule의 *in vitro* 약물용출 1일후 항균효과.

사용균주 : *Bacillus cereus*

Diameter : 32.6 ± 2.3(mm)

Minocycline-HCl약물농도 1,000 μ g/ml의 세균억제대 크기 : 30-35mm

내에 삽입전과 비교하여 불때 7일후 삽입된 microcapsule의 표면 chitosan capsule은 완전 분해되어 구형의 형태를 유지하고 있지 않았다. 내부 alginate core는 구형의 형체가 해체되고 비정형으로서 솜털같은 양상으로 나타났다. 그러나 일부 잔존 microcapsule에는 다량의 미노싸이클린이 함유되고 있음을 알 수 있다(Fig. 4).

고 안

치주질환의 진행에 중요한 요소인 국소인자로서의 치태 병인균의 제거를 위한 많은 방법이 고안되어왔으나 현재까지의 연구에서는 항균제의 전신투여와 국소투여

를 통한 방법이 발전되고 있다. 치주질환을 일으키는 주된 세균, 즉 *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *F. nucleatum*, *A. actinomycetemcomitans* 및 *Capnocytophaga*에 대해서 minocycline, doxycycline, tetracycline 등의 tetracycline류나 clindamycin, erythromycin 그리고 penicillin 및 ceface 항생제들의 항균작용이 연구되어졌다. 이들 중 tetracycline 류는 위에 열거한 세균에 대해 6~15 μ M의 농도로도 억제효과를 냄으로써 25~200 μ M의 농도로 억제효과를 내는 다른 항생제들에 대

Fig. 3. 2% minocycline-HCl 함유 microcapsule의 치은열구 내 약물용출 실험결과.

해 치주질환치료에 효과적임이 알려져 있다²⁰⁻²³⁾.

특히 치주염 유발세균은 콜라겐나제(collagenase)를 분비하여 치근막의 결체조직 및 인대를 파괴하여 치주낭을 형성하며 염증상태를 더욱 심화시키는데 tetracycline 계 항생제는 이러한 콜라겐나제를 저해하는 작용이 있으며 치은섬유아세포의 치근면으로의 부착을 도와줌으로써 치주질환에 선택되어졌다²⁴⁾. 이 중에서도 minocycline은 다른 tetracycline류에 비해 상대적으로 높은 치은열구내 농도를 유지하고 치은열구내 칼슘이온에 의해 착화(chelation)를 일으키지 않아 활성의 변화를 염려하지 않아도 되므로 이상적이라고 제시되어 왔다^{24,25)}. 그러나 minocycline역시 효과적으로 치은열구내 농도를 유지하기 위해 경구로 투여하는 경우 Gram 양성 oral streptococci, *E. corrodens*, *P. oralis*, Black pigmented Bacteroides들은 minocycline에 대해 내성을 발현한다. 따라서 국소 약물송달기법이 요구되는데 이중 국소약물송달제제의 개발은 최근 10년사이에 급격히 발전되어왔다.

현재까지 이 목적에 의거하여 개발된 제품에서 아직 확보되지 못한 기능은 기체의 적절한 생분해성과 항균을 위한 일정기간내 일정농도의 국소약물 용출이다. 본 연구는 이 두가지 목적에 대해 개발된 chitosan-alginate microcapsule에 minocycline-HCl을 함유시킨 후의 약물의 용출, 항균효과 및 생분해 기간과 양상에 대한 집중 연구를 초점으로 두었다. 본 실험에서 약물용

Fig. 4. 2% minocycline-HCl 함유 microcapsule의 치은열구내 생분해전 및 생분해 1주일후의 형태(SEM×130).

출 실험 1일치의 용출량이 1558 μ g 이며 이러한 정도의 용출은 초기의 burst effect로서 흔히 나타나는 현상이라고 보겠다. 그러나 2일에서 7일까지 서서히 항균효과에 필요한 농도를 유지하여 용출농도가 감소하는 현상은(Fig. 1) Goodson³⁾, Soskolne⁹⁾, Addy⁴⁾, Heijl 등⁶⁾의 연구재료인 monolithic fiber 또는 acrylic strip 에서 나타나는 결과와 같은 양상으로서 용출속도 및 양상에서 기대할 만한 효과를 나타냈다고 보겠다. 또한 *in vitro* 약물용출실험 결과에서 얻은 최고 용출농도를 이용한 세포독성 실험에서 세포의 활성저해와 관련된 양상을 전혀 관찰할 수 없었으므로 높은 농도의 minocycline-HCl(1558 μ g)이 치은열구내에 방출되더라도 조직에는 안전하게 항균효과만 발휘하게 됨을 확인할 수 있다(Table 1). 또한 7일간의 용출액을 이용한 항균실험에서 보면 *P. gingivalis*에 대하여도 방출7일까지 높은 항균효과를 보이며 *P. intermedia*와 *A. actinomycetemcomitans*에서도 7일까지에서 높은 항균효과를 보였다(Table. 2-1).

2% minocycline-HCl 함유 microcapsule의 *in vitro*의 약물용출정도와 치은열구 내에서의 약물 용출정도를 monolithic tetracycline-containing fiber^{3,7)}와 25% metronidazole 함유 젤²⁶⁾(monoglyceride 및 triglyceride)의 용출정도와 비교검토할 경우 monolithic fiber 에서와 같은 고농도가 7일간 계속되는 정도는 아니나 MIC 농도보다는 10배이상 높은 농도가 일정하게 용출되며 25% metronidazole 젤에서와 같이 12시간내에 대부분의 약물이 용출되고 그 이후는 MIC 농도와 비슷한 낮은 양이 용출되는 불안정한 상태는 아니라는 특성이 있다. 또한 일일별 약물 용출 후의 잔여 microcapsule의 항균효과에서도 매우 강한 항균효과를 보임으로서 안정적이고 지속적인 약물용출이 진행됨을 알 수 있다. 그러나 지금까지의 개발된 국소약물송달제 중 지속적으로 안정적인 약물용출을 나타내는 monolithic tetracycline fiber나 acrylic strip 제제는 생분해가 되지 않음으로서 인위적으로 일정기간 후에 제거해야 되는 불편함을 보이고 있다. 이후 개발된 collagen¹⁰⁾ 및 젤²⁷⁻²⁹⁾ 형의 국소약물송달제제는 생분해는 가능하나 너무 단시간내에 형체가 소멸되며 지속적인 약물방출과 이에 따른 효능유지가 의문시되고 있다.

현재 개발된 chitosan-alginate microcapsule의 생분해 양상은 치은열구내 투입 후 1주일 경과된 microcapsule의 형체가 거의 소실되어 약물 용출속도와 생분해 속도가 적절히 유지되었으며 임상적 요구에 부응하였다. 따라서 이러한 일련의 연구결과를 종합분석한다면 항균에 충분한 양의 약물이 치주낭내에 계속적으로 원하는 기간만큼 용출이 되며 이 기간내에 투입된 microcapsule의 생분해가 이루어짐으로서 임상에서의 사용에서 가장 바람직한 방향의 국소약물송달제제라고 생각된다.

본 실험에서의 결과를 토대로 방출된 minocycline-HCl의 치주낭내에서 치근면에서의 흡착과 방출양상²⁴⁾, 하부결체조직내 유입 및 혈중농도의 존재유무확인등이 연구되어야 한다고 생각된다.

요 약

배 경 :

항균제를 치주낭에 직접투입하여 일정한 속도로 일정기간동안 약물을 송달하며 치료후 생분해성을 획득할 수 있는 제제로서 알긴산 나트륨과 키토산으로 이루어진 미노싸이클린 함유미소캡슐을 연구하였다.

방 법 :

알긴산나트륨과 키토산으로 미소캡슐을 제조한 후 약물을 봉입하였으며 제조된 약물 함유 미소캡슐에 대해 약물용출실험, 세포독성 실험, 항균력 실험, 치주낭내에서의 약물 용출실험, 생분해 실험을 수행하였다.

결 과 :

약물의 방출은 초기 속방출이후 일정속도를 유지하였다. 치주낭내에서는 24시간후 540 μ g이 용출된 후 서서히 약물을 용출하여 7일 후 9 μ g을 방출시켰다. 생분해 실험 결과 치주낭에서 7일 후에는 미소캡슐이 분해되어 형체가 소실되었다. 약물함유 및 비함유 미소캡슐모두 치주점유아세포에 대한 유익할만한 독성은 보이지 않았으며 일별 용출된 약물은 모두 높은 항균력을 나타내었다.

결 론 :

이상의 결과로 미노싸이클린 함유 미소캡슐은 치주질환치료에 유용한 제제로서의 활용성이 제시되었다.

■ 감사의 글

본 연구는 동국제약 연구비지원에 의해 이루어 졌으며 이에 감사드립니다.

References

- 1) Page RC : *Periodontal therapy : Prospects for the future. J Periodontol* 1993 ; 64 : 744-753
- 2) Kornman K : *Controlled-release local delivery antimicrobials in periodontics : Prospects for the future. J Periodontol* 1993 ; 64 : 782-791
- 3) Goodson JM, Holborow D, Dunn RL, Hozen P and Duntam S : *Monolithic tetracycline-containing fibers for controlled delivery to periodontal pockets. J Periodontol* 1993 ; 54 : 575-579
- 4) Addy M, Rawle L, Handley R, Newman HN and Coventry JF : *Development and in vitro evaluation of acrylic strips and dialysis tubing for local drug delivery. J periodontol* 1982 ; 53 : 693-699
- 5) Oosterwaal PJ, Milx FH, van't Hof MA, Renggli HH : *Short-term bactericidal activity of chlorhexidine gel, stannous fluoride gel and amine fluoride gel tested in periodontal pockets. J Clin Periodontol* 1991 ; 18 : 97-100
- 6) Heijl L, Dahlen G, Sundin Y, Wenander A, Goodson JM : *A 4 quadrant comparative study of periodontal treatment using tetracycline containing drug delivery fibers and scaling. J Clin Periodontol* 1991 ; 18 : 111-116
- 7) Goodson JM, Tanner A, McArdle S, Dix K, Watanabe SM : *Multicenter evaluation of tetracycline fiber therapy III. Microbiological response. J Periodont Res* 1991 ; 26 : 440-451
- 8) 김동균 · 정서영 · 정종평 : 국소약물송달에 의한 치주질환 치료제개발에 관한 연구. 대한치과의사 협회지 1990 ; 28 : 117-127
- 9) Soskolne A, Golomb G, Friedman M and Sela MN : *New sustained release dosage form of chlorhexidine for dental use. 2. Use in periodontol therapy. J Periodontal Res* 1983 ; 18 : 330-336
- 10) Minabe M, Takeuchi K, Tomomatsu E, Hori T and Umemoto T : *Clinical effects of local application of collagen film-immobilized tetracycline. J Clin Periodontol* 1989 ; 16 : 291-294
- 11) Golomb G, Friedman M, Soskolne A, Stabholz A and Sela MN : *Sustained release device containing metro nidazole for Periodontal use. J Dent Res* 1984 ; 63 : 1149-1159
- 12) Kurimoto K, Isoshima O, Nacera Y, Anada T, Kobayashi Y, Kurihara H, Kinoshita M, Nomura Y and Murayama Y : *Periodontal therapy by local delivery of minocycline. Clinical study on optimum concentration of LS-007. J Jpn Assoc Periodontol* 1987 ; 29 : 930-936
- 13) Norling T, Lading P, Engström S, Larsson K, Krog N and Nissen SS : *Formulation of a drug delivery system based on a mixture of monoglycerides and triglycerides for use in the treatment of periodontal disease. J Clin Periodontol* 1992 ; 19 : 687-692
- 14) Yamagani H, Takamori A, Sakamoto J, Okada H : *Intrapocket chemotherapy in adult periodontitis using a new controlled-release insert containing ofloxacin(PT-01). J Periodontol* 1992 ; 63 : 2-6
- 15) Sanoford PA and Bair J : *Industrial utilization of polysaccharids in the polysaccharides, I (Aspinell ed.). 412-481, Academic press, 1988*
- 16) Stockwell AF, Davis SS and Walker SE : *In vitro evaluation of alginate gel systems as sustained release drug delivery systems. J Controlled Release* 1986 ; 3 : 167-175
- 17) Yotsuyanagi T, Ohkubo T : *Calcium induced gelation of alginic acid and pH-sensitive reswelling of dried gels. Chem Pharm Bull* 1987 ; 35 : 1555-1563
- 18) Sawayanagi Y, Nambu N and Nagai T : *Enhancement of dissolution properties of prednisolone from ground mixtures with chitin or chitosan. Chem Pharm Bull* 1983 ; 31 : 2507-2509
- 19) Hwang C, Rha CK and Sinskey AJ : *Encapsulation with chitosan ; Trans-membrane diffusion of proteins in capsules. Chitin in Nature and Technology* 1986 ; 389-395
- 20) Seymour RA, Heasman PA : *Tetracyclines in the management of periodontal diseases. J Clin Periodontol* 1995 ; 22 : 22-35
- 21) Golub LM, Ramamurthy NS, McNamara TF, Gomes B, Wolff M, Ciancio S and Perry M : *Tetracyclines inhibit tissue collagenase activity : a new mechanism in the treatment of periodontal disease. J Periodontal Res* 1984 ; 19 : 651-655
- 22) Goodson JM, Offenbacher S, Farr DH and Hogan

- PE : Periodontal disease treatment by local drug delivery. *J Periodontol* 1985 ; 56 : 265-272
- 23) Baker PJ, Evans RT, Slots J and Genco RJ : Susceptibility of human oral anaerobic bacteria to antibiotics suitable for topical use. *J Clin Periodontol* 1985 ; 12 : 201-208
- 24) Baker PJ, Evans RT, Coburn RA and Genco RJ : Tetracycline and its derivatives strongly bind to and are released from the tooth surface in active form. *J Periodontol* 1983 ; 54 : 580-585
- 25) Friedman M and Golumb G : New sustained release dosage form of chlorhexidine for dental use. *J Periodontol* 1982 ; 17 : 323-328
- 26) Stoltze K : Concentration of metronidazole in periodontal pockets after application of a metronidazole 25% dental gel. *J Clin Periodontol* 1992 ; 19 : 698-701
- 27) Pedrazzoli V, Kilian M and Karring T : Comparable clinical and microbiological effects of topical subgingival application of 25% metronidazole gel and scaling in the treatment of adult periodontitis. *J Clin Periodontol* 1992 ; 19 : 715-722
- 28) Polson A, Southard G, Dunn R, Laster I, Jones B, Stoller N : Periodontal pocket treatment with subgingival sanguinarine from a biodegradable system. *J Dent Res* 1991 ; 70 : 374(Abstr. 868)
- 29) Braswell L, Offenbacher S, Fritz M, Van Dyke TE : Local delivery of Minocin to periodontal lesions in a slow release polymer. *J Dent Res* 1992 ; 71 : 245(Abstr. 1115)