

국소약물송달에 의한 치주질환 치료제 개발에 관한 연구*

김동균¹, 김수연², 정서영², 정종평¹, 손성희¹

1. 서울대학교 치과대학 치주과학교실
2. 한국과학기술원 고분자화학연구소

I. 서 론

치주질환이 치주낭내의 특정한 미생물들에 의해 발생한다는 것은 잘 알려진 사실이다. 따라서 이러한 치주낭내의 미생물들을 제거하는 것은 치주치료의 근본이 되며, 이 치료 방법은 크게 기계적 조절법과 화학요법으로 나눌 수 있다. 화학적요법에도 여러가지 종류와 방법이 있지만, 일반적으로 화학요법약물은 필요한 부위에서 부작용없이 유효한 농도로 충분히 오랫동안 유지되는 것이 이상적이라 할 것이다¹⁾.

화학적요법에는 항생제의 전신적 투여법과 약물양치법 그리고 주사기에 의한 치주낭 세척법등이 있는데 이 방법들은 모두 효과적이며 유용하게 쓰이고 있다. 그러나 전신적 약물투여 방법은 불필요한 부위에도 약물이 너무 많이 전달되어 그로 인한 부작용이 있기 쉬우며, 양치법과 치주낭세척법은 흔히 치주낭내에 도달하지 못하거나 짧은 시간 밖에 약물효과를 나타내지 못하는 경우가 많아 종종 그 유용성에 한계를 가져왔다²⁻⁴⁾.

최근 몇 년 동안에는 좀더 효과적인 치주치료를 위해 고분자를 이용한 국소적 약물송달법이 개발되어 왔는데 이러한 방법은 부작용이 없이도 치주병원균을 효과적으로 조절할 수 있음을 보여주었다 Greenstein⁵⁾에 의하면 국소

약물송달법(local drug delivery)은 최소량의 약물로 최대의 치료효과를 얻는 방법이라고 하였다. 한 예로 tetracycline을 2주 동안 250mg qid로 복용했을 때 투여된 약물의 총량은 14,000mg이며 치은열구액에서는 5-14 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도를 나타낸다. 그러나 국소약물송달법에서는 전신적 투여법에서보다 약물의 총량을 1,500배나 줄일수 있으며 목표 부위에서는 100배 이상의 약물 농도를 나타낼 수 있다⁶⁾.

이러한 새로운 종류의 약물송달 방법에 의한 약제는 방출조절성, 지속성, 연장성, 서방성, 제어성 또는 표적성 제제등으로 불리우기도 한다⁷⁾. 일반적으로 방출조절성제제를 사용할 경우 얻을 수 있는 장점은 필요한 부위에서 충분한 정도의 약물효과를 얻는점, 투약의 회수를 상당히 줄일 수 있는 점, 소량의 분량만을 사용하기 때문에 얻어지는 경제성과 최소한의 부작용, 그리고 약제의 제거가 용이하기 때문에 기타의 불편감 및 위험성등이 적어진다는 점등이 있으며 현재는 멀미약, 피임약으로 부터 시작하여 당뇨병, 고혈압, 심장병치료제 및 암치료제로도 많은 연구가 이루어지고 있다⁸⁾.

1979년 Goodson 등⁹⁾에 의해 tetracycline을 함유한 hollow fiber가 치주질환 치료제로 처음 고안한 이후 ethyl cellulose, acrylic strip, dialysis tube등이 방출조절성제제로 연

* 본 논문은 한구과학재단의 기금으로 이루어진 것임

구되었는데 항생제와 살균제등을 함유한 이들 약제들은 4일에서 10일 이상씩 약물의 방출 기간을 보여주었으며 치주낭내에 삽입된 약제들은 모두 항균효과와 임상증상의 개선을 보여주었다¹⁰⁻¹⁵⁾. 최근에는 인체에서 분해가 가능한 collagen에 tetracycline을 함유시킨 방출조절성제제들도 연구되고 있다¹⁶⁾.

본 연구에서는 항생제인 minocycline의 방출 조절소재로서 polycaprolactone을 사용하였다. poly(epsilon-caprolactone)은 생분해성 지방성 폴리에스테르족의 하나로 보철물, 봉합사, 약물송달제제등으로 중요하게 쓰이는 생물질이다¹⁷⁾. 또한 minocycline은 1972년 소개된 반합성 tetracycline으로서 일차적으로는 제균적이거나 고농도에서는 종종 살균성도 있는 항생물질이다.

본 연구의 목적은 tetracycline계 항생물질인 minocycline을 고분자소재인 polycaprolactone에 합입시켜 그로부터의 약물의 방출역학과 항세균효과를 측정하고 조직에 대한 독성 여부를 관찰함으로써 이 약제가 치주질환 전문치료제로 개발될 가능성을 보고자함에 있다.

II. 연구재료 및 방법

1. matrix의 제조

minocycline(중의제약으로부터 기증받음)을 chloroform 5ml와 혼합하여 둥근플라스크에 넣고 3시간 동안 교반한다. 동시에 다른 둥근플라스크에 고분자(poly(epsilon-caprolactone)(M.W. 60,000 Interrox Chem. Ind. Ltd), 또는 poly(epsilon-caprolactone)과 30%의 polyethylene glycol(M.W. 20,000과 2,000, Wako Pure Chem. Ind. Ltd)) 각각의 g을 넣고 chloroform 10ml을 넣은 후 3시간 동안 교반하여 용액으로 만들고, 이 용액을 2-3시간 간격으로 약물이 들어있는 용액에 일정량씩 dropping하여 24시간 동안 교반한다. 다음 이 약물과 고분자의 혼합용액을 실온 대기상에서 teflon plate 또는 Petri dish위에 수평을 유지하며 부었다. 이 혼합용액은 3 내

지 4시간이면 완전히 건조되며, 건조된 matrix를 다시 진공 오븐에서 3시간이상 건조하였다. 이 완성된 matrix는 유연성이 있으며 두께는 대략 $200 \pm 10 \mu\text{m}$ 가 되게 하였다.

2. 약물의 방출 실험

약물의 방출 실험에는 연속성 확산장치를 사용하였다. 이 장치의 cell은 stock solution이 옆에 있는 입구로부터 들어와 위에 있는 출구로 빠져나가는 모양이며 cell의 부피는 500 μl 이고, cell전체를 water jacket안에 넣어 온도를 37°C로 유지할 수 있는 구조이다. stock solution은 증류수를 사용하였으며 증류수의 유속은 연동펌프(peristaltic pump)로 3.5ml/hour를 유지시켰다. cell 내부는 Fig. 1과 같이 제조된 약제를 원반(직경은 20mm, net wt. 30mg)으로 만들어 cell밑 부분에서 고정시켰고, 막대형 magnetic bar를 둥근테 안에 끼워 넣은 형태의 magnetic bar를 사용하여 제조된 약제로부터 방출된 약물을 교반시킴으로써 cell내부의 기포가 쉽게 출구로 빠져나가도록 하였다. 시간별로 채취된 시료 중의 minocycline은 absorption peak 273 nm에서 uv/visible spectrophotometer(Shimadzu UV-240)를 이용하여 분석하였다.

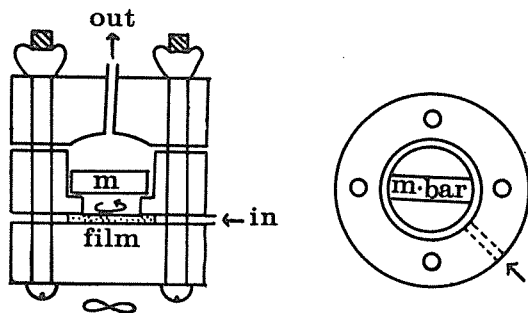


Fig. 1. Schematic view of diffusion chamber. Stock solution flow in from side and flow out to upside. (m: magnetic bar)

3. 항균 실험

(1) 사용된 세균의 종류 및 배양

본 연구에서 사용된 균주는 *Bacillus cereus* KCTC 1012(한국과학기술원 유전공학센터로부터 기증받음), *Bacteroides gingivalis* 381(Socransky로부터 기증받음), *Bacteroides intermedius* NCTC 9336, *Actinobacillus actinomycetemcomitans* Y4(미국 뉴욕주립대학 치과대학 Dr. Zambon으로부터 기증받음), *Wolinella recta* ATCC 33238, *Actinomyces viscosus* ATCC 19246, *Capnocytophaga gingivalis* ATCC 33624, *Fusobacterium nucleatum* ATCC 25586, 그리고 *Eikenella corrodens* ATCC 33624이다.

*B. cereus*는 Nutrient broth(Difco laboratories, Detroit, Mich. USA)로 37°C 10% 탄산배양기에서 24시간 배양하였다.

*A. actinomycetemcomitans*는 NIH Thioglycollate Broth(Difco)를 사용하였으며 혐기성배양기에서 24시간 배양하였다.

Bacteroides 균주 및 나머지 다른 혐기성 세균들은 Yeast extract(Difco) 2.5g, Tryptone(Difco) 2.5g, Tryptose(Difco) 2.5g, BHI(Difco) 4.8g, salt solution 10ml, Resazurine 1 ml을 증류수 250ml에 넣어 교반 후 hemin 2.5g, menadione 0.5ml, cysteine HCl(Sigma)0.125g을 추가하고 pH는 7.2로 맞추어 만든 broth에 접종시킨 후 37°C 혐기성 배양기(80% N₂, 10% H₂, 10% CO₂, Coy Lab. Products. Ann arbor, MI. U.S.A.)에서 48시간 배양하였다.

(2) disk 확산법에 의한 세균성장억제실험

*B. cereus*가 배양된 broth를 일정량 취하여 Nutrient agar(Difco)에 도말한 후 날짜별로 약물 방출이 되고난 matrix를 직경 1/4인치의 disk(net wt : 4±0.4mg)로 만들어 세균이 도말된 한천배지 위에 놓았다. 균주와 matrix가 접종된 한천배지는 다시 37°C 10% CO₂ 배양기에서 24시간 배양한 후 세균성장억제 부위의

지름을 mm단위로 측정하였으며 각 군 간의 차이점은 Student T-검정을 이용하였다.

(3) 액체배지내에서의 세균성장억제실험

B. gingivalis 381, *B. intermedius* NCTC 9336, *A. actinomycetemcomitans* Y4, *Wolinella recta* ATCC 33238, *Actinomyces viscosus* ATCC 19246, *Capnocytophaga gingivalis* ATCC 33624, *Fusobacterium nucleatum* ATCC 24486, 그리고 *Eikenella corrodens* ATCC 23834가 배양된 액체배제를 일정량씩 취하여 준비된 액체배지(10ml)에 넣은 후 날짜별로 약물 방출이 된 각 원반(minocycline을 30% 함유한 polycaprolactone, 직경 1/4인치의 disk)을 다시 액체배지내에 넣어 24-48시간 동안 혐기성배양기에서 배양하였다. 각 날짜별로 약물 방출실험이 끝난 matrix가 어느 정도 세균의 성장을 억제하는가를 spectrophotometer(Bausch & Lomb)를 사용하여 600nm 에서 optical density를 측정함으로써 살펴보았다.

(4) 세포독성실험

인체에서 분리한 치은섬유아세포를 배양한 후, 24 multi-well dish에 well당 1×10⁴ cell을 분류하였다. 다음날 배지를 바꾸어주고 3일째는 배지를 제거한 후 Hanks' balanced salt solution으로 씻어 주었다. 씻어준 섬유아세포는 minocycline을 30% 함유하는 polycaprolactone원반을 넣은 배지와 조절군으로 minocycline만을 또는 medium만을 넣은 배지를 46시간 배양한 후 [³H]-thymidine을 well당 5μCi 첨가시켜 2시간 후에 ice-cold 5% TCA(trichloroacetic acid) 3ml로 4°C에서 10분동안 고정하였다. TCA로 3-4회 세척하고 다시 제거한 후 세포를 0.5N NaOH 1ml로 37°C에서 30분간 용해하였다. 이 용액을 50μl를 취하여 cocktail solution을 4ml 가한 후 liquid scintillating counter로 count per minute를 측정하였다^{18,19}.

III. 연구 결과

1. 약물의 방출실험 결과

polycaprolactone 또는 polyethylene glycol 30%가 섞인 polycaprolactone으로부터 방출되는 minocycline의 방출속도와 방출비율은 Table 1, 2 그리고 Fig. 2와 같다. Fig. 3은 polycaprolactone과 polyethylene glycol(MW 20,000)이 7대 3으로 섞인 고분자에 minocycline을 20%, 30%, 40% 함유시켰을 때의 처음 24시간의 방출 양상을 보여주고 있으며, Fig. 4는 polycaprolactone에 minocycline을 20%, 30% 함유시켰을 때의 처음 24시간 동안의 방출 양상을 보여주고 있다. Fig. 5는 polycaprolactone에 minocycline을 20% 함유시켰을 때의 7일 동안의 약물 방출 양상을 나타내고 있다.

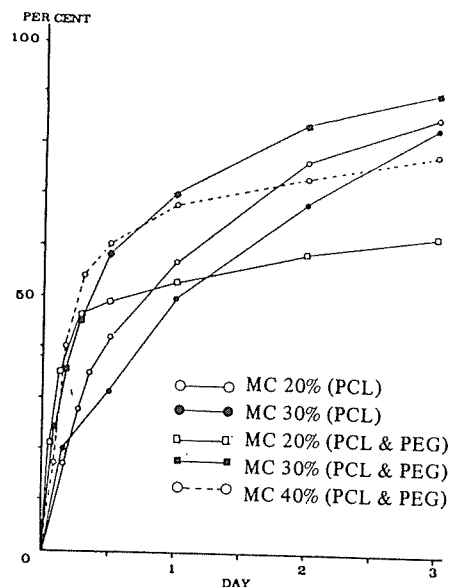


Fig. 2. Fraction release (%) of minocycline (MC) from polymer. (PCL: polycaprolactone, PEG: polyethylene glycol)

Table 1. Release rate ($\mu\text{g}/\text{ml}/\text{hr}$) of minocycline from PCL or PCL and PEG (MC: minocycline, PCL: polycaprolactone, PEG: polyethylene glycol)

	PCL (60,000)		PCL + PEG (20,000)			PCL + PEG (2,000)
	MC (20%)	MC (30%)	MC (20%)	MC (30%)	MC (40%)	MC (20%)
1 hr	270	430	450	550	600	729
2 hr	308	656	653	662	1407	444
3 hr	249	432	431	911	742	239
4 hr	208	398	197	632	578	158
5 hr	182	337	224	360	438	114
6 hr	163	218	167	335	268	90
7 hr	146	256	141	220	155	72
8 hr	136	214	117	163	111	66
9 hr	124	211	101	118	92	57
10 hr	115	192	86	92	79	49
11 hr	106	179	76	75	70	46
12 hr	100	167	75	65	63	44
1-day	66	110	36	35	32	22
2-day	41	45	14	14	13	16
3-day	30	22	10	11	9	10
4-day	19	14				
5-day	6	12				
6-day	4	9				
7-day	4	8				

Table 2. Fraction release (%) of minocycline from PCL or PCL and PEG (MC: minocycline, Pcl: polycaprolactone, PEG polyethylene glycol)

	PCL (60,000)		PCL + PEG (20,000)			PCL + PEG (2,000)
	MC (20%)	MC (30%)	MC (20%)	MC (30%)	MC (40%)	MC (20%)
1 hr			9	8	6	16
2 hr			24	17	21	25
4 hr	20	17	36	40	35	33
6 hr		28	45	40	35	38
8 hr		35	50	54	46	40
10 hr			56	57	48	42
12 hr	32	42	58	60	49	44
1-day	50	57	70	66	53	51
2-day	68	77	84	73	59	60
3-day	83	85	90	78	62	67
4-day	91	89				
5-day	95	93				
6-day	97					
6-day	98					

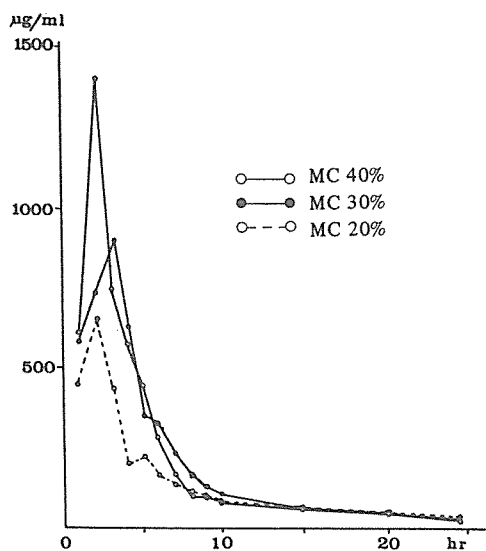


Fig. 3. Release rate ($\mu\text{g/ml/hr}$) of minocycline (MC. 20%, 30% and 40%) from polycaprolactone and polyethylene glycol at first 24 hours.

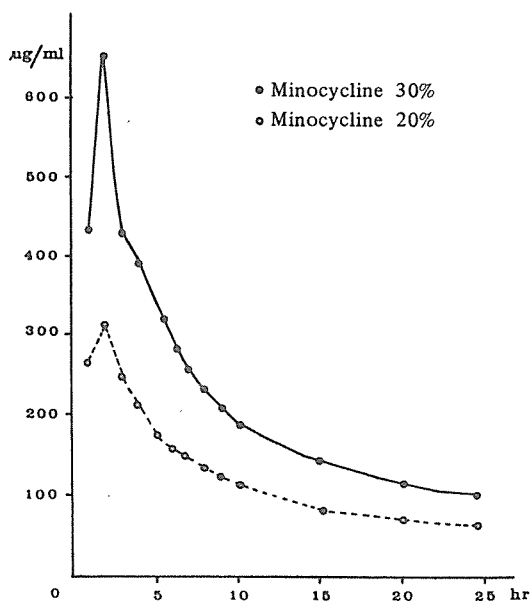


Fig. 4. Release rate ($\mu\text{g/ml/hr}$) of minocycline from polycaprolactone at first 24 hours.

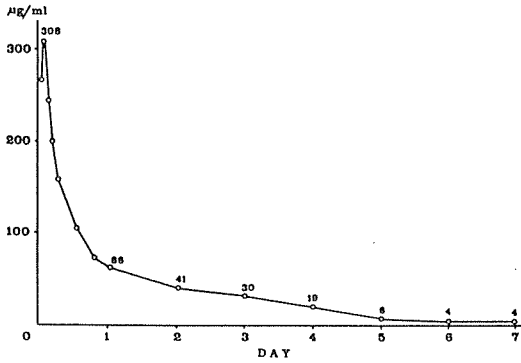


Fig. 5. Release rate of minocycline from polycaprolactone containing 20% minocycline for 7 days.

2. 항균실험의 결과

(1) disk 확산법에 의한 세균성장억제실험 결과

날짜별로 방출실험이 된 minocycline을 20%, 30% 함유한 polycaprolactone 이 *Bacillus cereus*의 성장을 억제하는 정도는 Table 3과 Fig. 6,7에서 보여주고 있다. minocycline을 29%, 30% 함유하는 polycaprolactone 원반은 6일과 7일 동안 방출실험이 되고난 이후에도 여전히 세균의 성장을 억제하고있으며, 조절군으로 약물을 넣지 않은 polycaprolactone은 세균에 대한 성장 억제 능력이 하나도 없음을 보여주고 있다.

(2) 액체배지내에서의 세균성장억제실험 결과

본 연구에서는 혐기성 치주병원균들에 대한

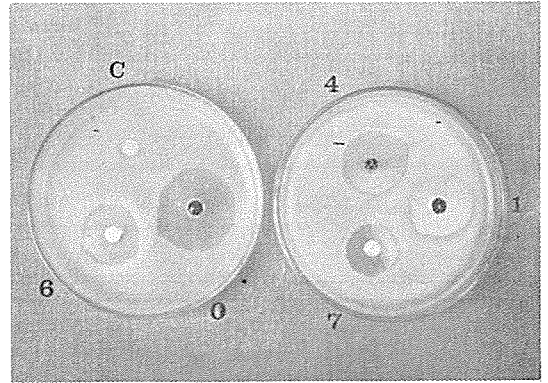


Fig. 6. Growth inhibitory activity of PCL disk containing 20% minocycline after 0, 1, 4, 6 and 7 day releasing test.

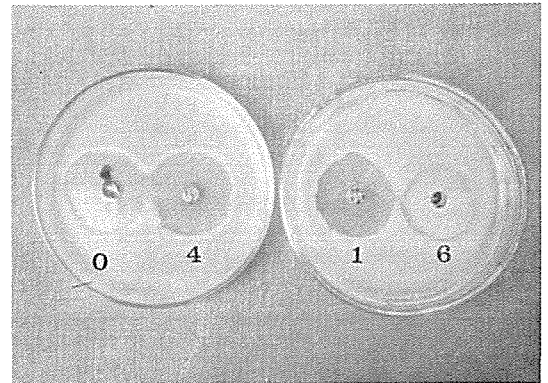


Fig. 7. Growth inhibitory activity of PCL disk containing 30% minocycline in disk diffusion method.

제조된 약제의 항균효과를 측정하기 위하여 액체배지에서의 성장억제 정도를 보았는데 그 정도를 spectrophotometer를 사용하여 혼탁도를 측정하였으며 그 결과는 Table 4와 같다. 7일

Table 3. Diameter of zone of inhibition (mm) produced by caprolactone disk containing 20% and 30% minocycline.

(MEAN ± SE)

Disk released	0-day	1-day	4-day	6-day	7-day	No drug
PCL + MC (20%)	33.3 ± 0.33	27.0 ± 0.58	27.7 ± 1.70	25.7 ± 1.20	24.3 ± 1.80	—
PCL + MC (30%)	32.7 ± 0.7	29.0 ± 1.0	31.3 ± 0.9	28.0 ± 2.0	—	—

Table 4. Optical density of broth containing disk of drug that had been released for 0, 1, 3, 5 and 7 days and broth of blank disk and no disk after 48 hr culture in anaerobic chamber. (A. act: *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, Y4 B. gin: *Bacteroides gingivalis* 381, B. int: *Bacteroides intermedius* NCTC 9336, W. rec: *Wolinella recta* ATCC 33238, A. vis: *Actinomyces viscosus* ATCC 19246, F. nuc: *Fusobacterium nucleatum* ATCC 25586, E. cor: *Eikenella corrodens* ATCC 23834, C. gin: *Capnocytophaga gingivalis* ATCC 33624)

Disk released	0-day	1-day	3-day	5-day	7-day	Blank disk	No disk
A. act	0.000	0.003	0.000	0.000	0.000	0.044	0.036
B. gin	0.004	0.002	0.018	0.006	0.045	0.393	0.326
B. int	0.006	0.027	0.018	0.018	0.003	0.658	0.623
W. rec	0.004	0.015	0.021	0.000	0.000	0.639	0.630
A. vis	0.004	0.000	0.000	0.000	0.000	0.146	0.097
F. nuc	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.619	0.613
E. cor	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.053	0.045
C. gin	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.097	0.107

간 방출실험이 되고난 약제도 실험된 모든 균주들에서 성장을 억제하였음을 보여주고 있다.

(3) 세포독성실험 결과

Table 5와 6에서 보여지는 바와 같이

Table 5 . PCL과 PCL+MC의 [³H]의 incorporation의 차이 (PCL : polycaprolactone, MC : minocycline)

	count per minute of [³ H]
control	1675 ± 113.24
PCL	1780 ± 340.00
PCL+MC	487 ± 75.13

Table 6 . ethylene oxide로 minocycline을 소독한 경우 농도에 따른 [³H]incorporation 차이 (MC : minocycline, MC-EO : ethylene oxide로 소독한 minocycline, %는 disk 내의 minocycline의 총량에 대한 비율을 나타냄)

	count per minute of [³ H]incorporation
control	1430 ± 10
MC 50%	480 ± 40
MC-EO 50%	520 ± 20
MC 70%	540 ± 00
MC-ED 70%	480 ± 00

polycarolactone 자체는 조절군에 비해 별다른 유의성을 보이지 않았으나 minocycline을 함유한 경우에 있어서는 치은 섬유아세포의 성장을 상당히 억제하였다. 그러나 이것은 minocycline 자체의 독성 정도에 불과한 것으로 보인다. 또한 minocycline을 ethylene oxide 가스로 소독을 하였을 때에는 minocycline 자체의 세포성장억제 경향보다 별다른 유의성이 없으므로 ethylene oxide 가스로 소독을 하는 것은 가능해 보인다.

IV. 총괄 및 고찰

미국의 임상연구표준국립위원회(NCCLS, 1983)²⁰⁾ 의 미생물 성장의 최소억제농도(minimal inhibitory concentration)에 관한 해석에 따른 기준에 의하면 평상의 투여 경로나 용량에 의해 혈액이나 조직에서 나타나는 약물의 농도보다 2-4배 정도 낮은 농도에서도 최소억제농도를 형성하는 균주를 감수성이 있는 균주라 한다. 혐기성 세균에 관한 항생제 감수성 실험에서, Baker 등²¹⁾은 치은역구액내의 minocycline에 대해 98%의 균주가 조건적인 감수성이 있음을 보였으며 *Actinobacillus*

*actinomycetemcomitans*를 포함한 많은 균주들은 보통의 감수성을 보였는데, 이 균주에 대한 minocycline의 최소억제농도는 1-2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 이었다. 반면에 정 등²²⁾의 보고에 의하면 한국인 국소유년형치주염 환자에서 분리한 *A. actinomycetemcomitans*에 대한 minocycline의 최소억제농도는 tetracycline의 경우에서 보다 더 적었다. 이 두 연구의 결과를 통하여 볼때 minocycline의 구강내 혐기성 세균들의 성장억제의 능력이 tetracycline의 경우보다 더 있는지 여부에는 약간의 차이점이 있었으나 minocycline의 구강내 혐기성 세균에 대한 성장 억제 효과에 대해서는 의견의 일치를 보였다. 그리고 그 이외에도 tetracycline계 항생물질들은 생체내에서 다른 항생제들과는 다른 우수한 성질을 갖고 있는데 그 중 하나는 약물이 조직에 흡착되어 약효의 지속성이 있는 것이며 다른 하나는 collagenase의 활성을 억제하는 것이다²³⁾.

본 연구에서는 고분자로부터 방출되는 약물로서 minocycline을 선택하였는데, 일반적으로 국소약물송달법에서는 표적부위에서의 약물의 농도는 충분하므로 방출되는 약물로 어떠한 tetracycline계 항생물질을 사용하고자 하는 것은 그다지 중요하지 않은 것 같다. 따라서 아직 방출조절성제제의 약물로 연구가 별로 이루어지고 있지 않은 minocycline을 연구과제로 선택하는 것이 적절할 것으로 생각되었다.

본 연구에서 20%, 30%의 minocycline을 포함하는 polycaprolactone 30mg으로부터 유리되는 minocycline은 7일 후에는 시간 당 4-8 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도를 나타내었으며, 항균실험에서 모두 세균의 성장을 억제하였다. Goodson 등⁶⁾에 의하면 치주병원균의 성장을 억제하기 위해서는 tetracycline의 경우 4 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 이상의 농도가 최소한 48시간 이상 유지되어야만 하며, 최적의 치료 효과를 위해서는 그 이상의 약물 농도가 10일 이상 유지되어야만 한다고 하였다. 초기에 Goodson 등⁹⁾에 의해 고안된 tetracycline을 함유한 hollow fiber 나 Coventry와 Newman²⁴⁾에 의해 고안된 20% chlorhexidine을 함유한 dialysis tube는 약물이 방출되는 초

기에 최대의 방출현상을 보였으며 24시간 이내에 거의 모든 약물이 방출되었다. 그 다음 다시 Goodson 등에 의해 보고된 25% tetracycline을 포함한 Vynathene은 vinylacetate와 ethylene의 공중합체로서 부드럽고 탄력성이 있는 섬유형제제인데 5mm 깊이의 치주낭내에 삽입하였을 때 약물의 반감기는 24시간이었으며, 한 개의 섬유형 제제의 초기 농도는 500 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 이며, 치주포대로 그 부위를 도포하였을 때는 5,000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 이상의 농도가 일주일 이상 지속된다고 하였다. 그리고 caprolactone을 이용하여 만든 섬유형제제는 재질이 부드러워 치주낭에 집어넣기는 좋았으나 약물 방출 초기의 최대농도가 1,600 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 에 이르러 불필요하게 높았으며 반감기도 3시간 이내여서 방출조절제제로는 상대적으로 덜 유용하다고 하였다. 그러나 본 연구결과에서는 caprolactone의 반감기와 방출초기의 최고농도는 minocycline을 20% 함유한 경우 24시간과 308 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 이었으며, 30% 함유한 경우에는 16시간과 656 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 이었다. 본 연구에서의 caprolactone의 결과는 Goodson 등의 caprolactone에서의 결과 보다는 Vynathene에서의 결과와 더 유사하다고 하겠다. 그것은 고분자의 약물방출 능력은 같은 종류의 고분자라 할지라도 고분자의 분자량, 제조상태 및 조건, 함유된 약물의 종류와 농도, 완성된 제조품의 크기와 모양 등에 따라 달라질 수 있기 때문으로 생각된다.

Yeung 등²⁵⁾은 임상적, 미생물학적 연구에서 0.2%의 chlorhexidine 용액을 치은 연하 부위에 4주 동안 매일자가 세척한 군과 metronidazole을 40% 함유한 acrylic resin strip을 치주낭에 삽입하여 일주일 간격으로 4주동안 관찰한 실험군에서 별다른 유의성을 발견하지 못하였다. 그들은 두가지 방법 모두에서 3개월 이상 치주 건강을 향상시키는 효과가 있다는 결론을 내렸다.

그러나 국소유년형치주염 환자의 치료에 관한 연구에서 Mandell 등²⁶⁾은 tetracycline을 함유한 섬유형제제를 투여한 군에서 치료 전과 약제투여 후 4주일간의 *A. actinomycetemcomitans*의 검출에는 유의성 있는 차이가 없

음을 보고하였고, 치주 수술과 함께 doxycycline을 2주간 전신적으로 투여했을 때에만 *A. actinomycetemcomitans*을 완전히 억제할 수 있다고 하였다. 이 결과는 이 섬유형 방출조절제제의 치주낭내에서의 tetracycline의 농도가 워낙 충분하고 *A. actinomycetemcomitans*균주는 이 항생제에 상당한 감수성이 있는 것으로 알려져 왔기 때문에 매우 뜻밖인 것으로 생각되었다. 그들은 그 이유를 약물 자체가 *A. actinomycetemcomitans*가 분포된 곳까지 도달할 수 없기 때문으로 풀이하였다. 이러한 한계등이 있었음에도 불구하고 방출 조절성제제를 이용한 치료법은 소재와 적용방법등에서 계속적인 연구가 이루어지고 있다.

본 연구결과로부터 polycaprolactone이, 특히 20%와 30%의 minocycline을 함유하는 경우 방출조절성제제로 사용될 가능성을 보였다. 일주일간 약물 방출실험이 끝난 후 polycaprolactone으로부터의 minocycline은 총 방출된 양이 98%였으며, 시간 당 4-8 μ g/ml의 농도를 보였는데 이것은 구강내 혐기성세균의 최소억제농도보다도 높은 농도이고, 항균실험에서도 실험된 치주병원균들 모두에 대해 항균효과가 있음을 보여주었다. 또 안정성에 있어서는 섬유아세포에 대한 세포독성실험에서 polycaprolactone 자체는 세포성장에 대해 아무런 영향도 미치지 않았으며, polycaprolactone에 minocycline을 함유시킨 경우에는 같은 농도의 minocycline이 단독으로 섬유아세포의 성장을 억제시킨 경우와 별다른 통계학적 유의성을 보이지 않았다. 또한 이렇게 제조된 생물질들은 일반적으로 건열소독, 고압증기 소독, 이온화방사선 소독, ethylene oxide 가스소독 등의 방법들을 사용하여 임상에서 이용이 되겠는데 본 연구에서 사용된 caprolactone과 minocycline은 특히 minocycline의 경우는 불안정한 물질로 광선등에 민감하고 수분이 있는 상황에서는 용해가 일어나는 단점이 있기 때문에 본 연구에서는 ethylene oxide 가스에 의한 소독만을 실험하였으며 ethylene oxide에 의한 약물 및 고분자의 변성등에 의한 세포에대한 독성 증가 여부는 관찰되지 않

았다. 또한 방출조절성제제를 사용할 경우에는 일반적으로 약물을 전신적으로 투여하는 경우보다 약제의 제거가 용이하므로 본 제제로 인한 부작용 및 위해 가능성은 아주 미약하다고 하겠다.

본 연구에 이어 앞으로는 약제 투여 후 생체내에서의 약물의 방출역학과 치주낭내에서의 항균 효과 및 그에 상응하는 임상적 변화등이 계속 연구되어야 할 것이며, 또한 본 약제는 치주질환 치료제 외에도 근관치료 및 구강외과 영역에서의 치료제로서도 적당하다고 사료된다.

V. 결 론

국소약물송달법에 의한 치주질환 치료제를 개발하기 위한 minocycline을 함유한 polycaprolactone의 약물 방출 실험, 항균효과 실험 및 조직 독성 실험으로부터 다음의 결론을 얻었다.

1. minocycline을 20%, 30% 함유한 polycaprolactone은 약물 방출의 반감기가 16-24 시간이었으며, 최고방출기는 초기 2시간이었고, 7일간의 방출실험 후에는 시간당 4-8 μ g/ml의 농도를 보였다.
2. 제조된 polycaprolactone 제제는 7일간 방출실험이 된 후에도 실험된 모든 치주 병원균들에 대해 항균효과를 나타내었다.
3. minocycline을 polycaprolactone에 함유시킨 경우에도 minocycline 자체가 갖는 세포독성 이상의 독성을 보이지 않았으며, 완성된 약제는 ethylene oxide가스로 소독이 가능한 것으로 보인다.

따라서, 본 연구로부터 minocycline을 함유하는 polycaprolactone에 의한 방출조절성제제는 7일간 약물을 지속적으로 방출할 수 있으며, 치주치료 및 구강영역의 감염치료를 위하여 이용될 수 있음을 보였다.

REFERENCES

1. Ciancio, S.C.: Chemotherapeutic agents and periodontal therapy. *J. Periodontol.*, 57:108, 1986.
2. Lindhe, J., Heijl, L., Goodson, J.M. and Socransky, S.S.: Local tetracycline delivery using hollow fiber devices in periodontal therapy. *J. Clin. Periodontol.*, 6:141, 1979.
3. Friedman, M. and Golomb, G.: New sustained release dosage form of chlorhexidine for dental use. I. Development and kinetics of release. *J. Periodont. Res.*, 17:323, 1982.
4. Soskolne, A., Golomb, G., Friedman, M. and Sela, M.N.: New sustained release dosage form of chlorhexidine for dental use. *J. Periodontol. Res.*, 18:330, 1983.
5. Greenstein, G.: Effects of subgingival irrigation on periodontal status. *J. Periodontol.*, 58:827, 1987.
6. Goodson, J.M., Offenbacher, S., Farr, D.H. and Hogan, P.E.: Periodontal disease treatment by local drug delivery. *J. Periodontol.* 56:265, 1985.
7. Mirth, D.B.: Controlled-release therapeutic systems: Technology applicable to the treatment of oral disease. *Adv. dent. res.* 1(1): 109, 1987.
8. Jeong, S.Y. and Kim, S.W.: Biodegradable polymeric drug delivery systems. *Arch. Pharm. Res.*, 9(2): 63, 1986.
9. Goodson, J.M., Haffajee, A. and Socransky, S.S.: Periodontal therapy by local delivery of tetracycline. *J. Clin. Periodontol.*, 6:83, 1979.
10. Goodson, J.M., Holborow, D., Hogan, P. and Dunham, S.: Characteristics of monolithic tetracycline containing fibers for periodontal therapy. Abs. No. 860 (IADR): 274, 1982.
11. Goodson, J.M., Holborow, D., Dunn, R.L., Hogan, P. and Dunham, S.: Monolithic tetracycline containing fibers for controlled delivery to pockets. *J. Periodontol.*, 54: 575, 1983.
12. Golomb, G., Friedman, M., Soskolne, A., Stabbolz, A. and Sela, M.N.: Sustained release device containing metronidazole for periodontal use. *J. Dent. Res.*, 63:49, 1984.
13. Addy, M.: Chlorhexidine compared with other locally delivered antimicrobials. *J. Clin. Periodontol.*, 13:957, 1986.
14. Addy, M., Rawle, L., Handley, R., Newman, H.N. and Coventry, J.F.: The development and in vitro evaluation of acrylic strips and dialysis tubing for local drug delivery. *J. Periodontol.*, 53:693, 1982.
15. Addy, M., Hassan, H., Moran, J., Wade, W. and Newcombe, R.: Use of antimicrobial containing acrylic strips in the treatment of chronic periodontal disease. *J. Periodontol.*, 59:557, 1988.
16. Minabe, M., Takeuchi, K., Tomomatsu, E., Hori, T. and Umemoto, T.: Clinical effects of local application of collagen film-immobilized tetracycline. *J. Clin. Periodontol.*, 16:291, 1989.
17. Woodward, S.C., Brewer, P.S. and Moatamed, F.: The intracellular degradation of poly (ϵ -caprolactone). *J. Biomed. Mat. Res.*, 19:437, 1985.
18. Shenker, B.J., Kushner, M.E. and Tsai, C.C.: Inhibition of fibroblast proliferation by *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *Infect. Immun.*, 38(3): 986, 1982.
19. Larjava, H. and Uitto, V-J: Effects of extracts from *Bacteroides gingivalis*, *Bacteroides intermedius*, and *Bacteroides asac-*

- charolyticus* on the growth of fibroblast lines obtained from healthy and inflamed human gingiva. Oral Microbiol. Immunol., 2:112, 1987.
20. National committee for clinical laboratory standards: Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow anaerobically, Villanova, PA: National committee for clinical laboratory standards, publication M7-T, 1983.
 21. Baker, P.J., Evans, R.T., Slots, J. and Genco, R.J.: Antibiotic susceptibility of anaerobic bacteria from the Human oral cavity. J. Dent. Res., 64(10): 1233, 1985.
 22. 정현주, 정종평, 손성희: 구강 내 *Actinobacillus actinomycetemcomitans* 분리균주의 항생제 감수성에 관한 연구. 대한치주과학회지, 17(1) : 11, 1987.
 23. Somerman, M.J., Foster, R.A., Vorsteg, G., Progebin, K., and Wynn, R.L.: Effects of minocycline on fibroblast attachment and spreading. J. Periodontol. Res., 23. 154, 1988.
 24. Coventry, J. and Newman, H.N.: Experimental use of a slow release device employing chlorhexidine gluconate in areas of acute periodontal inflammation. J. Clin. Periodontol., 9:129, 1982.
 25. Yeung, F.I.S., Newman, H.N. and Addy, M.: Subgingival metronidazole in acrylic resin vs. chlorhexidine irrigation in the control of chronic periodontitis. J. Periodontol., 54:651, 1983.
 26. Mandell, R.L., Tripodi, L.S., Savitt, E., Goodson, J.M. and Socránsky, S.S.: The effect of treatment on *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in localized juvenile periodontitis. J. Periodontol., 57:94, 1986.

– ABSTRACT –

DEVELOPMENT OF MINOCYCLINE CONTAINING POLYCAPROLACTONE FILM AS A LOCAL DRUG DELIVERY

Kim Dong Kyun¹, Kim Soo Yun², Jeong Seo Young²

Chung Chong Pyoung¹, Son Seong Heui¹

1. Department of Periodontology, College of Dentistry,
Seoul National University.
2. Division of Chem. Eng. Polymer Scie. Korea Institute of Science
and Technology.

Local drug delivery by using biocompatible polymers has been developed in the treatment of periodontitis for many years.

The purpose of this study was to examine the release kinetics of minocycline from monolithic film prepared from polycaprolactone and polyethylene glycol and to examine the antimicrobial activity in vitro. Polycaprolactone (Mwt 60,000), polyethylene glycol and minocycline was dissolved by chloroform, which was vigorously stirred for 24 hours and it was dried in vacuum chamber. The thickness of cast films containing 20%, 30% and 40% minocycline was $200 \pm 10 \mu\text{m}$. Release rate of minocycline from the film was measured by means of a UV spectrophotometer. In vitro releasing test, each film showed a large burst effect within first two and three hours and a steady state release kinetic at the rate of $4-8 \mu\text{g}/\text{cm}/\text{hour}$ for 7 days. In antimicrobial test, each sample (one fourth inch in diameter) sunk in the broth that had been inoculated with periodontopathic bacteria showed growth inhibitory activity after 48 hr anaerobic incubation. In cytotoxicity test, there was no significant cytotoxic effect in casting film to human gingival fibroblast.

This study showed that, by embedding minocycline in polycaprolactone, it is feasible to obtain sustained release of the drug within the periodontal pocket for seven days and should be useful tool for elimination of pathogenic microflora from periodontal pocket or reducing inflammation in periodontal disease.