

미노사이클린 연고의 근육 내 투여 후 조직 및 혈중 약물농도의 분석 (High-Performance Liquid Chromatography를 이용하여)

황혜욱 · 이상철 · 김성진*

경희대학교 치과대학 구강악안면외과학교실, 치과약리학교실*

Abstract

ANALYSIS OF MINOCYCLINE IN TISSUE AND SERUM AFTER LOCAL APPLICATION OF MINOCYCLINE OINTMENT

(by High-Performance Liquid Chromatography)

Hye-Wook Hwang, Sang-Chull Lee, Sung-Jin Kim*

Dept. of Oral and Maxillofacial Surgery, *Dept of Dental Pharmacology,

College of Dentistry, Kyung Hee University

This study was designed to find the effect of Minocycline loaded microcapsule applied locally to tissue by measuring drug concentration in tissue and serum by HPLC and to achieve optimal drug delivery system and duration to a specific target site.

Control group were administrated minocycline intramuscularly twice a day with 0.2 μ g/100g for 1 to 10 days. In experimental group, surgical wound was created on Rt. cheek and then minocycline loaded microcapsule was applied into the space between superficial and deep layer of masseter muscle. Animals were sacrificed at 1, 3, 5, 7, 10 days after initial administration, blood was obtained from heart and right masseter muscle was excised. Blood sample was centrifuged at 3000rpm for 15min. Tissue sample was homogenized, left at room temperature for 48hr and centrifuged at 4000g for 5min. Supernatant was completely dried and dissolved in distilled water.

Analysis was conducted using a μ Bondapack C18 column. The mobile phase was 0.2M Ammonium Oxalate/0.1M EDTA/DMF=11/4/5 solution, which was injected into the column and detected with photodiode detector at 344nm wavelength.

The results were as follows :

1. This method was reliable, could be replicated and suitable for minocycline analysis in tissue as well as serum.
2. In tissue, concentration of minocycline of experimental group was higher than that of control group for 5days.
3. Except 1 day, concentration of minocycline in serum of experimental group was lower than that of control group.
4. Concentration of minocycline in tissue was much higher than that in serum.

From these results, minocycline loaded microcapsule might be effective tool for local drug delivery system might be useful for treatment of infections of oral and maxillofacial region and management of infected surgical wound, minimizing systemic effects.

I. 서 론

구강악안면 영역의 감염 치료는 농양을 외과적으로 배농시키고 생체의 조절 능력을 회복시켜 주는 과정으로 이루어진다. 이러한 감염 치료에 있어서 항생 요법은 원인균을 제거하고 환자의 방어력이 감염을 완화 시킬 수 있도록 도와주려는 목적으로 이용되어 왔다¹⁾. 20세기 초 항생제가 처음 개발된 이후 많은 새로운 항생제들이 악안면 영역의 감염의 예방과 치료를 위해 이용되었다. 그러나 항생제의 전신 투여시 약물의 부작용과 내성균의 출현, 허혈 조직에 있어서 항생제 침투의 감소, 입원 기간의

증가 등 문제점들이 발생되어²⁾ 감염부에 직접 투여할 수 있는 방법들이 연구되어 왔다.

현대적 의미의 국소적 항생요법은 1차 세계대전시 Dakin과 Carrel³⁾이 외과적 괴사조직 제거술과 함께 살균제를 이용한 것으로 시작되어 현재에는 외용연고 이외에도 항생제가 함유된 골접착제 (bone cement), 흡인세척기, 항생제 함유 석고, 매식 가능한 항생제 펌프 등이 개발되어 이용되고 있다⁴⁾. 통상적으로 조직 내의 항생제 농도는 동일한 용량의 항생제를 국소적으로 투여한 것이 전신 투여에 비해 10배 이상 높아⁵⁾ 낮은 농도에 저항성을 보이는 균주에 대해서도 효과를 가질 수 있고 전신적 투여시 혈류 공급이 불량한 부위에 효과적으로 약물이 전달되기 위해서는 고용량의 투여가 요구되어 항생제에 의한 부작용의 위험은 더욱 증가하게 되므로 국소적 항생제 투여는 더 큰 이점이 있다고 할 것이다^{5,6)}.

치과영역에서 항생제의 국소 약물 전달은 1970년대 초 치주염 치료에 도입되었는데, 치주낭 내에 항생제의 직접 투여가 가능하고 일정 기간 약물이 계속 방출되어 치료효과를 얻을 수 있었

이 상 철

130-702, 서울특별시 동대문구 회기동 1
경희대학교 치과대학 구강악안면외과학교실

Sang-Chull Lee

Dept. of OMFS, College of Dentistry, Kyung Hee University,
1 Hoegi-Dong, Dongdaemun-Gu, Seoul, 130-702, Korea
Tel: (02)958-9441 FAX: (02)966-4572

다⁷. 현재까지 테트라사이클린을 함유한 섬유와 콜라겐, 클로르헥시딘을 함유한 아크릴 세편, 투석관, 미노싸이클린을 함유한 겔 등이 개발되었으나, 생분해가 늦고, 약물전달 능력의 부족하여 필요한 기간동안 적정 농도를 유지하면서 항균효과를 나타낸 후 생분해되는 제제의 필요성이 요구되어 근래에는 생분해성 고분자를 이용한 국소약물전달제제의 개발 노력이 활발하며 알긴산 나트륨(sodium alginate), 키토산 등의 다당류를 이용한 연구들이 행해지고 있다⁸.

미노싸이클린은 1967년 처음 소개되어 다양한 영역의 감염이나 여드름 치료에 널리 이용되어온 테트라사이클린계의 항생제로, 그람 음성균과 그람 양성균을 포괄하는 광범위 항생제로 특히 테트라사이클린에 감수성 있는 세균에 대해 효과적이다⁹. 미노싸이클린은 긴 혈청 반감기를 가지며 뇨로 배설율이 가장 낮아 통상 사용되는 양보다 적은 양과 투여 간격으로 사용할 수 있고, 특히 콜라겐 분해효소의 활성을 저해하여 치주염의 치료에 효과적으로 이용되어 왔다¹⁰. 또한 오랫동안 고용량으로 사용된 경우에 피부¹¹, 손톱, 치아¹², 갑상선¹³에 착색을 야기할 수 있으나, 통상의 용량에서는 합병증이 거의 없고 특히 국소투여와 같이 적은 용량에서는 합병증이 보고된 바 없다.

본 연구에 사용된 항생제 국소전달제제인 미노클린 연고는 알긴산 나트륨 구에 2% 염산 미노싸이클린을 함유시킨 후 키토산으로 피복시켜 얻은 폴리사카라이드 미소캡슐로 치주낭내 적용 시 약 7일간 치료 농도의 약물을 방출하는 것으로 알려져 있다.

본 연구는 항생제를 국소적으로 생체 조직내에 적용하였을 때 조직과 혈중 농도와 지속효과를 알아보기 위하여 백서의 근육에 미노클린 연고를 투여한 후 high-performance liquid chromatography를 이용하여 측정하고 전신적 투여의 일레인 근주군과 비교하여 구강악안면영역의 감염 치료에 있어 적용가능성 및 효능을 평가하고자 하였다.

II. 연구 재료 및 방법

1. 실험 동물 및 재료

약 150gm 내외의 Sprague-Dauley계 백서를 실험동물로 하여 실험군과 대조군을 각각 1, 3, 5, 7, 10일군으로 분류하고 각 군당 4마리씩으로 하였다. 국소투여용 미노싸이클린제제로 Minocline[®] ointment(2% minocycline · HCl, 동국제약), 주사제로는 Minocin[®] (minocycline · HCl, 유한양행)을 생리 식염수에 용해하여 이용하였다. 분석에 이용된 HPLC system은 Waters[™] LC Module I (Waters[™], Miliford, U.S.A.)으로 Waters[™] M486 detector와 515 pump, Waters[™] millennium chromatography manager로 구성되었으며, analytic column으로는 Waters[™] μ Bondapack C18 column을 이용하였다.

2. 실험 방법

대조군은 염산 미노싸이클린 주사제를 생리식염수에 용해하

여 1일 2회 0.2mg/100gm의 용량으로 군에 따라 1일에서 10일간 근주 하였다. 처음 주사 후 1일, 3일, 5일, 7일, 10일 경과시 에테르 마취하에 심장에서 3cc의 혈액을 채취한 후 동물을 희생시키고 우측 교근을 절제하였다.

실험군은 백서를 Zoletil[®]을 5mg/100gm 용량으로 근주하여 마취한 후 우측 안면부를 제모하고 소독한 후 절개하여 교근을 노출시킨 다음 교근의 천층과 심층사이에 미노클린 치과용 연고 1cc를 투여하고 층별 봉합하였다. 술후 1일, 3일, 5일, 7일, 10일 경과시 에테르 마취하에 심장에서 혈액을 채취하고 동물을 희생시켜 우측 교근을 절제하였다. 근육 표면의 잔류 약물을 제거하기 위해 생리식염수에 세척하였다.

3. 혈청 및 조직액 추출

혈액 표본은 4°C에서 3000rpm의 회전속도로 15분간 원심분리하여 혈청을 분리하고 HPLC분석시까지 영하 20°C로 냉동보관하였다. 조직 표본은 질량을 측정된 후 1M MgCl₂ · ethanol(pH 5.0) 용액에서 2분간 분쇄하고 48시간 동안 실온에 방치하여 약물의 추출 및 조직 성분을 침전시켰다. 실온에서 5분간 4000g의 회전력으로 원심분리하여 상등액만을 취한 후 진공건조기를 이용하여 3일간 완전 건조시키고, 조직 g당 300 μ l의 증류수에 용해한 후 HPLC에 주입하였다.

4. HPLC 분석

표준 용액은 Hovione사에서 정제한 염산 미노싸이클린분말(911 μ g/mg) 11mg을 dimethylformide(DMF) 5ml와 증류수 50의 혼합 용액에 용해하여 40.08 μ g/ml 농도로 제조한 후 HPLC에 20 μ l씩 주입하였다. Mobile phase는 0.2M ammonium oxalate:0.1M EDTA:DMF=11:4:5 혼합용액을 1ml/sec의 속도로 펌프를 통해 흘려 주고 혈청 및 조직액 표본을 20 μ l씩 μ Bondapack C18 column으로 주입하여 Waters[™] M486 detector로 34mm의 파장에서 검출하여 chromatography manager로 결과를 분석하였다.

III. 연구 성적

표준 용액에서 미노싸이클린이 검출된 시간은 8.601분으로 용매로 추정되는 피크에(1.8분)이어 명확한 피크로 나타났으며(Fig. 1), 혈청에서 검출 시간은 8.38 \pm 0.17분이었고 조직액에서 미노싸이클린이 검출된 시간은 8.15 \pm 0.11분이었다.

조직액내 미노싸이클린은 고농도로 존재하여 피크는 표준용액과 유사하게 크고 명확한 형태로 나타났고(Fig. 2), 혈중에는 미미한 양만이 존재하여 피크의 형태가 불분명하고 혈액 성분들이 포함되어 있어 여러 개의 피크가 나타났다(Fig. 3).

조직액의 미노싸이클린 농도는 실험 24시간 군에서 105.25 μ g/ml로 가장 높았고 이 후 급격히 감소하여 5일 군은 13.860 μ g/ml, 10일 군은 3.01 μ g/ml이었다. 반면 대조군에서는 1일군이 0.263 μ g/ml으로 적은 양이 조직에서 검출되었으며 10일까지 지속적으로

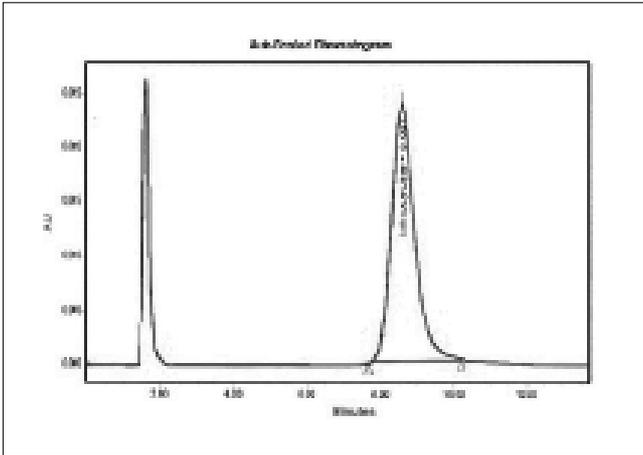


Fig. 1. Minocycline sample from standard solution.

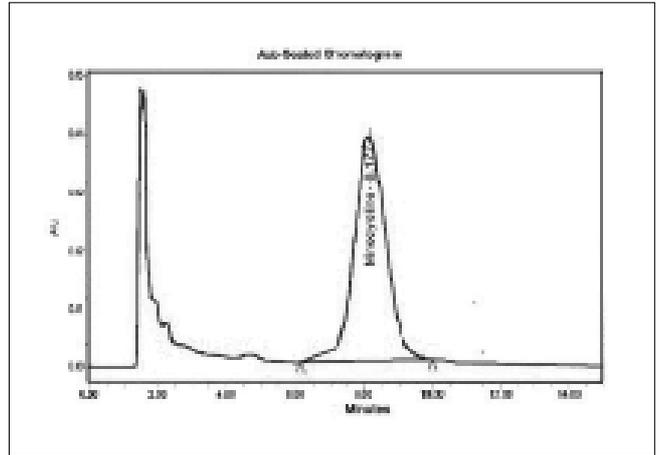


Fig. 2. Minocycline sample from tissue at 3 days. The concentration in the sample was $40.08\mu\text{g/ml}$ following minocycline administration. The concentration in the sample was determined to be $8.496\mu\text{g/ml}$.

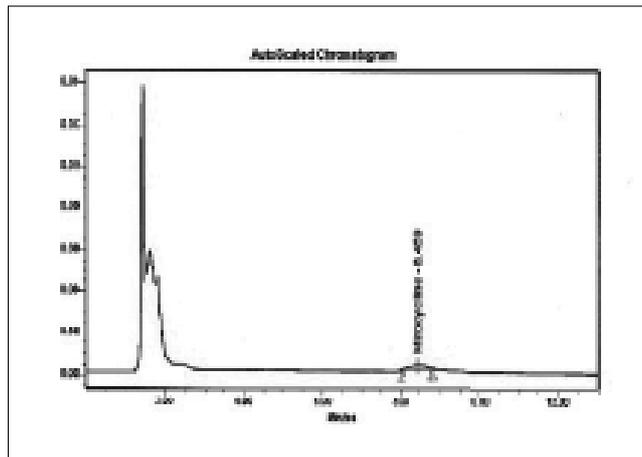


Fig. 3. Minocycline sample from serum at 7 days following Minocin administration. Concentration in the sample was determined to be $0.102\mu\text{g/ml}$. The curve had many peaks suggested to blood elements.

증가하여 10일 군에서는 $32.445\mu\text{g/ml}$ 으로 나타났다(Table 2). 5일 까지 실험군이 대조군보다 조직액에 고농도로 분포하였고, 약물의 최고 농도도 실험군이 $105.25\mu\text{g/ml}$ (1일)로 대조군의 최고 농도인 $32.445\mu\text{g/ml}$ (10일)보다 3배 이상 높았다.

혈청의 미노사이클린농도는 실험군은 24시간 군에서 최대 ($0.167\mu\text{g/ml}$)를 보였고 3일까지 급속히 감소하다가 3일 이후 서서히 감소하여 10일에는 소량($0.039\mu\text{g/ml}$)이 검출되었다. 대조군은 3일($0.096\mu\text{g/ml}$)까지 서서히 증가하였으며 이후 10일($0.106\mu\text{g/ml}$)까지 거의 일정하게 유지되었다. 1일군을 제외하고는 모든 군에서 대조군이 고농도였다(Table 3). 실험군과 대조군 모두에서 조직의 약물 농도가 높았는데, 이는 혈액과 조직의 표본 처리 과정이 상이하야 특별한 의미는 없었다.

IV. 총괄 및 고안

감염은 외과의에게 오랜 동안 난제로 여겨지고 있으며, 일반적으로 적절한 항생제의 보조하에 배농을 통해 감염원을 감소시키고, 감염조직을 제거하는 외과적인 과정과 세척으로 치료한다. 20세기 초 항생제가 처음 개발된 이래 다양한 항생제가 개발되어 전신적 또는 국소적 투여를 통하여 감염증의 치료에 이용되어 왔다. 구강악안면영역의 감염증의 치료에도 배농술, 지속적인 배농관 교체와 세척, 원인질환의 제거와 같은 외과적 과정과 함께 항생제를 보조적으로 투여하게 된다. 하지만 적절한 항생제 농도를 유지하기 위해서는 입원가료를 요하기도 하고 환자의 협조도, 위장장애 등의 문제가 발생하게 되어²⁾ 환자와 의사의 불편을 최소화하면서 효과적으로 감염을 치료하기 위한 방법이 필

Table 1. Minocycline concentration in tissue

Time(Days)	Control ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	Experimental ($\mu\text{g}/\text{ml}$)
1	0.263	105.25
3	4.604	88.496
5	13.413	13.860
7	17.406	4.062
10	32.446	3.01

요하였고 외과적 감염원의 제거와 함께 감염조직에 약물의 효과를 증대시키고자 하는 국소적 항생제 전달체계의 도입이 고려되었다.

현재 의학분야에서 가장 많이 이용되고 있는 항생제의 국소적 이용은 수술시 감염을 예방할 목적으로 항생제를 도포하는 술식이다. 항생제의 국소적 도포는 실험상에서나 임상적으로 술 후 감염율을 유의성있게 감소시키며, Sarr 등¹³⁾의 연구에 따르면 항생제의 비경구적 투여와 유사한 감염억제 효과를 나타내기도 하였고 Leyden과 Kligman¹⁴⁾은 이러한 방법을 통해 술후 감염의 위험없이 오염된 창상의 봉합이 가능하다고 하였다.

국소적으로 투여된 항생제의 작용기전은 주로 감염부에 고농도의 항생제가 직접 전달되는 국소효과를 통해 나타나며¹⁵⁾ 감염부의 항생제 농도는 투여된 항생제의 용량, 세척액의 농도, 창상면에 유지된 기간, 흡인기의 사용여부, 도포시 소실된 용량 등에 의해 영향을 받는다¹⁶⁾. 또한 국소투여 항생제가 흡수된 후 혈청의 항생제 농도는 감염원의 최소 억제 농도보다 높고, 국소적으로 투여된 항생제는 흡수되어 혈류를 통해 창상에 재분배되며^{17,18)}, 두 가지 기전이 모두 관여하는 것으로 알려져 있다¹⁶⁾ 본 연구에서도 미노사이클린을 조직 내에 투여한 후 초기에 혈중에서 상당한 양의 미노사이클린이 검출되는 것으로 미루어, 혈액을 따라 조직으로 재분포되었을 것으로 생각되었다. 항생제의 도포 후 혈관내 흡수에는 단백질 결합능, 도포 용량, 간에서 흡수와 배설로 인한 혈청 제거율, 신 배설 등의 요소가 관여한다¹⁷⁾.

Conover와 Moore¹⁹⁾는 항생제의 국소 투여 후 혈청의 항생제 농도가 낮으며 따라서 알리지 발생 등의 전신적 부작용의 위험이 적다고 하였다. 특히 네오마이신, 폴리믹신 및 바시트라신은 약물을 전신투여 하였을 때 여러 가지 심각한 합병증을 초래하는 것으로 알려졌으나, 같은 약물을 국소적으로 투여한 경우에는 복부 창상이나 누공을 통해 장기로 침범된 경우, 80%이상 화상을 입은 환자 등 과량 투여한 경우를 제외한 작은 창상에서는 거의 부작용이 나타나지 않았다¹⁵⁾. 본 연구에서도 국소투여후 혈중의 항생제 농도가 투여 초기를 제외하고는 전신투여에 비해 낮았으며 7일 후에는 전신투여시 혈중 약물 농도가 약 2배에 달했다.

연구에 따라 차이는 있으나 동일한 용량의 항생제를 국소투여한 경우 전신투여에 비해 조직에서 약물의 농도가 10배 이상 높다. 창상액에서 항생제가 혈중 보다 높은 것은 그 자체로 창상의 감염 방지를 위한 항생제의 도포가 유효함을 의미하나¹⁹⁾ 창상의 감염에 있어서 고농도의 항생제가 가지는 효과는 아직 명확히 규명되지 못하고 있다. 그러나 낮은 농도에서 저항성을 보이는

Table 2. Minocycline concentration in serum

Time(Days)	Control ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	Experimental ($\mu\text{g}/\text{ml}$)
1	0.050	0.167
3	0.089	0.083
5	0.096	0.064
7	0.102	0.052
10	0.106	0.039

균주도 고농도의 항생제에 감수성을 가지게 될 수 있으므로 이러한 환경을 제공할 수 있을 것으로 생각되었다. 본 연구에서도 최고농도를 기준으로 볼 때 국소투여한 군이 3배 이상 고농도로 검출되었는데, 전신투여한 군의 투여된 항생제 총량이 3배 이상이었으므로 동일한 양의 항생제를 투여했을 경우에는 훨씬 높은 조직농도를 나타낼 것으로 생각되었다. 항생제의 국소적 투여가 가지는 단점으로는 항생제가 조직에 불균등하게 분포할 수 있다는 것이지만 국소투여 후 혈액에 높은 농도로 흡수되고 조직으로 재순환되어 감염부에 적절한 농도로 재분포되므로¹⁶⁾ 이러한 문제는 해결될 수 있을 것으로 생각되었다.

최소억제농도 이상의 농도가 유지되는 기간도 국소 투여 항생제의 효과를 측정하는 중요한 기준이 되며 약물 자체의 특성에 영향을 받는다²⁰⁾. 본 연구의 재료로 사용된 미노사이클린은 낮은 배설율과 높은 조직 침투성, 지용성이 높고 조직에 잘 확산되므로 국소투여용으로 적합한 특성을 가졌을 것으로 생각되었다.

수술시 감염 억제를 위한 항생제 세척과 도포가 효과적이라는 많은 연구들이 있으나, 도포된 항생제는 도포 후 1시간 이내에 빠르게 흡수되어 24시간 이상 유지되기 어려우므로 창상의 감염 예방을 위한 효과는 가질 수 있으나 감염의 치료에는 적용이 제한적이었다. 따라서 감염 치료의 목적으로 이용되기 위해서는 항생제가 보다 장기간 창상에 유지될 수 있도록 하기 위한 국소 약물전달체계의 필요성이 제기되었다. 지속 유리형 국소약물전달체계는 항생제 뿐 만 아니라 장기간 피임약을 투여해야 하는 경우, 인슐린 투여, 항암제, 유행성 질환의 예방, 약물 중독²¹⁾의 치료와 기존의 방법으로는 약물이 도달하기 어려운 안구와 같은 부위의 치료를 위해 이용되었다²²⁾. 지속 유리형 항생제 국소약물 전달체계는 감염치료가 어려운 정형외과 영역의 골수염이나 고관절 대체술에 주로 이용되고 있는데, 여기에는 항생물질을 함유한 골 접착제⁴⁾나 항생제를 함유한 콜라겐, 매식 가능한 항생제 약물 펌프³⁾ 등이 포함되며 수주에서 수개월까지 항생제가 지속적으로 유리된다. 구강악안면영역에 있어 국소적인 항생제의 이용은 구강세척제, 치약, 항생제를 포함한 창상 세척액, 항생제의 치주낭내 도포 등이 있다.

구강악안면영역의 감염증에 대한 미생물학적 연구들이 행해짐에 따라 감염을 일으키는 원인균이 구강내에 서식하는 균주들이라는 사실이 밝혀졌다²³⁾. 따라서 광범위 항생제를 이용하여 구강점막을 처리하면 타액과 구강내 서식균의 수를 감소시킬 수 있고 이에 따라 술후 감염을 줄일 수 있을 것이라는 가설이 제기되어^{24,25)} 현재 구강악안면영역의 수술 전, 후 구강세척제의 사용

과 함께 살균제를 이용하여 구강내외를 소독하는 과정이 정규화되어 있다.

구강세정제나 소독액을 이용한 세척은 효과가 있을 것으로 생각되었으나 감염부에 직접 도달이 어렵우며 농도변화가 크고 지속적이지 않아 적절한 농도를 유지하기 위해서는 반복 투여가 필요하여 협조가 어려운 환자등 증례에 따라서는 그 효과를 기대하기 어려웠다²⁶⁾. 이에 따라 치과영역에서도 장기간 약물효과를 가지며 환자와 의사의 불편을 덜어 줄 수 있는 국소전달체계가 이용되게 되었다. 이 중에서 특히 치주과 영역에서 치주염의 치료를 위해 치주낭내에 항생제를 직접 투여할 수 있는 국소약물전달체계의 개발이 활발히 이루어져 현재까지 테트라사이클린을 함유한 섬유와 콜라겐, 클로르헥시딘 함유 아크릴 세편과 투석관 및 미노사이클린함유 겔[®] 등 다양한 지속 유리형 국소약물전달체제(controlled-release local drug delivery system)가 개발되어 시판되었다. 그러나 제제에 따라서 여러 가지 문제점이 제기되었는데, 예로 아크릴 세편이나 섬유는 약물 용출 기간은 10~14일로 비교적 오랜 기간 동안 유지되나²⁶⁾, 치주낭내에 유지가 어려워 치주 포대나 접착제와 같은 부가적인 장치가 필요하고, 삽입과 제거시 동통이 유발되는 등 불편한 점이 있었다²⁷⁻²⁹⁾. 반면 겔 형태의 제제들은 적용이 쉽고 불편감은 적었으나 약물 용출이 너무 빨라 원하는 기간동안 약물 효과를 얻을 수 없었다³⁰⁾. 이러한 문제점을 극복한 다른 형태의 국소약물전달체제들도 대부분 조직내에서 분해되지 않아 제거과정이 필요하고 유연성의 부족하여 삽입과 유지의 어려움을 가져 조직내에서 분해되며 적용이 쉬운 겔형태이면서 비교적 장기간 약물이 용출되는 국소약물전달체제가 개발되었다⁸⁾. 대표적인 형태가 항생제 분말을 약 0.2mm 크기의 중합체구내에 포함시킨 후 체온에서 점도를 가지는 열가소성 겔에 혼합한 것과 같은 복합체제이다²⁹⁾. 이러한 제제는 환자의 불편감을 해소하고 구강내 유지를 위한 다른 장치 없이 적용 및 유지가 가능하였으나, 조직 독성이나 중합체에 의한 국소조직반응이 발생해도 제거하기 어려운 단점이 있다. 최근 들어 중합체에 의한 조직 반응을 감소시키기 위해 조직에 무해한 자연상 생분해성 고분자를 이용한 국소약물전달체제 개발 연구가 활발하며, 본 연구에 이용된 미노클린 연고에는 자연상 고분자 중에서 쉽게 얻을 수 있는 소재인 알긴산 나트륨과 키토산을 국소약물전달체제로 이용되었다. 알긴산 나트륨은 갈조류에서 얻을 수 있고 쉽게 겔형태로 성형시킬 수 있어 국소약물전달체제로 많이 이용되고 있다³⁰⁾. 또한 키토산은 계의 껍질인 키틴으로부터 만들어지는 당단백의 일종으로 겔화능이 있으며 조직 친화성, 지혈작용, 세포화학주성이 뛰어나고 생체내 용해효소에 의해 분해되는 특징을 가지며, 약물의 용해를 촉진시킨다³¹⁾.

본 실험에 사용된 미노클린 연고는 알긴산 나트륨 구에 2% 염산 미노사이클린을 함유시킨 후 키토산으로 피복시켜 얻은 미소캡슐로 *in vitro*와 치은열구 내에서 테트라사이클린함유 단일 결정 섬유와 같이 고농도가 7일간 계속 유지되는 것은 아니나, 최소억제농도 보다는 높은 농도로 7일간 유지되며, 다른 겔형태에서와 같이 12시간 이내에 대부분의 약물이 용출되고 그 이후는 최소억제농도 이하의 낮은 양이 용출되는 불안정한 상태는 아니

라는 특성이 있다⁸⁾. 본 연구에서도 조직내에 투여한 후 실험 1일 후 많은 양의 약물이 방출되었는데 이러한 정도의 용출은 초기의 폭발 효과(burst effect)로 흔히 나타나는 현상이며, 이후 10일까지 용출농도가 서서히 감소하는 현상은 다른 연구결과⁸⁾에서 나타나는 현상과 유사하였다. 또한 2% 염산 미노사이클린을 함유한 키토산-알긴산 미소캡슐은 생분해성을 가지고 있으나 다른 생분해 가능한 콜라겐이나 겔과 같이 단기간 내에 소멸되지 않으며, 본 연구에서도 투여 후 5일까지는 조직표면에서 캡슐의 형태가 관찰되었고 1주일 후에는 구의 형태를 소실하고 솜털과 같은 모양으로 생분해되어 흡수되는 양상을 보여 약물전달체제에 보다 적합할 것으로 생각되었다.

염산 미노사이클린은 1967년 처음 소개된 반합성 테트라사이클린이다. 다른 테트라사이클린계 항생제와 유사하게 치근이나 골조직에 부착되어 서서히 유리되고 숙주의 콜라겐 분해효소를 억제하여 치주조직 파괴를 막을 수 있어 치주염의 치료에 이용되어 왔다. 또한 치주염을 일으키는 구강내 세균총에 대한 억제 효과가 탁월하고 테트라사이클린에 감수성이 있는 균에 효과적이므로¹⁰⁾ 구강내 세균총이 관련된 구강악안면영역의 감염증 치료에도 유효할 것으로 생각된다. 염산 미노사이클린은 혈청 반감기가 18시간으로 길고, 뇨로 배설율이 낮아 통상적으로 사용되는 양보다 적은 양과 투여 간격으로도 사용할 수 있어 1일 2회 투여시 3일까지 유효한 약물 농도가 유지되며, 공급되는 테트라사이클린 중에서 가장 지용성이 높아 국소적 투여시 확산속도가 빨라 국소투여에 적합하고 주위 환경에 영향을 받지않고 흡수되는 특성을 가진다. 콜라겐 분해효소와 골흡수를 억제하는 능력은 정균효과와 함께 감염의 처치에 중요한 역할을 하며 감염부에 장기간 유지될 때 그 효과가 증대되는 것으로 생각되고 있다²⁹⁾.

또한 미노사이클린은 다른 테트라사이클린에 비해 상대적으로 높은 치은 열구내 농도를 유지하고 치은열구내 칼슘이온에 의해 착화를 일으키지 않아 활성의 변화를 염려하지 않아도 되며 치주낭내 국소적으로 투여했을 때 경구 투여에 비해 100배 이상 높은 농도로 치은열구액에서 검출되어 통상적인 치주 치료에 효과가 없는 환자의 보조요법으로 이용되었다³⁴⁾.

미노사이클린의 부작용으로는 내이강의 기능부전과 손상³⁵⁾, 피부, 손톱, 치아와 갑상선의 착색 등이 보고되고 있으나 이는 장기간 고용량으로 투여했을 경우에 발생하며 통상적인 용량에서는 발생하지 않는 것으로 보고되고 있으며, 특히 치주염의 치료에 국소적으로 이용된 경우 합병증이 보고된 예가 없다. 또한 박 등⁸⁾의 연구에 따르면 최고 약물 용출을 보이는 1일의 농도에서 치은 섬유아세포의 활성저해와 관련된 양상을 관찰할 수 없었고 높은 농도의 미노사이클린이 방출되어도 조직에는 안전하게 항균효과만 발휘한다고 하였다.

항생제의 임상적 유용성을 평가하기 위해서는 약물의 임상적 효능과 함께 혈청과 감염이 있는 조직에서 치료농도를 유지할 수 있는 능력이 평가되어야 한다. 지금까지 방사선 면역 분석, 효소 면역 분석법 및 세균학적 검사 등 항생제의 농도를 측정하기 위한 다양한 방법들이 이용되었다. 근래에 약물측정 방법으로 다양하게 이용되고 있는 high performance liquid chroma-

phy(HPLC)는 1960년대에 처음 개발되어 1970년대와 80년대를 거치면서 다양한 성분의 분석에 활발히 이용되어 왔다. HPLC의 기술적 진보는 적용가능한 합성물의 범위를 넓혔을 뿐 아니라 방법의 간결성, 민감성을 높여 현재에는 기초분야의 연구 뿐 아니라 실제 임상에서 치료약의 효능 측정에도 사용할 수 있도록 하였다³⁰. HPLC를 이용하여 측정 가능한 미노싸이클린의 농도는 최저 100ng에 이르며 재현성이 높다. 그러나 장비가 고가이고 화학적으로 유사한 혼합물은 분리가 어려우며, 적용하는 약물에 따라 분석 방법이 상이하므로 새로운 약물의 분석을 위해서는 시행착오를 겪을 수 있으며 전문성을 요한다.

본 연구 방법을 이용하여 혈청 뿐 아니라 조직의 미노싸이클린의 정량이 가능하였으나, 약제가 빛에 민감하고 빠르게 분해되므로 약물의 추출 과정이 복잡하고 오랜 시간이 경과한 경우 실제보다 낮은 농도로 검출될 수 있으므로³⁰ 정확한 농도 측정을 위해서는 약물의 추출과정을 단순화 할 수 있는 방법이 고안되어야 할 것으로 생각된다.

현재까지 구강악안면영역의 감염증을 치료하는데 있어 국소 약물전달체계의 이용에 관한 연구는 미비하였다. 감염조직에 고농도로 직접 침투되며 부작용이 적고 환자와 의사의 항생제 투여에 따른 불편감을 최소화 할 수 있는 지속 유리형 국소약물전달체계가 가지는 여러 가지 장점들은 구강악안면영역의 감염증에도 유효할 것으로 보이며 특히 전신적으로 투여된 항생제가 유효한 약물 농도를 가지기 어려운 초기에 고농도의 약물이 유리될 수 있는 특성은 전신적 항생제 투여에 보조적으로 이용할 때 항생제의 효과를 극대화할 수 있을 것으로 생각된다.

구강내에 이용되는 지속 유리형 국소약물전달체계는 생체적 합성을 가져야 하고 환자에게 불편감을 주지 않아야 하며 구강내 환경에서 안정성이 있어야 한다. 또한 약물이 너무 빠르게 용출되지 않으며 치료를 요하는 기간동안 적절한 비율로 유지되어야 하고, 너무 비싸지 않아야 한다. 본 연구에 이용된 2% 미노싸이클린 함유 폴리사카라이드 미소캡슐은 이러한 요구 조건을 만족시켰으며, 구강내 세균에 의한 감염증에 유효한 항균성을 가지고 부가적으로 생분해성을 가졌다. 감염 조직에 1회 투여시 10회 이상 근주하였을 때와 유사한 약물 농도를 보이므로, 주 1회 투여로 적절한 약물 농도를 유지하며 적은 양의 약물 투여로 유사한 임상적 효과를 나타낼 수 있을 것으로 생각되었다.

V. 결 론

본 연구는 알긴산 나트륨 구에 2% 염산 미노싸이클린을 함유시킨 후 키토산으로 피복시켜 얻은 폴리사카라이드 미소캡슐의 조직과 혈중농도를 측정하여 구강악안면영역의 감염 치료에 이용가능성을 알아보자 백서의 교근근극에 미노클린 연고를 국소적으로 투여한 후 HPLC분석을 통하여 통상적인 항생제 투여 방법의 일례인 근주근과 비교하였다.

상기와 같은 결과를 종합하여 볼 때 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. HPLC를 이용한 본 분석 방법은 혈액 뿐 아니라 조직의 미노싸이클린 정량에 적절하였으며 비교적 일정한 검출시간을 가졌다.
2. 조직의 미노싸이클린 농도는 실험군에서 1일 최대를 보였고 5일까지 빠르게 감소하였으나, 5일 까지 대조군보다 높은 것으로 관찰되었다.
3. 조직의 미노싸이클린 최대 농도는 실험군에서는 1일로 시간 경과에 따라 감소하였으며, 대조군은 시간 경과에 따라 증가하여 10일 군에서 가장 높았고, 실험군의 조직내 최대 농도가 대조군보다 3배 이상 높았다.
4. 혈액의 미노싸이클린 농도는 실험군에서는 1일 최대 농도를 보이고 점차 감소하여 조직액에서와 유사한 양상을 보였고, 대조군에서는 3일 이후에는 비교적 일정하게 유지되었으며 1일 군을 제외하고는 실험군이 대조군에 비하여 낮은 경향을 보였다.

이상으로 부터 미노싸이클린 함유 폴리사카라이드 미소캡슐은 국소적항생제전달체계로 유용하며, 임상적 평가 동반된다면 구강악안면영역의 감염증이나 오염된 창상의 처치에 있어 기존의 전신적인 약물 투여의 대체요법으로 이용하거나, 초기 빠른 약물 용출로 전신적으로 투여한 항생제가 적절한 농도를 유지할 때까지 보조적으로도 이용될 수 있을 것으로 생각되었다.

참 고 문 헌

1. Kruger GO(대한구강악안면외과학회역) : 구강악안면외과학. 서울, 과학서적센터, 1984, p155.
2. Page RC : Periodontal therapy: Prospects for the future. J Periodontol 64:744-753, 1993.
3. Henry SL, Galloway KP : Local antibacterial therapy for the management of orthopedic infections :Pharmacokinetic considerations. Clin Pharmacokinet 29:36-45, 1985.
4. Perry CR, Ritterbusch JK, Rice SH, Burdge RE : Antibiotics delivered by an implantable drug pump: A new application for treating osteomyelitis. Am J Medicine 80:222-227, 1986.
5. Salvati EA, Callaghan JJ, Brause BD : Reimplantation in infection: elution of gentamicin from cement and beads. Clin Orthop 207: 83-93, 1986.
6. Henry SL, Seligson D, Mangino P : Antibiotic impregnated beads. Part I : bead implantation versus systemic therapy. Orthop Rev 26(3):242-7, 1991.
7. Kornman K : Controlled-release local delivery antimicrobials in periodontics :Prospects for the future. J Periodontol 64 : 782-791, 1993.
8. 박윤정, 염혜리, 이상철, 이승진, 정종평 : 미노싸이클린 함유 폴리사카라이드 미소캡슐의 약물방출능, 생분해성, 항균력 및 세포독성 연구. 임상약리학회지 3:1-8, 1995.
9. Okada N, Moriya K, Nishida Y, Kobayashi T, Nishimura H, Aoyama M, Yoshikawa K : Skin pigmentation associated with minocycline therapy. Br J Dermatol 121:247-254, 1989.
10. Freenam E, Ellen RP, Thompson G, Weinberg SE, Song M, Lazarus RH : Gingival crevicular fluid concentration and side effect of minocycline: A comparison of two dose regimens. J Periodontol 63:13-18, 1992.
11. Caro I : Discoloration of the teeth related to minocycline therapy for acne. J Am Acad Dermatol 3:244-247, 1980.
12. Billano RA, Ward WQ, Little WP : Minocycline and black thyroid. JAMA 1987:249, 1983.
13. Sarr MG, Parikh KJ, Sanfey H, Minken SL, Cameron JL : Topical

- antibiotics in the high-risk patients: A prospective, randomized study. *Am J Surg* 155:337-342, 1988.
14. Leyden JJ, Kingman AM : Rationale for topical antibiotics. *Cutis* 22:515-526, 1978.
 15. Glotzer DJ : Topical antibiotics prophylaxis in contaminated wounds: Experimental evaluation. *Arch Surg* 100:589-593, 1970.
 17. Duff P, Gibbs RS, Jorgensen JH, Alexander G : The pharmacokinetics of prophylactic antibiotics administered by intraoperative irrigation at the time of cesarean section. *Obstet Gynecol* 60:409-412, 1982.
 18. Rosin E, Ebert S, Uphoff TS, Evans MH, Schultz-Darken NJ : Penetration of antibiotics into the surgical wound in canine model. *Antimicrob Agents Chemother* 33:700-704, 1989.
 16. Matushek KJ, Rosin E : Pharmacokinetics of cephazolin applied topically to the surgical wound. *Arch Surg* 126:890-893, 1991.
 19. Conover WB, Moore TR : Comparison of irrigation and intravenous antibiotics prophylaxis at cesarean section. *Obstet Gynecol* 63:787-791, 1984.
 20. Vogelmann B, Gudmundsson S, Leggett J, Turnidge J, Ebert S, Craig WA : Correlation of antimicrobial pharmacokinetics parameters with therapeutic efficacy in an animal model. *J Infect Dis* 158: 831-847, 1988.
 21. Abrahams RA, Ronel SH : Biocompatible implants for the sustained zero-order release of narcotic antagonist. *J Biomed Mater Res* 9:355-366, 1975.
 22. Brook IM, Noort R : Controlled delivery of drugs: a review of polymer-based device. *Br Dent J* 157:11-15, 1984.
 23. Johnson JT, Yu VL : Role of aerobic gram-negative rods, anaerobes, and fungi in wound infection after head and neck surgery: Implications for antibiotic prophylaxis. *Head Neck* 11:27-29, 1989.
 24. Balbuena L, Stambauch KI, Ramirez SG, Yeager C : Effects of topical antiseptic rinses on bacterial counts of saliva in healthy human subjects. *Otolaryngol Head Neck Surg* 118:625-629, 1998.
 25. Jones RJ, Kauback H, Nichter L, Edlich RF, Cantrell RW : Efficacy of an antibiotic mouthwash in contaminated head and neck surgery. *Am J Surg* 158:324-327, 1989.
 26. Goodson JM, Offenbacher S, Farr DH, Hogan PE : Periodontal disease treatment by local drug delivery. *J Periodontol* 56:265-272, 1985.
 27. Killoy WJ, Cobb MA, Goodson JM : Multi-centre evaluation of tetracycline fibre therapy. VI. Fibre retention *J Dent Res* 68:(abstract no.125), 1989.
 28. Rosling BG, Slots J, Webber RL, Christersson LA, Genco RJ : Microbiological and clinical effect of topical subgingival antimicrobial treatment on human periodontal disease. *J Clin Periodontol* 10:487-514, 1983.
 29. Steenberghe D, Bercy P, Kohl, J, Boever J, Adriaens P, Adrianenssen AC, Rompen E, Vree H, McCarty EF, Vandenhoven G : Subgingival minocycline hydrochloride ointment in moderate to severe chronic adult periodontitis : a randomized, double-blind, vehicle-controlled, multicenter study. *J Periodont* 64:637-644, 1993.
 30. Eckles TA, Reinhardt RA, Dyer JK, Tussing GJ, Szydlowski WM, DuBois LM : Intracrevicular application of tetracycline in white petrolatum for the treatment of periodontal disease. *J Clin Periodontol* 17:454-462, 1990.
 31. Needleman IG : Controlled drug release in periodontics: a review for new therapies. *Br Dent J* 170:405-408, 1991.
 32. Yotsuyanagi T, Ohkubo T : Calcium induced gelation of alginate and pH-sensitive reswelling of dried gels. *Chem Pharm Bull* 35:1555-1563, 1987.
 33. Sawayanagi Y, Nambu N, Nagai T : Enhancement of dissolution properties of prednisolone from ground mixtures with chitin or chitosan. *Chem Pharm Bull* 31:2507-2509, 1983.
 34. Okuda K, Oliver WR, Osborn J, Stoltenberg J, Bereuter J, Anderson L, Foster P, Hardie N, Aeppli D, Hara K : Minocycline slow-release formulation effect on subgingival bacteria. *J Periodontol* 63:73-79, 1992.
 35. Wrightson WR, Myers SR, Galandiuk S : Analysis of minocycline by high-performance liquid chromatography in tissue and serum. *J Chromatogr B*, 706:358-361, 1998.
 36. Jehl F, Gallion C, Monteil H : High-performance liquid chromatography of antibiotics. *J Chromatogr* 531:509-548, 1990.