한국생물공학회지 제16권 제3호
Korean J. Biotechnol. Bioeng.
Vol. 16, No. 3, 302-306(2001)

키토산의 백서에서의 생체적합성

†이 석 우 · 임 윤 택 · [1]공 승 대 · [2]류 정 욱 · [3]이 우 윤
산업자원부 기술표준원 생물환경과, [1]명지대학교 화학공학과, [2]동아인재대학 환경화학과,
[3]인천대학교 자연과학대학 화학생물학부
(접수 : 2001. 5. 24., 게재승인 : 2001. 6. 25.)

Biocompatibility for the Rat of Chitosan

Seok-Woo Lee†, Yoon-Taek Lim, Seung-Dae Kong[1], Jung-Wook Ryu[2], and U-Youn Lee[3]
Biotechnology & Environmental Engineering Div., Agency for Technology & Standards, Kyunggi 427-010, Korea
[1]Department of Chemical Engineering, Myong Ji University, Kyunggi 449-728, Korea
[2]Department of Chemical Engineering, Dong-A College, Chonnam 526-872, Korea
[3]Division of chemistry and Biology, Natural Science, In Cheon University, Incheon 402-749, Korea
(Received : 2001. 5. 24., Accepted : 2001. 6. 25.)

The possibility of biomaterials prepared from natural polymer as a skin substitute was evaluated by measuring biocompatibility. Biodegradable films were prepared by solution blend method in the weight ratio of chitosan for the purpose of useful biomaterials. These films were inserted in the back of rat and their biodegradability was investigated by the film weight and hematology as a function of time for the biotransformation. The result of rat test showed that medium, high viscosity chitosan induced some suspects of inbiocompatibility in the tissue by foreign body reaction 48 and 72 hours after implantation. Also, we prepared the official burn ointment which is made by low viscosity chitosan. This burn ointment was covered on the skin wound of artificial burn and their effect of healing was investigated by the evaluation of the naked eye and hematological change as a function of time. The result of rats test showed that burn ointments made from chitosan was effective reduction of inflammation than negative group.

Key Words : biocompatibility, chitosan, biodegradation, implants, burn ointments

서 론

국민보건과 관련된 의료산업은 계속적으로 발전하고 있으며 이에 따라 의료산업의 필수 소재인 생체재료의 발전은 더욱 요구되고 있다. 질환 중에 수술이나 약리적으로 치유가 불가능하고, 이식 등의 임상에 있어서 한계가 있는 인체장기를 용이하게 인공장기로 대체하려는 연구들이 최근에 널리 진행되고 있으며 약학, 의학 및 화학공학에서의 생체재료 응용은 피부과, 안과, 신경외과, 치과, 세포배양 등의 생체공학 및 서방성제제의 이용에 이르기까지 광범위하게 응용이 되고 있다. 의료목적으로 사용될 재료는 사용기간 또는 사용 후에도 인체에 독성이 없고 안전하며 생체적합성이 있어야만 한다(1-3). 이들 재료를 의료용으로 응용하기 위한 성질 중에서 필수 불가결한 조건은 생체적합성, 멸균성, 기계적 · 물리적 성질 및 성형 가공성이 좋아야 한다는 것이다. 또한 재료가 목적달성 후 분해되어 생체 내 흡수 또는 배설되는 것이 바람직하다. 그러기 위해서는 생체재료가 혈액응고와 독성 등의 부작용을 일으키지 않는 조직 및 혈액 적합성을 지녀야 한다. 손상된 부위를 치료하기 위해 생분해성 재료를 사용하면 만성적인 항체반응이 감소하여 치료 중 발생되는 합병증이 줄어들 것이며 조직의 보호와 재생을 돕는 장점이 있다. 생체적합성 재료는 의료행위의 두 가지 요소인 진단과 치료 분야에 새로운 전기를 마련할 수 있다고 보여지며 이용할 수 있는 의료용 분야로는 봉합사(suture), 인공근육 등의 인공장기와 서방성 약품 및 인공피부 등이 있다(4-5). 한편 인간은 오랜 동안 자연계의 일부 동식물로부터 생물활성 기능을 이용하며 살아왔다. 예를 들면 상처를 치료하는데 민간요법으로 키틴과 알긴이 포함된 물질을 사용한다는 것은 잘 알려져 있다. 이러한 일부 천연고분자에는 항암, 면역증강, 소염, 항균, 혈당강하 및 항응고 작용 등의 생물활성을 갖는 것도 있다(6). 특히 키틴과 키토산은 초기의 수산폐기물의 재활용이라는 인식에서 벗어나 인공 신장과 혈관, 봉합사, 상처치유 촉진제 및 치과와 안과용 재료 등의 생체적합성재료와 의약

†Corresponding Author : Biotechnology & Environmental Engineering Div., Agency for Technology & Standards, Kyunggi 427-010, Korea
Tel : +82-2-509-7251, Fax : +82-2-507-1922
E-mail : seokwoo@ats.go.kr

품소재로 각광을 받고 있다(7-9).

본 연구에서는 점도(평균 분자량) 차이가 있는 키토산을 필름형태로 제조하고 이를 실험동물의 피하에 삽입하여 백서(rat)에서의 생체적합성을 관찰하였으며 생체적합성 실험으로부터 우수한 결과를 나타낸 키토산을 화상연고제로 제조하여 인위적 2도 화상을 입힌 백서의 피부에 대한 치료전후의 육안적 관찰과 혈액학적 분석을 실시하여 천연고분자인 키토산의 백서에서의 생체적용 가능성을 연구하였다.

재료 및 방법

시약 및 기기

천연고분자를 이용한 생체적용 연구를 위하여 키틴유도체인 Aldrich사에서 제조한 3종[저(140cp), 중(590cp), 고(1380cp)점도]의 키토산을 사용하였으며 필름과 연고제를 제조하는데 사용한 용매로서는 Millipore사의 Milli-Q 증류기을 사용하여 처리한 3차 초순수와 초산(덕산화학)을 자외선으로 멸균하여 사용하였다. 또한, 화상실험에서의 2차 감염 예방을 위한 살균제와 완화제로서 Sigma사의 nitrofurazone과 glycerin을 특급시약 그대로 사용하였다. 본 실험에서 제조한 화상연고제와의 대조를 위하여 상용되는 수용성 연고베이스를 사용하였는데 이들 성분 중에는 완화제로서 wax, 점활제로서 glycerin, 계면활성제 및 방부제 등이 적량 함유되어 있었다. 키토산필름의 백서에 대한 피하내 삽입전후와 화상전후 혈액학적 분석은 Technicon사의 H1 system 자동혈구계산기를 사용하였다.

실험동물인 백서의 사육 조건

본 실험은 천연고분자인 키토산의 생체 재료로서 가능성을 확인하고자 백서에 대한 생체내 실험을 실시하였으며 다음과 같은 방법으로 사육과 군분리를 시행하였다.

실험동물은 대한실험동물센터로부터 4주령, 체중 100~150 g의 특정 병원체 부재(SPF) 숫컷 SD계 백서를 분양 받아서 온도 23±3℃, 습도 50±5%, 배기 10~15회/hr, 형광등 명암 12 hr cycle, 조도 150~300 Lux의 환경조건에서 폴리카보네이트 사육상자(280 W×400 L×1700 H,mm)에 넣어 실험하였으며 사용한 깔짚으로 펄프를 사용하였다. 음용수는 수도수를 자유로이 공급하였으며 또한 순화 사육기간 동안 일반증상 관찰 등을 시행하여 정상적인 동물을 선별하였다(10-11). 백서의 군분리는 대조군과 키토산실험군으로 구분하였으며 필름삽입 실험의 개체수는 Table 1에 나타내었고, 화상연고제 실험군은 Table 2에 나타내었다. 화상실험의 대조군으로는 자연치유에 의한 관찰을 위하여 자연 치유군(이하 negative군)과 기존 상용 연고군(이하 positive군) 등의 두 군을 설정하였다.

Film의 제조 및 백서에 대한 적용

키토산 필름은 용매로서 1.0% 초산수용액을 이용하여 용해시켰다. 이때 점성을 나타내므로 기계식 교반기를 사용하여 일정시간 동안 분산, 용해되도록 하였다. 예로서 고점도 키토산 2.0 g을 취하여 1.0% 초산수용액 50 mL에 완전 용해시켰으며 기포생성을 방지하기 위하여 초음파기(Branson1200, 50 Hz)로 일시적인 초음파반응을 실시하였다. 이와 같이 얻은 겔형의 용액을 필름으로 제조하기 위하여 원통형 유리관내에 일정 높이로 적가한 후 30℃에서 감압건조하여 필름을 제조하여 이를 다시 에탄올에 침지시키고 재건조하여 사용할 때까지 자외선 멸균램프 하에서 보관하였다. 백서에 대한 적용으로서 두께 0.2 mm로 제조된 필름을 가로, 세로 각각 5.0 ㎜로 절단하고, 소독을 위하여 하루동안 무균 상자에 보관하였으며 수술도구는 모두 고압증기 멸균 처리하였다. 백서의 등쪽 피부에 가로, 세로 2.0 cm 가량의 털을 제거하고 70% 에틸알코올 정제수로 절개할 부위의 피부를 소독한 후 포르말린으로 마취하고 멸균된 수술용 칼로 표피를 절개하였다. 각 실험군에 필름을 피하조직에 삽입하고 멸균된 autoclip으로 즉시 봉합하였으며 매일 2회, 에틸알코올로 소독하여 주었다. 48시간 및 72시간 후 혈액학적 변화를 관찰하기 위하여 혈액을 채취한 다음 필름을 회수하여 멸균된 접시에 옮겨 가능한 한 혈액을 제거하고 건조시킨 후 건조중량을 측정하였다.

Table 1. Grouping of rats for skin implant experiments

Grouping	Insertion Time(hour)	No. of Rat
Control	24	10
	48	10
low chitosan	48	10
	72	10
medium chitosan	48	10
	72	10
high chitosan	48	10
	72	8
Total		78

Table 2. Grouping of rats for artificial burn experiments

Material	6 days treatment	12 days treatment
Chitosan	10	8
Positive	8	8
Negative	8	8
Total	26	24

인위적 화상방법 및 연고제의 제조

백서를 위의 같은 방법으로 제모하고 소독한 후에 인위적 화상을 유발하기 위하여 실리콘오일을 유리로 제작된 기름중탕기에 넣고 160℃까지 가열시키고 기름중탕기의 유리벽면에 제모한 백서의 등부위를 밀착시켜서 수포가 발생한 2도 화상을 유발하였다. 다음으로 제조한 화상연고제를 화상부위에 도포하고 멸균 가아제로 감아주었으며 이후 매일 1회씩 일정시간에 같은 방법으로 처치하였다. 한편 제조한 키토산 화상연고제의 비교, 대조실험을 위하여 nitrofurazone(12)을 시중 상용연고제의 성분함량(13)에 따라서 각각의 연고제에 1 g당 3.5 mg씩 동량 첨가하였으며 완화제인 glycerin도 본 실험군에 대조한 기존 수용성 연고베이스의 양과 같이 동량 첨가하여 제조하였다. 예로서 저점도 키토산 20.0 g에 멸균한 1.0% 초산수용액 200 mL를 넣고 여기에 0.7 g의 nitrofurazone과 3.84 mg의 glycerin을 첨가한 후 기계식 교반기를 이용하여

Table 3. Dry weight changes of chitosan films during experimental periods

Materials \ Time	48 hrs		72 hrs	
	Start	Final	Start	Final
Chitosan low	9.5±3*	7.8±2	9.8±2	5.8±2
Chitosan med.	12.9±5	12.8±7	11.8±4	10.2±3
Chitosan high	8.4±2	7.7±2	14.3±5	8.9±3

Unit : mg of film *The values expressed as a mean±SD(n=10)

Table 4. Body weight changes during experimental periods

Materials \ Time	48 hrs		72 hrs	
	Start	Final	Start	Final
Chitosan low	251±10.1	252±13.6	252±12.0	248±12.1
Chitosan med.	228±7.2	224±8.2	223±7.4	225±11.3
Chitosan high	248±11.5	254±13.5	246±10.3	253±12.5

Unit : g for rat *The values expressed as a mean±SD(n=10)

완전 분산시켜서 연고제 형태로 제조하였다.

관찰 및 혈액학적 검사항목

실험동물인 백서에 대하여 매일 일정시간에 임상적 증상, 화상부위 및 사망 유무를 관찰하였으며 백서의 체중은 실험 시작과 부검직전에 측정하였다. 혈액학적 검사로서 실험동물인 백서를 부검일 오전부터 절식시킨 후 경추탈구법으로 희생한 다음 심장에서 혈액을 채혈하였다. EDTA-Na로 항응고 처리하여 백혈구수(WBC), 적혈구수(RBC), 혈색소량(HGB), 적혈구용적(HCT), 평균적혈구용적(MCV), 평균적혈구혈색소량(MCH), 평균적혈구혈색소농도(MCHC)를 측정하였고, 필름의 삽입실험 후의 백혈구에 대한 감별검사(differential counts)로서 혈소판수(PLT), 림프구(lymphocyte), 호중구(neutrophil), 단핵구(monocyte), 호산구(eosinophil), 호염기구(basophil) 등을 측정하였다.

통계학적 해석

체중의 경우 평균 및 표준 편차를 이용하여 변화를 관찰하였으며 각 결과에 대한 대조군과 시험군의 비교는 one-way ANOVA test를 수행한 후 Duncan's multiple range test를 실시하여 유의성을 검토하였다. 별도로 기술하지 않는 한 $p<0.05$인 경우 유의성이 있는 것으로 판정하였다.

결과 및 고찰

필름의 중량변화와 혈액학적 변화

Table 3에 나타낸 것과 같이 키토산필름 실험군은 생체내 분해작용에 의하여 시간에 따라 분해되는 양상을 나타내었으며 Table 4에서 백서의 실험시작과 종료 체중변화에서는 일부 실험군에서는 체중이 감소하는 결과를 보였으나 비교적 대조군과 유사한 체중변화를 나타내었다. 의료용 재료로 고분자를 사용할 경우 장애가 되는 것은 생체가 자기방어를 위하여 일으키는 이물반응이다. 장기간 체내에 삽입된 경우에는 비분해성 고분자가 이물질로서 체내에 잔존하므로 커다란 생리학적인 문제를 일으킨다. 이와 같은 생체 이물반응을 피하기 위해서는 삽입된 고분자재료가 목적달성 후 분해되어 생체내 흡수되는 것이 바람직하다(14).

제조한 필름을 삽입한 실험군의 혈액학적 소견을 Table 5와 6에 나타내었다.

Table 5의 백서에서 정상범위 백혈구를 6.6~12.6×103/μL로 본다면(15-16), 저점도 및 중점도 키토산 실험군의 백혈구는 48시간 후와 72시간 후에는 정상범위였으나 고점도 키토산의 백혈구는 72시간 후에 정상범위보다 증가하였고 대조군에 비하여 유의한 증가를 보였다($p<0.05$). 저점도 키토산 48시간 후의 백혈구 분포는 단핵구가 증가하여 72시간 후까지 지속되었다. 중점도 키토산에서는 48시간 후 백혈구 분포는 호중구가 급격히 감소하였으나 72시간 후에는 정상범위로 회복되었다. 고점도 키토산은 48시간 후에는 정상범위였으나 72시간 후에는 백혈구 분포에서 차지하는 비중이 큰 호중구와 림프구가 증가하였다. 혈소판수(PLT)는 150~450×103/μL를 정상범위(15-16)로 보았을 때, 대조군을 포함한 각 실험군에서 모두 증가하였다. 단핵구는 정상범위를 0.0~5.0%, 0.1~0.4×103/μL로 보고17)하고 있으나, 본 실험의 결과는 일부 실험군에서 정상범위를 상회하는 통계학적으로 유의한 증가를 나타냈다($p<0.05$). 또한, 호산구는 정상범위를 0.0~0.6%, 0.03~0.06×103/μL로, 호염기구는 0.0~1.0%, 0.1~0.15×103/μL로 보고17)하고 있으나, 본 실험에서는 일부 실험군에서 정상범위를 상회하는 유의한 증가($p<0.05$)를 나타내었다.

제조한 키토산필름의 중량 변화와 혈액학적 결과에서 확인

Table 5. Effects of chitosan films inserted into the rat for measurements of hematological components

Time	Group	WBC [×10³/μℓ]	RBC [×10⁶/μℓ]	HGB [g/dL]	HCT [%]	MCV [fL]	MCH [pg]	MCHC [g/dL]	PLT [×10³/μℓ]
	normal range	6.6~12.6	6.7~9.75	13.4~15.8	44.4~50.4	49.8~69.8	14.3~22.0	26.2~35.4	150~450
after 48 hrs	Chitosan low	6.9±3.2	8.04±1.9	17.5±3.8	49.0±6.1	61.0±10.4	18.6±5.6	30.4±5.7	649±137*
	Chitosan med.	6.7±3.1	8.71±2.1	17.8±4.1	61.0±7.4	70.0±11.7	20.4±6.2	29.2±6.4	750±129*
	Chitosan high	8.0±4.2	8.66±1.8	18.1±4.6	63.0±6.6	72.7±11.6	20.8±5.7	28.6±5.1	779±113*
	controls	6.99±2.3	7.33±2.4	15.3±3.1	49.7±8.5	67.8±12.4	20.9±6.3	30.8±5.2	415±102
after 72 hrs	Chitosan low	9.0±4.4	7.86±2.1	16.2±4.1	55.0±9	70.0±9.2	20.6±4.6	29.4±4.1	959±89*
	Chitosan med.	9.8±3.8	7.56±2.2	15.8±3.0	50.1±8.2	68.5±9.2	19.5±4.4	30.4±4.0	889±101*
	Chitosan high	16.0±2.8*	7.64±2.5	14.8±3.3	49.1±8	64.2±7.6	19.4±3.8	30.1±3.6	852±110*

The values expressed as a mean±SD (n=10) *statistically different from control group ($p<0.05$)

Table 6. Effects of chitosan films inserted into the rats for measurements of WBC components

Time	Group	Neutrophil		Lymphocyte		Monocyte		Eosinophil		Basophil	
		%	[$\times 10^3/\mu\ell$]	%	[$\times 10^3/\mu\ell$]	%	[$\times 10^3/\mu\ell$]	%	[$\times 10^3/\mu\ell$]	%	[$\times 10^3/\mu\ell$]
	normal range	9~25	1.10~4.0	55.6~83.2	6.30~10.90	0~5.0	0.1~0.4	0~0.6	0.03~0.06	0~1.0	0.1~0.15
after 48 hrs	Chitosan low	16±1.1	1.2±0.3	65±15	4.9±1.2	7.3±2.4	0.5±0.03	0.7±0.05*	0.05±0.02	0.4±0.02	0.03±0.02
	Chitosan med.	4±2.1*	0.3±0.2*	71±15	6.2±1.7	1.8±0,3*	0.1±0.10*	0.2±0.01*	0.01±0.01*	0.3±0.01	0.02±0.01
	Chitosan high	24±5.3	1.9±0.6	75±21	5.5±1.2	5.5±1.1	0.5±0.02	0.4±0.01	0.03±0.01	0.9±0.02*	0.05±0.01*
	control	21±0.5	1.5±0.3	67±12	4.6±0.5	5.5±1.6	0.4±0.11	0.5±0.05	0.04±0.01	0.3±0.01	0.03±0.01
after 72 hrs	Chitosan low	12±0.8*	1.1±0.3	78±11	8.4±1.4*	6.4±1.6	0.9±0.05*	0.6±0.03	0.07±0.01*	0.4±0.01	0.05±0.02*
	Chitosan med.	20±0.9	1.6±0.8	61±18	6.0±1.6	5.3±1.6	0.6±0.04	0.5±0.02	0.05±0.01	0.8±0.03*	0.05±0.02*
	Chitosan high	21±2.2	4.4±1.1*	60±13	11±2.1*	1.7±0.5*	0.3±0.02	1.0±0.03*	0.19±0.02*	0.6±0.01*	0.11±0.02*

The values expressed as mean ±SD(n=10) * statistically different from control group ($p<0.05$)

Table 7. Body weight changes during burn experimental periods

Materials \ Time	start*		1st		2nd
	treatment 6days	treatment 12days	treatment 6days	treatment 12days	treatment 12days
Chitosan	160.5±12.9**	156±11.5	210.3±21.01	191.3±12.1	220.17±10.2
Positive	151.7±13.5	161.6±18.2	190±45.4	196±38.5	212.67±24.5
Negative	153.7±10.0	141.3±22.1	199.67±23.1	170.67±31.3	196±43.8

Unit : g for rat * grouping of rat ** The values expressed as a mean±SD (n=8~10)

Table 8. Hematological values of the rats during burn experimental periods

Time	Group	WBC [$\times 10^3/\mu\ell$]	RBC [$\times 10^6/\mu\ell$]	HGB [g/dL]	HCT [%]	PLT [$\times 10^3/\mu\ell$]
	Standard	6.6~12.6	6.7~9.75	13.4~15.8	44.4~50.4	150~450
treatment 6days	Chitosan	8.4±1.3*	7.09±0.2	7.85±0.2	53.1±0.9	645±173*
	Positive	4.6±2.3	6.83±0.1	7.45±0.3	50.15±2.3	921±172
	Negative	3.0±0.5	7.07±0.6	7.93±0.5	50.77±2.6	883±70
treatment 12days	Chitosan	12.4±6.2	6.10±0.9	13.12±1.9	41.92±5.8	378±96
	Positive	14.9±5.5	5.75±0.2	13.07±0.8	44.4±3.1	439±209
	Negative	20.1±21.0	5.87±0.6	13.33±1.8	41.07±2.5	413±67

The values expressed as a mean±SD (n=8~10) * : Statistically different from control group ($p<0.05$).

하였듯이 재료의 생체적합성은 여러 생체내 인자들에 의한 복합적인 결과임을 확인할 수 있었으며 백서에서의 분해실험 결과 저점도 키토산이 비교적 우수한 분해속도와 혈액학적 결과를 보여주는 생체적합성을 나타내었다.

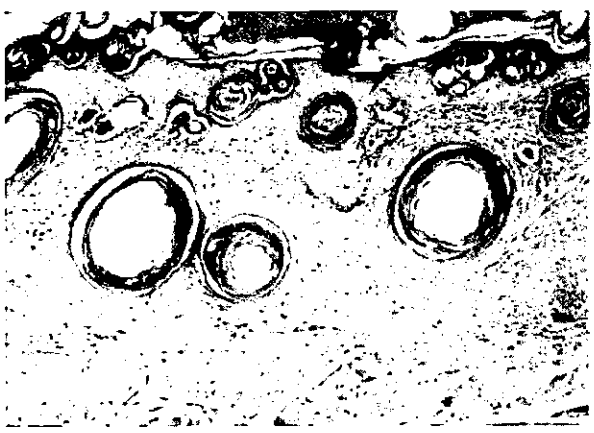
화상연고제에 의한 혈액학적 변화

앞선 실험을 통하여 비교적 우수한 생체적합성을 나타내었던 저점도 키토산을 이용하여 기존 수용성 연고베이스와 유사한 키토산 연고베이스를 제조하고 백서의 피부에서 6일과 12일 후의 육안적 관찰 및 혈액학적 검사를 실시하였다. 백서의 실험 시작과 종료 체중변화는 Table 7에서와 같이 모든 실험군에서 유사한 체중변화를 나타내었다. 육안적 관찰로서 실험기간 중에 사망한 백서는 없었으며 대조군을 포함한 모든 실험군에서 화상실험 일주일 후부터 백서의 화상부위에 가피(crust)가 형성되기 시작하였다.

인위적 화상전후 백서의 혈액학적 결과를 Table 8에 나타내었다. 백혈구는 실험 6일 후에 백혈구가 키토산 적용군을 제외한 positive, negative군에서 정상범위보다 감소하였으며, 키토산적용군과의 차이는 통계학적으로 유의하였다 ($p<0.05$). 12일에는 역시 키토산 적용군만이 정상범위내에 있었으나, 나머지 positive, negative군은 정상범위보다 높은 수준이었다. 그러나, 이들 군간의 차이는 통계적으로 인정되지 않았다. 적혈구수는 모든 실험군에서 6일째는 정상범위를 보였으나, 12일째는 낮은 수준을 나타내었다. 혈색소함량은 6일에는 모든 시험군에서 정상범위에 비하여 낮은 수준이었으나, 12일에는 정상범위에 포함되었다. 혈소판수는 6일째에 positive, negative 군이 키토산적용군에 비하여 높았으며 ($p<0.05$), 이러한 높은 수치는 정상범위를 벗어난 정도였다. 그러나, 12일에는 각 시험군에서 정상범위내에 존재하였으며, 통계학적인 차이도 나타나지 않았다. 혈구용적은 각 시험군에서 정상 범위내에 존재하며, 변화의 차이가 인정되지 않았다.

Figure 1(a)는 positive군의 12일 후 조직인데 상피층이 괴사되어 있고 진피의 일부 모낭에 아직도 칼슘이 침착되어 있었으며 주변부와 하부 근육 층에 다수의 대식구 및 소수의 단핵구 등이 미만성(diffuse)으로 침윤되어 있었다. 그러나 Figure 1(b)의 저점도 키토산군 처치 12일 후의 조직에서는 상피층에 가피(crust)가 형성되어 있으며 손상되어 있던 진피의 모낭 주변에 광범위하게 섬유아세포(fibroblast)가 증식하고 있었으나 아직도 소수의 대식구와 단핵구 같은 염증세포는 침윤되어 있었다.

(a)



(b)

Figure 1. Histological appearance of burned 12days after treatment positive(a) and low chitosan(b), cross sectional view of skin tissues from rats (hematoxylin and eosin stain, original magnification ×100).

요 약

점도(평균 분자량)의 차이가 있는 키토산을 필름형태로 제조하여 실험동물인 백서의 피하에 삽입하여 백서에서의 적합성을 관찰하였으며 또한 우수한 적합성을 나타낸 키토산을 화상연고제로 제조하여 인위적 2도 화상을 입힌 백서의 피부에 대한 치료전후의 육안적 관찰과 혈액학적 분석을 실시하여 천연고분자인 키토산의 생체적용 가능성을 연구하였다. 제조한 키토산필름의 중량 변화와 혈액학적 결과에서 확인하였듯이 재료의 생체적합성은 여러 생체내 인자들에 의한 복합적인 결과임을 확인할 수 있었으며 실험 결과 저점도 키토산이 비교적 우수한 분해속도와 혈액학적 결과를 보여주는 생체 적합성을 나타내었다. 화상실험으로 기존 수용성 연고베이스와 유사한 키토산 연고베이스를 제조하고 대조군으로는 자연치유군(negative군)과 기존 수용성연고베이스(positive군) 등의 두 군을 설정하여 백서의 화상 피부에서 6일과 12일 후의 육안적 관찰 및 혈액학적 검사를 실시하였다. 육안적 관찰로서 실험기간 중에 사망한 백서는 없었으며 대조군을 포함한 모든 실험군에서 화상실험 일주일 후부터 백서의 화상부위에 가피(crust)가 형성되기 시작하였다. 백서의 혈액학적 결과 중 백혈구는 실험 6일 후에는 백혈구가 감소하였으나 12일 후에는 대부분의 실험군에서 백혈구가 증가하여 염증발현의 가능성을 나타내었다. 특히, 자연치유군으로 설정한 negative군에서는 높은 백혈구 수치를 나타내었다.

REFERENCES

1. Ishihara K., Endo Y., and Ueda T. (1992), Hemocompatibility of human whole blood on polymers with a phospholipid polar group and its mechanism, *J. of Biomed. Mater. Res.*, 26, 1543.
2. Kronenthal R. L. and Oser Z. (1975), "Polymers in Medicine and Surgery", Plenum Press, New York, 14.
3. Williams D. F. (1981), "Biocompatibility of Clinical Implant Materials", vol. Ⅱ, CRC Press, Bocaraton, Florida, 249.
4. Sharma C. P. and Szycher M. (1992), "Blood compatible Materials and Devices", Perspective Toward the 21st. Century, Technomic Publishing Co. Inc., Lancaster, 156.
5. Heller J. and Baker R. W. (1980), "Theory and Practice of controlled drug delivery from Bioerodible polymer", In Controlled Release of Bioactive Materials, Academic Press, New York, 1.
6. Buckingham J. (1994), "Dictionary of Natural Products", Chapman & Hill, 1, London, 21.
7. Maeda M., Inoue Y., and Kifune K. (1995), Biomedical properties and applications of chitin and its derivatives, "In Enciclopedic handbook of biomedicals and bioengineering", Marcel Dekker Inc., New York, 1585.
8. Pangburn S. H. and Heller J. (1984), Partially deacetylated chitin-its use in self-reggulated DDS, "In chitin and chitosan and related enzymes", Academic Press, New York, 3.
9. Kifune K. (1992), Clinical applications of chitin in artificial organ, "In Advances chitin and chitosan", Elsevier Applied Sciences, New York, 9.
10. Lee Y. S. (1983), breeding control and technique, animal husbandry, Seoul University Publishing Co., Seoul, 298, 1983.
11. Sato K., Sugibayashi W, and Morimoto Y. (1988), method and valuation, New Toxic Test Method, Realize Inc, Tokyo, 12.
12. Organic medical supplies publishing committee, (1994), a disinfectant for topical applications, Organic Medical Supplies Chemistry, Dong Myung Publishing Co., Seoul, 589.
13. Cocabo S. C. and Bromilow D. B. (1994), "Topical Antiinfectives", KIMS, MIMS Korea, 8(3), 281.
14. Yoo Y. T. (1994), Biodegradable Polymers for Medical Applications-Synthesis and Degradation, *Polym. Sci. Tech.*, 2(5), 566.
15. Mitruka B. M. and Rawnsley H. M. (1981), "Clinical Biochemical and Hematological Reference Values in Normal Experimental Animals and Normal Humans", 2nd Ed., MASSON Publishing, New York, 58.
16. Baker, H. J., Lindsey, J. R., and Weisbroth, S. H. (1979) "The Laboratory Rat", Academic press, New York, 21.
17. Jain, N. C. (1986), "The Neutrophils, Schalm's Veterinary Hematology", 4th Ed., Lea & Febiger, Philadelphia, 676.