

## 테트라사이클린을 함유한 기능성 키토산 차단막의 제조

장기성 · 이수복 · 이범훈<sup>†</sup> · 민우기 · 김원근 · 정용식<sup>1</sup> · 최성호<sup>2</sup> · 이용근<sup>2</sup>

텍산메드테크(주), <sup>1</sup>전북대학교 섬유공학과, <sup>2</sup>연세대학교 치과대학  
(2005. 3. 19. 접수/2005. 6. 8. 채택)

## Preparation of Functional Chitosan Membranes Containing Tetracycline

Gi Seong Jang, Soo Bok Lee, Bum Hoon Lee<sup>†</sup>, Woo Ki Min, Won Keun Kim,  
Yong Sik Chung<sup>1</sup>, Seong Ho Choi<sup>2</sup> and Yong Keun Lee<sup>2</sup>

Texan Medtech Co. Ltd., Siheung 429-450, Korea

<sup>1</sup>Department of Textile Engineering, Chonbuk National University, Chonju 560-756, Korea

<sup>2</sup>College of Dentistry, Yonsei University, Seoul 120-749, Korea

(Received March 19, 2005/Accepted June 8, 2005)

**Abstract:** Chitosan, a poly-saccharide, has been widely studied as bone substitution and membrane material in periodontology as well as orthopedic application. Tetracycline has been considered for use in the treatment of chronic periodontal disease and gingivitis. The aim of the present study is to make a comparative study of two ways for fabricating chitosan membrane containing tetracycline and achieve sustained and controlled local delivery of the antibiotic to the diseased tissue. Two types of membranes, non-woven and sponge, were fabricated with various concentration of tetracycline. The tensile strength of the chitosan fiber was tested by Vibrodyn and the membranes were tested on a universal test machine. *Streptococcus mutans* were employed to examine the antibacterial properties of the membranes. Body-safety of the membranes were determined by the Salmonella Mutagenicity test, the micronucleus test, the acute oral toxicity test, and skin patch test. The sponge type chitosan membrane was found to have an excellent tensile strength.

**Keywords:** chitosan membrane, tetracycline, guided tissue regeneration

### 1. 서 론

차단막을 이용한 조직유도 재생 술식 (guided tissue regeneration, GTR)은 치주질환으로 파괴된 치주조직을 효과적으로 재생시키는 것을 목적으로 한다. 일반적으로 치주 조직의 수술 후에는 치유 과정 중에 조직들 간에 성장하는 속도에 차이가 있기 때문에 성장 속도가 늦은 조직들을 원활하게 성장할 수 있는 조건을 만들어 주는 것이 필요하다. Claffey 등은 치주 결손부를 millipore filter를 사용하여 상피 세포로부터 격리하여 재생 속도가 늦은 조직들도 충분히 성장할 수 있도록 하는 치료 방법이 효과적인 것으로 보고하였다[1]. 키토산은 키틴을 해중합 (depolymerization)하고, 부분적으로 탈아세틸화 (deacetylation)하여 얻어지는 N-acetyl-glucosamine과 N-glucosamine의 공중합체이다. 키틴은 게나 새우와 같은 갑각류의 껍질, 메뚜기와 같은 곤충류의 표피나 외각, 버섯이나 효모 같은 균류의 세포벽 등 자연계에 널리 분포하고 있어 키토산은 쉽게 얻을

수 있다. Shigemasa 등은 키토산이 생분해가 가능하고 독성이 없는 중합체로서 생체적합성이 우수한 것으로 보고하였다[2]. 따라서 키토산을 이용한 흡수성 차단막을 조직유도 재생 시술에 적용함으로써 이차적인 차단막 제거 수술이 요구되지 않기 때문에 환자의 불편함과 경제적 부담을 경감시킬 수 있는 장점이 있다. 또한 Klokkevold는 키토산의 지혈 효과에 대해 연구하였고, Azad 등은 키토산의 창상 치유 촉진 능력에 대해 연구하였다[3,4]. Park 등은 키토산이 분말, 젤, 필름, 스펀지, 용액 등과 같은 다양한 형태로써 이용이 가능하고, 혈소판유래 성장인자 (platelet-derived growth factor, PDGF) 및 골형성 단백질 (bone morphogenic protein, BMP) 등과 같은 생체 활성 물질의 부착이 용이하다고 보고하였다[5]. 따라서 Khor 등 많은 연구자들이 골대체물과 차단막을 비롯한 다양한 용도의 임상 적용이 가능한 키토산에 대해 치과 및 정형외과 분야에서 많은 연구가 진행되고 있다[6].

한편, Drisko 등은 치주 질환은 여러 종류의 세균에 의한 감염성 질환으로 기계적인 치태 제거나 전신적 혹은 국소적으로 항세균 제재를 투여함으로써 질환의 발생과 심도를 감소시킬 수 있지만, 기계적인 치태 제거는 술자의 기

<sup>†</sup> Correspondence to Bum Hoon Lee (bumhooon@freechal.com)  
© 2005 The Korean Fiber Society 1225-1089/2005-3/155-06

술에 많이 좌우되고, 약물 도달이 어려운 부위에는 효과적이지 못해 항생제 요법이 대두되고 있다고 보고하였다[7]. 항생제 요법은 경구 투여 방법이 있으나 병소에 최소 억제 농도를 유지하기 위해 많은 양의 약물이 투여되어야 하며, 이로 인해 신체 내 다른 부위에서 부작용이 일어날 수 있다. Michalowicz 등은 이러한 문제점을 개선하기 위해서 시술이 용이하고 치주낭 내에서 약물이 최소 억제 농도로 방출되고, 치주 조직에 자극이 없이 완전히 생분해되는 약물 전달 장치의 개발에 대해 연구하였다[8]. 테트라사이클린, 독시사이클린, 클로르헥사딘, 메트로니다졸 등이 치주 질환 치료에 널리 연구되고 있는 항생제들이다. 이중 테트라사이클린은 항균 효과 외에도 다양한 특성들을 갖고 있는 것으로 알려져 있다. Somerman 등은 상아질 표면에 섬유아세포가 부착하는 것을 촉진시키는 작용을 한다고 보고하였고, Golub 등은 교원질 분해 효소에 대한 억제효과가 있다고 보고하였고, 또한 Goodson 등은 국소적으로 도포 또는 투여하였을 때 신생골의 형성을 돕는다고 보고하는 등 치주 치료에 유용하게 사용되고 있는 약물이다[9-11].

본 연구에서는 생분해성 천연물질인 키토산을 이용하여 부직포 형태와 스폰지 형태의 차단막을 제조하여 각각의 차단막에 테트라사이클린을 함유시켜 치주질환 치료를 위한 기능성 키토산 차단막을 제조하고 차단막의 특성에 대해 평가하였다.

## 2. 실험

### 2.1. 시료 및 시약

시료로는 탈아세틸화도 (degree of deacetylation, DD)가 98.0%이고 무게평균분자량이 400,000인 키토산 시료(텍산 메드테크(주), 한국)를 사용하였다. 키토산의 용매로는 아세트산(대정화학, 한국)을 사용하였고, 항생제로는 테트라사이클린(종근당, 한국)을 사용하였다. 그 밖의 시약으로는 수산화나트륨, 에탄올을 사용하였다.

### 2.2. 키토산 섬유 제조

2% 아세트산에 3.5%(w/w)의 키토산을 용해시켜 키토산 dope를 제조하여 여과·탈포한 dope를 정량펌프를 사용하여  $\phi 0.1 \text{ mm} \times 3,050 \text{ holes}$ 의 노즐을 통해 연속 습식 방사하였다. 수산화나트륨으로 이루어진 1차 응고욕에서 중화, 고화시킨 후, 수조에서 연신, 수세 후 건조하여 키토산 섬유를 제조하였다.

### 2.3. 부직포형 차단막의 제조

키토산 섬유를 crimper를 사용하여 인치당 8~10개의 crimp가 들어가게 crimping하였다. crimp가 들어간 키토산 섬유를 50 mm 길이의 단섬유로 자른 후 carding기를 사용

하여 여러 층의 웹을 만든 후, 형성된 웹은 needle loom을 통과할 때 니들이 붙은 칠판의 상하 왕복 운동에 의해 2차원적인 랜덤한 섬유배열이 3차원적인 랜덤구조로 결합되게 하였다. 제조한 키토산 부직포를 각각 0.1, 0.25, 0.5, 1.0%의 테트라사이클린이 함유된 증류수에 10분간 침지시켜 충분히 흡수가 되게 하였다. 충분히 흡수가 된 후 부직포 무게의 100% pick-up으로 패딩하여 40 °C에서 진공 건조하였다.

### 2.4. 스폰지형 차단막의 제조

2% 아세트산에 3.5%(w/w)의 키토산을 용해시켜 키토산 수용액을 제조하였다. 키토산 수용액을 진공펌프로 감압하여 용액에 존재하는 기포를 제거하였다. 20 ml의 용액을 직경 10 cm의 petri dish에 붓고 -80 °C에서 급속냉동 후 48시간 동안 동결건조하여 키토산 스폰지를 제조하였다. 제조된 스폰지 내에 존재하는 아세트산을 제거하기 위하여 키토산 스폰지를 0.5% 수산화나트륨 용액에 상온에서 2시간 동안 침지, 중화한 후 증류수로 충분히 수세하여 키토산 스폰지에 남아 있는 수산화나트륨을 제거하였다. 수산화나트륨에 의한 중화 이외에 동결 건조된 키토산 스폰지를 에탄올에서 2시간 침지하였고, 다시 70% 에탄올, 50% 에탄올 수용액에 각각 30분씩 침지시켜 중화한 후, 증류수로 충분히 수세하였다. 위와 같은 방법으로 아세트산과 수산화나트륨이 모두 제거된 키토산 스폰지를 -80 °C에서 급속냉동 후 24시간 동안 동결건조하여 키토산 스폰지형 차단막을 제조하였다. 제조된 키토산 스폰지 차단막을 각각 0.1, 0.25, 0.5, 1.0%의 테트라사이클린이 함유된 증류수에 10분간 침지시켜 충분히 흡수가 되게 한 후, 40 °C에서 진공 건조하였다.

### 2.5. 표면 구조 측정

제조된 키토산 차단막의 표면에 대한 모폴로지는 SEM(X-650, Hitachi)을 이용하여 관찰하였다. 시료는 gold coating을 한 후 25 kV의 beam-voltage 하에서 관측하였다.

### 2.6. 기계적 물성 측정

키토산 섬유의 기계적 특성은 Vibrodyn (Lenzing AG, Austria)을 이용하여 측정하였다. 이때 사용된 시료는 10 mm의 스테이플 형태로 crosshead speed를 20 mm/min으로 하여 수행하였으며 섬도 측정시 초하중을 강신도에 그대로 적용하였고, 측정한 10개 이상의 시료에 대한 샘플의 평균값을 취하였다. 키토산 차단막의 인장 강도는 만능시험기 (4501, Instron, USA)를 사용하여 측정하였다. 각각의 시편을 20×5 mm의 크기로 준비하여, crosshead 하강속도를 2 mm/min하여 시편당 10개의 시편을 측정하여 평균치를 구하였다.

## 2.7. 항균성 측정

키토산 차단막의 항균 효과 실험은 Grzbowski 등에 의해 제안된 항균력 평가법으로 시행하였다[12]. 실험에 사용한 균주는 치아 우식증 원인균인 *Streptococcus mutans*를 이용하였고, 세균 배양 및 보존에는 brain heart infusion (BHI, Difco Co., USA)을 사용하였다. 30  $\mu$ l BHI 배양액에 100  $\mu$ l의 *Streptococcus mutans*균을 넣어서 24시간 배양하였다. 12 well plate에 1 ml의 배양한 균을 넣고, 멸균 처리한 10×10 mm의 샘플을 담근 후, CO<sub>2</sub> 항온기에서 37°C에서 24시간 배양하였다. 샘플과 함께 배양한 배양액을 1000배 희석한 후, 미리 준비한 BHI 배양액에 포함된 고체 한천 배지에 도말하여 24시간 배양하였다. 형성된 colony 수를 카운트 하여, 차단막의 항균력을 평가하였다.

## 2.8. 인체안정성 시험

**복귀돌연변이 시험:** 키토산의 돌연변이 유발능을 조사하기 위하여 *Salmonella typhimurium* TA98, TA100, TA1535, TA1537의 histidine 요구성 균주를 이용한 복귀돌연변이 시험을 실시하였다. 직접법 및 대사활성화법 (S9 mix.)을 적용하여 5,000  $\mu$ g/plate를 최고처리농도로 하고 공비 2로서 5단계의 시험물질의 농도로 용매 대조군, 양성 대조군을 포함시켜 시험편의 돌연변이 유발능을 조사하였다.

**소핵시험:** 시험편의 안정성 평가의 일환으로 6주령의 ICR mouse 말초혈액의 망상 적혈구를 이용한 소핵시험을 실시하였다. 각 투여군당 5마리의 동물을 배정하였으며, LD50 값(5,000 mg/kg 이상)의 1/2 농도인 시험편 2,500 mg/kg을 최고용량으로 하고, 1,250, 625 mg/kg의 3단계 농도로 해서 각 군의 동물에 시험편을 경구 경로로 ICR mouse에 투여하였다. 그리고 증류수만을 경구 투여한 용매 대조군 및 1 mg/kg MMC를 복강 투여한 양성 대조군도 본 시험에 포함시켜 시험편에 의한 소핵 출현율을 조사하였다.

**급성경구 독성시험:** 시험편의 급성독성을 조사하기 위하여 대조군과 본 시험물질 5,000 mg/kg을 5주령의 ICR mouse 암, 수컷 각각 10례에 경구투여용 존데로 위장내 1회 경구 투여하여 2주간 사망률, 일반증상, 체중변화를 관찰하였다.

**피부 패치 시험:** 시험편을 1.5 cm<sup>2</sup> 크기로 자른 후 팔 내측의 일정한 장소에 놓고, 그 위에 공기가 통풍될 수 있는 의료용 반창고로 압착고정한 후 48시간 경과 후에 시험편을 피부로부터 제거하고 육안판정으로 D-stage 반응을 조사하고, 이상이 없는 것에 대하여서는 패치 (patch)한 부위의 피부 레프리카 표본을 SUMP (Suzuki's universal micro-printing method) 법으로 제작한다. 제작한 표본을 현미경 하에서 자극의 정도를 관찰하여 판정하고, 피험자 20명의 시험자극지수로부터 control 자극지수를 감산한 차의 지수를 판정 성적으로 한다. 대조군으로 증류수를 적신 백색가

아제를 사용하였고, 판정 기준은 음성, 준음성, 준양성, 양성의 4단계로 하였다.

## 3. 결과 및 고찰

### 3.1. 키토산 섬유 및 차단막의 물리적 특성

키토산 섬유의 기계적 물성을 Vibrodyn (Lenzing AG, Austria)을 이용하여 측정하였다. Tabel 1에 의하면 키토산 섬유의 강도는 키토산 섬유의 섬도가 증가할수록 감소함을 보였고, 신도는 증감함을 볼 수 있다. 일정한 방사속도 하에서 토출량을 증가시켜 키토산 섬유의 섬도가 증가하면 응고욕조에서의 방사액의 중화반응속도가 완화에 따라 분자사슬의 배향성이 감소하기 때문인 것으로 판단된다[14].

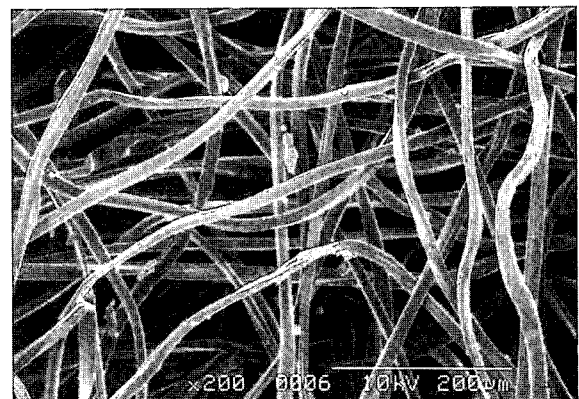
키토산 차단막의 인장 강도는 만능시험기 (4501, Instron, USA)를 사용하여 측정하였다. Table 2에 나타난 바와 같이 부직포형 키토산 차단막의 인장강도는 0.3~0.4 MPa의 값을 나타냈고, 스폰지형 키토산 차단막의 인장강도는 2.9~3.9 MPa의 값을 나타냈다. 기계적 물성 측면에서의 차

**Table 1.** Physical properties of wet spun chitosan fibers

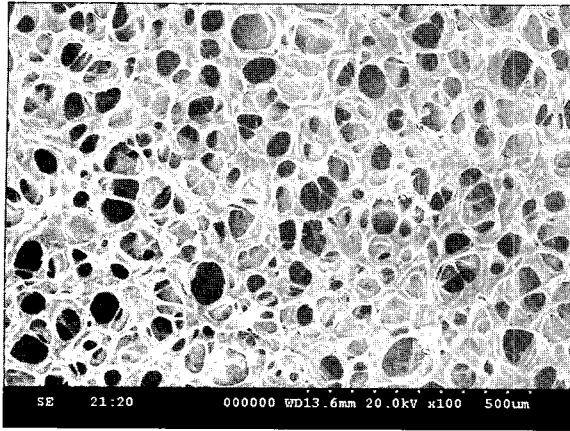
Specimen	Linear density (denier)	Tenacity (gf/denier)	Elongation (%)
CF-1	1.05	1.66	7.9
CF-2	1.21	1.65	8.8
CF-3	1.30	1.60	9.6
CF-4	1.49	1.58	11.4
CF-5	2.01	1.50	15.7

**Table 2.** Physical properties of chitosan membranes

Specimen	Tensile strength (MPa)
Non-woven chitosan membrane	0.3~0.4
Sponge chitosan membrane	2.9~3.9



**Figure 1.** SEM of the cross section of nonwoven chitosan membranes ( $\times 200$ ).



**Figure 2.** SEM of a cross section of sponge chitosan membrane ( $\times 100$ ).

단막 형태로는 부직포형보다 스폰지형 차단막이 적합한 것으로 사료된다.

Figure 1은 부직포형 키토산 차단막에서 키토산 섬유들 간의 결합이 이루어졌는지를 확인하기 위해 SEM을 이용하여 단면을 촬영한 사진이고, Figure 2는 스폰지형 키토산 차단막의 단면을 촬영한 사진이다. Figure 1, 2에서 보면 손상된 부위에 삽입하여 조직이 재생될 동안 공간을 확보함으로써 손상된 부위의 모양을 조직이 완전히 재생될 때까지 유지할 수 있는 3차원 다공성 구조를 가짐을 확인하였다.

### 3.2. 키토산 섬유 및 차단막의 항균성

키토산의 항균 메커니즘은 양전하를 가진 키토산의 아미노기가 세균 세포막의 음전하와 이온결합을 형성하여 세포 분열을 방해함으로써 세균의 성장을 억제한다고 추정된다. 따라서 고분자 물질은 세균의 세포막과 접촉 반응하게 되면 흡수된 고분자는 세균의 세포막을 통과하여 세포 내부로 진행하고 세포 내에 있는 핵산 및 단백질과 반응하는 것이 일반 관례이므로 세균활성은 고분자의 크기와도 관련이 있다고 추정된다. 바꾸어 말하면 세균의 세포막에 침투하기 어려운 고분자보다 침투하기 쉬운 저분자 키토산이 증식억제력이 강하다고 할 수 있다.

Table 3은 제조된 키토산 섬유와 차단막에 대한 항균성을 시험하기 위해 Grzbowski 등에 의해 제안된 항균력 평가법으로 항박테리아 테스트를 실시한 결과를 나타낸 것이다. Table 3에 나타나듯이 치아 우식증 원인균인 *Streptococcus mutans*균에 대한 키토산 섬유의 항균성은 83.6%로 키토산이 가지는 특징 중의 하나인 항균작용에 의한 결과라 할 수 있다. 키토산 차단막에 대한 항균성 결과는 차단막의 형태와 관계없이 99.9%로 우수한 항균 효과를 나타내었다. 이는 차단막 내에 함유되어 있는 tetracycline의 방

**Table 3.** Antibacterial effect of chitosan fiber and chitosan membranes on *Streptococcus mutans*

	Strain ( <i>Streptococcus mutans</i> )		
	Start (cells/ml)	18 HRS (cells/ml)	Biostatic reduction rate (%)
Blank	$1.5 \times 10^5$	$6.2 \times 10^6$	-
Chitosan fiber <sup>a</sup>	$1.5 \times 10^5$	$1.4 \times 10^6$	83.6
Non-woven chitosan membrane <sup>b</sup>	$1.5 \times 10^5$	<10	99.9
Sponge chitosan membrane <sup>c</sup>	$1.5 \times 10^5$	<10	99.9

<sup>a</sup>Pure chitosan fiber without antibiotic, <sup>b</sup>non-woven chitosan membrane with antibiotic, <sup>c</sup>sponge chitosan membrane with antibiotic.

출에 의한 결과라 할 수 있는데, Rifkin 등은 테트라사이클린의 병원성 세균에 대한 항균 효과를 발휘하기 위해서는 최소 억제 농도가 4~8  $\mu\text{g/ml}$  정도가 요구된다고 보고되었다[13]. 그리고 Baker 등은 테트라사이클린 항생제의 치주 병원균에 대한 최소 억제 농도의 또 다른 연구에서 *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *F. nucleatum*은 1.5  $\mu\text{g/ml}$ , *B. intermedius*는 6  $\mu\text{g/ml}$ , *E. corrdens*는 3  $\mu\text{g/ml}$ 임을 제시하였다[15]. 이를 기준으로 하여 장시간 동안 일정량의 항생제 방출로 인한 항균 효과를 검증하기 위해서 시간에 따른 항생제의 방출과 다양한 치주 병원균에 대한 항균력 연구를 진행중이며, 그 결과를 빠른 시일 내 보고할 것이다.

### 3.3. 키토산 차단막의 인체안정성

**복귀돌연변이 시험:** 키토산 차단막에 대한 복귀돌연변이 시험 결과는 모든 농도군 및 모든 균주에서 직접법 및 대사활성화법의 적용 여부에 관계없이 용매 대조군과 비슷한 수준의 복귀돌연변이 집락의 수를 나타내었으며, bacterial lawn도 정상적으로 형성되었다. 또한, 시험물질의 용해에 사용된 용매 대조군에서도 직접법 및 대사활성화법에 관계없이 정상적인 자발복귀돌연변이 집락의 표준범위 내에 있었으며, 각 균주의 특성에 맞게 사용한 양성 대조군에서도 S9 mix 첨가하지 않은 직접법과 첨가한 대사활성화법 모두에서 현저한 복귀돌연변이 집락수의 증가를 나타냈다. 따라서 본 시험의 조건하에서 시험편은 돌연변이를 유발하지 않는 물질로 판단되어 음성으로 판정하였다.

**소핵시험:** 키토산 차단막에 대한 소핵시험 결과는 모든 투여군에서 시험편을 투여한 동물의 육안적 관찰에 있어서 특이한 독성증상이 발견되지 않았고 사망동물도 관찰되지 않았다. 또한 소핵을 가진 망상 적혈구의 출현빈도는 양성 대조군 및 음성 대조군 모두에서 Hayashi 등의 배경 data의 상·하한의 범위 내에 있었으며, 이항분포 및 Cochran-Amitage 검정검정을 통한 검정(유의수준 0.05)을 수행한 결

과 유의차가 없음을 나타내었다. 따라서 본 시험조건 하에서 키토산 차단막은 6주령의 ICR mouse를 대상으로 한 말 초혈액의 망상 적혈구를 이용한 소핵시험에서 모든 용량단계 및 투여시간에 따라 소핵을 가진 망상 적혈구의 출현이 용매 대조군에 비하여 유의하게 증가하지 않아 음성으로

판단하였다.

**급성경구 독성시험:** Table 4, 5의 키토산 차단막의 급성 독성 평가에 대한 결과는 대조군 및 투여군의 암, 수컷 모두에서 사망동물이 관찰되지 않았고, 대조군에 비하여 특이한 증상도 관찰되지 않았다. 체중측정 결과, 대조군의 암,

**Table 4.** Body weights of males

Dose (mg/kg)	Animal number	Body weight (g)						
		Day 0	Day 1	Day 4	Day 7	Day 11	Day 14	Gain
0	1	24.6	25.8	27.0	29.1	30.1	30.6	6.0
	2	23.9	25.1	27.0	29.0	30.4	30.8	6.9
	3	24.6	26.2	27.7	30.2	31.3	32.2	7.6
	4	24.1	25.3	26.2	28.3	29.6	31.0	6.9
	5	23.6	25.1	25.9	27.4	29.3	30.7	7.1
	Mean	24.2	25.5	26.8	28.8	30.1	31.1	6.9
	SD	0.4	0.5	0.7	1.0	0.8	0.7	0.6
	N	5	5	5	5	5	5	5
5000	6	25.0	26.1	26.5	29.2	30.7	32.4	7.4
	7	24.8	25.6	26.4	28.2	29.2	30.9	6.1
	8	25.2	26.1	26.5	29.0	30.3	32.0	6.8
	9	24.9	26.1	27.6	30.2	32.5	32.9	8.0
	10	25.7	26.5	27.2	29.3	30.3	31.7	6.0
	Mean	25.1	26.1	26.8	29.2	30.6	32.0	6.9
	SD	0.4	0.3	0.5	0.7	1.2	0.8	0.9
	N	5	5	5	5	5	5	5

**Table 5.** Body weights of females

Dose (mg/kg)	Animal number	Body weight (g)						
		Day 0	Day 1	Day 4	Day 7	Day 11	Day 14	Gain
0	1	20.1	21.4	22.1	23.8	24.1	25.1	5.0
	2	20.2	21.5	22.5	23.2	23.5	25.0	4.8
	3	20.5	20.8	21.6	23.7	25.2	26.4	5.9
	4	20.6	21.8	23.1	24.5	24.1	25.3	4.7
	5	21.1	22.3	22.6	24.1	25.8	27.0	5.9
	Mean	20.5	21.6	22.4	23.9	24.5	25.8	5.3
	SD	0.4	0.6	0.6	0.5	0.9	0.9	0.6
	N	5	5	5	5	5	5	5
5000	6	19.6	20.2	20.6	21.7	23.5	23.8	4.2
	7	20.6	20.6	22.1	23.0	23.3	24.8	4.2
	8	21.2	21.3	20.8	22.2	23.4	24.0	2.8
	9	21.1	21.7	22.3	23.2	24.8	25.6	4.5
	10	19.8	20.3	21.8	23.1	23.9	24.8	5.0
	Mean	20.5	20.8	21.5	22.6	23.8	24.6	4.1
	SD	0.7	0.7	0.8	0.7	0.6	0.7	0.8
	N	5	5	5	5	5	5	5

수컷 동물의 체중변화는 투여 당일보다 투여 후 시간이 지날수록 투여당일의 체중에 비하여 증가된 경향을 나타내었다. 그리고 투여군의 암컷 1례를 제외하고는 모두 투여당일에 비하여 투여 후 1일째 이후의 체중이 증가하는 경향을 나타내었으며, 투여군의 암컷 1례에서는 투여당일에 비하여 투여 후 4일째 체중이 감소하다가 투여 후 7일째부터 투여당일의 체중을 회복하는 경향을 나타내었다. 따라서 본 시험의 조건하에서 시험편은 급성독성을 일으키지 않는 물질로 판단되어 음성으로 판정하였다.

**피부 패치 시험:** 키토산 차단막을 인체피부에 패치시킨 후, 일정기간동안 방치한 후에 피부에 나타나는 가역적인 염증변화의 발생정도를 조사한 결과는 음성으로 판정되어 메디컬 소재로의 기준에 적합함을 확인하였다.

#### 4. 결 론

본 연구는 생체친화성, 생분해성, 항균효과가 있는 키토산을 이용하여 치주질환 치료를 위한 치료법으로 치주조직 재생을 위하여 조직재생유도술 차단막으로 사용하기 위한 키토산 차단막 제조와 특성에 관한 연구로 차단막의 형태는 부직포 형태와 스폰지 형태로 제조하여 실험하였다. 키토산 차단막의 물리적 특성 및 항균성, 인체안정성을 검토한 결과, 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 키토산 섬유는 섬도가 증가하면 분자사슬의 배향성의 감소로 섬유의 강도는 감소하고, 신도는 증가함을 확인할 수 있었다.
2. 스폰지형 키토산 차단막의 인장강도가 부직포형 키토산 차단막의 인장강도보다 우수하였다.
3. 키토산 차단막의 항균성은 99.9%로 우수한 결과를 나타내었다.
4. 복귀돌연변이시험, 소핵시험, 급성경구 독성시험, 피부 patch 시험 등을 통한 인체안정성 평가는 모두 음성으로 메디컬 소재로서 적합함을 확인할 수 있었다.

**감사의 글:** 본 연구는 보건복지부 보건의료기술 인프라 개발사업(0405-VN02-0702-0002) 지원에 의해 이루어짐.

#### 참고문헌

1. N. Claffey, S. Motsinger, J. Ambruster, and J. Egelberg, "Placement of a Porous Membrane Underneath the Mucoperiosteal Flap and Its Effect on Periodontal Wound in Dogs", *J Clin Periodontol*, 1989, 16, 12-16.
2. Y. Shigemasa, K. Saito, H. Sashiwa, and H. Saimoto, "Enzymatic Degradation of Chitins and Partially Deacetylated

- Chitins", *Int J Biol Macromol*, 1994, 16, 43-49.
3. P. R. Klokkevold, P. Subar, H. Fukayama, and C. N. Bertolami, "Effect of Chitosan on Lingual Hemostasis in Rabbits with Platelet Dysfunction Induced by Epoprostenol", *J Oral Maxillofac Surg*, 1992, 50(1), 41-45.
4. A. K. Azad, N. Sermsintham, S. Chandkrachang, and W. F. Stevens, "Chitosan Membrane as a Wound-healing Dressing: Characterization and Clinical Application", *J Biomed Mater Res*, 2004, 69B(2), 216-222.
5. Y. J. Park, Y. M. Lee, S. N. Park, S. Y. Sheen, C. P. Chung, and S. J. Lee, "Platelet Derived Growth Factor Releasing Chitosan Sponge for Periodontal Bone Regeneration", *Biomaterials*, 2000, 21(2), 153-159.
6. E. Khor and L. Y. Lim, "Implantable Applications of Chitin and Chitosan", *Biomaterials*, 2003, 24(13), 2339-2349.
7. C. H. Drisko, "Non-surgical Pocket Therapy, Pharmacotherapeutics", *Annals of Periodontology*, 1996, 1, 499-509.
8. B. S. Michalowicz, B. L. Pihlstrom, C. H. Drisko, C. H. Cobb, W. J. Killoy, J. G. Caton, R. A. Lowenguth, C. Quinones, M. Encarnacion, and J. M. Coodson, "Evaluation of Periodontal Treatments Using Controlled-release Tetracycline Fibers Maintenance Response", *J Periodont*, 1995, 52, 613-620.
9. M. J. Somerman, R. A. Foster, G. Vorsteg, K. Progebin, and R. A. Wynn, "Effect of Minocycline on Fibroblast Attachment and Spreading", *J Periodont Res*, 1988, 23, 154-159.
10. L. M. Golub, S. Ciancio, N. S. Rammamurthy, M. Leung, and T. F. McNamara, "Low-dose Doxycycline Therapy: Effect on Gingival and Crevicular Fluid Collagenase Activity in Humans", *J Periodont Res*, 1990, 25, 321-330.
11. J. M. Goodson, "Antimicrobial Strategies for Treatment of Periodontal Disease", *Periodontology*, 2000, 5, 142-168.
12. J. Grzybowski, M. Antos, and E. A. Trafny, "A Sample in Vitro Model to Test the Efficacy of Antimicrobial Agent Released from Dressing", *J Membrane Sci*, 1996, 124, 53-62.
13. B. R. Rifkin, A. T. Vermillo, and L. M. Golub, "Blocking Periodontal Disease Progression by Inhibiting Tissue-destructive Enzymes: A Potential Therapeutic Role for Tetracyclines and Their Chemically-modified Analogs", *J Periodontol*, 1993, 64(8), 819-27.
14. Z. K. Jonathan, M. H. Samuel, and A. M. C. Katherine, "Improved Mechanical Properties of Chitosan Fibers", *J Appl Polym Sci*, 1999, 72, 1721-1732.
15. P. J. Baker, J. Slot, R. J. Genco, and R. T. Evans, "Minimal Inhibitory Concentrations of Various Antimicrobial Agents of Human Oral Anaerobic Bacteria", *Antimicrob Agents Ch*, 1983, 24, 420-424.