

# 테트라싸이크린 함유 calcium sulfate의 서방형 국소 약물 송달 효과에 대한 연구

김성희\* · 최성호\* · 조규성\* · 채중규\* · 박광균\*\* · 김종관\*

연세대학교 치과대학 치주과학교실\* 치주조직 재생 연구소  
연세대학교 치과대학 구강생물학교실\*\*

## I. 서론

치주질환은 여러 종류의 세균에 의한 감염성 질환으로 기계적인 치태제거나 전신적 혹은 국소적으로 항세균 제재를 투여함으로써 질환의 발생과 심도를 감소시킬 수 있다<sup>1)</sup>. 기계적인 치태제거는 술자의 기술에 많이 좌우되며, 도달이 어려운 부위에서는 효과적이지 못하며, 유년성 치주염에서는 효과적이지 못해 항생제 요법의 필요성이 대두되었다.

항생제 요법의 종류로는 전신적으로 투여하거나, 약제로 치은연상 혹은 치은연하로 세척하는 방법, 치은열구에서 국소적으로 약물이 유리되도록 하는 방법 등이 있다.

전신적으로 항생제를 투여할 경우 혈류를 따라 구강조직으로 가거나 타액으로 나오며, 치은열구액을 통해 치주낭에 약제가 도달하게 된다<sup>2)</sup>. 전신적인 항생제 투여는 모든 치주조직에 약물이 도달하여 약물 치료기간 동안 세균의 성장을 억제할 수 있지만, 병소에서의 유효농도 유지를 위해 많은 양의 약물이 투여되어야 하며, 이로 인해 신체내 다른 부위에서 부작용이 일어날 수 있고, 저항균주가 생성되고, 기회감염을 일으킬 수 있는 문제점을 갖고 있다.

항세균 제재로 구강양치를 하거나 치은연상 혹은 치은연하로 세척하는 방법은 약물의 효과가 치주낭 내부에 미치지 못하거나, 효과가 지속적이지 못한 단점이 있다<sup>3)</sup>.

위의 문제점들을 극복하기 위하여 항세균제재를 치주낭에 직접 투여하여 그 효과가 일정기간 동안 지속적으로 유지될 수 있는 국소약물 투여 방법에 관한 많은 연구가 이루어져 왔다. 이러한 controlled drug delivery system을 이용할 경우에는 적은 양의 약물로도 충분히 유효농도를 유지할 수 있고, 약물의 효과가 증진되며, 약물이 병소부위에 도달되기 쉽고 치주낭 내에 잘 유지되며, 충분한 기간동안 유효농도가 지속되고 전신적으로 투여할 때 나타날 수 있는 부작용이 감소된다<sup>4)</sup>.

1979년 Goodson 등<sup>5)</sup>은 tetracycline을 채운 cellulose acetate hollow fiber를 치은열구에 삽입하여 세균의 감소 및 임상증상의 개선을 보고하였고, 1982년 Addy<sup>6)</sup> 등은 chlorhexidine, metronidazole, tetracycline을 각각 acrylic strip에 첨가시켜 약물이 유리되는 실험을 하여 acrylic strip이 drug delivery에 적절함을 보고하였다.

1983년 Goodson등<sup>7)</sup>은 여러 가지 biocompatible

polymer에 tetracycline을 포함시켜 실험한 결과 ethylene vinyl acetate가 유용함을 보고하였다. 또한 1985년에는 임상연구를 통해 tetracycline을 ethylene vinyl acetate에 포함시켜 치주낭에 국소 투여한 결과 치석제거술만 시행한 경우보다 세균수의 감소가 월등함을 보고하였다<sup>3)</sup>.

Minabe 등<sup>8, 9, 10)</sup>은 tetracycline-immobilized collagen film 삽입과 치석제거술을 병행한 결과 세균수의 감소나 임상증상의 개선이 우수하게 나타났음을 보고하였다.

Tonetti 등<sup>11)</sup>은(1990) ethylene vinyl acetate-tetracycline fiber의 방출역학과 전자현미경 구조를 연구하였고, Kimura 등<sup>12)</sup>은(1991) ofloxacin을 함유한 조절성 방출제재인 PT-01을 임상적으로 적용하여 치은연하 세균조성에 질적, 양적 개선을 보인다고 하였다.

Solid non-resorbable drug delivery device인 경우, 술자가 삽입 후 일정기간 후에 제거해주어야 하는 번거로움이 있고, 국소적 자극이 야기되기도 하며 치주낭에서 빠져 나오는 등의 문제점이 있다<sup>13)</sup>.

이러한 문제점을 개선하기 위해서 시술이 용이하고 치주낭 내에 잘 유지되며, 약물이 minimal inhibitory concentration 이상으로 잘 방출되고, 치주조직에 자극 없이 완전히 생분해 되거나 없어지는 drug delivery device의 개발이 진행되었다.

1992년 Okuda는<sup>14)</sup> polyglycolide-lactide biodegradable polymer에 minocycline을 함유시켜 임상연구를 시행하여 14일간 유효농도 이상으로 약효가 지속됨을 보고하였고 Minabe 등<sup>10)</sup>은 collagen을 resorbable carrier로, Larsen 등<sup>15)</sup>은 oxidized cellulose와 collagen wound dressing, fibrin sealant 등을 실험하여 oxidized cellulose가 9일 이상 유효농도 이상으로 doxycycline을 방출함을 보고하였다. 1995년 Maze 등<sup>13)</sup>은 polyglycolide-lactide polymer에 25% tetracycline을 함유하여 치주낭에 삽입한

후 치석제거술과의 임상효과를 비교한 결과 세균수의 감소와 임상증상의 개선을 보고하였으며, tetracycline film strip을 제자리에 잘 유지시키는 것이 약물효과를 증진시키는 것이라 하였다.

또 다른 흡수성 carrier로서 대두되는 calcium sulfate는 오래 전부터 정형외과 영역에서 local drug delivery system으로 이용되어 왔다<sup>16, 17, 18)</sup>. Calcium sulfate는 비교적 가격이 저렴하며, 화학적으로 안정된 재료이고, 살균과정이 쉽고, 조직 반응이 우수하고, 흡수되면서 수 주내 혹은 수 개월 내에 골재생이 일어난다<sup>19)</sup>.

Mousset 등<sup>18)</sup>(1995)은 calcium sulfate에 여러 종류의 항생제를 첨가하여 시편을 만든 후에 각 항생제의 약효를 in vitro로 평가하여 sodium fusidate와 aminoglycoside의 carrier로서 효과적임을 보고하였다.

치주과 영역에서는 calcium sulfate는 치주 조직 재생술 시 흡수성 차단막 재료로 사용되어져 왔으며 통상적으로 tetracycline powder나 동종 탈회냉동 건조골과 혼합하여 사용하여 왔다<sup>19-24)</sup>. Tetracycline은 세균억제작용, collagenase 억제작용과 치근탈회작용, 골흡수억제 및 골형성 작용이 있고, 또한 치아에 substantivity(흡착성)가 있어 지속적으로 치아에서 tetracycline이 유리되어 plaque 형성을 막을 수 있다는 장점이 있다<sup>25)</sup>.

이러한 점에서 calcium sulfate와 tetracycline을 혼합하여 tetracycline의 지속적인 방출을 기대할 수 있으며 calcium sulfate는 일정기간 후 흡수되어 비흡수성 drug delivery system의 단점을 보완하리라 기대된다.

이에 본 연구에서는 calcium sulfate와 modified calcium sulfate paste, tetracycline loaded - ethylene vinyl acetate를 이용하여 tetracycline 첨가시 일정 시간 동안의 tetracycline 방출농도 및 유효농도이상 유지되는 시간, calcium sulfate의 흡수기간 등을 알

아 보아 다소의 지견을 얻었기에 이를 보고 하는 바이다

## II. 연구재료 및 방법

### 1. 연구재료

본 실험에서는 특수제조된 modified calcium sulfate paste(구성성분 : calcium sulfate 51%, zinc oxide 30%, poly-vinyl acetate 13%, poly-t-butylacrylate 5%, butyl acetate 1%)와 medical grade calcium sulfate\*, ethylene vinyl acetate fiber\*\*, tetracycline을 실험재료로 사용하였다.

### 2. 연구방법

#### (1) Tetracycline과 calcium sulfate의 혼합비율 결정

Calcium sulfate(CS) 1000mg에 tetracycline (TC)을 각각 1, 5, 10, 20, 40, 60, 80, 100mg을 혼합하여 두께 1mm, 직경 10 mm의 시편을 5개씩 제작하였다.

25ml의 증류수에 1개의 시편을 넣어 매일 방출되는 TC의 농도를 측정하여, 유효농도가 7일 이상 유지되는 CS 1000mg과 TC 100mg의 혼합비율을 실험에서 이용하기로 하였다.

#### (2) 실험군 설정

실험 1군은 modified calcium sulfate paste 1000mg에 tetracycline(TC) 100mg을 혼합하여 두께 1mm, 직경 10mm의 시편을 만들어 1일간 완전경화 시켰다.

실험 2군은 calcium sulfate 1000mg에 TC 100mg을 혼합하여 두께 1mm, 직경 10mm의 시편을 만들어 1일간 완전경화 시켰고, 실험3

군은 calcium sulfate 1000mg에 TC 100mg을 혼합하여 같은 크기의 시편을 만들어 굳기 전에 증류수에 넣었다. 실험 4군은 TC가 함유된 ethylene vinyl acetate fiber를 길이 33.5cm 가 되도록 잘라 사용하였다

#### (3) 표준농도의 TC용액의 흡광도(optical density, O.D.) 측정

1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 TC용액을 만들어 spectrophotometer 276nm에서 흡광도를 측정 한 후 TC농도와 흡광도간의 관계를 알아내었다.

#### (4) 각 실험군의 흡광도 측정

각 실험군 마다 5개의 시편을 사용하였고, 각각의 시편을 25ml의 증류수가 담긴 시험관에 넣고 37도의 shaking water bath에 넣어 shaking 하였다.

실험 1시간 후와 실험 1일 후에 시험관에서 2ml의 용액을 pipetting 하여 spectrophotometer 276nm에서 흡광도를 측정하였다.

그후 시험관에 25ml의 증류수를 매일 새로 넣어주면서 1일 간격으로 흡광도를 측정하였다. 측정한 흡광도를 tetracycline 농도로 환산 하였다.

#### (5) 통계학적 분석

각 실험군 간의 시간별 유리된 tetracycline 의 농도의 비교를 위해 Kruskal Wallis test를 시행하고 다중비교는 Tukey's studentized range test를 시행하였다.

## III. 연구 성적

### 1. Tetracycline(TC) 표준농도와 흡광도

\*Calcium sulfate, Edgemark Co., U.S.A

\*\*Actisite, ALZA Co., Palo Alto, CA

(O.D.)

표 1 O.D. of standard TC concentration

1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 0, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 $\mu\text{g/ml}$  농도의 tetracycline 용액을 만들어, spectrophotometer 276nm에서 흡광도를 측정하여 다음과 같은 결과를 얻었다(표 1, 그림 1)

Tetracycline농도( $\mu\text{g/ml}$ )	OD value Mean(SD)
1	0.004(0.00378)
2	0.024(0.00173)
3	0.030(0.00356)
4	0.045(0.00288)
5	0.051(0.00148)
6	0.107(0.00579)
7	0.175(0.00561)
8	0.181(0.00274)
9	0.268(0.00750)
10	0.268(0.00750)
20	0.580(0.02413)
30	0.864(0.00324)
40	1.208(0.00324)
50	1.459(0.00628)
60	1.739(0.03008)
70	2.172(0.02483)
80	2.425(0.02944)
90	2.658(0.04362)

2. 각 실험군의 시간 별 방출된 tetracycline의 농도

(1) 실험 1군

modified calcium sulfate(CS) paste 1000mg에 TC 100 mg을 혼합한 것으로 실험 1일 후에 최고 농도를 나타내며 실험 5주간 유효농도(4 $\mu\text{g/ml}$ ) 이상 유지하였다.

시편의 크기는 크게 감소하지 않았다.

2. 실험 2군

Calcium sulfate(CS) 1000mg에 TC 100mg을 혼합하여 완전 경화 시킨 실험군으로 실험 1시간 후에 TC농도가 급격히 증가하여 실

$OD = 0.030858 \cdot C - 0.056996$   $C = OD + 0.056996 / 0.030858$   
 OD : Optical Density      C : Tetracycline Concentration

험 1시간 후에 TC농도가 급격히 증가하여 실

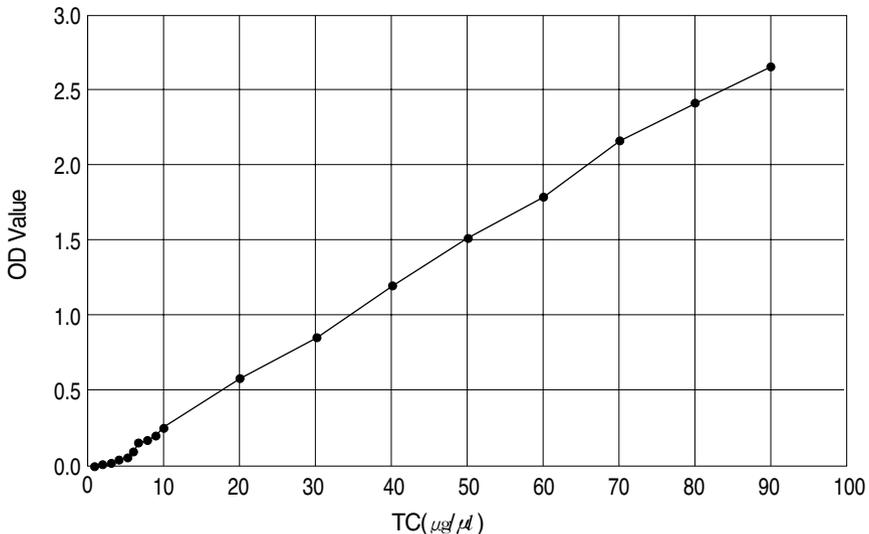


그림 1 O.D. of standard TC concentration

표 2 TC concentration of experimental groups( $\mu\text{g/ml}$ )

Day		Group I	Group II	Group III	Group IV	P-value
1hr	Median	23(20.8)	99.1	99.1	93.0(4.6)	*
1	(Range)	40(18.9)	99.1	99.1	99.1	*
2		8.9(2)	60.1(9.1)	87.2(8.7)	61.4(7.8)	*
3		6.9(1.5)	46.2(18.1)	55.3(17.4)	63.2(5.2)	*
4		4.1(0.5)	40.5(4.8)	49.7(25.3)	58.3(7.3)	*
5		6.3(4.3)	32.8(17.9)	33.3(28.2)	79.1(15.2)	*
6		10.5(2.7)	18.5(26.7)	11.8(8.8)	58.3(11.7)	*
7		7.9(1.5)	3.8(7.6)	3.6(6.9)	84.8(5.5)	*
8		8.6(2)	4.3(1.6)	3(0.7)	96.6(3.1)	*
9		7.0(2)	5.1(1.1)	2.6(0.3)	49.0(9.8)	*
10		6.6(3.3)	1.8(0.8)	2.2(0.4)	46.0(16.1)	*
11		6.4(3.5)	1.8(0.1)	2.1(0.4)	27.3(16.6)	*
12		6.4(1.7)		2.4(0.3)	17.5(12.3)	*
13		4.8(0.6)		2.0(0.2)	12.4(8.2)	*
14		4.1(0.9)		2.3(0.2)	7.6(5.6)	*
15					6.6(5.4)	
16					3.9(3.2)	
17					3.9(3.0)	
18					3.4(2.7)	
21		3.6(2.4)				
28		4.0(0.5)				
35		4.9(1.2)				
42		2.3(0.9)				

Statistical Analysis : Kruskal Wallis Test

P<0.05

\*Statistically significant

험 1일까지 100 $\mu\text{g/ml}$ 이상을 유지하였다.

실험 9일까지 유효농도(4 $\mu\text{g/ml}$ ) 이상 유지되며, 평균 11.8일에 완전 용해되었다.

### 3. 실험 3군

CS 1000 mg에 TC 1000mg을 혼합하여 시편이 완전히 굳기 전에 실험한 군으로 실험 1시간 후에 TC농도가 급격히 증가하여 실험 1일까지 100 $\mu\text{g/ml}$  이상의 농도를 보였다.

실험 7일까지 유효농도 이상 유지되며, 평균 14.8일에 완전 용해되었다.

### 4. 실험 4군

25% TC- ethylene vinyl acetate fiber를 실험한 군으로 실험 1일 후에 100 $\mu\text{g/ml}$  이상의 농도로 증가하여 실험 15일까지 유효농도 이상 유지되며, 실험 18일 이후에는 TC가 방출되지 않았다.

### 5. 각 실험군의 시간별 비교

다중검정(Tukey grouping)을 이용하여 실험 시간별로 실험군 간의 차이를 비교하였다. 실험 1일에는 2,3,4군이 1군에 비하여 유의

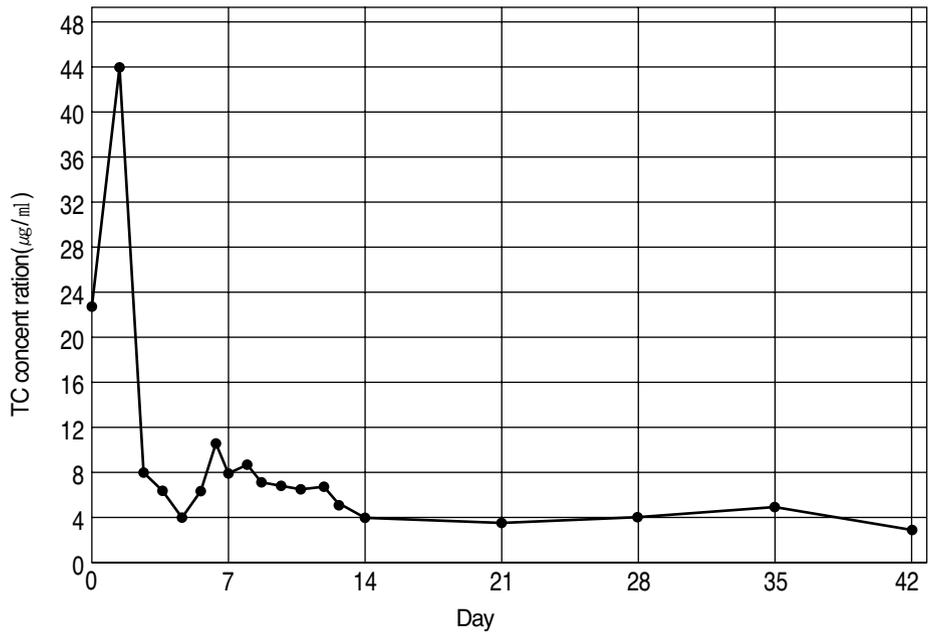


그림 2 Group I, 10% TC - modified CS paste

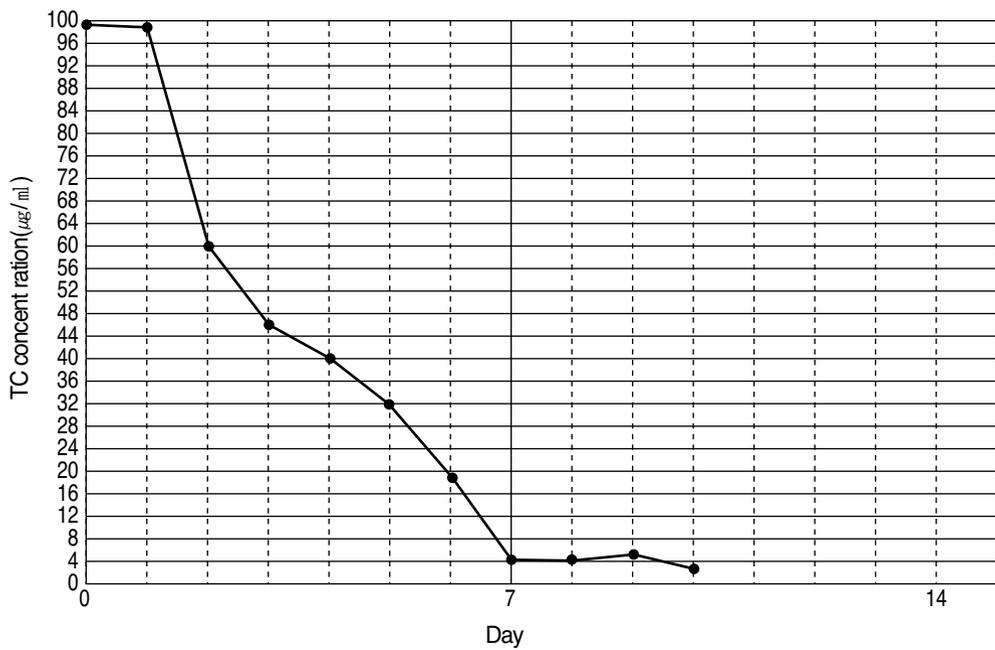


그림 3 Group II, 10% TC - CS(Settling)

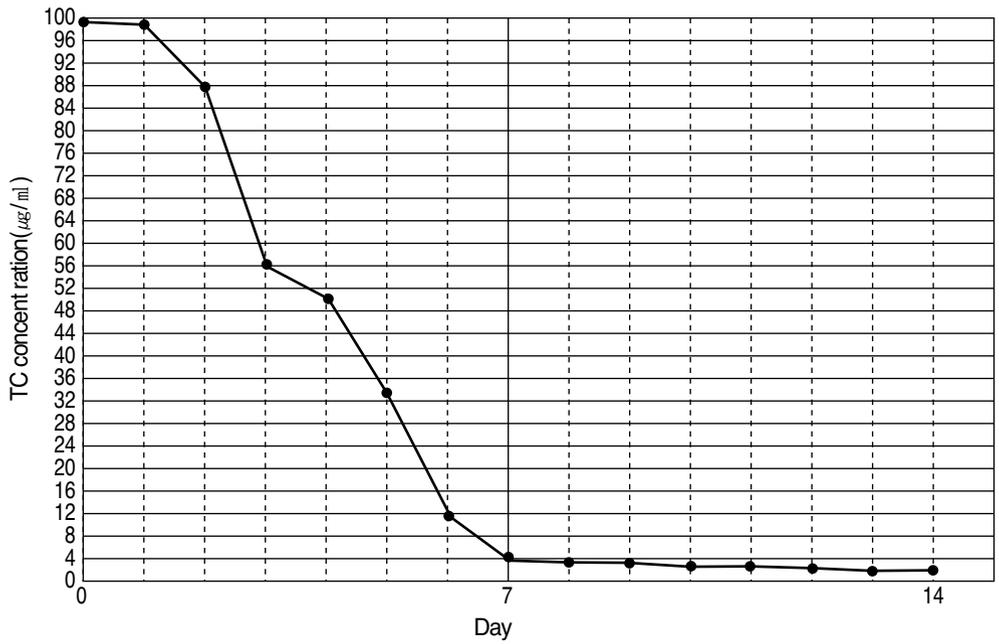


그림 4 Group III, 10% TC- CS (non-setting)

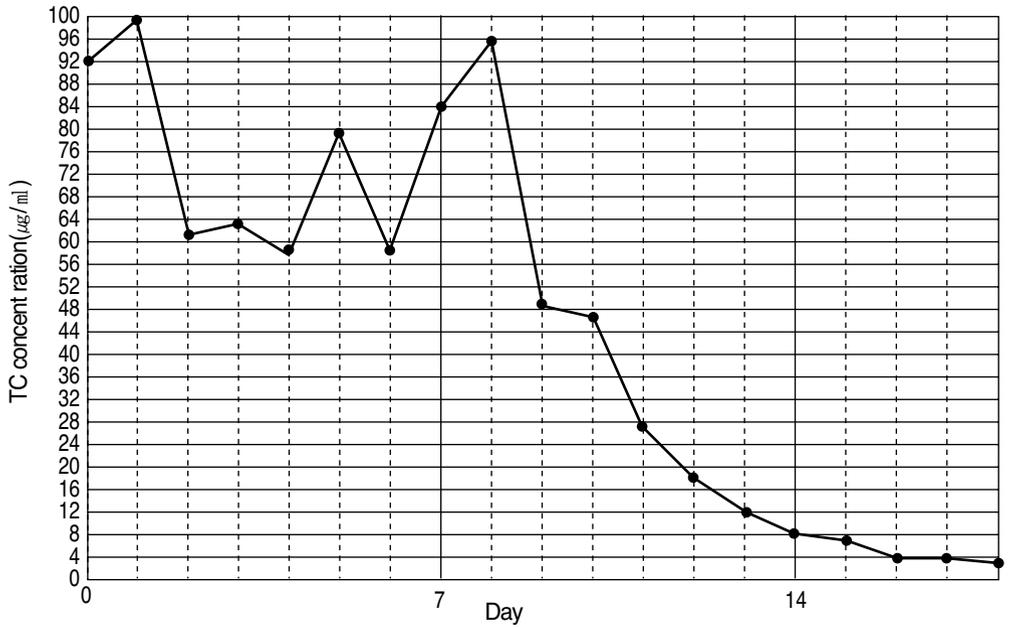


그림 5 Group IV, 25% TC - ethylene vinyl acetate fiber

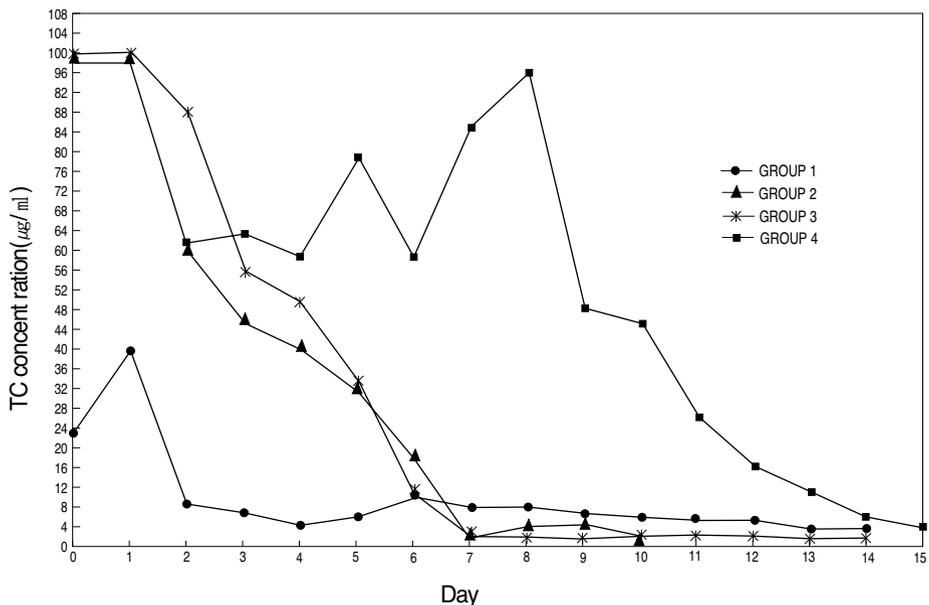


그림 6 Comparison of TC concentration of experimental groups

성 있는 높은 농도를 보이며( $P < 0.05$ ) 실험 4일부터 9일까지는 4군이 유의성 있는 높은 농도를 보이며( $P < 0.05$ ), 실험 2군과 3군은 실험 3일부터 7일까지 유의성 있는 차이를 보이지 않았다( $P < 0.05$ )(그림 6).

#### IV. 총괄 및 고찰

치주낭의 깊이가 깊어질수록 치석제거술과 치근활택술의 효과는 떨어지게 된다.

이러한 치주낭과 연관된 치근표면과 상아세관에는 많은 양의 치주염의 원인균이 남게 된다. 전신적으로 tetracycline을 투여한 결과 이러한 치주질환 원인균을 제거하는 데 효과를 나타내었고, 임상증상도 개선되었다. 그러나 정상균주를 없애고, 위장관에 부작용이 생기고, superinfection을 야기하며, 저항균주가 생성되는 등의 부작용이 있어 전신적으로 항생제를 투여하는 것을 제한하게 되었다<sup>13)</sup>. 이러한 항생제 전신투여의 단점을 극복하기 위하여 지난 수십년간 치은열구내에 직접 약물

을 방출시키는 조절시스템의 개발에 초점을 맞춰왔다. 이러한 조절 시스템으로 직접 치은열구에 tetracycline을 투여할 경우에도 전신적으로는 거의 tetracycline이 검출되지 않았다<sup>13)</sup>.

tetracycline은 chlortetracycline으로부터 반합성된 것으로 Streptomyces aureofaciens로부터 생성되며 Aerobic & anaerobic Gram양성, Gram음성균에 광범위한 항균효과를 나타내고 bacteriostatic하며 대부분의 세균이  $4\mu\text{g}$  이상에서 억제된다<sup>2)</sup>

tetracycline을 국소 투여하는 한 방법으로는 tetracycline 용액으로 치주낭을 세척해주는 것으로 이러한 치주낭 세척의 효과에 대해서는 논란의 여지가 많으며 현재까지는 기계적인 치태제거보다 큰 효과를 보이지 않고 있다<sup>26)</sup>. 다른 국소투여 방법으로 여러가지 항생제를 gel 형태나, 연고형태로 만들어 치주낭에 삽입하는 것으로 세균수의 감소나 임상증상의 개선에 효과적이었다<sup>27, 28, 29)</sup>. 또 다른 국소투여 방법으로 tetracycline을 함유한 fiber 형태로서

ethylene vinyl acetate TC fiber에 대한 많은 연구가 진행되어져 왔다<sup>3, 31, 32, 33, 34, 35, 21</sup>).

Goodson 등<sup>7)</sup>은 여러 가지 polymer에 tetracycline을 혼합하여 in vitro 상에서 비교하여 ethylene vinyl acetate fiber가 9일 동안 지속적으로 tetracycline을 방출함을 보여주었고, 치주낭 삽입 시 초기 농도가 800 $\mu$ g/ml 정도로, 주기적으로 교체해 줌으로써 수개월 동안 50 $\mu$ g/ml의 농도를 유지할 수 있다고 하였다. Tetracycline(TC) fiber의 치주원인균에 대한 효과를 연구한 결과 치주낭에 fiber를 삽입한 후 *F. nucleatum*, *P.gingivalis*, *P.intermedia*, *C.rectus*의 현저한 감소를 보였다<sup>36)</sup>. TC fiber를 직접 임상에 적용한 경우에도 치주낭 깊이 감소와 부착 획득, 탐침시 출혈 부위의 감소가 치석 제거 술 만 시행한 경우보다 월등히 우수하게 나타났다<sup>31)</sup>. 그러나 TC fiber 삽입시에 문제점이 야기되기도 하는데, 가장 심각한 것으로는 급성 치주농양이 발생하는 것이며, 또한 기계적인 자극에 의한 일시적인 발적과 동통이 유발된다는 보고도 있었다. 이러한 비흡수성 국소 투여 제제인 경우에는 일정 기간 후에 제거해주어야 하는 번거로움이 있고 치주낭에서 빠져 나오는 등의 단점이 있다.

이상적인 국소약물투여 제제는 생체적합성이 뛰어나야 하며, 일정기간 후에 치주낭에서 분해되거나 흡수되어야 하고, 치주낭 하방까지 도달이 가능하여야 하며 임상적으로 조작성이 쉬워야 한다. 이러한 재료를 개발하기 위하여 여러가지 흡수성 재료를 이용한 많은 연구가 이루어져 왔다<sup>25)</sup>. Okuda 등<sup>14)</sup>은 생분해가 가능한 polyglycolide-lactide polymer에 minocycline을 함유시켜 치은연하 세균에 관한 효과를 연구하여, 치은 열구 내에서 14일간 유효농도 이상의 minocycline이 방출되며, 치주낭 내에서 치주질환 원인균을 감소시키거나 없애는 역할을 하여 치근활택술과 함께 사용하는 경우 임상증상을 더욱 개선시킬 수

있다고 하였다. Minabe 등<sup>25)</sup>은 collagen film-immobilized tetracycline의 임상효과를 연구하여 임상지수의 개선 및 *Bacteroides*의 비율이 현저히 감소함을 보고하였다. Larsen<sup>15)</sup>은 oxidized cellulose와 collagen wound dressing, fibrin sealant등에 doxycycline을 첨가한 후 in vitro로 doxycycline의 방출을 측정하여 oxidized cellulose가 증류수에서 9일간 유효농도 이상으로 doxycycline을 방출한다고 하였으나 사람혈청에서는 2일 후에 모두 분해되었다.

치주조직 재생술에서 흡수성재료로 사용되는 calcium sulfate는 이미 오래 전부터 정형외과 영역에서 국소약물 송달체제로 이용되어 왔다<sup>16, 17, 18)</sup>. Mackey 등<sup>17)</sup>은 lincomycin, fucidin, cephazolin, gentamicin을 calcium sulfate와 혼합하여 in vitro로 방출되는 항생제의 양을 측정하였다. 연구 결과 2.5% fucidin을 혼합한 경우와 5% gentamicin을 혼합한 경우에 만족스러운 결과를 얻었다. 2.5% fucidin과 혼합한 경우에는 시편 1g 당 50일간 50 $\mu$ g 이상의 항생제가 방출되었으며, 5% gentamicin과 혼합한 경우에는 60일까지 12 $\mu$ g 이상의 항생제가 방출되었다. 각 항생제마다 방출농도가 다른 것은 항생제의 calcium sulfate와의 결합능력에 차이가 있기 때문임을 알 수 있다. Calcium sulfate는 혼합 시 pH 6으로 약산성을 나타내는데 이러한 조건에서 항생제가 용해되는지 아니면 결정화되는지 여부에 따라서 방출이 오래 지속될 수 있는지가 결정된다고 하였다<sup>17)</sup>.

본 연구에서는 예비실험을 시행하여 가장 적절한 tetracycline의 혼합비율을 결정하였다. 예비실험에서는 calcium sulfate 1g 당 5, 10, 20, 40, 60, 80, 100, 250mg의 tetracycline을 혼합하여 0.5, 1, 2, 4, 6, 8, 10, 25% TC의 시편을 제작하여 본 실험과 동일한 조건으로 TC 방출농도 및 유효농도 유지기간, 흡수시기 등을 측정하였다. 예비실험 결과 10% 이상의

tetracycline을 혼합하였을 때 1주일 이상 유효 농도 보다 높게 유지되었고, 10% TC와 25% TC는 유효농도 유지기간 및 흡수시기에서 큰 차이를 보이지 않았다. 이 예비실험 결과를 통해, 본 실험의 TC 혼합비율을 calcium sulfate 1g 당 TC 100mg인 10%로 결정하였다.

본 연구에서는 실험 1군인 modified calcium sulfate(CS) paste는 51%의 calcium sulfate, 30%의 zinc oxide, 13%의 poly-vinyl acetate, 5%의 poly-t-butylacrylate, 1%의 butyl acetate로 구성되어 있다. 실험 1군인 modified CS paste 시편은 평균 195.4mg으로 17.8mg의 tetracycline을 함유하고 있다. 실험 1군은 5주 정도 유효농도 이상의 tetracycline을 서서히 방출시키는 것으로 나타나 modified CS paste에 tetracycline이 잘 결합되는 것으로 생각되지만 정확히 modified CS paste의 어떤 성분이 결합력을 증진시키는 지는 알 수 없다. 하지만 modified CS paste은 5주 이상에도 거의 크기의 변화를 보이지 않아 흡수성 carrier로서는 부적절하리라 생각된다. 실험 2군인 완전 경화된 10% tetracycline-calcium sulfate 시편은 평균 190mg의 무게로 시편 1개당 17.3mg의 tetracycline을 함유하고 있다. 실험 2군은 실험 1일까지는 100 $\mu$ g/ml 이상의 농도를 유지하지만 실험 2일부터는 60 $\mu$ g/ml로 감소하여 그 이후로 9일까지 유효농도 이상의 농도를 유지하며, 완전히 용해되는 기간은 평균 11.8일이었다. 실험 3군은 10% tetracycline-calcium sulfate 혼합물을 경화되기 전에 증류수에 넣은 것으로 시편의 평균 무게는 187.4 mg으로 시편 1개당 17mg의 tetracycline을 함유하였다. 실험 3군의 실험 3일부터 실험 7일까지 방출되는 tetracycline의 양은 실험 2군과 통계적으로 차이를 보이지 않았다. 실험 3군은 실험 7일까지 유효농도 이상의 농도를 유지하였고 그 이후로는 시편은 남아 있으나 tetracycline의 방출량은 유효농도 이하였고, 평균 용해기간은 14.8일이었

다.

실험 2군과 3군의 결과를 비교해 볼 때 calcium sulfate의 경화 여부는 tetracycline의 방출 및 흡수시기에 큰 영향을 미치지 않는 것으로 생각된다.

실험 4군은 25% tetracycline이 함유된 ethylene vinyl acetate fiber로서 fiber 1개의 평균 무게는 57.1mg이고 직경은 0.5mm, 길이는 25cm로서 fiber 1개당 약 12.7mg의 tetracycline을 함유하고 있다. 본 연구에서는 33.5cm를 사용하여 TC 함유량이 17mg이 되도록 하였다.

이 tetracycline fiber에 대해서는 많은 연구가 이루어져 왔는데, Tonetti 등<sup>11)</sup>에 의하면 치주낭에 tetracycline fiber 삽입 시 10일 이상 평균 1590 $\mu$ g/ml의 농도를 유지할 수 있다고 하였다. 본 연구에서는 치주낭에서 실행한 것이 아니고, 증류수 25ml에 넣은 것으로 많은 양이 희석되리라 생각되며, 15일까지 유효농도인 4 $\mu$ g/ml의 농도를 방출하고, 18일 이후에는 tetracycline이 전혀 나오지 않았다. 실제 임상에서 tetracycline fiber를 치주낭에 삽입한 경우에는 10일 후에는 제거해 주도록 하고 있다.

이상의 결과로 볼 때, calcium sulfate는 tetracycline과 혼합하였을 때, 일정 기간동안 충분한 양의 tetracycline을 방출시키고, 11-14일 정도 후에는 완전히 녹아 없어지는 국소 약물 송달체계의 carrier로서 가능성이 있는 재료로 생각되며, 임상연구 및 미생물학적 연구를 통해 실제 치주낭에서의 tetracycline 방출농도 및 유효농도 유지기간, 완전용해시점 등을 알아보아야 하리라 생각된다.

## V. 결론

본 연구는 calcium sulfate와 tetracycline을 혼합하여 calcium sulfate의 국소 약물 송달 효과를 알아보기 위하여 실시하였다.

Modified calcium sulfate paste와 10% tetracycline을 혼합하여 완전 경화 시킨 것을 실험 1군으로, calcium sulfate와 10% tetracycline을 혼합하여 완전 경화 시킨 것을 실험 2군으로, calcium sulfate 와 10% tetracycline을 혼합하여 경화되기 전에 사용한 것을 실험 3군으로, tetracycline-ethylene vinyl acetate fiber를 실험 4군으로 하여 각 실험군의 시편을 증류수에 넣어 각 24시간 동안의 tetracycline 방출농도, 유효농도 지속시간, calcium sulfate의 흡수기간 등을 관찰하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 실험 1군은 실험 5주까지 유효농도(4 $\mu$ g/ml) 이상의 농도를 유지하였고, 실험 2군은 실험 9일까지 유지하였으며, 실험 3군은 실험 7일까지 유효농도 이상의 농도를 유지하였고, 실험 4군은 실험 15일까지 유지하였다.
2. 실험 2군은 평균 11.8일 후에 완전 용해되었고, 실험 3군은 평균 14.8일에 완전 용해되었다.
3. 실험 2군과 3군은 실험 1주까지 방출된 tetracycline의 농도에 유의차를 보이지 않았다.( $p < 0.05$ )

이상의 결과에서 볼 때, calcium sulfate는 tetracycline과 혼합하였을 때 일정 기간 동안 충분한 양의 tetracycline을 방출시키고, 11~14일 정도 후에는 완전히 녹아 없어지므로, 서방형 국소 약물 송달 제재로서 가능성이 있으리라 생각된다.

## VI. 참고 문헌

1. Drisko, C. H.: Non-surgical pocket therapy: pharmacotherapeutics, *Annals of periodon.*, 1:499, 1996.
2. Walker C.B., Gordon, J.M., McQuilkin,

- S.J., Niebloom, T.A., Socransky, S.S. : Tetracycline : levels achievable in GCF and in vitro effect on subgingival organisms. Part II., Susceptibilities of periodontal bacteria, *J. Periodont.*, 52:613, 1981.
3. Goodson, J.M., Offenbacher, S., Farr, D.H., Hogan, P. : Periodontal disease treatment by local drug delivery, *J. Periodont.*, 56 : 265, 1985.
4. Michalowicz, B.S. Pihlstrom, B.L., Drisko, C.H., Cobb, C.M., Killoy, W.J., Caton, J.G., Lowenguth, R.A., Quinones, C., Encarnacion, M., Goodson, J.M. : Elvaluation of periodontal treatments using controlled-release tetracycline fibers : Maintenance response, *J.Periodont.*, 66 : 708, 1995.
5. Goodson, J.M., Haffajee, A., Socransky, S.S. : Periodontal therapy by local delivery of tetracycline, *J. Clin. Periodont.*, 6 : 83, 1979.
6. Addy, M., Rawle, L., Handley, R., Newman, H. N., Coventry, J. F. : The development and in vitro evaluation of acrylic strips and dialysis tubing for local drug delivery, *J. Periodont.*, 53 : 693, 1982.
7. Goodson, J.M. Holborow, D., Dunn, R.L., Hogan, P., Dunham, S. : Monolithic tetracycline containing fibers for controlled delivery to periodontal pockets, *J.Periodont.*, 54 : 575, 1983.
8. Minabe, M. Takeuchi, K., Tomomatsu, E., Hori, T., Umemoto, T.: Clinical effects of local application of collagen film immobilized tetracycline, *J. Clin. Periodont.*, 16 : 291, 1989.
9. Minabe, M. Hori, T., Umemoto, T. :

- Therapeutic effects of combined treatment using tetracycline immobilized collagen film and root planing in periodontal furcation pockets, *J. Clin. Periodont.*, 18 : 287, 1991.
10. Minabe, M. : Subgingival administration of tetracycline on a collagen film, *J. Periodont.*, 60 : 552, 1989.
  11. Tonetti, M., Cugini, M.A., Goodson, J.M. : Zero-order delivery with Periodontal placement of tetracycline loaded ethylene vinyl acetate fibers, *J. Periodont. Res.*, 25 : 243, 1990.
  12. Kimura, S., Toda, H., Shimabukuro, Y., Kitamura, M., Fujimoto, N.,
  13. Maze, G.I., Reinhardt, R.A., Agarwal, R.K., Dyer, J.K., Robinson, D.H., DuBois, L.M., Tussing, G.J., Maze C.R. : Response of intracrevicular controlled delivery of 25% tetracycline from poly (lactide/glycolide) film strips in SPT patient, *J. Clin Periodont.*, 22 : 860, 1995.
  14. Okuda, K., Wolff, L., Oliver, R., 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. Periodont.*, 63 : 73, 1992.
  15. Larsen, T : In vitro release of doxycycline from bioresorbable materials and acrylic strips , *J. Periodont.*, 61 : 30, 1990.
  16. Dahners, L.E., Funderburk, C.H. : Gentamicin-loaded plaster of Paris as a treatment of experimental osteomyelitis in rabbits , *Clin. Orthoped.*, 219:278, 1987.
  17. Mackey, D. Varlet, A., Debeaumont, D. : Antibiotic loaded plaster of Paris pellets, *Clin. Orthoped.*, 167:263, 1982.
  18. Mousset, B. Benoit, M.A., Delloye, C., Bouillet, R., Gillard, J.: Biodegradable implants for potential use in bone infection , *Int. Orthoped.*, 19:157, 1995.
  19. Conner, H.D. : Bone grafting with a calcium sulfate barrier after root amputation, *Compend. Cont. Educ.*, 17 : 42, 1996.
  20. David, Anson : Calcium Sulfate : A 4-year observation of its use as a resorbable barrier in guided tissue regeneration of periodontal defects, *Compend. Cont. Educ.*, 17 : 895, 1996.
  21. Newman, M.G, Kornman, K.S., Doherty, F.M. : A 6-month multi-center evaluation of adjunctive tetracycline fiber therapy used in conjunction with scaling and root planing in maintenance patients , *J. Periodont.*, 65:685, 1994.
  22. Shaffer, C.D., App, G.R. : The use of plaster of Paris in treating infrabony periodontal defects in humans, *J. Periodont.*, 42:685, 1971.
  23. Sottosanti, J. S. : Calcium sulfate aided bone regeneration : A case report , *Periodontal Clinical Investigations*, 17 : 10, 1995
  24. Sottosanti, J. S. : Calcium sulfate : A biodegradable and biocompatible barrier for guided tissue regeneration, *Compend Contin Educ Dent.*, 13 : 226, 1992.
  25. Markman, C. Fracalanza, E.L., Novaes, A.B. Jr., Novaes, A.B. : Slow release of tetracycline hydrochloride from a cellulose membrane used in guided tissue regeneration, *J. Periodont.*, 66 : 978, 1995.
  26. Nylund, K., Egelberg, J. : Antimicrobial

- irrigation of periodontal furcation lesions to supplement oral hygiene instruction and root debridement, *J. Clin Periodontol.*, 17: 90, 1990.
27. Ainamo, J. Lie, T., Ellingsen, B.H., Hansen, B.F., Johansson, L.A., Karring, T., Kisch, T., Paunio, K., Stoltze, K. : Clinical responses to subgingival application of a metronidazole 25% gel compared to the effect of subgingival scaling in adult periodontitis, *J. Clin. Periodont.*, 19:723, 1992.
  28. Pedrazzoli, V., Kilian M., Karring T. : Comparative clinical and microbiological effects of topical subgingival application of metronidazole 25% dental gel and scaling in the treatment of adult periodontitis, *J. Clin. Periodontol.*, 19 : 715, 1992.
  29. Terry, A. Reinhardt, R.A., Dyer, J.K., Tussing, G.J., Szydowski, W.M., DuBous, L.M.: Intracrevicular application of tetracycline in white petrolatum for the treatment of periodontal disease, *J. Clin. Periodontol.*, 17 : 454, 1990.
  31. Goodson, J.M., Cugini, M.A., Kent, R.L., Armitage, G.C., Cobb, C.M.,
  32. Goodson, J.M., Tanner, A., McArdle, S., Dix, K., Watanabe, S. M. : Multicenter evaluation of tetracycline fiber therapy. III. Microbiological response, *J. Periodont. Res.*, 26:440, 1991.
  33. Heijl, L., Dahlen, G., Sundin, Y., Wenander, A., Goodson, J.M. : A 4-quadrant comparative study of periodontal treatment using tetracycline-containing drug delivery fibers and scaling, *J. Clin. Periodont.*, 18:111, 1991.
  34. Kazakos, G.M., Cobb, C.M., Morrison, S.L., Barker, B.F., Killoy, W.J. : Gingival response to subgingival placement of monolithic tetracycline-impregnated fibers, *Int. J. Perio. Rest. Dent.*, 13:151, 1993.
  35. Morrison, S.L. Cobb, C.M., Kazakos, G.M., Killoy, W.J.: Root surface characteristics associated with subgingival placement of monolithic tetracycline-impregnated fibers, *J. Periodont.*, 63:137, 1992.
  36. Lowenguth, R.A. Chin, I., Caton, J.G., Cobb, C.M., Drisko, C.H., Killoy, W.J., Michalowicz, B.S., Pihlstrom, B.L., Goodson, J.M.: Evaluation of periodontal treatments using controlled-release tetracycline fibers : microbiological response, *J. Periodont.*, 66:700, 1995.

## Slow-release local drug delivery effect of tetracycline loaded calcium sulfate

Sung-Hee Kim\*, Seong-Ho Choi\*, Kyoo-Sung Cho\*, Jung-Kiu Chai\*,  
Kwang-Kyun Park\*\*, Chong-Kwan Kim\*

Department of Periodontology, College of Dentistry, Yonsei University\*  
Research Institute for Periodontal Regeneration

Department of Oral Biology, College of Dentistry, Yonsei University\*\*

Periodontal disease is a bacterially caused by disease. To remove plaque and bacteria, it has been necessary to prescribe chemical drug to patient to subjugate therapeutic unvalue by mechanical scaling.

As a patient on a high dosage of the antibiotics to maintain the effective concentration may produce unfavorable side effects, this disease demands the Slow-release local drug delivery system.

The object of the experiment is to study on the slow-release local drug delivery effects of calcium sulfate compounded with tetracycline that mainly used in periodontal disease.

Experimental groups were divided into four classes as follow:

Group 1 : 10% tetracycline compounded modified calcium sulfate paste.

Group 2 : compounded and hardened 10% tetracycline and calcium sulfate.

Group 3 : compounded 10% tetracycline and calcium sulfate, used just before hardened.

Group 4 : tetracycline-ethylene vinyl acetate fiber.

In the four groups, release concentration, it's durability and the period of absorption by times are observed and concluded as follow:

1. An effective concentration( $4\mu\text{g}/\text{ml}$ ) remained until 5 weeks in group 1, 9 days in group 2, 7 days in group 3, 15 days in group 4.
2. It was fully fused at 11.8 days average in group 2 and 14.8 days average in group 3.
3. There were no statistically significant results in tetracycline concentration until a week in group 2 and 3( $p<0.05$ )

These results suggest that tetracycline loaded calcium sulfate release sufficient tetracycline and fused in 11~14 days, so calcium sulfate is useful carrier as slow release local drug delivery system

---

Key words : calcium sulfate, tetracycline, slow-release local drug delivery tetracycline- ethylene vinyl acetate fiber

## 테트라싸이클린 함유 calcium sulfate의 서방형 국소 약물 송달 효과에 대한 연구

치주질환은 세균에 의한 감염성 질환으로, 기계적 치태제거에 의한 치료의 한계를 극복하기 위하여 항세균 제제를 통한 화학적 치태 및 세균제거가 필요하게 되었다.

전신적으로 항생제를 투여할 경우 유효농도의 유지를 위해 많은 양의 약물이 투여되어야 하고, 여러가지 부작용의 위험이 있으므로, 이러한 단점을 극복하기 위한 국소 약물 송달체계가 필요하게 되었다. 본 실험의 목적은 치주질환 치료에 가장 많이 쓰이는 tetracycline을 calcium sulfate와 혼합하여, calcium sulfate의 서방형 국소 약물 송달효과에 대해 알아보려 함이다.

Modified calcium sulfate paste 와 10% tetracycline을 혼합한 것을 실험 1군으로, calcium sulfate와 10% tetracycline을 혼합하여 완전 경화 시킨 것을 실험 2군으로, calcium sulfate와 10% tetracycline을 혼합하여 경화되기 전에 사용한 것을 실험 3군으로, tetracycline-ethylene vinyl acetate fiber를 실험 4군으로 하여 시간별 tetracycline 방출농도, 유효농도 지속시간, calcium sulfate의 흡수기간 등을 관찰하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 실험 1군은 실험 5주까지 유효농도 ( $4 \mu\text{g}/\text{ml}$ )이상의 농도를 유지하였고, 실험 2군은 실험 9일까지 유지하였으며, 실험 3군은 실험 7일까지 유효농도이상의 농도를 유지하였고, 실험 4군은 실험 15일까지 유지하였다.
2. 실험 2군은 평균 11.8일에 완전 용해 되었고, 실험 3군은 평균 14.8일에 완전용해되었다.
3. 실험 2군과 3군은 실험 1주까지 방출된 tetracycline의 농도에 유의차를 보이지 않았다( $p < 0.05$ ).

이상의 결과에서 볼 때, calcium sulfate는 tetracycline과 혼합하였을 때 일정 기간 동안 충분한 양의 tetracycline을 방출시키고, 11~14일 정도 후에는 완전히 녹아 없어지므로, 서방형 국소 약물 송달 제재로서 가능성이 있으리라 생각된다.

---

핵심되는 말 : calcium sulfate, tetracycline, 서방형 국소약물 송달  
tetracycline - ethylene vinyl acetate fiber