J. Fd Hyg. Safety 14(1), 90 - 96(1999)

Algin과 Chitosan으로부터 제조한 생분해성 Film의 생체적합성

황성규† · 류정욱[1] · 이홍열[2] · 김용렬[3] · 이한섭[4] · 김판기[4] · 배지선[5]
명지대학교 화학공학과, [1]동아인재대학 화학공학과, [2]동아인재대학 식품과학과
[3]대진대학교 화학공학과, [4]용인대학교 환경보건학과, [5]서울대학교 수의과대학

Biocompatibility of the Prepared Biodegradable Film from Algin and Chitosan

Sung-Kwy Hwang†, Jung-Wook Ryu[1], Hong-Yeol Lee[2], Yong-Yeul Kim[3], Han-Seab Lee[4], Pan-Gyi Kim[4] and Ji-Seon Bae[5]
Dept. of Chem. Eng., MyongJi University, Yongin 449-728
[1]Dept. of Chem. Eng., Dong-A college, Youngam, Chonnam 526-870
[2]Dept. of Food Sci. & Tech., Dong-A college, Youngam, Chonnam 526-870
[3]Dept. of Chem. Eng., DeaJin University, Pochun 487-800
[4]Dept. of Environmental Health, YongIn University, Yongin 449-714
[5]Dept. of Veterinary Pathology, School of Veterinary Medicine, Seoul National University, Suwon 441-744, Korea

ABSTRACT — Biodegradable films were prepared by solution blending method in the weight ratio of Chitosan and Algin for the purpose of useful bioimplants. The possibility of bioimplants, which prepared from natural polymers as a skin substitute and food wrapping materials were evaluated by measuring the biodegradability. these biodegradable films were inserted in the back of rats and their biodegradability was investigated by hematological change as a function of time. Rats study showed that low-Chitosan induced increments of monocyte and basophil after 48 hours of implantation. And medium-Chitosan showed increase of lymphocyte and decreased neutrophil counts after 48hours of implantation. Low, medium Chitosan showed high hemoglobin contents, medium and high Chitosan showed high hematocrit value after 48 hours of implantation. As a result, medium, high-Chitosan induced potential incompatibility in the tissue after 48 hours, but there was little effects to the skin inflammation. The values of biodegradable films, which prepared from natural polymers measured in this study were some satisfiable results at short period with those of ideal skin bioimplants and artificial skin.

Key words □ Biodegradable Film, Algin, Chitosan, Skin bioimplant

인류는 천연자원으로부터 유용성을 추구하며 이용하여 왔다. 동식물이나 미생물들은 생존을 위해 다양한 대사과정을 통하여 단순한 전구물질에서부터 복잡하고 다양한 물질들을 생산해낸다. 우리나라에 분포되어 있는 천연자원만 해도 수 없이 많으며 곤충, 미생물 등까지 합하면 이용 가능한 천연자원은 엄청나다. 최근에 환경오염, 자원고갈과 독성 등의 문제로 천연자원의 중요성이 부각되고 있다. 합성고분자는 물리, 화학적인 안정성은 있으나 빛, 수분과 미생물에 의해 분해되기는 어렵다. 재료로 이용되는 동안에는 성질을 유지하지만 폐기되어 자연계에 방출되면 자연물질 순환계에 들어가지 못하고 축적되는 원인이 된다. 이러한 이유로 종전에는 이용되지 못하던 천연 생분해성 고분자의 이용이 늘고 있다. 천연고분자를 원료로 한 생분해성 고분자는 cellulose, pectin, lignin 및 전분 등의 식물에서 유래한 것과 collagen 등의 동물에서 유래된 것이 있다. 생분해성 고분자의 조건으로는 독성, 발암성, 조직괴사와 웅혈을 나타내지 않는 생체적합성, 물성의 변화가 없는 체내에서의 안전성과 생체에서의 완전 분해될 수 있는 친수성기를 가

† Author to whom correspondence should be addressed.

져야 하는 것 등이다.[1] 현재 이용되는 생체분해성 의료고분자로는 흡수성 봉합사, 인공혈관, 인공근육 등의 이식용 장기 또는 DDS 의약품 재료, 인공피부 등이 있으며 생분해성 플라스틱과 함께 상업화 및 연구가 활발하다.[2]

한편, 자연계에서 셀룰로오스 다음으로 많은 키틴은 다당류로서 거의 모든 동물류에 존재하고 있다. 키틴의 구조형태는 β-2-acetamide-2-deoxy-D-glucose 단위로 이루어진 polysaccharide이며, 키틴을 탈아세틸화하여 N-acetyl기를 amino기로 치환시킨 물질이 키토산이다.[3] 키토산의 주요 용도를 살펴보면 초기에는 일본에서 식품공장의 폐수에서 유효물질을 회수하는 응집제에 국한되었으나 계속된 용도개발에 힘입어 환경, 식품, 의료, 효소 및 미생물의 담체, 농약, 주류산업 등의 다양한 분야에서 이용되고 있다. 키토산은 육류보존제로 이용되는데 0.01% 농도만으로도 *Escherichia coli., Pseudomonas fragi., Bacillus subtilis* 등의 성장을 억제하며 고농도에서는 육류부패의 초기 원인균인 *Micrococcus varians, Lactobacillus plantarium* 등의 성장을 방지하고 저장기간동안 육류를 잘 유지시키는 효과가 있으며, 과실의 항진균제와 코팅제로서 품질향상과 보존에 효과가 있다고 알려져 있다.[4,5] 또한, Biomass 자원으로서 유용한 해조류는 직접 또는 가공하여 식용이나 사료 및 비료에 사용되고 있다. 해조류 중 *Ascophyllum*속 및 *Cessonia*속의 갈조류의 세포막에 20~30%를 차지하는 알긴은 알긴산의 Na, Ca, Mg 염의 혼합물(alginates)이며, D-mannuronic acid가 β-1,4결합으로 셀룰로오스와 같은 구조를 갖는 대신에 금속이온에 대해서는 단순한 카르복실기의 이온결합이고 강한 결합력은 없는 섬유상의 구조이다. 알긴은 그 생산량만해도 28,000톤이며 식품, 의료, 제지와 염색공업의 분야에서 증점, 안정, 유화 등의 기능제로 널리 사용되고 있다.[6]

본 연구에서는 천연고분자의 일종으로 건강식품과 환경산업에 이용되는 알긴과 키토산을 사용하여 일정한 배합비율과 두께로 생체분해성 필름을 제조하고 이를 시험동물인 렛드의 피부조직에 이식하여 생체분해에 대한 기초자료를 연구하여 천연고분자를 이용한 생체이식제로서의 가능성을 알아보았다.

재료 및 방법

시약 및 측정기기

실험에 사용한 천연고분자로서 알긴[Algin]은 Aldrich사의 특급시약을 그대로 사용하였으며 키토산[chitosan]은 전보[7]에서 Sigma사의 chitin(from *Crab* shells)을 deacetylation으로 제조하였던 3종류[Brookfield 점도계 LVF형을 이용하여 spindle No. 3, 12.0 rpm에서 측정하였던 low(140 cp), medium (590 cp), high(1380 cp) 키토산을 실험에 이용하였다. 생체분해성 필름을 제조하는데 사용한 용매로서는 Milli-Q reagent water system[MILLIPORE사]을 사용하여 자외선 멸균 처리한 3차 증류수(초증류수)를 사용하였다. 분석과 확인을 위하여 TGA/DTA(열중량/열시차 분석)는 각각의 시료 양을 10.0 mg을 취하여 Setaram사의 TGA/DTA 92형을 이용하여 질소 기류하에서 승온속도를 10 °C/min로 하여 20~400°C까지의 열중량 감소 즉, 열적 안정성을 측정하였다. 결정구조는 Philips사의 X-ray Diffractometer를 사용하여 측정하였으며 이때 분석조건은 CuKα(Ni-filter), 50 Kv, 30 mA의 조건으로 2θ: 5~40° 범위에서 측정하였다. 제조한 생분해성 필름의 실험동물인 랫드에서의 생체분해 변화는 RJ. Lee Group사의 P-75 personal SEM을 이용하여 관찰하였다.

생체분해성 Film의 제조

In-Vivo 실험에서는 시료를 미립자, 필름, monolith 형태로 생체내에 주입 또는 이식시킨 후 일정한 분해기간을 거쳐서 외과적 수술로 회수하거나 혈액 등의 추출을 통해서 회수하여 물리, 화학적 변질상태를 확인한다.[8] 본 실험에서는 이중에서 필름제조 방법으로 생분해성을 실험하였다. 필름 제조시 각각의 용매에 알긴과 제조한 3종의 키토산의 양을 일정하게 취하고 각각 용액상에서 점성을 나타내므로 기계식 교반기를 사용하여 일정시간 동안 균일하게 용해되도록 하였다. 그러나 키토산은 증류수만에는 용해성이 나타나지 않으므로 1.0 wt%의 초산수용액에 용해시켜서 겔형의 용액을 제조하여 사용하였다. 예로써 low-키토산 2.0 g을 취하여 1.0 wt% 초산수용액 50.0 m*l*에 완전 용해시켰다. 이때 기포생성을 방지하고 sonication에 의한 분자량 감소를 최소화시키려 저주파로 가끔씩 초음파기[Branson1200]로 sonication시켰다. 이와같이 얻은 겔형의 알긴과 키토산을 필름형으로 제조하기 위하여 일정 두께와 높이의 원통형 유리관 내에 일정 높이로 적하한 후 유리관 위에 이형지를 놓고서 30°C에서 감압건조하여 두께 0.2 mm인 생체분해성 필름을 제조하여 이를 다시 에탄올에 침지시키고 재건조하여 사용할 때까지 데시케이터에 보관하였다.

생체분해 실험조건 및 방법

본 실험은 천연 고분자를 이용하여 생체분해성 재료의 가능성을 확인하고자 랫드에 대한 생체분해실험을 수행하였으며 삽입시킨 필름의 생체내 이물반응을 중량변화와 혈액학적 소견으로 분석하였다.

시험동물 사육조건과 군 분리—시험동물은 (주)대한실험동물센터에서 분양받은 특정 병원체부재(SPF) 숫컷 S/D계

랫드를 분양받아 1주일간 순화시킨 후 건강한 동물을 선택하여 온도 23±3℃, 습도 50±5%, 배기 10~15회/hr, 형광등 명암 12 hr cycle, 조도 150~300 Lux의 환경조건에서 폴리카보네이트 사육상자(280W×400L×1700H, mm)에 넣어 실험하였으며, 사용한 깔짚은 펄프깔짚을 사용하였다.[9,10] 물 섭취는 수도수를 시험동물에 자유로이 공급하였으며 또한 순화 사육기간 동안 일반증상 관찰 등을 시행하여 정상적인 동물을 선별하고, 무작위 추출법에 따라 시험동물의 군분리를 시행하였다. 각 군의 평균체중에 대한 군간의 차이를 최소화하여 실험하였다. 대조군과 알긴삽입군, 점도(평균 분자량)에 따른 키토산삽입군으로 구분하였으며, 각 군당 7마리의 동물을 사용하였다.

Grouping	Insertion time (hour)	No. of Rat
Control	24	7
	48	7
Chitosan low	24	7
	48	7
Chitosan medium	24	7
	48	7
Chitosan high	24	7
	48	7
Algin	24	7
	48	7
Total		70

삽입한 생체분해성 필름의 중량변화와 구조적 변화—제조한 생체분해성 재료는 균일한 두께로 되어 있는 필름형태였으며, 실험에 사용하기 위해 가로, 세로 각각 5.0×5.0 mm로 절단하였으며, 생체 내에 삽입하기 전 소독을 위하여 최소 24시간 동안 무균상자에 보관하였다. 생체분해성 필름의 삽입전후의 중량변화를 측정하였다. 즉, 랫드에 삽입 전 필름의 중량을 측정하였으며 또한, 제거한 생분해성 필름은 멸균된 접시에 옮겨 가능한 혈액을 제거하고 24시간 건조시킨 후 건조중량을 측정하였다. 건조된 생체분해성 필름은 전자주사현미경(SEM)으로 관찰을 하였다.

관찰 및 검사항목—모든 시험동물에 대하여 일반 중상관찰로서 매일 일정시간에 일반상태의 변화, 중독증상 및 사망발현유무를 관찰하였다. 수술도구는 모두 고압증기 멸균처리하였으며 랫드는 pentobarbital로 마취하였다. 등부의 가로, 세로 2.0 cm 가량의 털을 제거하고 70% 알코올 정제수로 소독하여 멸균된 수술용 칼로 표피를 절개하였으며, 각 시험군에 생체분해성 필름을 삽입하고 멸균된 autoclip으로 봉합하였다. 수술이 종료된 랫드는 사육상자에서 회복하도록 하였다.

가. 체중측정

시험에 사용된 시험동물군의 체중측정은 시험시작 체중과 시험종료 체중을 측정하였다.

나. 혈액학적 검사

생분해성 필름삽입 24, 48시간 후 혈액학적 변화를 관찰하기 위하여 혈액을 채취하였다. 즉, 부검 전 오전부터 절식시킨 후 경추탈구하여 심장채혈 하였다. 혈액은 EDTA-Na로 항응고처리하고 자동혈구계산기[Technicon사 H1 system]를 이용하여 백혈구수(WBC), 적혈구수(RBC), 혈색소량(HGB), 적혈구용적(HCT), 평균적혈구용적(MCV), 평균적혈구혈색소량(MCH), 평균적혈구혈색소농도(MCHC), 혈소판수(PLT), 임파구(Lymphocyte), 호중구(Neutrophil), 단구(Monocyte), 호산구(Eosinophil), 호염기구(Basophil) 등을 측정하였다.

결과 및 고찰

키토산과 알긴의 분석 확인

키틴(a)의 C_2 위치의 acetylamide기를 알칼리반응에 의한 deacetylation으로 키토산(b)을 제조하였다. Fig. 1은 키틴/키토산의 TGA/DTA에 의한 열중량 분석을 나타낸 것인데 키틴(a)은 313.3℃에서 발열피이크로써 최종분해온도(T_m) 값을 나타내었으나 키토산(b)은 284.3℃에서 분해되기 시작하여 313.1℃에서 T_m 값을 나타내고 있다. 이와 같이 키틴/키토산의 열중량 분석에서 차이가 나는 이유로는 분자사슬과 분자내 수소결합력의 감소로 인하여 열적 안정성이 저하되는 것으로 설명할 수 있다.

키틴, 키토산과 알긴의 X-ray 회절분석 결과는 Fig. 2와 같다. 키틴(a)의 경우 2θ; 10°와 19° 부근에서 결정성을 나타내는 특성피이크가 나타나 있다. 그러나 키토산(b)의 경우 2θ; 10° 부근의 피이크가 많이 감소하고 오히려 무정형을 나타내어 결정화도가 감소하였다. 이와 같은 결정성의 감소는 키틴 내의 acetylamide기에 의한 강한 수소결합이 amino기로 변화함으로써 수소결합력이 약화되기 때문이라고 생각된다. 또한 알긴(c)은 결정성이 거의 나타나지 않은 무정형의 구조를 이루고 있다. 이처럼 X-ray 회절분석을 실시한 이유는 고분자의 생체 분해는 결정영역과 비결정 영역의 비율의 차이에 의해서 영향을 받으며 분해는 비결정 영역에서부터 시작하여 결정영역으로 진행하기 때문이다.[11]

생분해성 Film의 중량변화와 구조적 변화

의료 및 의약용 생체분해성 고분자 재료로서의 가장 중요한 조건은 분해 생성물이 생체 환경내에서 발암성, 염증 같은 독성을 나타내지 않는 것이다. 그러나 이 조건을 만족하고 분해될 수 있는 고분자 재료는 그다지 많지 않다.[12] 의

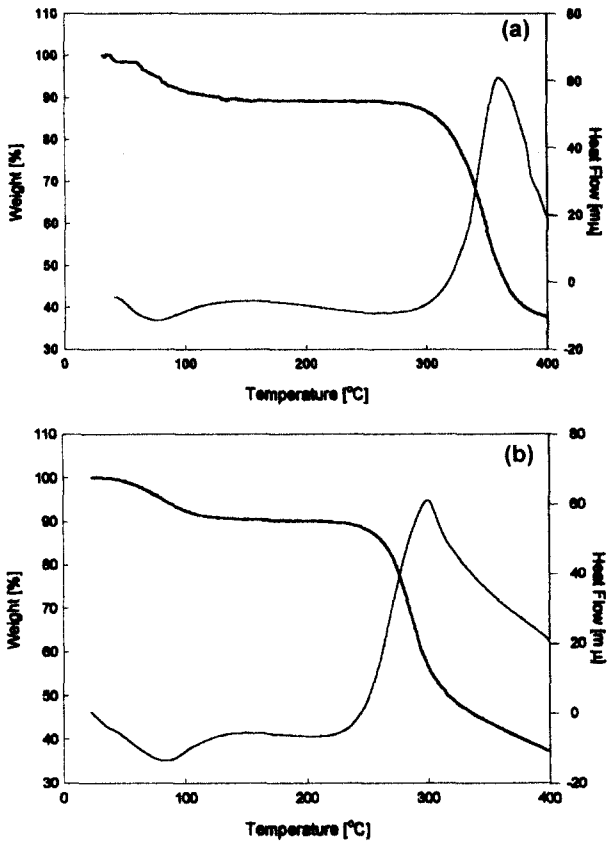

Fig. 1. TGA/DTA thermogram of chitin (a) and chitosan (b). The showing to change of thermal stability by molecular chain and cohesion.

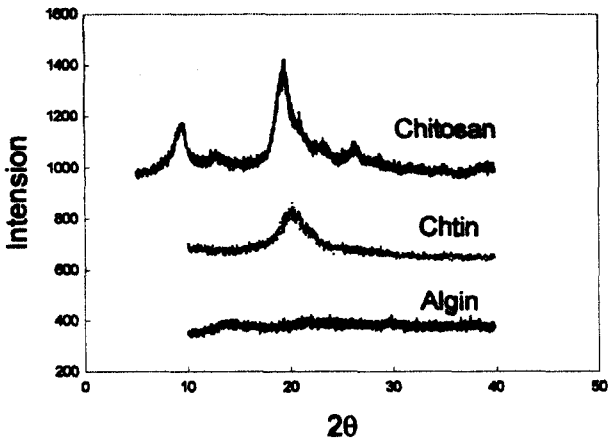

Fig. 2. X-ray diffraction patterns of chitin (a), chitosan (b) and Algin (c).

약용 재료로 고분자를 사용할 경우 장애가 되는 것은 생체가 자기방어를 위하여 일으키는 이물반응이다. 장기간 체내에 삽입된 경우에는 비분해성 고분자가 이물질로서 체내에 잔존하므로 문제를 일으킨다. 이같은 생체이물 반응을 피하기 위해서는 삽입된 고분자재료가 목적달성 후 신속히 분해되어 생체내 흡수되는 것이 바람직하다.[13]

Table 1과 2에 나타낸 것과 같이 생분해성 필름을 제거하였을 때 키토산low의 경우 24시간, 48시간 경과 후에 필름의 중량이 각각 80.4%, 58.2%가 감소하였으며, 키토산 medium은 각각 98.4%, 88.9%가 감소하였고, 키토산 high는 90.5%, 60.1%로 48시간 후의 중량이 많이 감소하였다. 알긴은 24시간에 44.2% 중량이 잔류하였으며, 48시간의 표본은 모두 섬유화되어 조직에 둘러싸여 있는 형태로 관찰되었으며, 이 조직을 표본과 분리하는 것이 불가능하였다. 표본을 삽입한 동물의 체중에서는 키토산 low, 키토산 medium군의 24시간 체중만이 약간 감소하였으며, 나머지 실험군에서는 대조군과 유사한 체중변화를 보였다.

Fig. 3은 시험 랫드군에 알긴필름을 삽입전후 건조하여 표면 SEM 사진을 나타낸 것인데 삽입전 표면사진은 비교적 균일하지만 삽입후 생체내 분해작용에 의해 많은 pore가 생기기 시작하면서 분해가 진행되는 morphology변화를 나타내고 있다. 특히, 제조한 필름들은 삽입 48시간 경과

Table 1. Dry weight change during experimental periods in biodegradation (unit: mg)

	Controls	Chitosan low start final	Chitosan med. start final	Chitosan high start final	Algin start final
24 hours	–	9.2±3.7 7.4±2.6 (80.4%)	12.6±11.8 12.4±14.5 (98.4%)	7.4±5.8 6.7±2.1 (90.5%)	9.5±3.4** 4.2±1.7 (44.2%)
48 hours	–	9.8±4.1 5.7±2.5 (58.2%)	11.7±3.9 10.4±3.1 (88.9%)	14.8±5.2 8.9±3.6 (60.1%)	14.7±5.8 – N/E*

*N/E : Not Evaluated in appropriate weight
** Values expressed mean±SD(n=7)
( ): Represents ratio of weight final versus start

Table 2. Body weight change during experimental periods in biodegradation (unit : g)

	Control	Chitosan low start final	Chitosan med. start final	Chitosan hign start final	Algin start final
24 hours	253±27.0* 256±31.0	251±20.3 252±23.8	228±17.3 224±18.1	248±21.4 254±23.6	251±21.0 255±23.4
48 hours	258±25.2 265±32.8	252±22.0 248±22.2	223±17.6 225±21.4	246±20.5 253±22.6	250±21.7 255±23.4

*Values expressed mean±SD (n=7)

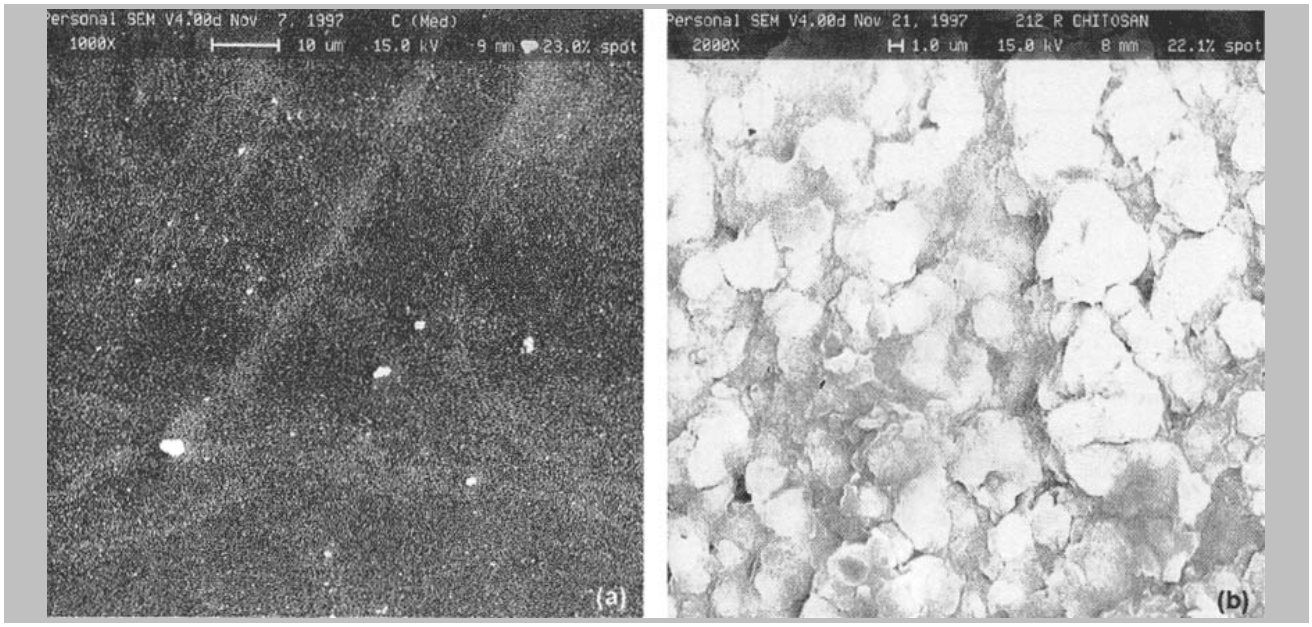

Fig. 3. SEM photographs of outer surface to (a) before and (b) after insertion of Chitosan (medium) at 24 hours.

후에는 morphology변화를 관찰할 수 없을 정도로 변화되어 있었다. 이러한 고분자의 생체내 분해는 보통 수화에 의해 주쇄가 가수분해됨으로서 일어난다. 생체는 약 70%의 수분을 함유하고 있으므로 고분자를 생체이식했을 때 수분 확산 정도와 용해도에 따라 고분자의 분해속가 영향을 받게 된다. 또한 고분자의 구조적 특성인 친수성/소수성기의 비, 수화속도 등에 영향을 받는 것으로 알려져 있다.[11]

생분해성 Film 삽입 시험동물의 혈액학적 소견

시험 랫드군에 삽입한 알긴과 키토산을 이용한 생분해성 필름의 혈액학적 소견을 Table 3과 4에 나타내었다.

Table 3에서 백혈구(WBC)는 6.60~12.6×10^3/μl의 정상범위를 나타내었고,[14,15] 특히, 키토산 low 삽입군에서는 24시간, 48시간에서 정상범위였다. 그러나 키토산 low 삽입군의 백혈구 소견을 Table 4에서 자세히 살펴보면 단구(monocyte)와 호염기구(basophil)가 정상범위를 약간 벗어난 것으로 나타나 있다.

키토산 medium 삽입군에서는 24시간, 48시간에는 정상범위를 보였으나, 이때의 백혈구 분포는 neutrophile이 급격히 감소하고, lymphocyte가 증가한 것으로 보아 조직적합성이 없는 것으로 판단된다. 한편, 알긴삽입군의 백혈구는 정상범위에서 변동하고 있었으나, 삽입 24시간에 호중구는 약간의 감소를 하였으며, 이에 비하여 임파구는 대조군에 비하여 10% 증가하였다. 그러나, 48시간에는 호중구가 15%의 증가를 하고, 임파구가 9% 감소하였다. 적혈구는 정상범위가 6.76~9.75×10^6/μl임을 감안하면,[14,15] 각 시험물질 삽입군의 범위는 정상범위 내에 있는 것으로 판단되었다. 헤모글로빈은 정상범위를 13.4~15.8 g/dL로 보면,[14,15]

Table 3. The effects of inserted biodegradable film into the rats for hematological components

Time	Group	WBC (×10^3/μl)	RBC (×10^6/μl)	HGB (g/dL)	HCT (%)	MCV (fL)	MCH (pg)	MCHC (g/dL)	PLT (×10^3/μl)
after 24 hrs	Controls	7.0±2.32*	7.33±2.35	15.3±3.4	49.7±8.5	67.8±12.4	20.9±6.3	30.8±5.7	315±112
	Chitosan low	6.9±3.24	8.04±1.91	17.5±3.8	49.0±6.3	61.0±11.4	18.6±5.6	30.4±5.7	649±147
	Chitosan medium	6.7±3.21	8.71±2.04	17.8±4.1	61.0±7.7	70.0±13.7	20.4±6.2	29.2±6.8	750±139
	Chitosan high	8.2±4.25	8.66±1.87	18.1±4.7	63.0±6.9	72.7±14.6	20.8±5.7	28.6±5.5	779±153
	Algin	10.4±2.04	6.94±2.72	13.8±3.6	46.3±6.1	66.6±13.8	19.9±6.3	29.9±6.2	792±231
after 48 hrs	Controls	7.0±2.32	7.33±2.35	15.3±3.4	49.7±8.5	67.8±12.4	20.9±6.3	30.8±5.7	315±112
	Chitosan low	12.0±4.45	7.86±2.10	16.2±4.2	55.0±9	70.0±9.2	20.6±4.6	29.4±4.3	959±121
	Chitosan medium	9.8±3.76	7.56±2.23	15.8±3.1	50.1±11	68.5±11.2	19.5±4.4	30.4±4.3	889±124
	Chitosan high	8.4±2.87	7.64±2.54	14.8±3.4	49.1±8	64.2±7.8	19.4±3.8	30.1±3.6	852±135
	Algin	9.7±2.65	8.68±1.98	17.3±4.2	55.8±11	64.3±8.2	19.9±4.6	31.0±6.4	986±184

*Values expressed mean±SD (n=7)

Table 4. The effects of inserted biodegradable films into the rats for WBC components

Time	Group	neutrophil		lymphocyte		monocyte		eosinophil		basophil	
		%	($\times 10^3/\mu l$)	%	($\times 10^3/\mu l$)	%	($\times 10^3/\mu l$)	%	($\times 10^3/\mu l$)	%	($\times 10^3/\mu l$)
after 24 hrs	control	21±0.5*	1.5±0.3	68±12	4.7±0.5	5.6±1.6	0.4±0.11	0.5±0.05	0.04±0.01	0.3±0.01	0.03±0.01
	Chitosan low	17±1.2	1.2±0.3	71±17	4.9±1.2	7.6±2.5	0.5±0.03	0.7±0.05	0.05±0.02	0.4±0.02	0.03±0.02
	Chitosan medium	4±2.4	0.3±0.2	93±16	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±3.6	4.4±1.1	69±15	13±2.4	1.7±0.5	0.3±0.02	1.0±0.03	0.19±0.02	0.6±0.01	0.11±0.02
	Algin	17±1.4	1.8±0.3	78±17	8.1±0.3	1.5±0.1	0.2±0.06	0.7±0.07	0.08±0.02	0.4±0.01	0.04±0.01
after 48 hrs	Control	21±0.5	1.5±0.3	68±12	4.7±0.5	5.6±1.6	0.4±0.11	0.5±0.05	0.04±0.01	0.3±0.01	0.03±0.01
	Chitosan low	9±1.8	1.1±0.3	79±12	9.4±1.6	7.1±1.8	0.9±0.05	0.6±0.03	0.07±0.01	0.4±0.01	0.05±0.02
	Chitosan medium	18±2.2	1.8±20.4	71±21	7.0±1.8	6.3±1.8	0.6±0.04	0.5±0.02	0.05±0.01	0.5±0.03	0.05±0.02
	Chitosan high	24±6.3	1.9±0.6	65±21	5.5±1.2	5.5±1.2	0.5±0.02	0.4±0.01	0.03±0.01	0.6±0.02	0.05±0.01
	Algin	36±7.9	3.5±0.4	59±15	5.7±2.4	2.3±1.3	0.2±0.01	1.0±0.02	0.10±0.01	0.4±0.02	0.03±0.01

* Values expressed mean±SD (n=7)

키토산삽입군의 24시간 후에 헤모글로빈의 함량이 정상에 비하여 약간 증가한 것을 알 수 있었으며, 48시간 후에도 키토산 low, 키토산 medium 삽입군에서 헤모글로빈 함량이 증가하였다. 알긴삽입군은 삽입 24시간 후에는 약간의 혈색소 감소가 나타났고, 24시간 후에는 2g/dL가 증가하였다. 혈구용적은 정상범위를 44.4~50.4%로 보면,[14,15] 키토산 medium, 키토산 high 삽입군의 24시간 후에 혈구용적이 정상보다 높은 결과를 나타내었으며, 48시간 후에는 키토산 low와 알긴삽입군에서 혈구용적이 정상보다 높은 결과를 보였다. 평균적혈구용적은 정상범위가 49.8~69.0 fL임을 감안하면,[14,15] 대조군을 포함한 모든 군에서 약간 높은 결과를 보이고 있으나 비교적 정상범위에 속하는 것으로 볼 수 있다. 평균적혈구혈색소량은 정상범위를 14.3~21.0 pg임을 감안하면,[14,15] 대조군을 포함한 각 삽입군에서 높은 수치를 보였으나, 정상범위 내에 포함되었다. 평균적혈구혈색소농도는 26.2~35.4 g/dL를 정상범위로 보면 대조군 및 각 시험물질 투여군에서 모두 정상범위 내에 포함됨을 알 수 있었다. 혈소판수는 150~450$\times 10^3/\mu l$를 정상범위로 보았을 때,[14,15] 각 삽입군에서 모두 증가하였다. 이는 외과적 수술에 의한 혈액응고 촉진작용이기 때문이라 생각된다. 호중구는 정상범위가 6.20~42.6%, 1.95~2.88$\times 10^3/\mu l$로[14,15] 대조군을 포함한 각 시험군에서 모두 정상범위 내에서 변동하고 있었으나 48시간 후의 키토산 high 삽입군은 낮은 정상범위 보다 증가하였으며, 48시간 후의 알긴삽입군도 증가하였다. 그러나, 이 두 군의 변동은 정상적인 백혈구내의 호중구 변동 범위에 포함되었다. 임파구는 정상범위가 57.6~83.2%, 6.03~8.90$\times 10^3/\mu l$로서[14,15] 대조군을 포함한 각 시험군에서 정상범위 내에 들어있었으나, 키토산 low 삽입군의 48시간의 수치는 정상범위의 높은 쪽에 편중되어 있어 약간의 임파구 증가가 있었음을 알 수 있었다. 단구는 정상범위가 0.00~0.65%, 0.01~0.04$\times 10^3/\mu l$로 보고되고 있으나,[14,15] 본 실험의 결과는 대조군을 포함한 모든 군에서 정상범위를 훨씬 상회하고 있는 것으로 나타났다. 호산구는 정상범위가 0.09~0.63%, 0.03~0.04$\times 10^3/\mu l$, 호염기구는 0.00~0.60%, 0.01~0.03$\times 10^3/\mu l$으로 보고되고 있으나,[14,15] 본 실험에서는 대조군을 포함한 모든 시험군에서 정상범위보다 높은 수치를 보였다.

결 론

천연고분자의 일종으로 건강식품과 환경산업에 이용되는 알긴과 키토산을 사용하여 일정한 배합비율과 두께로 생체분해성 필름을 제조하고 이를 시험동물인 랫드의 피부조직에 이식하여 생체분해시 생체적합성에 대한 기초자료를 연구하여 천연고분자를 이용한 피부 생체이식제, 인공피부 또는 봉합사로서의 가능성을 알아보았다.

1. 24, 48시간 경과 후 랫드에 삽입한 필름의 중량을 측정해보니 필름의 중량이 생체내 분해작용에 의해 현저히 감소하였으며, 특히 용해성이 좋은 알긴은 48시간 후 분해되어 섬유 조직화되어 있었다. 랫드의 체중변화는 대조군과 유사한 체중변화를 보였다.

2. 시험 랫드군의 혈액학적 소견으로 적혈구(RBC)는 삽입군에서 비교적 정상범위 내에 있었으나 백혈구(WBC)는 일부 삽입군에서 단구, 호산구, 호염기구의 증가로 염증반응 가능성을 나타내었다. 전반적으로 점도(평균분자량)이 큰 medium, high 키토산삽입군은 랫드의 피부조직에 대한 적합성이 없는 것으로 판단된다.

국문요약

생체이식제로의 사용목적으로 알긴과 제조한 키토산을 무게혼합 비율에 따라 용액블랜딩 방법으로 생체분해성 필름을 제조하였다. 천연고분자로부터 제조된 생체이식제의 가능성을 생체분해도 측정에 의하여 평가하였다. 이것을 시험동물인 랫드의 등쪽 부위에 삽입하고 24, 48시간의 삽입시간 변화에 따른 생체 분해도 및 혈액학적 변화를 관찰하였다. 랫드에 대한 생체 분해 필름의 삽입 테스트 결과, low 키토산은 삽입 48시간 후 약간의 단구와 호염기구의 증가를 유발하였으며 medium 키토산은 삽입 48시간 후 약간의 임파구 증가와 호중구 감소를 나타내었다. 그리고 삽입 48시간 후 low, medium 키토산은 약간 높은 헤모글로빈 함량을 나타내었으며, medium, high 키토산은 약간 높은 적혈구 용적을 나타내었다. 결과적으로 medium, high 키토산은 피부조직에 대한 생체적합성이 없는 것으로 판단되었고, 본 연구에서 천연고분자로부터 제조한 생체 분해성 필름은 피부 이식제와 인공피부로서의 가능성을 나타내었다.

참고문헌

1. 玄丞烋: 生體內分解吸收性 醫用材料, 高分子 & 醫療, 竹本喜一他編, 三田出版會, 21, 1989.
2. Leong, K.W.: Synthetic Bioerodible Polymer Drug System, Tarcha P. J. Eds., CRC Press, Florida, 128, 1991.
3. Brzeski, M.M. and Ramisz, A.: Advances in Chitin and chitosan, C. J. Brine Eds., Elservier Applied Science, New York, 79, 1990.
4. Ghaouth, A.E., Arul, J. and Boulet, M.: *J. Food Sci.*, **56**, 1618 (1991).
5. Seo H., Mitsuhashi K., Tanibe H.: Advances in chitin and chitosan, C. J. Brine Eds., Elservier Applied Science, New York, 34, 1992.
6. 이서래, 신효선: 최신 식품화학, 신광출판사, 서울, 84, 1994.
7. 이기창, 황성규: 키틴으로부터 다양한 키토산의 제조와 특성, 한국식품위생안전성학회지, **13**, 34, 1998.
8. 유영태, 허정림: 총설, 생체 분해성 의료용 고분자의 합성 및 분해, 고분자 과학과 기술, **2**, 341, 1991.
9. 의약품 등의 독성시험 기준: 국립보건안전연구원 고시 제 94-3호, 보건복지부, 1994.
10. 白須泰彦, 吐山豊秋, 新毒性試驗法: -方法과 評價-, Realize Inc, Tokyo, 1988.
11. 성용길, 송대경: 총설, 의료용 생분해성고분자, 고분자 과학과 기술, **5**, 551 (1994).
12. 土肥義治, 이기영, 조종수: 생분해성 고분자, 전남대학교 출판부, 281, 1998.
13. Vainionpaa, S., Kilpikari, J., Laiho, J. and Rokkanen P.: *Biomaterials*, **8**, 46 (1987).
14. 堀內茂友 외 9인: 實驗動物의 生物學的特性 Data, Soft Science Co., Tokyo, 1989.
15. Baker, H.J., Lindsey, J.R. and Weisbroth, S.H.: The Laboratory Rat, Academic press, New York, 1979.
16. H. Sezaki, 심창구, 정연복, 강영숙, 약물송달학, 한림원, **185**, 1993.
17. 鹽崎滋弘, 阪上賢一, 松岡順治, 內田晋, 宮崎雅史, 折田薰三: In Drug Delivery System 2, 101, 1987.