

케토롤락트로메타민과 치자가수분해물이 함유된 Hydrogel 제의 피부투과 및 치주염완화효과

김 미 정
전북과학대학 치위생과

Skin Permeation and Periodontitis Alleviation Effect of Hydrogel Containing Ketorolac Tromethamine and Hydrolysis Products of Gardeniae Fructus

Mi-Jeong Kim

Department of Dental Hygiene, Jeonbuk Science College, Jeongeup-City, Jeonbuk 580-712, Korea

ABSTRACT After producing 4 kinds of hydrogel materials by mixing the composite preparation in Gardeniae Fructus extracts with ketorolac tromethamine, which is NSAIDs (nonsteroidal anti-inflammatory drugs), through the experiment of measurement in the tensile strength, in the skin permeation, and in the periodontal-pocket reduction rate, the following conclusions were obtained.

1. The tensile strength of a drug indicated the tensile strength 3.5-fold higher compared to the control group, in KGH gel B.
2. The skin-permeation volume in ketorolac tromethamine was highest with $105.62 \mu\text{m}^2/\text{cm}^2$ in KGH gel B for 8 hours, and the permeation volume in geniposide was relatively high with $73.80 \mu\text{m}^2/\text{cm}^2$ in KGE gel A, but the permeation volume in genipin, which is the hydrolysis, represented the highest permeation amount with $50.17 \mu\text{m}^2/\text{cm}^2$ in KGH gel B.
3. In terms of the periodontal-pocket reduction rate, after 4 weeks, KGE gel A showed the falling rate of 23.85% compared to the control group, but did not indicate the significant difference, and KGH gel B represented the reduction rate of 29.46% compared to the control group, thus it indicated the significantly treatment effect.

Key words Enipin, Hydrolysis products, Ketorolac tromethamine, Periodontitis

서 론

치주염은 치은 및 치은연하 치주조직의 plaque biofilm에 내에 존재하는 구강미생물 성장에 의해 유발되는 염증성 질환이며 염증인자 중에서도 치은열구액의 세균 특히 프로스타그란딘 E2의 농도가 관여하고 있는 것으로 밝혀져 있다¹⁾. Plaque biofilm은 주로 세균으로 구성되어 있으며, 400가지 이상의 여러 종들이 치은연상 및 연하에 존재하며 치주염 제 1병원체요인으로 규명되어 왔다²⁾.

치주염의 진행단계로 형성되는 치주낭은 치은결합조직내의 교원섬유의 파괴로 치은열구가 깊어져 생성되며, 치조골 파괴의 과정을 거치면서 치아상실을 초래하게 된다.

치주염의 치료방법으로는 plaque biofilm과 석회화된 치석을 제거하는 스케일링, 염증조직을 제거해내는 치근면활택술 및 외과적 치주치치 등 직접적인 방법과 항생제를 전신 및 질환 부위에 직접 투여하는 방법이 있다. 그러나 이러한 처치를 시

행한 후에도 깊은 치주낭에는 plaque biofilm, 치석 등이 불완전한 상태로 남아있게 되고, 약물의 침투 또한 잘 이루어지지 않으며 염증에 관여하는 프로스타그란딘 E2의 농도 역시 6개월 이내에 다시 상승되어 치주염이 재발될 위험성이 크다³⁾. 최근 임상연구에서는 치주낭 내에 직접 병원체 반응을 억제시키거나, 근절시키는 염증 완화약물을 투여함으로써 확실치 치주조직의 파괴를 제한 할 수 있는 연구를 발표하였고⁴⁾, 이들 약물 중에서 비스테로이드성 소염진통제계의 약물들은 치주염 환자의 치조골 소실을 억제한다고 보고하였다⁵⁾. Centin 등⁴⁾은 meloxicam이 함유된 gelatin film제를 제조하여 치주낭 부위에 적용시켜 치주치치에 사용했을 때의 효과에 대한 연구를 하였고, Williams 등⁵⁾은 Flurbiprofen을 이용하여 치주염 환자의 치조골 소실 진행을 저지하는 연구를 수행하여, 유의성 있는 결과를 발표하였다.

특히 비스테로이드성 소염진통제계의 약물 중에서 케토롤락트로메타민은 골 흡수저지 효과가 뛰어나고, 프로스타그란딘 E2의 생성에 관여하는 cyclooxygenase의 작용을 억제하며, 우수한 항염효과를 나타내는 약물⁶⁾로 수용성, 점막에 무자극, 무미 등의 장점을 가지고 있어 치주염완화에 적합한 약물이라고 할 수 있다. Kelm 등³⁾은 케토롤락을 함유한 구강양치제를

Corresponding author
Tel: 063-530-9276
Fax: 063-532-3768
E-mail: mjkim@jbsc.ac.kr

제조하여 치은열구내에 주입시킴으로서 치주질환 치료효과를 기대하는 연구를 수행하였으며, Jeffcoat 등⁷⁾은 성인치주염환자에 케토롤락, flurbiprofen을 적용하여 치조골 소실의 저지를 관찰 비교하였다.

한편 치자(*Gardeniae fructus*)는 꼭두서니과에 속하는 치자 나무의 열매로서 해열, 소염 및 이뇨작용을 나타냄으로서 한방에서 황달, 간질환 및 소염제로 사용되어 왔다⁸⁾. 주성분으로는 iridoid glycoside인 geniposide, gardenoside를 비롯하여 crocin, genipiodisic acid, genipin 등을 함유하고 있다⁹⁾. Genipin은 치자의 주요성분인 geniposide를 가수분해 시켜 얻을 수 있는 가수분해물이다. 본초의학에서 항염증제로 널리 사용되어 왔으며, 세포독성이 낮고, 지용성이며 생물학적 세포조직을 고정시키는 자연발생적인 교차결합제이다¹⁰⁾. Lynn 등¹¹⁾은 genipin으로 고정된 돼지심낭을 성장하는 쥐의 피하에 이식시킨 후 생체조직 생적합성에 대한 연구를 수행하였으며, Sung 등¹²⁾은 genipin으로 고정된 생체조직의 표면특성에 대한 연구를 수행하였다.

따라서 본 연구는 비스테로이드성 소염진통제인 케토롤락트로메타민과 치자엑스복합제제가 함유된 하이드로겔제를 제조하여, 무모마우스를 사용하여 인장강도와 피부투과도를 실험하였으며, 치주염환자를 대상으로 치주낭감소율을 측정하여 치주염 완화제 개발을 위한 기초연구를 수행하였다.

재료 및 방법

1. 실험재료

Ketorolac tromethamine(이하 KT)은 “D”계약에서 공급받았고, 치자(*Gardeniae fructus*)는 시중에서 구입하여 사용하였으며, geniposide, genipin 및 β-glucosidase는 Sigma Co., USA 표준품을 사용하였다. 기타 시약은 특급 및 일급 시약을 사용하였다. 사용된 기기로는 케토롤락트로메타민과 치자 분석을 위해 High Performance Liquid Chromatography(M920, Youngin Co., Korea)를 사용하였다. 피부투과도 실험에 사용된 동물로는 hairless mouse(웅성, 25±g, Charles River Lab., USA) 30마리를 분양 받아 사용하였으며, 사육실 온도는 25±1°C, 습도 55±10%를 유지하였고, 명암은 12시간 주기로 하였다. 고형사료와 물은 자유롭게 먹도록 하였다.

2. 실험방법

1) 케토롤락트로메타민이 함유된 치자 하이드로겔의 제조

KT가 함유된 치자 하이드로겔의 제조(이하 KGE gel)는 KT를 정제수에 용해시키고 따로 치자엑스 분말을 정제수에 녹인 후 위의 용액에 가해주고 propylene glycol, Labrosol, ethanol을 순차적으로 가하여 혼합한 후 Carbopol 940을 넣어 팽윤시키고 냉장고에서 4°C로 24시간 반응시킨 다음, KT를 적가 하여 pH 7.0으로 하여 gel을 제조하였다. KT 함유 치자 가수분해물 하이드로겔의 제조 (이하 KGH gel)는 먼저 치자엑스 분말과 β-glucosidase를 50°C에서 2시간 반응시킨 다음 KT에 가하고 이하 KGE gel과 동일한 방법으로 제조하였다(Table 1).

2) 인장강도 시험

KGE 및 KGH gel 제제의 인장강도를 비교하기 위하여

Table 1. Formulas of ketorolac tromethamine hydrogels containing gardeniae fructus extracts or its hydrolysis products

Formulation	Formulations			
	KGE gel A	KGH gel B	KGE gel C	KGH gel D
KT	1.0	1.0	1.0	1.0
*GFEP	1.0	-	1.0	-
**GFEP(HP)	-	1.0	-	1.0
Carbopol 940	1.0	1.0	1.0	1.0
Poloxamer 407	-	-	10.0	10.0
Propylen glycol	20.0	20.0	10.0	10.0
Labrasol	10.0	10.0	10.0	10.0
Ethanol	10.0	10.0	10.0	10.0
Triethanol amine	2.0	2.0	2.0	2.0
Dist. Water	q.s	q.s	q.s	q.s
β-glucosidase	-	370 unit	-	370 unit
Total	100.0	100.0	100.0	100.0

*GFEP : Gardeniae Fructus Extract Powder

**GFEP(HP) : Gardeniae Fructus Extract (Hydrolysis products)

Instron material testing machine을 사용하였으며, KGE 및 KGH gel을 hairless mouse 등피부에 도포하고 3일 후에 도포 부위의 표피를 넓이(W) 30 mm, 두께(D) 1.8±0.2 mm로 절개한 다음 실온에서 10 mm/min의 속도로 조정하여 측정 후, 아래 식에 의하여 인장강도(MPa)를 산출하였다.

$$\sigma = F / A_0$$

F; 단위면적에 작용하는 힘(Load at break)

A₀; 단위면적(W×D)

3) 피부투과 실험

KGE 및 KGH gel 제제를 각각 1.0 g을 취하여 hairless mouse 피부에 도포한 후 KT, geniposide 및 genipin의 피부투과량을 측정하기 위하여 Franz modified diffusion cell (area : 1.77 cm², effective vol. : 12 ml)을 이용하였다. Hairless mouse 피부는 복부를 절개하고 피하지방 및 모세혈관을 조심스럽게 제거한 후 사용하였다. 시험액은 pH 7.4 완충용액(10% propylene glycol)을 사용하였다. Franz modified diffusion cell에 hairless mouse 피부를 장착하고 KGE 및 KGH gel 제제를 도포한 후 채취시간마다 시험액 100 μl씩을 채취하고 새로운 시험액을 동량 보충하였다. 시험액은 37±0.2°C를 유지하도록 하였으며 cell 내의 교반속도는 600 rpm으로 고정하였다.

피부의 단위 면적당 통과한 주성분의 양을 시간에 대한 함수로 나타낸 후 다음의 식을 이용하여 투과 파라미터들을 구하였다¹³⁾.

$$J_s = \frac{1}{A} \left(\frac{dQ}{dt} \right)_{ss} = \frac{DKC}{h} \quad D = \frac{h^2}{6T_L}$$

J_s: 평형 상태에서의 투과 속도(μg/cm²/hr)

A: 투과가 일어나는 피부의 면적(cm²)

(dQ/dt)_{ss}: 평형 상태에서의 단위 시간당 피부를 통과하는 약물의 양(μg/hr)

C : 제제중의 약물 농도($\mu\text{g}/\text{ml}$)
 K : 약물의 분배계수(피부/기제)
 h : 피부의 두께(cm)
 D : 피부를 통한 약물의 확산 계수(cm^2/hr)
 T_L : lag time(hr)

4) 치주낭 감소율 측정실험

(1) 실험대상

전복 익산에 있는 S 치과에 내원한 치주염환자를 대상으로 예비실험을 하였으나, 가장 효과가 좋은 여성치주염환자 9명을 대상으로 하였으며, 연령분포는 28-59세 였다. 치주염의 진단 기준으로는 치은발적, 치은종창 및 치은출혈 등의 증상이 나타났으며, 치주낭 깊이가 5 mm 이상 되는 치아¹⁴⁾를 선정하였다. 전신질환이나 최근 6개월 이내에 치주치료를 받은 경험이 없으며 최근 3개월 이내에 항생제를 복용한 적이 없는 환자를 대상으로 대상환자의 치아 중, 기타 구강내 충전물과 보철물이 없는 부위의 치주낭 깊이가 5 mm 이상 되는 치아를 선정하여 실험군으로 하였으며, 대조군도 치주낭 깊이가 5 mm 이상 되는 실험군과 동측 1/4악에 있는 치아를 선정하여 동일조건에서 비교 관찰하였다.

(2) 실험방법

초진 시 대조군과 실험군의 실험대상 치아를 치석제거술 및 치근활택술을 시행한 후 실험군 KGE gel A를 사용한 3명을 A그룹으로 하였으며 KGH gel B를 사용한 3명을 B그룹으로 하였다. Gel의 도포는 취침 전 잇솔질 후에 대상치아 치은부위에 자가도포 하도록 하였고, 대조군에게는 취침 전 잇솔질만 하도록 하였다. 초진 시, 1, 2 및 4주 후에 치주낭 깊이를 측정하여 감소율을 구하였다.

$$\text{치주낭 깊이 감소 (\%)} = \frac{R - R_0}{R_0} \times 100$$

R_0 : 초진 시 치주낭 깊이. R: 4주 후 치주낭 깊이.

결과 및 고찰

1. 인장강도

교차결합의 물리적 특성을 알아보기 위하여 KGE 및 KGH gel 제를 hairless mouse 등피부에 도포한 후 그 피부의 인장강도를 측정된 결과 대조군의 인장강도는 0.23 MPa이었으나, KGE gel C의 경우 0.33 MPa로 증가되었고 KGE gel A와 KGH gel D는 0.44 및 0.45 MPa로 높아졌으며, KGH gel B에서는 0.87 MPa로써 가장 높은 수치를 나타내었다(Table 2). KGH gel B가 대조군에 비하여 3.5배 정도 높은 인장강도

Table 2. Load at Break and Tensile strengths of hairless mouse skin after treatment with KGE and KGH hydrogels (mean \pm SD)

Formulations	N	Load at Break(N)	Stress at Break(MPa)
Control	5	4.95 \pm 0.72	0.23 \pm 0.11
KGE gel A	5	8.78 \pm 1.03	0.44 \pm 0.34
KGH gel B	5	12.90 \pm 1.24	0.87 \pm 0.76
KGE gel C	5	4.98 \pm 0.87	0.33 \pm 0.21
KGH gel D	5	8.99 \pm 1.11	0.45 \pm 0.36

를 나타낸 것은 피부의 강도를 높일 수 있을 것으로 생각된다.

2. 피부투과

KGE 및 KGH gel 제를 Franz modified diffusion cell 에 장착된 hairless mouse 피부에 도포한 후 시간별로 KT, geniposide 및 genipin의 투과된 양을 측정된 결과, 먼저 KT의 투과량은 3시간 후 KGH gel B에서 20.79 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 로써 다른 시료에 비하여 높은 투과율을 나타내었고 KGE gel A, KGH gel D 및 KGE gel C에서는 각각 12.35 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$, 10.48 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 및 8.00 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 로써 큰 차이를 나타내지는 못하였다. 그러나 KGE gel A와 KGH gel B에서는 3시간 이후부터 투과속도가 증가하였으며, 8시간 후 총 투과량을 비교해 보면 KGH gel B에서 105.62 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 로써 역시 가장 높은 수치를 나타내었고, KGE gel A에서 75.19, KGH gel

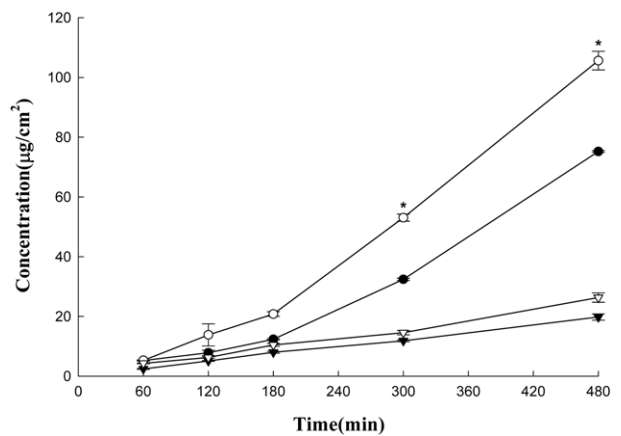


Fig. 1. Amount of permeated ketorolac tromethamine in KGE and KGH hydrogels for 8 hours through excised hairless mouse skin
 Key : - ● - : KGE gel A, - ○ - : KGH gel B, - ▼ - : KGE gel C
 - ▽ - : KGH gel D
 * : Significantly different from KGH gel B, P < 0.01

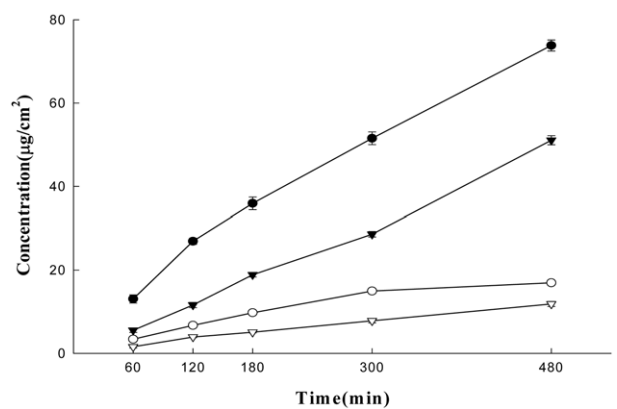


Fig. 2. Amount of permeated geniposide in KGE and KGH hydrogels for 8 hours through excised hairless mouse skin
 Key : - ● - : KGE gel A, - ○ - : KGH gel B, - ▼ - : KGE gel C
 - ▽ - : KGH gel D

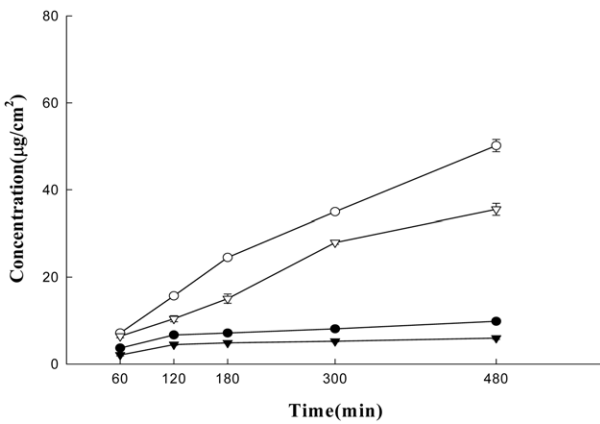


Fig. 3. Amount of permeated genipin in KGE and KGH hydrogels for 8 hours through excised hairless mouse skin
 Key : - ● - : KGE gel A, - ○ - : KGH gel B, - ▼ - : KGE gel C
 - ▽ - : KGH gel D

D에서 26.36 µg/cm², KGE gel C에서 19.81 µg/cm²의 순으로 나타나 KGH gel B는 KGE gel D에 비해 4배 정도 높은 투과량을 보여주었다(Fig. 1).

Geniposide의 8시간 후 총 투과량은 KGE gel A에서 73.80 µg/cm²로써 가장 높은 수치를 나타내었고, KGE gel C에서 51.05 µg/cm², KGH gel B에서 16.92 µg/cm², KGH gel D에서 11.8 µg/cm²의 순으로 나타났으며, KGH gel B와 D에서 geniposide의 투과율이 낮아진 것은 가수분해소에 의하여 대부분 genipin으로 전환된 것으로 사료된다(Fig. 2).

한편 genipin의 8시간 후 총 투과량을 비교해 보면 KGH gel B에서 50.17 µg/cm²로써 가장 높은 투과량을 나타내었고, KGH gel D에서 35.50 µg/cm²로 비교적 높은 수치를 보여주었으며 KGE gel A, C는 각각 9.81 µg/cm² 및 5.95 µg/cm²로써 투과량이 아주 저조하였다(Fig. 3).

3. 치주낭 감소율 측정

KGE gel A 및 KGH gel B의 치주낭 감소율을 알아보기 위하여 치주낭의 깊이가 5 mm 이상의 치주염 환자를 대상으로 임상실험을 시행한 결과 대조군에서 4주 후 4.30 mm로 약 16%의 감소율을 보인 반면 그룹 A에서는 3.96 mm로 약 24%의 감소율을 나타내었으나 유의성은 없었고, 그룹 B에서는 3.76 mm로 약 29%의 감소율을 나타내어

Table 3. Comparison of probing depth of KGE, KGH gels under various periodontitis (mean ± SD)

Group	N	weeks (mm)			
		0	1	2	4
Control	3	5.13 ± 0.31	4.90 ± 0.36	4.53 ± 0.25	4.30 ± 0.30
A	3	5.20 ± 0.20	4.83 ± 0.15	4.40 ± 0.36	3.96 ± 0.35
B	3	5.33 ± 0.15	4.83 ± 0.20	4.26 ± 0.30	3.76 ± 0.25*

주) Control: 비치치 그룹
 A: KGE gel A를 도포한 치주염 환자
 B: KGH gel B를 도포한 치주염 환자
 *: Compared to difference of Control between B by the t-test, p < 0.05

대조군에 비해 유의성 있는 결과를 보여주었다(Table 3). 이것은 Minabe 등¹⁵⁾의 tetracycline 함유 glutaraldehyde film 제제를 치주낭 부위에 삽입한 결과 교차결합 된 strip제제에서 더 우수한 치주낭 감소효과를 가져온 연구와 일치되는 것으로 나타났다.

만성치주염의 특징적인 증상으로 형성되는 치주낭은 하부 지지조직 즉 치조골을 파괴시키는 과정에서 중요한 기시점으로 알려져 있으며¹⁴⁾, 한번 형성된 치주낭은 회복되는데 많은 시간이 걸리고 치조골의 상실로 인한 깊은 치주낭은 회복되기가 어려우며 재발의 위험성이 크다. 치주염의 치료를 위해서는 치은열구액내의 프로스타그란딘 E2의 생성을 저해시키고, 치주인대의 결합조직을 강화시키며 치조골 파괴를 좀더 저지시킬 수 있다면 치주염 예방과 완화 및 치료에 도움을 줄 것이다. 따라서 본 연구는 치주염완화제로서 소염진통제인 케토롤락트르메타민을 이용하여 치주염 치료에 대한 약효와 치자엑스 가수분해물 제제인 genipin의 천연 교차결합메카니즘을 이용하여 하이드로겔 제제로 제조함으로써 치주염환자가 scaling, root planing 등의 물리적 치료를 받은 후에 질환부위에 적용함으로써 진행방지와 치료에 대한 효과를 기대하였다. 그러나 케토롤락트르메타민은 현재 국내에서 소염진통제로써 경구 투여와 근육내 주사 등의 용도로 주로 사용되고 있으며¹⁶⁾, 구강 내 질환 치료의 목적으로는 개발되어 있는 제제가 없다고 하겠다. 이에 따라 본 연구에서는 케토롤락트르메타민을 질환부위에 국소적으로 직접 적용함으로써 약물의 침투효과를 기대하였고 치은열구액내의 농도를 더 높일 수 있는 개발을 시도하였으며, 그 결과 케토롤락트르메타민이 함유된 genipin을 하이드로겔 제제로 하여 치주낭 부위에 도포할 경우 항염 및 진통의 효과, 치조골의 재흡수 억제 및 genipin의 교차결합으로 인한 효과적인 치주염완화제로 작용할 수 있을 것으로 기대한다. 본 연구의 실험에 대한 한계사항으로는 구강점막 국소도포제에 대한 약물투과실험을 hairless mouse를 사용하여 접막이 아닌 피부 투과실험을 하였으며 약물전달시스템에 차이가 있을 것으로 보아 계속적인 연구방법이 필요할 것으로 사료된다.

요 약

소염진통제인 케토롤락트르메타민에 치자엑스 복합제제를 혼합하여 4종의 하이드로겔 제제를 제조한 후 인장강도측정, 피부투과 및 치주낭 감소율측정 실험을 통해 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 제제의 인장강도는 KGH gel B에서 대조군에 비하여 3.5배 정도 높은 인장강도를 나타내었다.
2. 케토롤락트르메타민의 피부투과량은 8시간 동안 KGH gel B에서 105.62 µg/cm²로 가장 높았고, geniposide 투과량은 KGE gel A에서 73.80 µg/cm² 비교적 높았으나 가수분해물인 genipin의 투과량은 KGH gel B에서 50.17 µg/cm² 가장 높은 투과량을 나타내었다.
3. 치주낭 감소율은 4주 후 KGE gel A는 대조군에 비하여 23.85%의 감소율을 나타내었으나 유의성 있는 차이는 나타내지 못하였으며, KGH gel B는 대조군에 비하여

29.46%의 감소율을 보여 유의성 있는 치료효과를 나타내었다.

참고문헌

1. Offenbacher S, Heasman PA, Collins JG: Modulation of Host PGE2 secretion as a determinant of periodontal disease expression. *J Periodontol* 64: 432-444, 1993.
2. Socransky SS, Haffafee AD, eugini MA, Smith C, Dent Jr RL: Microbial complexes in subgingival plaque. *J Clin Periodontol* 25: 134-144, 1998.
3. Kelm GR, Buchanan W, Meredith MP, Offenbacher S, Mankodi SM, Dobrozi DJ, Bapat NV, Collins JG, Wetmeyer KR, Eichhold TH, Doyle MJ: Evaluation of ketorolac concentrations in plasma and gingival crevicular fluid following topical treatment with oral rinses and kentifrices. *J Pharm Sci* 85(8): 842-847, 1961.
4. Cetin EO, Budunneli N, Atlihan E, Kirilmaz L: In vitro studies of a degradable device for controlled-release of meloxicam. *J Clin Periodontol* 32(7): 773-777, 2005.
5. Williams RC, Meffcoat MK, Howell TH, Rolla A, Stubbs D, Teoh KW, Reddy MS, Goldhaber P: Altering the progression of human alveolar bone loss with the non-steroidal anti-inflammatory drug flurbiprofen. *J Periodontol* 60(9): 485-490, 1989.
6. Buckley MMT, Brogden RN: Ketorolac, A review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties and therapeutic potential. *Drug* 39: 86-109, 1990.
7. Jeffcoat MK, Reddy MS, Hasigh S, Buchanan W, Doyle MJ, Meredith MP, Nelson LL, Goodale MB, Wehmeyer KP: A comparison of topical ketorolac, systemic flurbiprofen, and placebo for the inhibition of bone loss in adult periodontitis. *J Periodontol* 66(5): 529-337, 1995.
8. Kawata Y, Hattori M, Akao T, Kobashi K, Namba T: Formation of nitrogen containing methbolites from geniposide and gardenoside by human intestinal bacteria. *Planta Med* 57: 536-542, 1991.
9. Fujikawa S, Yokota T, KOGA K, Kumada JI: The continuous hydrolysis of geniposide to genipin using immobilized β -glucosidase on Calcium alginate gel. *Biotechnology Letters* 9(10): 697-702, 1987.
10. Sung HW, Huang RN, Huang LLH, Tsai CC, Chiu CT: Feasibility study of a natural crosslinking reagent for biological tissue fixation. *J Biomechanical Materials Res* 42(4): 560-567, 1998.
11. Lynn LH, Sugn HW, Tsai CH, Huang DM: Biocompatibility study of a biological tissue fixed with a naturally occurring crosslinking reagent. *J Biomed Mater Res* 42(4): 568-576, 1998.
12. Sung HW, Chen CN, Huang RN, Hsu JC, Chang WH: In vitro surface characterization of a biological patch fixed with naturally occurring crosslinking agent. *Biomaterials* 21(13): 1353-1362, 2000.
13. Barry BW: *Dermatological Formulations*, Marcel Dekker, New York, pp. 49-94, 1983.
14. Chio SJ: The clinical and microbiological effects of minocycline-loaded polycaprolactone strip on periodontal disease, 경희대학교 대학원 석사학위논문. 1993.
15. Minabe M, Uematus A, Nishijima K, Tomomatsu E, Tamura T: Application of a local drug delivery system to periodontal therapy: 1. Development of collagen preparations with immobilized tetracycline. *J Periodontol* 60(2): 113-117, 1988.
16. Lee YS, Oh HS, Kim HH, Lee KP: Effects of L-Menthol on the percutaneous absorption of ketorolac tromethamine across human cadaver skin. *Yakhak Hoeji* 44(6): 595-600, 2000.

(Received August 1, 2005; Accepted August 29, 2005)

