

(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2009-0092520
(43) 공개일자 2009년09월01일

(51) Int. Cl.
A61K 8/20 (2006.01) A61K 8/72 (2006.01)
A61Q 11/00 (2006.01)
(21) 출원번호 10-2008-0017813
(22) 출원일자 2008년02월27일
심사청구일자 2008년02월27일

(71) 출원인
연세대학교 산학협력단
서울 서대문구 신촌동 134 연세대학교
(72) 발명자
김광만
경기 고양시 일산구 일산동 현대홈타운2차아파트
208-1405
노지연
경기 성남시 분당구 이매동 이매촌동신9단지아파트
908-1204
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
특허법인다나

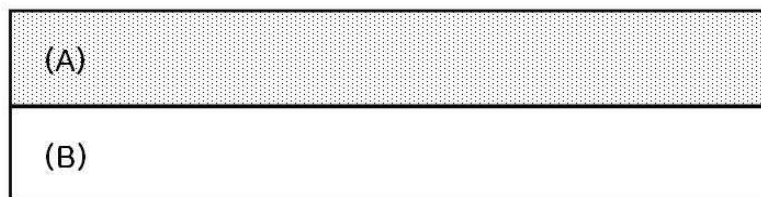
전체 청구항 수 : 총 18 항

(54) 치아우식 예방용 일방향성 불소 방출 스트립 및 그제조방법

(57) 요약

본 발명은 치아우식 예방용 일방향성 불소 방출 스트립 및 그 제조방법에 관한 것으로, 보다 상세하게는 지지층 및 상기 지지층 상에 형성된 불소함유층을 포함하고 있어, 불소함유층이 치아에 부착하여 치아 쪽 일 방향으로만 불소가 방출되어 만 3세 이하의 영유아의 치아우식을 예방할 수 있는 불소 방출 스트립 및 그 제조방법에 관한 것이다.

대표도 - 도1



(72) 발명자

김경남

경기 성남시 분당구 수내동 76 푸른마을 506-1002

이용근

서울 서초구 잠원동 한신아파트 338동 1102호

특허청구의 범위

청구항 1

지지층; 및

상기 지지층 상에 형성된 불소함유층을 포함하는 치아우식 예방용 불소방출 스트립.

청구항 2

제1항에 있어서,

지지층은 소수성 고분자를 포함하는 것을 특징으로 하는 치아우식 예방용 불소방출 스트립.

청구항 3

제2항에 있어서,

소수성 고분자는 폴리비닐아세테이트, 알킬셀룰로오즈, 폴리알킬(메타)아크릴레이트, 폴리비닐피롤리돈, 폴리에틸렌 옥사이드, 폴리프로필렌 옥사이드, 플로닉, (메타)아크릴산 공중합체, 셀룰로오즈 아세테이트 프탈레이트, 및 셀락(Shellac)으로 이루어진 그룹으로부터 선택된 1종 이상인 것을 특징으로 하는 치아우식 예방용 불소방출 스트립.

청구항 4

제1항에 있어서,

지지층은 소수성 고분자 100 중량부에 대하여 20 내지 40 중량부의 가소제를 추가로 포함하는 것을 특징으로 하는 치아우식 예방용 불소방출 스트립.

청구항 5

제4항에 있어서,

가소제는 DBP(dibutyl phthalate) 및 DOP(dioctyl phthalate)로 이루어진 그룹으로부터 선택된 1종 이상인 것을 특징으로 하는 치아우식 예방용 불소방출 스트립.

청구항 6

제1항에 있어서, 불소함유층은

불소; 및

불소를 봉입하고, 방출할 수 있는 약물전달체를 포함하는 것을 특징으로 하는 치아우식 예방용 불소방출 스트립.

청구항 7

제1항에 있어서,

불소함유층의 불소 함량은 $3 \times 1\text{cm}^2$ 당 0.1 내지 0.5 mg인 것을 특징으로 하는 치아우식 예방용 불소방출 스트립.

청구항 8

제6항에 있어서,

약물전달체가 친수성 고분자인 것을 특징으로 하는 치아우식 예방용 불소방출 스트립.

청구항 9

제8항에 있어서,

친수성 고분자는 HPMC((hydroxypropyl)methyl cellulose), 폴리알킬비닐 에테르-말레인산 공중합체(PVM/MA

copolymer), 폴리비닐 알콜, 폴리아크릴산, Poloxamer407(Pluronic), 폴리비닐 피롤리돈-비닐 아세테이트 공중합체(PVP/VA copolymer), 폴리비닐피롤리돈(PVP), 폴리쿼터늄-11(Polyquaternium-11), 폴리쿼터늄-39(Polyquaternium-39), 카보머, 카보필, 하이드록시알킬셀룰로오즈, 젤라틴(gelatin) 및 알긴산염으로 이루어진 그룹으로부터 선택된 1종 이상인 것을 특징으로 하는 치아우식 예방용 불소방출 스트립.

청구항 10

제8항에 있어서,

약물전달체가 친수성 고분자 100 중량부에 대하여 15 내지 20 중량부의 가소제를 추가로 포함하는 것을 특징으로 하는 치아우식 예방용 불소방출 스트립.

청구항 11

제10항에 있어서,

가소제는 프로필렌글리콜, 글리세린, 폴리에틸렌글리콜, 캐스터 오일(caster oil) 및 수소화 캐스터 오일(hydrogenated caster oil)로 이루어진 그룹으로부터 선택된 1종 이상인 것을 특징으로 하는 치아우식 예방용 불소방출 스트립.

청구항 12

지지층을 제조하는 제1단계; 및

상기 지지층 상에 불소함유층을 형성하는 제2단계를 포함하는 치아우식 예방용 불소방출 스트립의 제조방법.

청구항 13

제12항에 있어서,

제1단계는 용매 100 중량부에 대하여 1 내지 10 중량부의 소수성 고분자 및 소수성 고분자 100 중량부에 대하여 20 내지 40 중량부의 가소제를 혼합하여 고분자 용액을 제조하는 단계; 및

상기 고분자 용액을 40 내지 60℃의 온도 조건에서 건조시키는 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 치아우식 예방용 불소방출 스트립의 제조방법.

청구항 14

제13항에 있어서,

소수성 고분자는 폴리비닐아세테이트, 알킬셀룰로오즈, 폴리알킬(메타)아크릴레이트, 폴리비닐피롤리돈, 폴리에틸렌 옥사이드, 폴리프로필렌 옥사이드, 플로닉, (메타)아크릴산 공중합체, 셀룰로오즈 아세테이트 프탈레이트, 및 셀락(Shellac)로 이루어진 그룹으로부터 선택된 1종 이상인 것을 특징으로 하는 치아우식 예방용 불소방출 스트립의 제조방법.

청구항 15

제13항에 있어서,

가소제는 DBP(dibutyl phthalate) 및 DOP(dioctyl phthalate)로 이루어진 그룹으로부터 선택된 1종 이상인 것을 특징으로 하는 치아우식 예방용 불소방출 스트립의 제조방법.

청구항 16

제12항에 있어서,

제2단계는 용매 100 중량부에 대하여 1 내지 10 중량부의 친수성 고분자 및 친수성 고분자 100 중량부에 대하여 15 내지 20 중량부의 가소제 및 불소를 혼합하여 고분자 용액을 제조하는 단계; 및

상기 고분자 용액을 상기 지지층 상에서 건조시키는 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 치아우식 예방용 불소방출 스트립의 제조방법.

청구항 17

제16항에 있어서,

친수성 고분자는 폴리알킬비닐 에테르-말레인산 공중합체(PVM/MA copolymer), 폴리비닐 알콜, 폴리아크릴산, Poloxamer407(Pluronic), 폴리비닐 피롤리돈-비닐 아세테이트 공중합체(PVP/VA copolymer), 폴리비닐피롤리돈 (PVP), 폴리쿼터늄-11(Polyquaternium-11), 폴리쿼터늄-39(Polyquaternium-39), 카보머, 카보필, 하이드록시알 킬셀룰로오즈, 젤라틴(gelatin) 및 알긴산염으로 이루어진 그룹으로부터 선택된 1종 이상인 것을 특징으로 하는 치아우식 예방용 불소방출 스트립의 제조방법.

청구항 18

제16항에 있어서,

가소제는 프로필렌글리콜, 글리세린, 폴리에틸렌글리콜, 캐스터 오일(caster oil) 및 수소화 캐스터 오일 (hydrogenated caster oil)로 이루어진 그룹으로부터 선택된 1종 이상인 것을 특징으로 하는 치아우식 예방용 불소방출 스트립의 제조방법.

명세서

발명의 상세한 설명

기술 분야

- <1> 본 발명은 치아우식 예방용 일방향성 불소 방출 스트립 및 그 제조방법에 관한 것으로, 보다 상세하게는 지지층 및 상기 지지층 상에 형성된 불소함유층을 포함하고 있어, 불소함유층이 치아에 부착하여 치아 쪽 일 방향으로 만 불소가 방출되어 만 3세 이하의 영유아의 치아우식을 예방할 수 있는 불소 방출 스트립 및 그 제조방법에 관한 것이다.

배경 기술

- <2> 치아우식증은 수산화인회석이 치태 내 산에 의해서 파괴되는 광질 이탈 현상으로 치아의 경조직에 발생한다. 사람이 일생을 살면서 한번은 이행될 수 있는 가능성이 있는 질환으로 치통과 치아손실을 동반하며, 치아가 파괴 될 때까지 진행되는 질환이다. 치아우식증은 초기에 예방이 가능하고 잠정적으로 완치가 가능할 수 있다.
- <3> 이러한 치아우식증 중, 우유병우식증과 다발성우식증은 유아에 집중적으로 발생하는 특이질환이다. 우유병우식 증(nursing bottle caries)은 2세 이하 유아의 상악 4전치에 흔히 이환되는 질환으로서 진행이 매우 빠르다. 이러한 질환을 앓고 있는 유아들은 모유를 먹지 않는 경우 우유병을 입에 물고 잠드는 습관이 있는 경우가 많고, 모유를 먹는 유아들 중에서는 이유기가 늦거나 고무젖꼭지를 설탕, 꿀 또는 시럽 등에 자주 담근 후 사용한 유아인 경우가 대부분이다. 다발성우식증(rampant caries)의 경우 다수의 치아가 갑자기 빠르게 우식이 이환되어 파괴되는 현상이며 나이가 유치열과 영구치열기 모두에서 하악 전치부 이외의 부분이 맹출 되는 순서에 따라 이 환되는 양상을 보이며 이러한 현상은 청소년기까지 이어진다. 이렇듯 우유병우식증과 다발성우식증은 수복과 예방적인 측면에서 매우 어려운 증상 중 하나이다.
- <4> 유아기에 발생하는 치아우식증은 유아의 건강에 중대한 위협이 되고 있으나 유치는 교체할 치아라는 부모들의 인식과 우식증이 발생했을 경우의 대처방법이 부족하여 실제로 많은 유아들이 위협에 노출되어 있다. 유치가 조기 상실되었을 경우 저작능력에 문제가 있고, 영양결핍과 발음 영구 치배 손상 및 공간유지에 문제를 유발시켜 맹출 장애를 일으킬 수 있으며 또한 사회성이 결여되는 정신적인 문제를 일으킬 수 있다. 따라서 유치의 조기상 실을 예방하는 것은 매우 중요한 일이며 이러한 현실에서 유아의 치아우식증을 예방하기 위해 안전하면서 효과적인 방법으로 접근 할 수 있어야 한다.
- <5> 치아우식증을 예방하기 위한 대표적인 방법으로는 치면 세균막 관리법, 불소이용법, 치면열구전색법, 식이 조절 법을 들 수 있다. 그 중에 1938년 Dean이 음료수 중 불소이온농도와 우식발생이 역비례 한다는 연구를 시작으로 치아우식증 예방에 불소를 이용하는 많은 연구를 진행하게 되었다. 불소는 치질의 탈회를 억제하고 재광화를 증 진시킴으로써 건전한 치아나 우식이 진행된 치아에 우식 예방효과를 나타낸다. 즉, 불소이온이 치아 표면 법랑 질에 작용하여 법랑질 수산화인회석 결정의 수산기와 치환되면 인회석 결정을 안정화시키고, 따라서 치질의 내 산성을 증가시켜 치아우식을 예방하게 되는 것이다. 불소를 법랑질 형성시기에 복용하면, 법랑질의 불소이온농

도가 높아져 내산성이 증가하고 우식발생을 억제하게 되는데, 이와 더불어 보조수단으로 개발된 것이 불소도포법이다. 불소도포법은 치아맹출 후에 고농도의 불소용액을 치면에 도포하여 법랑질의 불소이온농도를 높임으로써 우식증을 예방하는 방법으로, 구강보건 전문 인력이 직접 치아에 도포하는 전문가 불소도포방법이 먼저 개발되었다. 그리고 더욱 많은 사람들에게 불소를 국소 도포하여 치아우식증 예방효과를 얻기 위해 전문가의 도움 없이 본인 스스로가 손쉽게 도포할 수 있는 방법을 모색하게 된 결과 불소함유 세치제 및 불소용액 양치방법이 개발되었다.

<6> 그러나, 만 3세 이하의 유아들은 치과를 방문하는 것 자체가 매우 버거운 일이고, 보호자의 인식에 의해 많이 좌우되기 때문에 예방이 잘 이루어 지지 않고 있는 실정이다. 뿐만 아니라, 양치한 물을 잘 뱉지 못하기 때문에 가정 내 불소도포 방법인 불소배합 세치제를 사용하거나 불소용액 양치법 등을 원활히 사용하기 어려워 좀 더 효과적인 방법을 모색해야 할 필요성이 대두하고 있다.

<7> 우선 3세 이하의 아동의 치아우식증을 예방하기 위해 가정에서 쉽게 불소를 보충해 줄 수 있는 방법에 초점을 맞추어 보면 불소 보조제(supplement)를 섭취하는 방법이 있다. 불소 보조제는 용액 또는 고체 형태로 사용되고 있으며 비타민과 같이 타블렛(tablet) 형태로 제조되어 유아들이 큰 어려움 없이 섭취가 가능하다. 더 나아가 우유, 소금 등 유아들이 쉽게 섭취할 수 있는 식품에 첨가하여 불소 보조제와 같은 역할을 하는 다양한 제품들이 제조되어 판매되고 있다. 하지만 이 방법에도 한계는 있다. 가정에서 쉽게 섭취할 수 있는 반면 유치의 법랑질은 대부분 태중에서 형성되기 때문에 유치 우식증의 예방에는 불소를 복용하는 방법보다 불소도포법이 효과적이라는 견해가 지배적이며, 일반적으로 효과적인 치아우식 예방을 위해서는 불소와 치아표면이 접촉하는 시간이 있어야 한다.

<8> 따라서, 가정에서 쉽게 행해질 수 있고 안전한 불소의 양을 갖고 있으며 치아와 접촉하는 시간을 가질 수 있는 치아에 부착하는 모델로 불소를 적용시키는 방법이 필요한 실정이다.

발명의 내용

해결 하고자하는 과제

<9> 본 발명의 목적은 불소가 치아방향으로만 방출되도록 하여 치아우식증을 효과적으로 예방할 수 있는 불소함유층을 함유한 불소방출 스트립(strip) 및 그 제조방법을 제공하는 것이다.

과제 해결수단

<10> 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은

<11> 지지층; 및

<12> 상기 지지층 상에 형성된 불소함유층을 포함하는 치아우식 예방용 불소방출 스트립을 제공한다.

<13> 본 발명은 또한

<14> 지지층을 제조하는 제1단계; 및

<15> 상기 지지층 상에 불소함유층을 형성하는 제2단계를 포함하는 치아우식 예방용 불소방출 스트립의 제조방법을 제공한다.

효 과

<16> 본 발명에 따르면, 소수성의 지지층과 친수성의 점착성 불소함유층으로 이루어진 스트립은 친수성과 소수성의 다른 성질을 지니고 있어, 타액에 의해 스트립 내의 약물이 불필요하게 씻겨나가는 것을 피하고, 치아 쪽으로 한 방향으로만 방출되어 나오는 약물 전달이 가능하다.

<17> 또한, 본 발명의 스트립은 불소를 섭취하는 양보다 치아에 집중적, 상대적인 고농도로 전달이 되어 치아우식증을 효과적으로 예방할 수 있다.

발명의 실시를 위한 구체적인 내용

<18> 이하, 본 발명의 구성을 구체적으로 설명한다.

<19> 본 발명은

- <20> 지지층; 및
- <21> 상기 지지층 상에 형성된 불소함유층을 포함하는 치아우식 예방용 불소방출 스트립에 관한 것이다.
- <22> 상기 지지층은 불소를 방출 또는 투과하지 않는 소수성 고분자를 포함하는 것이 바람직하다.
- <23> 상기 소수성 고분자는 약물이 타액에 의해 씻겨나가는 것을 피하고, 양방향성이 아니라 치아 쪽 한 방향으로만 불소가 방출될 수 있도록 소수성의 충분한 유연성을 갖는 무독성, 비자극성 및 비감작성의 고분자 화합물이라면 특별히 제한하지는 않으며, 보다 바람직하게는, 폴리비닐아세테이트; 에틸셀룰로오스 등과 같은 알킬셀룰로오스; 폴리메틸메타크릴레이트 등과 같은 알킬(메타)아크릴레이트; 폴리비닐피롤리돈; 폴리에틸렌옥사이드; 폴리프로필렌옥사이드; 플로닉류; 메타크릴로일에틸 베타인/메타크릴레이트 공중합체(Yukaformer: 제조회사 Mitsubishi, methacryloylethyl betain/methacrylate copolymer), 메타크릴산 공중합체(methacrylic acid copolymers; Eudragit L 100, Eudragit L 125, Eudragit L 100-55, Eudragit L 30D-55), 아미노알킬메타크릴레이트 공중합체(aminoalkylmethacrylate copolymers; Eudragit E 100, Eudragit E 125, Eudragit RL 100, Eudragit RL 30D) 등과 같은 메타크릴산 공중합체; 셀룰로오스 아세테이트 프탈레이트; 또는 셀락(Shellac)으로 이루어진 그룹으로부터 선택된 1종 이상을 사용할 수 있다. 그 외에도 장용성 코팅(enteric coating) 물질로 사용되는, pH 6 내지 8 사이의 구강 조건 내에서는 녹지 않는 고분자 물질이라면 제한 없이 사용 가능하다.
- <24> 상기 소수성 고분자는 지지층 제조를 위한 총 조성물 100 중량부에 대하여 1 내지 10 중량부로 포함되는 것이 바람직하다. 상기 함량이 1 중량부 미만일 때는 지지층으로서 견딜만한 인장력을 지니지 못하여, 예를 들어 스트립을 만드는 과정 중 캐스팅 후에 찢어질 수 있고, 10 중량부를 초과할 경우 인성(toughness)가 증가하고 연성(flexibility)이 감소하여 치아 부착 층과 분리가 쉽게 일어날 수 있고, 구강 내에 적용하였을 경우 이물감이 커진다.
- <25> 또한, 상기 지지층은 고분자의 물리적인 성질을 보다 향상시키기 위해 소수성 고분자 100 중량부에 대하여 20 내지 40 중량부의 가소제를 추가로 포함할 수 있다. 상기 함량이 20 중량부 미만일 경우 스트립의 연성 등 고분자의 물리적 성질이 떨어질 우려가 있고, 40 중량부를 초과하면, 독성이 나타날 우려가 있다.
- <26> 상기 가소제는 DBP(dibutyl phthalate), 또는 DOP(dioctyl phthalate) 등을 단독 또는 2종 이상 사용할 수 있다.
- <27> 또한, 상기 불소함유층은
- <28> 불소; 및
- <29> 불소를 봉입하고, 방출할 수 있는 약물전달체를 포함하는 것이 바람직하다.
- <30> 상기 불소의 함량은 3세 이하의 영유아가 복용해도 안전한 하루 불소의 양 0.25mg을 고려하여 $3 \times 1\text{cm}^2$ 당 0.1 내지 0.5 mg의 불소가 포함되는 것이 바람직하다.
- <31> 또한, 상기 약물전달체는 불소를 봉입하고 방출할 수 있는 소재라면 제한 없이 사용할 수 있으나, 불소함유층이 치아에 부착할 수 있도록 점착성이 있는 친수성 고분자인 것이 바람직하다. 또한 불소 함유층 자체에 점착성이 없는 경우 불소의 투과가 가능한 점착층을 불소 함유 층 상에 형성시킬 수도 있다.
- <32> 상기 친수성 고분자는 친수성 수용체로서 중요한 역할을 하는데, 섭취가 가능하고 필름형성 능이 좋고 충분한 물리적인 강도를 가지며 생분해성 가능한 고분자 화합물이라면 특별히 제한하지는 않는다. 바람직하게는, 폴리알킬비닐에테르-말레인산 공중합체(PVM/MA copolymer, Gantrez AN 119, AN 139 및 S-97), 폴리비닐알콜, 폴리아크릴산, Poloxamer 407(Pluronic), 폴리비닐피롤리돈-비닐아세테이트 공중합체(PVP/VA copolymer; Luviskol VA 및 Plasdone S PVP/VA), 폴리비닐피롤리돈(PVP, K-15~K-120), 폴리쿼터늄-11(Polyquaternium-11, Gafquat 755N), 폴리쿼터늄-39(Polyquaternium-39, Merquatplus 3330), 카보머(카보폴), 카보필, 하이드록시프로필메틸셀룰로오스, 하이드록시에틸셀룰로오스, 하이드록시프로필셀룰로오스와 같은 하이드록시알킬셀룰로오스, 젤라틴(gelatin) 또는 알긴산나트륨(sodium alginate)과 같은 알긴산염을 단독 또는 2종 이상 사용하는 것이 좋다.
- <33> 상기 점착성 고분자는 불소함유층 제조를 위한 총 조성물 100 중량부에 대하여 1 내지 10 중량부로 포함되는 것이 바람직하다. 상기 함량이 1 중량부 미만일 때는 흐름성이 크고 치아 부착시에 이동이 있을 수 있고, 10 중량부를 초과할 때는 발림성이 좋지 않고 casting/evaporation 제작과정에 있어서 불소를 고루 분배하지 못한다.

- <34> 또한, 불소함유층은 친수성 고분자의 물리적인 성질을 보다 향상시키기 위해 친수성 고분자 100 중량부에 대하여 15 내지 20 중량부의 가소제를 추가로 포함할 수 있다. 상기 함량이 15 중량부 미만일 때는 스트립의 연성 등 고분자의 물리적 성질이 떨어질 우려가 있고, 20 중량부를 초과하면, 독성이 나타날 우려가 있다.
- <35> 상기 가소제는 프로필렌글리콜, 글리세린, 폴리에틸렌글리콜 외에도, 사용 용매에 따라 캐스터 오일(caster oil)이나 수소화 캐스터 오일(hydrogenated caster oil) 등을 단독 또는 2종 이상 사용할 수 있다.
- <36> 따라서, 본 발명의 두 고분자 층으로 이루어진 스트립은 친수성과 소수성의 다른 성질을 지니고 있어, 타액에 의해 스트립 내의 약물이 불필요하게 씻겨나가는 것을 피하고, 치아 쪽으로 한 방향으로만 방출되어 나오는 약물 전달이 가능하다. 이러한 구조는 불소를 섭취하는 양보다 치아에 집중적, 상대적인 고농도로 전달이 되어 치아우식증을 효과적으로 예방할 수 있다.
- <37> 본 발명은 또한
- <38> 지지층을 제조하는 제1단계; 및
- <39> 상기 지지층 상에 불소함유층을 형성하는 제2단계를 포함하는 치아우식 예방용 불소방출 스트립의 제조방법에 관한 것이다.
- <40> 본 발명의 치아우식 예방용 불소방출 스트립은 casting/solvent evaporation technique를 사용하는 제조하는 것이 바람직하다. 보다 바람직하게는, 지지층과 불소함유층을 만들기 위한 약 5wt% 고분자 용액을 제조하고, 스트립 주형 틀에서 지지층을 제조하고, 완전 건조된 지지층 위에 불소함유층을 제조하여 이중 스트립을 제조하는 것이 좋다.
- <41> 상기 제1단계는 용매 100 중량부에 대하여 1 내지 10 중량부의 소수성 고분자 및 소수성 고분자 100 중량부에 대하여 20 내지 40 중량부의 가소제를 혼합하여 고분자 용액을 제조하는 단계; 및
- <42> 상기 고분자 용액을 40 내지 60℃의 온도 조건에서 건조시키는 단계를 포함하는 것이 바람직하다.
- <43> 상기 소수성 고분자 및 가소제의 종류는 상술한 바와 같다.
- <44> 상기 제2단계는 용매 100 중량부에 대하여 1 내지 10 중량부의 친수성 고분자 및 친수성 고분자 100 중량부에 대하여 15 내지 20 중량부의 가소제 및 불소를 혼합하여 고분자 용액을 제조하는 단계; 및
- <45> 상기 고분자 용액을 상기 지지층 상에서 건조시키는 단계를 포함하는 것이 바람직하다.
- <46> 상기 친수성 고분자 및 그 가소제의 종류는 상술한 바와 같다.
- <47> 이하, 본 발명의 이해를 돕기 위하여 바람직한 실시예를 제시하나, 하기 실시예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐 본 발명의 범위가 하기 실시예에 한정되는 것은 아니다.
- <48> <실시예 1> 이중 스트립의 제조
- <49> (지지층 및 불소함유층 제조를 위한 용액 제조)
- <50> 2개의 층으로 이루어진 스트립은 casting/solvent evaporation technique을 사용하여 제작하였다. 가소제를 포함한 지지층과 불소함유층을 각각 5wt% 고분자 용액으로 만들었다. 먼저, 지지층을 만들기 위해 5 g의 EC(Ethyl cellulose, Sigma chemical Co., No. E-8003, MO, USA)를 100 g의 EtOH(Ethyl alcohol 99.9%, Duksan Pure chemical Co. Ltd., South Korea)에 5시간 균질하게 혼합한 후, 가소제 DBP(Dibutyl phthalate 99%, Sigma-Aldrich chemical Co., MO, USA)를 EC고분자의 30%에 해당하는 만큼 넣고 또다시 혼합하였다.
- <51> 다음으로, 불소함유층을 만들기 위해 표 1의 각 실험군에 해당하는 불화나트륨(Sodium fluoride, Sigma chemical Co., No. S7920, MO, USA)을 100 g의 2차 증류수에 녹였다. 불화나트륨이 녹아있는 100 g의 2차 증류수에 HPMC((Hydroxypropyl)methyl cellulose, Sigma chemical Co., No. H-8384, MO, USA) 5 g을 녹여 40℃에서 24시간 균질하게 혼합하였다. 그리고 HPMC 고분자의 18%(w/w)에 해당하는 글리세린(Duksan Pure chemical Co. Ltd., South Korea)을 첨가해 다시 한 번 혼합하였다. HPMC 용액은 기포가 제거될 때까지 보관해 두었다가 사용하였다.
- <52> 상기 실험군은, 2-3세의 유아가 복용해도 안전한 하루 0.25 mg 불소의 양인 실험군 C를 기준으로 불소가 함유되지 않은 실험군 A, 불소가 절반 함유된 실험군 B 그리고 불소가 2배 함유된 실험군 D로 나누었다. 유아의 4전치에 적용을 하는 스트립으로 실험을 설계하였고, 이때 유치의 4전치 치관 평균 너비의 합이 대략 2.3cm (각각

5.1, 6.5, 6.5, 및 5.1mm)이 되고 평균 높이는 0.5cm이므로 실제 임상 적용을 하는 스트립이 $3 \times 1 \text{ cm}^2$ 이 되도록 하였다. 실험에 사용하기 전까지 데시케이터에 보관해 두었다.

표 1

실험군의 조성

실험군	$3 \times 1 \text{ cm}^2$ (mg)의 스트립 내 불소 함유량	105g HPMC 용액 내 불화나트륨 함량(mg)
A	0	0
B	0.125	117
C	0.25	231
D	0.50	465

(이중 스트립의 제조)

다음 순서로 스트립을 제작하였다. 지지층을 만들기 위해 지름 87mm 플라스틱 페트리디쉬($\approx 60 \text{ cm}^2$)에 5ml의 EC 용액을 부었다. 그리고 50℃ 건조 오븐에서 3시간 정도 건조시켰다[주형 면적= 59.41 cm^2 , 부피=5ml; 총 고형분 함량=0.25 ; 고분자에 대한 DBP 함량=30% (w/w); 고분자와 가소제의 혼합시간=5 시간].

완전히 건조된 EC지지층 위에 각 실험군 A, B, C, D의 불소가 함유된 HPMC 용액을 5 g 부었다. 그리고 공기 중에서 24시간 완전히 건조시켰다[주형 무게=5 g; 총 고형분 함량 =0.25 g; 고분자에 대한 글리세린 함량=18% (w/w 고분자와 가소제의 혼합시간=5 시간; 105 g HPMC 용액에 대한 불소 함량=0, 117, 231, 465 mg].

완성된 이중 스트립의 모식도는 도 1과 같다.

(치아시편의 준비)

우치의 전치를 악골에서 분리한 후에 치아의 치수를 제거하고, 법랑질의 편평한 부분을 다이아몬드 디스크(diamond disc)를 이용하여 $1 \times 1 \text{ cm}^2$ 정사각형 모형으로 치아를 잘라 충치가 없고 깨끗한 우치(牛齒)의 법랑질 치아시편을 준비하였다. 준비된 치아시편을 아크릴계 수지에 바닥과 평행하도록 포매한 후 수지가 굳으면 법랑질 표면을 600부터 800, 1200, 2000 그릿(mesh carborundum paper) 순서대로 연마하고 마지막 다이아몬드 페이스트(diamond paste)로 마무리한 후 30초간 초음파처리를 하였다. 그리고 실험에 사용하기 전까지 100% 습도를 유지하여 4℃ 온도에 보관하였다.

(탈회용액의 제조)

제작한 치아 시편의 법랑질 표면에 인공우식병소를 형성하기 위해 2.2mM CaCl_2 , 2.2mM NaH_2PO_4 , 50mM 아세트산을 2차 증류수에 혼합하여 pH 5.0이 되도록 조절하여 탈회용액을 제조하였다.

<실험예 1> 스트립 표면의 미세구조 관찰

두 층으로 제조한 스트립에서 EC지지층을 제거한 불소가 함유된 단일층 스트립 표면의 미세구조를 확인하기 위해 주사전자현미경(SEM; S2700, Hitachi, Japan)을 이용하여 5,000배와 10,000배에서 관찰하였다.

도 2에 나타난 바와 같이, 불소의 함유량이 증가할수록 스트립의 투명도는 감소하였으나, 불소가 함유량에 따른 스트립 표면의 미세구조는 차이가 없었다.

<실험예 2> 이중 스트립에서 방출되는 불소의 농도

(스트립에서의 방출되는 불소의 농도)

Ionplus fluoride standard 0.1M F⁻(Orion research Inc., No. 940906, MA, USA)을 희석하여서 0.019, 0.19, 1.9, 19 ppm으로 용액을 제조하여 표준을 잡았다. 스트립에서의 불소 방출량을 알아보기 위해서 각 실험군 A, B, C, D 스트립을 2 ml의 PBS(Phosphate Buffered Saline pH 7.4, Gibco BRL, InvitrogenTM, MD, USA)에 침지시켰다. 30분, 1, 3, 5시간 간격으로 불소이온을 측정하였다. 이온 측정 시에는 위의 PBS 용액과 TISAB II(Orion research Inc., No. 940909, MA, USA)를 1 : 1로 혼합하고 불소 Ion Selected Electrode(Orion Model

720A pH/ISE Meter)을 이용하여 불소이온농도를 측정하였다. 불소이온 측정 후에는 기존의 PBS를 제거한 후 새로운 용액으로 교체해 주었다.

<68> 도 3에 나타난 바와 같이, 불소는 1시간 이내에 대부분이 방출되는 것을 확인할 수 있었고, 그 이후의 불소방출은 확인되지 않았다. 실험군 B, C와 D에서 30분과 1시간 사이에 측정된 불소 농도에 유의한 차이가 있었고 ($p<0.05$) 그 이후의 방출된 불소 측정값 사이에는 유의한 차이가 없었다($p>0.05$).

<69> (부착된 상태에서 방출되는 불소의 농도)

<70> 스트립이 치아에 부착된 상태로 EC지지층 방향에서 PBS 내로 방출되는 불소의 농도를 측정하기 위해, 스트립을 치아시편에 부착하여 PBS에 침지시킨 후 30분, 1, 3, 5시간 간격으로 채취한 PBS 용액과 TISAB II를 1:1 혼합하고 방출된 불소의 농도를 측정하였다.

<71> 도 4 및 도 5에 나타난 바와 같이, PBS내로 방출된 불소의 농도는 각 시간대별로 도 3의 스트립에서 방출되는 농도보다 유의하게 적었다($p<0.05$). 치아에 부착된 스트립의 불소 측정하는 동안 스트립은 6시간까지는 안전하게 부착되어 있었고, 12시간이 지나자 스트립 가장 자리부터 벌어지며 24시간이 지나면서 절반 이상의 스트립이 PBS에 부유되는 것을 확인하였다.

<72> 따라서, 상기의 결과로부터 임상적인 상황을 고려할 경우, 스트립을 유치에 부착하는 시간을 조절할 수 있다.

<73> 또한, 유아의 취침시간 동안 부착하는 것이라면 타액의 흐름이 적어 스트립이 떨어질 위험도 적고 유아가 스트립을 거부하는 것도 방지할 수 있다.

<74> <실험예 3> 치아시편의 경도변화

<75> 본 발명의 스트립의 우식 재광화 효과를 관찰하기 위해 우치에 인공우식병소를 형성한 후 임상 상황과 유사하게 모사하였다. 이를 위해, 치아시편은 탈회용액으로 표면을 탈회시켰고 재광화 효과를 관찰하기 위해서는 비커스 경도를 측정하였다.

<76> (정상치아시편의 경도 측정)

<77> 아무 처리도 하지 않은 정상 치아시편의 표면에 경도를 측정할 점을 잡고 300g의 정하중을 10초간 가하여 시편 한 개당 3점씩 비커스 경도를 측정하였다.

<78> (인공우식 형성 후의 경도 측정)

<79> 제조한 탈회용액에 치아시편을 담그고 24시간 후 꺼내어 압축공기를 이용하여 치아시편의 표면을 건조시켰다. 시편에서 경도를 측정할 점을 잡고 300g의 정하중을 10초간 가하여 비커스 경도를 측정하였다.

<80> (스트립 적용 후의 경도 측정)

<81> 준비된 치아시편을 무작위로 골라서 5개의 그룹으로 나누었다. 치아에 스트립을 부착하기 위해 PBS에 침지 후 바로 꺼내어 실험군 A, B, C와 D를 각각 부착하였다. 플라스틱 코니칼 튜브(cornical tube)에 2 ml의 PBS를 넣고 스트립이 부착된 치아를 잠기게 하였다. 스트립이 부착된 치아는 5시간 동안 PBS에 침적시켜 두었다. 그리고 구강 내 조건과 동일한 37℃ 수조에서 보관하였다. 5시간이 지나면 PBS에 침적해둔 치아시편을 꺼내서 부착된 스트립을 제거하고, 치아 시편 당 3점씩 비커스 경도를 측정하였다. 스트립 부착 후의 경도변화를 다음 식을 이용하여 경도변화율을 계산하였다.

<82> $\text{Hardness enhancement} = \frac{VH_A - VH_D}{VH_D} \times 100(\%)$

<83> VH_A : 스트립 적용 후의 비커스 경도

<84> VH_D : 인공우식병소 형성 후의 비커스 경도

표 2

탈회 및 스트립 부착 후 비커스 경도

	탈회 전	탈회 후 VH_D	스트립 부착 후 VH_A	경도변화율(%)
PBS	335.73±43.79	39.94 ± 21.58	51.76±21.43	29.59
A		20.98 ± 9.69	41.53±12.35*	97.95
B		30.97 ± 15.33	89.90±32.80*	190.28
C		37.43 ± 36.23	119.28±30.40*	218.67
D		34.89 ± 19.31	105.87±23.80*	203.43

<85>

<86> 표 2에 나타난 바와 같이, 치아시편을 제작한 후 300 g의 10초 동안 비커스 경도를 측정한 결과 VHN 335.73±43.79였다.

<87> 탈회를 한 후 측정한 경도는 VHN 34.67±18.80이었다. 이값은 정상치아 시편과 비교하였을 때 두 결과 값 사이에는 통계학적 유의한 차이가 있었다(p<0.05).

<88> 그리고 실험을 위해 무작위로 5개의 군으로 나누었다. 무작위로 나눈 5개 군에서 탈회한 치아시편 간의 비커스 경도는 유의차가 없었다(p>0.05).

<89> 동일한 실험군 내에서의 스트립 부착 전·후의 경도는 PBS 군을 제외한 나머지 실험군에서 유의하게 상승하였다(P<0.05).

<90> 따라서, 상기와 같이 경도가 향상되는 것으로 보아 본 발명의 스트립은 재광화 시키는 효과가 있는 것으로 판단된다.

<91> <실험예 4> 치아시편 표면의 미세구조 분석

<92> 정상치아와 우식병소 형성 후 그리고 불소방출 스트립을 적용 후의 치아의 표면의 미세구조를 주사전자현미경을 이용하여 5,000배, 10,000배에서 관찰하였다.

<93> 도 6에 나타난 바와 같이, 탈회한 치아와 스트립 적용 전 후의 치아표면의 미세구조를 관찰한 결과, 탈회한 치아와 나머지 치아표면에서 차이가 보였다. 그리고 실험군 A에서는 탈회한 침상구조가 짧아졌고 나머지 실험군 B, C, D에서, 탈회된 침상이 부드러운 면으로 관찰되었으나 실험군 내에서의 차이는 관찰되지 않았다.

<94> 즉, 탈회된 대조군 치아시편과 실험군 사이에서의 법랑소주의 거친 경계가 다소 회복된 차이를 관찰할 수 있었다.

<95> <실험예 5> 한천중층시험(agar overlay test)을 이용한 단층 스트립의 세포독성시험

<96> 불소의 양이 유아의 안전성을 위해 중요시되는 만큼, 각 스트립의 독성여부도 매우 중요하기 때문에 세포독성시험을 실시하였다. 치아에 부착을 하는 모델에서는 세포에 직접적인 접촉이전에 법랑질 층을 두고 불소가 전달되는 임상조건을 모사하여, 이와 유사한 세포독성을 실행하기 위해 한천중층시험을 하였다.

<97> 시험에 앞서 음성대조군으로 슬라이드 글라스, 양성대조군으로 거터퍼처(gutter percha) 그리고 EC지지층과 단층으로 된 시험군 A, B, C, D를 5×5 mm² 크기로 잘라 E.O가스 멸균을 하였다.

<98> 쥐의 결합조직 섬유아세포(L-929)를 배양액과 혈청을 9 : 1 비율로 혼합한 배지에 배양하였다. 각 페트리디쉬에 위와 동일한 배지 10ml과 쥐의 섬유아세포(L-929)를 고르게 혼합하여 분주하고 24시간 배양하였다. 24시간 후, 세포가 페트리디쉬 바닥에 단층으로 배양되었는지 확인하고 그 위의 오래된 배지를 제거하였다. 그리고 단층으로 존재하는 세포 위에 배양액: 혈청: 한천을 4 : 1 : 5 비율로 혼합하여 방울이 생기지 않게 10ml씩 붓고 10분간 한천혼합액을 굳혔다. 한천혼합액이 굳으면 그 위에 한번 거른 희석된 neutral red 염색액을 10ml씩 붓고 세포 배양기에 넣어두었다. 1시간 후 염색액을 제거하고 미리 준비한 음성대조군, 양성대조군, EC지지층과 단층으로 된 실험군 A, B, C와 D 시편을 올렸다. 시편을 올린 후 24시간이 지나면 현미경으로 탈색된 영역과 세포사멸 영역을 확인하여 표 3에 제시된 규격에 따라 평가하였다.

<99> (통계분석)

통계처리는 SPSS Ver. 12.0을 이용하였고, 신뢰구간 95%로 하였다. 이중 스트립에서 방출되는 불소의 농도와 치아시편의 인공우식병소 형성 전·후 및 스트립 적용 후의 정도변화, MTT 독성평가를 일원분산분석(One Way ANOVA)을 사용하여 분석하였고 사후검정으로는 Tukey와 Duncan을 이용하여 검정하였다.

표 3

탈색 지수, 사멸 지수 및 반응 지수 기준

탈색지수	설명	
0	탈색이 검출안됨	
1	시료물질 하에서만 탈색됨	
2	시료물질로부터 5mm 정도의 탈색 영역 관찰됨	
3	시료물질로부터 10mm 정도의 탈색 영역 관찰됨	
4	시료물질로부터 10mm 이상의 탈색 영역 관찰됨	
5	총 배양이 탈색됨	
사멸지수	설명	
0	세포 사멸이 관찰되지 않음	
1	세포 사멸이 20% 이하	
2	세포 사멸이 20% 내지 40%	
3	세포 사멸이 40% 내지 60%	
4	세포 사멸이 60% 내지 80%	
5	세포 사멸이 80% 이상	
scale	반응지수*	설명
0	0/0	세포독성이 없음
1	1/1	약간 세포독성이 있음
2	2/2 - 3/3	어느 정도 세포독성이 있음
3	4/4 - 5/5	심각한 세포독성 있음

*: 반응지수 = 탈색지수/사멸지수

표 4

단층 스트립의 세포독성

	음성대조군		양성대조군		실험군	
		scale		scale		scale
BC	0/0	0	2/5	3	1/0	0
A	0/0	0	2/5	3	2/1	1
B	0/0	0	2/5	3	2/2	2
C	0/0	0	2/5	3	2/3	2
D	0/0	0	2/5	3	2/4	2

표 4에 나타난 바와 같이, 모든 음성대조군에서는 세포의 탈색과 사멸이 관찰되지 않아 세포독성을 보이지 않았다. 반면 모든 양성대조군에서는 2 정도에 해당하는 5mm 정도의 탈색이 관찰되었고, 탈색된 범위 안의 모든 세포가 80% 이상 사멸한 것으로 심각한 세포독성을 보였다. 지지층에 해당하는 EC에서는 재료주변의 약간의 탈색이 있었으나, 세포사멸은 없어서 세포독성을 보이지 않았고, 실험군 A에서는 5mm의 탈색과 20% 이내의 세포사멸로 경미한 세포독성이었다. 그리고 B, C, D에서는 5mm 정도의 탈색이 있었고, 실험군 D로 갈수록 세포의 탈색이 심했지만, 그에 비해 60% 내외의 세포사멸을 보여 중등도의 세포독성을 나타내었다.

<실험예 6> 한천중층시험을 이용한 이중 스트립의 세포독성실험

두 층으로 된 스트립을 5×5mm 크기로 잘라 E.O가스 멸균을 하였다. 상기 실험예 5와 동일한 방법으로 멸균된 슬라이드 글라스와 거터 퍼쳐(gutter percha)를 각각 음성대조군과 양성대조군으로 사용하였다. 세포를 단층으로 배양하고 그 위에 한천배양액을 붓고 굳힌다. 이중으로 된 실험군 A, B, C와 D스트립의 EC지지층이 한천을

향하도록 시편을 위치시켰다. 표 3에 따라 세포독성을 평가하였다.

표 5

이중 스트립의 세포독성

	음성대조군		양성대조군		실험군	
		scale		scale		scale
A	0/0	0	3/5	3	1/2	1
B	0/0	0	3/5	3	1/2	1
C	0/0	0	3/5	3	2/3	2
D	0/0	0	3/5	3	2/3	2

<107>

<108>

표 5에 나타난 바와 같이, 모든 음성대조군에서는 세포의 탈색과 사멸이 관찰되지 않아 세포독성을 보이지 않았다. 반면 모든 양성대조군에서는 3 정도에 해당하는 10mm 정도의 탈색이 관찰되었고, 탈색된 범위 안의 모든 세포가 80% 이상 사멸한 것으로 심각한 세포독성을 보였다. 실험군에서 EC지지층을 통한 스트립의 독성을 본 결과 A와 B에서는 경미한 독성을 보였고, C와 D에서는 중등도의 독성을 보였다.

<109>

<실험예 7> MTT(methylthiazol tetrazolium bromide) 분석

<110>

상기 실험예 6의 결과로부터, 한천중층 세포독성을 판단하는 반응지수의 범위가 구체적으로 제시되지 않아 그 결과를 판독하는 데 있어 감소된 세포독성을 결과적으로 확연하게 관찰할 수 없었다. 따라서, 스트립의 용출물로 MTT 분석을 하여 세포독성을 확인하고자 하였다.

<111>

MTT 시험을 하기 위해 각 군의 스트립을 용출하였다. 혈청을 배제한 RPMI 1640 배지 1 ml당 6 cm² 면적의 스트립을 담가 37±1℃에서 24±2 시간의 실제 임상조건을 가상하여 용출하였다.

<112>

배양한 쥐의 섬유아세포(L-929)를 배양배지 0.18ml당 1×10⁴개의 세포가 되게 부유한 후 96-웰 플레이트에서 각 웰에 0.18ml씩 분주하였다. 37℃, 5% CO₂ 항온기에서 24시간 동안 배양하여 세포를 부착시킨 후 용출물을 0.02 ml씩 분주하여 항온기에 각 24, 48, 72 시간씩 배양하였다. 대조군으로는 RPMI 배지 0.02ml만 분주하였다. 각각의 배양이 끝나는 날 MTT(MTT 3-[4,5-Dimethyl thiazol-2-yl]-2,5-diphenyl-tetrazolium bromide, Sigma-Aldrich Co., No. M2128, MO, USA) 시약을 PBS에 녹여 MTT 용액(5mg/ml)을 만들었다. 그리고 0.05ml씩 각 웰에 넣고 4시간 동안 배양하였다. 배지와 MTT용액을 버리고 여기에 다시 DMSO(Dimethyl sulfoxide, Amresco[®] Solon Ind.) 0.05ml를 각 웰에 넣고 결정이 남아 있지 않도록 잘 흔든 후, microplate reader(MRX microplate reader, Dynatech, MA, USA)로 570nm의 파장범위에서 각 조건당 여섯 개의 시편의 흡광도를 측정하여 세포독성 정도를 대조군과 비교 평가하였다.

<113>

도 7에 나타난 바와 같이, 대조군의 독성을 100%로 보았을 때, EC지지층은 유의한 차이를 보이지 않았다. 반면, 실험군에서는 한천중층시험과 달리 대조군의 50% 이하의 값으로 독성을 보였다.

<114>

이는 배지에 스트립을 넣어 용출물을 만드는 과정에서 배지가 불소의 pH에 영향을 받아 세포독성에 영향을 미쳤을 것으로 추측된다. 반면, 지지층에서는 그냥 배지를 사용한 대조군과 유의한 차이를 보이지 않았다(p<0.05).

<115>

따라서, 본 발명의 스트립은 세포독성을 보이는 불소함유층이 치아를 향하고, 세포독성을 지니지 않은 지지층이 구강 내로 노출되어 있어, 안정한 양의 불소를 치아 방향으로만 방출하여 우유병우식증 또는 다발성우식증과 같은 유치우식증을 효과적으로 예방할 수 있는 것이다. 또한, 행동조절이 힘든 대상자에게도 예방을 목적으로 적용가능하다.

도면의 간단한 설명

<116>

도 1은 이중 스트립을 간략히 도시한 것으로, (A)는 치아에 부착하는 불소함유층, (B)는 지지층을 나타낸 것이다.

<117>

도 2는 이중 스트립의 불소함유층에 대한 주사전자현미경 사진도를 나타낸 것으로, (a)는 0mg의 불소 함유 스트립, 실험군 A; (b)는 0.042mg의 불소 함유 스트립(1×1cm²), 실험군 B; (c) 0.083mg의 불소 함유 스트립(1×

1cm²), 실험군 C; 및, (d) 0.167mg의 불소 함유 스트립(1×1cm²), 실험군 D(×1,000)이다.

<118> 도 3은 PBS 용액 내에서 스트립의 불소 방출량을 나타낸 것이다.

<119> 도 4는 부착 스트립으로부터 방출되는 불소 함량을 나타낸 것이다.

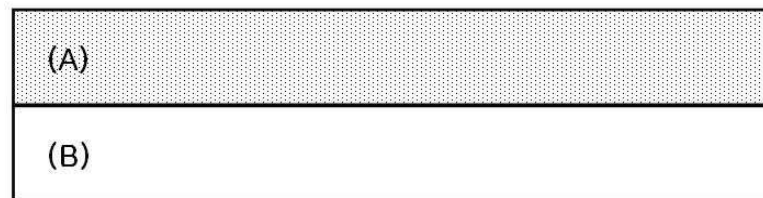
<120> 도 5는 시간대별로, (a) 0.5 hr, (b) 1 hr, (c) 3 hr 및 (d) 5 hr PBS 용액 내 스트립 및 부착 스트립으로부터 방출되는 불소 함량을 비교한 그래프로, 도트 바는 PBS 용액 내 스트립을, 스트라이프 바는 부착 스트립을 나타낸다.

<121> 도 6은 정상, 탈회 및 부착 후 스트립의 주사전자현미경 사진도를 나타낸 것으로(×5,000 및 10,000), (a)는 정상, (b)는 탈회, (c)는 실험군 A, (d)는 실험군 B, (e)는 실험군 C 및 (f)는 실험군 D이다.

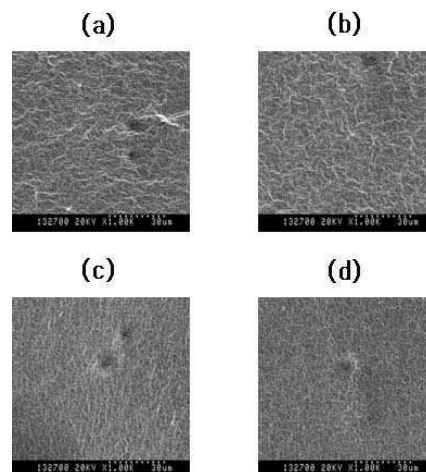
<122> 도 7은 시간대별로, 24, 48 및 72시간 MTT 분석 결과를 나타낸 것으로, 실험군에서 EC는 지지층, A, B, C 및 D는 치아부착층이다.

도면

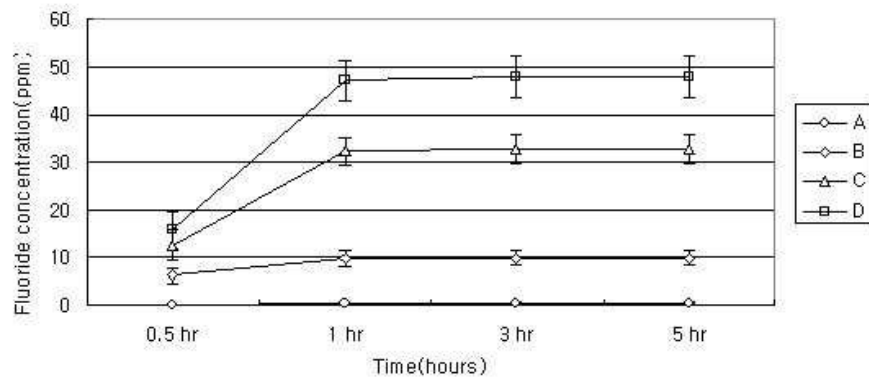
도면1



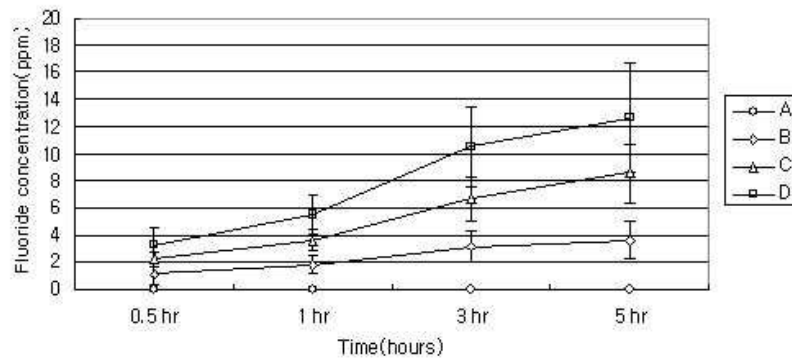
도면2



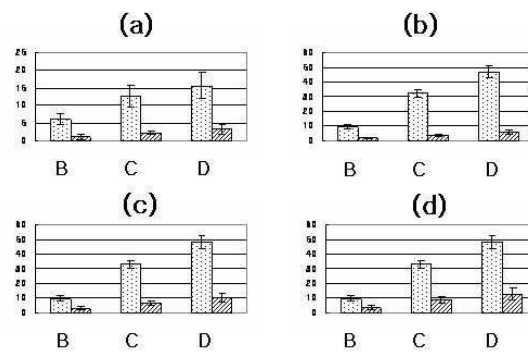
도면3



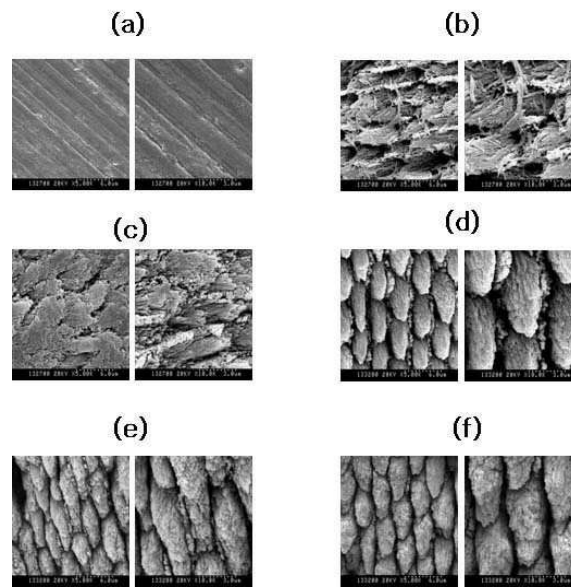
도면4



도면5



도면6



도면7

