

## Fibrin glue로부터 Ampicillin-Na의 용출 및 Tissue adhesive로서의 접착력

유봉규\*,\*\*\* · 권익찬\* · 김용희\* · 박기동\*\* · 한건\*\*\* · 정서영\*

=Abstract=

### Release of Ampicillin-Na from fibrin glue and its adhesive strength as a tissue adhesive

Bong Gyu Yu\*,\*\*\*, Ick Chan Kwon\*, Yong Hee Kim\*, Ki Dong Park\*\*, Kun Han\*\*\*, Seo Young Jeong\*

Ampicillin sodium (AMP-Na) was loaded into fibrin glue (FG) in two different ways and was tried to achieve sustained release from FG. One was loading of AMP-Na in a simple mixing and the other was loading of bovine serum albumin (BSA) microspheres which contained ANP-Na. In case of simple mixing, the release control of ANP-Na from FG was tried by variation of FBNG concentration, but failed. However, the loading of BSA microsphere containing ANP-Na into FG showed sustained release of AMP-Na, especially when microsphere was crosslinked with glutaraldehyde (t0.9:33hr). The maximum adhesive strength of FG showed at concentration of FBNG and thrombin, 5.0% and 25-50 NIHU/ml, respectively. The concentration of Factor XIII (0-500 U/1g of FBNG) did not affect the adhesive strength of FG. The optimal incubation time was 60 min. The AMP-Na or BSA microsphere which was loaded into FG had no significant effect on the adhesive strength of FG.

**Key words :** Fibrin glue, Fibrinogen, Adhesive strength, Bovine serum albumin Microsphere

## 서 론

외과수술에서의 봉합은 조직의 결합 및 상처를 깨매는 데 오래전부터 실시되어오고 있는 방법이다. 그러나, 봉합사의 재질은 생체조직과는 다른 이물질이기 때문에 생체에 대하여 과민반응을 일으킬 수있는 문제점을 안고있다. 봉합사의 재질에 따라서 조직의 거부반응 또는 누관의 형성, 육아종형성 등이 그 예이다. 따라서, 오래전부터 봉합사를 이용하지 않고 조직을 직접 결합시켜 주는 tissue ad-

hesive에 관한 연구가 진행되어 왔다. 그중 대표적인 것이 cyanoacrylate 유도체이며 현재까지 사용되어 지고 있으나<sup>1-3)</sup>, 조직에 대하여 독성이 있는 것으로 보고되기 시작하면서 그 사용이 점차 줄어들고 있다<sup>4-5)</sup>.

Fibrin glue (FG)는 혈액의 응고과정 (coagulation cascade) 중의 마지막 단계에서 일어나는 반응 즉, fibrinogen이 thrombin에 의하여 fibrin으로 변환되는 것을 이용하여 제조한 tissue adhesive이다<sup>6-9)</sup>. fibrin glue는 지혈 및 조직 접착작용이 있으며 생체내에서 쉽게 분해되며 거부반응

\* 한국과학기술연구원 의과학센터

\* Biomedical Research Center, KIST

\*\* 한국과학기술연구원 고분자화학연구부

\*\* Polymer Chemistry Laboratory, KIST

\*\*\* 충북대학교 약학대학 약학과

\*\*\* College of Pharm., Chungbuk Natl Univ.

이 논문은 KIST-2000, V-00073 연구과제의 지원으로 수행되었음에 감사드립니다.

통신저자: 정서영, (130-650) 서울시 동대문구 청량리우체국 사서함 131, Tel. (02) 958-5911, Fax. (02) 958-5909

이나 독성이 없는 것으로 알려져 유럽, 일본등지에서는 오래전부터 널리 이용되어지고 있다.

그러나, FG는 미생물이 자라기 좋은 배지로서의 조건을 잘 갖추고 있으므로 외과 수술에 적용후 endogenous 혹은 exogenous pathogen에 의하여 염증이 발생할 우려가 있으며 수술후 항생제의 투여는 필수적이다. 따라서, FG에 항생제를 미리 loading 해놓으면 염증발생을 예방할 수 있으며 수술후 항생제의 투여기간 및 투여용량을 줄일 수 있을 것으로 기대된다. F. Greco<sup>10)</sup>와 T. Sakurai<sup>11)</sup> 등은 이 FG를 biodegradable antibiotic carrier로 이용하고자 시도하였으며, H. Sato<sup>12)</sup> 등은 fibrinogen과 dibekacin sulfate를 공유결합시켜 항생제의 지속적방출을 시도하였다. 그러나, FG로부터 항생제의 방출은 수시간내에 이루어지므로 장시간동안 서서히 항생제가 방출되기 위한 새로운 local drug delivery system의 도입이 필요하게되었다.

본 연구에서는 광범위 항생물질인 Ampicillin sodium (AMP-Na)을 두가지 방법 즉, 단순섞임과 bovine serum albumin 으로 microsphere화한 후 loading하는 방법으로 FG를 제조하였고 이 FG로부터 AMP-Na의 서방성 시험을 시도하였다. 또한 FG를 tissue adhesive로 사용하는데 있어서 접착력에 영향을 미치는 인자들에 대하여 검토하였으며 특히 항생제를 loading함으로써 접착력의 저하가 예상되므로 이에 대하여 rat peritoneum과 Instron tensiometer를 이용하여 시험하였다

## 실 험

### 1. 시약 및 기구

#### (1) 시약

Fibrinogen(FBNG) (clottable protein > 95%), protein : salt = 50 : 50)은 Calbiochem (La Jolla, CA)사의 제품을 구입하였고 thrombin(THR) (54 NIHU/mg, bovine), bovine serum albumin(BSA), glutaraldehyde와 cottonseed oil은 모두 Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO)에서 구입하여 사용하였다. Ampicillin sodium(AMP-Na)는 (주)종근당에서 구입하였다. Factor XIII(FXIII)은 Behring werke AG (Marburg, F. R. G)사의 Fibrogammin R HS(human)을 구입하여 사용하였다. 그외 시약들은 분석용 급을 사용하였다.

#### (2) 기구

Spectra/por<sup>®</sup> dialysis membrane bag(molecular weight cut off 3,500)은 Spectrum Medical Industries Inc. (Los Angeles, CA)로부터 구입하였다. Mechanical stirrer는

Ika-Labortechnik(Germany)사의 RW20DEM모델을 사용하였고, homogenizer역시 동일회사의 Ultra-Turrax T25모델을 사용하였다. 접착력 측정에는 Instron(Model 4201)을 이용하여 tensile strength를 측정하였다. Pantaject<sup>®</sup> 는 Behring werke AG (Marburg, F. R. G)사에서 구입하여 사용하였다.

#### (3) 기질

FG의 접착력 실험에는 rat peritoneum이 사용되었다. 실험에 사용된 rat은 수술시 150g~200g의 무게를 갖는 Sprague Dawley rat을 사용하였다. peritoneum을 취하기 전 1주일 동안 실험실에서 표준사료와 물을 공급하여 사육하였으며 ether로 마취하여 희생시킨후 복부를 절개하고 장기를 제거시킨 다음 peritoneal membrane을 취하였다. 채취한 peritoneal membrane은 즉시 -20℃에서 동결시켜 보관하고 사용하기 전에 37℃에서 30분간 해동하여 가로, 세로의 길이가 각각 1cm 되게 잘라서 사용하였다.

### 2. AMP-Na의 loading된 FG제조방법

미리 정해진 양의 FBNG과 10mg의 AMP-Na를 함께 400 $\mu$ l의 증류수에 넣고 1ml-eppendorf cetrifuge tube에서 용해시켰다. 5mg의 THR 또한 400 $\mu$ l의 CaCl<sub>2</sub> 용액(50mM)에 넣고 1ml-eppendorf tube에서 용해시켰다. 위에서 녹인 두개의 test tube를 5분동안 vortex mixing한후 37℃에서 30분 동안 incubation시켰다. 각각의 solution을 1ml의 주사기로 빨아들여 Pantaject<sup>®</sup> 를 이용하여 지름 8mm, 깊이 2mm의 Teflon mold에 injection했다(Fig. 1). BSA-MS를 FG에 loading할 때도 역시 위의 방법대로 하였다. 이경우 10mg에 해당하는 BSA-MS를 FBNG용액에 분산시켰다.

### 3. Bovine serum albumin microsphere의 제조방법

BSA(200mg)와 AMP-Na(400mg)을 2ml의 증류수에 녹이고 이 용액을 span80이 2% w/w 함유된 cottonseed oil에 넣고 5분간 homogenizer를 이용하여 에멀전으로 만들었다. 이 에멀전을 mechanical stirrer로 교반하면서 sand bath에서 70℃로 1시간동안 가온하여 BSA를 열변성 시킨후 90℃에서 5분 동안 가온하여 더욱 경화시켰다. 제조된 BSA-MS가 담긴 oil suspension을 실온까지 서서히 냉각시킨후 원심분리(2,000 rpm, 5분)하여 상등액을 제거하고 BSA-MS를 얻었다. 제조된 BSA-MS는 ether로 3회 세척하여 cottonseed oil을 완전히 제거한 후 진공건조기(Fisher, Napco 5831)에서 24시간동안 건조시켰다(Fig. 2).

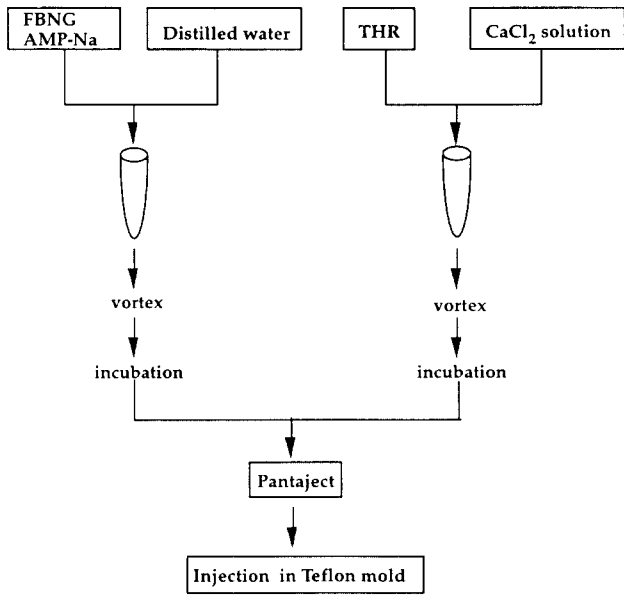


그림 1. Fibrin glue(FG)의 제조 모식도  
 Fig. 1. Scheme for preparation of fibrin glue(FG).

4. Crosslinked bovine serum albumin microsphere의 제조 방법

Crosslinked BSA-MS는 glutaraldehyde를 가교제로 사용하여 제조하였다. 2ml의 수용성 glutaraldehyde용액 (25 % biological grade)과 동량의 chloroform을 시험관 (17mm × 60mm) 에 넣은뒤 1분간 sonication (Branson 3210)시켜서 양층을 분산시켰다. glutaraldehyde로 포화된 chloroform층을 pipette으로 취하여 시험관에 넣고 여기에 BSA-MS를 가하였다. Glutaraldehyde로 포화된 chloroform과 BSA-MS혼합물을 실온에서 교반하면서 (24hr) 가 교시켰다. Chloroform층을 따라버리고 ether로 네번 세척한후 진공건조기에서 24시간 동안 건조시켰다.

5. 용출실험

10 mg의 AMP-Na를 함유한 FG와 pH 7.4인 phosphate buffered saline (PBS) 5ml을 Spectra/por® dialysis bag에 넣고 closure를 이용하여 밀봉하고 이 bag을 95ml의 PBS (pH 7.4)가 들어있는 시험관에 넣어 잠기게 한 다음 37°C water bath에서 분당 100회의 속도로 흔들어 주었다. 일정한 시간간격으로 5ml의 sample을 취하고 여기에 다시 같은 양의 fresh PBS를 채워 넣었다. 취한 sample중에있는 AMP-Na의 농도는 UV spectrophotometer (Hewlett-Packard 8451A DIODE ARRAY Spectrophotometer)로

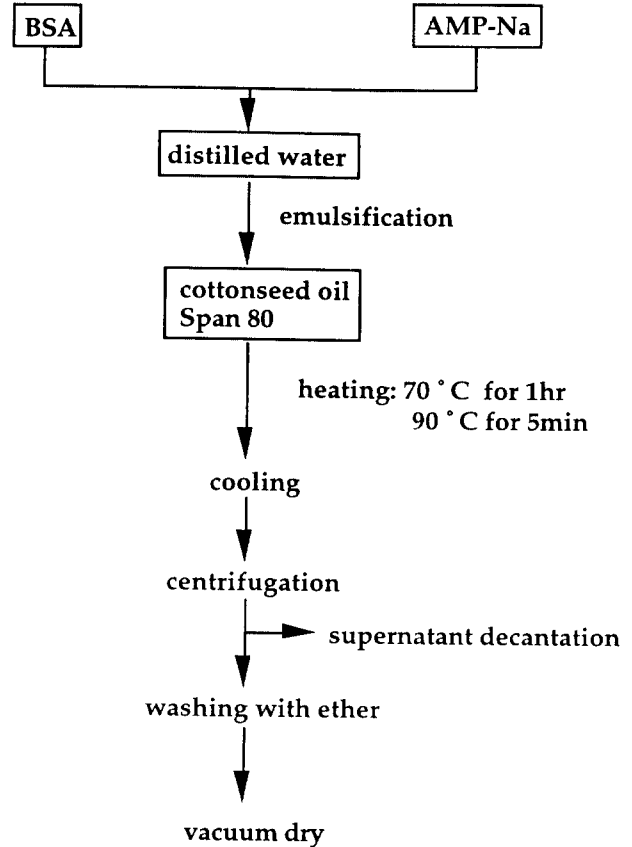


그림 2. Bovine serum albumin microsphere (BSA-MS)의 제조 모식도  
 Fig. 2. Scheme for preparation of Bovine serum albumin microsphere (BSA-MS)

226nm에서 흡광도를 측정하여 정량하였다.

6. FG의 rat peritoneum에 대한 접착력 시험방법

FG를 제조하는 방법은 Pantaject® 를 이용하는 앞서의 실험에서 설명한 바와 동일하며 그조성은 실험 7 항에 나타내었다. 접착력 실험방법은 Fig. 3에 간단히 도시하였고 자세한 내용은 다음과 같다. 준비된 1cm<sup>2</sup>의 rat peritoneum에 Pantaject® 를 이용하여 FG를 도포한 후 다시 그 위에 또 다른 peritoneum을 접착시킨 후 37°C에서 incubation시켰다. 이 때 peritoneum이 건조되지 않도록 하기 위하여 상대습도 100 %를 유지해주는 petri dish를 이용하였다. incubation이 끝난 후 peritoneum의 양쪽 외측면에 각각 plastic rod를 cyanoacrylate로 붙였다. peritoneum에 붙인 plastic rod를 Instron에 고정할때, plastic rod로 인해 peritoneum이 strain을 받지않게 하기 위하여 위쪽에 붙은

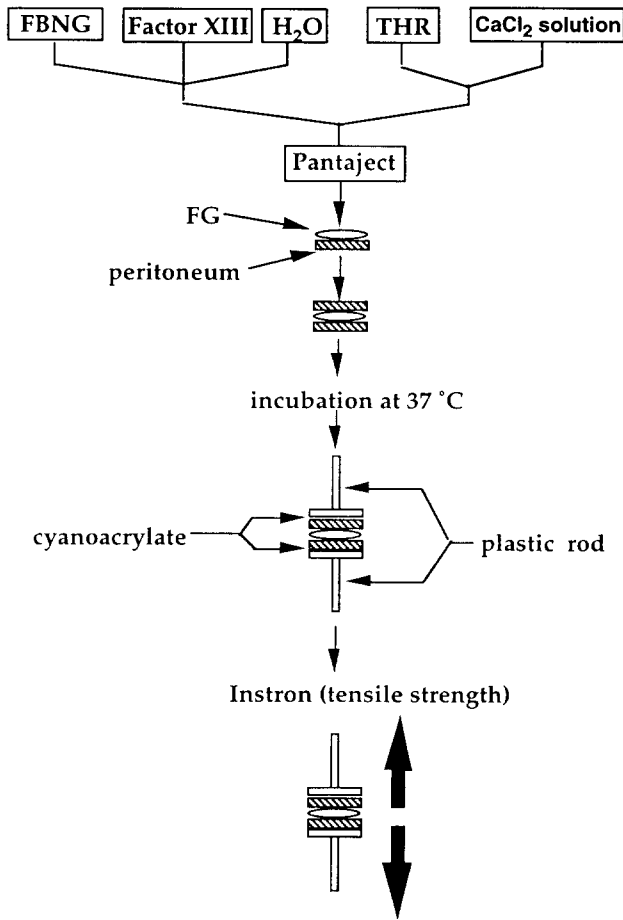


그림 3. Adhesive strength의 측정 모식도  
Fig. 3. Scheme for measurement of adhesive strength.

plastic rod의 끝을 실로 연결하고 이 실의 끝을 Instron에 고정하여 tensile strength를 측정하였다. 이 때 붙어있던 두 편 of peritoneum을 떨어지게 하는데 필요한 가장 큰 힘 (load at peak)을 peritoneum의 단위면적으로 나누어 adhesive strength (dyne/cm<sup>2</sup>)로 하였다. 대표적인 stress-strain curve는 Fig. 4에 나타내었다. 측정 시에는 5 kg load cell을 사용하였고 displacement rate는 10mm/min로 하였다.

### 7. FG의 제조조건에 따른 접착력 시험

최적의 접착조건을 찾기 위하여 FG 제조시 조성과 농도, incubation time등의 변화가 접착력에 미치는 영향을 살펴보았다.

#### (1) FBNG농도

FBNG의 농도를 1.0, 2.5, 5.0, 7.5 w/v %로 변화시키고, FXIII은 385 U/1g of FBNG, THR은 12.5 NIHU/ml, CaCl<sub>2</sub> 용액은 50mM로 고정하고 incubation time은 60분

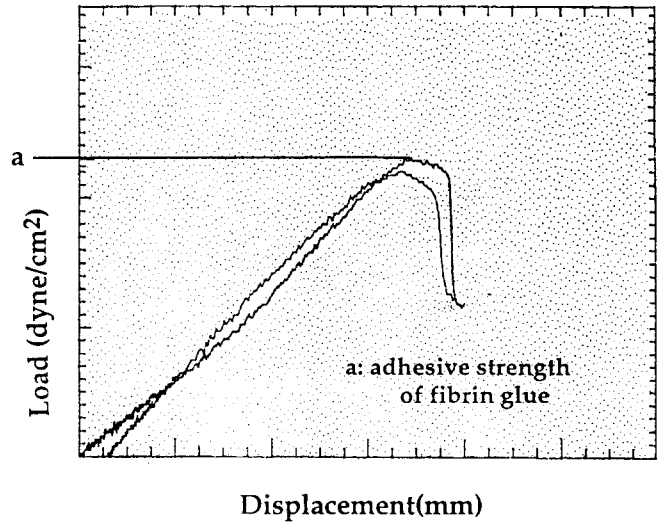


그림 4. FG로 접착된 peritoneum의 대표적인 stress-strain curve  
Fig. 4. Typical stress-strain curve of peritoneum glued with FG.

으로 하였다.

#### (2) THR농도

THR의 농도는 1.56, 3.12, 6.25, 12.5, 25, 50, 100, 300 NIHU/ml로 변화시키고 FBNG의 농도는 5.0 w/v %, FXIII은 385 U/1g of FBNG, CaCl<sub>2</sub> 용액은 50mM로 고정하고 incubation time은 60분으로 하였다.

#### (3) Factor VIII농도

FXIII을 0, 250, 385, 500 U/1g of FBNG으로 변화시키고 FBNG의 농도는 5 w/v %, THR은 12.5 NIHU/ml, CaCl<sub>2</sub> 용액은 50mM로 고정하고 incubation time은 60분으로 하였다.

#### (4) Incubation time

FBNG의 농도는 5 w/v %, FXIII은 385 U/1g of FBNG, THR은 12.5 NIHU/ml, CaCl<sub>2</sub> 용액은 50mM로 각각 고정시켜 FG를 제조한 후 peritoneum에 도포하고 incubation time을 15분, 30분, 60분, 90분으로 달리하여 접착력을 측정하였다.

#### (5) AMP-Na의 loading양

FBNG농도는 5 w/v %, FXIII은 385 U/1g of FBNG, THR은 12.5 NIHU/ml, CaCl<sub>2</sub> 용액은 50mM, incubation time은 60분으로 고정시키고 AMP-Na의 양을 0, 1, 2, 4, 8mg 으로 달리하여 접착력을 측정하였다.

#### (6) BSA-MS의 loading양

FBNG농도는 5 w/v %, FXIII은 385 U/1g of FBNG,

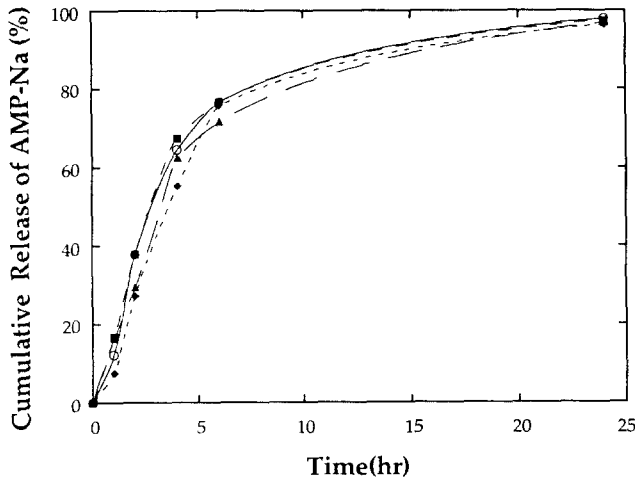


그림 5. FBNG의 농도를 달리하여 제조한 FG로부터 AMP-Na의 누적방출곡선  
 Fig. 5. Cumulative release of AMP-Na from FG prepared at different FBNG concentration. ○; 2.5%, ▲; 5.0%, ■; 7.5%, ◆; 10.0%

THR은 12.5 NIHU/ml, CaCl<sub>2</sub> 용액은 50mM, incubation time은 60분으로 고정시키고 BSA-MS의 양은 0, 2, 5, 5, 10, 20mg 으로 달리하고, crosslinked BSA-MS의 양은 0, 5, 10, 20, 40mg으로 달리하여 각각 FG를 제조하여 접착력을 측정하였다.

## 결과 및 고찰

### 1. FG로부터의 AMP-Na용출

FBNG의 농도를 2.5, 5.0, 7.5, 10.0 w/v %로 달리하고 THR은 675 NIHU/ml, CaCl<sub>2</sub>용액은 50mM로 각각 고정하여 제조한 FG로부터 AMP-Na의 용출실험 결과를 Fig. 5에 나타내었다. FG로부터 용출된 AMP-Na의 누적량은 6시간까지 점차로 증가하며 15시간내에 FG에 함유된 약물중 90% 정도가 용출되었다. FBNG의 농도가 높아질수록 FG의 network structure가 dense해져 FG로부터 나오는 AMP-Na의 용출량이 감소할 것으로 기대했으나 Fig. 5의 용출곡선에서 보여지듯이 FBNG의 농도가 높아져도 별다른 차이를 보이지않고 있다. 이것은 FG가 highly swollen network structure이기 때문인 것으로 여겨진다. FBNG은 또한 용해도가 낮은 고분자 물질이므로(MW 340,000) 10 w/v % 이상의 농도를 갖는 FG는 제조할 수 없다. 따라서 FBNG의 농도를 조절함으로써 FG로부터 AMP-Na의 용출속도를 조절할 수는 없는 것으로 사료된다.

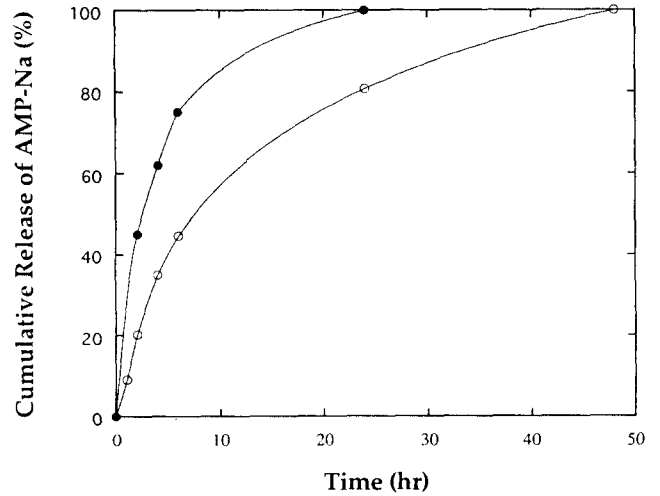


그림 6. BSA-MS를 loading한 FG로부터 AMP-Na의 누적방출곡선  
 Fig. 6. Cumulative release of AMP-Na from BSA-MS loaded FG. ●; heat treatment only, ○; crosslinked by glutaraldehyde

FG로부터 AMP-Na의 용출을 조절하기위한 다른 방법으로 AMP-Na을 BSA로 microsphere화한 후 이것을 FG에 loading하였다. 열처리만 한 BSA-MS와 glutaraldehyde로 crosslinking까지 시킨 BSA-MS중의 AMP-Na함량은 각각 51.5%, 29.0%였다. BSA-MS를 loading한 FG로부터 AMP-Na의 용출곡선을 Fig. 6에 나타내었다. 열처리만 한 경우 약물의 50%용출( $t_{0.5}$ )은 2시간에서 2.5시간으로 늘어났으며 90%용출( $t_{0.9}$ )은 8시간에서 14시간으로 연장되었다. 또한 crosslinked BSA-MS로부터의  $t_{0.5}$ 와  $t_{0.9}$ 는 각각 10시간과 33시간으로 나타나 용출속도를 유의성있게 감소시킬 수 있었으며 용출초기에 나타나는 initial burst현상도 감소되었다. 이상의 결과로부터 AMP-Na를 BSA로 microsphere화한 후 FG에 loading하는 방법에 의하여 AMP-Na의 지속적 방출을 꾀할 수 있었으며, 특히 BSA-MS를 glutaraldehyde로 crosslinking시킴으로써 용출속도를 더욱 늦출 수 있었다.

### 2. FG의 접착력

#### (1) FBNG 및 THR농도의 영향

FG의 접착력을 높이는 데는 무엇보다도 고농도의 FBNG용액을 조제하는 것이 가장 중요하다. FBNG은 혈장단백질 중에서도 용해성이 매우 나쁜 protein으로서 정상 혈중농도는 약 200mg/dl정도(0.2%)로 유지되고 있다. 또한 FBNG은 거대분자로 이루어져 2% FBNG수용액의

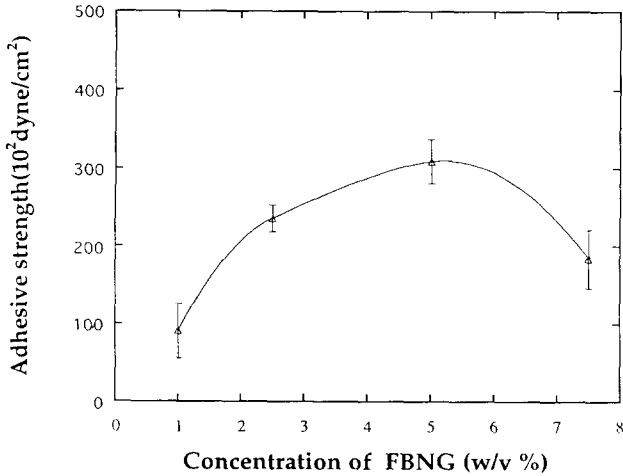


그림 7. FG의 접착력에 대한 FBNG농도의 영향  
 Fig. 7. Effect of FBNG concentration on the adhesive strength of FG.

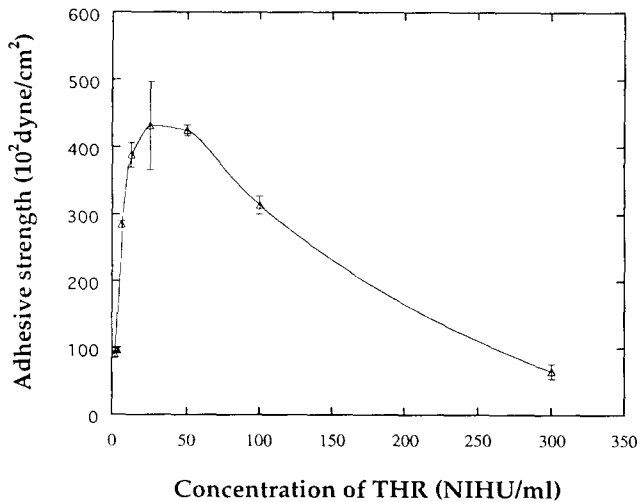


그림 8. FG의 접착력에 대한 THR농도의 영향  
 Fig. 8. Effect of THR concentration on the adhesive strength of FG.

점도는 32 cp이며 5.2% FBNG수용액의 점도는 140 cp이 나 될 정도로 매우 viscous해지는 성질을 갖고있다. 고농도의 FBNG용액을 조제하는 데 있어서 문제점은 이와같이 낮은 용해도와 높은 점성이다. 본 실험에서는 FBNG용액을 37°C 에서 incubation시킨 후 vortex mixing하는 방법을 통하여 10% 까지 농도를 높일 수 있었다. Fig. 7은 FBNG용액의 농도변화에 따른 접착력의 변화를 그림으로 나타낸 것으로서, 5.0%일 때  $3.9 \times 10^4$  dyne/cm<sup>2</sup>로서 최대의 접착력

을 나타내고 있다. 1%에서 5%까지는 농도에 비례하여 접착력이 증가하는 현상을 보이고 있으며 이는 FBNG농도가 접착력 증가에 필수적임을 나타낸다. 그러나, FBNG농도를 7.5% 정도로 높이면 접착력은 저하되는 현상을 보이고 있는데 이는 FG의 점성이 급격히 증가하여 cohesive mass로 변하므로 rat peritoneum에 골고루 확산되지 못하고 따라서 인접 결합조직과의 접착이 형성되지 못하기 때문인 것으로 여겨진다.

FBNG농도를 5.0%, CaCl<sub>2</sub>용액의 농도를 50mM로 고정하고 THR농도를 1.56 NIHU/ml부터 300 NIHU/ml까지 변화시켜 제조한 FG의 rat peritoneum에 대한 접착력을 Fig. 8에 나타내었다. THR의 농도가 25 NIHU/ml까지는 접착력의 증가를 보이지만 50 NIHU/ml이상이 되면 오히려 접착력은 저하되는 현상을 나타낸다. THR농도가 50 NIHU/ml이상이 되면 FBNG이 fibrin monomer와 fibrinopeptide로 분해되는 proteolysis 반응속도가 너무 빨라져서 Pantaject®로부터 injection 되자마자 proteolysis, polymerization, clotting등의 반응이 수 초내에 즉시 완결된다. 본 실험에 이용된 접착력 비교 실험방법에서는 FG를 하나의 peritoneum에 도포하고 그 위에 또 다른 peritoneum을 올려 놓는데 약 10초 정도의 시간이 소요되므로 10초 이내에 FG가 gel형태의 mass로 변하면 FG가 두개의 peritoneum에 골고루 확산되지 못하게 된다. 따라서 약 10초 이내에 FG가 mass로 변하지 않게 하기 위해서는 THR은 25-50 NIHU/ml 정도여야 하며 이때 최대의 접착력을 나타내는 것으로 사료된다.

(2) FXIII 및 incubation time의 영향

FXIII의 FG접착력에 대한 영향을 알아보기 위하여 0-500 U/lg of FBNG 까지 변화를 주어 FG를 제조한 후 이 FG의 rat peritoneum에 대한 접착력을 Fig. 9에 나타내었다. FXIII은 fibrin network의 인접 chain간에 공유결합을 형성함으로써 fibrin을 불용화시키는 transglutaminase이다. 인접 chain사이에 공유결합이 형성되면서 FG가 dense한 mass로 변하면 접착력은 감소될 것으로 예상되었으나 Fig. 9와 같이 큰 차이는 없었다. FBNG을 5.0%로 고정하고 FXIII을 가하지 않았을 때 접착력은  $4.0 \times 10^4$  dyne/cm<sup>2</sup>이었으며 FXIII을 250 U/lg of FBNG에서 500 U/lg of FBNG 까지 가했을 때의 접착력도 대략  $4.0 \times 10^4$  dyne/cm<sup>2</sup>에서 큰 차이가 없었다. incubation time이 FG의 접착력에 미치는 영향을 살펴보기 위하여 rat peritoneum을 FG로 접착시킨 후 37°C oven에 일정시간 보관하여 두개의 peritoneum사이에서 접착이 잘 이루어지도록 하였다. Fig. 10과 같이 incubation time은 FG의 접착력에 큰

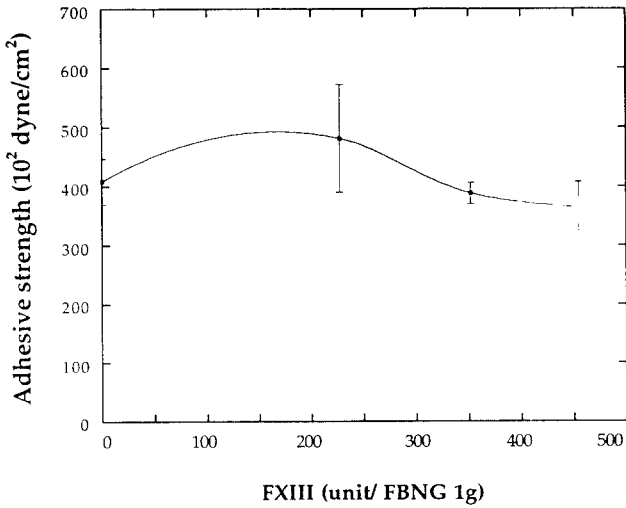


그림 9. FG의 접착력에 대한 FXIII농도의 영향  
 Fig. 9. Effect of FXIII concentration on the adhesive strength of FG.

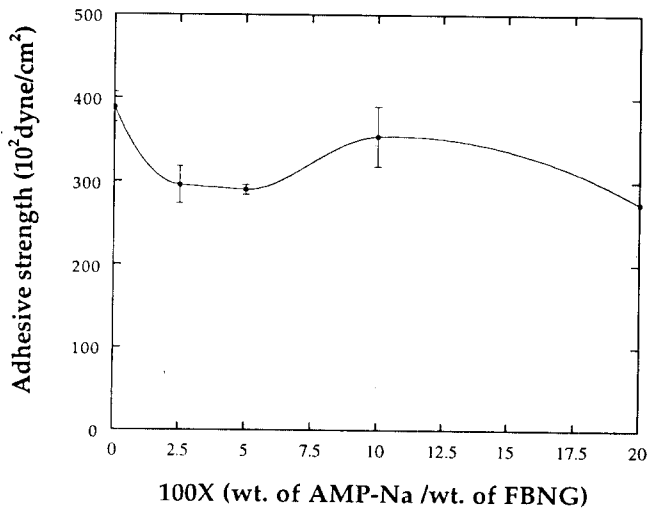


그림 11. FG의 접착력에 대한 AMP-Na의 영향  
 Fig. 11. Effect of AMP-Na on the adhesive strength of FG.

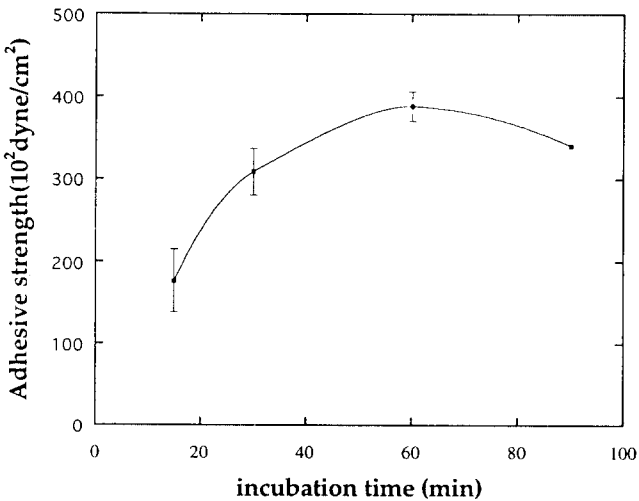


그림 10. FG의 접착력에 대한 incubation time의 영향  
 Fig. 10. Effect of incubation time on the adhesive strength of FG.

영향을 미치고 있으며 약 60분까지는 접착력 증가를 가져오지만 그 이상은 효과가 없었다.

(3) AMP-Na 및 BSA-MS의 영향

FG를 제조할 때 항생제등의 약물이 공존하게 되면 FBNG이 fibrin으로 변환되는 일련의 반응(proteolysis, polymerization, clotting)이 방해를 받는 것으로 알려져 있다. AMP-Na를 loading했을 때의 접착력 변화는 Fig. 11에

나타나 있다. FBNG을 5.0 w/v %, THR을 12.5 NIHU/ml로 고정하고 loading양을 1mg loading했을 때 접착력은  $9 \times 10^4 \text{ dyne/cm}^2$ 에서  $3.0 \times 10^4 \text{ dyne/cm}^2$  정도로 저하되었다. AMP-Na loading양을 10mg까지 증량하여도 접착력이 더 이상 저하되지는 않았다. 이로부터 FG에 AMP-Na를 loading하여 local antibiotic delivery system으로 응용하고자 할 때 unit dose당 AMP-Na로서 10mg이면 최소발육저지농도(0.078 $\mu\text{g/ml}$ , data not shown)보다 훨씬 높은 농도로 유지할 수 있으므로 약물로 인한 접착력 감소는 우려하지 않아도 된다는 사실을 알 수 있다.

Fig. 12은 BSA-MS 및 crosslinked BSA-MS를 FG에 loading했을 때의 접착력을 나타내고 있으며 BSA-MS를 loading했을 때의 접착력의 변화는 AMP-Na를 loading했을 때의 변화와 거의 일치한다. 접착력 저하의 정도는 BSA-MS의경우가 다소 적은 것을 알 수 있다. 이는 AMP-Na가 microsphere내에 봉입되어 있으므로 FBNG이 fibrin으로 변환되는 여러 단계의 반응 및 접착에 관련된 두 peritoneum사이의 crosslinking반응 등을 억제하는 기회가 제한되기 때문으로 사료된다. BSA-MS 20mg을 loading했을 때의 접착력 증가는 제조과정 중에서 변성이 덜 된 albumin이 접착현상에 관여한 때문인 것으로 여겨진다. crosslinked BSA-MS 경우에는 crosslinking안 된 BSA-MS에 비하여 접착력 저하의 정도가 약간 적었으며 이는 AMP-Na가 microsphere내에 더욱 완전하게 봉입되어 있기 때문인 것으로 보여지며 40mg loading에서의 접착력 증가가 나타나지 않는 것은 albumin이 glutaraldehyde

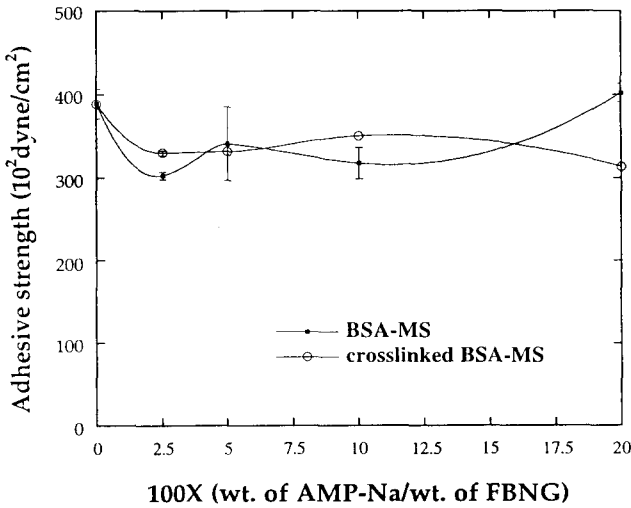


그림 12. FG의 접착력에 대한 AMP-Na 함유 BSA-MS의 영향  
 Fig. 12. Effect of BSA-MS containing AMP-Na on the adhesive strength of FG.

에 의하여 완전히 변성되었기 때문인 것으로 사료된다.

### 결 론

FBNG의 농도를 달리하여도 FG로부터 AMP-Na의 용출은 거의 영향을 받지 않았다. 열처리를 통하여 제조된 BSA-MS로부터 AMP-Na 용출은 90%의 약물이 용출되는데 걸리는 시간 ( $t_{0.9}$ )이 14시간까지 연장되었으며, glutaraldehyde로 crosslinking시킨 BSA-MS에서는 약물용출의 지연효과가 더욱 크게 나타났고 ( $t_{0.9}$ : 33hr) 최초 burst현상도 감소되었다. FG의 rat peritoneum에 대한 접착력은 FBNG과 THR농도가 각각 5.0 w/v %, 25~50 NIHU/ml에서 최대로 나타났다. FXIII의 농도는 0~500U/1g of FBNG의 범위내에서 접착력에 거의 영향을

미치지 않았으며 incubation time은 60분일 때 최대로 나타났다. FG에 AMP-Na 및 BSA-MS를 loading하여도 접착력에는 큰 영향을 미치지 않았다.

### 참 고 문 헌

1. Alan G. Kerr, Gordon D. L. Smyth: *Experimental evaluation of tympanoplasty methods*. Arch Otolaryngol, 91:327-333, 1970.
2. P. Mckelvie: *A trial of adhesive in reconstructive middle-ear surgery*. J Laryngol Otol, 83: 1105-1109, 1969.
3. S. Vesterhauge, H. Sorensen: *The histological effect of an adhesive in the middle ear*. Acta Otolaryng, 76: 431-437, 1973.
4. Alan G. Kerr, Gordon D. L. Smyth: *Bucrylate (isobutyl cyanoacrylate) as an ossicular adhesive*. Arch Otolaryngol, 94: 129-131, 1971.
5. G. D. L. Smyth, A. G. Kerr: *Histoacryl (butyl cyanoacrylate) as an ossicular adhesive*. J Laryngol Otol, 38: 539-542, 1974.
6. David H. Sierra, Alan J. Nissen, Joseph Welch: *The use of fibrin glue in intracranial procedures: preliminary results*. Laryngoscope, 100: 360-363, 1990.
7. Helence Matras: *Fibrin seal: the state of the art*. J Oral Maxillofac Surg, 43: 605-611, 1985.
8. M. Luke, E. Kvist, F. Andersen, A Hjortup: *Reduction of post-operative bleeding after transurethral resection of the prostate by local instillation of fibrin adhesive (Beriplast)*. Br J Urol, 58: 672-675, 1986.
9. S. Tashiro, E. Murata, T. Hiraoka, K. Nakamura, E. Watanabe, Y. Miyauchi: *New technique for pancreatico-jejuno-ostomy using a biological adhesive*. Br J Surg, 74: 392-394, 1987.
10. F. Greco, L. de Pama, N. Spagnolo, A. Rossi, N. Specchia, A. Gigante: *Fibrin-antibiotic mixtures: an in vitro study assessing the possibility of using a biological carrier for local drug delivery*. J Biomed Mater Res, 25: 39-51, 1991.
11. T. Sakurai, N. Nishikimi, K. Yamamura, S. Shionoya: *Controlled release of sosomicin from fibrin glue*. J Contr Rel, 18: 39-44, 1992.
12. H. Sato, K. Ono, M. Oka: *Drug release through fibrinolysis of antibiotic-bound fibrin*. J Contr Rel, 29: 125-132, 1994.



**=국문초록=**

광범위 항생물질인 Ampicillin sodium (AMP-Na)을 두가지 방법 즉, 단순섞임과 bovine serum albumin(BSA)으로 microsphere화한 후 loading하는 방법으로 fibrin glue(FG)를 제조하였고 이 FG로부터 AMP-Na의 서방성 시험을 시도하였다. 단순섞임의 경우 fibrinogen(FBNG)의 농도를 조절함으로써 FG로부터 AMP-Na의 용출속도를 조절할 수는 없었다. 그러나, AMP-Na를 BSA로 microsphere화한 후 FG에 loading하는 방법에 의하여 AMP-Na의 지속적 방출을 달성할 수 있었으며 특히 이 microsphere를 glutaraldehyde로 가교화시킴으로서 용출속도를 더욱 늦출 수 있었다( $t_{90}$ : 33hr). FG의 rat peritoneum에 대한 접착력은 FBNG과 thrombin의 농도가 각각 5.0%, 25~50 NIHU/ml에서 최대로 나타났다. Factor XIII의 농도는 0~500 U/1g of FBNG의 범위내에서 접착력에 거의 영향을 미치지 않았으며 incubation time은 60분일 때 최대로 나타났다. FG에 AMP-Na 및 BSA microsphere를 loading하여도 접착력에는 큰 영향을 미치지 않았다.