

## 미세절단 키토산 섬유를 이용한 인산염 결합체의 제조 및 특성

정용식, 박병기, 임성수, 류원석\*, 이종숙\*\*, 김정애\*\*  
전북대학교 공과대학 섬유소재시스템공학과(공업기술연구센터)  
\*영남대학교 섬유패션학부, \*\*영남대학교 약학대학 약학부

### Preparation and Characteristics of Phosphate Binder using Chitosan Fiber Flock

Yong Sik Chung, Pyong-Ki Pak, Sung Su Lim, Won Seok Lyoo\*, Jong-Suk Lee\*\*, Jung-Ae Kim\*\*

*Department of Textile Engineering, Chonbuk National University, Jeonju, Korea(RICT)*

*\*Department of Textile Engineering, Yeungnam University, Gyeongsan, Korea*

*\*\*College of Pharmacy, Yeungnam University, Gyeongsan, Korea*

#### 1. 서론

신장은 노폐물을 배설하는 기능 외에 인체내 칼슘과 인의 항상성을 유지하는 대사에도 관여한다. 신장기능 감소에 따른 인산 배설의 감소와 식사를 통한 인산 섭취로 인해 대다수의 만성 신부전환자에서 고인산혈증이 발생하게 된다. 말기 신부전환자에서 고인산혈증과 이차성 부갑상선 기능항진증은 매우 흔한 합병증으로 최근 연조직의 칼슘 침착, 심장과 혈관의 석회화로 인해 심혈관계 질환과 사망을 증가시키는 것으로 알려져 있어 그 중요성은 과거 어느 때보다 높아지고 있다. 따라서 만성 신부전환자의 골격계 및 심혈관계 합병증의 예방을 위해서는 혈중 인산 농도를 신부전의 초기부터 적절히 조절하는 것이 중요하다.

고인산혈증을 치료하기 위한 인산염 결합체(Phosphate binder)로 탄산칼슘( $\text{CaCO}_3$ )은 장내에서 칼슘이 인산과 결합함으로써 인산의 흡수율을 낮추는 효과가 있다. 그러나 고칼슘혈증이 발생될 수 있으며 특히 비타민 D 제제와 병용 투여 시 고칼슘혈증의 발생빈도가 더욱 증가하는 단점이 있다. 칼슘계 결합체는 혈관의 석회화 및 심혈관 사망률을 증가시킬 수 있기 때문에 고칼슘혈증이 발생되면 인산염 결합체로 사용할 수 없다. 따라서 칼슘이 포함되지 않는 인산 결합체의 개발이 필요하게 되었다.

비칼슘계 인산염 결합체로 고칼슘혈증을 일으키지 않고 체내에서 인산염을 제거할 수 있는 새로운 제제로 가교폴리알릴아민계 고분자가 "Renagel" 이라는 제품명으로 현재 시판되고 있으며, 소화관에서 소화 분해 및 흡수가 되지 않고, 식사로 섭취된 인산염과 결합하고 대신 염소이온을 방출시키는 일종의 고분자 수지이다. 칼슘계 제제보다 고가인 단점이 있으나 현재 말기신부전환자의 고인산혈증의 예방과 치료에 중요한 역할을 하는 약제이다.

키토산은 폴리알릴아민과 같이 분자구조 내에 상당량의 아민기를 보유하고 있으며, 독성이 적고 생체친화성이 우수하여 생체재료로서 연구가 활발히 진행되고 있다. 키토산의 경우 섬유의 제조가 용이하고 제조된 섬유를 미세절단하면 길이 약 300  $\mu\text{m}$ , 두께 약 15 ~ 20  $\mu\text{m}$ 의 미세분말 형상으로 제조가 가능하다. 또한 섬유를 미세절단하면 분말의 크기가 균일하고 비표면적이 매우 넓어 복용시 인체내 인산염의 흡착제거에 효율성이 클 것으로 예상된다. 따라서 본 연구에서는 생체친화성이 우수한 키토산을 미세절단 섬유로 제조하여 인산염 결합체로서의 적용 가능성을 검토하고자 한다.

## 2. 실험

### 2.1. 시료 및 시약

키토산은 텍산메드테크(주)에서 제공받아 사용하였으며, 아세트산, 수산화나트륨, 에피클로로히드린 등의 시약을 정제 없이 그대로 사용하였다.

### 2.2. 미세절단 키토산 섬유의 제조

키토산을 아세트산 수용액에 4 wt.% 농도로 용해시켜 도프를 제조하였고, 이를 0.1  $\phi$ , 12,000 홀의 노즐을 사용하여 10% 수산화나트륨 수용액으로 구성된 용고육으로 토출하여 단사 1.5 데니어의 키토산 섬유 토우를 제조하였다. 제조된 토우를 길로틴 토우 절단기를 사용하여 약 0.3 mm의 길이로 미세절단 하였다.

### 2.3. 에피클로로히드린 가교

미세절단된 키토산 섬유를 0.067 M 수산화나트륨 수용액에 침지한 후 에피클로로히드린을 키토산 단위분자에 대한 몰 비로 10 ~ 50%를 투입하여 40°C에서 4 시간동안 가교시켰다.

### 2.4. 팽윤도 측정

가교된 샘플의 일정량을 1 시간 동안 증류수에 침지시킨 후 원심분리기를 사용해 20,000 rpm, 5 분의 조건으로 수분을 제거한 다음, 수분을 측정기(HR73 Moisture Analyzer, Mettler Toledo)로 키토산 섬유에 남아있는 수분의 양을 측정하여 팽윤도를 구하였다.

### 2.5. *In-vitro* 인산염 흡착 시험

100, 200, 500, 1,000 mg/l의 농도로  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  수용액을 제조하였고, 염산과 암모니아 수용액으로 pH를 각각 1.5와 7.4로 조절하였다. 제조된 각각의 인산염 용액 40 ml에 가교된 미세절단 키토산 섬유를 0.1 g씩 첨가한 후, pH 1.5의 용액에 2 시간동안 침지 시키고 수세한 후 pH 7.4 용액에 2 시간동안 침지하였다. 또한 중성조건에서의 흡착성능을 비교하기 위하여 pH 7.4 용액에 침지하여 4시간동안 교반하였다. 시판되고 있는 Renagel 제품을 이용하여 위와 같은 조건으로 흡착 시험을 수행하였다. 모든 흡착시험은  $36.5 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 로 유지되는 shaking incubator를 이용하였다.

### 2.6. 인산염 흡착량 분석

일정시간 흡착 시험을 거친 각각의 용액에서 상등액을 취하여 인산염 검출 키트인 Spectroquant(Merck)과 UV/visible spectrophotometer를 사용하여 용액의 흡광도를 측정하여 인산염 농도 및 흡착량을 구하였다.

### 2.7. *In-vivo* 인산염 흡착 시험

각각 8주령 Speague-Dawley 쥐 6 마리로 구성된 4개의 그룹을 설정하고, 3개의 그룹에 1.2 %의 인산나트륨 수용액을 30일간 공급하여 고인산혈증을 유도하였다. 고인산혈증이 유도된 3개의 그룹 중 한 그룹에는 미세절단 키토산 섬유를, 다른 한 그룹에는 Renagel을 6.7 mg/kg의 양으로 7일간 경구 투여하였다. 이후 각 그룹에 속한 쥐의 혈액을 채취하여 혈액 중의 serum phosphate 및 calcium 함량을 각각 phosphate assay kit(Quantichrom, USA)와 O-cresolphthalein(OCPC) method를 이용하여 측정하였다.

### 3. 결과 및 고찰

인산염 결합제는 경구투여되기 때문에 장내에서 고르게 확산시키기 위해 키토산 섬유를 미세절단하여 비표면적을 증가시키는 과정이 필요하다(Figure 1). 또한 위산과 같은 강산조건에서 용해 및 분해되지 않고 장을 통과하여 배출되어야 한다. 키토산은 분자구조상 약산의 조건에서 쉽게 용해되기 때문에 위장을 통과하여 소장에서 인산염을 결합하기 위해서는 가교시켜 산에 불용성 화합물로 제조되어야 한다. 따라서 키토산 섬유를 여러 농도의 에피클로로히드린으로 가교시켰다. 가교된 키토산 섬유의 물에 대한 팽윤도는 가교제 농도가 증가할수록 감소하였다(Figure 2). 위산의 pH 1.5 조건에서의 용해성 여부를 육안으로 관찰한 결과 10% 몰비로 가교된 키토산 섬유의 경우 과도하게 팽윤되어 일부 섬유의 형태의 붕괴가 발생하였으나 그 이상의 농도에서는 섬유의 형태를 안정적으로 유지하였다.

Figure 3에는 가교제 농도별로 각 pH 조건에서 1,000 mg/l(7.35 mmol/dm<sup>3</sup>) 농도에서의 인산염 흡착량을 나타내었다. 가교제 농도 증가에 따른 흡착량 변동은 크지 않았고, 인체 장기 통과 조건인 pH 1.5에서 2 시간, 이후 pH 7.4에서 2시간 동안 체류시킨 경우 가교제 농도에 증가에 따라 흡착량이 약간 감소하는 경향을 나타내었다. 따라서 이후 흡착량 시험에서는 20% 몰비로 가교시킨 미세절단 키토산 섬유를 사용하였다.(CTS) 또한 Renagel과 같이 폴리아민 염산염 형태와 같이 키토산 염산염으로 제조하기 위해 HCl/water/ethanol 용액으로 처리하여 미세절단 키토산 섬유 염산염을 제조하였다.(CTS/HCl)

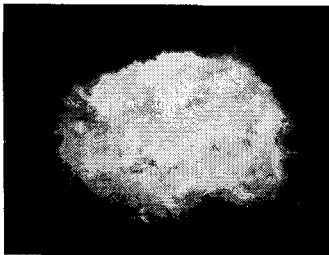


Figure 1. Photograph of short cut chitosan fiber flock crosslinked with epichlorohydrin.

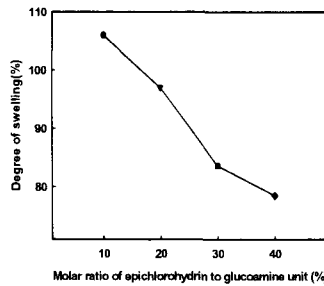


Figure 2. Effect of epichlorohydrin concentration on the degree of swelling of the chitosan fiber.

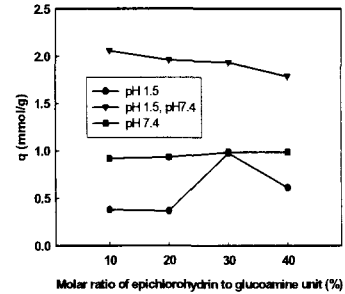


Figure 3. Effect of epichlorohydrin concentration on the adsorption of phosphate at several pH condition.

Figure 4에는 위산의 조건인 pH 1.5에서 흡착량을 나타내었고, Figure 5에는 pH 1.5, 2시간, pH 7.4, 2시간 처리했을 경우의 인산염 농도에 따른 각 인산염결합제의 g당 흡착량을 나타내었다. 각각의 결합제의 흡착량은 인산염 농도가 증가함에 따라 증가하는 경향을 나타내었고, 평형상태에 도달하지는 않았다. Renagel의 경우 인산염 흡착량이 키토산 섬유보다 약간 높게 나타났으나, 그 차이는 크지 않았다. 인산염 결합제로 널리 사용되고 있는 CaCO<sub>3</sub>는 pH 1.5 조건에서 용해되기 때문에 인산염 흡착량의 측정이 불가능 하였다. Figure 6에는 각 결합제의 중성조건 pH 7.4에서의 흡착량을 나타내었다. 각각의 인산염 농도에서의 흡착량은 Renagel, CaCO<sub>3</sub>, CTS/HCl, CTS의 순서로 높게 나타났다. 가교 키토산의 경우 중성조건에서 아민기가 전하를 갖지 않아 흡착효율이 가장 낮았으며, protonation된 염산염 형태의 키토산 섬유의 흡착량이 크게 증가할 것으로 예상되었으나 폴리알릴아민 염산염 형태의 Renagel의 인산염 결합 효율과 비교하였을 때 그 증가 정도는 크게 나타나지 않았다. 그러나 인체 장기의 통과 조건에서는 pH 1.5에서 가교 키토산 섬유가 염산염화 되어 CTS/HCl과의 흡착량 차이가 적었으며, Renagel과 비교하였을 때 비슷한 인산염 흡착거동을 나타내었다. 따라서 가교된 미세절단 키토산 섬유의 인산염 결합제로의 적용가능성은 높은 것으로 판단된다.

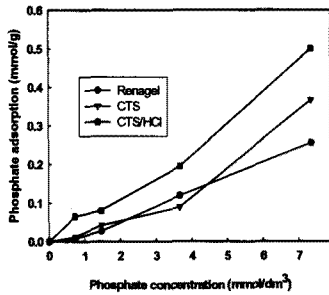


Figure 4. Adsorption of phosphate ion on Renagel, CTS, and CTS/HCl at pH 1.5 for 2 hours.

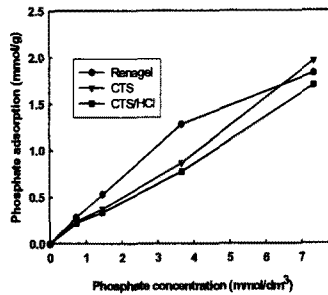


Figure 5. Adsorption of phosphate ion on Renagel, CTS, and CTS/HCl at pH 1.5 for 2 hrs and at pH 7.4 for 2 hrs.

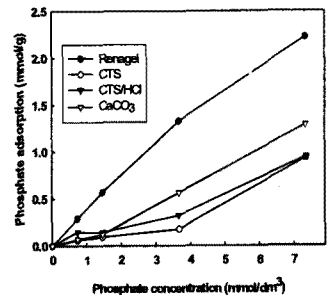
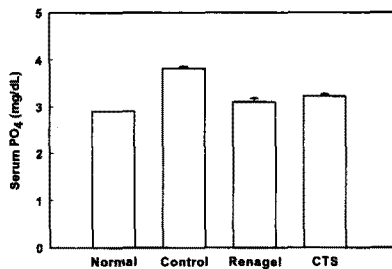
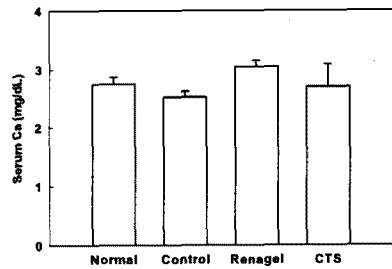


Figure 6. Adsorption of phosphate ion on Renagel, CTS, CTS/HCl, and CaCO<sub>3</sub> at pH 7.4 for 4 hours.

Figure 7은 미세절단 키토산 섬유와 Renagel의 *in-vivo* 시험 결과를 나타낸 것으로, 30일 동안 1.2 %의 인산나트륨 용액을 주입한 쥐의 경우(control) 주입하지 않은 경우(normal) 보다 혈중 인산염 농도가 높게 나타나 고인산혈증을 유발시킨 것으로 판단된다. 고인산혈증이 유발된 쥐에게 CTS와 Renagel을 7일간 투여한 결과 혈중 인산염 농도가 두 결합제 모두 정상쥐(normal)의 혈중 인산염 농도에 가깝게 감소된 것을 확인 할 수 있다. 혈중 칼슘 농도의 경우 고인산혈증이 유발된 쥐가 약간 낮은 값을 나타내었지만 그 정도가 정상쥐나 인산염결합제를 투여한 쥐와 비교하였을 때 비슷한 결과를 나타내었다. 고인산혈증 환자에게 칼슘제 결합제를 투여하였을 때 나타나는 고칼슘혈증과 같은 증상이 키토산계 결합제를 투여하였을 때 발생하지 않은 결과로부터 미세절단 가교 키토산 섬유의 인산염 결합제로서의 가능성은 매우 높은 것으로 판단된다.



(a)



(b)

Figure 7. Effects of CTS and Renagel on serum phosphate (a) and calcium (b) in hyperphosphatemic rats. Rats were given water with or without sodium phosphate for 30 days, and then, treated with CTS and Renagel for 7 days.

#### 4. 참고문헌

1. C. Burger, D. Valcarengi, S. Sandri, and C. A. Rodrigues, International Journal of Pharmaceutics 2001, 223, 29-33.
2. S. R. H. Farley, W. Harry, G. M. Whitesides, US patent, 7,014,846(2006).