

카이틴, 카이토산, EDTA, DTPA의 방사성스트론튬(Sr-85) 착화물 형성에 관한 비교 연구

전남대학교병원 핵의학과

범희승 · 김영호 · 김지열

= Abstract =

A Comparison Study of Radiostrontium Chelation with Chitin, Chitosan, EDTA and DTPA

Hee-Seung Bom, M.D., Young-Ho Kim, M.S. and Ji-Yeul Kim, Ph.D.

Department of Nuclear Medicine, Chonnam University Hospital, Kwangju, Korea

Purpose: Chitin and chitosan are nontoxic natural chelators that chelate radiostrontium effectively. The purpose of this study was to compare radiostrontium chelation of chitin and chitosan with that of well known chemical chelators, namely EDTA and DTPA. **Materials and Methods:** The chelation rates of chitin, chitosan, EDTA and DTPA were compared using a column chromatography method (Sephadex G-25M, Sweden). Three kinds of chitins and four kinds of chitosans were used. All of them were water soluble. **Results:** Phosphated chitosan showed the highest chelation yield of 97% at pH 7. All of chitins, chitosans, EDTA and DTPA showed chelation yield of more than 90% independent of varying pH level. **Conclusion:** Chitin and chitosan have similar chelation rate as compared with EDTA and DTPA. (Korean J Nucl Med 1998;32:391-5)

Key Words: Chitin, Chitosan, EDTA, DTPA, Chelation, Radiostrontium

서 론

핵사고시 환경 중으로 다량 방출되는 핵종 중의 하나인 방사성스트론튬은 인체에 오염되었을 경우 뼈조직에 주로 침착되어 백혈병, 백혈구감소증, 골

암 등의 질병을 유발시키는데, 특히 Sr-90은 그 반감기가 28.8년으로 장기간 골조직 중의 하이드록시아파타이트(hydroxyapatite) 구조에 강하게 결합되므로 일단 침착되면 제거하는 것이 대단히 어려운 것으로 알려져 있다^{1,2)}. 골조직에 침적된 방사성스트론튬의 제거에는 현재까지 ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA), diethylene triaminepentaacetic acid (DTPA), DTPA-Ca, DTPA-Na, Sodium tetramethylene diaminetetraacetate, Sodium thioctate 등의 화학적 착화제가 이용되고 있으나³⁾, 이들 자체가 지닌 화학독성 때문에 환자에게 충분한 양을 투여할 수 없으므로 독성이 없는 천연착화제의 개발이 요구

Corresponding Author: Hee-Seung Bom, Department of Nuclear Medicine, Chonnam University Hospital, 8 Hakdong, Kwangju 501-757, Korea
Tel: (062) 220-5641, Fax: (062) 223-1666
E-mail: hsbom@chonnam.chonnam.ac.kr

※ 본 연구는 1996년도 전남대학교 학술연구비를 지원받아 수행하였음.

Table 1. Chemical Properties of Chitins and Chitosans

Chitin/chitosan	Viscosity (CP)	MMW	DAC (%)
CM-Chitin-1	14.1	300,000	70-90
CM-Chitin-2	14.7	300,000	70-90
CM-Chitin-3	18.3	400,000	70-90
Chitosan-1	2.5	25,000	70-90
Chitosan-2	25.3	250,000	70-90
Chitosan-3	112.8	700,000	70-90
P-Chitosan	38	700,000	70-90

CP, centi poise; MMW, mean molecular weight; DAC, deacetylation (%).

Table 2. Chelation Yields(%) of Sr-85 with Natural and Chemical chelators Measured by Column Chromatography

pH	EDTA	CM-Chitin-1	CM-Chitin-2	CM-Chitin-3	Chitosan-1	Chitosan-2	Chitosan-3	DTPA	P-Chitosan
pH3	91.9±4.4*	92.4±4.0	92.2±2.4	92.6±4.0	91.0±4.2	95.7±2.7	91.3±5.9	97.3±1.7	94.9±5.4
pH5	93.6±3.0	91.4±3.0	90.5±4.2	95.8±3.9	91.0±7.1	93.0±6.9	89.4±6.4	97.1±1.9	95.4±3.9
pH7	94.6±4.0	92.9±4.6	86.4±7.7	92.4±3.5	90.3±10.0	93.8±4.1	90.2±4.4	94.6±3.9	97.0±1.9

* mean ± standard deviation.

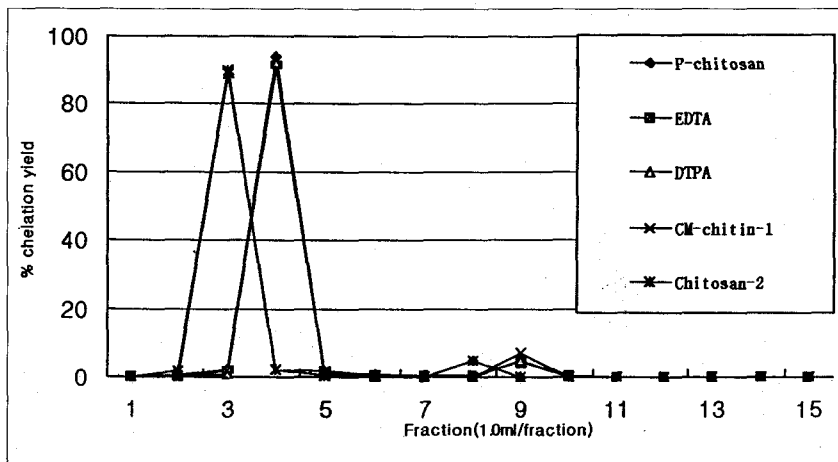


Fig. 1. Column chromatographic assessment of chelation of Sr-85 by chitin, chitosan, EDTA and DTPA in pH 7. Initial large peak indicates chelated fractions and the second small peak indicates free Sr-85. Chelation yield (%) is per cent of chelated fraction to the total.

되고 있다.

셀룰로스와 비슷한 구조를 가지고 있는 카이틴과, 카이틴을 탈아세틸화 시켜 얻어지는 카이토산은 다양한 용도를 가진 천연무독성 착화제로^{4,5,18)} 방사성

스트론튬과 강한 착물을 형성하는 것으로 밝혀졌지만^{6,7)}, 화학적 착화제와 착물형성에 있어 어느 정도의 차이가 있는지, 특히 방사성스트론튬과 차이가 있는지 여부는 아직 보고된 바가 없다.

본 연구에서는 column chromatography를 이용해 천연착화제인 카이틴, 카이토산과 화학적착화제 EDTA, DTPA의 방사성스트론튬(Sr-85)에 대한 착화물 형성 수율을 비교함으로써 카이토산의 임상적 적용에 기초 자료로 삼고자 하였다.

대상 및 방법

카이틴과 카이토산, 인산카이토산은 수용성으로서 분자량별로 제조한 제품(여수 충무산업)을 구입하여 생리식염수에 용해시켜 사용하였다(Table 1). EDTA는 미국 SIGMA사에서 공급하는 제품을, 그리고 DTPA는 미국 ACROS사에서 공급하는 제품을 구입하여 사용하였다. 방사성스트론튬($^{85}\text{SrCl}_2$, 이하 Sr-85)은 미국 Dupon사 제품을 구입하여 사용하였으며, 이를 생리식염수에 희석하여 0.25 $\mu\text{Ci/ml}$ 가 되도록 조정하였다.

컬럼은 PD-10 Sephadex G-25M (Code No. 17-0851-01, Sweden) 컬럼을 사용하였는데, 먼저, 컬럼 내부에 충전된 탈이온수를 제거하기 위하여 3.5 ml의 증류수를 통과시켰다. 시료 용액 2.8 ml와 Sr-85 용액 0.2 ml (7.5 KBq/ml)를 혼합한 후, 교반배양기 (Model 36-SIN-90, 국제사이언)를 이용하여 24°C의 온도 조건에서 5분간 교반하였다. 교반 후, 증류수로 충전된 컬럼에 반응용액을 통과시켰다. 처음에 유출된 증류수를 제거하고, 동일한 방법으로 증류수를 3 ml씩 컬럼에 충전하여 이를 fraction volume으로 하였는데, 위와 같은 방법으로 20회 fraction한 후 시간별로 유출된 용액 중의 방사능을 각각 측정하였다. Sr-85의 감마에너지(515 KeV)와 방출비율(98%)을 고려하여 감마카운터(Hewlett-Packard, Cobra 5005, USA)를 이용하여 측정하였다. 착화물 형성비율(chelation yield)은 첫 2~5번 분획에서 착화물이 나오고 7~10번 분획에서 Sr-85 자유형이 나오므로, 전체 분획의 방사능 중에서 첫 2~5번 분획의 방사능이 차지하는 비율을 착화물 형성비율로 하였다(Fig. 1). 같은 실험을 5회 반복하여 평균과 표준편차를 구하였다.

통계분석은 PC용 SAS프로그램을 이용하여 ANOVA test를 시행하였으며, p 값 0.05 미만을 유

의한 값으로 해석하였다.

결 과

천연착화제와 화학적 착화제의 종류별, pH별 Sr-85 착화율을 Table 2에 나타내었고, 대표적인 칼럼크로마토그래피 결과를 Fig. 1에 보였다.

천연착화제와 화학적 착화제 모두 pH에 따른 착화율의 차이를 보이지 않았다. 화학적 착화제 중 DTPA가 EDTA보다 높은 착화율을 보이는 경향이 있었으나 통계적으로 유의한 차이는 없었다.

카이틴은 평균분자량 30만과 40만, 카이토산은 25,000에서 70만까지 3군으로 나누어 분자량의 차이에 따른 Sr-85착화율의 차이를 알아보았으나, 각 군 간에 착화율의 차이를 인정할 수 없었다. 또 인산카이토산의 경우 다른 카이토산에 비해 약간 높은 착화율을 보였으나 통계적으로 유의한 차이는 없었다.

고 찰

본 연구에서는 컬럼크로마토그래피를 통해 천연무독성 착화제로 알려진 카이틴, 카이토산과 화학적 착화제의 일종인 EDTA, DTPA와의 방사성스트론튬에 대한 착화율을 서로 비교함으로써 카이토산의 임상적 적용시 천연착화제로써 화학적 착화제와 착화율에 별 차이가 없이 우수한 착화능이 있음을 관찰하였다.

카이토산은 게, 새우, 곤충류와 같은 갑각류의 외골격을 구성하는 성분 중의 일종인 카이틴의 탈아세틸화반응을 통해 얻어진 물질로서 2가 양이온 중금속 및 방사성스트론튬의 흡착에 우수함을 나타내는 천연무독성의 착화제이다. 이러한, 카이틴과 카이토산을 이용한 중금속 및 방사성동위원소의 크로마토그래피를 이용한 연구는 이탈리아 과학자 Muzzarelli와 그의 동료들에 의해 실시되었는데 카이틴, 카이토산을 이용하여 해수에서 2가 중금속 이온들에 대한 흡착연구를 통해 Hg, Fe, Zn, Cu이온 등에 거의 90~100% 가량의 흡착력을 가지고 있으며, 우라늄 등과 같은 방사성물질의 흡착력이 뛰어난 밝힌

바 있다⁸⁻¹¹⁾. 또한, Sakaguchi 등¹³⁾은 인산카이토산을 이용한 우라늄과 다른 중금속이온들에 의한 흡착 실험을 통해 카이틴 보다는 카이토산이 우라늄에 대해 더 높은 흡착력을 나타냄을 보고한 바 있다. 이러한 연구 결과를 토대로 현재 여러 학자들에 의해 카이틴과 카이토산을 이용한 크로마토그래피 실험이 진행되고 있지만¹⁴⁻¹⁶⁾, 실제로 천연착화제와 화학적 착화제 간의 방사성동위원소에 대한 착화율을 비교한 보고는 찾아보기 힘들다.

본 실험에서는 분자량이 서로 다른 카이틴 3종, 카이토산 3종, 인산카이토산 1종 등을 사용하여 EDTA, DTPA 등과의 방사성스트론튬 착화율을 비교하였는데, 천연착화제나 화학적착화제 모두 pH에 큰 영향을 받지 않고 방사성스트론튬에 90% 이상의 거의 비슷한 높은 착화율을 나타내었다. Tong 등¹²⁾은 카이토산 유도체를 이용한 이온교환수지 연구를 통해 일부 중금속이온의 흡착력에 pH가 영향을 준다고 보고하였으나, Muzzarelli^{8,9)}는 2가 중금속 이온에 대한 카이틴 및 카이토산의 실험 결과 방사성 스트론튬에 대한 흡착능은 pH에 영향을 받지 않고 훨씬 더 높은 착화율을 나타냄을 보고하였다. 한편 Kim¹⁷⁾ 등은 불용성 상태의 카이틴과 카이토산, 인산카이토산의 방사성스트론튬, 방사성철의 흡착에 관한 연구에서 pH에 따라 흡착에 약간의 차이가 있는 것을 보고하였다. 본 연구에서는 수용성 카이틴, 카이토산을 사용하였는데, Muzzarelli의 보고와 같이 방사성스트론튬의 흡착에 pH가 영향을 주지 않음을 알 수 있었다.

결론적으로 천연착화제인 카이틴, 카이토산은 화학적착화제와 차이가 없이 방사성스트론튬에 대해 우수한 착화율을 보이므로, 무독성인 점을 감안한다면 방사성스트론튬 오염에 실제적으로 사용할 수 있는 착화제라고 사료되었다.

요 약

목적: 방사성스트론튬은 핵사고시 방사성염소, 방사성세슘 등과 더불어 환경 중으로 다량이 방출되어 환경 및 인체를 오염시키는 방사독소 중의 하나이다. 본 실험에서는 분자량이 서로 다른 카이틴 3종,

카이토산 3종, 인산카이토산 1종 등의 천연착화제와 EDTA, DTPA 등의 화학적착화제를 컬럼크로마토그래피 방법을 통해 방사성스트론튬에 대한 착화율을 비교하였다. **대상 및 방법:** 실험에 사용한 카이틴 및 카이토산, 인산카이토산, EDTA, DTPA은 모두 수용성으로 생리식염수에 녹여 0.01% 상태로 만들어 사용하였으며, 컬럼은 PD-10 Sephadex G-25 M을 사용하였다. 착화물 형성비율은 전체 분획의 방사능 중 착화물의 분획이 차지하는 비율(%)로 산출하였다. **결과:** 카이틴, 카이토산, 인산카이토산과 같은 천연착화제나 EDTA, DTPA 등의 화학적착화제 모두 pH 3, 5, 7에서 평균 90% 이상의 높은 착화율을 나타내었는데, 통계적으로 유의한 차이는 없었다. **결론:** 천연착화제인 카이틴, 카이토산은 화학적 착화제와 차이가 없이 방사성스트론튬에 대해 우수한 착화율을 보이므로, 무독성인 점을 감안한다면 방사성스트론튬 오염에 실제적으로 사용할 수 있는 착화제라고 사료된다.

참 고 문 헌

- 1) Stara RJ, Nelson NS. Comparative metabolism of radionuclides in mammals: A Review. *Health Phys* 1971;20:113-37.
- 2) Stather JW. Distribution of ³²P, ⁴⁵Ca, ⁸⁵Sr, and ¹³³Ba as a function of age in the mouse skeleton. *Health Phys* 1975;26:71-9.
- 3) Spence H, Kramer L, Samachson J. Strontium-90 calcium interrelationships in man. *Health Phys* 1973;24:525-33.
- 4) Arai K, Kinumaki T, Fujita T. Toxicity of chitosan. *Bull Tokai Reg Fish Res Lab* 1968;337: 88-94.
- 5) Kim KY, Bom HS, Oh CS, Lee HC, Park RD, Kim HK, et al. Genetic toxicity of chitosan and EDTA in mice. *Chitin Chitosan Res* 1996;23:122-3.
- 6) Skjak-Break G, Anthonsen T, Sandford P. Chitin and chitosan in sources, chemistry, biochemistry, physical properties and applications. pp51-69, NY, Elsevier science Publishing Co, 1989.
- 7) Bom HS, Kim KY, Yang KH, Chae KM, Song HC, Kim JY. The removal of contaminated radiostrontium from mice by water soluble chitosan. *J*

- Kor Rad Protec* 1994;19:230-4.
- 8) Nishimura Y, Kakuta I, Takeda H, Inaba J, Imai K, Watari K, Matsusaka N. Effect of natural chelating agents on the intestinal absorption of radiostrontium in rats. *Radiation Protection Dosimetry* 1994;53:331-4.
 - 9) Muzzarelli RAA, Tubertini O. Chitin and chitosan as chromatographic supports and adsorbents for collection of metal ions from organic and aqueous solution and sea water. *Talanta* 1969;16:1571-7.
 - 10) Muzzarelli RAA. Chitosan the collection from seawater of naturally occurring zinc, cadmium, lead and copper. *Talanta* 1971;18:853-8.
 - 11) Muzzarelli RAA, Rocchetti R. The determination of vanadium in sea water by hot graphite atomic absorption spectrometry on chitosan after separation from salt. *Anal Chem Acta* 1974;70:1222-6.
 - 12) Muzzarelli RAA, Raith G, Tubertini O. Separation of trace elements from sea water brine and sodium and magnesium salt solution by chromatography on chitosan. *J Chromatog* 1970;47:414-20.
 - 13) Sakaguchi T, Horikoshi T, Nakajima A. Adsorption of Uranium by Chitin Phosphate and Chitosan Phosphate. *Agric Biol Chem* 1981;45:2191-5.
 - 14) Holme KR, Hall LD, Armstrong CR, Withers SG. Synthesis and evaluation of chitosan-based, affinity-chromatography materials. *Carbohydr Res* 1988;173:285-91.
 - 15) Rabinovich SE, Lobareva LS, Paskhina TS. Purification and some physico-chemical and enzymatic properties of tissue kallikrein from human urine. *Biokhimiia* 1990;55:1675-89.
 - 16) Kochibe N, Matta K.L. Purification properties of N-acetylglucosamine-specific lectin from *Psathyrella velutina* mushroom. *J Biol Chem* 1989;264:173-7.
 - 17) Tong P, Baba Y, Adachi Y, Kawazu K. Adsorption of metal ions on a new chelating ion-exchange resin chemically derived from chitosan. *Chem Lett* 1991;1529-32.
 - 18) Kim HK, Joo DS, Lee JS, Park JJ, Lee EH, Lee BM, et al. The absorption effects of the radioactive isotopes (Sr-85, Hg-203, Fe-59) by the difference of molecular weight of phosphated chitosan. *Chitin Chitosan Res* 1996;2:162-5.
-