

## 키토산 C-6에 Amine기를 갖는 Polyamino Acid 유도체의 합성과 생물학적 활성에 관한 연구

류성렬<sup>†</sup>

<sup>†</sup>대불대학교 보건학부  
(2011년 11월 12일 접수 ; 2011년 12월 6일 채택)

### A Study on the Synthesis and Biological Activity of Polyamino Acid Derivatives have Amine Group on to Chitosan C-6

Soung-Ryual Ryu<sup>†</sup>

Dept. of Health Science, Dae Bul Univ., Sam Ho. Young Arm 526-850, Korea  
(Received November 12, 2011 ; Accepted December 6, 2011)

**Abstract** : Chitosan is widely used in cosmetics and medical fields. Special emphasis has been put on the chemical modification of chitosan to explore its full potential. We have described the synthesis and biological activity of novel peptide amino acid derivatives. The polyamino acid derivatives were synthesized by introducing alkylamine functional group on chitosan at C-6. The poor aqueous solubility of chitosan derivatives hinder both pharmacological studies and pharmaceutical development. To make amino acid coupled chitosan derivatives with improved biological effect and solubility, some attempts have been taken to consist of amino peptide group like aspartic acid and phenylalanine-aspartic acid derivatives onto chitosan C-6. The resultingly substituted chitosan was characterized by solubility in various solvents. We measured chitosan derivatives with <sup>1</sup>H-NMR and <sup>13</sup>C-NMR. Also; We were investigated on the physical properties and biological activities of these products.

**Keywords** : chitosan, polyamino acid derivatives, aminopeptide group, aphysical properties and biological activities.

### 1. 서론

키토산(chitosan)은 식물체의 셀룰로오스와 같이 생물체의 외골격을 형성하여 지지체나 방어 역할을 수행하는 물질로써 키틴(chitin)을 가수분해하여 얻어지며 chitin은 N-acetyl-D-

glucosamine이 β-(1, 4)로 결합한 다당류[poly β-(1→4)-N-acetyl-D-glucosamine]로 환경 친화성이 높고 체내에 존재하는 당질 분해 효소인 lysozyme에 의하여 가수분해 되는 생체 적 합성 및 무독성 천연고분자다. 그리고 chitosan [poly β-(1→4)-2-amino-2-deoxy-D-glucan]은 chitin[poly β-(1→4)-2-amino-2-deoxy-D-glucan]의 C<sub>2</sub>위치에 있는 N-acetamide기 중에

<sup>†</sup>주저자 (E-mail : cmtryu@hanmail.net)

acetyl기를 제거하여 얻어진 polysaccharide로서 물리적 성질이 chitin과는 다르다. 그중 chitin 그 자체의 용도는 낮고, 대부분 chitosan 제조 원료로 사용되고 있다. chitin이나 chitosan을 가수분해하여 얻어진 저분자 다당류인 D-glucosamine, N-acetyl-D-glucosamine과 소당류인 chitin oligomer, chitosan oligomer를 이용을 극대화하는데 중요한 몫을 하고 있다. chitin과 chitosan은 환경 폐수 응집제, 창상치료제 대장균에 대한 항균효과 및 어류에 기생하는 섬모충에 대한 구충효과 등 산업분야에서 광범위하게 연구되고 있다[1-3]. 특히 chitin 유도체는 무독성, 무공해성, 생분해성 등의 특성을 이용하여 약물 전달 체, 혈액 응고제 및 식품 첨가제, 항균작용, 면역강화작용, 항암활성 등이 있는 것으로 보고되고 있다[4-6].

본 연구에서는 의약 부외품으로의 약효 지속성 및 약물 방출에 따른 지지체 피부 미용 거즈 및 생물학적 가교제를 연구하는데 있다. 또한 아미노산의 일종인 aspartic acid와 phenylalanine을 합성한 L-aspartyl-L-phenylalanine acid methylester(aspartam)를 이

용하여 합성한 polyaminopeptide(PAP)을 질소기류 하에서 chitosan C-6위치의 OH기를 iodine으로 치환시켜 결합한 화합물과 새로운 polypeptideamino acid를 갖는 키토산 유도체를 합성하고자 하였다. 이 물질은 피부미용 및 의약 부외품에서 약물전달시스템(drug delivery system, DDS)[7, 8]의 응용 지지체로 활용가능성이 높을 것으로 예상된다. 그리고 화합물의 구조와 항균효과와의 관계를 고찰하기위해서 polyamino acid chitosan(10)을 이용하여 미생물인 *Escherichia coli* (gram negative) and *Staphylococcus epidemis*(gram positive)를 이용하여 항균 효과를 확인하고자 하였다. polyamino acid chitosan 유도체의 분자구조는 Fig. 1.에 나타내었으며, 그리고 chitin 및 chitosan, amino acid를 이용한 합성 경로는 Scheme 1~4.에 나타내었다.

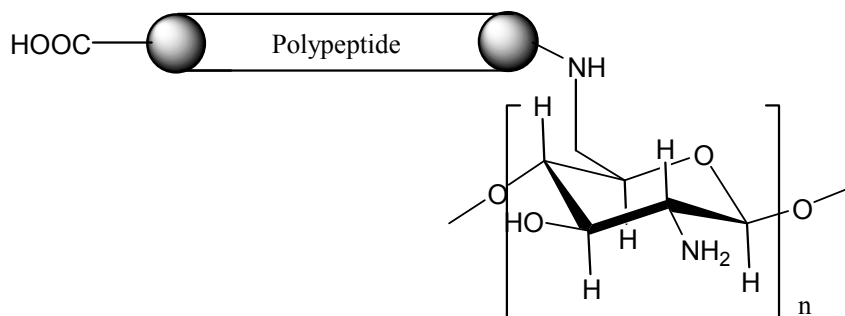
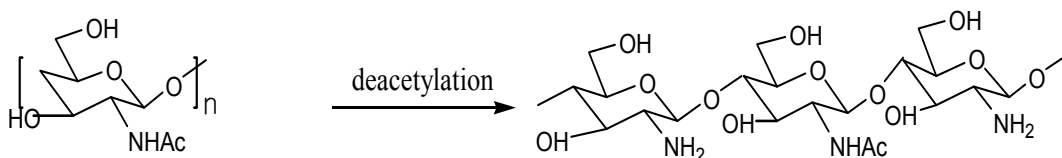
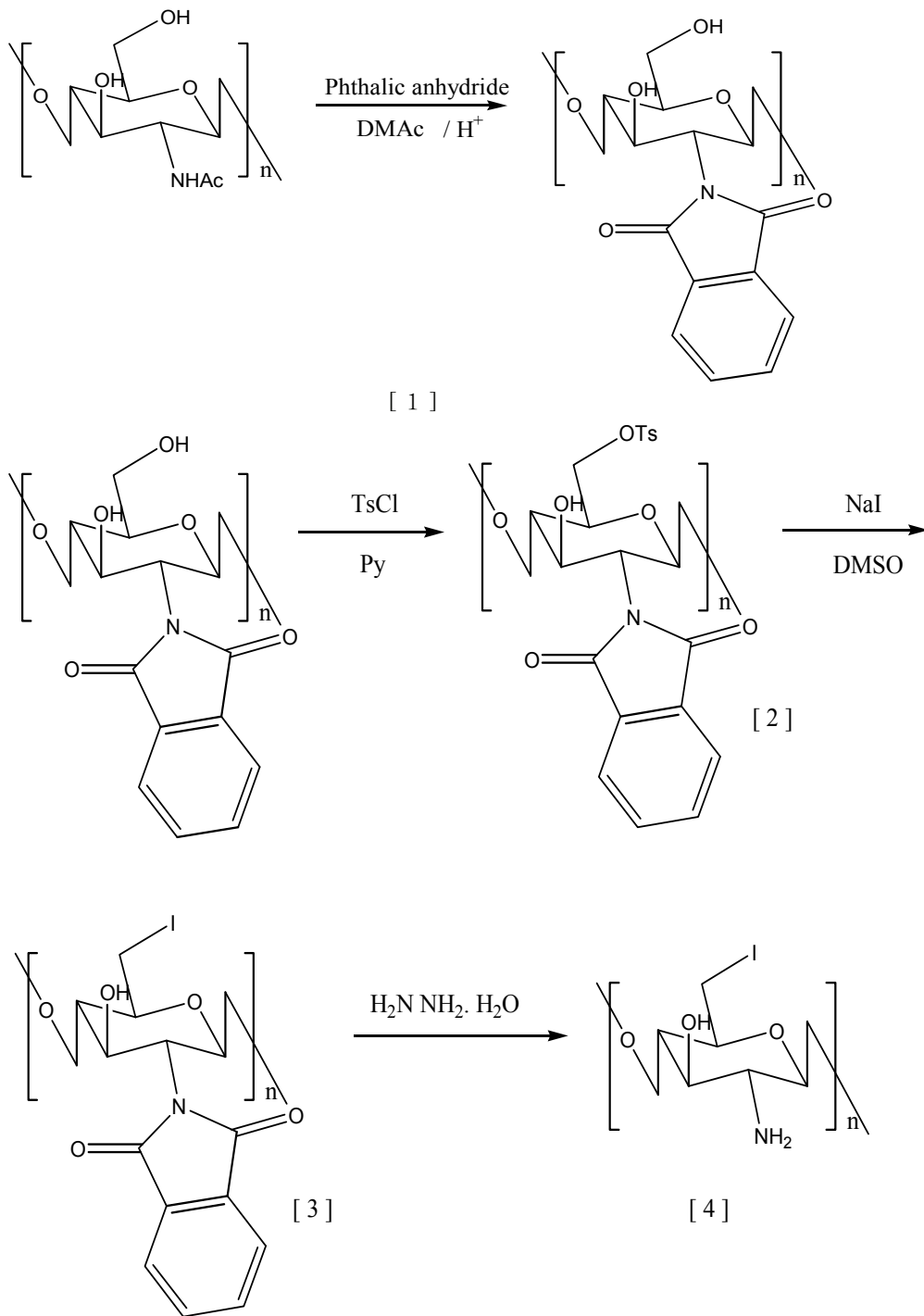


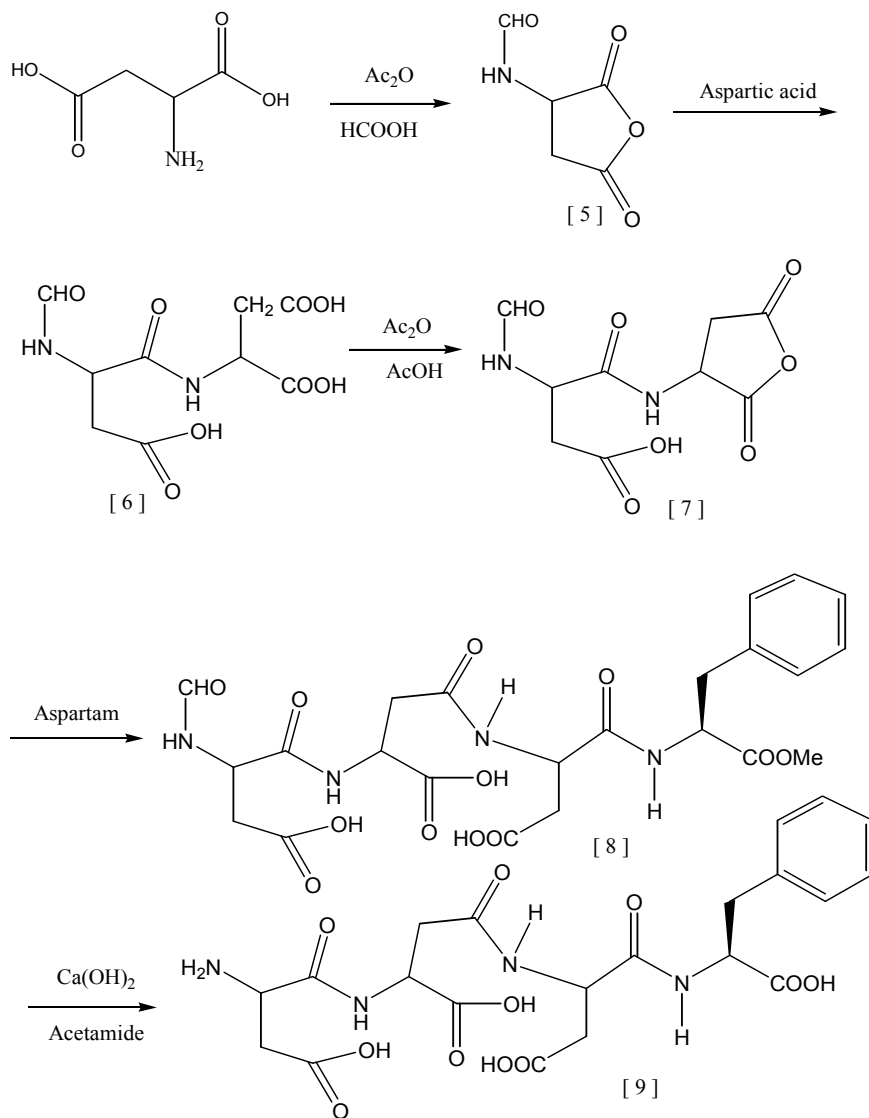
Fig. 1. Polyamino acid chitosan derivative as target molecule.



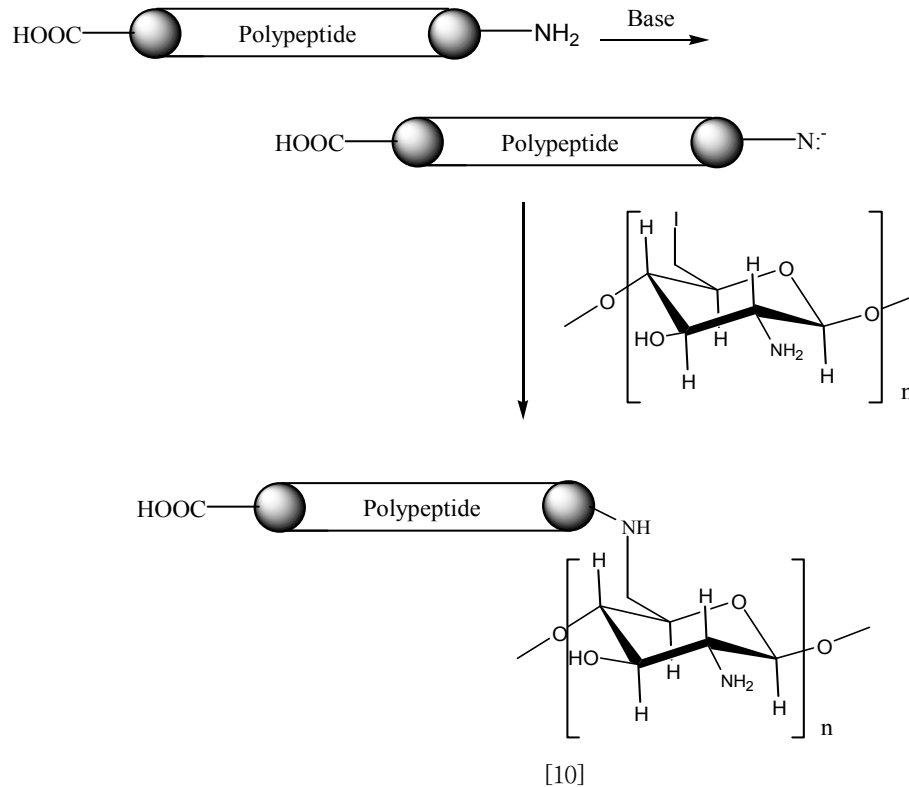
Scheme 1. Deacetylation of chitin



Scheme 2. Synthetic route of iodo chitosan.



Scheme 3. Synthetic route of polyamino acid(PAA) derivative by amino acid.



Scheme 4. Synthetic route of polyamino acid chitosan(PACTS) derivative by amino acid

## 2. 실험

### 2.1. 시약 및 기기

합성에 사용된 aspartam과 아미노산 그리고 유기용매는 미국 Aldrich사의 시약을 사용하였다. 그리고 합성한 화합물을 확인하는데 사용한 기기 중 융점 측정은 Thomas Hoover melting point apparatus를 사용하였으며, 보정은 하지 않았다. IR 스펙트럼은 Bruker IFS 66 FT-IR S분광계를 사용하였으며, 표면구조는 Hitachi X-650의 Scanning electron microscope(SEM)를 사용하여 측정하였다. NMR experimental condition (at MNUCL): Spectrometer; Bruker Avance 400 NMR spectrometer. Solid-state nmr Probe : 4mm Double resonance MAS probe. Rotor : 4mm (o.d.) Zirconia with Kel-F cap. MAS rate : 13000 Hz for samples

and 5000 Hz.

### 2.2. Polypeptide amino acid chitosan 유도체의 합성

#### 2.2.1. Acetyl화 측정

본 연구에서 분리한 키틴, 키토산의 원소분석 결과와 완전한 키틴 키토산 원소분석 결과와의 질량% 결과로부터 N/C에 따른 계산 값으로 환산하여 비교하였다.

#### 2.2.2. 키토산 유산염 제조

키토산 10 g를 증류수 500 ml에 분산시키고 1 M  $\text{CH}_3\text{COOH}$  5 ml를 첨가하여 키토산을 녹인 후, 증류수를 첨가하여 포화 중탄산나트륨 용액을 가하면서 pH가 6이 되도록 한 후 전체 부피가 1 L가 되도록 증류수를 첨가하여 1%

Table 1. Elemental Analysis of Chitin and Chitosan

Sample	C	H	N	N/C	Acetylation(%)
Chitin	45.1	6.54	6.91	0.1532	84.6
Chitosan	44.8	6.86	8.64	0.1928	3.3
Poly(N-aceylglucosamine)	47.3	6.54	6.89	0.1457	100
Polyglucosamine	44.7	6.88	8.69	0.1944	0.0

키토산 용액을 제조하였다.

### 2.2.3. 키토산 저 분자량 제조

분자량이 낮은 저 분자량 키토산을 제조시 반응조건은 다음과 같다. 50 units의 chitosanase를 0.1M 초산 완충용액 10 ml에 녹인 후 키토산 고정화 담체 14 g에 첨가하여 25°C에서 30분간 방치한 후 증류수로 충분히 세척하였다. 이어서 유리 칼럼(glass column; 10×250 mm)에 충전 하였다. 1% 키토산 용액은 고정화 효소의 최적반응 조건이 pH 6.0 및 55°C로 조절하면서 연속적으로 공급하였으며, 유출속도는 분당 10 ml로 조절하였다. 그리고 키토산 가수분해 액을 한외여과막 반응기(UF membrane reactor; millipore minitan system, MWCO 10,000 Da membrane)의 기질로서 공급하였다. 한외여과막 반응기에서는 pH 6.0 및 45°C로 조절하면서 막의 투과유속을 고정화 칼럼 반응기와 동일한 8 ml/min로 일정하게 유지시켜 조절하였다. 한외여과막 반응기에서는 고정화 칼럼 반응기로부터 공급되는 키토산 가수분해물의 기질이 1,000 ml가 될 때 50 units의 chitosanase를 첨가하여 저분자량 키토산 및 올리고당을 제조하였다.

### 2.2.4. 요오드 키토산 (Iodo Chitosan)의 합성

#### 1) 프타노일 키토산 (N-phthaloylchitosan) 화합물의 합성

K, Kurita 등의 방법[9-14]를 이용하여 3구 둥근 플라스크에 키토산의 아미노기를 보호하기 위하여 phthalic anhydride를 사용하였다. 250  $\mu$ l를 통과한 1.0 g의 화합물(5)를 20.0 mL 디메틸포름아마이드(dimethylformamide)에 1시간 침적시킨 후, 화합물(5)의 피라노스(pyranose)의 3당량에 해당하는 phthalic

anhydride 2.76 g를 넣고 120~130°C 조건하에서 1시간 동안 반응하였다. 합성된 화합물(1)은 메탄올을 사용하여 재결정 한 후 에탄올, 에스테르 순으로 세척하였으며 이를 감압, 건조하여 결정화합물 [4]를 얻었다. 합성수율은 약 34%이었다.

$^{13}\text{C-NMR}$ (300 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 59.6-100.2, 137.8-123.3, 168.0 FT-IR (KBr) $\text{Cm}^{-1}$ : 1776, 1712, 721.

#### 2) 프타노일-토실화 키토산

(N-phthaloyltosylchitosan)화합물의 합성 3구 둥근 플라스크에 0.3 g의 N-phthaloylchitosan(1)을 10.0 mL의 무수 피리딘에 녹인 후, 화합물(1)의 피라노스의 13당량에 해당하는 tosylchloride 2.5 g를 10.0 mL 무수 피리딘에 녹여 첨가한 후, 질소기류 하에 상온에서 10시간 반응하였다. 합성된 화합물을 메탄올을 사용하여 재결정 한 후 에탄올, 에스테르 순으로 세척하였으며 이를 감압, 건조하여 정제된 결정화합물(2)을 얻었다. 합성수율은 약 11%로 낮았다.

$^{13}\text{C-NMR}$  (300 MHz, Pyridine- $d_5$ )  $\delta$ : 14.7, 21.9, 57.9-100.2, 136.5-125.5, 137.6 171.1 FT-IR (KBr) $\text{Cm}^{-1}$ : 1776, 1712, 1176, 815, 721

#### 3) 프타노일-요오드 키토산

(N-phthaloyliodo-chitosan)화합물의 합성 3구 둥근 플라스크에 0.16 g의 N-phthaloyltosylchitosan 화합물(2)을 무수 피리딘 5.0 mL에 녹인 후, 화합물(2)의 피라노스의 10당량에 해당하는 0.53 g의 요오드화 소듐을 첨가한 7.0 ml 무수 피리딘용액을 가하고 질소기류 하에 85°C에서 24시간 반응하였다. 합성한 화합물은 메탄올을 사용하여 재결정한 후 에탄올, 에테르 순으로 세척하였으며 이를 감압 건조하여 정제된 결정화합물(3)을 얻었다. 합성

수율은 약 20%이었다.

$^{13}\text{C}$ -NMR (300 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 5.61-100.2, 134.7-121.8, 167.7 FT-IR (KBr) $\text{Cm}^{-1}$  : 1776, 1712, 721

4) 요오드 키토산(Iodochitosan)화합물의 합성  
3구 둥근 플라스크에 0.05g의 N-phthaloyliodochitosan(3)을 하이드라진(hydrazine hydrate)을 당량 사용하여 90~100°C에서 24시간 반응하였다. 이를 거르고 감압 농축하여 에테르를 소량 넣은 후 냉각시켜 결정화합물을 얻었다. 이를 에탄올을 사용하여 재결정한다. 그리고 석유 에테르로 세척한 다음 감압, 건조하여 정제된 결정화합물(4)을 얻었다. 합성수율은 약 40%이었다.

$^{13}\text{C}$ -NMR (200 MHz, DCOOD)  $\delta$  : 54.9, 61.0, 69.1, 71.8, 76.4, 96.4  
FT-IR (KBr) $\text{Cm}^{-1}$  : 1650, 1591, 1444, 1374, 1074, 550.

#### 2.2.5. Polyamino acid (PAA)화합물(9)의 합성

앞에서 발표한 Ryu 등의 방법[15]를 이용하여 3구 둥근 플라스크에 aspartic acid 4.7 g (0.04 mole)를 재 증류한 아세트-헥산 혼합용액 (90/10. v/v) 30 ml를 넣은 후 formic acid 200 ml와 acetic anhydride 20 ml를 넣고, 실온에서 약 1시간 저어주었다. 그리고 40°C에서 2시간 저어주면서 TLC로 반응 진행도를 확인 하였다. 그리고 이를 감압 농축한 다음 벤젠 30 ml를 넣은 후 다시 aspartic acid 4.7 g(0.04 mole)를 넣은 후 3시간 동안 같은 온도에서 저어주면서 화합물 (6)을 합성하였다. 그리고 감압 농축한 다음 이어서 acetic acid 20 ml를 넣고 다시 acetic anhydride 20 ml를 넣은 후 약 40°C에서 2시간 동안 저어주면서 TLC를 이용하여 반응이 진행되는 것을 확인하였다. 그리고 감압 농축한 다음 acetone 30 ml를 넣은 후 aspartam 1.0 g(35 mmole)을 넣었다(40 v/w)[10]. 저온에서 약 3시간동안 잘 저어주면서 반응을 진행시켰다. 그리고 acetamide 0.5 g를 넣은 후 약 50°C에서 3시간동안 저어주면서 반응 진행 정도를 확인한 다음 이를 거르고 methanol 과 ether 순으로 세척하였다. 그리고 2N-Ca(OH) $_2$  용액 50 ml에 넣은 후 저온 가수 분해시킨 다음 2N HCl를 이용하여 pH 3으로 조절하여 결

정화합물을 모아서 이를 증류수로 24시간 동안 투석을 실시하였다. 결정화합물을 걸러서 vacuum oven에서 약 50°C에서 2시간동안 건조시켜 화합물 (9)을 얻었다.

$^1\text{H}$ -NMR (20% DCl/ $\text{D}_2\text{O}$ ): 1.46(m, 2H,  $-\text{CH}_2-$ ), 1.84(m, 1H,  $=\text{CH}-$ ), 2.7(m, 2H,  $-\text{CH}_2-$ ), 3.68(d, 2H,  $-\text{CH}_2-$ ), 3.8-4.1 (H2, H3, H4, H5, H6)

#### 2.2.6. Polyamino acid chitosan 유도체 [PACTS]의 합성

3구 둥근 플라스크에 polyamino acid(PAA) 화합물 1 g( $1.9 \times 10^{-3}$  mole)를 별도로 준비한 2 g(12 mmole glucosamine unit)의 chitosan을 2% acetic acid 30 ml에 녹인 후methanol을 넣은 후 거르고 acetone 40 ml로 세척하였다. 그리고 이를 3구 둥근 플라스크에 각각 넣은 후 dimethylformamide(DMF) 40 ml를 넣고 약 2 시간동안 잘 저어주었다. 그리고  $\text{K}_2\text{CO}_3$  0.26g ( $1.9 \times 10^{-3}$  mole)를 넣은 후 약 60°C에서 5 시간 동안 저어주면서 반응을 완성시켰다. 반응 혼합물을 65°C에서 6시간 동안 저어준 다음 생성물을 원심분리기로 약 30분 동안 처리한 다음 생성된 결정화합물을 20% NaOH 을 첨가하여 중화시킨 후 물과 methanol, ethanol 그리고 ether순으로 세척하고 건조시켜 최종 생성물 3.6 g (0.7%)를 얻었다.

#### 2.2.7. Polyamino 키토산 유도체 화합물에 대한 Minimum Inhibitory Concentration (MIC *in vitro*)의 측정

##### (1) 균주

본 실험에 사용한 미생물은 *E. coli* 와 *S. epidermis*의 균류를 사용하였다.

##### (2) 배지

본 실험에 사용한 미생물시험용 배지: mueller hinton broth, mueller hinton ager를 사용 하였다.

##### (3) Poly amino chitosan 유도체의 생물학적 활성 측정 측정:

1) 균희석액을 만들기 위해 전 배양은 균의 농도가 104-106 CFU/ml가 되게 희석한다.

- 2) 각 검체를 알맞은 용매로 녹인 후 배지로 2배 희석법으로 희석한다.
- 3) 각각의 시험관에 균액을 접종한다.
- 4) 세균은 37°C 24시간 배양한다.
- 5) 각 배양이 끝난 후 시험관을 흔들여 균의 탁도를 확인한다. 탁도 여부를 확인한 후 각각을 mueller hinton agar, sabouraud dextrose broth 배지에 접종, 확인한다.
- 6) 균의 성장여부를 확인한 후 성장이 인정되지 않는 가장 낮은 농도의 시험관 농도를 정하여 상기와 같은 액체배지 희석법(broth serial dilution method)으로 MIC를 정한다.

(4) 각 화합물에 대한 항균 활성효과:

합성한 polyamino acid derivative과 대조 화합물로 chitosan에 대한 in vitro 에서 최소발육 저지농도(MIC, ( $\mu\text{g/ml}$ ))에 대한 측정결과는 Table 2에 수록 하였다.

Table 2. Measurement on the Biological Activity of Polyamino Acid Derivative(MIC)

Samples	Minimum inhibitory concentration (% w/v)	
	<i>Staphylococcus epidermis</i>	<i>Escherichia coli</i>
[ACTS]	0.0015	0.0016
[PPAACTS]	0.0042	0.0523

새로 합성한 PACTS 유도체인 화합물(10)화합물의 항균성 효과 검증에 E. coli and S. epidermis의 균류를 사용하였고, 배지로는 박테 펩톤 20 g, 효모추출물 10 g, 염화나트륨 20 g, 증류수 21 ml의 조성으로 이루어진 LB 배지(pH 7.3)를 사용하였다. 그리고 항균제인 ACTS를 대조약제로 하여 이들을 각각 함유하는 검정배지를 제조하였다. 즉, DMF 0.3%(v/v)을 함유하는 인산 완충액(1.0% w/w, pH 6.0) 1 ml에 각 화합물을 첨가하여 이를 LB 배지와 혼합하였을 때, 항균제의 최종 농도가 100  $\mu\text{l/ml}$ 가 되도록 하였다. 그리고 이를 2배씩 희석시켜 0.05  $\mu\text{l/ml}$ 까지 농도가 다른 12개씩의 용액을 제조하였다. 한편, 균체 액은 LB배지로 ml

당 10개의세포가 포함되도록 제조하여 사용하였으며, 균체 액의 농도는 1.20% LB 아가지에서 측정된 CFU(colony forming unit)에 따라서 결정하였으며 세균은 37도 24시간 동안 미리 진탕 배양한 것을 사용하였다. 균체액과 항균제 용액을 20000 : 1(v/v)의 비율로 혼합한 다음 각 화합물에 따라서 45시간까지의 범위에서 매 5분 마다 670nm에서의 광학밀도 (optical density)를 측정하였다. 광학밀도에 의거하여 균류의 증식곡선을 작성하고, 증식곡선으로부터 최소 억제농도(minimum inhibitory concentration : MIC)를 결정하여 하기 Fig. 2의 결과를 얻었다.

### 3. 결과 및 고찰

PAACTS 유도체인 화합물 (10)의 합성 경로는 Scheme 1~4에 나타났다. 즉 본 연구에서는 PAA 화합물인 (9)과 iodochitosan(4)와의 반응을 시도한 합성과정에서 염기로서  $\text{K}_2\text{CO}_3$ 를 사용하여 80°C에서 3시간 이상 반응시켜 새로운 항균제 화합물(10)을 합성하였다. 여기에서 chitosan amine기에 phthalic anhydride를 결합시켜 amine기를 보호하는 반응은 단일 용매인 DMAc에서는 chitosan의 amine기와 C-6 위치의 OH기에 동시에 결합이 됨을 확인하였다. 이 경우 알코올 존재 하에서 sodiummethoxide를 이용하여 선택적으로 chitosan의 C-6위치에 결합한 phthalic acid화합물을 제거하여 선택적으로 N-phthaloylchitosan화합물을 합성할 수 있었다. 그러나 실험과정에서 보다 손쉽게 chitosan의 amine기에만 바로 phthalic anhydride를 결합하는 방법은 반응과정에서 용매인 DMAc에 물을 소량 첨가하여 반응시킴으로써 합성이 선택적으로 이루어짐을 확인하였다.

특히 최종화합물인 PAACTS 유도체인 화합물(10)을 얻기 위해서 중간체 화합물(9)을 이용하여 질소기류 하에서 반응을 시도하였다. 반응과정에서 amine기로 치환된 chitosan 유도체 화합물은 결정화합물로서 amino chitosan보다 물에 대한 극성 용해도가 낮았다. 그래서 polyamino acid chitosan은 저분자를 갖는 aminochitosan 보다 항균활성도가 약간 더 낮은 결과를 나타낸 것으로 본다.



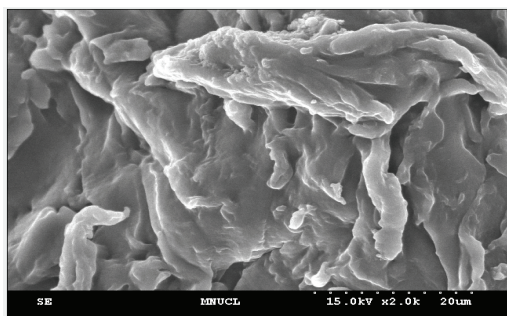


Fig. 1. SEM photographs of chitosan surface (X 400).

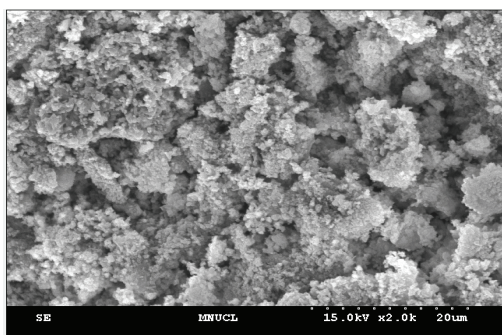


Fig. 2. SEM photographs of PAA CTS, surface (X 400).

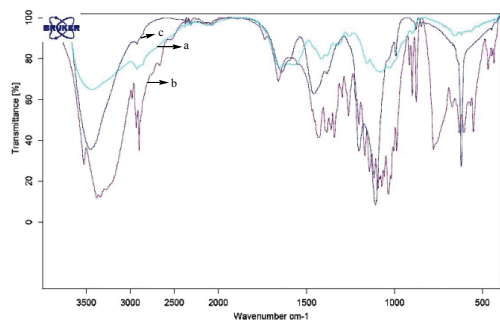


Fig. 3. FT- IR spectrum of CTS (A), PAA (B), PAACTS(C).

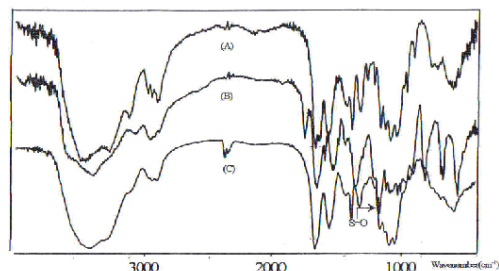


Fig. 4. FT-IR spectrum of chitosan(A), tosylchitosan(B), iodochitosan(C).

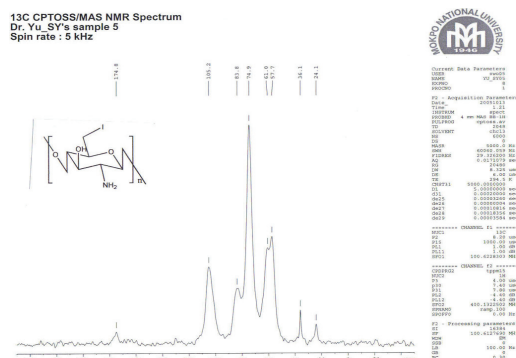


Fig. 5. <sup>13</sup>C-NMR Spectra of iodo-chitosan [ICTS]

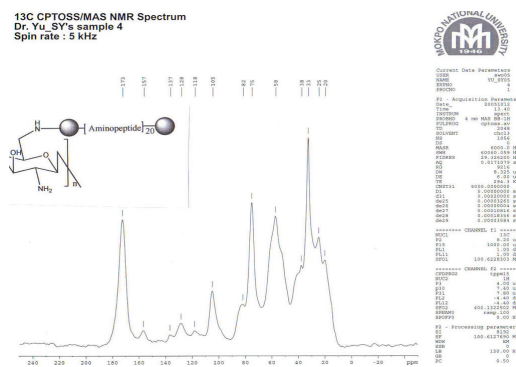


Fig. 6. <sup>13</sup>C-NMR Spectra of polyamino acid chitosan[PAACTS].

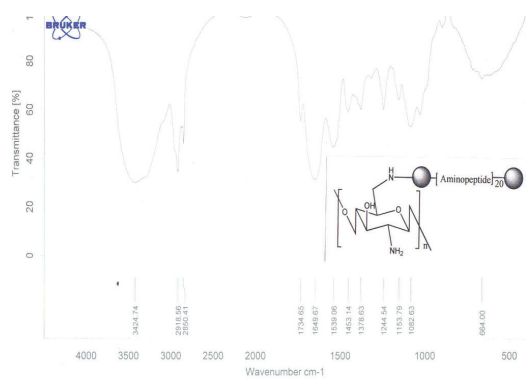


Fig. 7. FT- IR Spectrum of polyamino acid chitosan[PAACTS].

그리고 미세 구조적 특성에서는 키토산과 PAACTS 화합물이 결합된 필름을 액체질소에 급냉 시켜 과단한 후 주사전자현미경으로 20 kv의 가속전압을 가하면서 과단면의 형태학적 특성들을 관찰하고 그 결과를 Fig. 1, 2에 나타내었다. 일반적으로 천연 고분자 결합 비는 상분리 거동이나 화합물의 물리, 화학적 성질에 가장 크게 영향을 준다. 따라서 본 실험에서는 형태학적 상 분리(Microphase separation) 거동 및 단면형태를 중심으로 고찰하였다. Fig. 2에서 알 수 있듯이 과단면을 육안으로 관찰하였을 때 PAACTS과 키토산 사이에 상분리가 일어나지 않는 것으로 보이며, 이러한 결과로 미루어 보아 분자간 수소결합에 의한 상호작용으로 결합성이 비교적 우수한 것으로 생각되어진다. 그리고 키토산에 비해서 PAACTS 유도체는 보다 친수성 특성을 갖는 것으로 키토산 표면에 혼합되기 보다는 부분적으로 외부 표면에 친수성인 PAACTS 유도체 분자가 분자 간 반발력으로 불규칙성을 갖는 단면으로 나타났으며, 순수한 키토산의 경우 과단면은 비교적 PAACTS에 비해 매끄러운 형태를 나타내고 있다. 특히 PAACTS 아미노기 치환체의 결합이 증가함에 따라 더 거친 단면 형태를 나타내고 있는데, 일반적으로 단면 형태가 매끄러운 것은 유리와 같은 깨지는 형태로 견고성이 낮고, 반대로 단면 형태가 거친 것은 견고성이 큰 것을 의미한다. 그러므로 PAACTS은 키토산에 비해 비교적 높은 견고성을 나타내며, 키토산의 함량이 증가함에 따라 견고성이 낮은 것으로 관찰된다.

## 4. 결론

Polyamino acid chitosan 유도체(10)는 L-aspartic-L-phenylalanine 유도체와 aspartic acid and L-phenylalanine과 결합하고 이를 최종적으로 키토산 C-6위치에 있는 OH기를 iodine으로 치환된 iodochitosan으로 치환시켜 0.7% 수율로 합성을 하였다. 그러나 낮은 수율은 정제과정에서 pH조절이 잘 처리되지 않은 것으로 보며 또한 키토산에 비해서 아미노산 결합 키토산이 보다 수용성 용해도가 크게 증가되어 키토산 사슬의 분자량 크기에 따라서 부분 용해되어 회수과정에서 기술적 어려움으로 낮은 회수율을 나타낸 것으로 본다. 그러나 분자량이 작은 aminopeptide를 치환시킬 경우 물에 잘 녹아서 피부 상처치료제 및 화장품 분야 등 다양한 분야로 응용가능하다고 본다. 또한 polypeptide가 치환된 chitosan 유도체는 부분적으로 물에 잘 녹지 않은 특성을 갖는 것을 확인하였다. 이는 앞으로 치환체의 분자 구조 및 분자량 크기를 조절하여 용해도를 개선해야 될 것으로 본다.

키토산 유도체는 보다 항균효과가 더 우수하다는 면에서 뿐 아니라 앞으로 응용 가능한 약제의 선택 범위를 넓힘으로써 응용할 수 있는 연구 분야의 폭을 넓힐 수 있다는 점에서 커다란 가치를 지니는 것이라 생각되었다. 본 연구에서는 aminopeptide를 보다 쉽게 결합할 수 있는 중간체로 널리 사용할 수 있는 점을 주목하였다. 그 결과, 화합물의 구조와 평균분자량 등의 관계를 참고하여 새로운 화학구조를 갖는 키토산 유도체 화합물(10)을 개발하였으며, 약리효과에 대한 몇 가지 검증실험을 통해 그의 항균 효과를 확인하게 되었다. 따라서 앞으로 각종 실험을 통한 약리학적 효과를 확인함으로써 다양한 항균성 실험 등을 실시하고 화학구조 변화에 따른 약효검색을 실시하여 가까운 시일 내에 보고하고자 한다.

## 참고문헌

1. R. A. Muzzarelli, Chitin and Chitosan : Unique Cationic Polysaccharides.in : Carbohydrate-based Chemistry, Commission of the European Communities,

- Luxemburg, Belgium, 199(1990).
2. K. Arai, T. Kinumaki, and T. Fujita, Toxicity of Chitosan. ; Bull. Tokai. *Fish. Res. Lab*, 337, 89(1969).
  3. K. Y. Kim, H. S. Bom, C. S. Oh, H. C. Lee, R. D. Park, Genetic Toxicity of Chitosan and EDTA in mice. *Chitin Chitosan Res*, 23, 122(1966).
  4. G. G. Allan, L. C. Altman, D. K. Bensinger, Y. Ghosh, Y. Hirabayashi, A. N. Neogi, Biomedical Application of Chitin and Chitosan. Academic Press, New York, USA. 119(1984).
  5. F. Shahidi, J. K. Arachchi, Y. J. Jeon, Food Applications of Chitin and Chitosan., *Tren. Food Sc. Technol.*, 10, 37(1999).
  6. R. AMuzzarelli, Chitosan-based Dietary Foods. *Carbohydr. Polym.*, 29, 309(1996).
  7. T. Braak, et al. Injection Site Effects on the Pharmacokinetics and Glucidynamics of Insulin Lipro and Regular Insulin. *Diabetes Care*, 19, 1437(1996).
  8. E. Torlone, Pharmacokinetics, Pharmacodynamics and Glucose Counterregulation following Subcutaneous Injection of the Monomeric Insulin Analoge [Lys(B28), Pro(B29)] in IDDM. *Diabetologia*, 37, 713(1994).
  9. K. Kurita. M, Kanari. Y, Koyama, *Polym.*, 14, 511(1985).
  10. K. Kurita, M. Hayakawa, Y. Nishiyama, M. Harata, *Carbohydr. Polym*, 47, 7(2002).
  11. K. Kurita, S. Iwawaki, S. Ishii, S. Nishimura, *J. Polym. Sci. Part A, Polym. Chem*, 30, 685(1992).
  12. K. Kurita, H. Ikeda, Y. Yoshida, M. Simonjoh, M. Harata, *Biomecromolecules*, 3, 1(2002).
  13. K. Kurita, S. Hashimoto, S. Ishii, T. Mori, *Polym. Bull.* 36, 681(1996).
  14. K. Kurita, *Prog. Polym. Sci*, 26, 1921(2001).
  15. S. R. Ryu, A New Synthestic Method of Food Additive Chitosan Antibacterial Agents by Organic Acid, *J of Chitin and Chitosan*, 7(1), 23(2002).