

싸이크로스포린을 이용한 고분자막 전위차 전극

이 인 숙*

서울여자대학교 화학과

(2005. 11. 21 접수, 2005. 11. 29 승인)

Potentiometric performances of polymer membrane electrode based on cyclosporin

Insook Rhee Paeng*

Department of Chemistry, Seoul Women's University, Seoul, 139-774, Korea

(Received November 21, 2005, Accepted November 29, 2005)

Abstract : The main component governing selectivity in ion-selective electrodes and optodes is the ionophore. For this reason, a member of natural products that possess selective ion-binding properties have long been sought after. By applying this principle, the performance of cyclosporin used as neutral carriers for calcium selective polymeric membrane electrode was investigated. The calcium ion-selective electrode based on cyclosporin gave a good Nernstian response of 26.6 mV per decade for calcium ion in the activity range 1×10^{-6} M to 1×10^{-2} M. The optimized calcium ion-selective electrode displayed very comparable selectivity for Ca^{2+} ion against alkali and alkaline earth metal ions, Na^+ , and Mg^{2+} in particular.

Key words : cyclosporin, ionophore, Ca^{2+} , ion-selective electrode

1. 서 론

이온선택성 막전극(ion selective electrode: ISE)은 중합체를 막의 지지체로 사용하며, 담체(ionophore)와 함께 비휘발성 유기가소제(plasticizer)로 제작한다. 또한, 필요에 따라 비친수성 첨가제(lipophilic additive)를 첨가하기도 한다. ISE의 장점은 우수한 선택성과 더불어 빠른 감응속도, 제조 및 소형화의 용이점 등을 들 수 있다.^{1,2}

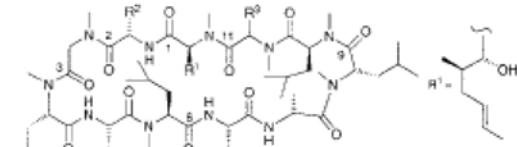
이온선택성 전극이나 광극(optode)의 성능은 이를 구성하고 있는 막에 포함된 ionophore나 chromoionophore

의 성능에 의존한다. 따라서 이들 담체의 선택성은 직접적으로 전극의 선택성과 직결되어 있다. 이런 이유에서 볼 때 분석물질에 대한 선택성이 뛰어난 면역항체, 효소 및 결합단백질과 같은 자연에서 얻어지는 화합물들은 ISE의 담체로 많이 검색되고 일부는 실제 응용되기도 한다. 이와 같은 생체 물질들 중 일부 cyclic 화합물들은 양이온과 선택적으로 잘 결합한다고 알려져 있다. 예를 들면 valinomycin의 경우, K^+ 이온 선택성 전극의 담체로 가장 많이 응용되는 물질 중의 하나이다.^{3,4} 싸이크로스포린(cyclosporin, Fig. 1)

★ Corresponding author

Phone : +82-(0)2-970-5657 Fax : +82-(0)2-970-5972

E-mail: irpaeng@swu.ac.kr



- 1 Cyclosporin A (CS), $R^2 = Et$, $R^3 = (S)\text{-}i\text{-}Pr$
 2 Cyclosporin C ([Thr²]CS), $R^2 = CH(OH)CH_3$, $R^3 = (S)\text{-}i\text{-}Pr$
 3 Cyclosporin H ([D-MeVal¹¹]CS), $R^2 = Et$, $R^3 = (R)\text{-}i\text{-}Pr$

Fig. 1. The structure of cyclosporin.

이나 아스코마이신(ascomycin: FK506)과 같은 생체 cyclopeptide 분자들 뿐 아니라, 인공적으로 합성된 cyclopeptide들도 각종 알칼리류 및 알칼리 토금속류들과 선택적으로 반응하므로 ISE의 담체로의 사용 가능성이 타진되고 있다.⁵⁻⁸

물에 녹지 않는 곰팡이 대사물질인 싸이크로스포린은 11-residue cyclic undecapeptide로 내부는 친수성, 외부는 친유성인 환형구조가 잘 밝혀져 있다. 이 화합물은 장기이식에 사용하기 위해 개발된 면역 억제제이다.⁹ 이 물질이 어떻게 면역 억제제로 작용하는지에 대한 연구가 활발하게 진행되고 있지만 그 내용이 상세하게 밝혀져 있지는 않다. 다만 이 물질과 또 다른 면역억제제인 FK506의 주요 기전으로는 Ca^{2+} 이온에 의존하는 T 세포와 비만세포의 신호전이 경로(signaling pathway)를 억제하는 것으로만 일부 밝혀져 있다.^{10,11}

유기용매 내에서의 싸이크로스포린의 구조와 금속이온과의 결합에 대해서는 잘 알려져 있다. Ca^{2+} 이온과 Li^+ 이온과의 반응을 통하여 담체로의 사용 가능성이 보고된 바 있다.^{5,6} 특히 싸이크로스포린 중에서 싸이크로스포린 A는 면역 억제효과가 가장 탁월할 뿐 아니라 Ca^{2+} 이온에 대한 친화력이 가장 높은 것으로 보고되었다.¹²

따라서 본 연구는 싸이크로스포린을 고분자 막전극의 담체로서의 활용 가능성을 확인하고 Ca^{2+} 이온에 대한 전위차 감응도 및 타 이온에 대한 선택성을 최적화한 전극을 제작하고자 한다. 이 연구를 통하여 다양한 생체 물질들의 생체 내 활동도는 전극의 담체로서의 활동도와도 일치할 수 있다는 가능성을 확인하였다.

2. 재료 및 방법

싸이크로스포린 A는 Sigma사(Saint Louis, Mo)로부터 구입하여 사용하였다. 이온선택성 막전극의 제작에 사용된 poly(vinylchloride)(PVC), 2-nitrophenyl octyl ether (NPOE) 그리고 potassium tetrakis(4-chlorophenyl borate)

(KTpCIPB)는 Fluka(Ronkonkoma, NY)에서 구입하여 정제 없이 사용하였다. 기타 시약들은 특급시약을 구입하여 정제 없이 사용하였다. 금속 표준용액은 금속의 염화염을 pH 7.4로 맞추어진 20 mM Tris 완충용액을 이용하여 1 M 농도로 제작하였으며, 필요에 따라 희석하여 사용하였다. 완충용액 등 모든 표준용액의 제조에는 초순수(18 MΩ/cm)를 사용하였다.

PVC를 지지체로 한 이온 선택성 막은 지지체 66 mg, 가스제(NPOE) 132 mg 그리고 담체(싸이크로스포린) 2 mg과 필요에 따라 비친수성 첨가제(KTpCIPB)를 50, 100 그리고 150 mol%로 조절하여 THF 1 mL에 녹인 후 잘 섞어주고 이를 유리관에 부어 성형하였다.

제조된 이온선택성 막은 직경 5.5 mm의 원형으로 잘라 Phillips 전극체(IS561: Glasblaserei, Zurich)에 장착하여 지시전극으로 사용하였으며, 외부 기준전극은 Orion double junction, Ag/AgCl 전극을 사용하였다. 지시전극의 내부 표준용액과 전극 전처리 용액으로는 $10^{-3}M$ $CaCl_2$ 용액을 사용하였다. 이온 선택성 막의 전위는 각 이온의 표준 용액을 바탕 전해질 용액에 계속 가함으로서 얻었으며, 선택계수는 matched potential method (MPM) 방법을 이용하였다.¹³

3. 결과 및 고찰

싸이크로스포린을 담체로 하는 이온선택성 막을 제작하여 Ca^{2+} 이온에 대한 전위차 감응도를 확인하였다. 기대와는 다르게 위에서 제작한 전극은 어떤 양이온과도 전혀 감응을 하지 않았다. 그 이유로는 막 속에 존재하고 있는 Ca^{2+} 이온의 구조가 친유성이 강해서 이온과의 접촉이 차단된 결과라고 예상되었다. 따라서 Ca^{2+} 이온이 담체와 원활하게 접촉할 수 있도록 내부에 음이온 자리, 즉 비친수성 첨가물을 첨가하여 전극을 새로이 제작하고 전위차 감응도를 재확인하였다. 그 결과를 Fig. 2에 도시하였다.

Fig. 2에서 보는 바와 같이 첨가제를 넣지 않은 막은 전혀 감응을 하지 않는데 비하여, 첨가제를 포함하는 막은 감응도가 크게 향상된 것을 볼 수 있었다. 50%의 첨가제가 첨가된 경우(slope: 20.0 mV/dec; DL: -5.23)와 150%의 첨가제가 첨가된 막(slope: 25.5 mV/dec; DL: -5.36)에서 보다 100%의 첨가제를 첨가한 막에서 Ca^{2+} 이온에 대한 전위차 감응도(slope: 26.6 mV/dec; DL: -5.67)가 가장 우수한 것을 볼 수 있다. 검출한계(DL)나 slope도 우수할 뿐만 아니라, 직선 범위도 가장 높아 기준에 개발된 가장 좋은 Ca^{2+} 이온 ionophore와 비교하

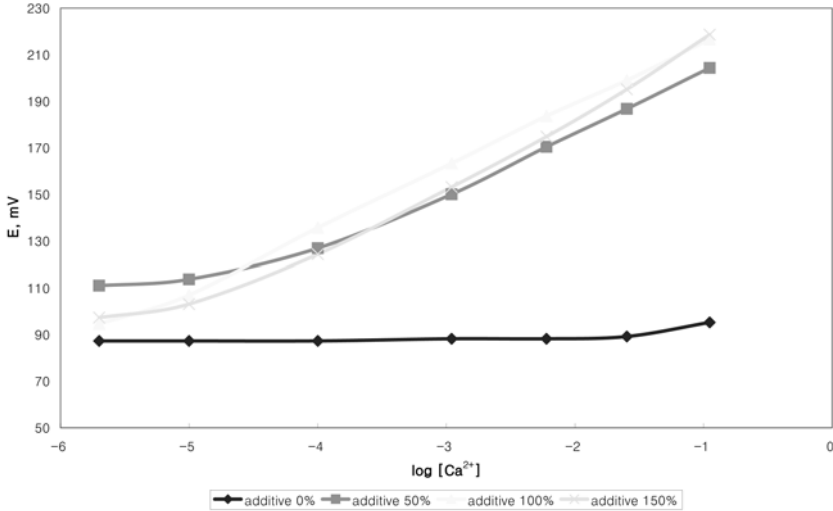


Fig. 2. Calibration curves for membrane electrodes based on cyclosporin.

여도 이에 버금가는 우수한 전위차 감응도를 나타내었다.⁴ 현재 개발된 Ca²⁺이온 ionophore 중 최고의 성능을 나타내는 ETH1001에서도 킬레이트 화합물을 사용하지 않을 경우 시료 용기와의 평형 때문에 검출한계가 10⁻⁵M정도인 것을 감안할 때 본 결과는 유사한 수준의 결과를 얻은 것으로 사료된다. 또한 Glycol Ethyl Diamine Tetraacetic acid (EGTA) 같은 착화합물을 형성하는 물질을 첨가하면 10⁻⁹M까지 검출한계가 낮아짐을 볼 수 있다.^{14,15}

생체물질을 이온선택성 막의 담체로 이용하는 이유로는 선택성 제고에 있다. 제작된 전극을 이용하여 Ca²⁺이온 이외에 Li⁺, Na⁺, K⁺, NH₄⁺, Cs⁺, Rb⁺, Mg²⁺이온들에 대한 전극의 감응도를 확인하였으며, MPM방법을 이용하여 선택계수를 구하였다. 그 결과는 Table 1에 나타내었다.

실험결과, 100%의 KTpCIPB가 첨가된 막에서 다른 모든 이온들에서 보다 Ca²⁺이온에 대하여 감응도가 좋게 나오는 등 가장 좋은 선택 계수를 나타내었다. 특히 방해 효과가 클 것으로 예상되는 Na⁺이온에 대해서 -2.4, Mg²⁺이온에 대해서 -2.3으로 매우 준수한 결과를 나타내었다. 싸이크로스포린이 생체 내에서 Ca²⁺이온 및 Li⁺이온과 감응하는 것을 고려해 볼 때, 두 이온에 대한 감응도가 가장 높을 것으로 예상하였으나, 세 가지 막(50, 100, 150 mol%) 모두에서 Li⁺이온의 선택계수는 -0.7, -2.1, -1.4로 예상보다 좋지 않은 결과를 나타내었다. 50% 막에서는 모든 이온들에 대해서 가장 안 좋은 감응도를 나타내었는데 이때 Cs⁺이온에 대해서 비교적

Table 1. The selectivities* of cyclosporin based electrode on Ca²⁺ ion

	50 %**	100 %	150 %
Ca ²⁺	0	0	0
Cs ⁺	0.4	-0.4	0.1
Rb ⁺	-0.2	-0.9	-0.7
K ⁺	-0.4	-1.3	-0.8
NH ₄ ⁺	-0.5	-1.5	-0.9
Li ⁺	-0.7	-2.1	-1.4
Na ⁺	-1.3	-2.4	-1.8
Mg ²⁺	-1.6	-2.3	-1.5

*Matched potential method, 20 mM Tris Buffer, pH 7.4

**KTpCIPB (mole % of ionophore)

좋은 감응도를 보인 것은 약간 의외였다. 그 밖의 막에서도 Cs⁺이온에 대하여 상대적으로 좋은 감응도를 보였는데 이는 싸이크로스포린의 ring 내부 크기가 Cs⁺이온과 잘 들어맞는 것으로 생각되었다. 즉, 생체물질을 담체로 하는 전극의 감응도는 생체 내에서의 친화도와 함께 막에서의 담체자체구조도 선택성에 영향을 미칠 수 있다고 생각된다. 최적화된 전극(100% 비친수성 첨가제 포함)은 특별히 Li⁺, Na⁺, Mg²⁺이온들에 대하여 모두 -2이상의 선택성을 보여 초기에 개발된 대부분의 Ca²⁺이온 ionophore보다 선택성에서 우수한 결과를 나타내었다.⁴

마지막으로 전극에 대한 감응속도, 재현성, 수명 등을 확인하였다. 감응시간은 3초 이내로 매우 우수하였으

며, 재현성은 제작된 막전극 간에는 RSD 10% 이내, 같은 막을 이용한 표준 용액에 대한 반복 실험에는 RSD 3% 이내로 매우 우수한 재현성을 나타내었다. 그리고 수명의 경우 2달까지는 사용에 문제가 없는 것으로 확인되었다.

본 연구를 통하여, 각종 이온에 대한 친화도를 갖는 생체내의 물질들을 이온선택성 전극의 ionophore로의 사용 가능성과 더불어 원하는 감응도와 선택성을 기대 할 수 있을 것으로 생각되었다. 또한, 담체의 구조에 따라 생체와는 다른 선택성을 보일 수도 있다는 사실도 확인 하였다.

4. 감사의 글

본 연구는 2005학년도 서울여자대학교 바롬학술연구비의 지원으로 수행되었습니다.

참고문헌

1. R. W. Cattrall, "Ion-Selective Electrode Rev.", Pergamon Press, New York, 1984.
2. E. Bakker, P. Buhlmann, E. Pretsch, *Chem. Rev.* **97**, 3083(1997).
3. W. E. Morf, W. Simon, *Helv. Chim. Acta*, **54**, 2683 (1971).
4. P. Buhlmann, E. Pretsch, E. Bakker, *Chem. Rev.* **98**, 1593(1998).
5. R. J. Dancer, A. Jones, D. P. Fairlie, *Aust. J. Chem.*, **48**, 1835(1995).
6. H. M. Burger, D. Seebach, *Angew. Chem. int.*, **33**, 442(1994).
7. M. Schafer, G. M. Sheldrick, I. Bahner, H. Lackner, *Angew. Chem. int.*, **37**, 2391(1998).
8. L. C. M. Ngoka, M. L. Gross, *J. Mass Spectrom.*, **35**, 265(2000).
9. J. F. Borel, F. D. Padova, J. Mason, V. Quesinaun, B. Ryffel R Wenger, *Pharmacol. Rev.*, **41**, 239(1989).
10. S. L. Schreiber, *Science*, **251**, 283(1991).
11. S. L. Schreiber, M. W. Albers, E. J. Brown, *Acc. Chem. Res.*, **26**, 412(1993).
12. A. von Wartburg, R. Traber. *Prog Med. Chem.* **3**, 1(1988).
13. Y. Umezawa, K. Umezawa, H. Sato, *Pure Appl. Chem.* **67**, 507(1995).
14. "Selectophore: Ionophores for Ion-Selective Electrodes and Optodes", Fluka Chemie AG, Buchs, Switzerland, 1991.
15. U. Schefer, D. Ammann, E. Pretsch, U. Oesch, W. Simon, *Anal. Chem.*, **58**, 2282(1986).