

Sulfamethazine에 의한 폴리아크릴산의 항균 효과

윤 철 훈

명지대학교 공과대학 화학공학과
(2001년 5월 25일 접수 ; 2001년 8월 27일 채택)

Antibiotics Effect of Synthetic Polyacrylic Acid Containing Sulfamethazine

Cheol-Hun Yoon

Dept. of Chemical Engineering, Myongji University, Yongin 449-728, Korea
(Received May 25, 2001 ; Accepted August 27, 2001)

Abstract : Antibiotics polymer prepared by chemical bonding and simple blending of antibacterial into polymers have attracted much interest because of their long-lasting and antibacterial activity. Antibiotics polymer can significantly reduce losses associated with dissolution, photolytic decomposition and volatilization. Further more, increased efficiency safety and selectivity are additional benefits which may be realized. In this study, Antibiotics polymer was synthesized by chemical reaction of polyacrylic acid with sulfamethazine by N,N'-dicyclohexylcarbodiimide(DCC) method. Antibacterial susceptibility was determined against *Streptococcus pyrogenes*[gram(+)] and *Esherichia coli*.[gram(-)] using a standardized disc test. As a result, the synthetic antibiotics polymer exhibited the broad susceptibility against *Streptococcus pyrogenes* and *Esherichia coli*. Especially, the antibiotic effect of antibacterial polymer against Gram negative(*Esherichia coli*) was much stronger than that against Gram positive(*Streptococcus pyrogenes*).

Keywords : antibacterial activity, synthetic antibiotics polymer, sulfa agent.

1. 서 론

세균이나 곰팡이와 같은 미생물들은 그 종류가 대단히 많을 뿐만 아니라 토양, 대기, 담수 및 해수 등 자연계에 광범위하게 서식하고 있기 때문에 우리의 일상 생활은 항상 대장균을 비롯한 유해한 세균 및 곰팡이에 노출되어 있다[1]. 최근에는 플라스틱도 미생물에 의해 침해를 받

는다는 인식이 광범위하게 확산되고 있으며 균의 침해에 따른 플라스틱의 물성 저하로 인한 피해가 속출하고 있다. 특히 폴리우레탄, 연질 염화비닐, 실리콘 및 나일론 등과 같이 다량의 첨가제가 사용되는 수지나 비교적 연질성을 지니는 수지는 곰팡이와 균의 침해를 받기 쉽다. 그리고 보건위생에 대한 사회적 관심과 생활 양식의 고급화에 따라 일상 생활용품으로 사용되

고 있는 고분자소재에 항균성을 부여한 제품들의 수요가 날로 높아지고 있다. 이에 따라 요즘 항균제를 첨가한 항균제품들이 많이 나오고 있는데, 이러한 항균제품은 일반적으로 미생물의 생성을 방지하거나 번식을 억제시키는 기능을 부여한 고부가 제품으로서 항균 성능의 효과가 지속적인 제품을 말한다[2].

이와 같이 항균제품의 사용 목적은 세균이나 미생물에 의한 오염을 방지하여 쾌적한 생활 환경을 유지하고, 제품의 물성저하 및 기능장애를 방지하는 등, 항균제를 첨가하므로써 소비자들의 청결에 대한 욕구를 해결해주는 동시에 항균제가 첨가되지 않은 제품들과의 차별화를 도모하여 상품의 가치를 높이는데 그 목적을 두고 있으며, 이러한 항균제품은 건축자재, 주방, 화장실용품 및 가전제품은 물론 식품관련의 정수기, 필름 및 각종 플라스틱용기 등에 다양하게 적용되고 있다.

일반적으로 고분자에 항균성을 부여하는 방법[3]으로는 기존의 항균제에 중합 가능한 관능기를 도입하여 중합하는 방법, 고분자에 항균제를 블렌딩하는 방법, 그리고 상호간에 반응이 가능한 관능기를 갖는 기존의 고분자와 항균제를 화학적으로 결합시키는 방법 등이 있다.

Wang과 Sheetz[4]는 고분자와 항균제를 화학적으로 결합시키는 방법으로 polymethacrylic acid와 항균제인 phenoxarsine을 acid halide법으로서 반응시켜 새로운 중합체를 합성하였는데 이 중합체가 곰팡이 및 박테리아 등에 대한 살균력을 갖고 있음은 물론, 제조제로서도 유용한 성능을 나타낸다고 보고하였다. Cornell과 Donaruma[5,6]는 tropone이 박테리아, 곰팡이, 바이러스등에 대한 항균력을 갖고 있는 것에 착안하여 poly(2-methacryloxytropone)을 합성하여 박테리아에 대한 항균력 시험 결과 단위체 약보다 항균력이 떨어짐을 보고하였다. 그러나 대부분의 항균성 고분자는 구리나 은 같은 무기체를 블렌딩하는 방법과 자체 관능기를 도입하여 중합하는 방법이며 화학적 결합에 의하여 제조되는 항균성고분자의 연구는 아직까지 미진한 실정이다.

본 연구에서는 기존 고분자의 중합 가능한 관능기에 항균성을 부여하는 방법, 즉 고분자와 항균제를 화학적으로 결합시켜 항균성을 부여하는 방법으로서 polyacrylic acid와 sulfamethazine을 N,N'-dicyclohexylcarbodiimide법(이하 DCC

법)에 의하여 합성하였으며 이에 따른 항균 특성을 조사하였다.

2. 실험

2.1. 시약 및 기기

합성에 사용된 시약으로 sulfamethazine (SMZ)은 Acros사의 특급시약을 사용하였으며, 항균성고분자 합성 실험을 위해 사용한 polyacrylic acid(이하 PAA, M_w :2000)는 Aldrich사의 특급시약을 사용하였다.

반응용매인 tetrahydrofuran(이하 THF)은 대정화학의 특급 시약을 사용하였으며, N,N'-dicyclohexylcarbodiimide(이하 DCC)는 Sigma사의 특급시약을 사용하였다. 그리고 재결정 용매인 석유에테르, 에탄올 및 피리딘은 Aldrich사의 특급시약을 사용하였다.

항균력 측정에 사용된 균주[7]는 그람음성균인 *Esherichia coli* ATCC 8739와 그람양성균인 *Streptococcus pyrogenes* ATCC 21059를 국립보건원에서 분양 받아서 배양하여 사용하였다. 배지로는 Difco사의 *Mueller Hinton Medium*, *Mueller Hinton broth* 또는 *trypticase soy broth*를 사용하였고 균을 배양할 때 이용되는 완충용액은 0.1M phosphate buffer를 사용하였으며 페트리디쉬, 시험관, 피펫, 팁 및 멸균면봉 등은 멸균하여 사용하였다. 그 밖에 microplator, 혼합기, 항온기, flow chamber 및 zone reader 등의 기구를 사용하였다.

또한, 반응물과 합성물에 대한 확인은 Bio-RAD사의 FTS형 FT-IR을 사용하여 KBr 펠렛법으로 측정하였으며, 반응에 따른 합성물의 열적성질에 대한 변화의 관찰은 Shimazu사제 TGA/DTA(TG-DTA형)를 이용하여 질소기류 하에서 승온속도를 10°C/min으로 하여 측정하였다.

2.2. 항균 폴리아크릴산의 제조

고분자와 항균제를 화학적으로 결합시키는 항균성 부여방법으로 Fig. 1과 같이 3구 플라스크에 가열기, 냉각기를 설치하고 THF 20.0ml에 PAA 1.42g (0.02mol), sulfamethazine 5.57g(0.02mol) 및 피리딘 1.54ml를 혼합하고 0°C 이하에서 2시간 동안 교반하였다. 반응 중

료 후, 여기에 DCC 4.14g(0.02mol)을 THF 5.0ml에 녹인 용액을 주사기로 서서히 적하하고 상온에서 4시간 동안 교반 한 다음 하루 동안 냉암소(-5℃)에 방치하였다. 부생성물인 dicyclohexylurea의 백색침전물을 여과시켜 제거하고 과량의 THF로 세척하였다. 남은 여액을 50℃에서 감압농축하여 백색결정을 얻었으며, 석유에테르와 에탄올로 재결정하고 50℃에서 진공오븐과 P₂O₅를 사용하여 2일 동안 감압건조(70cmHg)시켜 화학적 결합에 의한 항균성고분자(수율:72.8%)를 얻었다.

2.3. 항균시험 방법

병원성 세균의 항균물질에 대한 감수성 여부를 검사하는 방법에는 액체배지희석법(broth dilution method), 한천배지희석법(agar dilution method) 및 디스크 확산법(disc diffusion method)등이 있는데 이 중에서 디스크 확산법은 시간과 노력이 절약되면서도 양호한 결과를 얻을 수 있는 방법으로서 일반적으로 널리 사용되고 있다[8]. 디스크 확산법은 발육억제대 크기가 최소발육억제농도(minimal inhibitory concentration)와 상관관계를 유지하고 있다는 원리를 이용하고 또한 임상적으로 알고 있는 내성 및 감수성 균들의 반응을 조사함으로써 그 실용성이 입증되었다. 디스크 확산법에 의한 항

균계 감수성 검사에 있어서 일관성 있고 믿을 만한 결과를 얻기 위해서는 검사방법과 기술이 표준화되어야 하고 엄격한 품질관리가 요구된다.

본 연구에서의 검사 방법은 Bauer-Kirby방법 [9]을 표준화한 방법으로서 많은 실험실 경험과 임상적인 경험으로 그 타당성이 인정되고 있는 방법을 사용하여 실험하였다.

항균실험을 위하여 순수 배양된 배지에서 1~2 집락을 따서 10.0ml tryptic soy broth가 담긴 유리 튜브에 풀어 37℃ 배양기에서 하루 동안 배양하였다. 디스크 확산법에 일반적으로 사용되는 Muller Hinton 한천배지를 평량하여 증류수로 잘 녹인 후 1기압 121℃에서 15분 동안 멸균하였으며 피펫 팁, 주사기와 주사기 바늘, 완충용액, 희석용액(saline) 등도 미리 멸균하여 준비하였다. 멸균된 배지를 50~55℃로 식힌 후 페트리 디쉬에 10ml씩 분주한 평판이 완전히 굳으면 flow chamber에서 1시간 정도 건조시킨 후 배양된 균액을 15분 이내에 멸균된 면봉을 균 배양에 충분히 적시고 시험관 내벽에 돌리면서 눌러 짜서 과다한 균 액을 제거하고 그 다음 표면이 마른 한천평판 위에 균액이 적셔진 면봉을 전 표면에 한 방향으로 문질러 바르고 다시 되풀이하여 전 표면에 골고루 접종하고, 평판 뚜껑을 닫고 3~5분 동안 표면의 습기

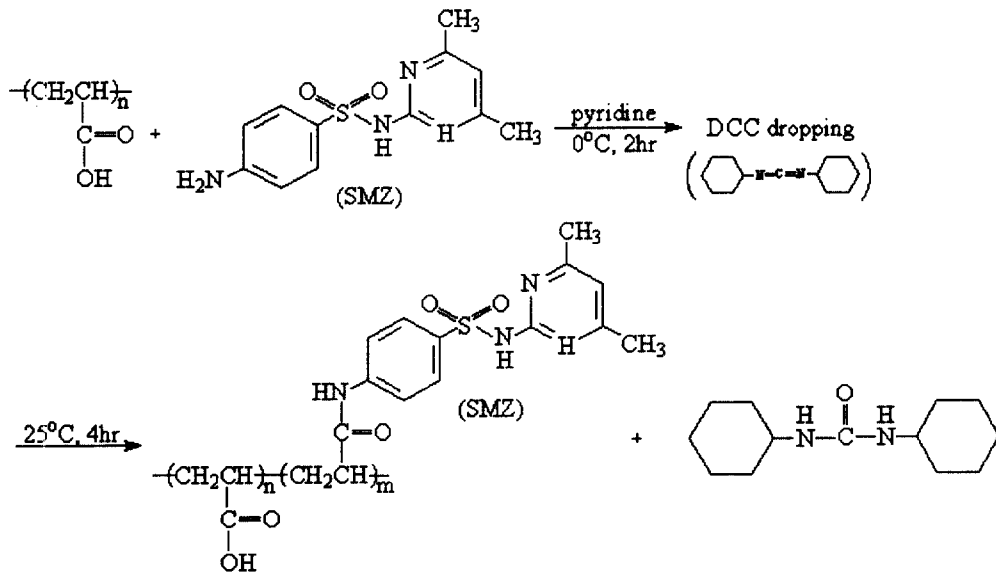


Fig. 1. Synthetic mechanism of antibiotics polymer.

가 흡수되도록 하였다. 그리고 디스크 디스펜서를 이용하여 필요한 디스크를 균이 골고루 접종된 한천평판 위에 올려놓고 디스크 증양을 가볍게 눌러 한천표면에 완전히 붙도록 하였고, 각 디스크 중심간의 간격은 24mm 이상, 평판 가장자리로부터 15mm 이상 간격으로 접종하였다. 디스크 접종이 끝난 평판을 30분 이내에 37°C 배양기에 거꾸로 배양시켜 18시간 후 clean zone을 측정하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 폴리락틸산의 합성확인

항균제와 고분자의 DCC법에 의한 화학적 결합형태로 합성한 antibiotics polymer의 합성결과로서 우선 Fig. 2(a)에서 나타낸 바와 같이 순수 PAA의 IR스펙트럼에서는 2800~3500cm⁻¹

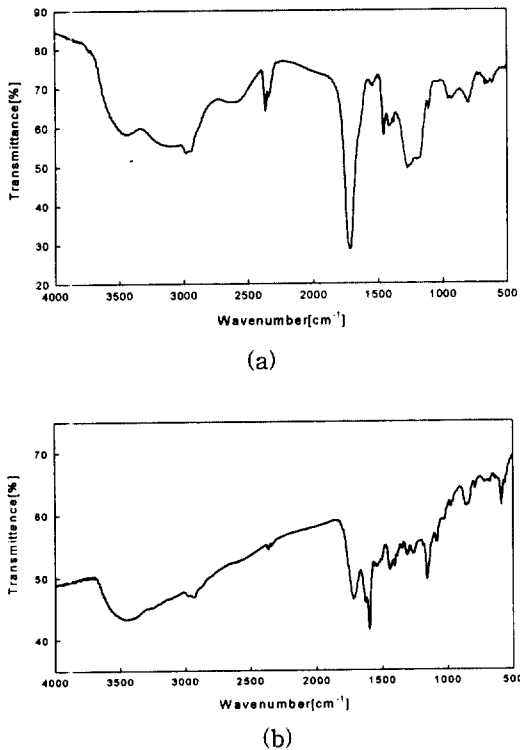


Fig. 2. IR spectra of (a)PAA and (b)antibiotics polymer.

부근에서 카르복시산의 -OH기 특성흡수대가 나타나 있으며 1700cm⁻¹부근에서 카르복시산의 C=O기 특성흡수대가 나타나 있으나 DCC법에 의해 합성한 antibiotics polymer인 (b)에서는 카르복시산의 -OH와 C=O기 특성흡수대가 많이 감소하고 새로이 1550cm⁻¹부근에서 결합에 의한 sulfamethazine의 -SO₂NH기 특성흡수대가 나타나 있음으로서 antibiotics polymer의 합성을 확인할 수 있었다.

열적 성질을 관찰한 Fig. 3(a)에서 나타낸 바와 같이 PAA의 경우 220.0°C 부근에서 열중량 감소가 일어나고 합성한 항균성 고분자인 antibiotics polymer(b)의 경우 190.0°C 부근에서 열중량 감소를 확인할 수 있었다. 이러한 경향은 PAA 내에 인접한 사슬에 형성된 히드록시기의 수소원자가 항균제인 sulfamethazine과 결합하여 아미드의 형태로 치환됨으로서 분자내 수소결합력의 감소로 인한 안정성 저하로 열중량의 감소 즉, 분해 온도가 감소한다는 것으로 설명할 수 있다.

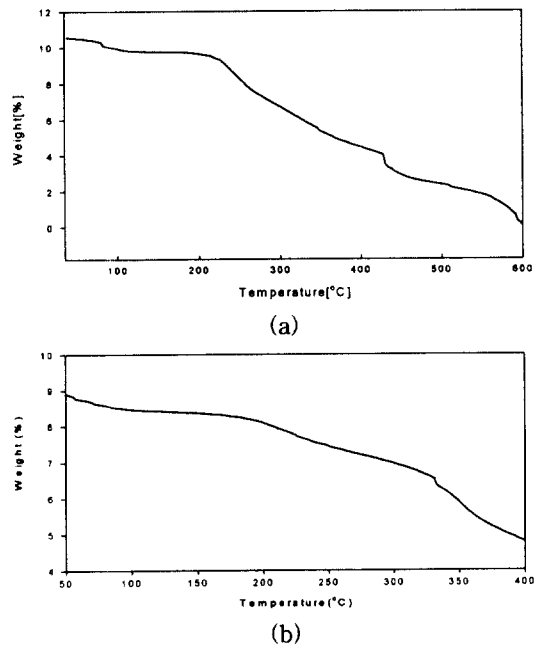


Fig. 3. TGA curves of (a)PAA and (b)antibiotics polymer.

3.2. 항균 폴리아크릴산의 항균성

PAA와 항균아크릴수지에 대한 항균력 측정 결과를 Table 1과 Fig. 4에 나타내었다. 일반적으로 감수성 범위는 균이 내성을 나타내면 12.0mm 이내로 표현되며 어느 정도(13~15.0mm)의 경우 중등도의 감수성을 나타낸다고 하며 17.0mm 이상이면 균에 대한 감수성이 우수하다고 한다.

Table 1에 나타낸 것처럼 순수 PAA는 *Streptococcus pyrogenes*와 *Esheria coli*.에서 전혀 항균력을 보이지 않았으나 PAA와 sulfamethazine으로 합성한 항균폴리아크릴수지에서는 우수한 감수성을 나타내었다. 또한, *Streptococcus pyrogenes*보다는 *Esheria coli*.에 대해서 더 좋은 감수성을 나타내었는데, 이는 일반적으로 설파제는 그람양성균에 유효하나 설파제 중 특히 sulfamethazine은 그람음성균인 *Esheria coli*.에 대해서도 유효하기 때문인 것으로 생각된다[10,11].

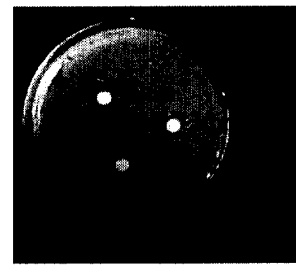
Table 1. Disc Susceptibility Test for Antibiotics Polymer

Materials \ Strains	<i>Streptococcus pyrogenes</i> ATCC 21059	<i>Esheria coli</i> ATCC 8739
PAA	0	0
antibiotics polymer	14.5 ± 0.37mm	17.6 ± 0.88mm*

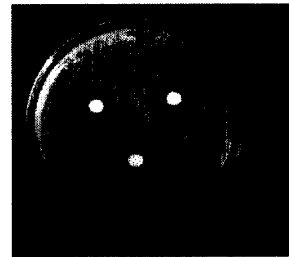
* maximum size of experiment

Fig. 4에 항균력 측정결과를 나타내었는데, 그림에서와 같이 *Esheria coli*와 *Streptococcus pyrogenes*에 대해서도 단위체인 sulfamethazine보다 중합체인 항균폴리아크릴수지에서 오히려 더 우수한 감수성을 나타내었다.

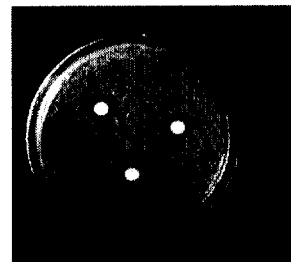
특히 항균수지에 대한 감수성 실험 결과 대체적으로 토양 또는 건조한 곳에서 활성이 큰 그람양성균인 *Streptococcus pyrogenes*보다 건조에 약하고 수중에서 활성이 큰 그람음성균인 *Esheria coli*.에서 우수한 감수성을 나타냄을 알 수 있었으며, 이러한 결과로부터 수분과 접촉이 잦은 용도의 항균성수지로 사용할 수 있리라 생각된다.



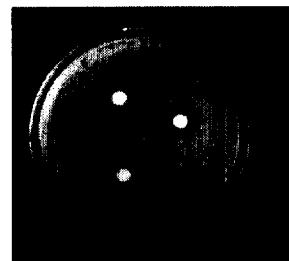
SMZ
(a)



PAA/SMZ
(b)



SMZ
(c)



PAA/SMZ
(d)

Fig. 4. Disc diffusion test of (a)sulfamethazine(*Escherichiacoli*), (b)antibiotics polymer(*Escherichia coli*), (c)sulfamethazine(*Streptococcus pyrogenes*) and (d)antibioticspolymer(*Streptococcus pyrogenes*).

4. 결론

고분자의 관능기에 항균 성분을 화학 결합시킬 목적으로 polyacrylic acid와 sulfamethazine을 N,N'-dicyclohexylcarbodiimide(DCC)법으로 합성하였으며 이에 대한 항균 특성을 연구하였다.

1. 합성한 antibiotics polymer는 카르복시산의 -OH와 C=O기 특성흡수대가 많이 감소하고 1570cm⁻¹부근에서 새로 생성된 -CONH기 특성흡수대가 나타나 있음을 알 수 있었다. 또한, 1350cm⁻¹부근에서 결합된 sulfamethazine의 -SO₂NH기 특성흡수대가 나타났고 열적 성질에서는 PAA의 경우 220.0℃ 부근에서 열중량 감소가 일어나고 합성한 항균성 고분자의 경우 190.0℃ 부근에서 열중량 감소를 확인함으로써 antibiotics polymer의 합성 확인이 가능하였다.

2. 순수 PAA는 *Streptococcus pyrogenes*와 *Esherichia coli*에서 전혀 항균력을 나타내지 않았으나 합성한 항균 폴리丙烯酸에서는 우수한 감수성을 보여주었으며 특히 *Esherichia coli*와 *Streptococcus pyrogenes*에 대해서도 단위체인 sulfamethazine보다 중합체인 항균 폴리丙烯酸에서 오히려 더 우수한 감수성을 나타내었다.

참고문헌

1. S. H. Jang, "Characterizations and Application of Antibiotics and Antibacterial Resin", p. 20, *Samsung Plastic Technology*, Spring (1994).
2. 임광민, *항균제 및 항균제품*, p. 105, (주)유평, (1995).
3. C. U. Pittman, Jr., *J. Appl. Polym. Sci.*, **26**, 2403 (1981).
4. C. Wang, and J. L. Sheetz, "Synthesis and Antibiotics Characterization of Poly(methacrylic acid and phenoxarsine)", May 23, **660**, 353 (1972).
5. R. J. Cornell and L. G. Donaruma, "Synthesis and Antifungal Activities of Poly(2-methacryloxytropone)", *J. Med. Chem.*, **8**, 388 (1965).
6. J. L. Mainardi and D. M. Shlaes, *J. Infect. Dis.*, **171**, 1646 (1995).
7. H. Williams and P. Wilkins, "Antibiotics in Laboratory Medicine", p. 586, Saunders College Publishing, New York (1988).
8. P. C. Appelbaum, *J. Infect. Dis.*, **15**, 77 (1992).
9. V. Lorian and M. D., Editor, "Antibiotics in Laboratory Medicine", 3rd ed. p. 17, New York (1980).
10. T. Bohne, *Chemotherapy*, **14**, 195 (1969).
11. R. Lipp, H. Laurent, C. Gunther, J. Riedl, P. Esperling, and U. Tauber, *Pharmaceu Res.*, **15**, 1419 (1998).