

테트라사이클린 항생제를 담체로 이용한 막전극의 전위차 특성

백종규 · 이인숙[†] · 팽기정*

연세대학교 화학과

[†]서울여자대학교 화학과

(2006년 8월 11일 접수: 2006년 8월 21일 채택)

The Potentiometric Performances of Membrane Electrodes Based on Tetracycline Antibiotics

Jonggyu Baek, Insook Rhee[†], Ki-Jung Paeng*

Department of Chemistry, Yonsei University, Wonju 220-710, Korea

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

(Received August 11, 2006 : Accepted August 21, 2006)

초 록

본 연구에서는 테트라사이클린 항생제를 양이온선택성 전극의 담체로 사용한 막전극을 제작하고 알칼리 및 알칼리 토금속에 적용하여 전위차 감응도를 조사하였다. 제작된 전극은 지용성 첨가제의 유무와 관계없이 Ca^{2+} 이온에 대해서 거의 이상적인 전위차 감응도를 나타내었다. 또한 Mg^{2+} 를 제외한 다른 양이온에도 이상적인 네른스트값에 80% 이상의 감응도와 10^{-5}M 이하의 검출한계를 나타내었다. 수명, 감응시간, 재현성 등도 이온선택성 전극에 응용하기에 문제가 없었다.

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 tetracycline used as neutral carriers for cation selective polymeric membrane electrode was investigated. The cation ion-selective electrode based on tetracycline gave a good Nernstian response of 26.6 mV per decade for calcium ion in the activity range $1 \times 10^{-6}\text{M}$ to $1 \times 10^{-2}\text{M}$ with and without lipophilic additives. The optimized cation ion-selective membrane electrodes displayed very comparable potentiometric responses to various mono and di-valent cations of alkali and alkaline earth metal ions except Mg^{2+} .

Key words : ISE, Tetracycline, Antibiotics.

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 선택성 이외에 빠른 감응속도와 제조 및 소형화의 용이점 등이 있다.^{1,2)} 이에 따라, 간편성, 우수한 선택성 및 재현성 등 전위차 이온선택성 전극의 장점으로 인하여 환경, 임상, 식품 등 다양한 이온분석 분야에 응용이 급격하게 증가하고 있다.

이온선택성 전극에 중성 담체(ionophores)를 PVC 막에 가소제와 같이 혼합하여 제작하는 액체막 전극을 이용하여 다양한

이온의 분석에 사용을 시작한지는 30년이 지났다. 특히 이들 담체들의 선택성은 직접적으로 전극의 선택성능과 직결되어 있다. 즉, 이온선택성 전극의 성능은 주로 이온선택성막의 담체의 개발에 달려있는데 따라서 많은 연구자들은 분석 대상 이온에 대한 선택성과 감응성을 향상 시킬 수 있는 담체의 개발하기 위한 연구를 수행하였다.³⁾ 이런 이유에서 볼 때 분석물질에 대한 선택성이 뛰어난 면역항체, 효소 및 결합단백질과 같은 자연에서 얻어지는 화합물들은 ISE의 담체로 많이 검색되고 일부는 실제 응용되기도 한다. 대표적으로 K^+ 이온 선택성 전극에 응용되는 발리노마이신(valinomycin)이나 니제리신(nigericin) 같은 항생제 물질은 생체 내에서의 금속이온과 결합하는 형태에 근거해서 개발된 물질들이 선택성이나 감응도에서도 매우 우수한 성질을 나타내는 것으로 보고되어 있다.^{4,6)} 그리고 싸이클로스포린(cyclosporin)이나 아스코마이신(ascomycin: FK506)과 같

*E-mail: paengk@yonsei.ac.kr

은 다양한 생체 환 펩타이드(cyclopeptide) 분자들 뿐 아니라 인공적으로 합성된 cyclopeptide들도 각종 알칼리류 및 알칼리 토금속류들과 선택적으로 반응하므로 ISE의 담체로의 사용 가능성이 타진되고 있다.^{7,8)} 이와 같은 생화학물질을 찾아 이온선택성 전극의 담체로 응용하는 연구가 많이 진행되고 있다.

특히 현재에도 K⁺ 이온선택성 담체로 가장 널리 사용되고 있는 valinomycin이 항생제 물질이므로, 본 연구에서도 금속이온과 생체시스템 내에서 결합하는 것이 밝혀진 항생제인 테트라사이클린을 양이온들의 담체 후보 물질로 전위차 감응도를 조사하였다. 테트라사이클린(Tc)은 특히 다양한 그램 양성균 및 음성균에 작용하는 항생제 물질로 실제 병원 등에서 다양하게 응용되고 있으며, Fig. 1과 같은 모양을 하고 있다. 또, Tc는 그램과 같이 크게 4가지로 분류한다.

최근 논문에서 Tc는 박테리아 단백질의 생합성을 방해하게 되고 이로 인하여 박테리아의 번식을 방해함으로써 항생제로의 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 이때 생화학 기능을 수행하기 위해서 양이온들과 결합한 형태를 형성한다고 보고되어 있다.⁹⁾ 이와 같은 결과를 토대로 Tc류도 양이온 담체로 응용이 가능할 것으로 생각되었으며, 본 연구에서는 Tc를 고분자 막전극의 담체로서의 활용 가능성을 확인하기 위한 다양한 이온에 대한 전위차 감응도를 점검하였다. 이 연구를 통하여 다양한 생체 물질들의 생체 내 활동도는 전극의 담체로서의 활동도와도 일치할 수 있다는 가능성을 확인하려고 하였다.

2. 재료 및 방법

테트라사이클린(Tc)은 Sigma사(Saint Louis, Mo)로부터 구입하여 사용하였다. 이온선택성 막전극의 제작에 사용된 Poly(vinylchloride) (PVC), bis (2-ethyhexyl)sebacate (DOS) 그리고 potassium tetrakis(4-chlorophenyl borate) (KTPClPB) 는 Fluka (Ronkonkoma, NY)에서 구입하여 정제 없이 사용하였다. 기타 시약들은 특급시약을 구입하여 정제 없이 사용하였다. 금속 표준용액은 금속의 염화 염을 pH 7.4로 맞추어진 20 mM Tris 완충용액을 이용하여 1 M 농도로 제작하였으며, 필요

에 따라 희석하여 사용하였다. 완충 용액등 모든 표준 용액의 제조에는 초순수 (저항 18 MΩ/cm)를 사용하였다.

PVC를 지지체로 한 이온 선택성 막은 지지체 66 mg, 가소제 (DOS) 132 mg 그리고 담체(cyclosporin) 2 mg과 필요에 따라 비친수성 첨가제(KTPClPB)를 100 mol%로 조절하여 소량의 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 기준 전극은 Orion double junction, Ag/AgCl 전극을 사용하였다. 지시전극의 내부 표준 용액과 전극 전처리 용액으로는 10⁻³ M CaCl₂ 용액을 사용하였다. 이온 선택성 막의 전위는 각 이온의 표준 용액을 바탕 전해질 용액에 계속 가함으로서 얻었으며, 선택계수는 matched potential method (MPM) 방법을 이용하였다.¹⁰⁾

3. 결과 및 고찰

테트라사이클린을 담체로 하는 이온선택성 막 (Table 1)을 제작하여 다양한 양이온에 대한 전위차 감응도를 확인하여, 그 결과를 Fig. 2로 도시하였다. Fig. 2에서 나타난 바와 같이 막 조성 1에 대한 전위차 전극은 Mg²⁺ 이온을 제외한 대부분의 알칼리 및 알칼리 토금속에 매우 좋은 감응도를 보였다. 특히 Ca²⁺에 대해서는 (slope: 29.54 mV/dec; DL: -5.09)로 거의 이상적인 감응 형태를 나타내었다. 보고된 바에 의하면 [M Tc]⁺는 그램 양성균에서 Tc에의 저해성을 나타내는 Ter 억압자(terR)의 결합은 단백질의 conformation 변화를 일으키며 특정 생체시스템의 repressor/operator complex를 분해시킨다고 알려져 있다. 특히 결정 구조 연구에 따르면 TerR의 인식자리에 배위되어 있는 금속 이온은 다시 Tc의 keto-enolate (O11, O12)와 His 100의 imidazole 위치에 octahedral 형태로 결합되어 있다고 보고되어 있다.^{9,11)} 특히 Mg²⁺와 K⁺가 이 때 주로 결합하는 금속이온으로 보고되어 있다. 그러나 실험 결과에 의하면 Ca²⁺에 대해서는 매우 우수한 결과를 보였는데 Mg²⁺ (slope: 2.54 mV/dec; DL: -2.21)에 대해서는 전혀 감응하지 않은 결과를 보였다. 또한 생체 내 시스템과는 다르게 K⁺에 대한 선택성 및 감응도 (slope: 44.27 mV/dec; DL: -5.75)는 이상적인

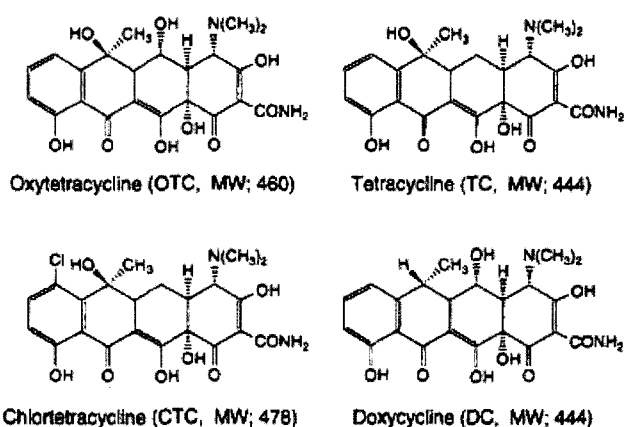


Fig. 1. Tetracycline antibiotics.

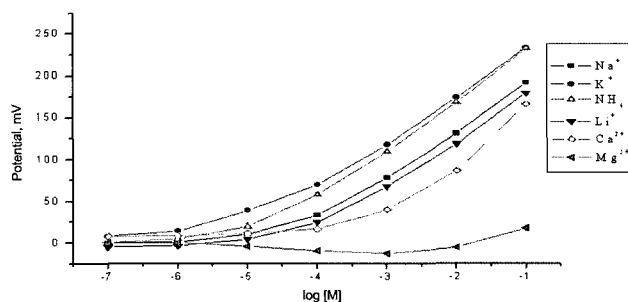


Fig. 2. Calibration curves for membrane electrode based on tetracycline without lipophilic additive.

Table 1. The composition of membrane electrodes based on tetracyclines

Membrane No.	Matrix (33wt%)	Ionophore (1wt%)	Plasticizer (66wt%)	Lipophilic additive (100 mol%)	Internal filling solution
1	PVC	Tc	DOS	-	0.1M KCl
2	PVC	Tc	DOS	KTPClPB	0.1M KCl

Nernst 값과는 차이가 있었고, 다른 1가 이온인 Li^+ (slope: 37.16 mV/dec; DL: -5.38), Na^+ (slope: 38.85 mV/dec; DL: -5.42) 그리고 NH_4^+ (slope: 46.67 mV/dec; DL: -5.60)에 대해서와 비교하여 보면 K^+ 와 크기가 비슷한 NH_4^+ 와는 거의 같은 감응을 Na^+ 나 Li^+ 에 대해서는 약간의 선택성을 보였다.

이와 같이 생체 시스템과 전극 내에서의 결과가 상이하게 나오는 경우는 여러 가지 원인이 있을 수 있다. 예를 들면 최근에 보고된 cyclosporin을 담체로 이용한 전극의 경우 막 내에서의 이온들의 이동성의 차이로 인한 생체시스템내의 *in vivo* 선택성과 막에서의 *in vitro* 선택성의 차이가 확인되었다.¹²⁾ 이 경우 막 내에 반대 전하를 띠는 site들을 도입함으로써 확인할 수 있었다. 따라서 본 연구에서도 lipophilic 첨가물, 100 mol%의 KTPCIPB를 첨부한 막전극 (막 조성 2)을 제작하여 각 이온에 대한 감응도를 조사하였다. 그 결과는 Fig. 3에 나타내었다.

그러나 실험 결과는 cyclosporin과는 다르게 막 1에 대한 감응도와 막 2에 대한 감응도에서 거의 차이를 보이지 않았다. 전체적으로 감응도와 검출한계가 약간 향상되었으나 Mg^{2+} (slope: 5.23 mV/dec; DL: -3.8)에 대한 감응이나 K^+ (slope: 46.33 mV/dec; DL: -5.80)에 대한 선택성은 거의 향상되지 않았다. 이는 위와 같이 예상과 다르게 결과가 나온 근본적인 원인은 cyclosporin과 같이 이온의 막 이동성에 의한 차이가 아니라 근본적으로 생체 내의 *in vitro*에서의 반응 위치가 다르기 때문으로 간주된다. 즉 생체 내에서는 생체내의 억압자가 Mg^{2+} 나 K^+ 의 octahedral 구조의 배위를 하는데 비해서 *in vitro*인 막내에는 Tc밖에 없으므로 반응 위치 자체가 변화되는 것이다. 이를 위해서 본 연구팀에서는 imidazole 등의 아미노산 근사물질을 가하여 감응도의 변화가 있는지를 추적하고 있다. 이와 관련된 내용은 분리된 다른 논문에 보고할 예정이다.

마지막으로 전극에 대한 감응속도, 재현성, 수명 등을 확인하였다. 감응시간은 3초 이내로 매우 우수하였으며, 재현성은 제작된 막전극 간에는 RSD 10% 이내, 같은 막을 이용한 표준용액에 대한 반복 실험에는 RSD 3% 이내로 매우 우수한 분석 재현성을 나타내었다. 그리고 수명의 경우 2달 정도까지는 사용에 문제가 없는 것으로 확인되었다.

본 연구를 통하여 Tc의 선택성 전극의 담체로서의 사용 가능성을 확인하였다. 특히 Ca^{2+} 에 대해서는 매우 우수한 감응 특성을 나타내었다. 그러나 예상과는 달리 Tc에서는 생체내의 금속과의 반응패턴을 그대로 따르지 않는 것으로 나타났다. 따라

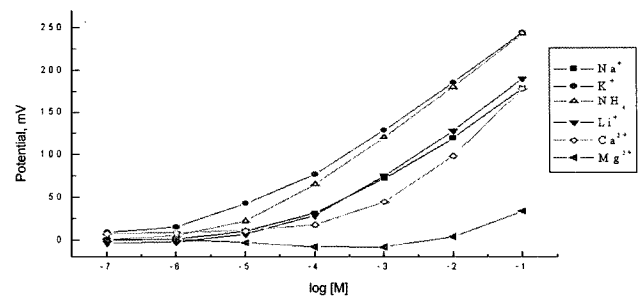


Fig. 3. Calibration curves for membrane electrode based on tetracycline with 100 mol% lipophilic additive (KTPCIPB).

서 본 연구진에서는 Tc의 반응패턴의 변화와 Fe 등 전이금속 이온들에 대한 감응도를 계속 연구하고 있다.

참고문헌

1. R. W. Cattrall, "Ion-Selective Electrode Rev.", Pergamon Press, New York, (1984).
2. E. Bakker, P. Buhlmann, and E. Pretsch, Chem. Rev. **97**, 3083 (1997).
3. P. Buhlmann, E. Pretsch, and E. Bakker, Chem. Rev. **98**, 1593 (1998).
4. R. J. Dancer, A. Jones, and D. P. Fairlie, Aust. J. Chem., **48**, 1835 (1995).
5. K. Suzuki, K. Kohda, H. Aruga, M. Matsuzoe, H. Inoue, and T. Shirai, Anal. Chem., **60**, 1714 (1988).
6. H. M. Burger and D. Seebach, Angew. Chem. int., **33**, 442 (1994).
7. M. Schafer, G. M. Sheldrick, I. Bahner, and H. Lackner, Angew. Chem. int., **37**, 2391 (1998).
8. L. C. M. Ngoka and M. L. Gross, J. Mass Spectrom., **35**, 265 (2000).
9. O. Scholz, P. Schubert, M. Kintrup, and W. Hillen, Biochemistry, **39**, 10914 (2000).
10. Y. Umezawa, K. Umezawa, and H. Sato, Pure Appl. Chem. **67**, 507 (1995).
11. O. J. Palm, D. Dalm, N. Mettews, J. Proft, and W. Hinrichs, www-hasyllab. desy.de/science/annual_reports/2005_report.
12. I. R. Paeng, Anal. Sci. & Tech, **18**(6), 491 (2005).