

## Chinoform Metal Chelate 에 관한 研究

池 達 顯\*

(Received December 2, 1973)

### Dal Hyun Chi: On the Chinoform Metal Chelate

**Abstract**—Determinations of the composition of chinoform metal chelates by elemental analysis and molar ratio method showed that the ratios of the ligand to metals in chinoform Cu(II) chelate, chinoform Ni(II) chelate, and chinoform Co(II) chelate were 2:1, respectively and that the ratio in chinoform Fe(III) chelate was 3:1. It was found that differential thermal values vary with the center metallic ions and that the thermal stability was in an order of Fe>Cu>Co>Ni. The indices of over-all stability constant of chinoform Cu(II) chelate, Ni(II) chelate, Co(II) chelate, and Fe(III) chelate were 15.57, 15.16, 15.40 and 20.76, respectively, and the over-all stability was in an order of Fe>Cu>Co>Ni. The tests of the antibacterial activity *in vitro* of the chinoform metal chelates against *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Pseudomonas aeruginosa* 2131, *Serratia marcescens* 3357, *Klebsiella pneumoniae* 8899, *Enterococcus* 3309, *Streptococcus pyogenes* 507, and *Escherichia coli* 125 showed that the Cu(II) chelate generally had greater activity than chinoform, that it had four-fold activity particularly against *Streptococcus pyogenes* 507 and *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, that the Ni(II) and Co(II) chelates had almost same activity, and that the Fe(III) chelate had strong activity against *Escherichia coli* 125.

Iodochlorhydroxyquin (chinoform)은 오랫동안 腸管에서 거의 吸收되지 않는 安全한 腸內 殺菌劑로 널리 使用되어 왔으나 1970年以後 SMON(Subacute Myelo Optic Neuropathy)와 關聯하여 그 副作用이 問題로 提起되었다.

SMON 患者에서 볼 수 있는 綠色의 舌苔 또는 綠色尿의 綠色物質은 chinoform의 鐵 chelate라 推定하였고 또 患者의 舌苔 및 尿에서 多量의 鐵 및 鉛을 確認하였다고 報告하

\* Pharmacy, National Medical Center, Seoul, Korea,

였다<sup>11)</sup>.

有機化合物의 metal chelate가 抗菌作用과 밀접한 關係가 있음을 Albert<sup>2)</sup>가 提唱한 以後 從來 分析試藥으로 알려진 8-hydroxyquinolin(oxine), *o*-phenanthroline 등이 Uri<sup>3)</sup>, Blank<sup>4)</sup> 등에 의하여 抗菌작용을 나타내고 이 抗菌作用은 或種의 金屬存在로서 增強作用을 나타내고 또는 拮抗한다는 것이 實驗적으로 證明되었고 또 抗菌作用에 metal chelate 生成이 重要함이 알려진 後, Fallab등,<sup>5)</sup> Erlenmyer등<sup>6)</sup>, Cynerman 등<sup>7)</sup> 및 上野<sup>8)</sup>는 化學療法劑에 對하여 Albert,<sup>9)</sup> Ishidate등,<sup>10)</sup> Foye,<sup>11)</sup> Melissa,<sup>12)</sup> Pital<sup>13)</sup> 등은 抗生物質中에는 metal chelate 生成의 官能基를 가지고 매우 安定한 chelate를 形成함을 報告하였고, 最近에는 sulfa劑의 chelate에 對한 Yamabe<sup>14)</sup>의 報告가 있다.

著者は chinoform을 metal chelate 化合物로서 첫째로 體內 吸收率을 보다 低下시킬 可能性이 있을 것이고, 둘째 體內에 必要한 微量金屬의 脫金屬現象을 抑制시킴으로서 SMON의 發病을 豫防할 수 있고 셋째 抗菌力을 보다 增強시킬 수 있으리라는 推定下에 chinoform metal chelate를 合成하고 이의 組成比를 元素分析, mole比法 및 連續變化法으로 推定하고 配位子 및 金屬의 性質에 따르는 差異를 알기 위하여 示差熱分析 및 總安定度定數를 求하고 또한 이의 試驗管內的 抗菌力試驗을 한 結果 知見을 얻었기에 報告하는 바이다.

## 實 驗 方 法

**Chinoform Metal Chelate의 合成**—Chinoform 9.15g(1/100 mole)을 acetone 50ml에 녹힌 용액에 Fe(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub> 4.84g(2/100 mole), Cu(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> 3.74g (2/100 mole), Ni(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> 3.64g (2/100 mole), Co(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> 3.65g(2/100 mole)을 各各 NaAc-HAc 완충액 50ml에 녹힌 溶液을 加하여 生成하는 沈澱을 여과하고 沈澱을 methanol 및 물로 洗滌한 다음 沈澱을 60°에서 乾燥하여 chinoform의 Fe(III) chelate 8.8g(收率 約 80%), Cu(II) chelate 7.2g(收率 約 77%), Ni(II) chelate 7.6g(收率 約 81%), Co(II) chelate 7.5g(收率 約 80%)을 얻었다.

**元素分析**—Chinoform metal chelate의 元素分析中 C.H.N는 自動元素分析器(F & N製 Model 150)를 使用하였고 金屬은 原子吸光光度計(Jarrel Ash Model 800)를 使用하여 定量하였으며 metal chelate中의 Cl 및 I 定量은 大韓藥典에 準하였다.

**吸光光度法에 依한 Mole比法 및 連續變化法**—Co(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, Ni(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, Cu(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> 및 Fe(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>의 各各을 5×10<sup>-4</sup> M 용액 10ml씩을 正確히 取하고 여기에 chinoform dimethylformamide(DMF) 용액을 mole比로서 0.1—4의 比率로 混合하고 ion強度 0.1μ DMF가 80% 되도록 적당량 加하여 一定容量으로 한 다음 25°에서 chinoform Cu(II)는 430nm, chinoform Ni(II)는 410nm, chinoform Co(II)는 530nm 및 chinoform Fe(III)는 630nm에서 各各을 DMF를 對照로하여 spectrophotometer (Beckman DU)로 吸光度를 測定하여 mole比 및 連續變化法으로 組成比를 決定하였다.

**Chinoform Metal Chelate의 IR Spectrum**—Chinoform metal chelate의 ir spectrum은 KBr錠劑法에 따라 infrared spectrophotometer IR-4(Beckman)으로 測定하였다.

**Chinoform Metal Chelate의 示差熱分析**—Chinoform metal chelate의 配位子 및 金屬의 性質에 따른 差異를 알기 위하여 chinoform 및 chinoform metal chelate를 80°에서 4—6時

間 減壓乾燥하고 各各 약 5mg 을 취하여 differential thermal analyzer(Ston 社製, 200 series) 로 示差熱 分析하였다.

**Chinoform Metal Chelate 의 可視部吸收 Spectrum**—pH 4의 acetate 완충액에  $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ ,  $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2$ ,  $\text{Co}(\text{NO}_3)_2$  및  $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$ 을 녹혀  $3 \times 10^{-4}$  M로 한 용액에 chinoform  $1 \times 10^{-3}$ M 용액을 各各 5ml 씩 取하고 DMF 를 加하여 正確하게 50ml로 한 다음 chinoform DMF 용액을 對照로 하여 spectrophotometer (Beckman DU)로 吸光度를 測定하여 各各의 metal chelate 의 吸收曲線을 作成하였다.

**Chinoform Metal Chelate 의 吸光度에 미치는 DMF 농도의 影響**— $3 \times 10^{-3}$ M  $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ ,  $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2$ ,  $\text{Co}(\text{NO}_3)_2$  및  $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$  용액과  $1 \times 10^{-3}$ M chinoform DMF 용액을 各 5ml 씩 取하고 pH 4 acetate 완충액을 10ml 를 加한 後 20—90% 各種 DMF 의 濃度가 되도록 조절하여 DMF 를 對照로 하여 spectrophotometer (Beckman DU)로 吸光度를 測定하였다.

**Chinoform Metal Chelate 總安定度定數**—吸光度法에 의한 mole 比法에 따라 吸光度를 測定하여 다음 式에 따라 chinoform metal chelate 의 總安定度定數를 求하였다.

$$k = \frac{\left(1 - \frac{A}{A_m}\right)^{n+1}}{\frac{A}{A_m}} \cdot C^n$$

但  $k$ ……總解離定數

$A_m$ ……該當組成錯體의 不解離狀態時의 吸光度

$A$ ……該當組成錯體의 解離狀態時의 吸光度

$C$ ……濃度

$A$  와  $A_m$  를 求할 수 있음으로 解離定數  $k$  를 求하여 總安定度定數  $K$  를 算出하였다.

**Chinoform Metal Chelate 의 試驗管内 抗菌力試驗**—被檢菌은 國立醫療院細菌科에서 提供된 *Staphylococcus aureus* ATCC 6358, *Pseudomonas aeruginosa* 2131, *Serratia marcescens* 3357, *Klebsiella pneumoniae* 8899, *Enterococcus* 3909, *Streptococcus pyogenes* 507 및 *Escherichia coli* 125 의 菌株를 使用하여 한천平板稀釋法<sup>15)</sup>으로 그 最小發育阻止濃度를 測定하였다.

**被檢液의 調製**—Chinoform 및 chinoform metal chelate 를 DMF 溶液에 용해하여 滅菌蒸溜水로 4倍 稀釋하여 1000 $\gamma$ /ml 의 溶液으로 한 다음 25% DMF 溶液으로 2倍稀釋系列을 만들었다.

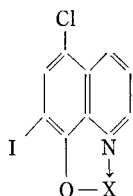
## 結果 및 考察

Chinoform metal chelate 의 組成元素分析值, 極大吸收波長은 Table I 과 같고 chinoform metal chelate 의 ir spectrum 의 特異吸收는 Table II 와 같다.

Chinoform metal chelate 의 mole 比法 및 連續變化에 依한 組成比는 및 Fig.1 ~ 3 및 Table III 에서 보는 바와 같이  $\text{Cu}(\text{II})$ ,  $\text{Ni}(\text{II})$ ,  $\text{Co}(\text{II})$ 에서는 配位子와 金屬의 比가 2:1,  $\text{Fe}$  는 3:1 인 metal chelate 를 形成함을 알 수 있다.

현재 다수의 有機金屬化合物의 赤外吸收 spectrum 이 測定되었는데 이의 大部分이 Huggins<sup>16)</sup> 등이 言及한 바와 같이 食鹽領域에 限하는 程度이고 metal sensitive 로서 中心金屬에

Table I—Chinoform metal chelate



Compd. No.	X	Appearance	Maximum absorption wave length (nm)		Analysis(%)	
					Calcd	Found
I	Cu(II)/2	Yellowish green plate	430	C	32.14	31.98
				H	0.89	0.91
				N	4.16	4.17
				Cl	10.54	10.59
				I	37.73	37.88
				M*	9.44	9.44
II	Ni(II)/2	Yellowish green needle	410	C	32.37	32.21
				H	0.90	0.91
				N	4.19	4.20
				Cl	10.61	10.54
				I	37.99	36.98
				M	8.79	8.73
III	Co(II)/2	Reddish green plate	510	C	31.49	31.45
				H	1.45	1.89
				N	4.08	4.34
				Cl	10.35	10.42
				I	37.03	37.31
				M	8.59	8.46
IV	Fe(III)/3	Bluish black plate	630	C	33.45	33.54
				H	0.93	0.91
				N	4.33	4.35
				Cl	10.97	11.00
				I	39.27	40.00
				M	5.76	5.80

\* M; metal

Table II—Infrared absorption spectra of chinoform metal chelate (cm<sup>-1</sup>)

Ligand	Chelate			
	Cu(II)	Ni(II)	Co(II)	Fe(III)
3,090m*	—	—	3,300s	—
1,490s	1,450s	1,490s	1,440s	1,480m
1,204s	1,220w	1,245w	1,250m	1,235w
808m	850w	860w	850w	850w
780m	750w	750w	750m	750m
725m	725w	720w	710m	710w
660w	660w	650s	600s	650m
560w	590w	600w	580w	600w

\* s; strong, m; medium, w; weak.

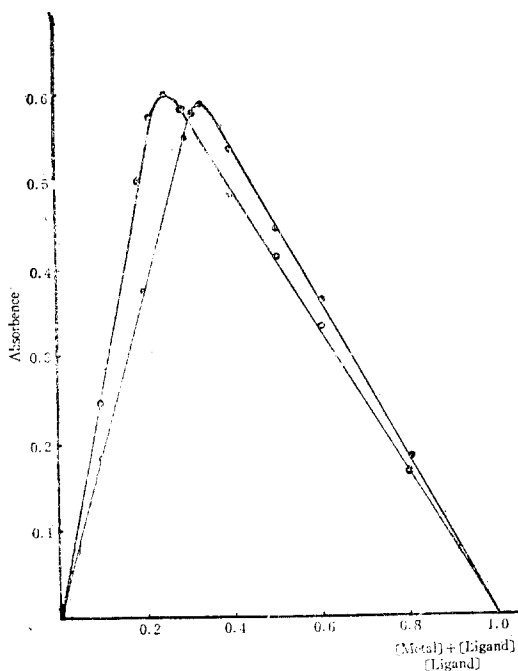


Fig. 1—Continuous variation method of chinoform metal chelate.  
 $[\text{ligand}] + [\text{Cu}(\text{II})]$  and  $[\text{Ni}(\text{II})]$   
 $= 5 \times 10^{-4} \text{M}$ , 430 and 410nm, pH=4.0  
 key: ●, Cu(II); ○, Ni(II).

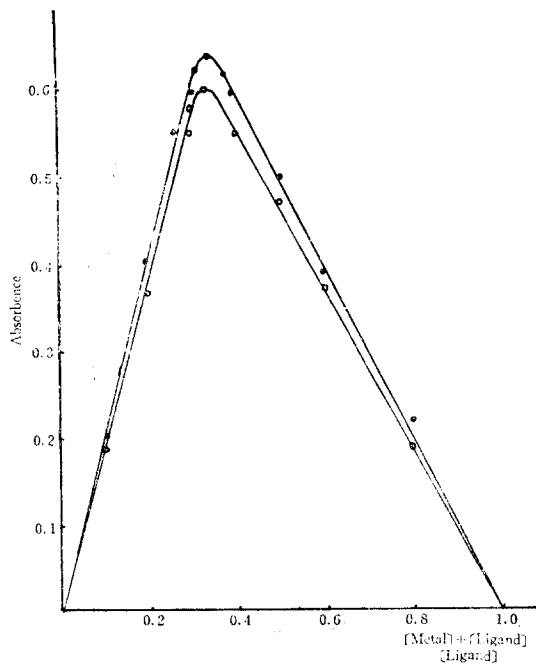


Fig. 2—Continuous variation method of chinoform metal chelate.  
 $[\text{ligand}] + [\text{Cu}(\text{II})]$  and  $[\text{Fe}(\text{III})]$   
 $= 5 \times 10^{-4} \text{M}$ , 510 and 603nm, pH=4.0  
 key: ○, Fe(III); ●, Cu(II).

對한 有機基의 配列상태나 有機基金屬間의 結合성을 직접 알 수 있는 遠赤外 spectrum 이 有用하다고 思料된다.

本 실험에서는 일차적으로 高波數領域에서 赤外吸收 spectrum 을 測定하여 chinoform metal chelate 에 對하여 그 구조를 推定하였다.

Chinoform 은  $3,400-2,600\text{cm}^{-1}$ 에서  $-\text{OH}$ 의 伸縮振動과 N의 分子內水素結合에 依한 廣幅 吸收帶를 나타내고  $1,570\text{cm}^{-1}$ 에서 quinoline 骨格中의  $\text{C}=\text{N}$ 에 對한 伸縮振動과  $1,204\text{cm}^{-1}$ 에서의 phenol 性 OH 基의  $\text{C}-\text{O}$ 에 對한 강한 吸收帶를 나타낸다. 그러나 chinoform metal chelate 中 Cu(II), Ni(II) 및 Fe(III)은 吸收 spectrum 에서는 共通的으로  $3,400-2,600\text{cm}^{-1}$ 에서 나타내고 있다.

$1,204\text{cm}^{-1}$ 에서는 phenol 性 OH 基에 依한 伸縮振動 ( $\text{C}-\text{O}$ )에 依한 sharp 한 peak 가 없어졌다. 이 結果로 金屬이 O와 chelate 를 形成하고 있는 것을 알 수 있으며 Co(II)는 結晶水를 가지고 있을 것으로 思料된다.

이 測定値로 보아 配位子인 chinoform 보다 示差熱이 높고 chinoform metal chelate 에서는 中心金屬 ion의 種類에 따라 다르코 熱的安定性的의 傾向을 비교하면  $\text{Ni} < \text{Co} < \text{Cu} < \text{Fe}$  이고

Table III—Physical properties of chinoform metal chelate

Metal chelate	Differnetial thermal analysis		Color (soln.)	Maximum absorption ware length(nm)
	Endothermic peak	Exothermic peak		
Chinoform	172			
Chinoform-Cu(Ⅱ)		380	Pale yellow	430
Chinoform-Ni(Ⅱ)		338	Pale yellow	410
Chinoform-Co(Ⅱ)		362	Red	510
Chinoform-Fe(Ⅲ)		398	Dark green	630

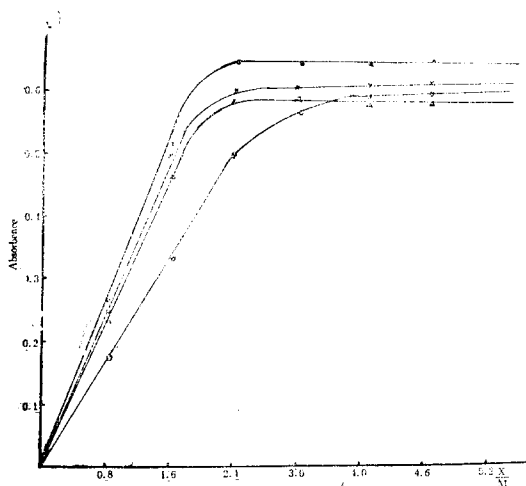


Fig. 3—Molar ratio plots for chinoform and various metal at pH=4 in 80% dimethylformamide solution. key: ○, Fe(Ⅲ); △, Co(Ⅱ); ×, Ni(Ⅱ); ●, Cu(Ⅱ).

a, Endothermic peak of chinoform is 172

b, in 80% DMF soln. at 25°,  $\mu=0.1$

이는 Wendlanat<sup>17)</sup>가 oxine의 metal chelate에 대하여 報告한 것과 比較하면 chinoform Cu(Ⅱ)을 除外하고는 類似性を 볼 수 없었다.

Chinoform metal chelate의 示差熱分析의 結果와 DMF溶液의 可視部 吸收 spectrum의 吸收極大波長 및 over all stability constant는 各各 Table III 및 IV와 같다.

Mole 法에 依한 mole 比와 吸光度와의 關係曲線은 Fig. 3과 같고 chinoform metal chelate의 總安定度順位는 Ni < Co < Cu < Fe로서 示差熱分析에 依한 熱的安定性 傾向과 一致한다.

Chinoform metal chelate의 試驗管內 抗菌作用을 檢討하기 위하여 寒天平板法으로 最小發育阻止 濃度を 求한 結果는 Table V와 같다. 이때 溶劑로 使用한 DMF 溶液은 使用濃度 範圍(25%) 以下에서는 細菌發育阻止에 影響을 주지 않았다.

**Table IV**—Chinoform metal chelate over all stability constant in 80% dimethylformamide solution at 25°,  $\mu=0.1$

Metal chelate	Over all stability constant(log K)
Chinoform Cu(II)	15.57
Chinoform Ni(II)	15.16
Chinoform Co(II)	15.46
Chinoform Fe(III)	20.76

**Table V**—Antimicrobial activity of chinoform metal chelate.  
(Minimum inhibitor concentration  $\mu\text{g/ml}$ , at 37°)

Microorganism	Chinoform	Chinoform	Chinoform	Chinoform	Chinoform
		Cu (II)	Ni (II)	Co(II)	Fe (III)
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6358	80	20	50	50	30
<i>Pseudomonas aurugina</i> 2131	100	50	100	50	100
<i>Serratia marcescens</i> 3357	80	80	80	80	80
<i>Klebsiella pneumoniae</i> 8899	100	50	100	100	100
<i>Enterococcus</i> 3909	50	100	100	100	40
<i>Streptococcus pyogenes</i> 507	80	20	50	50	30
<i>Escherichia Coli</i> 125	50	30	20	20	10

Chinoform Cu(II)는 被檢菌에 對하여서 chinoform 보다 강한 抗菌作用은 있으나 *Serratia marcescens* 3357, *Enterococcus* 3909에 對하여서 chinoform 과 같은 抗菌力을 나타내고 *Staphylococcus aureus* ATCC 6358, *Streptococcus pyogenes* 507에 대하여 約 4倍의 抗菌力을 나타냈다.

이것은 Pubbo, Albert 등이 oxine에서 *Streptococcus*에 對한 抗菌作用이  $\text{Cu}^{2+}$ 의 添加로 增強된다는 事實과 關連이 있지 않나 思料된다.

Chinoform Ni(II) 및 chinoform Co(II)는 被檢菌에 對하여 거의 같은 抗菌力을 나타내나 gram 陰性菌인 *Pseudomonas aurugina* 3357 및 *Escherichia coli* 125에 대하여 chinoform 보다 約 2倍의 抗菌力을 나타냈다.

또 chinoform Fe (III)는 다른 chinoform metal chelate와 거의 같은 抗菌力을 나타냈고 특히 *Escherichia Coli* 125에 對하여 強力하며 約 5倍 程度의 抗菌力을 나타냈다. 여기서 特記할 事實은 Albert<sup>18)</sup>가 oxine의 抗菌作用을 檢討, oxine,  $\text{Fe}^{3+}$ 이 1:1의 비율로 結合한 chelate는 抗菌力이 있으나 3:1의 비율로 結合한 것은 없다고 한 事實과는 상치된다.

또 chinoform Cu(II)가 一般的으로 chinoform 보다 強力한 抗菌作用을 나타냄은 Albert가 oxine에서 配位자와 金屬比가 2:1인 Cu(II) chelate에서 極성이 작은 chelate로 生成하기에 細胞膜透過를 助長한다는 報告와 類似性이 있다고 思料된다.

## 結 論

1. Chinoform metal chelate 의 組成을 元素分析 및 mole 比法으로 測定한 結果 配位자와 金屬의 比는 chinfoform Cu(II) chelate, chinfoform Ni(II) chelate, chinfoform Co(II) chelate는 2 : 1, chinfoform Fe(III) chelate는 3 : 1임을 알았다.

2. Chinoform metal chelate 의 示差熱分析値는 中心金屬 ion의 種類에 따라 다르고 熱的 安定性的 傾向은 Ni < Co < Cu < Fe임을 알았다.

3. Chinoform metal chelate 의 總安定度定數의 指數는 다음과 같다. Cu(II) chelate, Ni(II) chelate, Co(II) chelate, Fe(III) chelate는 各各 15.57, 15.16, 15.46 및 20.76 이고 總安定性은 Ni < Co < Cu < Fe의 順임을 알았다.

4. Chinoform metal chelate 의 試驗管内抗菌力은 *Staphylococcus aureus* ATCC 6358, *Pseudomonas aurugina* 2131, *Serratia marcescens* 3357, *Klebsiella pneumoniae* 8899, *Enterococcus* 3909, *Streptococcus pyogenes* 507, *Escherichia coli* 125 의 菌株에 對하여 Cu(II) chelate는 chinfoform 보다 一般的으로 강한 抗菌作用을 나타냈고 그 中에서도 *Streptococcus pyogenes* 507 및 *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 에 對하여서는 約 4 倍 強力하고, Ni(II) chelate 와 Co(II) chelate는 거의 같은 抗菌力을 나타냈고 Fe(III) chelate는 *Escherichia coli* 125 에 對하여 強力한 抗菌力을 나타냈다.

本 研究를 指導하여 주신 서울大學校 藥學大學 禹鍾鶴教授, 金信根教授와 原稿를 校閱하여 주신 白南豪教授께 感謝드리며 菌株을 提供하여 주신 國立醫療院 細菌科에 謝意를 表한다.

## 文 獻

1. 第8改正 日本藥局方 第一部 解說書(廣川書店), 1971, P.C-587
2. A. Albert, *Med. J. Australia*, **1**, 245 (1944)
3. J. Uri and G. Szabo, *C.A.*, **47**, 817 (1953)
4. F. Blank, *Nature*, **168**, 516 (1951)
5. S. Fallab and H. Erlenmyer, *Helv. Chim. Acta*, **36**, 610 (1953)
6. H. Erlenmyer *et al.*, *Ibid*, **37**, 636, 2010 (1954)
7. J. Cymerman-Croig and S.D. Rubbo, *Nature*, **176**, 34 (1955)
8. S. Ueno, *J. Pharm. Soc. Japan*, **70**, 825, 831, 839 (1956)
9. A. Albert, *Nature*, **172**, 201 (1953)
10. M. Ishidate *et al.*, *Chem. Pharm. Bull.*, **3**, 147, 166, 170, 303 (1955)
11. O. Foye *et al.*, *J. Am. Pharm. Assoc. (Sci. Ed)*, **44**, 261 (1955)
12. J. Melissa, *Mikrochemis*, **38**, 120 (1951)
13. A. Pital *et al.*, *Science*, **117**, 459 (1953)
14. S. Yamabe, *Nature*, **32**, 37 (1962)



15. Ishii, *Chemotherapy*, **16**, 98(1968)
16. D.K.Haggins, H.D. Kaesez, "Use of Infrared and Raman Spectroscopy in the Study of Organometallic Compounds" in "Progress in Solids State Chemistry" Vol. 1 (Mac Millan), **1964**; F.A. Cotton, "The Infra-red Spectra of Transition Metal Complexes" in "Modern Coordination Chemistry" (Interscience), **1961**
17. Wenplandt and J.K. Walker, *Anal. Chem. Acta*, **15**, 109 (1956)
18. A. Albert, *The Strategy of Chemotherapy*, Cambridge Univ. Press, **1958**