

Zirconium Pyrithione 착물의 항균력

권중무[†]·이계주
충남대학교 약학대학
(1988년 8월 5일 접수)

Antimicrobial Activity of Zirconium Pyrithione Complex

Chung Moo Kwon[†] and Gye Ju Rhee

College of Pharmacy, Chungnam National University, Daejeon 301-764, Korea

(Received August 5, 1988)

Zr, Cu, Zn and Fe-pyrithione complexes were prepared in aqueous medium and their antimicrobial activities were evaluated by MIC and cylinder plate methods against *Bacillus subtilis*, *Sarcina lutea*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Candida albicans*, *Aspergillus niger* and *Saccharomyces cerevisiae*. Zr-pyrithione possessed most potent activities among the metal complexes against a wide range of microorganisms, especially Gram positive, *B. subtilis*, *S. aureus* and fungus, *C. albicans*. And all of the metal complexes synthesized were more active than pyrithione base. Fe(III)-pyrithione complex has an equal potency to Zn-pyrithione in general but it showed potent activity against *B. subtilis* microorganism than Zn-pyrithione.

Keywords—metal pyrithione chelates ; zirconium pyrithione ; Gram positive and negative microorganisms ; fungi ; antimicrobial activities ; minimum inhibitory concentration

유기화합물의 금속착화합물이 항균작용과 밀접한 관계가 있다는 것은 1950년경 Albert¹⁾가 제창한 이래 여러 종류의 금속들이 유기화합물과 금속착물을 형성하고 이 화합물들은 미생물의 침입을 방지해 주는 데 매우 효과적이라는 것을 Foye²⁾, Ikeda³⁾, Erlenmeyer⁴⁾, Obi⁵⁾와 Yamabe⁶⁾ 등 많은 연구자에 의하여 보고되었다.⁷⁻¹¹⁾

유기항균제이며 중금속이온에 대한 우수한 chelating agent인 2-mercaptopyridine-1-oxide (pyrithione)는 항균작용을 가지고 있으나 공기, 열 및 광선에 불안정하기 때문에 이를 안정한 유도체로 만들고 동시에 항균력을 증가시킬 방법의 하나로 pyrithione의 금속착화합물인 Zn-derivative가 만들어져서 의약품이나 화장품 기타 제제에 대한 보존제 및 살균제로 사용되고 있다. 그러나 이들을 산제, 분산제 또는 액상으로 사용할

때에는 피부자극 등 독성이 발견되었으며 pyrithione에 비해 다소 안정성은 크게 향상되었으나 액성과 열에 의하여 해리나 가수분해가 일어나기 때문에 저온차광하에 보관하여야 하기 때문에 화장품 등 일부에 국한하여 응용되고 있는 실정이다.^{15,16)}

zirconium(Zr) 및 그 염류는 일부 피부육아증증이나 axilla의 탈취제¹⁷⁾로도 사용되는 물질인 동시에 ligand와 chelate를 형성할 수 있는 금속으로서 산소 원자에 상당한 친화성이 있다. 따라서 oxygen donor group을 가진 chelating agent와 금속착물¹⁸⁾을 잘 만들고 유기화합물 및 mono, polyhydroxy혼합물들과 coordination complex¹⁹⁾를 잘 형성한다. 특히 Zr은 cellulose와 강력한 배위화합물을 형성하기 때문에 섬유질의 위생처리에도 응용이 가능할 것으로 생각된다. 따라서 저자 등

[†]본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로.

은 Zr과 기타 몇가지 금속의 pyrrhithione착물을 합성하고 그 항균력 실험 결과를 비교 검토하여 이의 활용성을 모색하고자 하였다.

실험방법

시 약

pyrrhithione(Tokyo Kasei), Na-pyrrhithione 35% solution(Tokyo Kasei), Zn-pyrrhithione(Yoshitomi), $ZrOCl_2 \cdot 8H_2O$ (E. P), $Cu(Ac)_2 \cdot H_2O$ (E. P), $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ (E. P) 및 dimethylsulfoxide(DMSO, E. P) 등을 썼다.

금속 Pyrrhithione 착물의 합성

35% Na-pyrrhithione solution 17.04 ml(0.04 M)에 $ZrOCl_2 \cdot 8H_2O$ 6.445g(0.02 M), $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ 4.84g(0.02 M), $Cu(Ac)_2 \cdot H_2O$ 3.993g(0.02 M)을 각각 증류수 50 ml에 녹인 용액을 가하여 상온에서 2시간 동안 교반한 다음 16시간 방치하여 생성된 침전을 여과하여 침전을 메탄올 및 물로 세척한 다음 감압하에 50°C로 건조하여 Zr(IV)-pyrrhithione착물 5.16g(수율 약 86%), Fe(III)-pyrrhithione 4.70g(수율 약 81%), Cu-pyrrhithione 5.11g(수율 약 80%)을 얻었다.

균 주

Gram 양성균으로 *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Sarcina lutea* ATCC 9341, *Staphylococcus aureus* ATCC 65389을, Gram 음성균으로 *Pseudomonas aeruginosa* NCTC 10490, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031, fungi로는 *Aspergillus niger* ATCC 9642, *Trichophyton mentagrophytes* KCTC 608, *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 9763, *Candida albicans* ATCC 10231 등을 사용하였다.

배 지

liquid antibiotic medium No.3 broth(Difco), medium No.1 broth(seed agar, Difco) 및 medium No.2 broth(base agar, Difco)를 사용하였다.

검체조제

pyrrhithione 및 금속 pyrrhithione착물을 DMSO와 HCl-KCl 완충액(pH 2.0)의 혼합용액(1:9)

에 녹인 다음 같은 혼합용액으로 2배 희석계열을 만들었다.

MIC 측정법^{12,19-22)}

시험용 균을 사면 nutrient agar에 37°C에서 18시간 3회 이상 계대 배양시킨 후 0.9% NaCl용액으로 적당한 농도로 희석시켜 530 nm에서 투과도가 12% 되도록 조절한 후 각각 균액으로 하였다. 위의 균액 12 ml에 liquid antibiotic medium No.3 broth를 가하여 400 ml가 되도록 하였다. 이 시험용 균액이 함유된 배지 9 ml와 시료액 1 ml를 각각 시험관에 넣고 균일하게 혼합시킨 후 위의 조건에서 배양시키고 각 시료에서 균주의 증식을 억제한 최소 농도를 육안으로 확인하였다.

원통평판법¹⁹⁻²²⁾

시험용 균을 사면 nutrient agar에 37°C에서 18시간 배양시킨 후 3회 이상 계대 배양시켰다. 이 균을 glass ball과 0.9% NaCl용액을 사용하여 Roux bottle에 넣어 nutrient agar 250 ml의 표면에 접종하고 530 nm에서 투과도가 1%가 되도록 하여 각각의 시험용 균액으로 하였다. 따로 안지름 90 mm의 Petri dish에 base agar 18 ml씩을 넣고 한천을 편편히 퍼서 평판으로 하고, seed agar 120 ml에 시험용균액 1 ml씩을 각각 가한 뒤 균일하게 혼합하여 평판의 표면에 4 ml씩 편편하게 편다. 여기에 각각의 시료액을 plate한 후 위의 실험조건으로 배양시킨 다음 억제환의 지름을 zone reader로 측정하였다.

실험결과 및 고찰

Table I 및 II에서 보는 바와 같이 pyrrhithione 및 Cu, Fe(III), Zn, Zr-pyrrhithione 착물들은 Gram 양성, 음성균 및 fungi에 대하여 전반적으로 항균작용을 나타내며 금속 pyrrhithione착물이 pyrrhithione base보다 강한 항균작용을 나타낸다.

pyrrhithione 및 금속 pyrrhithione착물이 전반적으로 항균작용이 있는 것은 pyrrhithione이 비특이적인 환원제로서 여러가지의 단백질에서 disulfide bond를 깨뜨리는 작용이 있고 또한 효소의 chelating metal cofactor인 alcohol dehydrogenase를 억제하여 항균작용을 나타낸다는

Table I—Antimicrobial Activity Measured by Method of Minimum Inhibitory Concentration.^{a)}

Microorganisms	Minimum inhibitory concentration ($\mu\text{g/ml}$)				
	Pyrrhione	Cu-pyrrhione	Fe(III)-pyrrhione	Zn-pyrrhione	Zr(IV)-pyrrhione
<i>B. subtilis</i>	25	12.5	6.25	12.5	6.25
<i>S. lutea</i>	12.5	12.5	12.5	12.5	6.25
<i>S. aureus</i>	25	12.5	12.5	6.25	6.25
<i>P. aeruginosa</i>	100	50	100	100	100
<i>K. pneumoniae</i>	200	200	100	100	200
<i>A. niger</i>	3.13	3.13	3.13	1.56	1.56
<i>T. mentagrophytes</i>	6.25	3.13	3.13	3.13	1.56
<i>S. cerevisiae</i>	25	25	50	50	50
<i>C. albicans</i>	6.25	3.13	6.25	3.13	1.56

^{a)} The samples were dissolved in dimethylsulfoxide.

Table II—Antimicrobial Activity Measured by Method of Cylinder Plate.

Microorganisms	Diameter of inhibitory zone (mm)				
	Pyrrhione	Cu-pyrrhione	Fe(III)-pyrrhione	Zn-pyrrhione	Zr(IV)-pyrrhione
<i>B. subtilis</i>	19.2	20.0	22.2	20.1	21.8
<i>S. lutea</i>	18.5	19.3	19.2	19.9	20.8
<i>S. aureus</i>	16.4	17.0	16.0	17.6	18.1
<i>P. aeruginosa</i>	17.1	16.9	17.6	18.0	16.9
<i>K. pneumoniae</i>	15.1	15.5	14.9	14.8	15.0
<i>A. niger</i>	19.3	19.8	19.9	22.4	21.6
<i>T. mentagrophytes</i>	18.0	19.1	18.1	18.9	21.0
<i>S. cerevisiae</i>	17.6	17.5	17.2	18.0	17.9
<i>C. albicans</i>	18.8	21.9	21.2	22.6	23.9

Chandler 등¹²⁾의 보고에 기인된다고 생각되며, 금속 pyrrhione착물이 pyrrhione보다 항균작용이 높은 것은 pyrrhione의 제4급 암모늄염 및 금속염이 항균작용이 높다고 한 Hayashi²⁴⁾ 등의 보고와 금속의 첨가로 항균작용이 증강되고 항균작용이 있어서 금속 착물 생성이 중요하다는 Albert 등의 보고와 관련이 있지 않나 사료된다.

Zr(IV)-pyrrhione은 피검균에 대하여 pyrrhione보다 강한 항균력을 나타내었으나 *K. pneumoniae* 및 *P. aeruginosae*에 대하여서는 pyrrhione과 비슷한 항균력을 나타내었고 *B. subtilis*, *S. aureus*, *T. mentagrophytes* 및 *C. albicans*에 대하여서는 약 4배의 강력한 항균력을 나타내었다.

Zn-pyrrhione은 *S. lutea*, *K. pneumoniae* 및 *P. aeruginosae*에 대하여서는 pyrrhione과 비슷한 항균력을 나타내었으나 *S. aureus*에 대하여는 약 4배의 항균력을 나타내어 매우 강력하게 작용하였다.

Cu-pyrrhione착물은 피검균에 대하여 pyrrhione과 거의 같은 항균력을 나타냈으나 *S. aureus*, *T. mentagrophytes* 및 *C. albicans*에 대하여 약 2배의 항균력을 나타내었다. Fe(III)-pyrrhione착물은 피검균에 대하여 *S. aureus*를 제외하고는 Cu-pyrrhione과 거의 같은 항균력을 나타내었고 특히 *B. subtilis*에 대하여서는 약 4배 정도의 강력한 항균력을 나타냈다.

여기서 특기할만한 사실은 Albert의 보고에 의

하면 Fe이 ligand와 1:1의 비율로 결합한 착물은 항균력을 가지나 3:1의 비율로 결합한 것은 항균력이 없다고 한 사실과는 다른 점이다. 따라서 Zr, Zn, Cu, Fe(III)착물 중에서는 Zr착물이 가장 항균력이 강력하였으며 그 원인은 Zr이온자체가 항균작용을 갖는 특성을 갖고 또한 이 화합물은 극성이 작기 때문에 세포막 투과를 조장하여 항균력이 강력하게 나타나는 것으로 생각되어 앞으로 새로운 항균제로서의 활용이 기대된다.

결 론

Cu, Fe(III), Zn 및 Zr(IV)의 pyrithione착물을 합성하고 그 항균력을 MIC법과 원통평판법에 비교 시험한 결과 다음의 결론을 얻었다.

1. 합성 금속착물중 Zr(IV) pyrithione착물이 가장 강력한 항균력을 나타내었다.

2. 이들 금속 pyrithione착물의 항균작용 범위는 Gram 양성균(*B. subtilis*, *S. lutea*, *S. aureus*), Gram 음성균(*P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*) 및 fungi(*A. niger*, *T. mentagrophytes*, *S. cerevisiae*, *C. albicans*)에 걸쳐 광범하였다.

3. 특히 Zr(IV) pyrithione착물은 *B. subtilis*, *S. aureus* 및 *C. albicans*에 대하여 pyrithione 염기에 비하여 탁월한 항균력을 나타내었고 *B. subtilis*, *S. lutea* 및 *C. albicans*에 대하여서는 Cu, Fe(III), Zn의 pyrithione착물에 비해서도 항균력이 높았다.

4. Fe(III) pyrithione착물은 Cu나 Zn pyrithione착물과 거의 같은 항균력을 나타내었으며 *B. subtilis*에 대하여서는 보다 강한 항균력을 나타내었다.

문 헌

- 1) A. Albert, Metal binding agents in chemotherapy, *Nature*, **172**, 201 (1953)
- 2) O. Foye, *et al.*, Chelation of alloxane with metal ion in water solution, *J. Am. Pharm. Assoc.*, **44**, 261 (1955)
- 3) Ikeda, *et al.*, Antibacterial activity of bis(2-pyridyl N-oxide)disulfide, *C.A.*, **68**, 1827 (1968)
- 4) H. Erlenmyer, *et al.*, The binding of drugs by proteins, *ibid*, **37**, 636, 2010 (1954)
- 5) N. Obi, *et al.*, Metal chelate compounds of tetracycline derivatives., *Yakugaku Zasshi*, **78**, 177-182 (1958)
- 6) S. Yamabe, On Copper(II) chelates of sulfanilamide derivatives, *Nature*, **32**, 37 (1962)
- 7) J.B. Kim, Biopharmaceutical studies on copper(II) chelates of sulfanilamide, *J. Kor. Pharm. Sci.*, **15**, 41 (1971)
- 8) D.H. Chi, On the chinoform metal chelates, *J. Kor. Pharm. Sci.*, **17**, 235 (1973)
- 9) A.C. Sartorelli, *et al.*, Antitumor activity of 2-formylpyridine thiosemicarbazone derivatives, *ibid*, **19**, 1209 (1976)
- 10) A. Ralph, Process for preparing 2-pyridinethiol N-oxides and derivatives thereof, *U.S. Pats.*, 3,583,999 (1971)
- 11) J.Y. Kim, B.G. Choi and S.H. Woo, Synthesis of iron and copper complexes of 2-formylpyridine thiosemicarbazone derivatives potential antitumor agents, *J. Pharm. Soc. Kor.*, **26**, 181 (1982)
- 12) C.J. Chandler, *et al.*, Mechanism of the antimicrobial action of pyrithione, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **14**, 60 (1978)
- 13) N. Orentreich, Clinical evaluation of two shampoos in the treatment of seborrheic dermatitis, *J. Soc. Cos. Chem.*, **23**, 189-194 (1972)
- 14) A.M. Kligman, *et al.*, Appraisal of efficacy of antidandruff formulations, *J. Soc. Cosmet. Chem.*, **5**, 73 (1974)
- 15) Olin Chemicals, Omadine^R Antimicrobials for cosmetic preservation, Stamford, 1980, pp. 1-5
- 16) J.D. Nelson and G.A. Hyde, Sodium and zinc omadine antimicrobials as cosmetic preservatives, *Documentary*, **96**, 87 (1981)
- 17) Merck Index, tenth ed., 1983, p. 9978
- 18) C.E. Morris, *et al.*, Bonding of organic antimicrobial agents to cotton fabric as Zr-complexes, *Textile Res. J.*, **90**(1981)
- 19) E.J. Gonzales, *et al.*, The bonding of phenols to cotton with zirconium acetate, *Textile Res. J.*, **600** (1963)
- 20) 항생물질 의약품기준 보사부고시, 제 120호,

보사부, 1978, pp.745

- 21) P. Gerhard, *et al.*, Manual of methods for general bacteriology ASM(Washington), 1981, pp. 84-88
- 22) 防菌防微(Japan), 防菌防微 Handbook, 技報堂, 1986, pp.700-781
- 23) B.L. Kacoff, *et al.*, Determination of zinc pyrithione by chelate exchange, *J. Soc. Cos. Chem.*, **26**, 453 (1975)
- 24) S. Hayashi, On the antimicrobial activity and stability of Zn-pyrithione complex, *Frag. J.*, **3**, 77 (1973)