

抗絲狀菌劑 開發에 관한 研究(I)

Salicylaldehyde-o-phenylenediimine의 抗眞菌作用

鄭 佑 泰·李 雄 洙*

忠北大學校 藥學大學·忠州工業專門大學*

Studies on the Development of Antifungal Agents(I)

Antifungal Activity of Salicylaldehyde-o-phenylenediimine

Uoo-Tae Chung and Ung-Soo Lee*

College of Pharmacy, Chungbuk National University, Cheong-ju 310 and
Chungju National Technical Junior College,* Chung-ju 380, Korea

Abstract: The antifungal activity of salicylaldehyde-o-phenylenediimine, a derivative of Schiff base, was studied *in vitro* against various species of fungi, especially, dermatophytes.

The antifungal tests were performed according to the tube-dilution method, and all subcultures were incubated at room temperature for 14 days.

Salicylaldehyde-o-phenylenediimine was effective against fungi such as *Trichophyton mentagrophytes*, *Trichophyton rubrum*, *Microsporum canis* and *Fonsecaea compacta*. *Trichophyton mentagrophytes* was inhibited at 20 μ g per ml, *Trichophyton rubrum* at 40 μ g per ml, *Microsporum canis* at 6 μ g per ml, and *Fonsecaea compacta* at 2 μ g per ml.

서 론

무좀이라 하면 dermatophytes에 속하는 백선균속(genus *Trichophyton*) 소포균속(genus *Microsporum*) 표피균속(genus *Epidermaphyton*) 등의 사상균의 감염에 의해 일어나며 특히 고온 다습한 하절에 흔히 발생하는 병이다. 오래전부터 이의 치료를 위해 새로운 항진균제에 관한 많은 연구가 행하여졌으며 그 결과 여러 종류의 항진균제가 개발되어 사용되어 왔고 현재도 이에 대하여 많은 연구가 진행되고 있다.

항생물질중에서 특히 항진균력이 있다고 보고된 것으로서 Oxford등(1939)은 griseofulvin, Menzel등(1944)은 fumigacin, Harned등(1951)은 nigericin, Taber등(1954)은 candidin, Smith등(1954)은 oligomycin, Fraser등(1959)은 amphotericin B, Noguchi등(1962)은 tinactin, Seigo등(1963)은 azalomycin F, Arai등(1968)

과 Ishibashi등(1970)은 siccanin, Tripathi등(1969)은 pyrrolnitrin, USP의 tolnaftate 그리고 Ringel(1978)은 ambruticin등에 관하여 우수한 항진균력이 있다고 보고하였으며 이들의 수증은 실제로 임상에 사용되고 있다.

한편, 화학약품으로써는 Stritzler등(1950)과 Ravits(1952)는 2-dimethylamino-6-(2-diethylaminoethoxy)-benzothiazoles, Buchin등(1976)은 dinitro-2,2-bithiophene 유도체, Draber등(1976)은 Diaryl-pyridyl-imidazol methanes, Krämer등(1976)은 imidazolyl-O,N-acetals, Kurz등(1976)은 thionosalicylic acid anilides, Biere등(1976)은 4-nitroperhydropyrido [1,2- α] [1,4]-diazepines, Wenzelburger등(1976)은 imidazolylacetic acid amides, Hussar(1976)는 clotrimazole, 그리고 Schwan등(1978)은 2-substituted phthalimidines등의 우수한 항진균력을 보고하였다.

또한 식물의 성분에 대한 연구로는 Banerjee등(1976)은 *Curcuma caesia* Roxb의 精油 성분, Dixit등(1976)

은 rose flower 성분, Ray등(1976)은 *Alpinia officinarum* Hance의 근경 성분, Ra등(1977)은 *Saussurea lappa* Clarke의 근 성분, Fujita등(1978)은 *Aloe arborescens* Mill subsp. *natalensis* Berger의 엽 성분, Lee 등(1976)은 *Geranium sibiricum* L.의 전초 성분이 항진균작용이 있다고 보고하였다.

이에 저자들은 aldehyde 확인반응 및 금속의 chelate complex에 많이 응용되고 있고, Schiff base중 Rotmistrov등(1970)은 azomethine, Weffen등(1967)은 nicotinoyl oxybenzaldehyde, 등이 항진균력이 있다고 보고 하였으므로 이에 착안하여 몇개의 Schiff base중 Pfeiffer (1936)에 의하여 구조식 및 일반적인 성질이 알려진 salicylaldehyde-o-phenylenediimine의 시험관내 항진균력을 조사하여 보았던 바 지견을 얻었기에 그 결과를 보고하는 바이다.

실험 재료 및 방법

1) 실험 재료

실험에 사용된 균체 : *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Microsporium canis*, *Fonsecaea compacta*, *Aspergillus flavus* NRRL 30000, *Aspergillus flavus* ATCC 15517, 및 *Penicillium notatum*.

실험에 사용된 항진균제의 합성 : 메탄올(Merck)에 1% o-phenylenediamine 10ml를 가하고 한시간 가열, 증류한 알코올 500ml에 o-phenylenediamine(Ketayama Chemical) 4g을 용해한 후 salicyl-aldehyde(Merck) 2ml를 가한 후 rotary evaporator에서 40°C 세시간 반응 후 감압하여 용매를 유지후 냉각한 다음, 석출된 결정을 증류수로 세척 chloroform-ether(1:1)에서 재결정하여 침상의 동색의 결정 5.7g(93%)을 얻었다. mp 164°, C.H.N.-analyzer 185B(Hewlett Parkard)의 분석 결과는 다음과 같다.

Anal. calcd. for C₂₀H₁₆N₂O₂: C: 75.9 H: 5.0 N: 8.8. Found: C: 75.8 H: 6.5 N: 8.8

I.R. (Japan Spectroscopic Co. LTD.)의 검토 결과 amide(Ar-NH₂) 3500~3400cm⁻¹에서 흡수대가 나타나

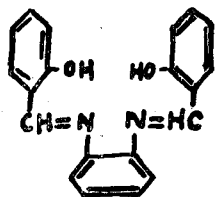


Fig. 1. Salicylaldehyde-o-phenylenediimine

지 않았으며 Ar-OH 3400~3200cm⁻¹에서 hydrogen bond의 흡수대가 존재한다.

이상의 결과로 Pfeiffer가 합성한 분자식(Fig. I)과 동일함을 알 수 있었다.

2) 실험 방법

항진균력 시험 : 합성된 salicylaldehyde-o-phenylenediimine(이하 SOP로 약함)는 dimethylsulfoxide에 용해하여 tube dilution법에 의하여 각 ml당 1^r, 2^r, 3^r, 4^r, 5^r, 6^r, 7^r, 8^r, 9^r, 10^r, 20^r, 40^r, 80^r 및 100^r로 희석하였으며 사용배지로는 Sabouraud당배지를 사용하였고 이 배지에 균주를 접종, 실온에서 2주간 각 농도에서의 균 발육 억제 농도를 관찰하고 판단이 곤란할때는 1~3주간을 계속 발육하여 발육억제 농도를 측정하였다.

수소 이온 농도의 영향 : 균발육과 pH간의 관계를 보기 위하여 배지의 농도를 pH 6.0, 7.2, 8.0으로 조절하여 각 농도에서 균주를 접종한 후 균 발육 억제 농도를 측정하였다.

실험 결과 및 고찰

각종 균에 대한 SOP의 항진균력 성적을 보면 발육 저지 농도의 실험치는 Table I과 같으며 Koh등은 현재 무좀에 사용되고 있는 siccanin을 에탄올로 희석하여 실험시 *Trichophyton*屬은 2-4μg/ml, *Microsporium*屬은 3~5μg/ml에서 최소 저지능을 갖고 있다고 보고하였다

Table I. Minimal inhibitory concentration(MIC) of salicylaldehyde-o-phenylenediimine against various fungi.

Fungi	Minimal inhibitory conc. (μg/ml)
<i>Trichophyton rubrum</i>	40
<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	20
<i>Microsporium canis</i>	6
<i>Fonsecaea compacta</i>	2
<i>Aspergillus flavus</i> NRRL 3000	100
<i>Aspergillus flavus</i> ATCC 15517	100
<i>Penicillium notatum</i>	100

본 실험에 사용한 SOP도 *Microsporium canis*에 대해 6μg/ml에서는 siccanin과 같이 균발육을 인정할 수 없었으며 비교물질인 tolnaftate를 SOP와 동일한 조건으로 실험한 결과 *Trichophyton mentagrophytes*, *Aspergillus flavus* NRRL 3000, *Aspergillus flavus* ATCC 15517, *Penicillium notatum*에 대해서는 SOP와 동일한 발육저지능을 갖고 있으며 *Fonsecaea compacta*와 *Mi-*

*crosporum canis*에 대해서는 각각 1 μ g/ml, 2 μ g/ml의 농도로 SOP보다 좋은 저지능을 갖고 있으나 *Trichophyton rubrum*에 대해서는 50 μ g/ml로써 SOP의 발육저지 능이 더 좋은 성적을 나타내는 것을 관찰하였다.

수소이온농도에 의한 발육저지능에 미치는 영향의 결과는 Table II와 같으며 수소이온농도가 작을수록 일반적으로 더 큰 발육저지능을 나타내었다. 그러나 *Aspergillus flavus* NRRL 3000, *Aspergillus flavus* ATCC 15517, *Penicillium notatum*에 대해서는 수소이온농도의 변화에 의해 발육저지능의 변화를 일으키지 않았다

Table II. Effect of pH on the activity of salicylaldehyde-o-phenylenediimine against various fungi.

Fungi	Minimal inhibitory conc. (μ g/ml) at pH		
	6.0	7.2	8.0
<i>Trichophyton rubrum</i>	20	40	40
<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	10	20	30
<i>Microsporum canis</i>	5	6	6
<i>Fonsecaea compacta</i>	1	2	2

이상의 사실로써 피부 질환을 일으키는 진균류에 대한 SOP의 강한 항진균성이 인정되며 생체 실험, 독성 실험, 피부 병발증에 대한 실험은 계속 중에 있다.

결 론

SOP의 항진균작용에 대하여 실험한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1) *Trichophyton rubrum*에 대한 항진균작용은 40 μ g/ml에서 발육저지 현상을 나타내었다.

2) *Trichophyton mentagrophytes*에 대해서는 20 μ g/ml에서, *Microsporum canis*는 6 μ g/ml에서 *Fonsecaea compacta*는 2 μ g/ml에서 발육저지 현상을 나타내었다.

이상의 결론으로 볼때 SOP는 항진균 작용이 우수했으며 항진균제로써 개발할 가치가 있다고 사료된다.

감사의 말씀

이 연구에 소요되는 경비의 일부는 1979년도 문교부 연구조성비로 충당되었기로 이에 깊이 감사하며 균주를 분양해 주신 충남대학교 문리과대학의 이철배 교수님과 tolnaftate 표준품을 분양하여 주신 동광제약 및 도일약품에 고마운 뜻을 표하는 바이다.

References

- Arai, M. et al. (1968): *Ann. Sankyo Res. Lab.* 20-80.
- Banerjee, A. and Nigam, S.S. (1976): *Indian J. Med. Res.* 64:1318.
- Biere, H. et al. (1976): U.S. Patent 3965103.
- Buchin, P.I. et al. (1976): U.S. Patent 3978082.
- Dixit, S.N. and Tripathi, S.C. and Upadhyay, R.R. (1976): *Econ. Bot.* 30:371.
- Draber, W. and Plempel, M. and Büchel, K.H. (1976): U.S. Patent 3969522.
- Fraser, W. and J.M. Knox (1959): *Arch. Dermat.* 80:436.
- Fujita, K. et al. (1978): *Antimicrob. Agents Chemother.* 14:132.
- Harned, R.L. et al. (1951): *Antibiot. Chemothera.* 1:594.
- Hussar, D.A. (1976): *Drug Ther.* 6:97.
- Ishibashi, K. et al. (1970): *Ann. Sankyo Res. Lab.* 22:1.
- Koh, C. M. et al. (1973): *Kor. J. Mycol.* 1:29
- Krämer, W., Büchel, K.H. and Plempel, M. (1976): U.S. Patent 3968229.
- Kurz, J., Kolling, H. and Federmann, M. (1976): U.S. Patent 3966964.
- Lee, C.B. et al. (1976): *Report Res. Inst. Nat. Sci. Chungnam Nat. Univ.* 3:140.
- Menzel, A.E., O. Wintersteiner and J.C. Hoogerhelde (1944): *J. Biol. Chem.* 152.
- Noguchi, T. et al. (1962): *2nd Interscience Conference on Antimicrobial Agent and Chemotherapy*, p. 111.
- Oxford, A.E., H. Raistrick and P. Simonart (1939): *Biochem. J.* 33:240.
- P. Pfeiffer and H. Pftzner (1936): *J. Pract. Chem.* 145:243.
- Ra, P.G. and Majumdar, S.K. (1977): *Indian J. Exp. Biol.* 15:334.
- Ray, P.G. and Majumdar, S.K. (1976): *Indian J. Exp. Biol.* 14:712.
- Ravits, P.G. (1952): *J. Am. Med. Assoc.* 148:1005.
- Rotmistrov, M.M., Kulik, G.V., Corbonos, T.V. and Bredikhina, A.N. (1970): *Mikrobiol. Zh. (Kiev)* 32:510.

- Schwan, T.J. and Gray, J.E. (1978): *J. Pharm. Sci.* 67:863.
- Seigo, K. and K. Yokoda (1963): *World Obst. Gynec.* 15:207.
- Smith, R.M. *et al.* (1954): *Antibiot. Chemother.* 4:962.
- Stritzler, C., I.M. Fishman and S. Laurens (1950): *Trans. N.Y. Acad.* 2:13.
- Taber, W.A. *et al.* (1954): *Antibiot. Chemother.* 4:455.
- Tripathi, R.K. and D. Gottlieb (1969): *J. Bacteriol.* 100:310.
- Committee of Revision (1975): U.S.P. XIX. p.512
The U.S. Pharmacopeial Convention, Inc., Washington, D.C.,
- Wenzelburger, J. *et al.* (1976): U.S. Patent 3950354.
- Weuffen W. and P.M. Theus (1967): *Pharmazie* 22:428.

<Received 6 March 1980>