

# SeO<sub>2</sub>의 병원성 진균 *Candida albicans*에 대한 항균 활성

한영환\*

## Antifungal Activity of SeO<sub>2</sub> against Pathogenic Fungus *Candida albicans*

Yeong-Hwan Han\*

Received: 28 November 2016 / Revised: 15 December 2016 / Accepted: 19 December 2016

© 2016 The Korean Society for Biotechnology and Bioengineering

**Abstract:** This study was carried out to determine the antifungal activity of SeO<sub>2</sub> against pathogenic fungus, *Candida albicans*. Concentration-dependent Inhibitory activity of SeO<sub>2</sub> against *C. albicans* was shown. When 400 µg/disc of SeO<sub>2</sub> was tested, the inhibition size ranged from 20.7 to 26.8 mm (avg. 23.4 mm). MIC values of SeO<sub>2</sub> against cell growth of *C. albicans* ranged from 50 to 100 µg/mL (avg. 70 µg/mL). These results could be applied to antibiotics-resistant *C. albicans* and other pathogenic fungi.

**Keywords:** Antifungal activity, *Candida albicans*, MIC, Pathogen, SeO<sub>2</sub>

### 1. INTRODUCTION

*Candida albicans*는 Ascomycota문, Saccharomycetes강, Saccharomycetales목, Debaryomycetaceae과에 속하는 진균이다. *Candida*속에는 *C. albicans*, *C. stellatoidea*, *C. parapsilosis*, *C. guilliermondii*, *C. tropicalis*, *C. pseudotropicalis*, *C. krusei* 등이 있다. 환경 조건에 따라 효모형에서 침투성 사상균형으로 변환되는 dimorphism 특성을 나타내며, 구강 및 비뇨기에 기회 감염되는 병원균이다 [1,2]. 질 감염의 85-95%가 *C. albicans*에 의해 이루어진다고 보고되었다 [3]. 혀에 piercing한 군과 안한 group과 비교시 *C. albicans*가 현저하게 많이 나타났으며, 기회감염의 심한 증후가 지속되는 경우 항생제 내성균

이 출현하였다 [3,4]. *C. albicans* 감염시 사용되는 항생제로 nystatin, amphotericin B, echinocandin, fluconazole이, 구강 및 식도 감염시 fluconazole 또는 echinocandins이, 질 감염시 clotrimazole이 사용되고 있다 [3,5].

*C. albicans*에 대한 항균물질 탐색에 관한 연구로 식물 추출물로, 참갈파래 [6], 녹차 polyphenol [7], 황금 및 맥문동 [8] 등이 있었으며, 방선균 *Streptomyces* 이용한 연구 [9] 등이 있어 왔다. 무기화합물을 이용하는 항세균 및 항진균 효과의 연구로 TiO<sub>2</sub> [10], 은 나노 [11], 알루미늄 [12]을 사용한 연구가 보고되었다.

셀레니움 (Se)은 glutathione peroxidase, thioredoxin reductase, selenophosphate synthetase-2, thyroidal iodothyronine 5' deiodinase, selenoprotein 등의 구성 원소로 인체에 중요한 필수 영양소 [13], 항돌연변이 물질 [14]로 알려져 왔다. 그러나, 하루 5 mg 이상의 섭취는 비특정의 병징을 유발한다고 알려져 있다 [15]. SeO<sub>2</sub>의 분자량은 110.96으로 자연계에 존재하는 희소물질로, 유리공업의 착색제, 사진 인화용 토너에 사용되어 왔다. 이산화셀레니움은 항암 치료의 가능성 물질로 시도되었다 [16]. 그러나, 현재까지 SeO<sub>2</sub>의 *C. albicans*에 대한 항균 활성 연구는 확인할 수 없었다.

본 연구는 SeO<sub>2</sub>의 열 안정성 (녹는점; 340°C) 및 우수한 수용성 (20°C; 38.4 g/100 mL, 65°C; 82.5 g/100 mL)의 특성을 활용하여 항진균제로서의 가능성과 항생제 남용에 따르는 *C. albicans* 내성균의 치료 목적을 위한 기초 연구를 수행하였다.

### 2. MATERIALS AND METHOD

#### 2.1. 사용 균주 및 재료

실험에 사용한 *C. albicans* 균주는 한국생명공학연구원 생물

동국대학교 의생명공학과  
Department of Medical Biotechnology, Dongguk University, Gyeongju 38066, Korea  
Tel: +82-54-770-2213, Fax: +82-54-770-2386  
e-mail: yhhan@dongguk.ac.kr

자원센터 (KCTC; Korea Collection for Type Culture)로부터 분양받아 계대배양하여 사용하였다. *C. albicans* 배양용 Sabouraud 배지는 MBCell (Kisan Bio) 제품을 사용하였다. SeO<sub>2</sub>은 일본 대정화학(주)사 제품을, 항진균용 대조군 시약 ketoconazole, amphotericin B는 Sigma사 제품을 사용하였다. 항진균 활성 측정용 paper disc (Advantec, thin 8 mm)는 일본 Toyo Roshi Kaisha사 제품을 사용하였다. 액체배양 생육 측정용 spectrophotometer는 Optizen (Mecasys사)을 사용하였다.

## 2.2. 균주 배양

항균활성의 측정을 위하여, 전 배양된 *C. albicans* 배양액을 접종 농도가 5%가 되도록 Sabouraud 액체 배지 (100 mL/250-mL flask)에 접종하여 37°C에서 진탕 배양 (120 rpm)하였다. 최소생육억제농도 (MIC)의 측정을 위하여 시험관에 Sabouraud 액체배지 10 mL를 분주한 다음, 접종 농도가 1%가 되도록 접종하였다. 대조군 항생제 (ketoconazole, amphotericin B)와 시험군 (SeO<sub>2</sub>) 농도에 맞도록 첨가하여 배양하였다.

## 2.3. 항균활성 측정

생육저지환의 측정은 disc diffusion 방법으로 수행하였다. Sabouraud 한천배지에 *C. albicans* 배양액 100 µL를 도말 (smearing)한 다음, 40 µL의 농도별 SeO<sub>2</sub>가 loading된 paper disc (thick)를 정치하였다. 37°C에서 3~4일 배양한 다음, 생육저지환직경 (dia, mm)의 크기로 시료의 생육억제 정도를 판별하였다.

## 2.4. 최소생육억제농도 (MIC)의 측정

최소생육억제농도 (MIC)의 측정을 위하여, 시험관에 Sabouraud 액체배지 10 mL를 분주한 다음, 접종 농도가 1%가 되도록 접종하였다. 대조군 항생제 (ketoconazole, amphotericin B)와 시험군 (SeO<sub>2</sub>)를 농도에 맞도록 첨가하였다. 37°C에서 24시간 배양 후의 탁도 (OD<sub>660</sub>)를 측정하여 MIC [17]를 결정하였다.

## 3. RESULTS AND DISCUSSION

10 µg ketoconazole의 *C. albicans* KCTC7078 적용시 생육저지환의 직경은 13.3 mm로 amphotericin B의 20.3 mm에 비

**Table 1.** Antifungal activity of ketoconazole and amphotericin B against *C. albicans* KCTC 7078

	Size of inhibition (dia, mm) <sup>a</sup>	MIC (µg/mL) <sup>b</sup>
Ketoconazole	13.3 ± 1.2 <sup>c</sup>	3
Amphotericin B	20.3 ± 1.1	0.1

<sup>a</sup>10 µg of antibiotics/8-mm disc was loaded on agar plate.

<sup>b</sup>For determination of MIC value, the cell growth was carried out at 37°C and determined by OD<sub>660</sub>.

<sup>c</sup>mean ± SD for 5 replicates.

**Table 2.** Concentration-dependent inhibitory activity of SeO<sub>2</sub> against the cell growth of *C. albicans*

Size of inhibition (dia, mm)			
Loading amount (µg/disc) <sup>a</sup>			
80	160	240	400
9.2 ± 1.1	14.6 ± 4.0	18.0 ± 4.1	23.8 ± 3.7

<sup>a</sup>Loading amount of SeO<sub>2</sub> (µg /8-mm disc) on agar plate.

해 항진균 활성이 낮았다. 이는 액체배양에서 나타난 MIC의 측정치와 유사하였다 (Table 1).

*C. albicans* 균주에 대해 80~400 µg/disc의 SeO<sub>2</sub> 적용시 생육저지환의 직경은 9.2~23.8 mm로 농도-의존적 항균활성을 나타내었다 (Table 2). 400 µg/disc의 SeO<sub>2</sub> 적용시 생육저지환의 직경은 20.7~26.8 mm (평균, 23.4 mm)이었다 (Table 3). 액체배지에 SeO<sub>2</sub>를 단계별로 첨가하여 배양시, 농도가 증가할수록 생육이 억제되었다 (Fig. 1). MIC 측정치는 50~100 µg/mL (평균, 70 µg/mL)이었다 (Table 3). 항진균 항생제 (ketoconazole, amphotericin B)와 비교시 항균활성이 낮았으나, propolis [8], monoterpenephenols [10], 마늘 추출물의 측정치 [9]와 비교시 더 우수하였다. TiO<sub>2</sub>가 coating된 치열교정용 bracket의 경우, coating되지 않은 것과 비교시 93%의 *C. albicans* 억제효과가 있다고 알려져 있으나 정확한 동등 비교는 할 수 없었다 [10]. 현재까지 *C. albicans*를 포함하는 진균에 대한 항균 활성은 ketoconazole의 sterol 합성 억제, amphotericin의 세포막 파괴, echinocandin의 세포벽 합성 억제, flucytosine의 핵산 합성 억제, griseofulvin의 microtubule 생성 억제 등에 기인하는 것으로 알려져 왔다. 본 실험은 *C. albicans*의 생육 억제에 대한 기초 연구로, 추후 그 항진균 활성 기작의 규명에

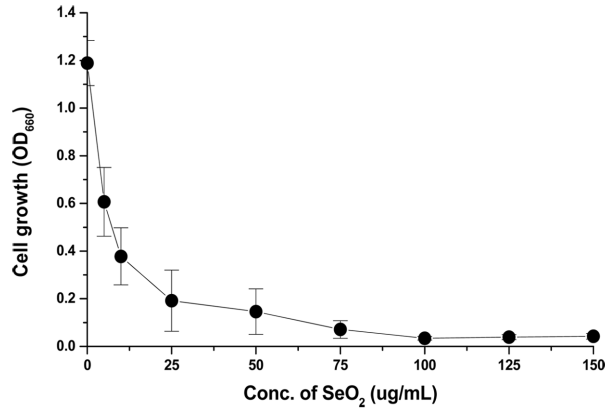
**Table 3.** Antifungal activity of SeO<sub>2</sub> against *C. albicans* and MIC value

Species	Strains	Size of inhibition (dia, mm) <sup>a</sup>	MIC <sup>b</sup> (µg/mL)
<i>C. albicans</i>	KCTC 7078	22.0 ± 2.8 <sup>c</sup>	75
	KCTC 7270	20.7 ± 3.8	100
	KCTC 7965	23.6 ± 2.2	75
	KCTC 27241	24.1 ± 2.1	50
<i>C. albicans</i> var. <i>albicans</i>	KCTC 17485	26.8 ± 4.5	50
	Avg.	23.4 ± 2.3	70

<sup>a</sup>400 µg of SeO<sub>2</sub>/8-mm disc was loaded on agar plate.

<sup>b</sup>The cell growth was carried out at 37°C for 24 h in Sabouraud broth and determined with OD at 660 nm.

<sup>c</sup>mean ± SD for 9-11 replicates.



**Fig. 1.** Concentration-dependent inhibitory activity of SeO<sub>2</sub> against *C. albicans*. Cells were grown at 37°C for 24 h in Sabouraud broth and OD was determined at 660 nm.

대한 연구를 수행하고자 한다. SeO<sub>2</sub>의 우수한 열 안정성 및 수용성은 항진균제로서의 상업적 가능성과 더불어, 추후 지속적 출현 가능성이 예견되는 항생제-내성 *C. albicans*에 대한 치료 목적에 유용하게 사용될 수 있을 것으로 판단된다. 또한, SeO<sub>2</sub>는 수종의 식물 병원성 진균에 항균활성을 나타내어, 추후 작물의 병해 유발 진균에 대한 적용 연구를 수행할 예정이다.

#### 4. CONCLUSION

본 연구는 SeO<sub>2</sub>의 병원성 진균, *Candida albicans*에 대한 항진균 활성을 규명하고자 수행하였다. SeO<sub>2</sub>의 *C. albicans*에 대한 항균활성은 농도-의존적 경향을 보여주었다. 400 µg/disc의 SeO<sub>2</sub> 적용시, 생육저지환의 크기는 20.7~26.8 mm (평균, 23.4 mm) 범위이었다. MIC값은 50~100 µg/mL (평균, 70 µg/mL) 범위이었다. 이 결과는 추후 항생제-내성 *C. albicans* 및 다른 병원성 진균에 적용할 수 있을 것이다.

#### REFERENCES

- Mitchell, T. G. (1984). Opportunistic mycoses. 1184-1190. In: Joklik, W. K., Willett, H. P., and D. B. Amos. 8th eds. Zinsser Microbiology (8th ed). Prentice-Hall. Connecticut. USA.
- Enfert, C. and B. Hube (2007). *Candida*: Comparative and functional genomics. Caister Academic Press.
- Tortora, G. J. (2010). Microbiology: an introduction. 10th ed. 606-607. Pearson Benjamin Cummings. San Francisco, CA.
- Yehuda, Z., B. Saar, D. Estella, S. Vadim, I. Clariel, and H. Tamar (2010). Colonization of *Candida*: prevalence among tongue-pierced and non-pierced immunocompetent adults. *Oral Dis.* 16: 172-175.
- Rambach, G., H. Oberhauser, C. Speth, and C. Lass-Flörl (2011). Susceptibility of *Candida* species and various moulds to antimycotic drugs: Use of epidemiological cutoff values according to EUCAST and CLSI in an 8-year survey. *Medical Mycology: Official Publication of the International Society for Human and Animal Mycology* 49: 856-863.
- Kim, I. H., D. G. Lee, S. H. Lee, J. M. Ha, B. J. Ha, S. K. Kim, and J. H. Lee (2007). Antibacterial activity of *Ulva lactuca* against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Biotechnol. Bioproc. Eng.* 12: 579-582.
- Cho, Y. S., J. J. Oh, and K. H. Oh (2010). Antimicrobial activity and biofilm formation inhibition of green tea polyphenols on human teeth. *Biotechnol. Bioproc. Eng.* 15: 359-364.
- Yeo, Y. H. and C. H. Park (2014). Cosmetics preservation and moisturizing effect by methanol extracts of *Scutellaria baicalensis* George and *Liriope plantyphylla*. *KSBB J.* 29: 372-379.
- Choi, H. J., D. W. Kim, Y. W. Choi, Y. G. Lee, Y. I. Lee, Y. K. Jeong, and W. H. Joo (2012). Broad spectrum *in vitro* antimicrobial activities of *Streptomyces* BCNU 1001. *Biotechnol. Bioproc. Eng.* 17: 576-583.
- Özyildiz, F., M. Güden, A. Uzel, I. Karaboz, O. Akil, and H. Bulut (2010). Antimicrobial activity of TiO<sub>2</sub>-coated orthodontic ceramic brackets against *Streptococcus mutans* and *Candida albicans*. *Biotechnol. Bioproc. Eng.* 15: 680-685.
- Seon, Y. H. (2014). A study on the characteristics of pollutant removal in secondary effluent from wastewater treatment plant using silver nanoparticles on activated carbon. *KSBB J.* 29: 353-360.
- Park, S. J., Y. H. Oh, B. Y. Jo, M. Y. Choi, M. W. Hyun, J. H. Jeong, and E. Y. Kim (2015). Study of effectiveness of antimicrobial on restraining formation on the surface of aluminum. *KSBB J.* 30: 69-76.
- Klein, E. A., I. M. Thompson, S. M. Lippman, P. J. Goodman, D. Albanes, P. R. Taylor, and C. Coltman (2003). SELECT: the selenium and vitamin E cancer prevention trial. *Urol Oncol.* 21: 59-65.
- Arciszewska, L. K., S. E. Martin, and J. A. Milner (1982). The anti-mutagenic effect of selenium on 7,12-dimethylbenz(a)anthracene and metabolites in the ames Salmonella/microsome system. *Biol. Trace Element Res.* 4: 259-267.
- Langner, B. E. (2005) Selenium and selenium compounds in Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry, Wiley-VCH, Weinheim.
- Mantovani, G., A. Macci, C. Madeddu, R. Serpe, E. Massa, G. Gramignano, M. R. Lusso, N. Curreli, and A. Rinaldi. (2004) Selenium is effective in inducing lymphocyte progression through cell cycle in cancer patients: potential mechanisms for its activity. *J. Exp. Therapeutic Oncol.* 4: 69-78.
- Andrews, J. M. (2001). Determination of minimum inhibitory concentrations. *J. Antimicrob. Chemother.* 48: 5-16.