

## Sulfa 劑-Cu 錯化合物의 形成에 關하여 Ⅱ.\*

### Copper Sulfa-drug Complex 의 細菌感受性

李 王 圭\*\*

(Received May 16, 1965)

Wang Kyu Lee: Studies on the Formation of Copper Complex of Sulfa-Drug Ⅱ. Study on the Sensitivity of Copper Sulfa-Drug Complex on Microorganism.

The sensitivity on microorganisms of ten sulfa-drugs and their Cu-complexes was observed.

Ericsson's disc method and modified tube dilution method were applied. Dimethylformamide was used for solvent of sulfa drugs. In general, original sulfa-drugs showed more sensitive patterns than its Cu-complexes except sulfadimethoxine-Cu complex which showed more sensitive patterns than its original drug with disc method.

最近 持續性 sulfa 劑의 出現으로 因하여 衰退一路에 있었던 sulfa 劑가 再評價되어 다시 脚光을 받게 된것은 周知의 事實이다. 化學治療劑의 chelate 形成能은 抗菌活性和 密接한 連關性을 가지고 있다는 事實은 이미 Weinberg<sup>1)</sup>에 依하여 報告된바 있다.

著者は 이에 着眼하여 우선 sulfa 劑의 金屬chelate 化合物 形成與否를 檢討하기 위하여 Pfeiffer 의 方法을 利用하여 sulfa 劑가 Cu(Ⅱ)와 結合하여 sulfa 劑-Cu 錯化合物을 形成한다는 事實과 이 sulfa 劑-Cu 錯化合物의 結合組成比는 2:1 라는 것과 그 安定度에 關해서는 미이 報告된바있다<sup>2,3)</sup>. 또 著者は sulfa 劑-Cu 錯化合物이 金屬 chelate 化合物 일 것이라는 事實도 job 의 連續變化法에 依하여 推定하여 밝힌바 있다<sup>3)</sup>.

著者は 이와같은 sulfa 劑-Cu 錯化合物과 純粹한 sulfa 劑의 細菌感受性에 對한 差異를 檢討하기 위하여 Ericsson 法과 試驗管稀釋法을 使用하여 檢討하였든바 一般의으로 sulfa 劑는 sulfa 劑-Cu 錯化合物에 比하여 細菌感受性이 銳敏하였으나 sulfadimethoxine-Cu 錯化合物은 sulfadimethoxine 보다 오히려 細菌感受性이 銳敏하였다.

#### 實驗材料

Sulfa 劑<sup>a)</sup>. — sulfadiazine, sulfadimethoxine, sulfamerazine, sulfamethoxypridazine, sulfathiazole.

Sulfa 劑-Cu 錯化合物<sup>b)</sup>. — sulfadimethoxine-Cu 錯化合物, sulfamerazine-Cu 錯化合物,

\* Part Ⅱ. This Journal 8, 96 (1964). 本研究費의 一部는 서울大學校 研究 補助費로 充當하였음.

\*\* College of Pharmacy, Seoul National University, Seoul, Korea.

<sup>a)</sup> 市販品을 再精製하였다

<sup>b)</sup> 合成品

sulfa-methoxypyridazine-Cu 錯化合物, sulfathiazole-Cu 錯化合物.

菌株<sup>1)</sup>.—*Staphylococcus aureus* 3313, *Staphylococcus aureus* 6538, *Pseudomonas aeruginosa* 2131, *Salmonella typhi* 6030, *Serratia marcescens* 795, *Shigella flexneri* 3405, *Escherichia coli* stoke W. *Klebsiella pneumoniae* type C. *Enterococcus* 100/90, *Proteus vulgaris* Ox 19, *Streptococcus pyogenes* S 84. *Diplococcus pneumoniae* type I.

### 實驗方法

sulfamine 劑와 sulfamine-Cu(II) 錯化合物의 細菌感受性檢査는 그 結果가 臨床成績과 가장 잘 一致한다는 Ericsson 法<sup>4)</sup>과 試驗管稀釋法으로 行하였다.

Disc 法.—檢體를 1% dimethylformamide (DMF)\* soln.에 溶解하고 이것을 disc에 一定量 浸入시킨 다음 冷所에 保管한다. 이 disc를 約 10 分間 室溫에서 放置한 後 植菌된 乾燥培地上에 disc를 平板의 外緣으로부터 적어도 20 mm 떨어져 하고 各 disc의 間隔이 一定하도록 얹어 놓는다.

著者는 直徑 9 cm 의 平板에 disc를 3~4 個 얹어 놓아서 實驗하였다. 그리고 난 후 冷藏庫에 3 時間 放置하여 sulfa 劑가 擴散된 後, 37° 孵卵器에 넣어 約 18 時間 培養한 後 다음날 아침 compass로 細菌의 發育阻止帶를 測量하여 記錄하였다. 各菌에 따르는 菌數의 實際的인 均一化는 Ericsson의 方法<sup>4)</sup>에 準하여 行하였다.

試驗管稀釋法.—0.95 ml 씩의 peptone free broth를 加한 試驗管을 菌株 1 個와 sulfa 劑 1 個當 4 個의 試驗管을 準備하였고 sulfa 劑가 들어있지 않은 試驗管을 positive control로 하여 菌株 1 個當 41 個의 試驗管을 準備하였으며 peptone free broth 만이 들어있는 試驗管을 negative control로 하여 1 個의 試驗管을 準備하고 各 sulfa 劑 25 mg을 精密하게 秤量하여 DMF로 25 mg/1 ml, 10 mg/1 ml, 2.5 mg/ml, 0.1 mg/ml가 되도록 稀釋하여 capillary pipet로 各各 1 drop 씩 pepton free broth가 든 tube에 첨가하고, 이 培地에 各種의 菌株를 加하여 實驗하였다. 이때 使用한 菌株는 peptone free broth 5 ml에 1 夜 培養한 各種의 菌液 1 drop 씩을 다시 pastuer pipet로 새로운 pepton free broth 5 ml에 加하여 稀釋된 菌液一滴씩을 使用하였다.

이와 같이 sulfa 劑의 添加와 植菌이 끝나면 孵卵器에 넣어 1 夜 (18~24 hrs.) 培養하여 positive control에서 菌의 成長을 肉眼으로 判讀했다.

### 實驗結果 및 考察

元來 sulfa 劑는 蒸溜水에 難溶性이므로 disc를 만드는데 難點이 있으나 朴<sup>6)</sup>은 sodium salt인 elkosin으로 disc를 만들면 그 成績이 Ericsson's disc와 同一한 結果를 얻을 수 있다고 하였다. 또 朴은 細菌感受性觀察를 함에 있어서 peptone free broth를 使用하여야 함은 必須要件의 하나이며, plate를 使用함에 있어서는 laked horse blood를 使用하면 peptone含有培地로서도 無妨하다고 하며, 朴은 Mueller Hinton 培地<sup>7)</sup> 등의 使用를 勸獎하고 있다.

disc法이나 試驗管稀釋法에 있어서나 各菌株는 DMF의 濃度가 1%以下의 溶液에서 發育에

<sup>1)</sup> 國立醫療院 및 國立保健院에서 移讓받음.

\* The abbreviation used is: DMF, dimethylformamide.

\*\* S.H. Park, personal communication.

Table I.—Growth inhibition of sulfa drugs and their Cu complexes (Disc method).

	Sulfadiazine	Sulfadiazine Cu	Sulfadimethoxine	Sulfadimethoxine Cu	Sulfamerazine	Sulfamerazine Cu	Sulfamethoxy pyridazine	Sulfamethoxy pyridazine Cu	Sulfathiazole	Sulfathiazole Cu	* Ericsson's disc
<i>Staphylococcus aureus</i> 3313	18.1 ±0.35	16.5 ±0.33	19.2 ±0.45	25.0 ±0.50	14.2 ±0.25	14.2 ±0.25	26.0 ±0.65	24.0 ±0.50	27.6 ±0.00	26.7 ±0.60	30.4 ±0.60
<i>Staphylococcus aureus</i> 6538	24.6 ±0.65	25.3 ±0.55	23.6 ±0.47	26.0 ±0.53	21.4 ±0.45	21.4 ±0.45	33.3 ±0.54	27.2 ±0.55	32.3 ±0.70	32.1 ±0.65	35.3 ±0.75
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 2191	24.0 ±0.60	20.3 ±0.40	0	13.4 ±0.28	16.1 ±0.35	16.1 ±0.35	19.6 ±0.85	15.6 ±0.35	31.6 ±0.10	19.2 ±0.40	32.00 ±0.65
<i>Salmonella typhi</i> 6080	25.0 ±0.83	23.5 ±0.43	11.4 ±0.25	17.8 ±0.35	20.7 ±0.25	23.3 ±0.45	30.8 ±0.54	26.6 ±0.65	31.4 ±0.60	28.7 ±0.66	36.5 ±0.70
<i>Serratia marcescens</i> 795	25.0 ±0.75	20.8 ±0.35	0	0	20.2 ±0.20	16.1 ±0.35	25.2 ±0.56	20.4 ±0.40	26.4 ±0.55	26.0 ±0.55	33.4 ±0.5
<i>Shigella flexneri</i> 3405	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Escherichia coli</i> stoker	21.1 ±0.60	20.4 ±0.30	0	13.3 ±0.27	14.4 ±0.35	11.4 ±0.25	20.6 ±0.80	15.1 ±0.30	21.3 ±0.45	20.3 ±0.45	31.10 ±0.65
<i>Klebsiella pneumoniae</i> Type C	20.8 ±0.55	16.5 ±0.35	0	0	14.5 ±0.34	9.3 ±0.20	23.4 ±0.46	15.5 ±0.65	20.3 ±0.45	22.7 ±0.30	30.8 ±0.60
<i>Enterococcus</i> 100/90	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Proteus Vulgaris</i> O <sub>x</sub> 19	25.7 ±0.83	27.9 ±0.55	23.4 ±0.47	33.5 ±0.65	27.9 ±0.65	25.2 ±0.50	36.8 ±0.85	35.0 ±0.65	30.3 ±0.60	35.0 ±0.83	40.7 ±0.90
<i>Streptococcus pyogenes</i> S 84	0	0	0	0	0	8.6 ±0.20	0	7.8 ±0.20	0	8.3 ±0.25	0
<i>Diplococcus pneumoniae</i> Type II	27.3 ±0.85	24.3 ±0.45	23.3 ±0.48	23.9 ±0.47	26.2 ±0.80	24.3 ±0.48	33.5 ±0.70	26.7 ±0.55	33.3 ±0.66	32.1 ±0.65	35.7 ±0.75

\* Gift from National Medical Center.

\*\* mm of diameter of inhibition ± S.D.

影響을 주지 않았다. 이는 守田<sup>4)</sup>가 *B. subtilis*, *D. pneumonia*, *St. hemolyticus*, *Cl. tetani* 및 *Cl. ferfringens*에 대하여 1%以下에서 DMF가 發育에 影響이 없었다고 發表한 結果와 一致하였다.

各種 sulfa 劑 및 sulfa 劑-Cu 錯化合物을 12 種의 菌株에 對하여 disc 法에 依한 感受性檢査를 施行한 結果는 Table I 과 같다.

이 表에서 보는바와 같이 모-든 sulfa 劑에 對한 細菌發育阻止帶의 크기는 Ericsson 의 standard disc 를 使用한 이 結果보다 적었다. 그 原因에 對하여는 本實驗結果만으로서 論及할 수 없으나 sulfa 劑-Cu 錯化合物의 阻止帶와의 比較에는 支障이 없다고 思料된다.

一般의 으로는 original sample sulfa 劑보다는 그 Cu-complex 가 細菌發育阻止帶의 크기가 더 적었다. 그러나 sulfadimethoxine-Cu complex 에 있어서는 反對로 *Staphylococcus* 3313 및 6538, *Pseudomonas*, *S. typhi*, *E. coli* 및 *Proteus* 등에 對하여 original sulfadimethoxine 보다 그 細菌發育阻止帶가 數 mm 썩 큰것을 알수 있었다.

또한 sulfathiazole-Cu complex 에 있어서는 original sulfathiazole 에 있어서보다 *Proteus* 에 對하여 그 細菌發育阻止帶가 約 5 mm 더 큰것을 볼수 있었다.

Table II. —Growth inhibition by sulfa drugs and their Cu-complexes (Tube dilution method).

	<i>St. aureus</i> 6538	<i>Pseudomonas</i>	<i>S. Typhi</i>	<i>S. marcescens</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>P. vulgaris</i>
Sulfadiazine	10*	25	—**	—	0.1	10
Sulfadiazine-Cu	25	—	—	—	2.5	—
Sulfadimethoxine	0.1	—	—	—	—	—
Sulfadimethoxine-Cu	0.1	—	—	—	—	—
Sulfamerazine	2.5	—	—	—	25	25
Sulfamerazine-Cu	2.5	—	—	—	—	—
Sulfamethoxypyridazine	2.5	—	—	—	25	2.5
Sulfamethoxypyridazine-Cu	—	—	—	—	—	—
Sulfathiazole	25	25	—	—	0.1	10
Sulfathiazole-Cu	—	25	—	25	—	—

\* Minimum concentration in mg/100 ml

\*\* No inhibition at concentration of 25 mg/100 ml

6 種의 菌株에 對한 試驗管稀釋法에 依한 結果는 Table II 와 같다. 이 表에서 보는바와 같이 *Staphylococcus*, *K. pneumoniae* 및 *Proteus* 에 있어서는 發育阻止 및 非阻止가 不規則的이었으나 *Pseudomonas* 에 있어서는 25 mg/100 ml 의 濃度에 있어서 sulfadiazine, sulfathiazole 및 sulfathiazole-Cu 錯化合物에서만 發育이 阻止되었고 나머지에서는 阻止되지 못하였다. *S. typhi* 에 있어서는 모든 tube 에서 發育阻止가 되지 못하였고, *S. marcescens* 에 있어서는 sulfathiazole 25 mg/100 ml 含有 tube 에서만 阻止되었다.

Ericsson<sup>4)</sup>은 sulfa 劑에 對한 細菌感受性的의 基準을 Table III 과 같이 規程하고 있다.

이와같은 基準을 本實驗結果에 適用하여 보면 다음과같다.

Table III. —Sensitivity patterns of sulfadrugs after Ericsson<sup>4)</sup>

Conc/Disc	Sensitive	Moderate Sensitive	Moderate Resistant	Resistant
2.4 mg	≤ 29.5 mm	≤ 22 mm	≥ 17 mm	< 17 mm

sulfadiazine 는 *Staphylococcus* 6538 에 對하여 그 細菌感受性이 disc 法에 있어서나 試驗管稀釋法에 있어서나 모두 moderate sensitive 였으며, *Staphylococcus* 6538 에 對한 sulfadiazine-Cu complex 의 細菌感受性을 보면 disc 法에 있어서는 moderate sensitive 이나 試驗管稀釋法에 있어서는 moderate resistant 이다. sulfamethoxypyridazine 에 있어서는 兩方法 다 sensitivity 를 나타내었다.

*Pseudomonas* 에 對하여서는 sulfadiazine 이 disc 法에서 moderate sensitive 이나 試驗管稀釋法에서는 moderate resistant 이며, sulfadiazine-Cu complex 에서는 disc 法에서 moderate resistant 이나 試驗管稀釋法에서는 resistant 이었고, sulfathiazole 에서는 disc 法에서 sensitive 하고 試驗管稀釋法에서는 moderate resistant 였다. sulfathiazole-Cu complex 는 disc 法 및 試驗管稀釋法이 모두 moderate resistant 였다.

*S. typhi* 에 對하여서는, disc 法에서는 sulfamethoxypyridazine 및 sulfathiazole 이 sensitive 하였고, sulfadiazine, sulfadiazine-Cu complex, sulfamerazine, sulfamerazine-Cu complex 및 sulfathiazole-Cu complex 가 모두 moderate sensitive 한데 反하여 試驗管稀釋法에 있어서는全體 sample 에 있어서 resistant 하였다. 現在까지 알려져 있는 知識으로서 *S. typhi* 에 限해서는 *in vitro* 에서 細菌感受性檢査成績이 sensitive 하나 臨床的으로는 chloramphenicol 을 除外하고는 drug for choice 가 없다고 되어있다.

*S. marcescens* 에 對하여서는 disc 法에서 sulfadiazine, sulfamethoxypyridazine, sulfathiazole 및 sulfathiazole-Cu complex 가 moderate sensitive 하고, sulfadiazine-Cu complex, sulfamerazine 및 sulfamethoxypyridazine-Cu complex 가 moderate sensitive 한데 反하여, 試驗管稀釋法에 있어서는 moderate resistant 한 sulfathiazole-Cu complex 를 除外하고는 모두 resistant 하였다.

*K. pneumoniae* 에 對해서는 sulfadiazine 및 sulfadiazine-Cu complex 가 disc 法에서 moderate resistant 한데 反하여 試驗管稀釋法에서는 sensitive 하였다.

*Proteus* 에 對하여서는 sulfadiazine 은 disc 法 및 試驗管稀釋法 모두 sensitive 한데 sulfadiazine-Cu complex 는 disc 法에서는 moderate sensitive 하나 試驗管稀釋法에서는 resistant 하였다. 또 sulfamethoxypyridazine 은 disc 法 및 試驗管稀釋法 모두 sensitive 하였다.

sulfamethoxypyridazine-Cu complex 는 disc 法에서는 sensitive 하였으나 試驗管稀釋法에서는 resistant 하였다. sulfathiazole 은 disc 法에서는 sensitive 하고 試驗管稀釋法에서는 moderate sensitive 하였으며, sulfathiazole-Cu complex 는 disc 法에서는 sensitive 하나 試驗管稀釋法에서는 resistant 하였다. 이와같은 結果로 미루어 보아 一般的으로 sulfa 劑의 金屬 chelate 化合物은 原 sulfa 劑보다 抗菌性이 弱화되는 것으로 思慮된다.

### 結 論

1. disc 法 및 試驗管稀釋法에서 使用한 12 菌株는 모두 DMF 1% 以下の 溶液에서 抗菌力에 影響을 받지 않았다.
2. 各種 sulfa 劑 및 sulfa 劑-Cu 錯化合物을 使用하여 12 菌株에 對한 細菌感受性을 檢討하였던바 disc 法과 試驗管稀釋法의 成績이 반드시 一致하지 않았다.
3. 一般的으로 同一 sulfa 劑 및 sulfa 劑-Cu 錯化合物의 細菌感受性 檢査의 成績은 두 方法에 있어서 모두 sulfa 劑 Cu 錯化合物보다 sulfa 劑가 더 sensitive 하였으나 disc 法에서는 sulfadimethoxine-Cu 錯化合物이 sulfadimethoxine 보다 더 sensitive 하였다.

本研究을 遂行함에 있어서 實驗에 모든 便宜를 提供하여 주신 中央醫療院 細菌科長 朴承或氏에게 謝意를 表하는 바이다.

#### REFERENCES

1. E.D. Weinberg, *Bact. Revs.*, **21**, 46 (1957).
2. W.K. Lee, *J. Pham. Soc., Korea*, **13**, 7 (1963).
3. W.K. Lee, *J. Pham. Soc., Korea*, **8**, 96 (1964).
4. H. Ericsson, *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, **12**, Suppl, 50 (1960).
5. WHO, *Technical Report Series*, No. 210 Geneva, (1961).
6. S.H. Park, *J.K.M.M.*, **2**, 329 (1965).
7. Difco Manual, 9th Ed. (1962).
8. M. Morida, *J. Pham. Soc. Jap.*, **82**, 64 (1962)