

Cinnamaldehyde 유도체의 항진균 활성

방규호^{1,2} · 민병선³ · 이영하^{1*}

¹충남대학교 미생물학과

²코오롱제약 기술연구소

³Toyama 의과약과대학 화한약연구소

Antifungal Activities of Cinnamaldehyde Derivatives

Kyu-Ho Bang^{1,2}, Byung-Sun Min³ and Young-Ha Rhee^{1*}

¹Department of Microbiology, Chungnam National University, Taejon 305-764, Korea

²R&D Center, Kolon Pharmaceutical Inc., Taejon 306-220, Korea

³Research Institute for Wakan-Yaku, Toyama Medical and Pharmaceutical University, Toyama 930-0194, Japan

ABSTRACT: Antifungal activities of cinnamaldehyde derivatives against various fungi were investigated using paper disc diffusion method. Among the derivatives tested, α -chlorocinnamaldehyde was stronger than cinnamaldehyde in antifungal activity and was effective in inhibiting the growth of the representative fungi of dermatomycosis with minimum inhibitory concentration of 9.76~19.5 $\mu\text{g/ml}$. A comparison of antifungal activity of cinnamaldehyde derivatives revealed that antifungal action of cinnamaldehyde might be related to a basic structure of acrolein.

KEYWORDS: Antifungal activity, Cinnamaldehyde derivatives

Cinnamaldehyde는 계피의 정유 성분 중 55~75%를 차지하는 물질이다(Ross, 1976). 저자들은 앞서 수행된 연구에서 계피로부터 추출, 정제한 cinnamaldehyde가 여러 가지 피부진균증의 원인 균주에 대해 광범위한 항균활성을 나타냄을 보고한 바 있다(Bang 등, 1997). 기존에 개발된 항진균제의 항균 스펙트럼이 제한적이라는 문제점(Kim 등, 1993; Yamaguchi, 1990)을 고려해 볼 때, cinnamaldehyde가 가지고 있는 피부진균증 원인 균주에 대한 광범위한 활성 스펙트럼은 이 물질이 천연물 유래의 항진균 활성물질의 새로운 모델 화합물로 제시될 수 있음을 보여 준다. 그러나 앞서의 연구에서는 cinnamaldehyde가 천연물로는 비교적 강한 활성을 갖지만 최소저지농도(MIC)가 39~78 $\mu\text{g/ml}$ 범위로서 시판되고 있는 항균제보다 역가가 우수하지 못한 것으로 나타났다(Bang 등,

1997).

천연물의 화학적 수식을 통한 유도체의 합성은 항균활성이 보다 우수한 항진균제 개발을 위한 유용한 방법 중의 하나이다(Georgopapakou와 Walsh, 1994; Yoo, 1997). 이러한 관점에서 저자들은 항균활성이 개선된 cinnamaldehyde의 새로운 모델 화합물을 합성하기 위한 기초연구로서 cinnamaldehyde에서 항균활성을 나타내는 기본 구조를 이해하고자 하였으며, 이의 일환으로 본 연구에서는 다양한 구조의 cinnamaldehyde 유도체들의 항균활성을 비교하여 구조와 항균활성과의 관련성을 평가하였다.

재료 및 방법

실험재료

이 실험에 사용된 cinnamaldehyde 유도체로서 hydrocinnamaldehyde와 *trans*-cinnamaldehyde

*Corresponding author

는 Nacalai Tesque Co.(Japan)에서, α -methylcinnamaldehyde, acrolein 및 cinnamic acid는 Tokyo Chemical Industry Co.(Japan)에서, 그리고 α -chlorocinnamaldehyde, 4-(dimethylamino)cinnamaldehyde, 4-methoxycinnamaldehyde 및 3,5-dimethoxy-4-hydroxycinnamaldehyde는 Wako Pure Chemical Industry, Ltd. (Japan)에서 각각 구입하였다. 이들 유도체의 화학구조는 Fig. 1에서와 같다.

항균활성조사

항균활성 조사를 위한 실험균주로서는 표재성 진균종 유발균주인 *Tricophyton mentagrophytes* KCTC 6077, *Microsporium gypseum* KCTC 1252, *Epidermophyton floccosum* KCTC 1246, 심재성 진균종 원인균주인 *Cryptococcus neoformans* KCTC 7224, *Aspergillus niger* KCTC

1700, 캔디다종의 대표균주인 *Candida albicans* KCTC 1940 및 *Penicillium avellaneum* KCTC 1253을 사용하였다.

항균활성조사에 앞서 *C. albicans* 및 *C. neoformans*는 28°C에서 3일간 배양한 Sabouraud dextrose agar(pH 5.6) 배지의 사면상의 집락에 Sabouraud dextrose broth(pH 5.4)를 가하여 백금으로 긁거나 흔들어서 주어 포자를 수집한 후 1,200g×20분간 원심분리하고 Sabouraud dextrose agar 배지의 plate에서 포자 현탁액의 농도가 540 nm에서 T(%)=95가 되도록 균액을 접종하였다. 그 밖의 진균은 28°C에서 7일간 배양하여 포자가 형성된 사면상의 집락을 얻어 *C. albicans*와 동일한 방법으로 진행하여 포자현탁액의 농도가 540 nm에서 T(%)=90이 되도록 균액을 접종하였다.

Cinnamaldehyde 유도체는 최소량의 dimethylsulfoxide(DMSO)로 용해하여 Sabouraud

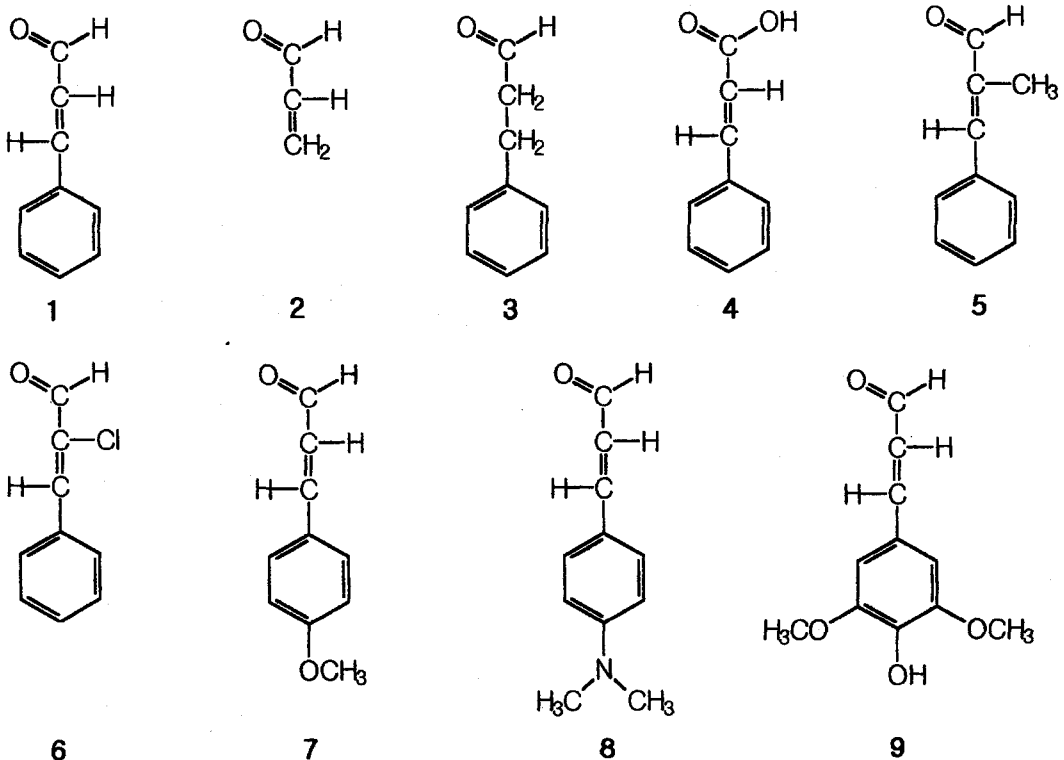


Fig. 1. The chemical structures of cinnamaldehyde (1), acrolein (2), hydrocinnamaldehyde (3), cinnamic acid (4), α -methylcinnamaldehyde (5), α -chlorocinnamaldehyde (6), 4-methoxycinnamaldehyde (7), 4-(dimethylamino)cinnamaldehyde (8) and 3,5-dimethoxy-4-hydroxycinnamaldehyde (9).

Table 1. Antifungal activities of cinnamaldehyde, cinnamaldehyde derivatives and related compounds against various fungi

Antifungal agents	Diameter of inhibitory zone (mm)									
	<i>T. mentagrophytes</i>	<i>M. gypseum</i>	<i>E. floccosum</i>	<i>C. neoformans</i>	<i>A. niger</i>	<i>C. albicans</i>	<i>P. avellaneum</i>			
	400800	100200400800	100 400 1600	200400800	400	100200400800	200400800			
Cinnamaldehyde(1)	9 12 18 22 28	10 12 16 26 32	9 10 14 20 30	10 12 15 18 25	9 10 13 19 27	10 16 20 26 31	10 13 20 24 30			
Acrolein(2)	- 10 11 17	- 11 18	- 10 15 22	10 13 14 19 25	- 11 14 19	- 10 14 18	- 10 12 14			
Hydrocinnamaldehyde(3)	- 10 10 16	- 11 18	- 13	- 14	- 10 11 14 18	- 11 12	- 9 12 14			
Cinnamic acid (4)	- 10 13	- 10 12	- 10 14 20	- 10 14 17 24	- 10	- 10 15	- 10 11 14			
α -Methylcinnamaldehyde	- 10 12	- 10	-	-	- 10 12	-	- 10 12 12			
α -Chlorocinnamaldehyde(6)	14 17 20 22 29	10 13 19 29 34	14 19 24 29 35	15 19 24 30 35	14 18 24 29 33	13 16 20 27 32	11 15 21 26 32			
4-Methoxycinnamaldehyde	- 10 14 22 26	- 10 13 20 24	- 10 13 23	- 11 17	- 9 12 14 19	- 13 18 26	10 11 19 20 24			
4-(Dimethylamino)-	- 10 12 14 14	- 12	- 13	-	- 10 12	- 10 10	- 11 13			
3,5-Dimethoxy-4-hydroxycinna-	-	-	-	-	-	-	-			

† Added amounts of compounds per disc (μ g/disc)

dextrose broth로 희석한 다음 0(대조액), 100, 200, 400, 800 및 1,600 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도로 조제하였다. 항균활성의 조사를 위하여 paper disc(Toyo Roshi Co., Ltd., Japan. 8 mm in diameter, 1.5 mm in thickness)를 균액이 접종된 plate에 얹고 희석된 cinnamaldehyde 유도체 용액을 disc당 각 농도별로 100 μl 씩 집적하였으며, 28°C에서 24~48시간 배양한 후 저지환을 측정하였다.

α -Chlorocinnamaldehyde의 MIC 측정

Cinnamaldehyde 유도체의 항균활성 조사에서 cinnamaldehyde보다 우수한 항균저지환을 보인 α -chlorocinnamaldehyde에 대해서는 전보(Bang 등, 1997)와 동일한 연속희석법에 의해 MIC를 측정하였다. MIC의 비교를 위해 시판 중인 항진균제 clotrimazole(Hwail Medicines Co, Korea)을 대조물질로서 사용하였다.

결 과

Cinnamaldehyde 유도체의 항균활성 조사

7종의 실험균주를 대상으로 각 cinnamaldehyde 유도체의 농도에 따른 항균활성을 저지환의 크기로 비교한 결과는 Table 1과 같다. 유도체 중 α -chlorocinnamaldehyde가 cinnamaldehyde보다 각 농도별로 모든 균주에서 강한 저지환을 나타내어 항균활성이 우수한 것으로 나타났으며, 다른 종류의 유도체 중 cinnamaldehyde보다 각 농도별 저지환이 크게 나타난 것은 없었다.

Hydrocinnamaldehyde는 *E. floccosum*과 *C. neoformans*를 제외한 균주에서, cinnamic acid는 *A. niger*를 제외한 모든 균주에서 800 $\mu\text{g/ml}$ 에서

부터 저지환이 관찰되었으나, acrolein은 800 $\mu\text{g/ml}$ 에서부터 저지환을 보인 *M. gypseum*을 제외하고는 모두 400 $\mu\text{g/ml}$ 에서부터 저지환이 크게 형성됨으로써 hydrocinnamaldehyde와 cinnamic acid보다 항균 스펙트럼이 넓고 항균활성이 강한 것으로 나타났다. α -Methylcinnamaldehyde의 경우, *P. avellaneum*에 대해서는 400 $\mu\text{g/ml}$, *A. niger*와 *T. mentagrophytes*, *M. gypseum*에 대해서는 1,600 $\mu\text{g/ml}$ 에서부터 저지환이 나타난 반면에 나머지 균주에 대해서는 저지환이 관찰되지 않았다. 4-Methoxycinnamaldehyde는 *C. neoformans*를 제외한(800 $\mu\text{g/ml}$ 에서부터 저지환을 보임) 모든 실험균주에 대하여 400 $\mu\text{g/ml}$ 에서부터 저지환을 형성하였다. 4-Dimethylaminocinnamaldehyde는 *T. mentagrophytes*에 대해서는 200 $\mu\text{g/ml}$ 에서부터 저지환이 관찰되었으며, *C. neoformans*에 대해서는 항균활성이 나타나지 않았다. 한편, 3,5-dimethoxy-4-hydroxycinnamaldehyde는 실험농도에서 저지환이 관찰된 것이 없었다.

α -Chlorocinnamaldehyde의 MIC 측정

Cinnamaldehyde보다 항균활성이 우수한 것으로 나타난 α -chlorocinnamaldehyde를 대상으로 각 실험 균주에 대한 MIC를 측정된 결과는 Table 2와 같다. α -Chlorocinnamaldehyde는 7종의 진균 모두에 대해 광범위한 항균 스펙트럼을 보였으며, *M. gypseum*, *E. floccosum* 및 *C. neoformans*에 대한 MIC가 9.8 $\mu\text{g/ml}$ 로서 다른 균주들에 비하여 보다 저해 효과가 높았다. MIC의 측정에서도 α -chlorocinnamaldehyde는 cinnamaldehyde에 비하여 항균효과가 우수한 것으로 나타났

Table 2. Minimum inhibitory concentrations ($\mu\text{g/ml}$) of α -chlorocinnamaldehyde against various fungi

Antifungal agents	<i>T. mentagrophytes</i>	<i>M. gypseum</i>	<i>E. floccosum</i>	<i>C. neoformans</i>	<i>A. niger</i>	<i>C. albicans</i>	<i>P. avellaneum</i>
Cinnamaldehyde	78.0	39.0	39.0	39.0	78.0	78.0	39.0
α -Chlorocinnamaldehyde	19.5	9.76	9.76	9.76	19.5	19.5	19.5
Clotrimazole*	1.22	2.44	0.61	0.61	1.22	4.88	0.61

*positive control

으나 positive control로 사용한 clotrimazole보다 는 항균활성이 낮았다.

고 찰

Cinnamaldehyde는 phenyl기와 acrolein기로 구성된 화합물로서 지금까지 cinnamaldehyde를 기본구조로 관련 유도체를 합성하여 항진균 활성을 관찰한 보고는 없다. 천연물에서 분리된 물질 중에서 cinnamaldehyde와 관련된 화합물에 대해서는 계피로부터 분리한 *o*-methoxycinnamaldehyde가 병원성 진균을 포함한 9종의 진균에 대해 6.25~200 µg/ml의 MIC를 가진다는 보고(Satoshi, 1978)와 *Senra incana*의 수용성 추출물에서 분리된 3-methoxy-4-hydroxycinnamaldehyde (coniferaldehyde)가 항균 활성을 가진다는 보고 (Mohamed와 Gunnar, 1992; Jeffrey와 Herbert, 1993)만이 있을 뿐이다. 본 실험에서 특이적으로 *P. avellaneum*과 표재성진균종 유발균주인 *T. mentagrophytes*에 대해 cinnamaldehyde 및 그 유도체가 화합물 9개 중 각각 7개(78%) 및 6개 화합물(67%)에 걸쳐서 400 µg/ml에서부터 항균활성이 관찰된 사실은 cinnamaldehyde 및 그 유도체가 이들 균주에 강한 항균선택성이 있음을 시사해 준다.

이 실험에서 조사된 4-methoxycinnamaldehyde, 4-dimethylaminocinnamaldehyde 및 3,5-dimethoxy-4-hydroxycinnamaldehyde의 항균 활성과 Mohamed와 Gunnar(1992) 및 Jeffrey와 Herbert(1993)에 의해 보고된 화합물의 항균 활성을 비교했을 때, cinnamaldehyde의 phenyl기 주변 유도체에서는 기존의 항진균제 clotrimazole보다 우수한 항균력을 가지면서 광범위한 항균 스펙트럼을 보이는 화합물을 기대하기 어려울 것으로 사료된다. 또한 cinnamaldehyde의 2번 탄소에 methyl기가 치환된 α -methylcinnamaldehyde는 오히려 cinnamaldehyde의 항균 활성을 감소시켰으며, cinnamaldehyde보다 강한 항균력을 보인다는 사실이 본 실험에서 처음으로 밝혀진 α -chlorocinnamaldehyde의 경우에도 halogen화합물 치환체로서 일반적으로 독성이나 부작용이 우려

되기에 이를 모체로 한 유도체 합성은 의약품의 개발면에서 어려울 것으로 보여진다.

그러나 cinnamaldehyde의 saturated form인 hydrocinnamaldehyde와 oxidated form인 cinnamic acid가 acrolein이나 cinnamaldehyde보다 항균 활성이 낮게 나타나고 있음은 cinnamaldehyde가 saturated form이 되거나 oxidated form이 되어서는 우수한 항균활성을 기대할 수 없다는 점을 보여 준다. 또한 유도체의 구조와 항균 활성 관계를 종합하여 볼 때 cinnamaldehyde의 항균력을 나타내는 기본구조로서 acrolein이 중요한 관능기로 작용하는 것으로 추정된다. 따라서 cinnamaldehyde의 새로운 모델화합물을 합성하는데 있어서는 acrolein기를 중심으로한 유도체화가 효과적인 것으로 사료된다.

적 요

Cinnamaldehyde 유도체의 항진균활성을 조사한 결과 α -chlorocinnamaldehyde가 가장 항균활성이 우수한 것으로 평가되었다. α -Chlorocinnamaldehyde는 피부진균종의 원인균주인 *Trichophyton mentagrophytes*, *Microsporium gypseum*, *Epidermophyton floccosum*, *Cryptococcus neoformans*, *Aspergillus niger*, *Candida albicans*와 *Penicillium avellaneum*에 대해 9.8~19.5 µg/ml의 최소저지농도를 보였으나 시판중인 항진균제 clotrimazole보다는 역가가 낮은 것으로 나타났다. α -Chlorocinnamaldehyde를 제외한 나머지 관련 유도체를 비교한 결과 phenyl기 주위의 유도체 화합물에서는 우수한 항균활성이 관찰되지 않았으며, acrolein기가 항균활성에 중요한 관능기로 작용하는 것으로 나타났다.

감사의 글

We thank Prof. M. Hattori, N. Nakamura (Toyama Medical and Pharmaceutical University, Japan) and S. Shimada (Japan Pharmaceutical Manufacturers Association) for their valuable informations and helpful discussions.

참고문헌

- Bang, K. H., Min, B. S. and Rhee, Y. H. 1997. Purification and Properties of an antifungal component, AF001, from Cinnamomi Cortex. *Kor. J. Mycol.* **25**: 161-166.
- Georgopapakou, N. H. and Walsh, J. 1994. Human mycoses-Drug and targets for emerging pathogens. *Science* **264**: 371-373.
- Jeffery, B. H. and Herbert, B. 1993. Phytochemical Dictionary. A handbook of bioactive compound from plants. Taylor and Francis London.
- Kim, S. H., Hyun, B. C., Suh, J. W., Kim, C. O., Yon, C. S., Lee, D. K., Kim, K. P., Jung, J. K. and Lee, C. H. 1993. Biological properties and structural analysis of novel antifungal antibiotics AF-011A. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* **21**: 556-563.
- Mohamed, H. F. and Gunnar, S. 1992. Pharmacologically active phenylpropanoids from *Senra incana*. *Planta Med.* **58**: 14-18.
- Ross, F. M. 1976 Analysis of cinnamon oils by high pressure liquid chromatography. *J. Chromatogr.* **118**: 273-275.
- Satoshi, M. 1978. Isolation, Purification and antibiotic activity of *o*-methoxycinnamaldehyde from cinnamon. *Appl. Microbiol.* **36**: 577-583.
- Yamaguchi, H. 1990. Antifungal agents-recent trends in development and progress in research of action mechanism. *Jap. J. Clinic. Med.* **49**: 2176-2185.
- Yoo, C. K. 1997. The recent trends in research of new antifungal agents. *New drug news.* **5**: 14-24.