

## 고등식물로부터 Chitin Synthase II 활성 저해물질의 탐색

황의일 · 이향복 · 김성욱\*

생명공학연구소 식물보호소재 R.U.

(Received July 7, 1999)

### Screening of Chitin Synthase II Inhibitors from Medicinal and Wild Plants

Eui Il Hwang, Hyang Bok Lee and Sung UK Kim\*

Plant Protectants Research Unit, Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology, Taejon 305-600, Korea

**Abstract** — Chitin is an important structural component of fungal cell wall and is synthesized by chitin synthase I, II, and III. The chitin synthase II is an essential enzyme for the formation of primary septum in *Saccharomyces cerevisiae*. Therefore, specific inhibitors of this enzyme might block the formation of fungal cell wall and could be used as effective antifungal agents. To search chitin synthase II inhibitors from natural products, 67 plants were extracted with methanol and examined for the inhibitory activities against chitin synthase II of *S. cerevisiae* by our cell free assay system. As a result, the extracts from 16 plants showed more than 70% inhibition at the concentration of 280 µg/ml. Of note, *Laurus nobilis* (81.4%), *Lonicera maackii* (81.5%), *Berchemia berchemiaefolia* (82.9%), *Koeleruteria paniculata* (87.9%), *Chamaecyparis pisifera* (86%) and *Taxus cuspidata* (83.9%) inhibited strongly the chitin synthase II activity.

**Keywords** □ Fungal cell wall, chitin, chitin synthase II inhibitors, antifungal agents.

지구상에는 약 150만여종의 진균이 존재하고 있으며 그 중에서 약 69,000여종이 과학적으로 체계화되어 연구되고 있다.<sup>1)</sup> 이 가운데 일부는 인간에게 유익한 것도 있는 반면 일부는 인간이나 식물에 질병을 유발하기도 하는데 이러한 진균 중 약 300여종 정도가 사람이나 동물에 진균증을 유발한다.<sup>2)</sup> 진균성 질환은 지난 20여년간 많은 의료 기술의 발전에도 불구하고 오히려 크게 증가하고 있는 추세이며, 최근에는 항생제의 오·남용, 장기이식이나 항암제의 장기간 투여, AIDS 등으로 인해 면역력이 저하된 환자에서 기회감염에 의해 *Pneumocystis carinii*에 의한 폐렴이나 aspergillosis, candidiasis 등 진균감염이 증가하여 인간의 생명을 위협하는 새로운 요인으로 대두되고 있다.

또한, 현재 화학 요법제로 이용되고 있는 polyene계 화합물(nystatin,<sup>4)</sup> amphotericin B 등<sup>5)</sup>, azole계 화합물(miconazole, econazole, ketoconazole 등<sup>6,7)</sup> 및 allylamine 화합물(naftifine,<sup>7)</sup> terbinafine<sup>8)</sup> 들은 독성으로 인한 부작용과 장기간 투여에 따른 내성 균주의 출현 등으로 인해 새로운 항진균 항생물질의 필요성이 날이 증대되고 있는 실정이다.<sup>9)</sup>

이러한 추세에 따라 기주인 동·식물에는 무해하며 진균류에만 특이적으로 작용하는 새로운 항진균 항생물질을 개발하기 위하여 새로운 목표물에 대한 탐색으로 새로운 목표물들이 발견되고 있다.<sup>9,10)</sup> 이러한 목표물들을 이용하여 분자 생물학적 기법에 의해 특정된 효소만을 선택적으로 생산할 수 있는 균주가 개발되어 목표 지향적인 탐색이 가능하게 되면서 다수의 항생물질이 발견되었으며, 현재에도 탐색이 활발히 진행되고 있다.<sup>10)</sup> 특히 진균류는 포유동물과는 달리 세포

\* 본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로  
(전화) 042-850-4554 (팩스) 042-861-2675

벽이 존재하기 때문에 진균류의 세포벽은 항진균제 탐색을 위한 선택적인 목표물로서 오래 전부터 주목을 받아왔다. 진균류의 세포벽은 주로 chitin,  $\alpha$ -glucan,  $\beta$ -glucan, mannan 등으로 구성되어 있고, 이 중 주된 세포벽 구성성분은 chitin과 glucan으로 항진균제 개발의 주된 목표가 되어왔다.  $\beta$ -glucan은 D-glucose 단위가  $\beta$ -1,3와  $\beta$ -1,6-gluconic acid로 이루어진  $\beta$ -1,3-glucan homopolymer로서 세포막에 결합된  $\beta$ -1,3-glucan synthase에 의해 합성되며, glucan합성 저해제로는 aculeacin,<sup>11)</sup> papulacandin,<sup>12)</sup> echinocandin<sup>13)</sup> 등이 보고되었으나 널리 이용되고 있지는 못하고 있다. Chitin은 N-acetyl-D-glucosamine(GlcNAc)으로부터 세포막에 결합된 chitin synthase에 의해 합성되는 homopolymer로서 chitin synthase I, II, III에 의해 합성된다. 이러한 chitin 합성효소에 대해 가장 많은 연구가 되어있는 *Saccharomyces cerevisiae*의 경우 chitin synthase I은 세포 분열시 chitinase에 의해 과도하게 손상을 입은 세포벽을 회복시켜주는 기능(repair enzyme)을 하며, chitin synthase II는 세포 분열시 격막 형성에 관여한다. 또한 chitin synthase III는 출아할 때 모세포로부터 낭세포 형성시 chitin ring 형성과 세포벽에 존재하는 대부분의 chitin 합성에 관여한다고 알려져 있다. 이들 효소 중 chitin synthase I은 세포 생육에는 필수적이지 않은 반면, chitin synthase II와 III는 세포의 생육에 필수적이라고 알려져 있다.<sup>14-16)</sup> Chitin 합성 저해제로는 기질인 UDP-GlcNAc와 유사한 구조를 지닌 polyoxins<sup>17,18)</sup>과 nikkomycins<sup>19)</sup> 등이 방선균으로부터 보고되었으나 polyoxin은 일부 농업용 항생물질로 이용되고 있고, nikkomycin은 bioavailability 문제로 인해 널리 이용되고 있지는 못한 실정이다. 그러나 최근 천연물에서 분리한 terpenoid계 화합물, alkaloids, aliphatics 화합물, flavonoids, stilbene계 화합물등이 항진균 효과가 있다고 보고하고 있다.<sup>20)</sup> 또한 Kubo 등은 병원성 진균류 치료시 항생제 치료와 함께 항진균 활성이 있는 천연 성분을 병용 투여하면 더욱 효과적으로 치료 효과를 나타냄과 동시에 부작용이 감소된다고 보고하여<sup>21)</sup> 천연물로부터 새로운 골격의 항진균제 개발 가능성을 시사하고 있다.

따라서, 본 연구에서는 chitin 합성에 관여하는 chitin synthase II를 저해하는 새로운 계열의 항진균제를 개발하기 위하여 한방에서 사용하고 있는 생약과

천연에 자생하는 식물들을 채집하여 chitin synthase II 효소 저해 활성을 검정하고 수종의 후보물질들을 선발하였기에 그 결과를 보고하고자 하며, 이를 기초 자료로하여 천연물로부터 보다 효과적인 새로운 항진균제를 개발하고자 한다.

## 실험방법

**실험재료** - 유성 시장의 한약방에서 구입한 생약으로 사용되고 있는 한방 재료와 전국 각지에서 채집한 고등식물을 67종 확보하였다. 확보된 시료 식물은 대한 식물도감에서 검증하였으며 건조 후 잘게 썰어 사용하였다.

**시약 및 기기** - 시료 식물로부터 생리 활성 물질의 추출은 Merck사 제품인 methanol을 사용하였으며 이외에 사용된 모든 시약은 Sigma 제품과 특급이상의 시약을 사용하였다. 활성검정시 기질로 이용한 동위원소인 UDP-[<sup>14</sup>C]-N-acetyl-D-glucosamine(400,000 cpm/ $\mu$ mol)은 NEN(Du Pont Co.)제품을 이용하였으며 liquid scintillation counter는 Microbeta Trilux(Wallac Co.)을 사용하였다.

**시료의 조제** - 생약 및 식물 일정량을 건조 후 잘게 썰어 me- thanol로 추출하여 여과한 후 감압 농축하여 추출물을 얻었다. 각 추출물을 정량하여 4.0  $\mu$ g/ml이 되도록 methanol에 녹이고 증류수를 이용하여 25% me- thanol 용액으로 최종농도가 1.0  $\mu$ g/ml이 되도록 시료를 완전히 용해한 후 14  $\mu$ 을 활성검정에 이용하였다(시료의 최종농도; 280  $\mu$ g/ml).

**Chitin synthase II 효소의 조제** - 본 연구에 사용한 효소는 chitin synthase II만을 과잉 생산하는 *S. cerevisiae* EY38-38A(MATa *chs1-23 chs2::LEU2 cal1/csd2 ura3-52 trp1-1 leu2-2 pAS6*) 균주를 50 ml YPG(1% yeast extract, 2% peptone, 2% galactose)배지에 접종하여 30°C에서 24시간 배양한 후 다시 신선한 YPG 배지 1 liter에 접종하여 30°C에서 A<sub>550</sub>=1.0이 될 때까지 배양하였다. 배양 후 원심분리하여 균체를 모아 5 mM magnesium acetate을 함유한 50 mM Tris-HCl(pH 7.5) 완충액 100 ml에 현탁하였다. 이 현탁액을 glass bead을 이용하여 마쇄한 후 3000 $\times$ g 에서 10분간 원심분리하여 cell debris를 제거하고 상등액을 130,000 $\times$ g 에서 1시간 동안 초원심분리하여 얻은 침전물을 모은 후 33% glycerol이

함유된 50mM Tris-HCl(pH 7.5)에 현탁하여 조 효소액을 조제하였으며, 일정량씩 분주한 후 -70°C에 보관하면서 실험에 이용하였다.<sup>13)</sup>

**Chitin synthase II 활성검정** - Chitin synthase II 활성검정은 UDP-[<sup>14</sup>C]-N-acetyl-D-glucosamine (GlcNAc)을 기질로 이용하여 chitin synthase II에 의해 생성된 chitin의 동위원소량을 아래와 같이 측정하였다.

32 mM Tris-HCl(pH 8.0), 1.6 mM cobalt acetate, 1.0 mM UDP-[<sup>14</sup>C]GlcNAc, trypsin(2.0 mg/ml)이 함유된 반응액에 조 효소액 20 μl와 시료 14 μl를 첨가하여 30°C에서 15분 동안 전배양하여 효소를 활성화시킨 후 trypsin inhibitor(4.0 mg/ml)를 첨가하고 얼음 속에서 10분 동안 방치하여 trypsin 활성을 정지시켰다. 이 반응액에 다시 0.8 M의 GlcNAc을 첨가하여 총 반응액을 50 μl로 조절한 후 30°C에서 90분간 배양하였다. 반응 후 10% TCA 용액을 첨가하여 반응을 정지시키고 반응액을 GF/C filter로 여과하여 건조 후 3 ml의 scintillation cocktail을 첨가하여 동위원소량을 측정하였으며 저해율은 아래와 같이 계산하였다. 이때 blank에는 효소와 시료를 넣는 대신 시료를 용해한 동일한 용매를 동량 넣어주었다.

(Inhibition) (%) =

$$= \left( \frac{\text{Control cpm} - \text{Sample cpm}}{\text{Control cpm} - \text{Blank cpm}} \right) \times 100$$

### 실험결과 및 고찰

진균류의 세포벽 구성 성분 중 chitin 합성에 관여하며 세포 생육에 필수적인 chitin synthase II에 대하여 저해 활성을 나타내는 천연물을 탐색하기 위해 천연물을 메탄올로 추출하여 chitin synthase II에 대한 저해 활성을 조사하였다.

전국 각지로부터 무작위로 채집한 생약 및 식물 67종을 시료로 사용하였으며 이 중 20종은 잎(Folium), 외피(Cortex), 열매(Fructus)등으로 분리하여 메탄올을 이용하여 추출한 후 감압 농축하여 시료를 확보하고 *in vitro*에서의 chitin synthase II 활성을 검정하여 그 결과를 Table I에 나타내었다. Table I에 나타난 바와 같이 실험에 사용된 67종의 식물 및 생약 중 일 후박을 포함한 16종의 추출물이 280 μg/ml 농도에서 70% 이상 chitin synthase II 활성을 저해하였다.

또한 화백나무, 계수나무, 메타세콰이어, 모감주나무, 뱀나무, 살구나무, 산수유나무, 산딸나무, 자귀나무등 10종의 식물체는 잎, 외피, 열매 추출물 모두에서 50% 이상의 저해 활성을 나타내었다. 반면에 주목나무, 괴불나무, 동백나무, 두충나무, 단풍나무, 중국 단풍나무, 망개나무, 무궁화나무, 산사나무, 은행나무를 포함한 10여종의 식물에서 추출한 성분은 추출 부위에 따라 서로 다른 chitin synthase II 저해 활성을 나타내었다.

한편, 민<sup>22)</sup>등은 차전자, 구기자, 당귀등의 추출물이 *Penicillium avellaneum*의 성장을 억제하고, 황백, 오미자, 구기자, 목단피등의 추출물은 *Candida albicans*의 성장을 억제하는 성분이 존재함을 보고하여 상기 식물체에 대한 chitin synthase II 저해 활성능을 조사하였다. 그 결과 차전자, 황백, 오미자 추출물은 비교적 높은 저해 활성을 나타낸 반면, 구기자, 당귀, 목단피 추출물에서는 저해 활성을 관찰할 수 없었다. 이러한 결과로 볼 때, 식물체는 종 및 종내 부위에 따라 서로 다른 생리활성물질이 존재하기도 하며 생성된 양에 있어서도 서로 차이가 있음을 확인할 수 있었다.

지금까지 보고된 chitin synthase II와 chitin synthase III에 강한 저해 활성을 나타내는 chitin synthase 저해제로는 polyoxin D와 nikkomycin이 보고된 반면, 천연물에서 분리한 chitin synthase 저해제에 대한 보고는 거의 없는 실정이었으나, 최근 저자들은 주목(*Taxus cuspidata*)<sup>23)</sup>과 산사나무(*Crataegus pinnatifida*)<sup>24)</sup>로부터 수종의 chitin synthase II 저해제를 분리하여 보고하였다. 주목과 산사나무로부터 분리한 화합물들은 기존에 보고된 chitin synthase II 저해제보다 더 강한 효소 저해 활성을 나타내어(Table II) 앞으로 이들 식물체 이외에 Table I에서 강한 효소 저해 활성을 나타낸 망개나무(*Berchemia berchemiifolia*), 계수나무(*Laurus nobilis*), 괴불나무(*Lonicera maackii*), 모감주나무(*Koelreuteria paniculata*), 뱀나무(*Prunus jamasakura*), 화백나무(*Chamaecyparis pisi-fera*)등에 대해서도 분리·정제를 수행할 예정이다.

이외같이 주목과 산사나무에서 분리한 생리활성 물질들은 항균작용은 미약하였으나 *in vitro*에서 기존에 보고된 chitin synthase II 저해제인 polyoxin D보다 강한 저해 활성을 나타내어 다양한 천연물을 대상으로 한 chitin synthase II 저해제의 탐색을 체계적으로

**Table I** – Inhibitory activities of medicinal and wild plants against chitin synthase II from *S. cerevisiae* ECY38-38A(pAS6)

생약 및 식물명	과 명	종 명	사용부위	Inhibitory activity(%)
가는갯등쟁이	Chenopodiaceae	<i>Atriplex gmelin</i>	Stem	9.0
가는대나무	Caryophyllaceae	<i>Gypsophila pacifica</i>	Herba	0.0
가는잎황고들빼기	Compositae	<i>Lactuca indica</i> var. <i>laciniata</i>	Stem	21.0
가래나무	Juglandaceae	<i>Juglans mandshurice</i>	Herba	18.0
가막사리	Compositae	<i>Bidens tripartita</i>	Stem	8.0
가자나무	Combretaceae	<i>Terminalia chebula</i>	Herba	45.0
각시취	Compositae	<i>Saussurea pulchella</i>	Stem	30.0
까마귀밥여름나무	Saxifragaceae	<i>Ribes fasciculatum</i> var. <i>chinense</i>	Herba	35.0
		"	Cortex	11.6
갈근	Leguminosae	<i>Pueraria sieboldiana</i>	Stem	0.0
		"	Radix	7.0
갈매나무	Rhamnaceae	<i>Rhamnus davurica</i>	Herba	9.0
갈참나무	Fagaceae	<i>Quercus aliena</i>	Herba	0.0
갈퀴나물	Leguminosae	<i>Vicia amoena</i>	Stem	0.0
갈퀴넝쿨	Leguminosae	<i>Galium spurium</i>	Stem	9.0
갈부인	Cucurbitaceae	<i>Trichosanthes kirilowii</i>	Semen	0.0
감나무	Ebenaceae	<i>Diospyros kaki</i>	Herba	65.0
감태나무	Lauraceae	<i>Lindera glauca</i>	Herba	7.0
강활	Umbelliferae	<i>Ostericum koreanum</i>	Herba	36.0
		"	Radix	16.0
개감수	Euphorbiaceae	<i>Euphorbia sieboldiana</i>	Herba	0.0
개곽향	Labiatae	<i>Teucrium japonicum</i>	Herba	40.0
계수나무	Cercidiphyllaceae	<i>Laurus nobilis</i>	Folium	73.7
		"	Cortex	81.4
피불나무	Caprifoliaceae	<i>Lonicera maackii</i>	Folium	81.5
		"	Cortex	58.0
		"	Fructus	48.0
구기자	Solanaceae	<i>Lycium chinense</i>	Fructus	0.0
국화마	Discoreaceae	<i>Dioscorea septemloba</i>	Rhizoma	15.2
눈피불주머니	Fumariaceae	<i>Corydalis ochotensis</i>	Areal part	17.0
단풍나무	Aceraceae	<i>Acer palmatum</i>	Folium	72.0
		"	Cortex	0.0
당귀	Umbelliferae	<i>Angelica gigas</i>	Radix	37.5
대사초	Cyperaceae	<i>Carex siderosticta</i>	Herba	0.0
대황	Polygonaceae	<i>Rheum undulatum</i>	Rhizoma	0.0
동백나무	Theaceae	<i>Camellia japonica</i>	Folium	76.2
		"	Cortex	41.9
두충나무	Eucommiaceae	<i>Berchemia ulmoides</i>	Folium	74.1
		"	Cortex	11.4
땅비싸리나무	Leguminosae	<i>Indigofera kirilowii</i>	Folium	0.0
		"	Stem	0.0
땅개나무	Rhamnaceae	<i>Berchemia berchemiaefolia</i>	Folium	45.6
		"	Cortex	82.9
명감나무	Liliaceae	<i>Smilax china</i>	Folium	60.0
메타세콰이어	Taxodiaceae	<i>Metasequoia glyptostroboides</i>	Folium	54.7
		"	Cortex	61.2
모감주나무	Sapindaceae	<i>Koelreuteria paniculata</i>	Folium	87.9
		"	Cortex	55.8
복단피	Ranunculaceae	<i>Paeonia suffruticosa</i>	Cortex	27.0
무궁화나무	Malvaceae	<i>Hibiscus syriacus</i>	Folium	22.4
		"	Cortex	51.3
미역줄나무	Celastraceae	<i>Tripterygium vegetii</i>	Areal part	17.0
반하	Araceae	<i>Pinellia ternata</i>	Tuber	27.4
벗나무	Rosaceae	<i>Prunus jamasakura</i>	Folium	78.8

Table I - Continued

생약 및 식물명	과 명	종 명	사용부위	Inhibitory activity(%)
빛나무	Rosaceae	<i>Prunus jamasakura</i>	Cortex	75.3
백당나무	Caprifoliaceae	<i>Viburnum sargentii</i>	Folium	66.6
		"	Cortex	65.6
		"	Fructus	69.4
붉은대극	Euphorbiaceae	<i>Euphorbia ebracteolata</i>	Areal part	27.0
	산사나무	Rosaceae	<i>Crataegus pinnatifida</i>	Folium
"		"	Cortex	46.5
"		"	Fructus	53.5
상백피	Moraceae	<i>Morus alba</i>	Radicis cortex	14.5
산수유나무	Cornaceae	<i>Cornus officinalis</i>	Folium	61.7
		"	Cortex	71.0
		"	Fructus	63.7
산딸나무	Cornaceae	<i>Cornus kousa</i>	Folium	61.0
		"	Cortex	58.2
살구나무	Rosaceae	<i>Prunus armeniaca</i>	Folium	69.2
		"	Cortex	63.1
사시나무	Fagaceae	<i>Quercus myrsinaefolia</i>	Folium	22.0
서양측백나무	Cupressaceae	<i>Thuja occidentalis</i>	Folium	46.1
		"	Cortex	73.0
		"	Fructus	74.9
소목	Leguminosae	<i>Caesalpinia sappan</i>	Lignum	60.0
쑥	Compositae	<i>Artemisia sylvatica</i>	Herba	27.0
오가피	Araliaceae	<i>Acanthopanax gracilistylus</i>	Cortex	35.8
오미자	Magnoliaceae	<i>Schizandra chinensis</i>	Fructus	70.0
우슬	Amaranthaceae	<i>Achyranthes japonica</i>	Radix	0.0
윤관나물	Liliaceae	<i>Disporum sessive</i>	Areal part	44.0
		"	Stem	40.0
은행나무	Ginkgoaceae	<i>Ginkgo biloba</i>	Folium	39.2
		"	Cortex	69.3
음나무	Araliaceae	<i>Kalapanax pictus</i>	Cortex	24.0
일후박나무	Magnoliaceae	<i>Magnolia obovata</i>	Folium	75.0
자귀나무	Leguminosae	<i>Albizzia julibrissin</i>	Folium	63.3
		"	Cortex	54.2
작약	Paeoniaceae	<i>Paeonia lactiflora</i>	Radix	0.0
주목	Taxaceae	<i>Taxus cuspidata</i>	Folium	56.0
		"	Cortex	83.9
		"	Fructus	19.9
중국단풍나무	Aceraceae	<i>Acer buergerianum</i>	Folium	68.5
		"	Cortex	16.8
차전자	Plantaginaceae	<i>Plantago asiatica</i>	Semen	64.5
택사	Alismataceae	<i>Alisma canaliculatum</i>	Rhizoma	0.0
화백나무	Cupressaceae	<i>Chamaecyparis pisifera</i>	Folium	83.5
		"	Cortex	86.0
		"	Fructus	80.0
현호색	Fumariaceae	<i>Corydalis turtuschaninovii</i>	Tuber	0.0
후박나무	Lauraceae	<i>Machilus thunbergii</i>	Folium	70.0

Table II - Inhibitory activities of several compounds for chitin synthase II of *S.cerevisiae* ECY38-38A (pAS6)

Plants	Inhibitory activity (280 µg/ml)	Inhibitors*	IC <sub>50</sub> values (µg/ml)
<i>Taxus cuspidata</i>	83.9	catechin	15.0
<i>Crataegus pinnatifida</i>	72.0	ursolic acid	0.84
Control (polyoxin D)	87.1	polyoxin D	70.0

\* The chitin synthase II inhibitors were isolated from *T. cuspidata*<sup>23)</sup> and *C. pinnatifida*,<sup>24)</sup> respectively.

진행하면 새로운 골격의 chitin synthase II 저해제를 발견할 가능성이 증대될 것으로 생각된다. 또한 이미 밝혀진 기지 물질이더라도 새로운 기능을 부여함으로써 유용한 항진균제로서의 이용 가능성을 높일 수 있을 것으로 사료된다.

## 문 헌

- 1) Alexopoulos, C. J., Mins, C. W. and M. Blackwell. : Introductory Mycology. John Wiley & Sons, Inc. p. 1 (1996).
- 2) 전재복. : 피부질환을 일으키는 진균의 종류와 대책. 의학정보. **7**, p. 10-14 (1996).
- 3) Hazen, E. L. and Brown, R. : Two antifungal agents produced by a soil actinomycete. *Science*. **112**, 423 (1950).
- 4) Gold, W., Stout, H. A., Pagano, J. F. and Donovan, R. : Amphotericin A and B, antifungal antibiotics produced by a Streptomyces. I. In vitro studies. In H. Welch and F. Marti-Ivanez(ed.), *Antibiot. Annu.* 579 (1955).
- 5) Borgers, M., Bossche, H. V. and De Brabander, M. : The mechanism of action of the new antimycotic ketokonazole. *Am. J. Med.* **74**, 2 (1983).
- 6) Rex, J. H., Tinaldi, M. G. and Pfaller, M. A. : Resistance of *Candida* species to fluconazole. *Antimicrob. Agents Chemother.* **39**, 1 (1996).
- 7) Georgopoulos, A. G., Petranyi, G., Mieth, H. and Drews, J. : *In vitro* activity of naftifine, a new antifungal agents. *Antimicrob. Agents. Chemother.* **19**, 386 (1981).
- 8) Petranyi, G., Meingassner, J. G. and Mieth, H. : Antifungal activity of the allyamine derivative terbinafine in vitro. *Antimicrob. Agents Chemother.* **31**, 1365 (1987).
- 9) Georgopadaku, N. H. and Walsh, T. J. : Human mycoses : Drugs and targets for emerging pathogens. *Science*. **264**, 371 (1994).
- 10) Kuhn, P. J., Trinci, A. P. J., Jung, M. J., Goosey, M. W. and Copping, L. G. : Biochemistry of cell walls and Membrances in fungi. Springer-Verlag, New York. p.1(1990).
- 11) Yamaguchi, H., T. Hiratani, M. N. Baba. and Osumi, M. : Effect of aculeacin A, a wall-active antibiotic, on synthesis of the yeast cell wall. *Microbiol. Immunol.* **29**, 609 (1985).
- 12) Baguley, C. B., Rommele, G., Gruner, J. and Wehrli, W. : Papulacandin B : an inhibitor of glucan synthesis in yeast spheroplasts. *Eur. J. Biochem.* **97**, 345 (1979).
- 13) Benz, F., Knusel, F., Nuesch, J., Treichlen, H. and Voger, W. : Echinocandin B. Ein neuartiges polypeptide antibiotikum aus *Aspergillus nidulans* vat. echinulatus : isolierung und bausteine. *Helv. Chim. Acta.* **57**, 2459 (1974).
- 14) Choi, W. J. and Cabib, E. : The use of divalent cations and pH for the determination of specific yeast chitin synthases. *Analytical Biochemistry.* **219**, 368 (1994).
- 15) Choi, W. J., Sburlati, A. and Cabib, E. : Chitin synthase 3 from yeast has zymogenic properties that depend on both CAL1 and the CAL3 genes. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **91**, 4727 (1994).
- 16) Choi, W. J., Santos, B., Duran, A. and Cabib, E. : Are yeast chitin synthases regulated at the transcriptional or the posttranslational level? *Mol. Cell Biol.* **14**(12), 7685 (1994).
- 17) Hori, M., Eguchi, J., Kakiki, K. and Misato, T. : Study in the mode of action of polyoxins. VI. Effect of polyxin B in chitin synthesis in polyoxin sensitive and resistant strains of *Alternaria kikuchiana*. *J. Antibiot.* **27**, 260 (1974).
- 18) Isono, K., Nagatusu, J., Kobinata, K., Sasaki, K. and Suzuki, S. : Studies on polyoxins C, D, E, F, G, H, and I. *Agri. Biol. Chem.* **31**, 190 (1967).
- 19) Fieder, H. P., Kurth, R., Langharig, J., Delzer, J. and Zahner, H. Nikkomycins : Microbial inhibitors of chitin synthetase. *J. Chem. Tech. Biotechnol.* 32271 (1982).
- 20) Grayer. R. J. and Harbone, J. B. : A survey of antifungal compounds from higher plants. *Phytochemistry.* **26**, 19 (1994).
- 21) Kubo, I., Muroi, H. and Himejima, M. : Combination effects of antifungal nagilactones against *Candida albicans* and two other fungi with phenylpropanoids. *J. Nat. Prot.* **56**, 220 (1993).
- 22) 민병선, 방규호, 이준성, 배기환. : *Candida*와 *Penicillium* 속 진균에 대한 천연물 의 항진균 효과 검색. 약학회지. **40**(5), 582 (1996).
- 23) Kim, S. U., Hwang, E. I., Nam, J. Y., Son, K. H., Bok,

- S. H., Kim, H. E. and Kwon, B. M. : Inhibition of Chitin Synthase II by Catechins from Stem Bark of *Taxus cuspidata*. *Planta Medica*. **65**, 97 (1999).
- 24) Jeong, T. S., Hwang, E. I., Lee, H. B., Lee, E. S., Kim, Y. K., Min, B. S., Bae, K. H., Bok, S. H. and Kim, S. U. : Chitin synthase II Inhibitory Activity of Ursolic acid, Isolated from *Crataegus pinnatifida*. *Planta Medica*. **65**, 261 (1999).