

한국산 해면의 지질 성분 연구

金實圭[†] · 朴善求 · 朴麗惠 · 張聖根

성균관대학교 화학과

(1990. 8. 23 접수)

Lipids Constituents of the Korean Marine Sponges

In Kyu Kim[†], Sun Ku Park, Sung Hye Park, and Sung Keun Jhang

Department of Chemistry, Sung Kyun Kwan University, Suwon 440-746, Korea

(Received August 23, 1990)

요 약. 한국 남해안 소흑산도에서 채집한 해면 *V. japonica* H.로부터 통상적인 tetradecanoic 및 hexadecanoic methyl ester 이외에 탄소가 홀수인 pentadecanoic, heptadecanoic methyl ester와 가지달린 12-methyltetradecanoic, 14-methylpentadecanoic, 15-methylhexadecanoic 및 14-methylhexadecanoic methyl ester가 발견되었으며, 주 sterol 성분으로는 cholesterol과 소량의 ergost-25-ene-3, 5, 6-triol이 검출되었다.

한편, 여수 돌산도에서 채집한 해면 *H. sinapium*의 주 sterol성분은 5 α -cholestan-3 β -ol이었고 cholesterol은 소량으로 얻어졌다. 지방산으로는 팔미틴산, 팔미트레인산, 올레인산, 스테아린산 및 리놀레인산 에틸에스터 이외에 상당량의 arachidonic산 에틸에스터가 함유되어 있었다. 상기 지역에서 채집한 또 다른 해면에서는 상당량의 tetradecanoic tetradecyl 및 hexadecyl ester와 sterol성분으로 cholesteryl acetic 및 fatty acid ester가 함유되어 있었다.

ABSTRACT. Various sterols and uncommon fatty acids have been isolated from the three species of Korean marine sponges. Odd-numbered pentadecanoic, heptadecanoic methyl ester and branched 12-methyltetradecanoic, 14-methylpentadecanoic, 15-methylhexadecanoic and 14-methylhexadecanoic methyl ester were isolated along with common tetradecanoic and hexadecanoic methyl ester from Heteropiidae sponge *Vosmaeropsis japonica* Hozawa collected from Sohuksan island of the Korea sea. Further elution with more polar solvent gave 5 α -cholest-3 β -ol along with minor amount of ergost-25-ene-3 β , 5 α , 6 β -triol.

On the other hand, marine sponge *Hymeniacion sinapium* collected from Yesu Dolsan island of the Korea sea was shown to contain 5 α -cholestan-3 β -ol, along with minor amount of cholesterol, palmitic, palmitoleic, oleic, stearic, linolenic, and arachidonic acid ethyl ester.

Unknown marine sponge collected from the same region was shown to contain large amount of tetradecanoic tetradecyl and hexadecyl ester and cholesteryl acetic and fatty acid ester.

서 론

지구 전체 생물의 80%를 차지하고 있으면서도 아직 깊은 연구가 이루어지지 않아 미지의 요소가 많은 해양생물의 성분 연구가 근래에 와서 활발히 진행되고 있다. 그 중 lipid 성분 특히 sterol 성분과 지방산에 관한 연구가 이들의 구조적 특징¹과 동맥 경화, 고혈압 등의 동맥질환과의 관련성² 때문에 관심을 끌고 있다.

육지생물에 비해 해양생물의 sterol은 다양한 구조를 가지고 있는데 고리의 변형, 결사슬의 알킬화 및 polyhydroxy된 경우 등이다^{3,4}.

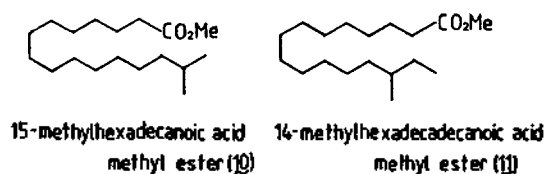
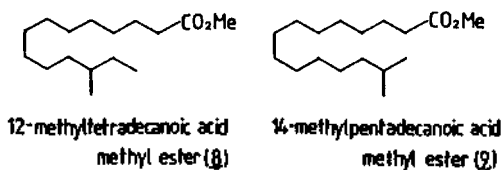
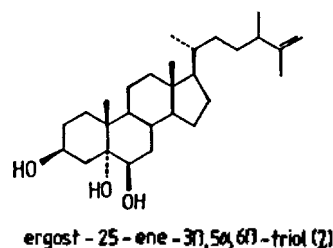
지방산은 대부분의 생물체에서 짝수탄소를 갖는 C₁₄~C₂₀가 우세하며, 그 중 C₁₆과 C₁₈의 지방산이 가장 일반적이고 양적으로도 가장 많이 존재한다. 특히 탄소16을 갖는 지방산은 식물, 동물, 미생물에 서 가장 많은 양으로 나타난다⁵.

해양 식물플랑크톤의 지방 성분에는 C₁₆, C₁₈, C₂₀, 및 C₂₂의 polyunsaturated 지방산이 가장 많으며 주로 triglyceride와 phospholipid⁶ 형태로 존재한다. 해양생물의 먹이사슬은 식물플랑크톤에서 동물플랑크톤, 다시 어류로 이어지며 지방산이나 sterol에 일어나는 대사과정 중의 변화도 이런 경로를 거치는 것으로 알려져 있다¹⁷.

본 연구에서는 한국 서해안 소록산도와 남해안 돌산도에서 채집한 3 종류의 해면의 lipid 성분을 조사하였다.

결과 및 고찰

한국 서해안 소록산도에서 채집한 이강해면(Heteropiidae)의 *Vosmaeropsis japonica* Hozawa(Calcarea, Heterocoela)을 시료로 사용하였다. 갯은(fresh) 해면을 메탄올, pet. ether 및 CH₂Cl₂의 순서로 계속적으로 추출하였다. 각각의 추출물을 용매의 극성을 높여가며 shorty funnel chromatography로 분리했다. 100% 염화메틸렌 부문에서 가지달린 지방산 에스터 혼합물이, 염화메틸렌의 20% EtOAc 부문에서 sterol 혼합물이 얻어졌다.

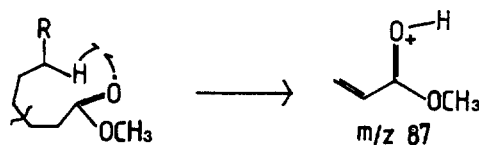


Sterol 중에서는 cholesterol⁸이 주성분이었고, 극

소량 성분은 ergost-25-ene-3,5,6-triol(7)으로 믿어진다. 이것의 mass spectrum 값 : , m/z 414(14%, M-H₂O), m/z 287(27%, M-side chain-H₂O-2H), m/z 271(18%, M-side chain-2H₂O), m/z 55(100%)은 문헌⁹에 알려진 값과 잘 일치하였고 컴퓨터에 의한 NBS Data Base¹⁰ Library searching과도 일치하였다(match quality값, 9331).

Mass spectrum(EI조건)에서 분자 이온이 검출되지 않아 보다 확실한 구조 규명을 위하여 더 많은 시료를 채집하여 NMR 등의 추가실험을 수행할 예정이다.

100% CH₂Cl₂ 부문을 column chromatography로 분리하고 최종적으로 preparative-TLC한 결과 지방산 혼합물을 얻었다. 이중 한무리로부터 가지달린 12-methyltetradecanoic(8), 14-methylpentadecanoic(9), 15-methylhexadecanoic(10), 14-methylhexadecanoic(11)methyl ester 혼합물을 얻었다. 이들을 GC-ms 스펙트럼으로 확인하였고, 이들 가지달린 지방산 methyl ester의 상대적인 양은 비슷하였다. 이들의 분자이온 peak는 각각 m/z 256, 270, 284, 284였으며, McLafferty rearrangement로 인한 m/z 74 peak가 가장 강하게, β-끊어짐에 의한 m/z 87 peak¹¹ 및 CH₂가 일정하게 fragmentation되는 특징을 나타내었다.



12-methyltetradecanoic acid methyl ester에서는 m/z 227(3%, M-29)이 m/z 225(3%, M-31)보다 상대적인 양이 우세하고, m/z 195(2%, M-C₂H₅, CH₃OH)와 m/z 177(3%, M-C₂H₅-CH₃OH-H₂O) peak가 존재하는 것으로 보아 anteiso형임을 확인할 수 있으며 또한, 14-methylhexadecanoic acid methyl ester에서도 m/z 255(5%, M-29)가 m/z 253(1%, M-31)보다 상대적인 양이 훨씬 우세하였으며, m/z 223(2%, M-C₂H₅-CH₃OH)과 m/z 205(2%, M-C₂H₅-CH₃OH-H₂O)의 peak가 검출된 것으로 보아 anteiso형임이 판명되었다. 그리고 14-methylpentadecanoic와 15-methylhexadecanoic methyl ester는 유사한 GC

조건하에서 문헌¹²에 알려진 retention indexes와의 비교와 컴퓨터를 이용한 NBS spectrum Data Base¹³ Library searching(Match Quality 9533, 9564) 등으로 iso형임을 알 수 있었다.

또다른 한무리는 GC-ms 스펙트럼으로 확인하였는데, 주성분이 tetradecanoic, hexadecanoic methyl ester이었으며, 소량의 pentadecanoic, heptadecanoic methyl ester를 얻었다. 이들의 분자이온 peak는 각각 m/z 242, 270, 256, 284를 나타내며 CH₂가 일정하게 fragmentation되는 것을 볼 수 있다. 이상의 값들은 문헌¹⁴에 알려진 값들과 잘 일치하였다. 이 중 홀수의 탄소를 갖는 지방산에 대해서는 표준물질들을 구입하여 GC-ms 스펙트럼을 이용한 보다 정확한 실험을 할 계획이다.

한국 여수 돌산도 해안에서 채집한 Hymeniacidonidae과의 *Hymeniacidon sinapium*(Demospongiae, Halichondrida) 해면으로부터는 sterol 혼합물 중에서 주성분 5 α -cholestan-3 β -ol과 함께 소량의 cholesterol을 확인하였다. ¹³C-NMR 스펙트럼 홀수 peak를 살펴보면 A, B고리를 이루는 메틸렌 탄소인 C-1, C-2, C-4, C-5, C-6, C-7, C-8, C-9, C-10(δ 37.0, 31.5, 38.2, 44.9, 28.8, 32.1, 35.5, 54.4, 35.5), C, D고리를 이루는 메틸렌탄소인 C-11, C-12, C-13, C-14, C-15, C-16, C-17(δ 21.3, 40.1, 42.6, 56.5, 24.2, 28.2, 56.3), OH기로 치환된 탄소 C-3(δ 71.3)이다. 이들은 알려진 5 α -cholestan-3 β -ol의 chemical shift와 일치하였다.¹⁵

이것의 GC-ms 스펙트럼을 얻기위하여 TMS 유도체를 만들었다. Molecular ion(m/z 460, 12%)과 메틸기가 떨어져 나간 M-15(m/z 445, 16%)의 peak가 특징이다. 해면에서는 일반적으로 cholesterol이 주성분인데 비하여 *Hymeniacidon sinapium*에서 주 sterol 성분은 5 α -cholestan-3 β -ol이었고 cholesterol은 소량 존재하였다.

지방산 에틸 에스터 성분 중에는 보편적인 팔미틴산, 올레인산 이외에 상당량의 arachidonic 산이 함유되어 있었다. 이것들의 구조를 ¹H-, ¹³C-NMR, GC-ms 스펙트럼에 의해 밝혔다.

같은 여수 돌산도 해안에서 채집한 미동정된 해면(동정을 의뢰중임)으로부터 wax 성분으로 tetradecanoic tetradecyl 및 hexadecyl ester를 확인하였다. GC-ms 스펙트럼에서 이들의 상대적인 양은 비슷

하였다. 분자이온 peak는 각각 m/z 424 및 452였고 두 화합물 모두에서 m/z 229 peak가 특징적으로 나타났다. Sterol 성분으로 5 α -cholestan-3 β -ol의 acetic¹⁶ 및 fatty acid ester¹⁷를 얻었다. 이들의 mass spectrum값은 문헌치¹⁶와 잘 일치하였다.

결 론

한국 소흑산도에서 채집한 해면 *V. japonica* H.를 유기용매로 추출한 다음 shorty funnel chromatography, preparative TLC로 분리 및 정제하여 보편적인 tetradecanoic, hexadecanoic methyl ester 이외에 가지달린(iso 및 anteiso형) 12-methyltetradecanoic(8), 14-methylpentadecanoic(9), 15-methylhexadecanoic(10), 14-methylhexadecanoic(11)와 탄소수가 홀수인 pentadecanoic, heptadecanoic methyl ester를 얻었다. Sterol성분으로는 cholesterol(1)이 주고 ergost-25-ene-3, 5, 6-triol(7)이 극소량 발견되었다.

여수 돌산도에서 채집한 해면 *H. sinapium*의 주 sterol 성분은 5 α -cholestan-3 β -ol이었고 cholesterol은 소량 존재하였다. 지방산 성분으로는 팔미틴산, 올레인산, 팔미토레인산, 스테아린산, 리놀레인산 이외에 상당량의 arachidonic산 에틸에스터가 함유되어 있었다. 상기 지역에서 채집한 또다른 해면에서는 상당량의 tetradecanoic tetradecyl 및 hexadecyl ester와 sterol 성분으로 cholesterol의 acetic 및 fatty acid ester가 함유되어 있었다.

실 험

¹H 및 ¹³C-NMR 스펙트럼은 Bruker WP 80 SY 80 MHz FT-NMR spectrometer를 사용했다. 모든 NMR 스펙트럼은 표준물질로 TMS를 사용했고 δ (ppm)으로 chemical shift를 나타냈으며 용매로 CDCl₃(δ 7.259)를 사용했다. GC-ms 스펙트럼은 Hewlett-Packard사의 GC 5890, column은 SE-30(16 m, 0.2 mm, 120/15/300)을, 질량분석기는 MS 5790, Quadrupole, EI를 이용하였다. Shorty funnel chromatography는 silicagel 60 H(Merck 7736)를 사용했으며 분리와 정제를 위한 column chromatography는 silicagel 및 sephadex LH-20(sigma)을 사용했다. 또한

preparative TLC는 silicagel 60 F 254(Merck 5554)을 사용했다. TLC에 나타난 spot은 UV lamp와 anisaldehyde solution, 진한 황산 spray 등으로 확인했다. 모든 유기용매는 증류, 건조하여 사용했으며 시약은 GR급을 사용했다.

채집과 추출. 시료는 1989년 한국 서해안 소록산도에서 채집한 이강해면(Heteropiidae) *Vosmaerospis japonica* Hozawa(Calcarea, Heterocoela) 570 g을 사용했다. 깨끗한 유리병에 젖은 해면을 넣고 메탄올에 3일간 담가 놓는다. 3일후 시료로부터 메탄올 추출액을 조용히 따라 내고 남아있는 시료에 pet. ether을 붓는다. 다시 3일후, pet. ether 추출액을 따라낸다. 동일한 방법으로 CH_2Cl_2 추출액을 얻는다. 각 유기용매 추출액에 대해 CH_2Cl_2 을 이용한 solvent partitioning을 실시하며 분액 깔때기로 유기층을 분리하고 물층(중류수)은 버린다. 유기층은 무수황산나트륨으로 건조시키고 rotary evaporator로 용매를 제거한 결과 메탄올, pet. ether 및 CH_2Cl_2 추출물 0.35 g, 2 g, 1.2 g이 각각 얻어졌다.

1987년 남해안 돌산도에서 채집한 해면 Hymeniacionidae과의 *Hymeniacion sinapium*(Demospongiae, Halichondrida) 500 g의 시료를 위와 동일한 방법으로 추출한 결과 각 추출물 메탄올(0.5 g), pet. ether(4.1 g), 및 CH_2Cl_2 (4.2 g)이 얻어졌으며, 상기지역에서 채집한 미동정된 해면(동정을 의뢰중임) 450 g으로부터 메탄올, pet. ether 및 CH_2Cl_2 추출물이 각각 0.3 g, 1.5 g, 1.0 g 얻었다.

크로마토그래피를 이용한 sterol 및 지방산 에스터(crude)의 분리. 한국 서해안 소록산도에서 채집한 것은 해면(*V. japonica* H.)의 메탄올, pet. ether 및 CH_2Cl_2 추출물에 대한 각각 shorty funnel chromatography 분리를 했고, 여러 혼합용액의 극성을 높여가며 분리한 8개 부분이 얻어졌다. 2개 추출물 모두에서 염화 메틸렌의 20% EtOAc로부터 sterol 성분의 혼합물이 얻어졌다. 이들을 silicagel 및 sephadex LH-20을 이용한 column chromatography를 하였고, TLC(CH_2Cl_2)로 전개시킨 결과 주 sterol 성분으로 여겨지는 spot가 R_f 0.24에서 나타났다. Preparative TLC(CH_2Cl_2 : n-hexane : EtOAc = 4 : 2 : 0.2)로 재분리해 R_f 0.30으로부터 주 sterol 성분인 5 α -cholest-3 β -ol 37 mg을 얻었으며 R_f 0.28에서

소량의 ergost-25-ene-3, 5, 6-triol이 얻어졌다. 이들 중 5 α -cholest-3 β -ol은 ^1H - 및 ^{13}C -NMR로서 확인하였으며 ergost-25-ene-3, 5, 6-triol은 GC-ms 스펙트럼으로부터 확인하였는데 R_t = 11.063분에서 나타났다.

2개 추출물 100% 염화메틸렌 부분으로부터 지방산 메틸에스터 혼합물이 얻어졌다. 이들을 sephadex LH-20 및 silicagel을 이용한 column chromatography를 하였고, 또한 preparative TLC(CH_2Cl_2 : n-hexane = 2 : 3)로 전개시킨 결과 anisaldehyde 용액 및 황산 spray에 의해 R_f 0.44에서 지방산 메틸에스터 혼합물이 얻어졌다. 이를 GC-ms 스펙트럼으로부터 확인한 결과 4개의 가지달린 지방산 메틸에스터와 4개의 포화된 지방산 메틸에스터를 얻었는데, 12-methyltetradecanoic, 14-methylpentadecanoic, 15-methylhexadecanoic, 14-methylhexadecanoic, tetradecanoic, pentadecanoic, hexadecanoic, 및 heptadecanoic methyl ester의 retention time은 각각 R_t = 6.085, 6.608, 7.149, 7.207, 5.703, 6.240, 6.891, 7.337분으로 나타났다.

한편, 남해안 돌산도에서 채집한 것은 해면(*H. sinapium*)으로부터 얻은 추출물을 위와 동일한 방법으로 실험한 결과 3개 추출물 모두에서 염화 메틸렌의 20% EtOAc부분으로부터 sterol 혼합물이 얻어졌다. TLC(CH_2Cl_2 : ether : n-hexane = 3 : 1 : 0.8)로 전개시킨 결과 주 sterol 성분으로 여겨지는 spot가 R_f 0.37에 나타났으며, preparative TLC(CH_2Cl_2 : n-hexane = 3 : 1.2)로 재분리해 R_f 0.25 band로부터 주 sterol 성분인 5 α -cholestan-3 β -ol과 소량의 cholesterol이 얻어졌다. 이들을 GC-ms 스펙트럼으로 확인하기 위하여 TMS 유도체를 만들었으며 retention time은 각각 R_t = 11.031, 10.556으로 나타났다.

2개 추출물 100% 염화메틸렌 부분으로부터 지방산 에틸 에스터 혼합물이 얻어졌는데, TLC(CH_2Cl_2 : n-hexane = 3 : 2)로 전개시킨 결과 R_f 0.63에서 spot가 나타났다. Preparative TLC(CH_2Cl_2 : n-hexane = 1.5 : 2)로 재분리하여 R_f 0.33 band로부터 지방산 에틸에스터 혼합물이 얻어졌다.

미동정된 해면(동정을 의뢰중임) 2개 추출물 100% 염화메틸렌 부분으로부터 TLC(CH_2Cl_2 : n-hexane = 1 : 1.6)으로 전개시킨 결과 R_f 0.65에서 tet-

radecanoic tetradecyl 및 hexadecyl ester 혼합물이 얻어졌다. 이들을 확인하기 위하여 GC-ms 스펙트럼을 얻었는데, 각각의 $R_f=12.264, 10.589$ 으로 나타났다. TLC($\text{CH}_2\text{Cl}_2 : n\text{-hexane}=3 : 1$)로 전개시켜 R_f 0.87에서 5 α -cholestan 3 β -ol acetate가 얻어졌으며, TLC($\text{CH}_2\text{Cl}_2 : n\text{-hexane}=1 : 1.6$)로 전개시킨 결과 R_f 0.64에서 spot가 나타났다. Preparative TLC($\text{CH}_2\text{Cl}_2 : n\text{-hexane}=1 : 2.8$)로 재분리해 R_f 0.50 band로부터 5 α -cholestan-3 β -ol 지방산 에스터를 얻었다.

보충물 : 화합물 7, 8, 9, 10, 11의 NMR 및 Mass spectral data는 요구하면 제공하겠음.

본 연구는 1989년도 문교부 기초과학육성연구비의 지원에 의한 것임.

인 용 문 헌

- L. J. Goad, in "Marine Natural Products", Vol. 2, ed., P. J. Scheuer, Academic Press, New York, 75(1978).
- O. W. Portman, in "Adv. in Lipid Research", Vol. 8, R. Paoletti and D. Kritchevsky ed., Academic Press 41(1970).
- R. R. West and J. H. Cardellina, *J. Org. Chem.*, **53**, 2782(1988).
- D. Faulkner, *J. Nat. Prod. Rep.*, **1**, 155(1984) ; **3**, 1(1986) ; **4**, 539(1987)
- J. D. Weete, in "Lipid Biochemistry of Fungi and Other Organisms", Plenum Press, New York, 49 (1980)
- K. D. Barrow, in "Marine Natural Products", Vol. 5, ed. P. J. Scheuer, Academic Press, New York, 52(1983)
- K. D. Barrow, *ibid.*, 51(1983).
- $^{13}\text{C-NMR}(\text{CDCl}_3)$ δ 37.2(C-1), 31.8(C-2), 71.8(C-3), 42.2(C-4), 141.0(C-5), 119.8(C-6), 32.0(C-7), 32.1(C-8), 50.0(C-9), 36.3(C-10), 21.0(C-11), 28.2(C-12), 42.2(C-13), 56.3(C-14), 24.2(C-15), 39.3(C-16), 56.0(C-17), 12.0(C-18), 19.2(C-19), 35.8(C-20), 18.8(C-21), 36.0(C-22), 23.8(C-23), 39.0(C-24), 28.0(C-25), 22.5(C-26), 22.8(C-27) ; $^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$ δ 3.57(C-3, m, 1H), 5.31(C-6, m, 1H), 0.66(C-18, s, 3H), 1.01(C-19, s, 3H), 0.86, 0.93(C-21, d, 3H)
- M. Kobayashi, T. Nakagawa, and H. Mitsushashi, *Chem. Pharm. Bull.*, **31**, 1848(1983).
- Heller and Milne, NSRDS-NBS 63, EPA/NIH Mass Spectral Data Base, Vol.4, 3310(1978).
- F. W. McLafferty, in "Interpretation of Mass Spectra", Benjamin, 61(1973).
- K. Ubik and M. Streibl, *Collection Czechoslov. Chem. Commun.*, **40**, 2826(1975).
- Heller and Milne, NSRDS-NBS 63, EPA/NIH Mass Spectral Data Base, Vol. 3, 1820, 1957, 2090, 2091(1978).
- Heller and Milne, NSRDS-NBS 63, EPA/NIH Mass Spectral Data Base, Vol. 3, 1675, 1820, 1957, 2090(1978).
- Hanne E, Craig L., VanAntwerp, and C. Djerassi *J. Org. Chem.*, **41**, 71(1976).
- El mass spectrum(70 ev), m/z 370(M-60, $\text{CH}_3\text{CO}_2\text{H}$), 355(M-75, $\text{CH}_3\text{CO}_2\text{H}$, CH_3), 317(M-side chain), 257(M-60-side chain).
- $^{13}\text{C-NMR}(\text{CDCl}_3)$ δ 36.8(C-1), 27.6(C-2), 73.5(C-3), 34.1(C-4), 44.7(C-5), 28.7(C-6), 32.0(C-7), 35.8(C-8), 54.3(C-9), 35.5(C-10), 21.2(C-11), 40.0(C-12), 42.6(C-13), 56.5(C-14), 24.2(C-15), 28.2(C-16), 56.3(C-17), 12.2(C-18), 12.1(C-19), 35.8(C-20), 21.2(C-21), 36.2(C-22), 24.2(C-23), 39.5(C-24), 28.0(C-25), 22.7(C-26), 22.8(C-27), 지방산의 이중결합탄소(δ 129.0, 128.9), 메틸렌탄소(δ 29.7, 29.5, 29.3, 29.1), 말단의 탄소(δ 14.1)
- Heller and Milne, NSRDS-NBS 63, EPA/NIH Mass Spectral Data Base Vol. 4, 3254, 3298, 3403 (1978).