

민챙이(*Bullacta exarata*)의 화학성분 연구

金演圭[†] · 朴善求 · 朴麗惠 · 崔炳來* · 明承云**

성균관대학교 화학과

*성균관대학교 생물학과

**한국과학기술연구원 도핑콘트롤센터

(1991. 6. 12 접수)

The Chemical Constitutes of Marine Mollusca *Bullacta exarata*

In Kyu Kim[†], Sun Ku Park, Sung-Hye Park, Byung Lae Choe*, and Seung-Woon Myung**

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

*Department of Biology, Sung Kyun University, Suwon 440-746, Korea

**Korea Institute of Science and Technology, Dopping Control Center, Seoul 130-650, Korea

(Received June 12, 1991)

요 약. 한국 서해 상낙월도에서 채집한 연체 동물인 *Bullacta exarata*로부터 통상적인 9-hexadecenoic acid ethyl ester 이외에 불포화된 all-cis-5,8,11,14-eicosatetraenoic(arachidonic), 7,10,13-hexadecatrienoic, 10,13-octadecadienoic acid ethyl ester 및 상당량의 glyceryl ether인 chimyl alcohol이 검출되었다.

ABSTRACT. Unsaturated all-cis-5,8,11,14-eicosatetraenoic(arachidonic), 7,10,13-hexadecatrienoic, 10,13-octadecadienoic acid ethyl ester and a lot of chimyl alcohol were isolated along with common 9-hexadecenoic acid ethyl ester from marine mollusca *Bullacta exarata* collected from sangnackworl island in the Korea sea. In addition, cholesterol and its fatty acid ester were obtained. Their structures were deduced from ¹H- and ¹³C-NMR, GC-ms, and FT-IR spectra.

서 론

최근에 와서 해양생물로부터 항박테리아, 항바이러스, 항암제 등이 발견되고 있어 해양 생물에 대한 관심이 크게 고조되고 있다. 한 예로 didemnin B는 바다 달팽이 *Trididemnum* 종으로부터 얻어진 천연물인데, 미국 보건성의 암연구소가 지난 20여년간 조사한 18,000 해양 생물 성분 중 항종양 기능이 가장 뛰어났으며¹, 현재 임상에서 가장 널리 쓰이는 Cyclospoin보다 1/1000 농도에서 똑같은 면역억제 능력이 있음이 입증되었고², 현재 임상실험과정이 곧 끝날 예정으로 있는 가장 유망한 항종양제이다³.

특히 해양 Nudibranchia 목은 접질을 지니지 않은 채 다른 바다 육식 동물로부터 자신을 보호해야 하기 때문에 자체 방어를 위한 강력한 화학적 방어제를 지니고 있을 것이라는 추리로부터 이들의

생리활성물질을 얻으려는 연구가 활발하다.

본 연구에서는 한국 서해 상낙월도 갯벌에서 채집한 민챙이(*Bullacta exarata*, Mollusca, Gastro-



Bullacta exarata

poda, Opisthobranchia, Cephalospidea, Haminoidea, Ballactinae)의 유기용매 추출물로부터 대사물질을 분리해 그 화학적 구조를 밝히고자 하였다. 민챙이는 박테리아가 많은 저저분한 갯벌에서 서식한다는 점을 고려하여 여러 형태의 생리활성을 갖는 성분이 있지 않을까 하는 추측으로부터 실험을 하게 되었다.

실 험

^1H - 및 ^{13}C -NMR 스펙트럼은 Bruker WP 80SY 80 MHz FT-NMR을 사용하였다. 모든 NMR 스펙트럼은 표준물질로 TMS를 사용했고 δ (ppm)으로 chemical shift를 나타냈으며, 용매로 CDCl_3 (δ 7.259)를 사용했다. FT-IR spectrometer는 Analect fx-600을 사용했으며, GC-ms는 Hewlett-Packard사의 HP 5890A Gas chromatography와 HP5988A Mass Spectrometer를 사용했으며 column은 SE-30(16 m \times 0.2 mm i.d, 0.33 μm th), injection temperature : 290°C, oven temperature : 120°C/(20°C/min)/300°C, transfer line temperature : 300°C 그리고 carrier gas로는 He(1 mmL/min)를 사용했다. Shorty funnel chromatography는 silica-gel 60H(Merck 7736)를 사용했으며 분리와 정제를 위한 column chromatography는 silica-gel 및 sephadex LH-20-100(sigma)을 사용했다. 또한 preparative TLC는 silicagel 60 F₂₅₄(Merck 5554)를 사용했다. TLC에 나타난 spot는 UV lamp와 anisaldehyde solution, 진한 황산 spray 등으로 확인했다. 모든 유기용매와 초자는 증류, 건조하여 사용했으며 시약은 GR급을 사용했다.

채집과 추출. 시료는 1989년 8월 16일 한국 서해 상낙월도 갯벌에서 채집된 젓은(fresh) 연체동물인 민챙이(*Bullacta exarata*) 502 g을 껍질을 벗겨 사용했다. 깨끗한 유리병에 젓은 민챙이를 넣고 에탄올에 3일간 담가 놓는다. 3일 후, 시료로부터 에탄올 추출액을 조용히 따라내고 남아있는 시료에 pet. ether를 붓는다. 다시 3일 후, pet. ether 추출액을 따라내고 동일한 방법으로 CH_2Cl_2 추출액을 얻는다. 각 유기용매의 추출액에 대해 CH_2Cl_2 를 이용한 solvent partitioning을 실시하며 분액 깔때기로 유기

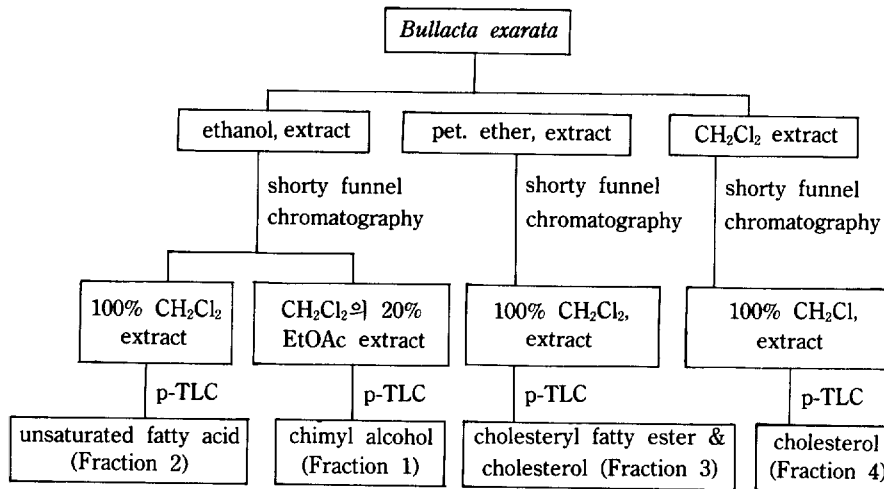
층을 분리하고 증류수층은 버린다. 유기층을 무수 황산나트륨으로 건조시키고 rotary evaporator로 용매를 제거한 결과 에탄올(1.5 g), pet. ether(1.2 g), CH_2Cl_2 추출액(1.0 g)이 얻어졌다.

크로마토그래피를 이용한 sterol, chimyl alcohol 및 지방산 ethyl ester(crude)의 분리. 젓은(fresh) 민챙이의 에탄올, pet. ether 및 CH_2Cl_2 추출물에 대해 각각 shorty funnel chromatography 분리를 했고 여러 혼합용액의 극성을 높여가며 분리한 결과 에탄올 추출물로부터 주로 chimyl alcohol(Fraction 1)과 불포화 지방산 혼합물(Fraction 2), pet. ether 추출물로부터 주로 cholesteryl fatty ester와 cholesterol(Fraction 3), methylene chloride 추출물로부터 주로 cholesterol(Fraction 4)(Scheme 1 참조)의 4개 부분이 얻어졌다.

Fraction 2~4를 다시 shorty funnel chromatography한 결과 100% methylene chloride 부분으로부터 sterol 성분의 혼합물과 지방산 ethyl ester 혼합물이 얻어졌다. 이들을 silica-gel 및 sephadex LH-20-100을 이용한 column chromatography를 하였고 TLC(CH_2Cl_2 : n-hexane : EtOAc : pet. ether = 3 : 4.2 : 0.6 : 1)로 전개시킨 결과 주 sterol 성분으로 여겨지는 spot가 Rf 0.27로부터 cholesterol (120 mmg)을 얻었으며, preparative TLC(CH_2Cl_2 : n-hexane : pet. ether = 1 : 3 : 2)에서 spot가 Rf 0.44인 cholesteryl fatty acid ester(87 mmg)가 얻어졌다. 또한 preparative TLC(CH_2Cl_2 : n-hexane = 4 : 1)로 전개시킨 결과 지방산 ethyl ester 혼합물이 Rf 0.66에서 나타났다. p-TLC(CH_2Cl_2 : n-hexane = 1 : 1)로 재분리하여 anisaldehyde solution 및 황산 spray에 의해 Rf 0.68에서 지방산 ethyl ester 혼합물(112 mmg)이 얻어졌다. 이를 ^1H - 및 ^{13}C -NMR, GC-ms 스펙트럼으로부터 확인하였다.

지방산 ethyl ester 혼합물의 GC-ms 스펙트럼으로부터 4개의 불포화 지방산인 arachidonic acid(4), 7,10,13-hexadecatrienoic acid(2), 10,13-octadecadienoic acid(5), 9-hexadecenoic acid ethyl ester가 검출되었다.

Fraction 1를 다시 shorty funnel chromatography한 결과 methylene chloride와 20% EtOAc 부분으로부터 glyceryl ether 성분이 얻어졌다. 이들을



Scheme 1

silicagel 및 sephadex LH-20-100을 이용한 column chromatography를 하였고, preparative TLC(CH₂Cl₂ : n-hexane : EtOAc : MeOH=3 : 2 : 1 : 0.4)로 전개시킨 결과 Rf 0.48에서 chymyl alcohol(96 mmg) (3)이 얻어졌다. 이를 ¹H- 및 ¹³C-NMR, GC-ms, FT-IR 스펙트럼으로부터 확인하였다.

Cholesterol : ¹³C-NMR(22.5 MHz, CDCl₃) δ37.2, 31.8, 71.8, 42.2, 141.0, 119.8, 32.0, 32.1, 50.0, 36.3, 21.0, 28.2, 42.2, 56.3, 24.2, 39.3, 56.0, 12.0, 19.2, 35.8, 18.8, 36.0, 23.8, 39.0, 28.0, 22.5, 22.8

Chymyl alcohol(3) : ¹H-NMR(80 MHz, CDCl₃) δ3.83(m, 1H), 3.52(m, 4H), 3.6~3.7(m, 2H), 2.30(s, 2H), 0.89(t, 3H) ; ¹³C-NMR(22.5 MHz, CDCl₃) δ72.54, 71.88, 70.46, 64.33, 31.92, 29.67, 29.60, 29.47, 29.35, 26.10, 22.68, 14.08 ; IR(CHCl₃) 3352, 2919, 2880, 1120 cm⁻¹ ; ms(CI) m/z 316.42(17%, M), 317.45(100%, M+H), 345.55(12%, M+C₂H₅), 357.45(5%, M+C₃H₇) ; ms(EI) m/z 285(3.23%, M-CH₃O), 255(8.33%, M-C₂H₅O₂), 225(9.68%, M-C₃H₇O₃), 169(3.20%), 152(6.45%), 57(100%)

Arachidonic acid ethyl ester(4) : ms(EI) m/z 261(2%, M-C₅H₁₁), 201(5%), 194(3%, M-C₁₀H₁₈), 175(5%), 161(7%), 79(100%) ; IR(CHCl₃) 3000~3100, 1740, 1640 cm⁻¹

7,10,13-hexadecatrienoic acid ethyl ester(2) : ms(EI) m/z 278(4%, M), 232(2%, M-CH₃CH₂OH),

157(2%, M-C₉O₂H₁₇), 149(18%, M-C₁₂H₁₉), 129(3%, M-C₇O₂H₁₃), 121(16%, M-C₁₀H₁₅), 79(100%)

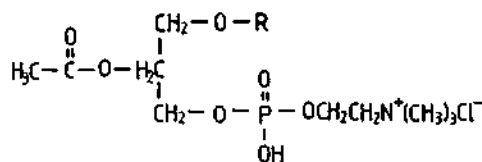
10,13-octadecadienoic acid ethyl ester(5) : ms(EI) m/z 308(13%, M), 262(15%, M-CH₃CH₂OH), 220(7%, M-C₃O₂H₆), 178(8%, M-C₇O₂H₁₄), 164(11%, M-C₈O₂H₁₆), 150(19%, M-C₉O₂H₁₈), 136(15%, M-C₁₀O₂H₂₀), 81(100%), 67(83%)

9-hexadecenoic acid ethyl ester : ms(EI) m/z 282(4%, M), 236(12%, M-CH₃CH₂OH), 194(11%, M-C₄O₂H₈), 157(3%, M-C₉H₁₇), 125(9%, M-C₉O₂H₁₇), 88(61%, M-C₁₄H₂₆), 55(100%)

결과 및 고찰

한국 서해 상낙월도 갯벌에서 채집한 연체동물인 민챙이(*Bullacta exarata*)를 시료로 사용하였다. 젖은(fresh) 민챙이를 에탄올, pet. ether 및 CH₂Cl₂의 순서로 계속적으로 추출하였다. 각각의 추출물을 용매의 극성을 높여가며 shorty funnel chromatography로 분리했고 100% methylene chloride 부분에서 지방산 ethyl ester 혼합물과 cholesteryl fatty acid ester가 얻어졌으며, methylene chloride의 20% EtOAc 부분에서 sterol 혼합물과 glyceryl ether가 얻어졌다. 이들을 preparative TLC로 분리 정제하여 cholesterol과 4개의 불포화된 지방산 ethyl ester 및 glyceryl ether인 (+)-3-hexadecy-

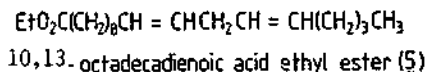
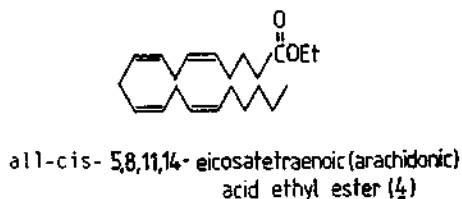
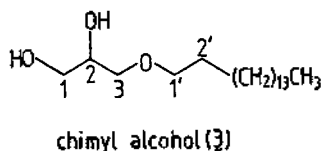
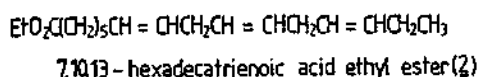
loxy-1,2-propanediol(chimyl alcohol 3)을 얻었다. 1-O-hexadecylglycerol은 담수어(*Oligocottus maculosus*)에 대하여 antifeedant 활성을 갖고 있으며⁶, *Staphylococcus aureus*에 대하여 antibacterial 활성을 띠고 있다⁷.



R : alkyl

1-O-alkyl-2(R)-acetylglyceryl-3-phosphorylcholine (1)

특히 관심을 끄는 것은 glycerol ether phospholipid인 1-O-alkyl-2(R)-acetylglyceryl-3-phosphorylcholine(1)인데 이것은 혈소판을 활성화시키는 인자이며 이외에도 근육 수축, 혈관 침투, 저혈압, 염증성 질환, 호흡기 및 심장 질환과 관련이 있는 것으로 밝혀졌다⁴.



4개의 지방산 성분 중에는 all-cis-5,8,11,14-eicosatetraenoic(arachidonic) acid ethyl ester(4)가 주 성분으로 얻어졌으며, 7,10,13-hexadecatrienoic acid (2), 10,13-octadecadienoic acid(5), cis-9-hexadecenoic acid ethyl ester가 소량으로 발견되었다. 이들의 구조를 ¹H- 및 ¹³C-NMR, GC-ms, GC-FTIR 스펙트럼에 의해 밝혔다.

Cholesterol은 ¹H- 및 ¹³C-NMR spectra로부터

쉽게 알 수 있었다. 미량으로 얻어진 cholesteryl fatty acid ester를 ¹H- 및 ¹³C-NMR로 확인하였다; ¹H-NMR의 스펙트럼, C-3 양성자(δ4.3-4.8, m, 1H), Δ⁵위치의 고리안 이중결합 탄소 C-6 양성자(δ5.31, m, 1H), 카르보닐 옆의 α-탄소의 메틸렌 양성자(δ 2.3, t, 2H); ¹³C-NMR 스펙트럼⁵, 치환된 탄소 C-3(δ 73.5), 고리안 이중 결합의 탄소 C-5, C-6(δ139.5, 122.4), 카르보닐 탄소(δ172.8)이다. 이상의 peak는 cholesteryl oleate(Aldrich)값과 일치하였다.

Methylene chloride의 20% EtOAc 부분을 column chromatography로 분리하고 최종적으로 p-TLC한 결과 glyceryl ether인 chimyl alcohol(3)이 얻어졌다. 이를 ¹H- 및 ¹³C-NMR, GC-ms, FT-IR로 확인하였다. ¹H-NMR 스펙트럼은 C-2 양성자(δ3.83, m, 1H), C-3와 C-1' 양성자(δ3.52, m, 4H), C-1 양성자(δ3.6-3.7, m, 2H), OH기의 양성자(δ2.30, s, 2H), 말단의 양성자(δ0.89, m, 3H)의 흡수 peak를 나타낸다. ¹³C-NMR 스펙트럼의 흡수 peak를 살펴 보면, C-1 위치의 탄소(δ64.1), C-2의 탄소(δ70.2), C-3(δ72.2), C-1'(δ71.5)이다. 이상의 peak는 문헌치⁶와 완전히 일치하였다. GC-ms 스펙트럼으로부터 methane gas를 이용한 CI 조건에서 분자량을 알아냈으며, EI에서는 각 fragmentation을 검토하였다; m/z(CI) 316.42(17%, M), 317.45(100%, M+H), 345.55(12%, M+C₂H₅), 357.45(5%, M+C₃H₅); m/z(EI) 285(M-31, +CH(OH)CH₂OCH₂(CH₂)₁₄CH₃), 255(M-61, +CH₂OCH₂(CH₂)₁₄CH₃), 225(M-91, +CH₂(CH₂)₁₄CH₃) 이상의 값은 문헌치⁷와 완전히 일치하였다.

100% methylene chloride 부분으로부터는 불포화된 지방산 arachidonic acid(4), 7,10,13-hexadecatrienoic acid(2), 10,13-octadecadienoic acid(5), 9-hexadecenoic acid ethyl ester를 얻었다. 이들은 GC-ms 스펙트럼으로 확인하였는데, 주성분은 arachidonic acid ethyl ester(4)였다.

Arachidonic acid ethyl ester(4)의 molecular ion peak는 확인되지 않았으며, 7,10,13-hexadecatrienoic acid(2), 10,13-octadecadienoic acid(5), 9-hexadecenoic acid ethyl ester의 molecular ion peak는 각각 m/z 278, 282, 308를 나타냈고, 에탄올이 떨어져나간 peak가 각각 m/z 232, 236, 262

임을 볼 수 있었다. 9-hexadecenoic acid ethyl ester에서는 McLafferty rearrangement로 인한 m/z 88 peak가 특징적으로 나타났다. 이상의 값들은 문헌⁸에 알려진 값들과 일치하였으며 이외에도 NBS Mass Spectra Data Base를 이용한 arachidonic(4), 7,10,13-hexadecatrienoic(2), 10,13-octadecadienoic(5), 9-hexadecenoic acid ethyl ester의 Library Searching과도 일치하였다(Match Quality 각각 9075, 8821, 9378, 8514). 이들을 GC-FTIR로 확인하였는데 여기에 대한 data는 다음과 같다. Allylic C-H stretching의 진동수 3000~3100 cm^{-1} , 이중 결합인 C=C의 진동수 1640 cm^{-1} , 카르보닐의 C=O은 1740 cm^{-1} 에서 나타났다.

결 론

질병퇴치를 위한 의약품의 연구가 주로 육지 생물에 치우쳐 왔지만 최근래에 와서 해양 생물로부터 항박테리아, 항바이러스, 항암제 등이 발견되고 있어 해양 생물에 대한 관심이 크게 고조되고 있다. 본 연구에서는 한국 서해 상낙월도 갯벌에서 채집한 연체동물인 민챙이(*Bullacta exarata*)를 유기용매로 추출한 다음 shorty funnel chromatography, preparative TLC로 분리, 정제하였다. Glyceryl ether chmyl alcohol(3)을 얻었으며, 지방산으로는 arachidonic acid(4), 7,10,13-hexadecatrienoic acid(2), 10,13-octadecadienoic acid(5), 9-hexadecenoic acid ethyl ester가 발견되었다. Sterol 성분으로는 chole-

sterol이 주었고, 이것의 지방산 ester가 소량으로 발견되었다.

이들을 ^1H - 및 ^{13}C -NMR, GC-ms, GC-FTIR 스펙트럼으로부터 확인하였다.

본 연구는 1990년도 문교부 기초과학 육성연구비의 지원에 의한 것임.

인 용 문 헌

1. P. J. Scheuer (edi.), "Bioorganic Marine Chemistry", P131, Springer-Verlag, 1989.
2. 미국 보전성. 1986년 3월 News Letter.
3. 약사 공론, 1990년 5월 31일자.
4. M. Sugano, T. Shindo, A. Sato and T. Hata, *J. Org. Chem.*, **55**, 5803 (1990).
5. ^{13}C -NMR(CDCl_3 , 22.5 MHz) 8172.8, 139.5, 129.8, 129.6, 122.4, 73.5, 56.6, 56.2, 50.0, 42.3, 39.7, 39.5, 38.1, 37.0, 36.5, 35.8, 34.5, 31.8, 29.6, 29.5, 29.3, 29.2, 29.0, 28.2, 27.9, 27.8, 27.1, 24.9, 24.2, 23.8, 22.7, 22.6, 22.5, 21.0, 19.2, 18.7, 14.0, 11.8.
6. a) N. N. Do and K. L. Erickson, *Tetrahedron Letters*, **24**, 5699 (1983).
b) K. Gustafson and R. J. Anderson, *Tetrahedron*, **41**, 1101 (1985).
7. G. R. Pettit and Y. Fujii., *Journal of Natural Products*, **45**, 640 (1982).
8. Heller and Milne, NSRDS-NBS 63, EPA/NIH Mass Spectral Data Base, Vol. 2, Vol. 3, 1899, 1933, 2182, 2581.