

Mass Spectrometer를 이용한 대두 배아 추출 Cerebroside의 구조 분석

김정훈[†] · 장석운 · 김여경

럭키 생활용품, 화장품 연구소 분석 연구실

(1993. 7. 28. 접수)

Structural Determination of Cerebrosides from Soybean Embryo by Mass Spectrometer

Jung-Hun Kim[†], Sug-Youn Chang, Yeo-Kyung Kim

Lucky Household Goods / Cosmetics R&D Institute, #150, Song Jong-Dong, Cheong-Ju 360-290, Korea

(Received Jul. 28, 1993)

요약 : Fast atom bombardment mass spectrometer(FAB-MS), gas chromatography mass spectrometer(GC-MS), TLC 등을 이용하여 대두 배아 추출 cerebroside의 구조를 분석하였다. Cerebroside를 이루고 있는 각각의 구성 성분은 화학적인 산분해 후 GC-MS로 분석하였다. Cerebroside의 분자량 분포는 LiOH로 포화된 3-nitrobenzyl alcohol(3-NBA)를 matrix로 한 양이온 검출 FAB-MS법으로 측정하였다. FAB-MS와 GC-MS 결과를 종합하여 cerebroside의 구조를 해석함으로써 기존의 분석법이 가지고 있던 문제점을 개선하였다. 대두 배아로부터 추출한 cerebroside의 대부분은 N-2'-hydroxy palmitoyl-sphingadienine에 당이 한 분자 결합된 형태로 존재하였으며 그 조성이 매우 단순하였다.

Abstract : The structure of cerebrosides from soybean embryo was determined using fast atom bombardment mass spectrometer(FAB-MS), gas chromatography mass spectrometer(GC-MS) and TLC. The components of cerebroside were determined by GC-MS after acid hydrolysis. The molecular weight distribution of cerebroside was measured by positive mode FAB-MS with LiOH saturated 3-nitrobenzylalcohol(3-NBA) matrix. Structures of individual components of complex mixtures can be determined easily by this process. The major constituent of soybean extracted cerebroside was determined as the glucoside of N-2'-hydroxypalmitoyl-sphingadienine.

Key words : Cerebroside, Soybean Embryo, FAB-MS, GC-MS.

1. 서론

Sphingolipid의 일종인 cerebroside는 long chain sphingoid base와 fatty acyl chain, 그리고 당으로 이루어져 있는 물질로 1974년 영국의 화학자 Thudichum이 최초로 존재를 확인한 이후로 많은 연구가 진행되어 가장 대표적인 long chain sphingoid base인 sphingosine과 phytosphingosine의 구조가 각각 1960년과 1963년에 밝혀졌다.¹

Sphingolipid는 plasma membrane에는 어디에나 존재하는 물질로 cellular recognition의 receptor 역할 등을 하는 것으로 알려져 있다.²⁻⁴ 또한 피부 각질층내 이중 지질막의 주요 성분인 ceramide는 cerebroside의 효소 분해에 의해 생성되며 지질막의 차단 및 보습 기능에 가장 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다.⁵⁻⁶

Cerebroside의 화학적 구조는 biological activity에 따라 상당히 다르기 때문에 그 구조를 밝히는 일은 오랫동안 분석화학자들의 관심을 끌여왔다. Cerebroside의 일반적인 구조는 Fig. 1에 나타내었다. Cerebroside를 분석하기 위한 초기의 방법은 여러 가지 방법으로 추출한 glycolipid를 TLC로 확인하는 방법이었다.⁷⁻¹⁰ 이 방법은 복잡한 시료로부터 cerebroside의 존재를 확인하는 데 사용될 뿐만 아니라 cerebroside의 분리 정제 수단으로도 유용하기 때문에 최근까지도 많이 사용되고 있다. Cerebroside의 구조 해석에 관한 연구는 여러 가지 방법으로 수행되었으며 초기의 방법은 화학적

인 분해 후 그때 생기는 long chain sphingoid base와 fatty acid를 GC로 분석하는 방법이었다.¹¹⁻¹² 이러한 GC 방법은 후에 GC-MS 분석법으로 개선되었다.¹³⁻¹⁴ 또한 분해된 long chain sphingoid base를 여러 가지로 유도체화시켜 해석하는 방법도 보고되었다.¹⁴ 그러나 이러한 GC나 여러 가지 유도체화 반응에 의한 분석법은 분석 과정이 복잡하여 시간이 많이 필요할 뿐만 아니라 화학적으로 분해되기 전의 구조를 명확하게 알 수 없다는 단점이 있다.

이러한 이유로 최근에는 원래의 분자구조에 거의 손상을 주지 않고 전체 구조를 해석하는 방법으로 FAB-MS법과 CID(Collision Induced Dissociation)를 이용한 기술이 응용되었다.¹⁵⁻¹⁶ 이 기술은 시료의 분자량과 CID에 의한 fragment pattern을 이용하여 구조를 추정하는 방법으로 매우 간단하게 cerebroside의 구조를 유추할 수 있다는 장점이 있다. 그러나 FAB 및 CID에 의한 cerebroside의 fragment pattern을 해석하기 위해서는 isotope의 사용 등 어려움이 많기 때문에 현재까지 거의 연구가 되어 있지 않아 해석이 난해할 뿐만 아니라 matrix ion과 impurity에 의한 간섭도 심하여 FAB-MS와 CID data만으로는 정확한 구조를 밝히는 일이 어렵다.

본 논문에서는 이러한 화학적 분해에 의한 분석법과 FAB-MS에 의한 분석법을 결합하여 각 분석법들의 문제점을 해결하고 빠른 시간내에 cerebroside의 전체 구조를 규명할 수 있는 방법에 대하여 연구하였다.

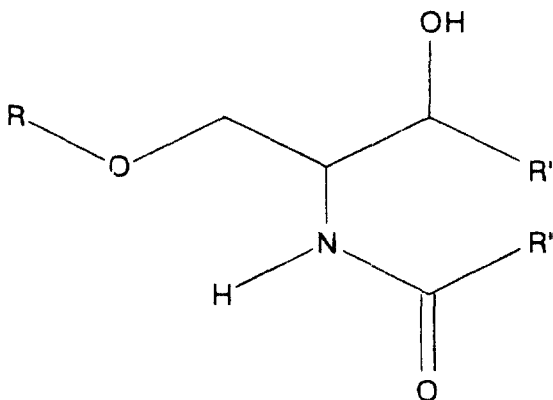


Fig. 1. General Structure of Cerebroside.

- R : Sugar
 R' : $\text{CH}_2=\text{CH}(\text{CH}_2)_{12}\text{CH}_3$ or $(\text{CH}_2)_{14}\text{CH}_3$
 R'' : Fatty Acyl Chain

2. 실험

2. 1. 기기

본 연구에서 사용된 질량 분석기는 forward geometry(EB)를 갖는 JEOL사의 JMS-AX505H Mass Spectrometer를 사용하였다. 여기에는 FAB gun과 FAB controller(MS-FAB09)가 부착되어 있으며 Hewlett Packard사의 5890 Seriee II Capillary GC가 직접 연결되어 있다. Cerebroside 산분해물을 분리하기 위하여 HP-5 Fused Silica Capillary column을 사용하였다. 질량 분석기로부터 나오는 data는 먼저 JEOL사의 Acquisition Process Unit(APU-7000S)에서 받아 1차 처리한 후 HP 9000 Series 375+ main processor로 보내 처리하였다. 모든 측정 data는 JEOL사의 Complement Version 1.53 data

processing program으로 분석하였다.

Cerebroside를 TLC로 분리 정제하기 위하여 CAMAG사의 Linomet IV TLC Sampler와 Merck사의 Pre-coated Glass TLC Plate(Silica Gel 60)을 사용하였다.

2. 2. 시약 및 재료

실험에 사용한 cerebroside는 당 연구소에서 대두 배아로부터 추출 정제한 것이었으며 이와 상호 비교를 위하여 대조 실험을 위한 표준품으로 Sigma사의 galacto-cerebroside(from Bovine brain)를 사용하였다. 시료를 녹이기 위한 용매로 chloroform(시약 1급)과 Baxter사의 methanol(HPLC급)을 2:1(v/v)로 섞어 사용하였다. FAB-MS 실험시 양이온 검출 mode에서는 3-nitrobenzyl alcohol(NBA)를 사용하였고 음이온 검출 mode에서는 triethanolamine(TEA)을 matrix로 사용하였다. Xe은 research급(99.95% : East Rutherford, New Jersey, USA)를 사용하였다. 시료의 산분해와 추출을 위해서는 염산(시약 특급, 35%)와 n-hexane(시약 1급), diethyl ether(시약 1급) 등을 사용하였다. Long chain sphingoid base의 TMS 유도체화 반응을 위하여 탈수한 Pyridine(시약 1급)과 Fluka사의 Trimethylchlorosilane(TMCS) 및 Haxamethyl-disilazane(HMDS)를 사용하였다. TLC 발색제로는 1.2gr의 $K_2Cr_2O_7$ (Sigma사, 시약 특급)을 200ml의 55% H_2SO_4 (시약 1급)에 녹여 사용하였다. 탈이온수로는 Milipore사의 Mili-Q Reagent Water Purification System을 이용하여 1차 증류수를 정제하여 사용하였다.

2. 3. 실험 방법

2. 3. 1. FAB-MS 측정

Cerebroside의 분자량을 FAB-MS로 측정하였다. 양이온 검출 mode에서는 시료 약 $1\mu\text{g}$ 을 stainless steel로 만들어진 FAB target 위에 loading한 후 LiOH(Fluka사, 시약특급)로 포화시킨 3-NBA를 약 $1\mu\text{l}$ 가하고 잘 섞은 후 FAB-MS 측정하였다. 음이온 검출 mode에서는 TEA를 FAB-matrix로 사용하였다. FAB-MS 측정시 scan range는 m/z 50-1200이었으며 scan speed(m/z 0-2300까지 측정시간)은 30초였다. 가속 전압은 3kV였으며 resolution은 1500(10% valley)이었다. FAB gas로는 Xenone을 사용하였으며

gun voltage는 1kV, filament current는 5mA였다.

2. 3. 2. TLC에 의한 분리 정제

Cerebroside band를 확인키 위하여 $10\times 10\text{cm}$ 의 TLC plate를 사용하여 실험하였다. 전개 용매는 chloroform, methanol, H_2O 를 각각 65:25:4(v/v)로 섞어 사용하였다. 전개 후 cerebroside band는 발색 시약을 spray한 후 110°C 에서 10분간 가열하여 발색시켰다.

Cerebroside band I와 II를 각각 따로 분석하기 위하여 아래와 같은 방법으로 분류하였다. 각각의 cerebroside를 $20\times 20\text{cm}$ 의 TLC plate에 넓게 loading하여 전개시킨 후 band가 섞이지 않게 silica gel을 잘 긁어낸 후 silica에 흡착되어 있는 cerebroside를 $\text{CHCl}_3:\text{MeOH} = 2:1$ (v/v) 용액으로 용출시켰다.

2. 3. 3. 산분해

Cerebroside를 2N HCl/MeOH 용액으로 75°C 정도에서 12시간 반응시켜 fatty acid-methyl ester와 long chain sphingoid base, 당으로 분해시켰다. 반응액 중의 fatty acid methyl ester는 hexane으로 추출하였고 long chain sphingoid base는 MeOH층을 증발 건조시킨 후 3N NaOH 수용액을 이용하여 반응액을 알칼리로 만든 후 diethyl ether로 추출하였다.

2. 3. 4. Long chain sphingoid base의 TMS 유도체화

Long chain sphingoid base를 GC-MS 분석하기 위

Table 1. The operation conditions of GC-MS.

Gas Chromatography	
Instrument	: HP-5890 II
Column	: HP-5 (0.32mm i. d. \times 25m)
Init. Temp.	: 160°C , 0min
Prog. Rate	: $4^\circ\text{C}/\text{min}$
Final Temp.	: 320°C
Inj. Temp.	: 300°C
Flow Rate	: $2\text{ml}/\text{min}$, He
Split Ratio	: 1/60
Mass Spectrometer	
Resolution	: 800
Ion Current	: $300\mu\text{A}$
Ion Voltage	: 70eV
Scan Range	: m/z 30~800
Scan Speed	: 0.5 sec.
Chanber Temp.	: 270°C
Separator Temp.	: 270°C

하여 TMS 유도체화 반응을 시켰다. Long chain sphingoid base를 pyridine에 녹인 후 HMDS와 TMCS를 약 2:1(v/v)의 비로 가입하고 60°C 정도에서 1시간 반응시켰다. 반응액 중의 여분의 HMDS와 TMCS를 제거하기 위하여 적당량의 물을 가한 후 hexane으로 TMS 유도체를 추출하였다.

2. 3. 5. GC-MS 분석

Fatty acid methyl ester와 TMS 유도체는 동일한

GC-MS 조건에서 분석하였다. GC-MS 분석 조건을 Table 1에 나타내었다.

3. 결과 및 고찰

3. 1. FAB-MS에 의한 분석

Cerebroside의 분자량을 측정하기 위하여 FAB-MS 실험을 행하였다. FAB 이온화 방법은 별다른 시료의

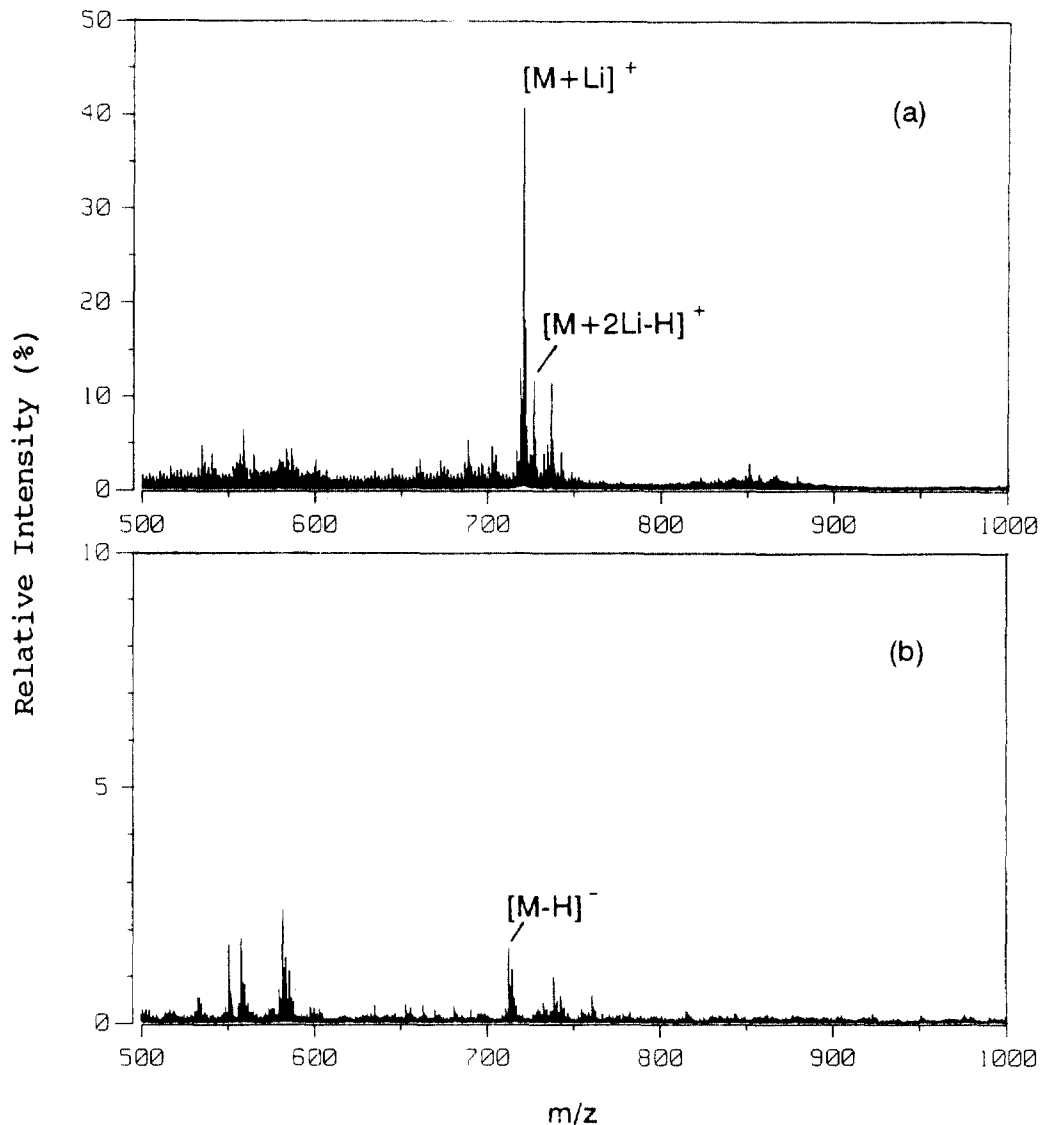


Fig. 2. FAB Mass Spectra of Soybean Embryo Cerebroside.

- (a) Positive Ion Detection with LiOH Saturated 3-NBA Matrix
 (b) Negative Ion Detection with TEA Matrix

전처리가 필요 없을 뿐만 아니라 분자량이 크고 열적으로 불안정한 시료의 분자량을 쉽게 알 수 있다는 장점으로 인하여 cerebroside의 구조 분석에 응용하려는 연구가 계속되어 왔다. Hamanka 등¹⁵은 음이온 검출 FAB-MS법을 이용하여 cerebroside의 분자량을 측정하고자 하였으며 Ann 등¹⁶은 양이온 검출 FAB-MS법으로 cerebroside의 분자량을 측정하고자 하였다. 본 실험에서는 이 두 방법을 상호 비교하기 위하여 대두 배아에서 추출한 cerebroside를 양이온 검출 mode와 음이온 검출 mode에서 FAB-MS 측정하여 보았으며, 그 결과를 Fig. 2에 나타내었다. 음이온 검출 FAB-MS법은 $[M-H]^-$ 이온을 검출할 수는 있으나 감도가 낮고 불순물과 matrix에 의한 간섭현상이 심하여 cerebroside의 분자량을 측정하는 데는 적합하지 않다. 반면 LiOH를 포화시킨 3-NBA를 matrix로 사용한 양이온 검출 FAB-MS 법에서는 $[M+Li]^+$ 이온을 상대적으로 높은 감도로 검출할 수 있어 cerebroside의 분자량을 용이하게 측정할 수 있었다. 그러나 $[M+Li]^+$ 이온 이외에도 소량이지만 $[M+2Li-H]^+$ 이온과 기타 다른 이온도 검출되기 때문에 FAB-MS만으로 cerebroside를 분석한다는 것은 매우 어려운 일이다.

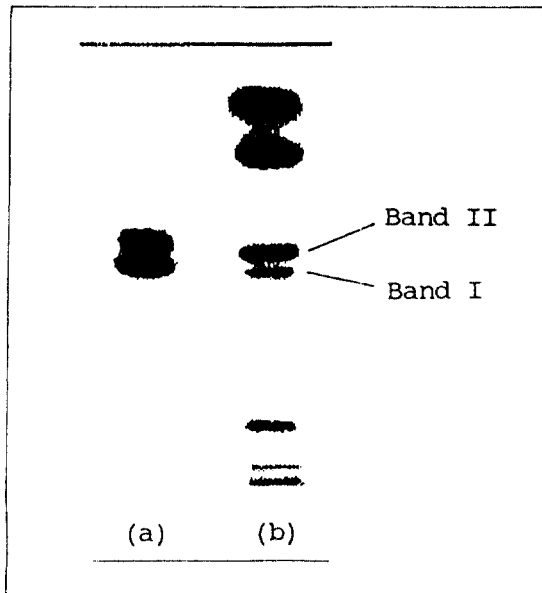


Fig. 3. Thin-Layer Chromatogram of Cerebrosides. Galacto-cerebroside(a) and soybean embryo cerebroside(b) were developed with $CHCl_3/MeOH/H_2O = 65/25/4(v/v)$ on Silicagel 60(Merck Ltd.).

3. 2. TLC에 의한 분석

TLC상에서 cerebroside band를 확인하고 band별로 분리 정제하기 위하여 실험부분에서 서술한 조건으로 TLC 실험을 행하였다. Galacto cerebroside와 대두 배아 추출 cerebroside의 TLC 전개 결과를 Fig. 3에 나타내었다. Cerebroside를 TLC 전개시킬 경우 일반적으로 2개의 band를 관찰할 수 있다. 기존의 연구 결과에 의하면 아랫쪽 band(이후 Band I으로 표현)는 α -hydroxy fatty acid를 갖는 cerebroside로 알려져 있으며 윗쪽 band(이후 Band II로 표현)는 non-hydroxy fatty acid를 갖는 cerebroside로 알려져 있다. Band I과 II를 앞에서 기술한 방법으로 분취한 후 양이온 검출 FAB-MS법으로 측정하였으며 그 결과를 Fig. 4와 Fig. 5에 나타내었다. Galacto cerebroside의 Band I과 Band II를 비교해 보면 분자량의 분포 형태는 거의 비슷하면서 Band I쪽의 분자량이 Band II쪽보다 16amu 정도 크게 나타난다. 이 사실로부터 Band I은 Band II보다 산소 원자 하나를 더 가지고 있는, 즉 α -hydroxy fatty acid를 가지는 cerebroside라고 추측할 수 있다. 대두 배아에서 추출한 cerebroside의 경우 Band I에서는 $m/z=720$ 에서 강한 cerebroside peak를 볼 수 있고 $m/z=822, 850$ 에서도 약한 peak를 볼 수 있다. 그러나 Band II의 경우 일반적인 cerebroside의 분자량 범위인 $m/z=600\sim 900$ 정도에는 눈에 띄는 peak가 거의 없고 $m/z=583$ 에서 강한 peak가 나타나는 것으로 보아 이 band는 cerebroside가 아닌 다른 물질에 기인함을 알 수 있었다.

3. 3. GC-MS에 의한 fatty acid methyl ester의 분석

Cerebroside는 여러 가지 fatty acid와 long chain sphingoid base, 그리고 당으로 이루어져 있기 때문에 분자량만으로 그 구조를 예측한다는 것은 매우 힘든 일이므로 본 실험에서는 cerebroside를 산분해시켜 GC-MS 분석함으로써 cerebroside를 이루는 각 component에 대한 정보를 얻고자 하였다.

Cerebroside를 MeOH 분위기 하에서 산분해시키면 지방산 부분이 methyl ester의 형태로 유리되어 나오기 때문에 hexane으로 추출할 수 있다. Table 2에 각 시료를 산분해시켜 hexane으로 추출되어 나오는 물질의 GC-MS 측정 결과를 상대 면적비로 나타내었다. Galacto-cerebroside의 경우 Band I에서는 α -hydroxylinoceric acid와 α -hydroxyselacholeic acid가 주요 성

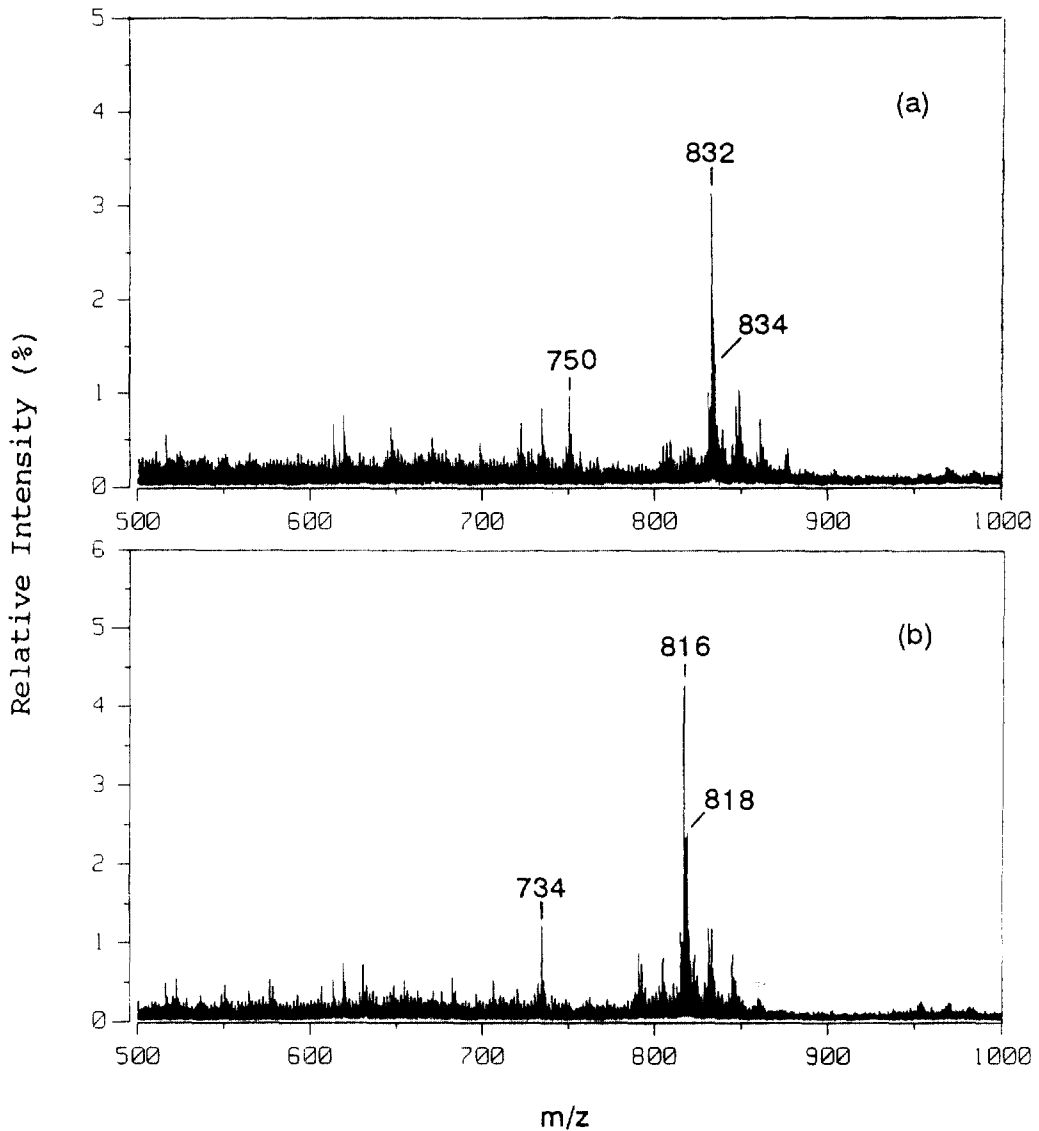


Fig. 4. Positive-ion FAB Mass Spectra of Band I (a) and Band II (b) obtained from TLC separation of Galacto-cerebroside.

분으로 검출되었으며 나머지도 대부분이 α -hydroxy fatty acid였다. 반면 Band II는 모두가 non-hydroxy fatty acid 형태로 존재함이 확인되었다. 이 결과로부터 cerebroside가 Band I, II로 분리되는 가장 중요한 요인은 fatty acid 부분의 α -hydroxyl group 존재 여부라는 것을 알 수 있었다.

그러나 대두 배아로부터 추출한 cerebroside의 경우 galacto-cerebroside와는 다른 결과를 보여 준다. 먼저

Band I의 구성 성분을 살펴 보면 α -hydroxy palmitic acid가 주요 성분으로 90% 이상을 차지하며 동물성인 galacto cerebroside에 비해 조성이 매우 간단하다. 또한 Band II에는 fatty acid가 거의 발견되지 않고 sitosterol 등 sterol류로 생각되는 물질만이 검출되고 있다. 이 GC-MS 결과와 FAB-MS 결과로 볼 때 대두 배아로부터 추출한 cerebroside로 Band I의 성분만이 cerebroside이며 Band II는 sterol의 당화합물

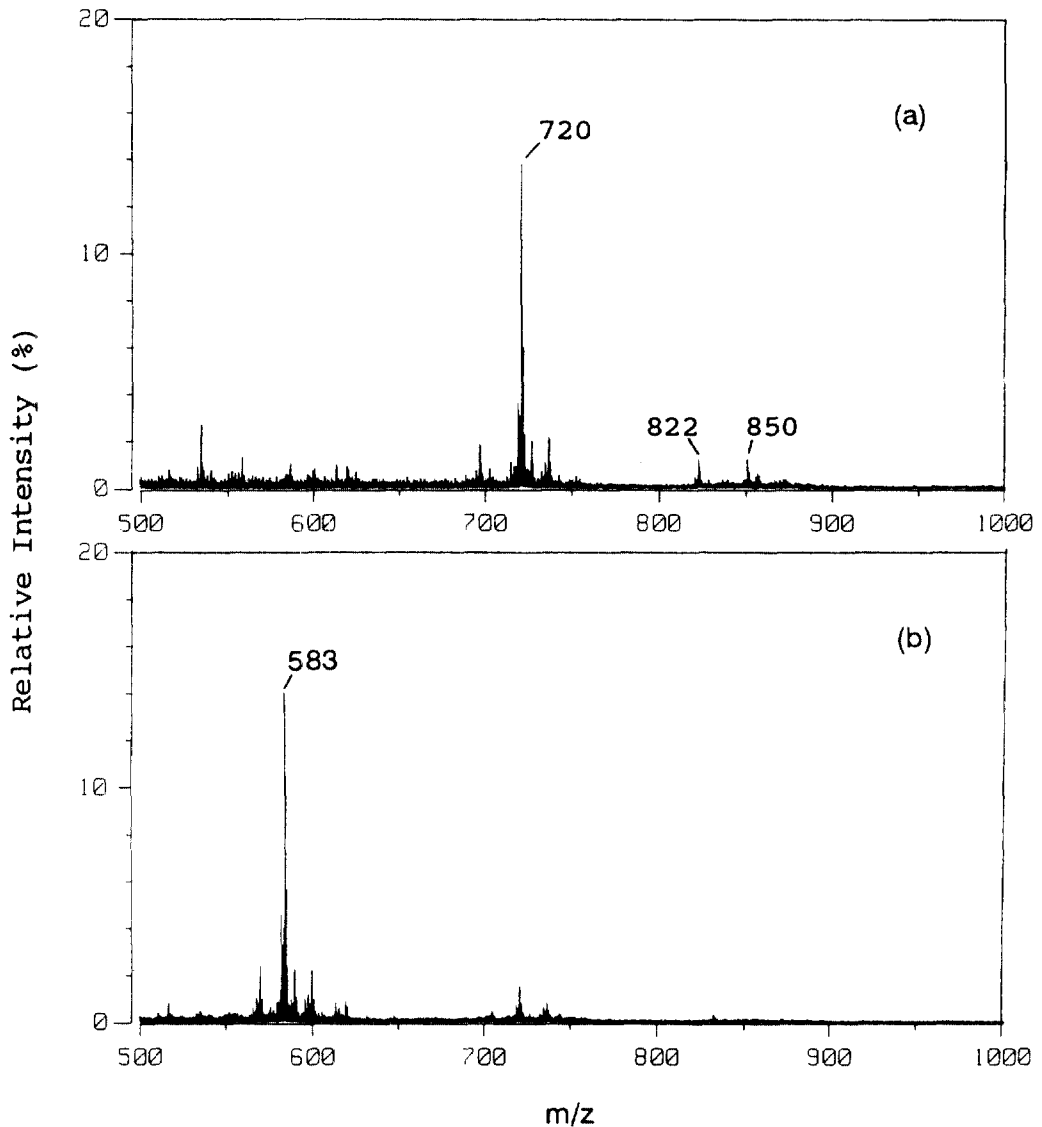


Fig. 5. Positive-ion FAB Mass Spectra of Band I (a) and Band II (b) obtained from TLC separation of Soybean Embryo Cerebroside.

에 기인한 것으로 생각된다.

3. 4. GC-MS에 의한 long chain sphingoid base의 분석

Cerebroside 산분해물 중 long chain sphingoid base를 앞에서 설명한 방법으로 TMS 유도체화시켜 GC-MS 분석하였다. 분석 결과를 Table 3에 나타내었다. Galacto-cerebroside의 경우 Band I, II에 관계없

이 sphingosine(4-sphingenine)이 주요 long chain sphingoid base였다. 대두 배아에서 추출한 cerebroside의 Band II에서는 long chain sphingoid base가 검출되지 않았으며 이로부터 이 band는 cerebroside에 의한 것이 아님을 재차 확인할 수 있었다. 또한 Band I에서는 식물성 cerebroside에서 많이 나타나는 것으로 알려져 있는 phytosphingosine이 거의 발견되지 않고 4,8-sphingadienine과 4-hydroxy-8-sphingenine이

Table 2. Composition of Fatty Acids from Soybean Embryo Cerebroside and Galacto-cerebroside (Relative Area %).

Fatty Acid (Sterols)	Soybean cerebroside		Galacto-cerebroside	
	Band I	Band II	Band I	Band II
C _{16:0} ^a	—	—	2.9	—
C _{18:0}	—	—	10.1	4.42
C _{20:0}	—	—	1.4	0.4
C _{22:0}	—	—	—	5.5
C _{23:0}	—	—	3.8	6.8
C _{24:0}	—	—	—	26.5
C _{24:1}	—	—	—	33.1
C _{25:0}	—	—	—	6.3
C _{25:1}	—	—	—	6.9
C _{26:0}	—	—	—	2.3
C _{26:1}	—	—	—	7.9
C _{16:0} -OH ^b	91.1	—	—	—
C _{18:0} -OH	—	—	11.1	—
C _{22:0} -OH	6.4	—	4.2	—
C _{23:0} -OH	—	—	5.6	—
C _{24:0} -OH	2.5	—	22.3	—
C _{24:1} -OH	—	—	15.0	—
C _{25:0} -OH	—	—	3.8	—
Sitosterol	—	73.1	—	—
Unknown Sterols	—	26.9	—	—

a) In C_{m:n}, m represents number of carbons and n number of double bonds.

b) -OH represents α-hydroxy fatty acids.

Table 3. Composition of Long-chain Sphingoid Base in Soybean Embryo Cerebroside and Galacto-cerebroside (Relative Area %).

Long-Chain Sphingoid Base	Soybean Cerebroside		Galacto-cerebroside	
	Band I	Band II	Band I	Band II
C _{16:0} -D*	—	—	1.7	—
C _{18:0} -D	—	—	7.0	9.6
C _{18:1} -D	—	—	91.2	90.4
C _{18:2} -D	74.6	—	—	—
C _{18:1} -T	25.4	—	—	—

*) In C_{m:n}, m represents number of carbons and n number of double bands. D and T represents dihydroxy- and trihydroxy-, respectively.

주요 long chain sphingoid base로 검출되었다. 4-hydroxy-8-sphingenine은 초기의 연구 결과에 의하면 해조류 등에서 소량 발견되는 것으로 보고되었으나 최근에는 육상 식물의 씨앗에서도 많은 양으로 존재한다고 보고되고 있다¹⁴.

3. 5. GC-MS와 FAB-MS 결과에 따른 전체 구조의 추정

앞서 기술한 바와 같이 FAB-MS에 의한 cerebroside의 분석법은 분자량 분포는 알 수 있으나 cerebroside를 이루는 각각의 구성 성분에 대한 정보를 얻기 힘들며 산분해에 따른 GC-MS 분석법은 그 반대의 경우다. 이러한 이유로 본 논문에서는 GC-MS로 분석한 각각의 구성 성분에 대한 결과와 FAB-MS로 얻은 분자량 분포 결과를 상호 비교하여 cerebroside 전체 구조를 규명하고자 하였다. GC-MS와 FAB-MS 결과를 종합하여 얻는 cerebroside 구조 해석에 대한 결과를 Table 4에 나타내었다. 이 결과에서 알 수 있듯이 galacto-cerebroside Band I의 주요 성분은 N-2'-hydroxylignoceroyl - 1 - 0 - galactosyl - sphingenine과 N - 2'-hydroxyselacholeoyl - 1 - 0 - galactosyl - sphingenine 이었으며 Band II의 주요 성분은 N - lignoceroyl - 1 - 0 - galactosyl - sphingenine과 N - selachol-

Table 4. Summary of the structure of cerebrosides.

Cerebroside	Mw*	Fatty Acid	Long Chain Sphingoid Base	
Galacto-Cerebroside	Band I	825	C _{24:1} -OH	C _{18:1} -D
		827	C _{24:0} -OH	C _{18:1} -D
	Band II	743	C _{18:0} -OH	C _{18:1} -D
		809	C _{24:1}	C _{18:1} -D
Soybean Embryo Cerebroside	Band II	811	C _{24:0}	C _{18:1} -D
		727	C _{18:1}	C _{18:1} -D
		713	C _{16:0} -OH	C _{18:2} -D
Soybean Embryo Cerebroside	815	C _{22:0} -OH	C _{18:1} -T	
	843	C _{24:0} -OH	C _{18:1} -T	

* Molecular weight of cerebroside was obtained from FAB-MS experiment. Molecular weight of component sugar was assumed to be 180 but not identified in this experiment.

eoyle-1-0-galactosyl-sphingene이었다. 대두 배아에서 추출한 cerebroside Band I 과 II의 주요 성분은 각각 N-2'-hydroxypalmitoyl-sphingene과 sitosterol에 당이 한 분자 결합되어 있는 형태였다. 이상의 결과는 GC-MS 결과에 따른 성분별 peak intensity와 FAB-MS상의 분자량 peak intensity와도 잘 일치한다.

4. 결론

기존의 cerebroside 분석법은 정확도, 분석시간 및 비용 등에서 많은 문제가 있었으나 FAB-MS와 GC-MS를 종합하여 해석하는 본 논문의 분석법으로 비교적 짧은 시간내에 복잡한 cerebroside 혼합물의 정확한 구조를 규명할 수 있었다.

LiOH/NBA를 matrix로 사용한 양이온 검출 FAB-MS 측정에서는 강한 $[M+Li]^+$ peak를 얻을 수 있었으며 이로부터 cerebroside의 분자량을 쉽게 알 수 있었다. 산분해에 따른 GC-MS 측정으로는 cerebroside를 이루고 있는 구성 요소의 정확한 구조와 상대적인 양을 알 수 있었다.

소의 뇌로부터 galacto-cerebroside는 Band I의 주요 성분이 N-2'-hydroxylignoceroyle-1-0-galactosyl-sphingene과 N-2'-hydroxyselacholeoyle-1-0-galactosyl-sphingene으로 확인되었으며 Band II의 주요 성분은 N-lignoceroyle-1-0-galactosyl-sphingene과 N-selacholeoyle-1-0-galactosyl-sphingene으로 확인되었다. 따라서 Band I, II로 분리되는 주원인이 fatty acid 부분의 α -hydroxy group 존재 여부라는 것을 확인할 수 있었다.

대두 배아 추출 cerebroside는 동물성인 galacto-cerebroside와는 달리 Band I에만 cerebroside가 존재하였으며 Band II는 steryl glycoside류에 의한 것으로 확인되었다. 대두 배아 추출 cerebroside의 대부분은 N-2'-hydroxypalmitoyl-sphingadienine에 당이 한

분자 결합된 형태로 존재 (α -hydroxypalmitic acid가 91.1%)하였으며 여러 가지 cerebroside가 혼합된 동물성 cerebroside와는 달리 그 조성이 매우 단순하였다.

참고문헌

1. S. Hakomori, "Handbook of lipid Research", Vol. 3, p. 6, J. N. Kanfer and S. Hakomori, Ed., Plenum Press, New York, U.S.A., 1983.
2. G. Yogeewaran and S. Hakomori, *Biochemistry*, **14**, 2151-2156(1975).
3. S. Ando and T. Yamakawa, *J. Biochem.*, **73**, 387-396 (1973).
4. S. Hakomori, *Ann. Rev. Biochem.* **50**, 733-764(1981).
5. G. Inokawa, S. Akasaki, Y. Minematsu and M. Kwai, *Arch. Dermatol. Res.*, **281**, 45-51(1989).
6. G. Imokawa, A. Abe, K. Jin, Y. Higaki, M. Kawashima and A. Hicdano, *J. Invest. Dermatol.*, **96**, 523-526(1991).
7. S. K. Kundu and S. K. Roy, *J. Lipid Res.*, **19**, 390-395(1978).
8. S. K. Kundu, S. K. Chakravarty, S. K. Roy and A. K. Roy, *J. Chromatography*, **170**, 66-72(1979).
9. G. Rouser, G. Kritchevsky, D. Heller and E. Lieber, *JAOCS*, **40**, 425-454(1963).
10. A. U. Osagie and M. Kates, *Lipids*, **19**, 958-965 (1984).
11. G. Gray and R. J. White, *J. Invest. Dermatol.*, **70**, 336-341(1978).
12. P. W. Wertz and D. T. Downing, *J. Lipid Res.*, **24**, 759-765(1983).
13. K. A. Karlsson, *Chem. Phys. Lipids*, **5**, 6-43(1970).
14. Y. Fujino and M. Chnishi, *Chem. Phys. Lipids*, **17**, 275-289(1976).
15. S. Hamanaka, C. Asagami, M. Suzuki, F. Inagak and A. Suzuki, *J. Biochem.*, **105** 684-690(1989).
16. Q. Ann and J. Adamal. *Anal. Chem.*, **65**, 7-13(1993).