

Article

열대 해면동물 *Lipastrotethya* sp.에서 분리된 사포닌 화합물

엄태양^{1,2} · 이연주^{1,2} · 이희승^{1,2*}

¹한국해양과학기술원 해양생명공학연구센터
(15627) 경기도 안산시 상록구 해안로 787
²과학기술연합대학원대학교 해양생명공학과
(34113) 대전광역시 유성구 가정로 217

A New Triterpenoid Saponin from the Tropical Marine Sponge
Lipastrotethya sp.

Tae-Yang Eom^{1,2}, Yeon-Ju Lee^{1,2}, and Hyi-Seung Lee^{1,2*}

¹Marine Biotechnology Research Center, KIOST
Ansan 15627, Korea

²Department of Marine Biotechnology, University of Science and Technology
Daejeon 34113, Korea

Abstract : Marine sponges have been a remarkably rich source of pharmacologically active and structurally diverse natural products. As a part of our continuing search for novel secondary metabolites of biomedical importance from marine invertebrate, we encountered the sponge *Lipastrotethya* sp. from Chuuk, Micronesia. The crude organic extract of this animal exhibited considerable cytotoxicity against the K562 cell line. Guided by the ¹H NMR analysis, flash chromatography of the crude extract followed by HPLC yielded a new triterpene glycoside, along with ten known saponins of the sarasinoid class. The structure of this new compound was determined by combined spectroscopic methods such as COSY, HSQC and HMBC experiment. Among these metabolites, six compounds exhibited moderate cytotoxicity against ACHN, MDA-MB-231, NCI-H23 and NUGC-3 cell lines.

Key words : Marine Sponge, Saponin, Sarasinoid, *Lipastrotethya* sp.

1. 서 론

사포닌은 배당체의 한 종류로 콩, 인삼, 홍삼, 도라지, 양파, 마늘 등 다양한 육상식물에서 발견된다. 이들은 동양에서 예로부터 상처나 여러 가지 병의 치료에 중요한 치료제로 사용되었으며, 지금까지도 사포닌이 풍부한 인삼은 다양한 형태로 가공되어 약제 또는 건강보조식품으로 널리 쓰이고 있다(Park et al. 2011). 사포닌은 항산화

효능뿐 아니라 항염증, 암세포의 증식 억제, 단백질 및 지질합성 촉진 등 다양한 생물학적 성질을 갖고 있는 것으로 알려져 있다(Kang 1996, Hostettmann and Marston 1995).

이러한 사포닌은 육상식물뿐 아니라 해양생물로부터 분리되는 경우도 많이 있다. 사포닌을 생산하는 대표적인 해양생물은 해삼, 불가사리 등 극피동물이며, 이들 중 바다의 삼이라 불리는 해삼으로부터 echinoside(Li et al. 2010), holothurinoid(Dyck et al. 2010) 등의 사포닌과 philinopside(Tong et al. 2005)와 같은 sulfated 사포닌이 분리되어 보고되었다. 다른 극피동물인 불가사리에서도

*Corresponding author. E-mail : hslee@kiost.ac.kr

thornasteroside, marthasteroside 등의 사포닌이 발견된 바 있다(Andersson et al. 1989). 이들 해양생물 유래 사포닌들은 세포독성, 항암, 항균활성 등 다양한 생리활성을 나타내며, 해삼에서 발견된 사포닌 중 일부는 육상 기원 사포닌보다 훨씬 좋은 용혈활성을 보이기도 한다(James 1986).

반면에 해면동물은 다양한 해양 기원의 천연물을 제공하는 생물로 알려져 있으나, triterpene 또는 steroid의 aglycone을 가진 사포닌을 함유하고 있는 예는 많지 않다. 해면동물 유래 사포닌의 특징적인 예는 열대 해역에서 채집된 *Melophlus* 속으로부터 분리된 sarasinoside인데, (Lee et al. 2000) 이들은 norlanostane glycosides로 분류된다. 이외에도 해면동물에서 erylosides(D'Auria et al. 1992), pouosides(Lee et al. 2012) 등의 사포닌이 분리되어 보고되었다(Ebada et al. 2010; Lee et al. 2012). 해면동물 유래 사포닌 sarasinoside는 *Asteropus sarasinosum*에서 처음으로 분리되어 보고된(Schmitz et al. 1988) 이래 현재까지 25종의 유도체가 분리되었다. Sarasinoside는 lanostane-triterpenoidal oligoglycosides 계로써 분자 내에 *N*-acetylglucosamine과 *N*-acetylgalactosamine를 포함하여 5개의 당으로 구성된 oligosaccharides를 갖는 특징이 있다(Kobayashi et al. 1991). 이들 화합물은 항균활성(Lee et al. 2000; Dai et al. 2005), 세포독성(Schmitz et al. 1988; Kobayashi et al. 1991), 그리고 살어활성(Kobayashi et al. 1991)을 나타내는 것으로 알려져 있다.

한편 해외 해역에서 서식하는 해양생물로부터 생리활성 물질을 발굴하기 위해 남태평양의 마이크로네시아 축 주에서 다수의 해면동물을 채집하였다. 이들의 추출물로부터 K562 세포를 이용하여 세포독성을 측정하였고, 이 결과를 바탕으로 연구대상 생물을 결정하였다. 본 논문에서는 열대 해역에서 채집된 *Lipastrotethya* 속 해면동물로부터 생리활성 천연물의 분리와 암세포에 대한 세포독성 측정결과에 대해 보고하려 한다.

문헌조사에 따르면 *Lipastrotethya* 속 해면동물에 대한 기존의 천연물 분석 결과로는 bis-sesquiterpene 골격을 갖는 화합물들이 분리된 바 있으며, 이들 화합물은 금붕어를 대상으로 한 feeding-deterrence 실험에서 약한 활성을 보였다(Mao et al. 2007). 또 다른 연구에서는 pouoside 계의 사포닌과 aglycone 형태의 pouogenin 화합물들이 분리되었으며, 이들은 약한 세포독성과 K562 cell에 약한 활성을 보였다(Lee et al. 2011).

2. 재료 및 방법

기기 및 시약

HPLC는 Primeline사의 isocratic pump를 중심으로

Shodex detector와 linear pen recorder를 구성하여 실험에 사용하였고, column은 YMC C₁₈ reversed-phase column (10 mm × 250 mm), YMC C₈ reversed-phase analytic column(4.6 mm × 250 mm), YMC C₄ reversed-phase analytic column을 사용하였다. Mass 측정은 hyphenated LC-MS인 Thermofinnigan 사의 Surveyor PDA detector, Quat LC pump, Autosampler, MSQ로 구성된 기기와 한국기초과학연구원 연구원의 JEOL사의 JMS-700 기기에 의해 이루어졌다. NMR 측정은 Varian Unity 500 기기를 사용하여 ¹H NMR 스펙트럼은 500 MHz, ¹³C NMR은 125 MHz로 측정하였고 사용된 주요 NMR 용매는 CD₃OD이다. UV spectra는 Shimadzu UV-1650PC spectrometer를 이용하였고, IR spectra는 Jasco사의 FT/IR-4100 spectrometer를 이용하여 얻었으며 optical rotation은 Rudolph research analytical사의 autopol III를 이용하여 측정하였다.

실험재료

해면동물 *Lipastrotethya* sp.는 2011년 2월 마이크로네시아 연방국 축주의 Osakura섬 근해에서 SCUBA 다이빙을 이용하여 수심 15–20 m에서 채집되었다. 해면동물의 분류 동정은 한국해양과학기술원 김영아 박사에게 의해 진행되었고, 표본은 한국해양과학기술원 해양생명공학연구센터 표본보관실에 보관되어 있다.

시료의 추출과 분리

해면동물 *Lipastrotethya* sp.는 냉동 운송된 후 화학분석이 진행될 때까지 영하 25°C에서 보관되었다. 냉동 보관한 *Lipastrotethya* sp.(183.5 g)를 해빙하여 음지에서 건조 후 잘게 다진 다음 상온에서 MeOH(200 mL) 2회, dichloromethane(100 mL) 2회 추출하였고, 감압 농축하여 조추출물을 얻었다(8.30 g). 이를 다시 물과 *n*-BuOH로 분획하여 염과 수용성물질을 제거하였다. *n*-BuOH 층에서 분리된 유기물(5.67 g)을 다시 15% aq. MeOH(물:MeOH = 15:85)과 *n*-hexane을 사용하여 극성별로 분획한 뒤 농축하여 15% aq. MeOH층(4.36 g)과 *n*-hexane층(1.26 g)을 얻었다. 15% aq. MeOH 층에 용해된 물질을 C₁₈ 역상 고속 감압 크로마토그래피(reversed-phase vacuum flash chromatography, RP-18)를 실시하였으며 용출한 용매는 methanol과 물의 혼합액(v/v)으로서 50%, 40%, 30%, 20%, 10% aq. MeOH부터 100% MeOH, acetone, ethyl acetate를 순차적으로 용출시켜 8개의 분획을 얻었다. C₁₈ 역상 고속 감압 크로마토그래피에서 얻어진 10% aq. MeOH 분획(1.58 g)을 다시 역상 HPLC(YMC ODS-A column, 10 mm × 250 mm, 20% aq. MeOH, 1.0 mL/min)를 실행하여 화합물 **1**(6.0 mg)과 **3**(22.0 mg), **4**(21.0 mg),

를 실시하였으며, 37분에 분리된 혼합물을 다시 역상 HPLC(YMC C₄ column, 4.6 mm × 250 mm, 50% aq. MeOH, 1.0 mL/min)를 실행하여 화합물 **9**(14.3 mg)를 정제하였다. 또 48분에 분리된 혼합물을 다시 역상 HPLC(YMC C₄ column, 4.6 mm × 250 mm, 50% aq. MeOH, 1.0 mL/min)로 재분리하여 화합물 **10**(4.6 mg)을 순수하게 정제하였으며, 62분에 분리된 혼합물을 역상 HPLC(YMC C₄ column, 4.6 mm × 250 mm, 50% aq. MeOH, 1.0 mL/min)를 화합물 **11**(5.7 mg)을 분리하였다.

화합물의 분광분석

각 화합물의 ¹H NMR과 ¹³C NMR 실험 결과는 Table 1–3에 각각 정리 하였으며, 그 외의 분광분석 결과는 아래와 같다.

1: $[\alpha]_D^{25}$ -62.6(c 0.1, MeOH); UV (MeOH) $\lambda_{\max}(\log \epsilon)$ 206 (6.1) nm; IR (ZnSe) ν_{\max} 3367(br), 2929, 1646(br), 1376, 1078 cm⁻¹; HRFAB-MS m/z calcd for 1325.6626 [M+Na]⁺ (calcd for C₆₃H₁₀₂N₂O₂₆Na, 1325.6613).

2: $[\alpha]_D^{25}$ -13.3(c 0.5, MeOH); UV (MeOH) $\lambda_{\max}(\log \epsilon)$ 237 (9.18) nm; IR (ZnSe) ν_{\max} 3688(br), 2959(br), 1056, 1008 cm⁻¹; LRAPCI-MS m/z calcd for 1289.48 [M+H]⁺ (calcd for C₆₂H₁₀₁N₂O₂₆, 1289.45).

3: $[\alpha]_D^{25}$ -21.3(c 0.5, MeOH); UV (MeOH) $\lambda_{\max}(\log \epsilon)$ 242 (7.09) nm; IR (ZnSe) ν_{\max} 3677(br), 2962(br), 1053, 1008 cm⁻¹; LRAPCI-MS m/z 1287.44 [M+H]⁺ (calcd for C₆₂H₉₉N₂O₂₆, 1287.43).

4: $[\alpha]_D^{25}$ -21.3(c 0.5, MeOH); UV (MeOH) $\lambda_{\max}(\log \epsilon)$ 242 (9.25) nm; IR (ZnSe) ν_{\max} 3704(br), 2965(br), 1055,

Table 2. ¹³C NMR (ppm, mult) Data of the Aglycone Moieties of Compounds 1–11 in CD₃OD

Position	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
1	37.1, CH ₂	37.9, CH ₂	37.4, CH ₂	37.3, CH ₂	39.9, CH ₂	28.8, CH ₂	36.3, CH ₂	34.5, CH ₂	31.5, CH ₂	31.5, CH ₂	31.5, CH ₂
2	28.3, CH ₂	28.4, CH ₂	28.3, CH ₂	28.3, CH ₂	28.3, CH ₂	27.4, CH ₂	26.8, CH ₂	27.8, CH ₂	27.9, CH ₂	27.8, CH ₂	28.0, CH ₂
3	91.2, CH	91.9, CH	91.8, CH	92.0, CH	91.5, CH	91.8, CH	92.0, CH	91.5, CH	91.9, CH	91.9, CH	91.5, CH
4	40.7, C	40.9, C	40.8, C	40.6, C	38.4, C	41.2, C	42.2, C	40.3, C	40.5, C	40.2, C	40.5, C
5	52.1, CH	52.5, CH	52.4, CH	52.4, CH	53.2, CH	47.4, CH	46.2, CH	44.8, CH	45.6, CH	45.5, CH	45.3, CH
6	19.4, CH ₂	19.5, CH ₂	19.3, CH ₂	20.0, CH ₂	24.5, CH ₂	26.5, CH ₂	26.8, CH ₂	24.8, CH ₂	22.9, CH ₂	22.5, CH ₂	22.9, CH ₂
7	29.5, CH ₂	28.4, CH ₂	28.3, CH ₂	122.7, CH	29.3, CH ₂	109.0, CH	32.1, CH ₂	18.2, CH ₂	26.4, CH ₂	29.0, CH ₂	29.4, CH ₂
8	128.7, C	128.9, C	124.0, C	136.7, C	149.7, C	155.6, C	142.5, C	70.0, C	136.6, C	137.0, C	138.3, C
9	137.3, C	137.3, C	143.1, C	148.4, C	172.8, C	168.8, C	107.7, C	72.2, C	76.1, C	76.7, C	76.5, C
10	37.9, C	37.9, C	38.7, C	43.5, C	41.8, C	43.5, C	48.4, C	37.4, C	42.5, C	42.0, C	42.0, C
11	23.0, CH ₂	23.1, CH ₂	23.0, CH	118.2, CH	111.2, CH	106.9, CH	31.2, CH ₂	25.2, CH ₂	28.4, CH ₂	28.7, CH ₂	28.8, CH ₂
12	38.0, CH	38.2, CH ₂	38.0, CH ₂	37.1, CH ₂	35.6, CH ₂	37.0, CH ₂	34.4, CH ₂	115.1, CH	35.1, CH ₂	35.3, CH ₂	34.7, CH ₂
13	43.3, C	43.4, C	46.1, C	43.6, C	47.8, C	45.3, C	49.8, C	148.4, C	44.0, C	44.8, C	44.5, C
14	53.2, CH	53.2, CH	152.5, C	54.6, CH	132.5, C	54.6, CH	129.5, C	49.2, C	144.2, C	149.6, C	147.3, C
15	24.8, CH ₂	21.6, CH ₂	117.7, C	23.2, CH ₂	28.7, CH ₂	23.1, CH ₂	24.6, CH ₂	33.7, CH ₂	79.5, CH	70.3, CH	80.6, CH
16	30.0, CH ₂	28.9, CH ₂	28.9, CH ₂	28.8, CH ₂	33.4, CH ₂	28.4, CH ₂	28.7, CH ₂	25.5, CH ₂	36.3, CH ₂	40.2, CH ₂	34.5, CH ₂
17	56.3, CH	56.2, CH	57.8, CH	60.0, CH	54.5, CH	60.8, CH	54.8, CH	50.3, CH	55.1, CH	55.2, CH	55.1, CH
18	11.7, CH ₃	11.5, CH ₃	16.1, CH ₃	11.8, CH ₃	18.6, CH ₃	12.5, CH ₃	17.9, CH ₃	22.1, CH ₃	17.8, CH ₃	18.9, CH ₃	18.8, CH ₃
19	20.4, CH ₃	20.1, CH ₃	20.3, CH ₃	20.0, CH ₃	22.1, CH ₃	20.2, CH ₃	25.5, CH ₃	18.2, CH ₃	18.3, CH ₃	18.7, CH ₃	18.7, CH ₃
20	35.0, CH	35.0, CH	37.4, CH	34.9, CH	33.0, CH	34.2, CH	33.5, CH	33.2, CH	33.3, CH	32.0, CH	32.1, CH
21	20.1, CH ₃	20.3, CH ₃	19.3, CH ₃	21.0, CH ₃	20.7, CH ₃	21.0, CH ₃	21.0, CH ₃	18.8, CH ₃	20.6, CH ₃	20.6, CH ₃	20.5, CH ₃
22	46.2, CH ₂	52.2, CH ₂	52.5, CH ₂	52.9, CH ₂	51.5, CH ₂	52.3, CH ₂	51.9, CH ₂	48.4, CH ₂	52.0, CH ₂	52.3, CH ₂	52.1, CH ₂
23	204.0, C	204.0, C	204.1, C	204.1, C	204.0, C	203.9, C	204.0, C	203.9, C	203.9, C	203.7, C	203.9, C
24	157.1, C	125.1, CH	125.4, CH	125.4, CH	125.4, CH	125.4, CH	125.4, CH	125.1, CH	125.2, CH	125.3, CH	125.3, CH
25	122.5, CH ₂	157.3, C	157.2, C	157.2, C	157.2, C	157.2, C	157.2, C	157.1, C	157.1, C	157.2, C	157.6, C
26	29.0, CH	20.8, CH ₃	20.9, CH ₃	21.0, CH ₃	20.9, CH ₃	21.1, CH ₃	21.0, CH ₃	20.9, CH ₃	20.9, CH ₃	20.8, CH ₃	20.8, CH ₃
27	22.4, CH ₃	27.7, CH ₃	27.7, CH ₃	27.9, CH ₃	27.6, CH ₃	27.8, CH ₃	27.8, CH ₃	27.7, CH ₃	27.6, CH ₃	27.6, CH ₃	27.8, CH ₃
28	22.3, CH ₃	16.6, CH ₃	17.2, CH ₃	17.6, CH ₃	17.5, CH ₃	16.9, CH ₃	17.3, CH ₃	17.2, CH ₃	17.4, CH ₃	17.2, CH ₃	17.5, CH ₃
29	17.2, CH ₃	28.3, CH ₃	28.5, CH ₃	27.9, CH ₃	29.2, CH ₃	29.3, CH ₃	29.4, CH ₃	29.0, CH ₃	29.1, CH ₃	29.0, CH ₃	29.2, CH ₃
30	28.4, CH ₃								56.2, Ome		56.4, Ome

Table 3. ¹H and ¹³C NMR Data of the Sugar Moiety of Compound 1 in CD₃OD

	Position	δ _C	δ _H
Xyl	1'	106.7	4.29, d (7.6)
	2'	78.1	3.90
	3'	77.6	3.51
	4'	79.8	3.68
	5'	64.2	3.60/3.14
2-NAc-Glc	1''	101.9	4.84, d (8.8)
	2''	57.9	3.66
	3''	77.0	3.40
	4''	72.3	3.16
	5''	78.2	3.68
	6''	70.0	4.10
	Ac	23.1	1.98
		174.3	
Glc-I	1'''	102.6	5.08, d (8.0)
	2'''	83.4	3.37
	3'''	78.0	3.69
	4'''	71.4	3.32
	5'''	77.2	3.45
	6'''	62.6	3.83/3.71
Glc-II	1''''	105.7	4.62, d (7.6)
	2''''	75.8	3.40
	3''''	77.8	3.40
	4''''	71.4	3.31
	5''''	78.2	3.28
	6''''	62.5	3.82/3.72
2-NAc-Gal	1''''	102.6	4.49, d (8.8)
	2''''	54.5	3.88
	3''''	72.8	3.63
	4''''	69.8	3.80
	5''''	77.2	3.63
	6''''	63.1	3.88/3.71
	Ac	23.3	1.96
		174.0	

1016 cm⁻¹; LRAPCI-MS 1287.64 *m/z* [M+H]⁺ (calcd for C₆₂H₉₉N₂O₂₆, 1287.43).

5: [α]_D²⁵ -2.0(c 0.5, MeOH); UV (MeOH) λ_{max}(log ε) 238 (5.02) nm; IR (ZnSe) ν_{max} 3697(br), 2958(br), 1058, 1009 cm⁻¹; LRAPCI-MS 1303.45 *m/z* [M+H]⁺ (calcd for C₆₂H₉₉N₂O₂₇, 1303.43).

6: [α]_D²⁵ 4.0(c 0.5, MeOH); UV (MeOH) λ_{max}(log ε) 237 (3.50) nm; IR (ZnSe) ν_{max} 3704(br), 2975(br), 1055, 1009 cm⁻¹; LRAPCI-MS 1303.62 *m/z* [M+H]⁺ (calcd for

C₆₂H₉₉N₂O₂₇, 1303.43).

7: [α]_D²⁵ -29.3(c 0.5, MeOH); UV (MeOH) λ_{max}(log ε) 240 (7.04) nm; IR (ZnSe) ν_{max} 3701(br), 2975(br), 1058, 1009 cm⁻¹; LRAPCI-MS 1321.24 *m/z* [M+H]⁺ (calcd for C₆₂H₁₀₁N₂O₂₈, 1321.45).

8: [α]_D²⁵ -28.6(c 0.5, MeOH); UV (MeOH) λ_{max}(log ε) 23.9 (9.51) nm; IR (ZnSe) ν_{max} 3701(br), 2968(br), 1055, 1009 cm⁻¹; LRAPCI-MS 1321.44 *m/z* [M+H]⁺ (calcd for C₆₂H₁₀₁N₂O₂₈, 1321.45).

9: [α]_D²⁵ -10.6(c 0.5, MeOH); UV (MeOH) λ_{max}(log ε) 238 (7.85) nm; IR (ZnSe) ν_{max} 3704(br), 2954(br), 1051, 1012 cm⁻¹; LRAPCI-MS 1335.66 *m/z* [M+H]⁺ (calcd for C₆₃H₁₀₃N₂O₂₈, 1335.48).

10: [α]_D²⁵ -11.3(c 0.5, MeOH); UV (MeOH) λ_{max}(log ε) 238 (6.95) nm; IR (ZnSe) ν_{max} 3701(br), 2971(br), 1055, 1009 cm⁻¹; LRAPCI-MS 1321.32 *m/z* [M+H]⁺ (calcd for C₆₂H₁₀₁N₂O₂₈, 1321.45).

11: [α]_D²⁵ -14.6(c 0.5, MeOH); UV (MeOH) λ_{max}(log ε) 238 (5.25) nm; IR (ZnSe) ν_{max} 3704(br), 2968(br), 1051, 1001 cm⁻¹; LRAPCI-MS 1335.64 *m/z* [M+H]⁺ (calcd for C₆₃H₁₀₃N₂O₂₈, 1335.48).

암세포에 대한 성장억제를 측정

분리된 화합물 11종을 인체 암세포(human cancer cell) 중에서 ACHN(신장암), MDA-MB-231(유방암), NCI-H23(폐암), NUGC-3(위암) 세포에 대하여 SRB(sulforhodamine B) assay를 실시하여 성장억제를(GI₅₀, μg/mL)을 얻었다. 대조군은 adriamycin을 사용하였고, 활성측정은 한국생명공학연구원에서 수행되었다. SRB assay는 문헌의 방법을 따라 진행하였다(Kuo et al. 1993). 각 암세포의 cell line을 96well plates에 24 hr 배양한 다음 화합물 1-11(농도는 각각 30, 10, 3, 1, 0.3, 0.1, 0.03, 0.01, 0.003 μg/mL)을 점종시켜 48 hr 동안 더 배양시켰다. 다음으로 50% TCA로 고정시키고 건조한 다음 SRB 용액으로 염색하여 색깔변화를 측정했고, 최종적으로 Versa max microplate reader로 540 nm 파장에서 흡광도를 측정하여 결과를 얻었다.

3. 결과 및 토의

화학분석의 대상으로 선정된 해면동물 *Lipastrotethya* sp.를 해동한 다음 methanol과 dichloromethane으로 추출하였고, 혼합된 농축물은 용매에 따른 분획과 연이은 크로마토그래피에 의해 11종의 화합물이 분리되었다(Fig. 1). 분리 정제된 모든 화합물에 대해 분광분석이 진행되어 ¹H NMR과 ¹³C NMR 실험결과가 얻어졌다(Table 1-3).

주요 대사물질로 분리된 화합물 2는 ¹H NMR과

^{13}C NMR를 통해 전형적인 사포닌의 신호를 나타내었고, 분광자료의 해석과 문헌자료와의 비교를 통해 sarasinoside A_1 임이 밝혀졌다(Kobayashi et al. 1991). 이어 화합물 3–11의 분광분석 결과 각 화합물은 순서대로 sarasinoside A_3 (3), sarasinoside B_2 (4), sarasinoside M (5), sarasinoside A_4 (6), sarasinoside Q (7), sarasinoside R (8), sarasinoside H_2 (9), sarasinoside I_1 (10), Sarasinoside I_2 (11)로 밝혀졌다. (Kobayashi et al. 1991; Dai et al. 2005; Santalova et al. 2006; Lee et al. 2012; Lee et al. 2000; Espada et al. 1992).

문헌에 보고된 적이 없는 화합물 1은 갈색의 무정형고체로 분리되었고 optical rotation 측정결과 $[\alpha]_{\text{D}}^{25} -62.6$ (c 0.5, MeOH), UV와 IR 흡광도를 측정결과 각각 λ_{max} 는 206nm, ν_{max} 는 3367(br), 2929, 1646(br), 1376, 1078 cm^{-1} 를 나타내었다. HRMS와 ^{13}C NMR을 통해 분자식은 $\text{C}_{63}\text{H}_{102}\text{N}_2\text{O}_{26}$ 로 결정되었고, ^1H NMR과 ^{13}C NMR은

sarasinoside A_1 와 많은 유사성을 가지고 있는 것으로 나타났다. 화합물 1의 sarasinoside A_1 과 차별된 화학구조는 COSY와 HSQC, HMBC NMR을 통해 밝힐 수 있었다. ^1H NMR에서 δ_{H} 4.29, 4.49, 4.62, 4.84, 5.08 ppm에 나타나는 다섯 개의 특징적인 doublet 신호는 sarasinoside A_1 과 마찬가지로 5개의 당이 연결되어 나타나는 anomeric proton임을 나타내었고, 이에 대응하는 ^{13}C NMR은 δ_{C} 는 각각 106.7, 102.6, 105.7, 101.9, 102.6 ppm에서 신호를 나타내었다. HMBC 분석결과 다섯 개 sugar의 연결 또한 sarasinoside A_1 과 동일한 것으로 밝혀졌다. Sugar를 제외한 aglycone 부분에서도 화합물 1은 sarasinoside A_1 과 아주 유사한 NMR 신호를 나타내었다. 하지만 δ_{H} 5.76, 6.05 ppm에서 신호를 나타내는 수소와 δ_{C} 122.5 ppm에서 신호를 주는 탄소의 HSQC에 의한 연결은 이 화합물의 구조적 특이성을 나타내는 것이었다. 이러한 연결들은 정밀한 COSY와 HMBC 분석에 의해 해석될 수 있었으며,

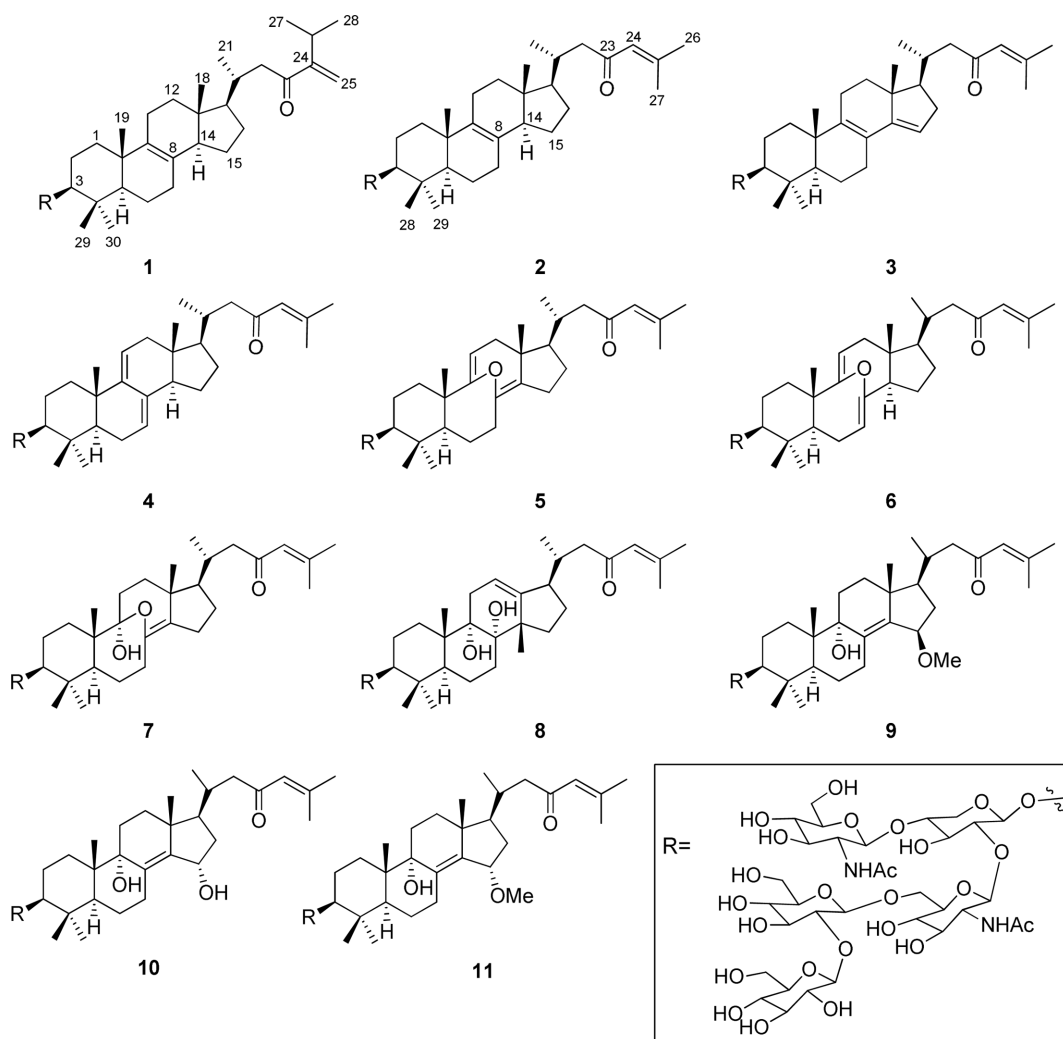


Fig. 1. Chemical structures of isolated compounds

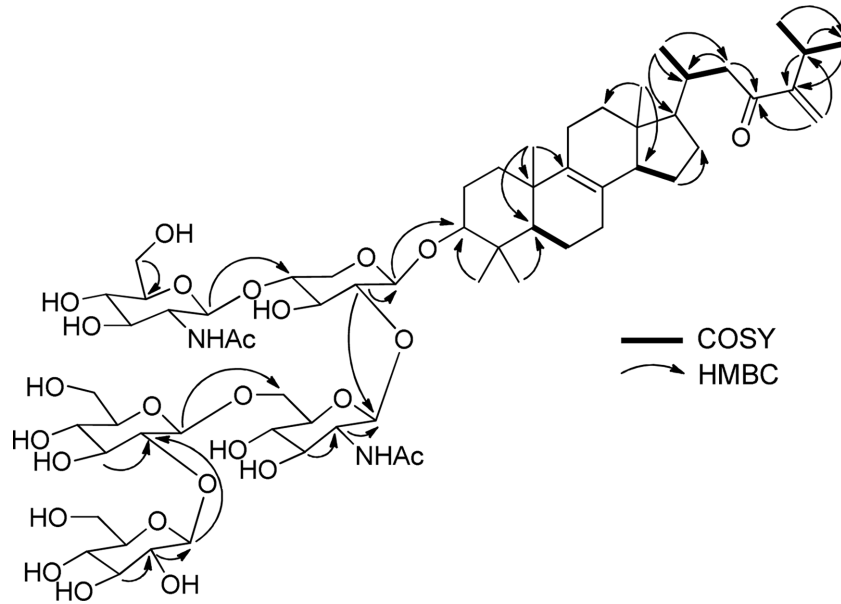


Fig. 2. Key COSY and HMBC correlations

Table 4. Growth inhibition (GI_{50} , $\mu\text{g/mL}$) of compounds 1–11 against human tumor cell lines

Compound	ACHN	MDA-MB-231	NCI-H23	NUGC-3
1	7.52	10.61	10.85	10.47
2	7.53	4.32	7.80	3.04
3	7.13	10.76	10.18	10.10
4	6.42	11.11	5.39	10.38
5	>30	>30	>30	>30
6	9.46	13.97	13.61	10.49
7	7.51	9.38	12.21	6.21
8	>30	>30	>30	>30
9	>30	>30	>30	>30
10	>30	>30	>30	>30
11	>30	>30	>30	>30

화합물 1의 25번 탄소의 *exo*-olefin 구조에 의해 나타난 신호로 밝혀졌다(Fig. 2).

해면동물 *Lipastrotethya* sp.로부터 분리되어 화학구조가 밝혀진 신규 화합물 1과 10종의 sarasinoside(2–11)에 대해 ACHN(신장암), MDA-MB-231(유방암), NCI-H23(폐암), NUGC-3(위암) 등 4종의 인체 암세포에 대한 성장억제율을 SRB assay 방법으로 측정하였다. 암세포에 대한 성장억제율 측정결과는 Table 4에 정리하였으며, 화합물 1, 2, 3, 4, 6, 7이 측정된 네 종류의 암세포에 대해 약한 성장억제활성을 보였다.

4. 결 론

열대 해역에서 채집된 해면동물 *Lipastrotethya* sp.로부터 한 종의 신규 triterpene glycoside와 10종의 알려진 사포닌 화합물이 분리되었다. 이들의 화학구조는 복합적인 분광분석법을 통해 밝혀졌고, 각 화합물이 다양한 종류의 암세포에 미치는 영향을 확인하였다. 11종의 정제된 물질들 중 1, 2, 3, 4, 6, 7에 해당하는 화합물이 ACHN(신장암), MDA-MB-231(유방암), NCI-H23(폐암), NUGC-3(위암) 암세포에 활성을 보였으나 대조군으로 사용된 adriamycin에 비하여 약한 활성을 나타냈다. 측정된 암세포에 대해 활성이 나타나지 않은 화합물들은 구조적으로 aglycone의 C 고리와 D 고리에 많은 변화가 있는 화합물로 나타났다. 특히 화합물 9, 10, 11은 15번 위치의 탄소에 hydroxy기 또는 methoxy기가 연결되어 있고, 화합물 5와 8은 각각 C 고리의 8번, 14번 탄소에 구조적 변화가 있는 특징이 있다. 이들의 위치는 모두 이웃해 있으며, 이러한 구조적 변화들이 암세포에 대한 활성이 나타나지 요인이 된 것으로 판단된다. 해면동물 *Lipastrotethya* sp.로부터 분리된 11종의 화합물이 비록 암세포에 대해 강한 저해활성이 나타나지 않았지만, 추가로 폭 넓은 스크리닝을 진행할 예정이다. 아울러 이번 연구를 통해 열대 해양생물을 이용한 천연물 연구의 가능성을 확인할 수 있었다.

사 사

본 연구는 해양수산부 “해외 해양생물자원 개발 및 활

용기반 구축”(PM559731) 사업의 지원을 받아 수행된 연구입니다. 본 연구의 재료로 사용된 해면동물의 채집과 연구를 허락해 준 마이크로네시아 측 정부 관계자 여러분께 감사드립니다. 아울러 해면동물을 동정해 주신 한국해양과학기술원의 김영아 박사님, 사포닌 화합물의 암세포에 대한 성장억제를 측정하여 주신 한국생명공학연구원의 강종순 박사님, 윤지은 박사님께 감사드립니다.

참고문헌

- Andersson L, Bohlin L, Iorizzi M, Riccio R, Minale L, Moreno-Lopez W (1989) Biological activity of saponins and saponin-like compounds from starfish and brittle stars. *Toxicon* **27**(2):179–188
- Dai HF, Edrada RA, Ebel R, Nimtz M, Wray V, Proksch P (2005) Norlanostane triterpenoidal saponins from the marine sponge *Melophlus sarassinorum*. *J Nat Prod* **68**:1231–1237
- D'Auria M, Paloma LG, Minale L, Riccio R (1992) Structure characterization by two-dimensional NMR spectroscopy of two marine triterpene oligoglycosides from a pacific sponge of the genus *Erylus*. *Tetrahedron* **48**(3):491–498
- Dyck SV, Gerbaux P, Flammang P (2010) Qualitative and quantitative saponin contents in five sea cucumbers from the Indian ocean. *Mar Drugs* **8**:173–189
- Ebada SS, Lin WH, Proksch P (2010) Bioactive sesterterpenes and triterpenes from marine sponges: occurrence and pharmacological significance. *Mar Drugs* **8**:313–346
- Espada A, Jimenez C, Rodriguez J, Phillip C, Riguera R (1992) Sarasinosides D-G: four new triterpenoid saponins from the sponge *Asteropus sarasinorum*. *Tetrahedron* **48**(40):8685–8696
- Hostettmann K, Marston A (1995) Saponins. Cambridge University Press, Cambridge, 232 p
- James DB (1986) Holothurian toxin as a poison to eradicate undesirable organisms from fish farm. *Proc Symp Coast Aquacult* **4**:1339–1341
- Kang SS (1996) Saponin: triterpenoid. Seoul National University Press, Seoul, 67 p
- Kobayashi M, Okamoto Y, Kitagawa I (1991) Marine natural products XXVIII. the structures of sarasinosides A₁, A₂, A₃, B₁, B₂, B₃, C₁, C₂, C₃, nine new norlanostane-triterpenoidal oligoglycosides from the palauan marine sponge *Asteropus sarasinorum*. *Chem Pharm Bull* **39**(11):2867–2877
- Kuo SC, Lee HZ, Juang JP, Lin YT, We TS, Chang JJ, Lednicer D, Paull KD, Lin CM, Hamel E, Lee KH (1993) Synthesis and cytotoxicity of 1,6,7,8-substituted 2-(4'-substituted phenyl)-4-quinolones and related compounds: Identification as antimetabolic agents interacting with tubulin. *J Med Chem* **36**:1146–1156
- Lee HS, Seo Y, Cho KW, Rho JR, Shin J, Paul VJ (2000) New triterpenoid saponins from the sponge *Melophlus isis*. *J Nat Prod* **63**:915–919
- Lee JH, Jang KH, Lee YJ, Lee HS, Sim CJ, Oh KB, Shin J (2011) Triterpene galactosides of the pouoside class and corresponding aglycones from the sponge *Lipastrotethya* sp. *J Nat Prod* **74**:2563–2570
- Lee JH, Jeon JE, Lee YJ, Lee HS, Sim CJ, Oh KB, Shin JH (2012) Nortriterpene glycosides of the sarasinoside class from the sponge *Lipastrotethya* sp. *J Nat Prod* **75**:1365–1372
- Li M, Miao ZH, Chen Z, Chen Q, Gui M, Lin LP, Sun P, Yi YH, Ding J (2010) Echinaside A, a new marine-derived anticancer saponin, targets topoisomerase 2 α by unique interference with its DNA binding and catalytic cycle. *Annals of Oncology* **21**:597–607
- Mao SC, Manzo E, Guo YW, Gavagnin M, Mollo E, Ciavatta ML, Soest RV, Cimino G (2007) New diastereomeric bis-sesquiterpenes from Hainan marine sponge *Axinyssa variabilis* and *Lipastrotethya ana*. *Tetrahedron* **63**:11108–11113
- Park HJ, Kim MM, Lee DH (2011) Effect of saponin with antioxidant activity on matrix metalloproteinase in human dermal fibroblasts. *J Life Sci* **21**:1266–1273
- Santalova EA, Denisenko VA, Dmitrenok PS, Berdyshev DV, Stonik VA (2006) Two new sarasinosides from the sponge *Melophlus sarasinorum*. *Nat Prod Commun* **1**:265–271
- Schmitz FJ, Ksebati MB, Gunasekera SP, Agarwal S (1988) Sarasinoside A1: A saponin containing amino sugars isolated from a sponge. *J Org Chem* **53**:5941–5947
- Tong Y, Zhang X, Tian F, Yi Y, Xu Q, Li L, Tong L, Lin L, Ding J (2005) Philinopside A, a novel marine-derived compound possessing dual anti-angiogenic and anti-tumor effects. *Int J Cancer* **114**:843–853

Received Oct. 7, 2016

Revised Oct. 23, 2016

Accepted Oct. 29, 2016