

홍조 꼬시래기(*Gracilaria verrucosa*) 유래의 글리세로당 Floridoside의 화학구조

盧連淑·孫炳華·任光植*·崔洪大**

부산수산대학교 자연과학대학 화학과 · *부산대학교 약학대학 · **동의대학교 자연과학대학 화학과

Structure of Floridoside, a Glycerol Glycoside from the Marine Red Alga *Gracilaria verrucosa*

Yeon Suk Roh, Byeng Wha Son, Kwang Sik Im* and Hong Dae Choi**

Department of Chemistry, National Fisheries University of Pusan, Pusan 608-737,

*College of Pharmacy, Pusan National University, Pusan 609-735 and

**Department of Chemistry, Donggeui University, Pusan 614-714, Korea

Abstract—As part of search for new biologically active substances from marine organism, we have isolated a glycerol glycoside from the marine red alga *Gracilaria verrucosa*. The structure of the glycerol glycoside was elucidated as 2-O- α -D-galactopyranosylglycerol[floridoside(4)] on the basis of spectroscopic and physicochemical evidences.

Keywords—Red alga · *Gracilaria verrucosa* · glycerolglycoside · floridoside · 2-O- α -D-galactopyranosylglycerol

해양생물유래의 생물활성물질의 탐색연구의 일환으로서, 우리나라 연안에서 널리 서식하고 있을뿐만 아니라 prostaglandin A₂ 및 E₂를 생산하는 것으로 보고된¹⁾ 홍조 꼬시래기(*Gracilaria verrucosa*)를 대상으로 그 화학적 연구를 행하여 3종류의 새로운 당지질류(1, 2, 3)를 분리하여 그 화학구조를 보고하였다.^{2,3)}

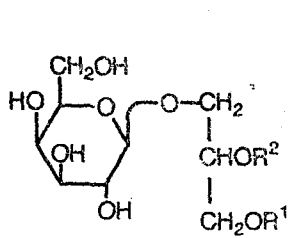
홍조 꼬시래기(*G. verrucosa*)의 대사성분 중에서 극성이 큰 성분을 대상으로 한 계속적인 연구에서 글리세로당류인 floridoside(4)⁴⁻⁷⁾를 분리하여 그 화학구조를 결정하였기에 보고하고자 한다.

실 험 방 법

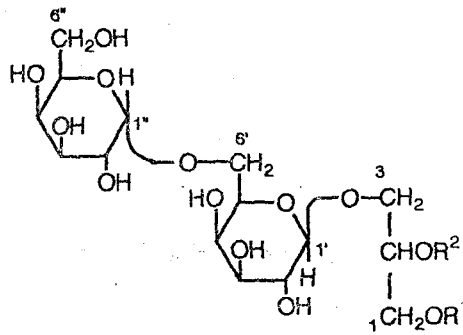
기기 및 시약—IR은 Shimadzu IR-408을, NMR은 Bruker AM-300을 사용하였다. 비선광도는

일본분광 DIP-181형 디지털 선광계를 사용하여 측정하였다. GC는 Hitachi G-3000을, GC-MS는 Hewlett Packard 5890 HP 5970 MSD spectrometer를 사용하여 측정하였다. Column chromatography(chromatog.라 略함)의 흡착제는 silica gel 60(Merck, 70~230 mesh, Art. No. 7734)과 역상 octadecyl silica gel(Waters, μ -Bondapak C₁₈)을 사용하였다. TLC는 silica gel 60 F₂₅₄(Merck, precoated TLC plate, Art. No. 5715)를 사용하였으며, spot는 1% Ce(SO₄)₂/10% H₂SO₄를 분무하고 가열시의 발색으로 검출하였다. 추출 및 column chromatog.용 용매는 시약용 1급을 정류하거나 그대로 사용하였으며, 기타 반응용 시약류는 Aldrich사, Nakarai사 및 Tokyo Kasei 사의 특급 및 1급시약을 정류하거나 그대로 사용하였다.

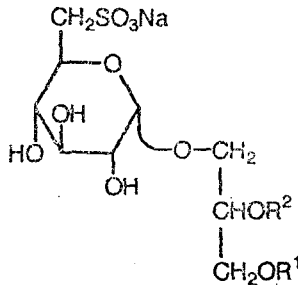
추출 및 분리정제—전남 여수부근에서 1992년



1. $R^1, R^2 = (b : c : d = 4 : 1 : 9)$

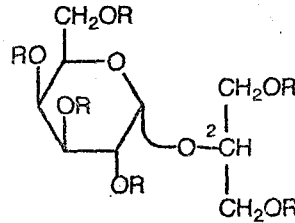


2. $R^1, R^2 = (b : c : d = 5 : 1 : 4)$

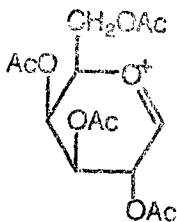


3. $R^1, R^2 = (a : b : d = 4 : 15 : 1)$

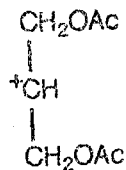
- a : myristate
- b : palmitate
- c : oleate
- d : arachidonate



floridoside (4). $R = H$
5. $R = Ac$
6. $R = Me$



m/z 331



m/z 159

4월에 채집한 홍조 피시래기 (*G. verrucosa*)의 신선한 병동시료(2 kg)를 세절한 후 실온에서 아세톤 및 MeOH로 추출하였다. 아세톤 및 MeOH 추출액을 감압하에서 용매를 유거하여 얻은 엑스를 EtOAc-H₂O로 분배한 후, 분리된 수층을 다시 *n*-BuOH로 추출하여 *n*-BuOH 엑스(0.9 g)를 얻었다. 이 *n*-BuOH 엑스(0.9 g)를 silica gel

column chromatog. (CHCl₃-MeOH-H₂O=65 : 35 : 10, lower layer)로 조분획한 후, 다시 역상 column chromatog. (Waters, μ -Bondapak C₁₈) (MeOH-H₂O=1 : 1)로 정제하여 floridoside(4) (30 mg)를 *n*-BuOH 엑스로부터 3.3%의 수율로 분리하였다.

Floridoside(4)—Colorless amorphous solid, $[\alpha]_D^{25} +164^\circ$ (c 0.4, H₂O) (lit.⁶⁾ $+162^\circ$; IR(KBr, cm⁻¹) 3350, 1635, 1070, 1025; ¹H-NMR(300 MHz, CD₃OD) δ : 5.06(1H, d-like, $J=2.5$ Hz, anomeric proton), 4.01(1H, t, $J=6.0$ Hz, H-2), 3.67~3.92(a mass of signals, geminal protons of oxygen functions); ¹³C-NMR(75 MHz, CD₃OD) δ : 62.1(C-1), 80.8(C-2), 63.2(C-3), 99.9(C-1'), 70.4(C-2'), 71.4(C-3'), 71.1(C-4'), 72.6(C-5'), 62.8(C-6').

Floridoside(4)의 acetylation—4(100 mg)를 pyridine(5 ml)에 용해시킨후 무수초산(5 ml) 및

축매로서 소량의 DMAP(10 mg)를 가하고 질소기류하 실온에서 14시간 반응시켰다. 반응액에 증류수(100 ml)를 가한후 EtOAc(200 ml)로 추출하였다. EtOAc 층을 $MgSO_4$ 로 건조한 후 감압농축하여 얻은 반응물을 silica gel column chromatog. (*n*-hexane-EtOAc=2:1→1:1)로 정제하여 floridoside hexaacetate(5) (95 mg)을 얻었다. 5: colorless amorphous solid, $[\alpha]_D^{+108^\circ}$ (c 0.5, acetone) (lit.⁵⁾ +111°); IR(KBr, cm^{-1}) 1740 and 1220(ester); EIMS, $m/z(\%)$ 331(8), 159(76), 43(100); 1H -NMR(300 MHz, $CDCl_3$) δ : 4.48(1H, t, $J=6.5$ Hz, H-2), 5.37(1H, d, $J=3.7$ Hz, H-1'), 5.06(1H, dd, $J=10.8, 3.7$ Hz, H-2'), 5.30(1H, dd, $J=10.8, 3.2$ Hz, H-3'), 5.45(1H, dd, $J=3.2, ca 1.5$ Hz, H-4'), 2.14, 2.10, 2.06, 2.05, 2.03, 1.99 (each 3H, s, $OCOCH_3$); ^{13}C -NMR(75MHz, $CDCl_3$) δ : 97.0(C-1'), 75.3(d), 69.4(d), 69.2(d), 68.8(d), 67.9(d), 64.8(t), 64.3(t), 62.8(t), 172.3, 172.2, 172.0, 171.9, 171.6, 171.5 (each s, $OCOCH_3$), 20.8, 20.7, 20.7, 20.6, 20.6, 20.5(each q, $OCOCH_3$).

Floridoside(4)의 permethylation—4(90 mg)를 dimethyl carbanion 용액(10 ml) [사용전에 dry *n*-hexane으로 세척한 NaH(2 g)와 DMSO(35 ml)를 질소기류하 70°C에서 1시간 교반하여 제조]에 용해시킨후 질소기류하 실온에서 1시간 교반하였다. 빙수로 냉각시킨 반응액에 차광하 CH_3I (3.5 ml)를 가하고 실온에서 12시간 교반하여 완전 메틸화반응을 행하였다. 반응 혼합물에 빙수를 가한다음 EtOAc로 추출하여 얻은 EtOAc 추출액을 증류수 및 포화식염수로 세척하고 $MgSO_4$ 로 건조한 후 감압농축한 잔사를 silica gel column chromatog. (benzene-acetone=7:1→1:1)로 정제하여 floridoside hexamethylate(6) (85 mg)을 얻었다. 6: colorless amorphous solid, 1H -NMR(300 MHz, $CDCl_3$) δ : 4.09(1H, t, $J=6.5$ Hz, H-2), 5.23(1H, d, $J=3.5$ Hz, H-1'), 3.57, 3.51, 3.49, 3.39, 3.35, 3.35(each 3H, s, OCH_3); ^{13}C -NMR(75 MHz, $CDCl_3$) δ : 96.2(C-1'), 79.7(d), 77.6(d), 75.6(d), 74.5(d), 72.9(d), 72.8(t), 71.0(t), 68.8(t), 61.2,

59.1, 59.1, 58.9, 57.7, 57.6(each q, OCH_3).

Floridoside(4)의 산 가수분해—4(8 mg)를 9% HCl-dry MeOH(6 ml)에 용해시켜 질소기류하에서 1시간 가열환류하였다. 반응액에 Ag_2CO_3 분말을 가하여 중화한후 여과하고 여액을 감압농축하여 얻은 잔사를 pyridine(0.5 ml)에 용해시킨 다음 N,O-bis(trimethylsilyl)trifluoroacetamide (BSTFA) (0.2 ml)를 가하고 실온에서 1시간 방치한 후 GC로서 methyl galactoside 및 glycerol을 동정하였다.

GC: Ultra 1(cross-linked methyl silicone gum phase), 0.32 mm×25 m×0.52 μm (film thickness) capillary column, N_2 flow rate 20 ml/min. 1) column temp. for methyl galactoside: 170°C→230°C(2°C/min.). t_R : TMS-methyl galactoside 11' 10'', 12' 26'', 13' 51''. 2) column temp. for glycerol: 120°C→230°C(2°C/min.). t_R : TMS-glycerol 7' 40''.

결과 및 고찰

홍조 꼬시래기 성분중의 하나인 글리세로당(glycerol glycoside) (4), $[\alpha]_D^{+164^\circ}$ (c 0.4, H_2O)⁶⁾, 은 IR에서 수산기(3350 cm^{-1}) 및 glycoside 결합(1070, 1025 cm^{-1}) 유래의 흡수 signal이 관측되었으며, 1H -NMR spectrum에서 anomeric proton [δ 5.06(1H, d-like, $J=2.5$ Hz)]과 산소 관능기의 geminal proton [δ 3.67~4.03(a mass of signals)]의 존재가 추정되었다. 그리고, ^{13}C -NMR spectrum에서 hexose [δ 99.9(d), 72.6(d), 71.4(d), 71.1(d), 70.4(d), 62.8(t)] 및 monosubstituted glycerol [δ 80.8(d), 63.2(t), 62.1(t)] 유래의 signal이 관측되어 4는 glycerol glycoside라는 것이 추정되었다. 4를 아세틸화하여 얻은 hexaacetate(5), $[\alpha]_D^{+108^\circ}$ (c 0.5, acetone)⁵⁾, 는 ester group의 흡수 signal(1740, 1220 cm^{-1})이 관측되었으며, 또한 mass spectrum에서 당결합(glycosidic linkage)의 개열에 의해 생성된 두 특징적인 fragment m/z 331 및 159가 관측되었다. 그리고, 1H -NMR 및 ^{13}C -NMR spectrum에서 6개의 acetyl기의 signal외에, sugar moiety의 각 proton의 결합상수($J_{1,2}=3.7$ Hz,

$J_{2,3}=10.8$ Hz, $J_{3,4}=3.2$ Hz, $J_{4,5}=ca$ 1.5 Hz)로부터, 5는 α -D-galactopyranosylglycerol의 hexaacetate라는 것이 판명되었다. 나아가, 4를 완전 메틸화하여 얻은 6은 IR에서 수산기유래의 흡수 signal이 소실되었으며, 그 1 H-NMR 및 13 C-NMR data의 해석으로부터 4의 hexamethyl유도체라는 것이 다시 확인되었다. 한편, sugar moiety의 결합위치는 4 [δ 4.01 (1 H, t, $J=6.0$ Hz, H-2)]와 그 유도체 5 [δ 4.48 (1 H, t, $J=6.5$ Hz, H-2)] 및 6 [δ 4.09 (1 H, t, $J=6.5$ Hz, H-2)]의 2위 proton의 분열양식으로부터 galactopyranose는 glycerol의 2위에 결합되어 있는 것으로 판명되어, 글리세로당 (4)의 화학구조를 2-O- α -D-galactopyranosylglycerol로 결정하였다.

또한 4를 산가수분해 (9% HCl in dry MeOH) 하여 얻은 methyl galactose 및 glycerol의 TMS 유도체를 GC로서 동정하여 그 화학구조를 다시 한번 확인하였다.

이상의 결과로부터, 홍조 꼬시래기 (*G. verrucosa*)로부터 처음으로 분리된 글리세로당 (4)은 *Pterocladia pinnata*⁶⁾ 및 *Porphyra perforata*⁷⁾와 같은 많은 종류의 홍조류로부터 분리되어 그 화학구조가 결정된 floridoside (4)와 동일 화합물이라는 것이 판명되었다. Floridoside (4)는 해조류중 특히 홍조류에서만 생산되고 있어 그 생합성과 응용에 많은 흥미가 기대된다.

결 론

해양생물유래의 생물활성물질 탐색연구의 일

환으로서 홍조 꼬시래기 (*Gracilaria verrucosa*) 성분의 화학적 연구를 행하여 글리세로당을 분리하였다. 분리된 글리세로당의 화학구조는 그 물리화학적 성질, 화학반응 및 분광학적분석 자료를 검토한 결과 2-O- α -D-galactopyranosylglycerol (4, floridoside)로 판명되었다.

감사의 말씀—본 연구는 1993년도 보건사회부 신약개발 연구지원비에 의하여 연구되었으며 이에 감사드립니다. 아울러 EIMS 및 GC-MS를 측정하여주신 부산직할시 보건환경연구원 분석실의 이원구 선생님께서 감사를 드립니다.

〈1994년 2월 23일 접수 : 3월 31일 수리〉

문 헌

1. Fusetani, N. and Hashimoto, K.: *Nippon Suisan Gakkaishi* 50, 465 (1984).
2. Son, B.W.: *Bull. Korean Chem. Soc.* 9, 264 (1988).
3. Son, B.W.: *Phytochemistry* 29, 307 (1990).
4. Putman, E.W. and Hassid, W.Z.: *J. Am. Chem. Soc.* 76, 2221 (1954).
5. Aplin, R.T., Durham, L.J., Kanazawa, Y. and Safe, S.: *J. Chem. Soc. (C)* 1967, 1346.
6. Impellizzeri, G., Mangiafico, S., Oriente, G., Piattelli, M., Sciuto, S., Fattorusso, E., Magno, S., Santacroce, C. and Sica, D.: *Phytochemistry* 14, 1549 (1975).
7. Meng, J., Rosell, K.-G. and Srivastava, L.M.: *Carbohydr. Res.* 161, 171 (1987).