

## 지층이로부터 분리한 Plastoquinone 유도체의 NMR assignment

서영완\* · 박기의 · 김유아 · 이희정\* · 정현아<sup>1</sup>  
한국해양대학교 해양과학부 · <sup>1</sup>한국해양대학교 해양과학기술연구소

## NMR Assignment of Plastoquinone Derivatives from the Brown Alga *Sargassum thunbergii*

Youngwan Seo, Ki Eui Park, You Ah Kim, Hee-Jung Lee<sup>1</sup> and Hyun Ah Jung<sup>1</sup>

Division of Ocean Science, Korea Maritime University, Busan, 606-791, Korea

<sup>1</sup>Research Institute of Marine Science and Technology(RIMST), Korea Maritime University, Busan,  
606-791, Korea

**ABSTRACT:** From *Sargassum thunbergii* which is widely distributed in coastal area of Korea, sargahydroquinoic acid (1), sargaquinoic acid (2), sargachromenol (3) were isolated. Their chemical structures have been determined by extensive 2D NMR experiments such as <sup>1</sup>H COSY, TOCSY, NOESY, HSQC, and HMBC and by comparison with the reported data in the literature. This is the first report of the correct full assignment for compounds of plastoquinone structural class.

**Key words :** *Sargassum thunbergii*, brown alga, plastoquinone, NMR assignment

해양 천연물로부터 생리 활성 성분에 관한 검색을 실시한 결과 갈조류인 지층이 조추출물이 DPPH 라디칼 소거 활성이 매우 뛰어난 것을 확인하였다(Seo et al., 2003). 따라서 지층이의 조추출물로부터 활성추적법을 이용하여 DPPH 라디칼 소거 활성 성분을 분리 정제하였다. 그 결과 3종의 plastoquinone 화합물을 단리하였으며 NMR을 assignment하였다.

Sargahydroquinoic acid(compound 1)는 무색의 gum이었으며, HRFABMS와 <sup>13</sup>C NMR spectrum에 의해 분자식이 C<sub>27</sub>H<sub>38</sub>O<sub>4</sub>였다. 또

한 <sup>13</sup>C NMR spectrum에서 δ 150-110 영역의 carbon signal과 <sup>1</sup>H NMR spectrum에서 δ 6.47(1H, br s)과 6.65(1H br s)의 signal에 의해 aromatic ring이 있음을 알 수 있었다. 그리고 <sup>13</sup>C NMR spectrum에서 δ 172.5의 signal과 IR spectrum에서 V<sub>max</sub> 1680cm<sup>-1</sup>의 강한 흡수 band와 3400-2500cm<sup>-1</sup>의 broad한 band로써 carboxylic acid의 기능기의 존재를 추정할 수 있었다.

이 화합물의 나머지 구조는 <sup>1</sup>H COSY, TOCSY, NOESY, HSQC, HMBC와 같은 2D NMR 실험을 하여 구조를 동정하였다. 적어도 1개의 methyl기를 비롯한 4개의 3치환된 이

\*Corresponding author: ywseo@hhu.ac.kr

Tel:  
Fax:

중 결합의 존재는 <sup>1</sup>H COSY spectrum에서 vinyl methyl proton signal들과 olefinic proton signal의 long-ranged coupling을 확인함으로써 알 수 있었다. 그리고 olefinic과 고자장 proton signal들 사이의 proton-proton coupling과 vinyl methyl

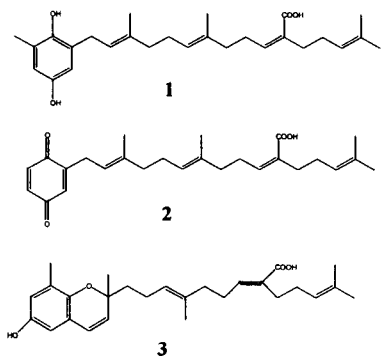


Fig. 1 Chemical structure of compounds 1-3

1-3 protons과 이웃한 carbon의 HMBC correlation은 C-11' 이 carboxylic acid를 가지고 있는 geranyl geranyl 사슬임을 의미한다. 게다가 <sup>1</sup>H와 <sup>13</sup>C NMR spectrum에서 저자장 영역의 signal과 2D NMR을 분석한 결과 aromatic ring이 1,4-dihydroquinone이었다. aromatic proton의 signal들이 δ 6.47과 δ 6.45에 나타남으로써 meta 치환임을 알 수 있다. δ 2.17(3H, br s)에 나타난 methyl proton signal과 δ 6.47과 δ 6.45의 long-range coupling에 의해 C-6'가 benzylic methyl기로 assign 하였다. 따라서 aromatic 부분의 구조는 2-alkyl-6-methyl-1,4-hydroquinone으로 결정하였다. 이 화합물은 이미 Sargassum sagamianum var. yezoense.에서 보고된 문헌치와 잘 일치하였다(Seagawa and Shirahama, 1987).

compound 2도 또한 무색의 gum이었으며 HRFABMS와 <sup>13</sup>C NMR spectrum로 분석한

결과 compound 1의 유도체임을 알 수 있었다. <sup>13</sup>C NMR spectrum에서 가장 두드러진 차이점은 δ 148.6, 146.2에서의 4급 탄소 signal이 δ 187.7, 187.9로 저장장쪽으로 이동되었으며, 이 signal들을 compound 2에서 quinone ring의 2개의 ketone 탄소인 C-1, C-4로 assign하였다. 따라서 compound 2를 5-methyl-2-[(2E,6E,10Z)-11-carboxyl-3,7,15-trimethyl-2,6,10,14-hexadecatetraenyl]-2,5-cyclohexadien-1,4-dione로 동정하였으며, 문헌치와 비교하여 sargaquinoic acid로 결정하였다(Kusumi et al., 1979; Silva et al., 2001).

compound 3은 무색의 gum으로 분리되었으며, 분자식은 HRFABMS와 <sup>13</sup>C NMR spectrum에 의해 C<sub>27</sub>H<sub>36</sub>O<sub>4</sub>로 확인되었다. 이 화합물의 spectral data는 compound 1과 매우 유사하다. compound 1과 비교했을 때 compound 3의 가장 큰 특징은 <sup>13</sup>C NMR spectrum에서 oxygenated tertiary carbon (δ 77.7) signal과 <sup>1</sup>H NMR spectrum에서 C-1, C-2의 olefinic protondp 기인된 AB system(δ 6.21, 5.54, each d, 9.6Hz)은 compound 1에서 benzylic methylene protons과 인접한 vinyl proton의 치환을 의미한다.

이 변화들은 1'-OH 와 C-3사이의 새로운 cyclic ether 결합으로 인하여 chromene ring의 존재를 알 수 있다. 또한 olefinic proton H-1과 C-3, C-1', C-2', C-3'와의 HMBC correlation이 확인되었고, methyl protons H-20은 C-2와 관련이 있다. 따라서 compound 3의 구조를 2-[(3E,7Z)-(8-carboxyl-4,12-dimethyltrideca-3,7,11-trienyl)-2,8-dimethyl-2H-chromen-6-yl]로 결정하였으며,

sargachromenol로 보고된 문헌치와 잘 일치하였다(Kusumi et al., 1979; Silva et al., 2001).

이 화합물들이 갈조류에서 이미 보고되었다 하더라도 완전한 assignment는 보고되지 않았다(Amico et al., 1987; Rivera et al., 1990, Numata et al., 1991; 1992; Davyt et al., 1997). 이번 논문에서  $^1\text{H}$  COSY, TOCSY, NOESY, HSQC, HMBC와 같은 2D NMR을 이용하여 plastoquinone 구조의 완전한 NMR assignment를 하였다. 그리고 이 화합물들(1-3)의 DPPH 라디칼 소거능은 각각 26, 28, 36  $\mu\text{g}/\text{ml}$  인 것으로 나타났다.

재료로 사용한 지층이는(*Sargassum thunbergii*)는 부산시 영도에서 2002년 12월에 채집하였으며, 음건하였으며,  $-25^\circ\text{C}$ 에 보관하면서 실험 재료로 사용하였다. 그리고 지층(250g)를 음건하여 시료는 잘게 세절하였으며, 2일 동안 acetone- $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ (1:1)(1.5L $\times$ 2)과 MeOH(1.5L $\times$ 2)로 추출하였다. 각각의 조추출물을 합하여 추출물(12.5g)을 수욕상에서  $40^\circ\text{C}$ 이하에서 감압 농축하였다. 그리고는  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ 와 물로 분획하였고,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  분획물은 15% aq. MeOH과 *n*-hexane층으로 분획하였고, 물 분획물은 다시 *n*-BuOH 층과 물층으로 분획하여 위와 동일한 방법으로 농축하였다. 15% aq. MeOH 분획물(4.3g)은 물과 MeOH로(50%, 40%, 30%, 20%, 10% aqueous MeOH, 100% MeOH)  $\text{C}_{18}$  reversed-phase vacuum flash chromatography하였다. Reversed-phase HPLC(YMC ODS column, 13% aqueous MeOH)에 의해 fraction 5을 정제하여 15.3mg(compound 1)과 14.1mg(compound 3)을 얻었다. compound 1의 불순한 fraction 이 다른 용매조건하에

HPLC(YMC ODS column, 5% aqueous MeOH)하여 52.3mg의 불순한 compound 2를 얻은 다음 다시 HPLC(YMC ODS column, 20% aqueous MeOH)하여 순수한 13.2mg의 compound 2를 분리, 정제하였다.

**Sargahydroquinoic acid (1):** a colorless gum; FABMS  $m/z$  449.2668 ( $\text{M}+\text{Na}^+$ ) (calcd for  $\text{C}_{27}\text{H}_{38}\text{O}_4\text{Na}$ , 449.2668); HMBC correlations H-1/C-2, C-3, C-1', C-2', C-3'; H-2/C-1, C-4, C-20, C-2'; H-6/C-5, C-8, -C-19; H-9/C-7, C-10, C-11; H-10/C-8, C-9, C-12, C-18; H-12/C-10, C-11, C-13, C-14, C-18; H-14/C-13, C-16, C-17; H-16/C-14, C-15, C-17; H-17/C-14, C-15, C-16; H-19/C-6, C-7, C-8; H-20/C-2, C-3, C-4; H-3'/C-1, C-1', C-4', C-5'; H-5'/C-1', C-3', C-4', Ar- $\text{CH}_3$ ; Ar- $\text{CH}_3$ /C-1', C-5', C-6';  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  NMR spectral data, see Table 1.

**Sargaquinoic acid (2):** a colorless gum; HRFABMS  $m/z$  447.2510 ( $\text{M}+\text{Na}^+$ ) (calcd for  $\text{C}_{27}\text{H}_{36}\text{O}_4\text{Na}$ , 447.2512); HMBC correlations H-1/C-2, C-3, C-1', C-2', C-3'; H-2/C-1, C-4, C-20; H-6/C-4, C-5, C-8, -C-19; H-9/C-7, C-8, C-10, C-11; H-10/C-8, C-12, C-18; H-12/C-10, C-11, C-13, C-14, C-18; H-14/ C-16, C-17; H-16/C-14, C-15, C-17; H-17/C-14, C-15, C-16; H-19/C-6, C-7, C-8; H-20/C-2, C-3, C-4; H-3'/C-1', C-5'; H-5'/C-1'; Ar- $\text{CH}_3$ /C-1', C-5', C-6';  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  NMR spectral data, see Table 1.

**Sargachromenol (3):** a colorless gum;

Table 1. Carbon and Proton NMR Assignments for Compounds 1-3<sup>a</sup>

no	1		2		3	
	H	C	H	C	H	C
1	3.27 (2H, d, 7.2)	29.96 t	3.12 (2H, d, 7.2)	27.61 t	6.21 (1H, d, 9.6)	122.81 d
2	5.25 (1H, t, 7.2)	121.66 d	5.13 (1H, t, 7.4)	117.89 d	5.54 (1H, d, 9.6)	130.49 d
3		138.01 s		139.70 s		77.73 s
4	2.08 (2H, m)	39.52 t	2.08 (2H, m)	39.62 t	1.65 (2H, m)	40.76 t
5	2.12 (2H, m)	26.12 t	2.09 (2H, m)	26.42 t	2.11 (2H, m)	22.67 t
6	5.13 (1H, t, 6.9)	124.15 d	5.11 (1H, m)	124.40 d	5.12 (1H, t, 6.9)	124.77 d
7		134.61 s		134.47 s		134.20 s
8	2.08 (2H, m)	39.07 t	2.09 (2H, m)	39.10 t	2.05 (2H, t, 7.5)	39.11 t
9	2.57 (2H, dt, 7.0, 7.0)	28.37 t	2.59 (2H, q, 7.2)	28.26 t	2.58 (2H, dt, 7.0, 7.5)	28.19 t
10	5.97 (1H, t, 7.0)	145.26 d	5.99 (1H, t, 7.2)	145.25 d	5.96 (1H, t, 7.0)	145.40 d
11		130.49 s		130.49 s		130.44 s
12	2.25 (2H, t, 7.7)	34.60 t	2.26 (2H, t, 7.2)	34.61 t	2.25 (2H, t, 6.9)	34.56 t
13	2.12 (2H, m)	27.93 t	2.12 (2H, m)	27.94 t	2.11 (2H, m)	27.91 t
14	5.07 (1H, t, 6.9)	123.35 d	5.07 (1H, m)	123.36 d	5.07 (1H, t, 6.9)	123.34 d
15		132.14 s		132.11 s		132.11 s
16	1.67 (3H, s)	25.73 q	1.67 (3H, s)	25.73 q	1.66 (3H, s)	25.73 q
17	1.58 (3H, s)	17.78 q	1.58 (3H, s)	17.79 q	1.57 (3H, s)	17.79 q
18		172.45 s		172.71 s		172.91 s
19	1.59 (3H, s)	16.14 q	1.60 (3H, s)	16.11 q	1.56 (3H, s)	15.57 q
20	1.74 (3H, s)	16.19 q	1.62 (3H, s)	16.20 q	1.35 (3H, s)	25.95 q
1'		146.16 s		187.88 s		144.62 s
2'		127.53 s		148.39 s		121.19 s
3'	6.45 (1H, br s)	113.89 d	6.45 (1H, m)	132.11 d	6.30 (1H, d, 2.2)	110.25 d
4'		148.63 s		187.79 s		148.47 s
5'	6.47 (1H, br s)	115.35 d	6.53 (1H, quin, 1.4)	133.03 d	6.45 (1H, d, 2.2)	117.01 d
6'		125.41 s		145.82 s		126.16 s
Ar-Me	2.17 (3H, s)	16.23 q	2.05 (3H, d, 1.4)	16.02 q	2.11 (3H, s)	15.84 q

<sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C NMR spectra were recorded in CDCl<sub>3</sub> solution at 300 and 75 MHz, respectively. Assignments were based upon <sup>1</sup>H COSY, TOCSY, HSQC, and HMBC experiments.

HRFABMS  $m/z$  447.2514 ( $M+Na$ )<sup>+</sup> (calcd for  $C_{27}H_{36}O_4Na$ , 447.2512); HMBC correlations H-1/C-3, C-1', C-2', C-3'; H-2/C-3, C-4, C-20, C-2'; H-6/C-5, C-8, -C-19; H-8/C-6, C-7, C-10; H-9/C-7, C-10, C-11; H-10/C-8, C-9, C-12, C-18; H-12/C-10, C-11, C-14, C-18; H-14/C-13, C-15, C-16, C-17; H-16/C-14, C-15, C-17; H-17/C-14, C-15, C-16; H-19/C-6, C-7; H-20/C-2, C-3, C-4; H-3'/C-1', C-5'; H-5'/C-1', C-3', Ar-CH<sub>3</sub>; Ar-CH<sub>3</sub>/C-1', C-5', C-6'; <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C NMR spectral data, see Table 1.

### 감사의 글

이 논문은 한국학술진흥재단의 중점연구소 지원(KRF-2002-005-C00008)에 의하여 이루어졌습니다.

### 참고문헌

- Amico, V., G. Oriente, P. Nerl, M. Piattelli and G. Rubertom, 1987. Tetraprenyltoluquinols from the brown alga *Cystoseira stricta*. *Phytochemistry*, 26, 1715-1718.
- Davyt, D., W. Enz, E. Manta, G. Navarro and M. Norte, 1997. New chromenols from the brown alga *Desmarestia Menziesii*. *Natural Product Letters*, 9, 305-312.
- Kusumi, T., Y. Shibata, M. Ishitsuka, T. Kinoshita and H. Kakisawa, 1979. Structures of new plastoquinones from the brown alga *Sargassum serratifolium*. *Chemistry Letters*. *Chem. Lett.* 277-278.
- Numata, A., S. Kanbara, C. Takahashi, R. Fujiki, M. Yoneda, E. Fujita and Y. Nabeshima, 1991. Cytotoxic activity of marine algae and a cytotoxic principle of the brown alga *Sargassum tortile*. 39: 2129-2131.
- Numata, A., S., Kanbara, C. Takahashi, R. Fujiki, M. Yoneda, Y. Usami and E. Fujita, 1992. Cytotoxic principle of the brown alga *Sargassum tortile* and structures of chromenes. 31: *Chem. Pharm. Bull.* 1209-1213.
- Rivera, P., F. Podesta, M. Norte, F. Cataldo and A. G. Gonzalez, 1990. New plastoquinones from the brown alga *Desmarestia menziesii*. *Can. J. Chem.* 68: 1399-1409.
- Segawa, M. and H. Shirahama, 1997. New plastoquinones from the brown alga *Sargassum sagamianum* var. *yezoense*. *Chemistry Letters*. 1365-1366.
- Seo, Y. J., Shin, H. J., CHa, Y.-A., Kim, J.-W. Ahn, B.-J. Lee and D. S. Lee, 2003. A new monoterpene glucoside from *Portulaca oelacea*. *Bull. Kor. Chem. Soc.*, 24, 1475-1477.

