

## 북극해 박테리아, *Pseudomonas aeruginosa*에서 분리된 퀴놀론 알칼로이드

윤의중<sup>1\*</sup> · 한세종<sup>1,2</sup> · 김일찬<sup>1</sup> · 임정한<sup>1</sup>

<sup>1</sup>극지연구소 극지생명과학 연구부, <sup>2</sup>한국과학 기술 연합

### Quinolone Alkaloids from the Arctic Bacterium, *Pseudomonas aeruginosa*

Ui Joung Youn<sup>1\*</sup>, Se Jong Han<sup>1,2</sup>, Il Chan Kim<sup>1</sup>, and Jung Han Yim<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Division of Life Sciences, Korea Polar Research Institute, KIOST, Incheon 21990, Korea

<sup>2</sup>Department of Polar Sciences, University of Science and Technology, Incheon 21990, Korea

**Abstract** – Four quinolone alkaloids, 2-heptyl-4-quinolone (1), 2-nonyl-4-quinolone (2), 2-undecyl-4-quinolone (3), and 2-undecen-1'-yl-4-quinolone (4), together with two nitrogen derived benzoic acid derivatives, N-acetylanthranilic acid (5) and o-acetamidobenzamide (6) have been isolated from the Arctic bacterial strain, *Pseudomonas aeruginosa*. The structures of the compounds were determined by 1D and 2D NMR, and MS experiments, as well as by comparison of their data with published values. To the best of our knowledge, compounds 3–6 were isolated for the first time from *P. aeruginosa*.

**Keywords** – *Pseudomonas aeruginosa*, Pseudomonadaceae, Anthranilic acid, Benzamide, Quinolone alkaloid

*Pseudomonas* 종(Pseudomonadaceae)들은 토양이나 퇴적물, 호수, 바다 등 다양한 환경에서 발견되는 박테리아이다.<sup>1)</sup> *P. aeruginosa*를 비롯한 몇몇 종들은 남극에서도 발견되었다.<sup>2,3)</sup> *Pseudomonas* 종들은 사람이나 동물 그리고 식물에 병원성으로 작용하여 많은 관심을 가지게 되었다. 특히, *P. syringae* pv. *savastanoi*는 올리브나 협죽도 매듭병의 원인균으로 알려져 있다.<sup>4)</sup> 한편으로는 이 균의 배양액에서 분리된 화합물들에 대한 연구가 이루어져 여러 생리 활성을 갖는 물질들이 규명되었다. 남극에서 채집된 *P. aeruginosa*로부터 분리된 phenazine 계 알칼로이드들은 *Bacillus cereus* 균에 대한 활성이 보고 되었고,<sup>2)</sup> 바닷속 침전물에서 발견된 *P. aeruginosa*로부터 quinolone 계 알칼로이드 및 rhamnolipid 화합물들은 항균 및 항 말라리아 활성을 갖는 것으로 보고되었다.<sup>5)</sup> 또한 해면(*Homophymia* sp.)에서 발견된 *Pseudomonas* sp.로부터 발견된 몇몇 quinolone 계 화합물들은 말라리아원충의 일종인 열대 열원충(*Plasmodium falciparum*) 및 HIV-1 바이러스에 대한 억제 활성들이 보고되었다.<sup>6)</sup> 그러나, 아직까지 이 종들에 대한 많은 화학적 연구 및 다양한 생리학적 연구가 진행 되어 있지 않고 있다.

남극 및 북극은 대부분 눈과 얼음으로 둘러 쌓여 있으며 매우 건조하다. 또한, 극지방의 겨울은 영하 50도 이하로 떨어진다. 최근에 들어 극지역에서는 오존층의 파괴로 강한 자외선 현상을 보이고 있다. 그러나, 이러한 혹독한 조건에서도 남극의 육상에는 지의류, 선태류들을 비롯하여 바다에는 플랑크톤, 해조류, 크릴 등 다양한 생물들 및 미생물들이 분포한다. 최근에는 이러한 극지역의 혹독한 조건에서 생존하는 생물들을 이용하여 저온 활성 펩타이드 및 다당체,<sup>7,8)</sup> 당노치료제,<sup>9)</sup> 화장품 제제<sup>10)</sup> 등 여러 약학 및 산업 소재 개발에 대한 연구를 진행하고 있다.

본 연구는 남극 및 북극과 같은 극지역에 적응한 생물들의 이차 대사산물들 및 이로부터 응용 방안을 찾기 위하여 북극의 해수에서 분리된 *P. aeruginosa*의 에틸아세테이트(EtOAc) 추출물에 대한 화합물 연구를 진행하였다.

### 재료 및 방법

**실험재료** – 연구에 사용된 박테리아 균주(B15H6)는 2012년 북극의 척지(Chukchi)해 해수로부터 분리되었다. 채집된 해수(50 µL)는 SZB 배지(glucose 20 g/L, peptone 5 g/L, yeast extract 1 g/L, FePO<sub>4</sub> 10 mg/L, and sea water 750 mL/L)에서 25°C로 유지하여 4 일간 배양하였다. 몇몇 선택된

\*교신저자(E-mail): ujoyoung@kopri.re.kr  
(Tel): +82-32-760-5562

균집체들 중 열은 우유색과 표면이 등근 박테리아 균집체가 선택되었고, 본 논문의 저자 중에서 한세중 박사(극지연구소)가 16s rDNA sequence로서 계통 발생적 분석법에 의하여 *P. aeruginosa*로 확인하였다.<sup>11,12</sup> 원배양물(*P. aeruginosa* B15H6)은 극지연구소에 -70°C로 보관되어 있다.

**기기 및 시약** - UV 및 IR은 각각 Shimadzu PharmaSpec-1700 UV-visible spectrophotometer와 Bruker Tensor-27 spectrophotometer 모델을 사용하였다. 1D 및 2D NMR은 Bruker AVANCE(600 MHz) spectrometer를 사용하였다. Mass spectra는 BioTOF II ESI mass spectrometer를 이용하였다. TLC는 Merck precoated silica gel F254 plates를 사용하였으며, RP TLC 로는 RP-C18 F254s plates가 이용되었다. UV light를 이용하여 254 nm와 365 nm 파장에서 1차적으로 확인하고 10% sulfuric acid를 이용하여 발색 확인하였다. Column chromatography에 이용된 충전제는 silica gel 60(Merk Co., 70-230 mesh), RP-C18 silica gel(YMC GEL ODS-A, 12 nm, S-75 µm)과 Sephadex LH-20(Pharmacia Co.)가 이용되었다. Semi-preparative HPLC는 YL9100 HPLC system(Young Lin, South Korea)을 이용하였고, PDA detector 및 Alltech reversed-phase YMC-Pak C-18 column(10 µm, 20×250 mm)을 사용하였다.

**추출 및 분리** - *P. aeruginosa* B15H6 균주는 4일동안 30 L의 배양기(Biotron Co., Korea)에서 18 g/L의 펩톤을 첨가한 20 L Zobell medium에서 배양 하였다. 배양액은 Amberlite XAD-20 resin(40×8 cm)을 사용하여 H<sub>2</sub>O-MeOH(100:0 to 0:100)의 용매조건에서 정제 되었고, 4.5 g의 농축액을 얻었다. 농축액은 증류수 0.5 L로 현탁 시킨 후 EtOAc(0.5 L)를 사용하여 추출하였고, 이로부터 1.5 g의 EtOAc 추출물을 얻었다.

EtOAc 추출물(1.4 g)은 silica gel column(230-400 mesh, 360 g), CHCl<sub>3</sub>-MeOH(99:1 to 50:50)의 조건으로 분리를 진행하였고, 20개의 분획물(E1-E20)들을 얻었다. 분획물 E2(150 mg)은 CHCl<sub>3</sub>-MeOH(100:0 to 80:20) 용매조건에서 실리카겔 컬럼 크로마토 그래피법(CC; ϕ 3 cm; 230-400 mesh, 300 g)으로 반복 실시하여 21개의 소 분획물(E2S1 to E2S21)들을 얻었다. 소분획물 E2S21(50 mg)은 Sephadex LH-20 컬럼 및 H<sub>2</sub>O-MeOH(90:10 to 100% MeOH) 용매조건으로 재분리를 시도하여 총 6개의 소분획(E2S21L1 to E2S21L6)들을 얻었다. 이 중 소분획 E2S21L6(25 mg)을 semiprep. HPLC 기기를 사용하여 RP-18 column 및 MeOH-H<sub>2</sub>O(60:40 to 0:100) 용매 조건에서 1 ml/min의 유속으로 분리를 시도하여 화합물 **2**(4 mg, *t<sub>R</sub>* 102 min)와 **1**(5 mg, *t<sub>R</sub>* 104 min)를 얻었다.

E3(50 mg) 분획은 Sephadex LH-20 gel(200 g) 컬럼 및 H<sub>2</sub>O-MeOH(90:10 to 0:100) 용매조건으로 분리를 시도하여 5개의 소분획(E3L1 to E3L5)들로 나누어 분리하였고, 이들

중 분획물 E3L2은 semiprep. HPLC 기기를 사용하여 RP-18 column 및 MeOH-H<sub>2</sub>O(60:40 to 0:100) 용매조건으로 분리를 시도하여 화합물 **3**(0.4 mg, *t<sub>R</sub>* 85 min) 및 **4**(0.5 mg, *t<sub>R</sub>* 88 min)을 분리하였다. 소분획 E2S15(30 mg)을 silica gel column 과 hexane-ethyl acetate(50:1 to 1:1) 용매를 사용하여 정제한 다음 semiprep. HPLC 기기를 사용하여 RP-18 column 및 MeOH-H<sub>2</sub>O(70:30 to 100:0) 용매조건으로 분리를 시도하여 화합물 **5**(2 mg, *t<sub>R</sub>* 74 min)와 화합물 **6**(2.5 mg, *t<sub>R</sub>* 76 min)을 분리하였다.

**2-Heptyl-4-quinolone (1).** White amorphous powder, UV (MeOH) λ<sub>max</sub> (log ε) 255 nm (4.05). ESI-MS *m/z* 244 [M + H]<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, CD<sub>3</sub>OD, δ, ppm, *J*/Hz): 8.21 (1H, dd, *J*=8.4, 1.2 Hz, H-6), 7.69 (1H, t, *J*=8.4 Hz, H-8), 7.58 (1H, d, *J*=8.4 Hz, H-9), 7.40 (1H, t, *J*=8.4 Hz, H-7), 6.23 (1H, s, H-3), 2.72 (2H, t, *J*=7.8 Hz, H-1'), 1.77 (2H, quin, *J*=7.5 Hz, H-2'), 1.29-1.44 (8H, m, H-3' to H-6'), 0.90 (3H, t, *J*=7.2 Hz, H-7). <sup>13</sup>C-NMR (150 MHz, CD<sub>3</sub>OD, δ, ppm): 180.8 (C-4), 157.3 (C-2), 141.7 (C-10), 133.5 (C-8), 126.1 (C-6), 125.6 (C-5), 125.2 (C-7), 119.2 (C-9), 108.9 (C-3), 35.1 (C-1'), 30.3 (C-2'), 30.2-33.0 (C-3' to C-5'), 23.8 (C-6'), 14.5 (C-7).

**2-Nonyl-4-quinolone (2).** White amorphous powder, UV (MeOH) λ<sub>max</sub> (log ε) 255 nm (3.90). ESI-MS *m/z* 272 [M + H]<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, CD<sub>3</sub>OD, δ, ppm, *J*/Hz): 8.20 (1H, dd, *J*=8.4, 1.2 Hz, H-6), 7.69 (1H, t, *J*=8.4 Hz, H-8), 7.58 (1H, d, *J*=8.4 Hz, H-9), 7.39 (1H, t, *J*=8.4 Hz, H-7), 6.23 (1H, s, H-3), 2.72 (2H, t, *J*=7.8 Hz, H-1'), 1.76 (2H, quin, *J*=7.5 Hz, H-2'), 1.28-1.43 (12H, m, H-3' to H-8'), 0.88 (3H, t, *J*=7.2 Hz, H-9). <sup>13</sup>C-NMR (150 MHz, CD<sub>3</sub>OD, δ, ppm): 180.8 (C-4), 157.3 (C-2), 141.7 (C-10), 133.5 (C-8), 126.1 (C-6), 125.6 (C-5), 125.2 (C-7), 119.2 (C-9), 108.9 (C-3), 35.1 (C-1'), 30.3 (C-2'), 30.3-33.1 (C-3' to C-7'), 23.8 (C-8'), 14.5 (C-9).

**2-Undecyl-4-quinolone (3).** White amorphous powder, UV (MeOH) λ<sub>max</sub> (log ε) 255 nm (4.0). ESI-MS *m/z* 300 [M + H]<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, CD<sub>3</sub>OD, δ, ppm, *J*/Hz): 8.21 (1H, dd, *J*=8.4, 1.2 Hz, H-6), 7.69 (1H, t, *J*=8.4 Hz, H-8), 7.59 (1H, d, *J*=8.4 Hz, H-9), 7.40 (1H, t, *J*=8.4 Hz, H-7), 6.23 (1H, s, H-3), 2.72 (2H, t, *J*=7.8 Hz, H-1'), 1.77 (2H, quin, *J*=7.5 Hz, H-2'), 1.29-1.42 (16H, m, H-3' to H-10'), 0.87 (3H, t, *J*=7.2 Hz, H-11').

**2-Undecen-1'-yl-4-quinolone (4).** White amorphous powder, UV (MeOH) λ<sub>max</sub> (log ε) 255 nm (3.95). ESI-MS *m/z* 298 [M + H]<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, CD<sub>3</sub>OD, δ, ppm, *J*/Hz): 8.23 (1H, dd, *J*=8.4, 1.2 Hz, H-6), 7.71 (1H, t, *J*=8.4 Hz, H-8), 7.58 (1H, d, *J*=8.4 Hz, H-9), 7.41 (1H, t,

$J=8.4$  Hz, H-7), 6.38 (1H, d,  $J=11.4$  Hz, H-1'), 6.35 (1H, s, H-3), 6.17 (1H, dt,  $J=11.4, 7.6$  Hz, H-2'), 2.42 (2H, dq,  $J=1.8, 7.8$  Hz, H-3'), 1.51 (2H, quint,  $J=7.8$  Hz, H-4'), 1.26-1.37 (12H, m, H-5' to H-10'), 0.85 (3H, t,  $J=7.2$  Hz, H-11').

**N-Acetylanthranilic acid (5).** White amorphous powder, UV (MeOH)  $\lambda_{\max}$  (log  $\epsilon$ ) 285 nm (3.89). ESI-MS  $m/z$  180  $[M + H]^+$ .  $^1\text{H-NMR}$  (600 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ,  $\delta$ , ppm,  $J/\text{Hz}$ ): 8.46 (1H, d,  $J=8.4$  Hz, H-3), 8.02 (1H, d,  $J=7.8$  Hz, H-6), 7.35 (1H, t,  $J=8.4$  Hz, H-5), 7.04 (1H, t,  $J=7.2$  Hz, H-4), 2.17 (3H, s,  $\text{COCH}_3$ ).  $^{13}\text{C-NMR}$  (150 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ,  $\delta$ , ppm): 174.9 ( $\text{NHCOCH}_3$ ), 171.3 ( $-\text{COOH}$ ), 141.4 (C-2), 132.5 (C-6), 132.3 (C-5), 124.9 (C-1), 123.6 (C-4), 120.5 (C-3), 25.2 ( $\text{COCH}_3$ ).

**o-Acetamidobenzamide (6).** White amorphous powder, UV (MeOH)  $\lambda_{\max}$  (log  $\epsilon$ ) 283 nm (3.95). ESI-MS  $m/z$  179  $[M + H]^+$ .  $^1\text{H-NMR}$  (600 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ,  $\delta$ , ppm,  $J/\text{Hz}$ ): 8.36 (1H, d,  $J=8.4$  Hz, H-3), 7.73 (1H, dd,  $J=7.8, 1.2$  Hz, H-6), 7.48 (1H, t,  $J=7.2$  Hz, H-5), 7.15 (1H, t,  $J=7.8$  Hz, H-4), 2.16 (3H, s,  $\text{COCH}_3$ ).

## 결과 및 고찰

*P. aeruginosa* B15H6의 EtOAc 추출물을 Silica, C-18 및 LH-20 gel 칼럼 크로마토그래피를 반복적으로 사용하여 분획 및 정제한 후 분취용 HPLC를 실시하여 총 6 종의 대사 산물들을 분리하였다(Fig. 1).

화합물 1은 밝은 노랑색의 가루 형태로 얻어졌으며, ESI-MS spectrum에서  $m/z$  244  $[M + H]^+$ 의 pseudomolecular ion peak를 확인하였다. UV spectrum은 255 nm에서 benzene group에 해당하는 흡수 밴드를 보였다. 화합물 1의  $^1\text{H NMR}$  spectrum은  $\delta_{\text{H}}$  7.40에서 8.21 ppm까지 4 개의 aromatic proton들은 보였으며,  $^1\text{H-}^1\text{H COSY}$  실험에서 서로 연결되어 있음을 확인하였다(Fig. 2). 추가로  $^1\text{H}$  및  $^{13}\text{C NMR}$  spectra에서 삼치환된 올레핀 작용기를 나타내는  $\delta_{\text{H}}$  6.23 (s)/ $\delta_{\text{C}}$  108.9 (C-3)와  $\delta_{\text{C}}$  157.3 (C-2)의 signal들을 보였다. 또한, 화합물 1의  $^{13}\text{C NMR}$  spectrum은 화학적 이동값  $\delta_{\text{C}}$  119.2부터  $\delta_{\text{C}}$  133.5 ppm까지 4개의 protonated된 carbon signal들을 포함하여  $\delta_{\text{C}}$  125.6 (C-5)와  $\delta_{\text{C}}$  141.7 (C-10)에서 두개의 4차 탄소들과  $\delta_{\text{C}}$  180.8 (C-4)에서 하나의 carbonyl carbon을 보여주었다.  $^1\text{H}$  및  $^{13}\text{C NMR}$  과  $^1\text{H-}^1\text{H COSY}$  실험을 근거로 화합물 1은 quinolone의 기본 화학 구조를 가지고 있는 것을 알 수 있었다.<sup>5,6)</sup> 추가적인 1D 및  $^1\text{H-}^1\text{H COSY NMR}$  실험에서 heptyl 작용기를 의미하는 6개의  $\text{CH}_2$  proton peak [ $\delta_{\text{H}}$  2.72 (2H, t,  $J = 7.8$  Hz, H-1'),  $\delta_{\text{H}}$  1.77 (2H, quin,  $J = 7.5$  Hz, H-2'),  $\delta_{\text{H}}$  1.29-1.44 (8H, m, H-3' to H-6').]들과  $\delta_{\text{H}}$

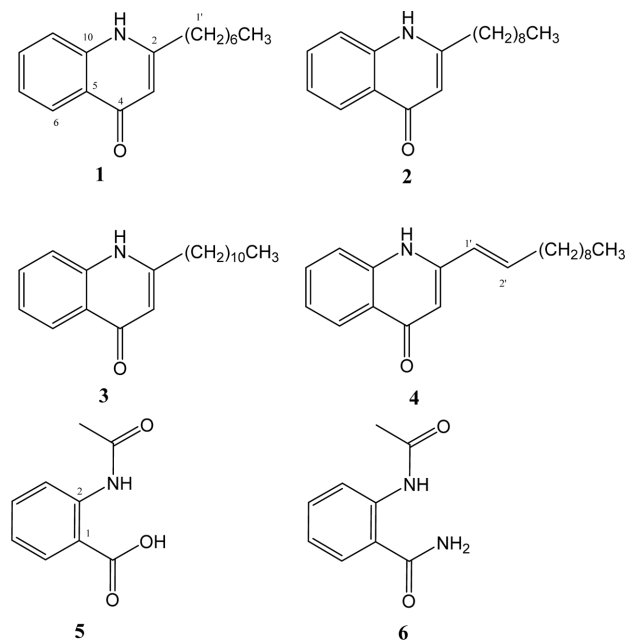


Fig. 1. Chemical structures of 1-6.

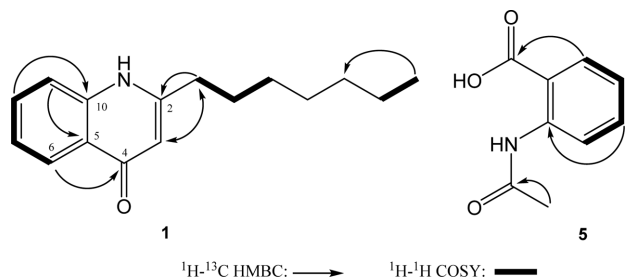


Fig. 2. Important HMBC and COSY correlations of 1 and 5.

0.90 (3H, t,  $J = 7.2$  Hz, H-7')에서 하나의  $\text{CH}_3$  peak를 나타냈다.  $^1\text{H-}^{13}\text{C HMBC}$  실험에서 heptyl group의 H-1'은 quinolone의 C-2와 C-3의 위치에 그리고 H-3 proton은 C-1' 위치에 서로의 상관관계를 확인하였으며, heptyl group은 quinolone의 C-2 위치에 치환되어 있음을 알 수 있었다. 따라서, 화합물 1의 구조는 위의 1D와 2D NMR 실험 결과와 문헌 값과의 비교에 의하여 2-heptyl-4-quinolone으로 확인하였다.<sup>13)</sup>

화합물 2번의  $^1\text{H NMR}$  spectrum은 화합물 1의 proton signal 형태들과 매우 유사하였다. 그러나 화합물 2번은  $\text{CH}_2$  group이 화합물 1에 비하여 두개 더 관찰이 되었으며, ESI-MS 실험에서도  $[M + H]^+$ 에 해당하는 이온을 272  $m/z$  에서 관찰하였다. 따라서 화합물 2번은 quinolone 구조의 C-2 번 위치에 nonyl 작용기가 치환되어 있음을 유추할 수 있으며, NMR 및 MS 분석과 문헌 값과의 비교에 의하여 2-nonyl-4-quinolone의 구조로 확인하였다.<sup>14)</sup>

화합물 3번은 화합물 2번과 매우 유사한  $^1\text{H NMR}$

spectrum을 보였으며, 화합물 2와 비교하여 두개의 CH<sub>2</sub> group이 더 관찰되었고, ESI-MS 분석에서도 [M + H]<sup>+</sup>에 해당하는 이온을 300 m/z에서 관찰하였다. 따라서 화합물 3번은 quinolone 구조의 C-2번 위치에 undecyl 작용기가 치환되어 있음을 유추할 수 있으며, NMR 및 MS 분석과 문헌 값과의 비교에 의하여 2-undecyl-4-quinolone의 구조로 확인하였다.<sup>15)</sup>

화합물 4번은 화합물 3번과 유사한 <sup>1</sup>H NMR spectrum을 보였다. 그러나, 화학적 이동 값 δ<sub>H</sub> 6.38 (1H, d, J = 11.4 Hz, H-1')와 δ<sub>H</sub> 6.17 (1H, dt, J = 11.4, 7.6 Hz, H-2') 에서 2 개의 trans 형태의 olefin signal들이 관찰되었다. 이는 화합물 3번 구조에서 C-1'과 C-2' 위치가 불포화 되어있음을 의미하며, 화합물 4의 구조는 문헌 값과의 비교에 의하여 2-undecen-1'-yl-4-quinolone으로 확인하였다.<sup>15)</sup>

화합물 5번의 ESI-MS 실험에서 [M + H]<sup>+</sup>에 해당하는 이온을 180 m/z 에서 관찰하였다. 또한, <sup>1</sup>H NMR spectrum은 화학적 이동 값 δ<sub>H</sub> 8.46 (1H, d, J = 8.4 Hz, H-3), 8.02 (1H, d, J = 7.8 Hz, H-6), 7.35 (1H, t, J = 8.4 Hz, H-5), 7.04 (1H, t, J = 7.2 Hz, H-4)에서 4개의 aromatic proton들이 관찰되었고, <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H COSY 실험에서 서로 연결되어 있음을 확인하였다(Fig. 2). 또한, acetamide group을 의미하는 CH<sub>3</sub> 작용기를 나타내는 singlet signal을 δ<sub>H</sub> 2.17 (3H, s, COCH<sub>3</sub>)에서 관찰하였다. 화합물 5의 <sup>13</sup>C NMR spectrum에서 화학적 이동 값 δ<sub>C</sub> 120.5부터 δ<sub>C</sub> 132.5까지 4개의 protonated된 carbon signal들을 포함하여 δ<sub>C</sub> 124.9 (C-1)와 δ<sub>C</sub> 141.4 (C-2)에서 두개의 4차 탄소들과 δ<sub>C</sub> 174.9 (C=O)에서 acetamide group의 carbonyl carbon과 δ<sub>C</sub> 171.3 (COOH)에서 하나의 carboxylic carbon을 보여주었다. 이는 화합물 1번의 NMR spectra와 비교하여 C-3 위치가 ring open된 형태를 유추할 수 있으며, HMBC 실험에서 δ<sub>H</sub> 8.02 (1H, d, J = 7.8 Hz, H-6)와 ester carbonyl carbon 그리고 δ<sub>H</sub> 2.17 (3H, s, COCH<sub>3</sub>)와 amide carbonyl carbon과의 correlation 관계 입증으로 화합물 5번은 benzoic acid의 C-2 위치에 acetamide group이 치환된 형태인 N-acetylthranilic acid 화합물로 밝혀졌다.<sup>16)</sup>

화합물 6번의 <sup>1</sup>H NMR spectrum은 5의 proton signal 형태들과 매우 유사하였다. 그러나 화합물 6번의 ESI-MS 실험에서 [M + H]<sup>+</sup>에 해당하는 이온을 179 m/z에서 관찰하였다. 이는 화합물 5번의 OH group이 6번에서는 NH<sub>2</sub> group으로 치환되어 있음을 알 수 있었다. 화합물 6번의 <sup>1</sup>H NMR signal들은 화합물 5번의 데이터와 비교하여 약간씩 고자장 영역으로 이동된 것을 알 수 있었으며, 이는 문헌 값과 비교하여 화합물 6의 구조는 o-acetamidobenzamide로 확인하였다.<sup>17)</sup>

Quinolone 계 화합물들은 *Pseudomonas* 종들을 포함하여 몇몇 미생물 및 고등 식물 들에서 발견되었다.<sup>18-21)</sup> 남극의

sponge(*Isodictya setifera* Topsent) 표피에서 채집된 *P. aeruginosa*에서는 diketopiperazine 화합물들 및 phenazine 화합물들이 주로 분리되었으나 quinolone 계 alkaloid들은 발견되지 않았다. 한편, 해저 및 해양 생물 등에서 채집된 *P. aeruginosa*에서는 quinolone의 C-2 번 위치에 다양한 alkyl 작용기들을 갖는 화합물들이 분리되었다.<sup>5,6)</sup> Quinolone 계 화합물들 중 2-nonyl-4-quinolone은 *Mycobacterium intracellulare* 박테리아 및 말라리아에 대하여 억제 활성을 나타냈으며,<sup>6)</sup> 특히, 2-heptyl-4(1H)-quinolone 및 2-nonyl-4(1H)-quinolone 화합물들은 저농도에서 강한 항 말라리아 활성을 갖는 것으로 보고되었다.<sup>5)</sup> 또한 해면(*Homophymia* sp.)에서 발견된 *Pseudomonas* sp.로부터 발견된 quinolone 계 화합물들은 말라리아원충의 일종인 열대 열원충(*Plasmodium falciparum*) 및 HIV-1 바이러스에 대한 억제 활성들이 보고되었다.<sup>6)</sup>

본 연구에서는 극한지역에서 적용한 미생물로부터 이차 대사산물들을 이용하고자 북극의 척지(Chukchi)해에서 해수를 채취하여 *P. aeruginosa* 종을 분리 및 배양하였다. 이 중에서 4 개의 quinolone 계 화합물들이 주로 분리되었고, 이들 중 두개의 quinolone 화합물, 2-undecyl-4-quinolone(3)과 2-undecen-1'-yl-4-quinolone(4)와 함께 질소가 치환된 형태의 benzoic acid 유도체들 N-acetylthranilic acid(5)와 o-acetamidobenzamide(6) 화합물들이 처음으로 분리되었다. Quinolone 화합물들 중 alkyl 작용기의 C-1' 위치에 불포화된 형태의 2-undecen-1'-yl-4-quinolone(4) 화합물은 포화된 형태의 2-undecyl-4-quinolone(3)을 포함한 다른 quinolone 유도체들에 비하여 강한 살조(algicidal) 활성을 가지고 있는 것으로 보고되었다.<sup>15,22)</sup> 아직까지 이 종 들로부터 만들어지는 이차대사산물에 대한 폭넓은 화학 및 생리학적 연구가 진행 되어 있지 않고있으며, 앞으로 다양한 유도체들에 대한 연구가 필요하다고 사료된다.

## 결 론

북극 척지(Chukchi)해의 해수를 채취하여 *P. aeruginosa* 종을 분리 및 배양하였다. 이로부터 4 개의 quinolone alkaloid, 2-heptyl-4-quinolone(1), 2-nonyl-4-quinolone(2), 2-undecyl-4-quinolone(3), 2-undecen-1'-yl-4-quinolone(4), 와 함께 질소가 치환된 형태의 benzoic acid 유도체들, N-acetylthranilic acid(5) 및 o-acetamidobenzamide(6)이 분리되었고, 이들 화합물들의 구조는 1D 및 2D NMR 기법과 MS 실험 그리고 문헌 값과의 비교에 의하여 동정하였다. 이들 중 화합물 3-6은 *P. aeruginosa*에서 처음으로 분리되었다. 이들 화합물 및 유도체 들은 항균, 말라리아 등의 연구와 함께 담수와 해수에서 혐기성 조류에 의한 오염 및 피해 방지 연구에도 이용 가치가 있을 것으로 사료된다.

## 사 사

본 연구는 극지연구소, KOPRI(PE18100)의 지원을 받아 수행되었다. 서울대학교 기초과학 공동 기기 원의 질량 분석 실, 신혜숙 연구원님의 도움을 받았으며, 이에 감사 드립니다.

## 인용문헌

- Moore, E. R., Tindall, B. J., Dos Santos, V. A. M., Pieper, D. H., Ramos, J. L. and Palleroni, N. J. (2006) *The Prokaryotes*. Springer, New York, pp. 646-703.
- Gamini, S., Jayatilake, M. P., Thornton, A. C., Leonard, J. E. and Grimwade, B. J. (1996) Baker. Metabolites from an Antarctic sponge-associated bacterium, *Pseudomonas aeruginosa*. *J. Nat. Prod.* **59**: 293-296.
- Garba, L., Ali, M., Shukuri, M., Oslan, S. N., Abd, R. and Raja, N. Z. R. (2016) Molecular cloning and functional expression of  $\alpha$   $\Delta$ 9-fatty acid desaturase from an antarctic *Pseudomonas* sp. A3. *PLoS One* **11**: e0160681/1-e0160681/17.
- Hirano, S. S. and Upper, C. D. (2000). Bacteria in the leaf ecosystem with emphasis on *Pseudomonas syringae*-a pathogen, ice nucleus, and epiphyte. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* **64**: 624-653.
- Wang, B., Waters, A. L., Sims, J. W., Fullmer, A., Ellison, S. and Hamann, M. T. (2013) Complex Marine Natural Products as Potential Epigenetic and Production Regulators of Antibiotics from a Marine *Pseudomonas aeruginosa*. *Microb. Ecol.* **65**: 1068-1075.
- Bultel-Ponce, V., Berge, J.-P., Debitus, C., Nicolas, J.-L. and Guyot, M. (1999) Metabolites from the sponge-associated bacterium *Pseudomonas* species. *Mar. Biotechnol.* **1**: 384-390.
- Park, K. S., Do, H., Lee, J. H., Park, S. I., Kim, E. J., Kim, S.-J., Kang, S.-H. and Kim, H. J. (2012) Characterization of the ice-binding protein from Arctic yeast *Leucosporidium* sp. AY30. *Cryobiology* **64**: 286-296.
- Kim, S. J. and Yim, J. H. (2007) Cryoprotective properties of exopolysaccharide (P-21653) produced by the Antarctic bacterium, *Pseudoalteromonas arctica* KOPRI 21653. *J. Microbiol.* **45**: 510-514.
- Anhe, F. F.; Varin, T. V., Le Barz, M., Pilon, G., Dudonne, S., Trottier, J., St-Pierre, P., Harris, C. S., Lucas, M., Lemire, M., Dewailly, E., Barbier, O., Desjardins, Y., Roy, D. and Marette, A. (2018) Arctic berry extracts target the gut-liver axis to alleviate metabolic endotoxaemia, insulin resistance and hepatic steatosis in diet-induced obese mice. *Diabetologia* **61**: 919-931.
- Kallio, H. P. (2018) Historical Review on the Identification of Mesifurane, 2,5-Dimethyl-4-methoxy-3(2H)-furanone, and Its Occurrence in Berries and Fruits. *J. Agric. Food Chem.* **66**: 2553-2560.
- Baek, K., Lee, Y. M., Hwang, C. Y., Park, H., Jung, Y. J., Kim, M. K., Hong, S. G., Kim, J. H. and Lee, H. K. (2015) *Psychroserpens jangbogonensis* sp. nov., a psychrophilic bacterium isolated from Antarctic marine sediment. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* **65**: 183-188.
- Saitou, N. and Nei, M. (1987) The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol. Boil. Evol.* **4**: 406-425.
- Kostova, I., Ivanova, A., Mikhova, B. and Klaiber, I. (1999) Alkaloids and coumarins from *Ruta graveolens*. *Monatsh. Chem.* **130**: 703-707.
- Bultel-Ponce, V., Berge, J.-P., Debitus, C., Nicolas, J.-L. and Guyot, M. (1999) Metabolites from the sponge-associated bacterium *Pseudomonas* species. *Mar. Biotechnol.* **1**: 384-390.
- Cho, J. Y. (2012) Algicidal activity of marine *Alteromonas* sp. KNS-16 and isolation of active compounds. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **76**: 1452-1458.
- Giri, R., Lam, J. K. and Yu, J.-Q. (2010) Synthetic Applications of Pd(II)-Catalyzed C-H Carboxylation and Mechanistic Insights: Expedient Routes to Anthranilic Acids, Oxazolinones, and Quinazolinones. *J. Am. Chem. Soc.* **132**: 686-693.
- Kelleher, J. M., McAuliffe, M. T., Moynihan, H. A. and Mullins, N. D. (2007) Studies on the preparation and crystal polymorphism of 2-acetamidobenzamide and related compounds. *ARKIVOC* 209-266.
- Sayed, K. E., Al-Said, M. S., El-Feraly, F. S. and Ross, S. A. (2000) New quinoline alkaloids from *Ruta chalepensis*. *J. Nat. Prod.* **63**: 995-997.
- Zhao, N., Li, Z.-L., Li, D.-H., Sun, Y.-T., Shan, D.-T., Bai, J., Pei, Y.-H., Jing, Y.-K. and Hua, H.-M. (2015) Quinolone and indole alkaloids from the fruits of *Euodia rutaecarpa* and their cytotoxicity against two human cancer cell lines. *Phytochemistry* **109**: 133-139.
- Kakinuma, N., Iwai, H., Takahashi, S., Hamano, K., Yanagisawa, T., Nagai, K., Tanaka, K., Suzuki, K., Kirikae, F., Kirikae, T. and Nakagawa, A. (2000) Quinolactacins A, B and C: novel quinolone compounds from *Penicillium* sp. EPF-6. *J. Antibiot.* **53**: 1247-1251.
- Evans, J. R., Napier, E. J. and Fletton, R. A. (1978) G1499-2, a new quinoline compound isolated from the fermentation broth of *Cytophaga johnsonii*. *J. Antibiot.* **31**: 952-958.
- Kakisawa, H., Asari, F., Kusumi, T., Toma, T., Sakurai, T., Oohusa, T., Hara, Y. and Chihara, M. (1998) An allelopathic fatty acid from the brown alga *Cladophora okamuranus*. *Phytochemistry* **27**: 731-735.

(2018. 4. 25 접수; 2018. 5. 10 심사; 2018. 6. 7 게재확정)