pISSN 1229-1153 / eISSN 2465-9223 *J. Food Hyg. Saf.*
Vol. 31, No. 4, pp. 294~298 (2016)
http://dx.doi.org/10.13103/JFHS.2016.31.4.294

Journal of Food Hygiene and Safety
Available online at http://www.foodhygiene.or.kr

Coscinoderma sp.의 대장암세포 증식 억제 효과

최기헌 · 정주희*
덕성여자대학교 약학대학

Anti-proliferation Effect of *Coscinoderma* sp. Extract on Human Colon Cancer Cells

Ki Heon Choi and Joohee Jung*
College of Pharmacy, Duksung Women's University
(Received July 4, 2016/Revised July 15, 2016/Accepted July 21, 2016)

ABSTRACT - Natural products are attractive as the source of new drug development. Especially, numerous unknown marine bioresources are an object of attention because the ocean occupies three fourth of the earth. Survival of marine bioresources in extreme environment may induce the production of biological active compounds. As previous study, we examined over 40 specimens of marine sponges collected from Micronesia and screened their anti-proliferative activities in various cancer cell lines. Among them, we investigated *Coscinoderma* sp.'s activity and mechanism in human colon carcinoma HCT116 and RKO cells. Furthermore, we also used the p53-knockout of HCT116 cells and the p53 loss of RKO cells for elucidating the role of p53. *Coscinoderma* sp. inhibited cellular viability independently of the p53 status. Therefore, we compared the expression level of cell death-related proteins by *Coscinoderma* sp. in HCT16 and in HCT116 p53KO cells. *Coscinoderma* sp. increased p53 level and NOXA levels and induced apoptosis under the condition of p53 existence. On the other hand, *Coscinoderma* sp. increased p21 and mTOR levels in HCT116 p53KO cells. These results suggest that *Coscinoderma* sp. induced anti-proliferation effect through different pathway depending on p53 status.

Key words : *Coscinoderma* sp., colon cancer cell, Anti-proliferation, Apoptosis

전세계적으로 주요 사망 원인 중의 하나인 암은 해마다 그 발생률이 증가하고 있어 이에 대한 예방 또는 치료 방법에 대한 관심이 높다. 특히, 대표적인 서구형 암이라 불리는 대장암은 매년 발생률이 증가하고 있으며, 한국인의 경우에도 서구화된 식습관이 대장암의 발생률을 높인다고 보고된 바 있다[1]. 국립 암센터의 암 발생률 통계에 따르면 대장암은 한국인 남성 암 발생 원인 1위, 여성은 3위를 차지하며 최근 급속하게 증가하고 있다[2]. 이와 같은 추세는 식습관, 스트레스 등의 원인에 의해 전세계적으로 비슷한 양상을 보이고 있다. 따라서, 이를 예방하고 치료할 수 있는 항암물질 개발에 주목하고 있다.

대장암의 치료 방법으로는 수술을 통한 적출 이외에 5-FU를 기본으로 한 항암요법 및 방사선과의 병용요법 등이 활용되고 있으나 환자에 따라서 다양한 유전적 변이, 특성을 가지고 있어서 항암제에 따른 감수성의 차이가 날 수 있다[3]. 대장암에서 KRAS의 변이가 중요하게 알려져 있으나, 이 외에도 APC와 p53의 변이도 존재한다. 특히, p53의 기능 상실은 5-FU의 감수성을 약화시킨다고 알려져 있다[4]. 이는 항암제 내성에 관여할 수 있다는 것으로 p53의 유무에 따른 항암 효능의 비교 연구가 고려되어야 할 필요가 있다.

많은 연구자들은 천연물 유래 물질로부터 새로운 항암제를 개발하고자 노력해왔다. 오랜 기간 동안 민간요법을 통해 사용되면서 부작용이 적다고 생각되거나, 식품으로 섭취해왔던 것을 중심으로 천연물 유래 물질에 대한 연구가 활발하게 이루어지고 있다[5,6]. 최근에는 새로운 천연물 유래 물질의 탐색을 위해 해양에서 서식하는 유효한 생리활성을 가진 물질들에 관심을 기울이고 있다[7,8]. 지금까지는 해양에 서식하는 생물에 대한 연구가 시료 채취의 어려움 등에 의해 매우 제한적이었지만, 지구의 75% 정도를 차지할 정도의 광대한 범위에 다양한 생물종이 존재할 것으로 여겨지면서 개척할 만한 가치가 있는 미지의 분야

*Correspondence to: Joohee Jung, College of Pharmacy, Duksung Women's University, Seoul 01369, Korea
Tel: 82-2-901-8731, Fax: 82-2-901-8386
E-mail: joohee@duksung.ac.kr

로 주목 받고 있다. 특히, 심해의 저산소, 고압 등의 열악한 환경 속에서 생존하는 생물체로부터 만들어지는 다양한 생리 활성 물질과 그 대사체에 대해 관심을 갖고 있다. 지금까지 알려진 해양 천연물 유래 물질은 약 15,000여 종이 있으며, 그 중에서 해면동물(marine sponge)이 가장 풍부한 천연물 유래 물질을 가지고 있는 것으로 알려져 있다[8]. 해면동물의 생리활성도 매우 다양하여 항균, 항박테리아, 항바이러스, 항염, 항당뇨, 항결핵, 항산화, 항암 등의 물질이 보고되었다[9,10]. 이전 연구에서도 항암 효과가 있는 해양생물 추출물을 검색하여 *Hyrtios* sp.[11]와 *Haliclona* sp.[7]의 작용 기전을 밝힌 바 있다.

해면동물 *Coscinoderma* sp.는 glyoxylate cycle에서 isocitrate lyase의 활성을 억제함으로써 Candida albicans의 감염에 활용될 수 있다는 연구결과가 2014년 Lee 등에 의해 보고되었다[12]. 하지만, 그 이외의 생리활성에 대해서는 알려진 바가 없으며 본 연구에서는 미크로네시아(Micronesia)의 추크(Chuuk) 해양에서 채취한 *Coscinoderma* sp. 추출물이 대장암 세포주에 미치는 항암 작용을 살펴보았다.

Materials and Methods

실험재료

RPMI-1640 배지, DMEM 배지, fetal bovine serum (FBS), streptomycin/penicillin solution, phosphatase inhibitor, protease inhibitor와 RIPA buffer는 GenDEPOT (Barker, TX, USA)를 통해 구입하였다. 세포 생존율을 평가하기 위한 Cell Counting Kit (CCK)-8은 DOJINDO (Japan)에서 구입하였다. Polyvinylidene difluoride membrane과 항 p53 항체, 항 p21 항체는 Millipore (Billerica, MA, USA), 항 PUMA 항체, 항 NOXA 항체, 항 caspase 9항체는 Cell signaling, 항 β-actin 항체는 Sigma-Aldrich, 항 mTOR 항체와 항 Bcl-2 항체는 Abcam에서 구입하였다. 항 mouse IgG (H+L) horseradish peroxidase conjugate와 항 rabbit IgG (H+L) horseradish peroxidase conjugate는 Bio-Rad (CA, USA)에서 구입하였다. Bicinchoninic acid (BCA) assay kit은 Thermo scientific (Waltham, MA, USA)에서 구입하였다. 본 연구에서는 Microplate reader (Infinite M200 PRO, TECAN, Austria), Semi-dry electro blotter (Peqlab, Erlangen, Germany), Chemi-doc (FluorChem E, Proteinsimple, San Jose, CA, USA), SDS-PAGE (Mini-PROTEAN® Tetra Handcast Systems, Bio-rad, Hercules, CA, USA)를 이용하였다.

시료의 준비

해면동물 *Coscinoderma* sp.의 추출물은 해양과학기술원에서 제공받은 샘플을 사용하였다. Chuuk state의 해양에서 얻은 이 시료(Fig. 1)는 채취 후, 바로 동결건조하고 메탄올과 디클로로메탄 추출에 의해 1차 추출물을 얻은 것이다[13,14]. 실험을 위해 추출물을 다시 증류수에 녹여서 25 mg/mL로 만든 후 분주하여 사용 전까지 –20°C에서 보관하였다.

Fig. 1. Morphology of *Coscinoderma* sp. specimen.

세포 배양

대장암세포 HCT116와 RKO, p53의 발현이 억제된 HCT116-p53KO과 RKO-E6를 본 연구에서 사용하였다. HCT116과 HCT116-p53KO는 10% FBS과 1% streptomycin/penicillin을 첨가한 RPMI-1640 배지를 사용하고, RKO와 RKO-E6는 10% FBS와 1% streptomycin/penicillin을 첨가한 DMEM 배지를 사용하여 37°C, 5% CO_2 배양기에서 배양하였다. 구입 후 1주일 정도 계대배양을 하여 안정기의 세포를 haemacytometer 를 사용하여 세포수를 측정하여 실험에 사용하였다.

Cell counting kit-8 assay

Plate의 세포를 trypsin-EDTA로 모아 haemacytometer를 이용하여 cell counting을 실시하여 4×10^4 cells/mL 씩 되게끔 희석을 한 후 96-well plate에 100 μL씩 분주 하여, 하루 동안 37°C, 5% CO_2 배양기에서 배양하였다. 시료를 각 농도에 맞게끔 단계 희석하여 세포에 처리를 한 후 48시간 경과 후, CCK-8를 10 μL씩 넣고 37°C에서 3시간 동안 반응시켰다. 이후 microplate reader를 사용하여 480 nm에서 흡광도를 측정하였다.

Cell morphology

RKO와 RKO-E6 세포주를 6-well plate에 3×10^4 cells/mL로 깔고, 24시간 후에 시료 50 μg/ml를 처리하고 24시간 및 48시간 후에 세포 형태를 현미경(40배율, Nikon Eclipse TS100, Japan)으로 확인하였다.

Western blot analysis

단일세포를 4×10^5개씩 counting하여 6-well plate에 접

종 한 후 하루 동안 37ºC incubator에서 배양하였다. *Coscinoderma* sp. 시료를 단계희석 하여 알맞은 농도로 처리 한 후 다시 하루 동안 배양하였다. 이후 protease inhibitor와 phosphatase inhibitor를 섞은 RIPA buffer를 well당 400 μL씩 처리하여 4ºC에서 둔 후 cell scraper로 cell을 모아 원심분리(14000 rpm, 20분, 4ºC)하여 상층액을 얻어 단백질을 추출하였다. 총 단백질은 BCA assay방법을 이용하여 정량하였고, 전체 sample의 단백질의 농도를 균일하게 맞추어 12~15% gel에 SDS-PAGE를 실시하였다. Gel에 걸린 단백질은 semi-dry electro blotter를 사용하여 PVDF membrane에 옮겼으며, 보고자 하는 1차 항체와 2차 항체를 순서에 맞춰 넣어 반응을 시켰다. 1차 항체와 2차 항체의 비율은 항 p53 (1:1000), 항 p21 (1: 1000), 항 caspase-9 (1:1000), 항 mTOR (1:10,000), 항 PUMA (1:1000), 항 NOXA (1:1000), 항 Bcl-2 (1:1000), 항 β-actin (1:5000), 항 mouse (1:3000), 항 rabbit (1:3000)이다. 이후 ECL용액으로 반응시켜 chemi-doc으로 검출하였다.

통계학적 분석

실험결과는 평균값과 표준편차를 사용하여 나타내었다. 모든 실험의 유의성 검정은 student *t*-test 분석을 통해 실시하였고, 대조군과 비교하여 p값이 0.05 미만일 때를 통계학적으로 유의성이 있다고 판정하였다.

Results and Discussion

Inhibition of cell proliferation by *Coscinoderma* sp. extract

해양생물 시료 45종에 대해 다양한 세포주에서 암 증식 억제 효과를 검색한 바 있다[11]. 본 연구에서는 대장암 세포주 4종에 대해 효과가 있는 *Coscinoderma* sp. 추출물의 세포 생존율을 비교 분석하였다. 암억제유전자로 대표적인 p53의 존재 여부에 따라 세포 독성에 미치는 영향을 Fig. 2에 나타내었다. 대장암 세포주 RKO와 p53의 발현을 억제시킨 RKO-E6 세포주에 대하여 *Coscinoderma* sp. 추출물은 농도의존적으로 세포 증식을 억제하였다. 또한 RKO-E6에 비해 p53이 정상적으로 발현하고 있는 RKO 세포주에 대해 *Coscinoderma* sp.가 약간 민감하다는 것을 알 수 있었다(Fig. 2A). 그에 반해 HCT116세포주와 p53 유전자를 knockout 시킨 HCT116 p53KO 세포주에서는 100 μL/mL이상에서 세포 증식 억제가 확인되었으며, 두 세포주간의 차이는 나타나지 않았다(Fig. 2B). 이들 결과로부터 *Coscinoderma* sp.는 HCT116세포주보다 RKO세포주에서 민감함을 알 수 있었고, 감수성의 차이는 있으나 p53의 기능에는 무관하게 암세포의 증식을 억제하는 것을 확인하였다.

Change of cellular morphology between RKO and RKO-E6 cells by *Coscinoderma* sp. extract

Coscinoderma sp.을 처리한 RKO와 RKO-E6에서 세포 생존율의 차이가 보였던 것과 같이 세포의 모양에도 변화가 있는지 살펴보고자 현미경으로 관찰하였다. 두 세포주 모두에서 시간이 지날수록 세포 수의 감소를 확인할 수 있었고, *Coscinoderma* sp. 처리 48시간 후에 RKO에서는 apoptosis로 보여지는 세포막의 수포들을 관찰할 수 있었다(Fig. 3, black arrow). 또한, RKO-E6에서는 세포질의 모형 변화가 관찰되었다.

Expression of cell death-related proteins by *Coscinoderma* sp. extract

p53의 발현 유무와는 상관없이 비슷한 세포 생존율 감소를 보였던 HCT116과 HCT116 p53KO세포주에서의 세포 증식 억제 기전은 어떻게 다른지 확인하고자 세포사와 관련한 단백질의 발현 정도를 비교 분석하였다. 먼저 두 세포주에서 p53 발현의 차이가 있음을 확인하였으며, p53을 내재한 HCT116 세포주에서 *Coscinoderma* sp.는 농도

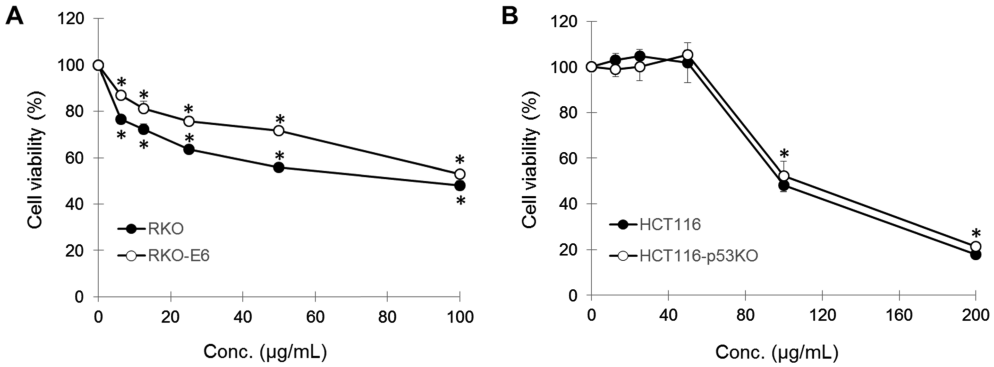

Fig. 2. Anti-proliferation effect of *Coscinoderma* sp. on human colorectal carcinoma cells. Cells were treated with *Coscinoderma* sp. extract and incubated for 48 h. (A) RKO (black circle) and RKO-E6 (white circle) cells (B) HCT116 (black circle) and HCT116 p53KO (white circle) cells. Cytotoxicity was determined by CCK-8 assay. Data represent mean ± standard deviations (n = 7). Significance was determined by *t*-test with $p < 0.05$ considered as statistically significant compared with controls (0 μg/ml).

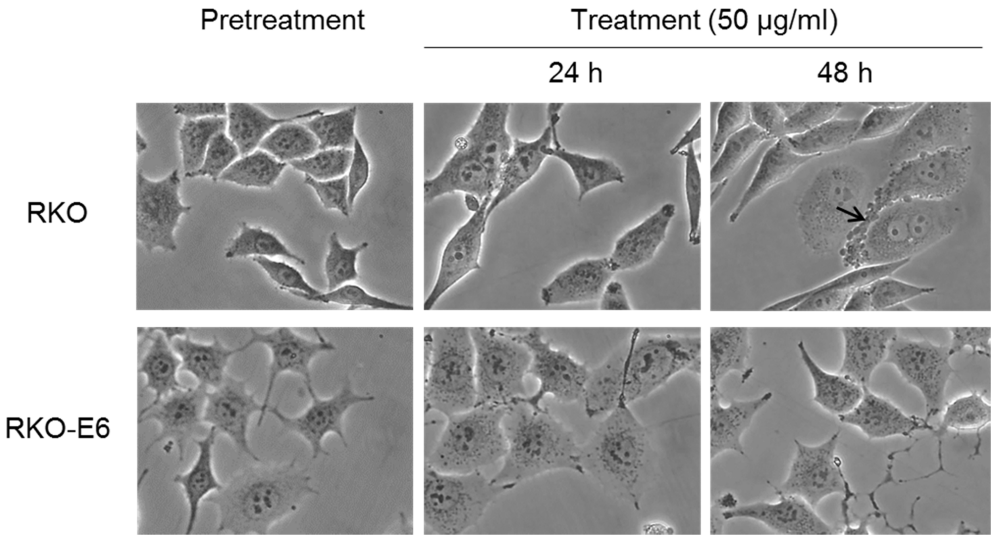

Fig. 3. Change in cellular morphology by *Coscinoderma* sp. RKO and RKO-E6 Cells were treated with *Coscinoderma* sp. extract (50 μg/mL) and incubated for 24 h or 48 h. Cell were observed under light microscopy (× 400).

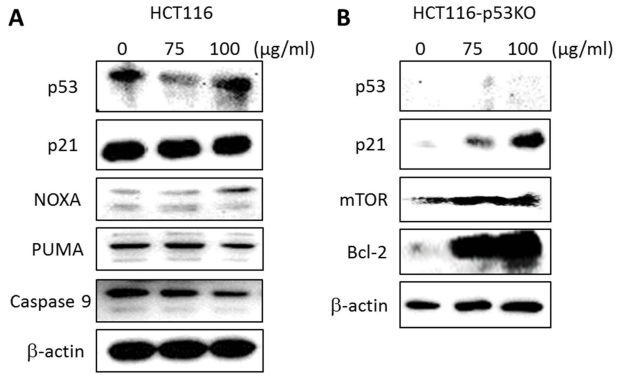

Fig. 4. *Coscinoderma* sp. -induced cell death-related protein levels. HCT116 and HCT116 p53KO cells were treated with *Coscinoderma* sp. extract (75 and 100 μg/mL) and incubated for 24 h. Protein expression was determined by western blots according to 'Materials and Methods'.

의존적으로 p53의 발현을 증가시켰다(Fig. 4A). p53의 하류의 표적유전자인 p21의 발현도 미비하게 증가하였다. 또한 apoptosis와 관련 있는 p53-upregulated modulator of apoptosis (PUMA)와 Noxa의 발현양을 살펴본 결과, Noxa가 증가하였고, PUMA는 약간 증가한 듯 보이나 100 μL/mL에서는 감소하는 것으로 보였다. Caspase-9의 발현은 농도의존적으로 감소한 것은 caspase-9이 분절된 것으로 사료된다. *Coscinoderma* sp.를 처리한 HCT116 p53KO에서는 p53-비의존적으로 p21의 발현양이 증가함을 볼 수 있었다(Fig. 4B). 또한, mTOR와 Bcl-2의 발현이 *Coscinoderma* sp.의 처리 농도에 따라 증가되고 있는 것을 관찰할 수 있었다. p21은 cell cycle arrest를 유도하는 단백질로, p53 기능이 부족한 상태에서의 mTOR가 증가하면 senescence를 일으킨다고 알려져 있다[15]. 이는 p53가 세포의 생사를 조절하는데 중요한 역할을 하는 것으로 p53이 p21과 함께 발현 시에는 mTOR를 억제하고 quiescence 상태가 되나, p53의 부족 시에는 mTOR의 증가가 senescence 상태를 만들게 된다[15,16]. 이는 mTOR가 ROS의 증가를 가져와 senescence가 증가시키는 것으로 보고된 바 있다[17]. 따라서, 세포에 스트레스 반응이 왔을 때 p53과 mTOR의 균형에 의해 세포의 조절이 이루어지는데[18], HCT116 p53KO 세포주에서는 p53과 mTOR의 균형이 이루어지지 못하고 *Coscinoderma* sp.의 처리에 의해 p21의 증가와 함께 senescence를 야기함으로써 결과적으로 대장암세포주의 증식 억제가 일어난 것으로 사료된다.

이들 결과로부터 *Coscinoderma* sp.의 추출물은 대장암세포주에서 p53의 유무에 따라 서로 다른 작용 기전을 통해 항암 효과를 나타내었으며, 이는 새로운 항암제의 개발 가능성을 보여주었다.

본 실험에서는 *Coscinoderma* sp.의 추출물로써 암세포 증식 억제 활성을 살펴보았으나, 시료가 한정적이어서 활성성분을 동정하지는 못하였다. 하지만, 기존의 연구 결과들에서 분리 동정된 성분으로 sesterterpene sulfate로서 halisulfate 7[19]이 있으며, halisulfates와 suvanine의 유도체들이 밝혀진 바 있다[20,13]. 알려진 survanine sesterterpenes은 C. albicans에 대한 항균작용이 있었으며[12], survanine analog들이 HCT-15, NCI-H23, NUGC-3 및 PC-3 세포주에 대한 세포독성이 있었음을 확인한 바 있었다[14]. 따라서, 추후 이들 활성성분을 중심으로 *Coscinoderma* sp. 추출물의 암세포 증식 억제 기전을 비교 연구해 볼 필요가 있다.

Acknowledgement

본 연구는 2015년 덕성여자대학교 교내연구비(No. 300-0002326) 지원에 의해 이루어진 것이며, 이에 감사드립니다.

국문요약

해양생물을 포함한 천연물질은 신약개발의 원천 소재로서 매력적이며, 특히 무수한 미지의 해양생물들의 연구가 관심을 받고 있다. 기존의 연구에서 미크로네시아에서 채취한 해면동물 40여종에 대하여 항증식 효과를 다양한 암세포주에서 검색한 바 있다. 본 연구에서는 그 중 *Coscinoderma* sp.의 작용 및 그 기전을 살펴보았다. 특히, 암억제유전자 p53의 발현을 억제시킨 세포주(HCT116 p53KO과 RKO-E6)에서의 차이점을 비교하였다. 세포생존률 시험에서 *Coscinoderma* sp. 추출물은 p53의 유무와 상관없이 암세포의 증식을 억제하였음을 확인하였다. 이 암세포 증식 억제 효과가 p53 존재에 따라 다르게 나타나는지 알아보기 위하여 세포사멸 관련 단백질 발현양을 *Coscinoderma* sp. 처리한 각 세포주에서 비교하였다. 그 결과, *Coscinoderma* sp.를 HCT16 세포주에 처리하였을 때, p53과 Noxa의 발현이 증가하는 것을 관찰하였고, caspase-9이 분절되면서 감소하는 것으로부터 apoptosis를 일으킨다고 여겨진다. 반면, p53이 결핍된 HCT116세포주에서는 *Coscinoderma* sp.에 의하여 p21과 mTOR의 발현이 증가되는 것을 확인하였고, 이는 senescence를 야기할 수 있다고 여겨진다. 본 연구로부터 *Coscinoderma* sp.는 p53의 존재여부에 따라 상이한 작용기전을 매개하여 대장암 세포주의 증식을 억제한다는 것을 알 수 있었다. 이는 새로운 항암제의 개발 가능성을 제시하는 것으로, *Coscinoderma* sp.의 활성 성분에 대한 지속적인 연구가 이루어 져야 할 것으로 보인다.

References

1. Park Y., Lee J., Oh J.H., Shin A., Kim, J.: Dietary patterns and colorectal cancer risk in a Korean population: A case-control study. *Medicine*, **95**, e3759 (2016).
2. Jung K.W., Won Y.J., Oh C.M., Kong H.J., Cho H., Lee J.K., Lee D.H., Lee K.H.: Prediction of Cancer Incidence and Mortality in Korea, 2016. *Cancer res. treat.*, **48**, 451-457 (2016).
3. Binefa G., Rodriguez-Moranta F., Teule A. and Medina-Hayas, M.: Colorectal cancer: from prevention to personalized medicine. *World j. gastroenterol.*, **20**, 6786-6808 (2014).
4. Panczyk M.,: Pharmacogenetics research on chemotherapy resistance in colorectal cancer over the last 20 years. *World j. gastroenterol.*, **20**, 9775-9827 (2014).
5. Shin S.A., Lee H.N., Choo G.S., Kim H.J., Park B.K., Kim. B.S., Jung J.Y.: Induction of apoptosis in human cancer cells with extracts of Taraxacum coreanum, Youngia sonchifolia and Ixeris dentate. *J. Food Hyg. Saf.*, **31**, 51-58 (2016).
6. Park S., Moon H.S.: Anti-proliferative effects of Celastrol, a quinine methide triterpene extracted from the Perennial vine Tripterygium wilfordii, on obesity-related cancers. *J. Food Hyg. Saf.*, **31**, 59-66 (2016).
7. Bae W., Lim H.K., Kim K.M., Cho H., Lee S.Y., Jeong C.S., Lee H.S., Jung J.: Apoptosis-Inducing Activity of Marine Sponge Haliclona sp. Extracts Collected from Kosrae in Nonsmall Cell Lung Cancer A549 Cells. *Evid. Based complement. alternat. med.,* **2015**, 717959 (2015).
8. Mehbub M.F., Lei J., Franco C., Zhang W.: Marine sponge derived natural products between 2001 and 2010: trends and opportunities for discovery of bioactives. *Marine drugs*, **12**, 4539-4577 (2014).
9. Thomas T.R., Kavlekar D.P., LokaBharathi P.A.: Marine drugs from sponge-microbe association-a review. *Marine drugs*, **8**, 1417-1468 (2010).
10. Mayer A.M., Rodriguez A.D., Taglialatela-Scafati O., Fusetani N.: Marine pharmacology in 2009-2011: marine compounds with antibacterial, antidiabetic, antifungal, anti-inflammatory, antiprotozoal, antituberculosis, and antiviral activities; affecting the immune and nervous systems, and other miscellaneous mechanisms of action. *Marine drugs*, **11**, 2510-2573 (2013).
11. Lim H.K., Bae W., Lee H.S., Jung, J.: Anticancer activity of marine sponge Hyrtios sp. extract in human colorectal carcinoma RKO cells with different p53 status. *BioMed Res. Inter.*, **2014**, 413575 (2014).
12. Lee S.H., Won T.H., Kim H., Ahn C.H., Shin J., Oh K.B.: Suvanine sesterterpenes from a tropical sponge Coscinoderma sp. inhibit isocitrate lyase in the glyoxylate cycle. *Marine drugs*, **12**, 5148-5159 (2014).
13. Kim C.K., Song I.H., Park H.Y., Lee Y.J., Lee H.S., Sim C.J., Oh D.C., Oh K.B., Shin J.: Suvanine sesterterpenes and deacyl irciniasulfonic acids from a tropical Coscinoderma sp. sponge. *J. nat. prod.*, **77**, 1396-1403 (2014).
14. Lee J.W., Lee H.S., Shin J., Kang J.S., Yun J., Shin H.J., Lee J.S., Lee Y.J.: Suvanine analogs from a Coscinoderma sp. marine sponge and their cytotoxicities against human cancer cell lines. *Arch. pharm. res.*, **38**, 1005-1010 (2015).
15. Seviour E.G. and Lin S.Y.: The DNA damage response: Balancing the scale between cancer and ageing. *Aging*, **2**, 900-907 (2010).
16. Rufini A., Tucci P., Celardo I., Melino G.: Senescence and aging: the critical roles of p53. *Oncogene*, **32**, 5129-5143 (2013).
17. Xu S., Cai Y., Wei Y.: mTOR Signaling from Cellular Senescence to Organismal Aging. *Aging and disease*, **5**, 263-273 (2014).
18. Strozyk E. and Kulms D.: The role of AKT/mTOR pathway in stress response to UV-irradiation: implication in skin carcinogenesis by regulation of apoptosis, autophagy and senescence. *Int. j. mol. sci.*, **14**, 15260-15285 (2013).
19. Fu X., Ferreira M.L., Schmitz F.J., Kelly M.: Halisulfate 7, a new sesterterpene sulfate from a sponge, Coscinoderma sp. *J. nat. prod.*, **62**, 1190-1191 (1999).
20. Bae J., Jeon J.E., Lee Y.J., Lee H.S., Sim C.J., Oh K.B., Shin J.: Sesterterpenes from the tropical sponge Coscinoderma sp. *J. nat. prod.*, **74**, 1805-1811 (2011).