

## Sophorose의 제조-I. D-Glucose로부터 sophorose의 화학적 합성

백남인\* · Victor P. Anufriev<sup>1</sup> · 박종대<sup>2</sup> · 이유희<sup>2</sup> · 김신일<sup>2</sup>

경희대학교, <sup>1</sup>Pacific Institute of Bioorganic Chemistry (Vladivostok, Russia), <sup>2</sup>한국인삼연초연구원

초록 : Sophorose (2-O-β-D-glucopyranosyl-D-glucopyranose)를 2분자의 D-glucopyranose로부터 6단계의 화학 반응과정을 통하여 21%의 수율로 합성하는 방법을 확립하였다. Sophorose 및 얻어진 중간생성물들에 대하여 NMR, IR 등의 스펙트럼 데이터를 해석하여 구조를 확인하였다.(1996년 8월 27일 접수, 1996년 10월 5일 수리)

### 서 론

Sophorose는 2분자의 D-glucopyranose가 2-O-β 결합을 하고있는 이당화합물이다. Rabate 등<sup>1)</sup>이 회화나무 (*Sophora japonica* L.)의 미숙과실 (피화)로부터 분리한 flavonoid 배당체를 약산가수분해하여 처음으로 이 물질을 제조하였고 sophorose라고 이름 붙였다. 그 이후 당화합물의 체내에서의 광범위한 생물학적, 의학적 역할<sup>2)</sup> 및 미생물 대사에 미치는 영향<sup>3)</sup>때문에 sophorose를 대량으로 제조하고자하는 연구가 활발해졌다. D-glucose를 산처리하거나, 전분을 산가수분해하여 얻는 방법,<sup>4)</sup> D-glucose가 함유된 배지에 특정 미생물을 배양하여 효소적 반응에 의하여 제조하는 방법,<sup>5)</sup> sophorose 구조를 갖는 배당체를 선택적으로 가수분해하여 얻는 방법<sup>6)</sup> 및 2분자의 D-glucose로부터 화학적으로 합성하는 방법<sup>6)</sup>이 시도되었다.

화학적 합성방법에 있어서는 먼저 D-glucose의 2번 수산기만이 열려진 유도체를 효율적으로 제조하고, 이 수산기에 다른 1분자의 D-glucose를 최적조건하에서 배당화반응 시키고, 이어서 치환기를 용이하게 제거하는 과정이 중요하다. Freudenberg,<sup>6)</sup> Gakhokidze,<sup>7)</sup> Coxon<sup>8)</sup> 등이 화학적 합성 방법을 검토하여 보고한 바 있으나, 수율이 만족한 정도는 아니었고, 중간 생성물들에 대한 구조적 증거도 충분치 않았다.

이번에 저자들은 이전에 보고된 방법을 개선하여 D-glucopyranose로부터 21%의 수율로 sophorose를 합성하는 방법을 확립하였고, 뿐만아니라 중간생성물들에 대하여 NMR 등의 스펙트럼 데이터를 이용하여 구조를 확실하게 확인하였다.

Sophorose는 자체로서의 생물학적 활성뿐 아니라, 천연에 존재하는 배당체중 sophorose 구조를 갖는 것이 가장 빈번히 발견되고 있다는 점<sup>9)</sup>에서도 그 대량 제조방법의 확립은 의미가 있다고 할 수 있다.

### 재료 및 방법

#### 시약

찾는말 : Sophorose, D-glucopyranose, 유기합성, NMR

\*연락처자

Column chromatography용 silica gel은 Kiesel gel 60 (70~230 mesh, Merck)을, 그외의 시약은 모두 일급, 또는 특급을 사용하였다.

#### 기기

녹는점은 Fisher-John Apparatus를 사용하여 측정하였고, 미보정하였다. <sup>1</sup>H- (400 MHz) 및 <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz) spectra는 BRUKER Model ARX 400으로 측정하였고, optical rotation은 JASCO DIP-370으로 측정하였으며, IR spectra는 Perkin-Elmer Model 599B로 측정하였다.

#### Methyl 4,6-O-benzylidene-α-D-glucopyranoside (2)

Methyl-α-D-glucopyranoside(1, 100 g)에 ZnCl<sub>2</sub>(80 g, anhydrous)와 benzaldehyde(300 ml)를 가하고 실온에서 3시간 교반하였다. 반응액에 빙냉수 (450 ml)를 가한 후 유리필터(G4)로 여과하여 침전물을 얻었다. 냉수와 petroleum ether로 씻은 후에 열수로 침전을 녹여냈다. 저온 (4°C)에서 재결정하여 유리필터(G4)로 여과하고 건조하여 흰색 침전물을 얻었다(83 g, 71%). Methyl 4,6-O-benzylidene-α-D-glucopyranoside (2): white powder (H<sub>2</sub>O), mp 162~164°C, [ $\alpha$ ]<sub>D</sub> +81° (c=1.2, CHCl<sub>3</sub>), IR ν (CHCl<sub>3</sub>, cm<sup>-1</sup>): 3392, 2818, 1605, 1505, <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 7.49 (2H, dd, J=7.7, 7.7, benzylidene-3, 5), 7.36 (1H, dd, J=7.7, 7.7, benzylidene-4), 7.35 (2H, d, J=7.7, benzylidene-2, 6), 5.50 (1H, s, acetal-H), 4.73 (1H, d, J=3.9, H-1), 3.45~4.26 (H-2, 3, 4, 5, 6), 3.41 (3H, s, -OMe); <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 137.7, 129.9, 129.0 (x2), 127.0 (x2) (benzylidene-C), 102.6 (C-1), 100.5 (acetal-C), 81.6 (C-4), 73.4, 72.1, 69.6 (C-2, 3, 5), 63.0 (C-6), 56.2 (-OMe).

#### 2,3,4,6-Tetra-O-acetyl-α-D-glucopyranosyl bromide (3)

3구 flask에 acetic anhydride 400 ml를 넣고 빙욕상에서 냉각시켰다. Perchloric acid (60%, 2.4 ml)를 적하한 후 반

용매의 온도를 실온으로 조절하고 D-glucopyranose (100 g)를 소량씩 가하였다. 30분간 실온에서 교반시킨 후, 적린 30 g을 가하고, Br<sub>2</sub> 58 ml를 적하하였다. 반응온도를 20°C로 조절하면서, 반응액의 온도가 더 이상 올라가지 않을때까지 교반하였다. 반응액에 물 36 ml를 가한 후 CHCl<sub>3</sub> 400 ml를 천천히 가하였다. 반응액을 유리필터로 여과하고, 여액을 분액깔대기에 옮긴 후 빙냉수, 포화 NaHCO<sub>3</sub>, 빙냉수로 순차적으로 씻은 후, sodium sulfate anhydrous로 탈수하고 감압농축하였다. 농축물에 ether를 가하고 가열하여 녹인 후, 저온에서 재결정하였다. 유리필터로 여과하고 찬 ether로 씻어낸 후 건조하였다 (190 g, 85%). 2, 3, 4, 6-Tetra-O-acetyl- $\alpha$ -D-glucopyranosyl bromide (**3**): colorless fine crystals (ethyl ether), mp 225~226°C,  $[\alpha]_D^{25} +45^\circ$  (c=1.7, CHCl<sub>3</sub>), IR  $\nu$  (CHCl<sub>3</sub>, cm<sup>-1</sup>): 2910, 1745, <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 6.61 (1H, d, J=4.0, H-1), 5.56 (1H, dd, J=9.7, 9.7, H-3), 5.14 (1H, dd, J=8.9, 9.7, H-4), 4.84 (1H, dd, J=4.0, 9.7, H-2), 4.12~4.35 (3H, H-5,6), 2.11, 2.10, 2.06, 2.04 (each 3H, all s, acetyl $\times$ 4). <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 171.2, 170.5, 170.4, 170.1 (acetyl $\times$ 4), 87.2 (C-1), 72.8, 71.3, 70.8, 67.8 (C-2, 3, 4, 5), 61.6 (C-6), 21.3( $\times$ 2), 21.3, 21.2 (acetyl $\times$ 4).

**Methyl 2-O-(2,3,4,6-tetra-O-acetyl- $\beta$ -D-glucopyranosyl)-4,6-O-benzylidene- $\alpha$ -D-glucopyranoside (**4**)**

Al-Foil로 빛을 차단시킨 flask에 화합물 **3** (35.26 g), Ag<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (35.26 g), CaSO<sub>4</sub> (90 g) 및 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (430 ml)를 가하였다. 30분동안 실온에서 교반한 후, I<sub>2</sub> (9.0 g)와 화합물 **2** (63 g)를 가한 후 실온에서 15시간 교반하였다. 반응액을 유리필터로 여과하고, 여액에 sodiumthiosulfate (Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>·5H<sub>2</sub>O)를 가한 후 I<sub>2</sub>의 갈색이 소실될때까지 교반하였다. Sodium sulfate anhydrous로 탈수하고 여과한 후 감압농축하였다. 농축물을 열수로 씻어낸 후, 뜨거운 MeOH로 재결정하였다 (31.5 g, 41%). Methyl 2-O-(2,3,4,6-tetra-O-acetyl- $\beta$ -D-glucopyranosyl)-4,6-O-benzylidene- $\alpha$ -D-glucopyranoside: colorless fine needles (MeOH), mp 230~231°C,  $[\alpha]_D^{25} +44^\circ$  (c=1.6, CHCl<sub>3</sub>), IR  $\nu$  (CHCl<sub>3</sub>, cm<sup>-1</sup>): 2905, 1750, 1612, 1503, <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 7.48 (2H, dd, J=7.7, 7.7, benzylidene-3, 5), 7.36 (1H, dd, J=7.7, 7.7, benzylidene-4), 7.35 (2H, d, J=7.7, benzylidene-2, 6), 5.53 (1H, s, acetal-H), 5.23 (1H, dd, J=9.5, 9.5, H-4'), 5.06 (1H, dd, J=7.8, 9.7, H-2'), 5.05 (1H, dd, J=9.7, 9.5, H-3'), 4.82 (1H, d, J=7.8, H-1'), 4.81 (1H, d, J=4.0, H-1), 3.42 (3H, s, -OMe), 2.08, 2.04, 2.03, 2.00 (each 3H, all s, acetyl $\times$ 4). <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 171.3, 170.9, 170.3, 170.1 (acetyl $\times$ 4), 137.7, 129.9, 129.0 ( $\times$ 2), 127.0 ( $\times$ 2) (benzylidene), 102.6, 102.3 (C-1, 1'), 100.6 (acetal-C), 82.4, 81.9 (C-2, 4), 73.3, 72.6, 72.2, 69.8, 69.7, 69.1 (C-3, 5, 2', 3', 4', 5'), 62.78, 62.75 (C-6, 6'), 56.2 (-OMe), 21.4, 21.3, 21.3, 21.3 (acetyl $\times$ 4).

**Methyl 2-O-(2,3,4,6-tetra-O-acetyl- $\beta$ -D-glucopyranosyl)- $\alpha$ -D-glucopyranoside (**5**)**

플라스크에 화합물 **4** (32.3 g)를 취하고 MeOH을 가하였다. 반응용기내를 Ar으로 치환시킨 후 활성탄에 흡착시킨 10%의 Pd를 가하였다. 수소를 공급하면서 TLC로 반응상태를 확인하였다. 반응종료후 유리필터로 여과하고 여액을 농축한 후 MeOH로 재결정하였다 (26.5 g, 96%). Methyl 2-O-(2,3,4,6-tetra-O-acetyl- $\beta$ -D-glucopyranosyl)- $\alpha$ -D-glucopyranoside (**5**): colorless fine crystals (MeOH), mp 218~219°C,  $[\alpha]_D^{25} +38^\circ$  (c=1.65, CHCl<sub>3</sub>), IR  $\nu$  (CHCl<sub>3</sub>, cm<sup>-1</sup>): 3525, 2950, 1753, <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 5.23 (1H, dd, J=9.5, 10.0, H-3'), 5.05 (1H, dd, J=10.0, 10.0, H-4'), 5.04 (1H, dd, J=8.2, 9.5, H-2'), 4.82 (1H, d, J=2.8, H-1), 4.81 (1H, d, J=8.2, H-1'), 4.25 (1H, dd, J=2.4, 12.3, H-6'), 4.14 (1H, dd, J=5.5, 12.3, H-6'), 3.48~3.90 (7H, H-2, 3, 4, 5, 6, 5'), 3.39 (3H, s, -OMe), 2.10, 2.06, 2.04, 2.01 (each 3H, all s, acetyl $\times$ 4). <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 171.3, 170.9, 170.6, 170.1 (acetyl $\times$ 4), 102.1, 100.0 (C-1, 1'), 82.0 (C-2), 73.3, 72.7, 72.5, 72.4, 71.4, 71.1, 69.1 (C-3, 4, 5, 2', 3', 4', 5'), 62.7, 62.6 (C-6, 6'), 56.1 (-OMe), 21.5, 21.4, 21.3, 21.2 (acetyl $\times$ 4).

**Methyl 2-O-(2,3,4,6-tetra-O-acetyl- $\beta$ -D-glucopyranosyl)-3,4,6-tri-O-acetyl- $\alpha$ -D-glucopyranoside (**6**)**

화합물 **5** (26 g)를 pyridine (150 ml)에 녹인 후 acetic anhydride (100 ml)를 가하였다. 실온에서 15시간 교반한 후, 60°C에서 2시간 반응시켰다. 반응액을 식혀서 빙냉수 중에 가한 후 교반하면서 방치하였다. 얻어진 침전을 뜨거운 MeOH로 녹이고 물을 소량씩 가하면서 재결정하였다 (29 g, 90%). Methyl 2-O-(2,3,4,6-tetra-O-acetyl- $\beta$ -D-glucopyranosyl)-3,4,6-tri-O-acetyl- $\alpha$ -D-glucopyranoside (**6**): colorless needles (MeOH), mp 135~136°C,  $[\alpha]_D^{25} +47^\circ$  (c=1.3, CHCl<sub>3</sub>), IR  $\nu$  (CHCl<sub>3</sub>, cm<sup>-1</sup>): 2936, 1750, <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 5.42 (1H, dd, J=9.7, 9.8), 5.15 (1H, dd, J=9.4, 9.4), 5.07 (1H, dd, J=9.6, 9.7), 4.98 (1H, dd, J=9.8, 9.8), 4.97 (1H, dd, J=9.4, 9.4) (H-3, 4, 2', 3', 4'), 4.86 (1H, d, J=3.6, H-1), 4.63 (1H, d, J=8.0, H-1'), 4.05~4.30 (4H, H-6, 6'), 3.97 (1H, ddd, J=9.6, 4.4, 2.3), 3.68 (1H, ddd, J=9.8, 4.4, 2.3) (H-5, 5'), 3.75 (1H, dd, J=9.4, 3.6, H-2), 3.42 (3H, s, -OMe), 2.10, 2.09, 2.05, 2.03, 2.02, 2.00, 1.99 (each 3H, all s, acetyl $\times$ 7). <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 171.2, 171.1, 170.92, 170.5, 170.3, 169.95, 169.69 (acetyl $\times$ 7), 102.0, 99.6 (C-1, 1'), 77.7 (C-2), 73.5, 72.7, 72.3, 71.8, 69.4, 69.0, 67.6 (C-3, 4, 5, 2', 3', 4', 5'), 62.7, 62.5 (C-6, 6'), 21.5, 21.34, 21.32, 21.2, 21.18 ( $\times$ 2), 21.0 (acetyl $\times$ 7).

**$\alpha$ -Sophorose octaacetate (**7**)**

화합물 **6** (25 g)의 CHCl<sub>3</sub> (45 ml) 용액에 acetic anhy-

dride (45 ml)와  $H_2SO_4$ -acetic anhydride (1 : 1, 45 ml)를 가한 후  $-15^\circ C$ 에서 30분간 반응시켰다. 반응액을 빙수중에 가하여 분배 추출한 후, 유기층을 물로 씻고, sodium sulfate anhydrous로 탈수, 여과하고 감압 농축한 후 ethyl alcohol로 재결정하였다. (23 g, 88%).  $\alpha$ -Sophorose octaacetate (**7**): colorless fine crystals (EtOH), mp  $194\sim 195^\circ C$ ,  $[\alpha]_D^{25} -3^\circ (c=1.5, CHCl_3)$ , IR  $\nu (CHCl_3, cm^{-1})$ : 2945, 1740,  $^1H$ -NMR (400 MHz,  $CDCl_3$ ): 6.30 (1H, d,  $J=3.8$ , H-1), 4.90~5.44 (5H, H-3, 4, 2', 3', 4'), 4.61 (1H, d,  $J=7.9$ , H-1'), 4.01~4.32 (5H, H-5, 6, 6'), 3.90 (1H, dd,  $J=3.9$ , 10.0, H-2), 3.67 (1H, m, H-5'), 2.23, 2.17, 2.11, 2.07, 2.03, 2.02, 2.00, 1.99 (acetyl $\times 8$ ).  $^{13}C$ -NMR (100 MHz,  $CDCl_3$ ): 171.3, 171.1 ( $\times 2$ ), 171.0, 170.4, 170.1, 170.0, 169.7 (acetyl $\times 8$ ), 101.6, 89.3 (C-1, 1'), 77.1 (C-2), 73.2, 72.8, 72.8, 72.6, 71.7, 68.9, 67.8 (C-3, 4, 5, 2', 3', 4', 5'), 62.1, 61.6 (C-6, 6'), 21.3 ( $\times 2$ ), 21.3, 21.2, 21.19 21.18 ( $\times 3$ ) (acetyl $\times 8$ ).

### $\alpha$ -Sophorose (2-O- $\beta$ -D-glucopyranosyl- $\alpha$ -D-glucopyranose, **8**)

화합물 **7** (4 g)에 1.5 N  $Ba(OMe)_2$  (5 ml)를 가하고 실온에서 4시간 교반시킨 후, 반응액을 산성이온교환수지 (Dowex 50W $\times 8$ , H<sup>+</sup> form)로 중화하였다. 여지로 여과하고 50% 수용성 MeOH로 씻어낸 후 여액을 감압 농축하였다. 농축물을 silica gel column chromatography ( $CHCl_3$ -MeOH-H<sub>2</sub>O=6 : 5 : 1) 하여 sophorose를 분리하였다 (1.6 g, 79%). Sophorose: white powder (H<sub>2</sub>O-EtOH), mp  $188\sim 189^\circ C$ ,  $[\alpha]_D^{25} +34^\circ (c=2.1, H_2O)$ , IR  $\nu (CHCl_3, cm^{-1})$ : 3524, 2942, Rf value: 0.32 [on TLC (Kieselgel F<sub>64</sub>, Merck),  $CHCl_3$ -MeOH-H<sub>2</sub>O (6 : 5 : 1)],  $^1H$ -NMR (400 MHz,  $D_2O$ ): 5.33 (1H, d,  $J=6.3$ , H-1'), 4.53 (1H, d,  $J=3.9$ , H-1), 3.25~3.80 (Sugar moieties).  $^{13}C$ -NMR (100 MHz,  $D_2O$ ): 106.8, 94.7 (C-1, 1'), 83.6 (C-2), 78.77, 78.75, 78.2, 76.1, 74.2, 73.9, 73.1 (C-3, 4, 5, 2', 3', 4', 5'), 63.22, 63.18 (C-6, 6').

### 결과 및 고찰

Sophorose는 2분자의 D-glucopyranose로 이루어진 이당 화합물로, 1분자의 D-glucopyranose가 다른 1분자의 D-glucopyranose의 2번 수산기에  $\beta$  결합하고 있다. D-glucopyranose를 구성당으로 갖는 배당체나 소당류중에는 2번 수산기에 다른 당이 결합한 경우가 가장 많고,<sup>9)</sup> 6번<sup>10)</sup>과 4번<sup>11)</sup> 수산기에 결합한 것도 발견되나 3번 수산기에 결합한 경우는 거의 없다. 따라서 2분자의 D-glucopyranose로부터 sophorose를 화학적으로 합성하기 위해서는 1분당의 4번과 6번 수산기를 효과적으로 차단하는 것이 중요하다. 1,2-diol 또는 1,3-diol을 동시에 차단하는 여러가지 방법이 알려져 있으나,<sup>12)</sup> D-glucopyranose의 1, 2, 3번 수산기는 그냥 둔 채로 4번과 6번 수산기만을 선택적으로 차단시킬 수 있는 방법<sup>13)</sup>을 적용할 필요가 있다. 6번 수산기가 다른 것들에 비

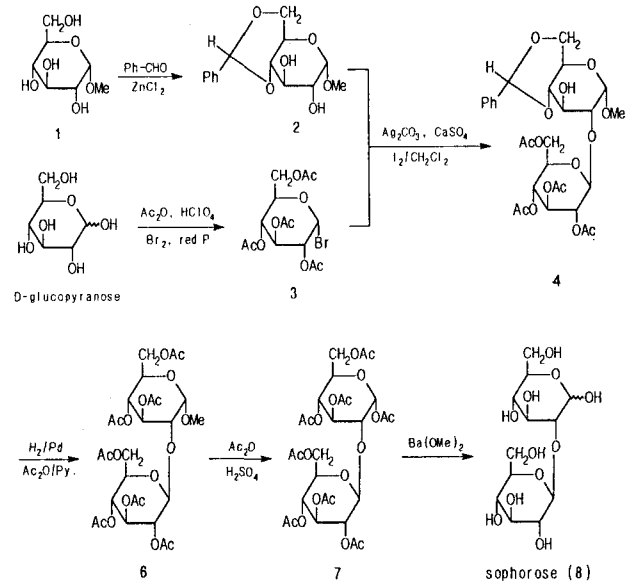


Fig. 1. Synthesis of sophorose from D-glucopyranose and methyl- $\alpha$ -D-glucopyranoside.

해 상대적으로 입체적 장애가 작으므로 적당히 덩치가 큰 치환기인 benzaldehyde를 이용하였다.

Methyl- $\alpha$ -D-glucopyranoside (**1**)에 benzaldehyde를 가하고 무수  $ZnCl_2$ 를 촉매로하여 반응시키면 4번과 6번 수산기에만 benzylidene이 도입된 화합물 **2**가 71%의 수율로 얻어졌다(Fig. 1). 화합물 **2**는 IR spectrum ( $CHCl_3$ )으로부터 수산기 ( $3392 cm^{-1}$ )와 benzene ( $1605, 1505 cm^{-1}$ )의 존재가 인정되었다.  $^1H$ -NMR (400 MHz,  $CDCl_3$ )을 보면, 당의 anomeric proton ( $\delta 4.73$ , d,  $J=3.9$ )와 methoxy기의 ( $\delta 3.41$ , s) signal이 관측되었고, 일치환 벤젠 signal [ $\delta 7.49$  (2H, dd), 7.36 (1H, d), 7.35 (2H, dd)]과 singlet의 acetal signal ( $\delta 5.50$ )이 관측되어 methyl- $\alpha$ -D-glucopyranoside에 benzylidene이 도입된 것이 확인되었다.  $^{13}C$ -NMR (100 MHz,  $CDCl_3$ )에 있어서도, 일치환 벤젠 [ $\delta 137.7, 129.9, 129.0(\times 2), 127.0(\times 2)$ ]과 acetal ( $\delta 100.5$ ) signal이 관측되었고, anomeric 탄소 ( $\delta 102.6$ )와 methoxy기 ( $\delta 56.2$ ) 외에 5개의 당부 signal이 확인되었다. 특히 C-4와 C-6이 각각 81.6, 63.0과 같이 약간 저자장으로 shift 되어 benzylidene이 C-4와 C-6에 도입되었음을 나타내었다. 따라서 생성된 화합물 **2**의 구조가 methyl 4,6-O-benzylidene- $\alpha$ -D-glucopyranoside (**2**)임이 확인되었다.

한편, 배당화 반응에 필요한 bromoglucose를 제조하기 위해, D-glucopyranose를 perchloric acid 존재하에 acetic anhydride로 아세틸화 한 후, 적린을 촉매로하여 Br을 anomeric 위치에 도입하여 2,3,4,6-Tetra-O-acetyl- $\alpha$ -D-glucopyranosyl bromide (**3**)를 얻었다. 얻어진 화합물 **3**의  $^1H$ -NMR (400 MHz,  $CDCl_3$ )에 있어서 D-glucopyranose의 anomeric proton ( $\delta 6.61$ ) 및 다른 signal들이 관측되었고, 4개의 acetoxy기에서 유래한 4개의 singlet methyl signal이  $\delta 2.11, 2.10, 2.06, 2.04$ 에서 관측이 되었다. Br이 도입된 입체적 위치는 anomeric proton signal의 coupling constant

( $J=4.0$  Hz)로부터  $\alpha$ 인 것이 확인되었다.  $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )에 있어서도 1분자의 D-glucopyranosyl과 4개의 acetoxy 유래의 signal들이 관측되었고, 특히 anomeric 탄소의 chemical shift가 87.2 ppm인 점으로부터 Br이 도입된 것을 알 수 있었다.

화합물 2에 acetylbromoglucose (3)를 배당화 반응시킬 때에 여러가지 촉매와 반응용매를 검토하였는데,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  용매하에서  $\text{Ag}_2\text{CO}_3$ 를 촉매로 하였을 때에 가장 수율이 좋았다. 이때 반응액을 무수조건으로 하기 위하여  $\text{CaSO}_4 \cdot \text{anhydrous}$ 를 사용함으로써 수율을 월등히 높일 수 있었다. 얻어진 화합물 4인 methyl 2-O-(2,3,4,6-O-tetraacetyl- $\beta$ -D-glucopyranosyl)-4,6-benzylidene- $\alpha$ -D-glucopyranoside의  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )에 있어서, benzylidene 유래의 phenyl기 및 acetal ( $\delta$  5.53, s), 1개의 methoxy기 ( $\delta$  3.42, 3H, s), acetoxy기에서 유래한 4개의 singlet methyl ( $\delta$  2.08, 2.04, 2.03, 2.00) 및 2개의 anomeric proton ( $\delta$  4.82, d,  $J=7.8$ , H-1',  $\delta$  4.81, d,  $J=4.0$ , H-1) signal들이 관측되어 배당화 반응이 이루어졌음이 확인되었다. 이때 H-1'의 coupling constant가 7.8 Hz로 나타나  $\beta$ -결합하고 있음이 판명되었다.  $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )에 있어서도 2개의 anomeric 탄소 ( $\delta$  102.6, 102.3)와 4개의 acetoxy기 ( $\delta$  171.3, 170.9, 170.3, 170.1, 21.38, 21.33, 21.27, 21.25), 1개의 methoxy기 ( $\delta$  56.2), acetal ( $\delta$  100.6) 및 benzylidene signal들이 관측되었고, 특히 C-2가 82.4 ppm과 같이 저자장 shift 됨에 따라 C-2의 수산기에 배당화반응이 이루어졌음이 밝혀졌다.

화합물 4의 benzylidene을 Ar을 이용하여 산소와의 접촉을 차단하면서 Pd 촉매하에서 수소로 접촉환원함으로써 제거하여 methyl 2-O-(2,3,4,6-tetra-O-acetyl- $\beta$ -D-glucopyranosyl)- $\alpha$ -D-glucopyranoside (5)를 제조하였다.  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )에서 2개의 anomeric proton [( $\delta$  4.82, d,  $J=2.8$ , H-1), ( $\delta$  4.81, d,  $J=8.2$ , H-1')]와 4개의 acetoxy기 ( $\delta$  2.10, 2.06, 2.04, 2.01) 및 methoxy기 ( $\delta$  3.39) signal들은 그대로 관측되었으나, phenyl 및 acetal signal은 관측되지 않았다.  $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )에 있어서도 2개의 anomeric 탄소 ( $\delta$  102.1, 100.0)와 4개의 acetoxy기 ( $\delta$  171.3, 170.9, 170.6, 170.1, 21.5, 21.4, 21.3, 21.2) 및 methoxy기 ( $\delta$  56.1) signal들은 관측되었으나, phenyl 및 acetal signal은 관측되지 않아, benzylidene만이 제거되었음이 확인되었다.

화합물 5를 acetic anhydride/pyridine으로 acetylation하여 methyl 2-O-(2,3,4,6-tetra-O-acetyl- $\beta$ -D-glucopyranosyl)-3,4,6-tri-O-acetyl- $\alpha$ -D-glucopyranoside (6)를 제조하였다.  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )에 있어서 acetoxy기 유래의 7개의 singlet methyl ( $\delta$  2.10, 2.09, 2.05, 2.03, 2.02, 2.00, 1.99)과 1개의 methoxy기 ( $\delta$  3.42) signal이 관측되었고,  $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )에서도 acetoxy기 유래의 7개의 carbonyl ( $\delta$  171.2, 171.1, 170.9, 170.5, 170.3, 169.95, 169.66) 및 methyl [ $\delta$  21.5, 21.34, 21.32, 21.22, 21.18( $\times 2$ ), 21.0]과 1개의 methoxy기의 탄소 ( $\delta$  56.1) sig-

nal이 관측되어 C-1을 제외한 전 수산기가 acetylation 되어 있음이 확인되었다.

화합물 6의 C-1에 결합한 methoxy기를 acetic anhydride와  $\text{H}_2\text{SO}_4$ -acetic anhydride로 반응시켜서 acetoxy기로 치환하여  $\alpha$ -sophorose octaacetate (7)를 얻었다.  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )에서 methoxy기의 signal이 없었고 대신에 8개의 singlet methyl signal ( $\delta$  2.23, 2.17, 2.11, 2.07, 2.03, 2.02, 2.00, 1.99)이 관측되었고, 특히 H-1 signal이 아세틸화에 의해 저자장으로 shift 되어 6.30 ppm에서 관측되었다.  $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )에 있어서도 methoxy기는 관측되지 않았고, 8개의 carbonyl [ $\delta$  171.3, 171.1 ( $\times 2$ ), 171.0, 170.4, 170.1, 169.9, 169.7] 및 methyl [ $\delta$  21.32( $\times 2$ ), 21.27, 21.20, 21.19, 21.18( $\times 3$ )] signal이 관측되었다. 한편, C-1에 도입된 acetoxy기의 입체적 위치는  $\beta$ 로 보고되어 있었으나, 본실험에서 얻어진 화합물 6의  $^1\text{H-NMR}$ 에 있어서의 H-1의 coupling constant가 3.8 Hz인 점과  $^{13}\text{C-NMR}$ 에 있어서의 C-1의 chemical shift가 89.3 ppm 인점으로부터  $\beta$ 가 아닌  $\alpha$ 인 것으로 판명되었다. ( $\beta$ 의 경우 H-1의 coupling constant는 약 7 Hz, C-1의 chemical shift는 대체로 100 ppm 보다 저자장이다)

화합물 7을 알칼리 [ $1.5 \text{ N Ba}(\text{OMe})_2$ ]로 처리하여 탈아세틸화함으로써  $\alpha$ -sophorose를 제조하였다.  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ )에 있어서 2개의 anomeric proton ( $\delta$  5.33, d,  $J=3.6$ , H-1,  $\delta$  4.53, d,  $J=8.9$ , H-1') 및 당부 유래의 signal들이 3.25~3.80 ppm에서 관측됨으로써 구조가 확인되었다.  $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ )에 있어서도 2개의 anomeric 탄소 ( $\delta$  106.8, 94.7)와 glycosidation 효과에 의해 저자장으로 shift 되어 관측된 C-2 ( $\delta$  83.6) 외에 당부 signal들이 63.4~78.7 ppm에서 관측되었다. 이때 sophorose의 C-1의 configuration은  $^1\text{H-NMR}$ 에 있어서의 H-1 signal의 coupling constant ( $J=3.6$  Hz) 및  $^{13}\text{C-NMR}$ 에 있어서의 C-1의 chemical shift ( $\delta$  94.7)로부터  $\alpha$ 인 것으로 판명되었다.

D-glucose로부터 6단계의 반응에 의해 21.0%의 수율로  $\alpha$ -sophorose를 합성하였다. 이전의 합성방법에 비해 수율이 높았고, 뿐만아니라 중간 생성물들에 대한 구조적 증거를 NMR data를 해석하여 제시하였다. 이번 실험에서 얻어진 화학반응 및 분자구조와 관련된 지견이 다른 분야에서도 유용하게 이용될 것으로 기대된다. 또한 sophorose 자체의 생물학적 활성 및 sophorose를 구성당으로 갖는 각종 배당체에 대한 생리학적, 약리학적 활성에 관한 연구의 기반이 될 것으로 기대된다.

## 참 고 문 헌

1. Rabate, J. and J. Dussy (1938) Etude biochimique des fruits de Sophora japonica L. III. - Sur un holodiglycoside nouveau extrait du Sophoraflavonolose. *Bull. Soc. Chim. Biol.* **20**, 467-470.
2. Mandels, M. and E. T. Reese (1959) Biologically active impurities in reagent glucose. *Biochem. Biophys. Research Commun.* **1**, 338-340.

3. Thompson, A., K. Anno, M. L. Wolfrom, and M. Inatome (1954) Acid reversion products from D-glucose. *J. Am. Chem. Soc.* **76**, 1309-1311.
4. Walker, T. K., D. N. Pellegrino and A. W. Khan (1959) Formation of gentiobiose, sophorose and other oligosaccharides by *Acetobacter* species growing in glucose media. *Arch. Biochem. Biophys.* **83**, 161-169.
5. Vis, E. and H.G. Fletcher, Jr. (1956) Stevioside. IV. Evidence that stevioside is a sophoroside. *J. Am. Chem. Soc.* **78**, 4709-4710.
6. Freudenberg, K., H. Knauber and F. Cramer (1951) Die Übereinstimmung der Sophorose mit 2-[β-Glucosido]-glucose. *Chem. Ber.* **84**, 144-146.
7. Gakhokidze (1941) Synthesis of 2-glucosidoglucose. *J. Gen. Chem.* **11**, 117-126.
8. Coxon B. and H. G. Fletcher, Jr. (1960) Simplified preparation of sophorose (2-O-β-D-glucopyranosyl-D-glucose). *J. Org. Chem.* **26**, 2892-2894.
9. Kitagawa, I., H. K. Wang, M. Saito and M. Yoshikawa (1983) Chemical constituents of *Astragalus radix*, the root of *Astragalus membranaceus* Bunge. *Chem. Pharm. Bull.* **31**, 709-715.
10. Morita, T., J. Zhou and O. Tanaka (1986) Saponins from *Panax pseudo-ginseng* Wall. subsp. *pseudo-ginseng* Hara collected at Nielamu, Tibet, China. *Chem. Pharm. Bull.* **34**, 4833-4835.
11. Kitagawa, I., Y. Ikenishi, M. Yoshikawa and I. Yosioka (1976) Structure of sakuraso-saponin, a pentaglycoside of protoprimulagenin A from the root of *Primula sieboldi* E. Morren. *Chem. Pharm. Bull.* **24**, 2470-2479.
12. Corey, E. J., S. Kim, S. Yoo, K. C. Nicolaou, L. S. Melvin, Jr., D. J. Brunelle, J. R. Falck, E. J. Trybulski, R. Lett and P. W. Sheldrake (1978) Total synthesis of erythronolide B. *J. Am. Chem. Soc.* **100**, 4620-4622.
13. Munavu, R. M. and H. H. Szmant (1975) Conversion of polyfunctional alcohols to acetals under non-acidic conditions. *Tetrahedron Lett.*, 4543-4546.

---

#### Preparation of Sophorose - I. Chemical Synthesis of Sophorose from D-Glucose

Nam-In Baek\*, Victor P. Anufriev<sup>1</sup>, Jong Dae Park<sup>2</sup>, You Hui Lee<sup>2</sup> and Shin Il Kim<sup>2</sup> (*Kyung Hee University, Yongin, Korea*; <sup>1</sup>*Pacific Institute of Bioorganic Vladivostok, Russia*; <sup>2</sup>*Korea Ginseng & Tobacco Research Institute, Taejon, Korea Chemistry*)

**Abstract** : Sophorose (2-O-β-D-glucopyranosyl-D-glucopyranose) was chemically synthesized from D-glucopyranose through six steps of chemical reactions with the yield of 21%. The chemical structures of sophorose and some compounds obtained during reactions were confirmed by interpretations of spectral data, NMR, IR, etc.

---

\*Corresponding author