

진세노사이드 Rh₂의 방향선택적 합성

신명희 · 정지형 · 장은하 · 임광식*

부산대학교 약학대학

(Received June 14, 2001; Revised July 5, 2001)

Regioselective Synthesis of Ginsenoside Rh₂

Myoung Hee Shin, Jee H. Jung, Eun Ha Chang and Kwang Sik Im*

College of Pharmacy, Pusan National University, Pusan 609-735, Korea

Abstract — Ginsenoside Rh₂, a minor glycoside constituent of the red ginseng is known as an unique anti-tumor compound. Several attempts to prepare it in a large scale including semisynthesis from betulafolientriol, an 3-epimer of 20(S)-protopanaxadiol, has been reported. We have previously reported a synthesis of ginsenoside Rh₂ from 20(S)-protopanaxadiol obtained by alkaline hydrolysis of total ginsenoside. The regioselective synthesis of this compound was achieved by protection of 12-OH group.

Keywords □ Regioselective protection, 20(S)-protopanaxadiol, ginsenoside Rh₂, glycosylation.

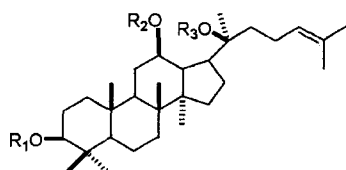
인삼사포닌(ginsenosides)은 강장작용, 강정작용, 혈당강하작용, 항 스트레스작용 등의 광범위한 생리활성을 가지고 있는 것으로 알려져 있다. 이들 ginsenoside 중 홍삼의 미량성분(0.001% 함유)인 ginsenoside Rh₂는 3LL, MH1C1, melanoma B16, HeLa 등의 암세포에 대하여 증식을 억제¹⁾ 하는 등 항암효과가 보고된 이래 이를 화학적으로 다량 제조하기 위한 연구²⁻⁸⁾와 이의 유사체의 합성연구⁹⁻¹¹⁾가 활발하게 이루어져왔다. 저자 등은 총 인삼사포닌을 원료로 하여 본 연구실에서 개발한 방법으로 인삼사포닌의 중요 진성 aglycone인 20(S)-protopanaxadiol(PPD)을 얻고 이를 보호함이 없이 그대로 Koenig-Knorr법에 따라 glycosylation하여 ginsenoside Rh₂(Rh₂)와 이의 유사체를 합성^{5,7)}한 바 있다. 본 연구에서는 PPD의 3위치와 12위치의 2급 수산기 중 12-OH 만을 선택적으로 보호함으로써 수득률이 향상된 3-O-glycoside를 합성하여 항암효과를 비교검토 할 목적으로 우선 ginsenoside Rh₂의 방향선택적 합성을 시도하고 그 결과를 보

고하고자 한다.

실험방법

재료, 기기 및 시약 — 시판 미삼을 세절하여 사용하였다. 용점은 Fisher micromelting point apparatus (hot-stage type)를 사용하고 미보정치를 기록하였다. 선광도는 JASCO DIP-181 digital polarimeter(L=0.5 dm)를 사용하여 측정하였으며, IR 스펙트럼은 Shimadzu IR-400 spectrophotometer를 사용하여 측정하였다. ¹H-NMR 및 ¹³C-NMR 스펙트럼은 Bruker AC-200 spectrometer를 사용하고 tetramethylsilane (TMS)을 내부 표준물질로 하여 측정하였다. 칼럼크로마토그래피용 실리카젤은 Kiesel gel 60(Merck, 70~230 mesh)을, 박층크로마토그래피(TLC)는 Kiesel gel 60F₂₅₄(Merck, pre-coated plate)를 사용하고 1% Ce(SO₄)₂/10% H₂SO₄를 분무하고 약 5분간 가열판 상에서 가열, 정색하였다. 시약은 분석용 1급 또는 특급시약을 사용하였으며 무수용매는 증류하여 금속 나트륨선 혹은 molecular sieve 4Å으로 탈수하여 사용하였다.

* 본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로
(전화) 051-510-2811 (팩스) 051-510-2811



- 1: R₁= R₂= R₃= H (PPD)
 2: R₁= R₂= Ac, R₃= H
 3: R₁= Ac, R₂= R₃= H
 4: R₁= Ac, R₂= THP, R₃= H
 4a: R₁= Ac, R₂= R₃= THP
 5: R₁= H, R₂= THP, R₃= H
 5a: R₁= H, R₂= R₃= THP
 6: R₁= β-D-glc(Ac)₄, R₂= THP, R₃= H
 6a: R₁= β-D-glc(Ac)₄, R₂= R₃= THP
 8: R₁= β-D-glc, R₂= R₃= H (G-Rh₂)

20(S)-protopanaxadiol(PPD) - 전보⁷⁾에서와 같이 시판 미삼으로부터 추출한 총 사포닌을 저자 등이 개발한 alkali 가수분해법⁶⁾에 따라 PPD(1)를 얻어 사용하였다.

1: colorless needles (CHCl₃), mp 196~200°C, [α]_D²⁰ +21°(c. 1.03, CHCl₃). IR ν_{max}^{CHCl₃} cm⁻¹: 3600, 3530 (OH), 2928, 1628 (trisubstituted C=C). ¹H-NMR (200 MHz, CDCl₃) δ: 0.78 (3H, s), 0.89 (6H, s), 0.98, 0.99, 1.19, 1.64, 1.70 (each 3H, s) (8×tert.-CH₃), 3.20 (1H, dd, J=10.3, 5.7 Hz, H-3), 3.59 (1H, dt, J=10.3, 4.9 Hz, H-12), 5.17 (1H, *t*-like, H-24). ¹³C-NMR (50 MHz, CDCl₃) δ: 78.8 (C-3), 70.8 (C-12), 74.2 (C-20), 125.0 (C-24), 131.7 (C-25).

화합물 1의 acetyl화 - 화합물 1(80 mg)의 무수 pyridine(4 ml) 용액에 Ac₂O(4 ml)를 가하고 실온에서 12시간 교반 후 반응액에 빙수를 가하고 동량의 Et₂O로 3회 추출한 뒤 그 추출액을 상법에 따라 처리하여 diacetate 체인 화합물 2(94 mg)를 얻었다.

2: colorless needles (CHCl₃), mp 172~173°C, [α]_D²⁰ +10°(c. 1.23, CHCl₃). IR ν_{max}^{CHCl₃} cm⁻¹: 3400 (w, OH), 1720, 1220 (OAc), 1630 (C=C). ¹H-NMR (200 MHz, CDCl₃) δ: 0.85 (6H, s), 0.88, 0.95, 1.01, 1.13, 1.64, 1.71 (each 3H, s) (8×tert.-CH₃), 2.04, 2.05 (each 3H, s) (2×OAc), 4.49 (1H, *dd*, J=10.5, 5.2 Hz, H-3), 4.74 (1H, *dt*, J=10.3, 4.9 Hz, H-12), 5.16 (1H, *t*-like, H-24). ¹³C-NMR (50 MHz, CDCl₃) δ: 80.6 (C-3), 73.7 (C-12), 76.6 (C-20), 125.2 (C-24), 131.3 (C-25), 170.9 (C-3, -OCOCH₃), 169.6 (C-12, -OCOCH₃).

화합물 2의 부분적 탈 acetyl화 - 화합물 2(94 mg)에 0.1 M-aq. K₂CO₃/MeOH(8 ml)을 가하고 실온에서 1 시간 교반 후 반응액을 Dowex 50W-X8(H⁺)로 중화시킨 후 resin을 여과하고 여액을 농축하여 반응잔사를 얻었다. 이 잔사를 *n*-hexane-Et₂O(2:3)을 용매로 실리카겔 칼럼크로마토그래피를 행하여 mono-acetate체인 화합물 3(86 mg)을 분리하였다.

3: colorless needles (CHCl₃), mp 175~177°C, [α]_D²⁰ +34°(c. 1.03, CHCl₃). IR ν_{max}^{CHCl₃} cm⁻¹: 3450 (OH), 1718, 1222 (OAc), 1629 (C=C). ¹H-NMR (200 MHz, CDCl₃) δ: 0.85 (6H, s), 0.88, 0.90, 0.99, 1.08, 1.69, 1.72 (each 3H, s) (8×tert.-CH₃), 2.05 (3H, s, OAc), 3.58 (1H, *dt*, J=10.3, 5.0 Hz, H-12), 4.49 (1H, *dd*, J=10.0, 5.2 Hz, H-3), 5.15 (1H, *t*-like, H-24). ¹³C-NMR (50 MHz, CDCl₃) δ: 80.8 (C-3), 70.9 (C-12), 74.5 (C-20), 125.0 (C-24), 131.8 (C-25), 171.0 (C-3, -OCOCH₃).

화합물 3의 tetrahydropyranyl화 - 화합물 3(75 mg)을 CH₂Cl₂(7 ml)에 녹이고 dihydropyran 0.5 ml, pyridinium *p*-toluenesulfonate 19 mg을 가하여 실온에서 4시간 교반한 후¹²⁾ 감압 농축하고 실리카겔 칼럼크로마토그래피(*n*-hexane-Et₂O=5:1→2:1)를 행하여 화합물 4(60 mg, 68.5%), 4a(30 mg, 30.0%)를 분리하였다.

4: colorless oil, IR ν_{max}^{CHCl₃} cm⁻¹: 3400 (OH), 1720, 1220 (OAc). ¹H-NMR (200 MHz, CDCl₃) δ: 0.86, 0.90 (each 6H, s), 0.99, 1.13, 1.62, 1.70 (each 3H, s) (8×tert.-CH₃), 2.04 (3H, s, OAc), 3.85 (1H, *dt*, J=10.3, 5.0 Hz, H-12), 4.49 (1H, *dd*, J=10.0, 5.2 Hz, H-3), 4.71 (1H, *m*, H-1'), 5.15 (1H, *t*-like, H-24). ¹³C-NMR (50 MHz, CDCl₃) δ: 80.7 (C-3), 72.5 (C-12), 74.4 (C-20), 125.8 (C-24), 130.7 (C-25), 170.9 (C-3, -OCOCH₃), 95.2 (C-1').

4a: colorless oil, IR ν_{max}^{CHCl₃} cm⁻¹: 3420 (OH), 1720, 1220 (OAc). ¹H-NMR (200 MHz, CDCl₃) δ: 0.85, 0.89 (each 6H, s), 0.99, 1.14, 1.62, 1.68 (each 3H, s) (8×tert.-CH₃), 2.04 (3H, s, OAc), 3.76 (1H, *dt*, J=10.3, 5.0 Hz, H-12), 4.50 (1H, *dd*, J=10.0, 5.2 Hz, H-3), 4.57 (1H, *m*, H-1'), 4.79 (1H, *t*-like, H-1''), 5.12 (1H, *t*-like, H-24). ¹³C-NMR (50 MHz, CDCl₃) δ: 80.8 (C-3), 77.9 (C-12), 78.0 (C-20), 125.5 (C-24), 131.0 (C-25), 171.0 (C-3, -OCOCH₃).

95.3 (C-1'), 98.9 (C-1").

화합물 4, 4a의 탈 acetyl화 - 화합물 4(60 mg), 4a(30 mg)에 각각 5% aq. K₂CO₃/MeOH(6 ml)을 가하고 실온에서 이틀간 교반 후 감압 농축하고 물에 현탁시켜 Et₂O로 3회 추출하여 무수 MgSO₄로 탈수, 여과, 농축한 후 실리카젤 칼럼크로마토그래피(*n*-hexane-acetone = 15 : 1 → 9 : 1)를 행하여 화합물 5 (56 mg)와 5a (28 mg)를 각각 분리하였다.

5: oil, IR $\nu_{\max}^{\text{CHCl}_3}$ cm⁻¹: 3400 (OH), 1631 (C=C). ¹H-NMR (200 MHz, CDCl₃) δ : 0.78, 0.88, 0.90, 0.98, 1.00, 1.12, 1.63, 1.70 (each 3H, s) (8×tert.-CH₃), 3.19 (1H, *dd*, *J*=10.1, 5.9 Hz, H-3), 3.85 (1H, *dt*, *J*=10.3, 5.0 Hz, H-12), 4.71 (1H, *m*, H-1'), 5.15 (1H, *t*-like, H-24). ¹³C-NMR (50 MHz, CDCl₃) δ : 78.8 (C-3), 72.5 (C-12), 74.4 (C-20), 125.8 (C-24), 130.7 (C-25), 95.2 (C-1').

5a: oil, IR $\nu_{\max}^{\text{CHCl}_3}$ cm⁻¹: 3400 (OH), 1629 (C=C). ¹H-NMR (200 MHz, CDCl₃) δ : 0.78, 0.87, 0.89, 0.97, 0.99, 1.13, 1.62, 1.68 (each 3H, s) (8×tert.-CH₃), 3.19 (1H, *dd*, *J*=10.1, 5.2 Hz, H-3), 3.76 (1H, *dt*, *J*=10.3, 5.0 Hz, H-12), 4.57 (1H, *m*, H-1'), 4.81 (1H, *t*-like, H-1"), 5.15 (1H, *t*-like, H-24). ¹³C-NMR (50 MHz, CDCl₃) δ : 78.8 (C-3), 77.9 (C-12), 78.0 (C-20), 125.5 (C-24), 131.0 (C-25), 95.3 (C-1'), 98.8 (C-1").

2,3,4,6-tetra-O-acetyl- α -D-glucopyranosyl bromide (α -acetobromoglucose) - D-glucose(55 g)를 건조 pyridine-Ac₂O(2 : 1, 400 ml)에 녹인 용액을 40°C에서 2 시간 반응시킨 뒤 반응액을 빙수 중에 가하여 Et₂O로 2회 추출하고 전 추출액을 상법에 따라 처리하여 완전 acetate체(86 g)를 얻었다. acetate체(10 g)의 CHCl₃(10 ml) 용액에 30% HBr-AcOH(50 ml)와 Ac₂O(1 ml)를 가하고 빙욕 중에서 24 시간 교반하면서 반응시켰다. 반응액에 CHCl₃(50 ml)을 가하여 희석하고, CHCl₃ 층을 빙수, 포화중조수, 빙수의 순으로 세척하고 무수 MgSO₄로 탈수, 여과하여 용매를 감압 농축 하여 잔사를 얻었다. 이 잔사를 최소량의 건조 Et₂O에 녹인 후 석유 Et₂O를 용액이 흐려질 때까지 가한 다음 약 2°C에서 12 시간 방치, 재결정하여 α -acetobromoglucose(8 g)를 얻고 진공 데시케이터에 보관하여 사용하였다.

화합물 5, 5a와 α -acetobromoglucose의 축합 -

화합물 5(24 mg, 0.045 mmol) 및 5a(28 mg, 0.045 mmol)를 각각 CH₂Cl₂ 0.5 ml에 녹여 Ag₂O(28 mg, 0.12 mmol), α -acetobromoglucose(48 mg, 0.12 mmol), molecular sieves 4Å(25 mg)를 가하고 실온에서 교반하면서 TLC로 반응의 완결을 확인하였다.⁸⁾ 반응 종결 후 CHCl₃으로 희석하여 여과, 감압 농축하여 실리카젤 칼럼크로마토그래피(*n*-hexane - Et₂O = 1 : 1 및 *n*-hexane-Et₂O = 3 : 2)를 행하여 화합물 6(18 mg, 47%)과 6a(21 mg, 50%)를 각각 분리하였다.

6: amorphous, IR $\nu_{\max}^{\text{CHCl}_3}$ cm⁻¹: 3470 (OH), 1750, 1223 (OAc), 1630 (C=C). ¹H-NMR (200 MHz, CDCl₃) δ : 0.98~1.70 (8×tert.-CH₃), 2.01, 2.04, 2.09, 2.15 (4×OAc), 4.67 (1H, *d*, *J*=7.0 Hz, glycoside anomeric H), 4.71 (1H, *m*, H-1'), 5.15 (1H, *t*-like, H-24).

6a: amorphous, IR $\nu_{\max}^{\text{CHCl}_3}$ cm⁻¹: 3420 (OH), 1750, 1226 (OAc). ¹H-NMR (200 MHz, CDCl₃) δ : 0.81~1.61 (8×tert.-CH₃), 2.02, 2.06, 2.09, 2.15 (4×OAc), 4.57 (1H, *m*, H-1'), 4.67 (1H, *d*, *J*=7.0 Hz, glycoside anomeric H), 4.81 (1H, *t*-like, H-1"), 5.09 (1H, *t*-like, H-24).

화합물 6, 6a의 탈 tetrahydropyranyl화 - 화합물 6(18 mg)과 6a(21 mg)를 각각 EtOH(1 ml)에 녹이고 pyridinium *p*-toluenesulfonate(5 mg)를 가하여 55°C에서 3 시간 동안 교반 후¹²⁾ 감압 농축하여 화합물 7(6으로부터 16 mg, 6a로부터 17 mg)을 얻었다.

7: amorphous, IR $\nu_{\max}^{\text{CHCl}_3}$ cm⁻¹: 3360, 3590 (OH), 1750, 1224 (ester). ¹H-NMR (200 MHz, CDCl₃) δ : 0.78 (3H, s), 0.89, 0.94 (each 6H, s), 1.02, 1.61, 1.66 (each 3H, s) (8×tert.-CH₃), 1.98 (3H, s), 2.02 (6H, s), 2.09 (3H, s) (4×OAc), 4.67 (1H, *d*, *J*=7.0 Hz, glycoside anomeric H), 5.07 (1H, *t*-like, H-24).

화합물 7의 탈 acetyl화 - 화합물 7(33 mg)을 0.1% sodium methoxide/MeOH에 녹이고 실온에서 12시간 교반시킨 후 Dowex 50W-X8(H⁺)로 중화하고 여과한 다음 용매를 감압 농축하여 실리카젤 칼럼크로마토그래피(CHCl₃-MeOH = 12 : 1)를 행하여 화합물 8(G-Rh₂, 26 mg, PPD로부터의 총수율 : 23.4%)을 얻었다.

8: colorless needles(MeOH-CHCl₃), mp 218~220°C, $[\alpha]_{\text{D}}^{20} +22^\circ$ (c. 0.93, MeOH). IR $\nu_{\max}^{\text{CHCl}_3}$ cm⁻¹: 3328 (OH), 2390, 1634 (C=C). ¹H-NMR (200 MHz, CDCl₃) δ : 0.76 (3H, s), 0.89, 0.95 (each 6H, s),

1.02, 1.65, 1.71 (each 3H, s) (8×tert.-CH₃), 4.65 (1H, d, *J*=7.8 Hz, anomeric H), 5.42 (1H, *t*-like, H-24). ¹³C-NMR (50 MHz, CDCl₃) δ: 88.8 (C-3), 70.0 (C-12), 73.0 (C-20), 126.3 (C-24), 130.8 (C-25), 106.8 (C-1'), 75.7 (C-2'), 78.7 (C-3'), 72.0 (C-4'), 78.2 (C-5'), 63.1 (C-6').

결과 및 고찰

홍삼의 미량성분인 Rh₂(8)는 백삼을 열처리하는 과정에서 생성된 화합물로 광범위한 항암작용을 가지는 것으로 알려진 이후 이의 다량제조가 시도된 바 있다.²⁻⁸ 저자 등은 독자적으로 개발한 알칼리 분해법⁶으로 얻은 PPD(1)에 D-glucose 한 분자를 결합시키는 역합성법을 시도하였으나⁷ 반응 위치에 선택성이 없어서 복잡한 생성물이 얻어졌다. Koenigs-knorr법에 의한 PPD와 α-acetobromoglucose의 축합반응의 최대 문제점은 배당체화 위치의 비선택성에 있다.³ Elyakov 등은 PPD를 acetyl화 하고 이를 sodium methoxide처리하여 3-O-acetyl-20(S)-protopanaxadiol을 얻은 바 있으나³ 12 위치를 선택적으로 보호하지는 못하였다. 또한 PPD의 3-epimer인 betulafolienetriol을 산화하여 3-keto체로 하고 이를 acetyl화 하여 3-keto-12-O-acetyl 유도체로 한 후 NaBH₄로 환원시켜 12-O-acetate를 합성하였다고 보고⁸ 하였지만, 3-keto체의 환원 과정에서 3β-OH와 3α-OH의 생성비는 분명하게 하지 않았을 뿐 아니라 epimer의 분리에 관하여서도 언급이 없다. 이에 저자 등은 PPD의 12 위치의 수산기를 각 단계에서 거의 정량적으로 반응이 가능한 방향선택적 보호 연구에 착수하였다. 즉 PPD(1)를 상법으로 acetyl화하여 diacetate체(2)를 얻은 다음 이를 0.1M-aq. K₂CO₃/MeOH의 완화된 조건에서 부분 탈 acetyl화하면 정량적으로 3-O-acetyl-20(S)-protopanaxadiol(3)이 얻어짐을 확인하였다. 화합물 3을 pyridinium *p*-toluenesulfonate를 촉매로 dihydropyran과 반응시켜 tetrahydropyranyl기를 보호기로 도입¹²한 결과 12-O-tetrahydropyranyl 유도체(4)와 함께 12, 20-di-O-tetrahydropyranyl 유도체(4a)가 생성되었다. 4 및 4a를 각각 5% aq. K₂CO₃/MeOH로 탈 acetyl화하여 12-O-tetrahydropyranyl-20(S)-protopanaxadiol (5)과 12, 20-di-O-tetrahydropyranyl-20(S)-protopanaxadiol (5a)을 합성할 수 있었다.

화합물 5 및 5a를 각각 CH₂Cl₂에 녹여 Ag₂O 촉매 하에 α-acetobromoglucose와 반응시켜 각각 47, 50%의 수득률로 3-O-β-D-glucopyranoside(6, 6a)를 얻었으며⁸ 이를 deprotection하여 얻은 화합물 8은 Rh₂ 표준품과 그 구조가 일치하였다.

Tetrahydropyranyl화에 있어 예상과 달리 이 보호기가 2급 뿐 아니라 3급 수산기에도 도입되어 화합물 4 및 4a의 혼합물이 얻어졌다. 각각의 데이터를 얻고자 이들을 분리, 이후의 반응들을 각각 진행하였지만, deprotection 과정에서 같은 화합물(7)이 얻어지므로 실제 합성에서는 이를 분리할 필요없이 혼합물 상태로 반응을 진행할 수 있으며, 매 단계에서의 생성물은 배당체화 이전까지의 단계에서는 정량적으로 얻어지므로 별도의 정제의 과정이 필요없다. 또한 방향선택적 보호법은 다양한 인삼 사포닌 유도체의 합성 연구에 응용이 기대되어진다. 즉 당 이외에도 다양한 치환기를 화합물 5, 5a를 원료로 3 위치에, 화합물 3을 원료로 12 위치에 도입할 수 있다.

화합물 1은 표준품과 직접 비교하였으며, 화합물 2, 3, 7, 8은 spectral data를 문헌치^{3,7,8}와 비교하였으며, 화합물 4, 4a, 5, 5a, 6 및 6a는 ¹H- 및 ¹³C-NMR 데이터로 그 구조를 확인하였다.

화합물 4는 tetrahydropyranyl(THP)기가 α,β epimer로 얻어지며 ¹H-NMR 스펙트럼에서 THP의 H-1'에 기인하는 4.71 ppm의 피크가 12 위치의 수소와 long range coupling하여 multiplet로 관측되었으며, H-12가 3.85 ppm으로 화합물 3보다 0.27 ppm 저자장 이동하여 12 위치 수산기에 THP기가 결합하였음을 알 수 있었다. 1 개의 acetoxyl기에 기인하는 피크가 관측되고, H-3이 4.40 ppm으로 화합물 3과 일치하므로 3 위치 수산기에 acetoxyl기가 결합하였음을 확인할 수 있었다. ¹³C-NMR 스펙트럼에서 THP의 C-1'이 95.2 ppm에서 관측되었으며 이와 결합한 C-12가 72.5 ppm으로 화합물 3보다 1.6 ppm 저자장 이동하였다. C-3, 20은 화합물 3과 일치하였으며, 1개의 acetoxyl carbon이 관측되었다. 위의 사실을 종합하여 화합물 4의 구조는 3-O-acetyl-12-O-tetrahydropyranyl-20(S)-protopanaxadiol로 확인할 수 있었다.

화합물 4a는 ¹H-NMR 스펙트럼에서 α,β epimer의 THP기의 H-1'이 *m* 및 *t*-like로, 4.57, 4.79 ppm에서 두 개가 관측되어 두 개의 수산기에 THP기가 결합하

였음을 알 수 있었다. 1개의 acetoxy기에 기인하는 피크가 관측되고, H-3이 4.50 ppm으로 화합물 3과 일치하므로 3 위치 수산기에 acetoxy기가 결합하였음을 알 수 있다. 따라서 12 및 20 위치의 수산기가 tetrahydropyranyl화 되었음을 알 수 있었다. 4.57 ppm은 화합물 4와 같이 H-12와의 long range coupling을 수반한 피크가 *m*으로 관측되어 12 위치의 수산기에 결합한 H-1'로 assign할 수 있었고, 4.79 ppm은 이보다 triplet에 더 가까워서 20 위치의 수산기에 결합한 H-1"로 assign할 수 있었다. 12 위치의 수산기가 3.76 ppm으로 화합물 3보다 0.18 ppm 저자장 이동하였다. ¹³C-NMR 스펙트럼에서 THP의 C-1이 95.3, 98.9 ppm에서 두 개가 관측되었으며, 화합물 4와 일치하는 95.3 ppm의 피크를 12 위치의 수산기에 결합한 C-1'로, 98.9 ppm의 피크를 20 위치의 수산기에 결합한 C-1"로 assign할 수 있었다. C-3은 화합물 3과 일치하였으며, C-12, 20은 각각 77.9, 78.0 ppm으로 화합물 3보다 저자장 이동하였다. 위의 사실을 종합하여 화합물 4a의 구조는 3-O-acetyl-12, 20-di-O-tetrahydropyranyl-20(S)-protopanaxadiol로 결정하였다.

화합물 4를 탈 acetyl화하여 얻은 화합물 5는 ¹H-NMR 스펙트럼에서 화합물 4에서 관측되었던 acetoxy기가 관측되지 않았고, H-3이 화합물 1과 같이 3.20 ppm으로 고자장 이동하여 탈 acetyl화를 확인할 수 있었다. ¹³C-NMR 스펙트럼에서도 acetoxy carbonyl carbon이 관측되지 않았고 C-3이 화합물 1과 같이 78.8 ppm으로 고자장 이동하였다. 나머지 피크는 화합물 4와 일치하여 화합물 5의 구조를 12-O-2-tetrahydropyranyl-20(S)-protopanaxadiol로 결정할 수 있었다.

화합물 4a를 탈 acetyl화하여 얻은 화합물 5a는 ¹H-NMR 스펙트럼에서 화합물 4a에서 관측되었던 acetoxy기가 관측되지 않았고, H-3이 화합물 1과 같이 3.19 ppm으로 고자장 이동하여 탈 acetyl화를 확인할 수 있었다. ¹³C-NMR 스펙트럼에서도 acetoxy carbonyl carbon이 관측되지 않았고 C-3이 화합물 1과 같이 78.8 ppm으로 고자장 이동하였다. 나머지 피크는 화합물 4a와 일치하여 화합물 5a의 구조를 12, 20-di-O-tetrahydropyranyl-20(S)-protopanaxadiol로 결정할 수 있었다.

화합물 5와 5a를 배당체화하여 얻은 화합물 6, 6a

는 ¹H-NMR에서 coupling constant 7.0 Hz의 anomeric H이 각각 4.67 ppm에서 관측되어 D-glucose가 β 결합한 배당체임을 확인할 수 있었다. 배당체의 α anomer는 미량으로 생성할 것으로 생각되나 분리할 수 없었다.

결 론

총 인삼사포닌을 저자 등이 개발한 알칼리 가수분해 법으로 분해하여 진성비당부인 PPD(1)를 얻고, 이의 12-OH를 선택적으로 보호한 다음 glycosylation함으로써 총수율 23.4%로 G-Rh₂(8)를 방향선택적으로 합성할 수 있었다. 보호기의 도입과정에서 THP화와 glycosylation반응을 제외한 나머지 반응은 거의 정량적으로 진행되었다. 그런데도 총수율이 높지 않은 것은 glycosylation 반응시 주 원료인 PPD가 고온에 불안정하고, PPD의 3-OH가 비교적 입체장애가 큰 것이 원인이라고 생각된다. PPD는 1개의 3급 수산기(20-OH)와 2개의 2급 수산기(3, 12-OH)를 가지는데 3급 수산기에는 입체장애 때문에 배당체 결합이 불가능하다. 2개의 2급 수산기 중 12-OH도 상당한 입체장애가 있으나 전보⁷⁾에서와 같이 20-OH가 탈리하면서 입체장애가 해소되고 당이 결합하기 때문에 3-OH에만 당을 결합하고자 할 경우 12-OH의 보호는 필수적이다. 본 연구결과 PPD의 2개의 2급수산기의 선택적 보호가 가능하므로 3위치에 glucose 이외에 다양한 종류의 당을 결합시킨 배당체의 선택적 합성이 가능하여 이들의 합성 및 그 활성연구에 도움이 되리라 기대된다.

문 헌

- 1) Kitagawa, I., Yoshikawa, M., Yoshihara, M., Hayashi, T., and Taniyama, T.: Chemical studies on crude drug procession. *Yakugaku Zasshi* **103**, 612 (1983).
- 2) Koizumi, H., Sanada, Y., Ida and Shoji, J.: Studies on the saponins of ginseng. IV. On the structure and enzymatic hydrolysis of ginsenoside-Ra₁. *Chem. Pharm. Bull.* **30**, 2293 (1982).
- 3) Atopkina, L. N., Denisenko, V. A., Uvarova, N. I., and Elyakov, G. B.: Semisynthetic analogues of ginsenosides glycosides from ginseng. *Carbohydrate Research* **177**, 101 (1988).
- 4) Kim, S. I., Baek, N. I., Kim, D. S., Lee, Y. H., Kang,

- K. S., and Park, J. D. : Preparation of a 20(R)-ginsenoside Rh₂ and 20(S) epimer from protopanaxadiol saponins of *Panax ginseng* C.A. Meyer. *Yakhak Hoeji* **35**, 432 (1991).
- 5) Cha, B. C., and Lee, S. G. : Preparation of ginsenoside-Rh₂ from dammarane saponins of *Panax ginseng* leaves. *Yakhak Hoeji* **38**, 425 (1994).
- 6) Im, K. S., Chang, E. H., and Je, N. K. : A modified alkaline hydrolysis of total ginsenosides yielding genuine aglycones and prosapogenols. *Arch. Pharm. Res.* **18**, 454 (1995).
- 7) Chang, E. H., Je, N. K., and Im, K. S. : Retro-synthesis of analogues of ginsenosides. *Yakhak Hoeji* **40**, 163 (1996).
- 8) Atopkina, L. N., Uvarova, N. I., and Elyakov, G. B. : Simplified preparation of the ginsenoside Rh₂ minor saponin from ginseng. *Carbohydrate Research* **303**, 449 (1997).
- 9) Kim, D. S., Baek, N. I., Park, J. D., Lee, Y. H., Jeong, S. Y., Lee, C. B., and Kim, S. I. : Preparation and structure determination of a new glycoside, (20E)-ginsenoside-Rh₃, and its isomer from diol-type ginseng saponins. *Yakhak Hoeji* **39**, 85 (1995).
- 10) Kim, D. S., Baek, N. I., Park, J. D., Lee, Y. H., and Kim, S. I. : Complete assignment of ¹H- and ¹³C-NMR in (20R)-panaxadiol and (20R)-panaxatriol. *Yakhak Hoeji* **40**, 293 (1996).
- 11) Anufriev, V. P., Malinovskaya, G. V., Denisenko, V. A., Uvarova, N. I., Elyakov, G. B., Kim, S. I., and Baek, N. I. : Synthesis of ginsenoside Rg₃, a minor constituent of ginseng radix. *Carbohydrate Research* **304**, 179 (1997).
- 12) Miyashita, N., Yoshikoshi, A., and Grieco, P. A. : Pyridinium *p*-toluenesulfonate. A mild and efficient catalyst for the tetrahydropyranlation of alcohols. *J. Org. Chem.* **42**, 3772 (1977).