

인삼의 diol계 사포닌으로부터 새로운 배당체 (20E)-Ginsenoside Rh₃ 및 그의 입체이성체의 제조와 구조 결정

김동선 · 백남인* · 박종대* · 이유희* · 정소영* · 이천배 · 김신일**
충남대학교 자연과학대학 생화학과, *한국인삼연초연구원 인삼효능부

(Received January 3, 1995)

Preparation and Structure Determination of a New Glycoside, (20E)-Ginsenoside Rh₃, and its isomer from Diol-type Ginseng Saponins

Dong Seon Kim, Nam In Baek*, Jong Dae Park*, You Hui Lee*,
So Young Jeong*, Chun Bae Lee, Shin Il Kim*

Department of Biochemistry, College of Natural Sciences, Chung Nam National University, Taejeon 305-764, Korea
*Korea Ginseng and Tobacco Research Institute, Taejeon 305-345, Korea

Abstract—Acidic and alkaline hydrolysis of diol-type ginseng saponins produced a new glycoside, (20E)-ginsenoside Rh₃, and its stereoisomer (20Z)-, which were further subjected to alkaline hydrolysis to give their aglycones, (20E)- and (20Z)-3β, 12β-dihydroxy-dammar-20(22),24-diene. The ratio of stereoisomeric mixtures was estimated to be ca. 5 : 1 from intensities of the peaks in ¹H- and ¹³C-NMR spectra. The ¹H- and ¹³C-NMR signals of ginsenoside Rh₃, which have remained unclarified, were completely assigned by the extensive application of modern NMR techniques.

Keywords □ (20E)-ginsenoside Rh₃, (20Z)-ginsenoside Rh₃, ginsenoside Rh₃, stereoisomer, anhydroprotopanaxadiol, ginseng saponin, NOESY, HMQC

인삼의 광범위한 효과에 대한 약리학적 및 생화학적 연구는 주요 유효성분으로 알려진 사포닌을 중심으로 하여, 그중에서도 대부분 주종 사포닌을 중심으로 많은 연구가 이루어지고 있다. 그러나 인삼의 미량 사포닌 성분에 대한 연구는 분리의 어려움때문에 그다지 많이 이루어져 있지 않다. 특히, 최근에 고려 홍삼에만 미량으로 존재하는 것으로 알려진 ginsenoside Rh₂가 암세포주인 3LL, MH₁C₁, B16, HeLa의 성장을 억제하며^{1, 2)} 최근에는 nude mice에 사람의 자궁암세포 HeLa를 이식한 쥐의 수명을 대조군에 비해 농도의존적으로 연장시켰다는 보고³⁾와 또한, 미량사포닌인 ginsenoside Rh₁과 더불어 ginsenoside Rh₂가 B16 melanoma^{4, 5)}와 F9 teratocarcinoma stem cells⁶⁾을 정상세포로 분화시킨다는 보고도 있어 항암 작용과 관련지어 상당한 관심을 모으고 있다. 이러한

ginsenoside Rh 계열의 연구결과에 따라 이를 화학적인 방법으로 다량제조하기 위한 연구가 보고되었고,⁷⁻⁹⁾ 또 한편으로는 새로운 유사구조를 찾기 위한 노력으로 인삼의 잎으로부터 새로운 사포닌인 Rh₃가 분리, 동정되었다.¹⁰⁾ 이 ginsenoside Rh₃는 ginsenoside Rh₂의 20번 위치의 수산기와 22번 위치의 수소가 제거되면서 이중결합이 형성된 구조로서, 각종 암세포에 대한 세포독성 및 항종양활성을 가질 것으로 기대될 뿐아니라, 구조와 활성관계를 조사하는데도 중요한 자료를 제시할 수 있을 것으로 사료된다. 그럼에도 Rh₃의 약리효능연구가 보고되지 않은 것은 인삼잎에만 극히 미량으로 존재하며, 또한 그것과 화학적, 물리적성질이 유사한 daucosterin이 다량 혼재하여 있기 때문에 분리에 어려움이 있어 시료를 확보할 수 없었기 때문인 것으로 사료된다. 또한 Chen 등¹⁰⁾이 제시한 ginsenoside Rh₃의 NMR 및 물리화

*본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로

학적자료는 미흡하며, 더우기 그 aglycone은 TLC상의 Rf값외에는 어떠한 보고도 없는 실정이다. 따라서, 본실험에서는 처음으로 protopanaxadiol계의 주종사포닌으로부터 화학적인 방법을 통하여 ginsenoside Rh₃를 제조하고자 하였으며, 그 결과 ginsenoside Rh₃와 그것의 새로운 사포게닌인 anhydroprotopanaxadiol을 제조하는 방법을 확립하였으며, 이들의 구조를 NOESY, HMQC, COSY, H-X COSY와 같은 최신 2-D NMR 기법등을 이용하여 명확하게 결정하였다. 또한 이들은 Chen¹⁰⁾이 인삼잎에서 분리한 ginsenoside Rh₃와는 다른 입체적구조를 하고 있음을 밝혀내어 이에 보고하고자 한다.

실험 방법

재료—Ginsenosides의 분리를 위해 사용된 홍삼은 한국담배인삼공사 고려인삼장에서 6년근 수삼을 사용하여 제조된 것을 제공받아 사용하였다.

시약—인삼사포닌의 분리에 사용된 column chromatography용 silicagel은 Kieselgel 60 (70-230 mesh, Merck)을, 그의 시약은 모두 일급, 또는 특급을 사용하였다.

기기—사용된 기기는 다음과 같다.

Melting Point : Fisher-John Apparatus (uncorrected)

¹H-(400 MHz) & ¹³C-NMR (100 MHz) : Bruker Model AMX 400

FAB MASS : VG-VSEQ (EBqQ type)/VG Analytical

Optical rotation : JASCO, DIP-370

Elemental analysis : Perkin-Elmer Model 240C

EI-MS : Varian Mat 212MS

IR : Perkin-Elmer Model 599B

추출 및 분리—분말로 한 홍삼시료 100 g을 실온에서 95% ethanol로 추출한 후 여과하고 (500 ml×3) 여액을 모아 감압농축하였다. 얻어진 추출물에 물 500 ml를 가한 후 *n*-butanol 200 ml로 3회 추출하고 감압농축하여 추출물 11.3 g을 얻었다. 이 추출물로부터 silica gel column (eluents : CHCl₃-MeOH-H₂O = 65:35:10 & *n*-BuOH-EtOAc-H₂O = 15:1:4)으로 chromatography하여 ginsenoside Rb₁, Rb₂, Rc 및 Rd 혼합물 6.5 g을 얻었다.

Ginsenoside Rh₃의 제조—위에서 얻어진 ginse-

noside 혼합물 5 g을 50% acetic acid 200 ml에 용해시키고 70°C에서 2시간동안 교반한 후 상온까지 식혔다. 반응액을 감압농축하고 물 200 ml에 녹인 후 *n*-butanol 100 ml로 2회 추출하였다. 추출액을 합하여 다시 물 1 l로 2회 세척하고 감압농축하여 생성혼합물 2.8 g을 얻었다. 이를 10% NaOH/*n*-BuOH-MeOH (4:1) 500 ml에 용해하여 80°C에서 10시간동안 교반하였다. 반응용액을 40°C에서 1시간 감압농축하여 methanol을 제거하고 물 250 ml로 3회 세척한 후 다시 감압농축하였다. 반응혼합물을 silica gel column chromatography (CHCl₃-MeOH = 12:1 & benzene-acetone 1:1) 하여 ginsenoside Rh₃ (3β,12β-dihydroxy-dammar-20(22),24-diene-3-O-β-D-glucopyranoside) 380 mg을 얻었다.

Ginsenoside Rh₃ : white powder (MeOH), mp. 160~162°C, $[\alpha]_D^{25} + 6.7^\circ$ (C=0.45, MeOH), IR ν_{max} (KBr, cm⁻¹): 3400, 2950, 1627, pos FAB MS (m/z): 605 (M+H)⁺, Anal. Calcd. for C₃₆H₆₀O₇: C, 71.59; H, 10.00 Found: C, 71.38; H, 10.07, ¹H-NMR (Table I), ¹³C-NMR (Table II)

3β, 12β-dihydroxy-dammar-20(22), 24-diene의 제조—위에서 얻은 ginsenoside Rh₃ 100 mg을 포화 NaOH/*n*-BuOH 50 ml에 용해하고 100°C에서 3일간 교반하였다. 반응혼합물을 증류수 50 ml로 3회 세척하고 감압농축한 후 증류수 100 ml에 용해하고 ethyl ether 50 ml로 2회 추출하여 감압농축하였다. 농축물을 silica gel column chromatography (*n*-hexane-EtOAc = 5:1)하여 ginsenoside Rh₃의 aglycone인 3β,12β-dihydroxy-dammar-20(22),24-diene 35 mg을 얻었다. Δ²⁰-protopanaxadiol : colorless needles (acetone), mp. 135~137°C, $[\alpha]_D^{25} - 28.0^\circ$ (C=1.0, CHCl₃), IR ν_{max} (KBr, cm⁻¹): 3390, 2950, 1627, EI-MS (m/z): 442 (M⁺), Anal. Calcd. for C₃₀H₅₀O₂: 442.3813, Found: 442.3799, ¹H-NMR (Table I), ¹³C-NMR (Table II)

결과 및 고찰

Ginsenoside Rb₁, Rb₂, Rc 와 Rd는 그들의 aglycone인 protopanaxadiol의 C-20 위치에 결합되어있는 당의 종류와 결합양식만이 다르다. 이들을 50% acetic acid로 가수분해하면 (20R)- & (20S)- ginse-

noside Rg₃와 함께 C-20과 C-22에서 물 1분자가 제거되면서 이중결합이 형성된 Δ^{20} - ginsenoside Rg₃가 생성된다.¹¹⁾ (20R)- 과 (20S)- prosapogenin은 Δ^{20} - prosapogenin과 TLC상에서 Rf값에 약간의 차이가 나지만 분리하면 많은 손실이 다르므로 혼합물을 그대로 ginsenoside Rh₃ 제조용시료로 사용하였다. 이 혼합물을 10% NaOH로 가수분해한 결과, C-3 위치의 말단당이 1개 제거된 ginsenoside Rh₂와 함께 C-20과 C-22에서 물 1분자가 탈수되어 새로이 이중결합이 형성된 ginsenoside Rh₃가 생성되었으며, 이 두 생성물은 용이하게 순수분리할 수 있었다.

한편, ginsenoside Rh₃의 aglycone을 제조하기 위하여 Chen 등¹⁰⁾은 산으로 가수분해하는 방법을 사용하였는데 이것은 이중결합 chain에 여러 부반응을 유도함으로써 그 수율이 극히 좋지 않으며, TLC상에서 비슷한 Rf값을 갖는 부산물이 다수 생성됨으로써 순수하게 분리정제하기도 힘들다. 실제로 그들은 산 가수분해하여 얻은 aglycone에 대하여 단순히 silica gel TLC 상에서의 Rf값만을 제시하였을뿐 명확한 자료가 없다. 하지만 저자들은 본실험에서 염기성으로 가수분해한 결과 순수하게 ginsenoside Rh₃의 aglycone만을 얻을 수 있었으며 이로부터 ¹H-NMR 및 ¹³C-NMR을 포함한 물리화학적 자료를 얻을 수 있었다 (Table I, II).

제조된 새로운 ginsenoside Rh₃는 ¹H-NMR 및 ¹³C-NMR의 data가 ginsenoside Rh₂와 매우 유사하였으며, pos. FAB MS로부터 분자량이 604인점으로부터 ginsenoside Rh₂에서 물 1분자가 탈수된 구조로 추정되었다. Table I의 ¹H-NMR spectrum (d₅-Py.)을 보면, 5.12 ppm에서 1개의 proton signal에 해당하는 triplet의 새로운 olefinic proton signal (H-22)로부터도 확인되었다. 또한 2.72 ppm에서 관측된 methylene proton signal (H-23)은 decoupling 실험결과 각각의 olefinic proton과 coupling 하고 있음이 밝혀져, 새로이 형성된 이중결합의 위치는 C-20과 C-22 위치임을 알 수 있었다. 또한 ¹³C-NMR (d₅-Py.) spectrum에서 88.72 ppm (C-3)과 106.93, 75.75, 78.72, 71.83, 78.34, 63.04 ppm의 signal이 관측되어 모핵의 C-3 위치에 D-glucopyranose가 β-결합하고 있는 것이 확인되었다. Ginsenoside Rh₂와의 차이를 보면 4개의 olefinic carbon signal들이 140.12, 131.22, 124.53 및 123.78 ppm에서 관측된 반면, OH기를 갖고 있는 C-

Table I—¹H-NMR Chemical shifts of ginsenoside Rh₃ and Δ^{20} -protopanaxadiol

Proton	Rh ₃ (d ₅ -pyridine)	Δ^{20} -ppd(CDCl ₃)
3	3.27 dd (11.7, 4.3)*	3.19 dd (11.2, 5.0)
5	0.64 dd (11.0, 2.0)	0.72 dd (11.4, 2.0)
12	3.81 ddd-like	3.73 ddd (10.5, 10.5, 5.2)
17	2.67 ddd-like	2.63 ddd (11.0, 10.7, 4.5)
18	0.91 s	1.02 s
19	0.90 s	0.88 s
21	1.72 s	1.66 d (0.6)
22	5.41 t (6.7)	5.39 tq (6.9, 0.6)
22**	5.14 t (6.5)	5.21 t (6.5)
23	2.72 dd (7.1, 6.7)	2.67 dd (7.6, 6.9)
23**	2.87 dd (7.0, 6.5)	2.78 dd (7.0, 6.5)
24	5.12 tq (7.1, 1.2)	5.06 tq (7.6, 0.7)
26	1.54 d (1.2)	1.69 d (0.7)
27	1.50 s	1.61 s
28	1.21 s	0.97 s
29	0.71 s	0.78 s
30	0.85 s	0.88 s
D-glucopyranose		
1	4.82 d (11.9)	
2	3.93 dd (11.9, 8.7)	
3	4.16 dd (8.8, 8.7)	
4	4.11 dd (8.8, 8.7)	
5	3.91 ddd (8.7, 5.4, 2.3)	
6	4.30 dd (11.6, 5.4)	
	4.49 dd (11.6, 2.3)	

* Values in parenthesis are coupling constants in Hz

** Values of isomer

20 signal이 관측되지 않았다. 따라서 C-20과 C-22 위치에 새로운 이중결합이 형성되었음이 증명되었다 (Table II). 한편, 적은양의 입체이성체의 존재를 ¹H-NMR과 ¹³C-NMR spectra로부터 관찰할 수 있었다 (Table I, II). ¹H-NMR 있어서 5.14 ppm과 2.87 ppm에서 각각 입체이성질체의 H-22와 H-23으로 추정되는 작은 signal이 관측되었고 ¹³C-NMR에 있어서도 C-20 주위의 signal들 곁에 작은 signal이 관측되어 이때 signal의 강도로 부터 두 이성질체가 5 : 1의 비율로 생성되어 있는 것으로 추정할 수 있었다.

Ginsenoside Rh₃의 구조는 그 aglycone으로부터 더 자세하게 확인되었다. 그 aglycone의 분자량은 protopanaxadiol보다 18이 작은 442로, 물 1분자가 탈수되어 있음을 알 수 있었다. Aglycone의 ¹³C-NMR (CDCl₃) spectrum을 보면 ginsenoside Rh₂의 agly-

Table II— ^{13}C -NMR chemical shifts of ginsenoside Rh₃ and Δ^{20} -protopanaxadiol

	20(S)-Rh ₂ ⁷⁾ (d ₅ -Py)	Rh ₃ (Py-d ₅)		20(S)-ppd ^{**12)} (CDCl ₃)	Δ^{20} -ppd (CDCl ₃)
		Chen ¹⁰⁾	Kim		
1	39.12	39.3	39.22	39.0	39.03
2	27.05	27.0	28.10	27.4	27.39
3	88.78	88.3	88.72	78.9	78.82
4	39.66	40.3	40.22	39.0	38.94
5	56.35	56.4	56.35	56.0	55.88
6	18.43	18.5	18.41	18.3	18.26
7	35.13	35.3	35.29	34.8	34.99
8	40.00	37.1	39.65	39.8	40.12
9	50.38	50.9	50.72	50.2	50.17
10	36.94	39.7	37.02	37.1	37.24
11	32.02	32.2	32.19	31.2	32.43
12	70.96	71.9	72.51	70.9	73.33 (73.29)
13	49.54	50.4	50.41	47.7	50.13
14	51.69	51.2	50.98	51.6	50.50 (50.83)
15	31.32	32.6	32.59 (32.60)	31.1	30.42 (30.51)
16	26.70	26.8	26.70	26.6	27.28
17	54.77	51.2	50.86	53.6	50.31 (50.37)
18	16.77	16.8	16.42	16.2	15.65 (15.68)
19	15.61	16.5	16.75	15.7	16.22
20	72.94	140.2	140.12 (139.8)	74.0	140.33 (139.48)
21	26.83	27.4	13.13 (26.99) ^a	26.8	12.46 (26.28)
22	35.88	123.8	123.78	34.8	122.16 (122.89)
23	22.97	30.0	27.41 (27.01) ^a	22.4	27.00 (26.54)
24	126.30	125.4	124.53 (125.3)	126.2	124.70 (125.15)
25	130.73	131.5	131.22 (130.9)	130.6	132.09 (131.77)
26	25.78	25.7	25.66 (25.73)	25.8	25.66 (25.72)
27	17.66	17.7	17.68 (17.73)	17.8	17.72 (17.81)
28	28.14	28.2	28.80	28.1	28.03
29	16.34	15.8	15.78	15.5	15.36
30	17.65	17.0	17.00	16.9	16.74 (16.80)
Glucopyranose					
1	106.92	106.9	106.93		
2	75.76	75.7	75.75		
3	78.72	78.7	78.72		
4	71.65	71.9	71.83		
5	78.34	78.3	78.34		
6	63.05	63.1	63.04		

* Figures in parenthesis are values of stereoisomer

** ppd ; protopanaxadiol

^amutually exchangeable

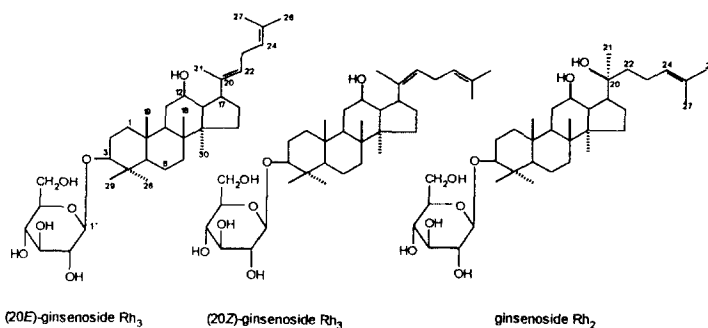


Fig. 1—Structures of (20E)- & (20Z)-ginsenoside Rh₃ and ginsenoside Rh₂

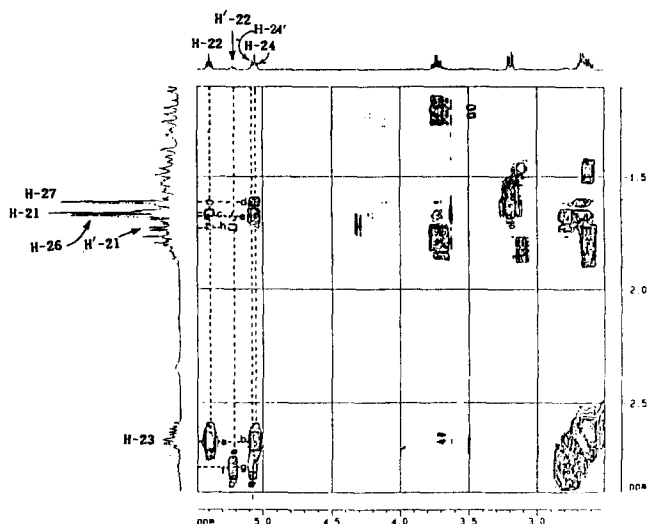


Fig. 2—¹H-¹H COSY spectra of Δ²⁰-protopanaxadiol (CDCl₃)

cone인 protopanaxadiol과 유사하나, 72.9 ppm에서의 C-20의 signal이 관측되지 않은 반면 140.33, 132.09, 124.70, 122.16 ppm에서 4개의 olefinic carbon signal이 관측되었다. 한편 역시 olefinic carbon을 중심으로 그 입체이성질체로 보이는 작은 signal들을 관측할 수 있었다 (Table II). Aglycone 의 ¹H-NMR (CDCl₃) spectrum 에서도 3.73 ppm과 3.19 ppm에서 관측된 signal들로 부터 OH기를 갖고 있는 탄소가 2개 뿐임을 알 수 있었고, 5.06 ppm과 5.39 ppm에서 각각 1개씩의 proton에 해당하는 olefinic proton signal들이 관측되었으며, 2.63 ppm과 2.67 ppm에서 methylene으로 확인되는 signal들을 관측할 수 있었다. 또한 5.21 ppm과 2.78 ppm등에서 입체이성질체의 작은 proton signal들을 확인할 수 있었다 (Table I).

Fig. 2의 ¹H-¹H COSY spectrum에서 5.06 ppm 과 5.39 ppm 의 두 olefinic proton들은 2.67 ppm의 2개의 proton에 해당하는 methylene signal과 동시에 coupling 하고 있음이 밝혀짐으로써 (peak a 및 peak b), 2.67 ppm과 5.39 ppm의 proton signal은 각각 H-23과 H-22로 귀속되었다. 또한 이들 H-22는 1.66 ppm에서 관측된 singlet methyl signal과 (peak c), H-24는 1.61 ppm 및 1.69 ppm에서 관측된 singlet methyl signal과 (peak d 및 peak e), 원거리 coupling하고 있음이 관찰됨으로써 이들 peak들은 차례로 H-21, H-27 및 H-26의 methyl signal로 확인되었다. 한편 입체이성질체의 5.06 ppm과 5.21 ppm의 proton signal이 각각 2.78 ppm에서 관측된 signal과의 cross peak (peak f 및 peak g)이 관측됨으로써 입체이성

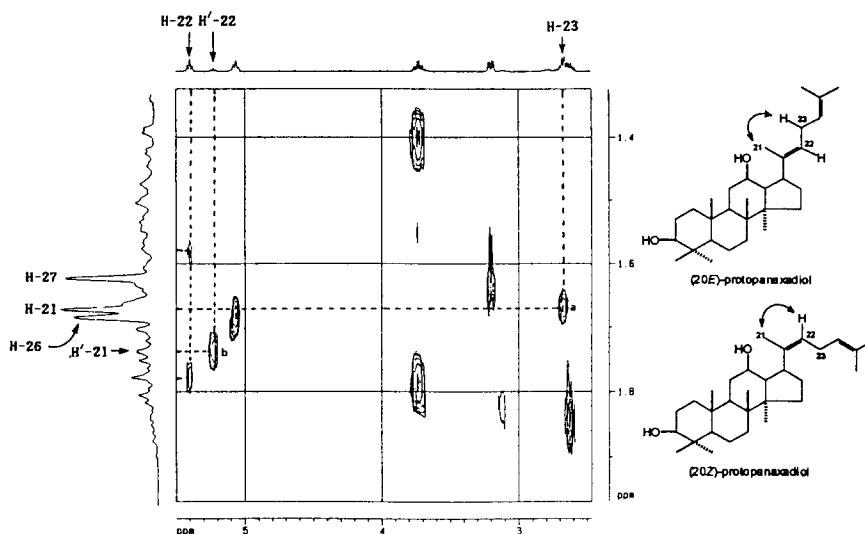


Fig. 3—NOESY spectrum of Δ^{20} -protopanaxadiol (CDCl_3)

질체의 H-24와 중첩되어 있는 H'-24와 H'-22 그리고 H'-23이 확인되었으며, peak h로부터 H'-22와의 원거리 coupling하고 있는 H'-21이 또한 확인되었다.

Fig. 3의 NOESY spectrum을 보면 H-22와 H-21의 cross peak는 관찰되지 않는 반면, H-21과 H-23사이에서 관찰된 peak a로부터 주생성물의 새로운 이중결합의 입체구조는 *Entgegen*으로 밝혀졌다. 한편 부생성물인 그 입체이성질체는 H'-22와 H'-21사이에 peak b가 관측됨으로써 *Zusammen*임이 확인되었다.

Fig. 4과 Fig. 5는 각각 ginsenoside Rh₃의 HMQC와 그 aglycone의 H-X COSY이다. 서로의 cross peak들로부터 C-21, C-23, C-17, C-22, C-24등의 carbon signal 및 proton signal들을 확실히 확인할 수 있었으며, 앞서 제시한 ¹H-¹H COSY, NOESY spectra 및 DEPT spectra와 이상의 HMQC의 자료를 종합하여 ginsenoside Rh₃ 및 Δ^{20} -protopanaxadiol의 ¹H-NMR 및 ¹³C-NMR에 있어서의 chemical shift를 Table I과 Table II에 정리하였다. Table II에서 ginsenoside Rh₂ 및 protopanaxadiol과 ginsenoside Rh₃ 및 Δ^{20} -protopanaxadiol의 ¹³C-NMR data를 Chen이 제시한 *Z* form의 ginsenoside Rh₃와 비교해보면 거의 유사하나 C-17, C-20, C-22, C-23, C-24에 약간의 차이와 함께 특이적으로 C-21에 14.3 ppm의 두드러진 차이가 인정되었다. 이는 *E* form의 구조적특성으로 인하여 C-21이 C-23에서 C-27로 이어지는 chain에

의해 입체적장해를 받고 있음을 더욱 확실히 제시해 주었다.

부생성물로 얻어져 chemical shift값에 차이를 보이며 관찰되는 작은 carbon signal들을 팔호안에 제시하였다. 이들은 C-20과 C-22에서의 이중결합의 입체배치가 *Zusammen*인 이성질체의 signal들로 추정되므로, Chen¹⁰⁾이 제시한 *Z* form의 자료와 비교해보면 olefinic carbon signal들의 chemical shift값은 거의 정확히 일치하나 C-23의 chemical shift에 3.0 ppm의 차이가 있음을 알 수 있었다. ¹³C-NMR spectrum을 면밀히 검토한 결과, Chen이 제시한 30.0 ppm 및 그 주변 ± 1.5 ppm에 어떠한 작은 signal도 관측되지 않으므로, 추후에 이에 대한 상세한 고찰과 입증은 요구된다. 한편 C-18과 C-19에 있어서, Rh₃ 및 Δ^{20} -protopanaxadiol 모두 chemical shift값이 서로 바뀌어 각각 Rh₂ 및 protopanaxadiol과 차이를 보이고 있다. Fig. 6의 Δ^{20} -protopanaxadiol의 NOESY spectrum에 있어서 1.38 ppm에서 관측된 H-1의 proton signal은 0.88 ppm에서 관측된 singlet methyl signal과의 사이에 NOE가 관측되어 (peak a), 이 signal을 H-19로 결정할 수 있었고, 따라서 H-18은 1.02 ppm에서 관측된 singlet methyl signal로 결정할 수 있었다. 또한 Fig. 7의 Δ^{20} -protopanaxadiol의 H-X COSY에서 cross peak a, b로부터 각각 C-18과 C-19의 chemical shift를 15.65와 16.22 ppm으로 결정할

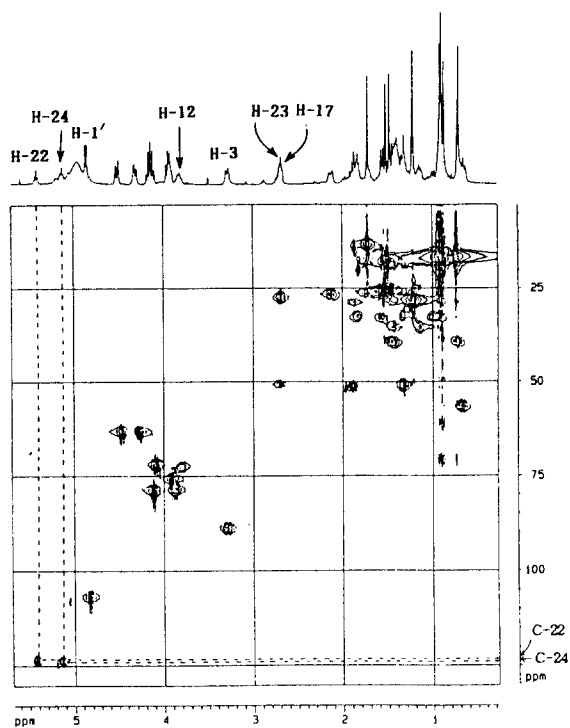


Fig. 4—HMQC spectrum of ginsenoside Rh₃ (d₅-Py.)

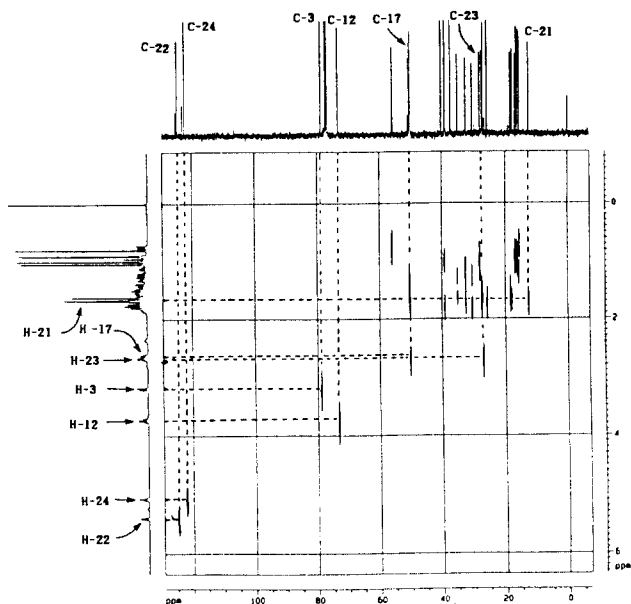


Fig. 5—H-X COSY spectrum of Δ^{20} -protopanaxadiol (CDCl₃)

수 있었으며, 이 사실로부터 ginsenoside Rh₃의 C-18 과 C-19는 각각 16.42와 16.75로 확실하게 동정할 수

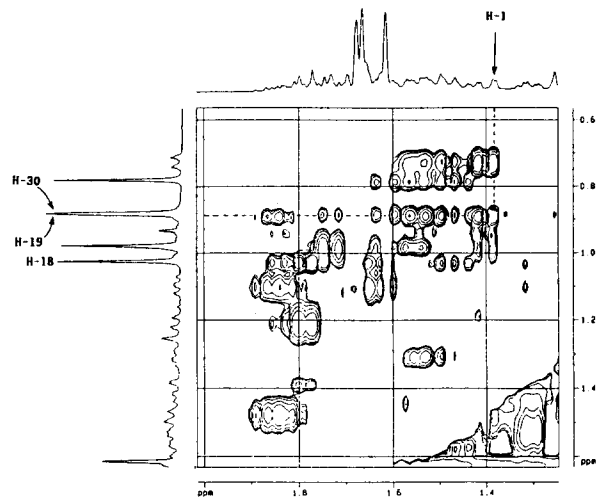


Fig. 6—NOESY spectrum of Δ^{20} -protopanaxadiol (CDCl_3)

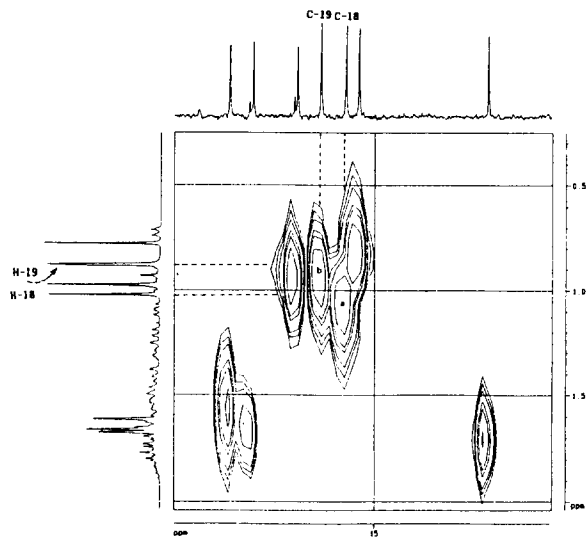


Fig. 7—H-X COSY spectrum of Δ^{20} -protopanaxadiol (CDCl_3)

있었다.

Ginsenoside-Rh₃는 아직 인삼의 잎에만 미량으로 존재하는 것으로 알려져 있으므로 약리실험을 위한 시료를 확보하기 힘들었던 것을 저자 등은 화학적으로 다량제조할수 있는 방법을 개발하였다. 또한 Chen등이 분리한 Rh₃는 Z form으로 보고되었는데, 본실험에서는 주생성물로 E form의 Rh₃를 새로운 구조로 동정하므로써 앞으로 ginsenoside Rh 계열의 구조적변화에 의한 약리학적 연구 뿐 아니라 생화학적연

구에 중요한 기여를 할 수 있으리라 기대된다.

결론

Ginsenoside Rh₃ (3 β ,12 β -dihydroxy-dammar-20(22), 24-diene-3-O- β -D-glucopyranoside), 및 그 aglycone (3 β ,12 β -dihydroxy-dammar-20(22),24-diene)을 산 및 알카리 가수분해 방법을 통하여 diol계 사포닌으로 부터 제조하였다. 그 결과 (20E) form과

(20Z) form의 입체이성질체를 얻었는데 그 생성비율은 약 5:1로 E form이 주생성물로 얻어졌다. 또한 ginsenoside-Rh₃의 입체구조에 대해 NMR의 최신기법 (¹H-¹H COSY, NOESY, HMQC)을 광범위하게 응용하여 ¹H-과 ¹³C-NMR의 signal을 완전하게 해석할 수 있었고 절대구조를 해명할 수 있었다.

감사의 글

본 연구에 있어서, NMR 및 MS를 측정하여 주신 한국인삼연구조합 연구원 분석부의 이운철 선임연구원께 감사드립니다.

문헌

- 1) Kitagawa, I., Yoshikawa, M., Yoshihara, M., Hayashi, T. and Taniyama, T.: Chemical Studies on Crude Drug Procession. *Yakugaku Zasshi* **103**, 612 (1983).
- 2) Kitagawa, I.: Chemical Studies on Crude Drug Processing-Red Ginseng and White Ginseng. *4th Int'l. Ginseng Symp.* 159-168 (1984).
- 3) Tode, T., Kikuchi, Y., Hirata J., Kita, T., Imaizumi, E. and Nagata, I.: Inhibitory Effects by Oral Administration of Ginseng Saponin on Human Ovarian Cancer Cell Growth in Nude Mice, *Int'l Ginseng Conferance* (1994).
- 4) Odashima, S., Ohta, T., Kohno, H., Matsuda, T., Kitagawa, I., Abe, H. and Arichi, S.: Control of Phenotypic Expression of Cultured B16 Melanoma cells by Plant Glycosides. *Cancer Research* **45**, 2781-2784 (1985).
- 5) Ota, T., Fujikawa-yamamoto, K., Zong, Z., Yamazaki, M., Odashima, S., Kitagawa, I., Abe H. and Arichi, S.: Plant-Glycoside Modulation of Cell Surface Related to Control of Differentiation in Cultured B16 Melanoma Cells. *Cancer Research* **47**, 3863-3867 (1987).
- 6) Lee, H.Y., Kim, S.I., Lee S.K., Chung, H.Y. and Kim, K.W.: Differentiation Mechanism of Ginsenoside in Cultured Murine F9 Teratocarcinoma Stem Cells. *Proc. 6th Int'l. Ginseng Symp.* 127-131 (1993).
- 7) 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 the 20(S) Epimer from Protopanaxadiol Saponins of *Panax ginseng* C.A. Meyer. *Yakhak Hoeji* **35**, 432-437 (1991).
- 8) Kim, S.I., Park, J.D., Lee, Y.H., Nam G.Y. and Baek, N.I.: Preparation of 20(R)- and 20(S)-Ginsenoside Rh₁ from Ginsenoside Re. *Korean J. Ginseng Sci.* **15**, 188-191 (1991).
- 9) Cha, B.C. and Lee, S.G.: Preparation of 20(R)- and 20(S)- Ginsenoside Rh₂ from Dammarane Saponins of *Panax ginseng* Leaves. *Yakhak Hoeji* **38**, 425-429 (1994).
- 10) Chen, Y., Xu, S., Ma, Q. and Yao, X. : Minor Saponins from the leaves of *Panax ginseng* C.A. Meyer. *J. Shenyang College of Pharmacy* **4**, 282-289 (1987).
- 11) Kaku T. and Kawashima Y.: Isolation and Characterization of Ginsenoside-Rg₂, 20R-Prosapogenin, 20S-Prosapogenin and Δ^{20} -Prosapogenin. *Arzneim.-Forsch./Drug Res.* **30**, 936-943 (1980).
- 12) Asakawa, J., Kasai, R., Yamasaki, K. and Tanaka, O.: ¹³C-NMR Study of Ginseng Sapogenins and Their Related Dammarane Type Triterpenes. *Tetrahedron* **33**, 1935 (1977).