

389-394  
③第 16 卷第 5 期  
1999 年 10 月

波 谱 学 杂 志

Chinese Journal of Magnetic Resonance

Vol. 16 No. 5  
Oct. 1999三萜皂甙 Tanguticoside A 的  
NMR 碳氢化学位移全指定\*滕荣伟, 钟惠明<sup>1</sup>, 陈昌祥, 王德祖\*\*

(中国科学院昆明植物研究所, 昆明 650204)

<sup>1</sup> 兰州大学化学系, 兰州 730000)

0629.13

摘 要 应用 2D NMR 技术如: DQF-COSY、HMQC、HMBC、ROESY、特别是 HMQC-TOCSY 技术, 对三萜皂甙 Tanguticoside A 的 <sup>1</sup>H 和 <sup>13</sup>C NMR 信号进行了全归属。

关键词 2D NMR, HMQC-TOCSY, Tanguticoside A, 全归属

碳氢化学位移 三萜皂甙

## 1 引言

Tanguticoside A 是本研究室从毛茛科植物甘青铁线莲 (*Clematis tangutica* (Maxim.) Korsh.) 分离得到的 1 个新五环三萜皂甙, 由于糖基部分 <sup>1</sup>H、<sup>13</sup>C 信号的严重重叠, 用一般的核磁共振技术, 如: <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H COSY 和 HMQC 等难以得到满意的结果, 故仅报道了初步推定的结构<sup>[1]</sup>。本文采用 HMQC-TOCSY 技术<sup>[2]</sup>, 在氢谱和碳谱方向分别建立各糖基内每个氢与其所有碳的相关, 以及每个碳与其所有氢的相关, 所以从糖基的任何一个氢和任何一个碳的相关峰出发, 在氢谱和碳谱方向可以分别获得糖链上每个糖基的所有氢与碳的信息。结合 DQF <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H COSY 和 HMQC 实验, 对糖基的氢和碳的化学位移进行归属, 并用 HMQC 和 ROESY 进行验证。用 <sup>3</sup>J<sub>HH</sub>, HMQC-TOCSY 以及 ROESY 实验确定各糖基的类型<sup>[3]</sup>。用 HMBC 和 ROESY 技术推定各糖基之间、糖基与甙元之间的连接。在上述实验的基础上对该化合物氢和碳的化学位移进行全归属, 以进一步确认其化学结构。

## 2 实验部分

所有 NMR 实验在 Bruker DRX-500MHz 核磁共振仪上进行, 约 40mg 样品溶于 99.5% 的 C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N (约 0.4mL) 于室温下在 500.13MHz (<sup>1</sup>H) 和 125.76MHz (<sup>13</sup>C) 下用  $\phi$ 5mm

收稿日期 1999-05-25 收修改稿日期 1999-06-28

\* 中科院昆明植物所植物化学开放实验室资助项目 \*\* 通讯联系人

滕荣伟, 男, 1975 年出生, 在读博士生

反相探头(BBI)进行测定. 溶剂提供氘锁信号并以其最低场的 C( $\delta_c$ 149.9)、H( $\delta_H$ 8.71)信号作为内标, 采用正交检测. 实验数据如下:

DQF-COSY<sup>[4]</sup>和 HMQC<sup>[5]</sup>: Z 梯度选择实验, 采样数据据阵为  $256 \times 1024$ , 每一个  $t_1$  累加 16 次, F1 维和 F2 维均取不相移的正弦窗函数, 零填充至  $512 \times 1024$  后进行 FT 变换, COSY 实验 F1 维、F2 维谱宽均为 3753Hz, HMQC 实验 F1 维、F2 维谱宽分别为 27778Hz、5kHz. HMBC<sup>[6]</sup>: Z 梯度选择实验, 采样数据据阵为  $256 \times 2048$ , 每一个  $t_1$  累加 36 次, 取 62.5ms 的延迟时间以获得远程的氢、碳偶合相关, F1 维、F2 维均取不相移的正弦窗函数, 零填充至  $512 \times 2048$  后进行 FT 变换, F1 维、F2 维谱宽分别为 27778Hz、5kHz. HMQC-TOCSY<sup>[2,7,8]</sup>: TPPI 相敏型, 采样数据据阵为  $256 \times 1024$ , 每一个  $t_1$  累加 40 次, 混合时间分别取 25ms、55ms、85ms、120ms、150ms、180ms、210ms 进行 7 个实验, F1 维、F2 维均取相移  $90^\circ$  的正弦窗函数零填充至  $512 \times 1024$  后进行 FT 变换, F1 维、F2 维谱宽分别为 21186Hz、3753Hz. ROESY<sup>[9]</sup>: TPPI 相敏型, 采样数据据阵为  $256 \times 2048$ , 每一个  $t_1$  累加 32 次, 自旋锁定时间为 300ms, F1 维和 F2 维均取相移  $90^\circ$  的正弦窗函数, 零填充至  $512 \times 2048$  后进行 FT 变换, F1 维、F2 维谱宽均为 2867Hz.

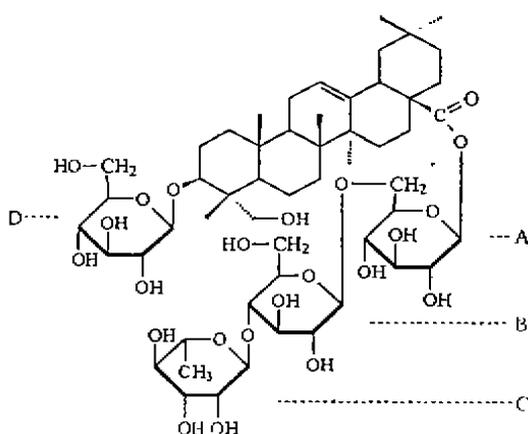


图 1 Tanguticoside A 的结构  
Fig. 1 Structure of Tanguticoside A

### 3 结果与讨论

#### 3.1 一般分析

Tanguticoside A: 白色无定形粉末, mp: 210 - 212 $^\circ$ C,  $[\alpha]_D^{26} - 10.6^\circ$  (c 0.038, MeOH); FAB-MS:  $m/z$  1104 [ $M(C_{54}H_{88}O_{23})^-$ ]; IR ( $cm^{-1}$ ): 3414, 1735, 1641, 1073.

在一般分析的基础上, 通过与已知甙元的<sup>13</sup>C NMR 数据比较, 确定甙元为五环三萜化合物常春藤皂甙元(hedergenin), 结果见表 1. 甙元的结构和碳的指定通过 DQF COSY, HMQC-TOCSY, HMBC 得到证实. 同常春藤皂甙元的<sup>13</sup>C NMR 数

据<sup>[10]</sup>比较, 该皂甙的 28 位羰基碳信号由  $\delta$ 178.2 向高场移至  $\delta$ 176.7, 提示 C-28 位有可能配糖化, 同时一个  $\beta$ -D-葡萄糖吡喃糖基的端基碳信号为  $\delta$ 95.8 也表明糖酯的存在. 甙元 3 位碳从  $\delta$ 76.4 向低场移至  $\delta$ 82.5, 且 23 位碳由  $\delta$ 71.3 位移至  $\delta$ 64.9 的高场, 提示甙元的 C-3 位亦有可能配糖化. 故该化合物为一双糖链皂甙. 结合 HMQC 和 DQF COSY, 指定了甙元氢的化学位移. 结果见表 2.

#### 3.2 化合物氢、碳 NMR 信号的全归属

3.2.1 当选择合适的混合时间时, HMQC-TOCSY 谱在氢谱、碳谱方向分别显示糖链上每个糖基的氢与其所有碳的相关, 以及每个碳与其所有氢的相关. 所以从每个糖基的任何一个氢与任何一个碳的相关峰出发, 在氢谱和碳谱方向可以获得该糖基内氢的全相关和碳的全相关. 由于糖链上每个糖基的端基碳和末位碳以及端基氢常处于谱线相对不重叠的区域, 因此从端基碳或末位碳与端基氢的相关峰出发, 沿氢谱和碳谱方向可分别获得每

表 1 Tanguticoside A 碳的化学位移值(溶剂: C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N, 单位: ppm)Tab. 1 <sup>13</sup>C NMR spectral data of Tanguticoside A (δ in pyridine)

C	测定值	文献值[10]	C	测定值	文献值[10]	C	测定值	文献值[10]
1	38.9	38.1	11	23.5	23.1	21	34.2	33.9
2	26.0	26.4	12	123.0	122.2	22	33.0	32.4
3	82.5	76.4	13	144.3	143.6	23	65.1	71.3
4	43.5	41.7	14	42.3	41.7	24	13.7	11.6
5	47.9	49.7	15	28.4	27.7	25	16.3	15.7
6	18.4	18.5	16	24.0	23.4	26	17.7	16.9
7	32.7	32.4	17	47.2	46.7	27	26.2	26.0
8	40.1	39.3	18	41.6	41.3	28	176.6	178.2
9	48.3	47.5	19	46.4	45.9	29	33.2	33.1
10	37.1	36.9	20	30.8	30.7	30	23.8	23.6
C-28 Glc	测定值	Glc	测定值	Rha	测定值	C-3 Glc	测定值	
A-1	95.8	B-1	104.8	C-1	102.8	D-1	105.9	
A-2	73.9	B-2	75.4	C-2	72.6	D-2	75.9	
A-3	78.8 <sup>a</sup>	B-3	76.6	C-3	72.8	D-3	78.8 <sup>a</sup>	
A-4	70.9	B-4	78.5	C-4	74.1	D-4	71.8	
A-5	78.1	B-5	77.2	C-5	70.5	D-5	78.3	
A-6	69.3	B-6	61.4	C-6	18.6	D-6	62.9	

注: <sup>a</sup> 信号重叠.表 2 Tanguticoside A 氢的化学位移值(溶剂: C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N, 单位: ppm, 偶合常数: Hz)Tab. 2 <sup>1</sup>H NMR spectral data of Tanguticoside A (δ in pyridine, coupling constant: Hz)

H	δ	H	δ	H	δ	H	δ
1	1.47(br d, 11.60); 0.96(m)	7	1.87(m); 1.70(m)	16	1.90(m)	23	4.29(m); 3.67(br d, 10.53)
2	2.25(m); 1.92(m)	9	1.72(m)	18	3.15(dd, 4.27, 14.65)	24	0.95(s)
3	4.22(m)	11	2.01(m); 1.90(m)	19	1.70(m); 1.19(m)	25	0.93(s)
5	1.60(m)	12	5.39(br s)	21	2.32(m); 1.08(m)	26	1.09(s)
6	1.62(m)	15	2.26(m); 1.09(m)	22	1.63(m); 1.30(m)	27	1.17(s)
A-1	6.18(d, 8.12)	B-1	4.96(d, 7.88)	C-1	5.79(br s)	D-1	5.09(d, 7.22)
A-2	4.07(m)	B-2	3.90(t, 7.88)	C-2	4.64(br s)	D-2	4.01(dd, 7.22, 8.85)
A-3	4.19(m)	B-3	4.11(m)	C-3	4.51(dd, 3.20, 9.61)	D-3	4.18(m)
A-4	4.29(m) <sup>b</sup>	B-4	4.33(m)	C-4	4.31(m)	D-4	4.20(m)
A-5	4.07(m)	B-5	3.62(br d, 9.77)	C-5	4.90(dd, 6.41, 9.31)	D-5	3.88(m)
A-6	4.63(br d, 12.97); 4.29(m) <sup>b</sup>	B-6	4.17(m); 4.05(m)	C-6	1.66(d, 6.41)	D-6	4.47(br d, 10.99); 4.35(m)

注: <sup>a</sup> 信号重叠.

个糖基自旋系统内的所有氢与所有碳的信息. 但该技术与 TOCSY 技术类似, 不能够明确磁化矢量传递的过程, 所以不能区分谱图中的直接相关峰和接力峰, 从而不能确定这些相关峰在糖基内的归属. 因此必须结合 DQF COSY 和 HMQC, 对这些相关峰作出归属, 从而对每个糖基自旋系统的氢和碳作出全指定. 该化合物的 HMQC-TOCSY 图谱见图 2, 从图谱获得每个糖基的所有氢与碳的信息(结果见表 3).

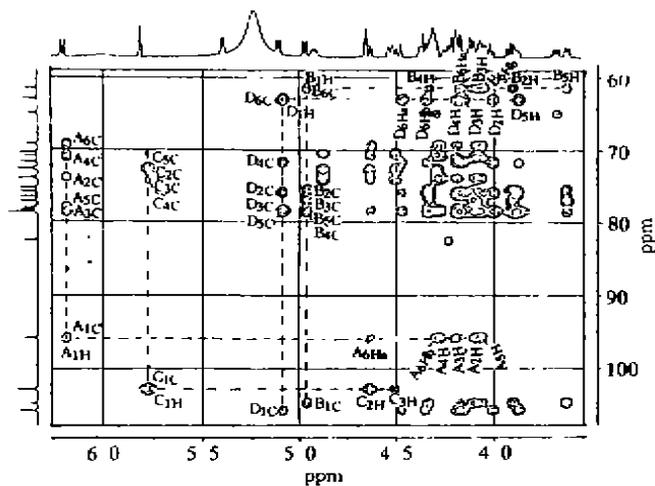


图 2 Tanguitoside A 的 HMQC-TOCSY 图谱

Fig. 2 HMQC-TOCSY spectrum of Tanguitoside A

表 3 Tanguitoside A 2D NMR 的一些相关

Tab. 3 Some 2D NMR Correlations of Tanguitoside A

HMQC-TOCSY					
糖基	碳	相关氢	氢	相关碳	
A	1	1, 6 <sub>a</sub> , 6 <sub>b</sub> , 4, 3, 2, 5	1	1, 3, 5, 2, 4, 6	
B	6	1, 4, 6 <sub>a</sub> , 3, 6 <sub>b</sub> , 2, 5	1	6, 2, 3, 5, 4, 1	
C	1	1, 5, 2, 3, 4, 6	1	1, 4, 3, 2, 5, 6	
D	6	1, 6 <sub>a</sub> , 6 <sub>b</sub> , 4, 3, 2, 5	1	6, 4, 2, 3, 5, 1	
HMBC					
A	1	2, 5	1	C-28 (aglycon)	
B	1	4, 2, 5	1	C-6(A)	
C	1	5, 2, 3	1	5, 3, C-4(B)	
D	1	4, 2, 5	1	C-3 (aglycon)	
ROESY					
糖基	氢	相关氢	糖基	氢	相关氢
A	H-1	6 <sub>a</sub> , 2, 3, 5	B	H-1	H-6 <sub>a</sub> (A), 2, 3, 5
C	H-	2, 3, 5, H-4(B)	D	H-1	2, H-3 (aglycon)

### 3.2.2 糖基氢的化学位移归属

根据糖基的末位碳在糖基内通常处于化学位移最高场的特征, 用 HMQC-TOCSY 谱确定末位碳的化学位移. 由已经指定的末位碳, 通过 HMQC 实验, 可确定该糖基末位氢的化学位移. 由于各个糖基之间氢的化学位移常常相互重叠, 故结合 HMQC-TOCSY 谱上

获得的每个糖基氢谱方向的氢的全相关信息,运用 DQF COSY 谱,分别从端基氢和末位氢出发,采用两头往中间推的办法,得到糖基内每个氢的化学位移,如 B 糖基,从端基氢  $\delta 4.96(B_{1H})$  可确定  $\delta 3.90(B_{2H})$  到  $\delta 4.11(B_{3H})$ ,并由  $\delta 4.05(B_{6Hb})$  可确定  $\delta 3.62(B_{5H})$  到  $\delta 4.33(B_{4H})$ ,从而归属了该糖基的氢的核磁共振信号,类似地,对其它三个糖基的氢的化学位移也进行了全归属,结果见表 2。

### 3.2.3 糖基碳的化学位移归属

根据已得到的氢的共振信号的指定,理论上可以用 HMQC 获得碳的化学位移的归属,但由于各糖基氢与碳的信号有所重叠,往往难以得到理想的结果,故需借助 HMQC-TOCSY 谱上已获得的每个糖基的碳的全相关信息,结合 HMQC 可以得到满意的结果,碳的化学位移指定见表 1。

通过上述方法得到氢与碳的化学位移指定,最后通过 HMBC, ROESY 谱加以验证(见表 3)。

### 3.2.4 糖基的类型

A、B、C 和 D 糖基由 HMQC-TOCSY 可知均为六碳糖。

A、B 和 C 糖基端基氢  $^3J_{H-1,H-2}$  均为 7-8Hz,说明它们都不是甘露糖或鼠李糖,且为  $\beta$  构型。在 HMQC-TOCSY 实验中,当混合时间取到 120ms 时,均分别出现该三个糖基从端基碳到 6 位碳的相关峰;由于半乳糖的 4 位氢处于平伏键,  $^3J_{H-3,H-4}$  和  $^3J_{H-4,H-5}$  较小,在我们已进行的所有实验中,即使混合时间达到 180ms 也得不到从端基碳到 6 位碳的相关,故不可能是半乳糖,而且,在 ROESY 实验中,该三个糖基的端基氢均给出了与 3 位和 5 位氢的 NOE 相关峰,以上均证明这三个糖基均为  $\beta$ -D-葡萄糖吡喃糖基。

D 糖基端基氢显示宽单峰,其 6 位碳为处于高场的甲基信号,ROESY 谱中仅给出 1 位氢和 2 位氢 NOE 相关峰,说明该糖为  $\alpha$ -L-鼠李吡喃糖基。

Tanguticoside A 酸水解液经径向 TLC,与标准品对照,只检出葡萄糖(Glc)和鼠李糖(Rha),证实核磁讨论的结果。

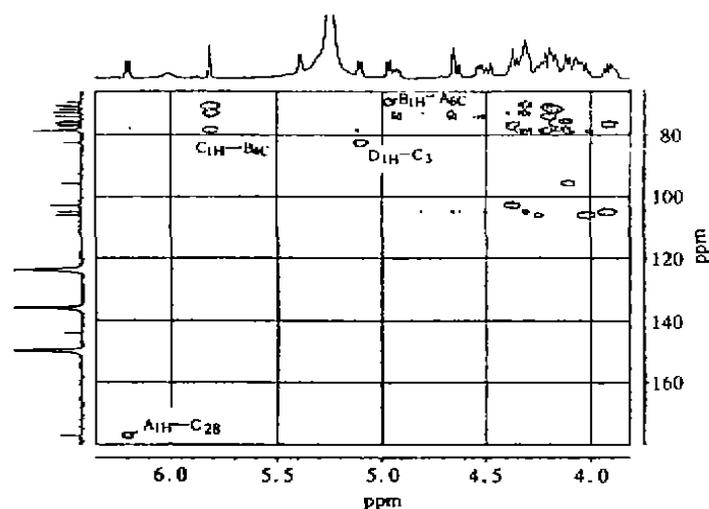


图 3 Tanguticoside A 的 HMBC 图谱

Fig. 3 HMBC spectrum of Tanguticoside A

## 3.2.5 糖基间的连接位置

由 HMBC 找到所有接点的远程 C、H 相关峰, 即  $A_{1H}$  与 28 位碳,  $B_{1H}$  与  $A_{6C}$ 、 $C_{1H}$  与  $B_{4C}$ 、 $D_{1H}$  与 3 位碳 (HMBC 图谱见图 3)。ROESY 谱出现了  $B_{1H}$  与  $A_{6H}$ 、 $C_{1H}$  与  $B_{4H}$ 、 $D_{1H}$  与 3 位氢的 NOE 相关峰, 也证实了糖基间的连接 (见表 3)。从而完成了对该化合物的全指定, 其结构推定为 3-O- $\beta$ -D-葡萄糖吡喃糖基常春藤皂甙元 28-O- $\alpha$ -L-鼠李吡喃糖基(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -D-葡萄糖吡喃糖基(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-葡萄糖吡喃糖甙, 与文献推定的结构相符 (见图 1)。

## 参 考 文 献

- 1 Zhong Huiming, et al. Chinese Chemical Letters, 1999, 10(5):391 - 394
- 2 滕荣伟, 王德祖等. 波谱学杂志, 1999, 16(4):295 - 301
- 3 马立斌, 金怡珠, 涂光忠等. 化学学报, 1996, 54:1200 - 1208
- 4 Derome A, Williamson M. J Magn Reson, 1990, 88:117 -
- 5 (a)Bax A, Griffey R H, et al J Magn Reson, 1983, 55:301 - (b)Bax A, Subramanian S. J Magn Reson, 1986, 67: 565 -
- 6 Bax A, Summers M F. J Am Chem Soc, 1986, 108:2093 -
- 7 翟纯. 波谱学杂志, 1992, 9(1):59 - 65
- 8 Lerner L, Bax A. J Magn Reson, 1986, 69:357
- 9 Bax A, Davis D G. J Magn Reson, 1985, 63:207 -
- 10 马双成, 陈德昌, 赵淑英. 天然产物研究与开发, 1998, 10(3):49 - 51

## THE COMPLETE ASSIGNMENT OF NMR CHEMICAL SHIFTS OF TANGUTICOSIDE A

Teng Rongwei, Zhong Huiming<sup>1</sup>, Chen Changxiang and Wang Dezu \*

(Kunming Institute of Botany, Chinese Academic of Sciences, Kunming 650204)

(<sup>1</sup>Department of Chemistry, Lanzhou University, Lanzhou 730000)

### Abstract

The structure of a triterpenoid saponin, Tanguticoside A was determined as 3-O- $\beta$ -D-glucopyranoyl hederagenin 28-O  $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -D-glucopyranoyl-(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-glucopyranoyl ester by 2D NMR technique, such as DQF COSY, HMQC, HMBC and ROESY, especially by HMQC-TOCSY experiments. The complete assignment of NMR signals was also given in this paper.

Key words 2D NMR, HMQC-TOCSY, Tanguticoside A, Complete assignment

\* Correspondence author