

文章编号: 1000-4556(2001)02-0155-6

三萜大叶冬青甙 I 和 苦丁冬青甙 K 的 NMR 研究

欧阳明安¹, 滕荣伟², 王德祖², 杨崇仁²

(¹ 华侨大学化学系, 泉州 362000)

(² 中国科学院昆明植物研究所, 昆明 650204)

摘 要: 大叶冬青甙 I 和苦丁冬青甙 K 系分别从 *Ilex latifolia* Thunb. 和 *Ilex kudincha* C. J. Tseng 的叶子中分离得到的三萜皂甙。用化学和波谱方法, 特别是 2D NMR 波谱技术, 推定它们的结构分别为 3-O- β -D-吡喃葡萄糖-(1 \rightarrow 3)- α -L-吡喃阿拉伯糖-30(S)-3 β , 19 α , 23-trihydroxyurs-12-en-28-oic acid 28-O- β -D-吡喃葡萄糖甙和 3-O-[α -L-吡喃鼠李糖-(1 \rightarrow 2)]-[β -D-吡喃葡萄糖-(1 \rightarrow 2)- β -D-吡喃葡萄糖-(1 \rightarrow 3)]- α -L-吡喃阿拉伯糖-3 β , 19 α , 20 β -trihydroxyurs-12-en-28-oic acid 28-O-[α -L-吡喃鼠李糖-(1 \rightarrow 2)]- β -D-吡喃葡萄糖甙, 并对其 NMR 信号进行了全归属。

关键词: 大叶冬青甙 I; 苦丁冬青甙 K; 2D NMR 谱

中图分类号: O641.13 **文献标识码:** A

苦丁茶在我国南方是传统的饮料之一, 有利咽、减肥、治疗高血压和烧伤等功效。 *Ilex latifolia* Thunb. 和 *Ilex kudincha* C. J. Tseng 是其常用的原料。本文报道分别从这两种植物叶子中分离得到的两个新三萜皂甙: 大叶冬青甙 I 和苦丁冬青甙 K (图 1) 的结构解析过程。三萜皂甙化合物糖体部分的 ¹H 和 ¹³C NMR 谱相当复杂, 多数谱峰互相发生重叠, 相关信号难以明确指认, 采用一般方法解析甚为困难。二维 NMR 技术在这类化合物结构中的应用则有独到之处, 方法简便、迅速和测定结果可靠。糖体的 ¹H NMR 重叠信号可以明确归属, 糖体之间和糖体与甙元之间的连接位置可在多个二维谱中相互确证^[1, 2]。

1 结果与讨论

大叶冬青甙 I: 从 *Ilex latifolia* Thunb. 叶子中分离得到。 $[\alpha]_D^{25} = 4.89^\circ$ (c 0.022,

收稿日期: 2001-04-02; 收修改稿日期: 2001-04-10

基金项目: 中国科学院昆明植物研究所植物化学开放研究室资助项目

作者简介: 欧阳明安(1963-), 男, 博士, 副研究员 E-mail: maouyang@hqu.edu.cn

MeOH); FAB-MS m/z : 943 $[M-1]^-$, 结合 ^1H NMR 和 ^{13}C NMR, 推定分子式为 $\text{C}_{47}\text{H}_{76}\text{O}_{19}$. 盐酸水解后, 同标准品对照, TLC 检出阿拉伯糖(Ara)和葡萄糖(Glc).

^{13}C NMR 显示该皂甙的甙元是 Ilexgenin B 的衍生物. 与 Ilexgenin B 比较^[3], A 环和 B 环有较大的差异, C-23 从 δ 28.3 (CH_3) 向低场位移至 δ 64.4 (CH_2), C-5 从 δ 56.2 向高场移至 δ 47.7, 提示 C-23 位可能羟基化. ^{13}C 和 ^1H NMR 甙元部分只有 6 个甲基信号也证实这一点. HMBC 图谱上, H-24 (3H, δ 0.93, s) 信号与 C-3 (δ 82.0)、C-23 (δ 64.4) 有远程相关. 所以, 大叶冬青甙 I 的甙元推定为 30(S)-3 β , 19 α , 23-trihydroxy-urs-12-en-28-oic acid.

表 1: 大叶冬青甙 I 的 ^1H 和 ^{13}C NMR 数据(溶剂:吡啶, 偶合常数: Hz)

Tab.1 ^1H and ^{13}C NMR spectra data of Latifolioside I (δ in pyridine- d_5 , J : Hz)

| 位置 | $^{13}\text{C}/\delta$ | $^1\text{H}/\delta$ | 位置 | $^{13}\text{C}/\delta$ | $^1\text{H}/\delta$ |
|------------|------------------------|--------------------------------|-------|------------------------|--------------------------------|
| 甙元部分 | | | | | |
| 1 | 39.0 | 1.58(m);1.03(m) | 16 | 24.8 | 1.19(m);0.97(m) |
| 2 | 26.9 | 2.02(m);1.37(m) | 17 | 48.4 | |
| 3 | 83.0 | 4.23(m) | 18 | 47.3 | 3.14(br. s) |
| 4 | 40.6a | | 19 | 73.5 | |
| 5 | 47.7 | 1.90(m) | 20 | 42.9 | 1.91(m) |
| 6 | 18.4 | 1.71(m);1.61(m) | 21 | 26.3 | 2.19(m) |
| 7 | 32.0 | 2.09(m);1.85(m) | 22 | 33.3 | 1.71(m);1.41(m) |
| 8 | 40.6 | | 23 | 64.4 | 4.26(m);3.68(d, $J=10.4$) |
| 9 | 48.0 | 1.68(m) | 24 | 13.7 | 0.93(s) |
| 10 | 37.0 | | 25 | 16.3 | 0.97(d, $J=7.3$) |
| 11 | 24.2 | 2.02(m);1.90(m) | 26 | 17.9 | 1.18(s) |
| 12 | 127.8 | 5.48(br. s) | 27 | 24.4 | 1.62(s) |
| 13 | 138.9 | | 28 | 177.2 | |
| 14 | 42.2 | | 29 | 29.8 | 1.36(s) |
| 15 | 29.3 | 2.39(m);1.20(m) | 30 | 16.1 | 0.98(s) |
| 糖基部分 | | | | | |
| 3-O-Ara 1 | 106.6 | 4.96(d, $J=7.5$) | Glc 1 | 106.3 | 5.29(d, $J=7.2$) |
| 2 | 71.9 | 4.55(dd, $J=9.5, 7.5$) | 2 | 75.8 | 4.02(m) |
| 3 | 84.3 | 4.08(dd, $J=9.5, 2.8$) | 3 | 78.4 | 4.18(m) |
| 4 | 69.4 | 4.35(m) | 4 | 71.6 | 4.25(m) |
| 5 | 67.1 | 4.16(m);3.61(br. d, $J=10.4$) | 5 | 78.7 | 3.98(m) |
| | | | 6 | 62.8 | 4.53(br. d, $J=11.0$);4.35(m) |
| 28-O-Glc 1 | 95.9 | 6.30(d, $J=7.8$) | | | |
| 2 | 74.5 | 4.22(m) | | | |
| 3 | 79.0 | 4.29(m) | | | |
| 4 | 71.2 | 4.37(m) | | | |
| 5 | 79.3 | 4.04(m) | | | |
| 6 | 62.4 | 4.41(m);4.37(m) | | | |

注: ^{13}C NMR 信号重叠难以区分.

HMQC 图谱上,糖基部分有三个端基碳信号 δ 95.9、106.4、106.2 分别与端基氢信号 δ 6.30(1H, d, $J=7.8$ Hz)、4.96(1H, d, $J=7.5$ Hz)、5.29(1H, d, $J=7.2$ Hz)相关。由 TOCSY 谱($\tau_m=80$ ms)推定它们分别是葡萄糖、阿拉伯糖和葡萄糖端基碳的信号与氢的信号;由于端基氢的 $^3J_{H-1,H-2}$ 皆大于 7Hz,因而推定糖基为 β -D-葡萄糖吡喃糖基和 α -L-阿拉伯吡喃糖基^[4]。结合 DQF-COSY 谱,在 TOCSY 的基础上,指定了各糖基内氢的化学位移;各糖基碳的化学位移由已指定的氢共振信号通过 HMQC 获得^[5],结果见表 1。

HMBC 图谱观察到下列远程相关:Glc H-1 (δ 6.30, 1H, d, $J=7.8$ Hz)与甙元 C-28 (δ 177.1) Ara H-1 (δ 4.96, 1H, d, $J=7.5$ Hz)与甙元 C-3 (δ 82.1), Glc H-1 (δ 5.29, 1H, d, $J=7.2$ Hz)与 Ara C-3 (δ 84.3),因此,该化合物的结构推定为 3-O- β -D-吡喃葡萄糖-(1 \rightarrow 3)- α -L-吡喃阿拉伯糖-30(S)- $3\beta, 19\alpha, 23$ -trihydroxyurs-12-en-28-oic acid 28-O- β -D-吡喃葡萄糖甙(图 1)。

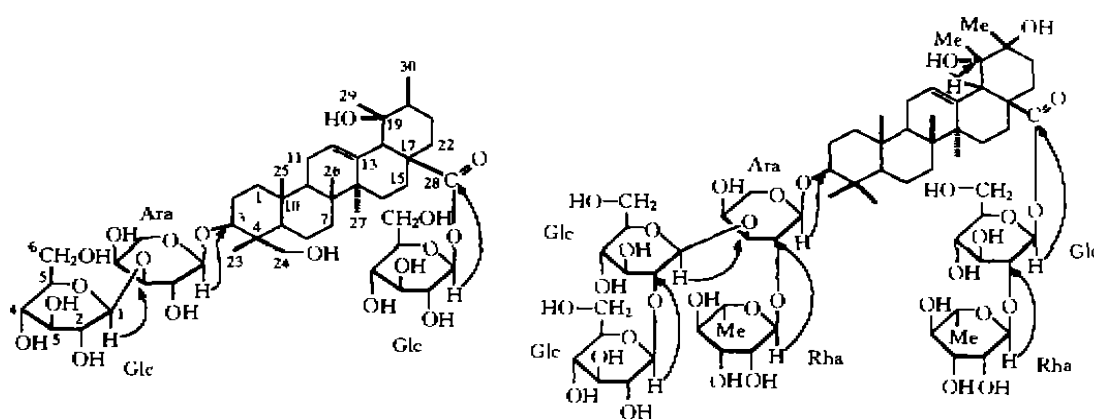


图 1 Latifolioside I 和 Kudnoside K 的结构(\rightarrow 为 HMBC 的远程相关)

Fig. 1 structure of latefolioside I and K udnoside(\rightarrow show HMBC correlation)

苦丁冬青甙 K:从 *Ilex kudincha* C. J. Tseng 叶子中分离得到。 $[\alpha]_D^{27} = -14.8^\circ$ (c 0.047; MeOH); HR-FABMS m/z : 1397.6529 $[M-1]^-$, 结合 1 H NMR 和 13 C NMR,推定分子式为 $C_{65}H_{106}O_{32}$ (calcd for $C_{65}H_{106}O_{32}$: 1397.6589)。FAB-MS 出现准分子离子峰 m/z : 1397 $[M-1]^-$ 也证明该分子式。盐酸水解后,与标准品比较,TLC 检出阿拉伯糖(Ara)、葡萄糖(Glc)和鼠李糖(Rha)。

1 H NMR 上,甙元部分显示 7 个甲基信号(δ 0.89, 1.08, 1.12, 1.15, 1.31, 1.46 和 1.73)和一个三取代的烯基质子信号。除了 E 环以外,甙元部分 13 C NMR 数据与 pomolic 酸^[6]相似。与 pomolic 酸比较,甙元 C-18 和 C-22 分别从 δ 54.6 和 δ 37.9 向高场移至 δ 50.8 和 δ 34.5, C-21 和 C-30 分别从 δ 26.7 和 δ 17.1 向低场移至 δ 33.0 和 δ 23.5,并且 C-20 从高场 δ 42.4 (CH) 向低场移至 δ 74.8 (C),以上证据提示 C-20 可能羟基化。HMBC 图谱观察到下列远程相关, H-18 (1 H, δ 3.14, br. s)与 C-29 (δ 23.6)、C-19 (δ 76.5) 及 C-20(δ 74.8)相关, H-30 (3H, δ 1.31, s)和 H-29 (3H, δ 1.46, s)都与 C-19 (δ 76.5)、

表 2 苦丁冬青甙 K 的 ^1H 和 ^{13}C NMR 数据(溶剂:吡啶,偶合常数:Hz)Tab. 2 ^1H and ^{13}C NMR spectra data of Kudinoside K(δ in $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, J : Hz)

| 位置 | $^{13}\text{C}/\delta$ | $^1\text{H}/\delta$ | 位置 | $^{13}\text{C}/\delta$ | $^1\text{H}/\delta$ |
|--------------|------------------------|-------------------------------------|--------------|------------------------|---------------------------|
| 甙元部分 | | | | | |
| 1 | 39.4 | 1.50(m);0.89(m) | 16 | 26.6 | 3.20(m);2.10(m) |
| 2 | 27.0 | 2.06(m);1.85(m) | 17 | 48.3 | |
| 3 | 88.9 | 3.24(dd, $J = 4.2, 11.3\text{Hz}$) | 18 | 50.8 | 3.14(br. s) |
| 4 | 39.8 | | 19 | 76.5 | |
| 5 | 55.6 | 0.77(br. d, $J = 10.5$) | 20 | 74.8 | |
| 6 | 19.0 | 1.80(m);1.48(m) | 21 | 33.0 | 2.54(m);1.50(m) |
| 7 | 33.9 | 1.78(m);1.60(m) | 22 | 34.5 | 2.01(m);1.59(m) |
| 8 | 40.7 | | 23 | 28.4 | 1.15(s) |
| 9 | 48.0 | 1.76(m) | 24 | 17.4 | 1.08(s) |
| 10 | 37.3 | | 25 | 16.1 | 0.89(s) |
| 11 | 24.4a | 2.02(m);1.83(m) | 26 | 17.6 | 1.12(s) |
| 12 | 128.3 | 5.60(br. s) | 27 | 24.4a | 1.73(s) |
| 13 | 138.9 | | 28 | 177.1 | |
| 14 | 42.5 | | 29 | 23.6 | 1.46(s) |
| 15 | 29.9 | 2.18(br. t, $J = 14.2$);1.68(m) | 30 | 23.5 | 1.31(a) |
| 糖基部分 | | | | | |
| 3-O- | | | | | |
| Ara 1 | 105.4 | 4.75(d, $J = 6.5$) | Glc(outer) 1 | 106.1 | 5.31(d, $J = 7.5$) |
| 2 | 74.8 | 4.64(m) | 2 | 76.0 | 4.13(m) |
| 3 | 83.0 | 4.26(m) | 3 | 79.2 | 4.24(m) |
| 4 | 69.7 | 4.57(m) | 4 | 70.8 | 4.23(m) |
| 5 | 66.0 | 4.20(m);3.76(m) | 5 | 78.0 | 3.80(dd, $J = 8.7, 2.6$) |
| | | | 6 | 62.1 | 4.37(m);4.26(m) |
| Glc(inner) 1 | 103.2 | 5.12(d, $J = 8.4$) | Rha 1 | 101.3 | 6.29(br. s) |
| 2 | 84.2 | 4.07(t, $J = 8.4$) | 2 | 72.6 | 4.50(dd, $J = 6.3, 3.7$) |
| 3 | 78.3 | 4.24(m) | 3 | 72.8 | 4.63(br. t, $J = 6.3$) |
| 4 | 71.1 | 4.08(m) | 4 | 74.0 | 4.26(m) |
| 5 | 78.5 | 3.89(dd, $J = 8.7, 3.2$) | 5 | 70.0b | 4.60(dq, $J = 9.0, 6.1$) |
| 6 | 62.5 | 4.46(m);4.26(m) | 6 | 18.5 | 1.68(d, $J = 6.1$) |
| 28-O- | | | | | |
| glc 1 | 95.3 | 6.14(d, $J = 8.0$) | rha 1 | 101.7 | 6.55(br. s) |
| 2 | 76.2 | 4.43(m) | 2 | 72.5 | 4.57(br. s) |
| 3 | 79.9 | 4.32(m) | 3 | 72.5 | 4.81(m) |
| 4 | 71.6 | 4.30(m) | 4 | 74.0 | 4.31(m) |
| 5 | 79.2 | 4.01(dd, $J = 7.4, 3.4$) | 5 | 70.0b | 4.56(m) |
| 6 | 62.4 | 4.43(m);4.32(m) | 6 | 19.0 | 1.76(d, $J = 6.1$) |

注: * ^1H NMR 信号重叠难以区分

C-20(δ 74.8) 相关, 证实 C-20 羟基化. 所以, 该皂甙元结构推定为 3 β , 19 α , 20 β -trihydroxyurs-12-en-28-oic acid.

^{13}C NMR 和 ^1H NMR 显示糖基部分有 6 个端基碳和端基氢 (表 2). HMQC-TOCSY 可以获得每个糖基的 ^{13}C NMR 数据^[5,7], 与文献中报道的糖基的 ^{13}C NMR 数据^[6,8] 比较, 归属了每个糖基的 ^{13}C NMR 信号. 结合 DQF-COSY、TOCSY、HMQC 对糖基内氢的信号进行归属^[5], 并取出每个糖基的 TOCSY 亚谱, 获得比较准确的氢的化学位移. 指定的结果用 HMBC 和 NOESY 得到了验证, 结果见表 2.

糖基之间及糖基与甙元之间的连接由 HMBC 确定, 并由 NOESY 进行验证. HMBC 图谱观察到下列远程相关, Ara H-1 (δ 4.75, 1H, d, $J=6.5\text{Hz}$) 与甙元 C-3 (δ 88.9), Glc (inner) H-1 (δ 5.12, 1H, d, $J=8.4\text{Hz}$) 与 Ara C-3 (δ 88.9), Glc (outer) H-1 (δ 5.31, 1H, d, $J=7.5\text{Hz}$) 与 Glc (inner) C-2 (δ 84.2), Rha H-1 (δ 6.29, 1H, br. s) 与 Ara C-2 (δ 74.8), glc H-1 (δ 6.14, 1H, d, $J=8.0\text{Hz}$) 与甙元 C-28 (δ 177.1), rha H-1 (δ 6.55, 1H, br. s) 与 glu C-2 (δ 76.2). NOESY 图谱观察到以下 NOE 相关: Ara H-1 (δ 4.75, 1H, d, $J=6.5\text{Hz}$) 和甙元 H-3 (1H, δ 3.24, dd, $J=4.2, 11.3\text{Hz}$), Glc (inner) H-1 (δ 5.12, 1H, d, $J=8.4\text{Hz}$) 和 Ara H-3 (δ 4.26, 1H, m), Glc (outer) H-1 (δ 5.31, 1H, d, $J=7.5\text{Hz}$) 和 Glc (inner) H-2 (1H, δ 4.07, t, $J=8.4\text{Hz}$), Rha H-1 (δ 6.29, 1H, br. s) 和 Ara H-2 (δ 4.64, 1H, m), rha H-1 (δ 6.55, 1H, br. s) 和 glc H-2 (δ 4.43, 1H, m). 所以, 该皂甙的结构推定为 3-O-[α -L-吡喃鼠李糖-(1 \rightarrow 2)]-[β -D-吡喃葡萄糖-(1 \rightarrow 2)]- β -D-吡喃葡萄糖-(1 \rightarrow 3)]- α -L-吡喃阿拉伯糖-3 β , 19 α , 20 β -trihydroxyurs-12-en-28-oic acid-28-O-[α -L-吡喃鼠李糖-(1 \rightarrow 2)]- β -D-吡喃葡萄糖甙 (图 1).

2 仪器与测定

FAB-MS 在 VG Autospec 3000 仪器上测定, 旋光在 Horiba SEPA-300 仪器上测定. 所有 NMR 实验在 Bruker DRX-500MHz 超导核磁共振仪上进行. 约 40mg (大叶冬青甙 I) 和 65mg (苦丁冬青甙 K) 样品溶于 99.5% 的 $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ (约 0.4mL) 于室温下在 500.13MHz (^1H) 和 125.76MHz (^{13}C) 用 φ 5mm 反相探头 (BBI) 进行测定. 溶剂提供氘锁信号并以最低场的 C (δ_{C} 149.9)、H (δ_{H} 8.71) 信号作为内标, 采用正交检测. 实验数据如下:

DQF-COSY 和 HMQC: Z-梯度场选择实验, 采样数据矩阵为 256 \times 1024, F_1 维和 F_2 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. HMBC: Z-梯度场选择实验, 采样数据矩阵为 256 \times 2048, 取 62.5ms 的延迟时间以获得远程的 H、C 偶合相关, F_1 维 F_2 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. HMQC-TOCSY: TPPI 相敏型, 采样数据矩阵为 256 \times 1024, 混合时间取 180ms 以获得糖基内氢之间以及碳之间的全相关, F_1 维 F_2 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. NOESY: TPPI 相敏型, 采样数据矩阵为 256 \times 2048, 混合时间为 525ms, F_1 维和 F_2 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. TOCSY: TPPI 相敏型, 采样数据矩阵为 256 \times 1024, 混合时间为 160ms, F_1 维和 F_2 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.

参 考 文 献

- [1] Sahu N P, Koike K, Jia Z H, Achari B, Banerjee S, Nikaido T. *Magnetic Resonance in Chemistry*[J], 1999, 37 (11): 837-842
- [2] Elgamal M H A, Soliman H S M, Elmunajjed D T, Toth G, Simon A, Duddeck H. *Magnetic Resonance in Chemistry* [J], 1997, 35(9): 637-642
- [3] Kazuyuki Hidaka, Miyoko Ito, et al. *Phytochemistry*[J], 1987, 7(26):2023-2027
- [4] Linbin M, Guangzhong T, Siping C, et al. *Carbohydrate Research*[J], 1996, 281: 35-46
- [5] 滕荣伟, 王德祖等. *波谱学杂志*[J], 1999, 16(5):389-394
- [6] Ming-An Ouyang, Han-Qing Wang, et al. *Phytochemistry*[J], 1997, 7 (45):1501-1505
- [7] 滕荣伟, 钟惠明等. *波谱学杂志*[J], 1999, 16 (4):295-301
- [8] King-Morris M J, Seriani A S. *Journal of the American Chemical Society*[J], 1987, 109 (12): 3501-3506

NMR RESEARCH ON TRITERPENOID SAPONINS LATIFOLOSIDE I AND KUDINOSIDE K

OUYANG Ming-an¹, TENG Rong-wei², WANG De-zu² and YANG Chong-ren²

(¹Department of Chemistry, Huaqiao University, Quanzhou 362000)

(²Kunming Institute of Botany, The Chinese Academic of Sciences, Kunming 650204)

Abstract

This paper discussed the structure elucidation of two saponins, Latifoloside I isolated from *Ilex latifolia* Thunb and Kudinoside K isolated from *Ilex kudincha* C. J. Tseng. On the basis of chemical and spectroscopic evidences, mainly modern 2D NMR technique, their structures were determined to be 3-O- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- α -L-arabinopyranosyl-30(S)-3, 19, 23-trihydro-xyurs-12-en-28-oic acid 28-O- β -D-glucopyranoside and 3-O-[α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)]-[β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 2)]- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 3)]- α -L-arabinopyranosyl-3 β , 19 α , 20 β -trihydroxyurs-12-en-28-oic acid 28-O-[α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)]- β -D-glucopyranoside, respectively.

Key words: Latifoloside I; Kudinoside K; *Ilex latifolia*; *Ilex kudincha*; 2D NMR spectrum