

川藿苷 A 的 NMR 数据解析

吴鸣建¹, 张 燕^{1,2}, 张海艳, 赵天增^{2*}

(1. 郑州大学 化工与能源学院, 河南 郑州 450001; 2. 河南省科学院 天然产物重点实验室, 河南 郑州 450002)

摘 要: 用 NMR 数据解析方法对黄酮醇苷类化合物川藿苷 A (Sutchuenoside A) 的结构进行研究. 应用 ^1H 、 ^{13}C MNR, DEPT 一维 NMR 技术和 ^1H - ^1H COSY、HSQC、HMBC 二维 NMR 技术对其进行检测. 使用川藿苷 A 所有的 ^1H 和 ^{13}C NMR 数据得到了详细解析和全归属, 并进一步确证了其结构. 为黄酮醇苷类化合物的结构鉴定提供了可靠的 NMR 数据解析方法和依据, 也为该类化合物的深入研究和应用提供了重要的结构信息.

关键词: NMR; 归属; 2D NMR; 川藿苷 A

中图分类号: O641

文献标志码: A

doi:10.3969/j.issn.1671-6833.2012.01.017

0 引言

川藿苷 A (Sutchuenoside A) 为山奈酚的苷类化合物, 具有显著的免疫抑制活性^[1]. 迄今已从小檗科淫羊藿属植物 *Epimedium Sutchuenense*^[2]、蚌壳蕨科狗脊属植物狗脊^[3] 和鳞毛蕨科鳞毛蕨属植物粗茎鳞毛蕨 *Dryopteris Crassirhizoma*, Aspidiaceae^[1] 中发现该化合物的存在. 其 δ_{H} 、 J_{HH} 、 δ_{C} 数据已有报道^[1-2], 但其归属详细解析过程未见报道.

最近, 我们首次从光叶淫羊藿 (*Epimedium Sagittatum* (Sieb. et Zucc.) Maxim. Var. *Glabratum* T. S. Ying) 叶乙酸乙酯萃取物中分离得到川藿苷 A. 笔者对其分别进行了 ^1H 和 ^{13}C NMR 检测, 并通过 DEPT 和 ^1H - ^1H COSY、HSQC、HMBC 等 2D NMR 技术对其所有的 ^1H 和 ^{13}C NMR 信号进行了全归属和详细解析, 指出其 NMR 数据特征. 川藿苷 A 的结构如图 1 所示.

1 实验部分

所有 NMR 实验均在 Bruker DPX 400 型核磁共振仪上进行. ^1H NMR 的工作频率为 400 MHz, ^{13}C NMR 的工作频率为 100.577 MHz, 以 DMSO- d_6 为溶剂. 使用 5 mm NMR 探头, NMR 实

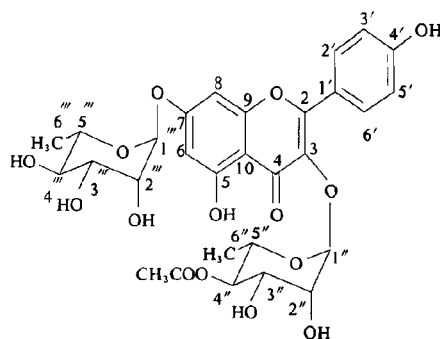


图 1 川藿苷 A 的结构

Fig. 1 The structure of Sutchuenoside A

验在室温下进行. ^1H NMR 的谱宽为 8 000 Hz, 数据点为 32 000, 弛豫延迟为 1 s. ^{13}C NMR 的谱宽为 25 000 Hz, 数据点为 32 000, 弛豫延迟为 2 s. 二维谱均采用正检测探头.

质谱 ESI-MS 用 Waters Micromass 公司 Q-ToF MicroTM 型高分辨质谱仪测定.

光叶淫羊藿 2005 年 6 月采自贵州江口, 经河南农业大学朱长山教授鉴定为光叶淫羊藿.

2 结果与讨论

高分辨质谱 (HR ESI-MS) 确定川藿苷 A 分

收稿日期: 2011-08-20; 修订日期: 2011-10-20

基金项目: 河南省科技厅重点科技资助项目 (0423022800)

作者简介: 吴鸣建 (1957-), 女, 河南郑州人, 教授, 主要从事天然产物提取、分离纯化、结构鉴定方面的研究, E-mail: wumj@zzu.edu.cn; 通信作者: 赵天增 (1941-), 男, 河南郑州人, 教授, 主要从事天然产物化学和核磁共振波谱解析的研究, E-mail: tianzeng_zhao@163.com.

子式为 $C_{29}H_{32}O_{15}$ (m/z 643. 166 1 $[M + Na]^+$, calcd. for $C_{29}H_{32}O_{15}Na$ 643. 163 9).

川藿苷 A 的 1H NMR 中, δ_H 6. 47 (1H, d, $J = 2.0$ Hz) 为 A 环 C-6 位质子信号, 6. 80 (1H, d, $J = 2.0$ Hz) 为 A 环 C-8 位质子信号, 7. 78 (2H, d, $J = 8.8$ Hz), 6. 95 (2H, d, $J = 8.8$ Hz) 分别为 C 环 AA'BB'自旋系统[4]中 C-2', 6'和 C-3', 5'位的质子信号, 10. 31 (1H, s) 和 12. 56 (1H, s) 分别为 OH-4'和 OH-5 的质子信号; 0. 70 (3H, d, $J = 6.0$ Hz), 1. 13 (3H, d, $J = 6.0$ Hz) 分别为 2 个鼠李糖的 6 位甲基质子信号 5. 27 (1H, brs), 5. 56 (1H, brs) 分别为 2 个鼠李糖的端位质子信号.

川藿苷 A 的 ^{13}C NMR 数据显示 27 条碳峰信号, 其中由于 C-2', 6'和 C-3', 5'为 C 环上的对称结构, 显示重叠的单峰, 因此, 27 条碳峰信号实际表示 29 个碳. DEPT 显示 3 个甲基碳、16 个叔碳 (14 条碳峰, 其中有 2 条碳峰各含 2 个叔碳)、10 个季碳信号^[5]. 其中, δ_C 161. 1, 99. 7, 161. 9, 94. 8, 156. 4, 106. 0 分别为 A 环 5, 6, 7, 8, 9 和 10 位苯环碳信号, 120. 4, 130. 9 $\times 2$, 115. 6 $\times 2$, 160. 5 分别为 C 环 1', 2'和 6', 3'和 5', 4'位苯环碳信号, 178. 0 为 B 环 C-4 羰基信号, 158. 2, 134. 5 为 B 环 C-2, C-3 信号; δ_C 17. 3 和 18. 1 为 2 个鼠李糖的 6 位甲基碳信号, 101. 7 和 98. 6 为 2 个鼠李糖的端位碳信号, 68. 0, 68. 2, 70. 0, 70. 1, 70. 3, 70. 4, 71. 8, 73. 3 为 2 个鼠李糖的其他 8 个碳信号.

川藿苷 A 的 1H 、 ^{13}C NMR 数据归属主要通过 1H - 1H COSY、HSQC、HMBC^[6] 进行, 具体分析如下.

川藿苷 A 具有 2 个鼠李糖, 其 NMR 数据解析主要应是如何区分 2 个鼠李糖的 NMR 数据归

属. 根据黄酮醇苷 C-3 化学位移一般为 134 左右, 可以认定 δ_C 134. 5 为川藿苷 A 的 C-3 信号, HMBC 显示 δ_C 134. 5 与 δ_H 5. 27 相关, 说明 δ_H 5. 27 归属 H-1'', 因此, 另一个鼠李糖端质子化学位移为 5. 56; H-1''和 H-1'''得到区分后, 即可通过 1H - 1H COSY 分别将 2 个鼠李糖质子由 H-1'' (或 H-1''')到 H-6'' (或 H-6''') 逐次进行归属, 然后再通过 HSQC 归属 2 个鼠李糖的碳峰.

但是, 由于在 1H - 1H COSY 中, 没有看到 H-1''和 H-2'', H-2''和 H-3''的相关, 对与 C-3 相连的鼠李糖 1H NMR 数据归属带来一定困难. 为此, 可以从两方面入手, 一方面, HMBC 显示 δ_C 101. 7 (C-1'')与 δ_H 5. 32 (OH-2'')相关, 1H - 1H COSY 显示 5. 32 与 4. 02 相关, 则 4. 02 归属 H-2''; 另一方面, 由于 H-4''同碳连有 OAc, H-4''化学位移移向低场, δ_H 4. 71 的三重峰可认定为 H-4'', 1H - 1H COSY 显示 4. 71 与 3. 70 和 3. 29 相关, 3. 29 与 0. 70 相关, 则 3. 70 归属 H-3'', 3. 29 归属 H-5'', 0. 70 归属 H-6'', 至此, 与 C-3 相连的鼠李糖所有 1H NMR 数据得到归属; 然后通过 HSQC 数据, δ_C 101. 7/ δ_H 5. 27, 70. 1/ 4. 02, 68. 2/3. 70, 73. 3/4. 71, 68. 0/3. 29, 17. 3/0. 70, 将其 ^{13}C NMR 数据明确归属.

通过 1H - 1H COSY 数据, δ_H 5. 56/ δ_H 3. 84, 3. 84/3. 63, 3. 36/3. 32, 3. 32/3. 43, 3. 43/1. 13, 7 位鼠李糖 1H NMR 数据得到明确归属; 再通过 HSQC 数据, δ_C 98. 6/ δ_H 5. 56, 70. 0/3. 84, 70. 4/3. 63, 71. 8/3. 32, 70. 3/3. 43, 18. 1/1. 13, 其 ^{13}C NMR 数据得到明确归属.

川藿苷 A 的 1H 、 ^{13}C NMR 数据解析结果见表 1.

表 1 川藿苷 A 的 1H NMR, ^{13}C NMR, HSQC, 1H - 1H COSY 和 HMBC 数据 (DMSO- d_6)
Tab. 1 1H NMR, ^{13}C NMR, HSQC, 1H - 1H COSY 和 HMBC data of Sutchuenoside A in DMSO- d_6

Position	δ_C (100. 557 MHz)	δ_H (400 MHz)	HSQC	1H - 1H COSY	HMBC (δ_H)
2	158. 2	/	/	/	2', 6' [$^3J(C, H)$]
3	134. 5	/	/	/	1'' [$^3J(C, H)$]
4	178. 0	/	/	/	8 [$^4J(C, H)$]
5	161. 1	/	/	/	6 [$^2J(C, H)$], OH-5 [$^2J(C, H)$]
OH-5	/	12. 56 (OH-5, s)	/	/	/
6	99. 7	6. 47 (1H, d, 2. 0)	+	H-8	8 [$^3J(C, H)$], OH-5 [$^3J(C, H)$]
7	161. 9	/	/	/	1''' [$^3J(C, H)$], 6 [$^2J(C, H)$], 8 [$^2J(C, H)$]
8	94. 8	6. 80 (1H, d, 2. 0)	+	H-6	6 [$^3J(C, H)$]
9	156. 4	/	/	/	8 [$^2J(C, H)$]

续表 1

Position	δ_c (100.557 MHz)	δ_H (400 MHz)	HSQC	1H - 1H COSY	HMBC (δ_H)
10	106.0	/	/	/	$6[{}^3J(C, H)]$, $8[{}^3J(C, H)]$, OH-5[${}^3J(C, H)$]
1'	120.4	/	/	/	$3', 5'[{}^3J(C, H)]$
2', 6'	130.9	7.78 (2H, d, 8.8)	+	H-3', 5'	$3', 5'[{}^2J(C, H)]$
3', 5'	115.6	6.95 (2H, d, 8.8)	+	H-2', 6'	$5', 3'[{}^3J(C, H)]$, $2', 6'[{}^2J(C, H)]$, OH-4'[${}^3J(C, H)$]
4'	160.5	/	/	/	$3', 5'[{}^2J(C, H)]$, $2', 6'[{}^3J(C, H)]$, H), OH-4'[${}^2J(C, H)$]
OH-4'	/	10.31 (OH-4', s)	/	/	/
1''	101.7	5.27 (1H, brs)	+	/	OH-2''[${}^3J(C, H)$]
2''	70.1	4.02 (1H, brd, 4.4)	+	OH-2''	OH-3''[${}^3J(C, H)$], $1''[{}^2J(C, H)]$
OH-2''	/	5.32 (OH-2'', d, 4.4)	/	H-2''	/
3''	68.0	3.70 (1H, m, 6.0, 10.0)	+	OH-3'', H-4''	$2''[{}^2J(C, H)]$, $4''[{}^2J(C, H)]$, $1''[{}^3J(C, H)]$
OH-3''	/	4.96 (OH-3'', d, 6.0)	/	H-3''	/
4''	73.3	4.71 (1H, t, 10.0)	+	H-3'', H-5''	$6''[{}^3J(C, H)]$, $5''[{}^2J(C, H)]$, $3''[{}^2J(C, H)]$, $2''[{}^3J(C, H)]$, OH-3''[${}^3J(C, H)$]
5''	68.2	3.29 (1H, m, 6.0, 10.0)	+	H-4'', H-6''	$6''[{}^2J(C, H)]$, $4''[{}^1J(C, H)]$, $1''[{}^3J(C, H)]$
6''	17.3	0.70 (3H, d, 6.0)	+	H-5''	$4''[{}^3J(C, H)]$
1'''	98.6	5.56 (1H, brs)	+	H-2'''	OH-2'''[${}^3J(C, H)$]
2'''	70.0	3.84 (1H, brs, 4.4)	+	H-3''', OH-2''', H-1'''	$4'''[{}^3J(C, H)]$, $3'''[{}^2J(C, H)]$, $1'''[{}^3J(C, H)]$
OH-2'''	/	5.17 (OH-2''', d, 4.4)	/	H-2'''	/
3'''	70.4	3.63 (1H, m)	+	H-4''', H-2''', OH-3'''	$4'''[{}^2J(C, H)]$, $2'''[{}^2J(C, H)]$, OH-4''' [${}^3J(C, H)$], $1'''[{}^3J(C, H)]$
OH-3'''	/	4.84 (OH-3''', d, 5.6)	/	H-3'''	/
4'''	71.8	3.32 (1H, m)	+	H-5''', H-3''', OH-4'''	$6'''[{}^3J(C, H)]$, $5'''[{}^2J(C, H)]$, $2'''[{}^3J(C, H)]$
OH-4'''	/	4.94 (OH-4''', d, 5.2)	/	H-4'''	$6'''[{}^2J(C, H)]$, $4'''[{}^2J(C, H)]$, $3'''[{}^2J(C, H)]$, OH-4'''[3J (C, H)], $1'''[{}^3J(C, H)]$
5'''	70.3	3.43 (1H, m)	+	H-6''', H-4'''	/
6'''	18.1	1.13 (3H, d, 6.0)	+	H-5'''	/
	170.1	/	/	/	OAc[${}^2J(C, H)$], $4'''[{}^3J(C, H)]$
OAc	21.1	2.00 (3H, s)	+	/	/

3 结论

对川藎苣 A 进行 1H 、 ^{13}C NMR、DEPT 一维 NMR 技术和 1H - 1H COSY、HSQC、HMBC 二维 NMR 技术检测,对其所有的 1H 和 ^{13}C NMR 数据进行了详细解析和全归属,为黄酮醇苷类化合物的结构鉴定提供了可靠的 NMR 数据解析方法和依据,也为该类化合物的深入研究和应用提供了重要的结构信息。

参考文献:

[1] MIN B S, TOMIYAMA M, Ma C M, et al. Kaempfer-

ol acetylramnosides from the rhizome of dryopteris crassirhizoma and their inhibitory effects on three different activities of human immunodeficiency virus-1 reverse transcriptase [J]. Chem Pharm Bull, 2001, 49 (5): 546-550.

[2] MIZUNO M, HINUMA M, TANAKA T, et al. Sutchuenoside A: a new kaempferol glycoside from the aerial parts of epimedium sutchuenense [J]. J Nat Prod, 1991, 54(5): 1427-1429.

[3] 栾欣, 王皓, 温远影. 狗脊化学成分研究[J]. 热带亚热带植物学报, 2002, 10(4): 361-365.

(下转第 83 页)

- [16] SAKADEVAN K, BAVOR H J. Phosphate adsorption characteristics of soils, slags and zeolite to be used as substrates in constructed wetland systems [J]. Water Research, 1998, 32(2):393-399.
- [17] ARIAS C A, BUBBA M D, BRIX H. Phosphorus removal by sands for use as media in subsurface flow constructed reed beds [J]. Water Research, 2001, 35(3):1159-1168.
- [18] WERKER A G, DOUGHERTY J M. Treatment variability for wetland wastewater treatment design in cold climates. Ecological Engineering[J], 2002, 19(1): 1-11.
- [19] 董泽琴. 土壤地下渗滤净化沟污水除磷脱氮工艺及影响因素初探[J]. 贵州环保科技, 2002, 8(3):18-25.

Application of Soil Infiltration System for Domestic Sewage

JIANG Li-wei YAN Qi-she HUANG-Fei ZHANG Rui-qin

(Institute of Environmental Sciences, Zhengzhou University, Zhengzhou 450001, China)

Abstract: In order to evaluate the removal efficiency of soil ecological system for contaminants, concentrations of COD_{cr}, TN, TP and SS which were from inflow and effluent were monitored continuously in different seasons, respectively. The results showed that the operation situation was affected hardly by temperature change because of the under-ground design of the system, and the water quality of effluent content with the "urban sewage treatment plant pollutant discharge standard (GB18918-2002)" when the concentration of inflow was limited within a certain range. The operation process also showed that the technology had characteristics of less energy consumption, less wastes discharge, and landscape harmony. Soil ecological wastewater treatment technology has opened up a new approach for the dispersive sewage management of tourist resorts, remote villages and other areas.

Key words: domestic sewage; soil ecological system; COD_{cr}; TN; TP

(上接第70页)

- [4] 赵天增. 核磁共振氢谱[M]. 北京: 北京大学出版社, 1983: 80-86.
- [5] 赵天增. 核磁共振碳谱[M]. 郑州: 河南科学技术出版社, 1993: 204-213.
- [6] 方起程, 赵天增, 秦海林. 天然药物化学研究[M]. 北京: 中国协和医科大学出版社, 2006: 28-54.

NMR Numerical Analysis of Sutchuenoside A

WU Ming-jian¹, ZHANG Yan^{1,2}, ZHANG Hai-yan², ZHAO Tian-zeng^{2*}

(1. College of Chemical Engineering and Energy, Zhengzhou University, Zhengzhou 450001, China; 2. Key Laboratory of Natural Products, Henan Academy of Science, Zhengzhou 450002, China)

Abstract: Sutchuenoside A, one of the flavonol glycosides, was studied using the NMR data analysis method and was detected through 1D (¹H, ¹³C NMR and DEPT) and 2D NMR (¹H-¹H COSY, HSQC, and HMBC) techniques. The results show that the ¹H and ¹³C NMR spectra are completely analyzed and assigned, and the structures of sutchuenoside A are further identified. This research provided not only NMR data analysis methods and evidences, but also structures information for the structures identification of flavonol glycosides.

Key words: NMR; assignment; 2D NMR; sutchuenoside A