

一维 SEMDY 和旋转坐标 NOE 差谱 NMR 新技术用于天然化合物中寡糖的结构研究*

缪振春* 冯锐 周永新

(军事医学科学院毒物药物研究所, 国家生物医学分析中心 北京 100850)

魏锋

(北京医科大学药学院生药教研室 北京 100083)

摘要: 报告从日本续断根部的乙醇提取物中分得二个新的五糖三萜皂甙, 应用一维 SEMDY 和旋转坐标 NOE 差谱等 NMR 新技术互相配合的方法对它们的结构进行了研究, 确定为: 3-O- α -L-吡喃鼠李糖(1 \rightarrow 3)- β -D-吡喃葡萄糖(1 \rightarrow 3)- α -L-吡喃鼠李糖(1 \rightarrow 2)- α -L-吡喃阿拉伯糖-常春藤甙元-28-O- β -吡喃葡萄糖酯式(1), 和 3-O-[β -D-吡喃葡萄糖(1 \rightarrow 4)] [α -L-吡喃鼠李糖(1 \rightarrow 3)]- β -D-吡喃葡萄糖(1 \rightarrow 3)- α -L-吡喃鼠李糖(1 \rightarrow 2)- α -L-吡喃阿拉伯糖-齐墩果酸(2), 结果表明, 一维 SEMDY 和旋转坐标 NOE 差谱技术互相配合的方法测定寡糖链结构十分有效, 高度重叠的糖基 $^1\text{H-NMR}$ 信号可按一定规律分离, 容易鉴别, 糖基之间的连接顺序和连接位置可以准确测定, 不需要对化合物进行化学降解或衍生化。

关键词: 糖链结构测定; 旋转坐标系 NOE 差谱; 一维 SEMDY 谱; 日本续断; 三萜皂甙

中图分类号: O641.13 **文献标识码:** A

1 前言

寡糖结构分析比较困难, 一直缺少方便而有效的方法。化学或生物降解法的手续复杂, 样品用量多, 尤其分析寡糖甙需要逐步水解以确定糖基序列, 快原子轰击和碰撞活化质谱法可推测糖基连接序列, 但是不能确定各糖基或糖基与甙元相连接的位置^[1]。利用 $^{13}\text{C-NMR}$ 或化位移可推定糖基的连接位置^[2], 但是许多糖基 $^{13}\text{C-NMR}$ 信号的峰形相同, 化学位移差别不大, 并且有重叠现象, 难以准确归属。二维 NMR 技术能够提供许多重要的结构信息, 但是由于糖基的重叠相关峰辨认困难, 应用也受到了一定限制。研究表明, 采用最近提出的一维 SEMDY (One Dimensional Spin Echo MDY Coherence Transfer, 简称 1D-SEMDY) 谱^[3] 和旋转坐标系 NOE 差谱 (NOE Difference Spectroscopy in Rotating Rame)^[4] 相配合的方法可直接测定寡糖类化合物中糖基的连接序列和连接的位置, 其特点是: 每个糖基的重叠 $^1\text{H-NMR}$ 谱可以分离, 信号归属可得到正确指定, 糖链结构测定不是以经验为依据的推测, 而是凭实验证据组合结构片段, 并且对样品不需要进行化学降解或衍生化, 结果准确、可靠, 本方法基于选择检测 NMR 信号, 糖基结构主要基于 $^1\text{H-NMR}$ 表征, 灵敏度比较高, 适用于天然产物的寡糖链结

** 国家自然科学基金资助项目 (No.29805004)。

* 通讯联系人。

收稿日期: 1999-06-09; 修回日期: 1999-08-16。

构研究。我们从日本续断 (*Dipsacus japonicus* Miq) 根部的乙醇提取物中分得二个新的五糖三萜皂甙, 经过测定, 它们的结构为: 3-O- α -L-吡喃鼠李糖(1 \rightarrow 3)- β -D-吡喃葡萄糖(1 \rightarrow 3)- α -L-吡喃鼠李糖(1 \rightarrow 2)- α -L-吡喃阿拉伯糖-常春藤甙元-28-O- β -吡喃葡萄糖酯甙(1)和 3-O-[β -D-吡喃葡萄糖(1 \rightarrow 4)][α -L-吡喃鼠李糖(1 \rightarrow 3)]- β -D-吡喃葡萄糖(1 \rightarrow 3)- α -L-吡喃鼠李糖(1 \rightarrow 2)- α -L-吡喃阿拉伯糖-齐墩果酸(2), 如图 1 所示。

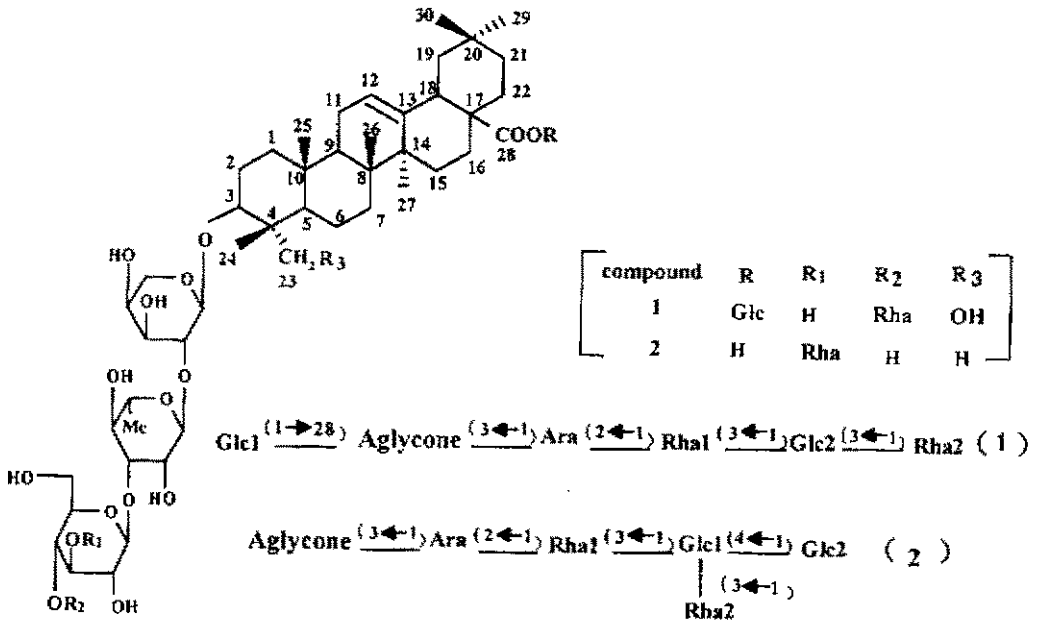


图 1 化合物 1 和 2 的化学结构

Fig. 1 Chemical structure of compounds 1 and 2

2 材料与方法

所有 NMR 实验均在 JEOL JNM-GX-400 型核磁共振谱仪上进行。¹H-NMR 的工作频率为 400 MHz, ¹³C-NMR 的工作频率为 100 MHz, 以氘代吡啶为溶剂, 并兼作化学位移内标 ($\delta_H 8.7$, $\delta_C 149.8$), 使用 5 mm NMR 探头, 样品浓度约为 30 g/L, NMR 实验均在室温下进行, ¹H-NMR 和 ¹³C-NMR 的谱宽分别为 4000 和 25000 Hz, 数据点为 16384, 弛豫延迟为 1s, 非取样脉冲数目为 2, 载频置于谱的中央, 采用正交检测的方法, 一维 SEMDY 谱, 旋转坐标系 NOE 差谱核磁共振实验的脉冲序列是在本仪器上 PGX200 程序产生的, 分别如图 2A 和 B 所示, 其中 SV 是由去偶道产生的 180° 选择性翻转脉冲, 前者为 120 ms, 后者为 140 ms, 观察通道的所有脉冲均为弱脉冲, 通过调节衰减器使 90° 脉冲宽度为 45 μ s, MDY 为混合脉冲, 其组成为: 235°_y- Δ -410°_y- Δ -290°_y- Δ -285°_y- Δ -30°_y- Δ -245°_y- Δ -375°_y- Δ -265°_y- Δ -370°_y- Δ -60°_y- Δ -300°_y, 其中 Δ 为 36.6 μ s, 混合时间 (MT) 一般 180 ms, SL 为自旋锁定脉冲, 由等间距脉冲列 ($\Theta \sim \tau$) 组成, 其中 Θ 为 30 μ s, τ 为 300 μ s, 自旋锁定时间一般为 250 ms。其他实验细节已有报道^[3, 4]。

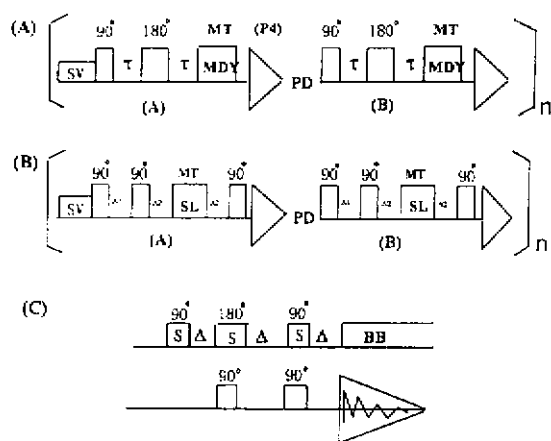


图2 脉冲序列: (A)一维自旋回波 MDY 相干转移实验, (B)旋转坐标系 NOE 差谱实验, (C)选择性远程 DEPT 实验^[9]

Fig. 2 Pulses sequences: for the ROE difference spectroscopy (A), for ID-SEMDY (B) and for selective longrange DEPT (C)

化合物 2 为白色粉末 (MeOH), 熔点为 276 ~ 279 °C。Liebermann 和 Molish 反应均呈阳性, IR(KBr): 1695 cm^{-1} (羧酸 C=O), FAB-MS 测得分子量为 1204, 分子式为 $\text{C}_{39}\text{H}_{96}\text{O}_{25}$, 经薄层酸水解并与标准品对照, 检出的甙元为齐墩果酸甙元 (oleanoic acid), 化合物中甙元部分的 ^{13}C -NMR 谱数据与齐墩果酸皂甙元一致^[9], 见表 1。五个糖基的 ^1H -NMR 谱数据见表 2。五

表 1 化合物 1 和 2 的甙元以及常春藤和齐墩果酸皂甙元的 ^{13}C -NMR 化学位移 (δ , $\text{C}_2\text{D}_5\text{N}$)

Table 1 ^{13}C -NMR chemical shifts (δ) of compound 1-2, hederagenin and oleanoic acid aglycone moiety

C	Aglycone of compound 1	Aglycone of Hed ^[9]	Aglycone of compound 2	Oleanoic acid ^[9]	C	Aglycone of compound 1	Aglycone of Hed ^[9]	Aglycone of compound 2	Oleanoic acid ^[9]
1	39.12t	38.93t	38.7t	38.6t	16	23.71t	23.55t	23.8t	23.5t
2	26.43t	26.07t	26.3t	26.0t	17	46.67s	46.97s	46.6s	46.9s
3	82.72d	82.35d	88.57d	89.2d*	18	41.67d	41.81d	42.7d	41.6d
4	43.61s	43.50s	39.0s	38.3s	19	46.23t	46.39t	46.4t	46.1t
5	47.63d	47.90d	56.1d	56.6d	20	30.76s	30.76s	30.9s	30.6s
6	18.42t	18.38t	18.6t	18.4t	21	33.17t	33.17t*	34.0t	33.9t
7	32.64t	33.08t	33.3t	33.0t	22	34.01t	34.17t	32.3t	32.4t
8	39.94s	40.10s	39.9s	39.8s	23	63.94t	64.04t	28.4q	28.1q
9	48.26d	48.30d	47.9d	47.8d	24	14.20q	14.00q	17.2q	16.8q
10	36.91s	36.99s	37.0s	36.8s	25	16.27q	16.25q	15.5q	15.4q
11	23.71t	23.91t	23.8t	23.3t	26	17.56q	17.69q	17.4q	17.3q
12	122.93d	122.93d	122.5d	123.1d	27	26.09q	26.07q	26.2q	26.0q
13	144.19s	144.19s	144.8s	144.0s	28	176.56s	176.53s	180.2s	180.0s
14	42.15s	42.29s	42.1s	42.0s	29	32.55q	33.05q	33.1q	33.1q
15	28.36t	28.30t	28.3t	28.1t	30	23.71q	23.91q	23.8q	23.5q

* Hed: hederagenin.

熔点用 PHMK 05 型显微熔点仪测定, 温度未校正, FBA-MS 用 ZAB HS 型质谱仪测定。比旋度用 Perkin-Elmer 241 旋光仪测定。红外光谱用 Shimadzu 460 型红外分光光度计, KBr 压片法测定。

化合物 1 为白色粉末, 熔点为 223 ~ 226 °C, Liebermann 和 Molish 反应均呈阳性, IR(KBr): 1728 cm^{-1} (酯 C=O), FAB-MS 测得分子量为 1220, 分子式为 $\text{C}_{39}\text{H}_{96}\text{O}_{26}$, 经薄层酸水解并与标准品对照, 检出的甙元为常春藤甙元 (hederagenin), 化合物中甙元的 ^{13}C -NMR 谱数据与常春藤皂甙元一致^[9], 见表 2。五个糖体的 ^1H -NMR 谱数据见表 1。五个糖体的异头碳原子的 ^{13}C -NMR 化学位移分别为 δ 106.3, 104.9, 102.8, 101.3 和 95.7, FAB-MS m/z : 1259 ($\text{M}^+ + \text{K}$), 1097 ($\text{M}^+ - \text{Glu} + \text{H}$), 1129, 816, 674, 509。

表2 化合物1和2中糖体¹H-NMR 化学位移(δ)和偶合常数(Hz)Table 2 ¹H-NMR chemical shifts (δ) and coupling constants (Hz) of sugar moieties of compound 1 and 2

Compound 1	H-1	H-2	H-3	H-4	H-5a	H-5b	H-6a	H-6b
β -Glc1	6.31d(8.3)	4.19t(8.3)	4.34t(8.3)	4.28t(8.3)	4.02m		4.39dd(11.8; 2.4)	4.45d(11.8)
β -Glc2	5.43d(8.4)	4.05t	4.38t(8.4)	4.19t(8.4)	3.90m		4.31dd(11.8; 2.3)	4.43d(11.8)
α -Ara	5.00(7.3)	4.50t(7.3)	3.95dd(7.3; 2.9)	4.09d(2.9)	3.63d(11.4)	4.20d(11.4)		
α -Rha1	6.24s	4.90d(2.0)	4.80dd(8.8; 2.0)	4.40t(8.8)	4.64m		CH ₂ : 1.49d(6.0)	
α -Rha2	6.20s	4.72d(2.0)	4.50dd(8.7; 2.0)	4.30t(8.7)	4.90m		CH ₂ : 1.61d(5.9)	
Compound 2	H-1	H-2	H-3	H-4	H-5a	H-5b	H-6a	H-6b
α -Rha1	6.21s	4.89d(2.0)	4.73dd(9.4; 2.0)	4.41t(9.4)	4.60m		CH ₂ : 1.50d(6.5)	
α -Rha2	6.38s	4.77d(2.0)	4.76dd(9.0; 2.0)	4.22t(9.0)	5.37m		CH ₂ : 1.52d(6.4)	
β -Glc1	5.39d(8.6)	4.11t(8.6)	4.51t(8.6)	4.70t(8.6)	3.79dd(8.6; 1.8)		4.41dd(12.5; 1.8)	4.92d(12.5)
β -Glc1	5.51d(8.7)	4.10t(8.7)	4.29t(8.7)	4.57t(8.7)	3.82dd(8.7; 1.7)		4.30dd(11.8; 1.8)	4.44d(11.8)
α -Ara	4.80d(7.0)	4.53t(7.0)	4.19*	4.20*	3.81d(11.5)	4.29d(11.5)		

* No resolvable owing to resonance overlap.

个糖基的异头碳原子的 ¹³C-NMR 化学位移分别为 δ 106.2、105.4、104.4、101.9 和 101.4。FAB-MS m/z : 1243(M⁺+K)。

糖的鉴定:用径向纸色谱,酸水解液点样,用 n -BuOH : C₆H₆ : C₂H₅N : H₂O (5:1:3:3) 展开,草酸-苯胺显色,Glc 和 Rha 显黄色;Ara 显红色。 R_f 值分别为 Glc 0.5、Rha 0.66 和 Ara 0.4。以上三种糖的 R_f 值及显红色与相应的对照品一致。

3 结果与讨论

3.1 一维 SEMDY 技术及其应用

一维 SEMDY 技术是基于 MDY 混合脉冲的同核相干转移原理,通过选择激发其中一个可分辨的糖环质子 NMR 信号,就能够得到一个完整的糖基 ¹H-NMR 亚谱,使高度重叠的 NMR 谱图按自旋偶合体系分离,揭示出被掩盖的结构信息,为 NOE 增益信号归属提供可靠的依据,在糖链结构测定中起到了关键性作用。一维 SEMDY 技术的突出特点是,180° 选择性翻转脉冲可作用在糖环中任何一个可分辨的质子信号上,并且不需要经过 Z-滤波步骤就能够得到吸收形的糖基 ¹H-NMR 亚谱,据此可得到准确的结构参数。化合物 1 和 2 的测定结果见表 2。

图 3 是化合物 1 的一维 SEMDY 实验结果,180° 选择性翻转脉冲分别作用在图 3A ¹H-NMR 中 δ 6.38、6.26、5.46、5.37、5.02 和 5.00 糖基异头质子信号上,得到了五个糖基的 ¹H-NMR 亚谱,分别如图 3 B、C、D、E 和 F 所示。这个事实表明化合物 1 分子中有五个糖体,并且根据糖基 ¹H-NMR 亚谱中信号的数目、自旋裂分结构和偶合常数,它们可确定为:2 个鼠李糖、2 个葡萄糖和 1 个阿拉伯糖,见表 2。其中 2 个葡萄糖根据异头质子信号的典型偶合常数(8.3~8.7 Hz)确定为 β -构型。2 个鼠李糖的构型是根据旋转坐标系 NOE 差谱实验结果确定:当分别对它们的异头质子信号施加 180° 选择性翻转脉冲时,2 个糖基内都只有 2-H 产生 9.0% NOE 增益,表明它们均为 α -构型。 L -阿拉伯糖的 C-1 构型是根据旋转坐标系 NOE 差谱实验结果确定的。当对其异头质子信号施加 180° 选择性翻转脉冲时,糖基内 3-H 和 5-H

分别产生 8.6% 和 8.0% NOE 增益。

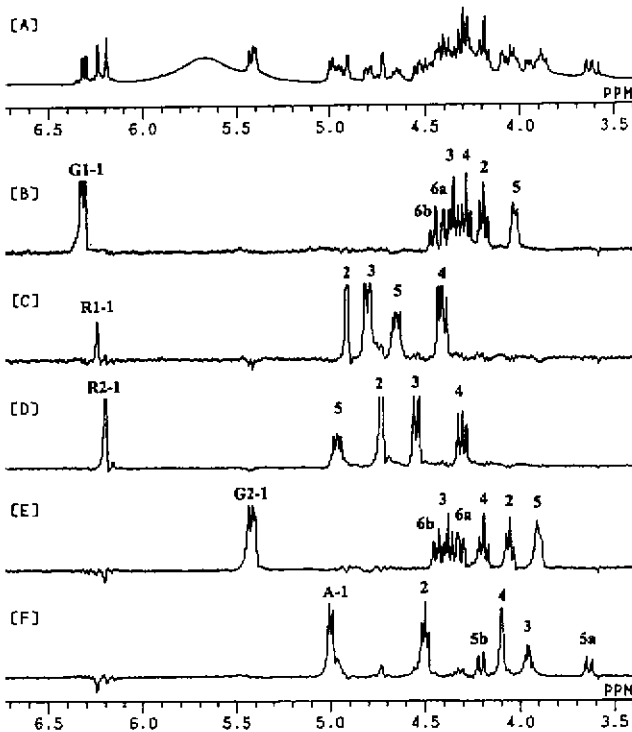


图 3 化合物 1 400 MHz 的 ^1H -NMR 谱: 常规谱[A], 用 1D-SEMDY 技术分别对每个糖基异头质子选择激发, 得到的 β -葡萄糖基[B], α -鼠李糖基[C], α -鼠李糖基[D], β -葡萄糖基[E] 和 α -阿拉伯糖基[F] 的亚谱

Fig. 3 400 MHz ^1H -NMR spectra of compound 1: normal spectrum [A], subspectra of [B] β -Glc, [C] α -Rha, [D] α -Rha, [E] β -Glc and [F] α -Ara, obtained by 1D-SEMDY, where anomeric proton of each sugar component was selectively inverted

图 3 中糖基 ^1H -NMR 亚谱的大多数信号归属根据自旋多重峰结构和偶合常数就能够确定。对于少数信号的归属困难用下列办法可以得到解决: 一是利用 NOE 效应与核间关系, 例如葡萄糖的 3-H 和 4-H 信号的形状相同, 都呈现三重峰, 偶合常数一般也没有明显差别, 而化学位移则随结构发生变化, 因此它们的归属有时会遇到困难。但是, 对异头质子信号进行选择激发时, β -构型葡萄糖基内的 3-H 有 NOE 增益信号, 而 4-H 则没有 (化合物 1 中 β -葡萄糖 2 的旋转坐标系 NOE 差谱, 如图 4D), 据此可以解决这些信号的归属困难; 二是调整一维 SEMDY 实验中的混合时间, 测定部分接力相关谱^[9]; 三是利用旋转坐标系 NOE 差谱中的 HOHAHA (Homonuclear Hartmann-Hahn) 效应, 被选择激发质子的化学位移靠近发射机偏置时, 与其有自旋偶合作用的邻位质子可出现 HOHAHA 信号。虽然这种信号通过移动发射机偏置可得到压抑^[9], 但是, 其信号的相位与 NOE 信号的相反, 很容易辨别, 一般不影响糖基间的 NOE 增益信号观测, 并且有助于谱峰归属。例如图 4D 中 $\delta 4.05$ 的负峰和和图 4E 中 $\delta 4.50$ 信号是 HOHAHA 效应引起的, 分别属于葡萄糖 2 和阿拉伯糖的 2-H 信号。在实验条件下, 2-H

也有 NOE 增益。图4E中 $\delta 4.50$ 信号因为 NOE 增益与 HOHAHA 效应的大小相当,互相抵消。而图4D中 $\delta 4.05$ 信号因为 HOHAHA 效应大于 NOE 增益,出现负峰。

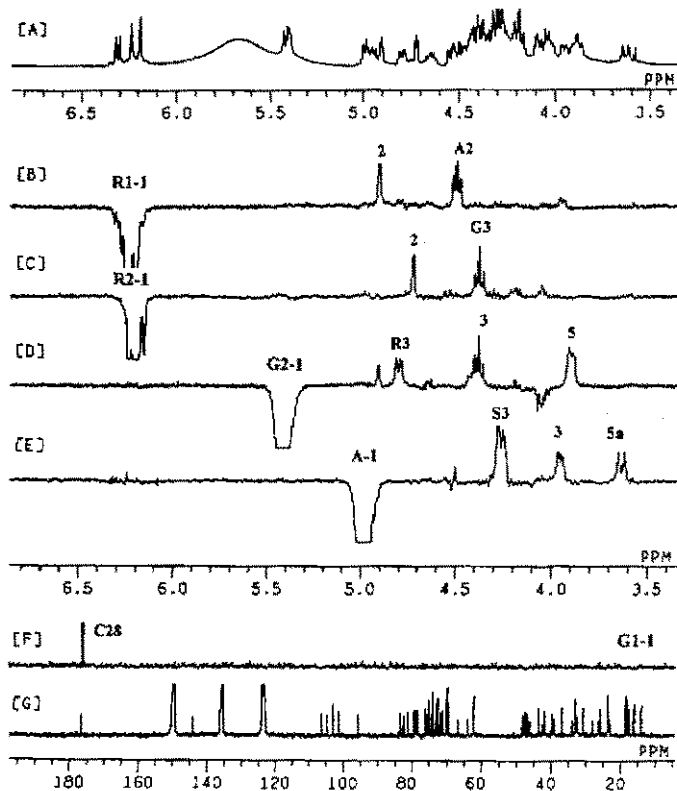


图4 化合物1的NMR谱:[A]常规 ^1H 谱,[B],[C],[D]和[E]分别对 $\delta 6.24$, 6.20 , 5.43 和 5.00 异头质子信号施加软脉冲的旋转坐标系NOE差谱,[F]对 $\delta 6.31$ 异头质子选择激发的远程DEPT谱,[G]常规 ^{13}C 谱

Fig. 4 NMR spectra of compound 1: [A] normal ^1H -NMR spectrum, [B], [C], [D] and [E] ROE difference spectra with selective excitation of the anomeric proton $\delta 6.24$, 6.20 , 5.43 and 5.00 , respectively, [F] selective long-range DEPT spectrum by transfer from the anomeric proton ($\delta 6.31$), [G] normal ^{13}C -NMR spectrum

3.2 旋转坐标系 NOE 差谱技术及其应用

用通常的二维 NOE 和基于饱和和照射原理的双共振 NOE 差谱技术观测糖链中的 NOE 主要存在下列困难:一是糖环质子之间存在邻位偶合作用,谱图中邻位偶合相关峰很强,严重影响 NOE 相关峰的观测;二是糖体之间的 NOE 信号有时不止一个,而 NOE 相关峰只显示 NOE 的存在,不能正确测定其大小,因此无法根据相对强度进行正确指定;三是由于多数谱峰互相发生重叠,NOE 相关峰的归属难以辨认;四是由于分子相关运动时间的影响,有些化合物观测不到应有的 NOE 信号^[2];五是基于饱和照射原理的双共振 NOE 差谱实验容易发生 Bloch-Siegert 位移^[7]和选择性粒子转移(SPT)^[8],致使差谱产生色散峰,NOE 信号强度发生畸变,影响 NOE 信号的观测和强度定量测定。

旋转坐标系 NOE 差谱新技术是基于自旋锁定原理,因此没有以上缺点,并且它不涉及饱

和照射,因此测定时间比较短,不发生 Bloch-Siegert 位移和选择性粒子转移(SPT),NOE 信号为吸收形,容易辨认,可以正确测定其大小,结果可靠。甙类化合物的 NMR 实验一般在氘代吡啶或二甲亚砜中进行,由于糖羟基与溶剂残余水峰交换而产生的宽峰在旋转坐标系 NOE 差谱实验的自旋锁定脉冲作用下可得到有效消除,不影响测定结果,应用范围比较广泛。

NOE 信号是来自相隔 0.5 nm 以内的质子之间的空间效应并且 NOE 信号的强度一般是随核间距的增加而迅速减弱。糖链中的 NOE 可分为两类:一是糖基内的 NOE;二是糖基间的 NOE。由于吡喃糖在溶液中都以椅式的构象存在,因此 NOE 谱的特征与糖基的构型有关。例如,在对葡萄糖异头质子进行选择激发的实验中, β -构型异构体的 H-3、H-5 和 H-2 可产生 NOE 增益信号,而 α -构型异构体只有 H-2 产生 NOE 增益信号,分别如图 5A 和 B 所示。因此,糖基内的 NOE 信号可用于测定糖的构型和谱峰归属。而糖基间的 NOE 信号则可用于测定糖链中各糖基或糖基与甙元相连接的位置,如图式 5C 所示。

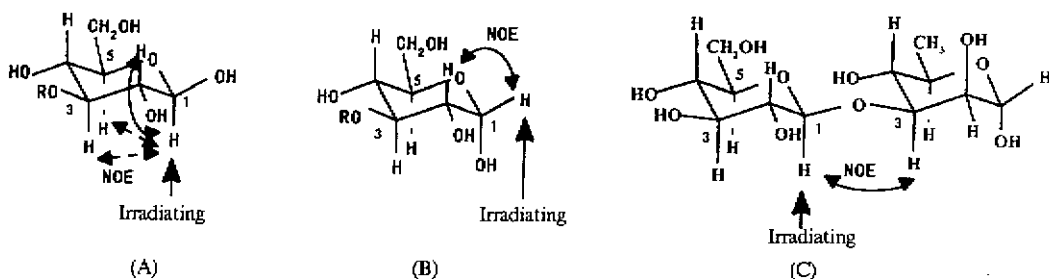


图 5 用 NOE 差谱方法观测的糖基内(A 和 B)以及糖基间(C)的 NOE 效应

Fig. 5 NOEs observed by NOE difference spectra: (A, B) intra-residue NOEs; (C) inter-residue NOEs

旋转坐标系 NOE 差谱实验的脉冲序列见图 2B。图 4 B、C、D 和 E 是分别对化合物 1 的 $\delta 6.24$ (R1-1)、 6.20 (R2-1)、 5.43 (G2-1) 和 5.00 (A-1) 糖基异头质子信号施加 180° 选择性翻转脉冲的旋转坐标系 NOE 差谱实验结果。其中相位与 NOE 增益信号相反的是被选择翻转质子的信号。与图 3 中糖基的 $^1\text{H-NMR}$ 亚谱相对照,NOE 增益信号的归属即可得到确定。其中每个糖基间的 NOE 增益信号在图 4 中已经作了标定。

化合物 1 中五个糖基的连接顺序和连接位置根据图 4 中所标定的糖基外的旋转坐标系 NOE 信号可得到确证: ①图 4B 是对 $\delta 6.24$ 鼠李糖 1 异头质子信号 (R1-1) 加软脉冲的实验结果。与图 3C 中该糖基亚谱相对照,可知 $\delta 4.50$ 三重峰为糖基外 NOE 增益信号,并且由图 3F 亚谱可知,它是阿拉伯糖基 2-H(A2),说明鼠李糖 1 与阿拉伯糖是以 1 \rightarrow 2 糖甙键相连接;②图 4C 是对 $\delta 6.20$ 鼠李糖 2 异头质子信号 (R2-1) 加软脉冲的实验结果。与图 3D 中该糖基亚谱相对照,可知 $\delta 4.38$ 三重峰为糖基外 NOE 增益信号,并且由图 3D 是亚谱可知,它是葡萄糖 2 的 3-H(G3) 信号,说明鼠李糖 2 与葡萄糖 2 是以 1 \rightarrow 3 糖甙键相连接;③图 4D 是对 $\delta 5.43$ 葡萄糖 2 异头质子信号 (G2-1) 加软脉冲的实验结果。与图 3E 中该糖基亚谱相对照,可知 $\delta 4.80$ 双二重峰为糖基外 NOE 增益信号,并且由图 3C 亚谱可知,它是鼠李糖 1 的 3-H(R3),说明葡萄糖 2 与鼠李糖 1 是以 1 \rightarrow 3 糖甙键相连接;④图 3E 是对 $\delta 5.00$ α -阿拉伯糖基异头质子信号 (A-1) 加软脉冲实验结果,与图 3F 中该糖基亚谱相对照,可知 $\delta 4.28$ 双二重峰 ($J=11.1$ 和 3.1 Hz) 为糖基外 NOE 增益信号,并且由图 3 亚谱可知,它不是糖基的信号。根据化学位移,偶

合常数以及和高场的氘元信号显示的偶合关系,这个糖基外的 NOE 增益信号属于氘元 3-H (S3),说明阿拉伯糖 α -阿拉伯糖与氘元是以 1 \rightarrow 3 形成氘键。(5)对图 3B 亚谱中 δ 6.31 β -葡萄糖 1 异头质子信号(G1-1)加软脉冲时,未出现糖基外的 NOE 信号,推测此糖基可能与与氘元 C-28 羰基形成酯氘。该推测由图 2C 中选择性远程 DEPT 实验证实:对 δ 6.24 信号加软脉冲时,在 δ 176.36 产生 C-28 羰基的 ^{13}C -NMR 磁化转移信号,如图 4F 所示。

参 考 文 献

- [1] Chen Zuyao (陈耀祖), Chen Nengyu (陈能煜), Li Haiquan (李海泉), et al. . *Acta Chimica Sinica* (化学学报), 1986, 44: 1020
- [2] Kasai R, Suzuo M, Asakawa J, Tamaka O. *Tetrahedron Lett.*, 1977, 2: 175
- [3] Miao Zhenchun (缪振春), Luo Yi (罗毅), Du Zehan (杜泽涵), et al. . *Chin. J. Magn. Reson.* (波谱学杂志), 1996, 13: 11
- [4] Miao Zhenchun (缪振春), Fen Rui (冯锐), Li Guangyu (李光玉), et al. . *Chin. J. Magn. Reson.* (波谱学杂志), 1997, 14: 83
- [5] Miao Zhenchun (缪振春), Fen Rui (冯锐). *Acta Pharmaceutica Sinica* (药学学报), 1992, 27: 107
- [6] Tang Haifeng (汤海峰), Yi Yanghua (易扬华), Wang Zhongzhuang (王忠壮), et al. . *Acta Pharmaceutica Sinica* (药学学报), 1997, 32: 685
- [7] Mersh J D, Sanders J K M. *J. Magn. Reson.*, 1982, 50: 289
- [8] Neuhaus D. *J. Magn. Reson.*, 1983, 53: 109

The Structure Determination of Oligosaccharide Chains in Naturally Occurring Compounds by 1D-SEMDY and NOE Difference Spectroscopy in Rotating Frame

Miao Zhenchun* Feng Rui Zhou Yongxin

(Institute of Pharmacology and Toxicology, Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100850)

Wei Feng

(School of Pharmaceutical Sciences, Beijing Medical University, Beijing 100083)

Abstract Two new saponins containing five sugars have been isolated from the ethanol extract of the root of *Dipsocus japonicus* and their structures established as (3-O- α -L-rhamnopyranosyl (1 \rightarrow 3)- β -D-glycopyranosyl (1 \rightarrow 3)- α -L-rhamnopyranosyl (1 \rightarrow 2)- α -L-arabinopyranosyl-hederagenin-28-O- β -D-glycopyranoside (1) and 3-O-[β -D-glycopyranosyl (1 \rightarrow 4)][α -L-rhamnopyranosyl (1 \rightarrow 3)]- β -D-glycopyranosyl (1 \rightarrow 3)- α -L-rhamnopyranosyl (1 \rightarrow 2)- α -L-arabinopyranosyl-oleanic acid (2). Two new NMR

techniques, 1D-SEMDY and NOE difference spectroscopy in rotating frame have been successfully used to determine the chemical structure of oligosaccharide chains of the saponins. The results obtained showed that the sites of glycosylation and the sequence of sugars in the saponins can be determined unambiguously and total assignment of severely overlapping proton resonance of sugar residues were achieved, without having recourse to chemical degradation or modification.

Key words *Dipsocus japonicus*, Structural determination of oligosaccharide chains, ROE difference spectroscopy, 1D-SEMDY

* To whom correspondence should be addressed.

更 正

第13卷第1期71页文章“直链烷烃结构型和凝聚型性质的递变规律研究”中,表2的第2列最后1行“ $\eta(20\text{ }^{\circ}\text{C}) = 1.298232 \ln \frac{n+3.32640}{-0.826334n+4.538990}$ ”,由于原稿有误,作者恳请更正

为: $\eta(20\text{ }^{\circ}\text{C}) = 1.298232 \ln \frac{n+3.32640}{-0.826334n+14.538990}$ 。