

# 三尖杉宁碱的核磁共振数据解析研究

刘雅琴\*, 余明新, 何玲

浙江大学化学系, 杭州 310027

**摘要:**三尖杉宁碱是一种具有抗肿瘤作用的紫杉醇类化合物,采用核磁共振氢谱( $^1\text{H}$  NMR)、氢-氢相关谱( $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY)、核磁共振碳谱( $^{13}\text{C}$  NMR 和 DEPT135)、异核单量子相关谱(HSQC)、异核多键相关谱(HMBC)进行解析,对其所有的 NMR 谱信号进行归属。同时,针对三尖杉宁碱分子的结构特点,探索性地引入 ROESY 谱来表征空间相关以获得更丰富的空间信息。在 $^1\text{H}$  NMR 谱中显示有多组质子信号,共 30 个质子; $^{13}\text{C}$  NMR 谱显示样品分子有 41 组碳原子信号,分子中含有 45 个碳,存在重叠峰;DEPT135 谱显示出 3 组仲碳,29 组叔碳,其余为季碳;在二维谱中,确认各组碳与氢的连接关系;化学键上相邻氢原子的偶合、远程相关和空间相关信息。该解析对象的结构相对较复杂,二维核磁共振波谱数据进一步确证了其分子结构。

**关键词:**核磁共振二维谱;三尖杉宁碱;结构解析;ROESY 谱

中图分类号:O657

文献标识码:A

文章编号:1001-6880(2022)Suppl-0018-08

DOI:10.16333/j.1001-6880.2022.S.003

## Structural analysis of cephalomannine by nuclear magnetic resonance spectroscopy

LIU Ya-qin\*, YU Ming-xin, HE Ling

*Department of Chemistry, Zhejiang University, Hangzhou 310027, China*

**Abstract:** Cephalomannine is a paclitaxel compound with antitumor effect and an important pharmaceutical intermediate. All NMR signals were assigned by using  $^1\text{H}$  NMR,  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY,  $^{13}\text{C}$  NMR and DEPT135, HSQC and HMBC. At the same time, according to the characteristics of cephalomannine molecule, and ROESY is tentatively introduced to characterize spatial correlation in order to obtain richer spatial information. The  $^1\text{H}$  NMR spectrum of cephalomannine showed multiple groups of proton signals, a total of 30 protons;  $^{13}\text{C}$  NMR spectrum showed that there were 41 groups of carbon atom signals in the sample molecule, which contained 45 carbon atoms and overlapping peaks; DEPT135 spectrum showed 3 groups of secondary carbon, 29 groups of tertiary carbon and the rest were quaternary carbon. The connection information between carbon and hydrogen, the identification of adjacent hydrogen atoms on the chemical bond, the remote correlation information and the spatial correlation information is confirmed by the two-dimensional spectrum. The structure of the analytical object in this study is relatively complex, which is conducive to molecular structure further confirmed by two-dimensional NMR data.

**Key words:** two-dimensional nuclear magnetic resonance (2D NMR) spectroscopy; cephalomannine; structural analysis; ROESY spectroscopy

三尖杉宁碱来源于红豆杉,是重要的医药中间体、材料中间体、精细化学品,具有消炎、抗肿瘤作用<sup>[1-4]</sup>。同时,三尖杉宁碱亦可向重要的抗肿瘤药物紫杉醇进行转化,在化学结构上只是酰胺基侧链有所不同,可作为化学合成紫杉醇的重要原料,且能作为新型紫杉烷类开发的前体。

核磁共振(nuclear magnetic resonance, NMR)波

谱技术是解析有机化合物结构的重要手段之一,该技术具有对样品无损检测、信息量丰富等优点,广泛应用于药物分子化学组成、结构及其生物分子相互作用的研究<sup>[5-8]</sup>。本实验研究以三尖杉宁碱为解析对象,利用液体核磁共振技术对其核磁共振信号进行一维及二维相关谱的全归属,特别是采用 ROESY 谱来表征分子空间相关情况鲜见报道。有关紫杉醇及其衍生物的应用研究已有许多报道<sup>[9-17]</sup>,本实验对三尖杉宁碱进行比较全面的核磁共振谱表征,测定其核磁共振氢谱( $^1\text{H}$  NMR)、氢-氢相关谱( $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$

COSY)、核磁共振碳谱( $^{13}\text{C}$  NMR 和 DEPT135)、异核单量子相关谱(HSQC)、异核多键相关谱(HMBC)和旋转坐标系中的空间相关谱(ROESY),并对所有谱峰进行归属,通过上述核磁共振技术确证三尖杉宁碱的结构。

目前针对空间相关谱多数是以 NOESY 谱为主,但对于某些中等分子的 NOE 信号较弱时,无法用 NOESY 来表征空间相关情况。针对三尖杉宁碱分子的特点,本研究探索性地引入二维 ROESY 谱。ROESY 是在自旋锁定条件下,测定同核 NOE 的一种新方法,它是在旋转坐标系中的 Overhauser 增强谱(rotating frame overhauser enhancement spectroscopy, ROESY),是一种解决中等大小化合物立体结构的理想技术,克服了 NOE 信号较弱的不足,为中等大小的分子提供了一种有效、简便的表征空间结构的手段。上述实验通过具体的二维 NMR 波谱信息转化成物质结构信息,有利于进一步确证三尖杉宁碱分子结构。

## 1 材料与方法

### 1.1 仪器与试剂

$^1\text{H}$  NMR、 $^{13}\text{C}$  NMR、DEPT135、 $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY、 $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  HSQC 和 HMBC 以及 ROESY 谱均用 Agilent DD2 600 型核磁共振波谱仪(美国 Agilent 公司)测定,以氘代二甲亚砜为溶剂, $^1\text{H}$  NMR 的观测频率为 599.77 MHz, $^{13}\text{C}$  NMR 的观测频率为 150.83 MHz, $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY 实验谱宽为 6 648.9 Hz,采样数据点阵  $t_2 \times t_1 = 1024 \times 256$ , $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  HSQC 实验中 $^{13}\text{C}$  谱宽为 30 165.9 Hz,采样数据点阵  $t_2 \times t_1 = 1024 \times 256$ , $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  HMBC 实验中 $^{13}\text{C}$  谱宽为 36 199.1 Hz, $^1\text{H}$  谱宽为 9 615.4 Hz,采样数据点阵  $t_2 \times t_1 = 1024 \times 256$ 。ROESY 实验中 $^1\text{H}$  谱宽为 6313.1 Hz,采样数据点阵  $t_2 \times t_1 = 2048 \times 32$ ,自旋锁定混合时间 500 ms。

氘代二甲亚砜购自青岛腾龙微波科技有限公司,实验中的三尖杉宁碱由成都德思特生物技术有限公司提供,经 HPLC 测试纯度大于 98%。所有试剂均为分析纯。

### 1.2 样品制备

称取三尖杉宁碱样品约 30 mg,加入氘代二甲亚砜 0.6 mL,使其完成溶解,转移到 5 mm 核磁管中待测。

## 2 结果与分析

### 2.1 三尖杉宁碱结构分析

三尖杉宁碱是紫杉烷骨架的“笼状”结构,母核的基本骨架是由四环(1 个八元环、2 个六元环和 1

个四元环)十五烷以及带有酰胺等基团的苯丙酸酯侧链构成,是一个结构相当复杂的天然有机化合物。从环到苯丙酸酯侧链的结构确证可以通过核磁共振异核多量子相关谱(HMBC 谱)来完成,如图 1 所示,三尖杉宁碱分子结构式中羰基碳 20 与氢 13、碳 28 与氢 2 存在远程相关信号峰,从而将整个分子骨架连接起来。本文采集了三尖杉宁碱的一维氢谱( $^1\text{H}$ 谱)、碳谱( $^{13}\text{C}$  谱和 DEPT135 谱)、二维相关谱( $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY 谱、HSQC 谱和 HMBC 谱以及空间相关 ROESY 谱),并对谱图进行了详细解析。

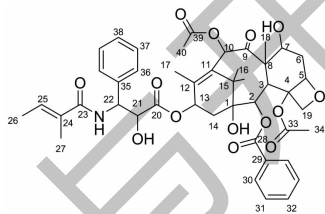


图 1 三尖杉宁碱的结构式

Fig. 1 Structural formula of cephalomannine

### 2.2 三尖杉宁碱谱图解析

#### 2.2.1 三尖杉宁碱的 $^1\text{H}$ NMR 和 $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ COSY 谱分析

在三尖杉宁碱的 $^1\text{H}$  NMR 谱中,以氘代 DMSO 为溶剂,显示有多组质子信号,共 30 个质子, $\delta_{\text{H}}2.50$  为溶剂 DMSO 质子信号, $\delta_{\text{H}}3.32$  为水的信号,如图 2 所示; $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY 谱可获得化学键上相邻氢原子的耦合信息,如图 3 所示,此分子结构较为复杂,脂肪区有 5 个自旋系统,其中  $\delta_{\text{H}}1.64$ 、 $2.32$  与  $\delta_{\text{H}}4.11$  偶合, $J = 12.2$  Hz,二者又与  $\delta_{\text{H}}4.91$  存在交叉峰,共同构成 AA'MX 四旋系统,根据化合物结构判断这个典型的四核自旋系统应是饱和脂肪六元环上质子。

#### 2.2.2 三尖杉宁碱的 $^{13}\text{C}$ NMR 和 DEPT135 谱分析

三尖杉宁碱的 $^{13}\text{C}$  NMR 显示样品分子有 41 组碳原子信号,分子中含有 45 个碳;DEPT135 谱显示出 3 组仲碳,29 组叔碳,其余为季碳,如图 4 所示。根据碳原子化学位移规律,低场  $\delta_{\text{C}}205.5$  (s) 表明是酮羰基信号,则为 C-9;五个碳  $\delta_{\text{C}}168.3$ 、 $171.4$ 、 $171.9$ 、 $173.0$  和  $175.9$  在酯羰基或酰羰基的化学位移范围;十二个碳  $\delta_{\text{C}}130.3$ 、 $130.4$ 、 $131.3$ 、 $131.8$ 、 $132.6$ 、 $132.7$ 、 $133.1$ 、 $135.2$ 、 $136.4$ 、 $136.5$ 、 $142.4$  和  $142.7$  在芳香环或烯键( $sp^2$  杂化)的化学位移范围;剩余二十二个碳处于饱和脂肪区的化学位移范围。详尽归属 NMR 数据需要结合 2D NMR 谱,特别是 HSQC 和 HMBC 谱。



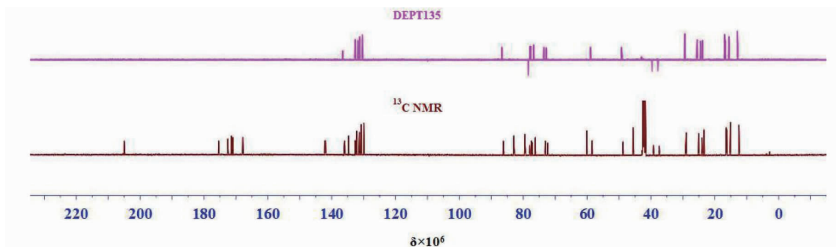
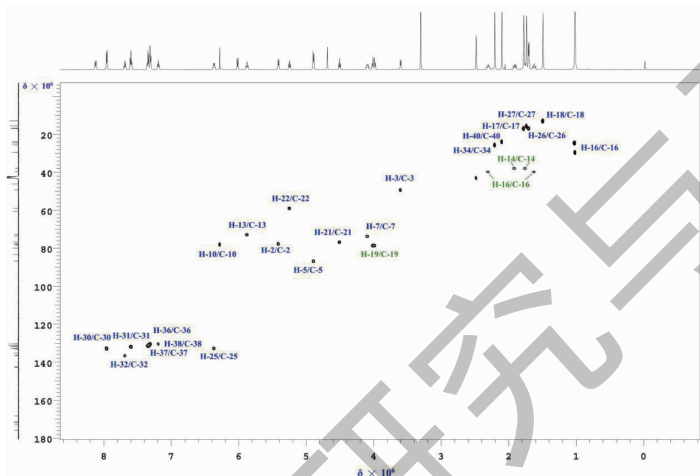
图4 三尖杉宁碱的 $^{13}\text{C}$  NMR 谱和 DEPT135 谱图Fig. 4  $^{13}\text{C}$  NMR and DEPT135 spectra of cephalomannine

图5 三尖杉宁碱的 HSQC 谱图

Fig. 5 HSQC spectrum of cephalomannine

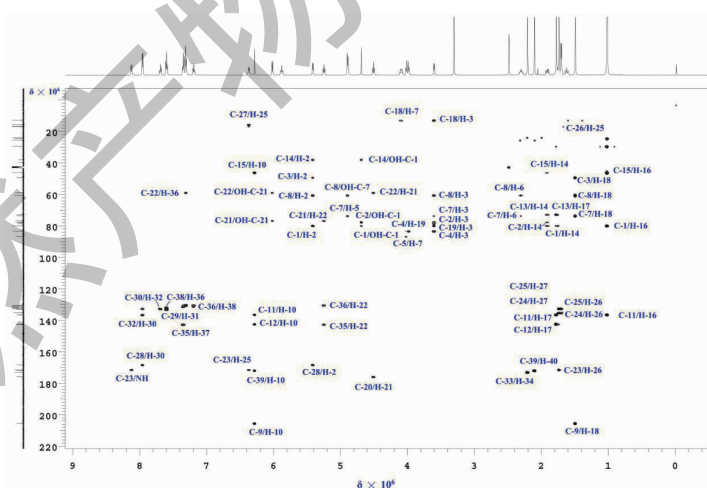


图6 三尖杉宁碱的 HMBC 谱图

Fig. 6 HMBC spectrum of cephalomannine

$^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY 谱显示,  $\delta_{\text{H}}$  5.43 (H-2) 与  $\delta_{\text{H}}$  3.62 存在交叉峰, 可判断  $\delta_{\text{H}}$  3.62 为 H-3 的信号。由 HSQC 谱可知,  $\delta_{\text{C}}$  49.2 为 C-3 信号。HMBC 谱显示,  $\delta_{\text{C}}$  136.4 (C-11) 与  $\delta_{\text{H}}$  1.03 (H-16)、1.80、5.90 和

6.30 (H-10) 存在远程相关, 结合化学环境则可判断  $\delta_{\text{H}}$  1.80 为 H-17,  $\delta_{\text{H}}$  5.90 为 H-13, 由于受酯基的吸电子影响 H-13 处于低场。由 HSQC 谱可知,  $\delta_{\text{C}}$  16.9 为 C-17,  $\delta_{\text{C}}$  72.8 为 C-13。

HMBC 谱显示,  $\delta_{\text{H}}$  6.30 (H-10) 与  $\delta_{\text{C}}$  142.4、171.9 和 205.5 有远程相关, 且  $\delta_{\text{C}}$  142.4 同时与  $\delta_{\text{H}}$  1.80 (H-17) 存在远程相关, 结合化学环境则可判断  $\delta_{\text{C}}$  142.4 为 C-12,  $\delta_{\text{C}}$  171.9 为 C-39 和  $\delta_{\text{C}}$  205.5 为 C-9, 受羰基强吸电子能力的影响 C-9 出现在最低场, 酯基上单键氧因共轭效应供电子, 削弱了酯基中羰基吸电子能力 C-39 较 C-9 处于相对高场。由 HSQC 谱可知,  $\delta_{\text{C}}$  16.9 为 C-17,  $\delta_{\text{C}}$  72.8 为 C-13。HMBC 谱显示,  $\delta_{\text{C}}$  171.9 (C-39) 与  $\delta_{\text{H}}$  2.12 和  $\delta_{\text{H}}$  6.30 (H-10) 存在远程相关, 则可判断  $\delta_{\text{H}}$  2.12 为 H-40。由 HSQC 谱可知,  $\delta_{\text{C}}$  23.8 为 C-40。

HMBC 谱显示,  $\delta_{\text{C}}$  205.5 (C-9) 与  $\delta_{\text{H}}$  6.30 (H-10) 和  $\delta_{\text{H}}$  1.51 存在远程相关, 结合化学环境则可判断  $\delta_{\text{H}}$  1.51 为 H-18。由 HSQC 谱可知,  $\delta_{\text{C}}$  12.9 为 C-18。HMBC 谱显示,  $\delta_{\text{H}}$  1.51 (H-18) 与  $\delta_{\text{C}}$  49.2 (C-3)、60.6、73.6 和 205.5 (C-9) 存在远程相关, 结合化学环境则可判断  $\delta_{\text{C}}$  60.6 为 C-8,  $\delta_{\text{C}}$  73.6 为 C-7, 由于受羟基吸电子作用影响 C-7 化学位移较之 C-8 处于低场。由 HSQC 谱可知,  $\delta_{\text{H}}$  4.11 为 H-7。

$^1\text{H}-^1\text{H}$  COSY 谱显示,  $\delta_{\text{H}}$  4.11 (H-7) 与  $\delta_{\text{H}}$  1.64、2.32 和  $\delta_{\text{H}}$  4.91 存在交叉峰, 可判断  $\delta_{\text{H}}$  1.64、2.32 为 H-6,  $\delta_{\text{H}}$  4.91 H 为与 C-7 相连的羟基氢 (7-OH)。由 HSQC 谱可知,  $\delta_{\text{C}}$  39.7 为 C-6。 $^1\text{H}-^1\text{H}$  COSY 谱显示,  $\delta_{\text{H}}$  1.64、2.32 (H-6) 与  $\delta_{\text{H}}$  4.11 (H-7)、 $\delta_{\text{H}}$  4.91 亦存在交叉峰, 则可判断  $\delta_{\text{H}}$  4.91 为 H-5, 正好与 C-7 相连的羟基氢 (7-OH) 重合。由 HSQC 谱可知,  $\delta_{\text{C}}$  86.7 为 C-5。

HMBC 谱显示,  $\delta_{\text{H}}$  3.62 (H-3) 与  $\delta_{\text{C}}$  12.9 (C-18)、60.6、73.6 (C-7)、77.6 (C-2)、78.5、79.9 (C-1) 和 83.4 存在远程相关, 结合 DEPT135 谱可知,  $\delta_{\text{C}}$  78.5 对应为仲碳, 可判断  $\delta_{\text{C}}$  78.5 为 C-19,  $\delta_{\text{C}}$  83.4 为 C-4,  $\delta_{\text{C}}$  60.6 为 C-8, 由于受酯基的吸电子影响 C-4 处于低场。由 HSQC 谱可知,  $\delta_{\text{H}}$  4.02 为 H-19。HMBC 谱显示,  $\delta_{\text{H}}$  5.43 (H-2) 与  $\delta_{\text{C}}$  37.9 (C-14)、46.1 (C-15)、49.2 (C-3)、60.6 (C-8)、79.9 (C-1) 和 168.3 存在远程相关, 结合化学环境则可判断  $\delta_{\text{C}}$  168.3 为 C-28。HMBC 谱显示,  $\delta_{\text{C}}$  168.3 (C-28) 与  $\delta_{\text{H}}$  5.43 (H-2) 和  $\delta_{\text{H}}$  7.98 存在远程相关, 结合化学环境则可判断  $\delta_{\text{H}}$  7.98 为 H-30。由 HSQC 谱可知,  $\delta_{\text{C}}$  132.7 为 C-30。

$^1\text{H}-^1\text{H}$  COSY 谱显示,  $\delta_{\text{H}}$  7.98 (H-30) 与  $\delta_{\text{H}}$  7.62 存在交叉峰, 可判断  $\delta_{\text{H}}$  7.62 为 H-31。由 HSQC 谱可知,  $\delta_{\text{C}}$  131.8 为 C-31。 $^1\text{H}-^1\text{H}$  COSY 谱显示,  $\delta_{\text{H}}$

7.62 (H-31) 与  $\delta_{\text{H}}$  7.70 有偶合, 可判断  $\delta_{\text{H}}$  7.70 为 H-32。由 HSQC 谱可知,  $\delta_{\text{C}}$  136.5 为 C-32。HMBC 谱显示,  $\delta_{\text{H}}$  5.90 (H-13) 与  $\delta_{\text{C}}$  37.9 (C-14)、136.4 (C-11)、142.4 (C-12) 和 175.9 存在远程相关, 结合化学环境则可判断  $\delta_{\text{C}}$  175.9 为 C-20。

HMBC 谱显示,  $\delta_{\text{C}}$  175.9 (C-20) 与  $\delta_{\text{H}}$  4.53、5.27、5.90 (H-13) 和 6.04 存在远程相关, HSQC 谱显示  $\delta_{\text{H}}$  6.04 氢原子无碳与之相关, 则可判断  $\delta_{\text{H}}$  6.04 为与 C-21 相连的羟基氢 (21-OH)。 $^1\text{H}-^1\text{H}$  COSY 谱显示,  $\delta_{\text{H}}$  6.04 (21-OH) 与  $\delta_{\text{H}}$  4.53 存在交叉峰, 可判断  $\delta_{\text{H}}$  4.53 为 H-21, 则  $\delta_{\text{H}}$  5.27 为 H-22。由 HSQC 谱可知,  $\delta_{\text{C}}$  58.9 为 C-22,  $\delta_{\text{C}}$  76.7 为 C-21。 $^1\text{H}-^1\text{H}$  COSY 谱显示,  $\delta_{\text{H}}$  5.27 (H-22) 与  $\delta_{\text{H}}$  4.53 (H-21) 和  $\delta_{\text{H}}$  8.14 存在交叉峰, 可判断  $\delta_{\text{H}}$  8.14 为 NH。HMBC 谱显示,  $\delta_{\text{H}}$  5.27 (H-22) 与  $\delta_{\text{C}}$  76.78 (C-21)、130.4、142.7、171.4 和 175.9 (C-20) 存在远程相关, 结合化学环境则可判断  $\delta_{\text{C}}$  171.4 为 C-23,  $\delta_{\text{C}}$  142.7 为 C-35,  $\delta_{\text{C}}$  130.4 为 C-36, 由于受酰胺基的吸电子影响 C-23 处于低场。由 HSQC 谱可知,  $\delta_{\text{H}}$  7.33 为 H-36。

HMBC 谱显示,  $\delta_{\text{C}}$  171.4 (C-23) 与  $\delta_{\text{H}}$  1.75 和  $\delta_{\text{H}}$  6.39 存在远程相关, 结合化学环境和峰形可判断  $\delta_{\text{H}}$  1.75 为 H-27,  $\delta_{\text{H}}$  6.39 为 H-25。由 HSQC 谱可知,  $\delta_{\text{C}}$  132.6 为 C-25,  $\delta_{\text{C}}$  15.6 为 C-27。 $^1\text{H}-^1\text{H}$  COSY 谱显示,  $\delta_{\text{H}}$  6.39 (H-25) 与  $\delta_{\text{H}}$  1.72 存在交叉峰, 可判断  $\delta_{\text{H}}$  1.72 为 H-26。由 HSQC 谱可知,  $\delta_{\text{C}}$  16.7 为 C-26。HMBC 谱显示,  $\delta_{\text{H}}$  1.72 (H-26) 与  $\delta_{\text{C}}$  132.6 (C-25) 和  $\delta_{\text{C}}$  135.2 存在远程相关, 可判断  $\delta_{\text{C}}$  135.2 为 C-24。

HMBC 谱显示,  $\delta_{\text{C}}$  142.7 (C-35) 与  $\delta_{\text{H}}$  5.27 (H-22) 和  $\delta_{\text{H}}$  7.37 存在远程相关, 结合化学环境可判断  $\delta_{\text{H}}$  7.37 为 H-37。由 HSQC 谱可知,  $\delta_{\text{C}}$  131.3 为 C-37。 $^1\text{H}-^1\text{H}$  COSY 谱显示,  $\delta_{\text{H}}$  7.37 (H-37) 与  $\delta_{\text{H}}$  7.33 (H-36) 和  $\delta_{\text{H}}$  7.21 存在交叉峰, 可判断  $\delta_{\text{H}}$  7.21 为 H-38。由 HSQC 谱可知,  $\delta_{\text{C}}$  130.3 为 C-38。至此, 最后一个氢原子  $\delta_{\text{H}}$  2.22 为 H-34, 由 HSQC 谱可知,  $\delta_{\text{C}}$  25.6 为 C-34。HMBC 谱显示,  $\delta_{\text{H}}$  2.22 (H-34) 与  $\delta_{\text{C}}$  173.0 存在远程相关, 结合化学环境则可判断  $\delta_{\text{C}}$  173.0 为 C-33。

从 ROESY 空间相关谱 (图 7 和图 8) 可看出分子中质子 NOE 效应, 根据 H-16 与 H-13 有相关点可知, 说明它们所在的六元环为船式构象。图 7 中标注蓝色的点是同时在 ROESY 谱和 NOESY 谱中都能观测到; 而标注绿色的点是只有在 ROESY 谱中

才能观测到。ROESY 谱可获得更为丰富的空间相关分子的空间相关情况。关点信息,说明 ROESY 谱更适合表征三尖杉宁碱

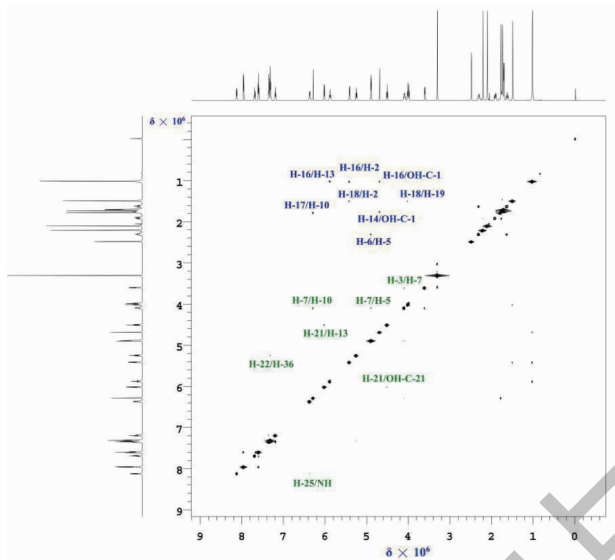


图7 三尖杉宁碱的 ROESY 谱图

Fig.7 ROESY spectrum of cephalomannine

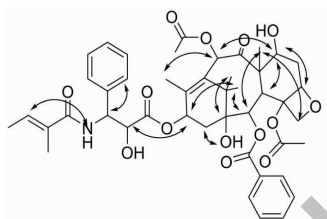


图8 三尖杉宁碱的 ROESY 相关谱的关键信号

Fig.8 Key ROESY correlations for cephalomannine

### 2.3 三尖杉宁碱谱图归属总结

根据上文三尖杉宁碱的核磁共振 $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY 谱、HSQC 和 HMBC、ROESY 谱及其 $^1\text{H}$  谱、 $^{13}\text{C}$  谱解析,已对化合物三尖杉宁碱分子中的碳氢进行全部归属,以上结果列于表 1,从而为此类药物的结构鉴定与生产提供了科学依据。

### 3 结论

综上所述,根据样品三尖杉宁碱分子的二维核

表 1 三尖杉宁碱的 $^{13}\text{C}$  NMR、DEPT、 $^1\text{H}$  NMR、COSY、HSQC 和 HMBC 谱归属

Table 1  $^{13}\text{C}$  NMR, DEPT135,  $^1\text{H}$  NMR, COSY, HSQC and HMBC assignments of cephalomannine

Position	$\delta_c$	DEPT	$\delta_H$ ( $J$ in Hz)	HSQC	COSY	HMBC
1	79.9	C	-	/	-	H-2,3,14,1-OH
2	77.6	CH	5.43(d, $J = 7.2$ )	+	H-3	H-3,14,1-OH
3	49.2	CH	3.62(d, $J = 6.6$ )	+	H-2	H-2,7,18
4	83.4	C	-	/	-	H-3,5,19
5	86.7	CH	4.91(d, $J = 7.2$ )	+	H-7	H-6,7
6	39.7	CH <sub>2</sub>	1.64,2.32(t, $J = 12.2$ )	+	H-5,7	H-5,7
7	73.6	CH	4.11(q, $J = 3.6$ )	+	H-6	H-3,5,6,18
8	60.6	C	-	/	-	H-2,3,6,18,7-OH
9	205.5	C	-	/	-	H-10,18
10	77.9	CH	6.30(s)	+	-	-
11	136.4	C	-	/	-	H-10,13,16,17
12	142.4	C	-	/	-	H-10,14,17

续表 1 (Continued Tab. 1)

Position	$\delta_c$	DEPT	$\delta_H$ (J in Hz)	HSQC	COSY	HMBC
13	72.8	CH	5.90 (t, J = 8.4)	+	H-14	H-14, 17
14	37.9	CH <sub>2</sub>	1.78, 1.93 (t, J = 9.0)	+	H-13	H-2, 13, 1-OH
15	46.1	C	-	/	-	H-2, 10, 14, 16, 1-OH
16	24.5, 29.4	CH <sub>3</sub>	1.03 (s)	+	-	-
17	16.9	CH <sub>3</sub>	1.80 (s)	+	-	-
18	12.9	CH <sub>3</sub>	1.51 (s)	+	-	H-3, 7
19	78.5	CH <sub>2</sub>	4.02 (dd, J = 12.6, 7.8)	+	-	H-3
20	175.9	C	-	/	-	H-13, 21, 22, 21-OH
21	76.7	CH	4.53 (t, J = 7.2)	+	H-22	H-22, 21-OH
22	58.9	CH	5.27 (t, J = 8.4)	+	H-21, NH	H-21, 36, 21-OH
23	171.4	C	-	/	-	H-25, NH
24	135.2	C	-	/	-	H-26, 27
25	132.6	CH	6.39 (q, J = 7.2)	+	H-26	H-26, 27
26	16.7	CH <sub>3</sub>	1.72 (d, J = 7.2)	+	H-25	H-25
27	15.6	CH <sub>3</sub>	1.75 (s)	+	-	H-25
28	168.3	C	-	/	-	H-2, 30
29	133.1	C	-	/	-	H-31
30	132.7	CH	7.98 (d, J = 7.2)	+	H-31	H-32
31	131.8	CH	7.62 (t, J = 7.2)	+	H-30, 32	-
32	136.5	CH	7.70 (t, J = 7.8)	+	H-31	H-30
33	173.0	C	-	/	-	H-34
34	25.6	CH <sub>3</sub>	2.22 (s)	+	-	-
35	142.7	C	-	/	-	H-22, 37
36	130.4	CH	7.33 (d, J = 7.2)	+	H-37	H-22, 38
37	131.3	CH	7.37 (t, J = 7.2)	+	H-36, 38	-
38	130.3	CH	7.21 (t, J = 7.2)	+	H-37	H-36
39	171.9	C	-	/	-	H-10, 40
40	23.8	CH <sub>3</sub>	2.12 (s)	+	-	-

注: "/"表示 HSQC 谱无信号峰; "+"表示 HSQC 谱存在信号峰。

Note: "/" indicates that there is no signal peak in HSQC spectrum; "+" indicates that there is a signal peak in the HSQC spectrum.

磁共振<sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H COSY 谱、HSQC 谱归属了全部碳氢信号; HMBC 谱显示出碳氢远程相关耦合的异核相关信息,进一步证实了碳氢信号的归属;空间相关 ROESY 谱推测烯键所在的六元环为船式构象,较之常规的 NOESY 谱,说明 ROESY 谱更适合表征三尖杉宁碱分子的空间相关情况。各谱图归属合理,根据以上分析结果确证了三尖杉宁碱的化学结构。

#### 参考文献

- 1 Song XT, Yuan K, Li HY, et al. Dual pseudo and chemical crosslinked polymer micelles for effective paclitaxel delivery and release[J]. ACS Appl Bio Mater, 2020, 3:2455-2465.
- 2 Cai L, Qin XJ, Xu ZH, et al. Comparison of cytotoxicity evaluation of anticancer drugs between real-time cell analysis and CCK-8 method[J]. ACS Omega, 2019, 4:12036-12042.

- 3 Qiao Z W, Kondo T. Identification of cephalomannine as a drug candidate for glioblastoma via high-throughput drug screening[J]. *J Electroph*, 2018, 62(1):17-20.
- 4 Ren CH, Gao Y, Guan Y, et al. Carrier-free supramolecular hydrogel composed of dual drugs for conquering drug resistance [J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2019, 11: 33706-33715.
- 5 Ning YC. Structural Identification of Organic Compounds and Organic Spectroscopy(有机化合物结构鉴定与有机波谱学)[M] Beijing: Science Press, 2010:392.
- 6 Min S, Patil S, Kozak D, et al. An NMR protocol for *in vitro* paclitaxel release from an albumin-bound nanoparticle formulation[J]. *AAPS PharmSciTech*, 2020, 21(5):136-144.
- 7 Liu YP, Cao Y, Chen CG, et al. Analysis of molecular structure of naproxen by using 2D-NMR[J]. *Res Explor Lab(实验室研究与探索)*, 2017, 36(6):21-24.
- 8 Deng DY, Song HJ, Qi Yue, et al. Experimental design for determination of flutamide by  $^{19}\text{F}$  NMR spectroscopy[J]. *Res Explor Lab(实验室研究与探索)*, 2019, 38(6):30-37.
- 9 Maryam H, Elham B, Mohammad A, et al. MicroRNA-193a and taxol combination: a new strategy for treatment of colorectal cancer[J]. *J Cell Biochem*, 2020, 121(1):1388-1399.
- 10 Jian Y, Zhao M, Cao J, et al. A gastric cancer peptide GX1-modified nano-lipid carriers encapsulating paclitaxel: design and evaluation of anti-tumor activity [J]. *Drug Des Dev Ther*, 2020, 14:2355-2370.
- 11 Yue Y, Lin W, Wer D, et al. Intracellular self-assembly of taxol nanoparticles for overcoming multidrug resistance[J]. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2015, 127:9836-9840.
- 12 Li B, Zhou X, Yang P, et al. Hotoactivatable fluorogenic labeling via turn-on “click-like” nitroso-diene bioorthogonal reaction[J]. *Adv Sci*, 2019, 6(13):1802039.
- 13 Zou L, Liu X, Li J, et al. Redox-sensitive carrier-free nanoparticles self-assembled by disulfide-linked paclitaxel-tetramethylpyrazine conjugate for combination cancer chemotherapy [J]. *Theranostics*, 2021, 11:4171-4186.
- 14 Imtiaz S, Banoo S, Muzaffar S, et al. Structural determination of midazolam/beta-cyclodextrin inclusion complex by an already proposed protocol and molecular docking studies by quantitative analysis[J]. *Struct Chem*, 2021, 32:1505-1516.
- 15 Fan F, Wang X, Wang H, et al. Cytotoxic rocaglate derivatives from leaves of *Aglaiia perviridis* [J]. *Sci Rep* 2016, 6:20045.
- 16 Zhao Y, Zhang H, Liu J, et al. Fragmentations of 13-oxotaxynansin A and their application to preparation of abeo-paclitaxel and abeo-docetaxel analogues [J]. *Tetrahedron Lett*, 2011, 52(1):139-142.
- 17 Zarribi A, Vossoughi M. Paclitaxel/ $\beta$ -CD-g-PG inclusion complex: an insight into complexation thermodynamics and guest solubility [J]. *J Mol Liq*, 2015, 208:145-150.

(上接第 73 页)

- 15 Tong HQ, Hai JP, Li SC, et al. Optimization of ultrasound-assisted solvent extraction of 5-hydroxytryptamine from banana by response surface methodology[J]. *Food Res Dev(食品研究与开发)*, 2020, 41(20):124-130.
- 16 Shan YK. Techniques on harmane alkaloid extracted from dregs of seabuckthorn fruit peel[J]. *Int Hipp Res Dev(国际沙棘研究与开发)*, 2012, 10(2):1-7.
- 17 Zhang Y. The chemical and anti-inflammatory activity mechanism research of indolealkylamines in toad skin [D]. Beijing: China Academy of Chinese Medical Sciences(中国中医科学院), 2020.