

# 核磁共振技术在糖类化合物化学结构研究的应用

刘明<sup>a</sup>, 李春霞<sup>b</sup>, 辛现良<sup>a\*</sup> (中国海洋大学医药学院, a. 分子药理室; b. 合成药物化学一室, 山东 青岛 266003)

**摘要:** 目的 综述核磁共振技术在糖类化合物化学结构研究的应用进展。方法 查阅近年来该领域的相关文献, 结合本室的研究工作基础, 对一维、多维核磁共振技术在糖类化合物化学结构研究中的应用, 进行了分析、整理、归纳。结果与结论 高分辨率核磁共振技术是糖类化合物结构研究中必不可少的方法之一, 该技术的应用将大大推进糖类化学结构的研究, 有助于揭示糖类物质的生物活性及作用机制。

**关键词:** 糖类化合物; 化学结构; 核磁共振

中图分类号: O629.1; O657; Q533

文献标识码: A

文章编号: 1001-2494(2009)03-0324-04

糖类化合物是自然界中含量最为丰富的有机物, 种类繁多、结构复杂, 其结构的复杂性也赋予了其功能的多样性, 从生物机体的结构组成, 能量的供给, 到各种生物识别过程、信号转导途径、各种疾病的发生与发展, 糖类化合物都在起着无可比拟的作用<sup>[1]</sup>。研究其化学结构及空间构象将有助于阐明糖类化合物的生物活性、揭示糖类化合物与蛋白质等其他生物大分子之间的相互作用机制<sup>[2]</sup>, 进而设计基于糖类化合物的临床治疗方案, 进行疫苗的研制<sup>[3]</sup>和糖类化合物为模板的药物开发。糖类化合物结构的复杂性和样品获取的难度, 使得糖类化合物结构及生物活性的研究远远落后于蛋白质和核酸。

常规的化学解析方法, 如高碘酸氧化、Smith 降解、甲基化等, 被广泛地应用于天然多糖的结构解析中, 但是其反应条件苛刻、步骤繁琐、重复性差、所需样品量较大等缺点在一定程度上限制了它的应用。近年来, 毛细管电泳、高效液相分析、质谱等方法的广泛应用, 大大推进了糖类化合物结构解析的进展, 在糖类化合物的结构解析中发挥着重要的作用, 但是上述方法都不能解决糖类化合物的构型和构象问题, 一维、多维核磁共振 (nuclear magnetic resonance, NMR) 技术的应用和新的脉冲序列的出现, 为复杂糖类化合物的化学结构和三维空间结构的研究提供了广阔的前景。笔者将主要介绍核磁共振法解析糖类化合物结构的一般方法和步骤, 并简要介绍近年来新的实验方法的设计和应用。

## 1 NMR 数据的收集

糖类化合物的 NMR 图谱可选用四甲基硅烷或丙酮作为参比标准, 一般测定的溶剂多是重水(D<sub>2</sub>O), 在非质子溶剂, 如氘代二甲亚砜、氘代吡啶中, 糖类化合物也可获得分辨率较好的谱图。当样品中含有 2-酮-3-脱氧辛糖酸 (Kdo)、磷酸等基团时, 还应测定溶液的 pH 值, 以便与已发表的数据进行比较。当样品结构中含有其他的非糖类结构部分时, 可选用混合型的溶剂, 常用的有二甲亚砜、乙醇、氘代氯仿等。一定比例的 H<sub>2</sub>O/D<sub>2</sub>O 可用于氨基等活泼氢的观测。以 D<sub>2</sub>O 为例, 1~10 mg 的样品溶于 99.9% 的 D<sub>2</sub>O 中, 反复

冷冻干燥几次以除去样品中的水分和其他挥发性的溶剂。尽可能多地溶解待测样品以提高其信噪比, 同时, 也要注意过高的浓度会使溶液的黏稠性增加, 使 NMR 图谱的分辨率下降。实验一般在室温下进行, 可根据待解决的问题进行变温实验。提高温度有利于降低样品溶液的黏稠性、提高分子的运动性、有利于峰形的变窄, 从而获得更好的分辨率; 冰点左右的温度有利于寡糖中较弱 NOE (nuclear overhauser effect, NOE) 信号的确定。

通常情况下, 需要进行如下实验, ① 1D-<sup>1</sup>H; ② <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H TOCSY (Total Correlation Spectroscopy); ③ <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H NOESY (Nuclear Overhauser Enhancement Spectroscopy) 或 ROESY (Rotating frame Overhauser Effect Spectroscopy); ④ <sup>1</sup>H-<sup>13</sup>C HMQC (Heteronuclear Multiple Quantum Coherence) 或 HSQC (Heteronuclear Single Quantum Coherence); ⑤ <sup>1</sup>H-<sup>13</sup>C HMBC (Heteronuclear Multiple Bond Correlation)。当然, 还需要根据不同的待测样品有针对性地选择其他的实验。

## 2 NMR 图谱的解析和化学结构的确定

### 2.1 糖残基数目的确定

在糖类化合物的结构解析中, 异头质子信号是一个很好的突破口。在 1D-<sup>1</sup>H 谱中将各个异头质子的信号进行积分可初步得到不同糖残基的数目比。一般来讲, 异头质子信号在 4.4~5.8 ppm 左右,  $\alpha$  构型异头质子信号 5.0~5.8 ppm 左右,  $\beta$  构型异头质子信号 4.4~5.0 ppm 左右, 而糖环其他的非异头质子信号在 3.2~4.5 ppm 左右, 该区域谱峰严重重叠, 很大程度上影响信号的归属。需要注意的是, 在 4.4~5.8 ppm 左右有可能是硫酸根等取代基相应位置的非异头质子信号, 而不是异头质子信号。利用 HMQC、HSQC 等异核相关谱, 可将异头质子和非异头质子、异头碳和非异头碳信号加以区分, 异头质子信号在 4.4~5.8 ppm 左右, 可与其他质子信号分开, 异头碳的化学位移一般在 95~110 ppm 左右, 可与非异头碳的信号进行区分, 从而得到糖残基的精确数目。很多情况下, 在确定异头碳的数目时, HMQC、HSQC、HMBC 等方法要比 1D-<sup>13</sup>C 谱灵敏、有效得多, 同时还避免了 1D-<sup>13</sup>C

基金项目: 国家重点基础研究发展规划“973”项目 (2003CB716400)

作者简介: 刘明, 男, 博士 研究方向: 药物化学 \*通讯作者: 辛现良, 男, 副教授 研究方向: 分子药理学 Tel: (0532)82031980 E-mail: yaolishil@ouc.edu.cn

实验中样品需求量过大的问题。

## 2.2 糖残基种类的确

$^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  TOCSY 和 DQF-COSY 是确定糖残基种类的有效方法。混合期长于 100 ms 的  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  TOCSY 可得到糖环上各个  $^1\text{H}$  之间的耦合关系和耦合常数,若 3.2~4.5 ppm 之间的非异头质子信号严重重叠,可以用 1D-TOCSY 实验来解决这一问题<sup>[4]</sup>。将各个  $^1\text{H}$  之间的耦合方式、耦合常数以及部分  $^{13}\text{C}$  的化学位移,与各种单糖的 NMR 数据比较(常见的单糖分子都有自己的特征耦合方式和耦合常数,不少文献已对此进行归纳和总结<sup>[5]</sup>),一般就可确定一个糖残基的种类。 $^{13}\text{C}$  的化学位移可以从 HMQC、HMBC 或者组合式的 HSQC-TOCSY、HMQC-TOCSY 等 2D-NMR 实验中获得<sup>[6]</sup>,同时也得到了  $^1\text{H}$  的信息,加快各个糖残基的确认和信号的归属。若环内  $^1\text{H}$  之间的耦合常数较小,耦合体系不能在  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  TOCSY 中全部归属时,可逐渐延长混合期,收集不同混合期的  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  TOCSY 来观察  $^1\text{H}$  之间的耦合,或者在 NOESY、ROESY 图谱中借助糖环内部的 NOE 信号,确定各个  $^1\text{H}$  之间的相对位置,以确定糖残基的种类。

没有异头质子的唾液酸 (NeuAc)、Kdo 等糖残基及其衍生物中的 H3 和衍生物中的甲基信号均可以作为信号归属的突破口。

## 2.3 异头质子构型的确定

通常,在 D-吡喃  $^4\text{C}_1$  型糖环中, $\alpha$  构型与  $\beta$  构型相比,前者异头质子 H1 化学位移低场移动一些,具有较大的化学位移。根据 Karplus 曲线,H1-H2 之间耦合常数  $^3J_{1,2}$  的大小,可反映 H1-H2 之间的相对指向。在吡喃糖中,若 H1-H2 同时位于竖直键(如  $\beta$  葡萄糖), $^3J_{1,2}$  为 7~8 Hz 左右;若 H1 为平伏键,H2 为竖直键(如  $\alpha$  葡萄糖), $^3J_{1,2}$  为 4 Hz 左右;若 H1 为竖直键,H2 为平伏键(如  $\beta$  甘露糖),或二者均为平伏键(如  $\alpha$  甘露糖),其  $^3J_{1,2}$  小于 2 Hz<sup>[7]</sup>。C1-H1 之间的耦合常数  $^1J_{\text{H1}, \text{C1}}$  同样可用于异头质子构型的确定,以 D-吡喃  $^4\text{C}_1$  型糖环为例, $\alpha$  构型中  $^1J_{\text{H1}, \text{C1}}$  在 170 Hz 左右(如  $\alpha$  半乳糖), $\beta$  构型则在 160 Hz 左右(如  $\beta$  半乳糖)。对于 L-吡喃  $^4\text{C}_1$  型糖环来说,其情况恰恰相反。

对于没有异头质子的 NeuAc、Kdo 等糖残基来说,其异头构型可以通过羰基 C1 与平伏键 H3 之间的耦合常数  $^3J_{\text{C1}, \text{H3ax}}$  以及 C2 与平伏键 H3 之间的耦合常数  $^2J_{\text{C2}, \text{H3ax}}$  的大小来确定。例如 Neu5Ac,在  $\alpha$  构型中, $^3J_{\text{C1}, \text{H3ax}}$  为 5~7 Hz,而在  $\beta$  构型中, $^3J_{\text{C1}, \text{H3ax}}$  为 0~4 Hz<sup>[8]</sup>。此外,也可通过测定  $^2J_{\text{C2}, \text{H3ax}}$  来确定 Neu5Ac 的构型, $\alpha$  构型中  $^2J_{\text{C2}, \text{H3ax}}$  约为 8 Hz, $\beta$  构型中  $^2J_{\text{C2}, \text{H3ax}}$  则在 3~4 Hz 左右<sup>[9]</sup>。

## 2.4 糖残基之间连接顺序的确定

寡糖、多糖由一系列的糖残基通过糖苷键连接而成,其连接顺序的确定是糖类化合物结构解析的重要组成部分。糖残基之间连接顺序的确定主要依赖于  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  NOESY 和  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  HMBC 实验,NOESY 类实验可以得到两个糖残基质子之间的距离信息,从而确定糖残基之间的连接次序,但有时长程 NOE 信号的出现,会干扰相邻糖残基质子之间 NOE 信号的确定。由于  $^{13}\text{C}$  的自然丰度只有 1.1%左右,并且  $^3J_{\text{CH}}$  为长程耦合, $^3J_{\text{CH}} < 8$  Hz,在确定糖残基的连接顺序时, $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  HMBC 实验灵敏度有限,数据收集时间较长。除此之外,

分子量较大的糖类化合物,其分子运动较慢,弛豫快,也会影响实验图谱的分辨率。针对这一问题,Vincent 等<sup>[10]</sup>设计了 Cross-Correlated Dipole-Dipole Relaxation 实验,利用糖苷键两端  $^{13}\text{C}$ 、 $^1\text{H}$  之间的偶极弛豫的相关性,在 10 ms 左右建立起  $^{13}\text{C}$ 、 $^1\text{H}$  之间的相干性,这远远短于 HMBC 中  $^{13}\text{C}$ 、 $^1\text{H}$  通过标量耦合建立相关性所需要的 30~80 ms,对横向弛豫较快的寡糖、多糖等大分子来说,Cross-Correlated Dipole-Dipole Relaxation 实验在解决糖残基的连接顺序问题上,要比 HMBC 灵敏、有效得多。另外,专门用于确定 1-2 连接顺序的 Relayed-ROESY 实验也有不同的实验室在使用<sup>[11]</sup>。

## 2.5 糖残基取代基位置的确定

糖残基取代基的存在与否可以通过相应位置上  $^{13}\text{C}$ 、 $^1\text{H}$  化学位移的变化来确定, $^1\text{H}$  一般低场移动 0.2~0.5 ppm 左右,甚至更大, $^{13}\text{C}$  的位移变化更明显一些,一般在几个 ppm 左右。例如,甲基- $\beta$ -吡喃葡萄糖苷 (Me- $\beta$ -Glc) 的 2、3、4、6 位硫酸化之后,所有的质子化学位移低场移动,H2、H3、H4 低场移动高达 1 ppm 左右;C2、C4 的化学位移低场移动 3 ppm 左右,C3 化学位移保持不变。若取代基中含有 NMR 可识别的原子,可以通过各种同核、异核相关谱来帮助取代基位置的确定。低温条件下收集的 1D- $^1\text{H}$  图谱也可以用于取代基位置的确定<sup>[12]</sup>。低温条件下,羟基氢原子交换减慢,与其  $\alpha$  氢原子发生耦合,其耦合可以通过信号线宽的比较来确定,也可以通过收集  $\text{D}_2\text{O}$  和  $\text{H}_2\text{O}$  中的图谱加以判断。发生取代的位置由于羟基氢原子与其  $\alpha$  氢原子耦合消失,相应的  $^1\text{H}$  信号应具有相对较窄的线宽。若信号重叠干扰耦合的观察,可以考虑 COSY 来确定羟基氢原子与氢原子之间的耦合与否,从而确定取代基的位置。

## 3 新的 NMR 方法在糖类化合物结构研究中的应用

除上述常规的 1D、2D-NMR 方法外,近来涌现了众多的新的 NMR 方法,作为常规方法的补充和改进,已大量应用于糖类化合物结构研究中,使得糖类化合物的结构研究更加快捷和准确。

最近发表的  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  H2BC 作为 HMBC 的有力补充,在对 30 个糖残基的复杂寡糖的结构解析和信号归属过程中,显示了其强大的作用,有望成为糖类化合物结构分析的常规手段<sup>[13-14]</sup>。 $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  HMBC 把  $^1\text{H}$  和远程耦合的  $^{13}\text{C}$  关联起来,图谱中出现两键、三键甚至四键的远程耦合,但其交叉峰不能简单地反映  $^1\text{H}$  与  $^{13}\text{C}$  跨越键数的多少,并且有时  $^1\text{H}$  与  $^{13}\text{C}$  两键相关时,由于其很小的耦合常数  $^2J_{\text{CH}}$ ,它们之间经常没有交叉峰出现,连接顺序不能很好地在 HMBC 中加以反映。H2BC 实验将很好地避免上述 HMBC 的不足,脉冲的设计使得交叉峰的出现取决于  $^1J_{\text{CH}}$  和  $^3J_{\text{HH}}$ ,而不依赖于  $^2J_{\text{CH}}$ ,从而解决了  $^1\text{H}$  与  $^{13}\text{C}$  两键相关但没有交叉峰出现的问题,此外,该实验仅反映  $^1\text{H}$  与  $^{13}\text{C}$  两键耦合之间的关系,图谱简单明了。但需要注意的是,当  $^4J_{\text{HH}}$  较大时,也会出现  $^1\text{H}$  与  $^{13}\text{C}$  之间的三键耦合;当  $^3J_{\text{HH}}$  很小时, $^1\text{H}$  与  $^{13}\text{C}$  之间的两键相关也可能不在 H2BC 中出现,此时,可以利用  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  HAT-HMBC 实验,着重强调  $^3J_{\text{HH}}$  很小时, $^1\text{H}$  与  $^{13}\text{C}$  之间的两键相关,避免 H2BC 和 HMBC 的不足,更加明确地反映

$^1\text{H}$  与  $^{13}\text{C}$  之间的两键相关<sup>[15-16]</sup>。

3D-NMR 作为一种成熟的方法,已经广泛地应用于蛋白质及核酸的结构研究中,同样,这一方法也可用于糖类化合物的研究中。Vuister 等<sup>[17]</sup>首先将 3D-NMR 方法应用于糖类化合物的结构研究中,他们报道,NOE-HOHAHA 3D-NMR 方法可很好的应用于天冬酰胺连接的二天线寡糖信号的归属和结构的研究中。另外, $^{13}\text{C}$ - $^1\text{H}$  HMQC-NOESY 异核相关实验,大大减小了  $^{13}\text{C}$  方向信号的重叠<sup>[18]</sup>。对于结构复杂的寡糖, Homans 等<sup>[19]</sup>提出, HOHAHA-COSY 或者 ROESY-COSY 等 3D-NMR 实验与 2D-NMR 的结合使用,可以分别很好地解决葡萄糖和半乳糖糖残基中自旋体系信号重叠问题,3D HOHAHA-HOHAHA 实验,可将  $\beta$ -乙酰氨基葡萄糖 ( $\beta$ -GlcNAc) 糖残基中 H1、H2 之间的耦合取消,从而减少信号之间的重叠,便于信号的归属<sup>[20]</sup>。

通过制备糖类化合物的  $^{13}\text{C}$  标记衍生物,改变糖环质子的化学环境,将糖环质子信号的分布范围扩大数倍,减少各个信号之间的重叠,而且,糖苷键的位置也更容易确认,为复杂寡糖的信号归属带来更多的突破口<sup>[21-22]</sup>。Filter Diagonalization Method 变换方法的引入、Constant-Time Pulse 的应用,为该类衍生物的 3D、4D NMR 实验带来高分辨率图谱的同时,也很大程度上缩短了数据收集时间<sup>[23-24]</sup>。

3D、4D NMR 在减少信号的重叠方面最具有潜力,在糖类化合物的结构研究中具有广阔的前景,糖类化合物的  $^{13}\text{C}$  标记技术也已经初步应用,但目前  $^{13}\text{C}$  标记技术还没有像在蛋白质的研究中那样成熟和完善,3D、4D NMR 方法的应用还主要以自然丰度较高的  $^1\text{H}$  为对象,进行  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  同核相关实验。

使用 Gaussian-Shaped 脉冲首先将 2D-NMR 实验转化成 1D-NMR 实验之后,这种多维实验的一维改版已经为糖类化合物的结构研究做出了很大的贡献。该方法对目标  $^1\text{H}$  进行选择激发,观察 Hartman-Hahn 混合,获取糖环上各个质子的化学位移和耦合常数等信息,缩短数据收集时间的同时,也提高了图谱的信噪比和分辨率,对具有异头质子的糖类化合物特别适用,是 2D-NMR 的有力补充。当待选择激发的信号发生重叠时,可以考虑双脉冲选择性激发 (Doubly Selective Experiments) 以及 Chemical Shift Selective Filter 技术,以解决信号重叠问题<sup>[25]</sup>。1D-TOCSY、1D-COSY、1D-NOESY、1D-TOCSY-NOESY、1D-TOCSY-NOESY<sup>[26-28]</sup> 以及最新发展的 2D-Selective-TOCSY-HSQC、2D-Selective-TOCSY-DQF-COSY、2D-Selective-TOCSY-NOESY 等已在糖类化合物的结构研究中广泛使用。

NMR 技术在糖类化合物的结构解析中发挥着重要的作用,已经成为糖类化合物结构、构象研究必不可少的研究手段之一。同时,NMR 技术也在不断的完善和发展之中,新的脉冲序列的涌现、脉冲梯度场的应用、探头和磁场等硬件的不断升级以及计算机分析软件的应用都为 NMR 技术在糖类化合物的研究中提供了广阔的前景。此外,随着糖类化合物中  $^{13}\text{C}$  标记技术的不断成熟和完善,糖类化合物有望同蛋白质一样,大量使用 3D、4D 实验方法,更好地进行糖类化合物的结构研究。

## REFERENCES

- [1] HRICOVINI M. Structural aspects of carbohydrates and the relation with their biological properties[J]. *Curr Med Chem*, 2004, 11 (19): 2565-2583.
- [2] ANGULO J, RADEMACHER C, BIET T, *et al*. NMR Analysis of carbohydrate-protein interactions[J]. *Methods Enzymol*, 2006, 416: 12-30.
- [3] JONES C. NMR Assays for carbohydrate-based vaccines[J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2005, 38 (5): 840-850.
- [4] ROUMESTAND C, DELAY C, GAVIN J A, *et al*. A practical approach to the implementation of selectivity in homonuclear multidimensional NMR with frequency selective-filtering techniques. Application to the chemical structure elucidation of complex oligosaccharides[J]. *Magn Reson Chem*, 1999, 37(7): 451-478.
- [5] JENS O D, CHARLOTTE H G, KLAUS B. Carbohydrate structural determination by NMR spectroscopy: modern methods and limitations[J]. *Chem Rev*, 2000, 100(12): 4589-4614.
- [6] NORWOOD T J, BOYD J, HERITAGE J E, *et al*. Comparison of techniques for  $^1\text{H}$  detected heteronuclear  $^1\text{H}$ - $^{15}\text{N}$  spectroscopy[J]. *J Magn Reson*, 1990, 87(3): 488-501.
- [7] JANSSON P E, KENNE L, WIDMALM G. CASPER a computerised approach to structure determination of polysaccharides using information from NMR spectroscopy and simple chemical analyses[J]. *Carbohydr Res*, 1987, 168(1): 67-77.
- [8] PRYTULLA S, LAUTERWEIN J, KLESSINGER M, *et al*. Configurational assignment of N-acetylneuraminic acid and analogues via the vicinal C,H coupling constants[J]. *Carbohydr Res*, 1991, 215(2): 345-349.
- [9] PRYTULLA S, LAMBERT J, LAUTERWEIN J, *et al*. Configurational assignment in N-acetylneuraminic acid and analogues via the geminal C, H coupling constants[J]. *Magn Reson Chem*, 1990, 28(10): 888-901.
- [10] VINCENT S J F, ZWAHLEN C J. Dipole-dipole cross-correlation at  $^{13}\text{C}$  natural abundance: a structural tool for polysaccharides[J]. *Am Chem Soc*, 2000, 122(34): 8307-8308.
- [11] CIPOLLO J F, TRIMBLE R B, RANCE M, *et al*. Two-dimensional relayed-rotating-frame overhauser spectroscopy  $^1\text{H}$ -NMR experiments for the selective identification of 1, 2-glycosidic linkages in polysaccharides[J]. *Anal Biochem*, 2000, 278 (1): 52-58.
- [12] SHENG S, CHERNIAK R, VAN HALBEEK H. A  $^1\text{H}$ -NMR spectroscopic approach to the unambiguous determination of glycosyl linkage positions in oligosaccharides[J]. *Anal Biochem*, 1998, 256 (1): 63-66.
- [13] NYBERG N T, DUUS J Q, SORENSEN O W. Heteronuclear two-bond correlation: suppressing heteronuclear three-bond or higher NMR correlations while enhancing two-bond correlations even for vanishing  $^2J_{\text{CH}}$  [J]. *J Am Chem Soc*, 2005, 127(17): 6154-6155.
- [14] NYBERG N T, DUUS J Q, SORENSEN O W. Editing of H2BC NMR spectra[J]. *Magn Reson Chem*, 2005, 43(12): 971-974.
- [15] BENIE A J, SORENSEN O W. HAT HMBC: A hybrid of H2BC and HMBC overcoming shortcomings of both[J]. *J Magn Reson*, 2007, 184(2): 315-321.
- [16] BENIE A J, SORENSEN O W. Improved multiplicity-editing of HMBC NMR spectra[J]. *Magn Reson Chem*, 2006, 44(8): 739-743.
- [17] VUISTER G W, DE W P, BOELEN R, *et al*. The use of 3D NMR in structural studies of oligosaccharides[J]. *J Am Chem Soc*, 1989, 111(2): 772-774.
- [18] DE W P, BOELEN R, VUISTER G W, *et al*. Structural studies by H-1/C-13 two-dimensional and three dimensional HMQC-NOE at natural abundance on complex carbohydrates[J]. *J Am Chem Soc*, 1990, 112(8): 3232-3234.
- [19] HOMANS S W. Homonuclear three-dimensional NMR methods for the complete assignment of proton NMR spectra of oligosaccharides-application to GalB1-4 (Fuca1-3) GlcNAcB1-

- 3Galβ1-4Glc[J]. *Glycobiology*, 1992, 2(2): 153-159.
- [20] RUTHERFORD T J, HOMANS S W. Proton resonance assignments in oligosaccharides containing multiple monosaccharide residues of the same type[J]. *J Magn Reson B*, 1995, 106 (1): 10-13.
- [21] JONES D N M, BENDIAK B. Novel multi-dimensional heteronuclear NMR techniques for the study of <sup>13</sup>C-O-acetylated oligosaccharides: expanding the dimensions for carbohydrate structures[J]. *J Biomol NMR*, 1999, 15(2): 157-168.
- [22] BENDIAK B, FANG T T, JONES D N M. An effective strategy for structural elucidation of oligosaccharides through NMR spectroscopy combined with peracetylation using doubly <sup>13</sup>C-labeled acetyl groups[J]. *Can J Chem*, 2002, 80(8): 1032-1050.
- [23] ARMSTRONG G S, CANO K E, MANDELSHTAM V A, *et al.* Rapid 3D NMR using the filter diagonalization method: application to oligosaccharides derivatized with <sup>13</sup>C-labeled acetyl groups[J]. *J Magn Reson*, 2004, 170(1): 156-163.
- [24] GEOFFREY S, ARMSTRONG A, VLADIMIR A, *et al.* Rapid high-resolution four-dimensional NMR spectroscopy using the filter diagonalization method and its advantages for detailed structural elucidation of oligosaccharides[J]. *J Magn Reson*, 2005, 173(1): 160-168.
- [25] DUNCAN S J, LEWIS R, BERNSTEIN M A, *et al.* Selective excitation of overlapping multiplets, the application of doubly selective and chemical shift filter experiments to complex NMR spectra[J]. *Magn Reson Chem*, 2007, 45(4): 283-288.
- [26] DAVIS D G, BAX A. Simplification of <sup>1</sup>H NMR spectra by selective excitation of experimental subspectra[J]. *J Am Chem Soc*, 1985, 107: 7197-7198.
- [27] INAGAKI F, SHIMADA I, KOHDA D, *et al.* Relayed HOHAHA: A useful method for extracting subspectra of individual components of sugar chains[J]. *J Magn Reson*, 1989, 81: 186-190.
- [28] HAJIME S, YASUHIRO K. An unambiguous assignment method by 2D selective-TOCSY-HSQC and selective-TOCSY-DQF-COSY and structural analysis by selective-TOCSY-NOESY experiments of a biantennary undecasaccharide[J]. *Carbohydr Res*, 2005, 340(3): 469-479.
- (收稿日期: 2008-02-09)

## 中国药杂志岛津杯第九届全国药物分析优秀论文评选交流会征文通知

为推动我国药物分析事业的发展,促进药物分析技术的交流,在中国药学会支持下,中国药学会药物分析专业委员会、《中国药杂志》编辑部和岛津国际贸易(上海)有限公司曾先后于1992,1995,1997,1999,2001,2003,2005,2007年8次分别在北京、苏州、西安、武汉联合举办中国药杂志岛津杯全国药物分析优秀论文评选交流会,该会议已成为药物分析界的品牌会议。2009年即将举办中国药杂志岛津杯第九届全国药物分析优秀论文评选交流会。征文通知如下。

### 1 征文内容

①近几年国内外药物分析新理论、新技术、新方法研究;②现代分析手段和检测技术在药物分析中的应用;③新药质量标准的建立和要求;④注射剂的质控和安全性研究;⑤药物血药浓度监测和药代动力学;⑥药物生物利用度和溶出度的研究;⑦药物快速分析检定新方法、新技术;⑧毒物快速分析检定;⑨药典标准的相关研究;⑩计算机和数学在药物分析领域中的应用及药物分析技术在打假中的应用。

### 2 征文要求

①要求未公开发表及未在全国性会议上交流过,有一定创新性和指导意义;②论文体例、格式请参见本刊2009年第1期稿约。

### 3 其他事宜

①本次会议通过论文交流后将由国内著名药物分析专家组成评委会,评选出优秀论文一等奖3名(每名奖金3000元)、二等奖6名(每名奖金2000元)、三等奖10名(每名奖金1000元)。获得一、二等奖的论文在征得作者同意后将在《中国药杂志》上发表;②征文截止时间:2009年4月30日(以邮戳为准)。稿件及信封请注明“岛津征文”字样并附单位介绍信。同时将电子文件发至:daojinbei@yahoo.com.cn; zgyxzz@cpha.org.cn(标题请注明岛津征文);③联系地址及联系方式:地址:北京朝阳区建外大街4号建外SOHO九号楼1803室(邮编:100022)。联系人:李亚娟 田菁;电话:010-58699275/80转831/829;传真:010-58699295;④会议时间及地点:2009年5月(暂定)。地点:广州市(暂定);⑤应征论文被录用后,将通知作者,论文录用与否,一律不退稿,请自留底稿。

[本刊讯]