

• 研究论文 •

## 水峰调制下的 3,4-Seco-olean-11,13-dien-4,15 $\alpha$ ,22 $\beta$ ,24-tetraol-3-oic Acid 的 NMR 结构解析

欧阳捷<sup>a</sup> 乔 堃<sup>a</sup> 张 巍<sup>a</sup> 邓志威<sup>\*,a</sup> 李莉娅<sup>b</sup> 林文翰<sup>b</sup>

(<sup>a</sup> 北京师范大学分析测试中心 北京 100875)

(<sup>b</sup> 北京大学天然药物与仿生药物国家重点实验室 北京 100083)

**摘要** 对海南半红树植物黄槿(*Hibiscus tiliaceus*)内生菌中提取的一个新化合物进行核磁共振结构解析的研究。在核磁共振测试时发现水峰信号与部分样品信号发生了重叠, 直接影响了该化合物谱图数据的分析。本工作通过实验确证了在氘代二甲亚砜(DMSO-*d*<sub>6</sub>)溶剂中水峰化学位移与含水量之间的变化规律。依据该规律, 利用定量加入纯水的方法对实际样品中的水峰信号进行了调制, 解决了水峰信号与样品信号的重叠问题, 得到了较理想的 <sup>1</sup>H NMR, <sup>13</sup>C NMR 一维谱和 COSY, HMQC, HMBC 等二维谱。利用核磁共振提供的信息完成了对新化合物结构的解析, 确定该化合物为齐墩果烷三萜类化合物 3,4-seco-olean-11,13-dien-4,15 $\alpha$ ,22 $\beta$ ,24-tetraol-3-oic acid。

**关键词** 核磁共振(NMR); 水峰调制; 结构解析; 齐墩果烷型三萜

## NMR Structural Elucidation of 3,4-Seco-olean-11,13-dien-4,15 $\alpha$ ,22 $\beta$ ,24-tetraol-3-oic Acid with Modulation of Water Peak

OUYANG, Jie<sup>a</sup> QIAO, Kun<sup>a</sup> ZHANG, Wei<sup>a</sup>

DENG, Zhi-Wei<sup>\*,a</sup> LI, Li-Ya<sup>b</sup> LIN, Wen-Han<sup>b</sup>

(<sup>a</sup> Analytical & Testing Center, Beijing Normal University, Beijing 100875)

(<sup>b</sup> State Key Laboratory of Natural and Biomimetic Drugs, Peking University, Beijing 100083)

**Abstract** The structure of a new compound, isolated from the endophyte of the semi-mangrove plant *Hibiscus tiliaceus*, was elucidated with nuclear magnetic resonance spectroscopy. In the primary <sup>1</sup>H NMR test, it was found that some signal lines were submerged under the “water peak”, and this would interfere with the analysis of NMR spectra. In this work, the variational rule between the water-peak chemical shift and the water content was investigated for solvent DMSO-*d*<sub>6</sub>. Using the results, the water-peak chemical shift was modulated with certain amount of extra water introduced into the practical sample tests. As a result, the interference of water peak was overcome, and a group of suitable spectra including <sup>1</sup>H NMR, <sup>13</sup>C NMR, COSY, HMQC, HMBC, etc., were obtained. The structural elucidation of the new compound was achieved, and it was confirmed that this compound belonged to a triterpenoid of oleanane, and identified as 3,4-seco-olean-11,13-dien-4,15 $\alpha$ ,22 $\beta$ ,24-tetraol-3-oic acid.

**Keywords** nuclear magnetic resonance (NMR); modulation of water peak; structural elucidation; triterpenoid of oleanane

黄槿(*Hibiscus tiliaceus*)为锦葵科木槿属半红树植物, 原产于热带及亚热带, 在我国广东、台湾、海南等

省以及日本、印度及太平洋群岛均有分布, 并被作为药用植物收录在《全国中草药汇编》。目前, 国内外有关半

\* E-mail: dengzw@bnu.edu.cn

Received September 19, 2007; revised December 10, 2007; accepted February 29, 2008.

红树植物黄槿(*Hibiscus tiliaceus*)化学成分的研究和开发工作不多,且多集中在植物体本身,涉及到该类植物内生菌的化学工作仍罕见报道<sup>[1,2]</sup>. 北京大学天然药物与仿生药物国家重点实验室从黄槿内生菌 GT20036019 培养液中分离得到一化合物(实验室编号 MO16),生物活性实验显示该化合物具有抗癌特性,初步鉴定结果表明:该化合物很可能是一个未曾报道的齐墩果烷型三萜类<sup>[3]</sup>新化合物,因而以核磁共振技术为主对化合物结构进行了分析研究.

然而,<sup>1</sup>H NMR 结果显示:所配制的核磁共振测试样品中明显含水,水峰( $\delta_{\text{H}}$  3.35)与样品中的部分质子峰重叠,严重干扰了谱图信号的识别,给结构解析带来了困惑. 由于样品溶于氘代二甲亚砜(DMSO-*d*<sub>6</sub>)溶剂中,回收除水的难度较大,且可能造成样品的丢失或污染,因而如何消除水峰的干扰、提供理想的核磁共振谱图成为了完成该化合物结构研究的一个重要环节. 受氘代溶剂吸湿性、样品含水以及制样环境等因素的影响,测样中含水现象十分普遍,实际测试中水信号的干扰也是核磁共振实验中难以回避的问题<sup>[4]</sup>. 实际上,水峰问题一直是国内外核磁共振领域研究的一个热门课题<sup>[5~7]</sup>,相关消除或抑制水峰干扰的新的实验技术<sup>[8~10]</sup>和数据后处理方法也在不断出现<sup>[11,12]</sup>. 本工作系统分析了 DMSO-*d*<sub>6</sub> 溶剂中水峰化学位移与含水量之间的关系,确定了不同含量下水峰化学位移的变化规律. 在实际样品测试中,依据所得规律,采用增加含水量的简单作法对水峰的化学位移进行了调制,谱图效果得到明显的改善. 本文还将详细讨论利用一维、二维核磁共振谱对样品 MO16 进行结构解析的过程,并通过 NOESY 谱的解析给出该化合物的相对空间构型.

## 1 实验部分

### 1.1 仪器设备

实验工作全部是在 AVANCE DRX-500 型超导核磁

共振波谱仪(德国布鲁克公司)上完成,该谱仪配有 5 mm 反式宽带梯度探头(TBI 探头)和 BVT-3000 温控单元(温控偏差 $\pm 0.1$  K). 实验控制和数据处理都是由 XWIN-NMR 3.5 核磁专用软件完成.

### 1.2 试剂与样品

氘代二甲亚砜(DMSO-*d*<sub>6</sub>, 北京化工厂生产,氘代率大于 99.5%),其残存质子的化学位移为刻度的参比值;重水(D<sub>2</sub>O, 北京化工厂生产,氘代率大于 99.5%);超纯水(电导率为 18.2 M $\Omega$ ).

样品 MO16 是由半红树植物黄槿内生菌 GT20036019 培养液中提取分离得到的一个白色粉末状固体,易溶于溶剂 DMSO-*d*<sub>6</sub>,生物活性分析结果显示该化合物具有抗癌活性. 初步判断该样品为单一化合物,其纯度可以满足核磁共振结构解析的要求.

### 1.3 实验内容

改变二甲亚砜溶剂中水含量,分析 <sup>1</sup>H NMR 谱图的水峰变化规律,并对比定量加入 H<sub>2</sub>O 和 D<sub>2</sub>O 的两组实验方法.

利用变温和改变水含量对实际样品中水峰信号进行化学位移调制,确定最终实验条件. 在此基础上根据结构解析的需要获取了预饱和 <sup>1</sup>H NMR, <sup>13</sup>C NMR, DEPT, COSY, HMQC, HMBC, NOESY 等相关核磁共振谱. 所以实验均在恒温(298 K)控制下完成. 核磁共振实验的主要参数设置见表 1.

## 2 结果与讨论

### 2.1 含水量与水峰的化学位移

二甲亚砜是一种常用的极性溶剂,与水混溶. 人们已注意到以 DMSO-*d*<sub>6</sub> 为溶剂获取 <sup>1</sup>H NMR 谱时,水峰化学位移具有明显的不确定性. 含水量是造成水峰化学位移变化的原因之一<sup>[13]</sup>. 定量向纯溶剂(0.6 mL DMSO-*d*<sub>6</sub>)样品注入纯水(H<sub>2</sub>O)后,获取了一组不同含水

表 1 核磁共振实验的主要采样参数

Table 1 The key experimental parameters for NMR tests

	实验类型	谱宽(SW/Hz)	采样点数 (Td)	F <sub>1</sub> 递增次数(N <sub>Atl</sub> )	扫描次数(Ns)	混合时间(D8)/s
1D	<sup>1</sup> H NMR	4000	32k		8	
	<sup>13</sup> C NMR	30000	32k		4 K	
	DEPT	30000	32k		4 K	
2D		F1 相干维	F2 观测维			
	COSY	4000	4000	1024	256	8
	HMQC	20000	4000	2048	128	8
	HMBC	30000	4000	2048	128	8
	NOESY	4000	4000	1024	256	8
						0.8

量下 DMSO- $d_6$  的  $^1\text{H}$  NMR 谱(见图 1). 此组谱图明显反映了水峰的化学位移随溶剂中水的含量变化.

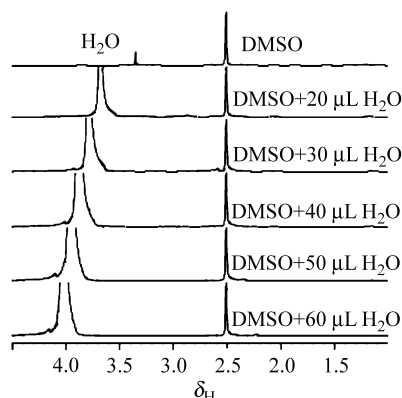


图 1 含水量不同的二甲亚砜溶剂的  $^1\text{H}$  NMR 谱

Figure 1  $^1\text{H}$  NMR spectra of DMSO- $d_6$  with a variety of water amount

利用水峰的相对积分面积进行数学推导得到溶剂开封时的相对含水量(体积比)为 0.03%, 并通过换算得出加入水后测试样品中水的相对百分含量. 以水峰的化学位移( $\delta_{\text{H}}$ )对相对百分含水量( $X_{\text{H}_2\text{O}}$ )作图得到图 2 曲线 A. 结果表明水峰的化学位移随着含水量增加有规律地向低场迁移. 本实验中水峰化学位移的初始值为  $\delta_{\text{H}}$  3.30, 加入 60  $\mu\text{L}$  水后, 溶剂中含水量为 9.1%, 此时水峰的化学位移移至  $\delta_{\text{H}}$  4.03. 以重水( $\text{D}_2\text{O}$ )代替纯水注入 DMSO- $d_6$  溶剂中进行实验, 结果显示了同样的变化趋势. 比较图 2 中的两条实验曲线可以发现, 在相同的实验范围内, 采用  $\text{D}_2\text{O}$  时化学位移变化了  $\approx \Delta\delta_{\text{H}}$  0.4(图 2 曲线 B), 而使用  $\text{H}_2\text{O}$  时则变化了  $\approx \Delta\delta_{\text{H}}$  0.7. 显然普通水对水峰化学位移的调节能力要大于重水.

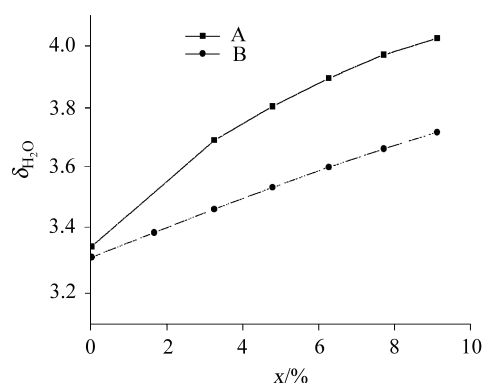


图 2 二甲亚砜溶剂中水峰  $\delta_{\text{H}_2\text{O}}$  随含水  $[V(\text{H}_2\text{O})/V(\text{D}_2\text{O})]$  量变化曲线

Figure 2 Plots of  $\delta_{\text{H}_2\text{O}}$  in DMSO- $d_6$  vs. a variety of  $V(\text{H}_2\text{O})/V(\text{D}_2\text{O})$  amount added

水峰化学位移的变化与水分子内部, 或水、含氧溶剂分子之间的缔合效应有关. 缔合效应的存在使邻近氧

原子对水分子中的质子产生去屏蔽效应, 并由此决定了  $^1\text{H}$  NMR 测试中水峰化学位移的变化. 随着水含量的增加, 水分子自身缔合的比重增加, 水峰的化学位移向纯重水溶剂时残存质子的化学位移值(室温下约为  $\delta_{\text{H}}$  4.7)趋进. 该实验结果还说明在缔合中 DMSO- $d_6$  对水分子质子的去屏蔽能力比  $\text{H}_2\text{O}$  弱些; 而比较加  $\text{H}_2\text{O}$  和加  $\text{D}_2\text{O}$  的两组实验, 结果不难发现, 在缔合中  $\text{H}_2\text{O}$  对水分子上质子的去屏蔽能力又要强于  $\text{D}_2\text{O}$ .

实验说明在二甲亚砜溶剂中, 通过变换  $\text{H}_2\text{O}$  或  $\text{D}_2\text{O}$  的含量可以在一定范围对水峰的化学位移进行调制.  $\text{D}_2\text{O}$  的调节能力弱些, 但优点是增加其含量后水峰信号的强度变化很小, 对核磁共振测量影响不大.  $\text{H}_2\text{O}$  的加入会明显增大水峰信号的强度, 肯定会对测量工作有所影响, 但其对化学位移的调节能力强, 且可以较好地保留活泼质子的核磁共振信息, 因而有利于样品量小或含活泼质子化合物的测量.

## 2.2 水峰调制下样品 MO16 的 $^1\text{H}$ NMR 测试

化合物 MO16 的常规  $^1\text{H}$  NMR 谱图(图 3A)显示: 水峰( $\delta_{\text{H}}$  3.35)信号带有明显的多重肩峰, 水峰下掩盖了样品某些质子信号峰. 同时还发现在水峰两侧都存在着无信号区, 因而有可能利用水峰的调制, 将水峰信号移开.

样品升温可以达到水峰信号向高场迁移的效果<sup>[5,14,15]</sup>, 这种方法简单, 无须引入外来物质, 在现代谱仪上很容易实现, 因而成为本工作的首选. 实验结果显示, 当测试温度升至 343 K 时, 水峰信号移到了较高场的无信号区(见图 3B), 解决了水峰信号与样品信号重叠的问题, 然而谱线的一些特征(线形、化学位移等)也发生了变化, 某些有用的信息也随之消失. 例如: 室温下测量时,  $\delta_{\text{H}}$  3.4 附近原与水峰重叠的一组信号呈现出明显的多重裂分(图 3A), 但在 343 K 温度下测量时只出现了一个单峰, 显然温度变化对信号的精细结构产生了影响. 此外, 新化合物进行 NMR 结构解析的研究时, 需要提供  $^{13}\text{C}$  及二维相关等一系列用时较长的实验, 长时间

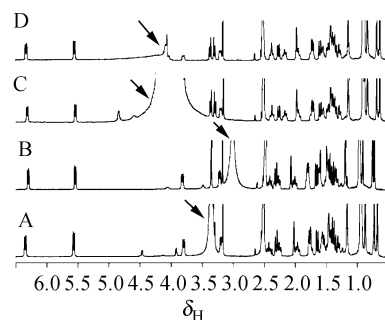


图 3 水峰调制下 MO16 的  $^1\text{H}$  NMR 谱(DMSO- $d_6$ ) (箭头所指为水峰信号)

Figure 3  $^1\text{H}$  NMR spectra of MO16 with the modulation of water peak

处于较高温度, 化合物的稳定性问题必须考虑.

鉴于上述讨论, 最终决定采用增加纯水含量的做法对样品中水峰信号进行调制. 实验中将 50  $\mu\text{L}$  的纯水加进原测试样中, 在室温下重新获取  $^1\text{H}$  NMR 谱. 图 3C 显示水峰化学位移向低场移到了  $\delta_{\text{H}}$  4.05 处, 原被水峰重叠的样品信号完全显露出来, 并清楚地保留了 AB 耦合体系的特征. 在此基础上利用预饱和实验对水峰进行压制, 该区域的信号质量可得到进一步改善(见图 3D).

## 2.3 MO16 的 NMR 结构解析

质谱分析表明该化合物  $m/z$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$  为 527.27, 分子式为  $\text{C}_{30}\text{H}_{48}\text{O}_6$ ; 推算其不饱和度为 7. 结合  $^1\text{H}$  NMR 谱的特征初步判定为三萜类化合物, 综合各种 NMR 实验进行结构解析.

$^1\text{H}$  NMR 谱图分析表明在高场区( $\delta_{\text{H}}$  1.2~0.6 之间)有七组甲基质子的信号, 与齐墩果烷三萜<sup>[3]</sup>的特征谱线吻合. 然而  $\delta_{\text{H}}$  5.57 和 6.34 处一对相互耦合( $^3J_{\text{H-H}}=10.5$

Hz)质子信号,  $^{13}\text{C}$  NMR 谱图显示了三十个碳原子的信号, 其中在  $\delta_{\text{C}}$  126.08, 127.16, 134.96 和 136.93 有四个烯碳信号——存在着两个碳—碳双键, 结合不饱和度的要求可以推测该化合物的骨架结构中只有四个环, 表现出该化合物与已知齐墩果烷三萜存在着差异<sup>[3]</sup>. 此外在低场区  $\delta_{\text{C}}$  176.11 处是一个羧基碳的信号, 在  $\delta_{\text{C}}$  64.35, 67.99, 75.45 和 76.43 有四组饱和接氧碳的特征信号.

HMQC 谱显示了多组仲碳质子磁不等价现象, 反映了萜类化合物多环的骨架结构特征. COSY 和 HMBC 谱的解析结果表明化合物有一个由 4 个六元环并接的骨架结构, 1 个丙酸片段和 1 个异丙二醇片段; 其中水峰调制后  $^1\text{H}$  NMR 谱上观测到的一对谱线( $\delta_{\text{H}}$  3.35 和 3.31)为异丙二醇片段上同碳质子的信号, 信号的 AB 耦合特征反映了其结构的手性特点. 综合分析各种核磁共振实验提供的有关结构数据(实验数据见表 2), 可以确定 MO16 的结构如图式 1 所示.

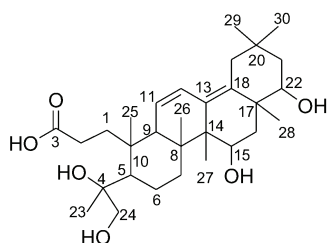
表 2 MO16 相关核磁信号的指认(DMSO- $d_6$ )  
Table 2 NMR signal assignment of MO16 (DMSO- $d_6$ )

No.	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$	COSY	HMBC	NOESY
1a	2.40 (dt, $J=14.0, 4.4$ Hz, 1H)	34.30 (S)	H1b, H2	H25	H1b, H9, H2b, H5
1b	1.72 (dt, $J=14.0, 4.4$ Hz, 1H)		H1a, H2		H1a, H11
2a	2.24 (dt, $J=14.0, 4.4$ Hz, 1H)	29.38 (S)	H1, H2b		H2b, H1b
2b	1.94 (dt, $J=14.0, 4.4$ Hz, 1H)		H1, H2a		H2a, H24a
3	—	176.11 (Q)			
4	—	76.43 (Q)		H23, H24,	
5	1.47 (brs, 1H)	48.56 (T)		H23, H24	H9, H1a, H24a, H23
6a	1.60~1.53 (m, 1H)	21.04 (S)		H5, H6	H6b, H7b, H5, H15, H22
6b	1.49~1.46 (m, 1H)			H	H9, H26, H23
7a	1.58~1.53 (m, 1H)	34.86 (S)		H6b, H26	H6b, H7b, H5, H15, H22
7b	1.48~1.40 (m, 1H)				H9, H26, H23
8	—	41.23 (Q)		H11, H15, H26, H27	
9	2.02 (brs, 1H)	45.72 (T)	H11	H12, H25	H11, H5, H27, H1a, H7b
10	—	40.30 (Q)		H9, H26, H25	
11	5.57 (d, $J=10.5$ Hz, 1H)	126.08 (T)			H12, H26, H9, H1b, H2a
12	6.34 (d, $J=10.7$ Hz, 1H)	127.16 (T)	H11	H9, H19	H11, H19a, H19b, H29, H26
13	—	134.96 (Q)		H11, H12, H27, H19,	
14	—	47.87 (Q)		H12, H15, H16, H27, H28	
15	3.80 (dd, $J=15.0, 5.0$ Hz, 1H)	64.35 (T)	H16a, H16b	H16, H27	H26, H28, H7a, H16a, H16b, H6a
16a	1.77 (d, $J=14.4$ Hz, 1H)	43.41 (S)	H15, H16b	H22, H27, H28	H16b, H15, H22, H28
16b	1.40 (d, $J=14.4$ Hz, 1H)		H15, H16a		H16a, H27, H15, H22
17	—	42.01 (Q)		H15, H16, H21, H22, H28	
18	—	136.92 (Q)		H12, H19, H16a, H30	
19a	2.30 (d, $J=14.8$ Hz, 1H)	37.36 (S)	H19b	H21, H29, H30	H19b, H12, H27, H29
19b	1.64 (d, $J=14.8$ Hz, 1H)		H19a		H19a, H22, H28, H30
20	—	32.17 (Q)		H19, H21, H29, H30	
21a	1.39~1.33 (m, 1)	44.07 (S)	H21b, H22	H19a, H29, H30	H30, H29, H22, H19b

续表

No.	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$	COSY	HMBC	NOESY
21b	1.30 (dd, $J=13.5, 4.0$ Hz, 1H)		H21b, H22		H30, H29, H22, H19b
22	3.19 (dd, $J=14.0, 4.5$ Hz, 1H)	75.46 (T)	H21a, H21b	H21, H30	H16b, H21a, H21b, H29
23	1.16 (s, 3)	26.87 (P)		H24	H6, H5
24a	3.35 (d, $J=11.00$ Hz, 1H)		H24b	H23,	H5, H6a
24b	3.31 (d, $J=11.00$ Hz, 1H)	67.99 (S)	H24a		H5, H6a
25	0.92 (s, 3)	22.47 (P)		H1, H5, H9, H10	H26
26	0.67 (s, 3)	17.12 (P)		H7, H8, H9, H14	H25, H6a, H7a, H12
27	0.87 (s, 3)	14.78 (P)		H15	H16b, H9, H19a
28	0.95 (s, 3)	19.21 (P)		H22, H16, H16	H15, H19b
29	0.74 (s, 3)	25.49 (P)		H19, H21, H30	H19a, H22
30	0.93 (s, 3)	32.59 (P)		H21, H29	H19b
15OH	3.90 (d, $J=4.8$ Hz, 1H)		H15		
22OH	4.46 (d, $J=4.25$ Hz, 1H)		H22		

<sup>a</sup> P—伯碳, S—仲碳, T—叔碳, Q—季碳。



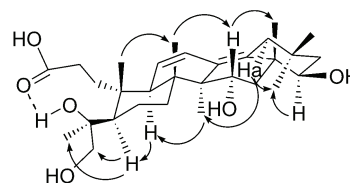
图式 1 MO16 的分子结构图

Scheme 1 The molecular structure of MO16

碳谱中对应于丙酸片段上的两个仲碳的谱线( $\delta_{\text{C}}$  29.38, 34.30)和羧基碳的谱线( $\delta_{\text{C}}$  176.11)明显异常, 出现信号塌陷现象, 同时在 HMBC 谱图上也出现了相关信号缺损的现象. 根据给出结构, 可以推断该化合物在二甲亚砜溶液中存在着 4 位羟基质子与 3 位羧基氧之间形成分子内氢键的过程, 且成键速率常数与核磁共振的时间尺度相近. 加入水后上述几组信号的相对强度明显增加, 谱线变窄. 显然水的加入改变氢键的成键速率, 并导致 NMR 谱学特征上的变化.

## 2.4 相对立体构型的确定

在 NOESY 谱图中, 9-H/5-H, 5-H/23-H, 9-H/27-H, 19a-H/27-H, 19a-H/29-H, 29-H/22-H 之间相关信号的存在, 表明 5, 9 位质子与 23, 27 位甲基, 22, 19a 位质子与 29 位甲基都处于相同的一侧. 15-H/26-H, 15-H/28-H, 25-H/26-H 之间的 NOE 相关信号表明 15 位质子和 25, 26, 28 位甲基处于同一侧. 15-H 和 22-H 的耦合常数(均约为 15 和 5 Hz)提示二质子都处于直立键, 与相邻的质子分别形成  $aa$  和  $ae$  偶合, 从而可以确定 15 位上的羟基为  $\alpha$  构型, 22 位羟基为  $\beta$  构型, 化合物的名称最终确定为 3,4-seco-olean-11,13-dien-4,15 $\alpha$ ,22 $\beta$ ,24-tetraol-3-oic acid.



图式 2 化合物 MO16 结构与 NOE 部分相关

Scheme 2 The structure of MO16 with part of NOE correlations

## 3 小结

本工作获取了二甲亚砜溶剂中水峰的质子化学位移随含水量的变化规律, 在实际样品测试中, 利用该特点, 通过定量加入水的方法实现了水峰化学位移的调制, 有效地抑制了水峰信号对 NMR 谱图分析的干扰. 在此基础上利用多种核磁共振技术顺利地完成了—新发现化合物 MO16 的结构解析, 为该化合物的深入研究和应用提供了重要的结构信息.

## References

- Chen, H.; Hong, K.; Zhuang, L.; Zhong, Q.-P. *Chin. J. Tropical Crops* **2006**, 27, 59 (in Chinese). (陈华, 洪葵, 庄令, 钟秋平, 热带作物学报, **2006**, 27, 59.)
- Li, L.-Y. *Ph.D. Dissertation*, Peking University, Beijing, **2006** (in Chinese). (李莉娅, 博士论文, 北京大学, 北京, **2006**.)
- Handbook of Analytical Chemistry*, 2nd. Ed., Vol. 7, Eds: Yu, D.-Q.; Yang, J.-S., Chemical Industry Press, Beijing, **1999**, Chapter 9.2 (in Chinese). (分析化学手册, 第二版, 第七分册, 于德泉, 杨峻山主

- 编, 化学工业出版社, 北京, **1999**, 9.2 章.)
- 4 Mao, X.-A. *Practical Technology and Application of Modern NMR*, Scientific and Technical Documents Publishing House, Beijing, **2000**, Chapter 10 (in Chinese).  
(毛希安, 现代核磁共振实用技术及应用, 科学技术文献出版社, 北京, **2000**, 第 10 章.)
- 5 Zhu, L.-H.; Ping, L.; Lei, Y. *Acta Chim. Sinica* **2005**, *63*, 1293 (in Chinese).  
(朱龙华, 平磊, 雷毅, 化学学报, **2005**, *63*, 1293.)
- 6 Benesi, A. J.; Grutzeck, M. W.; O'Hare, B.; Phair, J. W. *Langmuir* **2005**, *21*, 527.
- 7 Avram, L.; Cohen, Y. *Org. Lett.* **2002**, *4*, 4365.
- 8 Jiang, H.-L.; Feng, R.; Du, Z.-H. *Chin. J. Magn. Reson.* **1994**, *11*, 93 (in Chinese).  
(姜厚理, 冯锐, 杜泽涵, 波谱学杂志, **1994**, *11*, 93.)
- 9 Smallcombe, S. H.; Patt, S. L.; Keifer, P. A. *J. Magn. Reson. A* **1995**, *117*, 295.
- 10 Mao, X.-A.; Ye, C.-H. *Sci. China, Ser. C: Life Sci.* **1997**, *27*, 315 (in Chinese).  
(毛希安, 叶朝辉, 中国科学(C 辑): 生命科学专栏, **1997**, *27*, 315.)
- 11 Zheng, B.-W.; Liu, Q.-Q.; Chen, Z.; Xie, D.-L. *Analytical Instruments* **2004**, (1), 39 (in Chinese).  
(郑炳文, 刘青青, 陈忠, 谢狄霖, 分析仪器, **2004**, (1), 39.)
- 12 Xu, F.; Huang, Y.-R. *J. Jilin Inst. Chem. Technol.* **2000**, *17*, 87 (in Chinese).  
(许峰, 黄永仁, 吉林化工学院学报, **2000**, *17*, 87.)
- 13 Mizuno, K. *J. Phys. Chem. B* **2000**, *104*, 11001.
- 14 Zhang, R.; Li, H.-R.; Lei, Y.; Han, S.-J. *J. Phys. Chem. B* **2005**, *109*, 7482.
- 15 Hugo, E. G.; Vadim, K.; Abraham, N. *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 7512.

(A0709195 CHENG, F.; ZHAO, C. H.)