



## ОБЗОРНЫЕ СТАТЬИ

УДК 547.454+543.42.23

СПЕКТРОСКОПИЯ  $^{13}\text{C}$ -ЯМР В ХИМИИ УГЛЕВОДОВ  
И РОДСТВЕННЫХ СОЕДИНЕНИЙ

Шашков А. С., Чижов О. С.

Институт органической химии им. Н. Д. Зелинского  
Академии наук СССР, Москва

Дан обзор результатов применения спектроскопии  $^{13}\text{C}$ -ЯМР в химии углеводов, нуклеозидов, нуклеотидов и углеводсодержащих антибиотиков, опубликованных до 1 января 1975 г.

## Содержание обзора

I. Общие положения спектроскопии $^{13}\text{C}$ -ЯМР органических соединений	438
I.1. Химический сдвиг как основной параметр в спектроскопии $^{13}\text{C}$ -ЯМР	438
I.2. Техника съемки и первичной обработки спектров	439
I.3. Факторы, влияющие на химические сдвиги $^{13}\text{C}$	441
I.4. Константы спин-спинового взаимодействия, интегральные интенсивности, времена релаксации	446
II. Химические сдвиги ядер $^{13}\text{C}$ моносахаридов и их производных	452
II.1. Различие в спектрах пираноз и фураноз	457
II.2. Спектры полиолов	458
II.3. Влияние метилирования	458
II.4. Влияние замены С—О-связи на С—Н, С—С, С—Hal	459
II.5. О-Сульфаты моносахаридов	460
II.6. Аминосахара	460
III. Спектры углеводной части нуклеозидов, нуклеотидов и антибиотиков	460
III.1. Нуклеозиды и нуклеотиды	460
III.2. Антибиотики	462
IV. Спектры олигосахаридов	465
V. Спектры $^{13}\text{C}$ -ЯМР полисахаридов	469
VI. Использование КССВ, интегральных интенсивностей линий, времен релаксации и вспомогательных приемов при анализе спектров $^{13}\text{C}$ -ЯМР углеводов	471
VI.1. Внезонансное подавление спин-спинового взаимодействия с протонами ( <i>off</i> -резонанс). КССВ $^{13}\text{C}$ - $^1\text{H}$ в спектрах $^{13}\text{C}$ -ЯМР	474
VI.2. Использование КССВ $^{13}\text{C}$ - $^1\text{H}$ и $^{13}\text{C}$ - $^{31}\text{P}$ при анализе спектров $^{13}\text{C}$ -ЯМР	476
VI.3. Использование интегральных интенсивностей линий	478
VI.4. $T_1$ как параметр спектроскопии ЯМР углеводов	479
VI.5. Вспомогательные методы, облегчающие расшифровку сложных спектров углеводов и их производных	480
VII. Химические сдвиги $^{13}\text{C}$ и поворотная изомерия вокруг гликозидных связей	483

Спектроскопия ядерного магнитного резонанса (ЯМР) на ядрах углерода  $^{13}\text{C}$  — относительно новый метод структурного анализа сложных органических молекул. Первые работы с применением этого метода при исследовании простейших сахаров появились лишь в 1969 г. Однако к настоящему времени накопилось уже достаточное количество публикаций, чтобы, анализируя их содержание, сделать вывод о перспективности спектроскопии  $^{13}\text{C}$ -ЯМР, о ее уникальных возможностях при решении структурных задач и о границах ее применимости на данном этапе развития техники эксперимента.

Приступая к написанию этого обзора, мы ставили целью не только ознакомить химиков и биохимиков с достижениями спектроскопии  $^{13}\text{C}$ -ЯМР в химии углеводов, но и пробудить интерес к использованию этого метода в их собственных исследованиях.

Грамотное применение всякого нового спектрального метода требует знания его физических основ, поэтому мы сочли необходимым привести самые общие положения спектроскопии  $^{13}\text{C}$ -ЯМР и ознакомить с техникой эксперимента.

В обзоре использована литература, опубликованная до января 1975 г., и некоторые более поздние публикации.

## 1. ОБЩИЕ ПОЛОЖЕНИЯ СПЕКТРОСКОПИИ $^{13}\text{C}$ -ЯМР ОРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ

### 1.1. Химический сдвиг как основной параметр в спектроскопии $^{13}\text{C}$ -ЯМР

Основной по распространению изотоп углерода  $^{12}\text{C}$  не имеет магнитного момента и, следовательно, потерян для спектроскопии ЯМР. Вторым по распространению изотоп углерода  $^{13}\text{C}$  имеет спиновое квантовое число  $1/2$  и в этом отношении подобен протону. Однако малое распространение этого изотопа в природе (1,108%) и низкая относительная чувствительность спектроскопии  $^{13}\text{C}$ -ЯМР по сравнению с протонной (всего 0,0159 при равной концентрации магнитных ядер в образце и в одном и том же магнитном поле) обусловили тесную связь развития спектроскопии  $^{13}\text{C}$ -ЯМР с повышением чувствительности метода. Широкое распространение  $^{13}\text{C}$ -ЯМР не было бы возможным без внедрения импульсной и фурье-спектроскопии ЯМР [1]. Возможность быстрого накопления информации в виде спада индуцированного сигнала (СИС) и последующее быстрое машинное преобразование Фурье накопленного сигнала позволяют увеличить чувствительность метода на несколько порядков. Так, накопление 10 000 СИС улучшает соотношение сигнал/шум в 100 раз ( $\sqrt{10\,000}$ ). Поскольку чувствительность метода — основная проблема спектроскопии  $^{13}\text{C}$ -ЯМР, при съемке спектров обычно применяется тотальный двойной резонанс с подавлением спин-спинового взаимодействия ядер  $^{13}\text{C}$  с протонами. В этом случае чувствительность метода  $^{13}\text{C}$ -ЯМР может увеличиться втрое за счет эффекта Оверхаузера (см. ниже), что позволяет при этом условии сократить время накопления по крайней мере в 9 раз по сравнению с «неразвязанным» спектром. Однако при тотальном двойном резонансе теряется информация, связанная со спин-спиновым взаимодействием  $^{13}\text{C}$  —  $^1\text{H}$ ; спектр  $^{13}\text{C}$ -ЯМР получается в виде дискретных нерасщепленных линий (если нет других магнитных ядер, кроме  $^1\text{H}$ , например  $^{19}\text{F}$ ,  $^{31}\text{P}$ ). Таким образом, в рутинном спектре  $^{13}\text{C}$ -ЯМР основную информацию дает положение резонансных линий, т. е. химический сдвиг. Использование в спектроскопии  $^{13}\text{C}$ -ЯМР обычных для протонного магнитного резонанса (ПМР) параметров — констант спин-спинового взаимодействия и интегральных интенсивностей линий — связано с преодолением ряда технических трудностей и (или) требует осторожного индивидуального подхода в каждом конкретном случае.

Повышению информативности метода  $^{13}\text{C}$ -ЯМР в значительной мере способствует использование необычного для ПМР-спектроскопии параметра — времени спин-решеточной релаксации  $T_1$  отдельных химически неэквивалентных ядер  $^{13}\text{C}$  (см. раздел I.4.2).

К настоящему времени накоплен достаточно большой материал по влиянию различных факторов на химические сдвиги ядер  $^{13}\text{C}$  в спектрах ЯМР органических соединений [2]. Оказалось, что в большинстве случаев химические сдвиги  $^{13}\text{C}$  несут исчерпывающую информацию о структуре и стереохимии [3] молекул. В этих условиях другие параметры ЯМР — мультиплетность линий, константы спин-спинового взаимодействия,  $T_1$  — зачастую определяются и используются лишь для отнесения линий спектра к определенным ядрам  $^{13}\text{C}$ .

В первом приближении различают вклады следующих основных факторов в общее экранирование ядер  $^{13}\text{C}$  в диамагнитных молекулах [2, 4]:

а) диамагнитное экранирование, обусловленное диамагнитными токами электронов, окружающих данное ядро и ближайшие соседние ядра;

б) парамагнитное экранирование за счет парамагнитных токов, возникающих при смешении основного и возбужденных электронных состояний под действием внешнего магнитного поля;

в) вклад от анизотропии магнитной восприимчивости соседних атомов или групп атомов.

Существенное различие спектроскопии ПМР и спектроскопии  $^{13}\text{C}$ -ЯМР заключается в относительной величине вкладов этих факторов в экранирование протонов и ядер  $^{13}\text{C}$ . Известно [5], что возбужденные состояния обуславливают парамагнитные токи только в том случае, если при этом происходит переход электронов между  $p$ - и  $d$ -, но не  $s$ -орбиталями. Поскольку электронные орбитали атомов водорода имеют почти исключительно  $s$ -характер, в экранировании протонов парамагнитный вклад относительно мал. Напротив, для ядер  $^{13}\text{C}$  наиболее существен именно парамагнитный вклад, так как атомы углерода имеют валентные  $p$ -электроны. Именно наличием парамагнитного вклада обусловлен большой диапазон химических сдвигов ядер  $^{13}\text{C}$  — около 600 м. д. (для протонов — 20 м. д.).

## I.2. Техника съемки и первичной обработки спектров

### I. 2.1. Приборы

Существуют два основных режима съемки рутинных спектров  $^{13}\text{C}$ -ЯМР: непрерывная развертка по частоте (или полю) и импульсный режим с последующим преобразованием Фурье. Оба режима обычно предусматривают тотальное шумовое подавление спин-спинового взаимодействия протонов с углеродом. При первом режиме (в английской литературе он называется *continuous wave nmr* или *cw nmr*) прохождение всей области частот требует затраты 50—100 с и более. Одного прохождения при естественном содержании изотопа  $^{13}\text{C}$  в веществе может оказаться недостаточно для выделения полезных сигналов среди шумов. В этом случае применяется многократное прохождение с накоплением спектров в цифровом накопителе. Соотношение сигнал/шум при таком накоплении увеличивается пропорционально  $\sqrt{n}$ , где  $n$  — число накоплений (предполагается идеальная стабильность условий резонанса). В импульсном режиме аналогично накапливается СИС. Поскольку СИС несет в принципе всю спектральную информацию [1], а длительность возбуждающего импульса составляет всего несколько микросекунд, время накопления при импульсной методике резко сокращается. Оно определяется в основном временем сбора данных в ЭВМ и задержкой между импульсами, специально вводимой для того, чтобы система спинов могла прийти в равновесие или приблизиться к нему. Практически один цикл накопления СИС при съемке спектров больших

молекул (в частности, углеводов) составляет доли секунды или несколько секунд. Правда, накопленный СИС требует машинного Фурье-преобразования в «нормальный» спектр, однако время преобразования обычно очень мало по сравнению с общим временем накопления. Таким образом, импульсный режим (в английской литературе *Fourier transform nmr* или *ft nmr*) обычно дает большой выигрыш во времени при съемке рутинных спектров  $^{13}\text{C}$ -ЯМР по сравнению с режимом *sw nmr* (см. выше).

Для съемки в режиме непрерывной развертки можно использовать приборы, обычные в протонной спектроскопии, но, естественно, дополненные датчиком, генератором, работающим в области частот резонанса  $^{13}\text{C}$ , и соответствующим приемником, а также приспособлением для шумового или селективного подавления спин-спинового взаимодействия протонов с углеродом, цифровым накопителем. К числу таких приборов относятся, например, HA-100 («Varian», США), 4H-100 (JEOL, Япония), HX-90 («Bruker», ФРГ) и др.

Для съемки в импульсном режиме необходимы приборы с импульсными генераторами и ЭВМ, обеспечивающей накопление СИС и его Фурье-преобразование. Из наиболее распространенных и доступных приборов можно отметить XL-100 («Varian»), PS-100 (JEOL), WH-90 и HX-90 («Bruker») и др. Появились относительно дешевые *ft nmr*-приборы с малыми магнитами и рабочей частотой по углероду 15 или 20 МГц: многоядерный WP-60 («Bruker») и двуядерный ( $^{13}\text{C}$  и  $^1\text{H}$ ) CFT-20 («Varian»).

### 1. 2. 2. Подготовка образца и первичная обработка спектра

Ампулы для съемки спектров  $^{13}\text{C}$ -ЯМР обычно имеют больший диаметр (8—20 мм), чем ампулы для ПМР (5 мм). Благодаря этому достигают лучшей чувствительности при некотором ухудшении разрешения. Как и при съемке протонных спектров, возможно применение специальных вкладышей для ограничения общего объема образца.

Требования к растворителю менее жесткие, чем в спектроскопии ПМР (большой диапазон химических сдвигов  $^{13}\text{C}$  уменьшает вероятность перекрывания сигналов от растворителя и субстрата), однако желательно применение дейтерированных растворителей по двум причинам: 1) сигналы дейтерированных растворителей много слабее, чем недейтерированных; 2) стабилизация по условиям резонанса в большинстве приборов осуществляется по ядрам дейтерия. Если применяют недейтерированный растворитель, для стабилизации условий резонанса используют коаксиальную ампулу меньшего диаметра, чем основная, с дейтерированным веществом (например,  $\text{D}_2\text{O}$ ,  $\text{C}_6\text{D}_6$ ,  $\text{CDCl}_3$  и т. д.).

Как и в спектроскопии ПМР, химические сдвиги измеряют в миллионных долях (м.д.) относительно внутреннего или внешнего эталона и пересчитывают в отношении к стандартному эталону. В ранних работах в качестве стандартного эталона использовали сероуглерод ( $\text{CS}_2$ ), причем химический сдвиг считали положительным, если линия исследуемого вещества лежала в более высоком поле, чем сигнал от  $\text{CS}_2$ . В настоящее время в качестве стандартного эталона выбран тетраметилсилан (ТМС) и  $\delta$ -шкала сдвигов, аналогичная принятой в ПМР. Это означает, что линии, лежащие в низких полях от ТМС, имеют положительные значения химических сдвигов; чем больше величина химического сдвига, тем меньше величина экранирования ядра  $^{13}\text{C}$ . В настоящем обзоре применяется только  $\delta$ -шкала с началом отсчета от ТМС, данные всех ранних публикаций пересчитаны к этой шкале с использованием табл. 1 [2a].

Еще раз обратим внимание, что при съемке спектров  $^{13}\text{C}$ -ЯМР с накоплением время накопления сильно зависит от концентрации субстрата: увеличение концентрации вдвое позволяет сократить время накопления в 4 раза для достижения того же соотношения сигнал / шум. Для повы-

Химические сдвиги некоторых эталонов и растворителей  
в  $\delta$ -шкале

(относительно ТМС как внутреннего стандарта, 38°)

Соединение, растворитель	Химический сдвиг ( $\pm 0,05$ ), м.д.	
	протонное соединение	пердеитерированное соединение
Циклогексан	27,5	26,1
Ацетон (СН <sub>3</sub> )	30,4	29,2
Диметилсульфоксид	40,5	39,6
Хлористый метилен	54,0	53,6
Диоксан	67,4	
Хлороформ	77,2	76,9
Четыреххлористый углерод	96,0	
Бензол	128,5	128,0
Уксусная кислота (СО)	178,3	
CS <sub>2</sub> внутренний	192,8	
CS <sub>2</sub> внешний, в капилляре	193,7	

шения концентрации (и снижения вязкости) раствора полезно проводить съемку при повышенной температуре.

При съемке спектров <sup>13</sup>С-ЯМР углеводов наиболее часто употребляемыми растворителями являются D<sub>2</sub>O, CDCl<sub>3</sub>, C<sub>6</sub>D<sub>6</sub>; эталонами — ТМС (внутренний и внешний), <sup>13</sup>CS<sub>2</sub>, диоксан, бензол, ацетон (СН<sub>3</sub> и С=О), метанол.

Время съемки зависит как от концентрации изучаемого вещества, так и от сложности его молекулы. Спектр моносахарида при большой концентрации субстрата (2—5 М) можно получить, используя импульсную методику, в течение 1—2 мин при нескольких десятках накоплений. Спектры полисахаридов (особенно с нерегулярным строением цепи) накапливаются многими часами, иногда сутками, так как создание большой концентрации субстрата приводит в этом случае к значительному возрастанию вязкости раствора или вообще невозможно из-за малой растворимости полимера.

1.3. Факторы, влияющие на химические сдвиги <sup>13</sup>С

## 1.3.1. Гибридизация атома углерода

*sp*<sup>3</sup>-Гибридизированные атомы углерода дают резонансные линии в наиболее сильном поле (0—50 м.д.), *sp*<sup>2</sup>-гибридизированные атомы углерода — в наиболее слабом поле (100—150 м.д.). Промежуточное положение занимает область резонанса *sp*-гибридизированных атомов углерода (67—92 м.д.). Исключение составляет центральный атом углерода в алленовых структурах, резонирующий в очень слабом поле (198—213 м. д.) [3].

## 1.3.2. Электроотрицательность заместителей

Экспериментально найдено, что электроотрицательные заместители смещают положение резонансных линий ближайших <sup>13</sup>С в низкое поле (исключение — объемистые заместители, например йод). Влияние электроотрицательного заместителя затухает с удалением от него атома углерода (по числу связей), но оно еще может быть заметным на  $\epsilon$ -углероде в линейных структурах. Характерно, что электроотрицательный заместитель в  $\gamma$ -положении смещает положение сигнала <sup>13</sup>С в высокие поля (см. раздел 1.3.4). Влияние заместителей аддитивно по своей природе. Грант и Пол [6] для ациклических замещенных углеводов нашли аддитив-

ную формулу для расчета химических сдвигов:

$$\delta_C^i = B + \sum_j A_j n_{ij}, \quad (1)$$

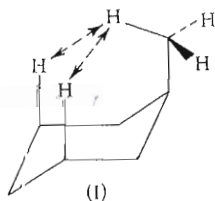
где  $\delta_C^i$  — химический сдвиг  $i$ -го атома углерода,  $B$  — константа для данного ряда родственных соединений,  $A_j$  — аддитивный параметр для  $j$ -й позиции,  $n_{ij}$  — число заместителей в  $j$ -й позиции.

### 1.3.3. Влияние анизотропии магнитной восприимчивости соседних атомов или групп. Влияние растворителей

Поскольку эффект анизотропии является свойством возмущающей группы, а не самого ядра, резонанс которого наблюдают, вклад от анизотропии в общее экранирование ядер  $^{13}\text{C}$  не может превышать нескольких процентов от общей величины экранирования [7]. Действительно, в спектроскопии ПМР этот вклад достигает иногда десятков процентов, но диапазон химических сдвигов в спектроскопии  $^{13}\text{C}$ -ЯМР на порядок величины больше, чем в ПМР, и поэтому доля вклада от анизотропии магнитной восприимчивости соседних атомов или групп соответственно меньше в спектроскопии  $^{13}\text{C}$ -ЯМР по сравнению со спектроскопией ПМР. По этой же причине сдвиги за счет ароматических растворителей в спектроскопии  $^{13}\text{C}$ -ЯМР относительно невелики. Однако полярность растворителя играет более существенную роль, так как она может влиять на распределение электронной плотности в молекуле субстрата.

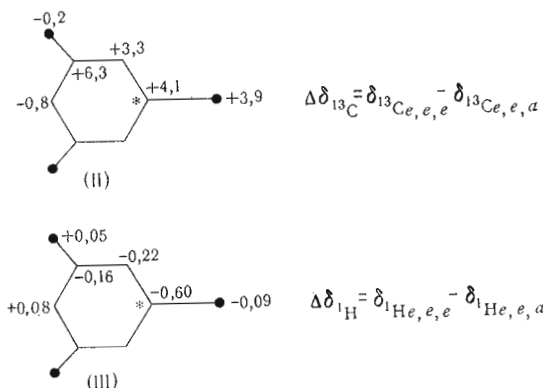
### 1.3.4. Стерические возмущения химических сдвигов $^{13}\text{C}$

Стерические возмущения химических сдвигов, или «эффекты сжатия», играют чрезвычайно важную роль при анализе структуры органических веществ по данным спектров  $^{13}\text{C}$ -ЯМР. Явление заключается в том, что атомы углерода, испытывающие стерические воздействия, дают линию резонансного поглощения в более высоком поле по сравнению с аналогичными атомами углерода, не подвергающимися такому воздействию. Этот эффект особенно четко проявляется в циклических соединениях с ограниченной конформационной подвижностью [7—16]. Так, исследование серии метилзамещенных циклогексанов показало, что аксиальная  $\text{CH}_3$ -группа вызывает смещение сигнала  $\gamma$ -углерода в высокое поле на 6 м. д. по сравнению с циклогексаном [8—10, 15]. Метильный заместитель в экваториальном положении практически не влияет на химические сдвиги  $\gamma$ -углерода. Такую разницу в экранировании  $\gamma$ -углерода в метилциклогексанах с аксиальными и экваториальными заместителями нельзя объяснить различием во влиянии анизотропии связей — на протонах при  $\gamma$ -углероде нет эффекта такого масштаба. Наиболее приемлемая модель для объяснения стерического эффекта предполагает поляризацию валентных электронов в молекуле в результате пространственного (« $\gamma$ -гош») взаимодействия близких протонов (конформационная формула (1)).



Грант и Чини [6, 7] дали полуколичественное обоснование этой точки зрения. Они показали, что даже небольшие изменения в электронной плотности вокруг ядер вызывают существенные изменения в отталкивании

между электронами и в параметре «эффективного заряда на ядре». В свою очередь изменения в эффективном заряде на ядре самым существенным образом влияют на парамагнитную составляющую экранирования и в значительной степени — на диамагнитную. При этом увеличение отрицательного заряда на ядре вызывает уменьшение парамагнитной составляющей и сдвиг сигнала соответствующего углерода в высокое поле. Таким образом, высокополевые сдвиги возникают за счет стерически индуцированной поляризации заряда вдоль связи Н—<sup>13</sup>С. Перлин и Кох [10] экспериментально подтвердили такого рода поляризацию, сравнивая спектры <sup>13</sup>С-ЯМР и ПМР 1,3,5-триметилциклогексанов. Ниже показана разность химических сдвигов (м. д.) <sup>13</sup>С (II) и <sup>1</sup>Н (III) для *цис-цис* (e, e, e)- и *цис-транс*-(e, e, a)-1,3,5-триметилциклогексанов (место инверсии обозначено звездочкой).



Из сопоставления  $\Delta\delta_{^{13}\text{C}}$  и  $\Delta\delta_{^1\text{H}}$  видна противоположная направленность влияния инверсии на резонанс ядер <sup>13</sup>С и <sup>1</sup>Н и значительно большее абсолютное изменение химических сдвигов изотопа углерода по сравнению с протонами. Аналогичное явление наблюдается и при инверсии других заместителей (ОН, галогены).

Сопоставление суммы химических сдвигов всех кольцевых атомов углерода с энтальпией образования ряда изомерных циклогексановых производных показало [10], что суммарное экранирование закономерно и аддитивно увеличивается с увеличением отгалкивающего взаимодействия и соответственно с уменьшением энтальпии.

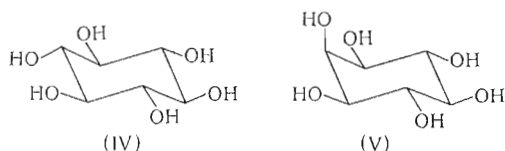
Таким образом, дестабилизирующее взаимодействие в этой серии замещенных циклогексанов изменяет поляризацию связей С—Н, повышая электронную плотность на ядрах <sup>13</sup>С. Эффект сжатия делокализуется по многим связям С—Н в молекуле.

В работе Робертса и соавт. [11] более подробно изучена корреляция между химическими сдвигами ядер <sup>13</sup>С спиртов и соответствующих углеводородов, в которых на месте гидроксила стоит СН<sub>3</sub>-группа. Эта корреляция оказалась линейной:

$$\begin{aligned} \delta_{\text{C}_\alpha\text{-OH}} &= \delta_{\text{C}_\alpha\text{-CH}_3} - 10,5 \text{ м.д.} \\ \delta_{\text{C}_\beta\text{-OH}} &= \delta_{\text{C}_\beta\text{-CH}_3} - 0,5 \text{ м.д.} \\ \delta_{\text{C}_\gamma\text{-OH}} &= \delta_{\text{C}_\gamma\text{-CH}_3} + 1,7 \text{ м.д.} \\ \delta_{\text{C}_\delta\text{-OH}} &= \delta_{\text{C}_\delta\text{-CH}_3} \end{aligned} \quad (2)$$

Наибольший интерес для спектроскопии <sup>13</sup>С-ЯМР углеводов представляют закономерности, найденные для циклических и ациклических полиолов [16—18]. Общие правила, найденные для этого ряда соединений, оказались полезными при расшифровке спектров углеводов. Робертс

с сотрудниками [12] получили и расшифровали спектры  $^{13}\text{C}$ -ЯМР большого ряда инозитов и их О-метильных производных. Была обнаружена значительная разница во влиянии аксиальных и экваториальных гидроксильных групп на положение сигналов  $\alpha$ -,  $\beta$ - и  $\gamma$ -углеродов. Этот эффект особенно четко выражен для  $\alpha$ - и  $\gamma$ -углеродных атомов, сигналы которых смещены на несколько миллионных долей в более высокое поле, когда гидроксил аксиален. Авторы относят этот сдвиг за счет 1,3-диаксиального взаимодействия, уже упомянутого выше. Предполагая, что химические сдвиги ядер  $^{13}\text{C}$  в спектрах инозитов изменяются аддитивно и независимо друг от друга с ростом стерических возмущений при эпитеризации любого центра в молекуле, авторы попытались найти эмпирические константы, позволяющие предсказывать положение линий резонанса  $^{13}\text{C}$  для любого инозита, исходя из спектра подходящего эпитера. Для инозитов с экваториальным гидроксидом при  $\alpha$ -углероде за начальную точку отсчета принят химический сдвиг *цилло*-инозита (IV)



Начальной точкой для расчета химических сдвигов  $^{13}\text{C}$  в спектрах инозитов, имеющих аксиальную группу при  $\alpha$ -углероде, выбран химический сдвиг единственного углерода с аксиальной ОН-группой в *мио*-инозите (V). Оказалось, что набор из ограниченного числа констант позволяет предсказать химические сдвиги (м. д.) всех атомов углерода в эпитерных инозитах:

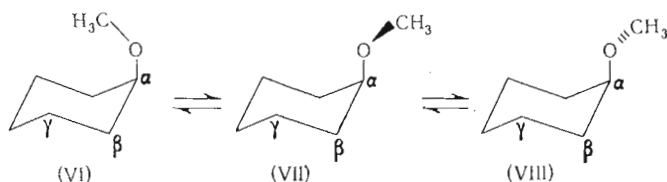
$$\begin{aligned} \beta_{\text{экв}} - 1,7 \pm 0,3, & \quad \beta_{\text{акс}} - 0,6 \\ \gamma_{\text{экв}} - 2,8 \pm 0,3, & \quad \gamma_{\text{акс}} + 2,3 \\ \delta_{\text{экв}} + 0,7 \pm 0,5, & \end{aligned}$$

Здесь символы  $\beta$ ,  $\gamma$  и  $\delta$  означают, что эпитеризация из экваториального положения в аксиальное происходит соответственно при  $\beta$ -,  $\gamma$ - и  $\delta$ -углероде, а индексы «экв» и «акс» указывают на то, что гидроксил при атоме углерода, химический сдвиг которого рассчитывается, находится в экваториальном или соответственно аксиальном положении. Знак «минус» отвечает сдвигу в высокое поле (большее экранирование). В тех случаях, где удалось оценить среднюю квадратичную ошибку измерения, она оказалась относительно небольшой, однако отдельные отклонения значений рассчитанных химических сдвигов от экспериментальных достигают 1,3 м. д. В связи с этим авторы отмечают, что разность химических сдвигов двух эпитеров можно предсказать по предложенному способу значительно точнее, чем сами химические сдвиги.

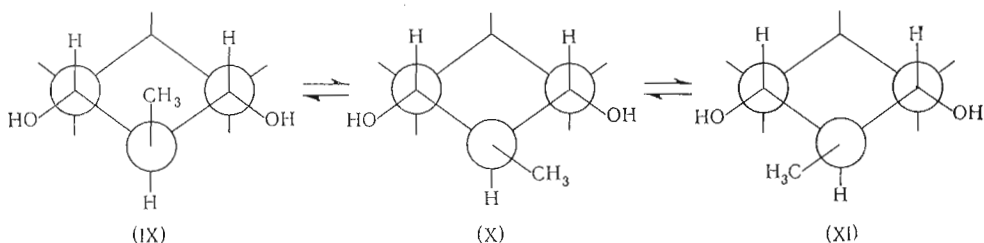
Объяснение изменений химических сдвигов за счет стерических взаимодействий, и в особенности за счет  $\gamma$ -*гош*-взаимодействия, оказалось чрезвычайно плодотворным при конформационном анализе циклических систем. В дальнейшем у нас будет возможность продемонстрировать это положение непосредственно для производных углеводов. Здесь же мы ограничимся иллюстрацией общих принципов конформационного анализа на основе спектров  $^{13}\text{C}$ -ЯМР на примере метилированных инозитов. Дорман и Робертс [19] показали, что метилирование гидроксила в инозитах вызывает значительный низкочастотный сдвиг сигнала ближайшего углерода ( $\alpha$ -эффект). Метилирование аксиальной группы ведет к сдвигу сигналов  $\beta$ -углеродов, несущих экваториальные ОН-группы, в высокое поле приблизительно на 4,5 м. д. ( $\beta$ -эффект). При этом  $\gamma$ -эффект практически равен нулю. Эти факты находятся в полном соответствии с обычными представлениями об относительной выгодности различных возможных конформа-



ций для метилированного по аксиальной ОН-группе инозита [20]. Действительно, если предположить, что количество конформера (VI) в равновесной смеси много меньше, чем (VII) и (VIII), отсутствие  $\gamma$ -эффекта легко объяснимо. С другой стороны, метоксильный углерод находится в  $\gamma$ -по-

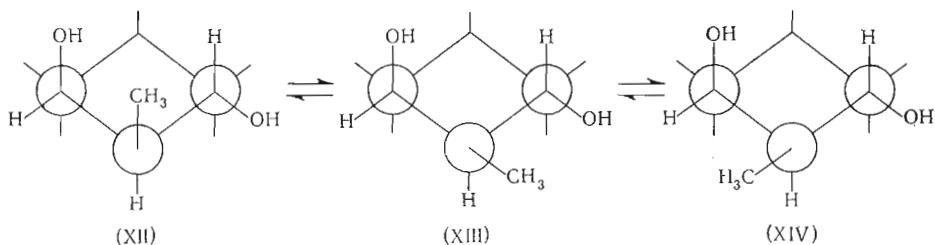


положении относительно С2 в конформере (VII) (или С6 в (VIII)) и, таким образом, для С2 и С6 должен наблюдаться высокопольный сдвиг порядка 5 м. д. [7]. Малый  $\beta$ -эффект ( $-0,7$  м. д.) в случае метилирования экваториальной ОН-группы для  $\beta$ -атомов углерода, несущих экваториальные ОН-группы, легко объясняется с той же точки зрения.



Из трех возможных ротамеров (IX), (X), (XI) наименее выгоден (IX), где два атома углерода расположены в  $\gamma$ -пош-положении по отношению к  $\text{CH}_3$ -группе ( $\beta$ -эффект для такого ротамера должен быть порядка  $-5$  м. д.). Ротамеры (X) и (XI), в которых имеется лишь один атом углерода в  $\gamma$ -пош-положении к заместителю, очевидно, должны преобладать. Заметим, что стерическое взаимодействие О-метильной группы с гидроксилом в экваториальном положении, судя по величине  $\beta$ -эффекта,  $-0,7$  м. д., слабее, чем с протоном.

И наконец, рассмотрим более сложный случай метилирования по экваториальной ОН-группе, когда ОН-группа при одном из  $\beta$ -углеродов экваториальна, а при другом — аксиальна (ротамеры (XII), (XIII), (XIV)).

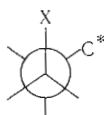


Поскольку  $\beta$ -эффект на углероде с экваториальной ОН-группой так же мал, как и в предыдущем случае, а на углероде с аксиальной ОН-группой составляет  $-4,4$  м. д., очевидно, устойчивость ротамеров возрастает в ряду (XII)  $<$  (XIII)  $<$  (XIV).

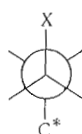
Такого рода конформационный анализ основан лишь на сопоставлении величин химических сдвигов  $^{13}\text{C}$  в изомерах, но он оказался достаточно эффективным и при исследовании более сложных молекул, в частности углеводов [21, 22] (см. раздел VII).

### 1.3.5. Влияние гиперконъюгации

До сих пор все дальние взаимодействия, рассмотренные здесь, укладывались в рамки эффекта стерического сжатия вообще или более частного эффекта —  $\gamma$ -*gauche*-взаимодействия.



(XV)



(XVI)

Напомним, что в системе типа (XV), где X — углерод или гетероатом, находящийся в *gauche*-положении к углероду C\*, наблюдается высокопольный сдвиг резонанса C\* по сравнению с таковым в системе (XVI), где углерод стоит в *trans*-положении к X. Однако недавно большая группа авторов [23] обратила внимание на аномально высокие сдвиги C\*, в структурах типа (XVI), когда X = N, O, F, но не CH<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>, S, Cl. Наиболее резонным авторы считают объяснение  $\gamma$ -*trans*-эффекта на основе взаимодействия гиперконъюгативного типа свободных пар на атомах O, N или F со связью C <sub>$\alpha$</sub>  — C <sub>$\beta$</sub> , сопровождаемого последующим альтернированием электронной плотности на  $\gamma$ -*trans*-перипланарном углероде. Атомы хлора и серы, имеющие большие ковалентные радиусы, менее способны к *rp*-взаимодействию с орбиталями углерода и потому не проявляют  $\gamma$ -*trans*-эффекта.

## 1.4. Константы спин-спинового взаимодействия, интегральные интенсивности, времена релаксации

### 1.4.1. Константы спин-спинового взаимодействия (КССВ)

При структурном анализе на основе спектров ПМР КССВ являются столь же важным параметром, как и химические сдвиги. Не существует никаких принципиальных трудностей и для использования констант  $J_{C,H}$  в структурном анализе с использованием закономерностей, уже найденных для констант  $J_{H,H'}$ .

Тем не менее использование КССВ углерода с протоном при анализе спектров ЯМР веществ с природным содержанием <sup>13</sup>C не получило широкого распространения по ряду технических причин.

Существует два способа определения КССВ  $J_{C,H}$ : по протонным спектрам и по спектрам <sup>13</sup>C-ЯМР. В первом случае наблюдаются так называемые спутники <sup>13</sup>C, т. е. сигналы протонов, имеющих КССВ с ядром <sup>13</sup>C. Учитывая небольшую интенсивность этих сигналов (вследствие малого содержания изотопа <sup>13</sup>C и расщепления сигналов), близость основного (не расщепленного на углероде) протонного сигнала и малый диапазон химических сдвигов (что увеличивает вероятность наложения сигналов от других протонов на спутники <sup>13</sup>C), трудно представить, чтобы этот метод стал обычным для достаточно сложных соединений. Кроме того, без применения специальной техники этот метод позволяет наблюдать лишь достаточно большие константы  $J_{C,H}$  через одну, в редких случаях через две связи.

При определении КССВ  $J_{C,H}$  из спектров <sup>13</sup>C-ЯМР, естественно, приходится отказаться от подавления спин-спинового взаимодействия углерода с протонами, что резко повышает время накопления сигналов как вследствие отсутствия эффекта Оверхаузера, так и ввиду дополнительного расщепления углеродного сигнала на протонах. По этим причинам использование констант  $J_{C,H}$  пока не получило большого распространения в спектроскопии <sup>13</sup>C-ЯМР сложных соединений, в том числе углеводов. Однако

перспективы использования КССВ  $J_{C,H}$  в спектроскопии  $^{13}C$ -ЯМР в настоящее время являются очень обнадеживающими. Это связано как с увеличением чувствительности метода и разрешающей способности спектрометров, так и с применением новой техники эксперимента, которая позволяет получить спектр  $^{13}C$  с «нормальными» КССВ  $J_{C,H}$  и с частичным использованием эффекта Оверхаузера [24] (см. раздел VI.1).

Использование КССВ углерода с другими магнитными ядрами уже сейчас является обычным приемом, так как часто эти константы видны в «обычном» (т. е. снятом в условиях подавления спин-спинового взаимодействия углерода с протонами) спектре  $^{13}C$ -ЯМР. В частности, при анализе спектров  $^{13}C$ -ЯМР нуклеотидов важным аналитическим параметром является КССВ  $J_{^{13}C,^{31}P}$ .

#### 1.4.2. Времена релаксации $T_1$

Широкое распространение импульсной методики съемки спектров  $^{13}C$ -ЯМР позволяет относительно просто получать один из важнейших параметров ЯМР — время спин-решеточной релаксации  $T_1$  отдельных видов ядер в молекуле [1]. В состоянии термодинамического равновесия распределение ядер по уровням энергии подчиняется закону Больцмана. После любого воздействия, нарушающего это распределение (изменение напряженности внешнего магнитного поля, поглощение энергии электромагнитного излучения системой ядер), система возвращается в состояние равновесия с окружающей средой («решеткой»), но не мгновенно, а с конечной скоростью, которая в итоге определяется интенсивностью обмена энергией между системой магнитных моментов ядер и окружающей их «решеткой». Поскольку окружение каждого вида ядер в молекуле и спектр их движений различаются, время возвращения в состояние равновесия является характеристическим параметром для данного вида ядер. Возвращение ядер в состояние равновесия представляет собой релаксационный процесс кинетически первого порядка и характеризуется временем спин-решеточной релаксации  $T_1$ . Время  $T_1$  для различных ядер может изменяться в широком диапазоне (от  $10^{-4}$  до  $10^4$  с) и зависит как от функции спектральной плотности  $J$ , определяющей вероятности молекулярных движений с частотой, близкой к резонансной для данного вида ядер, так и от силы связи спиновой системы с решеткой [1].

Обмен энергией между системой магнитных ядер и «решеткой» осуществляется посредством следующих физических взаимодействий: а) магнитного диполь-дипольного взаимодействия; б) электрического квадрупольного взаимодействия; в) влияния анизотропии химического сдвига; г) скалярного взаимодействия; д) спин-вращательного взаимодействия [1].

Не имея возможности подробно разбирать указанные механизмы релаксации, мы попытаемся привести лишь некоторые конкретные выводы, вытекающие из рассмотрения теории релаксации, которые могут быть полезны при анализе спектров  $^{13}C$ -ЯМР углеводов.

а) Диполь-дипольное взаимодействие в органических молекулах является, как правило, доминирующим в процессе релаксации. В особенности это относится к большим и несимметричным молекулам, не имеющим магнитных ядер со спином  $> 1/2$ , спектры которых снимаются при комнатной температуре. Диполь-дипольный механизм релаксации обусловлен наличием флуктуирующих магнитных полей, возникающих при движении магнитных ядер (которые рассматриваются как точечные магнитные диполи) в постоянном магнитном поле. Молекулярные движения обеспечивают широкий спектр частот изменения магнитного поля возле наблюдаемого ядра, и если в этом спектре частот имеется достаточно интенсивная компонента с частотой, совпадающей с резонансной для данного ядра, последнее может активно участвовать в обмене энергией с решеткой, т. е. время спин-решеточной релаксации для такого ядра будет мало. Интенсивность компоненты с частотой, резонансной для данного ядра, зависит от характера движения как молекулы в целом, так и ее отдельных фрагментов. Время релаксации по диполь-дипольному механизму зависит от расстояния между взаимодействующими диполями (оно возрастает пропорционально шестой степени от расстоя-

вия) и гиромангнитного отношения взаимодействующих ядер (обратно пропорционально произведению квадратов гиромангнитных отношений). В органических молекулах в связи с этим можно предполагать особенно большой вклад в релаксацию от диполь-дипольного взаимодействия между атомами углерода  $^{13}\text{C}$  и непосредственно связанными с ними протонами.

б) Квадрупольная релаксация характерна лишь для ядер со спиновым квантовым числом  $I \geq 1$ . Такие ядра имеют несферическое распределение заряда и обладают квадрупольным моментом. При движении молекулы в целом и фрагментов, включающих ядро с квадрупольным моментом, возникают флуктуации электрического поля, обеспечивающие эффективный обмен энергией между этим ядром и решеткой. Ядра  $^{13}\text{C}$  ( $I = 1/2$ ) не релаксируют по квадрупольному механизму, однако соседние ядра, имеющие квадрупольный момент и быстро релаксирующие по квадрупольному механизму, могут способствовать релаксации  $^{13}\text{C}$  по скалярному механизму второго рода (см. ниже п. «г»).

в) Величина диамагнитного экранирования магнитного ядра за счет токов, наведенных в окружающем электронном облаке, не является в общем случае изотропной величиной в магнитном поле. Вследствие молекулярного движения в жидкости экранирование ядра усредняется. Однако на малых интервалах времени на ядро действуют флуктуации локального магнитного поля, и если экранирование в различных направлениях на рассматриваемом ядре различно, создаются условия для механизма релаксации за счет анизотропии химического сдвига. Интенсивность этого механизма релаксации (как и сама величина экранирования) зависит от напряженности внешнего магнитного поля, а время релаксации пропорционально квадрату напряженности внешнего магнитного поля и квадрату разности экранирования по двум осям (при наличии оси симметрии), а также сложным образом зависит от молекулярного времени корреляции\*.

г) Ядра  $^{13}\text{C}$ , имеющие спин-спиновую (скалярную) связь с другими ядрами, могут релаксировать по скалярному механизму, если по какой-либо причине величина локального поля, создаваемого соседними магнитными ядрами в месте расположения  $^{13}\text{C}$ , флуктуирует во времени. Эти флуктуации могут возникать как за счет быстрого обмена ядром, обладающим магнитным моментом, например протоном (скалярная релаксация первого рода), так и за счет эффективной релаксации соседних ядер с  $I \geq 1$  по квадрупольному механизму (скалярная релаксация второго рода).

При химическом обмене протоном локальное поле на соседних ядрах  $^{13}\text{C}$  зависит от ориентации спина протона, участвующего в обмене, и от характера связи протона с молекулой. Это поле по абсолютной величине меняется от нуля, когда протон не связан с молекулой, до максимальной конечной величины, характерной для связанного протона. Быстрый обмен протоном приводит к исчезновению мультиплетной структуры, характерной для спин-спинового взаимодействия наблюдаемого ядра с протоном, при промежуточных скоростях обмен может привести к уширению линии наблюдаемого ядра.

Скалярная релаксация второго рода также может сопровождаться уширением резонансных линий  $^{13}\text{C}$ . Так, ядра углерода, непосредственно связанные с  $^{14}\text{N}$  или  $^{11}\text{B}$ , обычно имеют уширенные сигналы. Однако при очень быстрой релаксации ядер по квадрупольному механизму (Cl, Br) уширение линий соседних с ними  $^{13}\text{C}$  не наблюдается.

д) Спин-вращательное взаимодействие обусловлено магнитными полями, возникающими за счет движения магнитного момента молекулы в целом или ее отдельных групп. Спин-вращательный механизм релаксации играет большую роль для малых и симметричных молекул.

Основываясь на количественной оценке вкладов от различных механизмов релаксации, Аллерхенд и Доддрелл [25] предложили общие принципы использования величины времен релаксации для отдельных линий при анализе спектров  $^{13}\text{C}$ -ЯМР сложных молекул.

*Принцип А.* Релаксация атомов углерода, непосредственно соединенных с протонами, в подавляющей мере определяется диполь-дипольным взаимодействием с этими протонами. Время релаксации для этого случая дается приближенным выражением

$$R_1 \equiv \frac{1}{T_1} = N \hbar^2 \gamma_C^2 \gamma_H^2 r^{-6} \tau_{\text{эфф}}, \quad (3)$$

где  $\gamma_C$  и  $\gamma_H$  — гиромангнитные отношения для  $^{13}\text{C}$  и  $^1\text{H}$ ,  $\hbar$  — приведенная постоянная Планка ( $\hbar / 2\pi$ ),  $r$  — расстояние между атомом углерода и протоном,  $N$  — число непосредственно присоединенных протонов,  $\tau_{\text{эфф}}$  — эффективное время корреляции для вращательной реориентации молеку-

\* Время корреляции по порядку величины совпадает с временем поворота молекулы на один радиан или линейного смещения на расстояние, сравнимое с ее размерами.

лы и (или) ее фрагмента. Формула (3) имеет простые практически важные следствия, однако следует сразу оговорить границы ее применимости.

Формула (3) неприменима к малым симметричным молекулам, так как в этом случае может быть большим вклад в  $R_1$  от спин-вращательного механизма релаксации.

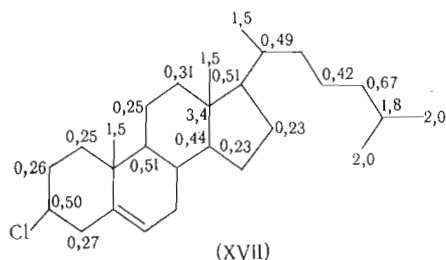
Следствия из формулы (3) нужно применять с осторожностью при анализе величин времен релаксации атомов углерода с большой анизотропией химического сдвига (например, атомов углерода при кратной связи), так как в этом случае вклад от соответствующего механизма релаксации может быть сравним с вкладом от диполь-дипольного механизма.

Уравнение (3) справедливо в условиях полного подавления спин-спинового взаимодействия с протонами и в условиях, когда  $1/\tau_{эфф}$  гораздо больше, чем резонансная частота протонов в данном эксперименте. Имея в виду формулу (3) и указанные выше ограничения, Аллерхенд и Доддрелл формулируют следующие два принципа анализа спектров  $^{13}\text{C}$ -ЯМР с использованием времен релаксации линий  $^{13}\text{C}$ .

**Принцип В.** При сравнимых  $\tau_{эфф}$  непротонированный углерод имеет гораздо большее время релаксации  $T_1$ , чем протонированный.

**Принцип С.** Различные атомы углерода в одной и той же молекуле не обязательно должны иметь одно и то же  $\tau_{эфф}$ . Разница может возникнуть за счет анизотропии реориентации молекулы как целого и (или) из-за внутренней реориентации ее фрагментов. Как следствие, значения  $1/NT_1$  для протонированных атомов углерода не равны в одной и той же молекуле. Для быстро реориентирующихся групп  $T_1$  (при обычных температурах измерения) всегда больше, чем для малоподвижных групп.

Проиллюстрируем применение принципов Аллерхенда и Доддрелла на примере из работы тех же авторов и Комороски [26]. В формуле холестерилхлорида (XVII) показаны времена релаксации (секунды) для многих атомов углерода:



Все протонированные атомы углерода в кольцевой системе имеют почти одно и то же значение  $1/NT_1$ , что указывает на общую изотропную реориентацию молекулы. Атомы углерода метиновых групп имеют время релаксации вдвое большее, чем метиленовые; для четвертичных атомов углерода время релаксации на порядок больше, чем для  $^{13}\text{C}$  в метиленовых группах. За счет внутренней реориентации  $\tau_{эфф}$  для метильных групп резко отличается от  $\tau_{эфф}$  кольцевых атомов углерода. Как следствие, их время релаксации увеличивается до 1,5—2,1 с. Заметим, что если бы метильные группы релаксировали только по дипольному механизму и участвовали только в общей молекулярной реориентации, время релаксации для них определялось бы величиной  $0,5/3 = 0,17$  с (0,5 — время релаксации кольцевого углерода в метиновой группе). Свободная реориентация на конце боковой цепи особенно эффективна, поэтому времена релаксации метиленовых и метильных углеродов здесь особенно велики.

У нас еще будет возможность вернуться к анализу спектров  $^{13}\text{C}$ -ЯМР с использованием индивидуальных величин времен релаксации в разделах III и VI, где эта методика иллюстрируется на объектах, представляющих непосредственный интерес с точки зрения темы данного обзора.

### 1.4.3. Интегральная интенсивность линий и эффект Оверхаузера

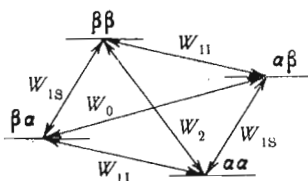
Интегральная интенсивность линий является наиболее просто интерпретируемым параметром при анализе спектров ПМР. При обычных условиях съемки спектров ПМР (медленное прохождение по полю или частоте, отсутствие насыщения) площадь под линиями, отвечающими данному виду протонов, пропорциональна их относительному содержанию.

Импульсная методика съемки спектров  $^{13}\text{C}$ -ЯМР, относительно большие времена релаксации для углерода, применение тотального подавления спин-спинового взаимодействия с протонами накладывают очень серьезные ограничения на использование интегральной интенсивности линий как количественного параметра в спектроскопии  $^{13}\text{C}$ -ЯМР.

Для правильной интерпретации спектров  $^{13}\text{C}$ -ЯМР необходимо иметь в виду эти ограничения и использовать интегральную интенсивность линий только в тех случаях, когда есть уверенность в соблюдении пропорциональности между этим параметром и относительным содержанием соответствующих атомов углерода (см. далее).

#### 1.4.3.1. Ограничения, связанные с различием в усилении за счет эффекта Оверхаузера

Эффект Оверхаузера при двойном резонансе вызывается отклонением от бальцовского распределения заселенностей спиновых состояний. Заселенность в состоянии равновесия зависит от вероятности переходов между уровнями. Так, для двухспиновой системы возможны следующие переходы:



Горизонтальными линиями обозначены уровни энергии двухспиновой системы, состоящей из двух видов ядер S и I, каждое из которых имеет спиновое квантовое число  $1/2$ ; стрелки показывают возможные переходы в системе,  $W$  — вероятность этих переходов, цифры — изменение общего спинового квантового числа при переходе.

Мы определяем эффект Оверхаузера при резонансе ядер I ( $^{13}\text{C}$ ) (когда спектр S ( $^1\text{H}$ ) насыщается) как величину отношения интенсивностей сигналов ядер I в условиях насыщения ядер S и при отсутствии насыщения.

Для двухспиновой системы Соломон [27] показал, что эффект Оверхаузера  $\eta_{I\{S\}}$  удовлетворяет формуле

$$\eta_{I\{S\}} = \frac{\gamma_S}{\gamma_I} \cdot \frac{W_2 - W_0}{W_0 + 2W_{1I} + W_2}, \quad (4)$$

где  $W_i$  — вероятности переходов,  $\gamma_{I,S}$  — гиромагнитные отношения ядер I и S; в скобках — ядро, резонанс которого насыщается. Общее усиление за счет эффекта Оверхаузера составляет  $1 + \eta_{I\{S\}}$

Вычисление вероятностей переходов показывает, что максимальное увеличение достигается тогда, когда в релаксационных механизмах спинов I доминирует диполь-дипольное взаимодействие со спинами S. При чисто диполь-дипольном механизме [28]

$$\begin{aligned} W_0 &= \frac{1}{20} k^2 J_D, \\ W_{1I} &= W_{1S} = \frac{3}{40} k^2 J_D, \\ W_2 &= \frac{3}{10} k^2 J_D, \end{aligned} \quad (5)$$

где  $k^2 = h/2\pi \cdot \gamma_I \cdot \gamma_S$  ( $h$  — постоянная Планка),  $J_D$  — константа, заменяющая функцию спектральной плотности. Тогда

$$W_0 : W_{1I} : W_2 = \frac{1}{6} : \frac{1}{4} : 1 \quad (6)$$

и эффект Оверхаузера

$$\eta = \frac{1}{2} \cdot \frac{\gamma_S}{\gamma_I} \quad (7)$$

не зависит от величины  $J_D$ . Если S — спин  $^1\text{H}$ , а I —  $^{13}\text{C}$ ,  $\gamma_H/\gamma_C = 3,976$ , эффект Оверхаузера  $\eta = 1,988$  и усиление за счет эффекта Оверхаузера равно  $2,988 \approx 3$ . Когда в релаксации участвуют другие механизмы, усиление становится меньшим, так как только дипольный механизм увеличивает вклады  $W_S$  и  $W_0$ . Другие механизмы увеличивают только вероятность переходов  $W_1$ . Влияние иных механизмов можно продемонстрировать, разделив  $W_1$  на члены, зависящие только от дипольного механизма и других механизмов:

$$\eta = \frac{1}{2} \cdot \frac{\gamma_H}{\gamma_C} \cdot \frac{k^2 J_D}{k^2 J_D + 4W_{1C}^*}, \quad (8)$$

где  $W_{1C}^*$  дает вклад от механизмов, отличных от дипольного.

Можно видеть, что при сравнимых  $k^2 J_D$  и  $4W_{1C}^*$  усиление зависит от вклада других механизмов,<sup>1</sup> учитываемых членом  $W_{1C}^*$ .

Для случая многоспиновой системы последнюю формулу можно представить в виде

$$\eta = \frac{1}{2} \cdot \frac{\gamma_H}{\gamma_C} \cdot \frac{k^2 \sum_i J_{D_i}}{(k^2 \sum_i J_{D_i}) + 4W_{1C}^*}, \quad (9)$$

где суммирование ведется по всем протонам вблизи ядра  $^{13}\text{C}$ , а коэффициенты  $J_{D_i}$  различны для каждого вида протона и зависят, в частности, от расстояния  $^{13}\text{C}$ - $^1\text{H}$ .

Формула (9) ясно показывает, что если дипольный механизм доминирует ( $4W_{1C}^* \ll k^2 \sum_i J_{D_i}$ ), эффект Оверхаузера не зависит от числа непосредственно присоединенных протонов. С другой стороны, заметный вклад от любого взаимодействия, кроме дипольного, уменьшает эффект Оверхаузера.

#### 1.4.3.2. Ограничения, связанные с различием во временах релаксации

Для времени релаксации теория дает выражение [28]

$$\frac{1}{T_1} = \frac{1}{2} k^2 \sum_i J_{D_i} + 2W_{1C}^*, \quad (10)$$

из которого следует, что при любых соотношениях вкладов от дипольного и иных механизмов сохраняется зависимость времени релаксации от коэффициентов  $J_{D_i}$ . Следовательно,  $T_1$  будет зависеть как от числа непосредственно связанных протонов, так и от расстояний  $^{13}\text{C}$ -H. Влияние других механизмов ( $2W_{1C}^*$ ) также может быть различным даже для однотипных групп (например, метиленовых) в зависимости от их положения в молекуле и внутренней подвижности.

Все это обуславливает большой диапазон значений времен релаксации для различных атомов углерода в молекуле. Достаточно корректные отношения величин интегральной интенсивности линий для ядер углерода с различными временами релаксации можно получить, если для ядра с наибольшим из числа сравниваемых значений  $T_1$  выполняется условие  $T_{1\text{макс}} \ll 5\tau$ , где  $\tau$  — интервал между импульсами.

При интегрировании спектров с подавлением резонанса протонов накладывается еще дополнительное условие преобладания диполь-дипольного механизма релаксации для всех ядер, интегральные интенсивности линий которых сопоставляются.

## II. ХИМИЧЕСКИЕ СДВИГИ ЯДЕР $^{13}\text{C}$ МОНОСАХАРИДОВ И ИХ ПРОИЗВОДНЫХ

Первые публикации, содержащие спектры  $^{13}\text{C}$ -ЯМР углеводов и их расшифровку, появились в 1969 г. [29, 30]. Перлин и Кэзью [29] получили спектры ПМР и  $^{13}\text{C}$ -ЯМР глюкозы, обогащенной изотопом  $^{13}\text{C}$  (около 50% по каждому атому углерода) в водном растворе. Соотношение  $\alpha$ - и  $\beta$ -изомеров составляло примерно 2 : 3. Сопоставление спектров ПМР и  $^{13}\text{C}$ -ЯМР и, в частности, КССВ  $J_{^{13}\text{C}-\text{H}}$ , которые были хорошо видны в том и другом спектре, позволило авторам дать полное отнесение линий в спектре  $^{13}\text{C}$ -ЯМР глюкозы.

Холл и Джонсон [30] сняли и расшифровали спектры  $^{13}\text{C}$ -ЯМР большого набора моносахаридов и их простейших производных (при природном содержании изотопа  $^{13}\text{C}$ ):  $\alpha$ - и  $\beta$ -аномеров *D*-глюкозы, *D*-галактозы, *D*-маннозы, *D*-ксилозы, *D*-арабинозы, *D*-ликтозы, а также полных ацетатов  $\alpha$ -метил-*D*-глюкопиранозиды и  $\beta$ -метил-*D*-ксилопиранозиды. Все спектры незамещенных гексоз состояли из нескольких неперекрывающихся областей резонанса:

- аномерных атомов углерода C1 (91—105 м. д.),
- кольцевых C2, C3, C4, C5 (67—77 м. д.),
- оксиметиленовых C6 (62—63 м. д.).

Холл и Джонсон впервые отметили закономерности в изменении химических сдвигов атомов углерода C1 при аномеризации, переходе от восстанавливающих моносахаридов к метилгликозидам и эпимеризации по C2. Позднее в работах Брайтмайера, Фельтера и др. [31, 32], получивших спектры ряда гексоз и пентоз, а также их метил- и арилгликозидов, были отмечены характерные изменения химических сдвигов остальных (кроме аномерного) атомов углерода при замещении, аномеризации и эпимеризации. Приведем наиболее важные закономерности, установленные в упомянутых работах [30—32].

1. Аномеризация существенно изменяет химический сдвиг C1 *D*-глюкозы, *D*-галактозы, *D*-арабинозы, *D*-ксилозы (смещение сигнала на  $\sim 4$  м.д. в высокие поля при переходе от  $\beta$ - к  $\alpha$ -аномеру) и мало влияет на химический сдвиг C1 *D*-аллозы, *D*-маннозы, *D*-ликтозы, *D*-рибозы.

2. Аномеризация наиболее сильно влияет на химические сдвиги кольцевых C3- и C5-атомов (1,3-диаксиальное взаимодействие), в меньшей степени — на сигнал C2 и практически не влияет на химические сдвиги C4 и C6. Вследствие этого сигналы C4 в перечисленных выше пентозах и гексозах и их гликозидах лежат в узкой области 69—72,5 м. д. Замена экваториальной ОН-группы при C4 на аксиальную сдвигает сигнал C4 на 1—2 м.д. в более высокое поле внутри указанного интервала. Сигналы C6 гексоз лежат в еще более узкой области — 63—65,5 м.д.

3. Сигналы C2, C3 гексоз и пентоз и C5 гексоз находятся в области 70—80 м.д., сигналы C5 пентоз — в более высоком поле — 63,5—69 м. д.

4. При переходе от восстанавливающих сахаров к гликозидам сигнал C1 смещается на несколько миллионных долей в низкое поле. При этом разность химических сдвигов атома C1 в  $\alpha$ - и  $\beta$ -аномерах сохраняется такой же, как и в свободных сахарах.

5. Химические сдвиги углерода метоксильной группы при C1 чувствительны к конфигурации аномерного центра — аксиальный метоксил при C1 дает резбанансную линию в более высоком поле (на 2 м.д.), чем экваториальный. Это обстоятельство может быть использовано при определении конформации цикла: химический сдвиг метоксильной группы  $\alpha$ -метил-*D*-арабинопиранозиды находится в более низком поле (на 1,85 м.д.), чем  $\beta$ -аномера, и, следовательно, конформация цикла должна быть  ${}^4C_1$ , а не  ${}^1C_4$ .

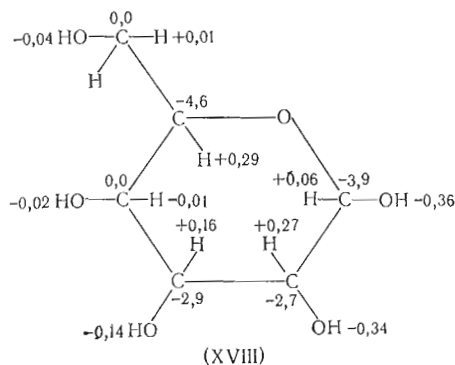
6. Замена экваториальной ОН-группы при C2 на аксиальную по-разному влияет на положение сигнала C1 в  $\alpha$ - и  $\beta$ -аномерах: в  $\alpha$ -аномере



такая инверсия вызывает сдвиг на  $\sim 2$  м.д. в низкое поле, а в  $\beta$ -аномере — на  $\sim 2$  м.д. в высокое поле.

7. Сдвиги C1 малочувствительны к изменению конфигурации при C4 и к наличию или отсутствию оксиметиленовой группы при C5.

Первая попытка теоретически объяснить влияние аномеризации углеводов на химические сдвиги  $^{13}\text{C}$  в их спектрах принадлежит Перлину и сотрудникам. Анализируя изменения химических сдвигов  $^{13}\text{C}$  и  $^1\text{H}$  *D*-глюкозы при переходе от  $\beta$ - к  $\alpha$ -аномеру, Кох и Перлин [33] отметили, что при этом увеличивается экранирование всех атомов углерода, кроме C4 и C6, а также протонов всех OH-групп. В противоположность этому экранирование метиновых протонов в кольце (кроме H4) уменьшается (см. обобщенную формулу (XVIII); числа рядом с C и H указывают изменения химических сдвигов (м.д.) при переходе  $\beta \rightarrow \alpha$ ).



Таким образом, аномеризация приводит к значительному изменению поляризации нескольких HCON-групп в молекуле глюкозы. Подобное явление при эпитимеризации 1,3,5-триметилциклогексана [13] отмечено выше (см. I.3.4) и было отнесено к эффекту стерического уплотнения. Можно считать по аналогии с циклогексановыми производными, что при  $\beta \rightarrow \alpha$ -аномеризации глюкозы стерические взаимодействия порождают многочисленные перемещения электронной плотности. Благодаря этим делокализационным процессам молекула достигает минимума энергии. Однако попытка рассчитать перераспределение зарядов при эпитимеризации в некоторых метилциклогексанах, циклогексанолах и *D*-глюкозе по расширенному методу Хьюккеля и методу Дель-Ре [34а, 35] не привела к положительному результату. Авторы работы [35] возлагают надежду на полуэмпирические всеэлектронные методы, чувствительные к изменениям геометрических факторов, но такого рода расчеты пока не опубликованы.

Актуальность и перспективность расчета электронной плотности еще более возрастают в связи с тем, что уже сейчас имеются эмпирические доказательства связи электронной плотности на атоме с химическим сдвигом его ядра. Если иметь в виду углеводные соединения, следует упомянуть работу Перлина [36], где найдена корреляция между скоростями окисления алициклических спиртов хроматами и альдопираноз бромом и химическими сдвигами окисляемых атомов углерода. В большом ряду альдопираноз смещение сигнала C1 в высокое поле (H1 — в низкое поле) коррелирует с уменьшением относительной скорости окисления бромом. Это явление можно объяснить, предполагая, что химические сдвиги  $^{13}\text{C}$  и  $^1\text{H}$  отражают величину электронной плотности вокруг этих ядер и что изменение конформации при образовании переходного состояния незначительно.

При отсутствии квантовомеханического обоснования влияния эпитимеризации на распределение зарядов и химические сдвиги  $^{13}\text{C}$  в спектрах ЯМР углеводов возрастает роль эмпирических закономерностей при анализе спектров ЯМР родственных соединений.

Дорман и Робертс [37] по аналогии с замещенными циклогексанами [17] предложили рассматривать изменения в химических сдвигах  $\beta$ -,  $\gamma$ - и  $\delta$ -углеродов при эпитеризации независимыми друг от друга и примерно постоянными. Переход от карбоцикла к гетероциклу потребовал введения множества исходных точек отсчета для различных аномеров и эпимеров. Так, спектр  $\beta$ -D-глюкопиранозы дает исходные точки для расчета химических сдвигов атомов углерода, связанных в пиранозном цикле с экваториальным гидроксилом и имеющих в  $\beta$ -положении атомы углерода с экваториальными заместителями.

Для атомов углерода с аксиальным заместителем и соседями, несущими только экваториальные заместители, такими точками отсчета могут быть атомы C1, C2, C3 и C4 соответственно в  $\alpha$ -D-глюкопиранозе,  $\beta$ -D-маннопиранозе,  $\beta$ -D-аллопиранозе и  $\beta$ -D-галактопиранозе.

Но даже при этих условиях стандартное отклонение для углеводов (1,2 м.д.) оказалось больше, чем для циклогексановых производных [17], а отдельные отклонения достигали 1,7 м.д. Наибольшие расхождения наблюдаются для соединений, которые существуют как быстро обменивающаяся равновесная смесь двух или более конформеров. Эмпирический метод расчета химических сдвигов  $^{13}\text{C}$  Дормана и Робертса не получил в дальнейшем широкого распространения не только из-за малой точности, но и из-за отсутствия универсальности подхода — требование множественности точек отсчета предполагает наличие достаточно широкого круга объектов с расшифрованными по независимому методу спектрами  $^{13}\text{C}$ -ЯМР.

В этом отношении более универсальным оказался метод Перлина и сотрудинок [34a], предложивших рассматривать общее влияние эпитеризации на химические сдвиги данного углерода в виде аддитивных и независимых вкладов от различного рода стерических взаимодействий, используя следующие закономерности:

а) замена экваториального кислорода на аксиальный вызывает увеличение экранирования связанного с ним углерода (условное обозначение вклада  $axO+$ );

б) сигнал  $\beta$ -атома углерода при такой эпитеризации также смещается в высокое поле ( $adj+$ );

в) при наличии аксиального протона у  $\gamma$ -углеродного атома сигнал последнего в результате появления аксиального кислорода у  $\alpha$ -атома (вместо экваториального) также смещается в высокое поле (1,3-взаимодействие,  $H // O+$ );

г) если при эпитеризации возникает *gauche*-взаимодействие вицинальных атомов кислорода, экранирование атомов углерода, связанных с ними, увеличивается ( $O/O+$ ).

Данный подход к расчету химических сдвигов основан на тех же принципах, что и предложенная Энжиалом и сотрудниками оценка свободной конформационной энергии по дискретным вкладам от стерических и электронных дестабилизирующих взаимодействий [34б]. Тот факт, что Перлину и сотр. [34a] удалось найти хорошую корреляцию между суммарной величиной химических сдвигов атомов углерода в ряду свободных пенто- и гексопираноз и относительными свободными энергиями этих соединений, можно было бы считать основанием для расчета химических сдвигов по описанному выше методу. Однако уже при переходе от свободных сахаров к гликозидам корреляция между величинами суммарных химических сдвигов и свободными конформационными энергиями исчезает. Что касается расчета химических сдвигов отдельных атомов углерода по дискретным вкладом от электронных и пространственных взаимодействий, то она в какой-то мере противоречит концепции самого же Перлина, согласно которой при эпитеризации происходит рассеяние дестабилизирующего действия аксиальной группы по многим связям в молекуле благодаря сложному, пока не поддающемуся количественному анализу, перераспределению

Расчет химических сдвигов (м.д. от ТМС) по методу Перлина [38] для эимерных пар (соединения А и В)

Атом углерода	Химические сдвиги эимера А	Виды взаимодействий в эимере В	Изменение экранирования при переходе А → В	Вычисленные химические сдвиги эимера В	Экспериментальные химические сдвиги эимера В
$\alpha\text{-D-Sorp (A)} \qquad \qquad \qquad \alpha\text{-D-Talp (B)}$					
C <sub>1</sub>	65,8	0	0	65,8	66,7
C <sub>2</sub>	99,4	+ adj 3, - O/O (3)	+, -	99,4	99,4
C <sub>3</sub>	72,6	+ ax O, O/O (2)	+, -	72,6	72,3
C <sub>4</sub>	76,0	+ adj 3	+	73,0	73,1
C <sub>5</sub>	71,4	+ H//O (3)	+	68,4	68,7
C <sub>6</sub>	63,7	0	0	63,7	64,4
$\alpha\text{-L-Sorp (A)} \qquad \qquad \qquad \beta\text{-D-Frup (B)}$					
C <sub>1</sub>	65,8	0	0	65,8	65,7
C <sub>2</sub>	99,4	0	0	99,4	99,1
C <sub>3</sub>	72,6	+ H//O (5)	+	69,6	70,2
C <sub>4</sub>	76,0	+ adj 5	+	73,0	70,9
C <sub>5</sub>	71,4	+ ax O	+	68,4	68,9
C <sub>6</sub>	63,7	adj 5	+	60,7	64,3

электронной плотности. Это разделение эффекта эимеризации тем более произвольно для гетероциклов, где атом кислорода в цикле может принимать активное участие в перераспределении электронной плотности. Между тем метод Перлина не учитывает положения атома углерода, химический сдвиг которого рассчитывается, относительно кислорода цикла.

Тем не менее в ряде случаев применение метода Перлина дает хорошее качественное и даже количественное согласование рассчитанных и эмпирических химических сдвигов. Иллюстрацией применения этого метода служит расчет химических сдвигов эимеров в ряду  $\alpha$ - и  $\beta$ -аномеров сорбо-, тагато- и фруктопираноз [38]. В табл. 2 представлены две эимерные пары этого ряда. Расчет химических сдвигов второго члена эимерной пары, исходя из химических сдвигов для атомов углерода первого, проводили по следующей схеме:

а) учитывали все виды стерического взаимодействия, возникающие или исчезающие в результате эимеризации (в этой работе учитывали кроме перечисленных в сообщении [34а] также *син*-диаксиальное взаимодействие двух атомов кислорода O//O, аналогичное H//O, но неравноценное ему по величине вклада);

б) величины вкладов от взаимодействия приняли равными  $axO - 3$ ,  $adj - 3$ ,  $H//O - 3$ ,  $O//O - 2$ ,  $O/O - 3$  м. д.;

в) знак «+» перед символом характера взаимодействия означал появление этого взаимодействия, «-» — исчезновение при эимеризации; цифра в скобках — номер атома углерода, взаимодействие с заместителем которого рассматривается;

г) увеличение в экранировании обозначалось знаком «+» в соответствующей графе, уменьшение — знаком «-» и отсутствие изменений в экранировании — 0.

Как видно из табл. 2, количественное и качественное согласование значений рассчитанных и экспериментальных химических сдвигов удовлетворительно лишь для первой пары. Для второй эпимерной пары расчет предсказывает неправильное направление изменения химического сдвига для С6. Пересмотр величины вкладов может привести к лучшему согласованию рассчитанных и экспериментальных величин [39], но, конечно, не устранит аномалий, подобных указанной выше.

Можно предположить, что расхождения значений химических сдвигов, рассчитанных по методу Перлина и эмпирических, возникают за счет конформационной неустойчивости цикла. Поэтому особенно интересна попытка предсказания измененных химических сдвигов в эпимерах по методу Перлина в конформационно устойчивых соединениях. Был изучен ряд метил-4,6-О-бензилиден-*D*-альдопиранозидов, для которых пиранозное кольцо закреплено в  ${}^4C_1$ -конформации [40—45].

Детальное рассмотрение изменений химических сдвигов в спектрах этих соединений при их аномеризации и эпимеризации по С2 и С3 показало, что нет никакого количественного соответствия между величинами вкладов, использовавшихся Перлиным и сотр. [38, 39] и авторами работ [40—45]. Более того, значения вкладов оказались зависящими от расположения атома углерода, химический сдвиг которого рассчитывается, относительно кислорода цикла. Так, величина несвязанного  $\gamma$ -*gou*-взаимодействия Н//О варьируется от 2,1—2,4 м. д. (для С1, С3 и С4) до 5,1 м. д. (для С5). Такие же расхождения величин наблюдаются и для других видов взаимодействий. В связи с этим напрашивается вывод, что схема Перлина далеко не универсальна.

Этот вывод был убедительно подтвержден впоследствии Гориним и Мазуреком [46], которые считают, что «дальнодействующий» эффект, возникающий при замене экваториальной группы ОН на аксиальную, принципиально невозможно оценить количественно в общем случае. Горин и Мазурек [46] предложили иной подход: сопоставление спектров углеводородов, различающихся заместителем при одном из атомов углерода, но имеющих ту же самую конформацию и конфигурацию. Например, можно сравнивать спектры  $\alpha$ -метил-*D*-глюкопиранозидов и соответствующих альдопиранозов, имеющих конформацию  ${}^4C_1$  и ту же самую конфигурацию. При этом можно заметить, что изменение заместителя при С5 практически не влияет на положение резонанса атомов С1, С2, С3 и группы (С1—ОСН<sub>3</sub>). Изменяются лишь химические сдвиги ближайших атомов углерода (С4 и С5), т. е. эффект заместителя не является «дальнодействующим». Так, в  $\alpha$ -серии (табл. 3) замена СН<sub>2</sub>ОН при С5 на СН<sub>3</sub> вызывает смещение сигнала С4 на +6 м.д. (т. е. в низкое поле), а С5 — на 4 м.д. Эта же качественная картина наблюдается при сравнении спектров  $\alpha$ -метил-*D*-глюкопи-

Таблица 3

Химические сдвиги  ${}^{13}C$  в спектрах сахаров, конфигурационно родственных  $\alpha$ -*D*-глюкопиранозе (м.д. от ТМС) [46]

Название	С1	С2	С3	С4	С5	С6	С1—ОСН <sub>3</sub>	ОСН <sub>3</sub>
$\alpha$ - <i>D</i> -Глюкопираноза	92,7	72,1	73,4	70,4	72,1	61,3		
$\alpha$ - <i>D</i> -Ксилопираноза	93,3	72,5	73,9	70,4	62,1			
6-Дезокси- $\alpha$ - <i>D</i> -глюкопираноза	93,1	72,9	73,6	76,4	68,6	18,0		
$\alpha$ -Метил- <i>D</i> -глюкопиранозид	100,3	72,5	74,2	70,6	72,7	61,7		
$\alpha$ -Метил- <i>D</i> -ксилопиранозид	100,6	72,3	74,3	70,4	62,0		56,2	
$\alpha$ -Метил-6-дезоксид- <i>D</i> -глюкопиранозид	100,3	72,6	73,9	76,2	68,7	17,6		
$\alpha$ -Метил- <i>D</i> -глюкопиранозидуроно-вая кислота	100,7	71,9	73,8	72,5	71,9	?	65,7	
Метил( $\alpha$ -метил- <i>D</i> -глюкопиранозид) уронат	100,8	71,9	73,7	72,4	71,9	?	56,8	54,2

Химические сдвиги  $^{13}\text{C}$  в спектрах сахаров, конфигурационно родственных  $\beta$ -*D*-глюкопиранозе (м.д. от ТМС) [46]

Название	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C1—OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>
$\beta$ - <i>D</i> -Глюкопираноза	96,5	74,8	76,4	70,3	76,6	61,5		
$\beta$ - <i>D</i> -Ксилопираноза	97,6	75,1	76,9	70,3	66,3			
6-Дезокси- $\beta$ - <i>D</i> -глюкопираноза	96,8	75,6	76,6	76,1	73,0	18,0		
$\beta$ -Метил- <i>D</i> -глюкопиранозид	104,3	74,2	76,9	70,8	76,9	61,9	58,3	
$\beta$ -Метил- <i>D</i> -ксилопиранозид	105,1	74,0	76,9	70,4	66,3		58,3	
$\beta$ -Метил-6-дезоксид- <i>D</i> -глюкопиранозид	104,3	74,5	76,7	76,2	73,0	17,8	58,3	
$\beta$ -Метил- <i>D</i> -глюкопиранозидуроновая кислота	104,3	73,8	76,5	72,3	75,6	?	58,5	
Метил ( $\beta$ -метил- <i>D</i> -глюкопиранозид) уронат	104,6	73,7	76,3	72,4	75,7	?	58,7	56,5

ранозидов и соответствующих уроновой кислоты и метилуроната (+1,9 м.д. для C4 и -0,8 м.д. для C5). При переходе от  $\alpha$ -*D*-глюкозы (или  $\alpha$ -метил-*D*-глюкопиранозидов) к  $\alpha$ -*D*-ксилозе (соответственно к  $\alpha$ -метил-*D*-ксилопиранозиду) существенно изменяются только сдвиги C5 (-11 и -10 м.д. соответственно).

В  $\beta$ -серии (табл. 4) изменения аналогичны. Те же закономерности наблюдаются и при сравнении спектров  $\alpha$ - и  $\beta$ -*D*-манноз со спектрами  $\alpha$ - и  $\beta$ -*L*-рамноз (или соответствующих  $\alpha$ -метил-*D* (*L*)-гликопиранозидов). В других сериях соединений может меняться величина сдвигов C5 и C4, но не качественная картина. Так, при сравнении спектров сахаров, конфигурационно родственных галактозе ( $\alpha$ -*D*-галактозы и  $\alpha$ -*D*-фукозы; соответствующих  $\beta$ -производных;  $\alpha$ -метил-*D*-галактопиранозидов и  $\alpha$ -метил-*D*-фукопиранозидов; соответствующих  $\beta$ -производных) оказалось, что в каждой паре сигналы C5 и C4 смещаются на -4 и +2,5 м.д., т. е. низкопольное смещение меньше, чем в *глюко*-ряду (+6 м.д.), где производные имеют экваториальную, а не аксиальную OH-группу при C4. При переходе от перечисленных галактозных производных к соответствующим *L*-арабинозным изменения химических сдвигов C5 были такого же порядка (-8 ÷ -9 м. д.), как и в *глюко*-ряду (-10 ÷ -11 м. д.), т. е. аксиальная ориентация OH-группы при C4 здесь играет менее существенную роль. Найденные закономерности, по-видимому, сохраняются и для фуранозных соединений.

Таким образом, расшифровка спектров углеводов при сравнении их со спектрами соединений, отличающихся лишь одним заместителем, но не конформацией и конфигурацией цикла, очевидно, более однозначна. Такой подход не является новым: впервые (в применении к сахарам) о нем упоминалось еще в ранних работах Холла и Джонсона [30], Дормана и Робертса [37], Брайтмайера, Фельтера и соавт. [31, 32] и в других работах, но лишь в цитируемой работе Горина [46] он возводится в общий принцип анализа спектров  $^{13}\text{C}$ -ЯМР углеводов.

### III.1. Различия в спектрах пираноз и фураноз

Холл и Джонсон [30] впервые обратили внимание на существенное различие сдвигов C1 фуранозных и пиранозных производных рибозы: для первых химические сдвиги C1 смещены на несколько миллионных долей в низкие поля по сравнению со вторыми. Брайтмайер, Фельтер и Юнг показали [47], что замещение OH-группы на метоксильную при C1 фуранозного цикла вызывает такое же смещение сигнала C1 в низкое поле, как и для пиранозного цикла (на 7—10 м.д.). Отмечено также низкопольное смещение сигналов C4 в фуранозах по сравнению с пиранозами. Ана-

логичные закономерности наблюдались при сравнении спектров  $\alpha$ - и  $\beta$ -*D*-психопираноз со спектрами  $\alpha$ - и  $\beta$ -*D*-психофураноз [39]: аномерные атомы (C2) и атомы C5 фуранозных производных резонируют в более низких полях по сравнению с аналогичными для пиранозных. Японские авторы [48, 49] отметили различие в химических сдвигах атома C1 в 1,2-*транс*- и 1,2-*цис*-фуранозидных соединениях: сигналы C1  $\beta$ -метил-*D*-рибофуранозиды и  $\alpha$ -метил-*L*-арабинофуранозиды (1,2-*транс*) находятся на несколько миллионных долей в более низком поле, чем сигналы C1  $\alpha$ -метил-*D*-рибофуранозиды и  $\beta$ -метил-*L*-арабинофуранозиды (1,2-*цис*). Высокополюльный сдвиг C2 при переходе от аномеров с *транс*-1,2-конфигурацией к *цис*-1,2-аномерам авторы связывают с 1,2-эклипсинг-эффектом и полагают, что этот сдвиг является характерной особенностью фуранозной формы. Горин и Мазурек [46], получившие и расшифровавшие спектры  $\alpha$ - и  $\beta$ -метилфуранозидов галактозы, арабинозы и рибозы, нашли, что замена группы  $\text{CH}_2\text{OH}$  на водород (*галакто*- и *арабино*-ряд) при одной и той же конфигурации остальных заместителей вызывает высокополюльный сдвиг сигнала C5 ( $-9,5$  м. д.) и низкополюльный — C4 ( $+0,8$  —  $+0,9$  м. д.), но практически не влияет на химические сдвиги остальных атомов углерода.

## II.2. Спектры полиолов

Спектр дульцита [50] вследствие большой симметрии молекулы гораздо проще спектра  $\alpha$ -*D*-галактозы. Он состоит из трех линий, отвечающих резонансу атомов C1, C6; C2, C5; C3, C4. Метилирование дульцита по C3 нарушает симметрию молекулы. Сигнал  $\alpha$ -углерода (C3) сдвигается в низкое поле (на 9 м. д.), как и при соответствующей замене гидроксила на  $\text{CH}_3\text{O}$ -группу в гексопиранозах. Сигналы  $\beta$ -(C2 и C4) и  $\gamma$ -(C1 и C5) углеродных атомов сдвигаются в высокое поле соответственно на 0,6; 0,9; 0,3 и 0,5 м.д. Влияние метилирования на сигнал  $\delta$ -углеродного атома (C6) незначительно. Колсон и сотр. [51] исследовали спектры  $^{13}\text{C}$ -ЯМР *D*-рибита, *D*-сорбита и 4-*O*-метил-*D*-сорбита с целью отнесения сигналов в спектрах глюкозилсорбитов — мальтита и изомальтита. В отличие от простых спектров симметричных молекул дульцита [50] и *D*-рибита [51] спектры *D*-сорбита состоят из шести линий. Метилирование по C4 в сорбите вызывает противоположные по направлению сдвиги C3 ( $+0,7$  м.д.) и C5 ( $-0,8$  м. д.). Таким образом, изменения в химических сдвигах  $\beta$ -углеродных атомов при метилировании зависят от конфигурации молекулы в целом.

## II.3. Влияние метилирования

Влияние замещения  $\text{OH}$ -группы при C1 на метоксильную на химические сдвиги остальных атомов углерода в сахарах подробно обсуждалось выше (см. II). Впоследствии [51—53] было показано, что общие закономерности влияния метилирования на химические сдвиги  $^{13}\text{C}$  в спектрах углеводов одни и те же независимо от места метилирования. Метилирование не обладает «дальнедействующим» эффектом. Его влияние распространяется лишь до  $\gamma$ -углерода по отношению к месту замещения.

*$\alpha$ -Эффект* заключается в смещении положения резонанса  $\alpha$ -углеродного атома в низком поле на 7—11 м. д. Для C1 с аксиальными  $\text{CH}_3\text{O}$ -группами сигналы лежат на 4—4,5 м.д. в более высоком поле, чем для C1 с экваториальными заместителями. При сравнении спектров  $\alpha$ ,  $\beta$ -метил-2,3,4,6-тетра-*O*-метил-*D*-глюко- и -галактопиранозидов [54, 55] аналогичная закономерность обнаружена и для атома C4 — сигнал этого атома в галактозидах (аксиальный метоксил) лежит на 3—4 м. д. в более высоком поле, чем в глюкозидах (экваториальный метоксил).

*$\beta$ -Эффект* более изучен для случая, когда метилированию подвергается экваториальный гидроксил. Если  $\text{OH}$ -группы при обоих  $\beta$ -углеродных атомах также экваториальны, метилирование приводит к смещению

сигнала последних на 1,2 м.д. в высокое поле [37, 50, 53], что, по аналогии с инозитами [20], объясняется возникновением  $\gamma$ -*gosh*-взаимодействия. Если одна из групп ОН при  $\beta$ -углеродном атоме аксиальна, метилирование экваториальной ОН-группы при  $\alpha$ -углероде вызывает большой высокополюльный сдвиг  $\beta$ -атома (около 4—5 м. д.) [50, 53]. Однако замена ОН-группы на метоксильную при С1 в  $\beta$ -*D*-маннозе хотя и сопровождается смещением сигнала С2 в высокое поле, но всего на 1,4 м. д. [34], а высокополюльный сдвиг С1 для 2-О-метил- $\alpha$ -*D*-глюкопиранозы по сравнению с  $\alpha$ -*D*-глюкопиранозой составляет 2,6 м. д.

$\beta$ -Эффект при метилировании по аксиальной группе менее изучен. Можно лишь сказать, что тех больших  $\beta$ -эффектов, которые наблюдались в спектрах при метилировании по аксиальной ОН-группе инозитов [20], для углеводов не наблюдали. Так, для  $\alpha$ -метил-*D*-глюкопиранозиды химический сдвиг С2, несущего экваториальную ОН-группу, практически не изменяется по сравнению со спектром  $\alpha$ -*D*-глюкопиранозы, а сигнал С2  $\alpha$ -метил-*D*-маннопиранозид (с аксиальным гидроксилом) лишь незначительно смещается (на 0,5 м. д.) в высокое поле [34].

$\gamma$ -Эффект метилирования во всех случаях незначителен (0—0,3 м. д.).

Сдвиги аксиальных  $\text{СН}_3\text{О}$ -групп обычно лежат на  $\sim 2$  м.д. в более высоком поле по сравнению с экваториальными метоксильными группами [30, 34, 52]. В полностью метилированных соединениях это правило может не выполняться: аксиальный  $\text{С4—ОСН}_3$  полностью метилированных  $\alpha$ ,  $\beta$ -*D*-галактоз дает линию в более низком поле (на 0,8 м. д.), чем экваториальный  $\text{С4—ОСН}_3$  в соответствующих глюкозных производных [54, 55]. Очевидно, здесь уже существенны слабо изученные стерические взаимодействия ближайших О-метильных заместителей друг с другом. Так, в том же ряду соединений отмечено существенное изменение сдвига  $\text{С3—ОСН}_3$  при изменении конфигурации  $\text{С4—ОСН}_3$  от экваториальной к аксиальной (2,5 м.д. в высокое поле).

#### П.4. Влияние замены С—О-связи на С—Н, С—С, С—Hal

Замещение С—О-связи на С—Н и С—С вызывает резкое смещение сигнала соответствующего углерода в высокое поле благодаря меньшей электроотрицательности атомов водорода и углерода по сравнению с кислородом. Еще Холл и Джонсон [30] отмечали высокополюльное смещение сигналов С2 в спектрах  $\alpha$ - и  $\beta$ -2-дезоксид-*D*-глюкопираноз (соответственно на 38,2 и 40,5 м.д.) по сравнению со спектрами  $\alpha$ - и  $\beta$ -*D*-глюкопираноз, а также сигнала С6  $\alpha$ - и  $\beta$ -*L*-рамноз (на 17,8 м.д.) по сравнению с соответствующим сигналом  $\alpha$ - и  $\beta$ -*D*-маннопираноз. Подробно влияние замены С—О-связи на С—Н и С—С и использование закономерностей в изменениях химических сдвигов для расшифровки спектров  $^{13}\text{C}$ -ЯМР описано в работе [46] и обсуждалось выше (см. II).

Влияние замещения гидроксила на хлор было прослежено в хлордезоксисахарах галактозного ряда [56] (в основном замещенных в 4- и 6-положение). За счет разности индуктивных эффектов хлора и гидроксила при таком замещении происходит сдвиг сигналов  $\alpha$ -углеродных атомов в высокое поле. Одновременно наблюдается высокополюльное смещение сигналов  $\gamma$ -атомов углерода за счет увеличения 1,3-диаксиального взаимодействия (ван-дер-ваальсовский радиус атома хлора больше, чем радиус ОН-группы). Особенно четко 1,3-диаксиальное взаимодействие прослеживается при сравнении спектров  $\alpha$ -метил-6-хлор-4,6-дидезокси-*D*-ксилогексопиранозид и  $\alpha$ -метил-4,6-дихлор-4,6-дидезокси-*D*-галактопиранозид. Большой высокополюльный сдвиг сигнала С2 дихлорированного соединения по сравнению с монохлорированным никак нельзя объяснить индуктивным влиянием.  $\beta$ -Эффект от замещения ОН-группы при С4 на хлор выражается в смещении сигналов  $\beta$ -углеродных атомов на 2—3 м.д. в высокое поле.

Замещение гидроксила на хлор при С6 в ряду галактозы вызывает большой высокопольный сдвиг сигнала С6, но не влияет на химические сдвиги кольцевых атомов углерода. В *глоко*-ряду [51] такое замещение вызывает высокопольное смещение сигнала С5 (на 1,2 м. д.).

## II.5. О-Сульфаты моносахаридов

В работе Хонда и др. [57] сопоставлены химические сдвиги  $\alpha$ ,  $\beta$ -*D*-глюкопиранозидов и  $\alpha$ ,  $\beta$ -*D*-глюкозо-3- и -6-сульфатов.

Сульфатирование гидроксильных групп при С3- и С6-атомах вызывает смещение сигналов соответствующих углеродов в низкое поле (на 8,5—9,5 м. д. для С3 и 6,5 м. д. для С6).  $\beta$ -Эффект состоит в смещении сигналов  $\beta$ -углеродных атомов в высокое поле на 1—2 м. д. Не обнаружено влияния сульфатирования на сигналы  $\gamma$ - и  $\delta$ -углеродов. Таким образом, направление сдвига и его величина при О-сульфатировании сравнимы с изменениями при О-метилировании.

## II.6. Аминосакхара

Ямаока и сотрудники, основываясь на более ранних публикациях других авторов [58—60] и собственных исследованиях ряда 2-амино-2-дезоксисахаров [49], установили характерные отличия спектров аминосахаров.

1. Сигналы атомов углерода, непосредственно связанных с аминно- и ацетиамидогруппой, появляются в более высоком поле ( $\sim 20$  м. д.), чем сигналы углерода соответствующих родоначальных сахаров.

2.  $\beta$ -Эффект от замены гидроксила на  $\text{NH}_2$ -группу, как правило, составляет 3 м.д. (смещение в высокое поле).

3. Сигналы апомерных атомов углерода, как и для незамещенных сахаров, находятся в наиболее низком поле (если не считать сигнала от  $\text{C}=\text{O}$  в амидах).

4. Сигналы атомов С1 хлоргидратов 2-амино-2-дезоксид- $\alpha$ ,  $\beta$ -*D*-манно-,  $\alpha$ ,  $\beta$ -*D*-глюко-,  $\alpha$ ,  $\beta$ -*D*-галактопираноз и их метилпиранозидов за счет  $\beta$ -эффекта лежат на 3 м. д. в более высоком поле по сравнению с сигналами апомерных атомов соответствующих пираноз и пиранозидов. Однако  $\beta$ -эффект  $\text{NH}_2$ -группы в хлоргидрате 2-амино-2-дезоксид- $\beta$ -*D*-маннопиранозы составляет всего 0,7 м. д. Поэтому сигнал атома С1 2-амино-2-дезоксид- $\alpha$ -*D*-маннопиранозы лежит в более высоком поле, чем для  $\beta$ -аномера (в отличие от маннозы и маннозидов).

5. Ацетилирование аминогрупп вызывает изменение  $\beta$ -эффекта. В 2-ацетиамидо-2-дезоксид-*D*-глюкопиранозе сигнал С3 сдвинут на 2 м. д. в высокое поле в обоих аномерах, сигнал С1 — на 1 м.д. (по сравнению с глюкозой). В 2-ацетиамидо-2-дезоксид-*D*-маннопиранозе наблюдается высокопольный сдвиг для С3 (примерно на 1 м.д. в обоих аномерах), а сигнал С1 не смещается (по сравнению с маннозой).

6. Эффекты от замены гидроксильной группы на метоксильную при С1 в 2-амино-2-дезоксид-*D*-глюкопиранозе, 2-ацетиамидо-2-дезоксид-*D*-глюкопиранозе и глюकोпиранозе сравнимы — сигналы С1 смещаются в низкое поле на  $\sim 7$  м. д., а С2 — в высокое поле на 1 м.д.

## III. СПЕКТРЫ УГЛЕВОДНОЙ ЧАСТИ НУКЛЕОЗИДОВ, НУКЛЕОТИДОВ И АНТИБИОТИКОВ

### III.1. Нуклеозиды и нуклеотиды

Первый значительный цикл работ по расшифровке спектров  $^{13}\text{C}$ -ЯМР нуклеозидов выполнен Джонсом, Грантом и др. [61—64]. Авторы исследовали спектры большого ряда (более 20 соединений) пиримидиновых и



пуриновых нуклеозидов с рибозой и ее производными в качестве углеводной части. Расшифровка спектров показала, что химические сдвиги оснований качественно коррелируют с известной химической активностью этих молекул. Спектры  $^{13}\text{C}$ , по мнению цитируемых авторов, лучше отражают электронную структуру основания, по крайней мере качественно коррелируют с параметрами теории молекулярных орбиталей и потому гораздо более информативны по сравнению со спектрами ПМР при структурном анализе нуклеозидов.

Все спектры нуклеозидов можно разделить на две области: резонанса азотистого основания (96—166 м.д.) и резонанса рибозного остатка (40—92 м. д.), что облегчает расшифровку спектров нуклеозидов и позволяет при варьировании структуры следить за изменениями химических сдвигов в двух областях спектра независимо друг от друга. Для углеводной части установлено, что резонансные линии в порядке возрастания экранирования располагаются в следующие ряды:  $\text{C}1'$ ,  $\text{C}4'$ ,  $\text{C}3'$ ,  $\text{C}2'$  и  $\text{C}5'$  (рибозиды) и  $\text{C}4'$ ,  $\text{C}1'$ ,  $\text{C}3'$ ,  $\text{C}5'$  и  $\text{C}2'$  (2-дезоксирибозиды). Отнесение резонансных линий значительно облегчалось возможностью сопоставления спектров родственных соединений, вариации в структуре которых известны.

Серия из 10 нуклеотидов была исследована с помощью спектроскопии  $^{13}\text{C}$ -ЯМР Дорманом и Робертсом [65]. Спектры снимали в нейтральной водной и кислой среде. Было показано, что некоторые химические сдвиги  $^{13}\text{C}$  зависят от pH раствора.

Влияние присоединения азотистого основания (аденина) на химические сдвиги атомов углерода углеводного остатка исследовали Брайтмайер и др. [47, 66—68]. Были обнаружены характерные особенности изменений химических сдвигов углеводной части молекулы в нуклеозидах по сравнению с соответствующими свободными сахарами и их метилгликозидами.

а) Образование связи  $\text{C}-\text{N}$  при конденсации углеводного остатка с азотистым основанием смещает сигнал  $\text{C}1'$  в высокое поле на 12—14 м.д. (напомним, что замена  $\text{OH}$ -группы на метоксильную вызывает обратный сдвиг на 8—11 м. д.). Сдвиг сигнала аномерного углерода в высокое поле объясняется меньшей электроотрицательностью азота основания по сравнению с кислородом групп  $\text{OH}$  и  $\text{OCH}_3$ .

б) Аномерный углерод с аксиальным заместителем резонирует в более высоком поле, чем с экваториальным. В свободных сахарах и метилгликозидах это правило в ряде случаев не выполняется (манноза, талоза).

Атом  $\text{C}5'$  гликопиранозиладенинов резонирует в более низком поле (на 2—7 м.д.) по сравнению с  $\text{C}5$  соответствующих свободных сахаров и метилгликозидов. Единственное исключение в ряду изученных соединений составили  $\beta$ -D-рибопиранозиладенины. Причиной низкопольного сдвига сигнала  $\text{C}5'$ , по мнению авторов, является дипольное взаимодействие с участием кислорода пиранозного цикла.

Конденсация азотистого основания и углеводного остатка вызывает изменения химических сдвигов  $^{13}\text{C}$  не только в последнем, но и в самом ядре. При гликозилировании наблюдается большой высокопольный сдвиг для  $\alpha$ -углеродов азотистого основания и малый низкопольный — для  $\beta$ -углеродов (по сравнению с анионом основания). Это обстоятельство может быть использовано для определения места гликозилирования в нуклеотидах [69] и нуклеозидах.

Особенности строения нуклеозидов и нуклеотидов позволяют в наиболее полной мере использовать вспомогательные приемы и специальные методики, которые применяются при расшифровке спектров  $^{13}\text{C}$ -ЯМР. Эти приемы и методики будут подробно обсуждены в разделе VII, здесь же мы, цитируя работу Бедселла и Фини [70], приведем краткую схему анализа спектров нуклеотидов и нуклеозидов.

а) Бедселл и Фини предлагают начинать расшифровку со сравнения спектра нуклеотида (нуклеозида) со спектрами модельных соединений.

Так, сами авторы при расшифровке спектра дигидроникотинамидадениндинуклеотидфосфата исходили из спектров рибозо-5-фосфата, аденинмонофосфата, никотинамидмононуклеотида, никотинамидадениндинуклеотидфосфата и дигидроникотинамидадениндинуклеотида. Добавим, что анализ спектров модельных соединений и сопоставление с ними нерасшифрованного спектра нуклеотида (нуклеозида) не является обязательным этапом, если снимается большая серия родственных соединений, что и было продемонстрировано Джонсом, Грантом и др. [61—64].

б) В ряде случаев оказывается полезным применение селективного двойного гетероядерного резонанса  $^{13}\text{C}\{-^1\text{H}\}$ , т. е. наблюдение спектра  $^{13}\text{C}$  при подавлении спин-спинового взаимодействия с определенным видом протонов. Эта методика применима лишь при условии, что положение сигналов различных протонов известно, а сами сигналы в спектре ПМР хорошо разрешены. Внерезонансное подавление спин-спинового взаимодействия с протонами (*off*-резонанс) позволяет различить резонанс непроtonированных атомов углерода, углерода метиновых, метиленовых и метильных групп по характеру мультиплетности сигнала. Для сильно перекрывающихся спектров  $^{13}\text{C}$  авторы предлагают использование графического метода обработки результатов эксперимента с *off*-резонансом [71].

в) Использование влияния ионизации на химические сдвиги особенно важно для отнесения сигналов атомов углерода, не связанных с протонами. Этот прием основан на том, что атомы углерода, более близкие к месту протонирования, испытывают наибольшие изменения сдвига при вариации рН (pD) среды.

г) Использование парамагнитных сдвигающих реагентов (ПСР), получившее широкое распространение в спектроскопии ПМР, полезно также и в спектроскопии  $^{13}\text{C}$ -ЯМР. С одной стороны, оно облегчает применение селективного двойного резонанса, так как при добавке ПСР расширяется диапазон химических сдвигов протонов и уменьшается вероятность перекрывания сигналов. С другой стороны, если известно место комплексования, можно сделать непосредственное отнесение сигналов  $^{13}\text{C}$  по сдвигам, индуцированным ПСР.

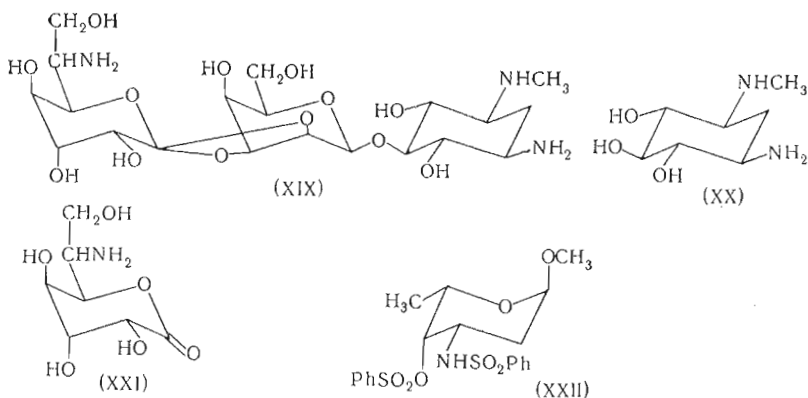
Отметим также, что при анализе спектров нуклеозидов и нуклеотидов важную информацию можно получить из определения величин КССВ  $^{13}\text{C}\text{-}^1\text{H}$  и  $^{13}\text{C}\text{-}^{31}\text{P}$  (для нуклеотидов), а также из определения времени релаксации  $T_1$  отдельных ядер.

Во всех работах, посвященных расшифровке спектров  $^{13}\text{C}$ -ЯМР нуклеотидов и нуклеозидов, в той или иной мере применяются упомянутые методики и приемы. Бедселл и Фини [70] использовали методику *off*-резонанса, измерение времен релаксации  $T_1$ , определение констант  $J_{^{13}\text{C}^1\text{H}}$ , съемку спектров в среде с различным рН. Съемка при различных рН среды и измерение времен релаксации  $T_1$  использовались при анализе спектров никотинамидадениндинуклеотида и родственных соединений [72, 73], константы  $J_{^{13}\text{C}^1\text{H}}$  оказались полезными при анализе спектров полиуридиловой кислоты [74], 3', 5'- и 2', 3'-циклических нуклеотидов [75, 76].

### III.2. Антибиотики

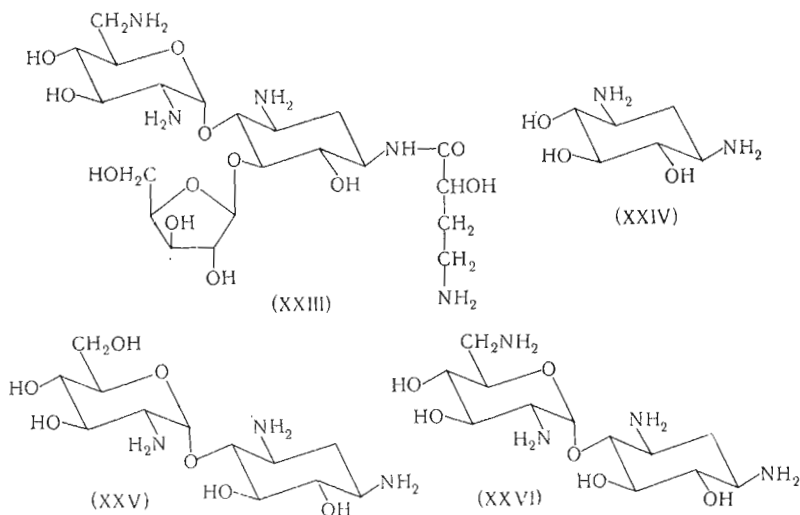
Применение описанной выше схемы или ее части в сочетании с использованием общих закономерностей, найденных для циклогексановых соединений и углеводов, лежит в основе расшифровки спектров и других сложных молекул, в частности антибиотиков. Так, при расшифровке спектра  $^{13}\text{C}$ -ЯМР гигромицина В (XIX), антибиотика из *Streptomyces hygroscopicus* [58], в качестве модельных соединений использовались гиосамин (XX), талоза и дестомовая кислота (XXI). При расшифровке спектров последних использовалась техника *off*-резонанса. Сравнение спектров модельных соединений и гигромицина В подтвердило структуру антибиотика

и, в частности, связь глюкозинового остатка с галозой через С5 первого, а также  $\beta$ -конфигурацию этой связи.



Лукач и Смит [77] синтезировали новый аминсахар (XXII), структурно родственный одному из звеньев антибиотика ванкозамина, сняли и расшифровали спектр  $^{13}\text{C}$ -ЯМР этого аминсахара с целью определения конфигурации соответствующего аномерного центра в ванкозамине.

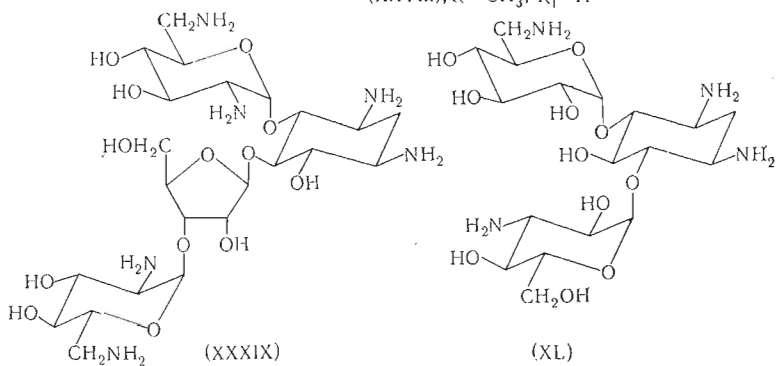
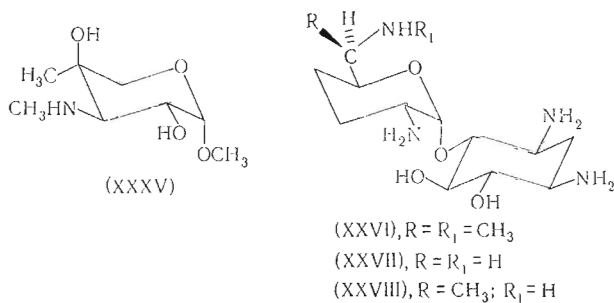
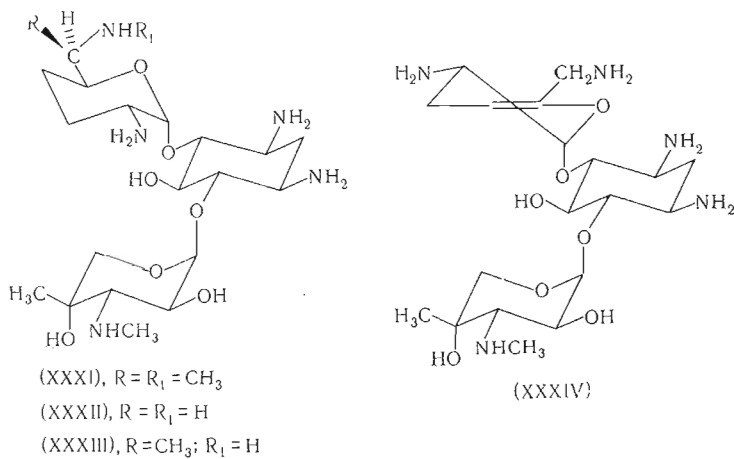
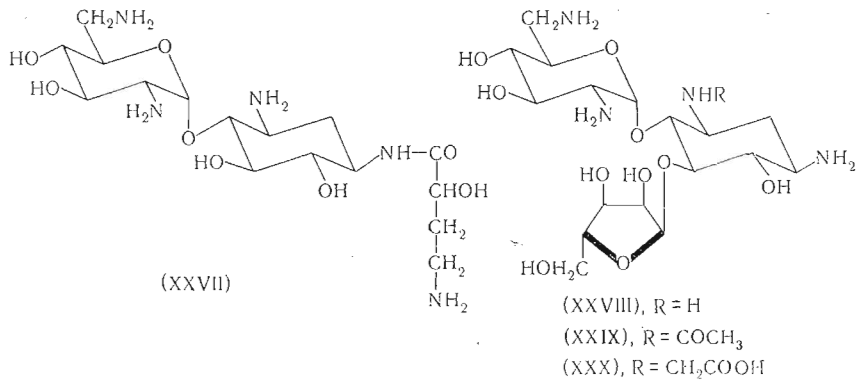
Бу и Вэстленд [78] при анализе спектра антибиотика бутуриозина А (XXIII) также исходили из предположения, что спектр  $^{13}\text{C}$ -ЯМР этого сложного аминогликозида является суперпозицией спектров составляющих его компонент с поправками на влияние их связывания. Поэтому первоначальным этапом работы была съемка и расшифровка спектров дезоксистрептамина (XXIV) и его солей, паромамина (XXV), метил- $\beta$ -мальтозида, неамина (XXVI), *s*-(-)-4-амино-2-оксимасляной кислоты, бутуриозина *P* (XXVII) и  $\alpha$ ,  $\beta$ -метил-*D*-ксилофуранозидов.



Сопоставление спектров модельных соединений и бутуриозина А подтвердило структуру последнего и позволило определить наличие двух изомеров по ксилофуранозидному циклу ( $\alpha$ - и  $\beta$ -ксилофуранозиды) в отношении 1 : 1,4.

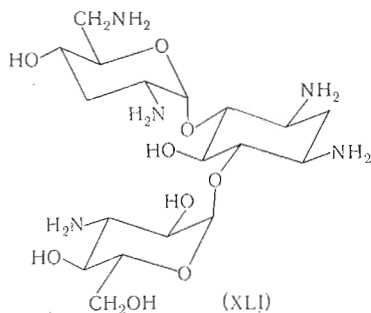
Расшифровка спектра аминогликозидного антибиотика рибостамина (XXVIII) [79] потребовала предварительного исследования спектров соединений (XXIV) — (XXVI), а также ди-*N*-ацетил-2-дезоксистрептамина, моно-*N*-ацетил-2-дезоксистрептамина и тетра-*N*-ацетилнеамина. Для отнесения спектральных линий модельных соединений использовалась

методика съёмки спектров в среде с различными рD в D<sub>2</sub>O, а также влияние N-ацетилирования на химические сдвиги <sup>13</sup>C.



Сравнение полностью расшифрованного спектра рибостамицина (XXVIII) со спектрами двух новых антибиотиков (XXIX) и (XXX), родственных рибостамицину, позволило установить их структуру.

В работе Мортон и др. [59] расшифровка спектров гентамициновых антибиотиков (XXXI—XXXIV) (гентамицинов С, С<sub>1</sub> и С<sub>2</sub> и сисомицина соответственно) была проведена после анализа спектров модельных соединений — β-метил-гарозаминида (XXXV), 2-дезоксистрептамина (XXIV), гентаминов С<sub>1</sub>, С<sub>1а</sub> и С<sub>2</sub> (XXXVI—XXXVIII). При анализе спектров широко использовалась техника селективного двойного и *off*-резонанса. Все спектры были сняты и расшифрованы независимо в трех лабораториях с использованием разных приборов и различных методов съемки. Результаты анализов затем сопоставили и обнаружили хорошую воспроизводимость их при различных условиях съемки.



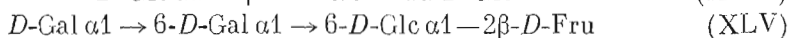
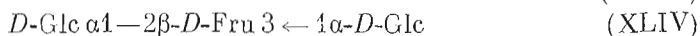
Ямаока и др. [49], основываясь на данных, полученных при анализе спектров аминсахаров, метил-*D*-рибофуранозидов и (XXIV) [59], дали полную расшифровку спектров сахаров — антибиотиков неомицина (XXXIX) и канамицина (XL).

Кох и др. [80] дали не только полное отнесение резонансных линий тобрамицина (XL1) и родственных антибиотиков, но и, основываясь на величинах химических сдвигов, сделали выводы о пространственном расположении моносахаридных остатков относительно дезоксистрептаминового звена (см. раздел VII).

#### IV. СПЕКТРЫ ОЛИГОСАХАРИДОВ

Отнесение сигналов в спектре <sup>13</sup>C-ЯМР олигомера проводится на основании химических сдвигов по тем же правилам, что и для производных моносахаридов. Однако спектр мономерного звена отличается от спектра соответствующего свободного моносахарида, и эти изменения в спектре зависят от положения гликозидной связи, ее конфигурации и устойчивости ротамеров вокруг межмономерных связей. Изучение влияния образования гликозидной связи на спектр <sup>13</sup>C-ЯМР является необходимым предварительным этапом для решения обратной задачи — определения состава олиго- и полисахарида по спектру ЯМР.

Спектры нескольких ди- и олигосахаридов, а именно сахарозы (XLII), туранозы (XLIII), меллеиозы (XLIV) и стахиозы (XLV), сняты и расшифрованы Аллерхендом и др. [25, 26, 81]. Авторы использовали при расшифровке спектров специальные методы — съемку частично релаксированных спектров <sup>13</sup>C-ЯМР и съемку мутаротирующих смесей. Эти работы будут обсуждены ниже.



Дорман и Робертс [20] при анализе спектров  $\alpha$ - и  $\beta$ -целлобиозы,  $\alpha$ - и  $\beta$ -лактозы,  $\alpha$ - и  $\beta$ -мальтозы,  $\beta$ -метилгликозидов целлобиозы, лактозы и мальтозы, а также октаацетатов  $\alpha$ - и  $\beta$ -целлобиозы исходили из предположения о том, что гликозилирование влияет на положение сигнала  $\alpha$ -углерода таким же образом, как и этерификация, и что присоединение дополнительной моносахаридной единицы экваториальной гликозидной связью не влияет на резонанс атомов углерода, находящихся в  $\gamma$ - и  $\delta$ -положении по отношению к этой связи.

Фельтер, Брайтмайер и Юнг [82], изучая спектры  $\alpha$ ,  $\alpha$ -трегалозы, целлобиозы и мальтозы, также отметили, что в трегалозе положение сигналов всех углеродов практически совпадает с их положением в спектре  $\alpha$ -метил-*D*-глюкозида. Те же авторы [83] исследовали спектры лактозы и мелибиозы, причем в качестве эталонных использовались спектры глюкозы, галактозы и  $\alpha$ -метилгалактозида. Позднее Фельтер, Билик и Брайтмайер [84] обобщили данные указанных двух работ и дополнили их расшифровкой спектров эпимальтозы и эпилактозы.

Такео, Хироэ и Куге [85] исследовали спектры  $^{13}\text{C}$ -ЯМР циклодекстринов. Спектры  $\alpha$ -,  $\beta$ - и  $\gamma$ -декстринов (6, 7 и 8 звеньев *D*-глюкопиранозы, связанных  $\alpha 1 \rightarrow 4$ -связями в макроцикл) сравнивались со спектрами  $\alpha$ -метил-*D*-глюкопиранозида и исходной амилозы. Аналогичное сопоставление было сделано для 6-дезоксид- $\beta$ -циклодекстрина и  $\alpha$ -метил-6-дезоксид-*D*-глюкопиранозида.

Оказалось, что нет никаких систематических изменений химических сдвигов при увеличении числа звеньев в макроцикле, но прослеживается систематический сдвиг положения резонанса атомов C1 и C4 (на 2—3 и 3—5 м. д. соответственно) в низкие поля в циклодекстринах по сравнению с амилозой. Этот факт может быть понят как следствие конформационных ограничений для вращения мономерных единиц вокруг C—O-связей в макроцикле по сравнению с линейной молекулой.

Наиболее последовательное применение принципа сравнения спектров олигомеров и соответствующих метильных производных прослеживается в работах Усуи, Ямаока и др. [52, 86], изучивших спектры  $^{13}\text{C}$ -ЯМР глюкобиоз, глюкотриоз и высокомолекулярных глюканов. Считая, что образование гликозидных связей влияет на химические сдвиги  $\alpha$ - и  $\beta$ -углеродных атомов так же, как и метилирование, авторы предварительно сняли и расшифровали спектры  $\alpha$ - и  $\beta$ -метил-*D*-глюкопиранозидов, 2-О-, 3-О-, 4-О- и 6-О-метил- $\alpha$ - и  $\beta$ -*D*-глюкопираноз. При сравнении спектров метилзамещенных производных и глюкобиоз можно заметить следующие закономерности:

а) сигналы C1  $\alpha$ - и  $\beta$ -аномеров восстанавливающего звена дисахаридов находятся в том же поле, что и сигналы C1 соответствующих метилированных  $\alpha$ - и  $\beta$ -пираноз, т. е. гликозилирование, так же как и метилирование по C3, C4 и C6, не влияет на положение резонанса аномерных атомов углерода C1. Естественное исключение составляют сигналы C1  $1 \rightarrow 2$ -связанных дисахаридов —  $\alpha$ -койбиозы и  $\beta$ -софорозы, где  $\beta$ -эффект от образования гликозидной связи несколько отличается от такового при метилировании по C2;

б) атомы углерода C1' невосстанавливающего звена с  $\alpha$ -гликозидной связью резонируют в более высоком поле (97,5—101 м. д.) по сравнению с C1', имеющими  $\beta$ -гликозидную связь (104—105 м. д.). Для  $\alpha$ ,  $\alpha$ - и  $\beta$ ,  $\beta$ -трегалозы сигнал атомов C1 смещен относительно указанных областей (94,8 и 100,7 м. д. соответственно), но различие между положениями сигналов C1 с  $\alpha$ - и  $\beta$ -связью сохраняется;

в) поскольку метилирование гидроксильных групп вызывает смещение линий соответствующих атомов углерода в низкие поля на 8—11 м. д., положение сигналов атомов C2, C3 и C4 для 2-, 3- и 4-О-метил-*D*-глюкопираноз смещается в характерную только для этих атомов область 80—87 м. д. Сигнал C6 в спектре 6-О-метил-*D*-глюкопиранозы попадает в об-

ласть химических сдвигов атомов C2—C5, но и в этом случае сигнал от C6 можно легко идентифицировать при сравнении со спектрами глюкозы, имея в виду, что метилирование по C6 не изменяет положения резонанса атомов C1—C4. Для глюкобиоз эти закономерности сохраняются. Если моносахаридный остаток присоединяется  $\beta$ -гликозидной связью, химические сдвиги атомов углерода восстанавливающего звена (C2, C3, C4 или C6), участвующих в образовании гликозидной связи, практически совпадают со сдвигами для соответствующих метиловых эфиров. Остаток с  $\alpha$ -связью смещает положение сигналов C2, C3, C4 или C6 на 1,5—5 м.д. в высокое поле по сравнению с соответствующими метиловыми эфирами;

г) химические сдвиги атомов углерода восстанавливающего звена, не связанных гликозидной связью, совпадают с соответствующими химическими сдвигами метиловых эфиров. Небольшие отличия (до 1 м. д.) наблюдаются для  $\beta$ -углеродных атомов (по отношению к углероду, связанному с метоксилом или OGlс) за счет различия в  $\beta$ -эффекте метоксильной и гликозильной групп;

д) химические сдвиги атомов углерода C2' — C6' невосстанавливающего звена сравнимы с химическими сдвигами соответствующих атомов  $\alpha$ - или  $\beta$ -метил-*D*-глюкопиранозидов.

Используя перечисленные закономерности, авторы дали полное отношение в спектрах всех глюкобиоз и некоторых метилглюкобиозидов, а также  $\alpha$ - и  $\beta$ -мальтотриозы, -панозы, -изопанозы, -генциотриозы и циклогексаамилозы.

Колсон и др. [87] также исследовали олигомеры и полимеры, состоящие из остатков глюкозы (мальтотриоза,  $\alpha$ - и  $\beta$ -циклодекстрины, нигероза, ламинарибиоза, амилоза,  $\alpha 1 \rightarrow 3$ - и  $\beta 1 \rightarrow 3$ -связанные глюканы), сопоставляя их спектры со спектрами глюкозы, метил-4-*O*-метил-*D*-глюкопиранозида и 3-*O*-метил-*D*-глюкозы. Импульсная методика съемки и более высокое качество спектров позволили авторам уточнить и дополнить закономерности, найденные в работе [52]. Так, было обнаружено, что для  $\beta$ -связанных олигосахаридов химические сдвиги атомов углерода при межзвеньевой связи несколько меньше, чем для соответствующих *O*-метильных производных, хотя эта разница не так существенна, как в  $\alpha$ -связанных олигосахаридов и соответствующих *O*-метильных производных. Другими словами, метилирование всегда вызывает больший низкочастотный сдвиг по сравнению с глюкозилацией. Далее, при переходе от  $\beta 1 \rightarrow 3$ -связанной глюкобиозы (ламинарибиоза) к  $\alpha 1 \rightarrow 3$ -связанной (нигероза) вследствие аномального эффекта смещаются линии не только C1', C2', C3' и C5' (в высокое поле), но и C4' (на 1,3 м.д. в низкое поле) и C6' (на 0,4 м.д. в высокое поле). Напомним, что переход от  $\beta$ - к  $\alpha$ -аномеру в *D*-глюкопиранозе и метил-*D*-глюкопиранозиде практически не влияет на химические сдвиги атомов C4 и C6.

Хэверкэмп и сотр. [88] исследовали спектры ЯМР большого ряда полностью метилированных дисахаридов *глюко*- и *галакто*-ряда. Спектры дисахаридов сравнивались со спектрами полностью метилированных  $\alpha$ ,  $\beta$ -метил-*D*-глюко- и -галактопиранозидов. Для последних оказались справедливыми все закономерности в изменениях химических сдвигов при аномеризации, найденные ранее для соответствующих неметилованных глюкозидов. Анализ спектров полностью метилированных дисахаридов проводился с учетом следующих обстоятельств:

а) химические сдвиги атомов углерода, удаленных от межмономерной гликозидной связи, почти идентичны таковым в полностью метилированных моносахаридах;

б) химические сдвиги атомов гликозильной части (C1' — C6') практически не зависят от конфигурации C1 (исключение —  $1 \rightarrow 2$ -связанные глюкобиозы).

Эти закономерности, как уже обсуждалось, справедливы и для неметилованных дисахаридов.

Сопоставление спектров полностью метилированных моно- и дисахаридов позволило установить, что они имеют ряд следующих характерных отличий.

а) Углеродные атомы, непосредственно участвующие в образовании гликозидной связи в дисахаридах, резонируют в существенно более высоком поле по сравнению с теми же атомами в полностью метилированных моносахаридах. Этот эффект отражает различие во влиянии на химические сдвиги гликозильной и метоксильной групп.

б) Высокополюный сдвиг атомов C2 — C4 и C6, связанных  $\alpha$ -D-связью, больше, чем для  $\beta$ -D-связанных, что указывает на большее стерическое межкольцевое взаимодействие в первом случае.

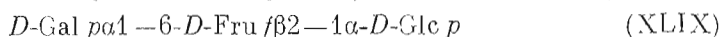
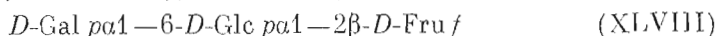
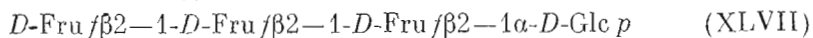
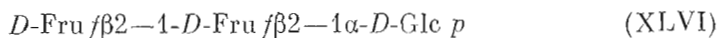
в) Смещение сигнала C1' всегда меньше, чем смещение сигнала атома углерода, по которому образуется межмономерная связь (исключение — C1 — C1'-связанные дисахариды).

г) Незначительные различия в химических сдвигах атомов C3' и C5'  $\alpha$ -D-связанных полностью метилированных дисахаридов и тех же атомов полностью метилированных моносахаридов указывают на малую выгодность сложенной конформации в олигомерах, при которой угол между плоскостями колец минимален. Действительно, если замена метоксильной группы при C1' на гликозил не влияет на сдвиги C3' и C5', то 1,3-диаксиальное взаимодействие ограничено главным образом взаимодействием между протонами при C3' и C5' и гликозидным атомом кислорода.

д) Существенный высокополюный сдвиг для атома C3 в  $\beta$  1  $\rightarrow$  4- и для C4 в  $\beta$  1  $\rightarrow$  3-связанных дисахаридных производных отражает влияние стерического сжатия при межкольцевом взаимодействии. Этим же эффектом можно объяснить высокополюные сдвиги C3'—OCH<sub>3</sub> и C2'—OCH<sub>3</sub> в  $\beta$  1  $\rightarrow$  4-связанных дисахаридах. В спектрах  $\alpha$  1  $\rightarrow$  4-связанных сахаров эти сдвиги не наблюдаются, хотя при рассмотрении молекулярных моделей разницу в стерических затруднениях для  $\alpha$ - и  $\beta$ -дисахаридов невозможно обнаружить.

Таким образом, полный анализ изменений химических сдвигов при переходе от моносахаридов к олиго- и полисахаридам требует учета равновесных концентраций ротамеров вокруг гликозидной связи. Однако эффект от изменения конфигурации гликозидной связи обычно достаточно большой, чтобы различить  $\alpha$ - и  $\beta$ -связанные звенья, несмотря на различия в равновесных концентрациях ротамеров.

Олигосахариды с фуранозными звеньями были исследованы методом <sup>13</sup>C-ЯМР Бинкли и др. [89, 90]. Были сопоставлены спектры  $\alpha$ -D-глюкопиранозы,  $\beta$ -D-фруктофуранозы, сахарозы (XLII), 1-kestозы (XLVI), нистозы (XLVII) (в диметилсульфоксиде), стахиозы (XLV), раффинозы (XLVIII) и плантеозы (XLIX) (в диметилсульфоксиде и воде). Показано, что химические сдвиги в двух растворителях не различаются, за исключением сигналов CH<sub>2</sub>OH, для которых наблюдается слабый высокополюный сдвиг в диметилсульфоксиде. Спектр нистозы почти идентичен с суперпозицией спектров 1-kestозы и  $\beta$ -фруктофуранозы. В свою очередь спектр 1-kestозы совпадает с суммой спектров сахарозы и  $\beta$ -D-фруктозы, т. е. при последовательном добавлении  $\beta$ -D-фруктофуранозильных звеньев к сахарозе в спектре первых не происходит больших изменений.



Сигналы аномерных атомов углерода в изученных олигосахаридах находятся в более низком поле по сравнению с другими сигналами. При этом в самом низком поле (103—106 м.д.) наблюдается линия C2 кетофу-



ранозильных звеньев. В наиболее высоком поле ( $< 65$  м.д.) находятся сигналы первичных оксиметильных групп.

Подробное исследование ди-*D*-фруктозодиангидридов с помощью спектроскопии  $^{13}\text{C}$ -ЯМР [90] позволило не только подтвердить аномерную конфигурацию звеньев, но и установить конформацию некоторых пирапозных и фуранозных циклов.

Спектры глюкозилсорбитов — мальтита и изомальтита — исследованы Колсоном и др. [51]. При сравнении спектров мальтозы и мальтита можно видеть полное совпадение положений сигналов углеродов глюкозного звена  $\text{C}1' - \text{C}6'$ . То же самое можно сказать о паре изомальтоза — изомальтит.

#### V. СПЕКТРЫ $^{13}\text{C}$ -ЯМР ПОЛИСАХАРИДОВ

Спектры  $^{13}\text{C}$ -ЯМР полисахаридов наиболее сложны для интерпретации даже при решении «обратной задачи», т. е. при отнесении линий резонанса в спектре полисахарида с известной структурой. Специфика спектров полимеров — уширение резонансных линий за счет вязкости растворов [20] — играет существенную роль не только в спектроскопии ПМР, но и в спектроскопии  $^{13}\text{C}$ -ЯМР, несмотря на значительно больший диапазон химических сдвигов в последнем случае. Причиной уширения может быть также конформационная неоднородность цепи, приводящая к «размыванию» положения резонанса однотипных атомов углерода. Особенно сильные затруднения уширение линий вызывает при анализе той части спектра, где резонируют неаномерные атомы углерода и атомы углерода, не участвующие в гликозидных связях. В ряде случаев, в частности для полимеров с малой регулярностью, эта часть спектра представляет собой неразрешенный «горб», подобный так называемому «метиленовому возвышению» в спектрах ПМР стероидов.

В связи с этим при анализе спектров  $^{13}\text{C}$ -ЯМР особый интерес представляют области резонанса атомов углерода, связанных гликозидной связью, для которых разрешение обычно бывает достаточно удовлетворительным даже при значительном уширении. Относительно просто выглядят спектры регулярных полисахаридов. В некотором смысле они могут быть даже менее сложными по сравнению со спектрами ди- и олигосахаридов, так как при большом молекулярном весе полимера спектр его не усложняется за счет сигналов атомов углерода концевых групп [91].

Во всех случаях анализ спектра полимера базируется на сравнении его со спектрами модельных соединений. Метилированные моносахариды могут оказаться слишком грубой моделью для этой цели, но их использование в некоторых случаях может быть полезным [92].

Более четкие корреляции наблюдаются при сравнении спектров полимеров и родственных по структуре олигомеров. В этом случае необходимо только учитывать поправку на влияние концевых звеньев в последних. Перспективно также сравнение спектров нескольких полисахаридов, родственных по структуре. Иногда простое сопоставление спектров  $^{13}\text{C}$ -ЯМР позволяет разделить ряд полимеров на родственные по структуре группы. Так, в одной из первых работ по  $^{13}\text{C}$ -ЯМР полимеров Горни и Спенсер [93], основываясь на сходстве спектров  $^{13}\text{C}$ -ЯМР, разделили большой ряд содержащих маннозу полисахаридов, выделенных из клеточных стенок шести видов дрожжей *Pichia* и *Hansenula*, на три группы. Последующий химический анализ показал правильность такого деления: полисахариды оказались представителями нового структурного типа, в котором доминируют линейно  $1 \rightarrow 6$ - и  $1 \rightarrow 2$ -связанные звенья  $\alpha$ -*D*-маннопиранозы, а различие между выделенными в три группы полисахаридами состояло в числе последовательно  $1 \rightarrow 2$ -соединенных звеньев, приходящихся на один  $1 \rightarrow 6$ -связанный остаток.

В качестве примера расшифровки спектров  $^{13}\text{C}$ -ЯМР и установления структуры полисахаридов, для которых известны из химического анализа

лишь самые общие черты строения, рассмотрим подробно работу Горина [94], посвященную дрожжевым маннанам. Было известно, что дрожжевые маннаны из клеточных стенок представляют собой полимеры с главной цепью, образованной 1 → 6-связанными α-D-маннопиранозными звеньями, замещенными по C2 α-связанными звеньями маннозы или ее олигомеров. Однако способ связывания маннопиранозных остатков боковых цепей в маннанах различного происхождения разнообразен: могут присутствовать 2-О- или 3-О-связанные маннопиранозные звенья с α- или β-конфигурацией гликозидной связи в различных комбинациях.

Наибольшие различия в спектрах полисахаридов можно ожидать для сигналов атомов углерода, связанных межмономерной связью (C1 и C2 (или) C3). Как раз эти сигналы лежат в относительно «чистой» области спектра (77—105 м.д.) и не перекрываются с сигналами от остальных атомов маннопиранозных звеньев.

В качестве модельных соединений были использованы олигосахариды, содержащие только β-D-, только α-D- или как α-D-, так и β-D-маннопиранозные звенья. Исследовались химические сдвиги атомов C1 (область «А», 93—105 м.д.) и C2 и (или) C3 (область «В», 79—81 м.д.). В ряду олигосахаридов, содержащих только α-D-маннозные звенья (ди-, три-, тетра- и пента-α1 → 2-связанные линейные маннопиранозиды), найдены следующие величины химических сдвигов:

<i>Область C1</i>		
Концевое невосстанавливающее звено	103,8	м.д.
Внутренние звенья	102,2—102,3	»
Восстанавливающее звено	90,3—90,8	»
<i>Область C2</i>		
Восстанавливающее звено	80,6—80,8	»
Внутренние звенья	80,0	»

Для ряда олигомеров, содержащих α1 → 2- и α1 → 3-связанные маннопиранозные звенья, найдены следующие химические сдвиги:

<i>Область C1</i>		
3-О-замещенные внутренние звенья или невосстанавливающее концевое звено	103,7	м.д.
2-О-замещенные внутренние звенья	102,2	»
Восстанавливающее звено	94,4	»
<i>Область C2 и (или) C3</i>		
C2 2-О-замещенного восстанавливающего звена	80,6—80,8	»
C2 2-О-замещенных внутренних звеньев	80,0	»
C3 3-О-замещенных внутренних звеньев или концевого невосстанавливающего звена	79,8—80,0	»

И наконец, по спектрам модельных три- и тетрасахаридов, а также маннобиоз с α- и β-связями определены химические сдвиги, важные для анализа полисахаридов, содержащих β-D-маннопиранозные звенья:

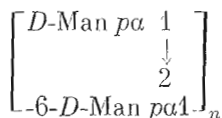
<i>Область C1</i>		
C1 восстанавливающего звена с α-конфигурацией	93,8—94,0	м.д.
C1 восстанавливающего звена с β-конфигурацией	95,3	»
C1 невосстанавливающего концевого звена	101,2—101,7	»
C1 внутренних звеньев	102,8	»
<i>Область C2</i>		
C <sup>α</sup> 2 } (по спектрам соответствующих маннобиоз)	80,0	»
C <sup>β</sup> 2 }	83,2	»

Используя данные, полученные для олигосахаридов, авторы интерпретировали спектры маннанов.

Маннаны *Saccharomyces fragilis* (S. f.) и *Endomicopsis fibuliger* (E. f.) по данным химического анализа представляют собой маннопиранозную цепь с α1 → 6-связями, причем каждое звено имеет α-D-маннопиранозный

остаток при C2. В спектре ЯМР обоих полисахаридов имеются интенсивные сигналы при 103,9 м. д., относящиеся к C1  $\alpha$ -D-маннопиранозного остатка в разветвлении. Сигналы при 100,3 и 80,4 м.д. при известной структуре можно отнести к C1 и C2 в 2,6-ди-О-замещенных звеньях.

Таким образом, спектр ЯМР подтверждает данные химического анализа и соответствует основной структуре:

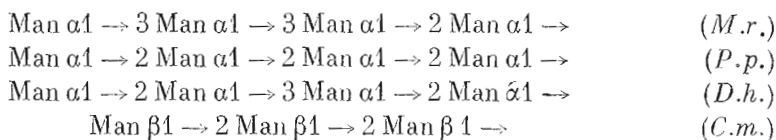


Вместе с тем по спектрам можно видеть и некоторые различия в структуре маннанов *S.f.* и *E.f.* Так, в боковой цепи полисахарида *S.f.* присутствуют звенья  $\text{Man } \alpha 1 \rightarrow 2 \text{ Man } \alpha 1 \rightarrow$ , а маннан *E.f.* содержит некоторое число звеньев  $\text{Man } \alpha 1 \rightarrow 3 \text{ Man } \alpha 1 \rightarrow$ .

Маннаны *Saccharomyces cerevisiae* (*S. c.*) и *Saccharomyces rouxii* (*S. r.*) кроме характерных сигналов 100,2—100,3 и 80,2 м.д., относящихся к C1 и C2 2,6-ди-О-замещенных звеньев основной цепи, дают интенсивные сигналы 102,2 и 79,8—80,0 м.д., а также 103,7 (в *S. c.*) и 103,8 (в *S. r.*). Последнее небольшое различие в сдвигах C1 отражает разницу в структуре маннанов *S. c.* и *S. r.*: первый имеет боковую цепь  $\text{Man } \alpha 1 \rightarrow 3 \text{ Man } \alpha 1 \rightarrow 2 \text{ Man } \alpha 1 \rightarrow$ , а второй —  $\text{Man } \alpha 1 \rightarrow 2 \text{ Man } \alpha 1 \rightarrow$ . Это различие не отражается в спектре области «В», так как линии C2 и C3 в 2-О- и 3-О-замещенных звеньях маннана *S.c.* перекрываются.

Спектры маннанов *Metschnikowia reukaufii* (*M. r.*), *Debaryomyces hansenii* (*D. h.*), *Pichia pastoris* (*P. p.*) и *Citeromyces matritensis* (*C. m.*) были сопоставлены со спектрами продуктов избирательного ацетолиза по 1  $\rightarrow$  6-связям. Оказалось, что спектры маннанов и продуктов ацетолиза различаются лишь на один сигнал в области «А»: в маннанах есть сигнал 100,3 м.д., отвечающий C1 в 2,6-дизамещенных звеньях; в продуктах расщепления вместо него присутствует сигнал 94,4 м.д. от C1 восстанавливающего конечного звена. Анализ спектров продуктов ацетолиза технически более прост, поэтому такое сочетание предварительной химической обработки полимера и анализа низкомолекулярных продуктов кажется особенно перспективным.

Установлена следующая структура боковых цепей:



что соответствует данным полного химического анализа полисахаридов.

Предварительное химическое или энзиматическое расщепление с последующим анализом продуктов становится необходимым этапом исследования в случае малой растворимости полисахарида. Так, Усуи и др. [52] исследовали глюканы растительного и животного происхождения (амилопектины и гликогены), предварительно обрабатывая их  $\beta$ -амилазой, которая частично гидролизует лишь  $\alpha 1 \rightarrow 4$ -связи, не затрагивая связей  $\alpha 1 \rightarrow 6$ .

Сравнивая спектры изомальтодекстрина (только 1  $\rightarrow$  6-связи), мальто-триозы и циклогексаамилозы (только 1  $\rightarrow$  4-связи) со спектрами лимитдекстринов гликогена и амилопектина, авторы [52] отнесли основные линии спектров полисахаридов и нашли, что спектры декстринов амилопектина и гликогена различаются лишь по высоте основных пиков, но не по их положению. Это вполне согласуется с тем, что амилопектин и гликоген сходны по структуре (содержат только *D*-глюкопиранозные звенья с  $\alpha 1 \rightarrow 4$ - и  $\alpha 1 \rightarrow 6$ -связями), но различаются степенью разветвленности

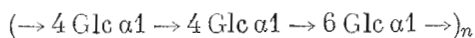
(количеством 1 → 6-связей): в гликогене степень разветвленности примерно вдвое больше, чем в амилопектине.

О степени разветвленности полисахаридов можно судить, с одной стороны, по интенсивности сигналов 67,3; 71,0; 99,5 м.д. (им отвечают сигналы 67,1 (C6); 71,1 (C4 и C5) и 99,3 м.д. (C1) в изомальтодекстрине, имеющем только 1 → 6-связи), и с другой — по интенсивности сигнала 78,1 м.д. (ему соответствует сигнал 78,5 м.д. (C4) в мальтотриозе).

Анализ спектров полисахаридов с известным моносахаридным составом проводится при непосредственном их сравнении со спектрами родственных моно- и олигосахаридов. Так, для декстрана, полученного из *Leuconostoc mesenteroides* [95], содержащего, по данным метода метилирования, 59% α1 → 6-, 34% α1 → 2- и 7% α1 → 3-связанных звеньев D-глюкопиранозы, для подтверждения структуры методом <sup>13</sup>C-ЯМР оказалось достаточным проанализировать лишь области резонанса аномерных атомов углерода и C6, в каждой из которых имеется три пика. Их отнесение осуществлено путем сравнения спектра исследуемого сахара со спектрами глюкозы, изомальтозы, α-койбиозы и декстрана линейного строения с α1 → 6-связями.

Анализ интенсивностей пиков дает отношение C6-замещенных звеньев к незамещенным 63 : 37 — 67 : 33, что согласуется с данными химического анализа.

Аналогичным путем были расшифрованы спектры других глюканов со смешанными связями [87, 96]. Химическими методами исследования было показано, что глюканы *Tremella mesenterica* (*T. m.*) и *Pullularia pullulans* (*P. p.*) имеют два вида связей: α1 → 6 и α1 → 4 в отношении 1 : 2. Сравнение спектров двух глюканов показало почти полную их идентичность. Сопоставление интенсивности сигналов C1 при связях 1 → 4 и 1 → 6 позволяет установить соотношение звеньев (~ 2,2 : 1), совпадающее с данными химического анализа. В области резонанса атома C1, участвующего в 1 → 4-связи, находится не одна, а две линии с очень малым расстоянием между ними, относящиеся к звеньям, имеющим вторую межномерную связь при C4 или C6 соответственно. Равная интенсивность этих двух близких сигналов показывает равную вероятность 1 → 4- и 1 → 6-связывания для звена, которое уже участвует своим C1 в связи α1 → 4. Отсутствие расщепления для C1, участвующего в связи 1 → 6, соответствует одинаковому химическому окружению для звеньев с этой связью. Все это позволяет предположить регулярное строение цепи обоих полимеров:



Для декстрана В-742 [87] химический анализ (периодатное окисление и другие методы) показал присутствие звеньев α1 → 6 (57%), α1 → 3 (26%) и α1 → 2 или α1 → 4 (17%). Спектр <sup>13</sup>C-ЯМР декстрана определенно указывает на то, что в полисахариде нет звеньев, связанных через C2, но замечен сигнал атома C1 α1 → 4-связанных звеньев. В α1 → 6-гомоглюкане присутствует линия 72,0 м.д., характерная для больших блоков α1 → 6; в декстране В-742 эта линия отсутствует. Совокупность данных позволяет охарактеризовать последовательность звеньев в В-742 как 1 → 6, 1 → 6, 1 → 3 со случайным включением 1 → 4.

Огура и др. [97], исследуя спектры малоногалактана из *Penicillium citrinum*, установили, что он является β1 → 5-связанным фуранозидным полимером, этерифицированным малоновой кислотой по положению C3. Молярное отношение D-галактозы и малоновой кислоты оказалось близким к 3 : 1. В качестве эталонных использовали спектры α-метил-L-арабинофуранозида и неэтерифицированного галактана.

Определение структуры полисахаридов антигена *Neisseria meningitidis* (серогруппы В и С), построенных из остатков сиаловой кислоты [98], проводилось с широким использованием специальных методик, описанных в разделе VII. Для сравнения использовали спектры N-ацетил-



как химический сдвиг С1 лежит в промежутке сдвигов С1 соответствующих  $\alpha$ - и  $\beta$ -глюкопиранозилфосфатов. Однако, если установить положение резонанса кольцевых атомов углерода, чувствительных к аномеризации С1 (т. е. С2, С3 и С5), то по закономерностям, установленным для гексоз и гексозаминов, можно определить аномерную конфигурацию моносахаридных звеньев в полимерах. Отнесение сигналов С2, С3 и С5 в спектре полигликозилфосфата (L) после сравнения со спектрами модельных соединений позволило отнести его к числу  $\alpha$ -связанных.

Для определения положения связи в полимере (L1) существенную роль сыграло расщепление углеродных сигналов на фосфоре. В его спектре все кольцевые атомы углерода дают дублетные сигналы, что исключает связь 1  $\rightarrow$  3, так как в этом случае С5 не должен иметь заметной константы взаимодействия с фосфором (см. раздел VI.2), а С2 вместо дублетного расщепления должен был бы иметь более сложное (дублет дублетов или триплет). Таким образом, в полимере (L1) имеется фосфатная связь между С1 и С4. Полная определенность относительно характера связывания в этом полимере и сравнение спектра (L1) со спектрами моделей и (L) позволили отнести все сигналы и определить конфигурацию аномерного центра ( $\alpha$ ).

Расшифровка спектра фосфорилированного полисахарида (LII) сильно упростилась при сравнении его со спектром О-деацетилированного аналога, являющегося эписмером по С2 относительно полимера (L) и имеющего также  $\alpha$ -конфигурацию связей. Было сделано полное отнесение сигналов и определено количество О-ацетилированных звеньев.

Если учесть, что для полимеров был проведен также конформационный анализ на основе констант  $^{13}\text{C}$ - $^{31}\text{P}$  (см. раздел VI.2), работа Бандла, Смита и Дженнингса, с нашей точки зрения, может служить хорошей иллюстрацией возможностей комплексного применения химических и биохимических методов в сочетании с  $^{13}\text{C}$ -ЯМР для полного анализа структуры полисахаридов.

## VI. ИСПОЛЬЗОВАНИЕ КССВ, ИНТЕГРАЛЬНЫХ ИНТЕНСИВНОСТЕЙ ЛИНИЙ, ВРЕМЕН РЕЛАКСАЦИИ И ВСПОМОГАТЕЛЬНЫХ ПРИЕМОВ ПРИ АНАЛИЗЕ СПЕКТРОВ $^{13}\text{C}$ -ЯМР УГЛЕВОДОВ

### VI.1. Внерезонансное подавление спин-спинового взаимодействия с протонами (*off*-резонанс). КССВ $^{13}\text{C}$ - $^1\text{H}$ в спектрах $^{13}\text{C}$ -ЯМР

Как уже отмечалось в разделах I.3.1 и I.3.3, съемка спектров  $^{13}\text{C}$ -ЯМР обычно производится в условиях полного подавления спин-спинового взаимодействия с протонами. При этом достигается значительное сокращение времени накопления спектра, но теряется информация о КССВ  $^{13}\text{C}$ - $^1\text{H}$ . В большинстве случаев для отнесения сигналов в спектре  $^{13}\text{C}$ -ЯМР достаточно знать лишь характер расщепления, а не саму величину КССВ. Действительно, атому углерода, связанному непосредственно с одним протоном, в «неразвязанном» спектре будет отвечать дублет; таким образом, метиловую группу легко отличить от метиленовой (триплет в «неразвязанном» спектре), метильной (квартет) и от непротонированного углерода (синглет). Разумным компромиссом, отвечающим требованию повышения чувствительности метода за счет использования эффекта Оверхаузера и вместе с тем позволяющим получить информацию о характере расщепления сигнала на ближайших протонах, является методика *off*-резонанса. При этой методике дополнительное электромагнитное поле, насыщающее резонанс протонов, смещается по частоте за пределы области резонанса протонов. Поскольку насыщающее поле представляет собой не узкую полосу с фиксированной частотой, а область с широким набором частот излучения, интенсивность которого максимальна в центре и убывает к краям области, для протонов создаются условия неполного насыщения. Спектр

$^{13}\text{C}$ -ЯМР оказывается «недоразвязанным»: в нем наблюдается расщепление углеродных сигналов на протонах, но частично сохраняется и усиление за счет эффекта Оверхаузера. Расстояния между линиями в дублетах; триплетях и квартетах не соответствуют истинной КССВ; нарушается также обычное, соответствующее биномиальным коэффициентам, распределение интенсивностей линий в мультиплетях. Чем ближе центр области частот насыщающего излучения к частоте резонанса данного вида протонов, тем меньше величина расщепления сигнала  $^{13}\text{C}$  на этих протонах, меньше отношение интенсивностей крайних и центральных компонент в триплетях и квартетах и больше усиление за счет эффекта Оверхаузера.

Если не смещать центр полосы частот насыщающего поля за пределы области резонанса, а лишь уменьшать интенсивность облучения и сужать полосу частот, мы будем приближаться к условиям селективного двойного резонанса. В этом случае для ядер углеродных атомов, связанных с протонами, частота резонанса которых совпадает с центром полосы насыщающего излучения, будут соблюдаться условия съемки с полным подавлением спин-спинового взаимодействия, для остальных ядер — условия *off*-резонанса или полного отсутствия насыщения. Смещая центр полосы насыщающего излучения вдоль всей области резонанса протонов, мы можем получать условия съемки с полным подавлением спин-спинового взаимодействия поочередно для всех протонированных атомов углерода. Такой метод съемки позволяет находить положение резонанса атомов углерода при известных химических сдвигах протонов.

Если химические сдвиги протонов неизвестны или находятся в слишком узкой области, разобраться в сложной картине частично «развязанного» спектра помогает графический метод обработки спектров *off*-резонанса [71].

Методика съемки спектров *off*-резонанса широко применяется при исследовании углеводных соединений для определения положения резонанса непротонированных атомов углерода или непосредственно связанных с различным числом протонов [52, 58, 59, 70, 100].

Применение метода селективного двойного резонанса затруднено из-за сложности протонных спектров углеводов, однако использование этого метода в сочетании с применением парамагнитных сдвигающих реагентов может оказаться перспективным [70].

Следует упомянуть также о возможности применения «обратного» селективного двойного резонанса, когда насыщающему облучению подвергаются поочередно атомы углерода и наблюдаются изменения в протонном спектре (исчезновение «сателлитов» от  $^{13}\text{C}$ ). Этот метод был успешно применен Бартоном и др. [101] для идентификации химических сдвигов  $^{13}\text{C}$  метильных протонов некоторых пиранозных производных.

Другой метод, позволяющий частично использовать усиление за счет эффекта Оверхаузера и вместе с тем получать «неразвязанные» спектры  $^{13}\text{C}$ -ЯМР с истинными константами  $J_{\text{HC,H}}$ , предложен сравнительно недавно [24] и пока мало применялся при исследованиях углеводных соединений.

Этот метод использует то обстоятельство, что при прекращении облучения протонов насыщающим радиочастотным полем спин-спиновое взаимодействие протонов с атомами углерода восстанавливается практически мгновенно, а равновесная разность заселенностей уровней, соответствующая бoльцмановскому распределению в условиях отсутствия насыщения резонанса протонов, восстанавливается постепенно со скоростью, определяемой временем релаксации  $T_1$  для данного углерода. Если выключать насыщающее поле непосредственно перед импульсом, обеспечивающим сигнал свободной индукции ядер  $^{13}\text{C}$ , и включать его снова после затухания сигнала на время, необходимое для создания условий полного насыщения, то получим «неразвязанный» спектр  $^{13}\text{C}$ -ЯМР с истинными КССВ и с усилением сигналов  $^{13}\text{C}$  за счет эффекта Оверхау-

зера. Следует, однако, подчеркнуть, что усиление сохраняется лишь частично и главным образом для тех атомов углерода, которые имеют времена релаксации больше чем 1—2 с. В качестве примера успешного использования описанного метода в применении к углеводам следует назвать работу Бокка, Лундта и Педерсена [102].

Как уже говорилось выше, истинные КССВ  $^{13}\text{C}$ - $^1\text{H}$  в углеводах с природным содержанием  $^{13}\text{C}$  можно получить также при съемке спектров без подавления взаимодействия с протонами [103, 104], что требует большого времени накопления, а также при тотальном [29] или селективном [105] обогащении углеводных соединений изотопом  $^{13}\text{C}$ , что связано с трудоемким синтезом.

## VI.2. Использование КССВ $^{13}\text{C}$ - $^1\text{H}$ и $^{13}\text{C}$ - $^{31}\text{P}$ при анализе спектров $^{13}\text{C}$ -ЯМР

Впервые КССВ  $^{13}\text{C}$ - $^1\text{H}$  были получены для углеводных соединений Перлиным и Кэзью при анализе спектров ЯМР  $\alpha$ ,  $\beta$ -D-глюкозы, обогащенной  $^{13}\text{C}$  [29]. КССВ  $^1J_{\text{C}_1-\text{H}_1}$  составляла для  $\alpha$ -аномера 169 Гц, для  $\beta$ -аномера — 160 Гц; для обоих аномеров  $^1J_{\text{C}_2-\text{H}_2}$  и  $^1J_{\text{C}_6-\text{H}_6}$  составляли 140—145 Гц. В спектрах ЯМР видно дополнительное расщепление с константой 5—6 Гц для сигнала H1 в  $\alpha$ -аномере за счет взаимодействия протона с C3 и C5, находящимися в *транс*-положении к H1, и 4 Гц — за счет взаимодействия H1 с C2 через две связи. В  $\beta$ -аномере не обнаружено расщепления H1 за счет дальних взаимодействий. Таким образом,  $^3J_{\text{C}-\text{H}}$  и  $^2J_{\text{C}-\text{H}}$  зависят от стереохимических факторов.

Большая степень тотального обогащения (~50%) позволила обнаружить в спектре  $^{13}\text{C}$ -ЯМР КССВ  $J_{^{13}\text{C}-^{13}\text{C}}$ :  $^1J_{\text{C}_6-\text{C}_5}$  (42,7 Гц) и  $^1J_{\text{C}_1-\text{C}_2}$  (47,1 Гц в  $\beta$ - и 44,9 Гц в  $\alpha$ -аномере). КССВ  $J_{^{13}\text{C}-^{13}\text{C}}$  более чем через одну связь оказались меньше 1 Гц.

Бокк, Лундт и Педерсен [102] провели систематическое исследование КССВ  $^1J_{\text{C}-\text{H}}$  в ряде производных глюкозы, галактозы, маннозы, ксиллозы, арабинозы, ликсозы, а также в сахарозе, раффинозе, мальтозе, целлобиозе и окта-O-ацетильных производных последней. Оказалось, что константы  $^1J_{\text{C}_1-\text{H}_1}$  больше, чем все остальные КССВ  $^1J_{\text{C}-\text{H}}$  через одну связь, включая КССВ атомов C2 — C6. Для последних значения  $^1J$  лежат в интервале 143—148 Гц в свободных сахарах и метилгликозидах, и для них не обнаружено какой-либо явной зависимости от стереохимии.

КССВ  $^1J_{\text{C}_1-\text{H}_1}$  показывают четкую зависимость от ориентации заместителя при C1 и поэтому могут быть использованы при конфигурационном и (или) конформационном анализе.

Для метилгликозидов с аксиально ориентированным протоном H1  $^1J_{\text{C}_1-\text{H}_1}^{\text{ax}}$  лежат в интервале 158—162 Гц, для метилгликозидов с экваториальным H1 — 169—171 Гц. Разница в несколько герц сохраняется в замещенных (ацетилированных) гликозидах и в свободных сахарах. При введении электроотрицательного заместителя (F, Cl) к C1 абсолютное значение  $^1J_{\text{C}_1-\text{H}_1}$  увеличивается в обоих аномерах, но разница ~ 10 Гц сохраняется.

Этот факт может быть использован для определения аномерной конфигурации ди- и олигосахаридов. Так,  $^1J_{\text{C}_1-\text{H}_1}$  глюкозной части сахарозы составляет 170 Гц, что согласуется с  $\alpha$ -конфигурацией остатка D-глюкозы в этом дисахариде. То же значение найдено для глюкозного и галактозного фрагмента в раффинозе. Целлобиоза (октаацетат) и мальтоза также имеют константы  $^1J_{\text{C}_1-\text{H}_1}$ , соответствующие их аномерной конфигурации.

Абсолютная величина константы  $^1J_{\text{C}_1-\text{H}_1}$  зависит, по-видимому, также от электроотрицательности заместителей при C2. Так, для гепарина [103], где при C2 стоят группы  $-\text{OSO}_3^-$  или  $-\text{NH}_2$ , константы  $^1J_{\text{C}_1-\text{H}_1}$  оказались равными 165 Гц, что значительно меньше величины, характерной для гликозидов с экваториальным H1. Шварц и Перлин [105] исследовали влияние относительной ориентации видциальных и геминальных

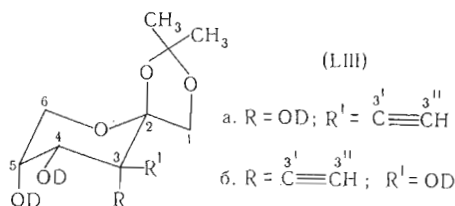


$^{13}\text{C}$  и  $^1\text{H}$  и ближайших их заместителей на КССВ этих ядер в обогащенных изотопом  $^{13}\text{C}$  сахарах, производных [1- $^{13}\text{C}$ ]- и [6- $^{13}\text{C}$ ]-*D*-глюкозы, [6- $^{13}\text{C}$ ]-*L*-идозы и соответствующих лактонов.

Вициальная константа  $^3J_{\text{C-H}}$  как через связь С—С, так и через связь С—О оказалась ориентационно зависимой, причем эта зависимость подобна таковой для протонов; во всяком случае, двугранному углу порядка  $60-100^\circ$  отвечает меньшая константа  $^3J_{\text{C-H}}$  (0—3 Гц), а углу  $140-180^\circ$  — большая (4,5—5,5 Гц). Наблюдаемое расщепление (геминальное и вициальное) меньше, когда атом кислорода находится в плоскости пути взаимодействия, чем когда он выведен из этой плоскости. Присутствие внешнего кислорода также может заметно изменить величину геминальной константы  $^2J$ .

Значения констант можно найти и из спектров не обогащенных  $^{13}\text{C}$  углеводов. Так, Перлин и др. [106] получили для [5,6,6- $^2\text{H}_3$ ]- $\alpha$ ,  $\beta$ -*D*-глюкозы следующие КССВ:  $^1J_{\text{C}_1-\text{H}_1}$  169,  $^1J_{\text{C}_3-\text{H}_3}$  147,  $^2J_{\text{C}_3-\text{H}_2}$  5,5,  $^3J_{\text{C}_3-\text{H}_1}$  5,5 Гц ( $\alpha$ -аномер) и  $^1J_{\text{C}_1-\text{H}_1}$  161,  $^2J_{\text{C}_1-\text{H}_2}$  5,5,  $^3J_{\text{C}_1-\text{H}_3} < 1$  Гц ( $\beta$ -аномер).

Измерения дальних  $J_{\text{C-H}}$  проще, когда рассматриваемый атом углерода взаимодействует с небольшим числом протонов. В качестве примера авторы работы [106] приводят спектр 1,2-О-изопропилиден-3-С-этинил- $\beta$ -*D*-психопиранозы



для которой необходимо было выбрать структуру из двух возможных: (LIIIa) или (LIIIб).

Сигнал  $\text{C}3'$  наблюдался как дублет ( $^2J_{\text{C}3'-\text{H}3'}$  49,2 Гц), каждая из компонент которого лишь на 1,5—2 Гц шире, чем компоненты дублета  $\text{C}3''$ . Это значит, что для  $\text{C}3'$  вициальное расщепление меньше 3 Гц,  $\text{C}3'$  и  $\text{H}4$  находятся в *gosh*-положении (для антиперипланарного положения константа 5—6 Гц и более [105]). Триплет  $\text{C}6$  имеет компоненты также не шире 2 Гц, т. е.  $\text{H}4$  находится в *gosh*-ориентации к  $\text{C}6$ , что возможно только при конформации цикла  $^5\text{C}^2$ .

Таким образом, установлена конфигурация центра  $\text{C}3$  (LIIIa) и конформация цикла.

Вициальные константы через гликозидную связь также могут дать существенную информацию о соотношении концентраций конформеров. В целлобиозе и мальтозе вициальные константы через гликозидную связь ( $^3J_{\text{H}_1'-\text{C}_4}$ ) оказались [106] в интервалах 1—2 и 3—4 Гц соответственно, что отвечает большему двугранному углу  $\text{H}1' - \text{C}1' - \text{O}\text{C}4$  в мальтозе по сравнению с целлобиозой.

Зависимость КССВ  $^{13}\text{C}$ - $^{31}\text{P}$  в углеводных соединениях от стерических факторов изучена довольно подробно в работах Смита и др. [60, 73, 75, 76, 99].

При сопоставлении спектров уридина (U), уридин-2'-фосфата (2'-UMP), уридин-3'-фосфата (3'-UMP), уридин-5'-фосфата (5'-UMP) и полиуридиловой кислоты (поли (U)) [74] было обнаружено, что КССВ  $^{13}\text{C}$ - $^{31}\text{P}$  прослеживаются через две и три связи, причем величины КССВ зависят от относительной концентрации ротамеров вокруг С—О-связи. Были найдены следующие величины для констант  $^3J$ :

$$\begin{aligned} 5'-\text{UMP} \quad & ^3J_{\text{P-C}4'} = 8,5 \text{ Гц} \\ 3'-\text{UMP} \quad & ^3J_{\text{P-C}4'} = 6 \text{ Гц} \quad ^3J_{\text{P-C}2'} = 2,5 \text{ Гц} \\ 2'-\text{UMP} \quad & ^3J_{\text{P-C}1'} = 9 \text{ Гц} \quad ^3J_{\text{P-C}3'} = 3 \text{ Гц} \end{aligned}$$

По аналогии с константами  ${}^3J_{\text{H-H}}$  авторы предположили, что для чистых *транс*-ротамеров константа должна быть максимальной ( $\sim 10$  Гц), для *гош*-ротамеров — минимальной ( $\sim 1$  Гц). По этой причине в 5'-UMP должен преобладать *транс*-ротамер по C4', в 2'-UMP — *транс*-ротамер по C1'. *Транс*-ротамер по C4' в 3'-UMP также преобладает, но в несколько меньшей степени. То же самое можно сказать и о полиуридилевой кислоте, где константа  ${}^3J_{\text{P-O-C4'}}$  равна 7 Гц.

Впоследствии [75, 76] была сделана попытка уточнить угловую зависимость констант  ${}^3J_{\text{C-3P}}$ , используя данные ПМР и  ${}^{13}\text{C}$ -ЯМР для 3',5'- и 2',3'-циклофосфатов уридина, тимидина, аденозина, гуанозина, а также 3',5'-циклических фосфатов тимидина и N<sup>6</sup>, O<sup>2'</sup>-дibuтириладенозина.

Рассмотрение констант  ${}^3J_{\text{H-H}}$  показало, что диэдральные углы не могут отвечать никакой жесткой конформации фуранозного цикла, т. е. фуранозный цикл подвижен, но эта подвижность ограничена фосфатным циклом.

Из сопоставления конформационных данных, полученных на основании изучения констант  ${}^3J_{\text{P-H}}$ , для констант  ${}^3J_{\text{C-3P}}$  выведена приближительная зависимость

$${}^3J_{\text{C-3P}} = 8 \cos^2 \gamma,$$

где  $\gamma$  — диэдральный угол между плоскостями P — O — C2' и O — C2' — C3' (для связи O — C2') или P — O — C3' и O — C3' — C4' (для связи O — C3') и т. д.

Полученные зависимости для констант  ${}^3J_{\text{C-3P}}$  использовались также для определения преимущественной конформации вокруг C1—O-связи в менингококковых полигликозилфосфатах [99]. Большие значения констант  ${}^3J_{\text{C-3P}}$  для них (8,0—8,6 Гц) показывают, что для ротамеров вокруг связи C1—O преобладает конформация, где  ${}^{31}\text{P}$  находится в *транс*-положении к C2. Для ротамеров вокруг связи C4—O в полигликозилфосфатах (L) и (LII) (см. раздел V) также найдены большие константы  ${}^3J_{\text{C-3P}}$  (7,6 и 6 Гц соответственно), что доказывает преобладание ротамера с *транс*-расположением атомов C5 и P. Для полимера (LII) найдены значения  ${}^3J_{\text{C3-P}}$  2,5 Гц,  ${}^3J_{\text{C5-P}}$  5 Гц, что позволяет рассчитать соотношение трех ротамеров по связи C4—O (*транс*-P-C3 7%, *транс*-P-C5 50% и *гош*-P-C5 (C3) 43%).

Сам факт расщепления сигналов  ${}^{13}\text{C}$  на ядрах  ${}^{31}\text{P}$  существенно облегчает интерпретацию спектров фосфорилированных углеводов. Сравнением спектров фосфорилированных и нефосфорилированных производных можно определить место фосфорилирования или, наоборот, зная место фосфорилирования, определить положение сигналов  ${}^{13}\text{C}$  в нефосфорилированном соединении. Так, Горин [107], сопоставляя спектры  ${}^{13}\text{C}$ -ЯМР фосфата 2-O- $\beta$ -D-маннопиранозил- $\alpha$ , $\beta$ -D-маннозы с соответствующим нефосфорилированным дисахаридом, нашел, что фосфатная группа находится при C6 восстанавливающего звена дисахарида (но не при C6'). В соответствии с этим была уточнена структура фосфономаннана *Hansenula capsulata*. Расщепление сигнала  ${}^{13}\text{C}$  на фосфоре использовалось также при анализе спектров нуклеотидов, родственных дигидроникотинамидадениндинуклеотиду [70], и фосфорилированных производных 2-ацетида-2-дезоксидеозы [60].

### VI.3. Использование интегральных интенсивностей линий

В разделе I. 3.3 подробно разобраны ограничения, связанные с использованием интегральных интенсивностей линий в спектроскопии  ${}^{13}\text{C}$ -ЯМР.

Специальное исследование соотношения интегральных интенсивностей линий в сахарозе и аденозин-5'-монофосфате [26] показало, что нет принципиальных ограничений для использования этого параметра как количественного: в указанных соединениях все атомы углерода сахарных

звеньев имели одинаковую интегральную интенсивность линий. Это свидетельствует в пользу того, что дипольный механизм релаксации доминирует для всех атомов углерода (в том числе непротонированных) и усиление за счет эффекта Оверхаузера вследствие этого одинаково. Второе ограничение — различие во временах релаксации, хотя и не носит принципиального характера (так как всегда можно выбрать достаточно большой интервал  $\tau$  между импульсами, удовлетворяющий условию  $T_1 \ll 5\tau$  для всех атомов углерода), тем не менее является причиной того, что интегральные интенсивности редко используют как параметр спектра. Соблюдение условия  $T_1 \ll 5\tau$  может привести к столь длительному времени съемки, что все преимущества импульсной методики перед обычным накоплением пропадают. Поэтому интегральная интенсивность используется часто как полуколичественный или даже качественный параметр, причем в последнем случае сравниваются интенсивности линий только однотипных атомов углерода, для которых ожидаются близкие по значению времена релаксации.

Горин [94] при исследовании спектров олигосахаридов и дрожжевых маннанов использовал интегральные интенсивности как полуколичественный параметр, так как при выбранных им условиях съемки (интервал между импульсами  $\sim 0,4$  с) должно было сказываться различие во временах релаксации атомов углерода. Например, с увеличением числа звеньев в олигосахаридах, представляющих собой линейные  $\alpha 1 \rightarrow 2$ -связанные манопиранозные остатки, относительная интегральная интенсивность сигнала C1 внутренних звеньев растет не пропорционально этому числу. В ряду других олигомеров и полимеров также нет количественной корреляции, но качественное или полуколичественное соответствие тем не менее используется при анализе спектров. Учитывая необходимость большого количества накоплений при съемке спектров полимеров (порядка нескольких десятков тысяч), такой подход можно считать разумным компромиссом.

Там, где количественное соответствие имеет решающее значение (например, при количественном анализе мутаротирующих смесей, см. VI. 5.1), необходимо учитывать индивидуальные времена релаксации различных атомов углерода.

#### VI.4. $T_1$ как параметр спектроскопии ЯМР углеводов

Импульсная методика съемки спектров ЯМР позволяет относительно просто определять времена релаксации индивидуальных атомов углерода. Таким образом, время релаксации можно считать еще одним самостоятельным параметром, учет которого значительно облегчает интерпретацию спектров  $^{13}\text{C}$ -ЯМР. Принципы использования этого параметра уже обсуждались в разделе I.4.2. Здесь мы приведем несколько примеров из области спектроскопии  $^{13}\text{C}$ -ЯМР соединений углеводной природы.

Аллерхенд, Доддрелл и Комороски [26], определив индивидуальные времена релаксации атомов углерода в сахарозе и оценив по ним времена корреляции для отдельных звеньев, показали, что два моносахаридных кольца в сахарозе ведут себя как единое жесткое образование и реориентируются изотропно со временем корреляции, равным  $7 \cdot 10^{-11}$  с в 0,5 М водном растворе или  $3 \cdot 10^{-10}$  с — в 2 М растворе. В противоположность этому в аденозин-5'-монофосфате адениновая группа более затруднена в своем движении, чем сахарный остаток.

Различие в подвижности атомных групп приводит к различию во временах релаксации даже однотипных атомов углерода (см. раздел I.4.2). Специальная двухимпульсная методика съемки позволяет получить так называемые частично релаксированные спектры ЯМР (PRFT-спектры) [1], в которых интенсивность линий меняется от отрицательной до максимально возможной положительной, проходя через нулевое значение.

Интенсивность линии в таких спектрах является функцией отношения интервала между импульсами и времени релаксации.

Именно из ряда частично релаксированных спектров с различными интервалами  $\tau$  обычно рассчитывают значения времен релаксации. Аллерхенд и Доддрелл [25] предложили применить методику съемки PRFT-спектров для отнесения линий в спектрах сложных соединений, имеющих однотипные группы атомов с разной подвижностью и, следовательно, различными  $T_1$ . Так, в обычном спектре стахиозы (XLV) (раздел IV) нетрудно отличить линии резонанса глюкозного и фруктозного звеньев от сигналов галактозных остатков по обычной процедуре, но невозможно произвести отнесение сигналов галактозных звеньев к концевому или внутреннему звену. Из общих соображений очевидно, что концевая галактозная единица более подвижна, чем внутренняя, и, следовательно, должна характеризоваться более быстрой реориентацией и большим временем  $T_1$  (раздел 1.4.2). Съемка PRFT-спектров стахиозы с различным  $\tau$  и их сопоставление показали, что при малом интервале между импульсами (0,34 с) часть линий обычного спектра исчезла (сигналы атомов углерода с  $T_1 \approx 0,5$  с), часть осталась ( $T_1 < 0,5$  с), а линия непротонированного атома углерода фруктофуранозного кольца оказалась отрицательной ( $T_1 > 0,5$  с).

Так как ядра  $^{13}\text{C}$  концевой галактозной звена должны иметь большее время релаксации, сигналы с нулевой интенсивностью в PRFT-спектре с  $\tau < 0,34$  с были отнесены за счет резонанса этого звена. Этот метод можно применять во всех случаях, когда внутреннее движение группы сравнимо или быстрее, чем переориентация молекулы в целом.

Различие во временах релаксации использовалось при расшифровке спектров гепарина [103] и нуклеотидов [70].

Изучение времен релаксации атомов углерода в никотинамидадениндинуклеотиде и 5'-аденозинмонофосфате в растворах с различной концентрацией и pH показало, что  $T_1$  увеличивается с уменьшением концентрации вещества [72]. При этом в 5'-аденозинмонофосфате влияние концентрации на  $T_1$  оказалось различным для атомов углерода сахарного остатка и основания. Для растворов динуклеотида с малой концентрацией (0,2 М) замечены небольшие изменения  $T_1$  при увеличении кислотности среды.

Если учесть, что времена релаксации имеют также температурную зависимость, приходится признать, что использование величины  $T_1$  в качестве самостоятельного количественного параметра спектра  $^{13}\text{C}$ -ЯМР возможно лишь при строгом учете условий съемки.

## VI.5. Вспомогательные методы, облегчающие расшифровку сложных спектров углеводов и их производных

### VI.5.1. Использование мутаротации

Импульсная методика съемки спектров  $^{13}\text{C}$ -ЯМР требует относительно малого времени, сравнимо или меньшего, чем время, необходимое для установления равновесной концентрации в мутаротирующих смесях сахаров. Это обстоятельство часто используется для отнесения линий в спектрах углеводов.

Так, свежерастворенная глюкоза дает спектр, соответствующий только  $\alpha$ -аномеру, и лишь со временем появляются сигналы  $\beta$ -аномера. В тех случаях, когда в неравновесном растворе с самого начала присутствуют сигналы обоих аномеров, отнесение сигналов облегчается заметным изменением их относительной интенсивности при приближении к равновесию. Наконец, если известен по данным других методов равновесный состав мутаротирующей смеси, причем концентрации составляющих изомеров значительно различаются, то по различию интенсивности сигналов также можно выделить спектры компонент.

Методику расшифровки спектров при съемке неравновесных мутаротирующих смесей особенно часто использовали Фельтер, Брайтмайер и Янг, в частности при исследовании глюкозы и глюкобиоз [82], дисахаридов с галактозным звеном [83],  $\alpha, \beta$ -*D*-ксилопиранозы и  $\alpha, \beta$ -*D*-арабинопиранозы [68], сложной мутаротирующей смеси  $\alpha, \beta$ -*D*-галопиранозы и  $\alpha, \beta$ -*D*-галофуранозы [67].

Додрелл и Аллерхенд [81] использовали мутаротацию для расшифровки спектра смеси  $\alpha, \beta$ -*D*-фруктопиранозы и  $\alpha, \beta$ -*D*-фруктофуранозы, а затем определили состав мутаротирующей смеси в воде при 36° ( $3 \pm 1\%$   $\alpha$ -*D*-,  $57 \pm 6\%$   $\beta$ -*D*-фруктопиранозы,  $9 \pm 1\%$   $\alpha$ -*D*- и  $31 \pm 3\%$   $\beta$ -*D*-фруктофуранозы).

Аналогичный анализ был сделан для мутаротирующей смеси *D*-гуранозы [81] (содержание фруктофуранозных звеньев  $20 \pm 2\%$  ( $\alpha$ ) и  $41 \pm 4\%$  ( $\beta$ ), фруктопиранозных —  $39 \pm 4\%$  ( $\beta$ ),  $\alpha$ -звеньев менее 4%).

Дю Пено и Перлин [39] определили положение аномерного и кольцевого равновесия в растворах 2-кетогексоз: *D*-псиказы, *L*-сорбозы, *D*-галозы и *D*-фруктозы в воде и диметилсульфоксиде.

### VI.5.2. Специфическое дейтерирование

Впервые специфическое дейтерирование с целью отнесения резонансных линий в спектрах углеводов было использовано Кохом и Перлиным [33]. При анализе спектров *D*-глюкозы возникла неясность при отнесении сигналов атомов C2 и C3. Кох и Перлин синтезировали два дейтерированных соединения:  $[3\text{-}^2\text{H}]$ - и  $[5,6,6\text{-}^2\text{H}_3]$ -*D*-глюкозу. Сравнение спектров монодейтерированной и обычной глюкозы показало, что в спектре дейтерированного соединения на две линии меньше. Наблюдаемое исчезновение сигналов связано с отсутствием в меченой глюкозе усиления за счет эффекта Оверхаузера для атома C3, при котором протон замещен дейтерием. Таким образом, однозначно определяется положение резонанса C3 в  $\alpha$ - и  $\beta$ -*D*-глюкозе. Аналогично в спектрах  $[5,6,6\text{-}^2\text{H}_3]$ - $\alpha$ - и  $\beta$ -*D*-глюкоз не наблюдается сигналов C5 и C6. Следует подчеркнуть, что сигналы атомов углерода, связанных с дейтерием, в принципе можно обнаружить в спектре при достаточно длительном накоплении (для  $^{13}\text{C}$ - $^2\text{H}$  это триплет с соотношением интенсивностей 1 : 1 : 1), однако в спектре с числом накоплений, достаточным для проявления сигналов протонированных атомов углерода, сигналы дейтерированных атомов углерода могут быть слишком слабыми.

Разработка общих принципов применения дейтерированных аналогов для расшифровки спектров углеводов принадлежит Горину [92]. Горин предложил использовать не только явный  $\alpha$ -эффект от замещения H на дейтерий (исчезновение сигнала  $\alpha$ -углерода или вырождение его в мультиплет), но и более тонкие  $\beta$ - и  $\gamma$ -эффекты (смещение сигналов  $\beta$ -углеродов на  $\sim 0,1$  м. д. и  $\gamma$ -углеродов на 0,01 м. д.). Так, сигнал C5 гексоз идентифицируется при съемке спектров  $6\text{-}^2\text{H}_2$ -производных по его высокопольному сдвигу на  $\sim 0,12$  м. д. по сравнению с недейтерированным аналогом. Отнесение сигнала C5 в спектрах гексоз можно сделать, используя и дейтерированный по C5 аналог (прямой  $\alpha$ -эффект), однако синтез последнего сложнее, чем синтез 6-дейтерированного соединения.

Использование  $\beta$ -эффекта требует большой точности измерения химических сдвигов и строгого соблюдения тождественности условий съемки дейтерированного и недейтерированного аналогов. Более слабый  $\gamma$ -эффект невозможно использовать при анализе спектров, так как точность измерения химических сдвигов составляет  $\pm 0,01$  м. д.

Высокопольные сдвиги за счет  $\beta$ -эффекта варьируются в интервале 0,01—0,1 м. д. в расчете на один протон, замещаемый дейтерием. Величина сдвига зависит от суммарной электроотрицательности заместителей при рассматриваемом углероде: чем больше дезэкранирование атома  $^{13}\text{C}$ ,

тем меньше  $\beta$ -эффект на нем. По этой причине наименьшие  $\beta$ -эффекты наблюдались для C1 соединений, дейтерированных по C2. Не обнаружено зависимости  $\beta$ -эффекта от аксиального или экваториального положения замещаемого протона. Использование  $\beta$ -эффекта наряду с  $\alpha$ -эффектом резко расширяет возможности метода специфического дейтерирования в спектроскопии ЯМР, так как для полного и однозначного отнесения сигналов в спектре достаточно сравнения спектров недейтерированного соединения со спектрами двух аналогов, меченных по различным атомам углерода [46].

### VI.5.3. Использование влияния pH (pD) среды на химические сдвиги углерода

Дорман и Робертс [20], изучая влияние щелочности раствора на химические сдвиги  $^{13}\text{C}$  в дисахаридах, обнаружили, что в большинстве случаев изменения в спектрах в зависимости от pH среды малы (сдвиг около 0,2 м. д. в слабое поле в 1 н. NaOH по сравнению с водой). Однако в  $\alpha$ ,  $\beta$ -D-мальтозе и  $\beta$ -метил-D-мальтозиде некоторые сигналы смещаются в щелочном растворе на величину порядка 2 м. д. в низкое поле. Большие низкочастотные смещения сигналов (1—2 м. д.) при увеличении pD среды наблюдались для атомов C1, C2, C3 и C4 растворов амилозы и циклодекстринов в  $\text{D}_2\text{O}$  [85]. Колсон и др. [87] использовали различие в изменениях сдвигов углерода от pD среды при анализе спектров глюкозанаов. Так, в 1  $\rightarrow$  4-связанных глюкозанаов при изменении pD среды мало изменяется положение сигналов C5 и C6, что позволяет различить близкие линии от C5 и C2 в спектре амилозы; в 1  $\rightarrow$  6-связанных глюкозанаов зависимость положения сигналов от pD заметна лишь для атомов C2 и C3; в 1  $\rightarrow$  3-связанных глюкозанаов сдвиги наиболее велики для C1 и особенно для C3, т. е. для атомов, участвующих в образовании гликозидной связи.

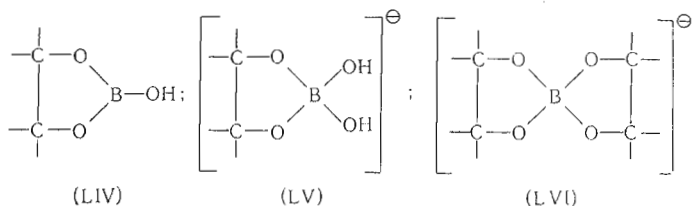
Авторы связывают изменения химических сдвигов  $^{13}\text{C}$  при вариации pD среды со способностью образующегося оксианиона стабилизироваться за счет образования водородных связей с соседними гидроксильными группами. Поэтому можно ожидать, что для однотипных атомов углерода в спектрах мономеров и соответствующих полимеров зависимости химических сдвигов от pD будут различными как за счет существования гликозидных связей в полисахаридах и изменения вследствие этого условий для образования водородных связей, так и за счет конформационных изменений. Так, в спектре глюкозы к изменению pH наиболее чувствительны химические сдвиги атомов C2, C3 и C6; в 1  $\rightarrow$  4-связанных глюкозанаов сдвиг C6 не чувствителен к изменению щелочности среды из-за невозможности стабилизации оксианиона за счет водородной связи с C4. Для аминопосахаров [79] также наблюдалась зависимость химических сдвигов  $^{13}\text{C}$  от pD среды, причем наиболее сильные изменения видны на  $\beta$ -атомах углерода (по отношению к аминированному).

Протомирование основания в нуклеотидах вызывает изменения химических сдвигов атомов углерода, ближайших к атомам азота [65, 74].

### VI.5.4. Использование комплексования

Горин и Мазурек [108, 109] по спектрам  $^{13}\text{C}$ -ЯМР проследили образование боратных комплексов ряда сахаров при добавлении тетрабората натрия и борной кислоты к растворам углеводов в  $\text{D}_2\text{O}$ . В некоторых случаях химические сдвиги  $^{13}\text{C}$  не изменялись, но наблюдалось уширение сигналов  $^{13}\text{C}$ , находящихся вблизи места комплексования. В других случаях сигналы оставались узкими, но были видны изменения химических сдвигов. При замене тетрабората на дифенилборинат натрия уширение сигналов отсутствовало, что свидетельствует о динамическом происхождении этого явления (а не за счет взаимодействия  $^{13}\text{C}$ - $^{11}\text{B}$ ). Для комплексов

постулируются структуры типа (LIV) — (LVI)



причем равновесие между двумя последними структурами может быть причиной уширения сигналов при добавлении тетрабората натрия. Изменения химических сдвигов или уширение сигналов при добавлении тетрабората или дифенилборината натрия можно использовать при анализе спектров сахаров, основываясь на тех же принципах, что и при изменении рН среды.

Большие возможности при исследовании спектров  $^{13}\text{C}$ -ЯМР углеводов открывает применение парамагнитных сдвигающих реагентов [110], особенно в тех случаях, когда имеется один доминирующий центр комплексообразования. Горин и Мазурек [111] применили хлориды европия и празеодима при параллельном исследовании  $\alpha$ -D-маннозо-1-фосфата и  $\alpha$ -D-маннозо-6-фосфата и обнаружили смещение сигналов  $^{13}\text{C}$ , которое было интерпретировано в соответствии со структурой этих моделей. Празеодим и европий вызвали противоположное по направлению смещение резонанса атомов углерода, стоящих рядом с фосфатной группой (Pr — в низкие поля, Eu — в высокие). Сигнал  $\alpha$ -углеродных атомов смещается на 1—2,  $\beta$ - — на 0,5 м. д.

Кэзью и др. [112] применили нитрат гадолиния как релаксационный реагент, снижающий время релаксации атомов углерода в динамическом комплексе, который он образует с уроновыми кислотами. Уменьшение времени релаксации приводит к уширению резонансных сигналов углерода и спаду их видимой интенсивности. Оказалось, что при добавке малых количеств нитрата гадолиния к  $\alpha, \beta$ -галактопираноуронату натрия в  $\text{D}_2\text{O}$  сигналы  $\alpha$ -аномера (C6 и C1) уменьшаются, а аналогичные сигналы  $\beta$ -аномера не изменяются. Подобная картина наблюдалась и для  $\alpha, \beta$ -D-глюкопираноуроната и  $\alpha, \beta$ -L-идопираноуроната натрия.

## VII. ХИМИЧЕСКИЕ СДВИГИ $^{13}\text{C}$ И ПОВОРОТНАЯ ИЗОМЕРИЯ ВОКРУГ ГЛИКОЗИДНЫХ СВЯЗЕЙ

В предыдущих разделах уже цитировались работы, где в той или иной форме проводился конформационный анализ углеводов с использованием данных спектроскопии  $^{13}\text{C}$ , главным образом КССВ. Однако, как видно из раздела I, основной параметр спектроскопии  $^{13}\text{C}$ -ЯМР — химический сдвиг — также может нести важную конформационную информацию.

Наиболее интересным с точки зрения химии углеводов является вопрос о поворотной изомерии вокруг гликозидных связей. Впервые возможность конформационного анализа в приложении к гликозидной связи была рассмотрена Дорманом и Робертсом [20], которые предложили использовать для этой цели эффект стерического уплотнения и связанные с ним изменения химических сдвигов  $^{13}\text{C}$  углеводного цикла и агликонов. Логику анализа Дорман и Робертс продемонстрировали на примере метилированных инозитов (см. раздел I).

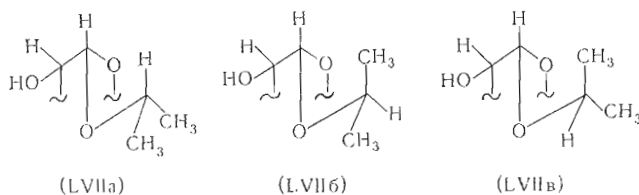
Лемье и Кото [21] сопоставили данные традиционных методов конформационного анализа (метод твердых сфер и молекулярного вращения) с результатами ЯМР-исследований для ряда  $\alpha$ - и  $\beta$ -глюкозидов (агликоны — циклогексил, 2'-метилциклогексил, 6'-метилциклогексил и 2',6'-диметилциклогексил). Вычисления по методу твердых сфер при вариации

сразу двух углов (торсионного угла между связями C1—O<sub>цикл</sub> и C1'—O<sub>гликоз</sub> (Φ) и торсионного угла между связями C1'—O<sub>гликоз</sub> и C1'—C2' (или C6') (ψ)) позволили определить величины этих углов, отвечающих наименьшему пространственному взаимодействию атомов. Однако расчет молекулярного вращения для ротамеров с найденными таким способом углами Φ и ψ не согласовался с эмпирическими данными. Лучшее согласие достигается, когда варьируется только угол ψ, а угол Φ считается постоянным.

В пользу последнего предположения говорит постоянство константы  $^3J_{C1'-H1}$ , найденное для α- и β-аномеров метил-, этил- и изопропилглюкопиранозидов (3,8 для α- и 4,2 Гц — для β-аномеров). Если считать, что постоянство константы означает постоянство диэдрального угла, то угол Φ действительно не зависит от агликона и в β-пиранозидах он несколько меньше, чем в α-аномерах. Авторы произвольно приняли значение угла Φ равным +60° для α- и —55° для β-аномеров и, варьируя только ψ, вновь оптимизировали последний по методу твердых сфер. Расчет молекулярного вращения для ротамеров с оптимальным ψ дал лучшее соответствие с эмпирическими данными для молекулярного вращения.

Наконец, был проведен расчет угла ψ (при фиксированных Φ) по полуэмпирическому методу расчета молекулярного вращения, который дал наилучшее согласие с величиной молекулярного вращения, полученной опытным путем. Для выбора наилучшего из трех предложенных способа расчета торсионных углов Φ и ψ Лемье и Кото вновь привлекли данные  $^{13}C$ -ЯМР, а именно химические сдвиги C1. Оказалось, что при использовании последних двух методов (с фиксацией угла Φ) существует прекрасная линейная корреляция между величиной угла ρ, образуемого связями C1—H и C1'—C2'(C6') и химическими сдвигами C1 гликозидов с различными агликонами. Авторы считают, что найденная корреляция является наиболее строгим доказательством постоянства угла Φ для гликозидов, и, таким образом, отдают предпочтение методу  $^{13}C$ -ЯМР перед всеми другими.

Кох и др. [80] использовали представления о γ-гош-взаимодействии и связанных с ним изменениях химических сдвигов  $^{13}C$  для определения устойчивости ротамеров вокруг гликозидных связей в тобрамицине (XLI) и родственных соединениях. Авторы заметили, что положение сигнала C1 смещается в высокое поле при замене метила на изопропил и трет-бутил в α-D-глюкопиранозидах на 4 и 7,7 м. д. соответственно. Имея в виду малое различие в индуктивном влиянии этих заместителей, авторы отнесли изменения химических сдвигов полностью за счет ациклического γ-эффекта. Действительно, для изопропил-α-D-глюкопиранозида можно представить три ротамера относительно связи C1'—O (LVIIa — LVIIв)

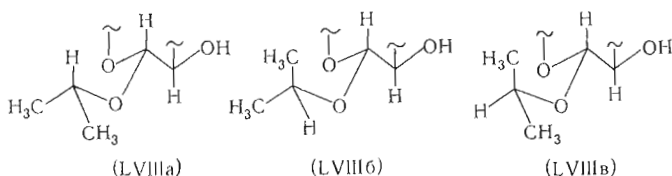


В ротамерах (LVIIб) и (LVIIв) атомы H1 и протоны CH<sub>3</sub>-группы находятся в пространственном взаимодействии. Поэтому сигнал углерода C1 должен смещаться в высокие поля. Если предположить одинаковые равновесные концентрации ротамеров (LVIIa), (LVIIб) и (LVIIв), то каждая CH<sub>3</sub>-группа должна вызывать сдвиг в высокое поле на 2 м. д. Однако для трет-бутильного производного этот сдвиг составляет 7,7 м. д. (вместо ожидаемого 6 м. д.), т. е. уже для изопропильного заместителя



можно предположить неодинаковую устойчивость ротамеров (LVIIa), (LVIIб) и (LVIIв). Изопропильная группа является хорошей моделью для циклических агликонов, если не принимать во внимание возможных пространственных взаимодействий заместителей при  $\beta$ -атомах углерода в последних с заместителями в углеводном цикле.

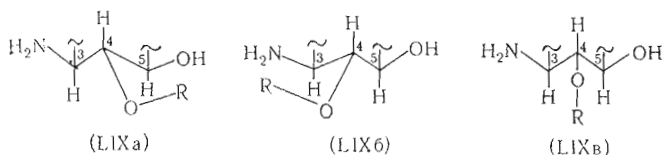
Далее авторы полагают, что в тех случаях, когда химические сдвиги C1  $\alpha$ -метилпиранозидов и соответствующих  $\alpha$ -связанных ди- и полисахаридов совпадают, можно считать, что для последних преобладает ротамер типа (LVIIa), так как только при приблизительно параллельном расположении связей C1—H1 и C1'—H1'  $\gamma$ -*gauche*-взаимодействие циклического агликона так же мало, как в метил- $\alpha$ -гликозидах. По той же логике при совпадении химических сдвигов C1 в  $\beta$ -метилгликопиранозидах и соответствующих ди- и полисахаридах следует отдать предпочтение ротамерам типа (LVIIIa) в последних. По этой причине следует предположить, что среди ротамеров вокруг гликозидной связи в  $\alpha$ -софорозе и  $\alpha$ ,  $\beta$ -мальтозе доминируют ротамеры типа (LVIIIa) и (LVIIIa), так как химические сдвиги аномерного атома углерода невосстанавливающего звена этих дисахаридов совпадают со сдвигами C1 в соответствующих метилгликозидах [52].



Предпочтительность ротамеров типа (LVIIIa) и (LVIIIa) можно предполагать и для  $\alpha$ ,  $\beta$ -целлобиозы,  $\alpha$ ,  $\beta$ -генциобиозы,  $\alpha$ ,  $\beta$ -изомальтозы,  $\alpha$ ,  $\beta$ -нигерозы,  $\alpha$ ,  $\beta$ -ламинарибиозы и  $\beta$ -софорозы, где различие химических сдвигов аномерного атома углерода невосстанавливающего звена и соответствующих метилгликозидов невелико. Однако в  $\beta$ - и особенно в  $\alpha$ -койбиозе эти различия в химических сдвигах достигают 1,5 и 4 м. д. соответственно и во всяком случае для  $\alpha$ -койбиозы следует отдать предпочтение ротамерам типа (LVIIIб) или (LVIIIв). В последнем случае, по-видимому, сказывается пространственное взаимодействие  $\alpha$ -заместителя восстанавливающего звена  $\alpha$ -койбиозы с невосстанавливающим звеном.

Возвращаясь к работе Коха и др. [80], отметим, что для тобрамицина авторы отдали предпочтение ротамерам (LVII a) для связей C1'—C4 и C1"—C6, имея в виду совпадение химических сдвигов C1' и C1" в тобрамицине и C1 в метилгликозидах родственных аминсахаров.

По тому же принципу решается вопрос об устойчивости ротамеров по связи C4—O в неамине (XXVI) и C6—O в тобрамицине (XLI) и канамицине (XL). Действительно, присоединение гликозильного звена к C4 дезоксистерптамина (XXIV) вызывает высокопольный сдвиг сигнала C3 неамина на  $1,6 \pm 0,2$  м. д. и не изменяет химического сдвига C5 этого соедине-



ния. Поэтому можно отдать предпочтение конформации (LIXб) для этого случая, так как только для этого ротамера имеется заметный  $\gamma$ -

Химические сдвиги <sup>13</sup>C-атомов углерода моносахаридов и их производных

№ п. п.	Название соединения	Химические сдвиги <sup>13</sup> C, м.д. от ТМС										Ссылки *	
		C1	C2	C3	C4	C5	C6	ОСН <sub>3</sub>	Остальные C				
Альдопиранозы													
1	α-D-Глюкопираноза	92,7	72,44	73,4	70,4	72,1	61,3						46 (33, 34, 37, 45, 52, 83, 84, 87)
2	β-D-Глюкопираноза	96,5	74,8	76,4	70,3	76,6	61,5						46 (33, 34, 37, 45, 52, 56, 83, 84)
3	α-Метил-D-глюкопиранозид	100,3	72,5	74,2	70,6	72,7	61,7	56,2					46 (34, 37, 45, 52)
4	β-Метил-D-глюкопиранозид	104,3	74,2	76,9	70,8	76,9	61,9	58,3					46 (34, 37, 45, 52)
5	2-O-Метил-α-D-глюкопираноза	90,7	81,9	73,5	71,3	72,8	62,4	59,3					52
6	2-O-Метил-β-D-глюкопираноза	97,1	85,2	76,8	71,3	77,3	62,4	61,7					52
7	3-O-Метил-α-D-глюкопираноза	93,4	72,6	84,1	70,6	72,8	62,3	61,3					52
8	3-O-Метил-β-D-глюкопираноза	97,2	75,1	86,7	70,4	77,3	62,3	61,3					52 (37, 87)
9	4-O-Метил-α-D-глюкопираноза	93,2	73,0	73,9	80,5	71,7	62,1	61,6					52
10	4-O-Метил-β-D-глюкопираноза	97,1	75,8	76,7	80,5	76,1	62,1	61,6					52
11	6-O-Метил-α-D-глюкопираноза	93,3	73,0	74,3	71,4	71,4	72,6	60,3					52
12	6-O-Метил-β-D-глюкопираноза	97,3	75,8	77,2	71,4	75,8	72,6	60,3					52
13	Пента-O-ацетил-α-D-глюкопираноза	89,8	70,1	70,7	68,9	70,7	62,3						20
14	Пента-O-ацетил-β-D-глюкопираноза	92,5	71,2	73,5	68,8	73,5	62,5						20
15	α-Метил-4-O-метил-D-глюкопиранозид	101,1	72,8	76,1	83,0	72,1	64,4	56,2(4)					87
16	β-Метил-6-O-метил-D-глюкопиранозид	100,8	72,6	74,5	71,6	71,2	72,6	61,1(4) 56,4(1) 59,8(6)					87
17	6-Дезокси-α-D-глюкопираноза	93,1	72,9	73,6	76,4	68,8	18,0						46
18	6-Дезокси-β-D-глюкопираноза	96,8	75,6	76,6	76,1	73,0	18,0						46
19	α-Метил-6-дезоксид-глюкопиранозид	100,3	76,2	73,9	76,2	68,7	17,6	56,2					46

\* В скобках даны ссылки на работы, где также имеется расщепление спектра данного соединения.

№ п. п.	Название соединения	Химические сдвиги <sup>13</sup> C, м.д. от ТМС										Ссылки *
		C1	C2	C3	C4	C5	C6	OSiH <sub>3</sub>	Остальные C			
20	α-Метил-2,3,4,6-тетра-О-метил-D-глюкопиранозид	98,2	82,6	84,3	80,6	71,0	72,4	55,27 (4) 58,36 (2) 60,69 (3)				54
21	β-Метил-2,3,4,6-тетра-О-метил-D-глюкопиранозид	105,0	84,6	87,2	80,5	75,4	72,4	56,97 (4) 60,47 (2) 60,78 (3) 60,57 (4) 59,30 (6)				54
22	α-Метил-D-глюкопиранозидуроновая кислота	100,7	74,9	73,8	72,5	71,9	?	56,7				46
23	β-Метил-D-глюкопиранозидуроновая кислота	104,3	73,8	76,5	72,3	75,6	?	58,5				46
24	α-Метил (метил-D-глюкопиранозид) уронат	100,8	74,9	73,7	72,4	71,9	?	56,8 (4) 54,2 (6)				46
25	β-Метил (метил-D-глюкопиранозид) уронат	104,6	73,7	76,3	72,4	75,7	?	58,7 (4) 56,5 (6)				46
26	2-Амино-2-дезокс-α-D-глюкопираноза **	90,5	55,7	71,0	71,0	72,8	61,9					49
27	2-Амино-2-дезокс-β-D-глюкопираноза **	94,1	58,3	73,4	71,0	71,0	61,9					49
28	α-Метил-2-амино-2-дезокс-D-глюкопиранозид **	97,4	55,1	71,6	71,1	73,4	61,9	56,6				49 (80)
29	β-Метил-2-амино-2-дезокс-D-глюкопиранозид **	101,3	57,4	73,7	71,5	77,6	62,0	59,1				49
30	α-Метил-3-амино-3-дезокс-D-глюкопиранозид	98,7	71,7	54,1	69,6	74,3	60,6	54,5				80
31	α-Метил-6-амино-6-дезокс-D-глюкопиранозид	99,0	74,6	73,1	71,2	71,2	41,4	54,8				80 (49)
32	6-Хлор-6-дезокс-α-D-глюкопираноза	93,4	72,5	73,6	71,3	74,4	45,6					41
33	6-Хлор-6-дезокс-β-D-глюкопираноза	97,1	72,5	76,5	71,2	75,6	45,1					41
34	β-Метил-2-хлор-2-дезокс-D-глюкопиранозид	102,4	63,2	76,7	70,8	76,7	60,6	56,0				56
35	α-Метил-4,6-О-бензиллиден-D-глюкопиранозид	99,9	72,4	70,5	80,8	62,0	68,5	54,9			C7 101,5; Ph 126-137	40
36	β-Метил-4,6-О-бензиллиден-D-глюкопиранозид	104,2	74,2	72,9	80,3	65,9	68,3	56,8			C7 101,5; Ph 126-137	40

\*\* Соединения анализировались в виде хлоридрагов.

№ п. п.	Название соединения	Химические сдвиги $^{13}\text{C}$ , м.д. от ТМС										Ссылки*
		C1	C2	C3	C4	C5	C6	ОСН <sub>2</sub>	Остальные С			
37	$\alpha$ -Метил-4,6-О-бензиллиден-3-амино-3-дезоксид- <i>D</i> -глюкопиранозид	99,4	72,1	52,4	81,0	62,2	68,7	55,0	C7 101,5; Ph 126—137	40		
38	2-Ацетамидо-2-дезоксид- <i>D</i> - $\alpha$ -глюкопираноза	92,3	55,5	72,3	71,6	73,0	62,1		CH <sub>3</sub> 23,4; CO 175,8	49		
39	2-Ацетамидо-2-дезоксид- <i>D</i> - $\beta$ -глюкопираноза	96,4	58,3	75,3	71,6	77,3	62,1		CH <sub>3</sub> 23,4; CO 175,8	49		
40	$\alpha$ -Метил-2-ацетамидо-2-дезоксид- <i>D</i> - $\gamma$ -глюкопиранозид**	99,5	55,0	72,4	71,5	72,9	62,0	56,4	CH <sub>3</sub> 23,5; CO 175,8	49		
41	$\beta$ -Метил-2-ацетамидо-2-дезоксид- <i>D</i> -глюкопиранозид**	103,1	56,8	75,2	71,2	77,0	62,1	58,4	CH <sub>3</sub> 23,7; CO 176,1	49		
42	$\alpha$ - <i>D</i> -Глюкоза-3-сульфат	93,8	72,0	84,0	69,2	73,0	62,4			57		
43	$\beta$ - <i>D</i> -Глюкоза-3-сульфат	97,4	74,7	86,1	69,2	77,2	62,4			57		
44	$\alpha$ - <i>D</i> -Глюкоза-6-сульфат	94,0	73,2	74,5	71,1	71,4	69,0			57		
45	$\beta$ - <i>D</i> -Глюкоза-6-сульфат	97,8	75,9	77,4	71,1	75,6	69,0			57		
46	$\alpha$ - <i>D</i> -Маннопираноза	95,0	71,7	71,3	68,0	73,4	62,1			46 (45, 67, 84)		
47	$\beta$ - <i>D</i> -Маннопираноза	94,6	72,3	74,1	67,8	77,2	62,1			46 (45, 67, 84)		
48	$\alpha$ -Метил- <i>D</i> -маннопиранозид	101,9	71,2	71,8	68,0	73,7	62,1	55,9		46 (67, 84)		
49	$\beta$ -Метил- <i>D</i> -маннопиранозид	101,1	71,4	74,0	67,9	77,4	62,2	58,2		92 (67)		
50	2-О-Метил- $\alpha$ - <i>D</i> -маннопираноза	91,8	84,6	71,0	68,3	73,3	62,1	—		92		
51	2-О-Метил- $\beta$ - <i>D</i> -маннопираноза	95,0	82,6	74,5	68,0	77,5	62,1	—		92		
52	3-О-Метил- $\alpha$ - <i>D</i> -маннопираноза	95,0	67,3	80,8	66,8	73,4	62,0	—		92		
53	3-О-Метил- $\beta$ - <i>D</i> -маннопираноза	94,7	68,1	83,2	66,6	77,3	62,0	—		92		
54	4-О-Метил- $\alpha$ - <i>D</i> -маннопираноза	94,9	71,9	71,1	77,9	72,4	61,8	—		92		
55	4-О-Метил- $\beta$ - <i>D</i> -маннопираноза	94,6	72,1	73,9	77,7	76,3	61,8	—		92		
56	6-О-Метил- $\beta$ - <i>D</i> -маннопираноза	94,7	72,3	74,1	67,8	75,8	72,0	—		92		
57	$\alpha$ -Метил (метил- <i>D</i> -маннопиранозид) уронат	102,3	70,4	71,1	69,2	72,9	?	56,5 (1) 54,1 (6)		42		

№ п. л.	Название соединения	Химические сдвиги вС, м.д. от ТМС										Ссылки *
		C1	C2	C3	C4	C5	C6	ОСН <sub>3</sub>	Остальные С			
58	2-Амино-2-дезоксис- $\alpha$ -D-маннопираноза **	92,4	56,0	68,7	67,9	73,7	62,4					49
59	2-Амино-2-дезоксис- $\beta$ -D-маннопираноза **	93,7	57,3	71,3	67,9	77,9	62,4					49
60	2-Ацетамидо-2-дезоксис- $\alpha$ -D-маннопираноза	94,5	55,7	70,3	68,1	73,3	61,9					49
61	2-Ацетамидо-2-дезоксис- $\beta$ -D-маннопираноза	94,5	56,7	73,3	68,1	77,5	61,9					49
62	$\alpha$ -Метил-4,6-О-бензиллиден-D-маннопиранозид	101,7	70,6	68,0	78,5	62,9	68,4	54,4				40
63	$\alpha$ -Метил-4,6-О-бензиллиден-3-амино-3-дезоксис-D-маннопиранозид	102,0	70,0	50,3	79,4	63,4	68,5	54,5				40
64	$\alpha$ -L-Рамнопираноза	95,0	71,9	71,4	73,3	69,4	18,0					46 (37, 84)
65	$\beta$ -L-Рамнопираноза	94,6	72,4	73,8	72,9	73,1	18,0					46 (37, 84)
66	$\alpha$ -Метил-L-рамнопиранозид	101,9	71,0	71,3	73,4	69,4	17,7	55,8				46
67	$\alpha$ -D-Аллопираноза	93,4	67,6	72,3	66,7	67,5	61,35					92a
68	$\beta$ -D-Аллопираноза	94,0	71,9	71,7	67,4	74,2	61,8					92a
69	$\alpha$ -Метил-4,6-О-бензиллиден-D-аллопиранозид	100,2	67,9	68,8	78,1	56,9	68,8	55,7				40 (56)
70	$\alpha$ -Метил-4,6-О-бензиллиден-3-амино-3-дезоксис-D-аллопиранозид	100,8	67,5	52,1	78,3	56,7	68,9	55,6				40
71	$\alpha$ -Метил-4,6-О-бензиллиден-3-дезоксис-D-аллопиранозид	98,9	67,0	32,6	76,4	63,4	68,9	54,6				40
72	$\alpha$ -Метил-D-альтропиранозид	102,0	70,9	70,9	65,7	70,9	62,2	56,3				34
73	$\alpha$ -Метил-4,6-О-бензиллиден-D-альтропиранозид	101,6	69,6	68,8	76,0	57,8	68,8	55,0				40
74	$\beta$ -Метил-4,6-О-бензиллиден-D-альтропиранозид	99,4	70,8	68,6	76,5	62,8	68,6	56,4				40

№ п. п.	Название соединения	Химические сдвиги $^{13}\text{C}$ , м.д. от ТМС										Ссылки *
		C1	C2	C3	C4	C5	C6	ОСН <sub>2</sub>	Остальные С			
75	$\alpha$ -Метил-4,6-О-бензиллиден-3-дезоксид- <i>D</i> -альтропиранозид	100,5	67,4	31,4	73,5	64,6	68,9	54,3	C7 101,8; Ph 126-137	40		
76	$\alpha$ -Метил-4,6-О-бензиллиден-3-амино-3-дезоксид- <i>D</i> -альтропиранозид	101,6	69,4	52,0	75,9	57,6	68,8	54,8	C7 101,8; Ph 126-137	40		
77	$\alpha$ -Метил-4,6-О-бензиллиден-3-метиламино-3-дезоксид- <i>D</i> -альтропиранозид	102,7	69,6	60,8	77,2	59,1	68,7	55,6	C7 101,5; Ph 126-137; CH <sub>3</sub> NH 35,5	41		
78	$\alpha$ -Метил-4,6-О-бензиллиден-3-С-формил-3-дезоксид- <i>D</i> -альтропиранозид	102,3	70,2	52,8	73,8	61,3	69,2	54,8	C7 101,4; Ph 126-137; CHO 199,5	43		
79	$\alpha$ - <i>D</i> -Галопираноза	94,7	70,7	69,7	65,1	71,2	61,5			67		
80	$\beta$ - <i>D</i> -Галопираноза	94,2	68,4	71,5	68,6	75,7	61,25			67		
			(68,6	71,8	68,4)							
81	$\alpha$ - <i>D</i> -Галактопираноза	93,6	69,8	70,5	70,6	71,7	62,5			46 (34, 37, 45, 50, 83, 84)		
82	$\beta$ - <i>D</i> -Галактопираноза	97,7	73,3	74,2	70,1	76,3	62,3			46 (34, 37, 45, 50, 83, 84)		
83	$\alpha$ -Метил- <i>D</i> -галактопиранозид	100,5	69,4	70,6	70,4	71,8	62,3	56,3		46 (34, 45, 50, 56, 83, 84)		
84	$\beta$ -Метил- <i>D</i> -галактопиранозид	104,9	71,8	73,9	69,8	76,2	62,1	58,3		46 (34, 45, 50, 56, 83, 84)		
85	$\alpha$ -Метил-2,3,4,6-тетра- <i>O</i> -метил- <i>D</i> -галактопиранозид	98,8	78,8	81,0	77,2	69,9	72,3			46 (34, 45, 50, 56, 83, 84)		
								55,29 (4) 58,53 (2) 58,08 (3) 61,34 (4) 59,17 (6)		55		
86	$\beta$ -Метил-2,3,4,6-тетра- <i>O</i> -метил- <i>D</i> -галактопиранозид	105,3	81,5	84,6	76,1	73,9	72,0			55 (50)		
								56,79 (1) 60,62 (2) 58,26 (3) 61,26 (4) 59,20 (6)				

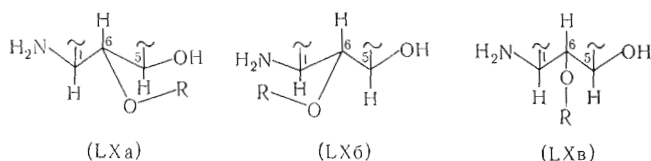
№ п. п.	Название соединения	Химические сдвиги $\nu$ C, м.д. от ТМС										Ссылки $\nu$
		C1	C2	C3	C4	C5	C6	ОСН <sub>3</sub>	Остаток С			
87	$\alpha$ -Метил-2,6-ди-О-метил-D-галактопиранозид	96,8	77,4	68,6	69,5	73,1	71,8	57,7;	58,5			50
88	$\beta$ -Метил-3-О-метил-D-галактопиранозид	103,9	69,8	82,0	64,2	75,1	61,2	57,3;	56,2			50
89	$\alpha$ -Метил-4-хлор-4-дезоксид-D-галактопиранозид	99,8	68,0	68,0	64,8	69,4	60,9	54,5				56
90	$\alpha$ -Метил-4,6-дихлор-4,6-дидезоксид-D-галактопиранозид	100,0	67,7	67,7	64,8	69,3	44,3	54,8				56
91	$\beta$ -Метил-4,6-дихлор-4,6-дидезоксид-D-галактопиранозид	104,4	69,8	71,2	63,6	72,7	43,6	56,4				56
92	2-Амино-2-дезоксид- $\alpha$ -D-галактопираноза **	90,6	52,7	67,8	69,7	74,9	62,9					49
93	2-Амино-2-дезоксид- $\beta$ -D-галактопираноза **	94,5	55,9	70,6	69,1	76,7	62,4					49
94	$\alpha$ -L-Фукопираноза	93,3	69,2	70,4	73,0	67,4	16,7					46 (37)
95	$\beta$ -L-Фукопираноза	97,3	72,8	74,0	72,5	71,9	16,7					46 (37)
96	$\alpha$ -Метил-L-фукопиранозид	100,5	69,0	70,6	72,9	67,5	16,5	56,3				46
97	$\beta$ -Метил-L-фукопиранозид	104,8	71,5	74,1	72,4	71,9	16,5	58,3				46
98	$\alpha$ -Метил-D-идопиранозид	102,4	71,8	72,7	71,2	71,7	61,1	56,7				34
99	$\alpha$ -L-(или D)-Арабинопираноза	97,8	73,0	73,5	69,6	67,5						46 (34, 37, 67, 68)
100	$\beta$ -L-(или D)-Арабинопираноза	93,7	69,6	69,8	69,8	63,6						46 (34, 37, 67, 68)
101	$\alpha$ -Метил-L-(или D)-арабинопиранозид	105,1	71,8	73,4	69,4	67,3		58,1				46 (67, 68)
102	$\beta$ -Метил-L-(или D)-арабинопиранозид	101,0	69,4	69,9	70,0	63,8		56,3				46 (67, 68)
103	$\alpha$ -D-Рибопираноза	94,8	70,1	71,7	69,0	64,3						34 (37)
104	$\beta$ -D-Рибопираноза	95,3	72,6	72,6	70,0	64,3						34 (37, 67)
105	$\beta$ -Метил-D-рибопиранозид	103,8	70,4	69,8	72,6	65,5		58,3				67

№ п. п.	Название соединения	Химические сдвиги <sup>13</sup> C, м.д. от ТМС										Ссылки *
		C1	C2	C3	C4	C5	C6	ОН <sub>3</sub>	Остальные C			
106	<i>α-D</i> -Пиксопираноза	95,5	71,6	72,1	69,0	64,3						34 (37)
107	<i>β-D</i> -Ликсопираноза	95,5	71,6	74,1	68,2	65,4						34 (37)
108	<i>α-D</i> -Ксилопираноза	99,3	72,5	73,9	70,4	62,1						46 (34, 37, 67, 68)
109	<i>β-D</i> -Кенлопираноза	97,6	75,1	76,9	70,3	66,3						46 (34, 37, 67, 68)
110	<i>α</i> -Метил- <i>D</i> -ксилопиранозид	100,6	72,3	74,3	70,4	62,0		56,0				46 (34, 67, 68)
111	<i>β</i> -Метил- <i>D</i> -ксилопиранозид	105,1	74,0	76,9	70,4	66,3		58,3				46 (34, 67, 68)
Кетопиранозы												
112	<i>α-D</i> -Псилопираноза	65,0	99,1	66,4	65,9	69,8	62,2					39
113	<i>β-D</i> -Псилопираноза	65,0	98,4	71,2	71,2	66,7	58,9					39
114	<i>β</i> -Метил- <i>D</i> -псилопиранозид	66,1	103,3	70,5	70,8	66,5	58,7					39
115	<i>α-D</i> -Сорбопираноза	65,8	99,4	72,6	76,0	71,4	63,7					38
116	<i>α-D</i> -Тагапираноза	66,7	99,4	72,3	73,1	68,7	64,4					38
117	<i>β-D</i> -Тагапираноза	66,1	100,2	66,3	73,1	71,0	61,4					38
118	<i>β-D</i> -Фруктопираноза	65,7	99,1	70,2	70,9	68,9	64,3					38
Альдофуранозы												
119	<i>α</i> -Метил- <i>D</i> -галактофуранозид	103,1	77,4	75,5	82,3	73,7	63,4					46
120	<i>β</i> -Метил- <i>D</i> -галактофуранозид	109,2	81,9	77,8	84,0	72,0	63,9					46
121	<i>β-D</i> -Талофураноза	100,9	75,2	81,9	82,5	71,8	62,8					67
122	<i>α</i> -Метил- <i>D</i> -рибофуранозид	104,2	72,1	70,8	85,5	62,2						46 (48, 49)
123	<i>β</i> -Метил- <i>D</i> -рибофуранозид	109,0	75,3	71,9	83,9	63,9						46 (48, 49)
124	<i>α</i> -Метил- <i>L</i> -арабинофуранозид	109,5	82,0	77,9	84,8	62,5						46 (48)
125	<i>β</i> -Метил- <i>L</i> -арабинофуранозид	103,3	76,3	77,9	83,1	64,3						46 (48)



№ п. л.	Название соединения	Химические связи изС, м.д. от ГМС										Ссылки *	
		С1	С2	С3	С4	С5	С6	ОСН <sub>2</sub>	Остальные С				
Кетофуранозы													
126	$\alpha$ -D-Психофураноза	64,2	104,0	71,2	72,6	84,3	64,2						39
127	$\beta$ -D-Психофураноза	63,3	106,3	75,6	74,9	84,3	63,6						39
128	$\alpha$ -Метил-D-психофуранозид	61,4	106,2	73,4	74,7	85,7	63,4		50,2				39
129	$\beta$ -Метил-D-психофуранозид	58,2	110,2	75,6	72,8	84,6	64,4		52,6				39
130	$\alpha$ -Метил-6-О-метил-D-психофуранозид	61,6	106,2	73,3	71,9	83,6	73,7		50,2 (4)				39
									60,2 (6)				
131	$\beta$ -Метил-6-О-метил-D-психофуранозид	60,4	110,8	75,4	73,4	82,9	75,4		50,5 (4)				39
									58,5 (6)				
Полиолы													
132	D-Дульцит	63,2	69,2	70,4	70,4	69,2	63,2						50
133	3-О-Метил-D-дульцит	69,2	70,1	79,4	70,8	68,7	63,3						50
134	3,4-Ди-О-метил-D-дульцит	62,9	70,7	78,8	78,8	70,7	62,9		60,2				50
135	Рибит	63,7	73,4	73,4	73,4	63,7							51
136	D-Сорбит	64,0	72,4	70,9	72,2	74,1	63,7						51

$\gamma$ -гош-эффект от взаимодействия С1' с С3, но не с С5. Аналогично присоединение кольца к дезоксистрептаминовой части неамина вызывает сдвиг сигнала С5 на 1.7 м. д. и не изменяет сдвига С1. Поэтому для последнего случая авторы считают предпочтительной конформацию (LXa).



Завершая, таким образом, полный конфигурационный и конформационный анализ антибиотиков на основе их спектров  $^{13}\text{C}$ -ЯМР, отметим, что оценка устойчивости ротамеров вокруг гликозидной связи по химическим сдвигам  $^{13}\text{C}$  основана главным образом на представлениях о стericком взаимодействии вообще и ациклическом  $\gamma$ -гош- взаимодействии в особенности. С этой точки зрения большой интерес представляет изучение влияния различных факторов на величину  $\gamma$ -гош-эффекта. В частности, тот факт, что  $\gamma$ -гош-эффект имеет большую величину, когда в пространственное взаимодействие входят протонные заместители при атомах углерода, разделенных тремя связями, чем когда один из заместителей, гидроксил [20], позволяет предположить, что величина эффекта зависит от вида заместителей при атомах углерода. Трудно пока оценить и влияние взаимодействий атомов и групп, разделенных более чем тремя связями. Во всяком случае, значительно большее изменение в химических сдвигах атомов углерода при замене связи О—Me на О—Glc для полностью метилированных дисахаридов [88] по сравнению со свободными [52] можно отнести за счет не поддающегося пока учету влияния пространственного взаимодействия объемных заместителей на устойчивость ротамеров вокруг гликозидной связи.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Фаррар Т., Беккер Э. (1973) Импульсная и фурье-спектроскопия ЯМР, «Мир», М.
2. Леви Г., Нельсон Г. (1975) Руководство по ядерному магнитному резонансу углерода-13, «Мир», М.; Stothers J. B. (1972) Carbon-13 NMR Spectroscopy, Academic Press, New York.
3. Wilson N. K., Stothers J. B. (1974) Topics in Stereochem., 8, 1—158.
4. Grant D. M., Cheney B. V. (1967) J. Amer. Chem. Soc., 89, 5315—5318.
5. Pople J. A. (1957) Proc. Roy. Soc. London, A239, 541—549.
6. Grant D. M., Paul E. G. (1964) J. Amer. Chem. Soc., 86, 2984—2990.
7. Cheney B. V., Grant D. M. (1967) J. Amer. Chem. Soc., 89, 5319—5327.
8. Dalling D. K., Grant D. M. (1967) J. Amer. Chem. Soc., 89, 6612—6622.
9. Dalling D. K., Grant D. M. (1972) J. Amer. Chem. Soc., 94, 5318—5324.
10. Perlin A. S., Koch H. J. (1970) Can. J. Chem., 48, 2639—2643.
11. Roberts J. D., Weigert F. J., Kroschwitz J. I., Reich H. J. (1970) J. Amer. Chem. Soc., 92, 1338—1347.
12. Dorman D. E., Angyal S. J., Roberts J. D. (1970) J. Amer. Chem. Soc., 92, 1351—1354.
13. Buchanan G. W., Ross D. A., Stothers J. B. (1966) J. Amer. Chem. Soc., 88, 4301—4302; Buchanan G. W., Stothers J. B., Wu S.-T. (1969) Can. J. Chem., 47, 3113—3118; Buchanan G. W., Stothers J. B. (1969) Can. J. Chem., 47, 3605—3610.
14. Christl M., Reich H. G., Roberts J. D. (1971) J. Amer. Chem. Soc., 93, 3463—3468; Christl M., Roberts J. D. (1972) J. Org. Chem., 37, 3443—3452.
15. Anet F. A. L., Bradley C. H., Buchanan G. W. (1971) J. Amer. Chem. Soc., 93, 258—259.
16. Pehk T., Lippmaa E. (1971) Org. Magn. Reson., 3, 679—687.
17. Weigert F. J., Roberts J. D. (1970) J. Amer. Chem. Soc., 92, 1347—1350.
18. Voelter W., Breitmaier E., Jung G., Keller T., Hip D. (1970) Angew. Chem., 82, 812—813.
19. Dorman D. E., Angyal S. J., Roberts J. D. (1969) Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 63, 612—614.

20. Dorman D. E., Roberts J. D. (1971) *J. Amer. Chem. Soc.*, **93**, 4463—4472.
21. Lemieux R. U., Koto S. (1974) *Tetrahedron*, **30**, 1933—1944.
22. Koch K. F., Rhoades J. A., Hagaman E. W., Wenkert E. (1974) *J. Amer. Chem. Soc.*, **96**, 3300—3305.
23. Eliel E. L., Bailey W. F., Kopp L. D., Willer R. L., Grant D. M., Bertrand R., Christensen K. A., Dalling D. K., Duch M. W., Wenkert E., Schell F. M., Cochran D. W. (1975) *J. Amer. Chem. Soc.*, **97**, 322—330.
24. Gansow O. A., Schittenhelm W. (1971) *J. Amer. Chem. Soc.*, **93**, 4294—4295.
25. Allerhand A., Doddrell D. (1971) *J. Amer. Chem. Soc.*, **93**, 2777—2779.
26. Allerhand A., Doddrell D., Komoroski R. (1971) *J. Chem. Phys.*, **55**, 189—198.
27. Solomon I. (1955) *Phys. Rev.*, **99**, 559—565.
28. Kuhlmann K. F., Grant D. M., Harris K. K. (1970) *J. Chem. Phys.*, **52**, 3439—3448.
29. Perlin A. S., Casu B. (1969) *Tetrahedron Lett.*, 2921—2924.
30. Hall L. D., Jonson L. F. (1969) *Chem. Commun.*, 509—510.
31. Breitmaier E., Voelter W., Jung G., Tänzler C. (1971) *Chem. Ber.*, **104**, 1147—1154.
32. Voelter W., Breitmaier E., Price R., Jung G. (1971) *Chimia*, **25**, 168—169.
33. Koch H. J., Perlin A. S. (1970) *Carbohydr. Res.*, **15**, 403—410.
- 34a. Perlin A. S., Casu B., Koch H. J. (1970) *Can. J. Chem.*, **48**, 2596—2609.
- 34b. Angyal S. J. (1969) *Angew. Chem.* **81**, 172—182 (см. также Стоддарт Дж. (1975) *Стереохимия углеводов*, «Мир», М., разделы 3.2.2—3.2.4).
35. Cyr N., Perlin A. S., Whitehead M. A. (1972) *Can. J. Chem.*, **50**, 814—820.
36. Perlin A. S. (1971) *Can. J. Chem.*, **49**, 1972—1976.
37. Dorman D. E., Roberts J. D. (1970) *J. Amer. Chem. Soc.*, **92**, 1355—1361.
38. Perlin A. S., du Penhoat P. H., Isabell H. S. (1973) *Advan. Chem. Ser.*, № 117, 39—50.
39. du Penhoat P. C. M. H., Perlin A. S. (1974) *Carbohydr. Res.*, **36**, 111—120.
40. Conway E., Guthrie R. D., Gero S. D., Lukacs G., Sepulchre A.-M., Hagaman E. W., Wenkert E. (1972) *Tetrahedron Lett.*, 4879—4882.
41. Conway E., Guthrie R. D., Gero S. D., Lukacs G., Sepulchre A.-M. (1974) *J. Chem. Soc., Perkin II*, 542—546.
42. Lukacs G., Sepulchre A.-M., Gateau-Olesker A., Vass G., Gero S. D., Guthrie R. D., Voelter W., Breitmaier E. (1972) *Tetrahedron Lett.*, 5163—5166.
43. Sepulchre A.-M., Lukacs G., Vass G., Gero S. D. (1972) *Bull. Soc. chim. France*, 4000—4007.
44. Sepulchre A.-M., Lukacs G., Vass G., Gero S. D. (1972) *Angew. Chem.* **84**, 111—112.
45. Sepulchre A.-M., Septe B., Lukacs G., Gero S. D., Voelter W., Breitmaier E. (1974) *Tetrahedron*, **30**, 905—915.
46. Gorin P. A. J., Mazurek M. (1975) *Can. J. Chem.*, **53**, 1212—1223.
47. Breitmaier E., Jung G., Voelter W. (1972) *Chimia*, **26**, 136—139.
48. Usui T., Tsushima S., Yamaoka N., Matsuda K., Tuzimura K., Sugiyama H., Seto S., Fujieda K., Miyajima G. (1974) *Agr. and Biol. Chem.*, **38**, 1409—1410.
49. Yamaoka N., Usui T., Sugiyama H., Seto S. (1974) *Chem. and Pharm. Bull.*, **22**, 2196—2200.
50. Voelter W., Breitmaier E., Rathbone E. B., Stephen A. M. (1973) *Tetrahedron*, **29**, 3845—3848.
51. Colson P., Slessor K. N., Jennings H. J., Smith I. C. P. (1975) *Can. J. Chem.*, **53**, 1030—1037.
52. Usui T., Yamaoka N., Matsuda K., Tuzimura K., Sugiyama H., Seto S. (1973) *J. Chem. Soc., Perkin I*, 2425—2432.
53. Miljković M., Gligorijević M., Satoh T., Glišin D., Ditcher R. G. (1974) *J. Org. Chem.*, **39**, 3847—3850.
54. Haverkamp J., van Dongen J. P. C. M., Vliegthart J. F. G. (1973) *Tetrahedron*, **29**, 3431—3449.
55. Haverkamp J., van Dongen J. P. C. M., Vliegthart J. F. G. (1974) *Carbohydr. Res.*, **33**, 319—327.
56. Szarek W. A., Vyas D. M., Gero S. D., Lukacs G. (1974) *Can. J. Chem.*, **52**, 3394—3400.
57. Honda S., Yuki H., Takiura K. (1973) *Carbohydr. Res.*, **28**, 150—153.
58. Neuss N., Koch K. F., Molloy B. B., Day W., Huckstep L. L., Dorman D. E., Roberts J. D. (1970) *Helv. chim. acta*, **53**, 2314—2319.
59. Morton J. B., Long R. C., Daniels P. J. L., Tkach R. W., Goldstein J. H. (1973) *J. Amer. Chem. Soc.*, **95**, 7464—7469.
60. Bundle D. R., Jennings H. J., Smith I. C. P. (1973) *Can. J. Chem.*, **51**, 3812—3819.
61. Jones A. J., Winkley M. W., Grant D. M. (1969) *Tetrahedron Lett.*, 5197—5200.
62. Jones A. J., Winkley M. W., Grant D. M., Robins R. K. (1970) *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **65**, 27—30.
63. Jones A. J., Grant D. M., Winkley M. W., Robins R. K. (1970) *J. Amer. Chem. Soc.*, **92**, 4079—4087.
64. Jones A. J., Grant D. M., Winkley M. W., Robins R. K. (1970) *J. Phys. Chem.*, **74**, 2684—2689.

65. Dorman D. E., Roberts J. D. (1970) *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **65**, 19—26.
66. Breitmaier E., Voelter W. (1972) *Eur. J. Biochem.*, **31**, 234—238.
67. Voelter W., Breitmaier E. (1973) *Org. Magn. Reson.*, **5**, 311—318.
68. Breitmaier E., Voelter W. (1973) *Tetrahedron*, **29**, 227—232.
69. Dea P., Revankar G. R., Tolman R. L., Robins R. K., Schweizer M. P. (1974) *J. Org. Chem.*, **39**, 3226—3231.
70. Birdsall B., Feeney J. (1972) *J. Chem. Soc., Perkin Trans. II*, 1643—1649.
71. Birdsall B., Birdsall N. J. M., Feeney J. (1972) *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, 316—318.
72. Blumenstein M., Raftery M. A. (1972) *Biochemistry*, **11**, 1643—1648.
73. Hamill W. D., Jr., Pugmire R. J., Grant D. M. (1974) *J. Amer. Chem. Soc.*, **96**, 2885—2887.
74. Mantsch H. H., Smith I. C. P. (1972) *Biochem. and Biophys. Res. Commun.*, **46**, 808—815.
75. Lapper R. D., Mantsch H. H., Smith I. C. P. (1972) *J. Amer. Chem. Soc.*, **94**, 6243—6244.
76. Lapper R. D., Smith I. C. P. (1973) *J. Amer. Chem. Soc.*, **95**, 2880—2884.
77. Lukacs G., Smith R. M. (1972) *Bull. Soc. chim. France*, 3995—3996.
78. Woo P. W. K., Westland R. D. (1973) *Carbohydr. Res.*, **31**, 27—36.
79. Omoto S., Inouye S., Kojima M., Niida T. (1973) *J. Antibiot.*, **26**, 717—724.
80. Koch K. F., Roades J. A., Hagaman E. W., Wenkert E. (1974) *J. Amer. Chem. Soc.*, **96**, 3300—3305.
81. Doddrell D., Allerhand A. (1971) *J. Amer. Chem. Soc.*, **93**, 2779—2781.
82. Voelter W., Breitmaier E., Jung G. (1971) *Angew. Chem.*, **83**, 1011—1012.
83. Breitmaier E., Jung G., Voelter W. (1971) *Chimia*, **25**, 362—364.
84. Voelter W., Bilik V., Breitmaier E. (1973) *Coll. Czech. Chem. Commun.*, **38**, 2054—2071.
85. Takeo K., Hirose K., Kuge T. (1973) *Chem. Lett.*, 1233—1236.
86. Yamaoka N., Usui T., Matsuda K., Tuzimura K., Sugiyama H., Seto S. (1971) *Tetrahedron Lett.*, 2047—2048.
87. Colson P., Jennings H. J., Smith I. C. P. (1974) *J. Amer. Chem. Soc.*, **96**, 8081—8087.
88. Haverkamp J., de Bie M. J. A., Vliegenthart J. F. G. (1974) *Carbohydr. Res.*, **37**, 111—125.
89. Binkley W. W., Horton D., Bhacca N. S., Wander J. D. (1972) *Carbohydr. Res.*, **23**, 301—306.
90. Binkley R. W., Binkley W. W., Wickberg B. (1974) *Carbohydr. Res.*, **36**, 196—200.
91. Spencer J. F. T., Gorin P. A. J. (1973) *Biotechnol. and Bioeng.*, **15**, 1—12.
92. Gorin P. A. J. (1974) *Can. J. Chem.*, **52**, 458—461; (1975) *Carbohydr. Res.*, **39**, 3—10.
93. Gorin P. A. J., Spencer J. F. T. (1972) *Can. J. Microbiol.*, **18**, 1709—1715.
94. Gorin P. A. J. (1973) *Can. J. Chem.*, **51**, 2375—2383.
95. Usui T., Kobayashi M., Yamaoka N., Matsuda K., Tuzimura K., Sugiyama H., Seto S. (1973) *Tetrahedron Lett.*, 3397—3400.
96. Jennings H. J., Smith I. C. P. (1973) *J. Amer. Chem. Soc.*, **95**, 606—608.
97. Ogura M., Kohana T., Fujimoto M., Kuminaka A., Yoshino H., Sugiyama H. (1974) *Agr. and Biol. Chem.*, **38**, 2563—2564.
98. Bhattacharjee A. K., Jennings H. J., Kenny C. P., Martin A., Smith I. C. P. (1975) *J. Biol. Chem.*, **250**, 1926—1932.
99. Bundle D. R., Smith I. C. P., Jennings H. J. (1974) *J. Biol. Chem.*, **249**, 2275—2281.
100. Voelter W., Jung G., Breitmaier E., Price R. (1971) *Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem.*, **352**, 1034—1036.
101. Burton R., Hall L. D., Steiner P. R. (1971) *Can. J. Chem.*, **49**, 588—593.
102. Bock K., Lundt I., Pedersen C. (1973) *Tetrahedron Lett.*, 1037—1040.
103. Perlin A. S., Ying Kin N. M. K. Ng., Bhattacharjee S. S., Johnson L. F. (1972) *Can. J. Chem.*, **50**, 2437—2441.
104. Dorman D. E. (1973) *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **222**, 943—946.
105. Schwarcz J. A., Perlin A. S. (1972) *Can. J. Chem.*, **50**, 3667—3676.
106. Perlin A. S., Cyr N., Ritchie R. G. S., Parfondry A. (1974) *Carbohydr. Res.*, **37**, C1—C4.
107. Gorin P. A. J. (1973) *Can. J. Chem.*, **51**, 2105—2109.
108. Gorin P. A. J., Mazurek M. (1973) *Can. J. Chem.*, **51**, 3277—3281.
109. Gorin P. A. J., Mazurek M. (1973) *Carbohydr. Res.*, **27**, 325—329.
110. Слюпин И. Я., Булай А. X. (1973) *Успехи химии*, **42**, 1976—2006.
111. Gorin P. A. J., Mazurek M. (1974) *Can. J. Chem.*, **52**, 3070—3076.
112. Casu B., Gatti G., Cyr N., Perlin A. S. (1975) *Carbohydr. Res.*, **41**, C6—C8.

Поступила в редакцию  
23.IX.1975

**<sup>13</sup>C-NMR SPECTROSCOPY IN CHEMISTRY OF CARBOHYDRATES  
AND RELATED COMPOUNDS**

SHASHKOV A. S., CHIZHOV O. S.

*N. D. Zelinsky Institute of Organic Chemistry, Academy  
of Sciences of the USSR, Moscow*

The review concerns the scope, perspectives and limitations of <sup>13</sup>C-NMR (CMR) spectroscopy in structure elucidation of various carbohydrates including the most complex representatives of this class of compounds. The main advantage of CMR in comparison with PMR is much wider range of chemical shifts that enables the identification of the signals from the individual carbon atoms even in polysaccharides. The high sensitivity of <sup>13</sup>C chemical shifts to the alteration of stereochemistry allows the method to be used for the configurational and conformational assignments. The measurements of relaxation times and spin-spin coupling constants between <sup>13</sup>C atom and protons or other magnetic nuclei can provide important supplementary information. In addition to the general principles of <sup>13</sup>C-NMR spectroscopy, some information is given about the experimental procedures. The present review covers the literature up to January 1975 and also some more recent publications.

---