

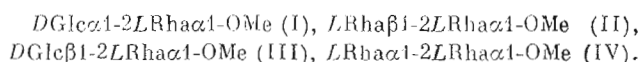


УДК 577.114.012.7:543.422.25

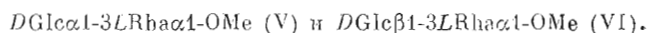
**ЯДЕРНЫЙ ЭФФЕКТ ОВЕРХАУЗЕРА И КОНФОРМАЦИЯ
1,2- И 1,3-СВЯЗАННЫХ ГЛИКОЗИЛРАМНОЗИДОВ
В ВОДНЫХ РАСТВОРАХ***Мамян С. С., Динкин Г. М., Шапков А. С.,
Байрамова Н. Э., Николаев А. В., Кочетков Н. К.**Институт органической химии им. Н. Д. Зелинского
Академии наук СССР, Москва*

Измерены ядерные эффекты Оверхаузера при предоблучении аномерных протонов и вицинальные константы спин-спинового взаимодействия для атомов углерода и водорода вблизи гликозидных связей в нескольких гликозилрамнозидах с типом связи 1-2 и 1-3. На основе экспериментальных данных и конформационных расчетов обсуждается пространственное строение дисахаридов в водных растворах. Показано, что 1,2- и 1,3-связанные гликозилрамнозиды одинакового моносахаридного состава, включая аномерные конфигурации остатков, близки по своим конформационным свойствам.

Данная работа продолжает серию наших публикаций, посвященных изучению конформационных свойств гликозилрамнозидов в водной среде методами спектроскопии ЯМР и конформационных расчетов [1-3]. В ней представлены результаты исследования четырех дисахаридов с типом связи 1-2:



Эти структуры отличаются как конфигурацией аномерного центра гликозидной связи, так и абсолютной конфигурацией невосстанавливающих остатков, что позволяет проследить зависимость конформационных свойств дисахаридов от указанных факторов. Отметим, что все четыре дисахариды имеют α -конфигурацию восстанавливающего остатка. Это важное обстоятельство, поскольку в полисахаридах гликозилированные по положению 2 остатки маннозы или рамнозы практически всегда имеют α -конфигурацию [3]. Кроме того, были рассмотрены два 1,3-связанных гликозилрамнозида:



Конформационный анализ дисахаридов $LRha\alpha 1-3LRha\alpha 1-OMe$ и $LRha\beta 1-3LRha\alpha 1-OMe$ был проведен ранее [2].

Сняты 1H - и ^{13}C -ЯМР-спектры и измерены ядерные эффекты Оверхаузера (ЯЭО) в условиях предоблучения аномерных протонов межзвеньевых гликозидных связей, а в некоторых случаях также аномерных протонов гликозилированных остатков рамнозы. Отметим, что из шести рассматриваемых дисахаридов только для дисахаридного звена $LRha\alpha 1-2LRha$ в составе полисахарида *Shigella flexneri* имеются данные по ЯЭО [4]. Методом двумерной ЯМР-спектроскопии также определены вицинальные константы спин-спинового взаимодействия (КССВ) $^3J_{C,H}$ для атомов углерода и водорода вблизи гликозидной связи, во фрагментах $H1'-C1'-O-C2$ и $C1'-O-C2-H2$ в случае 1,2-связанных дисахаридов и во фрагментах $H1'-C1'-O-C3$ и $C1'-O-C3-H3$ в случае 1,3-связанных дисахаридов (здесь и далее номера со штрихами относятся к невосстанавливающим остаткам).

Конформации рассматриваемых дисахаридов задаются углами вращения вокруг связей $C1'-O$ (φ) и $O-C2$ (или $O-C3$) (ψ)*. Обоснование

* Угол φ равен нулю при *cis*-ориентации связей $C1'-H1'$ и $O-C2$ (или $O-C3$), угол ψ равен нулю при *cis*-ориентации связей $C1'-O$ и $C2-H2$ (или $C3-H3$).

параметризации силового поля в расчетах конформаций олигосахаридов в водной среде дано в работах [5, 6]. С целью анализа зависимости расчетных результатов от выбора атом-атомных потенциальных функций расчеты были проведены с функциями Скотта и Шераги [7] (расчет 1) и с функциями Китайгородского [8] (расчет 2), которые наиболее употребимы в конформационном анализе углеводов. Величина торсионного барьера для вращения вокруг гликозидных связей принята равной 0,9 ккал/моль. В работе [2] показано, что в случае расчетного приближения 1 при *манно*-конфигурации невосстанавливающего остатка целесообразно учитывать дополнительный инкремент неустойчивости, связанный с *экзо*-аномерным эффектом (0,85 ккал/моль), для конформеров с *транс*-ориентацией агликона по отношению к связи C1'-O5', т. е. при значениях угла $\varphi > 0^\circ$ для дисахарида LRha β 1-2LRha α 1-OMe и при значениях угла $\varphi < 0^\circ$ — для дисахарида LRha α 1-2LRha α 1-OMe. При использовании функций Китайгородского *транс*-конформеры оказываются достаточно высокоэнергетическими и указанный инкремент не учитывался. Данные по пространственным структурам соответствующих аномеров остатков глюкозы и рамнозы * взяты из работ [9—12]. Валентный угол у атома кислорода гликозидной связи принят равным его среднему значению, $116,7^\circ$ [13].

Расчет ЯЭО в определенной конформации дисахарида на протоне *d* в условиях насыщения протона $s-f_s^d$ приведен по формуле Ширмера и соавт. [14] с учетом «трехспинового эффекта». Константа ${}^3J_{C,H}$ для данной пары углов вращения вокруг гликозидной связи φ и ψ , т. е. КССВ J^s и J^ψ , оценивали по экспериментальной зависимости, найденной Перлиным с соавт. [15]. Оценка величины f_s^d , J^s , J^ψ в индивидуальных конформерах позволяет при учете всей потенциальной поверхности дисахаридов рассчитать их средние значения $\langle f_s^d \rangle$, $\langle J^s \rangle$ и $\langle J^\psi \rangle$.

DGLca1-2LRha α 1-OMe (I). При предоблучении аномерного протона остатка глюкозы наблюдаются равные усиления сигналов атомов H2 и H1 остатка рамнозы, ~7,5% (рис. 1 и табл. 1), а также значительный ЯЭО на собственном протоне H2' остатка глюкозы. Константы J^s и J^ψ равны 3,7 и 4,4 Гц (табл. 2).

На конформационной карте $\varphi(C1'-O) - \psi(O-C2)$ (рис. 2) имеются три локальных минимума (табл. 3). Самым низкоэнергетическим является конформер A ($\varphi, \psi - 60, -40^\circ$), что обусловлено ван-дер-ваальсовым притяжением атомов H1' и H2, а также H1' и H1. Конформер B ($\varphi, \psi - 30, 20^\circ$) несколько проигрывает конформеру A по энергии невалентных взаимодействий из-за сближения атомов H1' и H2 на очень короткое расстояние, равное 2 Å. *Транс*-конформер C оказывается высокоэнергетическим. Таким образом, в конформационном равновесии дисахарида (I) участвуют практически только пространственные формы A и B, статистические вклады которых составляют ~70 и 30% (табл. 3).

Согласно расчетным данным, конформер A при предоблучении H1' обуславливает ЯЭО на протоне H1, конформер B — на протоне H2 остатка рамнозы (табл. 3). Вместе с тем средние значения ЯЭО $\langle f_{H1}^{H2} \rangle$ и $\langle f_{H1'}^{H1} \rangle$

равны между собой (табл. 4). Таким образом, равновесие пространственных форм A и B приводит к равным ЯЭО на протонах H2 и H1, что наблюдается экспериментально (табл. 1). Расчет также правильно воспроизводит соотношение ЯЭО на протонах H2' и H2 (~1,4, ср. табл. 1 и 4), что также указывает на правильное описание пространственного строения дисахарида (I) в водных растворах. Здесь следует подчеркнуть, что величины ЯЭО определяются условиями съемки спектра, поэтому сравниваются не абсолютные, а относительные величины ЯЭО. Рассчитанные средние значения $\langle J^s \rangle$ и $\langle J^\psi \rangle$ находятся в пределах ошибки экспериментального определения КССВ (табл. 2 и 4).

* Координаты остатка β -L-Rha получены на основе координат остатка β -D-Man [12] зеркальным отображением.

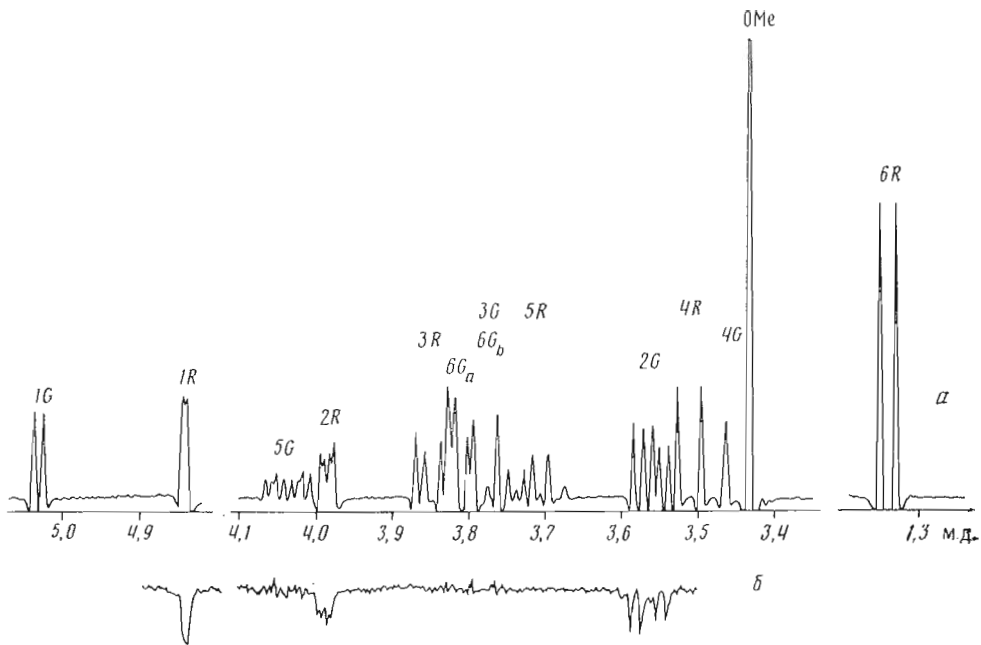


Рис. 1. ^1H -ЯМР-спектр дисахарида $\text{DGlc}\alpha\text{1-2LRha}\alpha\text{1-OMe}$ (сигнал H6 уменьшен в 2 раза) (а) и спектр ЯЭО при предоблучении протона $\text{H1}'$ (б)

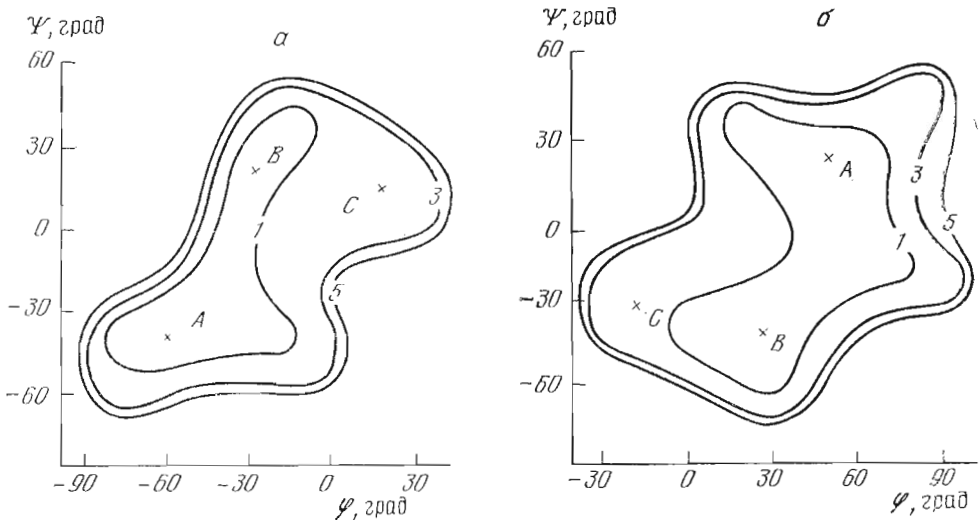


Рис. 2. Конформационные карты φ - ψ дисахаридов $\text{DGlc}\alpha\text{1-2LRha}\alpha\text{1-OMe}$ (а) и $\text{DGlc}\beta\text{1-2LRha}\alpha\text{1-OMe}$ (б). Даны эквипотенциалы относительной энергии 1,3 и 5 ккал/моль (расчет 1). Крестиком помечены положения локальных минимумов

На примере структуры (I) можно показать, что в водных растворах дисахаридов внутримолекулярные водородные связи не вносят дополнительный энергетический вклад в стабилизацию тех или иных пространственных форм [6]. Так, с учетом этой составляющей энергии самой низкоэнергетической становится конформация с углами вращения $\varphi, \psi -40, 10^\circ$ с внутримолекулярной водородной связью $\text{O5}' \dots \text{H}-\text{O3}$. В соответствующем расчете соотношение средних значений ЯЭО на протонах H1 и H2 становится равным 0,02, что находится в противоречии с экспериментальными данными (табл. 1).

$\text{LRha}\beta\text{1-2LRha}\alpha\text{1-OMe}$ (II). Для дисахарида (II), как и в случае дисахарида (I), при предоблучении аномального протона $\text{H1}'$ наблюдаются близкие ЯЭО на протонах H2 и H1 гликозильированного остатка рамнозы

Ядерные эффекты Оверхаузера (%), наблюдаемые при предоблучении протонов Н1' дисахаридов

Дисахариды	Наблюдаемые протоны					
	Н1	Н2	Н2'	Н3'	Н5'	Н2'+Н5'
(I)	7,5(1) *	7,4(1)	10,6			
(II)	8,4(0,8)	10,4(1)	7,2	8,3	7,2	
(III)	1,0(0,1)	10,5(1)		6,9		11,1
(IV)		8,6(1)	5,6			
		Н2	Н3	Н2'	Н3'+Н5'	
(V)	4,5(1)	4,5(1)	6,2			
(VI)		4,6(1)	1,8	7,5		

* В скобках указаны относительные значения ЯЭО.

Таблица 2

КССВ ${}^3J_{C,H}$, J^{Φ} и J^{Ψ} (Гц) * в спектрах ${}^{13}C$ -ЯМР дисахаридов

Дисахариды	J^{Φ}	J^{Ψ}	Дисахариды	J^{Φ}	J^{Ψ}
(I)	3,7	4,4	(IV)	4,3	4,8
(II)	3,8	4,4	(V)	3,6	4,2
(III)	4,3	4,9	(VI)	3,9	4,5

* Точность определения $\pm 0,2$ Гц.

(табл. 1). Соответствующие константы J^{Φ} и J^{Ψ} в двух дисахаридах также близки (3,7–3,8 и 4,4 Гц, табл. 2). Таким образом, обе группы экспериментальных данных указывают на близость конформационных свойств дисахаридов (I) и (II).

Из сопоставления конформационных карт φ – ψ на рис. 2а и 3а становится очевидным, что дисахарид (II) по сравнению с (I) имеет более конформационно лабильную структуру, в которой диапазон изменения угла φ составляет $\sim 70^\circ$ ($-70 - 0^\circ$), а угла $\psi \sim 100^\circ$ ($-50 \div +50^\circ$). Тем не менее на потенциальной поверхности этого дисахарида по-прежнему можно выделить два преимущественных конформера А и В (табл. 3) с углами вращения φ, ψ , близкими углам в соответствующих конформациях А и В дисахарида (I). В обоих случаях вклад в равновесие пространственных форм А и В составляет ~ 70 и 30% (табл. 3). Таким образом, несмотря на различия в конформационной гибкости двух дисахаридов, распределение по конформациям сохраняется.

При учете всей потенциальной поверхности дисахарида (II) получены близкие средние значения ЯЭО на протонах Н2 и Н1 (табл. 4), притом в соответствии с наблюдаемыми ЯЭО (табл. 1) величина $\langle J_{Н1}^{Н2} \rangle$ несколько больше $\langle J_{Н1}^{Н1} \rangle$. Рассчитанные средние значения констант $\langle J^{\Phi} \rangle$ 3,4 Гц и $\langle J^{\Psi} \rangle$ 4,4 Гц (табл. 4) также близки экспериментальным величинам (табл. 2).

DGlcβ1-2LRhaα1-OMe (III). В этом дисахариде, который отличается от дисахарида (I) одним конфигурационным параметром — конфигурацией аномерного центра межзвеньевой гликозидной связи, картина ЯЭО иная: при предоблучении протона Н1' наблюдается значительный ЯЭО только на протоне Н2 остатка рамнозы (10,5%, табл. 1, рис. 4). Вместе с тем следует подчеркнуть, что на протоне Н1 зафиксирован небольшой

Расчетные значения углов вращения φ , ψ , энергий и ЯЭО для оптимальных конформеров (A, B и C) гликозил-(1 → 2)-рамнозидов

Параметры	(I)			(II)		
	A	B	C	A	B	C
φ, ψ , град	-60, -40	-30, 20	20, 20	-50, -30	-10, 40	50, 10
U , ккал/моль:						
расчет 1 *	-4,1	-3,6	-2,0	-2,7	-2,4	-1,8
расчет 2 **	-1,6	-1,0	0,8	-0,2	0,1	1,5
f_{H1}^{H1} , %	29	-3	-3	28	-7	-2
f_{H1}^{H2} , %	4	29	23	8	23	10
Статистические веса, % **:						
расчет 1	68	30	2	65	29	6
расчет 2	75	24	1	70	25	5

Параметры	(III)			(IV)		
	A	B	C	A	B	C
φ, ψ , град	50, 20	30, -40	-20, -30	50, 20	40, -30	-40, -20
U , ккал/моль:						
расчет 1 *	-2,7	-2,8	-1,7	-3,4	-3,7	-2,5
расчет 2 **	-0,2	0,2	0,5	-0,9	-0,8	-0,3
f_{H1}^{H1} , %	-2	5	15	-4	0	12
f_{H1}^{H2} , %	17	24	17	14	25	8
Статистические веса, % **:						
расчет 1	48	49	3	40	55	5
расчет 2	53	44	3	49	41	10

* Расчет 1 с функциями Скотта и Шераги [7].

** Расчет 2 с функциями Китайгородского [8].

*** Вычислены по свободным энергиям конформеров.

Таблица 4

Отношение средних значений ЯЭО, а также средние значения КССВ в гликозил-(1 → 2)-рамнозидах

Параметры	(I)		(II)		(III)		(IV)	
	Расчет 1	Расчет 2	Расчет 1	Расчет 2	Расчет 1	Расчет 2	Расчет 1	Расчет 2
$\langle f_{H1}^{H1} \rangle / \langle f_{H1}^{H2} \rangle$	1,0	1,0	0,9	0,8	0,15	0,05	0,2	0,02
$\langle f_{H1}^{H2} \rangle / \langle f_{H1}^{H1} \rangle$	1,4	1,4	0,7	0,7	0,4	0,4	0,8	0,8
J^φ , Гц	3,4	3,9	3,4	3,3	3,6	3,5	3,6	3,8
J^ψ , Гц	4,1	4,5	4,4	4,6	4,2	5,1	4,2	4,5

ЯЭО (~1%). Константы J^φ и J^ψ равны 4,3 и 4,9 Гц соответственно (табл. 2). (табл. 2).

Как следует из данных табл. 3, в конформационном равновесии дисахарида участвуют в основном пространственные формы A (φ, ψ 50, 20°) и B (φ, ψ 30, -40°) с приблизительно равными статистическими весами. При расчете величин ЯЭО найдено, что обе структуры могут обуславливать значительный ЯЭО только на протоне H2 остатка рамнозы (табл. 3), тогда как на протоне H1 в случае конформации A можно ожидать лишь небольшой отрицательный (-2%), а в случае конформации B — небольшой положительный ЯЭО (+5%), т. е. ЯЭО на протоне H1 должен быть

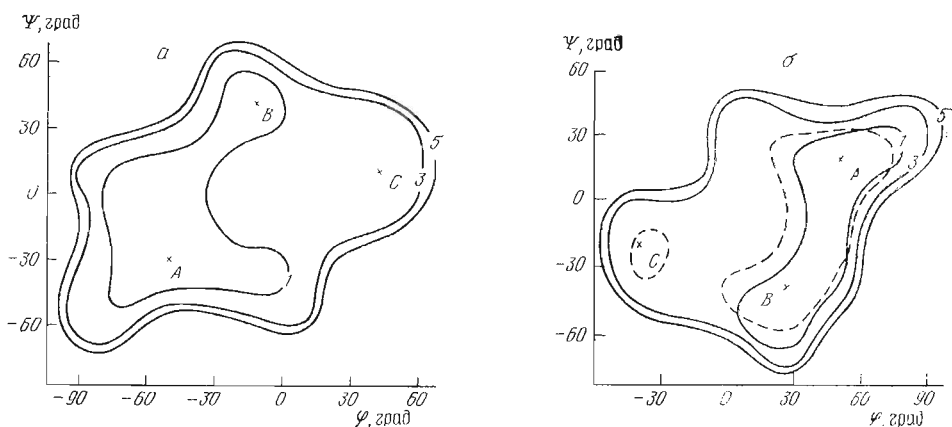


Рис. 3. Конформационные карты φ - ψ дисахаридов $LRha\beta 1-2LRha\alpha 1-OMe$ (а) и $LRha\alpha 1-2LRha\alpha 1-OMe$ (б) (см. подпись к рис. 2). Пунктиром проведен контур Δ 1 ккал/моль согласно расчету 2

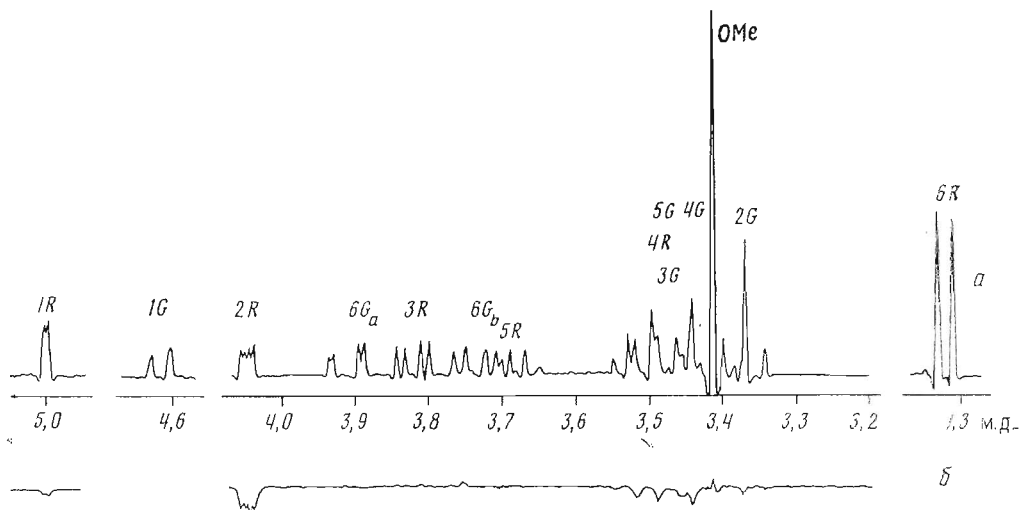


Рис. 4. 1H -ЯМР-спектр дисахарида $DGlc\beta 1-2LRha\alpha 1-OMe$ (сигнал H6 уменьшен в 2 раза) (а) и спектр ЯЭО при предоблучении протона $H1'$ (б)

близок к нулю. Отношения средних величин $\langle J_{H1'}^{H1} \rangle$ и $\langle J_{H1'}^{H2} \rangle$ в расчетах 1 и 2 равны 1:7 и 1:20 (табл. 4). То обстоятельство, что в расчете 2 величина $\langle J_{H1'}^{H1} \rangle$ несколько меньше, связано с тем, что в этом случае энергия конформера B немного больше энергии конформера A (+0,2 и -0,2 ккал/моль соответственно), тогда как в расчете 1, напротив, несколько выгоднее конформер B (табл. 3). По экспериментальным данным, соотношение ЯЭО на протонах H1 и H2 составляет 1:10 (табл. 1). Подчеркнем, что наличие небольшого эффекта на протоне H1 определенно указывает на присутствие в водном растворе конформеров B с отрицательными значениями угла ψ .

Наблюдаемое в дисахариде (III) соотношение ЯЭО на протонах H2 и H1 является следствием существенного сближения протонов $H1'$ и H2, что отражается в величинах средних расстояний $\langle r_{H1',H2} \rangle$ и $\langle r_{H1',H1} \rangle$, которые равны 2,35 и 3,6 Å. Напротив, в дисахариде (I), в котором ЯЭО на этих протонах равны, равны и величины $\langle r_{H1',H2} \rangle$ и $\langle r_{H1',H1} \rangle$ (2,45 Å).

$LRha\alpha 1-2LRha\alpha 1-OMe$ (IV). В этом дисахариде, так же как и в дисахариде (III), при предоблучении протона $H1'$ значительный ЯЭО зафиксирован только на протоне H2 гликозилированного остатка (табл. 1). Константы J^ψ и J^φ равны 4,3 и 4,8 Гц соответственно (табл. 2).

В двух низкоэнергетических оптимальных конформациях дисахарида (IV) с углами вращения φ, ψ $50, 20^\circ$ и $40, -30^\circ$ (табл. 3), статистический вклад которых в сумме составляет $\sim 95\%$, расчетные значения $f_{\text{H1}}^{\text{H2}}$ велики и равны 14 и 25%, тогда как $f_{\text{H1}}^{\text{H1}}$ близки к нулю, т. е. эти величины находятся в качественном согласии с экспериментальными данными по ЯЭО (табл. 1). Однако в расчете средних значений ЯЭО в приближении 1 величина $\langle f_{\text{H1}}^{\text{H1}} \rangle$ оказалась отличной от нуля (4%) и отношение $\langle f_{\text{H1}}^{\text{H1}} \rangle / \langle f_{\text{H1}}^{\text{H2}} \rangle$ составляет 1:5 (табл. 4). Это связано с тем, что при углах вращения $\varphi > 0$, т. е. соответствующих *gauche*-области его значений и удовлетворительных по *экзо*-аномерному эффекту, по невалентным взаимодействиям вполне допустимыми оказываются конформации с большими отрицательными значениями угла ψ (рис. 3), в которых величины $f_{\text{H1}}^{\text{H1}} > 0$. Так, в конформации с φ, ψ $30, -50^\circ$ она составляет 9%. Реальность таких конформаций была показана в случае дисахарида (III), для которого ЯЭО на протоне H1 при предоблучении H1' был действительно обнаружен (табл. 1).

В расчете 2 с функциями невалентных взаимодействий Китайгородского получено более удовлетворительное согласие с имеющимися экспериментальными данными. В этом случае величина $\langle f_{\text{H1}}^{\text{H1}} \rangle$ практически равна нулю (табл. 4). Такой результат связан с тем, что в расчете 2 область конформационной карты со значениями ψ $-30 \div -60^\circ$, для которой величины $f_{\text{H1}}^{\text{H1}} > 0$, оказывается немного более высокоэнергетической, чем в расчете 1 (ср. сплошной и штриховой контуры 1 ккал/моль на рис. 3б). Столь небольших различий в распределении конформеров A и B в двух приближениях (табл. 3) достаточно, чтобы обусловить заметные отличия в расчетных данных по ЯЭО на протоне H1 (табл. 4).

Как в расчете 1, так и в расчете 2 отношение ЯЭО на протонах H2' и H2 равно 0,8 (табл. 4). Такое же отношение указанных ЯЭО мы имеем и по экспериментальным данным (табл. 1), что в целом указывает на приемлемость конформационного распределения для дисахарида (IV), приведенного в табл. 3.

В конформерах A и B дисахарида (IV) аномерный протон H1 гликозилированного остатка рамнозы оказывается сближенным с протоном H5' гликозилирующего остатка. Поэтому был проведен эксперимент с предоблучением протона H1. В этом случае наблюдались почти равные ЯЭО на протонах H2 и H5' (4,4 и 3,9% соответственно), а также на O-метильной группе (4,9%). В теоретических расчетах соотношение $\langle f_{\text{H1}}^{\text{H2}} \rangle / \langle f_{\text{H1}}^{\text{H5}'} \rangle$ также равно почти единице, притом в соответствии с экспериментальными данными величина $\langle f_{\text{H1}}^{\text{H2}} \rangle$ немного больше $\langle f_{\text{H1}}^{\text{H5}'} \rangle$. Согласно Боку с соавт. [4], наличие ЯЭО на протоне H5' в условиях предоблучения H1 является доказательством конформационной жесткости рассматриваемого дисахарида. Однако это не так, поскольку во всех конформациях с углами $\varphi > 0^\circ$ и углами ψ в диапазоне $-50 \div +30^\circ$ значения $f_{\text{H1}}^{\text{H5}'}$ больше нуля.

При обсуждении дисахарида (IV), так же как и дисахарида (III), следует особо указать на значительную величину наблюдаемой константы J° (4,3 Гц, табл. 2). Отсюда следует, что значения угла φ могут существенно отличаться от значения -60° , предсказываемого расчетным методом HSEA [16], так как этому углу соответствует константа J° 2 Гц [15]. Этот факт вновь свидетельствует, что дисахариды не являются жесткими структурами.

Из проведенного анализа 1,2-связанных гликозилрамнозидов можно заключить, что распределение по конформациям этих структур, задаваемое практически только атом-атомными невалентными взаимодействиями, удовлетворительно воспроизводит экспериментальные данные по ЯЭО и константам $^3J_{\text{C,H}}$. На потенциальной поверхности каждого из дисахаридов имеется одна область разрешенных конформаций и диапазон изменения углов вращения φ и ψ в целом близок к $80-100^\circ$. Если принять, что

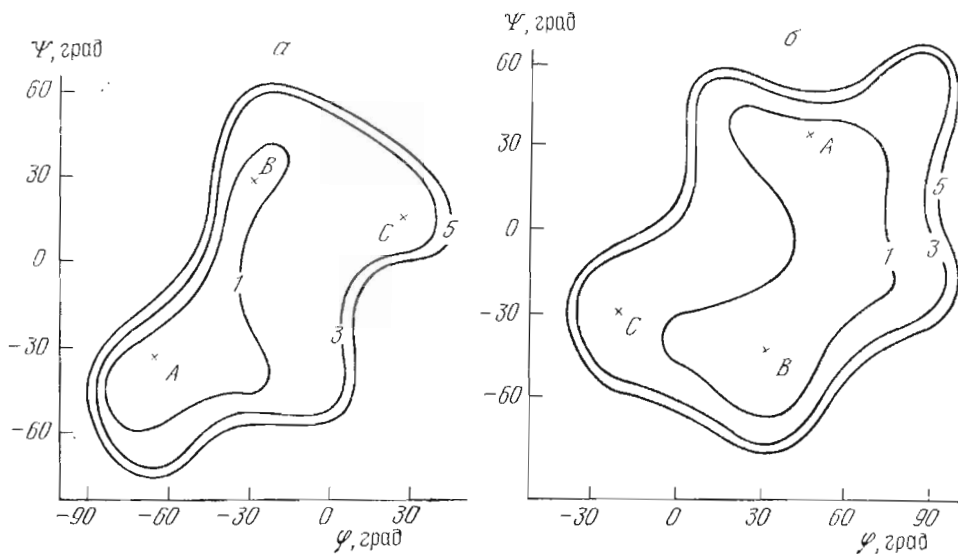


Рис. 5. Конформационные карты φ - ψ дисахаридов $DGlc\alpha 1-3LRha\alpha 1-OMe$ (а) и $DGlc\beta 1-3LRha\alpha 1-OMe$ (б)

этот диапазон невелик, то пространственные структуры гликозил-1→2-рамнозидов можно описывать среднестатистическими конформациями, в которых в случае дисахаридов (I) и (II) углы φ и ψ равны $-40, -10^\circ$, а в случае дисахаридов (III) и (IV) $-40, 0^\circ$. Однако следует иметь в виду, что такое представление — не более чем вопрос удобства, поскольку конфигурационная статистика и гибкость олиго- и полисахаридов, включающих такие звенья, задается всей потенциальной поверхностью дисахаридов [5].

По характерным проявлениям в спектрах ЯЭО рассмотренные гликозил-1→2-рамнозиды разделяются на две группы. В одной паре дисахаридов (I) и (II) при конфигурациях связанных остатков $\alpha, D-\alpha, L$ и $\beta, L-\alpha, L$ ЯЭО на протонах H2 и H1 при преобладании протона H1' почти равны между собой, в другой паре дисахаридов (III) и (IV) ($\beta, D-\alpha, L$ и $\alpha, L-\alpha, L$) ЯЭО практически наблюдается только на протоне H2 (табл. 1). Однако такое же разбиеие 1,2-связанных гликозилрамнозидов, а также гликозилманнозидов было дано в работе [17] на основании данных по β -эффектам гликозилирования в спектрах ^{13}C -ЯМР. Отсюда определенно следует, что указанные β -эффекты гликозилирования обусловлены протон-протонными взаимодействиями в дисахаридных звеньях.

Химические сдвиги (м. д.) и мультиплетность

Дисахариды	H1	H2	H3	H4	H5	H6	H1'
(I)	4,85	3,99	3,85	3,52	3,72	1,34	5,04
(II)	4,84	4,12	3,76	3,49	3,71	1,34	4,74
(III)	5,00	4,05	3,82	3,50	3,71	1,33	4,62
(IV)	4,79	3,94	3,83	3,47	3,68	1,32	4,98
(V)	4,80	4,18	3,84	3,60	3,76	1,36	5,11
(VI)	4,72	4,18	3,88	3,63	3,74	1,34	4,69

* д — дублет, т — триплет, к — квартет, с — синглет, м — мультиплет.

** X — часть АВХУ-спектра (H4', H5', H3', H6').

** X — часть АВХУ-спектра (H4', H5', H6', H3').

В исследовании 1,3-связанных дисахаридов с рамнозой в качестве гликозилированной пиранозы были найдены те же закономерности, что и в 1,2-связанных гликозилрамнозидах. Из сопоставления наблюдаемых ЯЭО в гликозил-1→2-рамнозидах и гликозил-1→3-рамнозидах [2] с одним и тем же моносакхаридным составом и одинаковой конфигурацией межзвеньевой гликозидной связи следует, что отношения ЯЭО практически совпадают, если сравнивать ЯЭО на протонах Н2 и Н1 в первом случае и на протонах Н3 и Н2 во втором случае. Также в дисахаридах, различающихся только типом связи 1-2 или 1-3, найдены одинаковые значения КССВ J^φ и J^ψ . Например, в паре *D* Glc α1-2*L* Rha α1-OMe и *D* Glc α1-3*L* Rha α1-OMe константы J^ψ равны 4,2 и 4,4 Гц, а константы J^φ — 3,6 и 3,7 Гц соответственно (табл. 2).

Сходство экспериментальных данных для дисахаридов с различным типом связи и ориентацией замещенного гидроксила (аксиальной или экваториальной) кажется на первый взгляд удивительным. Однако сравнение конформационных карт φ—ψ и энергий соответствующих оптимальных конформаций сравниваемых дисахаридов показывает их практическое совпадение (ср. рис. 2 и 5).

Общим для 1,2- и 1,3-связанных дисахаридов является наличие при одном из β-углеродов гликозилированного остатка экваториального протона и при другом — экваториальной гидроксильной группы (здесь β-углерод — атом, связанный с α-углеродом, образующим гликозидную связь). В силу этого обстоятельства пространственное строение соответствующих гликозил-1→2-рамнозидов и гликозил-1→3-рамнозидов одинаково. Поэтому можно ожидать сходства конформационных свойств межзвеньевых гликозидных связей также в других дисахаридах, где реализуется подобная ориентация заместителей при β-углеродных атомах в гликозилированной пиранозе.

Экспериментальная часть

Спектры ^1H - и ^{13}C -ЯМР 3% раствора дисахаридов в D_2O сняты на приборе AM-300 (Bruker) при 60°С (рабочая частота для протонов — 300 МГц, а для ^{13}C — 75 МГц). Химические сдвиги даны относительно натрий-4,4-диметил-4-силапентан-1-сульфоната в протонном спектре (табл. 5 и 6) и метанола в углеродном спектре (табл. 7). Отнесение ключевых сигналов в спектрах ^1H -ЯМР выполнено с применением методики селективного гомоядерного резонанса в обычном и разностном вариантах, в спектрах ^{13}C -ЯМР — селективного гетероядерного $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -резонанса. Величины ЯЭО измерены по методике TOE [18] при следующих временных константах: D_1 0,5 с (время предоблучения) и D_2 0,8 с (время релаксационной задержки). Величины ЯЭО (%) были рассчитаны как отношения интегральных интенсивностей наблюдаемого и предоблучаемого протонов в разностном спектре. Видциальные КССВ J^φ и J^ψ определялись с помощью двумерной спектроскопии по методикам, описанным в работах [19, 20].

Таблица 5

в спектрах ^1H -ЯМР дисахаридов

Н2'	Н3'	Н4'	Н5'	Н6' _a	Н6' _b	Н6'	OMe
3,57 дд	3,80 т	3,50 т	4,05 ддд	3,83 дд	3,80 дд		3,43 с
4,06 дд	3,63 2*	3,39–3,48 м	3,39–3,48 м			1,34 3*	3,45 с
3,38 дд	3,49 т	3,45 т	3,49 ддд	3,91 дд	3,74 дд		3,41 с
4,08 д	3,81 дд	3,46 т	3,76 дк			1,29 д	3,42 с
3,63 дд	3,84 т	3,52 дд	4,01 ддд	3,84 дд	3,82 дд		3,46 с
3,39 дд	3,51 т	3,48 дд	3,46 ддд	3,92 дд	3,76 дд		3,43 с

Константы спин-спинового взаимодействия (Гц) в спектрах ¹H-ЯМР дисахаридов

Ди-сахариды	J _{1,2}	J _{2,3}	J _{3,4}	J _{4,5}	J _{5,6}	J _{1',2'}	J _{2',3'}	J _{3',4'}	J _{4',5'}	J _{5',6'a}	J _{5',6'b}	J _{6'a,6'b}	J _{5',6'}
(I)	1,9	3,5	9,8	9,8	6,2	3,8	10,0	10,0	10,0	2,8	4,8	12,5	
(II)	1,9	3,5	9,8	9,8	6,2	1,2	3,4	9,8	—				6,2
(III)	1,9	3,6	9,8	9,8	6,2	7,6	9,8	9,8	9,8	2,5	5,0	12,5	
(IV)	1,9	3,5	9,8	9,8	6,2	1,9	3,5	9,8	9,8				6,2
(V)	1,9	3,2	9,6	9,6	6,0	3,8	9,5	9,2	10,0	2,8	4,8	12,4	
(VI)	1,9	3,3	9,5	9,5	6,0	7,8	9,3	9,2	9,8	2,5	5,0	12,4	

Таблица 7

Химические сдвиги (м. д.) в спектрах ¹³C-ЯМР дисахаридов

Ди-сахариды	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C1'	C2'	C3'	C4'	C5'	C6'	OMe
(I)	99,6	77,4	71,4	73,4	70,0	17,9	98,9	72,7	74,1	70,9	73,3	61,8	56,1
(II)	100,2	79,0	71,1	73,7	69,9	17,9	100,2	72,3	74,1	73,4	74,1	18,0	56,1
(III)	101,2	81,0	71,6	73,7	69,7	17,9	105,5	74,8	77,0	70,7	77,2	62,1	56,1
(IV)	101,0	79,8	71,5	73,6	70,0	17,9	103,5	71,5	71,6	73,5	70,5	17,9	56,1
(V)	101,8	68,0	77,2	71,7	69,8	18,0	96,9	72,7	74,3	70,8	73,1	61,8	56,1
(VI)	102,0	71,2	81,5	72,5	69,7	18,2	105,0	74,9	77,3	71,1	77,2	62,2	56,1

Метил-2-О-(α -D-глюкопиранозил)- α -L-рамнопиранозид (I). Раствор 580 мг метил-2-О-(2,3,4,6-тетра-О-бензил- α -D-глюкопиранозил)-3,4-ди-О-бензоил- α -L-рамнопиранозид [21] в 9 мл пиридина обрабатывали 2 мл 1 н. раствора MeONa в MeOH. Через 16 ч смесь разбавляли 200 мл CHCl₃, промывали водой, 0,5 н. HCl, насыщ. раствором NaHCO₃, водой, высушивали MgSO₄ и упаривали. Из остатка хроматографией на SiO₂ (CHCl₃-Et₂O, 20:3) выделили 390 мг метил-2-О-(2,3,4,6-тетра-О-бензил- α -D-глюкопиранозил)- α -L-рамнопиранозид, $[\alpha]_D^{20} +28^\circ$ (с 1, CHCl₃), который далее растворяли в 20 мл EtOH и гидрировали над 10% Pd/C в течение 4 ч при 43° С. Катализатор отфильтровывали, фильтрат упаривали. Получили 185 мг (85%) дисахарида (I) в виде аморфного порошка, $[\alpha]_D^{20} +90^\circ$ (с 2, вода).

Метил-2-О-(β -D-глюкопиранозил)- α -L-рамнопиранозид (III), аморфный порошок, $[\alpha]_D^{20} -12^\circ$ (с 1, вода), получали аналогичным образом из метил-2-О-(2,3,4,6-тетра-О-бензил- β -D-глюкопиранозил)-3,4-ди-О-бензоил- α -L-рамнопиранозид [21].

Метил-2-О-(β -L-рамнопиранозил)- α -L-рамнопиранозид (II)*. Конденсацией 4-О-ацетил-2,3-О-карбонил- α -L-рамнопиранозилбромид [22] с метил-3,4-ди-О-бензоил- α -L-рамнопиранозидом [23] в присутствии карбоната серебра и каталитических количеств трифторметансульфоната серебра получили смесь соответствующих α - и β -связанных дисахаридов; после разделения смеси с помощью колоночной хроматографии β -изомер дезацетилировали MeONa в MeOH и реактивировали уксусным ангидридом в пиридине. Получили метил-3,4-ди-О-ацетил-2-О-(2,3,4-три-О-ацетил- β -L-рамнопиранозил)- α -L-рамнопиранозид, строение которого было подтверждено данными ¹H-ЯМР. Дезацетилированием по Земплеру полученный пентаацетат превращали в дисахарид (II).

Метил-2-О-(α -L-рамнопиранозил)- α -L-рамнопиранозид (IV) получали дезацетилированием по Земплеру метил-3,4-ди-О-ацетил-2-О-(2,3,4-три-О-ацетил- α -L-рамнопиранозил)- α -L-рамнопиранозид [24].

Метил-3-О-(α -D-глюкопиранозил)- α -L-рамнопиранозид (V) синтезировали по методике [25] с выходом 70%, сироп, $[\alpha]_D^{20} +72,8^\circ$ (с 1, метанол).

Метил-3-О-(β -D-глюкопиранозил)- α -L-рамнопиранозид (VI) получали гидрированием метил-2,4-ди-О-бензил-3-О-(2,3,4,6-тетра-О-бензил- β -D-глюкопиранозил)- α -L-рамнопиранозид [21] над 10% Pd/C в этаноле с 1,4-диоксаном (3:2) в течение 5 ч при 43° С. Катализатор отфильтровывали, фильтрат упаривали, остаток хроматографировали на колонке Alltech-ODS (C-18) (4,6×250 мм, 0,5 мл/мин) в воде с использованием модульной системы ВЭЖХ: насос 302 (Gilson, Франция), манометрический модуль 802 С (Gilson, Франция), кран Rheodine 7125 (Alltech, США), аналитический рефрактометр 98,00 (Кнауер, ФРГ), самописец (Кнауер, ФРГ). Выход 88%, сироп, $[\alpha]_D^{20} -52^\circ$ (с 1, вода).

Строение синтезированных метилбозидов (I)–(VI) подтверждали результатами анализа спектров ¹H- и ¹³C-ЯМР (см. табл. 5–7).

* Подробный синтез дисахаридов (II) и (IV) будет опубликован позднее.

ЛИТЕРАТУРА

1. Липкинд Г. М., Шашков А. С., Николаев А. В., Мамян С. С., Кочетков Н. К. // Биоорган. химия. 1987. Т. 13. № 8. С. 1081–1092.
2. Липкинд Г. М., Шашков А. С., Книрель Ю. А., Кочетков Н. К. // Биоорган. химия. 1986. Т. 12. № 6. С. 771–779.
3. Липкинд Г. М., Кочетков Н. К. // Биоорган. химия. 1984. Т. 10. № 12. С. 1670–1679.
4. Bock K., Josephson S., Bundle D. R. // J. Chem. Soc. Perkin Trans. II. 1982. № 1. P. 59–70.
5. Липкинд Г. М., Воровский В. Е., Кочетков Н. К. // Биоорган. химия. 1983. Т. 9. № 9. С. 1269–1284.
6. Lipkind G. M., Shashkov A. S., Kochetkov N. K. // Carbohydr. Res. 1985. V. 141. P. 191–197.
7. Scott R. A., Scheraga H. A. // J. Chem. Phys. 1966. V. 44. № 8. P. 3054–3068.
8. Kitaigorodsky A. I. // Tetrahedron. 1961. V. 14. № 3/4. P. 230–236.
9. Jeffrey G. A., McMullan R. K., Takagi Sh. // Acta crystallogr. 1977. V. B35. № 3. P. 728–737.
10. Jeffrey G. A., Takagi Sh. // Acta crystallogr. 1977. V. B33. № 3. P. 738–742.
11. Takagi Sh., Jeffrey G. A. // Acta crystallogr. 1978. V. B34. № 6. P. 2551–2555.
12. Warin V., Baert F., Fouret R., Strecker G., Spik G., Fournet B., Montreuil J. // Carbohydr. Res. 1979. V. 76. P. 11–22.
13. Arnott S., Scott W. E. // J. Chem. Soc. Perkin Trans. II. 1972. № 3. P. 324–335.
14. Shirmer R. E., Noggle J. H., Davis J. P., Hart P. A. // J. Amer. Chem. Soc. 1970. V. 92. № 11. P. 3266–3273.
15. Hamer G. K., Balza F., Cyr N., Perlman A. S. // Can. J. Chem. 1978. V. 56. № 24. P. 3109–3116.
16. Thøgersen H., Lemieux R. U., Bock K., Meyer B. // Can. J. Chem. 1982. V. 60. № 1. P. 44–57.
17. Kochetkov N. K., Chizhov O. S., Shashkov A. S. // Carbohydr. Res. 1984. V. 133. P. 173–185.
18. Wagner G., Wütrich K. // J. Magn. Resonance. 1979. V. 33. № 3. P. 675–680.
19. Gidley M. J., Bociek S. M. // J. Chem. Soc. Chem. Commun. 1985. № 4. P. 220–222.
20. Bax A., Freeman R. // J. Amer. Chem. Soc. 1982. V. 104. № 4. P. 1099–1100.
21. Николаев А. В., Кочетков Н. К. // Изв. АН СССР. Сер. хим. 1986. № 11. С. 2556–2565.
22. Backinowsky L. V., Balan N. F., Shashkov A. S., Kochetkov N. K. // Carbohydr. Res. 1980. V. 84. P. 225–235.
23. Байрамова Н. Э., Бакиновский Л. В., Кочетков Н. К. // Изв. АН СССР. Сер. хим. 1985. № 5. С. 1122–1128.
24. Backinowsky L. V., Tsvetkov Yu. E., Balan N. F., Выратова Н. Е., Кочетков Н. К. // Carbohydr. Res. 1980. V. 85. P. 209–211.
25. Бакиновский Л. В., Гомцян А. Р., Байрамова Н. Э., Кочетков Н. К. // Биоорган. химия. 1985. Т. 11. № 2. С. 254–263.

Поступила в редакцию
12.VI.1987

NUCLEAR OVERHAUSER EFFECT AND CONFORMATIONAL STATES
OF GLYCOSYL-(1-2)- AND -(1-3)-RHAMNOSIDES IN AQUEOUS SOLUTION

MAMYAN S. S., LIPKIND G. M., SHASHKOV A. S.,
BAIRAMOVA N. E., NIKOLAEV A. V., KOCHETKOV N. K.

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

Nuclear Overhauser effects (with irradiation of the anomeric protons) and spin-spin coupling constants for C- and H-atoms near glycosidic bond in some 1,2- and 1,3-linked glycosylrhamnosides were determined. On the basis of the experimental data and conformational calculations, the spatial structure of the disaccharides is discussed. It was shown that the 1,2- and 1,3-linked glycosylrhamnosides of the same monosaccharide composition and anomeric configurations of the residues possess similar conformational properties.