



УДК 577.114.5:513.422.23

ИЗУЧЕНИЕ СТРОЕНИЯ *L*-АРАБИНАНОВ ИЗ КОРНЕЙ
АЛТЕЯ ЛЕКАРСТВЕННОГО *ALTHAEA OFFICINALIS* L.
И КОРЫ ИВЫ БЕЛОЙ *SALIX ALBA* L.
МЕТОДОМ ^{13}C -ЯМР

Кочин И., Усов А. И., Шапков А. С.,
Яроцкий С. В.

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

Томан Р., Цапек П.

Институт химии Словацкой Академии наук, Братислава

Интерпретирован спектр ^{13}C -ЯМР высоковетвленного *L*-арабинофуранана из коры ивы белой *Salix alba*. Показано, что информация о структуре полисахарида, которая может быть получена из спектра (в том числе количественные соотношения структурных элементов из интегральных интенсивностей отдельных групп сигналов), находится в хорошем соответствии с данными химических методов исследования. Спектроскопия ^{13}C -ЯМР использована для характеристики строения другого *L*-арабинофуранана, выделенного из корней алтея лекарственного *Althaea officinalis*.

Спектроскопия ^{13}C -ЯМР дает обширную информацию о строении полисахаридов [1, 2]. Этим методом подробно изучены различные глюкозы [3, 4], маннаны [5], ксиланы [6] и галактаны [7], что позволяет использовать спектральные данные для идентификации известных или поиска новых структур среди природных представителей полисахаридов этих типов. Что же касается арабианов, также широко распространенных в растительном мире [8], то они практически не исследовались методом ^{13}C -ЯМР. Интерпретация спектров ^{13}C -ЯМР природных *L*-арабинофурананов могла бы, на наш взгляд, оказать существенную помощь в исследовании как собственно арабианов, так и более сложных гетерополисахаридов, содержащих арабинозные остатки, а также полисахаридов, в состав которых входят остатки галактофуранозы — ближайшего конфигурационного аналога арабинофуранозы. В соответствии с этим данная работа посвящена интерпретации спектра ^{13}C -ЯМР *L*-арабинофуранана из коры ивы белой (I), строение которого подробно охарактеризовано химическими методами, и использованию полученных результатов для исследования строения другого *L*-арабинофуранана (II), выделенного из корней алтея лекарственного.

Ранее было показано, что арабиан I имеет высоковетвленную структуру со связями 1→5, 1→3 и 1→2 между остатками α -*L*-арабинофуранозы (рис. 1) [9]. При анализе спектра ^{13}C -ЯМР арабиана I (рис. 2, табл. 1) мы использовали данные исследования различных *O*-метильных эфиров метил- α -*L*-арабинофуранозидов [10] и общие закономерности изменения положения сигналов ^{13}C в молекулах сахаров в зависимости от места *O*-гликозидирования и ориентации заместителей при гликозидированном и соседних с ним атомах углерода [1]. Рассмотрение спектра I показало, что в области резонанса C-1 имеются три сигнала. В наиболее слабом поле (δ 108,6 м. д.), по всей видимости, расположен сигнал C-1 концевых остатков арабинозы A и B, поскольку в этих остатках отсутствуют заместители, под влиянием которых сигнал C-1 мог бы смещаться в сильное поле. Рассматриваемому слабому полю сигналу C-1 должны соответствовать в спектре I еще четыре сигнала с близкими интегральными интенсивностями, принадлежащие углеродным атомам C-2 — C-5 тех же

концевых остатков *A* и *B*, что и наблюдается в действительности (табл. 1, рис. 2). В самом сильном поле в области резонанса С-1 (δ 107,5 м.д.) должны лежать сигналы С-1 2-О-замещенных остатков арабинофуранозы, что объясняется значительным β -эффектом при замещении по С-2 [10]. Третий сигнал в области С-1 с δ 108,0 м.д., очевидно, соответствует 5-О- и 3-О-замещенным остаткам арабинозы. Такое замещение влияет на

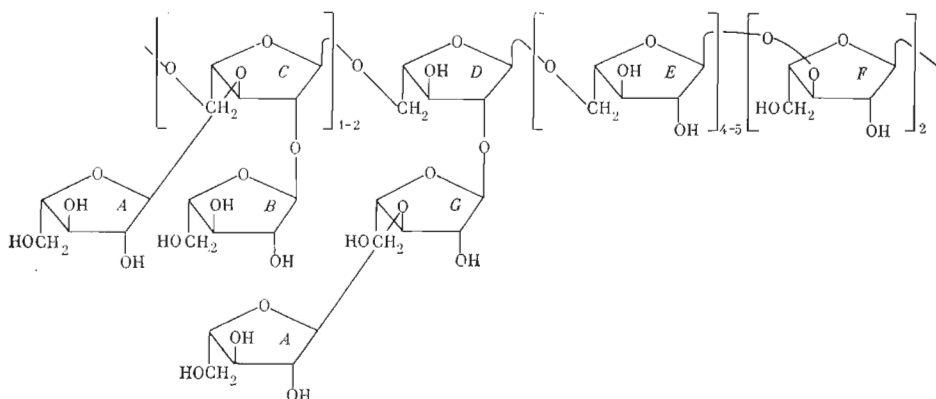


Рис. 1. Элементы структуры *L*-арабинана из коры пвы белой

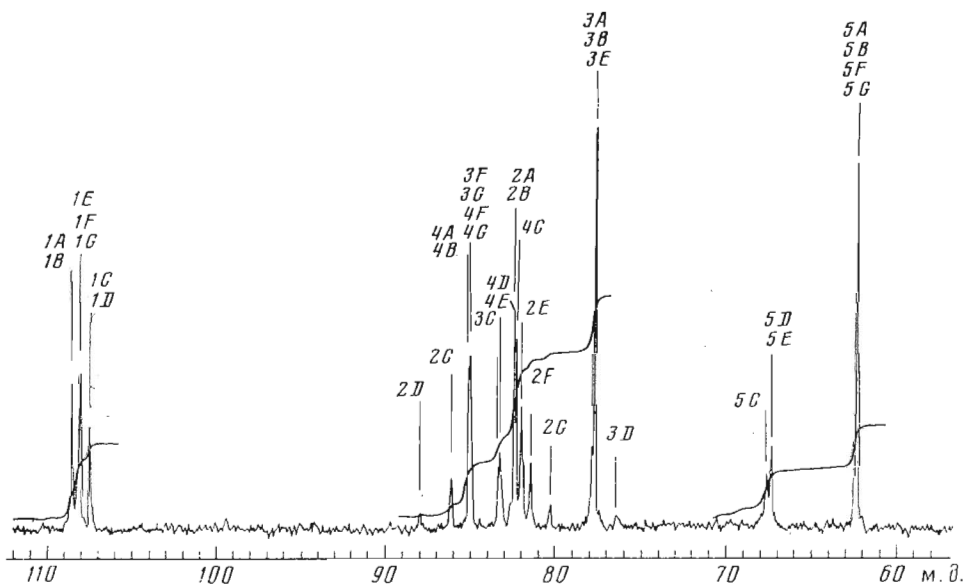


Рис. 2. Спектр ^{13}C -ЯМР *L*-арабинана I из коры пвы белой. 5000 накоплений

положение сигнала С-1 в меньшей степени, чем замещение по С-2 [10].

Следующей информативной областью спектра является область сигналов кольцевых атомов углерода, участвующих в образовании гликозидных связей, где наблюдаются четыре разрешенных сигнала. Зная обычные α -эффекты гликозилирования для кольцевых атомов углерода (ср. [4]) и положения сигналов С-атомов незамещенных остатков арабинофуранозы [10], можно достаточно уверенно отнести сигнал с δ 88,0 м.д. к С-2 остатков арабинозы, замещенных по положению 2 (звено *D*). При дополнительном замещении таких остатков по С-3 (звено *C*) сигнал С-2 вследствие β -эффекта смещается в сильное поле (δ 86,1 м.д.). В свою очередь сигнал С-3 звена *C*, испытывающий влияние заместителя при С-2, должен лежать в более сильном поле (δ 83,4 м.д.) по сравнению с сигналами С-3 3-О-замещенных остатков арабинозы (δ 85,1 м.д., звено *F*). Сигналы сво-

Интерпретация спектра ^{13}C -ЯМР (δ , м. д.) *L*-арабинана I из коры ивы белой

Звено	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	n^*
A	108,6	82,5	77,7	85,2	62,3	2,7
B	108,6	82,5	77,7	85,2	62,3	1,7
C	107,5	86,1	83,4	82,3	67,6	1,7
D	107,5	88,0	76,5	83,3	67,3	1,0
E	108,0	82,1	77,7	83,3	67,3	4,3
F**	108,0	81,5	85,1	85,1	62,3	2,0
G**	108,0	80,3	85,1	85,1	62,3	1,0

* Относительное содержание звена, рассчитанное из интегральных интенсивностей.

** Отнесение может быть обратным.

бодных C-5 имеют химический сдвиг 62,3 м.д., а замещенных — лежат в области 67,3—67,6 м.д. (ср. [11]).

Такой подход в сочетании с расчетом суммарной интегральной интенсивности для совпадающих по положению сигналов позволил отнести и все остальные сигналы C-атомов в спектре 1. Следует отметить, что вывод о наличии 3-О-замещенных остатков арабинофуранозы не только в главной цепи (звено F), но и в боковых цепочках (звено G) сделан на основании наличия в спектре двух сигналов с δ 81,5 и 80,3 м.д., которые могут соответствовать только C-2 3-О-замещенных остатков α -L-арабинофуранозы, причем различия в химических сдвигах этих сигналов обусловлены скорее всего различиями в структуре близлежащего участка следующего моносахаридного остатка. Имеющиеся данные не позволяют, однако, установить, какой из двух этих сигналов относится к звену F и какой — к звену G.

Ранее на примере ксиланов мы показали, что по интегральным интенсивностям сигналов в спектрах ^{13}C -ЯМР полисахаридов можно достаточно точно определять относительное содержание имеющихся структурных элементов [6]. В данном случае, располагая полностью интерпретированным спектром 1, мы провели сравнение результатов определения относительного содержания различным образом замещенных остатков арабинозы методом метилирования [9] с данными, полученными при оценке соотноше-

Таблица 2

Относительные содержания различных типов связей в арабинане из коры ивы белой по данным метилирования [9] и рассчитанные из интегральных интенсивностей сигналов в спектре ^{13}C -ЯМР

Тип связи	По данным метилирования	Из спектра ^{13}C -ЯМР	Тип связи	По данным метилирования	Из спектра ^{13}C -ЯМР
1→2	1,0	1,0	1→5	2,62	2,69
1→3	1,75	1,40			

ния интегральных интенсивностей сигналов, соответствующих различным звеньям (табл. 2). Как следует из табл. 2, количественные соотношения, рассчитанные из спектра ^{13}C -ЯМР, находятся в хорошем соответствии с данными, полученными химическими методами.

Таким образом, интерпретация спектра ^{13}C -ЯМР полисахарида I, молекулы которого содержат практически все возможные для α -L-арабинофурананов элементы, позволяет изучать методом ^{13}C -ЯМР строение других полисахаридов такого типа. В качестве объекта для такого исследования мы выбрали L-арабинан из корней алтея лекарственного (II). Спектр ^{13}C -ЯМР полисахарида II приведен на рис. 3 (см. также табл. 3). Большое сходство спектров 1 и 2 позволяет сделать вывод, что арабинан II, как и I, построен из остатков α -L-арабинофуранозы и обладает структурой, близкой

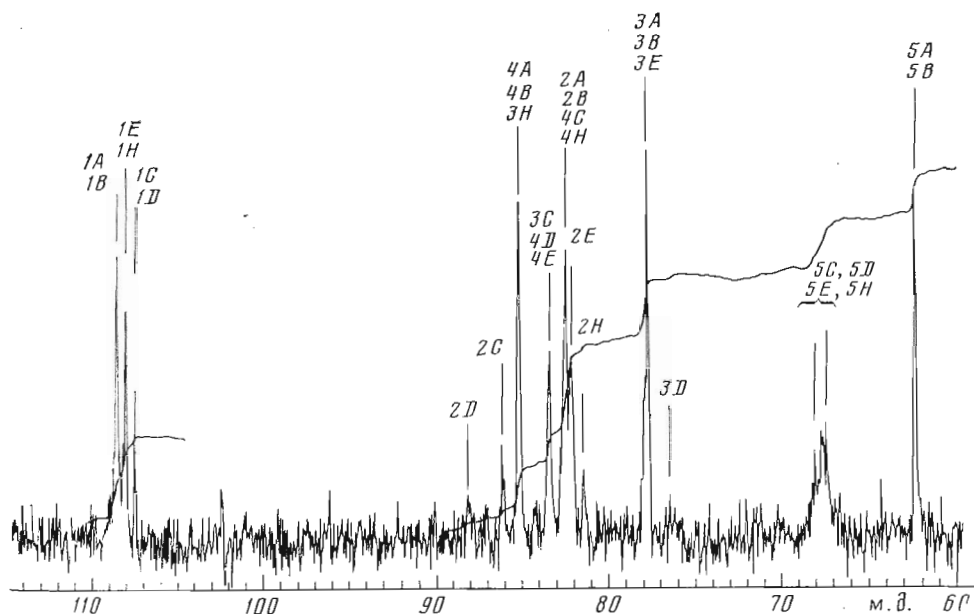


Рис. 3. Спектр ^{13}C -ЯМР *L*-арабинана II из корней алтея лекарственного. 2500 на копелений

к структуре арабинана I, хотя и отличается по относительному содержанию структурных элементов и по некоторым особенностям строения.

Так, в спектре 2 отсутствует сигнал с δ 80,3 м.д., соответствующий С-2 звена *F* или *G*. Вывод о том, что в молекуле арабинана II нет звеньев *F* и *G*, но зато есть новый тип звеньев *H* (см. рис. 4), можно сделать, исходя из приведенного ниже сопоставления интегральных интенсивностей ряда сигналов. Сигнал с δ 82,5 м.д. может соответствовать С-4 звеньев *C* и *H* и С-2 звеньев *A* и *B*. Вычитая из его интегральной интенсивности вклад за счет звеньев *A* и *B*, найденный из сигнала С-1, можно получить интегральную интенсивность, соответствующую относительному количеству звеньев *C* и *H*. Интегральная интенсивность индивидуального сигнала С-2 звена *C* существенно меньше; кроме того, в спектре имеется сигнал с δ 81,4 м.д.,

Таблица 3

Интерпретация спектра ^{13}C -ЯМР (δ , м.д.) *L*-арабинана II из корней алтея лекарственного

Звено	С-1	С-2	С-3	С-4	С-5	<i>n</i> *
<i>A</i>	108,7	82,5	77,8	85,2	62,3	4,5-
<i>B</i>	108,7	82,5	77,8	85,2	62,3	3,5
<i>C</i>	107,6	86,1	83,4	82,5	67,3-68,0	2,5
<i>D</i>	107,6	88,2	76,4	83,4		1,0
<i>E</i>	108,1	82,2	77,8	83,4		5,5
<i>H</i>	108,1	81,4	85,2	82,5		2,0

* См. примечание к табл. 1.

который соответствует С-2 замещенного по С-3 остатка арабинозы; интегральные интенсивности сигналов с δ 108,7 и 62,3 м.д., отвечающие С-1 и С-5 звеньев *A* и *B*, равны, т. е. все остальные звенья замещены по положению 5 (им соответствует группа сигналов с δ 67,3-68,0 м.д.). Все эти факты доказывают наличие в составе арабинана II 3,5-ди-О-замещенных звеньев *H*, которых не было в молекуле I, тогда как звенья *F* и *G*, имеющиеся в полисахариде I, в арабинане II отсутствуют. Эти выводы находятся в хорошем соответствии с предварительными результатами анализа

структуры II химическими методами, которые будут опубликованы позднее.

Ранее было показано, что даже предварительное рассмотрение спектров ^{13}C -ЯМР арабинанов позволяет получить определенную информацию о некоторых особенностях их строения [11]. Проведенная работа дает возможность использовать спектроскопию ^{13}C -ЯМР в качестве удобного мето-

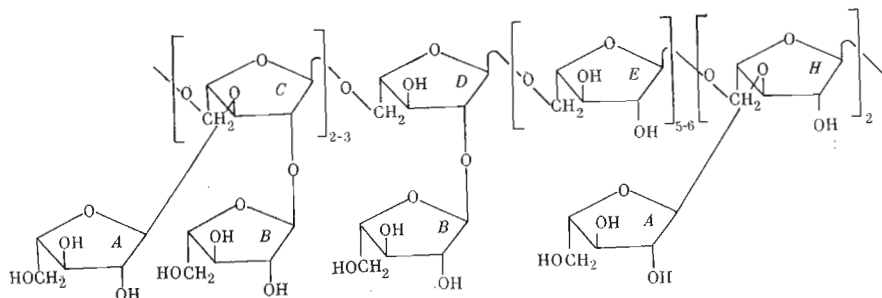


Рис. 4. Элементы структуры *L*-арабинана из корней алтея лекарственного

да структурного анализа α -*L*-арабинофурананов. Полученные результаты можно использовать при анализе спектров ^{13}C -ЯМР гетерополисахаридов, содержащих остатки α -*L*-арабинофуранозы и других моносахаридов в фуранозной форме.

Экспериментальная часть

L-Арабинан I из коры ивы белой получен по методике [9]. Для выделения *L*-арабинана II из корней алтея лекарственного 9450 г сухих корней измельчали и экстрагировали в течение 48 ч 200 л холодной воды. Экстракт упаривали до 50 л и выливали в 300 л этанола. Образующийся осадок суспендировали в воде и диализовали. Нерастворившуюся часть отделяли, а раствор лиофилизовали. Повторная экстракция материала в аналогичных условиях дала дополнительное количество растворимой и нерастворимой фракций. 15 г водорастворимой фракции, в составе гидролизата которой обнаружены галактоза, глюкоза, арабиноза, рамноза и уроновые кислоты в мольном соотношении 1,0 : 1,3 : 1,5 : 0,7 : 1,6 (определение как в работе [9]), экстрагировали 70% этанолом (4×600 мл) при 40°С в течение 3 ч. Экстракт (2,9 г) давал при гидролизе *D*-галактозу, *D*-глюкозу, *L*-рамнозу и *L*-арабинозу в соотношении 1,0 : 1,0 : 0,9 : 4,5, а также уроновую кислоту (15%). Хроматографией 2,8 г экстракта на колонке с DEAE-сефадексом А-25 (3×100 см) в карбонатной форме получен препарат арабинана (0,65 г), который после очистки гель-фильтрацией на сефадексе G-75 при полном кислотном гидролизе давал только *L*-арабинозу, имел $[\alpha]_D^{20} -147$ (вода) и был гомогенным по данным седиментации на ультрацентрифуге MOM G 110 при 238 330 об/мин для 4% раствора полисахарида в воде и электрофореза с подвижной границей в боратном буфере при pH 9,2 на приборе Zeiss 35.

Спектры ^{13}C -ЯМР получены на спектрометре Bruker-Physik WM-250 для 3% растворов полисахаридов в D₂O при 30°С в условиях подавления спин-спинового взаимодействия с протонами; время задержки импульса 0,5 с, ширина импульса 6 мкс (~45°), ширина развертки 15 000 Гц. Химические сдвиги измерены относительно диметилсульфоксида в качестве внутреннего стандарта и пересчитаны относительно тетраметилсилана по соотношению $\delta_{\text{TMS}} = \delta_{\text{DMSO}} + 39,45$ м.д.

ЛИТЕРАТУРА

1. Шашков А. С., Чижов О. С. Биорган. химия, 1976, т. 2, № 3, с. 437–497.
2. Jennings H. J., Smith I. C. P. Methods in Enzymol., 1978, v. 50C, p. 39–50.
3. Jennings H. J., Smith I. C. P. J. Amer. Chem. Soc., 1978, v. 95, p. 606–608.
4. Usui T., Yamaoka N., Matsuda K., Tuzimura K., Sugiyama H., Seto S. J. Chem. Soc., Perkin Trans. I, 1973, p. 2425–2432.

5. Gorin P. A. J. Can. J. Chem., 1973, v. 51, № 14, p. 2375-2383.
6. Усов А. И., Яроцкий С. В., Шашков А. С., Тищенко В. П. Биоорг. химия, 1978, т. 4, № 1, с. 57-65.
7. Usov A. I., Yarotsky S. V., Shashkov A. S. Biopolymers, 1980, v. 19, p. 977-990.
8. Smith F., Montgomery R. The chemistry of plant gums and mucilages. N. Y.: Reinhold. Publ. Co., 1959.
9. Karacsonyi S., Toman R., Janacek F., Kubackova M. Carbohydr. Res., 1975, v. 44, № 2, p. 285-290.
10. Gorin P. A. J., Mazurek M. Carbohydr. Res., 1976, v. 48, № 1, p. 171-186.
11. Joseleau J.-P., Chambat G., Vignon M., Barnoud F. Carbohydr. Res., 1977, v. 58, № 1, p. 165-175.

Поступила в редакцию
26.VII.1982

**¹³C NMR STUDY ON THE STRUCTURE OF *L*-ARABINANS FROM
THE ROOTS OF MARSH MALLOW
(*ALTHAEA OFFICINALIS* L.)
AND FROM THE BARK OF WHITE WILLOW (*SALIX ALBA* L.)**

KOCIS P., USOV A. I., SHASHKOV A. S., YAROTSKY S. V.,
TOMAN R., CAPEK P.

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

The ¹³C NMR spectrum of highly branched *L*-arabinofuranan from the bark of white willow (*Salix alba* L.) has been interpreted. The information about the polysaccharide structure which may be obtained from the spectrum (including proportions of structural elements from the integrated intensities of different groups of signals) was shown to be in good agreement with chemical analysis data. The ¹³C NMR spectroscopy was used for structural characterization of another *L*-arabinofuranan isolated from the roots of marsh mallow (*Althaea officinalis* L.).