

核磁共振法在苷键构型确定中的应用

裴月湖, 华会明*, 李占林, 陈 刚

(沈阳药科大学中药学院, 辽宁 沈阳 110016)

摘要: 天然苷类化合物结构测定过程中核磁共振是测定苷键构型的重要方法。利用端基质子的耦合常数和端基碳的化学位移值判断苷键构型是最常用的方法, 但有些糖不适用这种方法, 而需要借助 ^{13}C NMR 谱数据分析确定苷键构型。本文通过归纳文献数据, 总结利用 ^1H NMR 和 ^{13}C NMR 谱的特征判断各种常见单糖苷键构型的方法。

关键词: 核磁共振; 糖苷键; 构型

中图分类号: R914

文献标识码: A

文章编号: 0513-4870 (2011) 02-0127-05

Application of nuclear magnetic resonance to the determination of the configuration of glycoside bond

PEI Yue-hu, HUA Hui-ming*, LI Zhan-lin, CHEN Gang

(School of Traditional Chinese Materia Medica, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China)

Abstract: In the structural determination of natural glycosides, nuclear magnetic resonance (NMR) is an important approach in determining the configuration of glycoside bond. The test of coupling constant of the anomeric proton and chemical shift of the anomeric carbon are two common methods, but these methods are not suitable for some sugars. For those sugars, detailed ^{13}C NMR analysis is an alternative choice. This paper summarizes the characteristics of ^1H and ^{13}C NMR data of the common monosaccharides published in the literatures, in order to search an approach to determine the configuration of glycoside bond.

Key words: nuclear magnetic resonance; glycoside bond; configuration

苷键构型的确定是天然苷类化合物结构测定的重要内容。核磁共振 (nuclear magnetic resonance, NMR) 法是确定吡喃醛糖 (aldopyranoside) 苷键构型 (α 或 β) 最常用的方法。有些糖可以利用 ^1H NMR 谱中端基质子的耦合常数来判断苷键的构型, 而有些糖则需根据糖端基碳的化学位移值确定苷键的构型。根据现有的文献资料, 有些糖不能通过糖端基碳的化学位移值和 ^1H NMR 谱中端基质子的耦合常数来确定苷键构型。本文通过对常见单糖的 ^{13}C NMR 数据的分析比较, 试图找到确定各种糖的苷键构型的方法。

1 ^1H NMR 法

利用 ^1H NMR 谱中糖端基质子的耦合常数来判

断苷键的构型, 方法简便且最常用。在吡喃型糖的优势构象中, 当 $\text{C}_2\text{-OH}$ 位于平伏键 (e 键) 时, 同时 $\text{C}_1\text{-OR}$ 亦位于 e 键时, H-1 和 H-2 为反式直立键, 其两面角为 180° , 端基质子的耦合常数通常为 $6\sim 8\text{ Hz}$; 当 $\text{C}_1\text{-OR}$ 位于直立键 (a 键) 时, H-1 和 H-2 的两面角为 60° , 端基质子的耦合常数通常为 $2\sim 4\text{ Hz}$ (表 1)^[1-3]。当 $\text{C}_2\text{-OH}$ 位于 a 键时, 端基质子 H-1 与 H-2 处于 a, e 或 e, e 键时, H-1 和 H-2 的两面角均为 60° , 端基质子的耦合常数一般为 $2\sim 4\text{ Hz}$, 由于其耦合常数相差不大, 故不能根据端基质子的耦合常数来判断苷键的构型。即在糖的优势构象中只有当 $\text{C}_2\text{-OH}$ 位于 e 键时, 才能根据端基质子的耦合常数来判断苷键的构型, 如图 1 所示的葡萄糖 (glucose)、半乳糖 (galactose)、古洛糖 (gulose)、阿洛糖 (allose)、艾杜

收稿日期: 2010-08-20.

*通讯作者 Tel / Fax: 86-24-23986465, E-mail: huimhua@163.com

Table 1 ^1H - ^1H and ^{13}C - ^1H spin coupling constants of methyl aldopyranosides (600 MHz, D_2O , 30 °C). ^aMeasured at 25 °C; ^bMeasured in pyridine- d_5 , 100 MHz

Compound	$J_{\text{H1-H2}}/\text{Hz}$	$^1J_{\text{C1-H1}}/\text{Hz}$
α -D-Glucoside	3.8	170.1
β -D-Glucoside	8.0	161.3
α -D-Galactoside	4.0	169.5
β -D-Galactoside	7.9	160.7
α -D-Guloside ^a	3.6	169.2
β -D-Guloside ^a	8.4	162.8
α -D-Alloside	4.0	169.5
β -D-Alloside	8.3	163.4
α -D-Idoside ^a	6.0	165.2
β -D-Idoside ^a	1.6	162.8
α -D-Riboside	2.1	167
β -D-Riboside	6.4	166
α -D-Xyloside	3.6	170.1
β -D-Xyloside	7.8	161.8
α -D-Arabinoside	7.2	161.1
β -D-Arabinoside	3.8	169.7
α -D-Mannoside	1.8	171.0
β -D-Mannoside	0.9	159.5
α -D-Altroside	—	168
β -D-Altroside	1.6	162.4
α -D-Talosite ^a	1.6	170.5
β -D-Talosite ^a	1.0	160.5
α -D-Lyxoside	4.2	169
β -D-Lyxoside	1.2	—
α -L-Rhamnoside ^b		168
β -L-Rhamnoside ^b		158

糖 (idose)、木糖 (xylose)、阿拉伯糖 (arabinose)、鸡纳糖 (quinovose) 和岩藻糖 (fucose) 等。值得注意的是: ① 核糖 (ribose) 的优势构象式是 C1 式和 1C 式的混合体或半椅式, 两种构象式的自由能相似 [α -D-核糖总自由能 (千卡/分子): C1 式 3.45, 1C 式 3.55; β -D-核糖总自由能 (千卡/分子): C1 式 2.5, 1C 式 3.1], 这可由该糖端基碳的 ^{13}C - ^1H 偶合常数 (表 1) 得到进一步证实。成苷后其优势构象可能会得到固定 (以 C1 式为主)。② α -D-艾杜糖的优势构象式同样也是 C1 式和 1C 式的混合体[总自由能 (千卡/分子): C1 式 4.35, 1C 式 3.85], 但 1C 式占优势。这可由其端基碳的 ^{13}C - ^1H 偶合常数为 165.2 Hz (在 160 Hz 与 170 Hz 之间) 和 H-1 与 H-2 偶合常数为 6.0 Hz 得到证实。 β -D-艾杜糖的优势构象式是 C1 式[总自由能 (千卡/分子): C1 式 3.74, 1C 式 5.35], 这也可由其端基碳的 ^{13}C - ^1H 偶合常数为 162.8 Hz (与 C-Ha 的偶合常数一致) 和 H-1 与 H-2 偶合常数为 1.6 Hz 得到证实, 虽然 α -D-艾杜糖和 β -D-艾杜糖的优势构象不同, 但仍可

根据 H-1 与 H-2 偶合常数来判断其端基碳构型 (α 或 β), 原因是 α -D-艾杜糖 (1C 式) H-2 位于 a 键上, β -D-艾杜糖 (C1 式) H-2 位于 e 键上。由于信号重叠无法判断糖端基质子的偶合常数或糖的 C_2 -OH 位于 a 键时, 则无法利用 H-1 的偶合常数确定苷键的构型。

2 ^{13}C NMR 法

图 1 列出了单糖的优势构象式和单糖及其甲苷的端基碳的化学位移^[4-7], 从中可以看出: ① D-葡萄糖、D-半乳糖、D-古洛糖、D-阿洛糖、D-艾杜糖、D-核糖、D-木糖、L-阿拉伯糖、D-鸡纳糖和 D-岩藻糖的 C_2 -OH 均位于 e 键时, 可以很方便地通过糖端基质子的偶合常数推断其苷键的构型。在上述糖中除 D-阿洛糖和 D-艾杜糖因数据不全外, 其余糖的甲苷 α 和 β 苷键端基碳的化学位移值相差较大 (通常为 2~4 个化学位移单位), 故可以通过糖端基碳的化学位移值来推断糖苷键的构型。② D-甘露糖 (mannose)、D-阿卓糖 (altrose)、D-塔罗糖 (talose)、D-来苏糖 (lyxose) 和 L-鼠李糖 (rhamnose) 的 C_2 -OH 均位于 a 键上, 不能通过该类糖端基质子的偶合常数推断苷键的构型。除 D-来苏糖甲苷外 (D-阿卓糖和 D-塔罗糖甲苷的数据不全, 故无法判断), 其余糖的甲苷 α 和 β 苷键端基碳的化学位移值相差很小, 也不能通过端基碳的化学位移值来推断苷键的构型。

不同苷键构型糖端基碳的化学位移的差别可以通过纽曼投影式结构加以解释。图 2 是 C_2 -OH 和 C_1 -OR 位于 ee、ea、ae、aa 键 4 种形式的纽曼投影式。由图 2 可看出: 当糖的 C_2 -OH 位于 e 键, 同时端基-OR 也位于 e 键时, 在纽曼投影式上只有 -OH 和 -OR 处于邻位交叉式; 而当端基-OR 位于 a 键时, 则在纽曼投影式上有 4 个大基团处于邻位交叉式。当糖的 C_2 -OH 位于 a 键, 无论端基-OR 是位于 e 键还是位于 a 键, 在纽曼投影式上均有 4 个大基团处于邻位交叉式。在纽曼投影式上当有 4 个大基团处于邻位交叉式时, 由于场效应的影响, 使端基碳的化学位移值向高场移动, 故只有 ee 式时端基碳化学位移偏低场, 这也许就是造成 C_2 -OH 为 a 键的这类糖 α 和 β 苷键端基碳的化学位移值相差较小的原因。

值得注意的是, D-古洛糖和 D-核糖的 C_2 -OH 均为 e 键, C_3 -OH 均为 a 键, 其 α 、 β 游离糖端基碳的化学位移值相差并不大, 但形成甲苷后, α 和 β -甲苷端基碳分别向低场位移 5.5~6 和 9 个化学位移单位, 仍可根据端基碳的化学位移值推断苷键构型。造成这种差别的原因可能是 C_1 -OR 和 C_3 -OH 双直立作用。

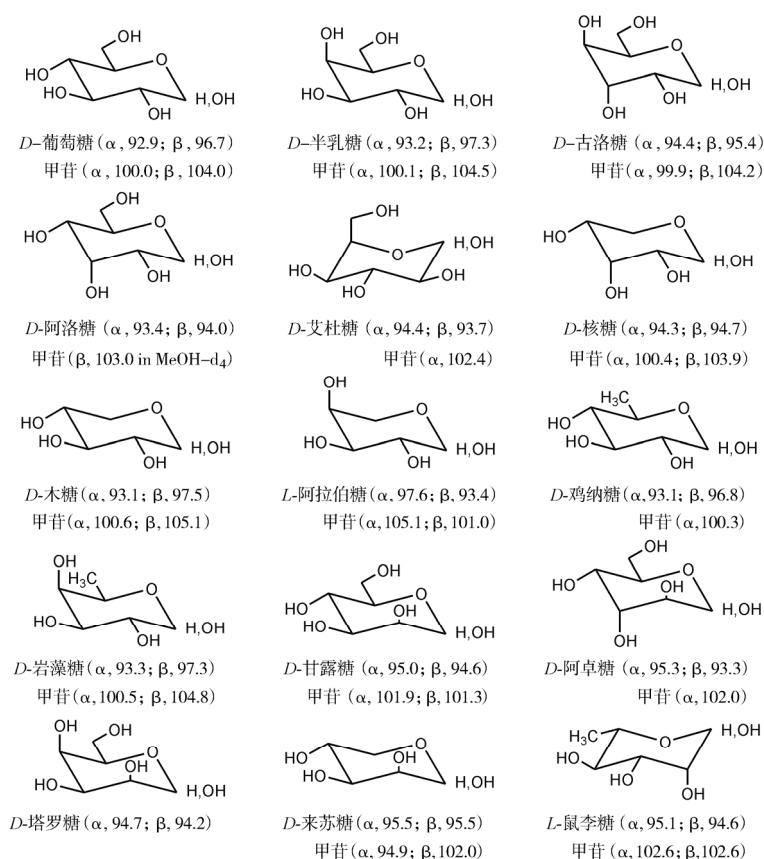


Figure 1 The structures of monosaccharides and the chemical shifts of their anomeric carbons

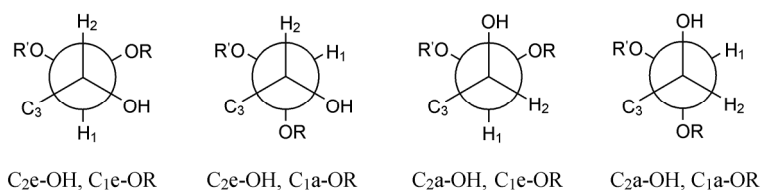


Figure 2 Newman projection about C-1 – C-2 bond of aldopyranoside

D-阿洛糖虽无 α -甲苷的数据, 但其情况与它们相似, 且其 β -甲苷端基碳的苷化位移值与它们也相似, 故可以推断 *D*-阿洛糖也可根据端基碳的化学位移值判断苷键构型。同理, 对于 *D*-艾杜糖来讲, 由于存在 C_1-OR 和 C_5-R 双直立作用, 其 α 和 β -甲苷端基碳的化学位移值也应该相差较大, 即也可根据端基碳的化学位移值判断苷键构型。

田中治^[8]对苷元对于鼠李糖上碳的化学位移的影响进行了研究。由表 2 可看出苷元对于鼠李糖端基碳的化学位移值影响较大, 而对于糖上其他碳的化学位移值影响则较小 (基本上小于 1 个化学位移单位)。表 3 列出了一些单糖及其甲苷的碳谱数据^[4-9], 可以看出 α 和 β -甘露糖、鼠李糖、塔罗糖的 C-3、C-5 的化学位移值有明显的差别; α 和 β -阿卓糖的 C-5 的化学位移值有明显的差别; α 和 β -阿洛糖和古洛糖的

C-2、C-5 化学位移值有明显的差别; α 和 β -来苏糖的 C-3 的化学位移值有明显的差别; α 和 β -艾杜糖除 C-1 外, C-2~C-6 的化学位移值均有差别。所以通过分析比较糖上碳的化学位移值可以推断出甘露糖、鼠李糖、塔罗糖、来苏糖、阿洛糖、阿卓糖、古洛糖、艾杜糖等苷键的构型, 该方法对于难于通过糖端基质子的耦合常数和端基碳的化学位移值来推断苷键构型的甘露糖、阿卓糖、鼠李糖、塔罗糖来讲就显得更重要一些。该方法的关键是要能正确归属糖上的碳信号。需要注意的是, 测定溶剂的不同, 会造成碳的化学位移值发生较大的变化, 如表 3 中的来苏糖及其甲苷。通过比较糖上碳化学位移值的方法确定苷键构型时, 所用溶剂最好与文献一致。同时由于苷化位移的原因, 对于内侧糖的构型测定这种方法并不适用 (除非找到了苷键构型已确定、且连接的糖种类与连

Table 2 ^{13}C NMR chemical shifts of rhamnose moiety in glycosides (in pyridine- d_5)

Aglycone	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6
<i>α-L</i> -鼠李糖						
MeOH	102.6	72.7	72.1	73.8	69.5	18.6
<i>n</i> -PrOH	101.1	72.6	72.0	73.7	69.3	18.4
<i>iso</i> -PrOH	99.2	72.5	72.5	73.9	69.5	18.4
<i>trans-tert</i> -Butylcyclohexanol	99.1	72.3	72.3	73.6	69.3	18.2
5 α -Cholestan-3 β -ol	99.3	72.8	72.8	74.1	69.7	18.6
<i>tert</i> -BuOH	95.7	73.2	72.4	73.9	68.9	18.2
<i>l</i> -Menthol	97.2	72.6	72.3	73.2	69.8	18.2
<i>d</i> -Menthol	103.0	72.3	71.9	73.3	69.3	17.9
<i>p</i> -Nitrophenol	99.9	71.3	72.2	73.3	71.3	18.3
<i>β-L</i> -鼠李糖						
MeOH	102.6	72.1	75.3	73.7	73.4	18.5
<i>n</i> -PrOH	101.3	72.1	75.1	73.5	73.2	18.3
<i>iso</i> -PrOH	99.5	72.8	75.6	73.9	73.3	18.6
<i>trans-tert</i> -Butylcyclohexanol	99.3	72.8	75.5	73.8	73.2	18.6
5 α -Cholestan-3 β -ol	99.2	72.8	75.4	73.6	73.1	18.6
<i>tert</i> -BuOH	95.6	72.6	75.3	73.4	73.4	18.6
<i>l</i> -Menthol	103.1	72.3	75.5	73.6	73.2	18.6
<i>d</i> -Menthol	98.0	73.1	75.6	73.8	73.1	18.3
<i>p</i> -Nitrophenol	98.6	71.7	74.8	73.8	73.2	18.4

Table 3 ^{13}C NMR chemical shifts of monosaccharides and their methyl glycosides (in D_2O). ^aMeasured in pyridine- d_5 , ^bMeasured in $\text{DMSO}-d_6$

Compound	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6	-OMe
<i>α-D</i> -Mannose	95.0	71.7	71.3	68.0	73.4	62.1	
<i>β-D</i> -Mannose	94.6	72.3	74.1	67.8	77.2	62.1	
Methyl- <i>α-D</i> -mannoside	101.9	71.2	71.8	68.0	73.7	62.1	55.9
Methyl- <i>β-D</i> -mannoside	101.1	71.4	74.0	67.9	77.4	62.2	58.2
<i>α-L</i> -Rhamnose	95.1	71.9	71.1	73.3	69.4	17.9	
<i>β-L</i> -Rhamnose	94.6	72.5	73.9	72.9	73.2	17.9	
Methyl- <i>α-L</i> -rhamnoside ^a	102.6	72.7	72.1	73.8	69.5	18.6	
Methyl- <i>β-L</i> -rhamnoside ^a	102.6	72.1	75.3	73.7	73.4	18.5	
<i>α-D</i> -Talose	96.1	72.2	66.6	71.1	72.6	63.0	
<i>β-D</i> -Talose	95.6	73.0	69.6	70.1	77.7	62.7	
<i>α-D</i> -Altrose	95.3	71.9	71.8	66.8	72.8	62.1	
<i>β-D</i> -Altrose	93.3	72.3	72.1	65.8	75.6	63.1	
<i>α-D</i> -Allose	94.3	68.6	73.2	67.6	68.3	62.3	
<i>β-D</i> -Allose	94.9	72.8	72.7	68.3	75.1	62.8	
<i>α-D</i> -Gulose	94.4	66.3	72.4	71.0	68.0	62.5	
<i>β-D</i> -Gulose	95.4	70.7	72.8	71.0	75.3	62.6	
<i>α-D</i> -Lyxose	95.5	71.5	72.0	69.0	64.6		
<i>β-D</i> -Lyxose	95.9	71.5	74.2	68.0	65.7		
Methyl- <i>α-D</i> -lyxoside ^b	100.8	71.6	71.6	68.2	62.6		53.9
Methyl- <i>β-D</i> -lyxoside ^b	103.7	71.8	72.5	66.0	65.6		56.9
<i>α-D</i> -Idose	94.4	74.5	73.5	71.9	74.5	60.1	
<i>β-D</i> -Idose	93.7	71.4	71.3	69.5	76.5	62.9	

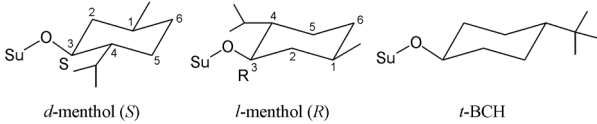
接位置完全一样的参考文献)。

田中治^[8]对有立体障碍的苷元对于单糖上碳的化学位移的影响进行了研究。从表 4 可见, 对于鼠李糖、甘露糖来说, 当苷元为 β -C 有立体障碍的环仲醇时, 鼠李糖、甘露糖的 α 和 β 一对差向异构体端基碳的苷化位移值相差较大, 故仍可以通过端基碳的化学位移值推断苷键的构型。

3 ^{13}C - ^1H 偶合常数

当苷或低聚糖中有多个单糖存在, 如果糖端基质子信号重叠或单糖处于糖链中间而不能根据糖端基质子的偶合常数和糖上碳信号判断苷键的构型时, 测定端基碳的碳氢偶合常数 ($J_{\text{C1-H1}}$) 是确定苷键构型的有效方法^[1, 9, 10]。从表 1 可见, 当端基质子处于平伏键时, 其端基碳氢的偶合常数为 170 Hz 左右, 处于直立键时则为 160 Hz 左右, 二者相差约 10 Hz。当优势构象为 C1 式, 偶合常数为 170 Hz 左右时, 为 α -D 或 β -L 型苷键; 偶合常数为 160 Hz 左右时, 为 β -D 或 α -L 型苷键。当优势构象为 1C 式时, α -L 或 β -D 型苷键的偶合常数为 170 Hz, β -L 或 α -D 型苷键时为 160 Hz 左右。当糖的优势构象为 C1 和 1C 两种椅式构象的混合物时, 其 $J_{\text{C1-H1}}$ 介于 170 Hz 和 160 Hz 之

Table 4 ¹³C NMR chemical shifts of anomeric carbons of monosaccharide moiety in glycosides (in pyridine-*d*₅)



d-menthol (*S*) *l*-menthol (*R*) *t*-BCH

Sugar	C-1	<i>d</i> -Menthol (<i>S</i>)		<i>l</i> -Menthol (<i>R</i>)		<i>t</i> -BCH	
		δ_{C-1}	$\Delta\delta_{C-1}$	δ_{C-1}	$\Delta\delta_{C-1}$	δ_{C-1}	$\Delta\delta_{C-1}$
α - <i>D</i> -Mannose	<i>S</i>	97.1	+3.3	103.7	+10.2	99.5	+5.4
β - <i>D</i> -Mannose	<i>R</i>	103.6	+10.8	98.4	+5.8	99.4	+6.8
β - <i>L</i> -Rhamnose	<i>S</i>	98.0	+5.7	103.1	+10.6	99.3	+6.9
α - <i>L</i> -Rhamnose	<i>R</i>	103.0	+9.9	97.2	+4.0	99.1	+5.3
α - <i>D</i> -Glucose	<i>S</i>	96.1	+4.5	102.1	+10.4	98.5	+6.6
β - <i>D</i> -Glucose	<i>R</i>	105.9	+10.5	101.5	+6.4	102.2	+7.4
β - <i>L</i> -Arabinose	<i>S</i>	96.8	+4.7	102.8	+10.4	99.0	+6.7
α - <i>L</i> -Arabinose	<i>R</i>	106.3	+10.5	101.4	+6.4	103.0	+7.2

间, 如艾杜糖和核糖^[10]。呋喃型糖苷则无法用端基碳的碳氢偶合常数判断其苷键的构型。该法谱图测定时间虽然较长, 但对于那些既不能用 ¹H NMR 法, 也不能用 ¹³C NMR 法判断苷键构型的糖 (如处于内侧的鼠李糖、甘露糖、阿卓糖、塔罗糖等) 却是一个较好的方法。

4 结论

综上所述, 常见的单糖的苷键构型可以依据下列方法确定: ① 葡萄糖、半乳糖、古洛糖、阿洛糖、艾杜糖、核糖、木糖、阿拉伯糖、鸡纳糖和岩藻糖可以根据端基质子的偶合常数来推断苷键的构型, 该法也是较可靠的方法; ② 葡萄糖、半乳糖、古洛糖、核糖、木糖、阿拉伯糖、鸡纳糖、岩藻糖和来苏糖也可以根据糖端基碳的化学位移值来推断苷键的构型; ③ 甘露糖、阿卓糖、塔罗糖和鼠李糖既不能根据端基质子的偶合常数来推断苷键的构型, 也不能根据糖端基碳的化学位移值来推断苷键的构型; ④ 甘露糖、阿卓糖、塔罗糖、来苏糖、艾杜糖、鼠李糖和阿洛糖可以通过分析比较糖上碳的化学位移值来推断苷键的构型; ⑤ 在 β -C 有立体障碍的环仲醇苷中, 鼠李糖和甘露糖仍可以通过端基碳的化学位移值来推断苷键的构型; ⑥ 用上述方法不能确定苷键的构型时, 通过端基碳的碳氢偶合常数 (¹J_{C1-H1}) 可以确定苷键的构型。

References

[1] Podlasek CA, Wu J, Stripe WA, et al. [¹³C] Enriched methyl aldopyranosides: structural interpretations of ¹³C-¹H

spin-coupling constants and ¹H chemical shifts [J]. J Am Chem Soc, 1995, 117: 8635–8644.
[2] Shashkov AS. ¹³C NMR spectra of parent hexopyranoses [J]. Russ Chem Bull, 1983, 32: 1200–1207.
[3] Yu DQ, Yang JS. Analytical Chemistry Handbook (分析化学手册). Analysis of Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy (核磁共振波谱解析) [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2002: 492.
[4] Snyder JR, Serianni AS. *D*-Idose: a one- and two-dimensional NMR investigation of solution composition and conformation [J]. J Org Chem, 1986, 51: 2694–2702.
[5] Bock K, Pedersen C. Carbon-13 nuclear magnetic resonance spectroscopy of monosaccharides [J]. Adv Carbohydr Chem Biochem, 1983, 41: 27–66.
[6] Gong YH, Ding LS. ¹³C NMR Analysis of Natural Products (天然产物核磁共振碳谱分析) [M]. Kunming: Yunnan Science and Technology Press, 2006: 856.
[7] King-Morris MJ, Serianni AS. ¹³C NMR studies of [^{1-¹³C}] aldoses: empirical rules correlating pyranose ring configuration and conformation with ¹³C chemical shifts and ¹³C-¹³C spin couplings [J]. J Am Chem Soc, 1987, 109: 3501–3508.
[8] Tanaka O. Application of ¹³C-nuclear magnetic resonance spectrometry to structural studies on glycosides: saponins of *Panax* spp. and natural sweet glycosides [J]. Yakugaku Zasshi, 1985, 105: 323–351.
[9] Paradowska K, Gubica T, Temeriusz A, et al. ¹³C CP MAS NMR and crystal structure of methyl glycopyranosides [J]. Carbohydr Res, 2008, 343: 2299–2307.
[10] Bock K, Pedersen C. A study of ¹³CH coupling constants in pentopyranoses and some of their derivatives [J]. Acta Chem Scand B, 1975, 29: 258–264.