

Vollständige ^{13}C -NMR-Zuordnung von gluco- und idokonfigurierten 1,2-*O*-Alkyliden-furanurono-6,3-lactonen durch 2D- ^1H - ^{13}C -korrelierte NMR-Spektroskopie

René Csuk^{a,*}, Norbert Müller^b und Hans Weidmann^a

^a Institut für Organische Chemie, Technische Universität Graz, A-8010 Graz, Österreich

^b Institut für Analytische, Organische und Physikalische Chemie, Universität Linz, A-4040 Linz, Österreich

(Eingegangen 17. Juni 1983. Angenommen 1. August 1983)

*Full ^{13}C -NMR-Assignment of gluco- and ido-Configured 1,2-*O*-Alkylidene-furanurono-6,3-lactones by 2D- ^1H - ^{13}C -Correlated NMR Spectroscopy*

1,2-*O*-Isopropylidene- and 1,2-*O*-benzylidene- α -*D*-glucofuranurono-6,3-lactones and the readily accessible 1,2-*O*-isopropylidene- and 1,2-*O*-benzylidene- β -*L*-idofuranurono-6,3-lactones were investigated by NMR spectroscopy. By means of a 2D- ^1H - ^{13}C -correlated NMR experiment all resonances of the sugar carbons could be unambiguously assigned.

(*Keywords: Hexofuranurono-6,3-lactones; COSY; 2D- ^1H - ^{13}C -correlated NMR spectroscopy*)

Einleitung

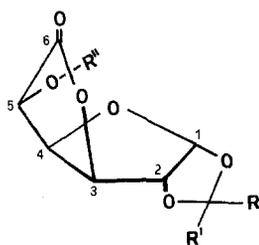
Das Auftreten von *L*-Iduronsäure als weitverbreiteter Bestandteil natürlicher Polysaccharide hat verstärkte Anstrengungen hervorgerufen, einfache Synthesen zu entwickeln^{1,4}, um einerseits die Identifizierung dieser Substanz in biologischen Systemen zu erleichtern, andererseits um Untersuchungen an der *L*-Iduronsäure überhaupt erst zu ermöglichen.

Deshalb kann sowohl 1,2-*O*-Isopropyliden- β -*L*-idofuranurono-6,3-lacton (**2**) als auch (1*S*)-1,2-*O*-Benzyliden- β -*L*-idofuranurono-6,3-lacton (**4**) als wertvolles Zwischenprodukt für einfache Synthesen von *L*-Iduronsäure bzw. *L*-Idurono-6,3-lacton angesehen werden. Bislang wurden unseres Wissens aber noch keine ^{13}C -NMR-Daten für 1,2-*O*-Alkyliden-furanurono-6,3-lactone bekannt, was wohl auf die große Schwierigkeit in der korrekten Zuordnung der Signale zurückzuführen ist.

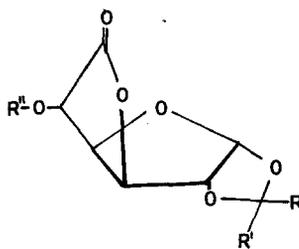
In jüngeren Arbeiten^{8,9} über Untersuchungen an Kohlenhydraten und *D*-Glucurono-6,3-lacton konnten die Resonanzen nur teilweise durch Entkopplungsexperimente oder durch Deuterium-induzierte differentielle ¹³C-NMR-Verschiebung oder durch Vergleich mit anderen Kohlenhydraten zugeordnet werden. Diese Zuordnungen waren jedoch oft nicht eindeutig, und in manchen Fällen wurden verschiedene Zuordnungen für dasselbe Signal getroffen¹⁰; besonders traten diese Schwierigkeiten für die ¹³C-Resonanzen von C-2, C-3, C-4 und C-5 auf⁸. Deshalb sollte im Rahmen unserer Arbeiten an Kohlenhydraten versucht werden, eine eindeutige Zuordnung der Signale im ¹³C-NMR-Spektrum durchzuführen.

Material und Methoden

Die Synthese von 1,2-*O*-Isopropyliden- α -*D*-gluco-furanurono-6,3-lacton (**1**) bzw. von (1*S*)-1,2-*O*-Benzyliden- α -*D*-glucofuranurono-6,3-lacton (**3**) geht von *D*-Glucofuranurono-6,3-lacton aus, das nach bekannten Methoden durch Reaktion mit Aceton² zu **1** bzw. mit Benzaldehyd³ zu **3** umgesetzt wird. **1** bzw. **3** werden zu den entsprechenden 1,2-*O*-Alkyliden-5-*O*-trifluormethansulfonyl- α -*D*-glucofuranurono-6,3-lactonen⁴ umgesetzt, die über die entsprechenden 1,2-*O*-Alkyliden-5-*O*-trifluoracetyl- β -*L*-idofuranurono-6,3-lactone zu den gewünschten 1,2-*O*-Alkyliden- β -*L*-idofuranurono-6,3-lactonen **2** bzw. **4** solvolysiert werden — über die Synthesen dieser Substanzen wird an anderer Stelle ausführlich berichtet werden⁵.

**1, 3**

- 1:** $R = R' = \text{CH}_3$, $R'' = \text{H}$
3: $R = \text{Ph}$, $R' = \text{H}$, $R'' = \text{H}$

**2, 4**

- 2:** $R = R' = \text{CH}_3$, $R'' = \text{H}$
4: $R = \text{Ph}$, $R' = \text{H}$, $R'' = \text{H}$

Für die ¹³C-Zuordnungsproblematik fanden bisher vornehmlich *Off-resonance*- und selektive Entkopplungsexperimente Verwendung, die jedoch bei überlagerten und wenig separierten Protonenmultipletts nur sehr beschränkt anwendbar sind¹¹. Auch das von *Martin* et al.¹², *Birdsall* et al.¹³ bzw. *Freeman* und *Hill*¹⁴ vorgeschlagene Verfahren der seriellen Inkrementierung der Entkopplerfrequenz im *Off-resonance*-Experiment versagt hier. Ebenso führt die Auswertung Deuterium-induzierter Verschiebungseffekte^{9,10} nach *O*-Deuterierung der Hydroxylfunktion an C-5 nicht zum gewünschten Erfolg und gestattet keine eindeutige Zuordnung bzw. Unterscheidung zwischen C-3 und C-4. Die Möglichkeit der Deuterierung¹⁵ an C-5 über Oxidation zum 1,2-*O*-Alkyliden- α -

D-xylo-5-hexulofuranurono-6,3-lacton mit nachfolgender Reduktion unter Verwendung eines deuterierten Reduktionsmittels zu den korrespondierenden C-5-Deuterio-Derivaten **1** und **2** bzw. **3** und **4** mit anschließender chromatographischer Trennung der Epimeren wurde auf Grund des mit dieser Methode verbundenen Aufwands nicht in Betracht gezogen.

Mit der ^1H - ^{13}C -Verschiebungskorrelationspektroskopie⁶ steht hier hingegen eine schnelle und eindeutig interpretierbare Methode zur Verfügung.

Die Aufnahme der Spektren erfolgte an einem Bruker-WH-90- bzw. an einem Bruker-WM-360-Gerät; an letzterem wurden auch die *2D*-Experimente durchgeführt. Aus Löslichkeitsgründen und zur Erzielung möglichst vergleichbarer Daten wurden alle Messungen in Pyridin- d_5 bei Konzentrationen von ca. 60 mg/ml durchgeführt.

Untersuchungen des ^1H - ^1H -Kopplungsverhaltens mit selektiven Entkopplungsexperimenten lassen wegen der durch die Viskosität des Solvens geringen

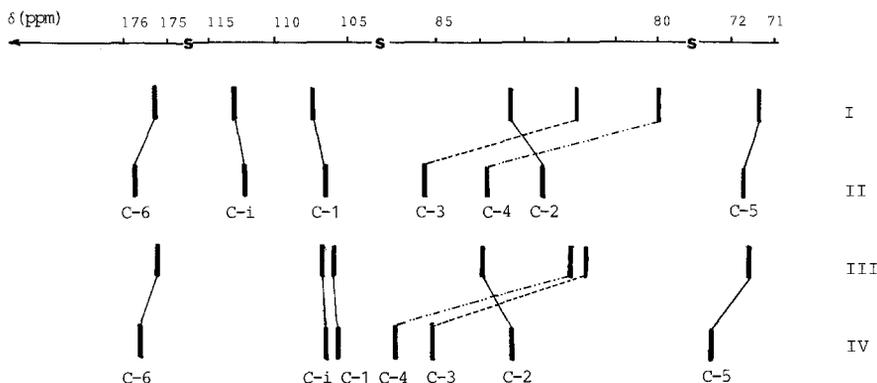


Abb. 1. Vergleichende Darstellung der ^{13}C -chemischen Verschiebungen der Verbindungen **1**–**4**

Auflösung keine sichere Zuordnung über die kleinen vicinalen Kopplungen und Fernkopplungen ($0,2 < J < 1 \text{ Hz}$)¹⁸ dieser Verbindungen zu. Das zweidimensionale homonukleare Verschiebungskorrelationsverfahren COSY^{7, 17} erlaubt es, in getrennten Experimenten durch eine zusätzliche Präevolutions- und Präaquisitionsverzögerung τ Korrelationen über große ($J > 2 \text{ Hz}$, $\tau = 0$) und kleine [$\tau = (4J_0)^{-1}$; $J = J_0 \pm 50\%$] Kopplungskonstanten J zu bestimmen (s. Abb. 4). Da die ^1H -Verschiebungen durch Lösungsmittelleffekte stark von den früher bestimmten¹⁸ abweichen, war dieses Verfahren zur Absicherung der Zuordnung notwendig.

Die COSY-Spektren wurden mit der Pulssequenz ($T_R - \pi/2 - \tau - t_1 - \pi/2 - \tau - \text{FID}$)₃₂ unter Phasenvariation für Quadraturdetektion in beiden Dimensionen aufgenommen, wobei τ zur Hervorhebung der Korrelationen über kleine Kopplungen auf 666 ms gesetzt wurde, was einem $J_0 = 0,75 \text{ Hz}$ entspricht; T_R war 3 s. Bei einer spektralen Breite von 650 Hz wurden 128 Inkremente von t_1 aus je 32 Transienten zu je 1 K Datenpunkten unter Phasenvariation für Quadraturdetektion in beiden Dimensionen registriert. Die *Fourier*-transformation erfolgte nach Auffüllen der t_1 -Dimension auf 1 K Datenpunkte mit Nullen und Multiplikation mit optimierten *Gauß-Lorenz*-Funktionen. Der 90° -Puls für den verwendeten 5-mm-Selektivprobenkopf betrug 6,8 μs .

Die ^{13}C - ^1H -korrelierten Spektren wurden mit der Pulsfrequenz $90^\circ(^1\text{H})-t_1/2-180^\circ(^{13}\text{C})-t_2/2-\Delta-90^\circ(^1\text{H})$, $90^\circ(^{13}\text{C})-\Delta$ -FID (^1H -breitbandentkoppelt) aufgenommen, wobei $\Delta = 3,3$ ms war. Der 90° -Pulswinkel betrug $8,5 \mu\text{s}$ für ^{13}C und $25,1 \mu\text{s}$ für ^1H im Entkopplerkanal. Die Pulsphasen wurden cyclisch so variiert, daß Quadraturdetektion in beiden Dimensionen erfolgen konnte. Die spektralen Breiten betragen je nach Spektrum 200—500 Hz für ^1H und 1 400—2 000 Hz für ^{13}C . Es wurden jeweils 64 bzw. 128 Induktionsabfälle mit 512 bzw. 1 024 Datenpunkten für jedes von 64 bzw. 128 Inkrementen registriert. Die Auswertung erfolgte auf dem ASPECT-2000-Computer des Spektrometers mit 80 K Hauptspeicher und 80 MB Festplatte mit dem Programm DISNMRP. Vor der *Fourier*transformation wurde mit einer auf den FID optimierten *Gauß-Lorenz*-Funktion multipliziert und in beiden Dimensionen auf die doppelte Punktezahl mit Nullen aufgefüllt. Die gesamte Meß- und Rechenzeit betrug 3—8 Stunden je nach Experiment, notwendiger Auflösung und spektraler Breite.

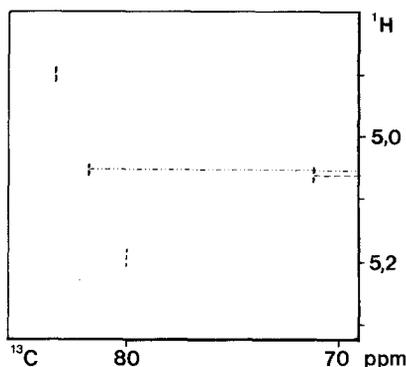


Abb. 2. $2D$ - ^1H - ^{13}C -korreliertes NMR-Spektrum von **1**

Ergebnisse und Diskussion

Die in Tab. 1 angegebenen ^1H -NMR-Verschiebungsdaten, deren Zuordnung mit Hilfe selektiver Entkopplungsexperimente und ergänzender homonuklearer $2D$ -Korrelationsexperimente (COSY, s. Abb. 3) getroffen wurden (bisher waren nur Zuordnungen in anderen Lösungsmitteln bekannt^{1, 18}), dienen über heteronukleare $2D$ -Korrelationspektren (s. Abb. 2) der eindeutigen Festlegung der ebenfalls in Tab. 1 angeführten ^{13}C -Resonanzen.

Diese Methode ist besonders vorteilhaft in Fällen wenig separierender ^1H -Signale (H-3 und H-5 in **1**, H-2 und H-5 in **3**, H-2 und H-4 in **4**) anwendbar, da die endliche Bandbreite des Störfeldes in einem selektiven Entkopplungsexperiment keine Beschränkungen auferlegt. Der Zeitbedarf für ein solches Experiment ist mit der Aufnahme von drei selektiv entkoppelten Spektren vergleichbar.

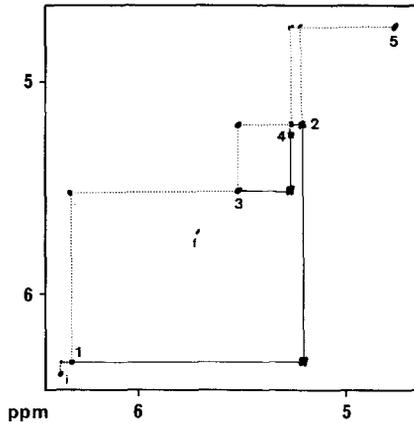


Abb. 3. COSY-Experimente an **4**. Das rechte untere Teildreieck des Diagramms zeigt die Ergebnisse eines „gewöhnlichen“ COSY-Experiments, das nur Korrelationen für große Kopplungen ($J > 2$ Hz) ergibt. Die linke obere Hälfte des Diagramms (unterbrochene Linien) zeigt die Korrelationen für kleine Kopplungen ($0,4 \text{ Hz} < J < 1,0 \text{ Hz}$); f = Faltungsartefakt

Tabelle 1. NMR-Daten für **1—4** (Fehlergrenzen $\pm 0,01$ ppm für ^1H , $\pm 0,05$ ppm für ^{13}C ; Standard: intern. TMS)

Verbindung	I	II	III	IV
H-1	6,05	6,09	6,28	6,32
H-2	4,91	4,95	4,81	5,21
H-3	5,07	5,31	5,24	5,53
H-4	5,19	5,08	5,31	5,27
H-5	5,08	4,65	4,79	4,75
CH_3	1,31	1,32		
	1,52	1,52		
$\text{O}-\text{CH}$			6,36	6,37
$\text{O}-\text{H}$			7,35—7,61	7,36—7,63
C-1	107,2	106,7	105,8	105,6
C-2	83,3	82,6	83,9	83,3
C-3	81,8	85,1	81,6	85,0
C-4	80,0	83,8	81,9	85,8
C-5	71,2	71,8	71,5	72,3
C-6	175,2	175,7	175,2	175,5
C-ipso	112,9	112,1	106,7	106,3
CH_3	26,5	26,6		
$\text{O}-\text{C}-1$	26,9	27,0	136,9	137,0
o			128,8	128,8
m			127,2	127,3
p			130,2	130,2

Tab. 1 und das ^{13}C -Verschiebungsdiagramm (Abb. 1) erlauben eine vergleichende Darstellung der chemischen Verschiebungen für die Ringkohlenstoffatome. Wie zu erwarten, sind die spektralen Unterschiede zwischen **1** und **3** bzw. **2** und **4** nur gering. Bezeichnenderweise zeigt sich im ^1H -NMR in Pyridin- d_5 kein allgemein gültiger Trend beim Übergang von *D*-gluco- zu *L*-idokonfigurierten Verbindungen. Im ^{13}C -NMR-Spektrum ist jedoch ein übereinstimmender Einfluß der Konfiguration an C-5 auf die Verschiebungen von C-3 und C-4 zu beobachten. Dieses Ergebnis bestätigt die Befunde von *Schwarz* und *Pertin*¹⁶ über die konformativen Unterschiede zwischen diesen Derivaten, welche aus vicinalen und geminalen ^{13}C - ^1H -Kopplungen abgeleitet wurden.

Mit Hilfe zweidimensionaler Methoden (COSY und ^{13}C - ^1H -Verschiebungskorrelation) konnten die ^1H - und ^{13}C -NMR-Signale der *D*-Glucuronon- (**1**, **3**) und *L*-Iduronolactone (**2**, **4**) in rascher und eindeutiger Weise in Fällen zugeordnet werden, wo andere Verfahren (selektive Entkopplung und Deuterium-induzierte Verschiebungseffekte) versagen. Die relativen ^{13}C -Verschiebungen der Ringkohlenstoffatome der Epimeren lassen einen einheitlichen Trend erkennen, der zur Konfigurationszuordnung herangezogen werden kann.

Dank

Die vorliegende Untersuchung wurde vom Österreichischen Fonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung (Projekt 4528) unterstützt. Herrn Doz. Dipl.-Ing. Dr. *K. Dax*, Institut für Organische Chemie der Technischen Universität Graz, gilt herzlicher Dank für viele wertvolle Diskussionen.

Literatur

- ¹ *Macher I., Dax K., Wanek E., Weidmann H.*, Carbohydr. Res. **80**, 45 (1980).
- ² *Sowden J. C.*, J. Amer. Chem. Soc. **74**, 4377 (1952).
- ³ *Shaw R. H.*, Carbohydr. Res. **12**, 43 (1970).
- ⁴ *Csuk R., Hönig H., Nimpf J., Weidmann H.*, Tetrahedron Lett. **1980**, 2135.
- ⁵ *Albert R., Dax K., Stütz A. E., Weidmann H.*, J. Carbohydr. Chem. **1983**, sowie *Albert R., Csuk R., Dax K., Hönig H., Stütz A. E., Weidmann H.*, Methods in Carbohydr. Chem. **1983**, Manuskripte in Vorbereitung.
- ⁶ *Freeman R., Morris G. A.*, J. Chem. Soc. Chem. Comm. **1978**, 684.
- ⁷ *Bax A., Freeman R., Morris G. A.*, J. Magn. Res. **42**, 164 (1981).
- ⁸ *Darakas E., Hultberg H., Leontein K., Lönngren J.*, Carbohydr. Res. **103**, 176 (1980).
- ⁹ *Pfeffer P. E., Valentine K. M., Parrish F. W.*, J. Amer. Chem. Soc. **101**, 1265 (1979).
- ¹⁰ *Ho S. C., Koch H. J., Stuart R. S.*, Carbohydr. Res. **64**, 251 (1978).
- ¹¹ *Lee E., O'Callaghan J., O'Reilly J. P.*, Carbohydr. Res. **105**, 266 (1982).
- ¹² *Martin M. L., Delpuech J. J., Martin G. J.*, in: Practical NMR Spectroscopy, S. 213 ff. London: Heyden & Son Ltd. 1980.

- ¹³ *Birdsall B., Birdsall N. J. M., Feeney J.*, J. Chem. Soc. Chem. Commun. **1972**, 316.
- ¹⁴ *Freeman R., Hill H. D. W.*, J. Chem. Phys. **54**, 3367 (1971).
- ¹⁵ *Koch H. J., Stuart R. S.*, Carbohydr. Res. **59**, C1 (1977).
- ¹⁶ *Schwarcz J. A., Perlin A. S.*, Can. J. Chem. **50**, 3667 (1972).
- ¹⁷ *Bax A., Freeman R.*, J. Magn. Res. **44**, 542 (1981).
- ¹⁸ *Hönig H., Macher I., Weidmann H.*, Tetrahedron Lett. **1979**, 2579.