

ВЫСОКОМОЛЕКУЛЯРНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ

Том (A) 32

1990

№ 6

УДК 541.64:543.422.23

© 1990 г. Т. И. Усманов, У. Г. Каримова, А. Сарымсаков

ИССЛЕДОВАНИЕ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ ЗАМЕСТИТЕЛЕЙ В КАРБОКСИМЕТИЛОВЫХ ЭФИРАХ ПОЛИСАХАРИДОВ МЕТОДОМ ЯМР ^{13}C

Методом ЯМР ^{13}C в растворе проведено сравнительное исследование распределения заместителей в карбоксиметиловых эфирах амилозы, декстрана и целлюлозы. Проведена полная интерпретация резонансных сигналов ядер ^{13}C в спектрах исследуемых соединений, что позволило получить количественную информацию о расположении карбоксиметильных групп в D-глюкопиранозном звене макромолекул указанных выше полисахаридов. Реакционная способность OH-групп в реакции карбоксиметилирования амилозы падает в ряду $\text{C}_6 > \text{C}_2 > \text{C}_3$, тогда как для целлюлозы $\text{C}_2 > \text{C}_6 > \text{C}_3$, а для декстрана $\text{C}_3 > \text{C}_2 > \text{C}_4$. Обсуждено влияние структурных факторов на различие в реакционноспособности OH-группы при определенных положениях углеродных атомов пиранозного цикла макромолекул полисахаридов аналогичного строения, но различающихся деталями строения.

В течение ряда лет для изучения распределения заместителей в производных полисахаридов (ПСХ) используют различные методы химической деструкции, окисления, реакций между функциональными группами различных звеньев и пиролиза в сочетании с анализом полученных продуктов с помощью физических методов — масс-спектроскопии и газовой хроматографии [1—4]. Кроме этого для экспериментального определения относительного содержания различных фрагментов используют ИК- и УФ-спектроскопию, основывающуюся на измерении аппроксимированных частот линий и их интенсивностей [5]. Однако применение этих методов связано с определенными трудностями — громоздкостью определения, недостаточностью полученных экспериментальных данных с теоретически рассчитанными, значительными затратами времени, к тому же точность результатов подобных исследований весьма относительна.

В этом контексте вполне своевременным представляется применение ЯМР-спектроскопии, занимающей в настоящее время доминирующее положение при изучении параметров микроструктуры полимерных цепей и успешно использовавшейся при изучении ацетатов и нитратов ПСХ [6—10]. Однако до настоящего времени отсутствуют надежные методы оценки распределения карбоксиметильных групп в D-глюкопиранозном звене карбоксиметилпроизводных ПСХ.

Цель данной работы — исследование методом ЯМР-спектроскопии распределения заместителей в карбоксиметиловых эфирах полисахаридов (КМЭП), снискавших благодаря таким свойствам, как физиологическая индифферентность, нетоксичность, гидрофобность, широкую известность в медицинской практике в качестве адсорбентов, рассасывающихся хирургических нитей и т. д. [11].

Учитывая, что параметры распределения заместителей по первичным и вторичным гидроксильным группам внутри глюкопиранозного цикла и вдоль полимерной цепи приобретают весьма высокую значимость именно для препаратов медицинского назначения, влияя на такие важные физико-химические свойства, как растворимость, абсорбция, прочность сформированных хирургических нитей [12], исследования в данном аспекте актуальны и своевременны.

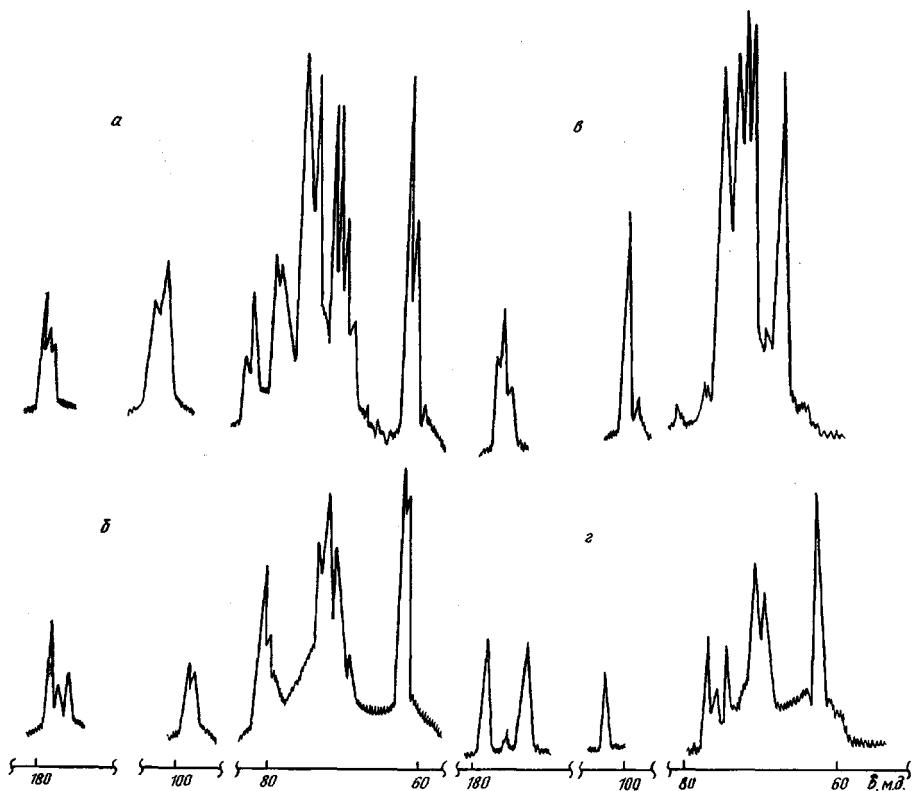


Рис. 1. Спектры ЯМР ^{13}C КМЦ (а), КМА (б), КМД (в) и КМГ (г) в растворе D_2O

В качестве исходных ПСХ были использованы: амилоза V-типа структуры ($M_w=1,2 \cdot 10^5$), выделенная из картофельного крахмала по методу Хоземана [13] и пересаженная из 7%-ного бутанольного раствора с ДМСО с последующей активацией ледяной уксусной кислотой; декстран «клинический» ($M_w=5,5 \cdot 10^4$); целлюлоза хлопковая ($M_w=1,5 \cdot 10^6$).

Синтез высокозамещенной карбоксиметиламилозы (КМА) проводили согласно методике, описанной в работе [14], путем добавления к водному раствору амилозы при 20° 50%-ного раствора NaOH , после чего по каплям приливали свежеприготовленный раствор натриевой соли монохлоруксусной кислоты в H_2O в присутствии твердого Na_2CO_3 . Образовавшийся раствор нагревали при 65° , охлаждали и нейтрализовали с HCl до $\text{pH}=7$. Продукт реакции декантировали при сильном встряхивании с этанолом, растворяли в H_2O , процесс проводили повторно и лиофилизировали (пристенное замораживание при -40°), далее возгоняли в вакууме до 20° и досушивали при 50° . Выход Na-соли КМА 88%. Степень замещения β (т. е. количество замещенных групп OH в одном элементарном звене макромолекулы ПСХ) составляет 1,10.

Низкозамещенную КМА получали по описанной выше методике, варьируя концентрацию исходных реагентов, время, температуру с доведением до $\text{pH}=3$. Выход Na-соли КМА 76%, $\beta=0,80$. По аналогичной методике были синтезированы карбоксиметилдекстран (КМД) с различными степенями замещения и карбоксиметил- α -D-глюкоза (КМГ).

Синтез лабораторных образцов КМЦ был осуществлен [11] путем мерсеризации хлопковой целлюлозы с последующей этерификацией псевдогомогенным способом в среде изопропилового спирта. К целлюлозе при интенсивном перемешивании добавляли 30%-ный раствор NaOH в расчете 4 моля на элементарное звено, затем 0,25–1,25 моля раствора монохлоруксусной кислоты в спирте и температуру постепенно доводили до 45° , поддерживая ее в течение 1,5 ч. Продукт реакции нейтрализовали 10%-ным раствором уксусной кислоты в изопропиловом спирте, промывали водно-спиртовыми смесями и сушили на воздухе. Для исследования были использованы также промышленные образцы КМЦ с $\beta=0,19$ –0,70. Степень замещения по карбоксиметильным группам была определена как химическим методом по осаждению медной соли, так ИК- и ЯМР-спектроскопией [15, 16].

ИК-спектры записывали на спектрометре UR-20 в таблетках с КВг. Спектры ЯМР ^{13}C высокого разрешения КМЭП в растворе D_2O регистрировали на спектрометре XL-100-15 «Varian» с частотой ядер ^{13}C 25,2 МГц в режиме развязки от протонов ^{1}H с использованием техники GW и FT. Условия спектральных измерений были таковы, что времена релаксации между импульсами были значительно больше, чем время спин-решеточной релаксации всех атомов углерода, при этом коэффициенты усиления сигналов за счет ядерного эффекта Оверхаузера почти одинаковы, что сви-

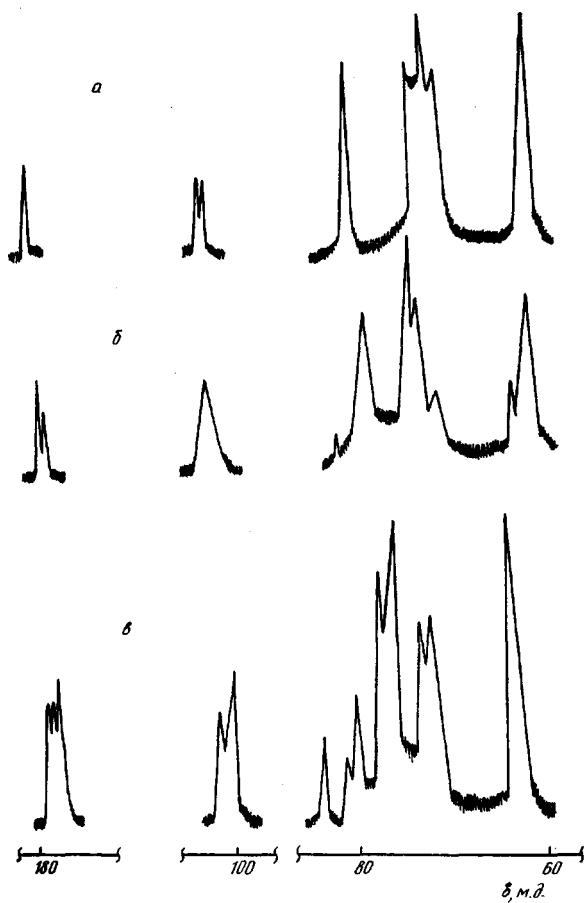


Рис. 2. Спектры ЯМР ^{13}C КМЦ при 20 (а), 40 (б) и 80° (в)

дествует о правомочности количественного анализа распределения замещающих групп КМЭП. Хим. сдвиги сигналов ядер ^{13}C отсчитывали относительно гексаметилдисилоксана. Количественные данные о расположении карбоксиметильных групп в D-глюкопиранозном звене макромолекул КМЭП были получены двумя независимыми методами как интегрированием интенсивностей резонансных сигналов карбоксильных групп, так и из области кольцевых углеродных атомов.

На рис. 1 представлены спектры КМЭП и их низкомолекулярного аналога (рис. 1, г) в широком диапазоне частот, в которых наблюдаются три характерные области, включающие сигналы от ядер ^{13}C карбоксильных групп ($\delta=180-179$ м. д.); резонансные линии от углеродных атомов пиранозного кольца ($\delta=105-60$ м. д.) и, наконец, область сигналов CH_2 -групп, входящих в карбоксиметильную группу с $\delta\simeq66-70$ м. д. КМЭП как и КМГ дают в спектре ЯМР ^{13}C сигналы от ядер углерода одного повторяющегося звена пиранозного цикла, и их спектры схожи.

Сравнение спектров КМЦ и КМА показало, что они различаются в основном по смещению хим. сдвигов для атомов C_1 , которые для КМА отличаются в сторону высоких полей на величину ~ 5 м. д. и для атома C_4 в область низких полей на ~ 1 м. д., что связано с типом присоединения между звеньями (тип α -1,4 — для амилозной цепи и β -1,4 — для макромолекулы целлюлозы). Для КМД по сравнению с КМЦ и КМА различия проявляются в смещении сигналов от атомов C_6 и C_4 , которые включены в глюкозидную связь (α -1,6) и сигналов COOH -групп в сторону высоких полей ($\sim 2,5$ м. д.), что связано, по-видимому, с близким расположением карбоксиметильных групп у атомов C_2 , C_3 и C_4 в элементарном звене макромолекулы КМД. Мультиплетная структура спектров при всей своей сложности все же позволяет выделить отдельные составляющие контуров при $\delta=97-102$ и $62-60$ м. д., отвечающих сигналам ядер ^{13}C замещенных и незамещенных глюкозных остатков в полу-

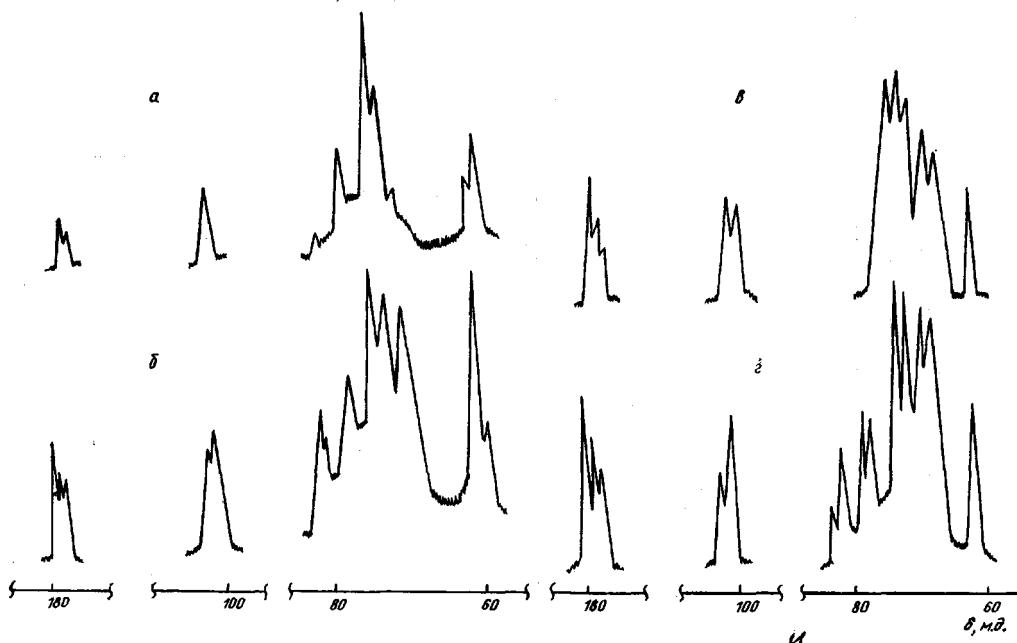


Рис. 3. Спектры ЯМР ^{13}C КМЦ со степенями замещения 0,18 (а) при 0,45 (б) в растворе $\text{D}_2\text{O} + \text{NaOD}$ и 0,80 (в) или 0,85 (г) в растворе D_2O при 80°

жении C_2 и C_6 соответственно [16–18], однако для получения количественной информации о распределении COOH-групп у атомов C_2 , C_3 и C_6 (а в КМД — C_4) из области ядер ^{13}C этих групп разрешение спектров оказывается все же недостаточным. В связи с этим было проведено исследование влияния температуры на улучшение разрешимости спектров в диапазоне 20–80° на примере КМЦ.

Как видно из рис. 2, четкость резонансных линий весьма чувствительна к температурному интервалу: при 20° в ЯМР ^{13}C спектре КМЦ наблюдается слияние трех сигналов в области карбоксильных групп, которые соответствуют трем положениям этих групп при C_2 , C_3 и C_6 атомов. Повышение температуры до 40° ведет к появлению дублета сигналов в области высоких полей, тогда как при 80° в спектре КМЦ можно наблюдать три четких сигнала с хим. сдвигами 176,4; 176,2 и 176,0 м. д. (рис. 2, в). Изменения, происходящие в спектре ЯМР ^{13}C КМЦ в зависимости от температуры, можно, по-видимому, объяснить конформационными особенностями молекулы КМЦ, меняющей свою пространственную ориентацию при различных температурах. Следовательно, для получения хорошо разрешимых сигналов в области COOH-групп необходима регистрация спектров КМЭП при 80°.

Данные на рис. 3 спектры ЯМР ^{13}C КМЦ имеют сложный характер, так как в результате неполного замещения гидроксильных групп характеризуются 15 неэквивалентными атомами углерода, содержащими в себе наряду с 12 ядрами ^{13}C еще три углеродных атома в положении C_2 , C_3 и C_6 , связанных с незамещенными гидроксильными группами. В спектре ЯМР ^{13}C в области низких полей присутствует триплет сигналов, соответствующих COOH-группам, присущих атомам C_2 , C_3 и C_6 глюкоциранозного звена макромолекулы КМЦ, интерпретация которых была проведена на основании работы [19] и с учетом [18], полученных при исследовании продуктов ферментативного гидролиза высокомолекулярных КМЦ. Итоговое отнесение сигналов ядер углеводорода в спектрах ЯМР ^{13}C КМЭП и их низкомолекулярного аналога дано в табл. 1. В области высоких полей ($\delta = 66$ –70 м. д.), где ожидаются сигналы ядер углерода CH_2^+ -групп, включенных в карбоксиметильную группу, четкого проявления ожидаемого триплета сигналов не наблюдается, видимо, в результате квазиэквивалентности некоторых ядер ^{13}C , что приводит к

Таблица 1

Положение сигналов ядер ^{13}C в спектрах карбоксиметиловых эфиров ПСХ и их низкомолекулярного аналога

Соединение	COOH	Хим. сдвиги, м. д.						
		$\text{C}_1^* : \text{C}_1$	C_2	$\text{C}_3^* : \text{C}_3$	$\text{C}_4^* : \text{C}_4$	C_5	$\text{C}_6^* : \text{C}_6$	CH_2
	180,4 175,2	102,8	73,2	76,4	69,2	73,6	62,0	70,0
	$\text{C}_6 - 176,8$ $\text{C}_3 - 176,2$ $\text{C}_2 - 176,4$	$\frac{97,2}{98,1}$	70,8	70,5	$\frac{80,8}{81,2}$	70,0	$\frac{62,0}{61,8}$	66,4
	$\text{C}_6 - 176,2$ $\text{C}_3 - 176,0$ $\text{C}_2 - 176,5$	$\frac{102,6}{102,0}$	82,1	82,5	$\frac{80,3}{80,5}$	$\begin{array}{l} 74,6 \\ 73,2 \\ 76,0 \\ 70,8 \\ 70,0 \end{array} \Bigg\} \text{C}_2-\text{C}_5$	$\frac{62,0}{61,6}$	69,0
	$\text{C}_4 - 174,0$ $\text{C}_3 - 174,8$ $\text{C}_2 - 175,1$	$\frac{97,5}{95,6}$	72,4	$\frac{75,7}{78,5}$	$\frac{67,5}{67,7}$	70,2	65,6	-

Примечание. R=H или CH_3COOH .* Сигналы ядер ^{13}C пиранозного кольца, связанных с замещенными глюкозными остатками.

Таблица 2

**Количественный и структурный анализы распределения заместителей
КМЭП, найденные из спектров ЯМР ^{13}C**

Образец	Общая степень замещения		Количество замещенных карбоксильных групп на одно элементарное звено			
	хим. метод	ЯМР ^{13}C	C_6	C_2	C_3	C_4
КМЦ	0,19	0,19	0,06	0,13	—	—
		0,21	0,07	0,14	—	—
	0,34	0,34	0,10	0,24	—	—
		0,32	0,10	0,22	—	—
	0,45	0,45	0,11	0,21	0,07	—
		0,43	0,13	0,30	—	—
	0,70	0,74	0,14	0,46	0,14	—
		0,68	0,15	0,39	0,14	—
	0,80	0,80	0,18	0,51	0,13	—
		0,82	0,14	0,57	0,09	—
КМА	0,85	0,83	0,27	0,42	0,13	—
		0,82	0,30	0,46	0,07	—
	0,80	0,82	0,60	0,14	0,08	—
КМД	1,10	1,08	0,84	0,47	0,07	—
		1,11	0,85	0,46	0,10	—
	0,22	0,22	—	0,40	0,12	—
КМД	0,30	0,30	—	—	—	—
		0,30	—	0,41	0,16	0,03
	0,55	0,55	—	0,40	0,20	—
		0,58	—	0,47	0,31	0,07
			—	0,18	0,32	0,08

Примечание. Во всех столбцах — в числителе получено по COOH-группам, в знаменателе — по пиранозному кольцу.

появлению синглета, включающего три CH_2^+ -группы, расположенные у различных атомов углерода.

Для получения количественной информации о распределении карбоксиметильных групп в D-глюкопиранозном звене макромолекул КМЭП был использован подход, заключающийся в измерении отношений интенсивностей интегрированных резонансных пиков в области COOH-групп к сигналам ядер ^{13}C циранозного кольца (за исключением сигнала, отнесенного к CH_2^+ -группе), где предполагается, что времена релаксации различаются незначительно [20].

С учетом повышенного разрешения сигналов ядер ^{13}C КМЦ, КМА и КМД в области пиранозного кольца возможен иной подход для характеристики распределения карбоксиметильных групп в ангидроглюкозном звене по сигналам кольцевых углеродных атомов. Приняв во внимание, что этерификация OH-групп ПСХ ведет к смешению хим. сдвиги прямосвязанных углеродных атомов [21, 22], пик при $\delta=102,6$ м. д. был отнесен к замещенным группам у атома C_2 КМЦ, а сигнал $\delta=102,1$ м. д. — к незамещенным. Соответствующим же образом было сделано отнесение атома C_4 к замещенным и незамещенным глюкозидным остаткам у C_3 ($\delta=80,3; 80,5$ м. д.). Что касается сигналов ядер ^{13}C от атома C_6 , в области высоких полей наблюдается появление двух сигналов от этого атома, связанных с замещенными ($\delta=62,0$ м. д.) и свободными OH-группами ($\delta=64,6$ м. д.). Из сравнения спектров отчетливо видно, что интенсивности пиков C_1^* , C_4^* и C_6^* с повышением общей степени замещения монотонно возрастают, а C_1 , C_4 и C_6 уменьшаются, т. е. соответствующие отношения интенсивностей интегрированных пиков C_1^*/C_1 , C_4^*/C_4 и C_6^*/C_6 могут быть взяты в качестве степеней замещения у C_2 , C_3 и C_6 атомов

ангидроглюкозного звена. Результаты количественного расчета по распределению карбоксиметильных групп в элементарном звене из спектров ЯМР ^{13}C КМЭП (табл. 2) по пиранозному кольцу и по сигналам COOH-групп удовлетворительно коррелируют между собой.

Сопоставление полученных данных по трем различным положениям OH-групп пиранозного кольца и анализ спектров ЯМР ^{13}C КМЭП различных степеней замещения показало, что относительная реакционная способность OH-групп в реакции карбоксиметилирования целлюлозы падает в ряду $\text{C}_2 > \text{C}_6 > \text{C}_3$. По имеющимся данным ранних работ по исследованию реакции алкилирования целлюлозы сmonoхлоруксусной кислотой хроматографическим, химическим методами [23, 24] и на основании теоретических расчетов [25] существовало некоторое расхождение в оценке реакционноспособности OH-групп. Однако, полученные нами экспериментальные результаты указывают на приведенный выше ряд по реакционноспособности OH-групп, что подтверждается также данными работы [16]. Повышенную реакционную способность OH-групп у C_2 можно объяснить тем, что эта группа является наиболее кислой в элементарном звене целлюлозы, а пониженная реакционная способность OH-групп у C_3 связана с тем, что введенная карбоксиметильная группа у атома C_6 создает стericкие препятствия к ее замещению; кроме этого оказывается влияние индукционного эффекта от C_2 [26]. В реакции же карбоксиметилирования амилозы относительная реакционная способность OH-групп падает в ряду $\text{C}_6 > \text{C}_2 > \text{C}_3$, т. е. гидроксильная группа у атома C_6 обладает все же повышенной реакционной способностью, обусловленной тем, что эта группа не участвует в образовании внутримолекулярных водородных связей и является менее заторможенной в конформации 3В [27].

В случае декстрана соблюдается следующая последовательность: $\text{C}_2 > \text{C}_3 > \text{C}_4$, т. е. введенные объемистые карбоксиметильные группы в положение 2 и 3 вследствие экранирующих эффектов понижают реакционную способность OH-группы у атома C_4 , видимо, этому благоприятствует конформационное состояние декстрана 'C₁, при котором все OH-группы элементарного звена у атомов C_2 , C_3 и C_4 макромолекулы расположены экваториально [28].

Таким образом, различие в расположении гидроксильных групп целлюлозы, амилозы и декстрана, их конфигурационное и конформационное состояния, а также наличие или отсутствие межмолекулярных водородных связей оказывают существенное влияние на содержание и распределение заместителей в процессе карбоксиметилирования, что в конечном итоге приводит к изменению свойств получаемых продуктов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Rowland S. P., Bullock A. L., Cirino V. O., Roberts E. G., Hoiness D. E., Wade C. P., Bronnan A. F., Janssen H. J., Pittman P. F. // Text. Res. J. 1967. V. 37. № 2. P. 1020.
- Rämns O. // Acta Chem. Scand. 1973. V. 27. № 9. S. 3139.
- Borrmeister B., Dautzenberg H., Philipp B. // Cellulose Chem. Technol. 1979. V. 13. № 6. P. 683.
- Soichse K., Metzner K., Welsch P. // Proc. III Danube Symp. Chromatogr. Siofoh. 1981. P. 69.
- Платэ Н. А., Литманович А. Д., Ноа О. В. Макромолекулярные реакции. М., 1977. С. 116.
- Усманов Т. И., Сулейманова Р. Т., Каримова У. Г., Ташипулатов Ю. Т. // Высокомолек. соед. А. 1986. Т. 28. № 7. С. 1490.
- Панов В. М., Спичак В. Д., Дубина В. И. // Высокомолек. соед. А. 1981. Т. 23. № 2. С. 412.
- Усманов Т. И., Каримова У. Г., Сулейманова Р. Т., Ташипулатов Ю. Т. // Высокомолек. соед. А. 1987. Т. 29. № 5. С. 1111.
- Азанчеев Н. М. // Высокомолек. соед. А. 1987. Т. 29. № 5. С. 1001.
- Усманов Т. И., Сулейманова Р. Т., Каримова У. Г., Ташипулатов Ю. Т. // Химия древесины. 1987. № 5. С. 81.
- Наджимутдинов Ш., Сарымсаков А. А., Усманов Х. У. // Химия и технология целлюлозы. 1981. Т. 15. № 6. С. 613.
- Вирник А. Д. // ЖВХО им. Д. И. Менделеева. 1985. Т. 30. № 4. С. 447.
- Husemann V. E., Bartl H. // Makromolek. Chem. 1957. B. 25. S. 147.

14. Васильев А. Е., Лившиц А. В., Розенберг Г. Я., Кочетков Н. К. // Химия природ. соед. 1969. № 6. С. 525.
15. Наджимутдинов Ш., Мухитдинова Г. Ш., Сарымсаков А. А. // Узб. хим. журн. 1988. № 1. С. 36.
16. Каримова У. Г. Дис. ... канд. хим. наук. Ташкент: НИИХТЦ, 1988. 182 с.
17. Talvitie A., Paasavirta J. // Finn. Chem. Letters. 1984. № 1. P. 18.
18. Parfondry A., Perlin A. S. // Carbohydr. Res. 1977. V. 57. № 1. P. 39.
19. Paasavirta J., Talvitie A. // XV National NMR Symp. Turku. 1981. № 1. P. 45.
20. Фаррап Т. С., Беккер Э. Д. Импульсная и Фурье-спектроскопия ЯМР. М., 1973. С. 89.
21. Sey T., Ishitani K., Suzuki R., Ikematsu K. // Polymer J. 1985. V. 17. № 9. P. 1065.
22. Mijamoto T., Sato Y., Shibata T., Inagaki H., Tanahashi M. // J. Polymer Sci. Polymer Chem. Ed. 1984. V. 22. № 10. P. 2363.
23. Croon I., Purves C. B. // Svensk. Pappers Tidn. 1960. V. 63. P. 247.
24. Кленкова И. Н. Структура и реакционная способность целлюлозы. Л., 1976. С. 10.
25. Деревицкая В. А., Козлова Ю. С., Роговин З. А. // Журн. общей химии. 1958. Т. 28. С. 1368.
26. Ränbya B. J., Rydholm S. A. Cellulose and Cellulose Derivatives // Sehildknecht C. E. Polymerprocesses. N. Y., 1956. P. 356.
27. Matsuo Keizo // Macromolecules. 1984. V. 17. № 3. P. 449.
28. Соколова И. Ф., Хомяков К. П., Вирник А. Д., Роговин З. А. // Высокомолек. соед. Б. 1971. Т. 13. № 1. С. 24.

Научно-исследовательский институт химии
и технологий хлопковой целлюлозы

Поступила в редакцию
20.03.89

T. I. Usmanov, U. G. Karimova, A. Sarymsakov

**¹³C NMR STUDY OF SUBSTITUENTS DISTRIBUTION
IN CARBOXYMETHYL ESTERS OF POLYSACCHARIDES**

S u m m a r y

Substituents distribution in carboxymethyl esters of amilose, dextrane and cellulose has been comparatively studied by ¹³C NMR method in solution. The complete assignment of resonance signals of ¹³C nuclei in spectra of compounds under study is made permitting to obtain the quantitative information about the disposition of carboxymethyl groups in the D-glucopyranose unit of polysaccharides macromolecules. Reactivity of OH groups in carboxymethylation of amilose is decreased in the C₆>C₂>>C₃ range, while for cellose C₂>C₆>C₃ and for dextrane C₃>C₂>C₄. The effect of structural factors on this difference is discussed.