

氏 名 (本籍)	うす 碓	い 氷	たい 泰	いち 市 (静岡県)
学位の種類	農	学	博	士
学位記番号	農	博	第 170	号
学位授与年月日	昭和 50年 3月 25日			
学位授与の要件	学位規則第5条第1項該当			
研究科専攻	東北大学大学院農学研究科 (博士課程) 食糧化学専攻			
学位論文題目	核磁気共鳴スペクトルによる糖類の 構造化学的研究			

(主 査)

論文審査委員	教授 辻村克良	教授 柴崎一雄
		教授 松田和雄

論文内容要旨

1. 序 論

核磁気共鳴スペクトル (NMR) は今日有機分子の立体構造のための不可欠な研究手段となっている。炭素と水素は共に有機化合物を構成する最も基本的元素であり、 ^1H については周知の様にプロトンNMRとして有用な知見が直接的に得られている。一方炭素についても有用な情報をNMRによって獲得することは久しく望まれてきた所であるが、磁気能率を有する ^{13}C の天然存在率 (約 1.1 %) が低いことなどにより遅れた。しかし最近の測定技術の進歩により ^{13}C NMRの有機化学への応用が可能となった。特にパルス・フーリエ変換法 (FT-NMR) の出現は従来のCW (continuous wave) 法の難点が大幅に改良された。

従来少糖及び多糖分子中のグリコシド結合配向の決定には生化学的方法として特異的酵素分解法、免疫化学的方法が用いられ、物理的方法として比旋光度、赤外吸収スペクトルにおける、 $900 \sim 700\text{cm}^{-1}$ の特性吸収などが用いられてきている。グリコシド結合位置を決定する方法として過ヨウ素酸酸化法、メチル化法が最もよく用いられ部分分解法、抗原抗体反応などもしばしば用いられている。

筆者はNMR装置の最近の進歩を利用して、直接的にこの様な糖質の化学構造やコンホメーションに関する知見を得ることを目的として、まず構造既知の糖のNMRことに、 ^{13}C -NMRに関する基礎研究を行なった。この方面の知識が進むならば未知の糖の構造解析に有用であり、特に多糖類の様な生体高分子にNMRを応用することは意義深いものと考えられる。

2. グルコニ・三糖類の構造解析

プロトンNMRにおける糖質のアノメリックプロトンは他の環上プロトンよりも特異的に低磁場に現われ、それらのシグナルのビシナルカップリング ($J_{1,2}$) は平面角に大きく依存する。このため糖質の立体化学を考えるうえで化学シフトとカップリング定数からきわめて重要な知見が得られることが期待される。重水中における一連のグルコニ・三糖類の結合にあずかるグリコシディックプロトンは α -結合糖に対しては δ 5.00 ~ 5.45 (内部基準DSSからの低磁場シフト) 領域にカップリング定数 3.0 Hz を示し、 β -結合糖に対しては δ 4.50 ~ 4.80 ppm の領域にカップリング定数 7.5 Hz を示し、十分に両者を区別し得ることを明らかにした。但し同じ結合配向でも結合位置の違いにより多少の化学シフトの違いを生じた。たとえばマルトース (α -1,4) では 5.40 ppm, イソマルトース (α -1,6) では 4.99 ppm で両者に 0.41 ppm の違いがあり、両方の結合様式をもっているパノース ($\text{G}_1 \alpha \text{G}_2 \alpha \text{G}_4 \text{G}$) の対応するグリコシディックプロトン ($\text{H}-1'$, $\text{H}-1''$) と一致することがわかった。

^{13}C -NMRにおいて化学シフト幅はプロトン共鳴磁場の約30倍の広さをもっているため、 ^{13}C -NMRは糖質の様な類似した化学環境の微妙な違いを区別するのに有効であることが期待できる。

軽水中における ^{13}C -NMRから結合に由来するアノメリック配向の決定にグリコシディック

Table I. ^{13}C NMR chemical shifts of C-1' and positional carbon for glucobioses

α -linkage	C-1'	positional carbon
Methyl α -D-glucopyranoside	100.5 ^a	
α,α -Trehalose (α,α)-(1-1)	94.8	
α,β -Trehalose (α,β)-(1-1)	101.3	
Kojibiose α -(1-2)	97.5 (α)	C-2 77.1 (α)
	99.0 (β)	" 79.9 (β)
Nigerose α -(1-3)	99.8	C-3 80.8 (α)
		" 83.2 (β)
Maltose α -(1-4)	101.0	C-4 78.5
Isomaltose α -(1-6)	99.4	C-6 67.4
β -linkage		
Methyl β -D-glucopyranoside	104.5	
β,β -Trehalose (β,β)-(1-1)	100.7	
α,β -Trehalose (α,β)-(1-1)	104.0	
Sophorose β -(1-2)	105.1 (α)	C-2 82.1 (α)
	103.9 (β)	" 82.8 (β)
Laminaribiose β -(1-3)	103.9	C-3 84.2 (α)
		" 86.7 (β)
Cellobiose β -(1-4)	103.9	C-4 80.1
Gentiobiose β -(1-6)	103.8	C-6 70.2

a) Ppm downfield from external TMS.

炭素 (C-1') の示す化学シフトが有効であり, Table I に示す様に α 及び β 結合配向が明瞭に区別され得ることを見出した。すなわち還元性の α 結合糖については 97.5 ~ 101 ppm (外部基準 TMS を 0 ppm とした時の低磁場シフトで示した) の領域に, 還元性の β 結合糖について 104 ~ 105 ppm の領域に化学シフトを示した。この場合に 1, 2-結合糖の C-1' は他の糖と異なり両異性体が各々の分離した共鳴シグナルを与え, 明らかにアノメリック C-1 水酸基配列による立体的効果を受けていると考えることができた。一方非還元性の 1, 1-結合糖 (α , α -及び β , β -トレハロース) はいずれも対応する上述の結合配向の C-1' よりも約 3 ~ 5 ppm 高磁場シフトした。また対応するこれら相互のグルコースユニットの炭素は全く重なりあうことから溶液中における相互のグルコースユニットは全く対称性を維持していることが考えられた。

グリコシド結合位置の炭素に関して, 各種グルコ二糖類及びグルコースの各種 O-メチル誘導体のスペクトルを比較することによって次のような事実が明らかにされた。グリコシド結合にあずかる炭素は, 1, 6-結合糖の C-6 を除き 78 ~ 88 ppm の領域に化学シフトを示し, 他の環上炭素 (61 ~ 76 ppm) と区別できた (最低磁場に出るアノメリック炭素を除く)。即ち末置換水酸基のついた炭素のシフトが水酸基に置換基 (この場合グリコシル基) が導入されたときのシフトは上記のごとくで (グリコシル化シフト), その間に明らかな違いが存在する。かつまた β -結合糖のグリコシル化シフトは 8 ~ 10 ppm と大きく, α -結合糖は 2 ~ 5 ppm と小さい。

以上のように結合に関与している C-1 とその相手の炭素の化学シフトによって, 立体的結合様式を同時に知ることができることを見出した。なお他の環上炭素についてもシグナルを帰属できた。

3. 溶液中におけるピラノース型糖の異性体平衡

ヘキソピラノース系列における重水溶液中の α , β 異性体の平衡組成はプロトン NMR について, 還元末端アノメリックプロトン (H-1) のピーク強度を比較することによって容易に知ることができるので, 一連の還元グルコ二・三糖類の重水中における平衡組成を比較した。一般的に β 体が優先するが, 1, 2-結合糖に対してだけ 1, 2-置換配列がシス体である α 体が優先することを見出した。同様な現象がメチル基をグリコシル基と仮定した 2-O-メチル-D-グルコピラノースにおける α 体に見られた ($\alpha : \beta = 58 : 42$)。

このように α , β 平衡が 2 置換体に関して相異なる原因について検討した。2-O-メチル

α-D-グルコピラノースについて酸性・中性・塩基性溶媒中でその平衡組成に著しい相異を示した。無機溶媒に限らず塩基性溶媒（ジエチルアミン及び1N NaOD）中ではD₂O中に比べてβ体が増加し、酸性溶媒（ギ酸及び5N DCl）中ではβ体が減少した。この平衡組成の変化は定説とされている誘電率の低下によっては明らかに説明不可能で、溶媒和の効果であると考えることが妥当である。すなわち塩基性中ではOD⁻イオンが関与してC-1水酸基とヘミアセタール酸素の間で水素結合を形成しβ体の安定性を高め、従ってβ体が多くなるが、逆に強酸中ではD⁺イオンがC-2メチルエーテルとオキソニウムイオンを形成するために、α体が安定化するものと説明できる。また従来アノメリー効果（C1フォームにおいてα体が増加すること）の主原因は誘電率の低下に比例すると説明されたが、今回知られた事実と矛盾しており溶媒和の効果も平衡組成の変化に重要な要因になっていると考えることが妥当と思われる。しかしながらマンノピラノース系列については、溶媒の酸度の影響はあられず、その理由としてC-2上の酸素原子がアクシャル位置にあり、溶媒効果よりも立体効果が優先するためであると考えられる。この場合DとHは全く同様な効果をもつと考えられる。

4. グルカン類の構造解析

グルコニ・三糖類におけるNMRデータを基礎にして、天然界に広く存在するグルコースポリマーである数種のグルカンについて解析を行なった。

1) グリコーゲンとアミロペクチンの構造はα-1, 4結合の主鎖がα-1, 6結合で分岐している樹状構造であり、枝分れの程度は前者がより緻密であることが化学的方法で証明されている。これらの¹H-及び¹³C-NMR測定には溶解度と粘性が制限となっている。CW型装置による研究では直鎖部分をきり広げた限界デキストリンについてのみ¹³C-NMRを測定することができた。即ち、β-アミラーゼを作用させたデンプンまたはアミロペクチン（a）と、肝臓グリコーゲン、植物グリコーゲンからの限界デキストリン（b）について測定した。これらのプロトンNMRにはこれら分岐の構造上の最小単位に相当するパノースのα-1, 4及びα-1, 6結合に由来するH-1'とH-1''の化学シフトに相当するピークが（a）、（b）伴に観察された。これらの各々のピーク強度から限界デキストリンのα-1, 4と分岐α-1, 6の比を求めることができた。その比はTable IIに示されるように（a）は約7：1、（b）は約4：1を示し従来の化学的方法で知られている値とよく一致した。また¹³C-NMRにおいても同様にα-1, 4結合及びα-1, 6結合に由来するグリコシディック炭素は容易に区別でき、結合位置の炭素（C-4、C-6）も同様に対応するグルコニ・三糖類の化学シフトと規則的に一致すること

Table II.

COMPARISON OF THE P.M.R. SPECTRA OF β -LIMIT DEXTRINS WITH THOSE OF RELATED COMPOUNDS

Compound	G _{1→4} ^a	G _{1→6} ^b	Integration ^c
Panose			
[α -D-Glcp-(1→6)- α -D-Glcp-(1→4)-D-Glc]	5.41	5.00	1:1
Clinical dextran		4.96	
Oyster glycogen ^d	5.34	4.95	5:1
Rabbit-liver glycogen ^d	5.35	4.96	4:1
<i>Lentinus edodes</i> glycogen ^d	5.34	4.95	4:1
Waxy maize amylopectin ^d	5.34	4.95	7:1
Potato starch amylopectin ^d	5.34	4.94	7:1

^aChemical shifts in p.p.m. of the glycosidic proton involved in the α -D-(1→4) linkage. ^bGlycosidic proton involved in the α -D-(1→6) linkage. ^cThe ratios of α -D-(1→4) to α -D-(1→6) linkages were obtained by integration of the signals due to the glycosidic protons. ^dAll β -limit dextrans shown in this Table were measured at 90°.

がわかった。そしてこれらの炭素の相対強度によっても 1, 4-結合と 1, 6-結合の比率を推定することができる。パルス・フーリエ変換型の装置の場合は CW 型よりも希薄な溶液の測定が可能であったので、グリコーゲンそのままでも測定可能で、その 1, 4-結合と 1, 6-結合の比はプロトン NMR によって、結合様式は ¹³C-NMR によって決定できた。

2) *Leuconostoc mesenteroides* NRRL B-1299 から得られる水溶性デキストランを用いて構造解析の基礎的研究を行なった。このデキストランは構造のすでに知られているものであって α -1, 6 (60%) からなる主鎖から α -1, 2 (33%), α -1, 3 (7%) 結合による分枝が出ていると報告されている。プロトン NMR は Fig. 2 に示されるようにグリコシディックプロトンに相当する 4 個のシグナルを示し、これらの面積比から α -1, 6, α -1, 2, α -1, 3 結合が 66 (C+D) : 26 (B) : 8 (A) であることが示された (Fig. 1, 2 参照)。この際 α -1, 6 結合に由来するグリコシディックプロトンは 2 種類に区別することができた。

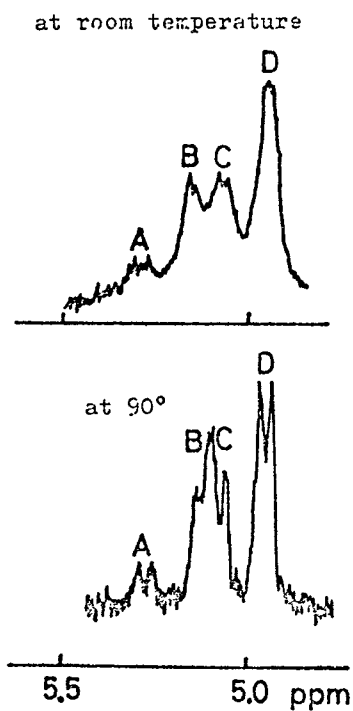


Fig. 1. The proton NMR spectrum of the dextran at 100 MHz. Saturated soln. in D_2O . Scanning rate; 108 ppm/ 2 250sec. Lock on internal DSS. JEOL FS-100 spectrometer.

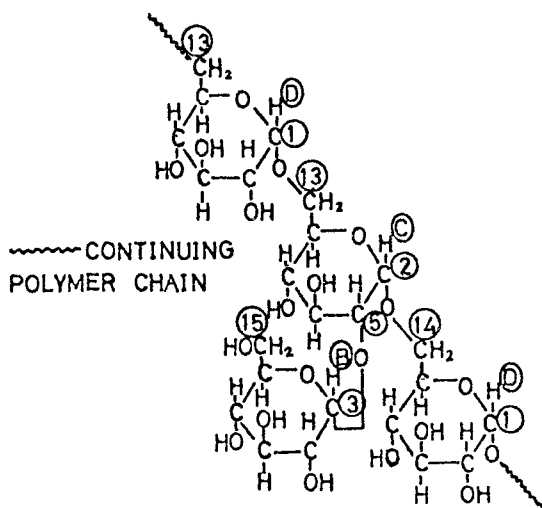


Fig. 2. The partial structure of the dextran. The numbering in this figure corresponds to the signal numbering of the spectra.

すなわち $\alpha-1, 6$ 結合残基に $\alpha-1, 2$ 結合が分岐した時のものと、しないものである。またこのデキストランは温度依存性が認められ室温で測定するとブロードシグナルを与えるが、 $90^\circ C$ ではカップリング定数 ($J \doteq 3.0 \text{ Hz}$) を明確に示す鋭いシグナルを与え、また $\alpha-1, 2$ 結合に由来すると考えられるグリコシディックプロトンのピークに $90^\circ C$ で多少高磁場シフトが認められた。このことはこのグルカンが低温で束縛された状態にあることを示している。

FT-NMRを使うと、このデキストランの様な分子量20万以上といわれる試料についても ^{13}C -NMRが十分測定可能であった。

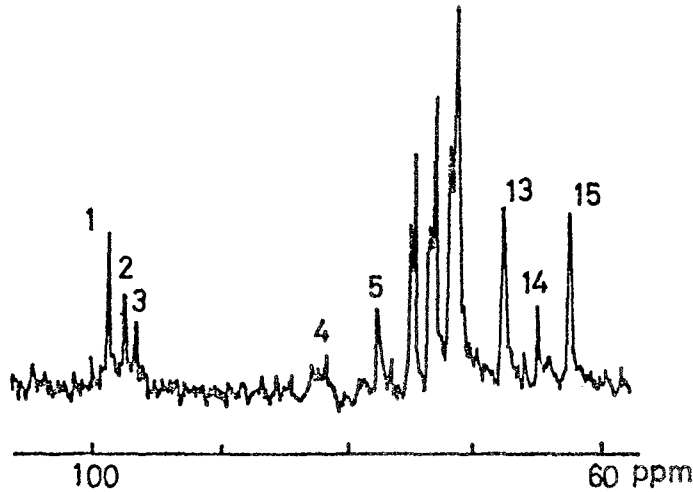


Fig. 3. The proton-noise-decoupled $C-13$ FT NMR spectrum of the dextran at 25.1 MHz. Saturated solution at room temp. Solvent; D_2O . Internal D lock. Pulse width; 12 μ sec. Repetition; 2.5sec. Shift error; ± 0.1 ppm. JEOL PFT-100 spectrometer and EC-6 computer system.

Fig. 3 において、約 99 ~ 97 ppm の領域に 3 種の α -結合に由来するグリコシディック炭素が区別できた。また結合位置の炭素も容易に区別できた (Fig. 2 参照)。即ちピーク 4, 5 はそれぞれ 1, 3-結合と 1, 2-結合に由来する結合炭素 C-3, C-2 であり、ピーク 13 は 1, 6-結合に由来する C-6 炭素であることが先の基礎データから同定できた。ピーク 14 については、その立体的環境から主鎖 1, 6-結合残基に 1, 2-結合が分岐した時の、隣接する結合炭素 C-6 であると解釈した。この事実は分岐点を直接的に反映したものであり、プロトン NMR からの結果から主鎖に対し枝分れは大部分一残基で、高度に分岐したクシ型構造をとっているものと考えられた。

3) 裸麦胚乳細胞壁からの直鎖 β -グルカンについて検討した。このグルカンは β -1, 3 と β -1, 4 結合がそれぞれ 1 : 2.5 ~ 3 の割合からなる直鎖上 β -グルカンであることが報告されている。

このグルカンの重水中でのプロトン NMR は δ 4.74 と 4.54 ppm にそれぞれ 1, 3-及び 1, 4-結合に由来するグリコシディックプロトンを示し、この相対強度は 1 : 2.5 であって化学的方法とよく一致した。 ^{13}C -FT NMR においてピークの帰属はこのグルカンの構造の最小単位に相当するラミナリビオースとセロビオースの ^{13}C スペクトルとの類似性により容易に帰属できた。即ち β -1, 3 と β -1, 4 のグリコシディック炭素共鳴は 104.0 ppm に重なり (Table I 参照)、また 87.4 ppm は β -1, 3 結合の C-3 共鳴に、80.0 ppm は β -1, 4

結合のC-4共鳴に帰属でき、その相対的ピーク強度もプロトンNMRの結果とよく一致した。一方1,3-di-O-置換したグルコース残基におけるC-4共鳴のシグナルからこのグルカンの直鎖性を十分に反映したものであることが理解できた。

以上の様な構造既知のグルカン類のNMRの研究はプロトン及び ^{13}C のNMRを併用することによって構造未知のグルカンの結合様式、結合組成の定量及び分岐構造の解析を行なう方法に関する基礎的研究であり、この方法は糖類の構造を敏速に解析できる手段としてきわめて有望であることを示唆した。

5. コーヒーアラビノガラクトランの構造解析

第4章までの研究はグルコースのみを構成とするオリゴ糖及び多糖の研究であったが、これを一歩進め、アラビノースとガラクトースを構成成分とするアラビノガラクトランについて、プロトンと ^{13}C -NMRを併用する方法が有用であることを明らかにした。またこの解析のために一連のメチルフラノシド化合物の ^{13}C -NMRを測定した。従来プロトンNMRではこれらのアノマー配向の決定は困難であったが、 ^{13}C -NMRを用いることにより、アノメリック炭素の化学シフトから容易にアノマー配向を決定することができた。即ちフラノシドの場合には1,2-シス化合物(1, 3, 6)のC-1共鳴は1,2-トランス化合物(2, 4, 5)のそれより約5~6 ppm高磁場シフトした(Table II)。従ってフラノシド配向の決定にもC-1化学シフトが有用であることがわかった。

Table III. ^{13}C Chemical shifts of methyl pentofuranosides

	C-1
(1) Methyl α -D-xylo-	103.2 ^a
(2) Methyl β -D-xylo-	109.9
(3) Methyl α -D-ribo-	104.3
(4) Methyl β -D-ribo-	109.2
(5) Methyl α -L-arabino-	109.5
(6) Methyl β -L-arabino-	103.3

a) In ppm downfield from external TMS.

(1)(3)(6): 1,2-cis compounds.

(2)(4)(5): 1,2-trans compounds.

コーヒーアラビノガラクトタンについては β -1, 3ガラクトピラノース残基を主鎖とし β -1, 6ガラクトピラノース残基が分岐しており、さらにこれにL-アラビノフラノース残基が1, 3-または1, 6-結合で分岐していることが化学的方法によって知られている。この多糖の ^{13}C -NMRはFig. 4に示すようにアノメリック領域に4種のピーク(112.4, 110.6, 104.4, 104.0 ppm)を示す。この多糖を温和な条件で酸

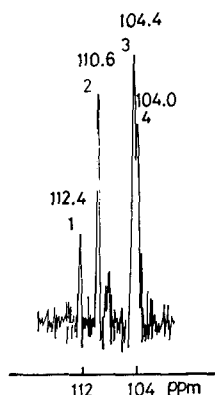


Fig. 4. Proton-noise-decoupled Pulse C-13 FT NMR Spectrum of Arabinogalactan in Anomeric Region.

化水分解することによって選択的にアラビノフラノース残基を除去し、アラビノースに属するピークとガラクトースに属するピークを区別した。そして112.4と110.6 ppmはアラビノフラノース残基に104.0と104.4 ppmはガラクトピラノース残基に帰属できた。先のTable IIIとの比較により容易にアラビノフラノース残基はガラクトピラノース残基に対し α -L-結合していることがわかった。従来このようにピラノース残基などが混在していると旋光度によるフラノース結合配向決定はできなかった。104.0と104.4 ppmはTable Iとの比較からも β -ガラクトピラノース残基に由来し、その相対強度から前者を β -1, 6に後者を β -1, 3に由来するグリコシディック炭素と推定した。また β -1, 3結合に由来する結合炭素C-3は82.8に、 β -1, 6結合のそれC-6は69.4 ppmに表われた。

一方選択的加水分解物とnative多糖を比較検討すると容易にアラビノフラノース残基に由来するシグナルを読み取ることができ、主にガラクトースに対し α -1, 3結合として分岐していることが推定できた。

重水中プロトンNMRでは δ 5.32~4.56 ppmのアノメリック領域に4種のピークを示し、Fig. 5から面積強度A:B:C:D=3:1.5:8:6であり、シグナルC(4.79 ppm $J \div 7.0$ Hz)とD(4.56 ppm $J \div 7.0$ Hz)は β -ガラクトピラノース残基に由来するシグナルであると

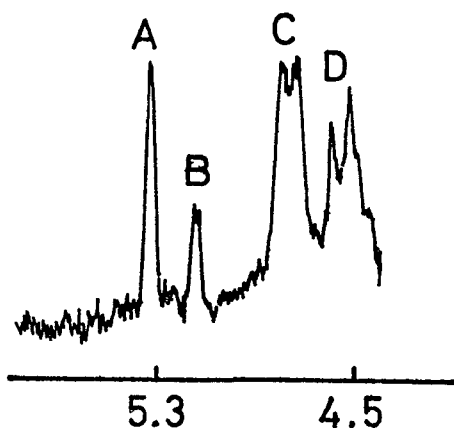


Fig. 5. Proton NMR spectrum of arabinogalactan at 90°C in D₂O.

帰属できた。このことは前述した選択的加水分解物のスペクトルからも支持でき、シグナルA、Bはアラビノフラノース残基に由来していることが理解できた。またこの場合立体的環境から相対強度の大きいCをβ-1, 3に、Dをβ-1, 6結合のグリコシディックプロトンに帰属した。

以上のことからNMRの方法によってもすでに知られていると同様の構造を結論できることがわかった。さらにアラビノフラノースがガラクトースに対しα-結合していることが明らかにされた。

6. アミノ糖とその関連抗生物質の¹³CNMR

アミノ糖はムコ多糖や糖タンパクとして動物や微生物に広く分布し、また全んどの糖抗生物質はアミノ糖を含んでいる。従ってまず基礎データを得る目的で一連のグルコサミン誘導体を中心に重水中で測定を行なった。

一般的にC-2置換したアミノデオキシ・ヘキソースやアセトアミド・ヘキソースの、個々の炭素の化学シフトは対応するアルドヘキソピラノースのそれとC-2を除いて互いに対応した。アミノ基またはアセトアミド基が付いたC-2炭素の共鳴ピークは水酸基が付いている時に比較し15~20 ppm高磁場シフトした。隣接する炭素も一般的に約3~3.5 ppm高磁場シフトした。これらのピークはアミノ糖を識別するのに有効である。またα体とβ体をC-1共鳴から簡単に区別できることは、グルコピラノース系列と同様であった。

これらの基礎データをアミノオリゴ糖であるカナマイシン及びネオマイシンCに適用してその構造解析の方法として有用であることを明らかにした。ネオマイシンCの構造は勿論既知である

がこの種の物質の構造解析のモデルと考えた。Fig. 6に示すネオマイシンのようなピラノース残

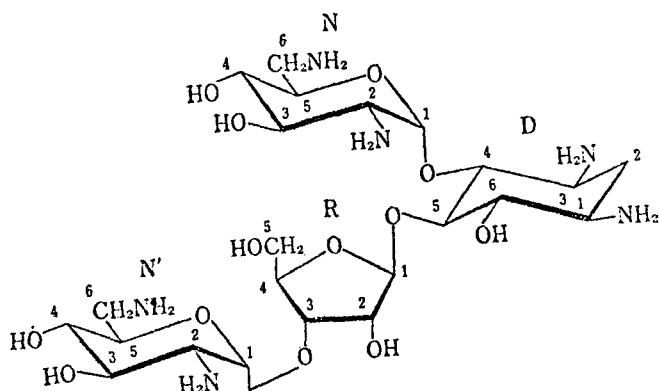


Fig. 6. Structure of Neomycin C.
 abbreviation; D=deoxystreptamine;
 N=neosamine; R=ribose

基とフラノース残基の混在したりポフラノシド配向の決定に ^{13}C -NMRが有効であることを示した。即ちネオマイシンCはアノメリック領域に110.3と96.4 ppmを示した。Table IIからの比較により前者の化学シフトは明らかに β -結合したリポフラノシドのC-1共鳴であり、後者は前者のピーク強度の2倍であることからN, N' (ネオサミン)残基に由来する α -結合のC-1共鳴に帰属できた。またアミノ基が直接付いた炭素の共鳴は50 ppm付近を中心にシフトすることから、他の炭素と容易に区別できる。カナマイシンも同様に結合配向及びアミノ基の位置を容易に区別できた。

7. 総括

1) ^{13}C -NMR からグルコニ・三糖類の立体的結合様式を同時に決定できること、またプロトンNMRからグリコシド結合配向の決定も有用であることを明らかにした。これを多糖であるグルカン類やアラビノガラクトランに応用したところ結合様式の決定ばかりでなく結合組成の定量、分岐構造の解析、分子運動の考察など豊富な情報を直接的かつ敏速に解析できることを明らかにした。

2) 糖のアノマー平衡は主に双極子-双極子相互作用によって支配されているアノメリー効果が信じられているがこの研究によってこの効果よりもむしろ溶媒による分子内水素結合の生成とその切断が大きく影響を与えていることを明らかにした。

3) 従来プロトンNMRによるメチルフラノシド化合物のアノマー配向の決定は困難であったが、 ^{13}C -NMRを用いることによりアノメリック炭素の化学シフトから容易にアノマー配向を決定できた。これをモデル化合物として用いた結果フラノシド残基とピラノシド残基の混在したネオマイシンやアラビノガラクトンのフラノシド残基のアノマー解析を ^{13}C -NMRから容易に決定できることを知った。

4) アミノ単糖に対し ^{13}C -NMRは特徴的スペクトルパターンを与え、アミノオリゴ糖であるカナマイシンやネオマイシンの構造解析に有用であることを示した。

審査結果の要旨

本論文は、主としてグルコ二糖類および多糖類の C-13 核磁気共鳴スペクトルの研究である。著者は、これらのスペクトルについてシグナルがいかなる炭素に基づくかの帰属を行い、また、それら C13 NMR と H-1 NMR を併用することが多糖類の構造解析の有力な手段となりうることを示した。C13 NMR は測定装置の最近の進歩によって有機化学の研究に急速に取入れられつつある手段であって、二糖類および多糖類の研究に応用したのは著者が世界における最初である。

著者は、まずグルコ二糖類のすべておよび 2~3 のグルコ三糖類の C-13 NMR および H-1 NMR を比較した。C-13 NMR のシグナルの帰属を行うと共に、グルコシド結合の位置が C-13 NMR にはっきりあらわれること、その α 、 β の区別には C-13 NMR よりも H-1 NMR が使いやすいことを明らかにした。

次に H-1 NMR を用いれば糖の重水溶液における α 、 β 異性体平衡が容易に測定できることを利用して二糖類の平衡について研究した。平衡が溶媒の酸性・アルカリ性の影響をうけることを見出し、水素イオン、水酸イオンの関与する水素結合と立体構造との関係によって説明を試みた。これは、糖の α 、 β の平衡を溶媒の誘電率で説明する定説に疑問を投じたものである。

多糖類の C-13 NMR が測定できるかどうかは、その糖の重水への溶解度と測定機器の性能による。研究のはじめの頃用いられた装置では、限界デキストリンの測定のみが可能であったが、パルス・フーリエ変換型の装置を利用できるようになってからは未変化のグリコーゲンの測定が可能になった。何れの場合にあっても α 1-4 結合と α 1-6 結合よりなることがスペクトルに示され、かつ両結合の存在比が容易に測定されることが明らかにされた。

同様な測定を、溶解度の比較的大きいグルカン類に適用して、スペクトルと構造との対比を明らかにした。Leuconostoc mesenteroides の生産するグルカンは分子量 20 万といわれる大分子であるが、水溶性なので、この方法によって α 1-6、 α 1-2、 α 1-3 結合の量比その他から長い直鎖に短い枝が多数ついたくしの歯のような構造が推定された。

研究はさらにペンタフラノシド及びアミノ糖に及びコーヒー豆のアラビノガラクトンについて、アラビノフラノーズ基が α -L 結合であることが決定された。また、抗生物質カナマイシン、ネオマイシンの C13 NMR の研究も行われている。以上のように本研究は糖研究に C13 NMR を利用する道を開いたものであって、審査員一同著者が農学博士の学位を授与される資格があることを認めた。