

糖 質 の ^{13}C - N M R

I. セルロース系糖質の ^{13}C -NMR

東 順 一*・越 島 哲 夫*

^{13}C -NMR Spectroscopy of Carbohydrates

I. ^{13}C -NMR Spectroscopy of Cellulose and Related Carbohydrates

Jun-ichi AZUMA* and Tetsuo KOSHIIJIMA*

1. は じ め に

^{13}C -NMR は、パルス・フーリエ変換法 (PFT) とノイズ変調デカップル法の導入により飛躍的な進歩をとげ、糖質の構造解析に応用されるに至った。この ^{13}C -NMR の有効性として、(i) 炭素原子は糖質の骨格を形成していること；(ii) ^{13}C の化学シフトの範囲が約 250 ppm にわたり、 ^1H の化学シフトの範囲 (約 10~15 ppm) と比較して約20倍広いこと、分離のよいシグナルが期待されること；(iii) 構造と周囲の環境の微妙な変化を反映したスペクトル変化が期待されること；(iv) ^1H スピンデカップリング条件下での ^{13}C -NMR スペクトルはスピン-スピン結合による分裂を含まず、化学シフトの差異により分離したシグナルを与えること；(v) PFT 法の導入により、短時間にくり返しパルスを与えることによって多数回の積算が短時間にでき、測定時間が短縮されること；(vi) PFT 法の導入により、高分解能で分離されたスペクトルのすべてのシグナルの緩和時間を同時にかつ容易に測定することができること；(vii) 化学反応、生合成や生分解における特定位置の炭素に注目することができること等があげられ、 ^{13}C -NMR は糖質の研究上 ^1H -NMR と並んで必須の分析手段のひとつとなりつつある。折りしも、本年(昭和56年)4月に Varian 社製 200 MHz FT-NMR の装置がわれわれの属する木材研究所に設置された。それに併い、われわれは植物由来の糖質の ^{13}C -NMR の測定を開始し、糖質の ^{13}C -NMR を利用した文献の把握に着手した。その結果、糖質の ^{13}C -NMR については、藤原と石塚¹⁾、井上²⁾、Kotowycz と Lemieux^{3-a)}、Komoroski 等^{3-b)}、Shashkov と Chizhov^{3-c)}、Jennings と Smith^{3-d)} および Gorin^{3-e)} による優れた総説があり、最近出版された実験書^{4-a), b)} や解説書⁵⁻⁷⁾ においても概説され、化学シフトも生化学データ集⁸⁾の中にまとめられている。しかしながら、糖質の ^{13}C -NMR の研究は近年質・量共に急増している点と、糖質は種々の異なる単糖、配糖体、オリゴ糖、多糖、複合糖質およびこれらの誘導体を含めた総称である点を考慮に入れると、これらの総説や解説と実際の実験結果の解析との間にかなりのギャップが存在するように思われる。そこで、われわれはこのギャップを埋め測定結果のすみやかな解析を行なう上で重要な資料の整理を行なった。一度に植物由来の糖質すべての ^{13}C -NMR にわたり詳細に論じることは繁雑であるので、今回は植物由来の糖質のうち最大の量を占めるセルロースとその構成単糖である D-グルコースおよびセロオリゴ糖の ^{13}C -NMR により得られる情報とスペクトルの帰属について、われわれが測定したデータをあわせて述べる。D-グルコースおよびセロビオースの誘導体については、セルロースのスペクトルを解析する上で重要なアセチル、メチルおよびカル

* 木材化学部門 (Research Section of Wood Chemistry)

Table 1. Nuclear properties for NMR

Nuclide	Frequency* MHz	Nuclear spin quantum number	Natural abundance %	Sensiti- vity** rel. ^{13}C	Recepti- vity*** rel. ^{13}C
^1H	200.053	1/2	99.9844	62.91	5676.
^2H	30.711	1	1.56×10^{-2}	0.607	0.085
^3H	215.897	1/2	—	76.344	—
^{13}C	50.300	1/2	1.108	1	1
^{14}N	14.451	1	99.635	0.063	5.69
^{15}N	20.271	(-1/2)	0.365	0.066	0.022
^{17}O	27.122	(-5/2)	3.7×10^{-2}	1.829	0.061
^{19}F	188.205	1/2	74.833	52.383	4728.
^{31}P	80.983	1/2	100.	4.173	377.
^{33}S	15.344	3/2	0.74	0.142	0.095

* Frequency in a magnet where ^{13}C has a resonance frequency of 50.3 MHz.** Receptivity for an equal number of nuclei, relative to ^{13}C *** Receptivity at natural isotopic abundance, relative to ^{13}C Table 2. ^{13}C Chemical Shifts of α - or β -D-glucopyranose (ppm)

α -D-Glucose (1)						β -D-Glucose (2)						Solvent	Temperature ($^{\circ}\text{C}$)	Reference
C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6			
93.3	—	—	—	—	—	97.1	—	—	—	—	—	H_2O	—	11
93.0	72.5	73.8	70.6	72.3	61.8	96.8	75.2	76.7	70.6	76.7	61.8	H_2O	—	12-a
93.1	—	—	—	—	—	97.1	—	—	—	—	—	H_2O	55	13
93.1	72.6	74.0	70.7	72.3	62.1	97.0	75.3	76.9	70.7	76.9	62.1	H_2O	55 ± 5	14
91.85	71.25	72.55	69.40	71.25	60.60	95.70	73.90	75.55	69.40	75.55	60.40	D_2O	—	15-a
91.85	72.55	75.70	69.40	71.25	60.60	95.70	73.90	75.55	69.40	75.50	60.40	D_2O	—	16
93.1	72.6	74.0	70.7	72.3	62.1	96.0	74.3	75.7	69.7	75.7	61.1	D_2O	—	17
93.3	73.0	74.4	71.2	72.9	62.4	97.1	75.6	77.3	71.2	77.3	62.4	H_2O	—	18
91.85	71.25	72.65	69.40	71.25	60.40	95.70	73.90	75.55	69.40	35.70	60.60	D_2O	27	19
92.4	—	—	—	—	—	96.3	—	—	—	—	—	50% D_2O	room temp.	20
93.1	72.5	73.8	70.7	72.5	61.7	—	—	—	—	—	—	D_2O	32	21
92.7	72.1	73.4	70.4	72.1	61.3	96.5	74.8	76.4	70.3	76.6	61.5	D_2O	33	22
93.6	73.3	74.5	71.4	73.0	62.3	97.4	75.9	77.3	71.3	77.4	62.5	H_2O	50 ± 5	23
93.1	72.5	73.8	70.7	72.5	61.7	97.0	75.2	77.0	70.7	76.8	61.8	D_2O	32	24
93.364	72.731	74.070	70.966	72.731	61.959	97.199	75.409	77.174	70.966	77.053	62.080	D_2O	—	25-a
92.0	72.0	72.9	70.3	71.6	61.0	96.5	74.6	76.2	70.3	71.6	61.0	$\text{DMSO}-d_6$	—	26
92.9	72.3	73.6	70.4	72.3	61.3	96.7	74.9	76.7	70.4	76.6	61.5	D_2O	25	27
92.70	72.14	73.45	70.36	72.10	61.31	96.50	74.80	76.43	76.59	61.47	—	D_2O	33	28
93.9	72.9	74.3	71.2	72.9	62.3	97.4	75.7	77.4	71.3	77.3	62.2	D_2O	—	29
92.94	72.47	73.75	70.56	72.28	61.59	96.74	75.14	76.71	70.60	76.78	61.74	$\text{D}_2\text{O}, \text{H}_2\text{O}-\text{D}_2\text{O}$	50 ± 5	30
92.9	72.5	73.7	70.5	70.2	60.6	96.7	75.1	76.6	70.5	76.6	61.7	D_2O	60	31
94.1	74.4	75.3	72.5	73.5	63.2	98.8	76.8	78.6	72.0	78.4	63.0	$\text{C}_6\text{D}_5\text{N}$	25	32
94.1	74.4	75.3	72.5	73.5	63.2	98.8	73.90	75.55	69.40	75.70	60.40	$\text{C}_6\text{D}_5\text{N}$	25	33
93.5	72.9	74.2	71.1	72.7	62.0	97.3	75.6	77.2	71.1	72.7	62.0	D_2O	—	34
93.24	72.68	73.97	70.77	72.53	61.77	97.06	75.36	76.97	70.77	76.97	61.93	D_2O	24	35
—	—	—	—	—	—	98.0	76.0	77.5	71.3	77.5	62.2	D_2O -ethylene diamine	—	34
—	—	—	—	—	—	102.9	77.2	79.0	72.5	78.7	67.9	cadoxen	—	34

ボキシメチル誘導体に限定した。最後に、最近注目されつつある固体高分解能 NMR を用いたセルロースの研究例を紹介する。

2. グルコース

2.1 遊離グルコースの化学シフト

炭素のなかでも、NMR の測定の対象となる質量数 13 の炭素 (^{13}C) の天然存在比は全炭素の約 1.1% と小さく、また通常の ^{13}C -NMR スペクトルは ^1H スピンデカップリング条件下で測定を行なうので、スピン-スピン結合による分裂を含まず、化学シフトの差に基づいたシグナルを与える。表 1 に ^{13}C およびその他の核種の NMR 測定上の特性を示した^{9,10)}。 ^{13}C の場合 ^1H に比較して著しく感度が低く、FT 法による積算が不可欠であることがわかる。さて、D-グルコピラノースの水溶液中での化学シフトは数多くの研究者によって測定されており表 2 に列挙した (化学シフトは TMS 標準値として ppm であらわし、 CS_2 の場合 193.5 ppm として TMS 基準に換算した)。D-グルコースは水溶液中では α -アノマー (1) および β -アノマー (2) の 2:3 の平衡混合物として存在することが知られており、12 個のシグナルを与える (図 1)。C-1 は Hall と Johnson¹¹⁾ による先駆的な研究によりまず帰属され、つづいて Dorman 等¹²⁾によりシグナルの強度の時間変化より他の炭素原子のシグナルの帰属が行なわれた。しかし、C-2 と C-3 の帰属が誤っており、D 化した誘導体の同位体効果³⁰⁾と D-グルコース-3d および D-グルコース-5,6,6'-d₃ の測定の結果¹³⁾、修正され完全帰属がなされた。このように、 α -アノマーと β -アノマーとで化学シフトに差がでることは、C-1 アノマーの水酸基による遮へいで説明されている。すなわち、C-1 の水酸基が β -アノマーの場合のエクアトリアルから α -アノマーのアキシャルに変化することにより、C-1 の遮へい度が増し α -アノマーの場合の C-1 の方が約 4 ppm 高磁場シフトする。このアノマーの水酸基による遮へいは C-1 以外にもみられ C-2, 3 および 5 にもおよぶが C-4 と C-6 はほとんどこの影響をうけない (図 1)。 β -アノマーの場合、いわゆる“アノマー効果”による不安定因子が ^{13}C -NMR の化学シフトに関与しているとは考えにくい。Perlin 等¹⁴⁾はこの遮へいを次のように一般化している。すなわち、(i) アキシャルの酸素原子は結合

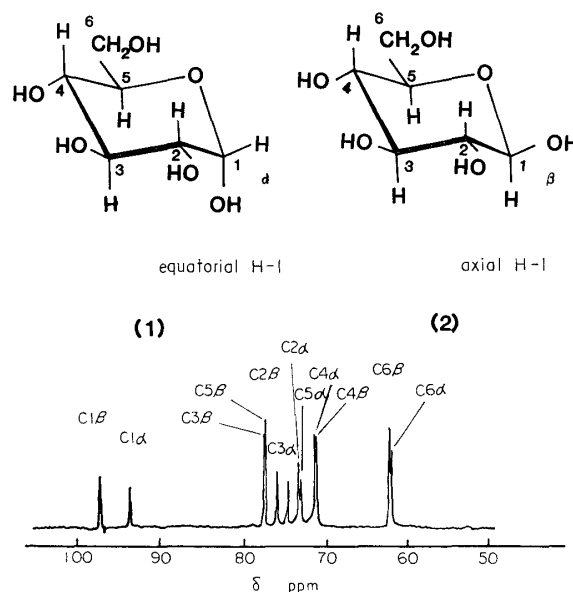


Fig. 1. $^4\text{C}_1$ conformation of D-glucose and its proton noise decoupled ^{13}C -NMR spectrum in D_2O . (1), α -D-Glucopyranose; (2), β -D-Glucopyranose

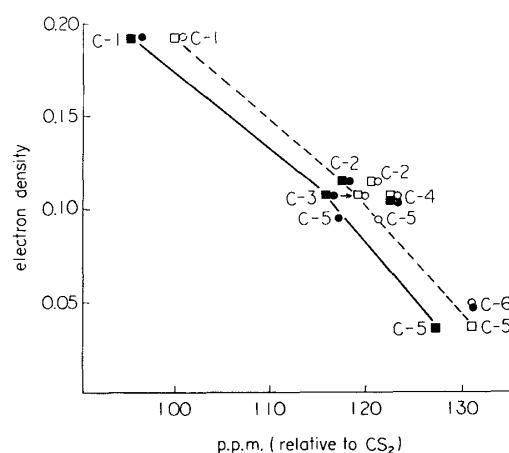
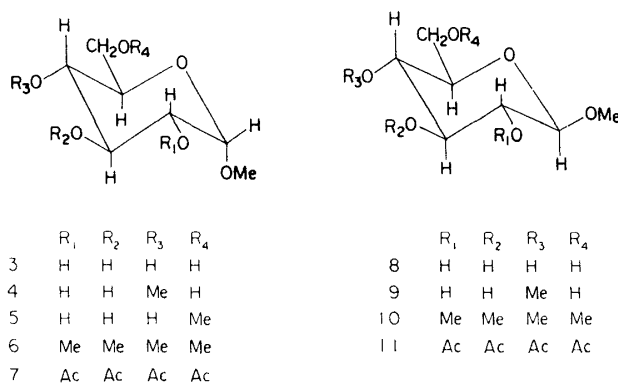


Fig. 2. A plot of calculated values of carbon electron density vs. ^{13}C chemical shift¹⁴⁾. ■, β -D-Xylose; ●, β -D-Glucose; □, α -D-Xylose; ○, α -D-Glucose

した ^{13}C 核の遮へい度を増す；(ii) アキシアル C-O 結合に隣接する ^{13}C 核も遮へい度を増す；(iii) アキシアルの酸素原子と 1,3-ジアキシアル相互作用の関係にあるアキシアル水素原子は結合した ^{13}C 核の遮へい度を増す、という一般化である。また、Perlin 等¹⁴⁾により、電子密度と化学シフトとの関係も分析された(図2)。C-1, 3 および 5 は電子密度と化学シフト間に直線の関係があり、これらの炭素原子が同一平面上にあることと一致する。一方、C-2 および C-4 は C-1, 3 および 5 のプロットした線から 5 ppm 以上高磁場側へずれ、特に C-4 の場合に著しい。これは、C-2 および C-4 が環内酸素原子と同一平面内にあることを示すと考えられた。以上のことから、遊離単糖の溶解直後と平衡後のスペクトルとを比較することにより、 α および β の両アノマーの帰属は明確に決定することができる。実際 D-グルコースの 43°C の水溶液中での α および β の両グルコピラノースのアノマーの比率はそれぞれ $37 \pm 1\%$ (α 型) および $62.6 \pm 1\%$ (β 型) と決定され³⁶⁾、 $^1\text{H-NMR}$ で求められた値 $37 \pm 2\%$ (α 型) および $63 \pm 2\%$ (β 型)³⁷⁾ と極めてよく一致していることが明らかになった。興味深いことに、この測定の際に、103.8, 82.1 および 81.8 ppm の不純物とみまがう程の小さなシグナルが観測されたことで、これらのシグナルは、メチル- β -D-グルコフラノシドの化学シフト³⁸⁾と比較の結果 β -D-グルコフラノースの C-1, C-2 および C-4 と帰属された。また、この β -D-グルコフラノースの量は $0.14 \pm 0.02\%$ と見積られ、 α -アノマーは存在しないといわれる。

2.2 メチルグルコシド及びグルコース誘導体の化学シフト

メチル- α -D-グルコピラノシド (3) および β -D-グルコピラノシド (4) の化学シフトも遊離グルコースの場合と同様に数多くの研究室で測定されており、表3に列挙した。表2と表3とを比較して、次の通則が成りたつことが明らかになった^{12,14)}。すなわち、(i) メチル基と結合する α 位の ^{13}C 核の化学シフトは 7~11 ppm 低磁場シフトする (α -効果)；(ii) メチル基に隣接した水酸基がエクアトリアルな場合は、水酸基の結合する β 位の ^{13}C 核の化学シフトがわずかに約 1 ppm (<2 ppm) 高磁場シフトする (β -効果)；(iii) メチル基よりみて β よりも離れた位置の炭素原子 (γ 以上の炭素原子) は <0.3 ppm の化学シフト値のずれでしかない、という通則である。



このようなメチル化による化学シフトの移動は、C-1 以外の水酸基をメチル化した部分メチルグルコースや部分メチル化メチルグルコシドの場合にも認められることが明らかになった^{18,45,46)} (表4および5)。すなわち、C-2, 3 および 4 位がメチル化されると、 α 炭素の化学シフトは 80~87 ppm に存在し他の炭素の化学シフトとは位置が異なる。但し、C-6 位がメチル化されると、他の炭素の化学シフトより高磁場 (71.4~72.6 ppm) 側に現われるが、メチル化前の化学シフトが高く、メチル化による化学シフトの移動は低磁場側へ 8~10 ppm で上記の α -効果と一致する。また、メチル 2, 3, 4, 6-テトラ-O-メチル- α , β -D-グルコピラノシド (6, 10) の C-4 と C-6 の化学シフトはアノマー位の立体配置とはほとんど独立しており、特に C-6

Table 3. ^{13}C Chemical Shifts of Methyl α - and β -D-glucopyranosides (ppm)

Methyl α -D-glucopyranoside (3)						Methyl β -D-glucopyranoside (8)						Solvent	Temperature ($^{\circ}\text{C}$)	Reference
C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6	OCH ₃	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6	OCH ₃	
100.3	—	—	—	—	—	56.0	104.2	—	—	—	—	—	58.2	11
100.1	72.5	74.2	70.7	72.5	61.7	55.8	104.2	74.1	76.9	70.7	76.8	61.9	57.9	12-a
100.6	72.9	74.6	70.7	72.6	62.2	56.3	104.4	74.4	76.3	71.0	76.2	62.4	58.5	14
100.1	—	—	—	—	—	—	104.2	—	—	—	—	—	—	39
—	—	—	—	—	—	56.43	—	—	—	—	—	—	58.69	24
100.6	72.9	74.6	71.1	72.6	62.2	56.3	104.4	74.4	76.2	71.0	76.2	62.4	58.5	17
100.5	73.1	74.8	71.4	72.8	62.3	56.8	104.5	74.6	77.3	71.2	77.3	62.4	58.8	18
99.9	72.2	73.9	70.4	71.9	61.5	55.6	103.7	73.7	75.5	70.3	75.5	61.7	57.8	41
101.3	74.0	75.3	72.1	73.8	62.8	—	105.5	74.9	78.3	71.6	78.3	62.7	—	33
100.3	72.5	74.2	70.6	72.7	61.7	56.2	104.3	74.2	76.9	70.8	76.9	61.9	58.3	22
100.6	72.7	74.7	71.2	73.0	62.2	56.5	104.6	74.6	77.4	71.2	77.3	62.4	58.5	23
100.0	72.5	73.9	70.4	72.1	61.4	55.9	104.0	73.9	76.5	70.5	76.6	61.6	58.0	27
100.02	72.20	74.11	70.55	72.46	61.57	55.93	103.95	74.07	76.79	70.64	76.79	61.77	58.09	30
101.2	73.7	75.3	72.0	73.9	62.7	55.0	105.4	74.8	78.1	71.4	78.1	62.5	56.7	42
101.2	73.5	75.3	72.4	73.6	63.1	55.2	105.4	75.0	78.4	72.0	78.0	63.0	56.6	42
99.8	72.7	73.6	70.5	72.2	61.3	54.6	104.0	73.6	76.9	70.3	76.9	61.4	56.4	43
99.9	72.2	73.9	70.4	71.9	61.5	55.6	103.7	73.7	75.5	70.3	75.5	61.7	57.8	43
101.2	73.6	75.3	72.4	73.5	63.1	55.2	—	—	—	—	—	—	—	44-a
—	—	—	—	—	—	—	105.4	75.0	78.4	72.0	78.0	63.0	56.6	47
100.6	72.9	74.5	71.0	72.6	62.0	56.3	104.5	74.5	77.2	71.1	77.2	62.2	58.5	34
100.5	73.0	74.2	70.8	72.4	61.6	56.0	104.5	74.2	77.3	70.8	77.1	61.8	58.0	34
101.6	74.1	75.7	72.5	73.7	61.7	56.4	105.6	75.7	77.3	72.8	78.1	63.1	58.4	34
100.36	72.42	74.33	70.76	72.70	61.76	56.11	104.36	74.32	77.04	70.87	72.04	61.98	58.33	35
101.85	74.2	75.75	72.15	73.9	63.2	57.7	105.8	75.6	77.5	72.15	77.5	63.3	59.7	15-b

Table 4. ^{13}C Chemical Shifts of Partially Methylated D-glucoses (ppm)

Compound	Partially methylated α -D-glucose										Solvent	Temperature (°C)	Reference
	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6	OCH ₃ -2	OCH ₃ -3	OCH ₃ -4	OCH ₃ -6			
2-O-methyl α -D-glucopyranose (12)	90.7	81.9	73.5	71.3	72.8	62.4	59.3	—	—	—	H ₂ O	—	18
3-O-methyl α -D-glucopyranose (13)	93.4	72.4	84.0	70.4	72.6	62.0	—	—	—	—	D ₂ O	32	21
"	93.4	72.6	84.1	70.6	72.8	62.3	—	61.3	—	—	H ₂ O	—	18
"	93.364	72.245	83.991	70.358	72.731	61.776	—	—	—	—	D ₂ O	—	25-a
4-O-methyl α -D-glucopyranose (14)	93.2	73.0	73.9	80.5	71.7	62.1	—	—	61.6	—	H ₂ O	—	18
6-O-methyl α -D-glucopyranose (15)	93.3	73.0	74.3	71.4	71.4	72.6	—	—	—	60.3	H ₂ O	—	18
Compound	Partially methylated β -D-glucose										Solvent	Temperature (°C)	Reference
	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6	OCH ₃ -2	OCH ₃ -3	OCH ₃ -4	OCH ₃ -6			
2-O-methyl β -D-glucopyranose (22)	97.1	85.2	76.8	71.3	77.3	62.4	61.7	—	—	—	H ₂ O	—	18
3-O-methyl β -D-glucopyranose (23)	97.3	75.0	86.5	70.2	77.0	62.0	—	—	—	—	D ₂ O	32	21
"	97.2	75.1	86.7	70.4	77.3	62.3	—	61.3	—	—	H ₂ O	—	18
"	97.138	74.740	86.608	70.236	77.053	61.898	—	—	—	—	D ₂ O	—	25-a
4-O-methyl β -D-glucopyranose (24)	97.1	75.8	76.7	80.5	76.1	62.1	—	—	61.1	—	H ₂ O	—	18
6-O-methyl β -D-glucopyranose (25)	97.3	75.8	77.2	71.4	75.8	72.6	—	—	—	60.3	H ₂ O	—	18

Table 5. ^{13}C Chemical Shifts of Methylated methyl D-glucopyranosides (ppm)

Compound	Methylated methyl α -D-glucopyranoside											Solvent	Temperature (°C)	Reference
	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6	OCH ₃ -1	OCH ₃ -2	OCH ₃ -3	OCH ₃ -4	OCH ₃ -6			
methyl 2, 3, 4, 6-tetra-O-methyl α -D-glucopyranoside (6)	98.16	82.58	84.28	80.61	70.98	72.41	52.27	58.40	60.71	60.55	59.23	acetonitrile- <i>d</i> ₃	30	45
methyl 4-O-methyl α -D-glucopyranoside (4)	101.1	72.8	76.1	83.0	72.1	61.4	—	—	—	—	—	D ₂ O (pD 14)	32 ± 1	46
methyl 6-O-methyl α -D-glucopyranoside (5)	100.8	72.6	74.5	71.6	71.2	72.6	—	—	—	—	—	D ₂ O (pD 14)	32 ± 1	46
Compound	Methylated methyl β -D-glucopyranoside											Solvent	Temperature (°C)	Reference
	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6	OCH ₃ -1	OCH ₃ -2	OCH ₃ -3	OCH ₃ -4	OCH ₃ -6			
methyl 2, 3, 4, 6-tetra-O-methyl β -D-glucopyranoside (10)	105.00	84.58	87.21	80.48	75.38	72.36	56.96	60.39	60.74	60.48	59.30	acetonitrile- <i>d</i> ₃	30	45
methyl 4-O-methyl β -D-glucopyranoside (9)	105.2	75.1	78.0	80.8	77.1	62.4	56.5	—	—	60.1	—	C ₆ D ₅ N	80	44-a

はこの傾向が強い。以上の結果から、グルコースおよびグルコースのメチル化誘導体の ^{13}C -NMR スペクトルの解析は次のように行なうことが推奨されている⁴⁵⁾。すなわち、遊離グルコースの場合、シグナルを (i) 90~98 ppm (アノマー炭素)、(ii) 69~79 ppm (非アノマー性環内炭素) および (iii) 60~69 ppm (C-6) の三領域に分割する。今メチル基が置換すると、(i) のアノマー炭素は 99~106 ppm へ、(ii) の非アノマー性環内炭素は 80~87 ppm へ、(iii) の C-6 は 70~75 ppm へと化学シフトの移動が認められる。また、メトキシル炭素のシグナルが 52~62 ppm に現われる。このメトキシル炭素のシグナルの中で、アノマー位に置換した炭素の化学シフトは、 α -アノマーの場合 (アキシアルメトキシル) 55.6 ppm 付近であるのに対し、 β -アノマーの場合 (エクアトリアルメトキシル) 57.1 ppm 付近にある。このようにして、置換基の位置を帰属することができる。同様の化学シフトの帰属の手順が Seymour⁴⁷⁾、Perlin と Hamer⁴⁸⁾ によってまとめられている。しかしながら、C-1 位の炭素原子を ^{13}C で濃縮したメチル α - および β -グルコピラノシドを用いた研究²³⁾や D 化したメチル α - および β -グルコシドを用いた研究³⁰⁾によりグルコピラノシドの C-2 と C-5 の帰属に誤りのあることが明らかにされた。化学シフトの帰属に細心の注意を配る必要があると思われる。

2.3 グルコースおよびメチルグルコシドのアセチル化物の化学シフト

グルコースおよびメチルグルコシドのアセチル化物はセルロースのアセチル化物の ^{13}C -NMR の解釈に必要な化合物であり、これらの ^{13}C -NMR のスペクトルの帰属はその基礎となる。これらの化合物についてこれまでに得られている化学シフト値を表 6 にまとめた。表 2 と比較して、アセチル基の結合した炭素の化学シフトは未結合炭素原子の値より相対的に高磁場側にあらわれることがわかる。グルクロン酸のメチルエステルのアセチル化物の化学シフトに基づいてアセチル化した時の化学シフトの移動について次の通則が導かれた⁵⁵⁾。すなわち、(i) 立位配座的に柔軟性のある場合、 α 位の炭素はほんのわずか (<2 ppm) の低磁場シフトしか認められない (α -効果)；(ii) β 位の炭素は約 2 ppm 高磁場シフトし、メチル化の場合より変動しない (β -効果)；(iii) γ 位の炭素の化学シフトはほとんど変化せず、<0.5 ppm の移動にとどまる、という通則である。この通則は種々の部分アセチル化物の ^{13}C -NMR により確認されたが、C-6 の一級水酸基のアセチル化の場合のみ例外で、 β 炭素原子の C-5 は典型的な高磁場シフトするのに対し、 α 炭素原子の C-6 はわずか 0.6 ppm であるが低磁場シフトすることが見出された⁵¹⁾。なお、アセチル基のカルボニル炭素の化学シフトは 169.3~170.9 ppm であり、アセチルメチル基炭素の場合は 20.3~21.8 ppm と比較的狭い範囲に限定される。

	R ₁ R ₂ R ₃ R ₄ R ₅	R ₁ R ₂ R ₃ R ₄ R ₅
12	H Me H H H	22 H Me H H H
13	H H Me H H	23 H H Me H H
14	H H H Me H	24 H H H Me H
15	H H H H Me	25 H H H H Me
16	Ac Ac Ac Ac Ac	26 Ac Ac Ac Ac Ac
17	H CM H H H	27 H CM H H H
18	H H CM H H	28 H H CM H H
19	H H H H CM	29 H H H H CM
20	H H HE H H	30 H H HE H H
21	H H H H HE	31 H H H H HE

Table 6-a. ¹³C Chemical Shifts of Acetylated α-D-glucoses (ppm.)

Compound	Acetylated α - D - 'glucopyranose								Solvent	Tempera- ture (°C)	Refer- ence	
	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6	acetyl carbonyl	acetyl methyl				OCH ₃
1, 2, 3, 4, 6 - penta - O - acetyl - α - D - glucopyranose (16)	89.6	69.9	70.5	68.7	70.5	62.1	170.8, 170.4, 170.2 169.8, 169.3	21.3	—	CH ₂ Cl ₂	—	49
	90.1	—	—	—	—	—	—	—	—	CDCl ₃	room temp.	12-b
	89.15	69.35	70.95	68.05	69.95	61.60	—	—	—	CDCl ₃	30	50
	89.2	69.4	70.0	68.1	70.0	61.6	—	—	—	CDCl ₃	room temp.	51
	89.08	69.25	69.86	67.96	69.86	61.51	—	—	—	CDCl ₃	~25	52
	89.165	69.323	69.932	68.045	69.932	68.593	—	—	—	CDCl ₃	—	25-a
	89.06	69.21	69.84	67.91	69.84	61.48	170.54, 170.19, 170.16, 169.37, 168.74	20.85, 20.66, 20.65, 20.54, 20.42	—	CDCl ₃	25	35
methyl 2, 3, 4, 6 - tetra - O - acetyl α - D - glucopyranoside (7)	97.7	—	—	—	—	—	171.5 ~ 170.5	21.8	56.2	DMSO- <i>d</i> ₆	—	11
	96.3	—	—	—	—	—	—	—	—	CDCl ₃	room temp.	20
	101.8	—	—	—	—	—	—	—	—	CDCl ₃	room temp.	20
	93.3	68.2	70.4	66.8	69.7	61.6	—	—	55.6	CDCl ₃	30	41
	97.1	71.0	70.3	68.8	67.3	62.1	—	—	—	CDCl ₃	30	50
	96.9	70.9	70.2	68.8	67.4	62.1	—	—	—	C ₆ D ₆ N	30	42
	97.1	71.1	70.4	69.1	67.5	62.3	—	—	55.3	C ₆ D ₆ N	100	42
	96.0	70.0	69.4	68.2	66.8	61.7	—	—	55.5	DMSO- <i>d</i> ₆	—	43
	96.3	70.4	69.7	68.2	66.8	61.6	—	—	55.6	CDCl ₃	—	43
	—	70.4	69.7	68.2	66.8	—	—	—	—	CDCl ₃	—	53
	—	—	—	—	—	—	—	—	55.1	CDCl ₃	—	40
	96.80	70.79	70.11	68.57	67.18	61.94	170.56, 170.07, 169.99, 169.55	20.67, 20.60	55.44	CDCl ₃	—	35
	3-O - acetyl α - D - glucopyranose	93.242	70.966	76.566	69.019	72.427	61.530	—	—	—	CDCl ₃	—
3-O - methyl- 1, 2, 4, 6 - tetra - O - acetyl α - D - glucopyranose	89.408	71.332	78.331	69.201	70.297	61.959	—	—	—	CDCl ₃	—	25-a
2, 3, 4, 6 - tetra - O - acetyl - α - D - glucopyranose	90.0	71.4	70.2	68.8	67.0	62.2	—	—	—	CDCl ₃	room temp.	51
1, 3, 4, 6 - tetra - O - acetyl - α - D - glucopyranose	91.5	69.8	73.2	68.0	69.8	61.9	—	—	—	CDCl ₃	room temp.	51

Table 6-b. ^{13}C Chemical Shifts of Acetylated β -D-glucoses (ppm)

Compound	Acetylated β -D-glucopyranose										Solvent	Temperature (°C)	Reference
	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6	acetyl carbonyl	acetyl methyl	OCH ₃				
1, 2, 3, 4, 6-penta-O-acetyl- β -D-glucopyranose (25)	92.3	71.0	73.3	68.6	73.3	62.3	170.8, 170.3, 169.9, 169.7, 169.4	20.9, 20.8	—	CH ₂ Cl ₂	—	49	
	91.0	—	—	—	—	—	—	—	—	CDCl ₃	room temp.	20	
	91.80	70.5	72.75 or 72.80	68.05	72.75 or 72.80	61.70	—	—	—	CDCl ₃	30	50	
	91.8	70.5	72.9	68.0	72.9	61.6	—	—	—	CDCl ₃	room temp.	51	
	91.782	70.358	72.853	67.923	72.853	61.593	—	—	—	CDCl ₃	—	25-a	
	91.80	70.50	72.75	68.10	72.80	61.70	—	—	—	CDCl ₃	—	25-b	
	91.70	70.28	72.71	67.81	72.77	61.49	170.49, 170.01, 169.34, 169.17, 168.88	20.76, 20.66, 20.53	—	CDCl ₃	—	—	
methyl 2, 3, 4, 6-tetra-O-acetyl β -D-glucopyranoside(11)	101.8	—	—	—	—	—	—	—	—	CDCl ₃	room temp.	20	
	105.8	—	—	—	—	—	—	—	—	CDCl ₃	room temp.	20	
	101.1	70.9	71.4	68.1	72.5	61.6	—	—	56.6	CDCl ₃	30	41	
	101.7	71.4	73.1	68.6	72.0	62.0	—	—	—	CDCl ₃	30	50	
	101.5	71.3	72.9	68.5	71.8	62.0	—	—	56.8	C ₆ D ₅ N	30	42	
	101.8	71.9	73.4	69.3	72.3	62.5	—	—	56.5	C ₆ D ₅ N	100	42	
	101.8	71.9	73.4	69.3	72.3	62.5	—	—	56.5	CDCl ₃	—	54	
	—	70.9	72.5	68.1	71.4	—	—	—	—	CDCl ₃	—	53	
	—	—	—	—	—	—	—	20.59, 20.59, 20.72, 20.54	56.70	CDCl ₃	—	40	
	101.64	71.31	72.93	68.49	71.83	61.97	170.67, 170.25, 169.44, 169.35	20.74, 20.63	57.05	CDCl ₃	25	35	
3-O-acetyl β -D-glucopyranose	96.955	73.583	78.635	69.019	76.870	61.776	—	—	—	CDCl ₃	—	25-a	
	81.435	71.332	81.435	68.897	72.975	61.959	—	—	—	CDCl ₃	—	25-a	
	91.9	72.9*	73.3*	70.4	72.9*	62.1	—	—	—	CDCl ₃	room temp.	51	
	91.9	70.5	75.2*	68.5	75.0*	62.7	—	—	—	CDCl ₃	room temp.	51	
	91.9	70.6	72.9	68.4	75.1	61.0	—	—	—	CDCl ₃	room temp.	51	

Assignments of the resonances indicated by * may be interchanged.

2.4 スピン結合定数

PFT 法では、糖質の ^{13}C - ^1H 間のスピン結合定数 ($^1J_{^{13}\text{C}-^1\text{H}}$) は ^1H -非デカップルスベクトルから直接簡単に測定することができる。また、 ^{13}C - ^{13}C スピン結合は、天然存在比の条件下では2つの ^{13}C 核が隣接する確率が極めて低い ($1/10^4$) ため ^{13}C で濃縮した試料を用いて行なわれた。これまで測定されたスピンスピン結合定数の値を表7にまとめた。アノマー位の炭素以外の C-2~C-6 位の $^1J_{^{13}\text{C}-\text{H}}$ は、非アシル化糖の場合 143~149 Hz で比較的狭い範囲におさまっており、アシル化によりいく分大きくなる。これらの場合 J 値と立体配置とを関係づけることは困難である。一方アノマー位の炭素の直接スピン結合 ($^1J_{^{13}\text{C}_1-\text{H}_1}$) は最も重要であり、グルコース、メチルグルコシドおよびメチルグルコシドのトリアセチル化物に共通して、 α -アノマーの場合 169~171 Hz であるのに対し、 β -アノマーの場合では 158~162 Hz と差が約 10 ppm

Table 7. ^{13}C -H Coupling

Compound	$^1J_{\text{C}_1-\text{H}_1}$	$^1J_{\text{C}_2-\text{H}_2}$	$^1J_{\text{C}_3-\text{H}_3}$	$^1J_{\text{C}_4-\text{H}_4}$	$^1J_{\text{C}_5-\text{H}_5}$	$^1J_{\text{C}_6-\text{H}_6}$	$^2J_{\text{C}_1-\text{H}_2}$	$^2J_{\text{C}_2-\text{H}_3}$	$^2J_{\text{C}_3-\text{H}_3}$	$^2J_{\text{C}_3-\text{H}_4}$
α -D-glucose (1)	169	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	169.5	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	169	—	147	—	—	—	—	—	5.5	—
	169.8	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	—	—	—	—	—	—	—	5.0	—	5.0
methyl α -D-glucopyranoside (3)	144	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	170	148	147	145	146	145	—	—	—	—
	167	145	144	143	142	141	—	—	—	—
	170	147	148	146	145	145	—	—	—	—
methyl 2,3,4,6-O-acetyl- α -D-glucopyranoside (7)	169	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	148	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	170	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	173	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	172	151	151	151	144	148	—	—	—	—
	172	151	151	151	145	148	—	—	—	—
	172.5	—	—	—	—	—	(-)-1.2	—	—	—
1,2,3,4,6-penta-O-acetyl- α -D-glucopyranoside (16)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	177	—	—	—	—	—	—	5.9	—	—
β -D-glucose (2)	160	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	160	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	161	—	—	—	—	—	5.5	—	—	—
	161.2	—	—	—	—	—	5.5	—	—	—
β -D-glucose- d_5 methyl β -D-glucopyranoside (8)	161.9	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	145	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	160	145	143	141	143	145	—	—	—	—
	—	—	—	—	—	—	4.1 $\pm$ 1.0	—	—	—
	156	142	*	*	*	140	—	—	—	—
methyl β -D-glucopyranoside- d_3	160	145	145	143	141	145	—	—	—	—
	—	—	—	146	—	—	—	—	—	—
methyl 2,3,4,6-O-acetyl- β -D-glucopyranoside (11)	163.5	—	—	—	—	—	(-)-6.5	—	—	—
	143	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	—	—	—	—	140	—	—	—	—	—
1,2,3,4,6-penta-O-acetyl- β -D-glucopyranoside (20)	159	—	—	—	—	—	—	—	—	—

* Overlapping reasonances.

も存在する。

また、このアノマー炭素の $^1J_{^{13}\text{C}_1-\text{H}_1}$ の大きさは、非アノマー性炭素原子の値 (143~151 Hz) より大きく、C-1 に電気陰性度の大きい置換基が結合するとさらに大きくなる。この例として、ペンタアセチルグルコースがあげられ、 $^1J_{^{13}\text{C}-\text{H}}$ は大きくなるが、 α および β の両アノマー間の J 値の差はやはり約 10 Hz と保持されている。 $^1J_{^{13}\text{C}_1-\text{H}_1}$ 値が遊離グルコースとメチルグルコシドとでほとんど変化しないのは C-1 の水酸基やメチル基が極めてよく似た配向をとっていることを示す。従って、このアノマー位の炭素の $^1J_{^{13}\text{C}_1-\text{H}_1}$ はアノマーの決定に利用することができる。このようにアノマー間の $^1J_{^{13}\text{C}_1-\text{H}_1}$ の値に差が認められることは、C-1-H 結合と酸素の非共有電子対との二面体角に起因し、この二面体角が小さい程スピ結合が大きくなることが知られている⁴¹⁾ (図3)。

Constats (Hz)

$^2J_{\text{C}_4-\text{H}_5}$	$^3J_{\text{C}_1-\text{H}_3}$	$^3J_{\text{C}_3-\text{H}_1}$	$^3J_{\text{C}_1-\text{OMe}}$	$^4J_{\text{C}_1-\text{H}_4}$	$^5J_{\text{C}_1-\text{H}_5}$	$^1J_{\text{C}_1(\text{OMe})-\text{H}_1}$	$^3J_{\text{C}_1-\text{H}(\text{OMe})}$	Solvent	Temperature (°C)	Reference
—	—	—	—	—	—	—	—	H ₂ O	—	56
—	—	—	—	—	—	—	—	50% D ₂ O	room temp.	20
—	—	5.5	—	—	—	—	—	D ₂ O	30	57
—	—	—	—	—	—	—	—	H ₂ O	50 ± 5	23
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	59-a
—	—	—	—	—	—	—	—	CDCl ₃	—	40
—	—	—	144	—	—	144	—	D ₂ O	30	41
—	—	—	—	—	—	142	—	DMSO- <i>d</i> ₆	—	42
—	—	—	—	—	—	144	—	D ₂ O	—	43
—	—	—	—	—	—	—	—	CDCl ₃	—	56
—	—	—	—	—	—	—	—	CDCl ₃	—	40
—	—	—	—	—	—	—	—	CDCl ₃	room temp.	20
—	—	—	—	—	—	—	—	CDCl ₃	room temp.	20
—	—	—	—	—	—	143	—	DMSO- <i>d</i> ₆	—	43
—	—	—	—	—	—	143	—	CDCl ₃	—	43
—	0.5	—	—	0	2	—	4.5	C ₆ D ₆	—	58
—	—	—	—	—	—	—	—	CDCl ₃	—	53
—	—	—	—	—	—	—	—	CDCl ₃	30	20
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	59-a
—	—	—	—	—	—	—	—	H ₂ O	—	56
—	—	—	—	—	—	—	—	50% D ₂ O	room temp.	20
—	< 1	—	—	—	—	—	—	D ₂ O	30	57
—	—	—	—	—	—	—	—	H ₂ O	50 ± 5	23
—	—	—	—	—	2.2, 2.0	—	—	D ₂ O	35 ± 1	66
—	—	—	—	—	—	—	—	CDCl ₃	—	40
—	—	—	—	—	—	144	—	D ₂ O	30	41
—	—	—	—	—	—	—	—	H ₂ O	50 ± 5	23
—	—	—	—	—	—	142	—	DMSO- <i>d</i> ₆	—	43
—	—	—	—	—	—	144	—	D ₂ O	—	43
-3.0	—	—	—	—	—	—	—	70% C ₆ D ₅ N-D ₂ O	35 ± 1	66
—	0.7	—	—	0.5	2.5	—	4.6	C ₆ D ₆	—	58
—	—	—	—	—	—	—	—	CDCl ₃	—	40
—	—	—	—	—	—	—	—	CDCl ₃	—	53
—	—	—	—	—	—	—	—	CDCl ₃	30	20

次に、アノマー位の炭素の関与するビシナルな $^{13}\text{C}-\text{H}$ のスピンスピン結合定数 $^2J_{^{13}\text{C}_1-\text{H}_2}$ は α -アノマーの場合ほとんど 0 であるのに対し、 β -アノマーでは 5.5 Hz である。この差は、アノマー位の OR 基と H-2 間の関係に起因する。すなわち、図 3 に示すように、両者の関係は α -アノマーでは *trans*、 β -アノマーでは *cis* となっている⁶⁰⁾。 $^2J_{\text{C}-\text{H}}$ の符号についてはプロトンと酸素原子の配向によって決定される⁶¹⁾。

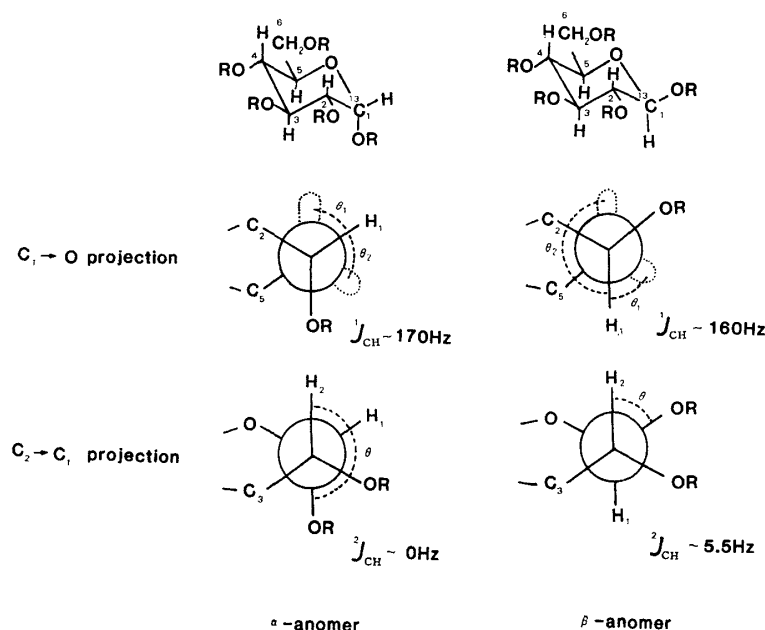


Fig. 3. Configuration of D-glucose at anomeric center and relationship between dihedral angle and spin-spin coupling constant.

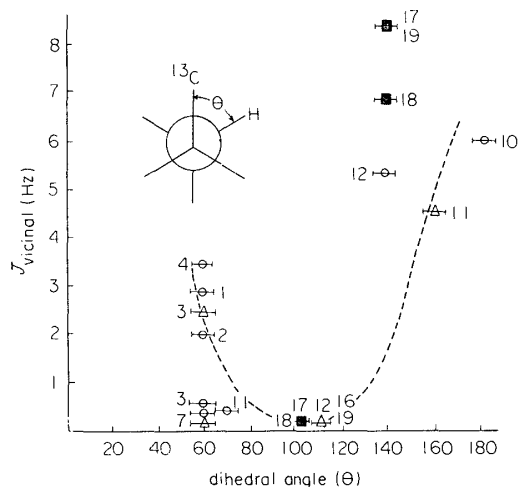


Fig. 4. Relationship between $^3J_{^{13}\text{C}-\text{C}-^{13}\text{C}-\text{H}}$ and the $^{13}\text{C}-\text{C}-\text{C}-\text{H}$ dihedral angle⁶⁰⁾.

- (1) 1,2,3,4,6-Penta-*O*-acetyl- α -D-glucopyranose-6- ^{13}C (2) 1,2,3,4,6-Penta-*O*-acetyl- β -D-glucopyranose-6- ^{13}C (3) 1,2,3,4,6-Penta-*O*-acetyl- β -D-glucopyranose-1- ^{13}C (4) Methyl- α -D-glucopyranoside-6- ^{13}C (6) β -D-Glucose-1- ^{13}C (7) β -D-Glucose-U- ^{13}C (10) α -D-Glucose-U- ^{13}C (11) 1,2-*O*-Isopropylidene-3,5,6-tri-*O*-orthoformyl- α -D-glucofuranose-6- ^{13}C (12) 1,2-*O*-Isopropylidene- α -D-glucofuranose-1- ^{13}C (16) 1,2:5,6-Di-*O*-isopropylidene- α -D-glucofuranose-1- ^{13}C (17) 1,2-*O*-Isopropylidene- α -D-glucofuranurono-6,3-lactone-6- ^{13}C (18) 1,2-*O*-Isopropylidene- β -L-idofuranurono-6,3-lactone-6- ^{13}C (19) D-Mannono-1,4-lactone-1- ^{13}C

プロトンに対して *anti* に酸素原子が存在する時は正となり、*gauche* に酸素原子が配向する時は負になる。また、 ^{13}C -C-C-H 系の $^3J_{\text{C-H}}$ と二面体角の間に Karplus 型曲線の関係があることも明らかにされた (図4)。

^{13}C - ^{13}C スピン結合を測定した例は少ないが、C-1 の炭素を ^{13}C で濃縮した D-グルコースとメチルグルコシドについての測定された $^3J_{^{13}\text{C}-^{13}\text{C}}$ 値を表8にまとめた。 ^{13}C -1 から最も遠い環内炭素C-4には C-1-C-4 間の遠隔スピン結合は観測されなかった²³⁾。 ^{13}C -1 に隣接する炭素との $^1J_{\text{C1-C2}}$ は約 46 Hz と他のスピン結合定数に比較して1桁大きい。C-3 は先に述べたように β -アノマーのみ ^{13}C -1 とカップリング (約 4 Hz) し、C-5 は α -アノマーの ^{13}C -1 とのみカップリング (約 2 Hz) する。また、ビシナル C-1-C-6 および C-1-C-4 の結合定数は Karplus 式に従い⁶⁶⁾、C-6 は α, β 両アノマー炭素とカップル (約 4 Hz) することが明らかになった。さらに、C-1-C-3 および C-3-C-5 の結合定数の二面体角依存性も検討された⁶⁹⁾。この $J_{^{13}\text{C}-^{13}\text{C}}$ の測定は有用であり、Dorman と Roberts¹²⁾ や Perlin 等¹⁴⁾によるメチル- α -D-グルコピラノシドの C-2 と C-5 の帰属が逆であることが明らかになった。

Table 8. ^{13}C - ^{13}C Coupling Constants (Hz)

Compound	$^1J_{\text{C1-C2}}$	$^2J_{\text{C1-C3}}$	$^2J_{\text{C1-C5}}$	$^3J_{\text{C1-C6}}$	$^1J_{\text{C5-C6}}$	$^2J_{\text{C6-C4}}$	References
α -D-glucopyranose (1)	44.9 46.0	— —	— ~1.8	— *	42.7 —	— —	56 23
methyl α -D-glucopyranoside (3)	46.4	—	~1.7	3.2	—	—	23
β -D-glucopyranose (2)	47.1 46.0	— ~3.5	— —	— *	— —	— —	56 23
methyl β -D-glucopyranoside (8)	46.8	~4.1	—	4.3	—	—	23

The couplings indicated by * were observed but not measured.

2.5 緩和時間 (T_1)

プロトンが直接結合している ^{13}C 核の緩和においては、 ^{13}C -H 間双極子緩和が支配的であり、この ^{13}C -H 間双極子緩和に対するスピン格子緩和時間 (T_1) を測定することにより、分子の溶液中でのマイクロ分子運動に關与した情報が得られる。メチル α - および β -グルコシドならびにそのアセチル化物の T_1 値を表9にまとめた。環内炭素原子 (C-1~C-5) は極めてよく似た T_1 を示す。このことから、これらの炭素原子が等方的運動をしているとみなせる。C-6 の T_1 は環内炭素の T_1 の約 1/2 の値を示す。この事実は、C-6 が2個のプロトンと結合していることと一致し、C-5~C-6 結合の回りの回転によって T_1 は大きな影響をうけ

Table 9. ^{13}C Spin-Lattice Relaxation Times (T_1) (sec) of D-Glucose Derivatives

Compound	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6	OCH ₃	acetyl carbonyl	acetyl methyl	Solvent	Temperature (°C)	Reference
methyl α -D-glucopyranoside (3)	1.1	1.0	1.2	0.9	1.1	0.62	3.4	—	—	D ₂ O (1.0M) not degassed	39	62-a
	1.1	1.0	1.1	1.0	1.2	0.47	3.4	—	—	D ₂ O (1.0M) degassed	39	"
	1.4	1.3	1.6	1.3	1.3	1.0	3.5	—	—	D ₂ O (0.5M) not degassed	39	"
	0.74	0.74	0.76	0.74	0.76	0.40	2.3	—	—	D ₂ O (1.0M)	28.0 ± 1.0	62-b
methyl β -D-glucopyranoside (8)	1.2	1.1	1.1	1.0	1.1	0.65	3.2	—	—	D ₂ O (1.0M) not degassed	39	62-a
	0.82	0.81	0.75	0.74	0.73	0.36	2.5	—	—	D ₂ O (1.0M)	28 ± 1.0	62-b
methyl 2,3,4,6-tetra-O-acetyl- α -D-glucopyranoside (7)	0.60	0.65	0.62	0.64	0.65	0.33	2.3	12.3	2.4	CDCl ₃ (1.0M) not degassed	39	62-a
	0.60	0.67	0.70	0.60	0.69	0.36	2.3	15.2	2.2	CDCl ₃ (1.0M) degassed	39	62-b
methyl 2,3,4,6-tetra-O-acetyl- β -D-glucopyranoside (11)	0.50	0.48	0.45	0.43	0.46	0.29	1.7	12.5	1.9	CDCl ₃ (1.0M) not degassed	39	62-a

ないことを示している。また、C-1 とグリコシド結合しているメチル基の炭素の T_1 は、アセチル化した場合も同様環内炭素の T_1 の約3倍大きく、メチル基が溶液中で自由回転していることを示す。アセチル基のカルボニル炭素原子の T_1 が最も大きい値を示すのは、プロトンが結合していないことにより、同一分子中のプロトンからの緩和をうけることに起因する。 T_1 は、温度、濃度により大きな影響をうけるが、溶存酸素の効果は少ない。しかし、アセチルカルボニルの T_1 は脱気により約20%増大するという報告もある^{62-a)}。

3. セロオリゴ糖

天然のセルロースの構造を ^{13}C -NMR で解明するためには、構成単位であるグルコースの重合度を次第に高めたセロオリゴ糖をセルロースのモデルとして用い、高分子としての性質を帯びるに到るまでの過程を ^{13}C -NMR で逐次究明していくのが望ましいと考えられ、これまで、種々の重合度のセロオリゴ糖の ^{13}C -NMR が測定されている。セロビオースは多量に入手可能なためセロトリオース以上の高級オリゴ糖に比較して研究例が多いので別にとりあげた。

3.1 セロビオース

セロビオース (32, 36) ならびにアセチル化物の化学シフトを表10に、メチル化セロビオースならびにその誘導体の化学シフトを表11に列挙した。まず、還元性末端残基をもっているセロビオース (32, 36) の場合、遊離グルコース (1, 2) と同様、 α, β の両アノマー間の差が ^{13}C -スペクトル上に認められる。すなわ

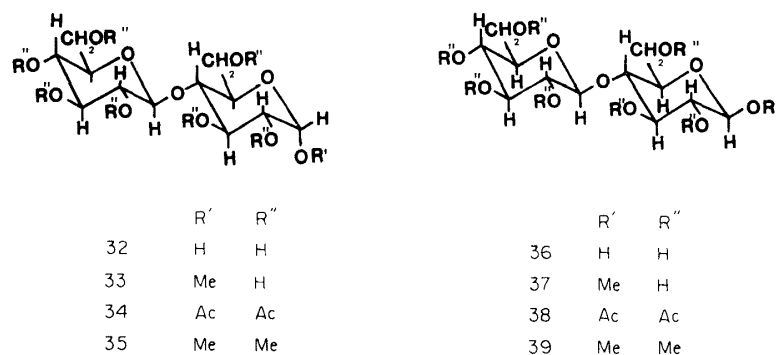


Table 10. ^{13}C Chemical Shifts of Cellobiose (ppm)

C-1'	C-2'	C-3'	C-4'	C-5'	C-6'	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6	Solvent	Temperature	Reference
103.8	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	H ₂ O	—	39
102.40	73.00	75.80	69.25	75.35	60.45	α 91.65 β 95.55	71.20 73.75	71.05 74.60	78.60 78.50	69.90 74.10	59.95 59.75	D ₂ O	—	16
103.3	74.1	76.7	70.5	76.7	61.6	α 92.7 β 96.7	72.3 75.1	74.1 75.9	79.7 79.7	72.3 75.1	61.1 61.1	H ₂ O	—	49
103.9	74.7	77.2	71.1	77.4	62.4	α 93.2 β 97.1	72.9 75.7	72.9 76.1	80.1 80.1	71.6 75.7	61.8 61.8	H ₂ O	—	18
103.7	74.5	77.2	70.9	77.0	62.1	α 93.0 β 97.0	72.6 75.6	72.6 75.6	80.4 75.6	71.4 75.6	61.6 61.6	D ₂ O	90	63
103.27	74.12	76.52	70.44	76.83	61.59	α 92.69 β 96.61	72.25 74.92	72.30 75.25	79.60 79.48	70.96 75.59	61.09 61.09	D ₂ O, D ₂ O-H ₂ O	30	30
103.6	74.3	77.0	70.6	77.6	61.7	α 92.9 β 96.8	72.3 75.0	72.4 76.6	79.9 79.8	71.2 75.8	61.0 61.2	D ₂ O	60	31
103.37	73.97	76.31	70.28	76.80	61.41	α 92.63 β 96.56	72.04 74.70	72.15 75.10	79.56 79.43	70.92 75.60	60.74 60.87	D ₂ O	22 $\pm$ 2	64
103.8	74.5	77.0	70.8	77.2	62.0	β 97.1	75.3	75.7	80.0	76.0	61.5	D ₂ O	—	34
103.4	74.0	76.4	70.3	76.8	61.5	α 92.6 β 96.6	72.2 75.1	72.3 74.8	79.7 79.5	70.9 75.6	61.0 61.1	D ₂ O	room temp.	65
103.38	74.08	76.45	70.38	76.83	61.49	α 92.71 β 96.65	72.18 75.21	72.25 74.85	79.44 79.58	70.94 75.62	60.83 60.96	D ₂ O	24	35

ち、非還元末端のグルコース残基は還元末端のグルコース残基の化学シフトに影響を及ぼさず、逆もいえる。従って、非還元末端グルコース残基の化学シフトはメチル β -D-グルコピラノシドの化学シフトから帰属され、一方還元末の場合は遊離のグルコースの化学シフトから帰属された。非還元末のグルコース残基の C-1' は遊離グルコースのメチル化による低磁場シフト (α -効果) と同程度のシフト (約 9 ppm) を示す。アセチル化による化学シフトの移動もグルコースモノマーの場合に得られた結果を支持している。従って、セロビオースの ^{13}C -NMR スペクトルは一見シグナルの数は多いが、帰属は困難ではない。しかし、正確な帰属はグルコースモノマーの場合と同様、非還元末端グルコース残基の C-1' を ^{13}C で濃縮したセロビオー

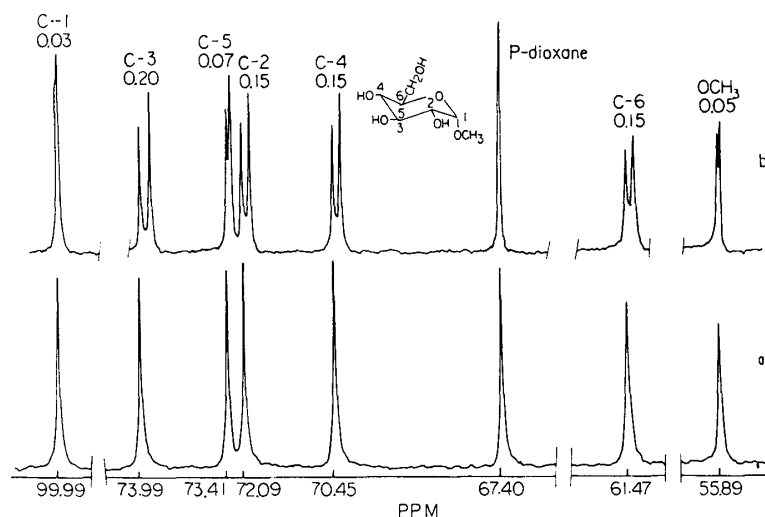


Fig. 5. Deuterium induced differential isotope effect (DIS) of methyl α -D-glucopyranoside³⁰⁾. (a), Proton noise decoupled spectrum of (3) in H_2O ; (b), DIS spectrum of (3) in D_2O and H_2O using a dual coaxial tube.

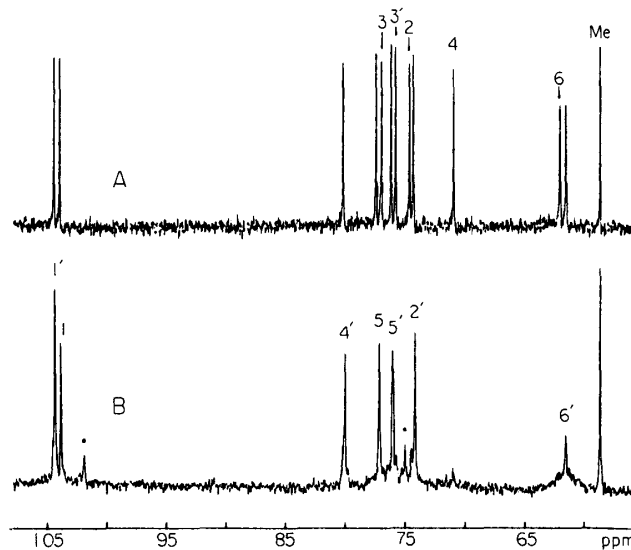


Fig. 6 Deuterium induced isotope effect of methyl β -cellobioside in D_2O at 35°C ⁶⁶⁾. (A), Proton noise decoupled spectrum of methyl β -cellobioside (37); (B), Proton noise decoupled spectrum of methyl β -cellobioside- d_8 . Signals indicated by asterisks are due to isomerization product(s) formed during ^1H -D exchange.

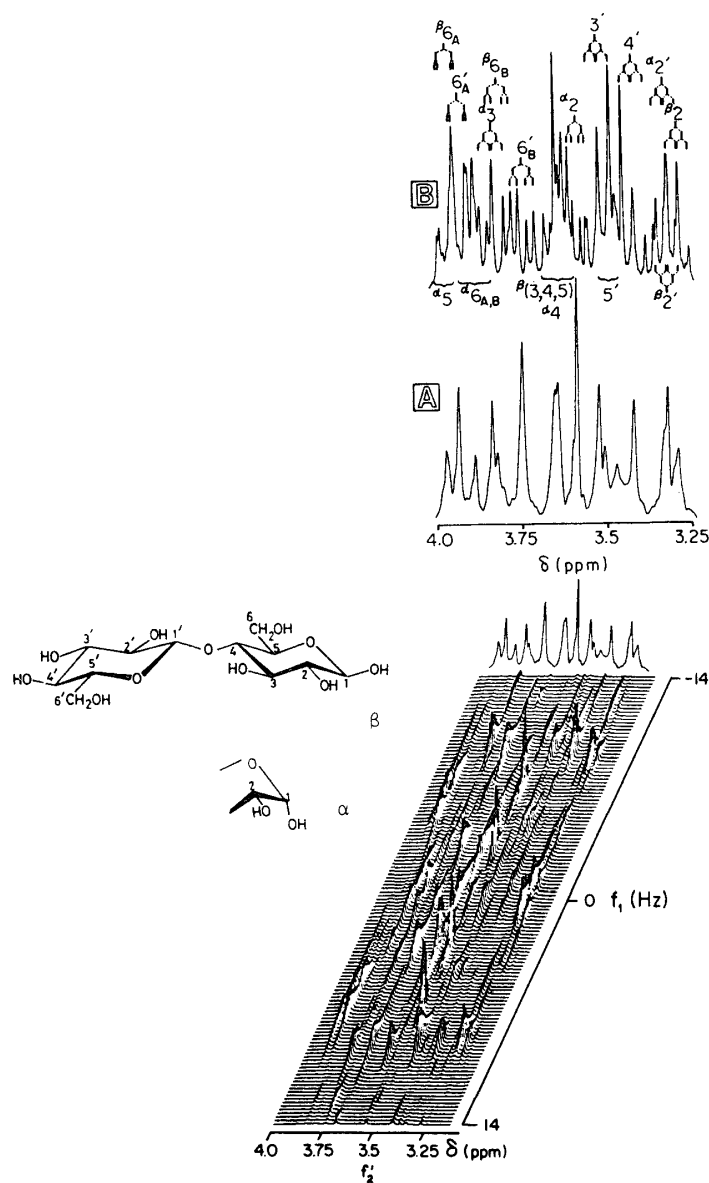


Fig. 7. Proton two-dimensional (2D) NMR of cellobiose in D_2O at $22^\circ C^{64)}$. Projection of the 2DJ spectrum onto the horizontal (f_2) axis yielded the spectrum of A. B indicates conventional proton spectrum of the nonanomeric region of cellobiose.

スの ^{13}C -NMR スペクトルの解析と、後で述べる溶媒の化学シフトに及ぼす効果の解析とあわせて行なわれた^{31,67)}。その結果、Balza⁶³⁾、Gagnaire と Vincendon⁶⁹⁾ の C-3' β と C-5' β の帰属が逆であることが明らかになった。水酸基と結合した炭素原子の化学シフトは OH と OD の混合物中で ^{13}C -NMR を測定し、水酸基を含む炭素原子は ^{13}C -OH と ^{13}C -OD の二種のシグナルに分離される現象 (β 同位体効果) により帰属された^{30,36,66,69)} (図5, 6)。また、セロビオースの二次元 NMR が測定され⁶⁴⁾、シグナルの完全な帰属に利用されている (図7)。さらに、セロビオースとはグリコシド結合の配向のみが異なるマルトースとセロビオースとの化学シフトの相異は、Heyraud 等³¹⁾により詳細に研究されている (図8)。

C-2' と C-1' との間のスピン結合定数 ($^1J_{C1'-C2'}$) は 46 Hz と大きいが、C-1' と C-3' 間の結合定数 ($^2J_{C1'-C3'}$) は 4.5 Hz と小さく 1,2-*trans* 結合に特徴的である。また、セロビオースのグリコシド結合を越

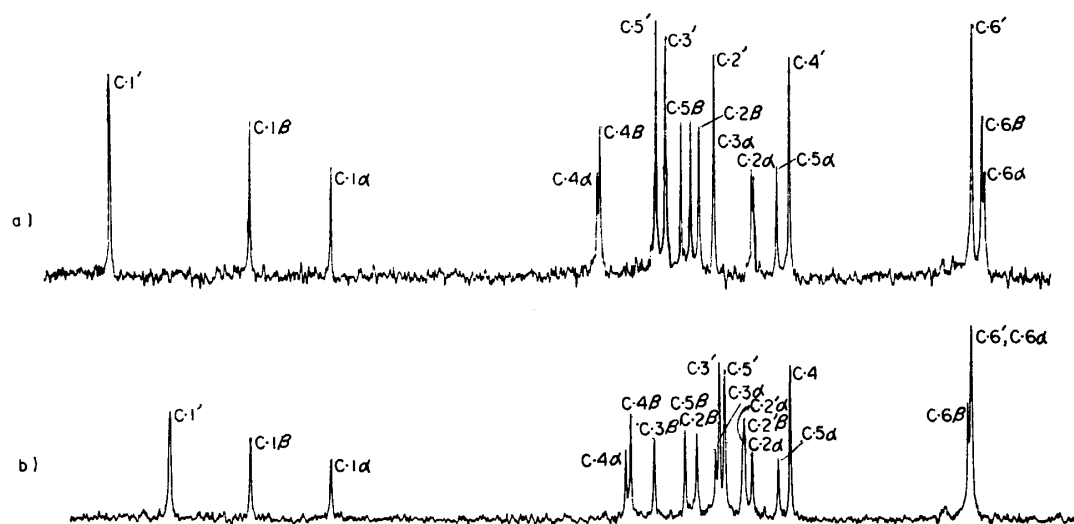


Fig. 8. ^{13}C -NMR spectra of cellobiose and maltose in D_2O ³¹⁾. a) Cellobiose; b) Maltose.

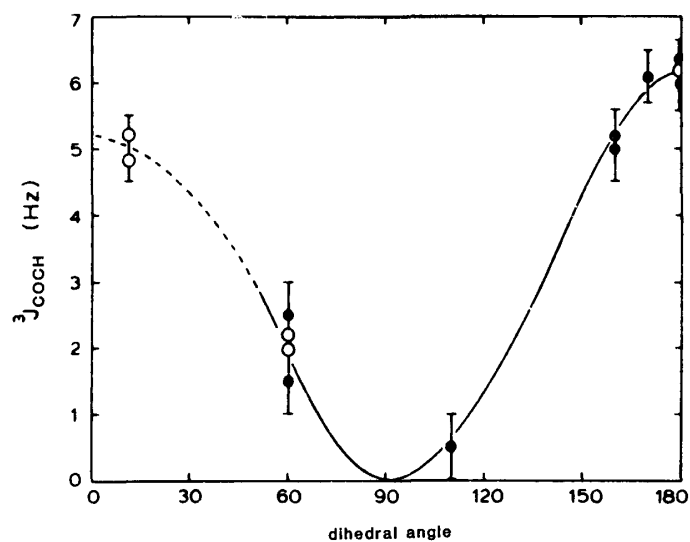


Fig. 9. Relationship between $^3J_{^{13}\text{COCH}}$ and the ^{13}C -O-C-H dihedral angle⁶⁶⁾.

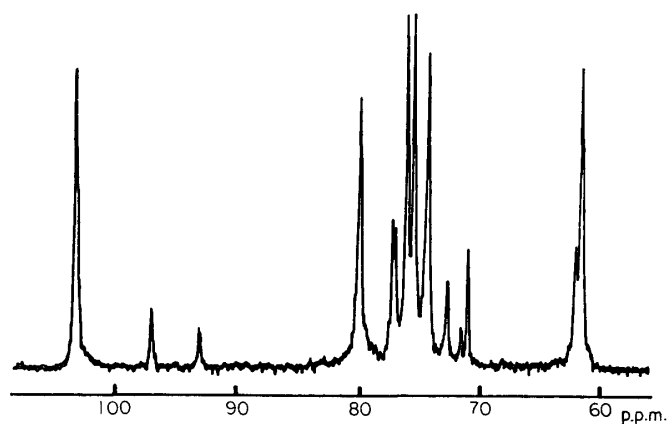


Fig. 10. ^{13}C -NMR spectrum of cello-oligosaccharide (average d.p. 3.7) in D_2O at 90°C ⁶³⁾.

えた C-1' と C-4 間のビシナルカップリング定数 $^3J_{C1'-H4}$ は 1~2 Hz と見積られた。マルトースの場合は 3~4 Hz であることから、セロビオースの方がマルトースよりグリコシド結合はねじれた配向をしていることが明らかになり、X線回析の結果と一致している。また、 $^3J_{CH}$ と $^{13}C-O-C-H$ の2面体角間に Karplus 型の相関関係が成立する⁶⁶⁾ (図9)。 $^1J_{^{13}C-H1}$ の値はセロビオースの2個のグルコース間の結合のアノマーの帰属に用いられ、 $^1J_{^{13}C1'-H'}$ の値が 160~162.1 Hz であることから、 β 型と決定された。また、オクタ-O-アセチル- α -D-セロビオシドの $^1J_{^{13}C1-H1}$ の値が α -アノマーであるにもかかわらず 175 Hz となっており、 α, β 両アノマー間の $^1J_{^{13}C1-H1}$ 値の差が約 10 Hz という先の通則に一致する。

Table 11. ^{13}C Chemical Shifts of

Compound	C-1'	C-2'	C-3'	C-4'	C-5'	C-6'	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6	OCH ₃
methyl β -cellobioside ⁽³⁷⁾	103.5	74.1	76.8	70.5	76.7	61.7	104.0	73.8	75.5	79.9	75.3	61.2	58.0
	103.9	74.6	77.5	71.2	77.2	62.4	104.5	74.2	76.4	80.3	75.9	61.8	58.9
	104.6	74.6	78.1	71.6	78.1	62.6	105.1	74.5	76.5	81.2	76.3	62.2	56.6
α -cellobiose octaacetate ⁽³⁴⁾	101.4	73.4	72.6	68.6	72.1	62.2	89.4	69.9	69.8	76.5	71.4	61.8	—
	100.5							88.6					
	100.95	71.70	73.00	67.85	72.00	61.45*	89.00	69.40	69.40	76.10	70.80	61.60*	—
	100.89	71.69	72.99	67.88	71.99	61.65*	88.96	69.38	69.38	76.05	70.80	61.50*	—
	101.55	71.96	73.27	67.83	72.56	62.19	88.98	69.32	69.32	76.08	70.76	61.64	—
β -cellobiose octaacetate ⁽³⁸⁾	101.1	73.4	72.7	68.7	72.1	62.2	92.3	71.0	74.2*	76.4	72.7	62.3	
	100.65	71.55	72.90	67.85	72.00	61.70	91.60	72.35	70.45	75.90	73.55	61.65	—
	100.6	71.9	73.1	68.5	72.2	62.0	91.9	72.6	70.9	76.0	73.8	62.0	—
	100.63	71.51	72.88	67.83	71.97	62.20	91.58	72.33	70.41	75.88	73.50	61.65	—
Compound	C-1'	C-2'	C-3'	C-4'	C-5'	C-6'	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6	OCH ₃ -2'
methyl hepta-O-methyl- α -cellobioside ⁽³⁵⁾	103.61	85.27	87.60	80.50	75.66	72.42	98.13	81.92*	81.96*	78.20	70.97	71.67	60.87
methyl hepta-O-methyl- β -cellobioside ⁽³⁶⁾	103.44	85.12	87.48	80.35	75.51	72.26	104.87	83.90	85.03	77.87	75.42	71.50	60.72

Assignments of the resonances indicated by * may be interchanged.

Table 12. ^{13}C Chemical Shifts

Degree of polymerization (DP)	non-reducing end-unit						internal unit					
	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6
3.7	103.4	74.3	77.2*	70.9	77.0*	62.0	103.4	74.3	76.0	80.0	75.4	61.5
5.3	103.4	74.3	77.3*	71.1	77.0*	62.0	103.4	74.3	76.1	79.9	75.4	61.5
3	103.6	74.2	76.6	70.5	77.0	61.7	103.4	74.0	75.1	79.5	75.9	61.0
3	103.4	74.0	76.4	70.4	76.8	61.5	103.2	73.8	74.9	79.3	75.7	60.8
3	103.34	74.03	76.60	70.54	76.90	61.56	103.12	73.80	76.40	79.38	76.80	61.10
4	103.6	74.2	76.6	70.5	77.1	61.7	103.4	74.0	75.1	79.4 (79.5)	75.9	61.0
4	103.4	74.1	76.5	70.4	76.9	61.6	103.2	73.8	75.0	79.3	75.7	60.9
4	103.33	74.03	76.61	70.44	76.91	61.61	103.12	73.83	76.39	79.44	76.70	61.10
5	103.5	74.3	76.7	70.7	77.0	61.7	103.3	74.1	75.2	79.6(2C) 79.7(1C)	75.9	61.2
6	103.4	74.4	76.9	70.5	76.9	61.7	103.2	74.3	75.4	79.5(3C) 74.6(1C)	76.1	61.0

Assignments of the resonances indicated by * may be interchanged.

3.2 セロトリオース以上のセロオリゴ糖

セロトリオース以上のセロオリゴ糖の ^{13}C -NMR の測定は1978年に, Inoue と Chûjo⁶³⁾ によりはじめて行なわれた (図10, 表12)。彼らは重合度 3.7 と 5.3 のセロオリゴ糖を用いて測定し, 次の結果を得た。すなわち, (i) 還元末端と非還元末端のグルコース残基の化学シフトは糖鎖の長さに無関係である; (ii) 中央のグルコース残基の化学シフトも糖鎖の長さに無関係である; (iii) 還元末のグルコース残基の C-1 α と C-1 β の化学シフトは D-グルコースの値と一致する; (iv) 非還元末の C-4' の化学シフトも D-グルコースの値と一致する; (v) 化学シフトは還元末, 中央および非還元末の三つのグループに分けることができ, $\beta(1\rightarrow$

Methylated and Acetylated Cellobioses

Acetyl carbonyl							Acetyl methyl	Solvent	Temperature (°C)	Reference
—							—	H ₂ O	—	49
—							—	H ₂ O	—	18
—							—	C ₆ D ₅ N	—	47
170.9, 170.7, 170.5, 170.4, 170.3, 169.9, 169.7, 169.6							20.9	CH ₂ Cl ₂	—	49
—							—	CDCl ₃	room temp.	20
—							—	CDCl ₃	30	50
—							—	CDCl ₃	~25	52
—							—	CDCl ₃	25	35
170.8, 170.7, 170.5, 170.2, 169.9, 169.6, 169.3							20.9, 20.6	CH ₂ Cl ₂	—	49
—							—	CDCl ₃	30	50
—							—	CDCl ₃	—	54
—							—	CDCl ₃	25	35
OMe-3'	OMe-4'	OMe-6'	OMe-1	OMe-2	OMe-3	OMe-6	Acetyl methyl	Solvent	Temperature (°C)	Reference
60.74	60.44	59.48*	55.32	58.46	60.07	59.09*	—	acetoni trile	30	45
60.72	60.38	59.40*	56.89	60.38	60.07	59.12*	—	acetoni trile	30	45

of Cello-oligosaccharides (ppm)

reducing end - unit						Solvent	Temperature (°C)	Reference
C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6			
α 93.0	72.6	72.6	80.0	71.6	61.5	D ₂ O	90	63
β 97.0	75.4	76.0	80.0	75.4	61.5	D ₂ O	90	63
α 93.2	72.7	72.7	79.9	71.5	61.5	D ₂ O	90	63
β 97.2	75.4	76.1	79.9	75.4	61.5	D ₂ O	90	63
α 92.9	72.3	72.4	79.8	71.2	61.0	D ₂ O	60	31
β 96.8	75.0	75.3	79.6	75.9	61.1	D ₂ O	60	31
α 92.7	72.1	72.1	79.5	70.9	60.8	D ₂ O	room temp.	65
β 96.6	75.1	75.1	74.5	75.7	60.8	D ₂ O	room temp.	65
α 92.72	72.06	72.26	79.59	71.04	61.10	D ₂ O	78	35
β 96.67	75.10	74.97	79.59	75.67	61.56	D ₂ O	78	35
α 92.9	72.3	72.4	79.8	71.2	61.1	D ₂ O	60	31
β 96.8	75.0	75.3	79.6	75.9	61.2	D ₂ O	60	31
α 92.7	72.0	72.26	79.4	71.0	60.9	D ₂ O	room temp.	65
β 96.6	75.2	75.0	79.4	75.7	60.9	D ₂ O	room temp.	65
α 92.72	72.07	72.77	79.54	71.03	61.10	D ₂ O	78	35
β 96.62	75.08	74.89	79.59	75.67	61.10	D ₂ O	78	35
α 92.9	72.4	72.4	80.1	71.4	61.2	D ₂ O	60	31
β 96.8	75.0	75.4	79.9	77.0	61.4	D ₂ O	60	31
α 92.7	72.6	72.6	79.8	76.1	61.2	D ₂ O	60	31
β 96.7	75.4	75.5	79.8	76.1	61.2	D ₂ O	60	31

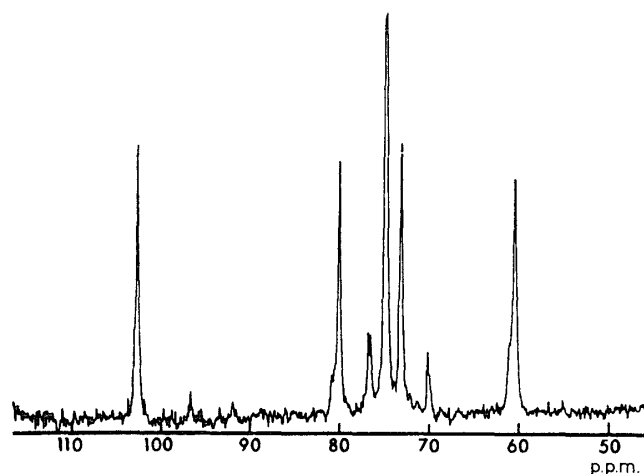


Fig. 11. ^{13}C -NMR spectrum of a low-d.p. cellulose in DMSO-d_6 at $75^\circ\text{C}^{65)}$.

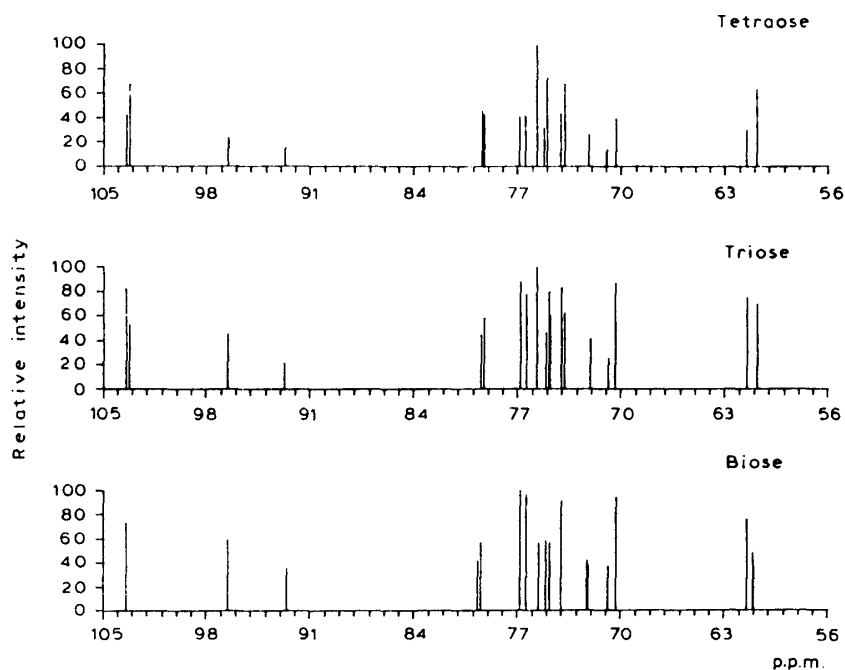


Fig. 12. Comparison of ^{13}C -NMR spectra of cello-oligosaccharides in D_2O at $60^\circ\text{C}^{65)}$.

4)-D-グルコピラノシド結合したグルコース残基の C-4 の化学シフト (約 80 ppm) は $\beta(1\rightarrow4)$ 結合のグルコピラノースに特有であり、他のシグナルとは明瞭に分離される。これらのオリゴ糖を用いた研究は、Gast 等⁶⁵⁾ によるセロトリオースおよびセロテトラオースの研究 (図11, 12, 表12) や、Heyraud 等³¹⁾によるセロトリオースからセロヘキサオースを用いた詳細な研究に発展され、化学シフトの重合度依存性はほとんどないことが明らかにされた (図13, 表11, 12)。セロテトラオース以上の高級オリゴ糖とセロトリオースの化学シフトを比較し、(i) 重合度の増大につれて、非還元末端と還元末端のグルコース残基のスペクトルのシグナル強度が減少すること、(ii) 中央のくり返しグルコース残基のスペクトルのシグナル強度が増大すること、(iii) セロヘキサオースにおいても、二種の末端グルコース残基の化学シフトは区別でき、四つのくり返しグルコース残基の 24 個の炭素に相当する 6 個の強いシグナルが得られることを明らかにした。また、

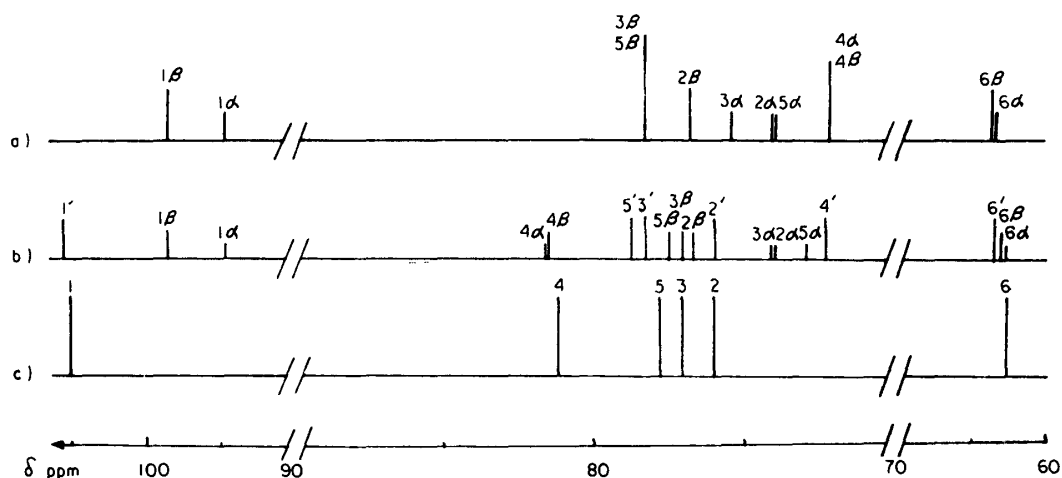


Fig. 13. Correlation of the ^{13}C -NMR spectra of a) D-glucose; b) cellobiose; c) cellohexaose, in D_2O at 60°C ³¹⁾.

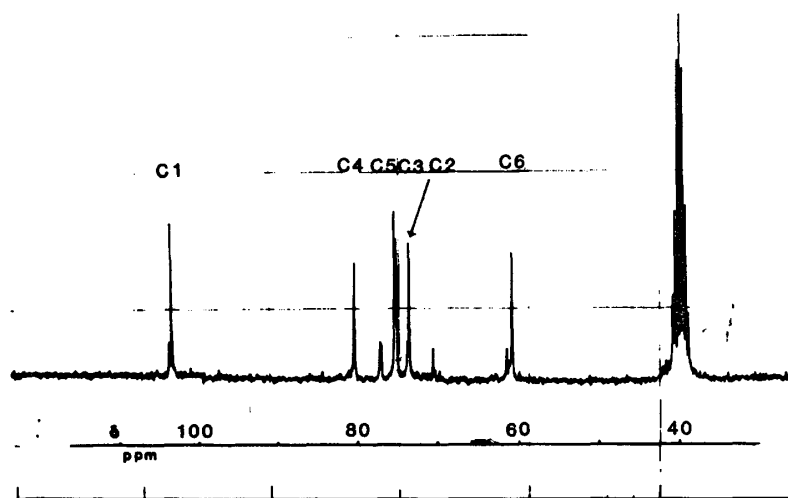


Fig. 14. ^{13}C -NMR spectrum of cellobiose in $\text{DMSO}-d_6$ at 100°C ⁷⁰⁾.

C-1 のピークの強度よりセロオリゴ糖の平均重合度を決定できるという報告もあるが⁶³⁾、非還元末 C-1 と中央のくり返し単位の C-1 との NOE (核 Overhauser 効果) が異なり問題があることが明らかにされた⁶⁵⁾。以上の実験は重水中で行なわれたが、重合度 7 以上のセロオリゴ糖は水に溶けにくく、他の溶媒を使用せねばならない。Gagnaire 等は最近重合度 10 のセロデカオースを用い DMSO (ジメチルスルホキシド) 中で ^{13}C -NMR を測定した⁷⁰⁾ (図14)。その結果、スペクトルは上述した Heyraud 等のセロヘキサオースのスペクトルと類似していることが明らかになった。特に、この場合、還元末端グルコース残基のシグナルがほとんど認められなくなり、くり返しグルコース残基が強調されることから、セロデカオースはセルロースの良いモデルとなることがわかった。また、C-3 と C-5 の化学シフトは異核種二重共鳴法と重水素同位体効果を用いて帰属された。さらに、Capon 等⁵²⁾はセロトリオースからセロペンタオースに致るまでのセロオリゴ糖のアセチル化物について ^{13}C -NMR を測定した (図15, 表13)。その結果、化学シフトの重合度依存性はほとんどないことその他、化学シフトは、非還元末端グルコース残基、還元末端セロビオース残基および中央のくり返しグルコース残基の三種のグループに分けられることが明らかになった。中央のくり返しグ

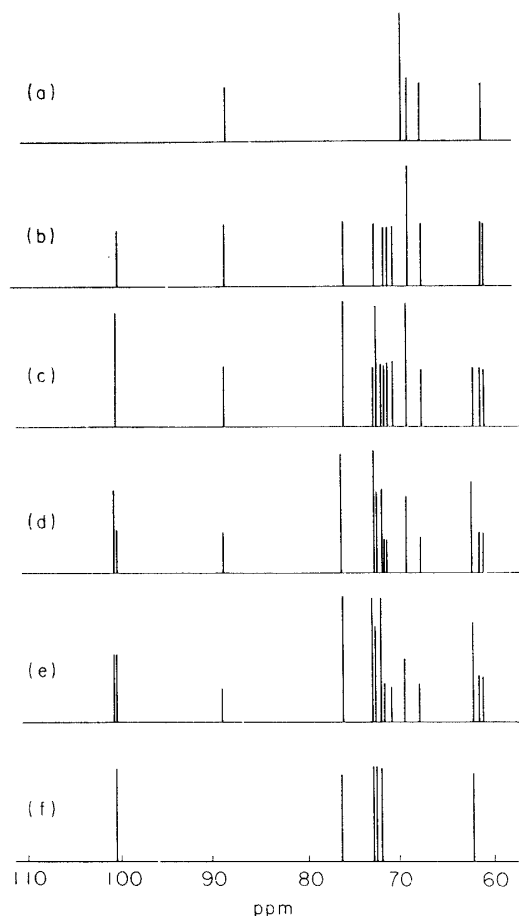


Fig. 15. Comparison of ^{13}C -NMR of peracetylated cello-oligosaccharides⁵²⁾.
The peracetates of (a) α -D-glucopyranose; (b) α -cellobiose; (c) α -cellotriose; (d) α -cellotetraose; (e) α -cellopentaose; and (f) cellulose.

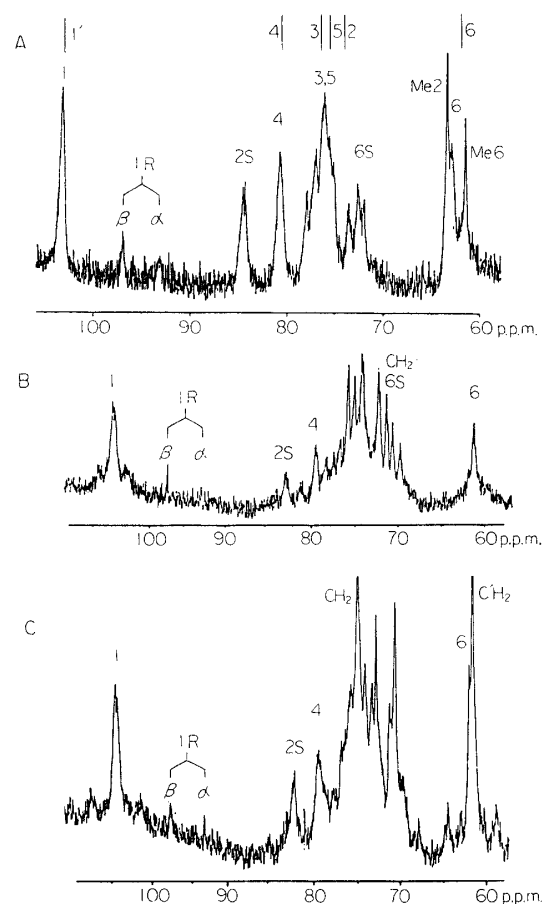


Fig. 16. ^{13}C -NMR spectrum of (A) *O*-methylcellulose (d.s. 0.7, partially degraded by cellulase), (B) *O*-(carboxymethyl)cellulose (d.s. 0.7, partially degraded by cellulase), (C) *O*-(2-hydroxyethyl)cellulose (d.s. 0.8, partially degraded by cellulase) in D_2O at 30°C ^{59-b)}.
R, signal due to reducing-end residue; S, signal due to the C bonded to methoxyl group. Inset line at the top of the figure is the chemical shifts of methyl β -cellobioside.

ルコース残基の化学シフトはセルローストリアセテートと同じ化学シフトを示すといわれるが、このことについては後で述べる。

以上の結果から、セルロースの ^{13}C -NMR スペクトルは、D-グルコースおよびセロビオースの化学シフトに基づいて帰属することが可能であること、およびセロオリゴ糖がセルロースのモデルとして十分有用であることが明らかになったといえる。今商業上重要なセルロースは、セルロースそのものの他アセチルセルロース、カルボキシメチルセルロースやヒドロキシエチルセルロース等のセルロース誘導体がある。これらのセルロース誘導体の ^{13}C -NMR スペクトルを解析するためには、そのモノマー単位の ^{13}C -NMR スペクトルを帰属する必要がある。これらのモノマー誘導体の ^{13}C -NMR は Parfondry と Perlin によって研究された^{59-b)}。部分カルボキシメチルおよびヒドロキシエチルグルコースの化学シフトを表14に示した。カルボキシメチル基とヒドロキシエチル基の置換は共に α 炭素の強い非遮へい化 (α -効果) と β

Table 13. ^{13}C Chemical Shifts for Peracetates of α -Cello-oligosaccharides⁵²⁾ (ppm)

Parent sugar	Non-reducing and internal units				Reducing unit
α -Cellotriose		C-1 100.81	C-1 100.81	C-1 88.98	
		C-2 71.68	C-2 72.09†	C-2 69.45	
		C-3 72.92**	C-3 72.80**	C-3 69.45	
		C-4 67.85	C-4 76.17	C-4 76.17	
		C-5 71.89†	C-5 72.80**	C-5 70.80	
		C-6 61.57*	C-6 62.26	C-6 61.32*	
α -Cellotetraose	C-1 100.81	C-1 100.54	C-1 100.81	C-1 88.98	
	C-2 71.66	C-2 72.05	C-2 72.05	C-2 69.42	
	C-3 72.87	C-3 72.71	C-3 72.71	C-3 69.42	
	C-4 67.84	C-4 76.15	C-4 76.15	C-4 76.15	
	C-5 71.87	C-5 72.87	C-5 72.87	C-5 70.79	
	C-6 61.58*	C-6 62.15	C-6 62.15	C-6 61.33*	
α -Cellopentaose	C-1 100.81	C-1 100.53	C-1 100.81	C-1 88.96	
	C-2 71.66	C-2 71.95	C-2 71.95	C-2 69.40	
	C-3 72.86	C-3 72.66	C-3 72.66	C-3 69.40	
	C-4 67.83	C-4 76.13	C-4 76.13	C-4 76.13	
	C-5 71.95	C-5 72.86	C-5 72.86	C-5 70.80	
	C-6 61.56*	C-6 62.12	C-6 62.12	C-6 61.34*	

Assignments of the resonances indicated by * or † may be interchanged.

Table 14. ^{13}C -Chemical Shifts of Mono-*O*-Carboxymethyl- and -*O*-(2-Hydroxyethyl)- D -Glucoses^{59-b)} (ppm)

	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6	CH ₂	CH ₃
2- <i>O</i> -Carboxymethyl- α - D -glucose (17)	91.1	81.3	73.0	70.8	72.4	61.3 ^b	70.8 ^c	
2- <i>O</i> -Carboxymethyl- β - D -glucose (27)	96.7	84.5	76.1	70.8	77.0	61.9 ^b		
3- <i>O</i> -Carboxymethyl- α - D -glucose (18)	92.9	72.3	83.9	70.2 ^b	72.0	61.5 ^b	70.1 ^c	
3- <i>O</i> -Carboxymethyl- β - D -glucose (28)	96.7	74.7	86.4	70.4 ^b	76.6	61.6 ^b		
6- <i>O</i> -Carboxymethyl- α - D -glucose (19)	92.9	72.3	73.5	70.1	71.1	70.5	68.9 ^c	
6- <i>O</i> -Carboxymethyl- β - D -glucose (29)	96.8	74.9	76.5	70.1	75.5	70.5		
3- <i>O</i> -(2-Hydroxyethyl)- α - D -glucose (20)	93.4	72.6	83.3	70.6 ^b	72.8	62.2 ^b	75.3	62.8
3- <i>O</i> -(2-Hydroxyethyl)- β - D -glucose (30)	97.2	75.1	85.9	70.4 ^b	77.3	62.3 ^b	75.3	62.8
6- <i>O</i> -(2-Hydroxyethyl)- α - D -glucose (21)	93.3	72.6	73.8	70.4	71.5	70.5	75.5	62.9
6- <i>O</i> -(2-Hydroxyethyl)- β - D -glucose (31)	97.2	75.2	76.7	70.4	75.9	70.5	75.5	62.9

^bChemical shifts for α and β anomers may be reversed.^cChemical shifts for the appended carboxyl carbons, at ~ 185 ppm.

炭素のわずかな遮へい (β -効果) を引きおこし, その程度はメチル基の場合とよく似ている。従って上に述べた ^{13}C -NMR スペクトルの解析法は十分一般性があると考えられる。

4. セルロース

セルロースは水に不溶であるためネイティブな状態での ^{13}C -NMR の測定は困難であった。セルロースを可溶化するには次の三種の方法がある。すなわち, (i) 可溶性セルロース誘導体をつくる; (ii) 金属アルカリ錯体を形成させる; (iii) 溶媒和させるの三方法である。これらの三種の方法で可溶化したセルロースの ^{13}C -NMR が測定されているので順次述べる。

まず (i) の可溶性セルロース誘導体をつくり, ^{13}C -NMR を測定した例から述べる。この方面の研究は, アセチル化した酢酸セルロースを用いて, その有機溶媒中での ^{13}C -NMR を測定することから着手された。この先駆的な研究は, Dorman と Roberts⁴⁹⁾ により 1971 年になされたが, その後酢酸セルロースの ^{13}C -NMR は Taravel と Vottero⁷¹⁾, Gagnaire 等⁵⁰⁾ や Capon 等⁵²⁾ により測定されており, これらの化学シフ

Table 15. ^{13}C Chemical Shifts

Compound	Non-reducing end-unit						Internal unit					
	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6
Cellulose (low mol.)	S	—	76.7	70.3	76.9	61.2	102.7	73.2	74.9	80.1	75.1	60.6
Compound	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6	acetyl carbonyl		acetyl methyl			
Cellulose	102.5	73.1	75.3	79.3	74.7	60.5	—		—			
	105.2	76.4	77.3	80.0	77.3	62.9	—		—			
Cellulose tri-acetate	101.3	76.8	73.2	62.6	—	—	171.1, 170.7, 170.3		21.5			
	100.5	72.05	72.65	76.15	73.00	62.20	—		—			
	100.4	—	—	—	—	—	—		—			
	100.45	72.00	—	72.95	62.12	—	—		—			

S represents peaks observed as a weak shoulder on a larger peak or as a very weak.

トを表15にまとめた。酢酸セルロースの ^{13}C -NMR スペクトルは先に述べたモデル化合物である β -セロビオースオクタアセテートのスペクトルとよく似ていることがわかる。また、 $^1J_{^{13}\text{C}1'-\text{H}1'}$ の値が $163 \pm 1 \text{ Hz}$ と求められているが、この値もセロビオースの場合とよく一致している。しかしながら、C-2, 3 および 5 ならびにアセテートのメチル基炭素の分離が不十分で、完全な帰属は困難であった。次いで、メチル化、カルボキシメチル化およびヒドロキシエチル化したセルロース誘導体について ^{13}C -NMR が測定された^{59-b)}(図16)。酸やセルラーゼによる部分水解が分離のよいスペクトルを得る必須条件であることが明らかにされた。また、セルロースの水酸基の反応性が $\text{OH-2} > \text{OH-6} \gg \text{OH-3}$ の順で減少し、他の測定方法による結果と一致することが示された。ヒドロキシエチルセルロースの ^{13}C -NMR については、無水グルコースに対するエチレンオキシドの置換度が2.5の標品を用いても測定されており⁷²⁾、 β -セロビオースやエトキシルによる

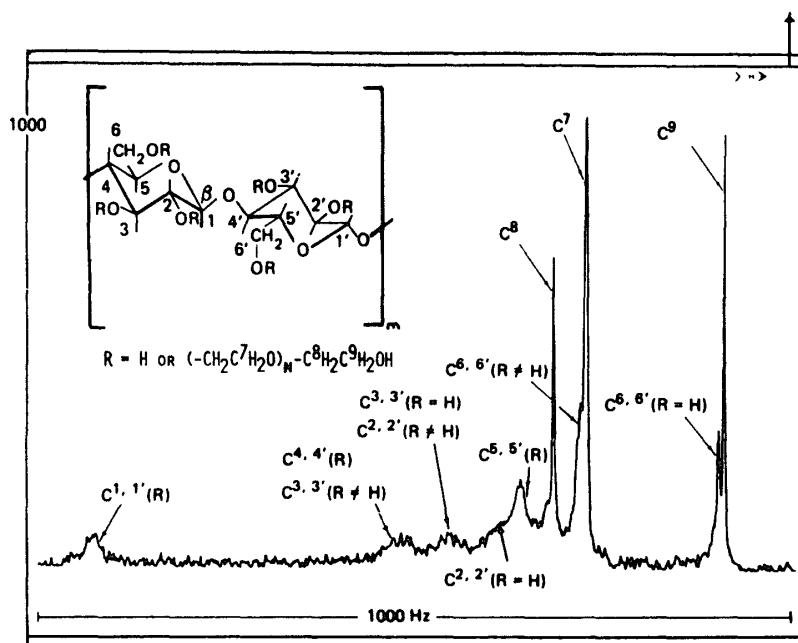


Fig. 17. ^{13}C -NMR spectrum of hydroxyethylcellulose in D_2O at 75°C ⁷²⁾.

of Cellulose (ppm)

Reducing unit						Solvent	Temperature (°C)	Reference
C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6			
α 92.0	S	S	80.7	S	60.6	DMSO- d_6	75	65
β 96.8	S	74.9	80.7	75.1	60.6			
						Solvent	Temperature (°C)	Reference
						DMSO/ <i>N</i> -methylmorpholine- <i>N</i> -oxide (80/20)	100	73
						Cadoxen	—	34
						CH_2Cl_2	—	49
						CDCl_3	30	50
						CDCl_3	—	71
						CDCl_3	~25	52

置換効果に基づく化学シフトを利用して帰属された (図17)。さらに、エチレンオキシドの置換度とポリ (エチレンオキシド) の鎖長も計算されている。しかしながら、図17から明らかなように、C-3 と C-4 および C-2 と C-3 のシグナルは巾広くしかも重なっており帰属は容易ではない。

次に (ii) の金属アルカリ錯体を形成させて、 ^{13}C -NMR を測定する方法であるが、これに関する研究は Bain 等³⁴⁾により1980年になされた。彼らは、カドキセン (カドミウム・エチレンジアミン溶液) 中でのセルロースの ^{13}C -NMR を測定し、同一溶媒中での、メチル α - および β -D-グルコピラノシドとセロビオースの化学シフトを比較検討した (図18)。セルロースのシグナルは5本に分離され (C-3 と C-5 とは重なっている)、メチル β -D-グルコシドとセロビオースの化学シフトとよく一致していることが明らかになった。カドキセン中での化学シフトは、重水中の場合と比較して 1~2 ppm 低磁場へ移動している。この化学シフトの移動は水素結合効果と考えられ、エチレンジアミン中の中の場合より大きい。また、このシフトはメチル β -D-グルコシドの場合の方がメチル α -D-グルコシドの場合より大きい。また、 ^{113}Cd -NMR により、カドキセンとセルロース間の相互作用が研究され、C-2 と C-3 位の水酸基とカドミウムとがキレート性アルコラートを形成せず、水素結合が支配的であることが明らかになった。カドミウムイオンは、アミノ基の pK_a を下げ2つのアミノ基と糖のエクアトリアルな2つの水酸基間の水素結合の形成に関与すると考えられる。

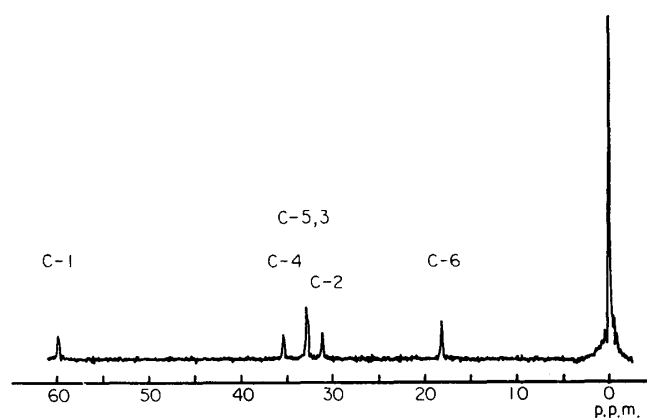


Fig. 18. ^{13}C -NMR spectrum of cellulose in cadoxen³⁴⁾.

最後に (iii) の溶媒和させて ^{13}C -NMR を測定する方法であるが、これに関する最初の研究は、Gagnaire⁷⁰⁾ によって行なわれた。彼らは DMSO に可溶性低重合度セルロースを用いて ^{13}C -NMR を測定した (図14)。C-1, C-6 および C-4 は他のシグナルとは明瞭に分離しており、帰属は容易である。また、すでに述べたように、高分子セルロースでは、還元末端グルコース残基によるシグナルは認められないが、低重合度セルロースでは、その存在が確認され、特に C-1 のシグナルは明瞭に区別されることが明らかになった。このように、セルロースの ^{13}C -NMR を帰属する上で、セロオリゴ糖の ^{13}C -NMR によって得られた情報の有用性が確かめられた。

しかしながら、DMSO のみでは高分子セルロースを可溶化することはできず、高分子セルロースを完全に溶媒和して ^{13}C -NMR を測定する方がセルロースの ^{13}C -NMR を研究する上では好ましいと考えられる。この方面の研究は Gagnaire 等^{70,73)} により、セルロースの新しい溶媒を用いて詳細に研究された。

今セルロースの新しい溶媒には、環状アミン酸化物、パラホルムアルデヒドを含む DMSO、アミン-DMSO 混合物、ヒドラジン、液状二酸化イオウ-アミン混合物、ジメチルホルムアミド- N_2O_4 等が開発されている。彼らは、まず D-グルコースの $\beta(1\rightarrow3)$ と $\beta(1\rightarrow4)$ 結合からなるリヘニンの構造を解析する途上で、*N*-メチルモルフォリン-*N*-オキシド (20%)-DMSO (80%) 系の溶媒を用いてセルロースの ^{13}C -NMR を測定した⁷³⁾。そのスペクトルを図19、化学シフトを表15に示した。その後彼らはセルロースの ^{13}C -NMR の研究を進ませセルロースの新しい溶媒のうち、(i) *N*-メチルモルフォリン-*N*-オキシド-DMSO 系；(ii) メチルアミン-DMSO 系；(iii) ヒドラジンおよび (iv) パラホルムアルデヒド-DMSO 系の合計4種の溶媒を用いてセルロースの ^{13}C -NMR の研究を行なった⁷⁰⁾。熱 DMSO に可溶性重合度10のセロデカオースは、先に3.2で述べたように、 ^{13}C -NMR スペクトル上セルロースのモデル化合物として最適であることが示された。

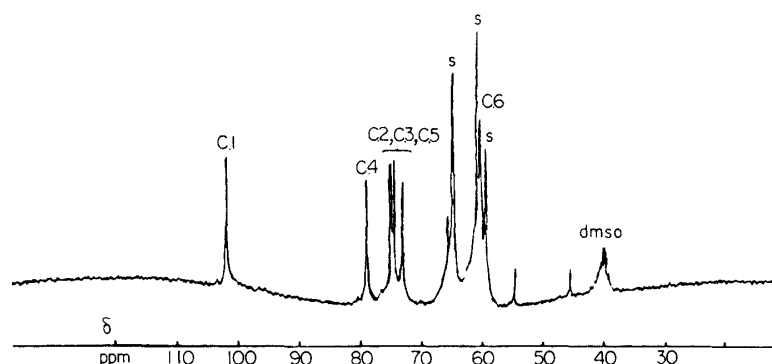


Fig. 19. ^{13}C -NMR spectrum of cellulose in *N*-methylmorpholin-*N*-oxide (20%)-DMSO (80%) at 100°C ⁷³⁾.

まず、(i) の *N*-メチルモルフォリン-*N*-オキシドはセルロースの良溶媒として知られている。この溶媒によるセルロースの溶解は通常 100°C でおこり、加温により加速される。この溶液の凝固は室温で2~3時間放置すればおこる。DMSO は希釈液として用いられる。溶液を 100°C で10時間以上放置するとセルロース鎖の切断がおこって分解する。このことは、粘度測定と ^{13}C -NMR によって明らかにされた。彼らは、バクテリアの生合成を利用して調製した C-1 と C-6 の位置に ^{13}C が濃縮されているセルロースを用いてスペクトルの帰属を行なった。また溶媒および濃縮炭素の T_1 が求められた (表16) が、NOE は C-1 に対して1.8、C-6 に対しては2.1であり緩和現象が完全に双極子のでないことが明らかにされた。C-1 の T_1 は 97 msec であり、C-6 に対しては 65 msec であり、他の多糖類で知られている値とよく一致する。興味深いことに、セルロースが存在する時と存在しない時の溶媒の異なった炭素の T_1 を決定することによって

Table 16. ^{13}C Spin-Lattice Relaxation Times (T_1) (sec) of Cellulose and Cellobiose (A), and Cellulose Solvent (B) at 80°C ⁷⁰⁾

(A)	Sample ^{13}C	C ₁	C ₂	C ₃ -C ₅	C ₄	C ₆
	5% enriched ^{13}C cellulose solution in DMSO- <i>N</i> -methyl morpholine- <i>N</i> -oxide (50/50)	97				65
	17% cellobiose solution in DMSO- <i>N</i> -methyl morpholine- <i>N</i> -oxide (50/50)	120		120		
	34% Cellobiose solution in pure DMSO	320	350		320	210

(B)	Sample ^{13}C	DMSO $\text{CH}_3\text{--SO--}$	<i>N</i> -methyl $\text{--O--CH}_2\text{--}$	morpholine- <i>N</i> -oxide $\text{N--CH}_2\text{--}$	<i>N</i> -CH ₃
	DMSO	11.2			
	<i>N</i> -methyl morpholine- <i>N</i> -oxide hydrate		0.7	0.7	0.9
	DMSO- <i>N</i> -methyl morpholine- <i>N</i> -oxide (50/50)	9.3	2.5	2.4	2.6
	3.5% cellulose solution in DMSO- <i>N</i> -methyl morpholine- <i>N</i> -oxide (50/50)	8.3	1.4	1.4	1.6
	7% cellulose solution in DMSO- <i>N</i> -methyl morpholine- <i>N</i> -oxide (50/50)	7.7	1.1	1.1	1.5

T_1 値が大きく変化することが明らかになった。このことは、溶媒分子の運動が比較的遅く、セルロース分子と望ましい相互作用をしていることを示している。温度の上昇は分子運動を激化するので T_1 値を増大させる。C-6 の T_1 が理論値 (C-1 の T_1 の 1/2) と異なっていることは、 80°C ではヒドロキシメチル基が C-5~C-6 間の結合の回りに自由回転していることを示している。

次に (ii) の 16.5% のメチルアミンを含んだ DMSO 系では、低温でもセルロースを溶解することができる。しかし、溶液の粘度が高いため、 ^{13}C -NMR スペクトルはシグナルの分離はよいが巾広いピークを示す。

また (iii) のヒドラジンはセルロースの良溶媒であり、ヒドラジン (90%)-DMSO (10%) の溶媒中の ^{13}C -NMR スペクトルが測定された。その結果、ヒドラジンはセルロースと強い相互作用を示し、他の溶媒よりシグナルの分離が良く、特に C-2, 3 および 5 では著しく良いことが明らかになった。ヒドラジンはセルロースの OH-2 と OH-3 と反応していることを示している。

以上、(i)~(iii) の溶媒系での化学シフトから、セルロースはこれらの溶媒中では化学的に置換を受けておらず、(i)~(iii) の溶媒系はセルロースの真の溶媒といえる。

最後に (iv) のパラホルムアルデヒド-DMSO 系では、セルロースの C-2, C-3 および C-6 の 3 つの反応サイトが置換されたセルロース誘導体の特徴的な ^{13}C -NMR スペクトルが得られている。この置換反応は 3 つの反応サイトのうち主として C-6 におこるが、スペクトルの分解能が悪く、定量は行なわれていない。従って、この溶媒系はセルロースの真の溶媒とはいえないことがわかった。

以上の溶媒の他に水酸化ナトリウム溶液中での ^{13}C -NMR が測定されたが、シグナルの分離が悪くなく、特に C-2, 3 および 5 は悪い。このことはセルロースに対する水酸化ナトリウム溶液の貧溶媒性を示している。上記の各溶媒中での化学シフトを図20に示した。

また、C-1 および C-6 に ^{13}C が濃縮されたバクテリア起源のセルロースを用いて ^{13}C -H および ^{13}C - ^{13}C のスピン-スピン結合定数が測定された (表17)。C-2 と C-5 がおのおの C-1, C-6 とスピン-スピン結合することを利用して、C-2, 3 および 5 のシグナルを帰属することができる。

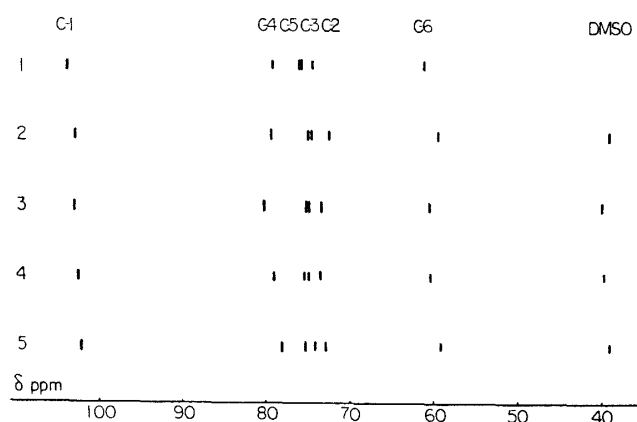


Fig. 20. Comparison of ¹³C-chemical shifts of cellulose in various solvents⁷⁰⁾.
 (1), Sodium hydroxide at 20°C; (2), DMSO-methylamine (85/15) at 20°C; (3),
 DMSO (oligomers) at 80°C; (4), DMSO-hydrazine (10/90) at 80°C.

Table 17. Coupling Constants (Hz) J_{13C-H} and $J_{13C-13C}$ Determined in
¹³C Enriched Cellulose in Various Solvents⁷⁰⁾

	<i>N</i> -methyl morpholine- <i>N</i> -oxide-DMSO (50/50)	Methylamine- DMSO (16.5/83.5)	Hydrazine- DMSO (90/10)
J_{C1-H1}	160	161.7	156
J_{C2-H2}	139		
J_{C3-H3}	141	139	
J_{C4-H4}	144	146	
J_{C6-H6}	140.4	140.4	139
J_{C1-C2}	48	45	50

5. 化学シフトの pH, 温度, および溶媒依存性

化学シフトの pH 依存性は, Dorman と Roberts⁴⁹⁾ によりはじめて検討された。遊離グルコースの化学シフトは 1 *N* 水酸化ナトリウム水溶液中でも中性の時とほとんど変化が認められず, 1.5 *N* 水酸化カリウム水溶液中でも β-アノマーがほとんど増加しなかった。また, メチル α- および β-D-グルコピラノシドにおいても, 1 *N* 水酸化ナトリウム水溶液中で 0.2 ppm の低磁場シフトが認められるにすぎなかった。その他のグルコシドやグルコース誘導体についてはまだ研究がなされていない。

化学シフトの温度依存性はセロビオースについて Heyraud 等³¹⁾により詳細に研究された。温度の上昇に伴い, セロビオースのすべてのシグナルは低磁場シフトすることが明らかになった (図21, 表18)。図から明らかなように, すべてのシグナルの化学シフトは直線の温度依存性を示し, 60°C 以上なら, 化学シフトの温度依存性の傾きは同一になる。この温度の効果は溶媒和の程度に依存するところが大きく, 分子のコ

Table 18. Temperature Dependence the ¹³C Chemical Shifts³¹⁾

Com- pound ^a	C-1'	C-1α	C-1β	C-2'	C-2α	C-2β	C-3'	C-3α	C-3β	C-4'	C-4α	C-4β	C-5'	C-5α	C-5β	C-6'	C-6α	C-6β
Maltose	—	0.0065	0.0078	0.0088	0.0087	0.0090	0.0095	0.0042	0.0049	0.0116	—	—	0.0076	0.0101	0.0093	0.0111	0.0111	0.0111
Cell- biose	0.046	0.0068	0.0072	0.0082	0.0085	0.0095	0.0104	0.0079	0.0082	0.0101	—	—	0.0067	0.0071	0.0061	0.0101	0.0129	0.0129

^a Δδ ppm are given in degrees.

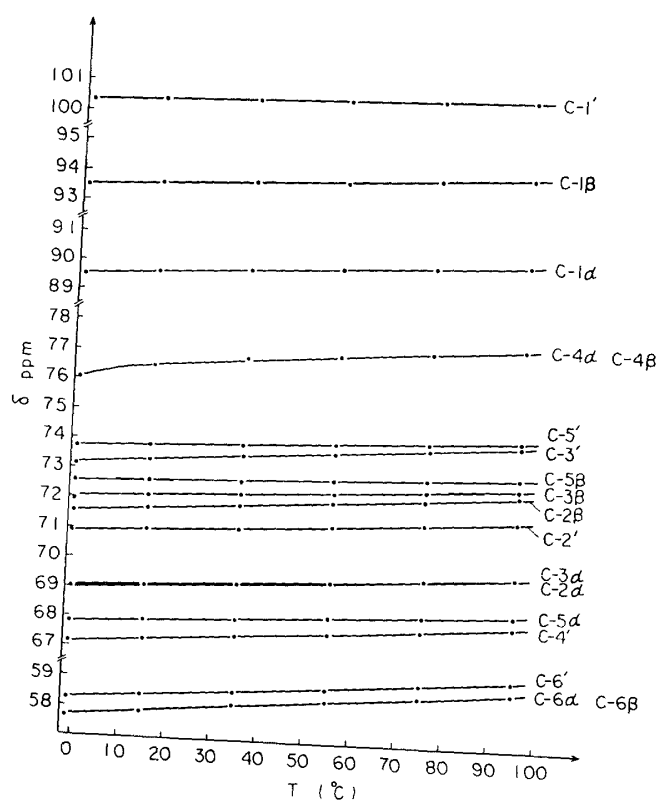


Fig. 21. Temperature dependence of ^{13}C -chemical shifts on cellobiose³¹⁾.

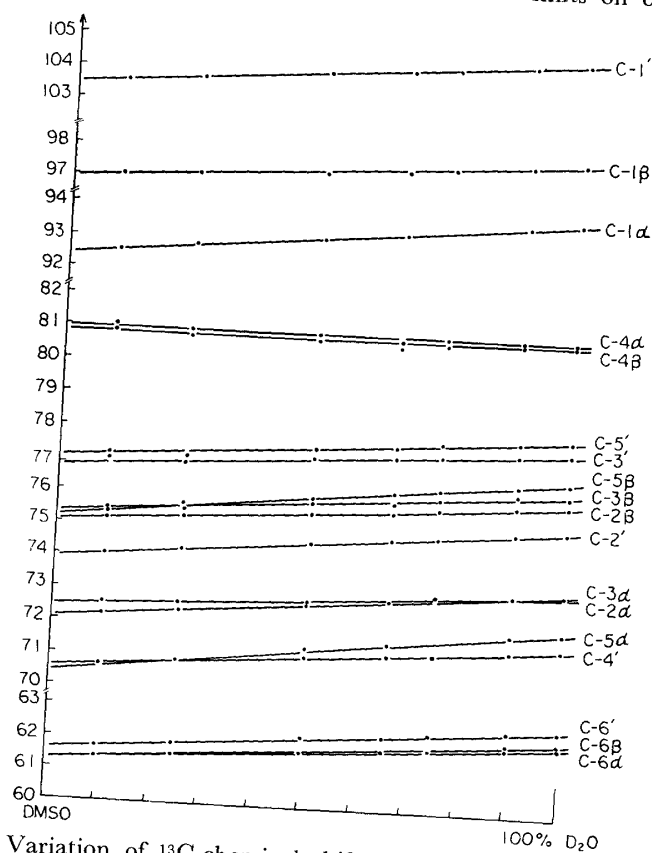


Fig. 22. Variation of ^{13}C -chemical shifts with solvent on cellobiose³¹⁾.

ンホメーションに依存することはあるにしても小さいと見積られた。また、温度が上昇するとシグナルの線巾が狭くなると期待され、高温で測定されることが多いが、カルボキシメチルセルロースの場合のように温度上昇の効果がほとんどない場合もある²⁸⁾ので注意を要する。

化学シフトの溶媒依存性はセロピオースについて上記同様 Heyraud 等³¹⁾によって検討された(図22)。DMSO から100%重水に移行していくに従い化学シフトは低磁場シフトする。還元末端グルコース残基の C-3' と C-5' の溶媒依存性の直線が交差する。N-メチルモルフォリン-N-オキシドと DMSO 系の溶媒で可溶化したセルロースの化学シフトも DMSO の含量に依存することが報告されている。また、カドキセン溶液中での β -D-グルコースおよびメチル β -D-グルコースの化学シフトやセルロースの ^{13}C -H および ^{13}C - ^{13}C のスピン-スピン結合定数⁷⁰⁾においても溶媒依存性が認められている。

現在、化学シフトやスピン-スピン結合定数の pH, 温度および溶媒依存性についての研究は十分に解明されたとはいえ、この方面の研究の発展が望まれる。今、発表された化学シフト間にかなり大きな差が認められる。それにもかかわらず、われわれが測定した化学シフトはこれまでに発表された化学シフトの変動の範囲内に入っており、帰属は困難ではなかった。しかし、この帰属は既知化合物について行なったものであり、未知化合物の化学シフトの帰属を正確に決定するには細心の注意を必要とし、特に 1 ppm 以下の化学シフト差を論じる場合は、pH, 温度や溶媒等の因子に十分注意を配る必要があると考えられる。

6. 固体高分解能 NMR

これまで、セルロース系糖質の ^{13}C -NMR について述べてきたが、本来セルロースは固体であり、植物体内ではヘミセルロースやリグニン等の他の成分との複合状態でこそ、その存在価値をもつ。従って、溶液状態で得られた結論をそのまま固体状態に帰納してよいか疑問である。この疑問点の解決法として固体高分解能 NMR が注目されている。固体の高分解能 NMR に関しては、これまでに優れた総説があり、測定原理や問題点について詳しく述べられている^{74~76)}。固体高分解能 NMR の測定法としては、マジック角度試料回転法、交差磁化法および多重パルス法の三種の方法が開発されており、前二者の方法が固体セル

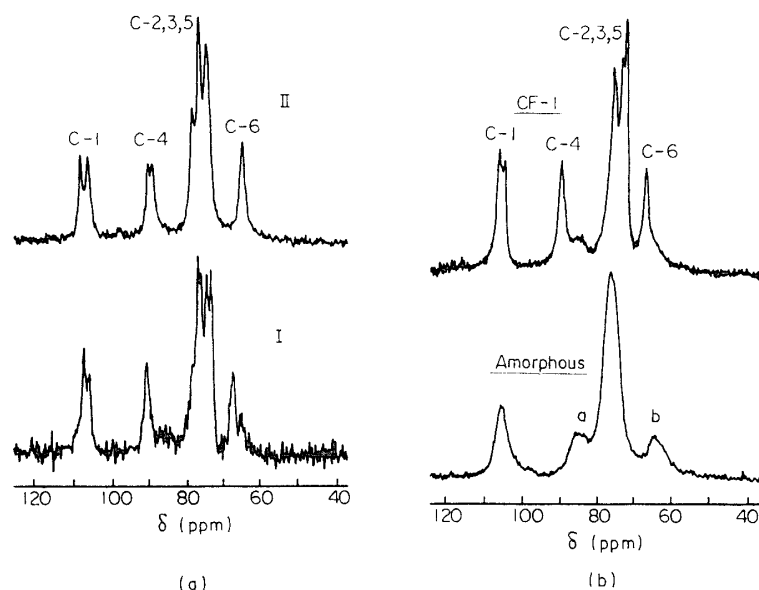


Fig. 23. Cross polarisation/magic angle spinning ^{13}C -NMR of cellulose⁷⁷⁾. (a)-I, Cellulose I; (a)-II, Cellulose II; (b)-CFI, Native Whatman CF-I; (b)-Amorphous, Amorphous cellulose.

ロースの NMR の測定に適用された。このセルロースの固体構造研究への ^{13}C -NMR の適用は、Atalla 等^{77,78)}と Earl と VanderHart⁷⁹⁾ の二つの研究グループにより全く独立に行なわれ、*J. Am. Chem. Soc.* 誌に同時に発表された。まず、Atalla 等の研究結果より述べる。セルロースの最もポピュラーな結晶形にはセルロース I とセルロース II があり、I は天然セルロースに認められ、II は天然セルロースをマーセル化したセルロースかあるいは天然セルロースをいったん溶解した後再生したセルロースに認められることが知られている。これに対して、彼らは 85%リン酸に溶解した重合度 60 のセルロースを 170°C でグリセリンで再生するとセルロース I、室温下で水で再生するとセルロース II が生成することを見出した。そこで、このようにして調製した二種のセルロースの試料を用いて固体高分解能 NMR が測定された (図 23-a)。II では C-1 および C-4 のシグナルが強度のほぼ等しい二つのピークに分裂している。これは、隣接するグリコシド結合が等価でなく、結晶中にあるセルビオース単位を基本的なくり返し単位として考えるべきであることを示している。一方 I では、C-1 のシグナルは二本に分裂しているが、C-4 にはこのようなシグナルの分裂は認められない。しかしながら、I にあっても、セルビオースを基本的なくり返し単位とすべきと彼らは提唱し、I と II のスペクトルの相違は両者の分子鎖コンホメーションの違いを反映していると考えられている。一方、非晶セルロースの場合には (図 23-b)、このようなシグナルの分裂は認められず、C-4 と C-6 のシグナルは巾広くなると同時に高磁場シフトしている。以上のスペクトルを比較検討した結果、結晶形 I の C-4 および C-6 の高磁場側の巾広いピークのすそ部分がそれぞれ非結晶状態の C-4 および C-6 に起因することが明らかにされた。ここで用いられたマジック角度試料回転法では、高分解能シグナルを覆いかくす核間の双極子-双極子相互作用や化学シフトの異方性が消失される。従って、この方法では回転の効果が著しくあらわれる。

一方、Earl と VanderHart による論文は、前述の Atalla の論文に引続いて掲載されている。彼らはセルロース I の固体試料として Whatman CF-I を用いてマジック角度試料回転法により ^{13}C -NMR を測定

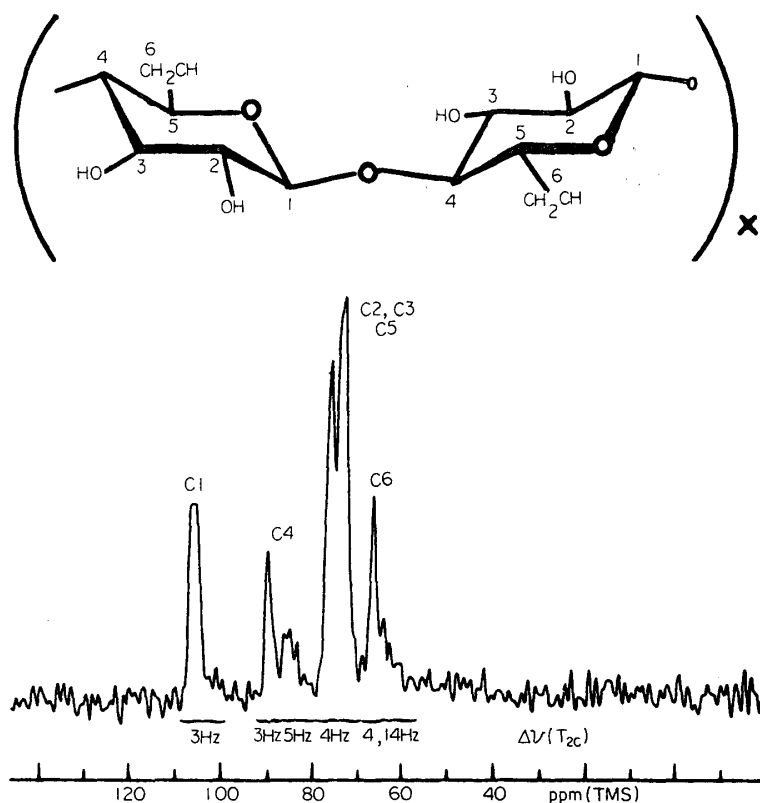


Fig. 24. Cross polarisation/magic angle spinning ^{13}C -NMR of microcrystalline cellulose I⁷⁹⁾.

した。図24にそのスペクトルを示す。彼らのスペクトルは Atalla 等と類似性を示したが、C-1 のシグナルの分裂は積算時間の短い場合を除いて認められなかった。しかし、C-4 の高磁場側の幅広いピークと C-6 の高磁場側のすそ部分が認められた。これらのシグナルは、試料を 140°C で40時間減圧乾燥しても変化が認められないので、水和によるのではないと考えられた。また、これらのピークの緩和時間は鋭いピークの C-4, C-6 に比較して短い。以上のことから、Whatman CF-I には運動性の異なる二種のグルコース残基が存在し、一方が結晶領域に他方が非結晶域かミセルストリングの外側の表面にそれぞれ存在すると考えられた。

7. お わ り に

1969年に測定を開始された糖質の ^{13}C -NMR は、わずかこの12年間にめざましい進歩をとげた。特に固体高分解能 NMR の出現により、セルロースないしその誘導体を固体状態のまま同定したり性質を明らかにすることが可能になった。セルロースは、化学的にはグルコースが $\beta(1\rightarrow4)$ 結合したホモポリマーであるにすぎないが、非常に複雑な系であり、今後セルロースの ^{13}C -NMR の分野のさらなる進歩が期待される。今回はセルロースをとりあげその ^{13}C -NMR についてまとめたが、その他の植物性多糖についても、順次まとめていき、植物性糖質における ^{13}C -NMR の研究の集大成をしたいと思っている。

文 献

- 1) 藤原鎮男, 石塚英弘: 化学の領域, **27**, 680-686 (1973)
- 2) 井上義夫: 化学の領域, **33**, 552-563 (1979)
- 3-a) G. KOTOWYCZ and R. U. LEMIEUX: *Chem. Rev.*, **73**, 669-698 (1973)
- 3-b) R. A. KOMOROSKI, I. R. PEAT and G. C. LEVY: *Top. Carbon-13 NMR Spectrosc.*, **2**, 179-267 (1976)
- 3-c) A. S. SHASHKOV and O. S. CHIZHOV: *Bioorg. Khim.*, **2**, 437-497 (1976)
- 3-d) H. J. JENNINGS and I. C. P. SMITH: *Methods Enzymol.*, **50**, Part C, 39-50 (1978)
- 3-e) P. A. J. GORIN: *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.*, **38**, 13-104 (1981)
- 4-a) 安藤 進: 新実験化学講座20, 生物化学II (丸善), 1169-1180 (1978)
- 4-b) 音谷 登, 吉沢善作: 生物化学実験講座4, 糖質の化学 (下) 東京化学同人, 422-433 (1976)
- 5) LEVY NELSON, 田中誠之ほか訳: 有機化学者のための炭素C-13, 核磁気共鳴, 現代化学シリーズ **55**, 157-158 (1973)
- 6) 竹内敬人, 石塚英弘: C-13 NMR 基礎と応用, 243-246 (1976)
- 7) 石塚英弘: 高分子の NMR (II) 機器による分析 (VI), 化学増刊66, 日本分析化学会, 高分子分析研究懇談会編, 203-206, 化学同人 (1975)
- 8) 生化学データブック [I], 生体物質の諸性質, 日本生化学会編, 東京化学同人, 678-682 (1979)
- 9) 斎藤 肇: 化学の領域, **29**, 697-708 (1975)
- 10) Table of Nuclear Properties, "Varian Product Information Bulletin" (1979)
- 11) L. D. HALL and L. F. JOHNSON: *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, 509-510 (1969)
- 12-a) D. E. DORMAN and J. D. ROBERTS: *J. Am. Chem. Soc.*, **92**, 1351-1354 (1970)
- 12-b) D. E. DORMAN and J. D. ROBERTS: *J. Am. Chem. Soc.*, **92**, 1355-1361 (1970)
- 13) H. J. KOCH and A. S. PERLIN: *Carbohydr. Res.*, **15**, 403-410 (1970)
- 14) A. S. PERLIN, B. CASU and H. J. KOCH: *Can. J. Chem.*, **48**, 2596-2606 (1970)
- 15-a) E. BREITMAIER, G. JUNG and W. VOELTER: *Chimia*, **25**, 362-364 (1971)
- 15-b) E. BREITMAIER, W. VOELTER, G. JUNG and C. TANZER: *Chem. Ber.*, **104**, 1147-1154 (1971)
- 16) W. VOELTER and E. BREITMAIER: *Angew. Chemie. Int. Ed.*, **10**, 935-936 (1971)
- 17) M. VINCENDON: *Bull. Soc. Chim. Fr.*, 3501-3511 (1973)
- 18) T. USUI, N. YAMAOKA, K. MATSUDA and K. TSUZUMURA: *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1*, 2524-2432 (1973)
- 19) W. VOELTER, V. BILIK and E. BREITMAIER: *Collect. Czech. Chem. Commun.*, **38**, 2054-2071 (1973)
- 20) K. BOCK, I. LUNDT and C. PEDERSEN: *Tetrahedron Lett.*, **13**, 1037-1040 (1973)

- 21) P. COLSON, H. J. JENNINGS and C. P. SMITH : *J. Am. Chem. Soc.*, **96**, 8081–8087 (1974)
- 22) P. A. J. GORIN and M. MAZUREK : *Can. J. Chem.*, **53**, 1212–1223 (1975)
- 23) T. E. WALKER, R. E. LONDON, T. W. WHALEY, R. BARKER and N. A. MATWIYOFF : *J. Am. Chem. Soc.*, **98**, 5807–5813 (1976)
- 24) P. COLSON and R. L. KING : *Carbohydr. Res.*, **47**, 1–13 (1976)
- 25-a) M. R. VIGNON and Ph. J. A. VOTTERO : *Tetrahedron Lett.*, **28**, 2445–2448 (1976)
- 25-b) M. R. VIGNON and Ph. J. A. VOTTERO : *Carbohydr. Res.*, **53**, 197–207 (1977)
- 26) H. FRIEBOLIN, N. FRANK, G. KEILICH and E. SIEFERT : *Makromol. Chem.*, **177**, 845–858 (1976)
- 27) S. J. PERKINS, L. N. JOHNSON, D. C. PHILLIPS and R. A. DWEK : *Carbohydr. Res.*, 19–34 (1977)
- 28) P. A. J. GORIN : *Can. J. Chem.*, **52**, 458–461 (1974)
- 29) S. HONDA, H. YUKI and K. TAKIURA : *Carbohydr. Res.*, **28**, 150–153 (1973)
- 30) P. E. PFEFFER, K. M. VALENTINE and F. W. PARRISH : *J. Am. Chem. Soc.*, **101**, 1265–1274 (1979)
- 31) A. HEYRAUD, M. RINANDO, M. VIGNON and M. VINCENDON : *Biopolymers*, **18**, 167–185 (1979)
- 32) K. ITANO, K. YAMASAKI, C. KIHARA and O. TANAKA : *Carbohydr. Res.*, **87**, 27–34 (1980)
- 33) R. KASAI, M. OKIHARA, J. ASAKAWA, K. MIZUTANI and O. TANAKA : *Tetrahedron*, **35**, 1427–1432 (1979)
- 34) A. D. BAIN, D. R. EATON, R. A. HUX and J. P. K. TONG : *Carbohydr. Res.*, **84**, 1–12 (1980)
- 35) J. AZUMA and T. KOSHIIJIMA : unpublished results
- 36) C. WILLIAMS and A. ALLERHAND : *Carbohydr. Res.*, **56**, 173–179 (1977)
- 37) S. J. ANGYAL and V. A. PICKLES : *Aust. J. Chem.*, **25**, 1695–1710 (1972)
- 38) R. G. S. RITCHIE, N. CYR, B. KORSCH, H. J. KOCH and A. S. PERLIN : *Can. J. Chem.*, **53**, 1424–1433 (1975)
- 39) N. YAMAOKA, T. USUI, K. MATSUDA, K. TSUZIMURA, H. SUGIYAMA and S. SETO : *Tetrahedron Lett.*, 2047–2048 (1971)
- 40) R. BURTON, L. D. HALL and P. R. STEINER : *Can. J. Chem.*, **49**, 588–593 (1971)
- 41) K. BOCK and C. PEDERSEN : *J. Chem. Soc. Perkin Trans. II*, 293–297 (1974)
- 42) S. SEO, Y. TOMITA, K. TORI and Y. YOSHIMURA : *J. Am. Chem. Soc.*, 3331–3339 (1978)
- 43) K. BOCK and C. PEDERSEN : *Carbohydr. Rev.*, **71**, 319–321 (1979)
- 44-a) 宇多村敏子, 小泉京子 : 薬雑誌, **100**, 307–312 (1980)
- 44-b) 宇多村敏子, 小泉京子 : 薬雑誌, **100**, 739–743 (1980)
- 45) J. HAVERKAMP, M. J. A. DE BIE and J. F. G. Vliegenthart : *Carbohydr. Res.*, **37**, 111–125 (1974)
- 46) P. COLSON, H. J. JENNINGS and I. C. SMITH : *J. Am. Chem. Soc.*, **96**, 8081–8087 (1974)
- 47) F. R. SEYMOUR : W. M. PASIKA (Ed.), *Carbon-13 NMR in Polymer-Science*, American Chemical Society, Washington, D.C., 27–51 (1979)
- 48) A. S. PERLIN and G. K. HAMER : W. M. PASIKA (Ed.), *Carbon-13 NMR in Polymer-Science*, American Chemical Society, Washington, D.C., 123–141 (1979)
- 49) D. E. DORMAN and J. D. ROBERTS : *J. Am. Chem. Soc.*, **93**, 4463–4472 (1971)
- 50) D. Y. GAGNAIRE, F. R. TARAVEL and M. R. VIGNON : *Carbohydr. Res.*, **51**, 157–168 (1976)
- 51) H. KOMURA, A. MATSUMOTO, Y. ISHIDO, K. KUSHIDA and K. AOKI : *Carbohydr. Res.*, **65**, 271–277 (1978)
- 52) B. CAPON, D. S. RYCROFT and J. W. THOMSON : *Carbohydr. Res.*, **70**, 145–149 (1979)
- 53) K. BOCK and C. PEDERSEN : *Acta Chem. Scand.*, **B29**, 258–264 (1975)
- 54) 宇多村敏子, 小泉京子 : 薬雑誌, **101**, 410–414 (1981)
- 55) A. S. SHASHKOV, A. F. SVIRIDOV, S. S. CHIZHOV and P. KOVÁČ : *Carbohydr. Res.*, **62**, 11–17 (1978)
- 56) A. S. PERLIN and B. CASU : *Tetrahedron Lett.*, 2921–2924 (1969)
- 57) A. S. PERLIN, N. CYR, R. G. R. RITCHIE and A. PARFONDRY : *Carbohydr. Res.*, **37**, C1–C4 (1974)
- 58) G. EXCOFFIER, D. Y. GAGNAIRE and R. TARAVEL : *Carbohydr. Res.*, **56**, 229–238 (1977)
- 59-a) N. CYR, G. K. HAMER and A. S. PERLIN : *Can. J. Chem.*, **56**, 297–301 (1978)
- 59-b) A. PARFONDRY and A. S. PERLIN : *Carbohydr. Res.*, **57**, 39–49 (1977)
- 60) J. A. SCHWARTZ and A. S. PERLIN : *Can. J. Chem.*, **50**, 3667–3676 (1972)
- 61) J. A. SCHWARTZ, N. CYR and A. S. PERLIN : *Can. J. Chem.*, **53**, 1872–1875 (1975)
- 62) K. BOCK and L. HALL : *Carbohydr. Res.*, **40**, C3–C5 (1975)

- 63) Y. INOUE and R. CHÛJOH : *Carbohydr. Res.*, **60**, 367-370 (1978)
- 64) L. D. HALL, G. A. MORRIS and S. SUKUMAR : *J. Am. Chem. Soc.*, **102**, 1745-1747 (1980)
- 65) J. C. GAST, R. H. ATALLA and R. D. MCKELVEY : *Carbohydr. Res.*, **84**, 137-146 (1980)
- 66) G. K. HAMER, F. BALZA, N. CYR and A. S. PERLIN : *Can. J. Chem.*, **56**, 3109-3116 (1978)
- 67) G. EXOFFIER, D. Y. GAGNAIRE and F. TRAVEL : *C.R. Acad. Sci.*, **284**, 389-390 (1977)
- 68) F. BALZA, N. CYR, G. HAMER and A. S. PERLIN : *Carbohydr. Res.*, **59**, C7-C11 (1977)
- 69) D. Y. GAGNAIRE and M. VINCENDON : *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **15**, 509-510 (1977)
- 70) D. GAGNAIRE, D. MANCIER and M. VINCENDON : *J. Polym. Sci. Polym. Chem. Ed.*, **18**, 13-25 (1980)
- 71) F. R. TARAVEL and PH. J. A. VOTTERO : *Tetrahedron Lett.*, 2341-2344 (1975)
- 72) J. R. DEMEMBER, L. D. TAYLOR, S. TRUMMER, L. E. RUBIN and C. K. CHIKLIS : *J. Applied Poly. Sci.*, **21**, 621-627 (1977)
- 73) D. GAGNAIRE and M. VINCENDON : *Bull. Soc. Chim. Fr.*, 479-482 (1977)
- 74) 寺尾武彦 : 化学の領域, **32**, 686-694 (1978)
- 75) 北丸竜三, 堀井文敬 : 高分子加工, **28**, 277-285 (1979)
- 76) 田中誠之, 寺尾武彦 : 高分子, **28**, 508-511 (1979)
- 77) R. H. ATALLA, J. C. GAST, D. W. SINDORF, V. J. BARTUSKA and G. E. MACIEL : *J. Am. Chem. Soc.*, **102**, 3249-3251 (1980)
- 78) R. H. ATALLA : The Ekman Days 1981, Vol.1, I:57~I:62, International Symposium on Wood and Pulp Chemistry, Stockholm, June 9-12 (1981)
- 79) W. L. EARL and D. L. VANDERHART : *J. Am. Chem. Soc.*, **102**, 3251-3252 (1980)