— 一般論文 —

アミノ酸のイオン化状態とNMRスペクトル^{*1}

(昭和39年12月22日受理)

中村 朝 郎†

21種類のアミノ酸とその塩の水溶液のNMRスペクトルを内部標準を用いて測定した。その結果、アルキル- α -アミノ酸の α -CHプロトンの化学シフトはカチオン形において3.95~4.4 ppm(内部標準DSSより低磁場側へ)、zwitterion形において3.5~3.9 ppm、アニオン形において3.0~3.4 ppmの範囲におさまることがわかった。これらの結果を用いて、遊離状態において α -アミノ- α , ω -ジカルボン酸は α -zwitterion形をとり、 α , ω -ジアミノ- α -カルボン酸では α , ω -zwitterion形をとることを明瞭に説明することができた。また、この実験条件では溶質濃度や共存無機塩濃度のスペクトルに対する影響はきわめてわずかであった。

1 緒 言

アミノ酸の水溶液における構造に関する知見を得るためにNMRスペクトルを用いることは有力な手段の一つであり、現在までも各方面にわたって研究が行なわれ、その結果が報告されている^{1)~7)}。

この報告では、アミノ酸のイオン化構造と α -プロトンの化学シフトの間に直接的な関係が見いだされたのでそれを述べる。同様なことは外部標準を用いてJardetzkyら⁸⁾によって研究され、結果が報告されているが、本実験では内部標準としてTiersら⁹⁾によって提唱されている2,2-ジメチル-2-シラペンタン-5-スルホン酸ナトリウム(DSS)を用いた。その結果はあとに示すように外部標準による実験結果とはかなり異なっている。

1.1 アミノ酸のzwitterion構造

α -アミノアルカン酸は水溶液中においても結晶中においてもzwitterion構造をとっていることは多くの研究によって今日では常識となっている。一般の中性アミノ酸では $pK_a(\text{COOH})$ は1.8~2.7, $pK_a(\text{NH}_3^+)$ は9.1~9.8の範囲におさまると報告されている⁹⁾。またEbert¹⁰⁾は、無荷電分子(R)とzwitterion(R $\pm$)の存在比とアミノ酸とそのエステルの解離定数から推定し、 $[\text{R}\pm]/[\text{R}] > 10^5$ と報告している。したがって遊離アミノ酸の水溶液においては溶質分子はほとんどすべてがzwitterionとして存在していると考えることができる。

1.2 アミノジカルボン酸とジアミノカルボン酸の解離構造

α -モノアミノ- α , ω -ジカルボン酸は α -zwitterion構造をとり、 α , ω -ジアミノ- α -カルボン酸は α , ω -zwitterion構造をとっているといわれているが、これらはいずれも関連化合物からの類

推であり、アミノ酸についての直接的な証明はされていない。X線結晶解析でこれらのもののzwitterion構造の研究が行なわれたものは、L-グルタミン酸の β -型¹¹⁾のみであり、この化合物については、 α , α -zwitterion構造をとっていることが直接的に証明されている。

本研究ではこれらアミノジカルボン酸やジアミノカルボン酸の解離状態を一般のアミノ酸の化学シフトの測定値をもとにして直接的に証明することを試みた。

2 実 験

NMRスペクトルの測定はVarian A 60 Analytical NMR Spectrometerを用い、27°Cで行なった。溶媒は主として水を用いたが、溶媒のシグナルのために測定が妨害されるものについては重水を用いた。

内部標準物質としては2,2-ジメチル-2-シラペンタン-5-スルホン酸ナトリウムをTiersらにしたがって合成し、試料溶液に1%(約0.05 mmol/ml)以下の濃度で溶解させて用いた。化学シフトは内部標準物質のSi-CH₃プロトンの共鳴位置を基準にとり、それより低磁場方向にppm単位であらわした。化学シフトの較正は60, 120 cpsのサイドバンドおよびテトラメチルシランとクロロホルムとのシフトの差436 cpsを用いて行なった。

初めに、試料濃度のスペクトルにおよぼす影響について調べるために、L-アラニンについて溶質濃度0.10, 1.00 mmol/mlの水溶液および飽和水溶液(約1.6 mmol/ml)の測定を行なった。結果を表1に示してある。さらに無機塩の共存するときのそれらの影響を調べるために、L-アラニン1.00 mmol/mlの溶液1 mlに、それぞれ塩化ナトリウム0.50, 1.00, 2.00 mmol、および臭化ナトリウム1.00 mmolを添加し、完全に溶解させたものについてスペクトルを測定した。それらの結果も表1に示してある。

一般のアミノ酸のスペクトルの測定の際の濃度は、溶質1 mmolを溶媒1 mlに溶解させて用いた。L-アスパラギン酸、L-グルタミン酸、DL- α -アミノアジピン酸などの α -アミノ- α , ω -ジカルボン酸などは遊離状態では水に対する溶解度が低いので、これらについては飽和重水溶液を用いて測定を行なった。

一般に、モノナトリウム塩、ジナトリウム塩の水溶液は、遊離形のアミノ酸1 mmolを1 mol/lまたは2 mol/lの水酸化ナトリウム水溶液1 mlに溶解させて、また塩酸塩水溶液は遊離形¹¹⁾ S. Hirokawa, *Acta Cryst.* **8**, 637(1955).

*1 この報告を“アミノ酸の水溶液におけるNMRスペクトル(第1報)”とする。

† Asao NAKAMURA 味の素株式会社中央研究所, 川崎市鈴木町

1) M. Sheinblatt, *J. Chem. Phys.* **36**, 3103(1962); **39**, 2005(1963).

2) F. A. Bovey, G. V. D. Tiers, *J. Am. Chem. Soc.* **81**, 2870(1959).

3) M. Takeda, O. Jardetzky, *J. Chem. Phys.* **26**, 1346(1957).

4) O. Jardetzky, C. D. Jardetzky, *J. Biol. Chem.* **233**, 383(1958).

5) S. Fujiwara, Y. Arata, N. Hayakawa, H. Momoi, *Bull. Chem. Soc. Japan* **35**, 1658(1962).

6) S. Fujiwara, Y. Arata, *ibid.* **36**, 578(1963).

7) K. G. Pachler, *Spectrochim. Acta* **19**, 2085(1963); **20**, 581(1964).

8) G. V. D. Tiers, R. I. Coon, *J. Org. Chem.* **26**, 2097(1961).

9) E. J. Cohn, J. T. Esdall, *Proteins, Amino Acids and Peptides as Ions and Dipolar Ions*, Reinhold, New York(1943).

10) L. Ebert, *Z. physik. Chem.* **121**, 385(1926).

ミノ酸 1mmol を 1mol/l の塩酸に溶解させてつくった。オルニチン、リジンなどの α, ω -ジアミノカルボン酸は、通常一塩酸塩または二塩酸塩として取り扱われている。これらは遊離形では結晶性が悪く、しかも空気中の炭酸ガスを吸収しやすい。そこでこれらについては一塩酸塩を用いて、一塩酸塩水溶液はそのまま水に溶解させ、二塩酸塩、遊離形およびナトリウム塩の水溶液は一塩酸塩 1mmol を、それぞれ 1mol/l の塩酸、1mol/l の水酸化ナトリウム溶液、2mol/l の水酸化ナトリウム溶液各 1ml に溶解させたものを用いた。したがってこれらでは試料溶液中に塩化ナトリウムが混在していることになる。

スペクトルの帰属は、すべて直接的に決定できるものについてのみ定め、プロリンの 3,4-位、オルニチンの 3,4-位などについては対象外とした。また ABC 型のスペクトルを示すものについては、可能なかぎり ABX 型の近似で取り扱い、化学シフトの値を求めた。21 種類のアミノ酸についての化学シフトの実測値を表 2 に示す。

3 結果と考察

外部標準を用いたアミノ酸の NMR スペクトルでは、イオン強度により化学シフトがかなりの影響を受けることが報告されている。そこで、まずこの点を検討する目的で、L-アラニンについて溶質濃度および共存無機塩類濃度の NMR スペクトルに対する影響を検討した。結果は表 1 に示すように、内部標準を用いた測定では、アラニンの場合溶質の濃度が 0.1mmol/ml から飽和溶液(約 1.6mmol/ml)までの濃度変化に対しても実験誤差程度の影響しか示さないことから、濃度効果はきわめて小さいといえることができる。共存する塩類の濃度効果についても表 1 からわかるように、きわめて小さいと見なすことができる。

表 1 L-アラニンの NMR スペクトルにおける濃度効果および塩類効果

L-アラニン濃度 (mol/l)	塩類濃度 (mol/l)	δ_{CH_3} (ppm)	δ_{CH} (ppm)	$J_{\alpha\beta}$ (cps)
0.1	0	1.46	3.81	7.2
1.0	0	1.46	3.80	7.2
飽和溶液(約 1.6)	0	1.46	3.80	7.2
1.0	NaCl 0.5	1.47	3.81	7.2
1.0	" 1.0	1.47	3.82	7.2
1.0	" 2.0	1.46	3.83	7.2
1.0	NaBr 1.0	1.47	3.80	7.2

以上のことから、溶質濃度や塩類の共存についてはそれほど厳密である必要がないことが確かめられたので、一般の測定においては、溶質 1mmol を溶媒 1ml に溶解させることにより試料を作成した。また、オルニチンやリジンの遊離形およびナトリウム塩の試料に塩化ナトリウムが共存していることも、実質的には問題にならないと考えられる。

表 1, 表 2 の結果は、Jardetzky らの報告⁹⁾とはかなり異なっているが、内部標準を用いた結果を外部標準を用いた結果と比較することは疑問がある。濃度効果や塩類効果が問題にならない本報告の結果を用いることによって、アミノ酸のイオン化状態と化学シフトの対応についての考察を進めることが容易になる。

3.1 α -CH プロトンの化学シフト

α -アミノアルカン酸について、イオン化状態と α -CH プロト

表 2 アミノ酸の水溶液における各 CH プロトンの化学シフト
(ppm 単位, 内部標準: 2,2-ジメチル-2-シラペンタン-5-スルホン酸ナトリウム)

		ナトリウム塩	遊離形	塩酸塩
グリシン	α -CH ₂	3.24	3.58	3.90
L-アラニン	α -CH	3.35	3.80	4.16
	β -CH ₃	1.21	1.46	1.56
L- α -アミノ-n-酪酸	α -CH	3.22	3.72	4.06
	β -CH ₂	~1.53	~1.82	~1.95
	γ -CH ₃	~0.86	~0.96	~1.04
L-バリン	α -CH	3.04	3.61	3.99
	β -CH	1.67	2.20	2.30
	γ -CH ₃	0.90	1.01	1.06
	γ' -CH ₃	0.83	0.96	1.04
L-ロイシン	α -CH	3.29	3.68	4.04
L-イソロイシン	α -CH	3.16	—	4.06
	γ -CH ₃	0.89	—	1.03
D-アロイソロイシン	α -CH	3.30	—	4.11
	γ -CH ₃	0.79	—	1.00
L-メチオニン	α -CH	3.31	3.82	4.19
	S-CH ₃	2.10	2.17	2.12
L-トレオニン	α -CH	3.08	3.59	4.04
	β -CH	3.92	4.26	4.45
	γ -CH ₃	1.18	1.30	1.36
L-アロトレオニン	α -CH	3.33	3.83	4.16
	β -CH	4.01	4.37	4.41
	γ -CH ₃	1.10	1.19	1.31
L-フェニルアラニン	α -CH	3.60	4.00	4.35
	フェニル	7.33	7.33	7.38
L-ヒスチジン	α -CH	3.55	3.88	4.11
	芳香環	~6.90	~7.00	~7.42
	"	~7.65	~7.68	~8.68
L-プロリン	α -CH	3.45	4.11	4.54
	5-CH ₂	~2.83	~3.35	~3.50
L-ピロリドンカルボン酸	α -CH	3.77	4.10	(4.15) ^{d)}

		ナトリウム塩	遊離形	一塩酸塩	二塩酸塩
L-オルニチン	α -CH	3.23	3.33	3.78	4.12
	δ -CH ₂	~2.67	~2.92	~3.03	~3.07
L-リジン	α -CH	3.18	3.30	3.73	4.07
	ϵ -CH ₂	~2.55	~2.88	~3.00	~3.00

		二ナトリウム塩	一ナトリウム塩	遊離形	塩酸塩
L-アスパラギン酸	α -CH	3.58	3.85	4.04	4.39
	β -CH	2.61	2.77	2.98	3.13
	β' -CH	2.32	2.63	2.78	3.13
L-グルタミン酸	α -CH	3.24	3.75	3.82	4.16
	β -CH ₂	~1.9	~2.1	~2.17	~2.28
	γ -CH ₃	~2.17	~2.25	~2.47	~2.57
DL- α -アミノ- α -ピピン酸	α -CH	3.23	3.74	3.79	4.13
	δ -CH ₂	~2.15	~2.20	~2.40	~2.45
DL-システイン酸	α -CH	3.74	4.14	4.50	(4.53) ^{d)}
	β -CH	3.33	3.46	3.74	(3.63)
	β' -CH	3.00	3.27	3.47	(3.52)
DL-ホモシステイン酸	α -CH	3.33	3.88	4.20	(4.28) ^{d)}
	β -CH ₂	~2.0	~2.33	~2.43	(~2.43)
	γ -CH ₂	~2.93	~3.05	~3.10	(~3.12)

注 a) 等モル塩酸溶液。

ンの化学シフトの実測値との相関関係については、図 1 に示すようにきわめて大きいことがわかる。この図からわかるように、一般のアミノ酸ではイオン化状態と α -CH プロトンの化学シフトとは顕著に対応が付き、アルキル基の影響はあまり大きくないことがわかる。 α -CH プロトンの化学シフトは、 α -カチオン形では 3.95~4.4 ppm、 α -zwitterion 形では 3.5~3.9 ppm、 α -ア

1: L-アラニン, 2: アミノ-*n*-酪酸, 3: L-バリン, 4: L-ロイシン, 5: L-メチオニン, 6: L-トレオニン, 7: L-アロトレオニン, 8: L-オルニチン, 9: L-リジン, 10: L-グルタミン酸, 11: DL- α -アミノアジピン酸, 12: DL-ホモシステイン酸

図1 α -アミノ酸の解離構造と α -CH プロトンの化学シフト

ニオン形では 3.0~3.4 ppm の範囲におさまる。さらに各アミノ酸について zwitterion 形を基準にとると、 α -CH プロトンの化学シフトは、アニオン形でおおよそ 0.5 ppm 高磁場側に、カチオン形ではおおよそ 0.3 ppm 低磁場側にシフトしている。例外としては β -位にアニオン性置換基をもつアスパラギン酸、システイン酸、システインなど、および β -位に芳香環をもつフェニルアラニン、トリプトファン、ヒスチジンなどがあり、これらにおいては β -位の置換基の影響が α -CH プロトンにおよぶことを考えればむしろ当然とも考えられる。

このように、一般に α -CH プロトンの化学シフトとイオン化状態の対応関係が見いだされたので、この観点から種々なイオン化状態における α -アミノ- α,ω -ジカルボン酸(グルタミン酸など)や、 α,ω -ジアミノカルボン酸(リジンなど)の α -CH プロトンの化学シフトを考察することにより、それぞれのイオン化状態におけるイオン形についてかなり直接的な裏づけを得ることができた。なお、アスパラギン酸、 α,β -ジアミノプロピオン酸およびそれらの関連物質については、分子内部回転との関係により複雑になるので、それらについての考察は省略した。

3.2 α -アミノ- α,ω -ジカルボン酸

グルタミン酸では α -CH プロトンの化学シフトは、表 2 および図 1 からわかるように、塩酸塩では 4.12 ppm、遊離形では 3.78 ppm、モノナトリウム塩では 3.72 ppm、ジナトリウム塩では 3.21 ppm となり、他のアルキル- α -アミノ酸の化学シフトの値と比較することにより、塩酸塩が α -カチオン、遊離形およびモノナトリウム塩が α -zwitterion、ジナトリウム塩が α -アニオンに相当することがわかる。一方、 γ -プロトンの化学シフトの差は塩酸塩と遊離形、およびモノナトリウム塩とジナトリウム塩の間では、それぞれ 0.08, 0.10 ppm と小さい。遊離形とモノナトリウム塩の間では α -CH プロトンの化学シフトの差はわずか 0.06 ppm である。一方、 γ -CH₂ プロトンの化学シフトの差は 0.22 ppm とかなり大きい。したがって、この段階で γ -カルボキシル基がイオン化していることがよくわかる。以上からグル

タミン酸のイオン化状態は、塩酸塩でカチオン、遊離形で α -zwitterion、モノナトリウム塩では、 α -zwitterion- γ -アニオン、ジナトリウム塩では α,γ -ジアニオンであることがきわめてよく理解される。

グルタミン酸より炭素鎖の一つ長い α -アミノアジピン酸の場合も、本質的にはグルタミン酸とまったく同様である。 α -CH プロトンの化学シフトは、塩酸塩、遊離形、モノナトリウム塩、ジナトリウム塩のそれぞれについて 4.13, 3.79, 3.74, 3.23 ppm となること、 δ -CH₂ プロトンの化学シフトが遊離形とモノナトリウム塩とで 0.20 ppm と大きい差があり、塩酸塩と遊離形の間、およびモノナトリウム塩とジナトリウム塩の間に 0.05 ppm と差が小さいこと、などはいずれも塩酸塩でカチオン、遊離形で α -zwitterion、モノナトリウム塩で α -zwitterion- δ -アニオン、ジナトリウム塩で、 α,δ -ジアニオンであることを示している。

つぎに類似化合物である DL-ホモシステイン酸について考察する。表 2 から α -CH プロトンの化学シフトは等モルの塩酸を含む水溶液中で 4.28 ppm、

遊離形で 4.20 ppm、モノナトリウム塩で 3.88 ppm、ジナトリウム塩で 3.33 ppm となり、遊離形からモノナトリウム塩、ジナトリウム塩と進むにつれてそれぞれ 0.32, 0.55 ppm 高磁場側へシフトする。この化学シフトの値、およびイオン化状態の変化による α -CH プロトンのシフトの大きさはいずれも遊離形が α -カチオン、モノナトリウム塩が α -zwitterion、ジナトリウム塩が α -アニオンとしてきわめてよく説明できる。一方、 γ -CH₂ プロトンの化学シフトは、等モル塩酸溶液中、遊離形、モノナトリウム塩、ジナトリウム塩のそれぞれについて、3.12, 3.10, 3.05, 2.93 ppm と変化は小さく、すべての場合について、SO₃⁻ 基はイオン化していると考えなければ説明できない。このように、等モルの塩酸の存在下でも SO₃⁻ 基がイオン化していることは、この物質が通常の条件下で塩酸塩をつくらないことを示しているが、事実この化合物が塩酸性水溶液から遊離のホモシステイン酸の結晶を析出するという化学的事実ともよく一致し、さらにこの化合物が水溶液中で α,γ -zwitterion 形で存在することの証拠にもなる。

3.3 α,ω -ジアミノ- α -カルボン酸

オルニチンの α -CH プロトンの化学シフトは表 2 および図 1 からわかるように、二塩酸塩で 4.12 ppm、一塩酸塩で 3.78 ppm、遊離形で 3.33 ppm、ナトリウム塩で 3.23 ppm となり、他のアミノ酸の α -CH プロトンの化学シフトと比較することにより、 α -置換基のイオン化状態は二塩酸塩がカチオン、一塩酸塩が α -zwitterion、遊離形およびナトリウム塩がアニオンであることが理解される。遊離形とナトリウム塩の δ -CH₂ プロトンの化学シフトは、それぞれ 2.92, 2.67 ppm で、この差の 0.25 ppm は δ -CH₂ プロトンの化学シフトの二塩酸塩(3.07 ppm)と一塩酸塩(3.03 ppm)との差 0.04 ppm や一塩酸塩と遊離形(2.92 ppm)との差 0.11 ppm にくらべてかなり大きい。これより、少なくとも第一近似では遊離形からナトリウム塩に変化する段階で δ -NH₃⁺ が NH₂ にかかわると考えることができる。これらのことはすべてリジンについても同様である。

以上からオルニチン, リジンはいずれも遊離形として存在しているときは, 主として α, ω -zwitterion 形 $\text{NH}_3^+(\text{CH}_2)_n\text{CH}(\text{NH}_2)\text{COO}^-$ の形で存在していると結論することができよう。

α -アミノ- α, ω -ジカルボン酸や α, ω -ジアミノ- α -カルボン酸の場合, イオン化状態の変化する基に対して α -位に存在する炭素原子と結合しているプロトン (α -位のカルボキシル基やアミノ基のイオン化状態が変化するときの $\alpha\text{-CH}_2$ プロトン, または ω -位のカルボキシル基やミノ基のイオン化状態が変化するときの $\omega\text{-CN}_2$ プロトン) の化学シフトは, それらの基のイオン化によりもちろんいじわるしく影響をうけるが, イオン化状態の変化する基に対して ω -位に存在する炭素原子と結合しているプロトン (α -位のカルボキシル基やアミノ基のイオン化状態が変化するときの $\omega\text{-CH}_2$ プロトン, または ω -位のカルボキシル基やアミノ基のイオン化状態が変化するときの $\alpha\text{-CH}_2$ プロトン) の化学シフトもイオン化の影響をある程度受けていることが認められる。この原因としては, (1) 置換基のイオン化の影響が炭素鎖を通して, または空間的に ω -位におよんでいること, (2) 解離平衡により, α -位の置換基と ω -位の置換基とが, それぞれ部分的にイオン化していることなどが考えられる。いずれの寄与が大きいかわについては明らかではないが, きわめて定性的に考察すると, グルタミン酸と α -アミノアジピン酸との比較では, イオン化状態の変化する基に対して ω -位の炭素に結合しているプロトンの化学シフトの変化は, 後者における方がつねに小さく, 原因(1)がかなり寄与していると考えられる。一方, オルニチンとリジンとの比較では, この影響はほとんど同程度である。

グルタミン酸と α -アミノアジピン酸とは, 両端のカルボキシル基またはアミノ基の間が, それぞれ C_3 , C_4 の炭素鎖でへだてられているのに対し, オルニチンとリジンでは, 両端の基の間がそれぞれ C_4 , C_5 の炭素鎖でへだてられていて, 距離的に前者の組の方が後者の組にくらべて α -位と ω -位が近いために, イオン化の影響が ω -位におよびやすいことが考えられる。

解離平衡については, オルニチンの $pK_a(\text{NH}_3^+)$ の二つの値が, 8.95, 10.53 であり, これをそれぞれ $\alpha\text{-NH}_3^+$ および $\epsilon\text{-NH}_3^+$ の pK_a 値であるとすれば, その差が 1.58 であることから, $\epsilon\text{-NH}_3^+$ と $\alpha\text{-NH}_3^+$ のイオン化の割合は約 14:1 となる。 NH_3^+ より $\alpha\text{-CH}$ のプロトンと NH_2 より $\alpha\text{-CH}$ のプロトンとの化学シフトの差を 0.5 ppm と見積れば, 1/15 だけが NH_2 となりあとが NH_3^+ のときと, すべてが NH_3^+ のときとの $\alpha\text{-CH}$

プロトンの化学シフトの差は 0.03 ppm 程度となり, イオン化する基に対する $\omega\text{-CH}_2$ プロトンの化学シフトのかんりの部分を説明することができる。しかし, リジンについても同程度の大きさの $\omega\text{-CH}$ プロトンのシフトが認められ, 二つの $pK_a(\text{NH}_3^+)$ の値 8.95, 10.76 から推定されるシフトの大きさよりはいじわるしく大きくなる。このようなことから, イオン化状態の変わる基に対して $\omega\text{-CH}_2$ プロトンの化学シフトの原因は他にあると考えざるを得ない。

3.4 プロリンと 2-ピロリドン-5-カルボン酸

プロリンは α -イミノ酸であり, 2-ピロリドン-5-カルボン酸はアミド酸であることから, 遊離形の水溶液では前者は zwitterion として存在し, 後者は非イオン化状態で存在すると考えられる。プロリンでは, $\alpha\text{-CH}$ プロトンの化学シフトは塩酸塩で 4.54 ppm, 遊離形で 4.11 ppm, ナトリウム塩で 3.45 ppm と一般の α -アミノアルキルカルボン酸の $\alpha\text{-CH}$ プロトンとくらべればイオン化状態の変化による化学シフトの変化は大きい, おおよそ平行関係にあり, 塩酸塩でカチオン, 遊離形で zwitterion, ナトリウム塩でアニオンであることを示している。5-位の CH_2 プロトンの化学シフトが塩酸塩で 3.50 ppm, 遊離形で 3.35 ppm と差が小さく, ナトリウム塩で 2.83 ppm と大きく高磁場側にシフトすることも遊離形でイミノ基にプロトンが付加していることをよく示している。

一方, ピロリドンカルボン酸では, $\alpha\text{-CH}$ プロトンの化学シフトは 1 mol/l 濃度の塩酸水溶液中 (4.15 ppm) と遊離状態 (4.10 ppm) とで差がきわめて小さく, ナトリウム塩 (3.77 ppm) ではいじわるしく高磁場側へシフトすることから, この化合物は塩酸塩をつくらず, カルボキシル基は遊離形で COOH , ナトリウム塩で COO^- となっていることを示し, zwitterion 形をとらないという化学的常識とよく一致した結果が得られた。

この研究にあたって終始御懇篤な御指導を賜った東京大学薬学部教授坪井正道博士, 味の素中央研究所長大枝春臣博士に厚く御礼申上げる。また, 測定に協力下さった当研究所石原敏子氏に謝意を表する。