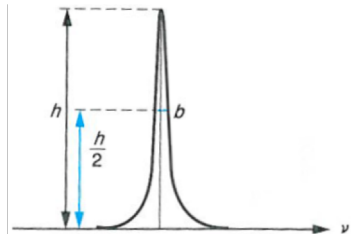


シグナルの線幅

NMRシグナルの形と線幅

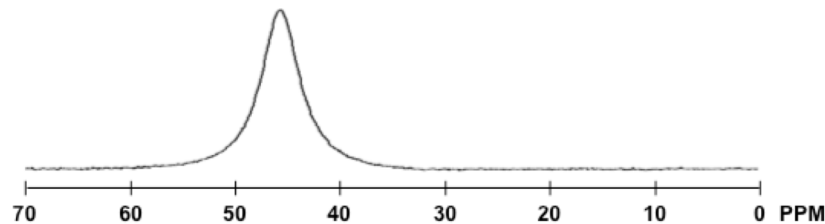


h : 高さ
h/2 : 高さが半分の線
b :

線幅が太くなる原因

- ・四極子核or常磁性化合物の存在
- ・短い横緩和時間 T_2
- ・分子内および分子間でのH交換

例： ^{11}B 核($I = 3/2$)のNMRシグナル



普通のパイレックスガラスの材料である
ホウケイ酸ガラスにはホウ素が含まれるため
 ^{11}B NMR測定にはホウ素を含まない石英NMR管を使う

^1H NMRスペクトルなのに線幅が広い・・・

→サンプルの不均一性により磁場環境が乱れ、横緩和時間が短くなる

(1) サンプルを溶かしすぎていないか？

^{13}C NMRスペクトルを測定するために濃い溶液を作ると粘度が上がる

(2) 溶液中に沈殿などの固体が分散していないか？

→同上

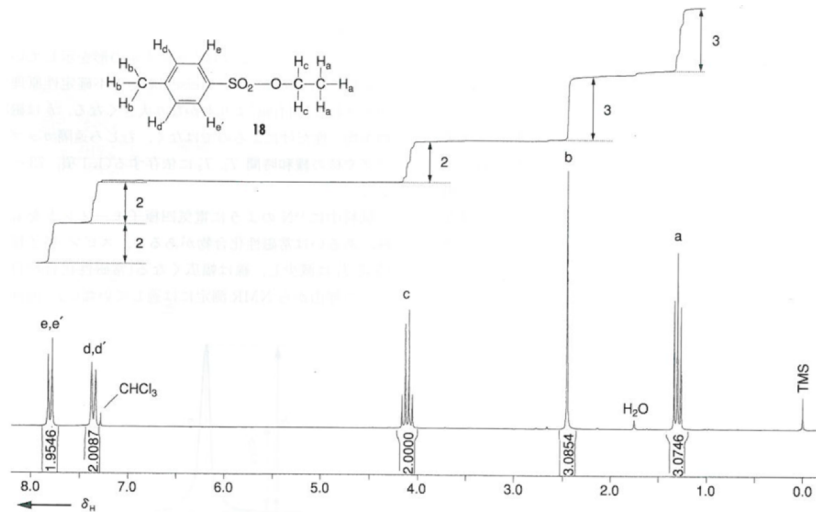
(3) 溶媒の量が少なすぎたり多すぎたりしないか？

→同上

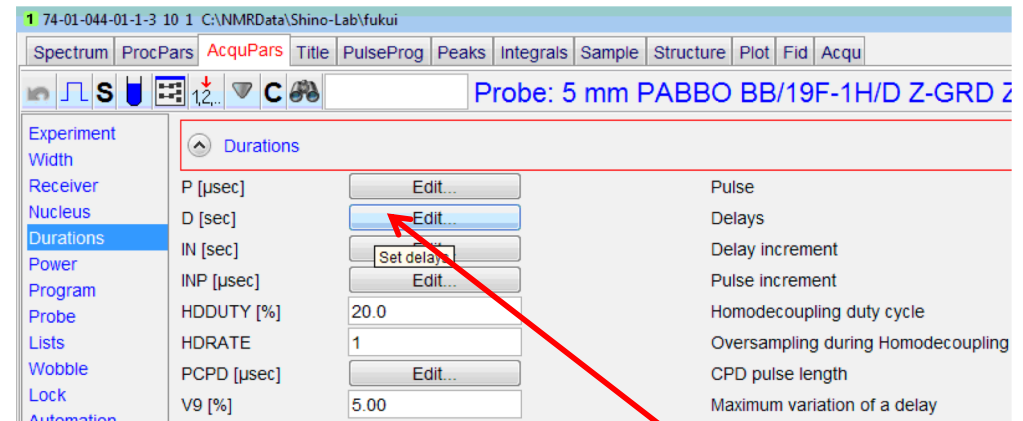
シグナルの強度

NMRシグナルの強度:

吸収曲線の面積(=積分強度)は測定している ^1H 核の数に比例する



TopSpin測定パラメータ画面



ここをクリック

※通常の ^{13}C NMRでは

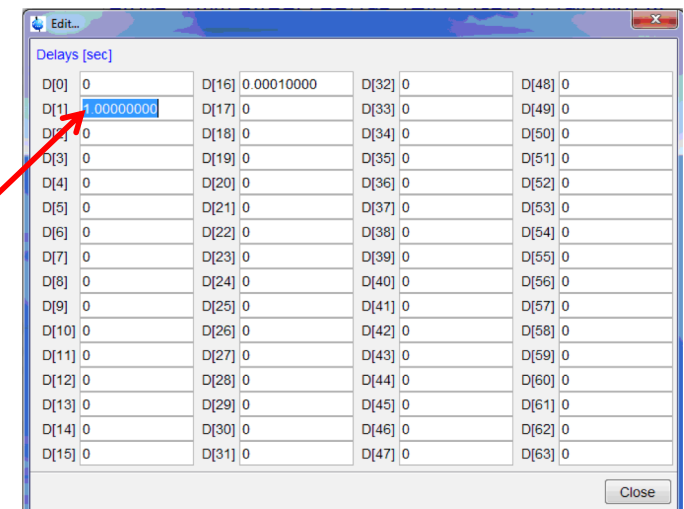
→それぞれの核ごとの緩和時間が大幅に異なるため
(一般に4級炭素の縦緩和時間は長く、積分が小さく観測される)
NOE(核オーバーハウザー効果)により
Hが結合している炭素のシグナルが増強されるため
サンプルはきれいなはずなのに ^1H NMRの積分が合わない...

(1)

→baselineに見えるところも積分をとれ
→他の核とカップリングしてbroadeningしている可能性を疑え

(2)

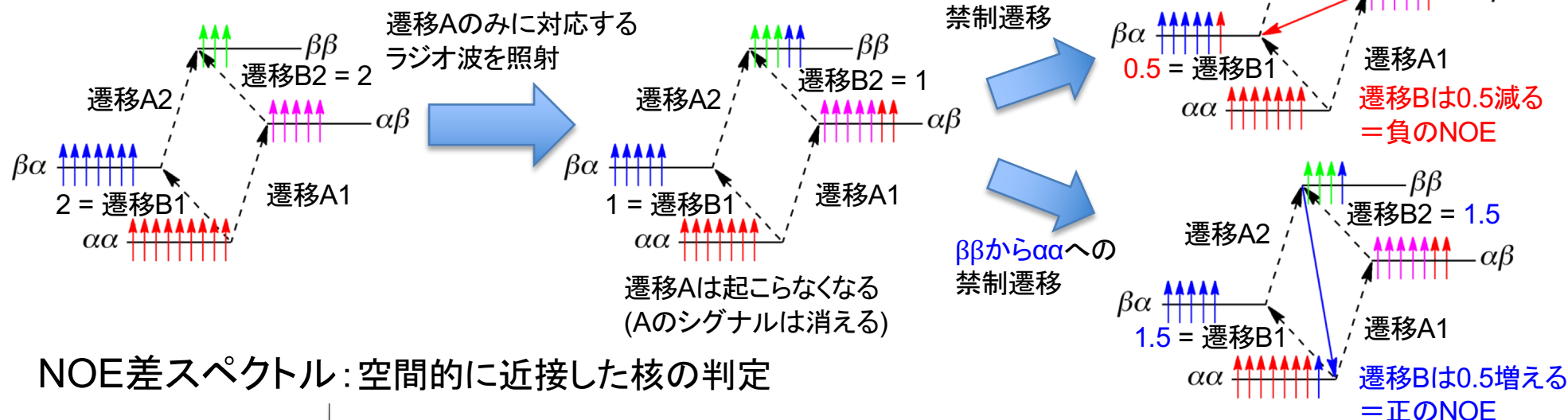
→ここのD[1]を増やして測定し直す(単位は秒)
JEOLならrelaxation_delayを増やす



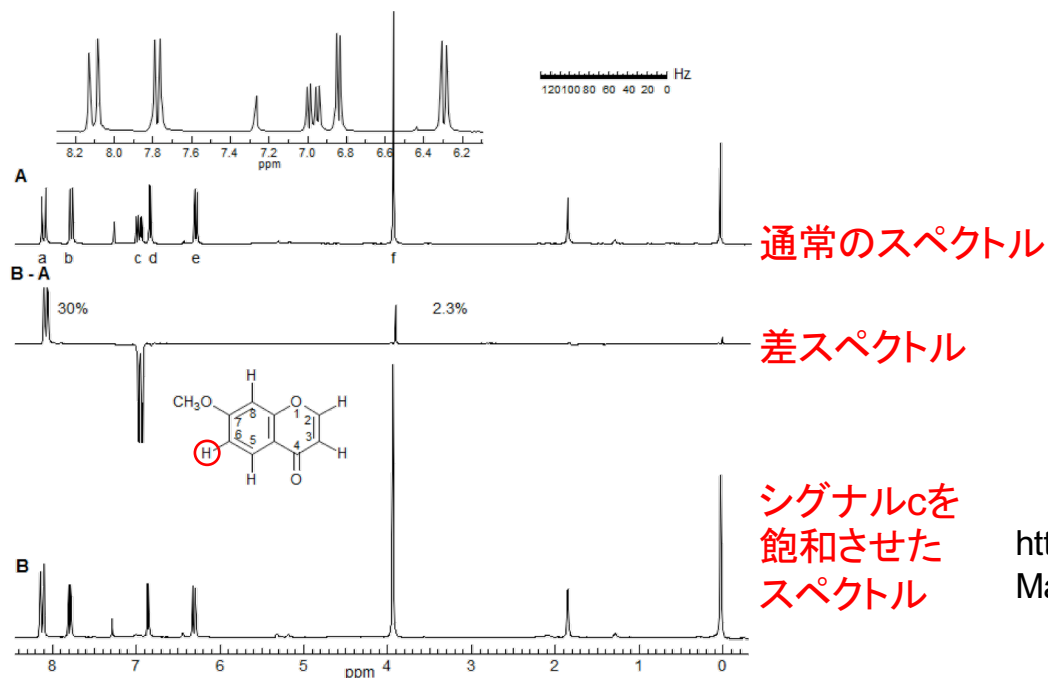
NOE (nuclear Overhauser effect): 核オーバーハウザー効果

シグナルの飽和とnOe

これらの禁制遷移は
双極子-双極子緩和なので
距離の6乗に反比例して減少
=空間的に近くの核に対して影響



NOE差スペクトル: 空間的に近接した核の判定

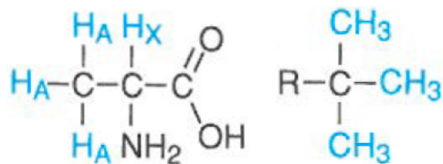


<http://www.chem.wisc.edu/areas/reich/nmr/08-tech-02-noe.htm>
Magn. Res. Chem. 1985, 23, 90.

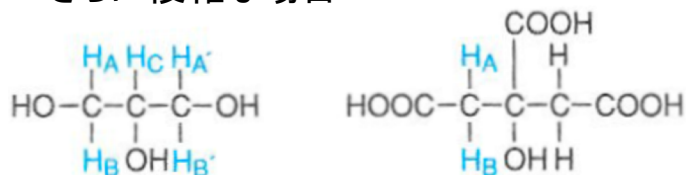
交換過程と等価性：分子内位置交換過程

同じ炭素上の水素の位置交換

回転により互いが重なる水素HAは
化学的に等価である



さらに複雑な場合

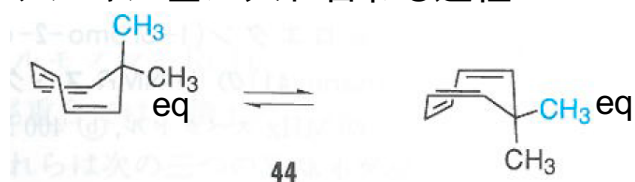


AA'BB'C系

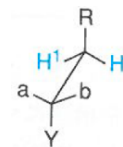
AB系

異なる炭素上の水素の位置交換

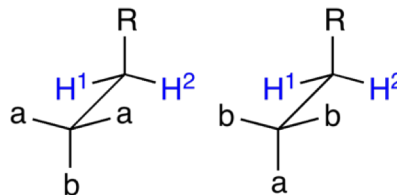
配座の変化により分子内で
アルキル基が入れ替わる過程



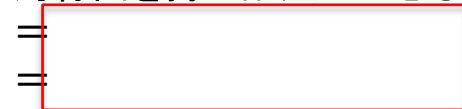
メチレン基の場合は少し複雑
(右の化合物を考える)



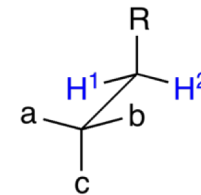
case 1: $Y = a$ or $Y = b$



手前の炭素の回転で
対称面を持つ配座ができる



case 2: $Y \neq a, b$



手前の炭素をどう回転しても
対称面は生成しない

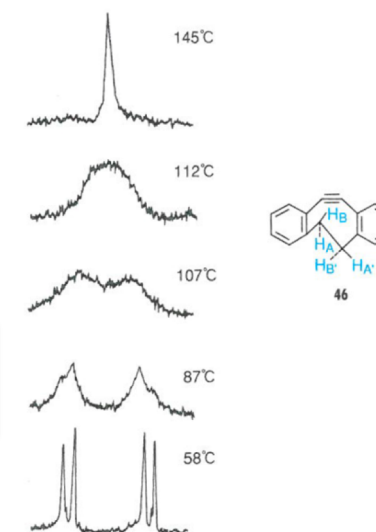
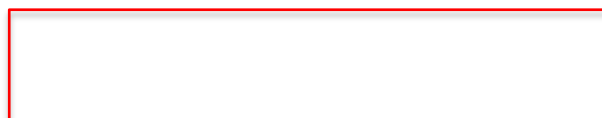


(=互いにカップリングする)

※エナントトピック水素も
キラルな溶媒に溶かすと
非等価になることあり

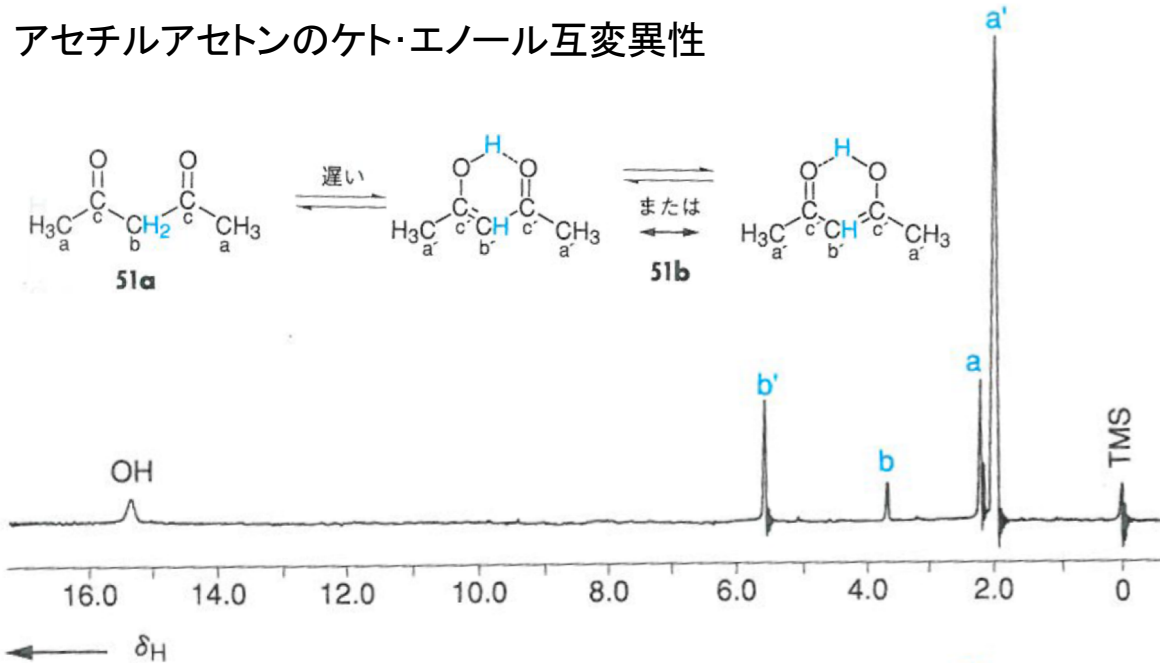
※キラルまたはプロキラルな基の存在は
メチレン基の2個の水素を
ジアステレオトピック(非等価)にする

配座の変化により分子内で
アルキル基が入れ替わる過程
右の例ではHAとHBが入れ替わる



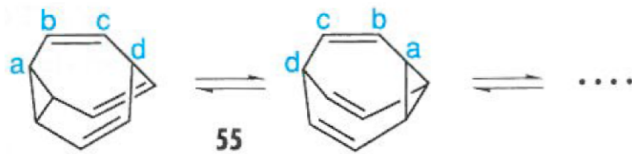
交換過程と等価性：化学的交換過程

アセチルアセトンのケト・エノール互変異性

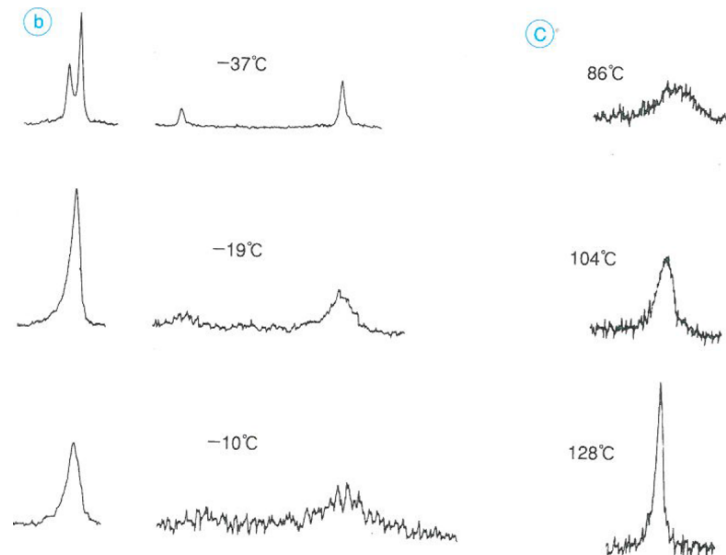
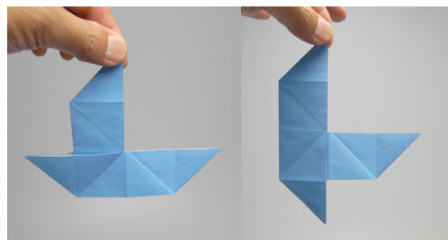


室温ではケト形とエノール形の両方が別々に観測されるが

ブルバレンの原子価互変異性

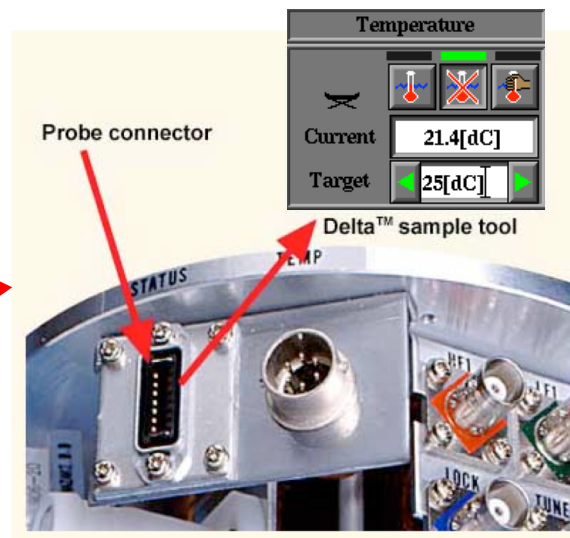
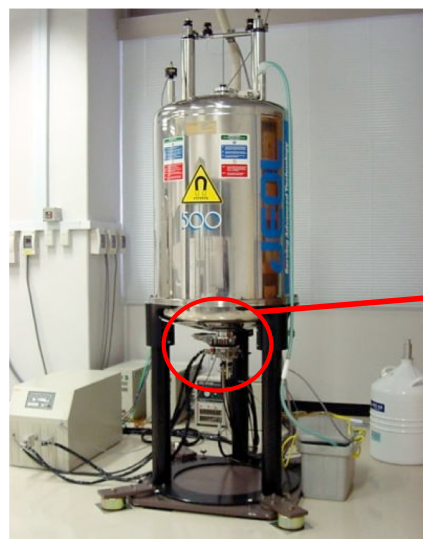


10!/3個の異性体間で
Cope転位を繰り返していき
全ての10個の炭素と
それに結合した水素が
入れ替わる



温度可変(VT: variable temperature)測定

NMRマグネットの下に温度可変ユニットが入っている



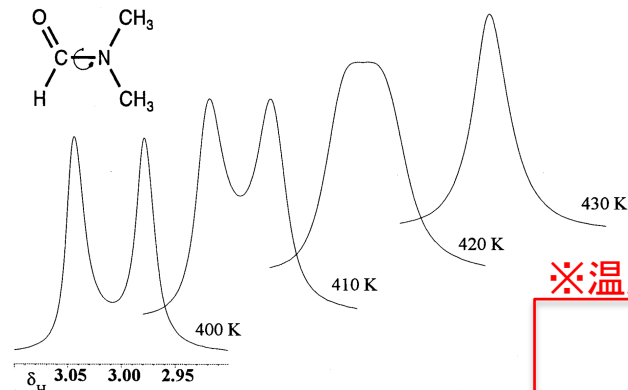
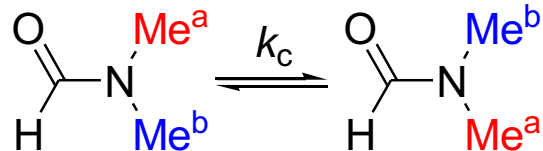
制御ソフトウェアのメニューから
サンプルの温度を設定できる



低温測定を行う際は
液体窒素を蒸発させて出てくる
低温の窒素ガスをサンプルに吹き付ける
→溶媒が凍る温度までは測定可能

動的過程の解析：反応速度との関係

動的NMR法(1) コアレス法 ($10^0 \sim 10^3 \text{ s}^{-1}$)



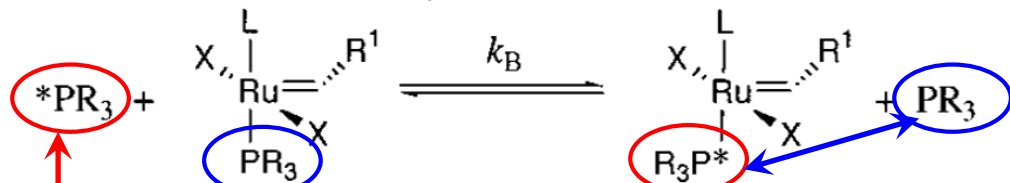
※温度可変測定を行って

$\Delta\nu$ = 完全に分離した際の化学シフト差
 k_c = C=N結合の回転速度

S. Braun, H.-O. Kalinowski, S. Berger, "150 and More Basic NMR Experiments: A Practical Course", Wiley-VCH, ISBN: 3527295127

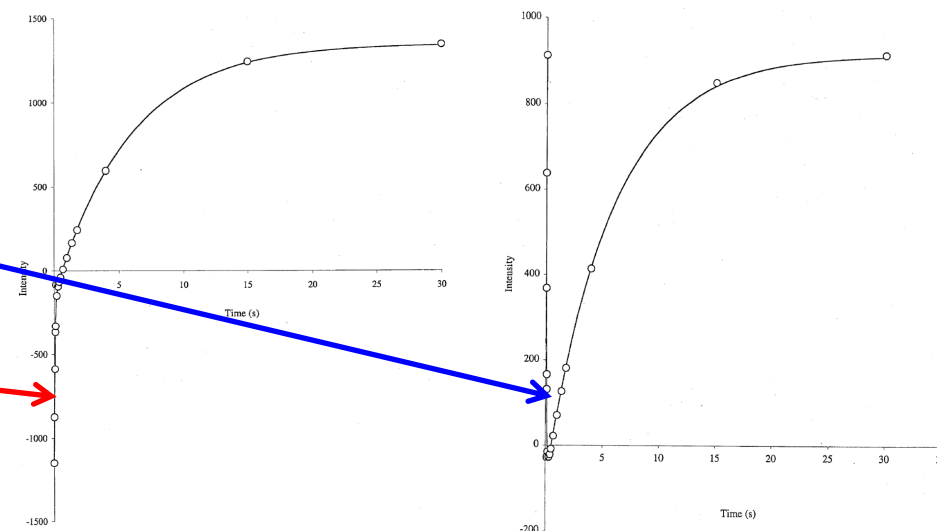
動的NMR法(2) 飽和移動法 ($10^{-1} \sim 10^1 \text{ s}^{-1}$)

^{31}P NMRシグナルの変化を追跡

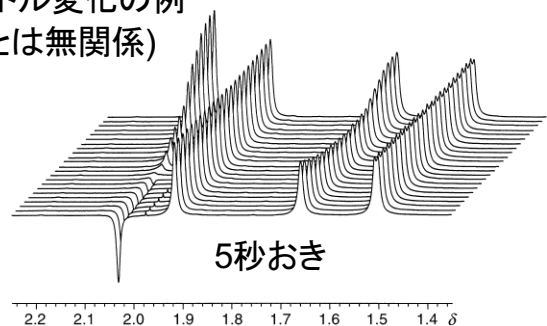


パルス照射して
シグナルを反転させる

エネルギーの授受により
交換相手のシグナルも減少



スペクトル変化の例
(上記とは無関係)



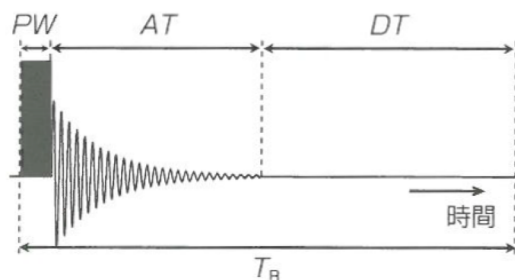
5秒おき

J. Am. Chem. Soc. 2001, 123, 749.
 J. Am. Chem. Soc. 2001, 123, 6543.

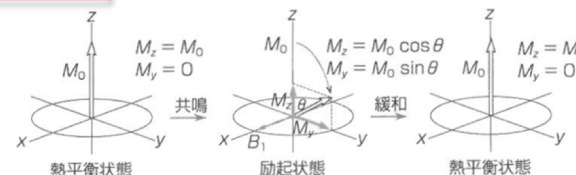
パルス系列：特殊測定への第1歩

パルス系列:

最もシンプルな¹H NMRスペクトル測定

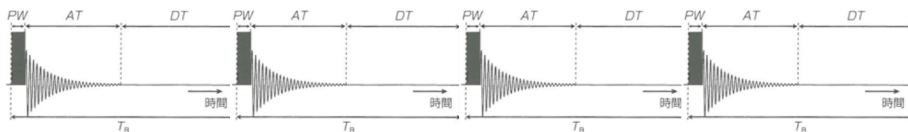


PW: pulse width = パルス幅 ($\sim \mu\text{s}$)
 AT: aquisition time = データ取り込み時間 ($\sim \text{s}$)
 通常はFIDの絵が描かれる
 DT: delay time = 遅れ時間 ($\sim \text{s}$)
 二回目の積算を開始するまでに待つ時間
 →磁化ベクトルの緩和を待つ時間
 T_R : pulse repetition time = パルス繰り返し時間



パルスは磁化ベクトルを倒すことを思い出せ

例: 4回積算する場合は
 パルスを当てる～データ取り込み～遅れ時間
 のサイクルが4回繰り返される



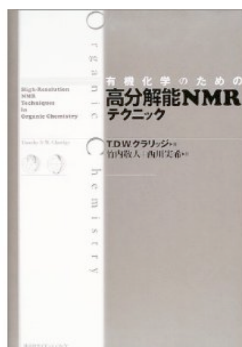
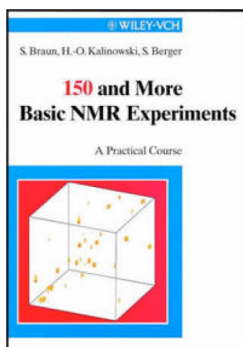
$$AT = N/2SW = 1/DR$$

N: number of point = データポイント数 (個)

SW: spectral width = スペクトル測定幅 (Hz)

DR: digital resolution = デジタル分解能 (Hz/個)
 (小さいと高分解能)

追加参考書

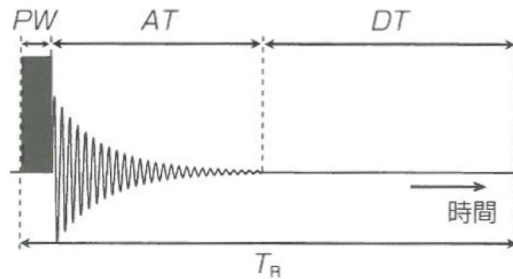


講談社「有機化学のための高分解能NMRテクニック」
 D.W.ティモシー・クラリッジ 著、竹内敬人・西川 実希 訳
 ISBN: 9784061543140

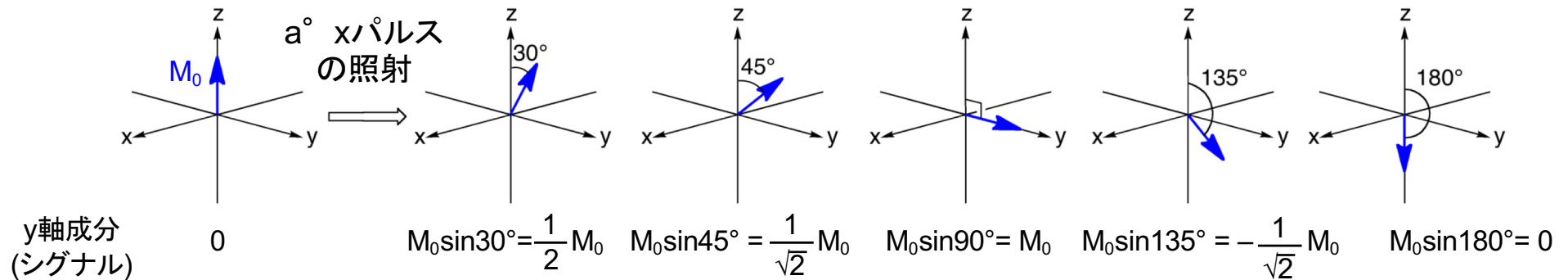
Wiley-VCH, "150 and More Basic NMR Experiments: A Practical Course"
 Siegmur Braun, Hans-Otto Kalinowski, Stefan Berger 著
 ISBN: 9783527295128

基本測定: 90° パルス測定

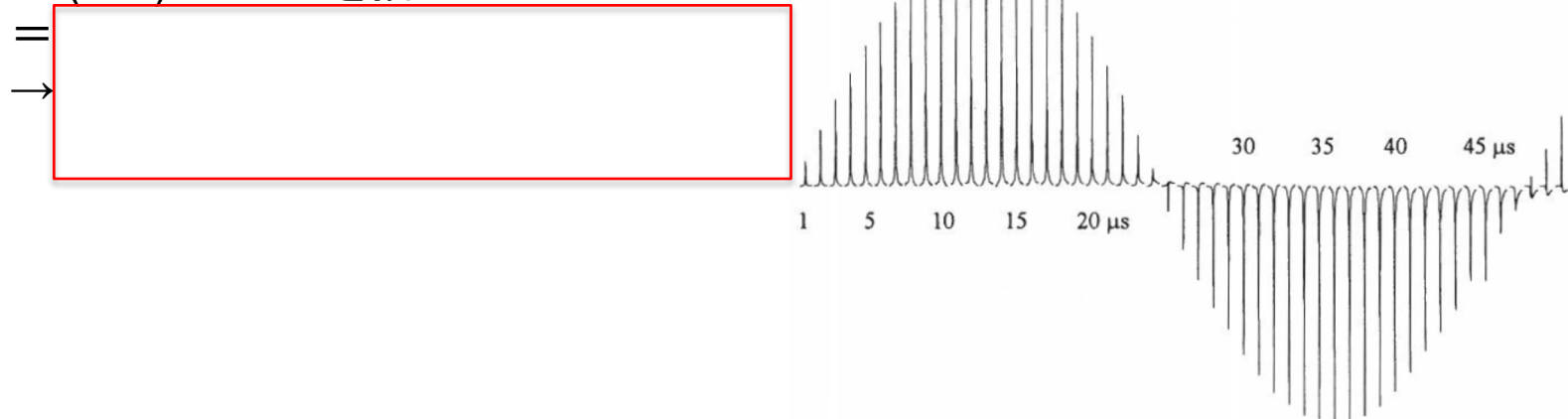
90° パルスの正確な決定



PWの時間を変えながら測定を何度も行う
PWの時間が短ければ磁化ベクトルが倒れる角度が小さい

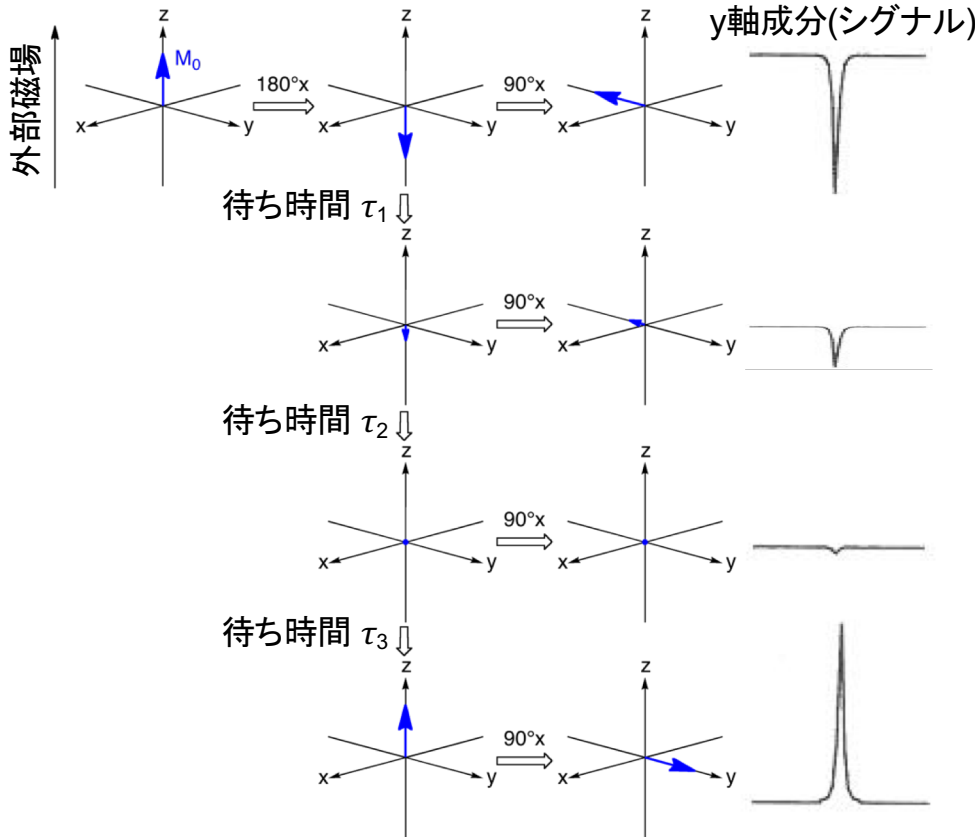


シグナル強度とPW(μ s)をプロットすると
sin(PW)のカーブを描く



基本測定②: T_1 (縦緩和時間)測定

T_1 の正確な決定: 90° パルスと 180° パルスを使った



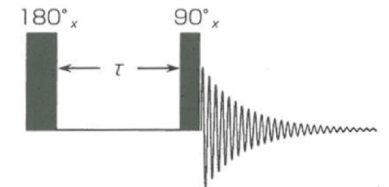
180° パルスの後に待ち時間無しで
 90° パルスを照射すると
磁化ベクトルは 270° 方向へ
=y軸成分は

180° パルスの後にz軸成分の減衰を待つて
 90° パルスを照射すると、z軸が0になる前は
磁化ベクトルは 270° 方向へ
=y軸成分は

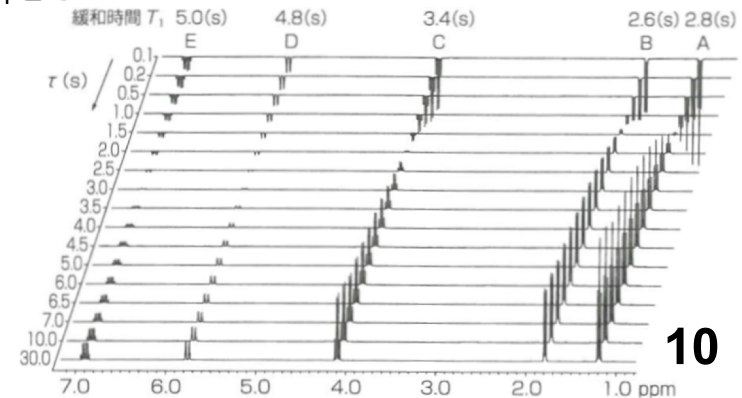
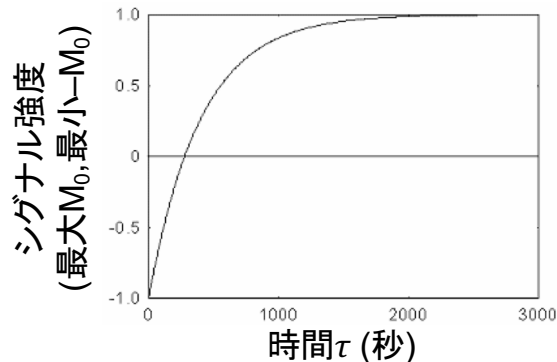
z軸成分が0の時は 90° パルスを当てても0

z軸成分が完全に回復した後に
 90° パルスを照射すると
磁化ベクトルは 90° 方向へ
=y軸成分は

反転回復法の
パルス系列

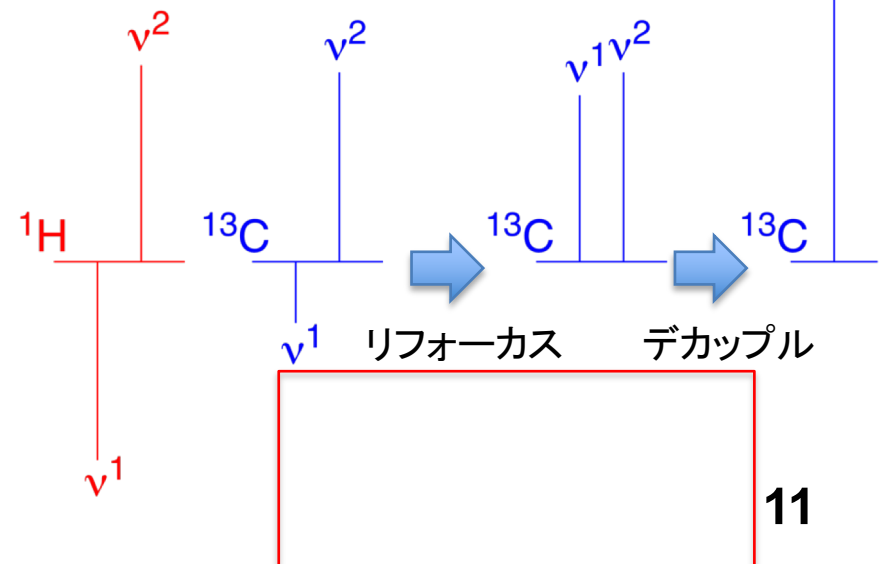
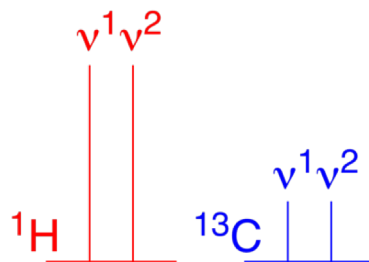
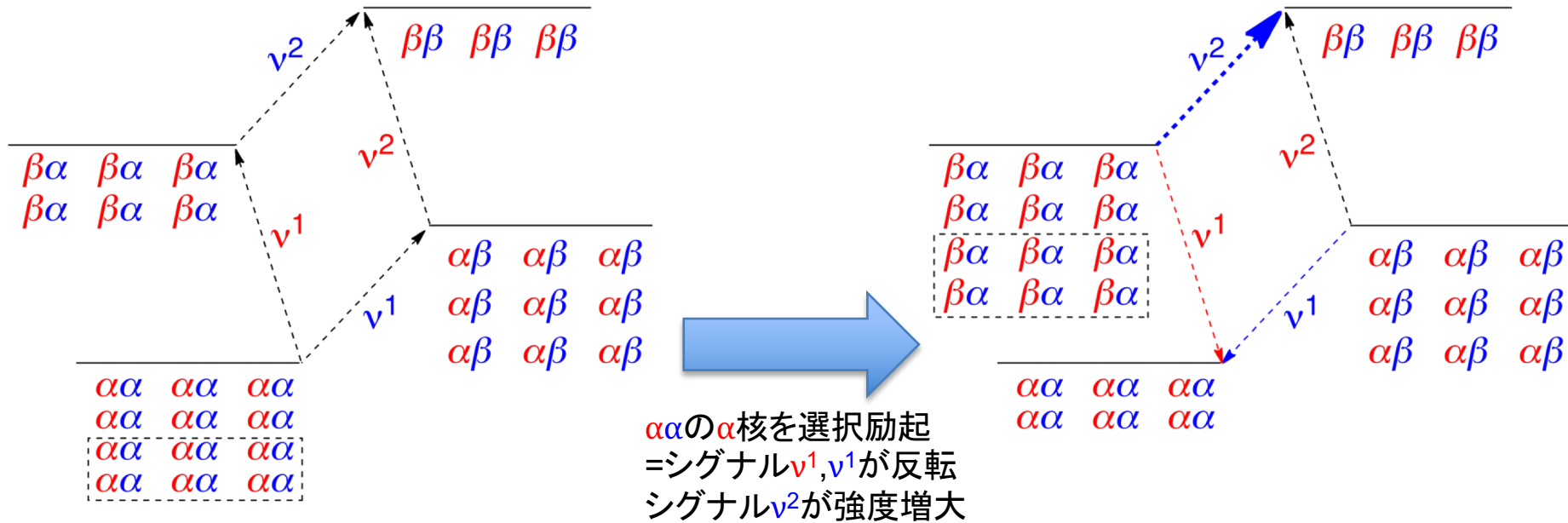


待ち時間 τ を変化させた測定を何度も行い、次の式に当てはめて T_1 を求める



特殊測定①: 分極移動(1) INEPT

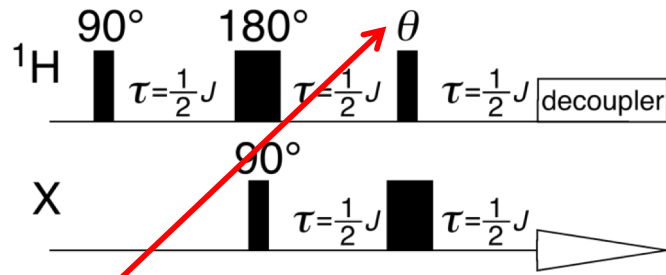
INEPT:



特殊測定②: 分極移動(2) DEPT

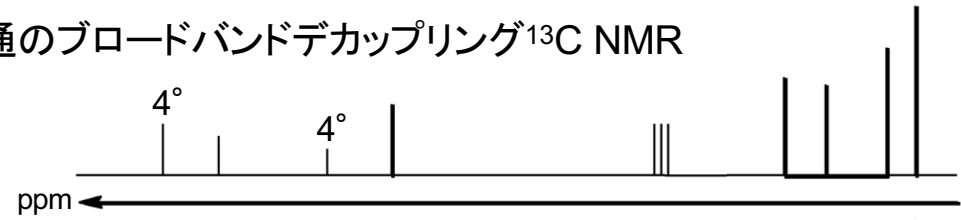
DEPT: Distortionless Enhanced by Polarization Transfer

DEPTのパルス系列

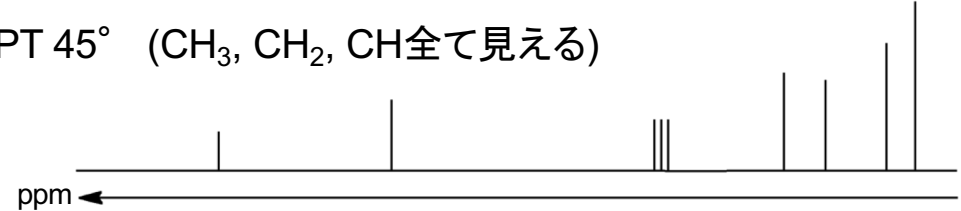


このパルスによる
磁化ベクトルのフリップ角が鍵

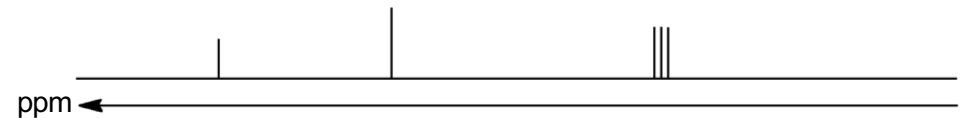
普通のブロードバンドデカップリング ^{13}C NMR



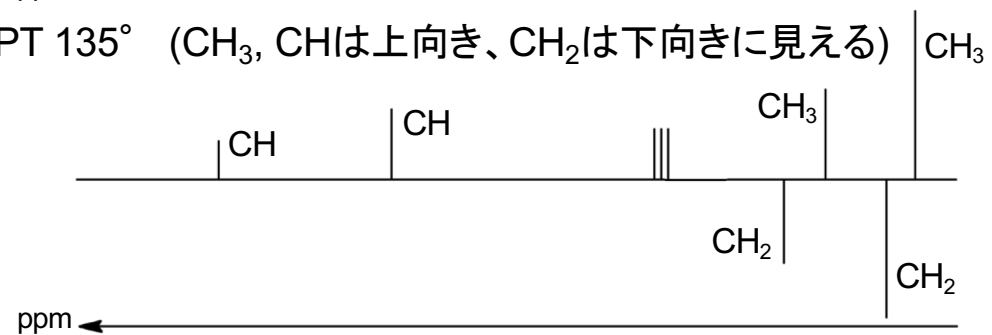
DEPT 45° (CH₃, CH₂, CH全て見える)



DEPT 90° (CHのみが見える)

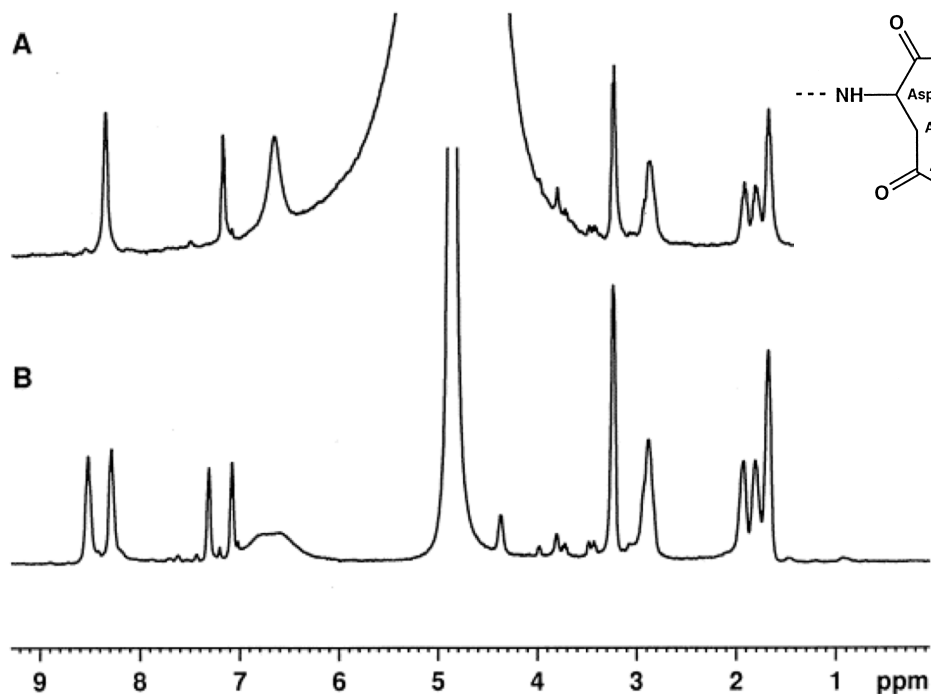


DEPT 135° (CH₃, CHは上向き、CH₂は下向きに見える)



特殊測定③: WATERGATE

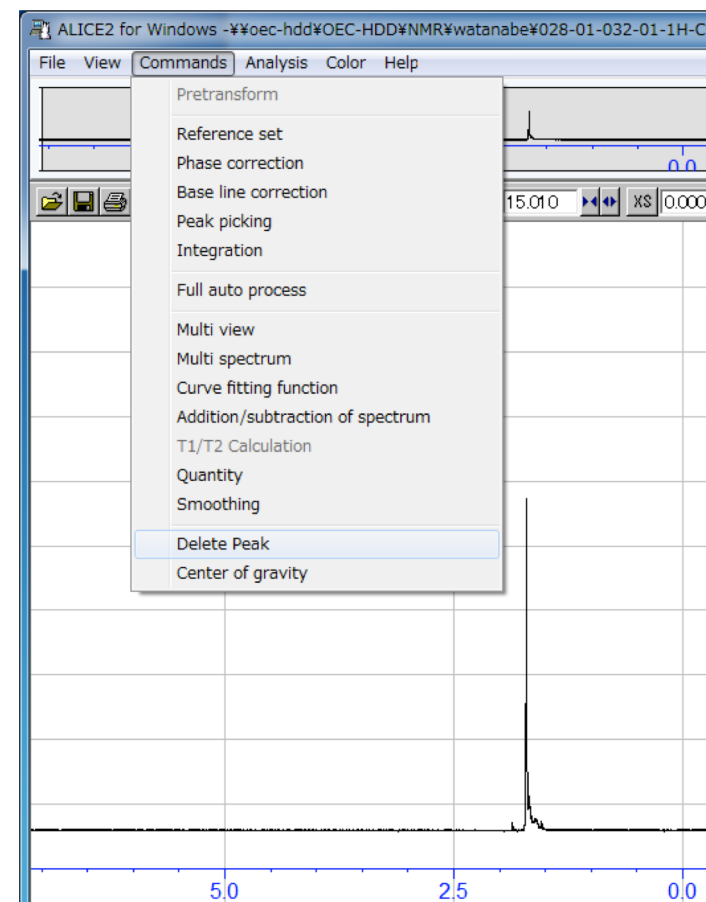
WATERGATE: WATER suppression by GrAdient Tailored Excitation



Biochim. Biophys. Acta **1999**, 1426, 429.



ウォーターゲート事件



JEOLのAliceにはピークを消す
Delete Peak機能があるが
絶対に使わないように
(後からわかると卒業取消まであり)

[http://cen.acs.org/articles/92/web/2014/04/
Tohru-Fukuyamas-Correction-Crisis.html](http://cen.acs.org/articles/92/web/2014/04/Tohru-Fukuyamas-Correction-Crisis.html)



休憩：NMRとノーベル賞



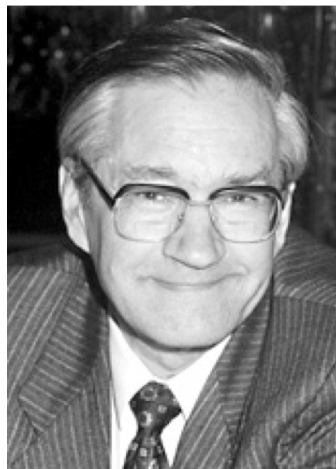
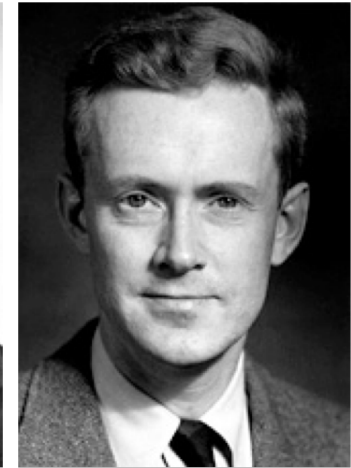
Otto Stern
(1943, physics)
 ^1H 核の磁気モーメント発見



Isidor Isaac Rabi
(1944, physics)
核磁気共鳴現象の発見



Felix Bloch & Edward Mills Purcell
(1952, physics)
核磁気の精密測定法開発 (1946)



Richard R. Ernst
(1991, chemistry)
FT-NMRと二次元NMRの開発



Kurt Wüthrich
(2002, chemistry)
NMRによる生体分子の構造解析



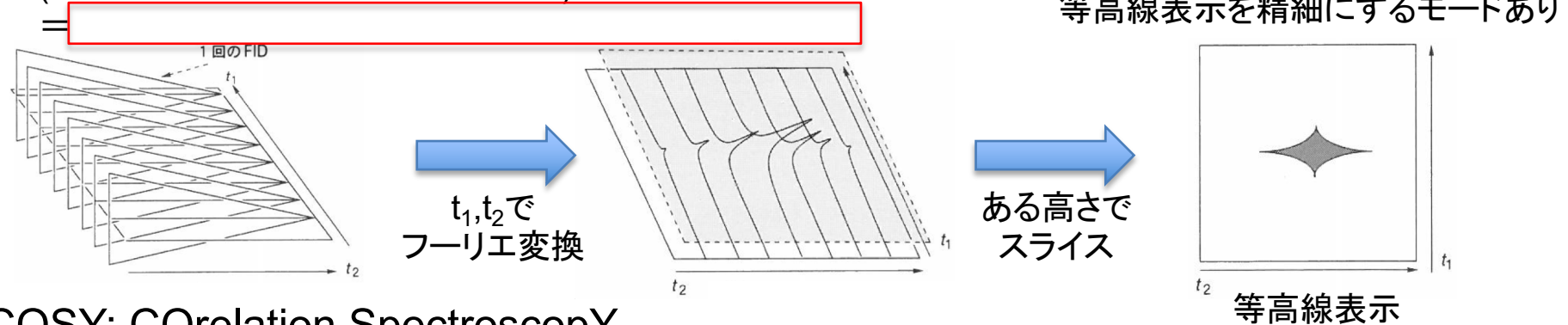
Paul C. Lauterbur & Peter Mansfield
(2003, physiology or medicine)
磁気共鳴画像診断(MRI)法の開発



二次元NMR①: H-H COSY

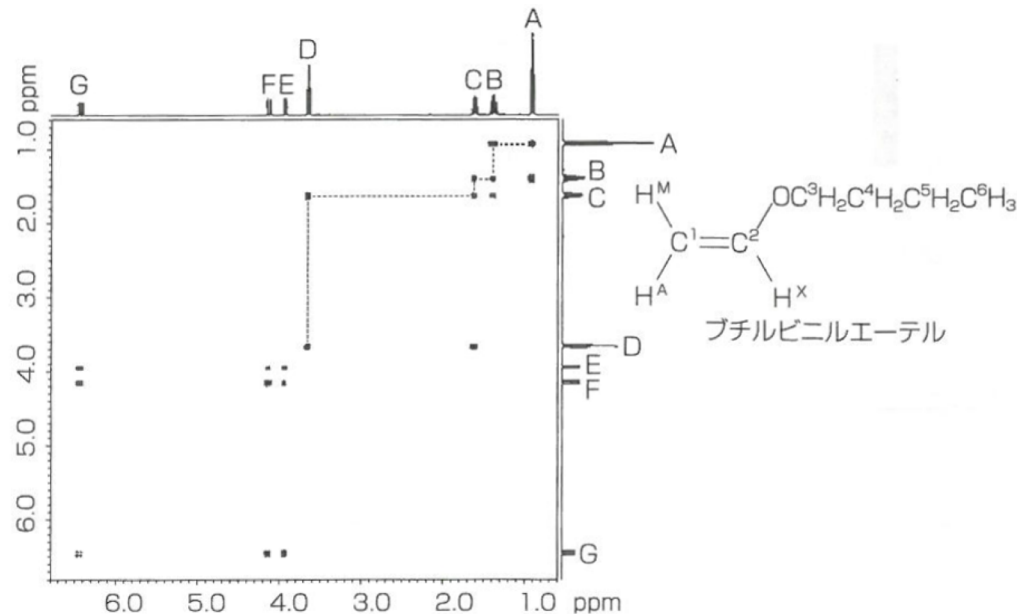
二次元NMRって？

2つの軸が通常の一次元NMRに対応するスペクトル
(本当は高さ方向まで含めると三次元)



COSY: Corelation Spectroscopy

例: ブチルビニルエーテルのH-H COSYスペクトル



H-H COSYを読むときに大事なこと

- (1)
- (2)

NMR測定時にカップリングが読めないなと思ったら、即測定することをオススメ

二次元NMR②: TOCSY

TOCSY: Total Correlation Spectroscopy

=

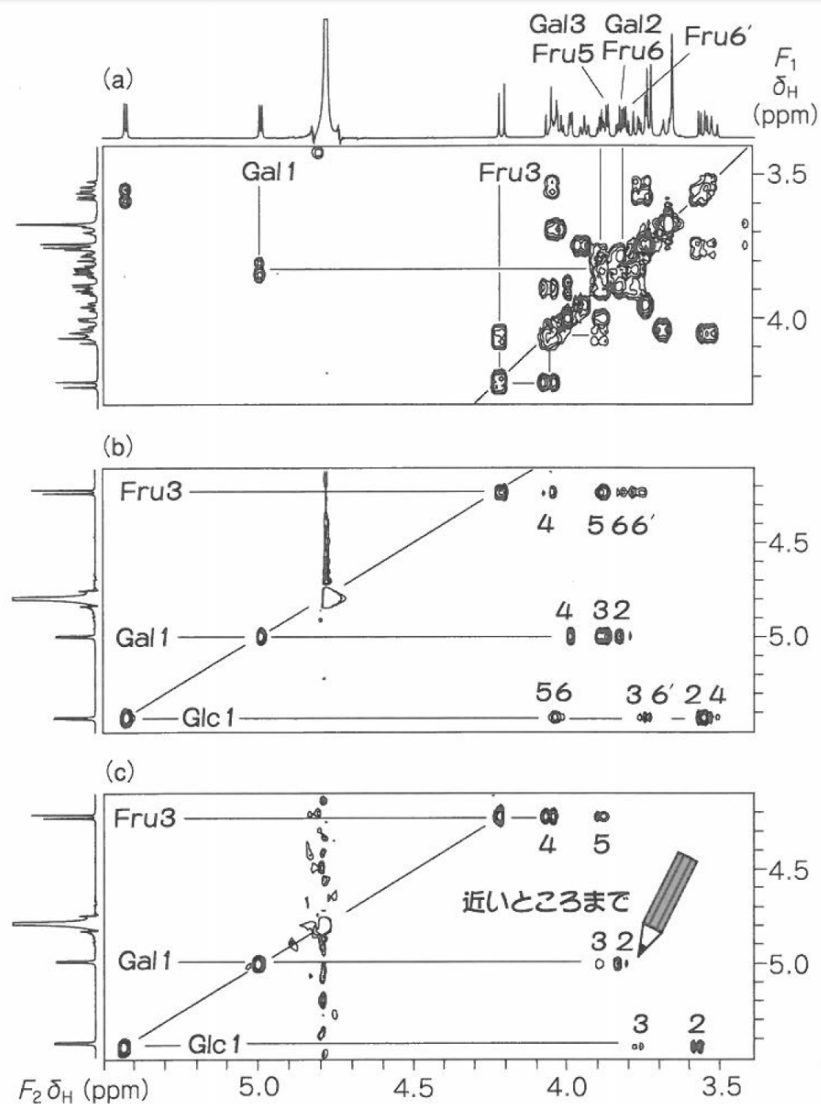
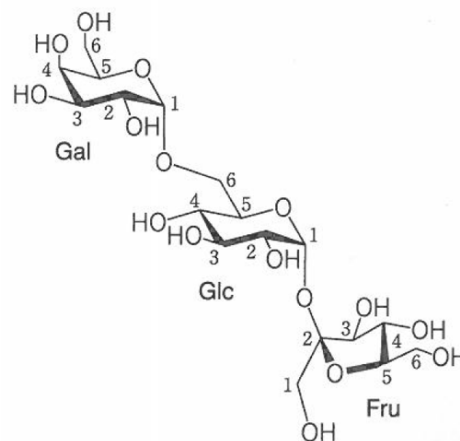


図 4-1 ラフィノース(8) (10 mg/0.4 ml D₂O)の (a) COSY スペクトル, (b) TOCSY スペクトル ($\tau_m = 150$ ms), (c) TOCSY スペクトル ($\tau_m = 30$ ms)



TOCSYの特徴

孤立したスピン系(それぞれの糖ユニット)間では
相関が検出されない

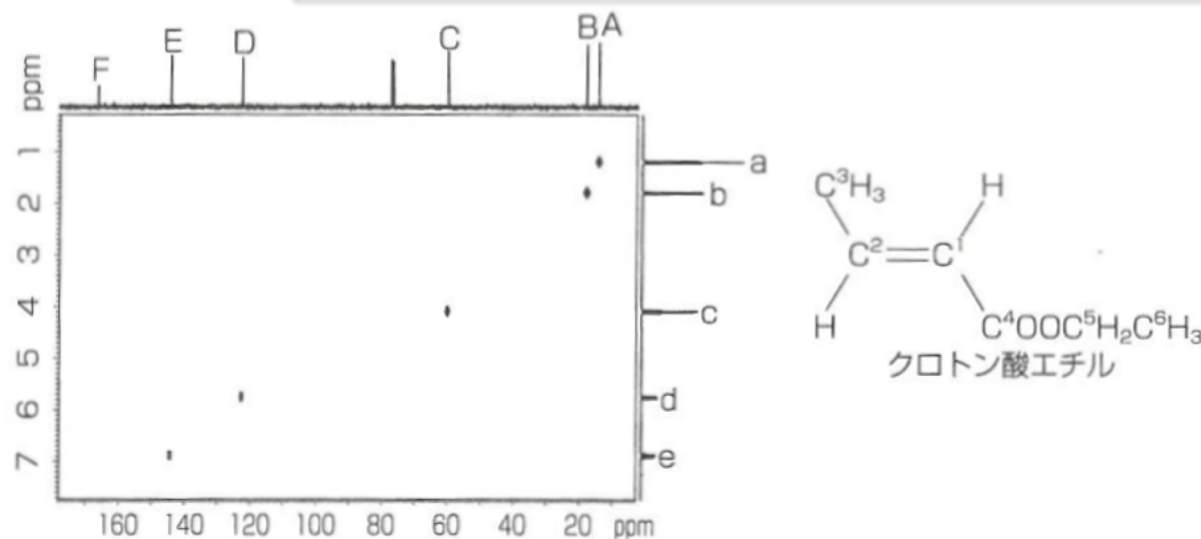
混合時間 τ_m というパラメータを短くすると
近くのスピン系のみで相関が検出される

測定時間も長くないので

一次元¹H NMRでピークが重なっている場合には
H-H COSYと共に測定をオススメ

二次元NMR③: C-H COSY, COLOC

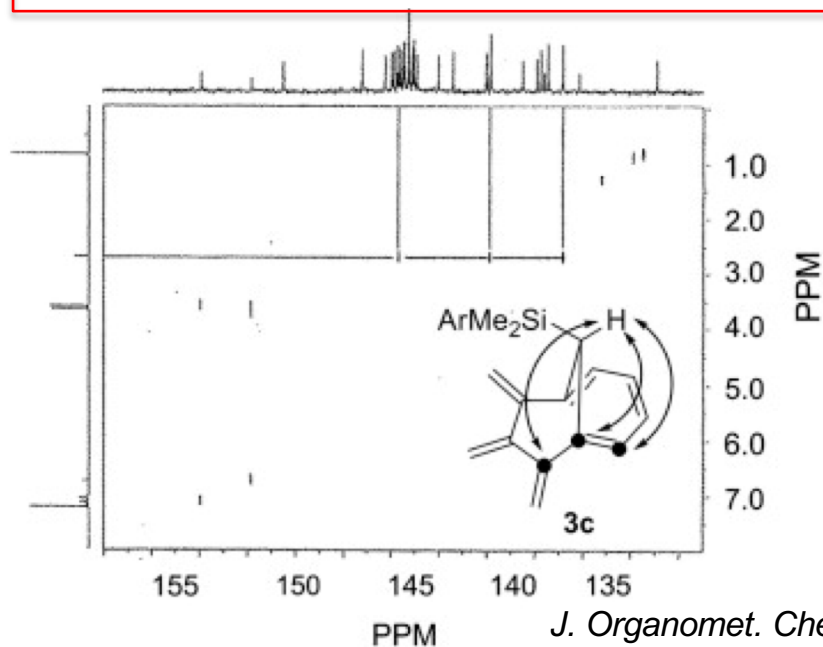
C-H COSY:



C-H COSYを読むときに大事なこと
 (1) カップリングしているシグナル同士の間にはクロスピークが観測される
 (2) 4級炭素はクロスピークが出ない
 (3) H-H COSYと組み合わせると炭素骨格のかんりの部分が判明

COLOC: COrrrelation spectroscopy via LOng-range Coupling spectrum

==



COLOCを読むときに大事なこと
 (1) カップリングしているシグナル同士の間にはクロスピークが観測される
 (2) 4級炭素にもクロスピークが出るので他の測定と組み合わせると炭素骨格の完全な帰属ができる

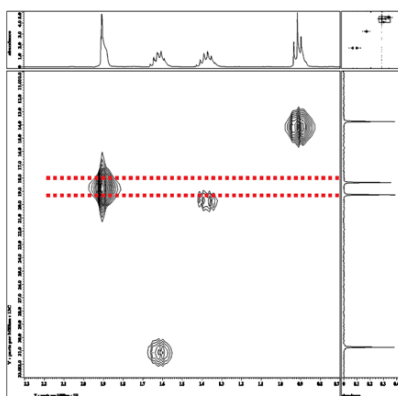
二次元NMR④: インバース測定 (HMQC, HMBC)

インバース測定:

HMQC: Heteronuclear Multiple Quantum Correlation spectroscopy

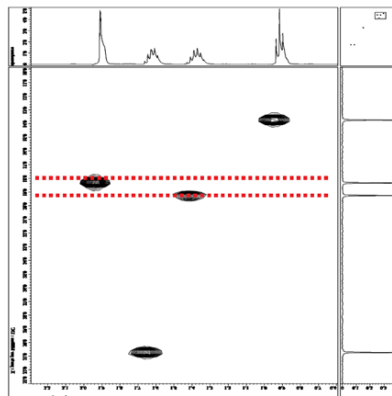
HMQC

^1H -NMR



^{13}C -NMR

C-H COSY (軸は反転してある)



C-H COSYと比べた場合

HMQCは...

長所 高感度＝低濃度・短時間で測定可能

短所 ^{13}C 軸の分解能が低い

＝近いシグナルの判別が難しい

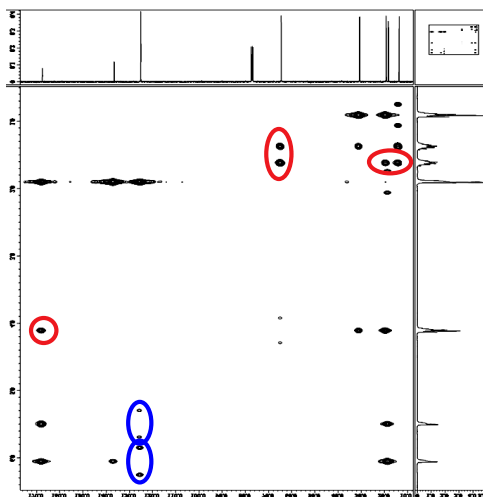
HSQC: Heteronuclear Single Quantum
Correlation spectroscopy
を利用すると、少し分解能が向上

左図: 山形大学 落合文吾先生が作成

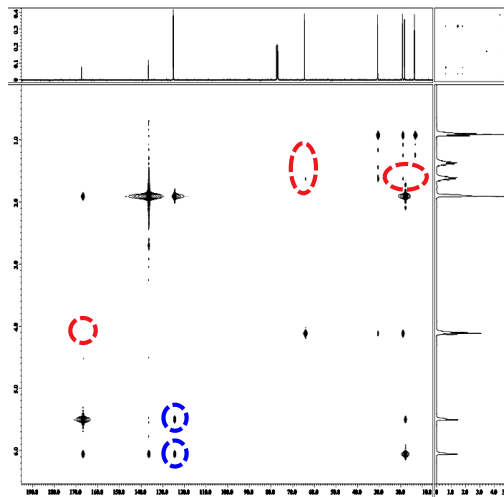
<http://ochiai.yz.yamagata-u.ac.jp/infos/infotop.html>

HMBC: Heteronuclear Multiple-Bond Correlation spectroscopy

HMBC



COLOC



COLOCと比べた場合

HMBCは...

長所 高感度＝低濃度・短時間で測定可能

短所 直接結合した ^1H と ^{13}C では
サイドバンドが出やすい

左図: 山形大学 落合文吾先生が作成

<http://ochiai.yz.yamagata-u.ac.jp/infos/infotop.html>

二次元NMR⑤: NOESY, ROESY

NOESY: Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy

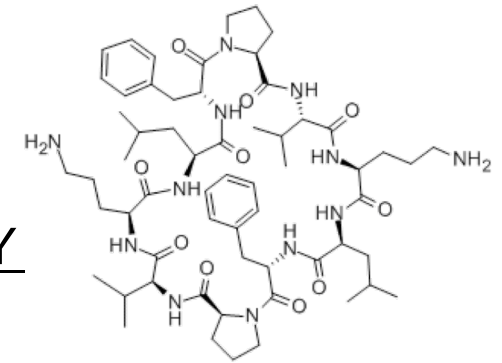
=

長所 全ての核のNOEを同時に検出可能

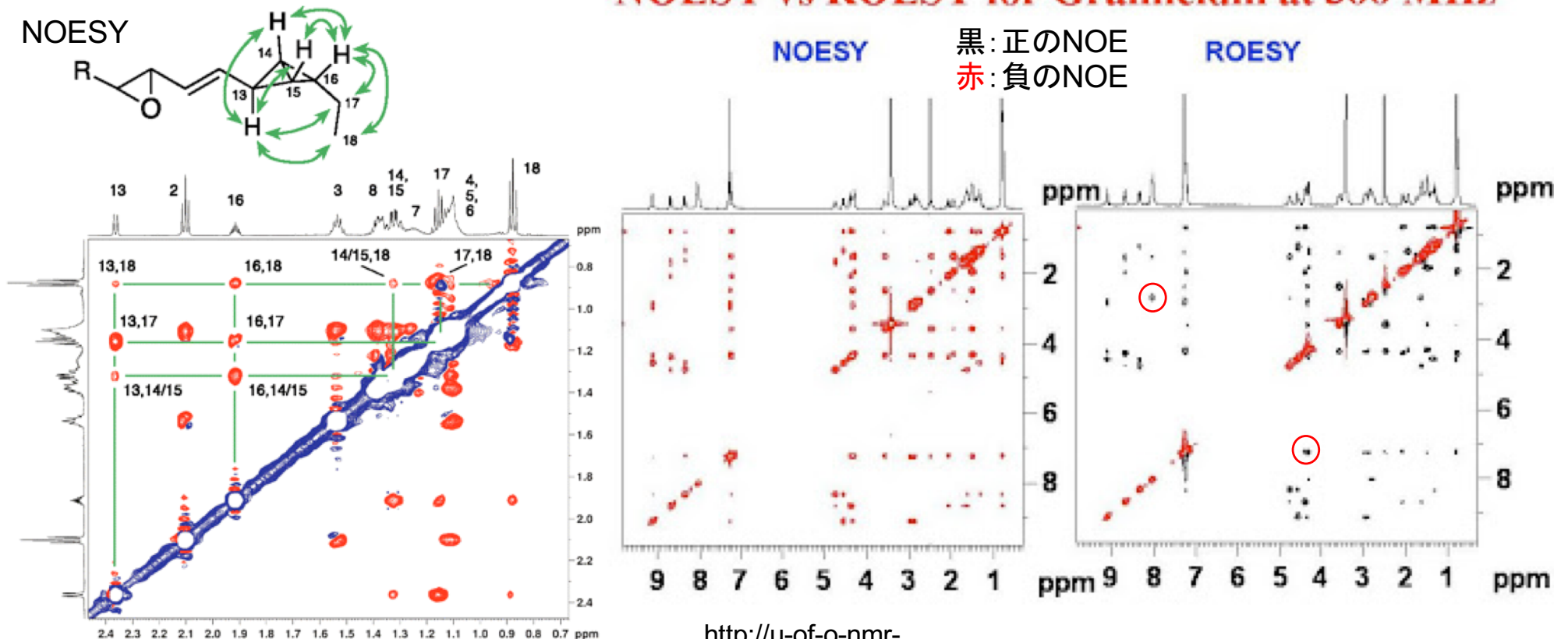
短所 分子量が中程度(1000~2000)の化合物では
NOEが観測されにくい

ROESY: Rotating frame nuclear Overhauser Effect Spectroscopy

=



NOESY vs ROESY for Gramicidin at 300 MHz



Proc. Nat. Acad. Sci. USA **2007**, 104, 18941.

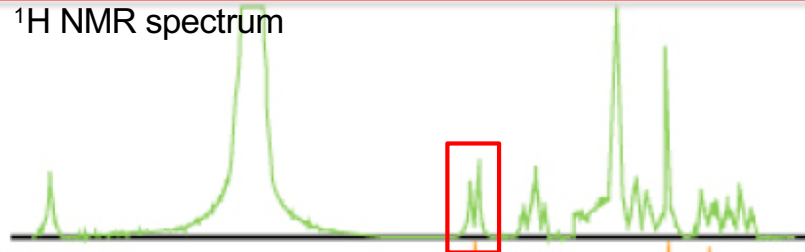
<http://u-of-o-nmr-facility.blogspot.jp/2008/02/noesy-vs-roesy-for-large-molecules.html>

二次元NMR⑥: J分解

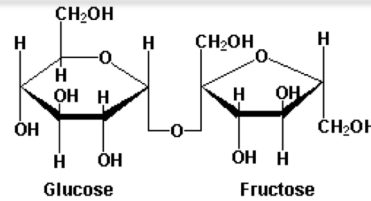
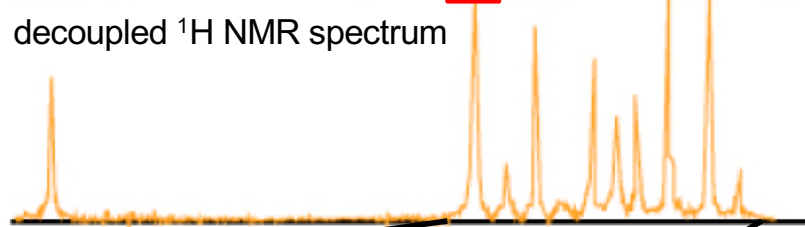
J-resolved NMR spectroscopy

=

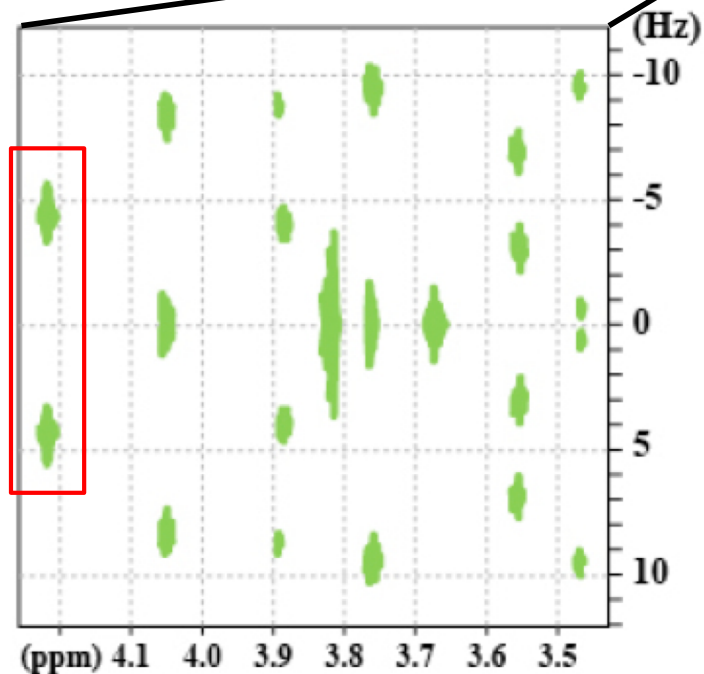
^1H NMR spectrum



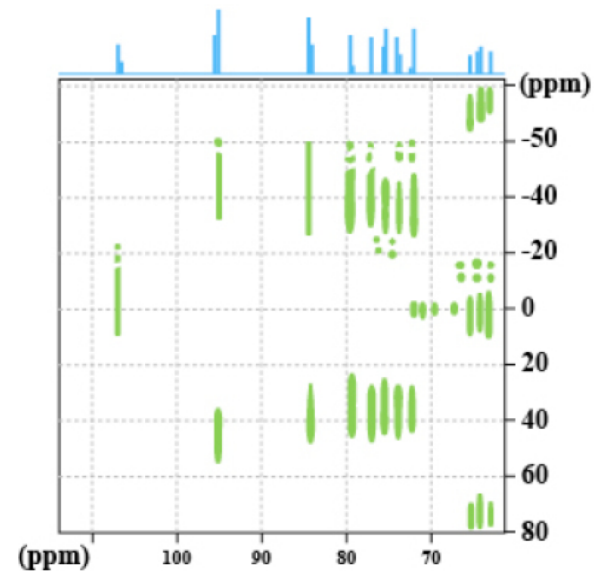
decoupled ^1H NMR spectrum



横軸にはデカップル ^1H NMRスペクトルを使うので
カップリングによる分裂で複雑に重なった
シグナルを解析するのに有用



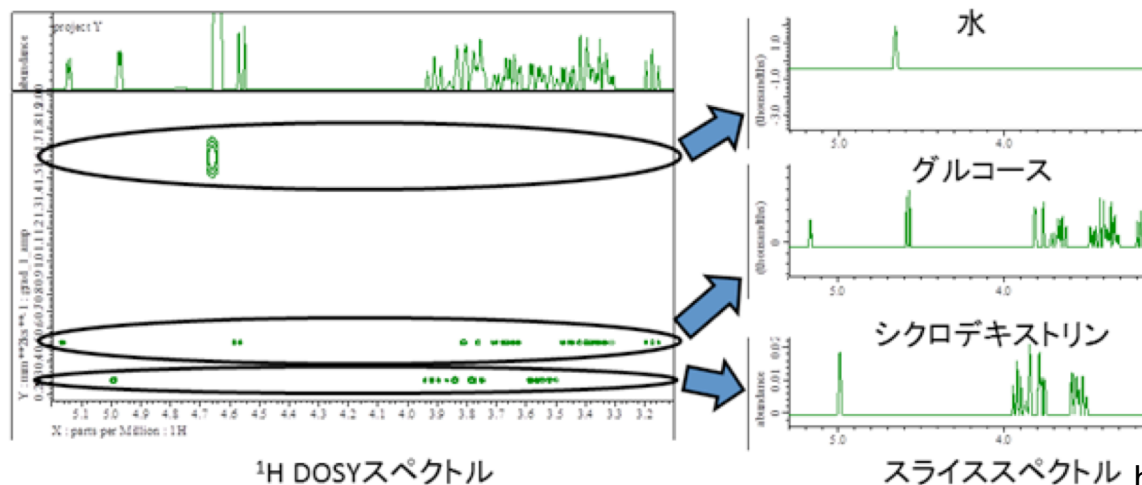
^{13}C と ^1H のカップリングにも適用可能
=DEPT135° の代わりに使える



二次元NMR⑦: DOSY

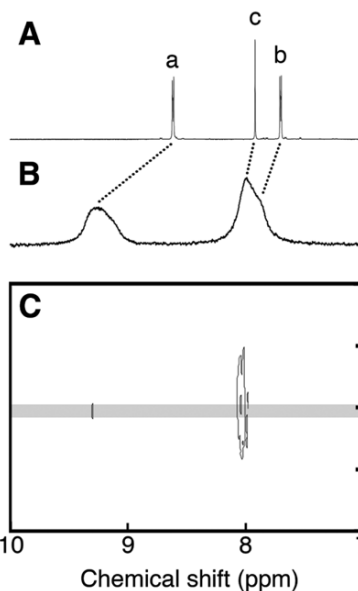
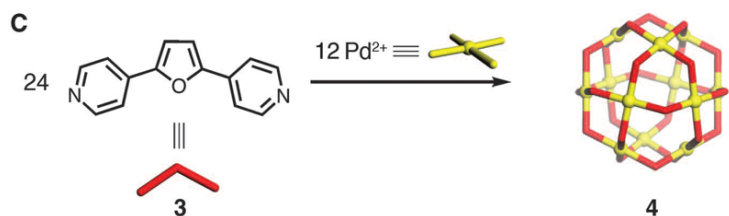
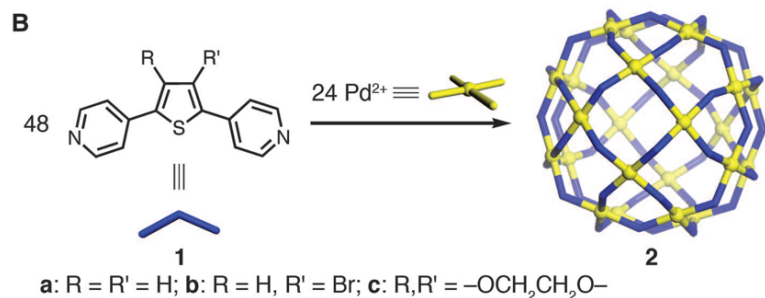
DOSY: Diffusion-Ordered SpectroscopY

=



混合物を実際に分離することなく
スペクトルのみを拡散係数に応じて分離

<http://www.ct.osakafu-u.ac.jp/institution/zairyo/nmr.html>



合成した超分子構造体の大きさの見積りに
DOSYの拡散係数を過去の例と比較

2: $D = 3.3 \times 10^{-11}$ (m²/s)
4: $D = 4.0 \times 10^{-11}$ (m²/s)

Science **2010**, 328, 1144.

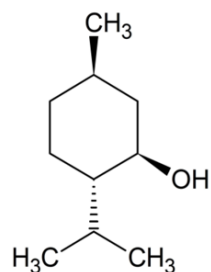
二次元NMR⑧: INADEQUATE

INADEQUATE: Incredible Natural Abundance Double QUAntum Transfer Experiment

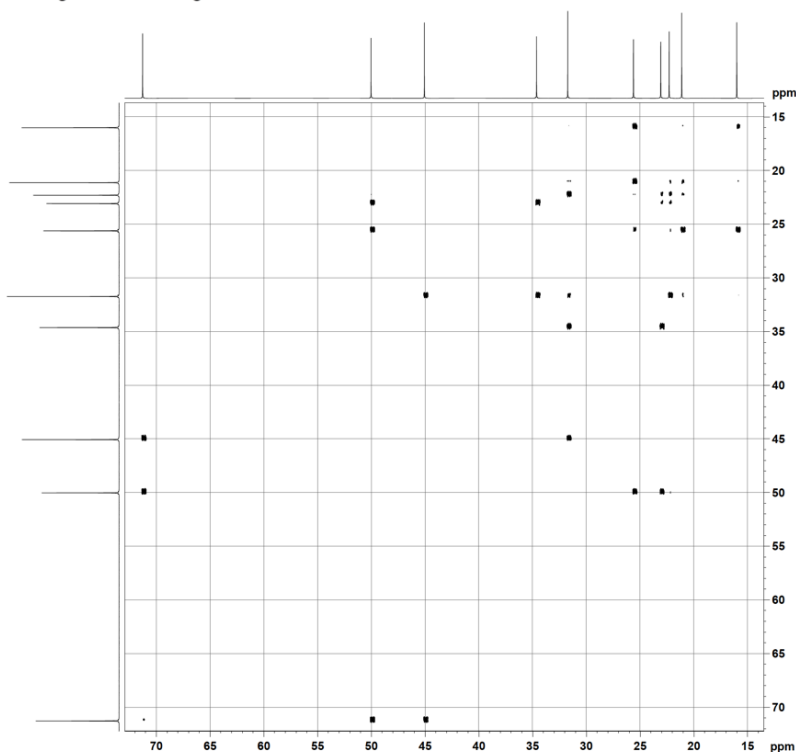
=

inadequate (不適切な)という略語が示すように、最も無茶な測定法に分類される

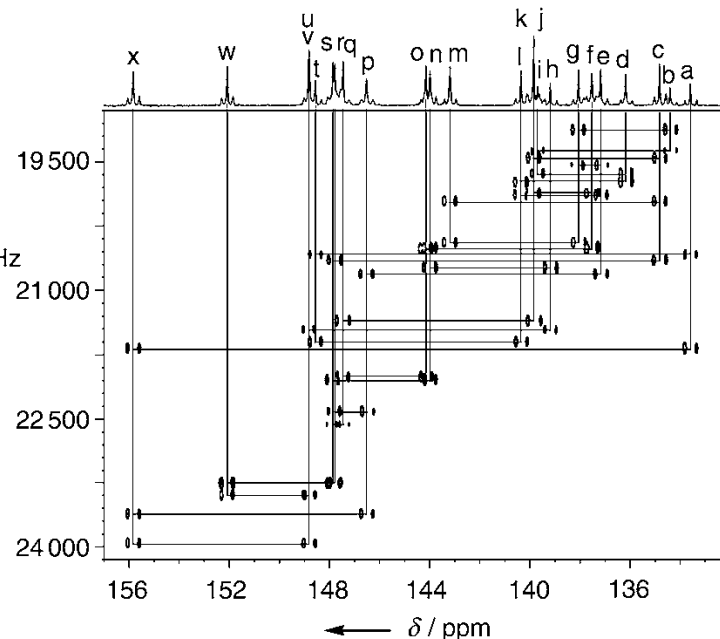
※ ^{13}C の天然存在比は1%だったことを思い出せ→ ^{13}C 間でのカップリングは1/10000しかない



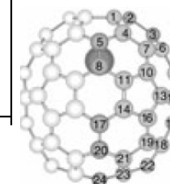
2D INADEQUATE
spectrum of
L-menthol in CDCl_3



炭素骨格のつながりが全て見えるので
複雑な天然物の構造決定にも利用される



条件を選ぶと
他の核でも使用可能



もちろん普通のサンプルの
測定は困難なので
13%の炭素が
 ^{13}C にラベルされている

Carbon no. ^[a]	Signal no. ^[b]	δ [ppm]	Carbon no. ^[a]	Signal no. ^[b]	δ [ppm]
1	d	136.5	13	r	148.1
2	i ^[c]	140.0	14	u	149.1
3	b ^[c]	134.7	15	k	140.1
4	l	140.6	16	w	152.4
5	t ^[c]	148.9	17	v ^[c]	149.1
6	g	138.4	18	q	147.8
7	e	137.5	19	s	148.2
8	a ^[c]	133.9	20	h ^[c]	139.5
9	m	143.5	21	n	144.3
10	p	146.8	22	o	144.4
11	x	156.1	23	f	137.8
12	c	135.1	24	j ^[c]	140.1