

2014年度 分子機能化学特論(前田史郎・高橋 透)

1. 多核多次元NMRによる生体関連物質の分子構造解析

担当: 生物応用化学専攻教授 前田史郎

【授業の目標】

化学・生化学の分野で広く用いられているNMR法の原理と、タンパク質およびその生体関連物質との分子間相互作用を解明するのに用いられている各種NMR法を理解する。

【授業の内容】

1. NMRの発展史 - どのように発展し、何を知ることができるか-
2. NMRの原理と装置 - 量子力学的な基礎と測定装置のしくみ-
3. 2次元NMRの原理と応用 - COSY, J-分解, NOESYなど-
4. 多核2次元NMRの原理と応用 - HETCOR(CH-COSY)など-
5. インパース法の原理と応用 - HSQC, HMQC, HMBCなど-
6. 多核多次元NMRによる生体関連物質の分子構造解析
7. 固体高分解能NMRの基礎・固体NMRによる高分子化合物の物性評価

1

NMRの原理

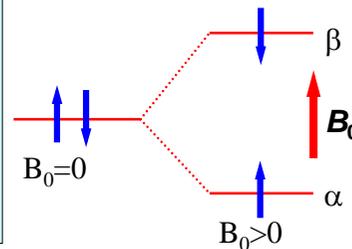
原子核の中には、水素原子核(陽子)のように**小さな磁石としての性質(磁気モーメント)**を持っている原子核がある。このような原子核は、コマのように軸を中心に自転する性質(**スピン**)を持っている。



そして、小さな磁石である原子核を含む分子に磁場を作用させると、分子と磁場の間に磁気的な相互作用が生じ、原子核はいくつかのエネルギー状態を持つようになる。そして、これらの状態間の遷移にともなって電波の吸収が観測される。

2

スピン $\frac{1}{2}$ の核は2つの状態を持ち、“up”または“down”スピンと呼ばれることもあるが、通常は“ α ”または“ β ”スピンと呼ばれる。これらの状態は磁場 (B_0) の中ではエネルギーが異なるが、磁場がない状態では縮重している。



$$I_z|\alpha\rangle = \frac{1}{2}\hbar|\alpha\rangle$$

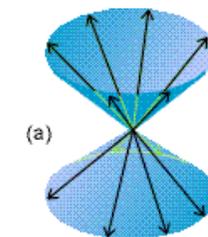
$$I_z|\beta\rangle = -\frac{1}{2}\hbar|\beta\rangle$$

$$\mathbf{I} \cdot \mathbf{I}|\alpha\rangle = \hbar^2[I(I+1)]|\alpha\rangle$$

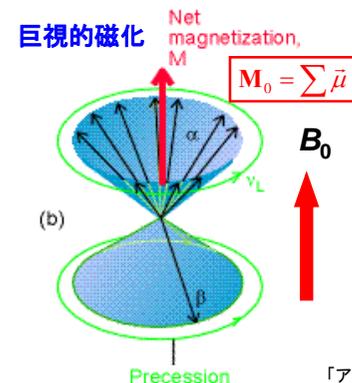
$$\mathbf{I} \cdot \mathbf{I}|\beta\rangle = \hbar^2[I(I+1)]|\beta\rangle$$

α スピンと β スピンはエネルギーは異なるが、角運動量の大きさは等しい。

3



- (a) 外部磁場 H_0 がいない場合、 α スピンと β スピンが等しい数だけ存在し、外部磁場方向である z 軸周りの角度はばらばらであり、磁化はゼロである。
(量子化軸が存在しないので、正確には、 α スピンと β スピンの区別はない)



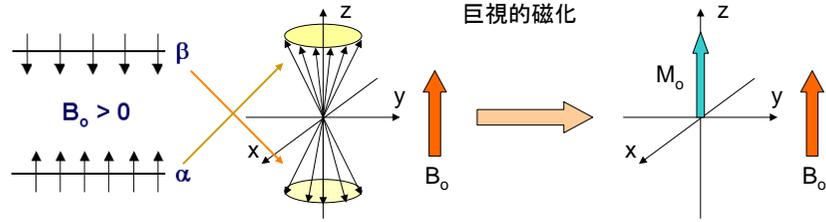
- (b) 外部磁場 H_0 があるとき、スピンはコーンに沿って才差運動する。そして、 α と β の状態の間にエネルギー差が存在する。 α スピンは β スピンとくらべるとぐくわずが多い。その結果、 z 軸方向に正味の巨視的磁化 M が現れる。

スピン $1/2$ の核からなる試料の磁化は、それぞれの磁気モーメントの合成である。

「アトキンス物理化学」, 東京化学同人, 図18・27 (第6版, 1980)

4

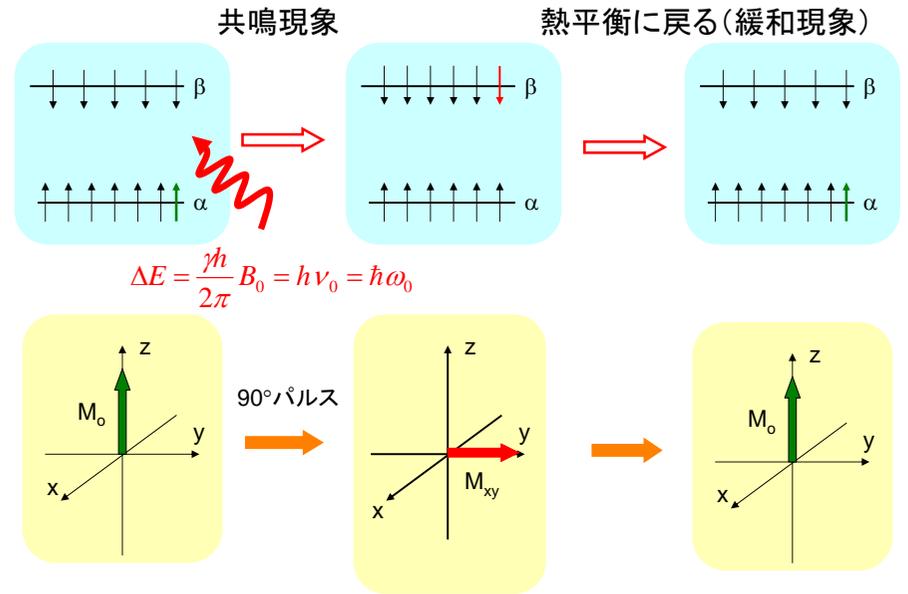
スピン分布と巨視的磁化との対応 (共鳴現象の視覚化)



エネルギー状態図

磁化ベクトル図

エネルギー状態図と磁化ベクトル図



質量数 A, 原子番号 Z と核スピン I の関係および代表的な核種

質量数 A	原子番号 Z	核スピン I	核種の例
A が奇数		$I = (2n+1)/2^*$	$^1\text{H}, ^{13}\text{C}, ^{15}\text{N}, ^{19}\text{F}, ^{31}\text{P}$
	Z が奇数	$I = n + 1$	$^2\text{H(D)}, ^{14}\text{N}$
A が偶数		$I = 0$	$^{12}\text{C}, ^{16}\text{O}$

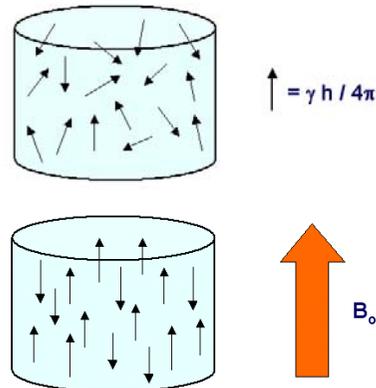
*n=0,1,2,...

I = 0 の核種はNMR現象を起こさないのでNMR信号を観測することができない。
 ^1H は核スピン I=1/2であり、天然存在比はほぼ100%である。 ^1H は感度が最も高い。
 一方、 ^{13}C も I=1/2であるが、天然存在比はほぼ1%である。 ^{13}C は感度が低い。
 炭素原子のほぼ99%は、I = 0であり、スピンを持たない ^{12}C である。
 I > 1/2の核種は、核四極子モーメントを持つ。

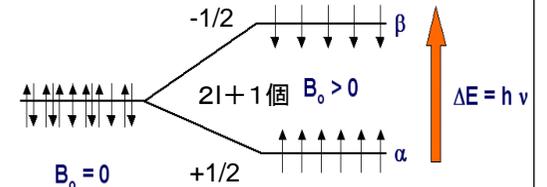
核磁気共鳴

核磁気モーメント μ をもつ核が磁場中にあると、そのモーメントは固有のエネルギー準位に分裂する。

核スピン I = 1/2 の場合



ゼーマン分裂



$$\vec{\mu} = \frac{\gamma \hbar}{2\pi} \mathbf{I}$$

$$\bar{E} = -\bar{\mu} \cdot \bar{B}_0 = -\frac{\gamma \hbar}{2\pi} B_0 I_z$$

$$\Delta E = \frac{\gamma \hbar}{2\pi} B_0 = \frac{\mu}{I} B_0 = h\nu$$

γ は磁気回転比(gyromagnetic ratio)

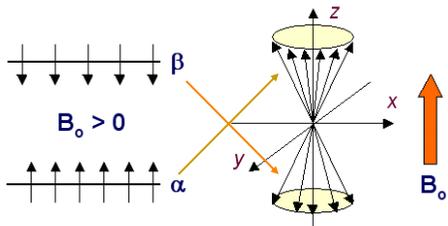
共鳴

$$\Delta E = \frac{\gamma \hbar}{2\pi} B_0 = h \nu_0$$

の関係から
NMRの共鳴条件は、

$$2\pi \nu_0 = \omega_0 = \gamma B_0$$

γ は核種によるので、共鳴周波数は核によって違う。



感度は？

α と β スピンの数の比が感度に比例する。

スピンは Boltzman 分布に従うので、それぞれの数を N_α 、 N_β とすると

$$\frac{N_\alpha}{N_\beta} = \exp\left(\frac{h\nu}{kT}\right)$$

上式をテイラー展開すると、

$$\begin{aligned} \frac{N_\alpha}{N_\beta} &\approx 1 + \frac{h\nu}{kT} \\ &= 1 + \frac{6.626 \times 10^{-34} \times 500 \times 10^6}{1.381 \times 10^{-23} \times 300} \\ &= 1 + \frac{3.313 \times 10^{-25}}{4.143 \times 10^{-21}} = 1 + 8 \times 10^{-5} \end{aligned}$$

10万個に8個しか α が多く存在しない！

核種による感度の違い

例えば、 ^{13}C と ^1H の感度の違いは？

感度は、

- (1) 磁気モーメント μ の大きさ、
- (2) 平衡状態のスピンの分布の差 ($N_\alpha - N_\beta$)、
- (3) コイルの感受性に依存

ほぼ γ の3乗に比例する

$$\gamma_{^1\text{H}} = 2.675 \times 10^8 \text{ rad T}^{-1}\text{sec}^{-1}$$

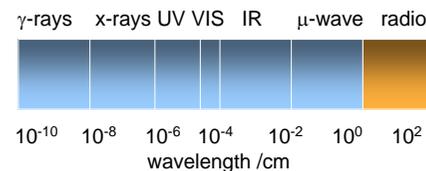
$$\gamma_{^{13}\text{C}} = 0.673 \times 10^8 \text{ rad T}^{-1}\text{sec}^{-1}$$

- (1) ^{13}C は ^1H に比べて約64倍感度が低い。
- (2) さらに、 ^{13}C の天然存在比は、1.1% である。したがって、実際には ^1H より 6400 倍感度が悪い。

NMRの共鳴周波数とエネルギー

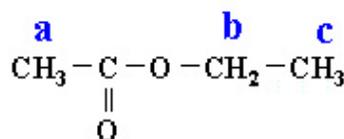
$$\nu = \frac{\gamma B_0}{2\pi} = \frac{2.675 \times 10^8 \times 11.7}{2\pi}$$

$$\approx 500 \text{ MHz} \equiv \lambda = 60 \text{ cm} \leftarrow \frac{c}{\nu}$$



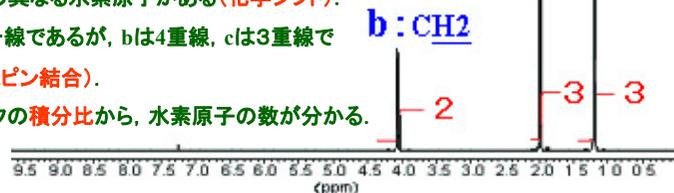
通常分光計に比較して4-10桁ほど低エネルギー

NMRスペクトルとは、どんなものか



ピーク面積比
ピーク a : ピーク b : ピーク c
= 3 : 2 : 3

- (1) 3種類の異なる水素原子がある(化学シフト)。
- (2) aは単一線であるが、bは4重線、cは3重線である(スピン結合)。
- (3) 各ピークの積分比から、水素原子の数が分かる。

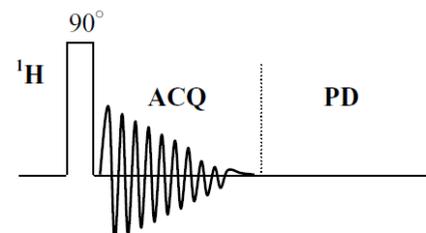


酢酸エチルの ^1H NMRスペクトル

^1H NMRスペクトルのルーチン測定に用いられる、最も一般的なパルスシーケンス

^1H NMR (NON, single pulse)

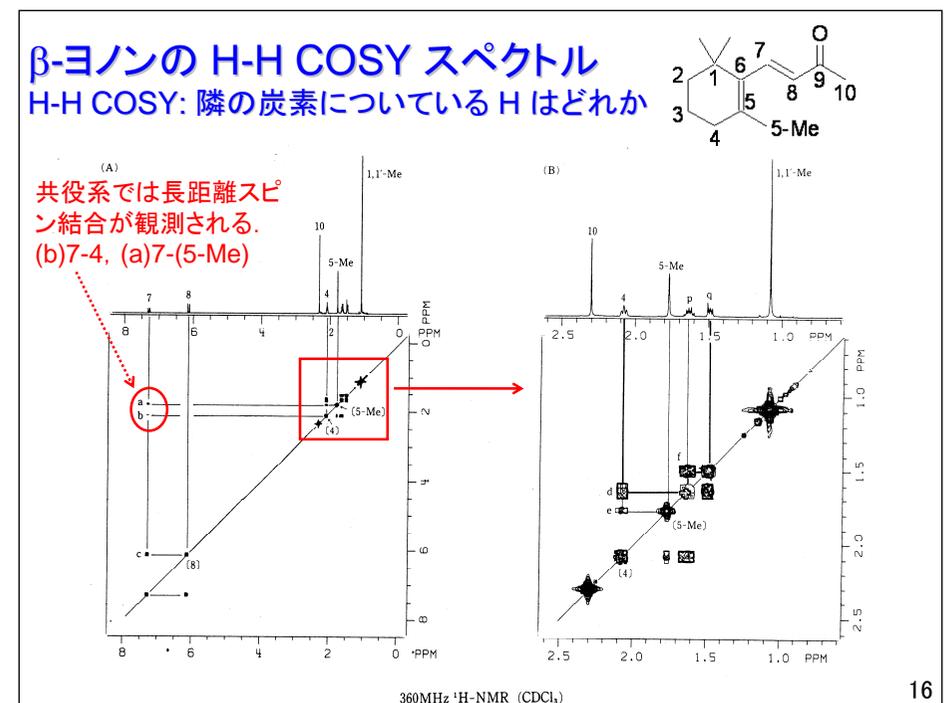
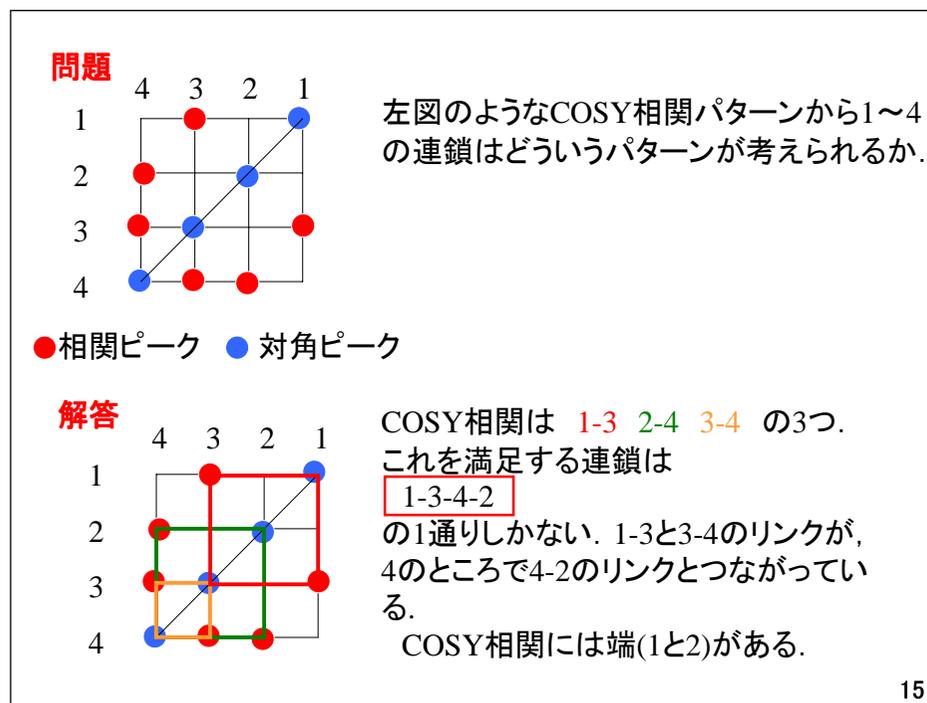
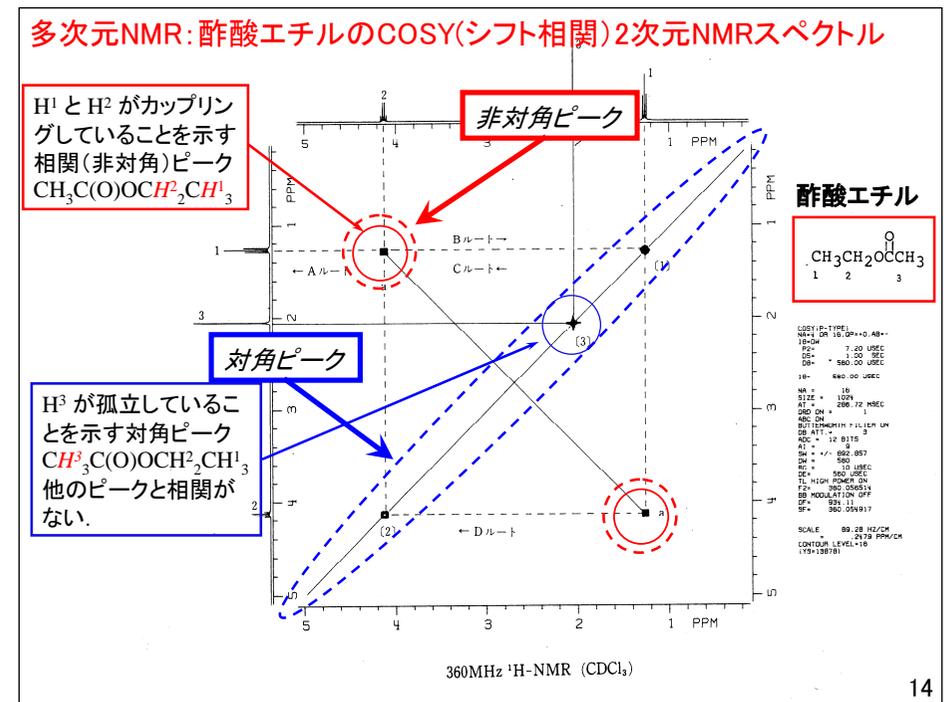
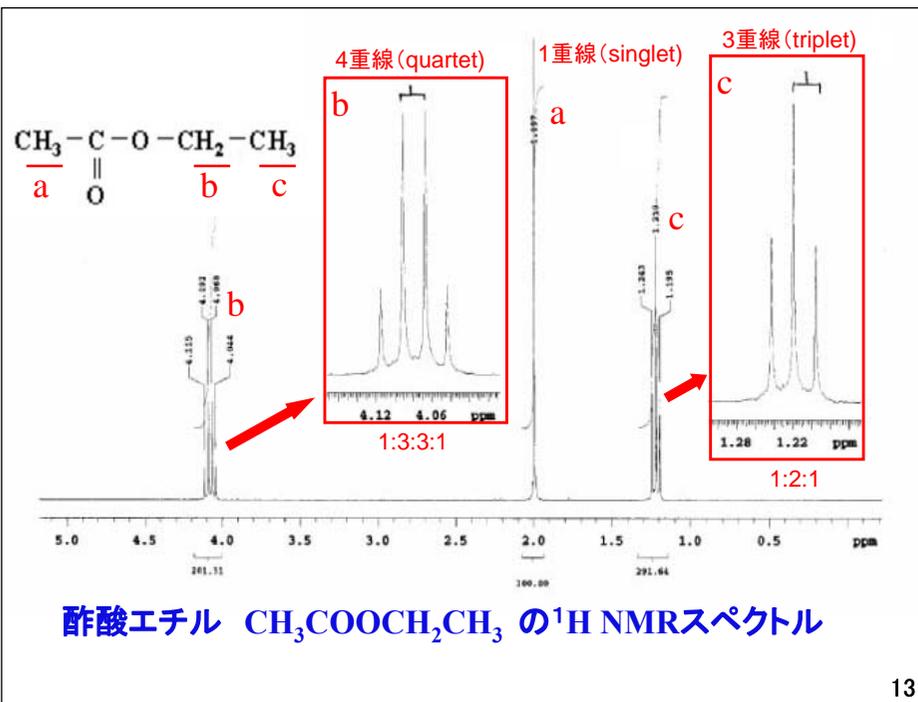
Fig.2-1 に ^1H NMR のパルス系列を示す。1回 90° パルスをかけ、すぐに FID を取り込んでいる。 ^1H NMR スペクトルからは、化学シフト値、 J_{HH} 値、積分値(相対強度比)が得られる。

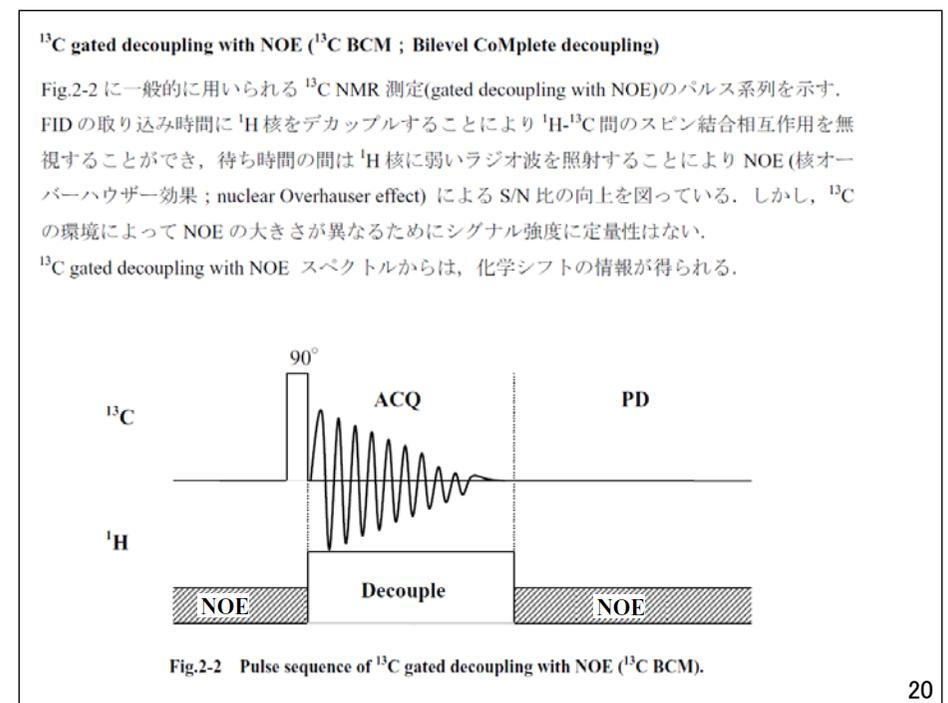
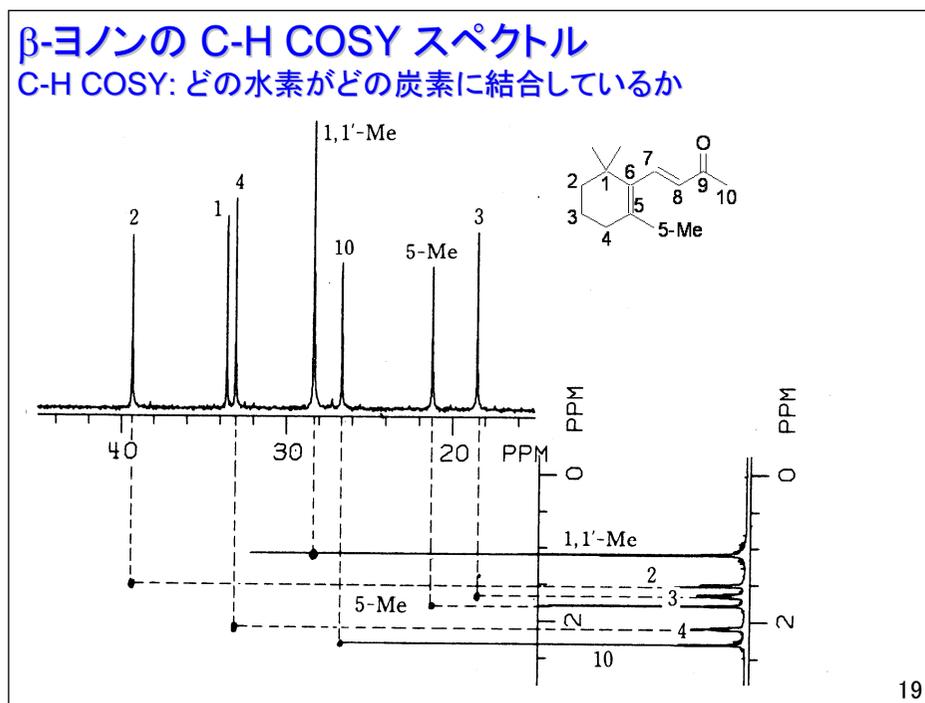
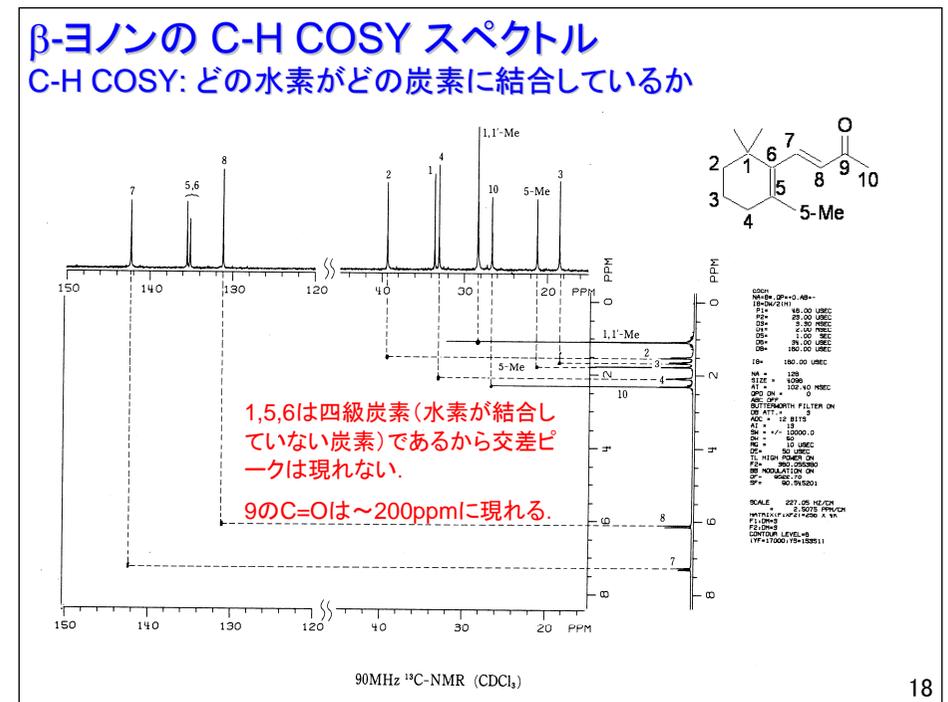
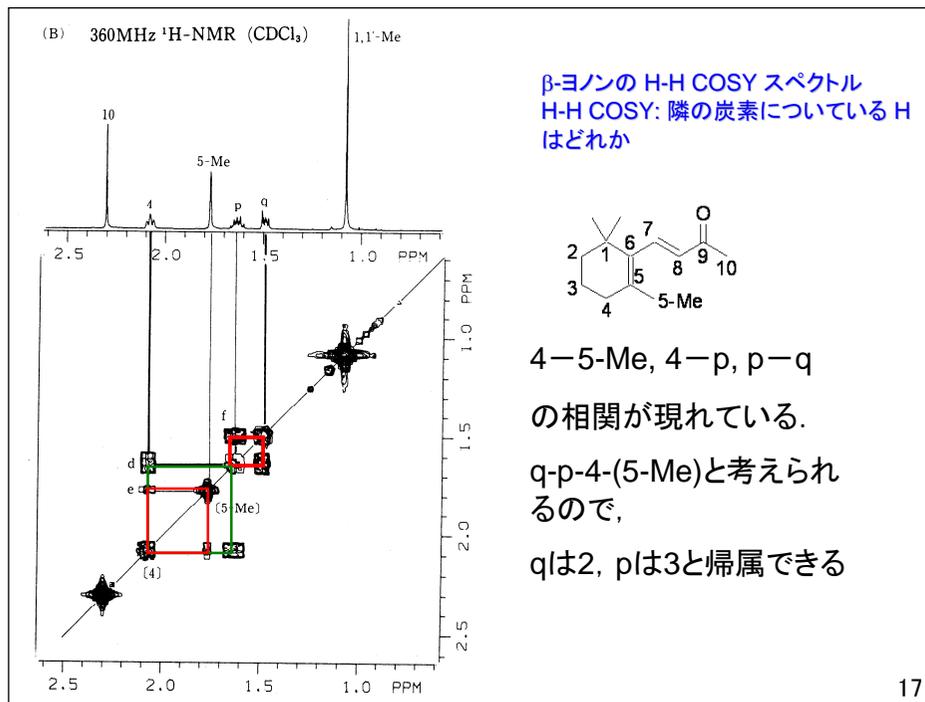


パルスの繰り返し時間はPDではなく、ACQ+PDである。

$$\text{recycle time} = \text{ACQ} + \text{PD}$$

Fig.2-1 Pulse sequence of ^1H NMR. (NON, single pulse)





^{13}C inverse gated decoupling without NOE

(^{13}C NNE ; Non Nuclear Overhauser Effect NMR)

Fig.2-3 に ^{13}C inverse gated decoupling without NOE のパルス系列を示す。FID の取り込み時間に ^1H 核をデカップルすることにより ^1H - ^{13}C 間のスピン結合相互作用を無視することができる。gated decoupling with NOE との違いは、待ち時間の間に ^1H にラジオ波を照射していないので NOE による効果がないことである。したがって十分な待ち時間をとることで定量的なスペクトルを得ることができ、gated decoupling with NOE よりも正確な ^{13}C の数を見積もることができる。

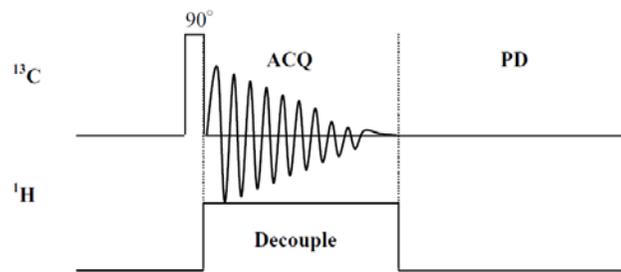


Fig.2-3 Pulse sequence of ^{13}C inverse gated decoupling without NOE (^{13}C NNE).

^{13}C NNE スペクトルからは、化学シフト、積分値より ^{13}C 核の数についての情報が得られる。

21

^{13}C NOE (Nuclear Overhauser Effect) NMR

Fig.2-4 に ^{13}C NOE のパルス系列を示す。FID の取り込み時間に ^1H 核をデカップルしていないので ^1H - ^{13}C 間のスピン結合相互作用に関する情報が得られる。また待ち時間の間 ^1H 核を弱いラジオ波で照射することで NOE による S/N 比の向上を図っている。

得られるスペクトルのシグナルは直接結合している水素数より 1 本多いシグナルに分裂する。 ^{13}C NOE スペクトルからは、炭素の多重度、 J_{CH} の値を得ることができる。

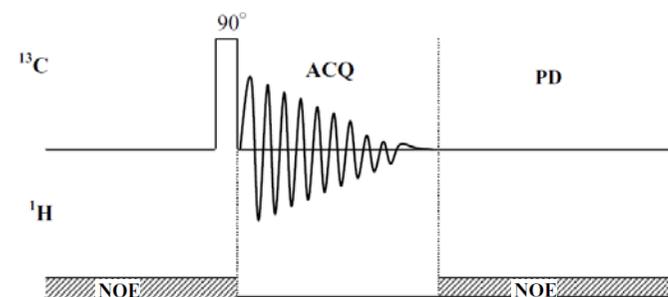
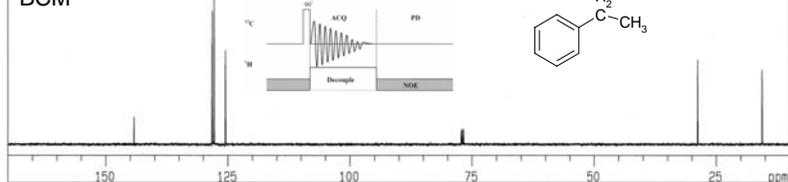


Fig.2-4 Pulse sequence of ^{13}C NOE.

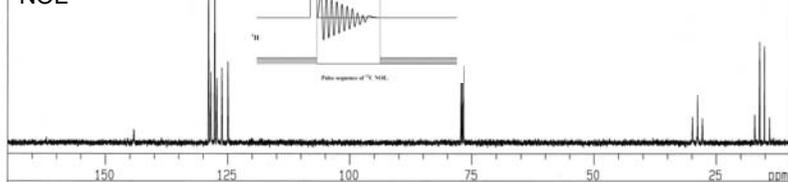
22

BCM



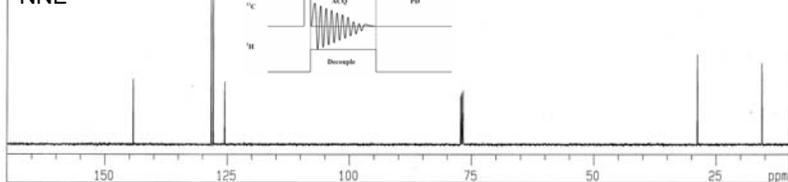
PD=2.03s
ACQ=967ms
recycle
time=3s

NOE



PD=2.03s
ACQ=967ms
recycle
time=3s

NNE



PD=24.03s
ACQ=967ms
recycle
time=25s

23

DEPT (Distortionless Enhancement by Polarization Transfer)

Fig.2-5 に DEPT のパルス系列を示す。パルス系列の遅延時間 T_D を $(2J_{\text{CH}})^{-1}$ に設定し、 θ パルスの幅を調整することで炭素の多重度を区別することができる。具体的には θ パルスの幅が 45° であるときには、 CH_3 、 CH_2 、 CH は上向きに現れ、 θ パルスの幅が 90° であるときには、 CH_3 、 CH_2 は現れず、 CH が上向きに現れ、 θ パルスの幅が 135° であるときには、 CH_3 、 CH は上向きに現れ CH_2 は下向きに現れることで多重度の区別を行う。多重度を区別する方法には他に、 ^{13}C NOE 法やオフレゾナンス法があるが、これらの方法は ^{13}C スペクトルのシグナルの分裂数によって多重度を区別するため、何らかの理由で ^{13}C のシグナルが複雑に重なっているときには有効に使用することができない。またシグナルの分裂により S/N 比が低下するために測定時間が長くなる。しかし DEPT ではシグナルの符号によって多重度を区別するため、このような条件でも有効に使用することができる。

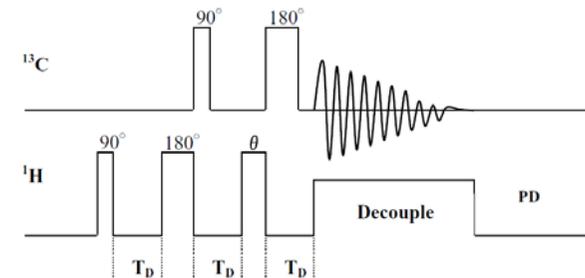


Fig.2-5 Pulse sequence of DEPT.

24

DEPT

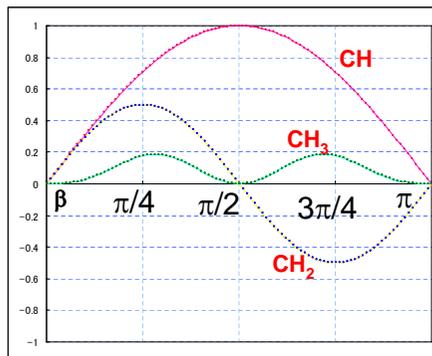
直積演算子による解析

$$\text{CH} : Sx \sin \beta$$

$$\text{CH}_2 : Sx \sin \beta \cos \beta$$

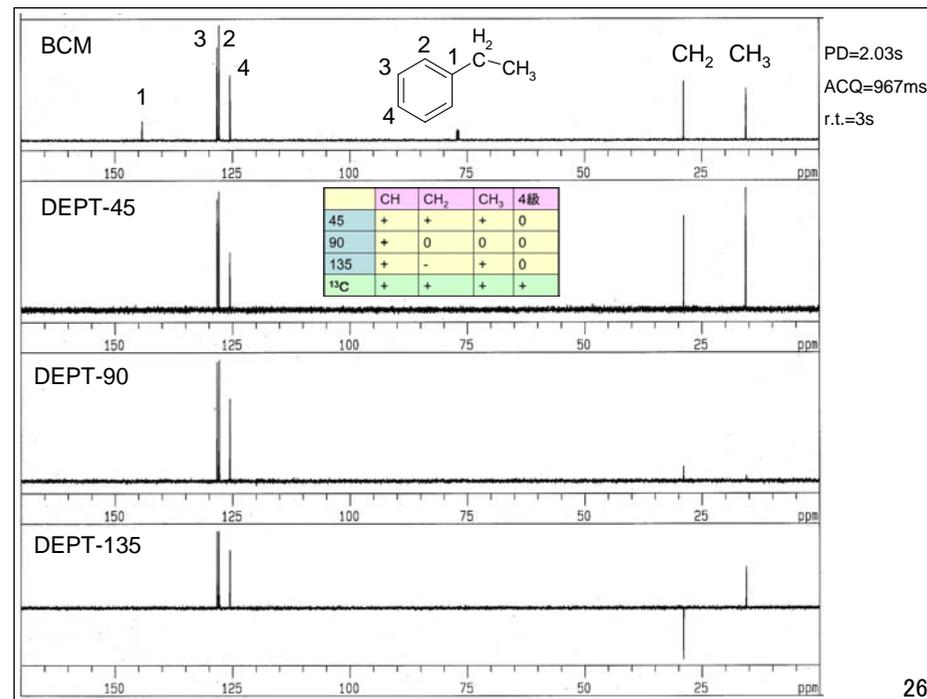
$$\text{CH}_3 : Sx \sin \beta \cos^2 \beta$$

	β	
	45°	90°
$\text{CH} :$	$\frac{1}{\sqrt{2}} Sx$	Sx
$\text{CH}_2 :$	$\frac{1}{2} Sx$	0
$\text{CH}_3 :$	$\frac{1}{2\sqrt{2}} Sx$	0



	CH	CH ₂	CH ₃	4級
45	+	+	+	0
90	+	0	0	0
135	+	-	+	0
¹³ C	+	+	+	+

25



26

液体 NMR スペクトルから得られる情報

(1)化学シフト δ ... 官能基, 原子団等は特徴的な異なる位置で信号を与える
本来はテンソル量であるが, 液体ではスカラー量である等方平均シフトが測定される. 基準物質の共鳴位置からの相対位置で示す. 通常はテトラメチルシラン (Me_4Si) が基準として用いられる. 化学シフトは静磁場の大きさに比例する.

$$\text{化学シフト } \delta = \frac{V_{\text{sample}} - V_{\text{Me}_4\text{Si}}}{V_{\text{Me}_4\text{Si}}} \times 10^6$$

(2)間接スピンスピン結合 J ... 化学結合を通じたスピンスピン相互作用のために, 隣の炭素に結合している ^1H の数を n とすると, 吸収線は $n+1$ 本に
—例えば, エチル基の CH_3 は 3 本に分裂する. J は静磁場に関係しない.

(3)積分強度比 ... ^1H の場合は, ^1H の数の相対比を与える.

27

NMRの歴史

NMRは元来, 物理学者によって, 原子核の性質(核磁気モーメントなど)を精密に測定するために試みられた. しかし, 化学シフトやスピンスピン結合の発見により, 分子構造解析, 分子運動の研究(緩和時間測定)など, 化学, 生化学などの分野で発展してきた. また, *in vivo* 測定, イメージング(MRI)など医学分野でも利用されている.

28

1- i) NMRの歴史(1)

- 1936年 核磁気スピンを検出する試みの失敗, *Physica, III*, p.995
Cornelius J. Gorter (オランダ)
1.4Tの磁場, 20MHz, 熱測定, ^1H (ミョウバン), ^7LiF , 長い緩和時間
- 1942年 固体中の核磁気共鳴を観測する試みの失敗, *Physica IX*, p.591
, **Gorter and Broer** (オランダ)
凝縮系のNMR, $^7\text{LiCl}$, K^{19}F , 低温, 長い緩和時間

1938年 分子線の磁気モーメント測定



Columbia University
New York, NY, USA
1898 - 1988

Isidor Isaac Rabi



The Nobel Prize in Physics 1944

"for his resonance method for recording the magnetic properties of atomic nuclei"

原子線の磁気的性質を記録するための共鳴法

29

1- i) NMRの歴史(2)

1946年 硝酸第二鉄水溶液(Bloch)とパラフィン(Purcell)において
水素核(^1H)磁気共鳴の検出に成功



Felix Bloch

Stanford University
Stanford, CA, USA
1905 - 1983



Edward Mills Purcell

Harvard University
Cambridge, MA, USA
1912 - 1997



The Nobel Prize in Physics 1952

"for their development of new methods for nuclear magnetic precision measurements and discoveries in connection therewith"

1966-76年

フーリエ変換NMR法・2次元
NMR法の開発と確立

Eidgenössische Technische
Hochschule
(Federal Institute of Technology)
Zurich, Switzerland 1933 -



Richard R. Ernst



The Nobel Prize in Chemistry 1991

"for his contributions to the development of the methodology of high resolution nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopy"

30

1- i) NMRの歴史(3)

4月7日

2002年度ノーベル化学賞



Kurt Wüthrich

Eidgenössische
Technische
Hochschule (Swiss
Federal Institute of
Technology)
Zürich, Switzerland
1938 -

• 1986年

タンパク質の構造決定



The Nobel Prize in Chemistry 2002

「生体高分子の同定および構造解析のための手法の開発」

"for the development of methods for identification and structure analyses of biological macromolecules"

「溶液中の生体高分子の立体構造決定のためのNMRの開発」

"for his development of nuclear magnetic resonance spectroscopy for determining the three-dimensional structure of biological macromolecules in solution"

31

1- i) NMRの歴史(4)

2003年度ノーベル医学生理学賞



Paul C. Lauterbur

University of
Illinois
Urbana, IL,
USA
b. 1929



Sir Peter Mansfield

University of Nottingham,
School of Physics and
Astronomy,
Nottingham, United
Kingdom
b. 1933



The Nobel Prize in Medicine 2003

"for their discoveries concerning magnetic resonance imaging"

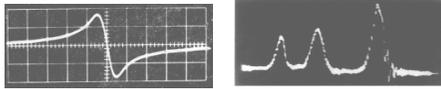
「磁気共鳴イメージング(MRI)に関する発見」

32

NMR装置の変遷

1961年、世界最初の市販装置：Varian A-60

初期の頃のシグナル

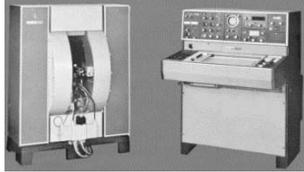


微分形のシグナル

最初の化学シフトの発見



JEOL FX100 (FT法)：1971年



Bruker WP60 (CW法)：1984年



Bruker DRX300：1993年

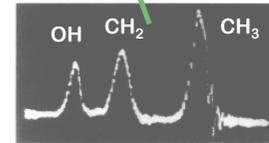
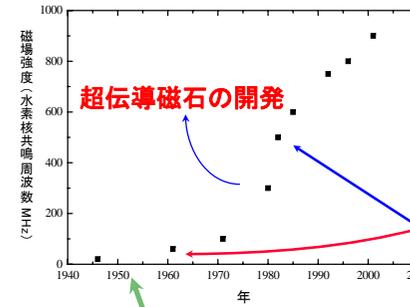


Varian Inova 900：2001年

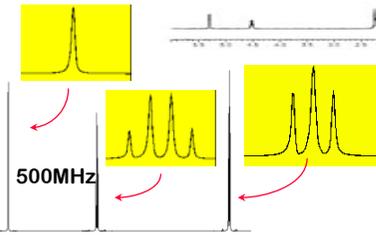


磁場の強さの変遷

酢酸コレステリルの ^1H NMRスペクトル



$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$ のシグナル

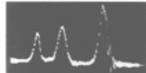


化学への応用として見たNMR法の発展(1)

• 1951年

化学シフトの発見

ProctorとYu (アメリカ)



NH_4NO_3 水溶液の ^{14}N スペクトルが2本に分裂した。 ^{14}N の核磁気モーメントの正確な測定という当初の目的には失敗したが、化学シフトを発見することとなった。

• 1951年

スピン結合(J結合)の発見

ProctorとYu, GutowskyとMcCall(アメリカ)

Gutowskyと雑賀亜帆(日本)

• 1953年

核オーバーハウザー効果(NOE)の発見

Overhauser (アメリカ)

強い電磁波によって電子スピン共鳴を飽和すると、核スピンのスピン分極が著しく増大することを理論的に示した。

Wüthrichによる「タンパク質の構造決定」に応用されている。

→2002年ノーベル化学賞

• 1960年代 スペクトルの計算

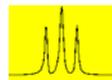
• 1969年

常磁性シフト試薬の発見

• 1950年代後半～60年代前半
多量の試料の利用ならびに、コンピュータによるシグナルの積算(CWなのでCAT)

• 1964年 プロトン(^1H)完全

デカップリング法の開発
炭素核(^{13}C)の測定



化学への応用として見たNMR法の発展(2)

• 1969年 パルス、

フーリエ変換法の開発



Richard R. Ernst

• 1970年代後半

マルチパルス法の開発

• 高磁場装置の導入(超伝導磁石)

• 2次元NMR法の開発

MRI

• 1972年

ズームグラフィの提案



R.V. Damadian



P.C. Lauterbur

固体高分解能

• 1970年代後半
マジック角回転法の開発(CP/MAS法)



E.R. Andrew



E.O. Stejskal
J.Schaefer



E.L. Hahn



A. Pines

生体系

• 1986年
タンパク質の構造決定



Kurt Wüthrich

1- ii) NMRで何が見える？

何をみるのか？

原子核(核スピンのないもの)
 ^1H 、 ^{13}C 、 ^{15}N 、 ^{29}Si など、ほぼ全ての原子核(ただし、同位体も含む)

でも、同位体だから、信号強度は天然存在比に依存

例: ^1H は100%、 ^{13}C は1.1%で ^{12}C が98.9%

核を見て、何がわかるの？

- 分子の種類がわかる
- 分子の運動性がわかる
- 分子の相互作用状態がわかる
- 分子の立体構造がわかる

どういう分子が得意？

- 有機物質、CやHやNなどで構成されている。低分子有機化合物、高分子、タンパク質など。
- 無機物質、ただし核スピンのないものが好ましい。それ以外でも測定は可能だが、高分解能が得られない場合もある。天然存在比が高いものが良い。

不得意な物質は？

- ラジカルや常磁性(Fe^{3+} など)物質を多量に含むもの。つまり、石炭、導電率の良い材料、金属、磁石にくっつくものなど。

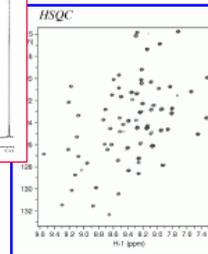
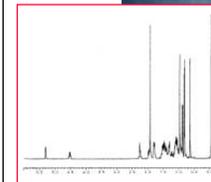
37

試料の実際と測定例(溶液)

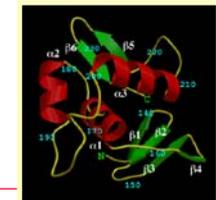
低分子化合物(有機、無機)



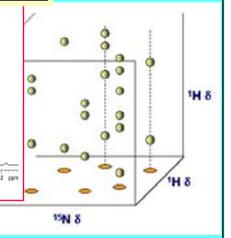
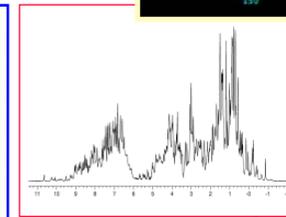
溶液



生体系、タンパク質など



水に溶けること



- 化学シフト値や積分値
- NOEやJ結合、2次元法
- 緩和時間から運動性

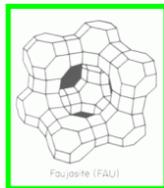
- 化学シフト値、同位体ラベル
- NOEやJ結合、多次元NMR法
- 分子構造計算、モデリング

38

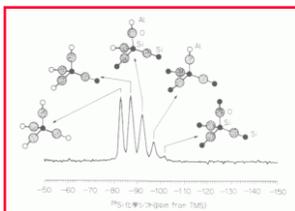
試料の実際と測定例(固体、MRI)

固体材料(有機、無機)

粉末・結晶

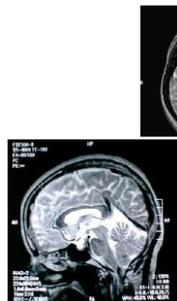


樹脂



- CP/MAS法、DD/MAS法
- 化学シフトテンソル値
- スピン拡散、緩和曲線解析
- 同位体ラベル、2次元法

生物個体(主に医学)



傾斜磁場(架台内組込み)

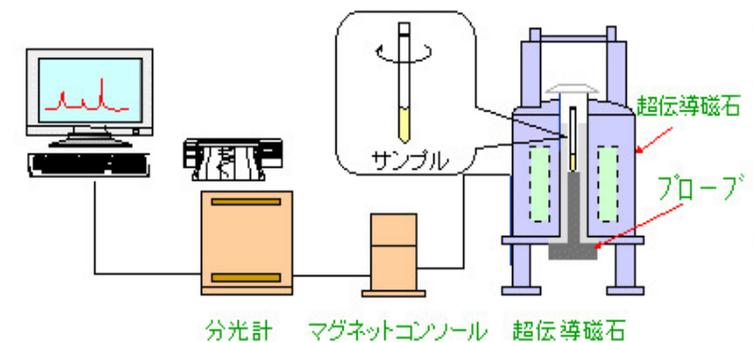


RFコイル

- 磁場勾配
- 水素核(水)の観測
- 緩和時間の違い
- 画像処理

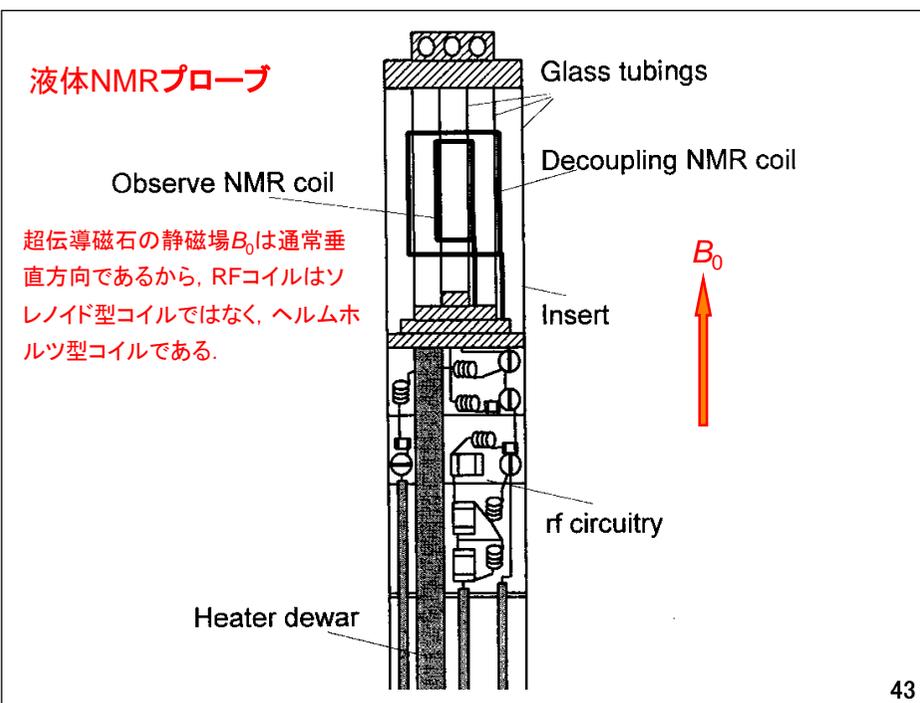
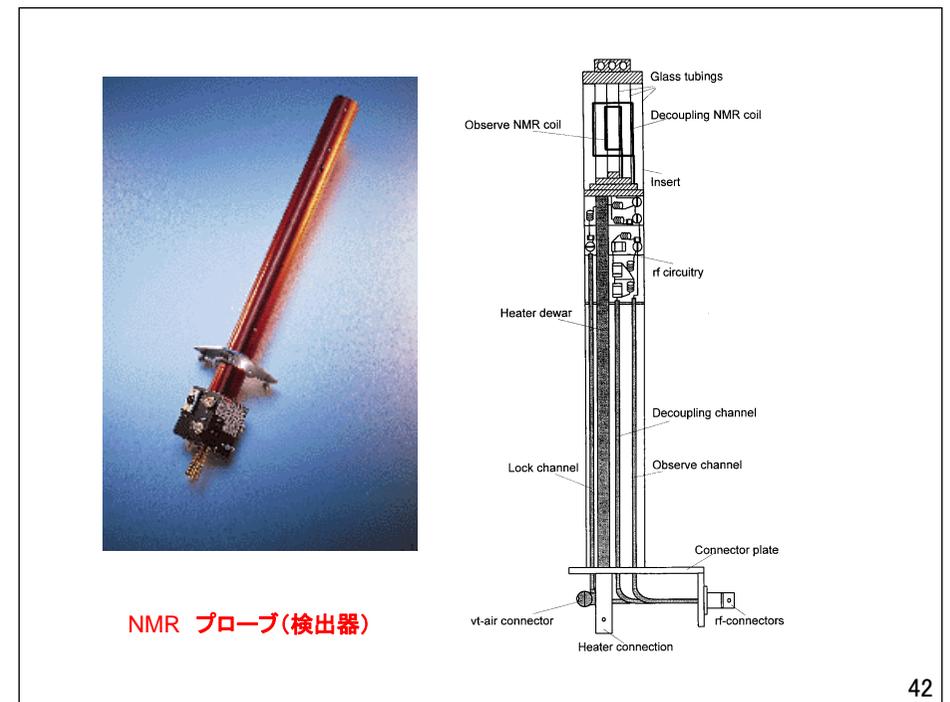
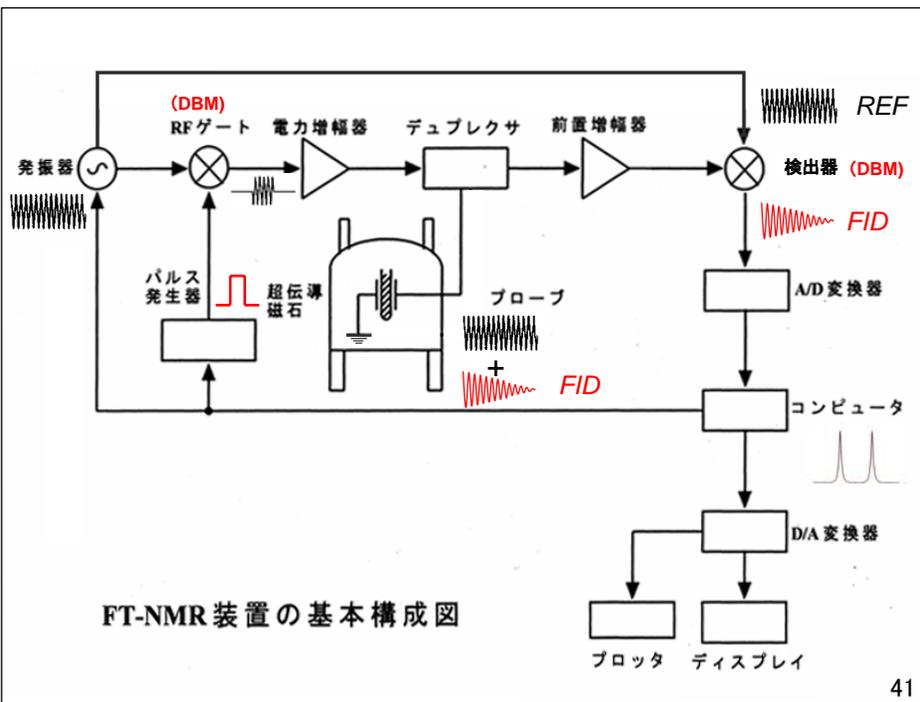
39

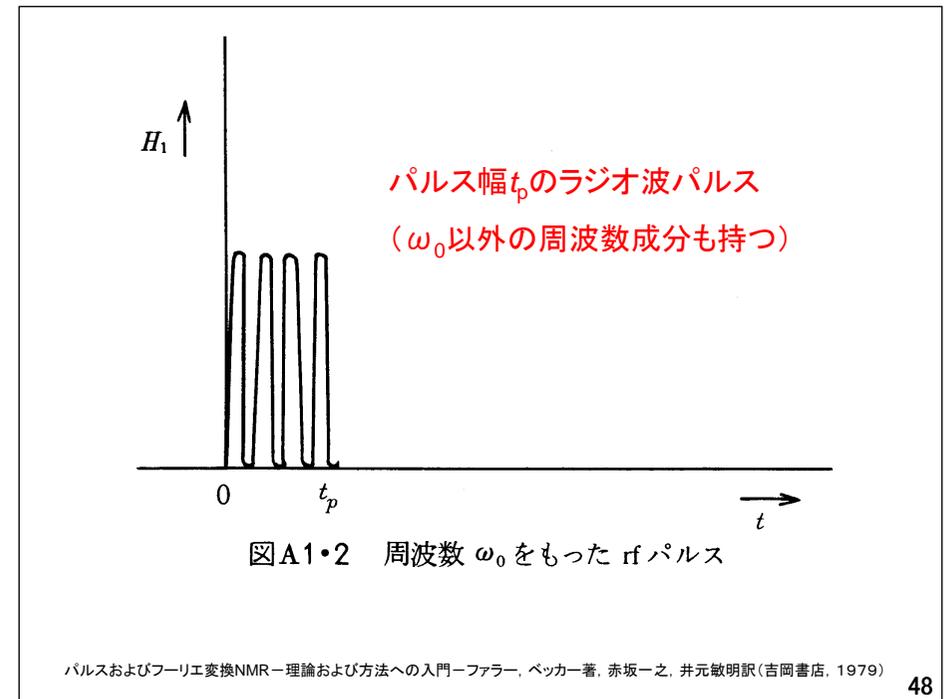
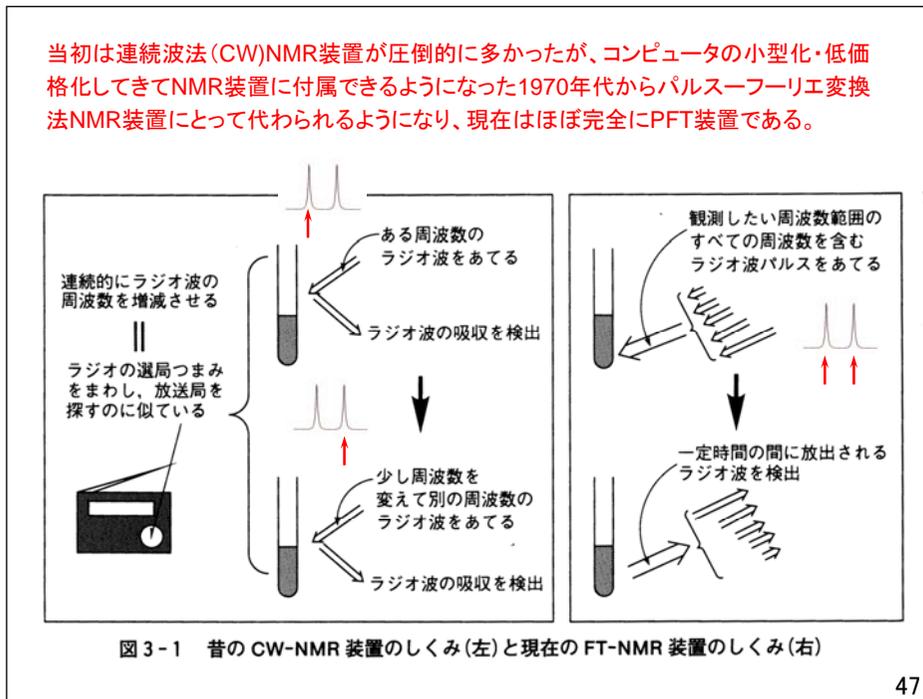
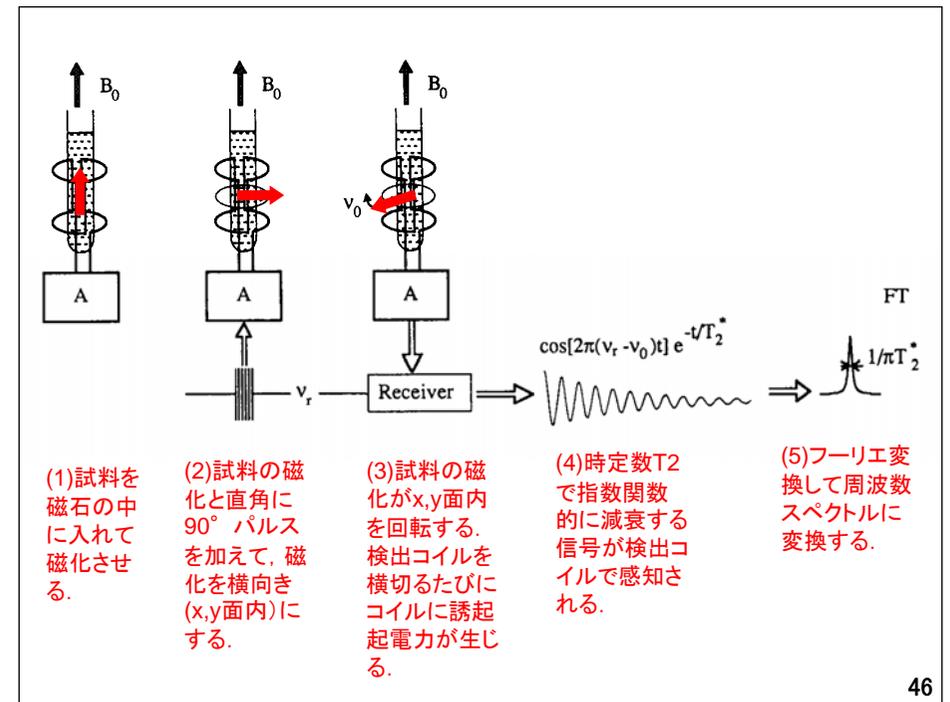
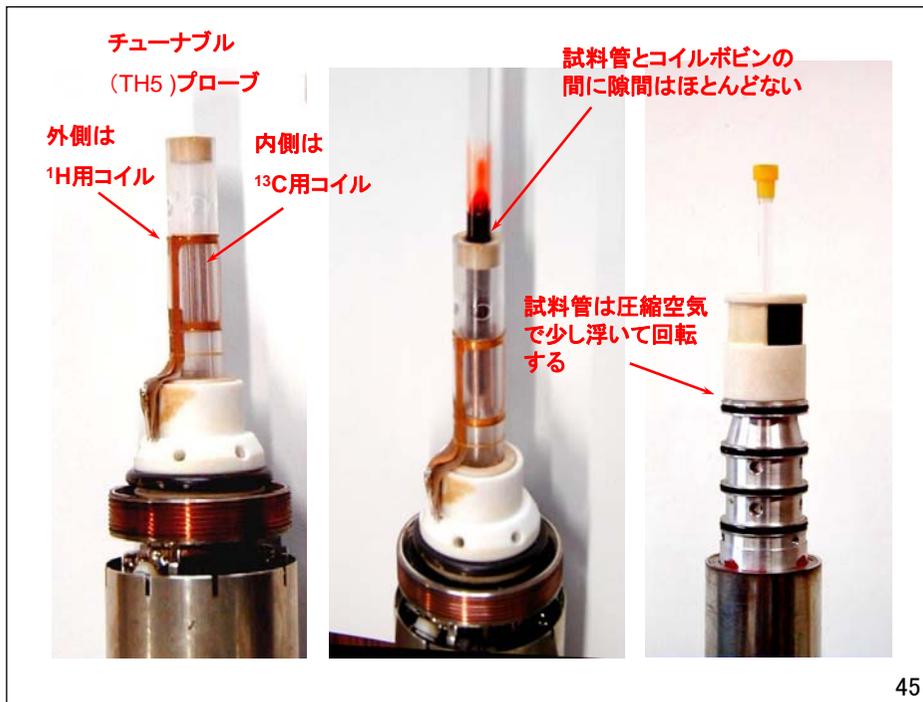
NMR分光計とは、どんなものか



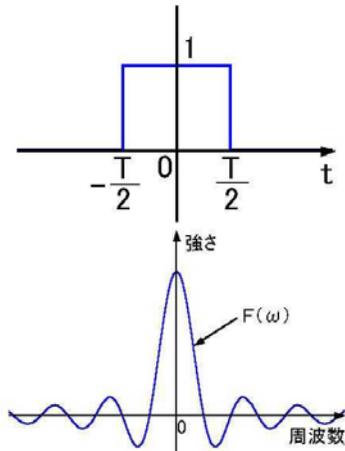
機種 : 日本電子 LA-500
 観測核 : ^1H (共鳴周波数 500MHz)
 ^{13}C (共鳴周波数 125MHz)
 磁場強度 : 11.7 テスラ

40





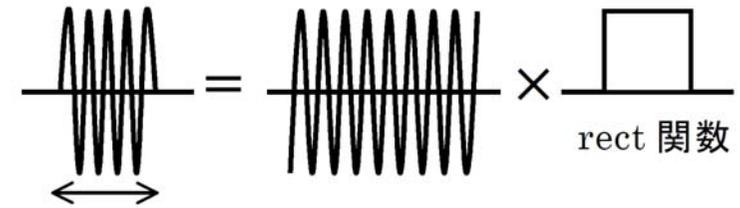
矩形波のフーリエ変換



矩形波のフーリエ変換

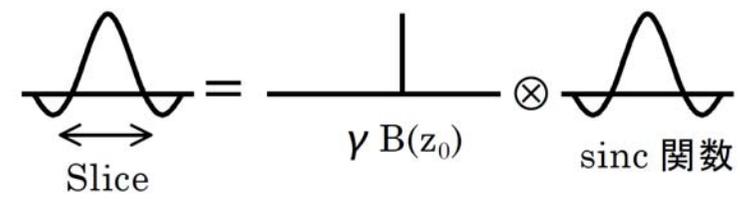
- フーリエ変換
- →時間領域から周波数領域への演算

$$\begin{aligned}
 F(\omega) &= \int_{-\infty}^{\infty} f(t) \cdot \exp(-j\omega t) dt \\
 &= 2 \int_0^{T/2} 1 \cdot \cos(\omega t) dt \\
 &= \frac{2}{\omega} \sin\left(\frac{\omega T}{2}\right) = \frac{\sin\left(\frac{\omega T}{2}\right)}{\frac{\omega T}{2}} \\
 &= T \cdot \text{sinc}\left(\frac{\omega T}{2}\right)
 \end{aligned}$$

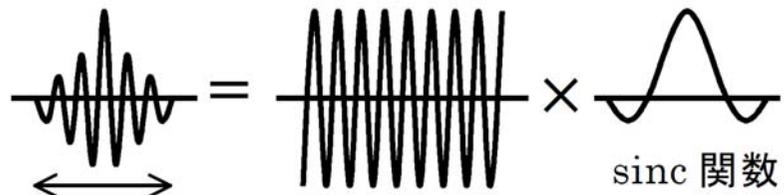


RF pulse = [Sine wave] × [rect関数]

Fourier Transform

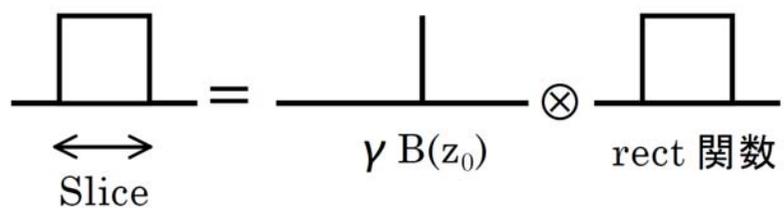


sinc関数: $\text{sinc}(x) = \frac{\sin x}{x}$



RF pulse = [Sine wave] × [sinc関数]

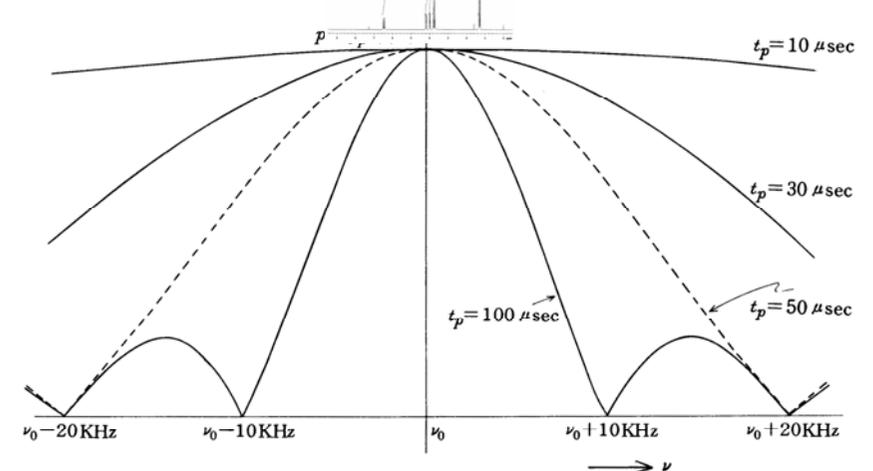
Fourier Transform



sinc関数の形をしたパルスでDDSで合成することによって、非常に狭い範囲しか励起しない選択的パルスを作れる。

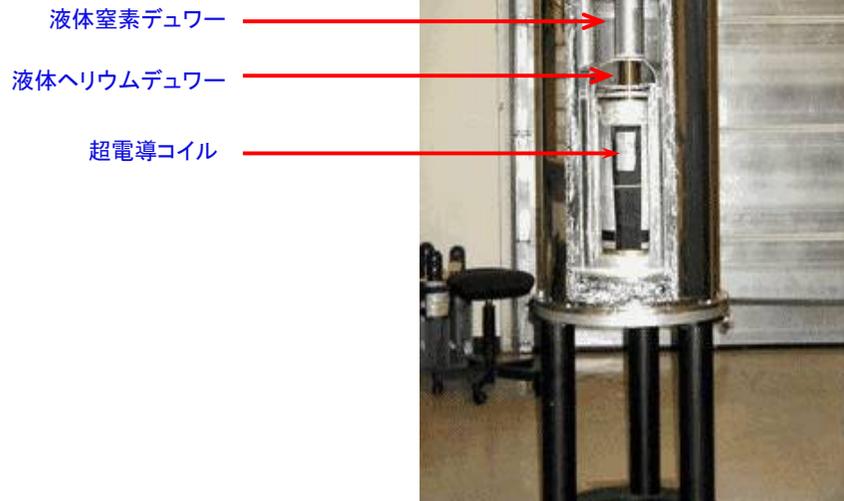
500MHz装置で液体試料の¹Hは約5kHz(10ppm)のスペクトル幅を持つ。パルス幅20 μs でおよそ8kHzの周波数分布域がほぼフラットになる。

¹³Cでは25kHz(200ppm)程度なのでパルス幅は10μs程度以下でなければならない。

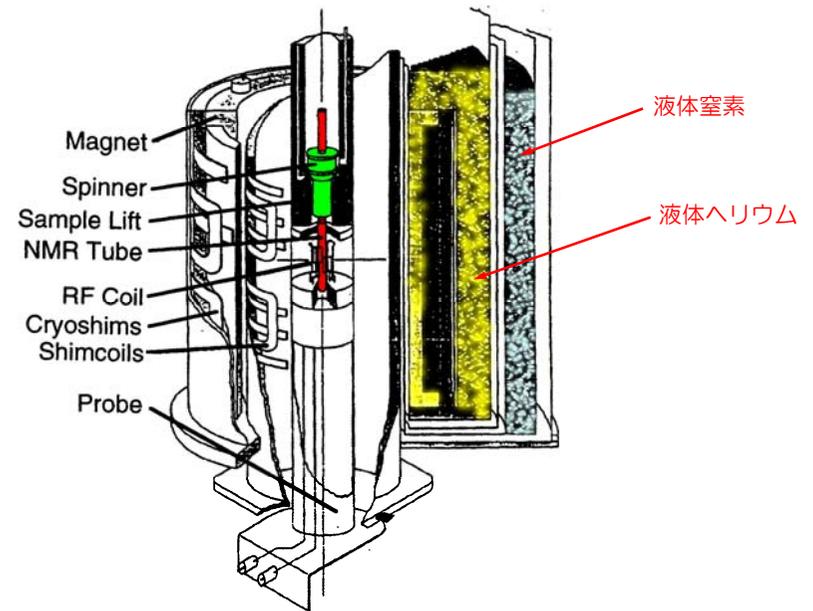


図A1・3 周波数 ν_0 をもつ rfパルスの周波数分布

NMR用超電導磁石



53



54

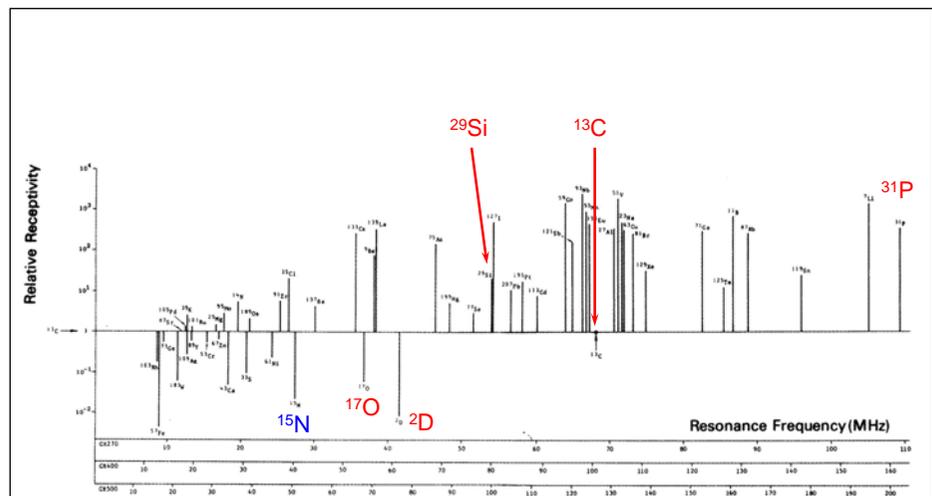
代表的な核の性質

核種	自然存在比 /%	核スピン I	NMR 周波数 /MHz	磁気回転比 γ / $10^7 \text{radT}^{-1}\text{s}^{-1}$	核四極子モーメント Q / 10^{-30}m^2
^1H	99.985	1/2	500.000	26.7510	—
^2H	0.015	1	76.755	4.1065	0.277
^{13}C	1.108	1/2	125.725	6.7283	—
^{14}N	99.63	1	36.13	1.9331	0.16
^{15}N	0.37	1/2	50.685	-2.7116	—
^{17}O	0.037	5/2	67.78	-3.6264	-0.26
^{19}F	100	1/2	470.47	25.181	—
^{31}P	100	1/2	202.405	10.8289	—

1) $I \geq 1$ の核種は核四極子モーメントを持つ。

2) 磁気回転比 γ は、核種に固有な定数であり、核スピンと磁気モーメント μ の比である。
 $\mu = \gamma \hbar I$ プロトン ^1H は、最も γ が大きい。

55



主要な多核種の共鳴周波数: ^{31}P , ^{13}C , ^{29}Si , ^2D , ^{17}O , ^{15}N

56

液体 NMR スペクトルから得られる情報

(1)化学シフト δ …官能基, 原子団等は特徴的な異なる位置で信号を与える
本来はテンソル量であるが, 液体ではスカラー量である等方平均シフトが測定される. 基準物質の共鳴位置からの相対位置で示す. 通常はテトラメチルシラン(Me_4Si)が基準として用いられる. 化学シフトは静磁場の大きさに比例する.

$$\text{化学シフト } \delta = \frac{V_{\text{sample}} - V_{\text{Me}_4\text{Si}}}{V_{\text{Me}_4\text{Si}}} \times 10^6$$

(2)間接スピンスピン結合 J …化学結合を通じたスピンスピン相互作用のために, 隣の炭素に結合している ^1H の数を n とすると, 吸収線は $n+1$ 本に
—例えば, エチル基の CH_3 は 3 本に分裂する. J は静磁場に関係しない.

(3)積分強度比 … ^1H の場合は, ^1H の数の相対比を与える.

57

NMRで何が分かるか

(1)分子構造に関する情報

液体NMRの場合

- ①分子に含まれる官能基の種類, 数, 連結様式(化学シフト) …1次構造
- ②立体配置, 立体配座(スピン結合),
距離相関(核オーバーハウザー効果) …高次構造

固体 NMR の場合

- ①分子に含まれる官能基の種類, 数, 連結様式(化学シフト) …1次構造
- ②立体配置, 立体配座,
原子核間の距離および二面角(磁気双極子相互作用) …高次構造

(2)分子運動に関する情報

核磁気緩和時間の温度依存性測定などから分子運動様式や運動の相関時間を知ることができる.

58

NMRの特徴

(1)感度が低い

低分子量物質で数 mg, 高分子量物質で数十 mg の試料が望ましい.
質量分析やガスクロマトグラフィーに比べて 2~3 桁感度が低い.

(2)緩和時間が長い

他の分光法に比べて緩和時間が長いので繰り返し測定(積算)に時間がかかる.

(1), (2)のために, 寿命の短い反応中間体や, 不安定な化合物の測定は難しい.

(3)周波数が低いので, コヒーレントな多重パルス実験が容易に実現できる.

種々の相互作用を測定する, さまざまなパルス系列が考案されている

例: 液体 NMR における, たんぱく質の高次構造解析 …多核種多次元 NMR
固体 NMR における, 磁気双極子相互作用消去 …マルチパルス NMR

59

- (1)日付
- (2)専攻名
- (3)番号
- (4)氏名
- (5)この授業で取り扱ってほしいことがあれば書いてください.

60