

【技術資料】NMR 入門講座 ⑥溶液 2次元 NMR の原理と読み方

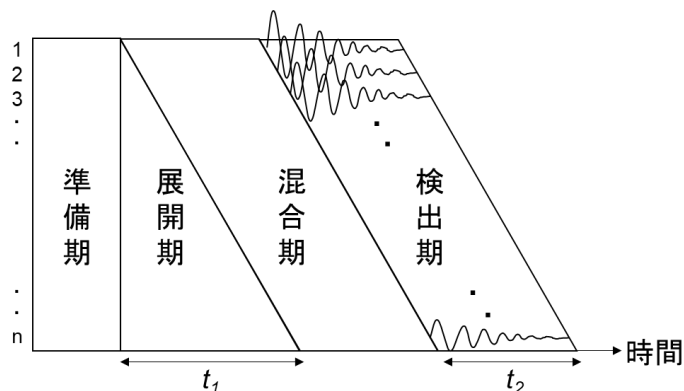
概要

核磁気共鳴(nuclear magnetic resonance:NMR)法は、分子構造や様々な分子間相互作用、分子の運動状態などを調べる手法で、高分子化学、生物化学、医学等の広範囲な分野で活用されています。本講座では、2次元 NMR の簡単な原理と、溶液 NMR における代表的な 2次元 NMR 測定法 4 種について説明します。

1. 2次元 NMR の原理^{1,2)}

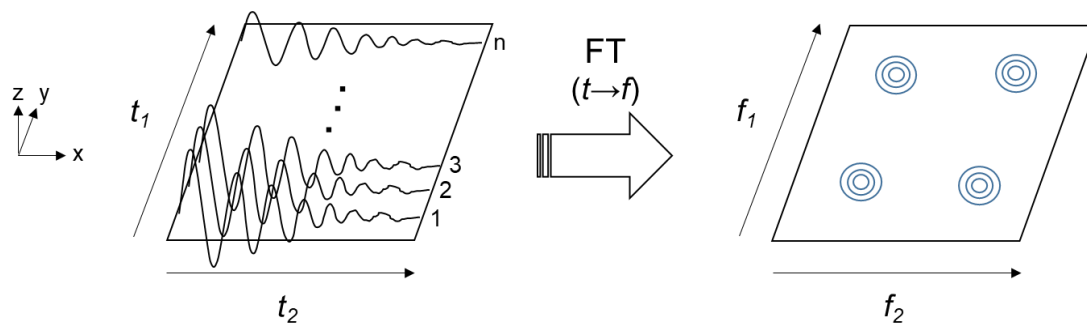
2次元 NMR 測定は、複数のパルスとそれらの間の待ち時間からなる一連のパルスシーケンスで記述され、一般的に【図 1】に示した 4 つの時間領域(準備期、展開期、混合期、検出期)で構成されます。準備期に励起された磁化は、展開期に核スピンの固有の情報(化学シフト、 J 結合)をもって展開し、混合期に相互作用する他の核スピンと相関づけられた後、検出期に NMR 信号(FID)として検出されます。したがって、2次元 NMR 測定の FID は核スピン間の相関(相互作用)についての情報を含みます。

2次元 NMR では、【図 1】のように展開時間 t_1 を少し (Δt) ずつ延ばしながら多数の 1次元測定を行うことで、 t_1 の長さに応じて変調した一連の FID が取得されます。



【図 1】 2次元 NMR のパルスシーケンスの構成

得られた一連の FID を【図 2】のように x 軸を t_2 軸、 y 軸を t_1 軸として並べると、 x 軸方向は FID でありフーリエ変換(FT)可能、 y 軸方向も FID を Δt 間隔でサンプリングした形のデータ(インターフェログラム)となり FT 可能です。そこで t_1 、 t_2 の両時間軸を FT(周波数軸 f_1 、 f_2 に変換)すると 2次元 NMR スペクトルが得られます。



【図 2】 2次元 NMR スペクトルの取得

2. 代表的な溶液 2 次元 NMR 測定法

代表的な溶液 2 次元 NMR 測定法として、一般的に分子の構造解析で使用する測定法 4 種を紹介します。これらは化学結合を介した相互作用である J 結合 (スピン結合) を利用した測定法です。ここでは例として 1-プロパノール重水溶液を試料としています (OH 基は重水との交換のため不検出)。

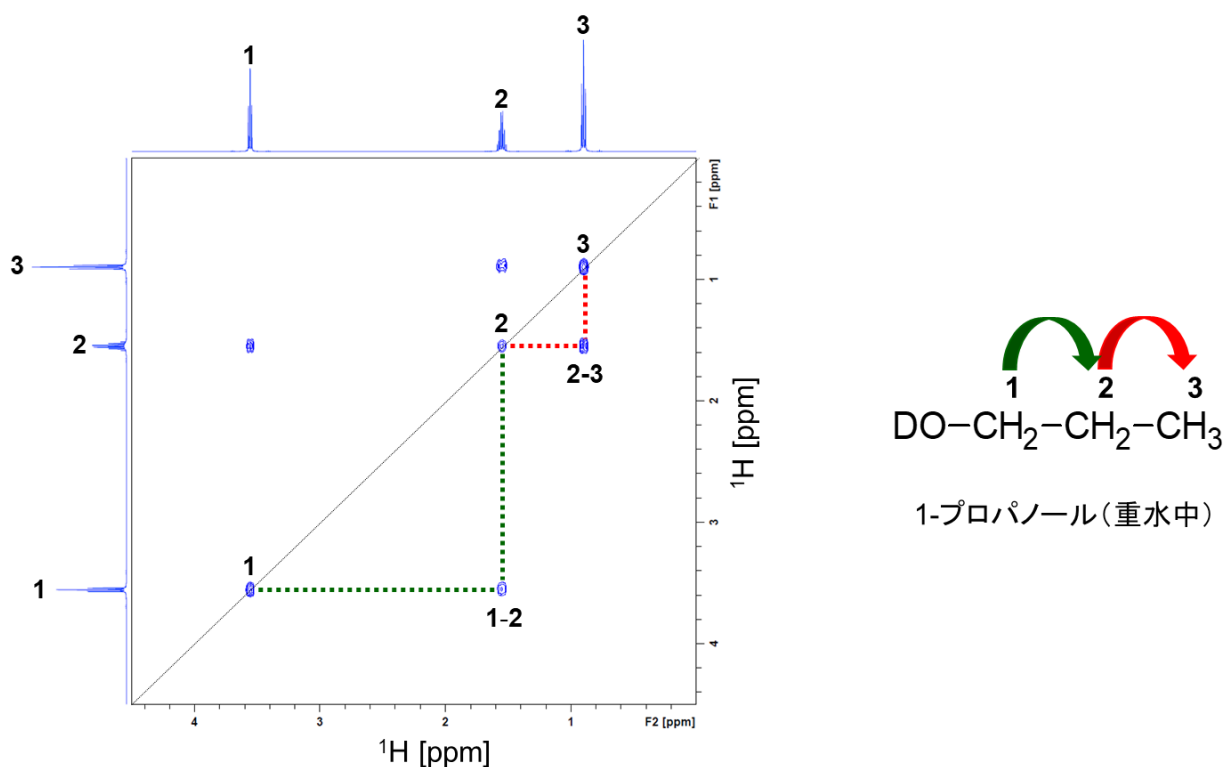
2-1) 同種核相関 (^1H - ^1H) 2 次元測定

^1H 間の相関を解析する測定法として COSY と TOCSY を紹介します。同種核相関 (^1H - ^1H) 測定では縦軸、横軸はいずれも ^1H の化学シフト軸を示し、対角線上のピーク (対角ピーク) は 1 次元 ^1H スペクトルに対応します。それ以外のピーク (交差ピーク) から目的の相関を読み取ります。

2-1-1) COSY

^1H - ^1H COSY (COrelation SpectroscopY) は、 J 結合を介した 2 つの H 間の相関を得る測定法で、主に隣接水素の解析に使用します。1-プロパノールの ^1H - ^1H COSY スペクトルを【図 3】に示します。

交差ピークを見ると、ピーク 1 とピーク 2 (緑)、ピーク 2 とピーク 3 (赤) の間で相関が確認されており、ここから 1-2-3 の並びで結合していることが分かります。化学シフトより、低磁場側のピーク 1 が $\text{CH}_2\text{-OD}$ 基、高磁場側のピーク 3 が CH_3 基と判断できます。



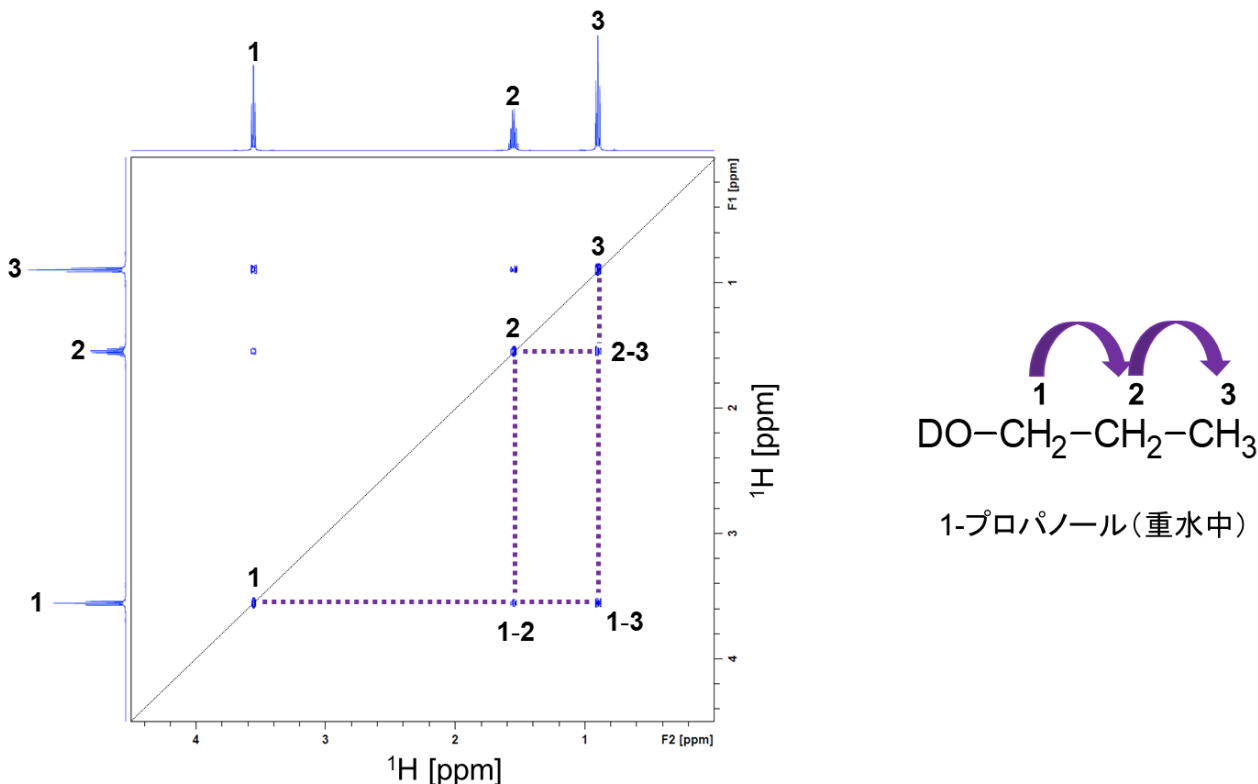
【図 3】 1-プロパノールの ^1H - ^1H COSY スペクトル

COSY の変法として、解析の妨害となりがちな軽水ピーク等の非相関ピークを排除できる DQF (2 量子フィルター)-COSY がよく用いられます。

2-1-2) TOCSY

^1H - ^1H TOCSY (TOtal Correlation SpectroscopY) は、 J 結合を介して繋がっている全ての H 間の相関を得る測定法です。1-プロパノールの ^1H - ^1H TOCSY スペクトルを【図 4】に示します。

COSY と同様に交差ピークを見ると、ピーク 1 からピーク 2, 3 両方に相関が確認され(紫)、1, 2, 3 が隣接した化学結合で繋がっていることが分かります。



【図 4】 1-プロパノールの ^1H - ^1H TOCSY スペクトル

TOCSY は COSY とセットで水素の配列解析に使用され、分子が四級炭素やエーテル結合等を有し J 結合が切れる場合には、部分構造の解析(糖鎖中の単糖ごとの解析等)に特に有効です。TOCSY は HOHAHA (HOmonuclear HArtmann-HAhn spectroscopy) とも呼ばれます。

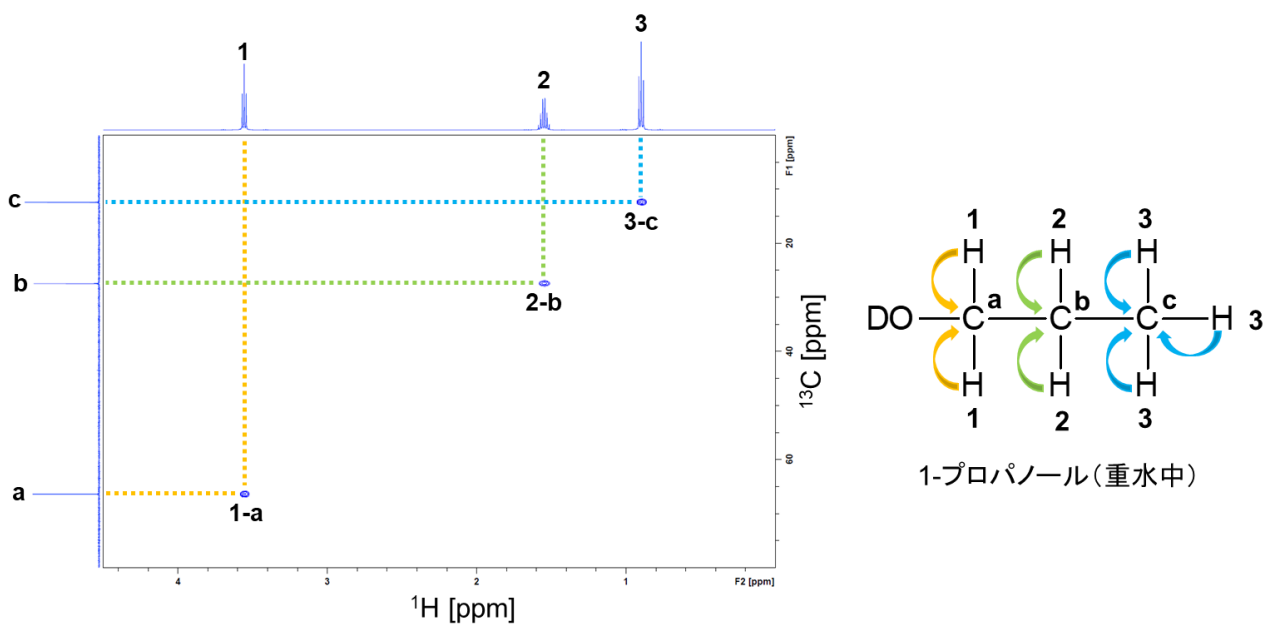
2-2) 異種核相関(^1H - ^{13}C) 2次元 NMR

^1H - ^{13}C 間の相関を解析する測定法として HSQC と HMBC を紹介します。異種核相関(^1H - ^{13}C)測定では一般的に縦軸に ^{13}C の化学シフト軸、横軸に ^1H の化学シフト軸を表示します。

2-2-1) HSQC

^1H - ^{13}C HSQC (Heteronuclear Single Quantum Correlation) は、H-C の直接結合の相関を得る測定法です。1-プロパノールの ^1H - ^{13}C HSQC スペクトルを【図 5】に示します。

交差ピークを見ると、3 種類の水素のピーク(1~3)と 3 種類の炭素のピーク(a~c)のうちどれが結合しているか(1-a, 2-b, 3-c)が一目で分かります。



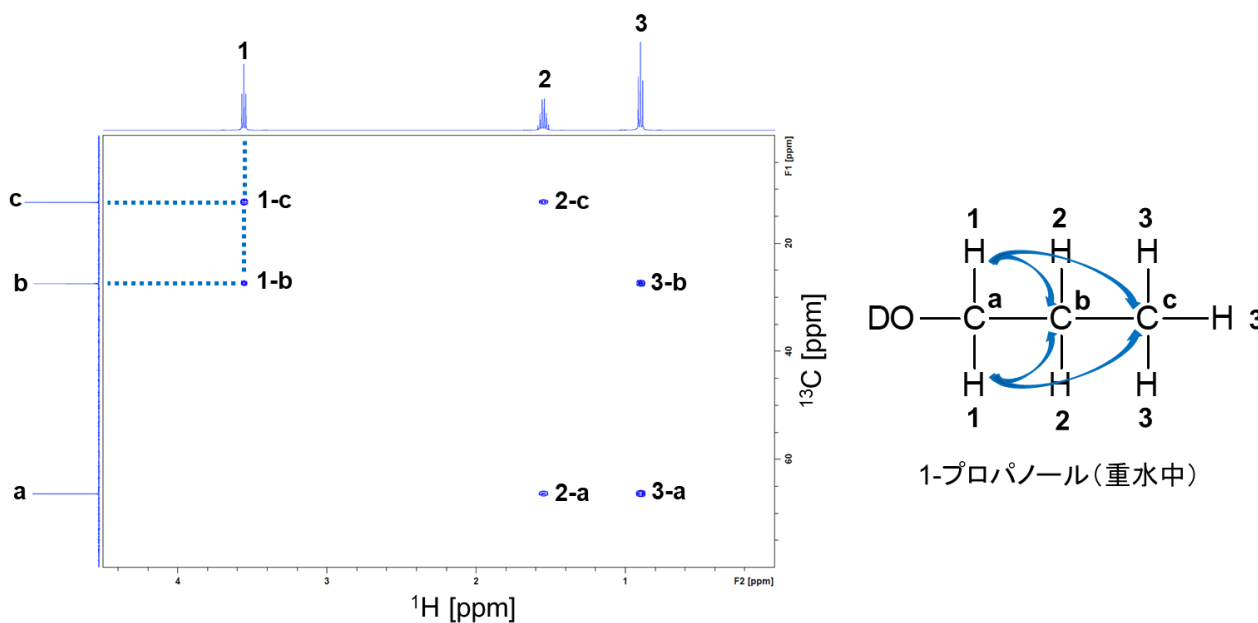
【図 5】 1-プロパノールの ^1H - ^{13}C HSQC スペクトル

HSQC は結合情報を直観的に把握しやすい測定法であり、構造解析の起点としてよく利用されます。HSQC の変法として、DEPT135(炭素級数の区別が可能)の機能を付加した Edited-HSQC が知られていません。

2-2-2) HMBC

^1H - ^{13}C HMBC(Heteronuclear Multiple Bond Correlation)は、2~3 結合離れた H-C 間(H-X-C と H-X-X-C)の相関を得る測定法です。1-プロパノールの ^1H - ^{13}C HMBC スペクトルを【図 6】に示します。

^1H のピーク 1 に着目すると、 ^{13}C のピーク b (隣の炭素)及びピーク c (2 つ隣の炭素)との相関が確認されます。このように、HMBC では HSQC を補完する隣接した結合の情報が得られます。



【図 6】 1-プロパノールの ^1H - ^{13}C HMBC スペクトル

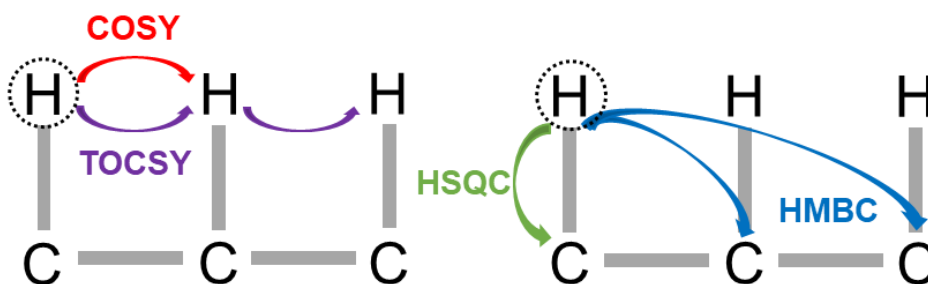
HMBC は HSQC とセットで分子構造解析に必須ともいえる測定法ですが、2 結合と 3 結合の両方が観測されるために帰属が曖昧になる場合があります。そのような場合は 2 結合の観測に特化した測定法として H2BC (Heteronuclear 2-Bond Correlation) が利用できます。一方、4 結合以上離れたロングレンジ (LR) 相関を観測できる測定法として LR-HSQMBC (Heteronuclear Single Quantum Multiple Bond Correlation) があります。

3. まとめ

本講座では、2 次元 NMR の簡単な原理と、溶液における代表的な 2 次元 NMR 測定法を紹介しました。本講座で紹介した測定法を以下にまとめました(【表 1】、【図 7】)。

【表 1】 溶液 2 次元 NMR 測定法まとめ

分類	測定法	得られる情報
同種核 $^1\text{H}-^1\text{H}$	COSY	隣接水素
	TOCSY	隣接水素網の全相関
異種核 $^1\text{H}-^{13}\text{C}$	HSQC	H-C 直接結合
	HMBC	2~3 結合離れた H-C 相関



【図 7】 溶液 2 次元 NMR の相関イメージ

溶液 2 次元 NMR には他にも様々な測定法があり、空間を介した相互作用を利用した NOESY (Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy) や ROESY (Rotating frame nuclear Overhauser Effect Spectroscopy) では、 ^1H 核の位置関係 (一般に 5 Å 以内) を調べることができます。また、感度は低いですが $^{13}\text{C}-^{13}\text{C}$ の直接結合情報が得られる測定法に INADEQUATE (Incredible Natural Abundance Double QUAntum Transfer Experiment) があります。溶液 2 次元 NMR に関する詳細は、文献 3) 等の成書をご参照ください。

参考文献

- 1) 阿久津秀雄、島田一夫、鈴木榮一郎、西村善文 編、「NMR 分光法」、講談社 (2016)
- 2) 日本化学会 編、「第 5 版 実験化学講座 8」、丸善 (2006)
- 3) T. D. W. Claridge 著、「有機化学のための高分解能 NMR テクニック」、竹内敬人、西川実希 訳、講談社サイエンティフィック (2004)