

# 二次元測定の基本 メンテナンス

NMR基本講習会

【日時】 令和元年8月28日 (水) 13:00~17:00  
【場所】 名古屋工業大学  
【講師】 名古屋工業大学 瀧 雅人  
【主催】 自然科学研究機構 分子科学研究所 (大学連携研究設備ネットワーク)  
【共催】 名古屋工業大学 産学官金連携機構設備共用部門

## 本日の講習会の目的

---

- 二次元測定の基礎および、装置メンテナンス知識の習得
- 職場に戻ったら自分の手を動かして測定・メンテナンス等をやってみる。  
(今日はそのきっかけづくり)
- わからないことや補足があれば途中で質問、コメントOK
- 後日、質問等はNMRCclubへ

# スケジュール

---

15:40～	二次元測定の基礎	(20分)
16:00～	構造解析実習	(20分)
16:20～	メンテナンスについて	(20分)
16:40～	質疑・ディスカッションタイム	(20分)

## 二次元測定の基礎

---

- 測定時に気を付けること
- 結果からどんな情報が得られるか

## ※試料回転

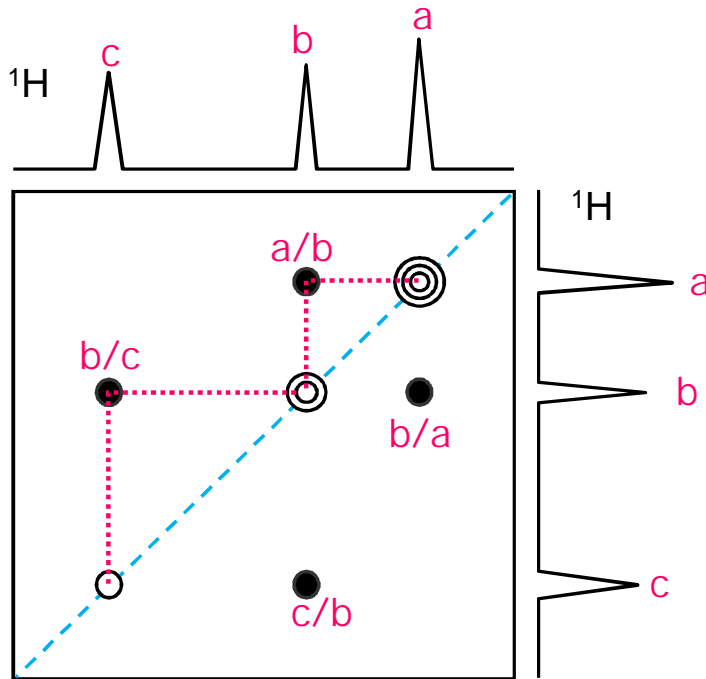
---

試料回転して測定するのは1次元測定だけ！

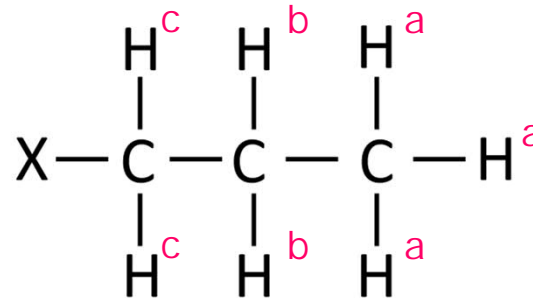
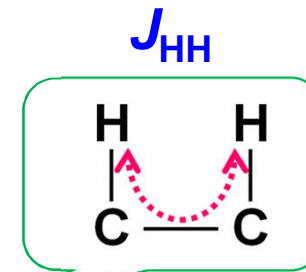
- 1次元であっても、マルチパルス実験では原則として試料回転はおこなわない。
- 感度 (S/N) 低下の原因になります。
- 不要信号 (アーティファクト) の原因にもなり得ます。

# 2次元スペクトルから読み取る情報

## ■ COSY (COrrelation SpectroscopY)



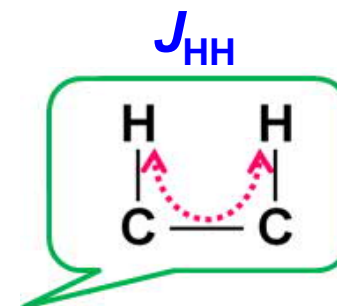
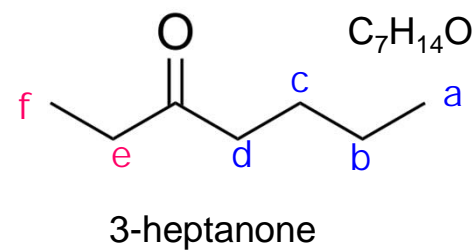
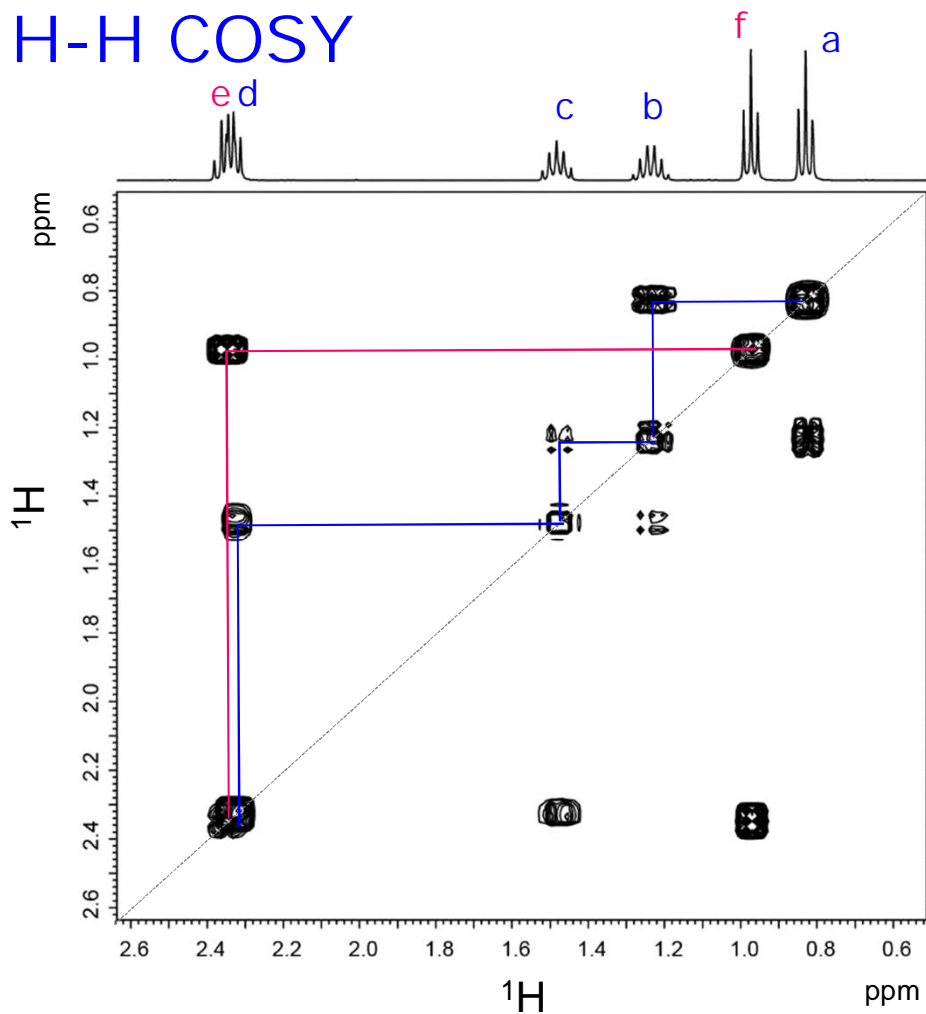
- 対角信号  
(diagonal peak)
- 相関信号／交差信号  
(correlation peak / cross peak)



等高線表示

## 2次元スペクトルの便利なところは？

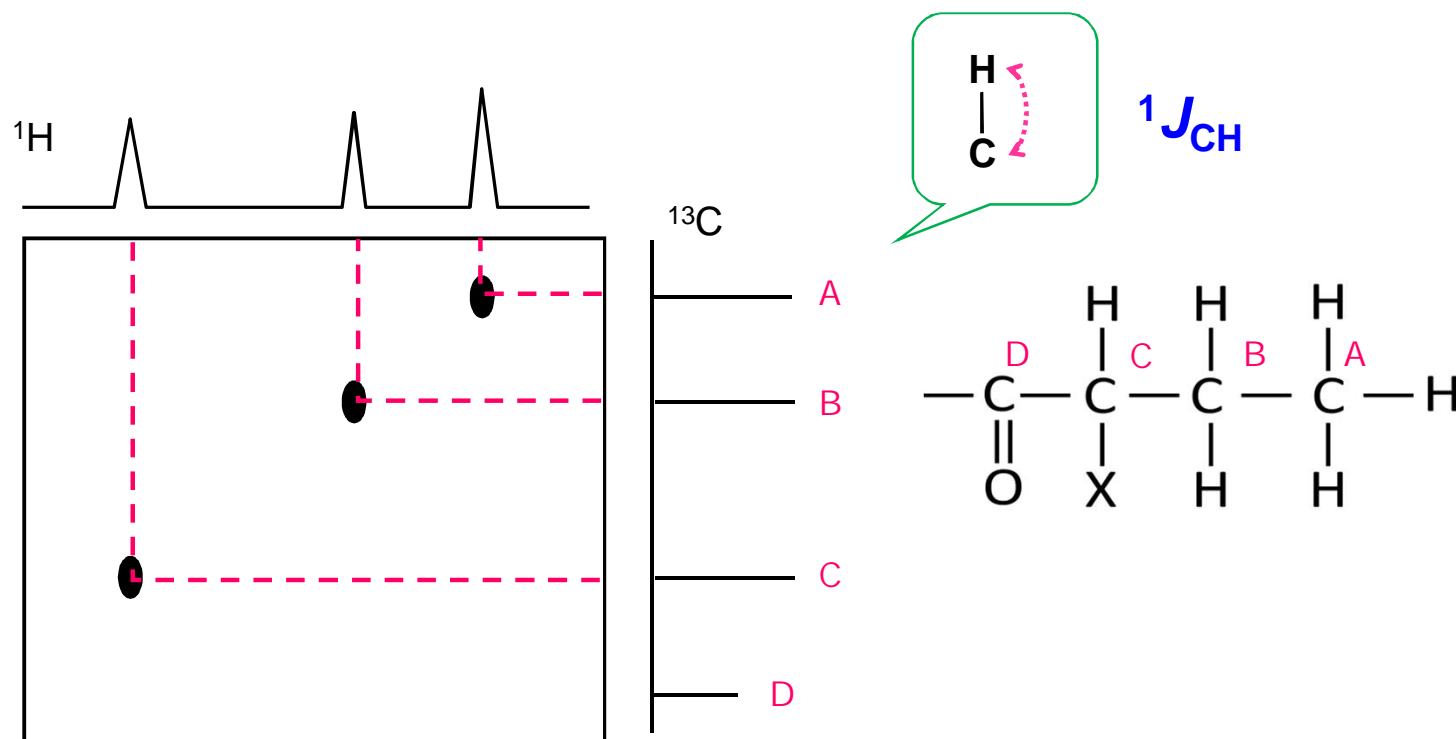
### H-H COSY



スピンのつながり  
(連結)  
が容易に分かる

## 2次元スペクトルから読み取る情報

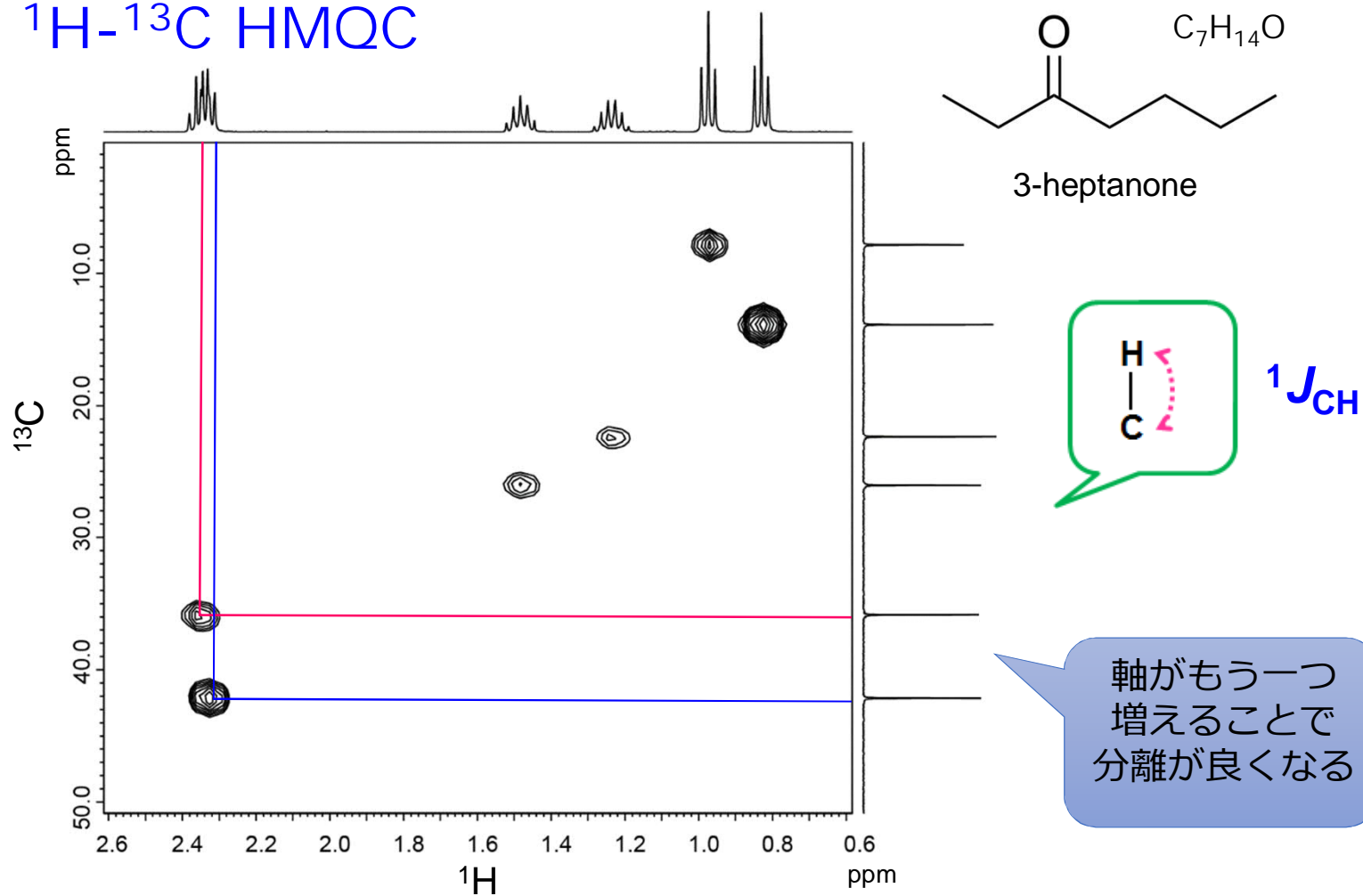
### ■ HMQC (Heteronuclear Multiple Quantum Correlation)





## 2次元スペクトルの便利なところは？

### $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ HMQC



## 2次元スペクトルから読み取る情報

---

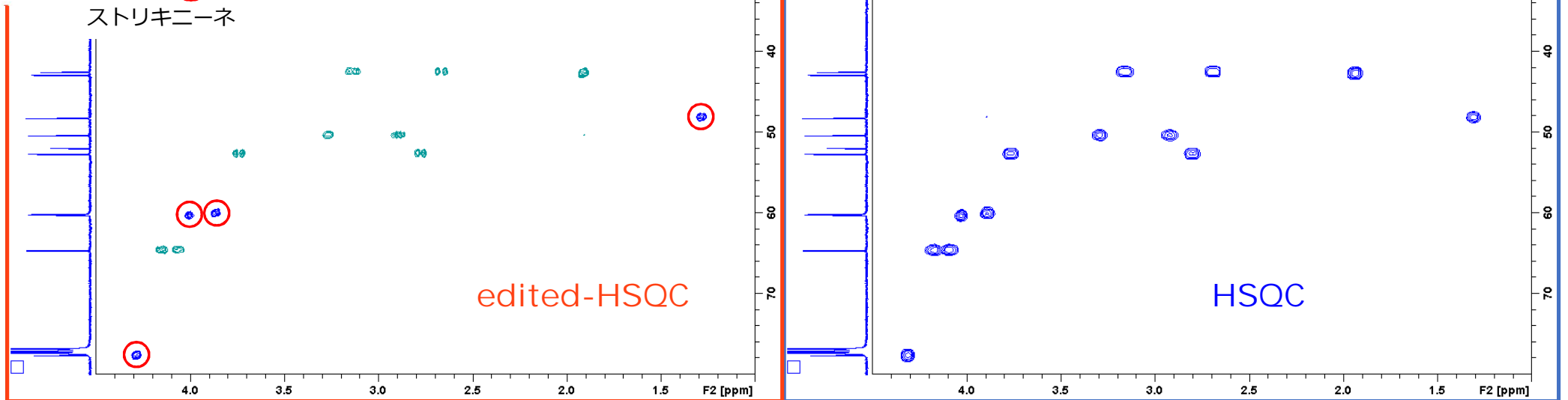
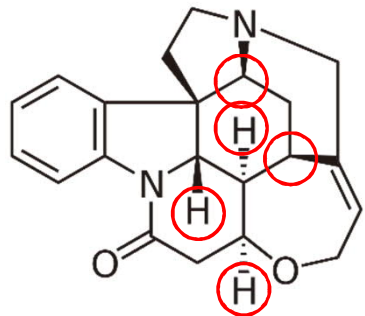
### ■ HSQC (Heteronuclear Singlee Quantum Correlation)

得られる情報は HMQC とほぼ一緒。

だけど・・・

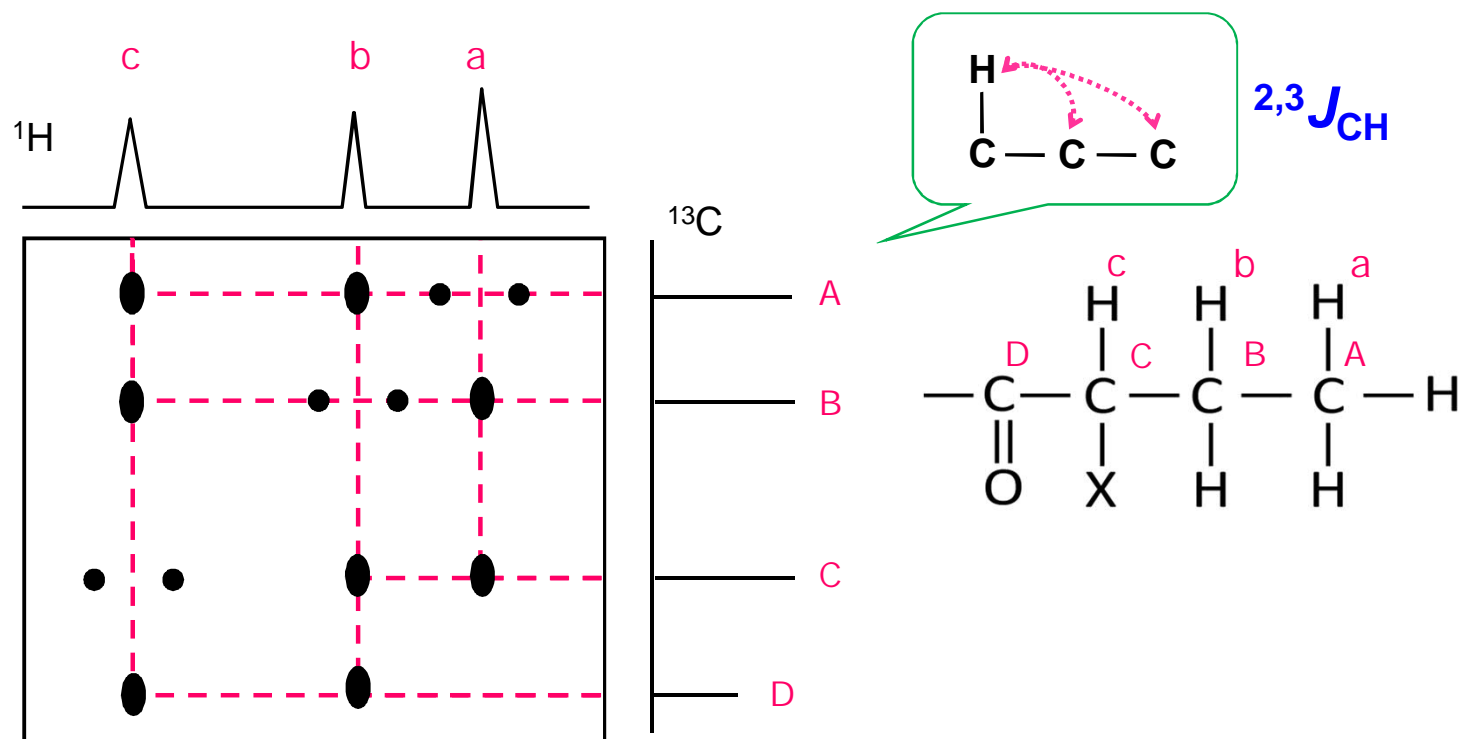
- HSQC は $J_{HH}$ の分裂がないので HMQC より分解能 高
- さらに edited-HSQC を使うことで同時に DEPT135 の情報が得られる

# HMQCとHSQCの差



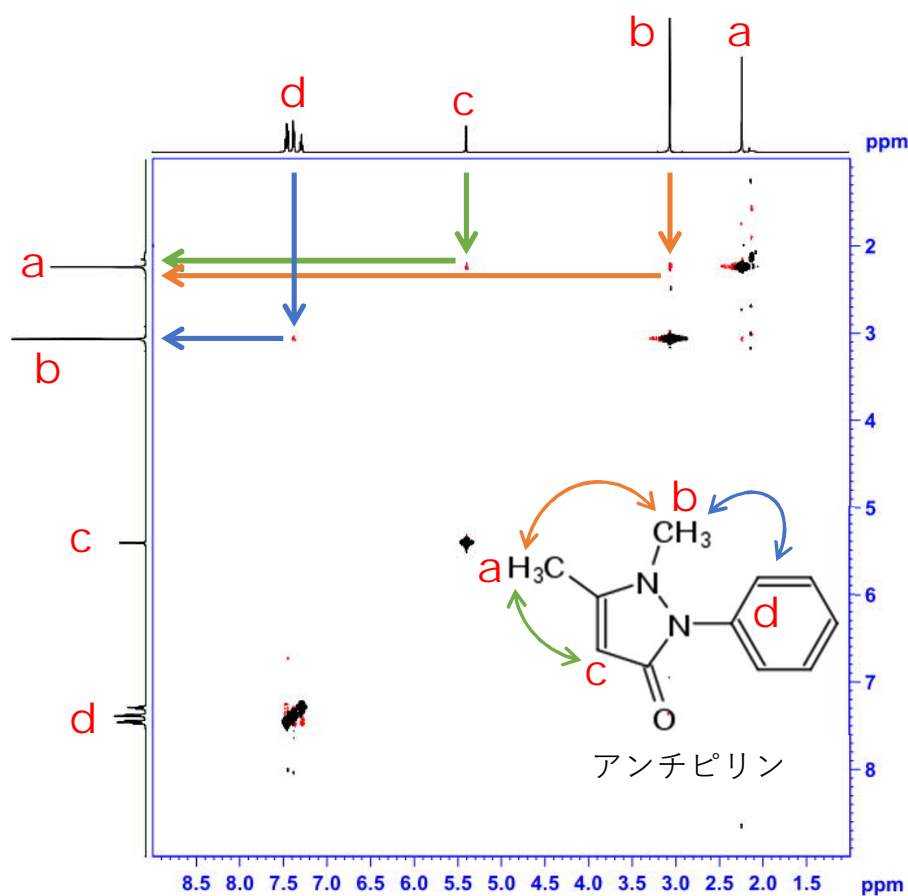
## 2次元スペクトルから読み取る情報

### ■ HMBC (Heteronuclear Multiple Bond Correlation)

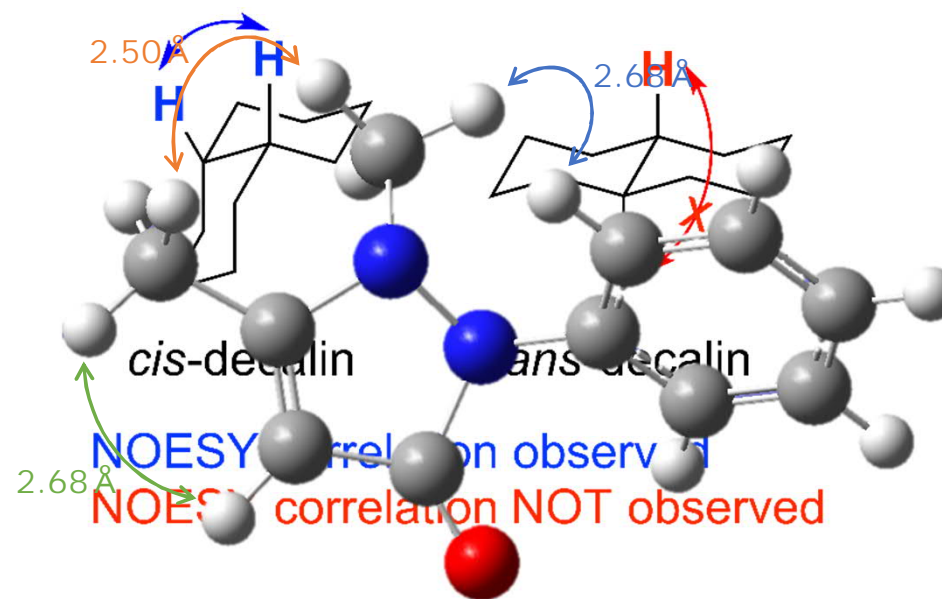


## 2次元スペクトルから読み取る情報

### ■ NOESY (Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy)



空間的な距離の情報 (~ 6 Å)



## 2次元スペクトルから読み取る情報

---

### ■ NOESY (Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy)

測定する上で気を付けること

- サンプル濃度 →濃くし過ぎない
- 常磁性物質の除去 →溶存酸素、金属イオン
- ミキシングタイム → $T_1$ 秒くらい
- 測定温度 →一定にする
- それでもNOEが観測されない  
→測定磁場、測定温度、溶媒、測定法 (ROESY)

## その他の2次元スペクトル ①

### 同種核相関

#### ■ TOCSY (TOtal Correlation SpectroscopY)

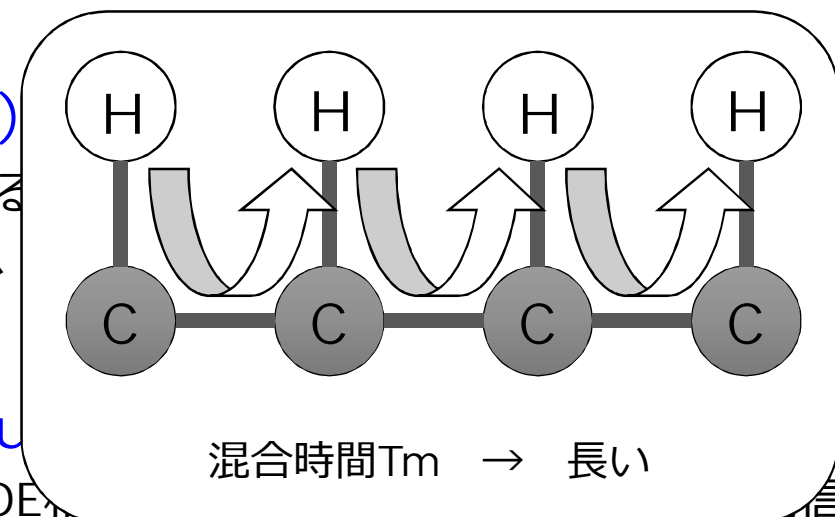
間接的にスピン結合している $^1\text{H}$ 同士の相関信号が得られる。クを特定することができる。混合時間 $T_m$ の長さによって、として観測できる。

#### ■ ROESY (Rotating frame nuclear Overhaul)

同種核間ROE相関2次元NMRのこと。空間的に近い (NOE) 信号が現れる。一般にNOE相互作用は6 Å以内の距離にある $^1\text{H}$ 同士にあるため、相互作用の強さ (相関信号の強度) から、空間的な距離の情報を得ることができる。

#### ■ INADEQUATE (Incredible Natural Abundance Double QUAntum Transfer Experiment)

隣り合う $^{13}\text{C}$ 同士の相関信号を観測する手法。炭素原子の連結を明らかにする非常に強力な分析法である。しかし、天然存在比の $^{13}\text{C}$ は約1%であり、分子内で $^{13}\text{C}$ の隣に $^{13}\text{C}$ が存在する確率は1万分の1になるため、信号を得るためには、長大な測定時間を要する。



## その他の2次元スペクトル ②

---

### 異種核相関

#### ■ H2BC (Hetero nuclear 2 Bond Connectivity)

2結合を介した $^1\text{H}$ と $^{13}\text{C}$ の相関を得ることができる。HMBCでは $^1\text{H}$ と $^{13}\text{C}$ の相関が2結合であるのか、3結合であるのかを判別することができないが、H2BC測定により判別が可能となる。

#### ■ ADEQUATE (Adequate sensitivity Double QUAnTum spEctroscopy)

$^1\text{H}$ 観測により $^{13}\text{C}$ - $^{13}\text{C}$ の結合を検出する。 $^1\text{H}$ 検出であるため、INADEQUATEに比べて感度が高いが、 $^1\text{H}$ 検出であるが故に4級炭素同士の結合を観測することはできない。

### その他

#### ■ DOSY (Diffusion Odered SpectroscopY)

自己拡散係数配列スペクトル。混合物に由来するNMRスペクトルを（二次元展開して）各成分ごとに分離する。信号の分離に使用されるのは溶液中における自己拡散係数。



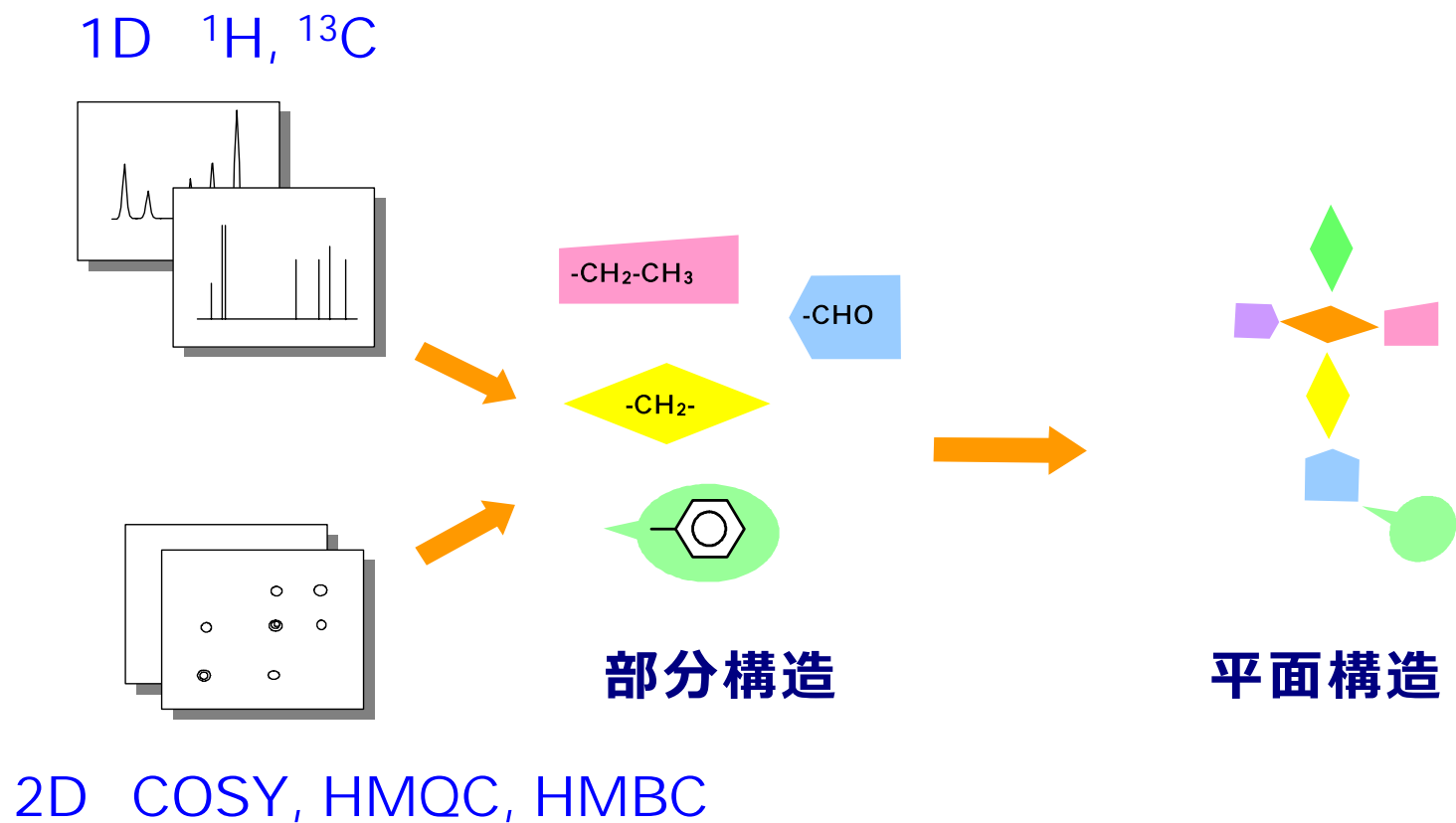
# 化合物 X の構造解析

• IR, MSなどの情報

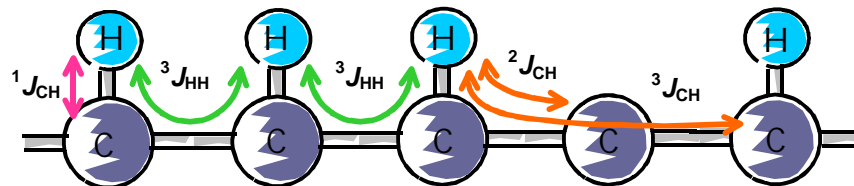
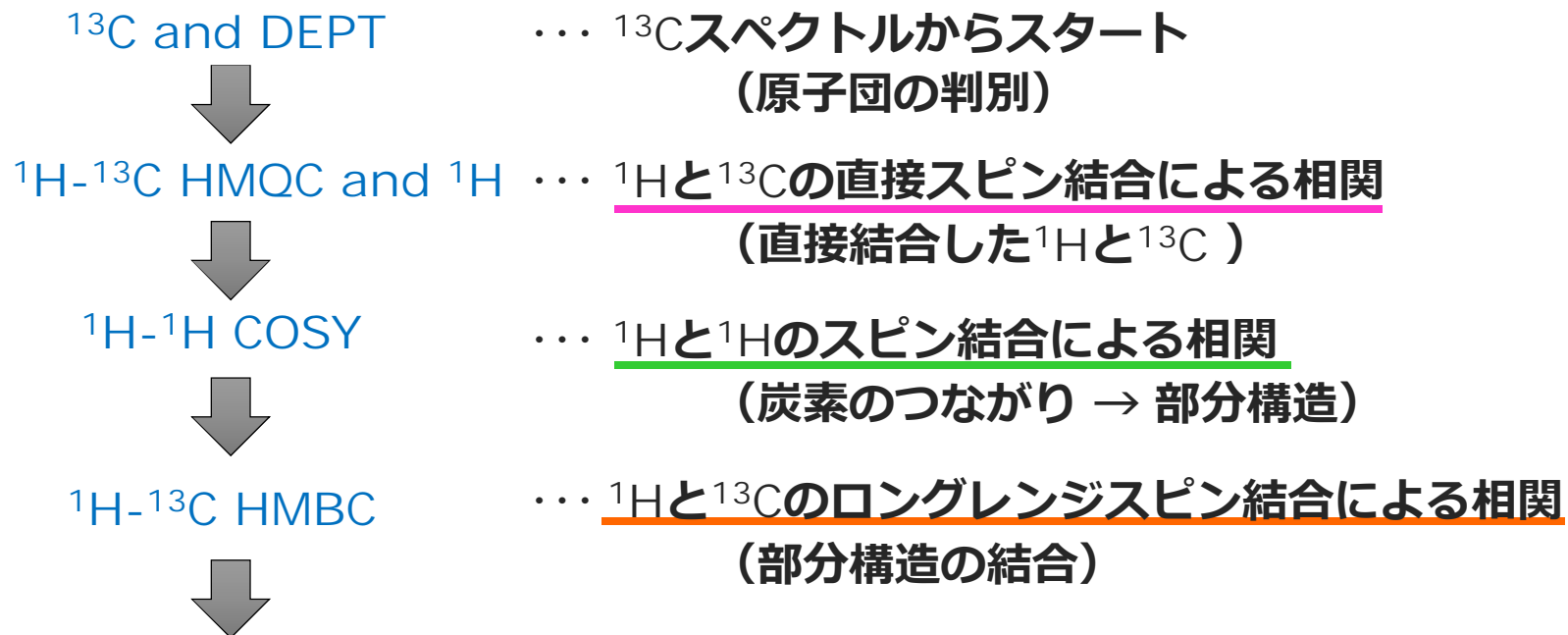
• NMRスペクトル



# 化合物 X の 構造解析 (パズルアサイメント)

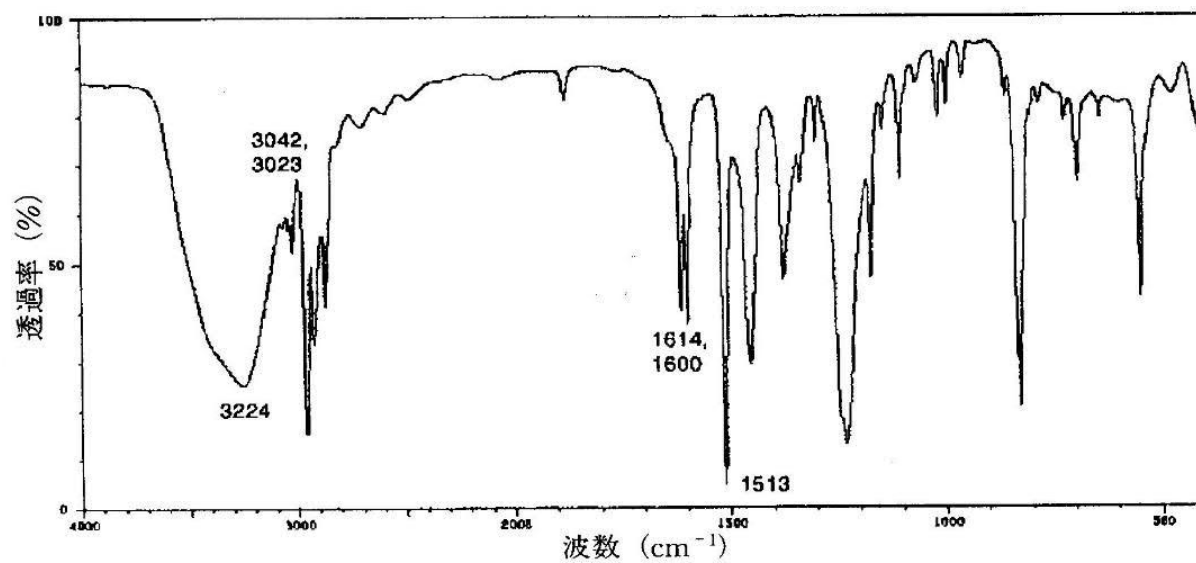


# 構造解析の流れ (パズルアサイメント)



# 化合物 X の 構造解析

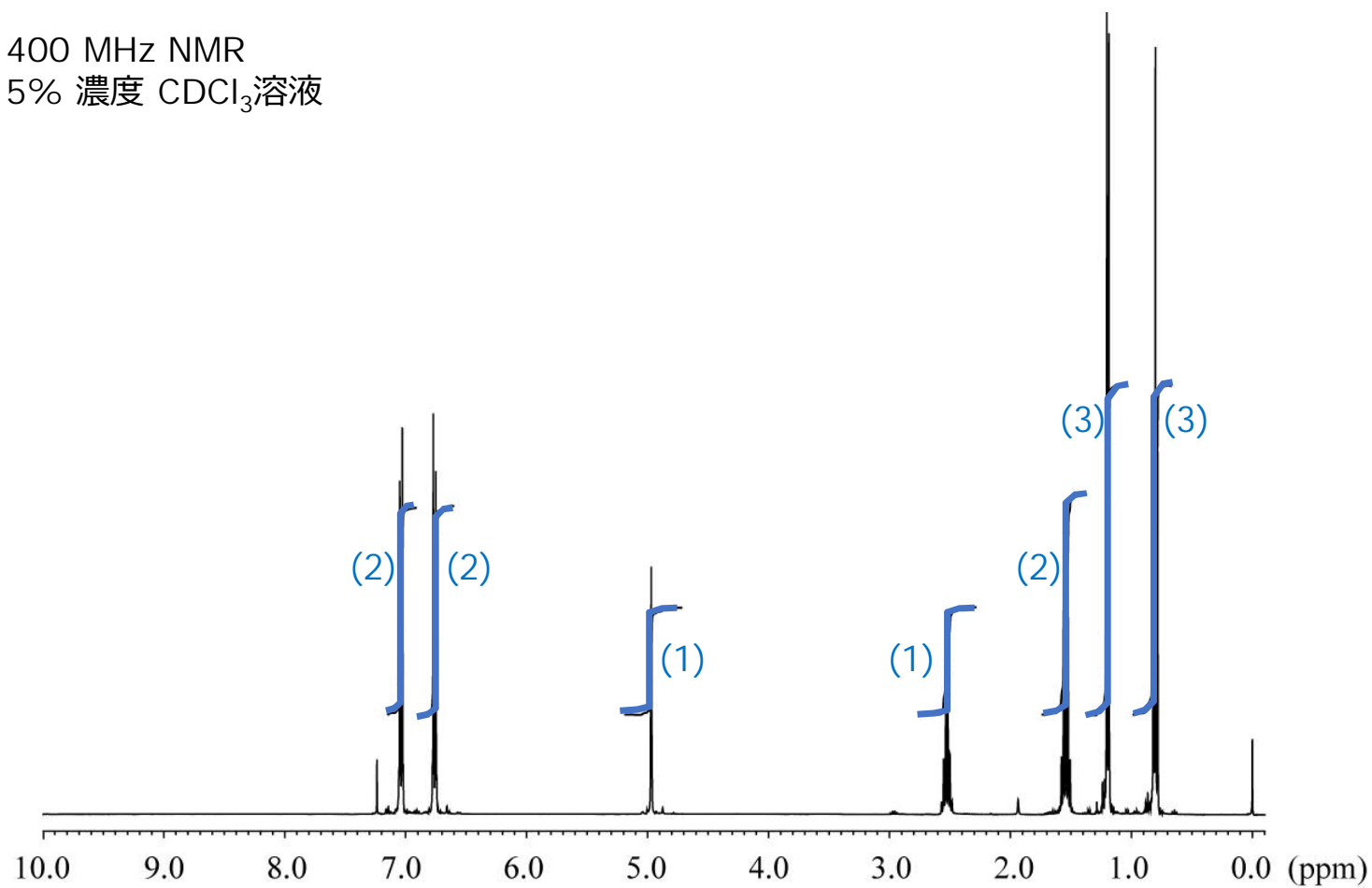
## IRスペクトル



-OH, ベンゼン環あるいは二重結合の存在

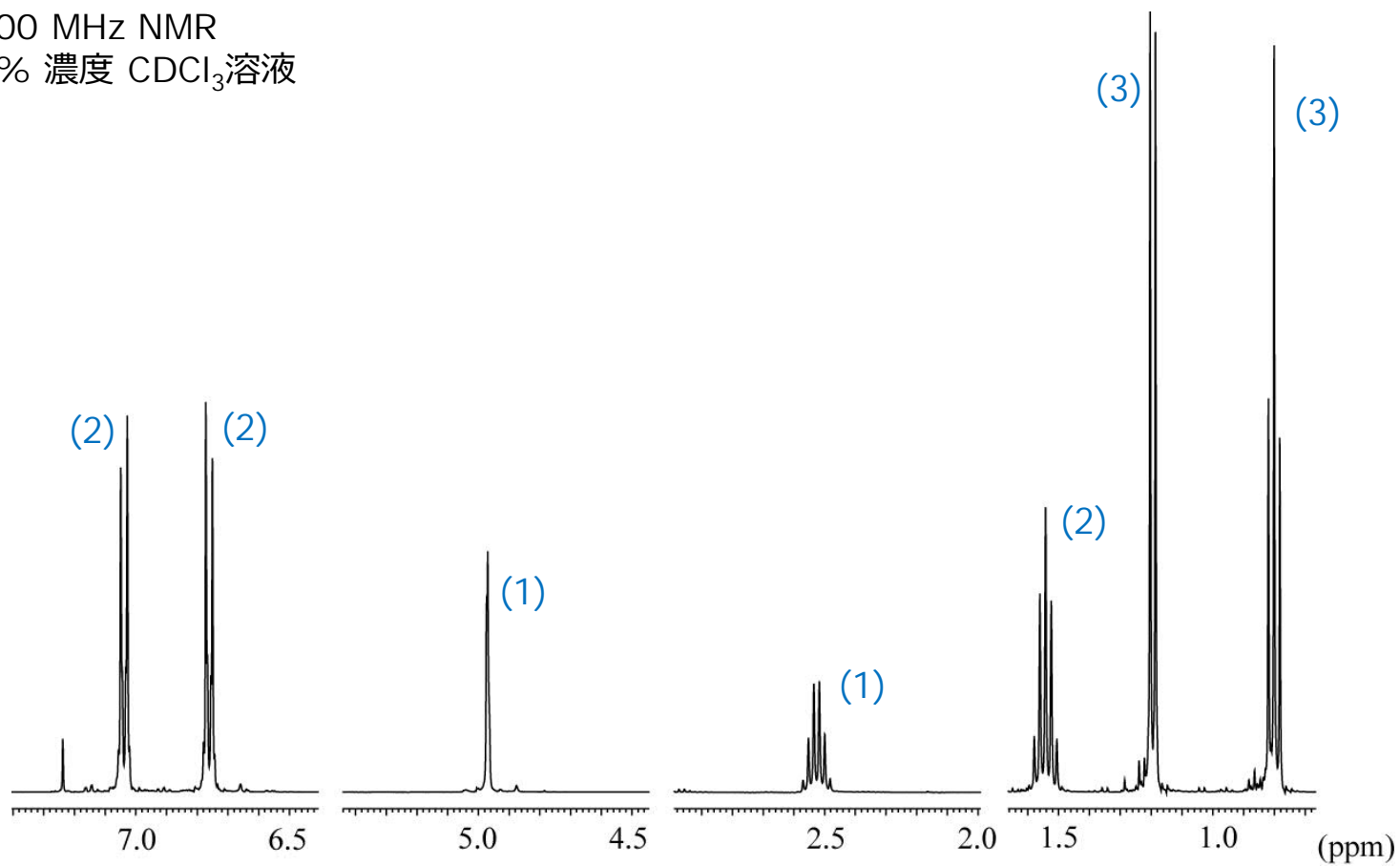
# 化合物 X ( $^1\text{H}$ NMR)

400 MHz NMR  
5% 濃度  $\text{CDCl}_3$  溶液



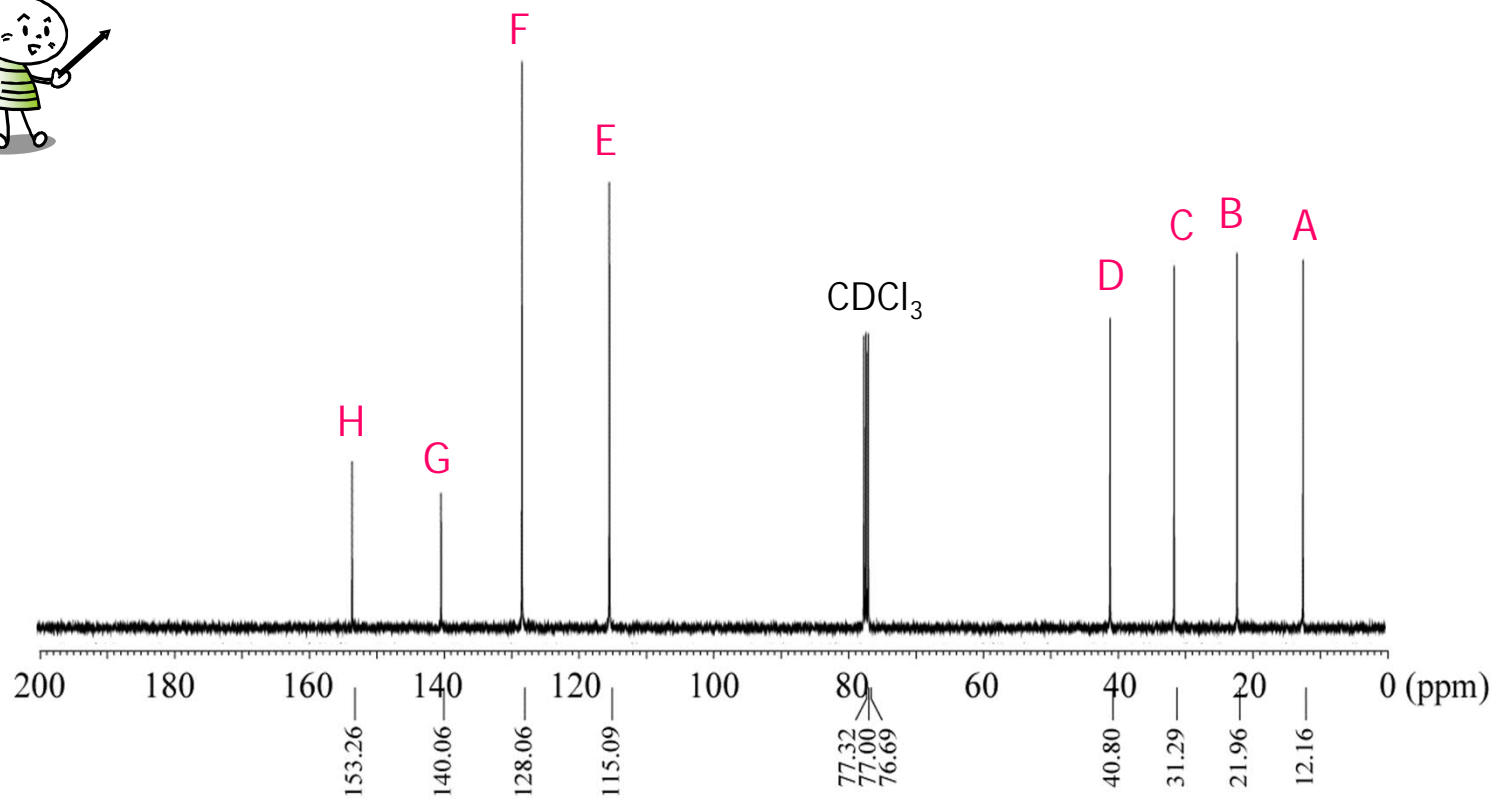
# 化合物 X ( $^1\text{H}$ NMR expansion)

400 MHz NMR  
5% 濃度  $\text{CDCl}_3$  溶液



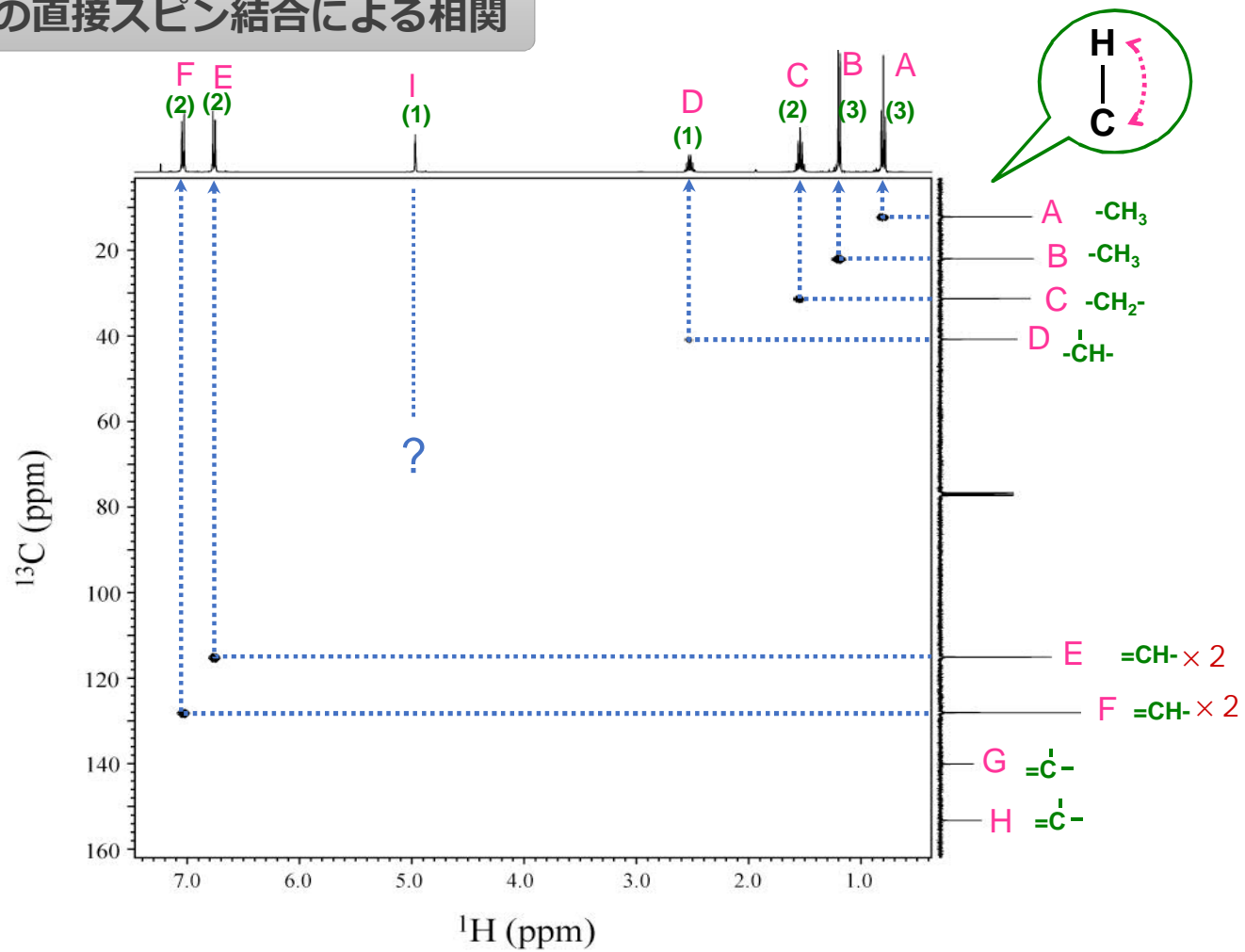
# 化合物 X ( $^{13}\text{C}$ NMR)

$^{13}\text{C}$  スペクトルからスタート!



# 化合物 X ( $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ HMQC)

$^1\text{H}$ と $^{13}\text{C}$ の直接スピン結合による相関

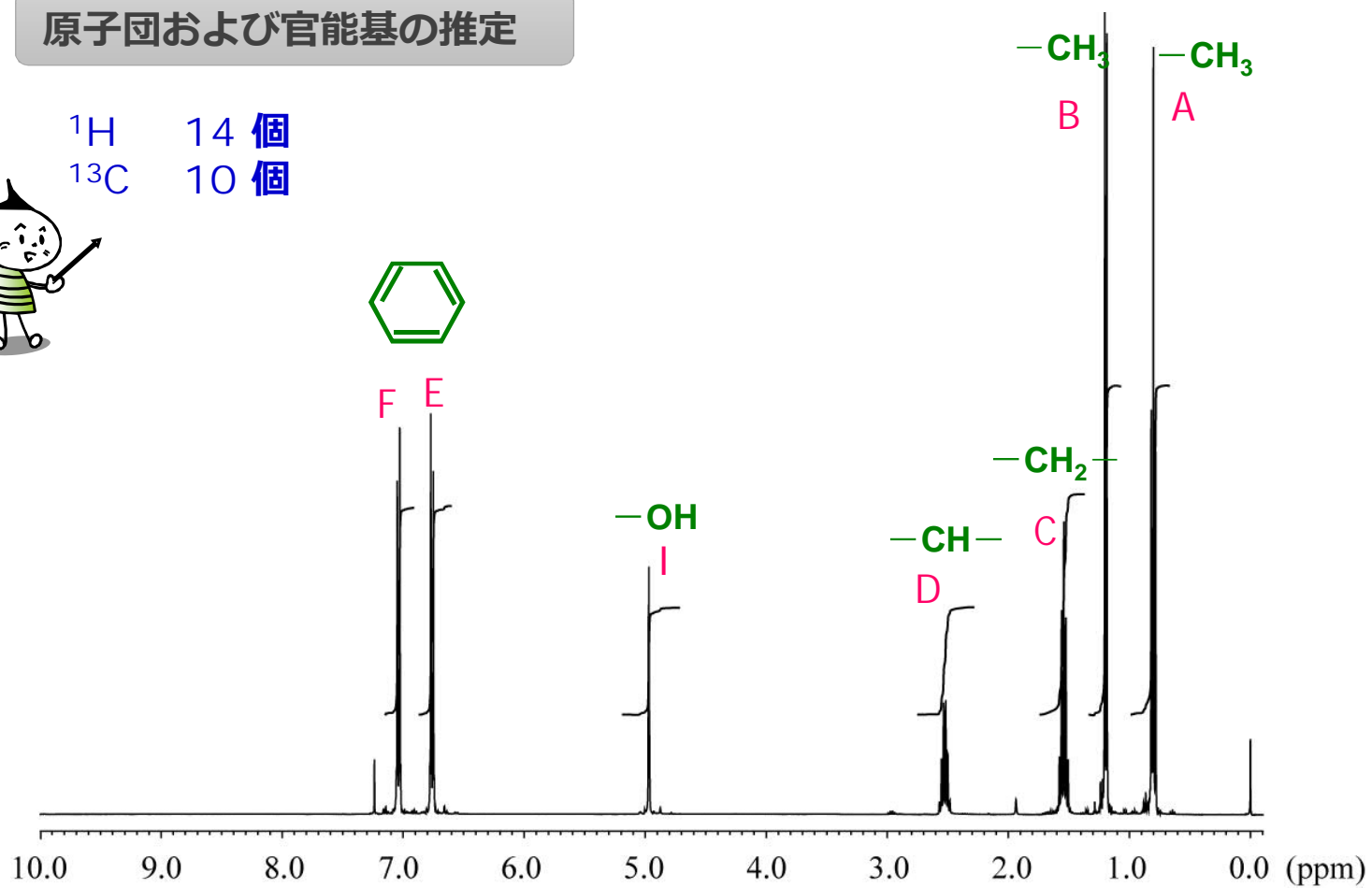
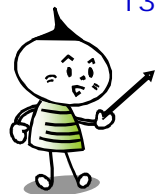




# ここで ちょっと まとめ

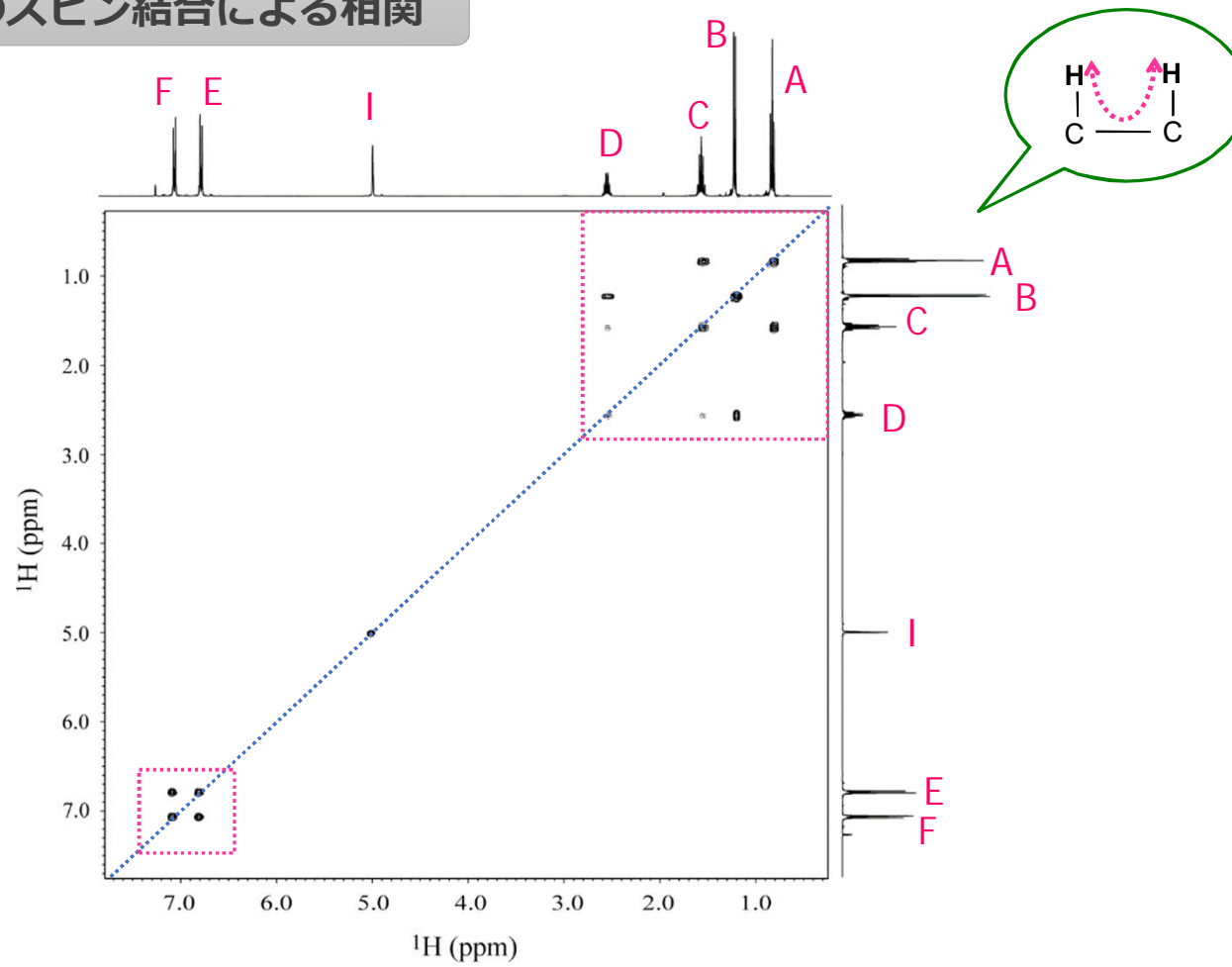
## 原子団および官能基の推定

$^1\text{H}$  14 個  
 $^{13}\text{C}$  10 個



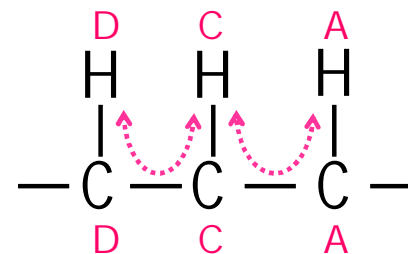
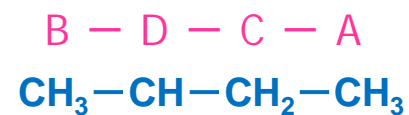
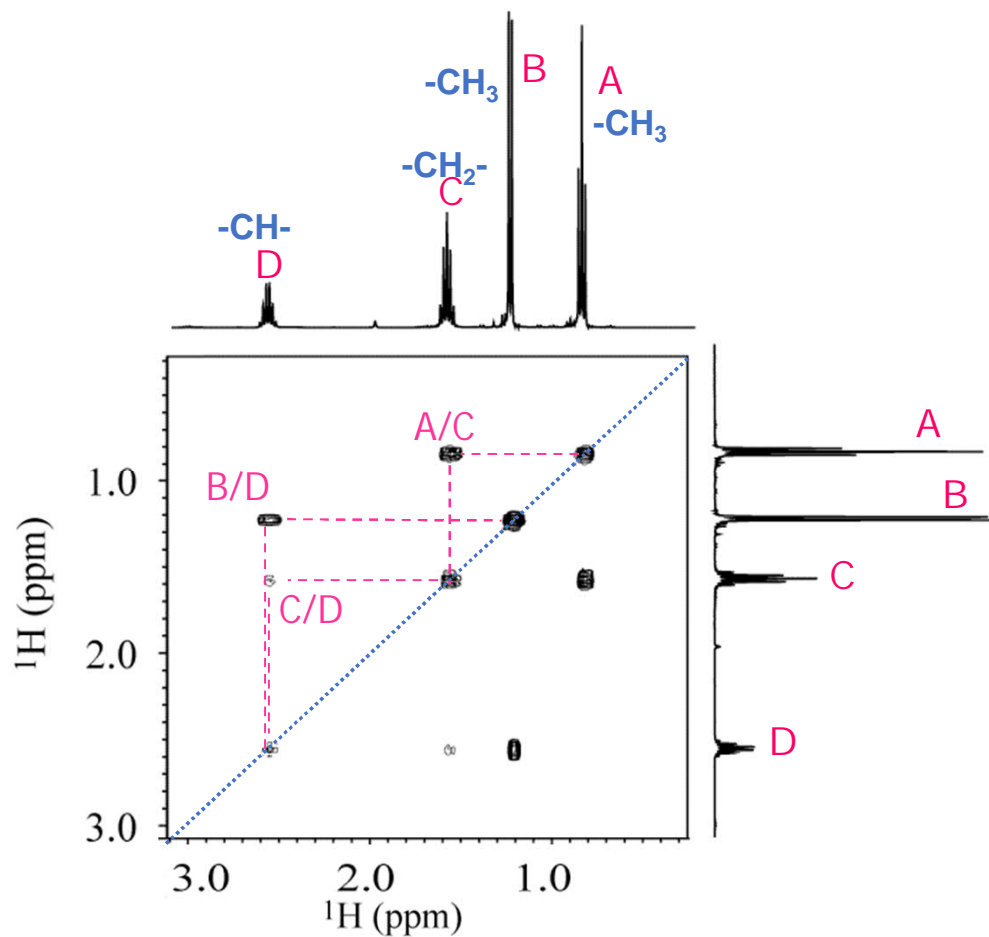
# 化合物 X ( $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ COSY)

$^1\text{H}$ と $^1\text{H}$ のスピ結合による相関



# 化合物 X ( $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ COSY expansion)

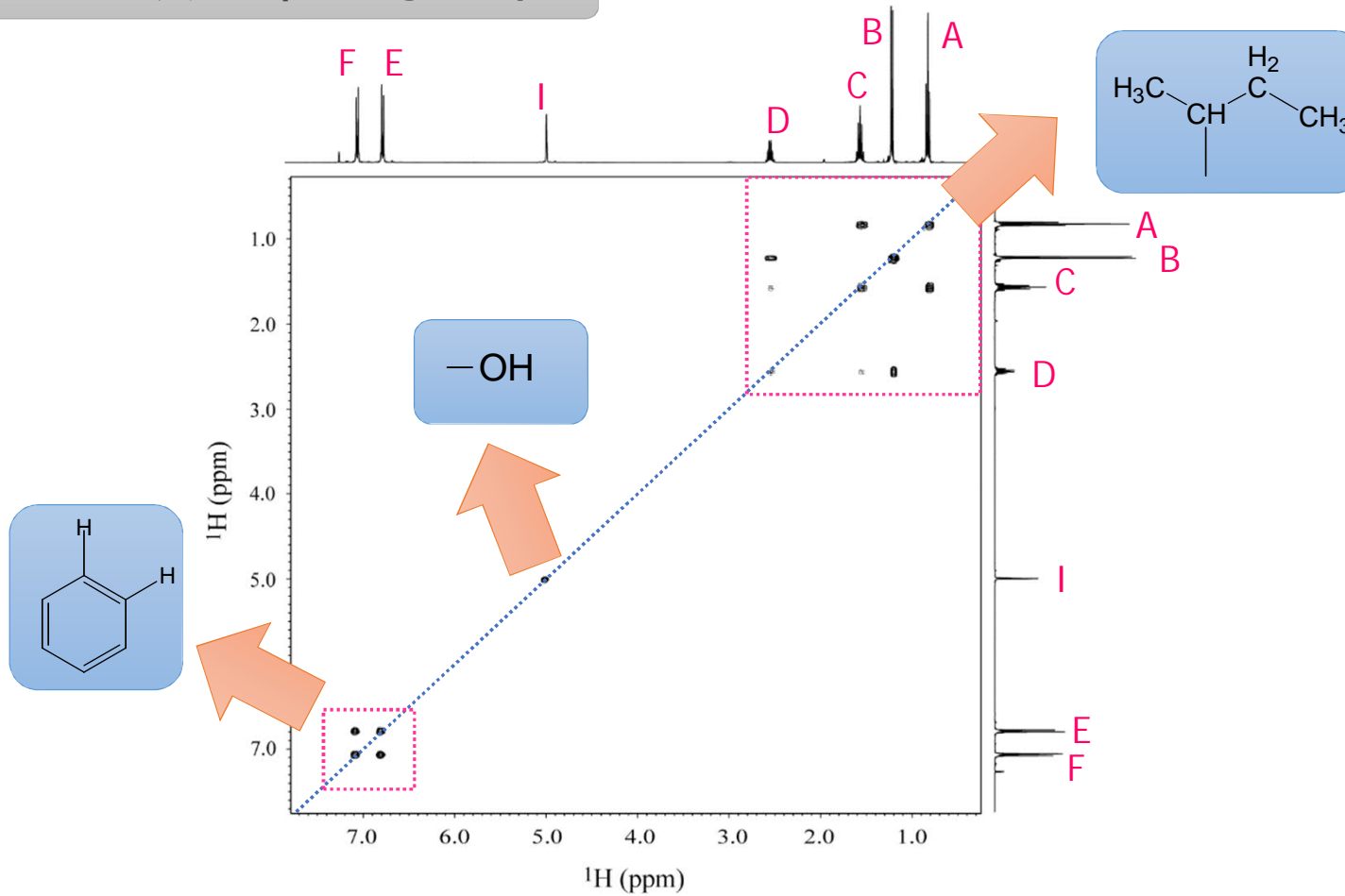
$^1\text{H}$ と $^1\text{H}$ のスピ結合による相関



$^{13}\text{C}$ と $^1\text{H}$ を同じラベルにしている  
ので、COSYにより炭素のつながり  
を求めることができる。

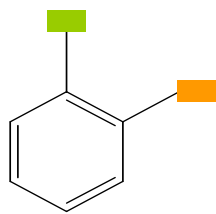
# パズルのピースがそろった！

$^1\text{H}$ と $^1\text{H}$ のスピ結合による相関

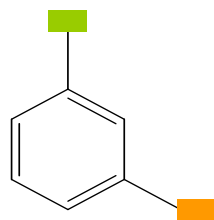


# 化合物Xの構造 ここまでできた

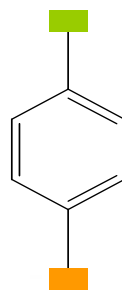
## 部分構造の結合



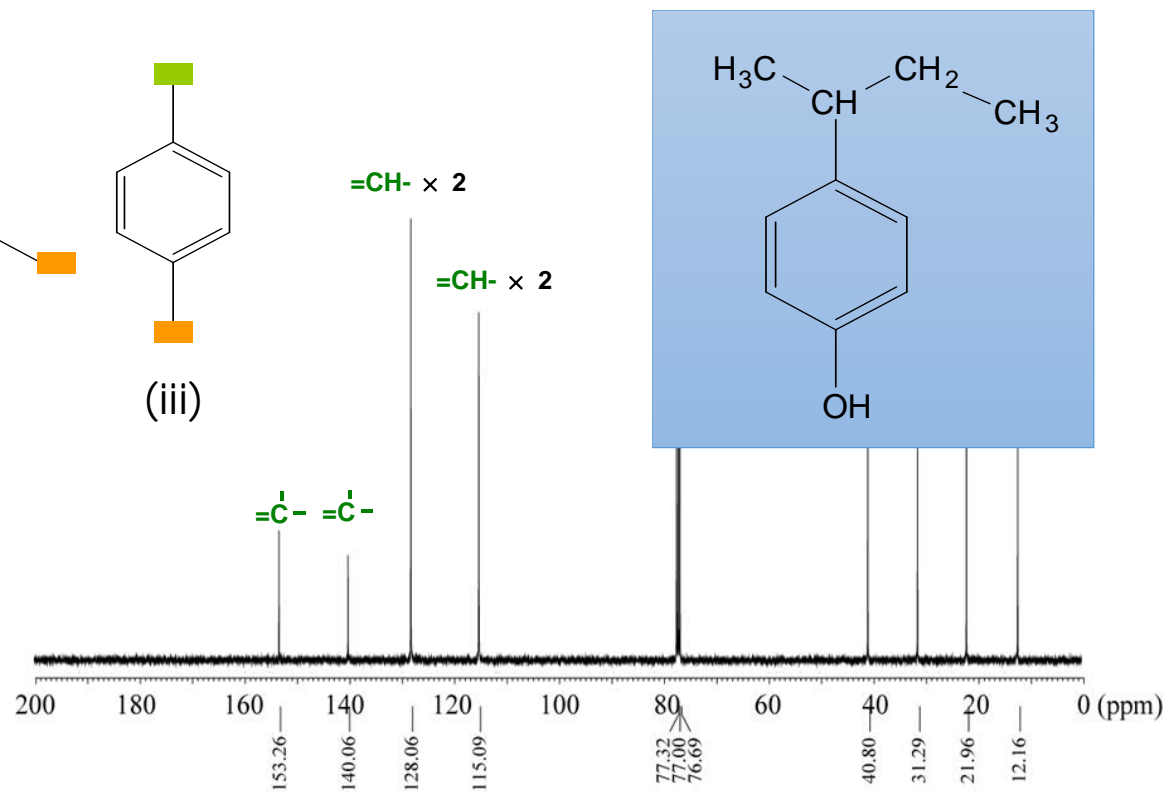
(i)



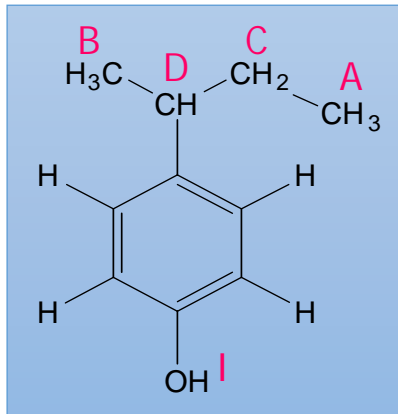
(ii)



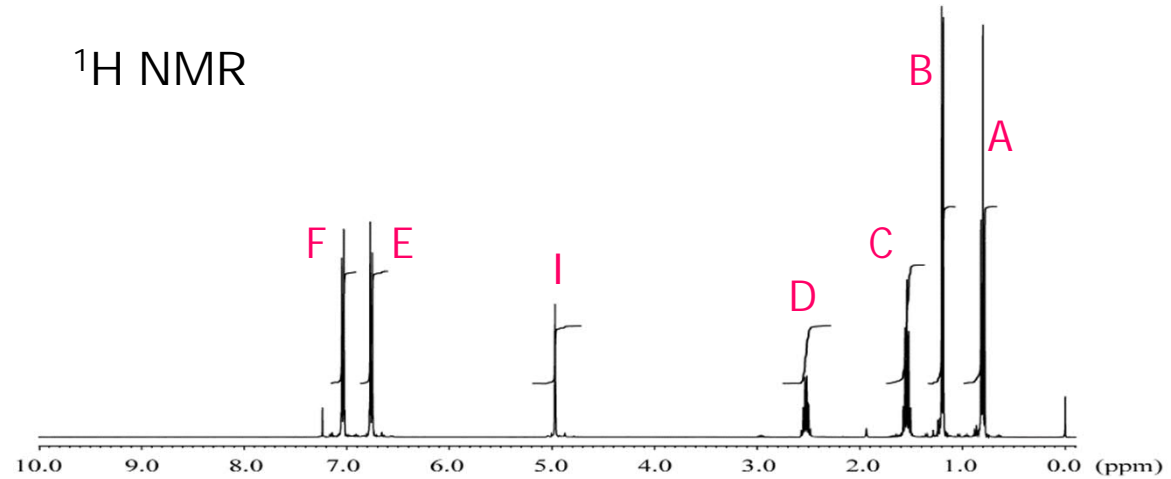
(iii)



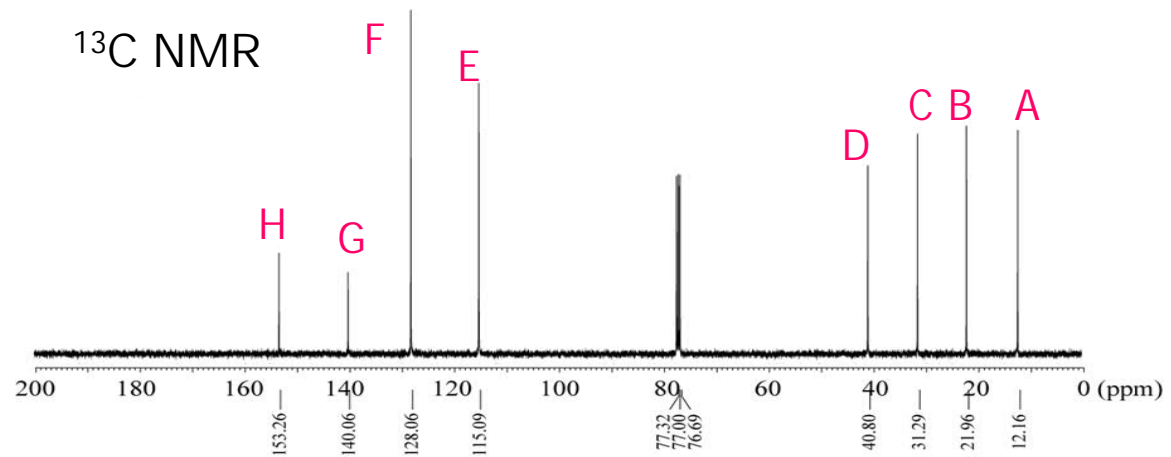
# $^1\text{H}$ および $^{13}\text{C}$ スペクトルの帰属



$^1\text{H}$  NMR



$^{13}\text{C}$  NMR

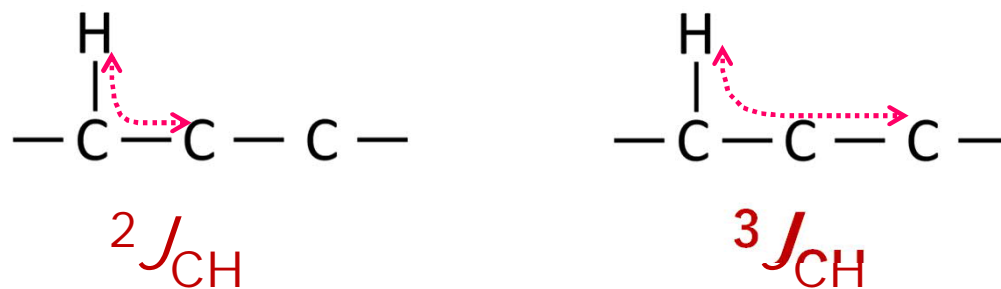


# $^1\text{H} - ^{13}\text{C}$ スピン結合相関 2次元法

## ■ HMQC (Heteronuclear Multiple Quantum Correlation)



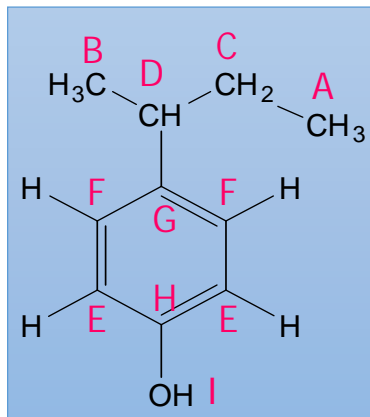
## ■ HMBC (Heteronuclear Multiple Bond Correlation)



ロングレンジスピン結合

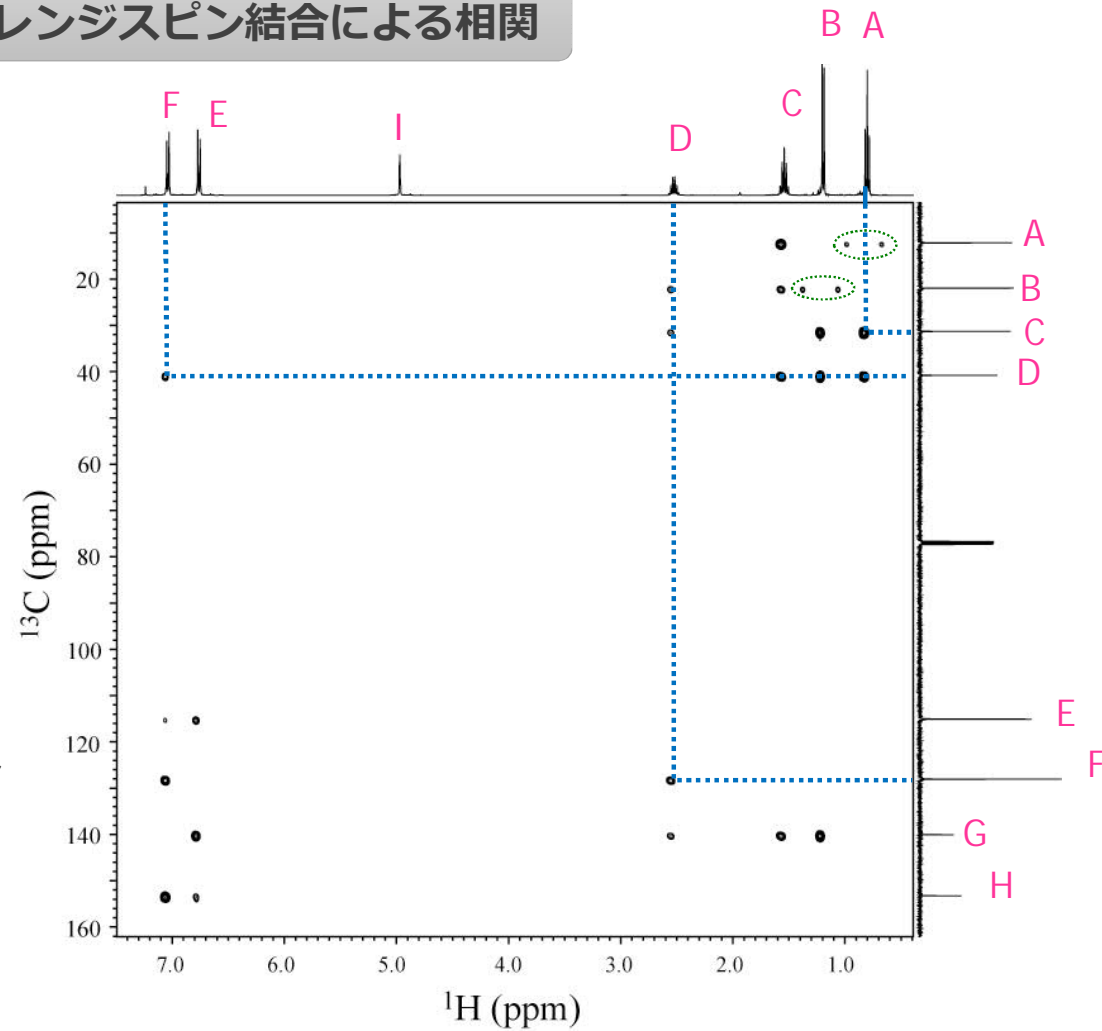
# 化合物 X ( $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ HMBC)

$^1\text{H}$ と $^{13}\text{C}$ のロングレンジスピン結合による相関



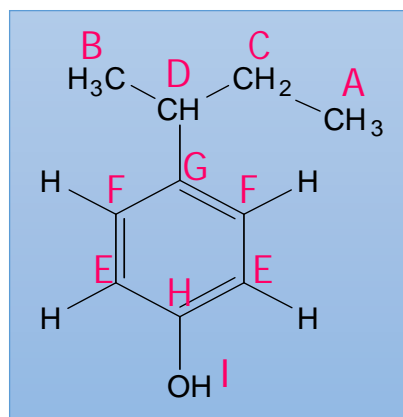
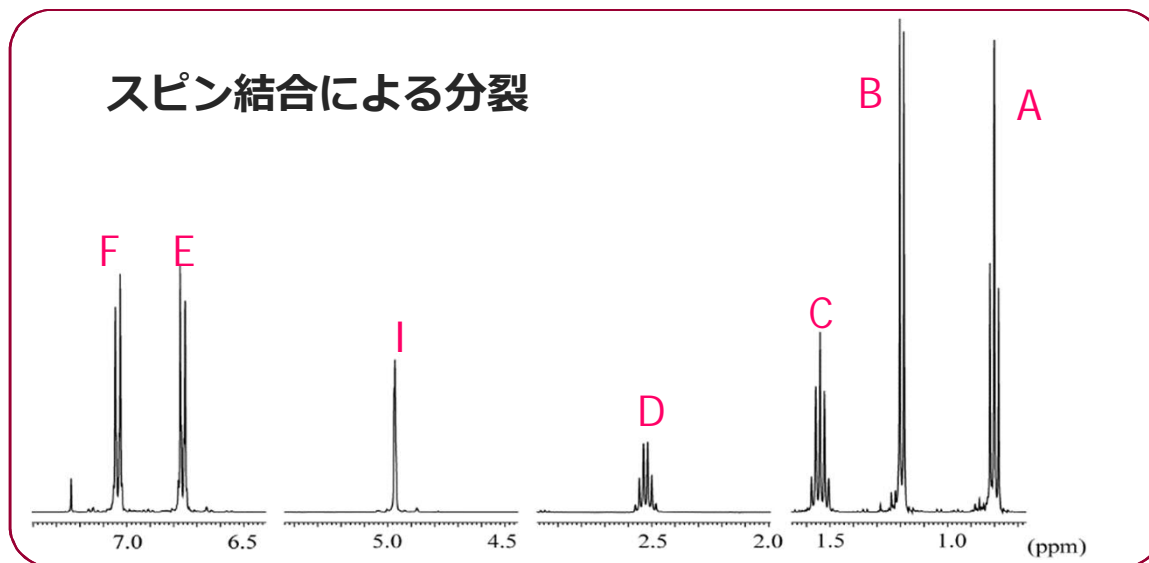
4-sec-ブチルフェノール

平面構造の確定!



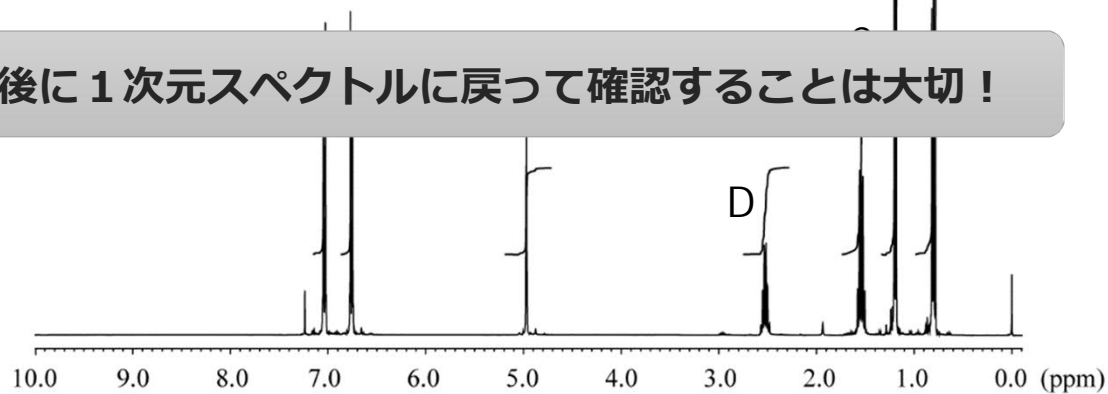


# 1次元スペクトルの確認 (1H NMRの分裂パターン)

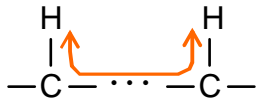
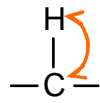
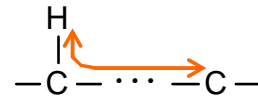
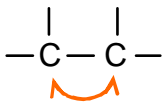



4-sec-ブチルフェノール

最後に1次元スペクトルに戻って確認することは大切!



# いろいろな2次元NMR法

スピン結合による相互作用		測定法
${}^nJ_{HH}$		(同種核) COSY, DQF-COSY TOCSY
${}^1J_{CH}$		(異種核) HMQC, HSQC
${}^nJ_{CH}$		(異種核) HMBC
${}^1J_{CC}$		(同種核) INADEQUATE
空間的な相互作用		測定法
NOE		(同種核) NOESY, ROESY

# メンテナンスについて

名工大の場合・・・

## メンテナンス 名工大の場合・・・

---

1. 日常点検
2. ヘリウムチャージ
3. 停電対応
4. メーカーメンテナンス
5. その他



# ヘリウムチャージ



# 停電対応

---

- 停電前 対応
  - 装置の停止
  - 窒素充填
  - フィルター類の掃除
- 復旧後 対応
  - 装置の起動
  - 測定確認・分解能調整

# メーカーメンテナンス

---

- クライオプラットフォーム
  - 2年に1回くらい
- 液体窒素自動供給装置
  - 2年に1回くらい
- 液体窒素再凝縮装置
  - 1年に1回（JEOL定期保守契約）
- コンプレッサ、チラー
  - 異変を感じたら、または壊れたら対応・・・



## その他

---

- サンプルチェンジャー分解洗浄
- 分解能調整
- グラジエントのキャリブレーション
  - 拡散係数測定、DOSY等でうまく行かないときに。
- パルス幅のチェック
  - 依頼測定時、たまーに。
- データ整理
- プローブ掃除

## 追加) NMRメンテナンス研修 (8/1-2 名大)

- プローブ分解
- シムコイル取り外し



Fig. 1 BBOプローブの送受信コイル  
(左 ; PFG未対応プローブ、右 ; PFG対応プローブ)