

通信講座

社内実践教育及び自己研鑽に！

NMRユーザーのための基礎と応用

NMR : Nuclear Magnetic Resonance (核磁気共鳴)

指導講師 スルペクト解析支援センター 理学博士 今成 司

まえがき

核磁気共鳴 (NMR) は 1930 年代の後半に核の磁気モーメントを効率よく測定する手段として考案され色々実験がかさねられてきた。

共鳴現象は 1938 年 Rabi が塩化リチウムの分子ビームの共鳴現象をとらえたのが最初である。その後太平洋戦争になり実験は途絶えていたが、第二次世界戦争が終結した 1945 年、Purcell, Torrey and Pound らがハーバード大学でパラフィンのプロトンの共鳴信号を観測し、Bloch, Hansen and Packard らがスタンフォード大学で水のプロトンの共鳴信号の観測に成功した。これが事実上最初のプロトン NMR の観測であった。

その後、緩和時間現象の観測、化学シフトやスピン-スピン結合定数の発見などを機に、有機化学の分野で多くの化学的な問題の解決に貢献し発展してきた。

さらにパルス FTNMR の発展と多次元 NMR の開発や超電導磁石による高磁場 FTNMR の進歩により、たんぱく質の立体構造解析まで可能になるほど NMR 技術は向上し、現在では有機化学の分野においては無くてはならない分光手段となっている。

一方医療機器分野においては MRI (Magnetic Resonance Imaging) として発展し臨床医療の世界で活用されている。このように NMR はまだまだ種々の分野で発展している。このような先端の分野では NMR に対する高度な技術と知識を要求される。

一方、コンピュータの発展に伴い NMR の装置はあらゆる個所がコンピュータによりコントロールされ試料の設定とスペクトルの出力の間がブラックボックスとなり、何も知らなくても NMR のスペクトルを得ることができるようになってきている。したがって多くの研究者にとって NMR は単に容易に構造情報を得る便利な手段となってきている。

NMR のほとんどのユーザーはこのジャンルに入るであろう。しかしながら現在の NMR に対する最小限の知識を持たないで得られたスペクトルのみで判断すると、時には間違えた情報を信じてしまう可能性もあるし、正しいスペクトルが得られていないこともあり得る。

そこでこのテキストはこれから NMR に携わる人や試料の測定を依頼して NMR のスペクトルしか見ない人もしくは NMR 装置を管理する人などが知っておいてほしいことについて基礎的な事柄をできる限り数式を使わないで平易に説明することを試みた。

目 次

第 1 单元	
1. NMR 観測の簡単な原理。	1
1-1 核の磁気モーメント	2
1-2 磁気モーメントとスピン	4
1-3 磁気共鳴の原理	5
1-3-1 量子力学としての簡単な説明	5
1-3-2 共鳴に対する古典的説明	6
1-4 回転座標系	7
1-5 RF パルスによる磁化 M の運動	9
2. 装置の概要	12
2-1 磁石	12
超伝導磁石の構造	13
2-2 分光計	14
2-3 コンピュータ	16
3. 実際の測定に際して	16
3-1 試料調整	16
3-1-1 試料管の選択	16
3-1-2 溶媒の選択	17
3-1-3 化学シフトの基準物質	18
3-1-4 試料調整時の注意事項	18
3-2 測定開始	19
3-2-1 観測核とプローブチューニング	20
3-2-2 NMR ロックと分解能調整	20
3-2-3 パルス幅とパルスモード	22
3-2-4 観測周波数領域とデータメモリー	23
3-2-5 積算回数と S/N	23
[演習問題]	24

NMRユーザーのための基礎と応用

NMR : Nuclear Magnetic Resonance (核磁気共鳴)

指導講師 スルペクト解析支援センター 理学博士 今成 司

第2单元

4 . NMR スペクトル.....	1
4-1 プロトンスペクトル.....	1
4-1-1 化学シフト.....	2
4-1-1a . 化学シフトの単位.....	3
4-1-1b シフトに影響する近隣グループの効果.....	4
4-1-2 スピン-スピン結合 (spin-spin coupling)	5
4-1-2a 信号が分裂する時の単純な法則 (first-order rules)	6
4-1-2 b 二次オーダースペクトル(second order spectrum) のスピン結合	7
4-1-2 c 二重共鳴	8
4-1-2 d 差スペクトル.....	9
4-1-2e スピン結合定数と Karplus の法則	11
4-2 ¹³ C スペクトル	13
4-2-2a Grant - Paul の加算則 (Additivity rule)	19
4-2-2b Lindeman- Adams の加算則	20
4-2-2c その他の加算則.....	22
4-3 パルス系列による炭素グループの判別.....	24
4-3-1 スピン占有数遷移 (SPT) の実験	24
4-3-2 INEPT のパルス系列とスピンの動き	26
4-3-3 DEPT のパルス系列と炭素グループの挙動	29
5. 緩和	31
5-1 緩和時間の測定法.....	32
5-2 横緩和時間 T ₂	34
5-3 分子運動の周波数分布.....	37
5-4 緩和機構.....	38
5-5 . 緩和時間の測定例	43
[演習問題]	47

NMRユーザーのための基礎と応用

NMR : Nuclear Magnetic Resonance (核磁気共鳴)

指導講師 スルペクト解析支援センター 理学博士 今成 司

第3単元

6. 二次元NMR	1
6-1 二次元NMRの測定原理	1
6-2 二次元NMRの分類	3
6-3 J分解二次元スペクトル	5
a) 異種核J分解二次元NMR	6
b) 同種核J分解二次元NMR	9
6-4 化学シフト相関二次元NMR	10
a) 異種核間シフト相関二次元NMR (H-C COSY)	11
b) 同種核間シフト相関二次元スペクトル (COSY)	12
d) ロングレンジ結合の検出	13
6-5 NOESY	15
6-6 多量子コヒーレンスと多量子フィルター	18
6-7 INADEQUATE	22
6-8 ^1H 検出異種核相関NMR	25
6-9 リレー相関NMR	29
6-10 磁場勾配を用いたコヒーレンスの選択	31
6-10-1 コヒーレンス	31
6-10-2 磁場勾配を用いたコヒーレンス選択	33
7 文献	36
8 付録	39
付録1 化学交換	39
付録2 NMRによる拡散係数Dの測定	48
付録3 緩和時間 T_1 、 T_2 と相関時間 ρ と粘度 η と拡散係数Dとの関係	50
付録4 緩和時間と双極子間の距離	52
付録5 応用事例 ; プロセスコントロール NMR; Time domain NMR	56
[演習問題]	64

通信講座

社内実践教育及び自己研鑽に！

NMRユーザーのための基礎と応用

NMR : Nuclear Magnetic Resonance (核磁気共鳴)

第1単元



指導講師 スペクトル解析支援センター
今成 司 理学博士

< 主催 >

スペクトル解析支援センター
日本真空機器株式会社

〒174-0063 東京都板橋区前野町1-3-4

TEL : 03-5914-0056 FAX : 03-5914-0057

URL : <http://www.jve.co.jp>

第 1 单元

1. NMR 観測の簡単な原理。

序 多くの分光手段は電磁波を用いて観測されている。代表的な分光法は分子振動を観測している赤外線分光であろう。よく知られている分光法の周波数帯は図 1-1 のようになっている。NMR (核磁気共鳴) もそのような分光手段の一つであるが、観測周波数は低い周波数帯に属している。

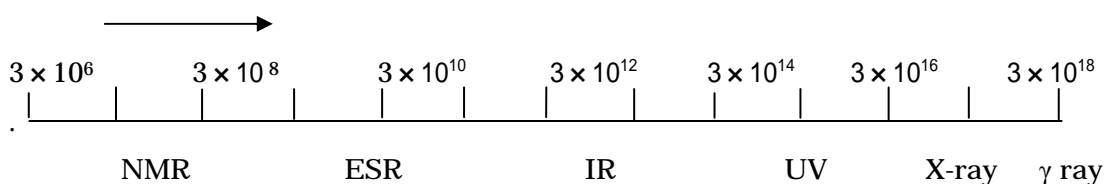


図 1-1 分光手段の観測領域周波数

NMR も ESR も磁気モーメントを観測しているので、観測の原理は全く同一である。ESR は不対電子の磁気モーメントを観測しているため、比較的感度は良い。しかし NMR は微弱な核の磁気モーメントを観測対象としているため、その他の分光法に比べて感度が悪いという欠点がある。しかし核種によって共鳴周波数が異なることから核の選択制は高く、磁気モーメントが小さいのでごく近隣の核同士の相互作用の影響しかないので、分子構造に関する微細な構造情報を与えるなどの特徴を持っている。しかし感度が悪いことから、NMR の歴史は感度向上の歴史といっても過言ではない。感度向上のため派生した FTNMR は観測の時間短縮による積算効果による S/N 向上と同時にパルスを用いたことによる時間分解による緩和時間の測定や二次元 NMR の発展を促し、さらにはイメージング NMR (MRI) の医療への実用化をも実現した。一方超伝導磁石の実用化と発展は高磁場の NMR を可能にし、感度向上と同時に蛋白質のような複雑な高分子化合物の高次構造の解析を可能にし多くの生体機構解明など貢献して来ている。このように NMR は多くの付帯技術の向上と共に発展し続けている。

1-1 核の磁気モーメント

NMRは核の持つ磁気モーメント μ を効率よく観測する手段であることはまえがきで触れたが、原子核はすべて磁気モーメントを持っているわけではない。原子核を構成する陽子の数と中性子の数で磁気モーメントの有無が決まってくる。核の磁気モーメントの有無は表1. のようになっている。

表 1-1 . 核に磁気モーメントが生じる場合の陽子と中性子の組み合わせ

陽子数	奇数	奇数	偶数	偶数
中性子数	奇数	偶数	奇数	偶数
核磁気モーメント	有	有	有	無

したがって、NMRの観測対象となる核は磁気モーメントを持つ ^1H 、や ^{19}F 、や ^{31}P などである。炭素 ^{12}C は陽子6個と中性子6個からなるため磁気モーメントを持たないのでNMRの観測対象にならない。しかしながら炭素の場合は同位元素として磁気モーメントを持っている ^{13}C が天然に約1.1パーセント存在しているために、それが観測対象となっている。

同様に酸素 ^{16}O も磁気モーメントを持たないが磁気モーメントを持つ ^{17}O が0.037%天然に存在しているので ^{17}O が観測対象核となっている。NMRの主な観測対象核を表2-2に示す。

表 1-2 . 主な観測対象核

核種	スピン数	磁気モーメント μ (単位 μ_N)	磁気回転比 ($10^8 \text{ T}^{-1} \text{ s}^{-1}$)	共鳴周波数 MHz, 9.4T	相対感度 (磁場固定)	天然存在 比%	四極子モーメント トQ { 10^{-31} m^2 }
^1H	1/2	2.79277	2.675	400.2238	1.000	99.98	-
^2H	1	0.85735	0.411	61.4384	0.009	0.0156	0.03
^{10}B	3	1.8007	0.288	43.005	0.02	18.83	0.11
^{11}B	3/2	2.6880	0.858	128.404	0.165	81.17	0.036
^{13}C	1/2	0.70216	0.673	100.627	0.016	1.108	-
^{14}N	1	0.40369	0.193	28.9144	0.001	99.635	0.02
^{15}N	1/2	-0.28298*	-0.271	40.561	0.001	0.365	-
^{17}O	5/2	-1.8930*	-0.363	54.2568	0.029	0.037	-0.004
^{19}F	1/2	2.6273	2.517	376.517	0.834	100.0	-
^{29}Si	1/2	-0.55492*	-0.531	75.524	0.079	4.70	-
^{31}P	1/2	1.1316	1.083	162.009	0.066	100.0	-

* ^{15}N , ^{17}O , ^{29}Si の磁気モーメントの符号は他の核と逆である。

コラム： 電荷を持たない中性子はなぜスピン $1/2$ を持つのか？

原子物理学の世界によると陽子や中性子は電荷 $e/3$ でスピン数 $1/2$ を持つ素粒子と電荷 $+2e/3$ でスピン数 $1/2$ を持つ素粒子の組み合わせで構成されているとされている。

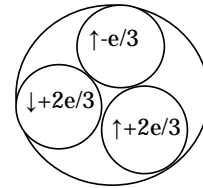
【陽子】

陽子は 1 個の電荷 $-e/3$ でスピン $1/2$ を持つ素粒子と 2 個の電荷 $+2e/3$ でスピン $1/2$ を持つ素粒子で構成されている。したがって

$$\text{電荷の合計} = +2e/3 + 2e/3 - e/3 = +e$$

$$\text{スピンの合計} = (\uparrow + \downarrow) + \uparrow = 1/2$$

(偶数のスピンは打ち消しあって、表面化しない)



【中性子】

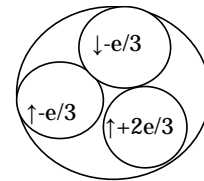
中性子は 2 個の電荷 $-e/3$ でスピン $1/2$ を持つ素粒子と 1 個の電荷 $+2e/3$ でスピン $1/2$ を持つ素粒子で構成されている。したがって

$$\text{電荷の合計} = +2e/3 - e/3 - e/3 = 0$$

$$\text{スピンの合計} = (\uparrow + \downarrow) + \uparrow = 1/2$$

となり、中性子は電荷 0 でスピン $1/2$ となる。

したがって電荷を持たない中性子もスピン $1/2$ を持つことになる。



通信講座

社内実践教育及び自己研鑽に！

NMRユーザーのための基礎と応用

NMR : Nuclear Magnetic Resonance (核磁気共鳴)

第2单元



指導講師 スペクトル解析支援センター
今成 司 理学博士

< 主催 >

スペクトル解析支援センター
日本真空機器株式会社

〒174-0063 東京都板橋区前野町1-3-4

TEL : 03-5914-0056 FAX : 03-5914-0057

URL : <http://www.jve.co.jp>

NMR

第2单元

4. NMR スペクトル

4-1 プロトンスペクトル

共鳴周波数 500MHz で観測した 0.1%重クロロホルム溶液のエチルベンゼンのプロトン NMR スペクトルを図 4-1 に示す。これは装置の感度 (S/N) を示す標準的なスペクトルです。

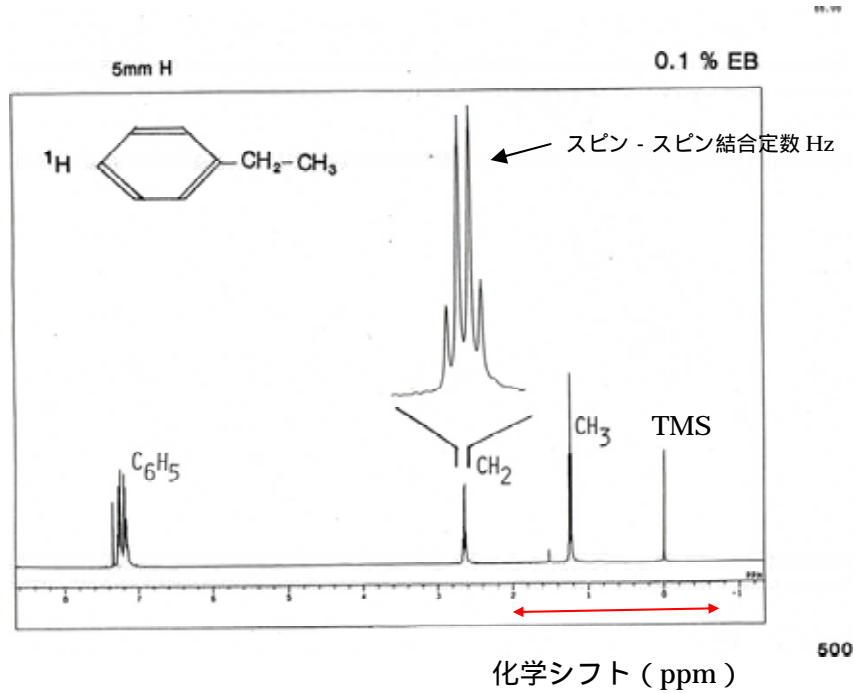


図 4-1 エチルベンゼンのプロトンスペクトル

この ^1H NMR スペクトルにおいてはCH₂、CH₃、C₆H₅、TMS が分離して観測されている。これは化学シフトと呼ばれている。また各信号は小さく分裂している。これは隣の炭素についている水素核同士の相互作用によるもので、スピンスピン相互作用と呼ばれている。各信号の強度も異なっている。これらの情報は分子構造に特徴的な信号であり、分子の構造を詳細に表わしている。NMR 分光にはこのスペクトルに直接現れていないが分子の運動の情報を含む緩和時間の情報もある。このような情報を順次簡単に説明する。

4-1-1 化学シフト

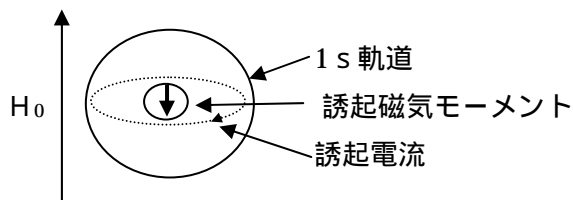


図 4-2 静磁場中の磁気遮蔽の模式図

今プロトンを磁場 H_0 の中に入れたとすると核の周りを取り巻いている 1s 軌道の電子雲は誘起電流を生じ、核の所に半磁性的の磁気モーメントを作るため核の感じる磁場は H_0 だけ弱められる。つまり核の感じる磁場は

$$H_{\text{local}} = H_0(1 - \sigma) \quad (5-1)$$

となる。ここに σ は磁気遮蔽定数といわれ、磁場の大きさに比例する量である。 σ は一般に 1s 軌道の電子密度に比例する。球形の電子分布に対して、誘起された電荷が純粋な反磁性効果を作るとして σ は L a m b の式から次のように求められている。

$$\sigma = \frac{\mu_0 e^2}{3m_e} \int_0^\infty r \rho(r) dr \quad (5-2)$$

$\rho(r)$ は電子密度である。しかしながら通常は電子の軌道は混成軌道であり、球形でなく、誘起された電子の運動から反磁性成分と常磁性成分が生じ遮蔽はその和となる

$$\sigma = \sigma_{\text{dia}} + \sigma_{\text{para}} \quad (5-3)$$

化学シフトの理論的計算は非常に複雑で小さな分子に限られているため、実用的には現実的でない。しかも化学シフトは近隣のグループによっても影響される。

$$\sigma = \sigma_{\text{dia}} + \sigma_{\text{para}} + \sigma_{\text{neigh}} \quad (5-4)$$

σ_{neigh} は近隣グループからの影響である。従って、定性的な扱いでシフトをみているのが現状である。

通信講座

社内実践教育及び自己研鑽に！

NMRユーザーのための基礎と応用

NMR : Nuclear Magnetic Resonance (核磁気共鳴)

第3单元



指導講師 スペクトル解析支援センター
今成 司 理学博士

< 主催 >

スペクトル解析支援センター
日本真空機器株式会社

〒174-0063 東京都板橋区前野町1-3-4

TEL : 03-5914-0056 FAX : 03-5914-0057

URL : <http://www.jve.co.jp>

第3単元

6. 二次元NMR

二次元NMR（2D）の出現と普及がNMRによる構造解析の手法を変えてしまったと言っても過言ではない。

二次元NMRの種類も数多くあり、それらに対するパルス系列も数多く考察されているため、個々のパルス系列について詳細に説明することは本書のスペースでは困難である。そこでここでは良く使用されるパルス系列を取り上げ、目的や使用上の注意を中心に説明することにしたい。

6-1 二次元NMRの測定原理

通常の一次元NMRスペクトルは観測の時間関数は一つしかない。FTNMRの場合は自由減衰信号（FID）やエコーのように磁化の変動の時間関数を観測している。しかしながら二次元NMRは二つの時間関数のスペクトルを取り込むのである。それは図6-1に示すような時間区分の中でNMR信号を観測することによって実現する¹⁾。

- 準備時間 この間に核の分極や時間待ちなどして、観測核の状態を常に一定の状態に保つための時間
- 展開時間 核スピン系に何らかの摂動（ある適当な一定のハミルトニアン (\mathcal{H}_1) のもとにおける核スピンの運動) を与えて、 t_1 時間におけるスピン系の変化を作る。
- 混合時間 t_1 時間におけるある種のスピン系の変化を目的のスピン系へ移す（この時間は観測の目的によっては必要の無い場合もある）。
- 検出時間 t_1 時間に一定の摂動 (\mathcal{H}_2) のもとに変動したスピン系を他の摂動 (\mathcal{H}_2) のもとに検出する。従ってこのスペクトルは t_2 の関数になる。

このような時間区分のもとにスペクトルを観測し、 t_1 の時間を任意の時間間隔で変化させながら t_2 時間にそれぞれスペクトルを観測すれば、取り込まれた全体スペクトルは t_1 と t_2 の関数 $S(t_1, t_2)$ となる。従ってこの $S(t_1, t_2)$ を t_1 と t_2 でそれぞれフーリエ変換すると $S(F_1, F_2)$ となり、二つの周波軸を持つスペクトルが得られる。時間区分をさらに増せばさらに高次元のNMRスペクトルが得られることも容易に納得できる。

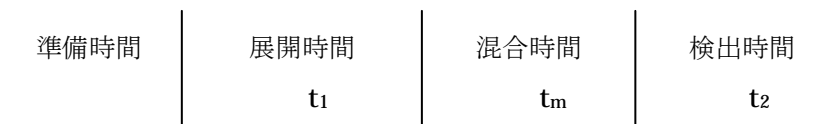


図6-1 二次元NMRの基本的なタイムチャート

図 6-2 に取り込んだデータ $S(t_1, t_2)$ とフーリエ変換の模式図を示す。

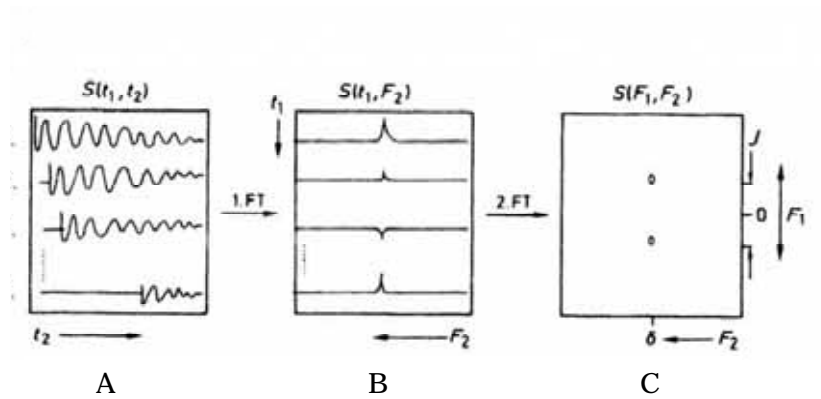


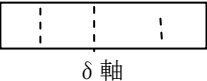
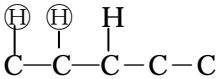
図 6-2 取り込んだ 2 次元データ $S(t_1, t_2)$ とフーリエ変換の模式図、A : 取り込まれたデータ、B : t_1 をフーリエ変換、C : t_1 、 t_2 ともフーリエ変換

FT NMR の場合はこの時間区分に対して一般的に核の共鳴周波数パルスを用いている。しかしながら物質（化合物）に与える摂動は得るべき情報が何であるかによって変わってくる。従って原理的に摂動の種類は光でも圧力でも温度でも良いことになる。ここでは共鳴パルスの組み合わせによって得られる二次元 NMR スペクトルのみを取り上げる。

6-2 二次元NMRの分類

二次元NMRはNMRスペクトルに含まれる多くの構造情報から必要な情報を分離、抽出する測定法である。そのため得ようとする情報に合わせてパルス系列を使い分ける必要がある。そこで、代表的な測定法を目的別に分類しておこう。

表 6-1 二次元 NMR の分類
同種核 2 DNMR

測定法	得られる情報	備考
J 分解	化学シフト δ とスピンスピン結合定数 J を分離する	 J 軸 δ 軸
COSY	スピンスピン結合の相関を表示する。(スピンスピンのネットワーク追跡)	
DQF-COSY	COSY と同じ情報が得られるが、2 量子コヒーレンスを使用しているため位相の補正ができる。(Phase sensitive)	
Long range COSY	2 ボンド、3 ボンド先の小さなスピンスピン結合の相関が得られる	
HOHAHA	スピンスピンのネットワークの順序の情報が得られる	
NOESY (EXSY)	核間距離の情報が得られる (5 Å 以下) 化学交換のサイトの情報	