

1 2.21 核磁気共鳴スペクトル測定法

2 2. 4.1.及び5.の項を次のように改める.

3 2. 操作法

4 NMR測定には、装置の感度及び分解能調整が必要である。
5 NMRでは磁化の励起や観測にコイルを用いる。コイルは狙っ
6 た核スピンのラーモア周波数に最適化するチューニングとマッ
7 チングと呼ばれる感度調整が必要である。試料空間における静
8 磁場の空間的な強度むらを試料部位周りに巻かれた複数のシム
9 コイルに電流を流して補正する磁場を追加するシム調整又は分
10 解能調整の操作が必要である。エチルベンゼン、1,2-ジクロ
11 ロベンゼン又はアセトアルデヒドのNMR測定用重水素化溶媒
12 溶液などを用いて装置の感度及び分解能を至適条件に調整した
13 後、通例、次の方法でスペクトルを測定する。

14 試料と少量の基準物質を溶媒に溶かした液をNMR試料管に
15 注入する内部基準法、又は基準物質の溶液を封入した細管を試
16 料溶液と共にNMR試料管に入れる外部基準法のいずれかの方
17 法で用意した試料管をNMRプローブに設置して測定する。試
18 料溶液は完全に均一な溶液であることが望ましい。特に、固形
19 の異物の混入があると良いスペクトルが得られない。

20 測定溶媒としては、通例NMR測定用重水素化溶媒を用いる。
21 溶媒の選択に当たっては、試料のシグナルと重なるシグナルを
22 示さないこと、試料をよく溶かすこと、及び試料と反応しない
23 ことなどを考慮する必要がある。

24 溶媒の種類、溶液の濃度、重水素イオン濃度などにより化学
25 シフトが変化することがあり、また、試料溶液の粘度が高い場
26 合には分解能が低下するので注意する。

27 基準物質としては、NMR測定用試薬を用いる。通例、 ^1H 、
28 ^{13}C いずれも測定溶媒として有機溶媒を用いた場合はテトラメ
29 チルシラン(TMS)を、重水を用いた場合は3-トリメチルシリ
30 ルプロパンスルホン酸ナトリウム(DSS)又は3-トリメチルシリ
31 ルプロピオン酸ナトリウム- d_4 (TSP)を用いる。その他の核
32 では、 ^{15}N はニトロメタン、 ^{19}F はトリクロロフルオロメタン、
33 ^{31}P はリン酸などを用いる。また、基準物質を入れずに、重水
34 素化溶媒中の残留プロトンや測定溶媒の ^{13}C の化学シフトを用
35 いることもできる。

36 4.1. 化学シフト、多重度及び面積強度比による確認

37 確認しようとする物質の化学シフト、多重度、各シグナルの
38 面積強度比が医薬品各条で定められている場合、規定されたす
39 べてのシグナルの化学シフト、多重度及び各シグナルの面積強
40 度比が適合するとき、試料と確認しようとする物質の同一性が
41 確認される。ただし、シグナルの多重度は、測定装置の磁場の
42 大きさが異なるとき、機器の分解能の差、及びスピンスピン
43 結合の大きさとスピンスピン結合した核どうしの共鳴周波数
44 の差との相対的關係から、異なって観測される場合がある。し
45 たがって、シグナルの多重度は、測定装置の磁場の大きさを考
46 慮して判断する。

47 5. ^1H NMR及び ^{13}C NMRの各種測定法

48 NMR測定法には一次元NMR及び二次元NMR更には三次元
49 以上の多次元NMRがあり、種々の目的に応じて使われている。
50 一次元 ^1H NMRでは、カップリングの相関を帰属できるスピン
51 デカップリング及び空間的に近接する ^1H 間の相関が観測され、
52 立体配置や立体配座の知見を得ることができるNOE(核オーバ

53 ーハウザー効果)がある。また、一次元 ^1H NMRでは、定量性
54 を確保した条件で測定したとき、スペクトル上に観察される化
55 合物中の原子核の数の比がピーク面積比に対応する特性を持つ。
56 国際単位系(SI)へのトレーサビリティが確保された内標準物質
57 を用いて、純度や含量は物質質量(mol)に基づいた信頼性の高い
58 値を求めることができ、このような測定法は定量 ^1H NMRと呼
59 ばれている。

60 一次元 ^{13}C NMRでは、スペクトルを単純化すると共に、
61 NOEによる感度向上を得ることができる広帯域デカップリン
62 グ、観測核に直接結合している磁気モーメントの大きい ^1H か
63 らの分極移動を利用して感度を向上させるINEPT(分極移動に
64 による低感度核の感度増大法)及びDEPT(分極移動による無歪感
65 度増大法)が通常用いられ、1級、2級、3級及び4級炭素の決定
66 に利用できる。

67 二次元NMRでは、スピン結合又はNOEにより相関している
68 核間の相関ピークを一度の測定ですべて観測することが可能で
69 あり、同核種間、異核種間で多くの測定法がある。代表的な測
70 定法には次のようなものがある。

71 (i) COSY(相関分光法)、TOCSY(全相関分光法)
72 (HOHAHA(Hartmann-Hahn効果分光法)): スピン結合して
73 いる ^1H 間の相関が得られ、分子内の水素の化学結合関係が
74 わかる。

75 (ii) NOESY(二次元NOE及び化学交換分光法): NOE効果を
76 二次元で測定し、空間的に近い距離にある水素原子間のおお
77 よその距離が得られ、立体構造の知見を得ることができる。

78 (iii) INADEQUATE(天然存在比での二量子遷移分光法): 天
79 然存在比での ^{13}C - ^{13}C のスピン結合による二量子遷移による
80 ので、感度が非常に悪いが、隣接した ^{13}C 核間の相関が得ら
81 れ、炭素骨格を直接解析できる。

82 (iv) HMQC(異核種間多量子コヒーレンス分光法): 直接スピ
83 ン結合した ^1H と ^{13}C 間の相関を ^1H 検出で高感度に観測する測
84 定法であり、分子内の水素と炭素の直接の化学結合がわかる。

85 (v) HMBC(異核種間遠隔相関分光法): 遠隔スピン結合して
86 いる ^1H と ^{13}C 間の相関を ^1H 検出で高感度に観測でき、水素と
87 炭素の化学結合関係がわかる。

88 (i)~(v)のほかに、J分解二次元スペクトル、DQF-COSY
89 (二量子フィルター相関分光法)、HSQC(異核種間一量子コヒ
90 ーレンス分光法)、DOSY(自己拡散係数配列スペクトル)、
91 INADEQUATE(^{13}C - ^{13}C 相関スペクトル)等数多くの手法があ
92 り、更に、高分子化合物では多次元NMRも利用される。