セルロースの固体 ^{13}C -NMR ケミカルシフト のコンピューターシミュレーション

旭化成工業(株)高分子科学研究所 宮 本 郁 也

旭化成工業(株)高分子科学研究所 斉 藤 政 利

旭化成工業(株)コンピューターサイエンス室 青 柳 岳 司

旭化成工業(株)コンピューターサイエンス室 豊 島 日出夫

1. 緒 言

セルロースの固体 ^{13}C -NMR スペクトルのケミカルシフトはグルコピラノースのコンホーメーションによって著しく変化することは良く知られている¹⁾。これまでこれらグルコースのコンホーメーションはセルロースの分子内、分子間水素結合などの相互作用によって変化すると考えられ、主に C_4 、 C_6 炭素のケミカルシフトと水素結合との関係が議論されてきた。上出らは天然セルロースの固体 NMR スペクトルを溶液 NMR と比較した場合、 C_4 炭素だけが約 10ppm 程度低磁場シフトすること、 C_4 炭素および C_6 炭素ピークのうち、低磁場成分の割合が高いサンプルほど 9%NaOH 水溶液に対する溶解性が高いことなどから、 C_4 炭素と C_6 炭素のケミカルシフトは $\text{O}_3\text{H}-\text{O}_5'$ と $\text{O}_2\text{H}-\text{O}_6$ あるいは $\text{O}_2-\text{O}_6\text{H}$ の 2 種類の分子内水素結合の有無によって変化することを提案している²⁾。これは $\text{O}_3\text{H}-\text{O}_5'$ の水素結合の形成に伴う電荷移動によって C_4 炭素上の電荷密度が、また $\text{O}_2\text{H}-\text{O}_6$ ($\text{O}_2-\text{O}_6\text{H}$) の水素結合によって C_6 炭素上の電荷密度が変化することによって、磁場に対する遮蔽効果が変化するという解釈によるものである³⁾。また磯貝らは $\beta 1, 4$ 結合中の Bridge 酸素と C_6 炭素原子の間に分子間水素結合が形成された場合、 C_4 炭素原子の部分電荷が減少することによって、 C_4 炭素のケミカルシフトが変化するという考えを提案している⁴⁾。以上のようにセルロースの固体 ^{13}C -NMR スペクトルのケミカルシフトを変化させる因子については様々な解釈がなされているがそれらを決定づける

実験的証拠はまだ見い出されていない。

他方、 ^{13}C -NMR ケミカルシフトを各種分子軌道法を用いたコンピューターシミュレーションから予測しようとする研究がなされており、ポリペプチドについては主鎖の 2 面角 (ϕ , ψ) とケミカルシフトとの関係などが報告されている¹⁵⁾。しかしセルロースに関してこの種の研究はほとんどなされていない。そこで本研究では、セルロースの固体 ^{13}C -NMR スペクトルを変化させる構造因子を明らかにするために、モデル化合物として 2 量体であるセロビオースを用い、グリコシド結合まわりのコンホーメーションおよび分子内水素結合に関与する水酸基のコンホーメーションを変化させたときに各炭素原子の電荷密度およびケミカルシフトを量子化学計算から求めることを試みた。

2. 計算方法

2.1 セルロース 2 量体 (セロビオース) 初期構造の作成および分子力場による最適化

セロビオースの初期構造のコンホーメーションはすでに報告されているセルロースの X 線回折の結果⁶⁾を参考に、図 1 に示すグリコシド結合に関する 2 面角 ϕ , ψ を各々 25° , -29.0° とした。また側鎖である CH_2OH のコンホーメーションとしてはトランス・シュ (tg) コンホーメーションを採用した。この構造から ϕ を様々に変化させ、6 員環のいす型コンホーメーション自体は大きく変化しない程度に最適化した。表 1 にそれぞれのコンホーメーションの

ϕ , ϕ および 2 種類の分子内水素結合に関与する酸素原子間距離 (O_3-O_5 , O_2-O_6) を示す. 構造作成は InsightII, また構造の最適化は Discover (力場 CFF91)⁷⁾ を用い, SGI Workstation で計算した.

2.2 分子軌道法によるケミカルシフト計算

電荷密度は市販のソフト Unichem, D Gauss⁸⁾, を用いて量子化学計算から求めた. また遮蔽テンソル計算は ab initio 分子軌道法による Turbomole (基底関数 SV) /Turbo NMR^{7,9)} を用いて行った. それぞれの計算はクレイ YMP-2E および IBM Workstation RS6000 を用い, 上記の構造について一点計算した. またケミカルシフトの値はテトラメチルシラン (TMS) との差を ppm で表示した.

3. 結果と考察

表 2 にセルロースの結晶構造のコンホーメーションに近い 2 量体である表 1 における D₃ について, Unichem, D Gauss を用いた量子化学計算によって求めた 12 個の各炭素原子の電荷の絶対値 (ED) および Turbomole/NMR によって求めたケミカルシフト (CS_{calculated}) を示す. また, すでに報告されている β セロビオースの水溶液中での実測の

Table 2 Calculated electron density (ED) and calculated and experimentally obtained chemical shifts (CS) of C₁~C₆ carbons

	NR ¹ /R ²	C ₁	C ₂	C ₃	C ₄	C ₅	C ₆
ED	NR R	0.018 -0.005	-0.129 -0.134	-0.199 -0.186	-0.152 -0.142	-0.091 -0.103	-0.379 -0.310
CS /ppm	calculated ³ NR	100.9	68.4	72.4	71.6	68.9	62.2
	R	92.7	71.9	71.6	81.9	69.3	61.5
	observed ⁴ NR	103.3	74.1	76.5	70.4	76.8	61.6
	R	96.6	74.9	75.3	79.5	75.6	61.1

1.Value for the residue of the non-reducing end
2.Value for the residue of the reducing end
3.Calculated value obtained from TurboNMR
4.Reported value of the cellobiose in water.

¹³C-NMR のケミカルシフト (CS_{observed})¹⁰⁾ も併せて示す. 計算から求められた電荷の値は還元末端残基, 非還元末端残基ともに C₁>C₅>C₂>C₄>C₃>C₆ の順である. 実測されたケミカルシフトは非還元末端残基が C₁>C₅>C₃>C₂>C₄>C₆, 還元末端残基については C₁>C₄>C₅>C₃>C₂>C₆ であり, C₁, C₆ 炭素以外その順列は全く一致していない. また図 1 に示すように, セロビオースは d グルコースが β 1, 4 結合した構造であり, 還元末端 (R), 非還元末端 (NR) 残基間で磁場環境が大きく異なるため, C₁ 炭素と C₄ 炭素についてはケミカルシフトの実測値が大きく異なる (C₁: Δ =6.7ppm(NR>R), C₄: Δ =9.1ppm(NR<R)). しかし, 計算で求められた電荷の値は全くそのような傾向を示さなかった. これらの結果から, 量子化学計算で得られる電荷の絶対値から反磁性磁気遮蔽効果のみに基づき, ケミカルシフトを予測することはできないと判断される.

一般に ¹³C-NMR のケミカルシフトは次式に示す 3 つの因子によって決定される¹¹⁾.

$$\sigma = \sigma^d + \sigma^p + \sigma'$$
 (1)

ここで, σ^d は反磁性項, σ^p 常磁性項 σ' は多原子からの寄与である. σ^d は電子分布の球対称性に起因するために, 着目する炭素原子の電子密度に関連する. 一方, σ^p は電子の球対称性からの歪みに起因する. σ' 多原子からの磁気異方性などの効果であるが, この効果は 1ppm 以下であるため, ¹³C-NMR ケミカルシフトを議論する場合は無視して良い¹¹⁾. 炭素原子は 2p 電子を 3 個もっていることから σ^p の寄与が大きく ¹³C-NMR のケミカルシフトを予測する場合, 常磁性の遮蔽効果を正確に見積もることが必要となる.

一方, 表 2 において Turbomole/NMR から求められたケミカルシフトの値は C₂, C₅ 炭素について

Figure 1. Conformation of the cellobiose unit. a) non-reducing end b) reducing end

Table 1 Most probable molecular parameters obtained by computer calculation

Conformation Number.	ϕ /degree	ϕ /degree	$O_3-O_5/\text{\AA}$	$O_2-O_6/\text{\AA}$
D1	-49.05	25.52	2.92	3.31
D2	-39.18	25.49	2.92	3.05
D3	-29.44	25.00	2.96	2.91
D4	-19.52	25.62	2.97	2.85
D5	-9.66	25.75	3.02	2.81
D6	0.86	25.92	3.12	2.79
D7	11.33	26.02	3.44	2.73

はかなり報告値と差が認められたものの、その他の炭素は報告値と比較的良好な相関を示しており、C₄、C₆炭素についてはほぼその値が一致した。この計算では、電子による遮蔽効果を反磁性項および常磁性項に分離し、最終的なケミカルシフトを算出しているため、実測値との間で比較的良好な相関が得られたと考えられる。

ただし、上述のように計算値と実測値が一致しない炭素もいくつかある。この計算では分子1個がコンホメーションを固定された状態で存在した場合のケミカルシフトを求めているため、溶液NMRのような溶媒との相互作用や分子運動あるいは固体NMRでの分子間相互作用などの影響は考慮していない。このようなことから水溶液中でのセロビオースのケミカルシフトの報告値と計算値がずれる炭素が存在したものと考えられる。特にセルロースaq. NaOH、カドキセン、aq. NaSCN、aq. CaSCNなどの水系溶媒中でNMR測定した場合、溶媒によって大きくケミカルシフトが変化するのはC₁、C₂、C₃、C₅炭素であること¹²⁻¹⁴⁾を考慮すると今回の計算結果においてC₁、C₂、C₃、C₅の値が実測値と一致しなかった主原因は溶媒効果を考慮していないためと考えられる。

表3にφを25.0°に固定し、φを変化させたβセロビオースの中で、φ=-19.52°、φ=-49.05°、φ=11.33°の場合についてケミカルシフトの計算結果を示す。φの変化に伴ってケミカルシフトが著しく変化するのは還元末端残基のC₄炭素であり最大4.6ppm変化する。その次が非還元末端残基のC₁炭素で3.5ppm変化する。このようにφ依存性が高いのはグリコシド結合に関与する炭素である。一方、その他の炭素の変化は0.1ppm~1.3ppmと小さい。そこで還元末端残基のC₄炭素に着目してφの効果を検討した。まず2量体を用いることの妥当性を検討するために、表1におけるD₃のセロビオースの還元末端にさらにグルコースをつけてセトリオースとして計算した場合の中心のグルコースのC₄炭素のケミカルシフトを2量体(D₃)の還元末端残基のC₄炭素と比較した結果、その差0.4ppmであり、大きな違いが認められなかった。このことからセロビオースにおける還元末端残基のC₄炭素は、セルロースのC₄炭素に対するモデルとしてとらえることができると考えた。φを変化させたときのケミカルシフトの変化を図2に示す。同図にはそれぞれの構造の最適化の際の分子力学計算によるエネルギーも併せて示した。C₄炭素のケミカルシフトはφの変化に対してφ=-10°付近で極大値を示した。すなわちφが-49°から大きくなるにつれてC₄炭素は低磁場シフトし、φが正になると若干高磁場シフトする。一方、エネルギーは谷型の曲線を示し、エネルギー的に最も安定な構造のC₄炭素のケミカルシフトが比較的低磁場に位置することを示した。ここで表1からわかるように、分子内水素結合に関与する2種類の水酸基の酸素原子間距離O₃-O₃'、O₂-O₆はφ=-19.52°およびφ=-29.44°の場合とも3Å以下であり、水素結合の相互作用が可能な距離である。一方、φ=-49.05°の場合はO₃-O₃'間距離は2.92Åと短いものの、O₂-O₆間距離は3.31Åと非常に大きい。またφ=-11.33°の場合は逆にO₃-O₃'間距離は3.44Åと長く、O₂-O₆間距離は2.73Åを示した。これらの結果から、2種類の分子内水素結合が可能なコンホメーションのときにC₄炭素が低磁場シフトし、かつ分子内水素結合の相互作用によってエネルギー的にも安定な構造となっていることが考えられる。堀井らはセルロースI、II型の結晶

Table 3 Calculated chemical shift of β-cellobiose with φ=25°

φ/degree	NR ¹ /R ²	C ₁	C ₂	C ₃	C ₄	C ₅	C ₆
-19.52	NR	102.9	69.3	72.7	71.3	69.0	62.4
	R	92.4	72.3	72.9	84.1	70.4	61.9
-49.05	NR	99.4	69.0	72.6	71.4	68.3	63.0
	R	92.4	71.2	72.7	79.5	69.7	63.2
11.33	NR	101.8	68.8	72.6	71.5	69.4	62.7
	R	92.8	72.5	72.9	83.2	72.9	62.4

1.Value for the residue of the non-reducing end
2.Value for the residue of the reducing end

Figure 2. ¹³C-NMR chemical shifts of the C₄ carbon and total energies of the cellobiose plotted against φ. ○: tpta; emergu ●: chemical shift

ギーも併せて示した。C₄炭素のケミカルシフトはφの変化に対してφ=-10°付近で極大値を示した。すなわちφが-49°から大きくなるにつれてC₄炭素は低磁場シフトし、φが正になると若干高磁場シフトする。一方、エネルギーは谷型の曲線を示し、エネルギー的に最も安定な構造のC₄炭素のケミカルシフトが比較的低磁場に位置することを示した。ここで表1からわかるように、分子内水素結合に関与する2種類の水酸基の酸素原子間距離O₃-O₃'、O₂-O₆はφ=-19.52°およびφ=-29.44°の場合とも3Å以下であり、水素結合の相互作用が可能な距離である。一方、φ=-49.05°の場合はO₃-O₃'間距離は2.92Åと短いものの、O₂-O₆間距離は3.31Åと非常に大きい。またφ=-11.33°の場合は逆にO₃-O₃'間距離は3.44Åと長く、O₂-O₆間距離は2.73Åを示した。これらの結果から、2種類の分子内水素結合が可能なコンホメーションのときにC₄炭素が低磁場シフトし、かつ分子内水素結合の相互作用によってエネルギー的にも安定な構造となっていることが考えられる。堀井らはセルロースI、II型の結晶

型のセルロースとその他様々な多糖類の実測の固体 NMR のケミカルシフトと X 線その他から報告された分子のコンホーメーションとの関係を比較した。その結果 ϕ , ψ がそれぞれ C_1 炭素, C_4 炭素のケミカルシフトに最も高い相関を示すこと, ϕ に対する C_4 炭素のケミカルシフトの変化は直線的で ϕ が小さいほど C_4 炭素は低磁場シフトすることを報告している¹⁾。 ϕ の変化が C_4 炭素のケミカルシフトに最も影響を与えるという結果は本研究と一致するが ϕ に対するケミカルシフトの変化は大きく異なる。堀井らの研究では様々な多糖のケミカルシフトについて議論しているためにコンホーメーションの効果のみならず置換基や重合度の効果などが含まれている可能性が高い。

表 3 における $\phi = -49.05^\circ$ と $\phi = 11.33^\circ$ のケミカルシフトの計算値を比較すると, $\phi = -49.05^\circ$ の構造に比べて $\phi = 11.33^\circ$ のときの方が, 還元末端残基の C_4 炭素は 3.7ppm 低磁場であるが, C_3 炭素のケミカルシフトはほとんど変化しない。また O_5-O_5' 距離が 3.44 Å と長く, O_5-H-O_5' の分子内水素結合不可能な $\phi = 11.33^\circ$ 構造のときの方が C_4 炭素は低磁場であり, ϕ の変化に伴う C_4 炭素のケミカルシフトの変化は上出らが報告したような, 分子内水素結合の形成に伴う電荷の移動だけでは説明できない。一方, C_6 炭素については $\phi = -49.05^\circ$ の O_5-H-O_2 の分子内水素結合ができない構造の場合の 63.2 ppm に比べて水素結合可能な $\phi = 11.33^\circ$ および $\phi = -19.52^\circ$ の場合はそれぞれ 62.4ppm, 61.9ppm と高磁場シフトしている。同時に C_2 炭素は 71.2 ppm からそれぞれ 72.3, 72.5ppm に低磁場シフトしており, 定性的には上出らの解釈に一致している。

表 4 に ϕ , ψ 一定条件下, 分子内水素結合に関与する水酸基のコンホーメーションだけを変化させた場合のセロビオースのケミカルシフトの計算結果を示す。ここでは図 3 に示すように分子内水素結合可能なコンホーメーションの構造 (D_3) 中で, 還元末端側のグルコース残基の $C_5'-OH$, $C_6'-OH$ の水酸基を, $C-O$ 結合に関して 120° 回転させることによって水素結合できない構造を作成し, その 2 つの構造のケミカルシフトを比較した。水酸基のコンホーメーション変化に伴うケミカルシフトの変化は還元末端残基の C_4' 炭素 (3.3ppm) > 還元末端残基の C_2' 炭素 (2.1ppm) > 還元末端残基の C_1' 炭素 (1.8ppm) の順である。一方, 水酸基が直接結合している C_3' ,

Table 4 ^{13}C -NMR chemical shifts of the cellobiose with different conformation of the two hydroxyl groups (O_5H and O_6H).

Structure	NR ¹ /R ²	C ₁	C ₂	C ₃	C ₄	C ₅	C ₆
D3 ³	NR	100.9	68.4	72.4	71.6	68.9	62.2
	R	92.7	71.9	71.6	81.9	69.3	61.5
D3R ⁴	NR	102.7	68.8	73.5	72.5	68.9	62.8
	R	92.2	74.0	71.4	78.6	69.1	62.0

1.Value for the residue of the non-reducing end

2.Value for the residue of the reducing end

3.Structure shown in Figure3a)

4.Structure shown in Figure3b)

Figure 3. Structures of the two cellobioses with different conformation of the hydroxyl groups (O_5H and O_6H). a) before rotation b) after rotation

C_6' 炭素についてはそれぞれ 0.2ppm, 0.5ppm しか変化しない。直接結合している C_5' , C_6' 炭素よりも, グリコシド結合に関与する C_1 , C_4' 炭素および隣接する炭素である C_2' 炭素のケミカルシフトが変化するという結果は興味深い。この原因については分子内水素結合によって $O_5-C_1-O_{bridge}$ の超共役中の C_1 炭素の磁気環境が変化するかあるいは $C_5'OH$ 酸素原子上の不対電子の方向性の変化によって C_2' 炭素上の電子状態が変化した可能性などが考えられる。

図4に表1に示した様々な ϕ の構造について、図3と同じ方法で水酸基のコンホメーションを変化させたときの還元末端残基のC₄炭素のケミカルシフトの計算値を示す。どの ϕ についてもO₃-H-O_{5'}, O₂-H-O₆の分子内水素結合ができるコンホメーションが、できない場合に比べて3.0~3.4ppm程度低磁場シフトした。 $\phi = -29.44 \sim -9.66^\circ$ の2種類の分子内水素結合可能な ϕ のときに最も水酸基回転の効果が大きく、 $\phi = -49.05$ のときのようにC₄炭素がすでに高磁場を示す構造に対しては効果が小さい。これらの事実は ϕ 一定条件下でも、2種類の分子内水素結合が形成できないように水酸基のコンホメーションを変化させれば、最大3.41ppm C₄炭素のケミカルシフトは変化しうることを示している。

次に、 ϕ の効果と水酸基のコンホメーションの効果を両方併せて実測のセルロースのC₄炭素のケミカルシフトと比較しながら考察する。実測の溶液NMRのC₄炭素のケミカルシフトは約79ppmで固体NMRの場合は84~89ppmと幅があり、溶液および固体中のケミカルシフトは約10ppmの幅があることになる。これは溶液中、結晶、非結晶中には様々な ϕ の構造および様々なコンホメーションの水酸基が混在しているためだと考えられる。今回計算で得られたケミカルシフトの値は実測値に対して若干ずれているものの、 ϕ の効果と水酸基のコンホメーションの効果を両方併せると8.43ppmの幅を持ち、実測のC₄炭素のケミカルシフトの変化幅をほぼ説明することができる。すなわち ϕ が変化

することによって分子内水素結合の強さが変化し、分子内水素結合できる場合の低磁場シフトから水素結合しない場合の高磁場シフトまでC₄炭素のケミカルシフトは変化する。また、 ϕ 一定条件下でも水酸基のコンホメーションが異なることによってC₄炭素のケミカルシフトは変化し、分子内水素結合できないコンホメーションの場合が高磁場である。この効果は最大3.41ppmであり、セルロースの固体NMRのC₄炭素の変化幅84ppmから89ppm 約5ppm に対しては寄与は大きいと考えられる。

4. 結 言

セルロースの固体¹³C-NMR ケミカルシフトに影響を及ぼす構造因子を明らかにするに、モデル化合物であるセロビオースのケミカルシフトをab initio 分子軌道法を用いてコンピューター計算した。グリコシド結合に関与する2面角(ϕ , ψ)のうち ϕ 一定条件で(約25°), ψ を変化させて12個のケミカルシフトを計算した結果、グリコシド結合に関与するC₄炭素のケミカルシフトが最も大きく変化した。その値は ψ に対して極大値を持ち、O₃H-O₅<O₂HO₆の2種類の分子内水素結合が可能なコンホメーション($\phi = -10^\circ$)のときに最も低磁場を示した。またその時の構造のエネルギーの値は比較的小さく、水素結合の相互作用によって安定化されていることが予測された。 ϕ , ψ 一定条件下でも分子内水素結合に関与する水酸基コンホメーションを変化させるとC₄炭素のケミカルシフトは大きく変化し、水素結合できるコンホメーションができないコンホメーションに比べて最大3.44ppm 程度低磁場にシフトした。

参考文献

- 1) F. Horii, A. Hirai and R. Kitamaru, 「The Structure of Cellulose」Chapter 6, p. 119 (1987)
- 2) K. Kamide, K. Okajima and K. Kowsaka, Polym. J., 24, 71, (1992)
- 3) K. Kamide, K. Okajima, K. Kowsaka and T. Matsui; Polym. J., 17, 707 (1985)
- 4) A. Isogai, A. Ishizu, J. Nakano and R. H. Atalla, 「The Structure of Cellulose」Chapter 17, p. 292 (1987)
- 5) I. Ando, H. Saito, R. Tabeta, A. Shoji, T. Ozaki, Macromolecules, 17, 457 (1984)
- 6) F. J. Kolpak and J. Blackwell; Macromolecules, 9, 273, (1976)
- 7) Discover and Turbomole program package commercially available from BYOSYM, San Diego, CA

Figure 4. Torsion angle ψ dependence of ¹³C-NMR chemical shifts of the C₄ carbon of the cellobiose corresponding to the conformation shown in Figure 3a (●) and 3b (○)

- 8) Unichem program package. Cray Research, Eagam, MN.
- 9) R. Ditchfield; Mol. Phys. , 27. No4, 789 (1974)
- 10) C. Bruce; 'Carbon-13 Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy of Food-Related Disaccharides and Trisaccharides. Chapter 8. p. 351.
- 11) I. Ando; 「Koubunkainou NMR」, P246
- 12) A. D. Baom, D. R. Eaton, R. A. Hux and J. P. K. Tong; Carbohydrate Res. , 84 (1980)
- 13) K. Kamide, K. Okajima, T. Matsui, and K. Kowsaka; Polym. J. , 16, 857 (1984)
- 14) M. Hattori, Y. Shimaya, T. Koga and M. Saito; submitted to Polym. J. ,

論文集特集「被服心理学」への投稿ご案内

繊維機械学会誌では、被服の社会学、心理学、社会心理学的な研究、被服の商品企画などに関する研究論文を「被服心理学」特集号として、昨年に引き続き刊行する予定です。

この特集号では、基礎的研究のみならず応用まで含めた幅広い内容を考えていますので、奮ってご投稿下さい。

掲載予定月 1997年10月号

投稿締切日 1997年3月31日

投稿に関しては、繊維機械学会論文集投稿規定、執筆要綱に従って下さい。投稿論文には「被服心理学特集号」希望と記載して下さい。

なお、投稿論文の採否、特集号の編集に関しては、論文集編集委員会にご一任下さい。

論文集編集委員会