磁場勾配パルス法を中心とした NMR 測定法の進歩

鵜澤 洵*・越野 広雪**

Progress of NMR Techniques Using Pulsed Field Gradient

Jun UZAWA* and Hiroyuki KOSHINO**

In the 50 years history of the high resolution NMR, FT-NMR, 2D-NMR and Pulsed Field Gradient (PFG) techniques are the most successful in the chemistry and biochemistry. In this review, the topics of the NMR techniques using PFG, including principle of PFG, pulse sequences, selection of coherence-transfer pathway and the application in chemistry with some 2D NMR spectra are presented. Several inverse techniques especially HMBC (Heteronuclear Multiple-Bond Correlation) spectroscopy are drastically improved by PFG. Spectral data of ^1H - ^{13}C PFG-HMBC, ^1H - ^{15}N PFG-HMBC, and ^1H - ^{29}Si PFG-HMBC are shown and merits of those techniques are discussed. New pulse techniques, PFG-INADEQUATE, 1D and 2D selective experiments such as GOESY and 2D-selective PFG-TOCSY-HMQC-COSY are also introduced. These new PFG NMR techniques to analyze structures or mechanism of reactions may be powerful and useful methods for synthetic organic chemists.

Key words: Pulsed field gradient, PFG-HMBC, ^1H - ^{15}N PFG-HMBC, ^1H - ^{29}Si PFG-HMBC, PFG-INADEQUATE, GOESY, PFG-1D-TOCSY, 2D-selective PFG TOCSY-HMQC-COSY, Coherence pathway.

1. はじめに

有機合成における研究支援技術としての核磁気共鳴 (Nuclear Magnetic Resonance, 以下 NMR と略す) について述べる。NMR は既に有機化学のあらゆる分野で駆使されており、多くの書物や論文、総説があるので、本文では最近注目を浴びている磁場勾配パルス (Pulsed Field Gradient, 以下 PFG と略す) 法¹⁾を中心に述べることにする。

NMR という物理現象が発見されたのは 1945 年であり、その論文の発行は 1946 年である²⁾。昨年 (1995 年) は NMR に関連する内外の学会、36th Experimental Nuclear Magnetic Resonance Conference (ENC), Boston, USA, 12th International Society of Magnetic Resonance (ISMAR), Sydney, Australia, 第 34 回 NMR 討論会 (筑波) でも記念の行事が行われた。NMR の発見から 4 年後にはエタノールの信号が 3 本に分かれたことから化学シフトの発見になり有機化学への応用が示唆された³⁾。そ

の直後から今日まで飛躍的な発展を遂げ、今では有機化学者にとって NMR はなくてはならない道具の 1 つになっている。このような発展を支えたのは有機化学者の精力的な研究とたゆまぬ好奇心 (有機化学者には本来苦手な物理的な考えや装置への関心) があったのは言うまでもないが、第 2 の産業革命と言われるほどの電子技術とコンピュータ技術の発展を見逃すことはできない。

NMR の歴史の 50 年間に真空管を使った装置から半導体を使った装置に生まれ変わった。一言で真空管、半導体と言ってもそれぞれ桁違いの発展があった。NMR の装置技術者はその時代の最も先端に行く素子を使って装置の各部分に取り入れて装置の改良を図った。また、今日では切っても切り離せないコンピュータも、最初は単に信号を積算するためだけであった。その機能は現在のパソコンの足元にも及ばなかった。貧弱と言ってもよい装置で NMR の基本的な理論や経験則を作り上げた研究者と、新しい技術をきちんと整理して NMR 装置の中に取り入れてきた技術者に敬意を払いたい。歴史を振り返れば、装置を使う研究者は開発技術者に全面的に協力をし、技術者は研究者の研究動向を見据え、研究者の要求に耳を傾けその時代の最先端の技術を取り入れて今日までできている。今後の発展を願うとき、このような相互関係を

* 理化学研究所 ()

* RIKEN; The Institute of Physical and Chemical Research ()

大事にしてもらいたいものである。

2. 磁場勾配パルス法による NMR 測定法

2.1. 磁場勾配パルス法の特徴

静磁場に磁場勾配を掛けて測定する方法は分子拡散を測る方法として古くから知られており、今日でも広く使われている⁴⁾。磁場勾配パルスを二次元 NMR に利用することは 1980 年代初期から提唱されていた^{5,6)}。Bax らは P タイプまたは N タイプを選択する方法として読み取りパルスとレシーバの位相を変化させる方法の他に磁場勾配パルスを使う方法を紹介している。しかし、試料に磁場勾配パルスを与えた時に PFG コイル自身に残る残留電流の消去と外部のプロープケースや超伝導磁石のケースに渦電流を発生させ、この渦電流が次の観測パルスと観測時間の間まで残ってしまい、大きなノイズが発生して弱い NMR の信号検出がうまくできなかった。このような装置的な問題から発展しなかった。しかし、MRI (Magnetic Resonance Imaging) の分野で渦電流を発生させないアクティブシールドの技術が発展し、その成果が 1990 年に高分解能 NMR の世界に取り入れられた。1991 年の ENC は後に「グラジエントラッシュ」と呼ばれたほど各 NMR メーカーは競って PFG の付属装置と応用例を紹介した。高分解能 NMR の世界で注目されたのは 1 スキャンで二次元 NMR が可能ということ、軽水など溶媒の強い信号もきれいに消せること、HMQC⁷⁾ や HMBC⁸⁾ といったいわゆるインバース測定がきれいにとれるという 3 つの特徴であろう。とりわけ、1 スキャンでも COSY が測れるということと、水消しがきれいにできるという特徴に注目が集まった。また、ホモゲート等による水信号を飽和させて消す方法は水と化学交換するアミノ基や水酸基等の信号も消してしまうのでこれらとの相関ピークは観測できなかった。しかし、PFG 法ではこのような水消しはしないので相関ピークを観測することができるという利点も強調された。筆者らは天然物の構造決定を主な研究対象としており、それまで使っていた LSPD⁹⁾、ロングレンジ J 分解¹⁰⁾、COLOC¹¹⁾ などに変えて HMBC を日常的に使っていた経験から、HMBC や HMQC が本質的に改善されることに注目した。短時間で ¹H-¹H COSY がとれるという特徴も合成の分野では有効に使われるが、HMBC につきものの t1 ノイズや様々なノイズをなくすることができれば大きな飛躍であると当時期待した。

2.2. 位相回し法と PFG 法の比較

位相回し法に比べて PFG 法が優れている点を解りやすくするために極端な例を挙げて説明する。通常、我々

は NMR をとる場合に試料を重水素化された溶媒に溶かし、その重水素の共鳴シグナルで磁場をロックする。いま、このロックを外してクロロホルムを使って位相回し法と PFG 法を比較する。図 1 a) はクロロホルムの ¹H スペクトルを拡大し、¹³C サテライトを示している。強度は真ん中にある ¹²C に結合した ¹H 信号の 1/200 である。

Fig. 1 Comparison between phase cycling and PFG in 1 D-HMQC

a) 1 D ¹H-NMR spectrum of CHCl₃. b) 1 D HMQC spectrum with phase cycling. c) PFG 1 D-HMQC spectrum. Sample : 30% CHCl₃ in acetone-d₆. Number of scan was 16 in each experiment.

位相回し法では真ん中にする ¹²C に結合した ¹H 信号の位相を交互に反転させて ¹³C と結合した ¹H 信号のみを積算するが、図 1 b) のようにどうしても消え残りがでる。これに対して PFG では図 1 c) のようにほぼ完全に消えている。消え方を比較すれば、両者の差は歴然としていることがわかるだろう。実際はロックを掛けて測定するが、様々な変動による信号の消え残りはいわゆる t1 ノイズとしてスペクトルに現れていた。

位相回し法は元来差スペクトルであり、P タイプと N タイプのように差をとる相手の強度が同じ程度ならばそれほど問題にならない。これに対して HMQC や HMBC ではもともと小さな欲しい信号とその 200 倍以上大きな不要信号を同時に検出し、プリアンプから中間周波増幅器を経て PSD (Phase Sensitive Detector) で検波しコンピュータに入ってから差をとっているのだから、消え残りがある程度残るのが当然であった。その点、PFG 法は信号検出の段階で既に不要信号を消しているの、このようなノイズから本質的に解放された。

2.3. 磁場勾配パルスを用いたコヒーレンス径路の選択

高分解能 NMR に用いる磁場は均一度を高く保っている。今、Z 軸から 90 度パルスをかけて磁化を XY 平面上に倒しこれに 1 つの磁場勾配パルスを掛けると磁化ベクトルは磁場勾配パルスの時間と共に受けた勾配磁場に比例して位相が分散していく。この現象を dephase と呼んでいる。もし、このあと一定時間後に逆方向の磁場勾配パルスをかけて観測すると磁化は元の軸上に再び戻り、位相がそろった状態になる。これを rephase するという。この dephase と rephase の繰り返しの間に分子が拡散していくと信号は減衰してしまう。逆に最初の PFG と次の PFG の時間を変化させてその信号強度の変化を記録すれば分子の拡散係数を求めることができる。これが一般的な PFG による分子拡散を求める方法である。もし分子の拡散がいくつかのパルスを繰り返す時間に比べてゆっくりとしていれば、信号強度はほとんど変わらない。

PFG を使った二次元 NMR の原理を説明する方法は様々あるが¹²⁾、コヒーレンス移動径路 (coherence-transfer pathway) による説明がわかりやすく最も適していると思う^{13,14)}。今後の NMR の理解のために関連論文を読んでおくことを勧める。ここでは、高周波パルスによって遷移する量子数をコヒーレンスの次数で表す方法を使う¹³⁾。コヒーレンスを理解するために重要なことは異なる次数のコヒーレンスは高周波パルスによる搬送波や化学シフト展開に対して異なる回転速度を持つということであり、コヒーレンス選択を考える場合の本質的な性質である¹⁵⁾。例えば、2 量子コヒーレンスは 2 倍の回転速度、3 量子コヒーレンスは 3 倍の回転速度を持っていると考えればよい。コヒーレンス移動径路による方法の基本は、まず最初は Z 軸に磁化があるときにコヒーレンスは 0 次でありここから出発する。90° パルスでプラス 1 量子コヒーレンスとマイナス 1 量子遷移に別れる。次の 90° パルスでは多くのコヒーレンスに別れるのでこれを選択するのにパルスの位相を変えて選ぶか PFG により選ぶ。最後の検出は必ずマイナス 1 に持ってきて検出している。位相回しによる場合はパルスの位相を前のパルスより早くしたり遅くすることにより、特定のコヒーレンスを選択している。PFG によって特定のコヒーレンスを選択する場合は PFG の符号および強度と時間を変えて行う。PFG 強度を G (ガウス/cm)、パルス幅を τ (msec)、磁気回転比 γ とするとこれをコヒーレンスの次数 P の成分に加えたときの dephase の大きさは $P\gamma G\tau$ となる。そして次式を満たせば rephase が起こり、その成分が観測できる。

$$\sum_{k=1}^n P_k \gamma G_k \tau_k = 0 \quad (1)$$

式 (1) はコヒーレンスの次数 P の符号と G の符号に注意して加減算を行えば良いので、どのコヒーレンスを選ぶか決めてやれば容易に使える。

ここで式 (1) を使い、いくつかの基本的な二次元 NMR 法の磁場勾配パルスを用いたパルス系列とコヒーレンス径路図を図 2 に示し、磁場勾配パルスの比率と選択されるコヒーレンス径路について説明する。なお複雑になるのですべて絶対値表示の測定について説明する。まず、図 2-1 a) の 2 つのパルスからなる COSY について説明する^{11,16)}。展開時間 t_1 の間に磁場勾配パルス G1 を加えて dephase させ、G2 で rephase させる訳だが、 $G1 : G2 = 1 : 1$ の比率のとき $G1 \times (+1) + G2 \times (-1) = 0$ となり図 2-1 b) の実線で示した径路 (N タイプ) のみ rephase される。一方、 $G1 : G2 = 1 : -1$ のときには点線の径路 (P タイプ) が $G1 \times (-1) + G2 \times (-1) = 0$ となり観測される。N タイプと P タイプはそれぞれスペクトル上では F1 軸側の高磁場と低磁場が逆転した関係にあり、磁化ベクトルの回転する方向が逆である。次に、図 2-2 a) の 3 つのパルスからなる NOESY について説明する¹⁷⁾。NOESY では COSY と同様に $G1 : G3 = 1 : 1$ で N タイプを、 $G1 : G3 = 1 : -1$ で P タイプを選択できる。NOESY の場合、2 目目の RF パルスによって横磁化が縦磁化に戻され、混合時間 τ の間、コヒーレンス次数が $p = 0$ の径路を選択する必要がある。そのため適当な強度の磁場勾配パルス G2 を混合時間に加え、その他の径路を通るコヒーレンスを dephase させてしまう。実際には $G1 : G2 : G3 = 1 : 5 : 1$ などの比率で、 $G1 \times (+1) + G2 \times (0) + G3 \times (-1) = 0$ となり、N タイプのスペクトルが得られる。

次に図 2-3 a) の DQF (double quantum filtered) -COSY について説明する¹⁸⁾。DQF-COSY のパルス系列は NOESY と同様に 3 個のパルスからなるが、短い混合時間の間に 2 量子コヒーレンスの径路を通るものを選択する必要がある。N タイプと P タイプにはそれぞれ図 2-3 b) のように、 $p = 2$ と $p = -2$ を通る 2 つの径路が可能で、 $G1 : G2 : G3 = 2 : 1 : 4$ で $G1 \times (+1) + G2 \times (+2) + G3 \times (-1) = 0$ となり、N タイプの $p = +2$ を通る実線の径路を選択できる。また、 $G1 : G2 : G3 = 2 : -1 : 4$ で N タイプの $p = -2$ を通る実線の径路を選択できる。P タイプを選択したい場合 $G1 : G2 : G3 = -2 : 1 : 4$ で $G1 \times (-1) + G2 \times (+2) + G3 \times (-1) = 0$ となり $p = +2$ を通る点線の径路を選択することができる。また図 2-3 c) のように、 $G1 : G2 : G3 = 1 : 1 : 3$ でも $G1 \times (+$

Fig. 2 Pulse sequence and coherence-transfer pathway of 2D PFG-NMR spectroscopy.

1 a) Pulse sequence of PFG-COSY. 1 b) Coherence-transfer pathway of PFG-COSY. 2 a) Pulse sequence of PFG-NOESY. τ is mixing time. 2 b) Coherence-transfer pathway of PFG-NOESY. 3 a) Pulse sequence of PFG-DQFCOSY. 3 b) Coherence-transfer pathway of PFG-DQFCOSY. 3 c) Coherence-transfer pathway in using PFG ratio $G1 : G2 : G3 = 1 : 1 : 3$. 4 a) Pulse sequence of PFG-INADEQUATE. δ is $1/4 J$. Read pulse α is 120° and 60° pulse for N-type and P-type, respectively. 5 a) Pulse sequence of PFG-HMBC. $X = {}^{13}\text{C}$, ${}^{15}\text{N}$, ${}^{29}\text{Si}$, ${}^{31}\text{P}$ etc. $\delta 1$ is $1/2 J$. $\delta 2$ is $1/2^n J$. First 90° pulse of X is using for low-pass J filter. Narrow bar and wide bar indicate 90° and 180° pulse, respectively.

$1) + G2 \times (+2) + G3 \times (-1) = 0$ となり N タイプの $p = +2$ を通る実線の径路を選択できるが¹⁸⁾、このとき $p = +4$ を通る点線の径路、すなわち P タイプの 4 量子フィルターの QQF (quadruple quantum filtered)-COSY 由来の信号も $G1 \times (-1) + G2 \times (+4) + G3 \times (-1) = 0$ となり同時に選択されてしまう。また、 $G1 : G2 : G3 = 1 : 2 : 5$ で N タイプの DQF-COSY と P タイプの TQF-COSY のスペクトルを得ることができる。実際のスペクトルはエチルアクリレートを図 3 に示しておく。

次に DQF-COSY に似ている 図 2-4 a) の INADEQU-

ATE について説明する^{16,19)}。INADEQUATE の場合、準備期間の待ち時間 δ は $1/4 J$ に設定され、 $90^\circ - 180^\circ - 90^\circ$ のパルス系列で 2 量子へ励起する^{4,20)}。N タイプのスペクトルを得る場合は、 $G1 : G2 = 1 : 2$ とすれば $G1 \times (+2) + G2 \times (-1) = 0$ になり、展開時間 $t1$ の間コヒーレンス次数 $p = +2$ を通る図 2-4 b) の実線の径路を選択できる。一方、 $G1 : G2 = 1 : -2$ にすれば $G1 \times (-2) + G2 \times (-1) = 0$ になり P タイプのスペクトルが得られる。なお、最後の読み取りパルス (α) は 90° パルスよりも最適な感度に合わせて N タイプの場合には 120° パル

Fig. 3 PFG-DQFCOSY spectra with different PFG ratio. a) Mixed spectrum of N-type DQFCOSY and P-type QQFCOSY obtained by using the ratio of $G1:G2:G3=1:1:3$. b) Mixed spectrum of N-type DQFCOSY and P-type TQFCOSY obtained by using the ratio of $G1:G2:G3=1:2:5$. c) Only N-type DQFCOSY spectrum obtained by using the ratio of $G1:G2:G3=2:1:4$. Sample was ethyl acrylate, $\text{CH}_2=\text{CH}-\text{COOEt}$. Threshold level were adjusted for cross peaks of DQFCOSY spectra.

ス、Pタイプの場合には 60° を用いる²¹⁾。

異種核相関の例²²⁾として図2-5 a)のHMBCについて説明する²³⁾。 $^1\text{H}-^{13}\text{C}$ HMBCの場合 ^1H と ^{13}C の磁気回転比の比率は4:1なので、 $|G1 \times (+1) + G2 \times (-1) + G3 \times (-1)| \times 4 + (G1 + G2) \times (+1) = 0$ になる比率の磁場勾配パルスを用いれば図2-5 b)実線のNタイプを選択でき、 $|G1 \times (+1) + G2 \times (-1) + G3 \times (-1)| \times 4 + (G1 + G2) \times (-1) = 0$ になる比率の磁場勾配パルスを用いれば点線のPタイプを選択できる。Nタイプを選択する場合には $G1:G2:G3=2:2:1$ や $4:0:5$ などの比率でよく、Pタイプを選択する場合には $G1:G2:G3=2:2:-1$ や $4:0:3$ などの比率を用いる²⁴⁾。 $^1\text{H}-^{15}\text{N}$ HMBCの場合には磁気回転比の比率が絶対値で9.88:1になり、 $|G1 \times (+1) + G2 \times (-1) + G3 \times (-1)| \times 9.88 + (G1 + G2) \times (+1) = 0$ の式を満足すればNタイプのスペクトルが得られ、 $G1:G2:G3=4.94:4.94:1$ などの比率を用いる²⁵⁾。 $^1\text{H}-^{29}\text{Si}$ HMBCの場合には磁気回転比の比率が絶対値で5.04:1になり、 $|G1 \times (+1) + G2 \times (-1) + G3 \times (-1)| \times 5.04 + (G1 + G2) \times (+1) = 0$ の式を満足すればNタイプのスペクトルが得られ、 $G1:G2:G3=2.52:2.52:1$ でよい。

最後に、 $^1\text{H}-^{13}\text{C}$ HMBCで ^{13}C とスピン結合の相関のない、 ^{12}C と結合しているプロトンの通るコヒーレンス径路について考えてみる。通常用いる $G1:G2:G3=2:2:1$ の比率の磁場勾配パルスを用いると $G1 \times (+1) + G2 \times (-1) + G3 \times (-1) \neq 0$ となり、 ^{12}C としか結合していないプロトン由来の信号はrephaseしないので観

測されない。すなわち、磁場勾配パルスを用いてコヒーレンス径路を選択すると、基本的には1つの径路しか選択されず、他のコヒーレンス径路を通ってくる不要信号は全く観測されないことになる。したがって、t1ノイズなどのノイズの少ないきれいなスペクトルが得られ、結果としてデータの信頼性も向上することになる。

2.4. $^1\text{H}-^{13}\text{C}$ PFG-HMQC と PFG-HMBC

微量試料の構造決定を行おうとするものにとって感度の良いHMQCとHMBCは極めて有用な測定法である⁸⁾。しかし、ノイズのないきれいなスペクトルを得ることは机上で考えるほどやさしいことではない。例えば、単一線のメチル基の不要信号と4本に分裂したメチン(dd)の ^{13}C サテライト信号では2400:1の強度差がある。現実には、t1ノイズと呼ばれる強い信号に伴ってF1軸に平行にでるノイズは位相回しによるHMBCスペクトルに付きもののパターンであるが、慣れない研究者にはスペクトル全体の信頼性さえ失わせていた。従来の位相回しで消す方法に比べPFGは先に示したように圧倒的に優れている。非常に消えにくいノイズをPFGで消すことができ、しかも短時間で測定が可能になると、今まで困難であった高分子中の微細構造の解析²⁶⁾や不安定な反応中間体等の構造決定が可能になることである。

室温では非常に不安定なためにNMR測定が不可能な化合物や、反応中間体などにNMRの低温測定は有効であり、多くの報告がなされている^{27,28)}。

PFGを用いることにより、短時間で2次元NMRの測定を行えるので、不安定で低温測定する必要のある化

Fig. 4 Structure and ^1H - ^{13}C PFG-HMBC spectrum of 3,3-dibromoguaiazulenium bromide (2).
a) Structures of guaiazulene (1) and 3,3-dibromoguaiazulenium bromide (2). b) ^1H - ^{13}C PFG-HMBC spectrum of 3,3-dibromoguaiazulenium bromide (2) at -35°C . Total acquisition time was 28 min. G1, G2 and G3 were 28.0, 28.0 and 14.0 G/cm with 1.0 msec duration.

物も帰属を正確に行い確実な構造解析を行うことが可能になった。グアイアズレン(1)を臭素で処理して生成するブロム化物 3,3-ジブロモグアイアズレニウム ブロマイド (2) を -35°C で PFG-HMQC と PFG-HMBC (図 4) を測定し、すべての信号を帰属したうえで構造を確認した²⁹⁾。測定時間はそれぞれ 16 分と 28 分であり、また試料の調製にも細心の注意を払う必要があった。

図 4 b) に示すように、イソプロピル基の付け根の 7 位の炭素のシグナルが 180.2 ppm に帰属でき、他のアロマチック炭素が 140 から 163 ppm に観測されたことはカルボカチオンが 7 位に局在化する傾向にあることを示唆する。この興味深い結果は、HMBC データを短時間で得ることによってはじめて可能であった³⁰⁾。

2.5. PFG-HMBC による ^{15}N の観測

窒素核は有機化学的、生化学的に重要な核種であるが、NMR 的には扱いにくい元素である。窒素中で多くを占める ^{14}N は核四極子モーメントがあって、通常の化合物中では広幅化して観測できない。スピン 1/2 の ^{15}N は天

Fig. 5 ^1H - ^{15}N PFG-HMBC spectrum of cycloisopropylidenetubercidin (3).
Total acquisition time was 17 hr. $\delta 2 = 90$ msec. 34 mg/0.5 ml in $\text{DMSO}-d_6$. G1, G2 and G3 were 35.6, 35.6 and 7.2 G/cm with 1.2 msec duration.

然存在比率が 0.367% であり ^{13}C の 1/3 しかなく、相対感度も ^{13}C の 1/10 である。その上緩和時間が長いので、利用範囲は限られていた。タンパク質の分野では 80 年代以降遺伝子工学的に ^{15}N をラベルした化合物を使って様々な研究が行われてきた。しかし天然物の場合、ラベルできる化合物は限られており、多量の試料が使える場合に INEPT 等で測定したデータにより研究されていたにすぎない³¹⁾。我々は PFG により HMBC の t1 ノイズやアーティファクトなどのノイズが無くなる特長を ^{15}N 検出に利用できれば、 ^1H の直接結合していない窒素核の情報も得ることができると考え、実験したところ良好な結果を得て、93 年度の NMR 討論会³²⁾ や 94 年度の ENC³³⁾ で発表してきた³⁴⁾。

図 5 にシクロイソプロピリデンツベルシジン (3)³¹⁾ の PFG-HMBC の測定結果を示す。 ^1H - ^{15}N のスピン結合定数の絶対値は芳香環の場合は 2 ボンドが大きいので、この相関ピークは強く出ているが、8 位の ^1H から 3 位の N に、2 位の ^1H から 9 位の N に 4 ボンドの相関も見られる。6 位の NH_2 の ^1H はきれいに分裂しており、片方の ^1H からだけ 1 位の N に相関がある。この ^1H と 7 位の ^1H の間には NOE がある。ちなみに、3 位の N は 129 ppm まで高磁場シフトしている。これらの結果から、 NH_2 と 6 位の炭素の間は 2 重結合性を帯びていることが示唆される。

位相回し法の場合は相関ピークも大きなものに限られ、メチル基など関係のないシグナルからの t1 ノイズ

が強くでて、一次元スペクトルがなければクロスピークとノイズの違いがはっきりわからなかった。PFG の場合は逆にプロジェクションしたデータからでも通常測定困難な一次元スペクトルを作ることができる。

測定に必要な試料の量は ^1H 検出の感度に依存し、プローブの感度向上に伴って少ない量でも可能になってきている。

なお ^1H - ^{15}N PFG-HMBC の詳細に関しては別の総説を参考にいただきたい³⁵⁾。

2.6. その他の核の NMR とインバース法

^1H , ^{13}C , ^{15}N 以外にも ^{19}F , ^{29}Si , ^{31}P NMR などは比較的多くの応用例がある。NMR で観測できる核種はまだまだある。しかし、多核には天然存在比が低い場合や、核四極子モーメントが存在し線幅の広い信号しか与えない場合が少なくない。Olah らは³⁶⁾、シリルトリフレートと BX_3 ($\text{X}=\text{Cl}$, Br) のコンプレックスの状態を ^{29}Si および ^{11}B NMR によって研究している。様々な有機金属リチウム化合物は種々の二次元 NMR 法によって解析されている³⁷⁾, ^6Li - ^1H HOESY³⁸⁾ (Heteronuclear Overhauser Effect Spectroscopy)³⁹⁾ や ^6Li - ^{15}N HMQC 法⁴⁰⁾ などが有効に利用されている⁴¹⁾。

^{29}Si は $I=1/2$ で天然存在比が 4.67% で相対感度も比較的良好、緩和時間が 5 ないし 150 秒と長いという難しさもあるが、多くのシリコン化合物の ^{29}Si NMR が測定され、構造解析に利用されている⁴²⁾。HMBC 法は当然 ^{29}Si NMR にも応用でき、高感度で有効な手法である⁴³⁾。多くのシリル基が有機合成において保護基として使われている⁴⁴⁾、シリル系の保護基には転位しやすいという特徴がある。一般的には転位が起こったことは、種々の化学反応等により確認されるが、 ^1H - ^{29}Si HMBC を測定すれば、 ^1H NMR の帰属をもとに明確にシリル基の位置を決定できる。一例として、*t*-ブチルジメチルシリル (TBDMS) 基をもつ化合物 (4) の ^1H - ^{29}Si PFG-HMBC スペクトルを図 6 に示す。このスペクトルではすべての 2 ボンド、3 ボンドの相関だけでなく、4 ボンドの相関もメチンプロトンから観測された。

^{31}P は $I=1/2$ で天然存在比が 100% であり、 ^{31}P NMR は感度がよく ^{31}P 核側で観測する種々の二次元 NMR 法も多く、 ^{31}P NMR の応用は広い分野で数多く報告されている⁴⁵⁾。例えば Wittig 反応に関して ^{31}P NMR を用いた研究が報告されている^{46,47)}。対象とする化合物や使用可能なプローブの種類によってはインバース法で ^{31}P を ^1H で観測することは有効である。我々は、 ^1H - ^{31}P PFG-HMBC 法を有機金属化合物 ($\eta^5\text{-C}_5\text{H}_5$) Ni ($\mu\text{-PMe}_2$) ($\mu\text{-CO}$) W (Me) (PMe_3) ($\eta^5\text{-C}_5\text{H}_5$) の構造解析に有効に用いた⁴⁸⁾。

Fig. 6. ^1H - ^{29}Si PFG-HMBC spectrum of 4-Acetoxy-3-[1- (tert-butyltrimethylsiloxy) ethyl]-2-azetidine (4).

Total acquisition time was 2 hr 17 min. $\delta 2=120$ msec. 20 mg/0.5 ml in CDCl_3 . G 1, G 2 and G 3 were 37.8, 37.8 and 15.0 G/cm with 1.0 msec duration.

HMBC 法的应用には他に、 ^1H - ^{77}Se HMBC⁴⁹⁾, ^1H - ^{119}Sn HMBC⁵⁰⁾ 法なども報告されている。そのほか HMQC 法などの応用では以下の核種、 ^{13}C - ^{15}N ⁵¹⁾, ^{31}P - ^{57}Fe ⁵²⁾, ^1H - ^{57}Fe ⁵³⁾, ^{31}P - ^{13}C ⁵⁴⁾, ^{31}P - ^{109}Ag ⁵⁵⁾, ^6Li - ^{13}C ⁵⁶⁾, ^6Li - ^{15}N ⁵⁷⁾, ^{19}F - ^{183}W ⁵⁸⁾, ^1H - ^{183}W ⁵⁹⁾, ^{31}P - ^{183}W ⁶⁰⁾ などにおいて測定法が報告されており、これらに PFG を応用することは可能であり、有効であると思われる。なお、先に示してある核種が観測している核種である。

2.7. PFG-INADEQUATE

INADEQUATE 法は有機化合物の骨格である炭素-炭素の結合を直接に観測できるため有益な測定法として知られている^{4,20,21,61)}。しかし、その一方で NMR 観測に関わる ^{13}C 核の天然存在比は 1.1% であり、直接 ^{13}C - ^{13}C が結合する確率は約 1/8000 しかなく、感度的に困難がある。また、 t_1 ノイズや装置の不安定性、設置室の振動や室温の変動などに起因するノイズを消すことが難しく、一般的な試料での測定条件の設定が難しかった。筆者自身も満足できるスペクトルを得た経験がなかった。筆者らは INADEQUATE の場合も PFG を使うことにより飛躍的にスペクトルの質が向上できると考えて実験を行った¹⁹⁾。パルス系列は通常のものに 2 量子コヒーレンスを選択するための PFG を加えた (図 2-5)。メントール (5) の PFG-INADEQUATE による測定結果を図 7 に示す。

位相回し法で N タイプを検出する場合は読み取りパ

Fig. 7 PFG-INADEQUATE spectrum of menthol (5). Total acquisition time is 45 min. 95 mg/0.14 ml in CDCl_3 . Shigemi symmetrical microcell was used. G 1 and G 2 were 4.3 and 8.6 G/cm with 0.8 msec duration.

ルスに 135° パルスを使うが、感度を下げた上 1 割弱の P タイプの消え残りがあった。図 7 に示すスペクトルでは 120° パルスを使ったが、t1 ノイズの著しい減少と共に P タイプの消え残りも全くなり、それ以外のノイズもなくなった。なお、内海らは 3 mm 管用のプロープを用い、試料 7 mg でシゲミ社製の対象型試料管 3 mm を用いて 65 時間 35 分で図 7 に近いスペクトルを得ている⁶²⁾。

スピン結合定数の設定を 2 ボンドまたは 3 ボンドの数値に合わせ、F2 側のデータポイントを 1 次元並みにとれば 2 ボンドまたは 3 ボンド経た炭素-炭素間の相関情報とスピン結合定数が得られる^{19,63)}。

生合成的に ^{13}C がラベルできれば、ラベル率が 10% 程度でも通常の INADEQUATE を使うより早い時間で良質のデータが得られる⁶⁴⁾。

最近では ^1H 観測の INEPT-INADEQUATE 法⁶⁵⁾ や、CCBOND⁶⁶⁾ と名付けられた優れたデータ処理ソフトも報告されている。PFG プロープの感度が向上し装置全体の感度が上がれば INADEQUATE 法もさらに身近かな測定法となり構造決定の手順も変わってくるであろう⁶³⁾。

3. 信号の分離と NMR の次元

3.1. 三次元 NMR の応用

三次元 NMR は基本的には二次元 NMR を二つ組み合

わせたもので、タンパク質の構造解析の分野で必要不可欠になっている⁶⁷⁾。異種核三次元あるいは四次元 NMR がペプチド、タンパク質の分野で発展した理由の 1 つには、 ^{13}C あるいは ^{15}N で安定同位体標識する技術が確立されたことが挙げられる。ここでは、生体高分子以外に三次元 NMR が応用された例を紹介しておく。糖鎖構造はアノメリックプロトンを除いて信号の重なりが多く、NOE-HOHAHA (TOCSY) などの同種核あるいは HMQC-NOESY などの異種核 3D データは帰属に有効であると期待され、オリゴ糖⁶⁸⁾や抗生物質ガラカルジン A⁶⁹⁾ などに応用された。生合成を利用して ^{13}C を同位体濃縮した試料への異種核三次元 NMR の応用には PFG-NOESY-HMQC のマイトキシシンへの応用や⁷⁰⁾、 ^1H -detected ^{13}C SQ-DQ COSY のオリゴ糖への応用⁷¹⁾ などがある。また ^{31}P は天然存在比が 100% であり、3D H, C, P correlation 法が開発され有機リン化合物に応用されている⁷²⁾。そのほか 3D J-COSY⁷³⁾ や 3D J-HMBC 法⁷⁴⁾ も最近報告された。現在では PFG をこれらの多次元 NMR へ組み込むことが当たり前になり、最小積算回数の減少、不要信号の消去をはじめ様々な目的に PFG は利用されている⁷⁵⁾。天然存在比のままで三次元 NMR を構造解析に応用するにはかなりの制限があるが⁷⁶⁾、合成あるいは生合成的に安定同位体で標識が可能になれば三次元 NMR は有効な手法であり、今後の技術的發展に期待したい。

3.2. PFG を用いた選択的二次元 NMR

NOE 差スペクトル、1D-TOCSY などには DANTE パルスなどを用いて選択的に特定の信号を飽和させたり選択的 180° パルスを on/off させて差をとる方法や、選択的 90° パルスで励起する方法が用いられてきた⁷⁷⁾。最近、選択的磁場勾配エコーを利用した GOESY (PFG 1D-NOESY)⁷⁸⁾、GROESY (PFG 1D-ROESY)⁷⁹⁾、PFG 1D-TOCSY⁸⁰⁾ が報告され注目されている。これらの測定法では差スペクトルで問題になる消え残り信号が全くないスペクトルを得ることが可能である。図 8 に GOESY と PFG 1D-TOCSY のパルス系列を示す。

GOESY では図 8-1 a) に示すように、初めに非選択的 90° パルスで励起、次に選択的 180° パルスで選択的にエコーをとる。この際、選択的 180° パルスの前後に磁場勾配パルスを加えて dephase させる。二次元 NMR と同様に次に混合時間がくるが、図 8-2 b) の TOCSY の場合には MLEV 16 など spin-lock しておく。最後に磁場勾配パルスと同じ時間だけ待ち時間をおき、 180° パルスの後に磁場勾配パルスを加えて、磁場勾配エコーのコヒーレンス径路のみを rephase させる。選択されていない信号は rephase しないので観測されず、その結果消え残

Fig. 8 Pulse sequence and coherence-transfer pathway of GOESY and PFG-1D-TOCSY. 1 a) Pulse sequence of GOESY. 1 b) Coherence-transfer pathway of GOESY. 2 a) Pulse sequence of PFG-1D-TOCSY. 2 b) Coherence-transfer pathway of PFG-1D-TOCSY.

り信号も観測されない。弱い NOE も観測でき、二次元 NMR 法よりも目的の相関を短時間で得られるなどのメリットがある。また同様の測定法の開発も盛んであり、今後ますます応用されると予想される⁸¹⁾。さらに Freeman らを中心に選択的ソフトパルスの開発も精力的に行われていることを記しておきたい⁸²⁾。

3.3. 選択的二次元 NMR

先に述べたように三次元 NMR は測定時間やデジタル分解能などの制約があり、天然存在比の試料の場合、応用は限られていた。そこで、選択的パルスをリレー相関二次元 NMR に組み込み三次元データの 1 つのスライスに相当する二次元 NMR を測定する試みが幾つかなされてきた。1D HOHAHA⁸³⁾ を二次元に適用した、選択的 2D HOHAHA-COSY^{84,85)}、2D HOHAHA-J 分解⁸⁵⁾、2D HOHAHA-NOESY⁸⁶⁾、2D TOCSY-ROESY⁸⁷⁾ などが報告されていた。我々は、PFG HMQC、HMQC-COSY および HMBC に 1D HOHAHA (TOCSY) を組み込んだ選択的二次元 NMR のパルス系列を作成した⁸⁸⁾。図 9 にスクロースの (6) の 2D selective PFG TOCSY-HMQC-COSY のスペクトルを示す。

フルクトースのユニットの 3 位を選択し、そこから TOCSY で磁化移動する 3 位から 6 位までの部分に関し

Fig. 9 2D selective PFG-TOCSY-HMQC-COSY spectrum of sucrose (6). H-3 was selected by Gaussian 180° pulse. Total acquisition time was 7hr. Mixing time of TOCSY was 40 msec.

てのみ HMQC-COSY の相関が得られている。COSY による相関をつなげることにより 3 位から 6 位までの連鎖帰属が容易に行える。また PFG 1D-TOCSY⁸⁰⁾ を各種二次元 NMR 法に組み込むことにより、より t1 ノイズが少なく良質な選択的二次元 TOCSY-COSY、TOCSY-ROESY、TOCSY-HMQC、TOCSY-HMBC 法を可能にすることができた^{89,90)}。

4. その他、最近の NMR 技術

NMR は他の分析機器に比べ感度が悪い。装置に求められるものは、やはり感度など基本性能を向上させることが第 1 番目にあり、例えば ¹³C の一次元スペクトルが感度良く測定できることは、たとえ HMQC や HMBC が簡単にできるようになっても大切なことと思う。もし感度が 1 桁上がれば応用範囲は大きく広がる。そのために世界の研究者と技術者が努力している。

第 1 に高磁場化であるが、市販されている最高の磁場の装置は 750 MHz (¹H) である⁹¹⁾。合金系の線材を使う超

伝導磁石の開発は限界に近づいている。1つの限界は900 MHzと言われている⁹²⁾。これを越えるには常温超伝導材料による線材の開発を待たなければならない⁹³⁾。この線材を液体ヘリウム温度で使うことにより1 GHz以上が可能となる。これは21世紀初頭の課題として期待するが、半導体技術は人間のあらゆる分野に関わる「便利な道具」の開発・改良に関連していたので進歩も改良も速かったが、超伝導材料の関連する分野は応用範囲が狭いと言わざるを得ないので半導体技術ほど進歩が速いかどうか疑問がある。

第2に検出方式を中心とした改良であり、常温超伝導体を使った検出コイル、ソレノイド型検出コイルなど最も基本的なコイルの再検討が行われている。また、微量用PFGプローブやRapid injection NMRの市販も始まった。基本的に感度を左右するのは検出プローブであり検出コイルの形状やコイル周辺の電気的な特性によるところが大きい。1995年4月のENCでAndersonらは常温超伝導材料を使った検出コイルによって感度が大幅に向上したとの報告をした⁹⁴⁾。これは現在のところ試料のフィリングファクタを考慮に入れると3倍程度であるが、実用化に向けて工夫の余地は十分にある。

NMR装置が超伝導磁石の時代になってから静磁場との関係からほとんどヘルムホルツ型の検出コイルが使われてきた。電気的には電磁石時代に使われたソレノイドの方がコイルの1つの性能を表すQ値は大きい。最近コイルをソレノイド型にしてMagic angleに傾けて固体高分解能装置と同じように高速回転させるプローブが市販され、高感度プローブを求める天然物の研究者の間で話題を呼んでいる⁹⁵⁾。これは化学シフトの異方性が問題となる一部の高分子化合物の場合にも良い性能を示すことが報告されている⁹⁶⁾。キャピラリセルと超微量用コイルを組み合わせた例も報告されている⁹⁷⁾。

NMR試料が限られる場合には、通常の5 mmプローブよりも3 mmプローブの方が高感度であることが理論的にも実験的にも指摘されてきた⁹⁸⁾。PFG用3 mmプローブの開発に伴いPFGを用いたインパルス測定を駆使して微量で複雑な天然有機化合物であるシガトキシ⁹⁹⁾やブレバトキシ³¹⁰⁰⁾などを解析できるようになった。溶解度が良い化合物ではINADEQUATE法など^{13C}観測に有効であることも報告されている⁶²⁾。

通常の低温測定ができる場合には単離不可能な反応中間体や、反応試薬とのコンプレックスをNMRで観測することは可能であるが¹⁰¹⁾、反応開始後数秒しか存在しない反応中間体をNMRで捕えることは通常は困難である。NMRを用いた反応機構の解明のために、McGarrrity

らはマイクロシリンジで試薬をNMR試料管に添加し、数十ミリ秒目からFIDを取り込める装置“rapid injection NMR”^{46,102-104)}を開発し、ブチルリチウム会合体の反応性¹⁰²⁾や、オゾン分解反応中間体のオゾニド¹⁰³⁾について研究している。最近、LC (liquid chromatography) NMRも実用化され分析化学などの分野で注目されてきているが¹⁰⁵⁾、LC-NMRも工夫すれば反応機構の解明などにも役立てることができるのではないかと最近筆者は考えている。

5. まとめ

NMRの歴史の中で「もうNMRは終わり」と言われた時期が何回かあった。有機化学への応用に限っても、1960年代半ばが一つの時期であった。この時期はCW (continuous-wave)機の簡易型が普及し多くの経験則が生まれ、数々の名著が出版された。1966年、ErnstとAndersonはFT-NMRの実験に成功し¹⁰⁶⁾、様々なパルステクニックの発展につながった。1970年代は^{13C}NMRの実用化で始まり、超伝導磁石による高磁場化とJeenerの二次元NMRの提起¹⁰⁷⁾と実現化への競争の時代となった。1980年代初期、二次元(三次元も二次元の延長と考える)もそろそろ限界かと思えた頃、多量子NMRとかHOHAHA(TOCSY)の概念の実用化が提起され、そしてインパルス法が生まれた。これらは驚くほど早いスピードで普及した。90年代初期は磁場勾配という一部の人にしか興味のなかった技術が中心に躍り出てきた¹³⁾。これら高分解能溶液NMRの進歩においては、周辺にある固体NMR、MRIなどの技術や考え方が持ち込まれた場合が多いことに気がつく。もちろん逆の動きも当然あるのだが。こうしてみると、視野を広くもってそれぞれの進歩に目を配る必要性を痛感する。本文では触れなかったが、データ処理を行うコンピュータの進歩は目覚ましく正に日進月歩である。これらの最良の果実はNMRの世界にもすぐに入ってくる。ここで紹介したPFGの高分解能溶液NMRへの導入はこの分野に新しい測定法をもたらしてくれた。NMRの進歩は不可能であったことを可能にしてくれる。NMRの発展にはそれを利用する研究者のNMRへの期待と要求が必須である。そのためには多くのNMR利用者がNMRデータのみでなく、NMRそのものに興味を持ち、NMRについて理解することが必要である。本解説が少しでもその手助けになれば幸いである。

(平成8年2月26日受理)

文 献

- 1) 1991 年以降, 新しい磁場勾配パルスの始まった時から, ジェネラルエレクトリックは Gradient Enhancement または Gradient Echo から GE または ge の略語を使っている。ブルッカーでは GR Adient SPectroscopy を略して GRASP を使っている。バリアンと日本電子は Pulsed Field Gradient (PFG と略す) を使っている。そのほかに, Gradient Selected spectroscopy より, gs を測定法に付けられている場合もある。本文では最初の論文にちなみ PFG を使うことにする。
- 2) E.M. Purcell, H.C. Torrey, R.V. Pound, *Phys. Rev.*, **69**, 37 (1946); F. Bloch, W.W. Hansen, M. Packard, *ibid.*, **69**, 127 (1946)
- 3) J.T. Arnold, S.S. Dharmatti, M.E. Packard, *J. Chem. Phys.*, **19**, 507 (1951)
- 4) R. Kaiser, E. Bartholdi, R.R. Ernst, *J. Chem. Phys.*, **60**, 2966 (1974); P.T. Callaghan, K.W. Jolley, C.M. Trotter, *J. Magn. Reson.*, **39**, (1980); S.J. Gibbs S. Johnson Jr., *ibid.*, **93**, 395 (1991); W. Heink, J. Karger, G. Seiffert, G. Fleischer, J. Rauchfuss, *ibid.*, **A114**, 101 (1995); E. Fukushima, S.B.W. Roeder, "Experimental Pulse NMR", p.197, Addison-Wesley Publishing Company Inc., Massachusetts (1981)
- 5) A. Bax, "Two-dimentional Nuclear Magnetic Resonance in Liquids" Delft University Press, D. Reidel Publ. Co., Dordrecht (1982)
- 6) A. Bax, P.G. DeJong, A.F. Mehlkopf, J. Smidt, *Chem. Phys. Lett.*, **69**, 567 (1980); P.B. Barker, R. Freeman, *J. Magn. Reson.*, **64**, 334 (1985)
- 7) L. Müller, *J. Am. Chem. Soc.*, **101**, 4481 (1979)
- 8) A. Bax, M.F. Summers, *J. Am. Chem. Soc.*, **108**, 2093 (1986); M.F. Summers, L.G. Marzilli, A. Bax, *ibid.*, **108**, 4285 (1986); A. Bax, A. Aszalos Z. Dinya, K. Sudo, *ibid.*, **108**, 8056 (1986)
- 9) S. Takeuchi, J. Uzawa, H. Seto, H. Yonehara, *Tetrahedron Lett.*, **1977**, 2943; J. Uzawa, M. Uramoto, *Organ. Magn. Reson.*, **12**, 612 (1979)
- 10) A. Bax, R. Freeman, *J. Am. Chem. Soc.*, **104**, 1099 (1982)
- 11) H. Kessler, C. Grisinger, J. Zarboch, H.R. Loosli, *J. Magn. Reson.*, **57**, 331 (1984)
- 12) 内海博明, 化学と生物, **33**, 167 (1995)
- 13) R.R. Ernst, G. Bodenhausen, A. Wokaun, "Principle of Nuclear Magnetic Resonance in One and Two Dimentions", Clarendon Press, Oxford, 1987; 和訳: 永山国昭, 藤原敏道, 内藤 晶, 赤坂一之共訳, "2 次元 NMR ー原理と測定法", 吉岡書店, 1991
- 14) A. Bain, *J. Magn. Reson.*, **56**, 418 (1984); G. Bodenhausen, H. Kogler, R.R. Ernst, *ibid.*, **58**, 370 (1984); T.T. Nakashima, R.E.D. McClung, *ibid.*, **70**, 187 (1986)
- 15) C.H. Sotak, D.M. Freeman, R.E. Hurd, *J. Magn. Reson.*, **78**, 355 (1988)
- 16) I.M. Brereton, S. Crozier, J. Field, D.M. Doddrell, *J. Magn. Reson.*, **93**, 54 (1991)
- 17) C.T.W. Moonen, P. van Gelderen, G.W. Vuister, P.C.M. van Zijl, *J. Magn. Reson.*, **97**, 419 (1992)
- 18) R.E. Hurd, *J. Magn. Reson.*, **87**, 422 (1990)
- 19) 鶴澤 洵, 越野広雪, 第 34 回 NMR 討論会講演要旨集, p.163 (1995)
- 20) A. Bax, R. Freeman, T.A. Frenkiel, *J. Am. Chem. Soc.*, **103**, 2102 (1981)
- 21) T.H. Mareci, R. Freeman, *J. Magn. Reson.*, **48**, 158 (1980)
- 22) R.E. Hurd, B.K. John, *J. Magn. Reson.*, **91**, 648 (1991)
- 23) W. Willker, D. Leibfritz, R. Kerssebaum, W. Bermel, *Magn. Reson. Chem.*, **31**, 287 (1993)
- 24) J. Ruiz-Cabello, G.W. Vuister, C.T.W. Moonen, P. van Gelderen, J.S. Cohen, P.C.M. van Zijl, *J. Magn. Reson.*, **100**, 282 (1992)
- 25) G.W. Vuister, R. Boelens, R. Kaptein, R.E. Hurd, B. John, P.C.M. van Zijl, *J. Am. Chem. Soc.*, **113**, 9688 (1991)
- 26) P.L. Rinaldi, P. Keifer, *J. Magn. Reson.*, **108**, 259 (1994)
- 27) K. Usami, M. Isobe, *Tetrahedron Lett.*, **36**, 8613 (1995)
- 28) B.-S. Lou, G. Li, F.-D. Lung, V.J. Hruby, *J. Org. Chem.*, **60**, 5509 (1995)
- 29) T. Nozoe, K. Shindo, H. Wakabayashi, T. Kurihara, J. Uzawa, *Chem. Lett.*, **1995**, 687
- 30) H.-O. Kalinowski, S. Berger, S. Braun, "Carbon-13 NMR Spectroscopy", John Wiley & Sons, 1988
- 31) J. Uzawa, K. Anzai, *Liebigs Ann. Chem.*, **1988**, 1195
- 32) 鶴澤 洵, 内海博明, 越野広雪, 日元 徹, 安斎謙太郎, 第 32 回 NMR 討論会講演要旨集, 147 (1993)
- 33) J. Uzawa, H. Koshino, H. Utsumi, T. Hinomoto, K. Anzai, 35th ENC Abstract, 155 (1994); H. Koshino, J. Uzawa, H. Utsumi, *ibid.*, **101** (1994)
- 34) H. Koshino, J. Uzawa, H. Utsumi, *Tetrahedron Lett.*, 投稿中
- 35) 越野広雪, 鶴澤 洵, 化学と生物, **33**, 252 (1995)
- 36) G.A. Olah, K. Laali, O. Farooq, *Organometalics*, **3**, 1337 (1984)
- 37) H. Günther, D. Moskau, P. Bast, D. Schmaltz, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **26**, 1212 (1987)
- 38) W. Bauer, T. Clark, P.R. Schleyer, *J. Am. Chem. Soc.*, **109**, 970 (1987)
- 39) P.L. Rinaldi, *J. Am. Chem. Soc.*, **105**, 5167 (1983); C. Yu, G.C. Levy, *ibid.*, **106**, 6533

- (1984)
- 40) J.H. Gilchrist, A.T. Harrison, D.J. Fuller, D.B. Collum, *Magn. Reson. Chem.*, **30**, 855 (1992)
 - 41) W. Bauer, M. Feigl, G. Müller, P.R. Schleyer, *J. Am. Chem. Soc.*, **110**, 6033 (1988); H. Balzer S. Berger, *Chem. Ber.*, **125**, 733 (1992); F.E. Romesberg, D.B. Collum, *J. Am. Chem. Soc.*, **116**, 9198 (1994)
 - 42) J.-P. Kintzinger, H. Marsman, "NMR 17, Basic Principles and Progress, Oxygen-17 and Silicon-29", Springer-Verlag, 1981; E.A. Williams, *Annu. Rep. NMR Spectrosc.*, **15**, 235 (1983); R. West, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **26**, 1201 (1987); W. Ando, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **69**, 1 (1996); M. Chauhan, C. Chuit, R.J.P. Corriu, C. Rye, *Tetrahedron Lett.*, **37**, 845 (1996); D.G.J. Young, M.R. Hale, A.H. Hoveyda, *ibid.*, **37**, 827 (1996)
 - 43) T. Kusakawa, Y. Kabe, T. Erata, B. Nestler, W. Ando, *Organometallics*, **13**, 4186 (1994); T. Kusakawa, Y. Kabe, W. Ando, *ibid.*, **14**, 2142 (1995)
 - 44) T.W. Greene, "Protective Groups in Organic Synthesis", John Wiley & Sons, New York, 1981
 - 45) T. Shibata, J. Uzawa, Y. Sugiura, *Chem. Phys. Lipids*, **33**, 1 (1983); R.G. Shulman, T.R. Brown, K. Ugurbli, S. Ogawa, S.M. Cohen, J.A. den Hollander, *Science*, **205**, 160 (1979); J.M. van Divendert, W.C. Hutton, *J. Magn. Reson.*, **48**, 272 (1982); H. Beckmann, G. Grossmann, G. Ohms, *Magn. Reson. Chem.*, **30**, 860 (1992); J.S. Cohen, C.-W. Chen, A. Bax, *J. Magn. Reson.*, **59**, 181 (1984); B. Wrackmeyer, C. Kohler, E. Kupce, *Magn. Reson. Chem.*, **31**, 769 (1993); S. Tate, Y. Kubo, A. Ono, M. Kainosho, *J. Am. Chem. Soc.*, **117**, 7277 (1995)
 - 46) C. Geletneky, F.-H. Försterling, W. Bock, S. Berger, *Chem. Ber.*, **126**, 2397 (1993)
 - 47) S. Wilker, C. Laurent, C. Sarter, C. Puke, G. Erker, *J. Am. Chem. Soc.*, **117**, 7293 (1995)
 - 48) H. Koshino, T. Nakajima, Y. Wakatsuki, K. Kobayashi, J. Uzawa, *RIKEN Review*, **12**, 37 (1996)
 - 49) M. Zhang, H.J. Vogel, *J. Mol. Biol.*, **239**, 545 (1994)
 - 50) F. Kayser, M. Biesemans, M. Boualam, E.R.T. Tiekink, A.E. Khouloufi, J. Meunier-Piret, A. Bouhddid, K. Jurkschat, M. Gielen, R. Willem, *Organometallics*, **13**, 1098 (1994)
 - 51) W.M. Westler, B.J. Stockman, J.L. Markley, Y. Hosoya, Y. Miyake, M. Kainosho, *J. Am. Chem. Soc.*, **110**, 6256 (1988); W.P. Niemczura, G.L. Helms, A.S. Chesnick, R.E. Moore, V. Bornemann, *J. Magn. Reson.*, **81**, 635 (1989)
 - 52) R. Benn, H. Brenneke, A. Frings, H. Lehmkuhl, G. Mehler, A. Ruffinska, T. Wildt, *J. Am. Chem. Soc.*, **110**, 5661 (1988)
 - 53) R. Benn, C. Brevard, *J. Am. Chem. Soc.*, **108**, 5622 (1986)
 - 54) L.D. Sims, L.R. Soltero, G.E. Martin, *Magn. Reson. Chem.*, **27**, 599 (1989)
 - 55) S.J. Berners-Price, P.J. Sadler, C. Brevard, *Magn. Reson. Chem.*, **28**, 145 (1990)
 - 56) D. Moskau, F. Brauers, H. Günther, A. Maercker, *J. Am. Chem. Soc.*, **109**, 5532 (1987)
 - 57) J.H. Gilchrist, A.T. Harrison, D.J. Fuller, D.B. Collum, *Magn. Reson. Chem.*, **30**, 855 (1992)
 - 58) M. Bourdonneau, C. Brevard, *Inorg. Chem.*, **29**, 3272 (1990)
 - 59) R. Benn, C. Brevard, A. Ruffinska, G. Schroth, *Organometallics*, **6**, 938 (1987)
 - 60) R. Benn, H. Brenneke, J. Heck, A. Ruffinska, *Inorg. Chem.*, **26**, 2826 (1987)
 - 61) J. Buddrus, H. Bauer, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **26**, 625 (1987)
 - 62) 内海博明, 宮林延良, 藤井直之, 鴨 修, 日元 徹, 第34回NMR討論会講演要旨集, p.199 (1995)
 - 63) H. Koshino, J. Uzawa, *Bull. Magn. Reson.*, **17**, 260, (1995)
 - 64) M. Ubukata, Xing-Chun Cheng, J. Uzawa, K. Isono, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **1995**, 2399
 - 65) J. Weigelt, G. Otting, *J. Magn. Reson.*, **A113**, 128 (1995)
 - 66) R. Dunkel, C.L. Mayne, R.J. Pugmire, D. Grant, *Anal. Chem.*, **64**, 3133 (1992); R. Dunkel, C.L. Mayne, M.P. Foster, C.M. Ireland, D. Li, N.L. Owen, R.J. Pugmire, D.M. Grant, *ibid.*, **64**, 3150 (1992); A.M. Orendt, R. Dunkel, W.J. Horton, R.J. Pugmire, D.M. Grant, *Magn. Reson. Chem.*, **33**, 803 (1995); J.K. Harper, R. Dunkel, S.G. Wood, N.L. Owen, D. Li, R.G. Catcws, D.M. Grant, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, **1996**, 91
 - 67) 伊倉光彦, 蛋白質核酸酵素, **37**, 492 (1992); H. Oschkinat, T. Muller, T. Dieckmann, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **33**, 277 (1994)
 - 68) G.W. Vuister, P. de Waard, R. Boelens, J.F.G. Vliegthart, R. Kaptein, *J. Am. Chem. Soc.*, **111**, 772 (1989); P. de Waard, B.R. Leeftang, J.F.G. Vliegthart, R. Boelens, G.W. Vuister, R. Kaptein, *J. Biomol. NMR*, **2**, 211 (1992); S.W. Homans, *Glicobiology*, **2**, 153 (1992)
 - 69) 春山英彦, 桑野晴光, 竹内道子, 犬飼正俊, 第30回NMR討論会講演要旨集, p.89 (1991); M. Takeuchi, S. Takahashi, R. Enokita, Y. Sakaida, H. Haruyama, T. Nakamura, T. Takayama, M. Inukai, *J. Antibiotics*, **45**, 297 (1992)

- 70) 佐竹真幸, 石田 周, 村田道雄, 安元 健, 内海博明, 日元 徹, 第 32 回 NMR 討論会講演要旨集, p.279 (1993); M. Murata, H. Naoki, S. Matsunaga, M. Satake, T. Yasumoto, *J. Am. Chem. Soc.*, **116**, 7098 (1994)
- 71) J. Chung, J.R. Tolman, K.P. Howard, J.H. Prestegard, *J. Magn. Reson.*, **B102**, 137 (1993)
- 72) S. Berger, P. Bast, *Magn. Reson. Chem.*, **31**, 1021 (1993)
- 73) M.L. Woodley, T.A. Carpenter, L.D. Hall, *J. Magn. Reson.*, **A106**, 147 (1994)
- 74) W. Willker, D. Leibfritz, *Magn. Reson. Chem.*, **33**, 632 (1995)
- 75) S. Grzesiek, J. Anglister, H. Ren, A. Bax, *J. Am. Chem. Soc.*, **115**, 4369 (1993); T. Yamazaki, S.M. Pascal, A.U. Singer, J.D. Forman-Kay, L.E. Kay, *ibid.*, **117**, 3556 (1995); S. Grzesiek, H. Kuboniwa, A.P. Hinck, A. Bax, *ibid.*, **117**, 5312 (1995); S. Grzesiek, P. Wingfield, S. Stahl, J.D. Kaufman, A. Bax, *ibid.*, **117**, 9594 (1995); W. Jahnke, M. Baur, G. Gemmecker, H. Kessler, *J. Magn. Reson.*, **B106**, 86 (1995); V.V. Krishnamurthy, *ibid.*, **B106**, 170 (1995); T. Szyperki, D. Braun, C. Fernández, C. Bartels, K. Wüthrich, *ibid.*, **B108**, 197 (1995); V. Dötsch, R.E. Oswald, G. Wagner, *ibid.*, **B108**, 285 (1995); R. Jerala, G.S. Rule, *ibid.*, **B108**, 294 (1995); V.V. Krishnamurthy, *ibid.*, **B109**, 117 (1995); M. Sattler, M.G. Schwendinger, J. Schleucher, C. Griesinger, *J. Biomol. NMR*, **5**, 11 (1995)
- 76) 大内宗城, 河野静江, 有機合成化学協会誌, **48**, 577 (1990); 春山英幸, 化学と生物, **33**, 114 (1995)
- 77) S. Subramanian, A. Bax, *J. Magn. Reson.*, **71**, 325 (1987); H. Kessler, U. Anders, G. Gemmecker, S. Steuernagel, *J. Magn. Reson.*, **85**, 1 (1989)
- 78) J. Stonehouse, P. Adell, J. Keeler, A.J. Shaka, *J. Am. Chem. Soc.*, **116**, 6037 (1994)
- 79) C. Dalvit, *J. Magn. Reson.*, **A113**, 120 (1995); C. Dalvit, G. Bovermann, *Magn. Reson. Chem.*, **33**, 156 (1995)
- 80) T. Fäcke, S. Berger, *J. Magn. Reson.*, **A113**, 257 (1995)
- 81) P. Adell, T. Parella, F. Sanchez-Ferrando, A. Virgili, *J. Magn. Reson.*, **A113**, 124 (1995); T. Parella, F. Sanchez-Ferrando, A. Virgli, *ibid.*, **A114**, 32 (1995); K. Stott, J. Stonehouse, J. Keeler, T.L. Hawang, A.J. Shaka, *J. Am. Chem. Soc.*, **117**, 4199 (1995); T. Fäcke, S. Berger, *ibid.*, **117**, 9547 (1995); *idem*, *Tetrahedron*, **51**, 3521 (1995)
- 82) R. Freeman, *Chem. Rev.*, **91**, 1397 (1991)
- 83) D.G. Davis, A. Bax, *J. Am. Chem. Soc.*, **107**, 7197 (1985)
- 84) 降旗一夫, 瀬戸治男, 第 28 回 NMR 討論会講演要旨集, p.83 (1989)
- 85) J.M. Nuzillard, G. Massiot, *J. Magn. Reson.*, **91**, 380 (1991)
- 86) V. Sklenar, J. Feigon, *J. Am. Chem. Soc.*, **112**, 5644 (1990)
- 87) H. Schroder, E. Haslinger, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **32**, 1349 (1993)
- 88) 越野広雪, 鶴澤 洵, 第 33 回 NMR 討論会講演要旨集, p.125 (1994); H. Koshino, J. Uzawa, 36th ENC Abstracts, p.115 (1995)
- 89) 越野広雪, 鶴澤 洵, 第 34 回 NMR 討論会講演要旨集, p.207 (1994)
- 90) H. Koshino, J. Uzawa, 投稿準備中
- 91) N. Soffe, J. Boyd, M. Leonard, *J. Magn. Reson.*, **A116**, 117 (1995)
- 92) P.L. Kuhns, A. Kleinhammers, W.G. Moulton, N.S. Sullivan, *J. Magn. Reson.*, **A115**, 270 (1995)
- 93) 戸叶一正, 応用物理, **60**, 462 (1991)
- 94) W.A. Anderson, W.W. Brey, K.A. Delin, L.F. Fucks, H.D.W. Hill, M.E. Johansson, V.Y. Kotsubo, M. Krivoruchko, R.S. Withers, W.H. Wong, 36th ENC Abstracts, p.359 (1995)
- 95) T.M. Barbara, *J. Magn. Reson.*, **A109**, 265 (1994)
- 96) W.L. Fitch, G. Detre, C.P. Holmes, *J. Org. Chem.*, **59**, 7955 (1994)
- 97) D.L. Olson, T.L. Peck, A.G. Webb, R.L. Magin, J.V. Sweedler, *Science*, **270**, 1967 (1995)
- 98) R.C. Crouch, G.E. Martin, *Magn. Reson. Chem.*, **30**, S66 (1992)
- 99) R.C. Crouch, G.E. Martin, S.M. Musser, H.R. Grenade, R.W. Dickey, *Tetrahedron Lett.*, **36**, 6827 (1995)
- 100) R.C. Crouch, G.E. Martin, D.G. Baden, R.E. Gawley, K.S. Rein, E.P. Mazzola, *Tetrahedron*, **51**, 8409 (1995)
- 101) S. Castellino, W.J. Dwight, *J. Am. Chem. Soc.*, **115**, 2986 (1993)
- 102) J.F. McGarrity, C.A. Ogle, Z. Birch, H.-R. Loosli, *J. Am. Chem. Soc.*, **107**, 1810 (1985)
- 103) J.F. McGarrity, J. Prodolliet, *J. Org. Chem.*, **49**, 4465 (1984)
- 104) S.V. Frye, E.L. Eliel, R. Cloux, *J. Am. Chem. Soc.*, **109**, 1862 (1987)
- 105) K. Albert, *J. Chromatogr. A*, **703**, 123 (1995)
- 106) R.R. Ernst, W.A. Anderson, *Rev. Sci. Instr.*, **37**, 93 (1966)
- 107) J. Jeener, Ampere Summer School, Basko Polje, Yugoslavian (1971)