

Spinsolve 80 **ULTRA**

溶媒抑制: 合成中の試料をいつでも測定するためのキーポイント



図1.化学実験室で製品の迅速な分析に使用されているSpinsolve NMRスペクトロメーター。サンプル中にプロトン化した溶媒が存在するのが一般的であるため、溶媒抑制法やカーボンデカップリング法を用いて目的の分析対象物のスペクトルを取得する必要があります。

化学の研究室におけるNMRスペクトル

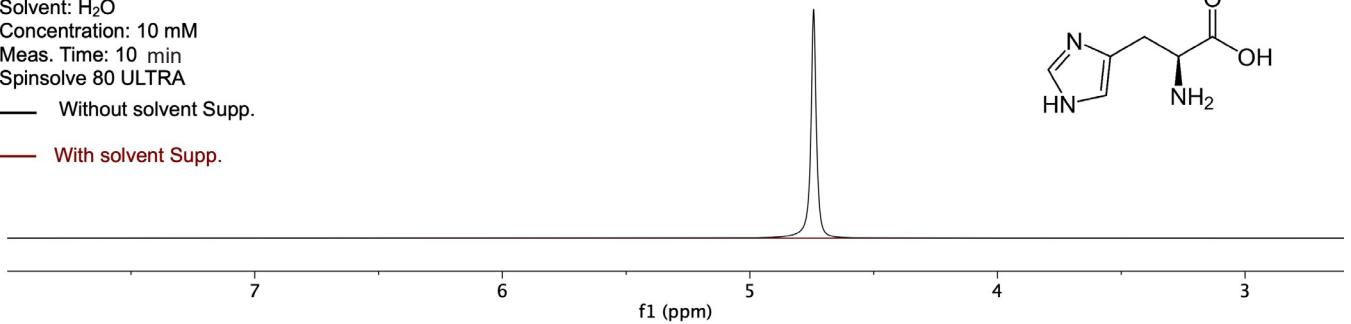
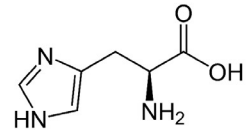
卓上型NMRは化学研究室において、化学者がサンプルを製造しながら迅速に分析するために開発されました。このコンパクトなNMRは、化学実験台やドラフトの中に簡単に設置でき、合成の進行に合わせてリアルタイムで生成物を同定・定量することができます。合成プロセスから取り出したサンプルを測定する必要がある場合、生成物が通常のプロトン化溶媒に溶解していることが重要な問題となります。試料を迅速に分析するためには、試料の前処理を最小限にすることが重要です。例えば、溶媒を交換するための面倒な作業は必要ありません。プロトン化した溶媒が試料中に存在する状態でNMRスペクトルを得るには、溶媒の大きなシグナルを減衰させる方法が必要である。このシグナルは、生成物のシグナルに比べて最大で4桁も大きくなることもある。高磁場のNMRでは、NMR信号を取得する前に溶媒の信号を選択的に減衰させる溶媒抑制法を適用することが解決策とされている。しかし、これらの方法は選択的周波数励起に基づくため、磁石の発生する磁場が高度に均一でなければ効率よく機能しない。均一な磁場では、特定の化学グループの核はすべて同じ共鳴周波数を持っており、NMR信号の中心周波数で励起すると効率よく減衰させることができるのです。要求される基準を満たすために、MagritekはSpinsolve ULTRAを導入しました。これらのモデルは、超電導マグネットの規格に匹敵する均質性を実現した唯一の卓上型分光器であり、ラインシェイプはピーク高さの50%、0.55%、0.11%で規定されています。

Efficient solvent suppression

Spinsolve ULTRAスペクトロメーターに実装されたWET溶媒抑制法の性能を実証するために、ニート水に10ミリモルの濃度で溶解したヒスチジンをサンプルとして使用しました。純水は1H濃度が110mol(1分子あたり2H)で、1つのピークに寄与している。図2a、2bは、標準スペクトル(黒)と溶媒を抑制して得られたスペクトル(赤)の比較を示しています。溶質の濃度が溶媒よりも4桁も小さいことを考慮すると、ヒスチジンのシグナルを見るためには大きな垂直方向のズームが必要です(図2b参照)。標準的なスペクトルでは、ヒスチジンのシグナル(図2bの黒)は水のピークのテールに取り付けられて表示されるため、スペクトルの大部分を占め、定量はほとんど不可能である。なお、Spinsolve社の卓上型NMRには、測定する試料に依存しない外部ハードウェアロックシステムが搭載されているので、試料に重水を加える必要はない。

a) ヒスチジン

Solvent: H₂O
Concentration: 10 mM
Meas. Time: 10 min
Spinsolve 80 ULTRA
— Without solvent Supp.
— With solvent Supp.



b) 1000倍拡大

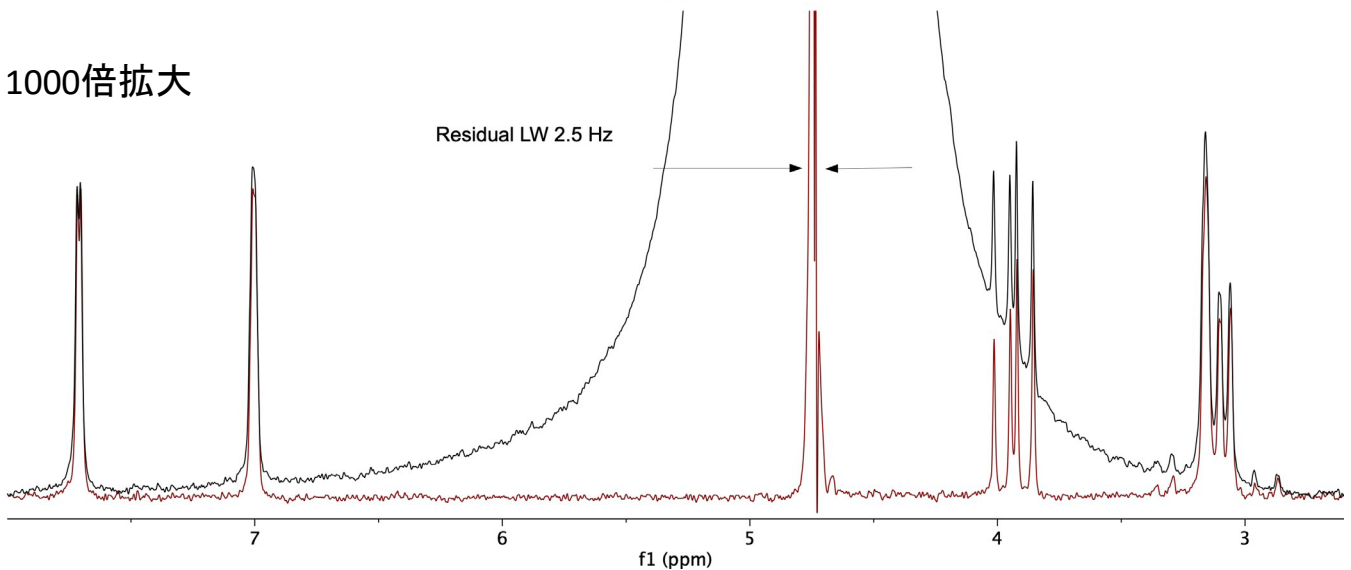


図2. 標準シーケンス(黒)とWET溶媒抑制シーケンス(赤)で取得した、水中に10 mMの濃度で溶解したヒスチジンのスペクトル。このスケールでは、標準測定(黒)ではヒスチジンのシグナルが巨大な水のピークのテールと重なるが、Ultra(赤)で取得したスペクトルではすべて非常によく分解されていることが観察できる。水のピークは、異なる共振周波数に現れるため、ヒスチジンのシグナルに影響を与えることなく、効率的に除去されるところまで減衰していることが観察されます。b)のスペクトルは、Spinsolve 80 MHz Carbon ULTRAで64スキャン、10秒の繰り返しで取得しました。

水のピークはスペクトルの広範囲に広がっているが、ピークを中心周波数にUltraを適用することで、強く減衰させることができる。溶媒を抑制して取得したスペクトルを図2a、2bに赤色で示します。この実験では、水のピークが約1000倍に減衰していますが、ヒスチジンに対応する信号は影響を受けず、正確に定量化することができます。

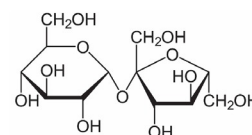
第二の例として、図3は、水に溶解した20mMのスクロースサンプルに対する溶媒抑制法の性能を示しています。このサンプルは、以下のアノメリックプロトンのシグナルに影響を与えずに水のピークを飽和させる溶媒抑制の選択性をテストするための標準として使用されています。

このピーク(5.4ppm)は、標準測定では水のピークのテールと完全に重なっているのに対し(黒)、溶媒を抑制して測定したスペクトルでは完全に分解されている(赤)。

サッカロース

Solvent: H₂O
 Concentration: 20 mM
 Meas. Time: 10 min
 Spinsolve 80 ULTRA

— Without Solvent Suppression
 — With Solvent Suppression



2000倍拡大

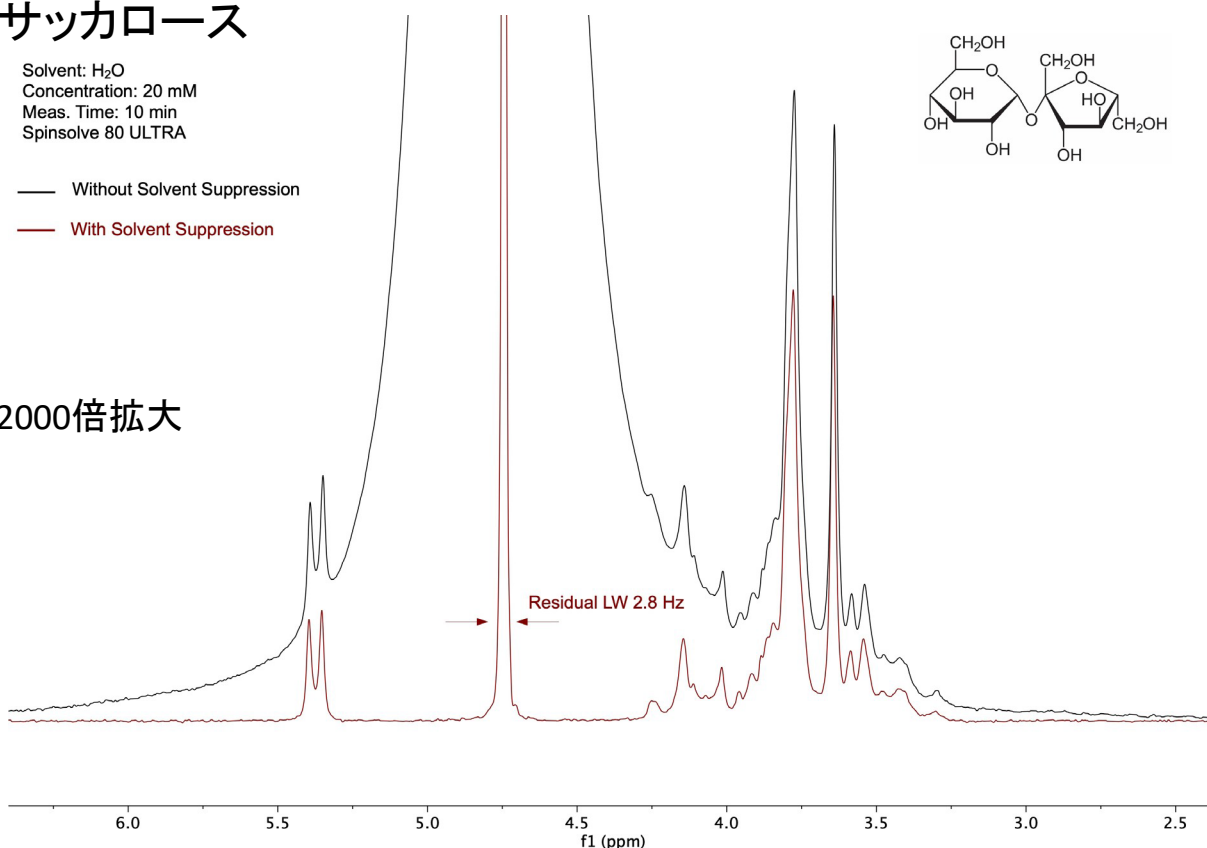


図3.

水のピークはスペクトルの広範囲に広がっているが、ピークを中心周波数にUltraを適用することで、強く減衰させることができる。溶媒を抑制して取得したスペクトルを図2a、2bに赤色で示します。この実験では、水のピークが約1000倍に減衰していますが、ヒスチジンに対応する信号は影響を受けず、正確に定量化することができます。

第二の例として、図3は、水に溶解した20mMのスクロースサンプルに対する溶媒抑制法の性能を示しています。このサンプルは、以下のアノメリックプロトンのシグナルに影響を与えずに水のピークを飽和させる溶媒抑制の選択性をテストするための標準として使用されています。

このピーク(5.4ppm)は、標準測定では水のピークのテールと完全に重なっているのに対し(黒)、溶媒を抑制して測定したスペクトルでは完全に分解されています(赤)。

本方法が用いる選択的励起が、ピークを中心に近い共振周波数を持つ原子核のみを飽和させるためである。テールとは管の壁際など磁場の強さが異なる場所にある核の信号であるため、均一な中心部にある核とは共振周波数が異なり、効率よく飽和させることはできない。磁場の不均一性による周波数の広がりにもよるが、シーケンスの選択励起部分はピークを中心に穴を開けて飽和し、極端な場合、テールは影響を受けないままとなる。つまり、ピークを中心は減衰できても、テールの重なりは残ってしまい、溶媒の抑制は測定に何のメリットもないのである。

磁場の均一性はスペクトルのピークの線形を規定するので、磁石の均一性を規定する方法として、標準クロロホルム試料のNMRピークの異なる高さでの線幅(LW)を測定することが一般的である。一般的にはピークの50%におけるLWを主な指標とするが、溶媒抑制法に期待できる性能を決定するのは、実はその底辺におけるLWである。高磁場系では、一般的にピーク高さの50%、0.55%、0.11%での線幅が指定されます。溶媒抑制が必要なアプリケーションで最高の性能を発揮するために、Magritekは2017年にSpinsolve ULTRAモデルを発表しました。Spinsolveのリリースしているバージョンは、今日の卓上型NMRの市場で利用可能な最高の均質性を実現しますが(LW <0.4 Hz at 50%, <16 Hz at 0.55% ピーク高さ)、Spinsolve 80 ULTRAモデルは、さらに優れた線幅 <0.25 Hz at 50%、<10 Hz at 0.55%、<20 Hz at 0.11%(ピーク高さ)を規定しており、高磁場マグネットがもたらす均質性に匹敵する性能を持っています。このようなライン形状の例を、標準クロロホルム試料を測定に使用した図4に示します。このとき、Spinsolve ULTRAは市場で唯一、LWを0.11%に規定しているモデルであることが重要である。このULTRAの高い磁場均一性により、他の卓上型NMRにはない、溶媒のシグナルに近い微小なシグナルを分解することが可能になります。

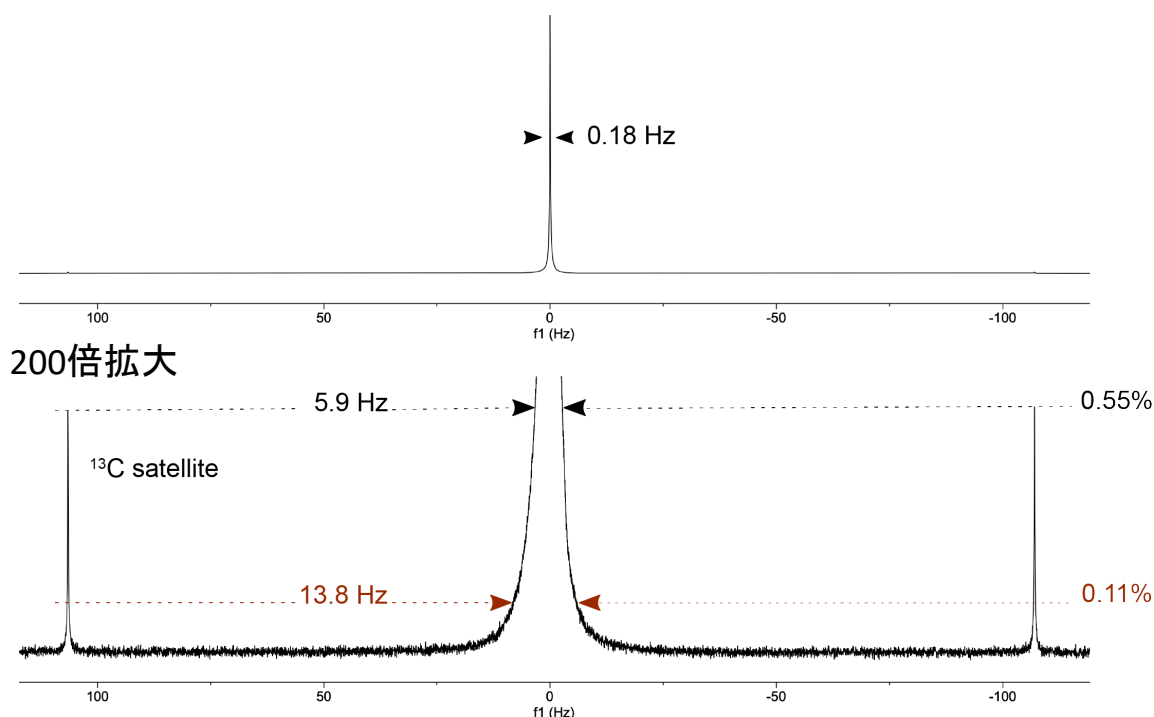


図4: 重水素化アセトンに20%の濃度で溶解した標準クロロホルム試料のスペクトル。上の図は、ピーク振幅の50%で線幅を測定できる完全な線形状を示します。拡大したスペクトルはクロロホルムのカーボンサテライトを示し、ピーク高さの0.55%を識別するための基準として用いることができます。また、ピークの基部の線幅は0.11%で示しています。

有機溶媒中における多重線と¹³Cサテライトの抑制

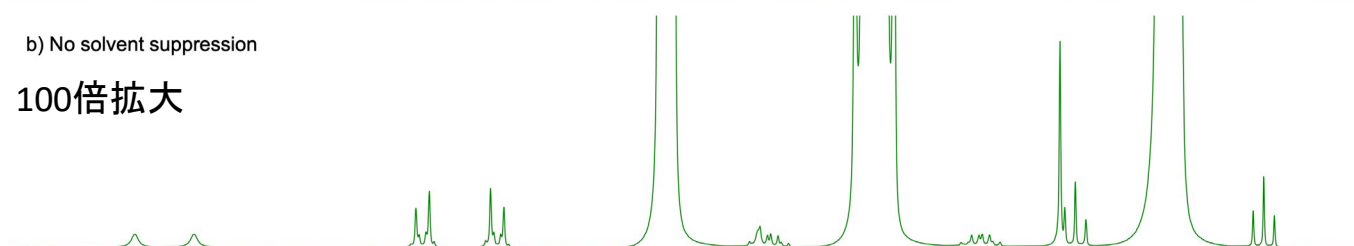
これまでの例では、溶媒として水を使用しました。しかし、試料の溶解度や反応によっては、スペクトルに複数の線を持つ有機溶媒を使用することが多いです。図5aは、パラセタモールを170 mMのエタノールに溶解した試料のフルスケールのスペクトルです。エタノールの濃度は約17molであるため、フルスケールでは溶媒の信号のみが見えます。100倍に拡大すると、大きな溶媒ピークの底にあるパラセタモールのシグナルを確認することができます(図5b)。この例からも、Spinsolveが飽和の影響を受けることなく、また感度を損なうことなく、きちんとした溶媒の信号を取得できることが確認できます。図5cは、3つの溶媒の信号のそれぞれの中心に溶媒抑制をかけた結果です。スペクトル取得前のWETモジュールで適用された選択的励起パルスは、約300倍の飽和を達成し、溶剤のピークはパラセタモール信号と同等の振幅になった。

a) No solvent suppression



b) No solvent suppression

100倍拡大



c) With solvent suppression

100倍拡大

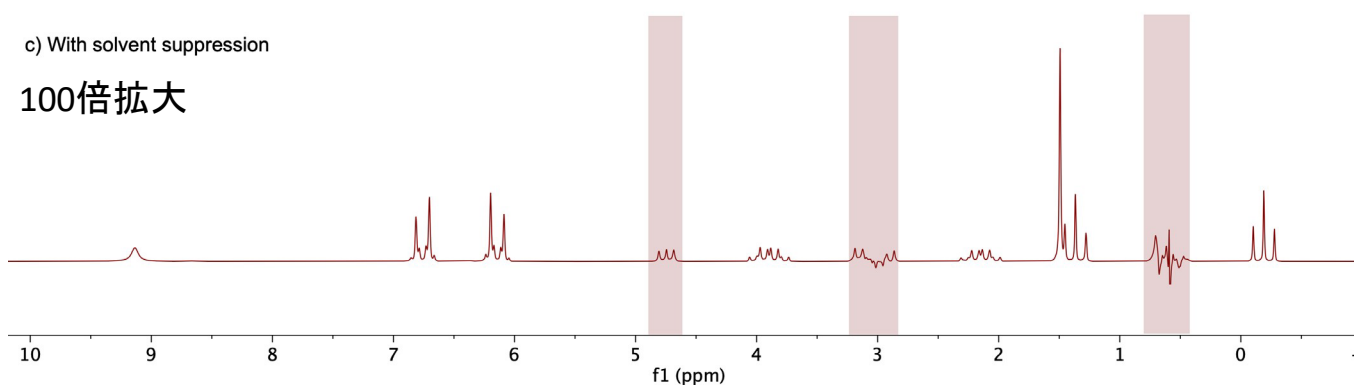


図5:

- パラセタモールを170mMの濃度のエタノールに溶解したスペクトル
- a)のスペクトルを100倍に拡大したもの。パラセタモールのシグナルが見え、エタノールピークのカーボンサテライトのシグナルと同様の強度で現れる。
- エタノールの3つの主要シグナルを飽和させるマルチピークWET溶媒抑制法を用いて取得したパラセタモール試料のスペクトル。

溶媒抑制シーケンスによって溶媒ピークのテールが除去される一方で、有機溶媒によってもたらされる新たな問題をすぐに確認することができます。溶媒は異なるC-H基を持つため、その炭素サテライトがスペクトルに見えてしまうのです。 ^{13}C の自然存在量は約1%なので、ニート濃度17モルで、2つの炭素位置にそれぞれ ^{13}C を持つエタノール分子が170mM存在することになる。この例では、サンプル中のパラセタモールと同じ濃度である。ここで使用した濃度は、典型的な反応で予想される濃度に近く、カーボンサテライトは有機溶媒を使用する際に予想される一般的な問題であることが確認されました。スペクトルからサテライトを除去する核磁気共鳴法は、カーボンデカップリングとして知られています。これは、溶媒抑制期間中または信号取得中に ^{13}C の連続励起を必要とする。図6は、Spinsolve Carbon ULTRA システムで、 ^1H 信号の取得と炭素チャンネルの励起を同時に行う、2番目のオプションで得られた結果である。 ^{13}C はフローアプリケーションで通常検出しようとする核種ではないが、カーボンチャンネルを備えた装置も反応モニタリングアプリケーションに有利であると結論付けることができる(これは ^{13}C 測定に必要な測定時間が長いためである)。

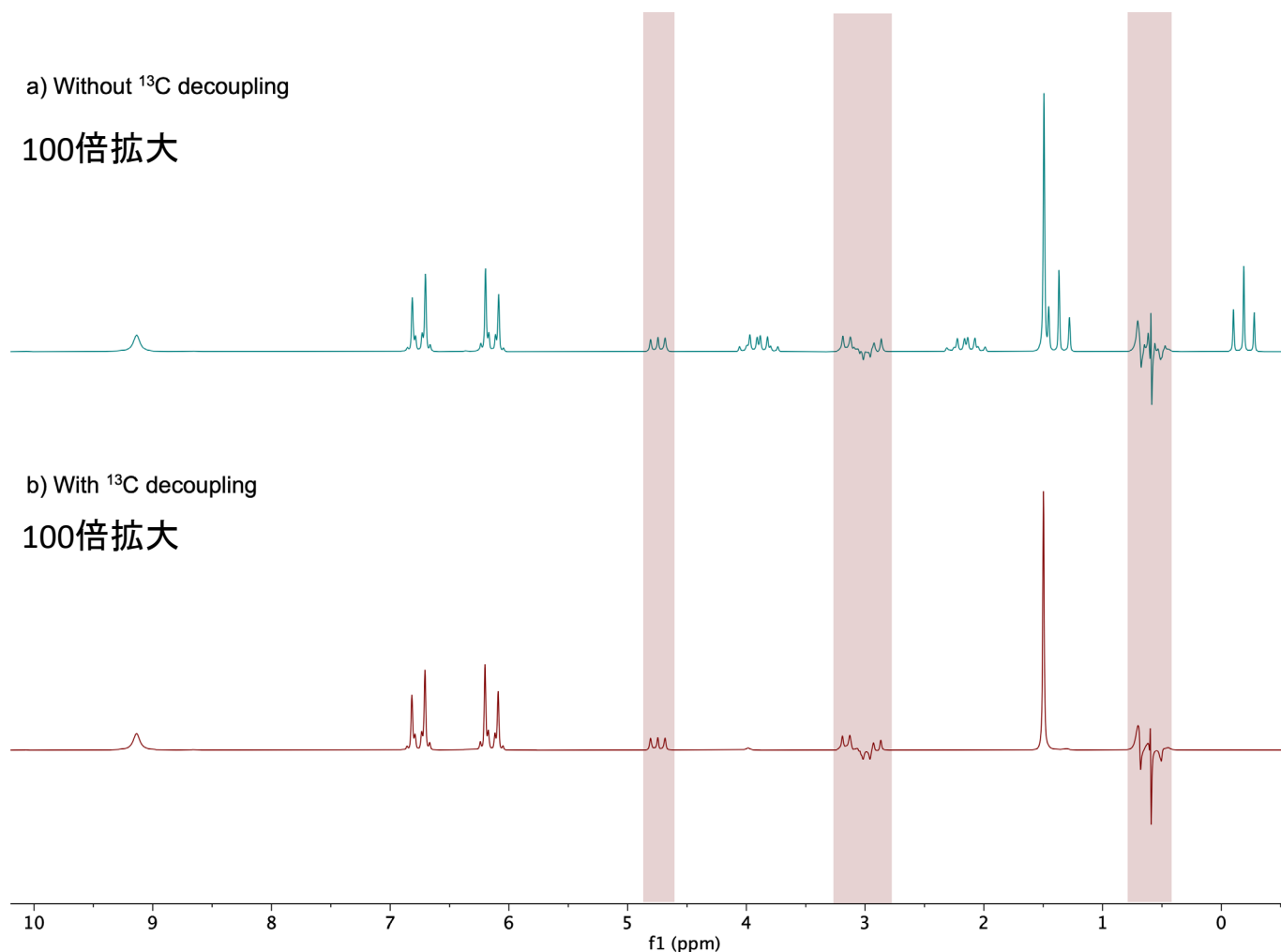


図6: カーボンデカップリングあり(a)となし(b)で取得したスペクトルの比較。カーボンデカップリングがある状態で信号を取得することで、 ^{13}C サテライトが完全に除去され、積分する必要のある生成物の信号との重なりが取り除かれていることがわかります。

国内代理店

株式会社朝日ラボ交易

〒650-0046
兵庫県神戸市中央区港島中町4丁目1-1
ポートアイランドビル10F
TEL 078-335-8613 FAX 078-335-8614



<http://www.asahilab.co.jp>

Email info@asahilab.co.jp

販売