

Ultra シリーズ(43MHz, 60MHz, 80MHz)

溶媒抑制と ^{13}C デカップリングに依り合成と反応制御
に効力を発揮します。



図 1.製品の迅速な分析のために化学実験室で使用される Spinsolve NMR 分光計

典型的なサンプル中のプロトン化溶媒の分析には、溶媒抑制および対象化合物のスペクトルを取得するための炭素デカップリング法の使用が必要です。

溶剤抑制

化学実験室に設置された卓上型 NMR システムは、通常、重水素化溶媒の代わりに軽水化溶媒に溶解した試料の識別または定量化に適用されます。軽水化溶媒のサンプルでは、NMR スペクトルを取得する際に 2 つの大きな課題があります。

1 つ目の課題は、分光計の受信機を飽和させる可能性のある軽水化溶媒からの信号により、受信機から受ける信号が強制的に低下し、スペクトルの感度や SNR (信号対雑音比) が急激に低下します。この問題は特に高磁場 NMR システムに影響します。この一般的な問題の解決策は測定開始前に溶媒抑制法を適用して、溶媒由来の信号を減衰させることです。これらの方法の使用は高磁場システムでは必須ですが、卓上型 NMR システムでは必要ありません。これらのシステムのより低い電界強度では、NMR 信号の振幅は小さく、レシーバーアンプは純粋な溶媒のシグナルを取得できるような十分に広いダイナミックレンジで設計されています。

これにより、スペクトルで最適な SNR を取得することが可能となります。Spinsolve でレシーバーの広いダイナミックレンジを示します。具体例として純水に 10mM ヒスチジンを溶解させたスペクトルでは、水のスペクトルを取り除きます。純水は約 55M の濃度を持っており、NMR のスペクトルでは 110M の単一ピークになって現れます。図 2a)は実物スケールで、図 2b)はズームスペクトルを示します。受信機の飽和によって引き起こされる歪みを示しています。溶質の濃度が溶媒より 1 万倍小さいこと (ヒスチジン 10mM、純水 110M) を考慮に入れると、溶質の信号を確認するには、垂直スケールをズームする必要があります (図 2b)。これが 2 つ目の課題です。

図 2b(赤)に示しています。スペクトルより、ヒスチジンからの小さい信号は純水の信号により被さっているよう

に見えます。純粋のピークがスペクトルの大部分をカバーしてしまい、定量化はほとんどできません。溶媒のピークを抑制することは卓上型システムにとって溶媒のピークを削除するために非常に役立ちますが、これらの方法は周波数を選択しているため、磁石の磁場が非常に均一である場合にのみ効率的に機能します。均一な磁場において、特定の官能基のすべての原子核は同じ共鳴周波数を持っており、NMR のスペクトルの形状は、サンプルの緩和時間によってのみ定義されるローレンツ関数で記述されます。この基準が満たされている場合、NMR 信号は均一な広がりであり、すべての核は共鳴周波数を実際に持っています。

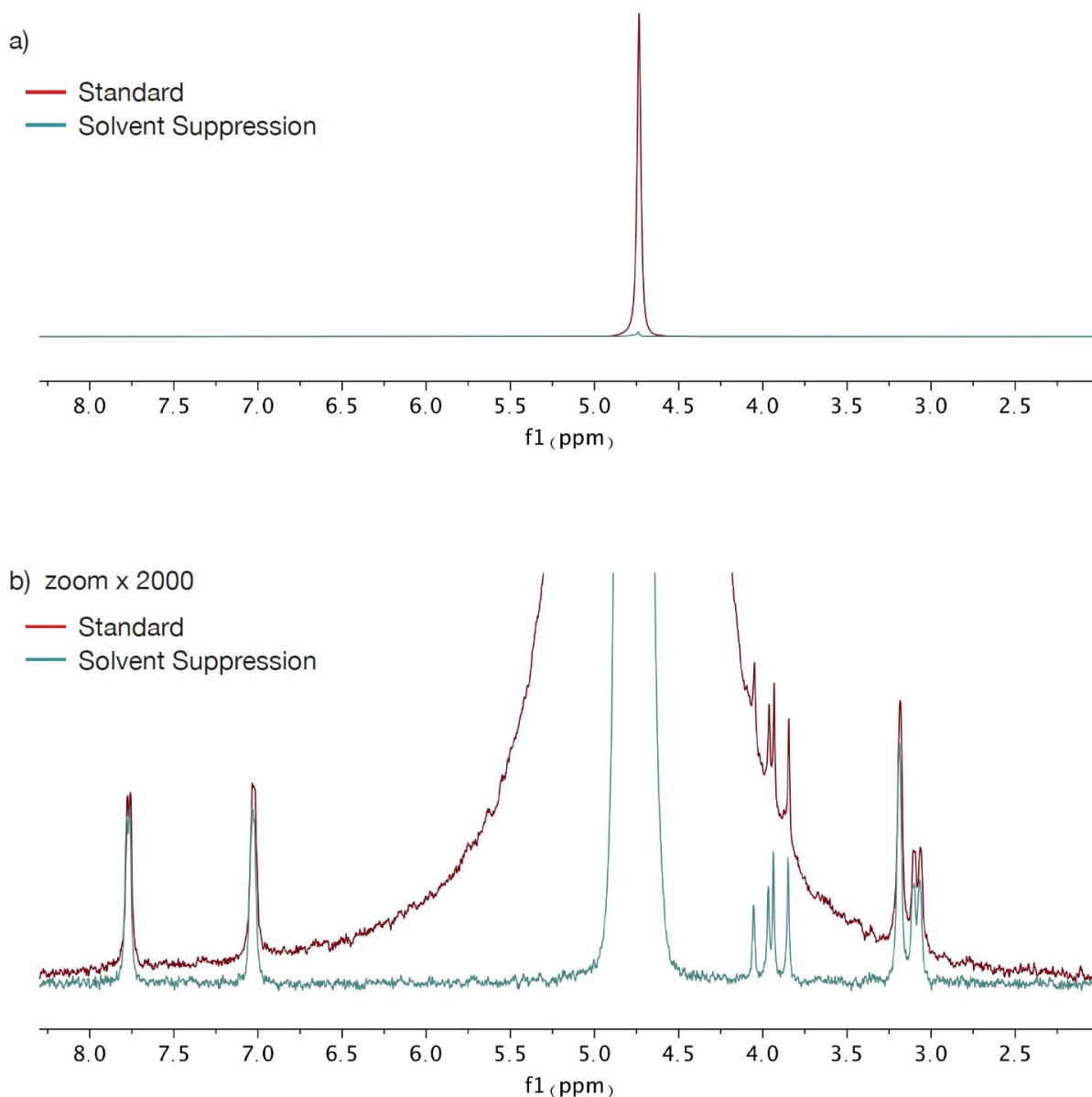


図 2.

a) ヒスチジン(純水を溶解させた濃度 10mM)のスペクトル

b) a)で実際に得られたスペクトルを 2000 倍に拡大したスペクトル

赤のスペクトル：標準シーケンスの測定で得られたスペクトル

緑のスペクトル：溶媒抑制シーケンスの測定で得られたスペクトル

垂直スケールで表示され、55 モルの濃度（実効 110 モルの水素スペクトル）。ヒスチジンのシグナルが純水のピークとどのようにオーバーラップするかを観察できます。標準シーケンス（赤）の巨大な水のピークですが、溶媒抑制シーケンスを使用することで、水のピークが減衰するポイントで、スペクトルですべて非常によく解決されます。水のピークは共振周波数で現れるため、ヒスチジンの信号に影響を与えることなく効率的に除去されます。b) のスペクトルは、Spinsolve 60MHz カーボン ULTRA で 64 回のスキャンと 10 秒の繰り返し時間を使用して取得されました。

ピークはスペクトルの広範囲に及ぶ可能性があります、ラインの中心周波数で連続して励起ことにより、全体としてピークを減衰させることができます。この状況で、溶媒抑制は溶媒ピークのテールを大幅に減らし、生成物のシグナルをより正確に定量化することができます。図 2a および 2b に示すシアン（cyan）のスペクトルは、選択的励起パルスは、NMR 信号の取得に水のピークの共振周波数で 2 秒間適用されます。この測定では水の信号が約 100 程度減少させたのに対し、ヒスチジンに対応する信号は影響を受けませんでした。

2 つ目の事例として、図 3 に、水に溶解したショ糖 25 mM サンプルでの溶媒抑制法のスペクトルを示します。このサンプルは、5.4ppm 領域におけるアノマー効果のプロトンのシグナルに影響を与えることなく、水のピークを飽和させるための溶媒抑制の標準的なテストサンプルとして使われます。Spinsolve 卓上型 NMR 分光計はサンプルとは独立した測定機能を有する外部のハードロックシステムを備えているので、サンプルは重水を必要としないことを留意してください。このピークは、標準測定（赤）の水ピークのテールと完全に重なっていますが、溶媒抑制（緑）で測定されたスペクトルで完全に分離されます。

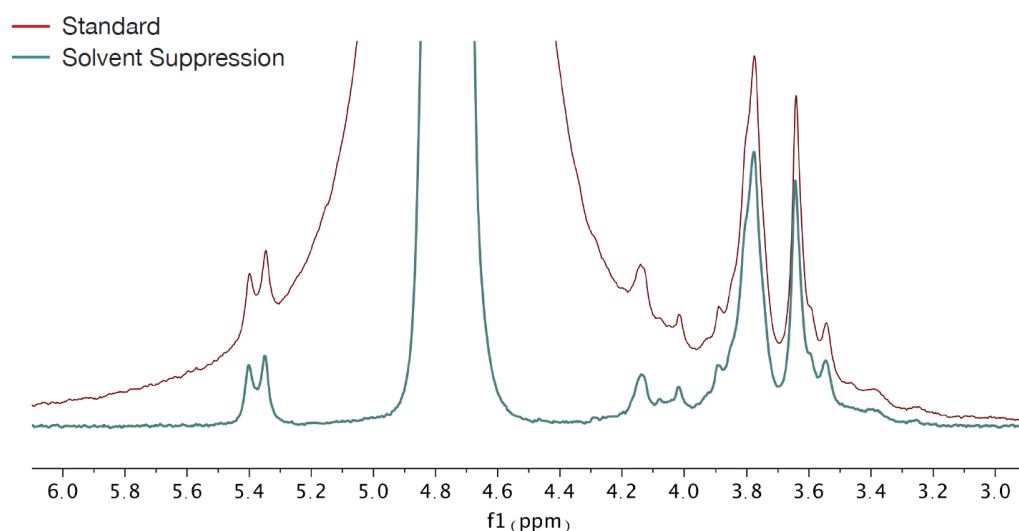


図 3.ショ糖（純水に溶解させた 25mM）のスペクトル

（赤は標準のシーケンスで測定した場合、緑は溶媒抑制法で測定した場合。スペクトルは、64 回のスキャンと 10 秒の繰り返し時間を使用）

この高性能の溶媒抑制は、磁場が非常に高く均一な場合にのみ達成できます。これは卓上型 NMR の課題です。卓上型分光計における永久磁石の形状は可能な限り小さくし、最大の磁場を形成させる必要があります、標準の 5mmNMR チューブを使用するようにサンプル量を制限します。試験を開始するために最適化で最も苦勞するのは、磁場の均一性です。一般的に、チューブの中心で適度な均一にすることがよいのですが、不均一になる傾向があります。サンプル溶液がチューブの壁に近づくと、半分程度の高さで比較的狭い線形状になり、ピーク底辺部が非常にブロードに可能性があります。磁場の不均一性によるテールによって定義されている場合、溶媒抑制方法は適切に機能しません。

これは、この方法で使用される選択的励起はピークの中心に近い周波数でのみ核共鳴で飽和させるだけだからです。テールは、磁場はチューブの壁の近くのような、異なる強度を持っています。単なる核の信号であるため、チューブ中央部の飽和状態において、核の一種が異なる配列になるため十分な飽和状態ではありません。極端な場合、テールは影響を受けません。したがって、ピークの中心は減衰できますが、テールのオーバーラップは残り、溶媒抑制の方法は私たちにとってメリットがありません。

磁場の均一性がスペクトルのピークの線形を定義するので、磁石の均一性を指定するための一般的な方法は、クロロホルムの標準サンプルの NMR ピークの分析によるさまざまな高さで線幅 (LW) を提供することです。主な指標として、ピークの 50% で LW を使用するのが一般的ですが、溶剤抑制法用により期待できるパフォーマンスを決定するのは LW です。高磁場の場合、線の幅はピーク高さの 50%、0.55%、および 0.11% で通常指定されます。アプリケーションで溶剤抑制が必要なとき、最高のパフォーマンスを実現するには、Magritek は 2017 年に SpinsolveULTRA モデルを紹介しました。これまでの Spinsolve のバージョンは、今日まで卓上 NMR 市場で利用可能な最高の均質性を提供しております (Spinsolve ではピーク高さの 50% で $LW < 0.5$ Hz、ピーク高さの 0.55% で < 20 Hz。ULTRA モデルはピーク高さの 50% で < 0.2 Hz、0.55% で < 6 Hz、0.11% で < 12 Hz)。上記のデータは高磁場磁石によって提供される均一性と同等です。そのような線形の例は図 4 に示すように、標準のクロロホルムサンプルを測定した場合に示されました。この点で、Spinsolve ULTRA は、LW を 0.11% という濃度で測定ができることが市場で唯一のモデルであることです。この ULTRA による高い均一性により、他の卓上型システムとは異なり、溶媒シグナルのような、最小の信号を解決することができます(図 4 参照)。

拡大図

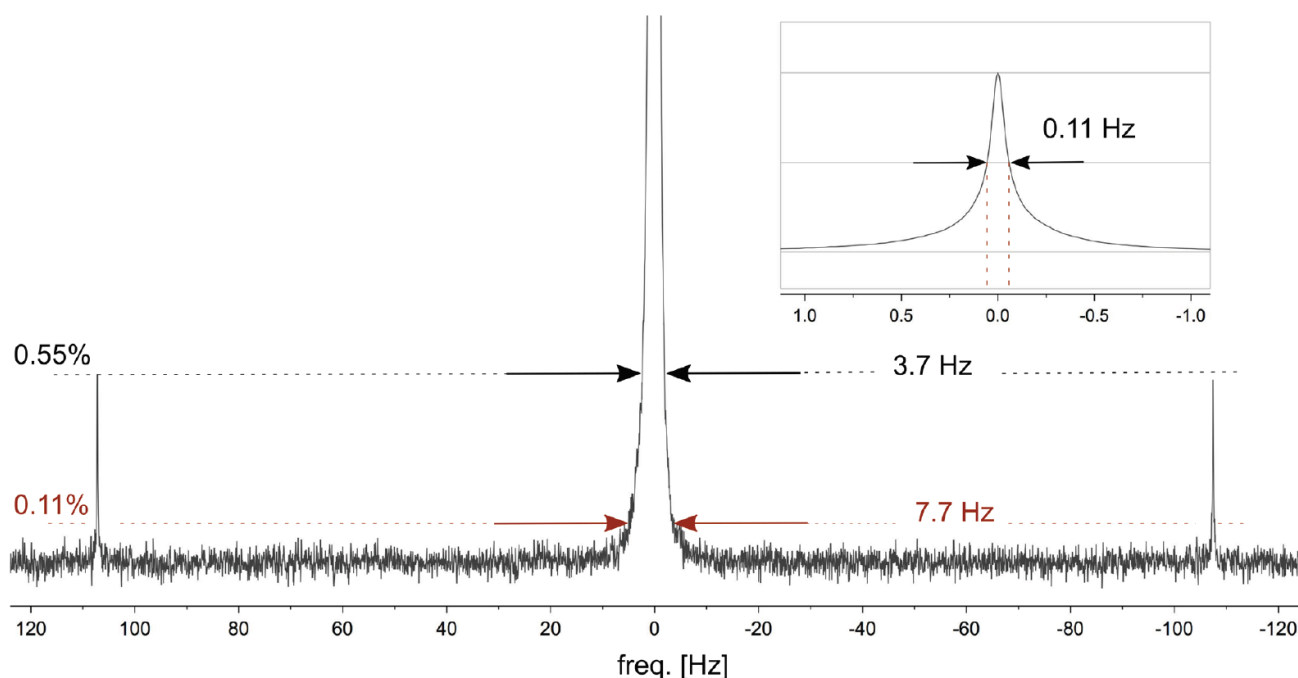


図 4：20%重アセトンに溶解したクロロホルムサンプルのスペクトル。

この図は、ピーク振幅の 50%での線幅が指定されている完全な線形を示しています（黒）。拡大したスペクトルは、ピーク高さの 0.55%を特定するための参照として、クロロホルムの炭素のスペクトルを示しています。このピーク底部の幅も 0.11%で示しています（茶）。

^{13}C デカップリング

前例では、水を溶媒として使用しました。しかしながら、スペクトル中における複数のピークを含む有機溶媒は、サンプルの溶解度や調査中の反応に応じて頻繁に使用されます。図 5a)は、エタノールに一定濃度で溶解した 170mM のパラセタモールサンプルのフルスケールスペクトルを示しています。溶媒としてのエタノールの濃度は約 17M なので、溶媒の信号のみが実サイズのスケールで表示されます。100 倍のズームにより、大きな溶媒のベースに含まれるパラセタモールのピークシグナルを特定できます（図 5 b）。この例は、Spinsolve レシーバーが飽和の影響を示したり、感度を損なうことなくきちんと溶媒のシグナルを減衰させていることを取得できていることが再度確認できます。3 つの溶媒シグナルの中心での溶媒のピーク抑制を図 5c)で観察することができます。スペクトルの取得前に適用される選択的励起パルスは、約 100 倍の飽和を達成し、溶媒のピークの振幅はパラセタモールのシグナルと同等になります。

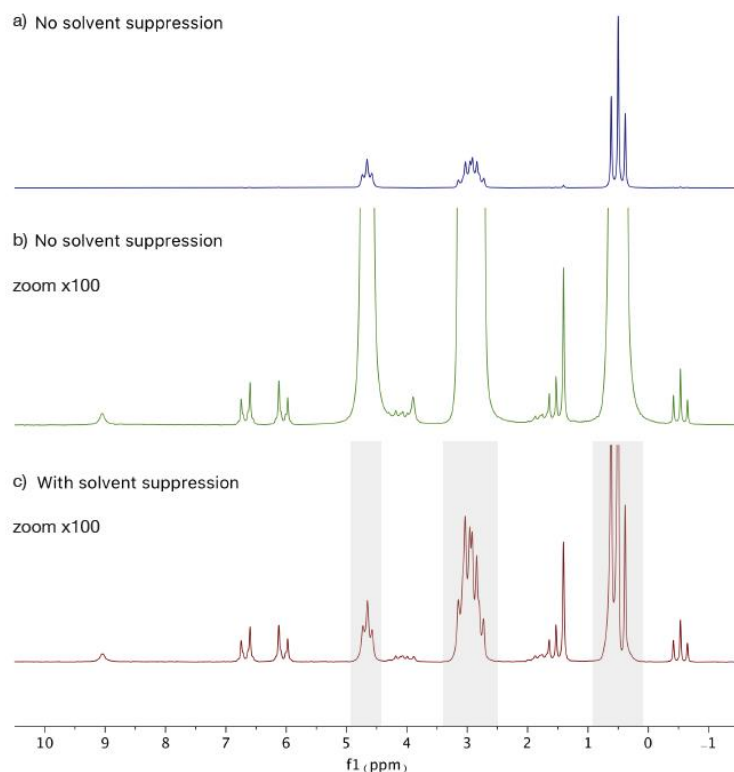


図5 a) 170mM パラセタモールのスペクトル（エタノールに溶解させた）。
 b) a)のスペクトルを 100 倍に拡大したもの
 c) 溶媒であるエタノールのシグナルを抑制させた方法で測定したスペクトル

溶媒を抑制するシーケンスは溶媒ピークのテールを除去する役割を果たすだけでなく、有機溶媒によって引き起こされる新しい問題をすばやく特定します。有機溶媒には CH 基があるため、これらのグループの炭素原子がスペクトルに表示されます。同位体の ^{13}C は 1% 存在し、17M のエタノール分子には ^{13}C が 170 mM あります。この例では、サンプル中のパラセタモールと同じ濃度です。ここで使用されるエタノール濃度は、通常の反応で期待できる濃度と類似しており、炭素原子は、有機溶媒を使用するときに予想される共通の問題です。強力な NMR スペクトルから炭素原子のスペクトルを取り除くことは、炭素デカップリングとして知られています。溶媒抑制期間中または信号取得中は ^{13}C 核の継続的な励起が必要です。図 6 は Spinsolve Carbon ULTRA システムに実装された 2 番目のオプションで得られた結果で、 ^1H 信号と炭素チャンネルの励起を同時にできます。このことが、炭素原子をモニタリングできる装置を含めた、反応モニタリングアプリケーションに有利であると考えます。というのも ^{13}C の測定には測定時間を長時間必要のため、フローアプリケーションで検出しようとすることは核ではないという根底があるからです。

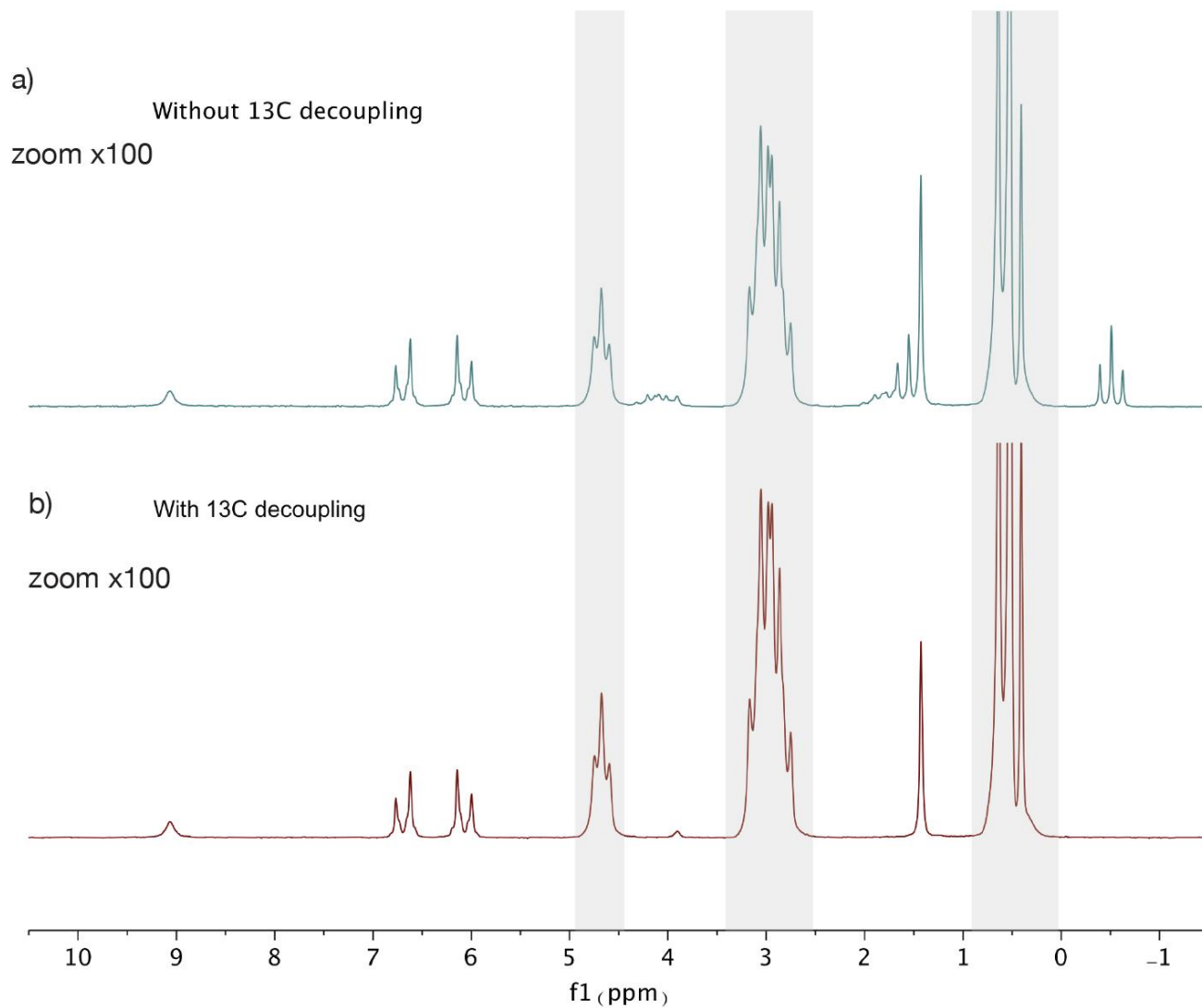


図6：カーボンデカップリングあり a) となし b) で取得されたスペクトルの比較。

炭素デカップリングの存在下では、 ^{13}C 炭素は完全に排除され、製品のシグナルのみが検出されている。