分子設計化学研究室

ECP500, ECA500 NMR 測定マニュアル(第2版)

2011.10.22. 坂井 健男

目次

| 第1部:基本操作と基本1次元・2次元測定 | |
|-----------------------------|----|
| 1-1:サンプルの調整 | 2 |
| 1-2:サンプルの投入~シムの調整まで | 4 |
| 1-3: ¹ H NMR 測定 | 8 |
| 1-4: ¹³ C NMR 測定 | 12 |
| 1-5:COSY 測定 | 18 |
| 1-6:測定終了後 | 25 |
| 第2部:応用1次元測定 | |
| 2-1:DEPT 測定 | 26 |
| 2-2:差 NOE 測定 | 30 |
| 第3部:応用2次元測定 | |
| 3-1 : HMQC | 38 |
| 3-2 : HMBC | 45 |
| 第4部:トラブルシューティング | 48 |
| | |

第1部:基本事項と基本1次元測定

1-1:サンプルの調整

<サンプル調整の前に> カラムクロマトグラフィーの後は、必ず真空ポンプでしっかりと溶媒(酢酸エチ ル・ヘキサンなど)を飛ばしてから収率を出すこと。溶媒が残っている状態で重 さを出すと、嘘の収率になる上に、NMR チャートに溶媒のピークが現れてしま います。

① サンプルを 10 mL のナスフラスコに入れる。

 10 mL +スコル
 サンプル量の目安

 ¹H, ¹³C NMR 両方測定時・・・20, 30 mg 前後

 ¹H NMR のみ測定時・・・3 mg ~ 20 mg 程度が望ましい

 (¹H NMR の上限 30 mg 程度まで、下限は 0.5 mg)

¹³C NMR のみ測定時・・・20 mg ~ 100 mg 程度が望ましい

○ サンプルが濃いと分解能が低下するため、細かいカップリングを読む必要 がある時は、¹H NMR の測定時は濃くしすぎないこと。

¹³C NMR の感度は ¹H NMR よりもずっと悪い (¹³C は天然存在比が低い上、
 感度も ¹H より悪い)。 ¹³C NMR 測定時は基本的に最低でも 20 mg 程度はサンプル
 を用いること(化合物の分子量にもよるが、5 mg 以下だと終夜測定が必要になる)。





(分子設計化学研究室では)左図のように5mLのメスシリンダーにNMR チューブを置いてサンプルを調整してください。3.7 mLのラインのあたりがちょうど4 cmのラインです(3.8~4.2 cmに調整する)。長すぎ、短すぎは分解能の低下につながるので、慎重に高さを確認すること。

なお、ホコリなどが分解能の低下を 引き起こすことがあるので、綿を詰め たパスツールを用いて、サンプルをろ 過してください(綿栓ろ過)。

④ サンプルを上下によく振る。

長さが足りずに後から CDCl₃を追加した場合などは、サンプルを上下によく降ってください。均一に混ざっていない溶液は、大幅な分解能の低下を引き起こします。

1-2:サンプルの投入~シムの調整まで

まず、キムワイプを用いてホルダーをよく引き延ばす。ホルダーに手垢がつくと、プローブの上にあるエアー吹き出し口の穴を塞いでしまい、スピン不良の原因となるので、決して素手で触らないこと。



②上記の素手で触ってはいけないところに注意して以下のようにサンプルをホ ルダーにセットする。



4 cm よりもやや長いとき、あるいはちょうど 4 cmの時は、一番底までサンプルを入れる。

4 cm よりもやや短いときは、CENTERのライン からの距離が等間隔になるよう、サンプルをセットする。 検出部は中心線から±1 cmなので、その領域は覆っていな いと測定できない。



図1:左(ABORT)はサンプルの 強制排除ボタン。押さない。 真ん中は測定中のスロット番 号。右(ADVANCE)はサンプラ ーの回転。

上記写真(図 1)のように「STAC MAN」と書かれたオートサンプラーの上にセットをする。黄色いテープにスロット番号が書いてあるので、サンプラーの回転 ボタン(ADVANCE)を使い、好みの番号を手前に持ってきてセットをする。

パソコン画面

| | Spectrometer Control | | | | | | |
|-----|-----------------------------|-------------|----------|----------|----------------------|---------|--|
| | Tools Queue Machine Options | | | | | | |
| | Info | Connect | Monito | r Unlink | t Free | ? | |
| | | | Conne | et : deu | | | |
| | Queue S | state : OWN | IED | Selected | Job : UNK | NOWN | |
| | | Pri | ior S | Slot To | tal Queue 1 0[min | ſime ←Ó | |
| (1) | Sample | Expmnt | Auto | Sawth | View | Copy | |
| | | 1 | * | .7[Hz] | _ 23 | 8.1[dC] | |
| | LOCK | ON | 63 | 2 | IDL | E | |
| | Iter | 0 S | cans | 0 | | | |
| | He 8 | 9[%] | N2 0 | 53[%] | RG | 17 | |

☑ 2: Spectrometer Control

① 「Sample」をクリックして Sample 画面を表示させる(図 2)



図3:Sample 画面

② サンプルをセットしたオートサンプラーのスロット番号の数字を入力するとサンプルが本体に自動的に吸い込まれる。Sample State と Spiner の部分が両方とも左側につき、緑色になるのを待つ。

溶媒を選択する

④ グラジェントシム+ロックボタンを押す。

⑤ 自動的にロックがかかり、グラジェントシム始まる(3分くらいで終わる)。 表示が、2回目の緑色「LOCK ON」「IDLE」になるのをまつ(表1・図4参照)。

⑥ Lock Control の Gain の数字を 22(溶媒が CDCl₃ であれば)に合わせ、Reset と Recall の間の数字を確認。

⑦ (Recet と Recall の間の数字が 500 以下の場合) Auto Shim を Z1, Z2 に変更

すると、⑤で囲んだ部分の下側が黄色で Shimming に変わるので、これが IDLE に変わるのを待つ(図 5)。

| 1 : サンプル投 入直後 | 2:グラジェン トシム+ロッ クを押した後 | 3:10秒程度後 | 4:12秒程度後 | 5:2分程度(グ ラジェントシ ム終了直後) | 6 : 完了 |
|------------------|-----------------------------|----------|----------|------------------------------|---------|
| LOCK OFF | AUTOLOCK WORKING | LOCK ON | LOCK OFF | AUTOLOCK WORKING | LOCK ON |
| サンプル投入 | まずは、ロッ | ロックがかか | すぐに解除 | グラジェント | 完了 |
| 直後はロック | クをかける。 | ると、 | し、グラジェ | シムを終える | |
| もシムもかか | | | ントシムを開 | と、もう一度 | |
| っていない。 | | | 始する。 | ロックをかけ | |
| | | | | る。 | |

表1:グラジェントシム&ロックボタンを押した後



図4: グラジェントシム中の Spectrometer Control



図5:オートシム中

| 1-4: | 1H NMR 測定 | (通常所用時間 1~2 分) |
|------|-----------|----------------|
|------|-----------|----------------|

| | - Spectrometer Control | |
|---|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------|
| | Tools Queue Machine Options | |
| | Info Connect Monitor Unlink Free ? | |
| | Connect : dcu | |
| | Queue State : OWNED Selected Job : UNKNOWN | |
| | A | Open Experiment Open Experiment |
| | | /usr/delta/global/experiments/*.exp |
| | | cosy.exp 1d_more_exp 2d_more_exp 2d_more_exp daf_cosy.exp |
| | Prior Slot Total Queue Time +Ó 0[min] 0[min] <th>2d_phase_sensitive 3d cfh v th th th th th th th th th th</th> | 2d_phase_sensitive 3d cfh v th th th th th th th th th th |
| 1 | Sampl Expmnt Auto Sawth View Copy | hp_dept_dec.exp hp_inept_dec.exp resy.exp |
| | 17[Hz] 23.1[dC] | |
| | LOCK ON 632 IDLE | |
| | Iter 0 Scans 0 | |
| | He 89[%] N2 63[%] RG 17 | Ok Info Deleto Refresh Cancel ? |

図6:Experiment ボタン

- ① Experiment ボタンを押す。
- ② 地球フォルダーを押す。
- ③ 測定モード
- ¹H NMR を測定するとき→"single puls.ex2 or .exp"
- を選び OK
- 注: ECP-500 では.exp, ECA-500 では.ex2 です。



図7 : single_pulse.exp

<Header タブ>

- ④ filename に名字、ノート番号、メモ、測定法の順に書き込む (例:SAKAI02090Fr6-10-1H など)
- ⑤ auto_gain にチェック。ECA-500 では auto_filter にもチェック。
 force_tune は ¹H NMR のみを測定する時は基本的に不要。後で COSY などの
 2 次元 NMR を測定するときはチェックを入れておくこと。
- <Acquisition タブ>

⑥ scans に積算回数を入力 (通常はデフォルト通り 8 回、サンプル量が 1 mg 程 度の時は 128 回に増やすこと)

u submit をクリック。機械が「サンプル ID を確認してください」としゃべるので、そのまま GO をクリック。

☆積算終了後チャートが表示されます。COSY 測定など2次元測定を行うとき はそのまま残しておくこと。

| | Header | | |
|------------|----------------------------------------|------------|---------------------------------|
| filename | SAKAI02090FrA | | |
| sample_id | | | Instrument |
| comment | Single Pulse Experiment | solvent | CHLOROFORM-D CYCLOHEXANE-D12 |
| process | ve_global 'std_proton_autophase.list': | | D2O DMF-D7 |
| auto_gain | | | DMSO-D6 |
| force_tune | | recvr_gain | 1 5 |

(参考) 1H NMR 測定における各パラメーターの意味

 \boxtimes 7 - 1 : single_pulse.exp

<Header タブ>

filename・・・そのままファイル名になります。後で見て、誰のどの実験のデー タなのかが区別がつくように「名前」「ノート番号」「メモ」「測定法」の順にし っか記録するように。

sample_id、comment · · · その名の通りメモです。変更の必要なし。

process・・・測定終了後、どのような処理を行うかの命令について記述してある。デフォルトで OK。

auto_gain・・・チェック時には Receiver Gain(後述)の値を自動的に決定してくれる。通常はチェックした方がよい。

force_tune・・・チェック時には測定前にオートチューニングを行ってくれる。 ¹Hのみの時は基本的に不要。

<Instrument タブ>

solvent・・・測定溶媒を指定する。間違えないよう注意。

recvr_gain · · · Receiver Gain (後述)の数値を指定できる。

(Receiver Gain とは?)

NMRの測定感度。ラジオで言えばスピーカーのボリュームつまみみたいなもの。 この値が大きすぎると、観測シグナルが大きく出すぎる結果、ベースラインが 波打ってしまう。一方値が小さすぎると、観測シグナルが微弱になる。 自分で設定すると時間がかかるため、通常は auto_gain にチェックを入れて機械

に設定させた方が早い。

| | Acquisition | | |
|--------------|-------------|------------------|------------------|
| x_domain | Proton | | |
| x_offset | 5[ppm] | | |
| x_sweep | 15[ppm] | | |
| x_points | 16384 | | Pulse |
| scans | <u>8</u> | total_time | 00:00:53 |
| x_prescans | | x_angle | ▲ 45[deg] |
| mod_return | Ī | x_90_width | 13.6[us] x90 |
| x_acq_time | 2.18383[s] | x_pulse | 6.8[us] |
| x_resolution | 0.45791[Hz] | relaxation_delay | 4[s] |

 \boxtimes 7 - 2 : single_pulse.exp

<Acquisition タブ>

x_domain・・・測定各種を指定する。¹H がデフォルト。¹⁹F NMR を測るときは、 ここを fluorine にする。

x_offset・・・観測範囲の中心を ppm 単位で指定する。通常はデフォルトでよい。 x_sweep・・・観測範囲を指定する。通常はデフォルトでよい。

☆ x_offset が 5 ppm で、x_sweep が 15 ppm ならば、-2.5 ppm から 12.5 ppm を測 定します。

x_points・・・上記の観測範囲を何等分するのか指定できる。カメラで言う画素 数みたいなもので、この数値が小さすぎると極めて粗いチャートになるが、大 きすぎると測定に時間がかかる。通常はデフォルトでよい。

scans・・・積算回数。

x_prescans・・・積算前の空スキャン(ダミースキャン)。1H 測定時は0回でOK。 mod_return・・・デフォルトでOK。

<Pulse タブ> Pulse タブは全てデフォルトで OK です。

total_time ・・・合計の積算時間

x_angle・・・倒すフリップ角について。

x_90_width・・・90 度パルス角の値。

x_plus・・・フリップ角×90度パルスの結果

relaxation_dlay・・・上記のフリップ角から安定な状態に戻る(縦緩和)するまでの 待ち時間(縦緩和の待ち時間)。ここが小さすぎると、各原子核が緩和しきる前に 観測をやめてしまうため、積分比が狂う。一方長すぎると、測定に時間がかか る。

| 1 - | -4 | : | ¹³ C | NMR | 測定(所 | 用時間 | 5分 | 程度以 | (上) |
|-----|----|---|-----------------|-----|------|-----|----|-----|-----|
|-----|----|---|-----------------|-----|------|-----|----|-----|-----|

| | Spectrometer Control | • | |
|---|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------|---------------------------------------------------------------------------|
| | Tools Queue Machine Options | | |
| | Info Connect Monitor Unlink F | ræ ? | |
| | Connect : deu | | |
| | Queue State : OWNED Selected Job : U | NKNOWN | |
| | | | Open Experiment o |
| | | T | |
| 1 | Prior Slot Total Que GO Prior 0[r Sample Example Auto | ae Time +0 nin] | 3d hp_chshf.exp cfh p_coloc.exp hp_dept_dec.exp hp_inept_dec.exp |
| | | 23.1[dC] | |
| | Iter 0 Scans 0 | E | |
| | He 89[%] N2 63[%] RG | 17 | Ok Info Delete Refresh Cancel |

 $\boxtimes 8$: single_pulse_dec.exp

- ① Experiment ボタンを押す。
- ② 地球フォルダーを押す。
- ③ 測定モード
- ¹³C NMR を測定するとき→"single pulse_dec.ex2 or .exp"
- を選び OK
- 注: ECP-500 では.exp, ECA-500 では.ex2 です。





図8:single_pulse_dec.exp

<Header タブ>

(b) filename に名字、ノート番号、メモ、測定法の順に書き込む
 (例:SAKAI02090Fr6-10-13C など)

(b) auto_gain、force_tune にチェック。ECA-500 では auto_filter にもチェック。
 <Acquisition タブ>

 ① scans に積算回数を入力 ((サンプル量 100 mg)は 64~128 回、通常(サンプル 量 30 mg)は 256 回、薄いとき(サンプル量 10 mg 以下)なら 1000~10000 回が目安)
 < pluse タブ>

18 積算合計時間が確認できます。

(19) submit をクリック。機械が「サンプル ID を確認してください」としゃべるので、そのまま GO をクリック。

| - Spectrometer Control | | | | | | |
|------------------------|--------------|------------|----------|------------------|----------|--------------|
| Tools Qu | aeue Machi | ne Optio | ms | | | |
| Info | Connect | Monito | r Unlii | nk Fr | œ ? |] |
| | | Conne | et : deu | | | |
| Queue | State : OWI | VED | Selecte | d Job : UN | IKNOWN |] |
| | Pr | ior S | Not 1 | Total Oueu | e Time + | |
| GO | | | | onar Quen | in] | |
| Sample | Expmnt | Auto | Savth | View | Сору | |
| | 1 | * | L7[Hz] |) _ E | 22.1[#C] | |
| LOCH | CON | 63 | 2 | I | DLE | |
| Iter | 0 5 | Scans | 0 | | | |
| He 8 | 39[%] | N2 | 63[%] | RG | 17 | and a second |

(オプション)¹³C 積算時に途中経過を確認したいとき(¹H 測定にも応用可)

図9:

方法1:View を用いる方法

Spectrometer ControlのView(図9)をクリックすると、View VectorとProcess Vector をクリックするとリアルタイムで積算状況が確認できます(図10,図11)。4級炭 素が出ているかどうかの確認などでは、通常こちらを使ってください。 ただし、この方法は2DNMRには使えません。

| - | = dcu | | | | • |
|---|---------------------|----------------------|------------|-----|----------|
| | wassing Russ | | | | |
| | View Vector 🔌 | | | | |
| | Process Vector | | | | |
| | Freeze Vector | | | | |
| | Clear Vector | | | | |
| | Scans Remaining | | | | |
| | 15 | | | | |
| _ | Iterations | | | | |
| Ľ | 1 | | | | |
| _ | Spinner | | | | |
| L | 17[Hz] | | | | N |
| | | | | | |
| | Current Time | Expected Finish | Delta Time | Int | |
| 1 | 9-OCT-2011 12:37:57 | 19-OCT-2011 12:38:23 | 000:00:26 | | |

図 10: Vector

| 📥 dcu | • |
|----------------------|-------------------------------------------|
| Processing Ruler | |
| View Vector | 113 |
| Process Vector | |
| Freeze Vector | 0.0 |
| Clear Vector | 0.7 |
| Scans Remaining | |
| 9 | |
| Iterations | |
| 1 | |
| Spinner | X:kilohertz |
| 16[Hz] | P0: • 0 P1: • 0 PP: 50[%] |
| | +5 +10 -5 -10 +5 +10 -5 -10 Auto Phase |
| Current Time | Expected Finish Delta Time Integral Value |
| 19-OCT-2011 12:38:09 | 19-OCT-2011 12:38:23 000:00:14 |

図 11: View を用いた途中経過の確認

方法2:Copyを用いる方法

Copy をクリックするとこれまでの積算までの結果を用いたチャートを保存して 表示します。ファイル名は(自分がつけたファイル名_copy)という名前がつきま す。この方法は、2D にも使えますが、やり過ぎると無駄なファイルが増えて重 くなってしまうので、基本的には使わないこと。

☆十分にピークが出ており、測定を途中で中断するときは Spectrometer Control から測定中のキューを選び、赤い「STOP」ボタンを押す。それまでの積算結果 は自動で保存される。

| | Header | | |
|------------|----------------------------------------|------------|---------------------------------|
| filename | SAKAI02090FrAbem | ſ | la star un su t |
| sample_id | I | L | Instrument |
| comment | Single Pulse with Broadband Decoupling | solvent | CHLOROFORM-D CYCLOHEXANE-D12 |
| process | ve_global 'std_carbon_autophase.list'] | | D2O DMF-D7 |
| sn_ratio | | | DMSO-D6 |
| auto_gain | | recvr_gain | 15 |
| force_tune | | irr_noise | WALTZ |

(参考) 13C NMR 測定における各パラメーターの意味

⊠ 8-1: Single_pluse_dec.exp

<Header タブ>

filename・・・そのままファイル名になります。後で見て、誰のどの実験のデータ化が区別がつくように「名前」「ノート番号」「メモ」「測定法」の順にしっか 記録するように。

sample_id、comment・・・その名の通りメモです。変更の必要なし。

process・・・測定終了後、どのような処理を行うかの命令について記述してある。デフォルトで OK。

sn_ratio・・・SN比がこの値に達したときに測定をやめる。0だと、SN比に関係なく、積算回数だけ積算を行う。デフォルト通り0でOK。

auto_gain・・・チェック時には Receiver Gain(1H パラメーターの項参照)の値を 自動的に決定してくれる。通常はチェックした方がよい。

force_tune・・・チェック時には測定前にオートチューニングを行ってくれる。 ¹³C の時はチェック入れた方がベター。

<Instrument タブ>

solvent · · · 測定溶媒を指定する。間違えないよう注意。

recvr_gain ・・・Receiver Gain (1H パラメーターの項参照)の数値を指定できる。 オートに任せること。

irr_noise・・・デフォルト(WALTZ)でOK。

| | Acquisition | | |
|--------------|-------------|------------------|-----------------|
| x_domain | Carbon13 | | |
| x_offset | 100[ppm] | | Pulse |
| x_sweep | 250[ppm] | total_time | 00:04:34 |
| x_points | 32768 | x_angle | 3 0[deg] |
| scans | 128 | x_90_width | 11[us] x90] |
| x_prescans | 4 | x_pulse | 3.66667[us] |
| mod_return | 1 | relaxation_delay | 1[s] |
| x_acq_time | 1.0422[s] | irr_domain | Proton |
| x_resolution | 0.95951[Hz] | irr_offset | 5[ppm] |

⊠ 8-2: Single_pluse_dec.exp

<Acquisition タブ>

x_domain・・測定各種を指定する。¹³C がデフォルト。³¹P NMR を測るときは、 ここを phosphorous にする。

x_offset・・・観測範囲の中心を ppm 単位で指定する。通常はデフォルトでよい。 x_sweep・・・観測範囲を指定する。通常はデフォルトでよい。

☆ x_offset が 100 ppm で、x_sweep が 250 ppm ならば、-25 ppm から 225 ppm を 測定します。

x_points・・・上記の観測範囲を何等分するのか指定できる。カメラで言う画素 数みたいなもので、この数値が小さすぎると極めて粗いチャートになるが、大 きすぎると測定に時間がかかる。通常はデフォルトでよい。

scans・・・積算回数。

x_prescans・・・積算前の空スキャン(ダミースキャン)。デフォルトでOK。

mod_return・・・デフォルトで OK。

<Pulse タブ> Pulse タブは全てデフォルトで OK です。

total_time ・・・合計の積算時間

x_angle・・・倒すフリップ角について。

x_90_width・・・90 度パルス角の値。

x_plus・・・フリップ角×90度パルスの結果

relaxation_delay ・・・縦緩和の待ち時間

irr_domain・・・照射核の指定。13C NMR の測定時は 1H を照射するため、1H

と13Cのカップリングは観測されない。

irr_offset・・・どこに照射するかの指定。

1-5:COSY 測定(所用時間5分程度)

<COSY で何が分かるの?>

COSY は横軸(f2 軸)、縦軸(f1 軸)共に ¹H NMR のチャートを載せている、 ¹H-¹H の 2 次元です。プロトンとプロトンがカップリングしている部分に 交差ピークが現れます。

<どういうときに測定すればいいの?>

分子設計化学研究室では、(単純な構造の化合物以外は)常に COSY を測 定することを推奨しています。

一般的には、化合物がやや複雑で、1次元のプロトンチャートだけでは 十分に帰属ができないときに測定します。

<サンプル調整について>

通常の¹H NMR を測る時と同様の濃度で OK です。

○ COSY 測定

<COSY 測定の前に>

COSY を測定する前に¹H NMR の測定を行っておくことをお勧めします (範囲設定のために)。測定結果より出てくるチャートは、閉じずにそのま ま残しておいてください。

<COSY 測定の手順>

| | Spectrometer Control | |
|---|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| | Tools Queue Machine Options | |
| | Info Connect Monitor Unlink Free ? | |
| | Connect : dcu | |
| | Queue State : OWNED Selected Job : UNKNOWN | |
| 1 | Prior Slot Total Queue Time •0 0[min] 0[min] Sample Expmnt Auto Sawth View Copy 1 17[Hz] 23.1[dC] LOCK ON 632 IDLE Iter 0 Scans 0 He 89[%] N2 63[%] RG 17 | Open Experiment Ausr/delta/global/experiments |

① Experiment ボタンを押す。

ECP-500利用時:

- ② 家フォルダーを押す。
- ③ 測定モード

COSY を測定するとき→"fgcosy.exp"

を選び OK



| | Acquisition | | Pulse | |
|--------------|--------------|------------------|-----------------|---|
| | | total_time | 00:02:28 | |
| x_domain | Proton | grad_selection | 1:1 | |
| x_offset | 6[ppm] | x_90_width | 10[us] x90] | |
| x_sweep | 12[ppm] 6 | pulse_angle_1 | 90[deg] | |
| x_points | 512 | pulse_1 | 10[us] | |
| scans | | pulse_angle_2 | 9 0[deg] | Þ |
| x_prescans | 4_ (7) | pulse_2 | 10[us] | |
| mod_return | | grad_1 | 1[ms] | |
| y_points | 128 | grad_1_amp | 5 0[%] | |
| | | grad_2 | [1[ms]] | |
| x_acq_time | 85.30603[ms] | grad_2_amp | 4 50[%] | Þ |
| x_resolution | 11.7225[Hz] | grad_recover | 1[ms] | |
| y_acq_time | 21.32651[ms] | grad_shape | square | |
| y_resolution | 46.88999[Hz] | relaxation_delay | 1[s] | |
| | | | | _ |

| Header | Instrument | View X | 2 | |
|-------------|------------|--------|---|---|
| Acquisition | Pulse | View Y | | 8 |
| Submit | ? | View Z | | |

- ④ filename に名字、ノート番号、メモ、測定法の順に書き込む (例:SAKAI02090Fr6-10-COSY など)
- ⑤ auto_gain にチェック、force_tune のチェックは外す。

<Acquisition タブ>

⑥ 通常、scans は1回のままで OK です。サンプルが薄いとき(1 mg 以下など) は回数を4回や16回に増やして測定してください。

⑦ y_points の数を 128 から 256 に変更する。

<範囲指定>

COSY の範囲はピークの出ている範囲を全て指定します。最低限 TMS と CHCl₃ のピークは入るように範囲指定すること。

⑨まず、測定した¹HNMRのチャートに行き、測定したい範囲へとチャートを拡大します。下図の赤丸で囲んだ部分にカーソルを持って行きます。



| <u>्</u> ि ि के | Q R | Zoom | * |
|-----------------|-----|-----------|------------|
| | | Zoom | Q |
| | | Select | R |
| | | Region | |
| | | Cursor | + |
| | | Reference | •* |
| | | Peak | \Diamond |
| | | Pick | \oplus |
| | | Integral | l |
| | | Text | Ŧ |
| | | PIP | E. |
| | | Offset | |
| | | Molecule | So. |

<拡大し損ねたとき> 拡大し損ねたときは、□囲みの「K」を選んで、Reset View もしくは Unzoom を選び縮小してください。



① 次に、測定条件を入力するウインドウに行き、右下の「指マーク」をクリックし、次に「View X」をクリックします。

すると、カーソルが矢印から指に変わります。

| x_90_width | | 1: | 3.6[us] | x90 | | | |
|---------------|------|-----------------|---------|-----|----------|---|----------|
| pulse_angle_1 | | ≤90[deg] | | | | | |
| pulse_1 | | 13.6[us] | | | | | |
| pulse_angle_2 | | 4 90[deş | £] | | | | |
| Header | Inst | rument | View 2 | | ~ | - | |
| Acquisition | F | Pulse | View Y | Y - | | | W |
| Submit | | ? | View 2 | | | | |



⑩ そして、その指マークのカーソルを、拡大した 1H NMR チャートへと持って 行き、チャートの上(どこでも良い)をクリックします。

Acquisition タブの x_offset と x_sweep が、その範囲を表す数字になれば OK。
 注:x_offset は測定範囲の中心、x_sweep は測定幅です。下図の場合、約 3.8 ppm が中心で約 7.9 ppm が幅なので、測定範囲は約-0.15 ppm~約 7.75 ppm となります。

| Acquisition | | | | |
|-------------|--------------|--|--|--|
| x_domain | Proton | | | |
| x_offset | 3.83376[ppm] | | | |
| x_sweep | 7.93379[ppm] | | | |
| x_points | 512 | | | |

② Submit をクリックして測定を開始します。COSY など2次元は測定終了後、 チャートが表示されませんので、Spectrometer Control のキューが空になり次第サンプルを取り出して終了してください。

| | Acquisition | | Pulse |
|--------------|--------------|------------------|----------------|
| lease and | | total_time | 00:02:28 |
| x_domain | Proton | grad_selection | 1:1 |
| x_offset | 6[ppm] | x_90_width | 10[us] x90 |
| x_sweep | 12[ppm] | pulse_angle_1 | 90[deg] |
| x_points | 512 | pulse_1 | 10[us] |
| scans | <u> </u> | pulse_angle_2 | 90[deg] |
| x_prescans | 4 | pulse_2 | 10[us] |
| mod_return | I | grad_1 | 1[ms] |
| w nointe | | grad_1_amp | ▲ 50[%] |
| y_points | 120 | grad_2 | 1[ms] |
| x_acq_time | 85.30605[ms] | grad_2_amp | 4 50[%] |
| x_resolution | 11.7225[Hz] | grad_recover | 1[ms] |
| y_acq_time | 21.32651[ms] | grad_shape | square |
| y_resolution | 46.88999[Hz] | relaxation_delay | 1[s] |

(参考)COSY 測定における各パラメーターの意味

<Aquisiton タブ>

x_domain・・・測定各種を指定する。COSY 測定時はデフォルトの Proton。

x_offset · · · 観測範囲の中心を ppm 単位で指定する。

x_sweep・・・観測範囲幅。

☆ x_offset が 5 ppm で、x_sweep が 15 ppm ならば、-2.5 ppm から 12.5 ppm を測 定します。

x_points・・・f2 軸方向の観測範囲を何等分するのか指定できる。カメラで言う 画素数みたいなもので、この数値が小さすぎると極めて粗いチャートになるが、 大きすぎると測定に時間がかかる。2 次元測定時は大きすぎると時間がかかるの で 512 or 1024 が妥当。

scans・・・積算回数。

x_prescans・・・積算前の空スキャン(ダミースキャン)。デフォルトでOK。

 $mod_return \cdot \cdot \cdot \vec{r} \forall \pi \nu \land \vec{c} OK_{\circ}$

y_points · · · f1 軸方向の観測範囲を何等分するのか指定できる。128 だとやや 粗くなるので 256 がよい。

<Pulse タブ>

total_time・・・積算にかかる時間。y_points を 256 にすると、通常は 5 分弱程度。 Pluse タブの内容については、デフォルト通りやっておくのが無難です。

4:測定終了後

☆ 全ての測定が完了した後は、DELTA 上では処理をしないのでチャートのウ インドウは消しておくこと。

| 2 | $\left(\right)$ | — dcu | | • |
|---|------------------|---------------------------------------------------------------|------------------------------------------|------------------------------------------|
| | Ν | Options | | |
| | | Field Strength | Helium | Nitrogen |
| | | 11.7473579[T] | 89[%] | 63[%] |
| | | Sample State | Spinner | Temperature |
| | | | 😒 🖸 🐹 | <u> </u> |
| | | Probe ID 2692 | Current 17[Hz] | Current 23.1[dC] |
| | 1 | Filot 1 | Target 15[Hz] | Target |
| | | Solvent | Lo | ek Control |
| | | ACETIC_ACID-D3 ACETONE-D6 ACETONITRILE-D3 BENZENE-D6 | Gain 22 Level 180 | |
| | | CHLOROFORM-D CYCLOHEXANE-D12 | Phase 198.5[de | |
| | | CHLOROFORM-D | Offset 70333.1[| |
| | | User Shims System S | Shims [| B Refresh Shims ? |
| | | | 1 1 1 | a a a a |
| | | | | |
| | | Shim Groups Z1 Z2 Z3 Z4 | et 637 R | ecall AUTOSHIM OFF |
| | | SHIM_Z1 | I_Z2 SHIM_Z3 | SHIM_Z4 |
| | | 247.92[Hz] -3 | 58.29[Hz] -132.93[H | [z] |
| | | +5x +10x +50x +5x -5x -10x -50x -5x | +10x +50x +5x +10x -10x -50x -5x -10x | +50x +5x +10x +50x -50x -5x -10x -50x |

図 12: Sample 画面

 Slot 番号を0にすると、サンプルが排出される。次のサンプルがある 場合は、次のサンプルをセットしたスロット番号にして、③に戻る。

② 最後に、Sample 画面の window を閉じて終了。

注: Delta と Spectrometer Control は閉じないように。万が一、閉じた場合 はトラブルシューティングへ。

第2部:応用1次元測定

2-1:DEPT の測定(所用時間5分程度以上)

<DEPT で何が分かるの?>

DEPT は基本的には特殊処理をした¹³C NMR です。これを測ることにより、 ¹³C NMR のそれぞれのピークにプロトンが何個ついているかが分かりま す。

<どういうときに測定すればいいの?>

1: CDCl₃の三重線にピークが被ってしまい、よく分からないとき。 後述の通り、CDCl₃の炭素にはHがついていないので、DEPTのチャート には CDCl₃の三重線は現れません。

2:化合物が複雑で帰属がつかないとき。

2次元のHMQC(HSQC)やHMBCと組み合わせると威力を発揮します。

<サンプル調整について>

DEPT は¹³C を観測します。よって、¹³C NMR に準じた濃度でサンプルを 調整してください。

<で、具体的にどうなるの?>

DEPT 測定では測定系列にプロトン θ パルス照射を組み込みます。下の表の様に、DEPT 測定では3種類のパルスをかけることが可能です。

| 照射パルス角 | 45° | 90° | 135° |
|--------------|-----|-----|------|
| 1級炭素 (H3つ) | | | |
| 2級炭素 (H2つ) | | | T |
| 3級炭素 (H1つ) | | | 1 |
| 4 級炭素 (H なし) | | | |

⊥:上向きにピークが観測される。⊤:下向きにピークが観測される。--:ピークが消え観測されない。

基本的には135°のパルスをかけた DEPT を測定するだけで、2級と4級は 識別が可能です。残る1級と3級の識別が必要なときのみ、90°のパルス をかけ識別します。45°を測定する意味は通常ありません。 2-1: DEPT 測定

測定法(DEPT)

| | - Spectrometer Control • | |
|---|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|
| | Tools Queue Machine Options | |
| | Info Connect Monitor Unlink Free ? | |
| | Connect : dcu | |
| | Queue State : OWNED Selected Job : UNKNOWN | |
| 1 | Image: Constraint of the second state of the second st | Open Experiment Ausr/delta/global/experiments Ausr/delta/global/experiments |

- ① Experiment ボタンを押す。
- 地球フォルダーを押す。
- ③ 測定モード

DEPT を測定するとき→"hp_dept_dec.exp or ex2"

を選び OK

注: ECP-500 では.exp, ECA-500 では.ex2 です。



| | _ | | |
|---|----------|----|----|
| ^ | - | ~ | Υ. |
| | L | ς. | ۱. |
| | r | х | |

| | | Acquisition | | Pulse | | |
|------|--------------|-------------|------------------|------------------|---|--------------------------|
| | x_domain | Carbon13 | total_time | 00:03:32 | | |
| | x_offset | 100[ppm] | x_pulse | 11[us] x90] | | |
| | x_sweep | 250[ppm] | irr_pulse | 15[us] in 90 bi | | |
| | x_points | 32768 | selection_angle | 1 35[deg] | | D |
| | scans | 64 | section_pulse | 22.5[08] | | $\overline{\mathcal{O}}$ |
| | mod_return | <u>1</u> | j_constant | 140[Hz] | | |
| | x_prescans | 4 | relaxation_delay | 2[s] | | |
| | x_acq_time | 1.0422[s] | irr_domain | Proton | ⇒ | |
| Sec. | x_resolution | 0.95951[Hz] | irr_offset | 5[ppm] | | |

<Header タブ>

 ④ filename に名字、ノート番号、メモ、測定法の順に書き込む (例: SAKAI02090Fr6-10-dept135 など)

⑤ auto_gain にチェック。ECA-500 では auto_filter にもチェック。force_tune は 通常の 13 C から連続で測るのであればチェックの必要はない。

<Acquisition タブ>

⑥ scans に積算回数を入力 (積算回数は ¹³C NMR の半分の回数でよい(サンプ ル量 100 mg)は 32 回、通常(サンプル量 30 mg)は 128 回、薄いとき(サンプル量 10 mg 以下)なら 500~5000 回が目安)

<Pulse タブ>

⑦ selection angle にかけるパルス角を指定します。デフォルトは 45[deg]になっているので、変更するのを忘れないように!

⑧ submit をクリックして測定開始。

(参考) DEPT 測定における各パラメーターの意味(抜粋) 基本的には 13C NMR と同じです。

| | Pulse | | | | | |
|------------------|-----------------|----------|--|--|--|--|
| total_time | 00: | 00:03:32 | | | | |
| x_pulse | 11[us] | x90 | | | | |
| irr_pulse | 15[us] in 90_hi | | | | | |
| selection_angle | 4135[deg] | | | | | |
| selection_pulse | 22.5[us] | | | | | |
| j_constant | 140[Hz] | | | | | |
| relaxation_delay | 2[s] | | | | | |
| irr_domain | Proton | | | | | |
| irr_offset | 5[ppm] | | | | | |

<Pulse タブ> Pulse タブは全てデフォルトで OK です。

total_time・・・合計の積算時間

x_pulse · · · X channel の 90 度パルス値

irr_pulse · · · 照射 channel の 90 度パルス値

selection_angle • • • 45 or 90 or 135

selection_pulse · · · 照射 channel のパルス値(irr_pulse×selection_angle÷90)

j_constant・・・C-H間のカップリング値(見たい炭素の値からあまりに大幅にず れているとよくないようですが、アルキンを測るときなども気になったことは ありません。普通は初期値でOK。)

(注) 一般的な C-H 間のカップリング値 (Pretsch, E.; B⁻hStructure Determining of Organic Compounds より)

| H ĊH₃ | H₂ ∠ | н с́н₂он | Н С=СН ₂ Н | I-0 | О́С−н | н−с≕−н |
|----------|---------|--------------------|------------------------------------|--------|--------|--------|
| 125 Hz | 160 Hz | 143 Hz | 156 Hz | 159 Hz | 202 Hz | 249 Hz |

irr_domain・・・照射核の指定。13C NMR の測定時は 1H を照射するため、1H と 13C のカップリングは観測されない。

irr_offset・・・どこに照射するかの指定

2-2:差 NOE 測定(所用時間 15分程度)

<差 NOE 測定で何が分かるの?>

照射したプロトンのピークに対し、物理的に近い距離のプロトンがどれ かが分かります。

一般的には、差 NOE の強度はプロトン間の距離の 2 乗に反比例して弱 くなっていくと言われ、2.5 Å 前後では中程度、それを超えると弱くなり、 3.5 Å を超えるとほとんど観測されないと言われています。また、5.0 Å を 超えると、全く観測されないそうです。



<差 NOE を測るときはどんなとき?>

小~中くらいの分子のジアステレオマーや二重結合のシス or トランス を決定するときなどに測定します。

NOE は一般的に分子量が 1000 を超えるような中程度以上の分子だと検 出されづらいと言われており、その場合 ROE や ROESY を用いるとよい と言われています。

<差 NOE 測定の実際>

NOE(Nucleus Overhauser Effect)の原理については、各専門書に説明が書い てありますのでそちらを読んでください。ここでは、差 NOE 測定の流れ について、次のエポキシスルホンの Haを照射したと仮定して、説明しま す。(実際は、エポキシスルホンの cis or trans は差 NOE をとるまでもなく、J 値の大小を比べることで決まりますが、、)







図:差 NOE スペクトルのイメージ図

さて、チャート1に通常の¹H NMR を示しました。差 NOE 測定では、 まずこの¹H NMR を測ります。

チャート2は H_aを照射したチャートです。この時、H_aは完全に消えて なくなり、さらに、近接する H_βの積分値が少しだけ増加します。一方で、 H_aから距離的に遠い、p-トルイル基やフェニル基のピークの積分値に変化 はありません。

チャート3は、チャート1からチャート2を差し引いたものです。する と、照射したHaは丸々残り、チャート2で積分値の増加したHpのピーク が下に現れます。これが、差 NOEのチャートです。照射したピークの積 分値に対し10%の増分ですので、10%の NOE が観測されたことになりま す。この増分によって、それらのプロトンが近いか遠いかも判別できるわ けです。

このように、差 NOE のスペクトルをとることで、ピークの近接度が分かり、相対配置の決定に大きな威力を発揮します。

測定法(差 NOE)

<差 NOE 測定を行う前にやるべきこと>

まずは、¹H NMR のチャートを測定し、全て帰属を行い、平面構造を確 定します。そして、照射するプロトンを決めておかなければいけません。

照射したいプロトンが他のプロトンと重なっている時は、重溶媒を検討 して十分にピークが分離するものを見つけておいてください。

○ ¹H NMR を測定し、Receiver Gain 値を確認する

① 差 NOE を測る際には、事前に¹H NMR を測定し、Reciever Gain 値を 確認しておくと時間が短縮できます。まずは通常通り、¹H NMR を測定し てください。測定終了後、Delta 上のログを確認してください。ログの中 でも一番下(自分の測定のログ)を参照し、「Gain Value Established」と書か れている部分の数字(下図ならば 17)を記録しておきます。



○ 照射するプロトンの化学シフトを確認する

② 表示された通常の 'H NMR のチャートより照射するプロトンの化学シ フトを確認します。下図は測定後表示されたの 'H NMR チャートです。 この右上(赤丸じるしのところ)にカーソルを近づけます。



② すると、以下のようにタブが広がるので、右側からズームを選びます。 カーソルが虫眼鏡に変わるので、ドラッグアンドドロップを用いて、 照射したいピークを拡大します。

| ·Q.₹.+ | t. | Zoom | |
|--------|----|-----------|------------|
| | | Zoom | Q |
| | | Select | R |
| | | Region | |
| | | Cursor | + |
| | | Reference | •*← |
| | | Peak | \Diamond |
| | | Pick | \oplus |
| | | Integral | ſ |
| | | Text | T |
| | | PIP | E |
| | | Offset | |
| | | Molecule | s |

<拡大し損ねたとき>

拡大し損ねたときは、□囲みの「K」を選んで、Reset View もしくは Unzoom を選び縮小してください。



③ 次に、メニューから Cursor を選びます。



④ 一番左の「+」のアイコンを選びます。







○ 差 NOE 測定

| | Header | | |
|------------|-------------------------------------------|------------|---------------------------------|
| filename | SAKAI02090FrAnOe5.3ppm | | |
| sample_id | | | Instrument |
| comment | Difference NOE Experiment | solvent | CHLOROFORM-D CYCLOHEXANE-D12 |
| process | ss_interactive_global 'std_proton.list':] | | D20 DMF-D7 |
| auto_gain | | | DMSO-D6 |
| force_tune | | recvr_gain | ▲ 17] |

| | | | Pulse |
|--------------|----------------------------------------------|------------------|---------------|
| | Acquisition | total_time | 00:12:17 |
| x_domain | Proton | x_angle | 90[deg] |
| x_offset | 5[ppm] | x_width | 13.6[us] x90] |
| x_sweep | 15[ppm] | x_pulse | 13.6[us] |
| x_points | 1 6384 | relaxation_delay | 5[s] |
| scans | 32 | irr_domain | Proton |
| x_prescans | <u>4</u> | on_resonance | 4.30191[ppm] |
| mod_return | <u> 1 </u> | off_resonance | -10[ppm] |
| x_acq_time | 2.18383[s] | irr_time | 3 <u>[</u> s] |
| x_resolution | 0.45791[Hz] | irr_attenuator | 25[dB] |

- ⑥ filename に名字、ノート番号、メモ、測定法、照射プロトンの順に書き込む
 (例: SAKAI02090Fr6-10-NOE5.3ppm など)
- ⑦ auto_gain、force_tune の $\underline{fx y ft}$

<Instrument タブ>

⑧ recver_gain に①で記録した Reciever Gain 値を入力する。

<Acquisition タブ>

⑨ scans に積算回数を入力。通常は、32回積算。

<Pulse タブ>

- ⑩ on_resonance に⑤で記録した照射する化学シフト値を入力する。
- ⑪ irr_attenator を 25 dB に変える。
- ⑫ submit をクリックして測定開始。これにより、通常のプロトン,照射したチ
- ャートを連続して測定し、自動で差をとったチャートが表示されます。

○ 差 NOE 測定がうまく行かないとき

差 NOE 測定は非常に繊細で、有機化学者が汎用する NMR 測定の中でも難しい 部類に属します。うまく行かない場合は、次のことを試して見てください。

Q: もうちょっと強い NOE が出るはず・・・・

A1:等価なDの数が多い重溶媒に変えてみましょう。

NOE はロックシグナルが強いほど、鮮明にでるといわれています。ノイズに隠れて余りよく見えない場合は、重ベンゼン・重アセトンなど等価な D の数が多い重溶媒に変えて、積算回数を増やすのも一つの手です。

A2: 脱気を行ってみましょう。

NOE の強度は酸素の影響を受けると言われています。特に微弱な NOE を観測す るときは脱気を行う必要があります。

Q: 何か、化学シフトが近い他のピークも照射してしまったみたい・・・

A:照射強度を下げて測定してみましょう。

irr_attenator の数字を大きく、26dB もしくは 27dB にしてみましょう。それでも ダメな場合は、他のよくピークが分離する重溶媒を探しましょう。

第3部:2次元測定

3-1:HMQC 測定(所用時間 12 分程度)

<HMQC で何が分かるの?>

HMQC は横軸(f2 軸)に 1H NMR のチャート、縦軸(f1 軸)に ¹³C NMR(もし くは DEPT135)のチャートを載せている、¹H-¹³C の 2 次元です。結合して いる H-C 間に交差ピークが現れます。

<どういうときに測定すればいいの?>

化合物がやや複雑で、1次元のプロトンやカーボンのチャートだけでは 十分に帰属ができないときに測定します。

<HMQC は実際のところ何を測定しているのか?>

HMQC は¹H と¹³C の間に現れるカップリングのうち、140 Hz 前後のモノ に対して交差ピークを与えるように条件設定されています。

○ 一般的な¹H-¹³C 間のカップリングについて

通常、以下のような化合物の C-H 間のカップリング定数(J 値)は以下の通りです。

C¹-H¹・・・120~180 Hz 程度

- C^1 -H²・・・1~6 Hz 程度
- C¹-H³・・・0~10 Hz 程度

C¹-H⁴・・・通常 0 Hz



よって、Cに直接くっついているHとのみ、交差ピークが検出されます。

<HMQC 測定の前にやっておくこと>

HMQC を測定する前に¹H NMR, ¹³C NMR, DEPT135 の測定を行っておく こと。サンプルは¹³C NMR が容易に測定できる位の濃度はあった方が望 ましいです。

| | Spectrometer Control | |
|---|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| | Tools Queue Machine Options | |
| | Info Connect Monitor Unlink Free ? | |
| | Connect : dcu | |
| | Queue State : OWNED Selected Job : UNKNOWN | |
| 1 | Image: Prior Slot Total Queue Time ✓ G0 Prior Slot Total Queue Time ✓ G1 0[min] 0[min] ✓ Sample Expmnt Auto Sawth View Copy I 10[min] 17[Hz] 23.1[dC] LOCK ON 632 IDLE Iter 0 Scans 0 He 89[%] N2 63[%] RG 17 | Open Experiment /usr/delta/global/experiments/ 1d_more_exp 2d_more_exp difference_noe_1d.expl 2d_phase_sensitive 3d cfh > > > > > > > > > > > > > > > > > > > > > > > > > > > > > > > > </th |

① Experiment ボタンを押す。

ECP-500利用時:

- ② 家フォルダーを押す。
- ③ 測定モード

hmqc を測定するとき→"fghmqc.exp "

を選び OK



| | Acquisition | [| Pulse | | |
|--------------|--------------|------------------|----------------------|--------|--|
| x_domain | Proton | total_time | 00:04:56 | | |
| x_offset | 3.83376[ppm] | grad_selection | 13C = 2:2:1 | | |
| x_sweep | 7.93379[ppm] | x_pulse | 13.6[us] | x90] | |
| x_points | 1024 | y_pulse | 11[us] | y90_hi | |
| scans | 2 8 | j_constant | 140[Hz] | | |
| mod_return | <u>ц</u> | grad_1 | 1[ms] | | |
| x_prescans | 16 | grad_1_amp | <mark>▲</mark> 60[%] | | |
| y_domain | Carbon13 | grad_2 | 1[ms] | | |
| y_offset | 80[ppm] | grad_2_amp | ▲ 60[%] | | |
| y_sweep | 200[ppm] | grad_3 | 1[ms] | | |
| y_points | 256 9 | grad_3_amp | 3 0[%] | | |
| x_acq_time | 0.20002[8] | grad_shape | square | | |
| x_resolution | 3.87516[Hz] | grad_recover | 0.2[ms] | | |
| y_acq_time | 10.17769[ms] | irr_pwidth | 55[us] y90_lo | | |
| y_resolution | 98.25414[Hz] | relaxation_delay | 2[s] | | |

<Header タブ>

- ④ filename に名字、ノート番号、メモ、測定法の順に書き込む (例: SAKAI02090Fr6-10-HMQC など)
- ⑤ auto_gain、force_tune のチェックは外す。

<Instrument タブ>

- ⑥ recvr_gain を 31(最大)にする。
- ⑦ Instrument の部分をクリックし、Spin_State タブを出し、SPIN OFF を選ぶ。<Acquisition タブ>

⑧ 通常、scans は 2 回のままで OK です。サンプルが薄いとき(10 mg 以下など) は回数を増やして測定してください。

⑨ y_pointsの数を128から256に変更する。

<プロトン(f2 軸)の範囲指定>

⑩ まず、測定した¹H NMR のチャートに行き、測定したい範囲へとチャートを拡大します。下図の赤丸で囲んだ部分にカーソルを持って行きます。



① すると、以下のようにタブが広がるので、右側からズームを選びます。
 カーソルが虫眼鏡に変わるので、ドラッグアンドドロップを用いて、
 ピークが出ている範囲を拡大します。

| <u>q</u> q+ | t R | Zoom | |
|-------------|-----|-----------|----------|
| | | Zoom | Q |
| | | Select | N |
| | | Region | |
| | | Cursor | + |
| | | Reference | e →‡← . |
| | | Peak | \odot |
| | | Pick | \oplus |
| | | Integral | ſ |
| | | Text | T |
| | | PIP | E |
| | | Offset | |
| | | Molecule | Do |

<拡大し損ねたとき> 拡大し損ねたときは、□囲みの「K」を選んで、Reset View もしくは Unzoom を選び縮小してください。



12 次に、測定条件を入力するウインドウに行き、右下の「指マーク」をクリックし、次に「View X」をクリックします。

すると、カーソルが矢印から指に変わります。

| x_90_width | | 1: | 3.6[us] | x90 | | | |
|---------------|------|------------------|-----------|-----|----------|---|----------|
| pulse_angle_1 | | 4 90[deş | ✓ 90[deg] | | | | |
| pulse_1 | | 13.6[us] | | | | | |
| pulse_angle_2 | | ▼ 90[deg] | | | | | |
| Header | Inst | rument | View 2 | | ~ | - | |
| Acquisition | F | Pulse | View Y | Y - | | | W |
| Submit | | ? | View 2 | | | | |



③ そして、その指マークのカーソルを、拡大した 1H NMR チャートへと持って 行き、チャートの上(どこでも良い)をクリックします。

④ Acquisition タブの x_offset と x_sweep が、その範囲を表す数字になれば OK。
注:x_offset は測定範囲の中心、x_sweep は測定幅です。下図の場合、約 3.8 ppm が中心で約 7.9 ppm が幅なので、測定範囲は約-0.15 ppm~約 7.75 ppm となります。

| Acquisition | | |
|-------------|--------------|--|
| x_domain | Proton | |
| x_offset | 3.83376[ppm] | |
| x_sweep | 7.93379[ppm] | |
| x_points | 512 | |
| | | |

<カーボン(f1 軸)の範囲指定>

ⓑ−1:¹³C NMR のチャートが開いている場合

プロトンと同様に行いますが、以下の点が View Y になっります。

測定条件を入力するウインドウに行き、右下の「指マーク」をクリックし、次に「View Y」をクリックします。

すると、カーソルが矢印から指に変わります。

| x_90_width | 13.6[us] x90_ | |
|------------------|-------------------|---|
| pulse_angle_1 | 90[deg] | |
| pulse_1 13.6[us] | | |
| pulse_angle_2 | 90[deg] | T |
| Header | Instrument View X | |
| Acquisition | Pulse View Y | |
| Submit | 🛐 🥐 View Z 🔻 🧾 | |

以降、プロトンの範囲指定と同じです。

(15-2: ¹³C NMR や DEPT のチャートを閉じてしまっているとき y_offset と y_sweep を全てのピークがおさまるように手入力してください。 y_offset は範囲の中心で y_sweep は幅です。下のケースでは-20 ppm から 180 ppm を測定します。

| y_offset | 80[ppm] | | |
|------------|------------|--|--|
| y_sweep | 200[ppm] | | |
| y_points | | | |
| y aca time | 0.25805[s] | | |

16 Submit を押して測定を始めます。

3-2:HMBC 測定(所用時間 15 分以上)

<HMBC で何が分かるの?>

HMBC は横軸(f2 軸)に 1H NMR のチャート、縦軸(f1 軸)に ¹³C NMR(もし くは DEPT135)のチャートを載せている、¹H-¹³C の 2 次元です。隣やその 隣のカーボンに結合している ¹H との間にに交差ピークが現れます。

<どういうときに測定すればいいの?>

化合物がやや複雑で、1次元のプロトンやカーボンのチャートだけでは 十分に帰属ができないときに測定します。

<HMBC は実際のところ何を観測しているのか?>

HMBC は¹H と¹³C の間に現れるカップリングのうち、8 Hz 前後のものに 対して交差ピークを与えるように条件設定されています。

○ 一般的な¹H-¹³C 間のカップリングについて

通常、以下のような化合物の C-H 間のカップリング定数(J 値)は以下の通りです。

C¹-H¹・・・120~180 Hz 程度

 C^1 -H²・・・1~6 Hz 程度

C¹-H³・・・0~10 Hz 程度

C¹-H⁴・・・通常 0 Hz



よって、Cの隣(もしくは2つ先)の炭素に結合している ¹H との間に交差 ピークが現れます。それ以上離れると通常は検出されません。また、直接 くっついている H に関しても、交差ピークは現れません。隣(もしくは2 つ先)の炭素に結合している ¹H との間であっても、カップリング値が小さ いケースも多く、必ず交差ピークが観測されるわけではないです。

<HMBC 測定の前にやっておくこと>

HMQC を測定する前に¹H NMR,¹³C NMR の測定を行っておくこと。サン プルは¹³C NMR が容易に測定できる位の濃度はあった方が望ましいです。

|--|

| | - Spectrometer Control | |
|---|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------|
| | Tools Queue Machine Options | |
| | Info Connect Monitor Unlink Free ? | |
| | Connect : dcu | |
| | Queue State : OWNED Selected Job : UNKNOWN | |
| 1 | Image: Constraint of the second state of the second st | Open Experiment Ausr/delta/global/experiments |

① Experiment ボタンを押す。

ECP-500利用時:

- ② 家フォルダーを押す。
- ③ 測定モード

hmqc を測定するとき→"fghmbc.exp "

を選び OK

| | Header | | |
|------------|-------------------------------------|---------------|--------------|
| filename | SAKAI02090FrAHMBC | [| Instrument |
| sample_id | pfg_hmqc | solvent | CHLOROFORM-D |
| comment | gradient enhanced HMBC | | D20 - |
| process | process_local "2DAlice.list" [Edit | | DMSO-D6 |
| auto_gain | | recvr_gain | 3 1] |
| force_tune | | autoshim_mode | AUTOSHIM OFF |

| | Acquisition | [| Pulse | |
|--------------|--------------------|------------------|-------------------------|--------|
| x_domain | Proton | total_time | 00:14:26 | |
| x_offset | 3.83376[ppm] | grad_selection | 13C = 2:2:1 | |
| x_sweep | 7.93379[ppm] | x_pulse | 13.6[us] | x90 |
| x_points | 1024 | y_pulse | 11[us] | y90_hi |
| scans | 2 | j_constant | 140[Hz] | |
| mod_return | Ī | long_range_j | 8[Hz] | |
| x_prescans | 1 6 | grad_1 | 1[ms] | |
| y_domain | Carbon13 | grad_1_amp | <mark><</mark> 60[%] | |
| y_offset | 80[ppm] | grad_2 | 1[ms] | |
| y_sweep | 200[ppm] | grad_2_amp | <mark>◀</mark> 60[%] | |
| y_points | 256 | grad_3 | 1[ms] | |
| x_acq_time | 0.25805[s] | grad_3_amp | <mark>_</mark> 30[%] | |
| x_resolution | 3.87516[Hz] | grad_shape | square | |
| y_acq_time | 10.17769[ms] | grad_recover | 1[ms] | |
| y_resolution | 98.25414[Hz] | relaxation_delay | 1.3[s] | |

<Header タブ>

- ④ filename に名字、ノート番号、メモ、測定法の順に書き込む (例:SAKAI02090Fr6-10-HMBC など)
- ⑤ auto_gain、force_tune のチェックは外す。

<Instrument タブ>

- ⑥ recvr_gain を 31(最大)にする。
- ⑦ Instrument の部分をクリックし、Spin_State タブを出し、SPIN OFF を選ぶ。
 <Acquisition タブ>

⑧ サンプルが濃ければ、scans は2回のままでOKです。サンプルが薄いとき
 (20 mg以下など)は回数を増やして測定してください。

- ⑨ 測定範囲の指定を行う。(HMQCの当該項目を参照すること)
- 16 Submit を押して測定を始めます。

第4部:トラブルシューティング

基本的に、何か異常があれば、直ちに酒井先生か教員に報告をし、ノート に記録をすること。

Q. ロックがかかりません。

A. 一度サンプルを出して、セットし直してください。サンプルが均一に 溶解していないときなどは、ロックがかかりにくい場合があるので、一度 サンプルを上下に振ってみるとうまく行くこともあります。

Q. シム値が上がりません。

A. 一度サンプルを出して、セットし直してください。サンプルが均一に 溶解していないときなどは、シム値が上がらない場合があるので、一度サ ンプルを上下に振ってみるとうまく行くこともあります。

Q. 誤って Delta と Spectrometer Control の window を閉じてしまいました。
A. デスクトップ上にある Delta のアイコンをダブルクリックして Delta を 起動してください。その後、立ち上がる Delta(下図)window のマグネット の絵をクリックすると、Spectrometer Control が立ち上がります。その後、 自動的に Spectrometer Control が黄色の"connect"の状態になったら測定可 能です。



Q. Delta のログに Fatal と書かれたエラーが出ました。 Delta のログに Fatal(赤文字)のエラーが出た場合は、機械の調子がおかし い可能性があるので、酒井先生もしくは研究室の教員に報告してください。 また、ノートにエラーの内容を記録してください。

Q. パソコンがフリーズしました。

再起動が必要です。酒井先生もしくは研究室の教員に再起動を依頼してく ださい。