





A と B は近くにある

空間的に? 結合上で?



相関 correlation を観る

混合のしくみを変えても、対角ピークは 同じだが、交差ピークは変わる。



free induction decay (FID)

例) HSQC: heteronuclear single-quantum coherence correlation 異種核一量子相関スペクトル

1秒間に 30 周回転したとすると



化学シフトを二箇所以上で検出する



*t*₁, *t*₂ 時間ともに順次増大



 ω_2

t, (FID) から先にサンプリングしていく <u>ن</u> <u>ن</u> 5 €_} <u>ن</u> {``} {``} <u>نا</u> {}} interferogram {``} 5 53 {} { } { } {``} {} {} {} {} {} {} { } { } { } {} {}{ {} {} {}} {} *₹*~} {} 5 {``} {____} {} { } { } {} {}} 53 5 {} ξ } {~} {} {_____} {``} £_____
 <u>ن</u> · {``} 00000000000 $\left\{ \right\}$ { } <u>ن</u> 00000000000 <u>ن</u>
 2 5 {~}} { } <u>ن</u> <u>ن</u> <́} \sum {} ${}$ ٢ 5 {``} {____} t1 {``} {``} £__} £___} 5 £__} ~~~~~~~~~~~~ $\left\{ \right\}$ <₿ €_} 3 5 {___} {} {} {} {} {} {}

*t*₂ free induction decay (FID)





 t_2 (FID) は長くしても、測定時間 にはあまり影響しない。しかし、 t_1 を長くすると、それに比例して測定 時間が長くなってしまう。

 t_2 (FID) と t_1 のサンプリング数を 揃える必要は全くない。



3次元では、t₁とt₂のサンプリング数の掛け算に比例して測定時間が長くなる



t_1, t_2 については適当にサンプリングを間引くことができる



磁化移動



J-スカラーカップリング COSY INEPT TOCSY (HOHAHA) TOCSY(HEHAHA)

D-双極子カップリング NOESY ROESY Cross-polarization

D-カップリングと CSA (chemical shift anisotropy) CRIPT

HSQC (heteronuclear single-quantum correlation)



S-スピンが a か β かに依って I-スピンの化学シフトが異なる



 $\mathcal{H} = \mathbf{J} \mathbf{I} \mathbf{Z} \mathbf{S} \mathbf{Z}$

Iz を中心にして回転する S が α か β 状態かによって符号が反転する(2Sz=Sa-Sβ)



結合電子による J-カップリング



$$H = JIzSz = J\frac{1}{2}(I\alpha - I\beta)\frac{1}{2}(S\alpha - S\beta) = \frac{J}{4}(I\alpha S\alpha - I\alpha S\beta - I\beta S\alpha + I\beta S\beta)$$



J-カップリングによる展開(1/(4J))





J-カップリングによるさらなる展開(1/(4J))



磁化移動のど真ん中





反位相 anti-phase コヒーレンス



Iz + Sz

2IzSz(2スピン秩序)





S スピンの平衡状態を引くと -2 → -4, +6 → +4 となる。

S に磁化が移動した











開始時に似た状態 Ix に戻るが、 cos(ω_st₁) がか かっている







J-カップリングを通した同位相 Iz から同位相 Sz への磁化移動



ハミルトニアン H の平均化(1)



ハミルトニアン H の平均化(2)



ハミルトニアンとして IxSx, IySy などがあれば、 Iz から Sz へと磁化移動できる



双曲子双曲子相互作用のハミルトニアン

$$H_{d} = \frac{\gamma_{I}\gamma_{S}\hbar^{2}}{r^{3}} (A + B + C + D + E + F)$$

$$A = I_{Z}S_{Z} (1 - 3\cos^{2}\theta)$$

$$B = -\frac{1}{4} (I^{+}S^{-} + I^{-}S^{+})(1 - 3\cos^{2}\theta)$$

$$C = -\frac{3}{2} (I^{+}S_{Z} + I_{Z}S^{+})\sin\theta\cos\theta\exp(-i\varphi)$$

$$D = -\frac{3}{2} (I^{-}S_{Z} + I_{Z}S^{-})\sin\theta\cos\theta\exp(+i\varphi)$$

$$E = -\frac{3}{4} I^{+}S^{+}\sin^{2}\theta\exp(-2i\varphi)$$

$$F = -\frac{3}{4} I^{-}S^{-}\sin^{2}\theta\exp(+2i\varphi)$$

$$\mathcal{D}_{d} = \left[\frac{\vec{\mu}_{I}}{r^{3}} - \frac{3(\vec{\mu}_{I} \cdot \vec{r})\vec{r}}{r^{5}}\right]\vec{\mu}_{S}$$
$$\vec{\mu}_{I} = \gamma_{I}\hbar\vec{I} = \gamma_{I}\hbar(I_{X}, I_{Y}, I_{Z})$$
$$\vec{r} = (r\cos\theta_{X}, r\cos\theta_{Y}, r\cos\theta_{Z})$$



 $\mathscr{D}_d = \frac{\gamma_I \gamma_S \hbar^2}{r^3} (\dots)$ $+I_{x}S_{x} + I_{y}S_{y} + I_{z}S_{z}$ $-3I_{x}S_{x}\cos\theta_{x}\cos\theta_{x}$ $-3I_{x}S_{y}\cos\theta_{x}\cos\theta_{y}$ $-3I_{x}S_{z}\cos\theta_{x}\cos\theta_{z}$ $-3I_{y}S_{x}\cos\theta_{y}\cos\theta_{y}$ $-3I_{Y}S_{Y}\cos\theta_{Y}\cos\theta_{Y}$ $-3I_{y}S_{z}\cos\theta_{y}\cos\theta_{z}$ $-3I_{z}S_{x}\cos\theta_{z}\cos\theta_{x}$ $-3I_Z S_V \cos\theta_Z \cos\theta_V$ $-3I_{z}S_{z}\cos\theta_{z}\cos\theta_{z}$

注) $\theta x = \theta y = 90$, $\theta z = 0$, Ix = Iy = 0 とすると、Zeeman 相互作用とよく似た式になる。

D-カップリングを利用すれば、空間をとおして Iz から Sz へと磁化移動できる

I	Iz	J IxSx	
S		J IySy	Sz

	D IxSx	D IySy	
Iz		>	Sz

$$I^{\pm} = Ix \pm iIy \qquad 0 \equiv \neq \qquad IxSx + IySy = \frac{1}{2} (I^{+}S^{-} + I^{-}S^{+})$$

flip-flop

同種核の場合、(IxSx + IySy) は、 実験室座標系で止まっている。

+

高分子も水溶液中でかなり止まっている。

高分子ほど(同種核間の)NOE が起こりやすい。

$$I^{\pm} = Ix \pm iIy \qquad 2 \equiv 7 \\ IxSx - IySy = \frac{1}{2} (I^{+}S^{+} + I^{-}S^{-})$$

on 600 MHz NMR

flip-flip

同種核 ¹H の場合、(IxSx - IySy) は、 実験室座標系で ± 1,200MHz で回っている。

+

低分子も水溶液中で ± 600MHz で回った瞬間にだけ、 双極子磁場は止まったように見える。

低分子では NOE が起こりにくい。

NOESY (Nuclear Overhauser Effect SpectroscopY)



(対角ピークと同符号)





● 高分子量

負の NOE

- 化学交換
- 構造交換
- スピン拡散
- TOCSY
- 2 * ROE

- 柔軟な構造の部位
- ROESY

¹H @ 600MHz の場合、 τ_{c} < 0.3 ns

平衡状態でのエネルギー準位図(同種核)

I-スピンのみを反転させた場合



高分子では W0 遷移により負の NOE が生じる



S の強度が減少 負の NOE (運動性が低い場合(高分子)) spin-diffusion, flip-flop

低分子では W2 遷移により正の NOE が生じる



S の強度が増大 正の NOE (運動性が高い場合(低分子)) flip-flip

対角ピークだけの reference から、このスペク トルを引くため、正の NOE は負のピークとなる。

ROESY (Rotating-frame Overhauser Effect SpectroscopY)



蛋白質などの高分子では、横緩和が速いので、感度が低い。







5120* x 500* on DRX-600 at 303K

5120* x 900* on DRX-600 at 303K

蛋白質の場合、NOE 交差ピークは 対角ピークと同じ正符号

TOCSY (HOHAHA, HEHAHA)

Х

 t_2

x/y

 t_1

180°パルスの連続のようなもの → 化学シフトは再結像される。





 $\omega_{1I} = \omega_{1S}$ $\gamma_I B_{1I} = \gamma_S B_{1S}$



on-resonance

I, S を x-軸に沿って ω_1 でスピンロック その ω_1 で回る回転座標系に載る。

異種核どうしでの TOCSY (HEHAHA)

$$H = 2\pi J \cdot \{Iz \cos(\omega_{1}\tau) + Iy \sin(\omega_{1}\tau)\} \cdot \{Sz \cos(\omega_{1}\tau) + Sy \sin(\omega_{1}\tau)\}$$

I, S 両方の ω_{1} がちょうど同じ。

$$H = \pi J \cdot (IzSz + IySy)$$



Ix から Sx になるには、1/J (sec) が必要(INEPT ×2 と同じ)



同種核どうしでの TOCSY (HOHAHA) $H = 2\pi J \cdot (IxSx + IySy + IzSz)$ Ix から始めたとする。 $H = 2\pi J \cdot (IySy + IzSz)$

Ix から Sx になるには、1/2J (sec) でよい(異種核の場合の半分)。 Ix, Iy, Iz どこから始めてもよい。 x, y 方向、どこにスピンロックの軸を置いてもよい。



NOE(空間)

HOHAHA (化学結合)

Ix JIzSz JIySy Sx

軸を入れ換えると、同じハミルトニアンとなる。 x 軸 \rightarrow z 軸 z 軸 \rightarrow x 軸

Cross-polarization 交差分極



Hartmann-Hahn 条件

 $\gamma_I B_{1I} = \gamma_S B_{1S}$





Cross: Sx $\cos(\omega_{I} t_{1}) \sin(\pi J t_{1}) \cos(\omega_{S} t_{2}) \frac{\sin(\pi J t_{2})}{\sin(\pi J t_{1}) \cos(\omega_{I} t_{1})}$ Diag: Ix $\cos(\omega_{I} t_{1}) \cos(\pi J t_{1}) \cos(\omega_{S} t_{2}) \cos(\pi J t_{2})$

直積演算子が Sx (Ix) となるように、cos, sin を調整する。

 t_2 の箇所だけを見る。ここでは、cross-peak: cos($\omega_s t_2$) sin($\pi J t_2$)

sin の数が奇数個ならば、分散波形となる。90°の0次位 相補正により、吸収波形にすることができる。COSYでは、 大切な cross-peak を吸収波形に補正するので、残念なが ら、不要な diagonal-peak は分散波形になってしまう。

 $sin(\pi J t_2)$ の場合は $\uparrow \downarrow$ 、 $cos(\pi J t_2)$ の場合は $\uparrow \uparrow$ に分裂する。

Cross: Sx $\cos(\omega_{I} t_{1}) \frac{\sin(\pi J t_{1})}{\cos(\omega_{S} t_{2})} \frac{\sin(\pi J t_{2})}{\sin(\pi J t_{1})}$ Diag: Ix $\cos(\omega_{I} t_{1}) \cos(\pi J t_{1}) \cos(\omega_{S} t_{2}) \cos(\pi J t_{2})$

 t_2 をフーリエ変換した後は、今度は t_1 の箇所だけを見る。こ こでは、cross-peak: cos($\omega_s t_1$) sin($\pi J t_1$)

sin の数が奇数個ならば、分散波形となる。90°の0次位 相補正により、吸収波形にすることができる。COSYでは、 大切な cross-peak を吸収波形に補正するので、残念なが ら、不要な diagonal-peak は分散波形になってしまう。

 $sin(\pi J t_1)$ の場合は $\uparrow \downarrow cos(\pi J t_1)$ の場合は $\uparrow \uparrow c分裂$ る。

Cross: $Sx \cos(\omega_I t_1) \sin(\pi J t_1) \cos(\omega_S t_2) \sin(\pi J t_2)$ Diag: $Ix \cos(\omega_I t_1) \cos(\pi J t_1) \cos(\omega_S t_2) \cos(\pi J t_2)$



$$sin(\pi Jt) = \frac{1}{2i} \{ \exp(i\pi Jt) - \exp(-i\pi Jt) \}$$







左側を反時計周りに、 右側を時計周りに 90 度だけ回転させた場合 右側を反時計周りに 左側を時計周りに 90 度だけ回転させた場合

虚数の次元は実数の次元に対して 90 度向きが異なるものと 考える。さらに時計周りか反時計周りかは、exp の前の符号 によって決まる。この規則により、符号も含めたピーク強度 を正確に図示することが出来る。



ベクトルモデルの図が豊富 スピンの動きをイメージするの に非常に参考になる書 適度に数式と図があり、溶液 NMR を詳しく勉強するのに、お勧めでき る実用書