

# 第19回NMR討論会

## 講演要旨集

1980年9月28日(日)・29日(月)・30日(火)

北海道大学文系講義棟

共 催

日本化学会・日本分析化学会

日本薬学会・日本農芸化学会



# 第 19 回 N M R 討 論 会

共 催 日本化学会・日本分析化学会  
日本薬学会・日本農芸化学会

日 時 1980年9月28日(日), 29日(月), 30日(火)

会 場 北海道大学文系講義棟(札幌市北10条西7丁目)

研究発表は一般講演(20分)ならびに特別講演(45分)となっております。

## プ ロ グ ラ ム

### 第 1 日 9月28日(日)

(9時~10時20分)

- 101 高次磁場勾配を使用した Resolution Enhancement 法  
(日本電子) ○木田 淳・細野政美・大内宗城・  
今成 司 ..... 1
- 102 磁場焦点法を応用したNMRイメージングの基礎的検討  
(旭川医大・宇都宮大<sup>\*</sup>・武蔵工大<sup>\*\*</sup>) ○田中邦雄<sup>\*</sup>・山田芳文<sup>\*</sup>  
・清水哲也<sup>\*\*</sup>・阿部善右衛門<sup>\*\*</sup> ..... 5
- 103 NMRトモグラフィ  
(電総研) ○亀井裕孟・片山義朗・横山 浩 ..... 9
- 104 プロトンNMRイメージング  
(ブルカー社研) ○E, Bartholdi ..... 13

(10時30分~11時30分)

- 105 安息香酸カルボキシル炭素の化学シフトテンソル  
(京大理・京大化研<sup>\*</sup>) ○今城文雄<sup>\*</sup>・寺尾武彦<sup>\*</sup>・長岡伸一<sup>\*</sup>  
広田 襄<sup>\*</sup>・林 宗市<sup>\*</sup> ..... 15
- 106 固体アミノ酸の<sup>13</sup>CNMR・L-アラニン  
(ブリティッシュコロロンビア大) 内藤 晶・S, Ganapathy  
○赤坂一之・C, A, McDowell ..... 19
- 107 固体における間接誘起スピネコーとその応用  
(京大理) ○松井 茂・寺尾武彦 ..... 23

(11時35分~12時15分)

108	相異なるコンホメーションの存在または四重極相互作用による <sup>13</sup> C-CP/MAS スペクトルの分裂	(日本電子・京大理 <sup>*</sup> )	○藤戸輝昭・今成 司 <sup>*</sup> ・今城文雄 <sup>*</sup> ・寺尾武彦 <sup>*</sup> .....	27
109	ポリアセチレンおよびその誘導体における <sup>13</sup> C 固体高分解能 NMR	(京大理・日本電子 <sup>*</sup> ・京大工 <sup>**</sup> ・筑波大物質工 <sup>**</sup> ・長岡工専 <sup>**</sup> )	○前田史郎 <sup>*</sup> ・寺尾武彦 <sup>*</sup> ・藤戸輝昭 <sup>*</sup> ・山辺時雄 <sup>*</sup> ・赤木和夫 <sup>**</sup> ・白川英樹 <sup>**</sup> ・池田朔次 <sup>**</sup> .....	31
		(13時10分~13時55分)		
110	(特別講演) 2次元NMR-タンパク質構造解析への応用	(東大理)	○永山国昭 .....	35
		(14時~14時40分)		
111	2次元NMR法を用いた分子構造の解析	(ブルカー社研)	山田篤子 .....	39
112	各種パルス系列の応用(Ⅱ)	(日本電子)	○大内宗城・細野政美・松下和弘・ 今成 司 .....	43
		(14時45分~15時45分)		
113	<sup>35</sup> C1-NMRの線幅からみた電解質溶液の解離平衡	(分子研)	○菅原 正・湯田坂雅子・藤山常毅・ 今村 秀 .....	47
114	塩化亜鉛濃厚水溶液中の水の拡散係数と磁気緩和	(北大工・北大理 <sup>*</sup> )	○下川繁三 <sup>*</sup> ・二俣克哉 <sup>*</sup> ・中村義男 <sup>*</sup> ・ 下地光雄 <sup>*</sup> .....	51
115	Al(Ⅲ)-水系及びMg(Ⅱ)-水-アセトンd <sub>6</sub> 系における金属イオンの水和に関する研究	(北見工大)	○三浦宏一・福井洋之・阿知良豊次・ 小森誠一・佐藤 武 .....	55
		(15時55分~16時55分)		
116	赤血球の <sup>31</sup> P NMR	(国立公害研)	○三森文行・功刀正行 .....	59
117	選択的 <sup>31</sup> P{ <sup>1</sup> H} NOEによるリン脂質ミセルの極性基の構造	(理研)	○柴田俊之・鶴沢 洵・杉浦嘉彦 .....	63

118  $^2\text{H}$ および $^{31}\text{P}$ NMRによるサポニン-コレステロール・コンプレクス生成および脂質配向への影響の検出

(国立ガンセンター研・東大薬) ○齊藤 肇・稲荷昌司

・秋山敏行・高木重和・三川 潮 ..... 67

(17時~17時40分)

119 (1→3)  $\beta$ -D-グルカンのコンホメーションおよびゲル化機構

(国立ガンセンター研) ○齊藤 肇 ..... 71

120 パルス磁場勾配NMR法による細胞内分子の拡散係数の測定

(京都府立医大・第一生理) ○吉崎和男・瀬尾芳輝・

西川弘恭 ..... 75

## 第 2 日 9月29日(月)

(9時~10時20分)

201 氷表面の“偽”液状層

(北大低温研) 水野悠紀子 ○花房尚史 ..... 81

202 広幅パルスnmrによる凍結曲線：ミニコン・データ処理システムの作成と糖類水溶液およびゲル中の水の状態

(味の素中研) ○鈴木栄一郎・永嶋伸也 ..... 85

203 熔融Na<sub>2</sub>AlCl<sub>4</sub>中の $^{23}\text{Na}$ 及び $^{27}\text{Al}$ のスピン-格子緩和時間

(北大理教養) 市川和彦 ○松本敏幸 ..... 89

204  $^{119}\text{Sn}$ FTNMRを用いたロジウムおよび白金錯体における $\text{SnCl}_3^-$ 配位子の動的挙動

(東大生研) ○森山広思・青木肇也・篠田純雄・

齊藤泰和 ..... 93

(10時30分~11時10分)

205 シランにおけるJの交叉分極

(徳島大工短大・アイオワ州立大) ○多木敏彦・曾我部孝行

※ P. Murphy, R. Metzler, T. Squires, B. C. Gerstein ..... 97

206 バナジウム水素化物中の水素の拡散 II

(化技研) ○林 敏信・早水紀久子・山本 修 ..... 101

(11時15分~12時15分)

207 炭素13NMRによる低密度ポリエチレンの分岐種の帰属 (II)

(FAIS・日本ビクター・日本電子) ※ 西岡篤夫・向井康

※※ 雄・大内宗城・今成 司 ..... 105

208 ポリエーテル系物質のタリウム(I)イオン取りこみにもない観測されるタリウム-他核間スピン結合とその利用について

- (塩野義研) ○照井彬弘・通 和夫・辻 直樹・  
長嶋一男 ..... 109
- 2 0 9 遷移金属ポリリンポリマー液晶のNMR  
(阪大産研) ○高井嘉雄・森本秀子・高橋成年・  
藺頭健吉・萩原信衛 ..... 113  
( 1 3 時 1 0 分 ~ 1 3 時 5 5 分 )
- 2 1 0 (特別講演)高分子の内部運動と核磁気緩和  
(北大理) ○提 耀広 ..... 117  
( 1 4 時 ~ 1 5 時 2 0 分 )
- 2 1 1 相関NMRの生体系への応用 III 光合成細菌 *Phodopseudomonas Palustris* の代  
謝過程  
(東大理化・東大理生化)<sup>\*</sup> ○荒田洋治・今井康彦・  
藤原鎮男・森田茂廣<sup>\*</sup>・佐伯和彦<sup>\*</sup> ..... 121
- 2 1 2 ヘモシアニンモデル錯体(銅(I)錯体)のNMRによる研究(I)  
(近畿大理工) ○北川 進・宗像 恵・宮地 登 ..... 125
- 2 1 3 ペプチド抗生物質シオマイシン類の<sup>13</sup>C化学シフトおよびスピン格子緩和時間  
(日本電子<sup>\*</sup>・塩野義研)<sup>\*</sup> 松下和弘 ○通 和夫・十倉一也  
・高山陽子・照井彬弘・岡部 啓 ..... 129
- 2 1 4 ACTH活性を持つペプチドの分子間・分子内での相互作用について  
(阪大蛋白研・京大薬)<sup>\*</sup> ○樋口直樹・京極好正・  
矢島治明<sup>\*</sup> ..... 133  
( 1 5 時 3 0 分 ~ 1 6 時 3 0 分 )
- 2 1 5 タンパク質のプロトンスペクトルにおける飽和移動の時間解析  
(京大理) 赤坂一之 ..... 137
- 2 1 6 カルボニル<sup>13</sup>C-NMRシグナルを用いるタンパク質構造研究の新しい展開,  
*Streptomyces Subtilism Inhibitor(SS I)*の構造化学  
(味の素中研) ○辻 尚志・甲斐荘正恒 ..... 141
- 2 1 7 脳内活性物質の360プロトンNMR  
(生理研・京大理)<sup>\*</sup> ○亘 弘・矢内原昇・日置善雄  
・赤坂一之<sup>\*</sup> ..... 145  
( 1 6 時 3 5 分 ~ 1 7 時 3 5 分 )
- 2 1 8 カイコの液状絹のNMR  
(阪大蛋白研・蚕糸試) 小林祐次・藤原敏道・京極好正・

※片岡紘三 ..... 149

219 核磁気緩和によるポリレーホルニチン銅錯体の研究  
(北大理) ○平沖敏文・角谷 智・引地邦男 ..... 153

220 化技研におけるNMRデータ・バンク, 特に<sup>13</sup>Cデータ・ベースについて  
(化技研) 山本 修 ○柳沢 勝 ..... 157

### 第 3 日 9 月 30 日 (火)

(9時~10時)

301 液晶状態 d<sub>7</sub>-PBLG 高分子側鎖の配向のD-NMRによる決定  
(北大工・日本電子) 田畑昌祥 ○相馬純吉・外山 紘・  
※今 成司 ..... 163

302 液晶中に配向した有機スズ化合物のNMRスペクトル・希釈および回転を利用した直接結合定数と間接結合定数の分離  
(阪大薬) ○藤原英明・佐々木喜男 ..... 167

303 有機錫化合物とルイス塩基の溶液内錯体形成 IV Me<sub>2</sub>SnCl<sub>2</sub>・bpy 錯体における配位子交換反応  
(阪大薬) ○酒井文彦・藤原英明・佐々木喜男 ..... 171

(10時5分~10時45分)

304 4・5-ジヒドロ-1H-アゼピン誘導体のN-C結合の回転  
(名工大) 伊藤州児・斉藤勝裕○高橋憲助 ..... 175

305 メチル置換トリプチセン及びトリプチセンキノロン類における固体及び溶液状態でのメチル基の回転障壁  
(京大理) 今城文雄○竹腰清及理・寺尾武彦  
雑賀亜幌 ..... 179

(10時55分~12時15分)

306 いくつかの鎖状スルホキシド及びアルコールの立体配座について  
(明治製菓中研・理研・横浜国大) 西尾元宏・鶴沢 洵・  
※※※ 広田 稜 ..... 183

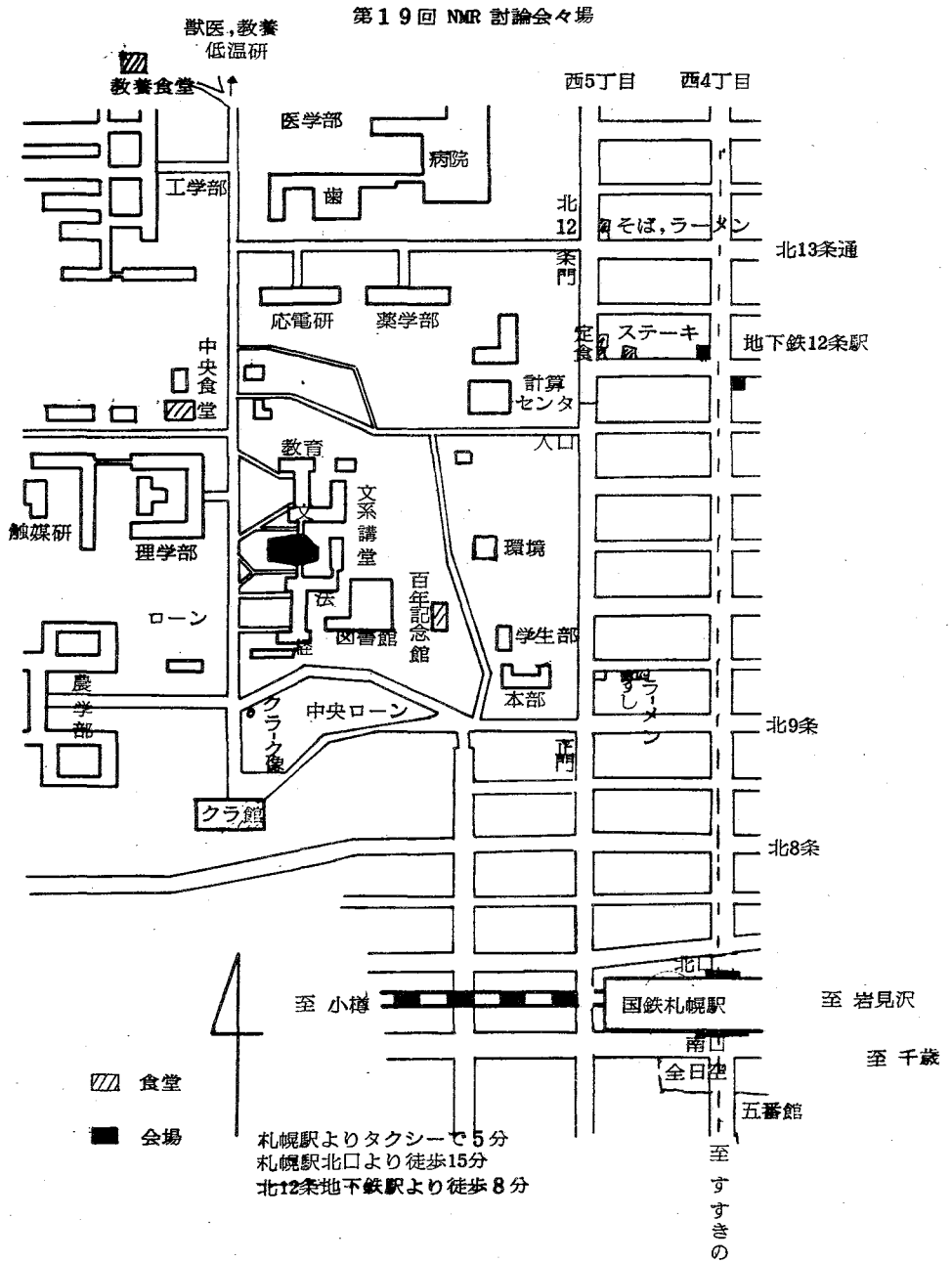
307 4-アミノ・メチルクロヘキサノン-1-カルボン酸(抗線維素溶解ドラッグ)の水溶液中でのコンホメーションの研究  
(呉羽化学東京研・東工大) ○谷中幹郎・榎本聡・  
井上義夫・※中條利一郎 ... 187

308 芳香族溶媒中における長鎖のアルキル基をもつ化合物の挙動  
(電気通信大) ○仁木国雄・館 宏 ..... 191

- 3109 ピペリジン四級塩における  $^1\text{H}$  及び  $^{13}\text{C}$  スピナー格子緩和時間  
 (神女薬大・神大教養) ○杉浦真喜子・高尾楯雄・  
 上地真一 ..... 195  
 (13時10分~13時55分)
- 3110 (特別講演)  $^{23}\text{Na}$ -NMRの生体系への応用  
 (東北大医・第一生理) ○物井宏之 ..... 199  
 (14時~15時)
- 3111 免疫グロブリンの  $^1\text{H}$ NMR II, ヒト IgG1 のヒンジ部のコンホメーション  
 (東大理・阪大医) \* ○荒田洋治・本澤真弓・清水 章 ... 203
- 3112 ヘモグロビンの Proximal Histidine NH Resonances の研究  
 (東大理・カーネギーメロン大) \* ○高橋征三  
 \* A K-L. C. Lin, C. Ho ..... 207
- 3113 シトロクロム  $b_5$  とシトロクロム C との相互作用  
 (阪大医・京大理) \* ○三浦 洵・杉山俊博  
 \* 赤坂一之・山野俊雄 ..... 211  
 (15時10分~16時10分)
- 3114 分子の立体構造と緩和時間  
 (東大教養) ○竹内敬人 ..... 215
- 3115 双極子会合のNMRによる研究 その5  
 (阪大薬) ○高木達也・藤原英明・佐々木喜男 ..... 219
- 3116 シクロプロピル基を含むカルバニオンNMR  
 (名工大) 吉野明広・松本 弘○高橋憲助 ..... 223  
 (16時15分~17時15分)
- 3117 ニートピッチを用いた  $^{13}\text{C}$ NMR スペクトルによる構造研究  
 (三井アルミ三池事業所・大阪工試) ○西澤 節・  
 惠羅彰男・伊与田惇 ..... 227
- 3118 石炭類に対する磁気共鳴法の応用  
 (北大工) ○横野哲朗・宮沢邦夫・真田雄三 ..... 231
- 3119 高温高圧高分解能NMR (NMRオートクレーブ) による熱分解過程の直接測定—化石燃  
 料生成機構へのアプローチ  
 (北大工・日進ソフト) \* ○下川繁三・山田英二・  
 牧野和夫・神田勇一 ..... 235



懇親会 9月29日(月) 18:00から中央食堂1階で行ないます。





第 1 日

9月28日 (日)



# 1.01 高次磁場勾配を使用した Resolution Enhancement 法

(日本電子) 木田 稔・細野政美・大内宗成・今成 司

## 1. 序

NMR スペクトルの線中は、試料の自然中に静磁場の不均一による巾が重なったものとして現れる。自然巾が充分狭いときには後者が線中の主因となり装置固有の分解能が現れてくる。不均一磁場の最大クローズは試料それ自体の発生する反磁極磁場であるので、試料の磁性成分量で大きく異なるのが通常である。従って装置の最高分解能を維持する為には試料の交換毎に調整操作が必要であり、長く知られてはいる様にこれは非常に熟練を要する作業である。場合によっては、複雑な磁場の乱れが起り、通常装備されているカレントシフトシステムでは充分な分解能が得られない場合もしばしば起る。特に最近の SCM を用いた高磁場 NMR ではこの様な反磁極は比例して大きくなるから、絶対分解能を維持する事は高度な調整を必要とする。

不均一磁場を完全に除去する事はスピンエコーを利用した云々ゆる J-スプレッドによって可能であるが、ケミカルシフトが分離できなくなるから、余り一般的ではない。見かけの分解能を上げる一般的な方法はソフトウェア操作によるものが主であり、最近種々のフィルターが考案されている。

ここで報告する内容は A. Bar, R. Freeman<sup>1)</sup> の仕事に延長上にあるもので、パルス磁場勾配を用いてハード的に分解能を増強する方法の理論と実験である。

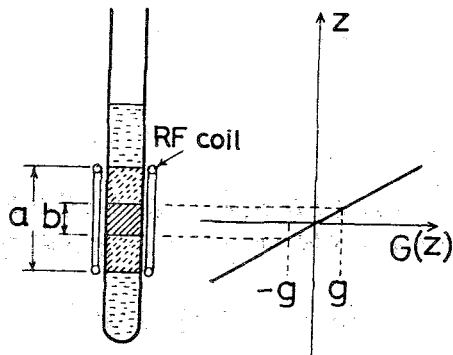
## 2. 理論

上記の様なカレントシフトによって補正できない様な高次の磁場不均一は大きな空間依存性をもつから、試料の大きさを小さくすると急速に減っていきと予想される。しかし実際には試料を小さくしたのでは、不均一磁場のソースとなっている試料の境界面も中心に寄って来るから磁場の乱れが大きくなり、かえって分解能が悪くなる場合が多い。

試料のサイズをそのままにして観測塔内領域に中心付近に限定できればこの様な困難はなくなる。

Fig. 1 に方法の概念を示す。NMR 装置として SCM を用いたものを想定し、Z 軸方向が静磁場及び試料スピニングの軸であるとする。静磁場に重ねる磁場勾配  $G(z)$  をかける。試料中心部で  $G(0) = 0$  である様にする。  $G(z)$  がなるときには NMR エル

Fig. 1



きたじゅん、ほそのまさみ、おおうちむねき、いまりりまもる

の存在する全長の部分の信号を観測しているが、適当な  $G(z)$  を与える事により、試料の中心部からの信号のみを計測帯に入り、他の部分からの信号を排除する事ができる。この様にして試料内部の一部の信号を得るというのはイメージNMRの方法そのものであるが、高分解能NMRの場合、通常  $G(z)$  が存在すると線が広がってしまって意味のないものになるから、励振のときのみ  $G(z)$  を与え、信号の取りこみ時には切らずにはならない。Fig. 2 a), b) の様に励振RFパルスと同期して  $G(z)$  をスイッチングする。

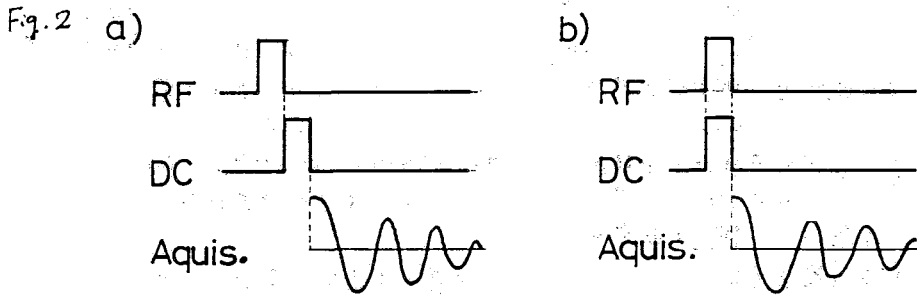


Fig. 2a) は中心部以外の信号を phase out させるもので振中の振幅程はなにか、後述する様に b) のものと複合させて位相修正の目的に使う事ができる。

$G(z)$  の形状としては Fig. 3 a) の様な直線状のものよりも b) の様な階段状のものが理想的である。ここで示す実験では c) の様な中心点に高次の微係数をもつ、階段状のものに近い  $G(z)$  を用いている。

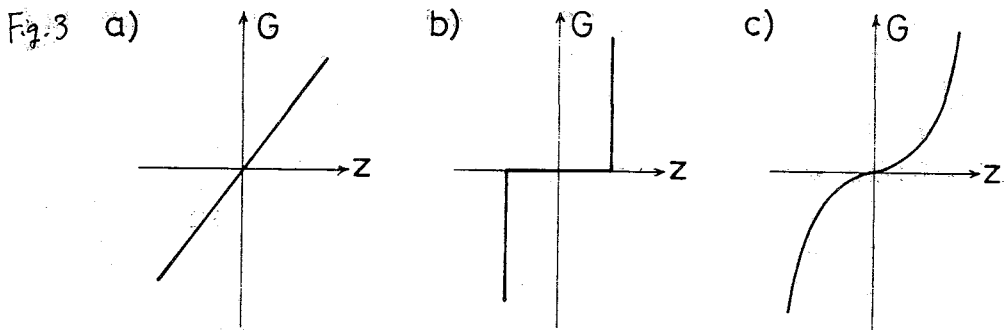


Fig. 3 b) の様に RF 磁場と DC 磁場と重ね合わせの場合、試料内部の一点の  $1/\mu_0$  直後の磁化ベクトル  $\vec{m}$  は、ブロッホ方程式と断熱条件で解く事により、次の様になる。

$$\vec{m} = \frac{\alpha}{1+\alpha^2} (1 - \cos \omega_{eff} t) (\hat{i} + (1+\alpha^2)^{-1/2} \sin \omega_{eff} t \cdot \hat{j}) + (1+\alpha^2)^{-1} (\alpha^2 \cos \omega_{eff} t) \cdot \hat{k} \dots (1)$$

但し R F 磁場の振幅と  $H_{rf}$  とするとき  $\alpha = G(z)/H_{rf}$ ,  $\omega_{eff} = \gamma(G(z)^2 + H_{rf}^2)^{1/2}$ ,  $x, y, z$  は直交座標  $x, y, z$  の単位ベクトルである。10 $\mu$ s の継続時間と、試料中心 (つまり  $G=0$  のとき) で  $90^\circ$  10 $\mu$ s になる様と設定すると、(1) の各成分は次の様になる:

$$\left. \begin{aligned} m_x &= \frac{\alpha}{1+\alpha^2} \left( 1 - \cos \frac{\pi}{2} (1+\alpha^2)^{1/2} \right) \\ m_y &= \frac{1}{(1+\alpha^2)^{1/2}} \sin \frac{\pi}{2} (1+\alpha^2)^{1/2} \\ m_z &= \frac{1}{1+\alpha^2} \left( \alpha^2 + \cos \frac{\pi}{2} (1+\alpha^2)^{1/2} \right) \end{aligned} \right\} (2)$$

この式から z 軸 (試料軸方向) の  $m$  の成分の分布を示すと Fig. 4 の様になると思像される。

$G(z)$  が原点に関して反対称 ( $G(-z) = -G(z)$ ) なら  $m_x$  は相殺され  $m_y$  のみが見れる。

一例として Fig. 3 a) の様な磁場勾配として  $\alpha = (z/e)$ , Fig. 3 b) の様な磁場勾配として  $\alpha = (z/e)^2$  とすると、z 軸上で  $m_y$  の分布をプロットすると Fig. 5 a), b) の様な強度分布が得られる。後者の方が空間選択性が非常に良くなっており、実用上有利である事が分子。

Fig. 4

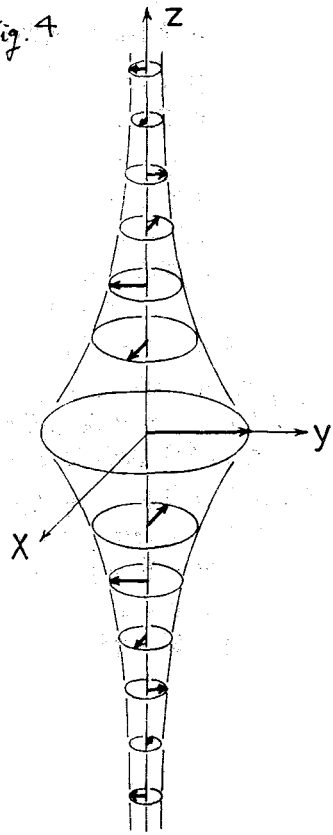
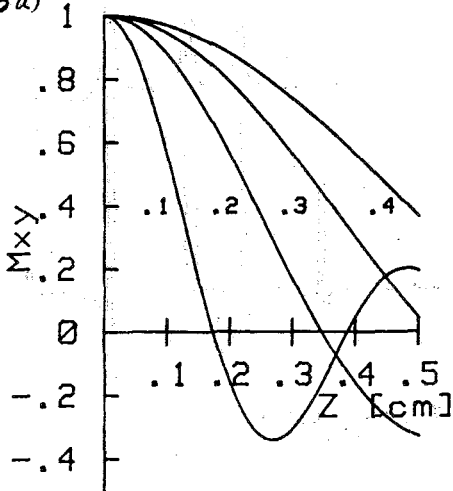
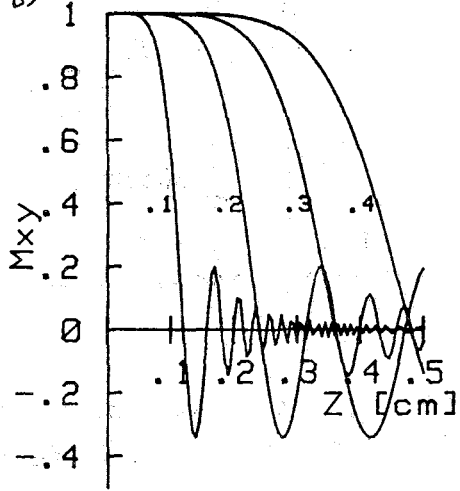


Fig 5 a)



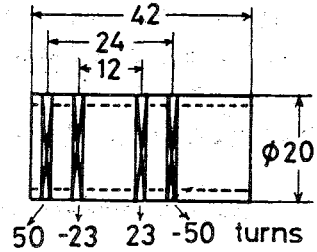
b)



### 3. 実験

Fig. 6に実際に使用した磁場勾配発生用コイルを示す。コイル寸法はFX-200 5φH 700-7の二重管内部に入れ、NMR検出コイルの外側にかぶせる事により、簡単にセットできる様設定してあり、計算では  $H_{rf}$  と  $90^\circ$ パルスで1ms にとつた場合、コイル電流0.1Aで Fig. 5b) の  $d=0.3$  のものに対応した磁場勾配が得られる。電流パルス発生器は Ref. 2) のもの、パルスジェネレータは PG-200 から得ている。

Fig. 6



5% アセトアルデヒドを用いて得られたNMRの結果を Fig. 7 に示す。上のトレースがヒトクサツトル、下のトレースが磁場勾配パルスを与えたものである。この高次磁場勾配による方法は比較的軽微のS/Nの損失で分解能増強が得られると云うメリットがあり、Fig. 7に見られるベースライン上の信号のサイドローブは Fig. 4 に示したZ軸上での磁化フットルの構成成分ツイスタが、残存するZ軸磁場不均一を通じて現れてきたものと推測される。この磁化フットルのツイスタは Fig. 2a) に示した様な初振終了後、アプジションを始める前に、附号を反転したホウの磁場勾配パルスを入力する事により除去する事が可能であると考へる。

Fig. 7

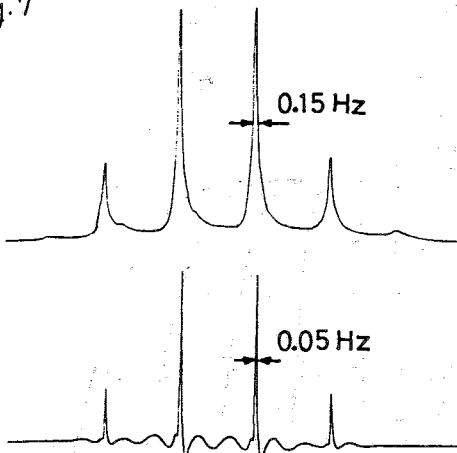


Fig. 8



### Ref.

- 1) A. Ban, R. Freeman, J. Mag. Res. 37, 117 (1980)
- 2) J. Kida, H. Ueda, J. Mag. Res. 22, 253 (1977)



○田中邦雄<sup>(\*)</sup> 山田芳文<sup>(\*\*)</sup> 清水哲也<sup>(\*\*)</sup> 阿部善右衛門<sup>(\*\*\*)</sup>

\*)旭川医大 \*\*)宇都宮大 \*\*\*)武蔵工大

1. はじめに

1971年 R. Damadian により、生体プロトンの核磁気緩和時間の相違を利用した悪性腫瘍検出の可能性が報告されて以来、NMRの生体計測応用に関する研究が急速に展開されてきた。とくに、1973年 P.C. Lauterbur が X線 CT (Computed Tomography) と同様の像再構成法を用いた NMR Zeugmatography を提案して以来、<sup>1)</sup> 生体内部のスピン密度分布、核磁気緩和時間の相対変化などの NMR 情報を画像表示する、NMR イメージングの報告が多数なされてきた。<sup>2)</sup> NMR イメージングを行なうには、生体内の空間的位置と測定情報との間に 1対1 の対応づけを要する。このため前記諸法においては、静磁場強度が直線的に変化する線形傾斜磁場を用い、各点での共鳴周波数の相違により、空間的な位置に対応した信号を得て、これを画像表示している。最近では、ヒトの腹部や頭部の断面像の報告もみられる。<sup>3), 10)</sup>

一方、筆者らは特定部位にのみ他部位とは強度の異なる磁場を重畳し、共鳴周波数の相違から特定部位のみの情報を無侵襲で得る磁場焦点法を提案し、<sup>11)</sup> 焦点磁場発生法、<sup>12), 13)</sup> 無侵襲計測時の測定感度、<sup>14)</sup> 緩和時間の無侵襲選択測定、<sup>15), 16)</sup> 磁場焦点法のイメージングへの適用などの検討を行なってきた。本報告では、まずこれまで不十分であった焦点磁場のもてにおける空間的な感度分布(空間応答)や、信号選択領域について検討した。ついで、走査用焦点磁場発生器と市販パルス NMR 装置との組合せにより、本法によるスピン密度のイメージングの検討を行なった。

2. 磁場焦点法の空間応答と信号選択領域

焦点用磁場として、球状焦点磁場<sup>13)</sup> 棒状焦点磁場<sup>14)</sup> および“つ”状領域を伴った星状磁場<sup>15)</sup> が挙げられる。本稿では実験装置とも関連して、周辺領域に向って“つ”状領域が伴うが、最も発生の容易な円線輪対(図1)による星状焦点磁場を対象として、まず空間的な感度分布すなわち空間応答について検討した。RFパルスが十分強く、また選択照射効果<sup>17)</sup> を無視できるとすると、図1の配置に基づいて円線輪対焦点磁場のもてでの空間応答関数は次式となる。<sup>18)</sup>

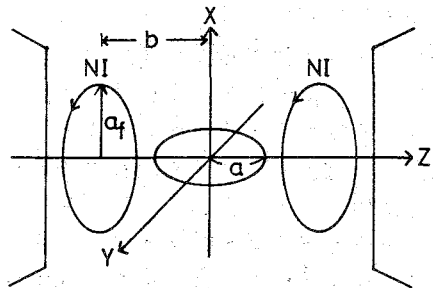


図1 焦点磁場発生用円線輪対

$$S(x, y, z) = \frac{a^3}{(a^2 + x^2)^{3/2}} \cdot \frac{1}{1 + \{T_2 \Delta H_s(x, y, z)\}^2}$$

ただし、 $\Delta H_s$  は焦点磁場、 $T_2$  はスピンスピン緩和時間である。ここで、 $\Delta H_s$  は

たなかくにお、やまだよし小み、しみずてつや、あべぜんうえもん

$$\Delta H_s = C_2 Z^2 - \frac{1}{2} C_2 (X^2 + Y^2)$$

$$C_2 = \frac{3\pi Q_f^2 (4b^2 - Q_f^2)}{5(Q_f^2 + b^2)^{3/2}} NI$$

Z軸上(磁極方向)における検出信号の空間応答を計算した結果を図2に実線で示した。なお、計算に用いたパラメータは実測値との対比を行なうため、プローブコイル半径  $Q = 16.5 \text{ mm}$ 、円線輪半径  $Q_f = 10 \text{ mm}$ 、 $T_2 = 650 \mu\text{s}$ 、また焦点磁場発生用の起磁力  $NI = 15 \text{ AT}$  とした。つまり、60 MHz  $^1\text{H}$  NMR装置(JNM-FSE-60C)を用い、プローブコイル(33 mmφ)中心に前記焦点磁場を重畳し、4.2 mmφ×3 mmの微小試料をプローブコイル内で各軸方向に移動することによって、感度分布を実測した結果を図2に実線で示した。計算値と実測値は極めて良い一致を示すとともに、焦点磁場の変化に対応して急峻に感度に変化することかわかる。一方、焦点磁場を適用しない場合(同図中一実鎖線)には、静磁場分布に依存した緩やかな感度変化を示す。なお、X、Y軸上についても同様の結果を得た。ここで、円線輪対焦点磁場のもとにおける空間分解能を図2の空間応答の半値幅とすると、5 mm前後となり±5 ppmの均一焦点磁場領域にはほぼ一致する結果を得た。

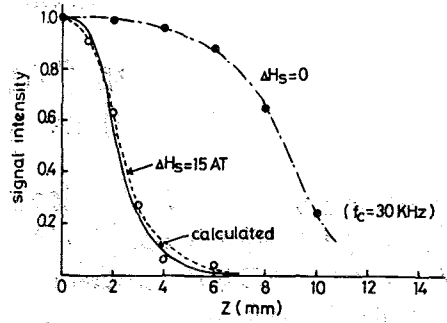


図2 磁場焦点法の空間応答

つまり、プローブコイル中心で試料体積を増加させることにより、焦点磁場領域内部とその外部が検出信号に及ぼす影響について検討した。焦点磁場の均一領域の形状を考慮して、長さL、直径 $\sqrt{L}$ の円筒に水を満たして実測した結果を図3に示す。なお、測定に際し、共鳴周波数以外の成分をできる限り減ずるために、出力段に帯域幅30 KHzおよび300 Hzのローパスフィルタを適用した。図より、焦点磁場を重畳した場合、ある体積以上に試料を増しても信号強度は一定となる。しかし、焦点磁場を用いない場合には、試料体積の増加に伴って信号強度も増加することかわかる。これは、焦点領域外部からの焦点領域内部の出力信号へ及ぼす寄与をほぼ無視できることを示している。また、外部からの寄与すなわち誤差が10%以下になるのは図よりL=7 mm前後であり、これは±5~±10 ppmの均一焦点磁場領域とほぼ同程度である。

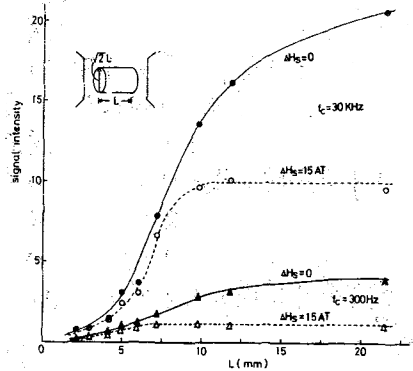


図3 焦点磁場による信号選択領域

### 3. 磁場焦点法によるスピン密度のイメージング

#### 3.1 走査形焦点磁場発生器の試作

磁場焦点法により、被測定体中の任意の空間点をほぼ焦点磁場で制限できることが明らかとなった。そこで、つぎに本法によるスピン密度のイメージングの可能性を明らかにすべく、まず焦点領域を走査するための磁場発生器を試作した。焦点領域の電氣的走査法についての既報結果に基づいて、図4に示すように片側3個の同心コイルから成るコイル対とした。すなわち、最も内側は星状焦点磁場発生用の同極性コイル対で、均一焦点領域は中心部では直径3mmである。この外側は、焦点領域を走査するための線形傾斜磁場発生用の逆極性コイル対、また最も外側には、走査に伴って生ずる磁場オフセットを補償するためのコイル対を配置した。図5にZ軸上における走査位置と走査電流の関係を、3mmφ×3mmの微小試料で実測した結果を示す。ほぼ直線的に焦点領域が走査できることがわかる。また図6には、走査に伴って生ずる磁場オフセットを補償するための電流値との関係を示す。各走査位置に応じ、走査電流とオフセット補償電流値を設定することによって、共振条件および焦点磁場の形状を乱すことなく、Z軸上での走査が可能である。

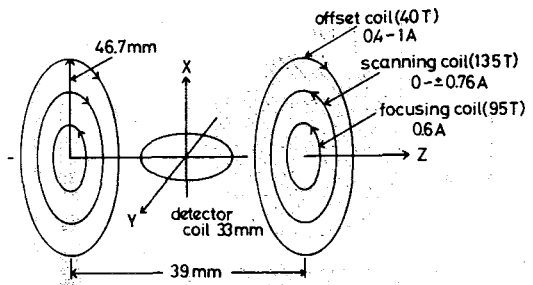


図4 走査形焦点磁場発生器

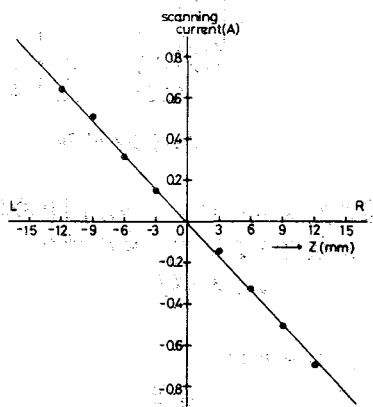


図5 走査位置と走査電流

### 3.2 スピン密度のイメージング

前記走査形焦点磁場発生器と60MHzパルスNMR装置を組合せ、図7に示す簡単なファントムについてイメージングの検討を行なった。図示のように、直径22mmの水を満たした試料管の中心に、10mmφ×10mmの信号を生じない部分を設けた。なお、今回は装置の制約上、X-Z平面すなわち縦断面について、Z方向には焦点磁場領域中心を2mm毎にマニュアルで、走査およびオフセット補償電流を変化させて走査、またX方向には機械的に3mm毎に試料を移動させ、15×11英について90°パルス照射後のFIDを検出した。各測定長はトランジェントレコーダを介してデータレコーダに記録後、A/D変換器によりYHP21MX Computerに入力し、簡単なデータ処理を行ないX-Yプロッタにその出力を描かせた。

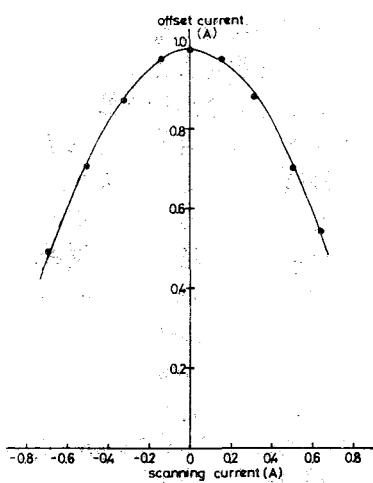


図6 磁場オフセット補償電流

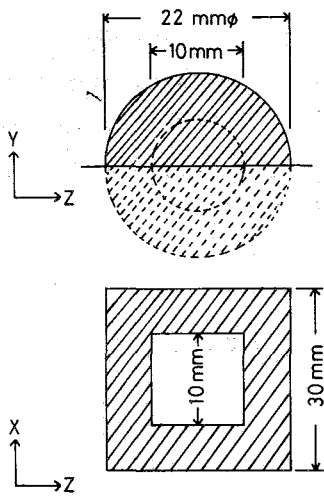


図7 イメージング用ファントム

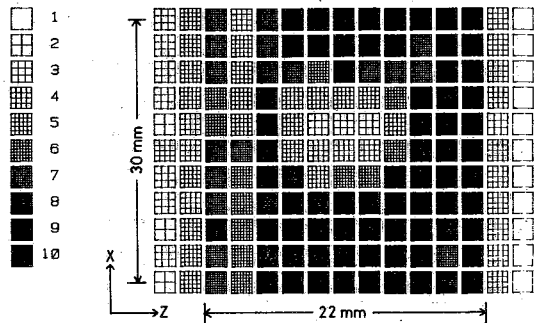


図8 磁場焦点法によるスピン密度のイメージング

出力強度に応じて、10段階に分類して表示した結果を図8に示す。測定条件の設定が不十分な箇所もあったが、ほぼ図7のファントムを満足する像が得られた。現状では、10mm程度のものは十分認識可能な分解能を有するものと言える。

#### 4. おわりに

最近まで多数の報告もみられたNMRイメージング諸法においては、空間的位置を指定するために、被測定体に線形傾斜磁場を与えることが共通している。これに対して、磁場焦点法は非線形的に強度が変化する磁場によって、一定磁場強度領域（焦点領域）以外を制限するもので、他法とは全く異なった完全に静的な空間長の指定法である。したがって、限定領域の精密測定にはとくに最適な方法と言えよう。本稿では、円線軸対称による焦点磁場のもとにおける空間的な感度分布、および信号選択領域について検討することにも、簡単なファントムを対象としたイメージングの検討を行なった。この結果、被測定領域はほぼ焦点領域に限定できること、またその垂直によりスピン密度のイメージングが可能であることを示した。今後、さらに本格的なイメージング法へと発展させる予定である。本研究は昭55年度文部省科研費試験研究(1)によって行なった。

文献 1) R. Damadian: *Science*, **171**, 1151 (1971) 2) P.C. Lauterbur: *Nature*, **282**, 190 (1973) 3) A.N. Garroway et al.: *J. Phys. C*, **2**, L457 (1974) 4) W.S. Hinshaw: *J. Appl. Phys.*, **52**, 3709 (1976) 5) R.J. Sutherland et al.: *J. Phys. E*, **11**, 79 (1978) 6) R. Damadian et al.: *Science*, **194**, 1930 (1976) 7) L.E. Crooks et al.: *Investigative Radiol.*, **12**, 63 (1978) 8) 八田他: *信学研資*, MBE79-23 (1979) 9) P. Mansfield et al.: *British J. Radiol.*, **52**, 292 (1979) 10) G.M. Holland et al.: *J. Comput. Assist. Tomogr.*, **5**, 1 (1980) 11) 阿部他: *計測制御論文集*, **12**, 290 (1979) 12) 山本他: *計測自動制御論文集*, **14**, 113 (1978) 13) 山田他: *信学研資*, MBE78-68 (1979) 14) 田中他: *医用電子と生体工学*, **12**, 81 (1979) 15) K. Tanaka et al.: *Proc. IEEE*, **66**, 1542 (1978) 16) 田中他: *信学研資*, MBE78-67 (1979) 17) 山本他: *信学論誌*, 61-C-135 (1977) 18) 山田他: *信学研資*, BMCJ79-77 (1980) 19) 田中他: *医用電子と生体工学*, 12, 特別号, 3-C-8 (1980)

# 103 NMRトモグラフィ

(電総研) 〇 亀井裕孟, 片山義朗, 横山 浩

NMRトモグラフィ(NMRイメージング, NMR-CT等)については既に数多くの手法が開発され, 人体についても, 画質のよい断層像が, 多数報告されている。<sup>1)</sup> NMRは静磁場  $H_0$  と小さな高周波磁場  $H_1$  とを用いるわけなので, 生体機能に対する影響は小さいと考えられている。このため, NMRトモグラフィは, 安全を無傷的断層計測技術として注目されている。さらに, NMRトモグラフィでは, X線CTなどで行っている形態診断に加えて, 機能診断への応用可能性も考えられ, 医療の面でのその実用化が期待されている。

静磁場の安全性については, 1 kG以下であればよいとの判断もあるが,<sup>2)</sup> 200 G以下を安全基準としている場合もあるようであり,<sup>3)</sup> また安全基準は確立されていないようである。したがって, 安全性からいえるだけ低い磁場を用いることが望ましいが, NMR信号の検出感度という点では, 低い磁場を用いることは非常に不利である。とくに, NMRトモグラフィの欠点は, 観測時間が長いという点であり, 観測時間といかに短くするかが, 現在, NMRトモグラフィのもっと大きな課題の一つとなっている。

わが国では, より低い磁場でのNMRトモグラフィの可能性を検討するため, 人体頭部程度の容積のものゝ測定が可能な電磁石を試作し, NMRトモグラフィの予備的実験を行ったので, その結果について報告する。

## [装 置]

### 1) 電磁石

3対のコイルで構成される疑似ヘルムホルツ型電磁石を試作した。性能等と表1に示す。積造材料には全てアルミニウムを使用し, 3対のコイルのうち, 中間の1対(表1の2)がヘルムホルツコイルの条件にあり, その両側にそれぞれ1対づつコイルがある。6個のコイルは全て独立の電源で励磁している。このことにより, それぞれのコイルに流す電流を調節して, 磁場の均一度  $\Delta H$  を調整することが可能となる。3対のコイルの電流比を  $I_1 : I_2 : I_3 = 0.65 : 1 : 1$  とし, 磁場の分布の計算結果を図1に示す。この均一度は, NMRトモグラフィの目的からすると満足すべきものではない。例えば, 直径  $10\text{ cm}$  長さ  $10\text{ cm}$  の円柱状の検体で,  $1\text{ mm}$  の分解能をもつトモグラフィを得ようとするとき, 信号の減衰時間は約  $30\text{ }\mu\text{s}$  以下となり, 十分に短い回復時間をもつ観測系が必要となる。このことより, 数  $10\text{ G}$  を越える大きな高周波磁場

表1. 電磁石の性能

磁場強度	最大	300 G
コイル径		1 m
コイル間隔	1	40 cm
	2	50 cm
	3	60 cm
有効径		85 cm

かめい ひろたけ, かたやま よしろう, よこやま ひろし.

を必要とすることになり、印加時間は短いとはいえず、生体に対する影響を考慮する必要が生じよう。そこで、電流シムによって均一度を高めることを試みた。その結果、上記領域で、 $\Delta H_0 \sim 10^{-5}$  と得ることができた。硫酸銅をドーパした水のスペクトルを図2に示す。また、人体頸部の測定を考慮、直径20mm、長さ10mmの領域で得られる断面係数分断能は  $\Delta H_0 \sim 5 \times 10^{-5}$ 、 $H_1 \sim 6$  分のヒモ、約2mmと期待される。

勾配磁場は、 $H_0$  の方向 (Z軸) と、これと直交する xy 面内に任意の大きさで印加できる。Z軸方向は80mmφのイルムホルツ型コイルによって、これと直交する方向は、4個の矩形コイル<sup>4)</sup>によって1軸方向の勾配をもたせ、これをZ軸の代わりに回転させることによって、xy面内の任意方向の勾配磁場が發生できるようにした。勾配磁場コイルの形状寸法を図3に示す。

## 2) 観測系

観測系のブロック図を図4に示す。古い周波数範囲での使用を考慮、増幅器は全て広帯域増幅器を用いている(高周波パルス電力増幅器終段のみ同期増幅)。トランスミッタコイルは、フラ型で、内部有効径26mmである。レシーバコイルは測定対象によって、単

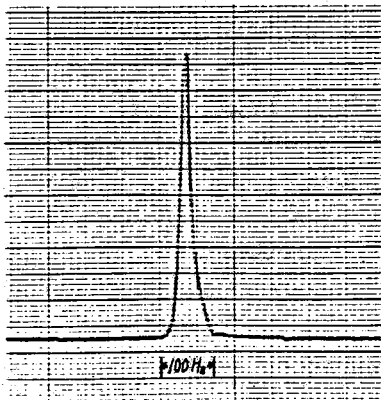


図2. 均一度評価用スペクトル

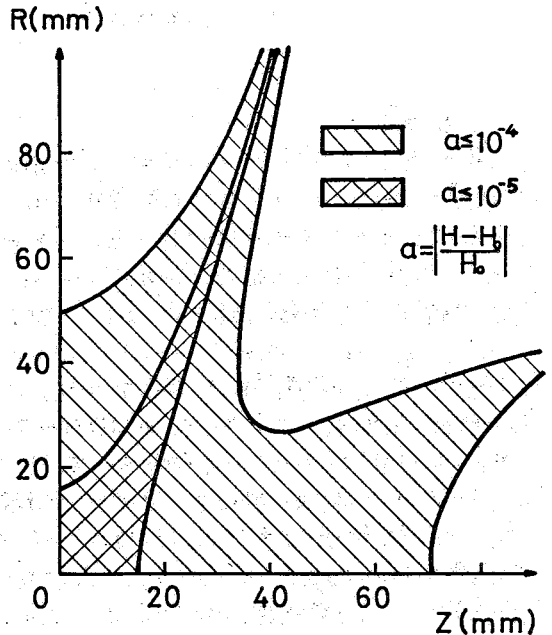
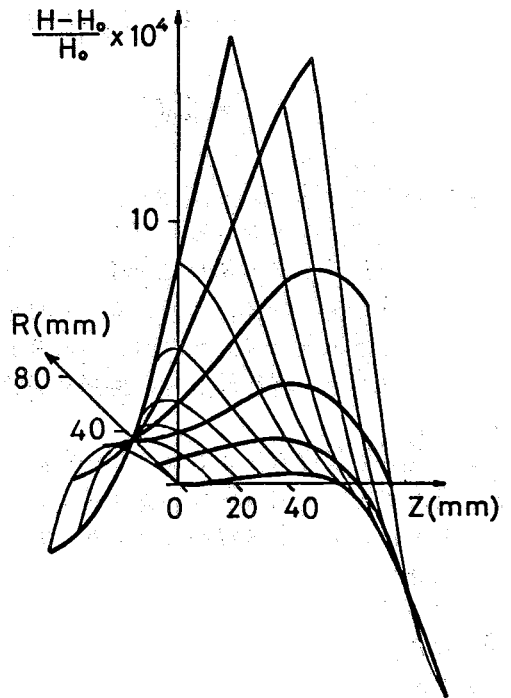


図1. 磁場強度分布の計算結果

層ソレノイド、あるいはクラ型を用いる。

[結果と考察]

測定は  $L_0 \sim 800 \text{ kHz}$  ,  $H_0 \sim 188 \text{ G}$  ,  $H_1 \sim 3 \text{ G}$  で行った。 $H_0$  が小さいことは検出感度の点で不利であるが、観測周波数が低いことは、表皮効果が小さく、検体中の高周波後端の分布が比較的一様となるので、あとの演算処理が楽になる。

中心間隔  $62 \text{ mm}$  , 外径  $18 \text{ mm}$  のガラス管中の水についての結果を図5に示す。4方向の投影ソフトウェアから手計算によって再構成したものである。画素数は  $64 \times 64$  である。投影ソフトウェアは、パルス幅  $0.6 \text{ s}$  で、100回の積算で得たものを用いた。したがって、1つの投影ソフトウェアを得るのに、約  $70 \text{ s}$  必要である。使用したサンプルは  $86 \text{ mmph}$  で、ファイリング・ファクターは  $0.069$  である。単位時間当りの検出感度は、 $H_0$  の約3

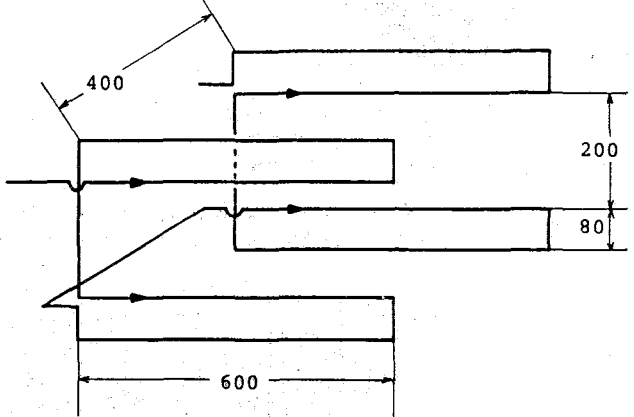


図3. XY 分配磁場用コイル

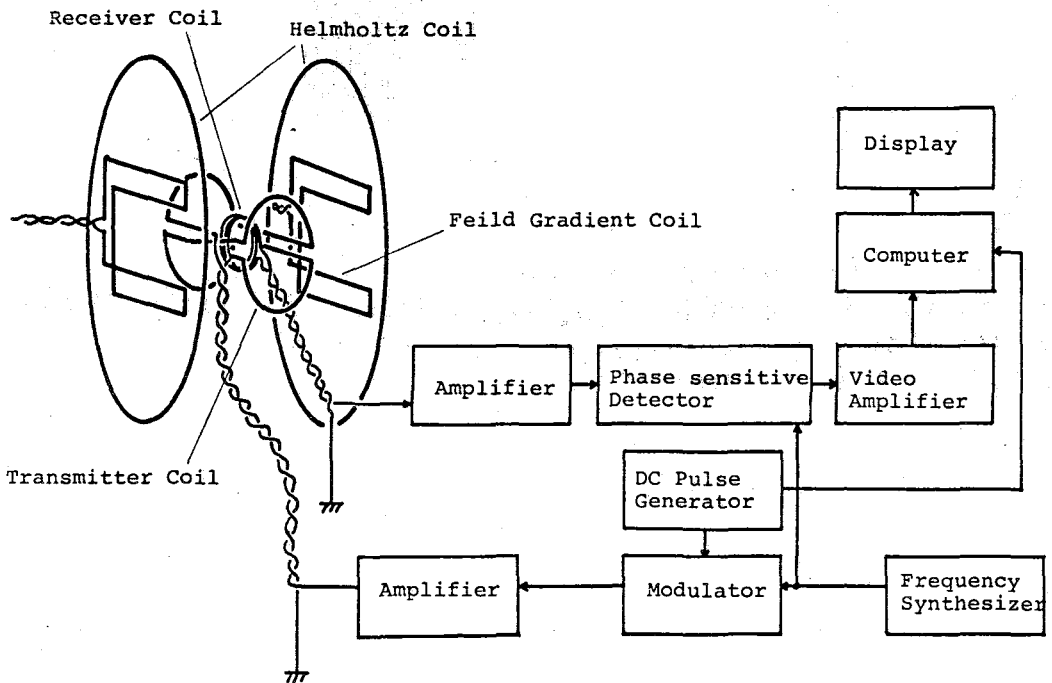


図4. スペクトロメータのブロック図

乘に比例するこゝを差えりこ、今回の結果は十分満足すべきものと考えられる。人体頸部のスペクトルを図に示す。このトモグラムについても発表する予定である。

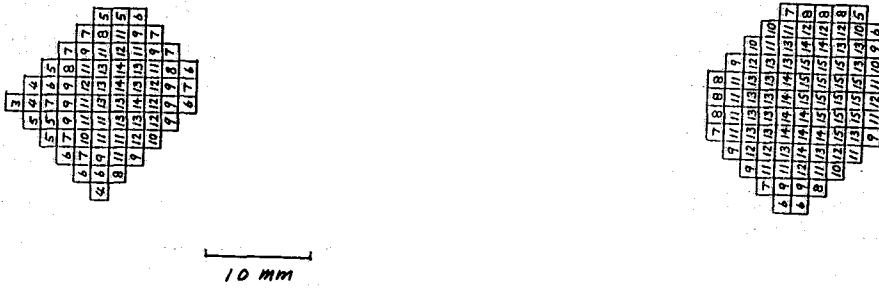


図5. 投影-再構成法によるトモグラム

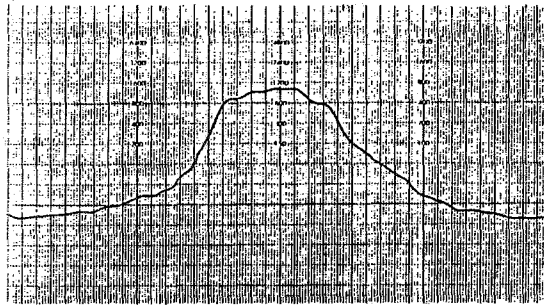


図6. 人体頸部のHスペクトル

文献

- 1). 伊豆正, 電研: 映像情報 12, [7.8] 39 (1980), 固体物理 14, 655 (1979).
- 2). T.F. Budinger: IEEE Trans. NS-26 2821 (1979).
- 3). 中川: 科学 50 196 (1980).



## 104 プロトンNMRイメージング

(ブルカー社研) E. Bartholdi

プロトンNMR法を用いた種々のイメージング法の差異による測定感度及び、測定時間に関する理論的考察を行い、さらに弊社研究所で投影像再構成法により得られたオレンジピーマン、卵等のズームグラムを示す。又、一つのサンプル中の異なる部分の $T_1$ 、及び $T_2$ の値を求めるためのパルスシーケンスに関する考察並びに、同法を用いた卵の $T_1$ 、 $T_2$ の測定結果を示す。最後に同法の人体への応用に関しての考察を行う。



(京大理) ○今城文雄, 寺尾武彦, 長岡伸一, 広田襄  
 (京大化研) 林宗市

§1. 固体単結晶に対する高分解能NMRにおいては、液体ではスカラー量として観測されていた化学シフトがテンソル量として観測されるため、分子内における核配置や電子状態についてより多くの情報が提供されることになり、分子の静的及び動的な構造に関して更に詳細な知見を得ることが出来る。本報告では安息香酸単結晶について<sup>13</sup>C固体高分解能NMR及び<sup>1</sup>Hスピン-格子緩和時間(T<sub>1</sub>)の測定結果とそれらに対する考察を述べる。

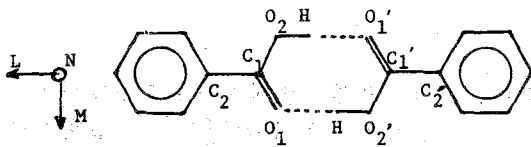


図1 安息香酸二量体

安息香酸は結晶状態では図1の様に水素結合で会合した二量体構造をとっているが<sup>1</sup>, IRスペクトルの温度変化から水素結合上の水素の移動を含むA, B二種の異なる立体配置(図2)の存在が示され、A配置の方がB配置より

安定であると考えられている<sup>2</sup>。従って温度を変えて<sup>13</sup>C固体高分解能スペクトルを測定すれば、特にカルボキシル炭素の化学シフトテンソルについてその跡、異方性、主軸方向等よりA, B配置の構造や平衡等についてのより興味ある知見を得ることが期待される。また<sup>1</sup>HのT<sub>1</sub>の温度変化の測定からは、A, B配置間のエネルギー差(ΔE)や水素核の移動に必要な活性化エネルギー(V<sub>0</sub>)等についての知見が得られると考えられる。

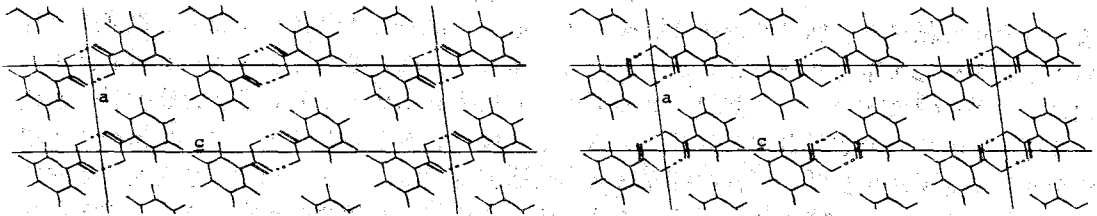


図2 安息香酸結晶におけるA配置(左)とB配置(右)。c軸に沿って見た図。

§2. (試料) <sup>13</sup>C固体高分解能NMR用試料としてはカルボキシル炭素に<sup>13</sup>Cを5%enrichした安息香酸を用いBridgman法で作製した単結晶を用いた。結晶軸の同定には既報告の方法<sup>3</sup>を用いた。<sup>1</sup>HのT<sub>1</sub>測定には帯溶融法により精製した安息香酸(BAC-6c)と二回昇華

いましろ ふみお, てらお たけひこ, ながおかしんいち, ひろた のぼる,  
 はやし そういち

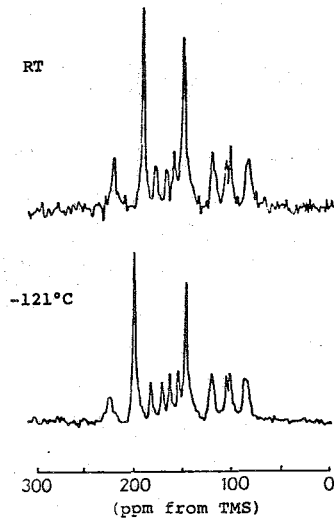


図3 安息香酸単結晶の<sup>13</sup>C固体高分解能スペクトル。  
(上:室温, 下:-121°C)

精製した核重水素置換安息香酸(BAC-d<sub>5</sub>)を用いた。  
(測定法) <sup>13</sup>C固体高分解能スペクトルはproton enhanced NMRのADRF version<sup>4</sup>を用いた。混合条件は<sup>1</sup>Hに対して15G, <sup>13</sup>Cに対して20Gである。T<sub>1</sub>測定にはm90°-τ-90°-90°パルス系例からなるsaturation recovery法を用いた。測定には自作の装置を使用し共鳴周波数は<sup>1</sup>Hに対して59.5MHzである。温度は窒素ガスフロー法を用いて自作の装置で制御した。

5.3. (カルボキシル炭素の化学シフトテンソル)

化学シフトテンソルは単結晶を静磁場と直交させたa, b, c\*軸回りに回転させて化学シフトの角度変化を測定し, 得られた回転パターンを理論曲線に最小二乗フィットさせて算出する。更にテンソルを対角化することにより化学シフトテンソルの主値と主軸方向を求め, 結晶構造のデータと合わせて分子座標

系での値に変換する。図3は高分解能スペクトルの一例であり室温と-121°Cの測定で二種のカルボキシル炭素(二つの高いピーク)の化学シフト値が異なることがわかる。測定した温度領域ではA, B配置のカルボキシル炭素の化学シフトの差は相関時間の逆数よりずっと小さいのでそれぞれ二本に分裂していないと考えられる。a, b, c\*軸回りの回転パターンを図4に示す。安息香酸単結晶の空間群はP2<sub>1</sub>/c (Z=4)であるため, b軸回りに回転させても二回螺旋軸の存在により一本の吸収線しか観測されないが, a, c\*軸回りの回転では一般に二本の吸収線が見られる。

Robertson らのX線結晶解析のデータを用いて化学シフトテンソルの主値と主軸方向を

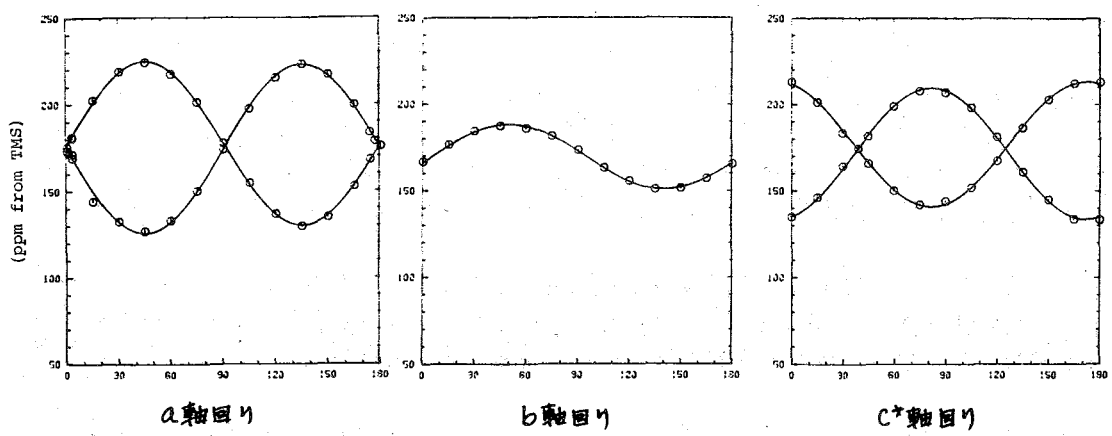


図4 安息香酸単結晶のカルボキシル炭素の化学シフトに対する回転パターン。  
(-121°C)

表1. 安息香酸カルボキシル炭素の  
化学シフトテンソル<sup>a</sup>

		$\sigma_{xx}$	$\sigma_{yy}$	$\sigma_{zz}$	$\frac{1}{3}\text{tr}\sigma$	$\Delta\sigma^c$
BAC	RT	224	187	105	172 <sup>b</sup>	-100
	-121°C	229	189	101	173	-108
BAC-d <sub>6</sub> <sup>5</sup>	RT	231	188	103	174	-107

<sup>a</sup> TMS 0-5 の値 (ppm), <sup>b</sup>  $\sigma_{iso} = 171.7$  ppm (藤原 CP/MAS)

<sup>c</sup>  $\Delta\sigma = \sigma_{33} - \frac{1}{2}(\sigma_{xx} + \sigma_{yy})$

ると -121°C では x 軸が C<sub>1</sub>-O<sub>2</sub> 結合の方向へ回転してくることがわかった。これはほぼ完全に対称な水素結合をしていると考えられる。安息香酸や酒石酸のジアミンモニウム塩のカルボキシル炭素の  $\sigma_{xx}$  の方向がカルボキシル基の平面上で角 C<sub>1</sub>-C<sub>1</sub>-O<sub>2</sub> を二等分する方向にある<sup>6</sup> のに対し、対称なケトン(ベンゾフェノン)のカルボニル炭素の  $\sigma_{xx}$  方向はカルボニル基の平面上でカルボニル基と直交する方向にあることから次の様に説明される。高温では A, B 両配置の存在確率が等しくなるので O<sub>1</sub> と O<sub>2</sub> は等価になると考えられ、カルボキシル炭素の化学シフトテンソルの  $\sigma_{xx}$  の方向は角 O<sub>1</sub>-C<sub>1</sub>-O<sub>2</sub> を二等分する向きに存在することになる。しかし低温になるにつれて A, B 両配置の存在確率に偏りが生じて、IR の結果に基づくと A 配置の割合が増えてくることになる。A 配置では図 5 の様に C<sub>1</sub>=O<sub>1</sub> がカルボニル基であるのでカルボニル基の方向と直交する方向、即ち C<sub>1</sub>-O<sub>2</sub> 結合の方向へ移動してくることになる。現在のところ主軸方向の角度についての精度に問題があるので、存在確率との定量的な対応はできないが、更に精度の高い実験を行う予定である。

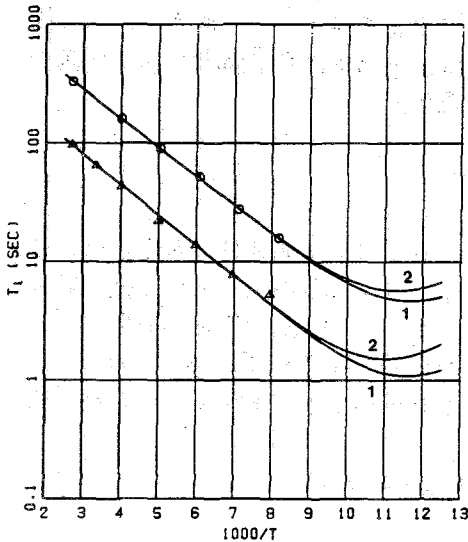


図5. 安息香酸のHのT<sub>1</sub>の温度変化。  
○: BAC-h<sub>6</sub>, △: BAC-d<sub>6</sub>.

を決定した。結果は表1に示す。まず第一に  $\frac{1}{3}\text{tr}\sigma$  の値は室温でも -121°C でも或いは Haeblerenらの全重水素置換安息香酸(BAC-d<sub>6</sub>)<sup>5</sup>でも殆ど同じであるが異方性( $\Delta\sigma$ )が増加していることが注目される。しかしながら低温での異方性の増加は熱振動の減少などの原因によってもこの程度は起こると考えられる。主軸の方向は室温で x//L, y//M とす

(Hスピン-格子緩和時間) BAC-h<sub>6</sub> と BAC-d<sub>6</sub>に対するHのT<sub>1</sub>の温度変化を図5に示す。現在のところT<sub>1</sub>の極小値は見出していないが、いずれの化合物でも緩和は測定温度で指数関数的であり、両者のlnT<sub>1</sub>に対する傾きが非常に近いことから両者のT<sub>1</sub>は同じ緩和機構に従うと考えられる。

固体安息香酸において水素結合水素は常温では水素結合に沿って速い交換を行っているというIRの結果は、最新のX線結晶構造解析において水素結合水素が1/2水素として二つの位置に存在するという結果からも支持されよう。従って固体安息香酸では一對の陽子対が二つの極小位置をもつ非対称なポテンシャルの中で飛び回っていると考えられ(図6)この様な陽子対間の双極子相互作用の振動がHの緩和を引き起こすことになる。曾田、千原の方法<sup>9</sup>を適用してこの系でのT<sub>1</sub>の表式を

導くと  $a = \exp(\Delta E/RT)$  として

$$\frac{1}{T_1} = \frac{3}{10} \gamma_{H}^2 \left\{ \sum_i \frac{Z}{N} \left( \frac{1}{R_{iA}^6} + \frac{1}{R_{iB}^6} + \frac{1-3\cos^2\theta_{iAB}}{R_{iA}^2 R_{iB}^4} \right) \right\} \frac{a}{(1+a)^2} B(\tau) \quad [1]$$

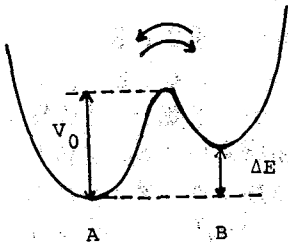


図6. 二つの極小位置をもつ非対称ポテンシャル。

$$B(\tau) = \frac{\tau}{1+\omega^2\tau^2} + \frac{4\tau}{1+4\omega^2\tau^2}$$

$i$ : スピン対  $R_{iA}(R_{iB})$  A(B)配置でのスピン対*i*の陽子間距離

$\theta_{iAB}$  A, B配置でスピン対*i*のなす角

$N$ : 安息香酸二量体中の水素数 (12 (BAC- $h_6$ ), 2 (BAC- $d_5$ ))

$\tau$ : 相関時間  $= \tau_0 \exp(V_0/RT) / (1+a)$

$\omega$ : 測定周波数 ( $2\pi \times 59.5$  MHz)

となる。水素核の位置等について次のモデル(model 1)を考える。核炭素の位置は Speakman の X線回折の結果<sup>8</sup>を用い、核水素は X線による C-H結合軸方向へ C-H結合距離を  $1.08 \text{ \AA}$  にとったものを用いる。そこで A 配置に対しては  $C_1-O_2$ ,  $C_1-O_1$ ,  $O_2-H$ ,  $O_1-O_1'$  結合距離を  $1.32, 1.23, 0.99, 2.64 \text{ \AA}$  とし、 $C_2-C_1-O_1$ ,  $C_1-C_1-O_2$ ,  $O_1-C_1-O_2$ ,  $C_1-O_1-O_2'$  結合角を  $124, 114, 122, 125, 113^\circ$  とし、B 配置は A 配置の水素結合に關与する核の位置を  $C_2-C_1'$  回りに  $180^\circ$  回転させたものとする。この model 1 では水素結合水素は  $O_1-O_1'$  上に存在することになる(図2)。水素結合水素より  $3.5 \text{ \AA}$  以内にある水素核との双極子相互作用を全て考慮すると BAC- $h_6$  の BAC- $d_5$  に対する  $T_1$  の比は  $4.6$  と計算されるが、この比は実験の値(約  $3.8$ )に近い。また model 1 による  $T_1$  の温度に依存しない項と  $\ln T_1$  の  $1/4$  に対する傾きから得られる  $V_0$  の値を用いた理論曲線(図5中の実線1)から求めた  $\tau_0$  の値 ( $4.3 \times 10^{-12}$  秒)は妥当な値と考えられ、固体安息香酸の H の  $T_1$  は水素結合に沿った陽子対の再配向に基づく結論される。[1] は  $\omega \tau \ll 1$  の条件で

$$\ln \frac{T_1}{(1+a)^3} = - \frac{V_0 + \Delta E}{R} \cdot \frac{1}{T} + \text{const.} \quad [2]$$

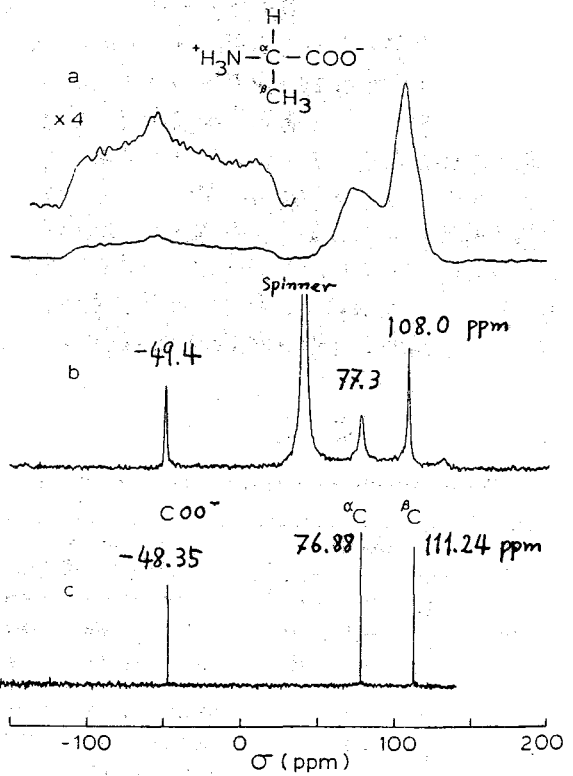
となり、 $\Delta E = 0.1 \text{ kcal/mol}$  の値を用いると BAC- $h_6$ , BAC- $d_5$  の陽子対の再配向に対する活性化エネルギーとしていずれの化合物についても  $V_0 = 1.2 \text{ kcal/mol}$  という値が得られた。この値は水素結合系での陽子移動の活性化エネルギーとしては非常に低いものであると考えられ、より低温領域では水素核のトンネル運動に依る効果が  $T_1$  に有効になってくることが期待されるので、高分解能スペクトルとともに液体ヘリウム温度までの  $T_1$  の温度依存性を調べる実験を計画している。

1. G. A. Sim, J. M. Robertson, and T. H. Goodwin, Acta Crystallogr., **8**, 157 (1955).
2. S. Hayashi and J. Umemura, J. Chem. Phys., **60**, 2630 (1974).
3. S. Nagaoka and N. Hirota, J. Chem. Phys., in press.
4. A. Pines, M. G. Gibby, and J. S. Waugh, J. Chem. Phys., **56**, 1776 (1972).
5. J. Kempf, H. W. Spiess, U. Haeblerlen, and H. Zimmermann, Chem. Phys., **4**, 269 (1974).
6. A. Pines, J. J. Chang, and R. G. Griffin, J. Chem. Phys., **61**, 1021 (1974).
7. J. Kempf, H. W. Spiess, U. Haeblerlen, and H. Zimmermann, Chem. Phys. Lett., **17**, 39 (1972).
8. Speakman, 林への私信。
9. G. Soda and H. Chihara, J. Magn. Reson., to be published.

(アリテッシュコロンビア大) 内藤 晶・S. Ganapathy  
 °赤坂一之・C. A. McDowell

[序] われわれはタンパク質の固体<sup>13</sup>C NMR スペクトルを理解するための基礎として、固体アミノ酸の<sup>13</sup>C NMR による研究に着手した。ここで興味のある点は ①炭素原子の化学シフトテンソル、②<sup>13</sup>C-<sup>1</sup>H cross polarization の dynamics、③<sup>13</sup>C-<sup>14</sup>N 間の磁気的相互作用、それに④<sup>13</sup>C核の T<sub>1ρ</sub> の機構、などである。本講演では、L-アラニンについて①-③の結果を中心に報告する。

[実験] 測定は Bruker 社製 CXP-200 (ν<sub>H</sub> = 200 MHz) を用い、Proton enhanced <sup>13</sup>C NMR に Proton dipolar decoupling を併用して 20°C に行った。通常の測定条件下では H<sub>1c</sub> ≈ 40 G, H<sub>1H</sub> ≈ 10 G であった。粉末および Magic Angle Spinning 下 (以下 MAS と省略) のスペクトル測定はメーカー製のプローブをそのまま用いて行った。単結晶スペクトルの測定にはメーカー製のプローブに、単結晶回転用のアダプタメントを特別に製作して取り付けて行った。化学シフトは外部基準のベンゼンを基準として測定した。



[結果]

I. 粉末, MAS, および溶液中のスペクトル.

図1に示すように、2の粉末スペクトルで3種の炭素原子はそれぞれ化学シフトの異方性を示す。COO<sup>-</sup>炭素のものは特に大きく且つ他の吸収と分離して観測されるため、スペクトル上で直接3つの主値が読みとれる(表1参照)。これに対し C<sub>α</sub>, C<sub>β</sub> の異方性は小さく且つ重なりがあって直接主値を読みとることはできない。MAS(b)と中性水溶液(c)はより一致を示すことから、固体中のスペクトルが容易に同定される。

図1. L-アラニンの<sup>13</sup>C NMR スペクトル。  
 a) 粉末 b) MAS c) 中性水溶液 (pH 6.5)  
 いずれも Proton (dipolar) decoupling の下で測定。b) に用いた spinning rate は約 4.5 kHz.

ないとう あきら・えす がなばてい・あかさか かずゆき・しんえい まくだうゑる

## II. 単結晶のスペクトル

結晶面に対し a, b, c 直交軸を固定し、外場 H に対して結晶を回転させて得られるスペクトルの例を図2に、共鳴線の位置の変化を (ac 面のみ) 図3に示す。

<化学シフトテンソルの解析> L-アラニン単結晶の構造解析は X線<sup>2)</sup>および中性子回折<sup>3)</sup>によりなされている。結晶は orthorhombic で単位格子中4個の分子を含み、空間群は  $P2_12_12_1$  に属す。角度変化のデータからは一般に各々の炭素について8組のテンソルが本まるが、このうち4組のみが意味をもつ。このことを考慮して得られた結果を表1に示す (表1には各1組のテンソルが示してある)。

とここで、 $C_\alpha$  の吸収は  $^{14}N$  ( $I=1$ ) との双極子結合による分裂 (3本線) が加わるため、その化学シフトテンソルはこのスピン分裂のテンソルを解析して初めて決定される。 $^{13}C$ - $^{14}N$  双極子分裂の解析は次に述べる。

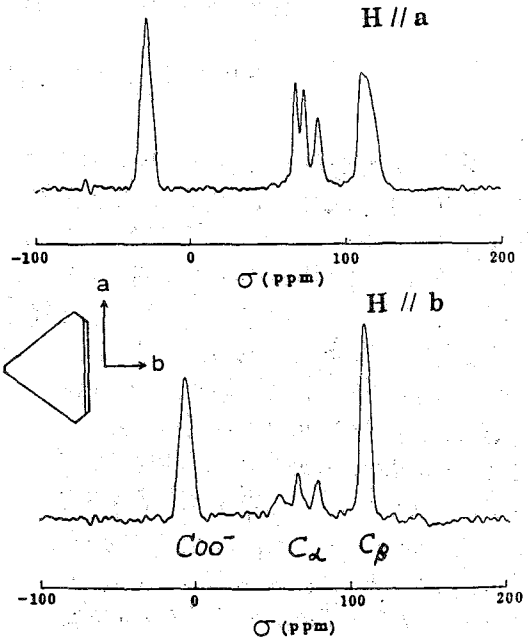


図2. L-アラニン単結晶の  $^{13}C$  スペクトル

表 1.

$^{13}C$  chemical shielding tensors in single crystals of L-alanine.

Carbon	Eigen values <sup>a)</sup>	Principal axes <sup>b)</sup>			
		Direction Cosines			
$COO^-$	$\sigma_{11}$	-114.4 (-111) <sup>c)</sup>	0.2005	-0.0719	0.9771
	$\sigma_{22}$	-55.0 (-54)	-0.7737	0.6025	0.2029
	$\sigma_{33}$	21.8 (23)	-0.6011	-0.7966	0.0648
$^{\alpha}C$	$\sigma_{11}$	63.4	-0.3664	-0.9285	0.0602
	$\sigma_{22}$	72.0	0.8568	-0.3115	0.4109
	$\sigma_{33}$	97.2	-0.3628	0.2021	0.9097
$^{\beta}C$	$\sigma_{11}$	98.2	0.4060	-0.6990	0.5885
	$\sigma_{22}$	107.1	-0.5177	0.3547	0.7784
	$\sigma_{33}$	120.2	0.7529	0.6209	0.2178

a) The chemical shifts are given in ppm with respect to liquid benzene.

b) With respect to a, b, c axis system.

c) These values are determined from the powder spectrum.

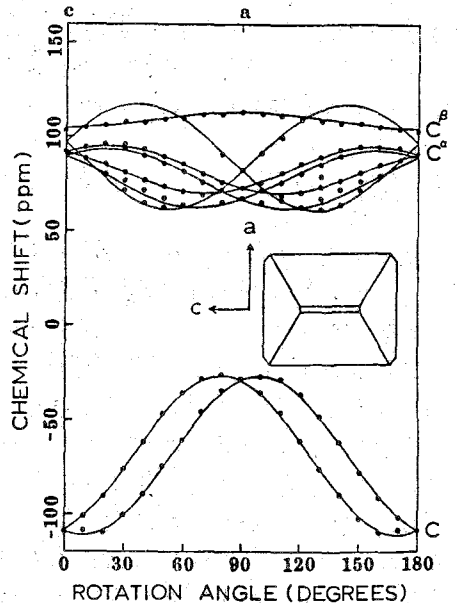


図3. 単結晶スペクトルの角度依存性

(1) A. Pines et al., J. Chem. Phys. 59, 569 (1973).



〈 $^{14}\text{N}$  との双極子相互作用による分裂と線幅〉

$\text{C}\alpha$  共鳴線の  $^{14}\text{N}$  との双極子結合による分裂は、 $^{14}\text{N}$  核のスピンの配向が電気四重極相互作用の影響を受けるため非対称な3本線となっている。図4は  $^{14}\text{N}$  核の電気四重極相互作用を考慮した場合に  $^{13}\text{C}-^{14}\text{N}$  分裂がどう変わるかを示している。このような分裂を考慮した上で、図5に示すような  $\text{C}\alpha$  の角度変化を最もよく再現するよう  $\text{C}\alpha$  の化学シフトテンソルが決定された(表1)。

$^{14}\text{N}$  との双極子結合は  $\text{C}\alpha$  以外の炭素に対しては最大 0.5 KHz 程度の分裂を与えることが計算により得られる。この分裂は小さ過ぎるため検出にはかゝるなかたが、実験の線幅(約 0.5 KHz) を説明するのに充分である。

〈化学シフトテンソルと化学結合の対称性〉

実験的に決定された化学シフトテンソルを、 $\text{L-アラニンの結晶構造}^{(2)}$  と対応させた結果、図5に示す結果を得た。(図5ではすべてのテンソル主値が正になるように、化学シフトの基準をずらしてある。詳しく電子構造との対応は後に譲るとして、図5から次のことがわかる。

(i)  $\text{C}=\text{O}$  炭素の shielding の異方性は大きく、最大(最小)の方向は  $\text{C}=\text{O}$  面 ( $\text{Sp}^2$  面) に垂直である。この主値は他の化合物の  $\text{C}=\text{O}$  炭素のそれらとよく一致を示す。

(ii)  $\text{C}\beta$  (メチル炭素) の shielding の異方性は小さいが、テンソルは軸対称ではなく、この最大主値はほぼ  $\text{C}\alpha-\text{C}\beta$  結合(メチル基の回転軸方向)と一致する。

(iii)  $\text{C}\alpha$  炭素の shielding の異方性は小さく、またテンソルは軸対称にはない。テンソルの主軸はどれも  $\text{C}\alpha$  を結ぶ化学結合に平行なものではなく、シフトテンソルと化学結合の局所的対称性との対応は見出せない。

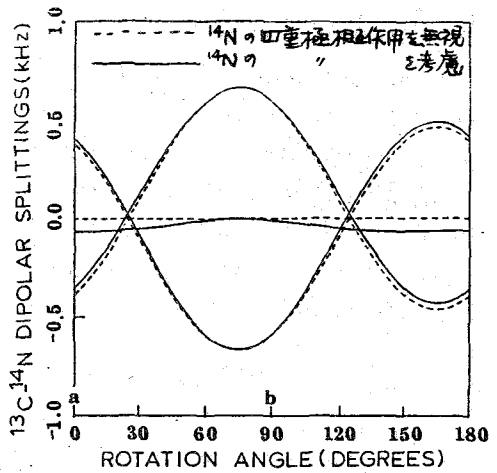


図4.  $^{14}\text{N}$  核による  $\text{C}\alpha$  線の双極子分裂 (計算値)

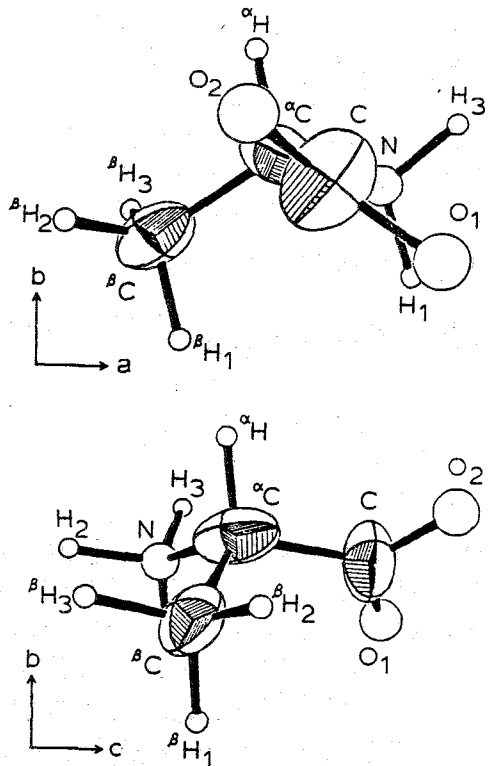


図5.  $^{13}\text{C}$  化学シフトテンソルの ORTEP 表示。

(2) H. J. Simpson, Jr. et al., Acta Cryst. 20, 550 (1966).

(3) M. S. Lehmann et al., J. Am. Chem. Soc. 94, 2657 (1972).

### III. 交叉分極の動力学

Proton-enhanced  $^{13}\text{C}$  NMR では回転系で  $^{13}\text{C}$  のスピン系とプロトンのスピン系を接触 (or mixing) させ、この接触は固相では  $^{13}\text{C}$ - $^1\text{H}$  間の双極子相互作用によりもたらされる。C $\alpha$  炭素にプロトン、その磁化 (polarization) を接触時間の関数として測定すると、図6に示すような transient oscillation が観測された。これは最初 Müller らにより見出された現象で、直接結合した  $^1\text{H}$  との cross-polarization に由来すると考えられる。Müller らの取扱い<sup>(4)</sup> ではプロトン系の熱容量を無限大と仮定して11子が、これでは図6の実験データを完全に説明することができない。われわれは図7に示すように、 $^{13}\text{C}$  および  $^1\text{H}$  系の磁化とそれぞれ  $T_{1\rho}^S$ 、 $T_{1\rho}^I$  で結ばれる  $1/2$  density matrix eq. を解き、その結果次式を得た。

$$M_{Sx}(\tau) = \text{Tr} [P(\tau) S_x]$$

$$= \frac{b\kappa\omega_I}{4} \left[ \frac{1}{2} - \frac{R}{R + 1/T_{1\rho}^S} \right] e^{-(R + 1/T_{1\rho}^S + 1/T_{1\rho}^I)\tau}$$

$$+ \frac{R}{R + 1/T_{1\rho}^S} e^{-\tau/T_{1\rho}^I}$$

$$- \frac{1}{2} \cos \frac{b\tau}{2} \cdot e^{-\frac{3R + 2(1/T_{1\rho}^S + 1/T_{1\rho}^I)}{2}\tau} \quad (1)$$

図6に示すように (1) 式は実験値  $M_{Sx}(\tau)$  をよく再現する。この事実が図7のモデルが基本的に正しいことを示す。即ち  $^{13}\text{C}$  の磁化は  $\cos \frac{b\tau}{2}$  で振動しながら、最初  $\sim R$  ( $R$  はスピン弛散の速度定数) で増大するか、やがて  $1/T_{1\rho}^I$  の速さで減衰しはやく。  
 (謝辞)

1) (つかの有益な指摘を賜った幸尾武彦氏に感謝します。

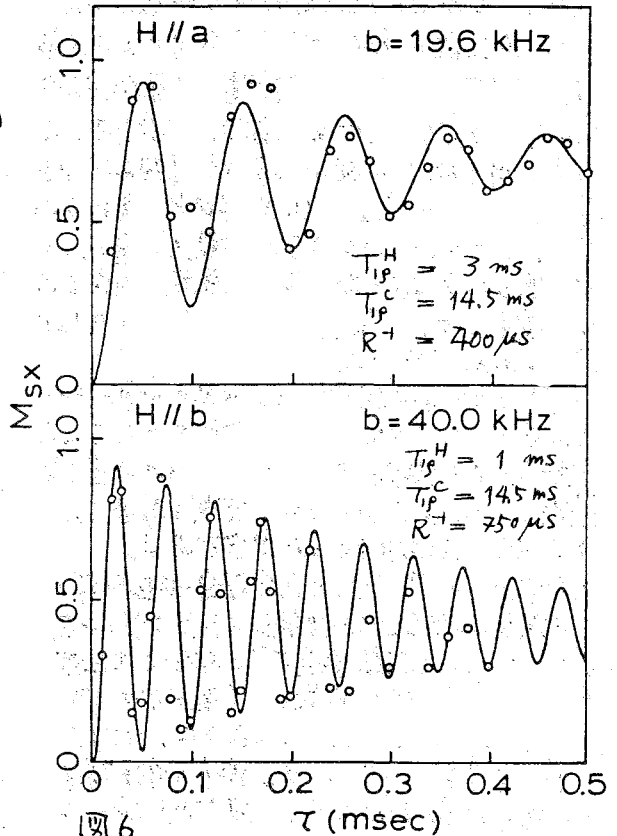


図6. Proton との接触時間  $\tau$  に対する  $^{13}\text{C}$  の磁化の振舞。○は実験値、—は計算値。(1)式による。

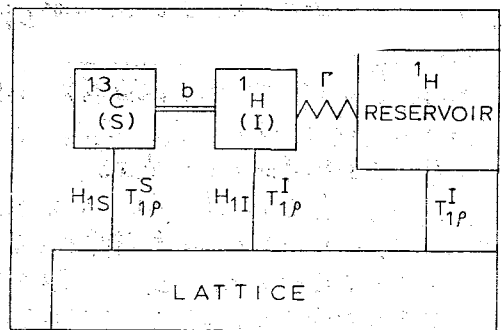


図7. Transient oscillation (図6)を説明するためのモデル。

(4) L. Müller et al., Phys. Rev. Lett. 32, 1402 (1974).

(京大理) 松井茂, 寺尾武彦

〔序〕

スピンエコーに関しては、液体のみならず固体においても多くの研究がなされてきている。固体においてはスピンの互いに強く双極子結合しているため、興味あるエコーのメカニズムが存在しており、solid echo<sup>(1)</sup>, rotary echo<sup>(2,3)</sup>, magic echo<sup>(4)</sup>等の報告がある。しかしながら、これらのスピンエコーは、全て、観測しているスピン系に rf パルスあるいはパルス系列をかけることにより、生じさせられるものである。我々は2種スピン系 (I, S; I は abundant, S は rare spin とする) の固体において、観測しないスピン系に rf パルスあるいは適当なパルス系列をかけることにより、間接的にスピンエコーが誘起されることを見い出したので、今回、種々の間接エコーの実験結果、理論的解析、更に、固体の構造解析への応用について報告する。

〔実験〕

自作の装置により、プロトンの周波数約 60 MHz で実験を行った。テストサンプルとして  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  単結晶の [110] 軸を静磁場の方向にそろえたもの、及びアダムantanを用いた。各サンプルにおいて観測するスピン S は  $^{31}\text{P}$  及び  $^{13}\text{C}$  であり、観測しない方のスピン I はいずれも  $^1\text{H}$  である。H<sub>1</sub> の強さは  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  単結晶の場合、 $^{31}\text{P}$ ,  $^1\text{H}$  各々に対して、15 G, 40 G であり、アダムantanの場合、 $^{13}\text{C}$ ,  $^1\text{H}$  各々に対して、120 G, 30 G である。S スピンの極磁化は、90° パルスのかわりに、Proton-enhanced NMR を用いて準備した。

〔種々の間接エコー〕

最も simple な間接エコーは、図1に示すように I スピンに 180° パルスがかかることにより、誘起される。図2は  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  に対して行った実験結果である。この間接エコーは 180° パルスを S スピン自身にかける従来の直接エコーに類似しているが、次に述べるような特徴をもっている。まず直接エコーの場合は S スピン自身が反転するのでに対し、間接エコーでは反転するのは S スピンの位置にまわりの I スピンがつくる local field である。Abragam の言葉を

図1.

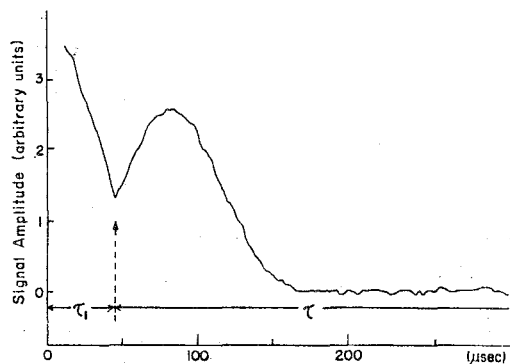
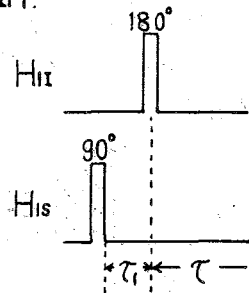


図2. Indirect echo of the  $^{31}\text{P}$  spins observed by applying a refocusing 180° pulse to the  $^1\text{H}$  spins at the time  $\tau_1$  in a single crystal of  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ . Note that there is no dead time for this echo.

をついしげる, てらおけけい

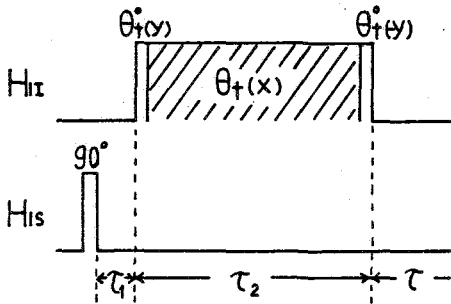
用いられ、直接エコーは pancake 型、間接エコーは race track 型エコーと言うことができる。また、直接エコーの場合 refocusing  $180^\circ$ パルスによる dead time があるためエコーの初めの部分は観測できないが、間接エコーでは refocusingパルスの周波数と検出周波数が十分異なり、この限り、dead timeは全くなくエコー全体が観測可能である。パルスが理想的と仮定して、この間接エコーのパルス系列  $90^\circ - \tau_1 - 180^\circ - \tau_2$  に対する規格化されたシグナルは次式のように計算される。

$$E(\tau_1 + \tau_2) = 1 - M_2(\tau_1 - \tau_2)^2/2! + M_4(\tau_1 - \tau_2)^4/4! - M_6\tau_1^2\tau_2^2/2! + \dots, \quad (1)$$

ここで  $M_2$  と  $M_4$  は、S スピンの吸収線の 2次及び 4次モーメント<sup>(5)</sup>である。また、 $M_4$  は I-I 間と I-S 間の dipolar Hamiltonian が互いに交換しないことによる交叉項であり、この項によりエコーの回復は抑制される。直接エコーのシグナルも (1) 式で与えられるが、S スピンに関して resonance offset がある場合には、これらのエコーシグナルは互いに異なる。つまり、直接エコーでは offset による時間推進も  $180^\circ$ パルスにより反転させられるが、間接エコーでは offset による時間推進は  $180^\circ$ パルスにより、全く影響されないからである。このことは最後に述べる 2つエコーにおいて重要な意味を持つ。

I スピン系に  $180^\circ$ パルスを与えることは、各 S スピンの位置にまわりの I スピンがつく local field の方向を反転することになるから、もし local field が時間変化しなければ完全なエコーの回復が期待される。しかし I スピンによる local field は I スピン自身が互いに flip-flop motion を行っているため時間変化しており<sup>(6)</sup> 完全にエコーを回復させるためには、この時間変化をも反転させるか、あるいは時間変化を止めることが必要となる。今 I スピン系が強い  $H_I$  で off-resonance 照射されている状態の全スピン系

図 3.



を tilted rotating (TR) frame で考えれば、系の truncate された dipolar Hamiltonian は、

$$\mathcal{H}_{TRd} = P_2(\cos\theta) \mathcal{H}_{dII} + \cos\theta \mathcal{H}_{dIS}, \quad (2)$$

と表わされる。<sup>(7)</sup> ここで  $\mathcal{H}_{dII}$  及び  $\mathcal{H}_{dIS}$  は各々、通常の rotating frame で truncate された I-I 間及び I-S 間の dipolar Hamiltonian である。また  $\theta$  は I スピンの effective field と静磁場のなす角度である。系の時間反転は、系の時間推進を記述する Hamiltonian の符号を変えることにより実現される。(2) 式において  $\theta = \theta_t = 109.5^\circ$

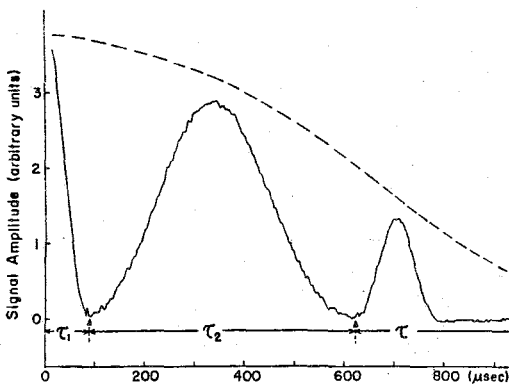


図 4. Indirect echoes of the  $^{31}\text{P}$  spins observed by applying a time-reversing pulse sequence (see text) to the  $^1\text{H}$  spins during the time  $\tau_2$  in a single crystal of  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ . The dashed line represents the  $^{31}\text{P}$ - $^{31}\text{P}$  dipolar decay observed with irradiating the  $^1\text{H}$  spins by a strong decoupling field.

tetrahedral angle では、 $P_2(\cos \theta_t) = \cos \theta_t$   
 $= -1/3$  となり次式が成り立つ。ちょうど TR frame  
 での dipolar Hamiltonian の符号が、通常の rotating  
 frame での dipolar Hamiltonian  $\mathcal{H}_d^0$  の逆になる、  
 ということになる。

$$\mathcal{H}_{TRd}^0 = -\frac{1}{3} \mathcal{H}_d^0 \quad (3)$$

この符号の逆転は2つの異なる reference frame で  
 起っているため、系の時間反転を実現するために、  
 reference frame のやり換えが必要で  
 あり、図3に示すようなパルス系列を I  
 スピン系にかけることにより、local  
 field の時間変化の反転を起すことが  
 可能である。図4は  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  を用いた  
 実験結果である。時間  $\tau_1$  の間は通常の  
 FID であり、tetrahedral angle 照射  
 ( $\tau_2$ ) の間は dipolar interaction が  
 $1/3$  に reduce されているため  $\tau_2 = 3\tau_1$   
 の時長にエコーが生じている。この実験  
 では  $\tau_2 = 6\tau_1$  としたため、更に  $\tau_1$   
 の時長にもエコーが生じている。

3番目の間接エコーは、local field  
 の時間変化を止めた状態でその方向を反  
 転することにより誘起されるものである。

(2)式において  $\theta = \theta_m = 54.7^\circ$  の magic angle では、 $P_2(\cos \theta_m) = 0$  となり、 $\mathcal{H}_d^{\text{dir}}$   
 の項が消去され次式が成り立つ。

$$\mathcal{H}_{TRd}^0 = \frac{1}{3} \mathcal{H}_d^{\text{dir}} \quad (4)$$

したがって、図5に示すように magic angle 照射の途中に  $180^\circ$  パルスを挿入すれば、  
 間接エコーが誘起される。図6に示したものは S スピンの resonance offset  $\pm 25 \text{ kHz}$  で  
 このような間接エコーを連続的に生じさせた実験結果である。

最後に試みた間接エコーは、local field の時間変化を止める手段として magic angle  
 照射の代わりに abundant スピンの高分解能スペクトルを得るために用いられる multiple  
 pulse 法<sup>(8)</sup> を利用したものである。テストサンプルとしてアダマンタンを用いて、REV-8  
 pulse cycle<sup>(9)</sup> による試みを行った。実験は種々の pulse imperfection により今のと  
 ころ完全ではない。

[ 応 用 ]

間接エコーには種々の応用が考えられるが、最も simple な間接エコーを利用すれば、  
 次式に基づいて、S スピンの吸収線の2次モーメント  $M_2$  を実験的に求めることが可能で  
 ある。

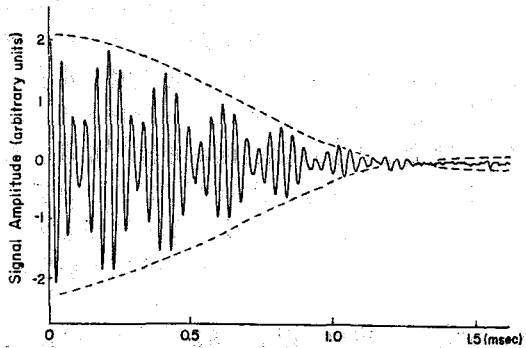
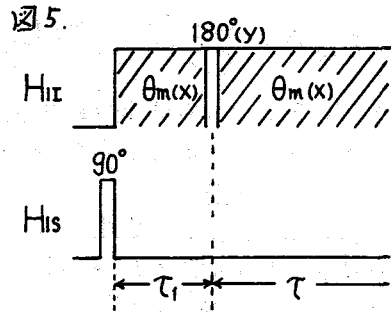


図6. Indirect-echo train of the  $^{31}\text{P}$  spins observed during the magic-angle irradiation of the  $^1\text{H}$  spins in a single crystal of  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ . A resonant  $180^\circ$  pulse is inserted during the magic-angle irradiation at every time  $\tau = (2n+1)\tau_1$  ( $n=0, 1, 2, \dots$ ;  $\tau_1=108 \mu\text{sec}$ ). The dashed line represents the  $^{31}\text{P}$ ,  $^{31}\text{P}$  dipolar decay.

$$M_2 = - \lim_{\tau_1 \rightarrow 0} \left[ \frac{d^2 E(\tau_1 + \tau)}{d\tau^2} \right]_{\tau = \tau_1} \quad (5)$$

直接エコーを用いても原理的には  $M_2$  を求めることが可能であるが  $\tau_1 \rightarrow 0$  という条件が必要であるため、全く dead time のない間接エコーを用いなければ、正確な測定は實際上、非常に困難である。

すなわち、時間反転による間接エコーは、line-shape の研究において  $t=0$  から完全な FID シグナルを測定しない場合、非常に有用である。

特に、local field の時間変化を止める最後の 2 つの間接エコーは、同様の構造解析を行う有効な手段となり得るものである。イソトン系に rf パルスを加えることにより、S スピンの resonance offset による時間推進は全く影響を受けないから、図 6 に示したような間接エコートレインを適当にデータ処理することにより、I-S 間 dipolar interaction と S スピンの化学シフトを 2 軸とする 2 次元スペクトルを得ることが可能である。この 2 次元スペクトルから各 S スピンの site について I-S 間 dipolar interaction が分離して観測される。Hester ら<sup>(10)</sup> によっても、同様の 2 次元スペクトルを得る試みがなされているが、彼らの方法では、1 つの 2 次元スペクトルを得るために非常に多くの FID を測定する必要がある。それに対して、我々の方法では、1 つのエコートレインを測定するだけで 2 次元スペクトルが得られる点が特徴であり、実際上大きな利点となる。

\* この研究の一部は Phys. Rev. B 21 (9), 3781 (1980) に発表した。

### References

- (1) J. G. Powles and P. Mansfield, Phys. Lett. 2, 58 (1962); J. G. Powles and J. H. Strange, Proc. Phys. Soc. London 82, 6 (1963).
- (2) W.-K. Rhim and H. Kessemeier, Phys. Rev. B 3, 3655 (1971).
- (3) H. Kessemeier and W.-K. Rhim, Phys. Rev. B 5, 761 (1972).
- (4) W.-K. Rhim, A. Pines, and J. S. Waugh, Phys. Rev. B 3, 684 (1971).
- (5) J. H. Van Vleck, Phys. Rev. 74, 1168 (1948).
- (6) A. Abragam and J. Winter, C.R. Acad. Sci. 249, 1633 (1959).
- (7) M. Mehring and G. Sinnig, Phys. Rev. B 15, 2519 (1977).
- (8) U. Haeberlen, High Resolution NMR in Solids (Academic, New York, 1976).
- (9) W.-K. Rhim, D. D. Elleman, L. B. Schreiber, and R. W. Vaughan, J. Chem. Phys. 60 (11), 4595 (1974).
- (10) R. K. Hester, J. L. Ackerman, B. L. Neff, and J. S. Waugh, Phys. Rev. Lett. 36, 1081 (1976).

108 相異なるコンホメーションの存在または三重極相互作用  
による  $^{13}\text{C}$ -CP/MAS スペクトルの分裂

(日本電子) 藤戸輝昭、今成 司  
(京大・理) 今城文雄、寺尾武彦

1. はじめに

固体内の希薄スピンの高分解能NMRを可能にする、high power  $^1\text{H}$  decoupling、Cross Polarization および Magic-Angle Spinning を併用した NMR (以後これを CP/MAS と略す) 法<sup>1)</sup>は、固体の特徴である化学シフトの異方性を消去するので、溶液と基本的に同等なスペクトルが得られることが期待される。実際、たいていの物質で溶液と同様のスペクトルが得られている。しかし、なかには化学シフトが大きく変化するものや吸収線の本数が固体で増加するものがある。本研究では後者の場合を問題にするわけであるが、今まで観測されている代表的な後者の例では、ポリフェエレンオキニド<sup>2)</sup>や洒石酸の  $^{13}\text{C}$ -CP/MAS スペクトルがある。どちらも何らかの理由で吸収線が“縮退”していたのが、固体で“縮退”が解け、1分子中の炭素の数だけ吸収線がそろうたものである。我々は L-アスコルビン酸、D-ビリユおよびヒリユゴ酸において  $^{13}\text{C}$ -CP/MAS スペクトルを観測し、溶液においてすでに分子中の炭素の数だけ吸収線がそろうているにもかかわらず、固体で吸収線の数が増加することを見出した。このことは結晶中でコンホメーションの異なる2種類以上の分子が存在することを意味し、化学シフトのコンホメーション依存性や分子間相互作用の影響などの研究に寄与するものと思われる。また、L-グルタミン酸などのアミノ酸において、 $^{\text{N}}$ に隣接する  $^{13}\text{C}$  の吸収線が非対称に2本に分裂することを観測したので合わせて報告する。

2. 実験

$^{13}\text{C}$ -CP/MAS の測定には、JEOL FX60Q NMRスペクトロメーターに MAS ユニットを付属させて使用した。MAS 回転数は 2300 Hz、 $^1\text{H}$ デカップリングは 50 KHz である。基準としては粉末アダマントンを外部基準に使用し、メチレンピークを TMS より 38.3 ppm とした。接触時間は、サンプルによって異なるが、大体 1~5 msec である。サンプルは市販の特級品をそのまま使用した。

3. 測定結果

a) L-アスコルビン酸 (ビタミンC)

L-アスコルビン酸の溶液及び固体の  $^{13}\text{C}$  スペクトルを図1及び図2にそれぞれ示す。これらと比較すれば分かるように固体のスペクトルでは、3, 4, 6 の炭素はそれぞれ2本に分裂している。L-アスコルビン酸と立体異性の関係にある、D-イソアスコルビン酸では、このようなスペクトル線の分裂は観測されなかった。これらのスペクトルの TMS からの化学シフトを表1にまとめた。

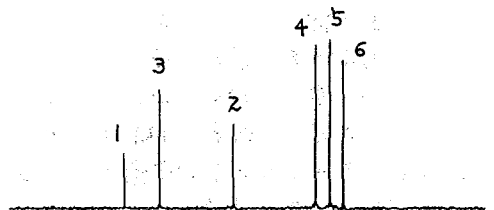
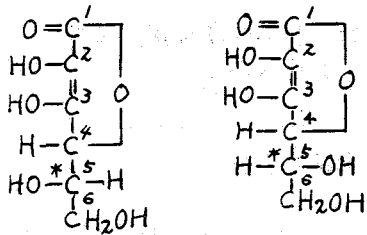


図1. L-アスコルビン酸の  $^{13}\text{C}$  スペクトル (溶液)

ふじとてるあき、いまなりまもる、いましるふみお、てうおたけひこ



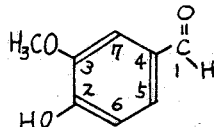
(L-アスコルビン酸) (D-イ-アスコルビン酸)

サンプル名	炭素番号	1	2	3	4	5	6
L-アスコルビン酸(溶液)		173.3	118.5	155.3	76.1	69.7	62.8
"	(固体)	173.5	117.2	154.1 150.8	75.4 74.6	67.1	59.7 58.5
D-イ-アスコルビン酸(溶液)		173.3	118.7	155.7	78.0	71.6	62.2
"	(固体)	173.8	118.5	149.7	80.2	72.5	62.1

表1. アスコルビン酸類の化学シフト (PPM)

b) バニリン

図3及び図4にバニリンの溶液及び固体の<sup>13</sup>Cスペクトルを示す。このサンプルの場合もビタミンCと同じく1, 6, 7の炭素のピークは、固体状態ではそれぞれ二本に分裂している。バニリンとは置換基の位置が異なるイソバニリン(-OHと-OCH<sub>3</sub>の位置が逆)および、オルトバニリン(-OHが-COOHの隣りにつく)では、このようなスペクトル線の分裂は観測されなかった。



(バニリン)

c) L-リンゴ酸

L-リンゴ酸の<sup>13</sup>C-MASスペクトルを図5に示す。1, 2のカルボニル炭素は溶液では二本であるが、固体では4本に分裂している。また3, 4の炭素も溶液では各一本であるのが固体ではそれぞれ二本に分裂している。

d) L-グルタミン酸

図6はL-グルタミン酸の<sup>13</sup>C-MASスペクトルである。溶液のスペクトルと異なるのは、-NH<sub>2</sub>が隣りについた3の炭素であって、固体ではスペクトルが二本に分裂している。このような分裂は、L-シスチンでも観測された。

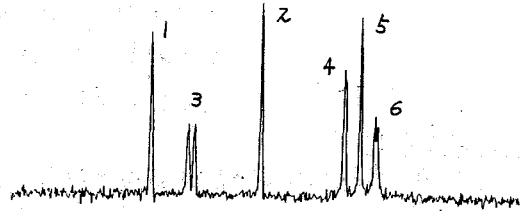


図2. L-アスコルビン酸の<sup>13</sup>C-MASスペクトル

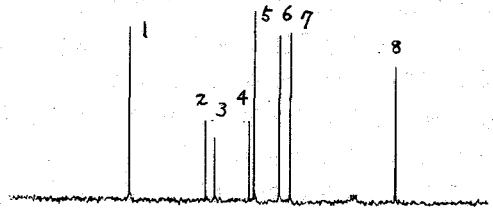


図3. バニリンの<sup>13</sup>Cスペクトル (溶液)

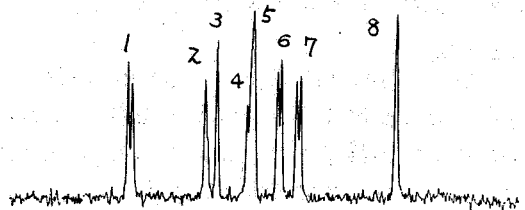


図4. バニリンの<sup>13</sup>C-MASスペクトル

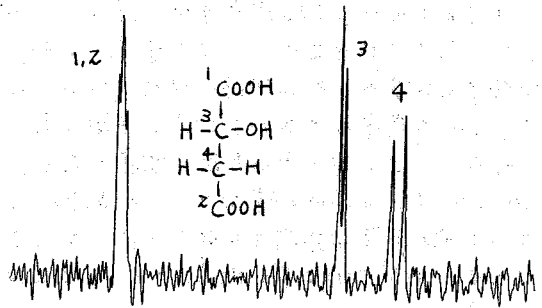


図5. L-リンゴ酸の<sup>13</sup>C-MASスペクトル



#### 4. 議論

2) L-アスコルビン酸、バニリンおよび  
L-リゾゴ酸 について。

「はじめに」で述べたように、溶液に比べ  
固体で吸収線の本数が増える例は今までに  
も、ポリフェニレンオキシド<sup>2)</sup>やL-酒石  
酸<sup>3)</sup>において観測されている。前者は溶液  
状態では分子内運動のため、互いに等価と  
なっている2つの環炭素が固体ではコンホ  
マーニオンが固定されて非等価になる結果  
であり、後者は溶液状態では分子の対称性から2本しか観測されてい  
ないのが、固体では対称性が破れ、1分子中の全ての炭素に対応する4本が観測されるためである。

上記の場合はいずれも溶液状態では吸収線の本数が1分子に含まれる炭素の数より少ない  
のが、固体では炭素の数だけ観測されたためであるが、我々の場合は溶液状態で既に1分  
子中の炭素の数だけ吸収線が観測されており、固体ではそれ以上の線の本数が見られている。  
この解釈には上記の説明は適用されず、結晶構造の知識が必要となる。

L-アスコルビン酸およびD-イソアスコルビン酸のX線回折の結果はすでに報告されてい  
る。<sup>4)</sup>それによれば、結晶の空間群は共にP2<sub>1</sub>に属するが、D-イソアスコルビン酸では、  
図7. (a) に示すように単位格子内に存在する2つの分子は結晶学的に等価であるのに対し  
て、L-アスコルビン酸では図7. (b) に示すように単位格子に4分子存在し、そのうち2分

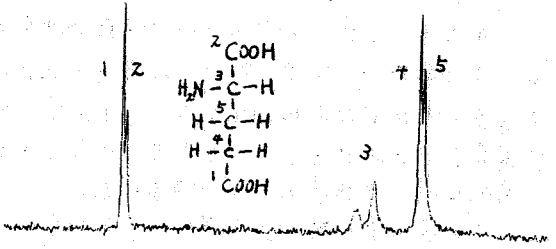
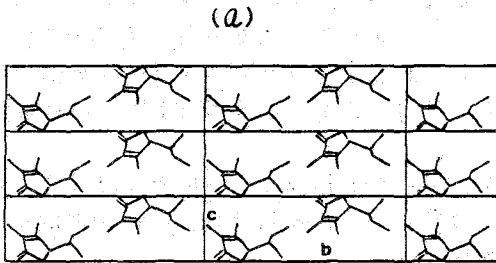
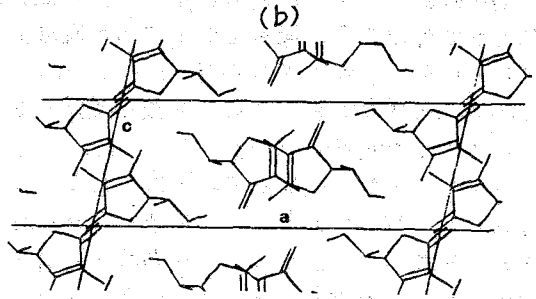


図6. L-グルタル酸の<sup>13</sup>C-MASスペクトル

図7. D-イソアスコルビン酸(a)とL-アスコルビン酸(b)の結晶構造



a軸方向から見た図(b-c面)



b軸方向から見た図(a-c面)

子ずつは互いに非等価である。どのよう  
に異なるかは図8により詳細に示されて  
いる。すなわちA, B どちらにおいても、  
五員環に対し、側鎖の-CH(OH)CH<sub>2</sub>OH  
が、C<sub>4</sub>-C<sub>5</sub>を軸としてねじれているが、  
そのねじれ方が、Aの方がBよりも、  
O(4)-O(5)間の距離が短くなる配位をと  
る点に違いがある。また各分子はいずれ  
も水素結合をして隣接分子と結ばつて

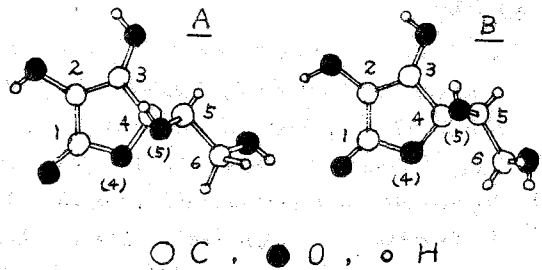


図8. L-アスコルビン酸の分子構造

いるが、その結びつく酸素原子の配列順序が、AとBとで逆向きになっている。

このように、 $\theta$ -イソアスコルビン酸では全この分子が結晶学的に等価であるが、L-アスコルビン酸においては、互いに非等価な2種の分子が存在するために、前者では1分子分の炭素の吸収線しか観測されないのに対し、後者では1分子分以上の吸収線が得られたと結論することが出来る。こうして、同じ分子で、立体配座・配置および環境の異なる3つの場合について化学シフトが得られたことになり、これは化学シフトのコンホメーシヨンによる差違や分子間相互作用の効果を研究する良い材料を提供することになるものと思われる。

また、イソバニリンおよびオルトバニリンにおいてはスペクトルの分裂が見られなかったが、これは結晶中の全この分子が等価であることを示す結果の一例と一致する。バニリンおよびレリニゲ酸に対しては現在のところ結晶解析の結晶は報告されていないが分子中の1つの炭素に対応する吸収線が2本に分裂していることから、L-アスコルビン酸と同様に結晶中に互いに非等価な2種類の分子が存在するものと結論することが出来る。

b) L-カルタジニ酸とL-ニステンについて。

L-カルタジニ酸とL-ニステンにおいて $^{14}\text{N}$ と隣接した $^{13}\text{C}$ の吸収線が2本に分裂するのは $^{14}\text{N}$ の四重極相互作用と $^{13}\text{C}$ - $^{14}\text{N}$ 間双極子相互作用を合わせた効果による。すなわち、四重極相互作用がゼーマン相互作用と同程度（或々の場合がそうである）またはそれ以上になると、量子化軸が磁場方向でなくなり、 $^{14}\text{N}$ の核スピンの磁場方向から与えられる。この結果、 $^{13}\text{C}$ - $^{14}\text{N}$ 間双極子相互作用が Magic Angle Spinning で消去されなくなり、 $^{14}\text{N}$ に隣接した $^{13}\text{C}$ の吸収線の線幅が広くなることも、 $^{14}\text{N}$ のスピニ状態に応じて共鳴位置がシフトする。図6で $^{14}\text{N}$ に隣接した $^{13}\text{C}$ の吸収線がほぼ1:2の強度比で分裂しているのが見られるが、強度の弱い線が  $m=0$  の状態に対応し、強い線が  $\pm 1$  の状態に対応する。また2番目に $^{14}\text{N}$ に近い $^{13}\text{C}$ の吸収線はさらに離れたものよりも線幅が広い。したがって吸収線の高さが正しいことが考えられる。このことを利用して  $-\text{COOH}$  と  $>\text{CH}_2$  に対応するそれぞれの2本の吸収線を図6のように帰属した。なお、同様の機構によって、PCTFEの $^{13}\text{C}$ に隣接する $^{13}\text{C}$ の吸収線が広がることが観測されている。\*)

このように四重極能率をもつ核の存在によって、 $^{13}\text{C}$ -CP/MAS スペクトルが分裂することを利用して、四重極結合テンソルまたは四重極核の位置に関する知見を得ることが可能になるものと思われる。このような解析を今後行う予定である。

最後に、この研究にあたり、助言いただいた JEOL (USA) の後藤興日氏に感謝致します。

### 参考文献

- 1) 寺尾、藤中 ; 化学と工業 33・8 (1980)
- 2) J. Schaefer, E.O. Stejskal, R. Buchdahl ; *Macromolecules*, **10** 383 (1977)
- 3) H.D.W. Hill, A.P. Zens, J. Jacobus ; *J. Am. Chem. Soc.* **101** 7070 (1979)
- 4) Jan Hvostek ; *Acta Cryst.* **B24** 23 (1968)
- 5) N. Azarova, H.M. Berman, R.D. Rosenstein ; *Acta Cryst.* **B27** 2157 (1971)
- 6) F. Iwasaki ; *Chem. Lett.* 227 (1973)
- 7) F. Iwasaki, I. Tanaka, A. Aihara ; *Acta Cryst.* **B32** 1264 (1976)
- 8) W.W. Fleming et al. ; *Macromolecules*, **13** 460 (1980)

(京大理) 〇前田史郎・寺尾武彦, (日本電子) 藤戸輝昭, (京大工) 山辺時雄・赤木和夫, (筑波大物質工) 白川英樹, (長岡工専) 池田朔次

I. はじめに

ポリアセチレン(CH)<sub>x</sub><sup>1)</sup>は鎖状構造を持つ共役結合系のもっとも基本的な化合物であり、炭素-炭素の二重結合と単結合とが交替した構造を持ち、二重結合の立体配置により図1に示すようにシス型とトランス型の二つの異性体が存在する。これらは半導体であるが、ハロゲンや

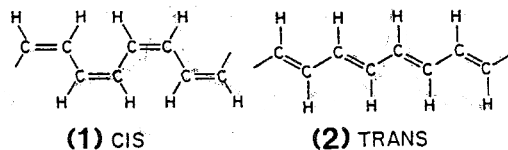


図1. シス型(1)およびトランス型(2)ポリアセチレンの分子構造

AsF<sub>5</sub>のような電子受容体またはアルカリ金属のような電子供与体をドーピングすると、ドーパント濃度2~3モル%の濃度で電気伝導度が飛躍的に増大し金属的性質に転移する。これらの物質は物性的にきわめて興味ぶかいだけでなく、実用的見地からも種々の応用が考えられるため、最近とくに注目されておりNMRによる研究も種々なされている<sup>2)</sup>が、まだまだ明らかにされていない部分が多い。そこで、我々はこれらの物質では電荷の流れる炭素骨格の<sup>13</sup>C NMRが直接的な情報を与えるものと考え、プロトンエンハンスドNMR<sup>3)</sup>を用いて粉末スペクトルから化学シフトテンソルの主値を決定するとともに、さらにマジック角度回転法を併用(CP/MAS)することによって、炭素骨格の詳しい構造、シス-トランス異性化の機構ならびに導電性の機構に関する知見を得ることを試みたのでその結果を報告する。

II. 実験

シス型ポリアセチレンは白川らの方法によって-78℃で重合を行って合成したフィルム状の試料を用い、トランス型ポリアセチレンはシス型ポリアセチレンから熱異性化によって得た試料を用いた。粉末スペクトルは自作の装置で測定し、CP/MASスペクトルはJEOL FX60QにMASユニットを付属させて測定した。共鳴周波数はどちらも、<sup>1</sup>H、<sup>13</sup>Cに対してそれぞれ60MHz、15MHzであり、MAS回転数は2.3kHzである。トランス(CHK<sub>0.1</sub>)<sub>x</sub>は-150℃で測定したが、その他はすべて室温で測定した。図5のトランス(CHK<sub>0.1</sub>)<sub>x</sub>と図2のスペクトルは<sup>13</sup>C自然存在比1.1%の試料を用い、図5のシス(CH)<sub>x</sub>、トランス(CH)<sub>x</sub>、トランス(CHI<sub>0.11</sub>)<sub>x</sub>、および図6のトランス(CHI<sub>0.055</sub>)<sub>x</sub>は<sup>13</sup>Cを約

	テンソルの主値			等方平均値	CP/MASによる等方平均シフト	Maricq <sup>4)</sup> のCP/MASによる等方平均シフト
	σ <sub>11</sub>	σ <sub>22</sub>	σ <sub>33</sub>	$\frac{1}{3}(\sigma_{11} + \sigma_{22} + \sigma_{33})$		
cis-(CH) <sub>x</sub>	-89	-9	107	3	3	-1
trans-(CH) <sub>x</sub>	-90	-15	82	-8	-7	-11

表1. ポリアセチレンの化学シフトのテンソル値と等方平均値 (ppm from <sup>13</sup>C<sub>6</sub>H<sub>6</sub>)

まえだしろろ・てらおたけひこ・ふじとてるあき・やまべときお・あかぎかずお  
しらかわひでき・いけださくじ

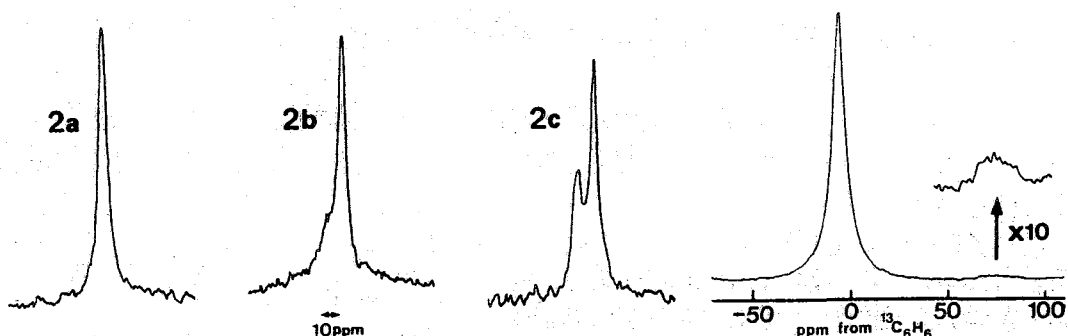


図2. 種々のシス-トランス組成比を持つ  
ポリアセチレンのCP/MASスペクトル

図3. トランス型ポリアセチレンの  
CP/MASスペクトル

6%にエンリッチした試料を用い、図3と図4のトランス(CH)<sub>x</sub>は<sup>13</sup>Cを30%にエンリッチした試料を用いて測定した。ドーピングした試料では、導電性による常磁性磁化率や表皮効果のためにプローブの同調が変化し、Hartmann-Hahn条件を各試料ごとに合わせ直す必要があった。なお、化学シフト値はすべて液体ベンゼンを基準にした値である。

### III. 結果と議論

#### A. シス型およびトランス型ポリアセチレン

化学シフトのテンソル値（スペクトルは図5a, 5bに示す）とCP/MASによる等方平均値とを表1に示す。我々のテンソルの主値の平均値とCP/MASによるシフト値とはよく一致しているが、Maricqら<sup>4)</sup>のCP/MASによる結果とは約4 ppm異なっている。また、彼らはシス型の化学シフトの値が化学的環境の類似したベンゼンにおける化学シフトとほぼ一致するとしているが、テンソルの主値と比較するとやや異なっている。ベンゼンの<sup>13</sup>Cの化学シフトテンソルの主値は140Kで-63, -63, 117 ppmであり<sup>5)</sup>、14Kで-88, -12, -127 ppmである<sup>6)</sup>。

つぎに、シス-トランス組成比の異なるポリアセチレンのCP/MASスペクトルを図2に示す。2aは-78°Cで重合した試料でシス型の比率は約95%、2bは2aを120°Cで15分間熱異性化を行った試料でシス型の比率は85~90%であり、2cは2aを120°Cで50分間熱異性化を行った試料でシス型の比率は約70%である。2cのピークの間隔は8.6 ppmであり、純粋のシス-トランスのシフト差(10.0 ppm)より小さく、両者の単なる混合ではないことから、熱異性化の過程は鎖の端からつぎつぎに起る、いわゆる zipper reaction ではなく、かなりランダムに起ることが推測される。

図3にトランス型ポリアセチレンのCP/MASスペクトルを示す。sp<sup>2</sup>混成炭素に対応する強い吸収線以外に80 ppm付近に弱い吸収線が存在する。この付近はメチレンまたはメチン炭素の吸収線の領域であるが、最近白川ら<sup>7)</sup>によって架橋の存在が否定されているので、この弱い吸収線は炭素骨格上にわずかに存在するメチレン炭素であると思われる。その存在比は吸収線の面積比から3.4%であると結論される。また、その線幅が広いことからメチレン炭素のところで種々のコンフォメーションをとっていることが推測される。このようなsp<sup>2</sup>混成炭素の存在はπ共役系を乱し、導電性に著しい影響を与えるため、その定量は重要と思われるが他の手段では容易でない。なお、Maricqら<sup>4)</sup>も60 ppm付近に弱い

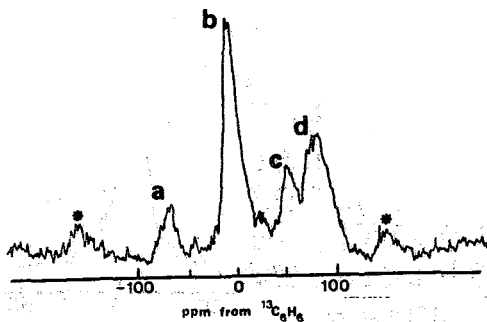


図4. 空气中180°Cで1時間加熱したトランス型ポリアセチレンのCP/MASスペクトル

吸収線を見い出してあり、これを末端メチル基や炭素骨格上のメチンまたはメチレン基等の  $sp^3$  混成炭素に帰属しているが、この近傍はそのような信号の領域ではなく  $=CH-O-$  の信号の領域であり、試料が一部酸化していたものと思われる。

図3のスペクトルの測定に用いたトランス型ポリアセチレンを空气中180°Cで1時間加熱した後に測定したスペクトルを図4に示す。bはオレフィン炭素、-70ppm付近のaと50ppm付近のcはそれぞれ酸化によって生じたカルボニル炭素および  $=CH-O-$ 、80ppm付近のdは架橋した三級炭素の吸収線であると思われる。なお、\*印のピークはスピニングサイドバンドである。

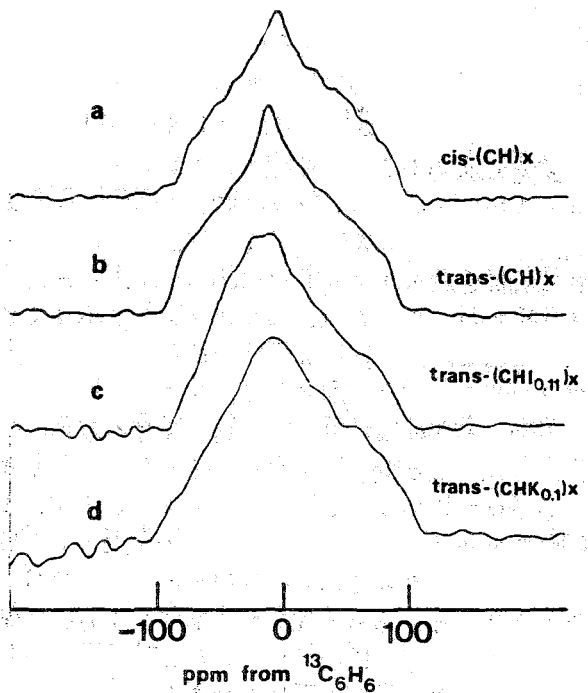


図5. ポリアセチレンとその誘導体の粉末スペクトル

$^{13}C$  chemical shielding parameters in polyacetylene derivatives

dopant	%	temperature	$\sigma_{11}$	$\sigma_{22}$	$\sigma_{33}$	$\bar{\sigma}$
-	0	35 °C	$-90_{\pm 2}$	$-15_{\pm 1}$	$82_{\pm 2}$	-8
I	11	31	$-79_{\pm 3}$	$-15_{\pm 2}$	$91_{\pm 3}$	-1
K	10	-150	$-81_{\pm 7}$	$-7_{\pm 2}$	$105_{\pm 7}$	6

表2. トランス型ポリアセチレンとその誘導体の化学シフトのテンソル値と等方平均値 $\bar{\sigma}$

## B. トランス型ポリアセチレン誘導体

ヨウ素およびKをドーパしたトランス型ポリアセチレンの粉末スペクトルを図5c, 5dに示す。ドーパント濃度は約10%であり電気伝導度はほとんど飽和している。スペクトルから二つのことが分かる。一番目は少しシフトしていることである。トランス  $(CHI_{0.11})_x$  はあまり動いていないようだが、トランス  $(CHK_{0.1})_x$  は少し高磁場側、すなわち通常の Knight シフトとは逆の方向へシフトしている。これは伝導に寄与している不対p電子によるs電子のcore polarizationの結果である。スペクトルから読みとった化学シフトテンソル値を表2に示す。しかし、 $\sigma_{22}$  はともかくとして  $\sigma_{11}$ ,  $\sigma_{33}$  は決めるのが困難で誤差がかなり大きいと思われる。ポリアセチレンと同じ1次元導電体であるTTF-TCNQのCN基の  $^{13}C$  において、室温で389ppmの高磁場シフト(負の Knight シフト)が観測されている<sup>8)</sup>が、ポリアセチレンにおいては図4にみられるように、トランス  $(CHK_{0.1})_x$

トランス(CH)<sub>x</sub>に対して10ppm程度シフトしているだけである。これは炭素原子一個あたりの電荷移動量が少ないことが原因と思われる。フェルミ準位の状態密度が知られていれば、Knightシフトから電荷移動量を求めることが可能であるが、それにはKnightシフトがあまりにも小さいために、図5の粉末スペクトルでは無理であり、CP/MASスペクトルを測定する必要がある。ただしトランス(CH<sub>0.1</sub>)<sub>x</sub>は電気伝導度がかなり低い-150℃で測定したスペクトルであり、室温で測定を行えば、もっと大きなシフトを示すことが期待される。

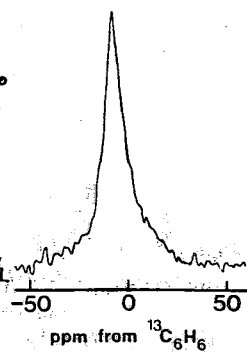


図6. トランス(CHI<sub>0.055</sub>)<sub>x</sub>のCP/MASスペクトル

二番目はスペクトルがブロードニングを起こしていることである。ブロードニングの原因として、ドーパントの局在化による化学シフトの分布、常磁性磁化率による局所磁場の分布、ドーパントとの双極子相互作用による幅、以上三つが考えられる。しかし、常磁性磁化率はこのブロードニングを説明するには小さすぎ、またドーパントの磁気回転比が小さいことから双極子相互作用でもブロードニングを説明できない。したがって、このブロードニングはドーパントの局在化により炭素原子が等価でなくなり、それらのスペクトルが重なりあって生じたものと考えられる。それぞれの化学シフトを検出すれば、ドーパントとポリアセチレンとの結合様式に関する知見が得られると思われるが、化学シフトのわずかな差をこれらの粉末スペクトルから検出するのは不可能であり、CP/MASスペクトルの測定が必要である。

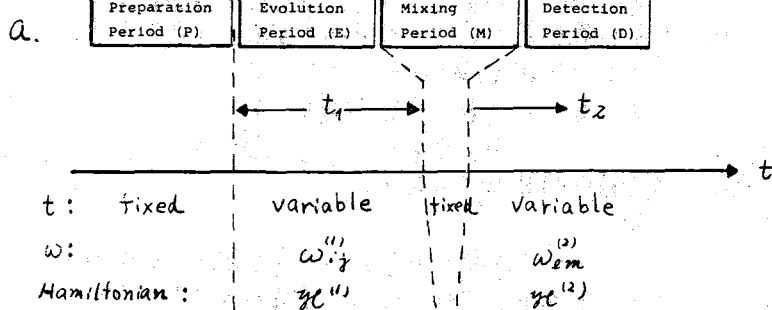
トランス(CHI<sub>0.055</sub>)<sub>x</sub>のCP/MASスペクトルを図6に示す。スペクトルは非対称であり、トランス(CH)<sub>x</sub>とその約10ppm高磁場側の強度1/8のスペクトルとに分離することができる。このことは炭素原子の一部が、化学シフトを変化させる特殊な電子状態にあることを意味し、それはドーパントの近傍の炭素に帰属されるのが自然であろう。ドーパントの近傍の炭素原子の電子状態を変化させる要因としては、例えばクーロン力によってギャリアがある程度局在化していることが考えられ、もしそうであれば、炭素骨格上のギャリアの分布状態がスペクトルの解析から知り得ることになる。このような可能性も含めて、今後、種々の試料でCP/MASスペクトルを測定する予定である。

- 1) 白川英樹, 池田朝次, 有機高分子電導体-ポリアセチレン(CH)<sub>x</sub>とその誘導体-, 化学と工業, 32, 233(1979)
- 2) 寺尾武彦, 白川英樹, 山辺時雄, ポリアセチレンおよびグラファイト系のNMRとESR, 化学増刊87, 合成金属, 第6章, 化学同人(1980)
- 3) 寺尾武彦, 固体の高分解能NMR, 化学の領域, 32, 686(1978)  
寺尾武彦, 藤戸輝昭, 固体高分解能NMRとその応用, 化学と工業, 33(8)(1980)
- 4) M. Maricq, J. S. Waugh, A. G. MacDiarmid, H. Shirakawa, and A. J. Heeger, J. Am. Chem. Soc., 100, 7729(1978)
- 5) M. G. Gibby, A. Pines and J. S. Waugh, Chem. Phys. Lett., 16, 296(1972)
- 6) M. Linder, A. Hühner, and R. R. Ernst, J. Magn. Resonance, 35, 379(1979)
- 7) H. Shirakawa, M. Satō, A. Hamano, S. Kawakami, K. Soga, and S. Ikeda, Macromolecules, 13, 457(1980)
- 8) E. F. Rybaczewski, L. S. Smith, A. F. Garito, and B. G. Silbernagel, Phys. Rev., B14, 2746(1976)

(東大理) 永山国昭

1971年キエフ回アンパール国際夏の学校でJ. Jeenerにより提案され、1974年スイスのR.R. Ernstにより実現された2次元NMRはNMRの情報量を増やし新しい分光法がある。この方法の特徴は強い入力応答に現われるスピンの非線形効果を積極的に利用し、応答パラメータ(1)より多くの情報をもりだし、(2) スパウトルの分解能を高めてデータ解析の単純化を行う、(3) 他核、非許容遷移の間接測定を行う、等である。時間域における2次元応答関数をスライスフーリエ変換(FT)ある事により2次元周波数パラメータを展開する所は本質的新しいところがあるが、このNMRパラメータを展開する所が、NMRのどの情報を2次元展開するのによりその実験的実現は一通りではない。あつた固有な冠した多くの2次元NMR法が提案されている所以である。但し一般的スキームは図1aのように単純化される。図のように測定の時間的流れは4つの区間に分けられる。まずpreparation period (P期)でスピンスystemを平衡状態よりはずし(通常のパルス法と同じ)、evolution period (E期)をキエフの時間変数とし、次にキエフの外力(キエフパルスなど)により系は平衡状態に落ちる前に新しい状態に移る、そこから系の緩和過程はdetection period (D期)に2次元データとして取り込まれる。t<sub>1</sub>, t<sub>2</sub>がvariableでありデータはt<sub>1</sub>とパラメータとして多数のFIDの集まりS(t<sub>1</sub>, t<sub>2</sub>)となる。

(図1)



パラメータとして多数のFIDの集まりS(t<sub>1</sub>, t<sub>2</sub>)となる。S(t<sub>1</sub>, t<sub>2</sub>)の一般的形は図1b下に示されている。E期、D期のラモア周波数ω<sub>ij</sub><sup>(1)</sup>, ω<sub>em</sub><sup>(2)</sup>が一次結合の形で位相に入る。

図1 2次元NMRの実験概念図

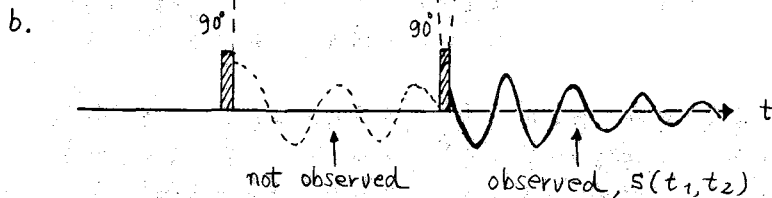
a. 一般的スキーム

b. 2-90°パルスを用いた2次元相関法の例。

データはD期のみ取り込まれることに注意。

ω<sub>ij</sub><sup>(1)</sup>, ω<sub>em</sub><sup>(2)</sup>はE期、D期のラモア周波数。

A<sub>ij,em</sub>は2次元キエフの強度はM期のパルスの強度に依存する。



$$S(t_1, t_2) = \sum_{ij,em} A_{ij,em} \exp[i(\omega_{ij}^{(1)} t_1 + \omega_{em}^{(2)} t_2)] \exp(-\frac{t_1}{T_2^{(1)}} + \frac{t_2}{T_2^{(2)}})$$

$$\overline{F}^{-2} \uparrow \downarrow \overline{F}^2$$

$$S(\omega_1, \omega_2) = \sum_{ij,em} A_{ij,em} f^{(1)}(\omega_1 - \omega_{ij}^{(1)}) f^{(2)}(\omega_2 - \omega_{em}^{(2)})$$

ながやま くにあき

2次元共振関数  $S(t_1, t_2)$  を  $t_1$ -軸,  $t_2$ -軸についてフーリエ変換すれば, 図1の最下段に与えられるように座標  $(\omega_1', \omega_2')$  にピークを持つ2次元スペクトル  $S(\omega_1, \omega_2)$  が得られる。図7bは一般スケーラの最も素朴な実現例を示し(図6のと同様核の2次元相関分析法と呼ばれるものがある。強度因子  $A_{ij, km}$ , E期の遷移同波数  $\omega_{ij}^E$ , D期の  $\omega_{km}^{Dem}$  とどう与えるかは具体的な個々の2次元NMR法をどう実現するかで依るが, 2次元NMR法は大別して4つのうすに分類される。

I. 2次元分解法  $\gamma_1' \neq \gamma_2'$ , M期はパルスなし

この方法は何かの手法でE期におけるハミルトン演算のある相互作用を平均化し, 残された項(例えばスピル結合, 双極子結合, ゼーマン項)由来のスペクトルを2次元に展開する。同種核J-分解, 異種核J-分解, 異種核化学シフト分解, 双極子分解法などがある。

II. 2次元相関法  $\gamma_1' = \gamma_2'$ , M期のMixing pulseを挿入する。

この方法はmixing pulseを用い同種核間, 異種核間の相互作用も相関的に表示するものだが, 相互作用によるスピル間の結合を明確に2次元展開する。

J結合による自己相関法, スピル交換(交叉緩和, 化学交換)による自己相関法, 異種核間の化学シフト相関法などがある。

III. 2次元非間接測定

この方法は通常の1パルス入力では見えない非許容遷移や異種核間の磁化の移動を見ることが, 間接的にスペクトルは2次元方向に展開される。2次元NMRの本質的新しさの違いを換えれば, 新しい情報をつけ加える手法論的新しさはこの非間接測定に代表される。DetectionはあくまでX軸又はY軸の磁化という観測量を限定される1量子過程を見るが観測されないE期の遷移過程は向いてあっても良い。多量子遷移過程をうまくpreparationすれば2次元multiple quantum detectionとなり, E期に発展した他核の磁化E D期の観測されるスピルの磁化に移せば例えば掃射核の間接測定となる。

IV. I, II及びIIIの組み合わせ及びその他

異種核の化学シフト相関法は手法論的にはこゝに分類される。又二重共鳴との結合による, 2次元スピルデカップリング, HQT二重共鳴, 異種核J, J-分解法などがある。Jスケーリングは2次元J分解法の派生物であるが多重パルス法による1次元的実験も可能である。NMRイメージング(Zeusmatography)も2次元NMRのスケールを伸ばせばS/N比は高い。

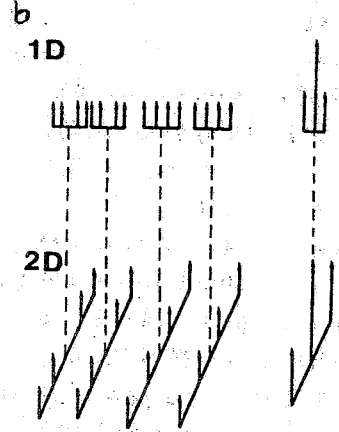
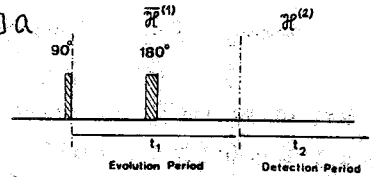
2次元NMRは分光法として非常に強力であるが, 弱さは測定時間が長くなる事にある。これは $t_1$ と待つ時間と設定するたわ縁和後の弱い信号を検出している事を考えれば当然だが, 1次元NMRと同じS/N比, 同じ周波数のサレアリレガ分解能を得るには約10倍の測定時間が必要となる。従って現在生体系への応用には感度の高いプロト核の2次元NMRが有力と思われる。次に生体高分子への応用が重要な種々の同種核2次元NMRについて概説し, 最後に蛋白質への応用例を述べる。



同種核J-分解法

2次元分解法では一般にM [図2] a

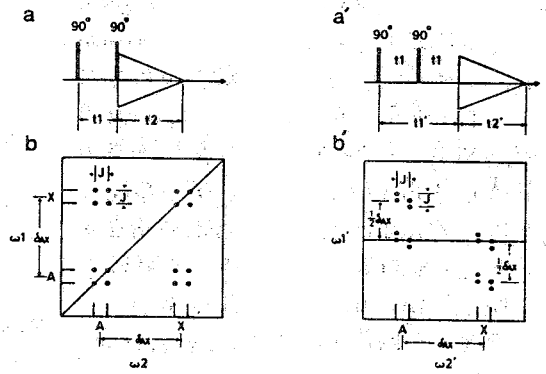
期に第2パルスは加えられない。従って2次元ピークの数は1次元スペクトルと等しい数だけ現われるという特徴を持つ(厳密には weak coupled system においてこの議論は成り立つ)。J-分解法ではE期の中間に加えられる180°パルスによりゼーマン項が打ち消されハミルトニアシ  $\bar{H}^{(1)}$  はスピン-スピン相互作用のみを持ち、2次元スペクトルは図2bの下段に見られるように2次元方向にJ結合由来のスピン多重度を生じる。1次元スペクトルがあらゆる化学シフトの位置も中心に90°回転させられたようなスペクトルを生じる。これは多数核由来のスピン多重度の重なりのためスピル解析が困難な低分子量の  $^1\text{H-NMR}$  で有用性を発揮する。図2はその概略を示した。



同種核相関法 図3の Jeener type (a, b)

と spin echo type の (a', b') の2次元 [図3]

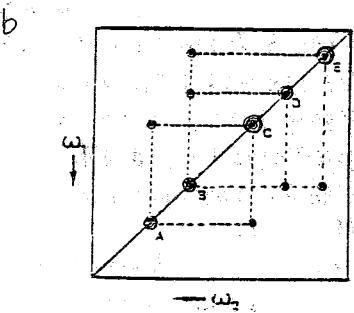
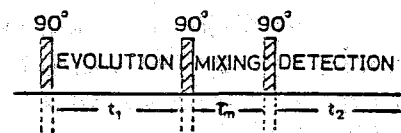
相関法の実験例を示した。両者は完全な1対1対応の写像で結ばれる。最も簡単なAXスピル系では1次元スペクトルで見られる4本の尖鳴ピークの全ての相関が2次元スペクトルに表示されるため  $4 \times 4 = 16$  本のピークが現われる。非対角ピーク (b) 及び原点から ±Ax 離れた相関ピーク (b') の出現により核AとXはJ結合している事が示されている。図3a'に見られるように第2パルスを90°から180°に変えればJ-分解法となり両者は密接な関係にある方法である。



[図4] a

同種核交叉緩和相関法 (2次元NOE)

M期に固定した時間長  $t_m$  離れた2つの90°パルスを加える事により縦磁化度の交叉緩和による2次元相関を実現する手法である。フォルトと核では through-space の双極子相互作用を表現するので空間的精確も与えたと共にNOEによる尖鳴線の帰属の拡張として重要な手法である。但し through-bond と結び付けられる近接核と区別するためには2次元相関法の協力が要である。図4bでは図3b, b' と異なり各ピークの微細構造は示していない。この手法でも Detection の前にE期と同じ  $t_1$  の待ち時間を置けばスピルエコー型の図3b' のスペクトルが表示される。



Basic pancreatic Trypsin Inhibitor (BPTI)

の溶液中構造と結晶構造の比較

BPTI はアミノ酸数 58,  $M_w = 6500$  の小さな蛋白質である。その構造はX線解析, 理論計算, NMR等により精力的に研究されてきた。2次元NMRの応用として  $\alpha$ - $\beta$  間の結合定数 ( $^3J_{\alpha\beta}$ ) を測定した。主鎖に最も近い側鎖構造部分として  $\alpha$ - $\beta$  結合の回転はこの蛋白質の溶液中構造の性格を強く反映するものと期待される。まず  $\alpha$ -H,  $\beta$ -H の共鳴線の帰属, 化学シフトを調べるために2次元相関法 (Spin echo type) を用いる。この方法により aliphatic proton 核は2次元方向に相関ピークをもち 2~6 ppm 近辺に現われるが、 $\beta$ -H 核の重なりの問題がうまく解決される。次に規則的に現われる各アミノ酸の特征的2次元パターン (図5の connectivity diagram 参照) よりアミノ酸の種類を分類し、pH滴定, 化学修飾, ring current shiftの計算, 並びに帰属された共鳴線の情報等と併用してアミノ酸の帰属を行った。帰属された  $\alpha$ -H 核の微細構造は2次元J-分解法の助けを借りて解析した。  $^3J_{\alpha\beta}$ ,  $^3J_{\alpha\gamma}$  の結合定数を求め、X線構造から決定される  $^3J_{\alpha\beta}$  とNMRにより得た  $^3J_{\alpha\beta}$  の値により、アミノ酸残基は3つのグループに分類される。Group I はX線構造との一致が高い。Group IIは一致は低いが unique な  $\alpha$ - $\beta$  二面角がNMRの結果を説明出来る。Group IIIはGroup I にもGroup IIにも属し得ない2つ、回転量や向きの速い動的平衡を仮定してはじめて説明可能なNMRの結果を示す。以上の結果と理論的構造パラメータとの比較、 $^3J_{\alpha\beta}$  の温度依存性より、蛋白質の結晶構造と溶液中構造との関係について一つのモデルを提出する。

[文献] W.P. Aue et al. J. Chem. Phys. 84, 2229 (1976)

K. Nagayama Adv. Biophys. Tokyo (1980) In press.

Residue No.	Amino Residue	Weakly Coupled Case
2	Gly (Ax)	
4	Ala (AX)	
3	Asn, Asp, Cys, His, Phe, Ser, Trp, Tyr	
5	Thr	
	Gln, Glu, Met	
7	Arg, Pro	
8	Val	
9	Lys	
10	Ile	
	Leu	

[図5] アミノ酸のスピノエコー相関法による2次元ピークの現われ。Connectivity diagram

Table 7. Classification of amino acid residues in the BPTI based on the observed coupling constants  $^3J_{\alpha\beta}$  and  $^3J_{\alpha\gamma}$ .

Group I	Group II	Group III
Glu7		Arg17, Arg20, Arg42
Met52		Asn24, Asn43, (Asn44) <sup>a</sup>
Phe33, Phe45	Phe4	Asp3, Asp50
	Tyr10	Glu49, Gln31
Leu6	Leu29	Ser47
Pro2		Phe22
Cys5, Cys14, Cys30		Tyr21, (Tyr35) <sup>b</sup>
Cys38, Cys51		Pro9
Thr32		Cys55
		(Thr11, Thr54) <sup>c</sup>
		(Ile18, Ile19)
		Val134

a, 分類はチキド参照の手, b, 化学シフトの重なりによる分類は不正確, c, この3のアミノ酸は単一の  $^3J_{\alpha\beta}$  値をもちない。Group II, IIIの同分類は出来ない。

## 11.1 2次元 NMR法を用いた分子構造解析

ブルカー社研 小田篤子

2次元 NMR法が新しい NMRの測定法として注目され始めて以来数年、数多くの応用例が発表されている。  
2次元 homonuclear proton NMRの応用例のうち分子構造解析に有用なものとして次の3つと挙げる事ができる。(1-3)

- 2D-J-resolved spectroscopy
- 2D-Correlated spectroscopy  
(スピン結合している核間の相関)
- 2D-correlated spectroscopy  
(双極子結合している核間の相関)

a)の方法では、独立な2つの周波数軸に化学シフトとスピン-スピン結合の情報を分離する事ができる。(b)の方法ではスピン系の結合状態に関する情報が得られるので、個々の共鳴線の同定に有効である。(c)の方法では核オーバーハウザー効果と及ぼす核間の相関が得られるので、分子の空間配置に関する情報を得る事ができる。  
上記の2次元 NMRの測定では、各々の情報を得るのに選択的な照射等を行う必要がないので、1次元 NMRスペクトルが高磁場で測定した場合でも充分分離せず、選択的な照射によるスペクトルの解析が困難な系に対しては、この方法は特に有効である。(1-4)

ここでは (a), (b), (c) の各方法と比較的簡単な分子系であるトリプトファン (Formyl-L-Methionyl-L-leucyl-phenylalanine) に適用した。

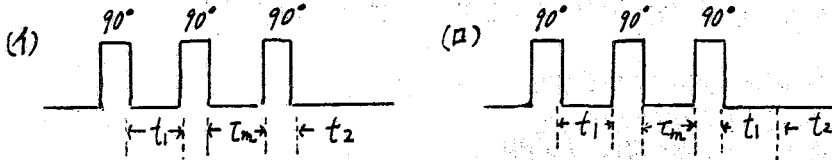
(b)と(c)の correlated 法を用いる場合、膨大なデータ量を要するという問題が生じてくる。永小川はデータ量を節約する方法として、Spin-echo-correlated 法と Fold-over correlated 法を提示している(1-2)。ここでは (b)は永小川によって報告された spin-echo-correlated 法とそのまま用い、(c)は従来の 2D-cross relaxation 法(5-7)に spin-echo-correlated 法を適用したものと用いた。

2D cross relaxation 法は図1(1)に示すように、nonselective な3つの  $90^\circ$  pulseを用い、mixing time  $T_m$  を一定に保ち  $t_1$  と変えた実験を繰り返して、シグナルと  $t_2$  の関数として検出する。Spin-echo correlated 法では (1)に示すように、3番目の  $90^\circ$  パルス後に delay  $t_1$  と置き、同じく  $T_m$  を一定に保ち

やまた あつこ

$t_1$ を変えた実験を繰り返して、シグナルと  $t_2$  の関数として検出する。さらに、positive type の peak と mixing time の間に生じる横磁化成分の影響を取り除くために、適当な RF phase shift を行った。

図I



この方法で得られるスペクトル表示は (b) の方法で得られるスペクトル表示 (1-2) と同様である。すなわち、mixing period で他の成分と交換しない成分は  $t_1$  と  $t_2$  を通じて同じ周波数を持てゐる。この成分は  $S_1=0$  の線に来る。核Aと核Bが couple している場合には cross peak はそれぞれ  $(\delta_1, \delta_2) \equiv \frac{1}{2}(F_A - F_B, F_A)$ ,  $(\delta_1, \delta_2) \equiv \frac{1}{2}(F_A - F_B, F_B)$  の位置に現われる。(  $F_A, F_B$  は各々ピークAとピークBの化学シフトである) 従つて cross peak は  $S_1$  軸と  $135^\circ$  で切れる線に来る。

図2に (b) と (c) の方法を用いて測定したトリプロポキシドの 2D-Correlated スペクトルの Contour plot と 1次元NMRスペクトルと共に示す。例えば、ロイシン残基  $-NH-CHCOCH_2CH(CH_3)_2$  の場合には、図II(2) に示すように 0.83ppm と 0.87ppm に2個のCH<sub>3</sub>基が観測される。その下に各々  $(\delta_1, \delta_2) \equiv (-0.37, 0.83)$ ,  $(\delta_1, \delta_2) \equiv (-0.35, 0.87)$  の cross peak が現われている。そこから  $135^\circ$  の線とたどると、各々 cross peak  $(0.37, 1.57)$ ,  $(0.35, 1.57)$  に到達する。従つて 1.57ppm のピークが CH<sub>3</sub>基とスピン結合している  $\beta$ プロトンであることがわかる。同様にして、順次、 $\beta$ プロトン、 $\alpha$ プロトン、NH と同定することができる。

また、図II(3)の場合には (b) で観測された cross peak の他に NH と  $\beta$ プロトンとの間にも cross peak が観測され、これ等の核が dipole couple していることが示される。他のアミノ酸残基に関しても同様にスペクトル解析を行うことができる。各々のシグナルの化学シフト及び  $\omega$  精確なスピン結合定数は (a) の方法を用いて求めることができる。

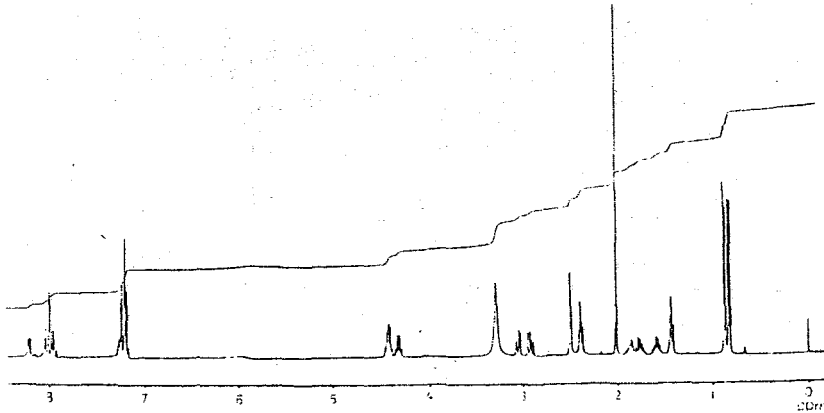
このように上記の 2D-NMR法を用いることにより、比較的容易にスペクトルの同定ができるので、分子構造解析に要する NMR パラメータも容易に得ることができ、今後広く種々の分子系に活用されることが期待される。

やまた あつこ

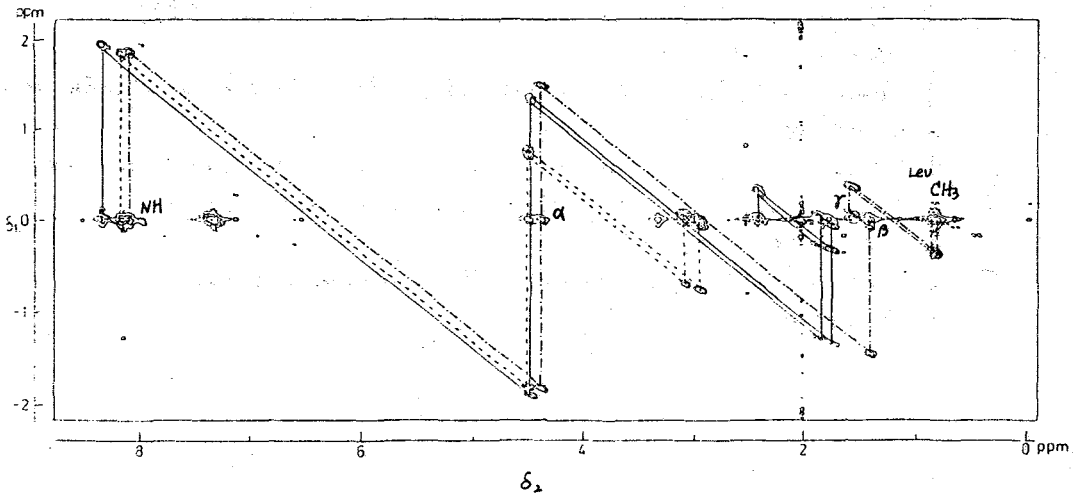
図II

Formyl-L-Met-L-Leu-L-Phe のプロトンNMRスペクトル  
 測定は Bruker WH 400 を用い、400 MHz 30°C で  
 行われた。試料 12.5 mg を  $d_6$ -DMSO 中に溶かし  
 内部標準として TMS を用いた。

1) 一次元 NMR スペクトル

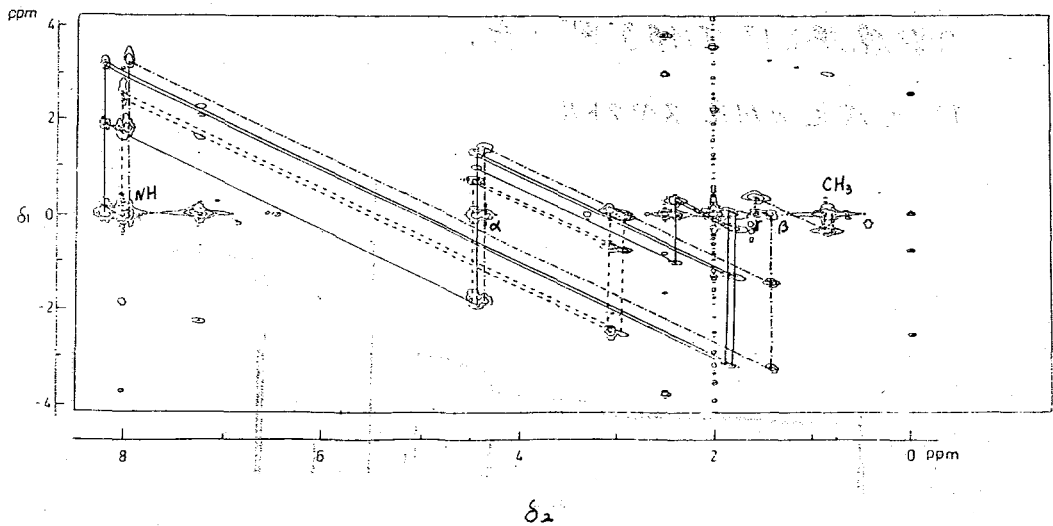


(2) (b) の方法を用いて測定された 2D-correlated スペクトル  
 の Contour plot. — Formyl-Met 残基 — — — Leu 残基  
 - - - phe 残基



やまた あつこ

(3) (C)の方法を用いて測定された 2D-correlated NMR の Contour plot.



文献

1. K. Nagayama, K. Wütrich & R.R. Ernst (1979) *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 90 305
2. K. Nagayama, A. Kumar, K. Wütrich & R.R. Ernst (1980) *J. Mag. Res.* 40 in press
3. K. Nagayama, P. Bachman, K. Wütrich & R.R. Ernst (1978) *J. Mag. Res.* 31 135
4. A. Kumar, R.R. Ernst & K. Wütrich (1980) *Biochem. Biophys. Res. Comm.* to be published
5. B.H. Meier & R.R. Ernst (1979) *J. Amer. Chem. Soc.* 101 6441
6. J. Jeener, B.H. Meier, P. Bachmann, & R.R. Ernst (1979) *J. Chem. Phys.* 71 4546
7. S. Macura & R.R. Ernst (1980) *Molecular Phys.* to be published

ありがとうございました

# 112 各種パルス系列の応用 (II)

(日本電子) °大内宗城, 細野政美, 松下和弘  
今成 司

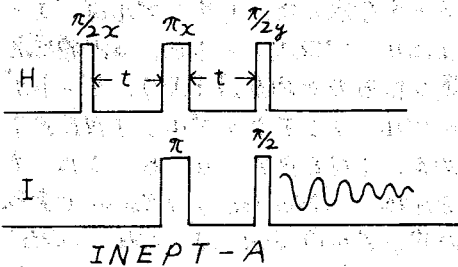
## 1. はじめに

FTNMRでは、種々のパルステクニックを使用し目的に合わせた情報を得ることが可能である。前回、部分励起法、スピントランスファーや2次元-NMRのパルス系列の応用を発表したが、今回は、感度の向上を目的とした新しいパルス系列であるJ-cross polarization 法やINEPT法 (Insensitive Nuclei Enhanced Polarization Transfer) について、実験を行なった。J-cross polarization法は、Bertrandらの発表以来2-3のグループが研究しているが<sup>1)</sup> INEPT法は、Morrisらの発表以来2,3の報告しかない<sup>2)</sup> 通常のデカップリングでは、NOEによって  $\frac{1}{2} \cdot \gamma_H/\gamma_I$  倍しか増加しないが、これらの方法では、 $\gamma_H/\gamma_I$  倍の増加があり、NOEの約2倍 enhance する。また、通常のデカップリング法では、緩和時間の長いIスピン( $^{13}C$ 等)により測定条件(特にくり返し時間)が、決定されるが、上記の2つの方法は、比較的緩和の短いHスピン( $^1H$ 等)により測定条件が決定されるという特徴がある。これらの測定上の注意事項および応用を発表する。

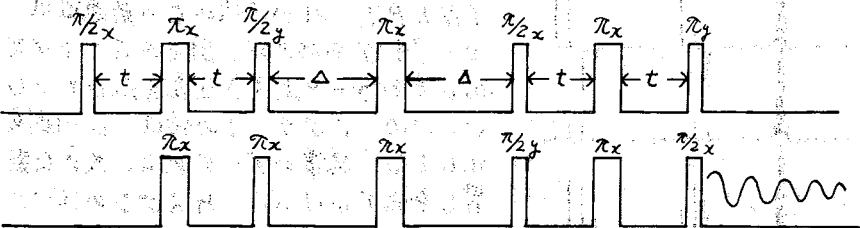
## 2. パルス系列および実験

測定は、JEOL FX 200 (FG/BGシステム) に、照射(H)の位相を  $90^\circ$  シフトさせる回路を付加し、パルス系列は、内蔵の Programmable Multi Pulser (PG200) により、発生させた。

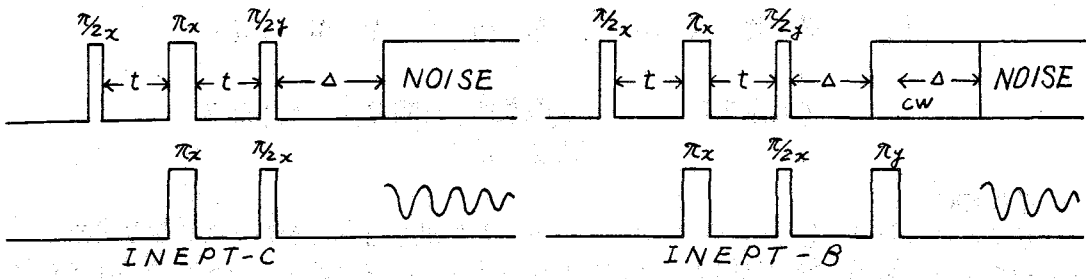
### A) INEPT



I; 測定核 (例  $^{13}C$ ,  $^{15}N$  等)  
H; 照射核 (例  $^1H$ )  
 $\pi, \pi/2$ ; それぞれの核の  $\pi, \pi/2$  パルス  
 $\alpha, \beta$ ; それぞれのパルスの位相  
 $t, \Delta$ ; パルスの間隔  
 $\omega$ ; サンプリング  
 $t_c$ ; 接触時間

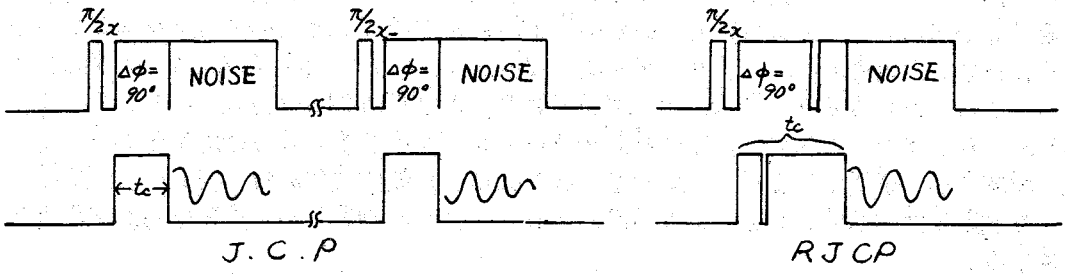


おおうち むねき, ほその まさみ, まつした かずひろ, いまなり まもる



'H, <sup>13</sup>C, <sup>15</sup>N核の  $\pi/2$  パルス幅は、それぞれ 33 $\mu$ sec, 18 $\mu$ sec, 55 $\mu$ sec である。

B) J-cross Polarization



3. INEPT

INEPT方法の概略は、①Hスピンを  $\pi/2 - \tau - \pi$  で J変調を生じさせ、②Iスピンの  $\pi$ パルスを加えスピンの交換を行ない、③Hスピんに  $\pi/2$  パルスを加え、そのスピンを +z, -z に分極し、④さらにIスピンの  $\pi/2$  パルスを加え測定するものである。

図1にINEPT-A法を使用した<sup>13</sup>C核のデータを示した。(サンプルは、1-フェニルプロパノールで、sp<sup>3</sup>領域を測定したものである。)下より、ゲートデカップル、ノンデカップル、INEPTである。INEPT-a, b, cは  $\tau = 2\text{m sec}, 1.76\text{m sec}, 1.5\text{m sec}$  である。このサンプルの J<sub>CH</sub> は CH<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub> で、 $\sim 125\text{Hz}$ , CHで $\sim 142\text{Hz}$  である。INEPT-Aの方法の  $\tau$  の最適値は、 $\tau = 1/4 J$  であるが、図2では、 $\tau$  が変化してもデータ上大きな差を示していない。このことより、 $\tau$  の値は、2~3割変化しても、通常のデータには、大きな影響を与えていない。Hスピンの  $\pi$ パルス

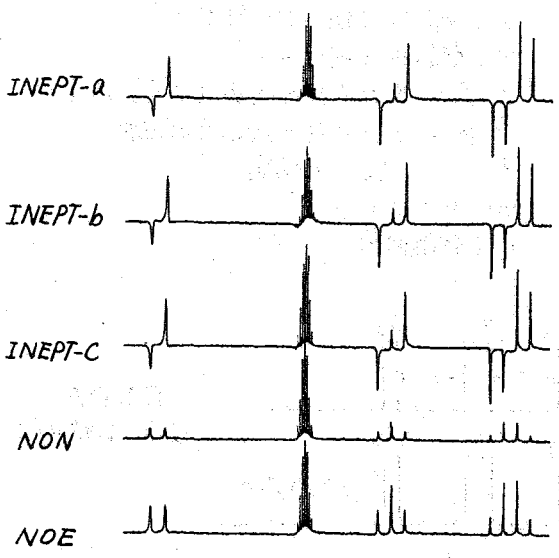


図1. INEPT-A法の比較



スを変化した時のシグナル強度比を表1に記した。このように、 $\pi$ パルスの幅が変化するとシグナルの強度比が低下する。しかし、10%ぐらいの誤差であれば、無視できる。

$\pi$ パルス幅	50	66	80 $\mu$ sec
CH	1.1	1.0	0.68
CH <sub>2</sub>	1.0	1.0	0.62
CH <sub>3</sub>	0.85	1.0	0.48

INEPT法におけるEnhanceの量は、理論的に $\delta H/H_I$ である。このことよりNOE効果の2倍Enhanceすることになる。実際のシグナル強度比は、CHで3.5, CH<sub>2</sub>で3.8, CH<sub>3</sub>で4.8であったが、long range coupling等により、誤差を含んでいるのであろう。また、パルスのくり返しは、プロトンスピンの

表1. パルス幅とシグナル強度比  
緩和時間(T<sub>1</sub>)に依存させれば良い。このため、<sup>13</sup>N核等緩和時間の長い核に非常に有利である。

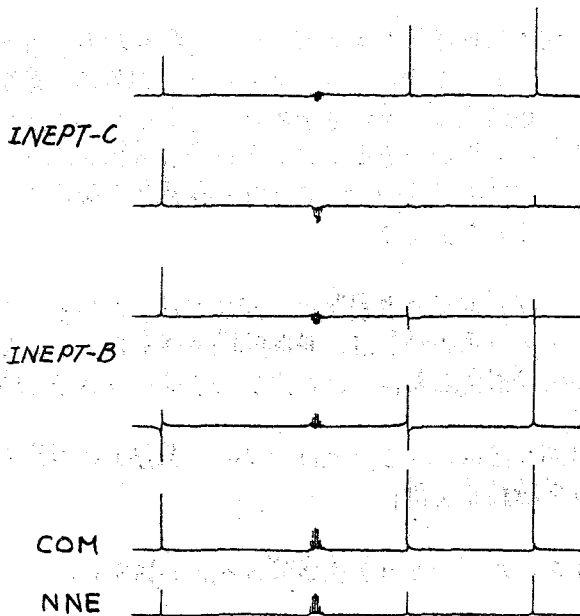


図2. INEPT-B, C法の比較

INEPT-B, Cの方法を使用した各核のデータを図2に示した。下よりゲートデカップル, 完全デカップル, INEPT-Bで $\Delta = 1/4 J$ ,  $\Delta = 1/2 J$ , INEPT-Cで $\Delta = 1/2 J$ ,  $\Delta = 1/4 J$ である。また $1/4 J$ が最適であるが、前述のINEPT-Aの方法と同じく、2~3割の誤差は無視できる。しかし、 $\Delta$ は厳密に設定する必要がある。INEPT-Bの方法は、enhanceの量は大きいが、位相が、CH, CH<sub>2</sub>, CH<sub>3</sub>で異なるという欠点がある。(逆に位相をチェックしておくとCH, CH<sub>2</sub>, CH<sub>3</sub>が判断できる。) INEPT-Cの方法は、enhance量が2割ぐらい低下するが、位相が合うという点が長所である。

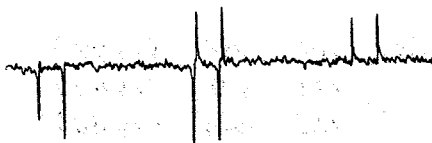


図3 INEPT-A, 90%ホルムアミドの<sup>1</sup>H

図3に<sup>13</sup>Nの例を示した。サンプルは、90%ホルムアミドである。

REDP法は、パルス系列が非常に複雑であるが、INEPT-A法と比較すると<sup>13</sup>Nが2割低下した。この理由は、パルス系列が長い $T_2$ による減衰および $\pi$ ,  $\pi/2$ パルスのエラーが多く積りあうことに起因するものと思う。INEPT-A法は同じイスピンの属する(たとえばCH等)シグナルの位相が合わないという欠点があるが、REDP法は同じイスピンの属するシグナルの位相は合う。しかし、異なるスピンの属するスピン(CH, CH<sub>2</sub>, CH<sub>3</sub>の間)の位相は、 $\Delta$ を可変することにより合わせる必要がある。

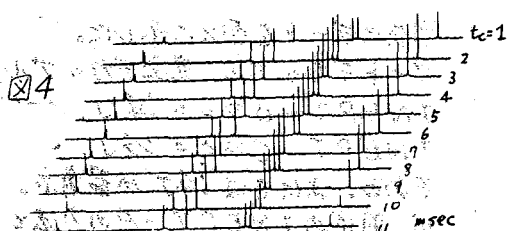
#### 4. J-Cross Polarization (J.C.P)

JCPは、 $\delta_H/\gamma_I$ 倍シグナルが Enhance すること、くり返し時間をHスピンの緩和時間に合わせられるという点が特徴である。一方、JCP法は、 $\delta_H \cdot H_{IH} = \delta_I \cdot H_{II}$  を厳密に設定する必要がある。表2に $H_{II}$ を可変したシグナルの強度変化を示した。

$H_{II}$ (dB)	0.0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7
シグナルの強度比	0.64	0.64	0.82	1.0	0.91	0.73	0.55	0.45

表2  $H_{II}$ とシグナル強度比

このように  $\delta_H \cdot H_{IH} = \delta_I \cdot H_{II}$  の誤差は、約5%以下におさえることが必要である。図4にC核の接触時間を可変したデータを示した。(サンプル;カンファー) 理論的最適接触時間は、 $1/\nu$  であるが、2割ぐらいの誤差は、無視できる。JCPの最も困難な点は、 $\delta_H H_{IH} = \delta_I H_{II}$  の条件を精度良く設定することであろう。



大きくても良く(4割),  $\delta_H \cdot H_{IH} = \delta_I \cdot H_{II}$  の設定誤差は、JCP法の2倍ぐらいでも満足に測定できる。

理論的には、JCPとRJCPの強度比は同じだが、JCP法は $\delta_H \gamma_H = \delta_I \gamma_I$  の誤差を含みやすく、RJCPが1.1倍良いという実験結果を得た。

JCP法の改良型が、RJCP法である。この方法の特長は、接触時間の誤差をさらに大

最後に、有用な御助言をいただいたJEOL (USA) 後藤興日氏に感謝する。

- R. D. Bertrand et al. J. Am. Chem. Soc. 100 5227 (1978)  
 G. C. Chingas et al. J. Magn. Resonance. 35 283 (1979)
- G. A. Morris et al. J. Am. Chem. Soc. 101 760 (1979)  
 G. A. Morris ibid 102 428 (1980)  
 P. H. Bolton et al. ibid 102 1449 (1980)

(分子科学研究所) ○菅原 正・湯田坂雅子・藤山常毅・岩村 秀

はじめに

塩化物の $^{35}\text{Cl}$ -NMRの線幅は、化学結合の状態により著しく変化することは周知の事実である。例えば、塩化ナトリウム水溶液の $^{35}\text{Cl}$ の線幅は約10 Hzであるのに対し、四塩化炭素のそれは14.5 Hzにも及ぶ。塩素イオンのように核の周囲の電荷がほぼ球対称に近いものでは、四極子緩和が遅いのと比べ、共有結合を有する分子では、核の周囲に電場勾配が生じ、四極子緩和が著しく速くなるのがその原因である。従って $^{35}\text{Cl}$ の線幅は塩素原子の結合状態を鋭敏に反映すると期待される。Baladeschwielerらは、環境の異なる塩素イオンの交換により生ずる $^{35}\text{Cl}$ の線幅の広がりを利用し、たんばく質の活性部位の定量を行なう方法(塩化物プローブ法)を提唱し、興味ある結果を得ている。しかしながら、この分野では生体物質への応用が先行した形で、背景となるべき電解質の解離平衡と線幅の関連についての基本的研究や、イオン解離をしようる有機塩素化合物への適用等は、まだ殆んど解明されていないのが現状である。そこで我々は、塩素を含む電解質の $^{35}\text{Cl}$ -NMRの共鳴線の線幅と解離度との関連を検討し、 $^{35}\text{Cl}$ の線幅が電解質の自由イオン、イオン対間の解離平衡を正確に反映したものであることを実証すると共に、より定量的な取扱いを可能にし、ひいては、有機化学の分野でのイオン解離の研究手段として役立つことを目的とした。

2. 実験

$^{35}\text{Cl}$ -NMRの測定には、Varian FT 80Aを用い、外部ロック法によった。共鳴周波数7,794 Hz、スペクトル幅4000 Hz、フーリエ変換数16384。90°パルスを用い、サンプリング時間は、0.1秒である。化学シフトは発振器の周波数から吸収極大の周波数を読みとり、ppm単位で表わした。読みとり誤差0.5 ppm、線幅の誤差は3%以内である。3% (w/w)の電解質溶液で、半道幅100 Hz前後のものは、3時間の積算で良好なS/N (=10)のスペクトルを得ることができる。又、線幅を議論する為、ウィンドー関数処理は行なわなかった。試薬は市販特級を用い、潮解性のものは、ドライボックス内で試料の調整を行なった。

3. 結果及び考察3-1 塩素を含む電解質の自由イオン、イオン対間の平衡と $^{35}\text{Cl}$ の線幅の関係

はじめに、 $^{35}\text{Cl}$ の線幅の内容につき若干の考察を加えたい。 $^{35}\text{Cl}$ のように、核四極子を有する核種の線幅は、四極子緩和時間( $T_Q$ )で支配され、これは、分子の回転の相関時間 $T_C$ と、測定周波数 $\omega$ との積が1より十分小さい場合(この条件は室温の溶液中では成立している)次式で表わされる。こゝで $q$ は異方性パラメーター( $0 \leq q \leq 1$ )であるが、

$$\Delta\omega = \frac{1}{T_Q} = \frac{2\pi}{5} \left(1 + \frac{q^2}{3}\right) \left(\frac{e^2 q Q}{h}\right)^2 T_C \propto (e^2 q Q)^2 \cdot T_C$$

すがわら ただし・ゆださか まさこ・ふじやま つねたけ・いわむら ひいす

この項を無視すれば、線幅は、四極子結合定数 ( $e^2qQ$ ) の2乗と、回転の相周時間の積と考えてよい。自由イオンでは陽イオンと陰イオンは夫々独立に溶媒和され、核の周囲の電荷分布は球対称に近い。又、溶液中でのイオンの回転も十分速いと考えられる。これに対し、イオン対においては、すぐ近傍に互いに対イオンが存在する為、電荷分布は球対称から歪み、電場勾配 ( $q$ ) が生じて四極子緩和は、より速くなる。又、イオン対の回転の相周時間も自由イオンより大きくなると考えられ、この二つの要因は、共にイオン対における線幅を広げるように働くであろう。以上の観点に立って、塩化カリウム、塩化アンモニウムの解離平衡と、 $^{35}\text{Cl}$  の線幅の関係に検討を加えた。

i) 溶液の誘電率と半値幅の関係

水-アセトンの混合溶媒系において、アセトンのモル分率を変化させると、誘電率を連続的に変えることができる。(図1 ●印をむすぶ曲線) ニニに 0.2 mol/l の塩化カリウムを溶解させた時の  $^{35}\text{Cl}$ -NMR の化学シフト及び半値幅を測定した。化学シフトは、アセトンのモル分率を 0 から 0.3 まで増加させた時、200.4 ppm から 206 ppm と 3% しか変化しないのに対し、線幅は 12 Hz から 106 Hz と約 9 倍も増大することがわかる。(図1 ○印をむすぶ曲線) 尚、モル分率 0.3 付近ではすでに線幅の変化は飽和し始めており、又 0.3 以上では塩が溶け切らず測定できなかった。誘電率の低下に伴い、半値幅の増大する傾向は、大きな固有の線幅をもつイオン対の寄与が増加したとしてよく理解される。実際のスペクトルを図2に掲げる。(測定温度 25°C)

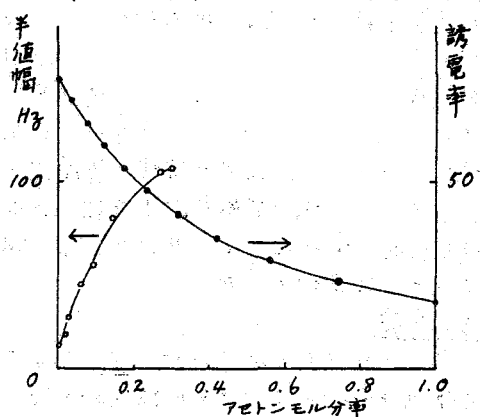


図1: 水-アセトン系での誘電率(●)とKClの $^{35}\text{Cl}$ の半値幅(○)

ii) 共通イオン効果

半値幅が自由イオン、イオン対の平衡を反映しているとするならば、質量作用の法則より、共通陽イオンを含む塩を溶解させた時、 $^{35}\text{Cl}$  の線幅に影響が出ると期待される。そこで、水-アセトン (アセトンのモル分率 0.5) の塩化アンモニウム溶液 (1.5% w/w) に、硝酸アンモニウムを溶解させていた際の  $^{35}\text{Cl}$  の線幅に着目した。硝酸アンモニウムを 30% w/w まで加えると、半値幅は 95 Hz から 120 Hz と、26% 程広がり、アンモニウムイオンによる共通イオン効果が観測された。塩化アンモニウムの解離平衡がイオン対側に偏るとして理解される現象である。

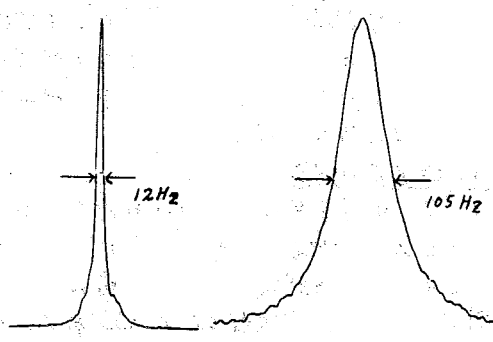


図2: KClの $^{35}\text{Cl}$ -NMR (3% w/w) 左・水溶液 右・水-アセトン(0.3)

### iii) 半値幅の温度依存性

塩化ナトリウム, 塩化アンモニウムを夫々, 純水及び水-アセトン(0.3)に溶解し(1.3% w/w), 半値幅の温度変化を測定した結果を図3にまとめる。水溶液中では, 塩化ナトリウム, 塩化アンモニウム共, 30°C以上では殆んど線幅が変わらないのに対し, イオン対の寄与のかなりあると考えられる水-アセトン(0.3)中では, 大きな温度変化が認められた。このことは, とりも直さず, 自由イオン, イオン対の平衡定数の温度依存性を示すものであろう。

註) 20°C以下では, 水溶液, 水-アセトン中共, 線幅は急速に広がる傾向にある。これは平衡の急激な変化とは考えにくく, むしろ低温では溶媒の粘度が増大する為, イオン対の溶液中での回転の相関時間が長くなる効果が効いてくると考えるのが妥当であらう。

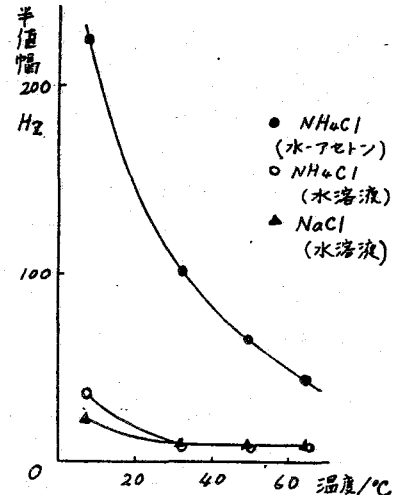


図3: NaCl, NH<sub>4</sub>Clの<sup>35</sup>Clの線幅の温度変化

### iv) 半値幅と電導度から求めた解離定数との関係

以上の結果は, いずれも<sup>35</sup>Clの線幅がイオン対, 自由イオンの解離平衡を反映しているとして矛盾なく理解できるが, その点を更に確認する為, 以下の取扱いを試みた。塩化カリウムの水-アセトン系での電導度の測定結果より, 各モル分率での解離度( $\alpha$ )を算出する。<sup>2)</sup> 一オ, 実測される半値幅( $\Delta W_{obs}$ )が自由イオンの固有の線幅( $\Delta W_f$ )とイオン対の固有の線幅( $\Delta W_p$ )との加重平均で表わされるとするなら,  $\alpha$ を線幅に対しプロットすれば, 直線関係を与える筈である。(次式参照)

$$\Delta W_{obs} = \alpha \Delta W_f + (1-\alpha) \Delta W_p$$

$$\Delta W_{obs} = -(\Delta W_p - \Delta W_f) \alpha + \Delta W_p$$

その結果, 図4に示すような良好な相関が得られ, 以上の仮定が支持された。又, 解離度0への外挿値より, 塩化カリウムのアセトン-水系中でのイオン対固有の線幅は182 Hzと求められた。従って, 電解質の<sup>35</sup>Cl-NMRの半値幅がイオン対の解離平衡を正確に反映したものであることが確立され, 線幅と解離度を定量的に取扱うことができるようになった。尚, 水-アセトン(0.14)中, 塩化カリウムの濃度を2%から11%まで変化させ半値幅を

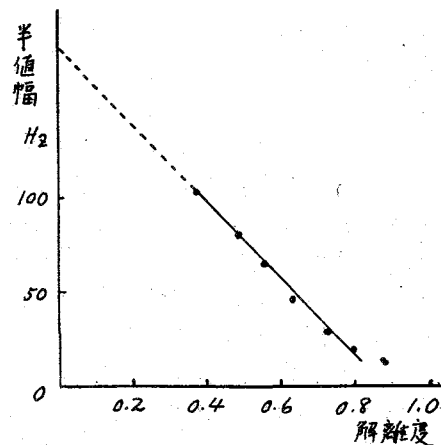
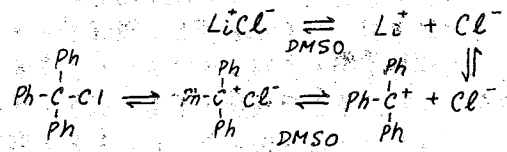


図4: NH<sub>4</sub>Clの水-アセトン系中の解離度と半値幅の関係 (25°C)

測定したが、63 ± 2 Hz程度で線幅は一定に保たれた。この事実は観測される線幅が平衡値を反映したものであることを裏付けると共に、この濃度領域では、平衡値が濃度に依存しないことを示している。ここで明らかになったように、自由イオンの固有線幅( $\Delta\omega_f = 10 \text{ Hz}$ )とイオン対固有線幅( $\Delta\omega_p = 182 \text{ Hz}$ )には大きな差があり、このことが $^{35}\text{Cl}$ の線幅変化を高感度のものになっていることがわかる。

### 3-2 有機塩素化合物のイオン解離

$^{35}\text{Cl}$ の線幅を有機塩素化合物のイオン解離に適用することを試みた。この場合取り扱うのは共有結合している分子と、イオン解離したものの間の平衡である。共有結合している塩素原子の四極子結合定数は、40~90 MHzと非常に大きく、線幅も10 kHz前後となり、事実上観測されない。従ってイオン解離して生じたイオン対乃至は自由イオンの $^{35}\text{Cl}$ のみが観測されるという利点がある。ここではDMSO中の塩化トリフェニルメタンの挙動を検討した。塩化トリフェニルメタンのDMSO溶液をそのまま測定しても $^{35}\text{Cl}$ のスペクトルは得られない。これは解離している塩素イオンの割合が小さいこと、又イオン対固有の線幅が広いことによる。そこで、DMSO中に塩化リチウムを溶かし、この溶液に塩化トリフェニルメタンを添加した際の $^{35}\text{Cl}$ の線幅に着目した。塩化トリフェニルメタンがこの条件下で一部解離しており塩化リチウムとの間に塩素イオンの速い交換を起しているならば、 $^{35}\text{Cl}$ の線幅は、塩化トリフェニル<sup>19F</sup>に由来するイオン対の濃度に応じて広がる筈である。塩化リチウム



33 mg (0.79 mmole) を DMSO 2.0 ml に溶解し $^{35}\text{Cl}$ の半値幅を測定したところ 65 Hz であった。<sup>(76°C)</sup> 二に塩化トリフェニルメタン 2.5 mg (0.0086 mmole) を溶かすとすてに 24 Hz の増加がみられた。測定結果は図5に示すように、添加した塩化トリフェニルメタンの量に比例して直線的に線幅が増加する。直線の傾きは、塩化トリフェニルメタンの解離度とイオン対に固有の線幅の積 ( $\omega_p \times \alpha$ ) に相当する。又、このプロットを異なる温度で行なえば、解離度の温度依存性に関する情報が得られる。

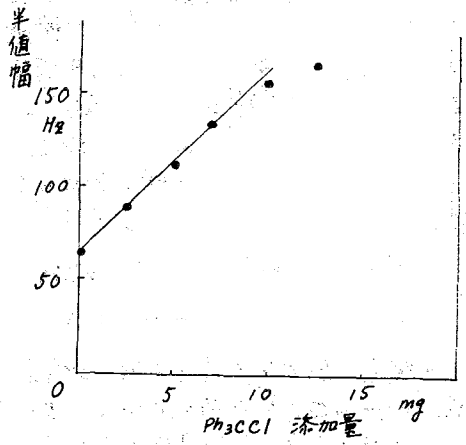


図5: 塩化トリフェニルメタン添加に伴う $^{35}\text{Cl}$ の半値幅変化

現在この取り扱いを他の化合物にも適用し、一般性を検討中である。

### 文献

- 1) T. R. Stengle and J. D. Baldeschwieler, Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A., 55, 1020 (1966)
- 2) Landolt-Börnstein

(北大工)〇下川繁三、(北大理)二俣克哉、中村義男、下地光雄

## 1. 序論

一般に溶融水和物と呼ばれる電解質の高濃度水溶液は、通常の電解質溶液と溶融塩の中間に位置するもので、近年理論と実用の両面で大きな興味の対象となっている。溶融水和物の熱媒体、蓄熱媒などの工学的利用面とも関連して、粘性、電気伝導度などのバルクの性質が測定されている。しかしこれらの高濃度水溶液に対する輸送現象の理論的検討は極めて限られており、特にNMRを用いた微視的研究は少ない<sup>1,2)</sup>。本研究で取上げた塩化亜鉛-水系は、25°Cにおいて水と塩化亜鉛のモル比( $R = n_{H_2O}/n_{ZnCl_2}$ )が1.7に至るまでの広い濃度範囲の溶液をつくる。また溶融塩化亜鉛自身も合金性の強い液体であることが知られている。本研究ではこの塩化亜鉛-水系の水分子に着目し、NMR緩和法を用いてプロトンのスピン-格子緩和時間、およびプロトンをプローブとする水分子の拡散係数を、溶液の組成と温度の関数として測定した。これらの測定結果を用いて水分子の並進と回転の運動の相関時間を求めその組成依存性を検討し、溶液中での溶質と溶媒の相互作用に関する知見を得た。

## 2. 実験

Merck社製特級塩化亜鉛( $ZnCl_2$ )を、三回蒸留して精製した水に溶解し、不溶物を濾過して原液とした。原液の濃度は塩素イオンをMohr法により滴定して決めた。この原液に所定の量の水を加えて試料溶液を調製した。この系の粘度と密度を測定し、文献値<sup>3)</sup>と一致することを確かめた。

NMR試料管は外径8mmで、試料溶液を固化-再融解のサイクルを繰返して脱気後封管した。NMRの測定にはBruker SXP 4-100パルスFT分光器を用いた。プロトンのスピン-格子緩和時間( $T_1$ )の測定は、通常の $180^\circ$ - $\tau$ - $90^\circ$ 法により、共鳴周波数90MHz(22KG)を行った。測定温度範囲は0~50°Cで、温度制御の精度は $\pm 1^\circ$ Cであった。

スピンエコー法による拡散係数の測定には、用いる磁場勾配の設定法により、定常磁場勾配法(SG法)<sup>4)</sup>とパルス磁場勾配法(PG法)<sup>5)</sup>の二通りがある。それぞれ磁場勾配( $G$ )が存在しない場合のスピンエコーの高さ $A(0, 2\tau)$ と存在する場合の高さ $A(G, 2\tau)$ との比は、拡散係数( $D$ )と次式により関係づけられる。

SG法:

$$\ln \frac{A(G, 2\tau)}{A(0, 2\tau)} = -\frac{2}{3} \gamma^2 D G^2 \tau^3, \quad (1)$$

PG法:

$$\ln \frac{A(G, 2\tau)}{A(0, 2\tau)} = -\gamma^2 D \delta^2 \left(\Delta - \frac{\delta}{3}\right) G^2. \quad (2)$$

しもかわしげぞう、ふたままたかつや、なかむらよしお、しもじみつお

ここで  $\gamma$  は注目する核の磁気回転比、 $\delta$ 、 $\Delta$  はそれぞれパルス磁場の中と間隔である。磁場勾配はプローブヘッドの側板に取付けた Helmholtz 型コイルに、自作のパルス電源から電流を通じて発生させた。磁場勾配用のコイルの直径は 5 cm、コイル定数は約 6 gauss cm<sup>-1</sup>A<sup>-1</sup> であった。SG 法では  $G$ 、 $\tau$ 、PG 法では  $G$ 、 $\Delta$ 、 $\delta$ 、 $\tau$  を変化させた時のスピンエコーの高さを測定して (1)、(2) 式により  $D$  を決める。 $G$  の値は、SG 法ではスピンエコーの形状から、PG 法では純水の  $D$  の文献値<sup>b)</sup> を用いて決めた。実験に用いたパラメータの値は次の通りである。

SG 法:

$G$ : 1 ~ 6 gauss cm<sup>-1</sup>

PG 法:

$G$ : 17 ~ 80 gauss cm<sup>-1</sup>

$\delta$ : 0.3 ~ 6 msec

$\Delta = \tau$ : 12 ~ 48 msec

使用した磁石は磁極間距離 6 cm、 $\pi$  トン共鳴周波数 36.5 MHz (8.5 KG) であった。

### 3. 結末

図 1 は  $ZnCl_2-H_2O$  系の 25°C における粘性係数 ( $\eta$ ) とその活性化エネルギー ( $E_\eta$ ) の組成変化を示す。 $\eta$  の対数は  $ZnCl_2$  の重量モル濃度 ( $m$ ) に対してほぼ直線的に変化しているが、 $E_\eta$  の値は  $R \approx 6$  付近で折曲りを見せ、この組成近傍で溶液の構造が変化することを示唆している。

図 2 に  $T_1$  の温度変化を示す。純水に対する値は文献値<sup>7)</sup> と良く一致した。

図 3 に純水および 5 種の試料溶液中の

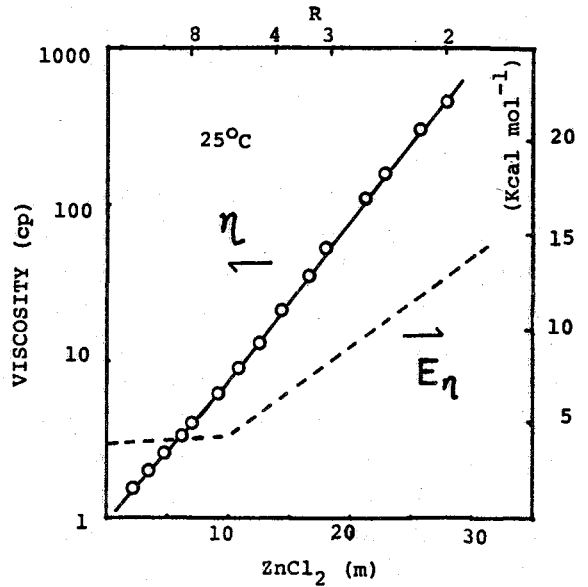


図 1.  $ZnCl_2-H_2O$  系の 25°C における粘性係数と活性化エネルギー

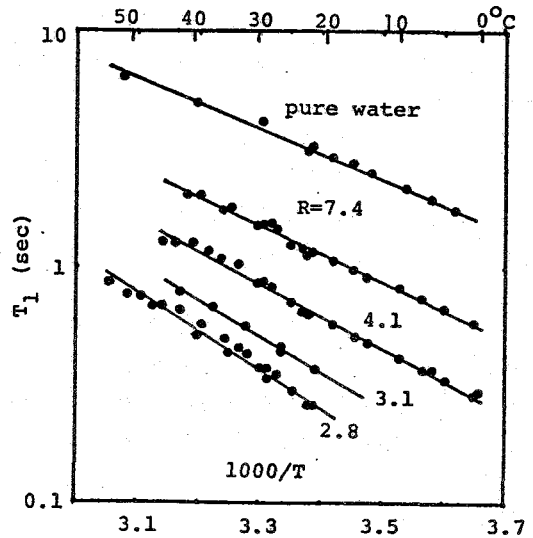


図 2.  $ZnCl_2-H_2O$  系のスピン-格子緩和時間



水のDの測定結果を示す。SG法を求めた純水のDの値は文献値<sup>6)</sup>とほぼ一致した。また同一試料に対するSG法とPG法によるDの測定結果は実験誤差の範囲で一致した。図4に25°CにおけるDおよびその活性化エネルギー( $E_D$ )の組成依存性を示す。 $E_H$ (図1)と異なり、 $E_D$ の値は組成と共にゆるやかに変化している。

#### 4. 考察

溶液中の水分子のプロトンのスピナー格子緩和速度( $T_1^{-1}$ )は、分子内および分子間のプロトンの双極子相互作用の寄与から成立している。

$$T_1^{-1}(\text{obs}) = T_1^{-1}(\text{intra}) + T_1^{-1}(\text{inter}). \quad (3)$$

分子の回転運動に基づく $T_1^{-1}(\text{intra})$ は分子の回転運動が拡散方程式で記述できるという仮定のもとでBloembergenらによって与えられている<sup>8)</sup>。

$$T_1^{-1}(\text{intra}) = \frac{3}{10} \frac{\gamma^4 \hbar^2}{b^6} \frac{h(\omega\tau_{\text{rot}})}{\omega} \quad (4)$$

$$h(x) = \frac{x}{1+x^2} + \frac{4x}{1+4x^2}, \quad x = \omega\tau_{\text{rot}} \quad (5)$$

ここで $b$ は水分子内のプロトン-プロトン間の距離であり( $b = 1.519 \text{ \AA}$ <sup>2)</sup>),  $\tau_{\text{rot}}$ は回転の相関時間である。

一方、並進運動の相関時間 $\tau_{\text{trans}}$ は、Torney-Krieger<sup>9)</sup>の取扱いによれば

$$\tau_{\text{trans}} = \frac{d^2}{5D} (1+\alpha), \quad \alpha = \frac{\langle r^2 \rangle}{12d^2} \quad (6)$$

で表わされる。ここで $d$ はプロトンの最近接距離( $1.38 \text{ \AA}$ ),  $\langle r^2 \rangle$ は分子の並進

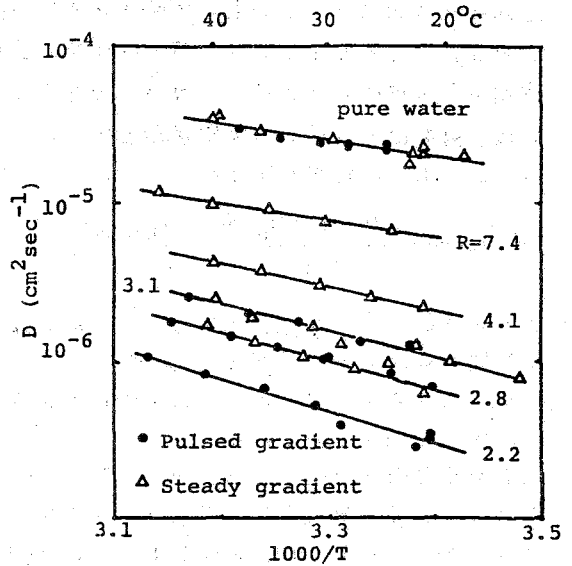


図3 ZnCl<sub>2</sub>-H<sub>2</sub>O系の水の拡散係数の温度依存性

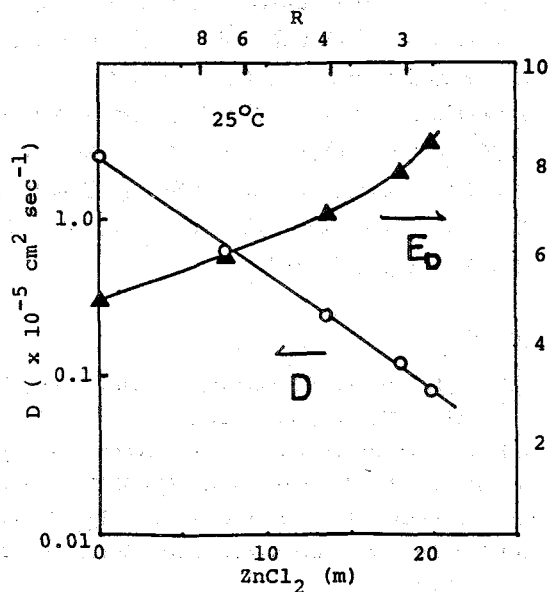


図4 ZnCl<sub>2</sub>-H<sub>2</sub>O系の水の拡散係数と活性化エネルギーの組成依存性

運動の一つのステップ $\tau$ を進む距離の自乗平均値である。このモデルでは、分子は比較的長い時間一つの場所にとどまり、緩和には寄与しない短い時間にランダムな拡散運動を行うとしている。 $T_1^{-1}$ に対する寄与は

$$T_1^{-1}(\text{inter}) = \frac{2\pi \cdot \gamma^4 \hbar^2 N_H \cdot g(\alpha, \omega \tau_{\text{trans}})}{5 \cdot d^3 \cdot \omega} \quad (7)$$

を表わされる $\tau$ 。  $g(\alpha, \omega \tau_{\text{trans}})$  は  $\alpha, \omega \tau_{\text{trans}}$  の複雑な関数であるが<sup>9)</sup>  $\omega \tau_{\text{trans}} \ll 1$  の時、 $5\omega \tau_{\text{trans}}$  となる。しかしこの条件は本実験では必ずしも満たされていない。

Dの測定値より(6)、(7)式を用いて  $T_1^{-1}(\text{inter})$  を計算し、 $T_1$ の測定値より  $T_1^{-1}(\text{intra})$  を見積らせた。さらに(4)、(5)式から  $\tau_{\text{rot}}$  の値を求めた。(6)式中の  $\alpha$  の値を定めることが出来なため  $\alpha = 0$  ( $\langle r^2 \rangle \ll d^2$ ) および  $\alpha = 1/2$  ( $\langle r^2 \rangle = d^2$ ) の二つの極限を逐次計算を行った。図5に  $\alpha = 1/2$  としたときの  $\tau_{\text{trans}}$  および  $\tau_{\text{rot}}$  の温度、組成に対する依存性を示した。図6に  $\tau_{\text{trans}}/\tau_{\text{rot}}$  の比を二つの  $\alpha$  の場合について示す。この値は  $\alpha$  のとり方とは無関係に  $R \approx 6$  付近から  $\text{ZnCl}_2$  の濃度の増加と共に大きく増加している。これより、 $\text{ZnCl}_2 - \text{H}_2\text{O}$  系の水分子の並進運動が  $R \approx 6$  付近から塩の存在によってより強く束縛されていることがわかった。

## 文献

- (1) E.J.Sutter and J.F.Harmon, J. Phys. Chem., 79, 1958 (1975), 82, 1938 (1978).
- (2) J.Braunstein et al., J. Electrochem. Soc., 124, 844 (1977), J. Chem. Phys., 67, 1555 (1977).
- (3) A.J.Rabinowitsch, Z. Phys. Chem., 99, 338 (1921).
- (4) Y.H.Carr and E.M.Purcell, Phys. Rev., 94, 630 (1954).
- (5) E.D.Stejskal and J.E.Tanner, J. Chem. Phys., 42, 288 (1965).
- (6) N.J.Trappeniers et al. Phys. Lett., 18, 256 (1965).
- (7) K.Krynicky, Physica (Utr.) 32, 167 (1966).
- (8) A.Abragam, "The Principles of Nuclear Magnetism", Clarendon Press, Oxford (1961).
- (9) H.C.Torry, Phys. Rev., 92, 962 (1953); G.J.Kruger, Z. Naturforsch., 24A, 560 (1969).

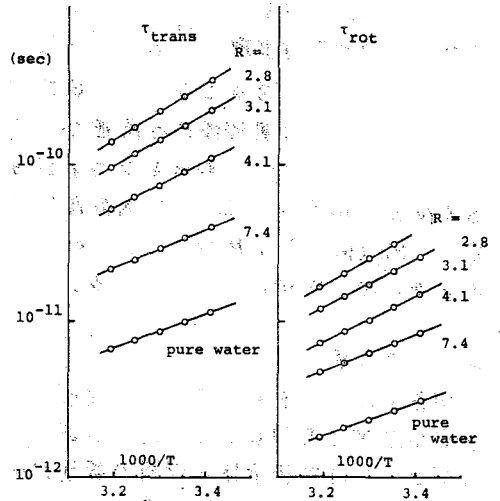


図5.  $\text{ZnCl}_2 - \text{H}_2\text{O}$  系の水分子の並進および回転の相対時間の温度依存性 ( $\alpha = 1/2$ )

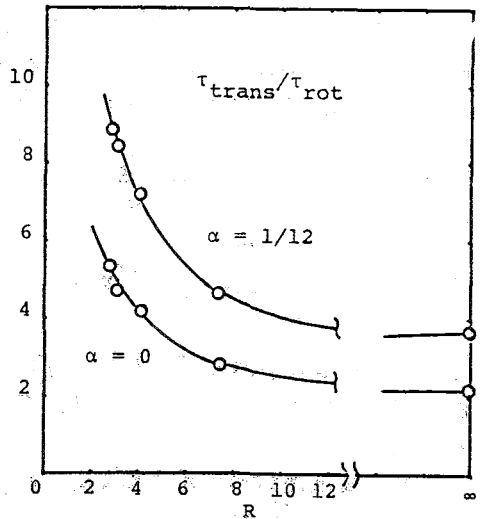


図6.  $\text{ZnCl}_2 - \text{H}_2\text{O}$  系の水分子の  $\tau_{\text{trans}}$  と  $\tau_{\text{rot}}$  の比の組成依存性 ( $25^\circ\text{C}$ )

# 114 Magic Angle Spinning (MAS) 法による 固体高分子の緩和時間測定

(日本電子) 藤戸輝昭, (京大理) 寺尾武彦

## 1. はじめに

我々はこれまで、Magic Angle Spinning 法を使用して、数種の柔粘性結晶の固体サンプルで、分子内の各カーボンをすべて分離した状態で緩和時間を測定し、固体状態での分子運動について研究してきた<sup>1)</sup>。しかし、これまでの MAS 法では、使用したスピナーが cylindrical type で、これを

Low-design<sup>2)</sup> で回転させていたため、回転時にノイズが発生しやすく、高速化には実用上の限界があった。また、このデザインのスピナーでは、小さく作りにくいので、15φ のクロスコイル回路を使用せざるを得なかったため、プロトンデカツポルパワーをあまり大きくすると、放電するという欠点があった。これらの難点を克服するため、スピニング方式と回路の大巾な変更を行い、良好な結果を得た。今回は、これを用いて、固体高分子の緩和時間測定をこころみ、その緩和機構及び分子運動についての知見を得たので併せて報告する。

## 2. 実験

装置は、JEOL FX-100 FT-NMR を使用し、下述のようなタイプのスピナーをもった MAS フローブを用いて実験を行った。周波数は C-13 が 25 MHz、プロトン照射が 100 MHz である。

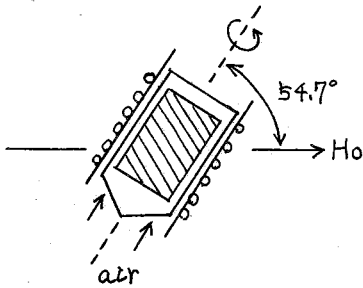


図1. MAS スピナー

と同様に、容易に行える。ただ、このタイプのスピナーは、コマ形のスピナーにくらべると、原理的にバランスがとりにくいため、ステーター及び、コイルボビンにかなりのくふうを必要とした。このスピナーで、1.5 kg/cm<sup>2</sup>, 50l/min のエアーを使用した場合、2.5 kHz の回転数が得られる。(空気圧を上げるとさらに高速が得られる。)

### スピナー

スピナーには、図1のような鉛筆型のカプセルを採用し、磁場に対して magic angle 即ち、54.7° だけ傾けて回転させ、いわゆる Beam-design で使用する<sup>2)</sup>。このタイプのスピナーを採用したのは、次の理由からである。

① コイルをカプセルの近くに巻けるので、filling factor が良い。

② サンプルの出し入れが通常のフローブ

ふいと てるあき, たらあ たけひこ

## プローブ回路

プローブの回路は、Single Coil-Double tune 方式をとり、 $\pi/4$  回路を使って、観測系へのプロトニ照射用 RF のみれを阻止している。<sup>3)</sup> 使用したコイルホビンの外径は 12 $\phi$ 、カプセルの外径は 10 $\phi$  である。プロトニの照射パワーは、 $\pi/4$  のパワーアップを使用して約 40 kHz である。この回路では、プロトニ照射パワーを大きくとれるという特徴がある。

## T<sub>1</sub>測定法

MAS での測定には、通常 Cross polarization (C.P.) 法と呼ばれる = 重共鳴法が使われるが、我々は、CP 法の使用はさけ、図 8 のような T<sub>1</sub> 測定法を用いた。これは、<sup>13</sup>C の T<sub>1</sub> 測定には通常の Inversion Recovery 法 ( $\pi - \tau - \pi/2$ ) のパルス系

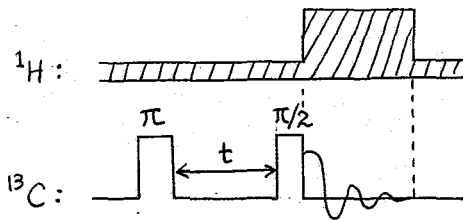


図 8. MAS T<sub>1</sub> 測定法

を用い、<sup>1</sup>H 照射は、FID サンプリング時のみ high power decouple を行い、その他の時間は、low power 照射するもので、プローブの発熱をさけ、しかも NOE enhancement 効果を残そうとする方法である。この方法の利点は次の点である。

① Cross polarization 法での T<sub>1</sub> 測定には、複雑なパルス系列が必要であり、また Hartmann-Hahn 条件を満たすために、Carbon 系と proton 系の RF power level 比がいつも一定でないといけませんが、本法ではその必要がない。② 通常、サンプルによって Cross polarization のための Contact time の最適条件が異なる。また一つのサンプル内でも、分子内の各カーボンでの最適 Contact time は異なる。さらに、同一ピークを示すものであっても、結晶質と非晶質のように二種以上の成分が含まれている場合には、いずれの成分にも最適化することは不可能であって、このため、CP 法では正確なスペクトルが得られないことがある<sup>4)</sup>。本法によれば、このような心配はない。ただ、この方法では、Cross polarization 法にくらべ、理論的に S/N が  $3/4$  程度に落ちるといふ欠点はあるが、実用上はそれほど支障とはならない。

## 3. 測定結果

装置の分解能は、アダマンタン粉末でチェックしたところ、5 Hz 以下であった。(プローブそのものの分解能は 1 Hz 以下である。) このプローブを用いて、前回には、回転数及び decouple power 不足のため測定出来なかったヘキサメチルベンゼン及び PMMA の C-13 の T<sub>1</sub> を測定した。なお測定はいずれも室温で行った。

## ヘキサメチルベンゼン

表 1 に、溶液及び固体でのヘキサメチルベンゼンの T<sub>1</sub> 測定値を示す。


	Solution (CDCl <sub>3</sub> )	Solid (MAS)
-CH <sub>3</sub>	8. sec	0.66 sec
	13.	3.0

表1. ヘキサメチルベンゼン上の<sup>13</sup>C-T<sub>1</sub>

このサンプルは、固体状態でも、室温では、フェニル面に垂直なC<sub>6</sub>軸のまわりの回転だけでなく、面内の軸のまわりにも回転を行っている<sup>5)</sup>。しかし、MASを行なわれない場合には、フェニルカーボンは、かなり大きい (~150 ppm) ケミカルシフトの異方性を示すが、これは運動が、等方的になるほど速くはないことを示している。一方、メチルカーボンは、固体状態では、プロトンとの双極子相互作用を平均化するほど回転が速くはないため、0.66 sec という短いT<sub>1</sub>を示すのであろう。固体状態でフェニル基のT<sub>1</sub>に寄与するのは、分子内及び分子間のメチルプロトンとの双極子相互作用で、サンプル回転をしない場合、T<sub>1</sub>は異方性を示すが、MASでは平均化された値となり、液体よりは、かなり短い。

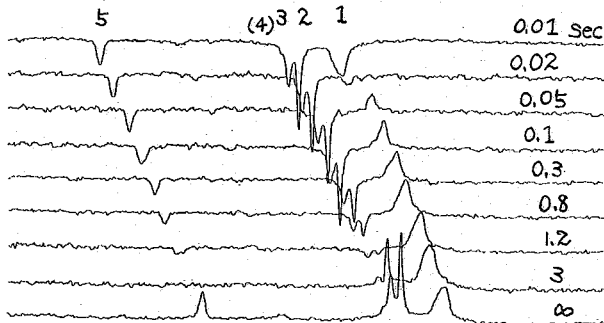


図3. PMMAの<sup>13</sup>C-T<sub>1</sub>スペクトル(MAS)

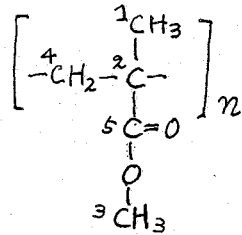
	T <sub>1</sub> Solution (CDCl <sub>3</sub> )	T <sub>1</sub> (MAS)	T <sub>1g</sub> (MAS)
1	58ms (42)	0.05 sec	5 ms
2	540 (581)	2.9	4.3
3	400 (448)	3.8	11
4	50 (46)	—	—
5	1500 (1100)	3.4	11

表2. PMMAの<sup>13</sup>C-T<sub>1g</sub>値

書いてあるのは、Schaefer<sup>57)</sup>のデータから推定したものである。これらのデータから次のことがいえるであろう。PMMAの主鎖はセグメント運動 (torsional motion) をしており、その程度は、溶液中でも固体中でもあまり変わらない。それは、主鎖のメチルカーボンのT<sub>1</sub>が、溶液でも、固体でも、同程度 (~50m sec) に短いことによつ

### PMMA

図3にMASで測定したPMMA固体の<sup>13</sup>C-T<sub>1</sub>スペクトルを示す。これから得られたT<sub>1</sub>値を表2に示す。(メチルのピーク(4)は、強度が小さくて測定出来なかった。) なお、表2のSolution欄のカッコの内の値はLyerlaらのデータ<sup>6)</sup>で、M<sub>w</sub> ≈ 6000のサンプルで溶媒はピリジンである。またT<sub>1g</sub>(MAS)と



て示されている。一方、側鎖の  $-OCH_3$  は固体状態でも、かなり速い回転を行ってゐることが、プロトンのスピノエコーデータより示されている。<sup>8)</sup> この回転のために、 $-OCH_3$  の  $T_1$  は、主鎖の  $\alpha$ -メチルの  $T_1$  よりはずっと長くなつてゐるのであろう。しかし側鎖のエステル全体としては、非常に速い運動しかしてゐない。それは、MASを行なつた状態では、カルボニル基は大きなケミカルシフトの異方性を示すことから分る。奇妙なのは、固体状態では、4級炭素がプロトンが直接ついてゐないにもかかわらず、 $-OCH_3$  より短い  $T_1$  値を示すことである。(T<sub>1</sub>のデータも同じ傾向を示している。) これは、4級炭素が“隣隣の4個のメチレンプロトンと双極子相互作用しやすうな位置関係”になるよう主鎖がひずみ、ゆつくりした torsional motion をしているためであると考へられる。この周波数が 10 KHz 付近であるため、4級炭素の  $T_1$  値が短くなったと、Schaeferらは説明している。<sup>7)</sup> この点を明らかにするため、現在詳細について検討中である。

#### 参考文献

- 1) 藤戸、今成; 第17回 NMR 討論会要旨集 p5 (1978)
- 2) J. Schaefer and E.O. Stejskal;  
"Topics in C-13 NMR spectroscopy" vol 3. chap 4. (1979)
- 3) V. R. Cross, R.K. Hester and J.S. Waugh;  
Rev. Sci. Instr. 47 1486 (1976)
- 4) W.L. Earl and D.L. Vanderhart; *Macromolecules* 12 762 (1979)
- 5) R. Van Steenwinkel; *Z. Naturforsch.* 24a 1526 (1969)
- 6) J.R. Lyerla jr, T.T. Horikawa and D.E. Johnson;  
*J.A.C.S.* 99 2463 (1977)
- 7) J. Schaefer, E.O. Stejskal and R. Buchdahl;  
*Macromolecules* 10 385 (1977)
- 8) T.M. Connor; *Br. polymer J.* 1 116 (1969)

115 Al(III)-水系及びMg(II)-水-アセトン $d_6$ 系における  
金属イオンの水和に関する研究

(北見工大) ○三浦宏一・福井洋一・阿知良豊次  
小森誠一・近藤武

<概要>

低温NMR法を用いて、Al(III)、Mg(II)イオンを含む水溶液を観測し、Solvated水分子とBulk水分子の各々の緩和時間から、個々に回転運動の相関時間と活性化エネルギーを求めることができた。

<序>

適当な金属イオンを含む水溶液の $^1\text{H}$  NMRスペクトルを観測した場合、十分な低温においては、金属イオンに水和した水分子と水和していない水分子との間の交換速度が遅いため、水のシグナルが分離して観測される場合がある<sup>1), 2)</sup>。

我々は試料としてAl(III)-水系及びMg(II)-水-アセトン $d_6$ 系を用いて低温で分離した水のシグナルを観測し、この2本のシグナルについてFT-NMRにより縦緩和時間 $T_1$ を求めた。Fig. 1及び2は各系におけるスペクトルの一例である。求めた $T_1$ より相関時間 $\tau_c$ と活性化エネルギー $E_a$ を計算し、各系において金属イオンに水和した水分子(以下 Solvated水分子)と水和していない水分子(以下 Bulk水分子)の運動について比較し、考察を行った。

<実験>

Al(III)-水系では塩化アルミニウムと水のモル比が各々1:16, 1:18, 1:20, 1:22の4種類の溶液を用い、 $-15^\circ\text{C}$ ~ $60^\circ\text{C}$ の温度範囲で $T_1$ 測定を行った。Mg(II)-水-アセトン $d_6$ 系では、水とアセトンのモル比を1:2とした混合溶媒に過塩素酸マグネシウムを溶かし、Mg(II)と水のモル比が各々1:7.5, 1:9, 1:10.5, 1:12, 1:13.5

←300 Hz→

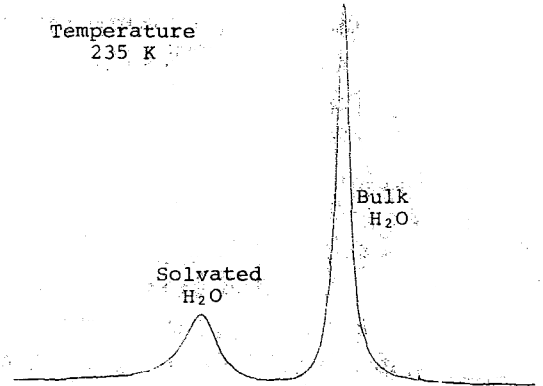


Fig. 1  $^1\text{H}$  NMR spectrum of  $\text{AlCl}_3$ -water solution of mole ratio 1:18.

←300 Hz→

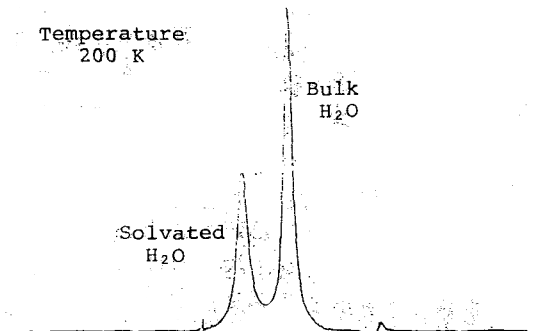


Fig. 2  $^1\text{H}$  NMR spectrum of  $\text{Mg}(\text{ClO}_4)_2$ -water-acetone  $d_6$  solution of mole ratio 1:13.5:27.

みうら こういち ・ ふくい ひろゆき ・ あちら とよし  
こもり せいいち ・ さとう たけし

の5種類の溶液を用いて、 $-60^{\circ}\text{C} \sim -95^{\circ}\text{C}$ で $T_1$ 測定を行った。尚、試料は高真空系により脱ガス処理を繰り返した後、熔封したものをを用いた。 $^1\text{H}$  NMR緩和スペクトルは、北海道大学NMR研究施設のBruker Sxp-100 Pulse & FT NMR Spectrometer (90 MHz)を用いて観測した。 $^1\text{H}$ の緩和時間 $T_1$ は通常の $180^{\circ}-\tau-90^{\circ}$ パルス法により測定した。

常温における水溶液の $^1\text{H}$ 緩和は双極子-双極子相互作用によって起こり、緩和速度には並進運動による寄与と回転運動による寄与の2つが含まれる。我々は並進運動が十分に速くなるような温度範囲で $T_1$ 測定を行った。並進運動速度が極めて速いことは、BulkとSolvateの水分子間の交換速度が非常に小さいことにより示される。このような条件下での緩和は回転運動による双極子-双極子相互作用の揺動によって起こると考えてよい。

回転運動によるスピン-格子緩和時間 $T_1$ は次式で与えられる。

$$\frac{1}{T_1} = C \times \left( \frac{\tau_c}{1 + \omega^2 \tau_c^2} + \frac{4\tau_c}{1 + 4\omega^2 \tau_c^2} \right) \quad (1)$$

(1)式で $\omega$ はLarmor周波数の $2\pi$ 倍、 $\tau_c$ は注目する分子の相関時間である。 $\tau_c$ の温度依存性を通して $T_1$ も温度に依存する。温度 $T$ による $T_1$ の変化を表すグラフの一例をFig. 3に示す。Fig. 3からわかるように、我々が用いた試料では $T_1$ は極小値を持つ。この $T_1$ の極小値より(1)式の定数 $C$ を求め、これから各温度における $\tau_c$ を計算した。

分子内回転運動の活性化エネルギー $E_a$ を求めるには、相関時間 $\tau_c$ の逆数が通常の反応速度定数と同様にArrheniusの式に従うことから

$$\tau_c = \tau_0 e^{E_a/RT} \quad (2)$$

とおける。 $\ln \tau_c$ を $1/T$ に対してプロットし、その直線の傾きから活性化エネルギー $E_a$ を求

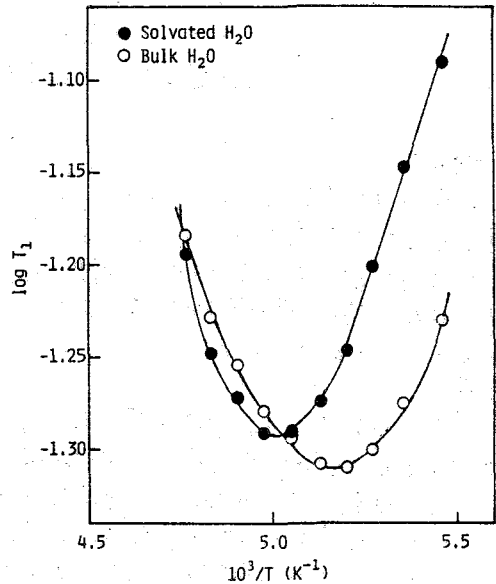


Fig. 3 The variations of relaxation times of proton in  $\text{H}_2\text{O}$  as a function of temperature for the  $\text{Mg}(\text{ClO}_4)_2$ -water-acetone  $d_6$  solution of mole ratio 1:9:18.

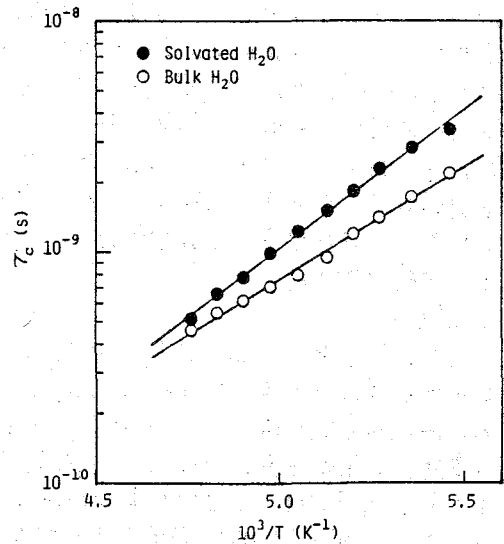


Fig. 4 Arrhenius plots of  $\tau_c$  as a function of temperature for the  $\text{Mg}(\text{ClO}_4)_2$ -water-acetone  $d_6$  solution of mole ratio 1:9:18.



めることができる。Fig.4にFig.3より得られたでのArrheniusプロットの例を示す。  
 <結果及び考察>

Fig.5及び6は各々Al(III)-水系, Mg(II)-水-アセトン系において, 金属塩の濃度に対して相関時間をプロットしたものである。Fig.5, 6をみると2つの系とも同濃度, 同温度におけるでの値はSolvated水分子の方がBulkのそれに比べ長いことがわかる。このことは明らかに金属イオンの回りに水和した水分子の方が回転運動を束縛されていることを示している。またでは金属塩濃度にも依存し, 濃度が高くなるとSolvateとBulkの水分子のでは共に長くなる傾向を示している。

SolvateとBulkの水分子の運動とイオン濃度との関係について更に深く考察を進めるために, 活性化エネルギー  $E_a$  と濃度との関係について調べてみた。Fig.7はAl(III)-水系における  $E_a$  を  $AlCl_3$  の濃度に対してプロットしたものである。Fig.7をみるとSolvateの方がBulkに比べ約5~13 (kJ/mol) 程  $E_a$  が高く, イオンに水和することにより回転運動が起こりにくくなることがわかる。また  $AlCl_3$  の濃度が高くなると, Solvated水分子の  $E_a$  はほぼ一定であるのに対し, Bulkの方には減少する傾向がみられる。このBulkの  $E_a$  の減少傾向を説明するために, FrankとWent<sup>3)</sup>によって提案されている水和イオンの構造モデルを用いてみた。このモデルはイオンからの距離によって水分子は次のような種類の構造をとると仮定している。

小 ↑ I) 構造形成の領域 ( $E_a$  大)

イオンからの距離 ↓  
 I) イオンの回りの電場のために水分子のクラスターが壊され, イオンの回りにかなり整然と配列した水分子の層が形成される領域。

II) 構造破壊の領域 ( $E_a$  小)

II) クラスターが破壊されたため, 水分子がばらばらになつて存在する領域。

大 ↓ III) 通常の水の領域 ( $E_a$  中)

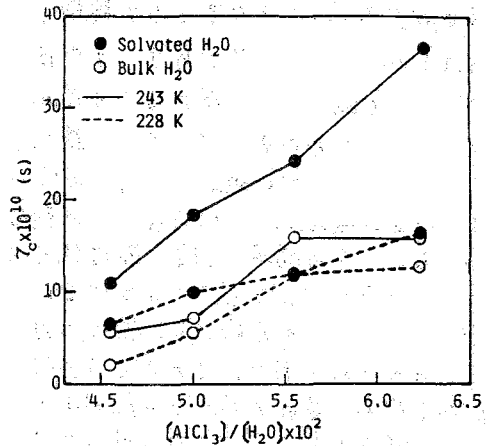


Fig. 5 Relationships between the  $AlCl_3$  concentration and the correlation time  $\tau_c$ .

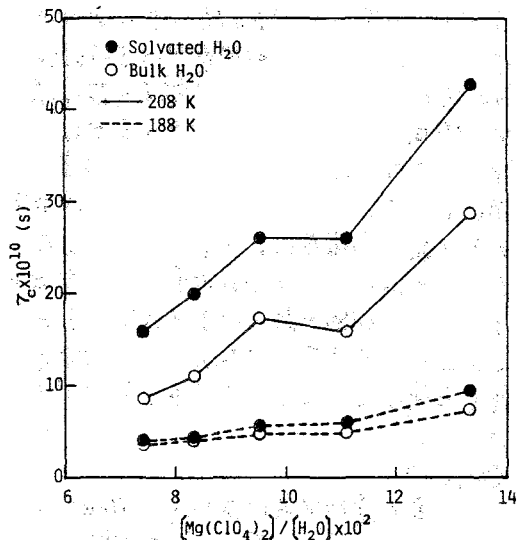


Fig. 6 Relationships between the  $Mg(ClO_4)_2$  concentration and the correlation time  $\tau_c$ .

我々が Solvated 水分子として観測しているのは I の領域の水分子であり、また Bulk 水分子として観測しているのは II と III の領域の水分子を合わせたものである。従って Al(III) イオン濃度が増すに連れて Bulk の方の水分子には III の領域の割合に比べて II の割合が増加する。その結果 Bulk の  $E_a$  は低くなると思われる。また Cl<sup>-</sup> イオンは I の領域を持たず、イオンの近傍に II の領域のみを持っているとされており、このことも AlCl<sub>3</sub> 濃度が高くなるに連れて Bulk の  $E_a$  が小さくなる一因と考えられる。これに対して Solvated 水分子の  $E_a$  はほぼ一定と考えられる。

Fig. 8 は Mg(II)-水-アセトン系における  $E_a$  を Mg(ClO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> の濃度に対してプロットしたものである。Al(III)系と同様各濃度において Solvate の  $E_a$  の方が Bulk のそれよりも高くなっている。Mg(II)系では Solvate と Bulk の両方とも塩濃度が増すと  $E_a$  は微増する傾向を示している。この系では氷点を下げるために水とアセトンの混合溶媒を用いている。そのため Solvated 水分子の配位数が塩濃度によって変化し、また Bulk の水分子どうしの水素結合もアセトンによって切斷されていると考えられる。このような条件下では  $E_a$  の塩濃度による変化を単純なモデルで説明することはできない。

#### <謝辞>

本研究を遂行するにあたり、Bruker Sxp-100 NMR 装置による T<sub>1</sub> 測定に御協力下さいました北海道大学 NMR 研究施設の下川、山田両氏に対し深甚なる謝意を表します。

#### <文献>

- 1) R. G. Wawro and T. J. Swift, J. Am. Chem. Soc., 90, 2792 (1968).
- 2) A. Fratiello, R. E. Lee, V. M. Nishida, and R. E. Schuster, J. Chem. Phys., 47, 4951 (1967).
- 3) H. S. Frank and W. -Y. Wen, Disc. Faraday Soc., 24, 133 (1957).

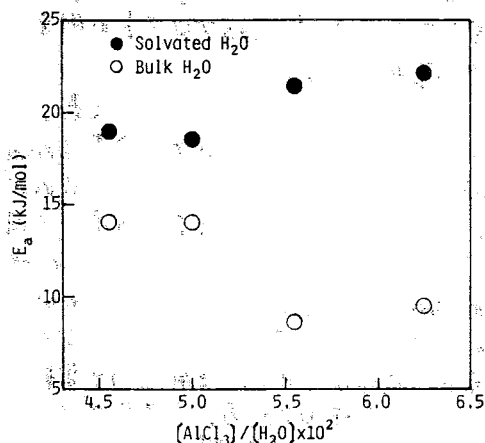


Fig. 7 Relationships between the AlCl<sub>3</sub> concentration and the activation energy  $E_a$ .

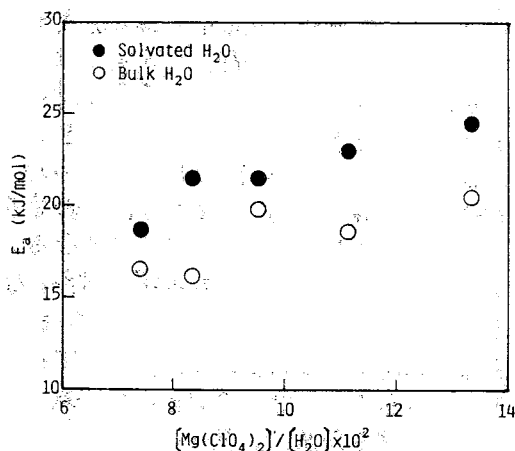


Fig. 8 Relationships between the Mg(ClO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> concentration and the activation energy  $E_a$ .

# 116 赤血球の $^{31}\text{P}$ -NMR

(国立公衆研) ○三森文行 功刀正行

〈序〉生きている赤血球の $^{31}\text{P}$ -NMRを測定することにより、全く前処理を行うことなく、血球内pHを測定する方法について考察を行なった。また、血球内pHの変動が血球のエネルギー代謝系を大きく変化させる過程を、アルカロシス血球において追跡した。 $^{31}\text{P}$ -NMRにより、赤血球の細胞内pHを求める方法については、Moon, Richardsらの先駆的研究があるが、<sup>1)</sup>彼らの方法では、血球内のデオキシヘモグロビンの影響を除くため、血液をあらかじめ一酸化炭素処理しなければならず、この前処理により細胞内pHは変動してしまう。我々は、ATPピークを用いることにより、どのような酸素飽和度の血球においても、何らの前処理も行わず、血球内pHを求めることができることをみいだした。

〈実験〉血液はラットの腹部大動脈静脈よりヘパリン採血し、全血あるいは遠心分離により血球だけを集めて、採血後すみやかにNMR測定を行なった。NMR分光計は、Bruker SXP-4-100を用い、36.4MHzでQPD法を用いて測定を行なった。測定温度は23°C。シフト基準はmethylene diphosphonic acid (1.8% in  $\text{D}_2\text{O}$ ) キャピラリーを外部基準として用いた。スペクトルは10%リン酸のシフト値が0ppmとなるように、この外部基準シグナルのピーク位置を-18.14ppmとして表示した。なお測定時には10回のアプロニ/イステカフリンゲを行なった。pH電極による血球内pHの測定はBeckman 4500 pH計を用い、血球は凍結融解法により容血させて、できる限り迅速に測定を行なった。

〈結果〉(1)ATP化学シフト値による血球内pHの測定：正常な intact赤血球の $^{31}\text{P}$ -NMRスペクトルを図1に示す。低磁場側より、2,3-DPG,  $\text{P}_i$ , ATP, NAD等のシグナルが観測される。Moon, Richardsらは、一酸化炭素処理した血液の2,3-DPGの2-P, 3-Pのシフト差および $\text{P}_i$ のシフト値から血球内pHが求められることを示したが、この一酸化炭素処理により、血球内pHは本来の値から大きく狂ってしまう。一酸化炭素処理を行わずに、2,3-DPG,  $\text{P}_i$ の化学シフト値は血球内のデオキシヘモグロビンの

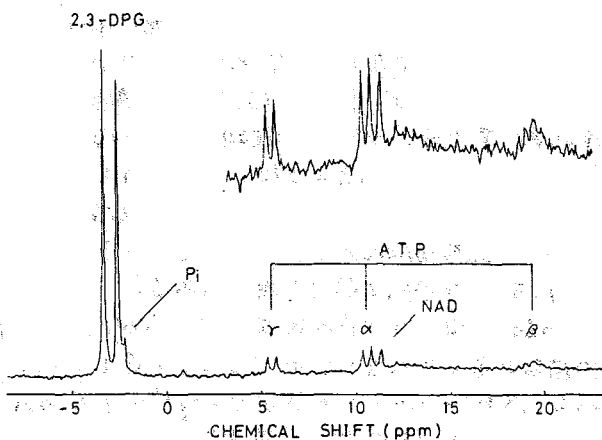


図1. ラット動脈血血球の $^{31}\text{P}$ -NMRスペクトル  
積算：3600回、パルス繰り返し時間：2秒  
ゲイン：4K点×2, FT：8K点×2

みつもり ふみゆき くぬぎ まさゆき

影響を受け、そのままでは、これらの化学シフト値を血球内 pH の測定に用いることはできない。図 2 にヘモグロビンの酸素飽和度の異なる動、静脈血球の ATP 部分の  $^{31}\text{P}$ -NMR スペクトルを示す。静脈血球では ATP 各ピークは、約 0.27 ppm の高磁場側へシフトし線幅の広がりも認められる。これは、ATP 分子とデオキシヘモグロビンの相互作用、または、デオキシヘモグロビンの High Spin  $\text{Fe}^{2+}$  の影響、おそらくは、その両者の混合によるものと考えられる。しかし、ATP の  $\gamma, \alpha$  ピークのシフト差 ( $\delta_{\gamma\alpha}$ ) はこの影響を受けない。このシフト差を用いれば、前処理を行わずに血球内 pH を知ることができると考えられる。図 3 に血球を溶血させて求めた血球内 pH と、 $\delta_{\gamma\alpha}$  の関係を示す。これから、動脈血球 (○) のみならず、静脈血球 (●) においても、また全血 ( $\Delta$ ) の状態でも、単一の pH/ $\delta_{\gamma\alpha}$  関係が得られることがわかる。この pH/ $\delta_{\gamma\alpha}$  曲線を用いれば、様々な状態の血液においても、全く intact な状態で血球内 pH を求めることができるようになった。動脈血においては、血球内 pH を知るために  $\text{P}_i$  の化学シフト値を用いることができるが、実際には、全血の場合、血球内外の  $\text{P}_i$  を十分分離して観測することは困難である。また、後で触れるように、アルカロシス血球においては、血球内の無機リンのシグナルは認められず、この様な場合に ATP の  $\gamma, \alpha$  ピークを用いる方法は、極めて有用であると考えられる。

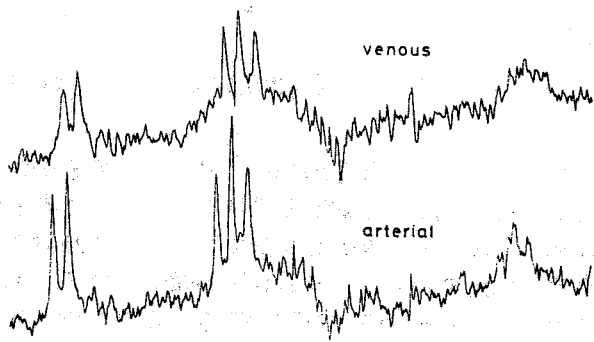


図 2. 動静脈血球の ATP 部分の  $^{31}\text{P}$ -NMR スペクトル

一方、Gupta らは、ATP の化学シフト値が、 $\text{Mg}^{2+}$  イオンの結合によって大きく変化することを示し、ATP の  $\alpha, \beta$  ピークのシフト差より  $\text{Mg}^{2+}$  イオンの ATP への結合度を求め、これより血球内のフリーの  $\text{Mg}^{2+}$  イオンの濃度を算定している。<sup>2)</sup> 本実験においても、ATP の  $\alpha$  ピークのシフト値、スピン結合定数、 $J_{\alpha\beta}$ 、 $J_{\beta\gamma}$  を併用して、 $\text{Mg}^{2+}$  イオンの ATP への結合度を測定したところ、ATP のおよそ 70% が  $\text{Mg}^{2+}$  イオンと結合した状態で存在していたことがわかった。そこで、 $[\text{MgATP}]/[\text{ATP}]_{\text{total}}$  が 0.7 になるモデル溶液を用いて、

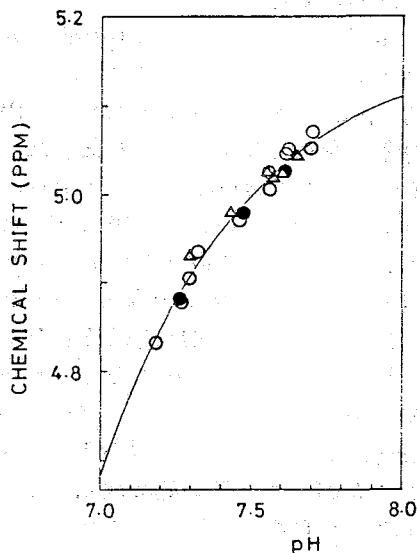


図 3. 血球内 pH と ATP の  $\gamma, \alpha$  ピークのシフト差 ( $\delta_{\gamma\alpha}$ ) の関係。○: 動脈血球, 12 例, ●: 静脈血球, 3 例,  $\Delta$ : 全血, 6 例。

ATPのpH titrationを行なったが、この場合の $\delta_{\text{ATP}}$ のpH滴定曲線は、血球内とは幾分異なり、血球内pHの算定には用いられなかった。このモデル溶液のATP( $\alpha$ )のpKaは5.9 ( $Mg^{2+}$ が存在しない場合は6.5)であるのに対し、図3の実測値より最小二乗法により求めた血球内でのATP( $\alpha$ )のpKaは約6.1であり、実際の血球との差は、この差によるものと考えられる。

(2) アルカロシス赤血球の代謝過程：赤血球は生体内で血漿に浮遊した状態で、独自の生命活動を営んでいる。しかし、そのエネルギー代謝系は酸化的リン酸化経路を欠き、図4に示すようにEmbden-Meyerhof経路、およびペントース経路のみがなっている。赤血球に特徴的なのは、1,3-diphosphoglycerate (1,3-DPG) と 3-P-glycerateの間に、2,3-DPGを生成するためのRapaport-Leubering shuntを有することである。本報の前半で、intact血球の細胞内pHを求めた方法について論じたが、ここでは、血球内pHがアルカリ側に傾いたアルカロシス血球で、特徴的な代謝中肉体的変動が見られたことを示す。アルカロシス血球の $^{31}\text{P}$ -NMRスペクトルを図5に示す。全血のpHは7.92、ATPピークから求めた血球内pHは7.7-7.8で、正常値より0.1~0.2アルカリ側に傾いている。血球は採血後、氷冷下で迅速に血漿を分離し、採血後1時間以内に測定を開始した。測定開始時を $t=0$ として経時変化を追跡した。なお図5の各スペクトルは、同一条件のラット5匹の赤血球のスペクトルの平均である。 $t=0.5$ hのスペクトルに見られるように、アルカロシス血球では、2,3-DPGの低磁場側の肩に、2本の新しいピークが観測される。また、ATPは正常濃度より減少し、ADPピークが分離して観測される。

4.5hまでのスペクトルでは、血球内の無機リンは観測されず、 $\delta = 3.78$  ppm、 $3.94$  ppmの新しい2本のピークは、化学シフト値より、フルクトース-1,6-ニリン酸(FDP)によるものと帰属した。測定開始後7.2hまでは、このFDPの増減とATPの増減が逆の相関をもっていることが認められる。FDPの増加は、ホスホフルクトキナーゼ(PFK)の活性の増大、あるいはアルドラーゼの活性阻害によるものと考えられるが、FDPの増加とともにATPが減少していること、2,3-DPGは減少しなかったから、ここでは、PFKの活性増大によるものと推論できる。この結果は、PFKが解糖系の調節を行うアロステリック酵素として知られ、その至適pHがアルカリ側に傾いている事実と一致する。すなわち、ここでは、アルカロシスによるPFKの活性増大により、血球内ATPが消費され、FDPが蓄積されたと考えられる。4.5h以降、FDPが減少し、ATPが回復してくるのは、代謝による、lactate等の蓄積で血球内pHが酸性化

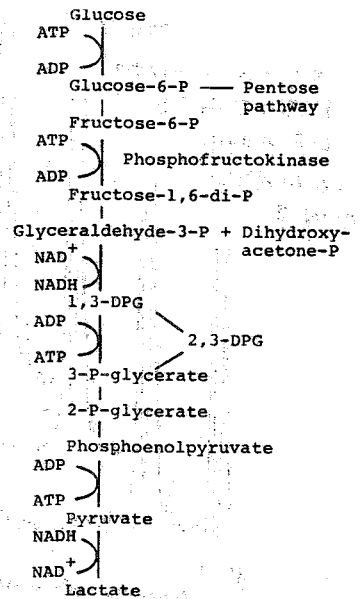


図4 赤血球内の解糖経路

し、アルカロシスが回復したという可能性がますます考えられるが、ATPピークより求めた血球内pHにはほとんど変化はみられず、この可能性は否定される。測定開始前にグルコースを加えてpre-incubationを行なっておくと、FDPの減少およびATPの回復

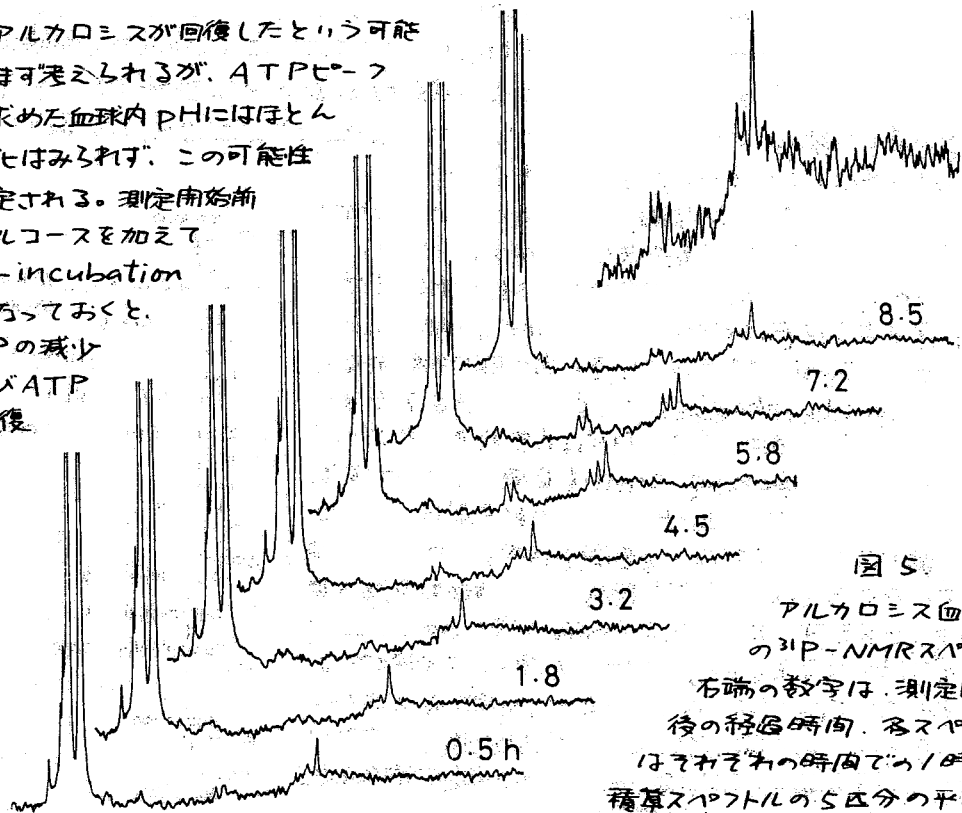


図5  
アルカロシス血球の $^{31}\text{P}$ -NMRスペクトルの右端の数字は測定開始後の経過時間、各スペクトルはそれぞれの時間での1時間積算スペクトルの5区分の平均。

開始時期が大巾におくれていることから、4.5h以降のFDPの減少は、血球内のグルコースが消費しつくされ、PFK $\beta$ のフルクトース-6-リン酸の供給がとまったためと考えられる。このため、ATPの消費も停止し、血球内ATPが回復したものであろう。しかし、このATPも8.5h以降は再び減少し、代謝経路上、FDPより下位にある2,3-DPGもほぼ同時に減少しはじめた。この、グルコースを消費しつくしたことによるFDP、ATP、2,3-DPG等の減少開始時期のずれは、代謝経路上をグルコースが代謝されて行く時間のずれを示すものと考えられ、各代謝中間体の減少速度と並んで、代謝経路の各点での代謝速度に関する知見を与えるものと期待される。

〈謝辞〉本実験の遂行にあたり、discussionをしていただき、また有益な御意見をいただいた、東京大学理学部、荒田孝治助教授に感謝致します。

#### References

- 1) R. B. Moon and J. H. Richards, *J. Biol. Chem.*, **248**, 7276 (1973)
- 2) R. K. Gupta, J. L. Benovic and Z. B. Rose, *J. Biol. Chem.*, **253**, 6165 (1978), *ibid*, **253**, 6172 (1978).

# 117 選択的 $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ NOEによるリン脂質ミセルの極性基の構造

理 研 柴田俊之, 鶴沢 洵, 杉浦嘉寿

## 緒 言

リン脂質の極性基の構造の研究は、X線回折、中性子線回折、結晶中の $^{31}\text{P}$  NMRの化学シフトの異方性の研究などによって、静的構造の研究が進んでいる。一方 Yeagleらは phosphatidylcholine (PC) Vesicle の $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$  NOEの研究によって、活発な分子運動を行っている状態での極性基の構造と運動の相関時間に関する知見を得た。生体膜中のリン脂質は生体中で、液晶状態又はゲル相から液晶相への転移領域の状態にあるといわれている。従って、静的な構造と同時に液晶状態にある分子の平均的な構造を知ることは重要である。その意味でNOEによるリン脂質の構造の研究は興味深い。

我々は、有機溶媒中でリン脂質が形成する逆ミセル(図1)の $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$  NOEの研究を行っている。逆ミセルを用いること理由・利点は (1) 逆ミセルは平衡状態の系であり、(2) ミセル中の水やイオンなどの添加物のコントロールが比較的容易である、(3) ミセルのNMRシグナルは lamellar 相や Vesicle のそれらに比べて sharp であり、

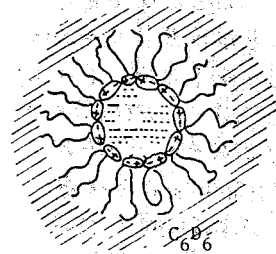
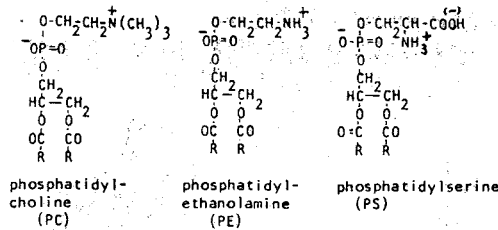


図1

測定が容易である。(4) NOEを測定するためには分子は活発な運動をしている必要があるが、ミセル中のPC分子は無水でも、 $0^\circ\text{C}$ 以上で活発な内部運動を行っている。(5) PEやPS(図1)の無水のミセルでは $\text{NH}_3^+$ 基のプロトンシグナルが低磁場側に他のシグナルとは離れて観測されるので、選択的 $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$  NOEの研究に都合が良い、などである。今回はPC, PE, PSの三つの代表的リン脂質のミセル $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$  NOEによる極性基の構造に関する研究を報告する。又、 $^{31}\text{P}$ のNOEの大きさと、内部運動、ミセルの大きさとの関係について述べる。

## 実験

egg PCは Singletonらの方法で卵黄から抽出した。dipalmitoyl-L- $\alpha$ -pc (DPPC)、dipalmitoyl-L- $\alpha$ -PE (DPPE)は Sigma社製のものをごそのまま用いた。PSは牛の脳から抽出したもので、林 浩平博士(群馬大)から提供していただいた。

$^{31}\text{P}$ ,  $^{14}\text{N}$  NMRの測定は JEOL FX-100 FT-NMR spectrometerと

しばたとしゆき・うぶわじゅん・すきうらよしひこ

multi nuclear observing system の組み合わせで行った。測定周波数は 40.3 MHz、パルス繰り返し時間 3.6 秒、flip angle 45° で行った。選択的 NOE の実験は low power 照射 unit<sup>2)</sup> を用いて行った。その照射 power の較正には pachler の方法を採用した。spin-echo 法によるミセルの拡散定数の測定は、pulse NMR spectrometer (Bruker SXP 4-60) と磁場勾配発生器 (Bruker B-KR 300 Z 18) の組み合わせで行った。

結果及び考察

(1) 極性基の構造

図 2 は DPPE ミセルの選択的  $^31P\{^1H\}$  NOE と照射 power との関係である。 $^31P$  NMR スペクトルの intensity はプロトンに対する照射 power が増加すると共に増加する。図 2 に示すように、NH<sub>2</sub> 基を照射した場合も、PO<sub>2</sub> に隣接する CH<sub>2</sub> 基を照射した場合も、照射 power が 7~8 mGauss を越えると NOE は大体一定値に近づく。照射 power が強過ぎると NOE の選択性が悪くなる。selective NOE の実験は 5~6 mGauss の照射 power で行った。

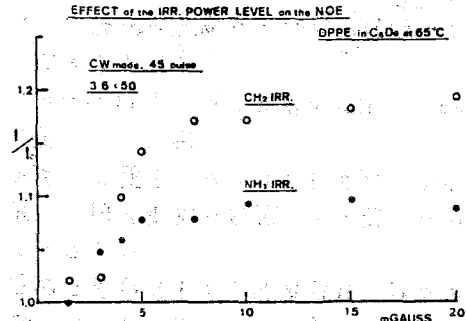


図 2. C<sub>6</sub>D<sub>6</sub> 中の DPPE ミセルの  $^31P\{^1H\}$  NOE と照射パワーとの関係。(O) CH<sub>2</sub>-OP 照射, (●) NH<sub>2</sub> 照射。

図 3 は CDCl<sub>3</sub> 中の egg PC ミセルの選択的  $^31P\{^1H\}$  NOE と照射周波数の関係である。PO<sub>2</sub> に隣接する glycerol-CH<sub>2</sub> を飽和させたとき NOE は最大である。それに加えて、N-CH<sub>3</sub> 基を照射したとき小さい enhancement が観測される。glycerol CH<sub>2</sub> 基と N-CH<sub>3</sub> 基が PO<sub>2</sub> の近くに位置していることが示唆される。

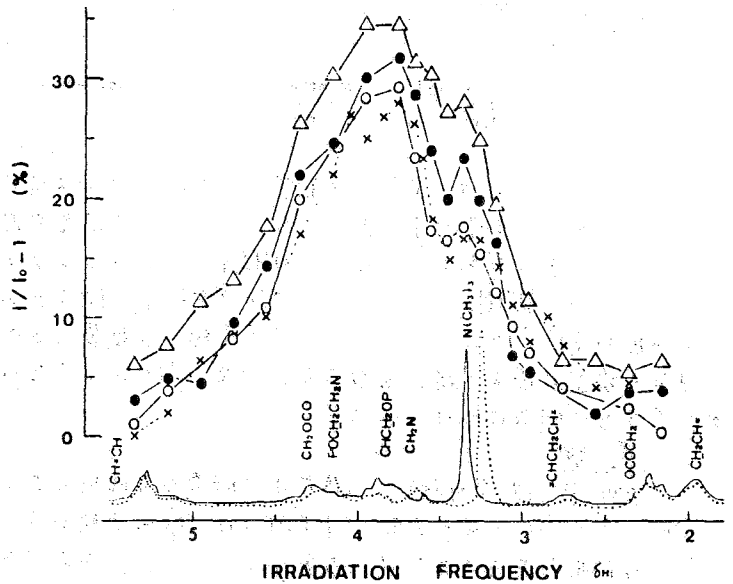


図 3. CDCl<sub>3</sub> 中の egg PC ミセルの選択的  $^31P\{^1H\}$  NOE, 無水ミセル 12°C (○), 25°C (●), 38°C (△) と D<sub>2</sub>O/PC=4:2 のミセル 25°C (×), 無水ミセル (—) と D<sub>2</sub>O を含むミセル (---) のプロトンスペクトルが示されている。

図 4 は C<sub>6</sub>D<sub>6</sub> 中の DPPC と DPPE の混合ミセルの  $^31P$  NMR スペクトルである。DPPC と DPPE の  $^31P$  化学シフト差は約 1.1 ppm ありそれぞれ独立に強度を測定できた。

図 5 は C<sub>6</sub>D<sub>6</sub> 中の DPPC と DPPE の混合ミセルの選択的  $^31P\{^1H\}$  NOE である。DPPC と DPPE それぞれ



の NOE を照射同液数に対して plot してある。最大の NOE は DPPC, DPPE 共に  $PO_2-CH_2$  を照射した時観測される。

DPPC の  $N-CH_3$  基を照射した時、DPPE も小さい NOE の peak を示している。この事から  $N-CH_3$  基による  $^{31}P$  の NOE は分子間相互作用によるものと思

われる。それに加えて、こんどは逆に低磁場側の DPPE の  $NH_3$  基を照射した時、PE, PC 共に NOE の極大を示している。 $NH_3$  基と  $PO_2$  の相互作用も同様に分子間のそれであると思われる。PC も PE もその極性基は途中で折れ曲って  $N^+(CH_3)$  基、 $NH_3$  基が隣接分子の  $PO_2$  基と次々相互作用しながら活発な分子運動を行っているのであろう。

次に PS の構造を調べるために PC と PS の混合ミセルの NOE を測定した。

egg PC と brain PS の混合ミセルの  $^{31}P$  NMR スペクトルは  $\delta_p$  が近く、broadening を起しており、お互いに重なり合っている。そこで gated decoupling による

スペクトルの高さの増加分を NOE とした。

図 6 は  $C_6D_6$  中の egg PC と brain PS の混合ミセルの選択的  $^{31}P\{^1H\}$  NOE である。PS の  $NH_3$  基の位置で NOE は  $26^\circ C$  では増加せず、 $40^\circ C$  でわずか増加している。PS の極性基の構造についての結論を得るために、さらに実験を続けている。

(2) NOE とミセルの大きさ

極性基に水を含んだ状態の逆ミセルは簡単に作れる。図 7 は noise-decoupling による  $^{31}P\{^2H\}$  NOE と water/PC mol 比との関係である。 $^{31}P$  NOE は水の増加に伴って減少している。 $^{14}N$  NMR の線幅や、 $1/\tau_1$  は水の増加に伴って減少しており、後に述べるミセルの大きさを考えて、分子は mobile になっていると結論できる。従って PC ミセルの NOE と含水量との関係は、分子の運動が活発になれば、NOE は増加するという

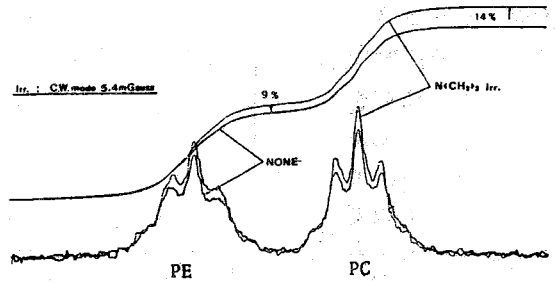


図 4.  $C_6D_6$  中の DPPC と DPPE の混合ミセルの  $^{31}P$  NMR スペクトル。  $N(CH_3)$  基を照射したときの積分強度の増加が示されている。

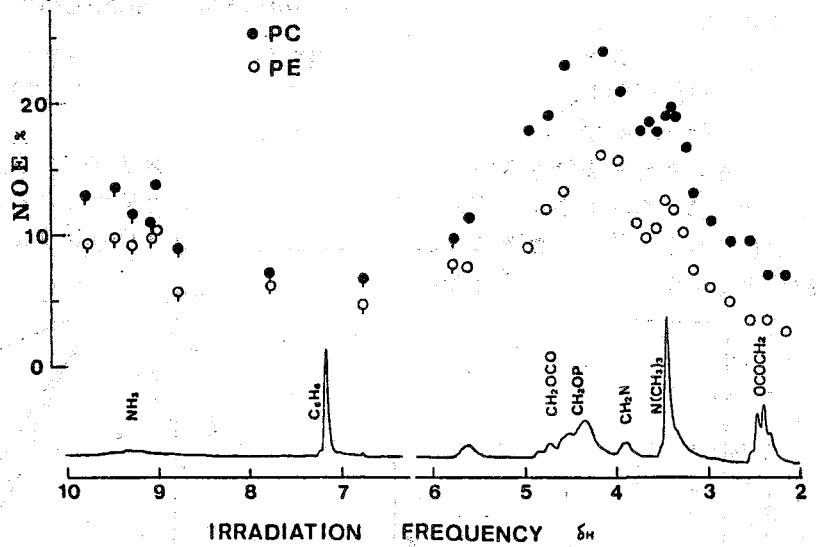


図 5.  $C_6D_6$  中の DPPC と DPPE の混合ミセルの選択的  $^{31}P\{^1H\}$  NOE。 (○) DPPE  $60^\circ C$ , (○) DPPE  $75^\circ C$  と (●) DPPC  $60^\circ C$  (●) DPPC  $75^\circ C$

NOEの一般的理論に矛盾してゐるように見える。spin-echo法でミセルの拡散定数を測定し、それから  $D = kT/6\pi\eta a$  によって、球形を仮定した時のミセルの半径  $a$  を求めた (Table 1)。球形ミセルの半径  $a$  は水の増加に伴って増加してゐる。図8は Doddrell らの理論によって計算した  ${}^3\text{P}\{\text{H}\}$  NOEと内部運動 (回転運動) の相関時間  $\tau_c$  の関

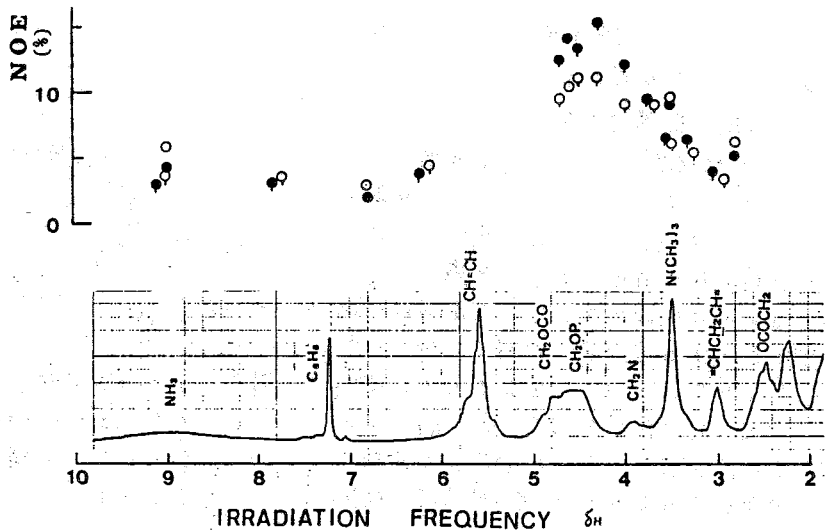


図6.  $\text{C}_6\text{D}_6$ 中のegg PCとbrain PSの混合ミセルの選択的  ${}^3\text{P}\{\text{H}\}$  NOE. (○) PS 26°C, (○) PS 40°C と (◐) PC 26°C, (●) PC 40°C.

係である。ミセル全体の isotropic rotationの相関時間は  $\tau_R$  であり色々な  $\tau_R$  の時の NOEが計算されてゐる。  $\tau_c$  が  $3 \times 10^{-10}$  秒以上の領域で NOEは  $\tau_R$  の増加に伴って減少してゐる。従つて我々は、水の増加に伴う  ${}^3\text{P}$  NOEの減少は、ミセルの大きさの増加によるものであろうと考える。

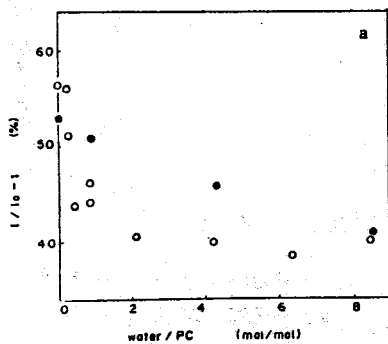


図7  $\text{CDCl}_3$ 中のegg PCミセルの  ${}^3\text{P}\{\text{H}\}$  NOE: (○)  $\text{D}_2\text{O}$ , (◐)  $\text{H}_2\text{O} > 25^\circ\text{C}$ .

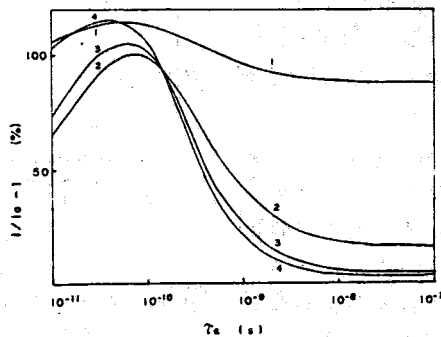


図8  ${}^3\text{P}\{\text{H}\}$  NOEと内部運動の相関時間  $\tau_c$  との関係。 (1)  $\tau_R = 1 \times 10^{-9}$  s, (2)  $4 \times 10^{-9}$  s, (3)  $1 \times 10^{-8}$  s, (4)  $4 \times 10^{-8}$  s.

Table 1

$\text{D}_2\text{O}/\text{PC}$ (molar ratio)	$D$ ( $\text{cm}^2/\text{s}$ )	$a$ (Å)
0	$1.9 \times 10^{-6}$	19
0.2	$1.7 \times 10^{-6}$	21
2.0	$1.1 \times 10^{-6}$	32
8.2	$0.9 \times 10^{-6}$	39

References

- P.L. Yeagle et al., Proc. Nat. Acad. Sci. **72** 3477 (1975); Biochemistry **15** 2121 (1976); Biochemistry **16** 4344 (1977)
- J. Uzawa and S. Takeuchi, Org. Mag. Res. **11** 502 (1978)
- D. Doddrell et al., J. Chem. Phys. **56** 3683 (1972)

2Hおよび<sup>31</sup>P NMRによるサホニン-コレステロールコンプレックス生成および脂質配向への影響の検出

(国立がんセンター研・東大薬) 齊藤 肇, 橋本昌司, 我山敏行\*, 高木重和\*, 三川 翔\*

1. はじめに

生体膜に作用し損傷と与える種々の薬物がある。ホリエン抗生物質、サホニン、種々の毒素などがこのカテゴリーに入る。特に、前二者は生体膜中のステロールと特異的にコンプレックスを生成することにより、生体膜に損傷と与えらるゝと考ゑられている。しかし極めてバラエティーに富むサホニンについては、lytic activity にステロールがどのように関与しているか、必ずしも明らかでない。著者らはすでに、[26, 26, 26, 27, 27, 27-<sup>31</sup>P]コレステロール (chol-d<sub>6</sub>)を用い、ジギトニンおよびそのアナログとの生体膜中での相互作用と、<sup>31</sup>P核四重複分裂の変化から調べた。特に、ジギトニンとコレステロールコンプレックスは、核四重複分裂の値が1ヶヶ増大する rigid complex である。しかし、ジギトニン/コレステロール比が0.5以下の場合、予想に反してコントロールに比べて大巾に核四重複分裂の減少を認めている。さらに、ホリエン抗生物質の場合、ビマリシンを除くと、モル比が1:1の場合でも、コレステロールとの相互作用によって chol-d<sub>6</sub>の核四重複分裂がコントロールに比べて減少する。<sup>2)</sup>

本報告では、サホニンの lytic activity とコンプレックス生成に関するより詳細なデータを得るために、(1)ジギトニン以外のサホニンとコレステロールコンプレックス生成、(2)コンプレックス生成と脂質の相転移との関係、(3)コンプレックス生成による脂質の配向状態への影響、等について<sup>31</sup>P NMRを用いて検出する。

2. 研究方法

Egg PC は卵黄より抽出、DPPC はシカマより抽出した。<sup>31</sup>P標識コレステロールは、上記の chol-d<sub>6</sub>の代りに [3-<sup>31</sup>H]コレステロール (chol-d<sub>1</sub>) を用いた。化学合成により得た。<sup>31</sup>P NMRの測定は日本電子 PFT-100 (15 MHz) あるいは Bruker CXP-300 (46 MHz) に行った。後者の測定は観測巾 125 kHz, 90°x-τ-90°のパルスシーケンスを行った。

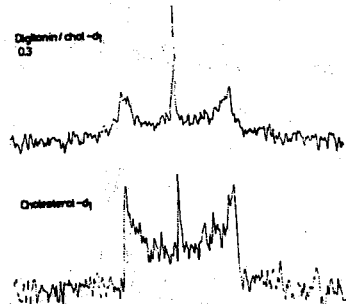


図1 chol-d<sub>1</sub>の<sup>31</sup>P NMRのジギトニンによる影響 (46 MHz): Egg PC

3. 実験結果と考察

A. <sup>31</sup>P NMRによるサホニン-コレステロールコンプレックスの生成および動的構造

図2に3位を<sup>31</sup>Pで標識したコレステロール (chol-d<sub>1</sub>) による Egg PC 系重層の<sup>31</sup>P NMRスペクトルを示す。26, 27-位 (末端メチル) <sup>31</sup>P標識の chol-d<sub>6</sub>の場合、ジギトニンとコレステロールに対して0.3添加すると、<sup>31</sup>

さいとう・はじめ, いかり・しづじ, あさひま・としゆき, たかぎ・しづ子, さしかわ・うしお

核四重極分裂の値は40%減少する。これに反して、chol-d<sub>6</sub>の場合全く変化がない。3-位はステロール骨格にありしかも脂質のバックギン状態の最も高いコリン頭部近くに位置している。それゆえ、例之 "aggregate" state であっても、ジギトニンの存在によって、3位でみられる限りのステロールの配向状態に乱れは生じないであろう。

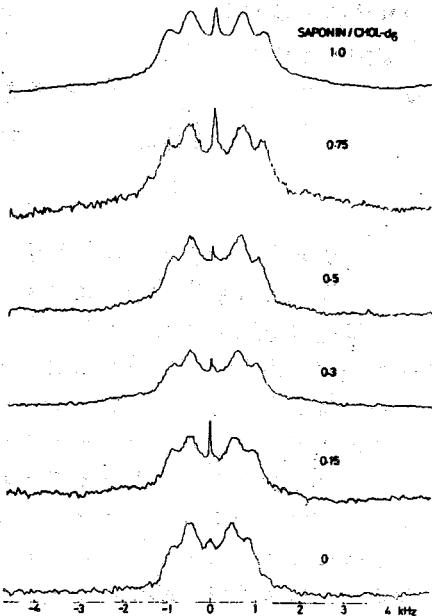


図2. 4Eサポニンとコレステロールの相互作用による<sup>2</sup>H NMRの变化(Egg PC)

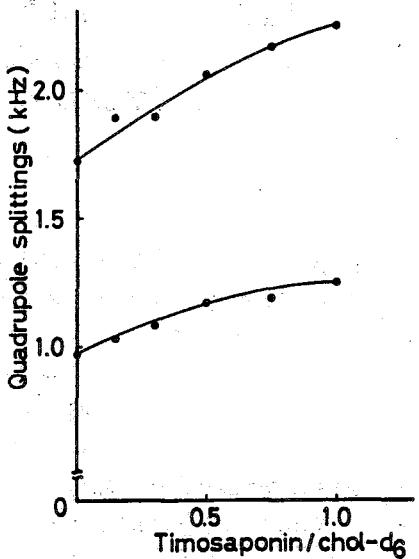


図3. Egg PC 多層膜中の chol-d<sub>6</sub> の4核四重極分裂と4Eサポニン濃度の関係 (16% chol-d<sub>6</sub>)

Chol-d<sub>6</sub> を70

パーセントにして、10種類以上のサポニンについて Egg PC 多層膜中でのコレステロールとの相互作用を調べてみると、図2、図3に示す4Eサポニンと除きいられるサポニン/Chol-d<sub>6</sub> 0.3 で核四重極分裂が減少するのがみられた。4Eサポニンは赤血球膜に対する溶血指数はジギトニンに比べて大きいが、核四重極分裂の変化は小さい。このことは、コレステロールとのコンプレックス生成が重要である、必ずしもコンプレックスの rigidity はそれほど重要でないといえよう。

Digitonin/Chol-d<sub>6</sub> = 0.3

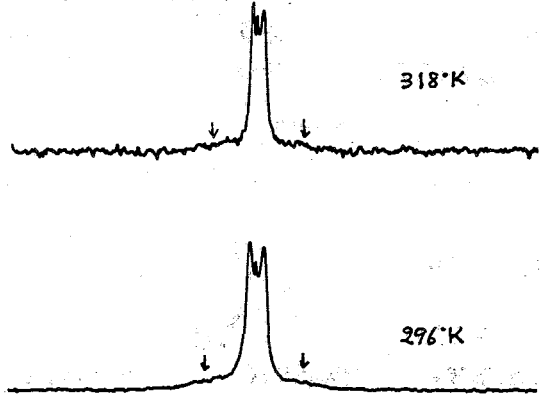


図4. DPPC 多層膜中の 16% Chol-d<sub>6</sub> の<sup>2</sup>H NMR (digitonin/Chol-d<sub>6</sub> = 0.3).

サポニン-コレステロールコンプレックスの生成には、脂質の性質も重要な要素となることを考えられる。図4に、ゲル→液晶相転移温度が41°CのDPPCを用いて、ゲル(下段)液晶(上段)両相での、ジギトニン-コレステロールの相互作用の状態を示す。Egg PC について調べた前回の報告では、ジギトニン/コレステロール=0.3の条件で矢印に示すブロードコンポーネントが観測される、中央のせまい分裂のみであった。ブロードコンポーネントの半幅は約16 kHzあり、図5の Chol-d<sub>6</sub>

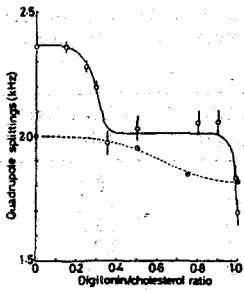


図5. SA-d<sub>2</sub>プロ-アの4H  
核四重複分裂の変化。  
(--- No cholesterol)

の値に近い。したがって、このプロ-トピークはジグトニンとコレステロールの rigid complex にもとづくことがわかる。ゲル相では、フリーとコンプレックス状態の交換は NMR の時間尺度にくらべておそい ( $10^4$  s<sup>-1</sup>)。液晶相では、このプロ-トコンポーネントの割合が減少すると同時に、Egg PC の場合にみられたように、中央の分裂四重複分裂の値がコントロールにくらべて著しく減少するようになる。

ジグトニンとコレステロールのコンプレックスが生成すると、脂質の配向状態にどのような影響を及ぼすかを、[1,3,18-<sup>31</sup>P]ステアリン酸 (SA-d<sub>2</sub>) を用いて調べたのが図5である。ジグトニン/コレステロールモル = 0.3 にあると、脂質二重層内にはコレステロールが存在しなくてはならない。いかにいへば、すべてのコレステロールはジグトニンと何らかの相互作用(必ずしもすべてがコンプレックスを形成しているとはしない)をもうよびにせよ。しかし、脂質の大きさをいへば 1:1 コンプレックスを形成していることは、図5の Digitonin/chol = 1.0 における大きさ変化から明らかである。

### B. <sup>31</sup>P NMR に よる 脂質 配向 の 検出

ラメラ多層の<sup>31</sup>P NMR スペクトルは、<sup>31</sup>P NMR の場合と同様 "粉束" パターンを与える。<sup>31</sup>P NMR スペクトルにおいて、核四重複分裂の大きさが分子の配向度に関連する関数であるが、<sup>31</sup>P NMR スペクトルの場合は化学シフトの異方性がよにみられる。<sup>31</sup>P 粉束 NMR スペクトルは、例之は図6のようなテント形にみられ、<sup>31</sup>P 化学シフト異方性  $\sigma_a = \sigma_{||} - \sigma_{\perp}$  を求めるのに、コンピュータ-シミュレーションを行う。理論式はローレンツ曲線として

$$g(\omega) = \int_0^{\pi/2} \frac{\sin \theta d\theta}{\left(\frac{\omega}{\gamma} \right)^2 + \left\{ \omega - \frac{\sigma_a}{2} (3 \cos^2 \theta - 1) \right\}^2} \quad (1)$$

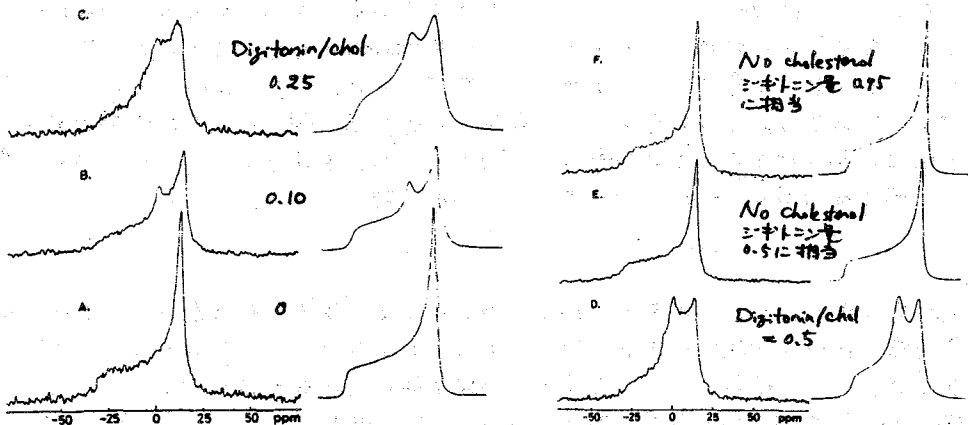


図6. Egg PC 多層の<sup>31</sup>P NMR スペクトル。ジグトニン/コレステロールコンプレックス生成による変化。各ピークの右側は計算スペクトル。

Table I. Changes of chemical shift anisotropy and linewidths by saponins complexed with cholesterol

	Chemical shift anisotropy $\sigma_a$ (ppm)	Linewidth (Hz)
Control	47	63
Digitonin/chol 0.1	45.8	143
0.25	43.4	250
0.5	42.7	170
1.0	36.2	100
Desglucodigitonin/chol 1.0	45.8	200
Glucosylgalactosyl-digitogenin/chol 1.0	45.8	77
No cholesterol		
digitonin as in 0.5 *	47	71
0.75	47	71
1.0	44.8	91

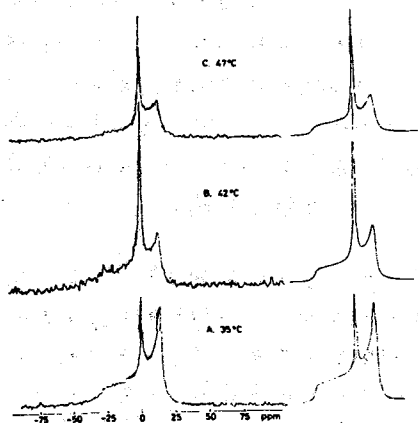


図7 コレステロールと小くまな Egg PC 多重層に Dig/chol = 1.0 相当分のジギトニンが存在する比色  $^31\text{P}$  NMR スペクトル

せるにつれて、 $\sigma_a$  値が減少すると同時に線幅が増加する(図6 E, F),  $\sigma_a$  値が線幅に反比例する。系内にコレステロールが存在しない場合(図6 E, F),  $\sigma_a$  値が線幅に反比例する。また、末端糖鎖を一部除去したデスグルコジギトニンや、グルコシルガラクトシルジギトニンとコレステロールを含む Egg PC 多重層に加えた場合、 $\sigma_a$  値が線幅の反比例はやはり小さい。このことは、脂質多重層内にサポニン-コレステロールの rigid complex が形成された場合、多重層の表面に突出した bulky な糖鎖のため、コリン頭部のリン酸部位の配向状態が乱れることを意味している。末端糖鎖を一部除去した上記のジギトニンアプログはコンプレックス生成能は低下すると同時に、末端糖鎖による立体障害はむしろ存在しないので、 $\sigma_a$  の変化は極めて小さくなる。また、図6の 0 ppm にみられるピークは、多重層の一部がミセルあるいは small vesicle に変化したもので、等方的シグナルである。このような等方的なシグナルが出現するのは、サポニンによる lysis の結果と考えてよいであろう。コレステロールと含有しない系でも、1.0 mol% (1:1 相当) ジギトニンを小さく含む場合は図7に示すように多数の等方的シグナルが出現する。この時は  $\sigma_a$  が減少しており、図5の SA-d3 プロブにおける結果と一致している。

#### 4. 結論

脂質多重層でサポニン-コレステロールコンプレックスの生成がサポニン-コレステロールの複合生成能の変化から検出できる。特に、1:1 コンプレックス生成時には、脂質アシルのみならず、コリン頭部にも関与した脂質配向の乱れが生じる。

(1) Akiyama, T., Takagi, S., Sankawa, U., Inari, S., and Saitô, H. (1980) *Biochemistry*, 19, 1904.

(2) 斎藤, 雅尚, 秋山, 高木, 三川, 中伊豆 NMR 討論会講演要録集 p. 153 (1979)

119 (1→3)-β-D-グルカンのコンホメーションおよびゲル化誘導-<sup>13</sup>C CPMAS NMR

(国立がんセンター研・生物物理) 齊藤 肇

1. はじめに

高分子量の(1→3)-β-D-グルカンは一般に水に不溶で、加熱によりゲルを生ずる。一方、低分子量の(1→3)-β-D-グルカンであるラミトランゲル、上記のゲル生ずるグルカンの酸加水分解によって低分子量のグルカンに分解したものは、ゲル生ずる能がみられない。筆者らは高分解能<sup>13</sup>C NMRを用いて、ゲルおよび溶液の上記グルカンの<sup>13</sup>C NMR化学シフト値を比較し、前者の場合後者にくらべてC-1, C-3ピークに著しい差異があることを見出した。ゲル状態において、特異的にC-1, C-3ピーク位置の変化がみられるのは、分子鎖がヘリックス状態に“freeze”しC-1-O, C-3-Oの分子内回転が凍結されるためであると考えた。<sup>1,2)</sup>

このような推定が正しいかどうかのチェックは、固体状態のコンホメーションがX線回折によって確認されている試料について、固体の<sup>13</sup>C NMRと比較するのが最もよい。高分子量の直鎖(1→3)-β-D-グルカンであるカードランの室温状態でのX線回折(ファイバー)は、一重ヘリックスがドミナントで一部三重ヘリックスが存在することが示されている。また分岐(1→3)-β-D-グルカンであるレンチナンについてもX線回折のデータが提出されている。これらのグルカンを中心に、<sup>13</sup>C cross-polarization magic-angle spinning (CPMAS) スペクトルを測定し、ゲルおよび溶液データと比較した。なお、ゲル化温度付近での<sup>13</sup>C NMRスペクトルをもとに、ゲル化にともなうコンホメーション変化の有無についても論じた。

2. 実験方法

<sup>13</sup>C CPMAS NMRスペクトルの測定は、Bruker CXP-300 スペクトロメーターを用い、75.46 MHzで行った。データの大部分は日本電子FX-60Q(コロラド州立大)に与った。スピニング速度は約3.5 kHz, contact time 1秒, リサイクル時間2秒である。(1→3)-β-D-グルカンは、カードラン, レンチナン, ラミトラン, カードラン低重合体 DP<sub>n</sub>20 及び DP<sub>n</sub>125 を用いた。最後のものは除きすべて粉末である。

ゲル化温度での<sup>13</sup>C NMR測定は、カードラン(DP<sub>n</sub>540)の氷けんたく液を日本電子PFT 100 スペクトロメーター中で、通常の高分解能スペクトル条件で行った。

3. 実験結果と考察

A. 固体<sup>13</sup>C CPMAS NMR スペクトル

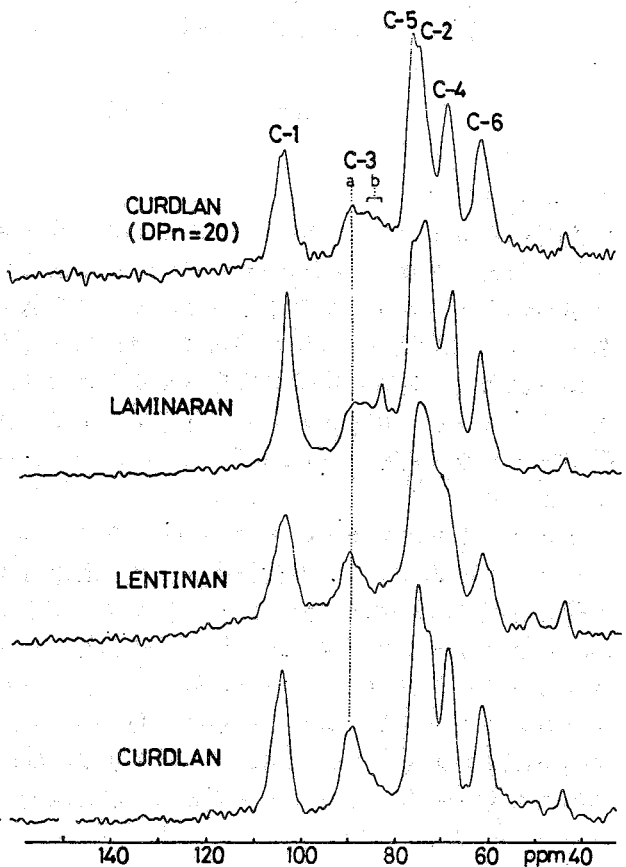
図1は粉末状態の(1→3)-β-D-グルカンの<sup>13</sup>C CPMAS NMRスペクトルである。最下段に与えたカードランについては、図2に15.03 MHzのCPMAS スペクトルを示す。スペクトルの分岐状態を比較すると、15.03 MHzではC-2, C-5 ピークの分離がよく

さいとう・はじめ

100 ppm に対して、75.46 MHzではシヨル  
 ダーとして区別できるだけである。100  
 ppm 以上は、(1→3)β-D-グルカン  
 の粉末試料では、測定周波数が6倍に  
 なっても、ピークの分離度がそれほど  
 向上していない。このことは、無配向  
 試料である粉末状態では、わずかに化  
 学シフトが異なる種々のピークが重なり、  
 線幅が化学シフトの dispersion に  
 よって決定されていると考えられる。  
 実際、カートラン試料について、図1、  
 図2の線幅を比較した。表1にまとめ  
 るように、ppm 単位で表示をした線  
 幅は両者でほぼ等しく、上記の考えが  
 正しいことを示している。

Table I. Comparison of linewidths between 75.46 and 15.03 MHz spectra

	75.46 MHz	15.03 MHz
C-1	4 ppm	4.5 ppm
C-3	7	6.5



さて、ゲル生成能をもつカートラン、  
 レンチナンの<sup>13</sup>C CP-MAS NMRスペクトルは、  
 後者に\*印を付けたピークの存在のため、  
 C-2, C-4ピークの分離が小さく、こ  
 れをほぼ、ほぼ等しい。すでに報告した  
 ように、溶液状態のスペクトルから、  
 分岐構造(C-6から)をもつレンチナン  
 には、分岐点にあるC-6(ここではC-6'  
 とする)からC-2, C-4ピークと同様に  
 入ってくるのである。これに対して、  
 ラミナン、カートラン(DPn=20)のC-3  
 ピークをみると、bで表示したような  
 二重ピークの存在が観察できる。さら  
 にDPn=125の試料についても、bピ

図1 粉末(1→3)-β-D-グルカンの<sup>13</sup>C CP-MAS NMRスペクトル (75.46 MHz)

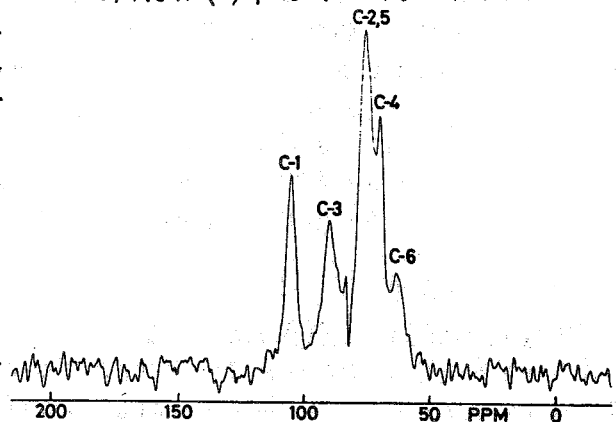


図2 カートランの<sup>13</sup>C CP-MAS NMR (15.03 MHz)



Table II. Comparison of  $^{13}\text{C}$  chemical shifts of (1 $\rightarrow$ 3)- $\beta$ -D-glucans among solid, gel and solution states

	Solid (Gel-forming)		Solid (no gel)		Gel state (Curdlan)	Solution state (pH=7, DPN=13)
	Curdlan	Lentinan	Curdlan (DPn=20)	Laminaran		
C-1	104.7 (105.1)*	104.3	104.8	103.4	106.5	103.7
C-2	73.9 (74.8)	c	74.7	73.6	74.2	74.5
C-3 a	89.5 (90.1)	90.3	89.7	88.8	88.7	85.3
b	- (-)	-	86.4	83.0	-	-
C-4	69.5 (70.6)	69.5	69.0	68.0	70.2	69.3
C-5	76.2 (76.6)	76.0	76.1	76.5	76.8	76.8
C-6	62.2 (62.1)	62.2	62.2	62.2	61.8	61.9

\* 15.03 MHz c: shoulder

ーグの強度はラミナラン、DPn=20のカードランと変わらない。したがって、ゲル生成能のある高分子量の(1 $\rightarrow$ 3)- $\beta$ -D-グルカンと、ゲル生成能をもたない低分子量グルカンの大きな差異は、C-3のaピークでbピークの有無にあるといえる。DM50やアルカリ水溶液中でのラミナランやカードラン部分分解物の $^{13}\text{C}$ NMRスペクトルは高分子量のカードランと全く同パターンを与えるところから、ピークbの存在は固体中で異なるコンホメーションと分子鎖が存在することを示唆する。

表2にまとめると、カードランのゲル系及び水溶液(DPN=13)のシフトと比較して、C-3のaピークはゲル状態の、C-3のbピークは水溶液のそれに近い。それゆえ、X線回折から行われる一重ヘリックスコンホメーションは、ゲル状態の高分解能 $^{13}\text{C}$ NMRスペクトルから行われるピークbの存在も保持されていることが明らかである。一方、ランダムコイルと水溶液に存在するピークbは、固体状態のラミナランやカードランの低重合体のC-3のbピークと近いことから、低分子量のグルカンのコンホメーションはヘリックス状態からずれたC-3-0回転角をもつコンホメーションから存在する可能性を示している。

### B. カードランのゲル化挙動

カードランのゲル化にともなうコンホメーション変化の有無を知る目的で、水懸濁液の $^{13}\text{C}$ NMRスペクトルと種々の温度で比較した(図3)。図3の積算回数は、A, Dで、B, Cの約2倍の差量があることに注意を要する。ピーク強度の変化は、ゲル化がはじまる50 $^{\circ}\text{C}$ 付近で急激に増大し、さらに加熱を続けると64 $^{\circ}\text{C}$ 、77 $^{\circ}\text{C}$ と逆に減少してゆく。C-3およびC-6のピーク強度の変化を、アルカリ溶液におけるピーク強度(ここではほぼやぶ糖が存在しなくする200%のピーク強度が観測される)に対する割合に換算して、

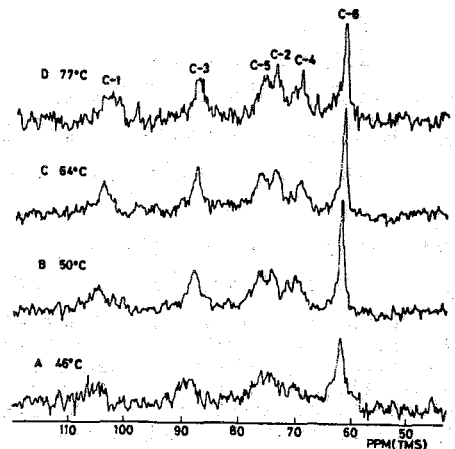


図3. カードラン水懸濁液の $^{13}\text{C}$ NMRスペクトルの温度変化

温度に對してフットしたのが図4(A)である。明らかにゲル化と膨潤が急激に進むことと示してあり、合理的な結果である。さらに加温を続けると予想に反し、ピーク強度が逆に減少するのは、一重ヘリックス鎖が aggregate を作りためである。このために、mobile な分子鎖の割合が減少するのでピーク強度が小さくなるのである。巨視的には、ゲルの白濁あるいは shrinkage といふかわり、電子顕微鏡ではマイクロフィブリルの生成に相当すると考えられる。

図4(B)に示す C-3 ピークの温度変化は、ゲル化にともなう急激に高磁場側に 1 ppm にずれる。上でのべた結論に従って、C-3 ピークのシフトは、ヘリックス構造の平衡 C-3-O 角からのゆらぎによるものである。ゆえに、50°C 付近でヘリックスのゆらぎが起これば、この時に diluent とある水が入り込み、急膨潤させるのがゲル化である。それゆえ、ゲル化温度でヘリックスコイル転移が起これば、冷却過程でヘリックスの重合による架橋があるからゲナンゼアカーヌのゲル化とは本質的に異なることがわかる。

前節のべたように、(1→3)-β-D-グルカンの固体状態でのコンホメーションは、分子鎖長によって著しく異なる。高分子量のグルカンのゲル生成能は、分子重合による架橋密度の増加と著るる従来の結論の他に、コンホメーションの差異が重要な因子と見做すことが出来る。

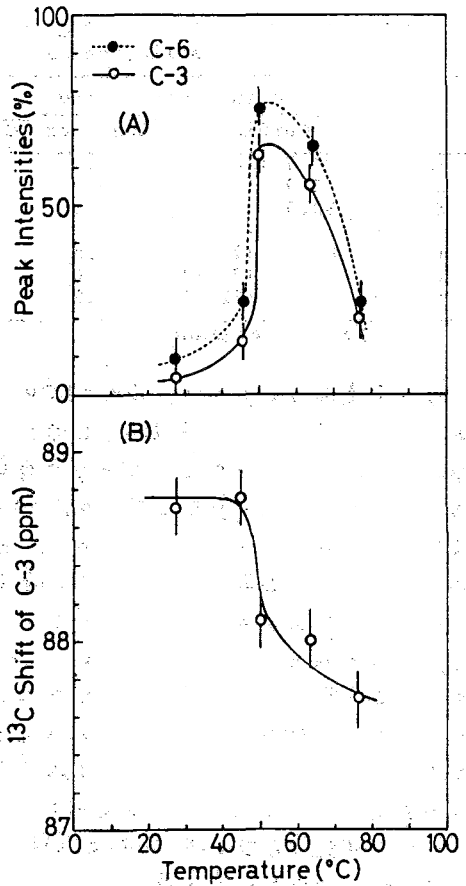


図4 カートラン水懸濁液の C-6 ピーク強度変化 (A) と C-3 <sup>13</sup>C シフトの変化 (B)。

(謝辞) 15.03 MHz <sup>13</sup>C CP MAS の測定はコロラド州立大 Prof. Gary Maciel, Dr. Victor Bartuska にて行われた。ここに記して謝意を表したい。

- (1) Saitō, H., Ohki, T., and Sasaki, T. (1977) *Biochemistry*, **16**, 908.
- (2) Saitō, H., Miyata, E., and Sasaki, T. (1978) *Macromolecules*, **11**, 1244.
- (3) Saitō, H., Ohki, T., Yoshioka, Y., and Fukuoka, F. (1976) *FEBS Lett.*, **68**, 15.
- (4) Saitō, H., Ohki, T., Takasuka, N., and Sasaki, T. (1977) *Carbohydr. Res.*, **58**, 293.
- (5) Saitō, H., Ohki, T., and Sasaki, T. *Carbohydr. Res.*, **74**, 227.
- (6) Smith, I. C. P., and Saitō, H. (1980) *Pure Appl. Chem.* in press.
- (7) Saitō, H. *Kagaku no Ryoiki*, **33**, 609.
- (8) Saitō, H. in "Solution Properties of Polysaccharides", ACS Symp. Ser. in press.
- (9) Harada, T., Koreeda, A. Sato, S., and Kasai, N. (1979) *J. Electron Microscope*, **28**, 147.

(京府医大)・吉崎和男, 瀬尾芳輝, 西川弘泰

〔序〕

パルス・フーリエ変換NMRの非破壊的測定法の特徴を話し、生体組織や細胞内の化合物の測定から、代謝などの研究が精力的に行われている。今回、このパルス・FT-NMRにパルス磁場勾配法を採用することにより、生体組織中の化合物の拡散係数の測定が可能となったので報告する。

〔方法〕

試料は主に食用ガエルの大腿二頭筋を用いた。装置はJEOL PFT-100 NMR ( $^1\text{H}$ : 99.54 MHz,  $^{31}\text{P}$ : 40.29 MHz)である。

磁場勾配はprobeの modulation coilの極性を逆転させ、静磁場( $H_0$ )と同一方向に約40 gauss/cm を発生させた(Fig.1)。パルス磁場勾配を発生させる回路は日本電子・木田ら<sup>1)</sup>の報告したものをを用いた。磁場勾配強度は水の拡散係数から求めた。

〔結果および考察〕

1. NMRでの拡散係数の測定原理<sup>2)</sup>

高分解能NMRの共鳴線の線幅は横緩和時間 $T_2$ を示す。この $T_2$ を精度良く測定するにはHahnのスピン・エコー法が用いられる。この方法では、共鳴線の半値幅でなくその高さの減少度から求まる。この $T_2$ には真の $T_2$ 以外に拡散に依存する項がある。通常の $T_2$ の測定時にはこの項の影響を小さくするために、磁場の均一度を良くするとともに、Carr-PurcellやMeiboom-Gillの multi-pulse が用いられる。しかし逆に、磁場勾配をわざと加えて、エコーの減少度から拡散係数が求まることになる。この方法を用いた水分子などの拡散係数の測定について本討論会をはじめ多くの報告がある<sup>3)</sup>。

ところで拡散係数の測定に際し定常的な磁場勾配をかける方法とパルス状に磁場勾配をかける方法とがある。単一成分系の場合、前者の方法でよいが、多成分系の場合には高分解能スペクトルを得る必要がある。すなわち磁場勾配を短時間だけかけ、スペクトルの測定時にはもとの均一な磁場となるので高分解能スペクトルが測定できる。この方法により始めて高分解能スペクトルでの拡散係数の測定が可能となる。

よしざき かずお, せお よしてる, にしかわ ひろやあ

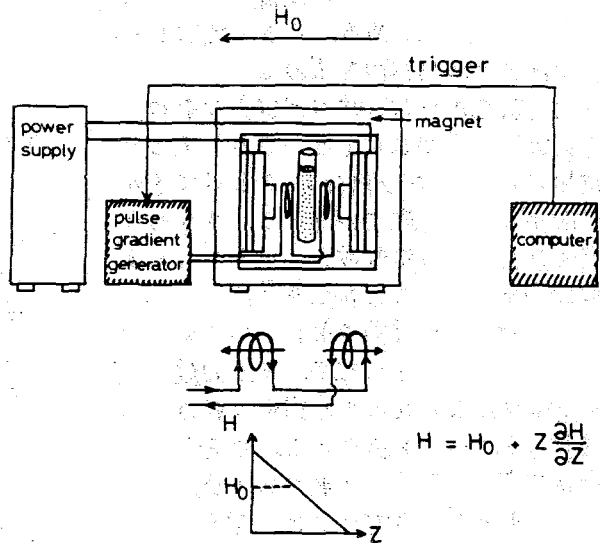


Fig. 1 パルス磁場勾配法の模式図

## 2. 筋肉中の水の拡散係数の測定

Fig. 2に示す如く、拡散係数の測定は、Hahnのスピン・エコー法である $\pi/2 - \tau - \pi$ パルス系列に磁場勾配パルス(G)を加えた $\pi/2 - G - \tau - G - \pi$ パルス系列を用いた。このパルス系列により生じるエコーの振幅あるいはそのフーリエ変換後のスペクトル共鳴線の高さを求めた $M(G)$ 。ここで $\Delta$ は2つのGパルスの間隔で、 $S$ はGパルスの持続時間である。 $\Delta$ を一定にして種々の $S$ での $M(G)$ を求める。

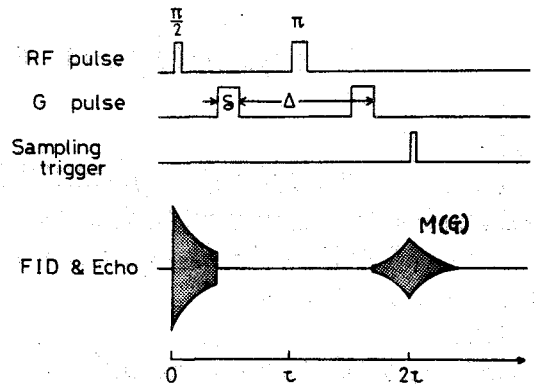
Gパルスをかけない時の $M(0)$ を求め、右図の如く横軸に $S^2(\Delta - S/3)$ をとリ縦軸に $\ln \{M(G)/M(0)\}$ をとればその勾配から拡散係数 $D$ が定まる。すなわち得られた直線の勾配の大きいものほど拡散係数が大きいことを示す。

実際にカエル筋肉の水についての測定した結果をFig. 3に示す。その勾配から、水溶液中の水に比して筋肉中の水の拡散係数の小さいことがわかる。なお筋肉には細胞内と細胞外との水があるが、細胞外液の水の量の少ないこと、ならびに外液に $Mn^{2+}$ を加え、緩和時間を短かくして外液のエコーへの寄与をなくしても同様な結果が得られたので、細胞内液の拡散係数を示している。この細胞内の水の拡散係数が小さいのは、筋細胞が不均一系のため、水分子の拡散のbarrierによると考えられる。

したがって、 $\Delta$ 時間を短くすればbarrierとの衝突が少なくなり、原理的には $\Delta \rightarrow 0$ のときに物理化学的な真の拡散係数が求まる。

しかし、細胞内での拡散による物質の動きに対しては、このみかけの拡散係数が実際の物質の動きを反映していると考えられる。

しかし、細胞内での拡散による物質の動きに対しては、このみかけの拡散係数が実際の物質の動きを反映していると考えられる。



$$\ln \{M(G)/M(0)\} = -\gamma^2 G^2 D \cdot S^2 (\Delta - S/3)$$

(Here,  $G \equiv \frac{\partial H}{\partial z}$ )

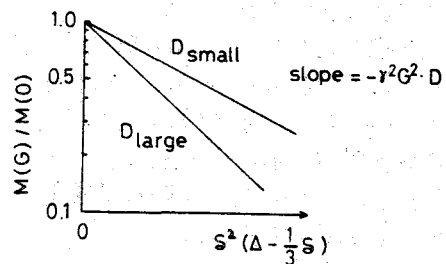


Fig. 2 拡散係数の測定方法

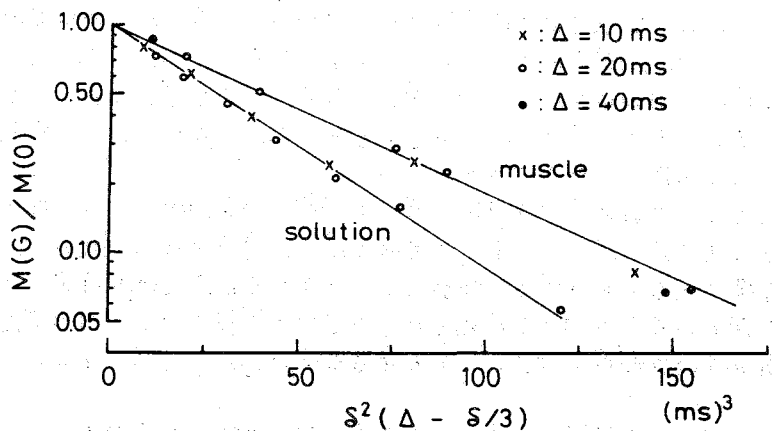


Fig. 3 カエル筋肉および水溶液中の水の拡散係数の測定

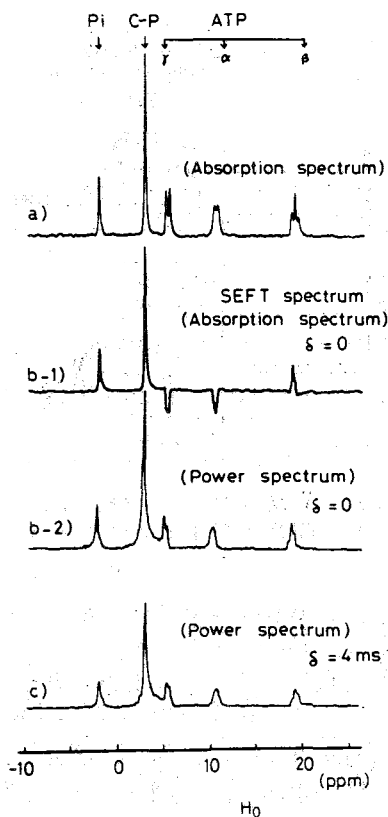


Fig. 4 燐化合物のモデル溶液のスペクトル

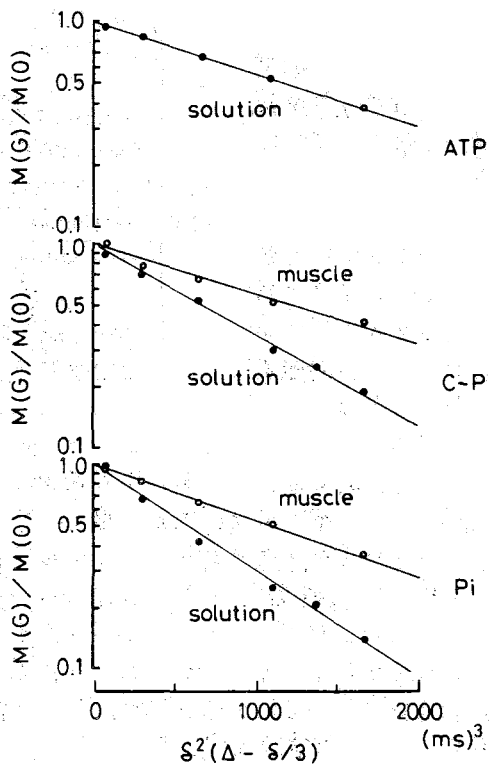


Fig. 5 筋肉およびモデル溶液中の燐化合物の拡散係数の測定

### 3. 筋肉中の燐化合物の拡散係数の測定

水分子の拡散係数の測定と同様に<sup>31</sup>P-NMRを用いれば、燐化合物の拡散係数が求まる。Fig. 4に燐化合物のモデル溶液について測定した結果の一部を示す。Fig. 4a)は通常のスペクトルであり、ATP、クレアチン燐酸(C-P)、および無機燐酸(Pi)の共鳴線である。次にHahnのスピン・エコー法で得たエコーのフーリエ変換後のスペクトルをb)に示す。Fig. 4c)は4msの9パルスの持続時間(δ)を与えた場合のパワースペクトルである。各共鳴線の高さに対し、Fig. 4b-2)のパルスを加えていない時との比を求めてFig. 5にplotした。

同様にカエル筋肉についてもその燐のスペクトルを求めうる。しかしこの場合、通常NMR試料管の中では嫌気的条件となり、生理的な燐化合物の増減をきたす。したがって常に対照となるM(0)を与えるスペクトル、すなわち磁場勾配を加えないスペクトルを経時的に測定するとともに、磁場勾配を加えたスペクトルを交互に測定し、常に、その時の対照となるスペクトルとを比較し、各共鳴線の高さの比率を求めた。その結果をFig. 5に示した。

Fig. 5 から明らかな様に、クレアチン磷酸 (C~P) 無機磷酸 (Pi) と水溶液中に比して筋肉中の方が拡散が遅い。なお ATP についても図示していないが同様に水溶液中よりも拡散が遅いことが明らかとなった。

筋細胞内の ATP は筋収縮のエネルギー源であり、この ATP は筋細胞内のミトコンドリアなどで産生される。したがって筋収縮などで消費された ATP はエネルギー産生部位からエネルギー消費の部位へ輸送される必要がある。ところでクレアチン磷酸 (C~P) はエネルギー貯蔵庫として働き、消費された ATP が直ちにこのクレアチン磷酸によっておきなわれることが知られている。ところがこの反応をつかさどる酵素であるクレアチン・キナーゼがミトコンドリアや筋原繊維の部位に存在することが報告されている。したがって、クレアチン磷酸は単なるエネルギー貯蔵庫としてだけでなく、積極的なエネルギー輸送に役立っている可能性がある。本研究から ATP およびクレアチン磷酸の拡散速度を求め、このエネルギー輸送に対するクレアチン磷酸の役割について検討する予定である (Fig. 6)。

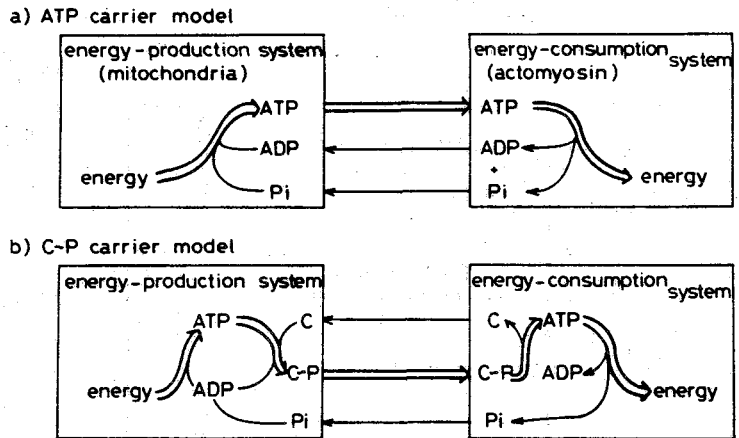


Fig. 6 筋細胞内エネルギー輸送に対する ATP およびクレアチン磷酸 (C~P) の寄与

〔謝辞〕

本研究を遂行するにあたり、技術的な援助をたまわった JEOL サービス 加川代に感謝します。

〔文献〕

1. 木田 博, 竹内 誠, 才14回NMR討論会要旨集 p131 (1975)  
Kida, J. & Uedaira, H. J. Magn. Resonance 27, 253 (1977)
2. 赤坂・井元訳, パルス・フーリエ変換NMR, 吉岡書店 (1976)
3. 佐藤 和夫, 才16回NMR討論会要旨集 p69 (1977)  
下川 繁三, 才17回日本生物物理学会予稿集 p168 (1977) など
4. Tanner, J.E. Biophys. J. 28, 107 (1979)
5. Jacobus & Lehninger J. Biol. Chem. 248, 4803 (1973)  
Murone & Ogata J. Biochem. 74, 41 (1973)  
Wallimann et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 75, 4296 (1978)

第 2 日

9月29日 (月)





## 201 氷表面の“偽”液状層

北大 低温研 水野悠紀子・花房尚史

はじめに

氷の表面は零下数十度の低温でも固相ではなく、一種の水和アトキソラバエ liquid like な水分子層即ち “quasi-liquid layer” (偽液状層) が存在するらしいことは水物性の分野で理論的に予測されてきたが、近年、Usha Kova 等<sup>2)</sup>が粉体状の氷をH<sub>2</sub>O中NMRで観測すると、氷のブロードパシグナルの上ヒスロク中心に狭いシグナルがみられたことを示し、これが quasi liquid layer であると、その半値幅から分子相間時間で概算し、 $10^{-12}$ sec のオーダーの極めて liquid like な性質の水分子であると報告してゐる。しかしその後之からついでの詳細な性質はわかってゐない。氷表面のこのような水分子の性質を明らかにすることは水物性の面から極めて重要で且つ興味のある問題であるが、一方生物物性の面からみても、このように“氷和アト”の存在は、H<sub>2</sub>O との化学的結合を単一な層での氷和として最も簡単な氷和モデルと考えることが出来、生体高分子等の氷和による性質との比較が非常に興味のあるところである。更に<sup>1)</sup>H NMRによる生体高分子の氷和の研究の場合、結核のバックグラウンドとして水のシグナルを除くため、Kuroki 等<sup>3)</sup>が凍結によって溶媒のシグナルを消滅する方法がよく用いられるが、氷表面にこのような氷和層が存在することからバックグラウンドの除去をどの程度見越さなければならないことは極めて重要な問題である。

我々は以上のような水物性と生物物理の双方の面の興味から、氷表面の“偽”液状層と高分解能H NMRを用いて測定し、その量的変動と各種の緩和測定からその性質を調べた。高分解能NMRを用いることによつて、氷自体のシグナルが入りこむので解析が容易であるという利点があった。

### 材料および実験方法

材料として使用する氷は比表面積を大きくするために低温室中で粉体(後述する状)の氷を低製した。床に清浄なビニールシートを敷き、2mの高さから脱イオン水をスライザーで噴霧し途中で氷結して落ちる氷の微粒子を蒸気NMR試料管に入れた後にパッキングして使用まで液体が凍結中で保存した。低温室の温度は-35℃又は-20℃で、前者で得る氷の粒径は平均50~100μ、後者では100~200μであった。

<sup>1</sup>H NMRの測定は、日本電子製高分解能NMR、FX-100に付属の温度可変装置をついて、5mmプローブを用いた。測定周波数99.6MHz、観測周波数20KHz、90°パルスは30μsec、300回積算で測定した。緩和測定は、T<sub>1</sub>は反転回復法、T<sub>2</sub>はHahnのスピンエコー法、T<sub>ρ</sub>はスピンロック法(H<sub>1</sub>=1.7 gauss)で行い、寧ろより詳しくとて記載した。尚、結果で述べるようなブランクでの信号の発生は再現し得る程度であった。

### 結果と議論

普通の氷(脱イオン氷)を試料として液体の水の観測モードで20KHzで温度を下げながら観測すると、試料の凍結によって水の鋭い信号は完全に消失する。20KHzでは氷のブ

みずのゆえに、はたしと、おあひ

ロード信号のごく一部分を観測してあることである。この条件下で観測倍率をおおむね数百回の繰算でかけるとS/N比は非常に悪いが比較的ブロードな信号がみられる。これがブローブのバックグラウンドのシグナルでありことは、ブランクの信号をこの信号に対して Ngain の値が 5 normalise するとはほとんど無視し得るということがである。この条件下で低温室内で仮製した粉体氷 (以下 powder ice とする) をついでに観測すると上述の bulk の氷とは比較にならないほど S/N 比の良好なスペクトルが得られる。以下の測定にあたっては、最初温度を  $-50^{\circ}\text{C}$  に設定し上記の試料を 300 回繰算で 4 エベックし S/N 比の良好なものを用いることとし、 $-100^{\circ}\text{C}$  に下げ、228 分の昇温の過程で各温度について  $\pi$  パルスでのスペクトル、 $T_1$ ,  $T_2$ ,  $T_{1p}$  を測定した。昇温の過程で測定したのは、 $0^{\circ}\text{C}$  近辺の高濃度の氷と氷粒子のシレタリレクが配子のエ防ぐためである。図1は  $\pi$  パルスによるスペ

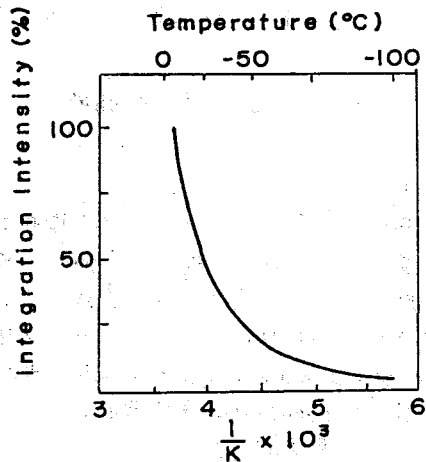


図1. "偽"液状氷の  $^1\text{H}$  の相対量(面積比)の温度変化 (refrozen ice)

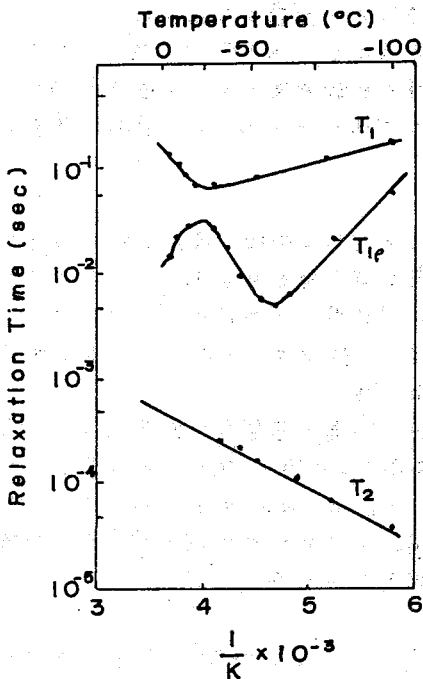


図2. Powder Ice の "偽"液状氷の各種  $^1\text{H}$  緩和時間の温度依存性

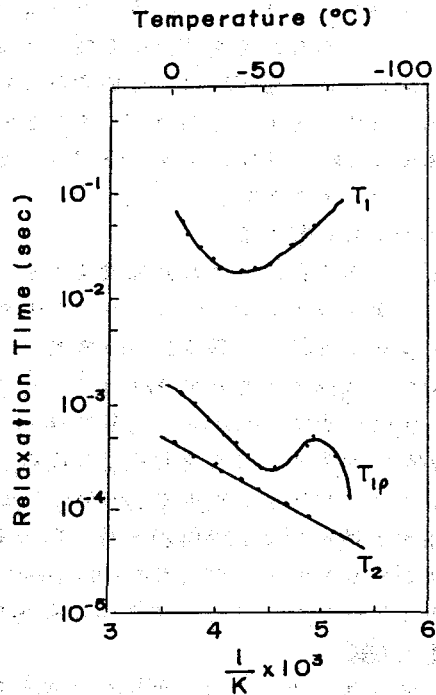


図3. Refrozen Ice の "偽"液状氷の各種  $^1\text{H}$  緩和時間の温度依存性

クトルを  $-5^{\circ}\text{C}$  のスペクトルに対して normalise し  $-5^{\circ}\text{C}$  に対する積分強度比から

表1. 氷表面の“偽”液状層のH緩和からみた誘性質

		temp. of minimum point	r ( $\text{\AA}$ )	$T_c$ at $0^{\circ}\text{C}$ (sec.)	E Kcal/mol, deg.
Powder Ice	$T_1$	$-35^{\circ}\text{C}$	1.66	$1.44 \times 10^{-10}$	5.7
	$T_2$		(1.66)	$1.54 \times 10^{-8*}$	3
	$T_{1p}$	$-65^{\circ}\text{C}$	4.30	$1.55 \times 10^{-6}$ $(1.9 \times 10^{-7})*$	6.3
Refrozen Ice (from powder ice)	$T_1$	$-35^{\circ}\text{C}$	1.38	$1.24 \times 10^{-10}$	7.4
	$T_2$		(1.38)	$1.78 \times 10^{-9*}$	3.5
	$T_{1p}$	$-52^{\circ}\text{C}$	3.05	$7.9 \times 10^{-7}$	2.4

温度による相対量の変化を示したものである。 $-5^{\circ}\text{C}$  で半分値中 400 Hz 程度の大きな比較的シャープなスペクトルを示すが、温度の低下と共に相対量は急峻に減少し、半値幅も大きくはな。しかし  $-100^{\circ}\text{C}$

\*  $T_1$  から得た r の値を用いて計算  
\*\* 直線部分を extrapolate したときの  $T_c$  の値から計算

では  $-5^{\circ}\text{C}$  に対して高百分の量が存在している。この水の信号が液体としての氷の表面に依存することは次の事実から明らかである。即ち、 $-40^{\circ}\text{C}$  で作製した powder ice では 300 回積分で  $-100^{\circ}\text{C}$  で止めると S/N 比の良好なスペクトルが得られるが、ゆるやかな平均半径が大きまり  $-20^{\circ}\text{C}$  で作製した powder ice はゆるやかな S/N 比が得られ、 $-50^{\circ}\text{C}$  以下では緩和測定は全く使用出来ない。す、脱イオン水エングラフ中で直接凍結させた bulk の氷では  $-30^{\circ}\text{C}$  でも使用に耐えはる。しかし、 $-20^{\circ}\text{C}$  で作製した powder ice を室温で融解後直ちにフローズン中で凍結すると、後述するように緩和緩和の性質は多少異なり S/N 比の点からは  $-40^{\circ}\text{C}$  にほぼ近いコグナルが得られる。以下で powder ice とし、前者は  $-40^{\circ}\text{C}$  で作製した粉体氷をそのまま refrozen ice とし、後者は  $-20^{\circ}\text{C}$  で作製した粉体氷を試料管中で融解後直ちに凍結した試料である。おのおのの試料

について緩和時間  $T_1, T_2, T_{1p}$  を測定し、その温度依存性を調べた結果が図 2 および 3 である。緩和時間の多くの差があるが、おのりの再現性は良好で傾向は全く一致する。powder ice では  $T_1$  は  $-35^{\circ}\text{C}$ 、 $T_{1p}$  は  $-65^{\circ}\text{C}$  近傍に最小値があり、refrozen ice では  $T_1$  は同じく  $-35^{\circ}\text{C}$ 、 $T_{1p}$  は  $-52^{\circ}\text{C}$  に最小値がある。 $T_1 > T_{1p} > T_2$  という傾向でこの系が比較的 liquid like な系であることを示している。温度が高くなるにつれて  $T_1, T_2, T_{1p}$  のおのりも緩和式のプロットで幾分の成分はわかるが、多成分系であることを示しているが、ここでは最も緩和時間の長い成分だけを示してある。表 1 はこれらの結果から  $T_1, T_2$  について r を求めた

表2. 水および氷、タンパクの水和物のスピン間距離 r と分子相関時間

	r ( $\text{\AA}$ )	$T_c$ (sec.) at $0^{\circ}\text{C}$ from $T_1$
$\text{H}_2\text{O}$ (liquid)*	(1.66)	$7 \times 10^{-12}$
$\text{H}_2\text{O}$ (Ice)**		$2 \times 10^{-5}$
Ovalbumin (soln.)	1.90	$3.44 \times 10^{-10}$
" (cryst.)	1.90	$7.8 \times 10^{-8}$
Catalase (soln.)	1.37	$6.2 \times 10^{-10}$
Hemoglobin (cryst.)	1.29	$5.1 \times 10^{-8}$
Lysozyme* (cryst.)	(1.54)	$9.5 \times 10^{-10}$

\* 表1の powder ice の  $T_1$  から得た r の値を用いて  $22^{\circ}\text{C}$  での  $T_c$  の実測値から計算  
文献記載値は  $20^{\circ}\text{C}$  で  $8 \times 10^{-13}$  sec.  
\*\* 文献より引用

び距離 $r$ と、水、氷や他の data との比較のため  $0^\circ\text{C}$  に外挿した  $T_1, T_2$  の値を用いて計算した  
 件の回転の分子間距離  $c$  を示してある。又、 $c$  をプロットから求めた活性化エネルギー  
 の値を示してある。表 2 は比較のため、水および氷に  $r$  の  $\text{cm}^{-1}$  の  $\text{cm}^{-1}$  の水と  
 氷の値を示したもので括弧に入るのは外は全て演者の実験値である。 $T_1$  が求めた値を除  
 き powder, refrozen 等の大体の値を示し、 $T_1$  から得られた  $c$  の値  $1 \times 10^{-10}$  は水の  $10^{-12}$ 、  
 水の  $10^{-5}$  と明らかに異なり表 2 の  $\text{cm}^{-1}$  の水と氷よりやや小さいがよくなる値を示して  
 いる。Ushakov 等の概算値  $10^{-11}$  は  $r$  が小さいが大体の値との間接値に近しい。 $T_2$ 、 $T_0$  から得  
 られた  $c$  では  $T_1$  から得られた  $c$  より非常に大きく、 $T_1$  の距離からみて水分子数個の範囲に  
 おける slow motion の系も存在するに違いない。この液状アが氷の表面の緩和に依存する  
 ことは先に述べたが、refrozen ice が融解前より  $S/N$  比が向上することによってそのよう  
 な説明がある。即ちこの場合の“表面”は直接気相と接する外部表面のみでなく、氷の結  
 晶内部のとりまき気泡等と接する内部表面も含まれる。その考えが大きい。仮定時  
 噴霧して氷結する時結晶表面に空気が吸着され、気泡として内部へと入る。融解後  
 まで凍結すると無数の気泡をとりまき水結するに連体体積当りの“表面積”は  
 純体よりはるかに大きくなるため  $S/N$  比が向上すると思はれる。融解した材料は長時間  
 置かれておいたのを凍結して溶解した空気が放出するため bulk の水と  $S/N$  比は変わらな  
 い。このような気泡その他、結晶境界面や結晶内部の格子欠陥によつて生じるミクロな内部  
 表面等も考慮してると考えられ、このように違いが powder ice と refrozen ice の違いを  
 説明してよいと思はれる。氷の表面が  $0^\circ\text{C}$  以下でも固相でも温度とそれとの差は小さく  
 するといふ  $-100^\circ\text{C}$  までその存在が認められるような水とアが存在し、 $T_1$  の水と  
 アよりは liquid like であるが水とは明らかに異なり solid like の性質を持つことが明  
 らかに述べたが、この水とアは一般の水とアと異なり外部由来の“host”と異なり多くは水と  
 しての回転と化学的(的に全く同一の系がある点に大きな違いがある。これは氷の結晶格  
 子の最外側すなわち表面で格子構造からはずれて孤立した水分子あるいはその集団であ  
 ると考えられる。左、 $T_1$  で観測した  $\text{cm}^{-1}$  の  $\text{cm}^{-1}$  の大まかな値は複数の水分子から成  
 りた不完全な水ではありかと想像される。温度が  $0^\circ\text{C}$  近傍まで上昇すると格子欠陥と表  
 面との移行の進行しているが“不完全な氷の結晶格子”があるのは大まかに緩和測定で  
 成分系として知られるが、温度が低下すると水素結合の中心化にともなう完全な結晶  
 格子に吸収されるので相対量は減少するのじある。

タンパクの水和等に際して凍結による溶媒除去法を用いた水と氷の液状アからの寄  
 りは、bulk の水では powder ice と比べて極めてその量が少く、タンパク等の水  
 和水の量ははるかに大きいため無視してよいと考えられる。

参考文献

- 1) Fletcher, N.H., Phil Mag 7, 255 (1968)
- 2) Kulividge, V.I., Kiselev, V.F., Kurzeve, A. B., and Ushakova, L.A.  
Surface Science 44, 60 (1974)
- 3) Kuntz, I.D., Brassfield, T.S., Low, G.D., and Purcell, G.V.  
Science 163, 1969 (1969)

(化技研) 〇山本修、柳現勝

各種スペクトルデータの蓄積が増加すると共に、これを整理、活用する方法が考案されて来たが、従来最も多用されて来たのは赤外のASTM方式、IRDC方式、またはサトラ-9データカードに見られるようなカード方式であった。これは最も簡便であるため、非常に実用化しやすい方法であるが、データ数が10,000を超えると検索に不便を感じようになり、また小さいカードに印刷されたアナログデータから精度のよい数値を読取することは困難である。そこで、最近急激な発達している電算機を用いて各種スペクトルデータをファイル化しようという試みが当然行われるようになった。問題はアナログデータをファイル化する場合、1資料当り、1メモリ-当りのコストをできるだけ安くし、しかも必要の精度を保持しつつ、できるだけ検索の効率の良いファイルを作るようにして構成してゆくことである。この場合一口にスペクトルデータといっても各種スペクトルにはそれぞれ特徴があり、その特徴を最も活かした方法を考えてゆく必要があることは当然である。本講演においては<sup>1</sup>H NMRのデータ・ファイルに關していくつかの問題点を考察した結果を報告する。

現在NMRスペクトルデータで最も良く測定が行われていたのは<sup>1</sup>Hスペクトルと<sup>13</sup>Cスペクトルである。この内<sup>13</sup>Cスペクトルは普通の状態では線スペクトルの集合と考へることができ、従って数値データとして取扱うことができて便利であるため、既にいくつもの研究グループでもそのファイル化の試案が発表され、あるいは試験的にファイルが作成されている。われわれの研究室においてもこの試案をもっているが、ここではアナログデータとして取扱われるべきならぬ<sup>1</sup>Hスペクトルに話を限ることにする。

一般にNMRスペクトルは化学シフト( $\delta$ )とスピン結合定数( $J$ )との関数であり、この二つの量とを之れは計算によりスペクトルを忠実に再現できることはよく知られている通りである。計算は電子計算機を用いれば原理的には簡単であり、その意味においては<sup>1</sup>Hスペクトルも数値データ、(しかも1資料当りのデータ化数が極めて少数な数値データとして取扱う)ことができる。このように方法による<sup>1</sup>Hスペクトルの数値化はさくから行なわれ、多くのデータの集積があるが、反面あると知られたスペクトルから、これを解析して $\delta$ と $J$ とを抽出する仕事はそれほどの楽なことではなく、ほうたう数の<sup>1</sup>Hスペクトルを予定の資料のすべてにわたってこれを行なうことは殆ど不可能に近いことである。そこで結局<sup>1</sup>Hスペクトルを一つのパターンデータとしてとらえ、これをそのまま電算機に格納してファイルにすることを考へなければならぬ。

現在市販のNMRスペクトロメータでは、その分解能として0.15~0.2 Hz程度の値は得ることができたため、高精度を要求する場合にはデジタル化した時の1メモリ-当りの分解能は少くとも0.1 Hzは欲しいものである。<sup>1</sup>H NMRではスペクトル

ルの理めれり範囲は略、1000 Hzと考えと、単純な計算では1試料当りの必要メモリ量は10,000と云ふことになる。しかし $^1\text{H}$ スペクトルの今一つの特徴として、ある種の化合物では、1000 Hz全体に亘りシグナルが現れりことはむしろ少く、せいぜい200~300 Hz(全体として)の領域以外は何も無いラインと云ふことになる。1台の電子装置のメモリに格納する必要はないので、基本的な考え方としては、1つの試料のスペクトルも、ファイル化を行なう際には、可能な限り数個のブロックに分割して格納する方が有利であること加わらる。この意味では測定の際にはFT法よりもCW法が有利である。何故ならファイル化の際には数ブロックに分割するとしても、FT法の場合測定の際にはスペクトル全域を対象とせざるを得ないため、最終的にデジタル化の分解能として0.1 Hzが必要とするときは、Quadrature Detectionを用いるとしても10~20 KHz程度の領域を測定するミコンの中で確保しなければならぬからである。

以上の点を考慮して次のような原則の下にファイル化を行なう。
 (1) スペクトルは数ブロックに分割して格納する。
 (2) デジタル化の分解能は0.1 Hzとする。
 (3) 測定にはCW法を用いる。
 (4) CW法で掃引によるシグナルの歪みをできるだけ防ぐために、掃引速度は実際上可能な限り遅くする(実際には1 Hz/sec)。

$^2\text{H}$ スペクトルでは試料の状態に対しても種々の議論があるところではあるが、ここでは一応標準に $\text{CDCl}_3$ を用い、濃度は約5 mol %とした。測定はXL-100-15と620/Lコンピュータを使用し、CW versionのプログラムでデジタル化を行ない、後の処理のためにこれを紙テープに打ち出して保存した。約300個の試料についてこのようなファイル化を行なったが、その一例をFig 1(a)に示す。(Fig 1(a)のスペクトルは以上の操作の結果紙テープに打ち出したデータと、大型の計算機にフォードの後述の方式プロッターにより描かされたものである)。300個のデータについて1試料当りの平均必要メモリ量は約4Kであった。これは1メモリ量(16ビット)として計算であるが、縦軸の精度は8ビット(-256)まで落して十分であることと考慮すれば、必要メモリ量はこの半分であることになる。(但しその場合プログラムの上一寸の工夫は必要である)。

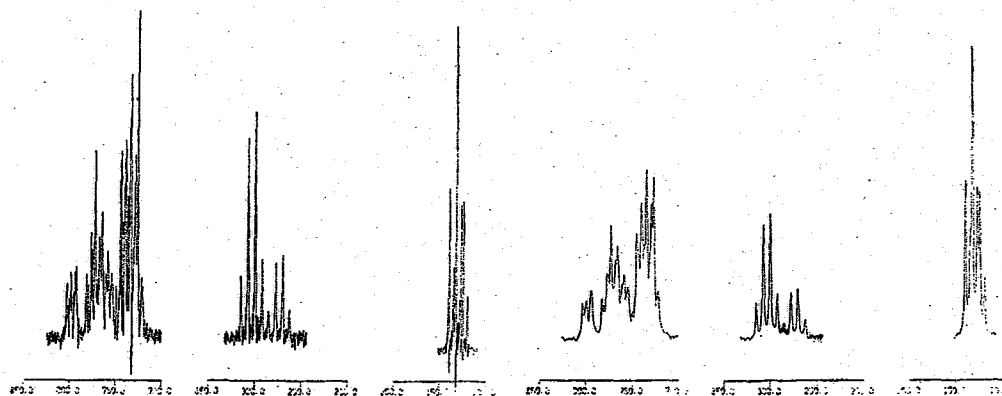


Fig 1(a) デジタル・スペクトル

Fig 1(b) 修正スペクトル

スペクトル自身のファイル化はこれで済ませても、このファイルを処理する時には、これを簡略化したインデックスファイルがどうしても必要である。例えば未知のスペクトルをデータファイルと照合して検索しようとする場合、1材料当たり4K程度のデータ量をもつファイルと照合するのはどう考えても不経済である。インデックスファイルとしてはそのスペクトルの特徴をできるだけ少ないデータ量で適切に反映する量を採らなければならない。そのために次のような量を採らた。

- (1) スペクトルの重心の値
- (2) スペクトルの二次モーメント
- (3) ある閾値以上の強度をもつピークの位置と強度

このような量の採扱は極めて常識的なことであって別に目新しいことは何もないが、問題は多量のデータについてこれを行う場合、自動的に計算によって次にインデックスファイルを作成してゆかなければならぬこと、また実際の照合には、照合されるべき未知スペクトルの精度(例えば分解能、強度等)がまちまちであることにより、何等かの抽象化を行わねばならぬ点である。換言すれば、採扱されるべき生データは高精度のものが必要であるが、インデックスファイルの方はそれをなました数値の方がむしろ望ましいのではあるかと思われた。

そこでスペクトルの広幅化を行ない、その後に残ったピークをインデックスファイルの方に拾うことにした。こうすることにより少くも分解能の悪いスペクトルとの照合も可能になる。広幅化には常法通り、一度フーリエ変換をした後に exponential 型の広幅化関数と乗じ再フーリエ変換をすることにより簡単に自動的に達することができる。また CWD 法の測定によって必然的に生じるウィングの除去には、相関 NMR の手段に頼り  $\exp(-a|f|)$  型の関数を用いたことにより或程度の効果を得られた。このようにして得られたインデックスファイルの内容を、Fig 1(a) のスペクトルに対応して Fig 2 に示す。なお Fig 1 (a) のスペクトルは Fig 1 (a) のスペクトルを、広幅化し、ウィングを除去してなましたスペクトルであり、このスペクトルからインデックスファイルの数値が計算された。

Fig 2 の数値にありて重心および二次モーメントの値にそれぞれは、面積計算によって得た値(左側)とピークを掃かろうと考えて得た値(右側)との差を示すものである。重心と二次モーメントは厳密には面積計算による方が正しいことは勿論であるが、そのためには未知スペクトルとの照合に際して、未知スペクトルもデジタル化を行なうか、または面積計算を用いて面倒な操作を行わねばならぬであろう。一方ピークを掃かろうと考えれば、簡単にこれを求めたことのできる。両者の間にはあまり差がないことを見てもわかる通り、適当な許容度と設定して置ければ、これによって迅速な照合が可能であろう。ピークに関する情報は左側が ppm 単位によるシフトの値、右側が強度であって、強度は全体が 1000 になるように規格化してある。この規格化の範囲内において、閾値は 5 とし、それ以上のピークを拾い上げる。

インデックスファイルによる検索は次のように行なう。先に重心および二次モーメントの値に適当な許容値を設定し、これによって凡そはるべきものを先行して

HA0166

NUMBER OF BLOCKS	3		
1	8.242	7.001	
2	3.323	2.440	
3	1.517	1.078	
WINDOW FUNCTION	=	1.000	
SCAN SPEED	=	1.000	
THRESHOLD VALUE	=	5	
CENTER OF GRAVITY	=	5.119	4.909
SECOND MOMENT	=	7.091	8.168
			IN PPM
NUMBER OF LINES	30		
8.015	13		
7.972	14		
7.921	18		
7.808	15		
7.786	12		
7.755	24		
7.714	42		
7.663	30		
7.640	35		
7.572	24		
7.534	19		
7.484	10		
7.435	39		
7.385	51		
7.330	63		
7.278	50		
7.254	61		
7.212	18		
3.144	13		
3.069	43		
2.994	47		
2.920	17		
2.774	17		
2.699	19		
2.624	7		
1.396	58		
1.322	109		
1.269	56		
1.245	56		
1.194	21		

Fig. 2. インテグラル・ファイル  
用データ

る。ところがこれに言える事は、元素 NMR スペクトルは化合物の部分構造に直接反映する特徴があり、従って研究者が適切な判断を下すことにより容易に構造を推定できる手段として今日の発展を見たことである。従ってこのような機械的な検索法には色々の意味の限界があり、それだけに頼ることは如何の NMR スペクトルの判別を失わせることとなることに留意しなければならぬ。

そうは言っても複雑なパターンを扱う NMR スペクトルから、数回の候補スペクトルを短時間で指差できるならば、我々の研究上多大の助けとなることは論じないであろう。今後の問題としてはできる限り多数のデータを精度良くファイル化してゆくことであるが、同時にファイル化方式にも改善を加えられるべきではない。今の方式はやはり FT 法を用いるべきであるというところである。CWD 法ではどうしてもウィンドウの妨害を避けることができないからである。最近ではミニコンのメモリも廉価になったから、32K 程度の容量のミニコンを用いることもその程度金がかかることではなくなるであろう。これは測定周波数の問題である。良く知られているように、周波数が変ると δ は変化するが、J は変化しないため、複雑なスペクトルではパターンそのものが変化する。従って上に述べた検索法は原理上成立しない。超電導磁石を用いたスペクトロメータはしばらく待つとしても、現在 100 MHz と 90 MHz とのスペクトルが略、同じ位に測定されている。両者のパターン、相異で実際上どの程度の影響があるのか意味深い問題であり、今後の検討課題としたい。

う。実際は殆どとしてこのふたつに分けは非常に有効であり、これにより大部分の適合しないスペクトルを除外することが出来る。次に各シグナルの位置及び強度の一致の程度を見ることが出来るが、照合すべきスペクトルと試料スペクトルとして、それぞれ最大強度ピークを探し出し、それかシフトの許容範囲内で一致するかどうかを見る。次に又各自の強度のピークについて同様に操作を繰返してゆく。このようにすることにより、今解説、濃度効果等によるずれを補正し、全体として一致を見ることが出来るようにした。得られた一致の程度により適当に評点を付け、100 点満点で評価を行なう。

このような検索法の良比は、厳密には約 1 万位位の試料を集めなくてはならないであろう。現在測定した約 3000 のデータではすべて正確な結果が得られるが、これはもともとデータの異なったパターンを示すスペクトルを採ったのだから当然の結果である。



1. はじめに.

我々は、主に食品物性の観点で、水の存在状態を調べている<sup>1)-4)</sup>。その手法としては、広幅パルスNMRで凍結曲線、すなわち、不凍水(unfrozen water; UFW)量の温度変化を測定する方法を用いている。この種の研究としては、例えば、食品では、保存乾燥技術上の諸問題へのアプローチがなされ<sup>5)</sup>、低温生物学、細胞生物学、筋肉研究の分野でも、広範な試み<sup>6)-12)</sup>が行われている。そこでは、種々の系の不凍水量とその緩和時間が、様々なNMR手法により調べられており、水の状態に関する多くの情報が得られている。

凍結曲線は、これまでのところ、マニュアルで不連続的に記録されているが、自動記録システムではあっても、90°パルス後のFID(free induction decay)曲線の、約40μsecでの振幅の温度変化をみているに過ぎない<sup>2)</sup>かであった。凍結曲線を正確且つ連続的に測定するには、まず第1に、FID曲線の液体部(40μsec以降の、減衰の遅い成分)を、0μsecに外挿しなくてはならない。第2に、その際に、NMR感度や、温度-熱電対起電力の、非直線性を補正しなくてはならない。第3に、これらの数値処理は、パルス毎に、すなわち1利に1回程度行う必要がある。これらの高速・大量の数値処理には、電算機を用いることが不可欠である。そこで、我々は、ミニコン・データ処理システムを作成した。その利用については、1部既に報告した<sup>3),4)</sup>が、本報では、主に、システムの詳細と、利用範囲を明らかにしたい。

2. 実験方法.

本システムのハード構成を、Figure 1 に示す。試料約250mgを外径7mmの試料管に入れ、ジュアービン中の液体窒素に一定量の窒素ガスを吹き込んで発生したガスで冷却、或いは、流量を減少させて加熱(約3°/min)、凍結-解凍過程を、Bruker社のminispec p20(ラーモア周波数20MHz)広幅パルスNMR(图中NMR)で追跡する。温度は、東亜電波工業のFU-81A

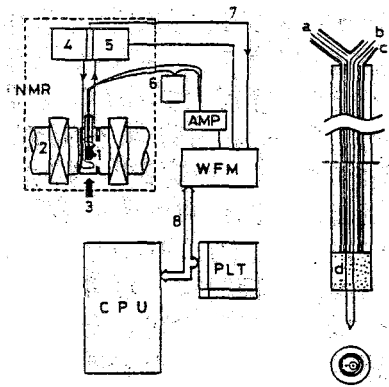


Figure 1. Block diagram and thermocouple. (left) NMR, AMP, WFM, PLT, CPU, see the text. 1: sample in tube, 2: magnet, 3: cold nitrogen gas, 4: transmitter, 5: receiver, 6: thermocouple and cold junction of ice, 7: sampling trigger, 8: HP-IB interface bus. (right) a, b: chromel-constantan, c: aluminium, d: thermal insulator, and all tubes are made of teflon.

すずき えいじろう・ながしま のぶや

電圧増幅器 (AMP) に接続した、クロメル-コンスタンタン熱電対を、試料に直接接触させて測定した。菊水電子の波形記憶装置 (WFM) を用いて、FID 曲線と試料温度を、約  $2 \mu\text{sec}$  間隔で、A/D 変換後、記憶 (バッファリング) し、HP-IB インターフェースバスにより、YHP 社の HP1000 ミニコン・システム (CPU) へ、データを転送する。

Figure 1 の右側は、使用した熱電対の構造である。アースしたアルミニウム金属は WFM や NMR のクロック・ノイズ (FID 曲線が観測できなくなるような大きさ) の遮蔽のために用いた。そして、そのままでは、アルミニウムを通して、室温が試料に伝わるので、断熱材でこれを遮った。右下は、液線での断面図である。

Figure 2 は、NMR 感度補正後の FID 曲線の例である。補正には、体積一定で、種々のプロトン濃度の硫酸銅の  $\text{H}_2\text{O}-\text{D}_2\text{O}$  混合溶液を用いた。この補正は、プロトン量と NMR のシグナル強度とがシグモイド型の関係をもつために、凍結現象のように、通常 2 ケタ以上のプロトン量変化がある場合には、特に必要である。Figure 2 をみると、FID 曲線は、2 つの異なる  $T_2$ 、すなわち、 $T_{2l}$  (液体) と  $T_{2s}$  (固体) をもつプロトンの存在を示している。液体状態のプロトンは、指数型で、固体状態のそれは、Gauss 型で減衰する。40  $\mu\text{sec}$  以降の液体部を外挿して得られる値は、近似的に、不凍水量と考えられるので、Boltzmann 効果を考慮し、別に乾物重量を決めてやって、乾量基準の数値:  $g_{\text{H}_2\text{O}}/g_{\text{DM}}$  に直してやる。この不凍水量の温度変化を、YHP 社の HP9872A (PLT) により、片対数グラフにプロットする。同時に、液体部の傾斜から  $T_{2l}$  が、また、固体部の解析から、その量と  $T_{2s}$  とが、温度の関数として求まる ( $T_{2l}$  曲線、などと呼ぶ)。

### 3. 結果と考察

#### (1) ゲルの凍結履歴

Figure 3 は、 $90^\circ\text{C}$  で約 3 分間加熱して得た、ゼラチンとモチウモロコシデンプンのゲルの凍結曲線であり、凍結履歴、すなわち、約  $-30^\circ\text{C}$  以上での、凍結と解凍の不一致が、顕著である。凍結過程での脱水は、水和水をゲル構造の網目から引き抜き、微結晶を生成するので、解凍過程での再水和がなされ難く、凍結履歴が生ずると考えられる (相分離)。これに対し、メタノール、エタノール、グリセロールの溶液は、凍結履歴を示さない。それは、これらの

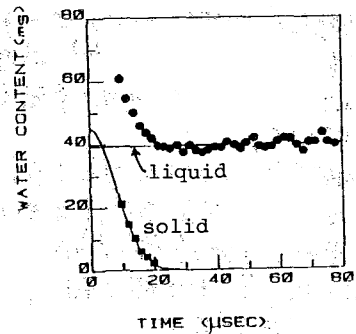


Figure 2. Example of the FID (●) after a  $90^\circ$  pulse with the dead time of about 10  $\mu\text{sec}$ .

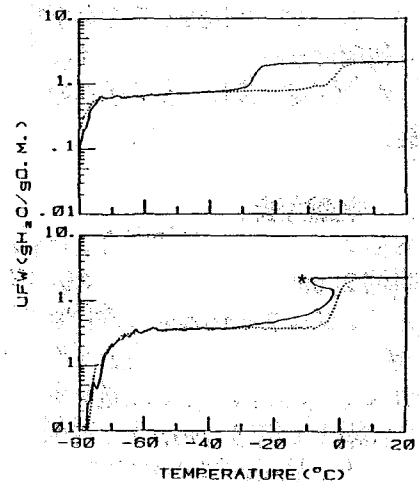


Figure 3. The freezing (—) and thawing (.....) processes of gels; 35% gelatin (upper), and 37% waxy corn starch (lower). \* denotes the supercooling.

物質が、水に溶け易く、再水和が容易なためと考えられる。また、ゲルも凍結-解凍を繰り返すと、履歴おとさくなるが、これは、ゲルの劣化(老化)を意味している。

凍結履歴は、 $T_{2\rho}$ 曲線や固体曲線にも現われることが多い。

(2) 凍結によるクラスター形成と解凍過程の  $T_{2\rho}$

Figure 4は、グルコースからモチトウモロコシデンプンに至るまでの種々の糖類の解凍過程を示したものである。特に水溶液においては、凍結過程は、過冷却と、不連続的な凍結開始現象を含むので、扱いにくい。解凍過程は徐々に連続的なものである。図(左)のX点(グルコースの場合)は、その温度で、固体曲線の減少が観測され、不凍水の回転・並進運動の開始点と考えられる。

溶質のプロトン(C-H)だけを見るために、重水溶液で測定した結果、解凍過程での溶質分子の運動は、図のY点で開始することが示唆された。これは、グルコース以外の糖では、図(右)の  $T_{2\rho}$  曲線の減少が始まる点と一致し(グルコースでは、X点での不凍水の運動開始と重なる)、分子が小さいほど低温である。この減少変化の原因は、

$$T_{2\rho}^{-1} = T_{2\rho, \text{water}}^{-1} + T_{2\rho, \text{solute}}^{-1}$$

で、 $T_{2\rho, \text{water}} > T_{2\rho, \text{solute}}$ であるためと考えられる。 $T_{2\rho}$ 曲線の極大・極小値は、一定濃度では、それぞれ糖に固有なものであり、溶質の運動開始温度を示している。Z点は、あまり明瞭でないが、準結合水、或いは、より水に近い水の運動開始点と考えられる。

Table 1は、デンプンの  $T_{2\rho}$  の温度依存性の  $-30^\circ\text{C}$  以下の解析結果であり、生とゲルとの差が明瞭である。比較のため、カエルの腓腹筋の文献値<sup>12)</sup>を示すが、このような物性値が、容易に求まるのが本システムの特長である。

水酸基1個当たり1個の不凍水をもつなら、多糖では  $0.33\text{gH}_2\text{O/gDM}$ 、オリゴ糖ではそれ以上の値となるが、図(左)はそれ以下の肩(グルコース)やアポト(それ以外)を示して

Table 1.  $T_{2\rho}$  の温度依存性

$$\ln T_{2\rho} = A \cdot T^{-1} + B$$

	$A \cdot 10^{-3} \text{K}$	B
waxy <sup>#</sup> raw	-3.8	23.
corn starch gel	-3.1	19.
frog muscle <sup>12)</sup>	-2.6	17.

# 濃度49%

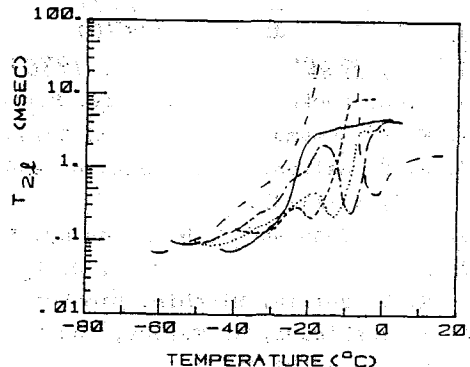
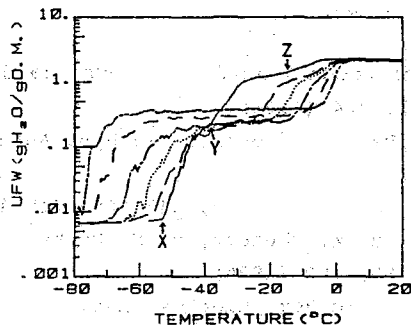


Figure 4. The thawing processes of 40% saccharides; glucose (—), maltose (— —), maltotriose (.....), maltopentaose (— — —), glycogen (— — —), and waxy corn starch (— — — —).

(left) unfrozen water content. X, Y, Z: see the text.

(right) spin-spin relaxation time of unfrozen water.

いる。これは、溶質分子が、クラスターを形成し、互いに水素結合をしたり、不凍水を共有したりするためと考えられる(解凍後のシュリーレンの観察)。高分子ほどクラスター形成し難いので、デンプンでは、期待値(0.33)にプラトを示し、X点の立ち上がりも最も低温である。

### (3) 凍結による結晶析出と2段凍結

Figure 5は、マンニトール水溶液の凍結曲線であるが、6°/min程度の冷却後の解凍過程では、途中-22°Cで、不凍水の溶質からの脱離と、溶質の析出が起こる。この再凍結ピークの大きさは、急速凍結(液体窒素急冷)と緩慢凍結(1°/min以下)のいずれによっても、小さくなったり、消失したりする。前者は(急速冷却では)マトリックス分離状態を呈し、結晶が析出しにくくなるためと考えられる。後者は、冷却過程(約-16°C)で析出が起ってしまうためである。これらの知見は、凍結乾燥技術上、有用である。また、これに似た2段凍結は、ツェイン(トウモロコシ蛋白質)、RNAなどの高分子でも観測される。

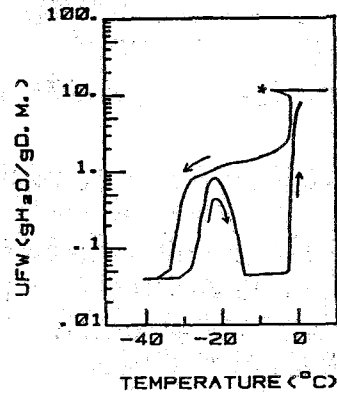


Figure 5. The freezing curve of 9% mannitol. Arrows indicate the change processes, and \* denotes the supercooling.

以上述べたように、凍結曲線法は、ゲルや溶液中での水の状態の研究法として、有用である。講演では、食品のキャラクタリゼーションなどについても述べる予定である。

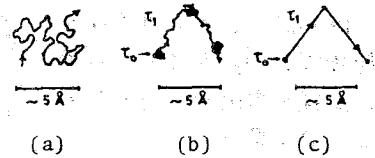
#### (Reference)

1. 日本農芸化学会大会(1978)講演要旨集 p371.
2. 同上 (1979) p313.
3. 同上 (1980) p 81.
4. 第3回糖質シンポジウム(1980)
5. R. B. Duckworth ed., "Water Relations of Foods", Academic Press, 1975.
6. M. V. Sussman and L. Chin, Science, 151, 324 (1966).
7. P. S. Belton, R. R. Jackson, and K. J. Packer, Biochim. Biophys. Acta, 286, 16 (1972).
8. B. M. Fung and T. W. McGaughey, Biochim. Biophys. Acta, 343, 663 (1974).
9. B. M. Fung, D. A. Wassil, D. L. Durham, R. W. Chesnut, N. N. Durham, and K. D. Berlin, Biochim. Biophys. Acta, 385, 180 (1975).
10. K. Yoshikawa, H. Terada, and Y. Kyogoku, Biochem. Biophys. Res. Commun., 84, 1025 (1978).
11. S. Katayama and S. Fujiwara, J. Am. Chem. Soc., 101, 4485 (1979).
12. P. S. Belton, K. J. Packer, and T. C. Sellwood, Biochim. Biophys. Acta, 304, 56 (1973).

(北大理教養) 市川和彦 ○松本敏幸

[序] イオン融体を対象とした物性測定は多くは、熱力学的諸関数および輸送係数(直流電気伝導度、粘性、自己・相互拡散係数など)の決定であった。これ等は  $10 \sim 10^4$  秒の時間尺度で測定される巨視的な量である。他方核磁気共鳴(NMR)は、 $10^{-8}$  秒前後の時間尺度の短さと核種の選定可能ということから微視的水準での静的・動的性質の情報を与えてくれる。拡散係数  $10^{-5} \text{ cm}^2 \cdot \text{sec}^{-1}$  程度の大きさを持つ系の原子運動様式(第1図参照)は、所定の位置での滞在時間  $\tau_0$  と飛躍時間  $\tau_1$  とのかけあいで決まる。  $\tau_0$  と  $\tau_1$  の最大値約  $10^{-11}$  秒前後の値より大きく、しかもできるだけ近い尺度で測定を行うことは液体状態の微視的水準の情報を探察する上で極めて重要であろう。イオン融体を対象としたNMRの緩和時間の研究成果は1970年代になって漸く公表される様になった。今回は大きな錯イオンを持つイオン融体として

haloaluminate<sup>2)</sup> sodium chloroaluminate,  $\text{NaAlCl}_4$ , 融体中の  $^{23}\text{Na}$  及び  $^{27}\text{Al}$  核のスピノー格子緩和時間  $T_1$  の温度依存性を決定し、各々の緩和機構に関する知見を得たので報告する。



第1図 原子運動様式

- (a)  $\tau_0=0$ , (b)  $\tau_0 \approx \tau_1 \approx 10^{-11} \text{ sec}$   
 (c)  $\tau_1 \ll \tau_0 \approx 10^{-11} \text{ sec}$

[実験] 試料調整: 試薬特級塩化ナトリウムと三塩化アルミニウム結晶を約等モル数ずつ加えたもの ( $\text{NaCl}$  成分が僅か過剰である。) をパイレックス製反応管に真空封じし、 $200 \sim 300^\circ\text{C}$  の間の一定温度に24時間予り保持しながら時々融体を激しく攪拌した。その後  $170 \sim 200^\circ\text{C}$  の温度範囲に設定し一昼夜保持した後、傾泻によって融体の部分と過剰の塩化ナトリウムに分離した。融体の部分を固化した試料のラマンスペクトル測定によって chloroaluminate の錯イオン  $\text{AlCl}_4^-$  の存在を確認した。生成した  $\text{NaAlCl}_4$  を長さ約 50 mm, 外径約 12 mm のパイレックス製セルに真空封じたものをNMR測定に用いた。

スピノー格子緩和時間  $T_1$  の測定:  $T_1$  の測定法は  $90^\circ - \tau - 90^\circ$  パルス法である。即ち、 $90^\circ$  パルスを加えることによって磁化  $M$  を静磁場  $H$  に垂直な方向 ( $y$  方向) にたおした後にこの状態は熱平衡でないから  $T_1$  の時定数で最初の熱平衡状態に戻ろうとし、 $M$  が  $H$  方向に成長して行く。第1の  $90^\circ$  パルスから  $\tau$  時間後に再び  $90^\circ$  パルスを加える事によって  $H$  方向に成長した  $M_x$  は  $y$  方向に倒れ、信号として観測することができる。よって  $90^\circ - \tau - 90^\circ$  パルス間隔  $\tau$  を変えて  $M_x$  に比例した信号を測定すると、

$$M_x(\tau) = M_x^0 [1 - \exp(-\tau/T_1)] \quad (1)$$

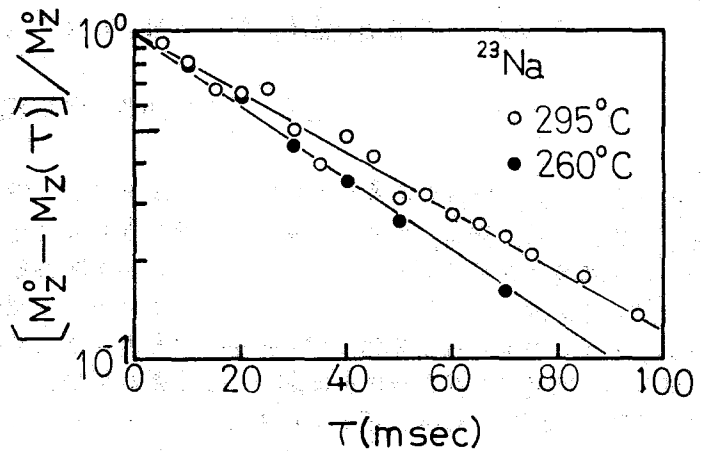
の関係式から  $T_1$  を求めることができる。ここで  $M_x^0$  は全磁化の平衡値で、 $\tau$  の充分長い時間後  $90^\circ$  パルスをかけた時に現われる信号の測定から決まる。パルスNMR装置(達崎研

いちかわ かずひこ まつもと としゆき

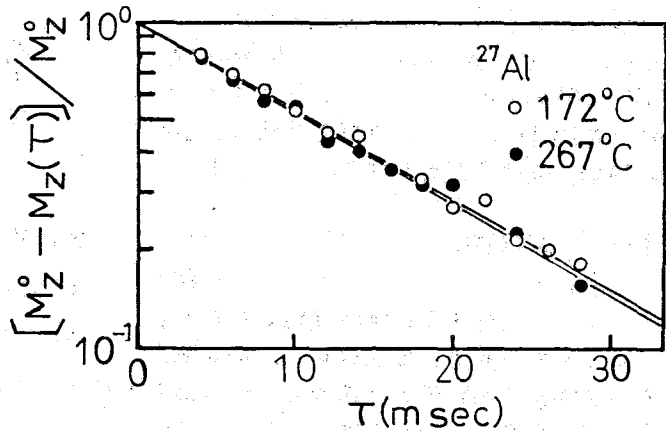
究室所属)を用いて $^{23}\text{Na}$ と $^{27}\text{Al}$ のNMR信号を各々の共鳴周波数約10.0 MHz及び約11.1 MHzで観測した。尚、SN比の是正の為16回又は32回の加算を行なった。測定温度範囲は150°C~300°Cで、 $\pm 1^\circ$ 以内に試料温度を保持した。第2, 3図各々には $\text{NaAlCl}_4$ 融体中の $^{23}\text{Na}$ 及び $^{27}\text{Al}$ 核に対する $[M_z^0 - M_z(\tau)]/M_z^0$ と $\tau$ の関係を示す。図から明らかのように $\tau=0$ で対数目盛りの縦軸で1を通る直線則が得られている。即ち(1)式の関係式を満足している事から、直線の勾配から $T_1$ を求めることができる。

〔結果〕 熔融 $\text{NaAlCl}_4$ 中の $^{23}\text{Na}$ 及び $^{27}\text{Al}$ の $T_1$ の温度依存性を各第4, 5図に示す。測定値にかなりのばらつきが認められる。その傾向が $^{27}\text{Al}$ に特に認められる。然しながら、両者の間に $T_1$ の大きさとその温度依存性に違いが明瞭に現れている。(i)測定温度範囲内では $^{23}\text{Na}$ の $T_1$ は $^{27}\text{Al}$ のそれより大きい。(ii) $^{23}\text{Na}$ の $T_1$ は温度上昇と共に増加しているが、 $^{27}\text{Al}$ の $T_1$ はほとんど温度に依存していない。 $^{23}\text{Na}$ の温度依存性は、熔融硝酸ナトリウム、硝酸リチウム中の各 $^{23}\text{Na}$ 、 $7\text{Li}$ のそれと同じ傾向である。両者の核スピンはいずれも $I=3/2$ である。

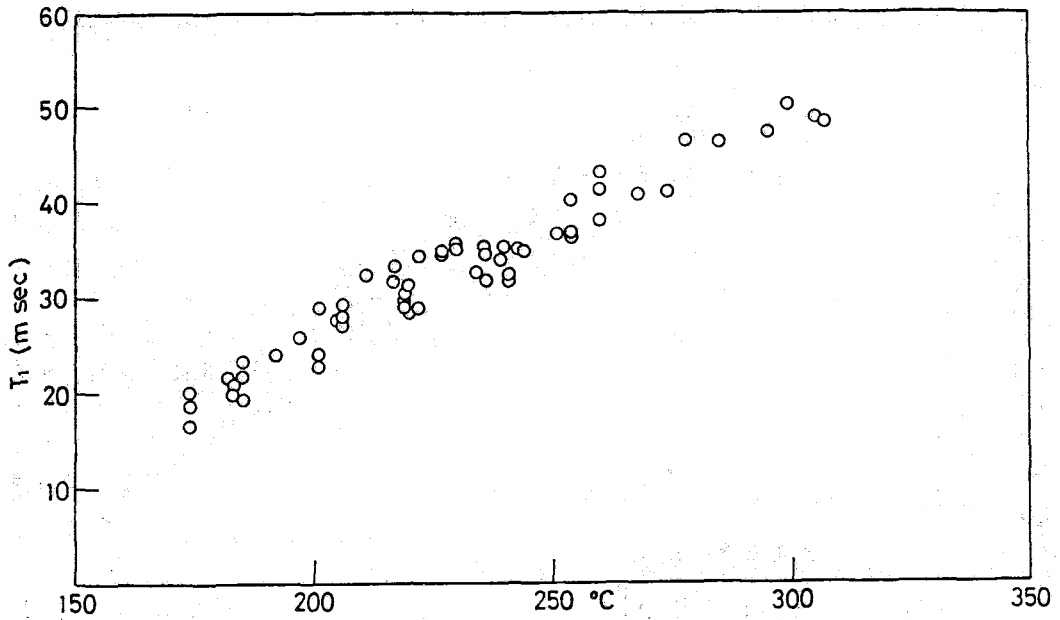
〔考察〕 最初に典型的な1個1個イオン融体を考えてみる。Zで核スピン $I$ が1以上の核種に注目する。例えば熔融塩化ナトリウム中の $^{23}\text{Na}$ ( $I=3/2$ )の $T_1$ をどう評価するかである。 $I \geq 1$ の時その核は四極子能率 $Q$ を持っているから、 $Q$ と核の位置に存在する電場勾配(EFG)との電気四極子相互作用に伴う緩和機構が測定値の $T_1$ に寄与する。緩和過程は磁気的<sup>3)</sup>双極子-双極子相互作用、超微細スカラー結合などによって生成する揺動す



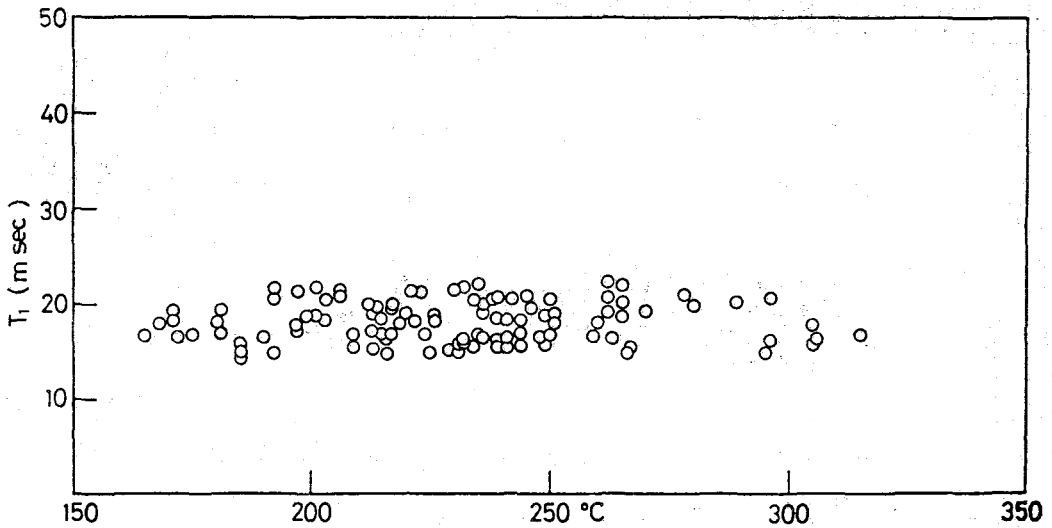
第2図  $^{23}\text{Na}$ の磁化 $M_z(\tau)$ の回復



第3図  $^{27}\text{Al}$ の磁化 $M_z(\tau)$ の回復



第4図 熔融 NaAlCl<sub>4</sub> 中の <sup>23</sup>Na の T<sub>1</sub> の温度依存性



第5図 熔融 NaAlCl<sub>4</sub> 中の <sup>27</sup>Al の T<sub>1</sub> の温度依存性

る局所磁場によっても又影響されるであろう。然しながら多くの場合、四極子緩和機構が主要な役割をはたしている。共鳴周波数  $\omega_0$  が EFG のゆらぎの周波数成分より非常に小さ

という極度尖鋭化条件下で、時間依存性の1次摂動論からイオン $\alpha$ の四極子緩和速度 $R_{Q,\alpha}$ は<sup>4)</sup>

$$R_{Q,\alpha} \equiv T_{1,\alpha}^{-1} = \frac{1}{2} f_{\alpha} (e^2 Q_{\alpha} / \hbar)^2 \sum_{\beta} \sum_{\gamma} J_{\beta\gamma,\alpha\alpha}(0) \quad (1)$$

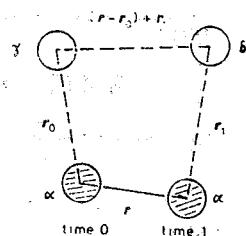
と与えられる。イオン $\alpha$ が1価陽イオンの時、イオン $\beta$ が陰イオンとなる。 $I \geq 7$ に対し $f_{\alpha}(I) = (2I+3)/(4I-1)$ 。イオン対の組合せによって異なる部分スペクトル密度関数 $J_{\beta\gamma,\alpha\alpha}(0)$ は注目するイオン $\alpha$ の核におけるEFG相関関数のイオン分布関数に関する積分形で表わされる。第6図から明らかのようにこの分布関数に2体・3体の相関関数を含んでいる。<sup>4)</sup>

EFGゆらぎの誘因には、(i)周囲の単原子イオンの併進運動(その運動様式は第1図の(a)に相当する)、(ii)注目する核自身を含んでいる錯イオン・分子の回転運動、(iii)周囲の反対符号を持つ錯イオンの回転運動によるものがある。(i)の場合は熔融NaCl中の $^{23}\text{Na}$ に代表される。<sup>4)</sup>(ii)の場合は熔融 $\text{NaAlCl}_4$ に対する錯イオン $\text{AlCl}_4$ 中の $^{27}\text{Al}$ 、熔融 $\text{InI}_3$ に対する二量体 $\text{In}_2\text{I}_6$ 中の $^{115}\text{In}$ <sup>3)</sup>にあてはまるであろう。(iii)の場合は熔融 $\text{NaAlCl}_4$ 中の $^{23}\text{Na}$ 、熔融硝酸塩中の $^{7}\text{Li}$ <sup>5)</sup>に該当するであろう。(ii)の場合の早い回転運動に伴うEFGゆらぎの生成の場合も又極度尖鋭化条件が成立し、(1)式より

$$R_{Q,\alpha} \equiv \left| \frac{1}{T_1} \right|_{\alpha\alpha} = \left| \frac{1}{T_1} \right|_{\alpha\alpha} - \frac{1}{T_1} \left( \frac{1}{T_1} \right) \left[ 1 + \frac{\pi}{3} \left| \frac{e^2 Q_{\alpha}}{\hbar} \right| r_c \right] \quad (2)$$

$(e^2 Q_{\alpha} / \hbar)_{\alpha}$ はイオン $\alpha$ の核四極子結合定数、 $r_c$ は電場勾配、 $\pi_{\alpha}$ はEFG非対称性を示すパラメーター、 $T_1$ はEFGゆらぎの周波数を特徴づける相関時間である。イオン融体中の $T_1$ を見積る為(2)式を用いるにあたって多くの問題がある。電場勾配 $r_c$ の生成は、周囲に配位している単原子イオンと核との静電的相互作用によるものと錯イオンないし分子内の共有結合にあかがる電子雲のかさなりによるものとがあり、イオン融体における $r_c$ の評価は非常にむづかしい。室温における $\text{NaAlCl}_4$ 中の $^{27}\text{Al}$ の核四極子結合定数の値を用いて(2)式から得た $T_{1,\alpha\alpha}^{-1}$ の値は $260^\circ\text{C}$ で $20 \text{ sec}^{-1}$ 、実験値は $T_{1,\alpha\alpha}^{-1} = 50 \pm 8 \text{ sec}^{-1}$  ( $T_1 = 20 \pm 3 \text{ msec}$ )である。

NMR測定に際し協力して頂いた北大応電研の蓮崎達・荻原勝両先生、又三塩化アルミニウムの多結晶を提供して頂いた北大工学部の石川遼雄先生に深く感謝いたします。



第6図 注目しているイオン $\alpha$ に対する分布関数

$$P_{\beta\gamma,\alpha\alpha}(r_0, 0; r_1, 1)$$

- 1) 市川和彦: 金属物理セミナー. Vol. 4 (1979) 21.
- 2) C. R. Boston: "Advances in Molten Salt Chemistry" (J. Braunstein et al. Plenum) Vol. 1 (1971) 129.
- 3) K. Ichikawa and W. W. Warren, Jr.: Phys. Rev. B Vol. 20(1979) 900.
- 4) K. Ichikawa: J. Chem. Soc., Faraday Trans. I Vol. 75 (1979) 113.
- 5) D. H. Smith: J. Chem. Phys., Vol. 59 (1973) 4771; Vol. 60 (1974) 1405.



204  $^{119}\text{Sn}$  FT-NMRを用いた、ロジウムおよび白金錯体における  $\text{SnCl}_3^-$  配位子の動的挙動

(東大生研) 森山広思, 青木肇也, 篠田純雄, 青藤泰和

1. はじめに

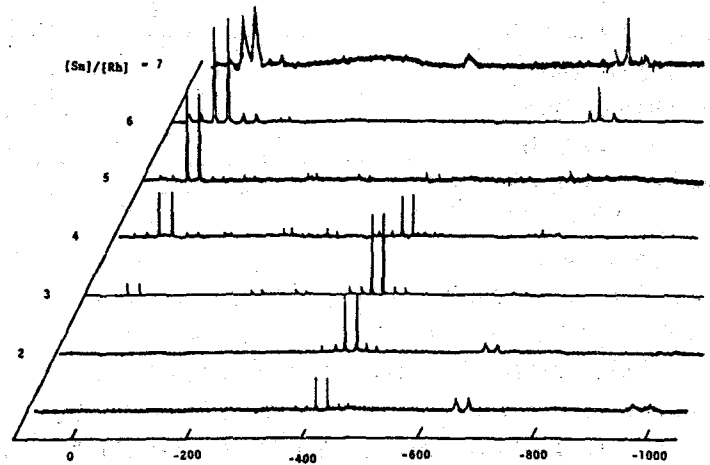
最近、パルスフーリエ変換 NMR法の進展により、種々の核種の NMRを用いて、配位子と中心金属種の双方から、錯体化学への知見が直接得られるようになってきた。 $^{119}\text{Sn}$  ( $I=1/2$ , 自然存在率 8.68%) NMRに関しては、1961年 Lauterburらにより、直接法を用いて初めて報告されて以来、主として二重共鳴法による有機スズ化合物に関する知見が累積しているが、無機スズ化合物は、二重共鳴法の適用が困難であり、そのため遷移金属錯体の配位子として存在する  $\text{SnCl}_3^-$  に着目して  $^{119}\text{Sn}$  NMRの研究は、未だ報告されていない。白金族金属種との錯形成における溶存種の同定確認には、 $^{119}\text{Sn}$  FT-NMRが特に有力な手段となる。それは、(i)  $^{103}\text{Rh}$  ( $I=1/2$ , 自然存在率 100%), あるいは  $^{195}\text{Pt}$  ( $I=1/2$ , 自然存在率 33.8%) とのスピン結合より、スズ配位の直接的証拠が示される、(ii)  $^{117}\text{Sn}$  ( $I=1/2$ , 自然存在率 7.67%) サテライトを解析することにより錯体の構造ならびに動的挙動の知見が得られる、(iii) 同定確認に必要な NMR定数が  $\delta(^{119}\text{Sn})$ ,  $J(^{103}\text{Rh}^{119}\text{Sn})$ ,  $J(^{195}\text{Pt}^{119}\text{Sn})$ ,  $^2J(^{117}\text{Sn}^{119}\text{Sn})$  など多角的に得られる、(iv)  $\text{Sn}$  4種を定量することにより溶液中での酸化還元反応の化学量論が決定できる、(v) スペクトルピークの定量により各種溶存錯体の組成が決定できる、などの情報が *in situ* で得られるからである。

2. 実験

$^{119}\text{Sn}$  FT-NMRスペクトルは、Jeol JNM FX90Q (周波数可変型プローブ) を用い、共鳴周波数 33.34 MHz で測定した。化学シフトは、 $\text{Sn}(\text{CH}_3)_4$  を基準とし、低磁場側を正とした。測定温度  $0^\circ\text{C} \sim 60^\circ\text{C}$ ,  $90^\circ$  パルスを用い、パルス間隔は 1.0 秒、非配位スズ種定量には 5.0 秒とした。(加えて  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  量、または測定温度に応じて 1500 ~ 66,000 回積算)。

観測スペクトル幅は、最大 20,000 Hz に制限されるため同-サンプルについて観測周波数を変え、広い領域にわたって測定を行った。

測定試料は、 $\text{RhCl}_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  (0.263g, 1.0mmol) あるいは、 $\text{K}_2\text{PtCl}_4$  (0.415g, 1.0mmol) に対して、所定量の  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (モル比 0.5 ~ 10.0) を加え、塩酸溶液 2ml:



< 図 1 >

8 / p.p.m.

もりやまひろし, あおきとしや, しのだまゆみ, さいとやつかず

溶解して調製し、10 mmφ 試料管を用いて測定した。試料溶液はすべて均一であり、橙色ないし、赤褐色を示した。

### 3. 結果および考察

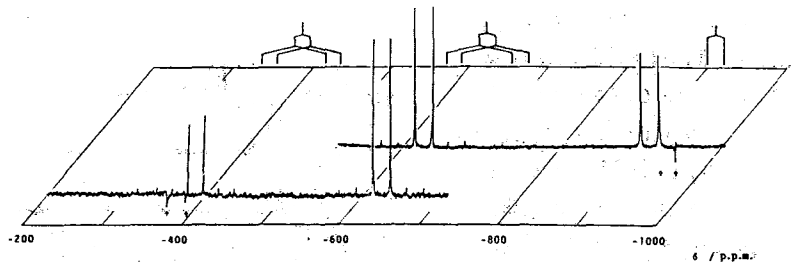
#### §1 Rh-Sn系錯体

3 M 塩酸溶液中、 $RhCl_3 \cdot 3H_2O$  に対する  $SnCl_2 \cdot 2H_2O$  の仕込み比を変えた時、室温で生成する錯体種の  $^{119}Sn$  NMR スペクトルを図1に示す。すべてこの範囲に含まれている。

スペクトルパターンは、 $[Sn]/[Rh]$  比は必ずしも測定温度、塩酸濃度を変えても変化しない。この結果数組のピーク群に分離することができた。-413 ppm の幅広いピークおよび -643 ppm 付近のピーク群は各々、非配位の  $Sn(II)$ 、 $Sn(IV)$  化学種であることを確認した。スズ配位子が、中心金属のあるロジウムに配位すると必ず二重線を与える。スズ配位子が、図2に示すように2個配位している場合には、配位  $^{119}Sn$  以外の配位スズが  $I = 1/2$  以外の  $^{117}Sn$ 、 $^{119}Sn$ 、 $^{117}Sn$  のそれぞれに応じて、 $AX$ 、 $A_2X$ 、 $AMX$  パターンを与えるので、全体としては、それらを重畳した、サテライトピークを伴う一組のスペクトルが得られることになる。ただし、スズ1個配位錯体の場合は  $^{117}Sn$  サテライトはありえない。

スズ配位が磁氣的に等価な場合には、 $^{117}Sn$  サテライトピークのメインピークに対する相対強度を測定すれば、スズ配位数の多い錯体についても統計的な計算値との比較からスズ配位数を決定することができる。

図3は  $RhCl_3 \cdot 3H_2O$  (1.00g, 3.8 mmol) と  $SnCl_2 \cdot 2H_2O$  (0.86g, 3.8 mmol) ( $[Sn]/[Rh]=1$ ) の12 M 塩酸溶液 (2ml) 中に生成する錯体種の  $^{119}Sn$  NMR スペクトルである。

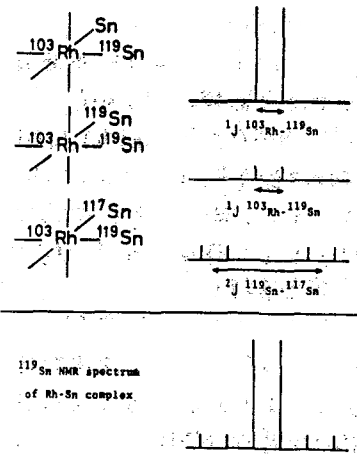


〈図3〉

この溶液中には、-914.2, -626.0, -395.4 ppm にメインピークをもち3種のピーク群のみが見出された。(↑は折り返しシフト) 不斉は、 $[Sn]/[Rh]=1$  の組成の塩酸水溶液から、 $[Rh(SnCl_3)Cl_5]^{3-}$ ,  $trans$ -と  $cis$ - $[Rh(SnCl_3)_2Cl_4]^{3-}$  および  $fac$ - $[Rh(SnCl_3)_3Cl_3]^{3-}$  の4種の錯体をテトラメチルアンモニウム  $[N(CH_3)_4]^+$  塩として単離<sup>2)</sup>している。この方法で  $fac$ - $[N(CH_3)_4][Rh(SnCl_3)_3Cl_3]$  を単離した後の溶液の  $^{119}Sn$  NMR スペクトルを測定したところ、-395.4 ppm のピークのみが消失していった。したがって、(1)このうちのどれかの単離段階で、相対生成量を著しく増大させた、あるいは(2)スズ配位子の分子内交換の速さで、幾何異性体の区別がなくなっている、のいずれかである。

$[Sn]/[Rh]=3$  の高温溶液から、 $trans$  または  $cis$ - $[N(CH_3)_4][Rh(SnCl_3)_4Cl_2]$

Contribution of  $^{117}Sn$  satellite peak in  $^{119}Sn$  NMR spectrum of Rh-Sn complex

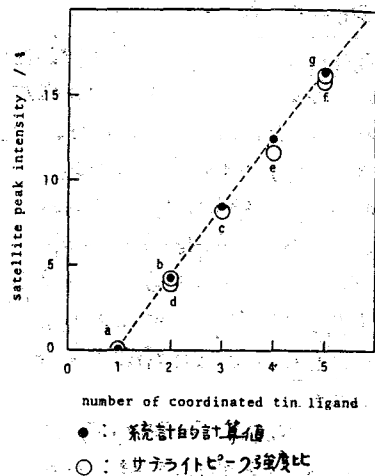


〈図2〉

も単離されている<sup>2)</sup>が、もし溶液内でこれらの錯体のスズ配位子位置が固定されているとすれば、cis体の場合にはメインピークが2組、trans体の場合は<sup>117</sup>Snがtransのcisのサテライトピークは2組あらわれなければならない。他方、スズ配位子の分子内交換が速いとすると、 $[Rh(SnCl_3)_4Cl_2]^{3-}$ 錯体として1組のメインピークとサテライトピークが現われ、しかもその強度比は統計的根拠から12.3%とならなければならない。

$[Rh(SnCl_3)_5Cl]^{3-}$ 錯体についても同様の事情がある。スズ配位子位置が固定されているとすると、メインピークは1:4の2組が現われ、後者には2組のサテライトピークが出現するはずである。他方、分子内交換が速ければ、1組のメインピークとサテライトピークが現われ、その強度比は16.4%とならなければならない。

<sup>119</sup>Sn NMR スペクトルパターンから(2)の仮定の正しいことが確かめられた。すなわちメインピークが2組見えていた例はなく、サテライトピークもまた常に1組のみが現われた。しかも図4に示すように、スズ配位数が、5, 4, 3 および2 のいずれの場合も、サテライトピーク強度比は、分子内交換を仮定した統計的計算値と、ピーク積分値による実測値がよく一致した。



各錯体種の NMR 定数を表1に示した。

$\delta(^{119}Sn)$  と  $J(^{103}Rh-^{119}Sn)$  の関係をプロットすると、 $\delta + 8.5$  ppm のピーク間の7倍異なった。(図5) この錯体のみが  $Rh(III)$  錯体であることは、 $Sn(IV)$  種の生成量から、すなわち  $Rh^{III} + 6Sn^{II} \rightarrow [Rh^I(Sn^{II})_6] + Sn^{IV}$  ---- (1) の化学量論が成り立つことから示された。他の錯体種は、例えば  $Rh^{III} + 3Sn^{II} \rightarrow [Rh^{III}(Sn^{II})_3]$  ---- (2) のような化学量論で生成していることになる。

-13°C までの低温測定でも、 $SnCl_3^-$  の分子内交換を凍結できるとのこと。

§2 <sup>119</sup>Sn NMR 定数の検討

$[Rh(SnCl_3)_n(Cl)_{6-n}]^{3-}$  ( $n=1-5$ ) 錯体においては、スズ配位子の配位数が増加するにつれて共鳴位置は

低磁場側にシフト (-991.6 ppm → -100.5 ppm) する。これはひとつには、 $Cl^-$  より  $SnCl_3^-$  の方が電子吸引的であることから理解できる。

結合定数は、金属-配位子間の結合性のよからである。  $[Rh(SnCl_3)_n(Cl)_{6-n}]^{3-}$  ( $n=1-5$ ) 錯体における  $J(^{103}Rh-^{119}Sn)$  は、 $SnCl_3^-$  配位子の配位数が増加するにつれて減少しており、 $J(^{117}Sn-^{119}Sn)$  に関して同様の傾向がある。(表1)

Table 1. <sup>119</sup>Sn NMR characteristics of various rhodium-tin complexes. The data were determined in 3 M HCl solution except for those with superscripts.

structure assignment	oxidation number of rhodium	number of coordinated tin ligand	$\delta$ / p.p.m.	$J(^{103}Rh-^{119}Sn) / Hz$	$J(^{117}Sn-^{119}Sn) / Hz$
a $[Rh(SnCl_3)Cl_5]^{3-}$	III	1	-991.6, -932.4 <sup>a</sup> , -914.1 <sup>b</sup>	864, 860 <sup>a</sup> , 850 <sup>b</sup>	none <sup>a, b</sup>
b $[Rh(SnCl_3)_2Cl_4]^{3-}$	III	2	-654.4, -637.0 <sup>a</sup> , -626.0 <sup>b</sup>	796, 791 <sup>a</sup> , 780 <sup>b</sup>	3056 <sup>a</sup> , 3091 <sup>b</sup>
c $[Rh(SnCl_3)_3Cl_3]^{3-}$	III	3	-411.1, -395.4 <sup>b</sup>	718, 708 <sup>b</sup>	2804, 2840 <sup>a</sup> , 2754 <sup>c</sup>
d $[Rh(SnCl_3)_4Cl_2]^{3-}$	III	4	-281.4	664	2222 <sup>c</sup>
e $[Rh(SnCl_3)_5Cl]^{3-}$	III	5	-204.3	590	2158
f $[Rh(SnCl_3)_3Cl]^{4-}$	III	3	-100.5	547	1952 <sup>c</sup>
g $[Rh(SnCl_3)_5]^{4-}$	I	5	+ 8.5	806	3634

a: concentrated residue after the separation of  $[Rh(CH_3)_4]_3[Rh(SnCl_3)_3Cl_3]$ , b: 12 M HCl solution (Figure 1), and c: HPA solution.

<表1>

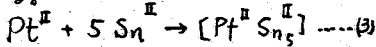
$\delta + 8.5$  ppm にあらわれ Rh(II) 錯体,  $[Rh(SnCl_3)_5]^+$  (g) の結合定数は、同じくスズ配位子が 5 個結合した Rh(III) 錯体,  $[Rh(SnCl_3)_5Cl]^+$  (f) に比較して特異的に大きいことは  $^{195}Pt$  NMR の場合) と同様、低原子価錯体の特徴が現われたことと理解することができる。

### §3. Pt-Sn 系錯体

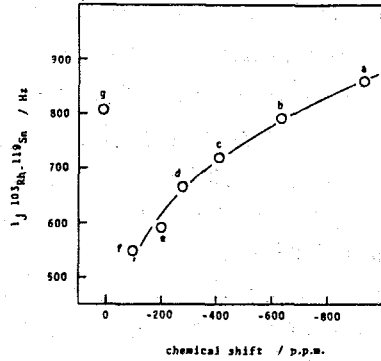
$[Sn]/[Pt] = 5$ , 3M 塩酸溶液中で得られたスペクトルを図 6 に示す。測定温度を高めると、ピーク幅は次第に大きくなる。 $^1J(^{195}Pt^{119}Sn)$ ,  $^2J(^{117}Sn^{119}Sn)$  の値は、それぞれ

16191 Hz, 6387 Hz とそれぞれ大きい。これは, Pople-Santry 式によって示されるフェルミ接触項の  $\gamma_{Pt}$ ,  $\gamma_{Sn}$ ,  $|\psi_{Pt}(0)|^2$ ,  $\pi_{PtSn}$  のいずれも大きい値をもつことに帰因すると考えられる。

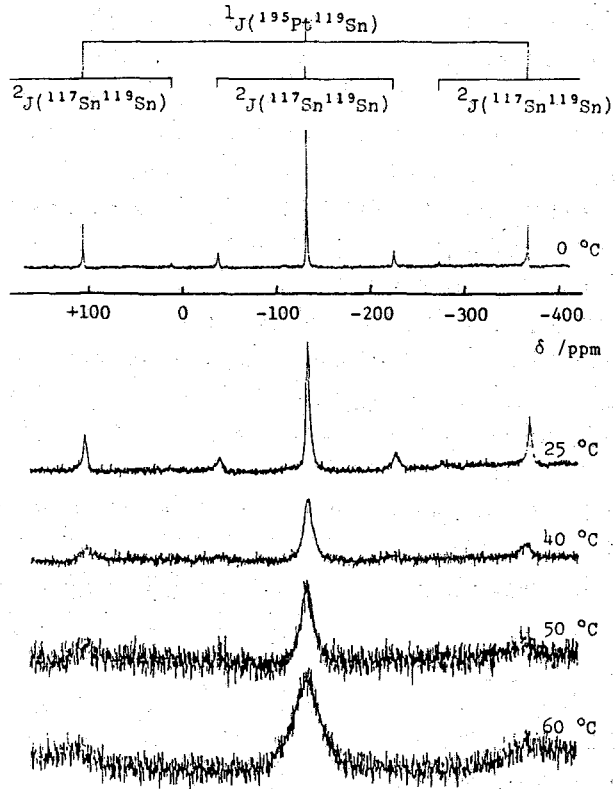
非配位の Sn(II), Sn(IV) が存在していることを NMR 的に確認したので次の化学量論関係が認められたことになる。



$^{117}Sn$  サテライトピーク強度比から白金の場合も 5 個の  $SnCl_3^-$  配位子は磁氣的に等価に存在しており,  $[Pt(SnCl_3)_5]^{II}$  における  $SnCl_3^-$  の分子内交換は速いことが示された。ヘキサクロロ白金(II)酸ナトリウムに臭化ナトリウム重水溶液を加えて生成した白金ハロゲン錯体では、すべての幾何異性体の NMR 的に区別される<sup>6)</sup>のに、 $SnCl_3^-$  配位子の場合容易に分子内交換する<sup>5)</sup>という特性は興味深い。



<図 5>



<図 6>

- 1) J.J.Burke and M.F.Lauterbur, J.Amer.Chem.Soc., 83, 326 (1961).
- 2) T.Kimura, E.Miki, K.Mizumachi and T.Ishimori, Chem.Lett., 1325 (1976); T.Kimura, Sci.Pap.Inst.Phys.Chem.Res., 73, 31 (1979).
- 3) P.S.Pregosin and L.M.Venanzi, Chem.Brit., 14, 276 (1978).
- 4) J.A.Pople and D.P.Santry, Mol.Phys., 8, 1 (1964).
- 5) K.A.O.Starzewski and P.S.Pregosin, Angew.Chem.Int.Ed.Engl., 19, 316 (1980).
- 6) S.J.S.Kerrison and P.J.Sadler, J.Magn.resonance, 31, 321 (1978); P.J.Sadler, JEOL News, 15A, 16 (1979).

## 1. はじめに

PROTON-CARBON CROSS POLARIZATION を用いた固体有機物の  $^{13}\text{C}$  NMR の観測においてはその感度と分解能のすばらしい向上がもたらされた。<sup>1,2</sup> 今回は、シランにおける  $^{29}\text{Si}$  NMR について報告する。液体試料の CROSS POLARIZATION では SPIN-SPIN COUPLING が磁化の TRANSFER に関して重要な役割をはたしている。そこでこのような CROSS POLARIZATION を J-CROSS POLARIZATION 又は JCP と呼ぶことにする。

JCP は通常の PULSE FT NMR と比較して、次の三点で異なっている。第1に、パルスの繰返し時間は存在比の少い核—例えば  $^{13}\text{C}$  又は  $^{29}\text{Si}$  等—の  $T_1$  ではなくて存在比の多い核 (PROTON) の  $T_1$  に依存している。第2番目には PROTON と存在比の少い核—以後 S と呼ぶことにする—の磁気回転比の比だけ S 系の NMR SIGNAL が増大する。第3番目には得られた CROSS POLARIZED NMR SIGNAL は CROSS POLARIZATION TIME の関数であると共に INDIRECT SPIN-SPIN COUPLING CONSTANT, J, で変調されている。はじめの二つの事実は固体の場合にもよく知られているが、三番目の現象は JCP に特有である。磁化は PROTON と結合している S 系との間で J に近い周波数で COHERENT に交換されるので第3番目の現象が生じてくる。

JCP の最初の実験は HARTMANN と HAHN<sup>3</sup> によつて PROTON と PHOSPHOROUS-31 との間で  $\text{HPO}(\text{OH})_2$  で PROTON の FID の変化を観測することによつて間接的に  $^{31}\text{P}$  NMR の SIGNAL を見出し  $J_{\text{PH}}$  を決定した。このとき JCP SIGNAL の  $J_{\text{PH}}$  による変調に関する理論的解釈を与えた。最近、MAUDSELY<sup>4</sup> によつて二次元 FT NMR で CROSS POLARIZATION TYPE の実験を、又 BERTRAND<sup>5</sup> は  $\text{AX}_N$  系での  $^{13}\text{C}-^1\text{H}$  及び  $^{15}\text{N}-^1\text{H}$  間の JCP に成功している。

## 2. 実験

装置は IOWA STATE UNIV. AMES LAB. の自作パルス NMR 装置、BIOMENTION製の TRANSIENT RECORDER 及び DEC製 PDP11-03 MINICOMPUTER を組み合わせたものである。周波数は  $^{29}\text{Si}$  が 11.129 MHz、 $^1\text{H}$  が 56.021 MHz である。高周波磁場  $B_1(^1\text{H}) = 10^{-4}\text{T}$  及び  $B_1(^{29}\text{Si}) = 5 \times 10^{-4}\text{T}$  である。これらの高周波磁場は HARTMANN-HAHN の条件を満足している。

## JCP実験

JCP実験では、 $90^\circ$  パルスの後に  $90^\circ$  位相を変えたスピニング・パルスを加え PROTON を  $B_1(^1\text{H})$  方向にロックする。同時に  $^{29}\text{Si}$  にもその LARMOR FREQ. で  $B_1(^{29}\text{Si})$  を加える。その加える時間を CROSS POLARIZATION TIME,  $\tau$ , と呼ぶ。二つの高周波磁場が HARTMANN-HAHN条件を満足したときに、全磁化を一定にしたままで PROTON と SILICON の間で分極を周期的に交換されて、Si の NMR 信号が観測される。

$\text{SiH}, \text{SiH}_2$  及び  $\text{SiH}_3$  の系で SPIN-SPIN COUPLING CONSTANTS を J とするとき、PROTON-DECOUPLED  $^{29}\text{Si}$  の磁化  $M_{\text{Si}}$  は CROSS POLARIZATION TIME,  $\tau$ , の関数として次式で与えられる：

$$M_{\text{Si}} = M_{\text{H}} \sin^2(\pi J \tau / 2),$$

たきとしひこ、そがべたかゆき、びー・まあふい、あーる・めっらー、てい・すくわいあー、びー・しー・があしゅてん

$$M_{Si} = M_H \sin^2 (\pi J \tau / \sqrt{2})$$

$$M_{Si} = M_H \left[ (1/2) \sin^2 (\pi J \tau / 2) + (1/2) \sin^2 (\pi J \tau \sqrt{3} / 2) + (1/4) \sin^2 (\pi J \tau) \right]$$

ここで、 $M_H$  は COUPLED PROTON の磁化である。 $M_{Si}$  を  $\tau$  の関数として PLOT したのが FIG. 1 である。

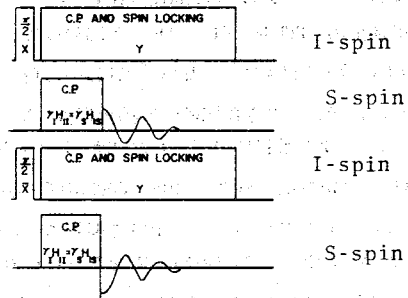
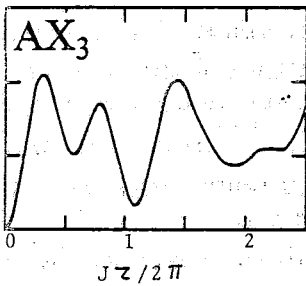
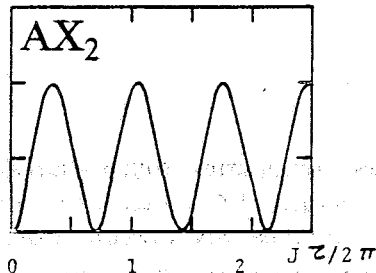
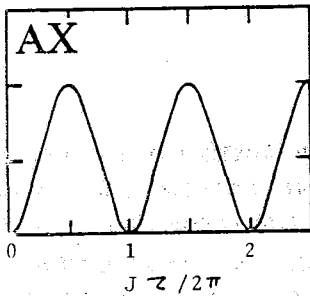


FIG. 2 JCP パルスシーケンス

FIG. 1  $M_{Si}$

JCP を用いて数種の有機物について化学シフトの測定も行った。

#### 実験方法

FIG. 2 に本実験に用いたパルスシーケンスを示す。Si に COUPLE している PROTON を スピンロックする。そして  $^{29}\text{Si}$  に高周波磁場  $B_1$  を加えて COSS POLARIZATION TIME,  $\tau$ , を変化させて  $B_1$  ( $^{29}\text{Si}$ ) 直後の FID の振幅を測定する。本実験では DC BASE LINE の影響を除去する為に COUPLED PROTON に加える  $90^\circ$  パルスの位相を  $180^\circ$  変えたパルスシーケンスを併用している。これにより、JCP による信号のみを観測している。全ての実験で HARTMANN-HAHN 条件のミスマッチングを 50 HZ 以内に調整している。PROTON の  $90^\circ$  パルス幅は 62  $\mu\text{SEC}$  で、Si の方は  $\tau$  を 0-数十 MSEC まで変えて測定をする。スピンロッキングとデカップリングのパルスは約 40 MSEC である。

#### 測定結果

0.25 ml の  $(\text{CH}_3\text{CH}_2)_3\text{SiH}$  に  $\text{Cr}^{3+}$  を少量加えて PROTON の  $T_1$  を短くする。この  $\text{Cr}^{3+}$  によつてはシリコン-29 の NMR は影響を受けない。受信系のバンド幅を 5. KHZ に設定し、パルスのくり返し時間を 3 SEC とすると 1 SCAN で SIGNAL-TO-NOISE RATIO は約 2 である。この値は通常の FT NMR によって得られた値の 5 倍になつていて理論的に予測された ENHANCEMENT FACTOR とよく一致している。FIG. 3 にトリエチルサイレンの 1SCAN の信号を示す。

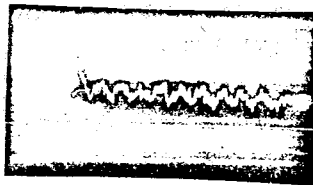


FIG. 3  $^{29}\text{Si}$  IN TRIETHYLSILANE  
 $4.0 \times 10^{19}$  SPINS  
 $T_{CP} = 5.0$  msecs  
 5 mm i.d. COIL  
 $H_1: 1, 5$  GAUSS  
 $f_0 = 11.129$  MHZ

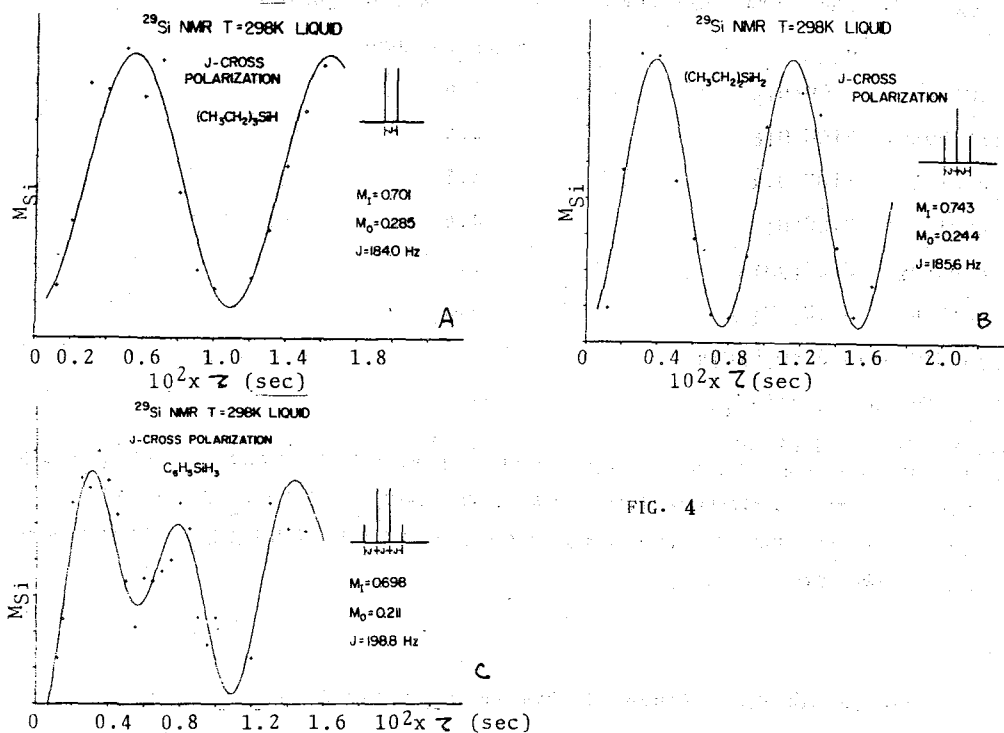


FIG. 4

FIG. 4A, B, 及び C にシリコン-29の磁化の CROSS POLARIZATION TIME,  $\tau$ , 依存性が示されている。十印が実験点で、実線は理論曲線である。理論曲線は実験値に LINE SHAPE FITTING TECHNIQUE で合わせたものである。実験点は二〜三回の測定値の平均値である。実際には  $M_{\text{Si}}$  の式に一定のバイアス  $M_0$  を加えて最小二乗法をもちいている。この理論曲線では  $M_1$ ,  $M_0$  及び  $J$  の三つのパラメーターがあり、これらを調整して最もよい一致の見られたものである。特に  $J$  については通常の FT NMR によつて得られている値に近い必要性がある。表 1 にこれらのパラメーターの値が示めされている。

表 1 理論曲線を求めた際に用いられたパラメーター

化合物	$M_1$	$M_0$	J HZ	J ( $\pi/2$ ) HZ	$\Delta$ HZ
			( $\pm 10$ )	( $\pm 5$ )	( $\pm 12$ )
$(\text{CH}_3\text{CH}_2)_3\text{SiH}$	0.701	0.285	184.0	195.4	66
$(\text{CH}_3\text{CH}_2)_2\text{SiH}_2$	0.743	0.244	185.6	195.4	61
$\text{C}_6\text{H}_5\text{SiH}_3$	0.698	0.211	198.8	205.6	52

この表で JCP で得られた SPIN-SPIN COUPLING CONSTANTS を  $J$ , 通常の FT NMR で得られた値を  $J$  ( $\pi/2$ ) 及び  $\Delta$  は HARTMANN-HAHN 条件 のミスマッチングである。  $\Delta = |J (\pi/2) - J|$  である。  $J$  の値は実験誤差の範囲内で通常の方法で得られたものとよく一致している。ミスマッチングは 60 HZ の程度である。

次に数種のシラン化合物の化学シフトの JCP 法による測定結果を示す。化学シフトはテトラメチルシランを 0 PPM としている。なお負の化学シフトは DOWN FIELD を示す。表 2 にその結果がまとめてある。

表2 SYLYL ETHER MODEL COMPOUND等の化学シフト R-(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>HSiO

	化学式	化学シフト PPM
R=n-butyl	SiOC <sub>6</sub> H <sub>16</sub>	-3.6
R=tert-butyl	SiOC <sub>6</sub> H <sub>16</sub>	-0.5
R=n-pentyl	SiOC <sub>7</sub> H <sub>18</sub>	-3.3
R=pentyl	SiOC <sub>8</sub> H <sub>12</sub>	-4.6
R= -naphthyl	SiOC <sub>12</sub> H <sub>14</sub>	-5.8
R= -naphthyl	SiOC <sub>12</sub> H <sub>14</sub>	-5.3
((CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> HSiOCH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub>	Si <sub>2</sub> O <sub>2</sub> C <sub>6</sub> H <sub>18</sub>	-4.9
((CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> HSi) <sub>2</sub> NH	Si <sub>2</sub> NC <sub>4</sub> H <sub>15</sub>	+10.1
(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> HSiCl	SiClC <sub>2</sub> H <sub>7</sub>	-11.1

次に JCP による信号を最大にする  $\tau$  を選び、PROTON DECOUPLING を行なわないで Si の信号を観測すると ENHANCE された多重線が観測され簡単にかつ速く正確に J-VALUE を決定することができる。

今後この方法は NOE で感度が増大しないシリコン-29や窒素-15などに応用され化学シフトや J の測定を容易にすることが期待される。

文献

- 1 A.Pines, M.G.Gibby, J.S.Waugh: J.chem.Phys. 59 (1973) 569.
- 2 J.Schaefer, E.O.Stejska, R.Buchdahl: Macromolecules 10 (1973) 384.
- 3 S.R.Hartmann and E.L.Hahn: Phys.Rev. 128 (1962) 2042.
- 4 A.A.Maudsley, L.Muller, R.R.Ernst: J.mag.Res. 28 (1977) 463.
- 5 R.D.Bertrand, W.B.Moniz, A.N.Garroway, G.C.Chingas: J.Am.Chem.Soc. 100.(1978) 5227.
6. P.Murphy, T.Taki, T.Sogabe, R.Metzler, T.Squires, B.C.Gerstein: J.Am.Chem. Soc. 101 (1979) 4055.



(化技研) ○林 繁信, 早水紀久子, 山本 修

金属水素化物は、水素エネルギーの貯蔵・輸送手段として有望視されており、最近多くの研究がなされている。水素の吸収・放出過程において、金属中の水素の拡散は重要なファクターであり、しかも、金属-水素系は固体内の原子拡散の基本的な系である。

バナジウム金属は、body-centered cubic の金属格子を持っており、多量の水素を吸収する。前回の報告<sup>1)</sup>では、バナジウム水素化物の $\beta$ 相領域において、 $VH_{0.90}$ 、 $VH_{0.59}$ のプロトンのスピン-格子緩和曲線を 55 MHz で測定し、単一の指数関数的減衰を示さないことを報告した。さらに、水素のサイトを仮定して緩和曲線の解析を行ない、各サイトの水素の拡散について考察した。

今回は、緩和曲線の測定を、周波数・装置などを変えて行ない、単一の指数関数的減衰を示さない現象が、周波数・装置に依らない試料固有の性質であることを明らかにした。さらに、緩和曲線の解析を、仮定を大幅に少なくして行ない、バナジウム水素化物中の水素の拡散について考察を行なった。

<実験> (1) 測定 用いた装置は PS-60RW (NMR speciality 社製) と CXP-100 (Bruker 社製) である。PS-60RW では  $VH_{0.90}$  の  $^1H$  を 15 MHz で測定した。90°パルスは約 4  $\mu s$  であった。積算は前回と同じ方式を用いた。CXP-100 では、 $VH_{0.90}$  を 90 MHz、55 MHz、 $VH_{0.59}$  を 55 MHz で測定した。90°パルスは 1-2  $\mu s$  であった。試料の温度コントロールは、PS-60RW が熱浴式、CXP-100 が送風式であるが、いずれの場合も温度を設定してから 30 分以上待ち、 $T_1$  の変動のない状態で測定した。温度の精度は  $\pm 1.0^\circ C$  以内である。緩和曲線の測定には 180°- $\tau$ -90°パルス法を用い、FID シグナルのまま強度測定を行なった。

(2) 試料 前回と全く同一の試料を用いた。但し、CXP-100 用には、アンプルの詰め替えを行なった。試料は、直径 9 mm $\phi$ 、高さ 11~13 mm の大きさである。

<結果及び考察> 緩和曲線は、 $VH_{0.90}$  では、90 MHz 200~400 K、55 MHz 77~416 K、15 MHz 200~320 K、 $VH_{0.59}$  では 55 MHz 77~420 K の範囲で測定を行なった。測定条件-温度、周波数、装置などによっていくらか差はあるが、単一の指数関数的減衰を示さず、二種類以上の  $T_1$  の存在を示唆している (図 1, 2 参照)。

前回の報告では、二種類のサイト- $O_2$ 、 $T_x$ -に水素が分布しているとして理論式をたて、2つの成分の比率を決めた。そして、Boltzmann 分布を仮定して、各温度における成分比を求め、緩和曲線を 2 成分に分離して各  $T_1$  を求めた。

理想的な条件下で緩和曲線が測定されたなら、すなわち、各成分比が緩和曲線に正確に反映されているならば、前回の解析はかなりの得ているが、現実の測定には種々の制約があり、必ずしも理想的にはいかない。図 1, 2 は  $VH_{0.90}$  の緩和曲線であるが、試料、温

はやし しげのぶ, はやみず きくこ, やまもと おさむ

度、周波数は全く同じなのに、緩和曲線の曲がり方が変化して見かけの成分比が変わってしまう。各曲線で違うのは、パルス照射からデータ取込開始までの時間である（ここでは delay time ということにする）。幅の広いピークの FID シグ

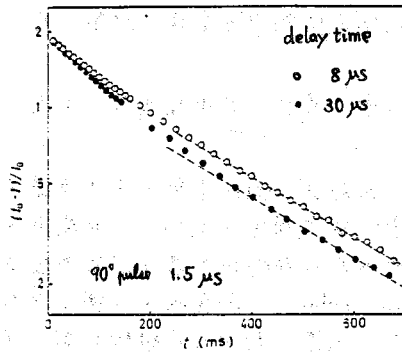


図1.  $VH_{0.90}$  183 K 1H 55 MHz の緩和曲線 (CXP-100)

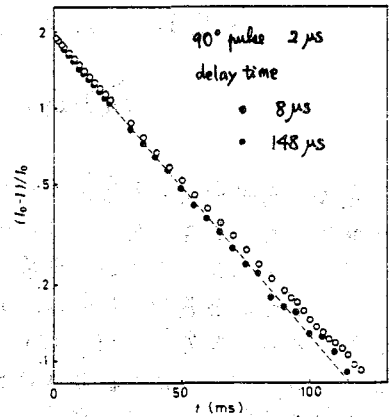


図2.  $VH_{0.90}$  416 K 1H 55 MHz の緩和曲線 (CXP-100)

ナルは減衰が速いため、delay time をできる限り短くしなければ、シグナルを測定できない。ところが、パルス照射後、装置が落ち着くまでにある時間が必ずあり (dead time とされている)、delay time を 0 にすることはできない。図3に、見かけの成分比が delay time のとり方によって異なることを模式的に示した。 $T_2$  の異なる2成分—すなわち、ピークの幅の異なる2成分が存在する時、FID のどの点をとるかによって緩和曲線が変化してしまう。

逆に、 $T_2$  の異なる2成分が存在する場合、delay time を変化させて緩和曲線を測定することにより各成分の  $T_1$  を精度良く決めることができる。

図1の  $VH_{0.90}$  (183 K) において、 $t$  の大きなところで傾きは delay time に依らずほぼ一定である。このことから  $T_1$  の長い成分が主成分であり、その  $T_1$  は 360 ms である。主成分を差し引くと、第二成分の  $T_1$  値として 100 ms という値が得られ

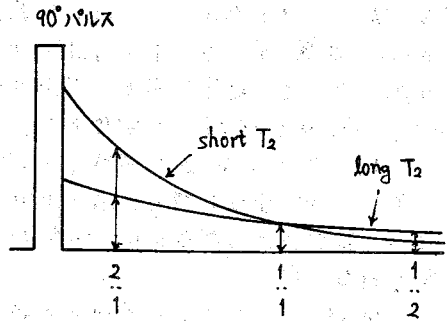


図3.  $T_2$  の異なる2成分の FID

る。見かけの成分比の delay time 依存性から、主成分の方が吸収線幅が広いことがわかる。さらに、吸収線の形として Lorentzian を仮定すると、第二成分の割合は 15% 程度になる。このようにして、delay time によって見かけ上緩和曲線の形が変化しても、360, 100 ms という各成分の  $T_1$  の値が delay time に依らず出てくるということは、この緩和曲線が2成分の和になっていることを示すものである。O. J. Zogal らは広幅スペクトルを用いて  $VH_{0.770}$  が 130~170 K 付近において線幅の違う2つのピークを示すことを報告している<sup>2)</sup>が、それを緩和曲線の方から裏付けたことになる。

一方、図2の  $VH_{0.90}$  (416 K) においては、183 K における程顕著な変化は見られず、2成分の  $T_2$  値の違いがさほど大きくないと考えられる。しかし、 $t$  の大きな領域において、delay time が小さいほど曲がる傾向が見られる。その小さい領域では delay time に依らない傾きが見られ、 $T_1$  の短い方の成分が主成分であることがわかる ( $T_1 = 37$  ms)。また、 $T_1$  の長い第二成分の方が線幅が広い。第二成分の方が  $T_1$  が長い場合、図2のような実験精度

ではその $T_1$ を決めるのは不可能であり、あと1~2桁の精度が必要である。

以上のようにして、VH0.90において主成分は、低温側においては長い方の $T_1$ 、高温側においては短い方の $T_1$ を示すことがわかった。 $T_1$ の変化がなめらかなことから、相転移などによる $T_1$ の急激な変化はないと考えられる。図4~6に、各測定周波数において求めた各成分の $T_1$ の温度変化を示した。主成分については全温度領域で $T_1$ 値が求められるが、第二成分については低温側の一部でしか $T_1$ 値が求められない。高温側では主成分より長い $T_1$ を持っていることから、図4~6に示した点線のように、ある温度で交叉しているものと推定される。 $T_1$ 値の温度変化から、第二成分の水素の方が主成分の水素より速く動き回っていると考えられる。

'Hの緩和時間 $T_1$ は、

$$1/T_1 = 1/T_{1d} + 1/T_{1e} \quad (1)$$

と表わされる。 $T_{1d}$ は'Hの拡散による緩和時間、 $T_{1e}$ は'Hの伝導電子との相互作用による緩和時間であり、

$$T_{1e} \cdot T = K \text{ (constant)} \quad (2)$$

の関係がある。 $T_{1d}$ は'H-H間、'H-V間の双極子-双極子相互作用の和で表わされ、

$$\frac{1}{T_{1d}} = \frac{2}{5} \frac{\mu_H^2 \mu_V^2}{\hbar^2} I(I+1) \left\{ \frac{\tau/2}{1 + \omega_H^2 (\tau/2)^2} + \frac{2\tau}{1 + \omega_H^2 \tau^2} \right\} \cdot \sum_i (r_{iH-H})^{-6} \\ + \frac{2}{15} \frac{\mu_H^2 \mu_V^2}{\hbar^2} S(S+1) \left\{ \frac{\tau}{1 + (\omega_H - \omega_V)^2 \tau^2} + \frac{3\tau}{1 + \omega_H^2 \tau^2} + \frac{6\tau}{1 + (\omega_H + \omega_V)^2 \tau^2} \right\} \cdot \sum_j (r_{jH-V})^{-6} \quad (3)$$

という形になる。これは'Hの mean jump time である。

図7に(1)~(3)式を用いて求めた $T_1$ 値を示した。中性子線回折などから、水素が octahedral

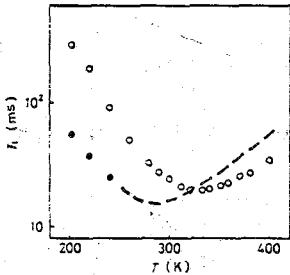


図4. VH0.90 'H 90MHz の $T_1$  (CXP-100)

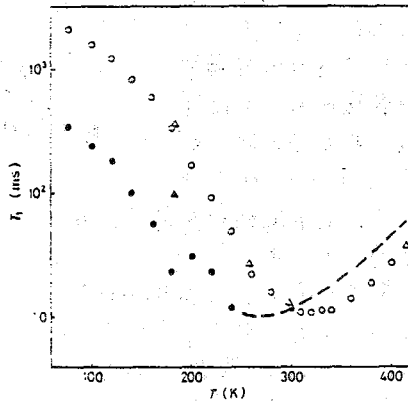


図5. VH0.90 'H 55MHz の $T_1$   
 ○△: 主成分, ●▲: 第二成分  
 ○●: PS-60RW, △▲: CXP-100

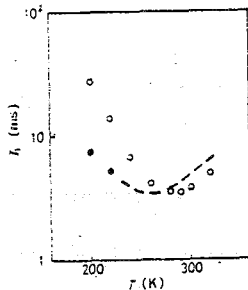


図6. VH0.90 'H 15MHz の $T_1$   
 (PS-60RW)

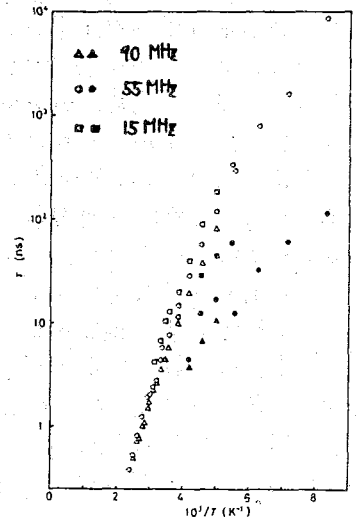


図7. VH0.90 の mean jump time  
 白: 主成分, 黒: 第二成分

siteにはいっていることが知られているので、主成分については octahedral site を仮定し、第二成分の影響を無視した。  $K \approx 160 \text{ s} \cdot \text{K}$  となった。また、 $T_1$  の最小値の実験値と(3)式の理論値が不一致であるため、(3)式の第二項に補正を加えたが、今回はバナジウム核の  $\rho$  値を補正する形にした。補正係数は  $90 \text{ MHz}$  で  $0.66$ 、 $55 \text{ MHz}$  で  $0.71$ 、 $15 \text{ MHz}$  で  $0.65$  だった。平均すると  $0.67$  である。但し、 $H-V$  項だけでなく、(3)式の右辺全体に補正係数をかけても、得られる  $\tau$  値はほとんど変わらず、結果そのものへの影響はない。図7のプロットから、主成分の高温側の自己拡散の見かけの活性化エネルギーは約  $5 \text{ kcal/mol}$  となる。低温側において見かけの活性化エネルギーが低くなる傾向にある。

第二成分については、決めることのできた  $T_1$  値の数が少なく、しかも最小値が得られていないので、 $\tau$  値を(3)式から求めることはできない。図7に示した値は、主成分に準じて計算して求めた値である。低温領域において温度の上昇に伴い、第二成分の方が先に線幅が減少し、しかも短い  $T_1$  を示すことから、主成分より第二成分の方が動きが速いと考えられる。図7のように第二成分の  $\tau$  値の方が主成分のそれより短いのは間違いないと推測される。第二成分の正体については本研究の精度では議論できない。

全く同様の手法を  $\text{VH}_{0.59}$  にも適用した。  $209 \text{ K}$  と  $417 \text{ K}$  において delay time を変化させて緩和曲線を測定したところ、 $\text{VH}_{0.90}$  の  $416 \text{ K}$  における同じようにその小さな領域では曲線の変化がほとんど見られなかった。このことから、 $T_1$  の短い方の成分が主成分と見られる。また、中間の温度領域においては、緩和曲線の曲がりはずかであり、第二成分が微量であることを示している。以上のことから、 $\text{VH}_{0.59}$  では主成分のみの  $T_1$  値が得られ(図8)、第二成分の  $T_1$  を決めることはできなかった。主成分については、図8からわかるように、 $200 \sim 300 \text{ K}$  において  $T_1$  が特異的な変化を示し、この温度領域において、水素配列の変化による相転移が起きていることを示唆している。

$\text{VH}_{0.59}$  の主成分について、水素のサイトを octahedral とし、相転移や第二成分を考えないで(1)~(3)式を用いて  $\tau$  値を求めると図9のようになる。  $\rho$  の補正係数は  $0.60$ 、 $K \approx 90 \text{ s} \cdot \text{K}$  となった。自己拡散の見かけの活性化エネルギーは  $210 \text{ K}$  以下で  $3 \text{ kcal/mol}$ 、 $210 \sim 300 \text{ K}$  で  $2 \text{ kcal/mol}$ 、 $300 \text{ K}$  以上で  $8 \text{ kcal/mol}$  となった。

<文献> 1) 林, 早水, 山本, 小野, 第18回 NMR 討論会 大阪 1979. 2) O.J. Zogal and B. Stalinski, Proc. XIVth Colloque AMPÈRE 432 (1967).

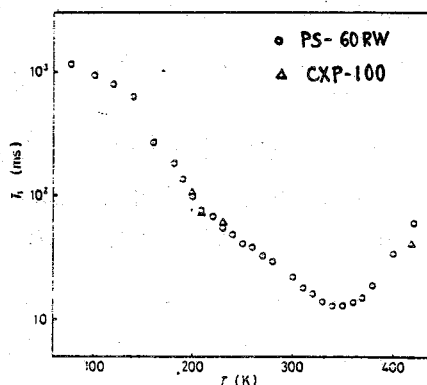


図8.  $\text{VH}_{0.59}$   $^1\text{H}$   $55 \text{ MHz}$  の  $T_1$  (主成分)

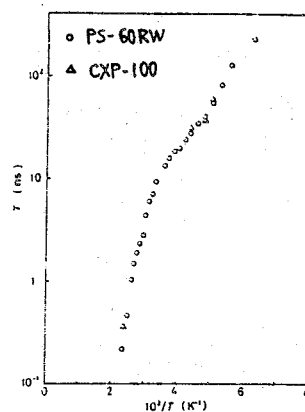


図9.  $\text{VH}_{0.59}$  の  $^1\text{H}$  主成分の mean jump time

# 207 Carbon-13 NMRによる低密度ポリエチレンの 分岐種の帰属(II)

(国際科学振興財団) 西岡篤夫 (日本ビクター) 向中康雄  
(日本電子株式会社) 大内宗哉, 今成 司

## 1. 目的

低密度ポリエチレン(LDPE)中の分岐種に関し、特にBranched branching(複  
合分岐種)について $^{13}\text{C}$  NMRにより帰属を行うこと。また25 MHzにおける測定結果  
(同じ表題のI)と50 MHzにおけるそれとの比較を行うこと。

## 2. 実験

試料はRAPRA(英国Rubber And Plastics Research Association)製LDPE-1c  
Mw 2万, Mn 40万。測定条件はFig. 2の説明参照。

## 3. 結果と考察

Fig. 1に分岐種と炭素原子の表記を示し、Fig. 2にスペクトルを示す。ピーク10付した  
番号は25 MHzにおけるスペクトルと同じで、これはより50 MHzにおける合解種の  
向上を示される。またスペクトル上部には12種の分岐種と帰属の異なる10個の炭素原  
子のシフト値をLindeman-Adams則により計算した結果を図示した。シフト9組成  
則による計算はLA則のほかにGrant-Paul, Randall, Yamamotoの諸則によるものも  
行った。

25 MHzにおける測定結果では5933本のピークが得られ、これはかつてLA及  
山本式によりC<sub>2</sub>, C<sub>4</sub>, C<sub>5</sub>, C<sub>6+</sub>, P, Q, R, Sの8種の分岐種の帰属が行われ、Willbourn  
の提案したdouble back-biting機構によるbranched branching 4種の存在を  
結論した<sup>1)</sup>が、今回の50 MHzにおける測定結果はこれにピークは5000本以上あり、  
分岐種の構成は更に複雑であることを示唆する。以下特異的な諸異に  
ついて述べる。

i) ピーク33が2本であること: 25 MHzでブロードなスペクトルが明瞭に2本に  
分かれた。前報(I)ではAxelsonと同様にS<sup>1</sup>に帰属したが、同様の反転機構で(T)型の  
分岐種が多いため、これをT'として帰属が可能。

ii) ピーク32が3本であること: 中央のピークがその両側に稍弱いピークが肩  
として認められる。これは(L)型の存在を示唆する<sup>2)</sup>、またこの型は(P)との類似によ  
って可能性もある。

iii) ピーク30: (I)報ではC<sub>1</sub>とC<sub>3</sub>については積極的に帰属を試みなかったが、今  
回は一度その存在が明らかである。これはC<sub>1</sub><sup>1</sup>, C<sub>3</sub><sup>2</sup>に帰属可能であり、またL<sup>3</sup>にも帰  
属されるので、C<sub>1</sub>, C<sub>3</sub>, Lの存在は有力な反証となる。

いしおか あつお, 若が い けすお, おうさ むねき, いまほり まもる

iv) 令政英のシフト: 従来は令政英濃素 (Br) にフ... では  $C_2^{Br}$  が主に利用されて... だが  
分解能の向上に伴い、34~42 ppm の広い範囲に Br があふれることが分る。本報告令政  
種および令政構造の複雑は存在する Br は厳密にシフト変化を生ずるべきであり、  
範囲はあふれるべきと考えられる。

v) 定量分析: 令政種が複雑に存在するほど定量分析は困難である。積分値を用いて令政  
種を数個のバンドに分けて大凡の量を知りてみると、低濃度の Br 部の強度が全々中心  
強度より大きい。これは令政の原因が考えられるが、一つは二重結合に近い炭素  
の存在がある。アルカニとアルケンの両者を統一的に包含する組成則を確立したのは  
本報告の考えが、山本の式で試算した結果は与えて来筋に比し心算もつ  $C_2 \sim C_4$   
の低能令政の Br は 37~42 ppm にシフトがある。このほか炭素の番号番号と  
低濃度スピンが複雑にひびくことが理解される。

vi) その他: 前述の令政種は主に back-biting および double back-biting 機構  
の下に生成すると考えられるが、白山は溶媒効果の実験結果から溶媒に依り  
令政種分布に大差の生ずることを報告している。重合反応工学的に与ると  $C_1, C_3$ , 29 他  
令政種を抑制するが、令政種の令政構造の生成可能機構があるとして LDP E の令政種  
は今後一層の研究が必要とされている。

なお試料については RAPPRA のほかには NBS の標準 LDPE と市販品と安定剤の有無  
を検討し種々をわけて検討している。

文献

M. J. Roedel, J. Amer. Chem. Soc., 75, 6110 (1953)  
A. H. Willbourn, J. Polymer Sci., 34, 569 (1959)  
白山, 岡田, 高分子化学, 28, 325 (1971)

$^{13}C$ -NMR:

D. E. Dorman, E. P. Otocka, and F. A. Bovey, *Macromolecules*, 5, 574 (1972).  
J. C. Randall, J. Polymer Sci., Polym. Phys. Ed., 11, 275 (1973)  
渡智彦, 鈴木理夫, 小坂研一, 高分子論文集, 32, 91 (1975)  
F. A. Bovey, F. C. Schilling, F. L. McCracken, and H. L. Wagner,

*Macromolecules*, 9, 76 (1976)

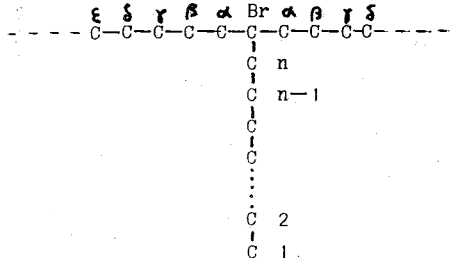
西岡篤夫, 安藤 勲, 松本淳一, 分析化学, 26, 308 (1977)  
D. E. Axelson, G. C. Levy, and L. Mandelkern, *Macromolecules*, 12, 41 (1979)  
西岡篤夫, 向井康雄, 大内崇敏, 今成 可, (I): 分析化学, 投稿中

加成則:

D. M. Grant and E. G. Paul, J. Amer. Chem. Soc., 86, 2984 (1964)  
L. P. Lindeman and J. G. Adams, *Anal. Chem.*, 43, 1245 (1971)  
J. C. Randall, J. Polymer Sci., Polym. Phys. Ed., 13, 901 (1975)  
山本 修, 柳沢 勝, 日化年会 (1978.4), 第 17 回 NMR 討論会 (1978.10)

Fig. / 分岐種と炭素原子の表記

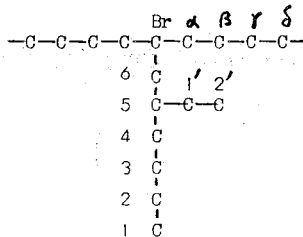
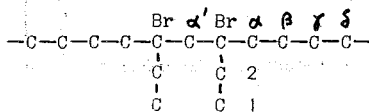
(C<sub>n</sub>) : Methyl, Ethyl, Propyl, Butyl, Amyl, Hexyl, + (Isolated branching)



(P) (Q) (R) (S) (T) (U) : Branched branching

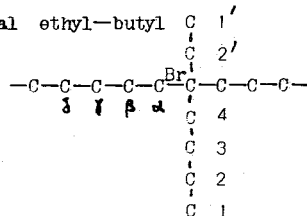
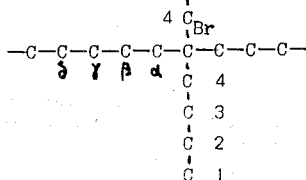
(P) : 1, 3-ethyl pair

(Q) : 5-ethyl-hexyl



(R) : Tetrafunctional butyl

(S) : Tetrafunctional ethyl-butyl



(T) : Tetrafunctional ethyl

(U) : 1, 3-ethyl-butyl pair

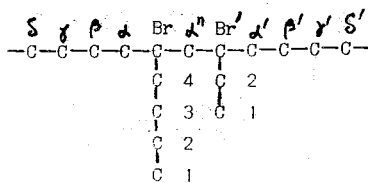
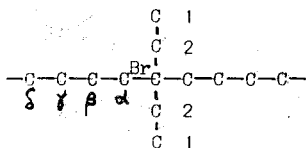
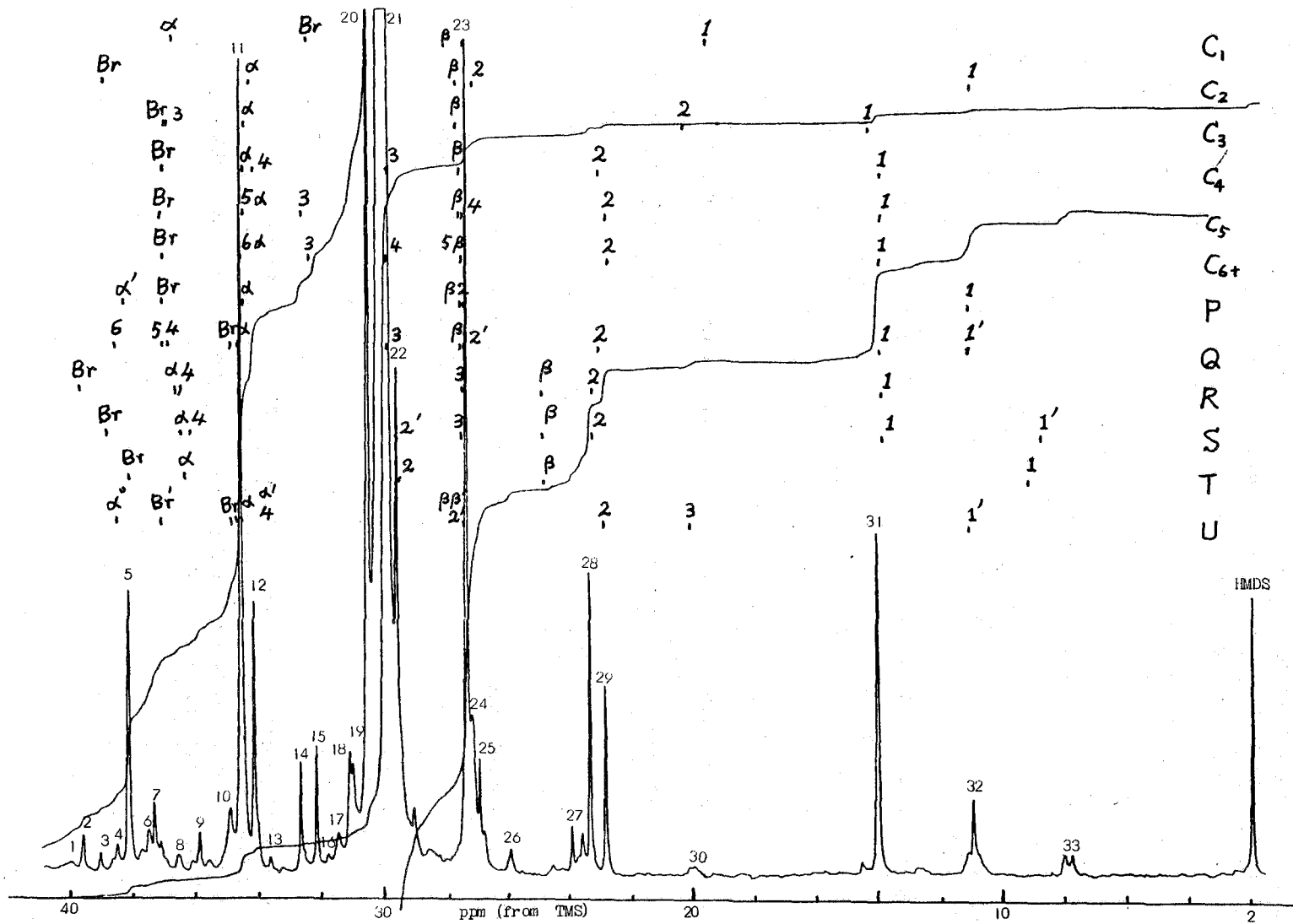


Fig. 2 LDPE (RAPRA: PE-1) の 50 MHz における Carbon-13 NMR スペクトル (次ページ)

分光器: JEOL FX-200, 溶媒: 1,2,4-trichlorobenzene 2.4 ml + benzene-d<sub>6</sub> 0.6 ml  
濃度: 25 W/V %, 内部基準: HMDS (ただし、シフト値はTMS基準に換算.. 2.03 ppm), 温度: 120°C  
45°パルス、くり返し時間 10秒、積算 9999回





208 ポリエーテル系物質のトリウム(I)イオン取りこみにもとより観測されるトリウム-他核間スピン結合とその利用について。  
(ツオノ干研)の照平彬弘, 通知夫, 辻直樹, 長島一男

ポリエーテル系の物質が金属イオンをとりこみやすく、その金属塩の脂溶性を利用して膜透過性イオン担体としての機能を發揮したりすることはよく知られている。

ポリエーテル類がどういふかたちで金属イオンをとりこむかは興味深くまた重要な問題であるが、その方面の研究は主として結晶状態のX線解析によってなされ、溶液状態での話もその結果に大きく頼っているのが現状である。何か新たな金属イオン取りこみ形態を追求するための手段、情報源の出現が待たれるところである。

ポリエーテル類に $Tl^+$ イオンがとりこまれると $Tl$ -他核間スピン結合が現れるという報告が少数ながらなされている。<sup>1)</sup> この現象は $Tl$ 塩および $Tl^+$ イオン半径のよく似た金属イオン( $K^+$ ,  $Rb^+$ など)から生ずる塩類の金属イオン取りこみ形態の研究に有力な情報と交換する可能性を秘めているが、スピン結合の現れる条件やその大きさが傾向などの初歩的なことからもまだよくわかっていない。そこで、われわれは比較的単純な化学構造を有し、ある条件下の金属塩生成のための安定度定数など、性質の若干程度よく知られているポリエーテルをはじめとして、いくつかのポリエーテル系物質の $Tl$ 塩を調整し、そのNMR挙動を調べてみた。

$XL-100$  ( $^1H$ :100MHz,  $^{13}C$ :25MHz)および $NV-14$  ( $^1H$ :60MHz,  $^{13}C$ :15MHz)の両機種を用いて $^1H$ および $^{13}C$ スペクトルを測定し、周辺数値依存性の無いシグナルの分裂中を映し出すことによりトリウム-他核間スピン結合定数を求めた。測定装置は $J_{Te,C}$ の場合、 $Ca, H_2$ の条件がある。 $^1H$ の方は一部のものを除いてはシグナルバターンが複雑で、正確な $J_{Te,H}$ があまりにくりか、 $^{13}C$ の方は正確な $J_{Te,C}$ を定めやすい状況にあるので今回は $^{13}C$  NMR dataを中心に報告する。

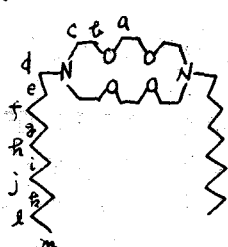
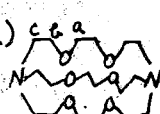
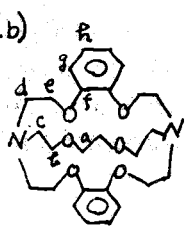
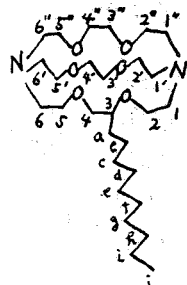
以下に測定されたdataの一部を記しておく。

$^{13}C$  data of Polyethers at 30°C ;  $\delta$  and ( $J_{Te,C}$ ).

(Ia)	Salt free		$TlNO_3$ salt		
	$CDCl_3$	$CD_3OD$	$CDCl_3$	$CD_3OD$	
	70.7	71.5	69.8 (J=0)	70.9 (J=0)	
(Ib)*	a	70.1	69.1	70.6	
	b	69.1	67.7	68.3	
	c	149.0	150.2	147.1 (J=0)	148.1 (J=0)
	d	114.1	114.8	112.3	113.1
	e	121.4	122.5	121.9	122.9

(\* の場合は  $TlClO_4$  salt).

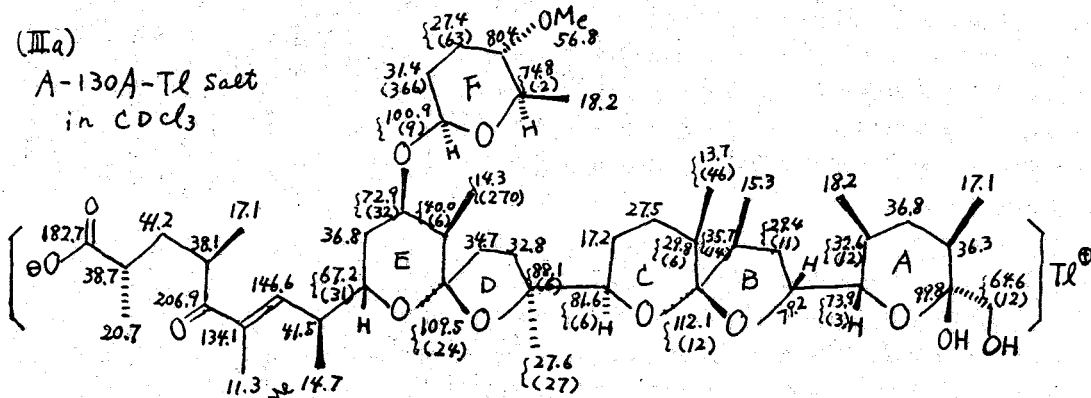
てるいよしひろ, とおりがすあ, つじなおき, ながしまがすあ

	Salt free		TlNO <sub>3</sub> salt	
	CDCl <sub>3</sub>	CD <sub>3</sub> OD	CDCl <sub>3</sub>	CD <sub>3</sub> OD
(Ic)				
	a	70.8	71.6	70.0
	b	70.2	70.5	68.5
	c	54.2	54.8	53.2
	d	56.1	56.7	52.3
	e	27.4	28.0	23.2
	f	27.6	28.5	27.7
	g, h, i	29.9	30.6	29.7
	j	29.4	30.3	29.4
	k	31.9	32.9	31.9
	l	22.7	23.6	22.7
	m	14.1	14.4	14.1
			(J=0)	(J=0)
(IIa)				
	a	70.8	71.7	70.0 (0)
	b	69.9	70.8	68.0 (10)
	c	56.2	56.9	54.4 (11)
				71.2 (0)
				69.3 (10) → (8) <sub>1a8</sub>
				55.6 (11) → (12) <sub>1a8</sub>
(IIb)				
	a	70.7	71.5	69.7
	b	70.5	71.2	69.7
	c	55.1	55.7	52.3
	d	55.1	55.9	55.3
	e	68.3	69.2	65.3
	f	149.3	150.4	146.4 (broad)
	g	115.3	116.0	111.7
	h	121.4	122.5	121.6
				(J=0)
				70.7 (6)
				70.4 (0)
				52.9 (5)
				56.3 (0)
				66.5 (0)
				148.1 (21)
				112.7 (0)
				122.4 (5)
(IIc)				
	2	69.7	70.2	64.8 (18)
	3	79.0	80.0	78.4 (6)
	4	74.9	75.3	72.6 (0)
	a	32.1	32.8	29.1 (17)
	b	25.6	26.3	25.0 (17)
	c	29.7	30.6	29.8 (0)
	d	29.6	30.5	29.5 (0)
	ef	29.6	30.5	29.5 (0)
	g	29.3	30.2	29.2 (0)
	h	31.8	32.8	31.8 (0)
				65.9 (17)
				79.6 (3)
				73.4 (0)
				30.0 (17)
				25.9 (18)
				30.7 (0)
				30.3 (0)
				30.4 (0)
				30.2 (0)
				32.7 (0)

(IIc)	Salt free		TlNO <sub>3</sub> Salt		
	CDCl <sub>3</sub>	CD <sub>3</sub> OD	CDCl <sub>3</sub>	CD <sub>3</sub> OD	
Continued	i	22.6	23.4	22.6(0)	23.4(0)
	j	14.1	14.4	14.1(0)	14.4(0)
	1, 1', 1'', 6, 6' and 6''	56.1~56.7	56.6~57.3	53.6~55.4(J?)	54.5~58.4(J?)
	2, 2', 2'', 5, 5' and 5''	69.7~70.2	70.2~70.8	67.7~68.4	68.7~69.4
	3', 3'', 4' and 4''	70.6~71.1	71.4~71.8	~69.9(J=0)	70.9~71.0(J=0)

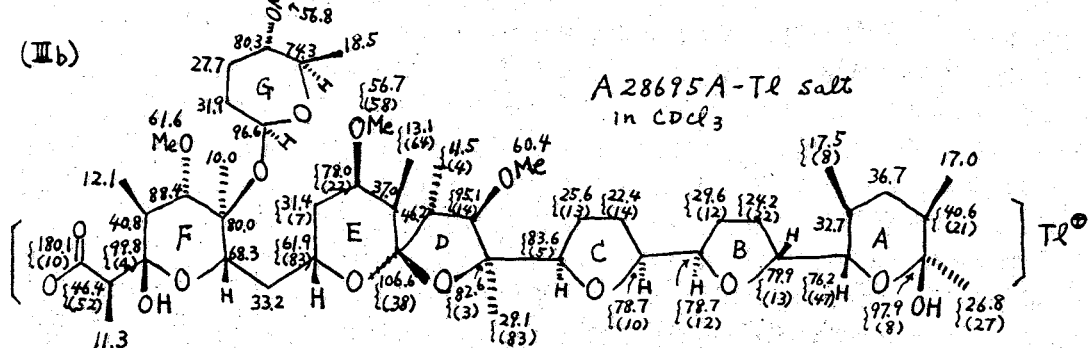
(IIIa)

A-130A-Tl salt  
in CDCl<sub>3</sub>



(IIIb)

A 28695A-Tl salt  
in CDCl<sub>3</sub>



上記以外の化合物、異なる溶媒系、温度変化の data などから得られているが、紙面の都合上省略し、これらの data から得られる情報で比較的重要と思われるものを列記する。

(1). タリウム核は天然の存在比が  $^{205}\text{Tl} : ^{203}\text{Tl} \approx 7 : 3$  であるが、両者とも  $I = 1/2$  であり、また磁気回転比 ( $\gamma$ ) も非常に接近した値なので、ポリエーテルのタリウム塩類に見られる程度のスピン結合の大きさでは両者の間にほとんど差は無く、見かけ上 1 種のスピン結合定数であらわされるような単純な分裂パターンを呈するので、 $^{13}\text{C}$  シグナルの JTC はそのまま記されている。ただし、接近したソフト域のシグナルがともに分裂して

場合は、2重線のペアのとり方に任意性が生ずるので、正しい帰属を行うためには、周波数を変えて測定する必要がある。また、ここで紹介されたものより更に大きなJ値が現れる場合も考えられるが、その際は分解能が1 Hz程度の条件でも $J_{205\text{Te,C}}$ と $J_{203\text{Te,C}}$ の2種の分裂ペアが別々に観測されるであろうから帰属の際注意を要する。

(2). ポリエーテルの金属塩は一般に媒質の脂質性が増すにつれてその安定定数も増す傾向にあることが報告されている<sup>2)</sup>。ところが、(II)の系列のTl塩などに見られるように、Counter anionの存在する系では $\text{CD}_3\text{OD} \rightarrow \text{COC}_2\text{D}_5 \rightarrow \text{d}_6\text{-Bz}$ と溶媒が変るにつれて $J_{\text{Te,C}}$ は現れにくくなり、安定定数も考えられる傾向とは逆に成ってしまう。この事実は、Counter anionがion pairとして近くにあって、とりこまれた金属イオンと相互作用するような系ではその分、ポリエーテル分子と金属イオンとの相互作用が弱められ $J_{\text{Te,C}}$ が現れにくくなると解釈され、逆に $\text{CD}_3\text{OD}$ 中ではCounter anionが切り離された状態になりやすいのでJが観測にかけやすくなるものと考えられる。したがってJの現れ方には安定定数のようなものだけでなくほかの要因(相互作用の内容)が重要な寄与をしていると言えよう。

(3). 上と関連する事だが、一般に、(I)の系列の球状やや平面的な塩では $\text{TL}^+$ とヒリニと考えられる系では開口面側からCounter anionが金属へ作用しやすい状況にあり、また安定定数も(II)の系に比して小さいからJの観測は困難になる。ポリエーテルが立体的に金属イオンをつつまこみ、Counter anionの直接的働きかけと阻害するような系ではJが観測にかけやすくなる傾向と成る(IとIIの比較)。さらに、Counter anionの存在しない(II)の系列では大きな値のJが観測されるようになってくる。

(4). 温度変化のdataから、温度上昇につれてポリエーテルの動きが激しくなり、 $\text{TL}^+$ の出入りもひんぱんになることに対応して、一般にTl-他核間スピン結合定数は小さくなり速には消失していく傾向が見られる。しかし、(II)の系でも見られることだが、炭素によって温度を下げて行くと逆に $J_{\text{Te,C}}$ が小さくなる傾向を示すものもある。こういう挙動をするものは積数の型の金属イオンとりこみ形態が関与する系(1:1 complexの場合は異なる conformers の寄与、あるいは2:1 complexの関与など)とみてもまちがいはない。即ち、ポリエーテルTl塩の特定炭素に因して一方のとりこみタイプのA型にみても $J_{\text{Te,C}}$ が大きく、他方のB型では小さい時に、温度下降によりB型の寄与が増大するような系ではこういう現象が見られるということである。事実、(II)の系はNの lone pairがともに内向型に向いた endo-endo型、一方が内向型他方が外向の endo-exo型、双方とも外向型の exo-exo型などの平衡系が考えられてくる。1:1 complex以外の寄与のあるものはJが観測しにくくなる。

(5). Jの現れ方は金属イオンとりこみ形態によってまちまちであるが、良く似た形態の場合は類似点の多い挙動を示す。そのパターンは状況により多様であり、ひとまじめにはし難いが、共通項をぬき出せば、 $J_{\text{Te,C}}$ は $\text{TL}^+$ に直接Participateしている electronegative hetero atomのつけ根から数えて  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -位、またはその一部の炭素に現れ、 $\delta$ -位では現れにくい特徴がある。

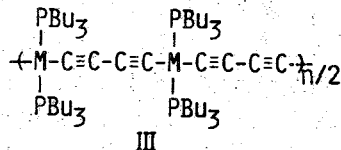
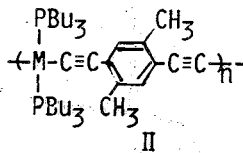
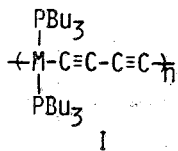
これらの知見はポリエーテル金属塩の解析に有効性を発揮する。その実例も紹介の予定である。

[REFERENCES] (1) J.M. Lehn et al., JACS 92, 2916 (1970), R.W. Briggs et al., Biochemistry, 17-25, 5576 (1978), J.Y. Lallemand et al., J. Chem. Research (S), 162 (1979). (2) Structure and Bonding, 16, 60, Springer-Verlag, Berlin Heidelberg New York (1973).

(阪大産研) 高井嘉雄 森本孝子 高橋成年 植野健吉 萩原信衛

序論

液晶がNMRに応用されてからおよそ20年経過しているが、その応用は液晶溶媒を利用した簡単な分子の構造決定および異性シフトの決定が主流で、液晶構成分子の直接的なNMR情報に関しては、核双極子-双極子相互作用が強く、スピン系が複雑なために高分解能NMRデータが得られているものの巨視的な応用に限られている。従って既に(I)~(III)に示すような主鎖に遷移金属を含んだ棒状高分子がリオトロピック液晶を形成することを報告したが、今回、これら液晶構成分子を直接<sup>13</sup>C NMRで測定したので結果を報告する。



Ia: M = Pt (Pt-D<sup>1</sup>)

IIa: M = Pt (Pt-D<sup>2a</sup>)

IIIa: M = Pt, M' = Pd (Pt-D<sup>1</sup>-Pd-D<sup>1</sup>)

Ib: M = Pd (Pd-D<sup>1</sup>)

IIb: M = Pd (Pd-D<sup>2a</sup>)

IIIb: M = Pt, M' = Ni (Pt-D<sup>1</sup>-Ni-D<sup>1</sup>)

( ) : abbreviation

IIIc: M = Pd, M' = Ni (Pd-D<sup>1</sup>-Ni-D<sup>1</sup>)

実験

2, 3)

試料(I)~(II)は既報の方法により合成した。またその分子量はGPC法(絶対分子量補正)により得られた。

測定溶媒は主にトリクロロエチレン(市販品を蒸留)を用い、特に微細構造の確認にTHF(使用直前に精製)を用いた。試料は、一定量の遷移金属ポリインポリマーを適当な量の溶媒に溶かし、液晶が生成するまで溶媒を除去し、重量法で濃度を決定した後、試料管を封じて調整した。

<sup>31</sup>P, <sup>13</sup>C NMRはJEO L-FX-100 NMR装置を用い、<sup>31</sup>Pスペクトルは、RF 40.32 MHz、パルス照射時間7μsec(パルス角約45°)、パルス間隔2sec、取込幅5KHz、データポイント8Kで4~20回の積算で得た。<sup>13</sup>Cスペクトルは、RF 25.05 MHz、パルス照射時間6μsec(パルス角約45°)、パルス間隔3sec~5sec、取込幅5KHz、データポイント8または4Kを用い、100~10000の積算回数で得た。磁場ロック方式は必要に応じて内部、外部重水素ロックを選択使用した。<sup>13</sup>C, <sup>31</sup>Pのシフト値は、内部基準TMS, 外部基準HPO<sub>4</sub>を用い決定した。また以下のデータは、すべて静止条件下で測定したものである。

たかいよしお もりもとひでこ たかはししげとし そのぶしらくんきち  
はきはるのぶえ

結果および考察

・ Pt-D<sup>1</sup> (Ia)

用いた試料Iaの分子量は  $M_w = 65000$  ( $n=100$ ) で長軸の長さ  $L \approx 780 \text{ \AA}$ , 短軸  $d \approx 17 \text{ \AA}$ , 軸比  $L/d \approx 46$  の棒状の高分子である。

その  $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$  スペクトルは図1に示すように、33.8%存在する同位体  $^{195}\text{Pt}$  ( $I = \frac{1}{2}$ ) により、

一部スプリッティング ( $^1J_{\text{Pt-P}} = 2460 \text{ Hz}$ ) し、 $\delta$  値  $-4.00$  ( $\text{H}_3\text{PO}_4$  外部基準) に見かけの三重線を示す。

試料調整時、濃度が高くなるにつれて試料溶液は粘稠さを増し、さらに濃度が上がると不透明になり粘度が急激に減少した。この状態で数日間静置 ( $25 \pm 1^\circ\text{C}$ ) すると不透明な上層と透明な下層に分離する。Probe 温度を  $25 \pm 1^\circ\text{C}$  に保ち各層を同時測定した。

磁場へ挿入後30分の  $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$  スペクトル (Fig. 2a) には、透明層によるシャープな三重線 ( $\delta = -4.3$ , 半値幅  $25 \text{ Hz}$ ) と不透明層によるブロードな三重線 ( $\delta = 17.2$ , 半値幅  $160 \text{ Hz}$ ) が観察される。内部基準に用いた  $\text{Bu}_3\text{PO}$  の信号は、最も低磁場に現われる。図2bはプロトンノンカップリング条件の  $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$  スペクトルで高磁場信号Bは消失しているが、透明層の信号Aは変化しない。また試料管のスピン軸を中心に  $90^\circ$  回転した直後の  $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$  スペクトルを Fig. 2c に示す。図2aと比較して信号Aは変化しないが、信号Bはその強度の減少と低磁場側へテーリングした波形を示す。この波形は図2aの固体のスペクトルと一致し、回転後30分で図2aの波形に復帰する。

これらの事象から、透明層の信号Aは等イ相と考える。一方不透明層の信号Bは強い  $^1\text{H}$ - $^{31}\text{P}$  核双極子-双極子相互作用を示し、ま

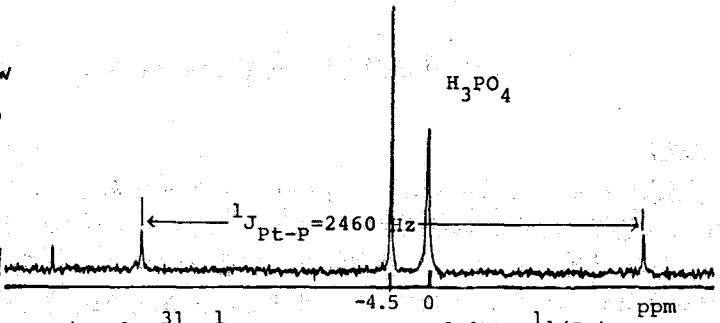


Fig. 1.  $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$  NMR Spectrum of  $[\text{Pt-D}^1]$  (Ia)

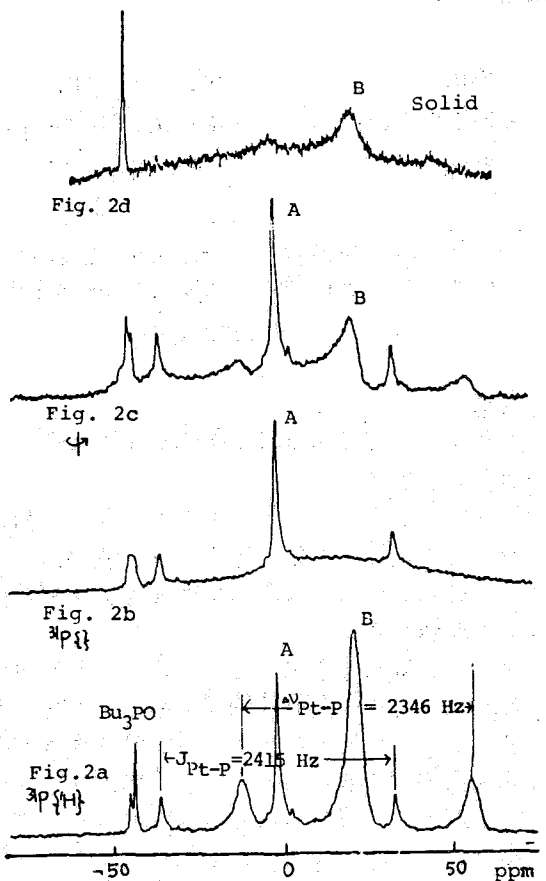


Fig. 2  $^{31}\text{P}$  NMR Spectra of  $\text{Pt-D}^1$  (Ia)

た磁場に特長的な挙動を示すことから、磁場に配向する液晶相と考えられる。液晶構成分子のR-P-C軸の磁場に対する配向の度合は、両相の $J_{Pt-C}$ 分岐の差から推定できる。 $(^1D_{Pt-C} = 734.5 \text{ Hz})$ 、異方性

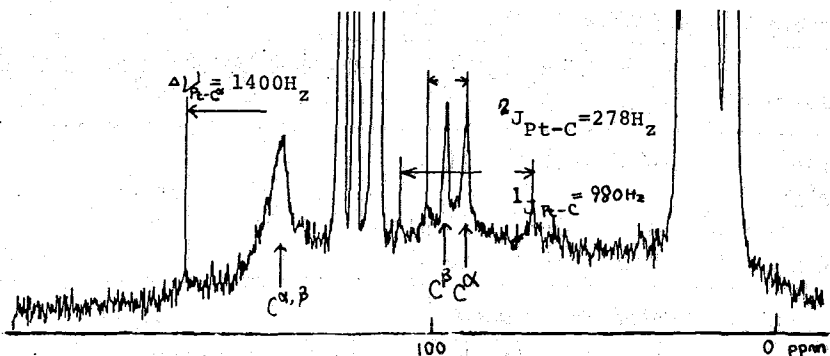


Fig. 3.  $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$  NMR Spectrum of Pt-D<sup>1</sup> (Ia)

シフト ( $\delta_{lc} - \delta_{iso}$ )  $\Delta\delta = 21.5 \text{ (ppm)}$   
次に長軸方向すまわす  $C=C-Pt=C$  軸に関する情報を得るため  $^{31}\text{P}$  nmr を測定した。試料Iaの $^{31}\text{P}$ スペクトル(図4)をみると、ホスフィンのアルキル炭素の信号は、等方相と液晶相の区別がつけられないが、アセチレン炭素の場合は、通常のアセチレン共鳴位置に現れる等方相によるα, β炭素の信号およびそれよりは大きく他磁場シフトした液晶相による信号とが明確に分離している。液晶相のα, β炭素の信号は一つのブロードな信号となっている。このスペクトルから長軸配向の度合は  $^1D_{Pt-C} = \pm 210 \text{ Hz}$  によって推定できる。-1等異方性シフトは  $^1J_{Pt-C}$  の符号と符号が違い、 $\Delta\delta^H = 54.4 \text{ ppm}$ ,  $\Delta\delta^P = -48.5 \text{ ppm}$  である。

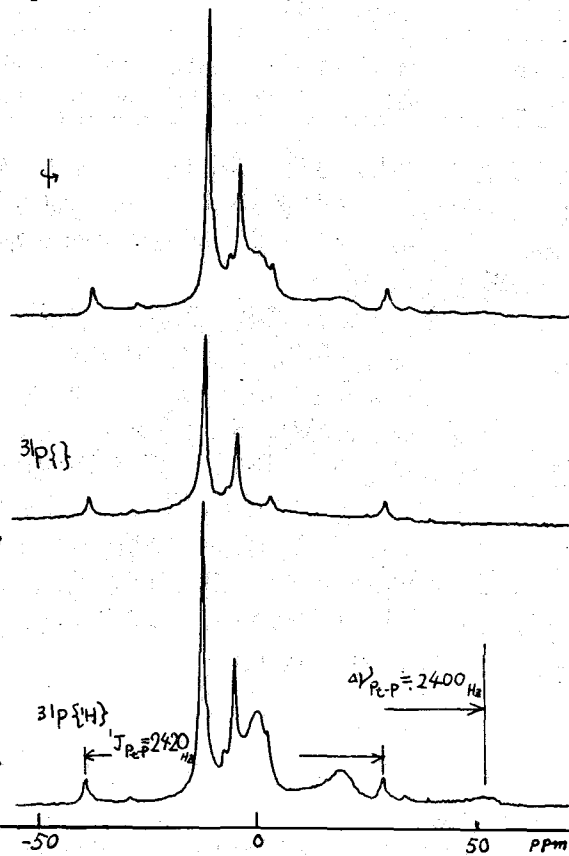


Fig. 4.  $^{31}\text{P}$  NMR Spectra of Pt-D<sup>1</sup>-Pd-D<sup>1</sup> (IIIa)

Pt-D<sup>1</sup>-Pd-D<sup>1</sup> (IIIa)  
試料IIIaは主鎖中でPtとPdが交互に配列した高分子で、測定試料の平均分子量は4万である。そのトリクロロエチレン溶液は濃度47(%)で液晶を生成した。図4に示す各種条件下のスペクトルからこの系でも磁場に対する液晶構成分子はPt-D<sup>1</sup>の場合と同様の配向をむくことを示唆している。

表1, 2に4種の高分子の $^{31}\text{P}$  および  $^{13}\text{C}$  nmr テーダを示す。今Ptに配位したPの値に注目してみよう、表1から明らかなるように、三種の高分子Pt-D<sup>1</sup> (Ia), Pt-D<sup>1</sup>-Pd-D<sup>1</sup> (IIIa), Pt-D<sup>1</sup>-Ni-D<sup>1</sup> (IIIb) の $\Delta\delta$ 値はほぼ一定の値を示す。同様にPd上のPの $\Delta\delta$ 値もPd-D<sup>1</sup> (Ib),

Table 1. Phosphorus-31 NMR Data<sup>a)</sup>

Polymer	P on Pt Chemical Shift (ppm)			P on Pd Chemical Shift (ppm)			P on Ni Chemical Shift (ppm)		
	$\delta_{\text{ISO}}$	$\delta_{\text{LC}}^{\text{b)}$	$\Delta\delta^{\text{c)}$	$\delta_{\text{ISO}}$	$\delta_{\text{LC}}^{\text{b)}$	$\Delta\delta^{\text{c)}$	$\delta_{\text{ISO}}$	$\delta_{\text{LC}}^{\text{b)}$	$\Delta\delta^{\text{c)}$
Pt-D <sup>1</sup>	-4.3	+17.2	21.5						
Pd-D <sup>1</sup>				-10.8	0	10.8			
Pt-D <sup>1</sup> -Pd-D <sup>1</sup>	-4.3	+16.6	20.9	-10.9	0	10.9			
Pt-D <sup>1</sup> -Ni-D <sup>1</sup>	-4.2	+16.3	20.5				-13.0	-5.9	7.1

Table 2. Carbon-13 NMR Data<sup>a)</sup>

Polymer	$\alpha$ -Carbon of M-C <sup><math>\alpha</math></sup> =C <sup><math>\beta</math></sup>			$\beta$ -Carbon of M-C <sup><math>\alpha</math></sup> =C <sup><math>\beta</math></sup>		
	$\delta_{\text{ISO}}$	$\delta_{\text{LC}}^{\text{b)}$	$\Delta\delta^{\text{c)}$	$\delta_{\text{ISO}}$	$\delta_{\text{LC}}^{\text{b)}$	$\Delta\delta^{\text{c)}$
Pt-D <sup>1</sup>	-91.2	-145.6	-54.4	-97.1	-145.6	-48.5
Pd-D <sup>1</sup>	-93.7	-148.0	-54.3	-97.2	-148.0	-50.8

- a) 静止条件下で測定  
 b) 精度  $\pm 0.3$  ppm  
 c)  $\delta_{\text{LC}} - \delta_{\text{ISO}}$

Pt-D-Pd-D<sup>1</sup> (IIIa) の2種の高分子について同じ値を示す。このように高分子の種類に関係なく、 $\Delta\delta$ 値は金属の種類によって大きく変化し、Pt上のPの $\Delta\delta$ 値21 ppm, Pdの場合の11 ppm, Niの7 ppmとなりPt > Pd > Niの順で減少する。

#### 磁場配向 (Pt-D<sup>1</sup>)

Pt-D<sup>1</sup>の磁場における配向の度合は、P-Pt-P軸および長軸についての得られた $\alpha$ と $\beta$ パラメータを使用し計算した。Pt-D<sup>1</sup>の各ユニットは、平面四配位構造で、Ptを中心に同一平面上に2つのアセチレンと2つのホスフィンが配位している。ユニット内原子間距離はこの三量体のX線解析のデータ<sup>5)</sup>を利用した。アセチレンC <sup>$\alpha$</sup> の<sup>13</sup>C共鳴は単純にAXスピン系のスペクトルと考える。C <sup>$\alpha$</sup> の配位距離 $r_{\text{Pt-C}} = 1.900(\text{Å})$ が長軸の磁場配向の度合は、 $J_{\text{Pt-C}} > 0$ とすると $-0.22$ である<sup>5)</sup>。ユニットのD<sub>2h</sub>対称性を無視し、上記配向パラメータから上の求められた $\Delta\delta$ 値を用いて計算したアセチレンC <sup>$\alpha$</sup> の異方性値371 ppm, C <sup>$\beta$</sup> 330 ppm; この値は既報<sup>6)</sup>のアセチレン類の異方性値とほぼ一致している。一対P-Pt-P軸の配向の度合は $\pm 0.036$ である。以上の計算結果からこの液晶構成分子は磁場に直交して配列をとっていると推定される。

#### References

- 1) S. Takahashi, E. Murata, M. Kariya, K. Sonogashira, N. Hagihara, *Macromolecules*, **12**, 1016 (1979).
- 2) S. Takahashi, M. Kariya, T. Yatake, K. Sonogashira, N. Hagihara, *Macromolecules*, **11**, 1064 (1978).
- 3) a) K. Sonogashira, S. Kataoka, S. Takahashi, N. Hagihara, *J. Organometal. Chem.*, **160**, 319 (1978). b) K. Sonogashira, K. Ohga, S. Takahashi, N. Hagihara, *J. Organometal. Chem.*, **188**, 237 (1980).
- 4) H. Yamazaki, private communication.
- 5) P. Diehl, E. Fluck, R. Kosfeld, *NMR Basic Principles and Progress*, vol. 1. (1969).
- 6) John S. Waugh, *Advances in Magnetic Resonance* vol. 7 (1974)



(北大理) 堤 耀広

FT-NMRの進歩により複雑な分子に112の<sup>1</sup>H, <sup>13</sup>Cを初め多くの核の緩和時間を精度よく測定することが可能となり、得られたデータを動力学的立場から説明するには、分子運動、特に内部運動に112の詳細な知識を必要とする。内部運動を考慮した緩和の基礎的取扱いは最初Woessnerによって回転軸が1つの場合についてなされ、その後多くの回転軸を含む系に拡張された。Woessnerは3つの等価なsite間のjumpと自由な回転拡散モデルを取扱った。しかし、実際にはsiteが非等価な場合や回転拡散が限られた角度範囲で存在する場合があります。更に重要なものはoverall motionの異方性や相関時間の分布の影響である。これはLevine, Levy等により自由回転拡散モデルについて取り扱われた。しかし、例えばtrans gauche等の回転異性を示すアールキル鎖について非等価なsiteモデルがより現実的と思われる。一方で上述のよう、現在、FT-NMRの感度、分解能が飛躍的に向上しており、蛋白質内の何々の残基の内部運動についてより詳細な情報を得ることができるようになって112の。今までのことは核磁気緩和による内部回転の動力学的112の解析がまだなされるほど多いと述べた。そこで今回は核磁気緩和への内部回転の取り込み方について高分子を例にしてその一部を議論する。最近、筆者が行った3つの非等価なsite間のjumpモデルを用いた例について紹介してみる。

核磁気緩和は、観測している核に対する核磁気的相互作用によって起る。相互作用関数が双極子-双極子相互作用の場合、Wignerの回転行列

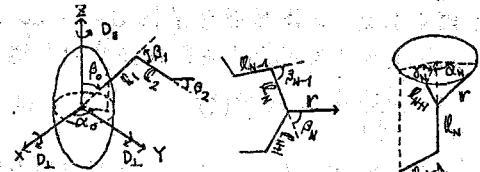


Fig. 1

$D_{m,n}^{(2)}(\alpha, \beta, \gamma) = e^{-im\alpha} d_{m,n}^{(2)}(\beta) e^{-in\gamma}$  を使って  
 $F_h(t) = D_{h,0}^{(2)}(\varphi, \theta, 0) Y^{-3} \quad (1)$  と書ける。ここで、 $\gamma$ は核間距離、 $\theta, \varphi$ は実験室系でのスピンの方向を表わす。 $F_h(t)$ のスペクトル密度 $J_h(\omega)$ は相関関数 $G_h(\tau) = \langle F_h(t) F_h^*(t+\tau) \rangle$ のフーリエ変換で  $J_h(\omega) = \int_{-\infty}^{\infty} G_h(\tau) e^{-i\omega\tau} d\tau \quad (2)$   
 核磁気緩和時間及び $\omega \ll \omega_0$ 等は $J_h(\omega)$ を使って表わすことができる。結局、核磁気緩和から高分子の内部運動に112の情報を得るには $J_h(\omega)$ が運動の具体的なモデルとどのような関係にあるかを知らなければならない。今回は高分子に結合した側鎖の内部回転を例にしていくつかの内部運動モデルと $J_h(\omega)$ との関係を導いてみる。しかし結果の適用は必ずしも高分子に限られるものではない。又、以下で得られる $J_h(\omega)$ は軸対称な異方性を示すケミカルシフト、電場勾配が軸対称である四重極による緩和にも使用できる事など付け加えておく。

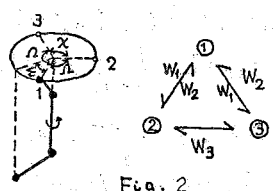


Fig. 2

運動モデルをFig.1に示した。ここで主鎖の運動は回転楕円体で近似して112。D11, D22は長軸及び短軸のまわりの回転

松浦係数であり、主鎖が rigid でありは分子全体の異方的運動を表わし、主鎖が flexible でありは単位 segment の運動を記述する。\$l\_1 \dots l\_N\$ は側鎖の結合軸で、そのまわりには内部回転運動が起こっている。Fig. 1 で \$R\$ が着目するスピンドルである。結合軸 \$l\_N\$ に固定した座標系で見れば \$(\beta\_N, \alpha\_N)\$ で定義された時間に依存しないが実験室系から見ると主鎖及び側鎖の運動の伝動で変動する。この場合、主鎖及び側鎖の内部回転運動が相互に独立であると仮定すると、相関関数 \$G\_N(\tau)\$ は次のように書ける。

$$G_N(\tau) = \frac{1}{5} r^{-6} \sum_{\substack{s, a_1 \dots a_n \\ a_1 \dots a_n}} e^{-E_s \tau} R_{ss} a_i a_i^{(3)} \left[ \prod_{j=1}^{N-1} R_{a_j a_j} a_{j+1} a_{j+1}^{(3)}(\beta_j) \right] R_{\alpha \alpha} \alpha_0(\beta_N) \left[ \prod_{k=1}^N g_{kk}(\tau) \right] e^{i(\alpha_N - \alpha_0)} \alpha_N \quad (3)$$

$$E_s = 6D_L + s^2 (D_H - D_L) \quad (4)$$

ここで \$R\_{mn}^{(2)}(\beta\_R) = d\_{mn}^{(2)}(\beta\_R) d\_{mn}^{(2)}(\beta\_R)\$, \$g\_{kk}(\tau) = \langle e^{i(\alpha\_k \tau\_k - \alpha\_k \tau\_k)} \rangle\$, 又、\$\tau\_k\$ は結合軸 \$l\_k\$ のまわりの時刻 \$t\$ 及び \$t+\tau\$ に於ける内部回転角である。\$\langle \rangle\$ は全ての可能な内部回転角についての平均で内部回転のモデルに依存する。例えば、飽和炭素鎖では各回転軸 \$l\_k\$ について、\$g^+\$, \$g^-\$ の二つの回転異性に対応した site を考え、これら一般には等価と見做す。そこでこれらに対応する内部回転モデルとして、二つの非等価 site (但し、そのうち二つは等価) 間の jump とし、その模式図を Fig. 2 に示す。

Fig. 2 で \$w\_1, w\_2, w\_3\$ は jump rate である。ここで \$w\_1 = w\_2 = w\_3\$ とすると Woessner の等価な site であり、\$w\_1 \gg w\_2\$ とすると等価な site モデルを与える。又、\$X=0\$ とすると 180 度離れた二つの非等価 site 間の jump とする。

各 site における時刻 \$t\$ の存在確率は方程式

$$\frac{dP(t)}{dt} = WP(t) \quad (5)$$

より知ることはできる。ここで \$P(t) = \{P\_1(t), P\_2(t), P\_3(t)\}\$, \$W\$ は jump rate より構成される行列でその対角要素は \$\lambda\_1 = 0, \lambda\_2 = -2w\_1 + w\_2, \lambda\_3 = w\_2 + 2w\_3\$ (6) である。(5)式で左辺を零と見做して平衡状態の確率を得る。

$$P_1(\infty) = \frac{w_2}{2w_1 + w_2}, P_2(\infty) = P_3(\infty) = \frac{w_1}{2w_1 w_2} \quad (7)$$

(5)式で \$P(t) = 1\$ なる初期条件で解くと時刻 \$t\$ で \$m\$ site にあり、\$t\$ を \$t+\tau\$ の時刻 \$t\$ で \$n\$ site に見出す確率 \$P\_{mn}(\tau)\$ が得る。\$P\_{mn}(\infty)\$ と \$P\_{mn}(\tau)\$ を用いて \$g\_{kk}(\tau)\$ は

$$g_{kk}(\tau) = \sum_{m,n=1}^3 P_{mn}(\infty) P_{mn}(\tau) e^{-i(kr_m - kr_n)} \quad (8)$$

より求めることができる。結局 \$g\_{kk}(\tau)\$ は

$$g_{kk}(\tau) = \sum_{q=1}^3 A_{kk}(q) B(q) \quad (9)$$

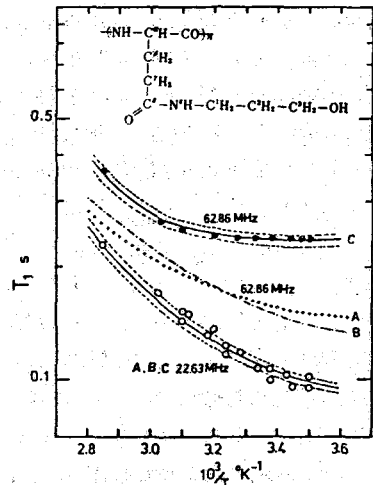
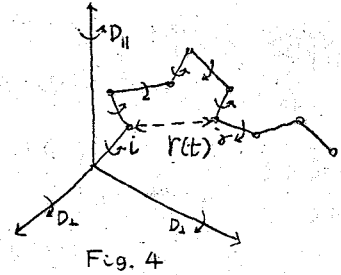


Figure 3 Selection of the most convenient model for the rotation of the \$(CH\_2)\_2\$ group about \$C\_\alpha-C\_\beta\$ from the \$^{13}C\$ longitudinal relaxation times at 22.63 MHz (O) and 62.86 MHz (●). The spectrometer frequencies and the models chosen for the simulation of the temperature dependence of \$T\_1\$ are indicated beside the computed \$T\_1 = f(1/T)\$ curves. The model (C) of rotational jump among three sites with \$w\_1/w\_2 = 0.167\$ and \$r(C-H) = 1.09 \text{ \AA}\$ yields the best agreement with the experimental \$T\_1\$ at both frequencies (solid lines). The dotted lines above and below the solid lines have been computed with \$r(C-H) = 1.08\$ and \$1.10 \text{ \AA}\$, respectively. The parameters for model A (rotational diffusion) and model B (jump among three equivalent sites) have been adjusted to fit the experimental \$T\_1\$'s at 22.63 MHz but are clearly not convenient at 62.83 MHz (--- and ---).

$$\begin{aligned}
 A_{kk'}(1) &= (2\nu+1)^2 \{1+2\nu \cos(k\Omega)\} \{1+2\nu \cos(k'\Omega)\} S_{kk'} \\
 A_{kk'}(2) &= \frac{2\nu}{(2\nu+1)^2} \{1-\cos(k\Omega)\} \{1-\cos(k'\Omega)\} S_{kk'} \quad (10) \\
 A_{kk'}(3) &= \frac{2\nu}{2\nu+1} \sin(k\Omega) \sin(k'\Omega) S_{kk'} \\
 B(q) &= e^{-\lambda q^2} \quad (11) \\
 \nu &= w_1/w_2, \quad S_{kk'} = e^{-i(k-k')\epsilon} \quad \text{同様} \quad \text{非等価}
 \end{aligned}$$



各 site  $k \rightarrow l$  への  $g_{kk'}(\tau)$  を求める事ができる。ここで  $\tau$  は省略する。このようにして求めた種々のモデルの  $g_{kk'}(\tau)$  の中から適当なものを (3) 式の対応する回転軸にそれぞれ適用する。これにより、 $G_h(\tau)$  を、更にフーリエ変換を行えば  $J_h(\omega)$  を得る。非等価な site モデルに対応する  $J_h(\omega)$  は次頁に示す。 ( $D_{11} = D_{12} = D_0$ )

$$\begin{aligned}
 J_h(\omega) &= \frac{2}{5} \tau^{-3} \sum_{\substack{a_1 a_2 \dots a_N q_1 \dots q_N \\ a_i \dots a_N}} R_{a_1 a_2 a_3}(\beta_1) \left\{ \prod_{j=2}^{N-1} R_{a_j a_{j+1} a_{j+2}}(\beta_j) \right\} \times R_{a_N a_{N-1} a_N}(\beta_N) A_{1, a_1 a_1}(q_1) \\
 &\quad \times \left\{ \prod_{j=2}^N A_{j, a_j a_j}(q_j) \right\} e^{-i(a_N - a_1)\tau} f(\tau^*) \quad (12)
 \end{aligned}$$

$$f(\tau^*) = \frac{\tau^*}{1 + \omega^2 \tau^{*2}}, \quad \tau^* = \left\{ \tau_R + \sum_{k=1}^N \lambda_{q_k k} \right\}^{-1}, \quad \tau_R = (6D_0)^{-1}$$

主鎖の運動が segment 運動の場合  $\tau_R$  の分布をとり入れ適当な分布関数で平均する必要がある。Cole-Cole, Fouse-Kirkwood 分布等  $\tau_R$  の分布が提案されてくる。

以上の取り扱いから主鎖及び側鎖の運動を調べる場合、モデルの選択に任意性が残る。Fig. 3 に Poly(N<sup>5</sup>-hydroxypropyl glutamine) (PHPG) の  $C^{\beta}$  の  $T_1 \sim 1/\nu$  を示したものである。 $C^{\alpha} - C^{\beta}$  ボンドに対して仮定した  $\tau_R$  の内部回転モデルは  $\nu = 22.6 \text{ MHz}$  としておられるも実験をよく説明できる。しかし  $\nu = 63 \text{ MHz}$  ならばもう一つは適当な  $\tau_R$  を与えることができる。この例で示すように、もっともらしいモデルは又々以上の周波数を用いることにより選択できる。

これ迄核間距離  $r$  を一定としなが、これから時間  $\tau$  に関する場合を考察してみる。Fig. 4 に  $r$  の

Table 1 Typical Set of Kinetic Parameters Used to Simulate the <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C Data of PHPG<sup>a</sup>

nucleus	frequency, MHz	model of motion	$W_1$	$W_2$	$W_3$	$W_1/W_2$	$r^*_{H11}, \text{ \AA}$	exptl $T_1, \text{ s}$	calcd $T_1, \text{ s}$
<sup>13</sup> C <sub>β</sub>	22.63	C	$8 \times 10^8$	$4.8 \times 10^9$	0	0.167		0.13	0.130
<sup>13</sup> C <sub>α</sub>	62.86	C	$8 \times 10^8$	$4.8 \times 10^9$	0	0.167		0.23	0.230
<sup>1</sup> H <sub>β</sub>	250	C	$8 \times 10^8$	$4.8 \times 10^9$	0	0.167	1.733	0.3	0.296
<sup>13</sup> C <sub>γ</sub>	22.63	C	$1.4 \times 10^9$	$7 \times 10^8$	0	2		0.19	0.196
<sup>13</sup> C <sub>γ'</sub>	62.86	C	$1.4 \times 10^9$	$7 \times 10^8$	0	2		0.27	0.272
<sup>1</sup> H <sub>γ</sub>	250	C	$1.4 \times 10^9$	$7 \times 10^8$	0	2	1.740	0.28	0.281
<sup>13</sup> C <sub>1</sub>	22.63	A	$3 \times 10^9$					0.48	0.486
<sup>13</sup> C <sub>1</sub>	62.86	A	$3 \times 10^9$					0.54	0.538
<sup>1</sup> H <sub>1</sub>	250	A	$3 \times 10^9$				1.760	0.53	0.533
<sup>13</sup> C <sub>2</sub>	22.63	B	$4.5 \times 10^9$	$4.5 \times 10^9$	$4.5 \times 10^9$	1		0.99	0.994
<sup>13</sup> C <sub>2</sub>	62.86	B	$4.5 \times 10^9$	$4.5 \times 10^9$	$4.5 \times 10^9$	1		1.105	1.103
<sup>1</sup> H <sub>2</sub>	250	B	$4.5 \times 10^9$	$4.5 \times 10^9$	$4.5 \times 10^9$	1	1.735	0.64	0.640
<sup>13</sup> C <sub>3</sub>	22.63	B	$3 \times 10^9$	$3 \times 10^9$	$3 \times 10^9$	1		0.15	0.150
<sup>13</sup> C <sub>3</sub>	62.86	B	$3 \times 10^9$	$3 \times 10^9$	$3 \times 10^9$	1		0.15	0.151
<sup>1</sup> H <sub>3</sub>	250	B	$3 \times 10^9$	$3 \times 10^9$	$3 \times 10^9$	1	1.760	0.93	0.953

<sup>a</sup> These values correspond to an effective  $\tau_R = 7.9 \times 10^{-10} \text{ s}$  for the main chain.  $r^*_{H11}$  is the corrected distance between geminal protons. For the diffusion model A,  $W_1$  only is meaningful and corresponds to the rotational diffusion constant.

内部回転に依存する場合の模式図である。具体的な形を書かずに  $G_H(\tau)$  は

$$G_H(\tau) = \frac{1}{5} \sum_S e^{-E_S \tau} \langle r(t)^3 r(t+\tau)^{-3} \mathcal{D}_{S,0}^{(2)*}(\alpha(t), \beta(t), 0) \mathcal{D}_{S,0}^{(2)}(\alpha(t+\tau), \beta(t+\tau), 0) \rangle \quad (13)$$

と書ける。ここで  $r(t)$ 、及び  $\alpha(t)$ 、 $\beta(t)$  などはいずれも全ての内部回転角に依存して変化可能である。平均  $\langle \dots \rangle$  は jump モデルに対して

$$\langle \dots \rangle = \sum_{i,j=1}^N r_i^{-3} r_j^{-3} \mathcal{D}_{S,0}^{(2)*}(\alpha_i, \beta_i, 0) \mathcal{D}_{S,0}^{(2)}(\alpha_j, \beta_j, 0) R_{ij}(\infty) R_{ij}(\tau) \quad (14)$$

となる。  $R_{ij}(\infty)$  は平衡状態で側鎖全体が conformation  $i$  にいる確率である。  $N$  は全ての可能な conformation の数である site モデルでは最大  $3^N$  となる。  $R_{ij}(\tau)$  は時刻 0 から時刻  $\tau$  まで conformation  $i$  から  $j$  への変遷の確率である。例えば  $R_{ij}(\tau)$  は方程式

$$\frac{dR_{ij}(\tau)}{d\tau} = W R_{ij}(\tau) \quad (15) \quad \text{with } R_{ij}(0) = \delta_{ij} \text{ なる条件で解ける。}$$

$W$  は最大  $(3^N, 3^N)$  の jump rate より構成される行列である。結合軸が多くなる場合の数値計算により近似解を得る。必要であれば  $W$  の中から起りに難い conformation (例えば  $g^{\pm} g^{\mp}$ ) を含むものは除外して解を求めよう。

以上、内部回転と核磁気緩和との関係を具体的なモデルを用いて示した。適用例を前述の PHPG 及び Metal-butylamine complex について結果のみを Table に示す。

PHPG の主鎖は水溶液中で等方的運動をしておりと見做す。得られた内部回転のパラメータは  $^{13}\text{C}$ 、 $^1\text{H}$  の data を共によく説明している。  $\text{C}^{\alpha}-\text{C}^{\beta}$ 、 $\text{C}^{\beta}-\text{C}^{\gamma}$  については site 2, 3 間の jump に比べ非常に小さい。一方、 $\text{C}^1-\text{C}^2$ 、 $\text{C}^2-\text{C}^3$  については内部回転自由度が増加しており ( $W_{12} \neq 0$ )、側鎖プロトドグループを境として内部回転の性質に変化がみられる。又、ratio  $W_1/W_2$  は site 1, 2 の存在比  $P_2/P_1$  (7) 式に対応するが、これは  $^1\text{H}$  vicinal coupling から求めた回転異性存在比とほぼ一致している事を指摘しておく。

Table 2  $^{13}\text{C}$  relaxation in butylamine coordinated to Gd(DPM)<sub>3</sub> and Dy(DPM)<sub>3</sub> (T=305 K)

Experimental		C1	C2	C3	C4
Gd(DPM) <sub>3</sub> (BuNH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub>	$T_{1M}^{-1}/s^{-1}$	2970	562	174	75
	$T_{2M}^{-1}/s^{-1}$	3975	1230	—	—
	$a^2/\text{MHz}$	2.1910 <sup>-2</sup>	-3.3610 <sup>-2</sup>	-4.110 <sup>-2</sup>	—
Dy(DPM) <sub>3</sub> (BuNH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub>	$T_{1M}^{-1}/s^{-1}$	114.6	23.0	7.7	4.2
Parameters and computed relaxation rates					
		$\phi_1 = 180^\circ, \phi_{2,3} = \pm 60^\circ$			
		N-C1	C1-C2	C2-C3	
$W_1(t \rightarrow g)/s^{-1}$		$6.5 \times 10^8$	$2.5 \times 10^9$	$6 \times 10^9$	
$W_2(g \rightarrow t)/s^{-1}$		$1.0 \times 10^{10}$	$1.5 \times 10^{10}$	$1.5 \times 10^{10}$	
$W_3(g^+ \leftrightarrow g^-)/s^{-1}$		$\leq 10^9$	$\leq 10^9$	$\leq 10^9$	
$r_n/s$	Gd(DPM) <sub>3</sub> (BuNH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub>		$8.33 \times 10^{-11}$		
	Dy(DPM) <sub>3</sub> (BuNH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub>		$5.38 \times 10^{-10} \dagger$		
		C1	C2	C3	C4
$T_1^{-1}/s^{-1}$	Gd(DPM) <sub>3</sub> (BuNH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub>	2915	568	172	78
	Dy(DPM) <sub>3</sub> (BuNH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub>	110.1	24.8	7.8	3.9

† Effective value (see text).

Table 2 で Gd(DPM)<sub>3</sub>、Dy(DPM)<sub>3</sub> に対する butylamine の  $^{13}\text{C}$  の緩和は同じ内部回転パラメータで記述される。N-C1 に対する  $W_1/W_2$  は非常に小さいのが特徴的である。これは bulky な DPM の *n*-butyl group との立体障害によりこのボンドが trans 構造をとっている事を示している。Dy(III) complex の C1 の相関時間  $\tau_R$  は非常に小さく effective な相関時間が電子スピンの緩和による事を示している。

211 相関NMRの生体系への応用 III.

光合成細菌 *Rhodospseudomonas palustris* の代謝過程

(東大・理・化学) 荒田洋治 今井廉彦 藤原鎮男

(東大・理・生化) 森田茂廣 佐伯和彦

我々はこれまで JEOL PS-100 を母体とする  $^1\text{H}$  相関NMR システムの開発<sup>1,2)</sup> ならびにその基礎的<sup>3~5)</sup> および生体系への応用<sup>6~8)</sup> の研究を行ってきた。さらに生体系を含めより広い範囲における相関NMRの境地開拓の努力をつづけているが、今回は光合成細菌の代謝について、 $^1\text{H}$ 相関NMRにより明らかとなった点について議論する。光合成細菌は光のエネルギーを使って生育するが、酸素を発生しない、水以外の電子供与体を必要とするなどの点で、緑色植物の光合成と著しい相違がある。<sup>9~10)</sup> 本研究で用いている *Rhodospseudomonas* (Rp.) *palustris* は紅色無硫黄細菌の一種で、東京大学構内三四郎池土壌中から森田により昭和22年に分離されたものである。Rp. *palustris* においては、有機酸代謝系が発達、光リン酸化によって生成したATPを用いて有機酸を水素供与体かつ炭素源として利用できる。その代謝は多様かつ極めて変化に富み、 $^1\text{H}$ NMRにより新たな知見を得ることを目標に実験を行った。

〔実験〕 Rp. *palustris* はペプトン・酵母エキス・乳酸培地(ペプトン5g, 酵母エキス1.0g, 乳酸ナトリウム(70%水溶液)13mlより1000ml水溶液を調製, pH7.0とする)において、30°C光照射(60W白色電球)しつつ培養、成長段階A(log phase)~D(Stationary phase)で集菌、リン酸緩衝液(0.2M  $\text{PO}_4^{2-}$ , pH6.8)にsuspendした。菌体数はおよそ $10^9$ 個/mlである。菌体suspensionはNMR試料管(5mmφ)に移したのち、アルゴンbubbleして嫌氣的条件とし、30°Cにおいて明条件(60W白色電球による光照射)、暗条件(光照射OFF)における菌体内外の代謝産物の同定、定量を行った。本実験の条件においては、intactな菌体内部の代謝物の $^1\text{H}$ NMRシグナルは観測できない。菌体内部の代謝物は、菌体suspensionに濃NaOHを添加して1.7Mとし、80°C、5分間処理して菌体を破壊したのち、はじめて観測することができる。なお、代謝産物の同定には、authentic sampleをそれぞれの試料溶液にさらに添加する方法をとった。NMRの測定には、JEOL PS-100(100MHz, 相関NMR法)<sup>1,2)</sup>を用い、掃引速度409.6 Hz/1.5 sec, 積算50~200回を行った。測定温度はすべて30°Cである。

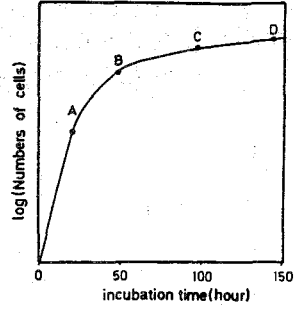


図1 Growth curve と集菌の時期

〔結果と議論〕 Lac, Mal, Sucを栄養源として光照射すると、これらの有機酸はいづれも速かに消失し、菌体により摂取されることを示している。一例として、段階Bの菌にSuc 20mMを与えた場合のスペクトルの変化を図2に示す。菌体内に蓄積されたβ-HB, t-CR, 菌体内外に存

Ac	acetate
Bu	butyrate
t-CR	trans-crotonate
β-HB	β-hydroxybutyrate
Lac	lactate
Mal	malate
PHB	poly-β-hydroxybutyrate
Pyr	pyruvate
Suc	succinate

文中で用いた略号

あらたようじ いまいやすひこ ふじわらしずお  
もりたしげひろ さえきかずひこ

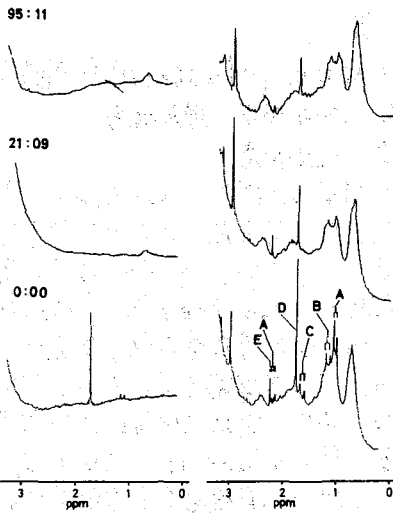


図2 Bで集菌, Suc 20mM, 光照射  
 (左) intact (0:00 suc. 添加前のスペクトル)  
 (右) 菌体をアルカリで破壊した場合  
 A,  $\beta$ -HB; B, Lac; C, t-CR; D, Ac; E, suc

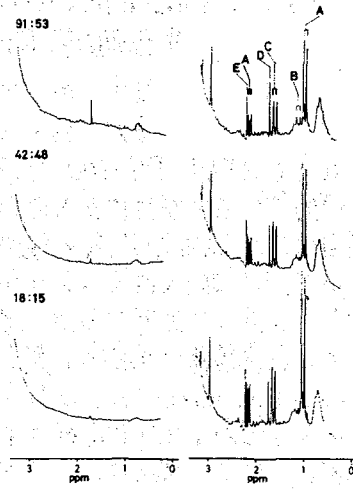


図3 Cで集菌, Suc 20mM, 光照射  
 (左) intact  
 (右) 菌体をアルカリで破壊した場合

左するLac, Ac, Sucがすべて光照射により減少することがわかる。これに対して、段階Cにおいて得られた菌の場合には、Bの場合と同様、Sucは速やかに摂取されるが、Acが菌体外に放出される点が異なっている。図3参照。この傾向は段階Dの菌では更に顕著となる。B, Cの場合にみられる菌体内外の成分の濃度の時間変化を図4, 5に示す。

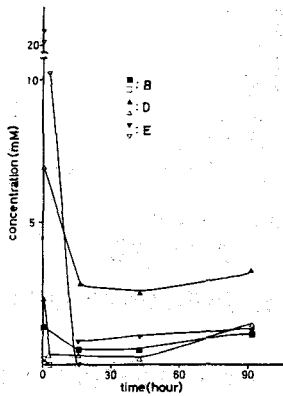


図4 図3におけるLac, Ac, Sucの濃度の時間変化

closed symbols: 菌体内外の総和  
 open symbols: 菌体外

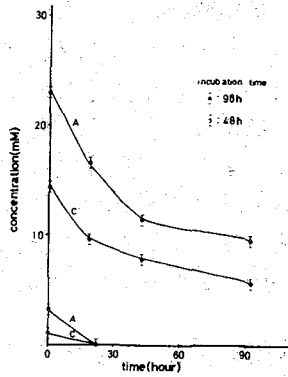


図5 図2.3における $\beta$ -HB, t-CRの濃度の時間変化

段階Cにおいて収穫した菌を栄養源のない状態で暗条件におくと、図6, 7のような変化がみられる。菌体内のt-CR,  $\beta$ -HBは菌体外には排出されない。これに対し、Ac, Bu, Lacはすべて菌体外に放出され、菌体内にとどまらない。さらに長時間暗条件でincubationするとエタノールが生成する。

アルカリ分解により、段階A~Dの菌体内成分を調べると、図8, 9のようになる。遅い収穫の菌ほど、体内に蓄積されるt-CR,  $\beta$ -HBの量が多いことがわかる。Rp. palustrisにおいては、とくに遅いstation-

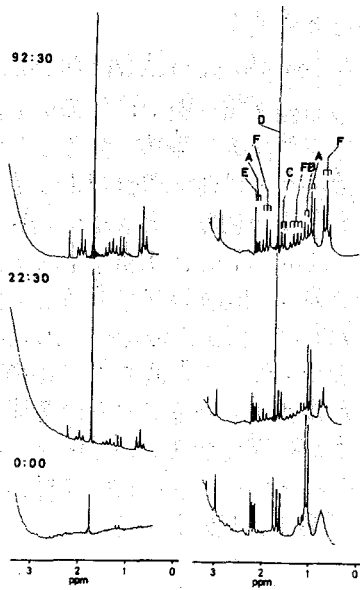


図6 暗条件における代謝産物  
(左) intact  
(右) 菌体をアルカリにより破壊

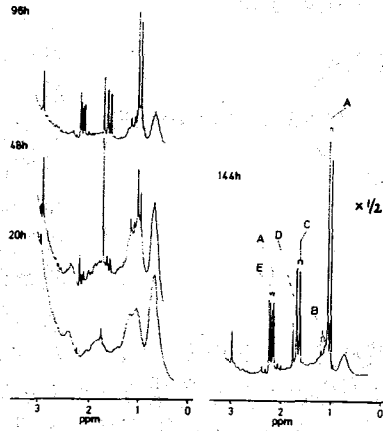


図8 A, B, C, D (図1) の段階における菌体をアルカリにより破壊したもの

ary phaseの場合、菌体内に多量の貯蔵物質の顆粒が存在することが顕微鏡下に確認される。貯蔵物質はD(-)- $\beta$ -HBのポリマーPHB(分子量1000~250000)である。またRp. palustrisにおいてはTCAサイクル、glyoxylateサイクルにかかわるすべての酵素系が備わっているとされている。

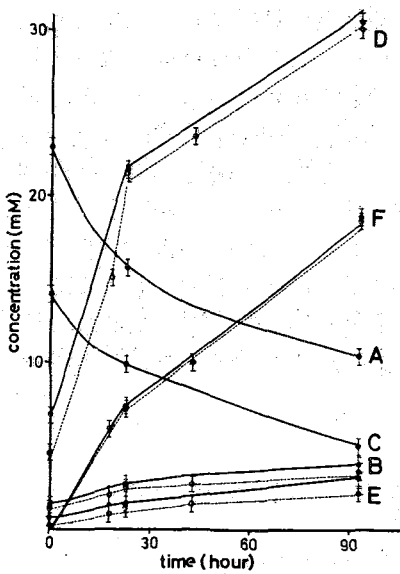


図7 図6の代謝産物の濃度の時間変化  
◆ 菌体内の総和    ◊ 菌体外

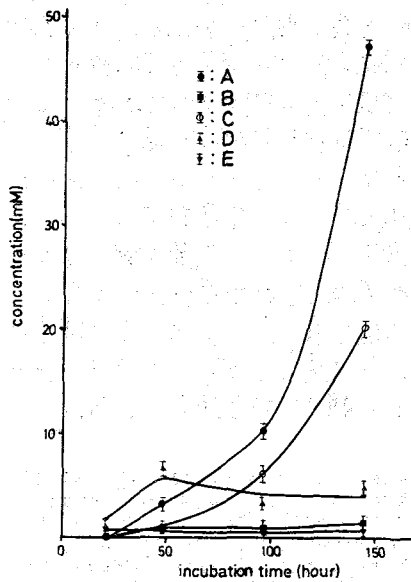
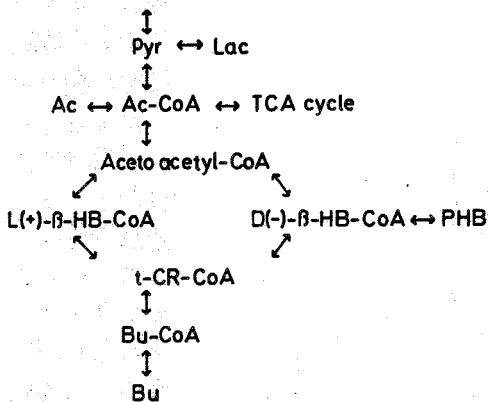


図9 図8の代謝産物と培養時間の関係

図10 Rp. palustrisの代謝系路



1) ペプトン・酵母エキス・乳酸培地における Rp. palustrisの生活:

分裂が盛んな log phaseの菌(A)ないしは stationary phase以前の菌(B)においては、t-CRとβ-HBが菌体内に蓄積されることはない。PHB蓄積への代謝の流れはおさえられ、TCAサイクルの回転にともない、Ac, t-CR, β-HB, Lac, Sucが消費される。菌体内は酸化しており、Buが産生されることはない。これに対して、stationary phaseに入った菌においては、TCAサイクルの活動が低下し、貯蔵物質であるPHBに変換される代謝の流れが顕著になる。t-CRとβ-

HBが常に同程度存在することから、L(+)-β-HB → t-CR → D(-)-β-HB を經由するβ-HBの異性化反応がPHB蓄積の一つの主要な経路であることがわかる。

2) Resting cellの生活, 同化型代謝 vs 排出型代謝:

有機酸を栄養とし、窒素源のない嫌気的条件下で光照射する場合、一般にはすべての成分が消費される同化型代謝、Ac, Buの産生をとまらぬ排出型代謝が競争的に起こる。排出型代謝は暗条件において典型的にみられる(図6)。log phaseの菌では同化型代謝が優先し、排出型代謝はおさえられている。これに対し、stationary phaseの菌では、はじめ同化型代謝が、つづいて排出型代謝が起こり、時間の経過とともに後者が優先する。stationary phaseを長く経験した菌(D)の場合には、光照射後短時間のうちに排出型代謝が優勢になる。同化型代謝の優先する条件においては、H<sub>2</sub>ガスの活発な発生がみられる。この状態においては菌体内は酸化的に保たれ、Buの産生がおさえられている。H<sub>2</sub>ガスの発生のおとろえた状態では排出型代謝が優先する。このときには菌体内は還元的になり、Buの産生に代謝が流れていく。stationary phaseに入った菌を用いる場合、排出型代謝が優先している状態において、光照射下β-HBが菌体外に放出されることがある。この現象はSucを栄養源としたときに顕著に観測される。興味あるのは、いったん菌体外に放出されたβ-HBが暗条件で再び菌体内にとりこまれ、この放出ととりこみは光のON, OFFによってくり返される点である。この現象は排出型代謝と同化型代謝の微妙なバランスによって見られるように見えるが、とくにβ-HBの膜透過におよぼす明・暗条件の影響についてさらに詳しく調べたいと考えている。

[文献]

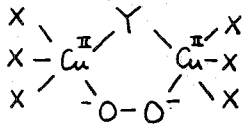
1. Y. Arata & H. Ozawa: J. Magn. Reson. 21, 67 (1976).
2. Y. Arata, H. Ozawa, T. Ogino, & S. Fujiwara: Pure Appl. Chem. 50, 1273 (1978).
3. H. Ozawa & Y. Arata: Bull. Chem. Soc. Japan 49, 1542 (1976).
4. Y. Arata: J. Magn. Reson. 22, 327 (1976).
5. T. Ogino, Y. Arata, & S. Fujiwara: J. Magn. Reson. (1980) in press.
6. T. Ogino, Y. Arata, S. Fujiwara, H. Shoun, & Beppu: J. Magn. Reson. 31, 523 (1978).
7. T. Ogino, Y. Arata, S. Fujiwara, H. Shoun, & T. Beppu: Biochemistry 17, 4742 (1978).
8. T. Ogino, Y. Arata, & S. Fujiwara: Biochemistry 19 (1980) in press.
9. 森田茂廣: "光生物学(上)" 2.9 光合成細菌 学会出版センター (1979).
10. 森田茂廣: 東京大学理学部演習報 昭和54年11月, "光合成細菌".
11. R. K. Clayton & W. R. Sistrom: The Photosynthetic Bacteria, Plenum (1978).



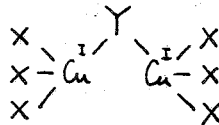
(近畿大・理工) 北川 進 宗像 恵 宮地 登

1. ハモシアニン(Hc)は、節足、軟体動物の血液に存在し、酸素運搬機能を有する銅蛋白質である。分子量は100万にも達し、4~8個のサブユニット(分子量 $\sim$ 30万)よりなる。青色のオキシハモシアニン( $[Cu^{II}] = 1/2$ )、無色のデオキシハモシアニンはともに反磁性であり、これらでの活性部位の構造は、それぞれのように考えられている<sup>1)</sup>。

オキシハモシアニン



デオキシハモシアニン



(Xはヒスチジン残基, Yはチロシン残基と考えられているが確定していない)

ところで、低分子銅錯体を用いてHcの活性中心の構造と機能に関する知見を得る試みはいくつか行われている。特に酸素と可逆的に反応する銅(II)錯体(機能モデル)の合成は最も重要であり、これまでに3~5報告されているが、不十分な点が多い。従って、 $Cu^{II}Cl_2$ 、2,2'-ピリジン(*bpy*)、アセチルアセトナトリチラム塩(*Li(acac)*)よりなる新しい銅(II)錯体を合成し、これを酸素と可逆的に反応して安定な酸素錯体を生成することを見出した<sup>2)</sup>。一般的に、銅(II)錯体は、銅(II)イオンが、 $d^9$ 電子配置をとるため、 $d-d$ 遷移がなく、可視スペクトルが観測されない。さらに反磁性であるため、ESRスペクトルの観測も不可能で、有効な手段が少い。一方、NMRスペクトルは、この反磁性錯体の構造を追跡する上で非常に有用であり、本研究において、主とする方法論である。

上記ハモシアニンモデル錯体について、溶液構造を明らかにするために、本研究では、<sup>1</sup>H NMRを用いて、*bpy*の<sup>1</sup>Hシグナルに注目し、溶液構造を明らかにすることを試みた。さらに上記錯体の $CO$ 、 $O_2$ との反応についても追究を行った。

2. 錯体の合成. *bpy*と $Li(acac)$ を無水アセトンに溶かし、窒素気流中(99.9995% purity)で撹拌しながら $CuCl_2$ と反応させた。その濃度はいづれも $3mM$ であった。約4時間 $CuCl_2$ が溶解し、赤褐色の $Cu^{II}(bpy)_2Cl(acac)$ (錯体1,  $\lambda_{max}$  440nm,  $\epsilon_{max} \sim 12000l/mol \cdot cm$ , Fig. 1A)が生成した。この錯体の酸素との可逆反応は、可視スペクトルをモニターして確認した。すなわち、1に、 $O_2$ ガスを20ml/minの流速で15分間通気して、酸素錯体(2)を生成させた。脱酸素化は、この溶液に $N_2$ ガスを60ml/minの流速で可視スペクトル

をたがわすすむ むながた めぐむ みやじ のぼる

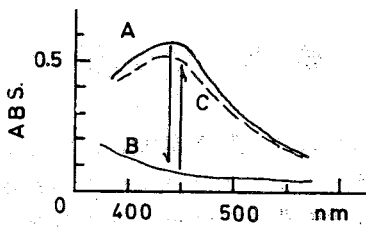
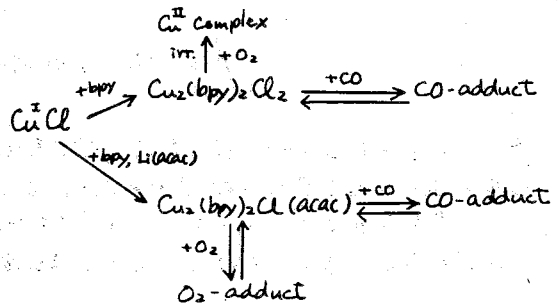


Fig. 1.  $\text{Cu}_2(\text{bpy})_2\text{Cl}(\text{acac})$  の可視吸収 (A), および 酸素錯体 (B), 脱酸素体 (C)

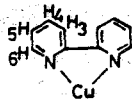
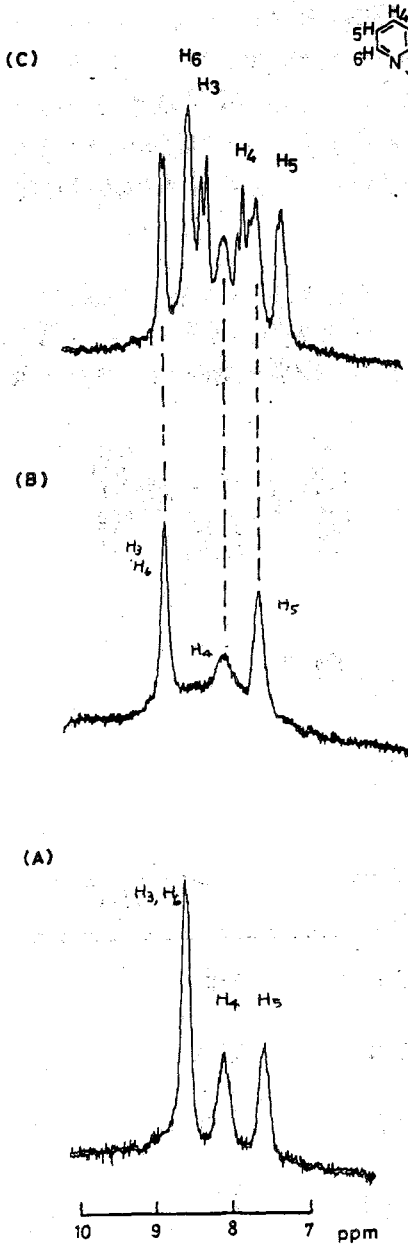
Scheme I



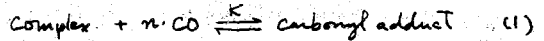
変化がなくなるまで通気して行った (Fig. 1 B, C)。CO との反応も同様に行った。CO 分圧を用いた実験では、ニードル弁を用いて調整した  $\text{N}_2/\text{CO}$  混合ガスを用いた。 $\text{CuCl}$ ,  $\text{bpy}$  よりなる 2 成分系の合成も同様の方法により合成した。この銅(I)錯体の合成過程を Scheme I に示した。

**$^1\text{H}$ NMR 測定** 上記方法にて合成した試料を、10mmφ NMR サンプルチューブに窒素雰囲気下にて封入した。溶媒は  $\text{CDCl}_3$  を用いた。装置は JNM PS-100 FT NMR スペクトロメータを用い、観測幅 1250 Hz (4096(R)ポイント)、繰り返し時間 3.2 sec (27 $\mu\text{s}$  90°パルス) に設定して測定した。シフトはメチル基準 TMS からの読みとした。銅(I)錯体は、(i)不均化しやすい ( $\text{Cu}^{\text{I}} + \text{Cu}^{\text{I}} \rightarrow \text{Cu}^{\text{0}} + \text{Cu}^{\text{II}}$ )、(ii) labile であるという特徴があり、特に後者は、室温付近において化学交換効果によりシグナルの広幅化、平均化を主として示す。このため、測定温度は  $-50 \sim -90^\circ\text{C}$  に設定した。なお、この温度においても、CO,  $\text{O}_2$  との反応に問題のないことを確認した。bpy の  $^1\text{H}$ シグナルの帰属には、その誘導体である、2,2'-bi(8-picoline); 又、0-phenanthroline, 2,9-dimethyl phenanthroline を用いて行った。

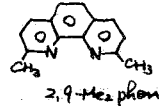
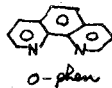
3.  $\text{Cu}_2\text{Cl}_2(\text{bpy})_2$  ならびにその CO 錯体の  $^1\text{H}$ NMR 2 成分錯体の  $\text{Cu}_2\text{Cl}_2(\text{bpy})_2$  の  $^1\text{H}$ NMR スペクトルを Fig. 2A に示した。3-H, 6-H シグナルが重なり、1本の吸収線となっており、これがこの錯体のスペクトルの特徴である。一方、 $\text{CuCl}$  のかわりに、 $[\text{Cu}(\text{CH}_3\text{CO})_2]\text{ClO}_4$  を出発物質として合成した錯体 (典型的ビス型錯体、 $[\text{Cu}(\text{bpy})_2]\text{ClO}_4$ ) のスペクトルは、3-H, 6-H の分離したスペクトルを示した。このことと、可視スペクトルによる考察から、 $\text{CuCl}$  を用いた錯体は Cl イオンが架橋した複雑構造を持つ錯体であると推定される。そこで、Hc は、 $\text{O}_2$  の他に CO と可逆的に反応することが知られている。そこで、CO を用いて、カルボニル錯体の生成ならびにその可逆脱着を試みた。 $\text{Cu}_2\text{Cl}_2(\text{bpy})_2$  に CO を通気した所、Fig. 2B に示したスペクトルを示した。この広幅化したシグナルが化学交換にもとづくものかどうかを明らかにするために、さらに bpy を 1 倍量過剰に加えた所、よく分離した、1:1 強度の bulk bpy と配位した bpy のシグナルを得た。このことは、①若干、広幅 (Fig. 2C)



化してニブナルが, bulk bpy の化学交換によるものではないこと, (C) CO の配位により, bpy が解離するものではなく,  $\text{Cu}_2\text{Cl}_2(\text{bpy})_2$  にそのまま CO が付加することを示している。そこで, CO 錯体の構造として, Fig. 3(b), (c) が考えられる。次に示す式より仮定して, 量論的取扱いは行った。



CO は,  $\text{N}_2$  との混合ガスとして分圧を変えて, 考察した所,  $n \sim 1$  を得, モノカルボニル錯体が生成していることを得た ( $K \sim 1.3 \text{ atm}^{-1}$ )。各 CO 分圧における  $^1\text{H}$  NMR スペクトルでは, (A) と (B) (Fig. 2) の重たニブナルを与え, 式 (1) が可逆的に成立しており, 又,  $\text{Cu}_2\text{Cl}_2(\text{bpy})_2$ ,  $\text{Cu}_2\text{Cl}_2(\text{bpy})_2(\text{CO})_2$  成分種が可逆的に存在していることを確認した。カルボニル錯体の構造として Fig. 3(b) が示唆された。同様に, *o*-フェントロリン (phen) についても Fig. 3(b) 型の構造を得たが, その誘導体である 2,9-ジメチルフェントロリン (2,9-Me<sub>2</sub>phen) ( $\text{Cu}(\text{I})$  と典型的な単核  $\text{Cu}(2,9\text{-Me}_2\text{phen})_2$  を生成する) については得られなかった。



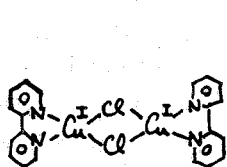
2,9-Me<sub>2</sub>phen は, 平面型 4 配位構造と Me 基の立体反発効果により 5 配位構造の CO 付加体を生成しにくいものと考えられる。Hc は CO と  $\text{CO}/\text{Cu} = 1/2$  の割合で結合すると報告されており, 本研究における  $\text{Cu}_2\text{Cl}_2(\text{bpy})_2(\text{CO})_2$  のそれとよく一致を示した。しかしながら,  $\text{O}_2$  に対しては, Scheme I に示したように容易に酸化分解するため, この 2 成分系は良い Hc モデルではないと考えられる。

Fig. 2.  $\text{Cu}_2\text{Cl}_2(\text{bpy})_2$  の 50°C に  
その CO 付加体 スペクトル

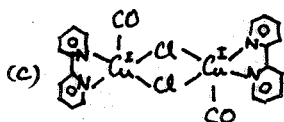
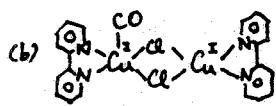
$\text{Cu}_2\text{Cl}_2(\text{bpy})_2(\text{acac})$  錯体 この錯体は, 非常に溶解度が悪く, 良好な  $^1\text{H}$  NMR スペクトルを得ることは困難であったが, 逐次 acac<sup>-</sup> を添加することによ

$^1\text{H NMR}$  スパクトルを得た。  $\text{acac}^-$  の添加による  $\text{bpy}$  の解離は観測できなかった。一方、単核の  $\text{Cu}(\text{bpy})(\text{acac})$  を生成すると考えられる  $\text{Na}(\text{acac})$  を用いた所、異なったスパクトルを得たため、  $\text{Li}(\text{acac})$  を用いた二成分錯体は、 Fig. 4 に示したように、複核構造を有しているものと考えられる。この錯体が、  $\text{O}_2$ ,  $\text{CO}$  と可逆的に反応することと可視吸収スパクトル (Fig. 1) から得たが、さらに、  $^1\text{H NMR}$  スパクトルにおいても、二成分系同様、  $\text{CO}$  付加体、  $\text{O}_2$  付加体の生成、可逆反応を確認した。

以上より、銅(II) 複核錯体は、  $\text{CO}$  と可逆的に反応して、5配位モノカルボニル錯体を生成すること、さらに  $\text{acac}^-$  が配位した二成分錯体では  $\text{O}_2$  と可逆的に反応することも得た。配位原子が  $\text{N}$ ,  $\text{O}$  Type である点、  $\text{Hc}$  の活性部位における  $\text{Cu}$  の環境と類似しており、興味深い。



(a)



(c)

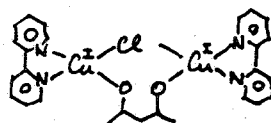


Fig. 4

Fig. 3

Table I.

Complex	$\text{H}_3$	$\text{H}_4$	$\text{H}_5$	$\text{H}_6$	ppm
$\text{Cu}_2\text{Cl}_2(\text{bpy})_2$	8.69	8.15	7.63	8.69	
$\text{Cu}_2\text{Cl}_2(\text{bpc})_2$	8.52	—	7.62	8.52	
$\text{Cu}_2\text{Cl}_2(\text{bpy})_2(\text{CO})$	8.99	8.22	7.76	8.99	
$\text{Cu}_2\text{Cl}(\text{bpy})_2(\text{acac})$	8.66	8.08	7.58	8.66	

(Reference)

- (1) R. Lontje & R. Witters, *Inorganic Biochemistry*, Ch.12, G.L. Eichhorn ed. Elsevier, Amsterdam 1973. (2) 北川佳, 宋徳恵, 第41回春季年会, 1980.

213 ペプチド 抗生物質 シオマイシン類の  
 $^{13}\text{C}$  化学シフト および スピナー 格子緩和 時間  
(日本電子) 松下和弘


(塩野義研) 〇通 和夫, 十倉一也, 高山陽子, 照井彬弘, 岡部 啓

シオマイシン-A (SIM-A) は *Streptomyces sioyaensis* から分離された含硫ペプチド抗生物質シオマイシンの主成分であり,<sup>1)</sup> 類似抗生物質チオストレプトン (TST)<sup>2)</sup> との種々の分解反応生成物の比較, 15-MHz  $^{13}\text{C}$  NMR スペクトルの比較により, TSTの部分的X線結晶解析の結果<sup>3)</sup> に基づいて, その全化学構造がTSTとともに推定された。<sup>4)</sup> さらに, 36.5-MHz  $^{15}\text{N}$ <sup>5)</sup> および 270-MHz  $^1\text{H}$ <sup>6)</sup> NMR スペクトルの解析により, これらの化学構造が確認された。また, シオマイシンの微量成分である SIM-B, -C, -D, アセチル化体を含む数種の誘導体についても, 同様にして構造決定された。<sup>7)</sup> なお, 同属体のチオペプチン (TPT) 類についても構造が明らかにされている。<sup>8)</sup> (構造式参照)

われわれは, これらの同属体, 誘導体の構造が明らかになり,  $^1\text{H}$  NMR シグナルの帰属もほぼ完全に行われたので, 今回, これまで試験的になされていたこれらの化合物の  $^{13}\text{C}$  NMR シグナルの帰属を行い, さらに, SIM-A において,  $^{13}\text{C}$  スピナー 格子緩和時間 ( $T_1$ ) を測定することにより, 帰属の確認を行い, 分子の運動性についての知見を得, それをX線結晶解析または  $^1\text{H}$  NMR (NOE,  $J_{\text{H,H}}$  値) の結果から得られた分子の立体構造 (図参照)<sup>4)</sup> とどのような関係にあるかを考察する。

表に SIM-A の化学シフト ( $\delta_{\text{C}}$ ) 値および代表的な測定条件について記した。 $^{13}\text{C}$  シグナルの帰属は次のような手順で行った。炭素上の水素数は, オフレゾナンス CW デカップリング (SFORD) および部分緩和 (PRFT) 法により明らかにした。全般的に主として化学シフトの文献値および各同属体, 誘導体の測定値と比較検討して帰属を進めた。CH<sub>2</sub>, CH シグナルは,  $^1\text{H}$  化学シフトの既知であることから, SFORD スペクトルでの残余スピンの結合定数  $J_{\text{r}}$  の大きさをを用いて帰属した。CH<sub>3</sub> シグナルについては, 重なりが大きい部分は未帰属のまま残った。水素をもたない炭素シグナルは, 50-MHz  $^{13}\text{C}$  スペクトルを含む種々の条件において, CDCl<sub>3</sub>-CD<sub>3</sub>OH (4:1) 中および CDCl<sub>3</sub>-CD<sub>3</sub>OD (4:1) 中のスペクトルを比較し, CONH 基およびイミン-エナミン互変異性による Thst A の P-3CH<sub>2</sub> の重水素化による同位体シフトの有無を調べ, CONH および -C<sup>13</sup>NH を見分けた。これにより, 大部分のシグナルの帰属が完了した。これをまとめて表に示す。

次に, SIM-A の 30°, 50°, 70°C における  $T_1$  測定値を表に示した。まず, メチル基シグナルの  $T_1$  値は CH, CH<sub>2</sub> に比べて長く, CH<sub>3</sub> の自転の奇数が大きいことを示しており, SIM-A 分子の外側に突出したものでは長く, 障害が大きいと考えられる内部のものでは短い。

70°C における  $^{13}\text{C}$ - $\{^1\text{H}\}$  NOE (η) 値を次に表に示した。水素をもった炭素シグナルでは, ほぼ η は 2.0 となった。これらはほとんど双極子-双極子緩和機構で緩和していると考えられる。そこで, 70°C における CH, CH<sub>2</sub> シグナルの  $NT_1$  値 ( $N$  は水素の数) を表に, その各残基における平均値を  の SIM-A の分子の立体構造式中に示した。図が

まつした かずひろ, とおり かずお, とくら かつや, たかやま ようこ,  
てるい よしひろ, おかべ けい

表. シオマイシン-A の  $^{13}\text{C}$  NMR スペクトルデータ\*

Carbon	$\delta_{\text{C}}$ (70°C)	$T_1$ (obs)(s)			$NT_1$ (70°C)	NOE( $\eta$ ) (70°C)	$T_1^{\text{DP}}$ (obs) (70°C)	$T_1^{\text{DP}}$ (calc) (s)
		(30°C)	(50°C)	(70°C)				
Ala	$\alpha\text{NCH}$	52.7	0.075	0.082	0.090	2.0		
	$\beta\text{CH}_2$	19.7 <sup>a</sup>	0.214	0.335	0.382	2.0		
	CONH	163.8	1.1	1.5	2.2	1.9	2.3	1.3
Deala-1	$\alpha=\text{C}$	132.9	0.90	1.2	1.4	1.5	1.9	1.5
	$\beta=\text{CH}_2$	103.0	0.021	0.024	0.050	0.100	2.0	
	CONH	162.4	1.3	1.9	2.4	1.5	3.2	2.2
Deala-2	$\alpha=\text{C}$	135.2 <sup>b</sup>	0.70	1.1	1.4	2.0	1.4	1.1
	$\beta=\text{CH}_2$	100.6	0.024	0.031	0.036	0.072	2.0	
	CONH <sup>2</sup>	161.5	2.2	1.8	2.9	1.7	3.4	1.7
Val	$\alpha\text{NCH}$	68.7	0.076	0.107	0.122	0.122	2.0	
	$\beta\text{CH}$	31.8	0.098	0.120	0.201	0.201	2.0	
	$\gamma\text{CH}_2$	17.0	0.282	0.504	0.511		2.0	
	$\gamma'\text{CH}_3$	19.4 <sup>a</sup>	0.180	0.306	0.353		2.0	
	CONH <sup>3</sup>	173.8	1.0	1.6	1.7 <sup>h</sup>		1.3	2.6 <sup>h</sup>
								1.9 <sup>n</sup>
Q	2=C	144.4 <sup>c</sup>	1.6	2.5	3.4		1.1	6.1
	3=CH	123.3	0.058	0.079	0.109	0.109	2.0	
	4=C	154.4	0.80	1.6	2.0		2.0	1.9 <sup>n</sup>
	5=CH	124.4	0.063	0.070	0.106	0.106	2.0	
	6=CH	130.2	0.072	0.060	0.109	0.109	2.0	
	7NCH	60.1	0.061	0.097	0.093	0.093	2.0	
	8OCH	67.8	0.084	0.096	0.128	0.128	2.0	
	9=C	155.3 <sup>c</sup>	1.5	1.8	3.0		1.5	4.0
	10=C	128.1	1.6	1.4 <sup>h</sup>	0.60 <sup>i</sup>		1.6 <sup>i</sup>	0.8 <sup>i</sup>
	11OCH	55.1	0.072	0.119	0.159 <sup>j</sup>	0.159 <sup>h</sup>	2.0	
	12CH <sub>2</sub>	23.2	0.272	0.407	0.455		2.0	
	COO <sup>3</sup>	170.6 <sup>d</sup>	2.9	2.7	4.2		1.0	8.3
							7.8	
Thr-2	$\alpha\text{NCH}$	56.4	0.068	0.083	0.119	0.119	2.0	
	$\beta\text{OCH}$	72.7	0.056	0.084	0.108	0.108	2.0	
	$\gamma\text{CH}_3$	19.7 <sup>a</sup>	0.198 <sup>h</sup>	0.256 <sup>i</sup>	0.382		2.0	
Thstn	$\alpha\text{NCH}$	53.9	0.055	0.075	0.103	0.103	2.0	
	$\beta\text{OC}$	78.0	3.8 <sup>m</sup>	0.50 <sup>m</sup>	3.6 <sup>m</sup>		1.5 <sup>m</sup>	4.8 <sup>m</sup>
	$\gamma\text{OCH}$	68.7	0.076	0.109	0.121	0.121	2.0	1.0
	$\gamma\text{CH}_2$	19.4	0.225	0.307	0.324		2.0	
	$\delta\text{CH}_2$	16.6	0.256	0.338	0.504		1.5	
Thz-4	2SC=N	167.3	1.6	1.7	2.8		1.2	4.6
	4NC=	150.9	2.0	2.5	3.3		1.3 <sup>l</sup>	5.0
	5SCH=	126.1 <sup>e</sup>	0.057	0.081	0.126	0.126	2.0	3.2
	CONH	162.6	1.1 <sup>g</sup>	1.8 <sup>j</sup>	2.7 <sup>n</sup>		1.1 <sup>k</sup>	4.9 <sup>k</sup>
							3.2	
Cys	$\alpha\text{NCH}$	79.7	0.083	0.104	0.117	0.117	1.9	
	$\beta\text{SCH}_2$	35.5	0.050	0.059	0.088	0.176	2.0	
	CONH <sup>2</sup>	172.5	1.1	1.4	1.7		1.9	1.8
							2.4	
Debut	$\alpha=\text{C}$	129.4	1.1	1.9	2.3		1.6	2.9
	$\beta=\text{CH}$	133.2	0.081	0.107	0.139	0.139	1.8	3.1
	$\gamma\text{CH}_2$	15.7	0.396	0.598	0.771		1.8	
	SC=N	170.9 <sup>d</sup>	1.9 <sup>i</sup>	3.1 <sup>k</sup>	4.1		1.1	7.4
							7.7	
Thr-1	$\alpha\text{NCH}$	56.7	0.069	0.096	0.097	0.097	2.0	
	$\beta\text{OCH}$	67.3	0.071	0.093	0.126	0.126	2.0	
	$\gamma\text{CH}_2$	19.5 <sup>a</sup>	0.198 <sup>h</sup>	0.256 <sup>i</sup>	0.264		2.0	
	CONH	166.2	1.0	1.3	2.0		1.3	3.1
							1.9	
Thst A	P 2C=N	162.6	1.4 <sup>g</sup>	1.8 <sup>j</sup>	2.7 <sup>k</sup>		1.1 <sup>k</sup>	4.9 <sup>k</sup>
	3CH <sub>2</sub>	25.4	0.057	0.047	0.079	0.158	2.0	
	4CH <sub>2</sub>	29.9	0.030	0.041	0.062	0.124	1.9	
	5NC <sup>2</sup>	58.3	0.80	1.1	1.6		2.0	1.6
	6CH	55.1	0.070	0.107	0.159 <sup>j</sup>	0.159 <sup>h</sup>	2.0	2.1
Thz-1	2SC=N	169.1 <sup>f</sup>	2.8	5.5	~7 <sup>p</sup>		0.8	~17 <sup>p</sup>
	4NC=	157.9 <sup>f</sup>	1.3	2.1	3.3		1.7	3.9
	5SCH=	125.5 <sup>e</sup>	0.071	0.077	0.098	0.098	1.9	
	CONH	162.9	1.4	3.2	~7 <sup>p</sup>		2.0	~7 <sup>p</sup>
							2.8 <sup>n</sup>	

表。(続き)

Thz-2	2SC=N	170.9 <sub>f</sub>	1.9 <sup>i</sup>	3.1 <sup>k</sup>	4.5		1.4	6.4	5.8
	4NC=	147.2 <sub>f</sub>	2.4	3.2	3.6		1.5 <sup>i</sup>	4.8	4.4
	5SCH=	128.3 <sub>f</sub>	0.071	1.4 <sup>h</sup>	0.600 <sup>i</sup>	0.600 <sup>i</sup>	2.0 <sup>i</sup>		
	CONH	161.5 <sub>f</sub>	2.2	2.9	2.7 <sup>h</sup>		1.3	4.1 <sup>h</sup>	2.8
Thz-3	2SC=N	174.0 <sub>f</sub>	1.1	1.2	1.7 <sup>h</sup>		1.5 <sup>i</sup>	2.3 <sup>h</sup>	4.6
	4NC=	150.8 <sub>f</sub>	2.1	2.9	2.9		0.9 <sup>i</sup>	6.4 <sup>i</sup>	3.3
	5SCH=	119.0	0.060	0.097	0.149	0.149	2.0		
Deala-S-1	$\alpha$ -C	135.2 <sup>b</sup>	0.90	1.9	1.5		1.4	2.1	2.8
	$\beta$ -CH <sub>2</sub>	104.0	0.043	0.029	0.094	0.188	2.0		
	CONH <sup>2</sup>	160.3	2.0	2.9	4.2		1.3	6.4	4.0 <sup>n</sup>
Deala-S-2	$\alpha$ -C	134.0	1.3	2.9	4.2		2.0	4.2	2.9 <sup>n</sup>
	$\beta$ -CH <sub>2</sub>	104.8	0.034	0.060	0.101	0.202	2.0		
	CONH <sub>2</sub>	166.8	1.9	3.4	6.1		1.8	6.7	3.1 <sup>n</sup>

\*測定条件: 日本電子 FX-100 FT NMR 分光器 (25.05 MHz) に 2, CDCl<sub>3</sub>-CD<sub>3</sub>OH (4:1) 中、濃度 0.09 mol/L (δ), 0.15 mol/L (Ti, NOE) の 10 mm 用甲種チューブを用い、T<sub>1</sub> は IRFT 法を用いて、NOE は 'H 完全デカップリング' およびそのゲートデカップリング法を用いて測定した。FT 条件は、スペクトル幅 5 kHz, パルス幅 14 μs (90°), データ長 8 k (T<sub>1</sub>), 16 k (NOE)。δc 値の誤差は ±0.1 ppm。T<sub>1</sub> は誤差 10~20% と考えられる。

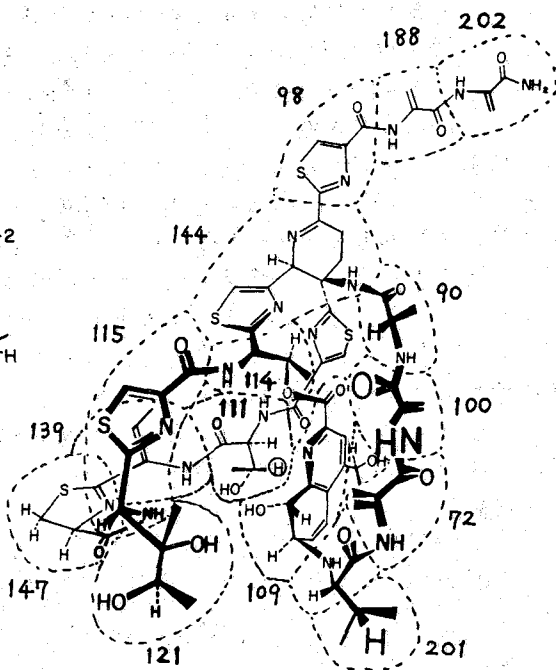
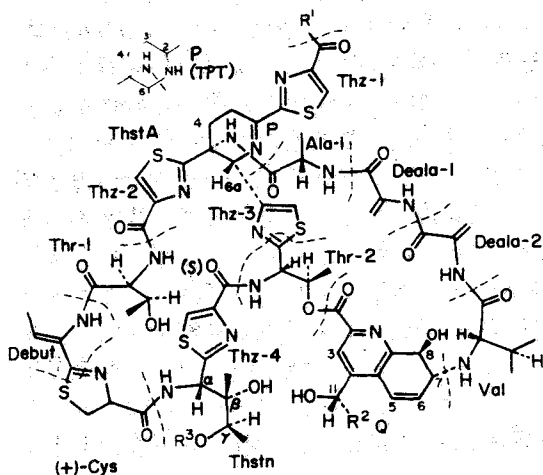
a-f: 淨動交換の余地あり。

g-l: シフトの重なりのため測定値不確定。

m: CDCl<sub>3</sub> のシフト値に重なりあり。

n: 回転運動を考慮していない値。

o: 本文参照。



	Deala-S-1	Deala-S-2
siomycin-A	R <sup>1</sup> : NH <sub>2</sub> , R <sup>2</sup> : CH <sub>3</sub> , R <sup>3</sup> : H	R <sup>2</sup> : CH <sub>3</sub> , R <sup>3</sup> : H
siomycin-B	R <sup>1</sup> : NH <sub>2</sub> , R <sup>2</sup> : CH <sub>3</sub> , R <sup>3</sup> : H	R <sup>2</sup> : CH <sub>3</sub> , R <sup>3</sup> : H
siomycin-C	R <sup>1</sup> : NH <sub>2</sub> , R <sup>2</sup> : CH <sub>3</sub> , R <sup>3</sup> : OCH <sub>3</sub>	R <sup>2</sup> : CH <sub>3</sub> , R <sup>3</sup> : H
siomycin-D <sub>1</sub>	R <sup>1</sup> : NH <sub>2</sub> , R <sup>2</sup> : CH <sub>3</sub> , R <sup>3</sup> : NH <sub>2</sub>	R <sup>2</sup> : R <sup>3</sup> : H
siomycin Acetate	R <sup>1</sup> : NH <sub>2</sub> , R <sup>2</sup> : CH <sub>3</sub> , R <sup>3</sup> : COCH <sub>3</sub>	R <sup>2</sup> : CH <sub>3</sub> , R <sup>3</sup> : COCH <sub>3</sub>
thiostrepton	R <sup>1</sup> : NH <sub>2</sub> , R <sup>2</sup> : CH <sub>3</sub> , R <sup>3</sup> : H	R <sup>2</sup> : CH <sub>3</sub> , R <sup>3</sup> : H Val-Deala → Ile-Ala
thiopeptin-Ba	R <sup>1</sup> : NH <sub>2</sub> , R <sup>2</sup> : CH <sub>3</sub> , R <sup>3</sup> : OH	R <sup>2</sup> : CH <sub>3</sub> , R <sup>3</sup> : H Val-Deala → Val-Ala O → S (Thz-4)

図. シオマイシン-A の立体配座と各残基における <sup>13</sup>C NMR 値の平均値 (MS) (70 °C)

ら見られるように、 $NT_1$ 値は分子の内部に入るに従い、小さくなっており、運動の自由度が小さいことを反映している。分子の主部においても分子の端の方に存在する残基、Cys, Debut, Valなどでは、 $NT_1$ 値は大きく、これらでは全体および部分運動の自由度が大きいことを示している。また、分子の側鎖に相当する三つの残基、Thr-1, Deala-S-1, Deala-S-2においては、 $NT_1$ 値は末端に行くほど大きくなっている。また、50°, 30°Cにおける $NT_1$ 値も、全く同様な傾向を示している。すなわち、全般的に、 $T_1$ 値はSIM-A分子の立体構造と矛盾せず、よい対応を示している。各 $NT_1$ 値から、C-H核間距離 $r_{CH}$ を1.09 Åとして、 $1/T_1^{pp} = N^2 r_{CH}^2 \gamma_H^2 \tau_c$ に従い、分子主部の回転運動相関時間 $\tau_c$ を求めると、約0.5~1.2 ns (30°C), 0.4~1.0 ns (50°C), 0.3~0.6 ns (70°C)となる。これらの値は、さきに行なった270-MHz <sup>1</sup>H NMRにおける分子内<sup>1</sup>H間NOE測定の結果<sup>9)</sup> 23°Cにおいては必ず負のNOE, 60°Cにおいてはかなりの大きさの正のNOEの観測、という事実と矛盾しない。

$T_1$ の温度変化について見ると、一般に、絶対温度の逆数に対するCH, CH<sub>2</sub>の $T_1^{pp}$ 値の対数直線性は、ほぼ直線となっている。これらのArrhenius直線の勾配から、分子の主部の回転の活性化エネルギーを求めると、約10~15 kJ/molとなり、Deala-S-2では約24 kJ/molである。多くのメチル基シグナルでは、この直線が高温で減少する傾向を示した。

次に、水素をもたない炭素シグナルの $T_1$ 値について考察する。70°Cにおける $T_1(obs)$ 値から、 $T_1^{pp}(obs) = T_1(obs) \times 1.988/\eta$ に従い、双極子-双極子緩和による $T_1^{pp}(obs)$ 値を求め表に示した(これらの中には、シグナルの重なりにより $T_1(obs)$ 値が不正確なものがある)。いま、 $T_1^{pp}(calc) = 1/r_{CH}^2 \gamma_H^2 \tau_c$ において、各残基における $T_1^{pp}(calc)$ を、その残基の平均 $NT_1$ 値より求めた $\tau_c$ 値と、SIM-AのFieser分子模型および既知の原子間距離を用いて見積った $r_{CH}$ 値を用いて計算する。 $r_{CH}$ 値としては、目的とする炭素から5 Å以内にある水素をすべて考慮した。 $T_1^{pp}(obs)$ と $T_1^{pp}(calc)$ 値との一致は、必ずしも良くないが、あまり正確でない模型を用いた粗い取扱による結果としては、満足すべきものといえよう。これによって、多くの水素をもたない炭素シグナルの帰属が確認できた。しかし、それによっても、まだ、帰属のあいまいなシグナルがかなり残されており、今後重水素置換体を用いて検討を重ねてゆくつもりである。また、 $\delta_C$  162.9 および 169.1 の二本のシグナルは、 $T_1$ 値がとくに長いので、今回の測定では誤差が大きく、適切な解釈ができなかったが、これについても再検討をしたい。

#### [文献]

- (1) H. Nishimura, S. Okamoto, M. Mayama, H. Otsuka, K. Nakajima, K. Tawara, M. Shimohira, and N. Shimaoka, *J. Antibiot.*, **A14**, 255 (1961); M. Ebata, K. Miyazaki, and H. Otsuka, *ibid.*, **22**, 364 (1969)
- (2) J. Vandeputte and J. D. Dutcher, *Antibiot. Ann.*, 1955/1956, 560 (1956).
- (3) B. Anderson, D. C. Hodgkin, and M. A. Viswamitra, *Nature*, **225**, 233 (1970).
- (4) K. Tori, K. Tokura, K. Okabe, M. Ebata, H. Otsuka, and G. Lukacs, *Tetrahedron Lett.*, 185 (1976).
- (5) A. Olesker, L. Valente, L. Barata, G. Lukacs, W. E. Hull, K. Tori, K. Tokura, K. Okabe, M. Ebata, and H. Otsuka, *J. C. S. Chem. Comm.*, 577 (1978).
- (6) K. Tori, K. Tokura, Y. Yoshimura, K. Okabe, H. Otsuka, F. Inagaki, and T. Miyazawa, *J. Antibiot.*, **32**, 1072 (1979).
- (7) K. Okabe, K. Tokura, K. Hayashi, K. Tori, Y. Terui, Y. Yoshimura, H. Otsuka, K. Matsushita, F. Inagaki, and T. Miyazawa, *Peptide Chem.*, 19 (1980).
- (8) O. D. Hensens and G. Albers-Schönberg, *Tetrahedron Lett.*, 3649 (1978).
- (9) J. Feeney, P. Partington, and G. C. K. Roberts, *J. Magn. Resonan.*, **13**, 268 (1974); R. A. Newmark and J. R. Hill, *ibid.*, **21**, 1 (1976).



(阪大蛋白質) 〇樋口直樹、京極好正 (京大薬) 矢島治明

〔諸言〕 Adrenocorticotropin (ACTH) は本来39残基よりなるポリペプチドで、副腎皮質刺激ホルモンと称される。このホルモンは主に副腎皮質を標的として皮質細胞を刺激し、細胞膜にあるリセアター蛋白分子との特異的な相互作用をす。ところでこのホルモンはその6番目から10番目までの5残基 His-Phe-Arg-Trp-Gly の部分で微弱なACTH活性を示し<sup>(1)</sup> この部分がACTHの active coreと考えられる。我々はこの活性ペプチド及びD-アミノ酸置換アナログの分子間、分子内で強い相互作用の存在することと認め<sup>(2)</sup> そのそれぞれの相互作用の原因について考察したので報告する。

〔実験〕 測定に用いたサンプルは、全残基シ体の活性ペプチドの他、His又はArgがD体に置き換わった不活性アナログ、Phe又はTrpがD体に置き換わった高活性アナログ、全残基シ体でN端またはC端をアセチル化またはO-メチル化したアナログ、さらにN端から一残基ずつ短い短鎖アナログ等であり、これらは通常の液相法で合成した<sup>(3)</sup> <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C及び<sup>15</sup>NのNMRスペクトルは主にJEOLE-FX100を用い、一部<sup>1</sup>Hの測定にはBruker-WM360WBを用いた。全サンプル (Me)<sub>2</sub>SO-d<sub>6</sub> 溶液で測定し、化学シフトは、<sup>1</sup>H, <sup>13</sup>CではTMS内部基準、<sup>15</sup>Nでは硝酸アンモニウム外部基準を用いた。

〔結果と考察〕 図1は全残基シ体及び各残基D体に置換されたアナログについての360 MHzプロトンNMRスペクトルの低磁場領域を示す。これによると全残基シ体、D-His及びD-Trpアナログは非常によく似たスペクトルを与えるのに対し、D-Pheアナログでは

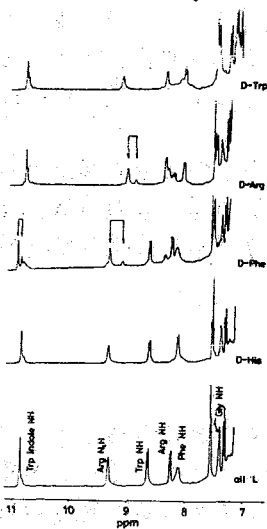


図1 各アナログのプロトン 360 MHz NMR スペクトル

TrpのインドールNHとArgのNHが2本に観測され、これらのアナログのα-プロトン領域も複雑である。この様な現象がどの様な原因で起るのかを調べるために、NH領域のシグナルの温度及び濃度依存性を測定した。図2は各アナログについてのNHシグナルの温度や濃度依存性を示してある。ここでまず気がつくのはArg側鎖のNHが全アナログについて温度依存性が非常に小さいことである。この原因としては2つ考えられる。第1はこのNHが強い分子内水素結合をしている場合、第2は相反する2つの効果、つまり昇温により溶媒分子との相互作用が解ける効果と分子間会合が解けて会合相手分子の芳香族的側鎖による環電流効果の解除との重ね合わせに

ひぐらなおり、きょうごくよしまさ、やしまはるあき

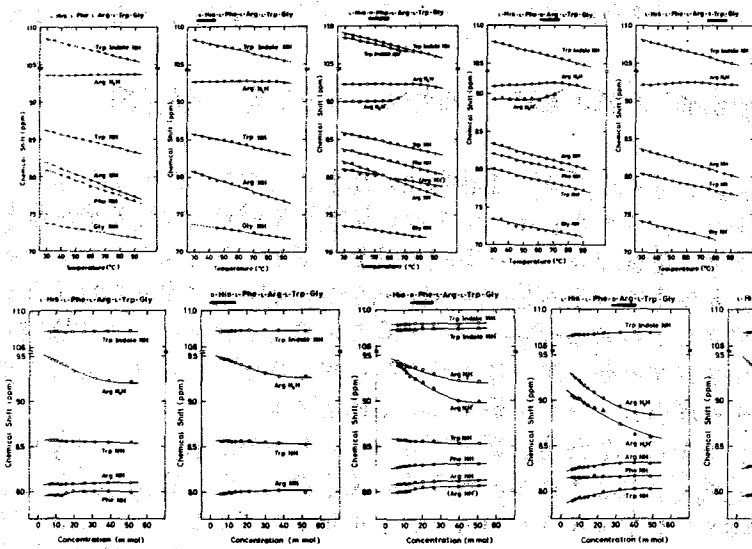


図2. 各アミノ酸のNH領域の温度依存性(上)と濃度依存性(下)。▲はゲアレットで観測されたシグナルの小さい方の成分を示す。

より、見かけ上温度依存性を示さない場合である。しかし濃度変化を見るとこのArgのNHは他のNHに比べて大きな濃度依存性を示す。この様子は分子内水素結合であったと考えにくく、むしろ光ほどの第二の可能性によるものと考えられる。そうすると分子間結合の原因を調べねばならぬが、この様子はペプチドの場合にN端やC端の電荷による静電的相互作用が考えられる。そこでN端またはC端をブロックしたサンプルで同様にNH領域のシグナルの温度及び濃度依存性を調べた。(図3) これによるとN端をブロックしたサンプルは、他のアミノ酸と温度・濃度いずれも同様の依存性を示すが、C端をブロックしたサンプルは、他のものとは非常に異なった挙動を示す。例えばArgのNHは

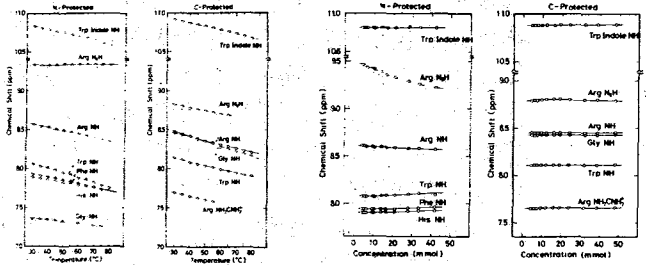


図3. N及びC端をブロックしたサンプルの温度依存性(左側の2つ)及び濃度依存性(右側の2つ)

他のNHと同様に昇温と共に高磁場シフトし、むしろ全く濃度依存性を示さない。これはC端のGlyのカルボン酸基が分子間相互作用に大きな寄与をしているが、N端のHisのアミノ基はあまり関与していない事を明確に示している。このカルボン酸基の相互作用の相手としてはアミノ基があまり関与していない事や、C端をブロックしたアミノ酸についてのみArgのゲアニド基のシグナルが観測できる事実から、Arg側鎖の正に帯電したゲアニド基であると考えるのが最も妥当であろう。つまり、Arg側鎖とC端のGlyのカルボン酸の静電的相互作用による結合が分子間で形成され、そのためArg側鎖のNHがTrpやPheの側鎖の芳香族環の環電流効果を受けていると思われる。他のもう一つ興味ある事実としては、D-Phe及びD-Argアミノ酸でゲアレットとして観測されるシグナルは、

昇温と共に1本になっていく。しかし濃度を薄めても1本にならな。この事は、2本に分れた原因が分子間相互作用によるのではなく、分子内で特異的な安定な2つの構造をとり、その間の交換が非常にゆっくりとしているからであると説明された。分子内での水素結合の存在が認められないことから、何か特にArgの側鎖のまわりで立体特異的な障害が存在すると思われる。温度変化から見積った活性化エネルギーは約20 kcal/molと計算される。これらの分子が実際に分子内で特異的な折り畳まれた(水素結合などで)構造ではなく、わりと延びた状態にあるという間接的な所は、まずNHのH-D交換速度などのNHについても大きな差が見られないということと、スピン結合定数 $J_{NHCH}$ の値がどのアミノ酸のどの残基を取っていても7.3~9.4 Hzと比較的大きな事である。(表1)

表1. 各アミノ酸に於ける $J_{NHCH}$  (Hz)

アミノ酸	Phe	Arg	Trp
全L体		7.9	8.8
D-His		7.7	8.7
D-Phe	8.3*	7.3	9.4
D-Arg	8.2	7.7*	9.1
D-Trp		7.9	8.2*

\* Dアミノ酸についての値

これは $\alpha$ -ヘリックス(〜5 Hz)又はランダムコイル(6~7 Hz)よりも大きく、二面角 $\phi$ の値で $-140 \sim -160^\circ$ 程度になり、 $\beta$ -タイプに近い構造を取っていると考えられる。つまり直線的に延びていないそれに近い構造を取っているものであろう。

分子内での立体障害がプロトンNMRに現われていよとすれば、 $^{13}C$ NMRにも認められるはずである。実際、 $^{13}C$ スペクトルを測定して見よと、全L体では1本にしか観測されな

いシグナルが、D-Phe体ではArgの $C_\beta$ や $C_\gamma$ 、さらにPheの $C_1$ 、Trpの $C_2$ 等もタレットで観測されている。この様に分子の運動性を制限する現象があるとするれば、これは $^{13}C$ のスピン-格子緩和時間( $N_T$ )に顕著に現われよであろう。図4に全L体及びD-Pheアミノ酸の $N_T$ の値を示してある( $N$ はその $^{13}C$ に直接結合しているHの数である)。全L体に関しては、Arg側鎖の $N_T$ の値は主鎖の $\alpha$ -炭素から離れよほど大きくなり、これは側鎖へ行くよほど運動性が増加していることを示している。それに反してD-Pheアミノ酸で

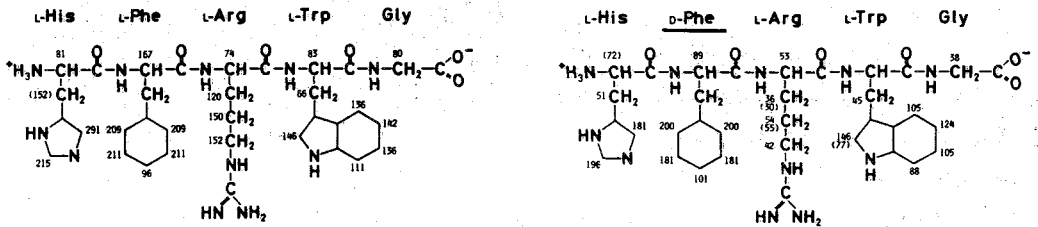


図4. 全L体(左)及びD-Pheアミノ酸(右)の $^{13}C$ のスピン-格子緩和時間 (m sec)

はArgの側鎖では $C_\alpha$ の $N_T$ 値と比較して $C_\beta$ 、 $C_\gamma$ 及び $C_\delta$ の値は同等かむしろそれ以下である。これはD-Pheアミノ酸のArg側鎖の運動性が異常に制限されている事を示し、そのまわりでの大きな立体障害の存在を示唆している。

これらの現象は、 $^{15}N$ NMRでどの様に検出できるであろうか。図5に全L体のプロトンを照射した $^{15}N$ スペクトルを示す。 $^{15}N$ 核は感度が低く、また天然存在比が低いため、このサンプルは、300 mMの高濃度で10万回の積算を行っている。各シグナルの帰属は構成

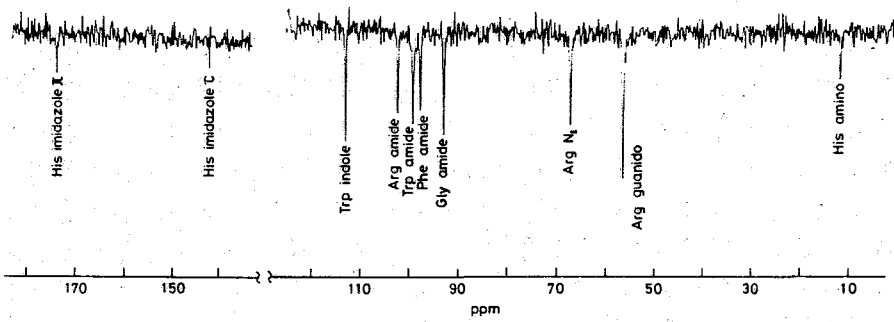


図5 (上) 70 MHz - <sup>15</sup>N 核磁気共鳴スペクトル。300 mM で10万回積算。

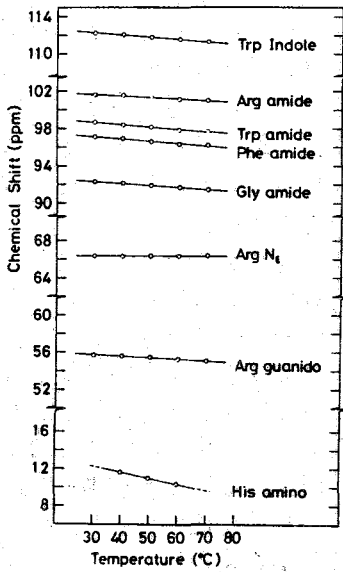


図6 (左) <sup>15</sup>Nシグナルの温度依存性

アミノ酸や短鎖アミノ酸のスペクトルと比較することにより完成した。また His 残基のイミダゾールの N のシグナルは非常に小さく見にくい。この帰属を基に温度変化を行った結果が図6である。His のイミダゾールの N の温度依存性は S/N が悪くて観測できなかった。これによると Arg の N<sub>ε</sub> は全く温度依存性を示さず (0.0 ppm/deg) 他のアミドの N (2~3 × 10<sup>-2</sup> ppm/deg) と比較して小さい。この事実はプロトンの挙動とよく一致し、その考察結果を支持する。  
 [まとめ] 結局これらの分子は、分子間では Arg 側鎖の Guanido 基と、C 端の Gly のカルボン酸基との間に静電的相互作用があり、分子間で会合を行っている。

またその為に Arg 側鎖の特に N<sub>ε</sub> のあたりが隣接の芳香族環の環電流効果と大きく受けている。また D-Phe 及び D-Arg アミノ酸ではさらに Arg 側鎖の立体障害が観測され、安定な2つの構造が存在する。そしてそれらの間の交換の活性化エネルギーは 20 Kcal/mol に達することが分かった。

[参考文献]

- (1) Schwyzer, R., et al., *FEBS Letters*, (1971), 19, 229.
- (2) Higuchi, N., et al., submitted to *Biopolymers*.
- (3) Yajima, H., and Kiso, Y., *Pharm. Therap.*, (1975), B1, 529.

(京大理) 赤坂一之

[序] 最近、溶液中のタンパク質のプロトン磁気緩和において、スピン拡散が支配的な役割を果たすことが明らかになってきた<sup>1)</sup>。例えば分子量2,3000の *Streptomyces Subtilisin* Inhibitor (SSI) の場合に於いてみると、400 MHz での測定ではほとんどのプロトンの緩和速度が一樣 ( $T_1 \sim 800$  ms 程度) になる(図1)。またこれと平行して、前日に報告したとおり、SSI のプロトンスペクトルの一部を選択的に飽和させるとその飽和はスペクトル全域に及び(図2c)。本報告は、このような交叉緩和に基づく飽和移動を時間の函数として測定し、それと理論的な解析を加えることを主な目的とする。

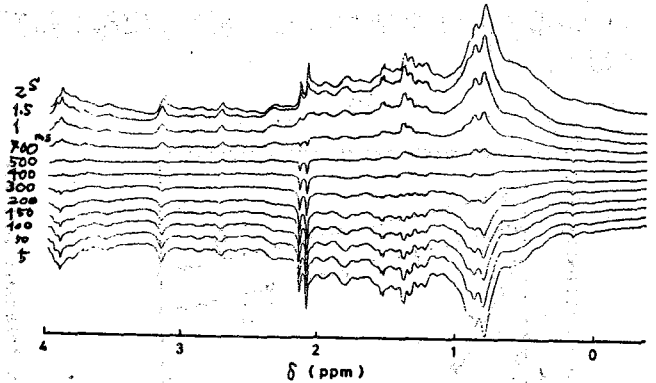


図1. Inversion Recovery 法による SSI プロトンの  $T_1$  測定。400 MHz, 25°C.

[実験] 11.5-23 mg の乾燥 SSI 試料を 0.1 M の 2 酸緩衝液 (pH 7.0,  $D_2O$ ) 0.5 ml に溶かし、5 mm O.D. NMR 試料管中で測定した。飽和移動の実験には Bruker 社製 HX-360 (マックスプランク医学研究所, ハイデルベルグ) および WH 400 (ブリタニシニコロソビア文学化学教室) を用いて行われた。Pre-saturation pulse は 6 分巻の decoupling ( $f_2$ ) チェネルを、gated decoupling mode に切り替えることにより行われた。 $f_2$  のラジエーション強度は  $2$  mW  $< H_2 < 56$  mW の範囲で一定の値を用いて、照射時間を変えて測定した。化学シフトの表示はトリメチルプロピオン酸-d<sub>5</sub> (3-trimethylsilyl propionate-d<sub>5</sub>) を基準としてある。

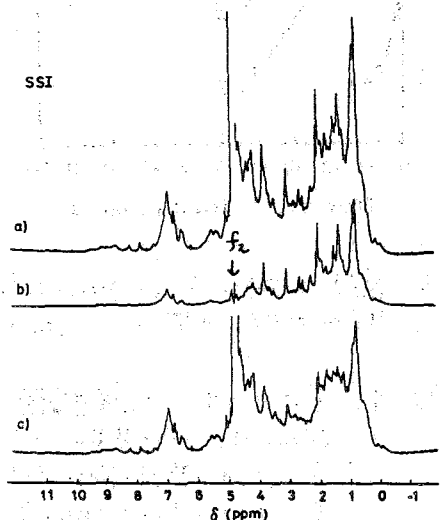


図2. SSI プロトンスペクトルにおける飽和移動  
a) 通常のスペクトル, b)  $f_2$  の位置にラジエーション照射後  
c) a) - b). 360 MHz, 25°C.

あかさか かずゆき

[実験結果]  $f_2$  照射位置を (a) マルチ共振 ( $\delta = 0.39$ ) または (b) 芳香族領域 ( $\delta = 7.01$ ) に固定し、照射時間  $t$  に変えた場合のスペクトル上の特定の位置 (1~6) での吸収強度の変化を図3に示す。この  $f_2$  照射位置での吸収は  $\sim 10$  ms 位に急速に減少することがわかる。  $f_2$  で直接照射された部分の吸収 (2~6) はこれに続いた減少が見られ、これは大きく減少するグリン-70 (図3aの2,3) (図3bの2~4) と強く減少するグリン-70 (図3aの4,5; 図3bの5,6) に分けて見られる。SSIの70HzのNMRスペクトルのうちで幅広い成分はそれより強く減少するグリン-70に属するとはわかった。以下の現象解釈は、この強く減少するグリン-70で行う。

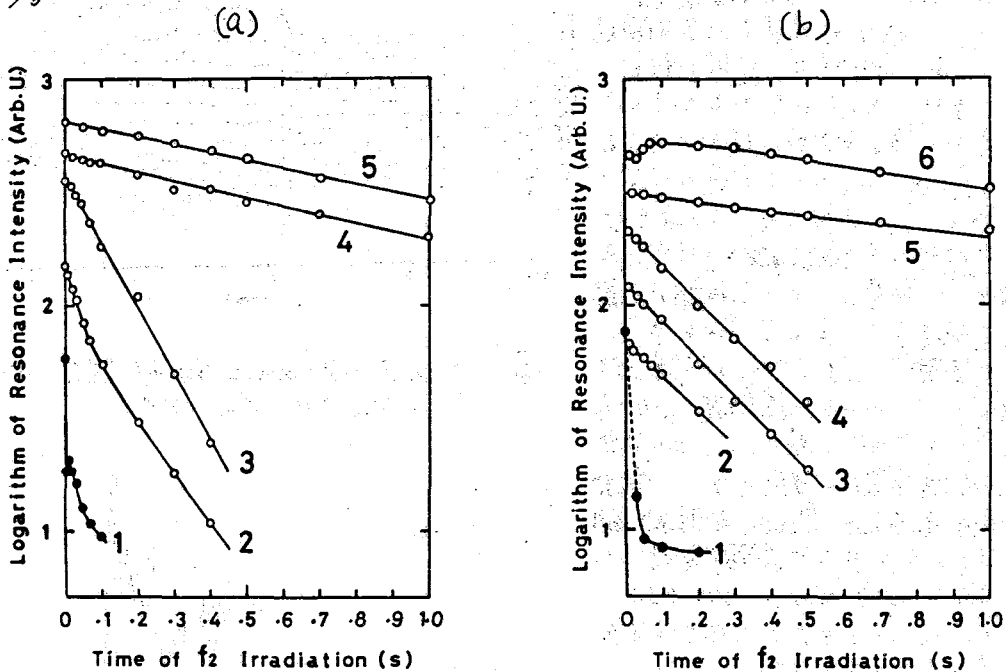


図3 SSI 70Hz NMR スペクトルに示した飽和移動の時間依存。  
360 MHz, 25°C.  $H_2 \sim 17$  mT.

- (a) 1,  $\delta = 0.39$ ;  $f_2$  照射位置  
 2,  $\delta = 0.91$  (マルチ共振のピーク)  
 3,  $\delta = 7.01$  (芳香族芳香族のピーク)  
 4,  $\delta = 3.12$  (Lys の 70Hz)  
 5,  $\delta = 2.13$  (Met 70 マルチ)

- (b) 1,  $\delta = 7.01$ ;  $f_2$  照射位置  
 2,  $\delta = 5.60$  (3-プロピル  $C_{\alpha}$  の 70Hz)  
 3,  $\delta = 0.39$  (3-プロピル マルチ)  
 4,  $\delta = 0.61$  (3-プロピル マルチ)  
 5,  $\delta = 3.12$  (Lys の 70Hz)  
 6,  $\delta = 2.13$  (Met 70 マルチ)

[理論的解析]

a) 溶液中の分子の70ドト2の二酸化の緩和は次式により記述される。今 i 番目の70ドト2の二酸化を  $I_i$  とすると、

$$dI_i/dt = - \sum_{j=1}^m P_{ij} (I_i - I_i^0) - \sum_{j \neq i} \sigma_{ij} (I_j - I_j^0) \quad (1)$$

2>12

$$P_{ij} = K_{ij} \rho_c \left\{ \frac{1}{10} + \frac{3}{10} \cdot \frac{1}{1 + \omega_0^2 \tau_c^2} + \frac{6}{10} \cdot \frac{1}{1 + 4\omega_0^2 \tau_c^2} \right\} + P_{ii} \quad (2)$$

$$\sigma_{ij} = K_{ij} \rho_c \left\{ -\frac{1}{10} + \frac{6}{10} \cdot \frac{1}{1 + 4\omega_0^2 \tau_c^2} \right\} \quad (3)$$

但し  $P_{ii}$  は反逆運動による緩和効果、 $14$ 以外の核 (例として  $^{14}N$ ) との相互作用による緩和効果に由来するものである。

(1) 式を  $I = \sum_{i=1}^m I_i$  として両辺を積分すると、

$$dI/dt = - \sum_{i=1}^m (1/T_i)_i (I_i - I_i^0) \quad (4)$$

2>12

$$(1/T_i)_i = \sum_{j \neq i} (P_{ij} + \sigma_{ij}) + P_{ii} \quad (5)$$

一方、溶液中の分子数1万以上の2つの核間の112は  $\omega_0 \tau_c \gg 1$  となり、このとき

$$P_{ij} + \sigma_{ij} \approx (1/10) (\omega_0 \tau_c)^2 (K_{ij} \rho_c) \quad (6)$$

$$P_{ij} \approx -\sigma_{ij} \approx (1/10) (K_{ij} \rho_c) \quad (7)$$

従って  $P_{ii}$  が無視できるような70ドト2の112は

$$\frac{1}{T_{ij}} = P_{ij} + \sigma_{ij} \ll | \sigma_{ij} | \quad (8)$$

$| \sigma_{ij} |$  は  $i, j$  70ドト2間の交叉緩和速度である。一方  $T_{ij}$  は  $i$  70ドト2の  $j$  70ドト2による緩和速度を示す。(8)式は  $i$  70ドト2のサイト2の格子への緩和および交叉緩和、従ってスピンの緩和が極めて有効であることを示している。

このとき、式(8)の3つの緩和速度が互にほぼ一定であることは、式(8)の各項の値がほぼ一定であることを示す。

$$T_1 \approx T_2 \approx T_3 \approx \dots \approx T_m \equiv T/m \quad (9)$$

(I スピン系2のスピンの温度の関数)

(9)式を用いて(4)式は

$$dI/dt = -(I - I^0)/T_1 \quad (10)$$

$$T_1^{-1} = (1/m) \sum_{i=1}^m T_{ii}^{-1} \quad (11)$$

±5は  $m$  個の70ドト2のうち  $g$  個だけが最大の  $P_{ii}$  ( $\gg \sum_{j \neq i} (P_{ij} + \sigma_{ij})$  (5)式) を持つとすれば、 $(g = m - p)$ 、

$$T_1^{-1} = (g/m) P \quad (P = P_{ii} \text{の平均}) \quad (12)$$

b) 次にラジオ波 ( $f_2$ ) の照射効果を考  
 える。  $f_2$  による直接照射は電子スピ  
 ン (代表的に 1D だけを考へ) を  $S$   
 と名付け、これが残りのスピンを  $I$   
 と結合している。この際  $S$  スピンは  
 $I$  スピン系の 1D のスピンを  $I_1$   
 と結合しているとしよう。

(10) 式に  $I_1$  と  $S$  との相互作用  
 に基づく項を付け加えると、

$$dI/dt = -(I - I^0)/T_1 - \rho_{IS}(I_1 - I_1^0) - \sigma_{IS}(S - S^0) \quad (13)$$

$t=0$  で  $S$  スピンを照射すると、 $\delta H_2 > T_2^{-1}$  である限り  $S$  の磁化は  $T_2$  の  
 オーダー ( $\sim 10 \mu s$ ) で減少する(図 3)であり、事実 (10) の結果はこのことを示して  
 いる。また  $I_1^0 = S^0$  (9) 式から  $I_1 \approx I/m$  であることは多量である、(13) は  
 次のように書き直せる。

$$dI/dt = -(8\rho/m)(I - I^0) - (\rho_{IS}/m)I \quad (14)$$

(14) 式は  $S$  スピンの選択的飽和下での  $I$  スピンの磁化の時間的振舞いを記述している。

(14) 式は積欠の初期条件下で解くことができる。

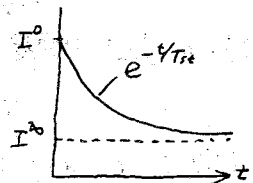
《飽和後動》 初期条件  $I(0) = I^0$

$$I = I^0 \left\{ 1 + (\rho_{IS}/8\rho) e^{-t/T_{st}} \right\} \quad (15)$$

$\gg 12$

$$I^0 = \left\{ 8\rho / (\rho_{IS} + 8\rho) \right\} I_0^0 = (T_{st}/T_1) I_0^0 \quad (16)$$

$$T_{st}^{-1} = (\rho_{IS} + 8\rho)/m = \rho_{IS}/m + T_1^{-1} \quad (17)$$



(15) 式は次のことを示す。即ち、 $S$  の飽和に続く  $I$  スピンの磁化は指数関  
 数的に減少し  $T_{st}$  と  $T_1$  の比で平衡磁化 ( $I^0$ ) に達する。この過程の  
 速さは  $S$  の飽和から  $I$  スピンの磁化される速度 ( $\rho_{IS}/m$ ) と  $I$  スピンの  
 本来のスピンの緩和速度 ( $T_1^{-1}$ ) の和で与えられる。

《スピンの緩和下での緩和時間》

(14) 式は右に  $T_{st}$  緩和時間  $T_1$  が  $f_2$  照射の下に短くなる現象を説明するに  
 役立つ。

参考文献

- 1) 赤坂-志, 化学 34巻 45号, 338頁 (1979)
- 2) フォーベッカー「パルスおよびフーリエ変換 NMR」(赤坂・邦訳, 吉野社) の補遺, p.151.

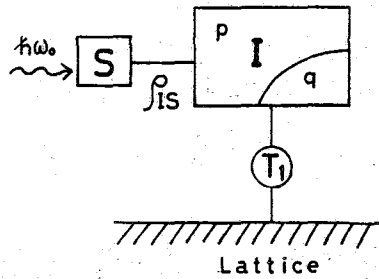


図4. ラジオ波照射による飽和の  
 緩和を時間解析するたためのモデル。



<序> 9-パフ質の構造を研究する手段として、NMRは近年、特にその重要性を増している。三次構造の研究手段としてはX線解析が一方では、その地位を確立しているが、溶液中心の構造、更に、その動的な情報を得るには、X線解析には限界がある。これに対してNMRによる方法は、化学シフト、結合定数、緩和時間等のパラメータから、9-パフ質の動的な情報を引き出すことが大きな特徴である。NMRによる9-パフ質を研究する場合、まずプロトシフトを特定の核を見出し出すことが必要であるが、9-パフ質のような巨大な分子の場合、これはなかなか困難で、従来利用されている<sup>1</sup>H-NMR法ではアミノ酸残基のうち限られたいくつかの残基の利用出来るにすぎず、またその帰属が曖昧な場合が多く、装置が超高磁場のNMRに頼らざるを得ない。プロトシフトを核と同位体を用いて選択的にラベルすることが出来れば、これらの問題の大半は解決されるが、この場合、9-パフ質の特定の残基を修飾することが最大の課題になる。

我々は、今回、SSIのMet残基のカルボニル炭素を修飾により<sup>13</sup>Cラベルすることを試みた。SSIは1972年に村尾ら<sup>2)</sup>により、放射線産物として単離・精製された9-パフ質性プロテアーゼ阻害剤。分子量11500、アミノ酸残基13個からなる等価のPTユニット2個からなる二量体を形成している。既に池田ら<sup>3)</sup>により一次構造が、三井ら<sup>4)</sup>によりX線結晶解析に基づき、三次構造が明らかになっている。9-パフ質のカルボニル炭素は帰属が困難のため、これを構造研究のプロトシフトに代わるとしてはほとんどは、我々は、隣接する残基のα-置換を<sup>13</sup>Cラベルすることにより帰属を明確にし、帰属されたカルボニル炭素シフトを用いることにより、SSIの構造に関する有用な知見を得ることが出来た。ここに報告する。

<実験> ラベルSSIの調製: 同位体ラベルしたアミノ酸を含むアミノ酸混合物を窒素源とする培地中心、*Streptomyces albobiscoloris* S-3253を45°Cに6~7日間振とう培養した後、DEAE-セルロース、Sephadex G-100 11μmフロートグラフィー等により精製し、培養液500mlから約70mgのラベルSSIを得た。

<sup>13</sup>C-NMRの測定: ラベルSSI 30~60mgを2mlの水(或いは水)に懸濁させ、希アミン水でpD(pH)を調節して溶解した後、10mm管に測定した。スペクトルはVarian XL-100を用い、化学シフトは内部標準として用いたジメチルジホスホキシドの化学シフト値を67.8ppmとしてTMSからの値に換算した。

<結果及び考察>

1. Met残基の帰属  
SSIはPTユニット当り3個のMet残基(Met-70, Met-73, Met-103)を含む。Met残基のカルボニル炭素をラベルしたSSIの<sup>13</sup>C-NMRスペクトルはカルボニル領域に3本のピークを示した(図1a)。3個のMet残基のC末端側の残基は、それぞれCys-71, Val-74,

つづいて、かいつまんで

Asn-104 ばかり。これらの残基を別個に  
 15N トラバールすると、隣接する Met 残基の  
 カルボニル炭素シグナルは 13C-15N スピン  
 スピン結合により分裂するニと期待され  
 る。実際、Met 残基のカルボニル炭素と併  
 せし Val, Cys, Asn 残基の α-窒素も、  
 4x4x15N トラバールした SSI の 13C-NM  
 R スペクトルは、図-1 a, b, c のようにな  
 り。3本の Met 残基のシグナルのうち、1  
 本にカップリングによるクワテライトが観測  
 された。この結果から、3本のシグナルは  
 高磁場側から Met-73, Met-70, Met-103  
 の各残基に帰属するニと出来た。Met-  
 70及び Met-73がほぼ同程度の化学シフト  
 値を示すのに対応し、Met-103はそれから  
 約 0-5 ppm 低磁場にシフトしている。SSI  
 分子中の各残基の環境を考えた場合、Met-  
 70, 73は溶媒に露出し高次構造の形成に参  
 与しているのに対応し、Met-103はマ  
 ーハリックアスに含まれ、α-カルボニル酸  
 素は、Gly-107残基のアミドプロトンと介  
 する水素結合を形成しており、これが低磁  
 場シフトの原因と考えられる。

## 2. 緩和時間の測定

緩和時間は回転相関時間の関数として与  
 えられる。介子の運動性を知らぬと  
 とは。介子の各部分に注目し、その T<sub>1</sub>,  
 T<sub>2</sub>(T<sub>2</sub><sup>\*</sup>)を測定すれば、その部分のク  
 ンパ  
 質分子中心の動き易さについでの情報も  
 得られるキと思われ。図-2に、180°-τ-90°パルス法による Met-103 トラバール  
 SSI の部分緩和スペクトルを示す。T<sub>1</sub>は、ニれから求め、T<sub>2</sub><sup>\*</sup>は T<sub>2</sub><sup>\*</sup> = 1/πω (ω; 半値巾)  
 と用いて求めた。求めた T<sub>1</sub>, T<sub>2</sub><sup>\*</sup>の値を表-1にまとめて記した。測定誤差が小さいため、  
 ニれらの値の定量的評価は難しいが、T<sub>1</sub>の値は、Met-103 < Met-70 ≤ Met-73 の順  
 になる。Met-103はマーハリックアスに含まれ運動性が制限され、ニのカルボニル炭素の  
 T<sub>1</sub>, T<sub>2</sub><sup>\*</sup>が最も短いニとはそれの裏面とされる。一方、X線解析の結果には、Met-73は  
 Met-70に比べ運動性が少ないニと予想されるが、T<sub>1</sub>は Met-73の方がわずかに長く  
 T<sub>2</sub><sup>\*</sup>は、ほとんど差がない。実際のとおり T<sub>1</sub>, T<sub>2</sub>には運動性に加え、周囲の、主にプロトン

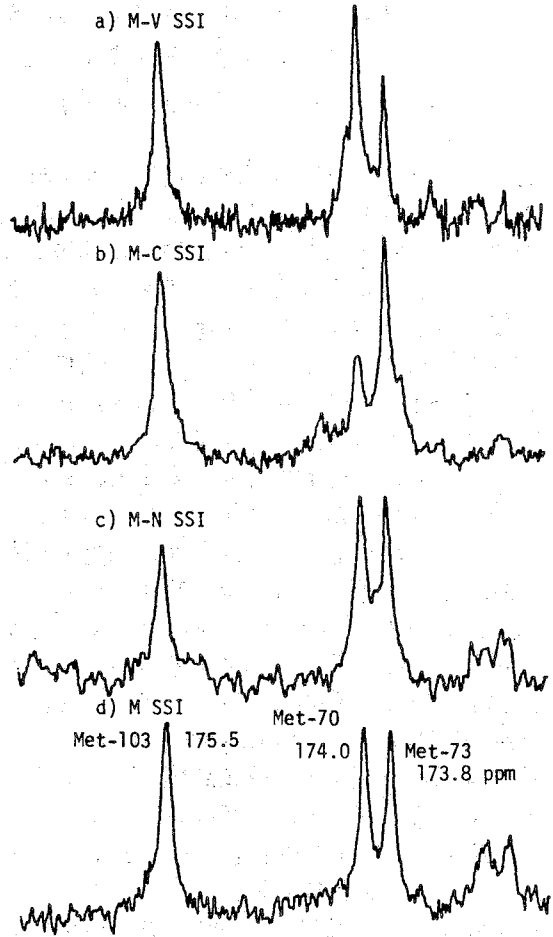


fig. 1 25.2 MHz Carbon-13 NMR Spectra of Isotope Labeled SSI.

表-1. カルボニル炭素の緩和時間

	T <sub>1</sub>		T <sub>2</sub> <sup>*</sup>
Met-70	1.10 <sup>a)</sup> sec	0.85 <sup>b)</sup> sec	0.17 sec
Met-73	1.10	1.00	0.17
Met-103	1.00	0.71	0.14

a)  $\tau$  と  $h\nu (M_0 - M_z/2)$  の傾きから求めた値。  
 b) null point から求めた値。

トンは重水中心はすくやかに重水素と交換する二ことが知られている。9-インパ7質の場合、分子内水素結合をしている水素や、疎水領域にある水素は交換しにくいほど、9-インパ7質の高次構造に大きな影響を受ける為、重水素交換反応から構造に関する情報を引き出すことが出来る。図-3 a) b) c) に 50% D<sub>2</sub>O 中、10% D<sub>2</sub>O 中、100% D<sub>2</sub>O 中で測定した Met-1-<sup>13</sup>C ラベル SSI の <sup>13</sup>C-NMR スペクトルを示した。100% D<sub>2</sub>O 中と 10% D<sub>2</sub>O 中でのカルボニル炭素の化学シフト値と比較すると、100% D<sub>2</sub>O 中では、それ以外のピークが約 0-1 ppm 高磁場側にシフトしていることが判る。これは、アミドプロトンが重水素化されたことによるシフトであると思われる。

この双磁子-双磁子相互作用の差異等が反映されるので、この様相はすくやかな緩和時間の差を運動性と結びつける議論するのは、適当では無いと思われる。

3. 重水素交換反応から見た SSI の構造化学

小分子量のペプチドのアミドプロ

50% D<sub>2</sub>O 中では、Met-73, 103 のカルボニル炭素が、重水素化されたアミドヒドロキシル基の中心にシフトしたシフトルを呈

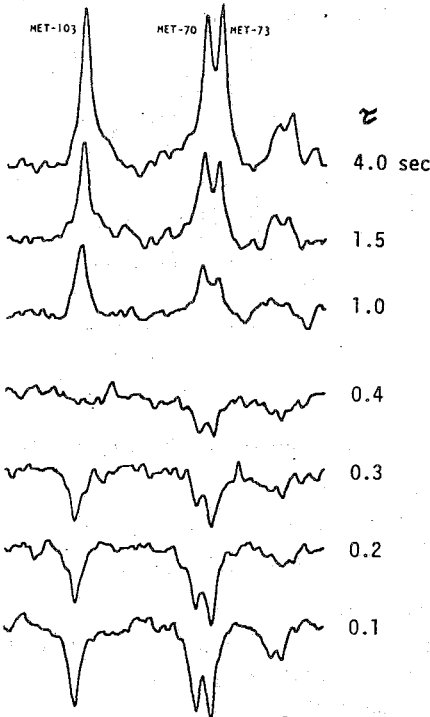


fig. 2 Partially Relaxed <sup>13</sup>C-NMR Spectra of SSI-Met-1-<sup>13</sup>C.

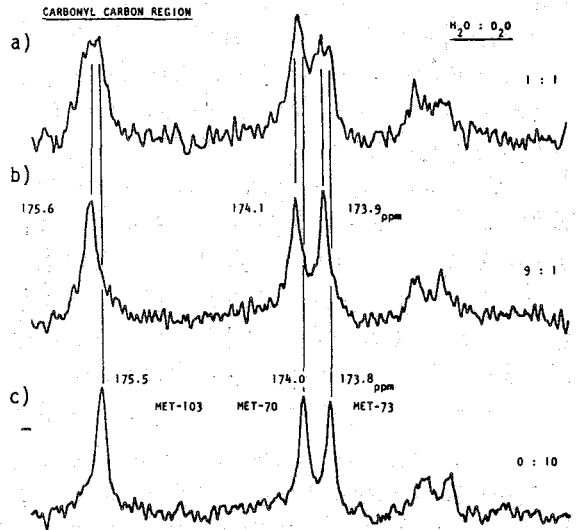


fig. 3 Secondary Isotope Shifts for the Methionyl Carbonyl Carbon Resonances in SSI-Met-1-<sup>13</sup>C.

るのに対し、Met-70は一本のピークを示した。これは、Met-70のH-D交換反応がMet-73, 103に比べ速いことを示している。以上の結果から、ワーハリックス中のMet-103残基が、室温、中性条件下で水素交換反応を起す、すなわち、溶媒と接触する機会があること、また、溶媒に露出し、同じような環境にあると思われるMet-70, 73残基にフリンは、Met-70の方が水素交換反応速度が速いことが明らかになった。これは、分子内の各部位の局所的回転が速くも反映しているものと思われる。このように、この方法はタンパク質分子の各部位の運動性を研究する有用な方法と言えよう。

4. 熱変性過程の追跡

タンパク質は、通常、高温で変性するが、その変性の過程が、どのような段階を経る進行していくか極めて興味が行われる。SSIにフリンはこれまでにH-D交換反応<sup>6)</sup>、蛍光スペクトル<sup>7)</sup>、及びプロトンNMRスペクトル<sup>8)</sup>から熱変性の研究が行われており、中性付近では65°C位から変性による構造変化が始まることが報告されている。図4にa) 67°C, b) 79°C, c) 89°Cで測定したMet-103, 70, 73の<sup>13</sup>C-NMRスペクトルを示した。67°Cは常温とほとんど差はないが、79°Cになると少し変化が見られ、89°Cでは、Met-103のピークが弱磁場にシフトし、Met-73のピークは低磁場にシフトし、Met-70のピークと重なる。この状態はワーハリックスは壊れてランダム状態になっているものと思われる。また、このような変化が79~89°Cの間で起ると、native型とdenaturate型のスペクトルが別々に観測されることから、両層の間の変化がNMRのタイムスケールの中でくり進化する事が明らかになった。この方法は、主鎖のカルボニル炭素を見ている点、骨格の変化に関する情報が直接得られ、またそれ以外のシグナルが帰属されているため、タンパク質の骨格のどの部分が変化しているのか、という情報が得られる点、有用な新方法であるものと思われる。

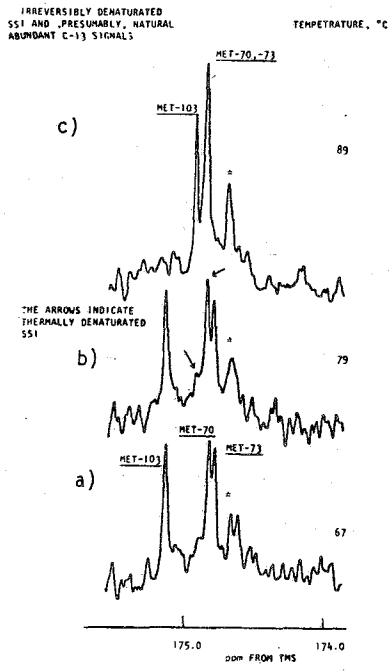


fig. 4 Thermal Denaturation of SSI

- 1) S.Murao, S.Sato and N.Muto, Agr. Biol. Chem., 36, 1737(1972).
- 2) T.Ikenaka, S.Odani, M.Sasaki, Y.Nabeshima, S.Sato, and S.Murao, J. Biochem., 76, 1191(1974).
- 3) Y.Mitsui, Y.Satow, Y.Watanabe, and Y.Iitaka, J. Mol. Biol., 131, 697(1979).
- 4) M.Nakanishi and M.Tsuboi, Biochim. Biophys. Acta, 434, 365(1976).
- 5) T.Komiyama, M.Miwa, S.Sato, and S.Murao, Biochim. Biophys. Acta, 493, 188(1977).
- 6) 永坂・藤井・森野野, 第30回タンパク質構造討論会講演要旨集 145, 東京(1979).

生理研, 京大理\* 亘 弘, 矢内原昇, 日置善雄, 赤坂一之\*

最近脳内活性物質が多数発見され, その化学構造がオリゴペプチドであることが知られている。これらは神経の興奮によって分泌されるシナプス伝達物質の一種であると認識されて来た。しかしシナプス伝達物質としてアセチルコリンやノルアドレナリンなどのアミンであることが確定しており, 単にシナプス伝達物質の種類を増すとは考えにくいこととこれらオリゴペプチドはすでに消化管ホルモンとして発見されていたものであることを考えあわせると, 別の生理機能を持つものと推量されている。これらの生理機能を知るためには, これらの高次構造を知る必要がある。とくに作用発現時の構造, すなわちレセプターとの結合にあたって構造変化を知ることを望まれる。そこで脳内活性物質の一つである Substance P をとりあげた。Substance P は平滑筋刺激物質として Euler and Guddum により 1953 年に発見された。<sup>1)</sup> 1971 年になって Chang and Leeman によって牛の脳下垂体より抽出精製され,<sup>2)</sup> その構造が  $\text{H-Arg-Pro-Lys-Pro-Gln-Gln-Phe-Phe-Gly-Leu-Met-NH}_2$  と決定された。現在では哺乳類中枢神経における興奮性の伝達物質とされている。この物質の合成が行われ, その作用は天然物と同一であることが確認され, さらに種々の fragment による活性の測定が行われ, C 末端より 6 つのペプチド活性中心であることが見出されている。<sup>3)</sup> Substance P analogue の NMR については Inagaki et al.<sup>4)</sup> の報告がありまた最近オリゴペプチドの NMR について多くの報告が見られる。今回活性のある PyroGln-Phe-Phe-Gly-Leu-Leu-NH<sub>2</sub> と活性のない PyroGln-Phe-Phe-Gly-Leu-NH<sub>2</sub> の Substance P analogue について 360 MHz <sup>1</sup>H NMR を測定したので報告する。

試料及び方法 — 360 MHz <sup>1</sup>H NMR の測定は, Bruker WH-360 spectrometer (ASPECT 2000 computer system) を用いた。また, 温度をかえる場合, Bruker B-VT 1000 variable temperature unit を用いた。試料は Substance P analogue の一種である PyroGln-Phe-Phe-Gly-Leu-Leu-NH<sub>2</sub> および PyroGln-Phe-Phe-Gly-Leu-NH<sub>2</sub> で, 液相法により合成したものをを用いた。前者は Substance P と同じ活性を持つに対し, 後者は活性を持たない。なおこれらは, 静岡薬科大学生物薬品化学教室より提供されたものである。各々の試料 1 mg は DMSO-d<sub>6</sub> 0.2 ml に溶解して試料管 5 mm に入れた。内部基準として DMSO-d<sub>6</sub> を用い, このピークを 2.49 ppm として測定した。DMSO-D<sub>6</sub> は Merck 社製である。測定にあたっては, 42° パルスを用い, スペクトル幅 4000 Hz でデータポイント 32 K とし, 40 回 ~ 400 回の積算を行った。なお測定は, 温度変化実験以外は室温で行った。スペクトルの帰属は, 積分および選択的ホモデカップリングによった。デカップリングパワーは, 20 ~ 50 mW を使用した。

実験結果と考察 — Substance P analogue のスペクトルを 360 MHz で測定したものを図 1 に示す。後述のスペクトルの帰属の結果, ピークの番号は構造式に示した番号と対応す

わたり ひろし, やないはら のぼる, ひおき よしお, あかさか かづゆき

る。

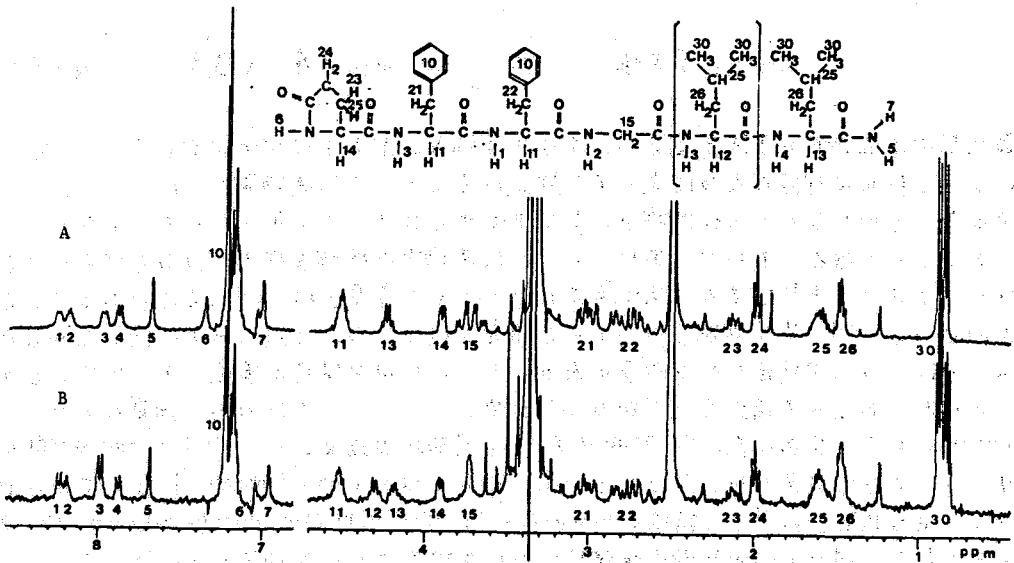


図1. Substance P analogue の DMSO-d<sub>6</sub> 溶液の <sup>1</sup>H NMR スペクトル・2.499ppm のシグナルは DMSO, 3.35ppm は H<sub>2</sub>O による .A: PyroGln-Phe-Phe-Gly-Leu-NH<sub>2</sub> B: PyroGln-Phe-Phe-Gly-Leu-Leu-NH<sub>2</sub>

図1のBの各ピークの帰属を選択的ホモテカプリングした結果を表1にまとめた。なお図1のAの結果も表1と同じものが得られた。

表1 選択的ホモテカプリングによる影響

chemical shift (ppm)	peak No.	effected peak																											
		1	2	3	4	5	10	6	7	11	12	13	14	15	21		22	23	24	25	26	30							
8.22	1	-								x				x															
8.16	2																												
7.96	3			-						x	x																		
7.85	4				-							x																	
7.66	5																												
7.18	10																												
-	6																												
6.94	7																												
4.50	11	x	x												x	x													
4.28	12			x																									
4.17	13				x																								
3.89	14																												
3.70	15		x																										
3.00	21																												
2.72	22																												
2.10	23																												
1.96	24																												
1.58	25																												
1.44	26																												
0.82	30																												

表1の結果のうちで、帰属の困難であったピーク(25)のデカップリングしたものを図2に示した。ピーク(25)を50mWでデカップリングすると PyroGln の $\alpha$ -プロトン(14)  
 $\beta$ -プロトン(23),  $\gamma$ -プロトン(24)および Leuのメチルプロトン(30)に影響があり、  
 ピーク(25)には PyroGln の $\beta$ -プロトンと Leuの $\gamma$ -プロトンが混在していることがわ  
 かった。なお、ピーク(25)の低磁場側と高磁場側の2カ所を20mW以下でデカップリン  
 グすると、それぞれ PyroGln, Leuの影響が別々に検出できた。これらの結果, PyroGln  
 2euの影響が別々に検出できた。これらの結果, PyroGln の2個の $\beta$ -プロトンは、2.10  
 ppmと1.58ppmにシフトしている事がわかった。

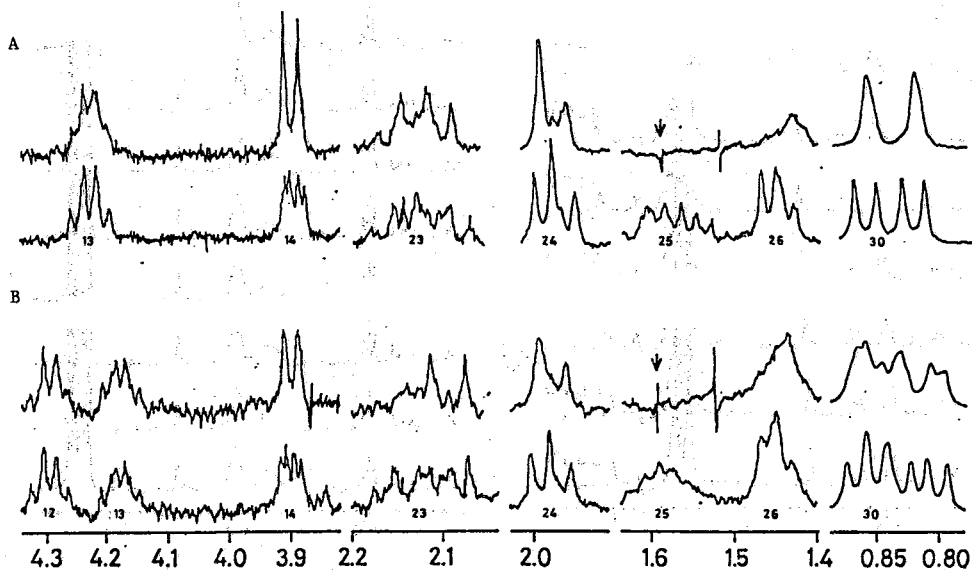


図2. Substance P analogue の  $^1\text{H}$  NMR. A: PyroGln-Phe-Phe-Gly-Leu-NH<sub>2</sub>,  
 B: PyroGln-Phe-Phe-Gly-Leu-Leu-NH<sub>2</sub> でのものがデカップリングしたもので矢印はデカップリングした位置を示す。

2つのオリゴペプチドで大きく異っているのは、グリシンの $\alpha$ -プロトンの信号である。PyroGln-Phe-Phe-Gly-Leu-NH<sub>2</sub>において、グリシンの2つの $\alpha$ -プロトンはABX型の信号で、2つのプロトンの間では0.09ppmの化学シフトの差が見られるのに対して、PyroGln-Phe-Phe-Gly-Leu-Leu-NH<sub>2</sub>にはこの差が殆んど見られない。

PyroGln-Phe-Phe-Gly-Leu-Leu-NH<sub>2</sub>の化学シフトの温度変化を測定した。とくにアミドプロトンの温度変化は、分子内水素結合形成についての情報を提供するが、図3にその結果を示した。これによると315°K以上において、7.1~7.2ppm付近に新たにピーク(6)が出現した。これは、アミドのプロトンであり、pheの $\phi$ -プロトンの信号中にかくれていたピーク(6)が温度を上げるにしたがい、高磁場側にシフトしてきたものである。また、各々のピークの温度係数(10<sup>-3</sup>ppm/deg)はPheが3.00, Glyが3.13, Phe,Leuが2.50, Leuが3.13であった。なお、 $\alpha$ -プロトンへの温度の影響は、ほとんど見られなかったのに対しLeuの

メチルプロトンで、 $-0.20$ 、Pheの $\beta$ -プロトンで、 $-0.40$ であった。

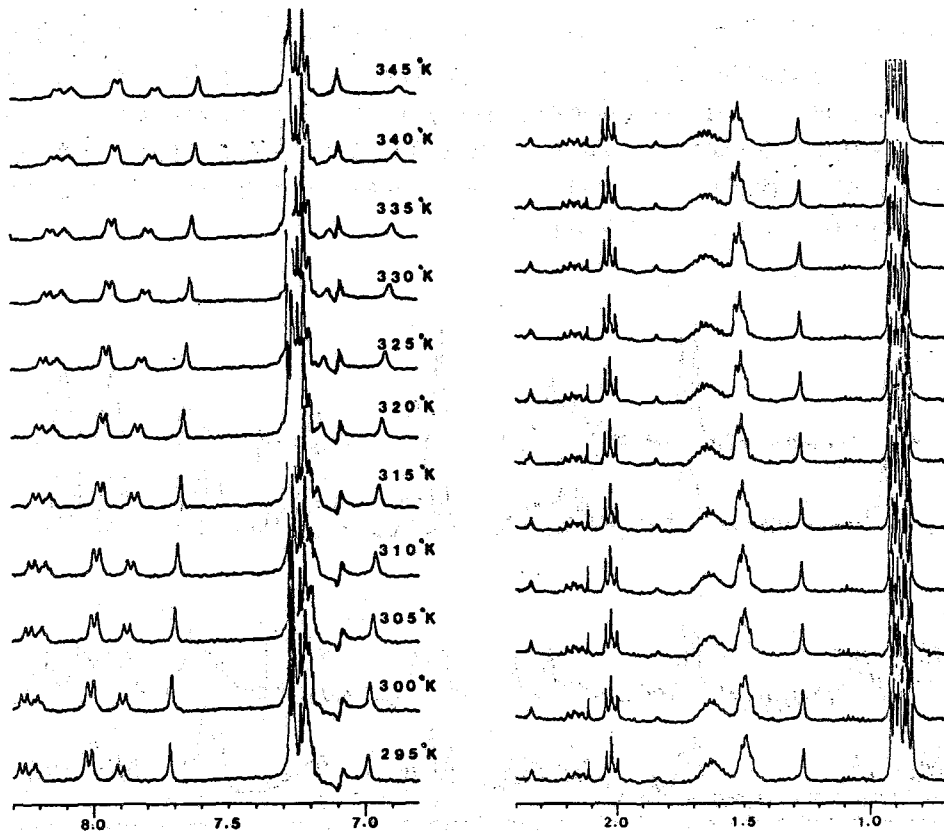


図3. PyroGln-Phe-Phe-Gly-Leu-Leu-NH<sub>2</sub> の温度依存性

Inagaki et al.<sup>\*)</sup> が H-Gln-Gln-Phe-Phe-Gly-Leu-Met-NH<sub>2</sub> の NMR の測定において Phe のアミドプロトンの温度係数が小さいことから分子内水素結合の存在することを示した。しかし、PyroGln-Phe-Phe-Gly-Leu-Leu-NH<sub>2</sub> では各アミドプロトンの温度係数には差はほとんど見られなかった。

以上のような結果を得たが、さらに追加の実験を続行中である。これらの結果をもとにして高次構造を確定して、生理活性と構造の関連を明らかにしたい。

1) U. S. V. Euler and J. H. Gaddum, *J. Physiol.*, **72**, 74 (1931). 2) M. M. Chang and S. E. Leeman, *J. Biol. Chem.*, **245**, 4784 (1970)., M. M. Chang and S. E. Leeman and H. D. Niall, *Nature New Biol.*, **232**, 86 (1971). 3) M. Otsuka and S. Konishi, *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biol.*, **XL**, 135 (1976). 4) Fuyuhiko Inagaki, Tatsuo Miyasawa, Noboru Yanaihara and Masanori Otsuka, *Peptide Chemistry.*, 103 (1977).



(阪大蛋白研・蚕糸試\*)

○小林祐次・藤原敏道・京極好正・  
片岡純三\*

表1

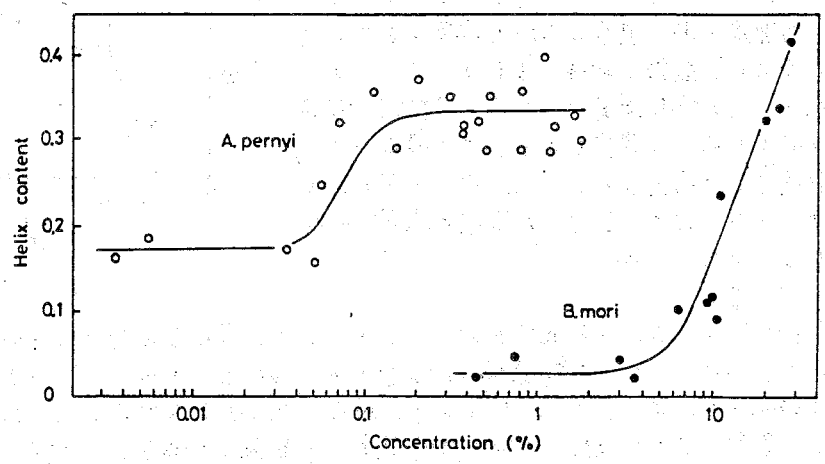
Amino acid Composition of Silk Protein  
( residues/100 residues )

	Bombyx mori fibroin	Antheraea pernyi fibroin
Alanine	26.58	42.17
Glycine	42.27	30.51
Tyrosine	4.50	5.88
Serine	18.11	7.06
Aspartic acid	1.65	5.70
Arginine	0.36	1.42
Histidine	0.13	0.98
Glutamic acid	1.18	1.17
Lysine	0.25	1.00
Valine	1.98	1.05
Leucine	0.47	0.60
Isoleucine	0.59	0.52
Phenylalanine	0.63	0.60
Proline	0.42	0.53
Threonine	0.83	0.75
Methionine	0.07	0.05

絹フィブロインの構造や物性に関する研究は主にカイコが吐糸した生糸を用いて行われてきた。我々は五齢期にある熟蚕から絹糸腺を抽出し、そこに貯えられている液状絹を用いて絹フィブロイン分子の水溶液中での構造を研究している。液状絹を用いると変性を起させることなく、25%にも達する濃厚な蛋白質水溶液が得られるという利点がある。用いたカイコはカイコ科に属するカイコ(家蚕・*Bombyx mori*)とヤママユカ科に属するサクサン(柞蚕・*Antheraea pernyi*)の二種である。この二種はそのアミノ酸組成が特徴的で、表1に示すように家蚕柞蚕ともにグリシンとアラニンの含量が非常に大きく両者だけで全アミノ酸の70%を占めているが、家蚕と柞蚕でグリシンとアラニンの比率が逆転している。一般にグリシンは $\alpha$ ヘリックス安定化能が低く $\beta$ 構造をつくり易く、アラニンは反対にヘリックス安定化能が大きいと考えられるので、両者の構造に大きい差異が予想され、アミノ酸組成と蛋白質の構造の関係を研究するのに興味ある試料と考えてきた。分子量は家蚕フィブロインについて250,000、柞蚕フィブロインについて270,000と云う値を沈降平衡

図1

法より得ている。既にCDやORDを用いて両フィブロインとそれの二次構造は温度・濃度・pHに大きく依存し、それらの外的条件の変化に伴い、 $\alpha$ ヘリックス、 $\beta$ 構造、ランダムコイルの三態間の構造転移を生ずることを明らかとして来た。今日はこれらのフィ



こばやしゆうじ・ふじわらとしみち・きょうごくよしまさ・かたあかこうどう

フィブロインの水溶液中での構造についてNMRを用いて研究した結果を報告する。測定にはJEOL FX100とBruker WM360を用いた。

(1) 構造の濃度依存性

ORDとCDから求めた室温におけるヘリックス含量と濃度との関係を図1に示す。柞蚕では0.1%, 家蚕では54%程度の濃度域を境に高濃度ではヘリックス構造が存在することが分る。これより低濃度ではランダムコイルがβ

構造をとるようになる。重水溶液中でこれらのフィブロインの濃度を変えて<sup>1</sup>H NMRを測定し、H<sub>2</sub>Oの緩和時間を求めると図2の結果が得られた。すなわちヘリックスが安定化される高濃度ではT<sub>1</sub>は約2secと短く、ヘリックス含量が急激に変化する濃度域に対応した濃度でT<sub>1</sub>も約10secへと変化して、水の運動性が変ることが分る。これは液状絹がコンセットでは寸める様に、巨視的にみてもゲル状態であることから考え、フィブロインは高濃度で水を包含した網目構造をとり、そのため水の運動性が抑えられていると考えられる。この網目構造がヘリックス構造を安定化するため、高濃度でヘリックス構造をとり、低濃度でβ構造をとると云った、一般のポリペプチドと大きく異なった構造の濃度依存性をもつと考えられる。

(2) 結合水

蛋白質の水溶液の不凍水を調べることにより、蛋白質の結合水を調べる方法がKuntzらにより提出されている<sup>(1)</sup>。液状絹の結合水の<sup>1</sup>H NMRは下川により報告されているが、<sup>(2)</sup>今回は液状絹を凍結し、そこに存在する不凍水の<sup>1</sup>H NMRを測定した。液状絹を液体窒素温度まで急激に冷却し凍結したのち測定温度まで昇温した場合と、測定温度で凍結した場合と

図2

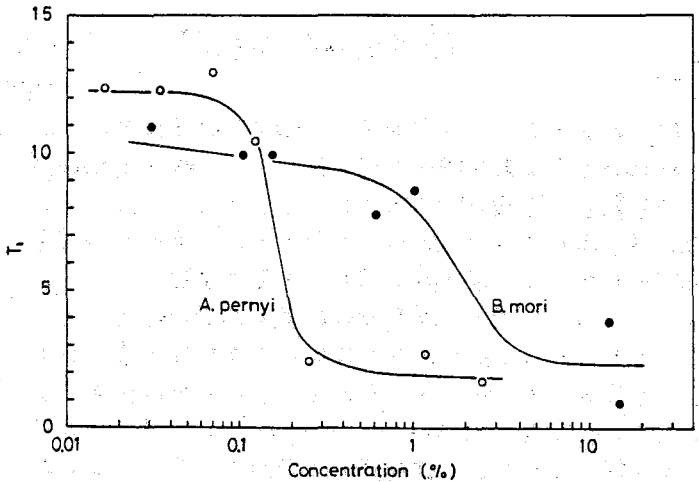


図3

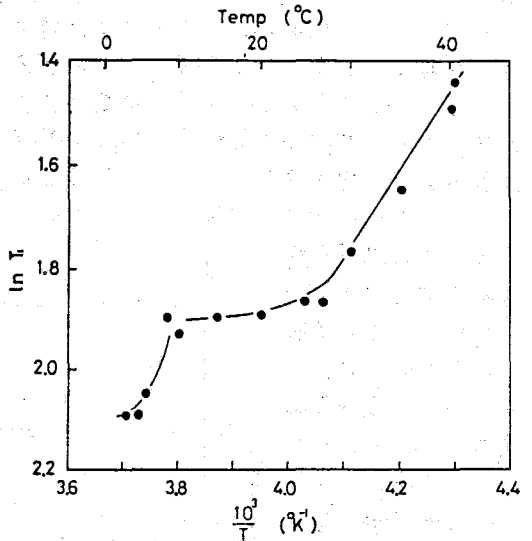
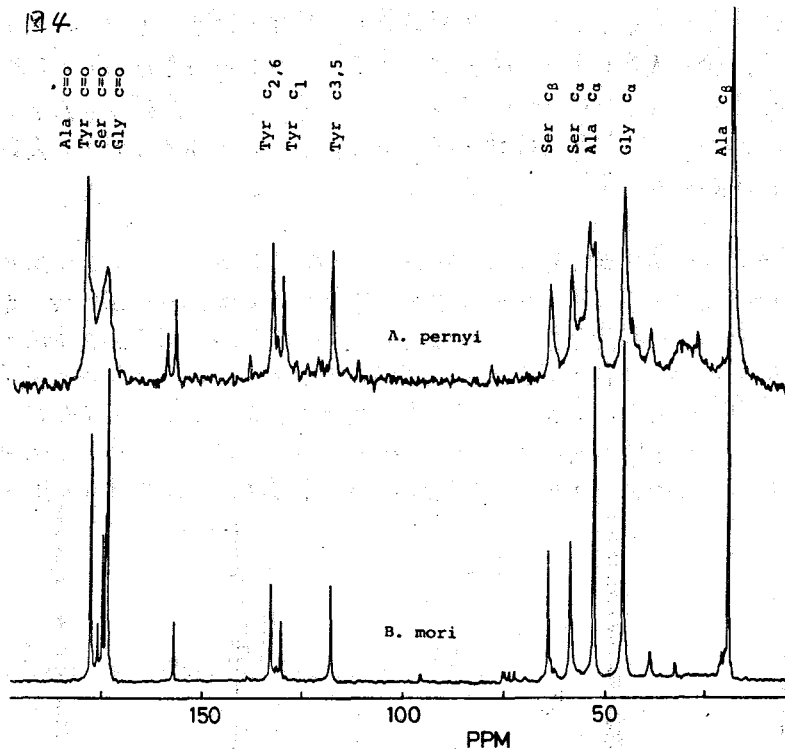


図4



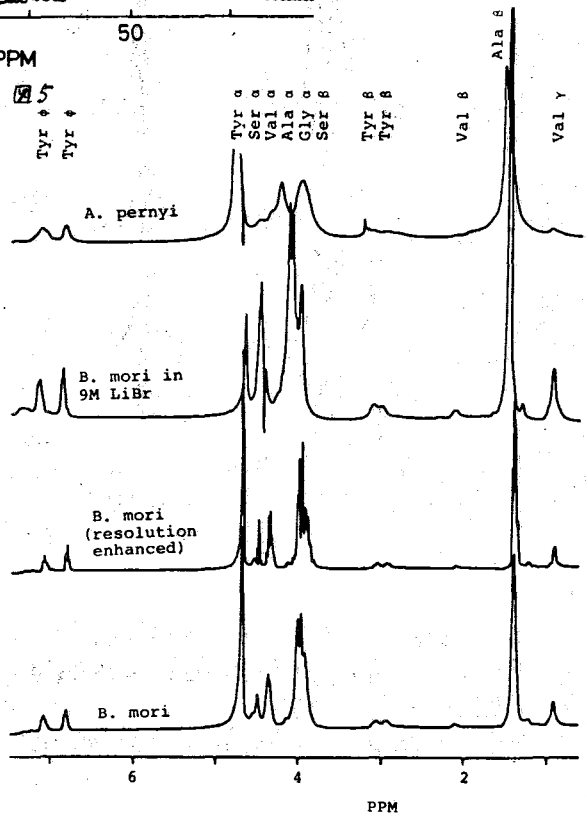
で凍水のシグナルに差異は認められなかった。凍水のHの縦緩和時間T<sub>1</sub>と温度の関係を図3に示す。T<sub>1</sub>の温度依存性は-10°C付近と-25°C付近で大きく変わり、三種の形態の結合水が存在することを示している。一般に液状絹を凍結乾燥するとβ構造をとることが知られているが、我々が種々の温度で凍結させた試料を乾燥させ、X線回折により結晶性を調べた結果、

0~-10°Cで凍結させるとβ構造となり、-11°C以下で凍結させるとヘリックス構造をとることが分っている。この臨界温度と同じ-10°C付近で結合水の状態が変わることから、この結合水がヘリックス構造の安定化に大きく関係していると考えられる。

(3) <sup>13</sup>C NMR

液状絹の25MHzの<sup>13</sup>C NMRスペクトルを図4に示す。家蚕フィブロインと野蚕フィブロインを比較した場合、野蚕のシグナルが全体的にブロードになっている。下川により示されたように大きな分子量に反してシャープなシグナルを与えた<sup>(7)</sup>。ORDより求めたb<sub>0</sub>値より、これらの液状絹は両者ともヘリックス構造をとっていると考えられる。

図5



が、その運動性に差異のあることを示している。X線回折より乾燥状態では家蚕フィブロインは $\alpha$ 型と呼ばれるアミノ酸1残基当り2.3Aのピッチをもつゆがみ特異なヘリックス構造をとるのに対し、柞蚕フィブロインは1.5Aのピッチをもつ $\alpha$ ヘリックス構造を取ると示されている<sup>(4)</sup>。液状絹の状態でもこの差異は保存され、そのヘリックス構造の固さの差異が<sup>13</sup>C NMRの線中に反映していると考えられる。

(4) <sup>1</sup>H NMR

家蚕および柞蚕フィブロインの重水中における360MHz <sup>1</sup>H NMRのスペクトルを図5に示す。試料は液状絹をVisking膜に入れ、重水に透析して得た。家蚕の場合には中性の重水中で沈殿を生じるのでpD10.3で透析した。この場合も<sup>13</sup>C NMRと同様に野蚕はブロードになった。ピークのアサインメントはデカップリングによる。<sup>1</sup>H NMRの温度変化を測定した結果を図6図7に示す。家蚕フィブロインは図7のようにほとんど変化を示さなかった。野蚕フィブロインではAlaのC $\alpha$ -HとGlyのC $\alpha$ -Hのピークの高さの比が温度変化に伴って逆転した。これは $\alpha$ ヘリックスの破壊に伴う骨格構造の運動性の変化を反映すると考えられる。

図6

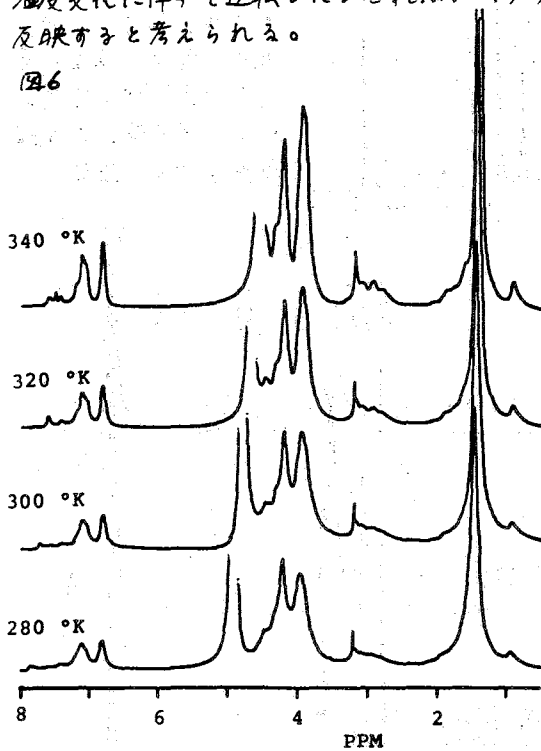
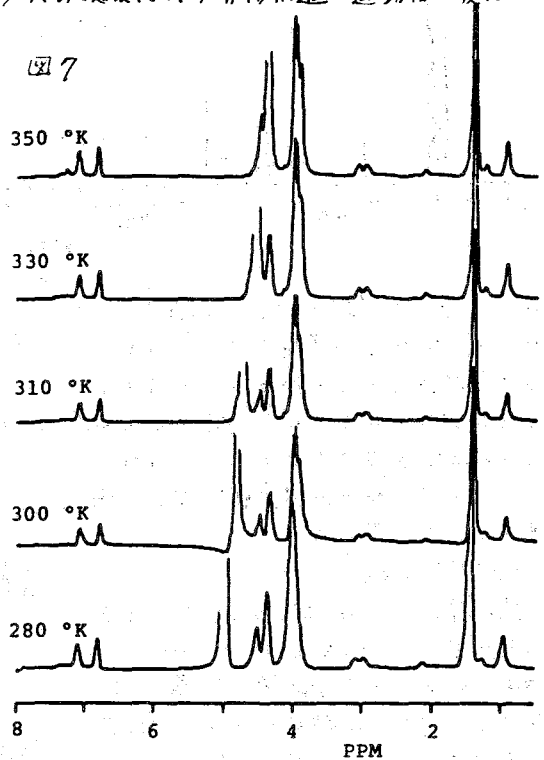


図7



文献

- (1) I. D. Kuntz, W. Kauzman; *Advances in Protein Chemistry*, **28**, 239 (1974)
- (2) 下川繁三; *第14回NMR討論会講演要旨集* p.223 (1975)
- (3) 下川繁三; *同上* p.219 (1975)
- (4) R. D. B. Fraser, T. P. MacRae; *Conformation in Fibrous Protein*, Chap.13 (1973)

(北大 理) 平沖敏文, 角谷 智, 引地邦男

生体高分子と金属イオンとの相互作用の挙動を調べるため、われわれはこれまで常磁性金属イオン-ポリアミノ酸、ムコ多糖類の系の研究を行ない、常磁性イオンによる緩和速度の増加や常磁性シフトから金属イオンの配位部位、配位時間、配位構造などを明らかにしてきた<sup>(1)-(5)</sup>。本研究ではポリ-L-リジンより側鎖のメチレン鎖が1ヶ所多いポリ-L-オルニチン(PLO)-Cu(II) 錯体において、PLOの<sup>13</sup>C, <sup>1</sup>H及び溶媒のH<sub>2</sub>Oの<sup>1</sup>HのT<sub>1</sub>, T<sub>2</sub>を測定して、そのpH, 温度依存性から錯体のミクロな構造と動的挙動を検討した。

## 〈実験〉

ポリ-L-オルニチン(PLO)はNCA法により合成したポリ-δ,N-カルボベンジルオキシ-L-オルニチンから調整した。NMRの測定はJEOL FX-60Q(<sup>13</sup>C:15MHz, <sup>1</sup>H:60MHz)を用い、一部はFX-100(<sup>1</sup>H:100MHz)を用いた。化学シフトはジオキサンを内部基準として用いた。T<sub>1</sub>はInversion-recovery法により、T<sub>2</sub>はC.P.M.G法(<sup>1</sup>H)と線中(<sup>13</sup>C)より求めた。NOEはゲートデカップル法により求めた。

## 〈理論〉

常磁性による緩和速度の取り扱いはSolomon-Bloembergenの式に従った<sup>(6)</sup>。化学交換がある場合、常磁性による緩和速度の寄与は次式で与えられる。

$$1/T_{ip} = 1/T_c - 1/T_{c0} \quad (i=1, 2) \quad (1)$$

ここでT<sub>c</sub>, T<sub>c0</sub>は常磁性イオンが存在する時としない時の緩和時間である。Cu(II)のように常磁性シフトが無視できる場合には

$$1/T_{ip} = f \rho / (T_{CM} + \tau_M) \quad (i=1, 2) \quad (2)$$

ここでfは[Cu(II)]/[PLO], ρは配位数, T<sub>CM</sub>は錯体の緩和時間, τ<sub>M</sub>はlifetimeである。

$$\frac{1}{T_{1M}} = \frac{2}{15} \cdot \frac{S(S+1) \delta_i^2 g^2 \beta^2}{r^6} \left( \frac{3T_c}{1 + \omega_i^2 T_c^2} \right) \quad (3)$$

$$\frac{1}{T_{2M}} = \frac{1}{15} \cdot \frac{S(S+1) \delta_i^2 g^2 \beta^2}{r^6} \left( 4T_c + \frac{3T_c}{1 + \omega_i^2 T_c^2} \right) + \frac{1}{3} \frac{S(S+1) A^2}{\omega_i^2} \tau_c \quad (4)$$

$$1/T_c = 1/\tau_R + 1/\tau_M + 1/\tau_s, \quad 1/\tau_c = 1/\tau_M + 1/\tau_s \quad (5)$$

ここでrは金属イオンと観測核との距離, τ<sub>R</sub>はtumbling motionの相関時間, τ<sub>s</sub>は電子スピンの緩和時間である。

## 〈結果と考察〉

<sup>13</sup>C NMR 図1にPLOの<sup>13</sup>C NMRスペクトルの高磁場部分を示す。PLOにCu(II)を加えるとPLO側鎖のC<sub>β</sub>, C<sub>γ</sub>のシフトの線幅が広がる。しかし、C<sub>α</sub>, 主鎖のC<sub>α</sub>, C'にはCu(II)による影響が見られない。PLOの化学シフトのpH依存性を図2に示す。

ひらおき としふみ, かじや さとし, ひきち くにお

化学シフトはCu(II)による常磁性シフトは観測されず, PLO  
 だけの場合と一致する。 pHを上げると側鎖アミノ基は脱  
 プロトン化して, 側鎖のC $\beta$ , C $\gamma$ の化学シフトが大きく低磁場  
 シフトする。 又, 主鎖のC $\alpha$ , C'にも約1 ppmの低磁場シフト  
 が観測され, PLOには約20~30%の $\alpha$ -helixが存在するこ  
 とを示している。 図3にC $\gamma$ とC $\beta$ の $1/T_{2p}$ のpH依存性を示  
 す。 pH8以上になると緩和速度は増加し, pH9~10 付  
 近で極大を示す。 以上の結果はPLO側鎖のアミノ基が脱  
 プロトン化し始めるpH9以上からCu(II)がアミノ基に配位す  
 ることを示している。 C $\gamma$ とC $\beta$ の $1/T_{1p}$ ,  $1/T_{2p}$ の温度依存性  
 を図4に示す。 C $\beta$ の $1/T_{1p}$ は温度上昇に伴い単調に減少し,  
 化学交換が速く( $T_{1M} \gg \tau_M$ ), (2)式は

$$1/T_{1p} = f\gamma / T_{1M} \quad (6)$$

になる。 C $\gamma$ , C $\beta$ , C $\alpha$ , C'の $1/T_{1p}$ はほとんど0である。  
 Cu(II)-C $\beta$ ベクトルのtumbling motionの相関時間がC $\beta$ -H $\beta$ の  
 相関時間と等しいと仮定すると, 300Kでは $\tau_R \sim 10^{-10}$ sであ  
 る。 一方室温では,  $\tau_S \sim 10^{-8}$ s,  $\tau_M = 10^{-9} \sim 10^{-5}$ s(推定)  
 であるから, (5)式で $\tau_R = \tau_C \sim 10^{-10}$ sになる。 (3), (6)式  
 及びCu(II)の存在しない時のC $\beta$ の $T_{1p}$ 式  $1/NT_1 =$   
 $\gamma^2 \tau_C^2 \tau_H^2 \tau_R / \tau_{C-H}$  から次式が求まる。

$$\frac{T_{1p}}{T_{1,0}} = \frac{N}{f\gamma} \cdot \frac{10}{3} \left( \frac{\gamma \tau_H}{g\beta} \right)^2 \left( \frac{\tau_C - M}{\tau_{C-H}} \right)^6 \quad (7)$$

ここで $\tau_C - M$ は観測核系核と金属イオンとの距離である。(7)式から $r(C\beta - Cu(II)) =$   
 $2.5 \sim 3.1$ Åが得られる( $g=1 \sim 4$ )。  $1/T_{2p}$ についてはC $\beta$ は  
 $30$ K付近に極大が, C $\gamma$ は室温付近に極大が見られる。

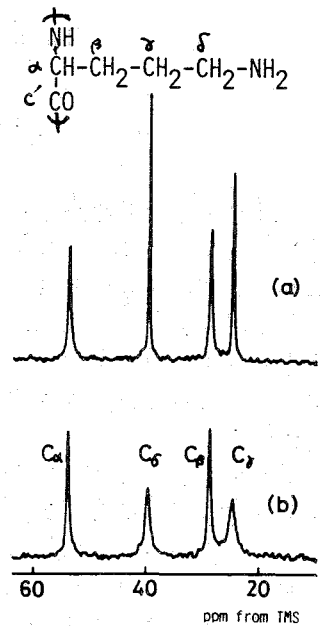


図1.  $^{13}C$ NMRスペクトル。 300K, pH 10.2. (a)  $f=0$ , (b)  $f=1.9 \times 10^{-3}$

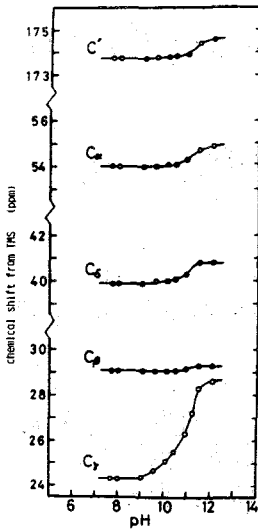


図2. PLOの化学シフト 300K

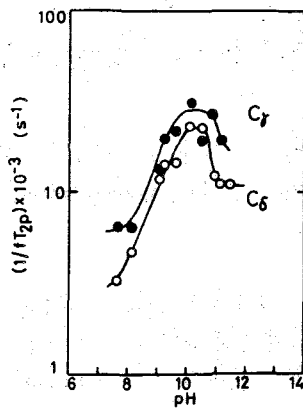


図3. C $\gamma$ とC $\beta$ の緩和速度のpH依存性。 300K.

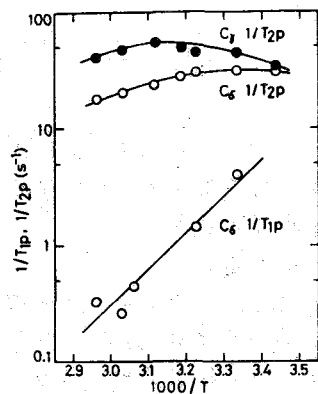


図4. C $\gamma$ とC $\beta$ の緩和速度の温度依存性。  $f=1.9 \times 10^{-3}$ , pH 10.2

従って、室温付近では化学交換は遅く ( $T_{2M} \gg T_M$ )

(2)式は

$$1/T_{2p} = f q / T_M \quad (8)$$

になる。この式から 300K における life time

は  $T_M = 10^{-4} \sim 10^{-5}$  s ( $q = 1-4$ ) である。一方高温になると化学交換は速くなる ( $T_{2M} \approx T_M$ )。この領域では  $C_\alpha$ ,  $C_\beta$  の  $1/T_{2p}$  は  $1/T_{1p}$  よりもかなり大きく、 $1/T_{2p}$  はスカラー相互作用が大きくなることを示している。又、 $C_\alpha$  の  $1/T_{2p}$  は  $C_\beta$  のそれより大きいことがわかる。fast exchange の領域で相対結合定数  $A$  の比を求めると  $|A(C_\alpha)/A(C_\beta)| = 1.5$  である。これは Cu(II) から流れた電子スピンは  $C_\alpha$  炭素まで流れ ( $|A(C_\alpha)| = 0$  である)、電子スピンの密度は  $C_\alpha$  の方が  $C_\beta$  よりも大きいことを示している。常磁性物質によって  $^{13}C$  の NOE が quench されることは良く知られている。PLO と PLO-Cu(II) の 300K における NOE の比を表 1 に示す。  $C_\alpha$ ,  $C_\beta$  は変化がないが、 $C_\alpha$  と  $C_\beta$  は 1.0 より減少して quench されているのがわかる。これは側鎖アミド基に Cu(II) が配位するにともなうことと一致している。

**$^1H$  NMR** 図 5 には  $H_\alpha$ ,  $H_\beta$  の化学シフトの pH 依存性を示す。Cu(II) を加えても  $^{13}C$  の場合と同様に常磁性シフトは見られない。pH の上昇に伴い、 $H_\beta$  は脱プロトン化により高磁場へシフトし、 $H_\alpha$  もわずかに高磁場へシフトして  $\alpha$ -helix の形成を示しており、 $^{13}C$  NMR の結果と一致する。pH 8 以上になると  $H_\beta$  のシグナルのみが広がり、他のプロトンには全く影響が見られない。図 6 は  $H_\beta$  の  $1/T_{1p}$ ,  $1/T_{2p}$  の pH 依存性を示す。

pH 9 以上になると緩和速度は減少し、 $C_\alpha$ ,  $C_\beta$  と同様白傾向を示す(図 3)。CD, 可視スペクトルの研究から高 pH 側では Cu(II) は主鎖の amide N に配位して交換が非常に遅いことが推定されている。(10), (15) 従って、pH が上がるとこのように complex の割合が増加して緩和に寄与する effective な Cu(II) 濃度が減少して、見掛け上緩和速度が減少するものと考えられるが、この点は更に検討を要する。又、 $1/T_{2p}$  の方が  $1/T_{1p}$  よりも大きいことがわかる。 $H_\beta$  は  $1/T_{2p}$  は温度を上げると減少し(図 7)、交換が遅い ( $T_{2M} \ll T_M$ ) ことを示している。300K で (8) 式から life time を求めると  $T_M = \sim 10^{-4}$  s である。

表 1.

Ratio of NOE (pH 10.1, $f = 1.9 \times 10^{-3}$ )				
	$C_\alpha$	$C_\beta$	$C_\gamma$	$C_\delta$
NOE (Cu-PLO)	1.0	1.0	0.9	0.7
NOE (PLO)				

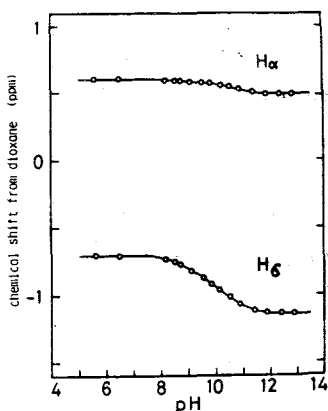


図 5. 化学シフトの pH 依存性 297K.

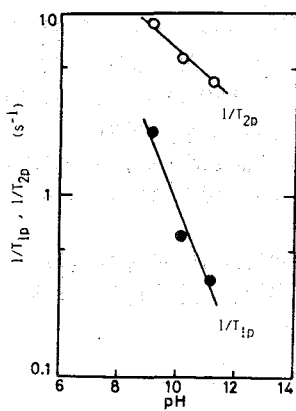


図 6.  $H_\beta$  の  $1/T_{1p}$ ,  $1/T_{2p}$  の pH 依存性. 295K.

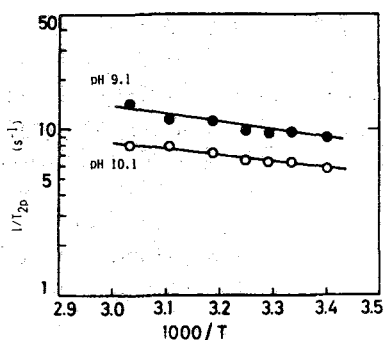


図 7.  $H_\beta$  の  $1/T_{2p}$  の温度依存性  $f = 4.2 \times 10^{-3}$

Cu(II)-H<sub>2</sub>Oペクトルのτ<sub>2</sub>とH<sub>2</sub>O-H<sub>2</sub>Oのτ<sub>2</sub>( $\sim 10^{-10}$  s at 297K)とが等しいと仮定すれば、(9)式と同様の式が得られる。H<sub>2</sub>OのT<sub>1p</sub>とT<sub>1o</sub>の値からH<sub>2</sub>OとCu(II)との距離は $\sim 5$  Åであることがわかった。

Cu(II)水溶液にPLOを加えると溶液のH<sub>2</sub>Oの<sup>1</sup>Hの緩和率はアルカリ領域に存在すると増加する。これはH<sub>2</sub>Oの<sup>1</sup>H-Cu(II)のtumbling motionの相関時間がPLOを加えると長くなることを示している。高分子が存在するときとしないときの緩和速度(1/T<sub>1p</sub>)の比を次式で定義する。

$$E = (1/T_{1p}^*) / (1/T_{1p}) \quad (8)$$

ここで(\*)は高分子の存在を示す。図8にEのpH依存性を示す。pH 9以上のアルカリ領域に存在するとEは1よりも大きくなり約2.5になる。このEの増加はCu(II)がPLOに配位して、更にはその下層Cu(II)に水分子を配位して相関時間が長くなったことを示している。E=2.5の値からH<sub>2</sub>Oのtumbling motionの相関時間は2.5倍で $\sim 10^{-10}$  sであり、Cu(II)水溶液のτ<sub>2</sub> $\sim 10^{-11}$  sより約2.5倍長くなっている。又、得られた値はPLO側鎖末端のCFのtumbling motionの相関時間とほぼ一致している。

pH 8以上のアルカリ領域に存在するとPLO側鎖のアミド基と水分子の両方がCu(II)に配位する。Cu(II)がアミド基に配位している時間は室温では $10^8 \sim 10^5$  sである。又、側鎖末端のtumbling motionの相関時間は $\sim 10^{-10}$  sである。Cu(II)とCFとの距離は $\sim 3$  Å, H<sub>2</sub>Oとの距離は $\sim 5$  Åである。Cu(II)から水分子電子スピンはC<sub>2v</sub>, H<sub>2</sub>Oまで達する。

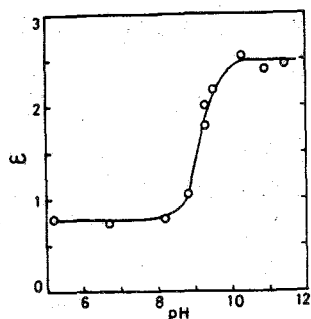


図8. EのpH依存性. 297K, f=0.05, [Cu(II)]=1mM

謝辞 FX-100の測定に便宜をほかっていただいた北大佐温研、花齊先生に感謝致します。

### 文献

- (1) T.Hiraoki, et al., Polym.J., 11, 397(1979)
- (2) T.Hiraoki, et al., ibid., 11, 591(1979)
- (3) N.Higuchi, et al., Macromolecules, 13, 81(1980)
- (4) 平塚, 他, 第28回高分子学会年会, 東京(1979)
- (5) 平塚, 他, 第17回生体物理学会年会, 名古屋(1979)
- (6) A.S.Mildvan and M.Cohn, Adv. in Enzymology, 33, 1(1970)
- (7) M.Palumbo, et al., Macromolecules, 10, 813(1977)
- (8) M.Palumbo, et al., ibid., 11, 1272(1978)



(化技研) 山本修 柳沢勝

最近各種スペクトル・データに関する情報量は急激に増加しているが、それに伴ってこれらの情報を電算機を用いてファイル化し、データベースを構築しようとする動きが盛んになって来た。化技研においても NMR, IR, ESR, MS, Raman などスペクトルに付いて過去5ヶ年間に亘りデータベース確立のための研究を行なってきたが、最近になってようやく大体系システムについて検討が終了するところまで進んだ。本講演においてはその中で NMR に関する部分、特に  $^{13}\text{C}$  データベースについてその内容と報告する。

NMR データベースとして考えた場合、現在最も重要なものは  $^1\text{H}$  と  $^{13}\text{C}$  であることは論を俟たない筈であるが、この二種のスペクトル情報をファイル化する場合、 $^1\text{H}$  スペクトルがパターン情報であるのに対し、 $^{13}\text{C}$  スペクトルが数値情報であるという決定的な相違点がある。勿論  $^1\text{H}$  スペクトルも NMR パラメータ(解析値)を取扱うことは亦は数値情報にならし、 $^{13}\text{C}$  スペクトルも  $^1\text{H}$  デテック・プログラムによるスペクトルと考えることはパターン情報として取扱われるべからぬが、とにかく一般論としてはこの二種のデータ特性と対応したことができればよい。パターン情報としての  $^1\text{H}$  スペクトルを取扱う方に関しは既に昨年 NMR 討論会において発表を行なった。この場合には CW スペクトルを対象としたが、今後の NMR の大勢を考慮して現在はパルス法で得られるスペクトルのみを取扱うように変更した。こうすることにより掃引に著しく厄介な問題(例之はウィググルの処理、線中のたまりなど)を避けることができ、情報の取扱いが簡単になる。しかしその他、真に付いては殆ど前に発表した通りの処理によりデータベースを構築することになっている。

$^1\text{H}$  スペクトルに付いての今一つの変更点は、スペクトロメータから計算機へパターンを送る際に、従来は紙テープで行なってきたが、計算機の整備に伴いスペクトロメータをホストコンピュータと回線により接続し、測定と同時に直接転送できるようにした点である。現在は 1200 bps の転送速度しかないので、将来は 9600 bps までレベルアップするのは予定であり、これによって測定と同時に転送を行ない、ホストコンピュータで処理してファイル化ができるようになった。また同じ設備なら、遠隔地で測定したスペクトルをカセットテープに一旦収録して送付してもらい、化技研において、カセットテープから読出してホストコンピュータに転送することも可能となり、スペクトル集積の効率化を計ることもできよう。その詳細については未だ未定の部分もあるが他日発表させていただくことにする。

現在普通に測定されている  $^{13}\text{C}$  スペクトルは、殆どの場合が  $^1\text{H}$  デテック・プログラムによるスペクトルであるため、特殊な場合(交換が存在する時や常位性物質が存在する時)を除き、線スペクトルの集合と考えることができる。従って数値情報として取扱うことができる。従ってデータベースとして考えた場合、これは非常に取扱いが簡単であるため、既に世界の

やまもと あさむ、やまむさわ まさる。

各地にありて種々の形でデータの集積が行われており、特に Heller らの活動が有名である。問題はこのようなデータの集積を行おう場合、どのような情報までどのような形でデータベースに組み入れてゆくかということであり、データの値の問題とも関連して、集積速度を大きく左右する因子となる。

例えば、 $^{13}\text{C}$ の場合にはスペクトル線の帰属がデータとして入力されていけば、それがない場合には比ベクトル情報は取捨の価値をもつことは明らかであろう。しかしスペクトルを測定することは現在ではかなり容易な操作となっているが、線の帰属を決定することは必ずしも容易な仕事ではない。従って帰属が決定されているスペクトルはデータとして入力されるよりも、データベース中に収録可能なスペクトルの数はかなり減少せざるを得ないことになる。また  $^{13}\text{C}$  スペクトルにおいては、強度は測定条件によって大きく変化することも周知の通りである。従ってもし強度をデータとして入力するとすれば、各試料についてできるだけ測定条件を統一して測定を行わなければならないが、他方面にわたって各測定場所からのデータを広く集めるという立場に立てばこれは非常に困難な仕事になる。また現在の文献データには強度は全くとりついでない程度記載されている。従って強度を必ず入力しようとするならば、既存の文献値は全く使用不可能になるであろう。

以上の点を種々考慮し、以上で、化技研に於ける  $^{13}\text{C}$  データベースに入力すべき情報として次のものを採らぬ。これはできるだけ使いの良い情報で、できるだけ正確な測定によって得るという立場に立つものであり、通日科技庁からの委託により日本科学技術連盟において、竹内(東大教養)、小(東大計算センター)、早水(化技研)の諸氏より検討した結果を考慮し、さらに取捨選択を加えて決定したものである。

### 1. スペクトル・データ

化学シフト値 (ppm 単位)

スピン多重度 (帰属がわからない場合には特に必要ないが、後日検査に使用するため)

強度 (スペクトルパターンとして把握することもあるため)

帰属

100 $\mu$ 線当りの炭素数

線幅 (器に広幅化を起している場合のものを入力)

### 2. 測定条件

共鳴周波数、スペクトル幅、データポイントの数、フックアップアングル、

パルス反復時間、装置名

### 3. 試料

化合物名、化学構造式 (帰属を対応させるため、できるだけ簡略化したもの)、  
溶媒、濃度、温度 (室温の場合には記載しない)。

4. その他

テータの取所、文献、その他必要と思われるコメント。

測定条件の記載は、<sup>13</sup>C スペクトルの強度が測定条件によって大きく左右されるために是非必要であるが、その取捨はできるだけ最小限に止めた。これはテータベースのメモリ空間が不必要に増加しないことを考慮してである。これについては種々異論もあるであろうが、計算によって得られる値(例として "Acquisition time")や、スペクトル全体に対するより影響が及ぼさない因子 (window function 等) は一切省略した。もしどうしても必要な場合には、まとめてコメントの所に記入することにする。これは他の情報についても同様である。

現在は集積を始めてばかりであり、化技研で測定したテータ (約 200 万) と Johnson 中 Jankowsky のテータ (ハルス法で測定したものが) を入力されている。これらのテータはすべて TSS 端末により直接アクセスすることになり、また必要に応じてリモートバンクの X-Y プロセッサに出力させることができる。次にアクセス法について簡単に述べる。化技研のスペクトル・テータバンク (SDBS と稱する) の一つの特徴は、前述の NMR, IR などの各種のスペクトル・テータが、一つの管理システムによって管理され、この管理システムを呼ぶことにより、どのスペクトル・テータにアクセスすることもでき、また必要に応じて、検索、シミュレーションなども行うことができる点である。図 1 にその概要を示す。

ある化合物の <sup>13</sup>C スペクトルを必要とする場合には、SDBS からデータを呼出して、その化合物が登録されているかどうかを調べ、SDBS ではこの部分には FACOM の文面情報検索システムである FAIRS プロセスを利用している。[(I) の部分]。化合物名が得られ、その化合物に対してどのようなスペクトルが格納されているかが示される (a)。ここで NMR-CDS-と云う記

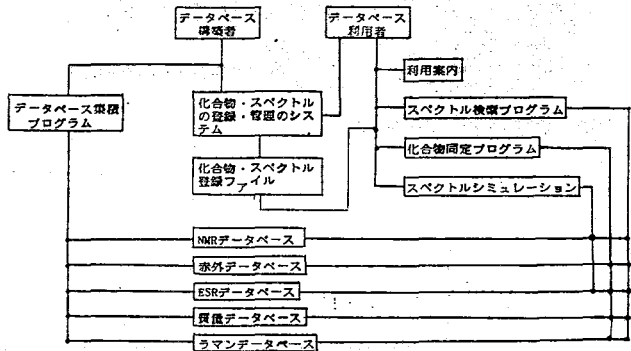


図 1 SDBS 構成図

```

EX 'SDBS'
***** GOOD AFTERNOON, WELCOME TO SDBS 08/06/80 12:45:17 *****

+FOA0001 FAIRS (V02/L02) STARTED
FAIRS> RS
RS> SEL SDBS PASSWORD(0000 A 0000)
RS> SEA C EQ 6
+FRS1001 115 FOUND
RS> AND NM EQ CIS-2-HEXENE
+FRS1001 MASTER SEARCH IN PROGRESS.
+FRS1001 1 FOUND
RS> OUT

KAGIKEN SPECTRAL DATA BANK

#1
SDBSNO 57
NAME CIS-2-HEXENE
DATA IR-IRDC-16223
      NMR-CDS-AB-188
(a)

OUT DD(FOUTIN) N
RS> END
FAIRS> END
+FOA1001 FAIRS ENDED

***** ENTER OPERATION MODE, <AND DATABASE-NAME> *****
*** ALL, SELECT, CODE, DISP, HELP, END ***
SELECT

57
CIS-2-HEXENE
GET IR-IRDC-16223 ? :
GET NMR-CDS-AB-188 ? : (b)
  
```

SDS NO. 57

CIS-2-HEXENE

CODE NO. = CDS-AB-188

HH  
1-2=3-4-5-6

0.7ML:2.3ML IN CDCL3

MEASURING CONDITIONS:

RESONANCE FREQUENCY 25.162 MHZ  
SPECTRAL WIDTH 5120 HZ  
NO. OF DATA POINTS 8192

FLIP ANGLE 20.0 DEGREE  
REPEITION TIME 0.800 SEC  
APPARATUS XL-100

REFERENCE TMS

SHIFT (PPM)	INTENSITY	ASSGNMT.	NO. OF C	LW (HZ)
130.70 D	15.4	3	1	
125.80 D	14.5	2	1	
29.10 T	15.7	4	1	
22.90 T	19.9	5	1	
13.70 Q	21.7	6	1	
12.70 Q	12.8	1	1	

ORIGIN: JOHNSON & JANKOWSKI 188

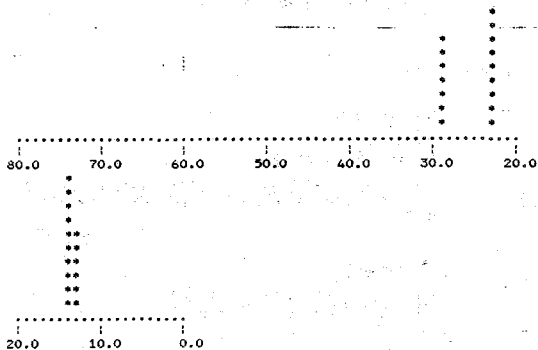
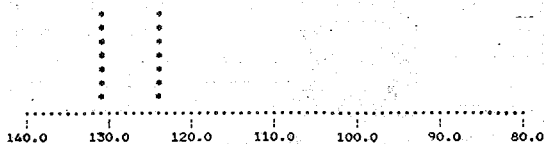
ENTER OPERATION COMMANDS, DR <H>

02260 ?H

- 1: CONVERT TO TMS REF.
- 2: RECONVERT TO OLD REF.
- 3: LINE SPECTRUM
- 4: LINE SPECTRUM \*
- 5: PARAMETERS TO LP
- 6: LINE SPECTRUM TO LP
- 7: LINE SPECTRUM \* TO LP
- 8: PLOT ON XY-PLOTTER
- 9: GO TO NEXT ITEM
- 0: BACK TO TOP OF THE FILE
- NX: GO TO X'TH ITEM
- A: 1-5
- B: 1-5-7
- C: 1-5-8
- D: DISPLAY STRUCTURE & PARAMETERS
- E: END

ENTER OPERATION COMMANDS, DR <H>

02260 ?A



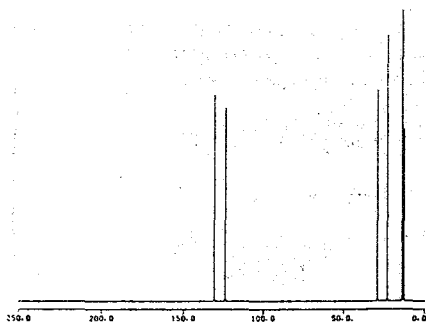
号が  $^{13}\text{C}$  の  $^1\text{H}$  デカップリング・スペクトルデータであり、これを表している。

次に(II)の部分に移り、こので適当なコマンドを選択する。例えば「SELECT」というコマンドを入力すると(8)の行にあり、これを格納されたスペクトルコードを display して下さる。必要なものは 'Y' を入力する。

そうすると制御は各スペクトルのサブシステムに移り、この場合には基本データとして (C) の部分と出力し、(四)の行で停止する。この display された適当な数字又は文字を入力してやるが、下図に示すようなラインスペクトルを display したり、リモート・パッチの X-Y フロッピーに図を描いたり、或いはラインプリンタに (C) の部分と出力させることができる。

今後はデータを取らぬこと、および未知スペクトルの検索にこのシステムを応用することが課題となる。

SDS NO. 57  
CIS-2-HEXENE  
0.7ML:2.3ML IN CDCL3



第 3 日

9月30日 (火)



(北大工, 日電子\*) 田畑昌祥, 相馬純吉, 外山 紘, 今成 司

I. はじめに

ポリ- $\gamma$ -ベンジル-L-グルタメート (PBLG) はクロロメタン中でヘリックス状態になり, 濃厚溶液ではこのヘリカルな分子がコレステリック相をつくることはよく知られている<sup>1)</sup>。この相におけるヘリックス分子軸の order parameter も定められている<sup>2)</sup>。また, ある限界磁場以上の強い磁場内ではコレステリック相は消失しネマチック相になる<sup>3)</sup>。PBLG 主鎖についてはかなり知られているが, このような液晶状態では主鎖から離れた側鎖の配向, 分子運動が主鎖の配向とどの程度異なっているのか, 分子運動の束縛ほどの程度なのかについてはほとんど研究がなされておらず, Samulski の研究があるのみである<sup>4), 5)</sup>。従って, 側鎖の local order parameter, local mobility を求め, 主鎖のそれと比較することは興味あることと思われる。この種の local な知見を得るのに便利な手段としては, spin-label<sup>6)</sup> 又は spin-probe<sup>6)</sup> 法があり, 液晶にも応用されている。しかし, 常磁性プロブスはラベルでは大きな常磁性分子を系に導入しなければならず, それによって系が乱される可能性も否定できないという欠点がある。一方, ある分子の着目している部位の H 原子を D 原子に置換し, D-NMR を観測すれば, これも一種のスピンラベル法であり, しかもラベルによる擾乱は無視できるという長所を有する。しかも, D-NMR から C-D 結合の磁場に対する配向をよい精度で決定できるので, 局所的な配向を定めるには D-ラベルした分子の D-NMR 測定は最良の方法といえよう。本研究では PBLG の側鎖末端のベンジル基  $-\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_5$  の  $\text{C}_6\text{H}_5$  の H を D 化した  $d_7$ -PBLG を用い, D-NMR より側鎖末端の状態についての知見を得ようと試みたものである。

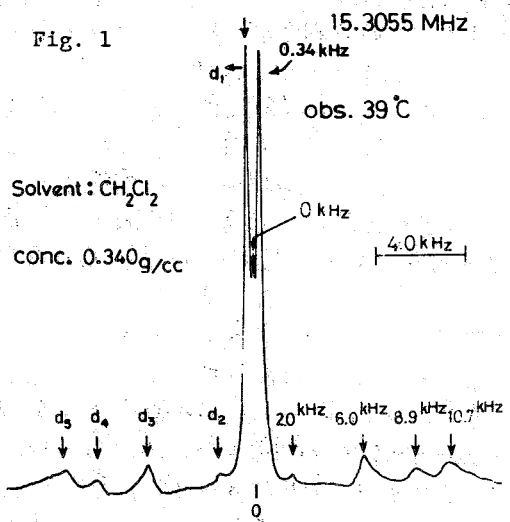
II. 実験

味の素製ポリメチルグルタメートのメチル基を  $d_7$ -ベンゲルアルコールとエステル交換により置換して作った  $d_7$ -PBLG を用いた。置換の確認はコイル状にした  $d_7$ -PBLG の D-NMR で検証した。D-NMR は JEOL FX 100 スペクトロメーターを用い, 15 MHz 領域で, D-NMR を測定した。

III. 実験結果

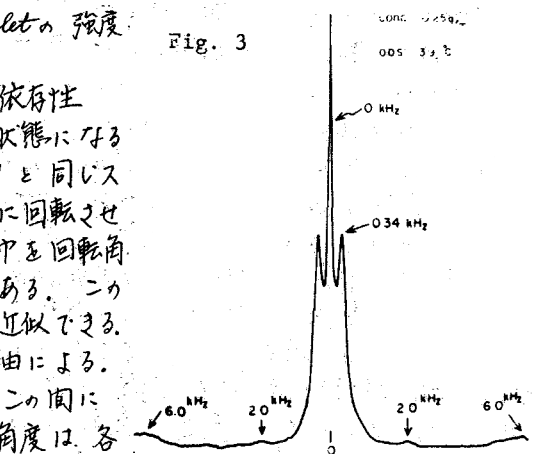
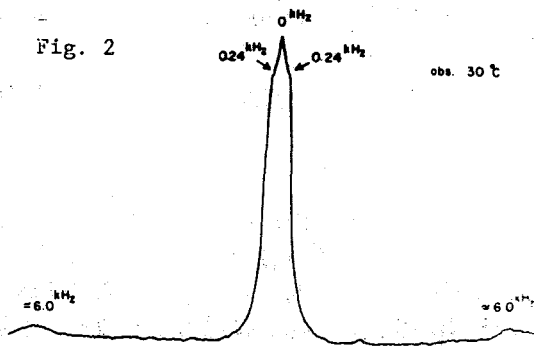
III-1. スペクトル

濃度 0.340 g/cc の PBLG- $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  溶液の D-NMR を 39°C で観測した時のスペクトルを Fig. 1 に示す。これは 1 つの singlet と 5 組の doublets からなっており, doublets の一組



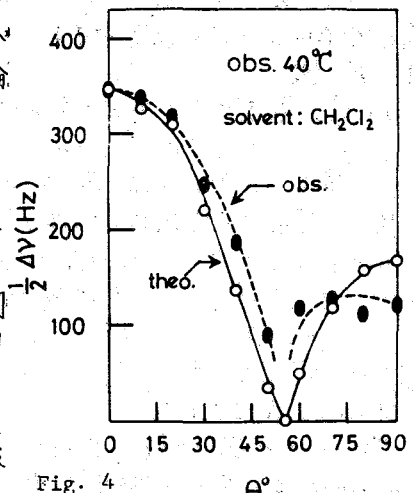
たばたまさよし, そうまじゅんきち, とやまひろし, いまなりまもる

の強度は他に比べて著しく大きい。また、このスペクトルは先に報告された Samulaki の結果とよく一致しているが、彼のスペクトルには *singlet* と  $d_2$ -*doublet* が現れていない。同じ試料を約  $10^\circ\text{C}$  下げ、 $30^\circ\text{C}$  で測定した時のスペクトルを Fig. 2 に示す。強い *doublet*  $d_1$  は肩となっており、他の *doublet* の強度も低下している。また、濃度を若干下げた ( $C = 0.255 \text{ g/cc}$ ) 試料からのスペクトルが Fig. 3 である。*Singlet* の強度は増加し、*doublet* の強度は皆低下している。



### III-2. $d_1$ -*doublet* の分離中の偏向角度依存性

強度の大きい  $d_1$ -*doublet* に着目する。平衡状態になるのに十分な時間試料を磁場中に放置し、Fig. 1 と同じスペクトルを観測後、試料管を一定角度  $\theta$  の急速に回転させ、その後  $d_1$  の分離度を測定した。その分離度を回転角  $\theta$  に対してプロットしたのが Fig. 4 の実線である。この結果は  $|3 \cos^2 \theta - 1|$  の理論値 (実線) でよく近似できる。Magic Angle の近くでの一致が悪いのは次の理由による。急速回転後、測定まで通常数秒は経過する。この間に配向は平衡に向って若干回復する。この異なる角度は各測定でほぼ一定ではあるが、Magic Angle 付近では分離度の角度依存性が大きいので、この近傍では大きい誤差が生ずる。これは測定データのバラツキとして現れ、理論値からの大きいズレを生ずる。



### III-3. $d_1$ -*doublet* 分離中の時間依存性

上記実験で一定角度回転後、そのまゝ放置すれば、 $d_1$ -*doublet* の分離度は次第に回復する。その時間依存性を Fig. 5 の黒丸で示す。同じ図に溶媒分子  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  の H-NMR の  $d-d$  相互作用による *doublet* 分離中の時間依存性も白丸で示している。両者ともほぼ同じ放置時間 (約 100 秒) で平衡に戻っている。

### III-4. D-NMR スピン格子緩和時間測定

中央の *singlet* と  $d_1$ -*doublet* の  $T_1$  を  $180^\circ$  パルス後の *recovery* から測定した。  $\ln(A_\infty - A_t)$  vs  $t$  plot を Fig. 6 に示す。白丸が *singlet*, 黒丸が *doublet* と表わすが、両者とも誤差範囲内で 1 つの直線で表すでき、同じ  $T_1$  (40 msec) を持つ。四重極分離が完全に平均化される程度に



速い分子運動をしている *singlet* と同じ値の  $\tau_1$  を  $d_1$ -doublet が示すことは興味深い。

#### IV. 考察

四重極相互作用による D-NMR の分離中  $\Delta\nu_Q$  と order parameter  $S$  との関係は、軸対称の場合、次式で表わされる。

$$\Delta\nu_Q = \frac{3}{4} \frac{e^2 q Q}{\hbar} S \quad (1)$$

ここで  $Q$  は D 原子核の四重極能率、 $q$  は C-D 結合に沿った電場勾配で分子内では一定である。従って、 $\frac{e^2 q Q}{\hbar}$  は定数となり、アルキル基の C-D では  $167 \text{ kHz}^{(1)}$  と得られている。この値を用い、軸対称を仮定すれば、観測された doublet 分離中から local order parameter を評価できる。これを Table I に示す。同じ液晶状態での PBLG ヘリックスの order parameter は約  $0.5^{(2)}$  であり、この液晶中に溶解している  $d_8$  トルエンの order parameter は  $2.8 \times 10^{-3}^{(4)}$  と得られている。側鎖ベンジル基の

配向、特に着目した  $d_1$ -doublet から得られた local order parameter は主鎖のそれよりも、溶解分子のものに近い。又、 $d_1$  化ベンジル基を同じ液晶状態に溶解させたときに観測される doublet の分離中もこの  $d_1$ -doublet と同程度<sup>(3)</sup>である。これらの比較から、側鎖末端は主鎖と結合しているにも拘らず、液晶状態に溶解している自由分子の配向と同程度であって、かなり自由な運動をしていると考えられる。また、III-3 で述べたように、分離中回復の時間が側鎖ベンジルと溶液分子  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  と等しいという事実は両者の mobility がほぼ同程度であることを意味し、これからも側鎖ベンジルは自由分子に近いと言える。

director  $n$  が磁場方向から  $\alpha$  だけ傾いているとすれば、四重極分離中  $\Delta\nu_Q$  は次式のようになる。

$$\Delta\nu_Q = \frac{3}{4} \frac{e^2 q Q}{\hbar} (3 \cos^2 \alpha - 1) \cdot S \quad (2)$$

III-2 で述べたように、試料管回転後の分離中は (2) 式と同じ依存性を示す。このことは、ベンジル基の order parameter の基準となっている local director  $n_0$  が定義でき、その  $n_0$  が平衡状態では磁場方向を向いていることを示す。従って、側鎖末端は主鎖に対して rigid な conformation はとらず、側鎖の各分子結合の回りで自由回転を行っていると考えられる。このことは、ゲルタメート側鎖は末端に付するほど分子運動の rate が大きくなるという  $^2\text{-T}_1$  測定の結果とも一致する。一方、側鎖分子結合が自由回転していると

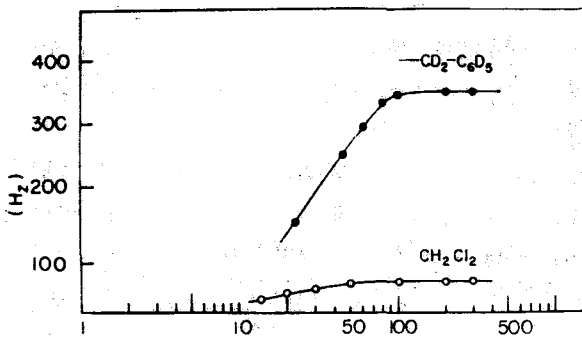


Fig. 5

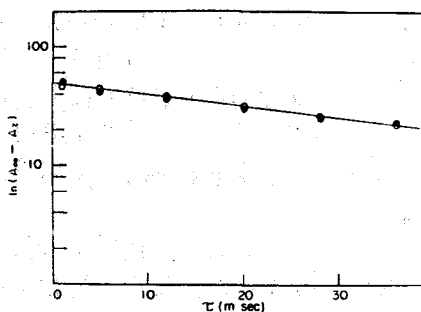


Fig. 6

Table I

$d_i$	$\Delta\nu(\text{kHz})$	$S$
$d_1$	0.681	0.0040
$d_2$	4.15	0.025
$d_3$	12.1	0.072
$d_4$	17.8	0.10
$d_5$	21.4	0.13
	$10 \times 8 = 80$	

いうこの結論は、側鎖は static *is* intramolecular 束縛を受けているという Scherraga の理論計算の結論<sup>3)</sup>とは一致しない。

D-NMRの $T_1$ は、四重極相互作用によって支配されると考えてよい。また、この場合は extreme narrowing の状態と見做せるので、 $T_1$ は次式<sup>14)</sup>で示される。

$$T_1^{-1} = \frac{3e^2q^2Q^2}{8\sigma^2} \tau_c \quad (3)$$

従って、 $d_1$ -doublet の $T_1$ と完全平均化された singlet の $T_1$ とが等しい事実は両者の原因によって、C-D bond の回転相関時間 $\tau_c$ が等しいことを意味する。又、(3)式を用いれば、 $\tau_c$ は $24 \times 10^{-9}$ sec と得られ、早い回転運動をしていることがわかる。一方、 $d_1$ -doublet の原因となっている C-D 結合は、完全平均化を示す C-D と同じを示すにもかかわらず、依然四重極分離は完全には平均化されず、残っていることを示す。

上述の考察をまとめて、図式化したのが Fig. 7 である。ベンジル側鎖は主鎖と化学結合で結ばれているものの、各分子結合の自由回転のため、主鎖ヘリックスの配向とは独立に自由な配向をとり得る。しかし、その大部分の側鎖の配向は極めて小さく、液晶中の溶存分子程度である。特に末端フェニル基は C-C 軸の回りに早い rate で自由回転をしておりこの回転速度が $T_1$ を決定する。この回転により、フェニル基の各 C-D の  $eq Q$  テンソルは平均化され、パラ C-D 方向の成分のみが残る。この方向の配向の fluctuation が大きい側鎖は order parameter をもたず singlet を与え、その fluctuation の若干遅い側鎖は、 $d_1$ -doublet を示し、この成分に対し、 $\rho$  はいかなる  $\rho$  でもない local order parameter が得られる。

この singlet,  $d_1$ -doublet を示す早い回転をしているベンジル基とは別に、回転 rate も配向の fluctuation も小さい側鎖もあり、これらが  $d_3$ ,  $d_4$ ,  $d_5$  の大きい分離中の doublet を与える。これについては Samulski<sup>6)</sup>が考察を行っている。

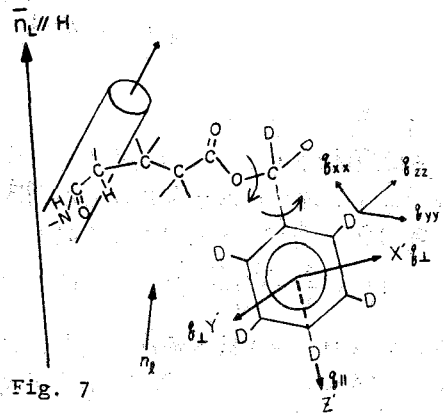


Fig. 7

[文献] 1) E.T.Samulski: Liquid Crystalline Order in Polymers, Academic Press, N. Y. (1978) Chapt. 5. 2) N.S.Murthy, J.R.Knox, & E.T.Samulski: J. Chem. Phys. 65, 4835 (1976). 3) P.G.deGennes: The Physics of Liquid Crystal, Oxford Univ. Press (1974) Section 6.2.2. 4) E.T.Samulski: J. de Physique, Colloque C3 Supplement au No. 4. Tour 40 C3-471 (1979). 5) E.T.Samulski: Invited Lecture in 8th Intern. Liquid Conference (Kyoto) (1980). 6) Spin-Labeling, Ed. L. J. Berliner, Academic Press, N. Y. (1976). 7) Y. Shimoyama, M. Shiotani, & J. Sohma: Jpn. J. Appl. Phys. 16 1437 (1977). 8) J.Charvolin, P.Manneville, & B.Deloche: Chem. Phys. Letters 23, 345 (1973). 9) B. Mely, J. Charvolin, & P.Keller: Chem. Phys. of Lipids 15, 161 (1975). 10) J.W.Emsley, J.W.Lindou, & G.R.Luckhurst: Mol. Phys. 30, 1913 (1975). 11) L. J. Burnet and B.M.Muller: J. Chem. Phys. 55, 5829 (1971). 12) N.Tsuchihashi, T.Enomoto, M.Hatano, & J. Sohma: Polymer 18, 857 (1977). 13) J.F.Yan G. Vandevkooi and H.A.Scheraga: J. Chem. Phys. 49, 2713 (1968). 14) A.Carrington and A.D.McLachlan: Intern. Mag. Res., Harper (1967) Sect. 11.6.4.

**図** 液晶中に配向した分子のNMRスペクトルの解析は、その分子構造、配向様式等に因する詳細な情報を与えることが知られており、最近では原子間の調和振動の補正を行った  $\gamma_{\alpha}$  構造の決定も可能となり、液晶中での分子の構造および配向のより正確な議論が可能となりつつある。液晶中のNMRスペクトルでは結合定数として間接結合定数(J)と直接結合定数(D)が問題となる(Jの異性項は下線を各々含むような場合以外は寄与が小さく通常は無視されている)。JとDは、しばしば、スペクトル上で簡単に分離決定できないため、その評価(特にJの評価)が結果の解釈に大きな影響を及ぼすことが考えられる<sup>1)</sup>。我々は有機錫化合物  $\text{Me}_3\text{SnCl}$  および  $\text{Me}_2\text{SnCl}_2$  の配向スペクトルを議論するなかでこの問題を取り扱ったので、それについて以下に述べる。

**実験** 用いた液晶は Merck Nematic Phase IV (以下 Phase IV と略), NP1052 である。特に  $\text{Me}_2\text{SnCl}_2$  の場合、液晶中の不純物程度の水で加水分解する恐れがあるため、液晶は  $10^{-5}$  torr 以下の高真空下で蒸留し、シリカゲル上に保存した。混合液晶については、これにより組成が変化する恐れがあるが実験上問題とはならなかった。 $\text{Me}_3\text{SnCl}$  と  $\text{Me}_2\text{SnCl}_2$  は昇華精製した。 $\text{CCl}_4$  は  $\text{BaD}$  で乾燥後 dry box 中で蒸留し、モレキュラーゲ 4A 上に保存した。 $^1\text{H-NMR}$  は日立 R-900M FT NMR 装置 (90 MHz) で測定した。プローブ温度は 34.1°C である。標準の測定条件は、取り込み幅 50 ppm, データ点数 16K 点, クリフ 1 時間 18 秒であり、パルスは 90° パルス (48  $\mu\text{s}$ ) を利用した。角速度で試料管の回転を行うために、速度可変の Q-CON モータ (日本サーボ製) を利用し、スピナーと試料管とを連結した。回転速度は備え付けのタコメーターで 0.1 Hz の精度で読み、NMR データ取り込み中に回転数が 0.1 Hz 以上変化しないことを確かめた。

### 結果と考察

#### $\text{Me}_3\text{SnCl}$ の $^1\text{H-NMR}$ スペクトルにおける $\text{Sn}$ のサテライトの確認

$\text{Me}_3\text{SnCl}$  の配向スペクトルは昨年の討論会で報告したように多数のピークからなるが<sup>2)</sup>、中央の強いピークに相当する  $\text{Sn}$  のサテライトの位置は、計算スペクトルと実測スペクトルの対比により容易に予想できる。しかし  $^{119}\text{Sn}$  と  $^{117}\text{Sn}$  による二種類のサテライトは近接しており、両者を分離して精度よく測定することは困難であった。従ってサテライトピークの確認は  $^1\text{H}-\{\text{Sn}\}$  の二重共鳴による。即ち、 $^1\text{H}-\{^{119}\text{Sn}\}$  の二重共鳴 ( $\nu(\text{H}) = 60.0 \text{ MHz}$ ,  $\nu(^{119}\text{Sn}) = 22.4 \text{ MHz}$ ) では、図 1 の結果が得られ、 $^1\text{H}-\{^{117}\text{Sn}\}$  についても同様であった。

#### JとDの分離決定の方法

上述のサテライトピーク間の間隔は  $|2D(\text{SnH}) + J(\text{SnH})|$  である。ここで  $J(\text{SnH})$  の値を評価する方法として次の二つが考えられる。

ふじわら ひでおき。 ささき よしお

- 1). 他の等方性溶液中の値を引用する。
- 2). 同じ液晶溶媒を用いた高温での等方性溶液の値を引用する。
- 3). 温度可変実験の結果を外挿することにより、配向パラメータ零におけるJ値を決定する。
- 4). 試料管回転の実験結果を外挿することにより、配向パラメータ零におけるJ値を決定する。

これらの中で1)が最もかんばんに利用されているが、4)を利用した例はまれである。試料の低速が一定速度での回転が難しく、NMR信号の広幅化が著しいためと思われる。

我々は上記1)-4)の他に、希釈剤添加による配向パラメータの低下を利用した次の方法を考えた。

- 5). 希釈実験の結果を外挿することにより配向パラメータ零におけるJ値を決定する。

今回用いた有機錫化合物では $J(SnH)$ は溶媒の塩基性あるいは測定温度により大きく変化するため、上記2), 3)は適切でなく、1)の場合には問題とする液晶と同じ塩基性の等方性溶媒を選ばない必要があり、事実上難しい。そこで4)と5)の併用を考え、希釈した試料について回転を行う方法を実際に応用してみた。

#### Phase IV中の $Me_3SnCl$ の $J(SnH)$ の決定

図2は希釈と回転の実験より $J(SnH)$ を求めるプロットである。この時の配向スペクトルの変化を中央の一部に示すと図3の通りである。回転数の増加とともに、ピークの広幅化が著しいが、希釈する場合はその効果ははるかに小さい。図3のAでは $Sn$ のサテライトは他のピークに隠れているが希釈あるいは回転により分離してくる。この実験では、 $^{119}Sn$ と $^{117}Sn$ の両サテライトが近接し、常時分離して正確に測定することが困難なため、校正チャート上で二種類のサテライトの平均位置を読み、図2の縦軸にその間隔をプロットした。最終的には図2の外挿値を $\gamma$ の比で分割して $^2J(^{119}SnH)$ と $^2J(^{117}SnH)$ を得た。図2の横軸はサテライトピークの傍の $D(HH')$ と $D(HH)$ により分裂した一組のピークの間隔をとった。

表1に種々の条件下で求めたJの値を掲げる。図2より決定した値は合理的であると結論できよう。

表2は $CCl_4$ 添加による $Me_3SnCl$ の配向構造の変化の有無を調べるために、配向構造に肉係するパラメータ $D(HH')/D(HH)$ と $CCl_4$ の添加量との関係を見たものである。ごくわずかなではあるが、 $CCl_4$ の量とともに $D(HH')/D(HH)$ が増加する傾向がみられ、これは前回の討論会で報告したピリジン添加の場合<sup>2)</sup>

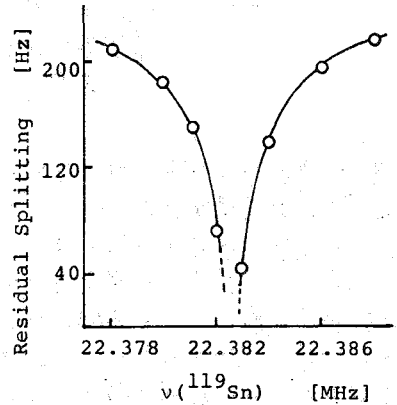


Fig. 1.  $^1H-^{119}Sn$  double resonance experiments for  $Me_3SnCl$  (0.5M) in ZLI1167.

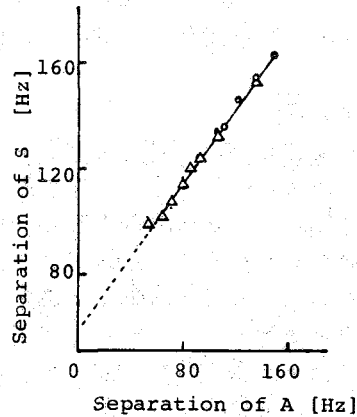


Fig. 2. Dilution-spinning plots for the estimation of  $J(SnH)$ 's of  $Me_3SnCl$  (0.1M) in Phase IV. See Fig. 3 for A and S.  $CCl_4 = 0 M$  (○), 0.36-0.59M (△).

Table 1. Values of J(SnH) in Me<sub>3</sub>SnCl(units of Hz).

	0.1M in CCl <sub>4</sub>	0.1M in py <sup>a</sup>	from Fig.2	0.7M in Phase IV <sup>b</sup>	c
<sup>2</sup> J( <sup>119</sup> SnH)	57.8	67.6	60.5±0.7	59.7	59.8
<sup>2</sup> J( <sup>117</sup> SnH)	55.2	64.5	57.9±0.7	57.0	57.2

<sup>a</sup> py= pyridine. <sup>b,c</sup> Twice the separation between the central and high-field satellite peaks in isotropic state is listed. <sup>c</sup> 0.12M in Phase IV+0.86M CCl<sub>4</sub>.

Table 2.

C <sub>Sn</sub>	CCl <sub>4</sub> added	D(HH')/D(HH)
0.09M	0 M	-0.1605
0.11M	0.27M	-0.1618
0.13M	0.59M	-0.1632

と逆であり、希釈により液晶性溶媒全体としての塩基性が若干減少したためとみなすことができる。しかし、その変化量が小さいため詳しい議論は现阶段では困難である。

Phase IVおよびNP1052中のMe<sub>3</sub>SnCl<sub>3</sub>のJ(SnH)  
Me<sub>3</sub>SnCl<sub>3</sub>はMBBAおよびEBA中では良好な配向スペクトルを与えないが、Phase IVとNP1052中では図4のようなパターンを示す。図4の○印は1:2:1の比率の三重線であり、各々のピークは<sup>119</sup>Snと<sup>117</sup>Snによるサテライト(図の\*印)を示す。三重線の個々の肉隔が|3D(HH')|, サテライトピーク肉の肉隔が|2D(SnH)+J(SnH)|に相当する。図2と同様のプロットより表3の結果が得られた。Me<sub>3</sub>SnCl<sub>3</sub>の場合は表1のようにPhase IVを使った等方性

溶液中の値が得られないが、表3の中ではPhase IVおよびNP1052中のJ値がPMD<sub>2</sub>中の値に近く、妥当な結果と思われる。この場合、確率誤差が表1のMe<sub>3</sub>SnClの場合より大きい。その原因は図4で三重線(○印)の両端のピークが回転により著しく広幅化するため、図2と同様のプロットで横軸の小さい値に相当する実験値が得られないため

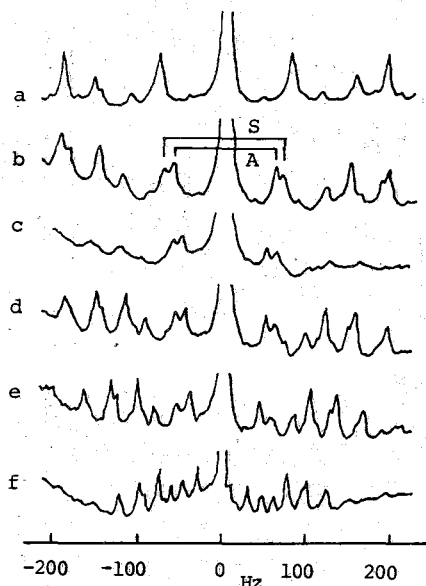


Fig. 3. Dilution-spinning spectra of Me<sub>3</sub>SnCl(0.15M) in Phase IV. CCl<sub>4</sub> = 0 M(a,b,c), 0.36M(d), 0.52M(e,f). Sp. Rate= 0 Hz(a,d,e), 4.2Hz(b), 5.4Hz(c), 8.0Hz(f).

Table 3. Values of J(SnH) in MeSnCl<sub>3</sub>(units of Hz).

	0.1M in CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	0.1M in PhNO <sub>2</sub>	a	b	0.1M in Np1052
<sup>2</sup> J( <sup>119</sup> SnH)	99.9	106.9	122.0	111.8±1.0	109.1±0.8
<sup>2</sup> J( <sup>117</sup> SnH)	95.4	102.1	116.0	106.8±1.0	104.3±0.8

<sup>a</sup> 0.01M in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>+γ-picoline(0.09M). <sup>b</sup> 0.1M in Phase IV.

である。即ち図2のようなプロットでは、横軸にプロットするピークと縦軸にプロットするピークとが、かけ離れていない方が精密な外挿を可能にすると言えよう。

MeSnCl<sub>3</sub>, Me<sub>3</sub>SnClの分子構造とD(SnH)

MeSnCl<sub>3</sub>とMe<sub>3</sub>SnClについては、

$$\frac{D(\text{SnH})}{D(\text{HH})} = -\frac{\gamma_{\text{Sn}}}{\gamma_{\text{H}}} \left( \frac{r_{\text{HH}}}{r_{\text{CH}}} \right)^3 \left\{ 2 - 3 \left( \frac{r_{\text{CH}}}{r_{\text{SnH}}} \right)^2 \sin^2 \theta \right\}$$

と書き表わすことができる。r<sub>SnC</sub>およびr<sub>CH</sub>の値として気体電子線回折の結果<sup>3)</sup>を引用すると、D(SnH)/D(HH)の実験値よりθを求めることができる(表4)。表4のθの( )内の値は文献値である。これより、液晶中の構造は気体状態と変わらないと結論できよう(もちろん、SnCH<sub>3</sub>についてである)。なお、J(SnH)の符号はMeSnCl<sub>3</sub>, Me<sub>3</sub>SnClともに+と考えられるので<sup>4)</sup> D(SnH)も+と結論された。

**結論**

配向スペクトルのJとDを分離する方法として、従来の試料回転法に希釈法を併用した良好な結果を得た。希釈法は試料回転法と併用するのが最良であるが、特に検者が適用できないような系——例えば液晶溶媒の配向方向により試料回転がスペクトルの形に変化を及ぼさない場合、あるいは、液晶の粘性が低くて高速回転が必要となり、線幅の広がりがある場合——にも適用できる点で有効な方法と言えよう。

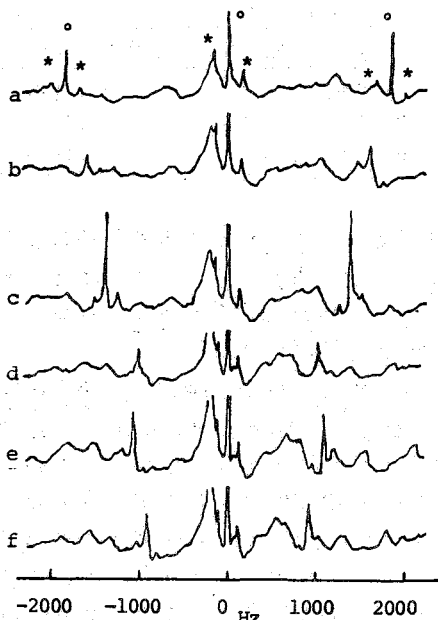
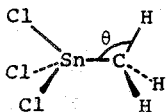


Fig. 4. Dilution-spinning spectra of MeSnCl<sub>3</sub> (0.10M) in Phase IV. CCl<sub>4</sub> = 0 M (a,b), 0.31M (c,d), 0.51M (e,f). Sp. Rate = 0 Hz (a,c,e), 2.8Hz (b), 5.1Hz (d), 5.0Hz (f).

Table 4.

	Solvent	D( <sup>119</sup> SnH)/D(HH)	θ (ref. value)
Me <sub>3</sub> SnCl	Phase IV	0.1725±0.0018	111.1±0.3° (113.4±1.4°)
MeSnCl <sub>3</sub>	Phase IV	0.1844±0.0013	107.3±0.3° (107.5±2.0°)
MeSnCl <sub>3</sub>	NP1052	0.1800±0.0012	108.2±0.3° (107.5±2.0°)

**文献**

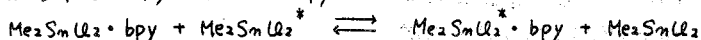
- Such a case is seen in:  
J. Jokisaari and P. Diehl, *Org. Magn. Reson.*, **13**, 359 (1980).
- H. Fujiwara, K. Takahashi, and Y. Sasaki, *J. Magn. Reson.*, **41** (1980) in press.
- B. Beagley, K. McAloon, and J. M. Freeman, *Acta Cryst.*, **B30**, 444 (1974).
- J. D. Kennedy and W. McFarlane, *J. C. S. Chem. Comm.*, **1974**, 983.

303 有機錫化合物とルイス塩基の溶液内錯体形成 IV

Me<sub>2</sub>SnU<sub>2</sub>・bpy錯体に於ける配位子交換反応  
(阪大・慶) ○酒井文彦、藤原英明、佐々木喜男

序論

Me<sub>2</sub>SnU<sub>2</sub>-ピリジン塩基錯体の溶液中での研究は、主に熱力学的性質について検討が行なわれ、動力学的検討に関する報告はほとんどない。今回報告は、Me<sub>2</sub>SnU<sub>2</sub>と1:1錯体を形成することが知られる<sup>3)</sup> bpy (2,2'-bipyridine) を取り上げ、その交換反応:



を Me<sub>2</sub>SnU<sub>2</sub> のメチルプロトンの吸収シグナルの温度依存 H-NMR スペクトルで測定し、線形解析法によって活性化パラメーターを決定した。さらに、この交換反応の溶媒効果を調べる目的で、塩化メチレン-重アセトニトリル (AN-d<sub>6</sub>)、-ジメチルアセトアミド (DMA)、-重ジメチルスルホキソド (DMSO-d<sub>6</sub>) 等の混合溶媒中に於いても同様の検討を行ない反応機構を考察した。

実験

<sup>1</sup>H-NMR の測定は、日立 R-22 (90 MHz) を使用し、塩化メチレンをインターナルロックに用い、TMS を内部基準とした。スペクトルの十分な SIN 比を得るために CAT (日立-A1600A) で約 10 回程度積算した。温度可変実験は常法によった。プローブ内温度は、NMR 用サンプル管に 0.4 ml のデカリンと共に挿入した校正済み銅・コンスタンタン熱電対温度計により測定した。温度の安定性は ±0.3°C 以下である。Me<sub>2</sub>SnU<sub>2</sub> 及び bpy は市販品を減圧昇華精製した。塩化メチレンは市販特級品に、水素化カルシウムを加え、約 2 時間加熱還流し、脱水後、蒸留した。DMSO-d<sub>6</sub>、AN-d<sub>6</sub> 及び DMA 等は市販品に水素化カルシウムを加え一度放置し、脱水後、真空ライン中で蒸留した。以上、蒸留及び、サンプリング等の諸操作は、すべて窒素置換したドライボックス中で行なった。

計算

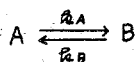
2-サイト系 (A, B) の場合、NMR シグナル強度 I(ω) は、次式で示される。

$$I(\omega) = C \times \text{Re} \left[ \frac{I_A + I_B + I_A I_B (P_A \alpha_B + P_B \alpha_A)}{(\alpha_A I_A + 1)(\alpha_B I_B - 1) - 1} \right]$$

$$\alpha_A = T_{2A}^{-1} - i(\omega_A - \omega)$$

$$\alpha_B = T_{2B}^{-1} - i(\omega_B - \omega)$$

ここで、Re は実数部分を、I<sub>A</sub> 及び I<sub>B</sub> は各サイトで存在する時間を示す。P<sub>A</sub>、P<sub>B</sub> はサイト A と B での分布率、T<sub>2A</sub>、T<sub>2B</sub> は交換のない時の横緩和時間、ω<sub>A</sub>、ω<sub>B</sub> は、各々のサイトに於ける化学シフトである。各サイトから移動する速度は、存在時間 (I<sub>A</sub>、I<sub>B</sub>) の逆数で与えられる一次の速度定数で表される。(1/I<sub>A</sub> = ρ<sub>A</sub> = obs)

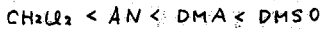


さかい ふみひこ、ふじわら ひでき、ささき よしお

計算は、大阪大学計算機センター ACOS-Series 77 NEAC system 900 により NMR 線形解析プログラム DNMR3 (QCP E 165) を iteration mode で行う DNMR3 I T2 (QCP E 356) の入出力部分を一部改良したものを利用した。可変パラメータは、速度定数 ( $k_{obs}$ ) 及び、分布率 ( $P_A, P_B$ ) のみとし、 $\omega_A, \omega_B$  は  $Me_2SnU_2$  のメチルプロトンが十分に分離した温度での化学シフト値を用いた。T2A は  $Me_2SnU_2$  (0.03M) のみのサンプルについて各温度に於いて半値幅より求め ( $T_2 = 1/\pi \nu_{1/2}$ ) 入力した。スペクトルデータは、2 point/Hz で 60~110 point 入力した。実測スペクトルと計算スペクトルの一致は、 $\chi = \{\sum (Error)^2 / \sum (Data)^2\}^{1/2}$  に於ける  $\chi$  が 6% 以下で良好であった。

結果

$Me_2SnU_2$  のメチルプロトンは、bpy の添加により、高磁場シフトした。温度依存  $^1H$ -NMR スペクトルの一例を図 1 に示す。十分に分離した温度での低磁場側のピークは、bpy 未添加の  $Me_2SnU_2$  のメチルプロトン化学シフトにほぼ一致した。高磁場側のピークは、過剰の bpy を添加した時の  $Me_2SnU_2$  ピークとほぼ一致した。これらのピークには溶媒依存性が観測され、以下の順に



高磁場シフトすることが認められた。よって、この化学交換系は、2-サイト (A, B) とし取扱うことができる。平衡状態に於いては、錯体の生成速度と解離速度が等しいので

$$k_f [Me_2SnU_2]_{eq} [bpy]_{eq} = k_d [Me_2SnU_2 \cdot bpy]_{eq} \dots \textcircled{1}$$

で示される。  $P_A, P_B$  と平衡濃度との関係は

$$P_A / P_B = [Me_2SnU_2]_{eq} / [Me_2SnU_2 \cdot bpy]_{eq}$$

よって ①式は

$$k_f [bpy]_{eq} = k_d \cdot P_B / P_A$$

となる。

$$k_A = k_B \cdot P_B / P_A$$

であるから

$$k_A = k_f [bpy]_{eq}$$

となり、NMR 線形解析より得られる速度定数は bpy の平衡濃度 ( $[bpy]_{eq} = [bpy]_0 - [Me_2SnU_2]_0 \cdot P_B$ ) に押し一次で依存すると考えられる。その結果の一例を図 2 に示す。図より観測された見掛けの速度定

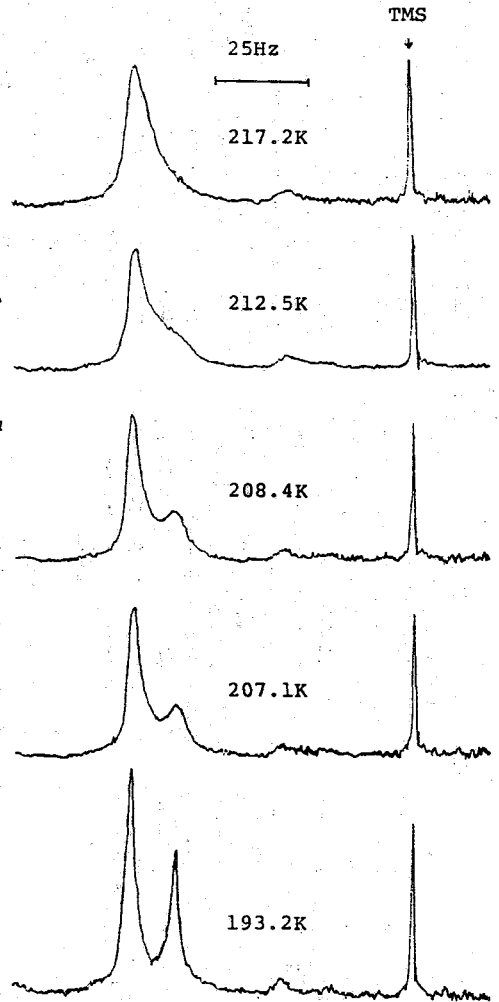


図 1  $Me_2SnU_2$ -bpy 系のメチル領域のスペクトル  
 溶媒:  $DMSO-d_6$  (3M) +  $CH_2U_2$   
 $[Me_2SnU_2]_0 = 0.03M, [bpy]_0 = 0.0163M$



教は、

$$k_{obs} = k_1 + k_2 [bpy]_{eq} \quad \dots \textcircled{2}$$

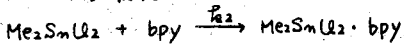
で示され、従って勾配と切片より、 $k_1$  及び  $k_2$  を求めさらにこれらの温度依存性から

$$\ln(k/T) = -\Delta H^\ddagger / RT + \Delta S^\ddagger / R + 5.1933 \dots \textcircled{3}$$

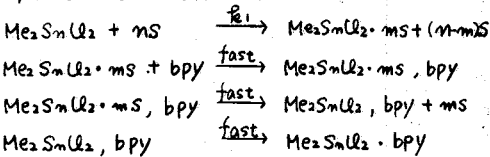
の関係式を用い活性化パラメーターを求めた。③式のプロットを図3に、又各混合溶媒中での結果を表1に示す。

考察

見掛けの速度定数が②式で示されることにより、二次速度定数の値は、配位子の種類によって異なることが予想される。またこの式からわかるように、律速段階に配位子を含まない反応の併発が予測される。従って②式の第2項に関する反応は



で示される  $Me_2SnCl_2$  と  $bpy$  が直接反応する過程であると考えられる。第1項に関する反応では溶媒分子が攻撃する段階が律速となる過程が考えられる。すなわち



である。なお溶媒和以後の過程は Eigen 機構によるものとした。従って

$$k_1 = k_{s1} [Solvent]$$

となる。しかし、この過程を明らかにするために、さらに混合溶媒中の配位性溶媒の濃

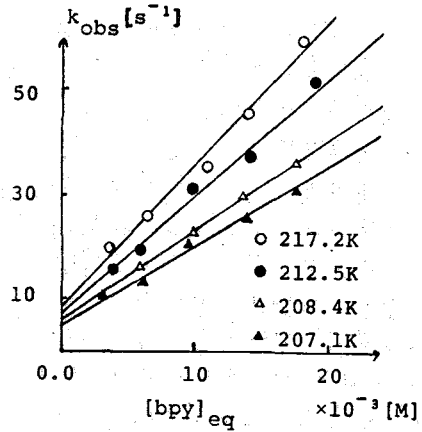


図2 見掛けの速度定数  $k_{obs}$  と  $[bpy]_{eq}$  との関係  
溶媒: DMSO- $d_6$  (3M) +  $CH_2Cl_2$

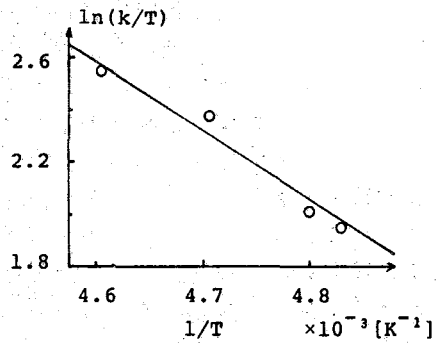


図3  $\ln(k/T)$  と  $1/T$  との関係  
溶媒: DMSO- $d_6$  (3M) +  $CH_2Cl_2$

表1  $Me_2SnCl_2 \cdot bpy$  錯体の交換反応の活性化パラメーター

溶媒	$\Delta H_1^\ddagger$ [KJ mol <sup>-1</sup> ]	$\Delta S_1^\ddagger$ [JK <sup>-1</sup> mol <sup>-1</sup> ]	$\Delta H_2^\ddagger$ [KJ mol <sup>-1</sup> ]	$\Delta S_2^\ddagger$ [JK <sup>-1</sup> mol <sup>-1</sup> ]
$CH_2Cl_2$	6.3	-32.4	155.2	636.0
AN (3M) + $CH_2Cl_2$	17.2	4.9	52.4	211.2
DMA (3M) + $CH_2Cl_2$	10.1	-15.8	38.5	166.8
DMSO (3M) + $CH_2Cl_2$	18.6	15.7	22.6	82.1

度を变化させた実験を行なう必要があり、現存検討中である。

反応に関する活性化パラメータ  $\Delta H_2^\ddagger$  と  $\Delta S_2^\ddagger$  は表1に示すように溶媒に応じていずれも変化し、しかもそれぞれの活性化パラメータ間に明確な補償関係がみられた。(図4)従って、この錯形成反応過程は溶媒によらず、iso-kinetic relation がまもられていることがわかる。

一般に反応速度に対する溶媒効果を検討するには、溶媒の誘電率、溶解パラメータのほか、溶媒和に与える各種の溶媒の性質を考慮する必要がある。溶媒の電子供与性のパラメータの一つであるドナー数(DN)と活性化エンタルピー ( $\Delta H_2^\ddagger$ ) との間には、直線関係がみられた。(図5) DN と  $\Delta H_2^\ddagger$  間には負の相関関係があることから、溶媒の電子供与によって遷移状態に於ける活性錯体の安定化が行なわれ、錯形成速度が速くなるものと思われる。これは生成錯体についても同様なことがいえる。Me<sub>2</sub>SmU<sub>2</sub>-bpy 錯体の錯体シフトは、DNの順に従って高磁場シフトするという測定結果より、溶媒からの電子供与によって Me<sub>2</sub>SmU<sub>2</sub> と bpy の結合は弱くなり、配位子解離反応が速くなることが予想される。溶媒の誘電率、溶解パラメータとの間には明確な相関関係はみられなかった。

#### 文献

- 1) G.Matsubayashi, Y.Kawasaki and R.Okawara, J.Inorg.Nucl.Chem., **28**, 2937 (1966).
- 2) Y.Farhangi and D.P.Graddon, J.Organomet. Chem., **87**, 67 (1975).
- 3) H.Fujiwara, F.Sakai and Y.Sasaki, J.Phys.Chem., **83**, 2400 (1979).
- 4) C.S.Johnson, Adv.Mag. Resonance, **1**, 65 (1965).
- 5) V.Gutmann, "Coordination Chemistry in non-aqueous Solution" Springer, Wien (1968).

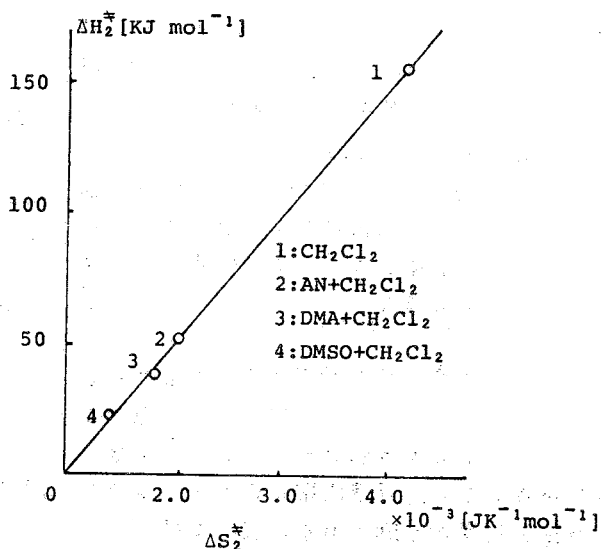


図4 Me<sub>2</sub>SmU<sub>2</sub> + bpy 反応の活性化パラメータと溶媒依存性

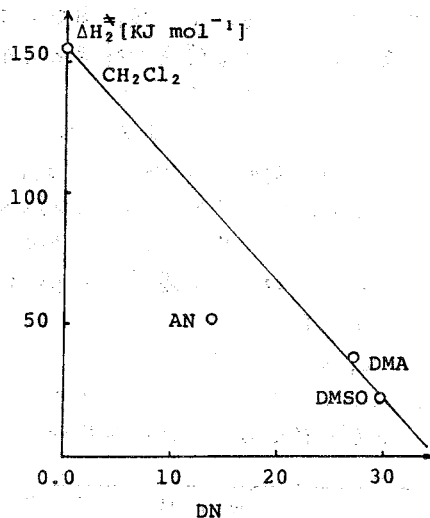
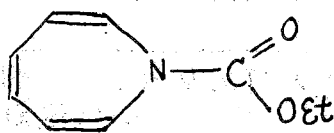


図5 活性化エンタルピーと溶媒のDNとの関係

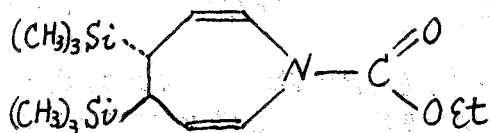
(名工大) 伊藤州児・斎藤勝裕・高橋憲助

## 1. 緒言

1-エトキシカルボニル-1H-アゼピン(I)にマグネシウムの存在のもとにHMPA中で $(\text{CH}_3)_3\text{SiCl}$ を作用させると、1:2の附加物を与え、トランス-4,5-ジトリメチルシリル-4,5-ジヒドロアゼピン誘導体(II)が得られた<sup>1</sup>。これまでNMRによってアミドのN-C結合に関する研究が最も広範に行なわれている。そこでここに得られた化合物もN-C結合を含んでいるので、NMRスペクトルの線形の変化を温度を変えて測定し、その分子内回転に関する熱力学的パラメーターを求める目的でこの研究を行なった。この研究で取り扱った化合物を次に図示する。



(I)



(II)

## 2. 実験

NMRスペクトルは日立R-20B型分光計によって60 MHzで測定され、温度は室温から $-60^\circ\text{C}$ まで変化させた。温度の補正は熱電対を使用し、 $\pm 0.1^\circ\text{C}$ の精度であった。溶媒としては重アセトンを使用し、濃度は $0.1\text{g/ml}$ とした。また溶媒の残存する吸収を磁場均一度の調整と吸収線中の補正に使用した。得られたスペクトルの線形解析はBüschのプログラムDNMR3(QC PENo.165)により行なった<sup>2</sup>。この化合物のスペクトルは室温ではAA'KK'XX'スピン系のスペクトルを示したので、XX'スピンをデカップルすることによりスペクトルを単純化し線形解析を行なった。計算は日立HITAC-8450およびM160II計算機を使用し、1組のパラメーターに対する計算所要時間は約40秒であった。

## 3. 結果と議論

## 3.1 静的なパラメーターの決定

IIのスペクトルは全測定温度でXX'スピンのデカップルされたので、七員環のスペクトルは近似的に4-スピン系として解析された。H<sub>a</sub>, H<sub>b</sub>の吸収はアセトン-d<sub>6</sub>の残存吸収と重なっている。H<sub>c</sub>, H<sub>d</sub>の吸収は $-55^\circ\text{C}$ では2つの4重線となるが $31.5^\circ\text{C}$ では2つの3重線のようにみえる。 $-55^\circ\text{C}$ で得られたスペクトルをLAOCN3によって解析して得られた化学シフトとスピン結合定数を表1に示した。低温ではH<sub>c</sub>とH<sub>d</sub>のシフトの差は $5.2\text{Hz}$ であり、H<sub>c</sub>とH<sub>b</sub>の差は $1.9\text{Hz}$ となった。線形解析には関係ないが、アセトン-d<sub>3</sub>の残存吸収を $2.05\text{ppm}$ とすると、エトキシ基のメチル基の吸収は $1.30\text{ppm}$ に、メチレン基の吸収は $4.25\text{ppm}$ にあり、またメチルシリル基の吸収は $0.00\text{ppm}$ にある。表1の値のうち小さなJの値は有

いとう しゅうじ・さいとうかつひろ・たかはしけんすけ

意であるかどうか疑問があつたが、他の方法による確認は行なわなかつた。線形解析には殆んど影響がないと考えられたので、このまゝの値を使い線形解析を行なつた。

### 3.2 動的なパラメーターの決定

各温度における実測のスペクトルとそれに最も良く一致する計算スペクトルの例を図1に示した。視察により最も良く実験と一致した計算スペクトルから各温度におけるN-C結合の内部回転の速度定数( $k$ )を決定し、その結果を表2に示した。このデータを使用してN-C結合の回転に対する活性化パラメーターは次の式で決定される。

$$\ln k = \ln A - E_a/RT \quad (1)$$

ここで $A$ ,  $E_a$ ,  $R$ は常用のものである。表2のデータを式(1)に従いアルレニウスプロットすると図2のようになり、その傾きから活性化エネルギーが求められた。更にアイリングの式(2)を使用すると、アイリングプロ

$$\ln(k/T) = \ln(k_0/h) + (\Delta S^\ddagger/R) - (\Delta H^\ddagger/RT) \quad (2)$$

ットから $\Delta H^\ddagger$ ,  $\Delta S^\ddagger$ が求められる。(図3)更に式(3)から $\Delta G^\ddagger$ を決定し、これらの結果活性化パラメーターを表3に示した。

$$\Delta G^\ddagger = \Delta H^\ddagger - T\Delta S^\ddagger \quad (3)$$

### 3.3 結果に対する考察

酸アミドのN-C結合の回転に対する研究はNMRによって最も良く研究されている。酸アミドではNの非結合電子対とカルボニルのπ電子系との共役を考えることになり、次のような共役を考へられる。従つてこの共役

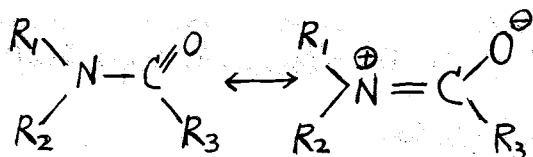


表1 IIの環水素のNMR定数(Hz)

化学シフト	スピン結合定数
$\delta_2$ 407.3 ± 0.1	$J_{23}$ 10.9 ± 0.1
$\delta_7$ 402.1 ± 0.1	$J_{26}$ 0.1 ± 0.1
$\delta_3$ 311.9 ± 0.1	$J_{27}$ 1.8 ± 0.1
$\delta_6$ 310.0 ± 0.1	$J_{36}$ 0.1 ± 0.1
	$J_{37}$ 0.1 ± 0.1
	$J_{67}$ 10.8 ± 0.1

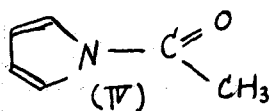
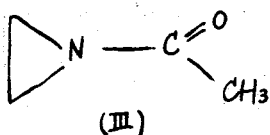
表2 IIのN-C結合の内部回転の各温度における速度定数

温度(°C)	速度定数(sec <sup>-1</sup> )
-3.7	290 ± 30
-8.1	170 ± 20
-13.8	90 ± 10
-18.7	55 ± 5
-24.2	32 ± 2
-29.3	16 ± 1
-34.7	9.5 ± 0.5
-39.8	5.8 ± 0.3
-45.2	3.1 ± 0.2
-50.2	1.5 ± 0.1
-55.9	0.6 ± 0.1

表3 IIのN-C結合の内部回転に対する活性化パラメーター

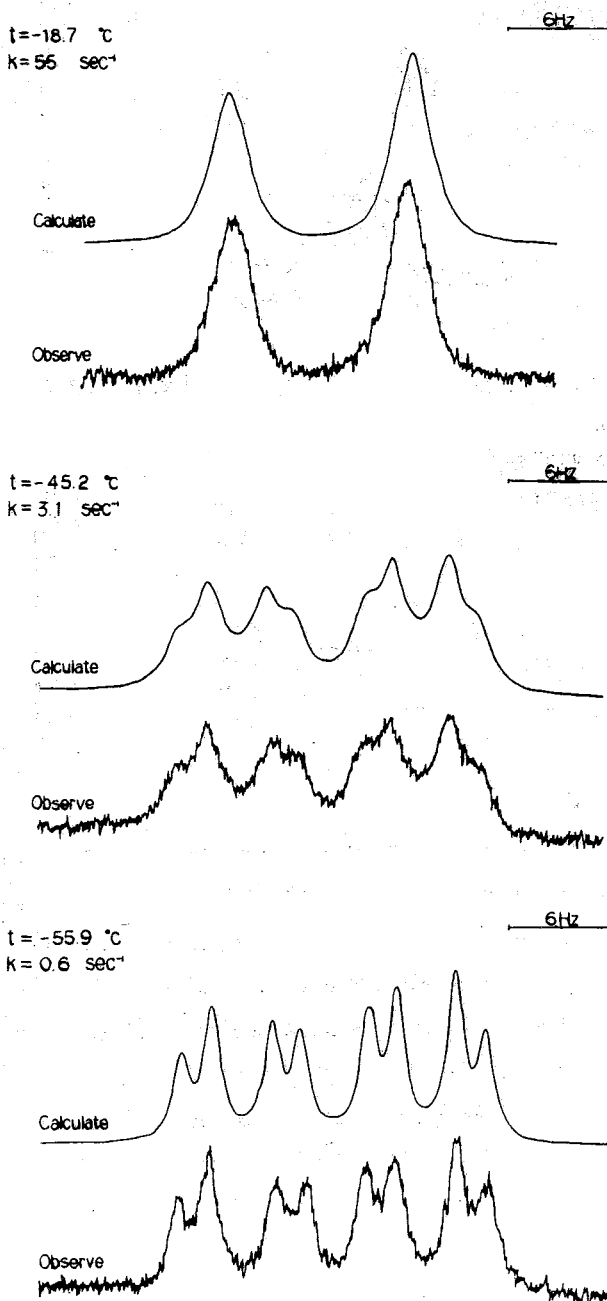
$E_a$ (kcal/mole)	13.1 ± 0.5
$\log A$	13.0 ± 0.5
$\Delta H^\ddagger$ (kcal/mole)	12.6 ± 0.5
$\Delta S^\ddagger$ (cal/mole·deg)	-1.1 ± 0.9
$\Delta G^\ddagger$ (kcal/mole)	12.9 ± 0.2

に対して  $R_1, R_2, R_3$  がどんな影響を与えるかということによってバリアーは変化する。 $R_3$  が電子吸引性の基であればバリアーは増加し、また電子供与性の基であればバリアーは減少する。この研究で得られたⅡのバリアーは  $13.1 \text{ kcal/mole}$  であり、酸アミドよりかなり低い。また母体であるⅠについては測定し得る温度範囲では C-N 結合は自由回転しており、温度変化が明確にならなかつたので、そのバリアーは  $9 \text{ kcal/mole}$  より小さいのではないかと思われる。これまでに報告されている例の中で、窒素を環の中に含む化合物としてはアセチルアジリジンとアセチルピロール等がある。

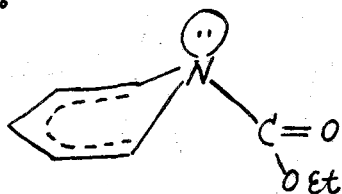


アセチルアジリジン(Ⅲ)のバリアーは測定されていない。一方 N-アセチルピロール(Ⅳ)のバリアーは  $12.55 \text{ kcal/mole}$  となっている。我々が測定したⅠとⅡに対する値はⅢとⅣに近い値を持つと思われる。バリアーに対して窒素の混成が大きな効果を持つと考えることができる。これは N の周囲が平面になっているかどうかということに関係がある。Ⅳでは N の混成は  $sp^2$  であると考えられる。またアジリジン誘導体については既に NMR により反転の測定があることから、その窒素の混成は  $sp^3$  であると考えられる。これらの

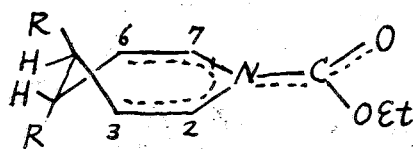
図1 Ⅱの  $H_2, H_7$  の NMR スペクトルの温度変化



ことを考えて、IとIIの温度変化のスペクトル線形解析の結果を考慮合わせるとIでは窒素のまわりは $sp^3$ 混成となっており、IIでは $sp^2$ 混成となっていると考えるのが実験の結果を説明するのに都合が良い。即ちIでは下を示すような $C_2 \sim C_7$ までが共役系を形成し、窒素は共役に余り関与していない。



一方IIでは $C_3, C_2, N, C_7, C_6$ が共役系を形成して平面をつくり、その共役系に $C=O$ 基も加わっているため、IIの方がIより大きなバリアーを示すと解釈される。



## 文献

1. K. Saito and K. Takahashi, *Heterocycles*, **12**, 263 (1979).
2. D. A. Kleier and G. Binsch, *J. Mag. Resonance*, **3**, 146 (1970).
3. L. M. Jackman, and F. A. Cotton, "Dynamic Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy", Academic Press, New York (1975).
4. F. A. L. Anet and J. M. Osyany, *J. Amer. Chem. Soc.*, **89**, 352 (1967).
5. K. I. Dahlqvist and S. Forsen, *J. Phys. Chem.*, **73**, 4124 (1969).

図2 IIの温度変化のアルベニウスプロット

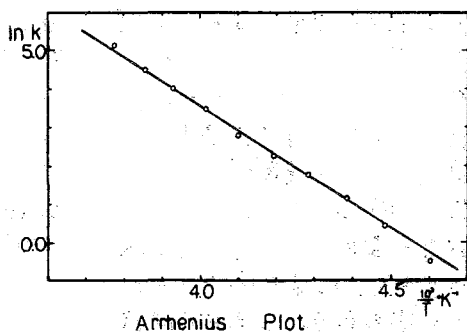
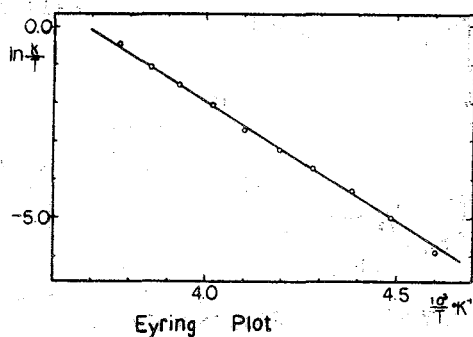


図3 IIの温度変化のアイリングプロット



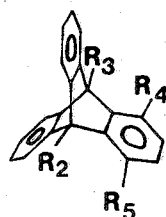
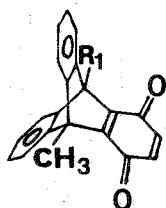
305 メタル置換トリプタセン及びトリプタセンキノン類における固体及び  
 溶液状態でのメタル基の回転障壁

(京大理) 今城文雄, 竹腰清乃理, 寺尾武彦, 梶賀亜規

1. 序

我々はメタル置換トリプタセン類におけるメタル基の回転障壁を、固体状態でプロト  
 ン-スピン-格子緩和時間( $T_2$ )の温度依存性より求めた。<sup>1,2)</sup> NMR法を用いて分子内回  
 転障壁値を求めるには、一般に固体状態では、 $T_2$ の温度変化が用いられ、また液体では、  
 $T_2$ による方法以外に、線形解析による方法(DNMR法)が行われている。我々は、固体  
 ・溶液状態で測定し得るメタル置換トリプタセン類を合成し(1~6)、固体でのプロト  
 ン $T_2$ による方法と溶液でのDNMR法による方法でメタル基の回転障壁を求め、比較考  
 討したので報告する。

2. 試料



1;  $R_1 = H$

2;  $R_1 = CH_3$

3;  $R_2 = R_5 = CH_3$   
 $R_3 = R_4 = H$

4;  $R_2 = R_3 = R_4 = R_5$   
 $= CH_3$

5;  $R_2 = CH_3$   
 $R_3 = R_4 = R_5 = H$

6;  $R_2 = R_3 = CH_3$   
 $R_4 = R_5 = H$

7;  $R_2 = R_5 = R_4 = H$   
 $R_3 = CH_3$

1はBartlettらの方法<sup>3)</sup>で合成した。

2はTheilackerらの方法<sup>4)</sup>で対称する  
 ジヒドロキシトリプタセンを合成し  
 それを酸化銀で酸化して得た。

(3; 黄色結晶, m.p. > 300°C, NMR  
 ( $\delta$  CDCl<sub>3</sub>) 6.96~7.42 (6H, AA'BB',  
 aromatic), 6.29 (2H, s, olefinic)  
 2.52 (6H, s, methyl), IR(KBr)  
 $\nu_{C=O}$  1730 cm<sup>-1</sup>)。試料はすべて  
 カラムクロマトグラフ, 再結晶によ  
 り精製した。 $T_2$ 測定用の試料は, 冷  
 却-脱気-加熱を繰り返して, 酸素  
 を除き封じたものを用いた。

3. 実験

$^1H$ - $T_2$ は、自作の装置(59.5 MHz)を用いて試料1~6について  $\alpha$  90°- $\tau$ -90°-90°  
 パルス系列によって測定した。温度は窒素ガスフロー法により自作の制御装置を用いて制  
 御した。結果の一部はすでに報告した。<sup>2,5)</sup> 溶液状態のNMRスペクトルは JEOL PS100  
 スペクトルメーター(100 MHz)を用い、FT法により測定した。温度は、付属の装置(  
 JES-VT-3)を、熱電対で校正して制御した。

4. 固体状態における $^1H$ の $T_2$

$^1H$ の $T_2$ の温度変化は、メタル基の再配向の相関時間での温度依存に Arrhenius 型(式(1))

いまして、ふみお、たけこし きよのり、てらふ たけひこ、さいか あぼろ

表1. メチル置換トリブタセンでの最小二乗パラメーター

化合物	C, 10 <sup>9</sup> s <sup>-2</sup>	τ <sub>0</sub> , 10 <sup>-12</sup> s	E <sub>a</sub> , kcal/mol
1	1.40 ± 0.03	1.56 ± 0.21	6.16 ± 0.08
2	2.28 ± 0.05	2.29 ± 0.39	6.54 ± 0.10
3 R <sub>2</sub>	0.91 ± 0.16	0.85 ± 0.62	8.47 ± 0.41
3 R <sub>5</sub>	1.08 ± 0.02	3.12 ± 0.31	2.26 ± 0.03
4 R <sub>2</sub> , R <sub>3</sub>	1.88 ± 0.31	0.72 ± 0.39	9.06 ± 0.30
4 R <sub>4</sub> , R <sub>5</sub>	2.28 ± 0.05	1.38 ± 0.15	2.24 ± 0.03

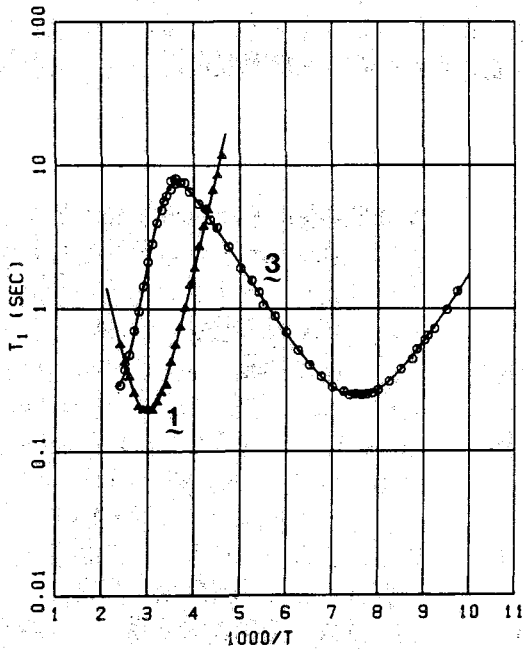


図1a 'H・T<sub>1</sub>の温度依存性  
△: 1    ○: 2

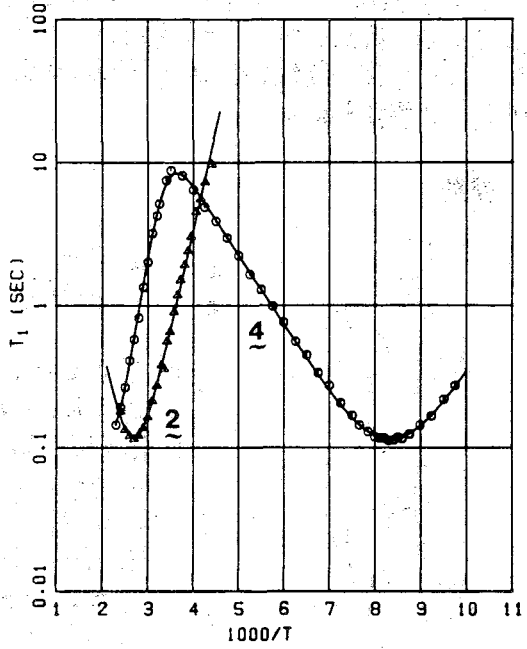


図1b 'H・T<sub>1</sub>の温度依存性  
△: 2    ○: 4

を仮定し、双極子-双極子相互作用しているメチル基のプロトンが、Markov過程で再配向しているとして解いたBPP typeの式(2)に従うとして、係数Cと pre-exponential factor τ<sub>0</sub>とメチル基の回転に対応する(活性化エネルギー)E<sub>a</sub>をパラメーターにして、式(2)を測定値に対して最小二乗法させた。表1、図1a-bにその結果を示す。また、T<sub>1</sub>の極小値(T<sub>1min</sub>)について、理論値(3)と実測値との比較を表2に示す。

$$\tau_c = \tau_0 \cdot \exp\left(\frac{E_a}{RT}\right) \quad (1)$$

$$T_1^{-1} = C \times \left[ \frac{\tau_c}{1 + \omega_0^2 \tau_c^2} + \frac{4\tau_c}{1 + 4\omega_0^2 \tau_c^2} \right] \quad (2)$$

$$T_{1min}^{calc} = \frac{N}{n} \times 0.336 \text{ sec} \quad (3)$$

(N: 分子全体のプロトン数  
n: メチル基のプロトンの数  
(3)ではメチル基内のプロトン-プロトンの距離を1.79Åとした



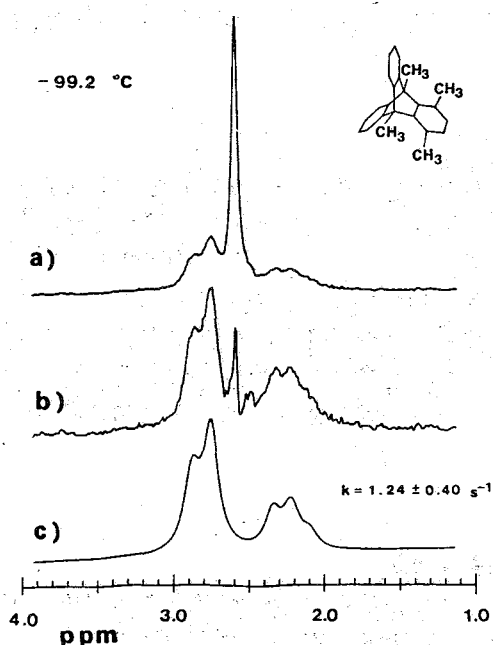


図2, 4のメチル基の $CD_2Cl_2$ 中でのNMRスペクトル (100MHz)

- a) オリジナルスペクトル
- b) peri位のメチル基( $R_4, R_5$ )のシグナルを差し引いたスペクトル
- c) b)をDNMR5で最小二乗させたスペクトル

### 5. 線形解析

線形解析はBinschの交換速度などをパラメーターにして, 実際のスペクトルと最小二乗させたプログラム(DNMR5<sup>6)</sup>)を, 先の橋頭位のメチル基( $R_2, R_3$ )について,  $CD_2Cl_2$ 中で測定した $^1H$  NMRスペクトルに対して適用した。先においては peri位のメチル基( $R_4, R_5$ )の吸収線を線形解析を行なう際, ローレンツ型の吸収線を仮定してグラフィックシステム上で差し引いたスペクトル(図2b)を求めて, 得られたスペクトルに最小二乗させた(図2c)交換速度の温度変化を求めた。メチル基の化学シフトも測定した最低温度での $J_{H-H}$ 値は温度変化しないと仮定した。前回行なった実験では回転障壁が,  $11.2 \pm 3.7 \text{ kcal/mol}$  となり<sup>2)</sup>, 再実験したところ,  $7.5 \pm 1.3 \text{ kcal/mol}$  となった(図3)。この化合物は, 220K付近で橋頭位メチル基の吸収線の coalesce が観測された。この coalesce 速度及び化学シフト差 60Hz, スピン結合定数 -12 Hzより, 後述する  $AB_2$ 系での融合温度法を行ない, 220Kで  $11.5 \text{ kcal/mol}$  の回転障壁を算出。先においては,  $cd-THF$ 中 150Kでメチル基の吸収線の広幅化(半値半巾 14.6 Hz)が観測された。そこで, 先における化学シフト差 47Hz<sup>7)</sup>

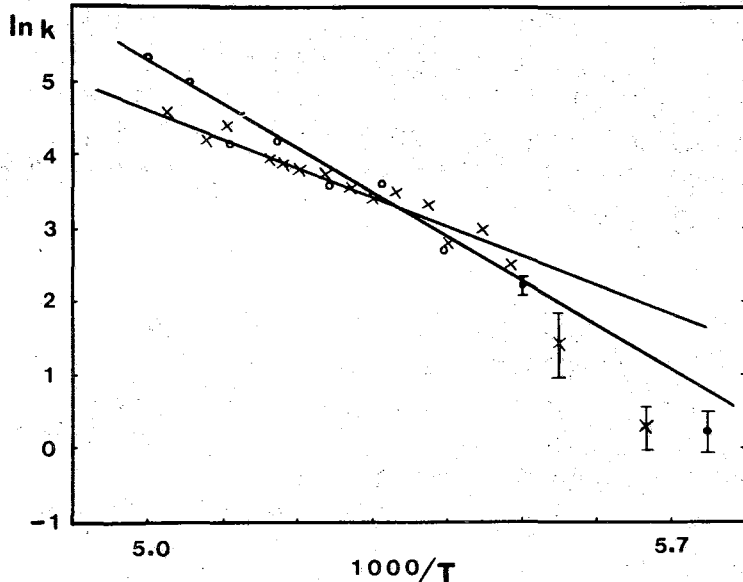


表2.  $T_2$  min. (sec)

化合物	測定値	計算値
1	0.187	0.157
2	0.115	0.0897
3 $R_2$	0.286	0.202
$R_3$	0.243	
4 $R_2, R_3$	0.140	0.123
$R_4, R_5$	0.116	

図3 先の橋頭位メチル基の溶液状態におけるプロトンの交換速度の温度依存性

x ;  $7.5 \pm 1.3 \text{ kcal/mol}$   
 o ;  $11.2 \pm 3.7 \text{ kcal/mol}$

とスピン結合定数  $-12 \text{ Hz}$  を仮定して  $\omega$  に適用すると,  $150 \text{ K}$  で  $6.9 \text{ kcal/mol}$  という回転障壁の値が推定された。

## 6. $\text{AB}_2$ 系の融合温度法

$\text{AB}_2$ 系で融合温度から, 回転の交換速度を概算することを試みた。交換している3スピ  
ン系を密度行列法で解いた場合に, 線形  $I(\omega)$  は3つの部分  $I^{\text{II}}(\omega)$ ,  $I^{\text{I}}(\omega)$ ,  $I^{\text{III}}(\omega)$  に分けら  
れる。ここで  $(\frac{1}{2}, \frac{1}{2}, \frac{1}{2}) \leftrightarrow (\frac{1}{2}, \frac{1}{2}, -\frac{1}{2}), (\frac{1}{2}, -\frac{1}{2}, \frac{1}{2}), (-\frac{1}{2}, \frac{1}{2}, \frac{1}{2})$  に相当する  $I^{\text{II}}(\omega)$   
を  $\omega$  で2回微分したものが  $\omega=0$  で0であるときに *coalesce* と仮定して, このとき成  
立する式より, 化学シフト値, スピン結合定数, 温度と交換速度の関係を求めた。この関  
係式は交換速度の6次の式であり, 解析的には解けず計算機で交換速度を求めて, Eyring  
型の式より, その温度での活性化自由エネルギー(これを障壁値とみなす)を求めた。

$$k = \frac{k_B \cdot T}{h} \cdot \exp\left(-\frac{\Delta G_a^\ddagger}{R \cdot T}\right) \quad (6)$$

## 7. 橋頭位のメチル基の回転に及ぼすヘリ位置換基の効果

溶液での障壁値は, スピン系が単純すぎる事と,  $T_2$ の精度にも問題があると思われる為  
特に橋の広い単一線の様な吸収線の場合は交換速度の信頼度が低く, 誤差が大きくなり,  
固体と溶液での回転障壁値の差を定量的に議論は出来ないうが, 先に示しているのは, 溶液で  
大体  $11 \text{ kcal/mol}$  位の障壁値が妥当と考えられ, 固体の  $9.06 \text{ kcal/mol}$  よりも  $2 \text{ kcal/mol}$  位大きく  
なつていると考えられる。2の回転障壁値は  $\omega$  と  $\omega'$  の間に来ると考えられるが, 大木<sup>3)</sup>は,  
 $183 \text{ K}$  で  $\text{CS}_2$  溶液の NMR スペクトルが広幅化するだけで, これより  $7.8 \text{ kcal/mol}$  以下だと  
見積もっている。2では固体で  $6.54 \text{ kcal/mol}$ , 溶液では大体  $7 \text{ kcal/mol}$  位だと推定され,  
この化合物については固体と溶液での障壁値は一致していると思われる。1は固体では  
 $6.16 \text{ kcal/mol}$  であり, 溶液では, メチル基が  $\text{CD}_2\text{H}$  になった化合物に対して大体  $142 \text{ K}$  で  
 $7.2 \text{ kcal/mol}$  という値が報告されている。固体で1と3とを  $(5; 6.16 \pm 0.08 \text{ kcal/mol}^{22})$   
及び, 2と4とを  $(6; 6.36 \pm 0.07 \text{ kcal/mol})$  の回転障壁値を比較することより, *peri* 位の  
炭素-酸素二重結合のメチル基の回転障壁に対する寄与は, *peri* 位のメチル基のそれより  
も大変小さく, *peri* 位の酸素の場合よりも少し大きい程度だということになった。このよ  
うな, 酸素-炭素二重結合の障壁に対する寄与の異常な低さについては, 現在介する軌道法  
及び分子カ場法などを用いて検討中である。

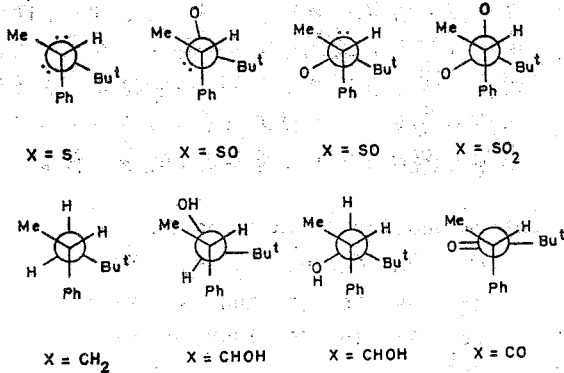
## 8. 文献

- 1) F. Imashiro, T. Terao, A. Saika, J. Amer. Chem. Soc., 101, 3762 (1979)
- 2) 今城, 竹腰, 寺尾, 雑質 分子構造討論会要旨集 p474 (1979)
- 3) P.D. Bartlett, M.J. Ryan, S.G. Cohen, J. Amer. Chem. Soc., 64, 2649 (1942)
- 4) W. Theilacker, U. Beyger-Brise, Karl-Heinz. Beyer, Chem. Ber., 93, 1658 (1960)
- 5) 今城, 竹腰, 雑質 日本化学会第41回春年会予稿集 II p695 (1980)
- 6) D.S. Stephenson and G. Binsch, J. Magn. Reson., 32, 145 (1978), QCPE No. 365
- 7) J.E. Anderson and D.I. Rawson, J.C.S. Chem. Comm., 830 (1973)
- 8) M. Nakamura, M. Ōki, H. Nakamura, and O. Yamamoto, Bull. Chem. Soc. Jap., 47, 2415 (1974)

LIS-シミュレーションによる解析

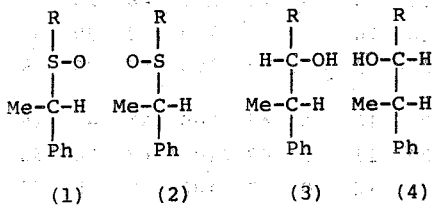
(明治製菓) 西尾元宏 児玉佳男 国司昭治 西端 健 福田芳正  
梅村甲子郎 (理研) 鶴沢 洵 (横浜国大) 広田 穰

[序] 下に示したスルホキッドのジアステレオマー,  $\text{PhCH}(\text{Me})\text{X}^t\text{Bu}^t$  ( $\text{X}=\text{SO}$ ) については, X線解析, NMR, ORD, 双極子能率その他の手法により, 図のような配座 ( $\text{Bu}^t/\text{Ph}$



gauche,  $\text{Bu}^t/\text{Me}$  anti) が最も安定であることが分っている。<sup>1)</sup> 関連のスルフィド ( $\text{X}=\text{S}$ ), スルホン ( $\text{SO}_2$ ) についても, 左の配座が最も安定であることを示す証拠がある。また, これらに対応する炭素化合物, アルコール ( $\text{X}=\text{CHOH}$ )<sup>2,3)</sup>, 炭化水素 ( $\text{CH}_2$ )<sup>3)</sup>, ケトン ( $\text{CO}$ )<sup>3A)</sup> にも, 同様の配座が安定であることを示す証拠が揃っている (NMR, IR, 力場計算など)。

以上の事実は, アルキル基とフェニル基との間に親和的な力 ( $\text{CH}/\pi$  相互作用)<sup>1,5)</sup> が働いていることを予想させるが, この現象の一般性を知り, また, 配座安定化に寄与している相互作用の内容を明らかにする目的で, 一連のアルキル基 ( $\text{R}=\text{Me}, \text{Et}, \text{Pr}^i, \text{Bu}^t$ ) をもつスルホキッド (1), (2) と, アルコール (3), (4) の配座について検討したので報告する。



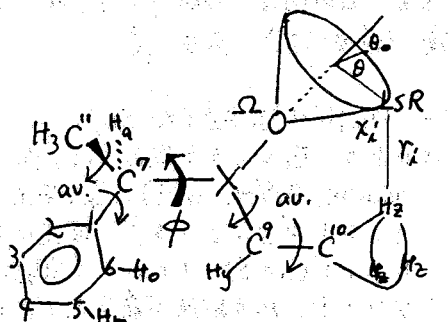
[実験] (1), (2) については  $\text{Eu}(\text{fod})_3$  による  $^1\text{H}$  の LIS ( $\text{CDCl}_3$ ), (3), (4) については  $\text{Yb}(\text{fod})_3$  を用いて  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  のデータを同時に取得した ( $\text{CDCl}_3$ )。LSR 濃度ゼロから約 0.2 eq. の間で, 4 角について測定し, 試薬濃度に対する化学シフトの勾配を求める。用いた装置は JEOL MH-100 と FX-100 である。表 1,

2 に, (1)~(4) に対して得た LIS (すべて相対値) を示す。

[方法] 分子の形を固定し, これに配位する LSR の位置を決めると, 分子内の各原子核におよぼす LIS ( $\Delta V_{\lambda}^{\text{calc.}}$ ) が求められる。幾何学的因子は  $(3\cos^2\chi_{\lambda}-1) \cdot r_{\lambda}^{-3}$  とし (図参照), その他の近似も常法の仮定<sup>6)</sup> に従った。 $\Delta V_{\lambda}^{\text{calc.}}$  と  $\Delta V_{\lambda}^{\text{obs.}}$  とを次式により比較,  $\text{AF} = \left[ \frac{\sum (\Delta V_{\lambda}^{\text{obs.}} - \Delta V_{\lambda}^{\text{calc.}})^2}{\sum (\Delta V_{\lambda}^{\text{obs.}})^2} \right]^{1/2}$ , 電算機は各パラメータのセットに対する AF のマップを出力する。LSR の位置は, 図の内錐形の底円周上で,  $\text{Ph}$  基に最も遠いところに中心をもつガウス型,  $w(\theta) = A/\pi \exp[-A^2(\theta - \theta_0)^2]$ , の分布をしているものとする。 $\text{Ln}-\text{O}-\text{X}$  角 ( $\Omega$ ) は, 試行錯誤ののち, スルホキッドに

にしおもとひろ こだまよしお づししょうじ にしはたけん ふくだよしまさ  
うめむろこうしろう うざわじゅん ひろたみのる

ついでには  $120^\circ$ , アルコールに対しては  $130^\circ$  と固定した。したがって、可変のパラメータは上記の LSR-分布 index (A) のほか、Ln-X 距離 (R), R/Ph = 面角 ( $\theta$ ) である。入力



av:  $30^\circ$  およびに計算して平均

するのは、構造パラメータ (一部は X 線データ、他は標準値) と  $\Delta V_{\lambda}^{obs.}$  である。入力したデータの数は (1), (2) の場合 5~6 位 ( $H_o, H_m, H_a, H_y, H_z$ ), (3), (4) については、このほか  $^{13}C$  のデータを加えた。(全部で 9 位) データの選択にあたっては、なるべく、配座の変化に対して敏感なはずの核のものを多く選び、精度の落ちるもの、LSR の配位と置から結合の近い炭素のものは除外 (コンタクトシフトの影響を避けるため) するよう配慮した。

Table 1 (Relative LIS determined for  $^1H$  in 1 and 2).

	$H_o$	$H_m$	$H_a$	$H_y$	$H_z$	Me	(2)	$H_o$	$H_m$	$H_a$	$H_y$	$H_z$	Me
R = Me	49	19	120	100	-	81	Me	69	30	69	100	-	87
Et	51	23	136	100*	94	102	Et	73	15	60	100*	70	91
Pr <sup>i</sup>	95	39	203	100	115*	169	Pr <sup>i</sup>						
Bu <sup>t</sup>	47	19	150	-	100	157	Bu <sup>t</sup>	115	19	84	-	100	114

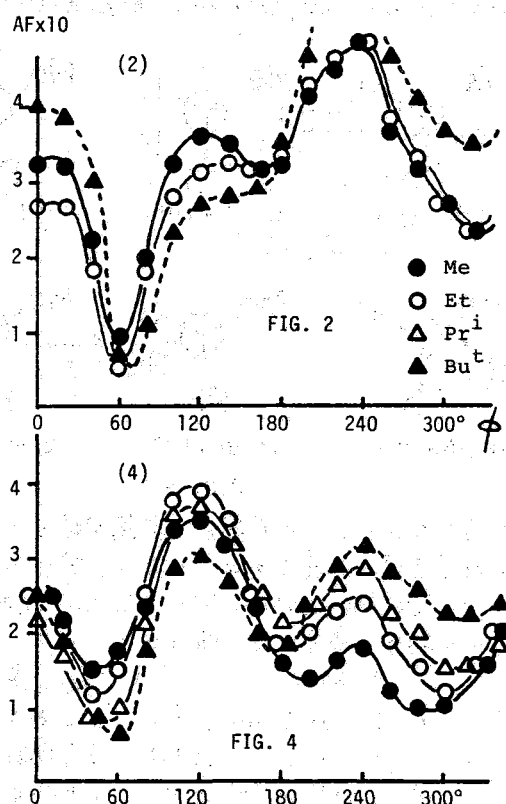
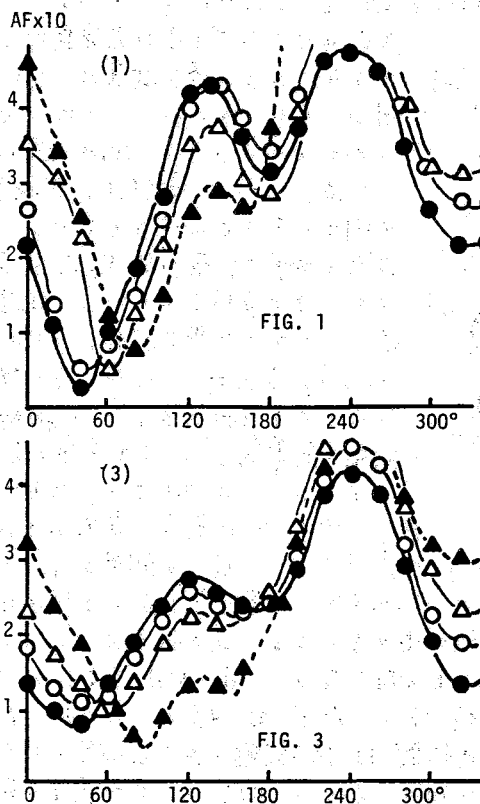
Table 2 (Relative LIS determined for  $^1H$  and  $^{13}C$  in 3 and 4)

	$H_o$	$H_m$	$H_a$	Me	$H_x$	$H_y$	$H_z$	1	2,6,3,5	4	7	8	9	10	11
R = Me	18	7	39	20	61	35	-	27	21	11	9	47	100	49	- 27
Et	17	6	39	21	63	35*	21	27	20	10	9	48	100	48	28 29
Pr <sup>i</sup>	14	6	41	24	64	31	24*	24	16	10	8	51	100	48	30* 34
Bu <sup>t</sup>	17	1	35	32	65	-	25	25	16	5	4	52	100	47	28 39
(4)															
Me	19	5	34	22	63	35	-	30	20	10	8	44	100	51	- 26
Et	22	6	32	25	64	34*	16	32	24	11	9	47	100	48	24 30
Pr <sup>i</sup>	25	5	32	26	63	36	17*	34	25	12	9	50	100	47	25* 33
Bu <sup>t</sup>	29	6	29	26	65	-	18	35	26	13	11	50	100	43	24 33

\*average values for diastereotopic nuclei

[結果] 図 1~4 に、それぞれ (1), (2), (3), (4) に対して得た AF/中 profile を示した。(A = 0.8) 横軸は R-X-C<sup>7</sup>-ph で定義される面角 ( $\theta$ ) である。Ln-O 距離 (R) は、(1), (2) についてそれぞれ 0.36 nm および 0.38 nm に固定、(3), (4) では、いずれも 0.30 nm に固定してある。実験値と計算値の満足できる一致は、この辺りの R のときに得られる。初期の研究では、 $AF = \frac{\sum |\Delta V_{\lambda}^{obs} - \Delta V_{\lambda}^{calc}|}{\sum \Delta V_{\lambda}^{obs}}$  なる関係を用いたが、ここで使った自乗和の函数と、殆ど変りのない結果を与える。AF に対して

大きく影響を与えるのは、むしろ、 $A$ の選り方である。 $A$ の低い値( $A=0$ はLSRの均等分布に相当)では、LSRが配位するグループ(OやOH基)がPh基とエクリアスするとき(1)と(3)では中 $\sim 240^\circ$ 、(2)と(4)では中 $\sim 120^\circ$ で、結果が大きく歪む。



また、Agreementの評価にあたって、どのデータに規格化するかによっても、AFは大きく影響を受ける。初期のプログラムは、入力したLISの最大値に規格化してAFを算出するようにできていたので、スルホキシド(化合物によって、最大のLISをもつ核が違)、Table 1)とアルコール(入力データの中では、Hxに対するLISが最大)とでは、異った印象を与えるprofileを示した(ただし、極小のAFに対応する中の値と、AFの相対順位には、あまり影響がない)。このため、プログラムを改良し、規格化の対象とする $\Delta V$ を任意に選べるようにした。図1~4は、すべて、入力したデータの平均値に対して規格化した計算から得たものである。(中 $=0^\circ$ がR/Phエクリアス配座に対応)

[考察] 図のタテ軸は、溶液中に唯一一つのロータマーが存在するものと仮定して計算した場合の信頼度の目安であって、配座異性体の内部エネルギーに対応するものではない。しかし、ここで注目されるのは、どのprofileをみても、必ず三つの極小(又は変曲点)

があることである。相対値を与える中は、 $60^\circ, 180^\circ, 300^\circ$  附近に分布している。以上のことは、これらの profile が、間接的にはあるが、三つの staggered 配座の形と、その安定性を反映していることを暗示している。AF を、異性体存在比のおおまかな目安であると考えて、(1), (2) に対し、配座異性体の相対安定性を示したのが図5である。R

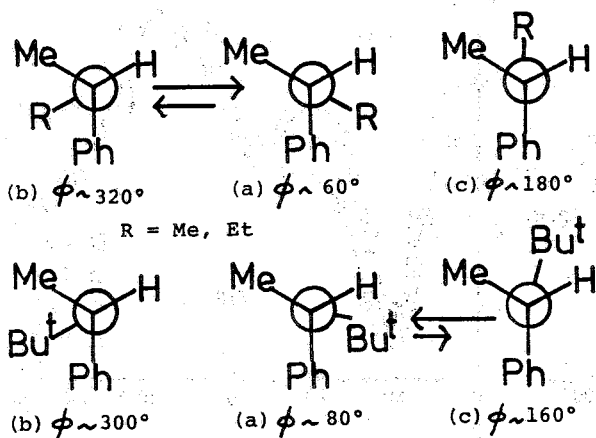


FIG. 5

の如何によらず (a) が最安定型であるほか、 $\sigma$ 2 の優先配座は、 $R = Me$  Et のとき (b),  $R = Bu^t$  では (c) であることが示唆される。(b) の配座においては、アルキル基 (R) が Ph と Me の間にくることに注目したい。いずれの争突も、親和的 R/Ph 相互作用の考えを支持している。配座平衡について上に得た結論は、Me 基  $^{13}C$  の  $\delta$  に与える S-O 基の  $\gamma$ -効果によっても支持される。X線解析、双極子能率のデータとも矛盾しない。

アルコールに対しても、上と同様の考察をすると、おなじ種類の結論が得られる。即ち、図3, 4 に基いて異性体の相対安定性を見積ると表3のようになり、常に (a) が最安定である。唯一の例外は  $R = Me$  の (4) で、R が Ph と Me との間にくる (b) の配座の存在比が高い。置換基によって安定性の順位が変動する様子には、明らかに、一定の傾向が認められる。表の結論は、 $^{13}C$ -NMR,  $J_{CH}$  の考察とも矛盾しない。 $^1H$ -NMR, IR のデータもこれを支持する。なお (3), (4) について行、た分子力場計算の結果<sup>2)</sup> は、左の結論とおおむね等しいが、アルキル基の如何によらず (c) > (b) と予想するまで実験と一致しない。しかし、力場計算では考慮されていない、親和的な R/Ph 相互作用 (v.d. Waals 以外の) の安定化寄与を見積ると、表の結論と一致してくる。このことは、CH/π 相互作用仮説<sup>1,5)</sup> の立場から、甚だ勇気づけられる結果といえる。

Table 3

(3)	R = Me :	(a) > (b) > (c)
	Et :	(a) > (b) > (c)
	Pr <sup>i</sup> :	(a) > (c) > (b)
	Bu <sup>t</sup> :	(a) > (c) > (b)
(4)	R = Me :	(b) > (a) ~ (c)
	Et :	(a) ~ (b) > (c)
	Pr <sup>i</sup> :	(a) > (b) > (c)
	Bu <sup>t</sup> :	(a) > (c) > (b)

アルコールに対しても、上と同様の考察をすると、おなじ種類の結論が得られる。即ち、図3, 4 に基いて異性体の相対安定性を見積ると表3のようになり、常に (a) が最安定である。唯一の例外は  $R = Me$  の (4) で、R が Ph と Me との間にくる (b) の配座の存在比が高い。置換基によって安定性の順位が変動する様子には、明らかに、一定の傾向が認められる。表の結論は、 $^{13}C$ -NMR,  $J_{CH}$  の考察とも矛盾しない。 $^1H$ -NMR, IR のデータもこれを支持する。なお (3), (4) について行、た分子力場計算の結果<sup>2)</sup> は、左の結論とおおむね等しいが、アルキル基の如何によらず (c) > (b) と予想するまで実験と一致しない。しかし、力場計算では考慮されていない、親和的な R/Ph 相互作用 (v.d. Waals 以外の) の安定化寄与を見積ると、表の結論と一致してくる。このことは、CH/π 相互作用仮説<sup>1,5)</sup> の立場から、甚だ勇気づけられる結果といえる。

[文献] (1) 西尾, 化学の領域, 31, 834, 998 (1977); 兎玉, J.C.S. Perkin 2, 1976, 1490. (2) 兎玉, Bull. Chem. Soc. Jpn., 52, 2661 (1979); 難沢, ibid., 投稿中. (3) 広田, 投稿準備中. 木ノルル年会 ORGN 091, 日化年会 (1980) IM32 で発表. (4) 西尾, 才13回構造有機討論会, 名古屋 (1980); 園司, Bull. Chem. Soc. Jpn., 投稿中. (5) 兎玉, T. Letters, 1977, 2105; 西尾, 化学の領域, 33, 422 (1979). (6) O. Hofer, Topics Stereochem., 9, 111 (1976). (7) 兎玉, J.C.S. Perkin 2, 印刷中 (1980); J. Chem. Res. (S), 1977, 102. (8) 広田, Bull. Chem. Soc. Jpn., 51, 2358 (1978).

I. はじめに

4-アミノメチルシクロヘキサン-1-カルボン酸には、シス・トランスの異性体が存在するが、そのトランス体(TAMCHA)は、経口投与で、副作用のない止血剤(抗線維素溶解剤)として、有用な物質であり、その誘導体をも含めてタンパク分解酵素(プロテアーゼ)合成阻害剤として、注目されている。シス体(CAMCHA)の活性は、TAMCHAの約1/40である。構造と活性の相関については、種々の合成α-(ω-アミノ)酸の活性の結果から、主として、アミノ基の窒素とカルボキシル基の炭素との間の原子間距離( $r_{N-C} = 0.65 \text{ nm}$ )と、等電点という2つの観点から、説明できることが、先行によって示されている。<sup>1)</sup> 結晶状態における構造に関しては、ハロゲン化水素塩とフリーの状態の両者について、X線構造解析のデータが報告されている。<sup>2)</sup> しかしながら、生体内での構造は判明していないので、水溶液中のコンホメーションを調べることによって、その生理活性との関連を考察することは重要であると考えられ、NMRおよび半経験的分子軌道法の手法を用いて、検討した。

II. 実験

TAMCHA, CAMCHAは、常法によって合成した。<sup>1) H</sup>NMRにはVarian EM-360A (60MHz), JEOL FX-100 (99.6MHz)を、<sup>13</sup>CNMRにはJEOL-PS-100 (25.14MHz), JEOL FX-100 (25.05MHz)を使用した。測定温度は30℃で、外部基準として、TSP-d<sub>6</sub>を用いた。ランタニドイオンとしては、Eu(III), Pr(III), Nd(III), Gd(III), La(III)の硝酸塩を用いた。シフト比は、連続希釈法<sup>3)</sup>によって求め、緩和比は、Gd(III)を使い、内部標準として、1,1-ジメチルエタノールを用いて求めた。<sup>4)</sup> T<sub>1</sub>の測定は通常の180°-τ-90°パルス法を用いた。

III. 結果と考察

○帰属 TAMCHAとCAMCHAの構造をFig. 1に、100MHzの<sup>1</sup>HNMRスペクトルをFig. 2に、<sup>13</sup>CNMR pH測定曲線をFig. 3に示す。<sup>13</sup>CNMRの名炭素のシグナルは、オフレンジンスペクトルを測定することにより、容易に帰属できた。CAMCHAにおいて、(C<sub>2</sub>, C<sub>6</sub>), (C<sub>3</sub>, C<sub>5</sub>)のシグナルは、お初果を考えて、Fig. 3のように帰属した。

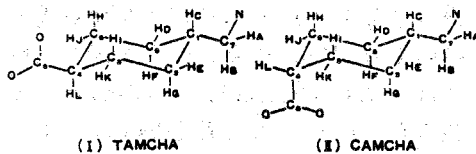
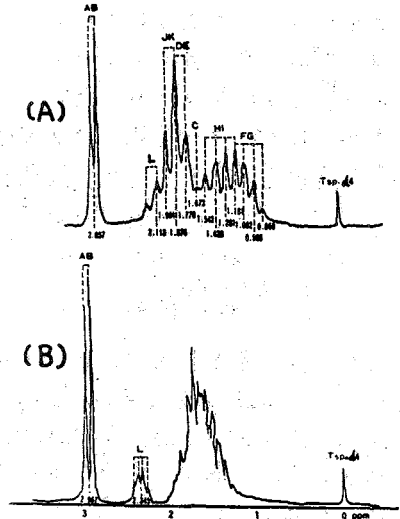


Fig. 1  
Fig. 2 <sup>1</sup>HNMR (100MHz) (JEOL FX-100)  
(A) TAMCHA (IX D<sub>2</sub>O, pH 7.40)  
(B) CAMCHA (IX D<sub>2</sub>O, pH 7.20)



やなかみきろう、えのみとさとる、いのうえよしお、ちゅうじょうりいちろう。

<sup>1</sup>H NMRにおいて、H<sub>A</sub>, H<sub>B</sub>はH<sub>C</sub>とのカップリングによってダブレットになっていることにより帰属でき、H<sub>L</sub>は<sup>13</sup>C NMRの選択的照射デカップリングスペクトルの測定、あるいは、<sup>1</sup>H NMRのpH滴定曲線 (Fig. 4) から帰属した。CAMCHAのH<sub>L</sub>はTAMCHAのそれよりも0.1~0.2 ppm低シフトしている。炭系-炭系単結合

(C<sub>2</sub>-C<sub>3</sub>, C<sub>5</sub>-C<sub>6</sub>)の異方性を考慮することにより、CAMCHAのH<sub>L</sub>はエクソトリアル位を占め、したがって、カルボキシル基はアキシル位となる。

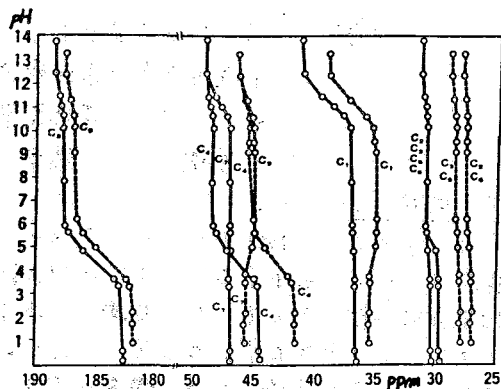
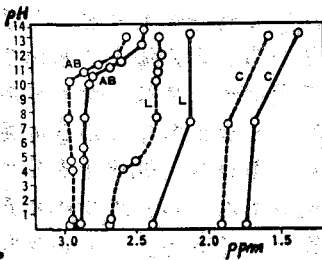


Fig. 3 <sup>13</sup>C NMR pH滴定曲線  
1X D<sub>2</sub>O (—TAMCHA, ---CAMCHA)

Fig. 4 <sup>1</sup>H NMR pH滴定曲線  
1X D<sub>2</sub>O (—TAMCHA, ---CAMCHA)

一方、TAMCHAのH<sub>L</sub>はアキシル位であり、TAMCHAにおける他のプロトンのシグナルは、ランタニドシフト試薬および緩和試薬共存下でのスペクトルから、Fig. 1のように帰属できた。CAMCHAは、シフト試薬を加えると、H<sub>L</sub>シグナルがカルテット様からトリプレット様に変化(環の反転のようなコンホメーションの変化を示唆するものと考えられる)するので、帰属は困難であった。

OTAMCHAのスピ結合定数

ビシナルスピ結合定数の測定値をTable 1に示す。<sup>3</sup>J<sub>H<sub>L</sub>L</sub>, <sup>3</sup>J<sub>J<sub>K</sub>L</sub>は、R(II)シフトスペクトルをホモデカップリングすることにより、5スピ系にし、コンピューターシミュレーション<sup>5)</sup> (Fig. 5) から、それぞれ、12.04, 2.492 Hzという結果を得た。

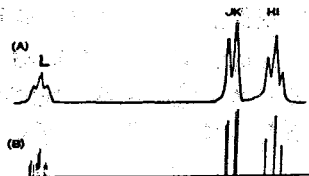


Fig. 5  
(A) R(II)シフトスペクトル(C, DE照射)  
(B) 計算スペクトル

Table 1.

Proton	Dihedral angle (1)form (2)form	Notation	Obs. value (Hz)
C A and/or B		<sup>3</sup> J <sub>AB,C</sub>	6.7
C D and/or E	ε ε ε	<sup>3</sup> J <sub>C,DE</sub>	
C F and/or G	ε ε ε	<sup>3</sup> J <sub>C,FG</sub>	
D and/or E	H and/or I	<sup>2</sup> J <sub>DK,HI</sub>	2.0
D and/or E	J and/or K	<sup>3</sup> J <sub>DE,JK</sub>	
F and/or G	H and/or I	<sup>2</sup> J <sub>FG,HI</sub>	11.0
F and/or G	J and/or K	<sup>2</sup> J <sub>FG,JK</sub>	
L	H and/or I	<sup>2</sup> J <sub>HL,L</sub>	12.04 (12.04)
L	J and/or K	<sup>2</sup> J <sub>L,JK</sub>	2.492 (2.492)

OTAMCHAのシクロヘキサン環のコンホメーション

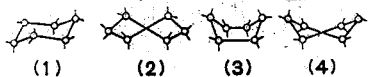


Fig. 6 (1)椅形  
(2)~(4)可動形

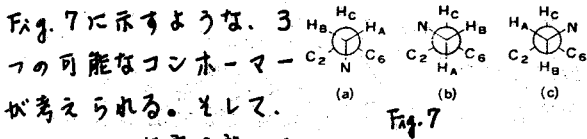
Fig. 6に示すように、結合角にひずみのないシクロヘキサン環には、いす形と可動形がある。<sup>1</sup>H NMRスペクトルで、H<sub>B</sub>とH<sub>C</sub>が等価に観測され、他の(H<sub>F</sub>, H<sub>G</sub>), (H<sub>H</sub>, H<sub>I</sub>), (H<sub>J</sub>, H<sub>K</sub>)についても同様なことから、対称形(1)か(3)の可能性がある。いす

れかを決定するために、ビシナル結合定数の計算を、Table 2に示すようなモデル化合物について、finite perturbation theory (INDO 近似)<sup>4)</sup>で行なった。α-アミノ酸の実測値としては、J<sub>H</sub>=13.56 (Hz), J<sub>G</sub>=2.60 (Hz)が得られているが<sup>7)</sup>、類似の計算値が得られた。(1)と(3)について、可能な二面角をも、Table 1に示したが、Table 2に示したようなJ<sub>C</sub>とかJ<sub>S</sub>値は実測されなかったことから、シクロヘキサン環は(1), すなわち、いす形であると推定できる。

αアミノメチル基のコンホメーション

TAMCHA, およびCAMCHAのアミノメチル基については、C<sub>1</sub>-C<sub>7</sub>軸に関して、





いくつかの仮定を設けると、実測J値は、つぎのように表わすことができる。

$$\begin{cases} J_{c,A} = P_a J_g + P_b J_h + P_c J_j \\ J_{c,B} = P_a J_g + P_b J_j + P_c J_h \\ P_a + P_b + P_c = 1 \end{cases}$$

$P_a, P_b, P_c$ はコンホマー(a), (b), (c)の存在確率である。カルボキシル基の回転から、対称性はなく、 $P_b$ と $P_c$ とは実際には等しくはない。しかし、スピン結合は結合電子を通して生ずるものであり、カルボキシル基はC<sub>1</sub>-C<sub>7</sub>結合から、かなり速くに存在するので、 $P_b$ と $P_c$ を等しいものと考えた。さらに、J値は一フレか実測される

なかったので、 $J_{c,A} = J_{c,B} = J_{obs}$  ( $A_2X$  スピン系の仮定)とし、 $J_h = 13.840$ ,  $J_g = 2.315$  (Table 2のモデル化合物(IV)の計算値)を考慮すると、上式から、 $P_a = 0.240$ ,  $P_b (= P_c) = 0.380$  (TAMCHA,  $J_{obs} = 6.7$  Hz),  $P_a = 0.170$ ,  $P_b (= P_c) = 0.415$  (CAMCHA,  $J_{obs} = 7.1$  Hz)を得た。また、つぎに示すような平衡式から、平衡定数K, 自由エネルギー変化 $\Delta G$ として、

$$P_b (= P_c) \rightleftharpoons P_a ; K = P_a / P_b ; \Delta G = -RT \ln K$$

$$\text{TAMCHA} ; K = 0.632, \Delta G = 1.924 \times 10^{-21} \text{ (joule. mol}^{-1}\text{) (at } 30^\circ\text{C)}$$

$$\text{CAMCHA} ; K = 0.410, \Delta G = 3.731 \times 10^{-21} \text{ (joule. mol}^{-1}\text{) (at } 30^\circ\text{C)}$$

○シフト比, 緩和比

緩和試薬としてGd(III)を用いたときの、各々の緩和比をH<sub>L</sub>を基準としてTable 3に示した。なお、参考までにEu(III), Nd(III), Rf(III)によるシフト比(La(III)による錯体形成シフト補正済み)

Ln	Relaxation Ratio Gd(III)	Shift Ratio Nd(III)		H <sub>L</sub>	L	H <sub>2</sub> , J, K	P, G	C	D, E	A	B	
		Eu(III)	Rf(III)									
L	1.00	1.00	1.00	1.00	Fun-14 (A)	5.947	6.076	8.009	8.104	8.264	9.566	10.18
JK	0.89	0.69	0.59	0.61								
HI	0.59	0.40	0.59	0.59								
C	0.21	0.19	0.13	-								
DE	0.18	0.24	0.25	-								
FG	0.17	0.29	0.32	-								
AB	0.01	0.12	0.15	0.15								

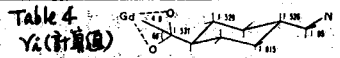


Table 3

もTable 3に示した。シフト比はMcConnell-Robertson式<sup>8)</sup>で表わされるように、角度の項が入っているので、ファンゴイドイオンと各プロトン核との原子間距離( $\gamma_2$ )だけでは一義的に論じられないが、緩和比は( $\gamma_2^{-6}$ )項とよい比例関係がある<sup>4,9)</sup>。緩和比より推定されるシクロヘキサン環のコンホマーシヨンは、スピン解析の結果と大体一致するが、Table 4の図に示すようなジオメトリーで計算した $\gamma_2$ の計算値と緩和比と比較してみると、シクロヘキサン環に多少ひずみがかかっていると考えられる。

○2分子会合

H<sub>2</sub>ケミカルシフトと結合定数の濃度依存性をFig. 8に示した。重氷溶液においては、溶質-溶媒間に強い水素結合が形成されるので<sup>10)</sup>, ca. 9% (ca. 5.73 mM)までの濃度では、2分子会合はないと考えられる。

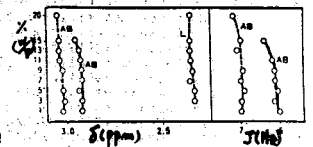


Fig. 8 濃度依存性 (---CAMCHA, ---TAMCHA)

Calc. value(Hz)		Calc. value(Hz)	
$J_{I,E} = 2.220 (J_g)$	$J_{I,E} = 9.754 (J_c)$	$J_{I,E} = 9.754 (J_c)$	$J_{I,E} = 9.754 (J_c)$
$J_{I,G} = 13.941 (J_c)$	$J_{I,G} = 4.413 (J_g)$	$J_{I,G} = 4.413 (J_g)$	$J_{I,G} = 4.413 (J_g)$
$J_{I,L} = 13.855 (J_c)$	$J_{I,L} = 2.109 (J_g)$	$J_{I,L} = 2.109 (J_g)$	$J_{I,L} = 2.109 (J_g)$
$J_{K,E} = 2.327 (J_g)$	$J_{K,E} = 4.413 (J_g)$	$J_{K,E} = 4.413 (J_g)$	$J_{K,E} = 4.413 (J_g)$
$J_{K,G} = 2.220 (J_g)$	$J_{K,G} = 9.754 (J_c)$	$J_{K,G} = 9.754 (J_c)$	$J_{K,G} = 9.754 (J_c)$
$J_{K,L} = 2.456 (J_g)$	$J_{K,L} = 2.109 (J_g)$	$J_{K,L} = 2.109 (J_g)$	$J_{K,L} = 2.109 (J_g)$
$J_{A,C} = 2.315 (J_g)$	$J_{I,E} = 9.754 (J_c)$	$J_{I,E} = 9.754 (J_c)$	$J_{I,E} = 9.754 (J_c)$
$J_{B,C} = 13.840 (J_c)$	$J_{I,G} = 4.413 (J_g)$	$J_{I,G} = 4.413 (J_g)$	$J_{I,G} = 4.413 (J_g)$
$J_{C,D} = 2.376 (J_g)$	$J_{I,L} = 13.920 (J_c)$	$J_{I,L} = 13.920 (J_c)$	$J_{I,L} = 13.920 (J_c)$
$J_{C,E} = 2.336 (J_g)$	$J_{K,E} = 4.413 (J_g)$	$J_{K,E} = 4.413 (J_g)$	$J_{K,E} = 4.413 (J_g)$
$J_{C,F} = 13.672 (J_c)$	$J_{K,G} = 9.754 (J_c)$	$J_{K,G} = 9.754 (J_c)$	$J_{K,G} = 9.754 (J_c)$
$J_{C,G} = 13.718 (J_c)$	$J_{K,L} = 2.751 (J_g)$	$J_{K,L} = 2.751 (J_g)$	$J_{K,L} = 2.751 (J_g)$
$J_{L,H} = 14.299 (J_c)$			
$J_{L,I} = 13.672 (J_c)$			
$J_{L,J} = 2.315 (J_g)$			
$J_{L,K} = 2.155 (J_g)$			

Table 2. TAMCHAのモデル化合物の計算J値。(可は計算に用いたジメトリ)



(電気通信大学) 仁木国雄, 館 宏

## 1. はじめに

長鎖のアルカンのメチレン基(内部メチレン基)の<sup>1</sup>H NMRスペクトルは、普通の溶媒中(たとえば四塩化炭素, ベンゼン)では割合鋭い1本のシグナルである。ところが、1-クロロナフタレン中ではアルカンの炭素数が18以上になると二本に分裂するほどの興味深い現象を引き起こすことが知られている。<sup>(1)</sup> そしてこの現象が、鎖の構造に関係があること、および溶媒の磁気異方性効果によることなどは指摘されているが、まだ完全に解明されてはいない。

本研究は、種々の非芳香族溶媒中のアルカンの<sup>1</sup>H NMR(第17回NMR討論会で一部報告)、および芳香族溶媒(C<sub>6</sub>F<sub>6</sub>, C<sub>6</sub>H<sub>6</sub>, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>I)中の<sup>1</sup>H NMR(日米合同化学会1979で報告)を基礎にこの現象の原因解明を目指し、さらにこの現象にかかわっているであろう弱い分子間の相互作用を検討するものである。今回は1-クロロナフタレンよりも大きな芳香環の9-ブromoフェナントレン中のアルカンの<sup>1</sup>H NMRを測定し、1-クロロナフタレン中のスペクトルとの比較を行った。さらに鎖同志の相互作用あるいは複数の鎖をもつ化合物とこの現象との関係を考察する目的でグリセリド(トリラウロン, トリミリスタン, トリパルミチン, トリステアリン)および鎖の中間をエーテル, ケトンでつばいば場合の1-クロロナフタレン, 9-ブromoフェナントレン溶媒中のスペクトルも検討した。

## 2. 実験

<sup>1</sup>H NMRスペクトルは、電通大60MHz用のR-20Bスペクトロメータを使用した。ケミカルシフトは内部基準にTMS, HMDS(ヘキサメチルジシラン)を用い、外部基準により溶媒間の内部基準のずれを補正した。

試料および溶媒は、市販の試薬をそのまま使用したものと、蒸留あるいは脱水したものとがある。また溶媒の濃度が低く、シグナルの小さいものはA1600加算器により積算した。

## 3. 実験結果および討論

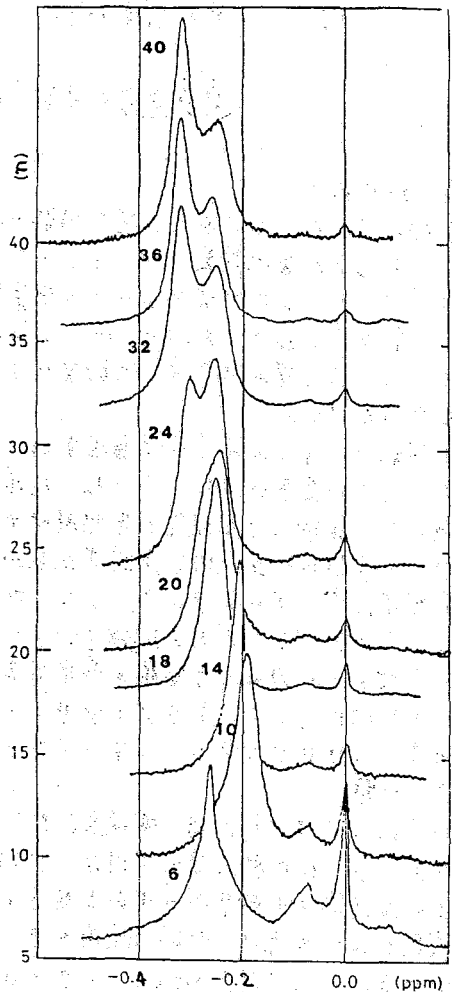
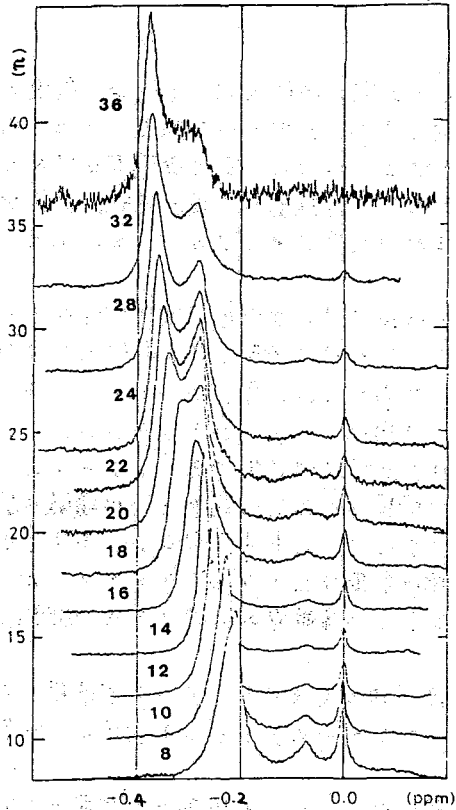
3-1 9-ブromoフェナントレン溶媒中のアルカンの<sup>1</sup>H NMR

9-ブromoフェナントレン(以後Br-Phenan. と記す。)の融点は63°Cで、大きなサイズの芳香族化合物としては割合低融点で、また安価で入手しやすい。今回はアルカンの炭素数を6~40と変化させて、メチル基および内部メチレン基(大きなピーク)の<sup>1</sup>H NMRスペクトルを測定した。測定温度は68°Cである。図1(b)にメチル基を基準にした場合のメチレン基のスペクトルの変化の様子を示した。図1(a)は比較のために提出した1-クロロナフタレン(以後Cl-Naph. と記す。)を溶媒とした場合の<sup>1</sup>H NMRスペクトル変化である。ただし測定温度は34°Cである。試料濃度はいずれの場合も0.01M以下とした。

(1) R-J. Liu, J. Polym. Sci. Part A-2, 5, 1209 (1967); I. Ando and A. Nishioka, Makromol. Chem., 171, 195 (1973); M.A. Winnik et. al., Macromolecules, 12, 257 (1979)

につき くに お , に う ひ う し

図1 (a) 1-クロロナフタレン中および  
(b) 9-ブロモナフタレン中のアルカ  
ンの<sup>1</sup>H NMRスペクトル



( $n$  はアルカンの炭素原子数)

(a) 1-クロロナフタレン (34°C)

スペクトル変化の特徴をまとめると、Cl-Naph. 中、34°Cでは $n=16$  (鎖の炭素原子数) でメチレン基の大きなシグナルの線幅がひろがり、 $n=18$ で二本に分裂、 $n=22$ で2本のピークの高さが同程度となる。一方Br-Phenan. 中、68°Cでは、 $n=18$ でメチレン基のシグナルの線幅がひろがり、 $n=20$ で2本に分裂した。またこの温度では $n=28$ で2本のピークの高さが同程度となる。(Cl-Naph. 中では68°Cで2本に分裂したピークは、すでに $n=20$ でも高磁場側のピークが小さい。)

(b) 9-ブロモナフタレン (68°C)

これらはBr-Phenan. 中でもCl-Naph. 中でも、炭素が小さいときからあった割合鋭いメチレン基のピークのほかに、炭素数の増加に伴い低磁場側に新たなピークが出現し、それがどんどん強度を増すと同時に低磁場方向へシフトする。一方もとからあった高磁場側のピークは強度もあまり変化せず、ケミカルシフト値もある程度の鎖の長さになるともはや変化しなくなるように見える。また、メチル基とメチレン基のケミカルシフト差はCl-Naph. 中の方がBr-Phenan. 中よりも大きく、後で述べるジアルキルエーテル、ジアルキルケトン、グリセリドも同様の傾向を示し、ケミカルシフト差もアルカンの場合より小さい。

3-2 温度変化した場合の(a)Br-Phenan. 中のドコサンおよび(b)Cl-Naph. 中のエイコサンの<sup>1</sup>H NMRスペクトル

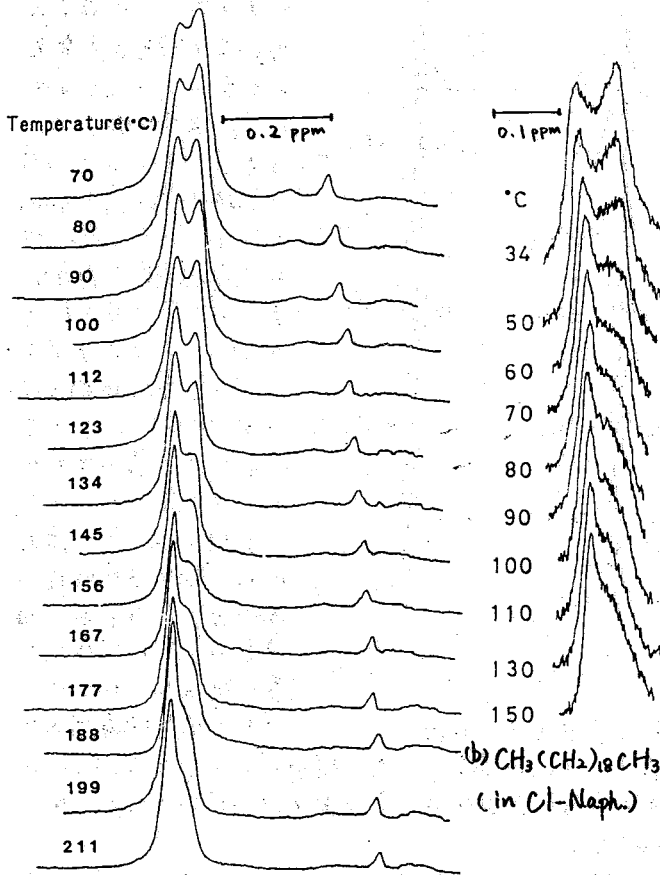


図2(a)にBr-Phenan. 中で温度を70℃～211℃まで変化させたときのドコサンの内部メチレン基の<sup>1</sup>H NMRスペクトルの変化の様子を示した。また(b)に参考のためにCl-Naph. 中のエイコサンの内部メチレン基のスペクトル変化を示した。メチレン基のケミカルシフト値は内部基準のHMDSと同様の温度特性を示す。図2(a)では、メチレン基のスペクトルの変化の様子を見やすくするために、メチレン基のシグナル位置をあわせて示した。以下のケミカルシフト値を問題とする場合は、HMDS、およびメチレン基のスペクトルの温度依存性はメチレン基より小さいと考え、HMDSを基準とした。Br-Phenan. 中でもCl-Naph. 中でも、内部メチレン基のシグナルは温度上昇に伴い、低磁場方向へシフトする。

また、いずれの溶媒中でも、分裂した2本のピークでは、温度上昇に伴って高磁場側が徐々に小さくなる。

図2 (a)  $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{20}\text{CH}_3$  (in Br-Phenan.)

くはなる。しかし2本のピークはこの程度の温度では合体しやうにはい。しかし200℃に近づくると2本のピークは幾分近づいた様に見える。

さらに両溶媒の効果を比較すると、温度を上昇させると、Cl-Naph. 中では150℃位で高磁場側のピークがかなり小さくなるのに対し、Br-Phenan. 中では200℃程度でもまだあまりと高磁場側に肩が観測される。このことより、低磁場側のピークに属するメチレン基の状態の方が高磁場側のメチレン基よりも温度の影響を受けにくく、少なくともCl-Naph. 中よりはBr-Phenan. 中の方が高磁場側に属するメチレン基の数が多く、かつ温度の影響も受けにくいことがわかる。

またアルカンの炭素数が18個以上では、溶媒がベンゼン、メシチレン、インデンの順に内部メチレン基の大きさはスペクトルは線幅がひろがり、Cl-Naph. 中で2本に分裂し、Br-Phenan. 中では2本の分裂がさらにひろがる。これは、これらの溶媒の④溶媒分子の大きさ、および②磁気異方性の大きさが順に増加すると対応する。

3-3 Cl-Naph. 中および Br-Phenan. 中のグリセリドの <sup>1</sup>H-NMR スペクトル

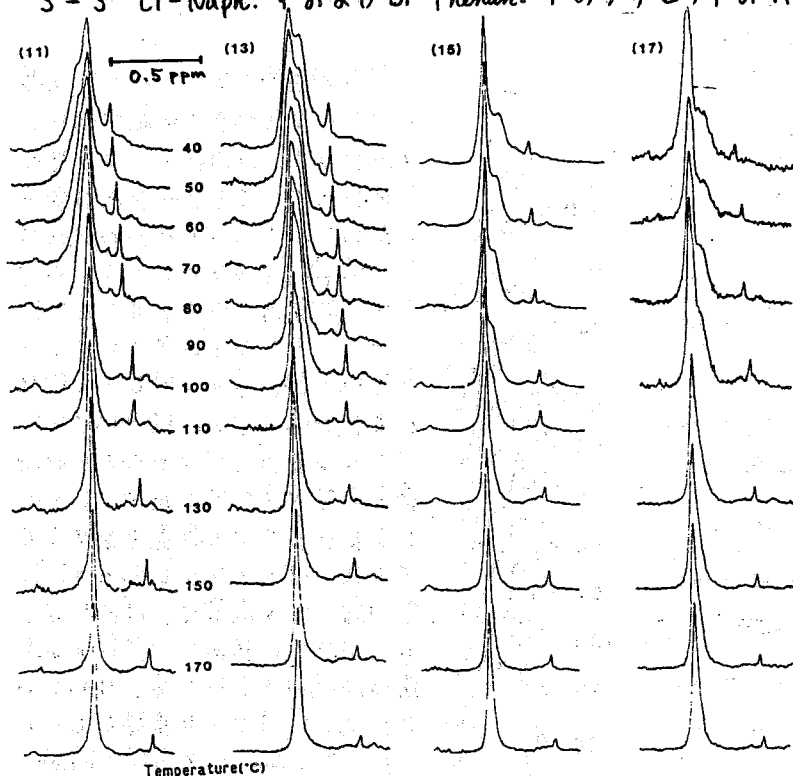


図3 Cl-Naph. 中のグリセリドのスペクトル

ピークが減少し、100°C前後でいよいよこのサンプルの場合も1本の鋭いピークとなる。(11)のスペクトルの温度変化の結果は検討中) この高磁場のピークの消失は同じ Cl-Naph. 中でもアルカンの場合よりも低い温度で起こる。

図3は Cl-Naph. 中のグリセリドの温度40°Cから190°Cまで変えたときのスペクトルである。温度の低いところでは、トリウロン(11)は低磁場側に肩を示し、トリミリスチン(13)では逆に高磁場側に肩を示す。そしてトリパルミチン(15)、トリストアリン(17)では高磁場側のピークは小さく、また2つのピーク間のケミカルシフト差は大きい。これはアルカンで考えれば、鎖が非常に長い場合のスペクトルに相当する。また温度を上昇させると、(13)、(15)、(17)では高磁場側のピーク

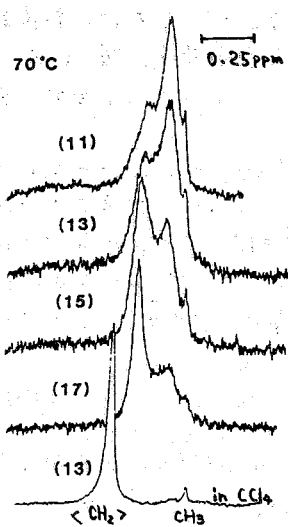


図4 Br-Phenan. 中のグリセリド

図4は Br-Phenan. 中のグリセリドの70°Cにおけるスペクトルである。Cl-Naph. 中ではほとんど1本のピークになる温度にもこの場合は2本に分裂し、トリミリスチン(13)でも低磁場側に肩がある。また鎖の長さともスペクトルとの関係では、アルカンの場合と同様に、鎖が長くなるに従い、高磁場側のピークに比較して低磁場側のピークが極端に大きくなる。(一番下のスペクトルは四塩化炭素中のトリミリスチンのものである)

3-4 その他の長鎖アルキル基をもつ化合物のメチレンの NMR

アルキル化合物	Cl-Naph. 中(34°C)	Br-Phenan. 中(70°C)
$[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{11}]_2\text{O}$	鋭い1本のシグナル	
$[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{15}]_2\text{O}$	"	
$[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}]_2\text{O}$	線幅が広がり高磁場に肩	鋭い1本のシグナル
$[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}]_2\text{CO}$	鋭い1本のシグナル	
$[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}]_2\text{CO}$	線幅が広がり低磁場に肩	
$[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{20}]_2\text{CO}$	2本, 低磁場側小	線幅が広がり高磁場に肩

(神女薬大) ○杉浦真喜子 高尾橋雄  
(神大・教養) 上地真一

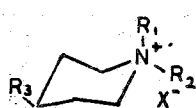
(はじめに)

ピペリジン環は、窒素の反転、環の反転を伴い、アルカロイド等天然有機化合物の基本骨格として興味深く、そのNMRにおける研究も、その立体化学との関連から、<sup>1</sup>H、<sup>13</sup>C及び最近では<sup>15</sup>Nなど広く行われている。

ところで、T<sub>1</sub>(スピン格子緩和時間)は、溶液中での分子の運動性についての情報、又立体化学における知見など多く与えることが知られている。特に最近では、装置の進歩により、これまで実用的にT<sub>1</sub>の測定がかなり困難と考えられていた化合物などにも十分適用出来る可能性が出てきて、種々の化合物へのT<sub>1</sub>の応用が期待される。

我々は、ピペリジン類へT<sub>1</sub>を応用することによって、その立体化学、運動性についての情報をどの程度得ることが出来るかを知る目的で、ピペリジン類のT<sub>1</sub>の測定を試みた。特に今回は、その

手はじめとして、窒素の反転が固定され、環の反転についてだけ議論出来るようにしたいくつかのピペリジン四級塩を合成し、その<sup>13</sup>C及び<sup>1</sup>HのT<sub>1</sub>測定を行った。測定したのは、左の7種の四級塩の「アイオグライド」と7ロライド及び参考の点に加えた2種の三級ピペリジン類である。



	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	X
Ia	Me	Me	H	I
Ib	Me	Me	H	Cl
IIa	Me	Et	H	I
IIb	Me	Et	H	Cl
IIIa	Me	iso-Pro	H	I
IIIb	Me	iso-Pro	H	Cl
IVa	Me	iso-Bu	H	I
Va	Me	n-Bu	H	I
Vb	Me	n-Bu	H	Cl
VIa	Me	Me	Me	I
VIIa	Me	Me	t-Bu	I
VIIb	Me	Me	t-Bu	Cl

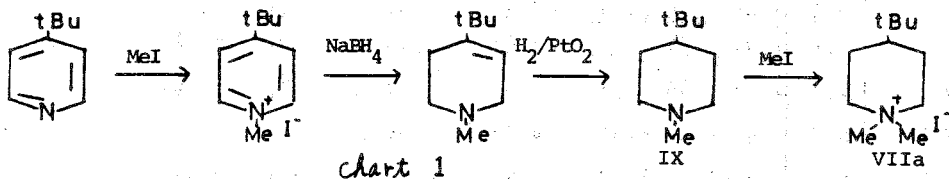
<sup>1</sup>HについてはsingletになるN-Me基及びn-Bu, Me基について、<sup>13</sup>Cについては四級炭素を除くすべての炭素について測定を行った。



	R
VIII	H
IX	t-Bu

(実験)

VIは市販品。Ia, IIa, IIIa, IVa, VaはVIをそれぞれ対応するヨウ化アルキルで四級化、再結晶で精製した。IVaはピペコリンを第法によりHCOOH, HCHOでN-メチル化後、MeIで



すぎうろ まさこ たかお ならお うえじ しんいち

四級化した。IX, VIIaは Chart 1 の行程でも強いセリジンより合成した。クロライドは対応するアイオダイドを MeOH 中 AgCl と接触させて生成した。

試料はすべて CD<sub>3</sub>OD にかし、<sup>1</sup>H:5φ, <sup>13</sup>C:10φ のサンプル管を用い、アルゴンガスを吹き込んで密封した。

T<sub>1</sub> の測定はバリアン XL-200 (<sup>1</sup>H:200 MHz, <sup>13</sup>C:50 MHz) を用い、180°-α-90° パルス法により行った。一部を除いて、測定は 2 又は 3 回行い、その平均値をとった。

〈結果と考察〉

1) <sup>13</sup>C の T<sub>1</sub> Table I に得られたすべての比 T<sub>1</sub> の値を示している。一般に、<sup>13</sup>C の

$$\frac{1}{T_1} = \frac{1}{T_{1DO}} + \frac{1}{T_{1CA}} + \frac{1}{T_{1SC}} + \frac{1}{T_{1SR}} \quad \text{----- (1)}$$

$$\frac{1}{T_{1DO}} = N \frac{\gamma_C^2 \gamma_H^2 \hbar^2}{r_{C-H}^6} \tau_C \quad \text{----- (2)}$$

Table I: <sup>13</sup>C の T<sub>1</sub> (sec.)

(下線をつけた値は error > 10%  
a) 溶媒のシグナルにかきつけて測定不能, b) 四級炭素)

Compound	mole/l	R <sub>1</sub>				R <sub>2</sub> or R <sub>3</sub>			
		N-Me	2,6	3,5	4	1'	2'	3'	4'
Ia	0.5	3.85	4.53	4.95	4.60				
	0.3	<u>4.00</u>	<u>5.00</u>	5.43	5.23				
	0.1	<u>3.54</u>	<u>6.53</u>	6.29	6.28				
Ib	0.5	4.42	5.10	5.64	5.56				
IIa	0.5	3.54	3.75	3.91	3.55	3.80	5.05		
	0.3	--a)	4.41	4.73	4.07	<u>3.92</u>	6.20		
	0.1	--a)	<u>4.29</u>	4.77	4.77	<u>3.42</u>	<u>5.86</u>		
I Ib	0.5	--a)	4.31	4.93	4.21	<u>4.21</u>	5.52		
IIIa	0.5	<u>3.09</u>	3.40	3.63	3.09	<u>6.40</u>	4.12		
	0.3	<u>4.41</u>	<u>3.90</u>	3.93	3.65	<u>6.82</u>	4.53		
	0.1	<u>3.06</u>	<u>3.98</u>	4.40	4.35	<u>7.89</u>	5.21		
IIIb	0.5	<u>3.60</u>	4.12	4.17	3.82	<u>7.65</u>	4.69		
Vb	0.5	<u>2.26</u>	2.37	2.70	2.18	2.34	3.57	4.42	5.16
VIIa	0.5	ax. <u>2.00</u> eq. <u>1.73</u>	2.45	2.58	4.72	--b)	2.17		
	0.3	<u>2.02</u> <u>1.79</u>	<u>2.58</u>	3.36	5.61	--b)	2.66		
	0.1	<u>1.97</u> <u>1.25</u>	<u>2.37</u>	3.58	5.78	--b)	2.71		
VIIb	0.5	<u>1.75</u> <u>1.60</u>	1.98	2.30	4.22	--b)	1.79		
VIII	0.3	5.40	6.54	6.36	5.76				
IX	0.3	3.05	3.42	2.92	6.10	--b)	2.91		



$T_1$ は(1)式にあらわされるような材料が考えられるが、Table Iの値の内少くともC-3,5、C-4などの値は $T_1^{PD}$ の寄与が大きいであろうと考えられる。 $^{13}C$ の $T_1^{PD}$ は(2)式のように書ける。

環炭素についてみると、試料濃度が低くなるにつれて、 $T_1$ が長くなっている。これは、(2)式から明らかのように、濃度が低くなることによって分子運動がはげしくなり、その結果で小さくなることによる。

ロペリジン四級塩ではChart 2のような平衡が考えられるが、Iが完全なA $\rightleftharpoons$ Eの平衡にあるのに比べ、IIはまったくAの側に平衡が片よっている。又I $\rightarrow$ II $\sim$ IV $\sim$ V $\rightarrow$ IIIと平衡はA側へ片よって来ることからNMeの $^{13}C$ 化学シフトから明らかになっている。しかしTable Iの値をみると、そのような差を顕著に示す特徴を見いだすことは出来ない。むしろそれぞれの分子間での $T_1$ の違いは分子の大きさに関係しているように思われる。今、それぞれの四級塩のカチオン部分の分子量と、そのC-3,5における $T_1$ との関係(Fig. 1)をみると、予想通り、マイオタイド、クロライド共に、相関々係をみる事が出来る。このことは少くとも環炭素の $T_1$ については、分子のconformation、平衡の状態に関係なく、分子全体の運動によって決まるといふことを示唆している。

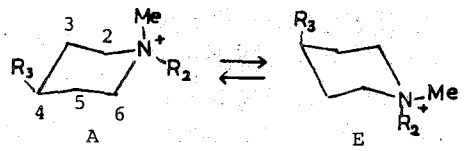
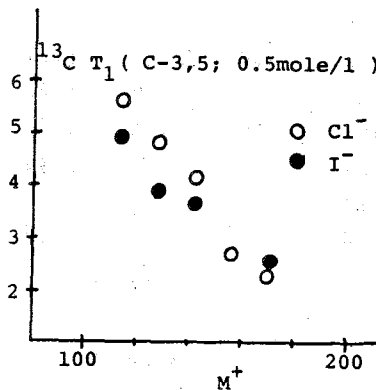


chart 2

Fig. 1



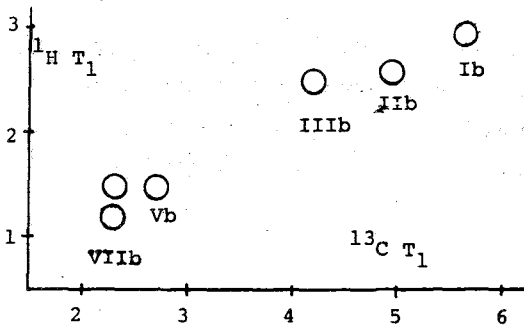
又、マイオタイド、クロライドでは、あまり差のないことから、I<sup>-</sup>、Cl<sup>-</sup>などのアニオンの影響はほとんど受けていないように思われる。

2)  $^1H$ の $T_1$  Table IIにすべての得られた $^1H$ の $T_1$ の値を示しているが、濃度が低くなるにつれて $T_1$ の長くなるのは、 $^{13}C$ の環炭素などの場合と同じである。

今、同じ濃度(0.5 mole/l)での $^{13}C T_1$ (C-3,5)と $^1H T_1$ (N-Me)の関係をみると(Fig. 2)、ある程度の相関が見られる。

C-3,5の $T_1$ は、先に述べたように $T_1^{PD}$ の寄与が大きいであろうと考えられ、又すべての分子で直接結合している水素の数(N)は2個であることから、(2)式より、C-3,5の $T_1$ と相関があるということはそのそれぞれの分子の $T_1$ と相関があるということが出来る。従ってそれぞれのNMeの $^1H T_1$ は、主としてその分子の $T_1$ に依存しているということになり、このことから、これらの $T_1$ も又双極子相互作用の寄与が大きい可能性が強い。

Fig. 2



N-Me基は、Chart 2の平衡の関係から、Iではax,eq.の平衡にあり、一方I<II<IIIとax,Meの存在比が増大する。又II, IIIではax,Meとeq,Meをそれぞれ別々に観測出来る。しかし<sup>13</sup>Cの場合と同様に、このようなconformationによる違いは、N-Meの<sup>1</sup>H T<sub>1</sub>にはほとんど反映されず、やはり分子全体の運動、すなわち分子全体の大きさ等に関係していることが解る。

ただ、II, IIIではax,Meとeq,MeのT<sub>1</sub>にわずかながら差が見られる。この差はeq,Me基が分子の回転軸方向に存在している為T<sub>1</sub>が短くなったとして説明出来る。このことは、<sup>13</sup>CにおいてC-4のT<sub>1</sub>がC-3,5などに比べて短いことと同じ理由である。又IIにおいてeq,Me基のT<sub>1</sub>とt-Bu基のMeのT<sub>1</sub>の値がほぼ等しくなっているが、このことも上記の説明を支持するものであると思われる。

Table II: <sup>1</sup>H (N-Me or t-Bu, Me) の T<sub>1</sub> (sec.)

mole/l		0.03	0.05	0.1	0.3	0.5
Compound						
Ia		3.76	3.69	3.55	3.00	2.79
Ib			3.79			2.93
IIa		2.94	2.96	2.74	2.52	2.29
IIb			2.99			2.56
IIIa		2.84	2.78	2.79	2.46	2.27
IIIb			2.91			2.50
IVa		1.86	1.82			
Va		1.71	1.71			
Vb			1.78			1.47
VIa	ax.	2.79	2.74			
	eq.	2.76	2.69			
VIIa	ax.	2.08	1.96	1.87	1.67	1.49
	eq.	1.93	1.87	1.73	1.50	1.31
	t-Bu.	1.95	1.87	1.74	1.42	1.23
VIIb	ax.		2.02			1.48
	eq.		1.92			1.29
	t-Bu.		1.96			1.27
VIII		4.38			4.25	
IX		2.23			2.17	
	t-Bu.	2.21			2.03	

以上、今日検討したセヤリジニ四級塩の場合、<sup>13</sup>C、<sup>1</sup>H共にそのT<sub>1</sub>は環の回転の有無やconformationにはほとんど関係なく、むしろ分子全体の運動—分子全体の大きさ、型—toに依存していることが解った。又アニオンの影響もほとんどないと考えられ、このことは、少くともCD<sub>3</sub>OD中、今日測定した濃度範囲内では、 $\text{SiN}^+\text{---X}^-$ は比較的ゆるやかなイオン対を形成していると考えられる。

東北大医・第一生理 物井宏之

生理学的に興味のあるイオンの多くは、電気四重極モーメントを持つ。生物組織などの不均一系における四重極核の磁気緩和が、均一系におけるものと性質を異にすることは、漸く1970年代になって認識されるようになった。ここでは、不均一系における四重極緩和の基礎的理論について、 $^{23}\text{Na}$  ( $I = 3/2$ ) に関する演者の成果を中心に述べ、その生体系への二・三の応用とその際の留意点に触れる。(ここに「不均一系」とは、bulk相が水溶液であるものを指す。)

(1) Main features of the  $^{23}\text{Na}$  resonance of biological tissue

Resonance intensity (wide-line method)	typically 30-50%
Two different $T_2$	slow $T_2 = 9-14$ ms, fast $T_2 = 0.7-1.1$ ms
Single $T_1$	$\approx$ slow $T_2$
Absorption line	a narrow and a broad line centered at the same frequency

(2) Four models for the  $^{23}\text{Na}$  resonance of aqueous heterogeneous systems

- I. Slow exchange of  $^{23}\text{Na}$  between two states (Cope, 1965, 1967, 1970).
- II. Rapid exchange of  $^{23}\text{Na}$  between two states.  $^{23}\text{Na}$  in one state is characterized by fast free tumbling ( $\tau_c \ll \omega_L^{-1}$ ), and  $^{23}\text{Na}$  in the other state, by  $\tau_c \approx \omega_L^{-1}$  (e.g., Shporer & Civan, 1974, 1977).
- III. Diffusion of  $^{23}\text{Na}$  between domains with different average electric-field gradients.  $^{23}\text{Na}$  in each domain is characterized by  $\tau_c \ll \omega_L^{-1}$  (Berendsen & Edzes, 1973; Edzes & Berendsen, 1975).
- IV. Rapid exchange of  $^{23}\text{Na}$  between two states.  $^{23}\text{Na}$  in one state (state A) is characterized by fast free tumbling ( $\tau_c \ll \omega_L^{-1}$ ). For  $^{23}\text{Na}$  in the other state (state B), one or both of the two conditions are assumed: (a)  $\tau_c \approx \omega_L^{-1}$  (but  $\tau_c$  is not too long), and/or (b) fluctuating field gradients do not average to zero during a short period so that  $^{23}\text{Na}$  in this state possesses more than one (or a distribution of) intrinsic Larmor frequencies (Monoi, 1974a,b, 1976a).

(3) Line shape and relaxation times

If  $\tau_A \ll T_{2A}$ ,  $\tau_B \ll T_{2A}, T_{2B}''$ , and  $\tau_B^2 \Delta^2 \ll 1$ , then the normalized line-shape function for unoriented systems is (Monoi, 1974b,c, 1976b)

$$g(\omega) = 0.4g'(\omega) + 0.6g''(\omega), \quad (1)$$

$$g'(\omega) = (1/\pi)T_2'/[1 + T_2'^2(\omega_0 - \omega)^2], \quad (2)$$

$$g''(\omega) = (1/\pi)T_2''/[1 + T_2''^2(\omega_0 - \omega)^2], \quad (3)$$

$$\omega_0 = P_A\omega_A + P_B\omega_B, \quad (4)$$

$$1/T_2' = P_A/T_{2A}' + P_B/T_{2B}', \quad (5)$$

$$1/T_2'' = P_A/T_{2A}'' + P_B/T_{2B}'' + P_B\tau_B \int_0^\infty (\omega_0 - \omega)^2 f_+(\omega) d\omega. \quad (6)$$

If  $\tau_A \ll T_{1A}$  and  $\tau_B \ll T_{1B}$ , then, after a  $\theta$ -degree pulse is applied to the system in thermal equilibrium, the longitudinal relaxation is

$$M_z - M_0 = M_0(\cos \theta - 1)[0.8 \exp(-t/T_1') + 0.2 \exp(-t/T_1'')], \quad (7)$$

$$1/T_1' = P_A/T_{1A}' + P_B/T_{1B}', \quad (8)$$

$$1/T_1'' = P_A/T_{1A}'' + P_B/T_{1B}''. \quad (9)$$

#### (4) Line shape in the presence of saturation (Monoi, 1980)

$$v = 0.4v' + 0.6v'', \quad (10)$$

$$v' = - \frac{\gamma H_1 T_2' M_0}{1 + T_2'^2(\omega_0 - \omega)^2 + \gamma^2 H_1^2 T_1' T_2'} F', \quad (11)$$

$$v'' = - \frac{\gamma H_1 T_2'' M_0}{1 + T_2''^2(\omega_0 - \omega)^2 + \gamma^2 H_1^2 T_1'' T_2''} F'', \quad (12)$$

$$F' = \frac{1 + \pi\gamma^2 H_1^2 T_1' g'(\omega) + 6\pi\gamma^2 H_1^2 T_1'' g''(\omega) + 6\pi^2 \gamma^4 H_1^4 T_1' T_1'' g'(\omega) g''(\omega)}{1 + 2\pi\gamma^2 H_1^2 (T_1' + T_1'') g'(\omega) + 3\pi\gamma^2 H_1^2 T_1'' g''(\omega) + 6\pi^2 \gamma^4 H_1^4 T_1' T_1'' g'(\omega) g''(\omega)}, \quad (13)$$

$$F'' = \frac{1 + 2\pi\gamma^2 H_1^2 (T_1' + 2T_1'') g'(\omega) + \pi\gamma^2 H_1^2 T_1'' g''(\omega)}{1 + 2\pi\gamma^2 H_1^2 (T_1' + T_1'') g'(\omega) + 3\pi\gamma^2 H_1^2 T_1'' g''(\omega) + \frac{2\pi^2 \gamma^4 H_1^4 (T_1' + 2T_1'') T_1'' g'(\omega) g''(\omega)}{6\pi^2 \gamma^4 H_1^4 T_1' T_1'' g'(\omega) g''(\omega)}}. \quad (14)$$

#### (5) Condition for the occurrence of two different $T_2$

a) On the basis of model III, Berendsen & Edzes (1973) and Shporer and Civan (1977) formulated the condition for the occurrence of two different  $T_2$  of  $^{23}\text{Na}$  in biological tissue:

$$\omega_0 \tau_M \geq 1 \geq (e^2 q Q)_{\text{dom}} \tau_M, \quad (15)$$

where  $\tau_M$  is the mean residence time in each ordered domain, and  $(e^2 q Q)_{\text{dom}}$  is the

average quadrupole interaction in the domain. By assuming the diffusion coefficient of  $\text{Na}^+$  in tissue to be equal to that in free solution, the lower limit for the size of each domain can be estimated to be of the order of 100 Å. "The only requirements necessary to produce a broad a narrow component are the presence of (negative) charged groups and structural heterogeneity extending over at least 100 Å" (Berendsen & Edzes, 1973).

b) When  $\tau_c \ll \omega_L^{-1}$  for state B, the condition for the occurrence of two different  $T_2$  is expressed in terms of model IV as (Monoi, 1980a)

$$\tau_A/T_{2A} \ll 1 \quad \text{and} \quad \tau_B \Delta \ll 1, \quad (16)$$

$$\frac{[\tau_B \Delta^2]/[(\tau_c)_B (e^2 q Q)_B^2]}{1 + [\tau_A (\tau_c)_A (e^2 q Q)_A^2]/\tau_B (\tau_c)_B (e^2 q Q)_B^2} \gtrsim 1. \quad (17)$$

In the case in which the contribution of state B to the relaxation rate is predominant, relation 18 reduces to

$$[\tau_B \Delta^2]/[(\tau_c)_B (e^2 q Q)_B^2] \gtrsim 1. \quad (18)$$

Relation 18 or 19 describes a close correlation between the occurrence of two  $T_2$  and the dimensions of particles on (or within) which bound  $\text{Na}^+$  ions are located.

c) One can estimate a lower bound for the critical dimensions of the particles at which two  $T_2$  values of  $^{23}\text{Na}$  first appear. If it is assumed that the particles are spheres of radius  $r$  in a medium of viscosity  $\eta$ , the Debye-Stokes theory expresses the rotational correlation time  $\tau_r$  for the rotation of the particles as

$$\tau_r = 4\pi\eta r^3/3kT. \quad (19)$$

A lower bound for  $\tau_r$  corresponding to the critical dimensions (or diameter) is given by

$$\tau_r \sim 1/\Delta'. \quad (20)$$

In unoriented liquid crystals of sodium linoleate in water, the separation between the two satellite lines of the  $^{23}\text{Na}$  signal is reported to be 11.1 kHz (Shporer & Civan, 1972). This value may be regarded as a lower bound for  $\Delta/2$  for colloidal particles containing sodium soap. We put  $\Delta' = 20\text{-}40$  kHz. By assuming  $\eta$  to be the same for a dilute NaCl solution, a lower bound for the critical diameter for emulsions containing sodium soap is estimated to be 30-40 nm.

d) In order to examine the point raised above, the  $^{23}\text{Na}$  resonance of model systems (sodium salt of higher fatty acid-related hydrophobic compound-NaCl in a sufficient amount of water) was studied. They are transparent solutions or semitransparent or milk-white emulsions (or jellylike gels), depending on the amount of the hydrophobic compound.  $^{23}\text{Na}$  in transparent micellar solutions and microemulsions possessed a single value of  $T_2$ . In contrast, two different  $T_2$  values were always observed in turbid emulsions and gels. The occurrence of two  $T_2$  values was closely correlated with the size of colloidal particles (Monoi, 1980a).

(6) Application of  $^{23}\text{Na}$  spectroscopy to the study of biological materials

[SYMBOLS]

$f_{\pm}(\omega)$	distribution function of the intrinsic $\omega_L$ for the transition $3/2 \leftrightarrow 1/2$ in state B, with $\int f_{\pm}(\omega) = 1$ .
$P_A, P_B$	fractional populations of $^{23}\text{Na}$ in states A and B, respectively.
$T_{1A}$	$T_1$ of $^{23}\text{Na}$ in state A in the absence of exchange.
$T_{1B}^s, T_{1B}^f$	slow and fast intrinsic $T_1$ in state B.
$T_{2A}$	intrinsic $T_2$ in state A.
$T_{2B}^s, T_{2B}^f$	intrinsic $T_2$ of the transition $-1/2 \leftrightarrow 1/2$ and the transitions $\pm 3/2 \leftrightarrow \pm 1/2$ in state B.
$\Delta$	distribution of the intrinsic $\omega_L$ for the transitions $\pm 3/2 \leftrightarrow \pm 1/2$ , or average quadrupole interaction, in state B.
$\Delta'$	$\Delta$ in the absence of the rotation of colloidal particles.
$\tau_A, \tau_B$	mean lifetimes for a stay in states A and B.

1. Baram, A., Z. Luz, and S. Alexander (1973). *J. Chem. Phys.* 58:4558.
2. Berendsen, H. J. C., and H. T. Edzes (1973). *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 204:459.
3. Chang, D. C., and D. E. Woessner (1978). *J. Magn. Resonance* 30:185.
4. Cope, F. W. (1965). *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 54:225.
5. Cope, F. W. (1967). *J. Gen. Physiol.* 50:1353.
6. Cope, F. W. (1970). *Biophys. J.* 10:843.
7. Edzes, H. T., and H. J. C. Berendsen (1975). *Ann. Rev. Biophys. Bioeng.* 4:265.
8. Gustavsson, H., B. Lindman, and T. Bull (1978). *J. Am. Chem. Soc.* 100:4655.
9. Hubbard, P. S. (1970). *J. Chem. Phys.* 53:985.
10. Monoi, H. (1974a). *Biophys. J.* 14:645.
11. Monoi, H. (1974b). *Biophys. J.* 14:653.
12. Monoi, H. (1974c). *Abstr. of 13th Annu. Meeting of Japanese Biophys. Soc.*, p 53.
13. Monoi, H. (1976a). *Biophys. J.* 16:979.
14. Monoi, H. (1976b). *Biochim. Biophys. Acta* 451:604.
15. Monoi, H. (1976c). *Biophys. J.* 16:1349.
16. Monoi, H., and H. Uedaira (1979). *Biophys. J.* 25:535.
17. Monoi, H., and H. Uedaira (1980). *J. Magn. Resonance* 38:119.
18. Monoi, H. (1980). *Biophys. J.* (in press).
19. Shporer, M., and M. M. Civan (1972). *Biophys. J.* 12:114.
20. Shporer, M., and M. M. Civan (1974). *Biochim. Biophys. Acta* 354:291.
21. Shporer, M., and M. M. Civan (1977). in "Current Topics in Membranes and Transport" (F. Bronner and A. Kleinzeller, Ed.), Vol. 9, Academic Press, New York.

# 3.11 免疫グロブリンの <sup>1</sup>H NMR III ヒト IgG1 のヒンジ部のコンホメーション

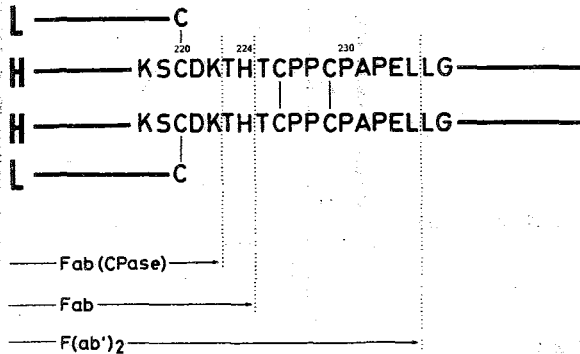
(東大理・阪大医\*) °荒田洋治, 本澤真弓\*, 清水章\*

## 1. はじめに

これまで、ヒト免疫グロブリンの light chain (L鎖) について、Bence-Jones タンパクおよびL鎖 constant領域フラグメント (CL) を用い <sup>1</sup>H NMR により免疫化学的な研究を行い、つぎのような結論を得た。<sup>1~3)</sup> ① intact L鎖と CL フラグメントのコンホメーションを比較すると、両者は極めて類似しており、ドメイン構造が水溶液中でよく保たれている。② L鎖 C領域におけるアミノ酸置換 (アイソタイプ) が <sup>1</sup>H NMR により識別できる。③ Poljak による Fab フラグメントの X線結晶解析の結果と比較すると、水溶液中における L鎖 C領域のコンホメーションは "結晶" におけるコンホメーションと極めて類似している。今回はヒト免疫グロブリン IgG1 (X) を用い、ヒンジ領域にあるヒスチジン (His-224) のシグナルの帰属およびその pH 滴定曲線を用いて、ヒンジ領域のコンホメーションについて議論する。<sup>4)</sup>

## 2. 実験

大阪大学医学部病院において骨髄腫患者血清より単離した IgG1 (X) = 種 (Ogo, Yot) およびそれから得たフラグメント (図1) を用いた。<sup>4)</sup>



試料は 10mg を 0.3 ml 0.2M NaCl/D<sub>2</sub>O 溶液に溶解した。pH の値は いづれも pH メータ—の読みをそのまま記載した。NMR の測定は主に、JEOL PS-100 (100MHz, 相関 NMR 法) によった。<sup>5~7)</sup> 一部のスペクトルは BRUKER HXS-360 (パルス FT 法) により得た。測定温度は 29°C である。化学シフトの表示には DSS (5% in D<sub>2</sub>O), 外部基準を用いた。

図1 本実験に用いた IgG1 フラグメント

## 3. 結果と議論

### 1) IgG1 ヒンジ部のヒスチジン残基のシグナルの帰属

ミエローマタンパク IgG1 (X) Ogo の <sup>1</sup>H NMR スペクトルを図2に示す。全領域を通じてシャープなシグナルは a, b のほか—, = を数えるのみである。図2には正常ヒトの IgG のスペクトルも示す。正常ヒトの場合にもシグナル a, b がみられる。(8.7 付近のシャープなシグナルは低分子の化合物の共存による。) ここでみられるシグナル a,

あらたようじ ほんざわまゆみ しみずあきら

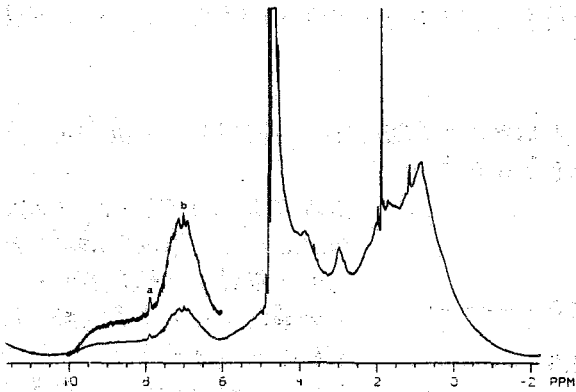
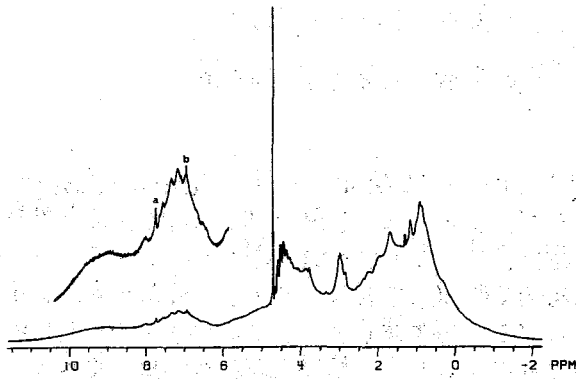


図2 ヒトIgG whole moleculeの<sup>1</sup>H NMR スペクトル (360MHz)

(上) IgG1(X) Ogo (pH 7.86)  
 (下) IgG (polyclonal) (pH 7.22)

チジンはC領域に由来することがわかる。  
 ヒトIgG1(X) C領域のヒスチジン残基はつぎのとおりである。

L鎖:	His-189	His-198	(C <sub>L</sub> )
H鎖:	His-224	(Hinge)	
	His-170	His-208	(C <sub>H1</sub> )
	His-268	His-285	His-310 (C <sub>H2</sub> )
	His-429	His-433	His-435 (C <sub>H3</sub> )

bはIgG1分子H鎖ヒンジ部の His-224 のC2-H, C4-Hプロトンに由来することを以下の実験によって確認した。

①シグナルa, bの化学シフトのpH適定曲線: ミエローマタンパクIgG1 (X) Ogo, 同 Yot, 正常ヒトIgG, 多血症ヒトIgG (あとの二つは polyclonal)の結果を図3に示す。a, bは同一のpKa=6.5を与え、化学シフトからみて、同一ヒスチジン残基のC2-H, C4-Hプロトンに由来することは確実である。また4種のIgGはたがいに極めてよく一致するpH適定曲線を与えるところから、このヒス

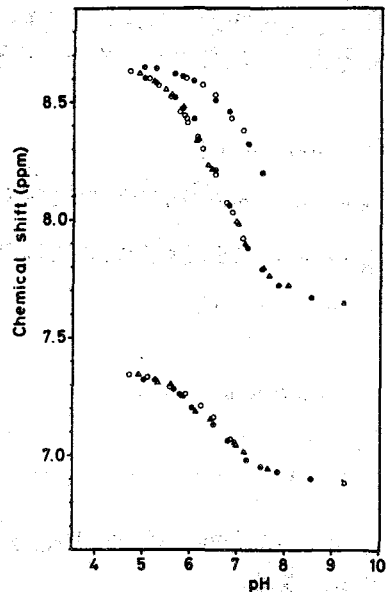


図3 ヒトIgG His-224の<sup>1</sup>H NMR 適定曲線 (a, b)  
 IgG1(X) Ogo (●), IgG1(X) Yot (○);  
 IgG (polyclonal) (▲), IgG (polyclonal, polycythemia) (△)  
 IgG1(X) Ogo, Yot では His-189(X) のC2-Hも観測できる(本文参照)



② IgG1 と Fab, F(ab)<sub>2</sub> フラグメントの比較:

本実験では図1に示す3種のフラグメントを用いた。対応するスペクトルを図4に、また滴定曲線を図5に示す。

F(ab)<sub>2</sub>, Fabにはシグナルa, bが現れるが、Thr-His<sup>224</sup>-Thr... を切り落したFab(CPase)ではシグナルa, bが

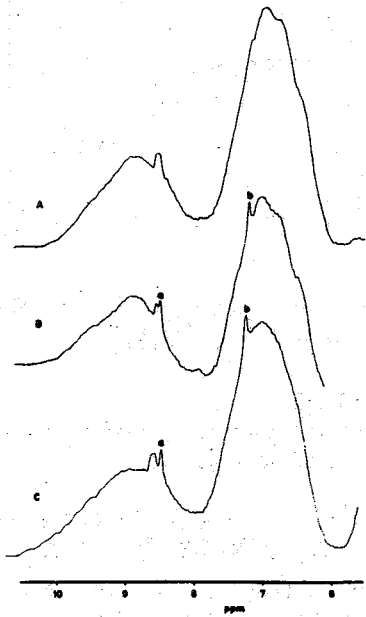


図4 IgG1(X) Ogo フラグメントの<sup>1</sup>H NMRスペクトル(100MHz)

A Fab(CPase) pH 5.65  
B Fab pH 6.14  
C F(ab)<sub>2</sub> pH 5.72

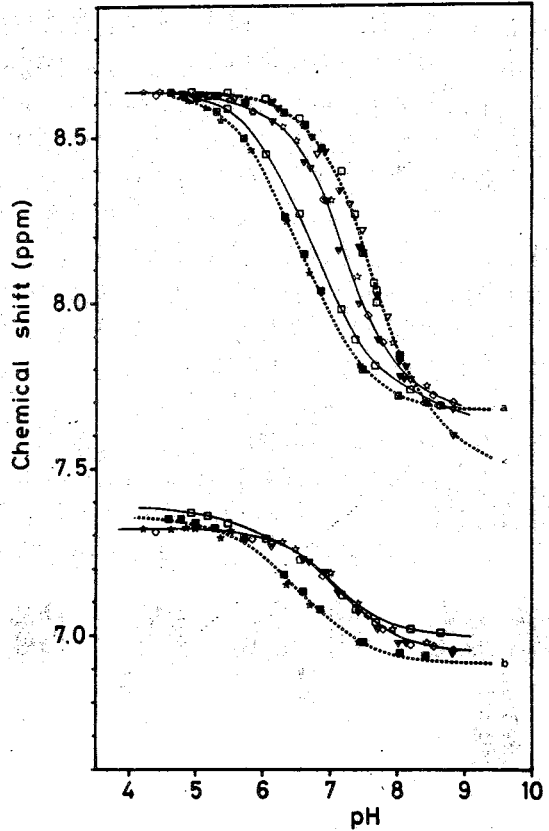


図5 IgG フラグメントの His-224 および His-189(X) の<sup>1</sup>H NMR 滴定曲線

F(ab)<sub>2</sub>Ogo (■), F(ab)<sub>2</sub>Yot (★), Fab Ogo (▼)  
Fab Yot (☆), Fab (polyclonal) (◇),  
Fab'Ogo (□), Fab'Ogo (CPase) (▽)

消失している。また、intact IgG1 と F(ab)<sub>2</sub> ではシグナルa, bの滴定曲線は完全に一致する。

以上の結果から、シグナルa, bはヒンジ部 His-224にもとづくことが明らかになった。

2) ヒンジ領域のコンホメーション

図3, 5の His-224 の pH 滴定曲線からつぎのようなイメージが浮かび上がってくる。

① IgG1(X) whole molecule と F(ab)<sub>2</sub> とでは、ヒンジ領域に何らの相異はみられない。Im<sup>+</sup>, Im<sup>-</sup>の化学シフトの値、pKaの値は簡単なヒスチジンペプチドの場合と極めてよく一致する。図6参照。His-224のシグナルはIgG1(X) whole molecule が与えるほとんど唯一のシグナルである。分子の大きさを考え合わせると、ヒンジ部は極めて流

動性に富んでいるものと思われる。これらの事実は IgG1(X) whole molecule, F(ab')<sub>2</sub> いづれにおいても、ヒンジ部は溶媒に露出したのびたコンホメーションをとっていること、Fc 部分があってもなくても、ヒンジ部のコンホメーションには相違ないことを示している。さらにH鎖間のS-S結合を還元アルキル化したFab'においても、ヒンジ部のコンホメーションは大きく変ることではない。しかしながら、図5に示すように、IgG1 whole molecule と Fab' のC4-Hプロトンの滴定曲線には明らかな差があり、ヒンジ部のコンホメーションに差があることを示している。Thr-225—Leu-234を切断してFabとすると、His-224の滴定曲線は大きく変化する。すなわちこの部分は Intact IgG あるいは F(ab')<sub>2</sub> に特有な露出したヒンジ部 His-224 を大きく変化させる。この結果から、Fab'においては下図に

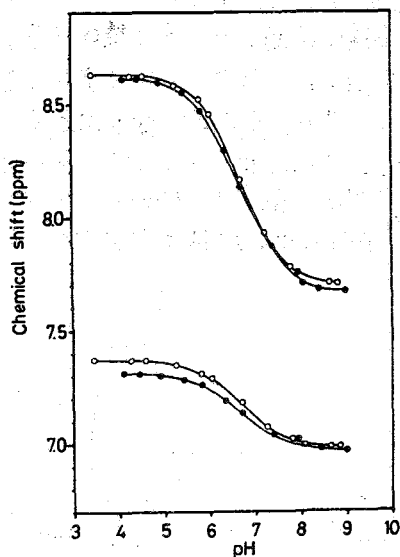
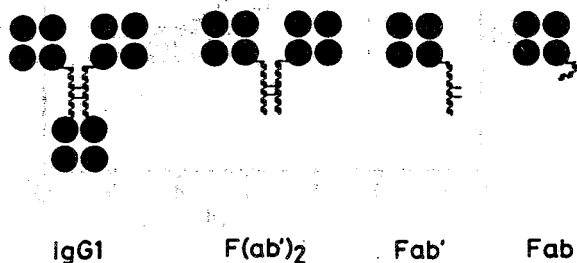


図6 2種のヒスタジンペプチド(入鎖由来)の<sup>1</sup>H NMR 滴定曲線



○—○ Ser-His-Arg  
●—● Ser-Tyr-Ser-Cys-Gln-Val-His-Glu-Gly-Ser-Thr-Val-Glu-Lys

示すように、Thr-225—Leu-253の切断によりヒンジ部が伸びたコンホメーションから、まるまって、タンパク分子本体にまきもどされた形をとっているのでは

ないかと思われる。蛍光偏光減衰の測定結果<sup>8)</sup>によるとFabはFcからみて $3 \times 10^{-8}$ sec程度の相関時間をもって運動しており、この内部自由度の原因はヒンジ部のflexibilityにあると結論されている。intact IgG1(X)においても、フラグメントにおいてもHis-224はその他いかなるシグナルよりも格段に狭い線幅を示している。L鎖タイマーではシャープであったHis-189(CL)もHis-224よりも格段に線幅が広い。この点からみて、His-224近傍のヒンジ部のゆらぎの速度の速さは蛍光偏光減衰から求められたFabとFcの相対的運動よりさらに一桁程度速いものと考えられる。

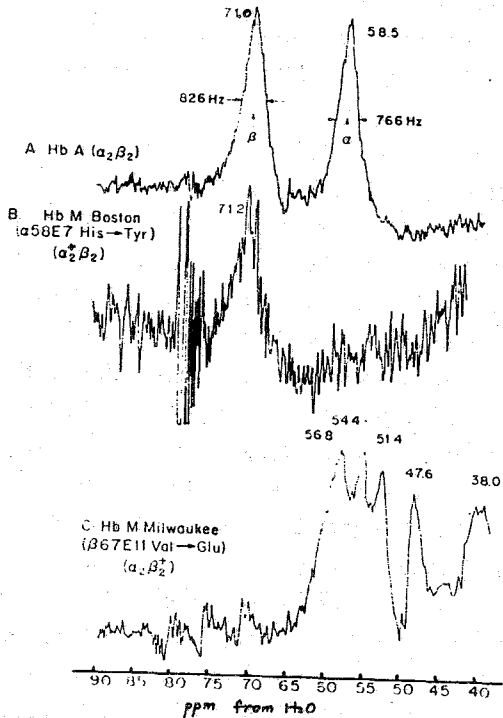
(文献)

1. Y. Arata, A. Shimizu, & H. Matsuo: J. Am. Chem. Soc. 100, 3230 (1978).
2. Y. Arata & A. Shimizu: Biochemistry 18, 2513 (1979).
3. A. Shimizu, M. Honzawa, Y. Yamamura, & Y. Arata: Biochemistry 19, 2784 (1980).
4. Y. Arata, M. Honzawa, & A. Shimizu: Biochemistry 19 (1980) in press.
5. Y. Arata & H. Ozawa: J. Magn. Reson. 21, 67 (1976).
6. Y. Arata, H. Ozawa, T. Ogino, & S. Fujiwara: Pure Appl. Chem. 50, 1273 (1978).
7. T. Ogino, Y. Arata, & S. Fujiwara: J. Magn. Reson. (1980) in press.
8. J. Yguerabide, L. Stryer, & H. F. Epstein: J. Mol. Biol. 51, 573 (1970).

(東大理, カーネギーメロン大\*) 高橋征三, A.K.-L.C. Lin\*, C. Ho\*

ヘモグロビン(Hb)の協同的リザンド吸着は $Fe(II)$ -ヒスチジン結合の移動が「引金」になって四次構造の変化を誘起するメカニズムで説明されている。そこで軸配位子の構造を調べることはHbの協同作用を理解する上で重要な意義を持っている。しかしごく最近までこの軸配位子の構造を直接調べる適当なNMRプローブが見つかっていなかった。La Marらは1977年に初めてMbやHbのproximal histidineのNHプロトンの共鳴を同定することに成功した。筆者らは直ちに追試し、異変Hbの研究をもとに、Hbの2本の共鳴を各サブユニットに帰属すると共に、Hbの構造に関する新しい知見を得た。

[スペクトルの帰属] deoxy Hb A は 0.1 M Bis-Tris Buffer pH 6.7, 27°C の条件下で,  $H_2O$  から 71.0 および 58.5 ppm のところに2本のシグナルが観測される。La MarらはこれはHbの2種のサブユニットの磁気的環境の違いに由来するのだろうと予想したが明確な帰属ができなかった。筆者らは生理条件下で安定に存在するメト型異変Hbの一種であるHbM Boston ( $\alpha 58E7$  His $\rightarrow$ Tyr) およびHbM Milwaukee ( $\beta 67E11$  Val $\rightarrow$ Glu) を用いて, 71.0 ppm の共鳴を $\beta$ サブユニットに, 58.5 ppm の共鳴を $\alpha$ サブユニットにそれぞれ帰属した。線巾は観測磁場強度, 濃度, 温度等々の因子によって大いに変わるが, 中性付近ではpHの変化には鈍感である。その詳細はしのし今後の課題である。



[メトHb Aの影響] proximal histidine NH resonancesを観測するスペクトル領域には, メトHbが混ってれば, 当然その常磁性シフトハムシグナルが重なる。その寄与を見積るために,  $D_2O$ 中でメトHb Aの含量を様々に変えてdeoxy Hb Aのスペクトルを測定した。 $D_2O$ 中ではNH resonancesはD交換して見えないので, メトシグナルだけが観測できる。その結果メトシグナルはdeoxy Hb A中に存在するメトHbの量に応じて変化すると云う新しい事実を発見した。メトシグナルの影響は予想以上で, proximal histidine NH resonancesを間違いないく測定するためには, deoxy Hb A中に混在するメトHb Aの含量は10%以下(恐らく5%以下)でなければならぬことが解った。

たかはし せいぞう, A.K.-L.C. リン, C. ホー

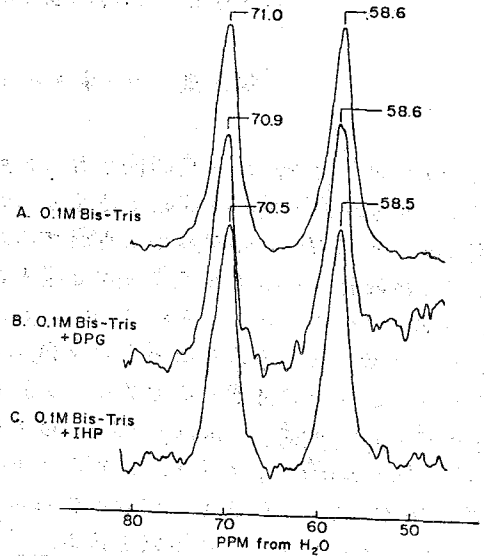
[deoxy Hb Aに及ぼすアロステリックエフェクターの効果] 2,3-diphosphoglycerate

(DPG)や inositol/hexaphosphate (IHP) はHbのアロステリックエフェクターとして知られている。deoxy Hb Aに対するアロステリックエフェクターの効果を見るために、10倍モル当量のDPGまたはIHPを0.1M Bis-Trisに加えて、同一条件で測定した。結果は、proximal histidine NH resonancesに対してはDPGの効果は無視できる、一方IHPの効果はβサブユニットからの共鳴に対して僅かに見られる(0.5 ppm)が、αサブユニットに対しては無視できることが解った。つまりDPGとIHPとではその効果が違うことになる。

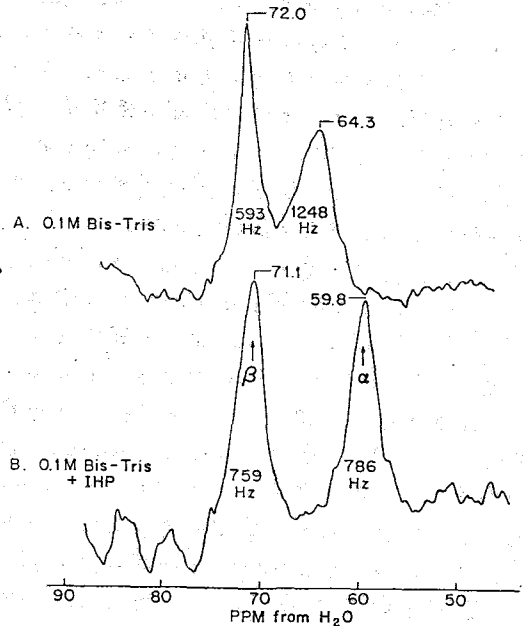
[Hb Kempsey]

Hb Kempsey (β99G1 Asp→Asn)はdeoxy Hb Aと同じT型四次構造をとるのに必須とされているα<sub>1</sub>β<sub>2</sub>サブユニット間の水素結合がアミノ酸の置換によって乱されているので、0.1M Bis-Tris条件下ではdeoxy状態でもR型のまゝである。しかし強力なアロステリックエフェクターであるIHP存在下ではT型にシフトすると信じられている。

deoxy Hb Kempseyのproximal histidine NH resonancesのスペクトルは0.1M Bis-Tris条件下ではαサブユニットの共鳴が大きく低磁場シフトし、線中もdeoxy Hb Aの2倍近くなる。一方βサブユニットの共鳴はそれほど大きな変化を示さない。これはβ99の残基がむしろαサブユニットのハム近くに位置するという結晶解析の結果と矛盾しない。R構造をとるすべての異常HbがHb Kempseyと全く同じになるという保障はないが、少なくともT→Rの四次構造変化が起ってもproximal histidine NH resonancesが観測しているスペクトル領域から消えてしまうような大きなスペクトル変化は起らないようである。従って例えばdeoxy Hb Aの酸素化の過程におけるαサブユニットとβサブユニットの間の親和力の差を酸素化度に応じて定量すると



250 MHz <sup>1</sup>H NMR Spectra of Proximal Histidine NH Exchangeable Resonances of Hb Kempsey (β99G1 Asp→Asn) in H<sub>2</sub>O at pH 6.4 and 27°C



いう目的には非常に有用なプローブとなる。10倍モル当量の1HPを加えると, *deoxy* Hb KempseyのスペクトルはR→Tの構造変化に伴って*deoxy* Hb Aのスペクトルに近づく。しかしβよりαサブユニットの共鳴シグナルの線中の方が大きいとか, 化学シフトの違いとか微妙に*deoxy* Hb Aの *proximal histidine resonances* と異なる。従ってHb Kempseyのハム構造は1HP存在下でもHb Aのハム構造と完全には同じではないらしい。  
 [Hb DesHis, Hb OslerおよびHb McKees Rocks]

Perutzの「引き金」説によると, T型の四次構造をとる所にはC端から2番目のチロシンの側鎖は各サブユニットのFヘリックスとHヘリックスの間の空間(チロシンポケット)に収まっているが, R型ではFeが変位し *proximal histidine* を通してFヘリックスをハムの方に引きよせるので, ポケットの容積が減少し, チロシンの側鎖は外部へ排出される。その結果, 隣接残基であるHC3α ArgとHC3β Hisが*deoxy* 状態では他のサブユニットと形成していた橋構が切断されて, 四次構造の変化を誘起する。もしFeの変位がタンパク質の総ての構造変化を誘起するとするとこのPerutzの考えが正しいとすると, 遂にTyrが変位するとハム構造に変化が起ることになる。このハム構造の変化がスペクトルにどのように影響するかを調べるのは興味深い。

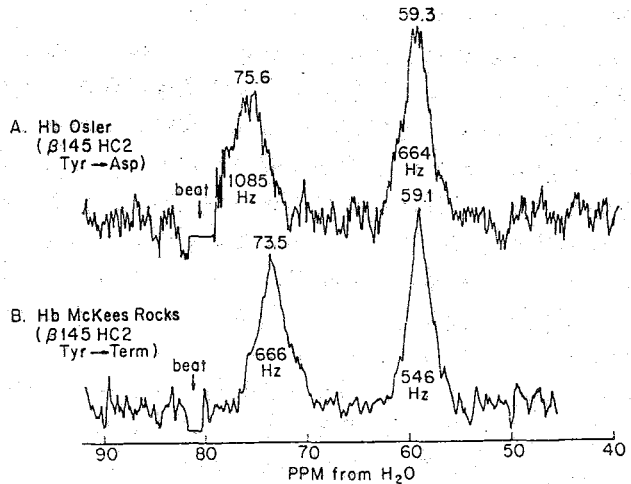
今回はβサブユニットのC端が変異した3つの異常Hbについて0.1M Bis-Trisおよびそれに10倍モル当量の1HPを加えた条件下を調べた。αHbのため誤って解釈する可能性を除くために, 2つの共鳴の強度比が等しくない試料は採用しないことにした。

0.1M Bis-Tris条件下ではα, β両方ともハム構造が擾動を受けているが, 特にβサブユニットが大きく変化するらしい。*deoxy* Hb Osler (β145 HC2 Tyr→Asp) のβサブユニットの共鳴は75.6 ppmと*deoxy* Hb Aより5 ppmほど低磁場に観測され, *deoxy* Hb

McKees Rocks (β145 HC2 Tyr→Term) の73.5 ppmより擾動の受け方が大きい。線中もαサブユニットの共鳴に比べて顕著に大きくなっている。

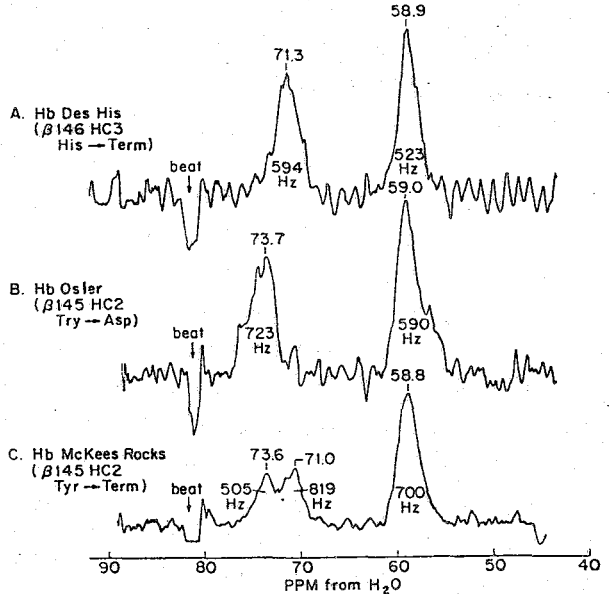
1HP存在下では*deoxy* Hb DesHis (β146 HC3 His→Term) の *proximal histidine NH resonances* の化学シフトは殆んど*deoxy* Hb Aに近いと言えるが, βサブユニットからの共鳴の線中の振がりはかなり顕著である。*deoxy* Hb Oslerの場合, βサブユニットからの共鳴は73.7 ppmと, *deoxy* Hb Aのそれよりも約3 ppm低磁場に

250 MHz <sup>1</sup>H NMR Spectra of Proximal Histidine NH Exchangeable Resonances of Deoxy Hb Osler and Deoxy Hb McKees Rocks in 0.1 M Bis-Tris at pH 6.8 and 27°C



に表われ、 $\alpha\mu$ 構造の回復が完全でないことを示す。また特徴的なことは共鳴シグナルが対称的でないことである。その理由は *deoxy Hb McKees Rocks* と同じ理由によると思われる。つまり *deoxy Hb McKees Rocks* の場合、 $\beta$ サブユニットからのシグナルは 73.6 ppm と 71.0 ppm の二本に、ほぼ 1:1 の強度比で明瞭に分裂する。この結果は多分 IHP の存在によって四次構造が擾動を受けた結果、*deoxy Hb A* と同様の  $\alpha\mu$ 構造になった Hb と、0.1 M Bis-Tris 条件下で観測されたものと同じ  $\alpha\mu$ 構造を持った Hb とがほぼ等量水溶液中で存在することを意味する。しかし 2 種類の Hb 分子が混合してこの系の中に入っているとは考え難いので、多分単一 Hb で  $\beta_1$  サブユニットと  $\beta_2$  サブユニットとが異なる構造を持っているような、つまり Hb 分子の  $C_2$  対称性がこわれた、分子として水溶液中に存在していると考えられる。そういう分子の存在を想定すると、異常 Hb ごとに何故異なった線中で *proximal histidine NH resonances* が観測されるかという問題を理解しやすい。つまり単一四次構造であっても、 $Fe(II)$ -ヒスチジンの位置は  $\alpha\mu$ 面に対して固定しているのではなく、比較的速い運動で幾つかの位置の間を往復しうような自由度を持っているとすると、それらの間の化学交換で解釈できる。この異常 Hb の結果から考えられることは、Hb の構造を 2 つの状態だけを仮定して解釈する従来からのやり方は、Hb 一線を総合的に取り扱うやり方としては誤りではないだろうか、と云うことである。

250 MHz  $^1H$  NMR Spectra of Proximal Histidine NH Exchangeable Resonances of Deoxyhemoglobins in 0.1M Bis-Tris and IHP in  $H_2O$  at pH 6.8 and 27°C



ニットと  $\beta_2$  サブユニットとが異なる構造を持っているような、つまり Hb 分子の  $C_2$  対称性がこわれた、分子として水溶液中に存在していると考えられる。そういう分子の存在を想定すると、異常 Hb ごとに何故異なった線中で *proximal histidine NH resonances* が観測されるかという問題を理解しやすい。つまり単一四次構造であっても、 $Fe(II)$ -ヒスチジンの位置は  $\alpha\mu$ 面に対して固定しているのではなく、比較的速い運動で幾つかの位置の間を往復しうような自由度を持っているとすると、それらの間の化学交換で解釈できる。この異常 Hb の結果から考えられることは、Hb の構造を 2 つの状態だけを仮定して解釈する従来からのやり方は、Hb 一線を総合的に取り扱うやり方としては誤りではないだろうか、と云うことである。

[結論] (1)  $\alpha\mu$ の構造は各異常ヘモグロビンによって異なる。つまり四次構造は同じでも、 $\alpha\mu$ 近隣の三次構造は種々の構造をとり得る。(2) IHP は異常 Hb の  $\alpha\mu$ 構造を Hb A の  $\alpha\mu$ 構造に近づける役割をするが、 $\alpha\mu$ 構造は同じにならずに、異常 Hb によって近づく度合はまちまちである。(3) IHP と DPG とで作用が異なる可能性がある。(4) C末端から 2 番目のチロシンは成程  $\alpha\mu$ の構造と密接に関係しているが、関係の仕方は *Perutz* の主張するよりもっと複雑であろう。(5)  $\beta$ サブユニットのチロシンポケットの構造変化の影響は  $\beta$ サブユニットの  $\alpha\mu$ 構造だけでなく、 $\alpha$ サブユニットの  $\alpha\mu$ 構造にも波及する。(6) 水溶液中では Hb の分子構造は必ずしも  $C_2$  対称性を維持してない可能性がある。(7) 従って *two-state allosteric model* は必ずしも Hb の協同作用のメカニズムを記述するのに適切でないかも知れない。

313 シトクロム b<sub>5</sub>とシトクロム c との相互作用

(阪大医, \*京大理)

○三浦 潤, 杉山俊博, \*赤坂一之, 山野俊雄

—はじめに—

肝臓ミクロソームの電子伝達系は、コレステロール、脂肪酸、薬物等の代謝に関与する生理的に重要な酵素群より成り立っている。われわれは、最近、この電子伝達系におけるシトクロム b<sub>5</sub>(Cyt b<sub>5</sub>)の重要性と、シトクロム P-450 との関係について新たな知見を得ることができた。<sup>1), 2), 3)</sup> 本研究は、この電子伝達系における Cyt b<sub>5</sub> の役割や、他の成分、とくにシトクロム P-450 との相互作用の理解を深める目的で行なった。また、Cyt b<sub>5</sub>-シトクロム c (Cyt c) 系は、ヘムたんぱく質間の電子伝達のモデル系として興味深い。両たんぱく質間の相互作用については Millottらによって、音響的相互作用が報告されているが、今回、われわれは、主として NMR を用いて、2つのヘムたんぱく質間の相互作用を、構造的観点から調べ、とくに、ヘム周辺、および、両たんぱく質結合部位周辺のミクロ環境の変化について調べた。

—実験—

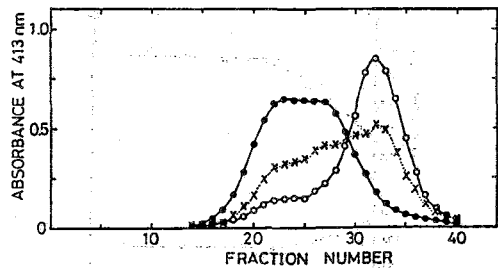
Cyt b<sub>5</sub> はウシ肝臓よりトリフリン処理によって調製した(この処理によって得た標品をとくに t-b<sub>5</sub> と略す)。Cyt c はウシ心筋より調製した Sigma 社の結晶標品 (Type VI) を用いた。実験には、Cyt b<sub>5</sub>、Cyt c とともに酸化型のものを用いたが、これらは、いずれもスピン状態は低スピン状態 (S=1/2) であることが知られている。たんぱく質濃度は、ヘムによる可視部吸収によって分光学的に求めた。200 MHz <sup>1</sup>H NMR スペクトルは、Varian XL-200 spectrometer を使用し、明記しない限り、pH 7.0、25℃にて測定した。化学シフトは 3-(トリメチルシリル)-アロピオン酸-d<sub>4</sub> を内部基準として求めた。スピン格子緩和時間 (T<sub>1</sub>) は、inversion recovery 法により求めた。

—結果と考察—

1) ゲルろ過による相互作用の検討

種々のモル比の t-b<sub>5</sub> と Cyt c とを低イオン強度下に、Sephadex G-100 のカラムにかき、両たんぱく質間の相互作用を調べた。t-b<sub>5</sub> と Cyt c の溶出パターンを別々に調べたところ、これらは、両たんぱく質のモル比依存性を示した。図 1 に、種々のモル比における Cyt c の溶出パターンを示す。この結果は、両たんぱく質間には相互作用があり、複合体を形成することを示唆する。

図 1



t-b<sub>5</sub>/Cyt c: 0.05 (○), 0.1 (×), 0.2 (●)

みうられつ・すぎやまとしひろ・あかさかかずゆき・やまのとしお

## 2) NMRによる相互作用の検討

Cyt cのNMRスペクトルに注目し、 $t-b_5$ を添加して滴定したところ、Cyt cの $Fe^{2+}$ による常磁性シフトした3つのシグナル(35.3, 32.3, 10.1 ppm)のシフトが観測された(図2)。これらのシフトをモル比( $t-b_5/Cyt c$ )に打ってプロットすると、図3に示す滴定曲線が得られ、飽和パターンを示した。これらの結果から、両たんぱく質は複合体を形成することが示唆される。また、これらのシグナルは、すでに、ポルフィリン環メチル基に帰属されており、<sup>5),6)</sup>両たんぱく質間の複合体の形成にともない、Cyt cのヘム周辺のマイクロ環境に変化のあることも示唆される。また、これらのシグナルのうち、35.3, 32.3 ppmのシグナル(それぞれ、シグナルa, bと呼ぶ)は、 $t-b_5$ の添加によるシフトのみならず、広幅化もみられた(図4)。これらのシグナルの半幅幅のモル比( $t-b_5/Cyt c$ )に対するプロット(図5)は、図3と同様の飽和パターンを示した。すなわち、遊離Cyt cと複合体のCyt cとの交換による広幅化への寄与はないと考えることができる。この

図2

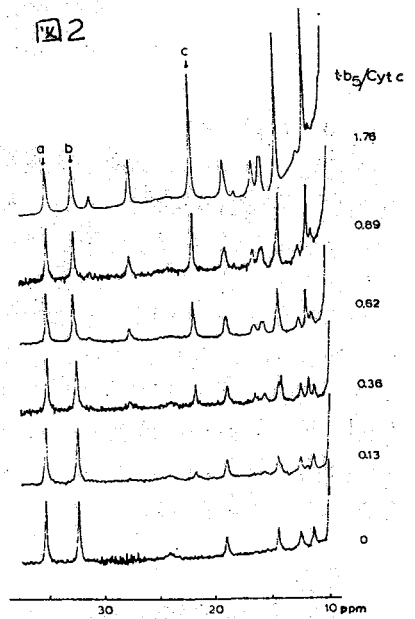


図3

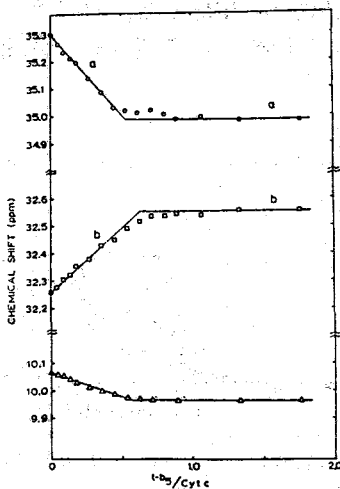
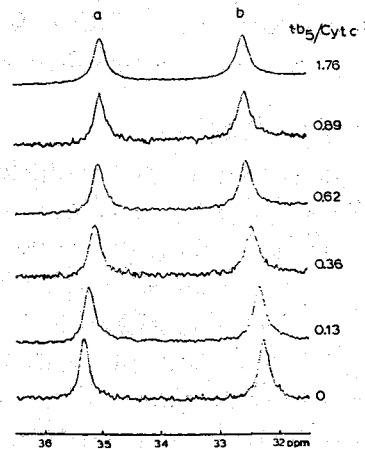


図4



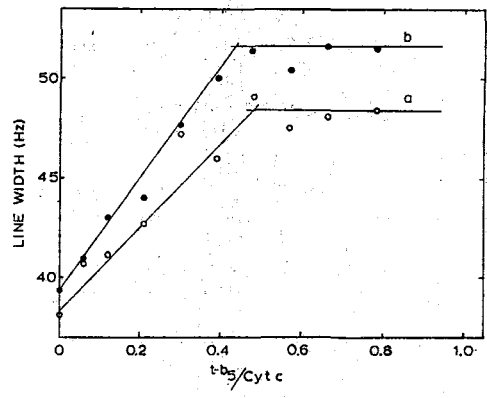


ことから、遊離Cyt cと複合体Cyt cとの交換速度は  $10^3 \text{ s}^{-1}$  以上であると見積る事ができた。シグナルa, bの  $T_2$ は遊離

Cyt cでは、それぞれ、45 ms, 50 msであったが、複合体のCyt cでは、それぞれ、27 ms, 29 msと小さくなっていることがわかった。

さらに、図3, 5の滴定曲線は、 $t\text{-b}_5/\text{Cyt c} \approx 0.5$ のところで飽和している。この飽和点は、モル比( $t\text{-b}_5/\text{Cyt c}$ )をCyt cのシグナルaまたは、b(これは、ヘムメチル基のシグナルである)と、 $t\text{-b}_5$ のヘムメチル基のシグナル(図2のシグナルc)の面積強度の比較により求めても変わらず、 $t\text{-b}_5/\text{Cyt c} \approx 0.5$ の飽和点が確認された。これらのことから、 $t\text{-b}_5:\text{Cyt c} = 1:2$ の複合体の形成が示唆される。

図5



次に、 $t\text{-b}_5$ のNMRスペクトルに注目して、Cyt cを添加して滴定を行なった。  $t\text{-b}_5$ の  $\text{Fe}^{3+}$ による常磁性シフトしたシグナルに変化を認めることはできなかったが、aromatic領域に変化が観測された。すなわち、 $t\text{-b}_5$ の8.27 ppmのシグナル(シグナルdと叫び)がCyt cの添加によって低磁場シフトする(図6)。このシフトをモル比( $\text{Cyt c}/t\text{-b}_5$ )に対してプロットすると図7の滴定曲線が得られた。この曲線は、 $\text{Cyt c}/t\text{-b}_5 \approx 2$ のところで飽和し、先に得られた滴定曲線(図3, 5)と矛盾しない結果が得られ、 $t\text{-b}_5:\text{Cyt c} = 1:2$ の複合体の形成が支持される。シグナルdの帰属のために、 $t\text{-b}_5$ のpH滴定を行なった(図8)。

aromatic領域で pH 依存性を示すシグナルは、シグナルdを含めて、3つ確認することができ

図6

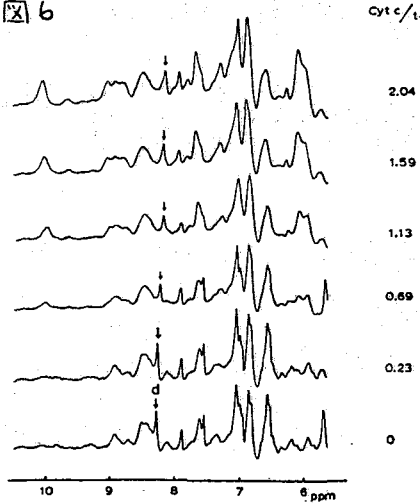


図7

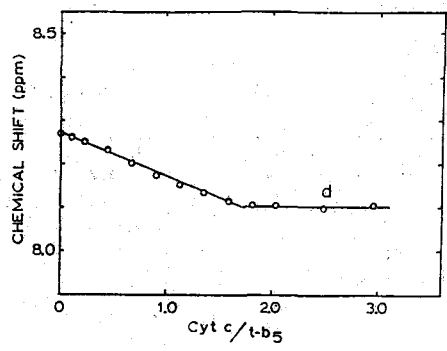


図8

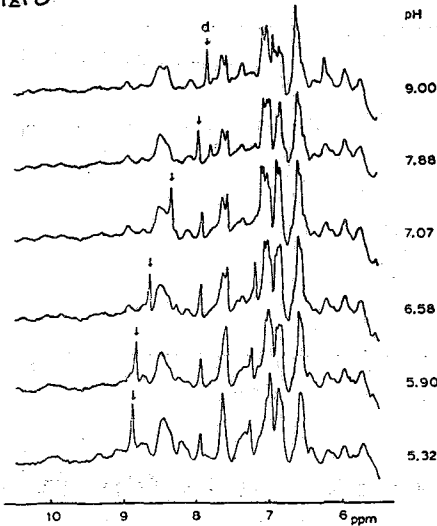


図9

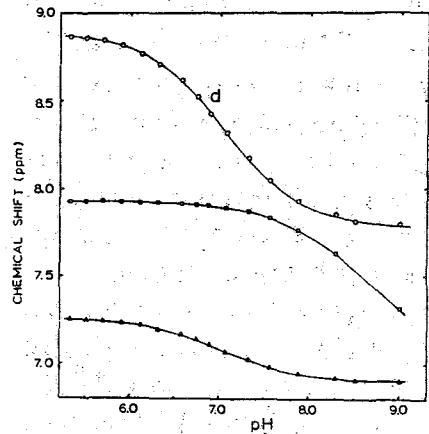


図9)。図9の滴定曲線よりシグナルdのpKは約7.1と求まった。このpH依存性よりわれわれは、一応、シグナルdをヒスチジンによるものと推定した。t-b5には5つのヒスチジン残基があるが(His-15, His-26, His-39, His-63, His-80), このうちHis-39, His-63はヘム鉄に配位している。シグナルdは化学シフトの値より、ヘム鉄に配位しているとは考えにくく、したがって、His-15, His-26, His-80のうちの一つに帰属するものが妥当であろう。これらのことから、Cyt cとの複合体形成により、t-b5の上の3つのヒスチジン残基のうちの一つの周辺のミクロ環境が変化すると考えられる。

— 結論 —

- 1) t-b5とCyt cとの間には相互作用が存在し、両方とも適量では、t-b5:Cyt c = 1:2の複合体を形成する。
- 2) t-b5とCyt cの1:2の複合体形成にともなう、Cyt cのヘム周辺、および、t-b5の鉄配位以外の少なくとも1つのヒスチジン残基の周辺のミクロ環境が変化する。

文献

- 1) T. Sugiyama, N. Miki, & T. Yamano, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **90**, 715 (1979)
- 2) T. Sugiyama, N. Miki, & T. Yamano, *J. Biochem.*, **87**, 1457 (1980)
- 3) N. Miki, T. Sugiyama, & T. Yamano, *J. Biochem.*, **88**, 307 (1980)
- 4) J. Stonehuerner, J. B. Williams, & F. Millett, *Biochemistry*, **18**, 5422 (1979)
- 5) K. Wüthrich, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **63**, 1071 (1969)
- 6) A. G. Redfield & R. K. Gupta, *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.*, **36**, 405 (1971)

(東大教養) 竹内 敬人

### 1 はじめに

FT-NMRの普及発達によって、スピン-格子緩和時間( $T_1$ )の測定が容易になってきた。<sup>1</sup>  $^{13}\text{C}$  NMRに限らず、NMR全般において、 $T_1$ が化学シフト( $\delta$ )やスピン結合定数( $J$ )と同様に、有機化学者にとって、構造決定やスペクトルの帰属に、日常的に利用されるようになるだろう、と予言されてからでももう数年が経過した。<sup>2</sup> 確かに、この間、 $T_1$ に関する研究は、理論面でも応用面(分子運動、分子間相互作用、生体物質の研究など)でも著しい発展を示した。<sup>3</sup> しかし、“ $T_1$ が、有機化学者が $\delta$ や $J$ 並みに気軽に扱い得るパラメーターになった”とまでは言い切れないのではなからうか。

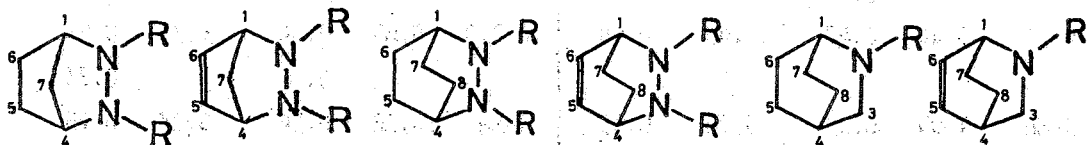
その理由は、(i)装置上、時間上の制約、(ii)機構の多様性による解釈の困難、(iii)部分構造の寄与による加減性の不成立、(iv)再現性の不足、などであろう。しかし、これらの困難は、程度の差こそあれ、初期において $\delta$ や $J$ の測定・解釈にもつきまとっていたのだが、経験を重ねることによって、これらの困難は次第に克服され、現在の理解に達したのである。 $T_1$ の利用も、同様な経過を辿って普及するであろう。

この際必要なことは、特定の化学的問題に対する集中的なデータ収集であろう。限定された狭い問題に対して一般化を行い、それをより広い一般化へと拡張していく、という道である。本研究は、この様な意図のもとに、化学交換が起っている二、三の系の $T_1$ を集めたものである。測定は予備的で、対象の範囲も限られ、さし当っては有用な一般化もなされていないが、研究の目的を示すために報告を行う。

### 2 実験

対象とした化合物、ピシクロヒドラジン(1)~(4)、ピシクロモノウレタン(5)、(6)およびピシクロビウレタン(7)は、いずれも化学交換(窒素の反転とN-CO結合の回転)が起っている系である。化学交換が速い温度および、化学交換が遅くなつてシグナルの分岐が起る温度で $T_1$ を測定した。

測定はFX-90Q(一部はFX-100)を用い、反転回復(IR)法で求めた。試料を常法に従い充分脱気したのち、試料管(玉子型)を溶封した。PD $\geq 5T_1$ とし、待ち時



(1) R = Me (2) R = Me (3) R = Me (4) R = Me (5) R = COOEt (6) R = COOEt  
(7) R = COOMe

たけうち よしと

間を変えて10分から20分で測定を行った。

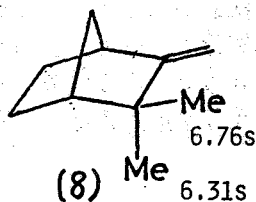
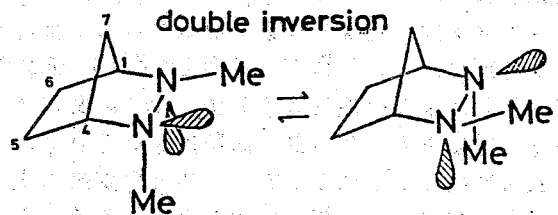
IR法は、 $T_1$ 測定法の中では最も精度が高いとされているが、測定条件やデータ処理の僅かな差によって、同一炭素がかなり異なる $T_1$ を示すのも事実である。

しかし、本研究では、 $T_1$ の大きさそのものではなく、1個の炭素が異なるサイトで示す $T_1$ の差を問題にする。従って、比較する $T_1$ 値は常に一つの測定で得られる1セットの値の中にある。測定条件やデータ処理によって、 $T_1$ 値そのもののはかなり動くが、1セットのデータ中の値の相対的大きさは比較的一定である。むしろ、 $T_1$ 値の再現性の良さそのものよりも、どの位の差が $T_1$ 値における有意の差と見なし得るかの判断のほうの問題である。

### 3 結果

#### A. ビシクロヒドラジン(1)~(4)

ビシクロヒドラジン(1)~(4)は、右図に示すような窒素の二重反転を行うこと、その活性化自由エネルギーは13~15 kcal mol<sup>-1</sup>であることが、<sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C および <sup>15</sup>N dynamic NMRによって明らかにされた。<sup>3)</sup>



(1)を例にすればC-1とC-4, C-5とC-6および2個のN-Meは、高温では速い二重反転のための等価になり、それぞれ1本のシグナルを示すが、低温ではN-Meはexoのものとはendoのものに、C-1とC-4, C-5とC-6も、endo Meに遠いものと近いもの、の2本に分裂する。この二つのサイトの化学シフト差は、 $\delta$ 効果の有無によって決まるのでかなり大きい。

表1. ビシクロヒドラジン(1)~(4)の $T_1$ 値(s)\*

	(1)		(2)		(3)		(4)		
C-1,4	9.19	0.61	11.51	0.99	C-1,4	9.57	0.60	8.51	0.44
		0.68		1.03					0.45
C-5,6	5.56	0.42	10.75	0.64	C-5,6	5.63	0.32	8.27	0.37
		0.36		0.68		0.32	0.32		0.38
C-7	5.44	0.40	6.43	0.64	C-7,8	5.63	0.34	4.73	0.23
						0.32			0.23
N-Me	4.55	0.33	5.70	0.43	N-Me	4.56	0.34	3.83	0.25
		0.33		0.49					0.24

\*左欄は61°C, 右欄は-40°C, 上段は高磁場側のピーク(分裂時)

表1には(1)~(4)の61°Cおよび-40°Cにおける $T_1$ 値をまとめた。図1は、-40°Cにおける(1)のIRFITSスペクトルである。(1)および(2)では、いくつかの対に10%前後の $T_1$ 差が認められるのに対し、対称性がよい(3),(4)にはほとんど差が認められない。

差が認められる場合、モデル化合物のカンフェン(8)では、 $\gamma$ 効果を受ける炭素の $T_1$ が僅かに短い。同じ傾向が(2)のN-Meシグナルにも認められる。ととまで一般化できるか、目下検討中である。

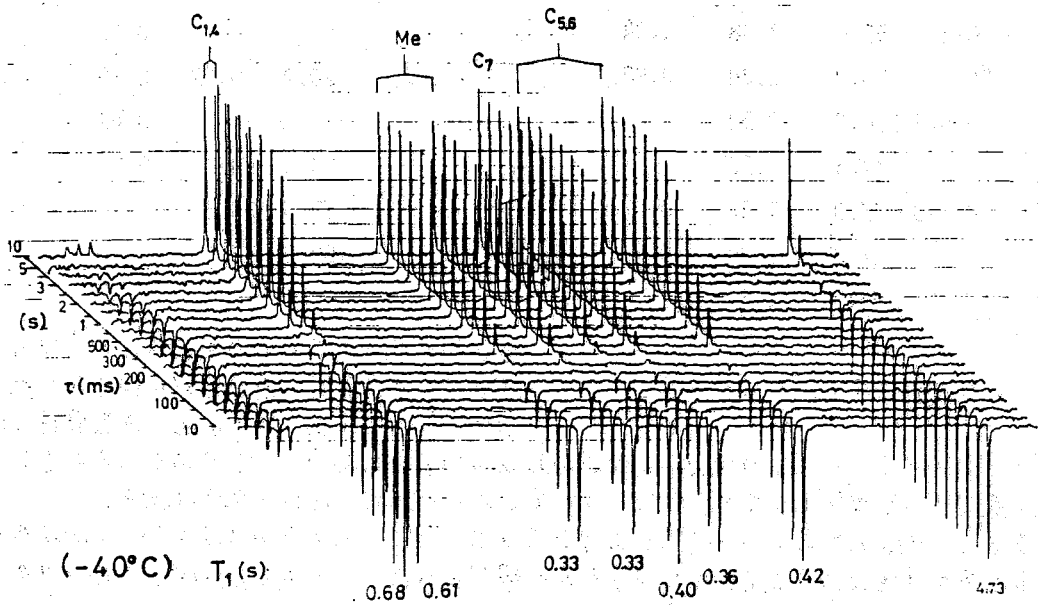
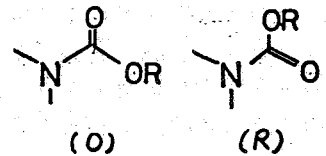


図1 ビシクロヒドラジン(1)のIRFITSスペクトル

### B. ビシクロモノウレタン(5),(6)

ビシクロモノウレタン(5),(6)では、N-CO結合の束縛回転が観測できるただ一つの速度過程である。アミドと同様、室温でもほとんどのピークが二本に分裂し、カルボニル基が外向き(O)と内向き(I)の構造が区別されている。

表2には(6)の30°Cおよび0°Cにおける $T_1$ をまとめた。対をなすピーク間の $T_1$ 差は、30°Cのときより0°Cのときの方が大きくなり、10%前後になる。C=O炭素では、30°Cにおいてもかなり大きな差が観測されている。 $T_1$ とN-COORの配座との関連を目下検討している。



### C. ビシクロビウレタン(7)

ビシクロビウレタンは二段階の速度過程、すなわち高温で起る窒素の二重反転、低温で

表2 ビシクロモノウレタン(6)の $T_1$ (s)

	$\delta_c$	30°C	0°C
C-1	45.4	2.32	1.03
	46.0	2.29	0.92
C-3	48.2	1.47	0.61
	48.6	1.44	0.56
C-4	31.0	2.38	1.04
	30.8	2.24	0.98
C-5,6	134.0	2.54	
	134.3	2.52	
C-7,8	27.0	1.22	0.47
	27.2	1.24	0.53
C=O	155.2	31.3	
	154.8	34.7	

\* 上段は強度の大きいピーク

表3 ビシクロビウレタン(7)の $T_1$ (s)

	$\delta_c$	30°C	-18°C
C-1,4	50.4	0.88	0.29
			0.30
C-5,6	132.1	0.84	0.17
	135.0	0.78	0.15
C-7,8	20.2	0.62	0.36
			0.42
C=O	157.5	29.6	
	158.9	33.5	

起るN-COの二重束縛回転である。例えは(7)のC=O炭素は、高温過程が遅くなった30°Cでは2本のシグナルを、低温過程も遅

くなった-18°Cでは、二つのN-COORの配座の組合せに応じて、8本のシグナルを示す。他の炭素も同じ分裂を示すが、化学シフト差が小さい場合にはピーク数は減る。

表3には(7)の30°Cおよび-18°Cにおける $T_1$ を示した。C=Oの2本のピークがかなりの $T_1$ 差を示す他に、C-5,6にもかなりの差が観測された。しかし、-18°Cでピークが分裂しても、 $T_1$ 差は特に大きくならない。

#### 4 ま と め

化学交換が遅くなって、立体化学的に環境の異なる二つ以上のサイトが1個の炭素によって区別されるとき、それらのサイトは異なる $T_1$ で特徴づけられるが、という向いは、現在の段階でははっきりと解決されたとは言えない。

問題を明らかにするためには、(1)  $T_1$ の温度変化を細く観測する、(2)  $T_1$ をその機構毎の寄与( $T_{1DO}$ ,  $T_{1SR}$ など)に分離する、などの必要があろう。しかし、 $T_1$ をスラックホックズ式に利用しようという始めの組いからはおれることになる。研究をこの方向に向けるべきか、目下検討中である。

- 文献 1) Lyerla and Levy, Topics in C-13 NMR Spectroscopy, Vol 1, p 79 (1974).  
 2) Wright, Axelson and Levy, Topics in C-13 NMR Spectroscopy, Vol 3, p. 104 (1979)  
 3) Anderson and Lehn, J.A.C.S., 89, 91 (1967). Nomura, Masai and Takeuchi, J.C.S.Chem.Comm., 288 (1974). Nomura and Takeuchi, ibid. 295 (1979).  
 4) 野村, 竹内 第18回NMR討論会(大阪) 1979年

(阪大薬) O高木達也 藤原英明 佐々木喜男

**序論**

我々はこれまで、ニトロベンゼン或はベンゾニトリル誘導体とヘキサメチルリン酸トリアミド (HMPA)、テトラメチル尿素 (TMU) 等の極性物質との双極子会合をNMR法により検討した。<sup>1,2)</sup>今回は分子軌道法を使って会合パラメーターの解釈を行う目的で、脂肪族ニトリル化合物とTMU、ジメチルスルホキシド (DBSX) の会合をとりあげた。

**実験**

<sup>1</sup>H-NMR測定には日立R-22型NMR装置(90MHz)、<sup>13</sup>C-NMR測定には日立R-900M型FTNMR装置(22.63MHz)を用い、シフトの読みとりは内部ロック(溶媒シクロヘキサン)、TMS基準、読取±0.1Hz精度である。常温でのプローブ温度は34°Cで、温度可変実験での温度測定は校正済のC-C熱電対温度計を直接プローブに挿入して行なった。<sup>13</sup>C-T<sub>1</sub>値の測定はFIRFT法<sup>3)</sup>により、(180°-τ-90°-5秒)パルス系列を用いた。試薬の調整、保存は既報<sup>1,2)</sup>と同様の方法で行なった。

**計算**

CND O/2法及びMNDO法の計算は、QCPENa.143、及び353の両プログラムを一部改変して用いた。分極率テンソルの算出及びその対角化は、BASIC言語を使った自作のプログラムによった。対角化にはJacobi法を用いた。K, Δ<sub>AB</sub>の算出は既報<sup>2)</sup>の通り、得られた濃度-シフト曲線をA+B⇌AB型の平衡を仮定した非線形解析によった。計算には、大阪大学大型計算機センターACOS 900システム、及び分子科学研究所計算機センターM200システムを使用した。

**結果と考察**

## 1) NMRによる会合状態の推定

N,N-ジメチルアミノアセトニトリル0.03Mのシクロヘキサン溶液にTMUを0.08Mまで加えて得られた濃度-シフト曲線をFig.1に示す。同様の曲線がメトキシアセトニトリルでも観測されるが、これらのメチレンプロトンのシフトの大きな濃度依存性は、ニトリル基付近での会合を示唆している。<sup>13</sup>C-NMRにおいても、1.0MのCCl<sub>4</sub>溶液にTMU又はDBSXを等モル加えた時のシフトの変化は、いずれの系においてもニトリル基の炭素が最大値を示し、ニトリル基周辺での会合を裏づけた (Table 1)。

次に、<sup>13</sup>C-T<sub>1</sub>値の測定により、双極子会合による分子運動の変化を検討した。一般にモノ置換ベンゼンの<sup>13</sup>C-T<sub>1</sub>値は、ortho位、meta位に比べてpara位の値が小さい。

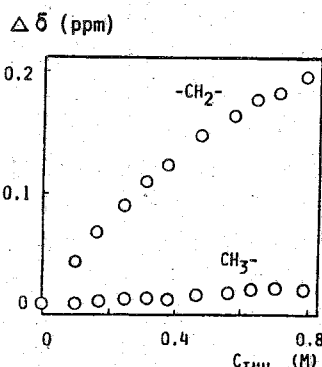


Fig.1 Concentration dependence of <sup>1</sup>H-nmr shifts for the (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>NCH<sub>2</sub>CN + TMU system.

たがぎ たっや ふじわら ひであき ささき よしお

これは対称軸まわりの回転運動が優勢であるためとされている。ニトロベンゼンとTMUとの会合による運動状態の変化を知る目的で、 $CCl_4$  溶液中、ニトロベンゼンを0.7M一定とし、TMUを0~2.8Mまで変化させて $T_1$ を測定した(Table 2)。 $r = (T_1(\text{ortho}) + T_1(\text{meta})) / (2 \times T_1(\text{para}))$ の値は、TMU濃度の増大につれ1に近づく。これは対称軸まわりの回転運動の優先性の消失、すなわち慣性モーメントの増大を示している。

### 2) 会合パラメーターの検討

既に今春の化学会年会で発表したように<sup>3)</sup>、 $\alpha$ 置換アセトニトリルとTMU、DBSXの会合における平衡定数 $K$ 、会合シフト $\Delta_{ab}$ は、湯川-都野の<sup>1)</sup>等誘導効果を表す置換定数と近似的な相関関係を示し、会合パラメーターがニトリル化合物の電荷分布に依存することが推定される。CND0/2法により計算された電荷分布のうち、双極子モーメントが実験値とよく一致するものについてはニトリル基の炭素の電荷密度との関連性が見られた。今回は更に、 $K$ の温度依存性より熱力学的パラメーターを求め、会合エネルギーや立体効果について検討した。Fig.2に、 $CH_3OCH_2CN$ とTMU系のメチレンプロトンの濃度-シフト曲線の温度依存性を示した。得られた平衡定数の温度依存性より、Van't-Hoffプロットを使って $\Delta H$ 、 $\Delta S$ を算出したところ、Table3の結果を得た。 $\Delta H$ はベンゾニトリル誘導体とHMPAの会合における場合と同様、弱い水素結合程度の大きさである。又、 $\Delta H$ は $\ln K$ と相関性を示し、平衡が主にエンタルピー頂に支配されていることを示唆している。さらに重要な点は、 $\ln K$ も $\Delta H$ も、序列はニトリル化合物の双極子モーメントの序列とは一致せず、むしろ逆の傾向を示すことである。これは、この種の会合が双極子だけでなく、多極子間相互作用等も考慮すべきであることを示唆している。

### 3) 会合状態と会合エネルギーの量子化学的検討

Table 1 Variation of the C-13 chemical shifts on addition of TMU(upper) or DBSX(lower) in  $CCl_4$ .

	H	$(CH_3)_2N$	$CH_3$	$C_6H_5$	$CH_3O$	C1
1-C	0.48	0.39	0.42	0.50	0.42	0.69
2-C	0.24	-0.09	0.06	-0.14	0.07	0.36
3-C			-0.09			
4-C		0.00		0.45*	-0.03	
1-C	0.70	0.53	0.54	0.62	0.50	0.85
2-C	0.29	0.01	0.10	-0.08	0.13	0.48
3-C			-0.05			
4-C		0.07		0.53*	0.01	

\* ipso-carbon in  $C_6H_5$  (units of ppm)

Table 2 C-13  $T_1$ 's in  $PhNO_2$

TMU added (M)	ortho	meta	para	r
0	11.03	12.48	5.26	$2.23 \pm 0.08$
0.7	10.98	11.01	6.23	$1.76 \pm 0.02$
1.4	10.52	10.05	6.86	$1.51 \pm 0.03$
2.1	9.73	8.82	6.01	$1.53 \pm 0.03$
2.8	9.70	8.00	6.29	$1.41 \pm 0.02$

(units of sec)

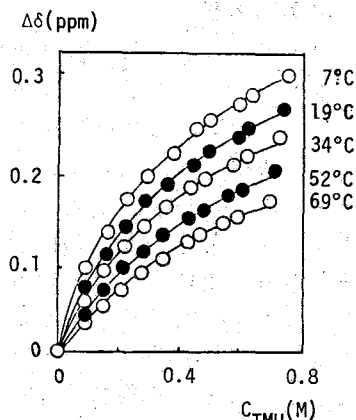


Fig.2 Concentration and temperature dependence of  $^1H$ -nmr chemical shifts for the  $MeOCH_2CN + TMU$  system.



強い会合のエネルギーを非経験的に推定するには種々の方法が考えられるが、今回はSuper-Molecule法により、量子化学的に会合エネルギーを推定した。

我々は前述の結果からFig.3のような4つの会合モデルを考えた。このうち、I, II, IIIはいずれもantiparallel型で、TMUのメチル基の位置が異なっている。CNDO/2法及びMNDO法を使って会合距離をかえ、会合エネルギーを求めた結果がFig.4である。一般にCNDO/2法による結果は、会合距離を短かく、会合エネルギーを大きく見積る傾向があり<sup>5)</sup> 今回の例でも同様な結果が得られた ( $R=1.47\text{\AA}$ ,  $\Delta E=-241\text{ kJ/mole}$ )。これに対し、MNDO法は弱い会合に対する比較的常識的な結論を与える ( $5.1\text{\AA}$ ,  $-2.22\text{ kJ/mole}$ )。同じくMNDO法で算出された $\text{CH}_3\text{CN}$ の電荷分布の会合距離依存性をFig.5に示す。前述のシフトの変化の序列が、計算された各炭素の電荷密度の変化の序列と一致すると共に、電荷密度の変化量から推定されるシフト値の変化とも半定量的な一致を示す。ただしシフトに関しては

会合する相手分子の窒素異方性の寄与が考えられるために一致しない。

Fig.3の4つのモデルについて会合距離、会合エネルギー、 $\text{CH}_3\text{CN}$ のプロトンの電荷密度の変化 $\Delta Q$ を算出した(Table 4)。結果はIIIが最も安定なモデルであることを示している。更にモデルIIIについて、MNDO法で算出された会合距離によりCNDO/2法で計算すると、 $\Delta E=-5.02\text{ kJ/mole}$ と、ほぼ同様の結果が得られる。

Dagnino ら<sup>6)</sup>は、*ab initio*法(STO3G 基底)により、 $\text{CH}_3\text{CN}$ の二量エネルギーを計算し、antiparallel型で $-7.03\text{ kJ/mole}$ 、Head-to-tail型で $-5.06\text{ kJ/mole}$ と算出している。しかし、この値は気相における $\text{CH}_3\text{CN}$ の二量エネルギーの実測値、 $-15.9\sim -21.8\text{ kJ/mole}$ <sup>7)</sup>の半分に満たず、今回のMNDO法による結果もこれと同様である。Dagnino らの場合は、その原因をHF法が分散力を含んでいないことに帰することができるといえるが、

Table 3 Thermodynamic parameters for the  $\text{R-CH}_2\text{CN} + \text{TMU}$  systems.

R	$\Delta H^*$	$\Delta S^{**}$	$\Delta G^*$
$\text{Me}_2\text{N}$	-9.84	-31.0	-0.32
Me	-8.17	-24.8	-0.54
$\text{C}_6\text{H}_5$	-9.76	-25.5	-1.33
MeO	-10.45	-29.4	-1.42
Cl	-11.52	-22.9	-4.48

\* (kJ/mole)      \*\* (J/mole-deg)

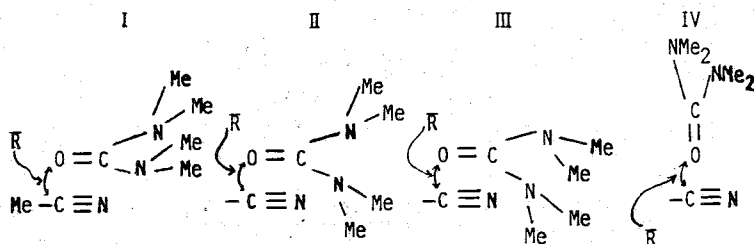


Fig.3 Association models for the acetonitrile + TMU system.

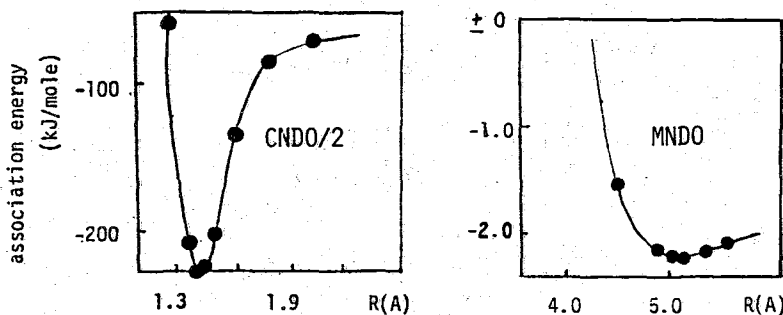


Fig.4 Plots of association energy vs. association distance for the  $\text{CH}_3\text{CN} + \text{TMU}$  system.

今回の例でも同様に考え、モデルⅢについて、Applequistら<sup>9)</sup>の方法で分極率テンソルを求めLondon<sup>10)</sup>の式(1)を使って分散力を求めた(TMU:  $\alpha_n = 13.77$ ,  $\alpha_1$

Table 4 Association parameters for the CH<sub>3</sub>CN + TMU system calculated by MNDO method.

	$\Delta E$ (kJ/mole)	$\bar{R}^*$ (Å)	$\Delta Q$ (electrons)
I	-2.12	4.58	-0.0003
II	-2.22	5.10	+0.0016
III	-3.40	4.71	+0.0020
IV	-1.43	4.33	-0.0002

\* see Fig.3

=12.66 CH<sub>3</sub>CN:  $\alpha_n = 7.31$ ,  $\alpha_1 = 3.20$  [ $\times A^3$ ]).

$$E_{disp} = -\frac{2}{3R^6} \{A + 2(B+B') + 4C\} \frac{I_A I_B}{I_A + I_B} \dots (1)$$

ただし

$$A = \frac{\alpha_n(A) \cdot \alpha_1(B)}{4} \quad B = \frac{\alpha_n(A) \cdot \alpha_1(B)}{4} \quad B' = \frac{\alpha_1(A) \cdot \alpha_n(B)}{4} \quad C = \frac{\alpha_1(A) \cdot \alpha_1(B)}{4}$$

結果は  $E_{disp} = -3.79$  kJ/mole となり、この値を加えると  $-7.19$  kJ/mole となる。なお、TMUの $\alpha_1$ は二方向の値を平均化し、イオン化ポテンシャルはMNDO法で計算した。又、CH<sub>3</sub>CN二量化の分散力は、文献6)の会合距離を用いて計算すると  $-10.7$  kJ/mole で、これをDagninoらのantiparallel型の値に加えると  $-17.73$  kJ/mole となる。これらの結果より、実測値の説明には分散力の適切な評価が必要となることがわかる。

### 結論

- 1) アセトニトリル誘導体とTMUの会合はニトリル基周辺で行われ、その $\Delta H$ は強い水素結合程度の値である。又、平衡定数は主に $\Delta H$ に支配されている。
- 2) CNDO/2法による会合エネルギーの計算値は実測値よりはるかに大きな値を示すが、MNDO法は比較的常識的な結果を与える。又、CNDO/2法でも、会合距離に適切な値を用いれば、同様な結果を得ることができるとはなる。しかしなお、実測値の半分程度であり、分散力の適切な評価が必要である。

### 参考文献

- 1) 藤原, 山崎, 佐々木, 才17回NMR討論会要旨集, 1978, P.141.
- 2) H. Fujiwara, N. Takaba, Y. Yamazaki, Y. Sasaki, J. Chem. Soc. Faraday Trans I, 1979, 75, 79.
- 3) 藤原, 高木, 山崎, 佐々木, 日本化学会才41春季年会講演予稿集I, 1980, P.139.
- 4) G.C. Levy, J. Magn. Resonance, 1975, 18, 199.
- 5) for example, N. Brigot, S. Odier, Chem. Phys. Lett., 1977, 49, 157.
- 6) M.R. Dagnino, G. LaManna, L. Paoloni, Chem. Phys. Lett., 1976, 39, 552.
- 7) for example, A.D. Buckingham, R.E. Raab, J. Chem. Soc., 1961, 5511.
- 8) a: 諸熊, 「化学」, 1979, 34, 386.  
b: P. Hobza, R. Zahradnik, "Weak Intermolecular Interaction in Chemistry and Biology", Elsevier, N.Y., 1980, P.72.
- 9) J. Applequist, J.R. Carl, K. Fung, J. Amer. Chem. Soc., 1972, 94, 2952.
- 10) F. London, J. Phys. Chem., 1942, 46, 305.

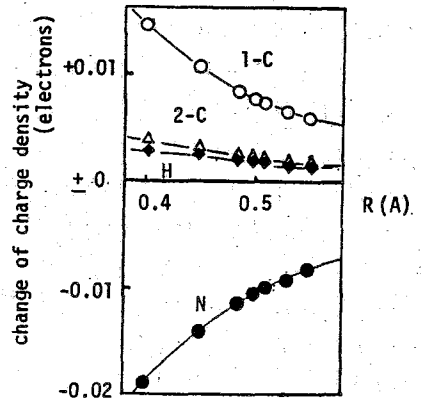


Fig.5 Plots of association distance vs. change of charge density for the CH<sub>3</sub>CN + TMU system.

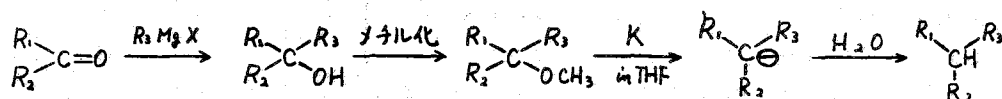
(名工大) 吉野明広, 松本弘, ○高橋寛助

## 1. 序

我々はこれまで、種々のカルバニオンに関するNMRスペクトルを研究してきた。<sup>1,2</sup>これらは主として、フェニル基を含むカルバニオンであって、フェニル基への余剰負電荷の非局在化によって安定化を得ていた。シクロプロパン環は、NMRスペクトルでは非常に高磁場に吸収があらわれ、その構造とともに非常に興味深い。例えば三員環の炭素原子は、それ以上の環状炭化水素の炭素原子と比べて20ppm以上の化学シフト差があることが報告されている<sup>3</sup>。この事実は、環電流効果によるものと説明されている。そこで今回は、シクロプロピル基を含むカルバニオンを合成し、NMRスペクトルの観点からどのようなことを知り得るかということを目的としてこの研究を行なった。

## 2. 実験

シクロプロピル基を含むカルバニオンを合成するには次の方式に従った。即ち、目的とする置換基を含むアルコールを合成したのちメチル化し、それをTHF中、金属カリウムと反応させることによってカルバニオンを得た。

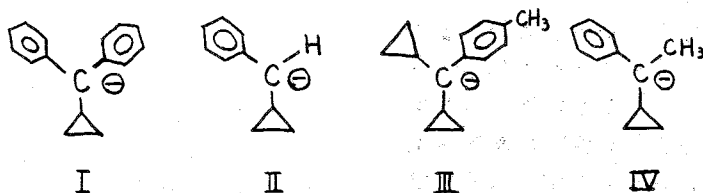


また、このカルバニオンを水で処理すると、炭化水素が得られる。上記の如く、ここで対象とするカルバニオンとしては、メチルカルバニオンの誘導体に限定した。しかし、この反応では、カルバニオンの先駆体(メトキシ化合物)が、100% THF中で金属カリウムと反応しない場合もあった。或いは、生成したカルバニオンが不安定(活性)下であって、すぐに溶媒から水素を引抜いて炭化水素に変化してしまうと考えられるものもあり、カルバニオンのスペクトルを観測できない場合もあった。反応は、NMRスペクトルを観測するのに必要な量として、0.3ミリモル程度先駆体から出発して合成した。カルバニオンの生成は、その特徴ある濃赤色の色の発現により確認した。<sup>4</sup>HNMRスペクトルの測定は日立R-20B分光計により行ない、また<sup>13</sup>C NMRスペクトルは、日本電子FX-100により行なった。<sup>13</sup>C及び<sup>1</sup>Hの化学シフトは溶媒(THF)の高磁場側の吸収をそれぞれ、26.40、16.79 ppmとして決定した。

## 3. 結果と考察

## 3.1 カルバニオンの合成

これまでに、シクロプロピル基を含むカルバニオンとして合成を試みたものは次の四種である。



よしの あきひろ, まつもと ひろし, たかはし けんすけ

IはIの先駆体(I<sub>q</sub>)から80~90%の収率でカルバニオンを生成し、NMRスペクトルによつて確認することができた。この炭素と水素のNMRスペクトルをそれぞれ図1, 2に示す。IIは50%の収率で生成し、IIIは不安定なため溶媒から水素を引き抜いたと思われるIIIのスペクトルのみが得られた。IVはHスペクトルで中広い吸収が得られたので、少量のラジカルの混在が考えられる。本研究で測定を行なつたカルバニオンのR<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub>の組合わせを比較のために他の文献の組合わせとともに表1に示す。

### 3.2 <sup>13</sup>C NMRスペクトルと化学シフト

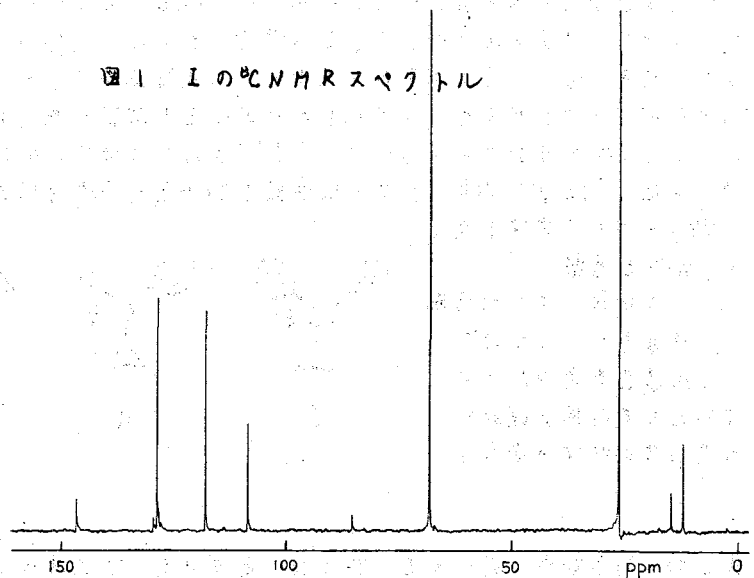
<sup>13</sup>C NMRスペクトルから得られた化学シフトの値を、表2に示した。ここで、先駆体としてIのメトキシ化合物の化学シフトはI<sub>q</sub>のような記号でその値を示した。またカルバニオンと水を反応させて得た炭化水素の化学シフトの値も比較のためにI<sub>b</sub>のような記号で示した。シクロアロパン環を含む化合物のデータとしては、I, II, I<sub>a</sub>, I<sub>b</sub>, II<sub>a</sub>, II<sub>b</sub>のデータを比較することが出来る。シクロアロパンのβ位の炭素は化学的に等価と思われる炭素であるが、異なる化学シフトを示す例があり、磁気的には異なることになる。実際にII<sub>a</sub>, II<sub>b</sub>, II<sub>c</sub>が測定されており、この差は近傍のカイラル或いは、アロカイラルな炭素原子に原因があると思われる。即ち、シクロアロピル基が自由回転していても完全に等価な状態にならないとして理解される。

一方シクロアロピル基が自由回転しているということはI, I<sub>a</sub>, I<sub>b</sub>の2つのフェニル基が全く等価であるということから合理的である。Iの<sup>13</sup>C NMRスペクトルは図1に示したようにカルバニオンとしての特徴的なパターンを示した。図では、フェニル基のパラ位の炭素が高磁場にシフトしている。さらにシクロアロピル基のαとβのシフト差はIでは2 ppmと小さくなっているのに対し、I<sub>a</sub>, I<sub>b</sub>ではシフト差は大きく10 ppmを超えている。しかし、IIではβの炭素はIとあまり変わらないが、αが大きく変化している。IとIIではフェニル基のシフトに大きな差があり、フェニル基1個の系と2個の系では大きく変化しているといえる。フェニル基のシフトで比べるとIとVIIが良く似ているこの二つの系

表1 合成したカルバニオンの置換基の組み合わせ

No.	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>
I	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	C <sub>3</sub> H <sub>5</sub>
II	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	H	C <sub>3</sub> H <sub>5</sub>
III	CH <sub>3</sub> C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	C <sub>3</sub> H <sub>5</sub>	C <sub>3</sub> H <sub>5</sub>
IV	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	CH <sub>3</sub>	C <sub>3</sub> H <sub>5</sub>
V	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	C <sub>3</sub> H <sub>5</sub>	C <sub>3</sub> H <sub>5</sub>
VI	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>
VII	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	H
VIII	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	H	H
IX	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	CH <sub>3</sub>
X	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	H	CH <sub>3</sub>

図1 Iの<sup>13</sup>C NMRスペクトル



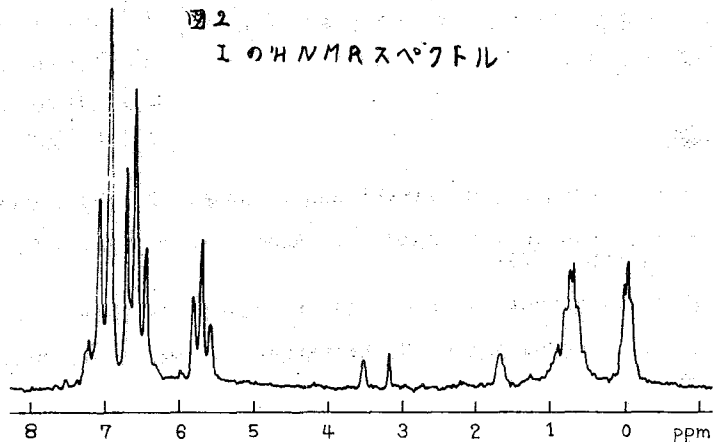
下はフェニル基が2個あるという点下は同じである。異なっているところは、中心炭素原子の化学シフトである。IとⅧではIがより低磁場にあるから、その分だけどこか他の部分に変化が起こる筈である。シフトの変化分をカルバニオンについてみると、C<sub>α</sub>は約30ppmの変化があり、それに決いでC<sub>β</sub>も約35ppmの変化がある。この中心炭素については、再混成の効果を考えなければならぬ。これについては、ⅥとⅧのカルバニオンについてそれぞれ、92及び97ppmの変化が推算されている<sup>2</sup>。しかし、Iについてはまたこの点で明確ではない。

3.3 <sup>1</sup>Hスペクトルと化学シフト  
Iの<sup>1</sup>Hスペクトルを図2に示した。これも、典型的なスペクトルを示している。3.1ppm付近は未反応のメトキシ基である。またシクロプロピル基は0.0と0.8ppmに2:3の強度で現われるので、α-水素は0.8ppmに現われ、β-水素は0.0と0.8ppmに2個づつ現われると考えられる。即ちα-水素に対してエンドとエキリの水素に対し異なるシフトを示している。カルバニオン、先駆体、水との反応生成物のシフトは表3に示した。シクロプロピル基は複雑なスペクトルを与えるので未だ解析を行っていないが、重心をとって近似的な値を示している表よりIのシクロプロピル基のβ-水素のシフトは、例えばI<sub>b</sub>やⅧ<sub>b</sub>のβ-水素と比較してエンド、エキリの差が大きくなっている。IとⅧのフェニル基のシフトは非常に似ており、炭素の場合と同じ結果である。しかし、オルリ水素のみが異なる傾向を示しており、これは、これらのカルバニオンにある2個のフェニル基のため、オルリ位に大きな環電流効果が生じているとして説明される。ここでは、

表2 カルバニオン、先駆体、水との反応生成物のC-13 NMR化学シフト

No.	フェニル基					シクロプロピル		CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> O	
	C <sub>α</sub>	C <sub>1</sub>	C <sub>2</sub>	C <sub>3</sub>	C <sub>4</sub>	C <sub>α</sub>	C <sub>β</sub>		
I	85.48	146.47	117.81	128.50	108.53	14.88	12.24	—	—
II	75.13	147.30	105.26	129.87	85.87	25.47	14.14	—	—
Ⅵ	88.2	149.9	123.9	128.9	114.4	—	—	—	—
Ⅶ	79.1	145.9	117.0	129.4	108.2	—	—	—	—
Ⅷ	52.8	153.2	111.0	130.8	95.6	—	—	—	—
Ⅸ	75.23	146.32	116.83	128.89	107.77	—	—	19.22	—
X	62.78	146.18	112.63 103.11	129.83 131.62	91.78	—	—	14.05	—
I <sub>a</sub>	84.75	145.15	129.38	128.25	127.77	17.71	2.53	—	50.77
II <sub>a</sub>	87.44	143.58	129.04	127.72	128.16	18.44	2.09 4.24	—	56.73
III <sub>a</sub>	79.63	143.21	129.33	127.92	136.85	18.15	0.53 3.31	—	50.23
IX <sub>a</sub>	81.53	147.93	128.79	127.72	127.53	—	—	25.38	50.62
X <sub>a</sub>	80.40	145.09	129.22	127.03	128.15	—	—	24.44	56.52
I <sub>b</sub>	56.72	146.47	129.23	129.13	126.74	17.56	5.84	—	—
II <sub>b</sub>	73.08	146.76	128.93	128.89	129.52	21.81	0.62 2.13	—	—
Ⅵ <sub>b</sub>	58.2	145.2	130.7	129.5	127.5	—	—	—	—
Ⅶ <sub>b</sub>	42.6	142.3	129.9	129.2	126.9	—	—	—	—
Ⅷ <sub>b</sub>	21.5	138.5	129.7	129.0	126.1	—	—	—	—
IX <sub>b</sub>	45.79	147.54	129.24	128.50	126.88	—	—	22.35	—
X <sub>b</sub>	29.72	145.20	128.74	128.28	126.60	—	—	16.25	—

図2 Iの<sup>1</sup>H NMRスペクトル



VIよりもIの方がより大きな環電流効果を受け、0.5ppm余計にシフトしている。

### 3.4 カルバニオンの電荷分布

カルバニオンの余剰電荷分布を評価するには、水素より炭素の化学シフトの方が信頼性が高いように考えられる。IとVIのフェニル基の<sup>13</sup>C化学シフトはかなり良く一致しているが、C<sub>4</sub>についての違いが大きい。そこでシクロプロピル基への電荷の流れ込みは、IとVIの中心炭素のシフト差の分と考えられる。よってこの流れ込んでいる電荷を評価する標準としてI<sub>b</sub>の化学シフトを用いた場合中心炭素の再混成の評価が問題となる。混成の違いは非常に大きいため、同一混成と考えられるI, VI, VII, IXの<sup>13</sup>C化学シフトを比較すれば、R<sub>1</sub> = R<sub>2</sub> = C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>となりR<sub>3</sub>の効果を知る事ができない。先づフェニル基に流れ込む電子密度をC<sub>4</sub>のシフトにより評価すると、VI > I > VII > IXとなっている。しかしI, VII, IXの差は小さくフェニル基への電荷の流れ込みがほぼ等しいとすれば、この三者の中心原子のシフトの値が問題となる。それはI > VII > IXとなっており、従って電荷を受取る力は、R<sub>1</sub> = R<sub>2</sub> = C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>の場合に C<sub>4</sub>H<sub>5</sub> > C<sub>3</sub>H<sub>5</sub> > H > CH<sub>3</sub>となる。CH<sub>3</sub>基は電子供与基として知られておりこの傾向は一定合理的である。しかし、この場合は、中心原子の再混成の評価を等しく見積もっており、その点においてまだ問題はある。

### 文献

- 1) K. Takahashi, M. Takaki and R. Asami, J. Phys. Chem., 75, 1062 (1971).
- 2) K. Takahashi, Y. Kondo, R. Asami and Y. Inoue, Org. Magn. Resn., 6, 580 (1974).
- 3) K. Takahashi, Y. Kondo and R. Asami, J. Chem. Soc., Perkin II, 1978, 577.
- 4) J. J. Burke and P. C. Lauterbur, J. Am. Chem. Soc., 86, 1870 (1964).

表3 カルバニオン、先駆体、水との反応生成物のH-1 NMR化学シフト

(\*は溶媒に重なり、観測できない)

No.	溶媒	フェニル基			シクロプロピル		CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub> O	その他
		Ar <sub>1</sub>	Ar <sub>2</sub>	Ar <sub>3</sub>	α	β			
I	THF	7.05	6.65	5.79	0.8	( <sup>0.03</sup> <sub>0.8</sub> )	—	—	—
II	THF	6.10	6.45	5.38	*	*	—	—	*
III	THF	~6.4	~7.1	—	*	*	*	—	—
VI	THF	7.29	6.63	6.07	—	—	—	—	—
VII	THF	6.57 <sub>5</sub>	6.55	5.71	—	—	—	—	*
VIII	THF	5.59	6.12	4.79	—	—	—	—	*
IX	THF	6.86	6.60	5.72	—	—	*	—	—
X	THF	(5.03 5.46)	(5.99 6.23)	4.55	—	—	*	—	*
I <sub>a</sub>	CCl <sub>4</sub>	7.21	7.21	7.21	1.50	( <sup>0.22</sup> <sub>0.51</sub> )	—	3.15	—
II <sub>a</sub>	CCl <sub>4</sub>	7.14	7.14	7.14	1.0	( <sup>0.25</sup> <sub>0.48</sub> )	—	3/2	3.55
III <sub>a</sub>	CCl <sub>4</sub>	7.22	6.94	—	0.1	~1.3	—	3.11	—
IV <sub>a</sub>	CCl <sub>4</sub>	7.18	7.18	7.18	1.0	0.4	1.36	2.99	—
V <sub>a</sub>	CCl <sub>4</sub>	7.1	~7.6	—	0.1	~1.3	—	3.16	—
VI <sub>a</sub>	CCl <sub>4</sub>	7.26	7.26	7.26	—	—	—	2.99	—
VII <sub>a</sub>	CCl <sub>4</sub>	7.19	7.19	7.19	—	—	—	3.29	5.09
IX <sub>a</sub>	CCl <sub>4</sub>	7.12	7.12	7.12	—	—	*	3.05	—
X <sub>a</sub>	THF	7.26	7.26	7.26	—	—	1.38	3.16	4.26
I <sub>b</sub>	THF	7.20	7.20	7.20	0.6	( <sup>0.3</sup> <sub>0.6</sub> )	—	—	4.98
II <sub>b</sub>	THF	7.10	7.10	—	0.9	( <sup>0.4</sup> <sub>0.9</sub> )	2.29	—	5.08
VI <sub>b</sub>	THF	7.16	7.16	7.16	—	—	—	—	5.58
VII <sub>b</sub>	THF	7.21 <sub>5</sub>	7.21 <sub>5</sub>	7.21 <sub>5</sub>	—	—	—	—	3.98
VIII <sub>b</sub>	THF	7.16	7.16	7.16	—	—	2.32	—	—
IX <sub>b</sub>	THF	7.2	7.2	7.2	—	—	3.08	—	4.16
X <sub>b</sub>	THF	7.19	7.19	7.19	—	—	1.22	—	2.64

## 317 ニートピッチを用いた<sup>13</sup>C-NMRスペクトルによる構造研究

(三井アルミ、三池事業所) °西澤 節・ 恵羅彰男  
(大阪工試\*) 伊与田 惺\*

### 諸言)

現在、炭素材料のバインダーとして用いられているピッチの特性は、軟化点、固定炭素量、キノリン不溶成分量、その他のマクロな物性値で表わされている。(しかし、その特性をより正確に捕える為にはピッチ成分の構造についての知識が重要となる。この研究手段の中で最も有力なものとしてNMRがあり、これを応用しようとする試みは、数多くなされて来た。ところが、一般に、NMRのサンプルは、液体または溶液であることが必要とされていた為、溶解度がそれ程高くなく、かつ、種々の成分の混合物であるところのピッチへの応用の殆んど全ては、PMRによるベンゼン可溶成分の測定であった。

(しかしながら、ピッチ成分の骨格構造を調べる上には、CMRの測定が望ましい。そこで、最近、Fischer 等は、コールタールピッチを<sup>12</sup>CDCl<sub>3</sub>に溶解し、CMRの測定を行ない、ピッチの構造についての検討を行なっている。この研究は、<sup>13</sup>Cを除去した溶媒を用いたことにより、測定に成功しているのであるが、そのこと自体、及び、測定は約5日間の積算を必要とするという点で一般性に欠けていた。そこで我々は、ピッチのCMRの測定を容易にし、一般性を与える方法について研究し、それに成功した\*)

これは、ピッチに軟化点が存在する事に着目したもので、ピッチをそのまま加熱しながら測定を行なう方法である。これにより、ピッチのCMRが容易に測定出来るようになり、各種ピッチの構造比較、熱処理効果等について調べる事が可能となった。

### 実験)

サンプルとしては、3社で作られた、計9種のコールタールピッチを用いた。なお、参考として、別の会社の石油ピッチのベンゼン可溶成分も測定した。

サンプル調整： サンプルピッチは、サンプル管(10mm中)に適当に砕いて入れ、加熱融解する。又、基準シグナル及びロックシグナル用として、DMSO-d<sub>6</sub>又は、(DMSO-d<sub>6</sub>):(normal-DMSO)=1:1の混合物を、約3.4mm中のキャピラリーに封入し、サンプル管に入れた。なお、これらのDMSOには、緩和試薬として、アセチルアセトナトクロムを、約 $3 \times 10^{-2}$  mol/l 加えてある。又、ベンゼン不溶成分の測定に際しては、少量のキノリンをサンプルに加えた。

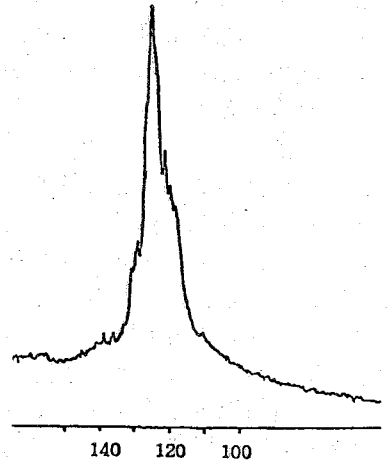
装置、及び、測定条件： ピッチのCMR測定には、JEOL PS-100 を用いた。パルス中は、11μsec(約45度)、パルス間隔 0.6sec、測定温度は、170°Cである。但し、ベンゼン可溶成分の測定は、JEOL FX-60 を、パ

にしざわ たかし、 えら あきお、 いよだ じゅん

ルス中、 $7 \mu\text{sec}$  (約45度)、パルス間隔  $0.7 \text{ sec}$ 、温度  $110^\circ\text{C}$  で行な  
 った。又、炭素定量の爲には、ノンテックアップリゲ法を用い、DUPONT 310  
 CURVE RESOLVER により解析を行なった。

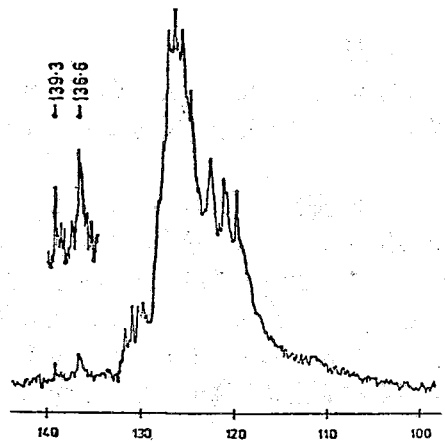
結果及び考察)

ピッチの測定: 図-1、及び 図-2 に今回の  
 の我々の方法(ニート法)によるスペクトルと、  
 Fischer 等<sup>1)</sup> によって測定されたものの、アロマトイ  
 ック領域を載せておく。溶媒抽出法による Fischer  
 等の方が明らかに分解能の点では優れているが、詳  
 しく見ると、情報量に大差なく、ニート法でも充分  
 であることが判る。一方、ニート法は、溶媒抽出  
 法に比べ、測定時間が約  $1/100$  になるという点で  
 大きな利点がある。さらに、高価な溶媒が不用で  
 あること、 $170^\circ\text{C}$  での測定は、一般の温度コント  
 ローラーで可能であるという点でも一般性のある方  
 法である。



(図-1) ニート法によるコールター  
 ルピッチのCMR (単位はPPM)

ピッチの構造比較: ニート法により、始めて  
 ピッチのCMRの数をこなせるようになった。  
 そこで始めに、各種コールタールピッチの構造比  
 較を行なったところ、アロマトイック領域のシグ  
 ナルの形、及び、シフト値が、どれもほぼ同じで  
 あった。このことより、オリジンの異なるコー  
 ルタールピッチでも、その骨核構造は、ほぼ同一  
 である事が判明した。又して、各種コールター  
 ルピッチの構造の違いの主たるものは、側鎖炭素  
 の量であった。なお、側鎖については、炭素数  
 の比較的少ないもの(1~4のもの)が主体であ  
 ることが、アリファティック領域のシグナルから  
 判った。

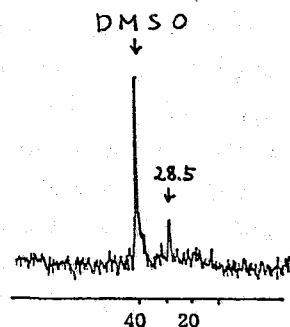


(図-2) Fischer 等<sup>1)</sup> により測定され  
 たコールタールピッチのCMR  
 (単位はPPM)

一方、参考として測定した、石油系のピッチに  
 ついては、アロマトイックの骨核構造がコールタ  
 ルピッチとは若干異なっていることと、非常に  
 多くの側鎖が存在することが認められた。



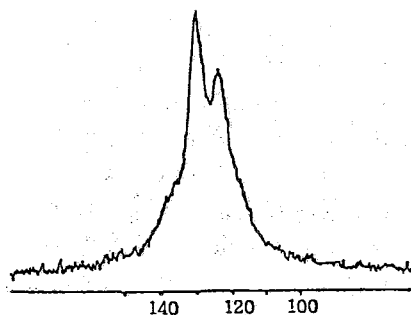
ベンゼン不溶成分の測定： ビッチのベンゼン不溶成分は、融解しない上に溶媒に対する溶解度が極めて低い為にこれまで、NMRのデータは無い。そこで今回、ベンゼン不溶—キノリン可溶成分に、キノリンを少量加え、17.5℃で転化させながら測定を行なった。アロマティック領域は、加えたキノリンのシグナルの為に役に立たないが、アリファティック領域は、1本のメチレン基シグナルしか観測されないことが判った。このこと、及び、その化学シフト値(28.5 ppm)より、ベンゼン不溶成分の中には、ポリアロマティック環どちらか、メチレン基で結合しているような分子が存在しているものと推定される。(図-3)



(図-3) ベンゼン不溶—キノリン可溶成分のCMR (アリファティック領域、単位は ppm)

熱処理効果： 次に、ベンゼン可溶成分(ビッチ中の低分子量成分)の熱処理による変化を調べた。その結果、熱処理してゆくに従って、アリファティック炭素の割合が増加してゆくことが判った。このことは、ビッチの熱による重合が、アリファティック炭素を持つている分子(側鎖のある分子)ほど、おこりにくいことを示しているものと思われる。

一方、アリファティック炭素間の、シグナル強度比を比較すると、約30 ppm のシグナル、即ち、9,10-ジヒドロフェナンスレンの、9,10の炭素(メチレン基)のような炭素に関しては、比較的簡単に脱水素反応が起こるらしく、その強度比が減少してゆくのが見られる。



(図-4) ベンゼン可溶成分のノンデカップリングによるCMR スペクトル (アロマティック領域、単位は ppm)

アロマティック炭素の定量： 短時間で、高いS/N比のスペクトルが得られるようになったことを利用して、ノンデカップリングスペクトルを測定してみた。約3時間の積算で、高S/N比のスペクトルを得ることが出来た。図-4に、その1例を示す。

このスペクトルは、NOEがない為、炭素の定量に適していると考えられる。そこで対応するサンプルのデカップリングスペクトルのシグナルの位置を参考として、このスペクトルから炭素の定量を行なった。なお、アロマティック炭素の $^1J_{C-H}$ の値は、約160 Hz とした。結果を表-1に示す。

ここで面白いのは C(2)の炭素(三つのアロマティック環に共有されている炭素)

である。この種の炭素のシグナルが、約124 ppm に現われることは、ピッチのモデル物質のCMRより判、ているが、しかしながら、このシフト値は、水素と結合しているアロマティック炭素のシグナルが現われる範囲内にある為、これまで区別をつけたことが出来なかつた。

今回、シミレーションに際し、ピッチ(でもこの位置に)本のシグナルを仮定しなければならぬことが、たことより、この位置に、水素と結合していない炭素も存在することが明らかになつたのである。(なお、テカップリニゲスバクトルト、シヨルターとして観測されてはいる)

表-1の下欄は、定量結果の正当性について調べたものである。

$A_T(C/H)_{NMR}$  は、CMRの解析結果より計算したアロマティック炭素の炭素原子と水素原子の比で、 $T(C/H)_{NMR}$  は、側鎖炭素の主体が、メチル基又は、9,10-ジヒドロフェナンスレンのメチル基のようなものを考慮に入れて計算した、ピッチ全体の(C/H)比である。又して、 $T(C/H)_{E.anal.}$  は、元素分析からの値である。この表のベンゼン可溶成分の結果を見ると、この炭素の定量結果は妥当なものと考えられる。なお、ピッチ全体の場合、元素分析値の方がNMRの結果より、(C/H)比が大きくなつてはいるが、これは、ピッチに含まれているフリーカーボン(固体)等、(C/H)比の大きなものを、NMRでは測定されない為である。又、熱処理後のベンゼン可溶成分のC(3)が増加しないのは、メチル基の増加に対し、メチル基の減少がある為、相殺されるのである。

表-1 アロマティック炭素の定量

	コーラタール ピッチ (A)	(A)のベンゼン 可溶成分	(A)を400°C 5分熱処理 後のベンゼン 可溶成分
CH(1) (126ppm)	49%	53%	48%
CH(2) (118~ 124ppm)	5%	3%	6%
C(1) (130ppm)	27%	22%	23%
C(2) (124ppm)	13%	11%	11%
C(3) (133~ 140ppm)	7%	11%	11%
$A_T(C/H)_{NMR}$	1.85	1.82	1.83
$T(C/H)_{NMR}$	1.44~ 1.58	1.25~ 1.43	1.26~ 1.44
$T(C/H)_{E.anal.}$	1.69	1.31	1.31

炭素の%はアロマティック炭素全量を100%としている。

CH: 水素と結合しているアロマティック炭素

C(1): アロマティックリング2個を結合している炭素 (◇)

C(2): 3個のアロマティックリングに結合している炭素 (◇)

C(3): 側鎖の根元の炭素 (◇)

$T(C/H)_{NMR}$  は、側鎖炭素の主体が、メチル基又は、9,10-ジヒドロフェナンスレンのメチル基のようなものを考慮に入れて計算した、ピッチ全体の(C/H)比である。又して、 $T(C/H)_{E.anal.}$  は、元素分析からの値である。この表のベンゼン可溶成分の結果を見ると、この炭素の定量結果は妥当なものと考えられる。なお、ピッチ全体の場合、元素分析値の方がNMRの結果より、(C/H)比が大きくなつてはいるが、これは、ピッチに含まれているフリーカーボン(固体)等、(C/H)比の大きなものを、NMRでは測定されない為である。又、熱処理後のベンゼン可溶成分のC(3)が増加しないのは、メチル基の増加に対し、メチル基の減少がある為、相殺されるのである。

\* ) P. Fischer et al. Fuel, 57 (1978), 345.

\*\* ) 西澤、伊与田 他 炭素材料学会 第6回年会 (1979).

1. 序 石炭、重質油等は極めて複雑な混合体であり、構成成分それぞれの化学構造を決定することは至難なことである。しかし石炭類等の化石燃料の有効利用法(液化、ガス化、コークス化)の開発にあたり、石炭類を混合物の集合として認識し、利用に適した集合の固有値(キャラクタリゼーション因子)を見い出す必要がある。磁気共鳴法から得られる緩和時間 ( $T_1, T_2$ ) を用いて、石炭、重質油等の複雑な構造を有する物質のキャラクタリゼーション<sup>12,23</sup>にあわせて、ピッチ類の炭化初期過程の化学構造変化を高温<sup>1</sup>H NMR およびプロトンエンハンスト<sup>13</sup>C NMR で検討した結果について述べる。

## 2. [実験方法]

2-1 試料 使用した石炭は日本炭4種、外国炭4種を用いた。表1に元素分析値を示す。重質油として エタレンタルピッチ(ET)、カフジ減圧残油(KF)、ワフラ減圧残油(WA)、ミナス減圧残油(SL)、A240ピッチ、Dピッチを使用した。その元素分析値を表2に示す。

2-2 測定 NMR分光器としてBruker社製Sxp. 4-100パルスフーリエ変換NMRスペクトロメーターを、磁石として同じくBruker社製の電磁石(固定磁場2.1T)および日本電子製の電磁石を改良したものを使用した。高温<sup>1</sup>H NMRスペクトル測定用プローブ、プロトンエンハンスト<sup>13</sup>C NMRスペクトル測定装置はBruker社製のものを使い、上記スペクトロメーターに接続して測定を行った。プロトンのスピナー格子緩和時間( $T_1$ )は $180^\circ$ - $7^\circ$ 法により25MHz~90MHzの周波数で測定し、スピナー-スピナー緩和時間( $T_2$ )については $90^\circ$ パルス後のFree Induction Decayから求めた。高温<sup>1</sup>H NMRスペクトルは共鳴周波数36.4MHz、掃引幅6kHzで観測した。プロトンエンハンスト<sup>13</sup>C NMRスペクトルはCross-polarization法により測定した。この時の<sup>13</sup>C、<sup>1</sup>Hの共鳴周波数はそれぞれ22.6MHz、90MHz、掃引幅は24kHz、contact timeは5~7msであった。

## 3. [結果と考察]

3-1 緩和時間による石炭類のキャラクタリゼーション 石炭中のプロトンの $T_1$ と石炭化度との間には図1のような相関が認められる。 $T_1$ は80% C付近で増加し始め、約86%

よこの てつろく みやざわ くにお 土はだ ゆくぞう

Table 1 Ultimate analyses  
of coal samples (daf %)

Coal	C	H
Taiheiyo	77.0	6.0
Akabira	83.0	6.1
Miike	83.5	6.2
Western Canadian bituminous	86.3	5.8
Yubarishinko	86.6	5.9
Indian Ridge	88.5	4.9
Six Bells	90.0	4.7
Hongay	93.1	3.2

Table 2 Ultimate analyses  
of pitches

Pitch	C	H
Ethylene tar pitch	94.3	5.5
Khafji VR	84.0	10.2
Wafra VR	83.6	10.4
Minas VR	87.2	12.2
A240	93.8	6.0
D	86.1	6.0

Cの石炭で最大値を示す。また86% Cを越えるとT<sub>1</sub>は急激に減少する。80~86% Cの範囲でのT<sub>1</sub>の増大は石炭の構造変化を反映するものと考えられる。一方86% C以上でのT<sub>1</sub>の減少はプロトンと不対電子の相互作用のためと説明される。すなわち、スピン濃度が増加するとT<sub>1</sub>は減少することが実験的に確かめられている。このC%とT<sub>1</sub>の関係を用いれば、粘結炭のキャラクタリゼーションをする際に極めて敏感なパラメーターとなる。試料が液体の時のNMRの線型はLorentzian型であり、固体のそれはGaussian型を示すことがよく知られている<sup>3)</sup>。これらの線型は分子運動の目安となる相関時間(τ<sub>c</sub>)によってキャラクタライズすることができる。τ<sub>c</sub> < 10<sup>-8</sup>(sec)のときは分子運動が液体的とみなされ、90°パルス後のFIDは(1)式で表わされる。

$$M(t) = M_0 \exp(-t/T_2) \quad (1)$$

一方、τ<sub>c</sub> > 10<sup>-8</sup>(sec)のときは分子運動は固体的であり(2)式で与えられる。

$$M(t) = M_0 \exp\left\{-\frac{1}{2}\left(\frac{t}{T_2}\right)^2\right\} \quad (2)$$

固体石炭には、T<sub>2</sub>からみて mobileな部分と im mobileな部分の2成分系から成っていることが判明した(図2)。石炭をアシル化すると大きく2つの分子量分布をもつことが報告されていることと対応されよう。また石炭に対する酸化の影響をT<sub>2</sub>の変化から調べると、mobileな領域より酸化が進行することを見い出している。木質成分のリグニン、セルロースの炭化では、T<sub>2</sub>は1成分だけしか観測されない<sup>5)</sup>。高温・高压下のどのような条件でこれらの成分に2成分のT<sub>2</sub>が現われるかということが石炭化反応解明の鍵をにぎるものと考えられる。

### (2) T<sub>1</sub>に対するスピン拡散効果

石炭、重質油は地殻の作用による地圧、地熱等により熱変成を受け入れたため、および過去に生物であったという由来により種々の有機ラジカルが ~10<sup>19</sup> (spins/g) 単磁性イオンラジカルが ppm の orderで存在する。そこでプロトンの緩和が隣合うスピンの相互反転を通して起こるスピン拡散によって引き起こされることは分子想される。スピン拡散がプロトンの緩和の機構となる時にはT<sub>1</sub>と核の周波数との間に

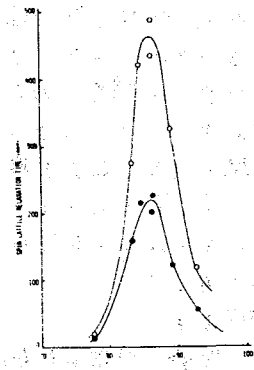


図1 石炭化度とスピン-格子緩和時間(T<sub>1</sub>)の関係  
● 真空中、○ 真空中

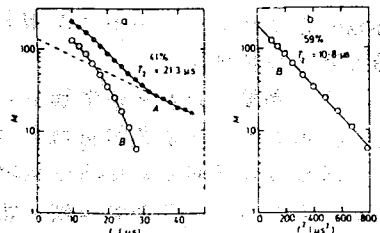


図2 90°パルス後のFIDよりのスピン-スピン緩和時間(T<sub>2</sub>)解析(夕張新鉱炭)  
図中●丸は原データ、Bは原データよりT<sub>2</sub>の長い成分を差し引いた結果

Table 3 Frequency dependence of spin-lattice relaxation times in coals

Coal	T <sub>1</sub> , ms				
	90 MHz	40 MHz	36.4 MHz	30 MHz	25 MHz
Yubarishinko	488 <sup>a</sup> (230) <sup>b</sup>	333(122)	303	258(116)	208(90)
Miike	405		263	200	172
Six Brills	377	242	232	203	143

<sup>a</sup> in vacuo  
<sup>b</sup> in air

次式の関係がある<sup>6)</sup>

$$T_1 \propto [1 + \omega I^2 \tau^2]^{-1/2} \quad (3)$$

ここで $\omega I$ は核の周波数、 $\tau$ は電子の縦緩和時間である。

表3にスピン-格子緩和時間の周波数変化を示す。周波数が低くなるにつれて、いずれの石炭の $T_1$ が短くなる。図3には $T_1^4$ を核の周波数の平方の関数として図示してある。(3)式の関係が成立していることから、石炭中プロトンの $T_1$ の緩和機構としてスピン拡散の効果が作用しているものと考えられる。Mike炭及びSix Bells炭についても同様 $T_1^4$ と $\nu^2$ の間に直線関係が得られた。一方スピン-スピン緩和時間( $T_2$ )に対してはラジカル濃度の影響が少ないことから $T_2$ の緩和は主にproton-proton dipole相互作用によるものと考えられる。

3-2 高温<sup>1</sup>H NMRによるピッチ類の熱分解過程  
 高温<sup>1</sup>H NMRを用いることにより石炭、ピッチ類の分子運動および芳香族水素分率( $f_{Ha}$ )の変化およびそのkineticsに関する情報が得られることはすでに報告した<sup>7)</sup>。ここでは炭化生成物として大きな異方性単位を有するピッチ(SL, ET)と小さな異方性構造単位のピッチ(KF, WA)の高温での挙動を検討した。両グループのいずれのピッチとも350℃以上から芳香族水素分率( $f_{Ha}$ )の増加が見られる。出発物質のピッチの $f_{Ha}$ および炭化途中のその値と異方性構造単位の大きさの間にはあまり相関はないようである。しかし大きな異方性構造を示すピッチは高温での溶融領域が異方性構造の小さなピッチよりも5-10℃位広がる傾向にある。最近著者らは水素供与能力の大きいピッチは大きな異方性構造単位を与えることを9,10 dihydroanthraceneのプロトンピークをモニターすることにより明らかにした<sup>8)</sup>。今後は熱安定なピッチの化学構造と軟化溶融領域の拡大に対してESR法によるラジカル挙動を含めて考慮したいと考えている。

3-3 プロトンエンハンスト<sup>13</sup>C NMRによるピッチ類の炭化過程

従来の<sup>13</sup>C NMRは液体試料に限られていたが最近石炭そのものでも液体と同様のスペクトルが得られるようになって来た。ここでは2種のピッチAと40, Dを600℃, 800℃で熱処理し、炭化過程に伴う芳香族炭素分率( $f_a$ )の変化をプロトンエンハンスト<sup>13</sup>C NMRを用い

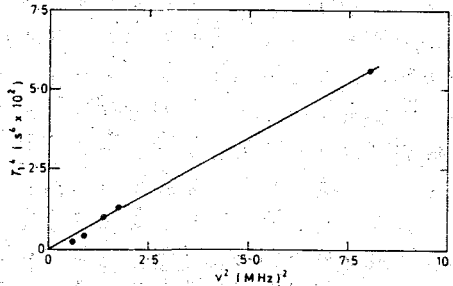


Figure 3 Spin-lattice relaxation times of protons in Yubarishinko coal, caused by radicals. The fourth power of  $T_1$  has been plotted against the square of the frequency at room temperature. Note that the plot is rectilinear

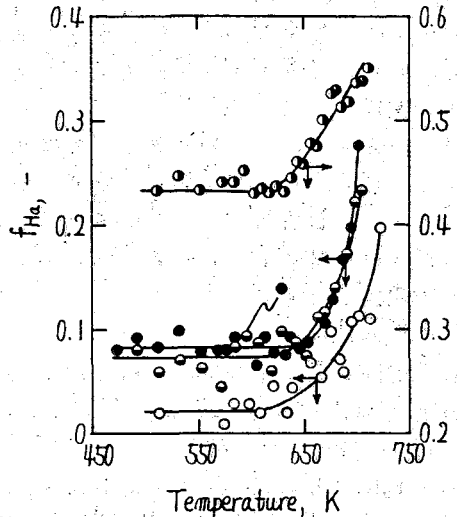


Fig. 4 Temperature dependence of hydrogen aromaticity ( $f_{Ha}$ ); ○ SL, ● KF, ● WA, ● ET. Heating rate is 2K·min<sup>-1</sup>.

て検討した。固相での<sup>13</sup>C NMRスペクトルを測定した結果を図5、図6に示す。スペクトルは芳香族と脂肪族炭素のピークの重なりから出来ており、化学シフトの異方性および異なる等方的な化学シフトの重なりにより、broadeningが起きていると考えられる。炭化処理温度が高くなるにつれてピッチA240ではfaが増加し、800°Cではほとんど脂肪族炭素のピークが観測されなくなる事がわかる。ピッチDについてはfa = 0.50から500°Cでfa = 0.90に増加している事がわかる。以上の結果は加熱処理により縮合芳香族環構造が発達するためと考えられる。このように磁気共鳴法は石炭、ピッチ類の複雑な構造を有する物質に関する研究や炭化初期過程の挙動に有力な知見を与える。さらに石炭類とピッチ類との共炭化、コークス化、重質油oup-grading、石炭の液化の研究にも大いに役立つものと考えられる。

#### 4 謝辞

CP法については科研費を一部使用した。また、Pulse <sup>1</sup>H NMRの測定の便宜を計っていたが、又高温用シムユイルを作っていたいたNMR研究室の下川繁三氏、山田英二氏に感謝致します。

#### References

- 1) T. Yokono and Y. Sanada, Fuel 1978, 57, 334
- 2) T. Yokono, K. Miyazawa and Y. Sanada, Fuel 1978, 57, 555
- 3) R. Kubo, "Advances in Chemical Physics", Ed. K.E. Schuler, Interscience publishers, New York (1969) vol 15 p.101
- 4) H.P. Hombach et al., Zum "Molekulargewicht" der Steinkohle Erdöl & Kohle, Erdgas, Petrochemie 32 (3); 134
- 5) 丸山 敬彦 私信
- 6) A. Abragam "The Principles of Nuclear Magnetism", Oxford, London 1961
- 7) 下川等, 才18回NMR討論会

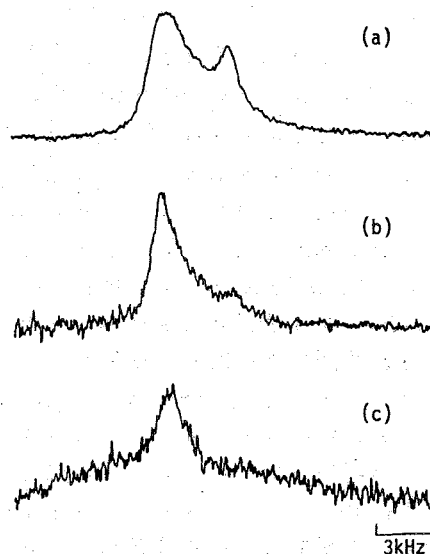


Fig. 5 CP spectra of A240 pitch (a) original, (b) 500°C and (c) 800°C.

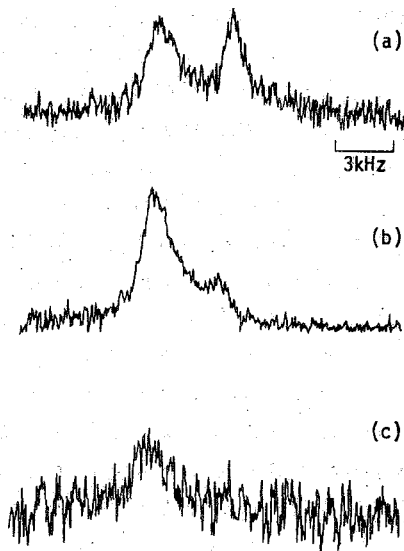


Fig. 6 CP spectra of pitch D (a) original, (b) 500°C and (c) 800°C.

8) T. Yokono et al., submitted to Fuel

319 高温高压高分解能NMR (NMR オートクレーブ) による  
熱分解過程の直接測定—化石燃料生成機構へのアプローチ—

(北大工)・下川 繁三, 山田 英二, 牧野 和夫, (日産ソフト)

神田 勇一

〔序〕 高温で熱溶融状態にある高分子は分解や縮重合の諸反応が競合した疑似的な平衡状態にある。そして液相内に秩序が形成されることが知られている。塩化ビニル (PVC) の熱分解過程は此の様な高温液体の性質を調べる上で良いモデルであることを先に示した<sup>1)</sup>。我々の開発した高温高分解能NMRは高温液体の構造や状態の変化をよく検出することが判った。しかしながら常圧での此の様な反応過程では分解生成物の逸出、ガス化等によつて反応物が失われることが多く、十分な情報を呈供してくれずとは云いがたい。高压反応容器であるオートクレーブ (ACV) は上述の熱反応にもよく用いられるが、途中の経過は全く不明である。ゆづかに熱的变化を検出する程度のブラックボックスであった。他方に於いて、エネルギー源である化石燃料、石炭の生因は植物 (或は動物質も含め) が古い時代に高温 (幾百度) 高压 (~数百 bar) 及び生物に依り分解も加えて、 $10^6$  年の単位で生じたと云はれるが明らかでない。我々の意図する処はNMRに、加圧下での熱反応を追跡してみようと言うことである。現在我々の知る処では高温での反応過程にNMRを加圧下で応用した例はない<sup>2)</sup>。今回は特に装置開発上の問題を詳しく検討して見たので報告する。

〔いくつかの問題点〕 静磁場の中で高温に保ち且圧力を増加することは極めて異常な危険性の多い作業である。現在入手出来る最も良い金属材料を用いたとしても、そこには厳しき制限が存在する。特に高分解能NMRとしては未知の分野でもある。次の点を検討した。1) 高温高压の範囲、2) 耐熱耐圧材料とプローブの分解能、3) 安全且実用的なプローブの構成、4) 加熱ヒーターの構造及びその電源、冷却機構等である。又本装置を用いての常圧と加圧型で液化の機構に差があるか否か、5) 植物や動物はどの様に液化或は炭化するかなどである。

〔実験装置〕 高温で且高压のための耐圧耐熱プローブは目標を温度  $500^{\circ}\text{C}$ 、圧力は  $400\text{ bar}$  として製作した。これは電磁石の磁極間隙やヒーター用コイルの大きさによつて決めた。そうして現在我々は増圧機を持つていないので、常用  $500^{\circ}\text{C}$ 、 $250\text{ bar}$  として使うことにした。本図はそのシステムを示す。系はすべてガス圧によつて保持される。

この圧力はボンベ (B) の圧力によつて調節される。気体は通常  $\text{N}_2$  ガスを用い、場合によつて  $\text{CH}_4$ 、 $\text{H}_2$  等を用いた。圧力  $150\text{ bar}$  近く迄は B のボンベにより加圧し、 $150 \sim 400\text{ bar}$  は図の M に示す増圧器 (他の研究室にある) によつて加圧出来る様になっている。圧力の読みは BG のブルドン型圧力計によつて計った。此のシステムの特徴は 1) 増圧器

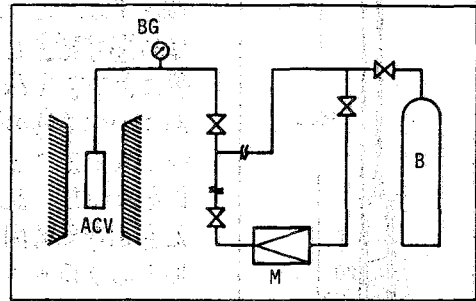


FIG. 1. The high pressure system.

しめかわ しげどう, やまだ えいじ, まきの かづお, かんだ ゆういち

と離れた処にあるNMR磁石に運搬出来ること。2)自然冷却方式を持つこと(後述)であらう。図のACVは4タン合金のオートクレーブを示す。2回は耐熱耐圧容器(プローブ)2種を示す。此のプローブは内径7mm、外径13mm及20mmのもので本実験の大部分は(A)のプローブを用いた。此の内部に入る共振回路等のコイルの導線は1mmの保護管によつて上部につながつている。導線(Cu線)の取出部はテフロンにより絶縁されて取出される。導線の一端はプローブ本体に接地する方式をとつてゐる。4タン合金に接続するナットや圧力導入部はすべて非磁性ステンレス(SUS 316)を用いた。パイプの内径は1.5mmでプローブ接合部のみ3mmとした。実験中はブルド型(型)の圧力計を磁石の外で見える位置におき監視した。3回は耐圧プローブに入る試料セルである。我々は外径5mmの耐熱ガラス管を加工し、コイル部と底部と毛细管部に分けてある。試料は粉末で約0.2g入る。共振コイルは試料セルごとく巻いて耐熱セメントで固定した。導線の一端は1mmの保護管によつて同調回路に導びかれてゐる。此のプローブは外熱式であるのであらかじめプローブ内部と外部の温度を計り熱電対の示す温度を補正した。分解能についで述べると、我々の磁石は電流シムの調節により金属プローブが無い場合、又耐熱セメントをばらばらとすると5mmφのセル中の木の半直中は1.5Hz~2Hzで $10^{-8}$ を越えてゐる。しかしながら4タン合金並びに耐熱セメント中の不絶物によつて、分解能は15~20Hz、即ち $10^{-7}$ と悪くなることが判明した。(いづれもスピードはしてゐる)20Hzの分解能は熱分解過程の液体を測定する上で十分良い値と考へらる。試料セルの上部の毛管は高温で発生したガスの流出を少なくするためのもので、此の毛管によつて生成物の逸出は非常に少なくなつた。しかしながらわづかの気体の発生流出によつて加圧系及び試料セルの外部が少し汚れることもあるが、これが試料からの信号を困らすことはなかつた。此の試料セルは測定ごとに新しいセルと取り替え毎回電氣的同調を取つた。4回はプローブヘッド部分でアルミのブロックから仕上げたものである。外径は5mmで内部に最大40%迄の空間を持つことが出来る。現在は内径25%の石英管の外側にニッケル・クロム合金の発熱線を交互的に巻き磁界の生ずるのを出来るかぎり除く様にした。ヒーターの電源は市販の直流電源により供給した。通常500℃迄はRを150Wの容量で十分であつた。使用中は冷水を流入させてゐるので磁場への温度の影響は無かつた。磁場の検出は中心外側に授

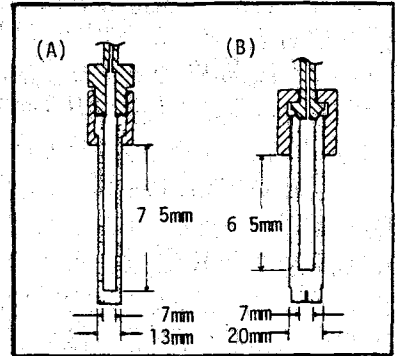


FIG.2 Titanium high pressure probe.

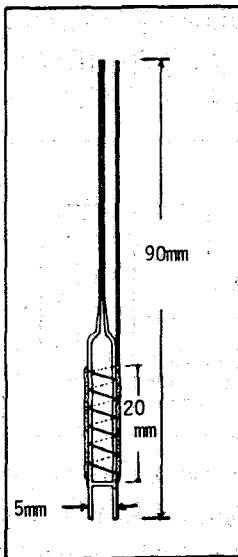


FIG.3 High temperature sample cell.

と離れた処にあるNMR磁石に運搬出来ること。2)自然冷却方式を持つこと(後述)であらう。図のACVは4タン合金のオートクレーブを示す。2回は耐熱耐圧容器(プローブ)2種を示す。此のプローブは内径7mm、外径13mm及20mmのもので本実験の大部分は(A)のプローブを用いた。此の内部に入る共振回路等のコイルの導線は1mmの保護管によつて上部につながつている。導線(Cu線)の取出部はテフロンにより絶縁されて取出される。導線の一端はプローブ本体に接地する方式をとつてゐる。4タン合金に接続するナットや圧力導入部はすべて非磁性ステンレス(SUS 316)を用いた。パイプの内径は1.5mmでプローブ接合部のみ3mmとした。実験中はブルド型(型)の圧力計を磁石の外で見える位置におき監視した。3回は耐圧プローブに入る試料セルである。我々は外径5mmの耐熱ガラス管を加工し、コイル部と底部と毛细管部に分けてある。試料は粉末で約0.2g入る。共振コイルは試料セルごとく巻いて耐熱セメントで固定した。導線の一端は1mmの保護管によつて同調回路に導びかれてゐる。此のプローブは外熱式であるのであらかじめプローブ内部と外部の温度を計り熱電対の示す温度を補正した。分解能についで述べると、我々の磁石は電流シムの調節により金属プローブが無い場合、又耐熱セメントをばらばらとすると5mmφのセル中の木の半直中は1.5Hz~2Hzで $10^{-8}$ を越えてゐる。しかしながら4タン合金並びに耐熱セメント中の不絶物によつて、分解能は15~20Hz、即ち $10^{-7}$ と悪くなることが判明した。(いづれもスピードはしてゐる)20Hzの分解能は熱分解過程の液体を測定する上で十分良い値と考へらる。試料セルの上部の毛管は高温で発生したガスの流出を少なくするためのもので、此の毛管によつて生成物の逸出は非常に少なくなつた。しかしながらわづかの気体の発生流出によつて加圧系及び試料セルの外部が少し汚れることもあるが、これが試料からの信号を困らすことはなかつた。此の試料セルは測定ごとに新しいセルと取り替え毎回電氣的同調を取つた。4回はプローブヘッド部分でアルミのブロックから仕上げたものである。外径は5mmで内部に最大40%迄の空間を持つことが出来る。現在は内径25%の石英管の外側にニッケル・クロム合金の発熱線を交互的に巻き磁界の生ずるのを出来るかぎり除く様にした。ヒーターの電源は市販の直流電源により供給した。通常500℃迄はRを150Wの容量で十分であつた。使用中は冷水を流入させてゐるので磁場への温度の影響は無かつた。磁場の検出は中心外側に授



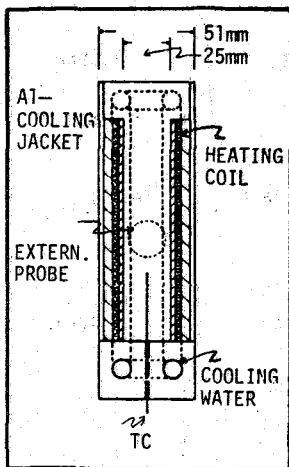


FIG.4. High temperature probe assembly.

上に圧力の増加のなり理由の一つである。又TD-PVC試料はすでに熱処理で脱HCl反応を行なっている故に発生するガスは熱分解で生じたC-H等のみと考えられる。常圧と加圧下での環化度を比べて見ると常圧では450℃で30%となるが加圧下では500℃で50%となった。

オ6図は乾燥した魚の筋肉を加圧下で熱分解したものである。475℃迄の昇温で100barから140barの圧力の増加が認められた。270℃で二成分の信号が出現したが低磁場のピークは動きやすく水と考えられる。300℃で出現し375℃で見える小さな信号は芳香族に由来す

入される外部磁場ロック用の信号を用いて確かめた。熱電材は耐圧セルの下部に接触する様になっている。

〔実験の結果〕 高温高圧の実験は上述各部の性能を最大限に引き出すことで可能となる。オ5図は温度350℃で熱処理をしたTD-PVCの結果である。初圧130barで昇温すると常圧の場合と異なり450℃でもまだ環化は進行している。500℃で芳香族と脂肪族のプロトン強度が反転した。昇温速度は2℃/min.である。515℃では信号強度は減少し液晶化が進んでいることが線巾の広がりから判る。圧力は130bar, 25℃が150bar, 515℃となった。此のことは非常に重要である。即ち我々の高圧装置はその一部が発熱より十分離れているので温度の上昇にもかかわらずガス化した一部は冷却されている。これが150bar以

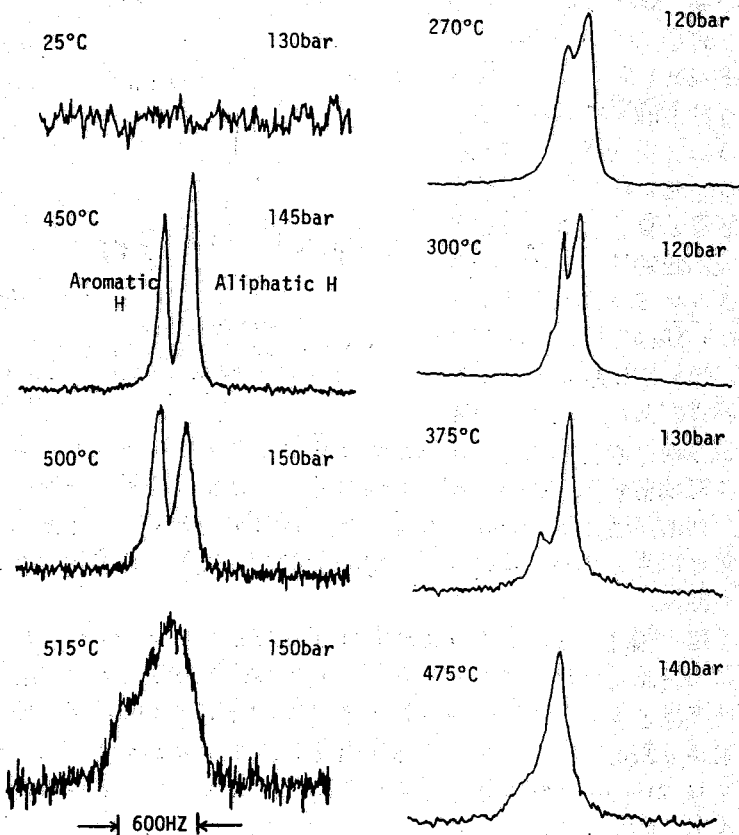


FIG.5. Temperature and pressure dependence, proton spectra of thermally decomposed PVC.

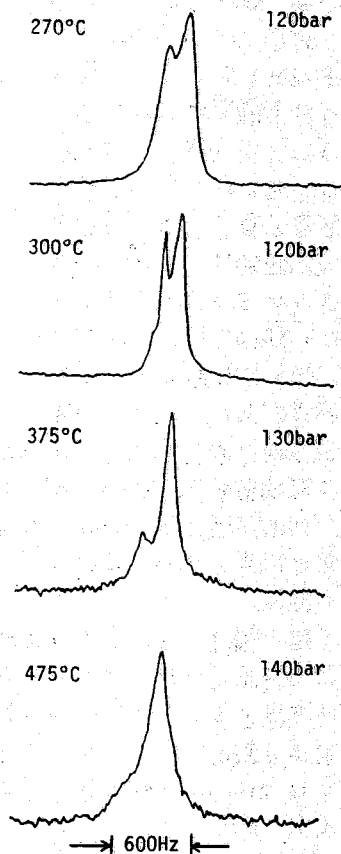


FIG.6. Temperature and pressure dependence, proton spectra of fish's muscle.

ると考えられ動物においても環化の進行(液化・結晶化)が認められた。475℃では液晶化が生じ線巾が増大している。しかしながら動物のもの(Whole body)の実験例では必ずしも良い液晶は生成しない場合がある。これは骨の成分であるCa等の金属の割合が多いためと考えられる。中7図は木の実質部(松の木)を高温で処理したものである。初圧100barが500℃で145barとなった。信号成分は比較的単純で変化は少ないことが判る。これは木材中のセルロース等が酸素等を多く含むためと推定される。植物はシダ類が適当と云はれているのでそれを用いた処理も行う予定である。中8図は石炭(夕張炭)の結果である。350℃です

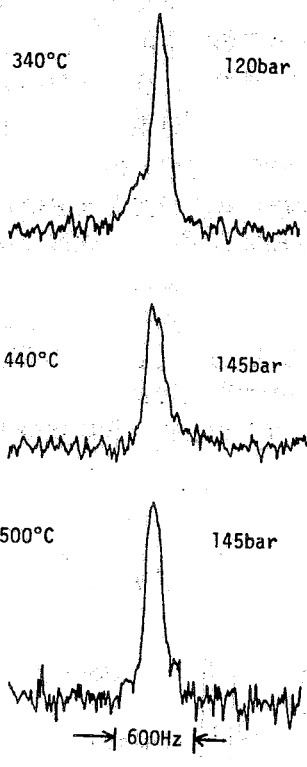


FIG.7. Temperature and pressure dependences, proton spectra of wood materials.

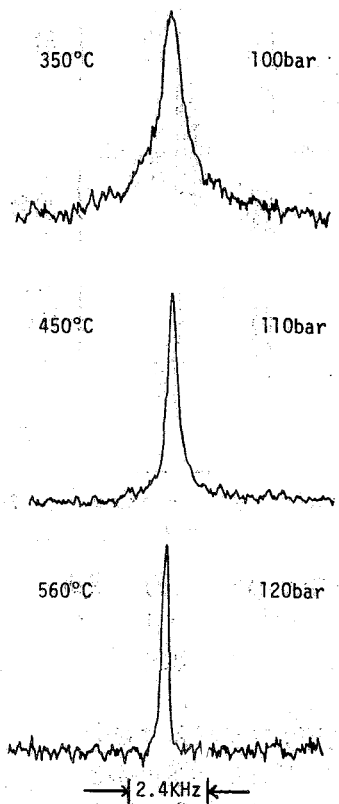


FIG.8. Temperature and pressure dependences, proton spectra of coal.

目の広がりが見える。此の成分は液晶化してベースラインに消えているがスペクトルの変化は観測出来た。560℃で120barとなっているのは系の一部に圧力もれが生じたためである。別の実験では150barに上昇した。TD-PVCをメタン雰囲気中で熱分解したと特に大きな変化は $N_2$ 中と比べてなかった。緩和測定( $T_1, T_2$ )や $H_2$ 雰囲気での熱分解も別に報告する予定である。

〔結論〕 500℃(或る場合には560℃)で200bar近のオートクレーブ中で熱分解反応を直接NMRプロトンスペクトルから観測することが出来た。合金オートクレーブは高温でよくガスを吸収するので実験に使用する回数には制限される。今後ハンドポンプや気液分離のセパレーターが入手出来ると常用400bar, 500℃が可能となる。最終目標としては2Kbar, 500℃を考えている。我々は此のACVを「NMRオートクレーブ」と呼ぶ。

〔文献〕

- 1) J.D. Brooks and G.H.Taylor, Carbon 3, 185 (1965).
- 2) S.Shimokawa et. al., to be published 18th NMR Conference p33-36 (1979)
- 3) G.B. Benedek "Magnetic Resonance at High Pressure" Interscience publishers 1963.  
J.G.Powles and M.C. Gouch, Mol. Phys. 16 349(1969), J. Jonas, Rev. Sci. Instr. 43 643(1972)  
U.El-Hanany and W.W. Warren, Jr. Phys. Rev. Lettr. 34 1276(1975).