

第16章 2次元NMR - ^{13}C , ^{15}N

16.1 ^1H - ^{13}C の J - 分解 2次元NMR

^{13}C (^{15}N その他スピン 1/2 の核) においても ^1H と同様な2次元NMRが可能である。しかし、天然存在比の ^{13}C では、 ^{13}C 同士の J 結合の確率が極めて小さいので、特別な場合を除いて、 ^1H のCOSYのような等核の相関NMRは有益ではない。それに対して、多くの場合、 ^1H との J 結合を利用した ^{13}C 、 ^1H 2核の2次元NMRが重要となる。まず、 J 分解 2次元NMRから考えよう。

図 16. 1 に ^1H - ^{13}C J - 分解 2次元NMRの測定パルス系列を示す。図でDECは高出力の広帯域 ^1H デカップリング、SATはNOEが得られる程度の低出力のデカップリングである。(a) は最も単純なパルス系列である。発展期で ^{13}C 横磁化は化学シフトと J_{CH} 結合のもとで時間発展する。検出期では ^1H を広帯域デカップルして、 ^{13}C の化学シフトのみを残す[1]。 $\omega_1 = \omega_2$ の対角線上に、 ω_1 軸方向には J_{CH} による多重線、 ω_2 軸方向には ^1H デカップルされた ^{13}C スペクトルが現れる。

(b) の系列では、 ω_1 軸に含まれる ^{13}C の化学シフトを取り除くために、発展期の中央に ^{13}C 180°パルス挿入する。前半で ^1H をデカップルして ^{13}C 化学シフトのみで時間発展させ、後半で化学シフトと J_{CH} 結合の両方で時間発展させる。 ^{13}C 化学シフトは再結像して、 J_{CH} 結合のみが残り、エコーは t_1 に関して J_{CH} で変調される。検出期には ^1H をデカップルしているので、 ω_2 軸方向には ^1H との J_{CH} による分裂を含まない ^{13}C 化学シフトのみのスペクトル、 ω_1 軸方向には、 ^{13}C と ^1H の J スペクトルが現れる (gated decoupling法) [2]。発展期の ^1H デカップリングを後半に持ってきてもよい。 ^{13}C に2個以上の ^1H が結合しており、かつ ^1H 同士が J_{HH} で結ばれている場合にも、 ω_1 軸方向には、通常の ^{13}C スペクトルの多重線が現れる。(文献2では、検出期に ^1H のデカップルを行っていないので ω_2 軸方向に多重線構造が現れ、また、 ω_1 軸周波数の正負の区別をしていないので $\omega_1 = 0$ に関して折り返したスペクトルになっている。)

(c) の系列では、発展期で ^{13}C と同時に ^1H にも180°パルスを加える (spin flip法) [3]。互いに J_{HH} 結合した2つ以上の ^1H があり、それらのうち少なくとも1つの ^1H と J_{CH} 結合でしている ^{13}C について、この方法でえられる ω_1 軸方向のスペクトルは、 ^1H 同士の結合が弱い場合には、通常のスペクトルの多重線構造と同じになる。しかし、 ^1H 同士の結合が強い場合には、両者は一致しないので注意しよう。これは、固有状態が単純な

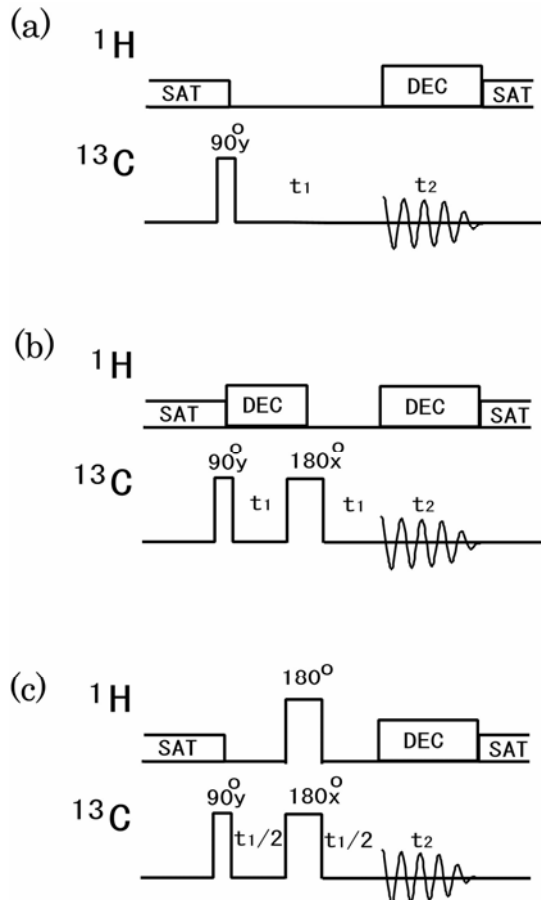


図 16.1 ^1H - ^{13}C J - 分解 2 次元 NMR 測定のパルス系列 . DEC は高出力の広帯域 ^1H デカップリング . SAT は NOE が得られる程度の低出力のデカップリング . (a): 最も単純なパルス系列 . (b): gated decoupling 法 . (c): spin flip 法

基本積関数でなく、それらの線結合で表されるため、 180° パルスによって作られる状態は、固有状態の混合したものになるからである。Bodenhausen は ABX 系について詳しい計算を行った[4]。

第 7 章 5 節に示した ABX 3 スピン系で考えてみよう。A, B を ^1H , X を ^{13}C とすると、2 つの強く結合した AB の ^1H による ^{13}C 多重線は、図 7.6 に示すように 6 本線からなる。このうち共鳴 9 は、表 7.6 の固有状態 8 と 7 の間の遷移である。発展期の中間に挿入した ^1H , ^{13}C 180° パルスによって状態 8 は状態 1 に、状態 7 は状態 2 に変わるので、前半で共鳴 9 の周波数で発展し、後半で共鳴 1 2 の周波数で発展する。これは ω_1 軸上の $-(J_{AX} + J_{BX})/2$ にピークを与える。次に、共鳴 1 0 を考えよう。これは固有状態 5 と 3 の間の遷移である。 180° パルスによって、状態 5 は状態 3 と 4 の混合に、状態 3 は状

態 5 と 6 の混合に変わる。したがって、前半で共鳴 10 の周波数で発展するものは、後半で、状態 6 - 4, 6 - 3, 5 - 4, 5 - 3 間の遷移の周波数で発展する。これらは ω_1 として $(D_+ - D_-)$, $-D_-$, D_+ , 0 にピークを与える。他の遷移についても考えると、spin flip法は、 ω_1 として 0, $\pm(D_+ - D_-)$, $\pm(J_{\text{AX}} + J_{\text{BX}})$, $\pm(D_+ + D_-)$, $\pm D_-$, $\pm D_+$ にピークを与える。したがって、共鳴 9 と 12 を除いて、他の共鳴については通常の多重線のピーク以外に、通常のスเปクトルの多重線には現れない 0, $\pm D_-$, $\pm D_+$ にもピークが現れることに注意しよう。

16.2 $^1\text{H} - ^{13}\text{C}$ 化学シフト相関 2 次元 NMR

(A) CH-COSY ($^1J_{\text{CH}}$ で結合している ^{13}C と ^1H との化学シフト相関 2 次元 NMR)

^{13}C と化学結合 1 つ隔てて $^1J_{\text{CH}}$ で結合している ^1H との化学シフトの相関を決める 2 次元 NMR も有用である [5-9]。これを CH-COSY, $\text{H}_2\text{C-COSY}$ ($\text{H}_2\text{X-COSY}$) あるいは HETCOR という。図 16.2 に CH-COSY の測定パルス系列 (a) とコヒーレンス移動経路 (b) を示す。発展期の間 ^{13}C 180° パルスをおいて、 ^{13}C と ^1H との J 結合をデカップルする。 ^1H 化学シフト (ω_{H}) で時間発展した ^1H 横磁化は、 $\tau_1 = \pi / ^1J_{\text{CH}}$ の待ち時間と ^1H および ^{13}C の 90° パルスで ^{13}C に磁化移動する。 τ_1 の間の $^1J_{\text{CH}}$ 結合による時間発展を残し、 ^1H 化学シフトによる時間発展を再結像するために、 τ_1 の中間に ^1H , ^{13}C 両者に 180° パルスを加える。 ^1H から ^{13}C へ磁化移動した磁化は逆位相横磁化なので、デカップルすると消えてしまう。そこで、さらに τ_2 時間待って順位相横磁化になってから ^1H をデカップルする。この間の ^{13}C の化学シフトによる時間発展を再結像するために、 τ_2 の中間に ^1H , ^{13}C 180° パルスを挿入する。 ^1H が磁化移動した ^{13}C (ω_{C}) を観測するので、感度は $\gamma_{\text{H}}\gamma_{\text{C}}^{3/2}$ に比例する。

CH 2 スピン系について、直積演算子法で考えてみよう。 ^1H スピンを I , ^{13}C スピンを S で表し、熱平衡状態における密度行列を

$$\sigma_0 = \gamma_{\text{H}} I_z + \gamma_{\text{C}} S_z$$

とする。N タイプのスเปクトルを得るために、図 16.2 (b) に示した太線のコヒーレンス移動経路を選択する。2 番目の ^1H 90° パルス前後のコヒーレンス次数差 $\Delta p_{\text{H}2}$ が、 $-1, 0, +1$ のなかから $+1$ を選ぶ。そのために ^1H 第 2 90° パルスの位相を $x, y, -x, -y$ と回し、積算位相を $x, -y, -x, y$ と回す。

^1H 第 2 90° パルスの位相が x の時、FID 取り込み直前の密度行列は、

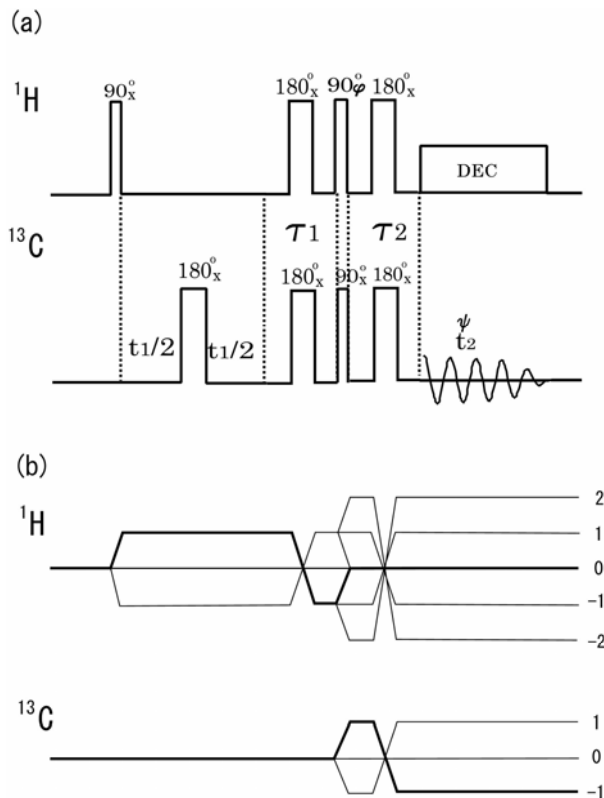


図16.2 (a) CH-COSYのパルス系列．発展期 (ω_1 軸) に ^{13}C と ^1H との結合をデカップルし，検出期 (ω_2 軸) にすべての ^1H を広帯域デカップルしている． $\tau_1 = \pi/{}^1J_{\text{CH}}$ ， $\tau_2 = 0.3\pi/{}^1J_{\text{CH}}$ ．パルス位相 ϕ は x , y , $-x$, $-y$ と回し 積算位相 ψ を x , $-y$, $-x$, y で測定する．(b)コヒーレンス移動経路．太線はNタイプを選択した場合

$$\begin{aligned}
 \sigma_x &= \gamma_{\text{H}} \cos({}^1J_{\text{CH}} \tau_1/2) \cos({}^1J_{\text{CH}} \tau_2/2) \sin(\omega_{\text{H}} t_1) I_x - \gamma_{\text{H}} \cos({}^1J_{\text{CH}} \tau_1/2) \cos(\omega_{\text{H}} t_1) I_z \\
 &+ \gamma_{\text{H}} \sin({}^1J_{\text{CH}} \tau_1/2) \sin({}^1J_{\text{CH}} \tau_2/2) \sin(\omega_{\text{H}} t_1) S_x - \gamma_{\text{C}} \sin({}^1J_{\text{CH}} \tau_2/2) 2 I_z S_x \\
 &+ \gamma_{\text{C}} \cos({}^1J_{\text{CH}} \tau_2/2) S_y - \gamma_{\text{H}} \sin({}^1J_{\text{CH}} \tau_1/2) \cos(\omega_{\text{H}} t_1) 2 I_x S_y \\
 &- \gamma_{\text{H}} \cos({}^1J_{\text{CH}} \tau_2/2) \sin({}^1J_{\text{CH}} \tau_1/2) \sin(\omega_{\text{H}} t_1) 2 I_z S_y \\
 &+ \gamma_{\text{H}} \cos({}^1J_{\text{CH}} \tau_1/2) \sin({}^1J_{\text{CH}} \tau_2/2) \sin(\omega_{\text{H}} t_1) 2 I_y S_z
 \end{aligned}$$

である．積算位相を x にしてデータを取り込むと，信号強度は

$$\begin{aligned}
 S_{xx}(t_1, t_2) &= \gamma_{\text{H}} \sin({}^1J_{\text{CH}} \tau_1/2) \sin({}^1J_{\text{CH}} \tau_2/2) \sin(\omega_{\text{H}} t_1) \exp(i\omega_{\text{C}} t_2) \\
 &+ i\gamma_{\text{C}} \cos({}^1J_{\text{CH}} \tau_2/2) \exp(i\omega_{\text{C}} t_2)
 \end{aligned} \tag{16.2.1}$$

となる．これを t_2 , t_1 について複素フーリエ変換すると， $(\omega_2, \omega_1) = (\omega_{\text{C}}, \pm\omega_{\text{H}})$ と $(\omega_{\text{C}}, 0)$ に信号を示す．前者は磁化移動で強度が増強された ^1H と ^{13}C の化学シフト相関のピークで，

後者は初期状態の¹³C磁化による軸性ピークである。この軸性ピークを消去するために、第2¹H90°パルスの位相を $-x$ に、積算位相を $-x$ にしてデータを取得する。このときの密度行列は、

$$\begin{aligned} \sigma_{-x} = & \gamma_H \cos(^1J_{CH} \tau_1/2) \cos(^1J_{CH} \tau_2/2) \sin(\omega_H t_1) I_x + \gamma_H \cos(^1J_{CH} \tau_1/2) \cos(\omega_H t_1) I_z \\ & - \gamma_H \sin(^1J_{CH} \tau_1/2) \sin(^1J_{CH} \tau_2/2) \sin(\omega_H t_1) S_x - \gamma_C \sin(^1J_{CH} \tau_2/2) 2 I_z S_x \\ & + \gamma_C \cos(^1J_{CH} \tau_2/2) S_y - \gamma_H \sin(^1J_{CH} \tau_1/2) \cos(\omega_H t_1) 2 I_x S_y \\ & - \gamma_H \cos(^1J_{CH} \tau_2/2) \sin(^1J_{CH} \tau_1/2) \sin(\omega_H t_1) 2 I_z S_y \\ & + \gamma_H \cos(^1J_{CH} \tau_1/2) \sin(^1J_{CH} \tau_2/2) \sin(\omega_H t_1) 2 I_y S_z \end{aligned}$$

となる。信号強度は

$$\begin{aligned} S_{-x-x}(t_1, t_2) = & \gamma_H \sin(^1J_{CH} \tau_1/2) \sin(^1J_{CH} \tau_2/2) \sin(\omega_H t_1) \exp(i\omega_C t_2) \\ & - i\gamma_C \cos(^1J_{CH} \tau_2/2) \exp(i\omega_C t_2) \end{aligned} \quad (16.2.2)$$

となるので、加え合わせると、

$$S_{xx}(t_1, t_2) + S_{-x-x}(t_1, t_2) = 2\gamma_H \sin(^1J_{CH} \tau_1/2) \sin(^1J_{CH} \tau_2/2) \sin(\omega_H t_1) \exp(i\omega_C t_2) \quad (16.2.3)$$

となって、軸性ピークは消える。

ω_1 軸のQDを行うために、第2¹H90°パルスの位相 y 、積算位相 $-y$ の実験と、さらに軸性ピークを消去するために、パルス位相 $-y$ 、積算位相 y の実験を行う。

$$S_{y-y}(t_1, t_2) + S_{-yy}(t_1, t_2) = 2i\gamma_H \sin(^1J_{CH} \tau_1/2) \sin(^1J_{CH} \tau_2/2) \cos(\omega_H t_1) \exp(i\omega_C t_2)$$

したがって、第2¹H90°パルスの位相を $x, y, -x, -y$ と回し、積算位相を $x, -y, -x, y$ として、これらのデータを積算すると、¹Hからの磁化移動で増強された¹³C信号のみが残り、

$$S(t_1, t_2) = 2i\gamma_H \sin(^1J_{CH} \tau_1/2) \sin(^1J_{CH} \tau_2/2) \exp(-i\omega_H t_1) \exp(i\omega_C t_2) \quad (16.2.4)$$

となる。 t_2, t_1 について複素フーリエ変換して、絶対値モードで表示すると、 $(\omega_2, \omega_1) = (\omega_C, \omega_H)$ に信号を示す。最大の信号強度は $\tau_1 = \pi/{}^1J_{CH}$ 、 $\tau_2 = \pi/{}^1J_{CH}$ のとき得られる。これはCHの場合で、CH、CH₂、CH₃が混在している時には、第14章2節で述べたように、これらの強度をできるだけ等しくするために、 $\tau_2 = 2\pi \times 0.306/{}^1J_{CH}$

とするとよい。純吸収型のスペクトルを得るには、 x および $-x$ の積算データと y および $-y$ の積算データを別々に保存し、States法で処理する。絶対値モードの場合には、待ち時間 τ_1, τ_2 に挿入した¹Hおよび¹³Cの180°パルスを除いてもよい。この場合、Nタイプを選択するためには、第2¹H90°パルスの位相を $x, y, -x, -y$ 、積算位相を $x, y, -x, -y$ とする。信号は

$$s(t_1, t_2) = 2i\gamma_{\text{H}} \sin(J_{\text{CH}}\tau_1/2) \sin(J_{\text{CH}}\tau_2/2) \exp\{-i\omega_{\text{H}}(t_1 + \tau_1)\} \exp\{i\omega_{\text{C}}(t_2 + \tau_2)\}$$

となる。

^{13}C と J_{CH} で結合している ^1H がさらに他の ^1H と J_{HH} で結合している場合, ω_1 軸方向に ^1H 同士の J_{HH} による分裂がおこる。多くの場合, ω_1 軸方向の低いデジタル分解能のために, 広がったスペクトルとなって現れる。

^1H 同士の結合が弱い場合には, この分裂は ^1H スペクトルの ^{13}C 随伴線に現れる多重線と同じであるが, ^1H 同士の結合が強い場合には, 同じにならないことに注意しよう。これは ^{13}C に加えた 180° パルスが, 前節で述べたように, 固有状態の混合をもたらすからである。

(B) COLOC

上述の方法は原理的には J_{CH} の値がどのような場合でも適用できるが, 実際には, 化学結合2個以上隔てた ^{13}C と ^1H の $^n J_{\text{CH}}$ 結合 ($n \geq 2$) を利用したCH-COSYは, S/Nのきわめて悪いスペクトルしかえられない。その理由は, $^n J_{\text{CH}}$ 結合 ($n \geq 2$) が15Hz以下と小さいため, ^1H から ^{13}C への分極移動のための待ち時間 (τ_1) が長く, また, ^{13}C 逆位相横磁化が順位相横磁化になるまでの待ち時間 (τ_2) も長いので, この間に ^1H と ^{13}C の横磁化が減衰するためである。さらに, ^{13}C と結合している ^1H が他の ^1H と結合している場合には, 信号は ^1H 軸方向に分裂するので, 強度がさらに減少する。

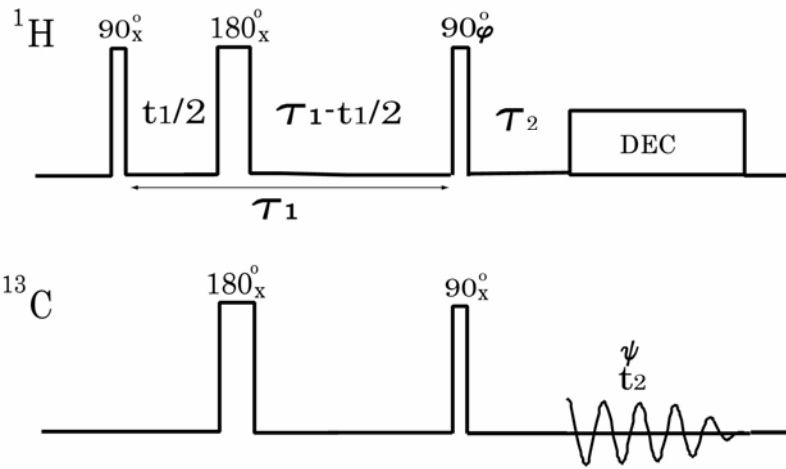
Kesslerらは遠隔結合している ^1H と ^{13}C の化学シフト相関を測定するCOLOC (correlation spectroscopy via long range couplings) というパルス系列を考案し, カルボニル炭素の帰属に利用した[10]。図16.3にCOLOCのパルス系列とコヒーレンス移動経路を示す。定時間法を応用して, 分極移動のための長い一定の待ち時間 (τ_1) の中に発展期をおいた。 ^{13}C (S) は ^1H (I_1) (ω_{H1}) と $^n J_{\text{CH}}$ で結合し, さらにこの ^1H は J_{HH} でもう1つの ^1H (I_2) と結合する3スピン系を考えよう。 J 結合はいずれも弱いとし, このスピン系のハミルトニアンを

$$H = \hbar(\omega_{\text{C}}S_z + \omega_{\text{H1}}I_{1z} + \omega_{\text{H2}}I_{2z} + {}^n J_{\text{CH}}I_{1z}S_z + J_{\text{HH}}I_{1z}I_{2z}) \quad (16.2.5)$$

と書く。

Nタイプスペクトルを得るために, 図16.3(b)に示した太線のコヒーレンス移動経路を選択する。そのために第2の $^1\text{H}90^\circ$ パルスの位相を $x, y, -x, -y$ と回し, 積算位相を $x, -y, -x, y$ と回す。第2の $^1\text{H}90^\circ$ パルスの位相を $x, y, -x, -y$ とした時, 密度行列の ^{13}C のFIDに寄与する部分は, それぞれ,

(a)



(b)

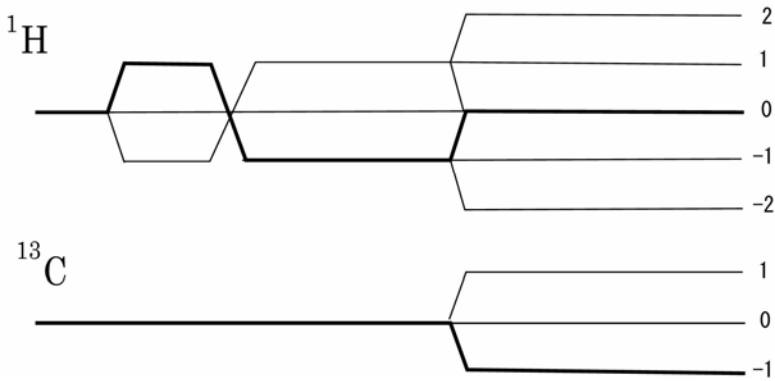


図16.3 (a) COLOCのパルス系列 . $\tau_1 = 25\text{ms}$, $\tau_2 = 35\text{ms}$ 程度に選ぶ . パルス位相 ϕ は $x, y, -x, -y$ と回し , 積算位相 ψ を $x, -y, -x, y$ で測定する . (b) コヒーレンス移動経路

$$\begin{aligned} \sigma_x = & \{-\gamma_H \cos(J_{HH} \tau_1/2) \cos(\omega_C \tau_2) \sin(^n J_{CH} \tau_2/2) \sin(^n J_{CH} \tau_1/2) \sin[\omega_{H1} (\tau_1 - t_1)] \\ & - \gamma_C \cos(^n J_{CH} \tau_2/2) \sin(\omega_C \tau_2)\} S_x \\ & + \{-\gamma_H \cos(J_{HH} \tau_1/2) \sin(\omega_C \tau_2) \sin(^n J_{CH} \tau_2/2) \sin(^n J_{CH} \tau_1/2) \sin[\omega_{H1} (\tau_1 - t_1)] \\ & + \gamma_C \cos(^n J_{CH} \tau_2/2) \cos(\omega_C \tau_2)\} S_y \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \sigma_y = & \{ \gamma_H \cos(J_{HH} \tau_1/2) \cos(\omega_C \tau_2) \sin({}^n J_{CH} \tau_2/2) \sin({}^n J_{CH} \tau_1/2) \cos[\omega_{H1} (\tau_1 - t_1)] \\ & - \gamma_C \cos({}^n J_{CH} \tau_2/2) \sin(\omega_C \tau_2) \} S_x \\ & + \{ \gamma_H \cos(J_{HH} \tau_1/2) \sin(\omega_C \tau_2) \sin({}^n J_{CH} \tau_2/2) \sin({}^n J_{CH} \tau_1/2) \cos[\omega_{H1} (\tau_1 - t_1)] \\ & + \gamma_C \cos({}^n J_{CH} \tau_2/2) \cos(\omega_C \tau_2) \} S_y \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \sigma_{-x} = & \{ \gamma_H \cos(J_{HH} \tau_1/2) \cos(\omega_C \tau_2) \sin({}^n J_{CH} \tau_2/2) \sin({}^n J_{CH} \tau_1/2) \sin[\omega_{H1} (\tau_1 - t_1)] \\ & - \gamma_C \cos({}^n J_{CH} \tau_2/2) \sin(\omega_C \tau_2) \} S_x \\ & + \{ \gamma_H \cos(J_{HH} \tau_1/2) \sin(\omega_C \tau_2) \sin({}^n J_{CH} \tau_2/2) \sin({}^n J_{CH} \tau_1/2) \sin[\omega_{H1} (\tau_1 - t_1)] \\ & + \gamma_C \cos({}^n J_{CH} \tau_2/2) \cos(\omega_C \tau_2) \} S_y \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \sigma_{-y} = & \{ -\gamma_H \cos(J_{HH} \tau_1/2) \cos(\omega_C \tau_2) \sin({}^n J_{CH} \tau_2/2) \sin({}^n J_{CH} \tau_1/2) \cos[\omega_{H1} (\tau_1 - t_1)] \\ & - \gamma_C \cos({}^n J_{CH} \tau_2/2) \sin(\omega_C \tau_2) \} S_x \\ & + \{ -\gamma_H \cos(J_{HH} \tau_1/2) \sin(\omega_C \tau_2) \sin({}^n J_{CH} \tau_2/2) \sin({}^n J_{CH} \tau_1/2) \cos[\omega_{H1} (\tau_1 - t_1)] \\ & - \gamma_C \cos({}^n J_{CH} \tau_2/2) \cos(\omega_C \tau_2) \} S_y \end{aligned}$$

となる．積算位相 x , $-y$, $-x$, y で積算すると，軸性ピークが消えて，信号強度は，

$$S = i2\gamma_H \cos(J_{HH} \tau_1/2) \sin({}^n J_{CH} \tau_2/2) \sin({}^n J_{CH} \tau_1/2) \exp\{-i\omega_{H1} (t_1 - \tau_1)\} \exp\{i\omega_C (t_2 + \tau_2)\} \quad (16.2.6)$$

となる．最大の信号強度は

$$\tau_1 = \frac{2\pi}{2^n J_{CH}} \quad , \quad \tau_2 = \frac{2\pi}{2^n J_{CH}}$$

で得られる． ^{13}C に結合した ^1H の T_2 緩和による減衰もあり， ${}^n J_{CH}$ が J_{HH} と同程度であることを考慮すると， τ_1 は上式の値より小さく選ぶ． τ_2 は (A) で述べたと同じ理由により，

$$\tau_2 = \frac{2\pi}{3^n J_{CH}}$$

に選ぶ． $\tau_1 = 25\text{ms}$, $\tau_2 = 35\text{ms}$ 程度に選ぶとよい．発展期に定時間法を用いているので， ω_1 軸方向に現れる J_{HH} の分裂はデカップルされる．純吸収モードの場合には， τ_2 待ち時間の中間に 180° パルスを挿入する．

(C) ω_1 軸デカップル CH-COSY

(A) で述べた CH-COSY では， J_{HH} によって ω_1 軸方向にスペクトルが広がるので， ^1H の化学シフトが不正確になる．精度を上げるために， ^{13}C との ${}^1 J_{CH}$ 結合をデカップルす

るだけでなく, J_{HH} 結合もデカップルしたい. 弱く結合したスピン系に適用されるパルス系列を図 16. 4 に示す [11,12]. 発展期の中に挿入した $90^\circ_x(^1\text{H}) - (\pi/J_{\text{CH}}) - 180^\circ_x(^1\text{H}, ^{13}\text{C}) - (\pi/J_{\text{CH}}) - 90^\circ_x(^1\text{H})$ のパルス系列は BIRD (bilinear rotation decoupling) パルス[13]と呼ばれるもので, ^{13}C に直接結合していない ^1H に対しては

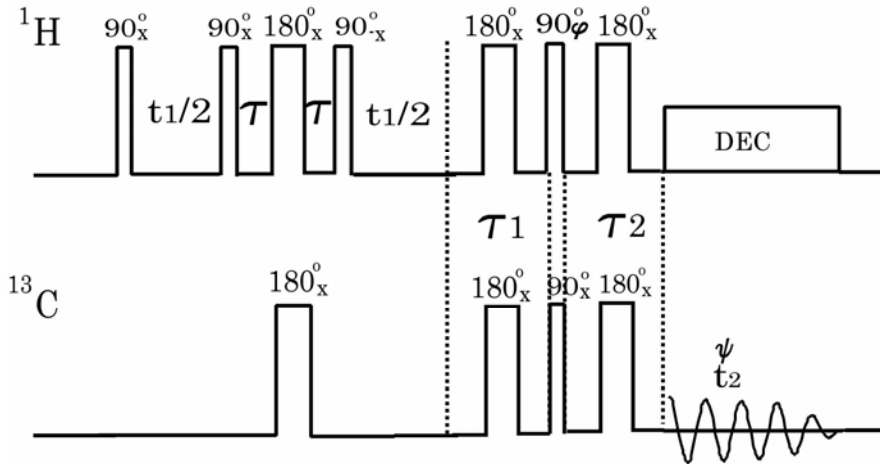


図16.4 BIRDパルスによる $^1J_{\text{CH}}$ のデカップリング. 発展期 (ω_1 軸) に ^{13}C および ^{13}C と直接結合していない ^1H との結合をデカップルし, 検出期 (ω_2 軸) にすべての ^1H を広帯域デカップルしている. $\tau = \pi/J_{\text{CH}}$, $\tau_1 = \pi/J_{\text{CH}}$, $\tau_2 = 0.3\pi/J_{\text{CH}}$. パルス位相 ϕ および積算位相 ψ は図16.2と同じである

180°_x パルスのように作用し, ^{13}C に $^1J_{\text{CH}}$ 結合している ^1H に対しては, z 軸周りの 180° 回転のように作用する (位相が 180° 進むだけ). ハミルトニアンが

$$H = h(\omega_{\text{C}}S_z + \omega_{\text{H1}}I_{1z} + \omega_{\text{H2}}I_{2z} + ^1J_{\text{CH}}I_{1z}S_z + J_{\text{HH}}I_{1z}I_{2z})$$

で表される 3 スピン系を考えよう. パルス系列中の $\tau - 180^\circ_x(^1\text{H}, ^{13}\text{C}) - \tau$ の部分のプロパゲータは

$$U(\tau) = \exp(-i2\tau ^1J_{\text{CH}}I_{1z}S_z) \exp(-i2\tau J_{\text{HH}}I_{1z}I_{2z}) \exp(-i\pi S_x) \exp\{-i\pi(I_{1x} + I_{2x})\}$$

と書くことができる. したがって, BIRDパルスのプロパゲータは

$$U_{\text{BIRD}}(\tau) = \exp(-i\frac{\pi}{2}(I_{1x} + I_{2x})) \exp(-2i\tau ^1J_{\text{CH}}I_{1z}S_z) \exp(-i2\tau J_{\text{HH}}I_{1z}I_{2z}) \exp(-i\pi S_x)$$

$$\times \exp\{-i\pi(I_{1x} + I_{2x})\} \exp\{i\frac{\pi}{2}(I_{1x} + I_{2x})\}$$

$$= \exp(-2i\tau ^1J_{\text{CH}}I_{1y}S_z) \exp(-i2\tau J_{\text{HH}}I_{1y}I_{2y}) \exp(-i\pi(I_{1x} + I_{2x})) \exp(-i\pi S_x)$$

となる. $2^1J_{\text{CH}}\tau = 2\pi$ に選ぶと, $^1J_{\text{CH}} \gg J_{\text{HH}}$ なので,

$$U_{\text{BIRD}}(\tau) = \exp(-2\pi i I_{1y}S_z) \exp(-i\pi(I_{1x} + I_{2x})) \exp(-i\pi S_x) \quad (16.2.7)$$

である． $S_z = 1/2$ に対しては

$$\begin{aligned} \exp(-i2\theta I_y S_z) I_x \exp(i2\theta I_y S_z) &= I_x \cos \theta - 2I_z S_z \sin \theta \\ \exp(-i2\theta I_y S_z) I_z \exp(i2\theta I_y S_z) &= I_z \cos \theta + 2I_x S_z \sin \theta \\ \exp(-i2\theta I_y S_z) I_y \exp(i2\theta I_y S_z) &= I_y \\ \exp(-i2\theta I_y S_z) S_x \exp(i2\theta I_y S_z) &= I_x \cos \theta + 2I_y S_y \sin \theta \\ \exp(-i2\theta I_y S_z) S_y \exp(i2\theta I_y S_z) &= I_y \cos \theta - 2I_y S_x \sin \theta \end{aligned}$$

(16.2.8)

である．これらは第4章で用いた方法で容易に証明される．これらの演算子は双1次回転演算子 (bilinear rotation operator) と呼ばれる．このプロパゲータは， I_1 スピンに対して z 軸周りの 180° 回転 (これは単に位相が 180° 変化したことに過ぎない)， I_2 スピンに対して x 軸周りのほぼ 180° 回転，また， S スピンに対して y 軸周りの 180° 回転として作用する．したがって， I_2 スピンと S スピンのみに対して 180° パルスが印加したようになるので， I_1 スピンと I_2 スピンおよび S スピンとの結合がデカップルされる．

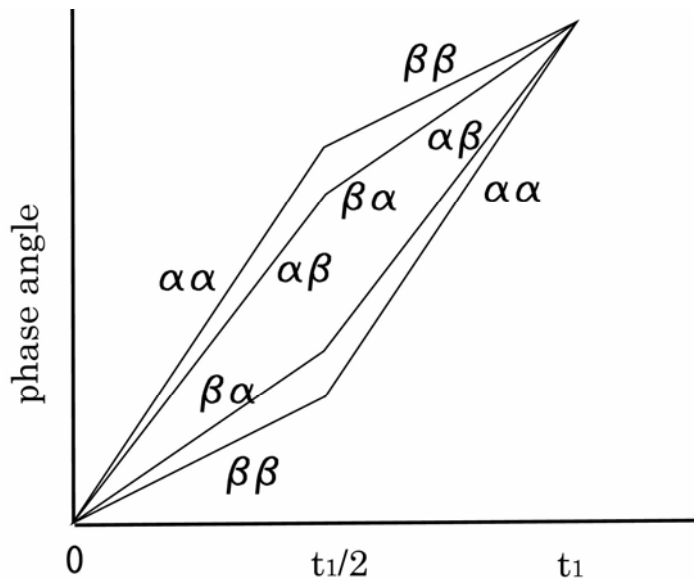


図16.5 図16.4に示したパルス系列の発展期における ^1H 横磁化の位相の時間変化． $\alpha\beta$ 等は前が ^{13}C (S)の状態，後ろが J_{HH} 結合している ^1H (I_2)の状態を表す

図16.5に ^{13}C に直接結合している ^1H (I_1)横磁化の位相の時間発展を示す．発展期の中間点で ^{13}C (S)と ^{13}C に直接結合していない ^1H スピン(I_2)が反転するので，発展期の最後では，各成分が再結像して， J_{HH} 結合も J_{CH} 結合とともにデカップルされる．

Reynolds ら[14]は(B)で述べた定時間法を含むCOLOCのパルス系列を用いた．問題

はCOLOCを J_{CH} に適用すると, τ_1 が短くて十分なデータ取得ができないことである. しかし, 最大強度が

$$\tau_1 = m \times \frac{2\pi}{2J_{\text{CH}}}, \quad m = 1, 3, 5, \dots$$

で得られるので, $m=3$ あるいは5に選んで, $\tau_1=10\text{--}20\text{ms}$ 程度で実験を行っている. Pearson[15]も同様なパルス系列を報告している.

(D) HOESY

^1H - ^1H のNOEによる相関を調べるNOESYと同じく, ^1H - ^{13}C のNOEによる相関を調べる2次元NMRがHOESY (heteronuclear 2D NOE spectroscopy) と呼ばれるものである[16-18]. パルス系列およびコヒーレンス移動経路を図16.6に示す. 最初の $^1\text{H}90^\circ$ パルス

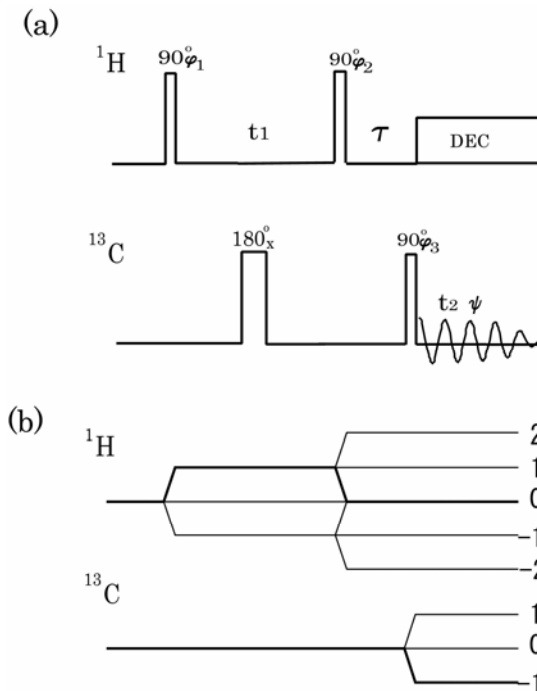


図16.6 (a) HOESYのパルス系列. パルス位相 ϕ_1, ϕ_2, ϕ_3 , および, 積算位相 ψ は以下のよう
に回す. τ は混合時間で数100msから数s に選ぶ. $\phi_1 = 4(x)$; $\phi_2 = x, y, -x, -y$; $\phi_3 = 4(x)$; $\psi = x,$
 $y, -x, -y$. (b) Nタイプのコヒーレンス移動経路の選択 (太線)

で作られた横磁化は展開期でラーモア周波数で変調される. 第2の $^1\text{H}90^\circ$ パルスでそれを z 磁化に戻す. 混合期 τ の間に ^1H - ^{13}C 間で交差緩和が起こり, ^{13}C 磁化は ^1H ラーモア周波数で変調される. 太線のコヒーレンス移動経路を選択すると, $\Delta p_{H2} = -1$ である. 第

2 $^1\text{H}90^\circ$ パルスの位相を $x, y, -x, -y$ と回し, 積算位相を $x, y, -x, -y$ と回す. ^1H と ^{13}C の間に J 結合がある場合には, 磁化移動も起こるので, 混合期に磁場勾配パルスを加えてコヒーレンスを消す.

(E) リレーCH-COSY

^1H の横磁化を時間発展させ, それを他の ^1H に磁化移動した後, その ^1H に直接結合している ^{13}C へ磁化移動して検出するのが, リレーCH-COSYである[19-23]. 図16.7にパルス系列を示す. ^1H - ^1H にはNOEのような非干渉性の磁化移動もあるが, ここでは J_{HH} を利用したコヒーレントな磁化移動を考える.

(a) はパルスによるリレーである[20]. AMX 3 スピン系について説明しよう. ここで, A, M は ^1H , X は ^{13}C で, A と M の間に J_{HM} , M と X との間に J_{MX} があり ($J_{\text{MX}} \gg J_{\text{HM}}$), A と X の間に結合はないとする. A から M へ, M から X へと磁化移動させて観測する.

第1 $^1\text{H}90^\circ$ パルスで作られたAスピン横磁化は時間発展の後, 第2 $^1\text{H}90^\circ$ パルスによって, Aスピンの周波数でラベルされた, Aスピンに対して逆位相のMスピン横磁化に変わる. 発展期の中央に $^{13}\text{C}180^\circ$ パルスを挿入して ^{13}C との結合をデカップルする. Aスピンに対して順位相にするために, $\tau_m = \pi/J_{\text{AM}}$ の待ち時間をおく. この間の ^1H の化学シフトを再結像するために中央に $^1\text{H}180^\circ$ パルスをおく. Xスピンに対して順位相のMスピン横磁化にするために, さらに $\tau_H = \pi/J_{\text{MX}}$ 時間待つ. この間の J_{HM} による時間発展は無視できるので, Mスピン横磁化はAスピンに対して順位相, Xスピンに対して逆位相になる. ここで ^1H および ^{13}C に 90° パルスを加え, Mスピンに対して逆位相のXスピン横磁化にする. さらに $\tau_C = \pi/J_{\text{MX}}$ 時間待つ, Xスピンに対して順位相にしてから, ^1H をデカップルしてFIDを取得する.

ω_1 軸にAスピン, ω_2 軸にXスピンの周波数の2次元NMRスペクトルが得られる. 待ち時間は J の値によるが, $\tau_m = 29\text{ms}$, $\tau_H = 2.4 - 3.8\text{ms}$, $\tau_C = 3.6\text{ms}$ 程度である.

(b) は感度を最適化したもの[21]である. (c) はスピンロックによるTOCSYタイプのリレーCH-COSY[23]である.

実際には, ^{13}C に直接結合した ^1H も励起されるので, 通常のCH-COSYスペクトルのピークも現れ, リレーされたピークとの区別は難しい. $^1\text{H} - ^{13}\text{C}$ の J_{CH} は $100 - 200\text{Hz}$ 程度で, $^nJ_{\text{CH}}$ ($n > 1$) は 10Hz 程度であることを利用して, Koglerらは, 大きな J 結合を持つ直接結合した ^1H は励起しないようなローパス J -フィルター (low-pass J -filter) を考案した[24]. 図16.8にそのパルス系列を示す. τ_1, τ_2 等の待ち時間において $^{13}\text{C}90^\circ$ パルスを連続的に加えたものである. $^1\text{H}90^\circ$ パルスで作られた ^1H 横磁化は τ_1 秒間に一部は ^{13}C に対して順位相の横磁化として残り, 他の一部は ^{13}C に対して逆位相横磁化になる. $^{13}\text{C}90^\circ$

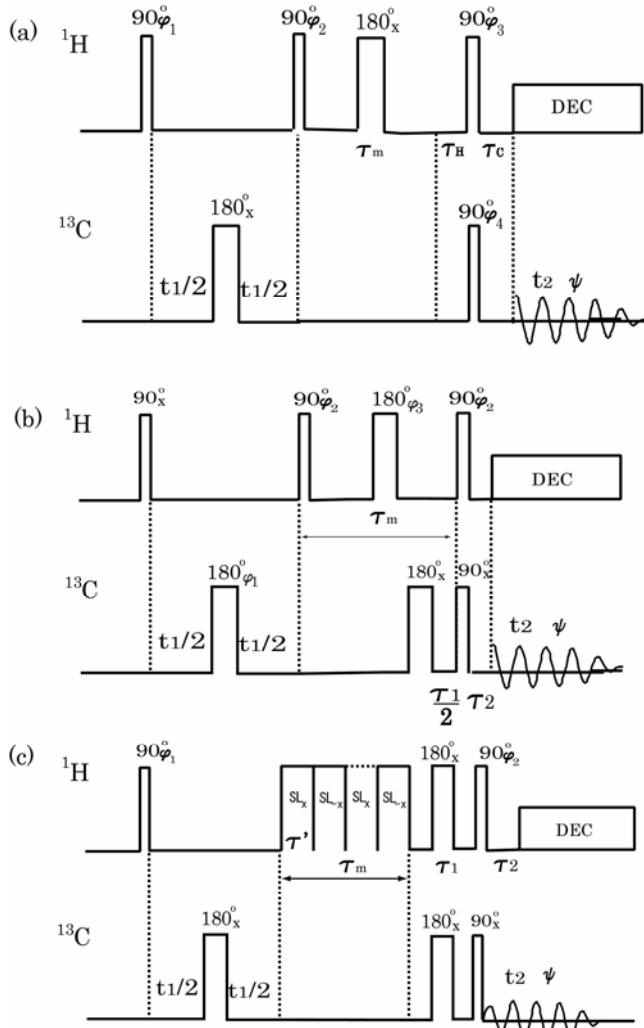


図16.7 リレー-CH-COSYのパルス系列．AMX 3 スピン系で，A，Mは¹H，Xは¹³Cで，AとXの間には結合がないとする． $\tau_m = \pi/J_{AM}$ ， $\tau_H = \pi/J_{XM}$ ， $\tau_C = \pi/J_{XM}$ ．CH，CH₂，CH₃が混在するときには $\tau_C = 0.3 \times \pi/J_{XM}$ ．(a) 90°パルスによるリレー．パルス位相 $\phi_1 = 16(x)$ ； $\phi_2 = 4(x, -x, y, -y)$ ； $\phi_3 = 4(x), 4(-x), 4(y), 4(-y)$ ； $\phi_4 = 4(x), 4(-x), 4(-y), 4(y)$ ；積算位相 $\psi = 16(x)$ ．(b) 最適化したパルス系列．パルス位相 $\phi_1 = 4(x, y, -x, -y)$ ； $\phi_2 = 4(x), 4(y), 4(-x), 4(-y)$ ； $\phi_3 = x, y, -x, -y, y, -x, -y, x, -x, -y, x, y, -y, x, y, -x$ ；積算位相 $\psi = 2(x, -x), 2(y, -y), 2(-x, x), 2(-y, y)$ ．(c) TOCSYタイプのリレー．パルス位相 $\phi_1 = 2(x, y, -x, -y)$ ； $\phi_2 = 4(x), 4(-x)$ ；積算位相 $\psi = 2(x), 4(-x), 2(x)$

パルスにより，順位相横磁化はそのまま残り，逆位相横磁化は2スピニコヒーレンスに変わる．残った順位相横磁化は次の τ_2 秒間に再びその一部が逆位相横磁化になり，続く¹³C90°パルスにより，2スピニコヒーレンスに変わる．直前の¹³C90°パルスにより生成された2スピニコヒーレンスの1部が逆位相横磁化に変換されるので，これを消去するために，¹³C90°パルスの位相を正負にする．N回のステップで残存する¹Hの横磁化は

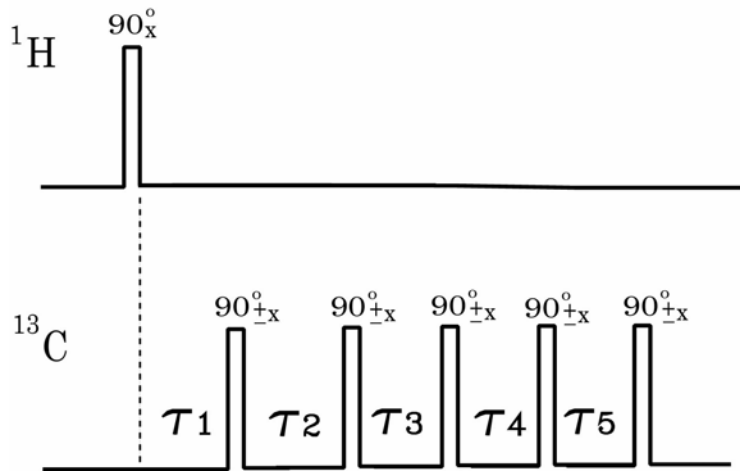


図16.8 ローパス J フィルター (low-pass J -filter) のパルス系列

$$f = \prod_{k=1}^N \cos(J\tau_k/2)$$

と表される。 $\tau_1 = 5\text{ms}$, $\tau_2 = 4\text{ms}$, $\tau_3 = 3.5\text{ms}$, $\tau_4 = 3\text{ms}$, $\tau_5 = 2.5\text{ms}$ の5ステップの場合、残存量の J 依存性を図16.9に示す。 $J/2\pi$ の値が100Hz以上の ^1H はほとんど励起されないことがわかる。リレーCH-COSYの ^1H 第1 90° パルスの後にこのローパスフィルターを通すことによって、直接結合の ^1H - ^{13}C 交差ピークを抑えることができる。

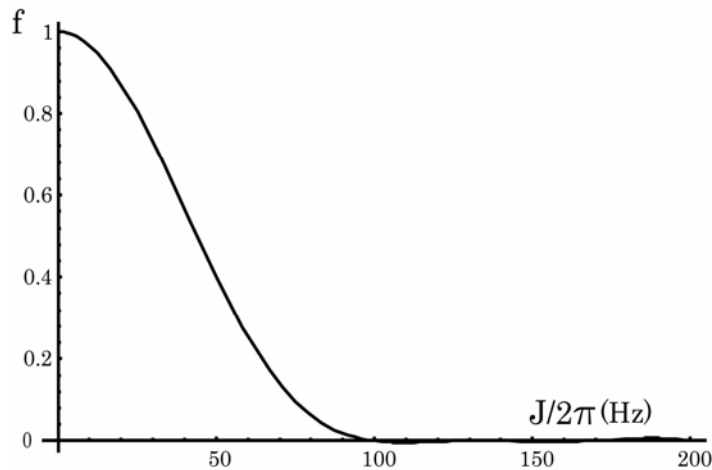


図16.9 5ステップのローパス J フィルター (low-pass J -filter) の残存量の J 依存性。 $\tau_1 = 5\text{ms}$, $\tau_2 = 4\text{ms}$, $\tau_3 = 3.5\text{ms}$, $\tau_4 = 3\text{ms}$, $\tau_5 = 2.5\text{ms}$

16.3 ^1H - ^{13}C 化学シフト相関 2 次元 NMR の ^1H 検出

(A) HMQC

上で述べた方法は、 ^1H を時間発展 (t_1) させ、 ^{13}C を観測 (t_2) するものであるが、逆に、 ^{13}C を時間発展させ ^1H を観測することも可能である。リヴァースモード (reverse mode), あるいは、 ^1H 検出ともいわれるこの方法では、直接結合した ^1H からの磁化移動で増強した ^{13}C を時間発展させ、検出期に再び ^1H の周波数で観測するので、検出感度は $\gamma_{\text{H}}^{5/2}$ に比例し、CH-COSYにくらべて約8倍よくなる。天然存在比では、圧倒的多数が ^{12}C に結合した ^1H である。 ^{12}C に結合した ^1H からの共鳴 (通常の ^1H 共鳴) を消去して、 ^{13}C に結合した ^1H からの信号 (^{13}C による随伴線) のみを観測しなければならない。そのために ^1H と ^{13}C による2スピンコヒーレンスを利用する。この方法をHMQC (^1H -detected heteronuclear multiple-quantum coherence) という[25-28]。

図16.10に測定のパルス系列とNタイプのコヒーレンス移動経路の選択を示す。最

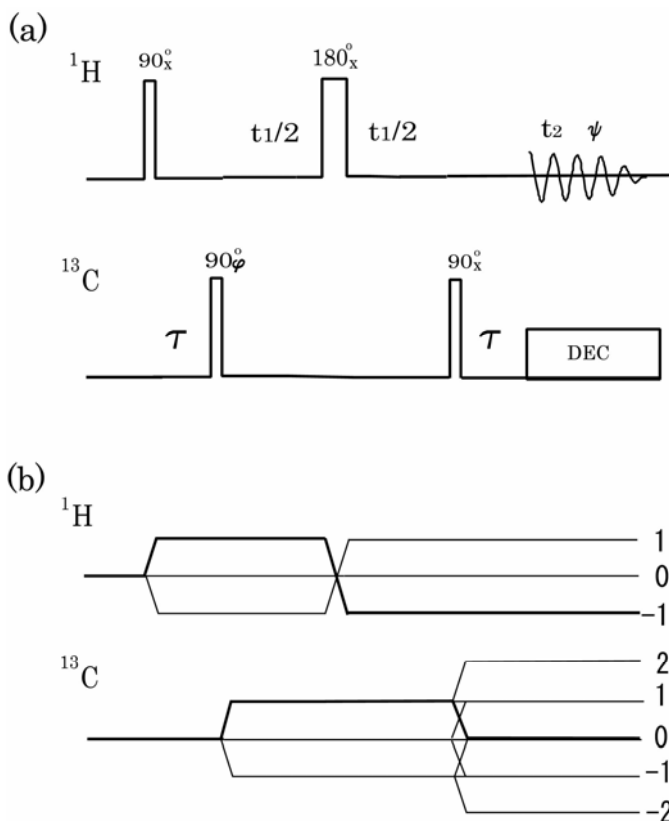


図16.10 (a)HMQCのパルス系列。 $\tau = \pi/{}^1J_{\text{CH}}$ 。パルス位相 $\phi = x, y, -x, -y$; 積算位相 $\psi = x, -y, -x, y$ 。(b) Nタイプのコヒーレンス移動経路の選択 (太線)

初の $^1\text{H}90^\circ$ パルスとそれから $\tau = \pi/{}^1J_{\text{CH}}$ 秒後の $^{13}\text{C}90^\circ$ パルスで2スピンコヒーレンスを作る．2スピンコヒーレンスは2量子 $(\omega_{\text{C}} + \omega_{\text{H}})$ および0量子 $(\omega_{\text{C}} - \omega_{\text{H}})$ コヒーレンスからなっており，それぞれが時間発展するが，発展期の中心に挿入した $^1\text{H}180^\circ$ パルスにより入れ替わる．したがって，発展期の最後で2スピンコヒーレンスは ^{13}C の周波数でラベルされる．これを最後の $^{13}\text{C}90^\circ$ パルスで ^1H の逆位相磁化に移し，順位相磁化になるまで τ 時間待ってから ^{13}C をデカップルして ^1H を観測する．GARP, WALTZ等の複合パルスによる広帯域デカップルを行う．

図16.10(b)のコヒーレンス移動経路に示したように，検出は ^1H で行われるので，検出時におけるコヒーレンス次数 $p_{\text{H}2} = -1$ が自動的に選択される．このとき，このとき検出時における ^{13}C のコヒーレンス次数は $p_{\text{C}2} = 0$ である．第1 $^{13}\text{C}90^\circ$ パルス後のコヒーレンス次数が $p_{\text{C}1} = +1$ であるためには， $\Delta p_{\text{C}1} = +1$ あるいは $\Delta p_{\text{C}2} = -1$ である．前者の場合，積算位相は $\varphi = -\sum \phi_k$ ，また後者の場合， $\varphi = \sum \phi_k$ である．したがって，第2 $^{13}\text{C}90^\circ$ パルスの位相を x に固定して，第1 $^{13}\text{C}90^\circ$ パルスの位相を $x, y, -x, -y$ と回し，積算位相を $x, -y, -x, y$ と回す．

CH2スピン系について考えよう． ^1H スピンをI, ^{13}C スピンをSとして，準備期の $90^\circ(^1\text{H}) - \tau - 90^\circ(^{13}\text{C})$ の直後の密度行列は

$$\begin{aligned} \sigma &= \gamma_{\text{H}} \cos({}^1J_{\text{CH}}\tau/2) \sin(\omega_{\text{H}}\tau) I_x - \gamma_{\text{H}} \cos({}^1J_{\text{CH}}\tau/2) \cos(\omega_{\text{H}}\tau) I_y - \gamma_{\text{C}} S_y \\ &- \gamma_{\text{H}} \sin({}^1J_{\text{CH}}\tau/2) \cos(\omega_{\text{H}}\tau) 2 I_x S_y - \gamma_{\text{H}} \sin({}^1J_{\text{CH}}\tau/2) \sin(\omega_{\text{H}}\tau) 2 I_y S_y \end{aligned}$$

で， $\tau = \pi/{}^1J_{\text{CH}}$ とすると， ^1H の1量子コヒーレンスが消えて， ^1H と ^{13}C の2スピンコヒーレンスが残る．発展期でこの2スピンコヒーレンスを発展させる．最初の $^{13}\text{C}90^\circ$ パルスの位相が $x, y, -x, -y$ の時，密度行列の ^1H の順位相横磁化に関する部分は，FID取得開始直前において，それぞれ，

$$\sigma_x = \gamma_{\text{H}} \{ \cos^2({}^1J_{\text{CH}}\tau/2) - \sin^2({}^1J_{\text{CH}}\tau/2) \cos(\omega_{\text{C}}t_1) \} I_y$$

$$\sigma_y = \gamma_{\text{H}} \{ \cos^2({}^1J_{\text{CH}}\tau/2) + \sin^2({}^1J_{\text{CH}}\tau/2) \sin(\omega_{\text{C}}t_1) \} I_y$$

$$\sigma_{-x} = \gamma_{\text{H}} \{ \cos^2({}^1J_{\text{CH}}\tau/2) + \sin^2({}^1J_{\text{CH}}\tau/2) \cos(\omega_{\text{C}}t_1) \} I_y$$

$$\sigma_{-y} = \gamma_{\text{H}} \{ \cos^2({}^1J_{\text{CH}}\tau/2) - \sin^2({}^1J_{\text{CH}}\tau/2) \sin(\omega_{\text{C}}t_1) \} I_y$$

である．

最初の¹³C90°パルスの位相が x のときのデータを積算位相 x で取得すると強度は,

$$S_{xx} = i\{\cos^2(^1J_{CH}\tau/2) - \sin^2(^1J_{CH}\tau/2)\cos(\omega_C t_1)\}\exp(i\omega_H t_2)$$

となる．パルス位相 y ，積算位相 $-y$ では

$$S_{y-y} = -\{\cos^2(^1J_{CH}\tau/2) + \sin^2(^1J_{CH}\tau/2)\sin(\omega_C t_1)\}\exp(i\omega_H t_2)$$

パルス位相 $-x$ ，積算位相 $-x$ では

$$S_{-x-x} = i\{-\cos^2(^1J_{CH}\tau/2) - \sin^2(^1J_{CH}\tau/2)\cos(\omega_C t_1)\}\exp(i\omega_H t_2)$$

パルス位相 $-y$ ，積算位相 y では

$$S_{-yy} = \{\cos^2(^1J_{CH}\tau/2) - \sin^2(^1J_{CH}\tau/2)\sin(\omega_C t_1)\}\exp(i\omega_H t_2)$$

であるので，これらを加え合わせると，¹H 1量子コヒーレンスの寄与は消去されて，2量子/0量子コヒーレンスの寄与のみが残り，強度は

$$S = -2i\sin^2(J_{CH}\tau/2)\exp(-i\omega_C t_1)\exp(i\omega_H t_2) \quad (16.3.1)$$

となる．これを複素フーリエ変換し，絶対値モードで示すと， (ω_H, ω_C) に信号が現れる．純吸収モードの場合は，パルス位相 $x, y, -x, -y$ ，積算位相 $x, x, -x, -x$ で，奇数番目の積算と偶数番目の積算を別々のメモリーに保存する．それぞれを t_2 について複素フーリエ変換して，奇数番目のフーリエ変換の虚数部分を負にしたものを実数部分に，偶数番目のフーリエ変換の実数部分を虚数部分に持つデータを作り，これを t_1 について複素フーリエ変換すると，その実数部分は ω_1, ω_2 のいずれにも吸収型になる (Statesの方法)．

第1の¹³C90°パルスの位相を x に固定し，第2の¹³C90°パルスの位相を $x, y, -x, -y$ と回した場合には，積算位相を $x, y, -x, -y$ としてデータを取り込む．

¹³Cに直接結合した¹Hがさらに他の¹H(受動スピン)と J_{HH} で結合している場合(線形の H_1H_2C スピン系)には，¹H軸である ω_2 軸方向に J_{HH} で分裂するのは当然であるが，¹³C軸である ω_1 軸方向にも J_{HH} で分裂する．発展期中央においた¹H180°パルスは¹H化学シフトは再結像するが，¹H同士の結合は再結像しないことによる．発展期の前半で $\alpha\alpha\alpha$ $\alpha\beta\beta$ 間の2量子コヒーレンスは $(\omega_C + \omega_{H_2} + J_{HH}/2)$ の周波数で発展し，¹H180°パルス後， $\beta\beta\alpha$ $\beta\alpha\beta$ 間の2量子コヒーレンスになって， $(\omega_C - \omega_{H_2} + J_{HH}/2)$ の周波数で発展するので， ω_1 には $(\omega_C + J_{HH}/2)$ がラベルされる．実際には， ω_1 軸方向の分解能が低いので信号は分裂して見えることはなく， ω_1 軸方向に広がって現れる．これは後に述べるHSQCと異なる点である．

1量子コヒーレンスの寄与は理想的には積算によって+ - 打ち消し合って消えるが，

天然存在比では、 ^{12}C に結合した ^1H からの寄与は約100倍も大きいので、増幅器のダイナミックレンジ、安定性、ADコンバータのダイナミックレンジ、コンピュータメモリのダイナミックレンジの制限から、完全には打ち消されない。不要な信号は初めから無くしておきたい。Baxら[28]は溶媒や ^{12}C に結合した ^1H からの大きな1量子信号を除くために、図16.11に示すように、HMQCの前にBIRDパルスをおいた。すでに述べたように、BIRDパルスは ^{13}C に直接結合していない ^1H に対しては、 180° パルスのように、また、 ^{13}C に直接結合している ^1H に対しては、なんらの作用ももたらさない。BIRDパルスによって不要な ^1H 磁化を反転させ、緩和で磁化が0まで戻ってくる τ_1 時間待ってから、HMQCの実験を始める。このようにすると、 ^{13}C に結合した ^1H からの信号のみが励起され、 ^{12}C に結合した ^1H からの信号は励起されない。

図16.12は、磁場勾配パルスを用いてコヒーレンス移動経路を選択するパルス系列である[29-32]。G1, G2, G3はz軸方向に勾配を持つz方向の磁場勾配パルスで、継続時間はすべて等しいとする。Nタイプのデータについて、試料位置zにある部分からのFIDは磁場勾配パルスによって

$$(\gamma_{\text{C}} + \gamma_{\text{H}})G_1^0 \tau z + (\gamma_{\text{C}} - \gamma_{\text{H}})G_2^0 \tau z - \gamma_{\text{H}}G_3^0 \tau z$$

だけ位相が進むので、試料全体からのFIDは消えるが、上記の位相が0の時にはFIDが残る。したがって、Nタイプのデータを選択するためには、

$$\gamma_{\text{C}}(G_1^0 + G_2^0) - \gamma_{\text{H}}(-G_1^0 + G_2^0 + G_3^0) = 0$$

これを満たす G_1^0, G_2^0, G_3^0 の比は無数にあるが、簡単には、 $G_1^0 : G_2^0 : G_3^0 = 2 : 2 : 1.006$ で

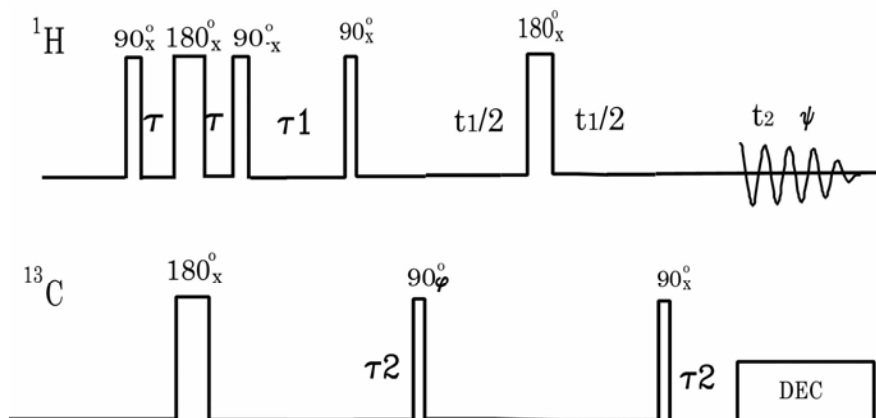


図16.11 BIRDパルスで溶媒ピークを消去するように工夫したHMQCのパルス系列。 τ_1 は不要な1量子信号が消えるように選ぶ。 $\tau_2 = \pi/{}^1J_{\text{CH}}$ 。パルス位相 $=x, y, -x, -y$; 積算位相 $=x, -y, -x, y$

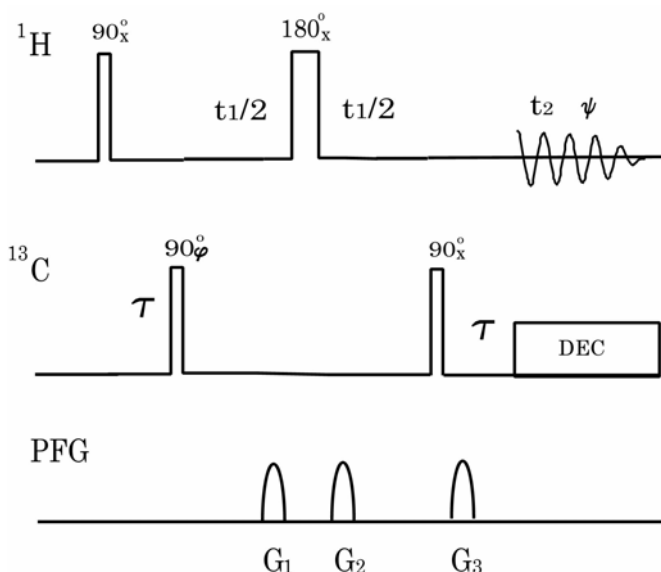


図16.12 磁場勾配パルスを利用したHMQCのパルス系列. $\tau = \pi/{}^1J_{\text{CH}}$. パルス位相 $=x, -x$; 積算位相 $=x, -x$. Nタイプを選択した場合, ^{13}C で $G_1 : G_2 : G_3 = 2 : 2 : 1$, ^{15}N で $G_1 : G_2 : G_3 = 5 : 5 : -1$

ある. あるいは, $G_1^0 : G_2^0 : G_3^0 = 5 : 3 : 4.012$ でもよい. Pタイプの信号を選択するためには

$$-\gamma_{\text{C}}(G_1^0 + G_2^0) - \gamma_{\text{H}}(-G_1^0 + G_2^0 + G_3^0) = 0$$

なので, $G_1^0 : G_2^0 : G_3^0 = 2(5) : 2(3) : -1(0)$ とするとPタイプの信号が選択される.

^{15}N の場合には, $G_1^0 : G_2^0 : G_3^0 = 5 : 5 : -1.014(+1.014)$, (N(P)タイプ), あるいは, $G_1^0 : G_2^0 : G_3^0 = 9 : 11 : -4.028(+4.028)$ (N(P)タイプ)である.

純吸収型のスペクトルを得るには, Nタイプ, Pタイプのデータを別々に取得し, それぞれを t_2 について複素フーリエ変換し, N+Pの実数部分を実数部分に, N-Pの虚数部分を虚数部分にもつデータを作り, それを t_1 でフーリエ変換すると, その実数部分は純吸収型のスペクトルになる.

(B) HMBC

上で述べたHMQCは直接結合した ^{13}C と ^1H の化学シフトの相関を ^1H で検出するものであるが, ${}^nJ_{\text{CH}}$ ($n > 1$) を利用する ^1H 検出のC, H化学シフト相関 2次元NMRが, HMBC (^1H -detected multiple-bond heteronuclear multiple-quantum coherence)と呼ばれるものである[28,33]. HMQCのパルス系列で, $\tau = \pi/2^n J_{\text{CH}}$ とすると, $n (> 1)$ 個の化学結合隔てた ^1H と ^{13}C の交差ピークが現れるが, 同時に直接結合した ^1H と ^{13}C の交差ピークも出現し,

それらの区別が難しい．直接結合した ^1H と ^{13}C の交差ピークの出現を抑え， $^nJ_{\text{CH}}$ で結ばれた ^1H と ^{13}C の交差ピークのみにするために，1ステップのローパスフィルター[24]をHMQCパルス系列の前に付加する．これは小さな J を持つ ^1H のみが ^{13}C との2スピンコヒーレンスを生成するので，直接結合したCHによる交差ピークは消えて， $^nJ_{\text{CH}}$ で結ばれた ^1H と ^{13}C の交差ピークのみのでスペクトルが得られる．この場合，ローパスフィルターはリレーCH-COSYと異なって，小さな J の2スピンコヒーレンスを濾別するのに使われている．パルス系列を図16.13に示す．

$\tau_1 = \pi / J_{\text{CH}}$ とすると， $90^\circ(^1\text{H}) - \tau_1 - 90^\circ(^{13}\text{C})$ によって， ^{13}C とそれに直接結合した ^1H との2スピンコヒーレンスが作られる．一方， $^nJ_{\text{CH}}$ で結ばれた遠隔 ^1H については， $\tau_1 \cdot nJ_{\text{CH}} \ll 1$ なので，遠隔 ^1H と ^{13}C との2スピンコヒーレンスはほとんど生成されないで，

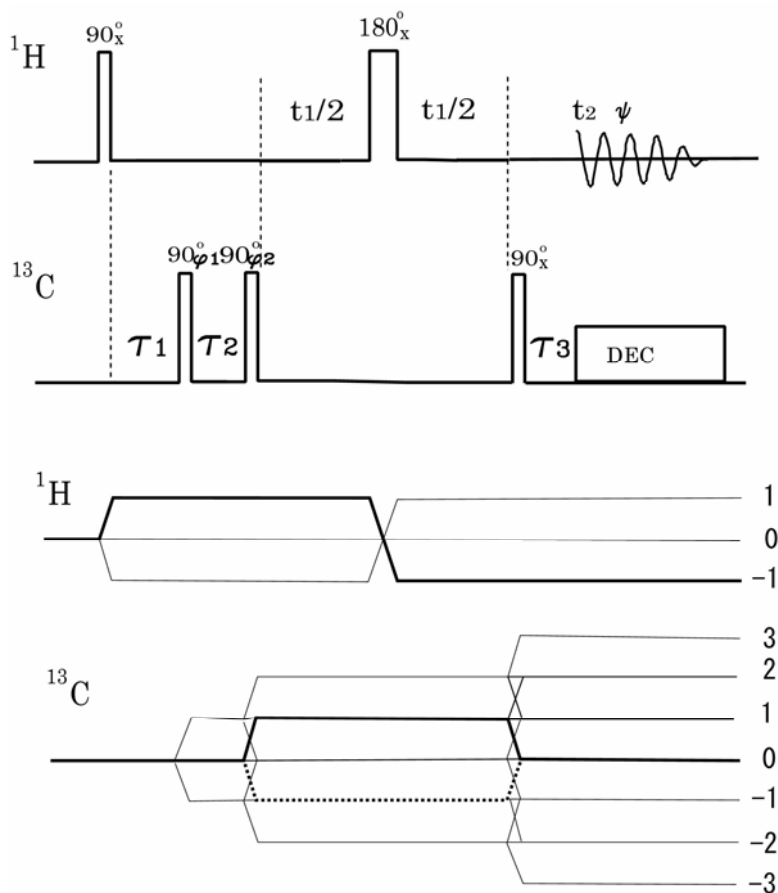


図16.13 (a) HMQCのパルス系列． $\tau_1 = \pi / J_{\text{CH}}$ ， $\tau_2 = \pi / nJ_{\text{CH}}$ ， $\tau_3 = \tau_1 + \tau_2$ ．パルス位相 $\phi_1 = 4(x)$ ；パルス位相 $\phi_2 = x, y, -x, -y$ ；積算位相 $\phi = x, -y, -x, y$ ．(b) Nタイプのコヒーレンス移動経路の選択（太線）．点線はPタイプの選択

大部分は1量子コヒーレンスとして残る。第2の $^{13}\text{C}90^\circ$ パルスで、直接結合した ^1H と ^{13}C の2スピンコヒーレンスは、 ^{13}C に対して逆位相の ^1H 1量子コヒーレンスになる。一方、遠隔 ^1H の1量子コヒーレンスは、第2の $^{13}\text{C}90^\circ$ パルスを $\tau_2 = \pi/n J_{\text{CH}}$ に印加すると、遠隔 ^1H - ^{13}C の2スピンコヒーレンスが生成される。

図16. 14に $\tau_1 = 3\text{ms}$, $\tau_2 = 60\text{ms}$ としたときのHMBCパルス系列におけるCH2スピンコヒーレンス生成効率 f の J 依存性を示す。 $J/2\pi \approx 10\text{Hz}$ のCH2スピンコヒーレンスが励起され、 $J/2\pi \approx 150\text{Hz}$ のCH2スピンコヒーレンスはほとんど励起されないことがわかる。

最後の $^{13}\text{C}90^\circ$ パルスのあと、 $\tau_3 = \tau_1 + \tau_2$ 待ってから ^{13}C をデカップルすると、 ^1H の化学シフトが再結像するので、周波数に比例する位相ずれはなくなる。第2 ^{13}C パルスの位相を $x, y, -x, -y$ と回し、積算位相を $x, -y, -x, y$ と回してFIDを取り込む。発展期における ^1H 1量子コヒーレンスの寄与は位相回しできえる 純吸収型のスペクトルを得るには、奇数番目と偶数番目のFIDを別々のメモリーに取り込み、States法で処理する。

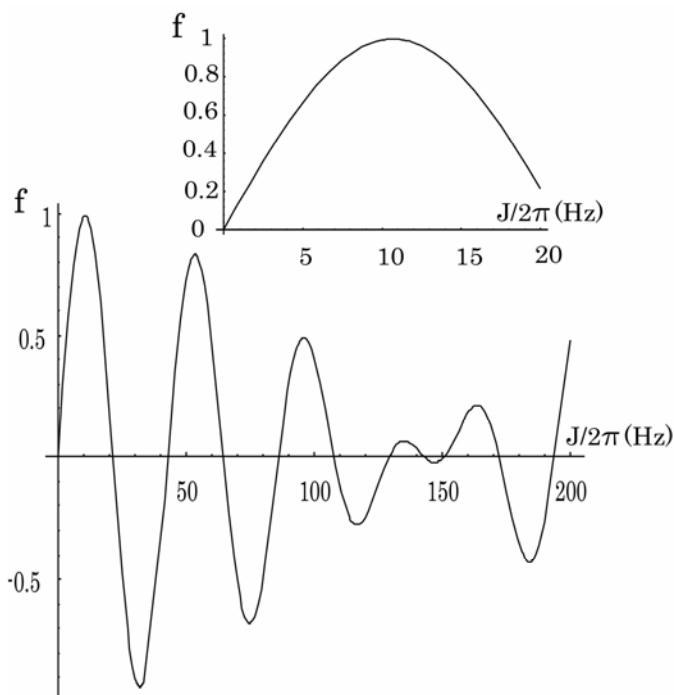


図16. 14 HMBCパルス系列における2スピンコヒーレンス生成効率の J 依存性。 $\tau_1 = 3\text{ms}$, $\tau_2 = 60\text{ms}$ とした

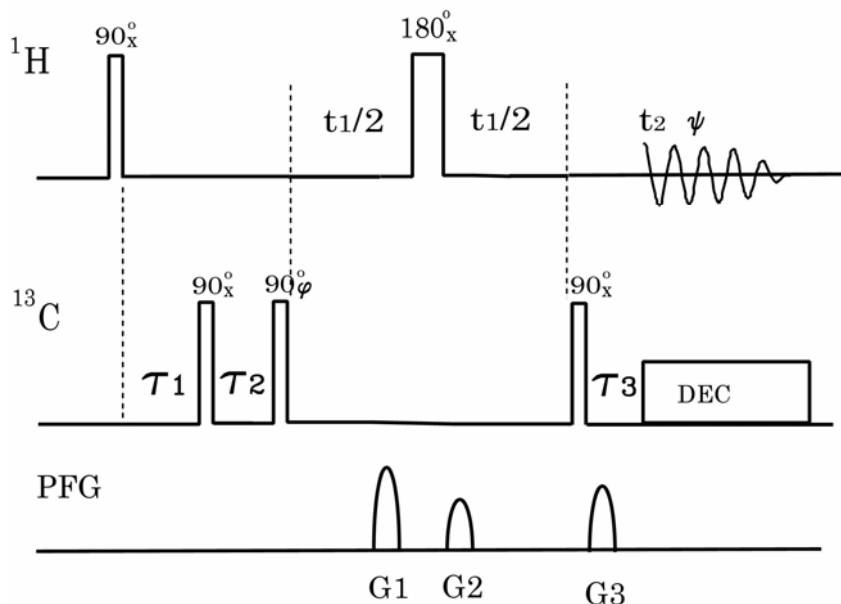


図16.15 磁場勾配パルスを用いたHMBCのパルス系列. $\tau_1 = \pi/{}^1J_{\text{CH}}$, $\tau_2 = \pi/{}^nJ_{\text{CH}}$, $\tau_3 = \tau_1 + \tau_2$. パルス位相 $=x, -x$; 積算位相 $=x, -x$. G1 : G2 : G3 = 5 : 4 : 3

^{13}C に結合した ^1H からの信号はHMQCと同様に大きな障害である. BIRDパルスを用いた方法も取れるが, もともと感度が良くないので, その効果は少ない. 磁場勾配パルスを用いた方法が有効である[34]. 図16.15は磁場勾配パルスを用いた測定パルス系列である. 磁場勾配はG1 : G2 : G3 = 5 : 3 : 4としたが, これは2 : 2 : 1でもよい. G3を負にするとPタイプのスペクトルが得られる. NタイプとPタイプを別々のメモリーに取り込み, States法で処理することによって, 純吸収型のスペクトルが得られる.

(C) HSQC

発展期で ^{13}C 横磁化を展開し, 検出期で ^1H 磁化を観測することは, MaudsleyとErnstが最初に行った[35,36]. 準備期で ^1H 磁化を飽和させ, NOEで増強した ^{13}C 横磁化を展開し, 混合期で ^{13}C から ^1H へ磁化移動させ, ^1H 横磁化を観測するものである. 彼らの方法は, ^{13}C でエンリッチした試料に適用された. しかし, 感度が悪く, 天然存在比の ^{15}N - ^1H に適用することは困難である. Bodenhausenらは, HSQC (heteronuclear single-quantum coherence)と現在呼ばれている方法を開発した[37]. INEPTにより ^1H 磁化で増強した ^{15}N (^{13}C)の横磁化を発展期で展開し, 混合期で逆INEPTにより ^1H 横磁化に戻して観測する. この方法はOverbodenhausen実験[38]とも呼ばれている. パルス系列とコヒーレンス移動経路を図16.16に示す.

CH2スピン系について考えよう. 図16.16のパルス系列でパルス位相 $\phi_1=x$, $\phi_2=x$ の場

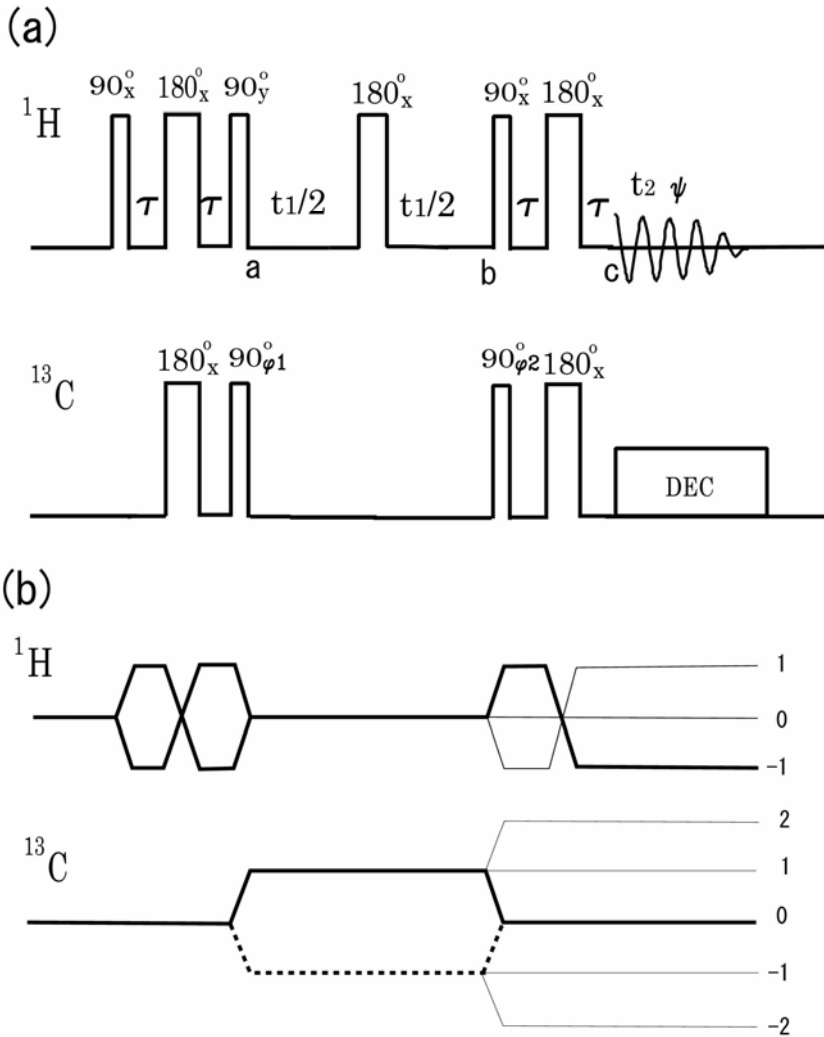


図16.16 (a) HSQCのパルス系列 . $\tau = \pi/2 J_{\text{CH}}$. パルス位相 $\phi_1=2(x), 2(-x)$; $\phi_2 = 2(x, y)$; 積算位相 $\psi = x, y, -x, -y$; 奇数番目の積算と偶数番目の積算を異なるメモリーに保存する . (b) コヒーレンス移動経路選択 . 太線はNタイプ, 点線はPタイプ

合, 熱平衡状態から出発してa時点での密度行列は, ^1H スピンを I , ^{13}C スピンを S で表すと,

$$\sigma(a) = \gamma_{\text{H}} \cos(J_{\text{CH}}\tau)I_y + \gamma_{\text{C}}S_y - \gamma_{\text{H}} \sin(J_{\text{CH}}\tau)2I_zS_y$$

である . 第1項は ^1H 横磁化, 第2項は ^{13}C の熱平衡磁化からの横磁化, 第3項が ^1H 磁化で増強した ^{13}C 横磁化である . t_1 秒間時間発展してb時点の密度行列は

$$\sigma(b) = -\gamma_{\text{H}} \cos(J_{\text{CH}}\tau)I_y - \gamma_{\text{C}} \{ \sin(\omega_{\text{C}}t_1)S_x - \cos(\omega_{\text{C}}t_1)S_y \} - \gamma_{\text{H}} \sin(J_{\text{CH}}\tau) \{ \sin(\omega_{\text{C}}t_1)2I_zS_x - \cos(\omega_{\text{C}}t_1)2I_zS_y \}$$

となる．逆INEPTを経てc時点での密度行列は

$$\begin{aligned} \sigma(c) = & \gamma_H \cos(J_{CH}\tau) I_z - \gamma_C \cos(J_{CH}\tau) \sin(\omega_C t_1) S_x - \gamma_C \sin(J_{CH}\tau) \sin(\omega_C t_1) 2I_z S_y - \gamma_C \cos(\omega_C t_1) S_z \\ & + \gamma_H \sin^2(J_{CH}\tau) \cos(\omega_C t_1) I_x - \gamma_H \sin(J_{CH}\tau) \cos(J_{CH}\tau) \cos(\omega_C t_1) 2I_y S_z - \gamma_H \sin(J_{CH}\tau) \sin(\omega_C t_1) 2I_y S_x \end{aligned}$$

c 時点から ^{13}C をデカップルして，積算位相 $=x$ でFIDを取り込むと，FID強度は

$$S = \gamma_H \sin^2(J_{CH}\tau) \cos(\omega_C t_1) \exp(i\omega_H t_2) \quad (16.3.2)$$

となり， ^{13}C 周波数で振幅変調される．

ω_1 軸についてのQDを行うために，逆INEPTの $^{13}\text{C}90^\circ$ パルスの位相 ϕ_2 をy 積算位相 ψ をy にした実験を行う．密度行列の必要な部分は

$$\sigma = \gamma_H \sin^2(J_{CH}\tau) \sin(\omega_C t_1) I_y$$

となるので， $^{13}\text{C}90^\circ$ パルスの位相 $\phi_2 = x$ ，積算位相 $\psi = x$ の実験と加えあわせると，Nタイプの信号が得られ，

$$S_N = \gamma_H \sin^2(J_{CH}\tau) \exp(-i\omega_C t_1) \exp(i\omega_H t_2)$$

となる． ^{13}C に結合していない ^1H は，c 時点で，z 磁化になるので，FIDに寄与しない．しかし， $^1\text{H}90^\circ$ パルスの不完全性から， ^{13}C に結合していない ^1H も横磁化として残る．これは， $\phi_1 = x, \phi_2 = x, \psi = x$ と $\phi_1 = -x, \phi_2 = x, \psi = -x$ ，の2つの実験（および， $\phi_1 = x, \phi_2 = y, \psi = y$ と $\phi_1 = -x, \phi_2 = y, \psi = -y$ ）を行い，加算することによって打ち消すことができる．

しかし，水溶液試料の大きな水の信号を消去することは難しい．HSQCパルス系列の前にDANTEパルスなどで水の信号を飽和させる方法は，水のプロトンと交換するアミドプロトンをもつたんぱく質等の試料では，飽和の移動によってアミドプロトンの信号が消失する．そこで水の信号を飽和させない方法が考えられている[39]．

I' を ^{13}C に結合していない ^1H とすると，INEPTの最後の $^1\text{H}90^\circ_y(I)$ パルスと $^{13}\text{C}90^\circ_x(S)$ パルスの前で密度行列は

$$\sigma = \gamma_H \cos(J_{CH}\tau) I_y - \gamma_C S_z + \gamma_H \sin(J_{CH}\tau) 2I_z S_z + \gamma_H I'_y$$

となる．この時点で，磁場勾配パルス（ホモスポイルパルス）を加えると， S_z と $I_z S_z$ の項を除いて消えていく．その後 $90^\circ_x(S)$ パルスを加えると

$$\sigma = \gamma_C S_y - \gamma_H \sin(J_{CH}\tau) 2I_z S_y$$

となり， ^1H の信号は現れない．

Baxらはwater flip-back，WATERGATE（water suppression by gradient-tailored excitation）[40]，および磁場勾配パルスを用いた巧妙な方法を考案した[41]．パルス系列を図16.17に示す．

INEPTの最後の $^1\text{H}90^\circ_y(I)$ パルスの後に水の ^1H に選択的な弱い 90° パルスを加えると，密

度行列は

$$\sigma = \gamma_H \cos(J_{CH}\tau) I_y - \gamma_C S_z + \gamma_H \sin(J_{CH}\tau) 2I_z S_z + \gamma_H I'_z$$

となり、水の¹H磁化はz方向を向く．ここで磁場勾配パルスG1を加え、すべての横磁化を消散させる．ついで¹³C90°_x(S)パルスを加えると、

$$\sigma = \gamma_C S_y - \gamma_H \sin(J_{CH}\tau) 2I_z S_y + \gamma_H I'_z$$

となり、以後、発展期の間で、水の¹H磁化は-zを向く．発展期のあと¹³C90°_x(S)パルスを印加すると、

$$\begin{aligned} \sigma = & -\gamma_H \cos(J_{CH}\tau) I_y - \gamma_C \sin(\omega_C t_1) S_x + \gamma_C \cos(\omega_C t_1) S_z \\ & - \gamma_H \sin(J_{CH}\tau) \sin(\omega_C t_1) 2I_z S_x + \gamma_H \sin(J_{CH}\tau) \cos(\omega_C t_1) 2I_z S_z - \gamma_H I'_z \end{aligned}$$

必要な部分は2スピンオーダーになるので、磁場勾配パルスG2によりその他のコヒーレンスを消散させる．残存する水の横磁化がG1-t₁/2-180°(I)-t₁/2-G2によって再結像しないように、G1、G2の符号を逆にする．混合期で¹Hにはwater flip-back 90°パルスを加える．これは水に選択的な弱い90°_{-x}パルスとそれに続く非選択的な90°_xパルスからなり、水に対しては0°パルス、その他に対しては90°パルスとして働く．逆INEPTの¹H180°パルス

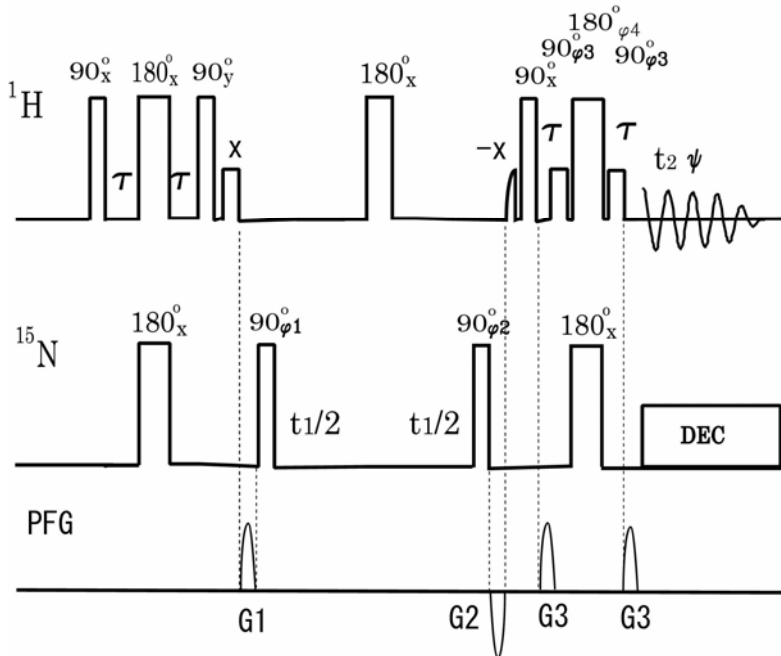


図16.17 水の信号を消去するHSQCパルス系列．小さいパルスは水に選択的な90°パルス．
 $\tau = \pi/2 J_{NH}$. パルス位相 $\phi_1 = 2(x), 2(-x)$; $\phi_2 = 2(x, y)$; $\phi_3 = -\phi_4 = 4(x), 4(-x)$; 積算位相 $\psi = -x, -y, x, y$; 奇数番目の積算と偶数番目の積算を異なるメモリーに保存する．文献[33]では、最大強度250mT/mのサインベル型磁場勾配パルス、G1,2,3の継続時間はそれぞれ2.5, 1.0, 0.4ms、G1とG2は互いに符号が逆である．矩形の選択パルス強度 $\omega_1/\gamma_H \approx 250\text{Hz}$ 、半ガウス型の選択90°パルス幅2.1ms

すはWATERGATEパルスにする．これは非選択 180° パルスの両側にそれと逆位相の水に選択的な2つの 90° パルスからなる．これは水に対しては 0° パルス，その他に対しては 180° パルスとして働く．WATERGATEパルスの両側に同位相の磁場勾配パルスG3をおき，水の横磁化に対しては発散，その他の横磁化に対しては収斂して再結像する．パルス位相 $\phi_1 = 2(x)$, $2(-x)$; $\phi_2 = 2(x, y)$; $\phi_3 = -\phi_4 = 4(x)$, $4(-x)$; 積算位相 $\psi = -x, -y, x, y$ でFIDを取得する．磁場勾配パルスはここでは水消しのために用いられ，HSQCのコヒーレンス移動経路選択のために用いられていないことに注意しよう．純位相モードのスペクトルを得るには，奇数番目の積算と偶数番目の積算を異なるメモリーに保存して，States法で処理する．

HSQCはHMQCと同じく， $(\omega_2, \omega_1) = (\omega_{\text{H}}, \omega_{\text{C}})$ にピークをもつ2次元スペクトルをあたえる．HMQCに対するHSQCの利点は，多くの場合， ω_1 軸方向にスペクトルの分離が良いことである．すでに述べたように， ^1H - ^1H の J_{HH} 結合がある場合，HMQCでは ω_1 軸方向に J_{HH} による分裂がおこるが，低いデジタル分解能のため分離しないで幅の広いスペクトルになる．これに対してHSQCでは，発展期で ^{13}C 1量子コヒーレンスが展開するので， J_{HH} の分裂はおこらない．結果として，HSQCはHMQCに比較して分離のよいスペクトルを与え，見かけの線幅が狭いのでS/Nもよい．しかし，HSQCでは多数のパルスを用いるため，パルスの不完全性，パラメータ設定のずれ等によりS/Nが低下する．

磁場勾配パルスでコヒーレンス移動経路の選択を行うHSQCのパルス系列を図16. 18に示す[30,31]．発展期において ^{13}C の横磁化を継続時間 δ の磁場勾配パルスG1で発散させ，逆INEPTで ^1H 横磁化にした後，継続時間 δ の磁場勾配パルスG2で収斂させる． δ 秒間の化学シフトによる発展を再結像するために， 180° パルスの片側に磁場勾配パルス，反対側に δ 秒の待ち時間をおく． 180° パルス後に磁場勾配パルスを置いた場合，NタイプおよびPタイプ信号に対する再結像の条件は

$$(\gamma_{\text{C}}G1 \pm \gamma_{\text{H}}G2)z\delta = 0$$

となるので，

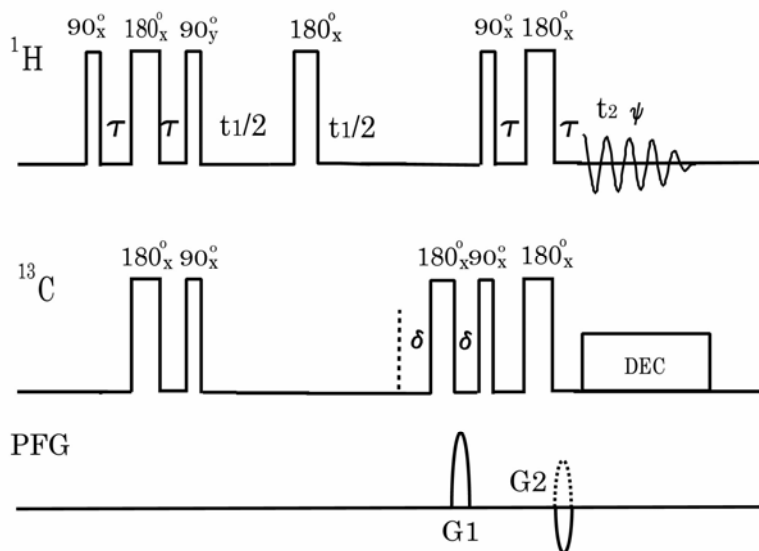
$$G1/G2 = \mp \gamma_{\text{H}}/\gamma_{\text{C}}$$

である．

^{13}C に結合していない ^1H からの寄与は，磁場勾配パルスによって発散し消失するので，溶媒等の大きな単一ピークを除去することができる．

Ranceらはただ1つの ^1H が ^{13}C あるいは ^{15}N に直接結合している場合に感度が増強するHSQCを考案した[42]．これを感度増強モード (sensitivity enhanced mode) あるいはラン

(a)



(b)

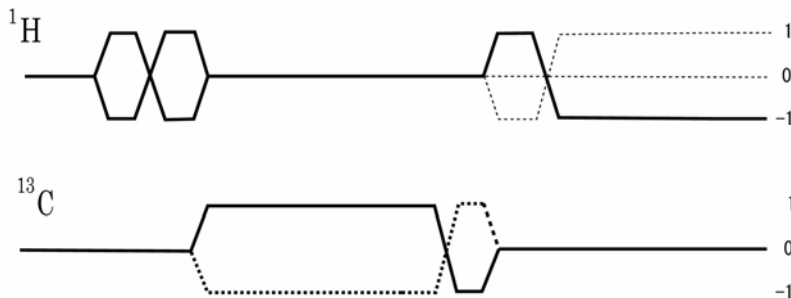


図16.18 (a) 磁場勾配パルスを用いたHSQCのパルス系列． $\tau = \pi/2^1J_{CH}$ ．
 $G_1/G_2 = -\gamma_H/\gamma_C (-3.976)$ (Nタイプ, 実線; Pタイプ, 破線). (b) コヒーレンス移動経路選択．
 太線はNタイプ, 太点線はPタイプ

スモード (Rance mode) のHSQCという．AX2 スピン系で考える (A = I, X = S)．
 $\tau = \pi/(2^1J_{CH})$ のとき, c 時点での密度行列は

$$\sigma = \gamma_H \{ \cos(\omega_C t_1) I_x - \sin(\omega_C t_1) 2I_y S_x \}$$

となり, Iスピン横磁化のほかに2スピンコヒーレンスが現れる．したがって, 発展期で展開された全コヒーレンスの一部しか検出期で観測されない．感度増強モードの

HSQCは2スピンコヒーレンス部分も観測可能にするものである．パルス系列を図16.19に示す．

逆INEPTの後に $90_y^{\circ}(\text{I})$, $90_y^{\circ}(\text{S})$ を印加すると，密度行列は

$$\sigma = \gamma_{\text{H}} \{-\cos(\omega_{\text{C}}t_1)I_z + \sin(\omega_{\text{C}}t_1)2I_yS_z\}$$

となる．1スピン横磁化は z 磁化になり，2スピンコヒーレンスはSスピンに対して逆位相の1スピン横磁化になる． π/J 秒時間発展させると，前者は不変で，後者は順位相横磁化になる．中間に 180° パルスを挿入して化学シフトによる発展を再結像している．この時点の密度行列は

$$\sigma = \gamma_{\text{H}} \{\cos(\omega_{\text{C}}t_1)I_z - \sin(\omega_{\text{C}}t_1)I_x\}$$

となる． $90_x^{\circ}(\text{I})$ パルスによってこれは

$$\sigma = \gamma_{\text{H}} \{-\cos(\omega_{\text{C}}t_1)I_y - \sin(\omega_{\text{C}}t_1)I_x\} \quad (16.3.3)$$

となるので，積算位相を $-y$ にしてFID信号を取り込むと

$$S = \gamma_{\text{H}} \exp(-i\omega_{\text{C}}t_1) \exp(i\omega_{\text{H}}t_2)$$

1回の測定でNタイプのデータが得られるので，感度は $\sqrt{2}$ 倍に増す．このように発展期で直交する2つの成分（ \cos と \sin ）の両方を発展させる方法をPEP（preservation equivalent pathway）[43,44]あるいはCOS（coherence order selective）という[45-47]．

^{13}C に結合していない ^1H に関する密度行列は

$$\sigma = \gamma_{\text{H}} I_x$$

になるので，FID信号を与える．これは，準備期の $^{13}\text{C}90^{\circ}$ パルスの位相 ϕ_1 を $-x$ ，積算位

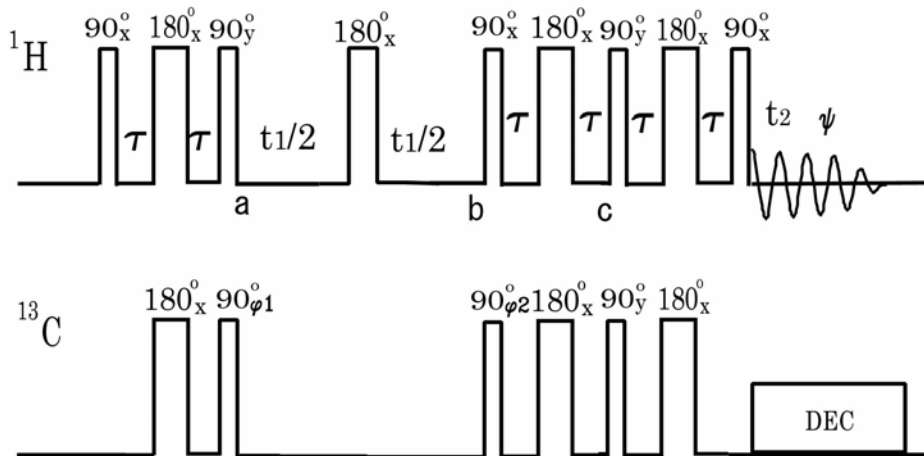


図16.19 感度増強したHSQCのパルス系列． $\tau = \pi/2^1J_{\text{CH}}$ ．Nタイプはパルス位相 $\phi_1 = x, -x$; $\phi_2 = x, x$; 積算位相 $\psi = -y, y$ ．Pタイプはパルス位相 $\phi_1 = x, -x$; $\phi_1 = -x, -x$; 積算位相 $\psi = -y, y$ 相 ϕ_1 を $+y$ にしてデータを取り込み，パルス位相 $\phi_1 = x$ ，積算位相 $\psi = -y$ のデータと加え

合わせることによって消去される。

発展期直後の $^{13}\text{C}90^\circ$ パルス位相 ϕ_2 を $-x$ にすると、検出期初期の密度行列は

$$\sigma = \gamma_{\text{H}} \{-\cos(\omega_{\text{C}}t_1)I_y + \sin(\omega_{\text{C}}t_1)I_x\}$$

となるので、 $\phi_1 = -x, -x$ 、積算位相 $\psi = -y, y$ としてデータを取り込むと信号強度は

$$S = \gamma_{\text{H}} \exp(i\omega_{\text{C}}t_1) \exp(i\omega_{\text{H}}t_2)$$

となり、Pタイプのデータ号が得られる。これら2つのデータを用いて純吸収型のスペクトルを作ることができる[30]。

Nタイプのデータを t_2 について複素フーリエ変換すると

$$S_{\text{N}}(t_1, \omega_2) = \exp(-i\omega_{\text{C}}t_1)[A_2(\omega_2) + iD_2(\omega_2)]$$

となる。 $A_2(\omega_2)$ 、 $D_2(\omega_2)$ はそれぞれ実数部分、虚数部分である。Pタイプのデータについても同様に

$$S_{\text{P}}(t_1, \omega_2) = \exp(+i\omega_{\text{C}}t_1)[A_2(\omega_2) + iD_2(\omega_2)]$$

となる。Nタイプのフーリエ変換の共役複素数とPタイプのデータの平均を作ると

$$S_+(t_1, \omega_2) = \frac{1}{2}(S_{\text{P}} + S_{\text{N}}^*) = \exp(i\omega_{\text{C}}t_1)A_2(\omega_2)$$

これを t_1 について複素フーリエ変換すると

$$S_+(\omega_1, \omega_2) = [A_1(\omega_1) + iD_1(\omega_1)]A_2(\omega_2)$$

となり、この実数部分は純位相のスペクトルを与える。

磁場勾配パルスを用いてコヒーレンス移動経路を選択する感度増強モードのHSQCのパルス系列を図16.20に示す[48]。 $^{15}\text{N} - ^1\text{H}$ について、Nタイプ(Pタイプ)のコヒーレンス移動経路を選択すると、

$$(\mp 1)\gamma_{\text{N}}G_1 + (-1)\gamma_{\text{H}}G_2 = 0$$

なので、

$$G_1/G_2 = \mp \gamma_{\text{H}}/\gamma_{\text{N}} = \pm 9.8621$$

である。

$^{13}\text{C}(^{15}\text{N})$ に2個以上の ^1H が直接結合している場合(NH_2 、 CH_2 、 CH_3)には、感度増強モードでも感度が増強されない。感度増強モードHSQCのパルス系列のFID取得開始時点で、 I_2S スピン系の密度行列の必要な部分は

$$\begin{aligned} \sigma = & \gamma_{\text{H}} \sin^2(J_{\text{CH}}\tau) \cos(\omega_{\text{C}}t_1) I_{1x} - \gamma_{\text{H}} \cos(J_{\text{CH}}\tau) \sin^2(J_{\text{CH}}\tau) \sin(\omega_{\text{C}}t_1) I_{1y} \\ & + \gamma_{\text{H}} \sin^2(J_{\text{CH}}\tau) \cos(\omega_{\text{C}}t_1) I_{2x} - \gamma_{\text{H}} \cos(J_{\text{CH}}\tau) \sin^2(J_{\text{CH}}\tau) \sin(\omega_{\text{C}}t_1) I_{2y} \end{aligned}$$

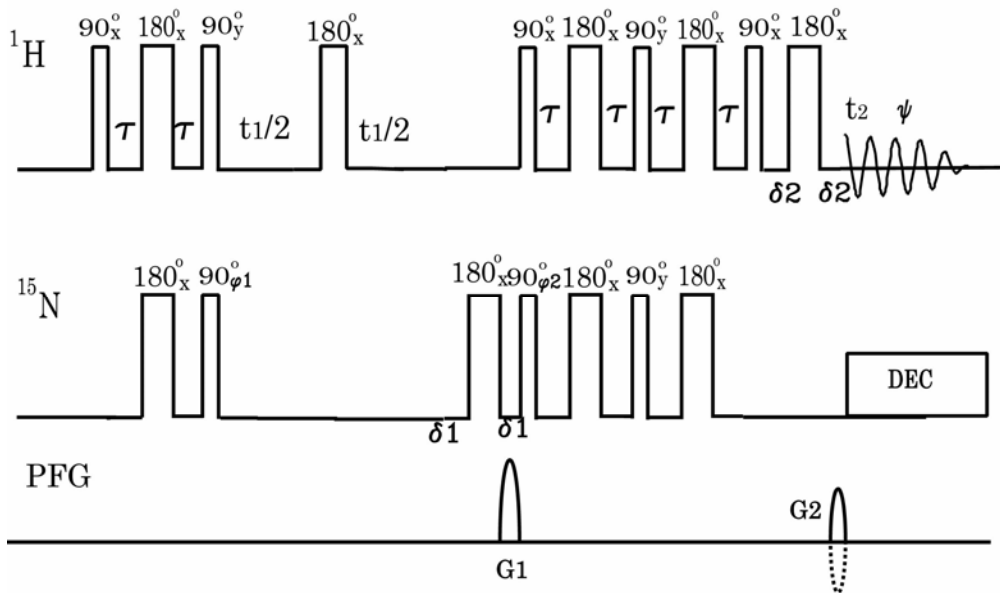


図16. 20 磁場勾配パルスでコヒーレンス移動経路を選択する感度増強モードのHSQCのパルス系列． $\tau = \pi/2^1J_{\text{NH}}$ ．磁場勾配パルス強度 $G_1/G_2 = 9.8621$ ，実線はNタイプ，破線はPタイプ．
 $\delta_1 = \tau = \pi/2^1J_{\text{NH}}$ ， $\delta_2 \approx 0.5\text{ms}$

である． $\tau = \pi/2J_{\text{CH}}$ とすると，通常のHSQCと同じになるので，感度は増強されない．

(D) HMQCリレー，HSQCリレー実験

HMQCあるいはHSQCの最終 ^1H 磁化をCOSY，TOSCY (HOHAHA)，あるいはNOESYで他の ^1H にリレーするパルス系列を図16. 21に示す[49-55]．これらの2次元NMRはハイブリッド実験とも呼ばれる．以下にその二三について述べる．

(i) HMQC-COSY

AMX 3 スピン系について考えよう．A，Mは ^1H ，Xは ^{13}C あるいは ^{15}N を表し，A，M間の結合を J_{HH} ，A，X間の結合を J_{CH} とし，M，X間には結合がないとする．A，M，Xスピンをそれぞれ， I_1 ， I_2 ， S で，また，溶媒（水）を I' で表す．

図16. 21(a)のパルス系列で，第1 $^{13}\text{C}90^\circ$ パルスの位相 $\phi_1=x$ ，第2 $^{13}\text{C}90^\circ$ パルスの位相 $\phi_2=x$ とし，積算位相 $\psi=-y$ としてデータを取り込むと，FID取り込み直前の密度行列の ^1H スピンの関する部分は

$$\begin{aligned} \sigma = & -\gamma_{\text{H}} \cos\left[\frac{J_{\text{HH}}(t_1 + 2\tau)}{2}\right] \left\{ \cos^2\left(\frac{J_{\text{CH}}\tau}{2}\right) - \sin^2\left(\frac{J_{\text{CH}}\tau}{2}\right) \cos(\omega_{\text{C}}t_1) \right\} I_{1x} \\ & -\gamma_{\text{H}} \cos\left[\frac{J_{\text{HH}}(t_1 + 2\tau)}{2}\right] I_{2x} \\ & +\gamma_{\text{H}} \sin\left[\frac{J_{\text{HH}}(t_1 + 2\tau)}{2}\right] \left\{ \cos^2\left(\frac{J_{\text{CH}}\tau}{2}\right) - \sin^2\left(\frac{J_{\text{CH}}\tau}{2}\right) \cos(\omega_{\text{C}}t_1) \right\} 2I_{1z}I_{2y} \end{aligned}$$

$$+\gamma_H \sin\left[\frac{J_{HH}(t_1 + 2\tau)}{2}\right] 2I_{1y}I_{2z} + \gamma_H \cos[\omega'(t_1 + 2\tau)]I'_x$$

となる。 $\tau = \pi / J_{CH}$ からのずれは、 $\omega_1 \approx 0$ の近傍に不要な信号を与える。また、溶媒の単一信号も現れる。これらを消去するために、 $\phi_1 = x, -x$, $\phi_2 = x, x$, 積算位相 $\psi = -y, y$ の 2 つの実験を行い、 2 つのデータを加え合わせると、密度行列の ^1H に関する部分は

$$\begin{aligned} \sigma_x &= \gamma_H \cos\left[\frac{J_{HH}(t_1 + 2\tau)}{2}\right] \sin^2\left(\frac{J_{CH}\tau}{2}\right) \cos(\omega_C t_1) \{I_{1x} \\ &+ \gamma_H \sin\left[\frac{J_{HH}(t_1 + 2\tau)}{2}\right] \sin^2\left(\frac{J_{CH}\tau}{2}\right) \cos(\omega_C t_1)\} 2I_{1z}I_{2y} \end{aligned}$$

となるので、信号強度は

$$\begin{aligned} S_x(t_1, t_2) &= \frac{1}{2} \gamma_H \sin^2\left(\frac{J_{CH}\tau}{2}\right) \cos(\omega_C t_1) \left\{ \cos\left[\frac{J_{HH}(t_1 + 2\tau)}{2}\right] \times \right. \\ &\times \left\{ \exp[i(\omega_{H1} + \frac{J_{HH}}{2})t_2] + \exp[i(\omega_{H1} - \frac{J_{HH}}{2})t_2] \right\} \\ &+ i \sin\left[\frac{J_{HH}(t_1 + 2\tau)}{2}\right] \left\{ \exp[i(\omega_{H2} + \frac{J_{HH}}{2})t_2] - \exp[i(\omega_{H2} - \frac{J_{HH}}{2})t_2] \right\} \left. \right\} \end{aligned}$$

となる。 ω_1 軸の周波数の正負を区別するために、パルスの位相 $\phi_1 = x, -x$, $\phi_2 = y, y$, 積算位相 $\psi = -x, x$ で実験を行う。密度行列は

$$\begin{aligned} \sigma_y &= -\gamma_H \cos\left[\frac{J_{HH}(t_1 + 2\tau)}{2}\right] \sin^2\left(\frac{J_{CH}\tau}{2}\right) \sin(\omega_C t_1) \{I_{1y} \\ &- \gamma_H \sin\left[\frac{J_{HH}(t_1 + 2\tau)}{2}\right] \sin^2\left(\frac{J_{CH}\tau}{2}\right) \cos(\omega_C t_1)\} 2I_{1z}I_{2x} \end{aligned}$$

である。信号は

$$\begin{aligned} S_y(t_1, t_2) &= \frac{-i}{2} \gamma_H \sin^2\left(\frac{J_{CH}\tau}{2}\right) \sin(\omega_C t_1) \left\{ \cos\left[\frac{J_{HH}(t_1 + 2\tau)}{2}\right] \times \right. \\ &\times \left\{ \exp[i(\omega_{H1} + \frac{J_{HH}}{2})t_2] + \exp[i(\omega_{H1} - \frac{J_{HH}}{2})t_2] \right\} \\ &- i \sin\left[\frac{J_{HH}(t_1 + 2\tau)}{2}\right] \left\{ \exp[i(\omega_{H2} + \frac{J_{HH}}{2})t_2] - \exp[i(\omega_{H2} - \frac{J_{HH}}{2})t_2] \right\} \left. \right\} \end{aligned}$$

これらを加え合わせると

$$\begin{aligned} S &= S_x + S_y \\ &= \frac{1}{4} \gamma_H \sin^2\left(\frac{J_{CH}\tau}{2}\right) \times \\ &\left\{ \left\{ \exp[-i(\omega_C - \frac{J_{HH}}{2})t_1] + \exp[-i(\omega_C + \frac{J_{HH}}{2})t_1] \right\} \times \right. \\ &\times \left\{ \exp[i(\omega_{H1} + \frac{J_{HH}}{2})t_2] + \exp[i(\omega_{H1} - \frac{J_{HH}}{2})t_2] \right\} \\ &+ \left\{ \exp[-i(\omega_C - \frac{J_{HH}}{2})t_1] - \exp[-i(\omega_C + \frac{J_{HH}}{2})t_1] \right\} \times \\ &\times \left\{ \exp[i(\omega_{H2} + \frac{J_{HH}}{2})t_2] - \exp[i(\omega_{H2} - \frac{J_{HH}}{2})t_2] \right\} \left. \right\} \end{aligned}$$

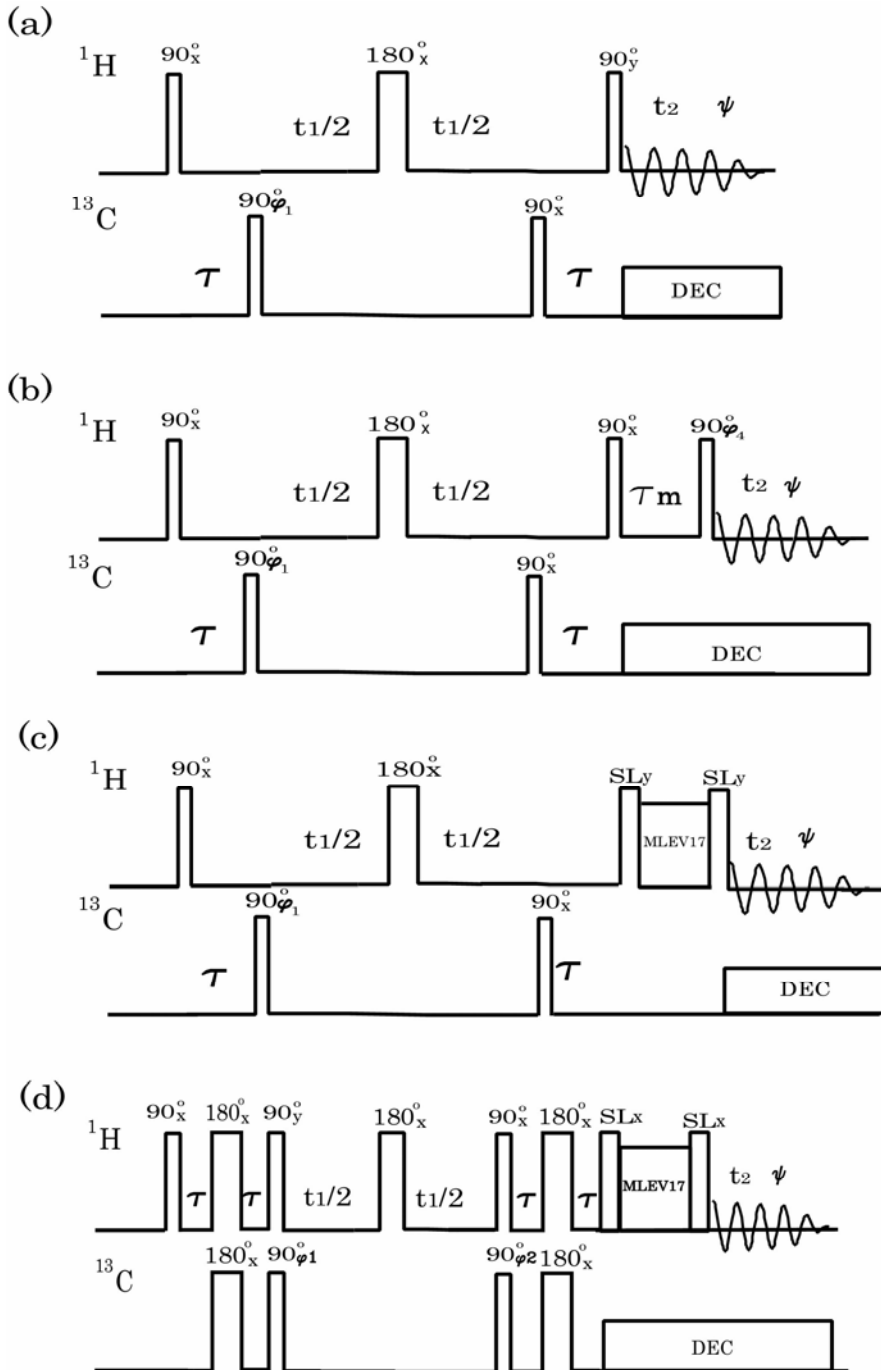


図16.21 HMQCとHSQCのリレー実験。(a)HMQC-COSY, $\tau = \pi/{}^1J_{\text{CH}}$, パルス位相 $\phi_1 = x, y, -x, -y$, 積算位相 $\psi = x, -y, -x, y$ 。(b)HMQC-NOESY, $\tau = \pi/{}^1J_{\text{CH}}$ 。(c)HMQC-TOCSY, $\tau = \pi/{}^1J_{\text{CH}}$, パルス位相 $\phi_1 = x, y, -x, -y$, 積算位相 $\psi = x, -y, -x, y$ 。(d)HSQC-TOCSY, $\tau = \pi/2{}^1J_{\text{CH}}$, パルス位相 $\phi_1 = 2(x), 2(-x)$, $\phi_2 = 2(x, y)$, 積算位相 $\psi = x, y, -x, -y$

となるので, t_2, t_1 について複素フーリエ変換をして, 絶対値モードで表すと,

$$(\omega_2, \omega_1) = (\omega_{H1} \pm J_{HH}/2, \omega_C \pm J_{HH}/2) \text{ と } (\omega_2, \omega_1) = (\omega_{H2} \pm J_{HH}/2, \omega_C \pm J_{HH}/2) \text{ にピークを示す.}$$

前者は直接J結合している ^1H とX核の相関を表し, 後者はその ^1H とJ結合している ^1H とX核の相関を表す. たんぱく質のアミノ酸残基内のアミド ^1H とアミド ^{15}N および α プロトンを区別できるので, この方法はスペクトルの帰属に用いられる.

純位相モードのスペクトルを得るには, 図16. 20の位相回しで, 奇数回と偶数回で異なるメモリーに積算し, Statesの方法を用いる. リレーの多重線は正負になる.

(ii) HMQC-NOESY

HMQCの第2 90° パルスの直前で, t_1 時間にX核の周波数でラベルされたIスピン y 横磁化に 90°_x パルスを加え, これを z 磁化にする(図16. 21(b)). 混合時間 τ_m の間に交差緩和により他のプロトンに磁化移動するので, 次の 90° パルスで読み出す.

(iii) HMQC-TOCSY

これはHMQCの後にMLEV-17などで等方性混合を行い, X核に直接結合した ^1H とJ結合のネットワークを介して間接的に結ばれた ^1H を観測するものである(図16. 21(c)).

(iv) HSQC-TOCSY

HMQC-TOCSYのHMQCに代わってHSQCを用いたものである(図16. 21(d)).

16.4 Xフィルター, X半フィルター 2次元 NMR

同じX核(^{13}C あるいは ^{15}N 等)に直接結合している ^1H 間の交差ピークのみを選別して測定する2次元NMRを, Xフィルター 2次元NMR(X filtered 2D NMR)という. どちらか1つの軸,たとえば ω_1 軸のみについてX核に結合した ^1H を選別する2次元NMRを, ω_1 軸X半フィルター(ω_1 X half-filtered 2D NMR)という. ω_1, ω_2 の両軸とも ^1H 周波数なので ^1H の2次元NMRであるが, X核もかかわるのでここで述べる.

(A) Xフィルター(X filter)

図16. 22(a)はXフィルターCOSYの測定法である[56]. COSYの混合パルスの後に, X核に 180° パルスを加えたものと, 0° パルスを加えたものを測定する. 180° パルスは $90^\circ_x(X)90^\circ_x(X)$ の形で, 0° パルスは $90^\circ_x(X)90^\circ_{-x}(X)$ の形で加える. X核に $90^\circ_x(X)90^\circ_{-x}(X)$ を加えた場合には, 発展期と検出期で同じ分極のX核に結合した ^1H が検出される. 一方, 発展期の最後にX核に $90^\circ_x(X)90^\circ_x(X)$ パルスを加えた場合には, X核の分極が発展期と検出期で逆転するので, 観測されるスペクトルは図16. 23に示すようにE.COSYタイプになる. Xスピンと結合していない ^1H スピンは, X核 $180^\circ(X)$ パルスの有無にかかわらず,

通常のCOSYスペクトルを示す．したがって，両者の差スペクトルはXスピンと結合する ^1H のみのスペクトルになる．

この測定法では， ^{13}C に結合している非等価なジェミナル ^1H のみが交差ピークを与える．Wörgötterら[51]はX核として ^{113}Cd をとり， $^{113}\text{Cd}_2\text{+EDTA}$ 錯体に適用した．

(B) X 半フィルター (X half-filter)

図16. 24(a)に ω_1 軸X半フィルターTOCSY (ω_1 X half-filtered TOCSY) のパルス系列を示す[57-59]． ω_1 軸X半フィルターTOCSYを3スピン系について説明する．Sを ^{13}C ， I_1 をSに直接結合 ($^1J_{\text{CH}}$) する ^1H (化学シフト ω_{H1})， I_2 をSと $^nJ_{\text{CH}}$ ($n>1$) で結合し，かつ， I_1 と I_2 結合していないが等方性混合で I_1 から磁化移動が可能な ^1H (化学シフト ω_{H2}) とする． $^1\text{H}90^\circ$ 励起パルスの後の $\tau-90^\circ\phi_2(^{13}\text{C})180^\circ_x(^1\text{H})90^\circ\phi_3(^{13}\text{C})-\tau$ がXフィルターである． $^1\text{H}90^\circ$ 励起パルスの位相が x で， $\tau-90^\circ_x(^{13}\text{C})180^\circ_x(^1\text{H})90^\circ_x(^{13}\text{C})-\tau$ のとき，発展期の t_1 における密度行列は

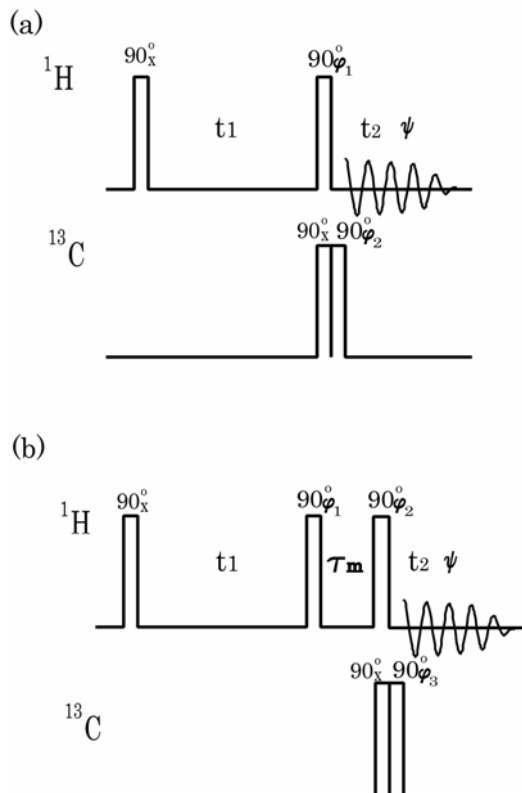


図16. 22 Xフィルター2次元NMRのパルス系列．(a) ^{13}C フィルター-COSY．通常のCOSYパルス位相 ϕ_1 ，積算位相 ψ の各々に対して， $\phi_2=x, -x$ ，積算位相を $+,-$ にする．(b) ^{13}C フィルター-NOESY．通常のCOSYパルス位相 ϕ_1, ϕ_2 ，積算位相 ψ の各々に対して， $\phi_3=x, -x$ ，積算位相を $+,-$ にする

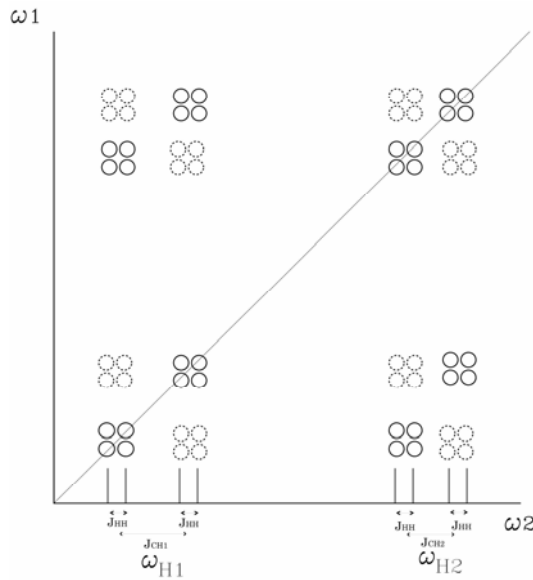


図16. 23 AMX 3 スピン系の X フィルター-COSY スペクトル . A, M は ^1H ($\text{H1}, \text{H2}$), X は ^{13}C で, $J_{\text{AX}} > J_{\text{MX}} \gg J_{\text{HH}}$. 実線は通常の COSY スペクトル, 点線は X 核に 180° パルスを加えたもの

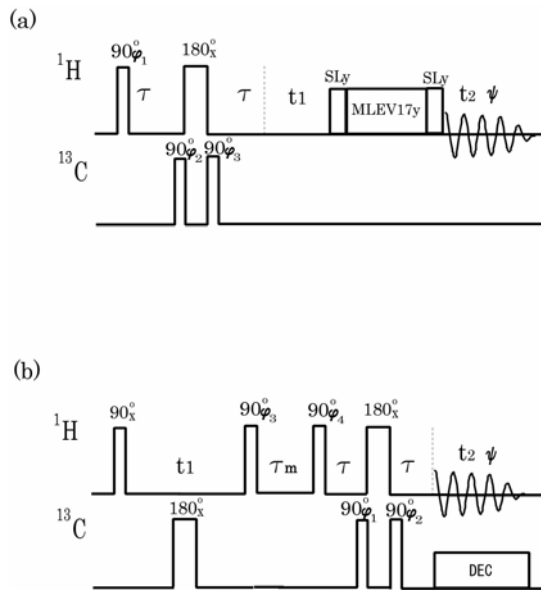


図16. 24 X 半フィルター 2 次元 NMR のパルス系列 . (a) ω_1 ^{13}C 半フィルター TOCSY , $\tau = \pi / J_{\text{CH}}$. TOCSY のパルス位相 $\phi_3 = y, x, -x, -y$, 積算位相 $\psi = 2(y, x)$ の 1 つの実験に対して $\phi_1 = x, \phi_2 = x$ と $\phi_1 = x, \phi_2 = -x$ の実験を行い別々のメモリー領域に積算する . (b) ω_2 ^{13}C 半フィルター NOESY . NOESY のパルス位相 $\phi_3 = 2(x, -x), 2(-y, y)$, $\phi_4 = 2(x, x, y, y)$, 積算位相 $\psi = x, -x, y, -y, -y, y, x, -x$ の 1 つの実験に対して , $\phi_1 = x, \phi_2 = x$ と $\phi_1 = x, \phi_2 = -x$ の実験を行い別々のメモリー領域に積算する

$$\begin{aligned}
\sigma_{180} = & -\gamma_{\text{H}} \cos\left[\frac{{}^1J_{\text{CH}}(2\tau+t_1)}{2}\right] \sin(\omega_{\text{H1}} t_1) I_{1x} \\
& +\gamma_{\text{H}} \cos\left[\frac{{}^1J_{\text{CH}}(2\tau+t_1)}{2}\right] \cos(\omega_{\text{H1}} t_1) I_{1y} \\
& -\gamma_{\text{H}} \cos\left[\frac{{}^nJ_{\text{CH}}(2\tau+t_1)}{2}\right] \sin(\omega_{\text{H2}} t_1) I_{2x} \\
& +\gamma_{\text{H}} \cos\left[\frac{{}^nJ_{\text{CH}}(2\tau+t_1)}{2}\right] \cos(\omega_{\text{H2}} t_1) I_{2y} - \gamma_{\text{C}} S_z \\
& -\gamma_{\text{H}} \sin\left[\frac{{}^1J_{\text{CH}}(2\tau+t_1)}{2}\right] \cos(\omega_{\text{H1}} t_1) 2I_{1x} S_z \\
& -\gamma_{\text{H}} \sin\left[\frac{{}^1J_{\text{CH}}(2\tau+t_1)}{2}\right] \sin(\omega_{\text{H1}} t_1) 2I_{1y} S_z \\
& -\gamma_{\text{H}} \sin\left[\frac{{}^nJ_{\text{CH}}(2\tau+t_1)}{2}\right] \cos(\omega_{\text{H2}} t_1) 2I_{2x} S_z \\
& -\gamma_{\text{H}} \sin\left[\frac{{}^nJ_{\text{CH}}(2\tau+t_1)}{2}\right] \sin(\omega_{\text{H2}} t_1) 2I_{2y} S_z
\end{aligned}$$

となる．ここで $\tau = \pi/{}^1J_{\text{CH}}$ とすると，

$$\begin{aligned}
\sigma_{180} = & \gamma_{\text{H}} \cos\left(\frac{{}^1J_{\text{CH}}t_1}{2}\right) \sin(\omega_{\text{H1}} t_1) I_{1x} - \gamma_{\text{H}} \cos\left(\frac{{}^1J_{\text{CH}}t_1}{2}\right) \cos(\omega_{\text{H1}} t_1) I_{1y} \\
& -\gamma_{\text{H}} \cos\left[\frac{{}^nJ_{\text{CH}}(2\tau+t_1)}{2}\right] \sin(\omega_{\text{H2}} t_1) I_{2x} \\
& +\gamma_{\text{H}} \cos\left[\frac{{}^nJ_{\text{CH}}(2\tau+t_1)}{2}\right] \cos(\omega_{\text{H2}} t_1) I_{2y} - \gamma_{\text{C}} S_z \\
& +\gamma_{\text{H}} \sin\left(\frac{{}^1J_{\text{CH}}t_1}{2}\right) \cos(\omega_{\text{H1}} t_1) 2I_{1x} S_z \\
& +\gamma_{\text{H}} \sin\left(\frac{{}^1J_{\text{CH}}t_1}{2}\right) \sin(\omega_{\text{H1}} t_1) 2I_{1y} S_z \\
& -\gamma_{\text{H}} \sin\left[\frac{{}^nJ_{\text{CH}}(2\tau+t_1)}{2}\right] \cos(\omega_{\text{H2}} t_1) 2I_{2x} S_z \\
& -\gamma_{\text{H}} \sin\left[\frac{{}^nJ_{\text{CH}}(2\tau+t_1)}{2}\right] \sin(\omega_{\text{H2}} t_1) 2I_{2y} S_z
\end{aligned}$$

一方， $\tau \rightarrow 90^\circ$ -x(^{13}C)180°x(^1H)90°x(^{13}C)— τ の時には

$$\begin{aligned}
\sigma_0 = & -\gamma_{\text{H}} \cos\left(\frac{{}^1J_{\text{CH}}t_1}{2}\right) \sin(\omega_{\text{H1}} t_1) I_{1x} + \gamma_{\text{H}} \cos\left(\frac{{}^1J_{\text{CH}}t_1}{2}\right) \cos(\omega_{\text{H1}} t_1) I_{1y} \\
& -\gamma_{\text{H}} \cos\left(\frac{{}^nJ_{\text{CH}}t_1}{2}\right) \sin(\omega_{\text{H2}} t_1) I_{2x} + \gamma_{\text{H}} \cos\left(\frac{{}^nJ_{\text{CH}}t_1}{2}\right) \cos(\omega_{\text{H2}} t_1) I_{2y} + \gamma_{\text{C}} S_z \\
& -\gamma_{\text{H}} \sin\left(\frac{{}^1J_{\text{CH}}t_1}{2}\right) \cos(\omega_{\text{H1}} t_1) 2I_{1x} S_z - \gamma_{\text{H}} \sin\left(\frac{{}^1J_{\text{CH}}t_1}{2}\right) \sin(\omega_{\text{H1}} t_1) 2I_{1y} S_z \\
& -\gamma_{\text{H}} \sin\left(\frac{{}^nJ_{\text{CH}}t_1}{2}\right) \cos(\omega_{\text{H2}} t_1) 2I_{2x} S_z - \gamma_{\text{H}} \sin\left(\frac{{}^nJ_{\text{CH}}t_1}{2}\right) \sin(\omega_{\text{H2}} t_1) 2I_{2y} S_z
\end{aligned}$$

である．y方向にスピンロックするとy成分のみが残り，

$$\begin{aligned} \sigma_{180} = & -\gamma_H \cos\left(\frac{{}^1J_{CH}t_1}{2}\right) \cos(\omega_{H1} t_1) I_{1y} + \gamma_H \cos\left[\frac{{}^nJ_{CH}(2\tau+t_1)}{2}\right] \cos(\omega_{H2} t_1) I_{2y} \\ & + \gamma_H \sin\left(\frac{{}^1J_{CH}t_1}{2}\right) \sin(\omega_{H1} t_1) 2I_{1y}S_z - \gamma_H \sin\left[\frac{{}^nJ_{CH}(2\tau+t_1)}{2}\right] \sin(\omega_{H2} t_1) 2I_{2y}S_z \end{aligned}$$

および

$$\begin{aligned} \sigma_0 = & \gamma_H \cos\left(\frac{{}^1J_{CH}t_1}{2}\right) \cos(\omega_{H1} t_1) I_{1y} + \gamma_H \cos\left(\frac{{}^nJ_{CH}t_1}{2}\right) \cos(\omega_{H2} t_1) I_{2y} \\ & - \gamma_H \sin\left(\frac{{}^1J_{CH}t_1}{2}\right) \sin(\omega_{H1} t_1) 2I_{1y}S_z - \gamma_H \sin\left(\frac{{}^nJ_{CH}t_1}{2}\right) \sin(\omega_{H2} t_1) 2I_{2y}S_z \end{aligned}$$

となる．等方性混合のあと

$$\begin{aligned} \sigma_{180}^{mixing} = & -\gamma_H \cos\left(\frac{{}^1J_{CH}t_1}{2}\right) \cos(\omega_{H1} t_1) I_{1y} + \gamma_H \sin\left(\frac{{}^1J_{CH}t_1}{2}\right) \sin(\omega_{H1} t_1) 2I_{1y}S_z \\ & -\gamma_H \cos\left(\frac{{}^1J_{CH}t_1}{2}\right) \cos(\omega_{H1} t_1) I_{2y} + \gamma_H \sin\left(\frac{{}^1J_{CH}t_1}{2}\right) \sin(\omega_{H1} t_1) 2I_{2y}S_z \\ & +\gamma_H \cos\left[\frac{{}^nJ_{CH}(2\tau+t_1)}{2}\right] \cos(\omega_{H2} t_1) I_{2y} - \gamma_H \sin\left[\frac{{}^nJ_{CH}(2\tau+t_1)}{2}\right] \sin(\omega_{H2} t_1) 2I_{2y}S_z \\ & +\gamma_H \cos\left[\frac{{}^nJ_{CH}(2\tau+t_1)}{2}\right] \cos(\omega_{H2} t_1) I_{1y} - \gamma_H \sin\left[\frac{{}^nJ_{CH}(2\tau+t_1)}{2}\right] \sin(\omega_{H2} t_1) 2I_{1y}S_z \end{aligned}$$

と書くことができるので，積算位相を y としてFIDを取り込むと

$$\begin{aligned} S_{180}^{mixing} = & \left(\frac{1}{2}\right)\gamma_H \{-\cos[(\omega_{H1} + \frac{{}^1J_{CH}}{2})t_1] + \cos[{}^nJ_{CH}\tau + (\omega_{H2} + \frac{{}^nJ_{CH}}{2})t_1]\} \times \\ & \times \exp[i(\omega_{H1} + \frac{{}^1J_{CH}}{2})t_2] + \left(\frac{1}{2}\right)\{\gamma_H \{-\cos[(\omega_{H1} - \frac{{}^1J_{CH}}{2})t_1] + \\ & \cos[{}^nJ_{CH}\tau + (\omega_{H2} - \frac{{}^nJ_{CH}}{2})t_1]\} \exp[i(\omega_{H1} - \frac{{}^1J_{CH}}{2})t_2] \\ & + \left(\frac{1}{2}\right)\gamma_H \{-\cos[(\omega_{H1} + \frac{{}^1J_{CH}}{2})t_1] + \cos[{}^nJ_{CH}\tau + (\omega_{H2} + \frac{{}^nJ_{CH}}{2})t_1]\} \times \\ & \times \exp[i(\omega_{H2} + \frac{{}^nJ_{CH}}{2})t_2] + \left(\frac{1}{2}\right)\gamma_H \{-\cos[(\omega_{H1} - \frac{{}^1J_{CH}}{2})t_1] \\ & + \cos[{}^nJ_{CH}\tau + (\omega_{H2} - \frac{{}^nJ_{CH}}{2})t_1]\} \exp[i(\omega_{H2} - \frac{{}^nJ_{CH}}{2})t_2] \end{aligned}$$

図16.25(a)に2次元スペクトルを模式的に示す．一方，X核 0° パルスの場合には，

$$\begin{aligned} \sigma_0^{mixing} = & \gamma_H \cos\left(\frac{{}^1J_{CH}t_1}{2}\right) \cos(\omega_{H1} t_1) I_{1y} - \gamma_H \sin\left(\frac{{}^1J_{CH}t_1}{2}\right) \sin(\omega_{H1} t_1) 2I_{1y}S_z \\ & + \gamma_H \cos\left(\frac{{}^1J_{CH}t_1}{2}\right) \cos(\omega_{H1} t_1) I_{2y} - \gamma_H \sin\left(\frac{{}^1J_{CH}t_1}{2}\right) \sin(\omega_{H1} t_1) 2I_{2y}S_z \\ & + \gamma_H \cos\left(\frac{{}^nJ_{CH}t_1}{2}\right) \cos(\omega_{H2} t_1) I_{2y} - \gamma_H \sin\left(\frac{{}^nJ_{CH}t_1}{2}\right) \sin(\omega_{H2} t_1) 2I_{2y}S_z \\ & + \gamma_H \cos\left(\frac{{}^nJ_{CH}t_1}{2}\right) \cos(\omega_{H2} t_1) I_{1y} - \gamma_H \sin\left(\frac{{}^nJ_{CH}t_1}{2}\right) \sin(\omega_{H2} t_1) 2I_{1y}S_z \end{aligned}$$

であるので，同様に積算位相 y でFIDを取り込むと

$$\begin{aligned}
S_0^{mixing} = & \left(\frac{1}{2}\right)\gamma_{\text{H}} \{ \cos[(\omega_{\text{H1}} + \frac{1}{2}J_{\text{CH}})t_1] + \cos[(\omega_{\text{H2}} + \frac{n}{2}J_{\text{CH}})t_1] \} \times \\
& \times \exp[i(\omega_{\text{H1}} + \frac{1}{2}J_{\text{CH}})t_2] + \left(\frac{1}{2}\right)\{\gamma_{\text{H}} \{ \cos[(\omega_{\text{H1}} - \frac{1}{2}J_{\text{CH}})t_1] \\
& + \cos[(\omega_{\text{H2}} - \frac{n}{2}J_{\text{CH}})t_1] \} \exp[i(\omega_{\text{H1}} - \frac{1}{2}J_{\text{CH}})t_2] + \left(\frac{1}{2}\right)\gamma_{\text{H}} \{ \cos[(\omega_{\text{H1}} + \frac{1}{2}J_{\text{CH}})t_1] \\
& + \cos[(\omega_{\text{H2}} + \frac{n}{2}J_{\text{CH}})t_1] \} \exp[i(\omega_{\text{H2}} + \frac{n}{2}J_{\text{CH}})t_2] + \left(\frac{1}{2}\right)\gamma_{\text{H}} \{ \cos[(\omega_{\text{H1}} - \frac{1}{2}J_{\text{CH}})t_1] \\
& + \cos[(\omega_{\text{H2}} - \frac{n}{2}J_{\text{CH}})t_1] \} \exp[i(\omega_{\text{H2}} - \frac{n}{2}J_{\text{CH}})t_2]
\end{aligned}$$

となる． ${}^nJ_{\text{CH}}\tau$ は小さいので，2つの測定の差をとると，

$$\begin{aligned}
S_{180}^{mixing} - S_0^{mixing} = & -\gamma_{\text{H}} \cos[(\omega_{\text{H1}} + \frac{1}{2}J_{\text{CH}})t_1] \exp[i(\omega_{\text{H1}} + \frac{1}{2}J_{\text{CH}})t_2] \\
& -\gamma_{\text{H}} \cos[(\omega_{\text{H1}} - \frac{1}{2}J_{\text{CH}})t_1] \exp[i(\omega_{\text{H1}} - \frac{1}{2}J_{\text{CH}})t_2] \\
& -\gamma_{\text{H}} \cos[(\omega_{\text{H1}} + \frac{1}{2}J_{\text{CH}})t_1] \exp[i(\omega_{\text{H2}} + \frac{n}{2}J_{\text{CH}})t_2] \\
& -\gamma_{\text{H}} \cos[(\omega_{\text{H1}} - \frac{1}{2}J_{\text{CH}})t_1] \exp[i(\omega_{\text{H2}} - \frac{n}{2}J_{\text{CH}})t_2]
\end{aligned}$$

となり， $\omega_1 = \omega_{\text{H1}} \pm \frac{1}{2}J_{\text{CH}}$ のところに ω_2 軸に平行にE.COSYタイプの対角ピーク，交差ピークが現れ， ω_1 軸に関して ^{13}C に直接結合している $^1\text{H}(I_1)$ のみが選択される． ${}^1J_{\text{CH}}$ と ${}^nJ_{\text{CH}}$ の相対符号の正負によって，交差ピークは対角線方向あるいはそれと垂直をなす方向に現れる．図 16. 25(b)に差スペクトルを模式的に示す．一方，和を作ると， ^{13}C に直接結合した ^1H を除いたすべての ^1H のスペクトルが得られる．

^{13}C に直接結合している ^1H が他の ^1H と J 結合しているのので，さらに J_{HH} で分裂する．また， I_2 もその ^1H あるいは他の ^1H と J 結合しているののでさらに分裂する．

ω_1 軸の周波数の正負を区別するためには，第1パルスの位相を y にして同様な実験を行う．データを別のメモリーに積算し，States法で処理することによって，純位相のスペクトルを得ることができる．

NOESYの ω_2 軸にX半フィルターをつけた ω_2 軸X半フィルターNOESY (ω_2 X half-filtered NOESY) も可能である．図 16. 24(b)にパルス系列を示す．発展期と検出期でX核をデカップルしているのので， ω_1 軸， ω_2 軸両方向ともX核による分裂は現れない．

ω_2 軸周波数としてX核に直接結合している ^1H のみが選択される．特定のアミノ酸を ^{15}N でラベルしたたんぱく質のNOESYスペクトルから，ラベルしたアミノ酸残基のスペクトルのみを抽出することができる． ω_1 ， ω_2 の両軸にX半フィルターをつけた二重X半フィルター (double X half-filter) 2次元NMRも可能である．

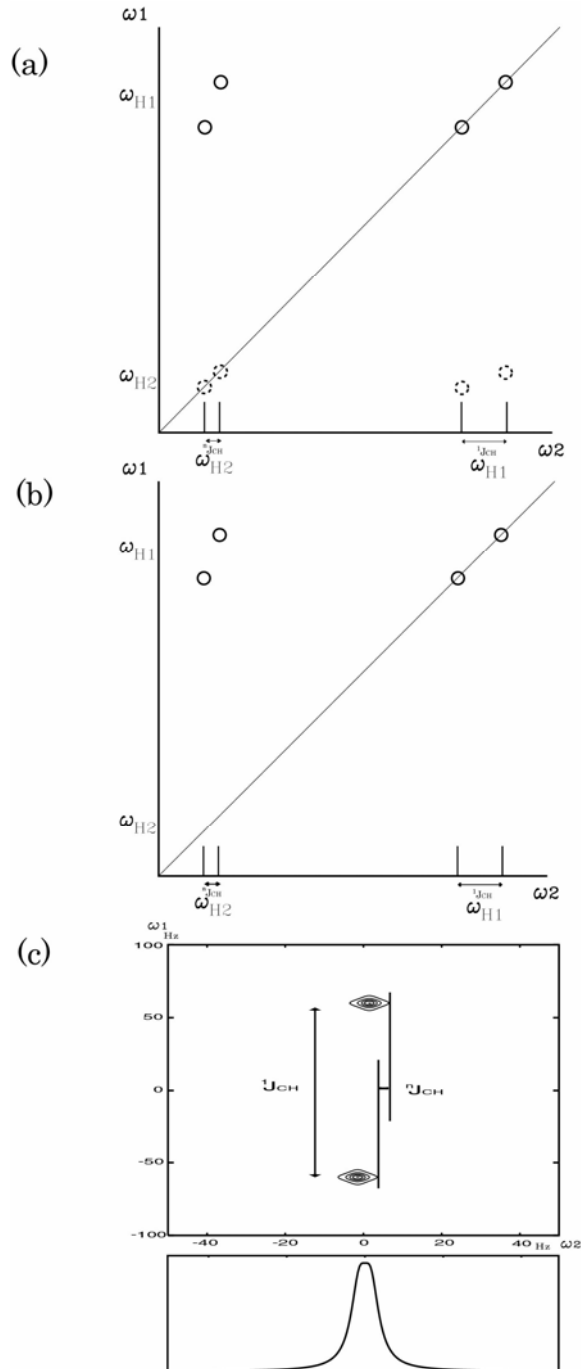


図16.25 ω_1 軸X半フィルター-TOCSY 2次元スペクトルの模式図. ^{13}C に J_{CH} で結合する ^1H (化学シフト ω_{H1}) と $^n J_{\text{CH}}$ ($n > 1$) で結合する ^1H (化学シフト ω_{H2}) からなり, 2つの ^1H は直接結合していないが, J 結合ネットワークを介して間接的に結ばれている. (a) $\pi-90^\circ x(^{13}\text{C})180^\circ x(^1\text{H})90^\circ x(^{13}\text{C})-\tau$ のときのスペクトル. 実線と点線では正負符号が逆転している. (b) 差スペクトル. ω_1 軸周波数に ^{13}C が直接結合した ^1H のみが残る. (c) 交差ピークのシミュレーション. $^1J_{\text{CH}}=120\text{Hz}$, $^n J_{\text{CH}}=3\text{Hz}$, 両軸とも半値幅2.5Hzのローレンツ曲線を仮定した

Kesslerら[57,58]は、 ^{12}C に結合した ^1H からの信号を抑制するため、 ω_1 X half-filtered TOCSYの前にBIRDパルス[28]を付加した。これはHETLOC (heteronuclear long-range coupling)と呼ばれ、天然存在比の試料で ^{13}C と ^1H の遠隔ノ結合 $^nJ_{\text{CH}}$ ($n>1$)を測定するのに利用される。図16. 25(c)に示すように、E.COSYタイプ交差ピークの ω_1 軸方向の大きな $^1J_{\text{CH}}$ 分裂が、1次元スペクトルでは分離しないような ω_2 軸方向の小さな $^nJ_{\text{CH}}$ の測定を容易にしている。

16.5 ^{13}C - ^{13}C 化学シフト相関2次元NMR INADEQUATE

INADEQUATE (incredible natural abundance double quantum transfer experiment)は、天然存在比の試料について、単独 ^{13}C からの信号を消去し、 $^1J_{\text{CC}}$ で結合している ^{13}C - ^{13}C のペアからの信号のみを観測する方法である[60-62]。この方法は炭素のつながりを示し、化学構造決定に有用である。図16. 26に測定のパルス系列を示す。最初の $90^\circ_x - \tau - 180^\circ_x - \tau - 90^\circ_x$ パルスによって2量子コヒーレンスを励起する。 t_1 時間の間2量子コヒーレンスを時間発展させ、最後の 90° パルスで1量子に変換して観測する。NOEによる感度増強のため、 ^1H を広帯域デカップルする。

結合定数 $^1J_{\text{CC}}$ で結合したAX2スピン系を考えると、図16. 26のa 時点での密度行列は

$$\begin{aligned} \sigma(a) = & \cos(^1J_{\text{CC}}\tau) I_{\text{Az}} + \cos(^1J_{\text{CC}}\tau) I_{\text{Xz}} + \cos(2\phi_1) \sin(^1J_{\text{CC}}\tau) 2I_{\text{Ay}} I_{\text{Xx}} \\ & + \cos(2\phi_1) \sin(^1J_{\text{CC}}\tau) 2I_{\text{Ax}} I_{\text{Xy}} - \sin(2\phi_1) \sin(^1J_{\text{CC}}\tau) 2I_{\text{Ax}} I_{\text{Xx}} \\ & + \sin(2\phi_1) \sin(^1J_{\text{CC}}\tau) 2I_{\text{Ay}} I_{\text{Xy}} \end{aligned}$$

となり、2量子コヒーレンスの生成は $\sin(^1J_{\text{CC}}\tau)$ に依存する。 $\phi_1 = x(0^\circ)$ の時、

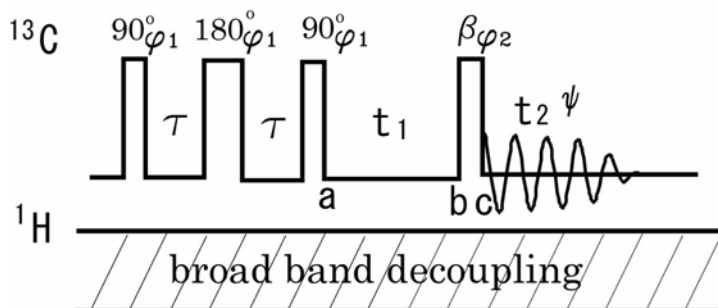


図16. 26 INADEQUATEの測定パルス系列。 $\tau = \pi / (2^1J_{\text{CC}})$, $\beta = 120^\circ$. パルス位相 $\phi_1 = 4(x)$, $\phi_2 = x, y, -x, -y$, 積算位相 $\psi = x, -y, -x, y$

$$\sigma_0(\mathbf{a}) = \cos(^1J_{CC}\tau) I_{Az} + \sin(^1J_{CC}\tau) 2 I_{Ay} I_{Xx} + \sin(^1J_{CC}\tau) 2 I_{Ax} I_{Xy} + \cos(^1J_{CC}\tau) I_{Xz}$$

ここで $\tau = \pi/(2 \ ^1J_{CC})$ に選ぶと, $2 I_{Ay} I_{Xx} + 2 I_{Ax} I_{Xy}$ の 2 量子コヒーレンスのみが生成

される. $\tau = \pi/(2 \ ^1J_{CC})$ の条件から外れると磁化の z 成分が残る. 2 量子コヒーレンス

が t_1 時間発展した後の b の時点での密度行列は

$$\sigma_0(\mathbf{b}) = -\sin[(\omega_A + \omega_X)t_1] 2 I_{Ax} I_{Xx} + \cos[(\omega_A + \omega_X)t_1] 2 I_{Ay} I_{Xx} + \cos[(\omega_A + \omega_X)t_1] 2 I_{Ax} I_{Xy} + \sin[(\omega_A + \omega_X)t_1] 2 I_{Ay} I_{Xy}$$

となる. ここで読み出しのための 90°_x パルス ($\phi_2 = x(0^\circ)$) を加えると,

$$\sigma_{0,x}(\mathbf{c}) = -\sin[(\omega_A + \omega_X)t_1] 2 I_{Ax} I_{Xx} + \cos[(\omega_A + \omega_X)t_1] 2 I_{Az} I_{Xx} + \cos[(\omega_A + \omega_X)t_1] 2 I_{Ax} I_{Xz} + \sin[(\omega_A + \omega_X)t_1] 2 I_{Az} I_{Xz}$$

となる. 第 1 項が 2 量子コヒーレンス, 第 2 項, 第 3 項が逆位相 x 磁化, 第 4 項は 2 スピンオーダーである. 積算位相 x で取り込んだ FID 信号は

$$S_{0,x} = \cos[(\omega_A + \omega_X)t_1] \{ \exp[i(\omega_X + \frac{1}{2}J_{CC})t_2] - \exp[i(\omega_X - \frac{1}{2}J_{CC})t_2] + \exp[i(\omega_A + \frac{1}{2}J_{CC})t_2] - \exp[i(\omega_A - \frac{1}{2}J_{CC})t_2] \}$$

となり, フーリエ変換は $\omega_1 = \pm(\omega_A + \omega_X)$, $\omega_2 = \omega_A \pm \frac{1}{2}J_{CC}$, $\omega_X \pm \frac{1}{2}J_{CC}$ に信号を

示す. ω_1 軸は A スピンと X スピンの 2 量子周波数で, ω_2 軸は通常の ^{13}C 1 量子周波数で, $^1J_{CC}$ で分裂した正負の二重線が現れる.

読み出しパルスの位相 ϕ_2 を $x, y, -x, -y$ と変えると, 観測可能な磁化は, それぞれ, $x, -y, -x, y$ 方向を向いた逆位相横磁化となるので, 積算位相を $x, -y, -x, y$ と変えて FID を取り込む. 一方, 単独の ^{13}C からの磁化は励起パルスの位相 ϕ_1 によらず a 時点で z 方向を向く. また, $\tau = \pi/(2 \ ^1J_{CC})$ の条件を満たさないとき生ずる磁化の z 成分も位相 ϕ_1 に依存しない. これらの z 磁化は読み出しパルスの位相 ϕ_2 を $x, y, -x, -y$ と変えると, $-y, x, y, -x$ 磁化になる. したがって, 積算位相を $x, -y, -x, y$ とし FID を取り込むと, 単独の ^{13}C からの信号は消え, $^{13}\text{C} - ^{13}\text{C}$ のつながったペアからの信号のみが観測される.

ペアが強い結合をしている場合には, $\tau = \pi/(2 \ ^1J_{CC})$ の条件で生成される 2 量子コヒーレンスは弱いので, 信号を観測することが難しい. この場合, $\tau = 3\pi/(2 \ ^1J_{CC})$ とすると, 2 量子コヒーレンスが最も効率よく生成される[63].

励起パルスの位相 ϕ_1 を $x, y, -x, -y$ と変えても, t_1 についての変化が \cos なので, ω_1 軸の周波数の正負が決められない. ω_1 軸について QD を行うために, $90^\circ\phi_1 \rightarrow \tau \rightarrow 180^\circ\phi_1 \rightarrow \tau \rightarrow 90^\circ\phi_1$ パルスの位相 ϕ_1 を 45° にした実験を行う. a 時点での密度行列は

$$\sigma_{45}(a) = -2 I_{Ax} I_{Xx} + 2 I_{Ay} I_{Xy}$$

である. 時間発展後の b 時点では

$$\sigma_{45}(b) = -\sin[(\omega_A + \omega_X)t_1] 2I_{Az} I_{Xx} - \sin[(\omega_A + \omega_X)t_1] 2I_{Ax} I_{Xz}$$

これを積算位相 $-y$ で取り込むと,

$$S_{45,-y} = -i \sin[(\omega_A + \omega_X)t_1] \{ \exp[i(\omega_X + \frac{1}{2}J_{CC})t_2] - \exp[i(\omega_X - \frac{1}{2}J_{CC})t_2] \\ + \exp[i(\omega_A + \frac{1}{2}J_{CC})t_2] - \exp[i(\omega_A - \frac{1}{2}J_{CC})t_2] \}$$

となるので, 0° 位相の結果と加え合わせると

$$S_{0,x} + S_{45,-y} = \exp[-i(\omega_A + \omega_X)t_1] \{ \exp[i(\omega_X + \frac{1}{2}J_{CC})t_2] \\ - \exp[i(\omega_X - \frac{1}{2}J_{CC})t_2] + \exp[i(\omega_A + \frac{1}{2}J_{CC})t_2] \\ - \exp[i(\omega_A - \frac{1}{2}J_{CC})t_2] \}$$

となり, ω_1 軸について QD が可能となる.

図16.27は INADEQUATE スペクトルを模式的に示したものである. $^{13}\text{C} - ^{13}\text{C}$ ペアのそれぞれの ^{13}C 1 量子周波数を ω_i および ω_j とすると, 2 量子周波数 ($\omega_i + \omega_j$) は 2 つの 1 量子周波数の midpoint の 2 倍であるので, いくつかのペアがある場合, それらのペアの midpoint は勾配 2 の直線上にのる.

45° フェーズシフターを備えていないスペクトロメータで ω_1 軸周波数の正負を区別する 3 つの方法がある. 第 1 は磁化を z 軸の周りに 45° 回転させるパルスを使う方法である [62]. 位相 45° の 90° パルスは位相 0° の 90° パルスの後, 磁化を z 軸の周りに 45° 回転することに等しい. 磁化を z 軸の周りに θ 回転することは, x 軸の周りに -90° 回転し, ついで y 軸の周りに $-\theta$ 回転して, 最後に x 軸の周りに $+90^\circ$ 回転することと同じである. これを

$$90^\circ(-x) - \theta(-y) - 90^\circ(+x) \equiv \theta(+z)$$

と書く. この $45^\circ(z)$ 複合パルスを 2 量子励起パルスの最後の $90^\circ(x)$ パルスに続けて加えると

$$90^\circ(+x) - 90^\circ(-x) - 45^\circ(-y) - 90^\circ(+x) = 45^\circ(-y) - 90^\circ(+x)$$

となるので, 最後の $90^\circ(x)$ パルスを $45^\circ(-y) - 90^\circ(+x)$ で置き換え, 積算位相を $-y$ にして FID を取り込む.

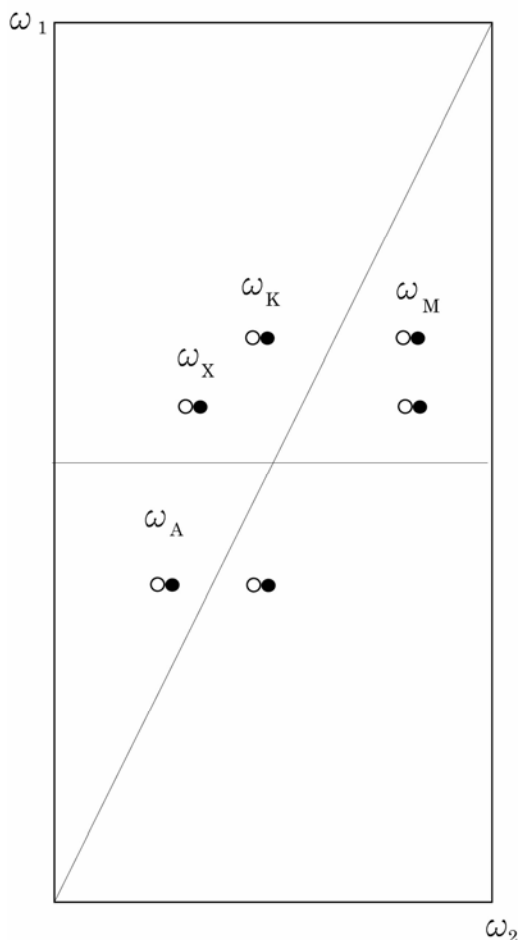


図16.27 INADEQUATEスペクトルの模式図． ω_2 は通常の¹³C 1量子周波数軸， ω_1 は¹³Cペアの2量子周波数軸，AK，KM，MXの3つのいずれも弱く結合したペアの場合を示す．白丸，黒丸は逆位相の二重線を表す

第2の方法はPタイプ，Nタイプ信号が読み出しパルスのフリップ角 β に依存することを利用する[64]．フリップ角 β の読み出しパルス直後の密度行列は

$$\begin{aligned} \sigma_\beta = & \cos[(\omega_A + \omega_X)t_1] \sin(\beta) (2I_{Az}I_{Xx} + 2I_{Ax}I_{Xz}) \\ & + \sin(\beta) \cos(\beta) \sin[(\omega_A + \omega_X)t_1] (2I_{Az}I_{Xy} + 2I_{Ay}I_{Xz}) \end{aligned}$$

となるので，観測されるFID強度は，積算位相を x として

$$\begin{aligned} S_\beta = & \left(\frac{1}{4}\right) [\sin(\beta) + \sin(\beta)\cos(\beta)] \exp[i(\omega_A + \omega_X)t_1] \times \\ & \times \{ \exp[i(\omega_A + \frac{1}{2}J_{CC})t_2] - \exp[i(\omega_A - \frac{1}{2}J_{CC})t_2] \\ & + \exp[i(\omega_X + \frac{1}{2}J_{CC})t_2] - \exp[i(\omega_X - \frac{1}{2}J_{CC})t_2] \} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 & + \left(\frac{1}{4}\right) [\sin(\beta) - \sin(\beta)\cos(\beta)] \exp[-i(\omega_A + \omega_X)t_1] \times \\
 & \times \{ \exp[i(\omega_A + \frac{1}{2}J_{CC})t_2] - \exp[i(\omega_A - \frac{1}{2}J_{CC})t_2] \\
 & + \exp[i(\omega_X + \frac{1}{2}J_{CC})t_2] - \exp[i(\omega_X - \frac{1}{2}J_{CC})t_2] \}
 \end{aligned}$$

第1から3行目はPタイプ、第4から6行目がNタイプで、それぞれの強度は読み出しパルスのフリップ角に依存することがわかる。図16.28にNタイプ、Pタイプ強度のフリップ角依存性を示す。フリップ角が 90° の時、NタイプとPタイプの強度が等しく1になり、真の信号とその折り返しが等しい強度で現れる。Nタイプ信号強度の最大は 120° で得られ、その時、強度は 90° に比べて $3\sqrt{3}/4 = 1.2990$ 倍になるが、PタイプとNタイプの信号の強度比は1:3で、依然としてPタイプ信号が目につく。フリップ角を 135° にするとPタイプ、Nタイプの強度比は1:5.8となって折り返しが目立たなくなり、且つ、 90° に比べてなお20.7%の感度増強が得られる。

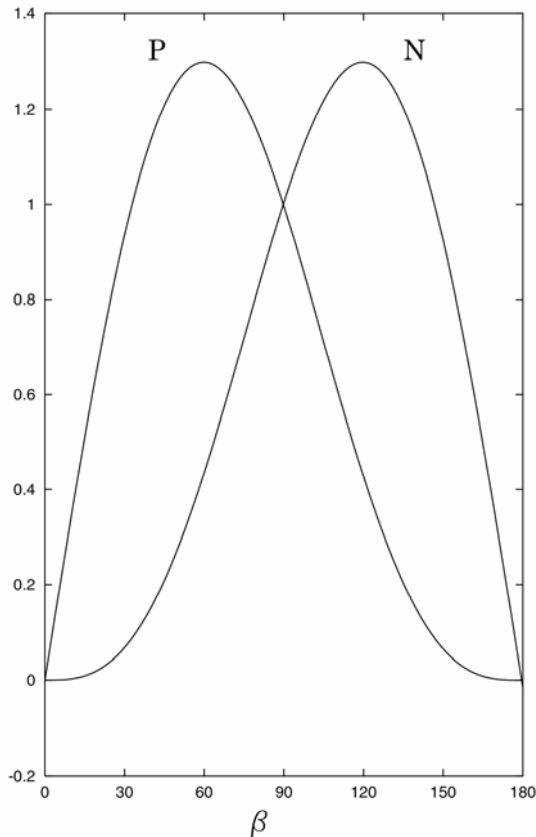


図16.28 NタイプおよびPタイプINADEQUATEスペクトル強度の読み出しパルスフリップ角(β)依存性

第3の方法は磁場勾配パルスを利用する方法である[65]。図16.29に PFG-INADEQUATEのパルス系列(a)と、コヒーレンス移動経路の選択(b)を示す。読み出しパルス幅をNタイプでは 120° 、Pタイプでは 60° にして、 $G1:G2=1:2$ とする。実線はNタイプ、点線はPタイプである。

Sørensenら[66]は、INADEQUATEの前にINEPTのシーケンスをつけて、 ^1H の磁化を ^{13}C に移して感度を増強した(INEPT-INADEQUATE)。 ^1H を広帯域デカップルしてNOEを利用する場合の感度増強3倍に比べて、INEPTでは4倍になる。さらに、INEPTでは ^1H の緩和が実験の繰り返し決めるので、 ^{13}C に比べて ^1H の緩和が速いため一定時間に多くの積算が可能である。この2つの要因で、 ^1H のNOEを利用する場合に比べて感度を2倍から3倍に上げることができる。INEPTの代わりにDEPTを用いたDEPT-INADEQUATEも可能である[67]。

NielsenらはINADEQUATEの ω_2 軸に沿って現れる逆位相の二重線を左側(右側)の共鳴線のみ集中させることによって感度を2倍にした(INADEQUATE CR (composite refocusing))[65]。

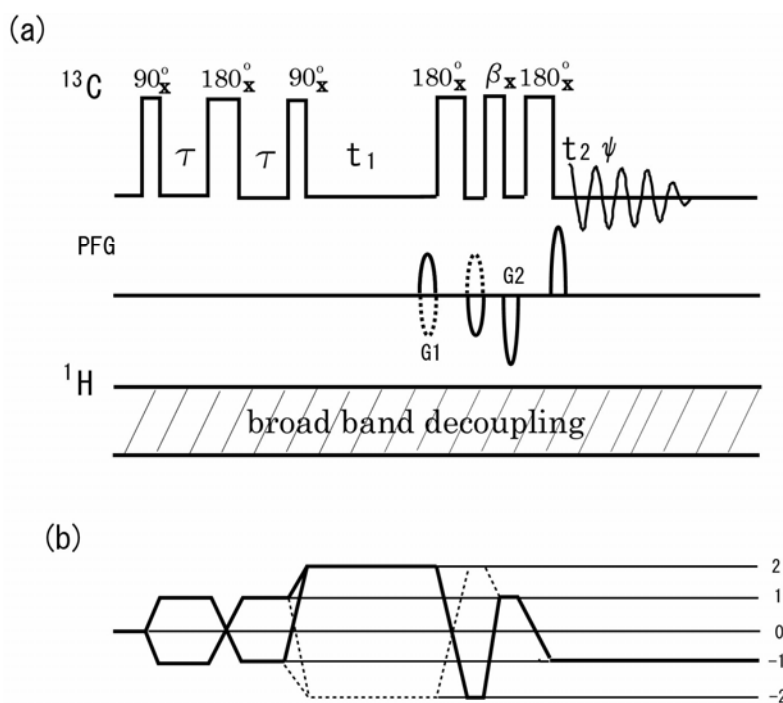


図16.29 (a)磁場勾配パルスを利用したINADEQUATEのパルス系列。 $\tau = \pi/(2^1J_{CC})$ 、 $\beta = 120^\circ$ 、 $G1:G2=1:2$ 、積算位相 $\psi = x$ 。(b)コヒーレンス移動経路選択。実線はNタイプ、破線はPタイプ

INADEQUATEを ^1H で検出する方法も提案されている[68-71]。INEPTを用いて ^1H 磁化で ^{13}C を増強した後、 $^{13}\text{C} - ^{13}\text{C}$ の2量子コヒーレンスを生成、発展させる。 90° パルスで ^{13}C 逆位相横磁化に変換したのち、順位相横磁化になるまで待つてから逆INEPTで ^1H 磁化に変換、待ち時間ののち順位相 ^1H 横磁化を検出する。 ^1H 検出の問題点は ^{13}C に比べて化学シフト領域が狭いためスペクトルの分離が悪いことである。これに対して、 ^1H 検出、表示は従来の ^{13}C 表示する方法も提案されている[72,73]。

文献

- 1) L. Müller, A. Kumar, and R. R. Ernst, *J. Chem. Phys.* **63**, 5490(1975).
- 2) G. Bodenhausen, R. Freeman, and D. L. Turner, *J. Chem. Phys.* **65**, 839(1976).
- 3) G. Bodenhausen, R. Freeman, R. Niedermeyer, and D. L. Turner, *J. Magn. Reson.* **24**, 291(1976).
- 4) G. Bodenhausen, R. Freeman, G. A. Morris, and D. L. Turner, *J. Magn. Reson.* **28**, 17(1977).
- 5) G. Bodenhausen and R. Freeman, *J. Magn. Reson.* **28**, 471(1977).
- 6) G. Bodenhausen and R. Freeman, *J. Am. Chem. Soc.* **100**, 320(1978).
- 7) R. Freeman and G. A. Morris, *J. Chem. Soc. Chem. Comm.* 684(1978).
- 8) G. A. Morris and L. D. Hall, *J. Am. Chem. Soc.* **103**, 4703(1981).
- 9) A. Bax and G. A. Morris, *J. Magn. Reson.* **42**, 501(1981).
- 10) H. Kessler, C. Griesinger, J. Zarbock, and H. R. Loosli, *J. Magn. Reson.* **57**, 331(1984).
- 11) A. Bax, *J. Magn. Reson.* **53**, 517(1983).
- 12) J. A. Wilde and P. H. Bolton, *J. Magn. Reson.* **59**, 343(1984).
- 13) J. R. Garbow, D. P. Weitekamp, and A. Pines, *Chem. Phys. Lett.* **93**, 504(1982).
- 14) W. F. Reynolds, D. W. Hughes, M. Perpich-Dumont, and R. G. Enriquez, *J. Magn. Reson.* **64**, 304(1985).
- 15) G. A. Pearson, *J. Magn. Reson.* **64**, 487(1985).
- 16) P. L. Rinaldi, *J. Am. Chem. Soc.* **105**, 5167(1983).
- 17) C. Yu and G. C. Levy, *J. Am. Chem. Soc.* **105**, 6994(1983).
- 18) C. Yu and G. C. Levy, *J. Am. Chem. Soc.* **106**, 6533(1984).
- 19) P. H. Bolton and G. Bodenhausen, *Chem. Phys. Lett.* **89**, 139(1982).
- 20) P. H. Bolton, *J. Magn. Reson.* **48**, 336(1982).
- 21) S. K. Sarkar and A. Bax, *J. Magn. Reson.* **63**, 512(1985).
- 22) P. H. Bolton, *J. Magn. Reson.* **54**, 333(1983).

- 23) A. Bax, D. G. Davis, and S. K. Sarkar, *J. Magn. Reson.* **63**, 230(1985).
- 24) H. Kogler, O. W. Sørensen, G. Bodenhausen, and R. R. Ernst, *J. Magn. Reson.* **55**, 157(1983).
- 25) L. Müller, *J. Am. Chem. Soc.* **101**, 4481(1979).
- 26) A. Bax, R. H. Griffey, and B. L. Hawkins, *J. Am. Chem. Soc.* **105**, 7188(1983).
- 27) A. Bax, R. H. Griffey, and B. L. Hawkins, *J. Magn. Reson.* **55**, 301(1983).
- 28) M. F. Summers, L. G. Marzilli, and A. Bax, *J. Am. Chem. Soc.* **108**, 4285(1986).
- 29) R. E. Hurd and B. K. John, *J. Magn. Reson.* **91**, 648(1991).
- 30) A. L. Davis, J. Keeler, E. D. Laue, and D. Moskau, *J. Magn. Reson.* **98**, 207(1992).
- 31) J. Ruiz-Cabello, G. W. Vuister, C. T. W. Moonen, P. van Gelderen, J. S. Cohen, and P. C. M. van Zijl, *J. Magn. Reson.* **100**, 282(1992).
- 32) W. Willker, D. Leibfritz, R. Kerrsebaum, and W. Bermel, *Magn Reson. Chem.* **31**, 287(1993).
- 33) A. Bax and M. F. Summers, *J. Am. Chem. Soc.* **108**, 2093(1986).
- 34) P. L. Rinaldi and P. A. Keifer, *J. Magn. Reson. A* **108**, 259(1994).
- 35) A. A. Maudsley and R. R. Ernst, *Chem. Phys. Lett.* **50**, 368(1977).
- 36) A. A. Maudsley, L. Müller, and R. R. Ernst, *J. Magn. Reson.* **28**, 463(1977).
- 37) G. Bodenhausen and D. J. Ruben, *Chem. Phys. Lett.* **69**, 185(1980).
- 38) A. Bax, M. Ikura, L. E. Key, D. A. Torchia, and R. Tschudin, *J. Magn. Reson.* **86**, 304(1990).
- 39) V. Sklenář, M. Piotto, R. Leppik, and V. Saudek, *J. Magn. Reson. A* **102**, 241(1993).
- 40) M. Piotto, V. Saudek, and V. Sklenář, *J. Biomol. NMR* **2**, 661(1992).
- 41) S. Grzesiek and A. Bax, *J. Am. Chem. Soc.* **115**, 12593(1993).
- 42) A. G. Palmer III, J. Cavanagh, P. E. Wright, and M. Rance, *J. Magn. Reson.* **93**, 151(1991).
- 43) J. Cavanagh and M. Rance, *Ann. Rept. NMR Spectr.* **27**, 1(1993).
- 44) M. Akke, P. A. Carr, and A. G. Palmer III, *J. Magn. Reson. B* **104**, 298(1994).
- 45) J. Schleucher, M. Sattler, and C. Griesinger, *Angew. Chem.* **105**, 1518(1993).
- 46) M. Sattler, P. Schmidt, J. Schleucher, O. Schedletsky, S. J. Glaser, and C. Griesinger, *J. Magn. Reson. B* **108**, 235(1995).
- 47) M. Sattler, M. G. Schwendinger, J. Schleucher, and C. Griesinger, *J. Biomol. NMR* **5**, 11(1995).
- 48) L. E. Kay, P. Keifer, and T. Saarinen, *J. Am. Chem. Soc.* **114**, 10663(1992).

- 49) P. H. Bolton, *J. Magn. Reson.* **62**, 143(1985).
- 50) L. Lerner and A. Bax, *J. Magn. Reson.* **69**, 375(1986).
- 51) D. Brühwiler and G. Wager, *J. Magn. Reson.* **69**, 546(1986).
- 52) G. M. Clore, A. Bax, P. Wingfield, and A. M. Gronenborn, *FEBS Lett.* **238**, 17(1988).
- 53) A. M. Gronenborn, A. Bax, P. Wingfield, and G. M. Clore, *FEBS Lett.* **243**, 93(1989).
- 54) T. J. Norwood, J. Boyd, J. E. Heritage, N. Soffe, and I. D. Campbell, *J. Magn. Reson.* **87**, 488(1990).
- 55) J. Cavanagh, A. G. Palmer III, P. E. Wright, and M. Rance, *J. Magn. Reson.* **91**, 429(1991).
- 56) E. Wörgötter, G. Wagner, and K. Wüthrich, *J. Am. Chem. Soc.* **108**, 6162(1986).
- 57) M. Kurz, P. Schmieder, and H. Kessler, *Angew. Chem. Int. Ed.* **30**, 1329(1991).
- 58) P. Schmieder and H. Kessler, *Biopolymers* **32**, 435(1992).
- 59) U. Wollborn and D. Leibfritz, *J. Magn. Reson.* **98**, 142 (1992).
- 60) A. Bax, R. Freeman, and S. P. Kempell, *J. Am. Chem. Soc.* **102**, 4849(1980).
- 61) A. Bax, R. Freeman, and T. A. Frenkiel, *J. Am. Chem. Soc.* **103**, 2102(1981).
- 62) A. Bax, R. Freeman, T. A. Frenkiel, and M. H. Levitt, *J. Magn. Reson.* **43**, 478(1981).
- 63) A. Bax and R. Freeman, *J. Magn. Reson.* **41**, 507(1980).
- 64) T. H. Mareci and R. Freeman, *J. Magn. Reson.* **48**, 158(1982).
- 65) N. C. Nielsen, H. Thøgersen, and O. W. Sørensen, *J. Am. Chem. Soc.* **117**, 11365(1995).
- 66) O. W. Sørensen, R. Freeman, T. Frenkiel, T. H. Mareci, and R. Schuck, *J. Magn. Reson.* **46**, 180(1982).
- 67) S. W. Sparks and P. D. Ellis, *J. Magn. Reson.* **62**, 1(1985).
- 68) P. J. Keller and K. E. Vogele, *J. Magn. Reson.* **68**, 389(1986).
- 69) T. K. Pratum and B. S. Moore, *J. Magn. Reson. B* **102**, 91(1993).
- 70) J. Weigelt and G. Otting, *J. Magn. Reson. A* **113**, 128(1995).
- 71) A. Meissner, D. Moskau, N. C. Nielsen, and O. W. Sørensen, *J. Magn. Reson.* **124**, 245(1997).
- 72) T. K. Pratum, *J. Magn. Reson. A* **117**, 132(1996).
- 73) T. K. Pratum, *J. Magn. Reson. B* **113**, 76(1996).