

三重共鳴を用いた含フッ素有機化合物の NMR 測定

○山田莉緒、尾山公一

分析・物質技術支援室 組成分析・構造解析技術グループ

概要

含フッ素有機化合物は、特異な性質を示すため医薬やファインケミカルの分野で重要な位置を占めている。これらの化合物の構造決定のための重要な機器分析の一つに NMR を用いた構造解析があるが、フッ素原子は NMR スペクトルを複雑にするためスペクトル解析は困難になることが多い。これをデカップリングにより単純化して解析を容易にする手法が、三重共鳴を用いた NMR 測定の応用例の一つである。本報告では、令和2年度の先端研究設備整備補助事業により化学測定機器室に導入された ROYAL HFX プローブ搭載の 400 MHz NMR (JNM-ECZ400, JEOL)を用いた含フッ素有機化合物の三重共鳴測定や各種のデカップリング測定について報告する。

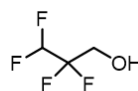
1 はじめに

含フッ素有機化合物は、フッ素原子の影響により特異な性質を示すため医薬やファインケミカルの分野で重要な位置を占めている。このため、現在でも含フッ素有機化合物は新たに化学合成され続け、新規有用化合物が創出されている。これらの化合物の構造決定のために重要な機器分析の一つに NMR を用いた構造解析がある。しかし、フッ素原子 (^{19}F)は $1/2$ の核スピンを持つため、NMR 測定において多用される ^1H 測定や ^{13}C 測定を含まない化合物に対して行うと、フッ素原子 (^{19}F)が水素 (^1H)や炭素 (^{13}C)とカップリングをして複雑なスペクトルを与え、解析が非常に困難となることが多い。

三重共鳴を用いた ^{13}C -NMR 測定では、水素 (^1H)とフッ素 (^{19}F)の同時デカップリングにより単純化したスペクトルが得られるため解析が容易になる。令和2年度の先端研究設備整備補助事業により化学測定機器室に導入された ROYAL HFX プローブ搭載の 400 MHz の NMR (JNM-ECZ400, JEOL)を用いて、含フッ素有機化合物の三重共鳴測定を行った。測定は、JEOL 社が標準試料として使用している 2,2,3,3-tetrafluoro-1-propanol (TFP)と糖供与体として糖鎖合成化学で多用される 2,3,4,6-tetra-O-acetyl- α -D-glucopyranosyl fluoride (TGF)を測定サンプルとして行った (図1)。TFP と TGF を測定することで、含フッ素有機化合物の三重共鳴測定を実際に行うために必要なデカップリングパルスに関するいくつかの知見を得たので報告する。

2 2,2,3,3-tetrafluoro-1-propanol (TFP)の NMR 測定

2,2,3,3-tetrafluoro-1-propanol (TFP)の ^{13}C -NMR と ^1H -NMR 及び ^{19}F -NMR の測定を行った^[1-7]。測定サンプルは、天然の存在比が少ない炭素 (^{13}C)の測定でも少ない積算回数でシグナルを確認してパラメータの設定の試行錯誤ができるように 0.3 mL の CDCl_3 に 0.3 mL の TFP を溶解した高濃度のサンプルを用いた。



2,2,3,3-tetrafluoro-1-propanol (TFP)

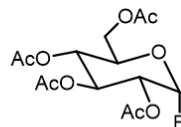
2,3,4,6-tetra-O-acetyl- α -D-glucopyranosyl fluoride (TGF)

図 1. 測定化合物の構造

2.1 TFP の ^{13}C -NMR 測定

^{13}C -NMR では、図 2 に示すように全くデカップリングを行わない測定 (図 2-A)、 ^1H のみデカップリングを行った測定 (図 2-B、 $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$)、 ^{19}F のみデカップリングを行った測定 (図 2-C、 $^{13}\text{C}\{^{19}\text{F}\}$)、 ^1H と ^{19}F の同時デカップリングを行った三重共鳴測定 (図 2-D、 $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}\{^{19}\text{F}\}$) の 4 種類の測定を行った。

一般的に ^{13}C -NMR と言えば、特に断りがなければ ^1H がデカップリングされた ^{13}C -NMR 測定 (図 2-B) のことを指す。まずは、この

測定を行った。 ^{13}C と ^{13}C のカップリングは、 ^{13}C の天然存在比が少ないために無視できる。含フッ素有機化合物の ^{13}C -NMR の解析では、 ^{13}C と ^{19}F のカップリングのみに注意すればよい。 ^{13}C -NMR の測定データは、デフォルト設定 (デカップリングパルス: WALTZ、 ^1H の照射位置: 5 ppm) を用いて、積算回数は 16 回で測定した。この装置では domain が ^1H のとき WALTZ は、12 ppm の範囲をデカップリングすることが可能で、通常の有機化合物の測定における ^1H の観測範囲をほぼ網羅してデカップリングを行うことができる。得られたスペクトルは ^1H が十分にデカップリングされたスペクトルであった (図 2-B)。ユーザーは日常的にこのメソッドを用いて ^{13}C -NMR を測定しているが、このメソッドを用いた測定でデカップリングが不十分であることは基本的にはない。このため、ユーザーはデカップリングの照射モードや照射位置を意識することはない。図 2-B に示すように 60 ppm 付近の 1 位の炭素のシグナルは、隣の炭素に結合した二つのフッ素とカップリングしているため、27.5 Hz のカップリング定数で 3 本に分裂している。2 位と 3 位の炭素のシグナルは、直接結合した二つのフッ素および隣の炭素に結合した二つのフッ素とカップリングしているため、それぞれが 9 本 (δ 115.3, tt, $J = 248.3$, 27.5 Hz; δ 109.7, tt, $J = 248.5$, 36.5 Hz) に分裂し、合計 18 本のシグナルが 106.8 ppm から 118.1 ppm に密集している。

^1H のデカップリングがどのようにスペクトルに影響を与えるのかを比較するため、図 2-A に示すように全くデカップリングを行わない ^{13}C -NMR 測定も行った。図 2-B と比較すると図 2-A は ^1H と ^{13}C のカップリングでピークが複雑に分裂し、シグナル強度が下がり S/N 比も悪くなっているのが分かる。

^1H はデカップリングせずに、 ^{19}F のみをデカップリングする ^{13}C -NMR 測定を行った (図 2-C)。デフォルト設定の測定条件 (デカップリングパルス: BUSS、 ^{19}F の照射位置: -100 ppm) を用いて積算回数 16 回で測定し、十分にデカップリングしたスペクトルを得ることができた (図 2-C)。 ^{19}F のデカップリングで BUSS を選択した場合、119 ppm の範囲をデカップリングできる。60 ppm 付近の 1 位の炭素のシグナルは直接結合した二つの水素とカップリングしているため 146.7 Hz のカップリング定数で 3 本に分裂している。110 ppm 付近のシグナルは、水素の影響で二つに分裂しているはずなので、このシグナルが 3 位の炭素のシグナルであることが分かる。カップリング定数は、192.7 Hz であった。115 ppm 付近のシグナルは、1 本のみ観測されているので水素との直接の結合を持たない 2 位の炭素である。

最後に、 ^1H と ^{19}F の二つをデカップリングする ^{13}C -NMR の三重共鳴測定を行ったところ、デフォルトの設

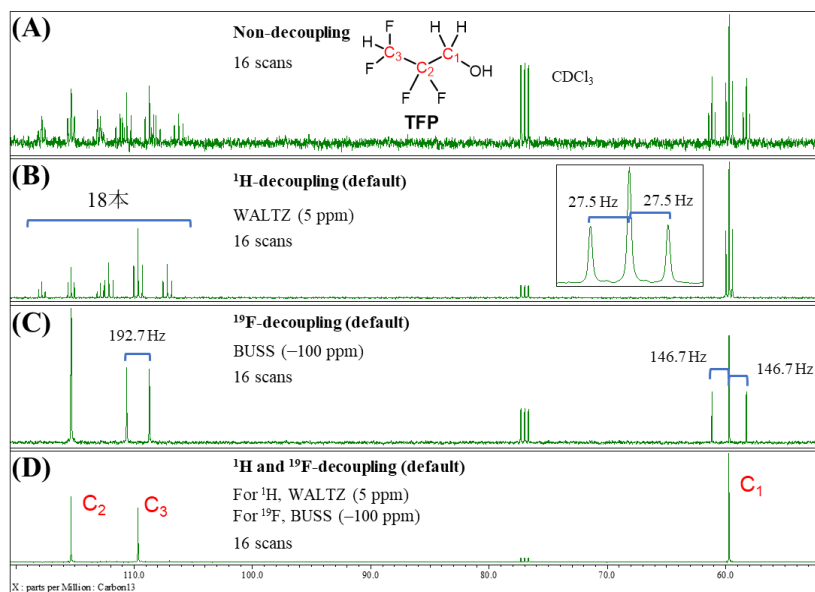


図 2. TFP の ^{13}C -NMR 測定 (JNM-ECZ400)

定で十分にデカップリングしたスペクトルを得ることができた (図 2-D)。 ^1H のデカップリングパルスは WALTZ を用いて 5 ppm を照射した。 ^{19}F のデカップリングパルスは BUSS を用いて -100 ppm を照射した。積算回数は 16 回行った。このスペクトル解析では、全てのカップリングを考慮する必要がなく、ピークの数 は測定化合物の炭素の数となる。重溶媒のシグナルを除く 3 本のシングレットのシグナルが観測され、炭素数 3 と一致する理論値通りのシグナル数となった。

2.2 TFP の ^1H -NMR 測定

^{19}F をデカップリングしない ^1H -NMR は、図 3-A のようになる。通常、 ^1H -NMR と言えば、特に断りがなければこの測定を ^1H -NMR と呼ぶ。 ^1H と ^{19}F がカップリングしているためスペクトルは複雑になっている。その分、情報量が多いと考えることもできる。解析を容易にするために、 ^{19}F をデカップリングした測定 ($^1\text{H}\{^{19}\text{F}\}$) を行った。まずは、デフォルト設定 (デカップリングパルス: CW、照射位置: -100 ppm) で測定

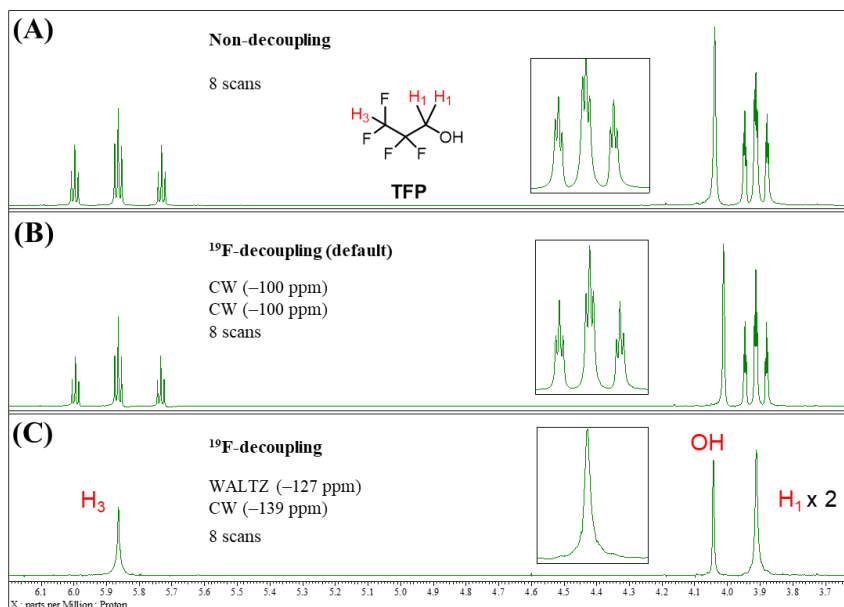


図 3. TFP の ^1H -NMR 測定 (JNM-ECZ400)

をしたところ、ほとんどデカップリングされなかった (図 3-B)。 ^{19}F のデカップリングで CW を選択した場合、0.9 ppm の範囲をデカップリングできる。CW は特定のピークを狙い撃ちするときに使用する局所的なデカップリングパルスである。 ^{19}F のデカップリングを効率よく行うために、 ^{19}F -NMR を測定してフッ素のシグナルが、-127 ppm と -139 ppm の位置に出ることを確認しておき (図 4-A)、この値を参考にしてデカップリングパルスの照射位置を決定した。照射位置は、より効果が出るようにフッ素シグナルが観測された 2 ヶ所を直接的に照射することとし、照射幅が 20 ppm の WALTZ で全体をカバーし、CW で局所的なデカップリングを行う方針を立てた。種々検討した結果、WALTZ で -127 ppm を照射し、CW でフッ素が水素に及ぼす影響がより大きいと考えられる -139 ppm を照射して 8 回積算したところ十分にデカップリングしたスペクトルを得ることができた (図 3-C)。4 ppm 付近に 2H 分の 1 位のブロードなシングレットと 6 ppm 付近に 1H 分の 3 位のブロードなシングレットが観測された。

2.3 TFP の ^{19}F -NMR 測定

^1H をデカップリングしない ^{19}F -NMR は、図 4-A のようになる。 ^1H と ^{19}F がカップリングしているためスペクトルは複雑になっている。解析を容易にするために、 ^1H をデカップリングした測定 ($^{19}\text{F}\{^1\text{H}\}$) を行った。まずは、デフォルト設定のまま、デカップリングパルス CW を用いて 5 ppm を照射したが、デカップリングは不十分であった (図 4-B)。 ^1H -NMR の測定で水素のシグナルが、5.9 ppm と 3.9 ppm の位置に出ることを確認し (図 3-A)、これらの位置を参考にしてデカップリングの照射位置を決め、2 つのデカップリングパルスを用いた。WALTZ で照射位置を 5 ppm に設定して広い範囲を照射した。2 つ目のデカップリングパルスには CW を用いて 5.9 ppm の位置に局所的な照射を行い 8 回積算した。 ^1H のデカップリングで CW を選択した場合、

0.5 ppm の範囲をデカップリングできる。これらの設定により、十分にデカップリングしたスペクトルを得た (図 4-C)。その結果、-127 ppm 付近に 2 位のフッ素のトリプレットと -139 ppm 付近に 3 位のフッ素のトリプレットを観測した。

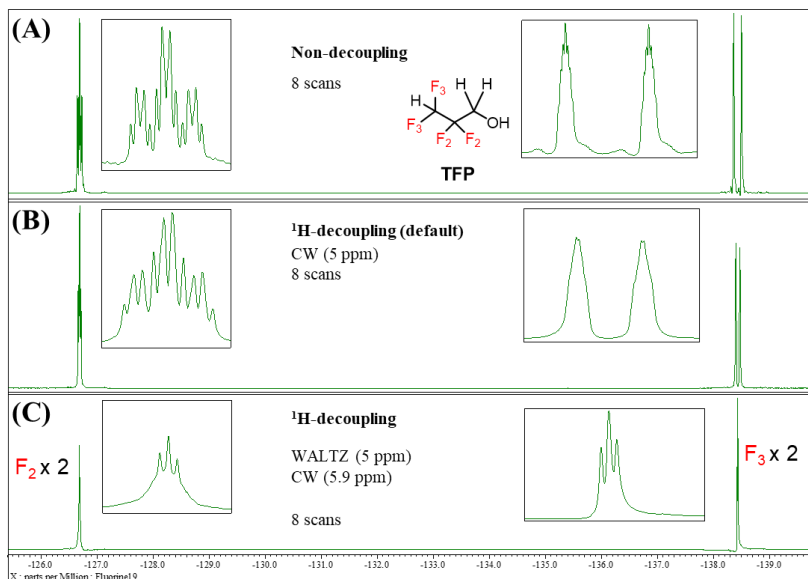


図 4. TFP の ^{19}F -NMR (JNM-ECZ400)

3 2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- α -D-glucopyranosyl fluoride (TGF) の NMR 測定

TFP の測定の知見を基に応用例として 2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- α -D-glucopyranosyl fluoride (TGF) の ^{13}C -NMR と ^1H -NMR 及び ^{19}F -NMR の測定を行った^[1-7]。TFP の時と同様に、 ^{13}C -NMR 測定でも少ない積算回数でシグナルを確認できるように、測定には 0.6 mL の CDCl_3 に 60 mg の TGF を溶解した高濃度サンプルを用いた。

3.1 TGF の ^{13}C -NMR 測定

TGF の ^{13}C -NMR の測定でも図 5 と図 6 に示すように、デカップリングのない測定 (図 5-A, 6-A) と各種のデカップリング測定 (図 5-B-D, 6-B-D) を行った。

デカップリングのない測定では、感度が悪いため全ての炭素のピークを確認するためには 2000 回の積算が必要であった (図 5-A, 6-A)。

^1H のデカップリング測定では、デフォルト設定の WALTZ を用いて 5 ppm を照射した。この場合、256 回の

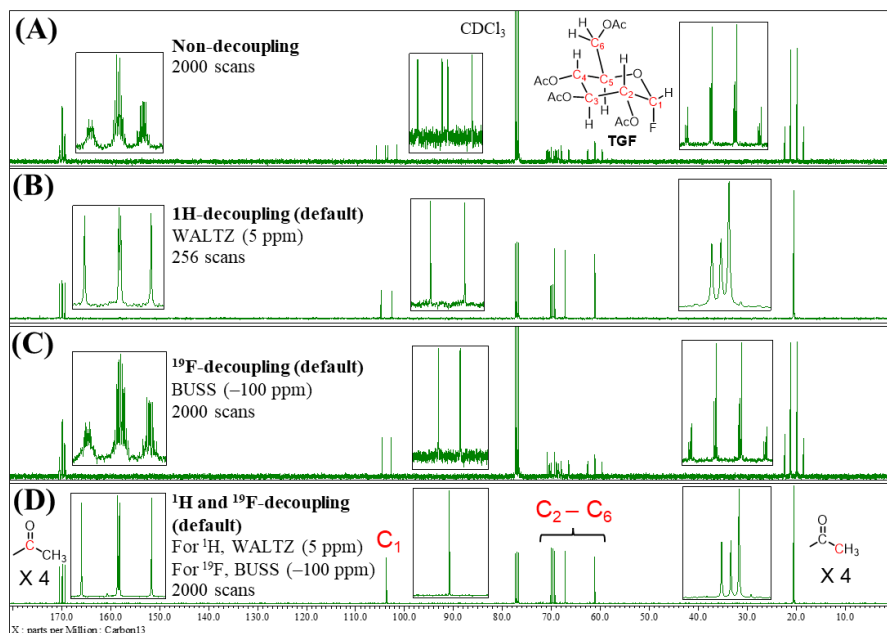


図 5. TGF の ^{13}C -NMR 測定-(1) (JNM-ECZ400)

積算で、ピークを確認するのに十分なスペクトルが得られた (図 5-B, 6-B)。 ^{19}F のデカップリング測定にもデフォルトの設定 (デカップリングパルス: BUSS、照射位置: -100 ppm) を用いた。 ^{19}F デカップリング測定において、BUSS の照射幅は 119 ppm である。積算は 2000 回行った (図 5-C, 6-C)。 ^1H と ^{19}F の二つをデカップリングする三重共鳴測定では、 ^1H のデカップリングでは WALTZ を用いて 5 ppm を照射し、 ^{19}F のデカップリングでは BUSS を用いて -100 ppm を照射した。積算は 2000 回行った (図 5-D, 6-D)。

糖の構造解析では 1 位のアノメリック位が要となる。 ^1H のデカップリング測定と ^{19}F のデカップリング測定で両方もダブレットに分裂しているのは 103.7 ppm の炭素しかないのがアノメリック位の炭素であるとすぐに決定できる (図 5-B, C)。最も高磁場側の 20 ppm 付近シグナルは、アセチル基のメチル基である (図 5-A-D)。また、最も低磁場側の 170 ppm 付近のシグナルは、アセチル基のケトンの炭素である (図 5-A-D)。 60 ppm から 70 ppm 付近のピークは、 C_2 から C_6 までの炭素のシグナルである (図 6-A-D)。

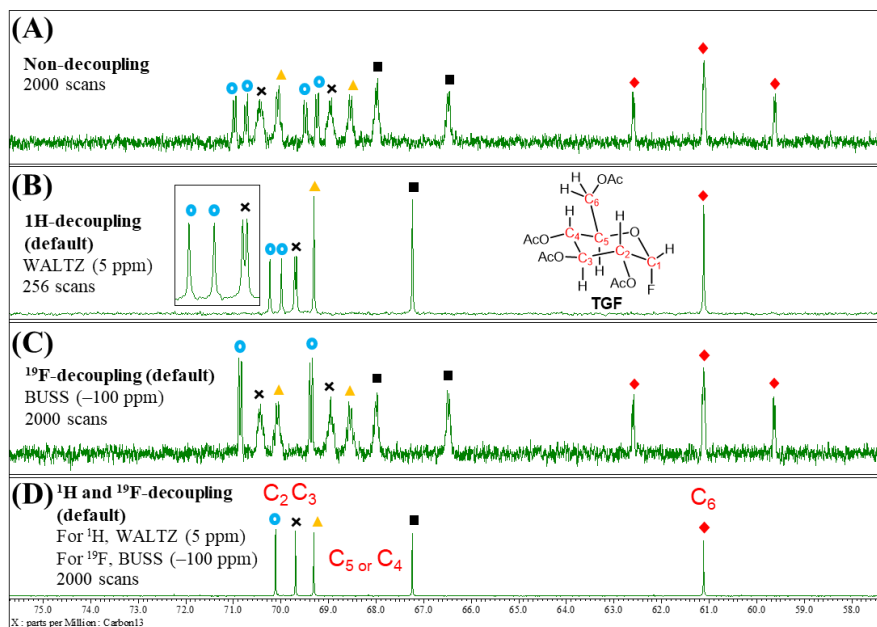


図 6. TGF の ^{13}C -NMR 測定-(2) (JNM-ECZ400)

フッ素原子から遠ざかる程、C-F のカップリング定数は小さくなるので、 ^1H のデカップリング測定 (図 6-B) から C_2 と C_3 の炭素を簡単に決定することができる。カップリング定数が 24.6 Hz の青○のダブレットが C_2 の炭素であり、カップリング定数が 4.3 Hz の黒×のダブレットが C_3 の炭素である。また、1位の炭素のカップリング定数は 229.3 Hz である (図 5-B)。三重共鳴測定 (図 5-D, 6-D) では、 ^1H と ^{19}F の両方のカップリングを考える必要がなくシンプルなスペクトルになっているため解析が容易である。実際に見えているシグナルは 13 本であるが、 20.4 ppm のシグナルを 2 本分の炭素と考えれば、14 本分の炭素シグナルがあり、TGF の炭素数 14 とシグナル数が一致する (図 5-D, 6-D)。

3.2 TGF の ^1H -NMR 測定

まず、 ^{19}F をデカップリングしない ^1H -NMR 測定を行った。1位 (H_1) から 6位 (H_6) の 7 個の水素のシグナルが表示されている領域を図 7-A に示す。1位 (アキシシャル位) のフッ素は、1位と 2位の水素とカップリングしている。1位の水素 (H_1) は、シスの位置関係にある 2位の水素 (H_2) とカップリング定数 2.8 Hz でカップリングし、さらに同じ炭素に結合しているフッ素とカップリング定数 52.9 Hz でカップリングして 4 本に分裂している。一方、2位の水素 (H_2) はトランスの位置関係にある 3位の水素 (H_3) およびシスの位置関係にある 1位の水素 (H_1) と、それぞれカップリング定数 10.3 Hz と 2.8 Hz でカップリングしている。さらにトランスの位置関係にある 1位のフッ素とカップリング定数 24.2 Hz でカップリングしてピークが 8 本に分裂している。

^{19}F をデカップリングした測定を行った。 ^{19}F -NMR を測定してフッ素のシグナルが、 -149.6 ppm に出ることを確認し (図 8-A)、この値をデカップリングパルスの照射位置とした。また、デカップリングの効果がより出るように WALTZ と CW の2種類のデカップリングパルスを用いた。 ^{19}F のデカップリングで WALTZ と CW を選択した場合、それぞれ 20 ppm 、 0.9 ppm の範囲をデカップリングできる。この測定条件で 8 回の積算を行った結果、十分なデカップリングの結果が得られ、1位は2本のピーク、2位は4本のピークとなった (図 7-B)。

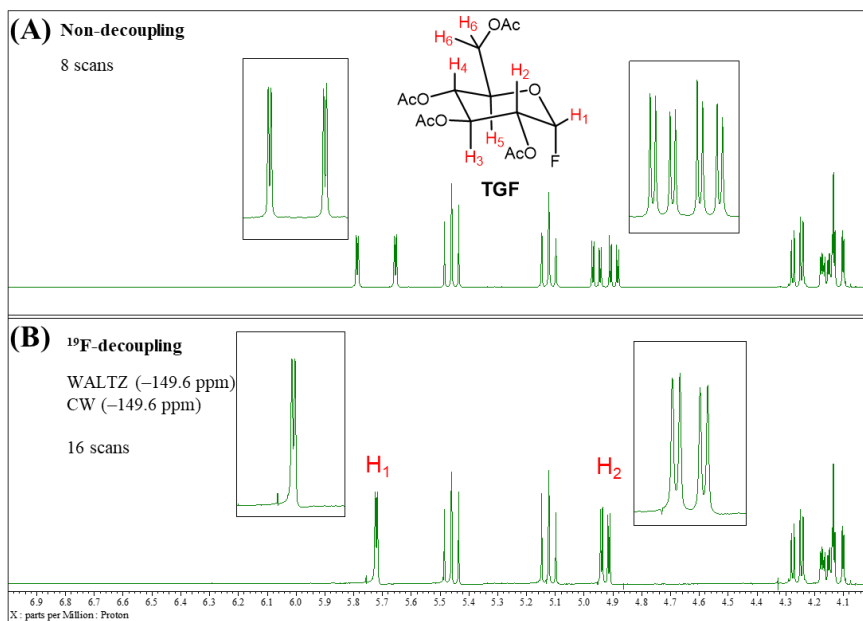


図 7. TGF の ^1H -NMR 測定 (JNM-ECZ400)

3.3 TGF の ^{19}F -NMR 測定

^1H をデカップリングしない ^{19}F -NMR は、図 8-A のように 4 本のシグナルが観測された。1 位の水素 (F_1) は、トランスの位置関係にある 2 位の水素 (H_2) とカップリング定数 24.2 Hz でカップリングし、さらに同じ炭素に結合しているフッ素とカップリング定数 52.8 Hz でカップリングして 4 本に分裂している。 ^1H のデカップリング測定は、TFP と同様に 2 つのデカップリングパルスを用いて行った。WALTZ で照射位置を 5 ppm に設定して広い範囲を照射した。また、CW を用いて 5.72 ppm の位置に局所的に照射した。16 回積算した結果、 ^1H が完全にデカップリングされて -149.8 ppm にシングレットのきれいなピークを得ることができた。

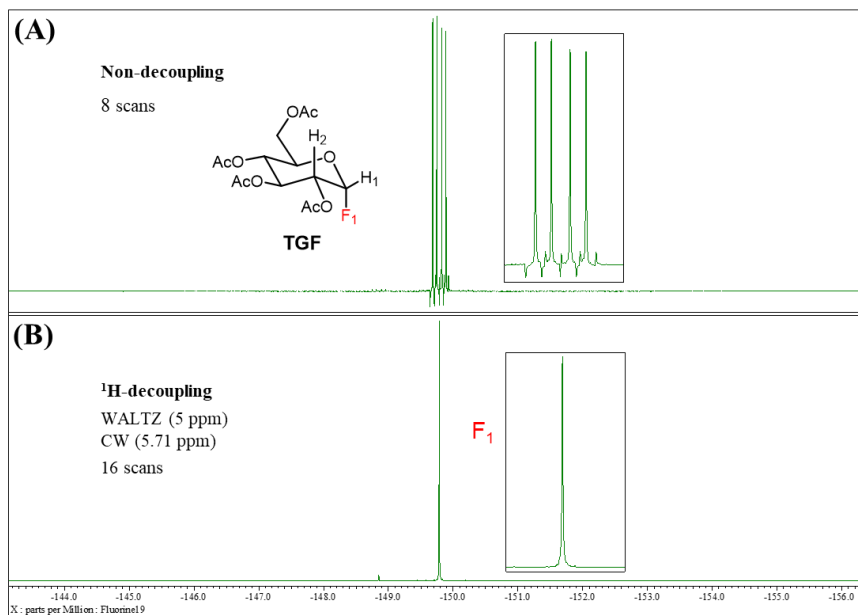


図 8. TGF の ^{19}F -NMR 測定 (JNM-ECZ400)

4 まとめ

本報告では、三重共鳴を用いた NMR 測定の応用例として、JNM-ECZ400 (JEOL)を用いた二種類の含フッ素化合物の各種デカップリング測定および三重共鳴測定の結果を報告した。 $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ 、 $^{13}\text{C}\{^{19}\text{F}\}$ 、 $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}\{^{19}\text{F}\}$ の測定では、デフォルト設定による測定で十分にデカップリングされたスペクトルを得ることができた。一方、 $^1\text{H}\{^{19}\text{F}\}$ や $^{19}\text{F}\{^1\text{H}\}$ の測定では、デフォルト設定を用いた測定では十分にデカップリングされたスペクトルが得られなかった。これらの測定ではサンプルに応じて適切なデカップリングパルスを選択し、デカップリングする核種のシグナルの位置に応じてそれらの照射位置を個別に設定する必要があることが分かった。最適なデカップリングパルスの条件を見つけるために試行錯誤を行ったことで、デカップリングパルスの条件設定の違いによるピーク形状の変化を観察することができ、デカップリングパルス選択のためのコツをつかむことができた。実際に、これらの NMR 実験を行った後、 $^{19}\text{F}\{^1\text{H}\}$ 測定を希望するユーザーの測定があり良好な結果を得ることができた。本装置の ROYAL HFX プローブは、今回報告したような様々なデカップリング測定ができるだけでなく、従来の JEOL 社のプローブに比べて非常に高感度なプローブである。需要が高いと考えられる $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}\{^{19}\text{F}\}$ の三重共鳴測定の結果が、決められたメソッドを選択するだけで、煩雑な操作や設定を必要とせずに感度よく簡便に得られるのは、含フッ素有機化合物の構造解析における非常に大きなアドバンテージと考えられる。今後は、マニュアルや講習会の充実を図ることで、今回報告したような各種デカップリング測定をユーザーが気軽に測定できる測定環境を達成していきたい。

参考文献

- [1] 朝倉克夫 (2005). 実用多核 NMR—CFH 測定と低周波核—. 2005. 日本電子. 分子機器 NMR ユーザーズミーティング資料.
- [2] 竹内敬人, 加藤敏代 (2012). 『よくある質問 NMR の基本』. 講談社サイエンティフィクス.
- [3] 田代充, 加藤敏代 (2009). 『NMR』. 東京, 共立出版.
- [4] ROYAL_HFX プローブ簡易マニュアル 2ch 構成装置向け. 2017. 日本電子株式会社.
- [5] ^1H NMR の測定では、 CDCl_3 中の残留プロトンの値をケミカルシフト値の基準値として用いた (CDCl_3 : 7.26 ppm)。
- [6] ^{13}C NMR の測定では、 CDCl_3 の ^{13}C の値をケミカルシフト値の基準値として用いた (CDCl_3 : 77.0 ppm)。
- [7] ^{19}F NMR の測定では、内部標準としてフルオロベンゼン ($\text{C}_6\text{H}_5\text{-F}$)を用いて、フルオロベンゼンの ^{19}F の値をケミカルシフト値の基準値として用いた ($\text{C}_6\text{H}_5\text{-F}$: -113.15 ppm)。