

学位論文題名

Novel Approaches to NMR Analysis of
Complicated Organic Molecules

(特異な構造を有する有機化合物のためのあたらしい NMR 法の開発)

学位論文内容の要旨

ルーチン1Dおよび2DNMR法によって複雑な天然有機化合物の構造が次々と明らかにされる
いっぽう、通常的手法では解決できない構造をもつ化合物が取り残されている。そのなかで以
下の問題点について、新たなNMR法の開発および既存の手法の改良による解決を試みた。

1. 対称な分子における等価な核の区別

C_2 対称化合物は等価な二つのユニットから成り、各ユニットに含まれる一組の等価な核は
 $^1H, ^{13}C$ NMRスペクトルにおいて同一のシグナルを与える。このため既存のNMR法では C_2 対称
化合物の等価なユニットの区別が困難で、構造解析をすすめる上で問題となる。このような C_2
対称化合物に特有の構造解析上の問題点を、NMRで観測可能な ^{13}C 核の天然存在比が低い
(1.11%)ことを利用して解決した。 C_2 対称化合物の一組の等価な炭素に着目すると、ここが
{ $^{12}C, ^{12}C$ }であるアイソトポマー(異なる同位体を含んでいる異性体)が最も多く(97.8%),
{ $^{12}C, ^{13}C$ }のもの(2.20%)と{ $^{13}C, ^{13}C$ }のもの(0.01%)は少ない。存在比の高い{ $^{12}C, ^{12}C$ }のアイソト
ポマーは ^{13}C -NMRでは検出できず、また{ $^{13}C, ^{13}C$ }のものはごく少ないため除外することができ
る。すなわち非対称な{ $^{13}C, ^{12}C$ }のアイソトポマーのみの観測が可能である。 $^{13}C/^1H$ 間には異種
核スピンカップリングが存在し、そのカップリング定数は1本の結合を介した $^1J_{CH}$ では120Hz以
上、2,3本の結合を介した遠隔カップリング($^LJ_{CH}$)では15Hz以下であり、 $^{12}C/^1H$ 間にはカッ
プリングは存在しない。ほとんどの異種核相関法ではデカップリングを行うためこれらの分裂は
観測できない。そこでデカップリングを含まない手法を作成し異種核スピンカップリングを検
出することによって、{ $^{13}C, ^{12}C$ }アイソトポマーの非対称性を利用した構造解析を行った。

まずコウボウシバ(*Carex pumila*)から得られた C_2 対称なスチルベン四量体 hopeaphenol(1)
の中心結合部分((H-8b)-(C-8b)-(C-8b')-(H-8b'))の等価な炭素間の結合(C-8b/C-8b')を、LSPD,
改良COLOC, HMBCによってC-8b/H-8b'間の遠隔カップリング($^2J_{CH}$)をC-8b/H-8bのカッ
プリング($^1J_{CH}$)と区別して検出することにより証明した。ついで、フタリシズカ(*Chloranthus*
serratus)より得られた C_2 対称なセスキテルペン二量体 cycloshizukaol A(2)の等価なプロトン
(H-9/H-9')間のNOEおよび1の等価なプロトン(H-7b/H-7b')間のROEを、 ^{13}C カップル
HMQC-NOESY(ROESY)スペクトルにおいて分裂したHMQCシグナル(2では $^1J(^{13}C-9/H-9)$, 1
では $^1J(^{13}C-7b/H-7b)$)の中央にNOE相関ピークを検出することにより観測した。ついで2D ω_1
hetero half-filtered DQF-COSYにより1の等価なプロトン間(H-8b/H-8b')のJカップリングの値

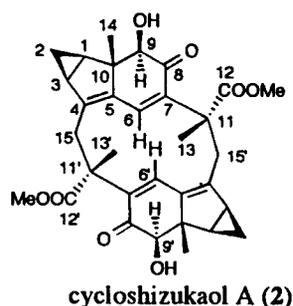
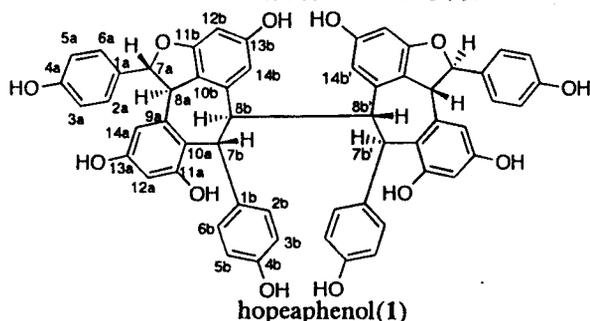
を $^2J(C-8b/H-7b)$ と分離して得た。さらに、2D ω_1 hetero half-filtered 法を1D化する新しい手法としてPASS(paired satellite selection)を開発し、二つの1Dスペクトルのピークのずれから正確な $^{LR}J_{CH}$ を得た。PASS-TOCSYによりひとつのカーボンと等価な二つのプロトンの間の二種類の J 値、たとえば1の $^2J(C-8b/H-7b)$ と $^3J(C-8b/H-7b')$ を別々に得た。また2のPASS-NOESYでは $J(C-9/H-1)$ と $J(C-9/H-1')$ の差を利用してユニット内NOE(H-9/H-1)を観測できた。同様に1のユニット内ROE(H-8b/H-14b)をPASS-ROESYにより観測した。

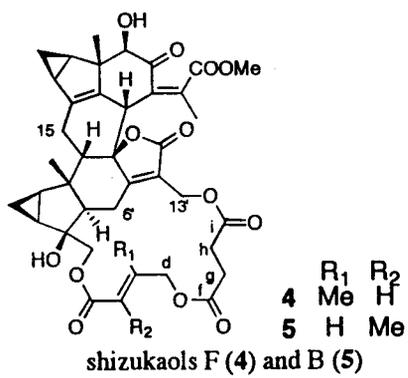
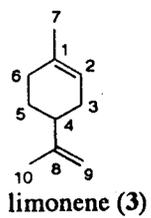
2. プロトンの少ない分子の構造解析

プロトンの少ない化合物の構造解析に際しては ^{13}C - ^{13}C 結合を直接観測する必要があるが、 ^{13}C - ^{13}C 結合を含むアイソトプマーの存在比は非常に少なく測定感度が問題となる。そこで新たな感度増大 ^{13}C - ^{13}C 結合検出法のひとつとしてDEPT C-C relayを作成した。特に高磁場の装置で問題になるオフレゾナンス効果による位相の歪みは位相交替複合パルスによって補償した。これにより正しい位相でのスペクトル編集が可能となり CH_3 , CH_2 , CH からの相関の区別観測に成功した。また二量子フィルターを用いないことにより問題となる、目的シグナルの100倍強い $^1J_{CH}$ 由来の不要シグナルもこの編集により相殺され、プロトン化炭素における ^{13}C - ^{13}C サテライト観測も部分的に可能となった。リモネン(3)では10本のCC結合のうちスペクトル編集で不要シグナルを除去できない CH_2 - CH_2 結合を除く9個の J_{CC} 値を正確に求めることができた。また、本法を2D化して2D DEPT C-C relayを作成した。2D法では F_1 軸にそって強い一量子コヒーレンス由来のノイズが生じるが、大部分は適当なベースライン補正により消去できた。 F_1 軸方向に相関シグナルが分離することによって四級炭素だけでなくプロトン化炭素同士の相関も検出できた。さらに、BIRDパルスの導入によって厳密にセンターシグナルを除去したBIRD/DEPT C-C relay法によって $^3J_{CC}$ リレーシグナルの観測を試みた。C-C展開を遠隔カップリングに最適化することで通常の遠隔CH相関スペクトルで検出できるCH相関よりさらに遠くの、4本の結合を隔てたCH相関(1H - ^{13}C -X-X- ^{13}C)が得られ、DEPTによるスペクトル編集も可能であった。

3. 2本、および3本の結合を介したプロトン-カーボン結合の区別

遠隔C-H相関では区別できない2本(1H -X- ^{13}C)あるいは3本(1H -X-X- ^{13}C)の結合を介したC-H結合の区別を、 $^{13}C\{^1H\}$ NOEにより前者のみを選択的に観測することで行った。ヒトリシズカ(*Chloranthus japonicus*)から得られたセスキテルペンラクトンshizukaol F(4)およびB(5)のコハク酸ユニットの二組のメチレンの帰属では、非等価メチレンの一つのプロトンからのNOEはミスピン効果により十分な感度が得られなかったため、double DANTEなどによって二つのプロトンを同時に励起または照射しNOEを得た。





学位論文審査の要旨

主査	教授	水谷純也
副査	教授	市原耿民
副査	教授	田原哲士
副査	助教授	川端潤
副査	助教授	平沖敏文(工学部)

学位論文題名

Novel Approaches to NMR Analysis of Complicated Organic Molecules

(特異な構造を有する有機化合物のためのあたらしい NMR 法の開発)

本論文は英文で記され、図29、チャート35、表1、引用文献87を含み、総頁数125からなり、内容は4章に分けられ、さらに要約、和文要約が付してある。ほかに参考論文14編が提出されている。

近年における核磁気共鳴分光法(NMR法)による複雑な天然有機化合物の構造解析の進歩は目覚ましいものがある。これは核磁気共鳴装置のハード面、ソフト面における革新的な技術開発に負うところが大きい。しかし、まだこれまでの手法では解明できない構造をもつ化合物も残されている。著者はその中で、対称な分子における等価な核の区別、プロトンの少ない分子の構造解析、ならびに2本および3本の結合を介した H-C結合の区別を試み、新たな NMR法の開発および既存の手法の改良によって解決した。

C_2 対称化合物は等価な2つのユニットからなり、各ユニットに含まれる一組の等価な核は 1H 、 ^{13}C NMRスペクトルにおいて同一シグナルを与える。このため既存の NMR法では C_2 対称化合物の等価なユニットの区別が困難で、構造解析を進める上で問題となる。そこで著者は NMRで観測可能な ^{13}C 核の天然存在比が低い(1.11%)ことを利用してこの問題を解決した。一組の等価な炭素に注目すると、ここが $\{^{12}C, ^{12}C\}$ であるアイソトポマーが最も多く(97.8%)、 $\{^{13}C, ^{12}C\}$ のもの(2.20%)と $\{^{13}C, ^{13}C\}$ のもの(0.01%)は少ない。存在比の高い $\{^{12}C, ^{12}C\}$ のアイソトポマーは ^{13}C NMRでは検出されず、また $\{^{13}C, ^{13}C\}$ のものはごく少ないため除外できる。すなわち非対称な $\{^{13}C, ^{12}C\}$ のアイソトポマーのみの観測が可能であるところにブレークスルーを見いだしたのである。

まずコウボウシバ(カヤツリグサ科)から得られた C_2 対称な抗菌性スチルベン四量体 hopeaphenol (1)の中心部分(H-8b)-(C-8b)-(C-8b')-(H-8b')の等価な炭素間の結合(C-8b/C-8b')を、C-8b/H-8b'間の遠隔カップリング($^2J_{CH}$)をC-8b/H-8bのカップリング($^1J_{CH}$)と区別して検出することにより証明した。次に、フタリシズカ(チャラン科)より得られた C_2 対称なセスキテルペン二量体 cycloshizukaol A (2)

の等価なプロトン (H-9/H-9') 間の NOE および **1** の等価なプロトン (H-7b/H-7b') 間の ROE を、 ^{13}C カップル HMQC-NOESY (ROESY) スペクトルにおいて分裂した HMQC シグナル [**2** では $^1J(^{13}\text{C}-9/\text{H}-9)$ 、**1** では $^1J(^{13}\text{C}-7\text{b}/\text{H}-7\text{b})$] の中央に NOE 相関ピークを検出することにより観測した。次いで $2\text{D}\omega_1$ hetero half-filtered DQF-COSY により **1** の等価なプロトン間 (H-8b/H-8b') の J カップリングの値を $^2J(\text{C}-8\text{b}/\text{H}-7\text{b})$ と分離して得た。さらに、分解能を向上する目的で $2\text{D}\omega_1$ hetero half-filtered 法を 1D 化する新しい手法として PASS (paired satellite selection) を開発し、2つの 1D スペクトルのピークのずれから正確な $^{\text{LR}}J_{\text{CH}}$ を得た。また PASS-TOCSY により 1つの炭素と等価な 2つのプロトンとの間の 2種類の J 値の同時観測を、PASS-NOESY (ROESY) により $^{\text{LR}}J_{\text{CH}}$ の差を利用したユニット内またはユニット間 NOE の区別を可能にした。

次にプロトンの少ない分子の構造解析については、 ^{13}C - ^{13}C 結合を含むアイソトプマーの天然存在比が非常に少ないため測定感度が問題になる。著者は感度増大 ^{13}C - ^{13}C 結合検出法の 1つとして DEPT C-C relay を作成し、工夫を凝らして強い不要シグナルを極力おさえ、リモネン (**3**) の 10本の C-C 結合のうち $\text{CH}_2\text{-CH}_2$ 結合を除く 9個の J_{CC} 値を正確に求めることができた。また C-C 展開を遠隔カップリングに最適化することで通常の遠隔 CH 相関スペクトルで検出できる CH 相関よりさらに遠くの、4本の結合を隔てた CH 相関 ($^1\text{H}\text{-}^{13}\text{C}\text{-X-X-}^{13}\text{C}$) が得られ、DEPT によるスペクトル編集も可能であった。

第三に、2本および 3本の結合を介した H-C 結合の区別については、 ^{13}C (^1H) NOE により 2本 ($^1\text{H-X-}^{13}\text{C}$) のみを選択的に観測することで、ヒトリシズカ (チャラン科) より得られたセスキテルペンラクトン shizukaol F (**4**) および shizukaol B (**5**) のコハク酸ユニットの 2組のメチレンの帰属を行った。その際、double DANTE などによって 2つのプロトンを同時に励起または照射して NOE を観測した。

以上の成果はすでに専門の国際的学術雑誌に掲載され、高い評価を受けている。これらの新しい NMR 法の開発は天然物化学の発展に寄与するところが大きい。

よって審査員一同は、別に行った学力確認試験の結果と合わせて、本論文の提出者 福士 江里 は博士 (農学) の学位を受けるのに十分な資格があるものと認定した。

