

高分解能核磁気共鳴分光法における データ分析

小松 功典, 笹川 拓明

1 緒 言

Purcell ら¹⁾および Bloch ら²⁾が、それぞれ独自に核磁気共鳴 (NMR, nuclear magnetic resonance) の検出に成功したのは、1946 年のことである。当時の NMR は、原子核物理学の分野において核磁気モーメントなどの原子核の性質を測定する事が目的であった。1950 年代の化学シフト³⁾やスピン-スピン結合⁴⁾の発見は、NMR の化学分析への大きなきっかけとなった。今日に至るまで、NMR は物質の構造や性質を調べるための研究手段として発展し、化学、生物学、医学などの分野で幅広く使われている。

NMR におけるデータ分析を考えるうえで、Ernst らのパルスフーリエ変換法の開発⁵⁾、二次元 NMR の開発⁶⁾は避けては通れない。初期の NMR 装置は、一定の磁場強度においてラジオ波の周波数を掃引してその吸収を記録する連続掃引法であった。現在一般的に使われているパルスフーリエ変換法では、ラジオ波の周波数をもつ単一のパルスを用いて、観察対象原子核すべてのスピンを励起し、その時間応答 (自由誘導減衰: FID, free induction decay) をフーリエ変換することで周波数スペクトルを得る。パルスフーリエ変換法は、マルチパルスをつかった数々の NMR 測定や二次元 NMR を可能にした。

NMR から得られる豊富な情報は様々な分野に応用されている。Wüthrich ら^{7)~10)}は、安定同位体標識および核オーバーハウザー効果やスピン結合などの情報を用いることで NMR によるタンパク質などの立体構造の決定する方法を確立した。また、今日では臨床検査に用いられる磁気共鳴画像法 (MRI, Magnetic Resonance Imaging) は、磁場勾配パルスを用いて NMR 現象を空間情報に展開したものともみなすことができる¹¹⁾¹²⁾。

NMR のデータ分析することを考えるうえで、得られる情報を理解しておくことは重要である。本稿では、まず、NMR から得られる情報を整理した。それに続いて、

それらの情報を分析する方法論、およびその応用を紹介した。また、量子化学計算などの計算科学的な手法を用いた NMR スペクトルの推定についても触れた。他にもここに記すことができない NMR の応用分野は数多くあるが、紙面の都合もあり本稿では割愛させていただくことと予めお許し頂きたい。

2 NMR スペクトルから得られる情報

2・1 単一パルス実験から得られる情報

高分解能 NMR 測定では磁場の発生源としては、超伝導磁石、電磁石、永久磁石が用いられるが、高磁場 NMR 装置では超伝導磁石が用いられる。NMR の分野では磁場の大きさについては慣習的 ^1H 核の共鳴周波数で表すことが多い。現在、一般的に市販されている装置で用いられている 300~1200 MHz の磁場強度は、7.0~28.2 T の磁場強度に対応する。

高分解能 NMR 測定に用いられる検出器は、溶液中に溶解した試料を主に対象とした溶液 NMR プロブと、固体試料を測定するために設計された固体 NMR プロブの 2 種類が主に用いられる。溶液 NMR では、一般的には、重水素化された溶媒に化合物を溶解させて溶液中の化合物の測定を行う。溶液中では、分子の運動により、化学シフト異方性、双極子相互作用などの相互作用は平均化されるため先鋭化している信号が観測される。一方、固体状の試料では、異方性があるためそれらの相互作用は平均化されない。そのため、固体 NMR 測定では、静磁場に対して 54.7356 度傾けた軸上で試料を高速回転しながら測定を行うことで、主に化学シフトの異方性を平均化する。

図 1 に一般的な一次元 NMR から得られる NMR の周波数応答である FID および FID をフーリエ変換して得られる周波数スペクトルを示す。ここでは核スピン量子数 $1/2$ の核種 (^1H , ^{13}C , ^{19}F , ^{15}N , ^{29}Si , ^{31}P など) に絞って考えることにする (核スピン量子数が 1 以上の四極子核の詳細に関しては他の総説¹⁵⁾を参照されたい)。ここで、FID においてデジタルデータとしてサンプリングされる信号の周期 (周波数) は、共鳴周波数そのものではなく、アナログ/デジタル変換する際に、基準周波数

★★英文タイトル★★ ★★★★★★ ★★★★★★ ★★★★★★ ★★★★★★
★★ ★★★★★★.

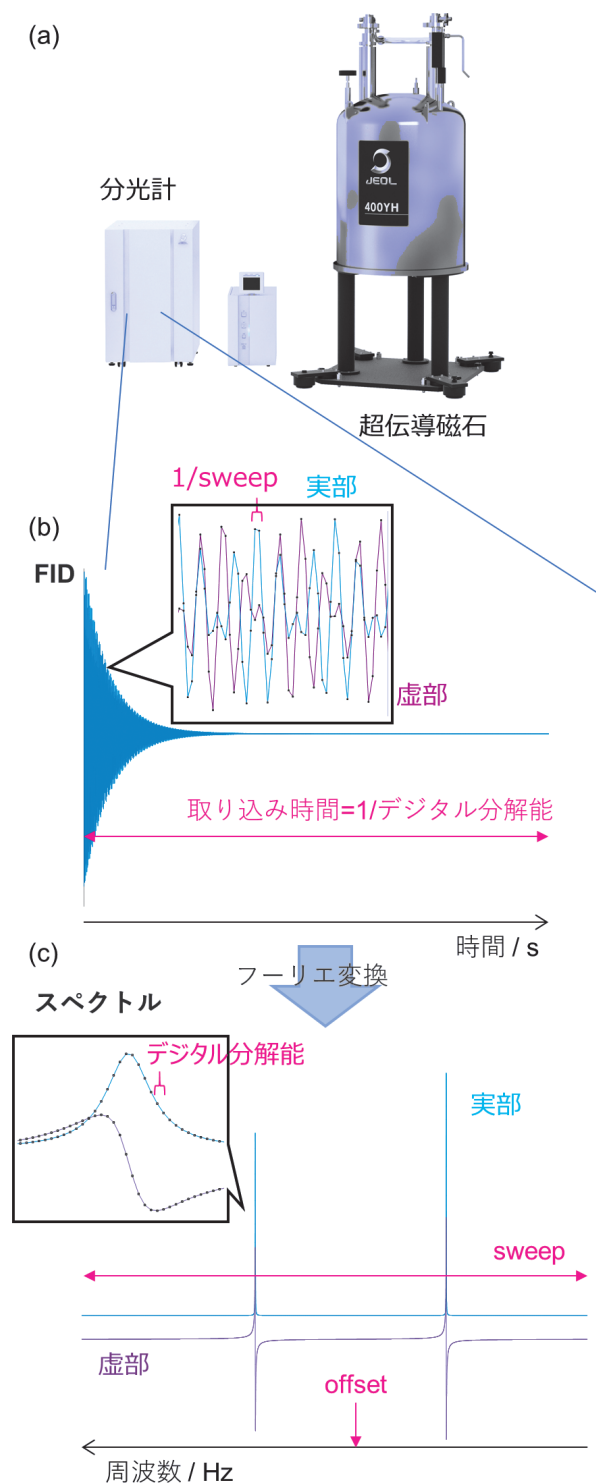


図1 ★★★★★★★★★★★★★★

(通常、スペクトルの観測中心周波数)との差としてサンプリングされる。

一次元 NMR スペクトルから読み取る主要な情報は、化学シフト、スピン結合、信号面積である (図 2)。化学シフトは、それぞれの核スピンの化学構造などに応じた局所磁場を反映し、それぞれの核スピンを特徴づける周波数差である。また化学シフトは、静磁場に比例するため、測定時の静磁場で規格化して用いる。化学シフトは静磁場に対して百万分の一のオーダーであることが一

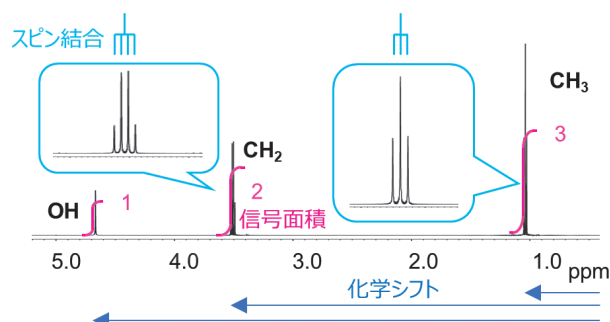


図2 ★★★★★★★★★★★★★★

般的であり、ppm の無次元単位であらわされる。化学シフトの基準として ^1H NMR では、テトラメチルシランの共鳴周波数を 0 ppm としている¹⁶⁾。

スピン結合は、核スピン間の結合性の電子を介した相互作用であり、NMR スペクトルにおいては信号の分裂として観測され、その分裂幅はスピン結合定数とよばれる。スピン結合する核スピンのペアは、同じスピン結合定数を示す。この信号の分裂幅から構造的に隣接した核スピンを推定することができ、分子構造解析上非常に重要な手がかりとなる。また、スピン結合定数は、二面角などの分子の立体構造によって変化するため、分子の立体構造を分析する手掛かりにもなる。

同じ分子に含まれる構造的に非等価な ^1H に由来する信号は、通常異なる化学シフトを有し、別々の信号として得られる。これらの信号の面積積分値は、緩和時間や RF パルスの励起帯域の影響を無視すれば、信号に含まれる水素の数に比例する。したがって、同一分子に由来する CH_3 、 CH_2 、および CH の信号面積比は、3 : 2 : 1 となる。この情報も分子構造の解析の手掛かりになる。異なる分子に由来する信号の面積積分値の比は、緩和時間や RF パルスの励起帯域の影響を無視すれば、信号に含まれる水素の数で規格化した信号の面積の比は、試料空間に含まれる物質量の比に対応する。このことは物質の定量分析に用いられる。

2・2 複数のパルスを組合せた実験から得られる情報

前述のようにパルスフーリエ変換 NMR の開発は、マルチパルス法や二次元 NMR などをも可能にした。単一パルスによる測定は、試料に含まれるすべての核スピンを非選択的に検出する。一方、マルチパルスの実験では、パルスシーケンスと呼ばれる RF パルスおよび勾配磁場パルスの動作が時系列にしたがって記述されたプログラムにより選択的に信号を検出したり、その信号の位相を編集したりすることができる。

例えば、DEPT (distortionless enhancement by polarization transfer) は、 ^1H 核から ^{13}C 核への磁化移動を利用した ^{13}C 一次元測定パルスシーケンスである。 ^1H 核に隣接した ^{13}C のみを選択的に検出し、かつ隣接する ^1H

の数に応じた信号の位相の編集（信号の正負）を行う。また、HSQC（hetero-nuclear single quantum coherence）は、直接結合した異種核（ ^1H と ^{13}C の組み合わせが最も一般的である）の間に相関信号を選択的に検出する二次元 NMR のパルスシーケンスである。得られるスペクトルは、複数の軸から構成され、この測定では二軸からなるスペクトルが得られる。

3 NMR データを用いたデータ分析

3.1 時間領域データおよび周波数領域データ

パルスフーリエ変換 NMR におけるデータは横軸が時間、縦軸が信号強度の FID として出力される（図 1 (b)）。FID は時間軸のデータであるため、時間領域データとも呼ばれる。しかしながら、FID から直接信号の周波数を視覚的に読み取るのは困難であるため、周波数スペクトルへフーリエ変換してデータ分析を行うのが一般的である。まずは、FID から周波数スペクトルへの変換を記述する。

FID は、実部および虚部から構成され、直接観測時には NMR 装置の検出系が 90 度位相の異なる信号を検出することで得られる（直交検波）。FID をフーリエ変換することで周波数スペクトルが得られるが、周波数スペクトルは実部および虚部から構成される。通常、データ分析に用いるのは実部の周波数スペクトルである。

フーリエ変換を行う前後それぞれでデータ処理を行う。FID は、フーリエ変換前に zero filling（ゼロ埋め）するのが一般的である。zero filling とは、サンプリングされた FID のデジタルデータの末尾に強度 0 のデータ点を任意の数だけ加えることで、これによってフーリエ変換後の周波数スペクトルのデジタル分解能が向上する。これは FID のような周波数応答関数は実部と虚部とが一定の関係があることを示している式である Kramers-Kronig の関係式に従っており、実部と虚部は互いに独立していないので虚部の自由度を実部に移すことができるためである。また、FID は、ウィンドウ関数と呼ばれる特定の関数を用いて時間領域において信号強度に重みをつける。これにより、得られるスペクトルの S/N 比を向上させたり、信号の分離を向上させたりすることができる。これらの処理を施された FID は、フーリエ変換によって周波数スペクトルへと変換される。

得られたスペクトルから、ピークピック（スペクトルの信号の頂点の周波数の読み取り）、信号の分裂幅からスピン結合定数の読み取り、および信号の面積積分値の取得などを行い分析を進めるのが一般的である。一方、フーリエ変換を行わず、時間領域データを直接分析するアプローチが報告されている。CRAFT（complete reduction to amplitude frequency table）は、FID をデジタルフィルタで分割し、分割した FID に多成分指数減衰波モデルによるフィッティングをベイズ分析と呼ば

れる統計的な分析手法に基づいたアルゴリズムで最適化することで、信号の周波数およびその定量値に相当する振幅のテーブルに変換するデータ処理手法である¹⁷⁾。

3.2 有機化合物の構造解析

前述のように NMR における化学シフトおよびスピン結合の発見は、NMR の化学分析への応用への扉をあけた。天然物化学や有機合成の分野における有機化合物の構造解析は、NMR の最も基本的かつ最も成功した応用例のひとつである。有機化合物の構造解析では、有機化合物の骨格を構成する ^1H および ^{13}C が主要な観測核種である。加えて ^{15}N や ^{31}P （や合成化合物では ^{19}F ）が含まれる場合、これらの核種も分析に用いられる。

有機化合物の構造解析には、構造の推定（structural elucidation）および構造の確認（structural verification）の二つのアプローチがある。構造の推定では、未知の構造の有機化合物の構造を推定することができる。有機化合物の構造解析においては化学シフトおよびスピン結合が主要な役割を有する。溶液 NMR による有機化合物の構造推定の一般的な分析フローを図 3 に示す。化学シフトより分子を構成する環境が異なる ^1H および ^{13}C は異なる周波数（＝化学シフト）の信号として独立に検出される。また、NMR スペクトルは、原理的に定量的であるため、同じ分子内の信号面積の比から、信号に含まれる水素の数の比を推定することができる（例： CH_3 ： CH_2 ： CH ＝3：2：1）。また、スピン結合を利用した ^1H — ^1H COSY、 ^1H — ^{13}C HSQC、および ^1H — ^{13}C HMBC などの二次元 NMR スペクトルを用いることで、相関信号から各々の ^1H および ^{13}C のつながりを推定することができる。これらのスペクトルから得られた部分構造を組み立てることで化合物の構造を推定することができる。化合物の構造推定には、高分解能質量分析計における精密質量数から推定された推定組成式、中赤外分光スペクトルから推定される官能基の情報などを併用する。また、核間の双極子相互作用に由来する核オーバーハウザー効果やスピン—スピン結合の二面角依存性などから有機化合物の立体構造が分析可能である。

低分子量の有機合成においては、目的化合物に推定構造が存在するために、得られた化合物が推定構造と一致するかを確認できれば十分であり、構造推定までは不要

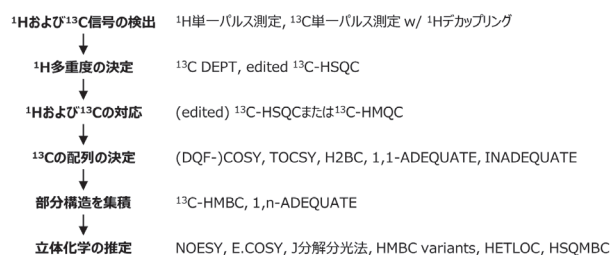


図 3 ★★★★★★★★★★★★★★

な場合が多い。この場合は、データ分析の観点では、既知の化学シフトおよびスピン-スピン結合などによるスペクトルパターンとマッチングすることで、構造確認が可能である。有機化合物の構造解析は、ほかに優れた総説や成書が多数あり、そちらを参照されたい¹⁹⁾²²⁾。

一方で有機化合物の結晶を固体状態のまま NMR 測定する固体 NMR においては、その結晶構造にユニークな化学シフトが得られる。固体 NMR では、 ^1H 核間の双極子相互作用が大きく、 ^1H の高分解能測定が困難であり、 ^{13}C の観測が一般的である。それぞれの結晶型の ^{13}C 化学シフトが既知であれば、固体 NMR スペクトルから結晶型を特定することが可能である。固体 NMR による結晶型の判別は NMR 結晶学と呼ばれる¹⁸⁾。また近年では、固体 NMR によるマジック角回転の高速化 (> 80 kHz) により ^1H の高分解能測定が容易になった²⁰⁾²¹⁾。これにより、 ^1H 化学シフトも結晶型の判別に用いられるようになった²³⁾。また、結晶中における化学シフトは、第一原理バンド計算から第一原理に基づいて計算することができる。第一原理バンド計算から得られた化学シフトと固体 NMR 測定から得られた化学シフトの一致度から結晶型を推定することも可能である。

3.3 NMR を用いた定量分析

NMR は、構造解析において必要不可欠なツールであるため、定性分析のイメージが広く浸透しているが、NMR 現象そのものは定量性に優れる。そのため、近年、NMR の定量分析への応用も広がっている。 ^1H -NMR の信号面積は、式 1 に従う (観測核種は ^1H に限らない)。

$$I_i \propto N_i \frac{m}{VM} P \sin \beta \frac{1 - e^{-T_r/T_1}}{1 - e^{-T_r/T_1} (\cos \beta)} M_z(t_{\text{eq}}) \cdots (1)$$

ここで I は信号面積、 N は信号に含まれる水素の数 (もしくは観測核種の数)、 V は試料の有効体積、 m は試料の質量、 M は分子量、 P は試料の純度、 β はフリップ角、 T_1 は信号の縦緩和時間 (スピン格子緩和時間)、 T_r はパルス繰返し時間、 $M_z(t_{\text{eq}})$ は熱平衡時の磁化である。

式 1 は $T_r \gg T_1$ の条件 (つまり、 $1 - \exp(-T_r/T_1) \approx 1$) では、信号面積は、信号に含まれる水素の数に比例することを示す。したがって、前述のように同じ分子内の信号の信号面積の比は、水素の比を反映する。一方、同一試料管の存在する異なる分子の信号の信号面積比は、 $T_r \gg T_1$ の条件では、式 2 に従う。

$$\frac{I_{\text{IS}}}{I_{\text{A}}} = \frac{N_{\text{IS}}}{N_{\text{A}}} \times \frac{m_{\text{IS}'}}{m_{\text{A}'}} \times \frac{M_{\text{A}}}{M_{\text{IS}}} \times \frac{P_{\text{IS}'}}{P_{\text{A}'}} \cdots (2)$$

ここで、下付き IS は内部標準化合物、IS' は内容標準試料 (不純物を含む)、A は分析対象化合物、および A' は分析対象試料 (不純物を含む) を示す。モル濃度は、

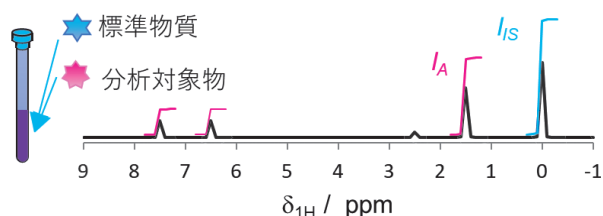


図 4 ★★★★★★★★★★★★★★

$m \cdot P / (M \cdot V)$ であるため分子 A のモル濃度に関して解くと式 3 が得られる。

$$C_{\text{A}} = \frac{N_{\text{IS}}}{N_{\text{A}}} \times \frac{I_{\text{A}}}{I_{\text{IS}}} \times C_{\text{IS}} \cdots (3)$$

ここで、 C はモル濃度である。したがって、一方のモル濃度が既知であれば、もう一方のモル濃度を定量できることを意味する。

分子 A の純度に関して解くと式 4 が得られる。

$$P_{\text{A}'} = \frac{I_{\text{A}}}{I_{\text{IS}}} \times \frac{N_{\text{IS}}}{N_{\text{A}}} \times \frac{m_{\text{IS}'}}{m_{\text{A}'}} \times \frac{M_{\text{A}}}{M_{\text{IS}}} \times P_{\text{IS}'} \cdots (4)$$

したがって、一方の分子の純度が既知であれば、もう一方の純度を定量できることを意味する。これらの式が示すように NMR による定量分析では、 $T_r \gg T_1$ のとき、すべての分子における信号面積のレスポンスファクターが等しいことを意味する。したがって、クロマトグラフィーなどによる二次標準定量分析とは異なり、NMR による定量分析では、定量対象分子とは異なる化合物を定量標準として用いることができる (図 4)。NMR による定量分析は、計量学的に一次標準比率法に準じる物質量の定量といえる。

^1H -NMR による内部標準法に基づく有機化合物の標準品などの試薬や製品の純度測定は、製薬、食品、化学などの様々な分野で応用されている。日本国内では、2018 年 1 月に日本産業規格 (JIS) 通則に定量核磁気共鳴分光法通則 (qNMR 通則) として採用されている²⁴⁾。また、国際規格としては、ISO 24583 として、2022 年 12 月に発行されている²⁵⁾。

3.4 NMR とデータサイエンスとの融合

NMR は、その性質上、低感度ではあるが、前述のように定量性が高く、再現性も高く、特異性の極めて低い分子のユニバーサルな検出器である。この利点を生かしてメタボロミクス (生体低分子の網羅的分析) などの分野では、NMR スペクトルを説明変数として多変量解析などのデータマイニングするアプローチは盛んに行われてきた歴史がある²⁶⁾²⁷⁾。NMR によるメタボロミクスでは、大きく分けてターゲット分析とノンターゲット分析にカテゴリー分けすることができる。ターゲット分析で

は、NMR の定量性を活かして、データベースとのマッチングなどから分析対象の分子の定量分析を行うアプローチである。一方ノンターゲット分析では、一般的にはスペクトル全体をバケット積分のような処理で後のデータ分析において適切な次元のデータセットに変換し、それを説明変数として多変量解析などを適用しデータマイニングする (図5)。バケット積分はNMR スペクトルから後のデータ分析のために変数の準備に用いられる最も単純な方法であり、スペクトル全体を等幅 (一般的には 0.1~0.5 ppm 程度が採用されることが多い²⁸⁾) の区間に分割し、それぞれの区間に含まれるデジタルデータの強度を足し合わせ数値積分することで、変数を用意する。バケット積分の他には、非等幅のバケット積分²⁹⁾、波形分離を応用した処理³⁰⁾ など様々な方法が提案されている。

一連の NMR スペクトルから変数を用意し、データ分析用の行列が用意できたのちは、一般的なデータ分析と同様である。データセットは、NMR スペクトルの性質から多重共線性が強い (変数間の相関が高い) ことに注意が必要である。したがって、例えば NMR スペクトルから用意されたデータセットを説明変数として外部の目的変数を回帰分析などにより予測モデルを構築する目的では、変数間に相関がある場合、線形重回帰は不安定となる。そこで一般的には、主成分分析により変数を次元圧縮および直交させて重回帰する主成分回帰や PLS (partial least square) モデルに基づいた PLS 回帰を適用するのが好ましい³¹⁾。このデータ分析用の行列は予測 (回帰) の他に、分類、データの低次元化・要約・可視化などの応用に用いられる。

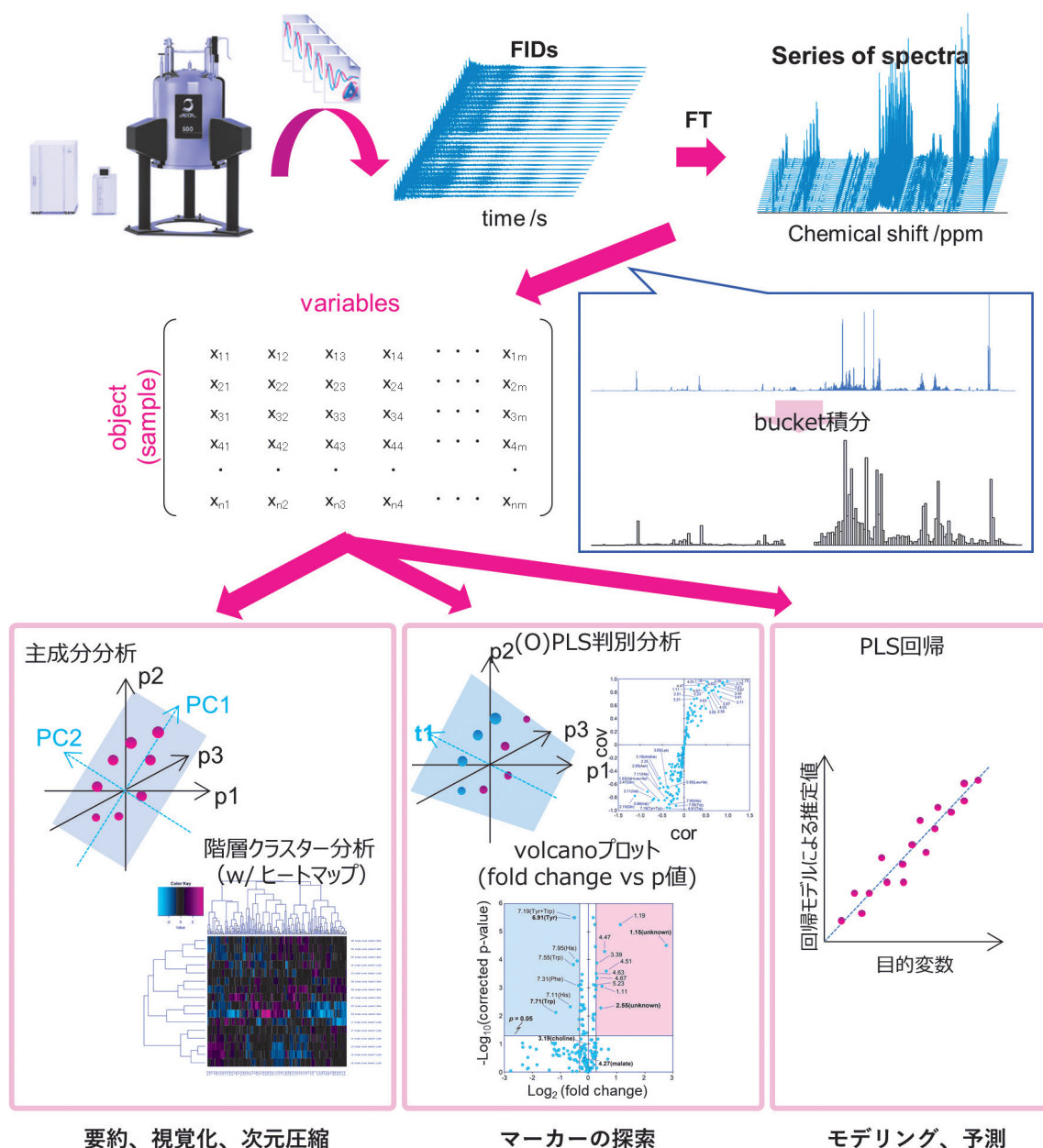


図5 ★★★★★★★★★★★★★★

3・5 量子化学計算によるスペクトルのシミュレーション

計算科学の発展は、機器分析化学の分野にも大きな変化をもたらしている。前述のデータマイニングなどの帰納的な分析に加え、シミュレーションによって実験や測定なしに、分子の電子状態や NMR スペクトルを演繹的に計算から求めることができる。特に NMR では、量子化学計算による構造の最適化、それに続く gauge-independent atomic orbital (GIAO) 法などから化学シフトを第一原理に基づいて計算することができる¹³⁾³²⁾。また、その化学構造などをコンピュータで取り扱いやすい数字の表記である記述子に変換して、化学シフトの計算値と実測値の誤差を機械学習のアプローチから学習させることで、より正確に化学シフトを予測することができる³³⁾。

NMR による有機化合物の構造推定に量子化学計算は活用されている¹³⁾。NMR による有機化合物の構造推定では、スペクトルの解釈間違いによって誤った推定構造を導くリスクが残念ながらある。そのリスクを低減させるために量子化学計算による化学シフトおよびスピン結合定数は、推定構造の検証に用いることができる。また、量子化学計算による計算化学シフト、J カップリングは、立体化学を反映するため、ジアステレオマーなどの検証にも効果的である。Takeda らは *Trichoderma* 属の由来の天然物である Cremenolide の構造訂正を報告している³⁴⁾。構造訂正において量子化学計算による計算化学シフトから 8 種の候補ジアステレオマーのうち候補化合物を絞りこむことによって、全合成による構造決定の労力を減らしている。また、単純にスペクトルの解釈間違いを検出したり、有機化合物の構造推定を支援したりする目的で、(量子化学計算と比較して計算コストが著しく低い) データベースからの部分構造による検索や機械学習による化学シフトなどのパラメータ推定が用いられている¹⁴⁾。

また、メタボロミクス分野でも、化合物の同定や帰属に関して、量子化学計算が活用されている。化合物の同定には化学シフトやスピン結合定数のデータベースとのマッチングのアプローチが用いられるが、全化学物質に対して実測 NMR スペクトルに基づくデータベースを構築するのは、実用的に困難を伴う。これは、市販で入手できる化合物には限りがあり、また、合成、単離精製して化合物を収集するには多大な労力を要するためである。一方、量子化学計算は、計算コストを要する一方、物質的な要求が低い。したがって、データベースに依存しない化合物の同定や帰属を可能にする。実用的には、メタボロミクス分野においても、前述の構造推定での量子化学計算の例と同様に、推定される候補化合物の NMR パラメータを量子化学計算から計算し、化合物の同定や帰属の検証に用いられている。Komatsu らは、

安定同位体を用いたレンジツツジに含まれる代謝産物の網羅的解析を報告している³⁵⁾。その中で、NMR 測定から推定された実測 NMR スペクトルデータベースに含まれていないテルペンやフラボノイドを含む 8 個の二次代謝物の同定に量子化学計算から得られた ¹H および ¹³C 計算化学シフトを活用している。

4 結 言

NMR はハードウェアや測定法の発展のみではなく、得られたデータをどう取り扱うか、という点でも極めて多様であり、その応用範囲は広い。新しいデータの取り扱い方が開発されることで、NMR の応用範囲がさらに増えていき、今後も重要な分析機器として使われ続けていくものと期待している。

文 献

- 1) E. M. Purcell, H. C. Torrey, R. V. Pound : *Phys. Rev.*, **69**, 37 (1946).
- 2) F. Bloch, W. W. Hansen, M. Packard : *Phys. Rev.*, **69**, 127 (1946).
- 3) J. T. Arnold, S. S. Dharmatti, M. E. Packard : *J. Chem. Phys.*, **19**, 507 (1951).
- 4) H. S. Gutowsky, D. W. McCall, C. P. Slichter : *Phys. Rev.*, **84**, 589 (1951).
- 5) R. R. Ernst, W. A. Anderson : *Rev Sci Instrum.*, **37**, 93 (1966).
- 6) W. P. Aue, E. Bartholdi, R. R. Ernst : *J. Chem. Phys.*, **64**, 2229 (1976).
- 7) K. Wuthrich, G. Wider, G. Wagner, W. Braun : *J. Mol. Biol.*, **155**, 311 (1982).
- 8) A. Kumar, R. R. Ernst, K. Wuthrich : *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **95**, 1 (1980).
- 9) T. F. Havel, K. Wuthrich : *Blt. Mathcal. Biology*, **46**, 673 (1984).
- 10) M. P. Williamson, T. F. Havel, K. Wuthrich : *J. Mol. Biol.*, **182**, 295 (1985).
- 11) P. C. Lauterbur : *Nature*, **242**, 190 (1973).
- 12) P. Mansfield : *J. Phys. C : Solid State Phys.*, **10**, 55 (1977).
- 13) N. Grimblat, A. M. Sarotti : *Chem. Euro. J.*, **22**, 35, 12246 (2016).
- 14) Y. D. Smurnyy, K. A. Blinov, T. S. Churanova, M. E. Elyashberg, A. J. Williams : *J. Chem. Inf. Model.*, **48**, 128 (2008).
- 15) S. E. Ashbrook : *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **11**, 6892 (2009).
- 16) R. K. Harris, E. D. Becker, M. Sonia. C. D. Menezes, R. Goodfellow, P. Grammer : *Pure Appl. Chem.*, **73**, 11, 1795 (2001).
- 17) K. Krishnamurthy : *Magn. Reson. Chem.*, **51**, 821 (2013).
- 18) P. Hodgkinson : *Prog. Nucl. Magn. Reson. Spectrosc.*, **118** – **119**, 10 (2020).
- 19) E. E. Kwan, S. G. Huang : *Eur. J. Org. Chem.*, **2008**, 2671 (2008).
- 20) Y. Nishiyama : *Solid State Nuc. Magn. Reson.*, **78** 24 (2016).
- 21) Y. Nishiyama : “Methodology and Application to Life Science and Materials Science”, (Springer), 171 (2017).
- 22) E. Breitmaier : “Structure Elucidation by NMR in Organic Chemistry : A Practical Guide”, (Wiley), (2002).
- 23) J. Struppe, C. M. Quinn, S. Sarkar, A. M. Gronenborn, T. Polenova : *Mol. Pharmaceutics*, **17**, 674 (2020).
- 24) JIS K0138 : 2018, “General rules for quantitative nuclear

- magnetic resonance spectroscopy”.
- 25) ISO 24583:2022, “Quantitative nuclear magnetic resonance spectroscopy — Purity determination of organic compounds used for foods and food products — General requirements for ¹H NMR internal standard method”.
- 26) J. K. Nicholson, J. C. Lindon, E. Holmes : *Xenobiotica*, **29**, 1181 (1999).
- 27) D. S. Wishart : *Trends Anal. Chem.*, **27**, 228 (2008).
- 28) A.H. Emwas, E. Saccenti, X Gao, R.T. McKay, V.A.P. Martins dos Santos, R. Roy, D.S. Wishart : *Metabolomics*, **14**, 31 (2018).
- 29) S. A. A. Sousa, A. Magalhães, M. M. C. Ferreira : *Chemometr. Intell. Lab. Sys.*, **122**, 15, 93 (2013).
- 30) J. Hao, W. Astle, M. D. Iorio, T. M. D. Ebbels : *Bioinformatics*, **28**, 15, 2088 (2012).
- 31) S. Wold, M. Sjostrom : *Chemometr. Intell. Lab. Syst.*, **58**, 109 (2001).
- 32) R. Ditchfield : *J. Chem. Phys.*, **56**, 5688 (1972).
- 33) M. W. Lodewyk, M. R. Siebert, and D. J. Tantillo : *Chem. Rev.*, **112**, 1839 (2012).
- 34) K. Takeda, R. Katsuta, A. Yajima, S. Kuwahara, T. Nukada, K. Ishigami : *Nat Prod Res.*, **37**, 1577 (2023).
- 35) T. Komatsu, R. Ohishi, A. Shino, J. Kikuchi : *Angew. Chem. Int. Ed.*, **55**, 20 6000 (2016).



小松 功典 (KOMATSU Takanori)
日本電子株式会社科学・計測機器営業本部
科学・計測機器販売促進室 (〒100-0004
東京都千代田区大手町 2-1-1 大手町野村
ビル 13 階). 横浜市立大学大学院生命医
科学研究科生命医科学専攻. 博士 (理学).