

別添 1

厚生労働科学研究費補助金  
食品の安全確保推進研究事業

NMR に基づく化学物質のデジタル化とその利活用に関する研究

令和 6 年度 総括研究報告書

研究代表者 西崎雄三 東洋大学・食環境科学部

## 目次

|     |                               |    |
|-----|-------------------------------|----|
| I.  | 総括研究報告                        |    |
|     | NMRに基づく化学物質のデジタル化とその利活用に関する研究 | 1  |
|     | 西崎雄三                          |    |
| II. | 研究成果の刊行に関する一覧表                | 18 |

厚生労働科学研究費補助金（食品の安全確保推進研究事業）

総括研究報告書（令和6年度）

NMRに基づく化学物質のデジタル化とその利活用に関する研究

研究代表者 西崎雄三 東洋大学 食環境科学部 准教授

**研究要旨** 本研究では、NMRスペクトル上で2種のジアステレオマー混合物、すなわち (2*RS*,4*RS*)-DFZ 及び (2*RS*,4*SR*)-DFZ として観測される農薬ジフェノコナゾール（DFZ）をモデル化合物として、Quantum Mechanics qNMR（QM-qNMR）を検討した。DFZにキラルシフト試薬Chirabite-ARを添加することで、NMRスペクトル上において (2*RS*,4*RS*) 体を (2*R*,4*R*) 体及び (2*S*,4*S*) 体に、(2*RS*,4*SR*) 体を (2*R*,4*S*) 体及び (2*S*,4*R*) 体に、それぞれエナンチオマー分離させることに成功した。これら4種異性体について、化学シフト及びスピン-スピン結合定数から構成される<sup>1</sup>Hスピン情報を、NMR用反復計算ソフトウェア：Cosmic Truthを用いて明らかにした。この<sup>1</sup>Hスピン情報を基準として、DFZ 4種異性体の一斉定量法を検討した結果、誤差1.0%以内で4種異性体を正確に定量できることを確認した。以上の結果から、<sup>1</sup>Hスピン情報は定量分析におけるデジタル標準品として機能し得ることが示された。

## A. 研究目的

<sup>1</sup>H-NMR は、量子力学系に基づく分光法である。このため、NMR スペクトルを解析して、測定した化学物質の化学シフト及びスピン-スピン結合定数を含む <sup>1</sup>H スピン情報を明らかにすれば、その <sup>1</sup>H スピン情報に基づいて当該化学物質の <sup>1</sup>H-NMR スペクトルを計算的に再現することができる。さらに、NMR 反復計算ソフトウェアを用いることで、実測の <sup>1</sup>H-NMR スペクトルから <sup>1</sup>H スピン情報を正確に抽出する手法も確立されてきており、これは <sup>1</sup>H Iterative Full Spin Analysis (HifSA / HiFSA) と呼ばれている。

<sup>1)</sup>

このようにして得られた <sup>1</sup>H スピン情報を市販されている NMR 解析ソフトウェアに入力することで、対象化合物の正確な参照 NMR スペクトルを作成することができる。また、スピン情報は NMR の測定磁場強度に依存しない。例えば、抽出されたスピン情報が 600 MHz の <sup>1</sup>H-NMR スペクトルに由来する場合であっても、こ

のスピン情報から 60 MHz, 400 MHz, 800 MHz など、異なる磁場強度に対応した参照スペクトルをシミュレーションすることが可能である。米国薬局方 (USP) では、HifSA により得られたスピン情報をもとに、抗ウイルス薬レムデシビルの参照 NMR スペクトルを作成し、確認試験に活用している。<sup>2)</sup>

さらに、<sup>1</sup>H スピン情報は多成分系の定量解析にも応用が期待されている。あらかじめ取得した複数成分のスピン情報を NMR 反復計算ソフトウェアに入力し、線形フィッティングを行うことで、混合スペクトルから各成分の信号を分離し、定量することができる。このような量子力学系に基づくスペクトル解析法は、Quantum Mechanics qNMR (QM-qNMR) 又は QM-total-line-shape fitting と呼ばれ、従来の積分法 (INT-qNMR) では解析処理が困難であった重なり合う信号の定量解析に有効である。また、測定磁場の影響を受けず、分析者が保有する NMR 装置の磁場強度に依存しない、共通に適用可能な

定量法としての展開も期待される。

近年、食品の品質及び安全性に対する社会的関心の高まりを背景に、多くの化学物質が監視対象となっている。クロマトグラフィーによる定量分析においては、分析結果の信頼性の保証に標準品が不可欠であり、標準品の安定的な管理・供給体制の構築が求められている。しかしながら、監視対象物質は増加を続けており、標準品の「開発・管理・供給」にかかる負担は今後さらに増大すると見込まれる。

一方、HifSAによって化学物質の<sup>1</sup>H スピン情報を取得できれば、その情報に基づく定性・定量解析が可能となる。すなわち、従来は物質そのもので管理されていた標準品を、<sup>1</sup>H スピン情報というデジタル形式に置き換えることで、試験者は NMR 装置と対象物質のスピン情報のみを用いて分析を行うことができるようになる。

本研究代表者らは、HifSA 及び <sup>1</sup>H スピン情報の概念を公定試験法へ実装することを目指しており、そのためには多様な化学物質に対する実例データの蓄積が不可欠である。昨年度は、NMR スペクトル上で 2 種の立体異性体混合物として観測される農薬ジフェノコナゾール (DFZ) をモデル化合物に設定し (図 1)、HifSA の適用性を検討した。重アセトン溶媒中において、(2*RS*,4*RS*)-DFZ 及び (2*RS*,4*SR*)-DFZ の <sup>1</sup>H スピン情報を明らかにし、それをもとに QM-qNMR を実施した結果、80～800 MHz のすべての共鳴周波数において、両異性体を誤差 2%以内で分離定量することに成功した。

ただし、(2*RS*,4*RS*)-DFZ は (2*R*,4*R*) 体と (2*S*,4*S*) 体、(2*RS*,4*SR*)-DFZ は (2*R*,4*S*) 体と (2*S*,4*R*) 体がそれぞれエナンチオマーの関係にあるため、エナンチオマー同士の NMR スペクトルは完全に重なり合い、QM-qNMR による分離定量は困難であった。

そこで本年度は、キラルシフト試薬を用いてエナンチオマー間に化学シフト差を生じさせ、

QM-qNMR による分離定量を実施したので、以下に報告する。

## B. 研究方法

### B-1) 試薬及び試料

ジメチルスルホン (DMSO<sub>2</sub>; Cat. No. 048-33271, 99.9% mass fraction) 及び重クロロホルム (Cat. No. 031-25531, 99.8% D) は、富士フイルム和光純薬から購入した。キラルシフト試薬 Chirabite-AR (Cat. No. C2184) (図 1) は、東京化成工業から入手した。

食品添加物として流通している DFZ (FA255～257) は、日本食品添加物協会を通じて入手した。DFZ 標準品は、林純薬工業 (Cat. No. 99053174; RM001) 及び富士フイルム和光純薬 (Cat. No. 042-25241; RM002) より購入した。

### B-2) 試料調製

試料調製は、温度 20～25°C、相対湿度 40～80%の環境下で行った。冷蔵保管していた試薬及び DFZ 試料は、シリカゲル入りデシケーター内で室温に戻した後、蓋を緩めて天秤台上に 30 分間静置した。ウルトラミクロ天秤 (XP2U; Mettler Toledo) を用いて、試薬及び DFZ を精密に量り取り、重クロロホルムを加えて溶解し、NMR 用試料溶液とした。

### B-3) NMR 装置

NMR 測定には、日本電子製の JNM-ECZL600G (600.17 MHz for <sup>1</sup>H) を使用した。測定温度は 25°C に制御した。qNMR の測定条件として、取り込み時間 (AQ) 及び遅延時間 (*D*<sub>1</sub>) は、それぞれ 4.5 秒及び 60 秒に統一した。

### B-4) NMR データ処理

得られた FID は、MestReNova v14.2.1 (Mestrelab Research) を用いて処理した。指数関数 (LB) 及びガウス関数 (GB) を適用し、緩やかなブロードニングをかけた。ただし、HifSA 解析においては窓関数を適用せず、全てのデータに対して 512K ポイントまでゼロフィリングを実施し、手動で位相補正を行った後、5 次多項式によるベースライン補正を適用した。

## B-5) HifSA

### (2R,4R)-DFZ 及び (2R,4S)-DFZ

NMR 反復計算には、NMR Solutions Ltd. 製の Cosmic Truth (CT) を用いた。DFZ (RM002) 約 40 mg を精密に量り取り、重クロロホルム 1.0 mL に溶解して qNMR 測定を行った。得られたスペクトルは MestReNova で JCAMP ファイルに変換し、DFZ の mol ファイル (2 種: (2R,4R)-DFZ, (2R,4S)-DFZ) とともに CT にアップロードした。計算スペクトルと実測スペクトルが一致するまで、化学シフト、スピンスピン結合定数、半値幅を反復的に最適化した。

### Chirabite-AR との共存系

Chirabite-AR 約 10 mg 及び DFZ (RM002) 約 20 mg を精密に量り取り、重クロロホルム 1.0 mL に溶解後、qNMR 測定を実施した。得られたスペクトルは、同様に CT を用いて解析し、スピンスピン情報を取得した。

## B-6) QM-qNMR

DFZ 約 20 mg 及び内部標準物質 DMSO<sub>2</sub> 約 1 mg を精密に量り取り、Chirabite-AR を 10 mg/mL 含有する重クロロホルム 1.0 mL に溶解させた。qNMR 測定では以下の窓関数を適用した: LB / GB = 0.11 Hz / 0 Hz, 及び高磁場用の台形関数。得られた NMR スペクトルと、6 種の mol ファイル ((2R,4R)-DFZ, (2S,4S)-DFZ, (2R,4S)-DFZ, (2S,4R)-DFZ, DMSO<sub>2</sub> 及び Chirabite-AR) を CT にアップロードし、実測スペクトルと一致するまで反復計算を行った。DFZ の化学シフト及びスピンスピン結合定数は、HifSA で決定した値に固定したまま反復を実施した。

反復計算で得られた存在比 (モル比) を以下の式に代入し、DFZ の含量を算出した:

$$Cont_{DFZ} = \frac{Po_{(DFZ)}}{Po_{IC}} \times \frac{M_{DFZ}}{M_{IC}} \times \frac{m_{IC}}{m_S} \times P_{IC}$$

ここで、字は DFZ, DMSO<sub>2</sub> (IC) 及び試料 (S)。Po, M, m, P はそれぞれモル比, 分子量, 秤量値, 純度を示す。

## B-7) DFZ エナンチオマーの単離精製

キラル HPLC により、(2R,4R)-DFZ, (2S,4S)-DFZ, (2R,4S)-DFZ, (2S,4R)-DFZ の 4 種の異性体を単離精製した。分取には、島津製作所製の Prominence シリーズを用いた (オートサンプラー: SIL-20AC, 送液ポンプ: LC20AD, カラムオーブン: CTO-20AC, 検出器: SPD-M20A, PDA)。

### キラル HPLC 条件

カラム: CHIRACEL OJ-H (4.6 mm × 250 mm, 3 µm, ダイセル社製), カラム温度: 30 °C, 流速: 0.8 mL/min, 移動相: ヘキサン/エタノール (9:1)

## B-8) 参照値

試料として用いた DFZ の絶対純度、ジアステレオマー比 (DF) 及びエナンチオマー比 (EF<sub>A</sub>, EF<sub>B</sub>) は、令和 5 年度の総括研究報告書を参照した。すなわち、絶対純度は INT-qNMR, DF 及び EF はキラル HPLC により求めた (表 1)。

## C. 結果及び考察

### C-1) DFZ の HifSA (重クロロホルム系)

キラルシフト試薬 Chirabite-AR は、重クロロホルム中において多様な化合物に対しエナンチオマーの分離を成功させていることが報告されている。<sup>3)</sup>そこで、昨年度に <sup>1</sup>H スピンスピン情報を明らかにした、重アセトン溶媒系の DFZ に Chirabite-AR を添加したが、明瞭なエナンチオマー分離は確認されなかった。

一方、重クロロホルムに溶解した DFZ に Chirabite-AR を添加したところ、エナンチオマー分離が確認された (図 2)。この結果を受けて、重クロロホルム中における DFZ 及び Chirabite-AR の <sup>1</sup>H スピンスピン情報を明らかにすることとした。得られた <sup>1</sup>H スピンスピン情報は、表 2 及び表 3 に示す。

### C-2) DFZ エナンチオマーの <sup>1</sup>H スピンスピン情報解析

重クロロホルム系において、Chirabite-AR の添加により DFZ のエナンチオマーが分離されたことを確認したが、分離された信号がいずれのエナンチオマーに対応するかの同定は困難

であった。そこで、キラル HPLC を用いて、(2*R*,4*R*)-DFZ, (2*S*,4*S*)-DFZ, (2*R*,4*S*)-DFZ, (2*S*,4*R*)-DFZ をそれぞれ 1 mg ずつ単離精製した。各異性体の HPLC 純度は 90%以上であった (図 3)。

これらの単離精製体に Chirabite-AR を添加し、NMR 測定を行った。得られたスペクトルを Cosmic Truth (CT) により解析した結果、それぞれの化学シフトを決定することができた (図 4, 表 4)。スピン-スピン結合定数については、先に明らかにした (2*RS*,4*RS*)-DFZ 及び (2*RS*,4*SR*)-DFZ の値を踏襲することで、問題なく線形フィッティングを行うことができた。

### C-3) Chirabite-AR を添加した QM-qNMR

重クロロホルムにおける (2*RS*,4*RS*)-DFZ と (2*RS*,4*SR*)-DFZ の <sup>1</sup>H スピン情報を基準にして、QM-qNMR から DFZ 試料中の DFZ 含量を求めることにした。内部標準には、様々な重溶媒に溶解可能で、単純なシングレットを示す DMSO<sub>2</sub> を用いた。qNMR 測定で得られたスペクトルを CT にアップロードし、反復計算から (2*RS*,4*RS*)-DFZ, (2*RS*,4*SR*)-DFZ 及び DMSO<sub>2</sub> のモル比を算出し、DFZ 含量及びジアステレオマー比を求めた (表 5)。その結果、参照値に対する相対値は DFZ 含量で 100.3~101.2%、ジアステレオマー比で 99.0~101.5%であり、昨年度に報告した重アセトン系における QM-qNMR の精度と同等であった。

さらに、Chirabite-AR を添加し、(2*R*,4*R*) 体、(2*S*,4*S*) 体、(2*R*,4*S*) 体及び (2*S*,4*R*) 体の一斉定量について検討した。CT 解析の際は、「C-2) DFZ エナンチオマーの <sup>1</sup>H スピン情報解析」の結果をテンプレートとして、各エナンチオマーの線形フィッティングを行った。解析時間を最小限に抑えるため、反復計算の ROI (解析対象領域) は立体異性体間でピークが視覚的に識別可能な範囲に限定した (図 5)。得られた DFZ の含量及び立体異性体比は、参照値と良好に一致し、誤差はそれぞれ 0.9%, 1.0%未満であった (表 6)。

## D. 結論

本研究では、NMRスペクトル上で2種のジアステレオマーが重なり合うDFZをモデル化合物として、重クロロホルム系における (2*RS*,4*RS*)-DFZ 及び (2*RS*,4*SR*)-DFZ の <sup>1</sup>H スピン情報を HifSA を用いて抽出した。得られた <sup>1</sup>H スピン情報を基準にして、重クロロホルム系における QM-qNMR を実施したところ、その定量精度は、昨年度に実施した重アセトン系における QM-qNMR の定量精度と同等であった。さらに、この QM-qNMR の発展形として、キラルシフト試薬 Chirabite-AR を添加し、エナンチオマー分離させた (2*R*,4*R*) 体、(2*S*,4*S*) 体、(2*R*,4*S*) 体及び (2*S*,4*R*) 体の一斉定量を検討した。その結果、誤差 1.0% 以内で、4 種異性体を正確に定量できることを示した。

本研究は、<sup>1</sup>H スピン情報が当該物質の確認試験や定量試験のための標準品として機能することを示した。<sup>1</sup>H スピン情報はデジタル情報であるため、従来にはなかったデジタルリファレンススタンダード (dRS) として機能し、NMR 装置があれば、既知の <sup>1</sup>H スピン情報を基準にして、世界中で統一した試験を瞬時に実施することが可能となる。

## E. 参考文献

- 1) Achanta P.S, et al., Quantum mechanical NMR full spin analysis in pharmaceutical identity testing and quality control, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 192, 113601 (2021).
- 2) *USP Methods to Assist in Detecting Falsified Remdesivir*. <https://www.usp.org/covid-19/remdesivir> (accessed 2025-5-28)
- 3) Ema T, et al., Versatile and practical macrocyclic reagent with multiple hydrogen-bonding sites for chiral discrimination in NMR, *J. Am. Chem. Soc.*, 129, 10591-10596 (2007).

## F. 研究業績

### F-1) 学会発表等

1. 西崎雄三, 石附京子, 杉本直樹.  $^1\text{H}$ スピン情報に基づいたクロロゲン酸類のデジタルリファレンススタンダード (dRS) の作成. 日本食品化学学会第30回総会・学術大会 (2024年5月24日)

#### F-2) 論文発表等

1. Nishizaki Y, Sugimoto N, Miura T, Asakura K, Suematsu T, Korhonen, S.P, Lehtivarjo J, Niemitz M, Pauli G.F: Quantum Mechanical Quantitative Nuclear Magnetic Resonance Enables Digital Reference Standards at All Magnetic Fields and Enhances qNMR Sustainability, *Analytical Chemistry*, 2024; 96: 9790-9798.
2. 西崎雄三, 田中誠司, 参考情報「 $^1\text{H}$ スピン情報に基づいた参照 NMR スペクトルと日本薬局方試薬への応用」の新規作成について, 日本薬局方フォーラム, 2024; 33: 189-192.

#### G. 知的財産権の出願・登録状況

特になし

表 1

表 1 本研究で用いた DFZ 試料

| Sample | DFZ content | DF    | EF <sub>A</sub> | EF <sub>B</sub> |
|--------|-------------|-------|-----------------|-----------------|
| FA255  | 95.8%       | 0.412 | 0.500           | 0.501           |
| FA256  | 95.4%       | 0.428 | 0.501           | 0.501           |
| FA257  | 95.7%       | 0.411 | 0.501           | 0.501           |
| RM001  | 99.0%       | 0.544 | 0.500           | 0.501           |
| RM002  | 99.7%       | 0.448 | 0.500           | 0.501           |



表 2

表 2 CT を用いて明らかにした DFZ の <sup>1</sup>H スピン情報 (重クロロホルム系)

| resonance | (2 <i>RS</i> , 4 <i>RS</i> )-DFZ |                 |                                                                                              |                           | (2 <i>RS</i> , 4 <i>SR</i> )-DFZ |                 |                                                                                                                   |                           |
|-----------|----------------------------------|-----------------|----------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------|----------------------------------|-----------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------|
|           | $\delta_{\text{H}}$ [ppm]        | line width [Hz] | multiplicity ( <i>J</i> in Hz [coupled nucleus])                                             | $\delta_{\text{C}}$ [ppm] | $\delta_{\text{H}}$ [ppm]        | line width [Hz] | multiplicity ( <i>J</i> in Hz [coupled nucleus])                                                                  | $\delta_{\text{C}}$ [ppm] |
| 2         |                                  |                 |                                                                                              | 107.3                     |                                  |                 |                                                                                                                   | 107.3                     |
| 4         | 3.828                            | 0.76            | dqd (8.363 [H-5B], 6.108 [H-6], 5.655 [H-5A])                                                | 74.51                     | 4.086                            | 0.76            | ddq (7.409 [H-5B], 6.124 [H-5A], 6.072 [H-6])                                                                     | 72.97                     |
| 5         | A 3.984                          | 0.61            | ddq (−8.201 [H-5B], 5.655 [H-4], −0.103 [H-6])                                               | 71.45                     | 3.917                            | 0.55            | dddq (−7.669 [H-5B], 6.124 [H-4], −0.323 [H-7A] <sup>a, b</sup> , −0.110 [H-6])                                   | 71.57                     |
|           | B 3.295                          | 0.58            | ddq (8.363 [H-4], −8.201 [H-5A], −0.141 [H-6])                                               |                           | 3.086                            | 0.56            | ddq (−7.669 [H-5A], 7.409 [H-4], −0.103 [H-6])                                                                    |                           |
| 6         | 1.159                            | 0.63            | ddd (6.108 [H-4], −0.141 [H-5B], −0.103 [H-5A])                                              | 18.10                     | 1.110                            | 0.66            | ddd (6.072 [H-4], −0.110 [H-5A], −0.103 [H-5B])                                                                   | 17.90                     |
| 7         | A 4.702                          | 0.63            | ddd (−14.544 [H-7B], −0.384 [H-5''] <sup>a</sup> , −0.267 [H-3''] <sup>a</sup> )             | 54.85                     | 4.714                            | 0.62            | dddd (−14.616 [H-7B], −0.365 [H-5''] <sup>a</sup> , −0.355 [H-3''] <sup>a</sup> , −0.323 [H-5A] <sup>a, b</sup> ) | 54.45                     |
|           | B 4.750                          | 0.63            | ddd (−14.544 [H-7A], −0.335 [H-5''] <sup>a</sup> , −0.321 [H-3''] <sup>a</sup> )             |                           | 4.807                            | 0.61            | ddd (−14.616 [H-7A], −0.388 [H-5''] <sup>a</sup> , −0.257 [H-3''] <sup>a</sup> )                                  |                           |
| 1'        |                                  |                 |                                                                                              | 131.7                     |                                  |                 |                                                                                                                   | 130.9                     |
| 2'        |                                  |                 |                                                                                              | 133.2                     |                                  |                 |                                                                                                                   | 133.3                     |
| 3'        | 7.015                            | 0.45            | dd (2.503 [H-5'], 0.293 [H-6'])                                                              | 120.7                     | 7.018                            | 0.45            | dd (2.497 [H-5'], 0.276 [H-6'])                                                                                   | 120.9                     |
| 4'        |                                  |                 |                                                                                              | 158.6                     |                                  |                 |                                                                                                                   | 158.6                     |
| 5'        | 6.809                            | 0.44            | dd (8.699 [H-6'], 2.503 [H-3'])                                                              | 116.1                     | 6.817                            | 0.44            | dd (8.676 [H-6'], 2.497 [H-3'])                                                                                   | 116.2                     |
| 6'        | 7.592                            | 0.41            | dd (8.699 [H-5'], 0.293 [H-3'])                                                              | 129.8                     | 7.557                            | 0.46            | dd (8.676 [H-5'], 0.276 [H-3'])                                                                                   | 129.8                     |
| 9'        |                                  |                 |                                                                                              | 154.4                     |                                  |                 |                                                                                                                   | 154.4                     |
| 10'       | 6.972                            | 0.43            | ddd (8.700 [H-11'], 2.949 [H-14'], 0.340 [H-13'])                                            | 121.2                     | 6.965                            | 0.42            | ddd (8.702 [H-11'], 2.958 [H-14'], 0.340 [H-13'])                                                                 | 121.2                     |
| 11'       | 7.331                            | 0.37            | ddd (8.700 [H-10'], 2.610 [H-13'], 0.340 [H-14'])                                            | 130.2                     | 7.328                            | 0.37            | ddd (8.702 [H-10'], 2.655 [H-13'], 0.340 [H-14'])                                                                 | 130.2                     |
| 12'       |                                  |                 |                                                                                              | 129.8                     |                                  |                 |                                                                                                                   | 129.8                     |
| 13'       | 7.331                            | 0.37            | ddd (8.700 [H-14'], 2.610 [H-11'], 0.340 [H-10'])                                            | 130.2                     | 7.328                            | 0.37            | ddd (8.702 [H-14'], 2.655 [H-11'], 0.340 [H-10'])                                                                 | 130.2                     |
| 14'       | 6.972                            | 0.43            | ddd (8.700 [H-13'], 2.949 [H-10'], 0.340 [H-11'])                                            | 121.2                     | 6.965                            | 0.42            | ddd (8.702 [H-13'], 2.958 [H-10'], 0.340 [H-11'])                                                                 | 121.2                     |
| 3''       | 7.906                            | 0.60            | ddd (−0.321 [H-7B] <sup>a</sup> , −0.298 [H-5''], −0.267 [H-7A] <sup>a</sup> )               | 151.2                     | 7.916                            | 0.57            | ddd (−0.355 [H-7A] <sup>a</sup> , −0.298 [H-5''], −0.257 [H-7B] <sup>a</sup> )                                    | 151.1                     |
| 5''       | 8.199                            | 0.65            | ddd (−0.384 [H-7A] <sup>a</sup> , −0.335 [H-7B] <sup>a</sup> , −0.298 [H-3''] <sup>a</sup> ) | 144.6                     | 8.233                            | 0.61            | ddd (−0.388 [H-7B] <sup>a</sup> , −0.365 [H-7A] <sup>a</sup> , −0.298 [H-3''] <sup>a</sup> )                      | 144.8                     |

表 3

表 3 CT を用いて明らかにしたキラバイト-AR の <sup>1</sup>H スピン情報 (重クロロホルム系)

| resonance | $\delta_{\text{H}}$ [ppm] | line width [Hz] | multiplicity ( $J$ in Hz [coupled nucleus])                                                                                             | $\delta_{\text{C}}$ [ppm] |
|-----------|---------------------------|-----------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------|
| 25, 26    |                           |                 |                                                                                                                                         | 131.008                   |
| 35, 50    |                           |                 |                                                                                                                                         | 133.597                   |
| 24, 27    |                           |                 |                                                                                                                                         | 154.194                   |
| 30, 45    |                           |                 |                                                                                                                                         | 122.871                   |
| 34, 49    | 7.281                     | 1.804           | dddd (8.516 [H-33, H-48], 1.155 [H-32, H-47], 0.615 [H-29, H-44], 0.014 [H-31, H-46], 0.05 [H-28, H-43])                                | 125.350                   |
| 28, 43    | 7.427                     | 1.713           | dddd (8.971 [H-29, H-44], 0.05 [H-34, H-49], 0.010 [H-31, H-46], -0.002 [H-32, H-47])                                                   | 118.903                   |
| 29, 44    | 8.008                     | 1.918           | dddd (8.971 [H-28, H-43], 0.615 [H-34, H-49], 0.115 [H-32, H-47], -0.113 [H-33, H-48], 0.107 [H-31, H-46])                              | 131.185                   |
| 31, 46    | 7.909                     | 2.120           | dddd (8.234 [H-32, H-47], 1.239 [H-33, H-48], 0.107 [H-29, H-44], 0.014 [H-34, H-49], 0.010 [H-28, H-43])                               | 128.578                   |
| 33, 48    | 7.378                     | 1.207           | dddd (8.516 [H-34, H-49], 6.852 [H-32, H-47], 1.239 [H-31, H-46], -0.113 [H-29, H-44])                                                  | 127.562                   |
| 2, 22     | 2A, 22A<br>2B, 22B        | 4.309<br>6.887  | d (-16.120 [H-2B, H-22B])                                                                                                               | 72.873                    |
| 32, 47    | 4.576<br>7.459            | 5.309<br>1.216  | d (-16.120 [H-2A, H-22A])<br>dddd (8.234 [H-31, H-46], 6.852 [H-33, H-48], 1.155 [H-34, H-49], 0.115 [H-29, H-44], -0.002 [H-28, H-43]) | 125.723                   |
| 3, 21     |                           |                 |                                                                                                                                         | 167.853                   |
| 4, 20     | 9.017                     | 41.705          |                                                                                                                                         | -                         |
| 5, 19     |                           |                 |                                                                                                                                         | 147.940 <sup>a</sup>      |
| 6, 18     | 10.043                    | 26.171          |                                                                                                                                         | -                         |
| 36, 42    | 8.146                     | 1.805           | dd (8.155 [H-37, H-41], 0.836 [H-38, H-40])                                                                                             | 110.325                   |
| 7, 17     |                           |                 |                                                                                                                                         | 148.917 <sup>a</sup>      |
| 37, 41    | 7.788                     | 3.150           | dd (8.216 [H-38, H-40], 8.155 [H-36, H-42])                                                                                             | 142.648                   |
| 38, 40    | 7.945                     | 7.057           | dd (8.216 [H-37, H-41], 0.836 [H-36, H-42])                                                                                             | 110.669                   |
| 9, 15     |                           |                 |                                                                                                                                         | 161.872                   |
| 10, 14    |                           |                 |                                                                                                                                         | 135.601                   |
| 39        | 9.055                     | 4.941           | d (1.396 [H-11, H-13])                                                                                                                  | 129.428                   |
| 11, 13    | 9.060                     | 1.977           | d (1.396 [H-39])                                                                                                                        | 127.469                   |
| 12        |                           |                 |                                                                                                                                         | 149.844                   |

表 3

表 3 600 MHz における QM-qNMR の定量精度

| Sample | DFZ content |   |      | Acetone- $d_6$ | DF     |   |      |
|--------|-------------|---|------|----------------|--------|---|------|
| FA255  | 100.9%      | ± | 0.3% |                | 99.8%  | ± | 0.3% |
| FA256  | 100.5%      | ± | 0.1% |                | 99.3%  | ± | 0.4% |
| FA257  | 100.6%      | ± | 0.0% |                | 98.3%  | ± | 0.4% |
| RM001  | 100.3%      | ± | 0.2% |                | 100.0% | ± | 0.2% |
| RM002  | 100.2%      | ± | 0.4% |                | 101.3% | ± | 0.3% |

参照値 (表 1) に対する相対値を示した。

表 4

表 4 Chirabite-AR を用いてエナンチオマー分離を行った DFZ の 4 種立体異性体の化学シフト

| resonance | (2 <i>R</i> , 4 <i>R</i> )-DFZ |                    | (2 <i>S</i> , 4 <i>S</i> )-DFZ |                    | enantiomeric dis-<br>persion | (2 <i>R</i> , 4 <i>S</i> )-DFZ |                    | (2 <i>S</i> , 4 <i>R</i> )-DFZ |                    | enantiomeric dis-<br>persion |
|-----------|--------------------------------|--------------------|--------------------------------|--------------------|------------------------------|--------------------------------|--------------------|--------------------------------|--------------------|------------------------------|
|           | $\delta_{\text{H}}$ [ppm]      | line width<br>[Hz] | $\delta_{\text{H}}$ [ppm]      | line width<br>[Hz] |                              | $\delta_{\text{H}}$ [ppm]      | line width<br>[Hz] | $\delta_{\text{H}}$ [ppm]      | line width<br>[Hz] |                              |
| H-4       | 3.8093                         | 0.810              | 3.8007                         | 0.859              | 0.0085                       | 4.0778                         | 0.787              | 4.0788                         | 0.817              | 0.0010                       |
| H-5A      | 3.9614                         | 0.692              | 3.9569                         | 0.722              | 0.0044                       | 3.9039                         | 0.630              | 3.9078                         | 0.647              | 0.0038                       |
| H-5B      | 3.2806                         | 0.643              | 3.2778                         | 0.665              | 0.0028                       | 3.0682                         | 0.634              | 3.0739                         | 0.642              | 0.0057                       |
| H-6       | 1.1484                         | 0.672              | 1.1395                         | 0.690              | 0.0088                       | 1.0948                         | 0.705              | 1.0986                         | 0.690              | 0.0038                       |
| H-7A      | 4.6637                         | 0.860              | 4.6845                         | 0.850              | 0.0208                       | 4.6906                         | 0.807              | 4.7019                         | 0.731              | 0.0113                       |
| H-7B      | 4.7345                         | 0.803              | 4.7182                         | 0.864              | 0.0163                       | 4.7961                         | 0.740              | 4.7769                         | 0.810              | 0.0192                       |
| H-3'      | 7.0100                         | 0.486              | 7.0095                         | 0.478              | 0.0005                       | 7.0149                         | 0.461              | 7.0157                         | 0.453              | 0.0008                       |
| H-5'      | 6.7993                         | 0.463              | 6.7949                         | 0.477              | 0.0043                       | 6.8076                         | 0.470              | 6.8090                         | 0.473              | 0.0013                       |
| H-6'      | 7.5657                         | 0.477              | 7.5703                         | 0.440              | 0.0046                       | 7.5416                         | 0.493              | 7.5369                         | 0.496              | 0.0047                       |
| H-10'     | 6.9783                         | 0.425              | 6.9777                         | 0.448              | 0.0006                       | 6.9699                         | 0.430              | 6.9707                         | 0.420              | 0.0008                       |
| H-11'     | 7.3400                         | 0.386              | 7.3395                         | 0.382              | 0.0005                       | 7.3358                         | 0.382              | 7.3363                         | 0.376              | 0.0005                       |
| H-13'     | 7.3400                         | 0.386              | 7.3395                         | 0.382              | 0.0005                       | 7.3358                         | 0.382              | 7.3363                         | 0.376              | 0.0005                       |
| H-14'     | 6.9783                         | 0.425              | 6.9777                         | 0.448              | 0.0006                       | 6.9699                         | 0.430              | 6.9707                         | 0.420              | 0.0008                       |
| H-3''     | 7.9132                         | 0.785              | 7.9113                         | 0.788              | 0.0020                       | 7.9191                         | 0.744              | 7.9202                         | 0.710              | 0.0011                       |
| H-5''     | 8.1884                         | 0.898              | 8.1858                         | 0.922              | 0.0026                       | 8.2266                         | 0.809              | 8.2267                         | 0.832              | 0.0001                       |

表 5

表 5 重クロロホルム系における QM-qNMR の定量精度

| Sample | DFZ content |   |      | DF     |        |
|--------|-------------|---|------|--------|--------|
| FA255  | 100.8%      | ± | 0.8% | 99.0%  | ± 0.2% |
| FA256  | 101.0%      | ± | 0.5% | 99.4%  | ± 0.1% |
| FA257  | 101.1%      | ± | 0.3% | 101.3% | ± 0.5% |
| RM001  | 100.3%      | ± | 0.2% | 99.2%  | ± 0.1% |
| RM002  | 101.2%      | ± | 0.3% | 101.5% | ± 0.0% |

参照値（表 1）に対する相対値．測定 3 回の平均．

表 5

表 6 Chirabite-AR を添加した重クロロホルム系における QM-qNMR の定量精度

| Samples | DFZ content |   |      | DF     |   |      | EF <sub>A</sub> |   |      | EF <sub>B</sub> |   |      |
|---------|-------------|---|------|--------|---|------|-----------------|---|------|-----------------|---|------|
| FA255   | 100.9%      | ± | 0.6% | 100.0% | ± | 0.1% | 99.6%           | ± | 0.6% | 99.4%           | ± | 0.3% |
| FA256   | 99.9%       | ± | 0.2% | 100.8% | ± | 0.1% | 99.9%           | ± | 0.7% | 99.0%           | ± | 0.6% |
| FA257   | 100.1%      | ± | 0.1% | 101.0% | ± | 0.3% | 99.8%           | ± | 0.5% | 99.6%           | ± | 0.2% |
| RM001   | 99.7%       | ± | 0.4% | 100.0% | ± | 0.1% | 99.9%           | ± | 0.8% | 100.1%          | ± | 0.2% |
| RM002   | 99.8%       | ± | 0.6% | 100.7% | ± | 0.2% | 99.8%           | ± | 1.0% | 99.5%           | ± | 0.4% |

参照値（表 1）に対する相対値．測定 3 回の平均．

図 1

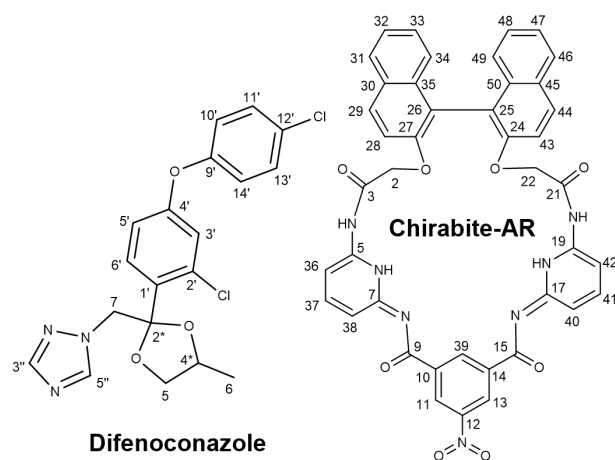


図 1 ジフェノコナゾールとキラバイト-AR の化学構造

\* はキラル中心。

図 2

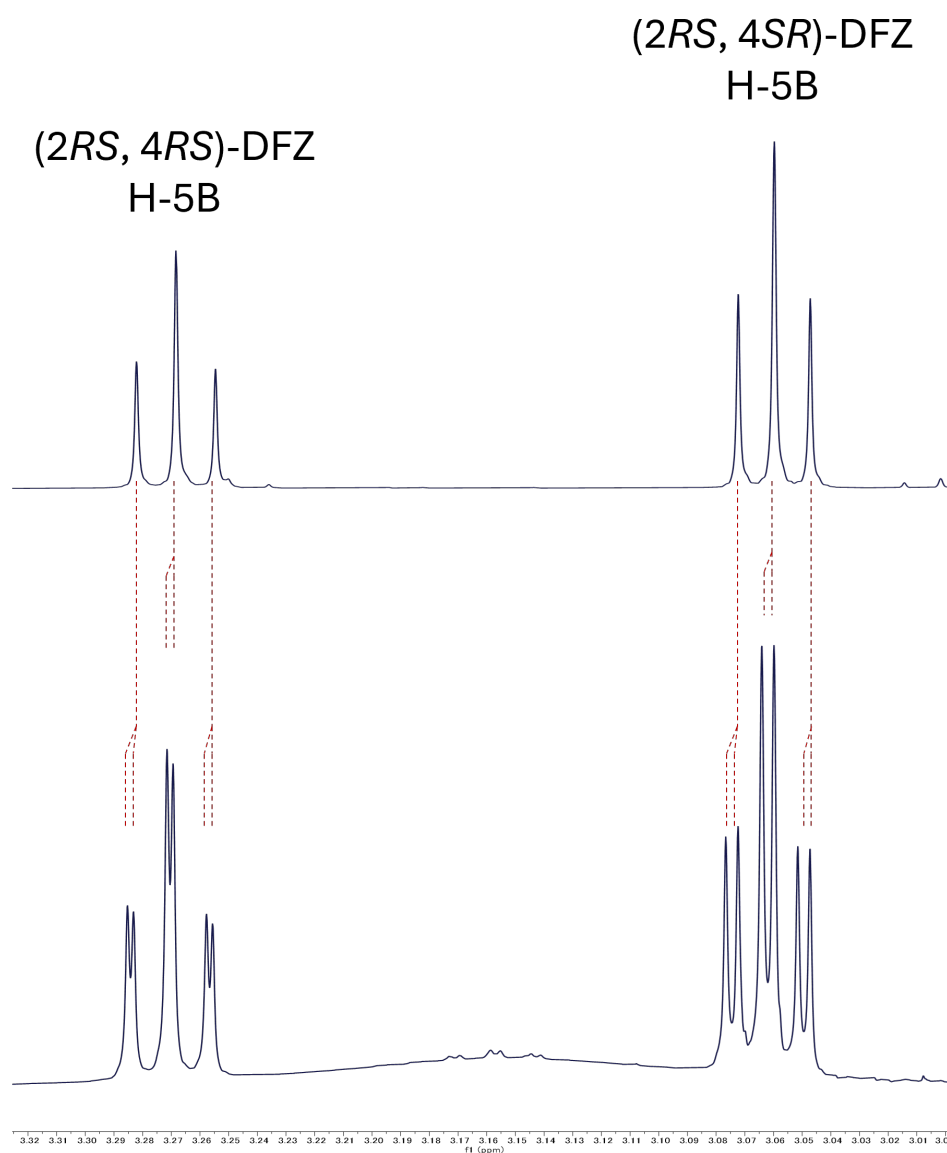


図 2 Chirabite-AR を添加した際の DFZ の  $^1\text{H}$ -NMR

H-5B のエナンチオマー分離を拡大している。



図 3

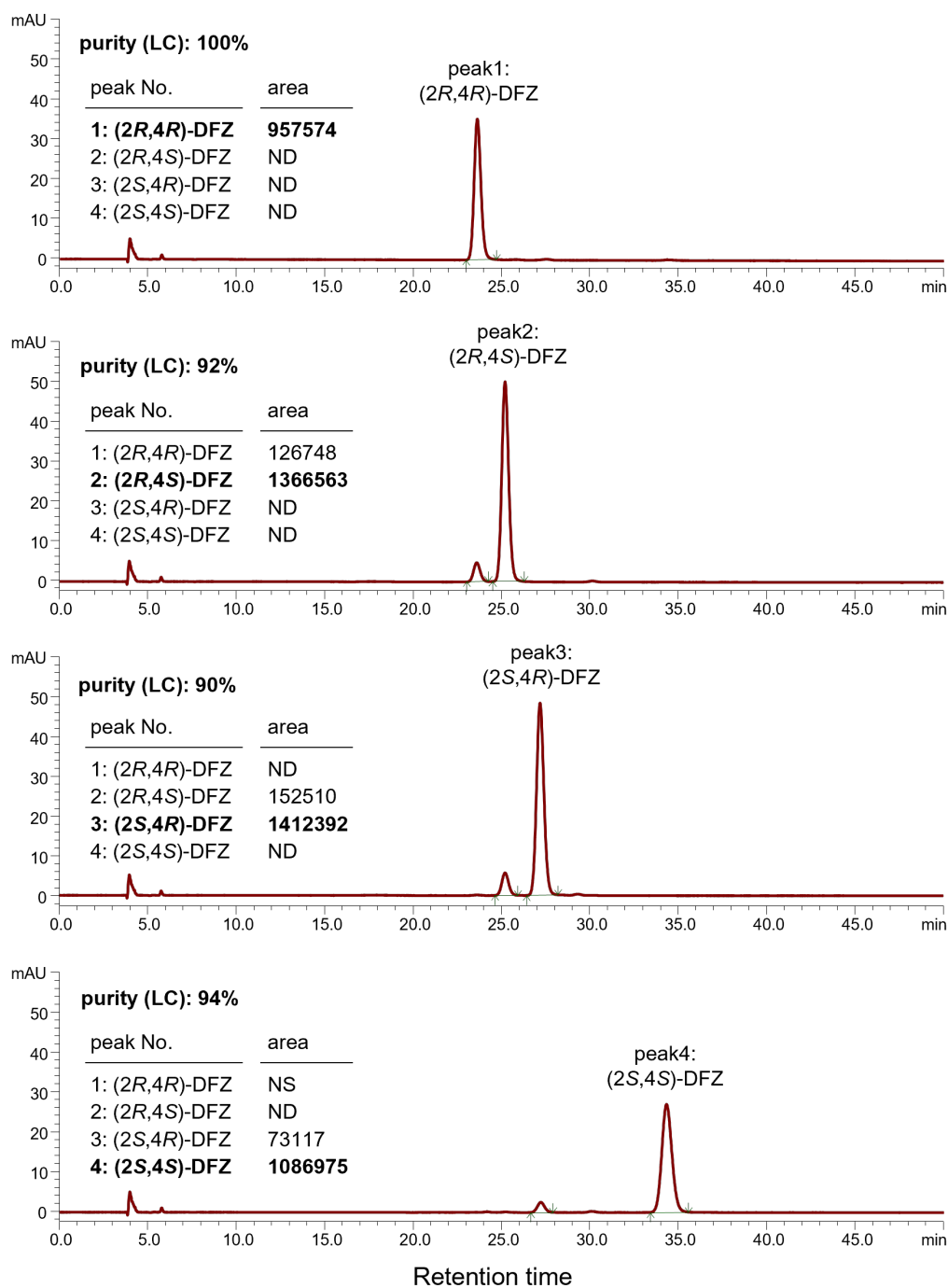


図 3 キラル HPLC 分取した DFZ の 4 種異性体の HPLC 純度

図 4

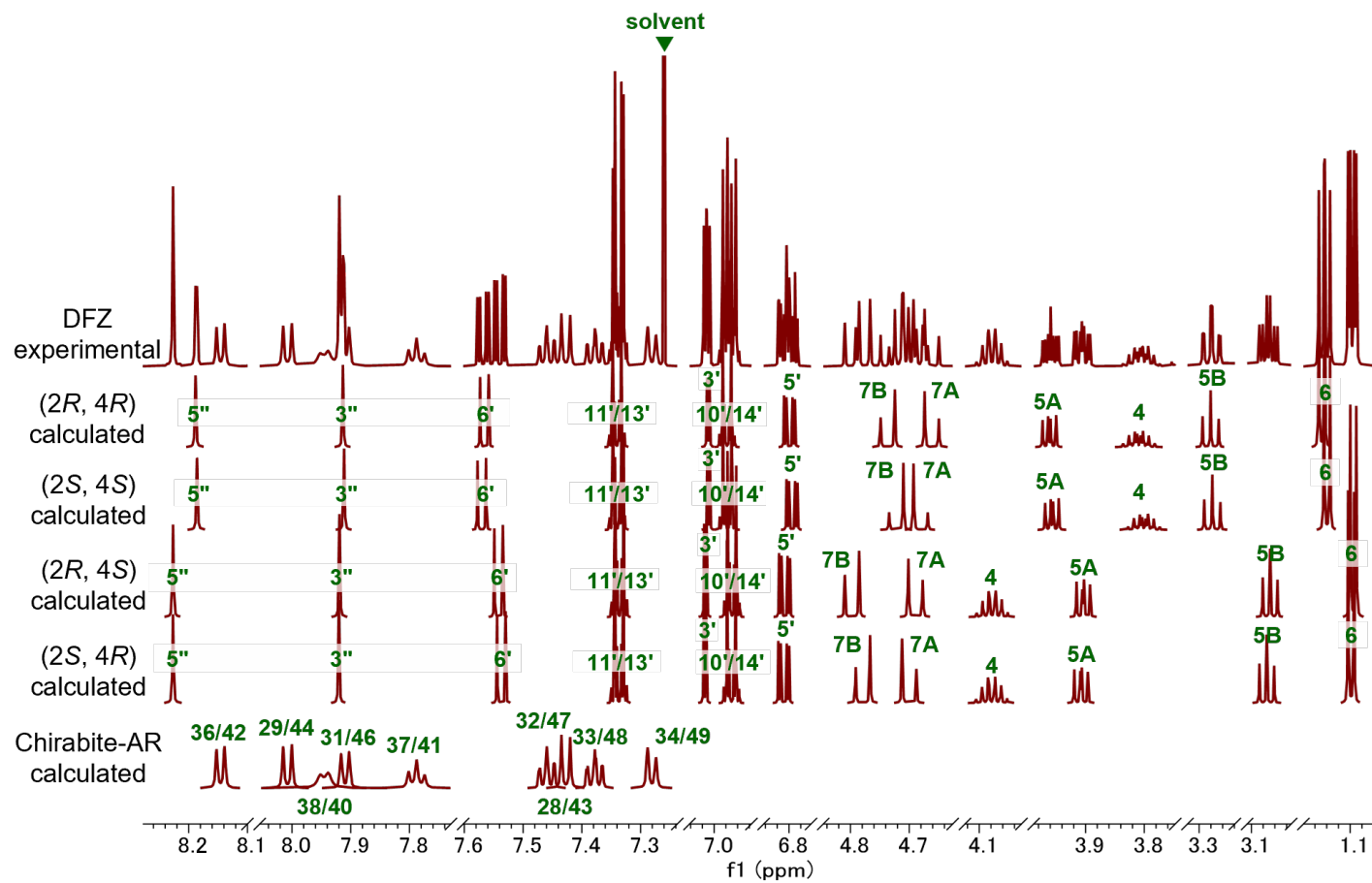


図 4 CT 解析による DFZ の 4 種異性体の分離分析

図 5

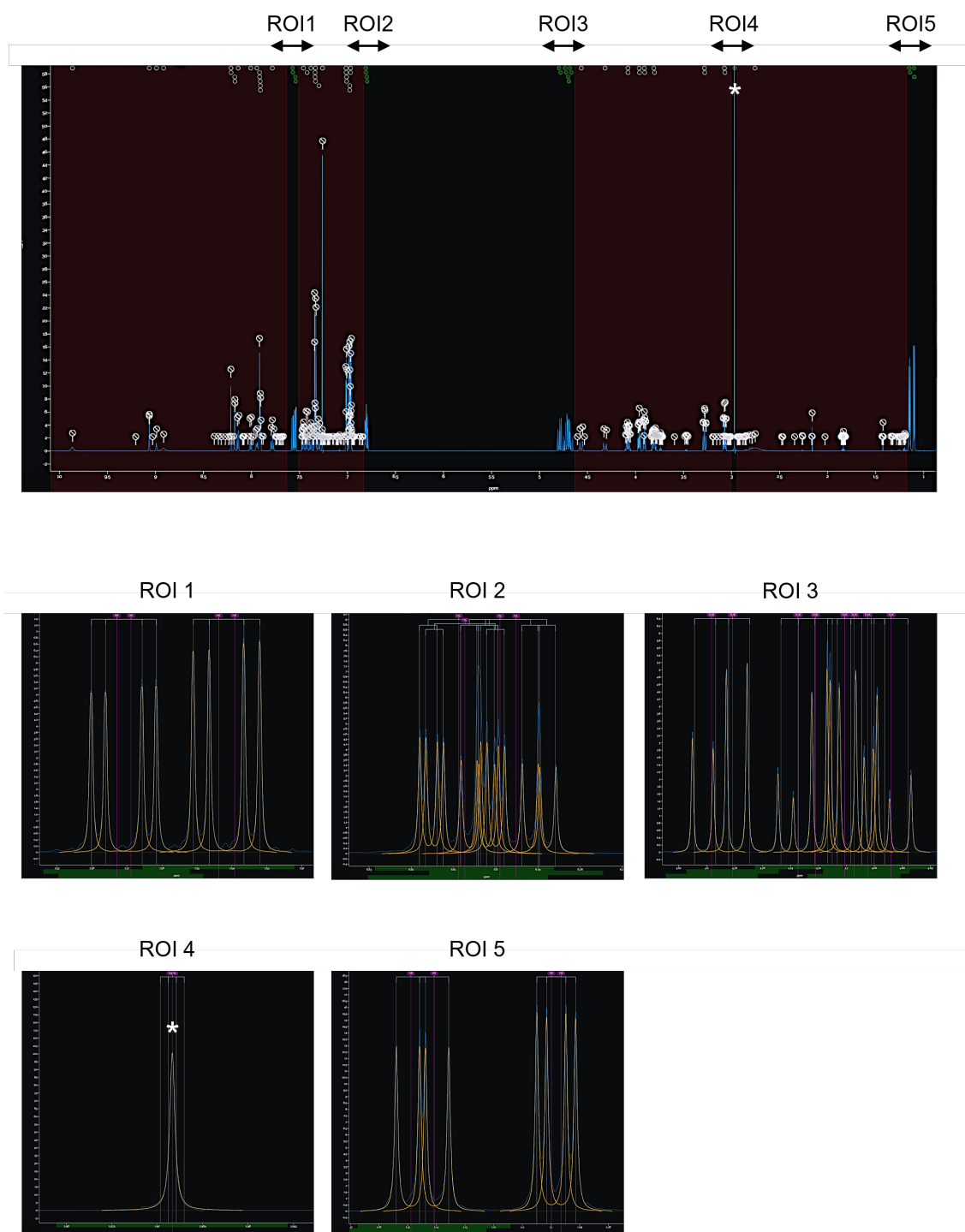


図 5 QM-qNMR における CT 解析画面

別添 4

研究成果の刊行に関する一覧

雑誌

| 発表者氏名                                                                                                      | 論文タイトル名                                                                                                                                                | 発表誌名                 | 巻号 | ページ       | 出版年  |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------|----|-----------|------|
| Nishizaki Y, Sugimoto N, Miura T, Asakura K, Suematsu T, Korhonen, S.P, Lehtivaara J, Niemitz M, Pauli G.F | Quantum Mechanical Quantitative Nuclear Magnetic Resonance Enables Digital Reference Standards at All Magnetic Fields and Enhances qNMR Sustainability | Analytical Chemistry | 96 | 9790-9798 | 2024 |
| 西崎雄三，田中誠司                                                                                                  | 参考情報「 <sup>1</sup> Hスピン情報に基づいた参照 NMR スペクトルと日本薬局方試薬への応用」の新規作成について                                                                                       | 日本薬局方フォーラム           | 33 | 189-192   | 2024 |

令和 7 年 5 月 3 1 日

厚生労働大臣 殿

機関名 東洋大学

所属研究機関長 職 名 学長

氏 名 矢口 悦子

次の職員の令和 6 年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

1. 研究事業名 食品の安全確保推進研究事業
2. 研究課題名 NMR に基づく化学物質のデジタル化とその利活用に関する研究
3. 研究者名 (所属部署・職名) 食環境科学部・准教授  
(氏名・フリガナ) 西崎 雄三・ニシザキ ユウゾウ

4. 倫理審査の状況

|                                    | 該当性の有無<br>有 無                                                    | 左記で該当がある場合のみ記入 (※1)      |        |                          |
|------------------------------------|------------------------------------------------------------------|--------------------------|--------|--------------------------|
|                                    |                                                                  | 審査済み                     | 審査した機関 | 未審査 (※2)                 |
| 人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針 (※3)     | <input type="checkbox"/> 有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 | <input type="checkbox"/> |        | <input type="checkbox"/> |
| 遺伝子治療等臨床研究に関する指針                   | <input type="checkbox"/> 有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 | <input type="checkbox"/> |        | <input type="checkbox"/> |
| 厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針 | <input type="checkbox"/> 有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 | <input type="checkbox"/> |        | <input type="checkbox"/> |
| その他、該当する倫理指針があれば記入すること<br>(指針の名称：) | <input type="checkbox"/> 有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 | <input type="checkbox"/> |        | <input type="checkbox"/> |

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査に場合は、その理由を記載すること。  
(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

|             |                                                                     |
|-------------|---------------------------------------------------------------------|
| 研究倫理教育の受講状況 | 受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/> |
|-------------|---------------------------------------------------------------------|

6. 利益相反の管理

|                              |                                                                                |
|------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------|
| 当研究機関における C O I の管理に関する規定の策定 | 有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由：)  |
| 当研究機関における C O I 委員会設置の有無     | 有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関：) |
| 当研究に係る C O I についての報告・審査の有無   | 有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由：)  |
| 当研究に係る C O I についての指導・管理の有無   | 有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容：)  |

(留意事項) ・該当する□にチェックを入れること。  
・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。