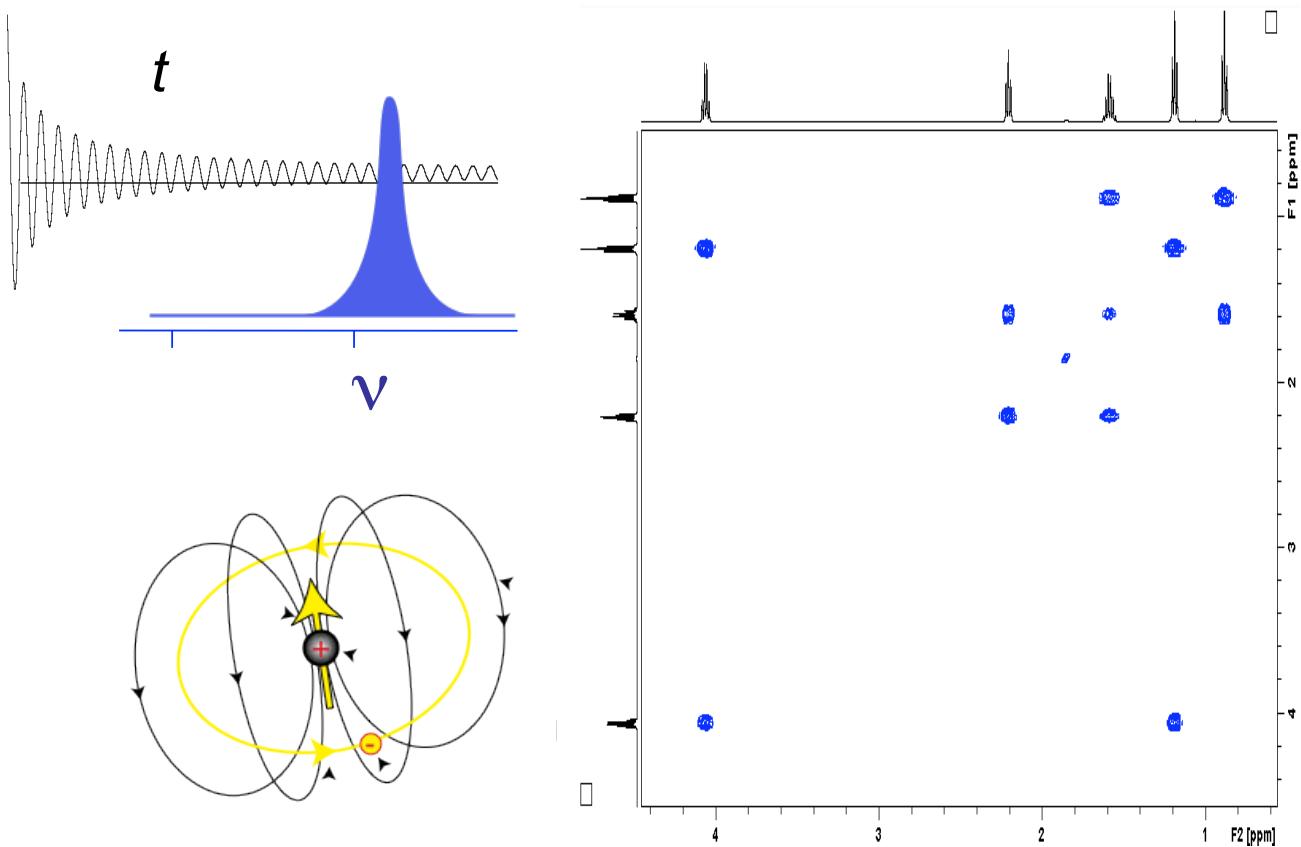


École Normale Supérieure de Lyon

Chimie Organique L3

Cours de Résonance Magnétique Nucléaire



Sandrine DENIS-QUANQUIN

02/12/14 8h00 - Introduction / Bases / Spectre + exercices

03/11/14 13h30 - RMN hétéronucléaire + exercices

09/12/14 8h00 - RMN 2D / Acquisition et traitement de données / Visite de la salle RMN

10/12/14 13h30 - Exercices

Quelques mots pour introduire le sujet...

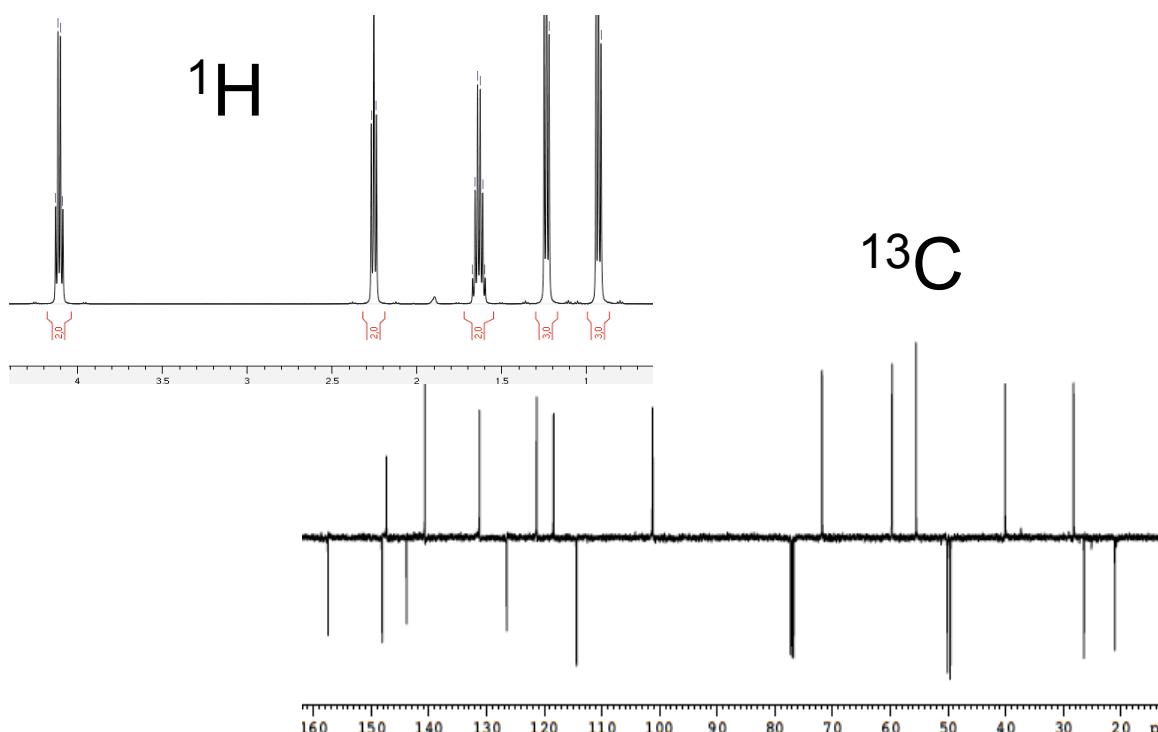
La Résonance Magnétique Nucléaire ou RMN

*C'est quoi ?
Cela sert à quoi ?
En chimie organique ?
Comment je fais ?*

5

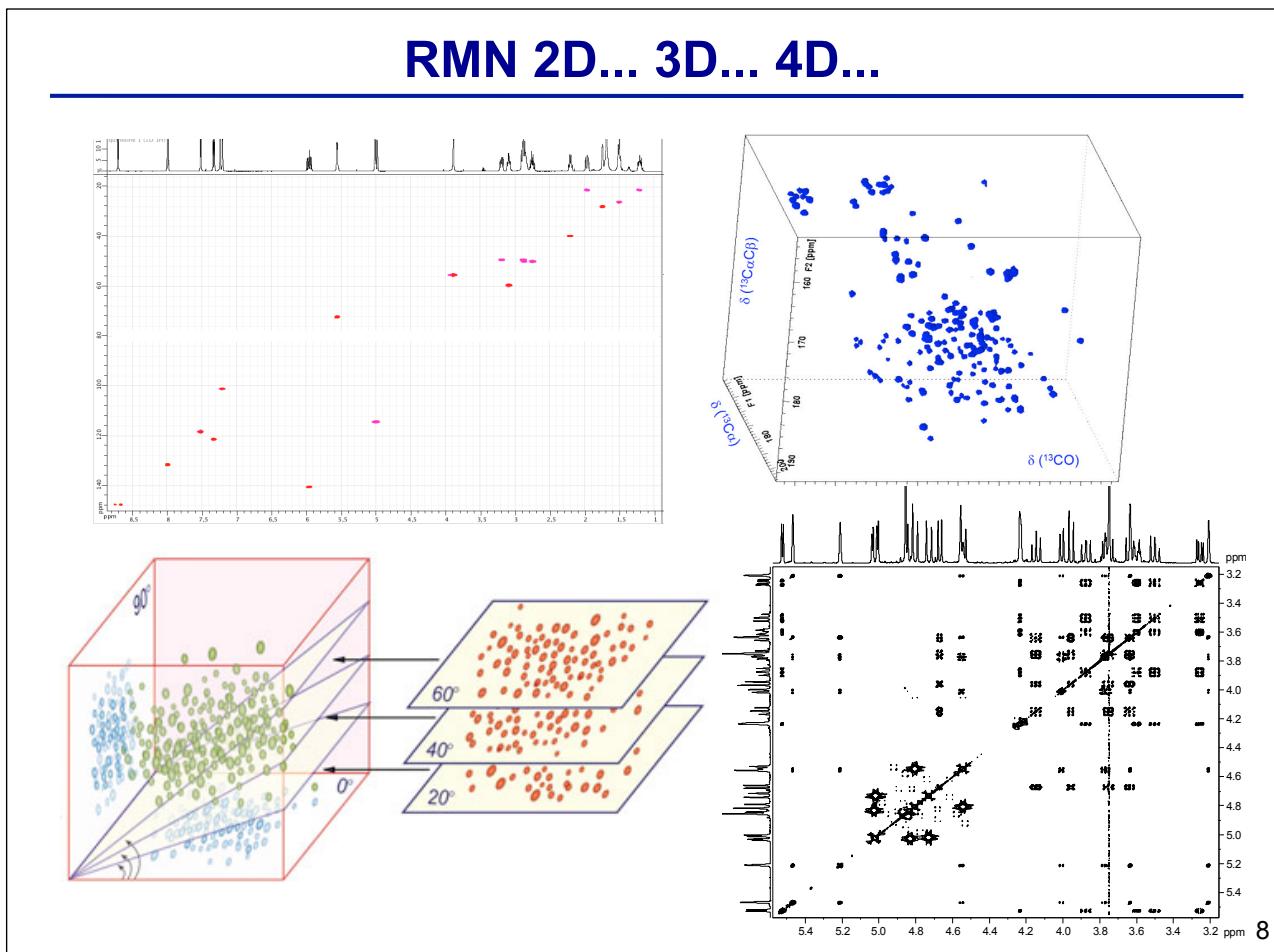
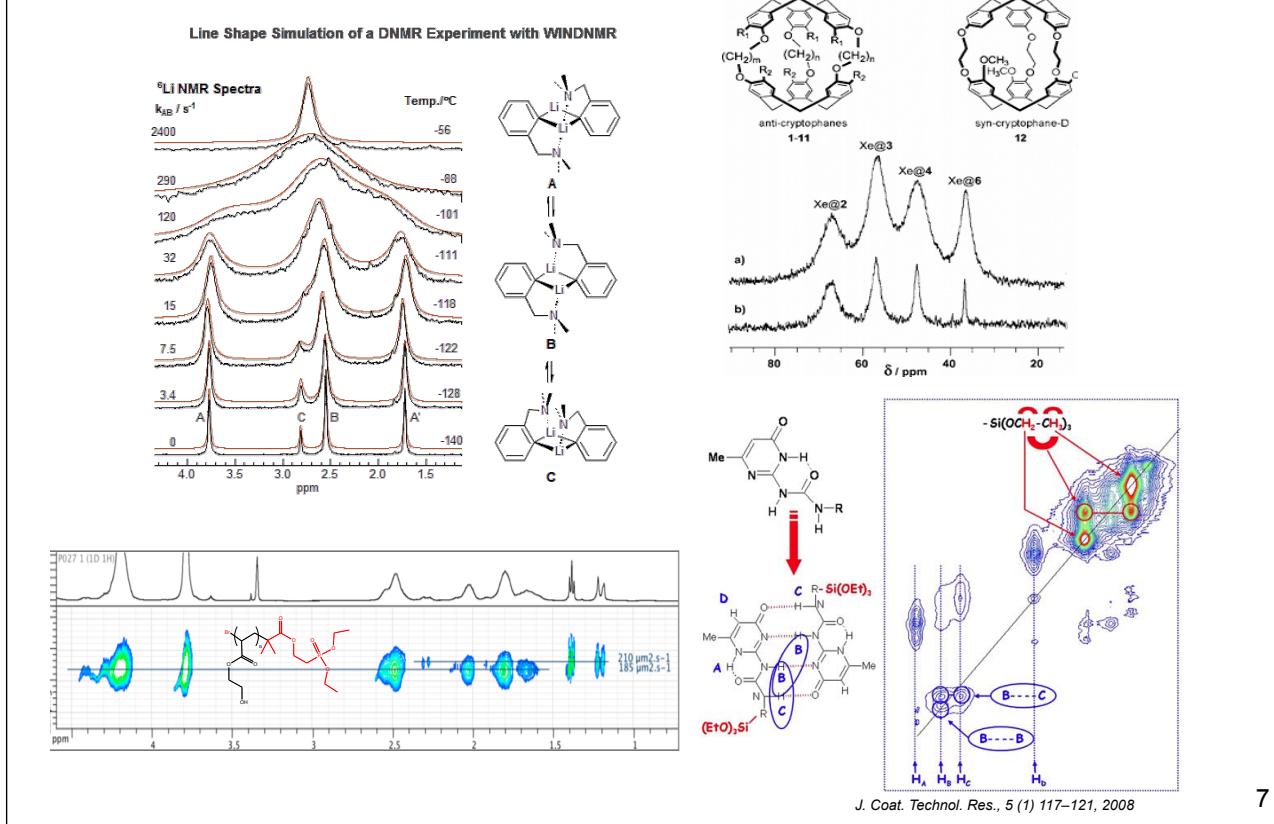
RMN et Chimie organique

Spectres... Analyses... Structures...

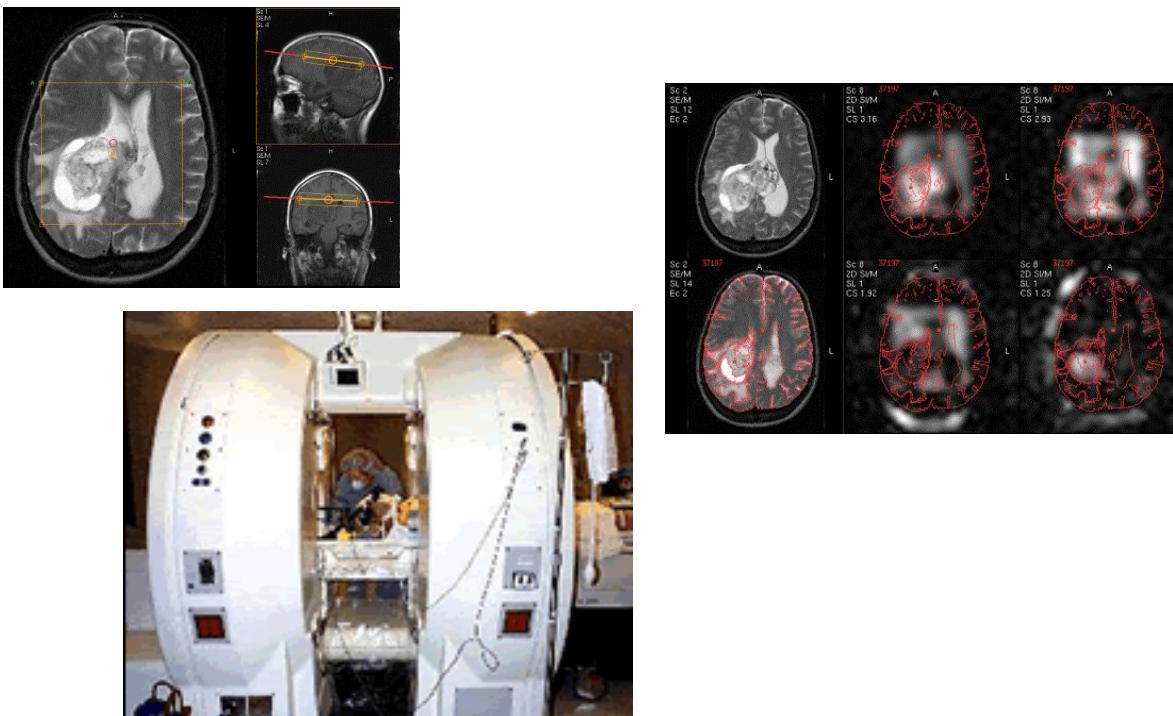


6

Complexité... Méthodes...



Imagerie médicale (IRM)...



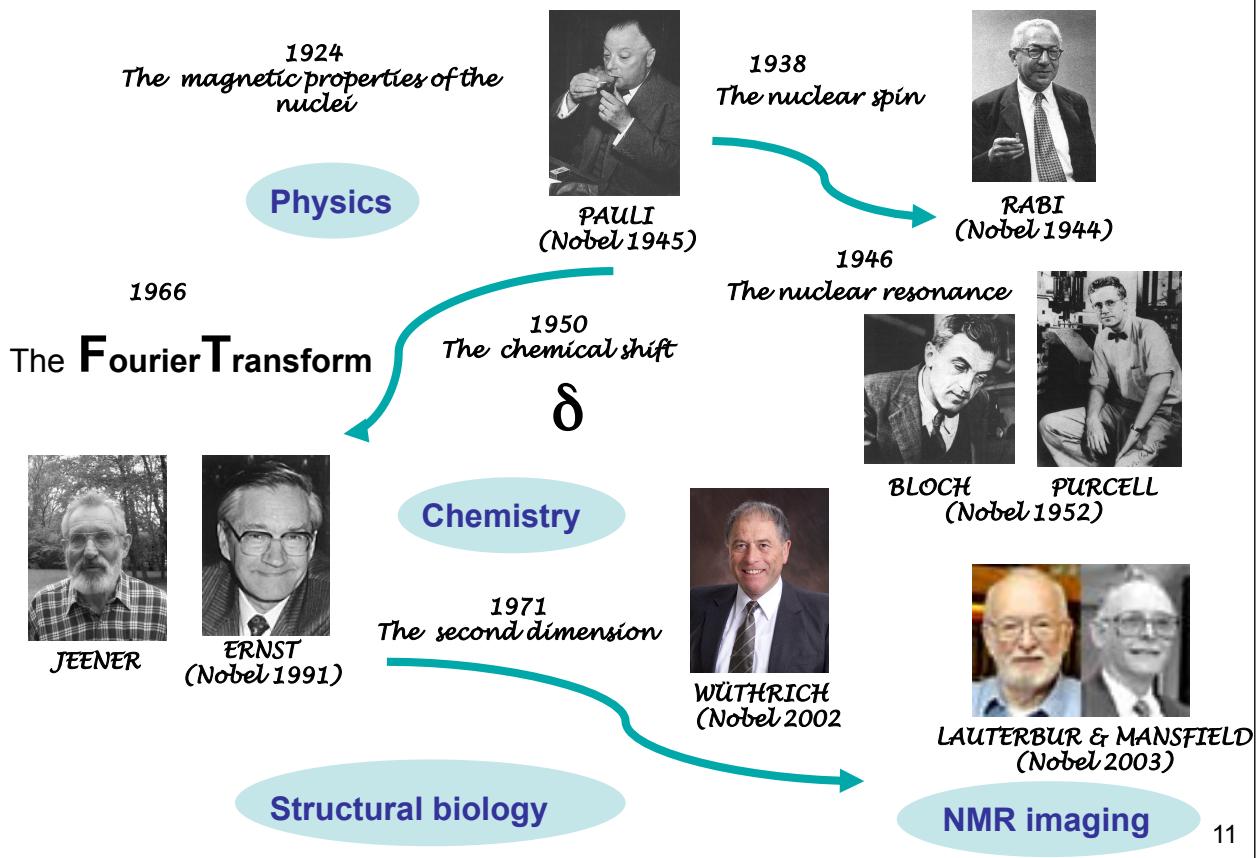
9

Historique

- 1921 Découverte du **spin de l'électron** (expérience de Stern et Gerlach)
- 1924 Propriétés magnétiques de certains noyaux (Pauli)
- 1938 Le **spin nucléaire** (Rabi)
- 1946 La résonance nucléaire (Bloch et Purcell)
- 1950 Le **déplacement chimique** (Knight, Proctor & Yu)
- 1952 Le prix Nobel est accordé à Bloch et Purcell
- 1953 Premier spectromètre commercial
- 1957 Premier spectre RMN du ^{13}C (Lauterbur)
- 1965 Premier spectre ^{13}C découplé du ^1H
- 1966 Premier spectre par **Transformée de Fourier** (Ernst)
- 1970 Premier spectromètre à Transformée de Fourier commercialisé
- 1971 Jean Jeener imagine **la seconde dimension**
- 1973 **Imagerie** par RMN (Lauterbur)
- /
- 1991 Le prix Nobel est attribué à Ernst
- /
- 2002 Le prix Nobel est attribué à Wüthrich
- 2003 Le prix Nobel est attribué à Lauterbur et Mansfield

10

A short story of NMR spectroscopy



Les bases de la RMN

- Spin nucléaire
- Champ magnétique
- Aimantation macroscopique
- Résonance
- Transformée de Fourier
- RMN-1D
- Relaxation

Le spin nucléaire

Spin = propriété physique du noyau

nb de masse A	n° atomique Z	nb de spin I	exemples
pair	pair	$I = 0$	^{12}C , ^{16}O
pair	impair	$I = \text{entier}$	^2H , ^{14}N
impair Des isotopes différents d'un même atome	pair/impair	$I = (2n+1)/2$	^1H , ^{13}C , ^{31}P , ^{19}F , ^{15}N , ^{17}O ...

En RMN on s'intéresse aux noyaux de spin $\neq 0$.

Moment magnétique nucléaire μ et moment de spin S sont liés:

$$\mu = \gamma S$$

γ = rapport gyromagnétique, caractéristique de chaque noyau

13

Propriétés de quelques noyaux

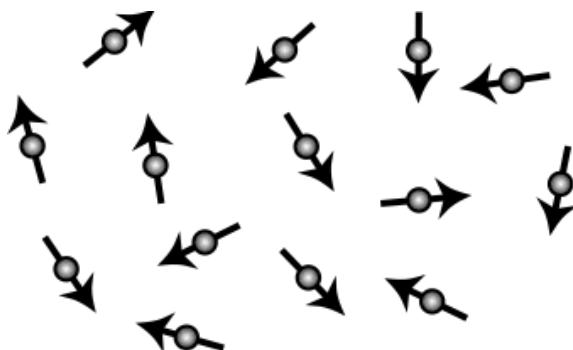
Isotope	Spin	Quadrupol Moment	Nat. Abundance %	NMR Frequency *	rel. Sens.	abs. Sens. ($^1\text{H} = 1$)
^1H	$1/2$		99.985	300.000	1.00	1.00
^2H	1	0.0028	0.015	46.051	9.65E-03	1.45E-06
^3H	$1/2$		0	319.990	1.21	0
^3He	$1/2$		0.00013	228.533	0.44	5.72E-07
^6Li	1	-0.0008	7.42	44.146	8.50E-03	6.31E-04
^7Li	$3/2$	-0.04	92.58	116.590	0.29	0.272
^9Be	$3/2$	0.05	100	42.160	1.39E-02	0.0139
^{10}B	3	0.085	19.58	32.239	1.99E-02	0.00393
^{11}B	$3/2$	0.041	80.42	96.251	0.17	0.133
^{13}C	$1/2$		1.108	75.432	1.59E-02	1.76E-04
(^{14}N)	1	0.01	99.63	21.671	1.01E-03	0.00100
^{15}N	$1/2$		0.37	30.398	1.04E-03	3.85E-06
^{17}O	$5/2$	-0.026	0.037	40.670	2.91E-02	1.08E-05
^{19}F	$1/2$		100	282.231	0.83	0.834
^{21}Ne	$3/2$	0.09	0.257	23.683	2.50E-03	6.33E-06
^{23}Na	$3/2$	0.10	100	79.353	9.25E-02	0.0927
^{25}Mg	$5/2$	0.22	10.13	18.358	2.67E-03	2.72E-04
^{27}Al	$5/2$	0.15	100	78.172	0.21	0.207
^{29}Si	$1/2$		4.7	59.595	7.84E-03	3.69E-04
^{31}P	$1/2$		100	121.442	6.63E-02	0.0665
^{33}S	$3/2$	-0.055	0.76	23.009	2.26E-03	1.72E-05
^{35}Cl	$3/2$	-0.10	75.53	29.395	4.70E-03	0.00356
^{37}Cl	$3/2$	-0.079	24.47	24.467	2.71E-03	6.66E-04

$$* B_0 = 7 \text{ T}$$

Population de spins

En l'absence de champ magnétique externe, les moments de spin des noyaux d'un échantillon sont distribués uniformément (ils pointent dans n'importe quelle direction).

Le moment magnétique TOTAL d'un échantillon est donc NUL.



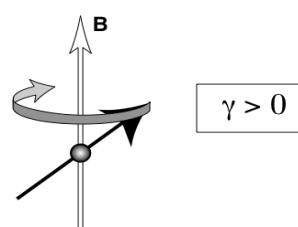
Attention par la suite à différencier le comportement d'UN spin et celui d'une POPULATION de spins.

15

Champ magnétique / effet Zeeman

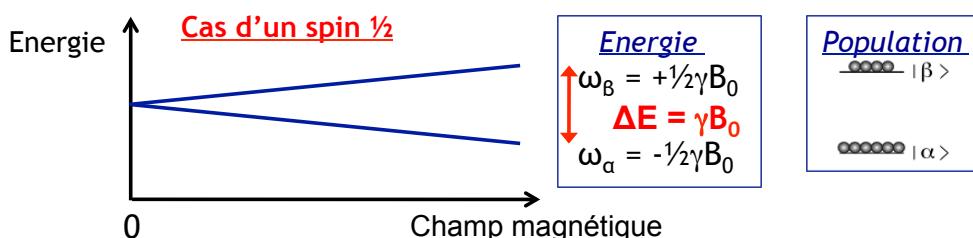
Placé dans un champ magnétique B_0 , le spin précessse autour de l'axe de B_0 à une vitesse angulaire $\omega_0 = \gamma B_0$

$$\text{fréquence de Larmor } \nu_0 = \frac{-\gamma B_0}{2\pi}$$



D'un point de vue énergétique, le spin, « objet quantique », ne peut occuper que certains états (au nombre de $2I+1$):

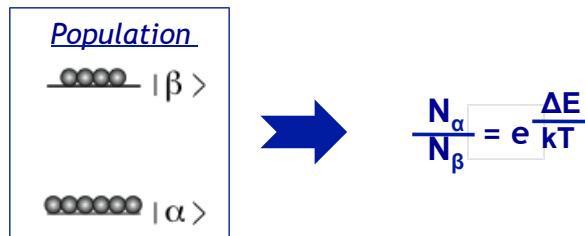
- un spin $1/2$ occupe 2 niveaux énergétiques sous l'effet d'un champ magnétique
- effet Zeeman = interaction entre le champ magnétique et le spin



16

Fréquence de Larmor

La population de chaque niveau énergétique obéit à la **distribution de Boltzmann**, avec un léger excès de population sur le niveau le plus bas:



En RMN on observe des transitions entre ces états différents (= principe de toute spectroscopie).

- UV/visible → “saut” de l'électron entre orbitales différentes ($3,6 \times 10^{-17}$ J)
- RMN → “saut” du moment angulaire du spin nucléaire entre différents niveaux ($2,6 \times 10^{-25}$ J)

$$\Delta E = \gamma B_0 \rightarrow \Delta E / 2\pi = -v_0$$

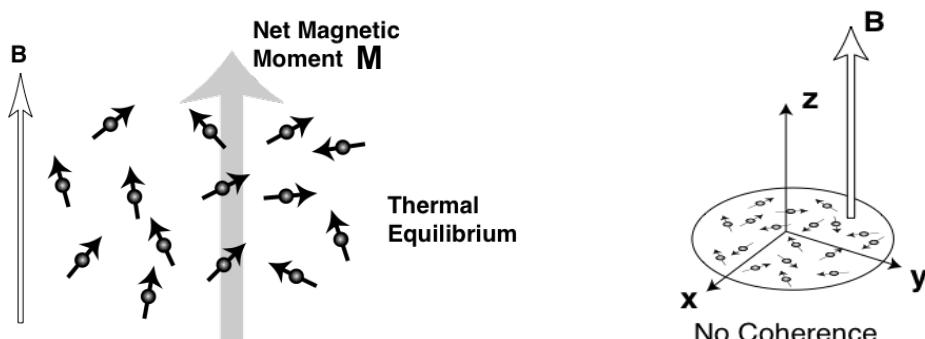
différence entre les niveaux d'énergie \Leftrightarrow fréquence de Larmor

17

Aimantation macroscopique

Un échantillon = une population de spins nucléaires.

La différence de population $N_\alpha - N_\beta$ est faible mais suffisante pour conduire à une aimantation résiduelle M . La RMN est ainsi peu sensible par rapport à d'autres techniques.



→ moment magnétique total le long de B_0 → (pas de composante transversale)

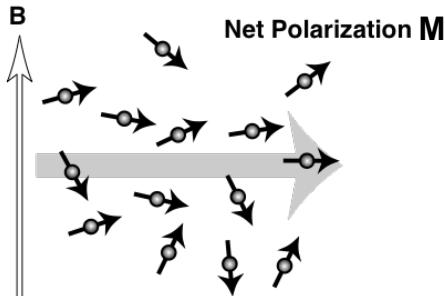
Le moment magnétique total est appelé aimantation macroscopique

18

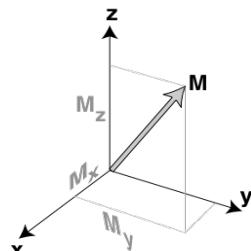
Résonance: perturbation de l'équilibre

Lors d'une expérience RMN on perturbe cet équilibre (**excitation des spins**): on provoque ainsi des transitions entre les niveaux d'énergie. Pour cela on applique une **impulsion RF** (champ B_1 intense, \perp à B_0 et de fréquence ν_1) pendant un temps très court.

Cette impulsion RF doit respecter **la condition de résonance**: $\nu_1 = \nu_0$ (rappel: $\Delta E = \gamma B_0$ et donc $\Delta E / 2\pi = -\nu_0$).



→ moment magnétique total : **apparition de cohérence** (composante transversale).

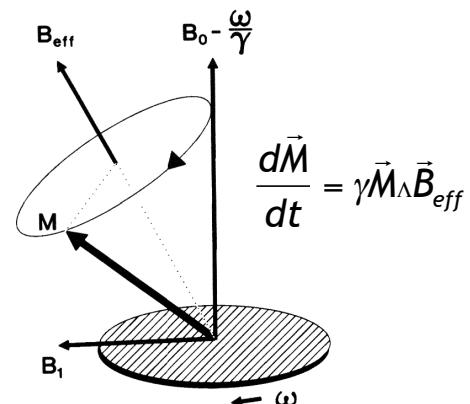
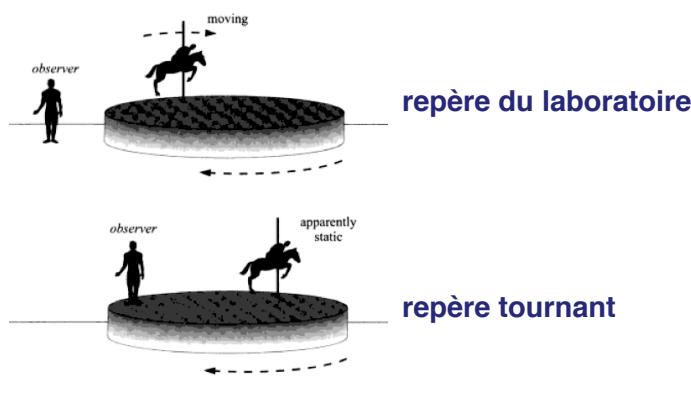


L'aimantation macroscopique est constituée
 - d'une composante longitudinale M_z
 - d'une composante transversale M_{xy}

19

Le repère tournant

On considère un repère $Ox'y'z'$ tournant autour de Oz à la vitesse ω_1 : **B_1 est stationnaire dans le repère tournant** et la vitesse de précession de M est $\omega_0 - \omega_1$. Ce changement de point de vue simplifie beaucoup de choses par la suite...



M est soumis à un champ effectif qui vaut, dans le repère tournant: $\vec{B}_{eff} = \vec{B}_0 - \frac{\vec{\omega}}{\gamma} + \vec{B}_1$

Quand $\omega_1 = \omega_0$ le champ effectif est purement transversal: $B_{eff} = B_1$.

20

Description du mouvement de M

Équations de Bloch (en l'absence de relaxation)

$$\frac{d\vec{M}}{dt} = \gamma \vec{M} \wedge \vec{B}_{eff}$$

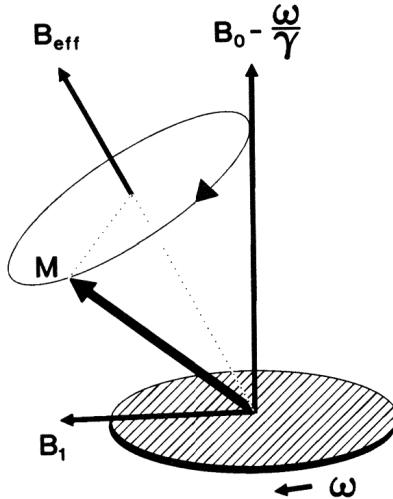
B₀ Champ magnétique statique
M Aimantation macroscopique
B₁ Champ de radiofréquence

$$B_{eff} = \sqrt{B_1^2 + (B_0 - \omega/\gamma)^2}$$

$$\frac{d}{dt} M_x = -\gamma (B_y M_z - B_z M_y)$$

$$\frac{d}{dt} M_y = -\gamma (B_z M_x - B_x M_z)$$

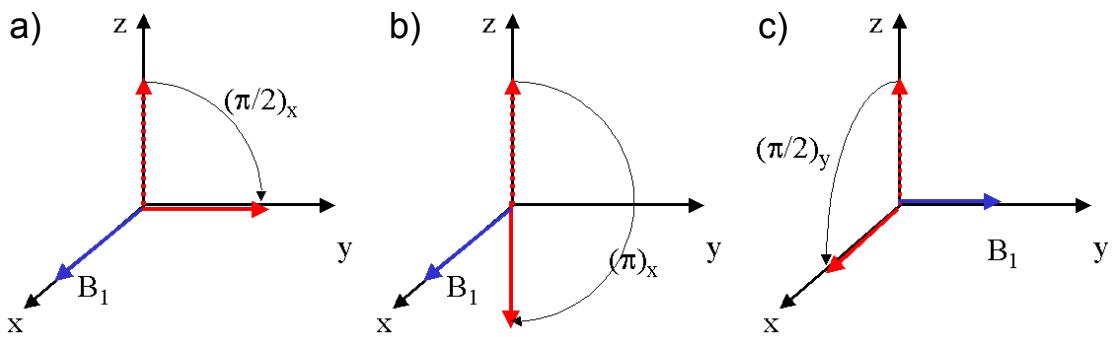
$$\frac{d}{dt} M_z = -\gamma (B_x M_y - B_y M_x)$$



21

Les impulsions de radiofréquence

L'excitation des spins est due à l'application d'un champ B_1 de fréquence $\nu_1 = \nu_0$ (en résonance donc) pendant une durée τ . M bascule alors d'un angle $\theta = \gamma B_0 \tau$ où τ est la durée de l'excitation RF. On parle d'impulsion d'angle θ .



a) Impulsion de 90°_x ; b) impulsion de 180°_x ; c) Impulsion de 90°_y .

P_{90} : égalisation des populations = signal maxi
 P_{180} : inversion de population = pas de signal

La durée de ces impulsions (*pulse*) est de l'ordre de quelques microsecondes à quelques millisecondes.

22

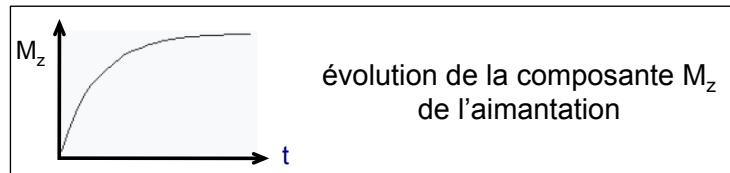
Retour à l'équilibre de l'aimantation nucléaire

A la fin de l'impulsion d'excitation, l'aimantation retourne à sa position d'équilibre en précessant autour de B_0 . On observe la disparition de la composante transverse M_{xy} , et la restauration de l'aimantation longitudinale M_z .

Ce retour à l'équilibre est défini par deux temps de relaxation caractéristiques :

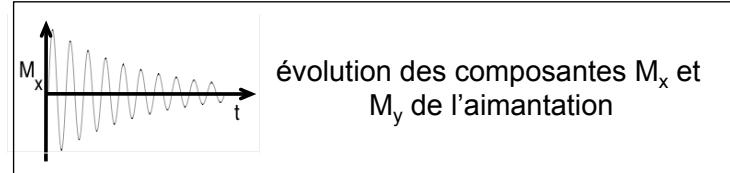
- le temps de relaxation longitudinal (ou spin-réseau) T_1

$$dM_z/dt = [M_0 - M_z(t)]/T_1$$



- le temps de relaxation transversal (ou spin-spin) T_2

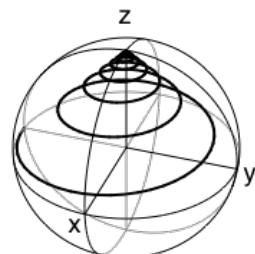
$$dM_{x,y}/dt = -M_{x,y}(t)/T_2$$



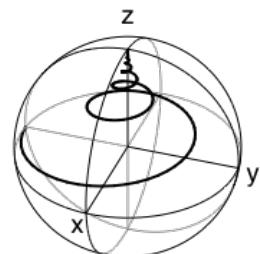
23

Relaxation T_1 et T_2

Les 2 temps de relaxation T_1 et T_2 sont indépendants et caractérisent à eux 2 le retour à l'équilibre de l'aimantation.



$$T_1 = T_2 = 2 \text{ s}$$



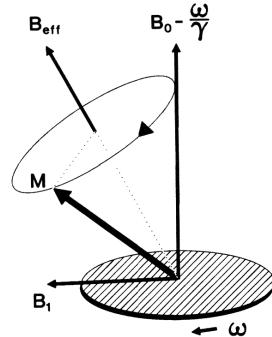
$$T_1 = 2 \text{ s} \quad T_2 = 1 \text{ s}$$

Les équations de Bloch (avec la relaxation)

$$\frac{d}{dt} M_x = (\omega_0 - \omega) M_y - \frac{1}{T_2} M_x$$

$$\frac{d}{dt} M_y = -(\omega_0 - \omega) M_x - \frac{1}{T_2} M_y + \omega_1 M_z$$

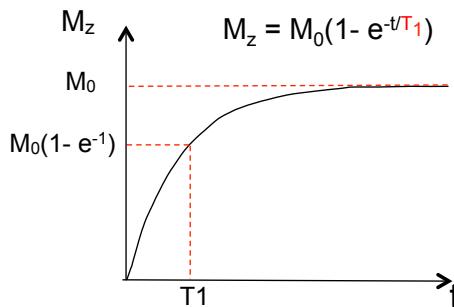
$$\frac{d}{dt} M_z = -\omega_1 M_y - \frac{1}{T_1} (M_z - M_0)$$



24

Relaxation longitudinale T1

Dans le cas de spin $\frac{1}{2}$ les interactions **dipôle-dipôle** sont la source majoritaire de relaxation T1 pour la plupart des molécules organiques. Les noyaux voisins induisent des champs magnétiques locaux qui varient selon les mouvements moléculaires, on parle de **«bruit magnétique»**. Certaines composantes du bruit magnétique varient à la fréquence de Larmor \Rightarrow transitions énergétiques qui restaurent M_0 .



T1 est défini comme le temps nécessaire pour restaurer $2/3$ de l'aimantation selon z.

T1 dépend

- du type de noyau (^1H , ^{13}C , $^{29}\text{Si}...$)
- de l'environnement
- de la taille de la molécule

rq: il faut attendre $5 \times T1$ pour que l'aimantation M_0 soit restaurée à 99%.

25

Relaxation transversale T2

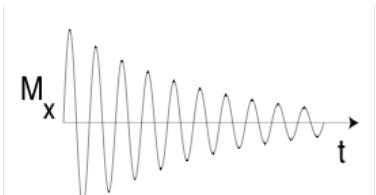
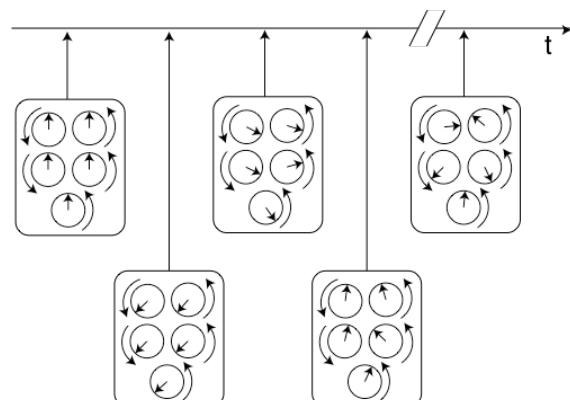
Les spins ne précessent pas tous exactement à la même vitesse: après leur excitation par B_1 (qui a apporté de la cohérence au système) ils se désynchronisent. Ce déphasage est progressif et irréversible.

La relaxation T2 est due:

- à des **inhomogénéités de B_0**
- à des **interactions moléculaires**

En fait on parle de $T2^*$ qui prend en compte ces 2 composantes:

$$\frac{1}{T2^*} = \frac{1}{T2} + \frac{1}{T2_{(\Delta B_0)}}$$

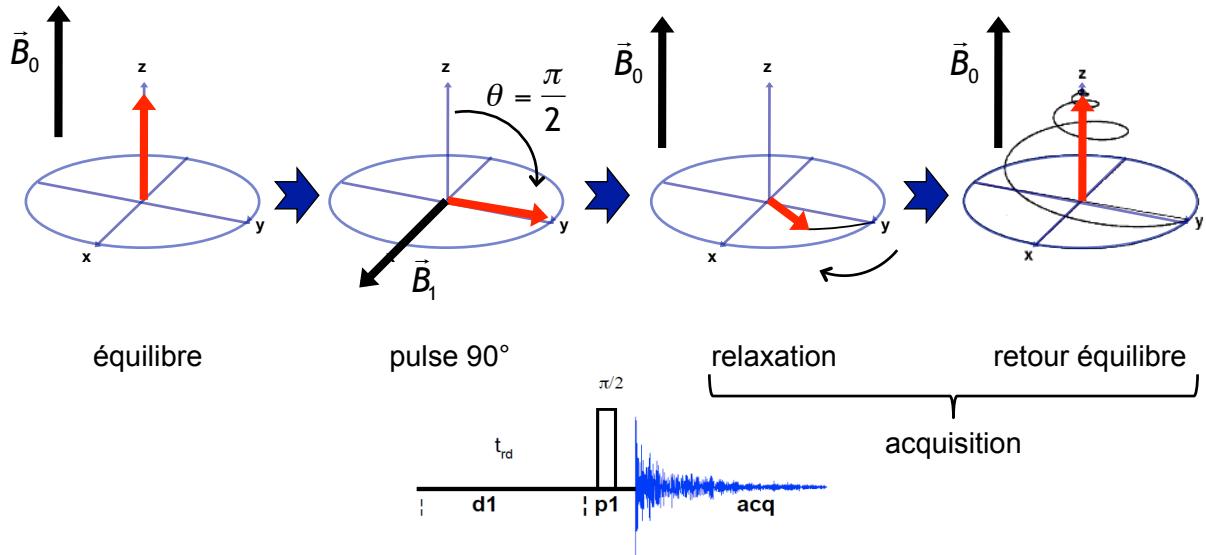


$$M_x = e^{-t/T_2^*} \cos(\omega - \omega_0)t$$

rq: on a toujours $T2 < T1$

26

On récapitule: l'expérience 1D

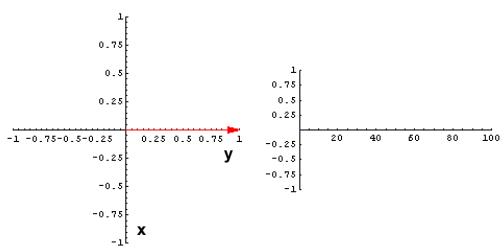


Sous l'effet du champ B_1 (excitation) à la fréquence de Larmor (fréquence de résonance), l'aimantation tourne autour de la direction de B_1 .

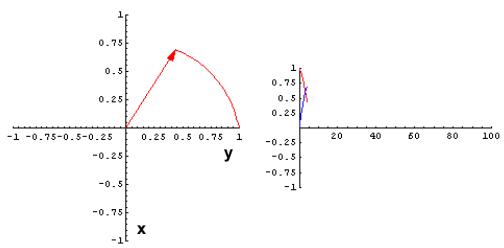
Après l'excitation, le système revient à l'équilibre (M revient s'aligner sur z) en induisant un champ RF de fréquence ν_i , caractéristique du système de spins, qui est détecté selon les axes x et y .

27

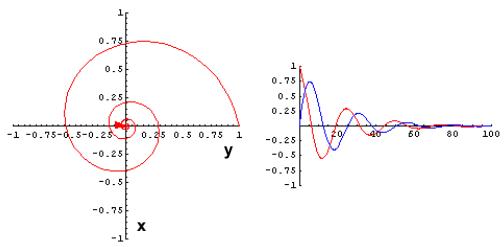
Le signal RMN



Un récepteur enregistre l'évolution des composantes M_x et M_y de l'aimantation pendant la phase de retour à l'équilibre.



En rouge, enregistrement selon y
En bleu, enregistrement selon x



Le signal RMN est appelé FID (Free Induction Decay).

28

Transformée de Fourier

La transformée de Fourier permet de passer d'un signal dans le domaine des temps (FID) à un signal dans le domaine des fréquences (spectre).



$$f(\omega) = \int_{-\infty}^{\infty} f(t) e^{i\omega t} dt$$

$$e^{i\omega t} = \cos \omega t + i \sin \omega t$$

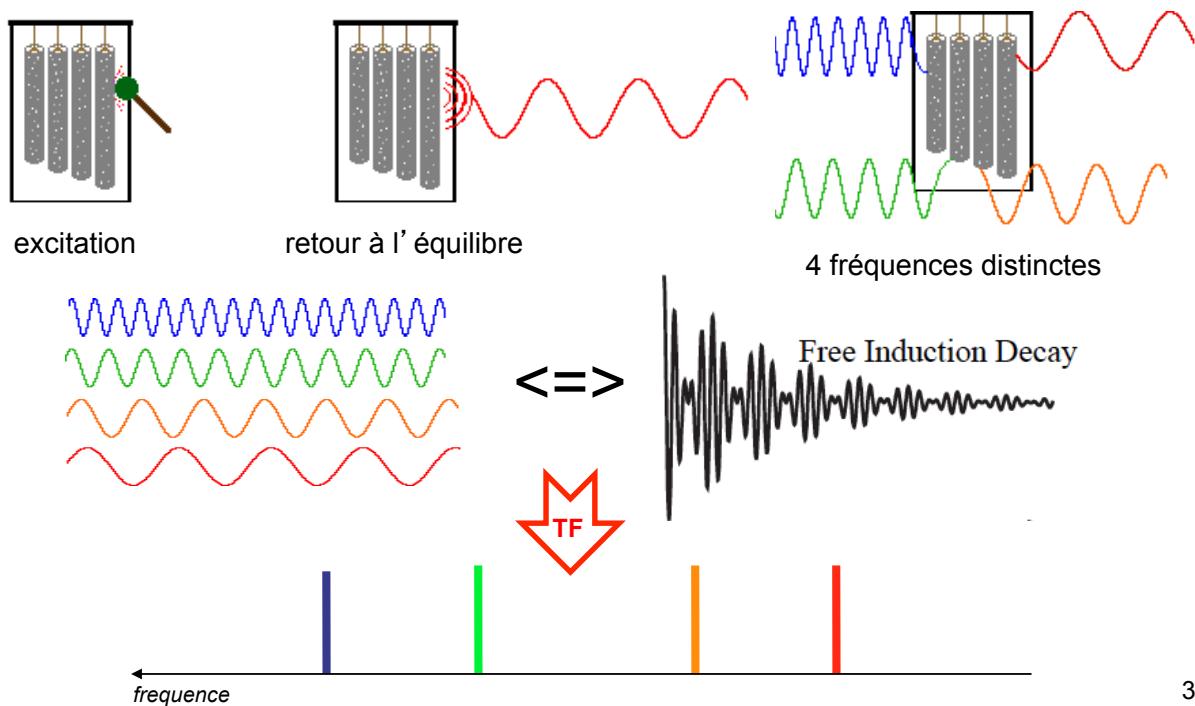
$$\text{Re}[f(\omega)] = \int_{-\infty}^{\infty} f(t) \cos \omega t dt$$

$$\text{Im}[f(\omega)] = \int_{-\infty}^{\infty} f(t) \sin \omega t dt$$

29

On commence à parler spectre RMN...

Dans un échantillon RMN on trouve en fait plusieurs ensembles de spins ayant chacun une fréquence de résonance légèrement différente. Le FID est donc composé de plusieurs signaux entrelacés et la TF donne un spectre avec plusieurs pics.

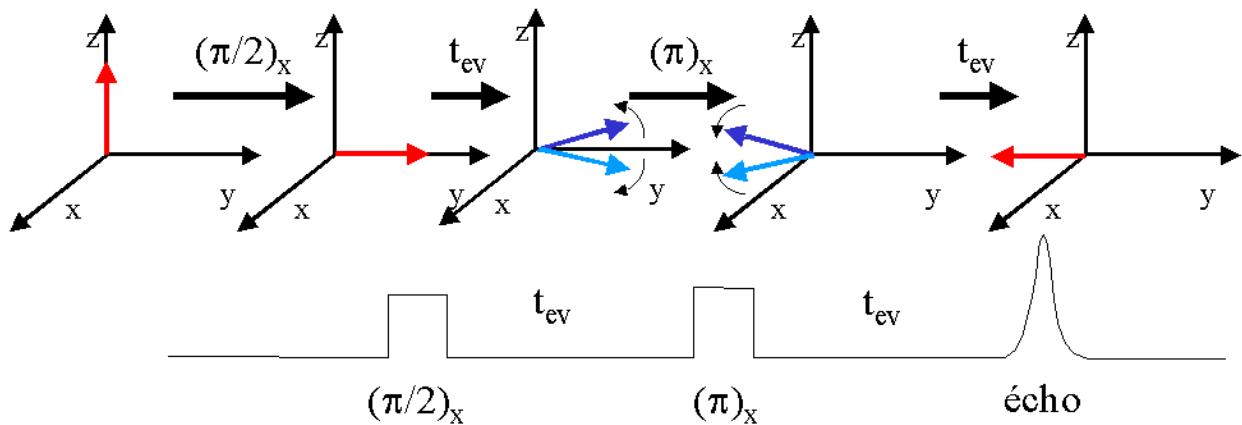


30

Un aperçu de RMN multi impulsionale

Séquence d' écho de spin

Refocalisation de l' aimantation de composantes v_i, v_j ($v_i \neq v_j$)



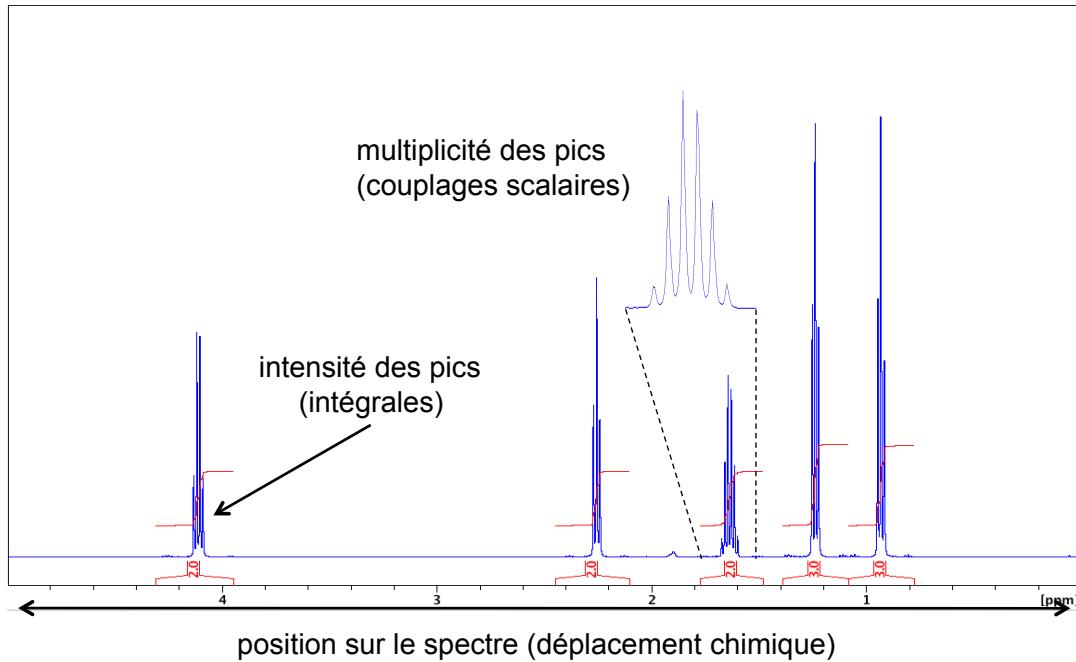
31

Spectre RMN

- **Intensité/intégrales**
- **Déplacement chimique**
- **Couplages scalaires**

32

Spectre RMN: interprétation

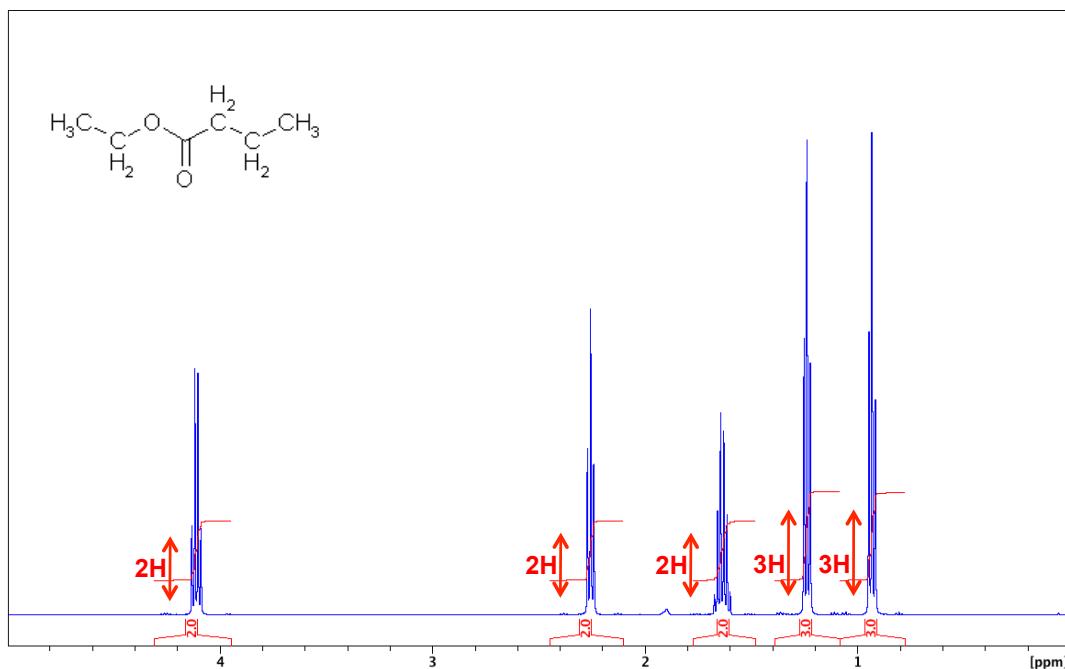


D'autres paramètres (temps de relaxation...) apportent des informations supplémentaires sur la structure, la dynamique... des molécules étudiées.

33

Intensités / Intégrales

Mesure de l'aire d'un signal \propto Nombre de spins impliqués (de façon plus ou moins exacte selon les paramètres expérimentaux... cf temps de relaxation T1)



34

Déplacement chimique

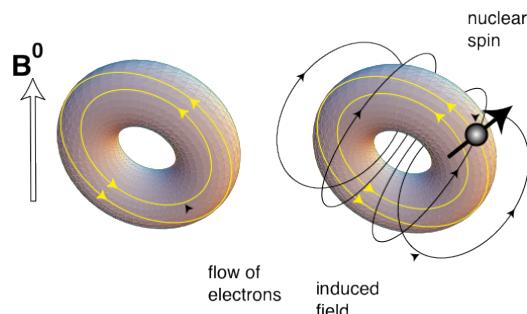
Le champ magnétique B_0 induit des courants dans les nuages électroniques autour des noyaux. Ces courants induisent en réponse des champs magnétiques locaux B_i^{induit} .

Les noyaux i « ressentent » un champ local

$$B_i^{\text{loc}} = B_0 + B_i^{\text{induit}}$$

$$B_i^{\text{induit}} = \sigma_i B_0 \text{ où } \sigma_i \text{ est le tenseur d'écran}$$

$$B_i^{\text{loc}} = (1 - \sigma_i) B_0$$



La fréquence de résonance de chaque noyau est donc dépendante de son environnement électronique: on parle de déplacement chimique.

$$\nu_i = \frac{\gamma(1 - \sigma_i)B_0}{2\pi}$$

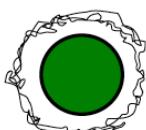
$$\delta_i = \frac{\nu_i - \nu_{\text{ref}}}{\nu_{\text{ref}}} \times 10^6$$

Rq: pour éviter de manipuler des valeurs élevées (de l'ordre du MHz) le déplacement chimique δ est normalisé par rapport à une référence (le TMS dans le cas du proton). Il est donc indépendant du champ et on a alors des valeurs de δ en ppm (parties par million).

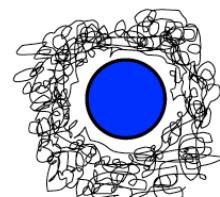
35

Déplacement chimique

Électronégativité selon Pauly: Si (1,8) < P et H (2,1) < C (2,5) < N (3,0) < O (3,5) < F (4,0)

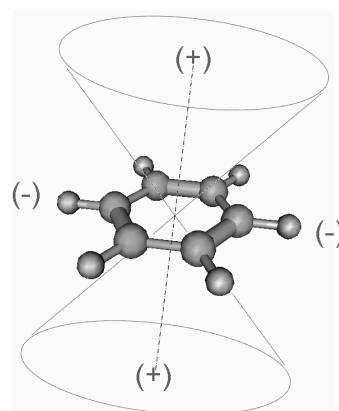
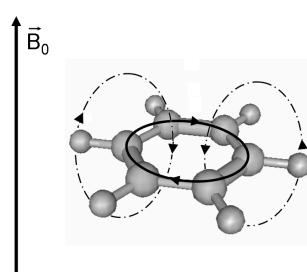


RCOOH
- densité électronique faible
- déblindage



RCH_3
- densité électronique élevée
- blindage

Effet de courant de cycle: exemple du benzène



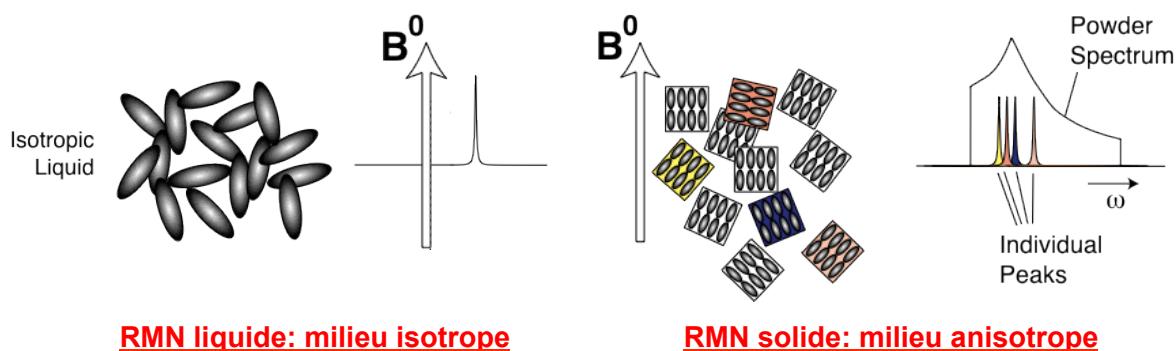
36

Isotropie/Anisotropie

La distribution électronique étant anisotrope au niveau des liaisons chimiques, B_i^{loc} , et donc δ_i , dépend de l'orientation de la liaison par rapport à B_0 . On parle d'**anisotropie de déplacement chimique (CSA)**.

Dans un **liquide isotrope** (solvant) les molécules tournent rapidement sur elles même et on observe un déplacement chimique moyen qu'on appelle déplacement chimique isotrope.

Attention, le cas est différent en RMN solide où l'anisotropie du milieu donne lieu à un déplacement chimique différent pour chaque orientation.



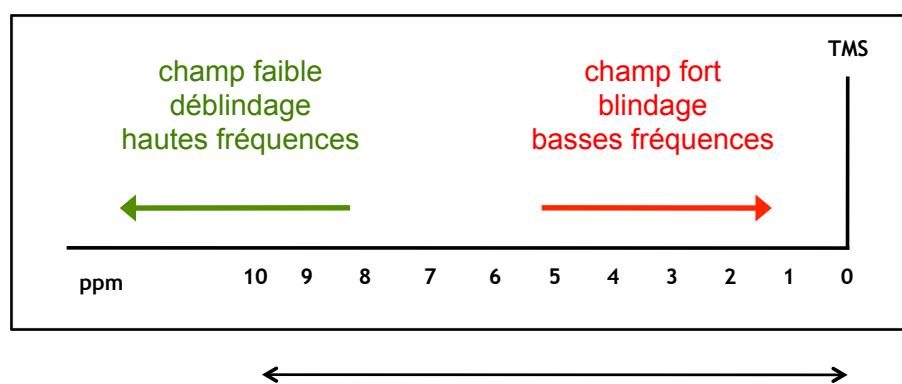
37

Des ppm aux Hz

Conversion ppm/Hz:

- avec un spectromètre 200 MHz (c.a.d. 4,7T): 1ppm \leftrightarrow 200Hz
- avec un spectromètre 500 MHz (c.a.d. 11,7T): 1ppm \leftrightarrow 500Hz

Ainsi on peut comparer des spectres obtenus sur des spectromètres de champs différents...

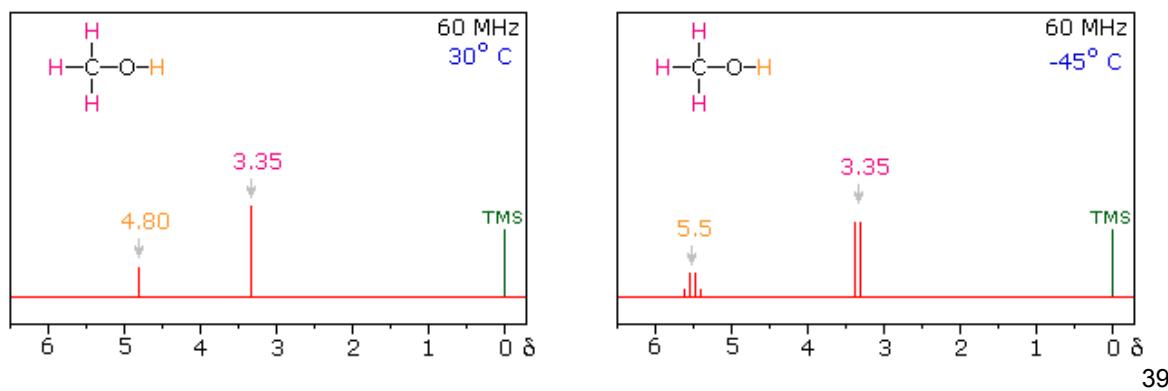


38

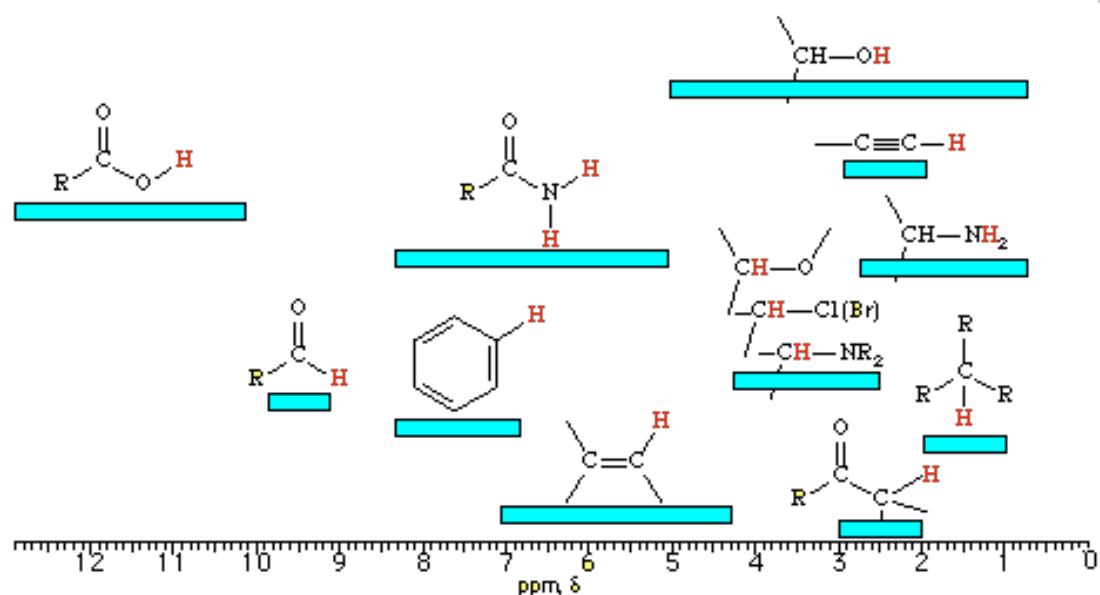
Déplacement chimique ${}^1\text{H}$

Le déplacement chimique $\delta({}^1\text{H})$ dépend de nombreux facteurs :

- densité électronique (importance des effets inductifs)
- existence de liaisons-H (intra ou intermoléculaire)
- solvant
- concentration
- délocalisation (électrons π)
- échange chimique (cas des protons labiles OH, NH ...)



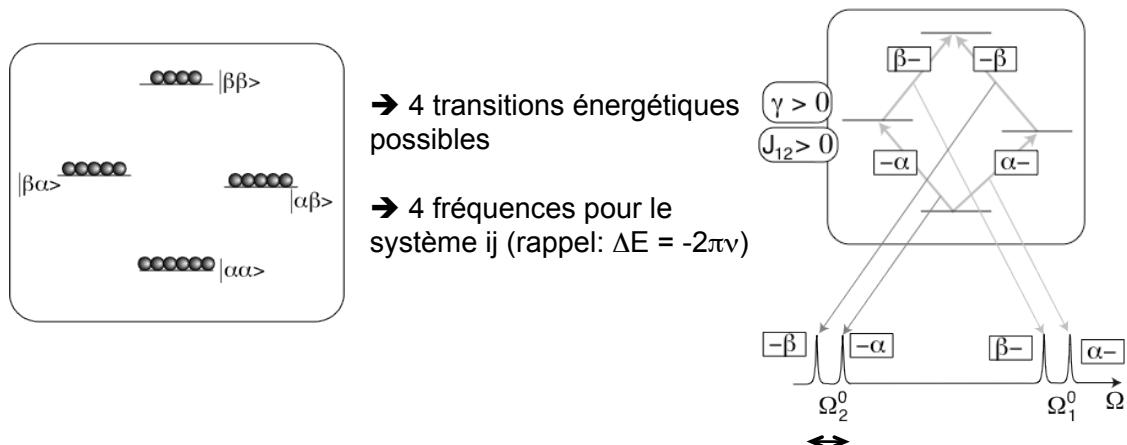
Déplacement chimique ${}^1\text{H}$



Couplage scalaire

Le couplage scalaire ${}^nJ_{ij}$ traduit une interaction entre 2 noyaux i et j par le biais des électrons des n liaisons. Il s'agit d'une **interaction dipôle-dipôle indirecte** (à ne pas confondre avec l'interaction dipôle-dipôle directe dont nous parlerons plus tard).

Dans le cas de spin $\frac{1}{2}$, chaque noyau peut être dans l'état énergétique α ou β . Le système de spins ij présente donc 4 niveaux énergétiques possibles:



41

Couplage scalaire

Le couplage scalaire peut être homo- ($J_{HH} \dots$) ou hétéronucléaire ($J_{CH}, J_{CF} \dots$)

La multiplicité des signaux dépend du nombre de voisins impliqués dans le couplage.

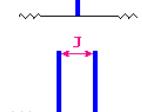
Exemple: couplage vicinal proton (${}^3J_{HH}$)



Triangle de Pascal

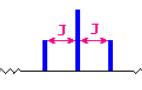
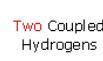
1

0 voisin: **singulet**



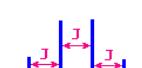
11

1 voisin: **doublet**



121

2 voisins: **triplet**



1331

3 voisins: **quadruplet**

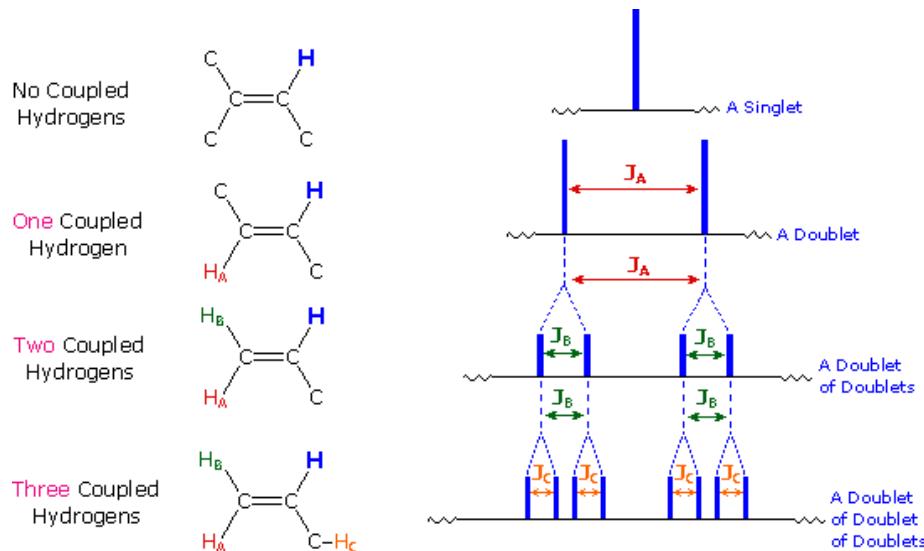
... ...

Dans cet exemple, il ne faut pas oublier que le signal du (des) proton(s) en rouge est un doublet en raison du couplage avec le proton bleu voisin.

42

Cas de plusieurs couplages

Un noyau peut être impliqué dans plusieurs couplages (avec des voisins non équivalents dans ce cas). Le multiplet correspondant est alors plus complexe et fait apparaître les différentes constantes de couplages.



43

Nomenclature des systèmes de spins

Système de spins = ensemble de spins couplés les uns aux autres

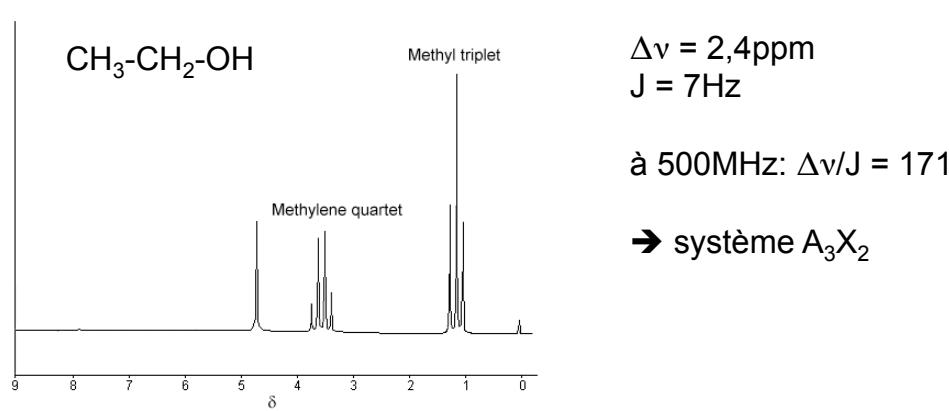
La notation de Pople permet de décrire les systèmes de spins:

- des spins ayant des déplacements chimiques proches sont désignés par des lettres proches dans l'alphabet (A et B par exemple)

➔ ($\Delta\nu/J < 8$) : couplage fort

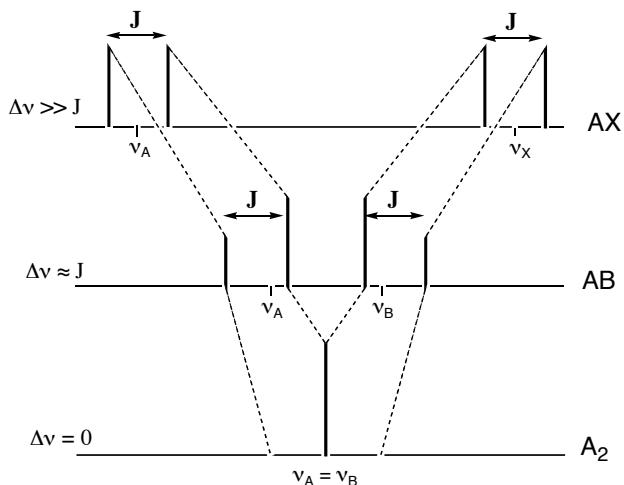
-on utilise des lettres éloignées dans l'alphabet (A et X par exemple) dans le cas de **couplage faible ($\Delta\nu/J > 8$)**

ex:

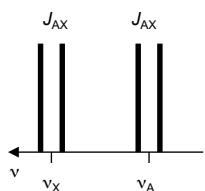


44

Couplages faibles / Couplages forts



AX: 2 spins 1/2 A et X couplés ($J \neq 0$)



$$\begin{aligned} E_{\alpha\beta} - E_{\alpha\alpha} &= \nu_2 - \frac{J_{12}}{2} \\ E_{\beta\alpha} - E_{\alpha\alpha} &= \nu_1 - \frac{J_{12}}{2} \\ E_{\beta\beta} - E_{\alpha\beta} &= \nu_1 + \frac{J_{12}}{2} \\ E_{\beta\beta} - E_{\beta\alpha} &= \nu_2 + \frac{J_{12}}{2} \end{aligned}$$

AB: 2 spins 1/2 A et B couplés ($J \neq 0$)

$$\begin{aligned} E_2 - E_{|\alpha\alpha\rangle} &= \frac{1}{2}(\nu_1 + \nu_2) + \frac{\sqrt{(\nu_1 - \nu_2)^2 + J_{12}^2}}{2} - \frac{J_{12}}{2} \\ E_3 - E_{|\alpha\alpha\rangle} &= \frac{1}{2}(\nu_1 + \nu_2) - \frac{\sqrt{(\nu_1 - \nu_2)^2 + J_{12}^2}}{2} - \frac{J_{12}}{2} \\ E_{|\beta\beta\rangle} - E_2 &= \frac{1}{2}(\nu_1 + \nu_2) - \frac{\sqrt{(\nu_1 - \nu_2)^2 + J_{12}^2}}{2} + \frac{J_{12}}{2} \\ E_{|\beta\beta\rangle} - E_3 &= \frac{1}{2}(\nu_1 + \nu_2) + \frac{\sqrt{(\nu_1 - \nu_2)^2 + J_{12}^2}}{2} + \frac{J_{12}}{2} \end{aligned}$$

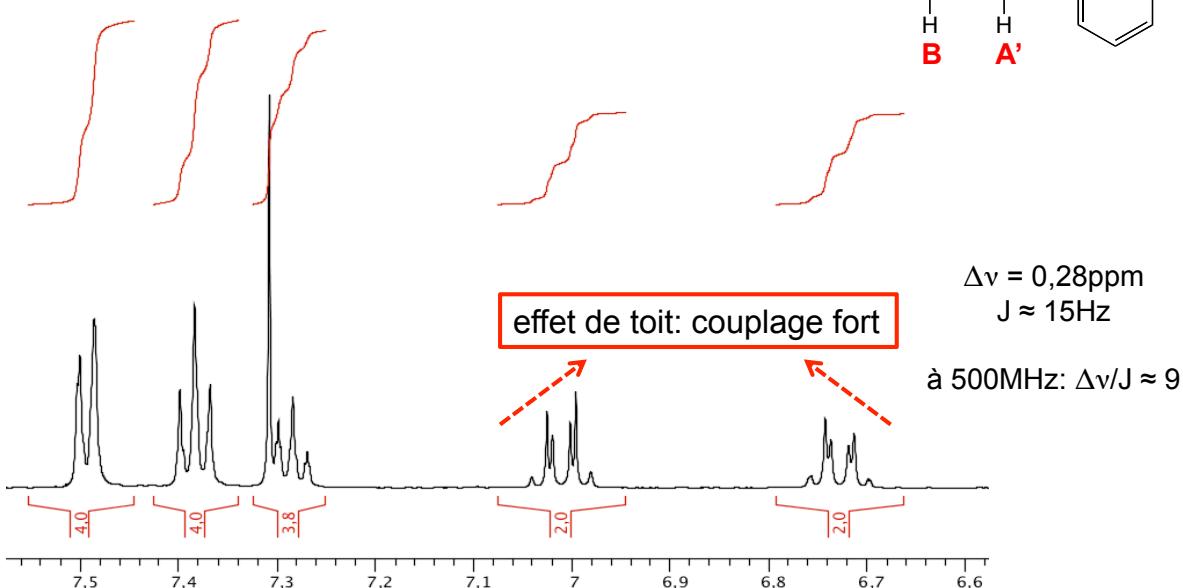
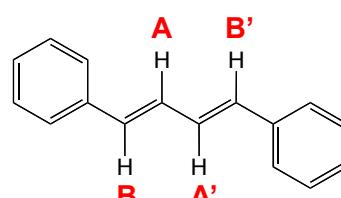
45

molécule C16H14 TP

Système AA' BB' : $J_{AB} \neq J_{A'B} \neq J_{AB'} \neq J_{A'B'}$

Compliqué par la présence de $J_{AA'}$ et $J_{BB'}$

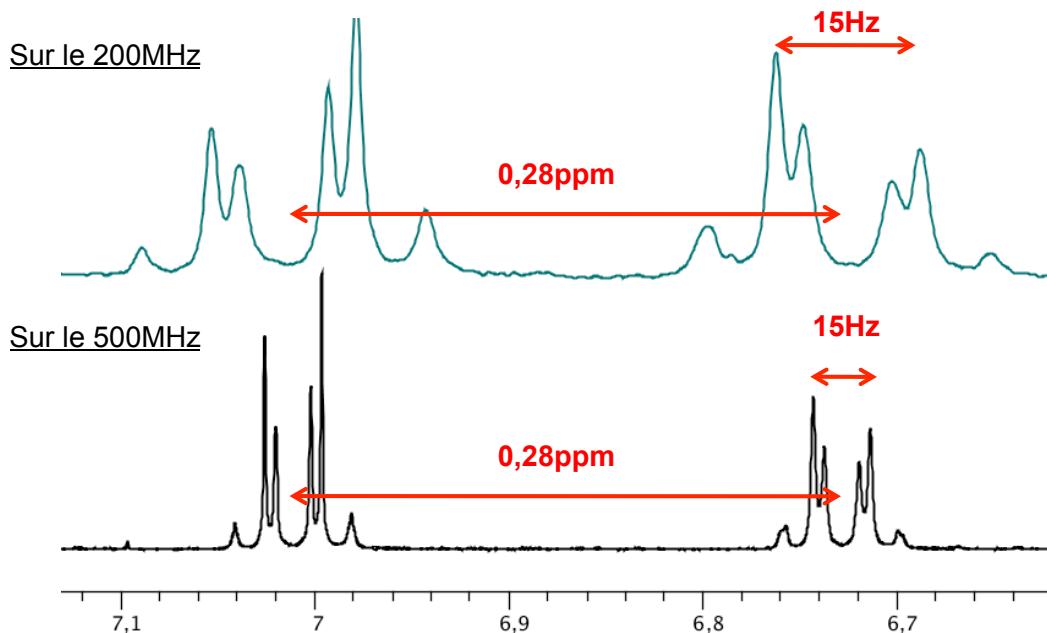
Comment expliquer la multiplicité des signaux?



46

Rq: spectre à 2 champs différents

Les déplacements chimiques en ppm sont invariables selon le champ.
Attention à la conversion ppm/Hz pour les couplages scalaires!!!

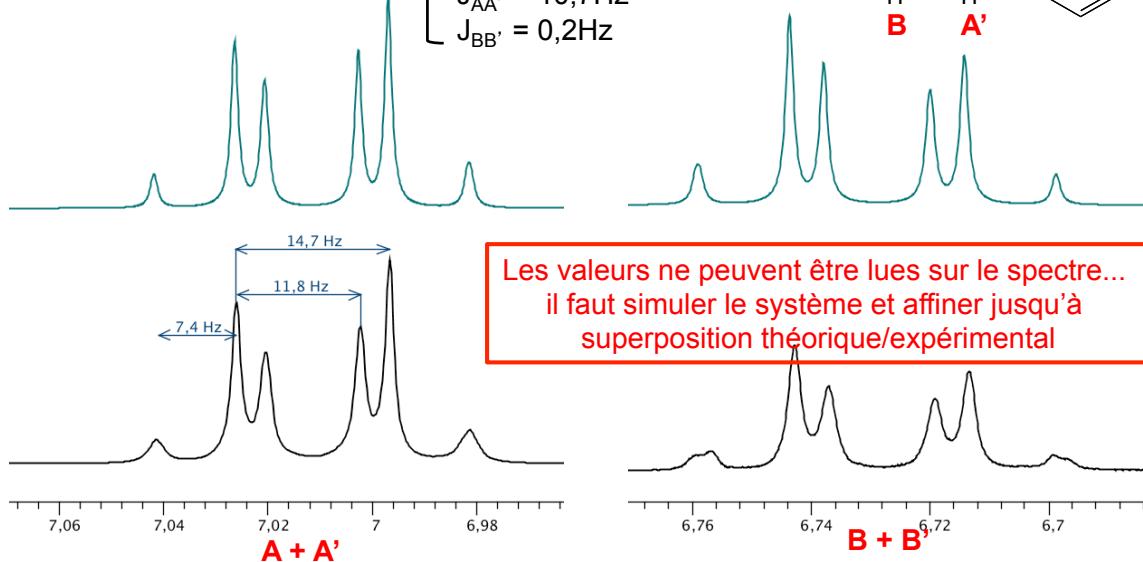
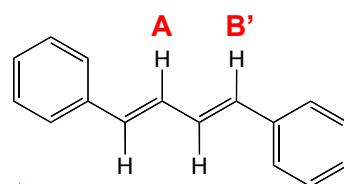


47

Simulation de spectre

Simulation de spectre avec

$$\left\{ \begin{array}{l} J_{AB} = 15,6 \text{ Hz} \\ J_{AB'} = -0,9 \text{ Hz} \\ J_{A'B'} = 15,6 \text{ Hz} \\ J_{A'B} = -0,9 \text{ Hz} \\ J_{AA'} = 10,7 \text{ Hz} \\ J_{BB'} = 0,2 \text{ Hz} \end{array} \right.$$



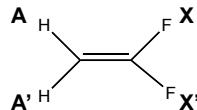
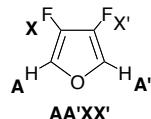
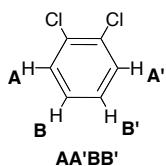
Rq: la simulation ne prend pas en compte le faible couplage entre BB' et les H_{ar} en ortho

48

Equivalence chimique / Equivalence magnétique

Des spins sont dits **chimiquement équivalents** s'ils possèdent le même environnement électronique : ils sont isochrones et ont même déplacement chimique δ .

Ex.:

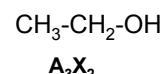
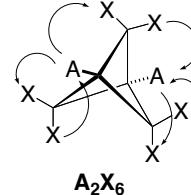
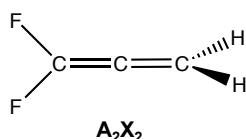
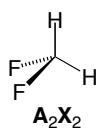


Des spins chimiquement équivalents sont dits **magnétiquement équivalents** s'ils sont couplés de façon identique à tous les autres protons du système de spins.

Une seule valeur de J entre chaque classe ($J_{AB} = J_{A'B} = J_{AB'} = J_{A'B'}$) : systèmes A_2B_2 , A_3X_2 ...

L'équivalence magnétique est plus courante que l'équivalence "seulement" chimique.

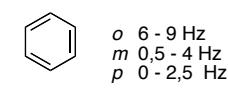
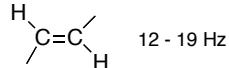
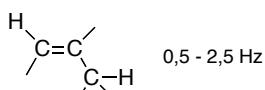
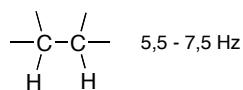
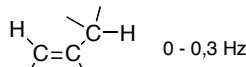
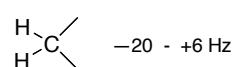
Ex.:



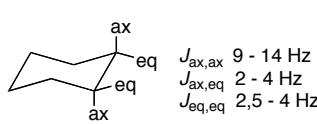
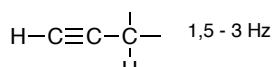
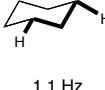
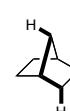
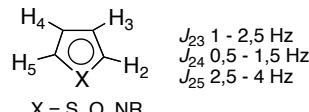
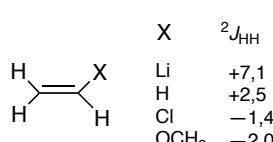
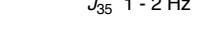
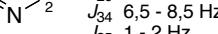
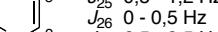
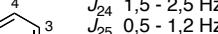
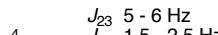
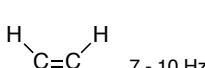
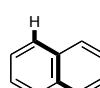
Attention: les couplages entre noyaux équivalents ne donnent pas lieu à un multiplet.

49

Quelques valeurs de constantes J_{HH}

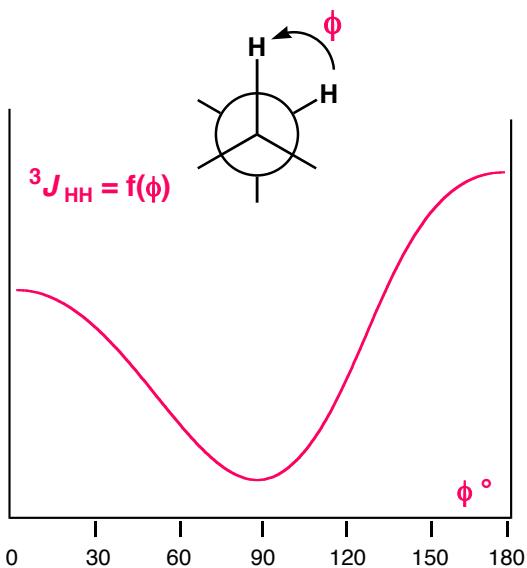


Couplages longue distance:



50

Cas particulier de $^3J_{\text{HH}}$: la relation de Karplus

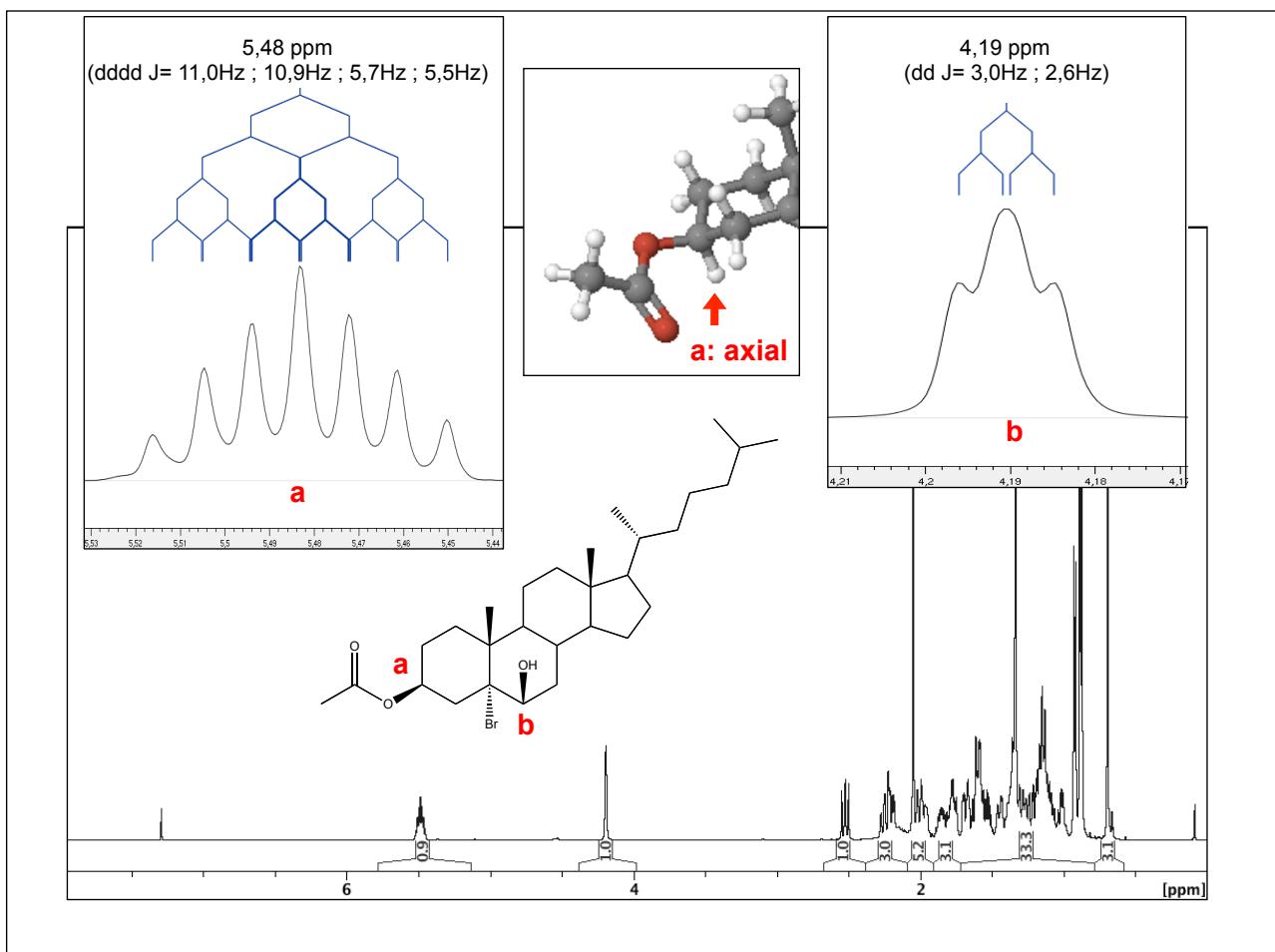
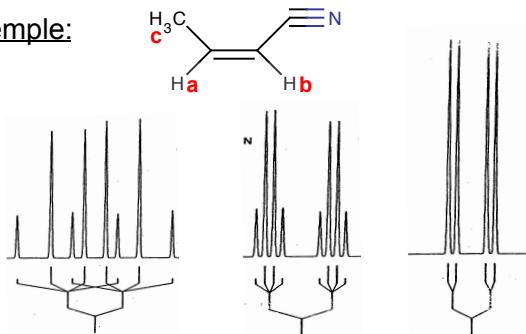


Quelques valeurs types des constantes de couplages $^3J_{\text{HH}}$

cyclopropane	<i>cis</i>	6-10 Hz	=CH—CH=	9-13 Hz
	<i>trans</i>	3-6 Hz		
cyclobutane	<i>cis</i>	6-10 Hz	—CH=CH2	<i>cis</i> 5-14 Hz
	<i>trans</i>	5-9 Hz		<i>trans</i> 11-19 Hz
cyclohexane	<i>a,a</i>	6-14 Hz	>CH—CHO	1-3 Hz
	<i>a,e</i>	3-5 Hz	=CH—CHO	5-8 Hz
	<i>e,e</i>	0-5 Hz		
benzene	<i>ortho</i>	6-10 Hz	HC—NH	4-8 Hz
	<i>2,3</i>	5-6 Hz	HC—OH	4-10 Hz
pyridine	<i>3,4</i>	7-9 Hz	HC—SH	6-8 Hz
CH—CH		0-12 Hz		

La valeur de la constante $^3J_{\text{HH}}$ peut donner des informations sur la conformation de la molécule.

exemple:



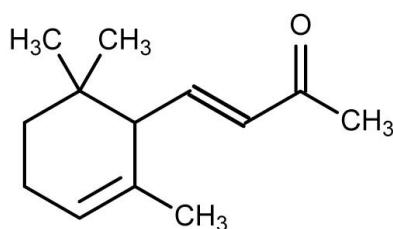
RMN hétéronucléaire

- RMN ^{13}C
- Couplages hétéronucléaires
- RMN ^{31}P
- RMN ^{19}F

53

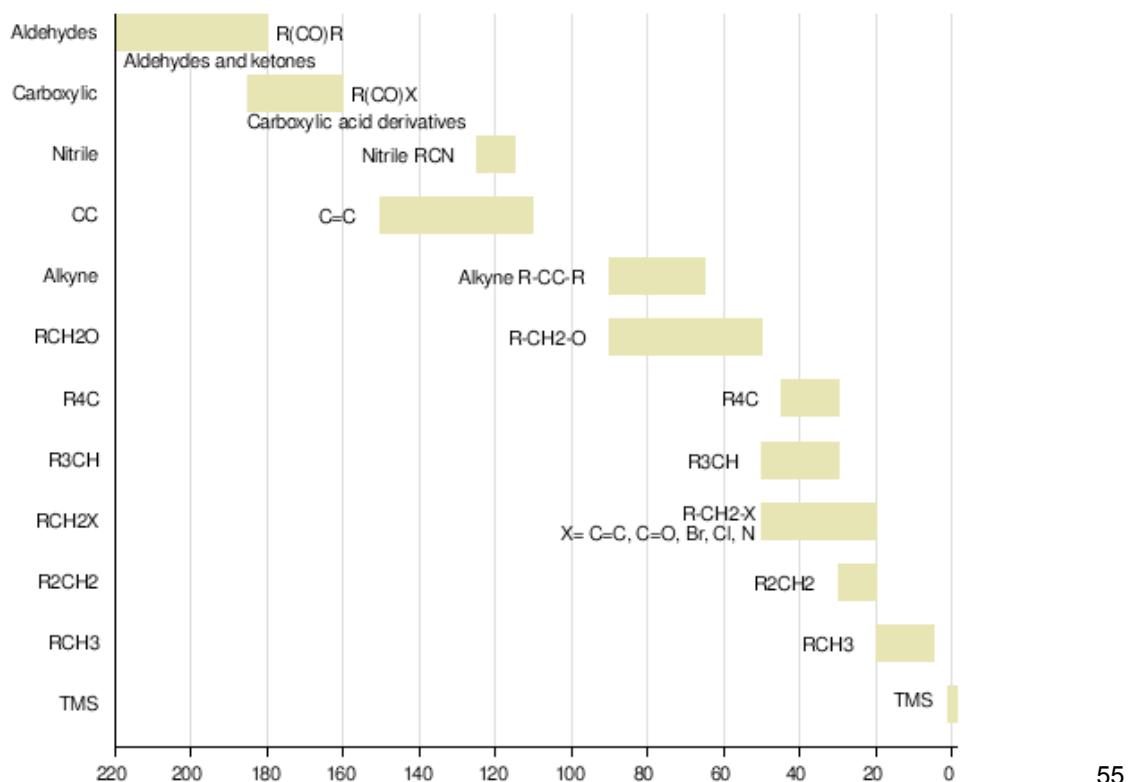
RMN ^{13}C

- Abondance naturelle : 1,1%
- Sensibilité faible
- Multiplicité des signaux due aux couplages avec les protons voisins
- Relaxation T_1 parfois longue (intensité des signaux)
- Fréquence: 75MHz (à 300MHz)

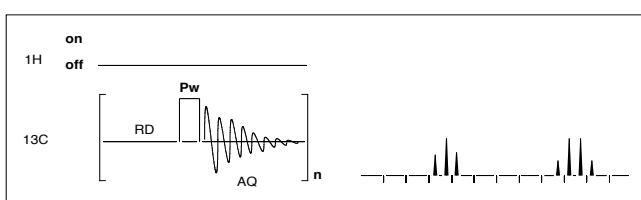


54

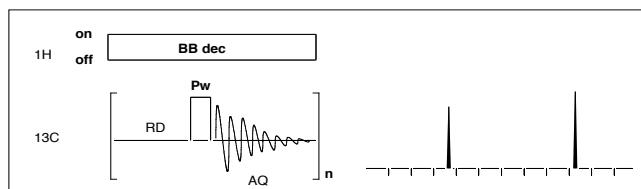
Déplacement chimique ^{13}C



Séquences usuelles employées en RMN ^{13}C



Pas de découplage ^1H



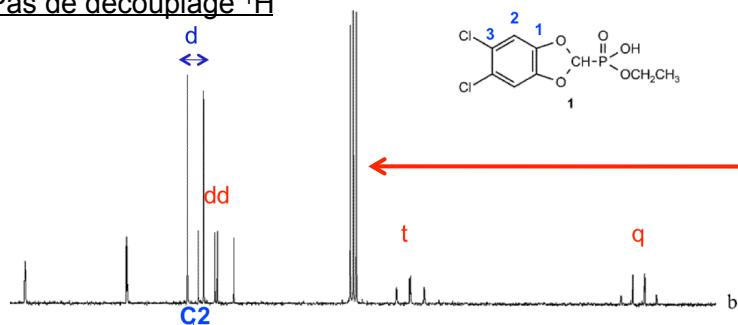
Découplage large bande (BB decoupling)

Le découplage consiste ici à irradier les protons par une onde continue
➔ transitions entre les niveaux d'énergie: les carbones ne « voient plus » les protons

+ séquences permettant une édition du spectre: jmod et dept

Spectre ^{13}C couplé / découplé ^1H

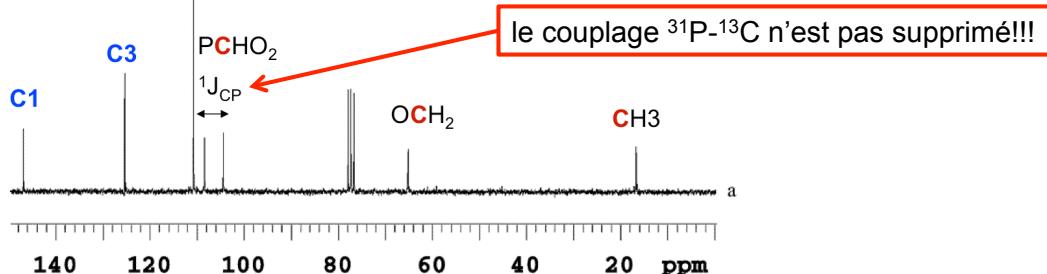
- Pas de découplage ^1H



CDCl₃

78 76

- Découplage large bande (BB decoupling)



57

Voit on le couplage ^{13}C sur un spectre ^1H ?

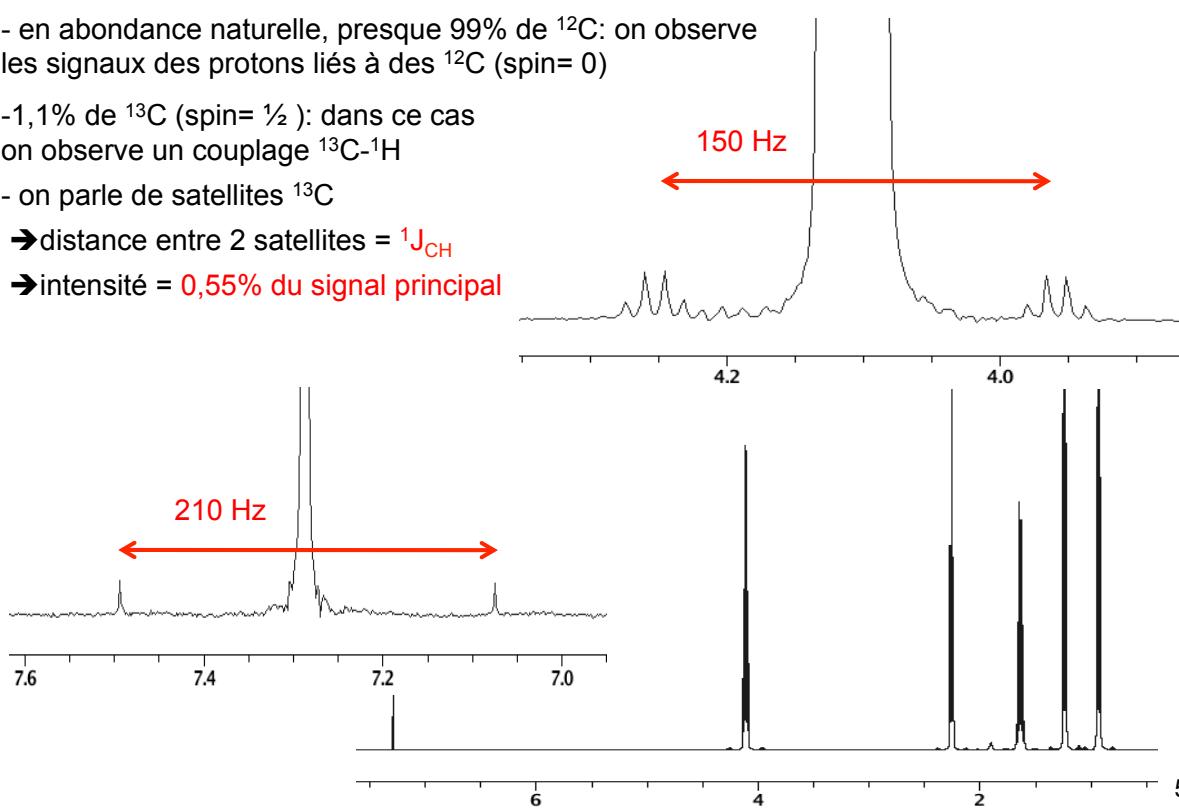
- en abondance naturelle, presque 99% de ^{12}C : on observe les signaux des protons liés à des ^{12}C (spin= 0)

- 1,1% de ^{13}C (spin= $\frac{1}{2}$): dans ce cas on observe un couplage $^{13}\text{C}-^1\text{H}$

- on parle de satellites ^{13}C

→ distance entre 2 satellites = $^{1}\text{J}_{\text{CH}}$

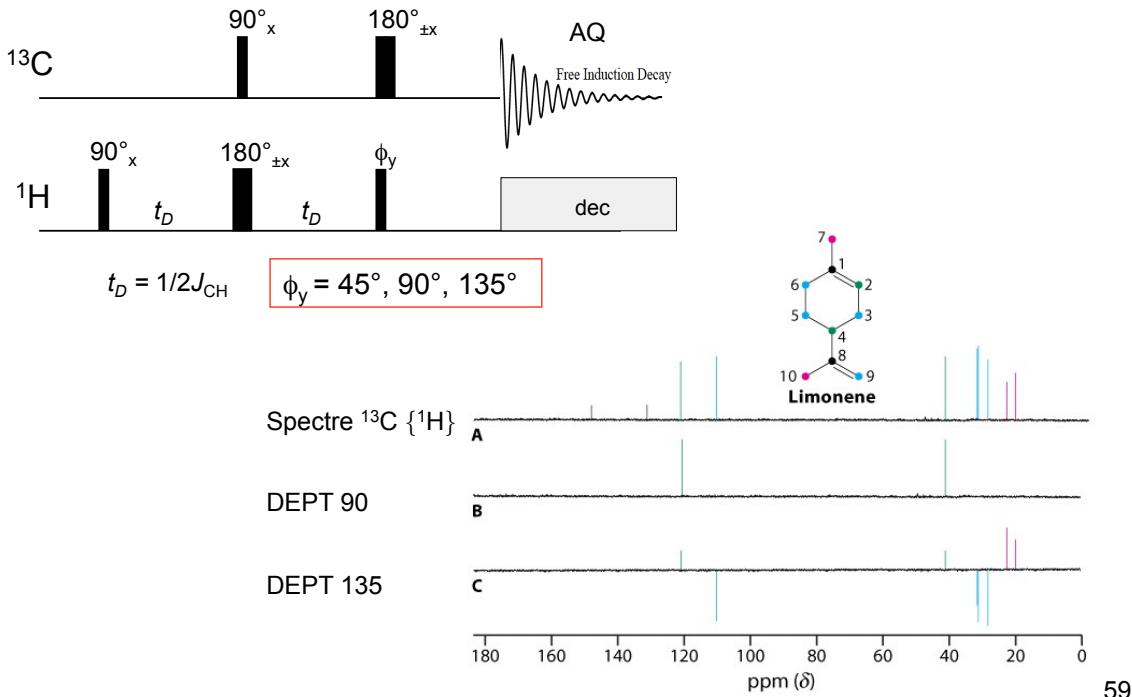
→ intensité = 0,55% du signal principal



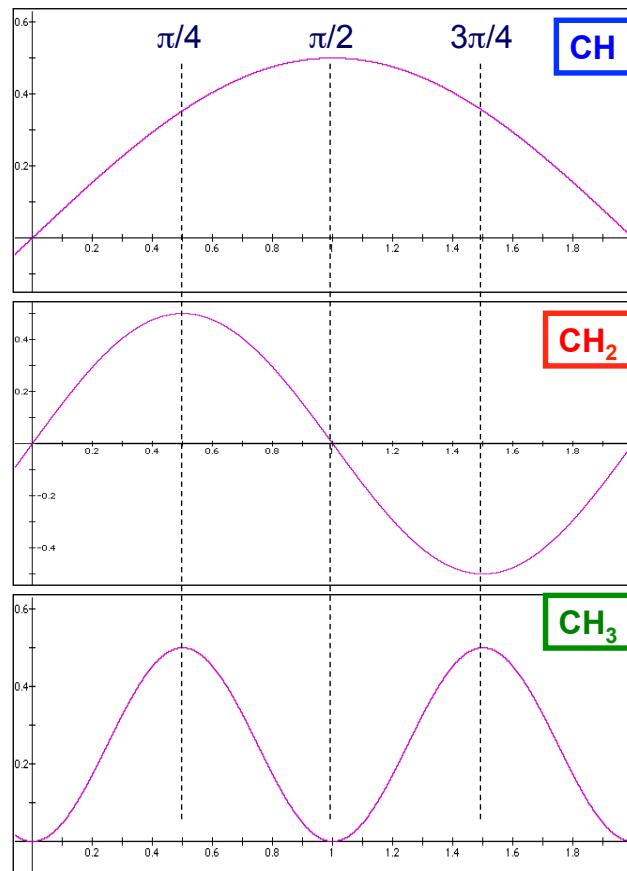
58

Comment déterminer le nombre de ^1H lié à chaque ^{13}C ?

Distortionless Enhancement by Polarization Transfer (DEPT)



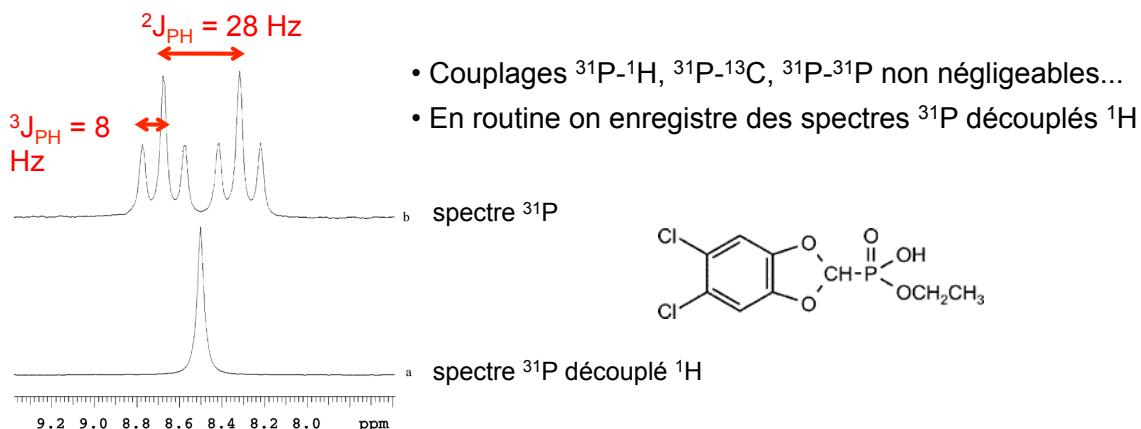
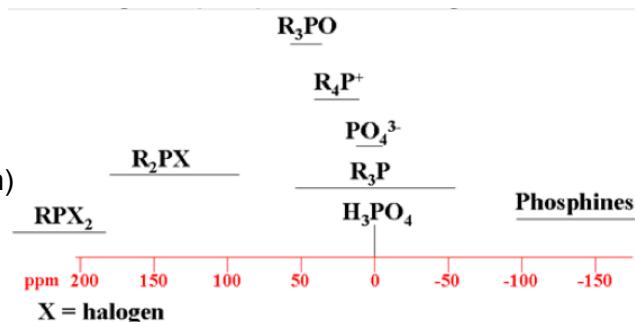
- Carbones - **CH**, l'intensité du signal est donnée par : $\sin(\phi)$
- Carbone - **CH₂**, l'intensité du signal est donnée par : $2 \sin(\phi) \cos(\phi)$
- Carbone - **CH₃**, l'intensité du signal est donnée par : $4 \sin(\phi) \cos^2(\phi)$



	dept 45	dept 90	dept 135
CH	+	+	+
CH ₂	+	0	-
CH ₃	+	0	+

RMN ^{31}P

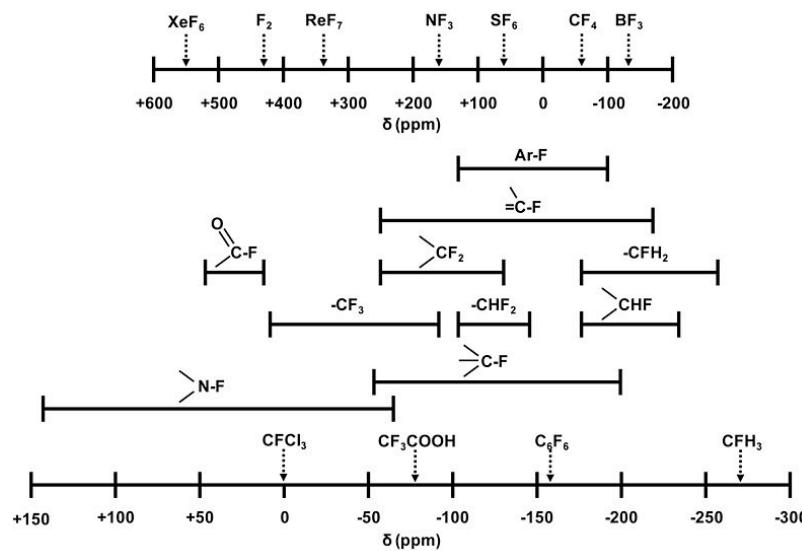
- Abondance naturelle : 100%
- Spin $\frac{1}{2}$
- Meilleure sensibilité que le ^{13}C
- Large gamme spectrale (environ 400ppm)
- Fréquence 121MHz (à 300MHz)



61

RMN ^{19}F

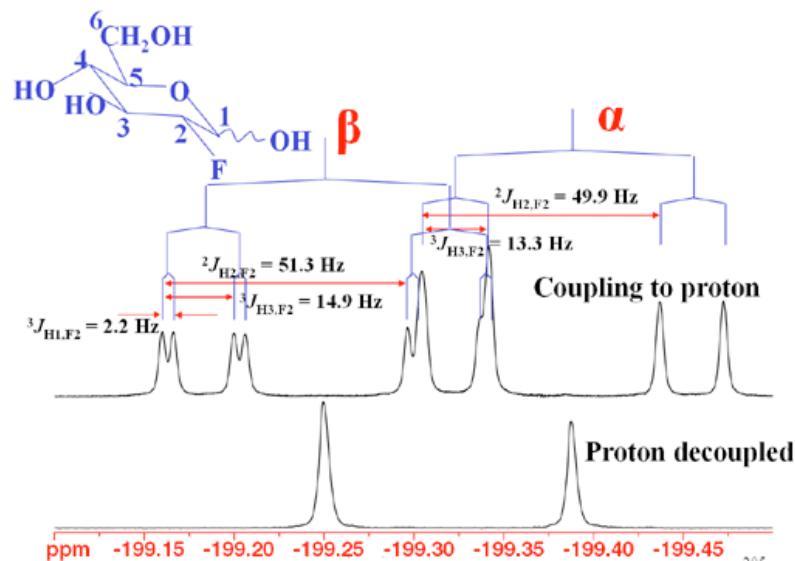
- Abondance naturelle : 100%
- Spin $\frac{1}{2}$
- Excellente sensibilité (idem proton)
- Large gamme spectrale (environ 700ppm)
- Fréquence 282MHz (à 300MHz)



62

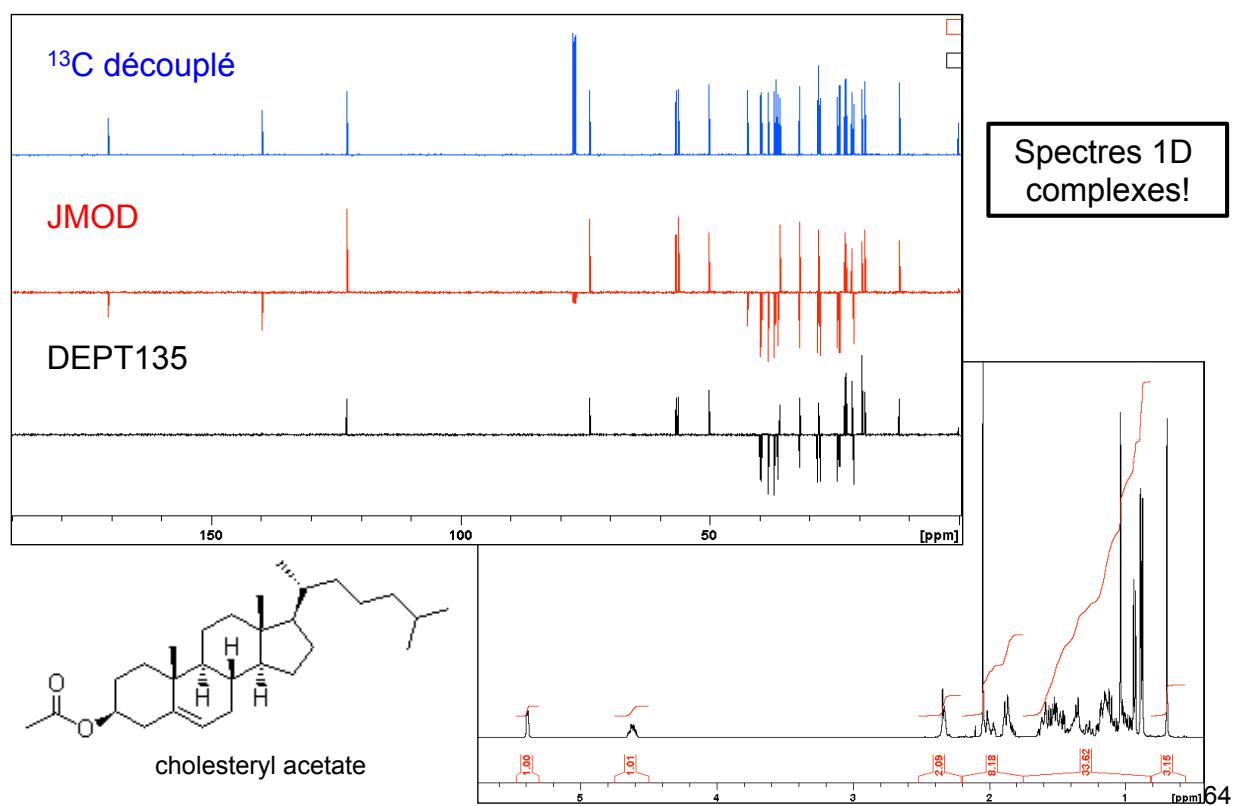
RMN ^{19}F

- Couplages $^{19}\text{F}-^1\text{H}$, $^{19}\text{F}-^{13}\text{C}$, $^{19}\text{F}-^{19}\text{F}$ non négligeables...
- En routine on enregistre des spectres ^{19}F découpés ^1H



63

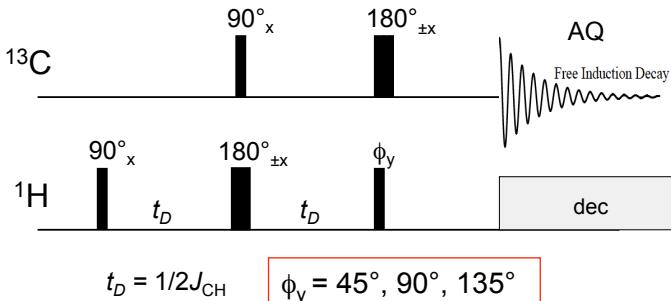
Elucidation structurale



64

RMN multi impulsionnelle

Exemple: Distortionless Enhancement by Polarization Transfer (DEPT)



La RMN multi impulsionnelle permet le développement d'expériences multi dimensionnelles

65

RMN 2D

- **Introduction, principe**
- **COSY**
- **TOCSY**
- **HSQC**
- **HMBC**
- **NOe et NOESY**

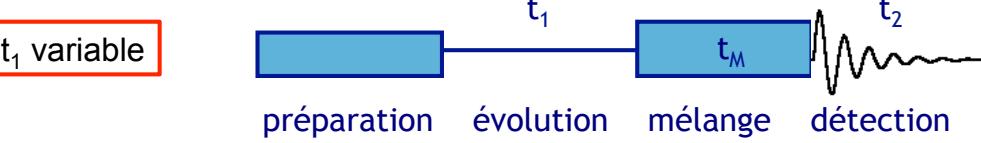
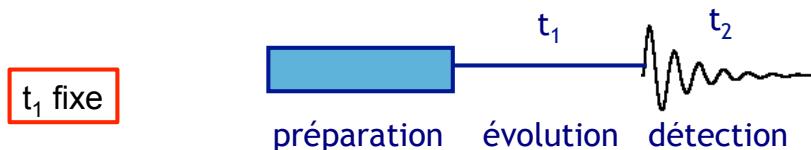
66

Introduction à la RMN 2D

RMN 1D

Un spectre 1D consiste en une série de raies de résonances caractérisées par leur position en fréquence (déplacement chimique), leur phase et leur amplitude.

Ces paramètres sont liés à l'évolution des aimantations nucléaires avant la période d'acquisition t_2 .



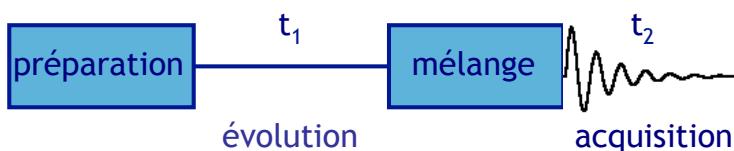
RMN 2D

Dans un spectre 2D la période d'évolution t_1 devient une variable. À la suite de k expériences avec des périodes d'évolution $t_1+n\Delta t_1$ le signal devient une fonction dépendant de deux variables temporelles t_1 et t_2 .

67

Les différentes périodes d'une RMN 2D

- La première perturbation du système de spins via une ou plusieurs impulsions RF a lieu pendant la période de **préparation**.
- Suit une période d'évolution, caractérisée par le **temps d'évolution t_1** , incrémenté d'un FID à l'autre. Les spins évoluent en fonction de leur fréquence de résonance.
- Il peut exister un **temps de mélange** pendant lequel l'information d'une partie du système de spins est transférée aux autres parties (transferts de polarisation).
- Enfin la **période d'acquisition t_2** est identique à celle décrite dans l'expérience 1D.

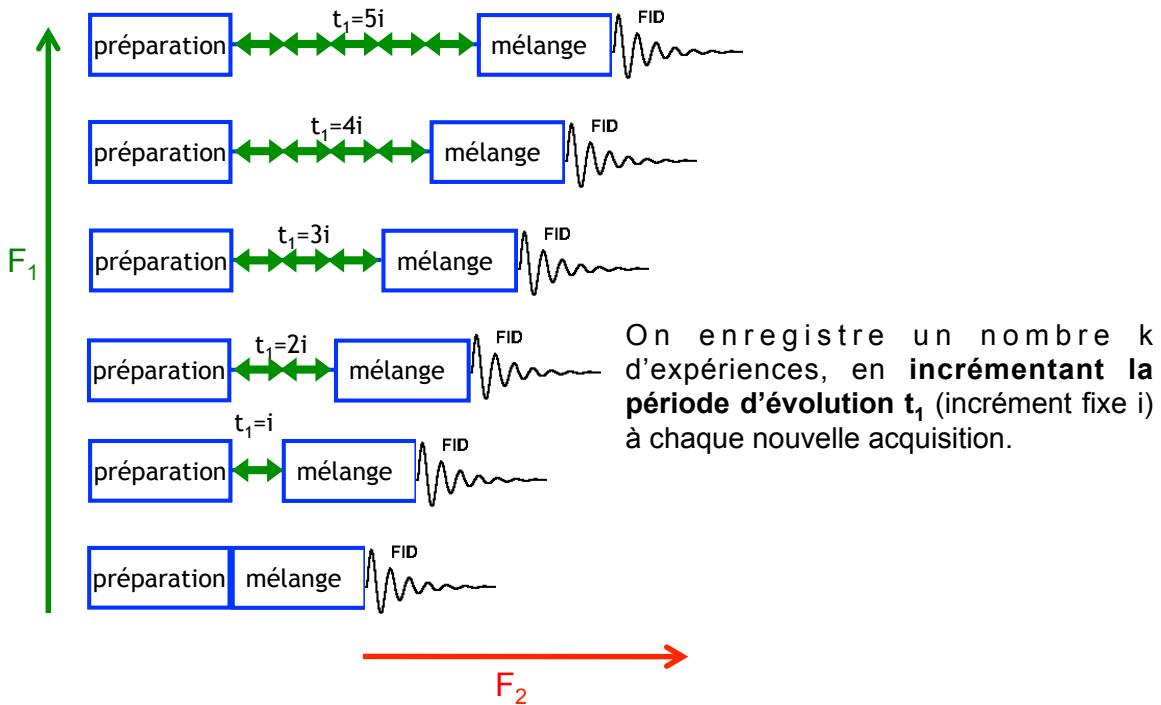


t_1 est un délai variable alors que t_2 est le temps d'acquisition.

On peut formellement leur associer respectivement les fréquences f_1 et f_2 .

68

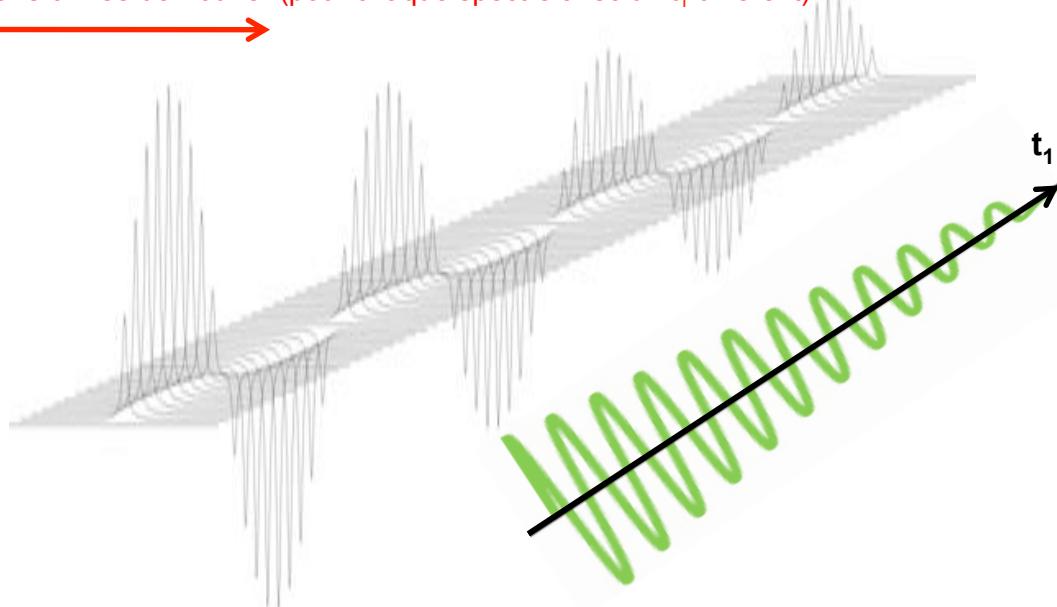
Acquisition d'un spectre 2D



69

2^e dimension

1^{ère} transformée de Fourier (pour chaque spectre avec un t_1 différent)



La variation d'intensité des signaux en fonction de la durée de t_1 donne lieu à un FID: c'est l'origine de la 2^{ème} dimension.

70

2^e dimension

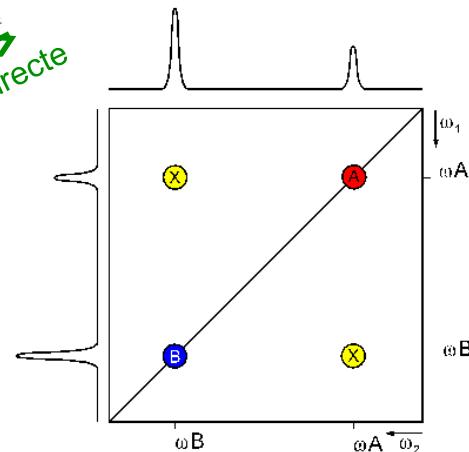
2^{ème} transformée de Fourier



F2 = dimension directe

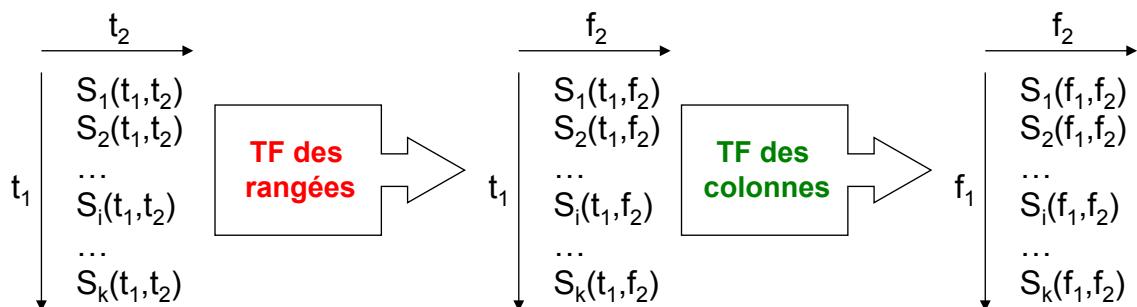
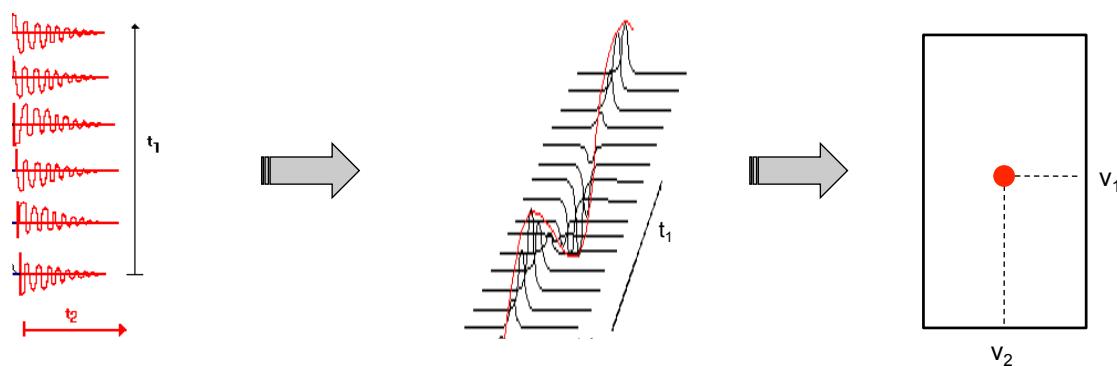
F1 = dimension indirecte

Les données sont présentées généralement sous forme de cartes 2D (courbes de niveaux, « contour plot »).



71

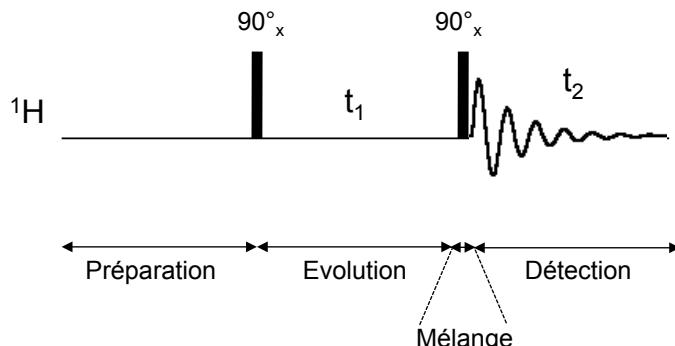
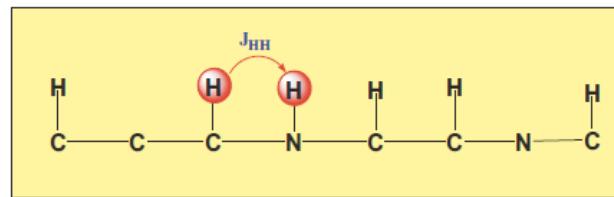
Pour résumer



72

COSY

= COrrelation SpectroscopY, permet de mettre en évidence les protons qui sont couplés de façon scalaire

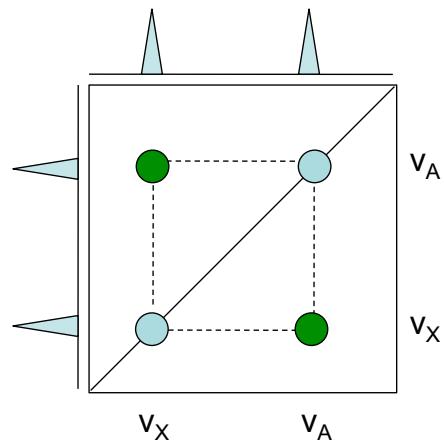
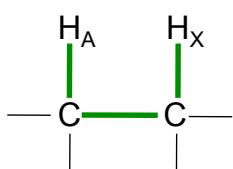


73

Transfert de polarisation dans la COSY

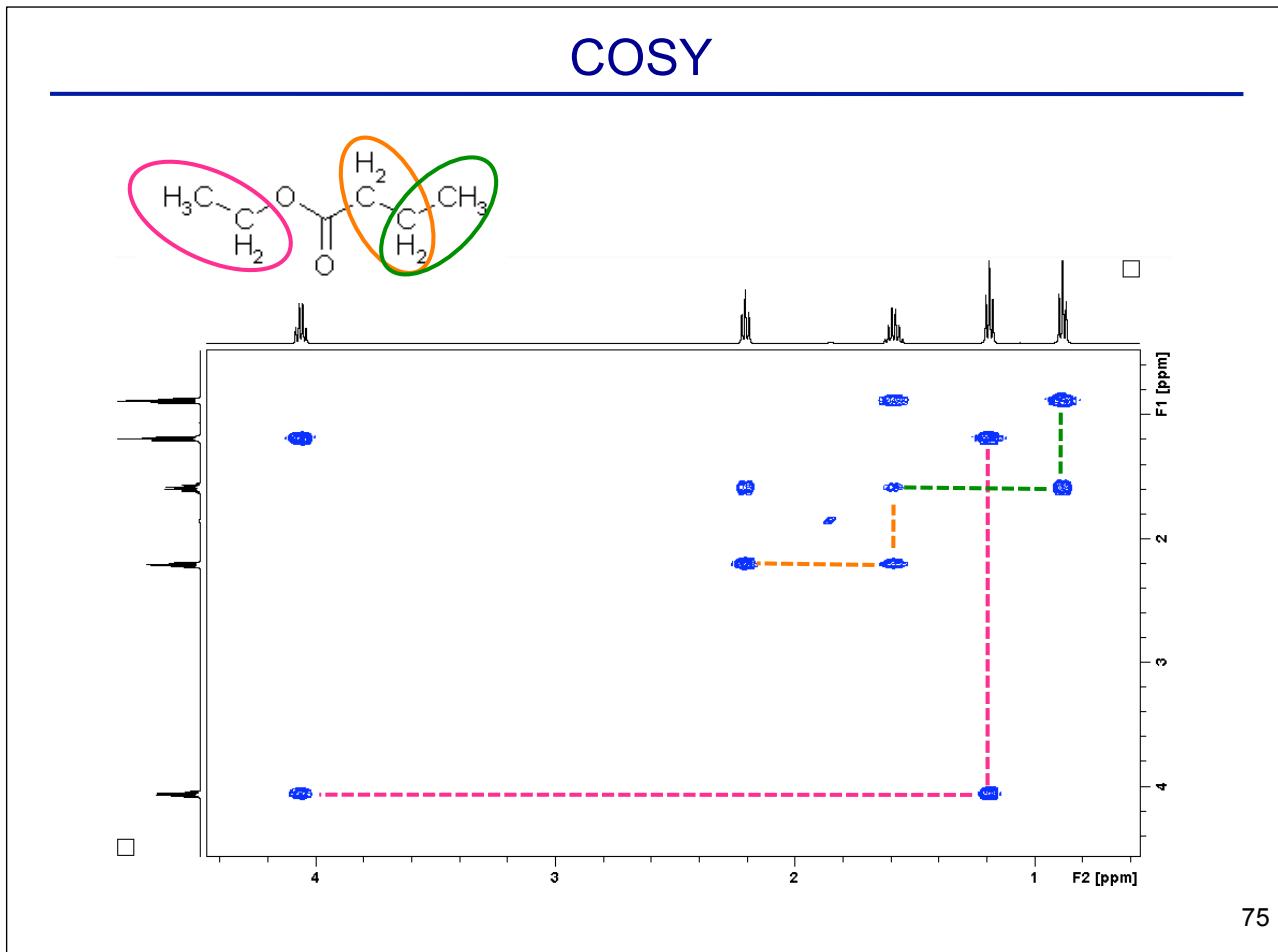
Ex: on considère 2 protons A et X couplés en 3J , que se passe-t-il pour A?

- **préparation:** l'aimantation de A bascule dans le plan transversal
- **évolution** selon la fréquence v_A pendant t_1
- **mélange:** transfert partiel de l'aimantation A vers X
- **détection:** une partie de l'aimantation A évolue à v_A , la partie transférée vers X évolue à v_X



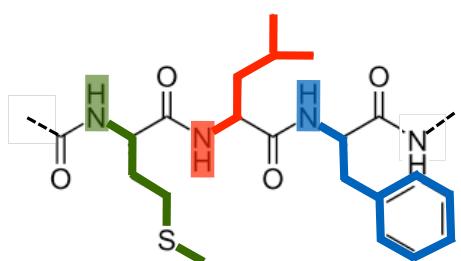
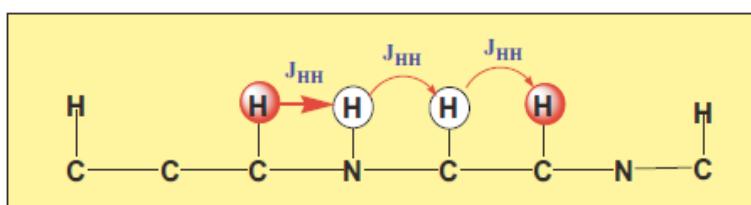
74

COSY



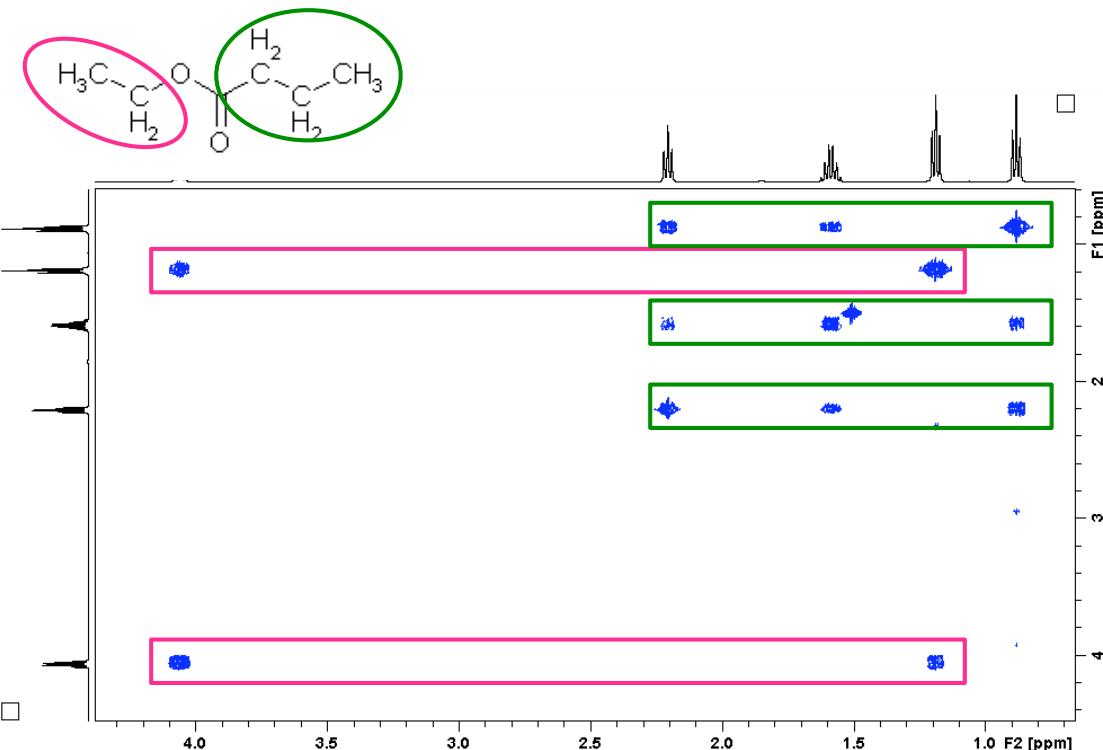
Une autre 2D: la TOCSY

= **TOtal Correlation SpectroscopY**, permet de mettre en évidence les systèmes de spins (ensemble de protons couplés de façon scalaire)



ex: en partant des signaux des NH on peut identifier les chaînes latérales des acides aminés

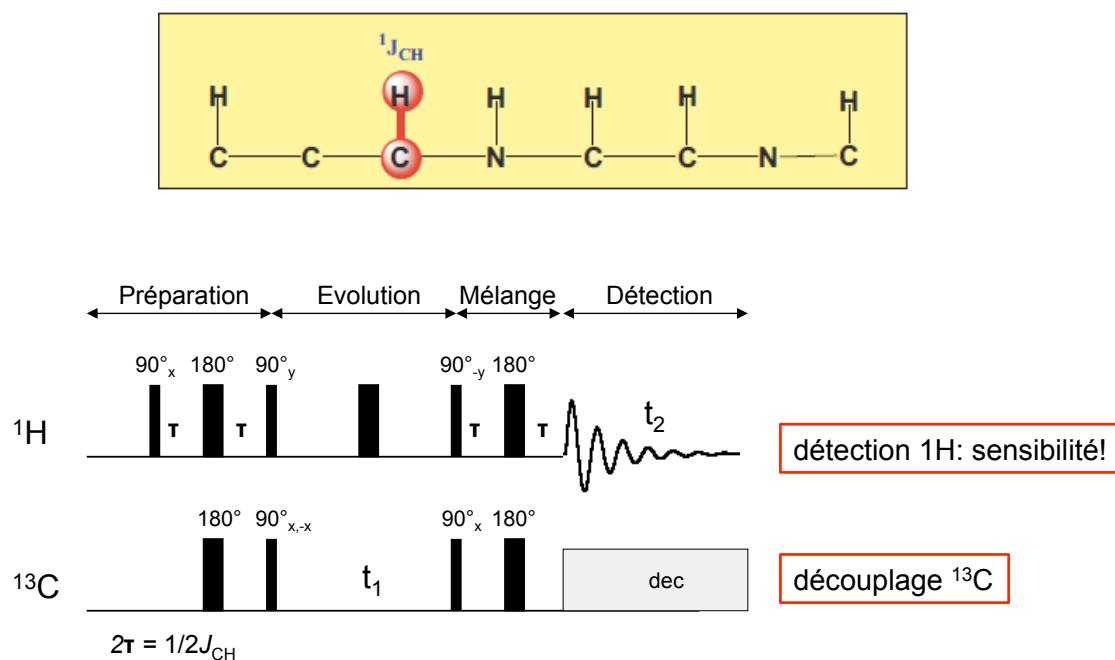
TOCSY



77

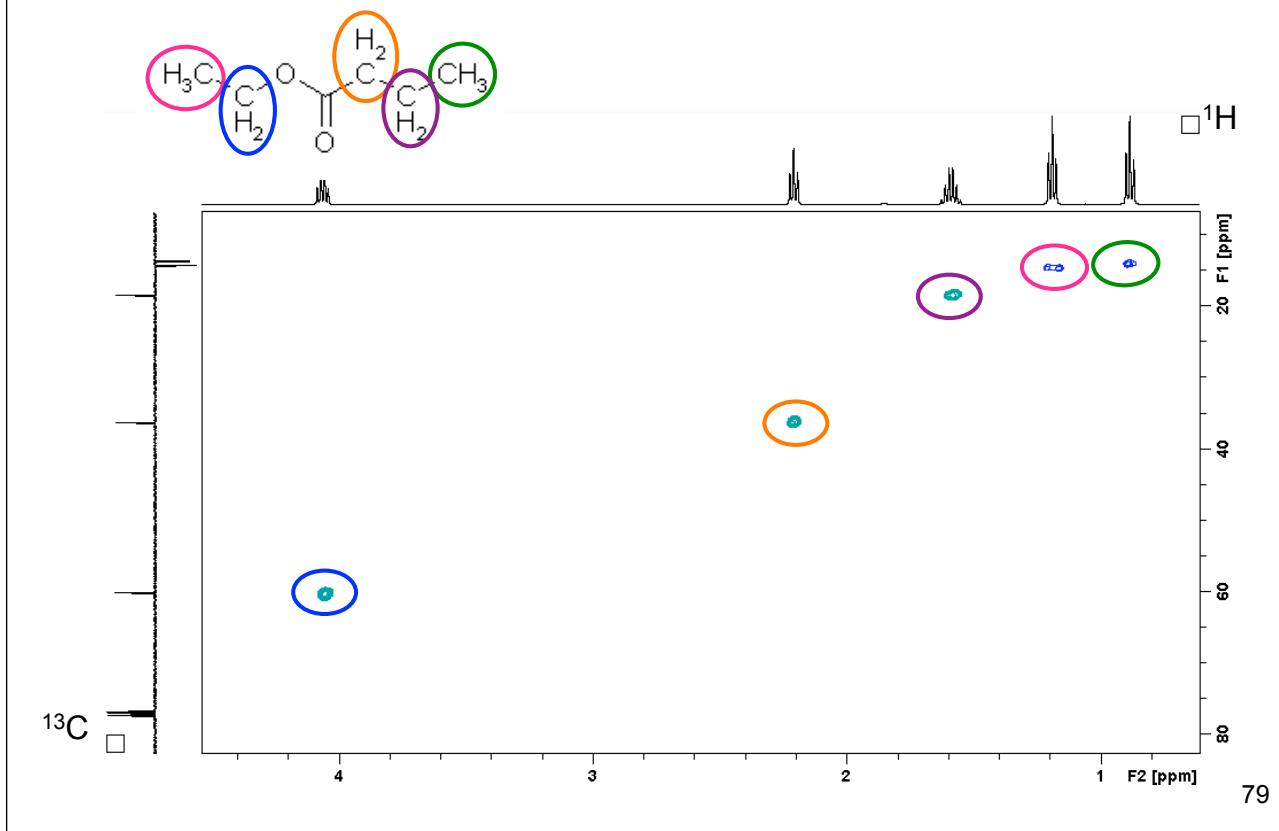
Exemple de corrélation hétéronucléaire: l'HSQC

= Heteronuclear Single Quantum Correlation, met en évidence les couplages scalaires $^1J_{CH}$



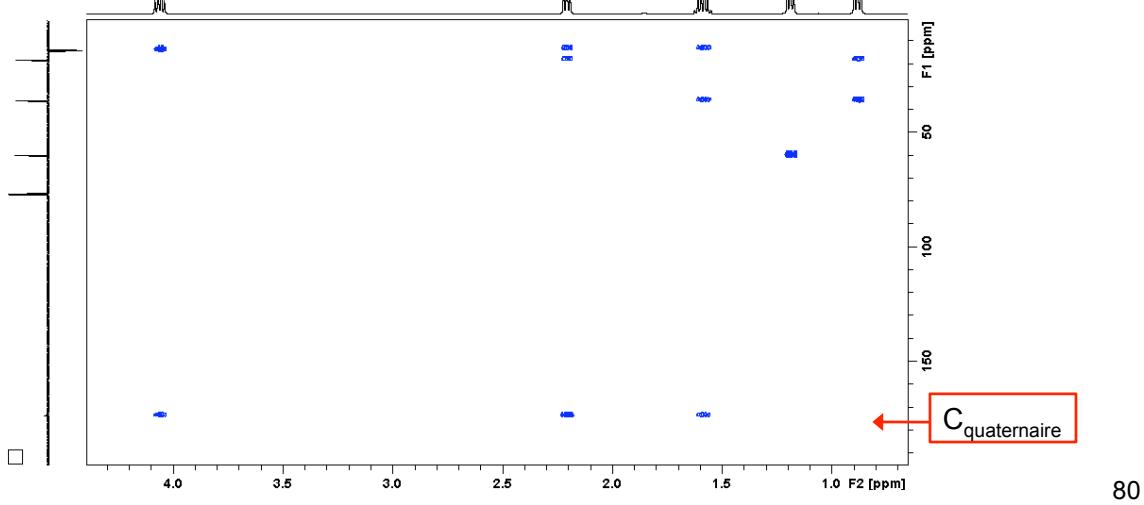
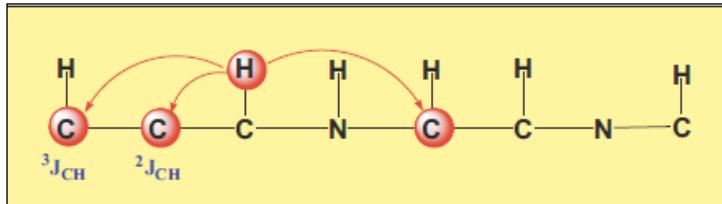
78

HSQC éditée: une alternative au DEPT

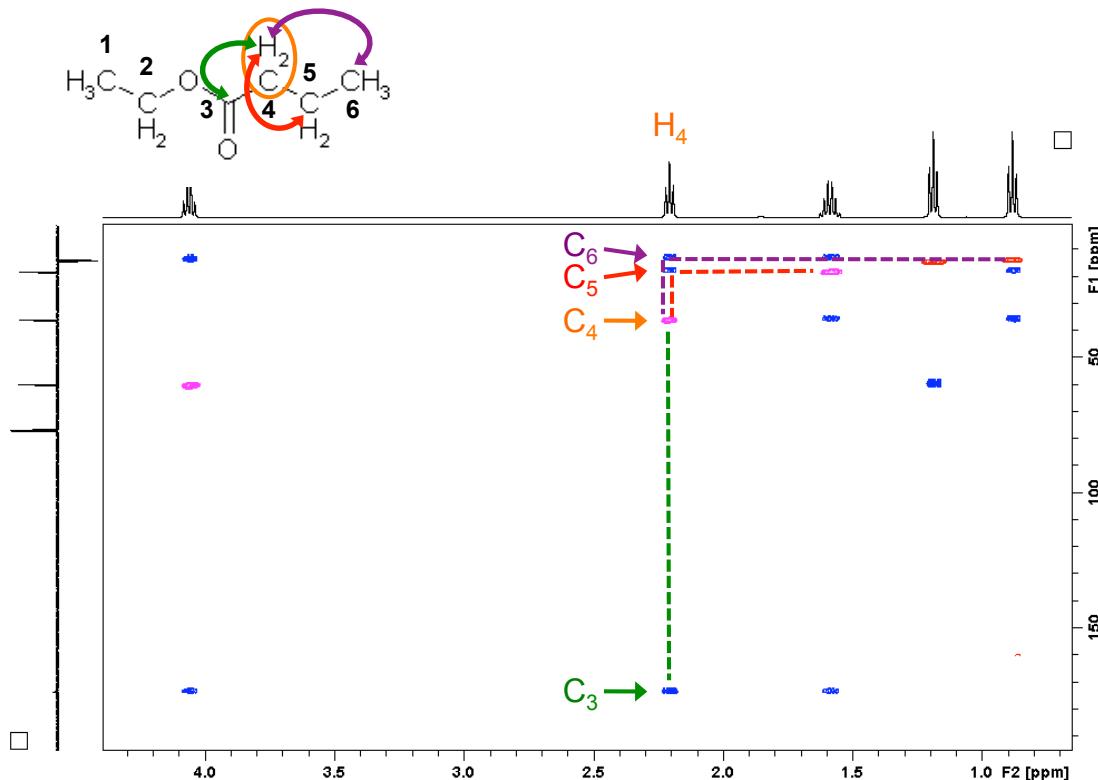


HMBC

= Heteronuclear Multiple Bond Correlation, met en évidence les couplages scalaires $^2J_{\text{CH}}$ et $^3J_{\text{CH}}$

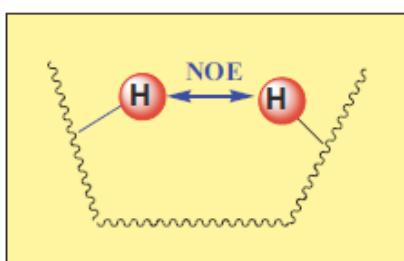


Superposition HSQC / HMBC

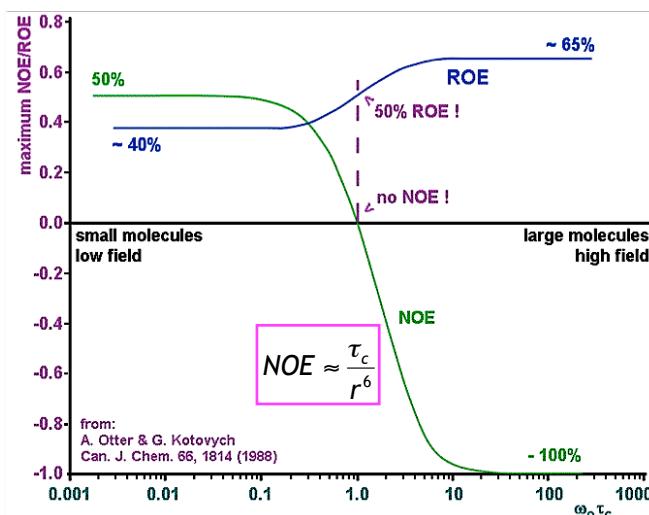


81

NOe



- Nuclear Overhauser Effect = changement d'intensité des signaux de 2 noyaux en interaction dipolaire
- l'effet NOE est inversement proportionnel à la distance entre les 2 noyaux (distance max. $\approx 5\text{\AA}$)

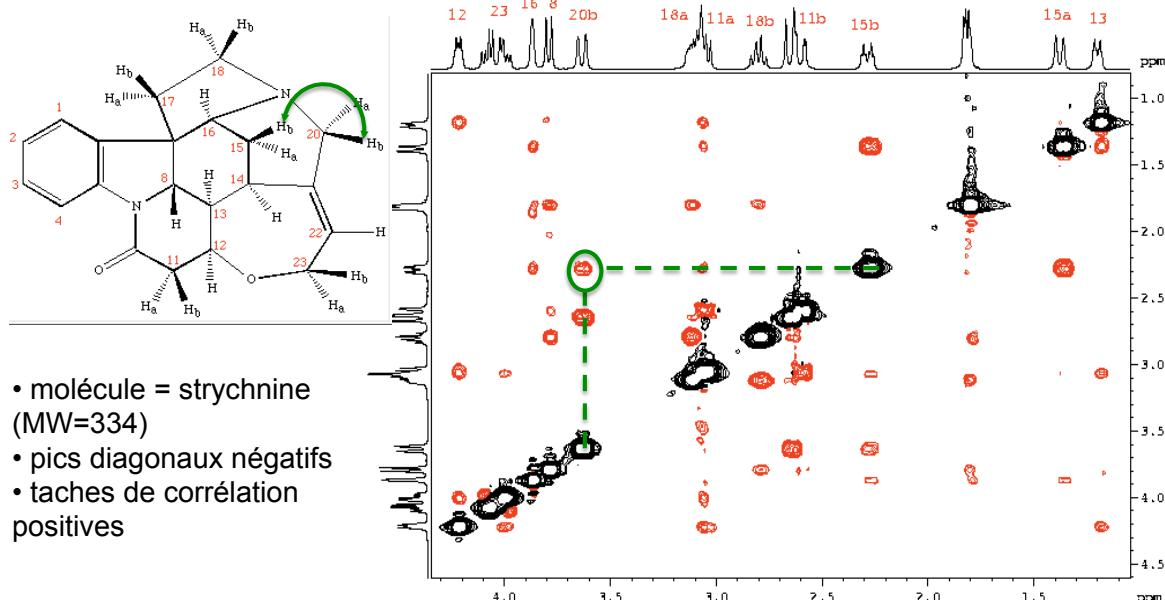


➔ NOESY pas adaptée à l'étude de molécules de poids 800-1500 g/mol (NOE ≈ 0)

➔ ROESY: signaux moins intenses mais toujours $\neq 0$

82

NOESY



	petite mol	moyenne mol	grosse mol
ROESY	+	+	+
NOESY	+	0	-

phase des signaux
(diagonale négative)

83

Acquisition et traitement de données RMN

- Transformée de fourier
- Lock et shims
- Échantillonnage du signal
- Délai de relaxation
- Angle d' impulsions
- S/B
- Zero filling
- Prédiction linéaire
- Apodisation

84

Le spectromètre

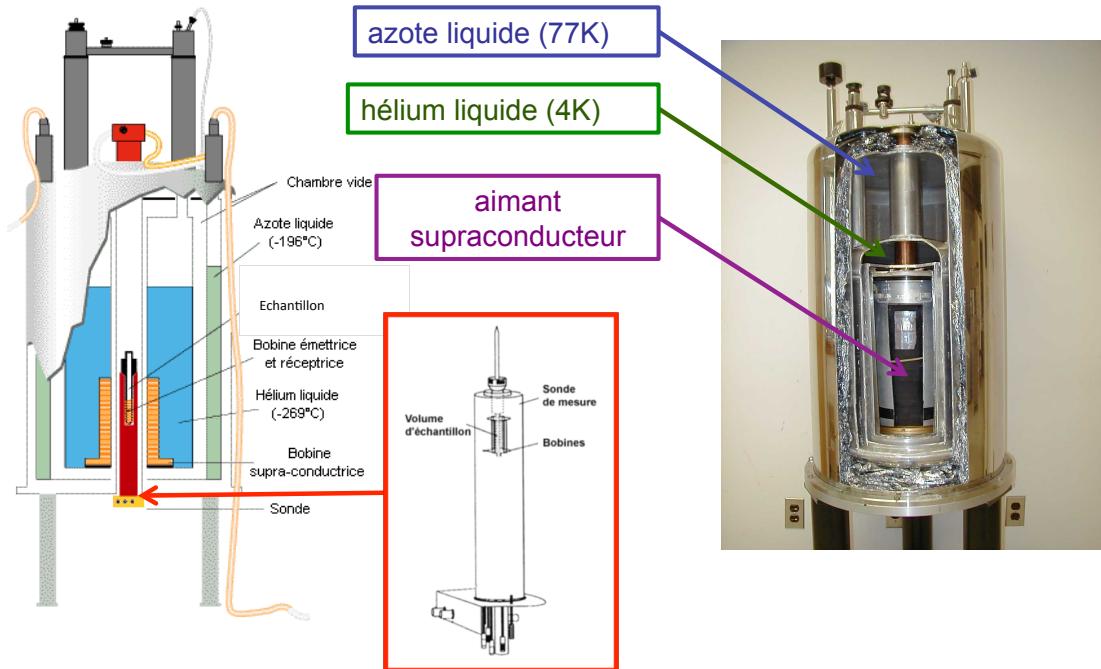
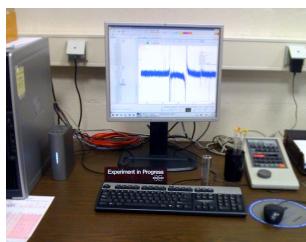


Illustration issue de <http://www.astrosurf.com/luxorion/technologies-futur7.htm> photo issue du site JEOL <http://www.jeolusa.com>

85

poste de contrôle



console (amplificateurs, générateurs de fréquence...)



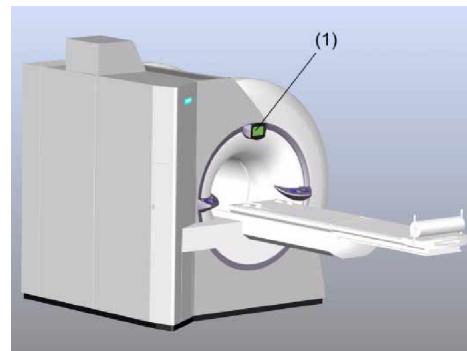
aimant 11,7T
(Laboratoire de Chimie)

Quel aimant pour quel échantillon ?



IRM Médicale

- échantillons = êtres vivants
- $B_0 \sim 1,5 \text{ T}$



RMN haute résolution

- échantillons <1mL
 - $B_0 \sim 4,7 - 23,5 \text{ T}$
- $\nu_{^1\text{H}} : 200 \text{ MHz} - 1 \text{ GHz}$

87

L'échantillon en RMN liquide

- quantité variable (1 à 10mg en général)
 - ✓ quel spectromètre?
 - ✓ quelle expérience: ^1H ou ^{13}C ?

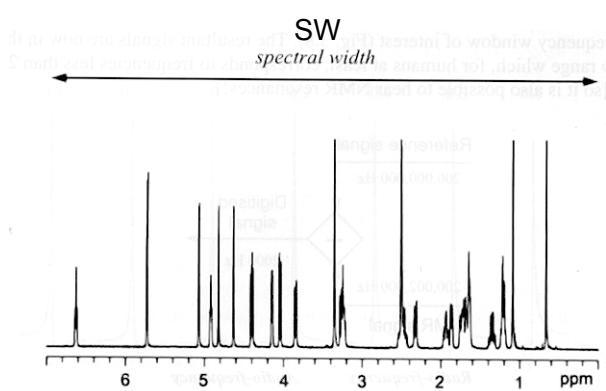
Attention à la solubilité de votre échantillon!

- volume: environ 600 μL
- solvant deutéré (CDCl_3 , D_2O , DMSO-D_6 ...)



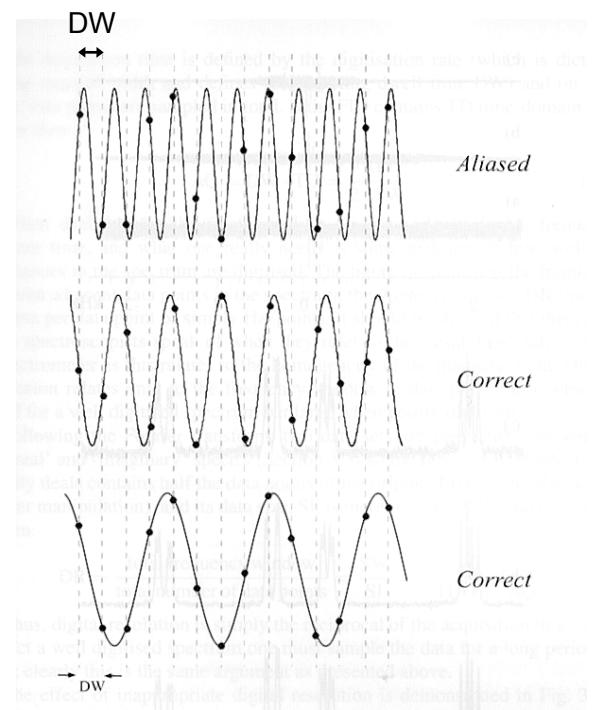
88

TF: digitalisation, temps d'échantillonnage



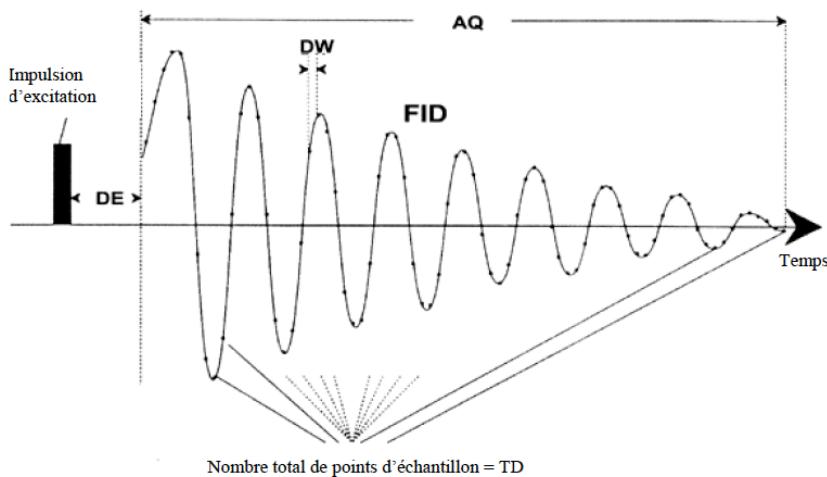
Théorème de Nyquist: il faut 2 points par période au minimum pour représenter correctement l'ensemble des fréquences.

Condition de Nyquist
 $DW = 1/2SW$



89

Echantillonnage du signal

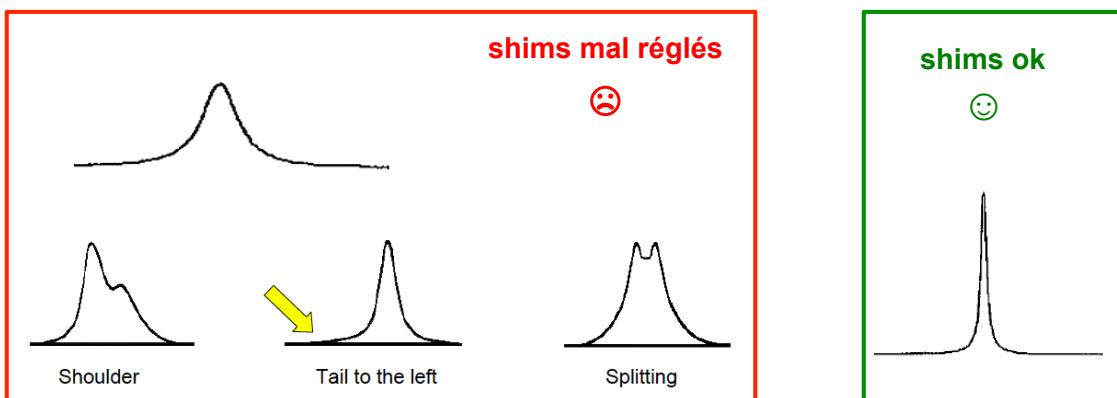


$$AQ = TD \times DW \text{ avec } DW = \frac{1}{2 \times SWH}$$

90

Réglages: lock et shim

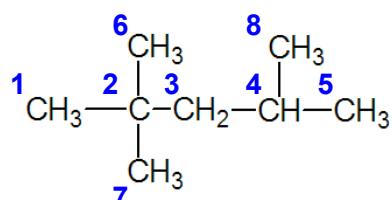
- Le **lock** permet de maintenir la force du champ magnétique stable pendant les expériences, ce qui permet d'éviter un élargissement des signaux dû à de légères fluctuations de B_0
- Le spectromètre observe les signaux ^2H du solvant et corrige la dérive du champ magnétique au cours du temps
- Pourquoi ^2H ? Car il s'agit d'un noyau non étudié en général et que l'on peut ajouter facilement à l'échantillon par le biais de solvants deutérés.
- Les bobines de **shims** sont placées autour de la sonde et leur réglage permet de compenser les inhomogénéités du champ magnétique B_0 .



91

Délai de relaxation (D1)

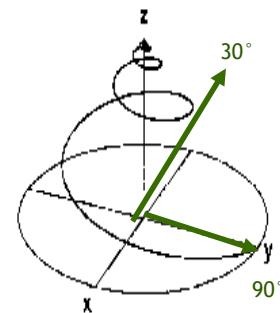
- Il permet le retour à l'équilibre de l'aimantation des noyaux entre 2 scans
- Il dépend du T_1 (temps de relaxation longitudinal) qui varie selon le type de noyau étudié et la taille de la molécule.
- Il influence le temps de répétition: $T_R = AQ + D1$: idéalement $T_R = 5 \times T_1$ (nécessaire pour expérience quantitative).
- En pratique $T_R = 2 \times T_1$ suffit pour une estimation correcte.
- Attention en ^{13}C ...



C	T1
1,6,7	9,3 s
2	68 s
3	13 s
4	23 s
5,8	9,8 s

Angle d'impulsion / Rapport Signal/Bruit

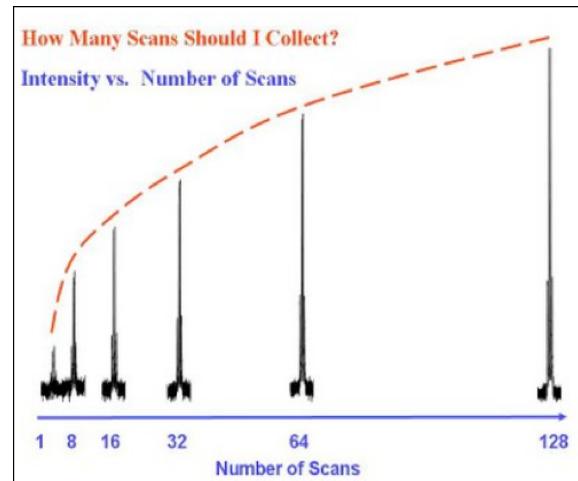
- Une impulsion d'une durée t fait basculer l'aimantation d'un angle $\theta = 2\pi v_0 t$
- On peut choisir un angle de 90° : signal maximum, mais un angle de 30° permet une répétition plus rapide.



• S/B optimal : angle de Ernst θ

- $\cos \theta = \exp \left(- \frac{T_r}{T_1} \right)$
- $\theta = 30^\circ \Rightarrow T_r$ court ($\frac{1}{5} T_1$)
- Attention! Pas quantitatif!

- Le rapport S/B est proportionnel à $\sqrt{\text{Nombre de Scans}}$
- ex: NS $\times 16 \rightarrow$ S/B $\times 4$



93

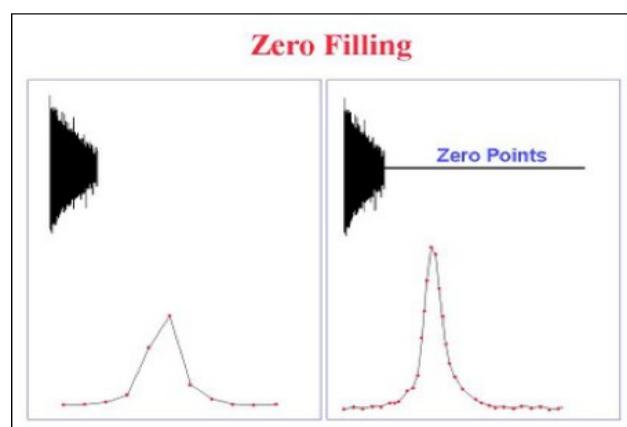
Traitement du signal, exemple: zero filling

- Traiter les données permet d'améliorer le spectre
 - compensation des « défauts » dus à une acquisition non optimisée
 - effet « esthétique »
 - mise en évidence de certains paramètres (couplages...)



le traitement n'ajoute pas de nouvelles données...

... et ne peut pas tout « rattraper », il vaut mieux passer un peu de temps à régler certains paramètres AVANT de lancer l'expérience.

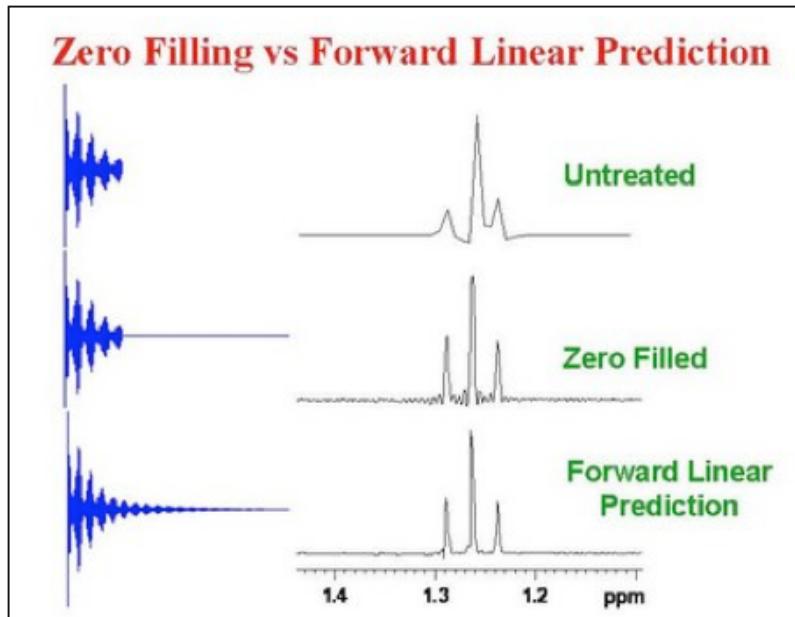


- Exemple: le **zero filling** améliore la résolution digitale (c.a.d. augmente le nombre de points par Hz) en ajoutant des zéros à la fin du FID

94

Traitement du signal: prédition linéaire

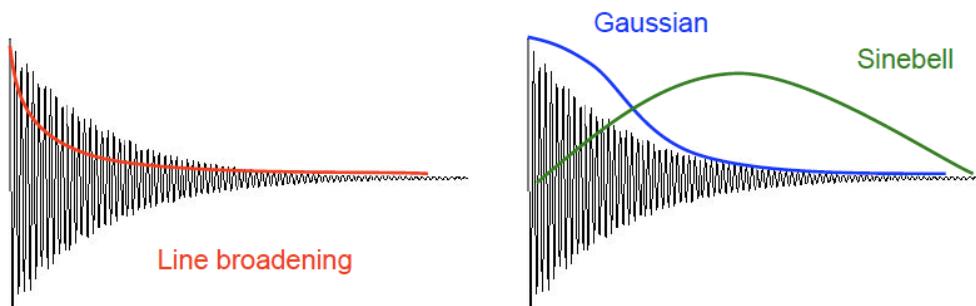
- Prédit les données manquantes d'un spectre tronqué en se basant sur le début du FID.
- Traitement très utile en 2D dans la dimension indirecte (nombre de points compris entre 100 et 500 en général, signal tronqué).



95

Traitement du signal: apodisation

- Consiste à multiplier le FID par une fonction (exponentielle, sinus...) avant la transformée de Fourier, ce qui modifie l'enveloppe du FID.
- **fondction exponentielle**: diminution du bruit (mais perte de résolution)
⇒ amélioration du rapport S/B
⇒ amélioration des signaux larges
⇒ perte en résolution
- **fondction gaussienne**: amélioration de la résolution (mais perte en S/B)

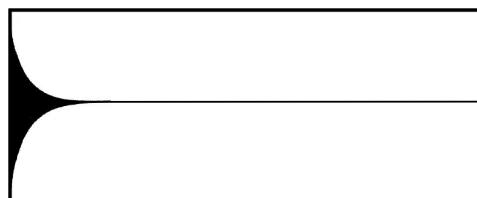


96

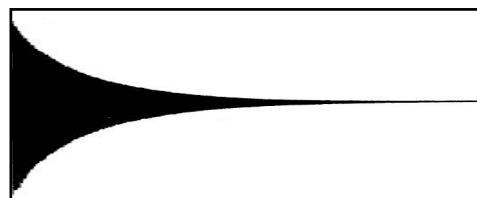
Pourquoi la fonction exponentielle?

Le FID décroît selon $\exp(-\frac{t}{T_2^*})$

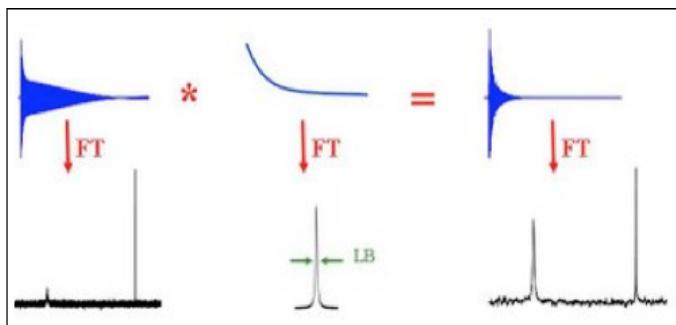
$$\frac{1}{T_2^*} = \frac{1}{T_2} + \frac{1}{T_2(\Delta B_0)}$$



- T_2^* court
- relaxation rapide



- T_2^* long
- relaxation lente



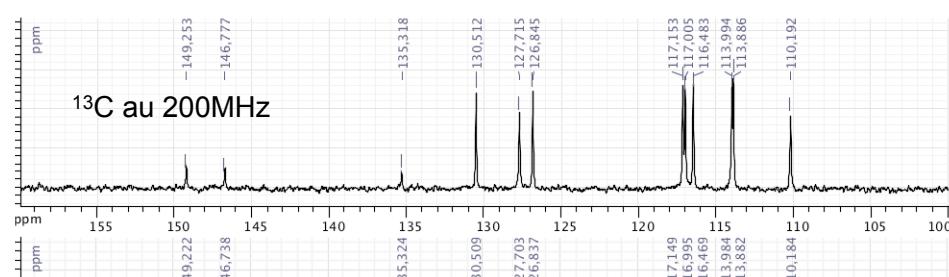
largeur à mi-hauteur: $\frac{1}{\pi T_2^*}$

97

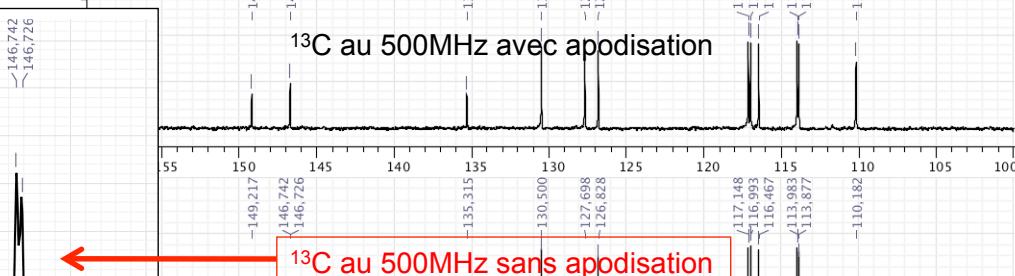
Attention au traitement des données...

Ne pas hésiter à tester plusieurs traitements différents sur un même jeu de données.
ATTENTION un traitement approprié dans un cas en le sera pas forcément dans un autre...

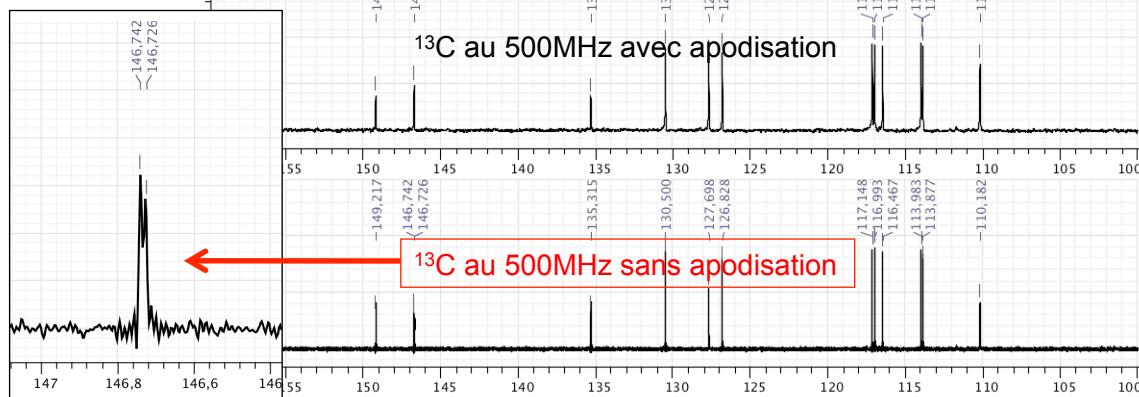
Un ^{13}C
manque à
l'appel...



^{13}C au 200MHz



^{13}C au 500MHz avec apodisation

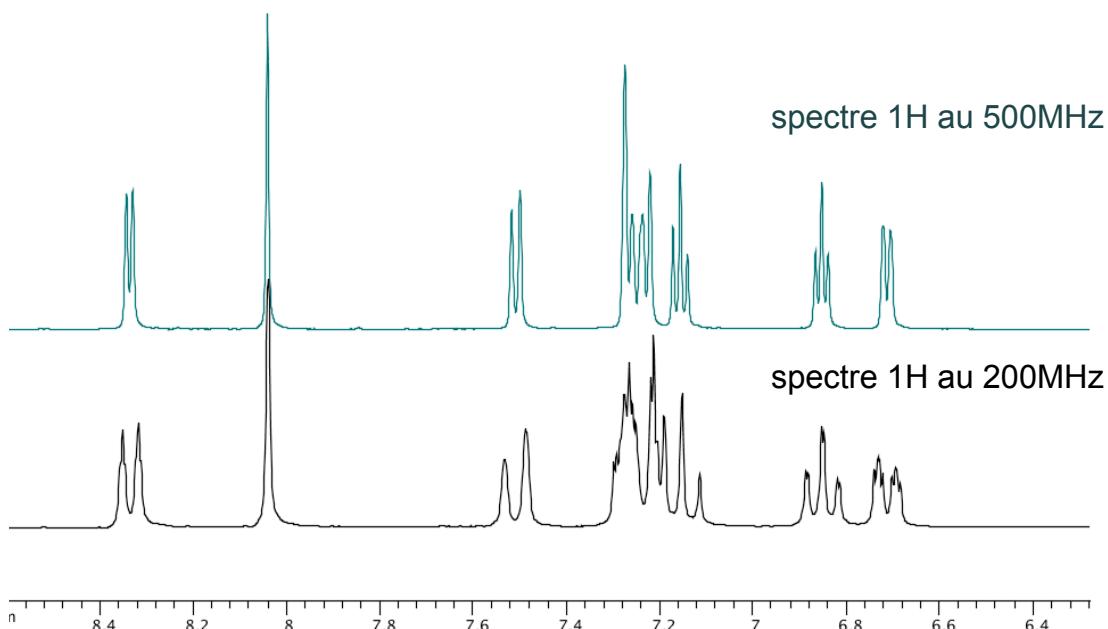


^{13}C au 500MHz sans apodisation

98

Petite remarque en passant...

Un champ plus fort n'est pas forcément un avantage..



99

Références

- Understanding NMR Spectroscopy, James Keeler, Wiley, 2005
- Spin dynamics, 2nd edition, Malcolm H. Levitt, Wiley, 2008
- High-Resolution NMR Techniques in Organic Chemistry, Thimothy D. W. Claridge, Pergamon Press, 1999
- http://www.unice.fr/cdiec/cours/rmn_web/rmn_theorie/c_theorie.htm
cours de RMN simplifiée de l'Université de Nice (en français)
- <http://www.sciences.univ-nantes.fr/CEISAM/pedago.php>
cours de l'université de Nantes (en français)
- http://www.univ-lille1.fr/lcom/RMN2D/index1.htm#resum2D_us/index_us.htm
cours de RMN 2D de l'Université de Lille (en français)
- <http://www.chem.queensu.ca/FACILITIES/NMR/nmr/webcourse/>
cours de la Queen's University
- <http://www.cis.rit.edu/htbooks/nmr/inside.htm>
cours de J.P. Hornack
- <http://www.cem.msu.edu/~reusch/VirtualText/Spectrpy/nmr/nmr1.htm>
cours de la Michigan State University
- <http://www.u-of-o-nmr-facility.blogspot.com/>
blog de la plateforme de RMN de l'Université d'Ottawa

100