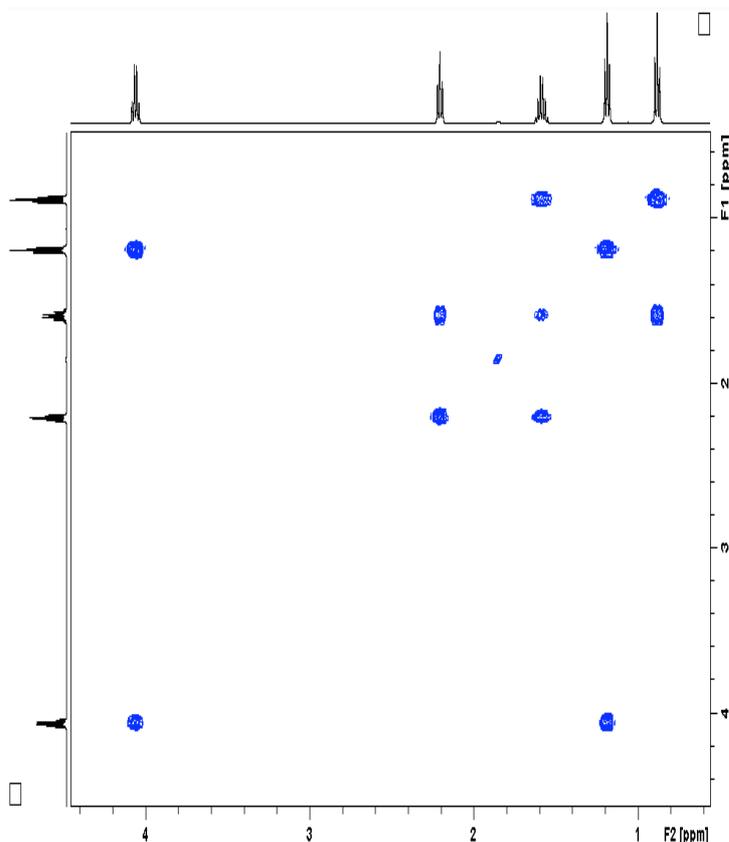
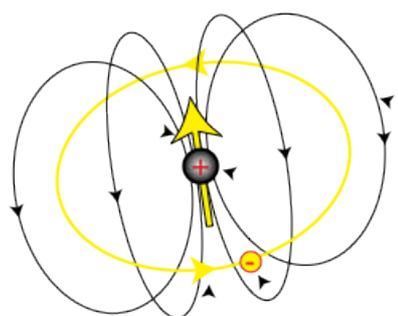
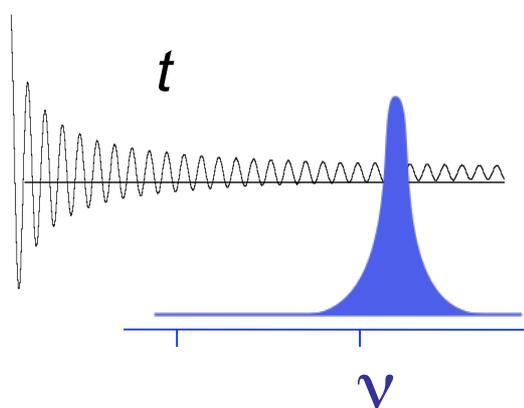


École Normale Supérieure de Lyon

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

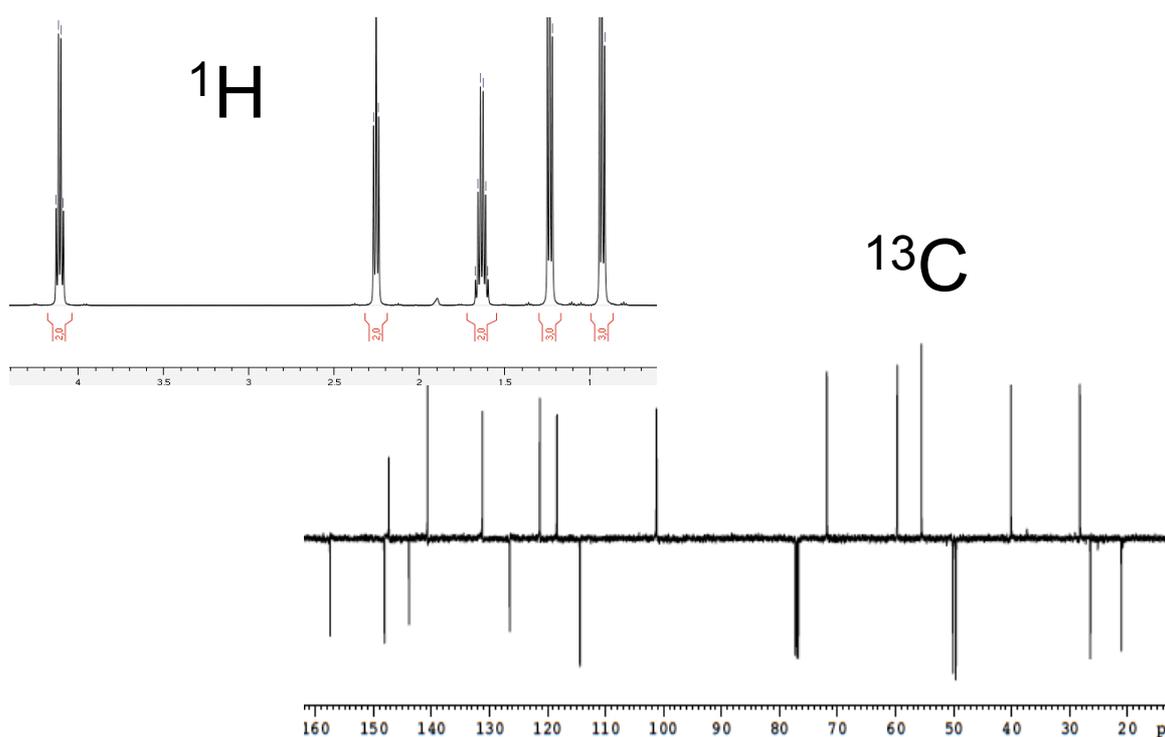
*C'est quoi ?  
Cela sert à quoi ?  
En chimie organique ?  
Comment je fais ?*

5

## RMN et Chimie organique

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

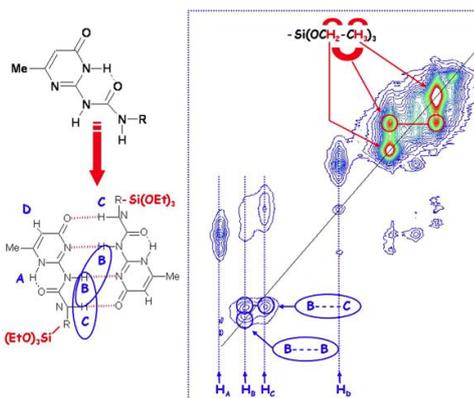
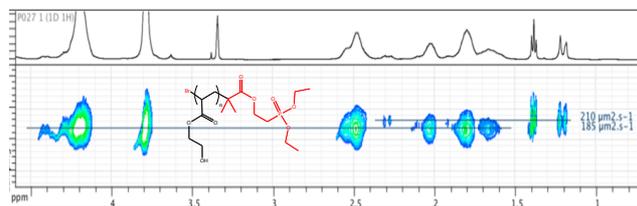
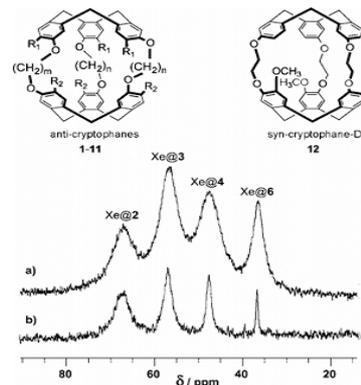
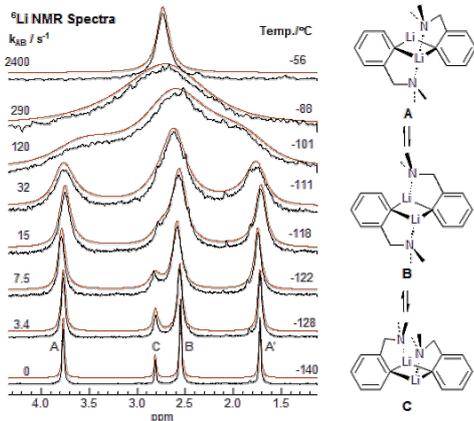
---



6

# Complexité... Méthodes...

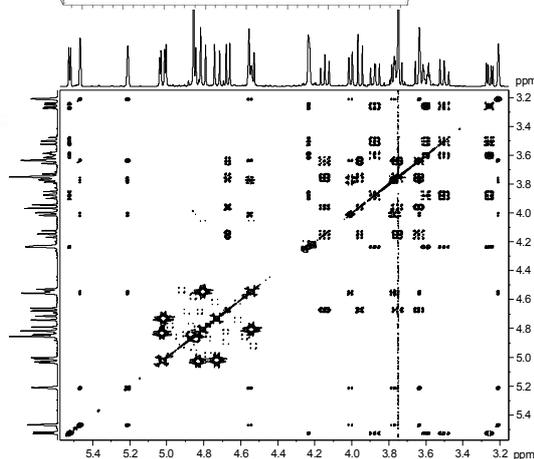
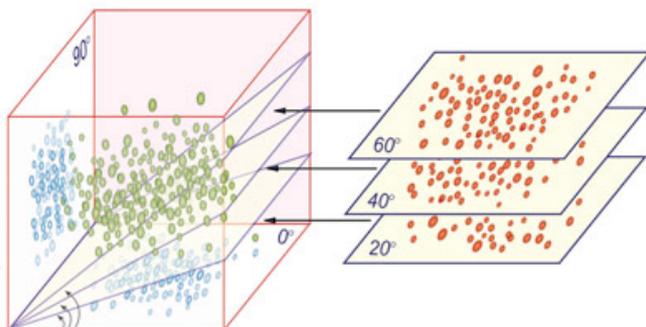
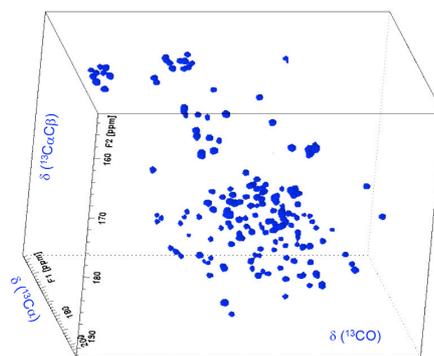
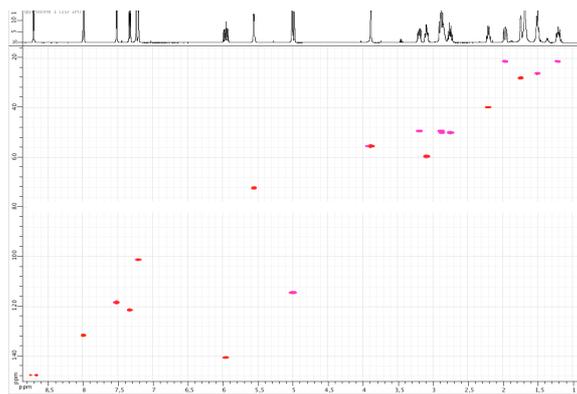
Line Shape Simulation of a DNMR Experiment with WINDNMR



J. Coat. Technol. Res., 5 (1) 117-121, 2008

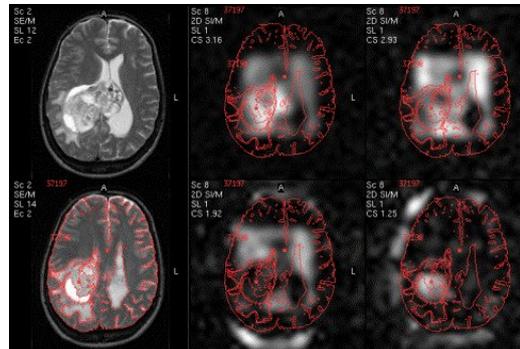
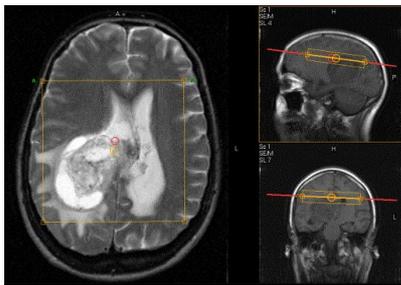
7

# RMN 2D... 3D... 4D...



8

# Imagerie médicale (IRM)...



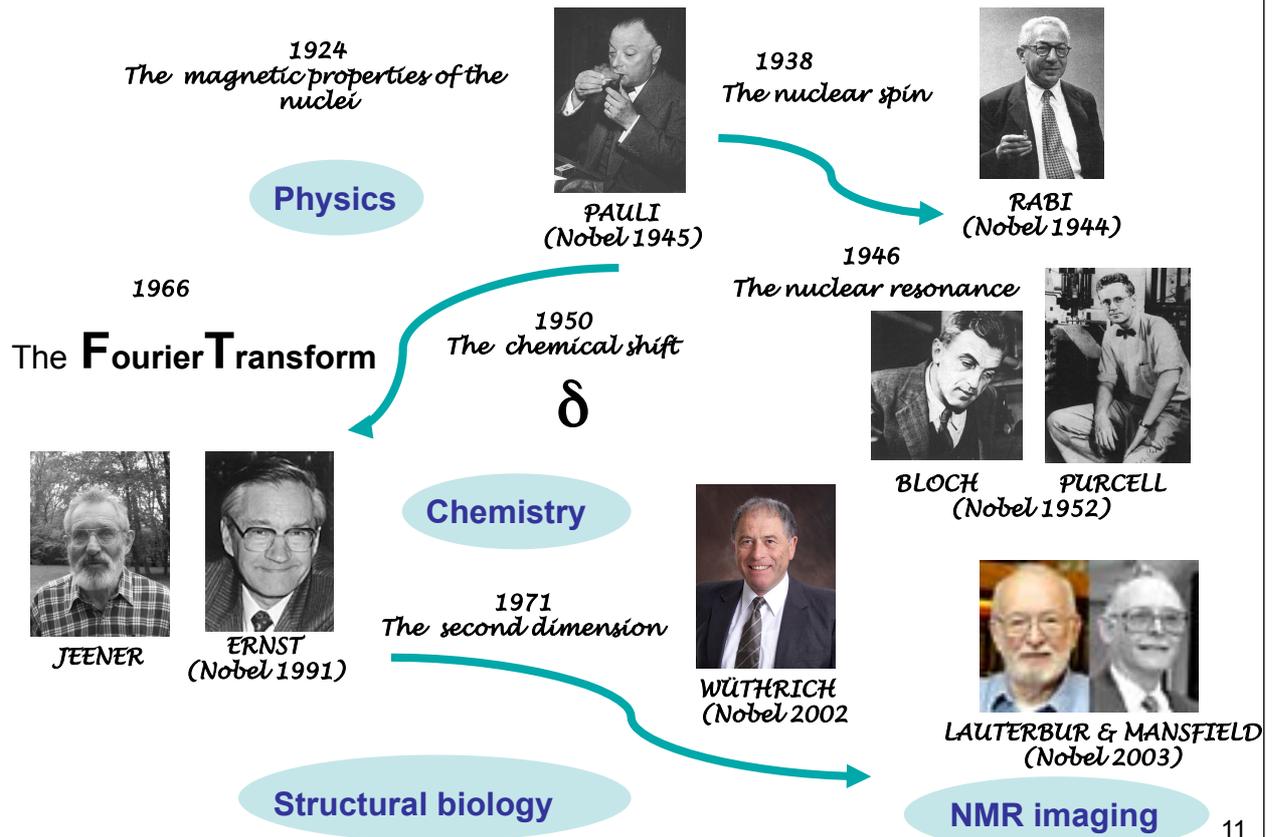
9

## 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  $^{13}\text{C}$  (Lauterbur)
- 1965 Premier spectre  $^{13}\text{C}$  découplé du  $^1\text{H}$
- 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

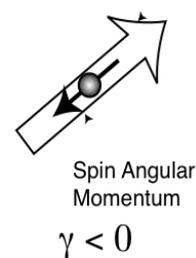
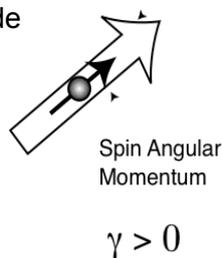
nb de masse A	n° atomique Z	nb de spin I	exemples
pair	pair	<b>I = 0</b>	<sup>12</sup> C, <sup>16</sup> O
pair	impair	<b>I = entier</b>	<sup>2</sup> H, <sup>14</sup> N
impair	pair/impair	<b>I = (2n+1)/2</b>	<sup>1</sup> H, <sup>13</sup> C, <sup>31</sup> P, <sup>19</sup> F, <sup>15</sup> N, <sup>17</sup> O...

En RMN on s'intéresse aux noyaux de spin ≠ 0.

Moment magnétique nucléaire  $\mu$  et moment de spin S sont liés:

$$\vec{\mu} = \gamma \vec{S}$$

$\gamma$  = rapport gyromagnétique, caractéristique de chaque noyau



13

## Propriétés de quelques noyaux

Isotope	Spin	Quadrupol Moment	Nat. Abundance %	NMR Frequency*	rel. Sens.	abs. Sens. (1H = 1)
1 H	1/2		99.985	300.000	1.00	1.00
2 H	1	0.0028	0.015	46.051	9.65E-03	1.45E-06
3 H	1/2		0	319.990	1.21	0
3 He	1/2		0.00013	228.533	0.44	5.72E-07
6 Li	1	-0.0008	7.42	44.146	8.50E-03	6.31E-04
7 Li	3/2	-0.04	92.58	116.590	0.29	0.272
9 Be	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

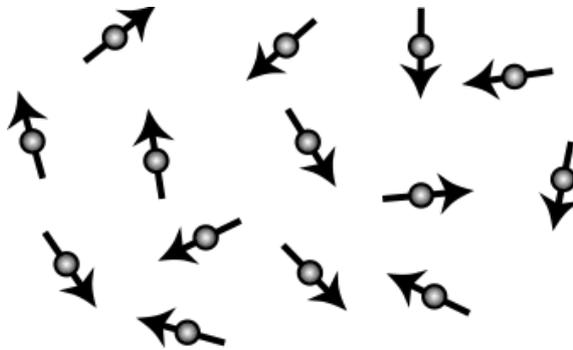
\*  $B_0 = 7 \text{ T}$

14

## 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.

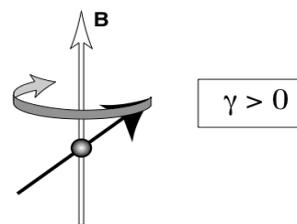


**Attention par la suite à différencier le comportement d'UN spin et celui d'une POPULATION de spins.**

## Champ magnétique / effet Zeeman

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

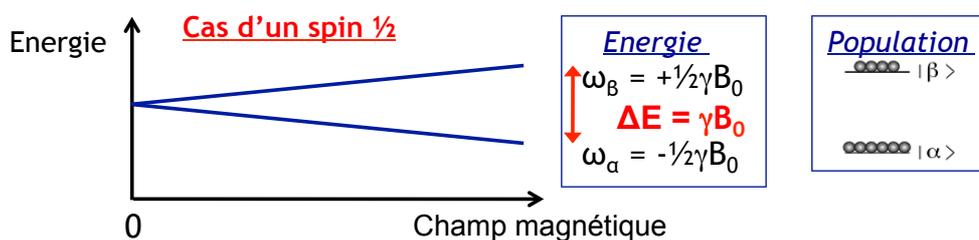
fréquence de Larmor  $\nu_0 = \frac{-\gamma B_0}{2\pi}$



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

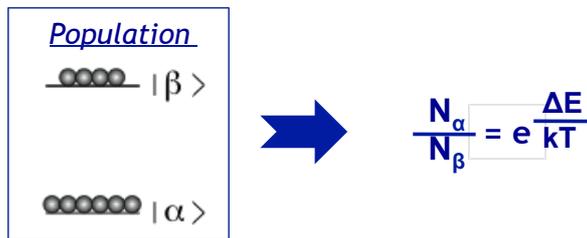
→ un spin  $\frac{1}{2}$  occupe 2 niveaux énergétiques sous l'effet d'un champ magnétique

→ **effet Zeeman** = interaction entre le champ magnétique et le spin



## 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)

$$\Delta E = \gamma B_0 \rightarrow \Delta E / 2\pi = -\nu_0$$

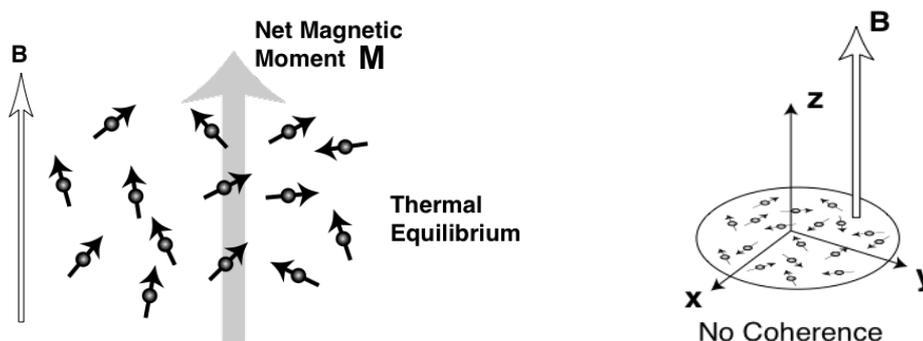
différence entre les niveaux d'énergie  $\leftrightarrow$  fréquence de Larmor

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)

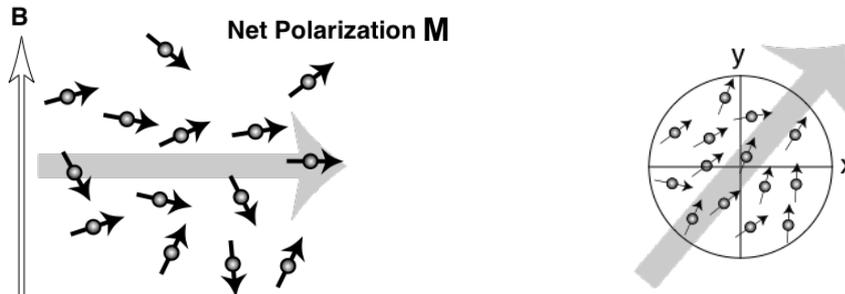
Le moment magnétique total est appelé aimantation macroscopique

18

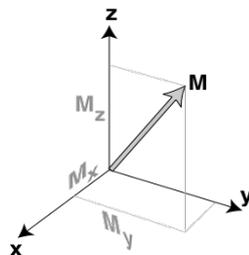
## Résonance: perturbation de l'équilibre

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  $\nu_1$ ) 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).

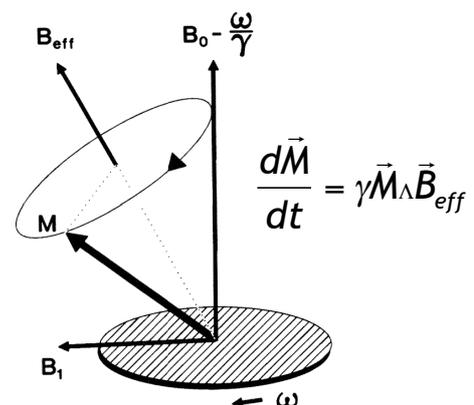
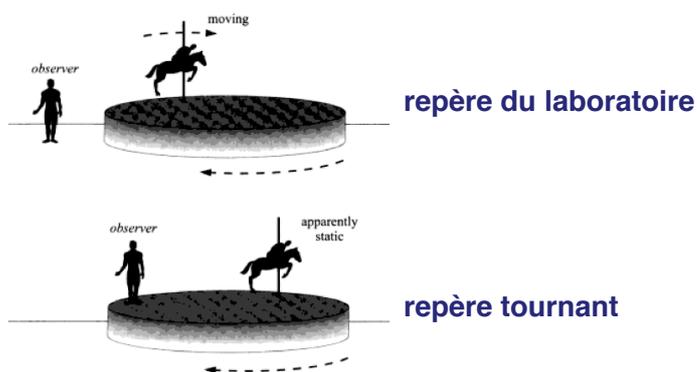


L'aimantation macroscopique est constituée  
 - d'une composante longitudinale  $M_z$   
 - d'une composante transversale  $M_{xy}$

19

## Le repère tournant

On considère un repère  $Ox'y'z$  tournant autour de  $Oz$  à la vitesse  $\omega_1$  :  **$B_1$  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)

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

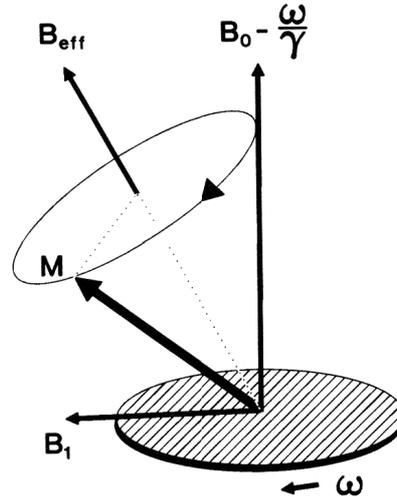
$B_0$  Champ magnétique statique  
 $M$  Aimantation macroscopique  
 $B_1$  Champ de radiofréquence

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

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

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

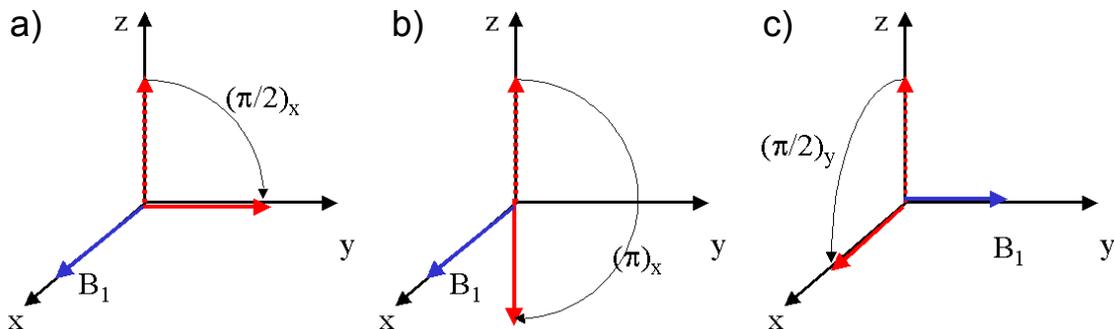
$$\frac{d}{dt} M_z = -\gamma (B_x M_y - B_y M_x)$$



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  $\tau$ .  $M$  bascule alors d'un angle  $\theta = \gamma B_0 \tau$  où  $\tau$  est la durée de l'excitation RF. On parle d'impulsion d'angle  $\theta$ .



a) Impulsion de  $90^\circ_x$  ; b) impulsion de  $180^\circ_x$  ; c) Impulsion de  $90^\circ_y$ .

$P_{90}$ : 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

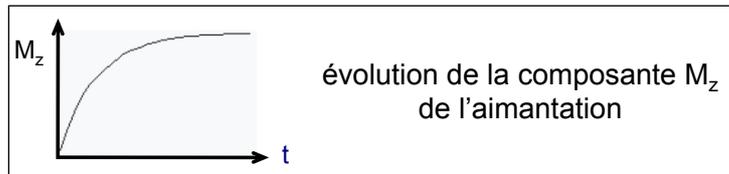
# Retour à l'équilibre de l'aimantation nucléaire

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 :

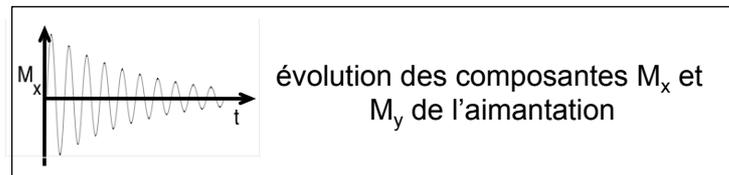
- le temps de relaxation longitudinal (ou spin-réseau)  $T_1$

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



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

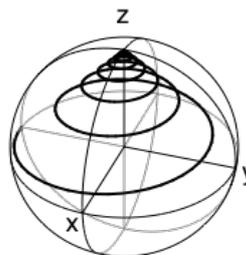
$$dM_{x,y}/dt = -M_{x,y}(t)/T_2$$



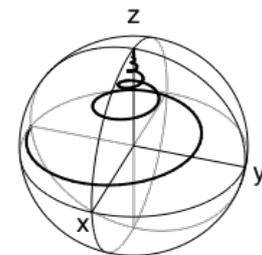
23

## Relaxation T1 et T2

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.



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



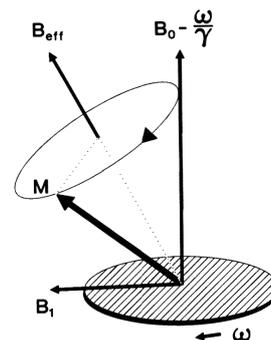
$$T_1 = 2 \text{ s} \quad T_2 = 1 \text{ s}$$

### Les équations de Bloch (avec la relaxation)

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

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

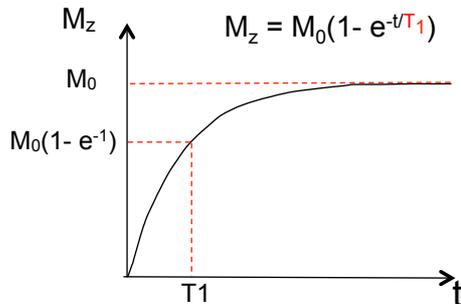
$$\frac{d}{dt} M_z = -\omega_1 M_y - \frac{1}{T_1} (M_z - M_0)$$



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

rg: il faut attendre  $5xT_1$  pour que l'aimantation  $M_0$  soit restaurée à 99%.

25

## Relaxation transversale T2

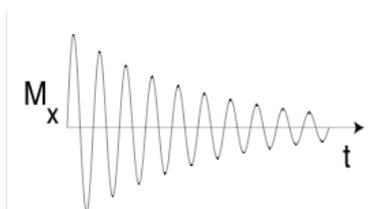
Les spins ne précessent pas tous exactement à la même vitesse: après leur excitation par  $B_1$  (qui a apporté de la cohérence au système) ils se désynchronisent. Ce déphasage est progressif et irréversible.

La relaxation T2 est due:

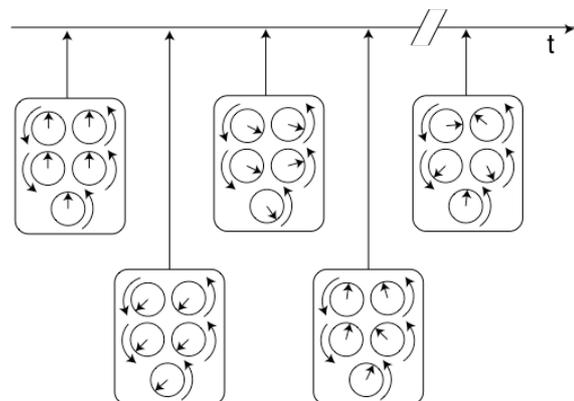
- à des **inhomogénéités de  $B_0$**
- à des **interactions moléculaires**

En fait on parle de  $T_2^*$  qui prend en compte ces 2 composantes:

$$\frac{1}{T_2^*} = \frac{1}{T_2} + \frac{1}{T_{2(\Delta B_0)}}$$



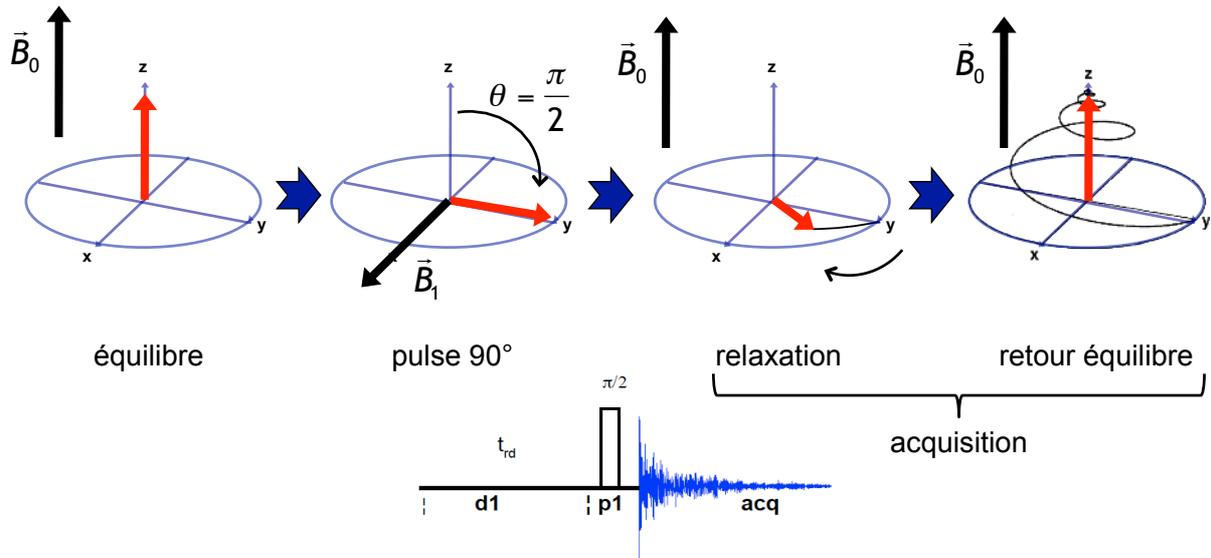
$$M_x = e^{-t/T_2^*} \cos(\omega - \omega_0)t$$



**rg**: on a toujours  $T_2 < T_1$

26

## On récapitule: l'expérience 1D

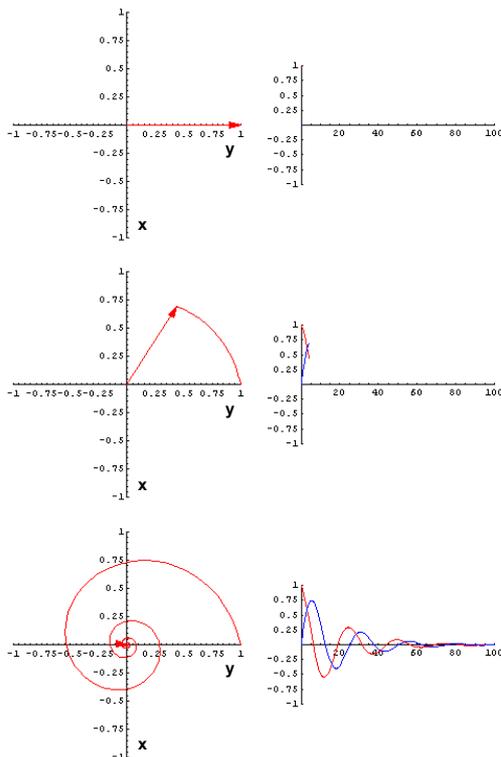


Sous l'effet du champ  $B_1$  (excitation) à la fréquence de Larmor (fréquence de résonance), l'aimantation tourne autour de la direction de  $B_1$ .

Après l'excitation, le système revient à l'équilibre ( $M$  revient s'aligner sur  $z$ ) en induisant un champ RF de fréquence  $\nu_i$ , 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.

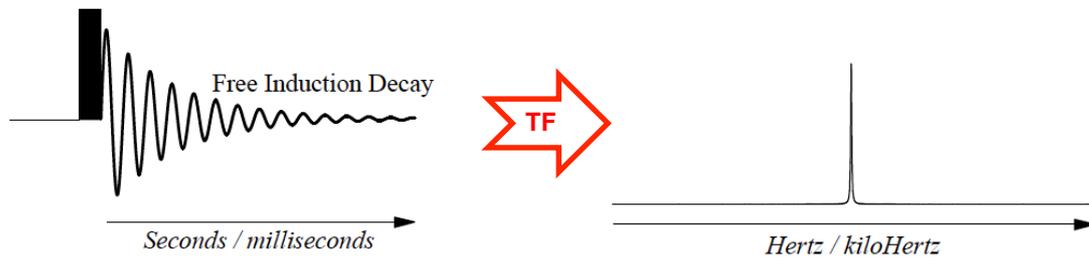
En rouge, enregistrement selon  $y$   
En bleu, enregistrement selon  $x$

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).



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

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

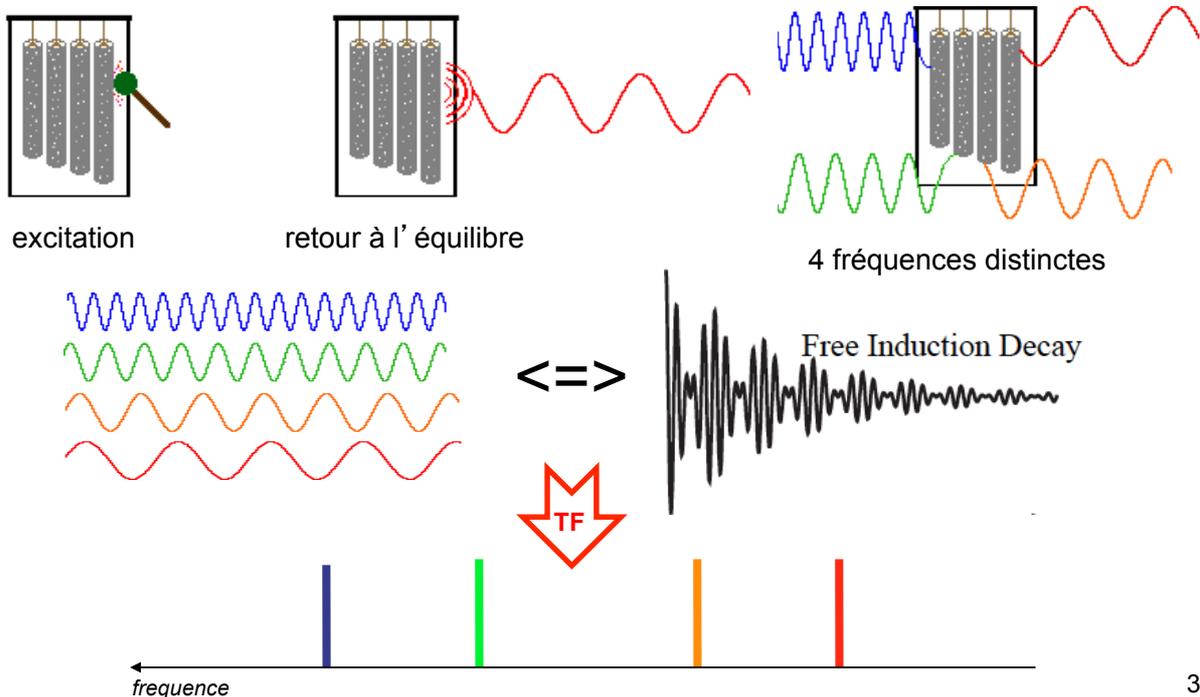
$$\text{Re}[f(\omega)] = \int_{-\infty}^{\infty} f(t) \cos \omega t dt$$

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

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.

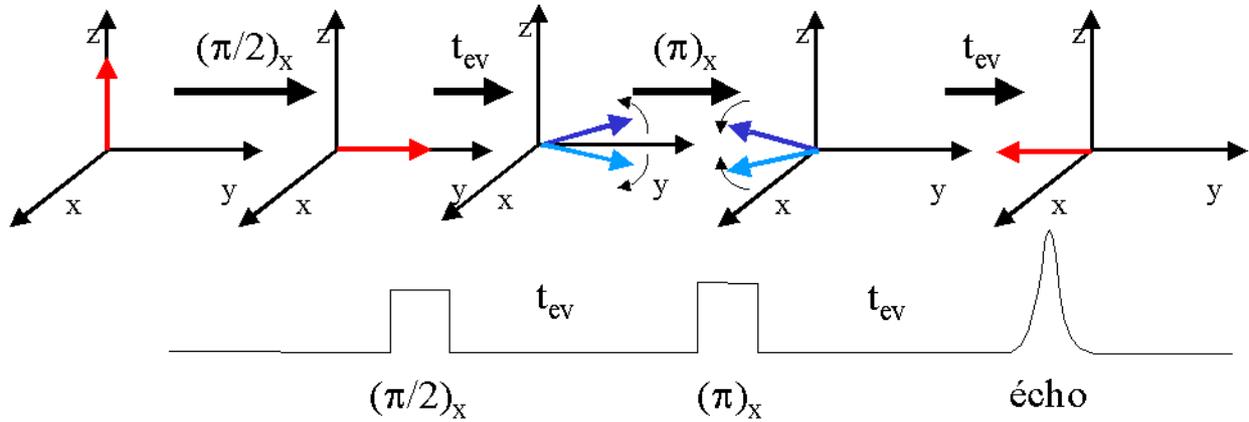


30

# Un aperçu de RMN multi impulsienne

## Séquence d'écho de spin

Refocalisation de l'aimantation de composantes  $\nu_i, \nu_j$  ( $\nu_i \neq \nu_j$ )



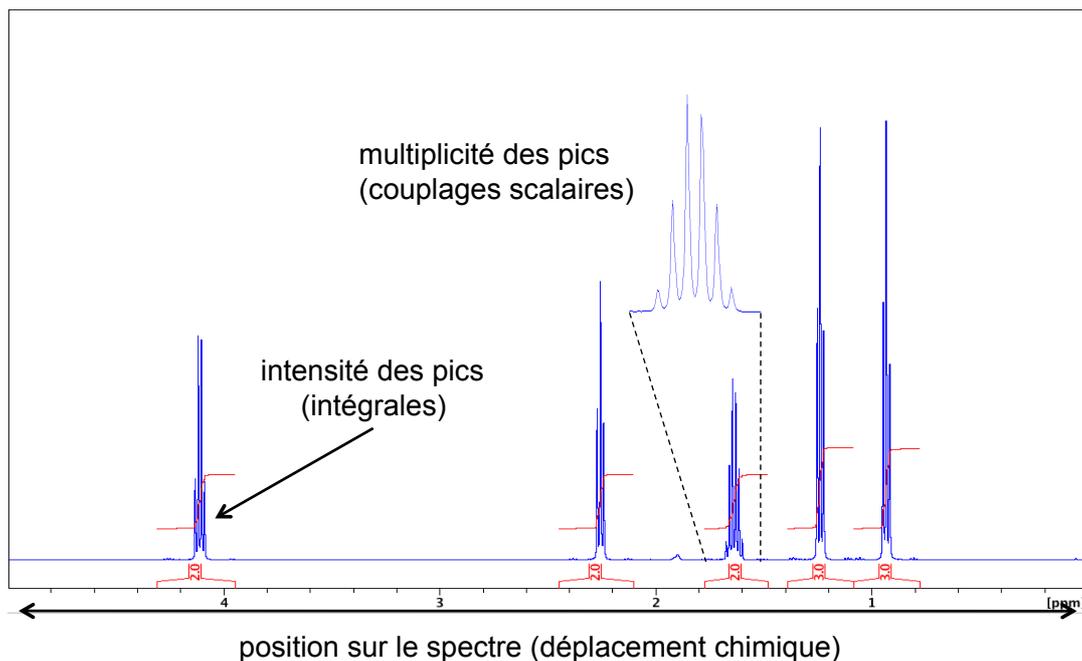
31

## Spectre RMN

- Intensité/intégrales
- Déplacement chimique
- Couplages scalaires

32

## Spectre RMN: interprétation

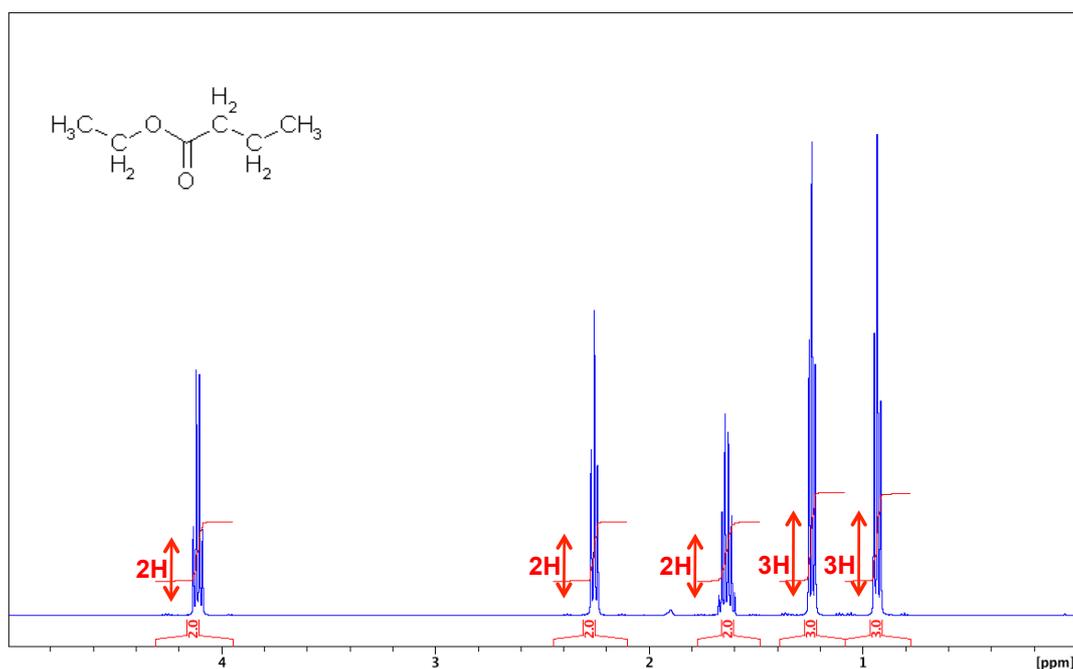


D'autres paramètres (temps de relaxation...) apportent des informations supplémentaires sur la structure, la dynamique... des molécules étudiées.

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

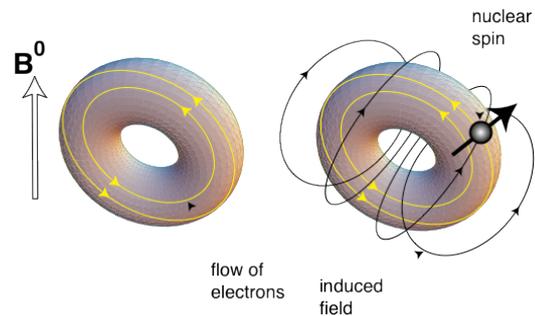
Le champ magnétique  $B_0$  induit des courants dans les nuages électroniques autour des noyau. Ces courants induisent en réponse des champs magnétiques locaux  $B^{\text{induit}}$ .

Les noyaux  $i$  « ressentent » un champ local

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

$B_i^{\text{induit}} = \sigma_i B_0$  où  $\sigma_i$  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.

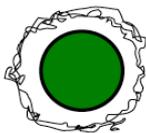
$$\nu_i = \frac{\gamma(1 - \sigma_i)B_0}{2\pi}$$

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

Rq: pour éviter de manipuler des valeurs élevées (de l'ordre du MHz) le déplacement chimique  $\delta$  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  $\delta$  en ppm (parties par million).

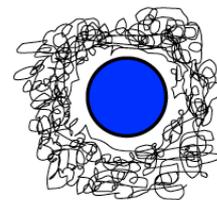
# Déplacement chimique

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

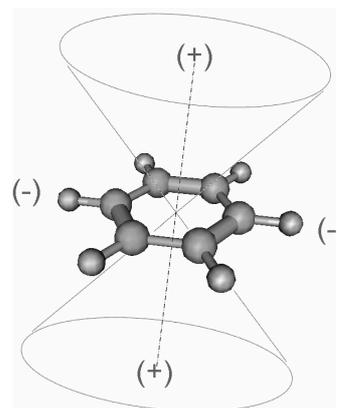
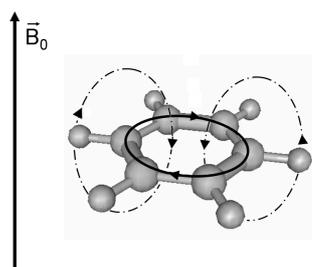


**RCOOH**  
- densité électronique faible  
- déblindage

**RCH<sub>3</sub>**  
- densité électronique élevée  
- blindage



Effet de courant de cycle: exemple du benzène

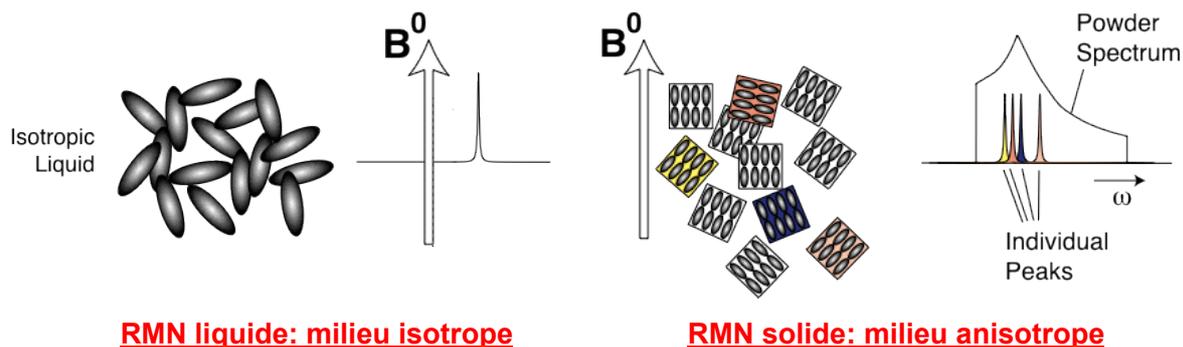


## Isotropie/Anisotropie

La distribution électronique étant anisotrope au niveau des liaisons chimiques,  $B_1^{loc}$ , et donc  $\delta_i$ , 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 moyenné 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.



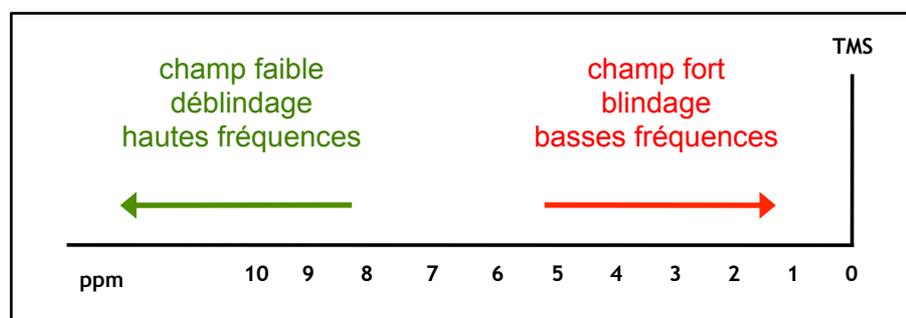
## Des ppm aux Hz

### 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...

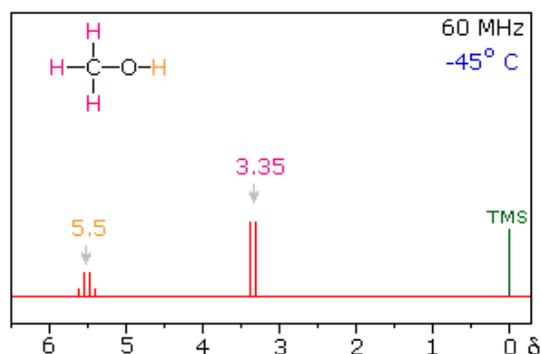
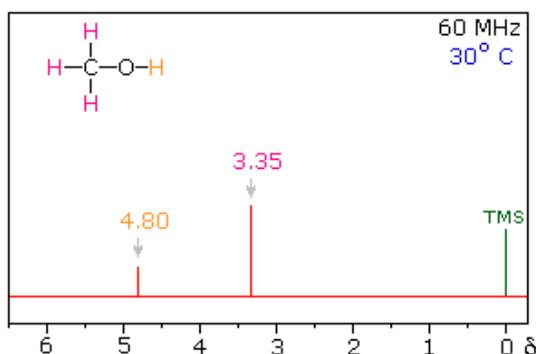


200MHz: 500MHz: 1GHz:	10ppm: 2000Hz 10ppm: 5000Hz 10ppm: 10000Hz
-----------------------------	--

# Déplacement chimique $^1\text{H}$

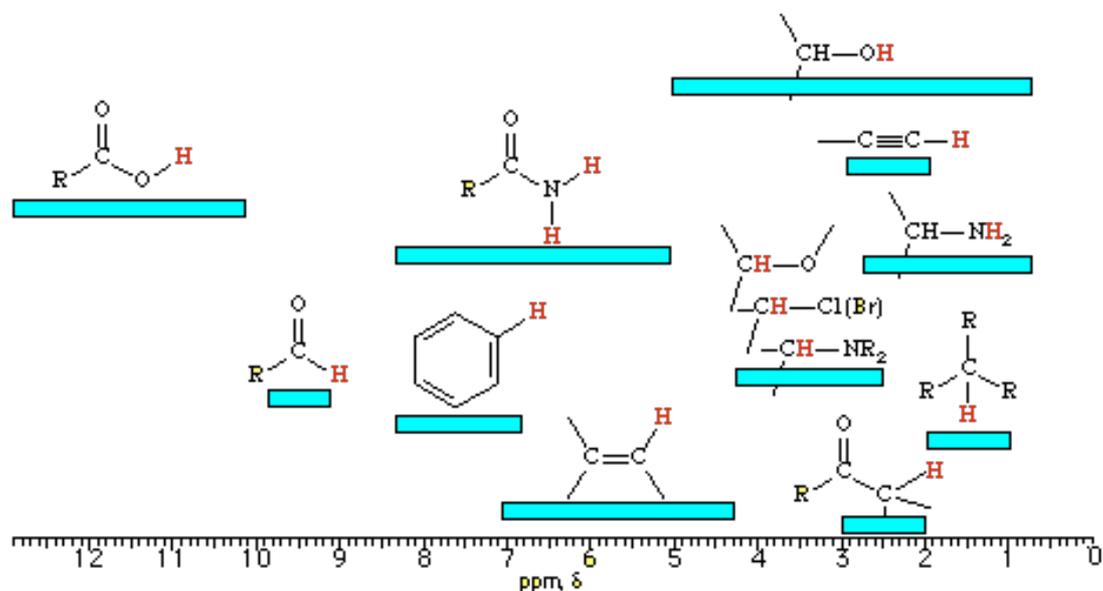
Le déplacement chimique  $\delta(^1\text{H})$  dépend de nombreux facteurs :

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



39

# Déplacement chimique $^1\text{H}$

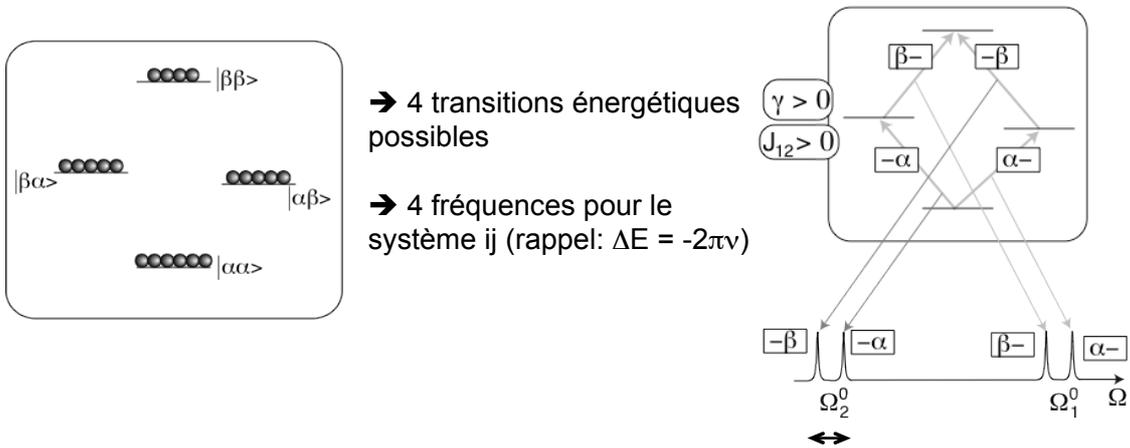


40

# 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  $\alpha$  ou  $\beta$ . 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**

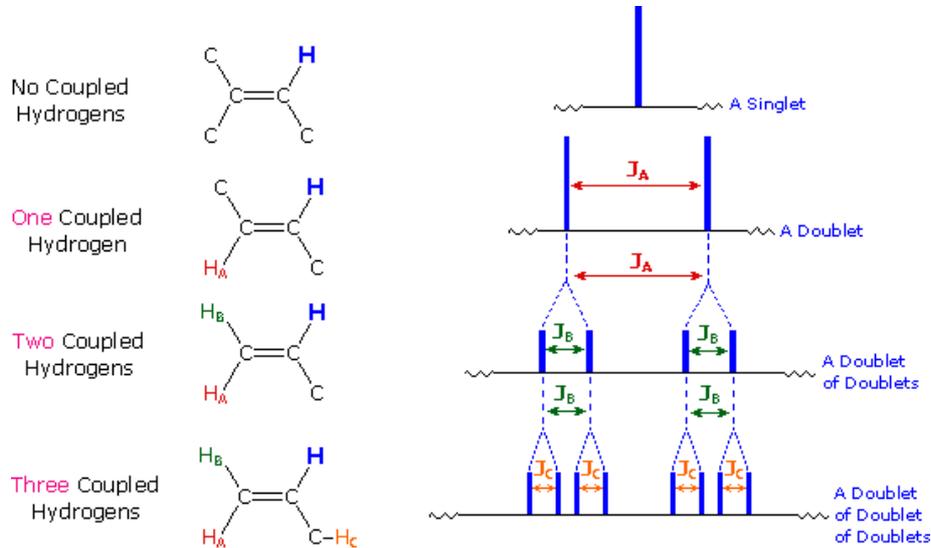
No Coupled Hydrogens			1	0 voisin: <b>singlet</b>
One Coupled Hydrogen			11	1 voisin: <b>doublet</b>
Two Coupled Hydrogens			121	2 voisins: <b>triplet</b>
Three Coupled Hydrogens			1331	3 voisins: <b>quadruplet</b>
			...	...

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

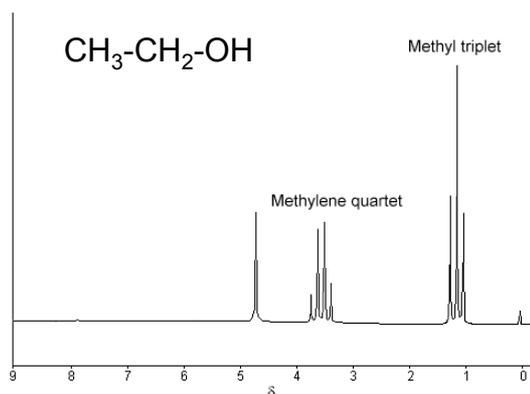
La notation de Pople permet de décrire les systèmes de spins:

- 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:



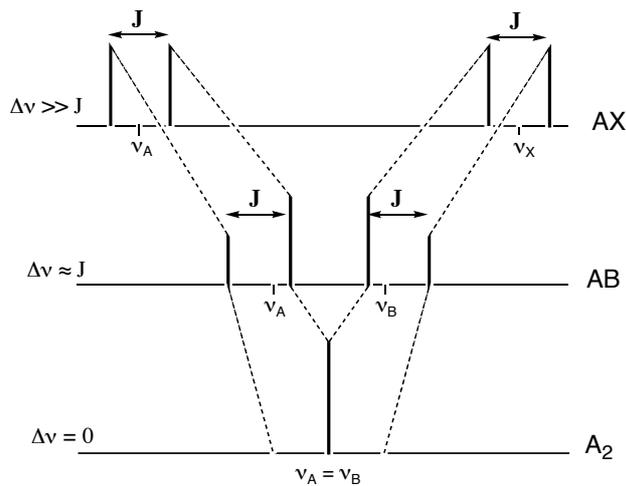
$\Delta\nu = 2,4\text{ppm}$   
 $J = 7\text{Hz}$

à 500MHz:  $\Delta\nu/J = 171$

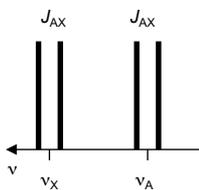
→ système  $\text{A}_3\text{X}_2$

44

# Couplages faibles / Couplages forts



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



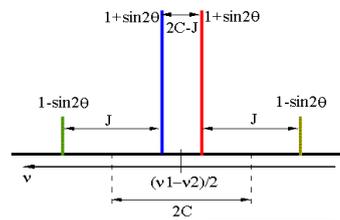
$$E_{\alpha\beta} - E_{\alpha\alpha} = \nu_2 - \frac{J_{12}}{2}$$

$$E_{\beta\alpha} - E_{\alpha\alpha} = \nu_1 - \frac{J_{12}}{2}$$

$$E_{\beta\beta} - E_{\alpha\beta} = \nu_1 + \frac{J_{12}}{2}$$

$$E_{\beta\beta} - E_{\beta\alpha} = \nu_2 + \frac{J_{12}}{2}$$

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



$$E_2 - E_{|\alpha\alpha\rangle} = \frac{1}{2}(\nu_1 + \nu_2) + \frac{\sqrt{(\nu_1 - \nu_2)^2 + J_{12}^2}}{2} - \frac{J_{12}}{2}$$

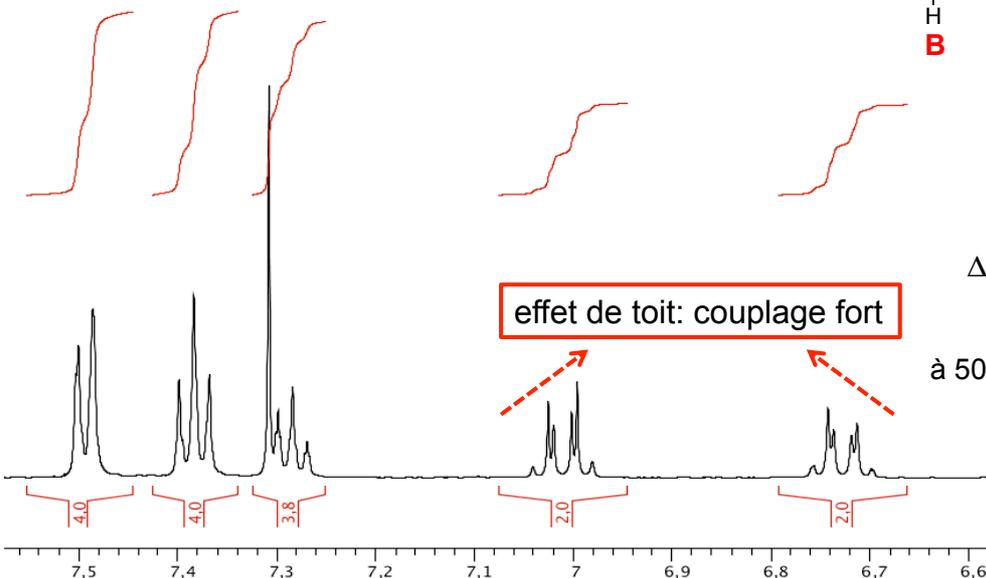
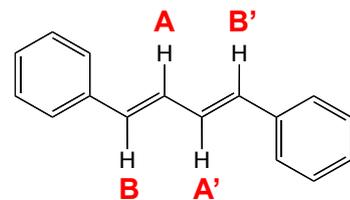
$$E_3 - E_{|\alpha\alpha\rangle} = \frac{1}{2}(\nu_1 + \nu_2) - \frac{\sqrt{(\nu_1 - \nu_2)^2 + J_{12}^2}}{2} - \frac{J_{12}}{2}$$

$$E_{|\beta\beta\rangle} - E_2 = \frac{1}{2}(\nu_1 + \nu_2) - \frac{\sqrt{(\nu_1 - \nu_2)^2 + J_{12}^2}}{2} + \frac{J_{12}}{2}$$

$$E_{|\beta\beta\rangle} - E_3 = \frac{1}{2}(\nu_1 + \nu_2) + \frac{\sqrt{(\nu_1 - \nu_2)^2 + J_{12}^2}}{2} + \frac{J_{12}}{2}$$

# molécule C16H14 TP

Système AA' BB' :  $J_{AB} \neq J_{A'B'} \neq J_{AB'} \neq J_{A'B}$   
 Complicé par la présence de  $J_{AA'}$  et  $J_{BB'}$   
 Comment expliquer la multiplicité des signaux?

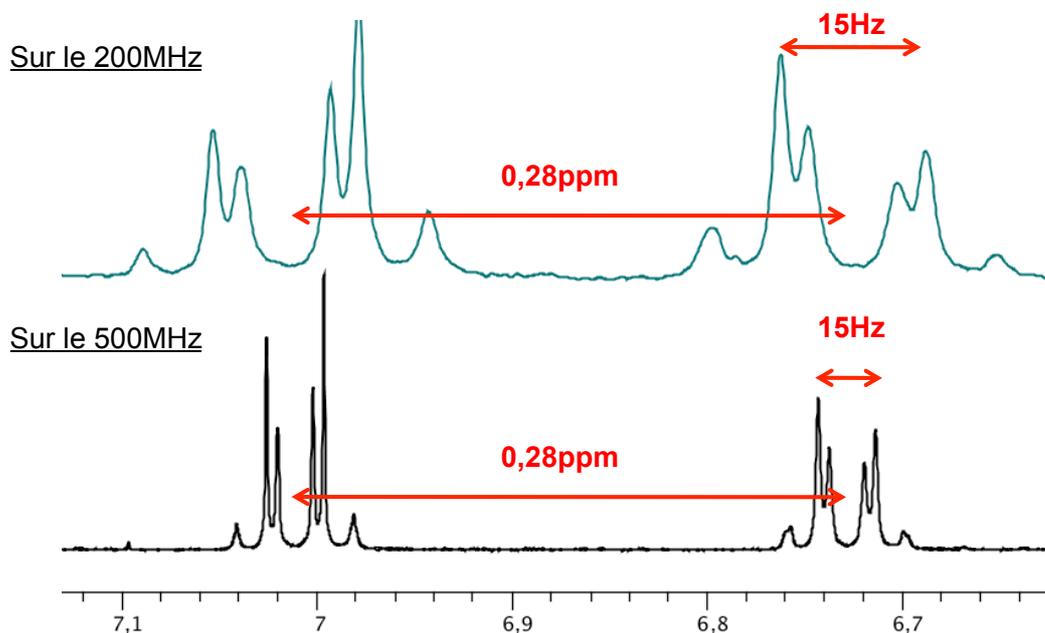


$\Delta\nu = 0,28\text{ppm}$   
 $J \approx 15\text{Hz}$

à 500MHz:  $\Delta\nu/J \approx 9$

## 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!!!

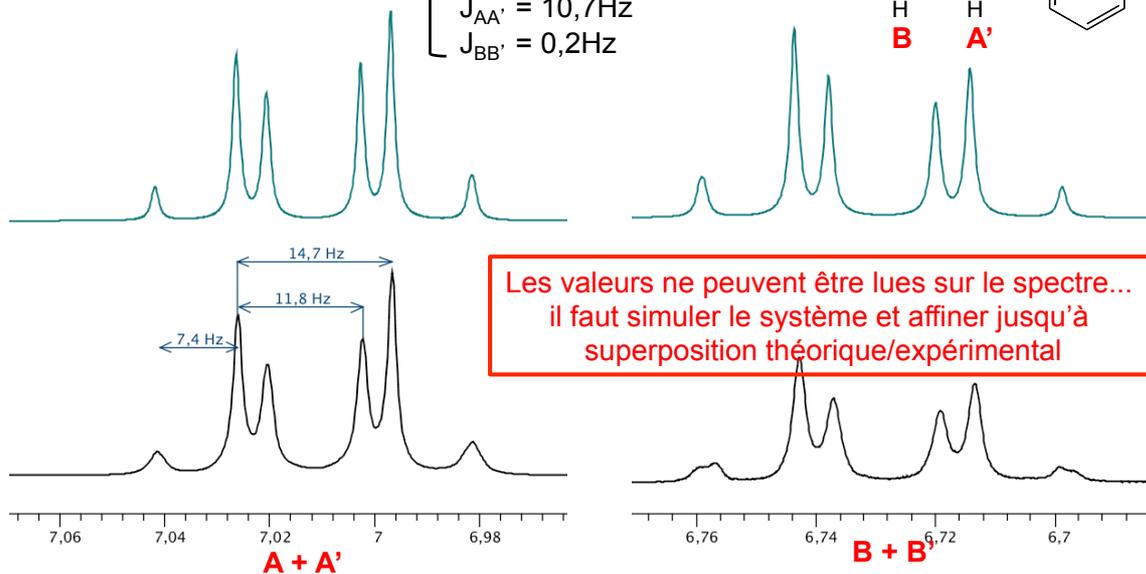
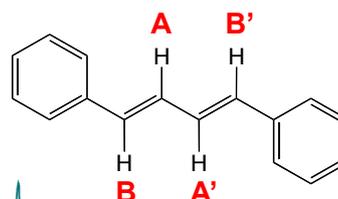


47

## Simulation de spectre

Simulation de spectre avec

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

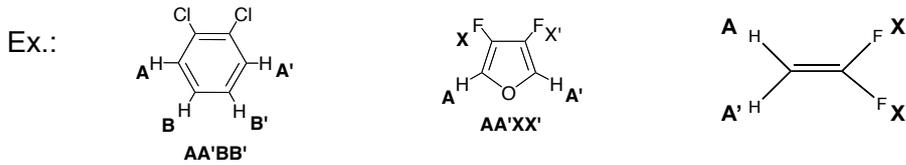


Rq: la simulation ne prend pas en compte le faible couplage entre  $BB'$  et les  $H_{ar}$  en ortho

48

# Equivalence chimique / Equivalence magnétique

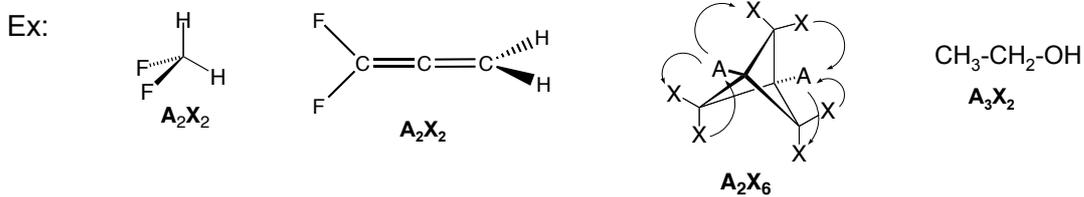
Des spins sont dits **chimiquement équivalents** s'ils possèdent le même environnement électronique : ils sont isochrones et ont même déplacement chimique  $\delta$ .



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  $A_2B_2$ ,  $A_3X_2$  ...

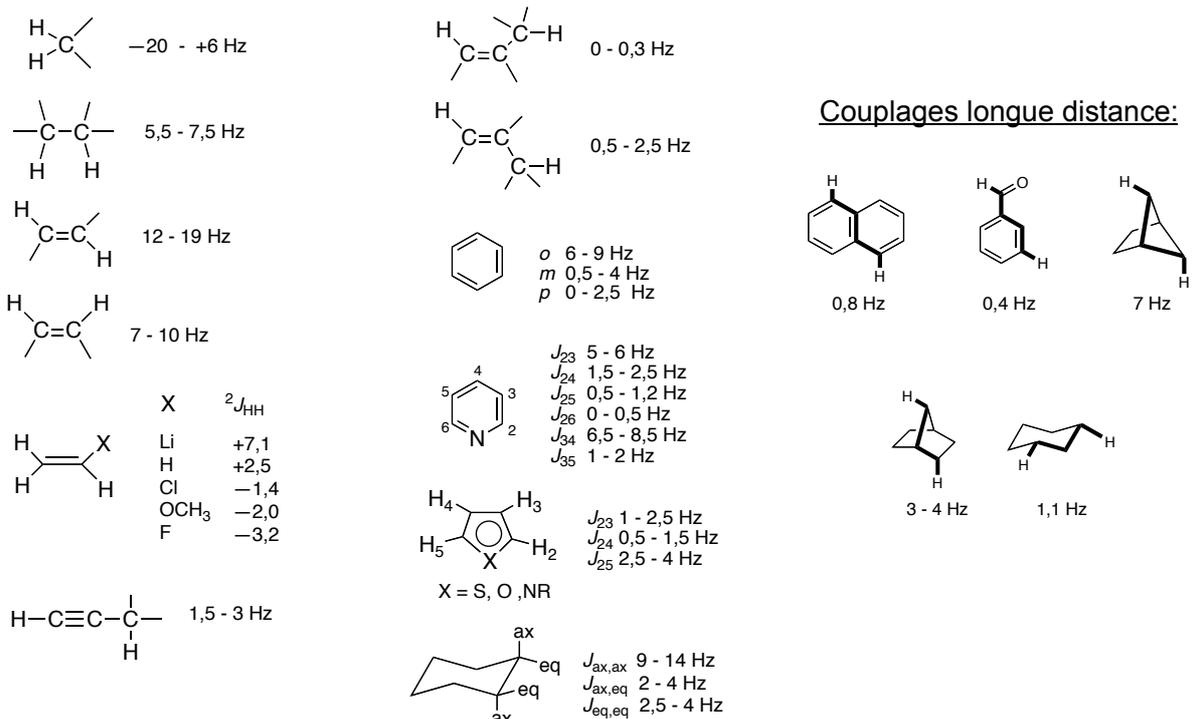
L'équivalence magnétique est plus courante que l'équivalence "seulement" chimique.



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

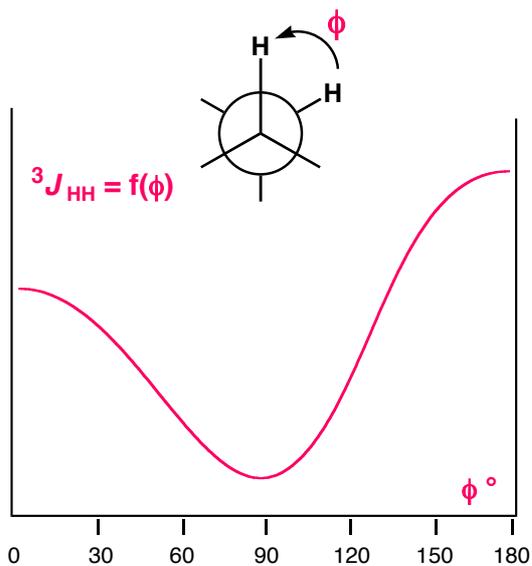
49

## Quelques valeurs de constantes $J_{HH}$



50

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

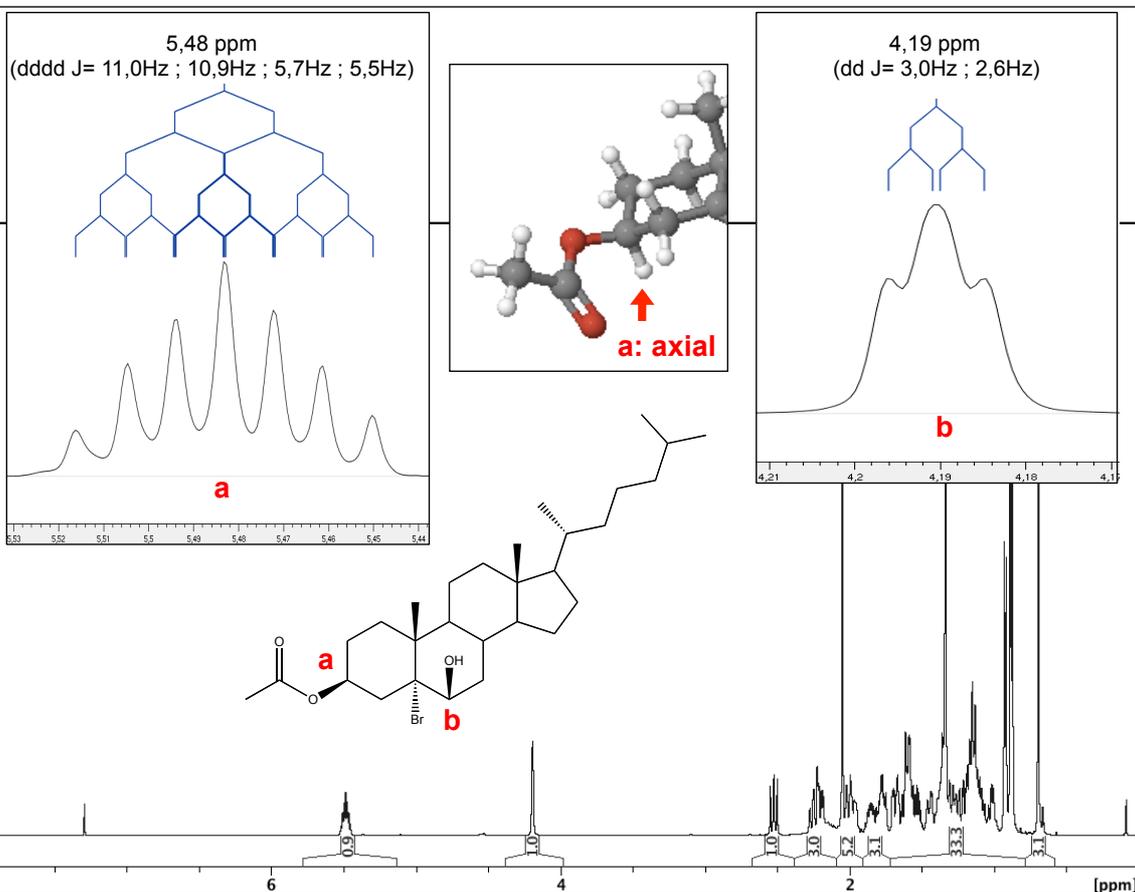
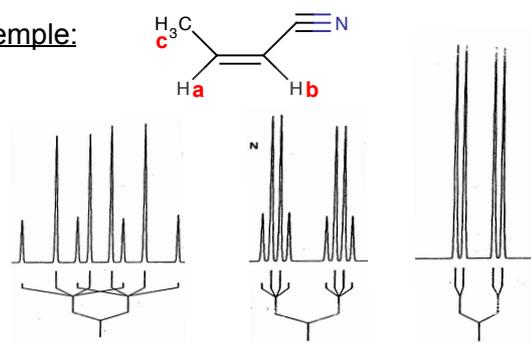


Quelques valeurs types des constantes de couplages  ${}^3J_{HH}$

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

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

exemple:



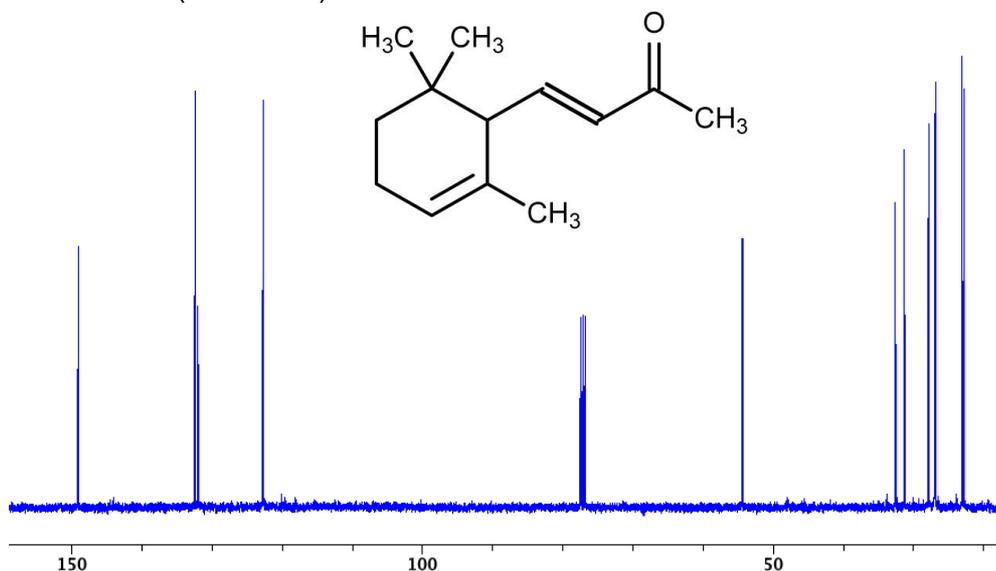
## RMN hétéronucléaire

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

53

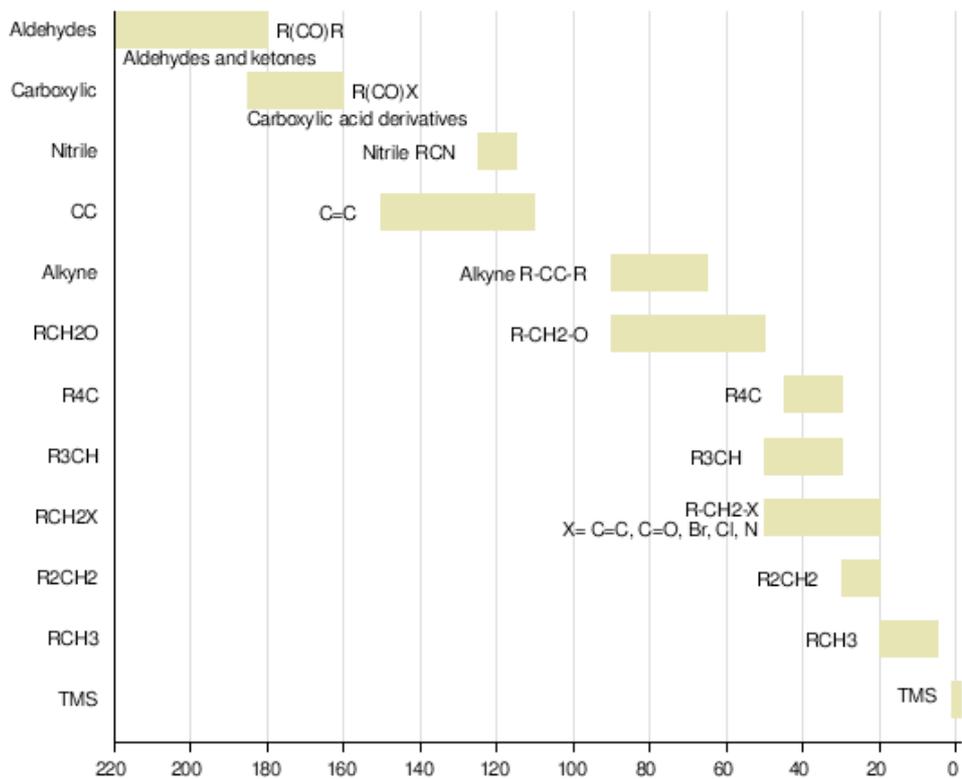
## RMN $^{13}\text{C}$

- 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)



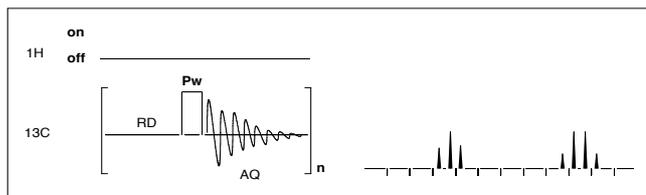
54

# Déplacement chimique $^{13}\text{C}$

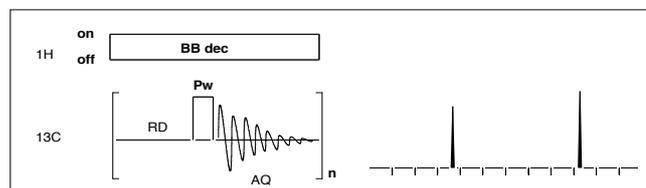


55

# Séquences usuelles employées en RMN $^{13}\text{C}$



Pas de découplage  $^1\text{H}$



Découplage large bande (BB decoupling)

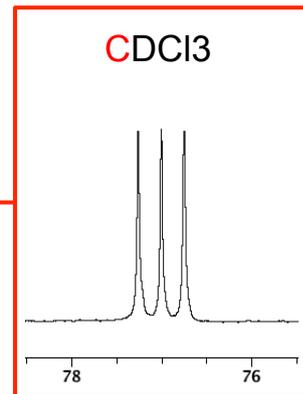
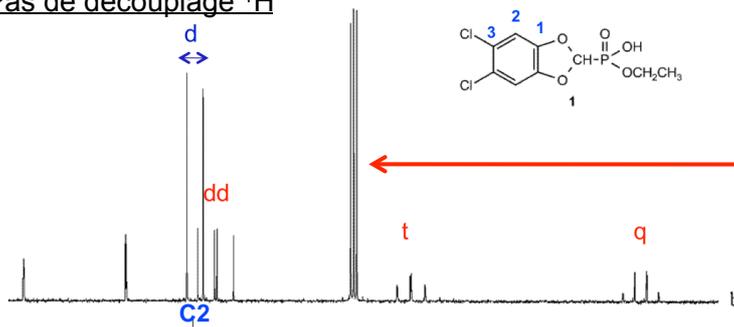
Le découplage consiste ici à irradier les protons par une onde continue  
 → transitions entre les niveaux d'énergie: les carbones ne « voient plus » les protons

+ séquences permettant une édition du spectre: jmod et dept

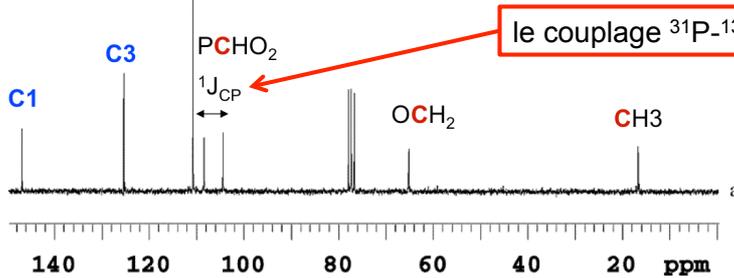
56

# Spectre $^{13}\text{C}$ couplé / découplé $^1\text{H}$

- Pas de découplage  $^1\text{H}$



- Découplage large bande (BB decoupling)



57

# Voit on le couplage $^{13}\text{C}$ sur un spectre $^1\text{H}$ ?

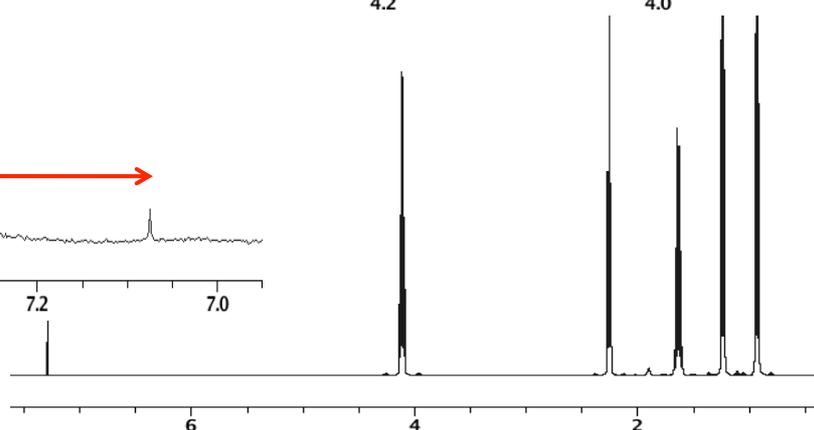
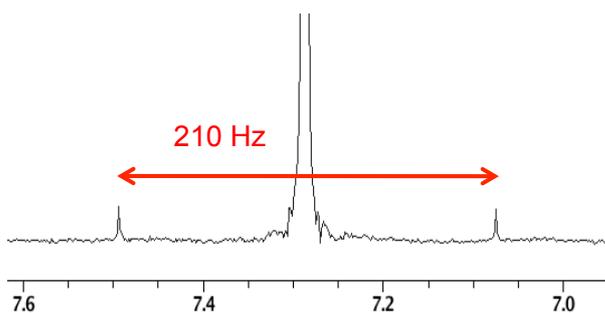
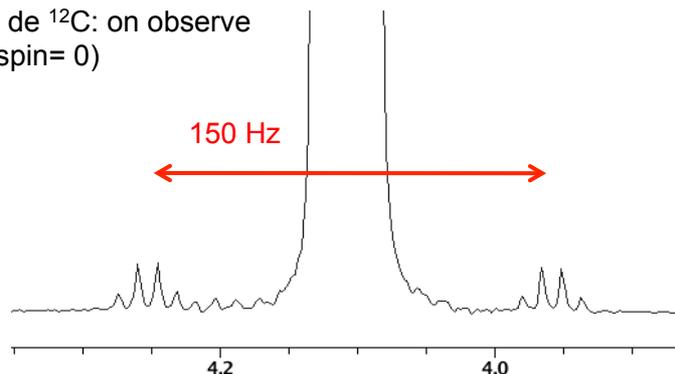
- en abondance naturelle, presque 99% de  $^{12}\text{C}$ : on observe les signaux des protons liés à des  $^{12}\text{C}$  (spin= 0)

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

- on parle de satellites  $^{13}\text{C}$

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

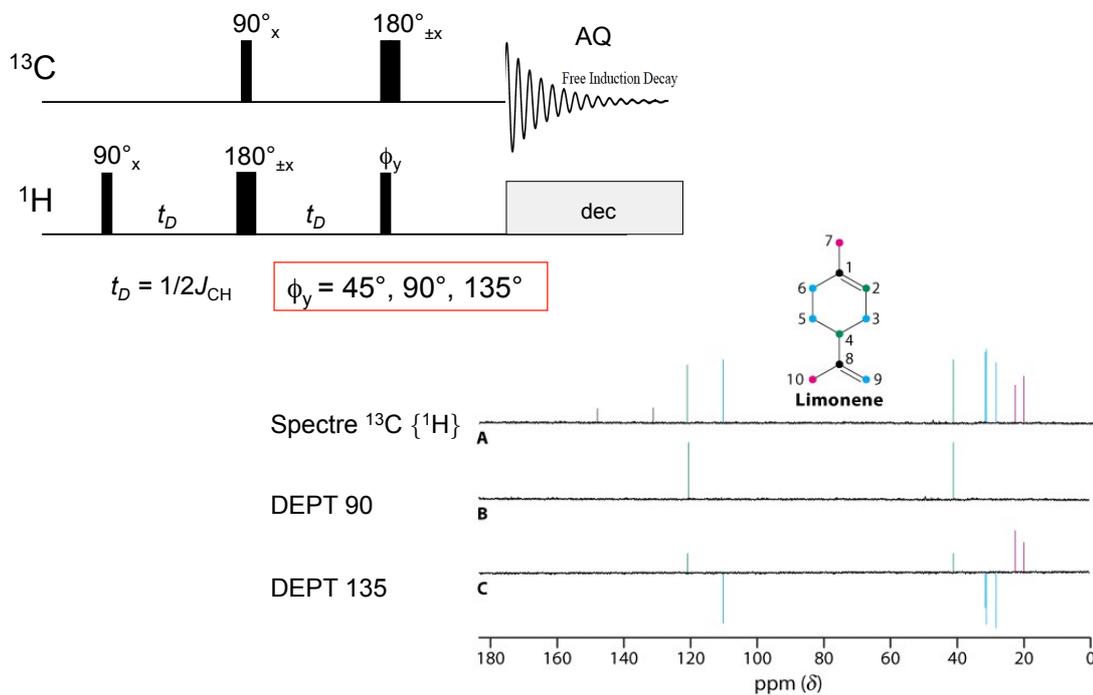
→ intensité = 0,55% du signal principal



58

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

## Distortionless Enhancement by Polarization Transfer (DEPT)

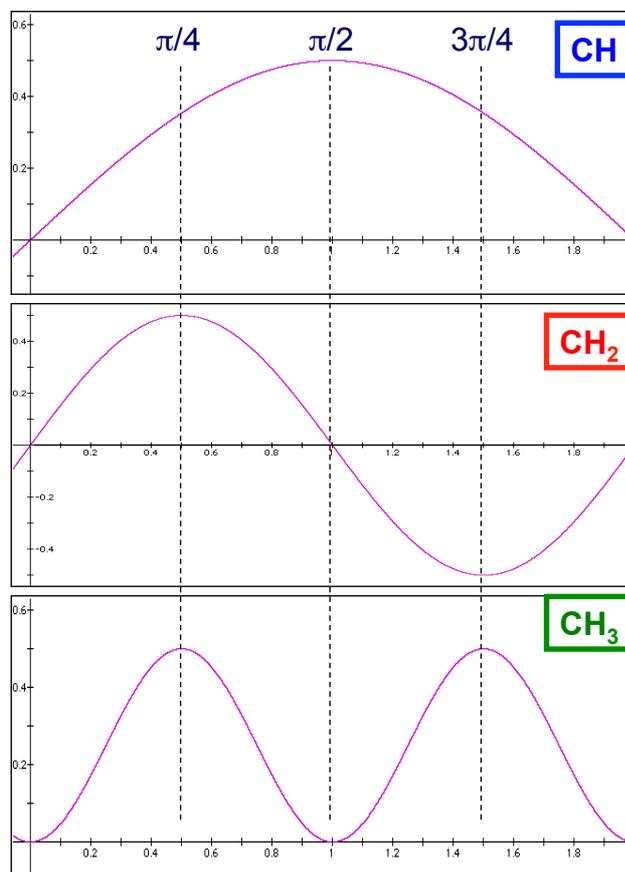


• Carbones - **CH**, l'intensité du signal est donnée par :  $\sin(\phi)$

• Carbones - **CH<sub>2</sub>**, l'intensité du signal est donnée par :  $2 \sin(\phi) \cos(\phi)$

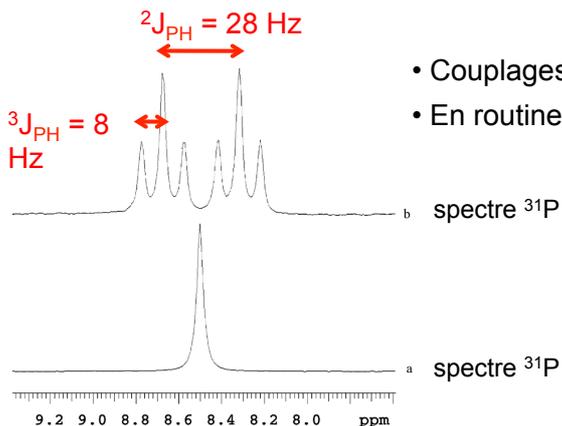
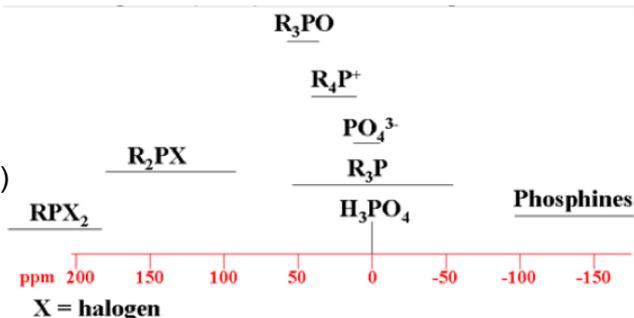
• Carbones - **CH<sub>3</sub>**, l'intensité du signal est donnée par :  $4 \sin(\phi) \cos^2(\phi)$

	dept 45	dept 90	dept 135
CH	+	+	+
CH <sub>2</sub>	+	0	-
CH <sub>3</sub>	+	0	+

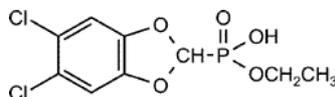


## RMN $^{31}\text{P}$

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



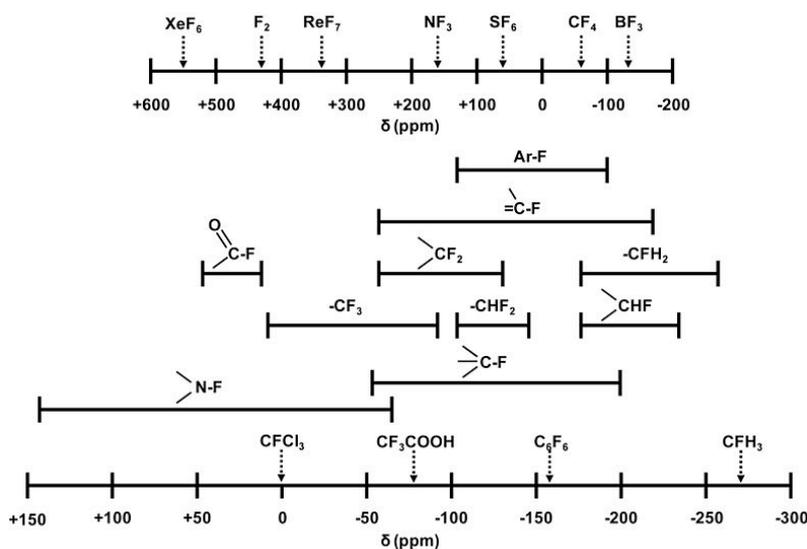
- Couplages  $^{31}\text{P}$ - $^1\text{H}$ ,  $^{31}\text{P}$ - $^{13}\text{C}$ ,  $^{31}\text{P}$ - $^{31}\text{P}$  non négligeables...
- En routine on enregistre des spectres  $^{31}\text{P}$  découplés  $^1\text{H}$



61

## RMN $^{19}\text{F}$

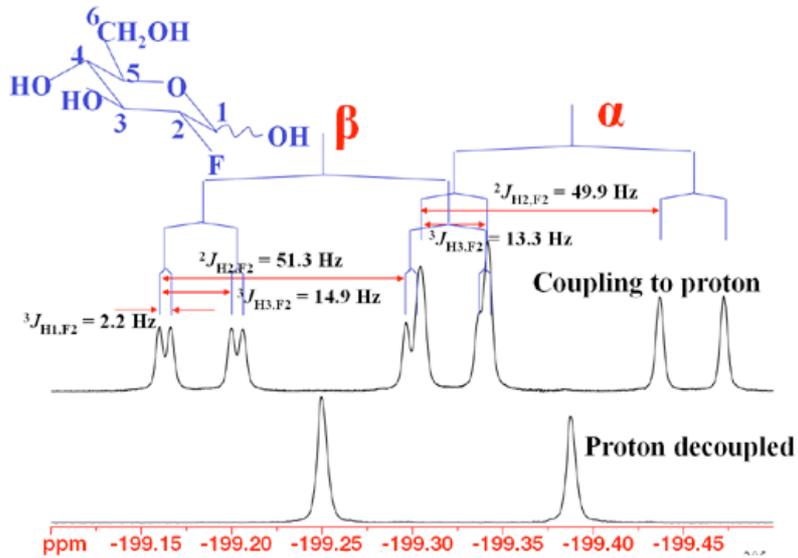
- Abondance naturelle : 100%
- Spin  $\frac{1}{2}$
- Excellente sensibilité (idem proton)
- Large gamme spectrale (environ 700ppm)
- Fréquence 282MHz (à 300MHz)



62

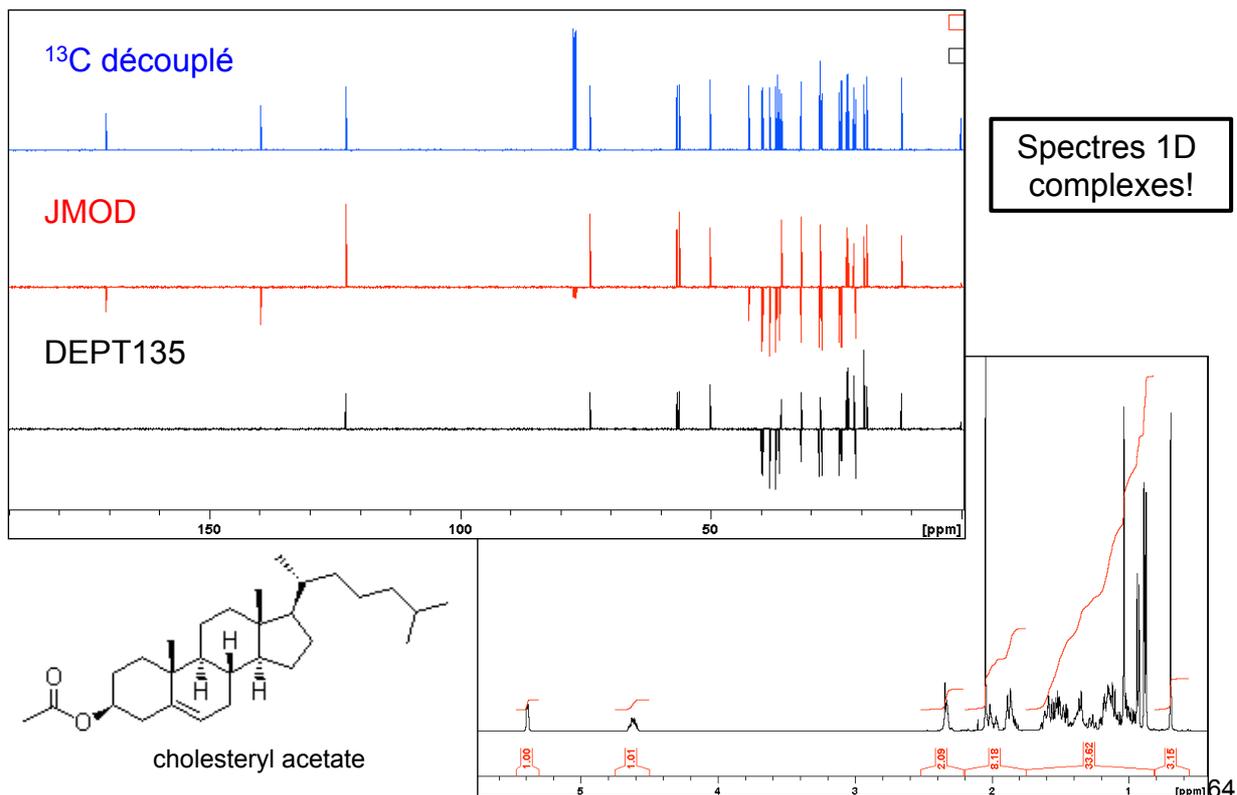
# RMN $^{19}\text{F}$

- 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  $^{19}\text{F}$  découplés  $^1\text{H}$



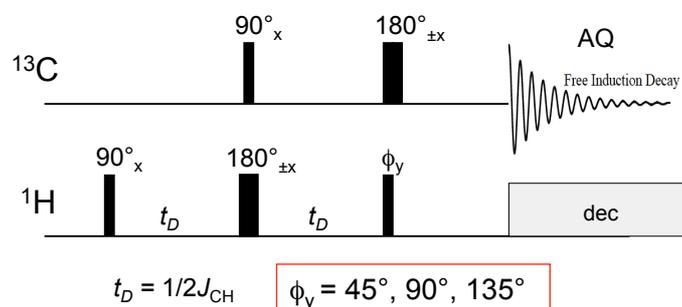
63

# Elucidation structurale



## 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

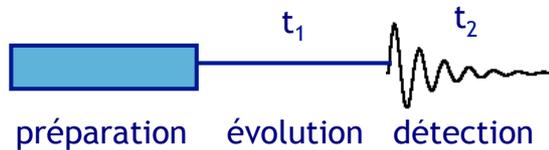
66

## Introduction à la RMN 2D

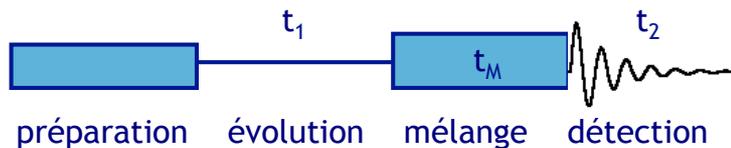
### RMN 1D

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  $t_2$ .

$t_1$  fixe



$t_1$  variable



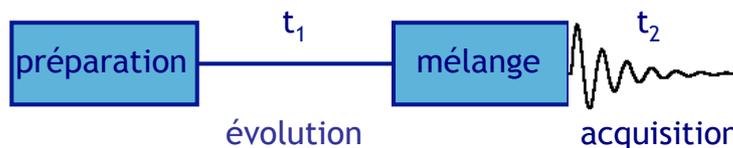
### RMN 2D

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.

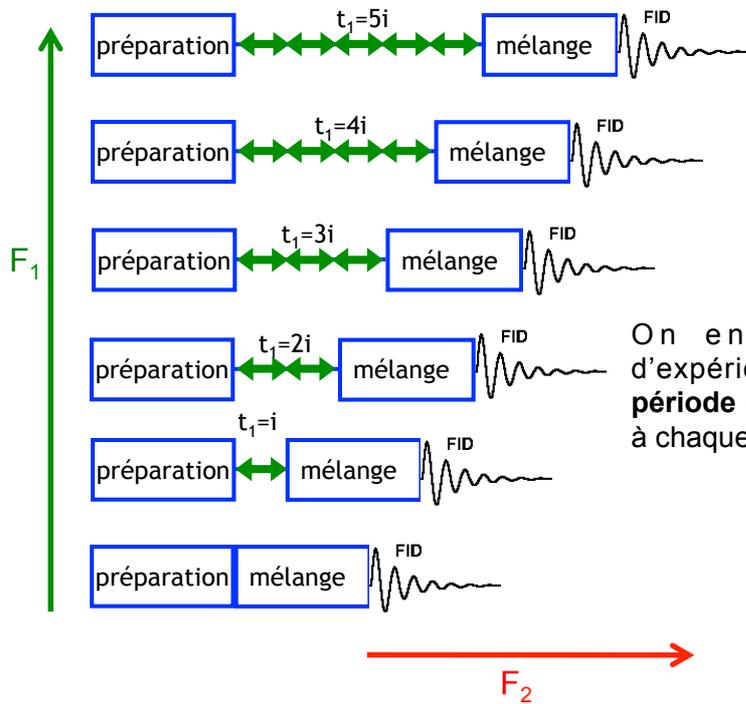


$t_1$  est un délai variable alors que  $t_2$  est le temps d'acquisition.

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

68

## Acquisition d'un spectre 2D

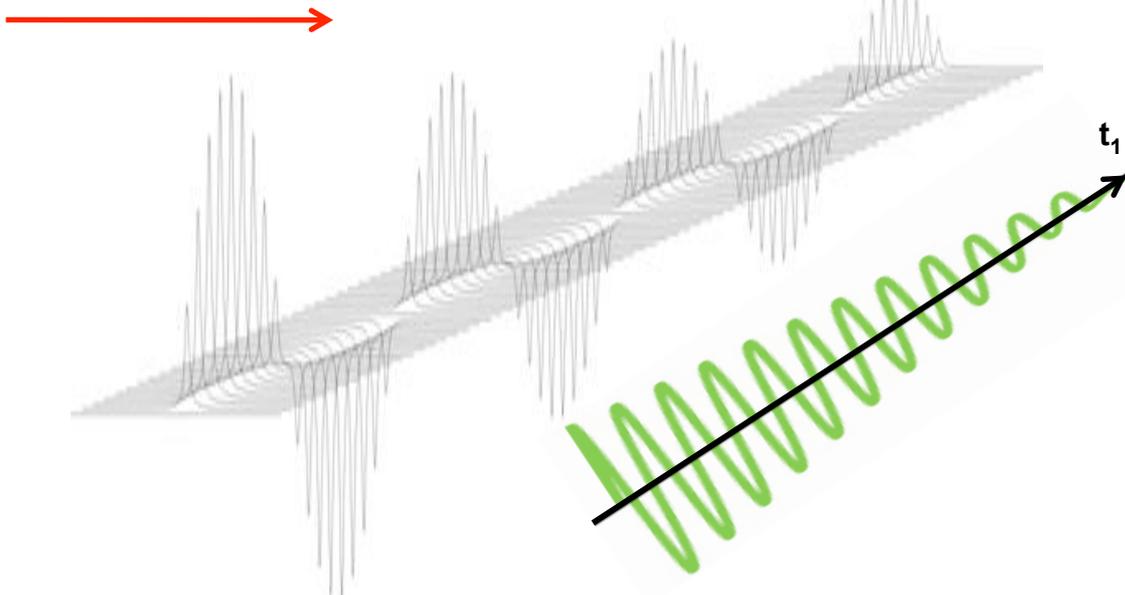


On enregistre un nombre  $k$  d'expériences, en **incrémentant la période d'évolution  $t_1$**  (incrément fixe  $i$ ) à chaque nouvelle acquisition.

69

## 2<sup>e</sup> dimension

1<sup>ère</sup> transformée de Fourier (pour chaque spectre avec un  $t_1$  différent)

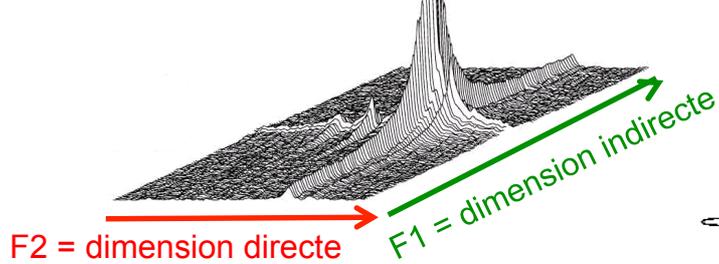


La variation d'intensité des signaux en fonction de la durée de  $t_1$  donne lieu à un FID: c'est l'origine de la 2<sup>ème</sup> dimension.

70

## 2<sup>e</sup> dimension

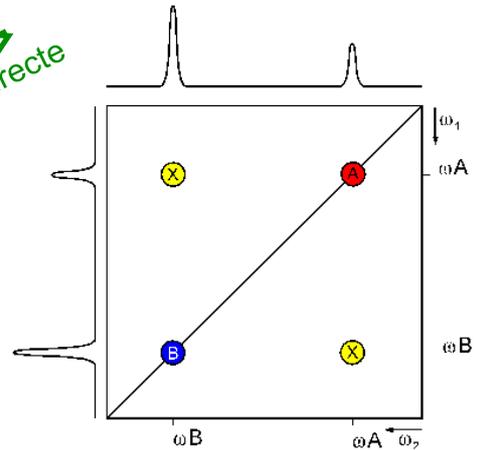
2<sup>e</sup>me transformée de Fourier



F2 = dimension directe

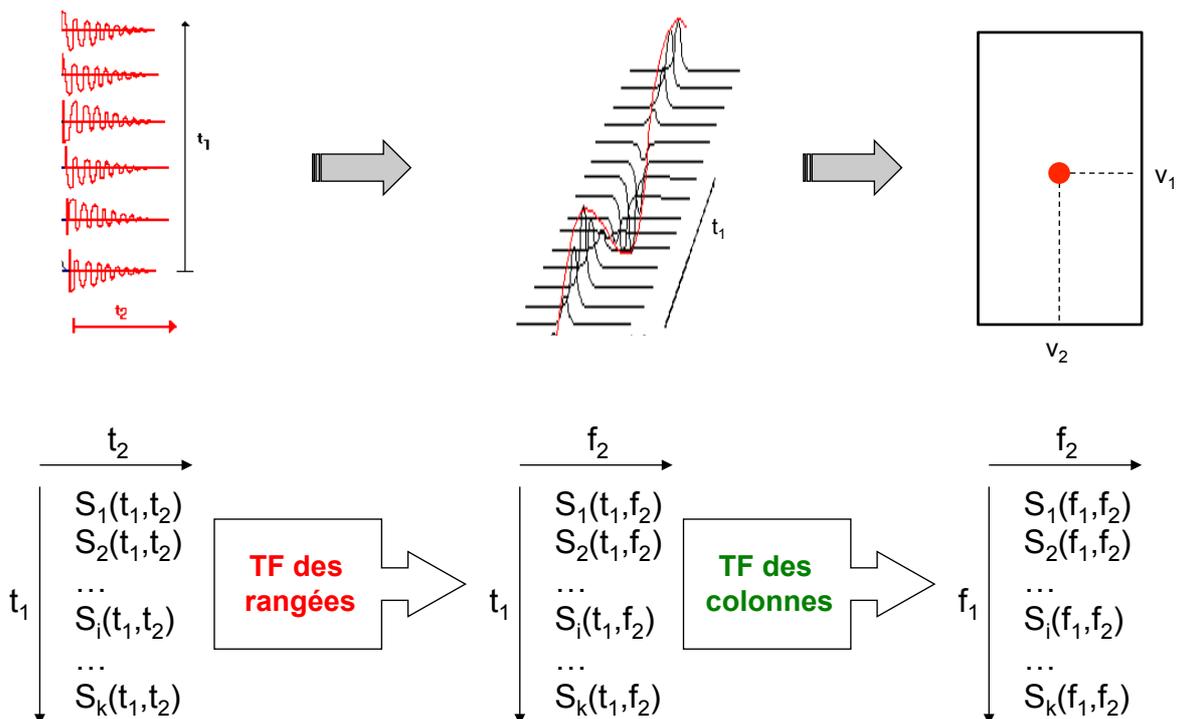
F1 = dimension indirecte

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



71

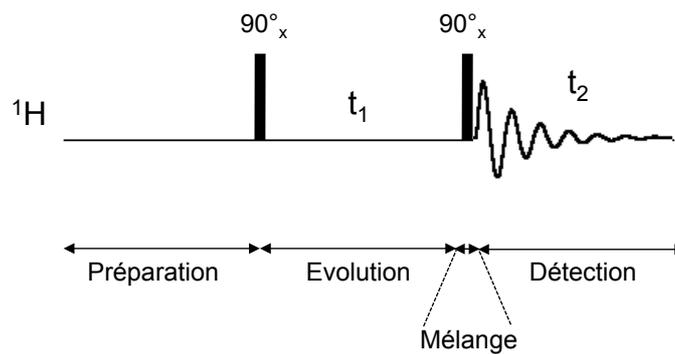
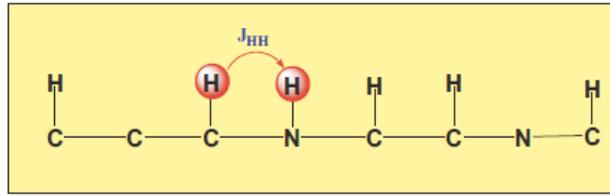
## Pour résumer



72

# COSY

= **CO**rrelation **S**pectroscop**Y**, permet de mettre en évidence les protons qui sont couplés de façon scalaire

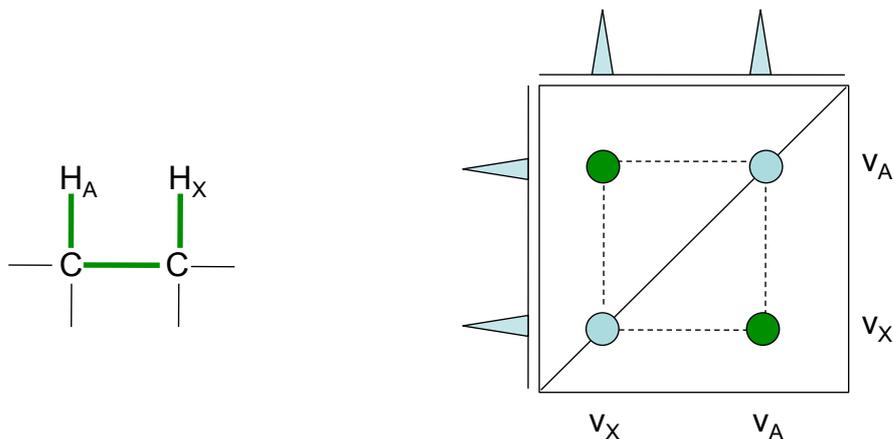


73

## Transfert de polarisation dans la COSY

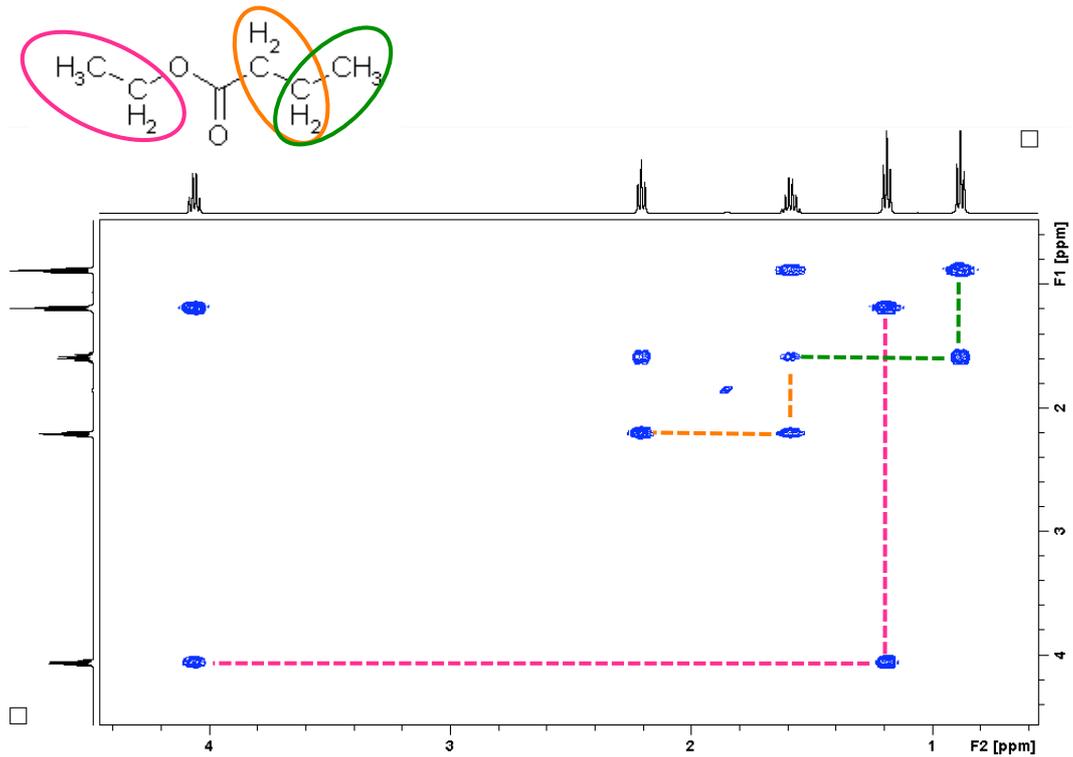
Ex: on considère 2 protons A et X couplés en  $^3J$ , que se passe-t-il pour A?

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



74

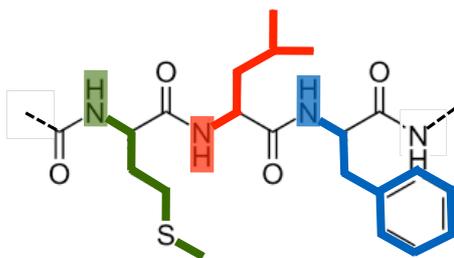
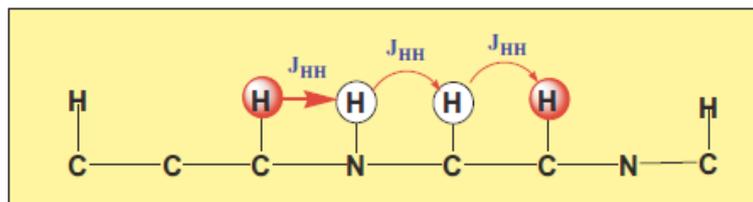
# COSY



75

# Une autre 2D: la TOCSY

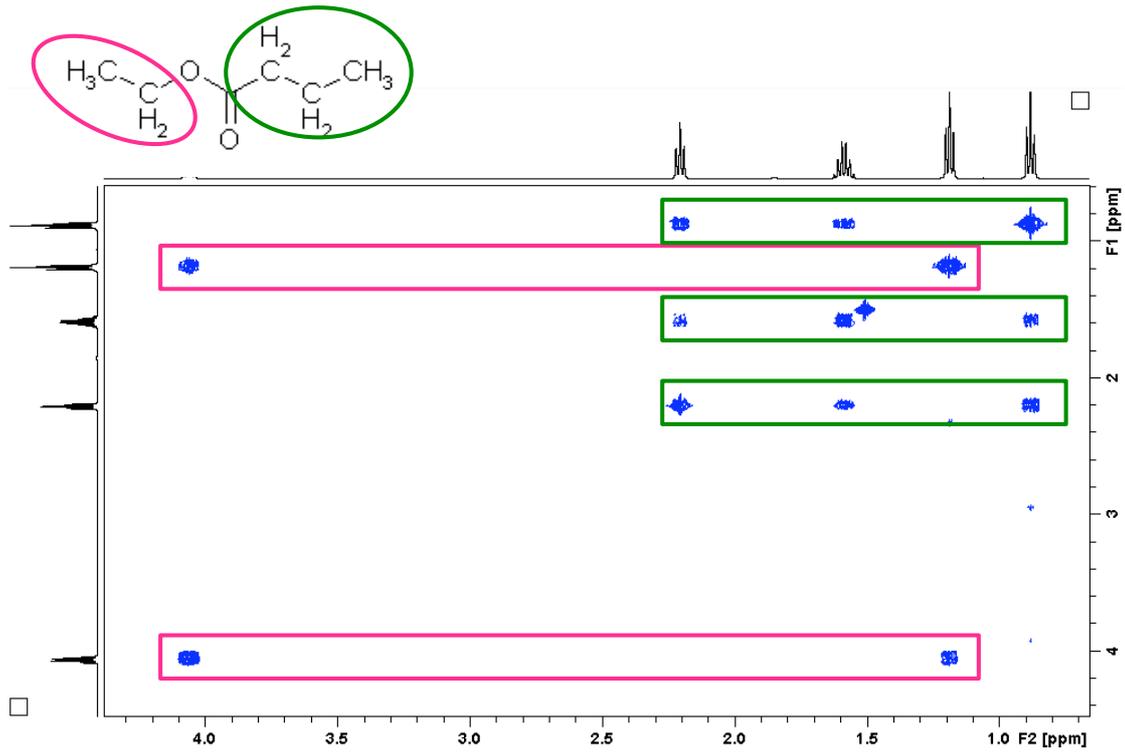
= **T**OTAL **C**ORRELATION **S**PECTROSCOPY, permet de mettre en évidence les systèmes de spins (ensemble de protons couplés de façon scalaire)



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

76

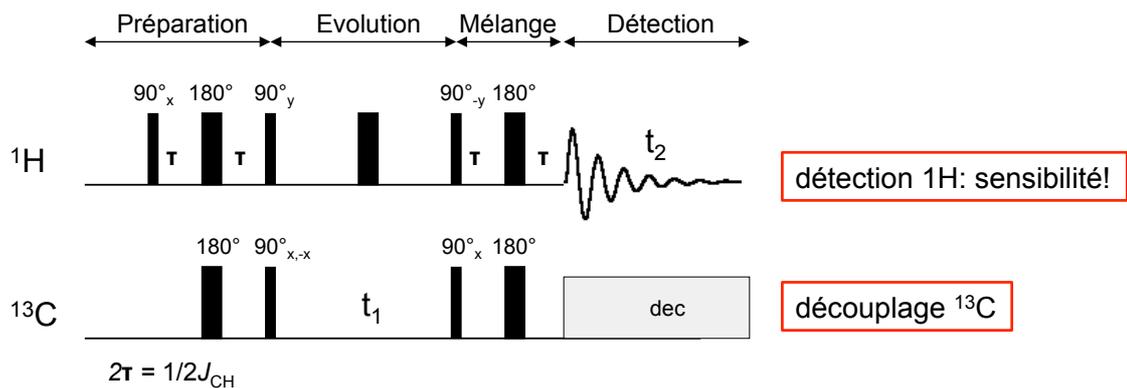
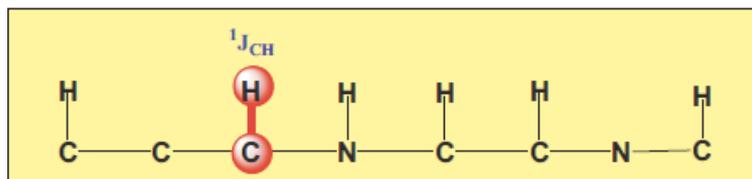
# TOCSY



77

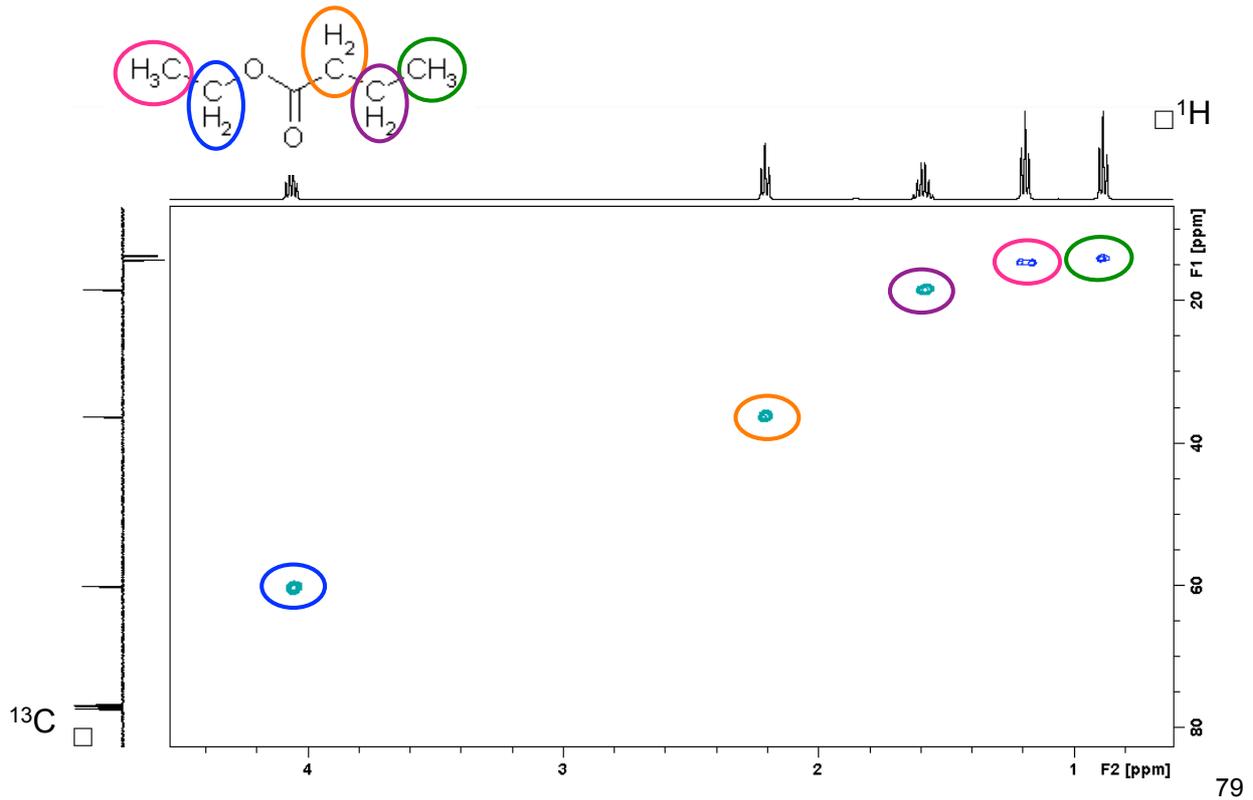
# Exemple de corrélation hétéronucléaire: l'HSQC

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



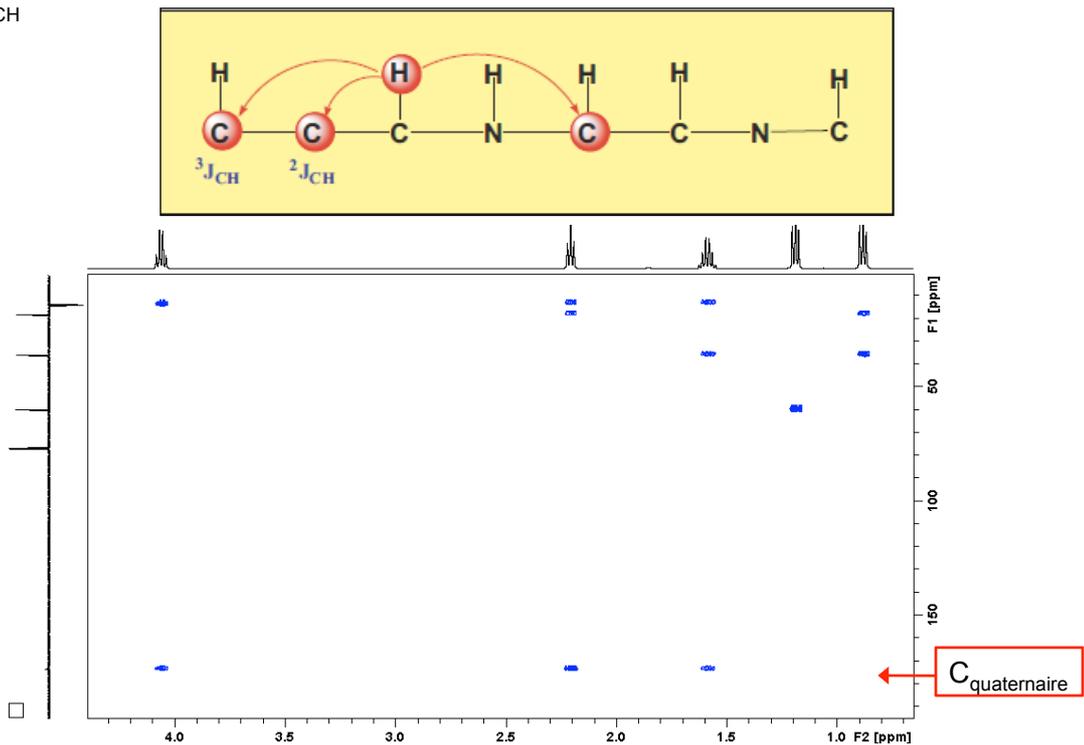
78

## HSQC éditée: une alternative au DEPT

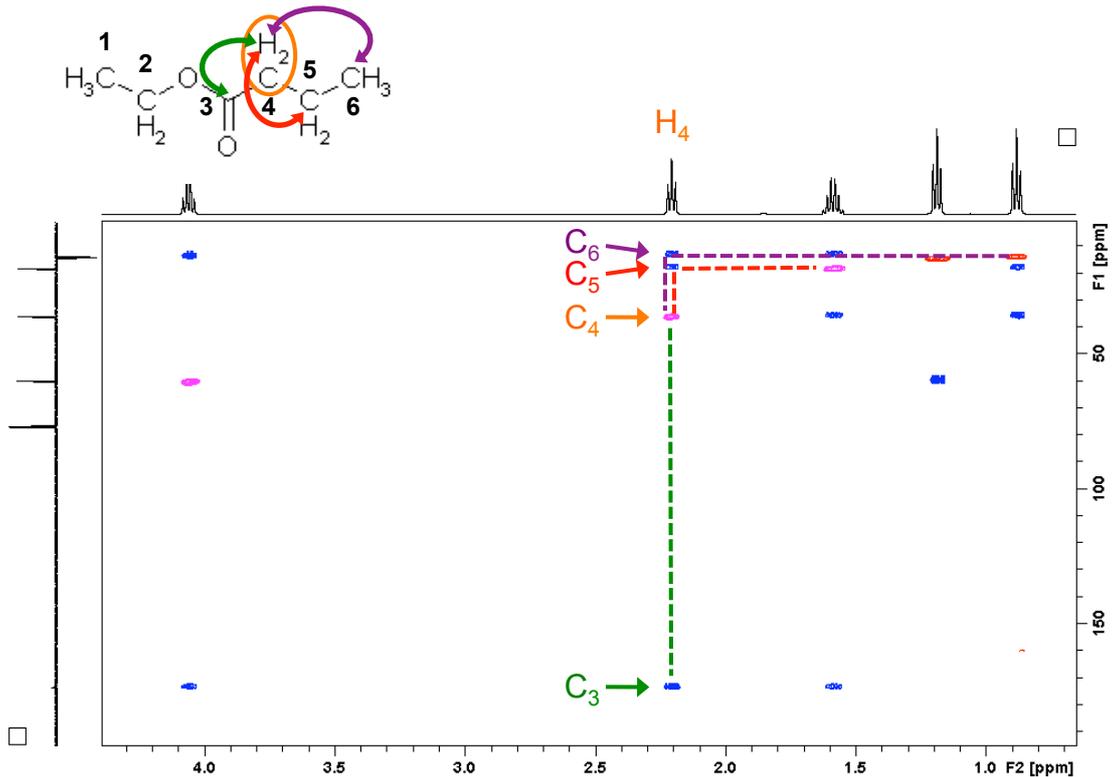


## HMBC

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

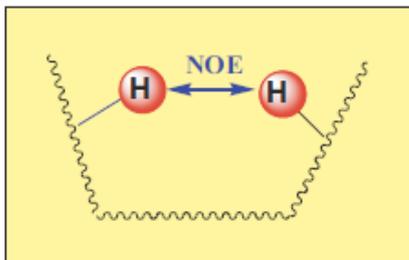


# Superposition HSQC / HMBC



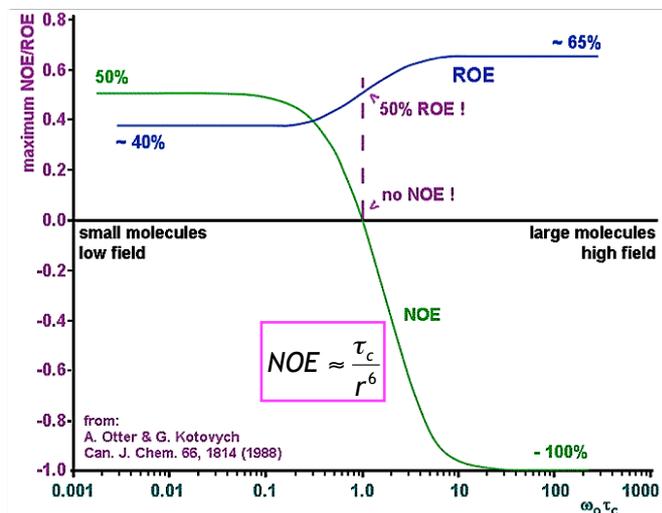
81

# NOe



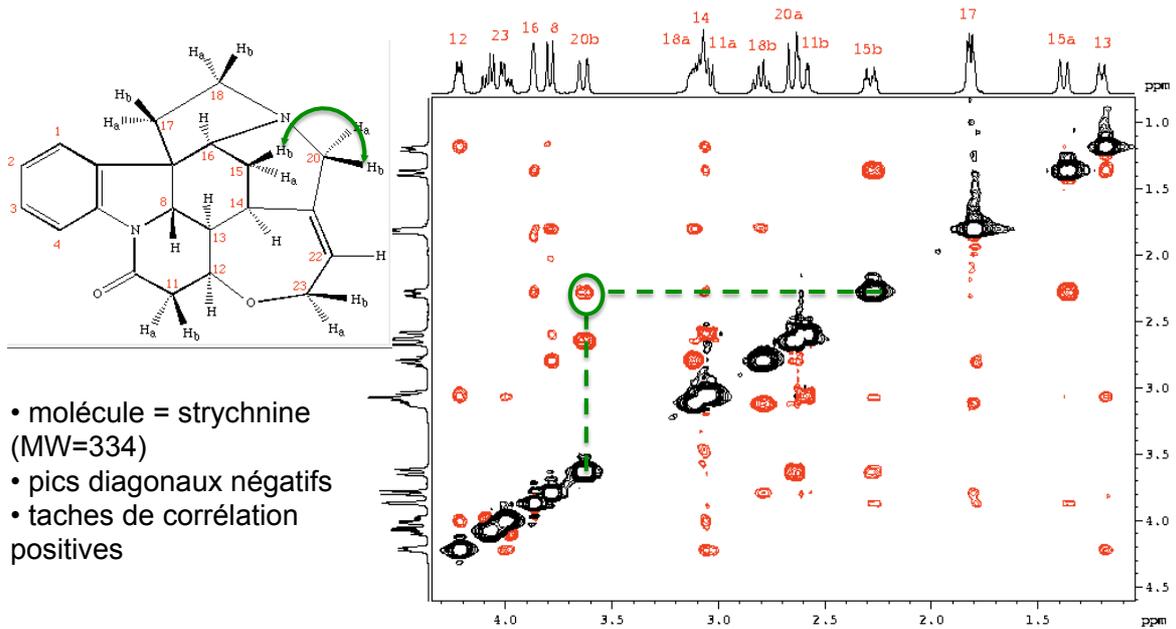
- Nuclear Overhauser Effect = changement d'intensité des signaux de 2 noyaux en interaction dipolaire
- l'effet NOE est inversement proportionnel à la distance entre les 2 noyaux (distance max.  $\approx 5\text{\AA}$ )

- NOESY pas adaptée à l'étude de molécules de poids 800-1500 g/mol (NOE  $\approx 0$ )
- ROESY: signaux moins intenses mais toujours  $\neq 0$



82

# NOESY



- molécule = strychnine (MW=334)
- pics diagonaux négatifs
- taches de corrélation positives

	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'impulsion
- S/B
- Zero filling
- Prédiction linéaire
- Apodisation

84

# Le spectromètre

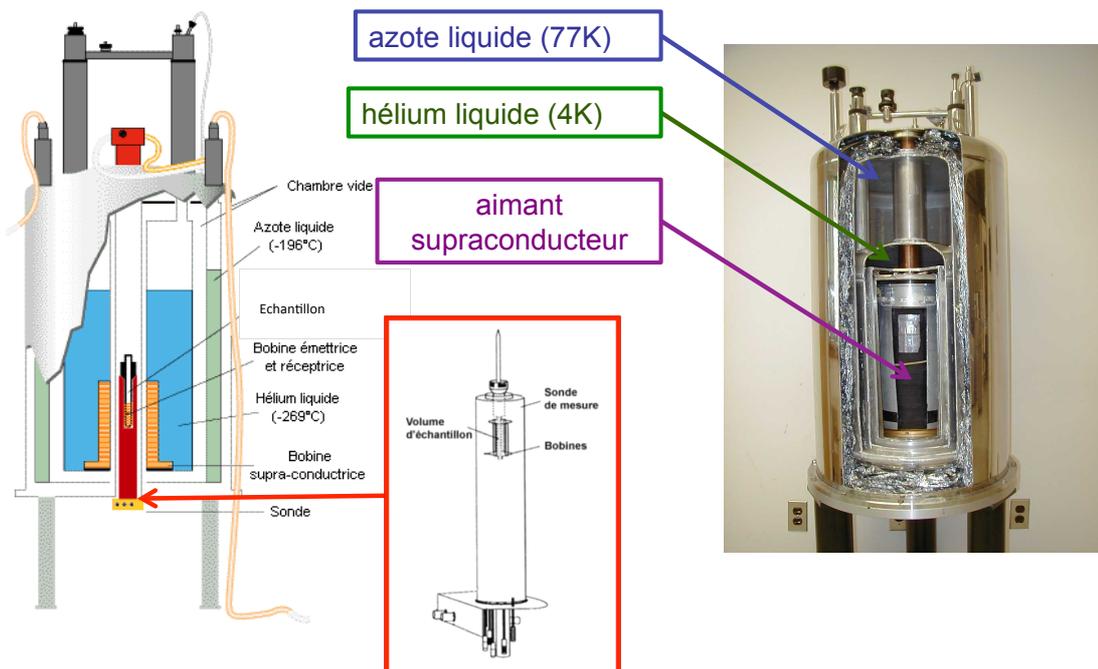
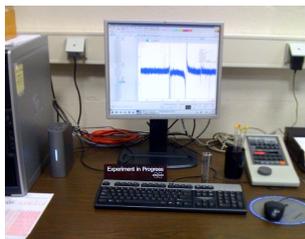


Illustration issue de <http://www.astrosurf.com/luxorion/technologies-futur7.htm> photo issue du site JEOL <http://www.jeolusa.com>

85

poste de contrôle



console (amplificateurs, générateurs de fréquence...)



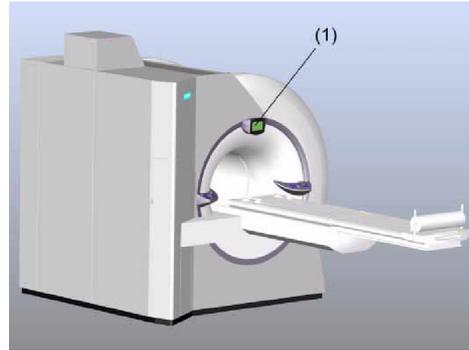
aimant 11,7T  
(Laboratoire de Chimie)

## Quel aimant pour quel échantillon ?



### IRM Médicale

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



### RMN haute résolution

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

87

## L'échantillon en RMN liquide

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

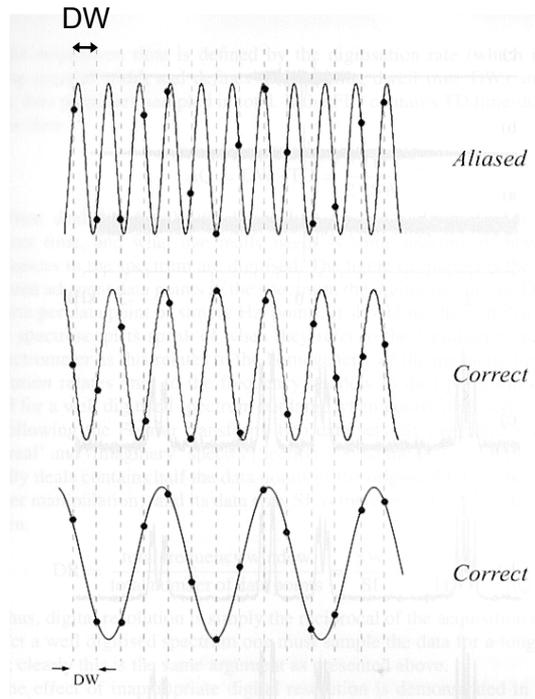
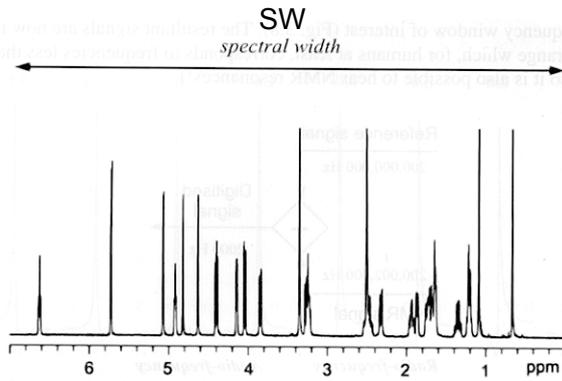
Attention à la solubilité de votre échantillon!

- volume: environ  $600 \mu\text{L}$
- solvant deutéré ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\text{D}_2\text{O}$ ,  $\text{DMSO-D}_6$ ...)



88

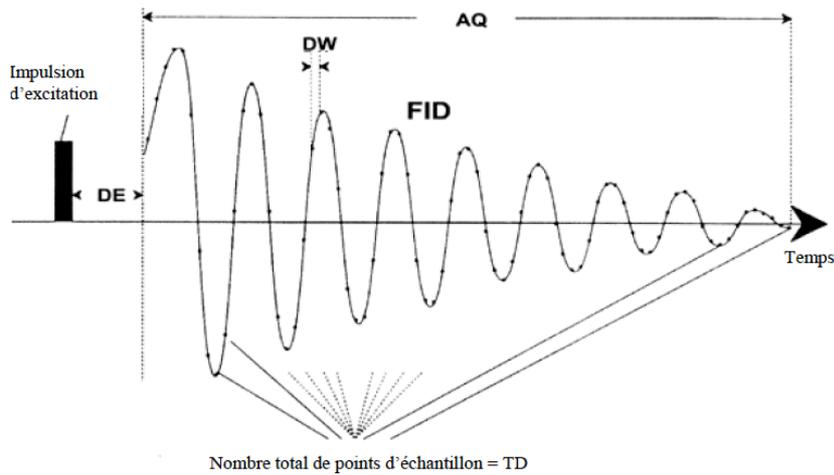
# TF: digitalisation, temps d'échantillonnage



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

**Condition de Nyquist**  
 $DW = 1/2SW$

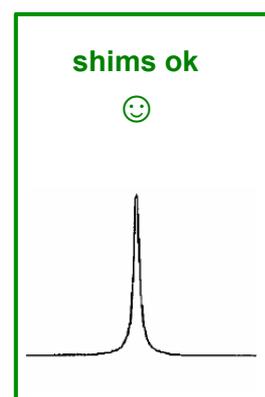
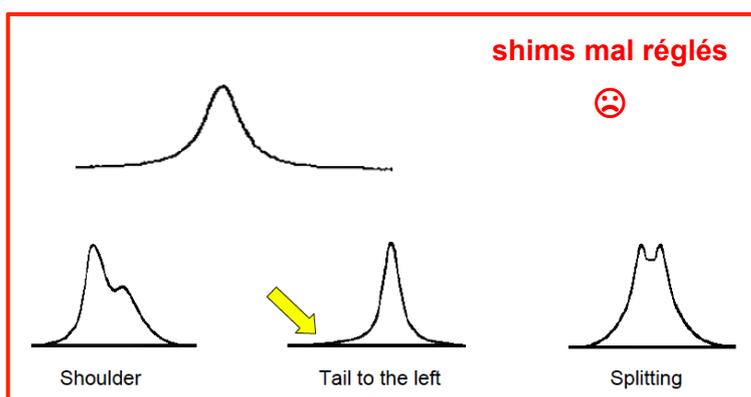
# Echantillonnage du signal



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

## Réglages: lock et shim

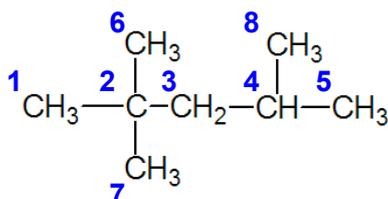
- Le **lock** permet de maintenir la force du champ magnétique stable pendant les expériences, ce qui permet d'éviter un élargissement des signaux dû à de légères fluctuations de  $B_0$
- Le spectromètre observe les signaux  $^2\text{H}$  du solvant et corrige la dérive du champ magnétique au cours du temps
- Pourquoi  $^2\text{H}$ ? 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)

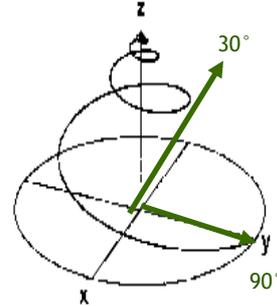
- Il permet le retour à l'équilibre de l'aimantation des noyaux entre 2 scans
- Il dépend du  $T_1$  (temps de relaxation longitudinal) qui varie selon le type de noyau étudié et la taille de la molécule.
- Il influence le temps de répétition:  $T_R = A Q + D1$ : idéalement  $T_R = 5 \times T_1$  (nécessaire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



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  $\theta = 2\pi\nu_0 t$
- On peut choisir un angle de  $90^\circ$ : signal maximum, mais un angle de  $30^\circ$  permet une répétition plus rapide.

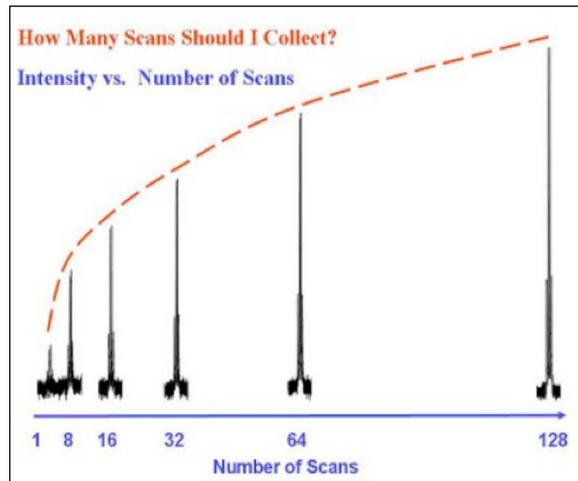


### • S/B optimal : angle de Ernst $\theta$

- $\cos \theta = \exp\left(-\frac{T_r}{T_1}\right)$
- $\theta = 30^\circ \Rightarrow T_r$  court ( $\frac{1}{2} T_1$ )
- 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

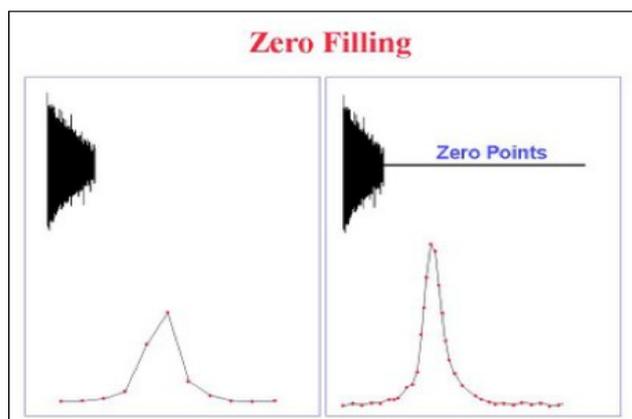
- Traiter les données permet d'améliorer le spectre
  - compensation des « défauts » dus à une acquisition non optimisée
  - effet « esthétique »
  - mise en évidence de certains paramètres (couplages...)



**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.

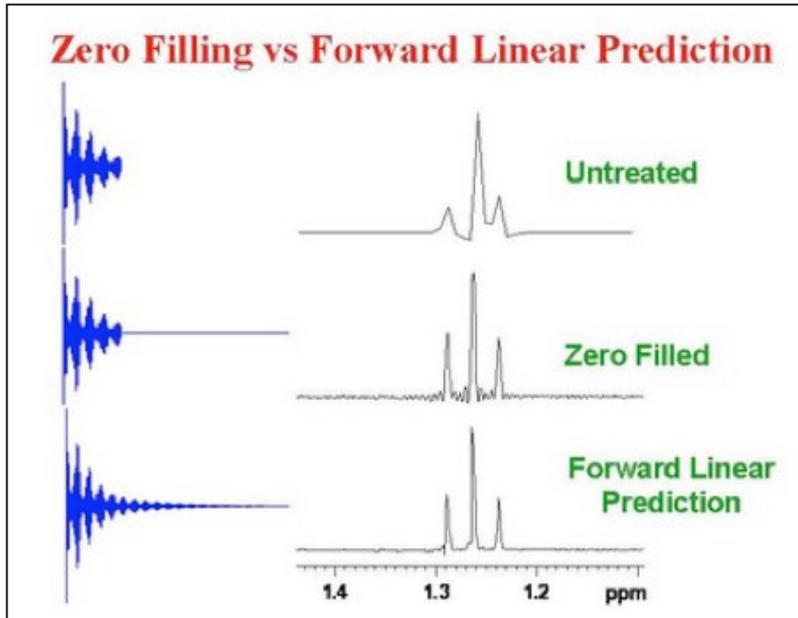
- Exemple: le **zero filling** améliore la résolution digitale (c.a.d. augmente le nombre de points par Hz) en ajoutant des zéros à la fin du FID



94

## Traitement du signal: prédiction linéaire

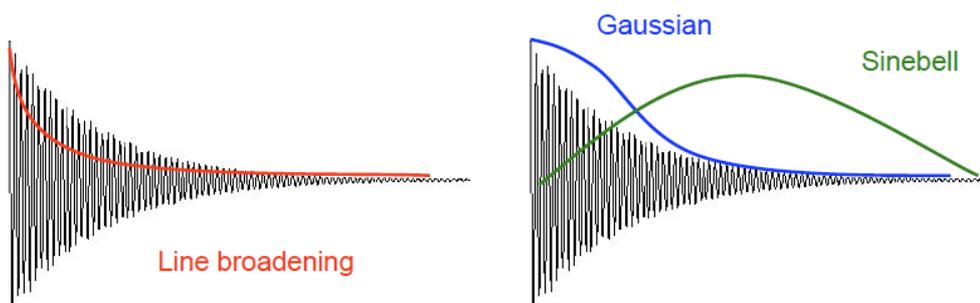
- Prédit les données manquantes d'un spectre tronqué en se basant sur le début du FID.
- Traitement très utile en 2D dans la dimension indirecte (nombre de points compris entre 100 et 500 en général, signal tronqué).



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.
- **fonction exponentielle**: diminution du bruit (mais perte de résolution)
  - ⇒ amélioration du rapport S/B
  - ⇒ amélioration des signaux larges
  - ⇒ perte en résolution
- **fonction gaussienne**: amélioration de la résolution (mais perte en S/B)

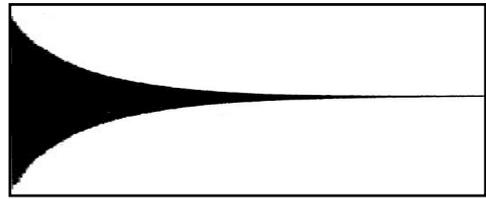


96

# Pourquoi la fonction exponentielle?

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

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

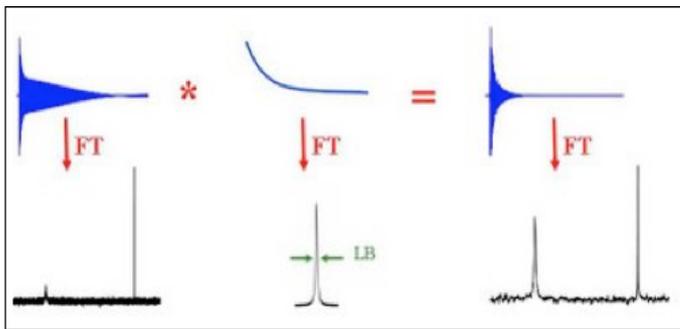


TF

-  $T_2^*$  court  
- relaxation rapide

TF

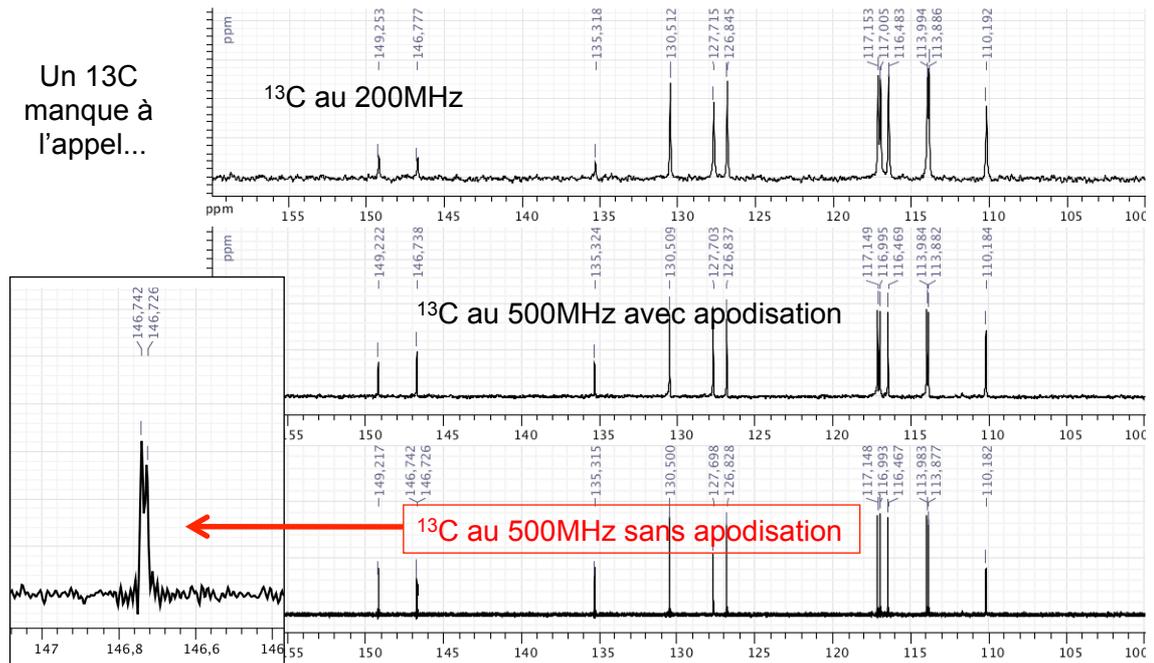
-  $T_2^*$  long  
- relaxation lente



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

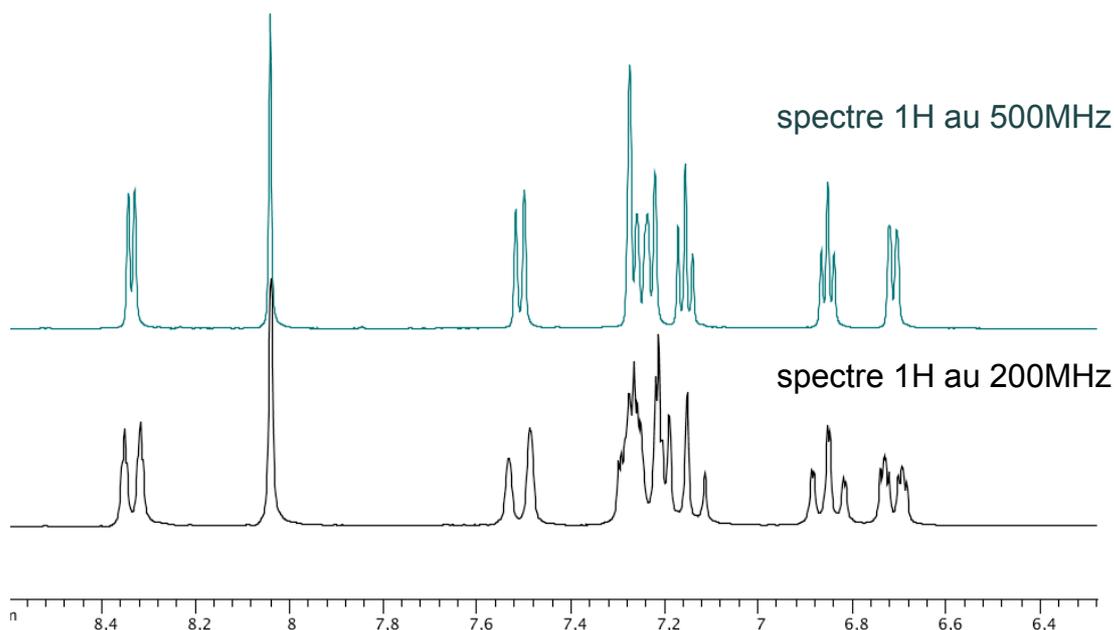
# Attention au traitement des données...

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...



## 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, *Malcom H. Levitt*, Wiley, 2008
- *High-Resolution NMR Techniques in Organic Chemistry*, *Thimoty D. W. Claridge*, Pergamon Press, 1999
- [http://www.unice.fr/cdiac/cours/rmn\\_web/rmn\\_theorie/c\\_theorie.htm](http://www.unice.fr/cdiac/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](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