

La spectroscopie de résonance magnétique nucléaire (RMN)

Ph. Goyer

Elève de l' E.N.S de Chimie de Rennes
15, square du Bois Perrin - 35700 RENNES

RESUME

La spectroscopie de résonance magnétique nucléaire constitue une technique analytique majeure en analyses organique et biologique. Cette technique figure désormais au programme de chimie des classes préparatoires et son enseignement s'est par ailleurs notablement développé en deuxième année de DEUG. L'article suivant se propose de faire le point sur la RMN et sur les possibilités qu'elle offre pour mettre en évidence les propriétés physicochimiques des molécules.

INTRODUCTION

L'essor que la chimie organique a connu au cours du XX^{ème} siècle, a nécessité l'emploi de techniques analytiques de plus en plus perfectionnées. Jusque dans les années 60, ces techniques formaient l'analyse chimique et consistaient généralement en des réactions de caractérisation et de séquençage¹. L'apparition et la généralisation des spectroscopies optiques comme l'Ultra-Violet, l'Infra-Rouge et le Raman transformèrent le travail du chimiste organicien, en ce qui concerne la phase dite de contrôle de production.

Mais le changement le plus important allait, sans aucun doute, être apporté par une méthode électromagnétique : la Résonance Magnétique Nucléaire. Perfectionnée par des chercheurs comme Ernst (Prix Nobel 1991), Canet² et Lallemand, elle permet non seulement un contrôle de production aussi fin que les spectroscopies optiques précédemment citées, mais encore elle constitue une technique d'analyse biologique et d'exploration médicale très performante et très utilisée. Par ailleurs, elle a permis de mettre en évidence des intermédiaires réactionnels³. Nous nous attacherons à présenter ici, certains aspects théoriques de la RMN, ses principales techniques et enfin les analyses plus fines qu'elle permet d'effectuer.

I PRINCIPE ET APPAREILLAGE DE LA RMN

L'exposé de la théorie de la RMN passe, avant tout, comme dans toute méthode spectroscopique par l'analyse de l'interaction entre la matière et le rayonnement mis en jeu. Ensuite, le principe de l'instrumentation peut être envisagé.

I.1 Interaction rayonnement-matière

I.1.1 Le noyau atomique

Le noyau atomique est animé d'un mouvement gyroscopique (rotation, précession et nutation), que l'on peut modéliser par le mouvement d'une toupie symétrique (*fig. 1*). Le noyau étant chargé, ce mouvement de fréquence ν_0 crée un champ magnétique B_0 .

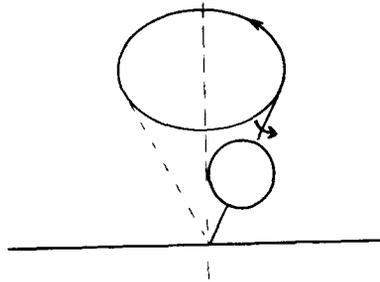


Figure 1

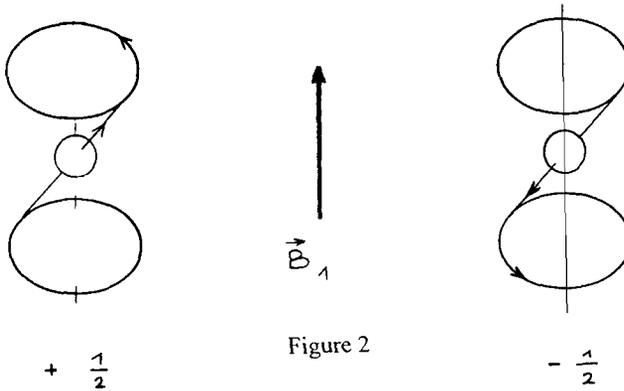


Figure 2

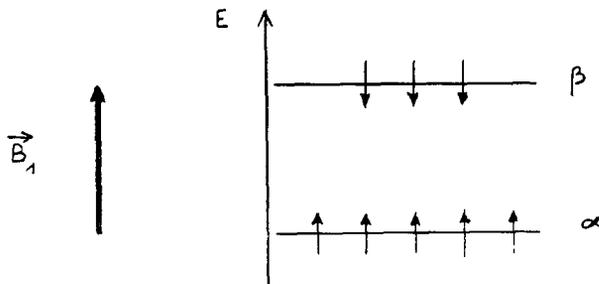


Figure 3

Ces phénomènes peuvent être interprétés par la mécanique quantique. A la rotation-précession (ou spin) du noyau, sont associés un nombre I , le nombre quantique de spin et un vecteur μ , le moment magnétique de spin. I dépend de A nombre de masse et de Z numéro atomique. Ainsi :

- si A est impair alors $I = k/2$ avec k impair. Par exemple, $I(^1\text{H}) = 1/2$ et $I(^{17}\text{O}) = 5/2$.
- si A est pair et Z impair alors I est entier. Par exemple, $I(^2\text{H}) = 1$ et $I(^{14}\text{N}) = 1$.
- si A est pair et Z pair alors $I = 0$.

Le nombre I donne le nombre d'orientations ($2I+1$) que peut prendre le spin considéré. Ainsi, le noyau de l'atome d'hydrogène (c'est-à-dire le proton dans le langage de la RMN) peut prendre deux orientations $-1/2$ et $+1/2$ (fig. 2).

On a les relations: $\mu = \gamma(\hbar/2\pi)I$ et $\nu_0 = (\gamma/2\pi)B_0$ où γ est le rapport gyromagnétique du noyau. On voit alors que si $I = 0$ alors $\mu = 0$ et donc toute RMN est impossible.

1.1.2 Interaction champ magnétique-atome

Placé dans un champ magnétique B_1 , les spins s'orientent soit parallèlement au champ (état α) soit antiparallèlement (état β). L'état α est le plus stable. Le peuplement de ces niveaux est régi par la loi de Boltzmann (fig. 3).

Soumis à un rayonnement électromagnétique, de fréquence ν , il y a résonance chaque fois que la relation $\nu = (\gamma/2\pi)B_1$ est vérifiée. Deux techniques sont possible : ν fixe et B_1 variable ou ν variable et B_1 fixe. La première est dite méthode à onde continue la seconde est appelée méthode des pulses.

1.1.3 La relaxation chimique

Ce phénomène est essentiel en RMN.

L'absorption d'énergie par le noyau au moment de la résonance se traduit par une égalisation (ou saturation) des populations. Le retour à l'équilibre de Boltzmann constitue la relaxation du système. En terme d'aimantation microscopique, on peut considérer que la saturation correspond à une perturbation de l'aimantation initiale (fig. 4) de B_0 à B (fig. 5). La relaxation correspond à un retour à l'aimantation initiale et s'effectue selon deux processus :

- désaimantation longitudinale ($B_z \rightarrow B_{0z}$) suivant une loi exponentielle de temps caractéristique T_1 appelé temps de relaxation longitudinale.
- désaimantation transversale ($B_x, B_y \rightarrow 0$) avec un temps caractéristique T_2 appelé temps de relaxation transversale.

Le premier processus s'appelle relaxation spin-milieu (le spin relaxe grâce aux molécules de son environnement). Le second s'appelle relaxation spin-spin. Il est à noter que si $\Delta\nu$ désigne la largeur de raie en Hz, on a $\Delta\nu = 1/T_2$.

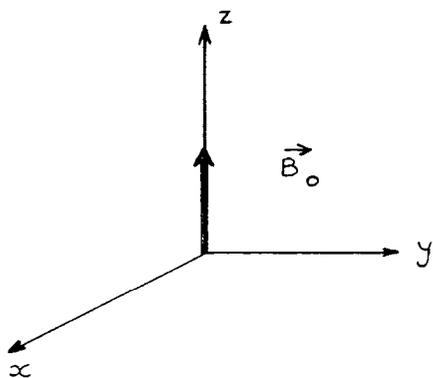


Figure 4

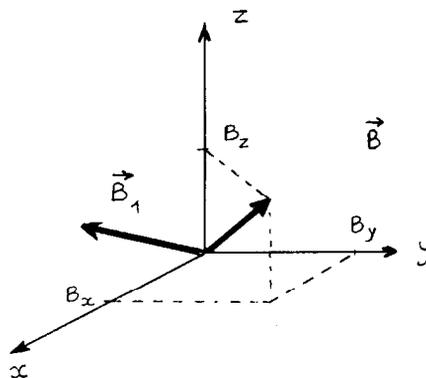


Figure 5

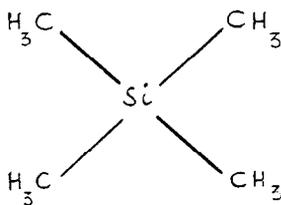


Figure 6

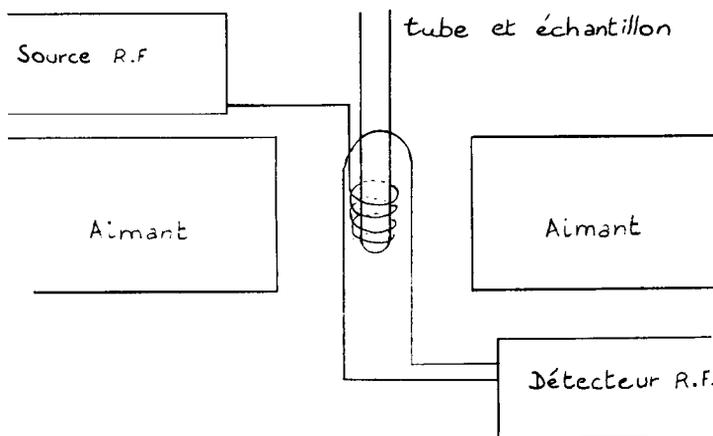


Figure 7

1.2 Le spectromètre et les spectres

1.2.1 Le déplacement chimique et sa mesure

Un spectre RMN se présente comme une série de pics (ou raies) correspondant aux résonances évoquées ci-dessus. L'abscisse des pics est le déplacement chimique noté δ . Il se calcule par la relation:

$$\delta = 10^6(v-v_{\text{réf}})/v_0$$

avec v : fréquence de résonance du proton étudié

$v_{\text{réf}}$: fréquence de résonance d'un étalon

v_0 : fréquence du spectromètre.

L'unité de δ est la ppm (partie par million).

L'étalon interne le plus utilisé est le TMS ou tétraméthylsilane (*fig. 6*) dont tous les protons vibrent à la même fréquence et dont le pic est presque toujours situé à droite du spectre.

1.2.2 Principe d'un spectromètre RMN

Les appareils les plus fréquemment rencontrés actuellement utilisent la technique de pulse. Une pulse est une courte impulsion (environ 10 μ s) d'énergie électromagnétique très intense. Elle contient toutes les fréquences de vibration des noyaux, à B_1 constant (quelques Teslas). La relaxation qui suit la pulse permet au spin d'émettre de l'énergie qui décroît avec le temps. Ce signal porte le nom de Free Induction Decay (FID). La FID est ensuite traitée par l'analyseur mathématique à transformée de Fourier ce qui permet l'obtention d'un spectre.

Ce procédé a trois avantages majeurs :

- grande sensibilité (typiquement la mmol.L^{-1}) ceci est un atout dont l'analyse de biomolécules (glucides, acides nucléiques, ...) tire un grand profit
- homogénéité du champ obtenu par un aimant supraconducteur (un cryoaimant dans l'azote ou l'hélium liquide), par ailleurs économique
- temps d'acquisition des données beaucoup plus court que par la méthode à onde continue.

Le schéma général d'un spectromètre est le suivant² :

1.2.3 Importance du solvant

En RMN, le solvant doit avoir deux caractéristiques, bien solvater le composé étudié de manière à assurer l'homogénéité du champ dans tout l'échantillon et ne pas comporter de protons pour ne pas apparaître sur le spectre.

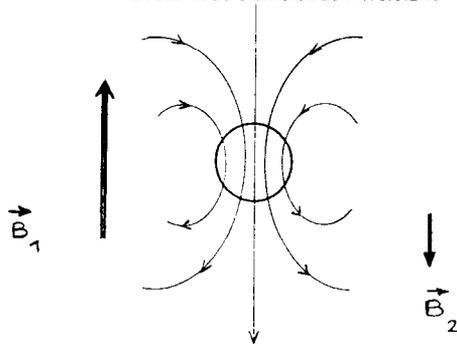


Figure 8

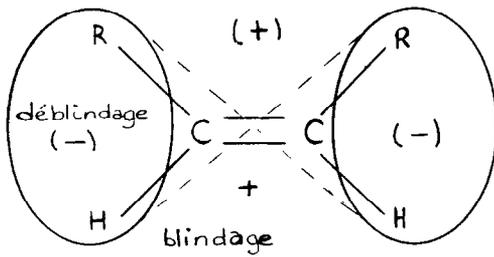


Figure 9

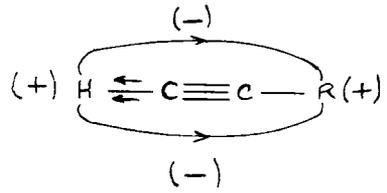


Figure 10

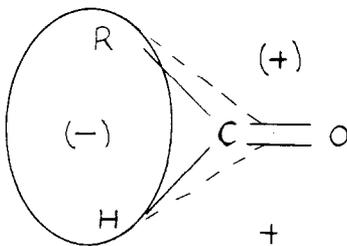


Figure 11

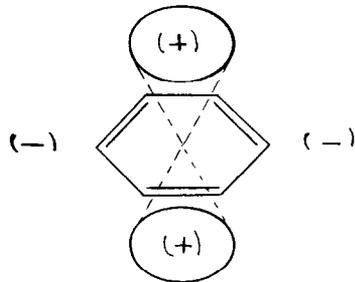


Figure 12

Les solvants utilisés sont D₂O, CDCl₃, acétone-D₆. Néanmoins, ils ne sont pas purs. Ainsi, D₂O contient une certaine quantité de HDO qui donne un pic massif sur les spectres à environ 4,8 ppm.

L'utilisation de solvants ultrapurs est donc nécessaire en analyse fine pour les composés complexes comme les acides nucléiques de degré de polymérisation élevé.

II ASPECTS FONDAMENTAUX DE LA RMN ¹H

Nous nous proposons maintenant d'aborder les utilisations courantes de la RMN notamment dans l'analyse organique post-synthèse à laquelle procède le chimiste organicien pour mettre en évidence la structure des molécules.

Pour cela, il faut tout d'abord envisager l'effet de l'environnement chimique d'un proton sur son déplacement chimique, puis après avoir distingué équivalence chimique et magnétique et évoqué le couplage spin-spin, les principaux exemples de couplages et l'aspect des spectres associés peuvent être envisagés.

II.1 Effets de l'environnement chimique d'un proton sur son déplacement chimique

Le ou les protons lié(s) à un carbone porteur d'une fonction chimique ont un déplacement chimique caractéristique². Sous l'effet de l'environnement créé par les autres atomes, le déplacement chimique peut diminuer ou augmenter. On dit respectivement qu'il y a blindage ou déblindage.

II.1.1 Electronégativité et déplacement chimique

Quand un champ B_1 est appliqué à l'échantillon, la circulation des électrons autour du noyau est modifiée. Il en résulte l'induction d'un champ B_2 opposé au champ B_1 (fig. 8). Le noyau voit alors un champ efficace $B_{\text{eff}} = B_1 + B_2$. L'apparition de B_2 crée le blindage, c'est l'effet d'écran. On a :

$$B_{\text{eff}} = B_0(1-\sigma) \quad \text{avec } \sigma : \text{constante d'écran.}$$

L'intensité du blindage est fonction de l'environnement électronique du noyau. Si la densité électronique est faible, donc si l'atome lié au carbone porteur du proton considéré est très électronégatif, B_{eff} diminue, et il y a déblindage. Ceci est observé pour les halogènes (cf. tableau 1 en annexe).

II.1.2 Anisotropie et déplacement chimique

L'effet d'anisotropie est observé pour les protons liés à un carbone engagé dans une liaison π . Dans ces composés en effet, les lignes de champ du champ magnétique induit, créent un cône d'anisotropie qui délimite deux zones, une zone de blindage et une zone de déblindage (fig. 9, 10, 11 et 12) ce qui explique les déplacements chimiques observés (cf. tableau 2 en annexe).

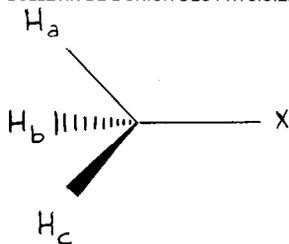


Figure 13

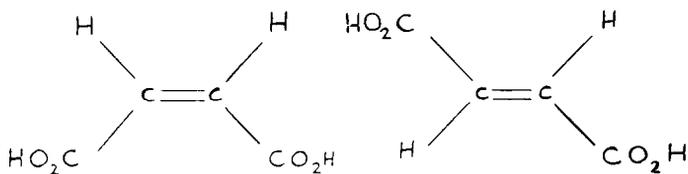


Figure 14

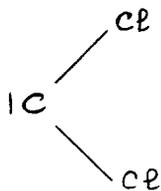


Figure 15

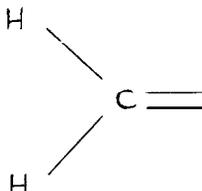


Figure 16

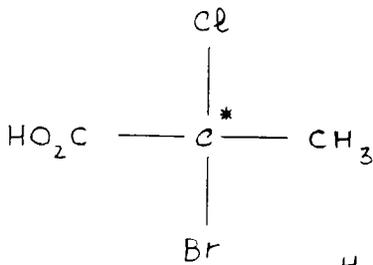


Figure 17

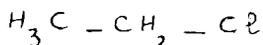


Figure 18

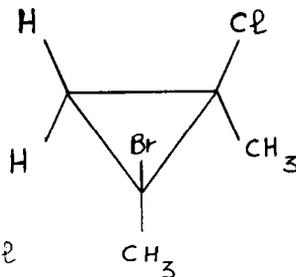


Figure 19

II.1.3 Influence des liaisons hydrogène

La présence de liaisons hydrogène crée un effet de déblindage. Pour les alcools et les amines en haute dilution $\delta = 0,5$ à 1 ppm, en solution concentrée, $\delta = 5$ ppm.

II.2 Equivalence de protons

La définition de l'équivalence des protons est très importante puisque c'est d'elle dont dépend l'interprétation des spectres. Deux types d'équivalence doivent être distingués : l'équivalence chimique et l'équivalence magnétique.

II.2.1 Equivalence chimique

Deux protons sont chimiquement équivalents s'ils ont même déplacement chimique.

Plusieurs cas sont à distinguer. Soit les deux protons sont portés par le même carbone, alors ils sont chimiquement équivalents si leurs positions relatives par rapport à l'environnement chimique sont identiques. Sur la figure 13, par exemple, H_a, H_b et H_c sont chimiquement équivalents.

Soit les protons sont portés par des carbones différents. Ils sont équivalents si et seulement si il y a symétrie. Comme le montre la figure 14, les isomères Z et E peuvent être distingués en RMN. L'isomère Z présente une seule raie pour les deux protons alors que le E en présente plusieurs.

Les protons non équivalents sont donc les protons :

- portés par le même carbone lorsqu'il n'y a pas libre rotation autour de ce carbone (fig. 15 et 16) ou si ce carbone est situé en α d'un carbone asymétrique (fig. 17).
- portés par des carbones différents et lorsqu'il n'y a pas d'éléments de symétrie.

II.2.2 Equivalence magnétique

Deux protons sont magnétiquement équivalents si et seulement s'ils sont portés par le même carbone, s'ils ont le même déplacement chimique et présentent des interactions identiques avec les protons du carbone adjacent.

Ainsi, sur la figure 18, les trois protons du méthyle sont équivalents magnétiquement. Par contre, dans le cas du cyclopropane disubstitué (fig. 19) il n'y a pas d'équivalence magnétique, la face dihalogénée présentant une densité électronique supérieure à l'autre face.

On remarque aussi que l'équivalence magnétique implique l'équivalence chimique.

II.3 Couplage spin-spin

II.3.1 Mécanisme du couplage; constante de couplage

Le couplage spin-spin est une interaction entre deux spins. Le mécanisme de cette interaction sera discuté sur l'exemple de deux protons portés par des carbones adjacents. Le carbone 12 ne possède qu'un spin : le spin électronique, alors que le proton en possède deux : le spin électronique et le spin nucléaire. L'interaction et le recouvrement

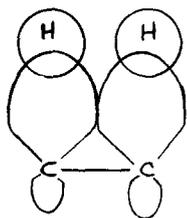


Figure 20

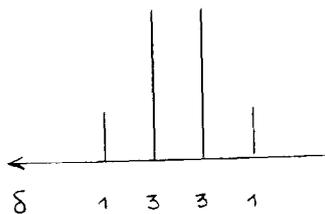
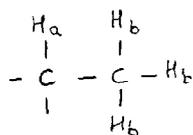
signal de H_a

Figure 21

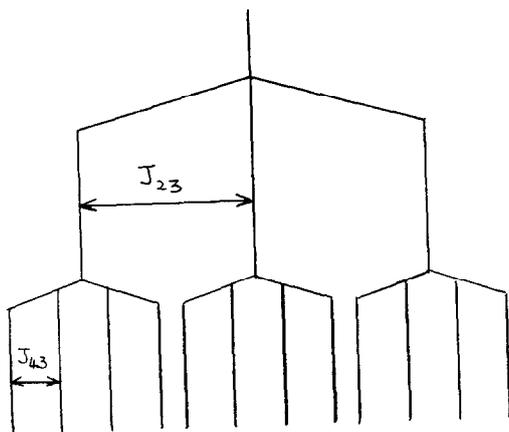


Figure 22

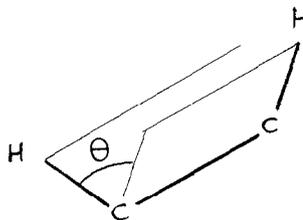


Figure 23

partiel entre les orbitales permettent le transfert des informations de spin et le basculement (ou flip) des spins. C'est le couplage (fig. 20). Il ne peut avoir lieu qu'entre deux protons non équivalents magnétiquement ou chimiquement.

Le couplage entre deux protons H_a et H_b de déplacements chimiques respectifs δ_a et δ_b est caractérisé par un nombre appelé constante de couplage et notée J_{HaHb} telle que :

$$J_{HaHb} = |\delta_a - \delta_b| \cdot \nu_0$$

avec ν_0 : fréquence du spectromètre.

En toute rigueur, ces constantes sont notées ${}^nJ_{HaHb}$ où n désigne le nombre de liaisons entre H_a et H_b .

II.3.2 Couplage d'un proton avec n protons équivalents

Si un proton noté H_0 est couplé avec n protons équivalents entre eux H_i ($i = 1, \dots, n$), il apparaît sur le spectre sous forme d'un $(n+1)$ uplet de pics, centré sur la fréquence de H_0 . Les intensités relatives des pics sont dans le rapport des coefficients du triangle de Pascal d'ordre $n+1$. Cette importante propriété est connue sous le nom de règle $n+1$.

Le principe de l'interprétation graphique est rappelé sur la figure 21⁴ dans le cas d'hydrogènes vicinaux (i.e portés par des carbones adjacents).

II.4 Exemples de couplages

II.4.1 couplage géminial ${}^2J_{HH}$

Ce cas est celui de deux protons magnétiquement non équivalents.

Par exemple ce type de couplage apparaît dans le cyclopentane disubstitué du paragraphe II.2.2. Les deux protons apparaissent sous forme d'un doublet (cas de la règle $n+1$ avec $n = 1$).

II.4.2 Couplage vicinal ${}^3J_{HH}$

Dans ce cas, la règle $n+1$ s'applique également. Cette situation est typiquement celle des enchaînements alkyles dans une chaîne hydrocarbonée. Considérons, par exemple, le cas du chlorure de butanoyle $H_3C-CH_2-CH_2-CO-Cl$ et faisons le raisonnement graphique pour le carbone 3 (fig. 22). Chaque proton est couplé avec un proton du carbone 4 et donne un quadruplet de constante J_{43} et avec les protons du carbone 2 un triplet de constante J_{23} avec $J_{43} \neq J_{23}$. Finalement, les deux protons du carbone 3 apparaissent sous forme d'un système de 12 pics.

Les constantes de couplage ${}^3J_{HH}$ permettent de déterminer l'angle dièdre θ entre les protons (fig. 23) grâce à des relations comme celle de Karplus-Hasnoot :

$${}^3J_{HH} = P1.\cos^2(\theta) + P2.\cos(\theta) + P3 + \sum \Delta\chi_i(P4 + P5\cos^2(\xi_i\theta + P6|\Delta\chi_i|))$$

avec χ_i : électronégativité selon Pauling des atomes impliqués dans l'environnement des protons concernés.

P_n, ξ_i : coefficients dépendant des paramètres moléculaires.

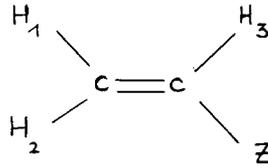


Figure 24

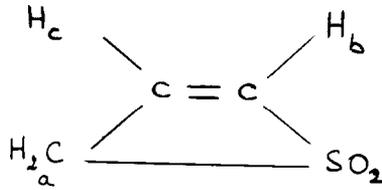


Figure 25

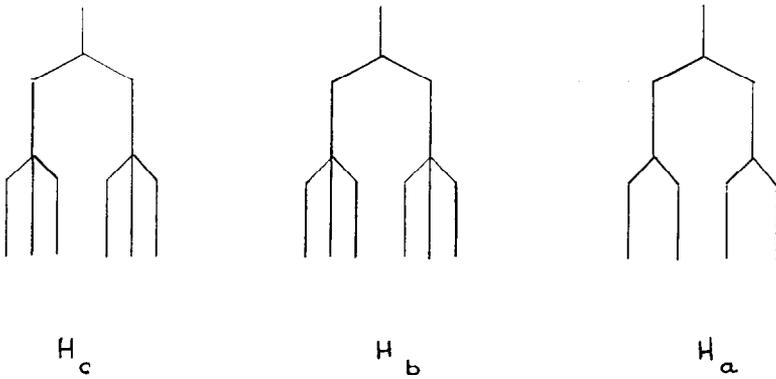


Figure 26

II.4.3 Couplages dans les alcènes

Le cas des alcènes relève des deux cas précédemment évoqués. Néanmoins, sa spécificité nécessite un traitement particulier. Pour un alcène type (fig. 24), quatre sortes de couplages apparaissent :

- couplage géminé entre H₁ et H₂
- couplage cis entre H₁ et H₃
- couplage trans entre H₂ et H₃
- couplage allylique si Z est un groupement alkyle.

On a généralement :

$$4 \text{ Hz} \leq J_{\text{cis}} \leq 12 \text{ Hz}$$

$$8 \text{ Hz} \leq J_{\text{trans}} \leq 18 \text{ Hz}$$

$$0 \text{ Hz} \leq J_{\text{gem}} \leq 3 \text{ Hz}.$$

Raisonnons graphiquement sur le composé (fig. 25)

En considérant le couplage allylique, H_c apparaît sous forme d'un système de six pics, H_b d'un doublet triplet et H_a d'un doublet dédoublé (fig. 26).

III ANALYSES FINES EN RMN

III.1 Paramètres RMN

III.1.1 L'effet Overhauser nucléaire (nOe)

Le nOe résulte d'une interaction dipolaire entre deux protons spatialement proches. Cette interaction est une perturbation des transitions de type ($\alpha \rightarrow \beta$) d'un spin I lorsque les transitions d'un spin J en interaction dipolaire avec I sont artificiellement perturbées. Il se mesure par la variation relative d'un paramètre intégrable du spectre (aire d'un pic mono ou bidimensionnel). La perturbation est suivie d'une relaxation décrite par une loi exponentielle de constante σ_{IJ} , appelée constante de vitesse de relaxation croisée.

III.1.2 Densité spectrale

La densité spectrale $J(\omega)$ est la fonction qui décrit la modulation en fréquence des phénomènes de mobilité moléculaire. Plusieurs modèles ont été proposés.

Le premier est celui de la molécule rigide qui subit une réorientation isotrope en solution. On a :

$$J(\omega) = \tau_c / (1 + \omega^2 \tau_c^2).$$

avec ω : fréquence du spectromètre

τ_c : temps de corrélation moléculaire (temps mis pour une rotation d'un radian).

Lipari et Szabo⁵ ont proposé un autre modèle de densité spectrale ne reposant sur aucun modèle physique particulier (d'où son nom Model Free Approach). Dans ces conditions la densité spectrale s'exprime :

$$J(\omega) = (2/5) \cdot [S^2 \cdot \tau_M / (1 + (\omega \cdot \tau_M)^2) + (1 - S^2) \cdot \tau / (1 + (\omega \cdot \tau)^2)]$$

avec τ_M : temps de corrélation moléculaire ($\tau_M = \tau_c$)

$$\tau^{-1} = \tau_e^{-1} + \tau_M^{-1}$$

τ_e : temps de corrélation effectif qui mesure la vitesse des mouvements internes

S : paramètre d'ordre général qui mesure la restriction spatiale du mouvement.

III.2 Quelques séquences et leurs applications

Le phénomène de l'effet Overhauser nucléaire trouve son application dans les séquences de la RMN pulsée pour mettre en évidence des proximités spatiales ou des mobilités intramoléculaires. Il existe trois types de séquences habituellement utilisées : les séquences 1D, 2D et 3D.

III.2.1 Les séquences 1D

Ces séquences consistent généralement à irradier sélectivement un proton, afin d'observer le nOe du ou des protons en interaction dipolaire avec celui irradié. Elles permettent l'attribution spectrale (nOe différence) ou la mesure des constantes de vitesse de relaxation croisée (DANTE Z).

III.2.2 Les séquences 2D

La séquence 2D la plus utilisée est la séquence NOESY (Nuclear Overhauser Spectroscopy). Cette séquence est une expérience de nOe transitoire. Il s'agit d'une perturbation d'un spin S par rotation de B_z et non par saturation. Puis le système est laissé en évolution sans champ de radiofréquence, contrairement aux expériences précédentes. Le nOe du spin S transféré au spin I voisin décroît et la décroissance observée correspond à la relaxation du spin I. La période d'évolution du nOe est appelée temps de mélange et notée τ_m . La séquence NOESY permet une exploitation quantitative des données de relaxation grâce à l'efficacité du champ irradiant sur toute la gamme spectrale. La carte 2D d'une expérience NOESY contient deux types de pics : les pics diagonaux qui caractérisent individuellement chaque spin I et S, et les pics hors diagonale ou croisés qui caractérisent les interactions dipolaires entre deux spins I et S. Les séquences 3D permettent une vision tridimensionnelle des pics des séquences 2D.

III.2.3 La démarche globale

La démarche habituellement suivie consiste à réaliser des cartes NOESY pour quantifier les effets nOe et des expériences de DANTE Z pour connaître σ_{IJ} et donc r_{IJ} (distances interspins). Les autres distances interspins sont estimées de manière empirique. Une structure peut donc ensuite être élaborée avec le concours de la modélisation moléculaire (mécanique moléculaire et dynamique moléculaire). Sur cette structure qui respecte qualitativement les données de la RMN, des simulations d'effet nOe sont réalisées. Confrontées aux données expérimentales, ces simulations permettent d'établir la validité du modèle postulé. Cette simulation permet également de mettre en évidence la mobilité moléculaire en utilisant un modèle de densité spectrale, le paramètre ajustable étant σ_{IJ} .

CONCLUSION

Ce rapide panorama de la RMN a permis de montrer le puissant outil de travail qu'elle constitue, pour l'étude physicochimique des molécules complexes comme les biomolécules (polysaccharides, protéines, acides nucléiques, ...) et pour connaître une de leurs propriétés fondamentales : la flexibilité. L'évolution de cette technique reste fortement liée à la puissance des champs fournis par les aimants. De ce point de vue, la technologie des cryoaimants a apporté de profonds changements. Ce domaine reste donc un axe de recherche privilégié pour les physiciens et montre ainsi la symbiose qui existe entre physiciens, chimistes et biologistes.

REMERCIEMENTS

Je tiens tout particulièrement à remercier Madame le Docteur Catherine Hervé du Penhoat, du Département de Chimie de l'Ecole Normale Supérieure, qui m'a accueilli en stage dans son Laboratoire d'Analyse Dynamique par RMN et Modélisation Moléculaire, ce qui m'a permis de me familiariser avec ces techniques.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 1 P. Jolibois, *Méthodes actuelles de la chimie*, (1937)
- 2 D. Canet, *RMN*, InterEditions, (1991)
- 3 I. Braccini, C. Derouet, J. Esnault, C. Hervé du Penhoat, J.-M. Mallet, V. Michon, et P. Sinaÿ, *Carbohydr. Res.*, **246** (1993) 23 - 41
- 4 P. Arnaud, *Cours de chimie organique*, Dunod, (1993)
- 5 G. Lipari et A. Szabo, *J. Am. Chem. Soc.*, **104**, (1982), 4546.

Annexe

TABLEAU 1

Composé	Déplacement chimique δ (ppm)
CH ₃ I	2,16
CH ₃ Br	2,65
CH ₃ Cl	3,10
CH ₃ F	4,26

TABLEAU 2

Structure	Déplacement moyen δ (ppm)
Aldéhyde	9,5 - 10
Alcènes	4 - 8
Aromatiques	6 - 9
Alcynes	1,5 - 3,5