

MEMENTO DE L'UTILISATEUR

RMN haute résolution en phase liquide

INTRODUCTION.....	2
PREPARATION DES ECHANTILLONS	2
<i>Choix des tubes de RMN</i>	2
<i>Remplissage des tubes</i>	2
<i>Choix du solvant deutéré</i>	2
<i>Référence du déplacement chimique</i>	3
<i>Concentration du soluté</i>	3
EXPERIENCES STANDARDS ET CHOIX DU SPECTROMETRE.....	3
OBSERVATION DU PROTON	3
<i>Expérience standard ¹H. (¹H)</i>	3
<i>Expérience ¹H avec présaturation du solvant. (¹H solvant présaturation)</i>	3
<i>Expérience ¹H avec élimination du solvant. (¹H solvant suppression)</i>	4
<i>Expérience ¹H découplé du ³¹P. (¹H découplé ³¹P)</i>	4
<i>Expérience 2D COSY standard. (¹H COSY)</i>	4
<i>Expérience 2D COSY phasée. (¹H COSY phasée)</i>	4
<i>Expérience 1D et 2D NOESY. (¹H NOESY)</i>	4
OBSERVATION DU CARBONE 13	4
<i>Expérience standard ¹³C découplé du proton. (¹³C)</i>	4
<i>Expérience Attached Proton Test. (¹³C APT)</i>	5
<i>Expérience quantitative ¹³C découplé du proton. (¹³C quantitatif)</i>	5
OBSERVATION DU FLUOR 19.....	5
<i>Expérience standard ¹⁹F. (¹⁹F)</i>	5
OBSERVATION DU PHOSPHORE 31.....	5
<i>Expérience standard ³¹P découplé du proton. (³¹P)</i>	5
<i>Expérience standard ³¹P non découplé du proton. (³¹P)</i>	5
CORRELATION ¹ H-X (¹³ C, ³¹ P).....	6
<i>Expérience 2D de corrélation 1H-noyau X directement lié (HMQC)</i>	6
<i>Expérience 2D de corrélation ¹H-¹³C non directement lié (HMBC)</i>	6
UNE NUIT POUR IDENTIFIER UNE STRUCTURE !.....	6
RENSEIGNEMENTS DIVERS	6
CONTACTS.....	6
ANNEXES.....	7
DEPLACEMENT CHIMIQUE DES PRINCIPAUX SOLVANTS RMN.....	7
SOUMETTRE UN ECHANTILLON A L'ANALYSE : UNE PROCEDURE STANDARD.....	8

Introduction

Le présent mémento est destiné aux usagers du service commun de RMN. Vous y trouverez les informations nécessaires à la préparation de vos échantillons, une liste non exhaustive des principales expériences de RMN proposées par le service commun, le protocole d'utilisation du service commun ainsi que divers renseignements. Nous essayons d'avoir une démarche qualité dans le travail que nous réalisons pour vous. Il est nécessaire, comme pour toute analyse physico-chimique, que certains protocoles soient respectés notamment dans la préparation des échantillons. Le respect des consignes indiquées dans ce document devrait permettre d'améliorer la qualité des services que nous vous rendons.

PREPARATION DES ECHANTILLONS

La réalisation d'expériences de RMN haute résolution nécessite tout d'abord un échantillon de bonne qualité répondant à un certain nombre de contraintes.

CHOIX DES TUBES DE RMN

Les tubes de RMN doivent être de bonne qualité. Le magasin de chimie fournit des tubes RMN répondant aux critères de qualité nécessaire à ces analyses. Les tubes doivent être propres et secs avant utilisation. La sensibilité, notamment en RMN du proton, est telle que toute impureté sera détecté et pourra nuire à la qualité ou à l'interprétation de votre analyse. La longueur minimum de ces tubes doit être de 140 mm.

REPLISSAGE DES TUBES

La résolution d'un spectre RMN dépend du réglage de l'homogénéité du champ magnétique dans lequel se trouvera plongé l'échantillon. Ce réglage est délicat et doit être réalisé pour chaque échantillon. Il arrive souvent que les échantillons que nous examinons possèdent des caractéristiques de remplissage (hauteur de liquide dans le tube) très différentes qui entraînent de fortes variations de l'homogénéité. Ceci nous conduit à passer plus de temps à effectuer ce réglage qu'à réaliser l'expérience proprement dites, voir même dans certains cas à ne pas pouvoir obtenir une homogénéité correcte. Le remède à ce problème est simple. Nous avons calibré l'homogénéité de nos spectromètres avec des tubes standards ayant une hauteur de remplissage constante de 40 mm pour les tubes de 5 mm et de 50 mm pour les tubes de 10 mm. Nous vous demandons donc de préparer vos échantillons en conséquence et de respecter cette hauteur le mieux possible (tolérance 2mm). Nous pourrons ainsi être plus efficaces (le temps facturé pour l'obtention d'un spectre sera réduit) et nous pourrons vous assurer d'une haute résolution et d'une qualité de spectre constante.

CHOIX DU SOLVANT DEUTERE

Il est nécessaire d'utiliser en RMN des solvants deutérés qui permettent de stabiliser et d'effectuer le réglage de l'homogénéité du champs magnétique par observation du deutérium. Les produits deutérés ne sont jamais à un taux d'enrichissement isotopique de 100%. Le résidu de solvant non deutéré conduira à un signal protonique qui quelquefois se superposera aux signaux de la molécule ou des molécules d'intérêt. Le tableau en annexe rassemble les principaux solvants utilisés en RMN et les caractéristiques de déplacement chimique des protons résiduels ainsi que des autres isotopes de ces solvants. Il vous permettra de faire votre choix. Il nous est nécessaire de connaître le solvant RMN que vous avez utilisé. Son nom devra apparaître de manière lisible sur l'étiquette jointe à votre échantillon.

EXPERIENCE ^1H AVEC ELIMINATION DU SOLVANT. (**^1H SOLVANT SUPPRESSION**)

Spectromètre : 400Mhz 300Mhz 250Mhz Réservation

Durée approximative : 30 mn

Cette expérience utilisant les gradients permet d'obtenir le spectre d'un soluté en faible concentration ($\sim 1\text{mM}$) dans de l'eau légère dont le signal doit être supprimé.

EXPERIENCE ^1H DECOUPLE DU ^{31}P . (**^1H DECOUPLE ^{31}P**)

Spectromètre : 400Mhz 300Mhz 250Mhz Réservation

Durée approximative : 20 mn

Cette expérience permet d'observer le spectre protonique découplé du proton. Elle permet ainsi d'identifier facilement les protons couplés à ce noyau.

EXPERIENCE 2D COSY STANDARD. (**^1H COSY**)

Spectromètre : 400Mhz 300Mhz 250Mhz Réservation

Durée approximative : 45 mn + traitement

C'est la plus simple des expériences de corrélation homonucléaire qui permet d'obtenir, via le couplage scalaire, les connectivités entre protons. Cette version de l'expérience COSY est destinée aux systèmes de spin simples. Les différents multiplets du spectre protonique standard 1D doivent être facilement identifiables.

EXPERIENCE 2D COSY PHASEE. (**^1H COSY PHASEE**)

Spectromètre : 400Mhz 300Mhz 250Mhz Réservation

Durée approximative : 1H+30mn de traitement de données

Cette expérience utilisant les gradients (ils permettent de réduire par un facteur 4 le temps d'expérimentation) est destiné aux molécules présentant un spectre protonique comprenant des multiplets en recouvrement. La carte de corrélation obtenue est mieux résolue et plus facilement interprétable que dans le cas précédent.

EXPERIENCE 1D ET 2D NOESY. (**^1H NOESY**)

Spectromètre : 400Mhz 300Mhz 250Mhz Réservation

Durée approximative : suivant le système étudié (une nuit en général)

L'expérience NOESY permet de mettre en évidence la proximité spatiale des protons. Elle peut être un outil de choix pour élucider une structure. Cette expérience demande une préparation particulière de l'échantillon et son résultat est fortement dépendant du système étudié. Il est nécessaire de prendre un rendez-vous avec les personnes du service commun pour évaluer sa faisabilité sur le système que vous désirez étudier.

OBSERVATION DU CARBONE 13

EXPERIENCE STANDARD ^{13}C DECOUPLE DU PROTON. (**^{13}C**)

Spectromètre : 400Mhz 300Mhz 250Mhz Réservation

⋮
Durée approximative : de 20 mn à plusieurs heures suivant la concentration du soluté
⋮

C'est l'expérience de base permettant l'observation du ^{13}C . Il peut être nécessaire de prévenir l'opérateur si votre système comporte des carbones quaternaires ou des carboxyles. Dans certains cas ceux-ci peuvent être difficiles à mesurer du fait d'une relaxation lente combinée à une plus faible sensibilité. Les spectres obtenus ne sont pas quantitatifs. Si la concentration est faible et que l'étalement en déplacement chimique n'est pas un critère indispensable il est préférable de réaliser la mesure sur le 250 MHz qui présente une meilleure sensibilité pour l'observation directe du ^{13}C .

EXPERIENCE ATTACHED PROTON TEST. (^{13}C APT)

Spectromètre : 400Mhz 300Mhz 250Mhz Réservation

Durée approximative : de 25 mn à plusieurs heures suivant la concentration du soluté

Cette expérience permet de différencier les carbones portant 1 ou 3 protons des carbones quaternaires ou portant 2 protons. Les premiers conduiront à un signal " négatif " les seconds à un signal " positif " dans le spectre. Si la concentration est faible et que l'étalement en déplacement chimique n'est pas un critère indispensable il est préférable de réaliser la mesure sur le 250 MHz qui présente une meilleure sensibilité pour l'observation directe du ^{13}C .

EXPERIENCE QUANTITATIVE ^{13}C DECOUPLE DU PROTON. (^{13}C QUANTITATIF)

Spectromètre : 400Mhz 300Mhz 250Mhz Réservation

Durée approximative : de 30 mn à plusieurs heures suivant la concentration du soluté

Cette expérience permet de mesurer de manière quantitative le ^{13}C . Elle nécessite un temps d'expérimentation nettement supérieur. Une préparation particulière de l'échantillon (ajout d'un agent relaxant) peut être nécessaire.

OBSERVATION DU FLUOR 19

EXPERIENCE STANDARD ^{19}F . (^{19}F)

Spectromètre : 400Mhz 300Mhz 250Mhz Réservation

Durée approximative : 10 mn

C'est l'expérience de base permettant l'observation du ^{19}F . Il sera possible dans un avenir proche d'effectuer des expériences fluor découplé du proton et des expériences COSY en fluor.

OBSERVATION DU PHOSPHORE 31

EXPERIENCE STANDARD ^{31}P DECOUPLE DU PROTON. (^{31}P)

Spectromètre : 400Mhz 300Mhz 250Mhz Réservation

Durée approximative : de 10 mn à plusieurs heures suivant la concentration du soluté

C'est l'expérience de base permettant l'observation du ^{31}P . La sonde du spectromètre à 250 MHz étant optimisée pour les noyaux ^{31}P et ^{13}C en observation directe, il sera préférable d'y réaliser ces expériences.

EXPERIENCE STANDARD ^{31}P NON DECOUPLE DU PROTON. (^{31}P)

Spectromètre : 400Mhz 300Mhz 250Mhz Réservation

Durée approximative : de 10 mn à plusieurs heures suivant la concentration du soluté

Cette expérience peut être complémentaire de la précédente. Elle permet d'éditer les constantes de couplage ^{31}P - ^1H de protons non directement liés au phosphore.

CORRELATION ^1H -X (^{13}C , ^{31}P)

EXPERIENCE 2D DE CORRELATION 1H-NOYAU X DIRECTEMENT LIE (**HMQC**)

Spectromètre : 400Mhz 300Mhz 250Mhz Réservation

Durée approximative : 2 heures + 30mn de traitement

L'expérience HMQC avec utilisation des gradients permet d'obtenir en un temps d'expérimentation court avec des concentrations faibles (~50 mM) la carte de corrélation entre proton(s) et noyau X chimiquement liés (via les couplages ^1J entre protons et noyau X). Elle s'avère très utile pour identifier sans ambiguïté les différentes résonances des spectres protoniques et X. La séquence HMQC est équivalente dans son but à la séquence HETCOR mais sa sensibilité est plus de 50 fois supérieure.

EXPERIENCE 2D DE CORRELATION ^1H - ^{13}C NON DIRECTEMENT LIE (**HMBC**)

Spectromètre : 400Mhz 300Mhz 250Mhz Réservation

Durée approximative : 6 heures + 30mn de traitement

L'expérience HMBC avec utilisation des gradients permet d'obtenir en un temps d'expérimentation court avec des concentrations faibles (~50 mM) la carte de corrélation entre proton(s) et ^{13}C non chimiquement liés (via les couplages ^nJ ($n>1$) entre protons et carbone ^{13}C). C'est un outil puissant pour la résolution de structure et l'identification des carbones quaternaires. Cette séquence est équivalente à la séquence COLOC mais bénéficie d'une sensibilité plus de 50 fois supérieur.

UNE NUIT POUR IDENTIFIER UNE STRUCTURE !

Nous vous proposons en l'espace d'une nuit de réaliser sur un même échantillon les expériences ^1H , ^{13}C , COSY phasée, HMQC et HMBC. L'ensemble de ces expériences permet d'élucider la structure des composés organiques courants et d'effectuer l'attribution des résonances ^1H et ^{13}C de manière sure.

Spectromètre : 400Mhz 300Mhz 250Mhz Réservation

Durée approximative : 12 heures tarif nuit + 2 heures tarif jour pour le traitement

RENSEIGNEMENTS DIVERS

CONTACTS

Pour tous renseignements ou réservations vous pouvez nous contacter au laboratoire de méthodologie RMN, entrée 4A niveau 2 ou par l'un des moyens suivants :

par e-mail à l'adresse Pierre.Mutzenhardt@rmn.uhp-nancy.fr

ANNEXES

DEPLACEMENT CHIMIQUE DES PRINCIPAUX SOLVANTS RMN

Solvant	Abréviation	Formule	δ ^1H (ppm)	δ ^{13}C (ppm)
Acétone	AC	$\text{C}_3\text{H}_4\text{O}_2$	2.1	30.2 205.1
Acetonitrile	AN	$\text{C}_2\text{H}_3\text{N}$	2.0	0.3 117.2
Benzene		C_6H_6	7.4	128.7
Chloroforme		CHCl_3	7.3	77.7
Dimethylsulfoxyde	DMSO	$\text{C}_2\text{H}_6\text{S}$	2.6	39.5
Méthanol	MeOH	CH_4O	3.5	49.3
Toluène		C_7H_8	2.3 7.2	21.3 125 à 138
Eau		H_2O	4.8	

SOUMETTRE UN ECHANTILLON A L'ANALYSE : UNE PROCEDURE STANDARD

1. Préparer un échantillon en respectant les indications fournies dans ce document
2. Etiqueter correctement et lisiblement votre échantillon
3. Apporter votre échantillon au début des plages horaires du service commun
4. Récupérer votre échantillon
5. Transférer (via le réseau ou autre moyen) vos spectres sur votre ordinateur
6. Après une consultation rapide des résultats, **effacer ou faire effacer les données du serveur du service commun**. Trop souvent vos données restent stockées sur ce serveur et encombrant l'espace disque.