

Ecole Thématique de Do-Son

Analyse structurale organique par Résonance Magnétique Nucléaire à deux dimensions

But du cours

- ❖ Maîtriser les bases de l'exploitation des spectres de RMN à 2 dimensions (RMN 2D) pour l'attribution des spectres et l'analyse structurale de molécules organiques.

Pré-requis

- ❖ Principe de la RMN par impulsions et transformation de Fourier.
- ❖ Déplacements chimiques et couplages scalaires en RMN du ^1H et du ^{13}C .

Plan

Enregistrement d'un spectre de RMN 2D

Pourquoi la RMN 2D ?

Utilisation d'un spectre de RMN 2D de corrélation

Rappels sur l'enregistrement des spectres en RMN 1D

Acquisition et traitement du signal en RMN 2D

RMN homonucléaire : attribution du spectre de RMN ^1H du peptide MNYYSNS

RMN hétéronucléaire

Attribution des spectres de RMN ^1H et ^{13}C de la quinidine

Recherche de la structure d'un terpène et attribution de ses spectres de RMN ^1H et ^{13}C

Enregistrement d'un spectre de RMN 2D

Pourquoi la RMN 2D ?

Les valeurs des déplacements chimiques d'un noyau fournissent des informations centrées sur cet atome, en termes de nombre et nature des plus proches voisins. La détection des couplages apporte des données structurales complémentaires sous forme de relations de proximité entre atomes, ces derniers étant identifiés par leur déplacement chimique. Même si des méthodes expérimentales en RMN 1D ont été utilisées pour accéder aux relations de proximité, elles sont à l'usage d'un emploi fastidieux et d'une efficacité parfois limitée. La détection simultanée de tous les couplages est le but de la RMN 2D de corrélation des déplacements chimiques. Il existe aussi une RMN 2D de séparation des interactions qui ne sera pas abordée ici.

Les couplages observables sont de deux natures différentes :

scalaires : il s'agit du couplage indirect qui a pour origine les interactions entre spins nucléaires et spins électroniques. Leur portée est limitée par le nombre de liaisons chimiques qui séparent les noyaux. Le couplage 1D se traduit dans les spectres 1D par l'éclatement des raies de résonance sous forme de motifs de couplage.

dipolaire : il s'agit du couplage direct à travers l'espace entre spins nucléaires. Sa portée dépend de la distance d qui sépare les deux noyaux couplés. Le couplage dipolaire est invisible sur les spectres 1D des liquides isotropes et son existence est révélée par la cinétique de retour à l'équilibre des spins nucléaires (relaxation). Lorsque la relaxation d'un noyau est dépendante de l'état des noyaux voisins, cela constitue le phénomène de relaxation croisée qui se manifeste sous la forme de l'effet Overhauser nucléaire (nOe). Cet effet varie selon une loi en $1/d^6$ et est généralement insignifiant pour d supérieur à 0,5 nm.

Les spectres 2D dédiés à la détection des couplages scalaires sont :

❖ Homonucléaires :

- COSY (et ses variantes) : COrrélation SpectroscopY
- TOCSY : TOtal Correlation SpectroscopY
- INADEQUATE : Incredible Natural Abundance Double QUAnTum Experiment

❖ Hétéronucléaires :

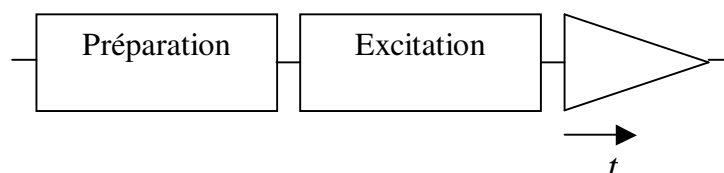
- HSQC (couplages 1J) : Heteronuclear Single Quantum Correlation
- HMBC (couplages nJ , $n>1$) : Heteronuclear Multiple Bond Correlation

La détection des couplages dipolaires est presque exclusivement réalisée entre noyaux ^1H . Dans ce cas, les spectres obtenus sont de deux types :

- ❖ NOESY : Nuclear Overhauser Effect SpectroscopY
- ❖ ROESY : Rotating-frame Overhauser Effect SpectroscopY

Rappels sur l'enregistrement des spectres en RMN 1D

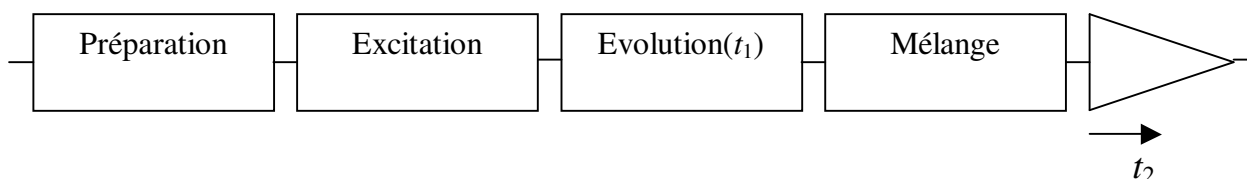
L'aimantation longitudinale initiale de l'échantillon est écartée de sa position d'équilibre par une impulsion de champ de radiofréquence (excitation). Le retour à l'équilibre de l'aimantation est détecté électriquement et conduit à un spectre $S(\nu)$ par transformation de Fourier du signal temporel enregistré $s(t)$. Dans la pratique, plusieurs signaux sont co-additionnés pour améliorer le rapport signal sur bruit. La période de préparation est destinée à permettre le retour de l'aimantation au voisinage de sa position d'équilibre avant chaque excitation.



$$S(\nu) = \text{TF}(s(t))$$

Le signal est échantillonné et numérisé pour être traité par ordinateur. La fréquence d'échantillonnage ($1/\text{DW}$, où **DW** est le « dwell time », ou temps de résidence) est égale à la largeur spectrale **SW**. Le temps t est ainsi échantillonné aux temps $0, \text{DW}, 2 \times \text{DW}, 3 \times \text{DW}, \dots, (\text{TD}_2 - 1) \times \text{DW}$.

Acquisition et traitement du signal en RMN 2D



$$S(\nu_1, \nu_2) = \text{TF}(s(t_1, t_2))$$

L'aimantation initiale de l'échantillon est « préparée » (généralement par un simple délai de relaxation, mais pas toujours) puis excitée par une ou plusieurs impulsions de radiofréquence. L'aimantation de chaque noyau est marquée en fréquence par une séquence d'évolution de durée t_1 (voir ci-après) et transférée par une séquence de mélange (en totalité ou en partie) vers un autre noyau avec lequel il couple. Le signal détecté pendant t_2 dépend naturellement de l'évolution du système de spins pendant t_1 .

Un spectre 2D est produit par transformation de Fourier 2D d'un signal $s(t_1, t_2)$ échantillonné à la fois pendant t_2 (le temps physique usuel) et pendant t_1 , par incréments successives de ce dernier. Un ensemble de TD_1 valeurs de t_1 ($0, \text{IN}, 2 \times \text{IN}, 3 \times \text{IN}, \dots, (\text{TD}_1 - 1) \times \text{IN}$) est utilisée pour obtenir les TD_1 signaux 1D qui constituent $s(t_1, t_2)$. L'incrément temporel **IN** est déduit de la largeur de la fenêtre spectrale **SW**₁ des évolutions observables du signal selon t_1 . La fréquence d'échantillonnage pendant t_1 ($1/\text{IN}$) est ainsi égale à **SW**₁ (sauf schéma d'acquisition particulier).

La résolution des spectres (en Hz par point) est déterminée (entre autres facteurs) par **SW/TD** dans les dimensions spectrales 1 (dimension dite « indirecte ») et 2. Plus la valeur numérique de la résolution est faible et plus il est possible de distinguer deux signaux à des déplacements chimiques

voisins. Obtenir la même résolution en 1D qu'en 2D nécessiterait un temps d'enregistrement très long, supérieur à $\mathbf{TD}_1 \times \mathbf{TD}_2 \times \mathbf{NS} \times \mathbf{DW}$, où \mathbf{NS} est le nombre d'accumulations réalisées par valeur de t_1 pour obtenir le rapport signal sur bruit désiré. Cela nécessiterait aussi le stockage de $\mathbf{TD}_1 \times \mathbf{TD}_2$ valeurs de $s(t_1, t_2)$. Une telle résolution n'est ni souhaitable, ni nécessaire puisque l'information recherchée est principalement l'existence de relations de couplage. Selon la nature du spectre enregistré, il se peut toutefois que réduire \mathbf{TD}_1 et/ou \mathbf{TD}_2 puisse conduire à une baisse importante de la sensibilité. Des valeurs usuelles de \mathbf{TD}_1 sont 256, 512 ou 1024 (1K) et 1K, 2K ou 4K pour \mathbf{TD}_2 . L'optimisation de la résolution et de la sensibilité par filtrage numérique sort du cadre de cours.

Utilisation d'un spectre de RMN 2D de corrélation

Les spectres de RMN 2D sont tracés comme des courbes d'isoaleur (ou courbes de niveau) de la fonction $S(\nu_1, \nu_2)$. L'existence d'un pic dans $S(\nu_1, \nu_2)$ prouve l'existence d'un couplage entre les noyaux de déplacements chimiques correspondants δ_1 et δ_2 (Fig. 1).

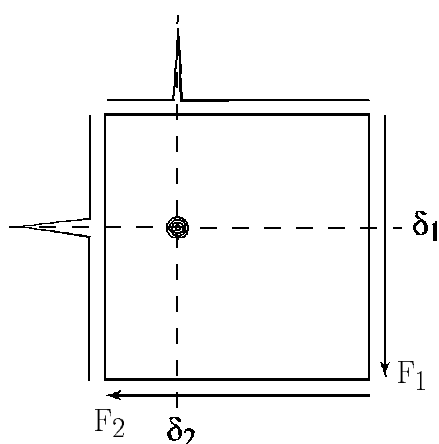


Fig. 1. Corrélation entre 2 déplacements chimiques

Cas des spectres homonucléaires

Des pics de coordonnées $(\delta_1, \delta_2 = \delta_1)$ sont observés en plus de ceux attendus et constituent la diagonale du spectre. A chaque valeur de déplacement chimique du spectre 1D correspond un pic dit « d'autocorrélation » sur le spectre 2D. Pour un système AX dans un spectre COSY on obtient ainsi (Fig. 2) :

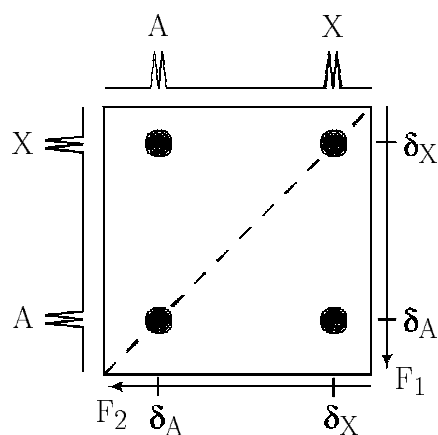


Fig. 2. Spectre COSY d'un système AX homonucléaire

Si le spectre est symétrique (ce qui est le cas avec les spectres de type usuel) on peut identifier le ou les noyaux couplés à un noyau donné comme indiqué (Fig. 3a) :

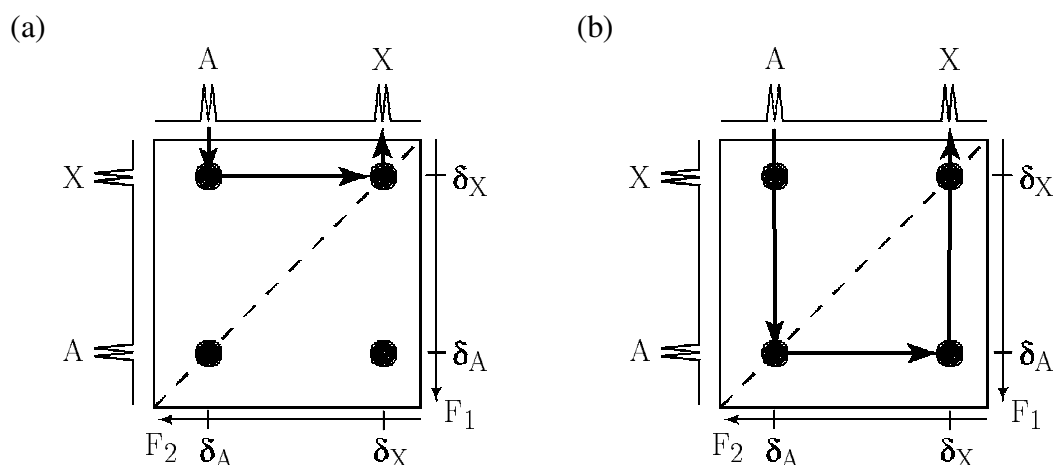
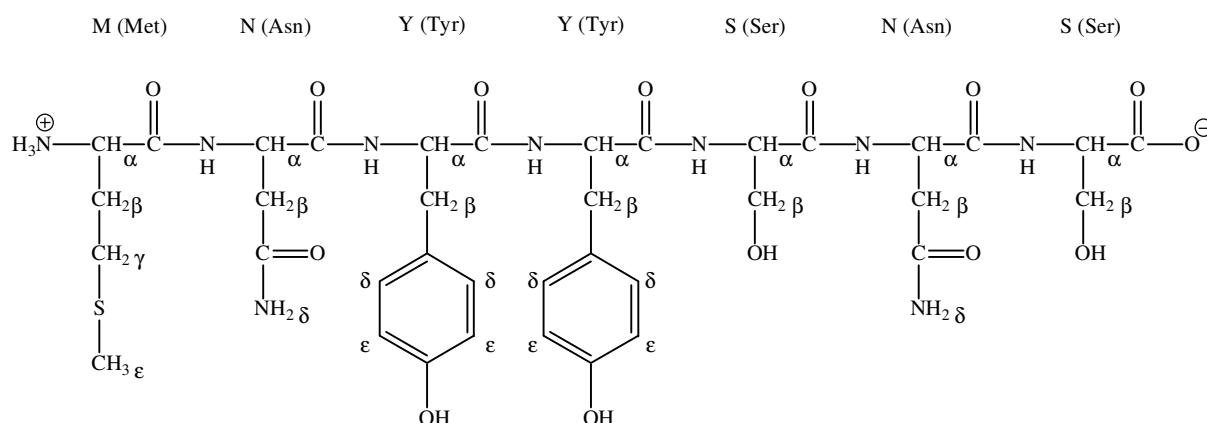


Fig. 3. Recherche des relations de couplage homonucléaire

- ❖ en partant du signal de A (δ_A) sur le spectre 1D, on recherche tous les pics hors diagonale situé dans la colonne du spectre 2D.
- ❖ à partir d'une corrélation (δ_A, δ_X) on cherche sur la même rangée le signal (δ_X, δ_X) sur la diagonale.
- ❖ le signal de X est observable sur le spectre 1D dans la colonne correspondante.

Alternativement, il est possible de procéder comme indiqué sur la Figure 3b.

Attribution du spectre de RMN ^1H du peptide MNYYSNS enregistré à 500 MHz dans le $\text{DMSO-}d_6$.



L'attribution d'un spectre consiste à chercher quel atome de la molécule étudiée (de structure connue) est responsable de chaque signal observé. Pour un petit peptide en solution, les expériences COSY et NOESY suffisent pour attribuer le spectre de RMN ^1H . Chaque résidu est constitué d'un ou plusieurs système de spins. Le spectre COSY permet d'identifier partiellement la

nature des amino-acides, mais n'est d'aucune utilité pour déterminer leur position relative. Les spectres NOESY ou ROESY apportent les informations nécessaires pour naviguer d'un système de spin aux systèmes voisins. L'exemple présenté utilise le spectre ROESY car la taille des molécules (qui conditionne le temps de corrélation τ_c) et le champ utilisé (11.7 T, 500 MHz pour ^1H) peuvent conduire à des problèmes de sensibilité dans le spectre NOESY, problème qui n'existe pas avec le spectre ROESY. Le peptide étudié comporte six fois l'enchaînement $\text{H}_\text{N}-\text{H}_\alpha-(\text{H}_{\beta 1})\text{H}_{\beta 2}$ (pour 2 Asn, 2 Tyr, 2 Ser) et une fois $\text{H}_\alpha-(\text{H}_{\beta 1})\text{H}_{\beta 2}-(\text{H}_{\gamma 1})\text{H}_{\gamma 2}$ pour Met. Il faudra successivement

- ❖ Identifier les δ des noyaux pour chacun des systèmes de la chaîne principale (COSY ou TOCSY)
- ❖ Rechercher à quel type de résidu ils appartiennent (COSY et ROESY)
- ❖ Rechercher à quel résidu ils correspondent exactement (ROESY)
- ❖ Attribuer les signaux des chaînes latérales (COSY et ROESY).

Identification des systèmes de spins

Le domaine spectral compris entre 6,5 et 9,3 ppm contient les signaux des protons aromatiques, des NH et NH_2 d'amides et des OH phénoliques. On observe six corrélations COSY entre de tels signaux et ceux du reste du spectre. Ils ne peuvent qu'être dus aux couplages $\text{H}_\text{N}-\text{H}_\alpha$. Les δ des H_α sont compris entre 4,2 et 4,7 ppm et ne sont pas significativement différents pour être attribuables à un résidu plutôt qu'à un autre. A chaque signal de H_α correspond deux signaux des H_β auxquels ils sont couplés. On distingue ainsi dans le spectre COSY, six systèmes de spins notés A à F par ordre de δ décroissant des H_α (Table 1).

Table 1

Système	H_N	H_α	$\text{H}_{\beta 1}$	$\text{H}_{\beta 2}$
A	8,25	4,65	2,6	2,4
B	8,6	4,6	2,65	2,35
C	8,1	4,45	2,95	2,7
D	8,05	4,32	3,65	3,55
E	8,1	4,3	2,82	2,6
F	7,85	4,25	3,7	3,66

On observe aussi les corrélations entre $\text{H}_{\beta 1}$ et $\text{H}_{\beta 2}$ diastéréotopes. Le regroupement des résonances en systèmes de spins est facilité par le spectre TOCSY où tout noyau possède une corrélation avec tout autre noyau du même système de spins. Le spectre TOCSY donne ainsi accès aux δ des H_β d'un résidu à partir du δ du H_N , même si le signal du H_α est fortement superposé à d'autres signaux, ce qui n'est pas le cas ici.

Identification des types d'aminoacides

Dans la zone des résonances des H aliphatiques dans le spectre COSY, il ne reste que 2 corrélations inexploitées : 3,8 ppm < ---- > 1,9 ppm < ---- > 2,45 ppm qui ne peut que correspondre au système (noté G) du résidu méthionine. Le singulet intense à 2,0 ppm provient du méthyle de la méthionine, car c'est le seul méthyle de la molécule.

Les systèmes D et F montrent des δ élevés des protons H_β . Ce sont donc les systèmes de spins des sérines, où l'oxygène porté par les C_β déblindes les H_β . Pour distinguer les tyrosines des asparagines, il faut chercher des corrélations ROESY entre les signaux des H aromatiques (δ et ϵ) et

des H_β . Quatre signaux de H aromatiques sont observables (chacun comptant pour 2H, 2 par tyrosine), sous forme de doublets, à 7,07, 6,95, 6,6 et 6,55 ppm. Ceux à 7,07 et 6,95 ppm corrélient fortement dans le spectre ROESY avec les H_β des systèmes C et E, ainsi identifiés comme les résidus Y. Les systèmes A et B appartiennent donc aux résidus N. On dispose ainsi de la correspondance :

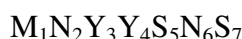
Table 2

Système	A	B	C	D	E	F	G
Résidu	N	N	Y	S	Y	S	M

L'étape suivante consiste à lever les ambiguïtés entre les attribution des paires de systèmes (A, B), (C, E), et (D, F).

Attribution séquentielle.

Dans un petit peptide linéaire et donc peu structuré, des corrélations ROESY intenses sont observables entre H_N et H_α d'un même résidu ainsi qu'entre H_α du résidu n et H_N du résidu $n+1$. La structure du peptide peut être réécrite de manière à faire apparaître les indices des résidus :



La corrélation entre $H_\alpha(G \Leftrightarrow M)$ et $H_N(B \Leftrightarrow N)$ identifie B à N_2 et donc A à N_6 par élimination.. De même, celle entre $H_\alpha(A \Leftrightarrow N_6)$ et $H_N(F \Leftrightarrow S)$ identifie F à S_7 et donc D à S_5 . Enfin, la corrélation entre $H_\alpha(C \Leftrightarrow Y)$ et $H_N(D \Leftrightarrow S_5)$ identifie C à Y_4 et donc E à Y_3 , ce qui finit l'attribution les systèmes de spins de la chaîne principale du peptide.

Table 3

Résidu	M_1	N_2	Y_3	Y_4	S_5	N_6	S_7
Système	G	B	E	C	D	A	F

Résonances des chaînes latérales

Les signaux à 7,07 et 6,95 ppm des résidus Y qui corrélient fortement avec les H_β sont les H_δ (les plus proches des H_β) sont en fait ceux de Y_4 et Y_3 , respectivement. Cette déduction s'appuie sur l'attribution des H_β réalisée précédemment . Le spectre COSY indique que les signaux à 6,6 et 6,55 ppm sont les H_ϵ de Y_4 et Y_3 . Le signal à 9,2 ppm (2H) est très probablement celui des H_O des tyrosines.

Les raies larges à 7,45 et 7,4 ppm corrélient en ROESY avec les H_β des résidus N_6 et N_2 : il s'agit de protons des groupes NH_2 de la tyrosine. Leurs signaux corrélient en COSY avec ceux à 7,07 et 6,98 ppm, aussi dus aux protons NH_2 des résidus N_6 et N_2 .

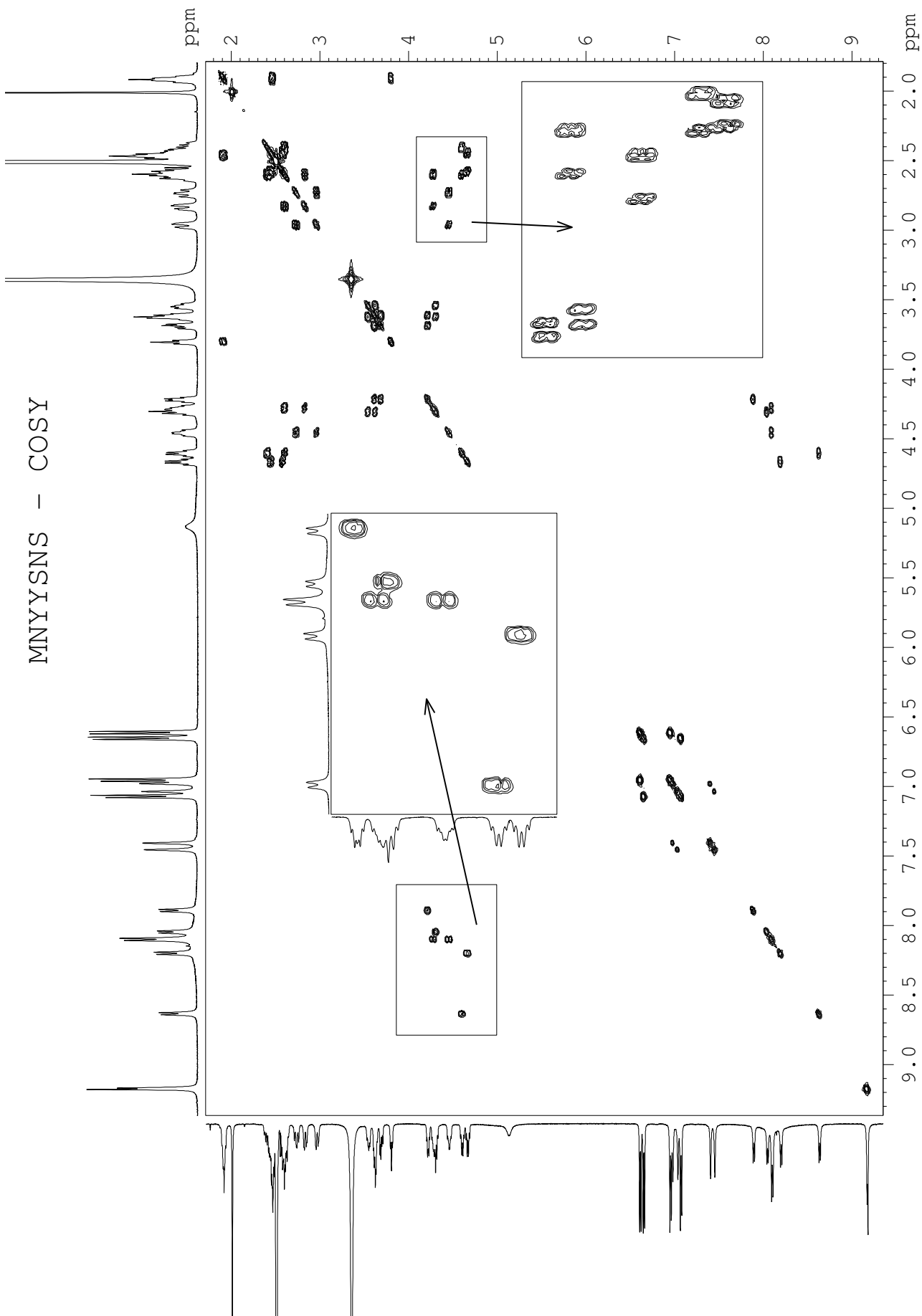
Les protons du groupes NH_3^+ sont en échange rapide avec le solvant et sont donc invisibles.

L'ensemble des résultats est résumé dans la Table 4.

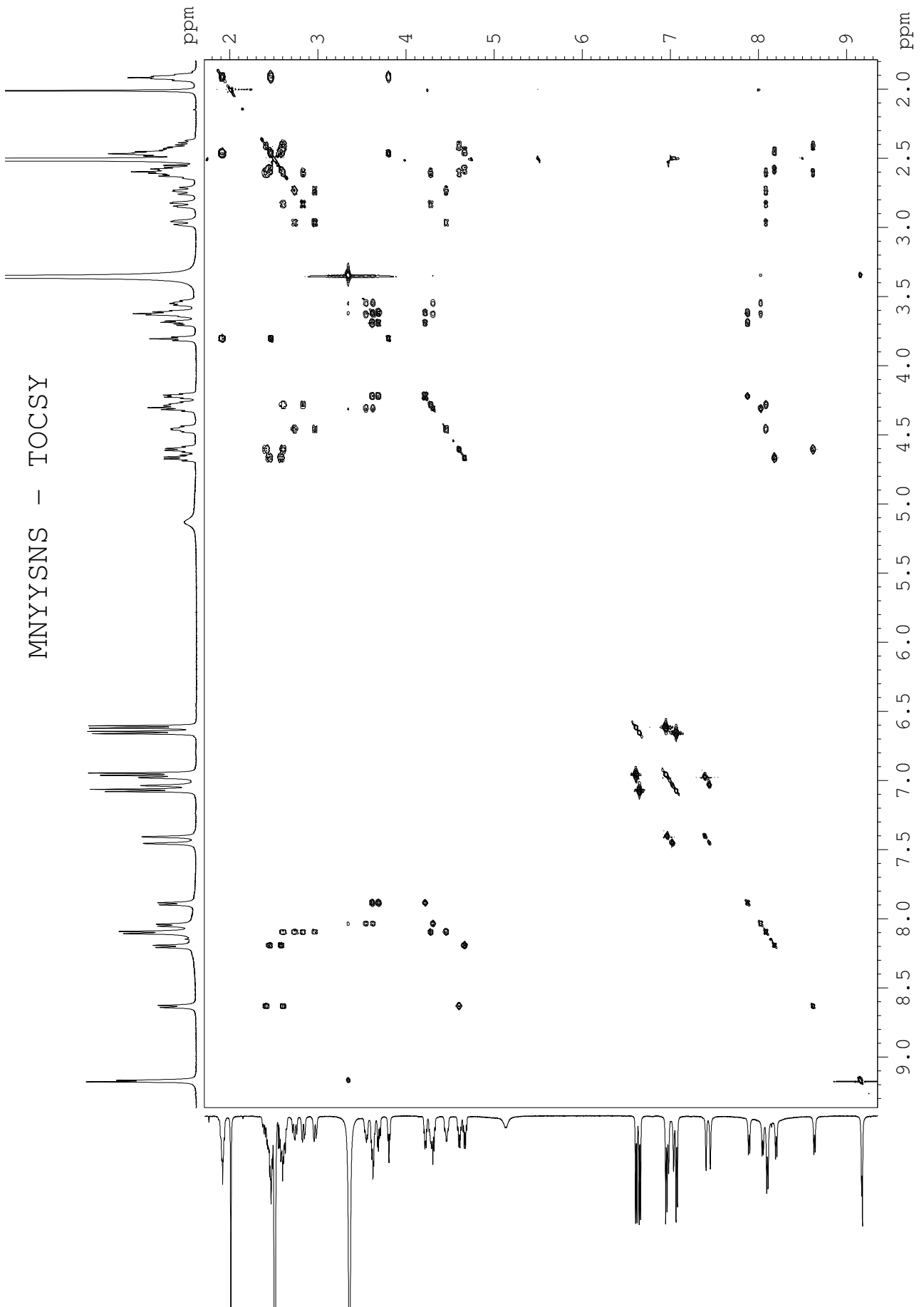
Table 4. Attribution des résonances du peptides MNYYSNS

Résidu	Noyau	δ (ppm)	Résidu	Noyau	δ (ppm)
M ₁ (G)	H _{α}	3,8	S ₅ (D)	H _N	8,05
	H _{β}	1,9		H _{α}	4,32
	H _{γ}	2,45		H _{β1}	3,65
	H _{ϵ}	2,0		H _{β2}	3,55
N ₂ (B)	H _N	8,6	N ₆ (A)	H _N	8,25
	H _{α}	4,6		H _{α}	4,65
	H _{β1}	2,65		H _{β1}	2,6
	H _{β2}	2,35		H _{β2}	2,4
	H _{δ1}	7,4		H _{δ1}	7,45
	H _{δ2}	6,98		H _{δ2}	7,02
Y ₃ (E)	H _N	8,1	S ₇ (F)	H _N	7,85
	H _{α}	4,3		H _{α}	4,25
	H _{β1}	2,82		H _{β1}	3,7
	H _{β2}	2,6		H _{β2}	3,65
	H _{δ}	6,95			
	H _{ϵ}	6,55			
	H _O	9,2			
Y ₄ (C)	H _N	8,1			
	H _{α}	4,45			
	H _{β1}	2,95			
	H _{β2}	2,7			
	H _{δ}	7,07			
	H _{ϵ}	6,6			
	H _O	9,2			

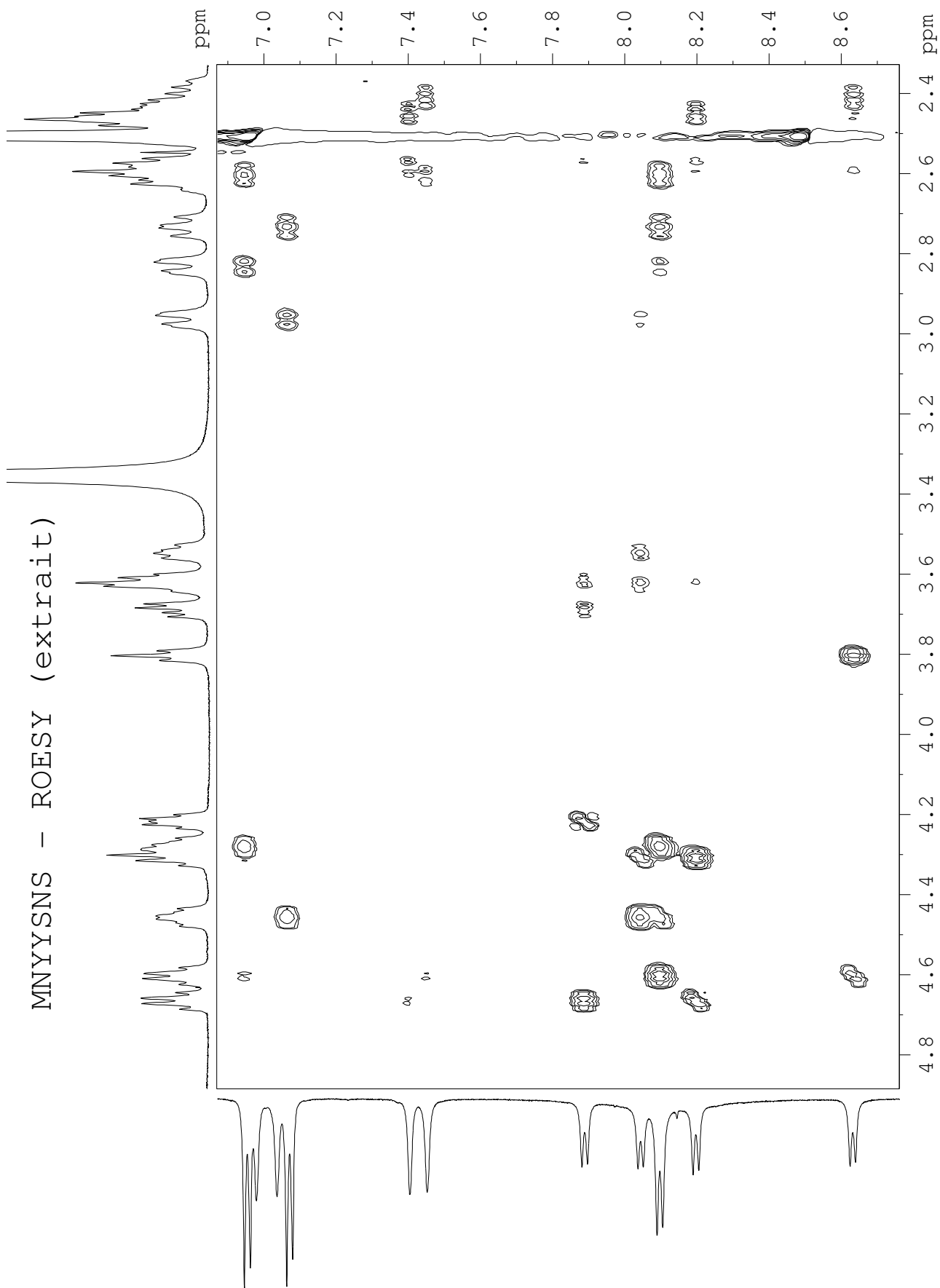
MNYYSNS - COSY



MNYYSNS - TOCSY



MNYYSNS - ROESY (extrait)



RMN hétéronucléaire

Les déplacements chimiques des ^{13}C apportent une information structurale complémentaire à ceux du ^1H . Leur corrélation au moyen des spectres HSQC et HMBC a considérablement facilité l'élucidation de structures complexes de molécules organiques et a amélioré la fiabilité des solutions proposées. Il est aussi possible de réaliser des corrélations entre noyaux ^1H et ^{15}N , qui peuvent apporter une aide précieuse dans l'étude d'un grand nombre de molécules d'origine naturelle ou synthétique. Les exemples décrits ne concerneront que les corrélations ^1H - ^{13}C .

Un spectre HSQC corréle les δ des ^1H et des ^{13}C directement liés. Malgré la faible abondance isotopique du ^{13}C (1 %), c'est l'expérience de RMN 2D hétéronucléaire la plus sensible. Elle ne donne toutefois pas d'information sur les carbones quaternaires. Ceux-ci sont accessibles grâce à l'expérience HMBC, qui corréle les δ des ^1H et des ^{13}C séparés par plus de 1 liaisons, leur nombre étant principalement 2 ou 3, mais possiblement plus si certaines conditions structurales sont réunies (systèmes aromatiques conjugués, systèmes plans).

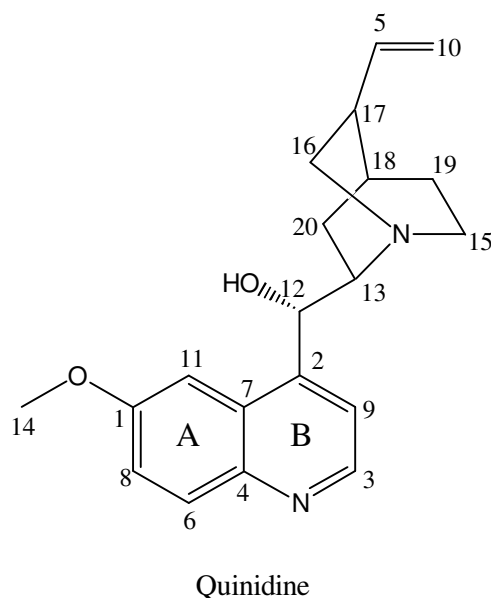
Une corrélation HMBC C_A - H_B à travers n liaisons et une corrélation HSQC C_B - H_B indiquent que C_A et C_B sont séparés par $n-1$ liaisons. En considérant que n vaut 2 ou 3, cela signifie que C_A et C_B sont soit liés ensemble, soit liés à un atome commun indéterminé X. Si tous les voisins de C_A ou de C_B sont connus, le nombre de possibilités pour X est restreint par rapport à la situation ou les listes de voisins de C_A et C_B ne sont pas totalement connues. Il faut donc en priorité analyser les corrélations des atomes dont les voisins sont tous connus. Un méthyle n'ayant qu'un seul voisin, l'analyse des corrélations des groupes méthyles doit s'effectuer de manière prioritaire. Ceci est d'autant plus vrai que toutes les corrélations des protons d'un groupe méthyle sont toujours visibles. L'ordre dans lequel les corrélations sont choisies, soit pour attribuer des spectres, soit pour trouver une structure, est optimal lorsqu'il n'y a qu'un nombre minimal de possibilités de déduction. Il n'est cependant pas toujours possible de réduire ce nombre à 1 pour toutes les corrélations HMBC.

Les informations fournies par un spectre COSY se traduisent aussi en relations de proximité entre carbones si on dispose d'un spectre HSQC : Une corrélation COSY H_A - H_B à travers n liaisons et les corrélations HSQC C_A - H_A et C_B - H_B indiquent que C_A et C_B sont séparés par $n-2$ liaisons. Dans le cas où n vaut 2, le spectre HSQC permet de détecter immédiatement si les 2 noyaux ^1H (de δ différents) sont portés par le même carbone. Les corrélations à travers 3 liaisons permettent de déduire des liaisons entre atomes de carbone.

Pour faciliter l'exploitation simultanée des spectres COSY, HSQC et HMBC, il peut être commode d'identifier les atomes d'hydrogène et de carbone, non pas par leur déplacement chimique mais par un numéro donné arbitrairement. On utilise dans un premier temps le spectre de ^{13}C et on numérote les résonances par ordre de δ croissants ou décroissants. Le spectre HSQC est ensuite utilisé pour donner le même numéro à un ^1H et un ^{13}C directement liés. Plusieurs signaux de ^1H peuvent ainsi porter le même numéro. Les spectres COSY et HMBC se réduisent alors à un ensemble de paires de numéros d'atome, chacun étant relié à une position particulière de la molécule étudiée. Une relation $\text{COSY}(n_\text{A}, n_\text{B})$ indique que C_A et C_B sont liés, et une relation $\text{HMBC}(n_\text{A}, n_\text{B})$ indique soit que C_A et C_B sont liés, soit que C_A et C_B sont liés au même atome X (en excluant un chemin de couplage de longueur strictement supérieure à 3 liaisons).

Attribution des résonances de la quinidine

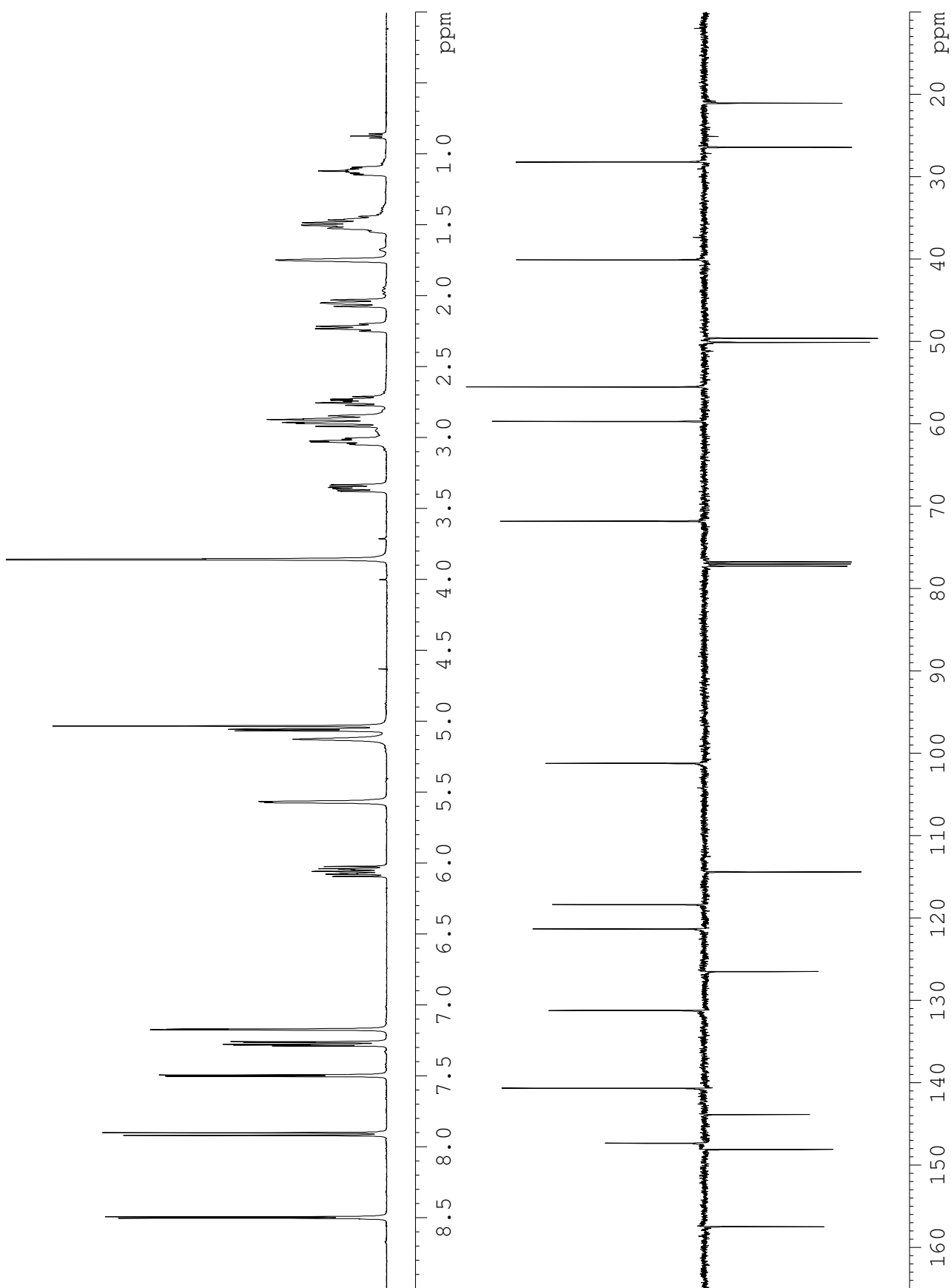
Ce travail commence par la numérotation des résonances des δ du ^{13}C , par ordre décroissant. La formule ci-dessous indique le résultat de l'attribution. Il est suivi par un raisonnement possible pour arriver à ce résultat.



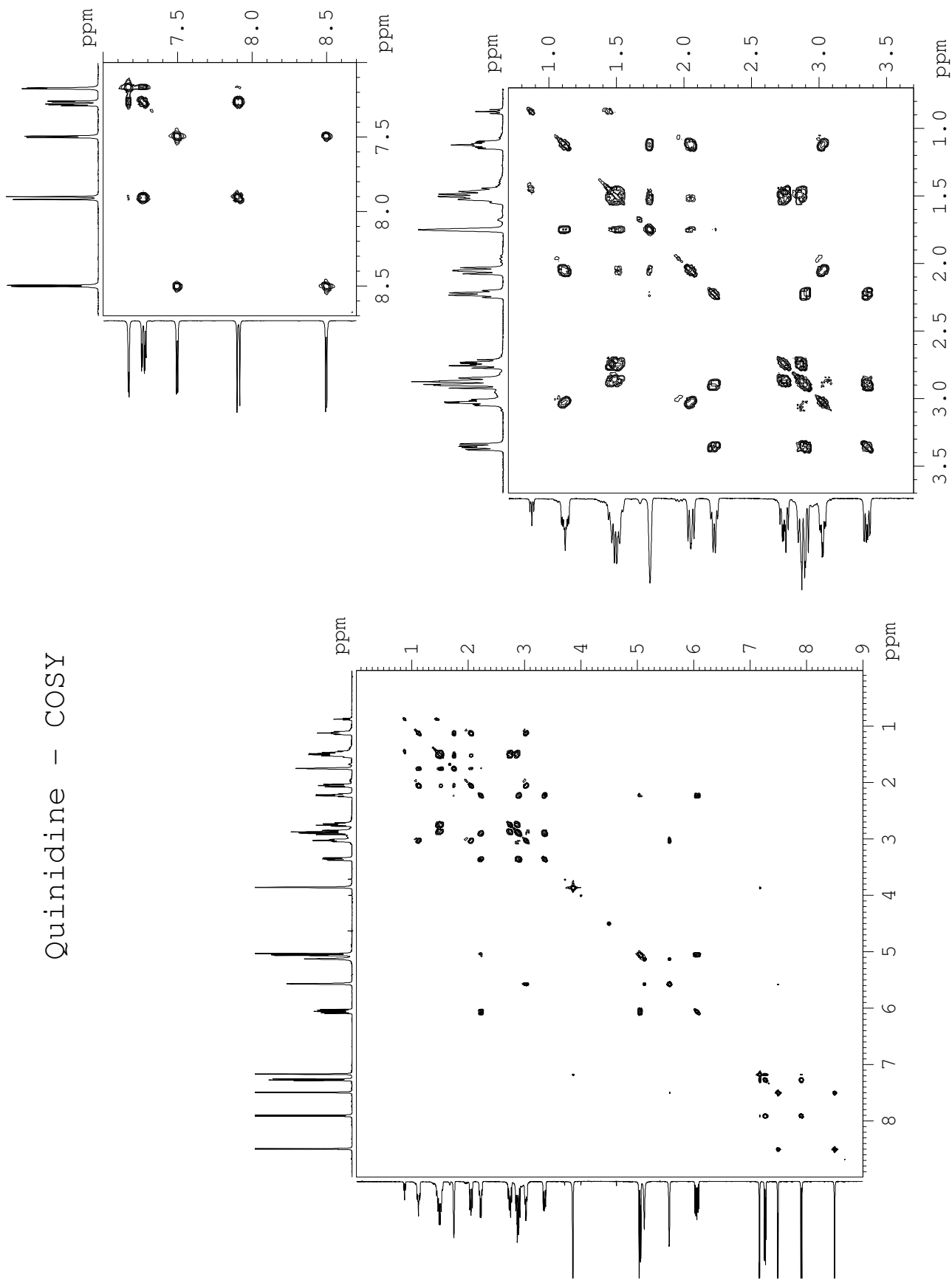
C_{14} est le seul méthyle de la molécule, ce qui permet de l'attribuer. La corrélation HMBC $\text{C}_1\text{-H}_{14}$ permet de placer C_1 . Dans le spectre COSY, la partie aromatique montre 2 systèmes : H_3/H_9 et $\text{H}_6/\text{H}_8/\text{H}_{11}$. C_3 et C_9 sont donc dans le cycle B, C_3 étant placé à côté de l'azote à cause de son déplacement chimique élevé. H_6 couple avec H_8 (J « grand ») et H_8 avec H_{11} (J « petit »). H_6 et H_{11} ne couplent pas. Ceci permet de placer C_{11} , C_8 et C_6 dans le cycle A. La corrélation HMBC $\text{H}_8\text{-C}_4$ montre C_4 (seul quaternaire visible depuis H_8 , C_1 ayant été déjà attribué), $\text{H}_6\text{-C}_7$ montre C_7 (seul quaternaire visible depuis H_6 , C_1 et C_7 ayant été déjà attribués), $\text{H}_{11}\text{-C}_2$ montre C_2 (seul quaternaire visible depuis H_{11} car C_1 , C_7 et C_4 sont déjà attribués).

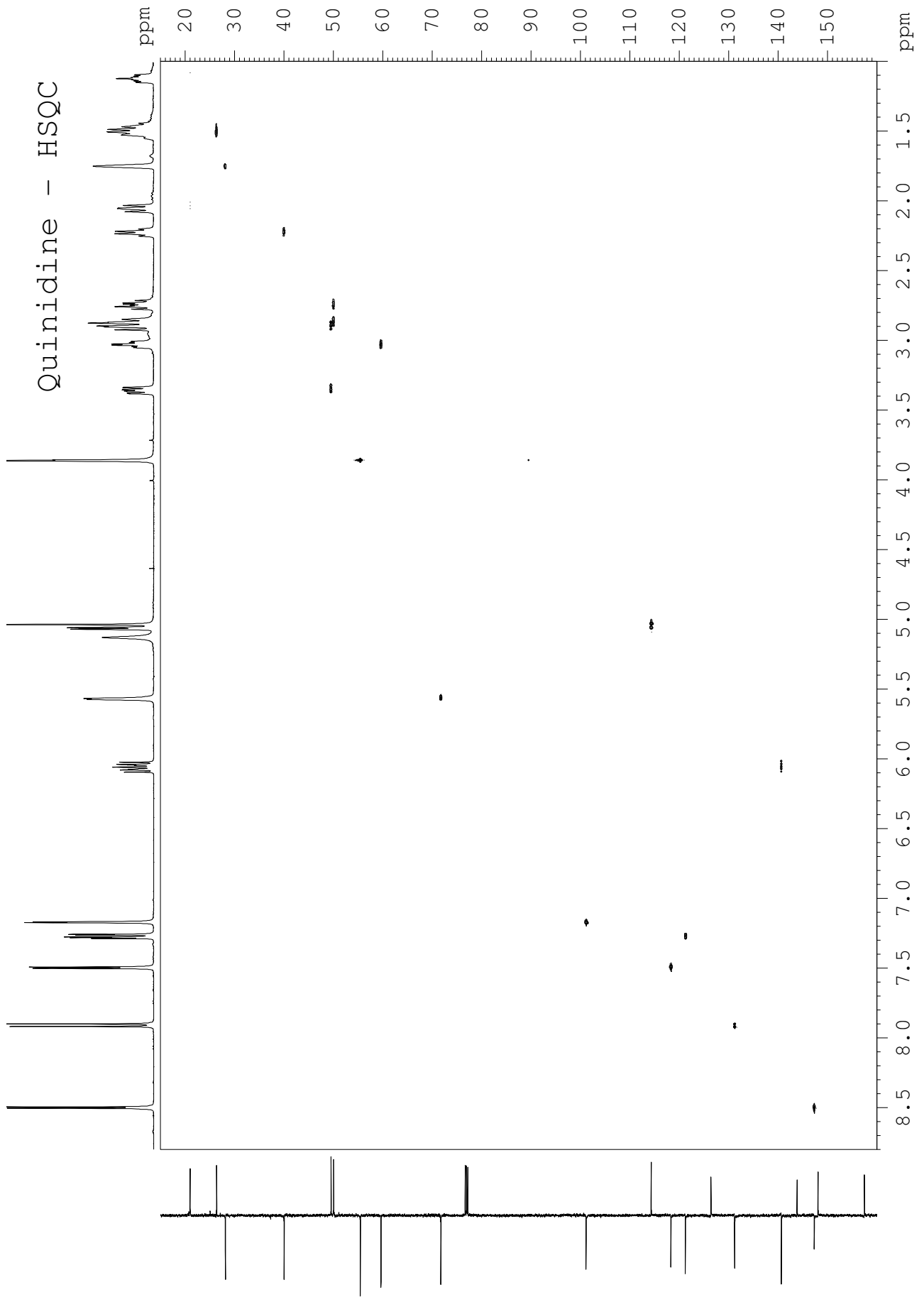
L'attribution de C_{12} est fournie par la corrélation HMBC $\text{C}_7\text{-H}_{12}$. De même C_{13} est placé grâce à la corrélation $\text{C}_2\text{-H}_{13}$. La corrélation COSY $\text{H}_{13}\text{-H}_{20}$ montre C_{20} et $\text{H}_{20}\text{-H}_{18}$ montre C_{18} . Pour attribuer le reste de la partie aliphatique, il est possible de partir de la chaîne vinylique. C_{10} est un CH_2 oléfinique, ce qui permet de le placer sans ambiguïté. Le seul carbone oléfinique restant est C_5 , forcément voisin de C_{10} , comme confirmé par la corrélation COSY $\text{H}_5\text{-H}_{10}$. La corrélation HMBC $\text{C}_{10}\text{-H}_{17}$ permet de placer C_{17} et $\text{C}_5\text{-H}_{16}$ de placer C_{16} (C_{17} et C_{18} ayant déjà été attribués). En COSY, $\text{H}_{18}\text{-H}_{19}$ montre C_{19} et $\text{H}_{19}\text{-H}_{15}$ montre C_{15} , ce qui termine l'attribution.

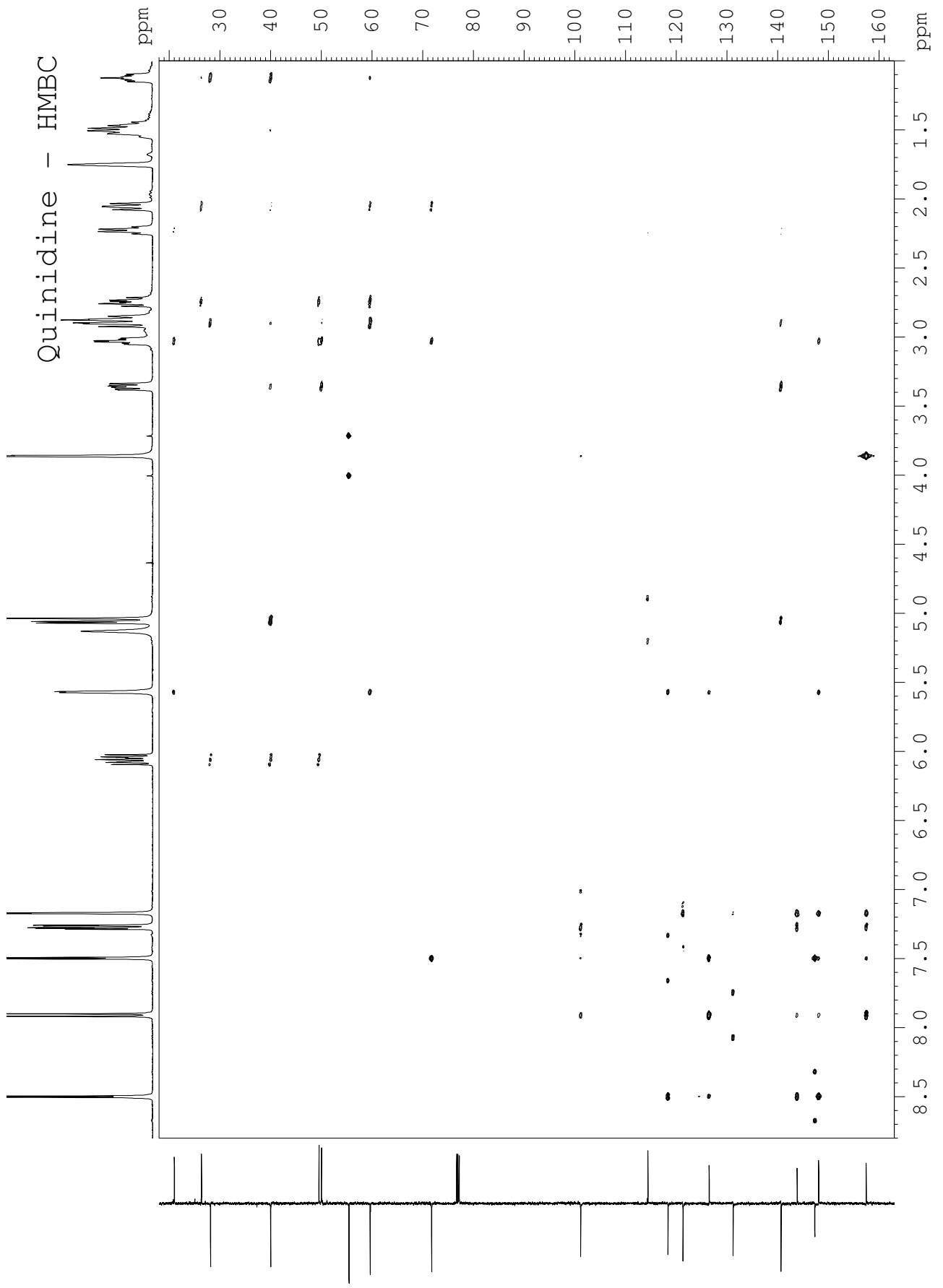
Quinidine - 1D



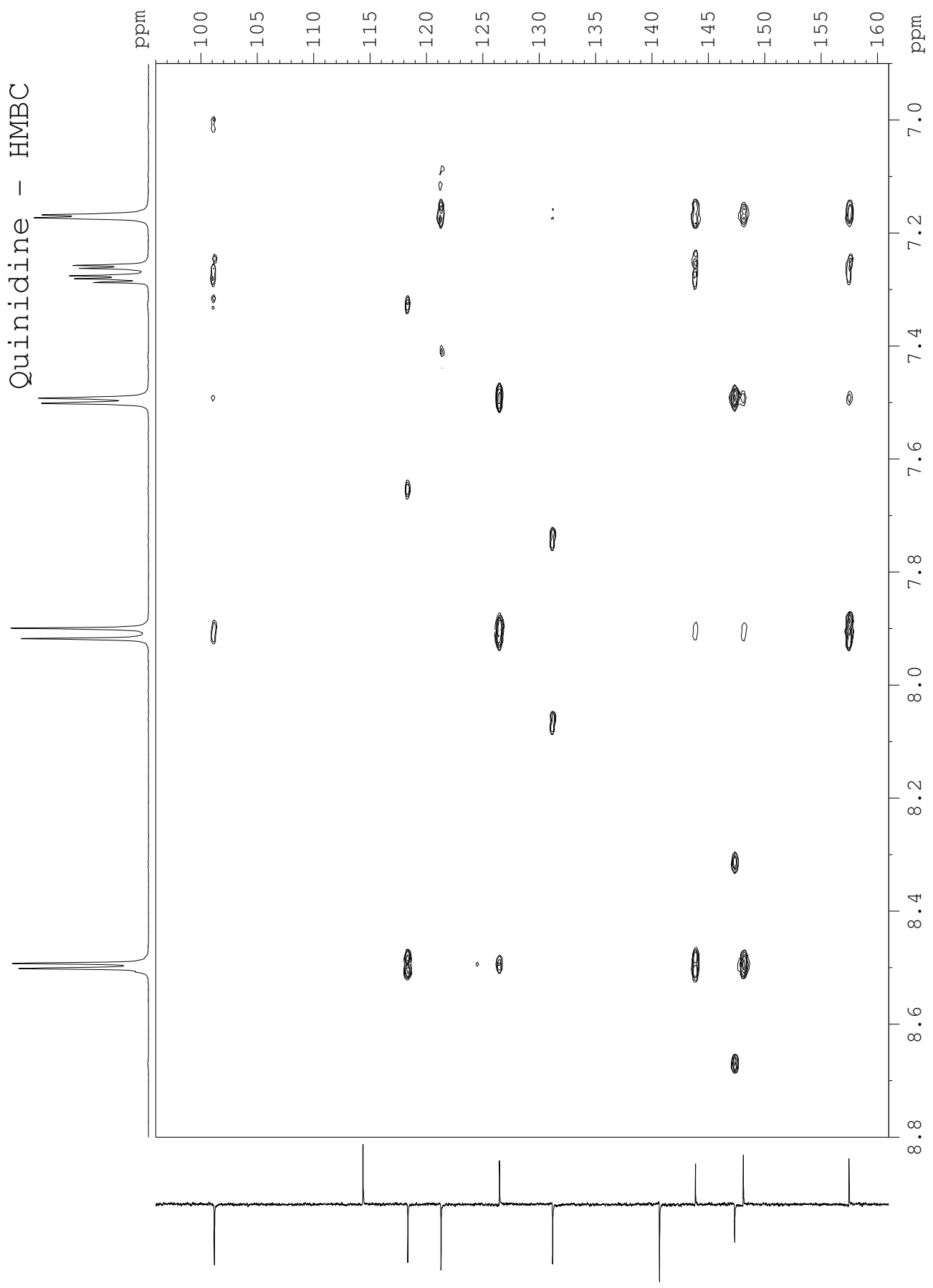
Quinidine - COSY



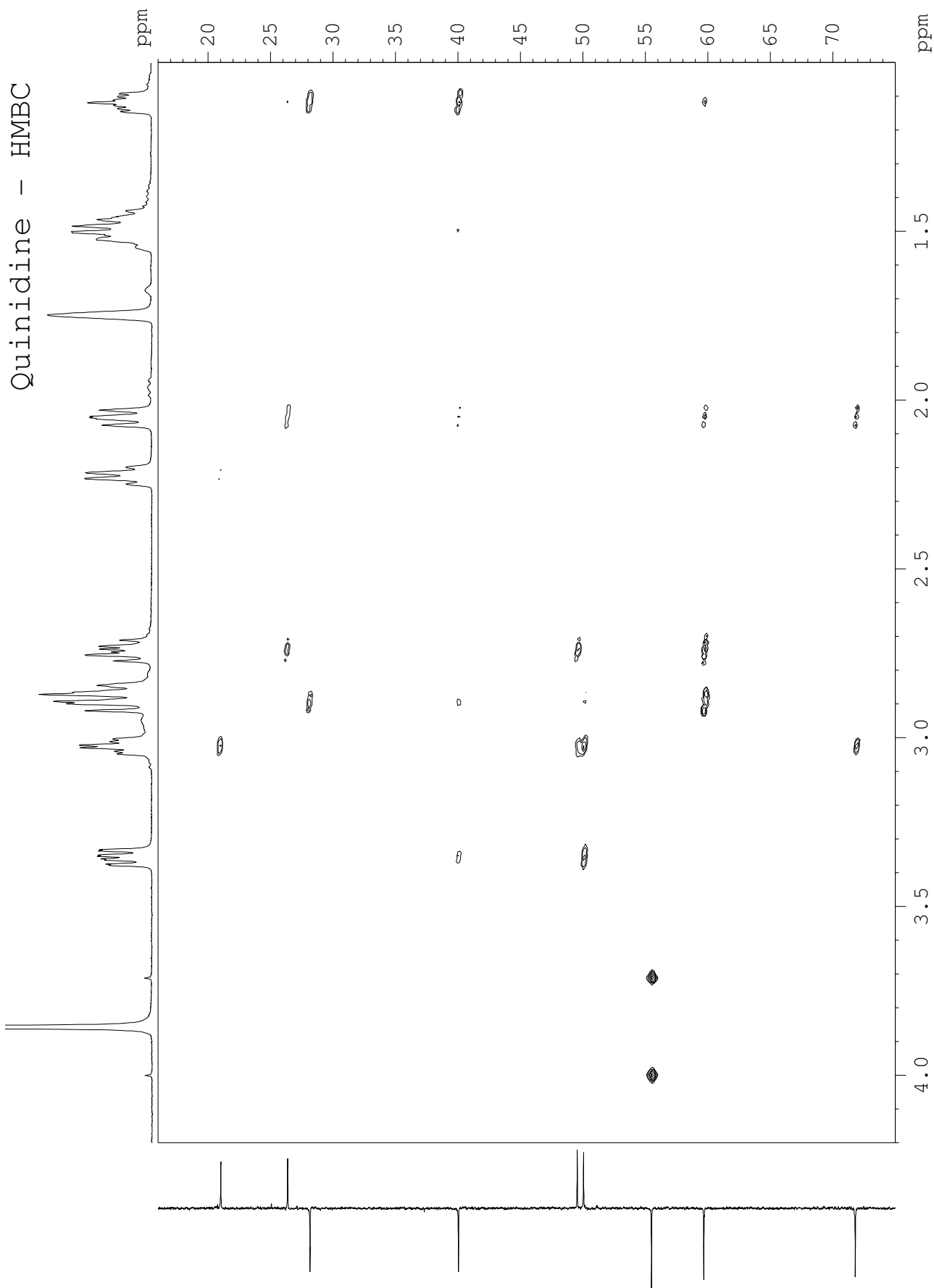




Quinidine - HMBC



Quinidine - HMBC



Recherche de la structure d'un terpène

Comme dans l'exemple précédent les résonances des ^{13}C sont numérotées dans l'ordre des δ décroissants.

La molécule présente 10 carbones : C_1 (Quaternaire), $\text{C}_2(\text{Q})$, $\text{C}_3(\text{Q})$, $\text{C}_4(\text{CH}_2)$, $\text{C}_5(\text{CH})$, $\text{C}_6(\text{CH}_2)$, $\text{C}_7(\text{CH}_2)$, $\text{C}_8(\text{CH}_3)$, $\text{C}_9(\text{CH}_3)$, $\text{C}_{10}(\text{CH}_3)$. Les C quaternaires sont identifiés par leur faible intensité dans le spectre de ^{13}C et par leur absence de réponse en HSQC. Les CH_2 portent des H inéquivalents. Les CH_3 sont identifiés par l'intensité des signaux en RMN ^1H . Au vu des déplacements chimiques le seul C qui porte un oxygène est C_1 . La formule brute est donc $\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{O}$, ce qui indique trois insaturations : 1 double liaison $\text{C}_1=\text{O}$ et 2 cycles.

Les méthyles C_8 , C_9 et C_{10} portent des H singulets, ce qui montre qu'ils sont liés à des C quaternaires. Ils ne peuvent être liés à C_1 car les δ des H seraient alors de l'ordre de 2 ppm. Les 3 méthyles ne peuvent être portés par le même C car sinon leurs δ seraient identiques. Il y en a donc deux sur C_2 et un sur C_3 , ou l'inverse.

Le spectre COSY donne les liaisons $\text{C}_4\text{-C}_5$ et $\text{C}_6\text{-C}_7$.

Analyse du spectre HMBC et construction de la structure.

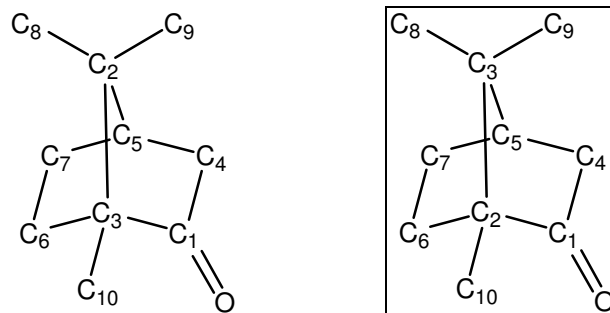
Les corrélations $\text{C}_8\text{-H}_9$ et $\text{C}_9\text{-H}_8$ indiquent soit $\text{C}_8\text{-C}_9$ ou $\text{C}_8\text{-X-C}_9$. Le premier cas correspondrait à l'éthane et n'est donc pas envisageable. Le second montre que C_8 et C_9 sont liés au même C quaternaire. Les corrélations $\text{C}_2\text{-H}_8$, $\text{C}_2\text{-H}_9$, $\text{C}_3\text{-H}_8$, $\text{C}_3\text{-H}_9$ ne permettent pas de dire s'il s'agit de C_2 ou de C_3 . Il faut faire une hypothèse, $\text{C}_8\text{-C}_2\text{-C}_9$, par exemple. On en déduit la liaison $\text{C}_3\text{-C}_{10}$. La corrélation $\text{C}_2\text{-H}_{10}$ indique soit la liaison $\text{C}_2\text{-C}_{10}$ (faux, car le seul voisin de C_{10} est connu, il s'agit de C_3) soit $\text{C}_2\text{-X-C}_{10}$ (pas le même X que ci-dessus, évidemment). X est forcément C_3 puisque c'est le seul voisin de C_{10} . On en déduit le fragment $\text{C}_2\text{-C}_3\text{-C}_{10}$ et donc la liaison $\text{C}_2\text{-C}_3$. De la même manière les corrélations $\text{C}_6\text{-H}_{10}$ et $\text{C}_1\text{-H}_{10}$ permettent de construire les liaisons $\text{C}_6\text{-C}_3$ et $\text{C}_1\text{-C}_3$.

Les 2 seuls voisins possibles de C_6 (il s'agit d'un CH_2) sont C_3 (HMBC) et C_7 (COSY). La corrélation $\text{C}_6\text{-H}_5$ n'est donc pas compatible avec la liaison $\text{C}_5\text{-C}_6$. Dans le fragment $\text{C}_5\text{-X-C}_6$, X est C_3 ou C_7 . Les 4 voisins de C_3 sont connus (C_1 , C_2 , C_6 et C_{10}) et donc il ne peut y avoir de liaison $\text{C}_3\text{-C}_5$. Ceci indique que X est C_7 et donne donc la liaison $\text{C}_7\text{-C}_5$.

Les 2 seuls voisins possibles de C_7 (il s'agit d'un CH_2) sont C_6 et C_5 . La corrélation $\text{C}_7\text{-H}_2$ n'est donc pas compatible avec la liaison $\text{C}_7\text{-C}_2$. Dans le fragment $\text{C}_7\text{-X-C}_2$, X est C_5 ou C_6 . Les 2 voisins de C_6 sont connus (C_7 et C_3) et donc il ne peut y avoir de liaison $\text{C}_6\text{-C}_2$. Ceci indique que X est C_5 et donne donc la liaison $\text{C}_5\text{-C}_2$. Sachant que C_4 et C_5 sont liés (COSY) il suffit de lier C_1 et C_4 pour terminer la structure.

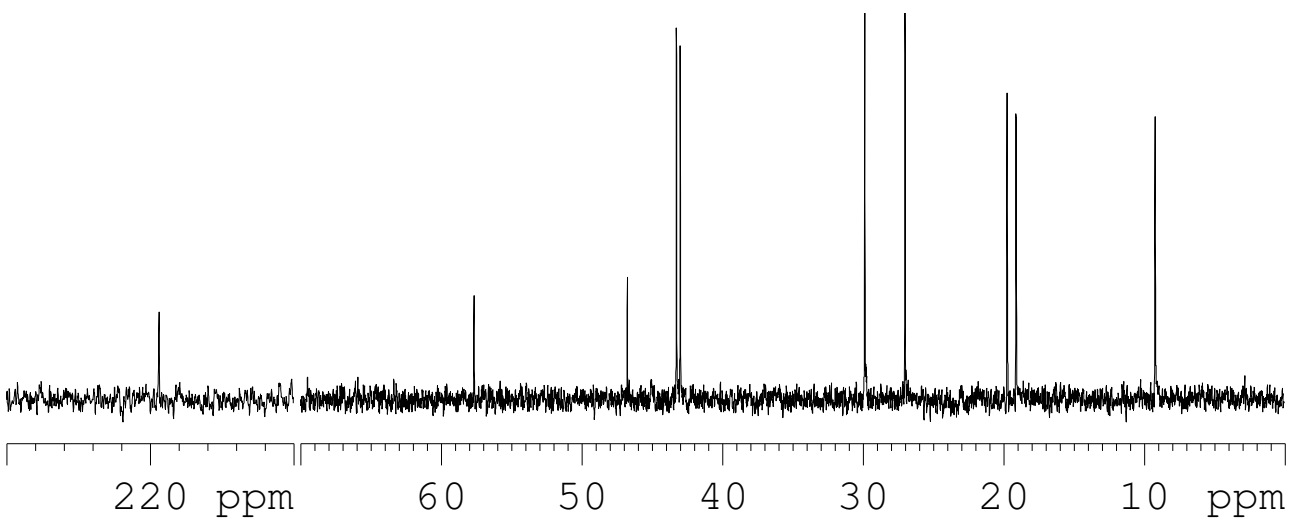
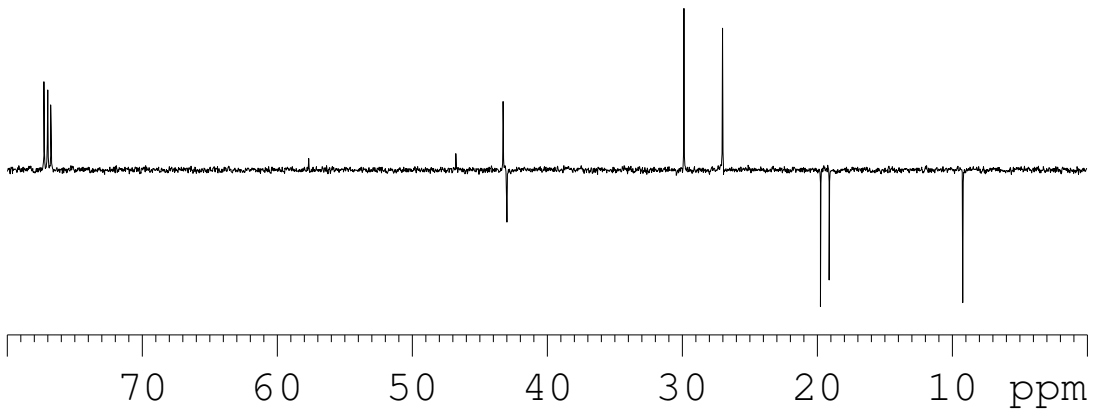
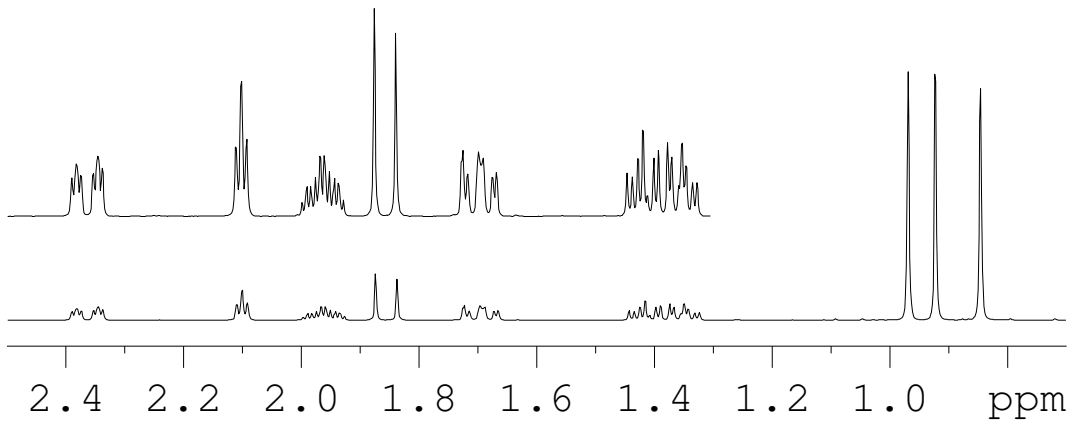
L'hypothèse $\text{C}_8\text{-C}_3\text{-C}_9$ conduit à la même structure mais avec des attributions différentes. Le déplacement chimique du C lié à C_1 étant davantage compatible avec celui de C_2 que de C_3 , l'hypothèse $\text{C}_8\text{-C}_3\text{-C}_9$ est la plus probable.

La molécule étudiée est le camphre.

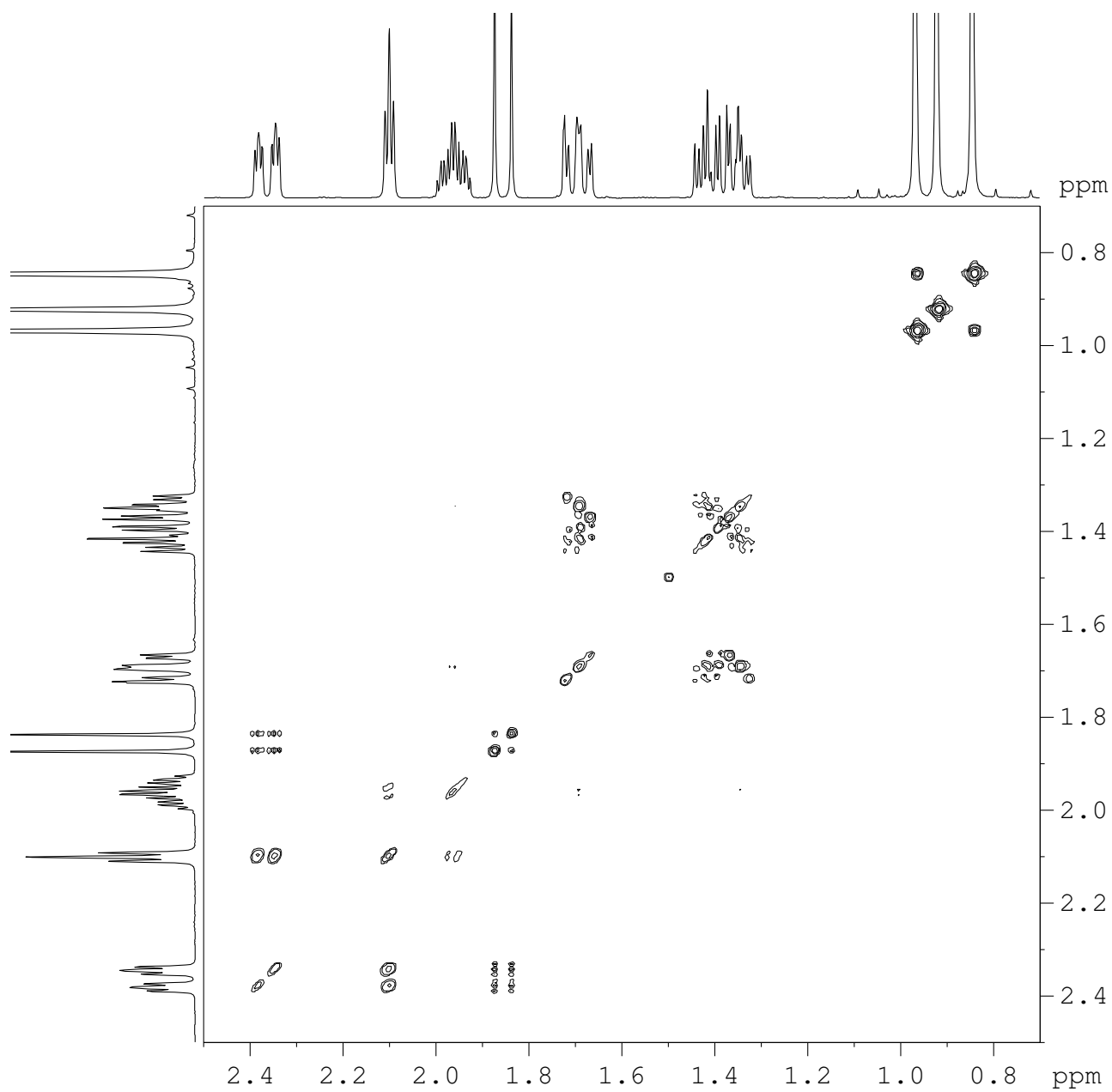


Structure et attribution des signaux de RMN du camphre

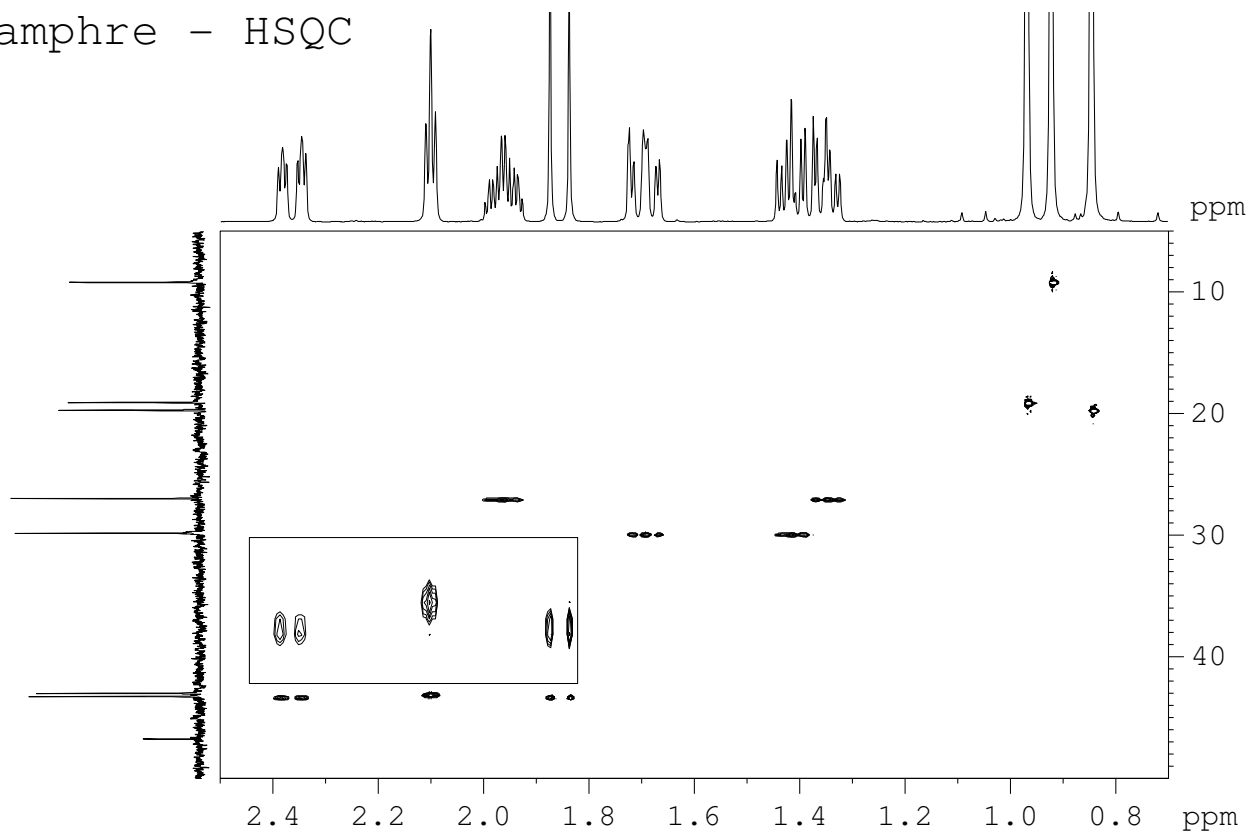
Camphre - 1D



Camphre - COSY



Camphre - HSQC



Camphre - HMBC

