

Zeitschrift: Archives des sciences [1948-1980]
Herausgeber: Société de Physique et d'Histoire Naturelle de Genève
Band: 13 (1960)
Heft: 9: Colloque Ampère

Artikel: Quelques nouvelles applications structurales et analytiques de la RMN haute résolution
Autor: Shoolery, James N.
DOI: <https://doi.org/10.5169/seals-738623>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. [Siehe Rechtliche Hinweise.](#)

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. [Voir Informations légales.](#)

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. [See Legal notice.](#)

Download PDF: 15.03.2025

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, <https://www.e-periodica.ch>

Quelques nouvelles applications structurales et analytiques de la RMN haute résolution

par James N. SHOOLERY

Varian Associates Palo Alto, California.

Communication présentée et traduite par P. J. FRANK, Varian A.G., Zurich.

Résumé.

Jusqu'ici, l'emploi de la haute résolution en RMN comme outil pour l'éclaircissement des structures moléculaires a été surtout basé sur les « déplacements chimiques » caractéristiques des diverses unités de structure et sur les couplages spin-spin entre noyaux voisins, non moins caractéristiques. Avec la venue de la technique d'intégration électronique de haute précision des surfaces des raies RMN, on est en mesure d'employer cette information supplémentaire comme aide pour l'éclaircissement de problèmes de structure dans des molécules dans lesquelles les déplacements chimiques ou les couplages spin-spin sont cachés. Ceci est tout particulièrement le cas pour des grandes molécules compliquées, comme par exemple les stéroïdes et les alcaloïdes. Par ce moyen il est souvent possible de distinguer un produit pur d'un mélange isomérique et même de constater les qualités relatives des isomères dans un tel mélange.

L'intégration de la surface totale du signal RMN d'un échantillon de 25 mg d'une substance organique pure, peut être employée pour la détermination du *pourcentage* d'H (par poids) avec une erreur (« standard deviation ») de 0,6% environ. Le *nombre* des H présent dans la molécule peut être déduit souvent de la somme des surfaces des multiplets chimiquement déplacés, chacune divisée par le LCD. Ces deux valeurs permettent la détermination du poids moléculaire. Pour le cas d'une quantité de produit très limitée (pour lequel une méthode non-destructive est souhaitable), ces méthodes analytiques peuvent jouer un rôle important.

Les améliorations récemment apportées aux spectromètres RMN de haute résolution, entre autres la modulation BF et la détection en phase [4-8-9], l'isolement thermique de l'aimant et la stabilisation de sa température, ont permis un accroissement continu de la sensibilité de ces instruments. La figure 1 montre le spectre protonique d'une solution d'éthyl benzène à une concentration de 1%, dans une cellule cylindrique ayant

un diamètre interne de 4 mm. La fréquence de travail est de 60 MHz, ce qui correspond à un champ magnétique d'environ 14,100 oersted. La petite raie du quartet représente approximativement un dixième de l'intensité due aux deux protons du groupe CH_2 , ce qui correspond à un proton par molécule dans une solution 0,016 M. En conséquence puisque le volume

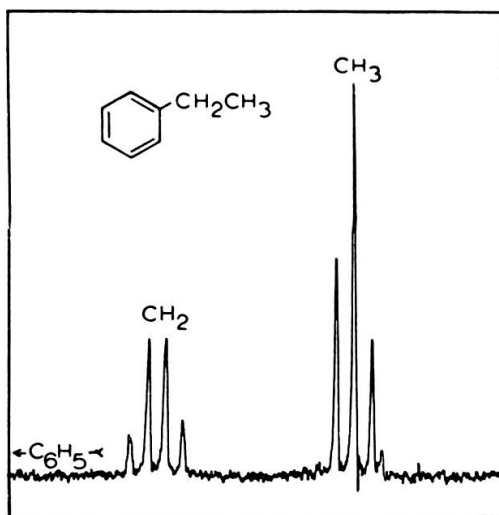


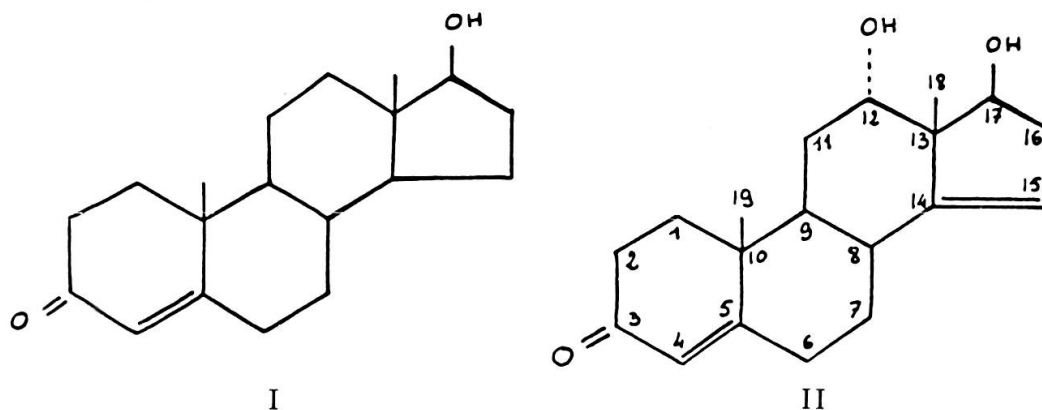
Fig. 1.
Spectre d'éthyl benzène, 1% en volume dans CCl_4 .

de la solution dans la cellule est normalement 0,4 ml,¹ un produit d'un poids moléculaire de 300 peut être étudié, même si le poids de l'échantillon ne dépasse pas 2 mg.

A titre d'exemple du genre de renseignements sur la structure qui peuvent être obtenus à partir de petites quantités d'échantillon, nous examinerons le cas d'un stéroïde (II) résultant d'une transformation micro-biologique de la testostérone (I); on ne disposait que de 2 mg du produit. Les données chimiques [5] suggèrent qu'il s'est produit une hydroxylation à la position C-12 ou C-18. Le spectre NMR (figure 2) est particulièrement intéressant, si on le compare au spectre de la testostérone.

¹ Le volume peut être réduit en employant des cellules d'une configuration spéciale. Bien que la cellule doive être un ellipsoïde de révolution pour éviter le changement d'homogénéité du champ magnétique, une cavité cylindrique ayant un rapport longueur/diamètre de 4: 1 ou supérieur, donne une résolution satisfaisante même avec un volume d'échantillon qui n'est que 50% du volume standard.

Ces deux substances ont été étudiées dans une solution de CDCl_3 ; une trace de tétraméthylsilane ajoutée sert de référence interne. Les déplacements chimiques sont indiqués dans la figure 2 au-dessus des raies correspondantes et sont exprimés en ppm du champ magnétique appliqué selon la définition



pondantes et sont exprimés en ppm du champ magnétique appliqué selon la définition

$$\delta_i = \frac{(\nu_i - \nu_{\text{Si Me}_4})}{\nu_{\text{Si Me}_4}} \times 10^6$$

où l'expression entre parenthèses est la séparation en fréquence des raies mesurées par la méthode bien connue des bandes latérales, et $\nu_{\text{Si Me}_4}$ est 60 MHz.

La présence de deux groupements méthyl aux positions $\delta = 1.13$ et 1.23 montre que ce n'est pas le C-18 qui a été hydroxylé. De plus, outre le triplet à $\delta = 3.72$ qui est dû au proton à la position C-17 et qui se trouve dans les spectres I et II, il y a un autre proton dans II déplacé à $\delta = 4.41$ qui indique un groupement hydroxyle lié à un cycle. Des observations de la position des protons 11α dans 4 stéroïdes qui ont un groupement 11β -hydroxyl [10] donnent comme valeur moyenne $\delta = 4.43$,² mais le groupement hydroxyle ne peut pas être dans la position 11β , parce que dans ce cas-là la raie de C-19 serait déplacée de la valeur $\delta = 1.23$ observée dans le testostérone à une position qui correspond à $\delta = 1.50$ (voir la réf. 10).

² Puisque les mesures de la référence [10] ont été données en cps par rapport au benzène dans une cellule annulaire externe à 40 MHz, il est nécessaire de recalculer ces résultats pour faire la comparaison en utilisant l'expression

$$\delta_i (\text{ppm}) = \frac{385 - 3/2 \sqrt{\nu_i (40 \text{ MHz})}}{60}$$

La position $12\ \alpha$ pour le OH résulterait du fait que le proton $12\ \beta$ aurait essentiellement la même relation équatoriale à la molécule qu'un proton $11\ \alpha$. Les résonances dues au groupement méthyl ne seraient pas affectées appréciablement par un hydroxyle $12\ \alpha$ dirigé axialement de l'autre côté de la molécule.

Le triplet de $\delta = 5.48$ montre que, tandis que la raie de $\delta = 5.71$ due au proton oléfinique sur le C-4 n'a pas changé, une nouvelle liaison double (trisubstituée) a été introduite. La structure en triplet indique qu'il y a deux protons sur un atome de carbone adjacent. Puisque le cycle A n'a

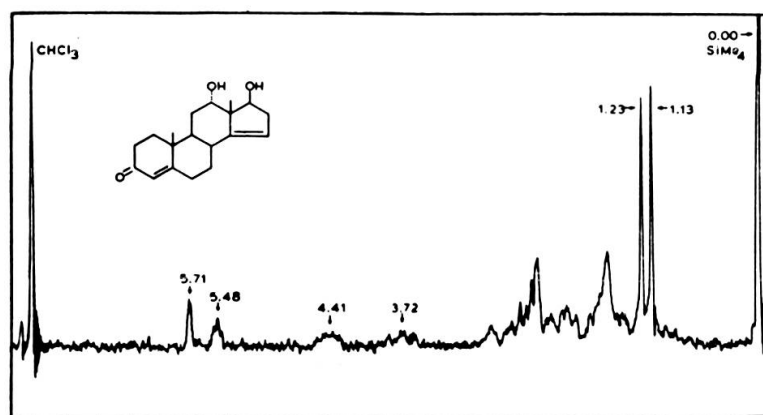


Fig. 2.

Spectre de 2 mg de Δ 4,14--androstadiène-17 β , 12 α --diol--3--one.

pas été changé (raie à 5.71) la nouvelle liaison double se trouve nécessairement soit entre C₈ et C₇, soit entre C-9 et C-11, soit encore entre C-14 et C-15. Un Δ 9 [11] produirait cependant un déplacement de la raie C-19 de 0,1 ppm au moins au-delà de la valeur $\delta = 1.23$ qui est observée pour les deux molécules I et II. Un groupement Δ 7 n'affecterait pas appréciablement le C-18, tandis qu'un groupement Δ 14 déplacerait le C-18 de 0,27 ppm [11]. Puisque la résonance C-18 dans II se trouve à $\delta = 1,13$, tandis que dans I elle se trouve à 0,82, la double liaison a été introduite apparemment à C-14 dans II.

Les récents calculs de Karplus [6] et Conroy [2] ont donné une base théorique pour l'établissement de la configuration moléculaire obtenue par des mesures du couplage spin-spin entre des protons situés sur des carbones voisins. Une représentation approximative des résultats de Conroy³

³ Nous tenons à remercier le Dr Harold Conroy, Yale University, New Haven, Conn., qui nous a permis de reproduire ces résultats.

est donnée dans la figure 3. La dépendance du couplage spin-spin J_{HH} par rapport à l'angle dièdre entre les deux surfaces contenant les atomes de carbone et un proton s'accorde avec plusieurs observations expérimentales. Ces observations montrent que dans un système d'un cycle à 6 branches,

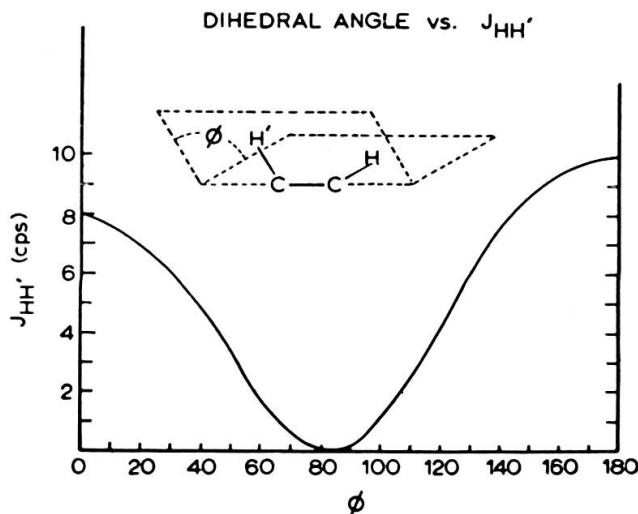


Fig. 3.

Dépendance du couplage spin-spin des protons de carbones voisins en fonction de l'angle dièdre (selon Conroy).

le couplage entre deux protons axiaux voisins est normalement 8 - 11 cps, tandis qu'entre des protons axiaux et équatoriaux ou équatoriaux et équatoriaux, le couplage diminue à 2 - 3 cps.

La figure 4 montre un exemple graphique des déductions structurales qui peuvent être basées sur le couplage spin-spin. Un des isomères possibles du 1,4-dinitroinositol tétra-acétate a été étudié afin d'établir sa structure⁴. Les raies intenses et aiguës qui se trouvent du côté droit du spectre indiquent que les quatre groupements méthyl des acétates sont équivalents par paires. Les six protons de l'anneau se partagent entre trois systèmes de multiplets spin-spin appelés H_x , H_y , et H_z et sont donc équivalents, eux aussi, par paires. Ceci suggère donc que la molécule a un centre ou une surface de symétrie.

Les deux groupes H_y et H_z montrent un couplage fort caractéristique du couplage axial-axial et un couplage plus faible qui est certainement

⁴ Ce travail a été décrit avec plus de détails et soumis pour publication dans une autre revue par S. W. Lichtenthaler et H. O. L. Fischer, Dept. of Biochemistry, University of California, Berkeley, Calif.

dû aux protons voisins axiaux et équatoriaux. Il est donc clair que H_y et H_z représentent quatre protons axiaux et que H_x représente deux protons équatoriaux.

Faisons l'hypothèse que les groupements nitro *ne sont pas* équatoriaux comme il est indiqué dans la figure 4, mais axiaux. Alors, les protons situés sur le même atome de carbone seraient forcément les protons équatoriaux, H_x , et les quatre autres protons seraient axiaux. Mais ceci ne peut pas être le cas, parce que les quatre groupements acétates seraient certainement équatoriaux et équivalents, ce qui ne s'accorde pas avec l'observation.

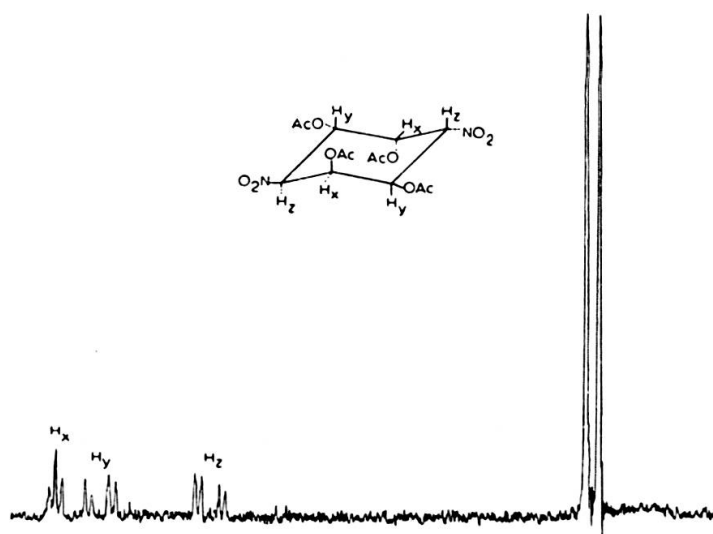


Fig. 4.

1,4 dinitroinositol tétra-acétate dans $CDCl_3$.

Ayant montré que les groupements nitro sont équatoriaux, les protons sur le même atome de carbone sont axiaux, H_y ou H_z . Chacun a un voisin axial et un voisin équatorial. Les autres protons axiaux montrent également un couplage spin-spin avec deux voisins, l'un étant axial, l'autre équatorial. Ces conditions et l'équivalence par paires, de ces trois groupes de protons peuvent uniquement être satisfaites par la structure de la figure 4 qui possède un centre de symétrie.

Tandis que l'analyse des déplacements chimiques et du couplage spin-spin a été étudiée en détail, il n'y a jusqu'à présent très peu d'expériences concernant des mesures quantitatives à cause des difficultés d'ordre expérimental. Le problème mérite cependant beaucoup d'attention, puisque l'étroite liaison théorique entre les intensités intégrées et le nombre de noyaux observés est l'un des avantages de la RMN.

En ce qui concerne l'intégration des signaux, la dépendance théorique de l'intégrale vis-à-vis des temps de relaxation est une difficulté, au moins pour la condition de « passage-lent ». Un calcul quasi-rigoureux, ainsi que des arguments plutôt intuitifs ont pourtant montré qu'aussi longtemps que la quantité $\gamma H_1^2/dH/dt$ est petite devant 1, l'intégrale est indépendante de T_1 et T_2 . Dans l'expression ci-dessus, dH/dt représente la vitesse de passage du champ magnétique. La formule n'est pas strictement applicable à la condition de « passage-lent », mais ceci n'est pas très important, du fait que, de toute façon, on ne travaille presque jamais dans des conditions rigoureuses de passage-lent.

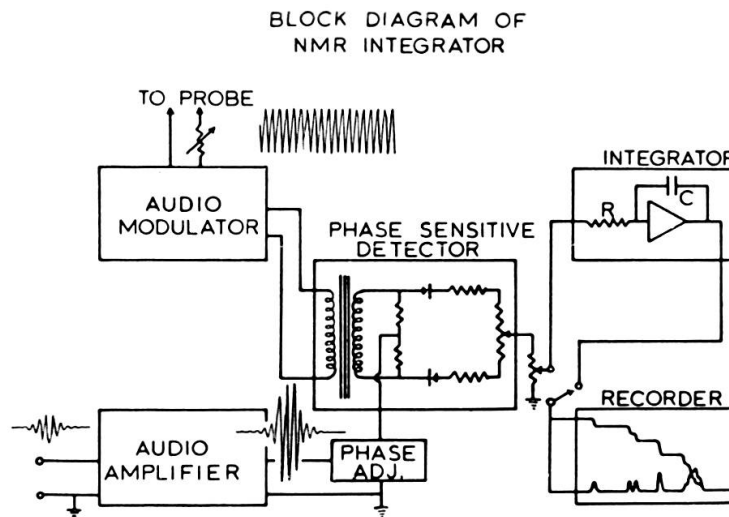


Fig. 5.

Schéma du système d'intégration RMN.

L'augmentation de la vitesse du passage à 5 cps/seconde pour l'intégration au lieu de 1-2 cps/seconde (normale pour l'enregistrement du spectre d'absorption), réduit les erreurs dues à la dérive statistique du champ magnétique. Ceci a permis une précision d'intégration supérieure à 1% sans aucune difficulté en ce qui concerne cette instabilité. Mais il y a une autre source d'erreur qui doit être supprimée avant que l'on puisse atteindre cette précision pour des signaux faibles. Ceci est dû à la variation du c.c. à la sortie du détecteur h.f. par suite des instabilités de l'accord de la tête de mesure, des variations du niveau de l'émetteur, ou au couplage dans les fils. Heureusement, ce problème peut être réduit en utilisant une modulation b.f. du champ magnétique à une fréquence de 1-2 kHz. Plusieurs auteurs [1-3-9] ont étudié l'effet d'une telle modulation sur les signaux

RMN. Une série de bandes latérales s'ajoute au signal b.f. à la valeur du champ normal. Il est possible de régler l'amplitude de cette modulation et sa phase pour que les bandes latérales soient complètement rejetées par un détecteur de phase, tandis que le signal (bande au centre) est reconverti en courant continu, puis est enregistré ou intégré. Toute dérive est ainsi supprimée. Un schéma se trouve dans la figure 5.

Les signaux intenses des composés purs nous donnent une preuve convenable des conditions décrites ci-dessus et de la linéarité du système entier d'amplificateur h.f., de détection, d'amplification b.f., de détection de phase, et d'intégration. La figure 6 montre les intensités relatives des

RELATIVE NMR INTENSITIES IN PURE COMPOUNDS				
Compound	No. of protons	Integral of group x No. of protons		
		Total integral		
Ethyl benzene	10	C ₆ H ₅ 4.99	CH ₂ 2.00	CH ₃ 3.01
1,2-dichloropropane	6	CH ₂ + CH (unresolved) 2.99		CH ₃ 3.01
1,1,2-trichloroethane	3	CHCl ₂ 0.998	CH ₂ Cl 2.002	—
Acetophenone	8	C ₆ H ₅ 4.98	—	CH ₃ 3.02
Diethyl fumarate	12	(CH=) ₂ 2.01	(CH ₂) ₂ 3.98	(CH ₃) ₂ 6.02
Ethyl acetate	8	CH ₂ 2.04	CH ₃ s (unresolved) 5.96	

Fig. 6.

Intensités intégrées de divers groupes de protons exprimées comme fractions de l'intensité totale.

signaux de différents groupements de protons dans des liquides organiques purs. Dans presque chaque cas les rapports des intégrales mesurées sont en accord avec ceux calculés à partir de la formule moléculaire, avec une précision supérieure à 0,5%.

Un contrôle plus rigoureux est fourni par la détermination de la quantité totale d'hydrogène d'un petit échantillon (25 mg). Dans ce cas les échantillons inconnus sont comparés avec un standard utilisant des tubes ayant la même section. La figure 7 montre les résultats d'une comparaison de trois produits naturels avec le naphthalène comme standard. Le naphthalène a été mesuré trois fois pour établir la précision de l'expérience. Le pourcentage d'hydrogène s'accorde dans presque tous les cas avec la valeur

calculée à la précision de la mesure, ce qui est à peu près 0,5% du pourcentage présent. Cette précision, et le fait que l'analyse est non-destructive conduiraient peut-être à admettre que la RMN est plus commode que les méthodes de combustion habituelles quand il y a peu d'échantillon à disposition.

TOTAL HYDROGEN ANALYSES BY NMR
FOR COMPLEX ORGANIC MOLECULES

SAMPLE	WT.(mg)	% H by wt	% H (NMR) ^a
C ₁₀ H ₈ (A)	25.1	6.29	6.31 ± 0.03 ^b
C ₁₀ H ₈ (B)	25.3	6.29	6.28 ± 0.01
C ₁₀ H ₈ (C)	25.3	6.29	6.28 ± 0.02
C ₂₇ H ₄₄ O ₃	25.1	10.65	10.58 ± 0.05
C ₁₅ H ₁₈ O ₆	25.2	6.26	6.27 ± 0.04
C ₁₅ H ₂₀ O ₆	25.1	6.80	6.81 ± 0.03

a) Based on average integral of naphthalene solutions

b) Standard deviation

Fig. 7.

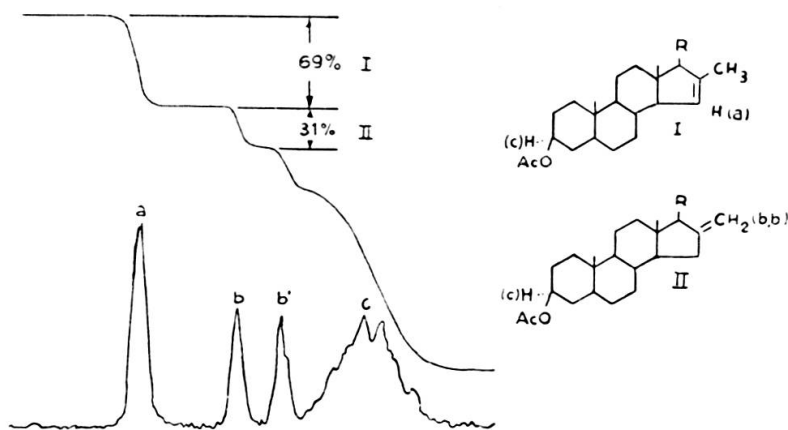


Fig. 8.
Analyse d'un mélange d'isomères.

Un mélange de stéroïdes ayant des doubles liaisons isomériques a été étudié comme exemple des possibilités analytiques de cette technique. La figure 8 montre les signaux séparés obtenus du proton oléfinique du cycle à 5 branches et du groupement méthylène terminal. L'intégration

électronique de cette partie du spectre a établi les quantités relatives des deux isomères avec une précision de 1%, reproductible avec des échantillons différents.

Pour terminer nous montrerons l'utilité des mesures d'intensité pour éclaircir un spectre d'absorption (fig. 9). Chaque atome de carbone du cycle cyclohexane a un proton. Un assez grand nombre d'isomères de configura-

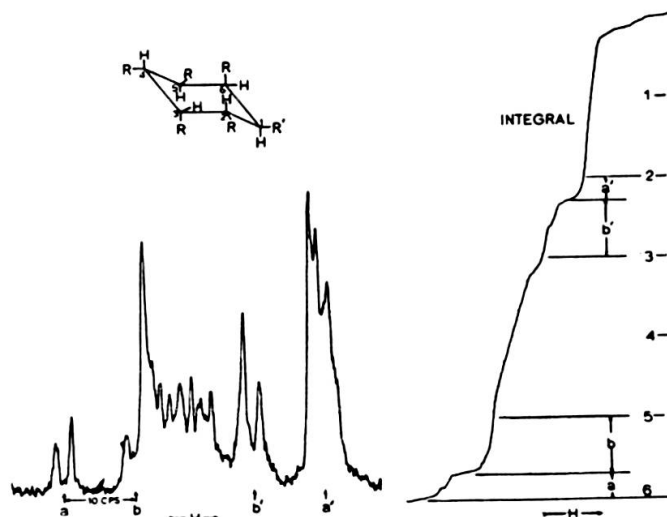


Fig. 9.

tion et d'orientation est possible. Toutefois, la présence d'un groupe de raies petit-grand - grand-petit, caractéristique de deux protons ayant un déplacement chimique petit et un couplage spin-spin du même ordre de grandeur [7] est confirmée par l'intégrale. La figure 9 montre que la raie de droite est plus grande que la valeur qui correspond à $2/6$ de l'intensité totale, d'une quantité qui est exactement égale à la surface du doublet a , à gauche. La raie de droite cache donc un doublet semblable, a' . Le couplage spin-spin de 10 cps exige 2 protons axiaux voisins, tandis que le dédoublement de chaque raie par un couplage plus petit indique que chaque proton axial a un voisin équatorial. En tenant compte de toutes ces données, il n'y a qu'une seule configuration possible pour la molécule, celle qui est indiquée dans la figure 9. Toutes les autres structures qui étaient possibles ont pu être éliminées.

BIBLIOGRAPHIE

1. ANDERSON, W. A., *Phys. Rev.*, **102**, 151 (1956).
2. CONROY, H. (communication privée).
3. HALBACH, K., *Helv. Phys. Acta*, **27**, 259 (1954).

4. HALBACH, K., *Helv. Phys. Acta*, *29*, 37 (1956).
5. HERZOG, H. L., J. J. GENTLES, A. BASCH, W. COSCURELLI, M. E. A. ZEITZ et W. CHARNEY (sous presse).
6. KARPLUS, M., *J. Chem. Phys.*, *30*, 11 (1959).
7. POPLE, J. A., H. J. BERNSTEIN et W. G. SCHNEIDER, *High Resolution*.
8. POUND, R. V., *Rev. Sci., Inst.*, *28*, 966 (1957).
9. PRIMAS, H., *Helv. Phys. Acta*, *31*, 17 (1958).
10. SHOOLERY, J. N. et M. T. ROGERS, *J.A.C.S.*, *80*, 5121 (1958).
11. SLOMP, G. (communication privée).

DISCUSSION

M. E. R. Andrew. — I should like to ask a question about the substituted cyclohexane. Is it concluded that the molecule always has the chair form in the liquid ?

M. P. Frank. — Yes, it is.
