



PLAN

- RMN 2D
- Transfert d'aimantation
 - Séquences hétéronucléaires
 - Séquences homonucléaires
- Cyclages de phase

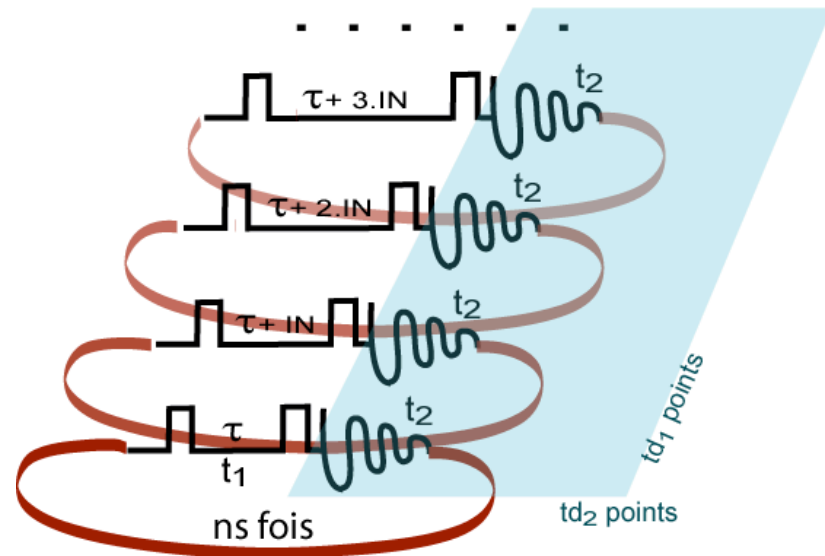
1D / 2D

Obtention d'un spectre à une dimension



$$f(t_2) \xrightarrow{\text{TF}} S(\omega_2)$$

Obtention d'un spectre à deux dimensions



$$f(t_2, t_1) \xrightarrow{\text{TF}(2), \text{TF}(1)} S(\omega_2, \omega_1)$$



Schéma classique des expériences à nD

à une dimension :



Ex :

Préparation : étape pendant laquelle les spins nucléaires sont éloignés de leur position d'équilibre.

Mélange : les spins "s'échangent" (transferts de polarisation)

Détection

à deux dimensions :

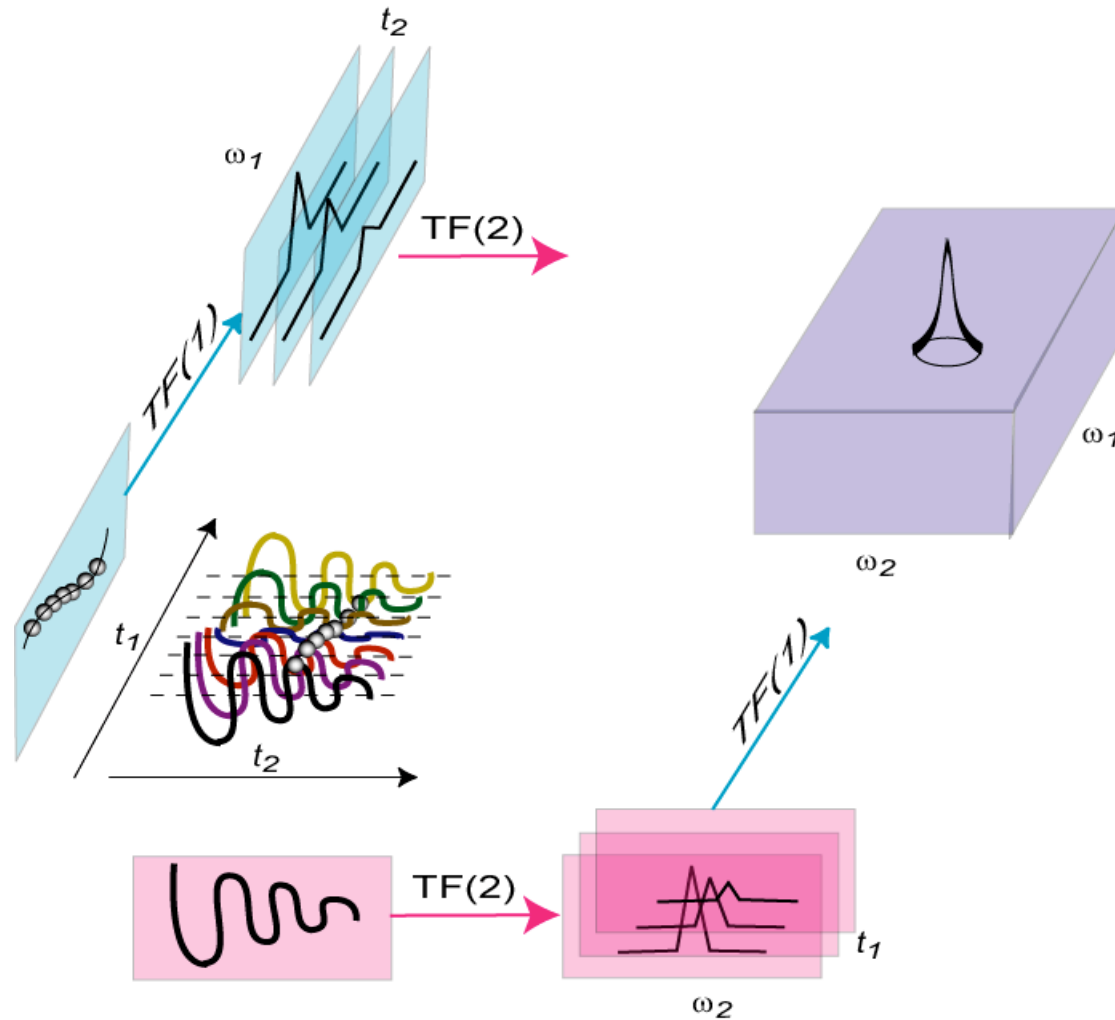


Evolution : les spins évoluent en fonction de leur fréquence de résonance. Cette période est incrémentée d'un FID à l'autre.

trois dimensions :



Double Transformée de Fourier





Principaux paramètres

Acquisition

Dimension F2 (t_2) :

- nombre de points FID : **TD2**
- écart entre 2 points : **DW** (en μs), inversement proportionnel à la largeur spectrale **SW2** (en Hz).
Remarque : temps d'acquisition : $AQ = TD2 \times DW$
- nombre d'accumulations (scans) : NS
- réglage des délais et longueurs d'impulsions

Dimension F1 (t_1) = dimension indirecte :

- nombre de FIDs : **TD1**
- incrément de t_1 entre 2 FIDs : **IN** (en μs), inversement proportionnel à la largeur spectrale **SW1** (en Hz)

Traitement

Dimension F2 :

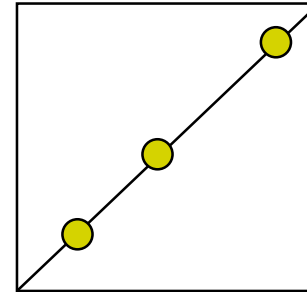
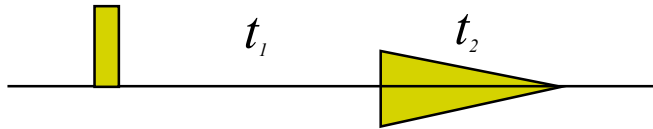
- nombre de points pris pour la TF(2) ('zero-filling') : **SI2**
- choix du filtre (multiplication FID par une fonction)
- calibration, correction de ligne de base, ...

Dimension F1 :

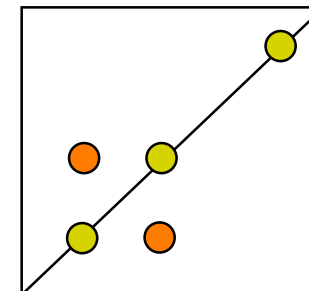
- nombre de points pris pour la TF(1) ('zero-filling') : **SI1**
- choix du filtre (multiplication FID par une fonction)
- calibration, correction de ligne de base, ...

Un petit détail...

- Expérience 2D 'toute bête' (Jeener):



- Pour qu'une expérience 2D soit intéressante, il vaut mieux qu'il y ait des pics croisés: il faut que pendant le temps de mélange il y ait
 - transfert d'aimantation par voie scalaire (liaisons chimiques)
 - ou transfert d'aimantation par voie dipolaire (proximités dans l'espace)
 - ou échange chimique





Principales expériences 2D (en liquide)

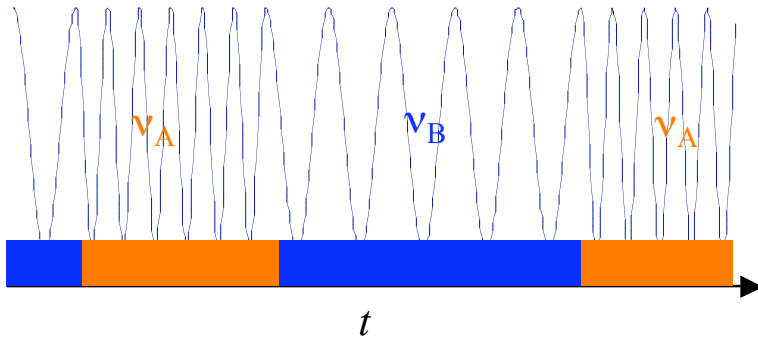
La carte contient :

- 1) des informations sur les valeurs de couplages entre noyaux d'une même espèce (homonucléaires) ou d'espèces différentes : *expériences résolues en J*
- 2) des informations de connectivité entre noyaux (corrélations) :
 - ❑ par l'intermédiaire des liaisons (couplage scalaire)
 - expériences homonucléaires :
COSY, Relais, INADEQUATE, TOCSY, ...
 - expériences hétéronucléaires :
HETCOR, HMQC, HSQC, HMBC, HNCOCA, ...
 - ❑ par proximités dans l'espace (interactions dipolaires)
NOESY, ROESY, TROSY, ...
- 📄🕒 des informations d'échange chimique : *EXSY*

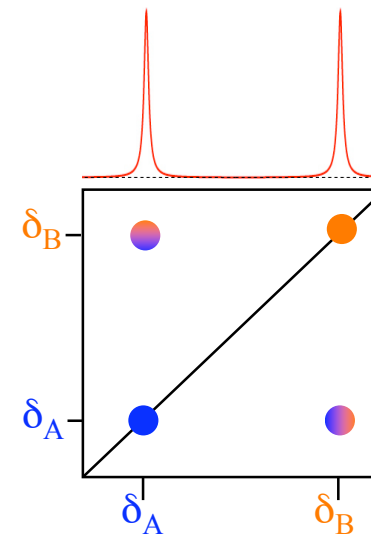
Exemple d'expérience 2D: EXSY

- Cette expérience est destinée à mettre en évidence et quantifier un échange chimique
- Considérons l'échange du 1^{er} ordre: $A \xrightleftharpoons[k]{}$ B

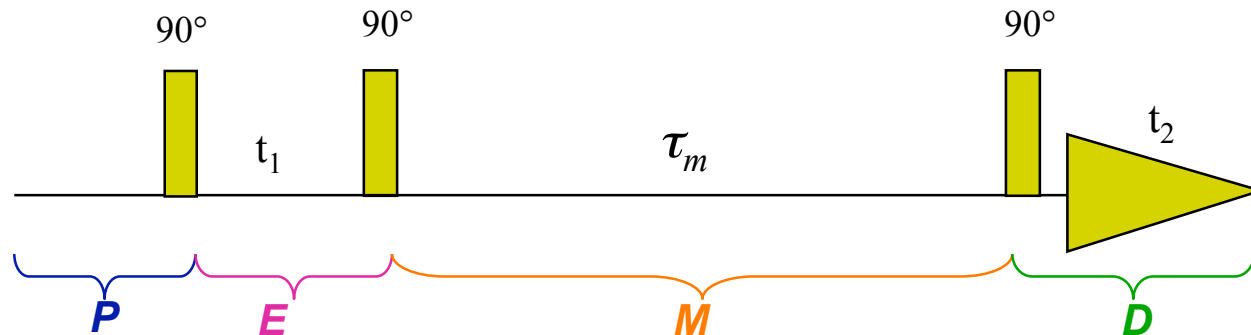
$$\frac{d[A]}{dt} = -k([A] - [B])$$



Processus incohérent !

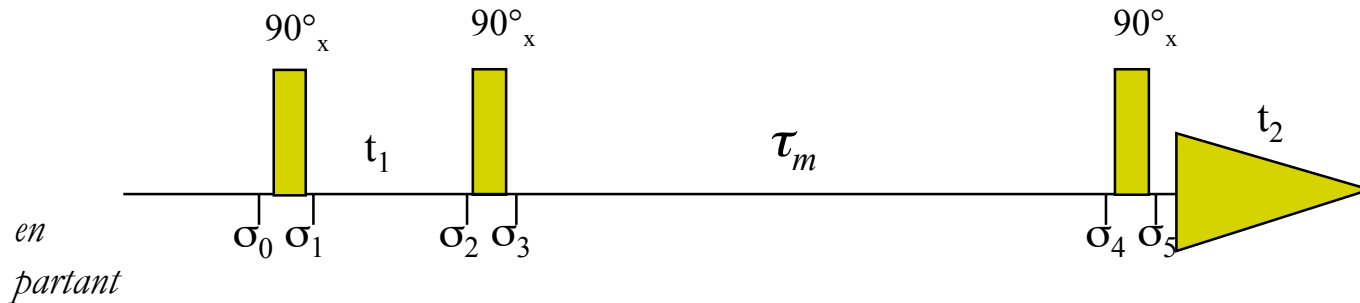


Exemple d'expérience 2D: EXSY



- **P:** L'aimantation retourne à l'équilibre (entre deux acquisitions) puis est excitée par une impulsion rf
- **E:** les vecteurs aimantation précessent à leur propre fréquence de Larmor ν_A et ν_B . Pour chaque valeur de t_1 , en fonction de l'angle que fait chaque vecteur à la fin du temps d'évolution par rapport à la phase de la 2^{ème} impulsion, une composante plus ou moins grande est basculée sur l'axe z .
- **M:** pendant le temps de mélange, l'échange chimique permet à certains noyaux d'avoir leur fréquence de Larmor changée ($\nu_A \leftrightarrow \nu_B$)
- **D:** une impulsion 90° (de lecture) bascule l'aimantation sur z en aimantation observable

Exemple d'expérience 2D: EXSY



$$\sigma_0 : I_z^A$$

$$\sigma_1 : -I_y^A$$

$$\sigma_2 : -I_y^A \cos(\omega_A t_1) + I_x^A \sin(\omega_A t_1)$$

$$\sigma_3 : -I_z^A \cos(\omega_A t_1) + I_x^A \sin(\omega_A t_1)$$

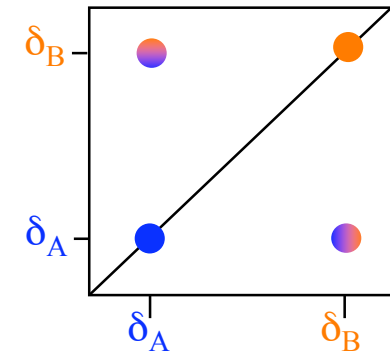
$$\sigma_4 : \left(-I_z^A \left(\frac{1}{2}(1 + e^{-2k\tau_m}) \right) - I_z^B \left(\frac{1}{2}(1 - e^{-2k\tau_m}) \right) \right) \cos(\omega_A t_1)$$

$$\sigma_5 : \left(I_y^A \left(\frac{1}{2}(1 + e^{-2k\tau_m}) \right) + I_y^B \left(\frac{1}{2}(1 - e^{-2k\tau_m}) \right) \right) \cos(\omega_A t_1)$$

$$\text{Signal détecté : } \mathcal{S}(t_1, t_2) \propto M_y^A \left(\frac{1}{2}(1 + e^{-2k\tau_m}) \right) \cos(\omega_A t_1) \cos(\omega_A t_2) + M_y^B \left(\frac{1}{2}(1 - e^{-2k\tau_m}) \right) \cos(\omega_A t_1) \cos(\omega_B t_2)$$

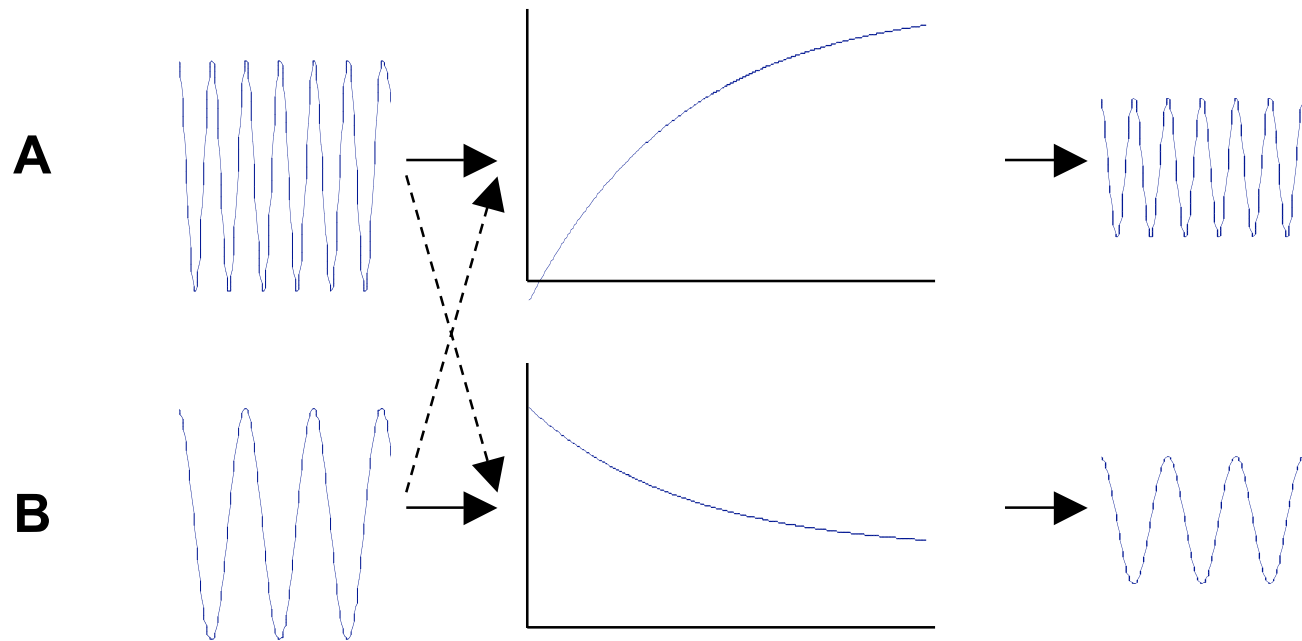
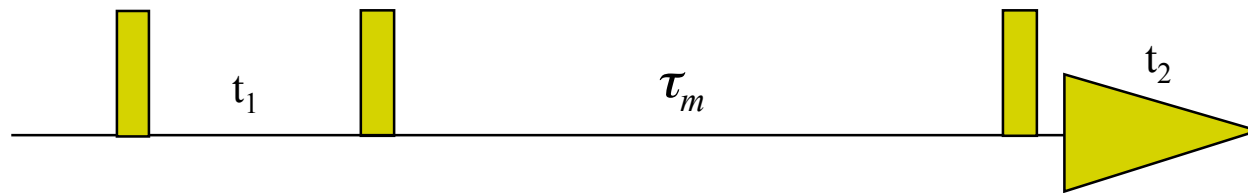
→ 2 signaux à $(\delta_A ; \delta_A)$ et $(\delta_A ; \delta_B)$

(symétriquement pour B: 2 signaux à $(\delta_B ; \delta_B)$ et $(\delta_B ; \delta_A)$)





Exemple d'expérience 2D: EXSY





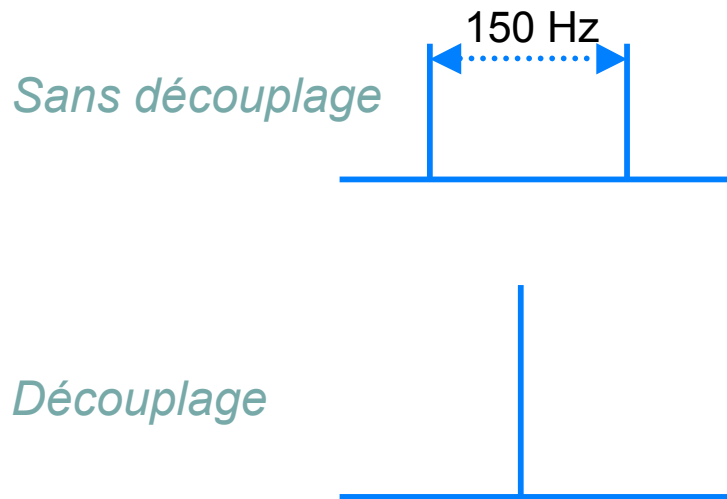
Transfert d'aimantation scalaire



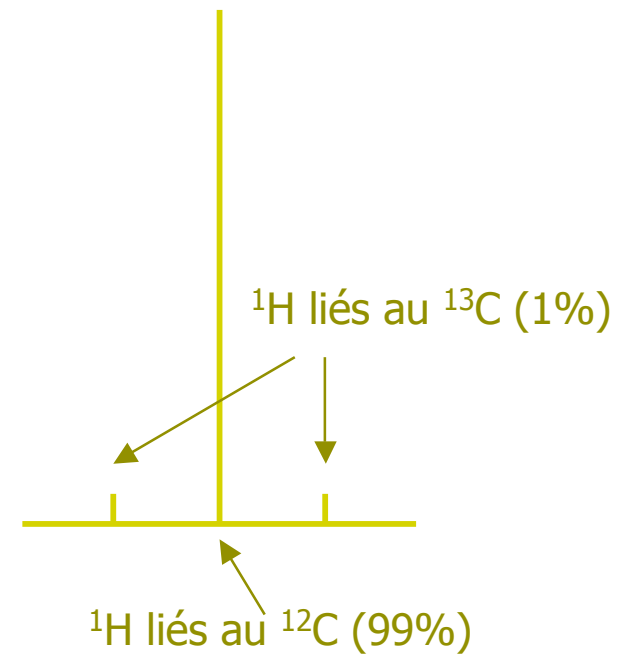
Transfert d'aimantation par voie scalaire

Exemple d'un système hétéronucléaire simple de 2 spins couplés (CHCl_3)

Spectre ^{13}C (en abondance naturelle)

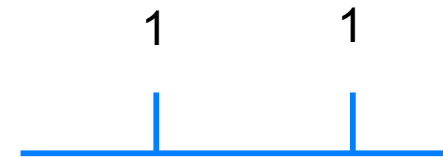


Spectre ^1H



Inversion sélective de population

- (A) Signal ^{13}C normal:



- **Principe de l'expérience (fictive):** on applique une impulsion monochromatique pour inverser l'un des 2 satellites ^{13}C du spectre ^1H et on observe le signal ^{13}C sans découpler les ^1H :

- (B) Signal ^{13}C immédiatement après inversion de l'un des satellites ^{13}C du spectre ^1H

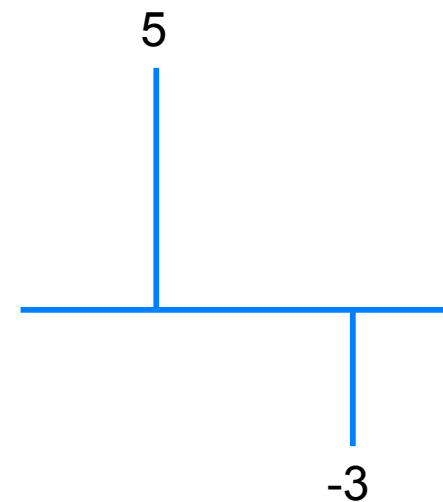
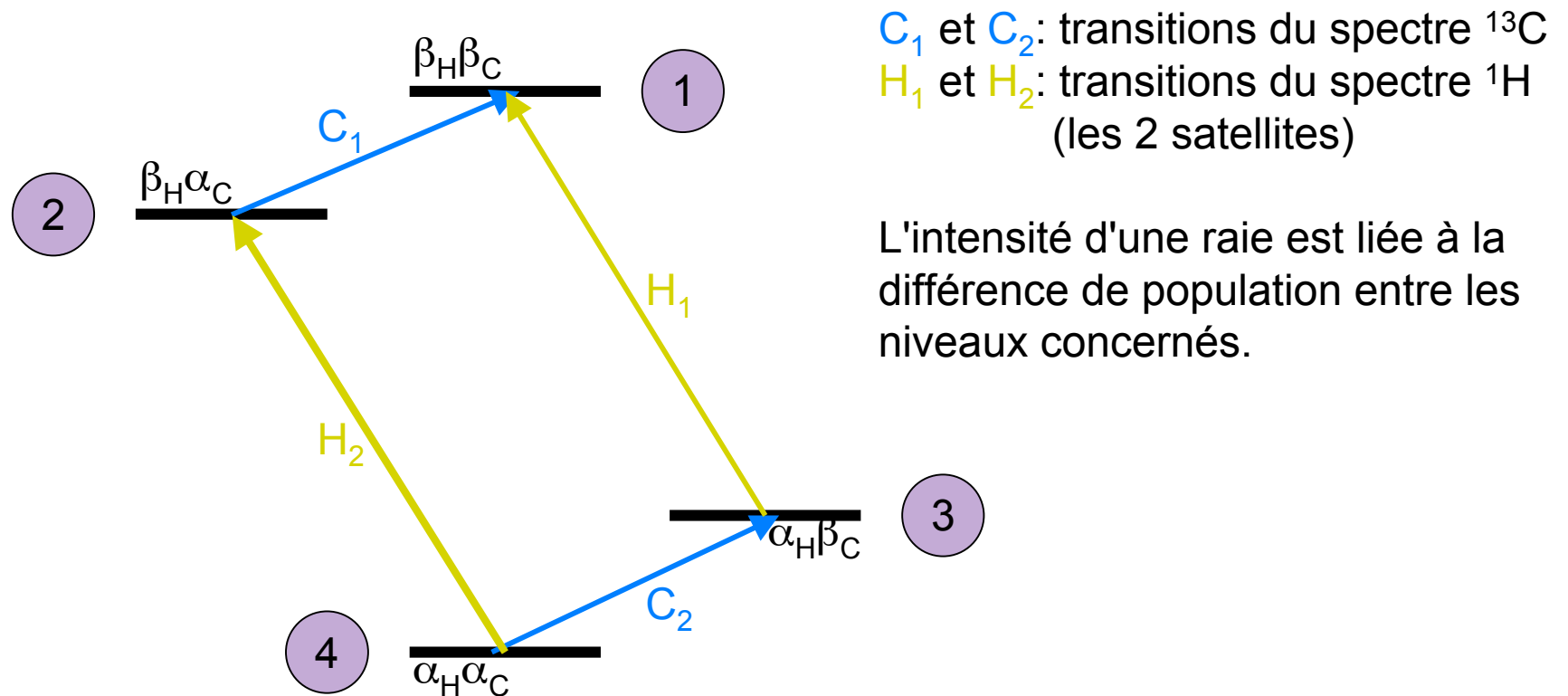
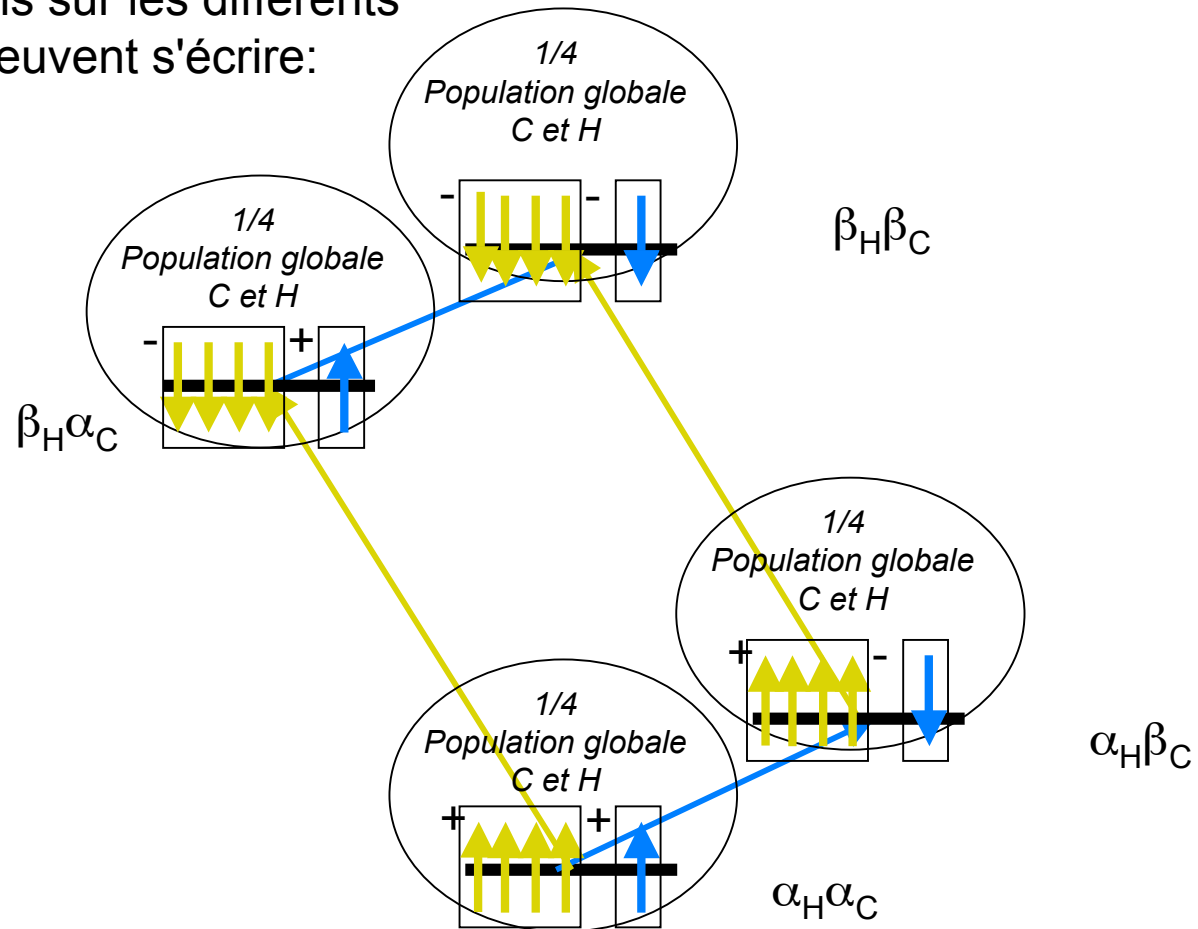


Diagramme d'énergie du système couplé ^{13}C - ^1H



A l'équilibre

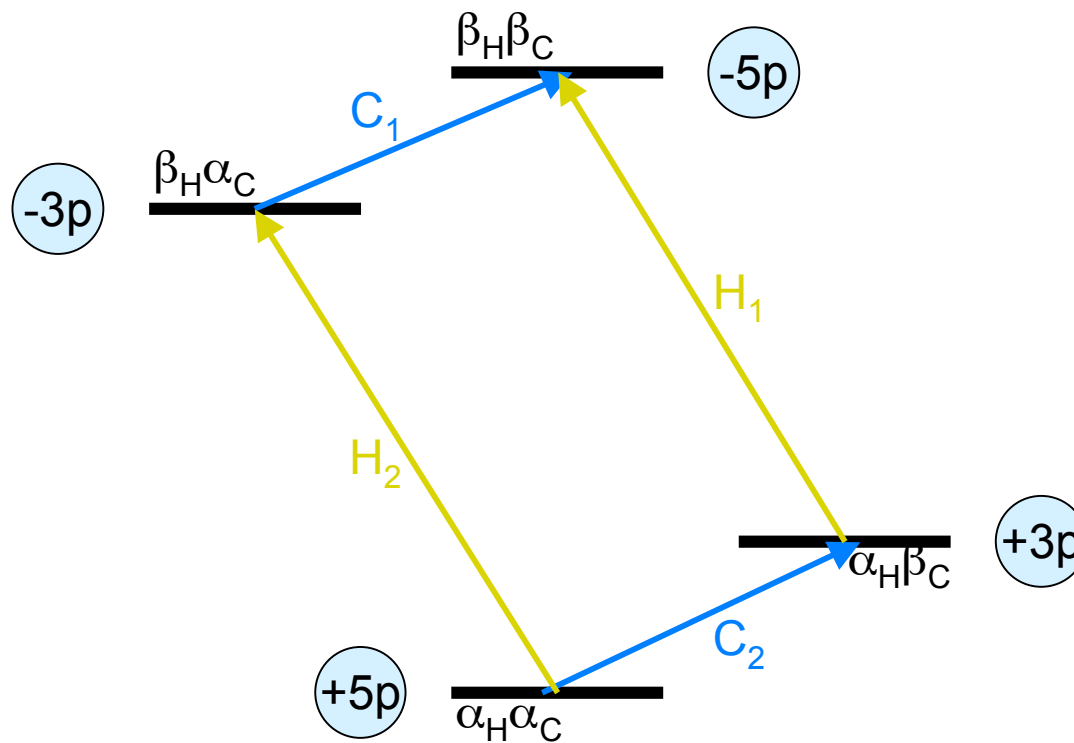
$\gamma_H \approx 4\gamma_C \rightarrow P_H \approx 4P_C$, donc les populations sur les différents niveaux peuvent s'écrire:





Spectre ^{13}C simple

Donc:



Les intensités du spectre ^{13}C non découplé sont donc:

$$C_1 = 2\text{p}$$

$$C_2 = 2\text{p}$$

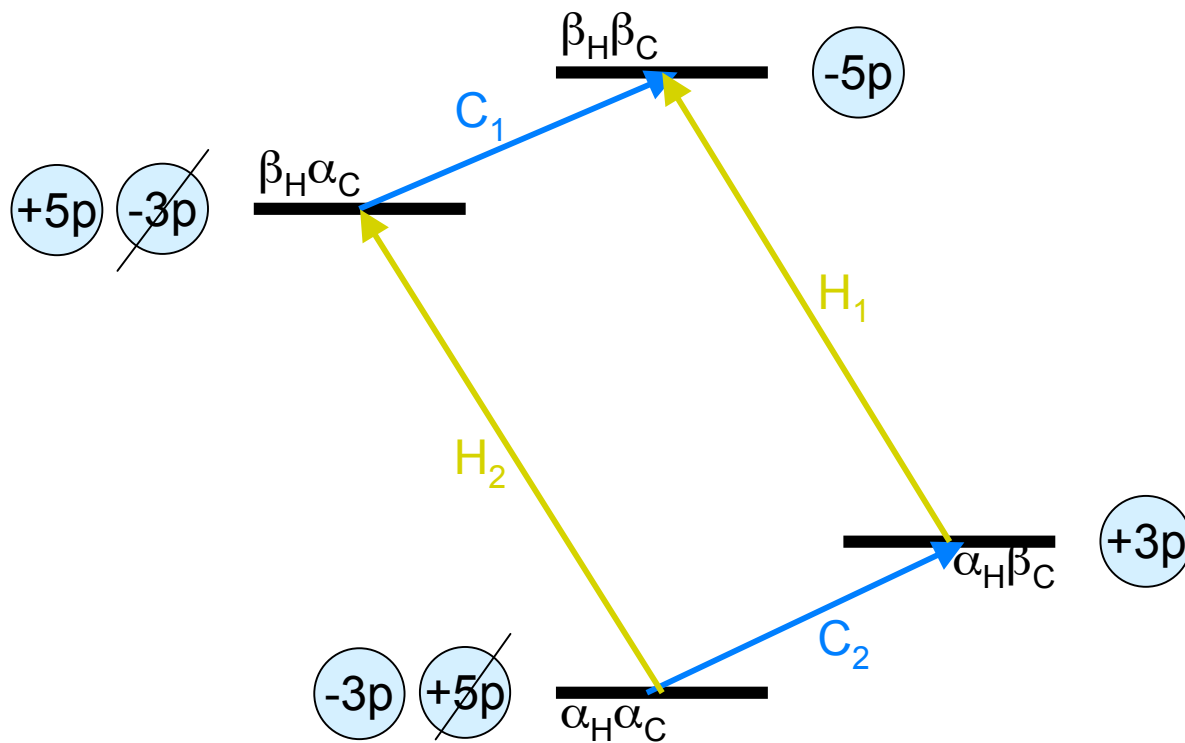
Celles du spectre ^1H :

$$H_1 = 8\text{p}$$

$$H_2 = 8\text{p}$$

Inversion sélective de population

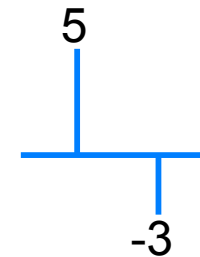
Après inversion (raie H_2) des niveaux $\alpha_H\alpha_C$ et $\beta_H\alpha_C$:



Signaux ^{13}C :

$$C_1 = +10p$$

$$C_2 = -6p$$

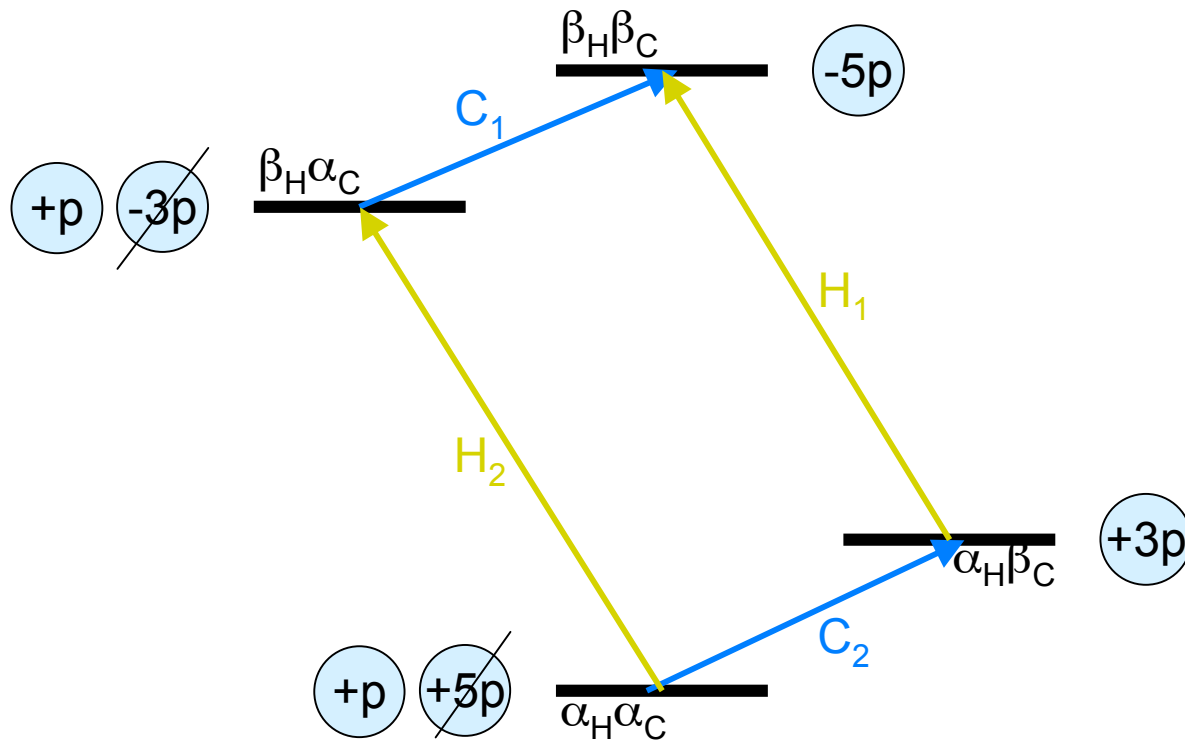


→ Transfert d'aimantation !



Remarque: Saturation sélective de population

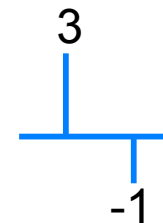
Si au lieu d'inverser on sature la transition H_2 :



Signaux ^{13}C :

$$C_1 = +6p$$

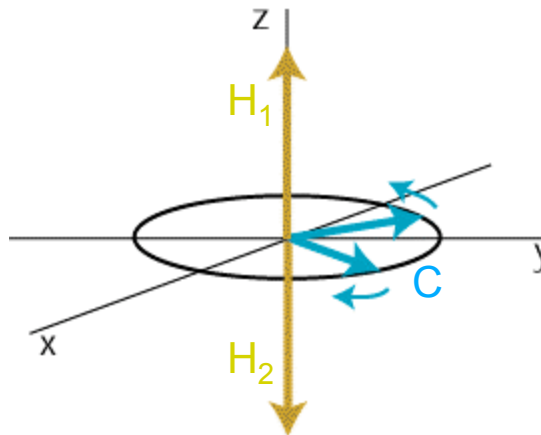
$$C_2 = -2p$$



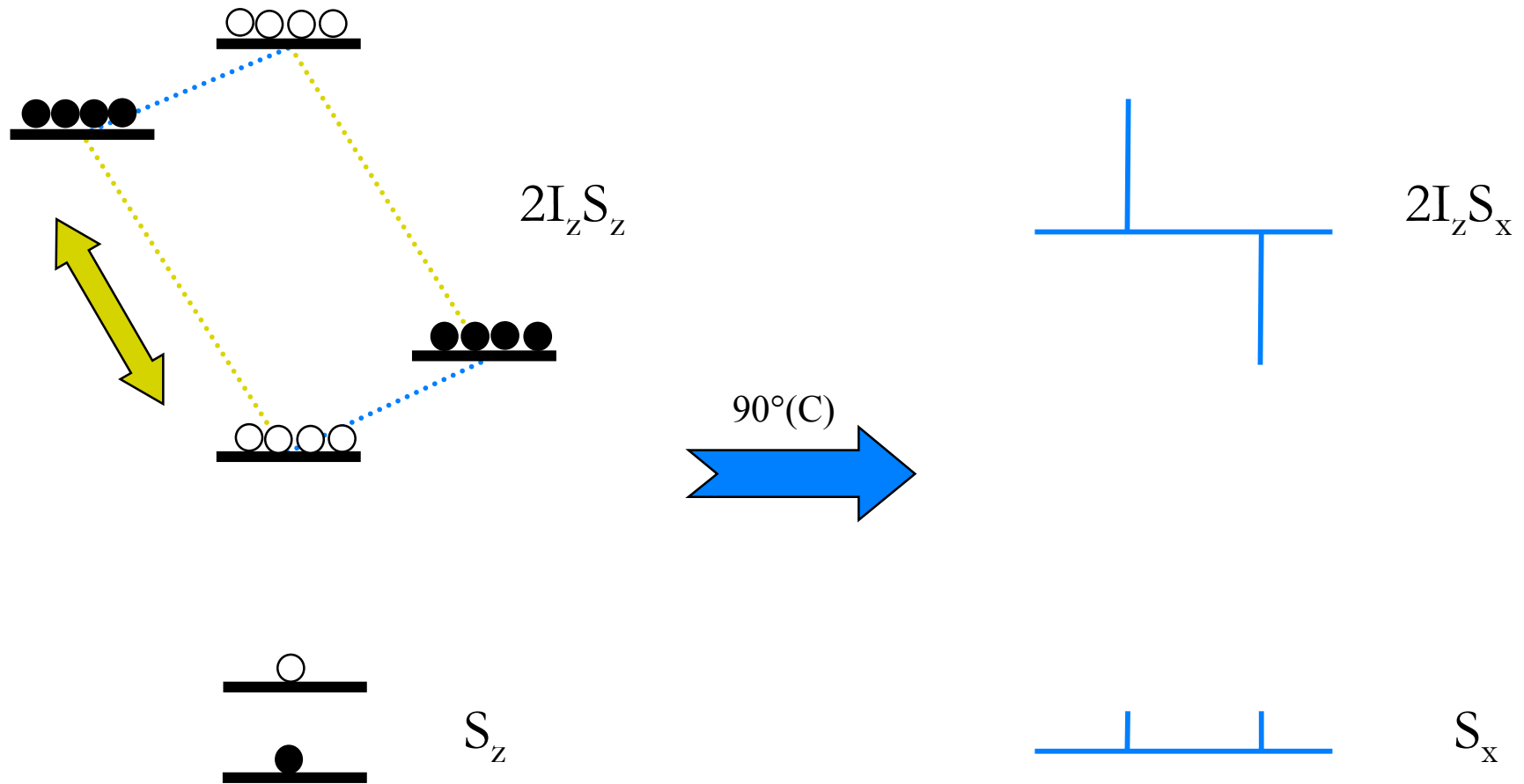
→ Transfert d'aimantation moindre !

donc ...

... maximum de transfert d'aimantation de H vers C dans la situation suivante:



ou encore ...

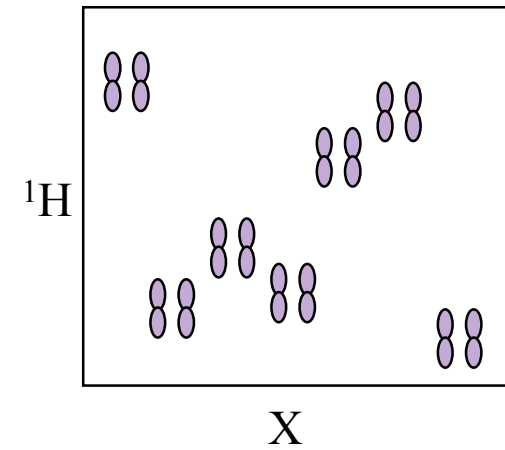
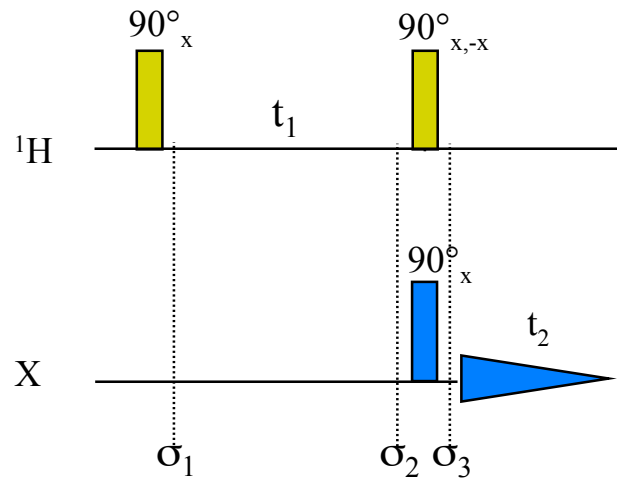


Expériences scalaires hétéronucléaires

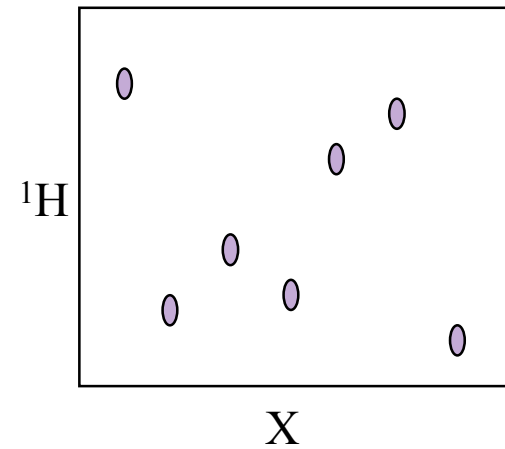
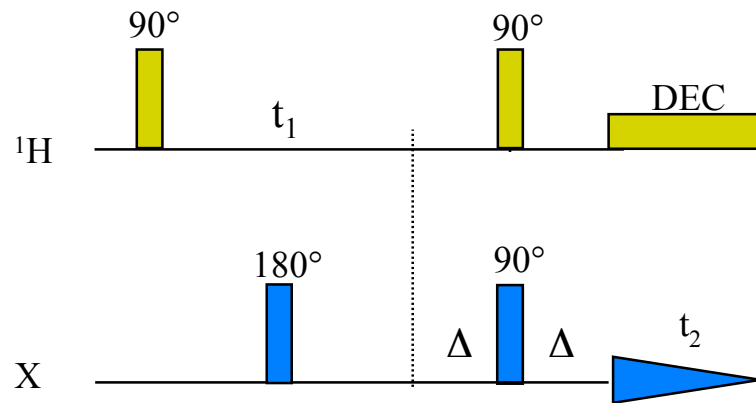
1. Edition de spectres
 - INEPT
 - DEPT
2. Corrélations hétéronucléaires 2D
 - Directes
 - Inverses

Corrélation hétéronucléaire

Version non découplée



Version découplée
($\Delta = 1/2J$)





Corrélation hétéronucléaire

Fréquences:	Amplitudes:
$\nu_{13} = \nu_0^H - \frac{J}{2}$	$p_{13} = p_3 - p_1$
$\nu_{24} = \nu_0^H + \frac{J}{2}$	$p_{24} = p_4 - p_2$

σ_1 :

$$M_{H1_x} = 0 \quad ; \quad M_{H1_y} = M_{13} \propto -(p_3 - p_1)$$

$$M_{H2_x} = 0 \quad ; \quad M_{H2_y} = M_{24} \propto -(p_4 - p_2)$$

σ_2 :

$$M_{H1_x} \propto (p_3 - p_1) \sin(2\pi\nu_{13}t_1) \quad ; \quad M_{H1_y} \propto -(p_3 - p_1) \cos(2\pi\nu_{13}t_1)$$

$$M_{H2_x} \propto (p_4 - p_2) \sin(2\pi\nu_{24}t_1) \quad ; \quad M_{H2_y} \propto (p_4 - p_2) \cos(2\pi\nu_{24}t_1)$$

σ_3 (composante sur z uniquement):

$$M_{H1_z} \propto -(p_3 - p_1) \cos(2\pi\nu_{13}t_1)$$

$$M_{H2_z} \propto -(p_4 - p_2) \cos(2\pi\nu_{24}t_1)$$

Puisque l'aimantation longitudinale est directement proportionnelle aux différences de population des niveaux d'énergie:

$$p_1(t_1) \propto -p_C - p_H \cos(2\pi\nu_{13}t_1)$$

$$p_2(t_1) \propto p_C + p_H \cos(2\pi\nu_{24}t_1)$$

$$p_3(t_1) \propto -p_C - p_H \cos(2\pi\nu_{13}t_1)$$

$$p_4(t_1) \propto p_C - p_H \cos(2\pi\nu_{24}t_1)$$

Light!

Ces équations montrent que l'aimantation longitudinale du C a changé puisque de l'état d'équilibre où:

$$M_{C1} = M_{12} \propto p_2 - p_1 = 2p_C \qquad M_{C2} = M_{34} \propto p_4 - p_3 = 2p_C$$

on est passé à:

$$M_{C1}(t_1) \propto p_2(t_1) - p_1(t_1) = 2p_C + p_H(\cos(2\pi\nu_{24}t_1) - \cos(2\pi\nu_{13}t_1))$$

$$M_{C2}(t_1) \propto p_4(t_1) - p_3(t_1) = 2p_C + p_H(\cos(2\pi\nu_{13}t_1) - \cos(2\pi\nu_{24}t_1))$$

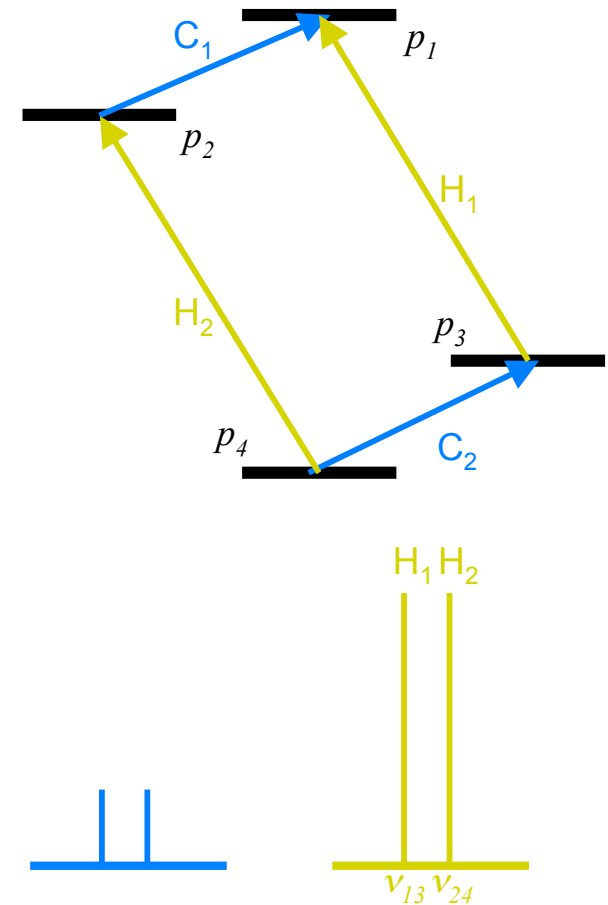
Une impulsion 90° sur C permet de détecter cette aimantation. La transformation de Fourier de ce signal fournit donc 2 pics aux fréquences ν_{12} et ν_{34} , d'amplitude proportionnelle à:

$$2p_C + p_H(\cos(2\pi\nu_{24}t_1) - \cos(2\pi\nu_{13}t_1))$$

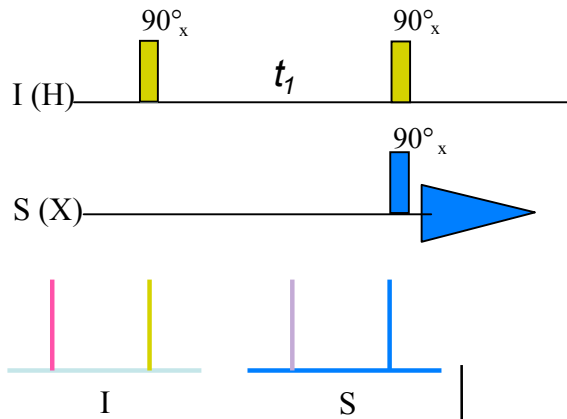
$$2p_C + p_H(\cos(2\pi\nu_{13}t_1) - \cos(2\pi\nu_{24}t_1))$$

La seconde transformation de Fourier - selon t_1 - fera apparaître 4 pics aux couples (F2,F1) de fréquences: (ν_{12}, ν_{13}) , (ν_{12}, ν_{24}) , (ν_{34}, ν_{13}) , (ν_{34}, ν_{24}) selon (F2,F1).

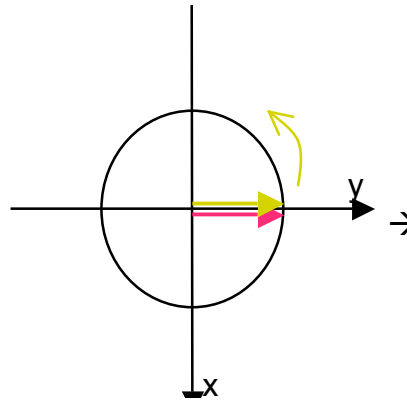
*Explication
par les
populations*



Corrélation hétéronucléaire

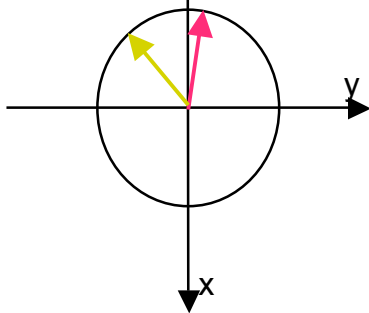


90°_x
sur H

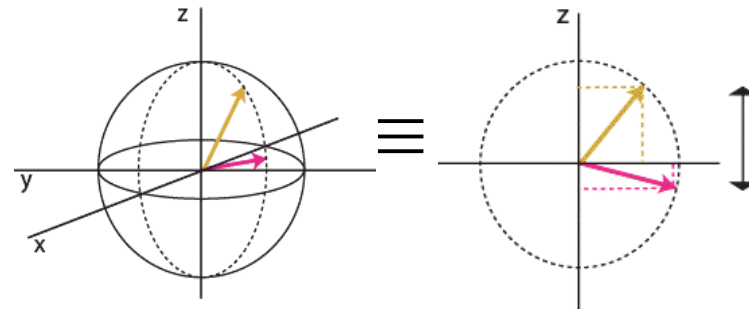


le vecteur aimantation tourne (sous l'effet de δ) et se sépare en 2 (sous l'effet de J)

t_1

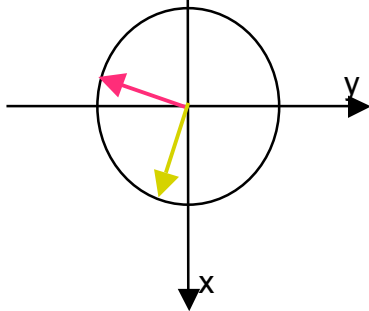


90°_x
sur H

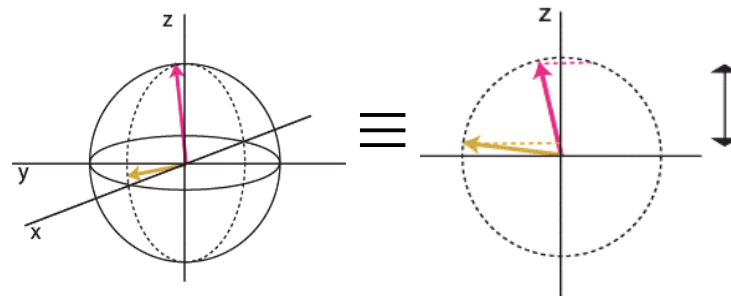


fonction transfert qui dépend de δt_1 et $\pi J t_1$

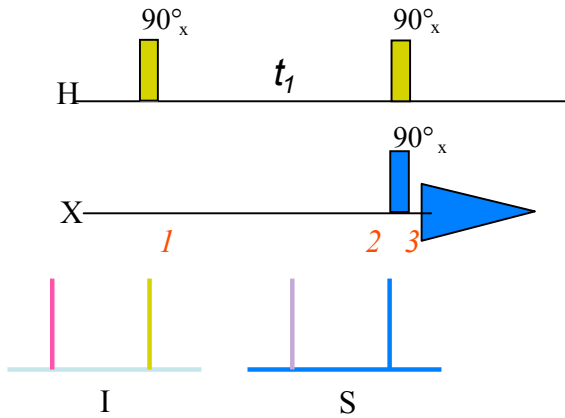
$2t_1$



90°_x
sur H



Corrélation hétéronucléaire



Soit: $c_1 = \cos(\omega_1 t_1)$; $s_1 = \sin(\omega_1 t_1)$; $c_{12} = \cos(\pi J t_1)$; $s_{12} = \sin(\pi J t_1)$

Impulsion 90°_x sur H: $I_z \xrightarrow{I_x} -I_y$ 1

Déplacement chimique: $\xrightarrow{I_z} -I_y c_1 + I_x s_1$

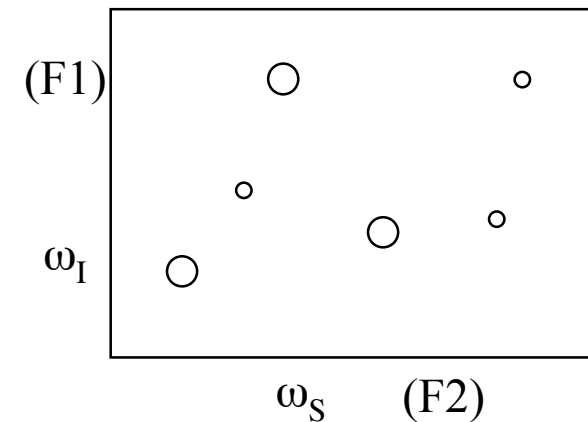
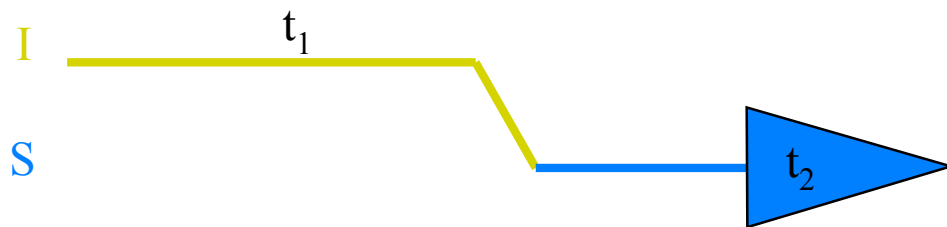
Couplage: $\xrightarrow{2I_z S_z} -I_y c_1 c_{12} + 2I_x S_z c_1 s_{12} + I_x s_1 c_{12} + 2I_y S_z s_1 s_{12}$ 2

Impulsion 90°_x sur H: $\xrightarrow{I_x} -I_z c_1 c_{12} + 2I_x S_z c_1 s_{12} + I_x s_1 c_{12} + 2I_z S_z s_1 s_{12}$

Impulsion 90°_x sur X: $\xrightarrow{S_x} -I_z c_1 c_{12} - 2I_x S_y c_1 s_{12} + I_x s_1 c_{12} - 2I_z S_y s_1 s_{12}$ 3

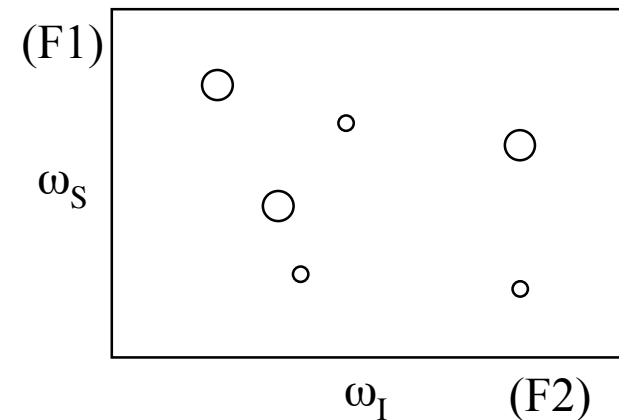
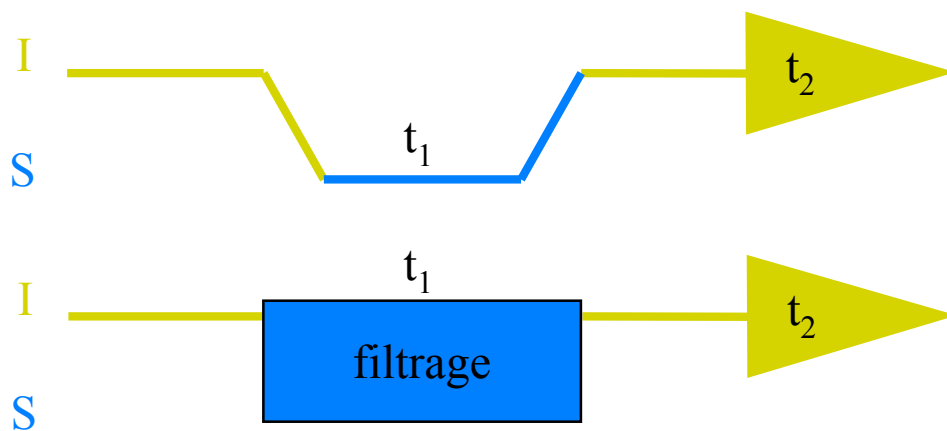
Corrélations scalaires hétéronucléaires 2D: détection directe

- 1) Excitation ^1H (I)
- 2) Marquage en fréquence des protons pendant le temps d'évolution t_1
- 3) Transfert d'aimantation du proton (I) vers l'hétéronoyau (S)
- 4) Détection de l'hétéronoyau (S) (pendant le temps d'acquisition t_2)


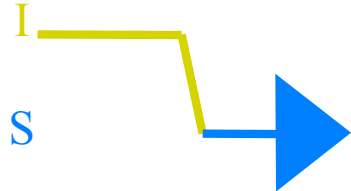

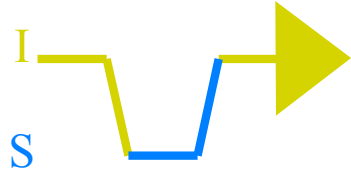


Corrélations scalaires hétéronucléaires 2D: détection inverse

- 1) Excitation ^1H (I)
- 2) Transfert d'aimantation du proton (I) vers l'hétéronoyau (S)
- 3) Marquage en fréquence des hétéronoyaux pendant t_1
- 4) Transfert d'aimantation de l'hétéronoyau (S) vers le proton (I)
- 5) Détection de l'hétéronoyau (S) (pendant le temps d'acquisition t_2)



Sensibilités relatives

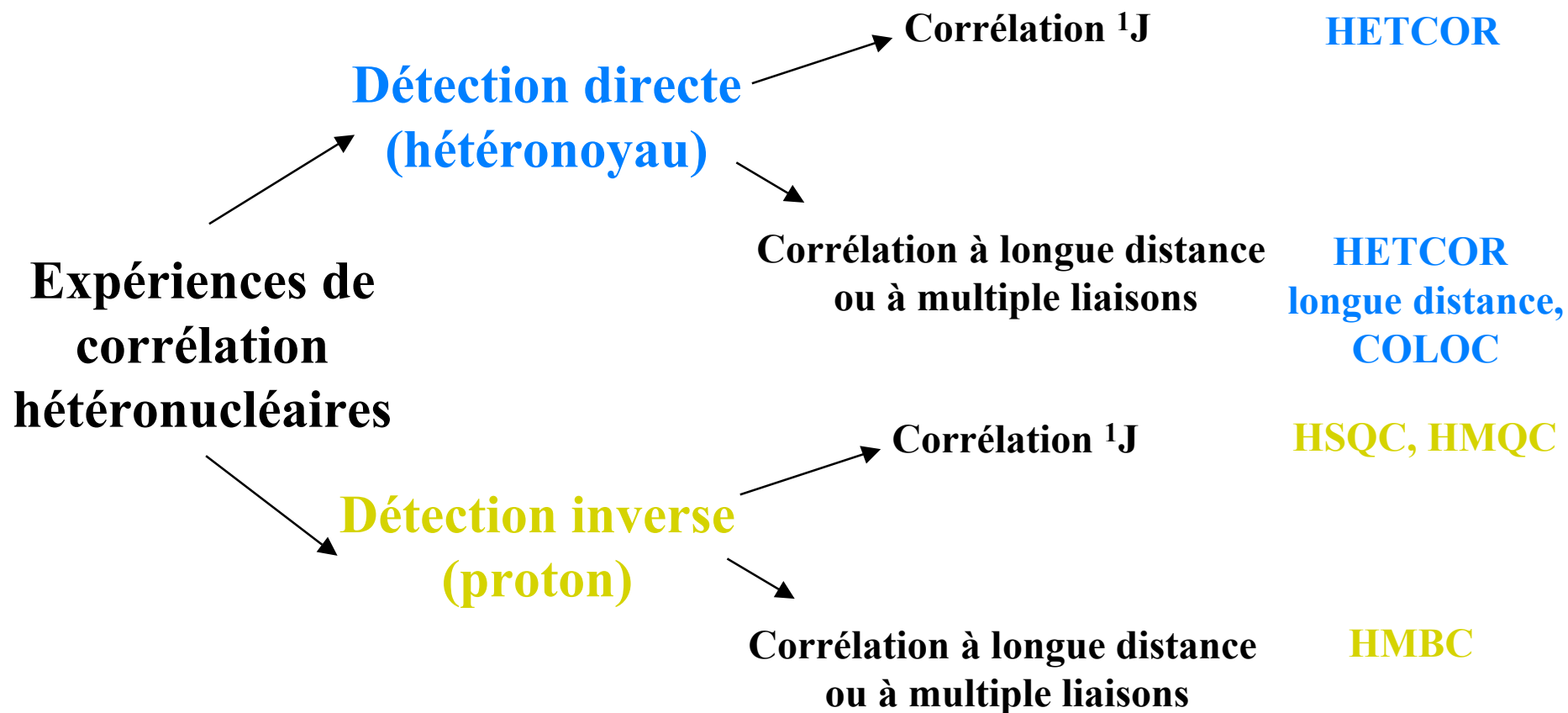
		<i>Sensibilité</i>	¹³ C ($\gamma_H = 4\gamma_C$)	¹⁵ N ($\gamma_H = -10\gamma_N$)
(A) Détection directe de l'hétéronoyau		$\gamma_S^{5/2}$	1	1
(B) Corrélation directe (DEPT, INEPT, HETCOR, COLOC, ...)		$\gamma_I \gamma_S^{3/2}$	4	10
(C) Corrélation 'inversée'		$\gamma_I^{3/2} \gamma_S$	8	30
(D) Corrélation inverse (HSQC, HMQC, HMBC, ...)		$\gamma_I^{5/2}$	32	300



Effet Overhauser nucléaire !



Corrélations 2D hétéronucléaires



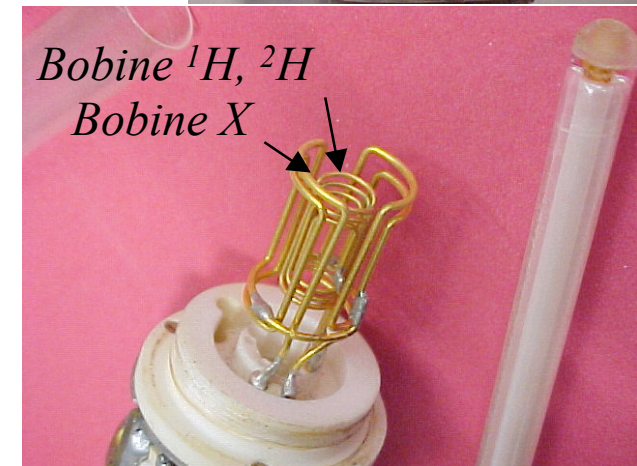
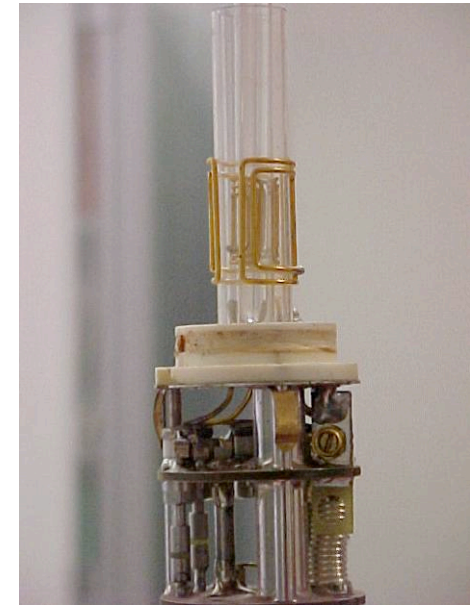
Aspects techniques

Sonde directe:

- **2 canaux rf indépendants**, de manière à pouvoir envoyer des impulsions ^1H et X et détecter l'aimantation X tout en découplant ^1H .
- **bobine X la plus proche de l'échantillon**, pour optimiser le signal X détecté (facteur de remplissage).

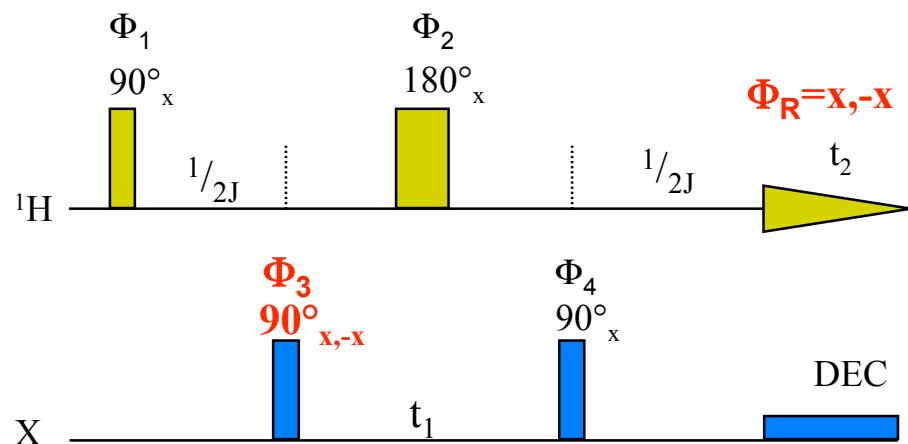
Sonde inverse:

- **2 canaux rf indépendants**, de manière à pouvoir envoyer des impulsions ^1H et X et détecter l'aimantation ^1H tout en découplant X.
- **bobine ^1H la plus proche de l'échantillon**, pour optimiser le signal ^1H détecté.



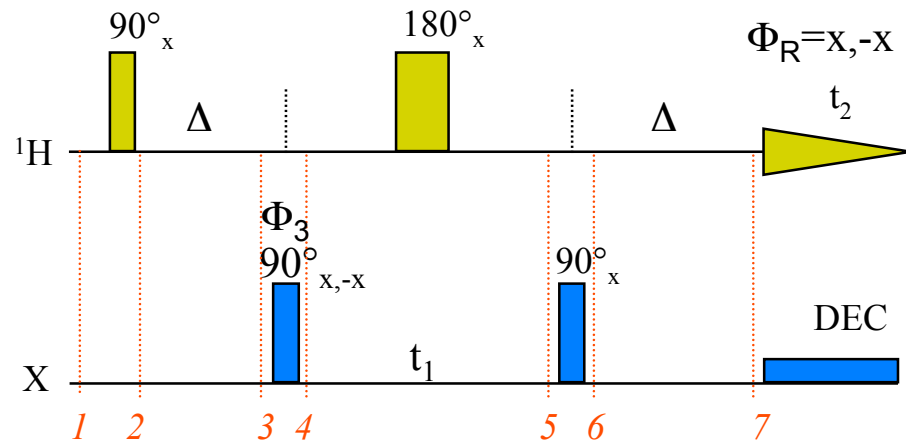
Sonde inverse

HMQC



- **But:** corrélation $^1\text{H-X}$; suppression des signaux ^1H (spin I) non couplés à X (spin S).
Ex : suppression de $^1\text{H-}^{12}\text{C}$.
- Le point est de cycler la phase de l'impulsion rf affectant la cohérence souhaitée, et ne touchant pas la cohérence que l'on veut supprimer

HMQC par les opérateurs



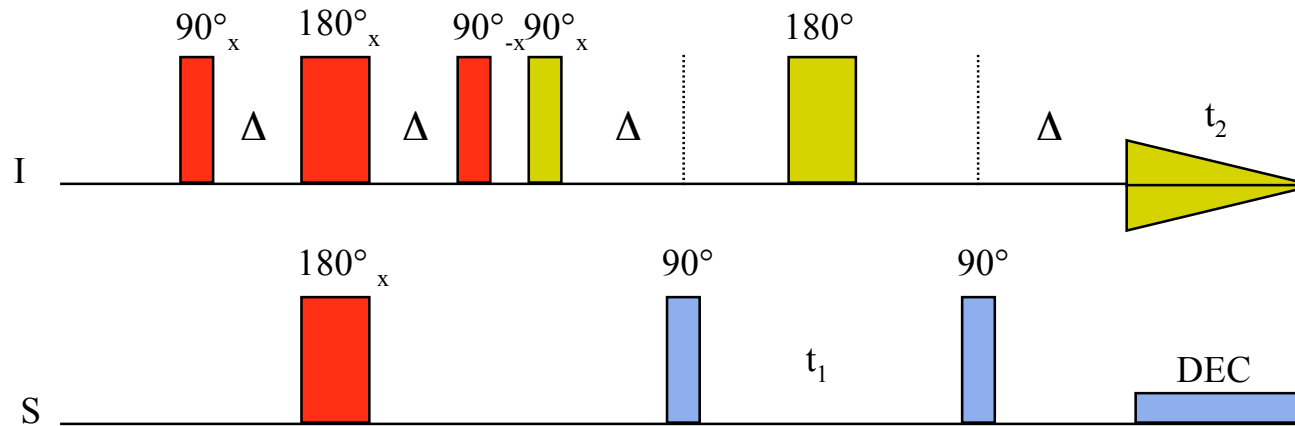
$$I_z \xrightarrow{2} -I_y \xrightarrow{3} 2I_x S_z$$

$$(A) \quad \Phi_3 = +x: \xrightarrow{4} -2I_x S_y \xrightarrow{5} -2I_x S_y \cos(\omega_s t_1) + 2I_x S_x \sin(\omega_s t_1) \xrightarrow{6} -2I_x S_z \cos(\omega_s t_1) + 2I_x S_x \sin(\omega_s t_1) \\ \xrightarrow{7} -I_y \cos(\omega_s t_1) + 2I_x S_x \sin(\omega_s t_1)$$

$$(B) \quad \Phi_3 = -x: \xrightarrow{4} 2I_x S_y \xrightarrow{5} 2I_x S_y \cos(\omega_s t_1) - 2I_x S_x \sin(\omega_s t_1) \xrightarrow{6} -2I_x S_z \cos(\omega_s t_1) + 2I_x S_x \sin(\omega_s t_1) \\ \xrightarrow{7} I_y \cos(\omega_s t_1) + 2I_x S_x \sin(\omega_s t_1)$$

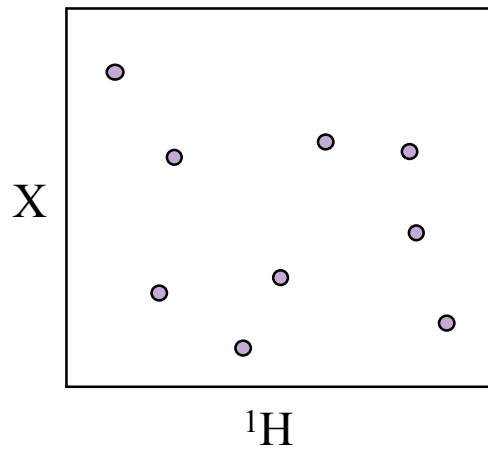
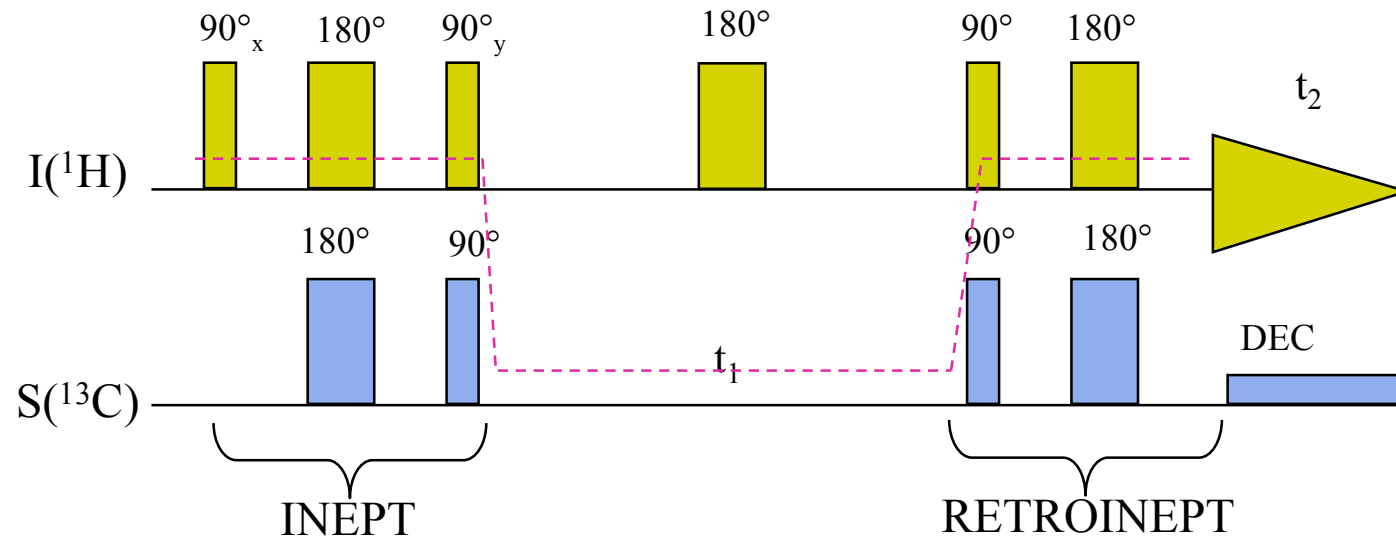
La soustraction (A)-(B) (puisque $\Phi_R = x, -x$) permet de ne garder que le terme en I_y ,
 et élimine les ^1H non couplés aux ^{13}C

Variante : HMQC avec 'BIRD'

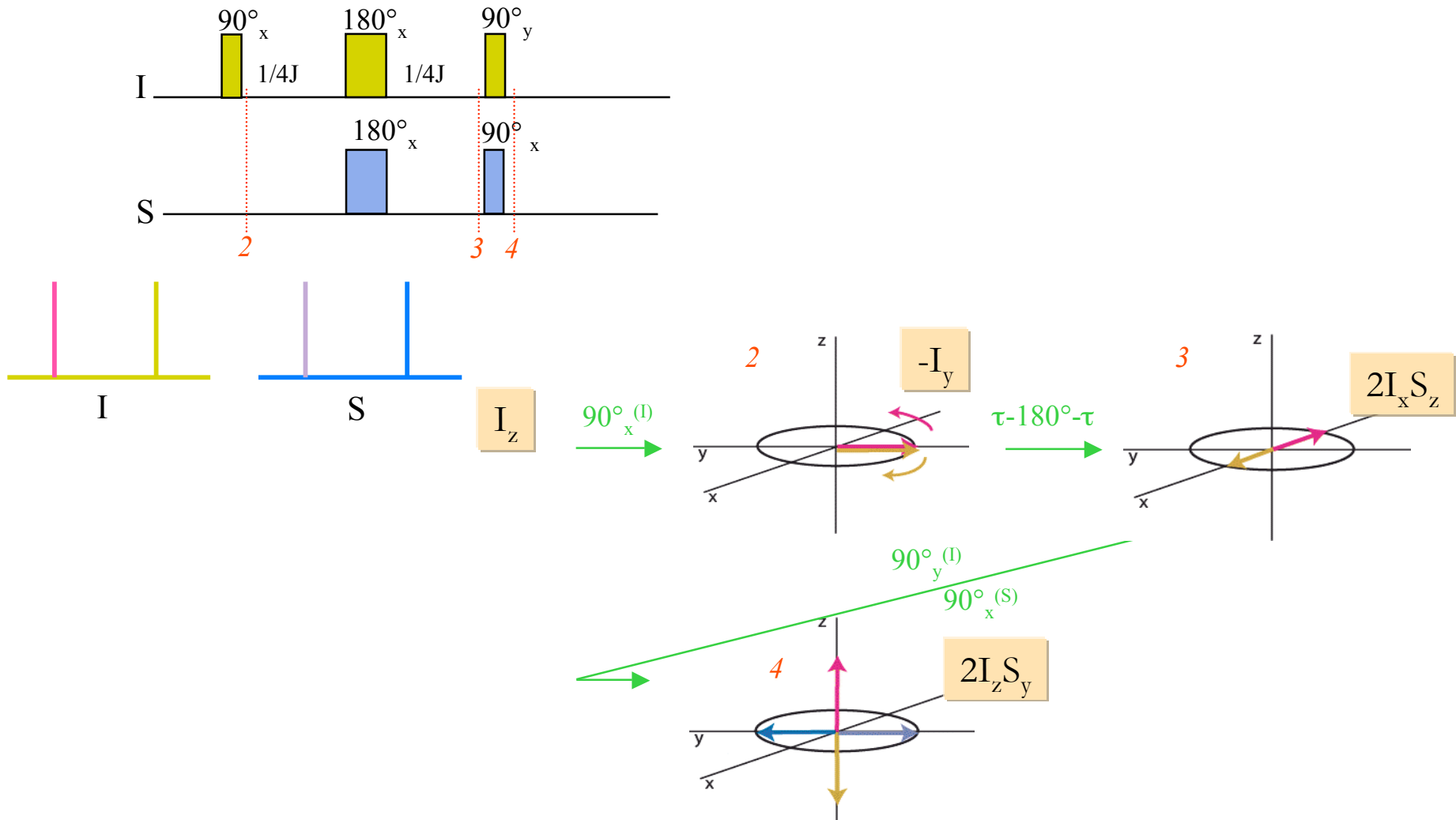


- La suppression de l'aimantation proton des groupes $^{12}\text{CH}_n$ est réalisée en faisant précéder la séquence HMQC par une séquence **BIRD** (**Bilinear Rotational Decoupling**).
- **Le BIRD inverse sélectivement** l'aimantation z des **protons attachés aux ^{12}C** , pas l'aimantation des protons liés aux ^{13}C . L'aimantation des protons des groupes $^{12}\text{CH}_n$ peut alors **relaxer à zéro pendant le délai Δ** de manière à ne donner aucune aimantation transverse quand le premier pulse 90° proton de l'HMQC est appliqué.

HSQC

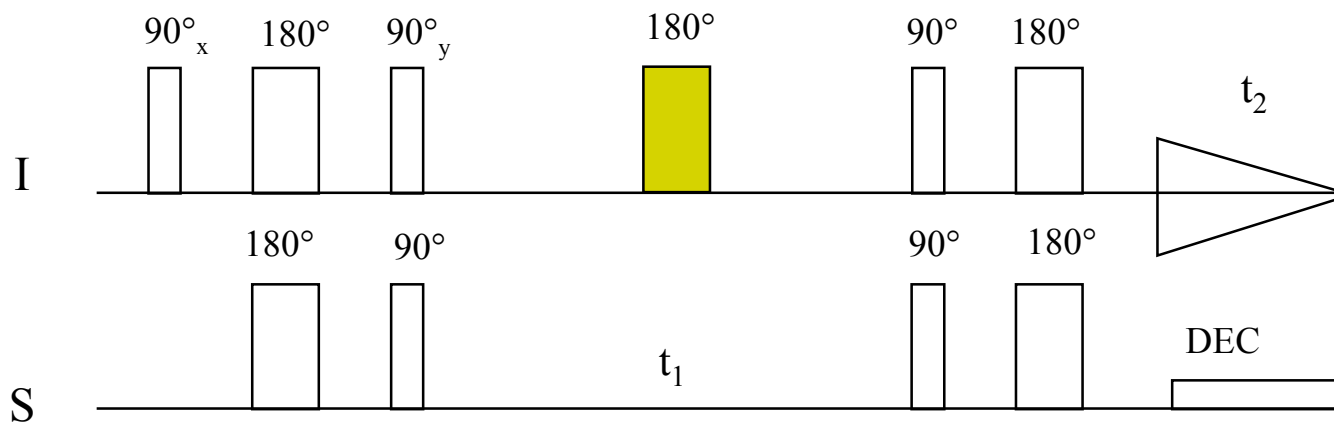


Partie INEPT



→ Cohérences à 1Q en S qui vont évoluer pendant t_1

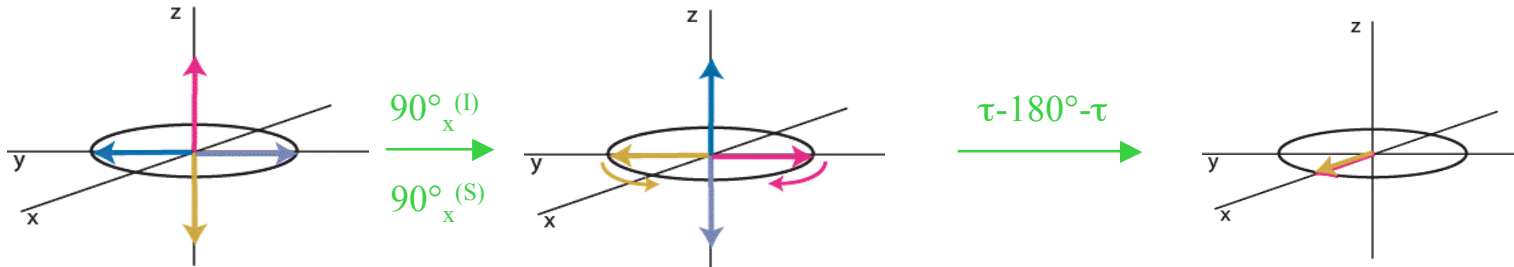
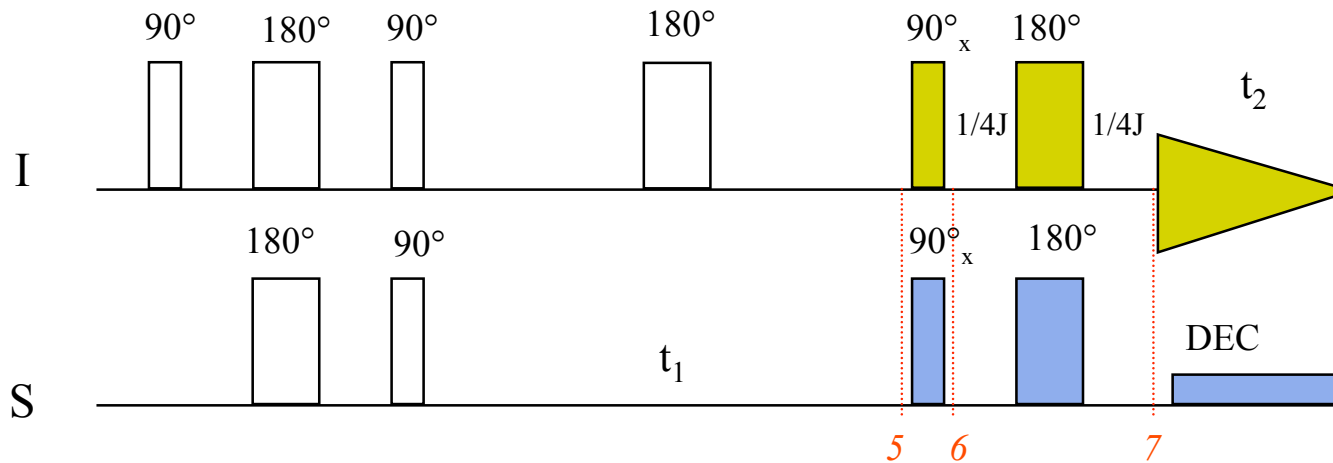
Partie évolution



L'impulsion 180° sur le proton au milieu de temps d'évolution refocalise les couplages J_{IS} . La carte contiendra donc dans la dimension indirecte uniquement les déplacements chimiques S.

$$2I_z S_y \xrightarrow{t_1/2 - 180^\circ - t_1/2} 2I_z S_y \cos(\omega_s t_1) - 2I_z S_x \sin(\omega_s t_1)$$

Partie RETROINEPT



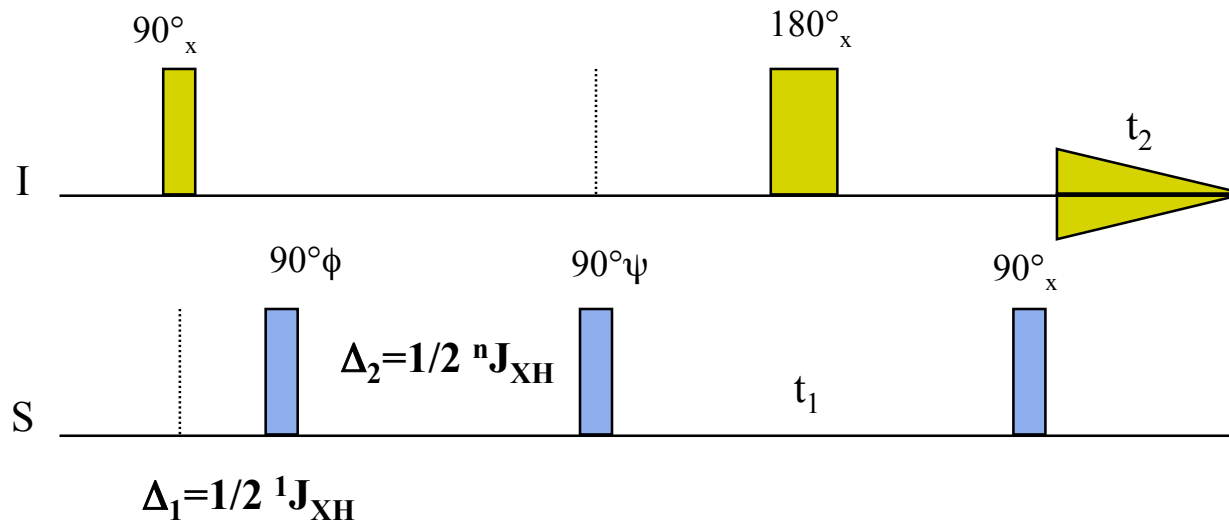
$$\begin{aligned}
 & 2I_z S_y \cos(\omega_s t_1) - 2I_z S_x \sin(\omega_s t_1) \xrightarrow{5} -2I_y S_z \cos(\omega_s t_1) + 2I_y S_x \sin(\omega_s t_1) \\
 & \xrightarrow{6} \boxed{I_x \cos(\omega_s t_1)} + 2I_y S_x \sin(\omega_s t_1) \\
 & \xrightarrow{7}
 \end{aligned}$$

Pic à 1Q en I en phase (que l'on peut découpler).



HMBC

(Heteronuclear Multiple Bond Correlation)



- Dérivée de l'expérience HMQC, optimisation pour les **couplages à longue distance** (Δ_2)
- Filtre passe-bas pour supprimer les $^1J_{XH}$ (Δ_1)
- Phase du signal détecté modulée par J_{HH} \rightarrow spectres 2D présentés en mode magnitude
- Généralement non découplée

Typiquement, en 1H - ^{13}C : $\Delta_1 \sim 3,5$ ms ; $\Delta_2 \sim 60$ ms



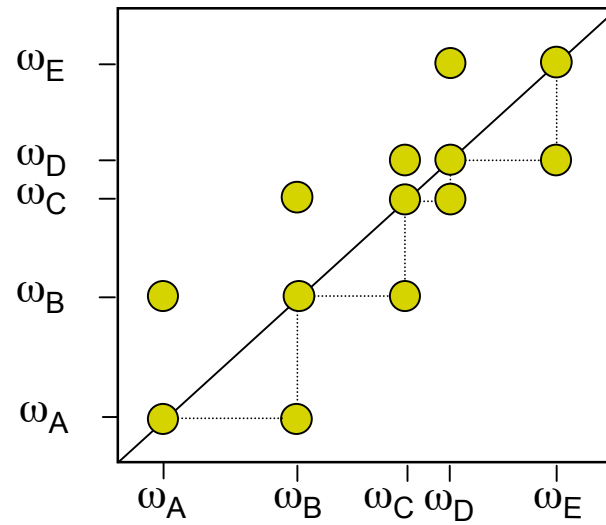
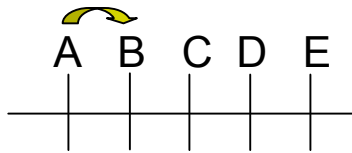
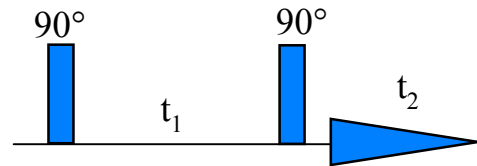
Corrélations homonucléaires

- (aussi) Spectroscopie résolue en J
- Transfert de type 'COSY' (antiphase)
 - COSY
 - COSY-relayé
 - DQF COSY, E-COSY
 - Spectroscopie Double Quantum
- Transfert isotrope (en phase)
 - TOCSY

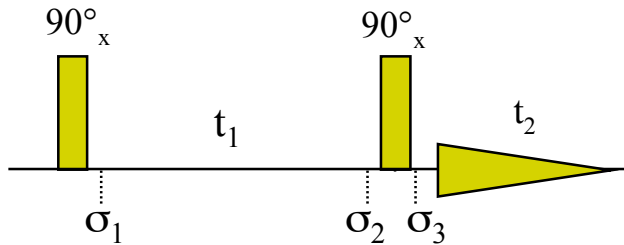


COSY

‘CORrelation SpectroscopY’



COSY



soit $c_1 = \cos(\omega_1 t_1)$; $c_{12} = \cos(\pi J_{12} t_1)$ (s_1 et s_{12} sin corresp.)

$$\sigma_1 : I_{1z} \longrightarrow I_{1y}$$

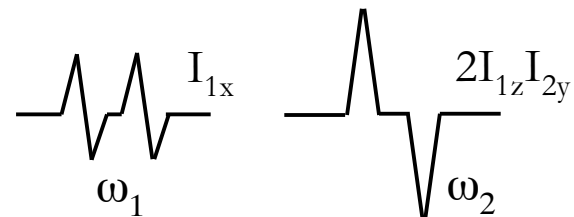
$$\sigma_2 : \begin{aligned} &\longrightarrow -I_{1y} c_1 + I_{1x} s_1 \\ &\longrightarrow -I_{1y} c_1 c_{12} + 2I_{1x} I_{2z} c_1 s_{12} + I_{1x} s_1 c_{12} + 2I_{1y} I_{2z} s_1 s_{12} \end{aligned}$$

*effet de déplacement chimique
couplage*

$$\sigma_3 : \longrightarrow -I_{1z} c_1 c_{12} - 2I_{1x} I_{2y} c_1 s_{12} + \underline{I_{1x} s_1 c_{12}} - \underline{2I_{1z} I_{2y} s_1 s_{12}}$$

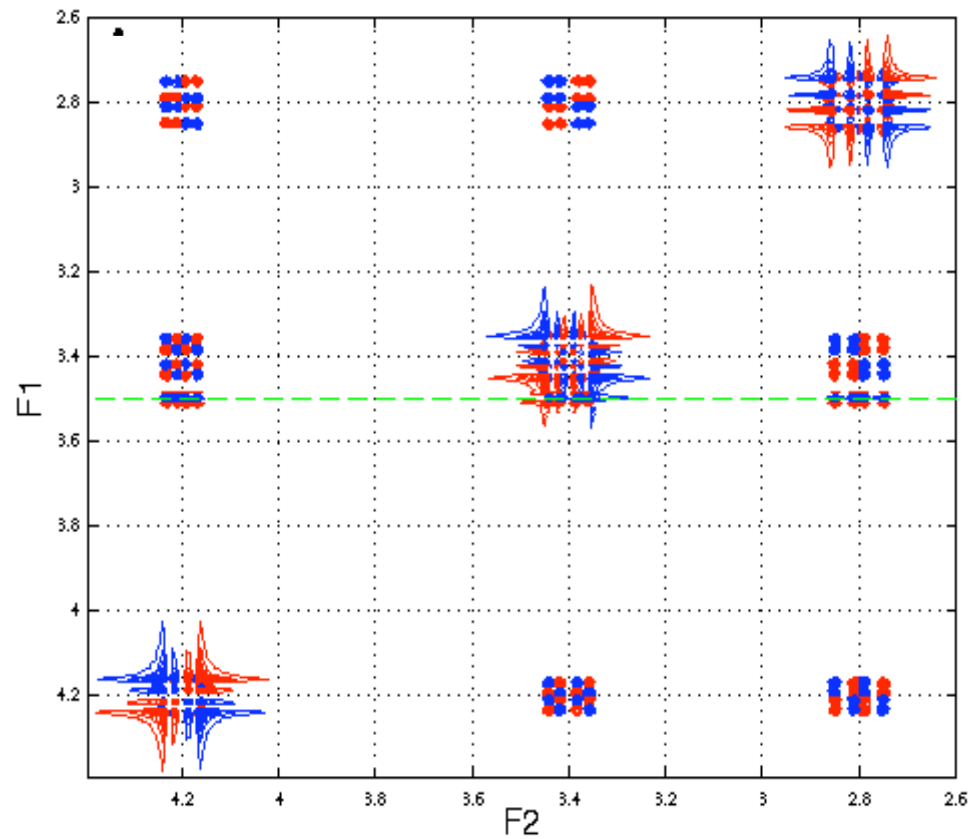
- Modulation par les déplacements chimiques et couplages en F1 (et F2)

- Seuls les 2 derniers termes sont observables



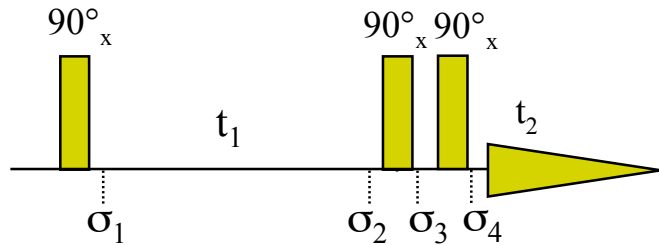
COSY

$$\begin{aligned}
 I_{1x} s_1 c_{12} &= \frac{1}{2} I_{1x} [\sin((\omega_1 + \pi J_{12})t_1) + \sin((\omega_1 - \pi J_{12})t_1)] \\
 - 2I_{1z} I_{2y} s_1 s_{12} &= - I_{1z} I_{2y} [\cos((\omega_1 + \pi J_{12})t_1) - \cos((\omega_1 - \pi J_{12})t_1)]
 \end{aligned}
 \left. \vphantom{\begin{aligned} I_{1x} s_1 c_{12} \\ - 2I_{1z} I_{2y} s_1 s_{12} \end{aligned}} \right\} \rightarrow \text{déphasage aussi dans la dimension F1}$$



COSY filtré double quantum

DQF COSY



$$\sigma_3 : \longrightarrow -I_{1z} c_1 c_{12} - 2I_{1x} I_{2y} c_1 s_{12} + I_{1x} s_1 c_{12} - 2I_{1z} I_{2y} s_1 s_{12}$$

Or $2I_{1x} I_{2y} = \frac{1}{2}((2I_{1x} I_{2y} + 2I_{1y} I_{2x}) - (2I_{1y} I_{2x} - 2I_{1x} I_{2y})) = \frac{1}{2}(2Q_y - 0Q_y)$
 d'où :

$$\sigma_3 : \longrightarrow -\cancel{I_{1z} c_1 c_{12}} - \frac{1}{2}(2Q_y - \cancel{0Q_y}) c_1 s_{12} + \cancel{I_{1x} s_1 c_{12}} - \cancel{2I_{1z} I_{2y} s_1 s_{12}}$$

$$= \frac{1}{2}((2I_{1x} I_{2y} + 2I_{1y} I_{2x}) c_1 s_{12})$$

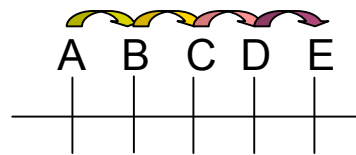
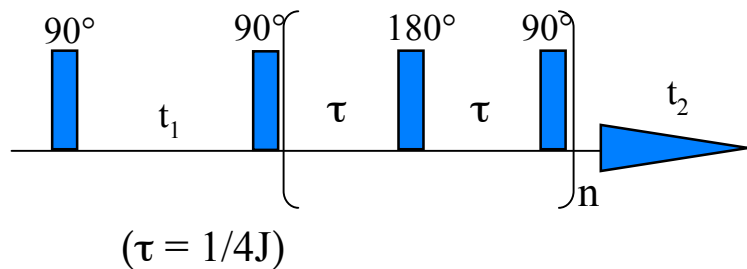
*uniquement les cohérences
2Q sont conservées*

$$\sigma_4 : \longrightarrow \frac{1}{2}((2I_{1x} I_{2z} + 2I_{1z} I_{2x}) c_1 s_{12})$$

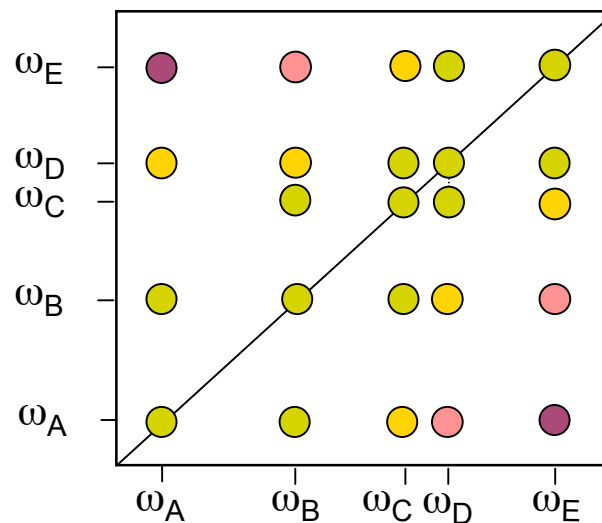
pic diagonal pic croisé

- pics croisés et diagonaux de même phase (et antiphase) dans les 2 dimensions
- diminution de l'intensité globale d'un facteur 2

CEA Transferts d'aimantation relayés



- $n = 1$ *relais simple*
- $n = 2$ *relais double*
- $n = 3$ *relais triple*
- ...

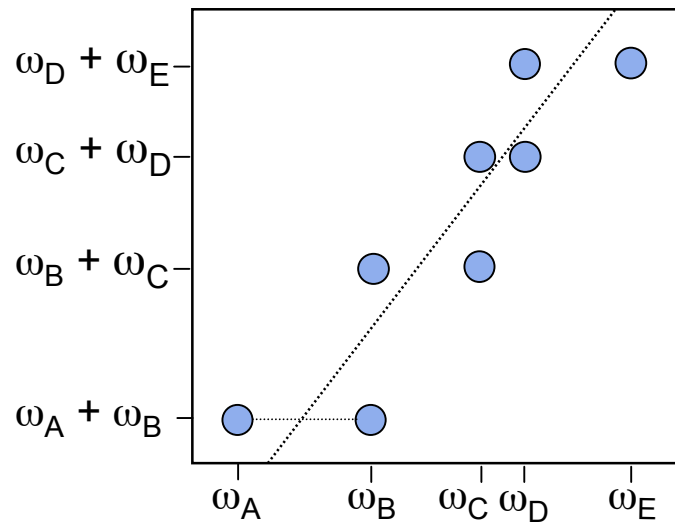
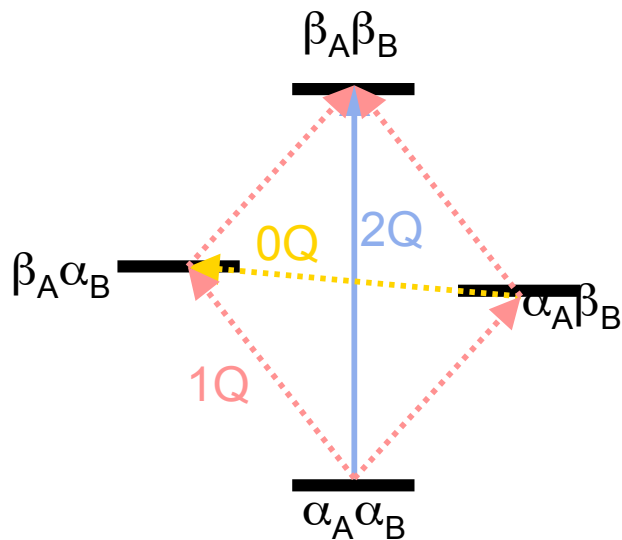
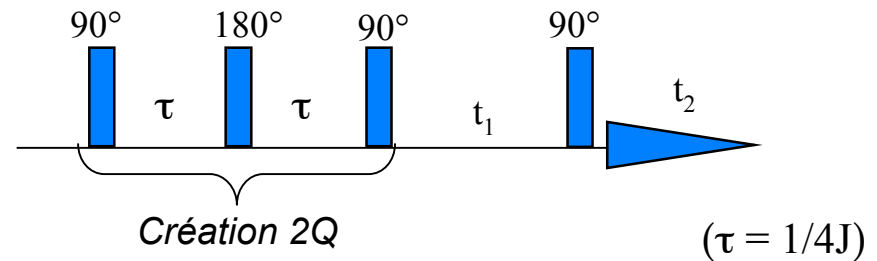


Relais : une tâche de corrélation apparaît entre A et C, même s'il n'y a pas de couplage direct.
 A ne pas confondre avec COSY longue distance,

Inconvénient : séquences de plus en plus longues → problème de relaxation

Spectroscopie Double Quantum

On ne peut pas observer directement les transitions à 2 quanta, mais on peut les faire évoluer pendant t_1



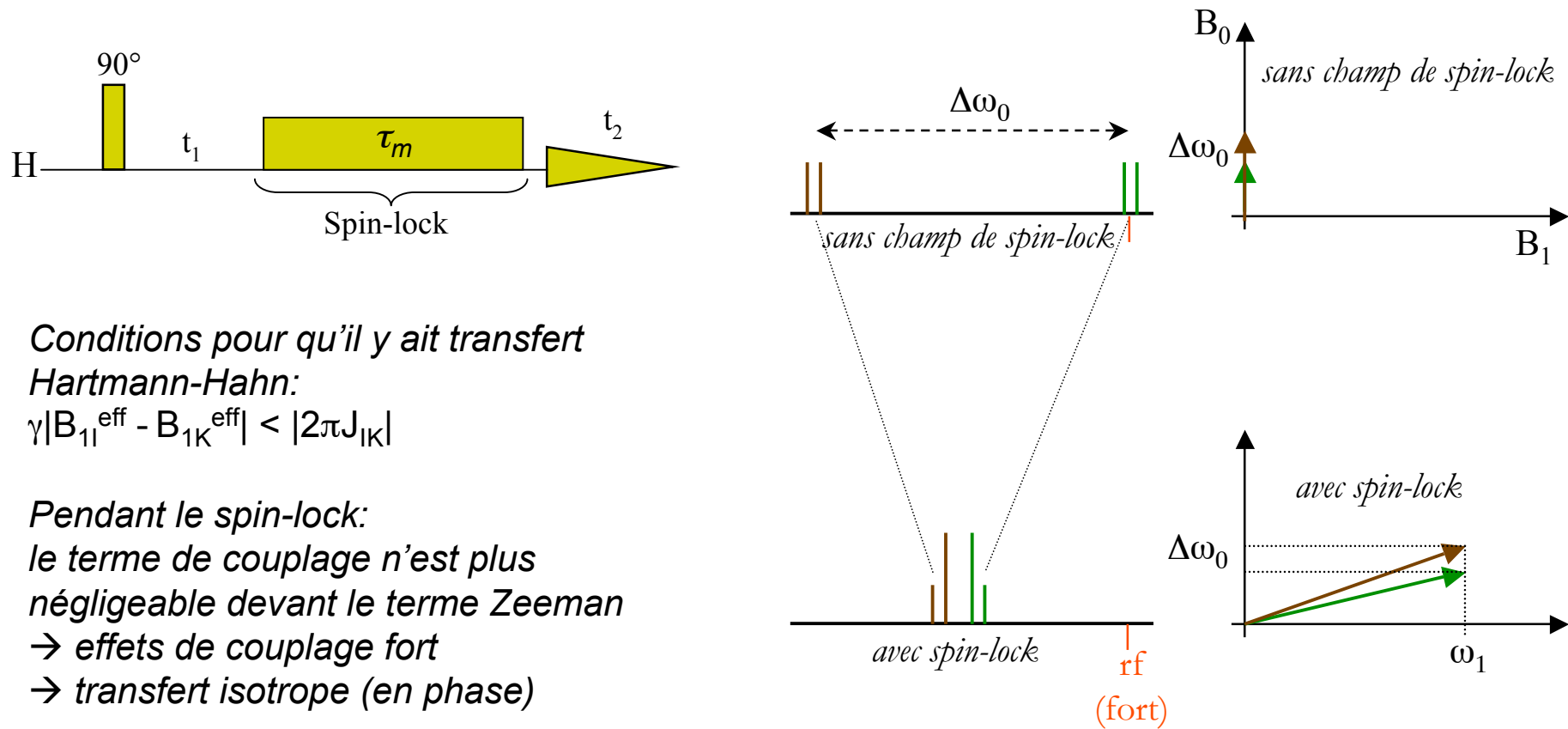
Avantages :

- pas de diagonale
- systèmes à 1 spin supprimés

Inconvénient :

- peu de résolution en F_1

Transferts scalaires isotropes

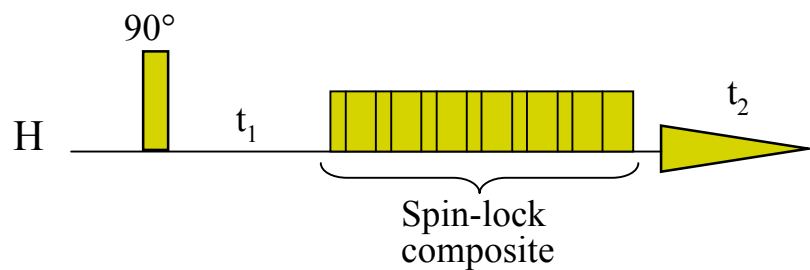


$$\mathcal{H}_{12}^{\text{iso}} = 2\pi J_{12} \vec{I}_1 \cdot \vec{I}_2 = 2\pi J_{12} (I_{1z} I_{2z} + I_{1x} I_{2x} + I_{1y} I_{2y})$$

$$I_{1x} \longrightarrow \frac{1}{2} I_{1x} (1 + \cos(2\pi J_{12} \tau_m)) + \frac{1}{2} I_{2x} (1 - \cos(2\pi J_{12} \tau_m)) + (I_{1y} I_{2z} - I_{1z} I_{2y}) \sin(2\pi J_{12} \tau_m)$$

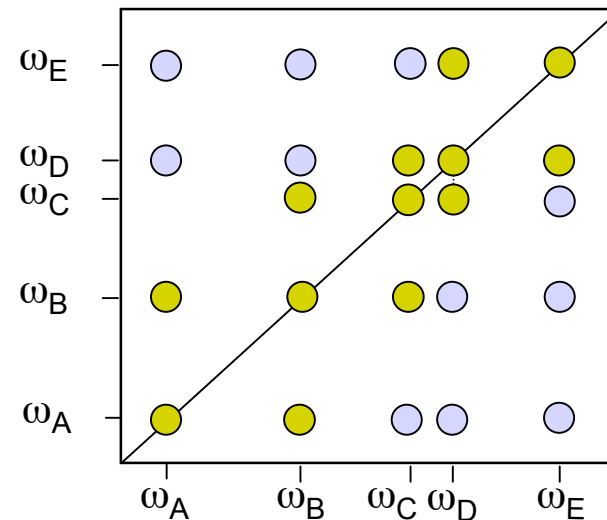
TOCSY

(T**O**tal C**O**rrrelation S**P**ectroscopy)



Conditions pour qu'il y ait transfert Hartmann-Hahn:
 $\gamma|B_{1I}^{\text{eff}} - B_{1K}^{\text{eff}}| < |2\pi J_{IK}|$

- Nécessaire d'utiliser une impulsion de spin-lock la plus homogène possible en amplitude sur la gamme spectrale
- problème similaire au problème de découplage

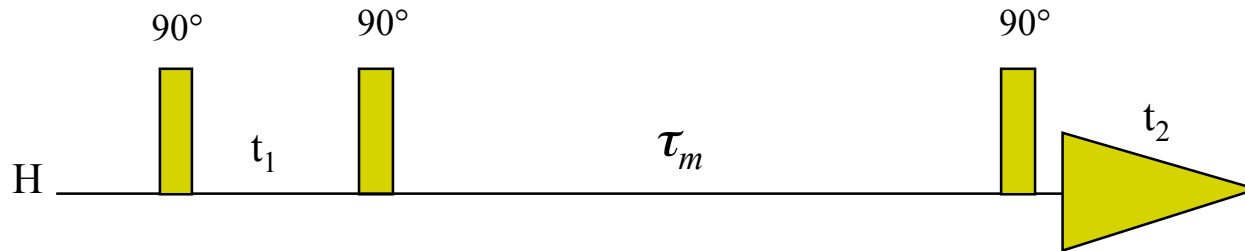


Transfert d'autant plus lointain que le spin-lock est long

Inconvénient: impossible de relier a priori un nombre de transferts à une longueur de spin-lock (l'efficacité du transfert dépend aussi de l'écart de déplacement chimique)

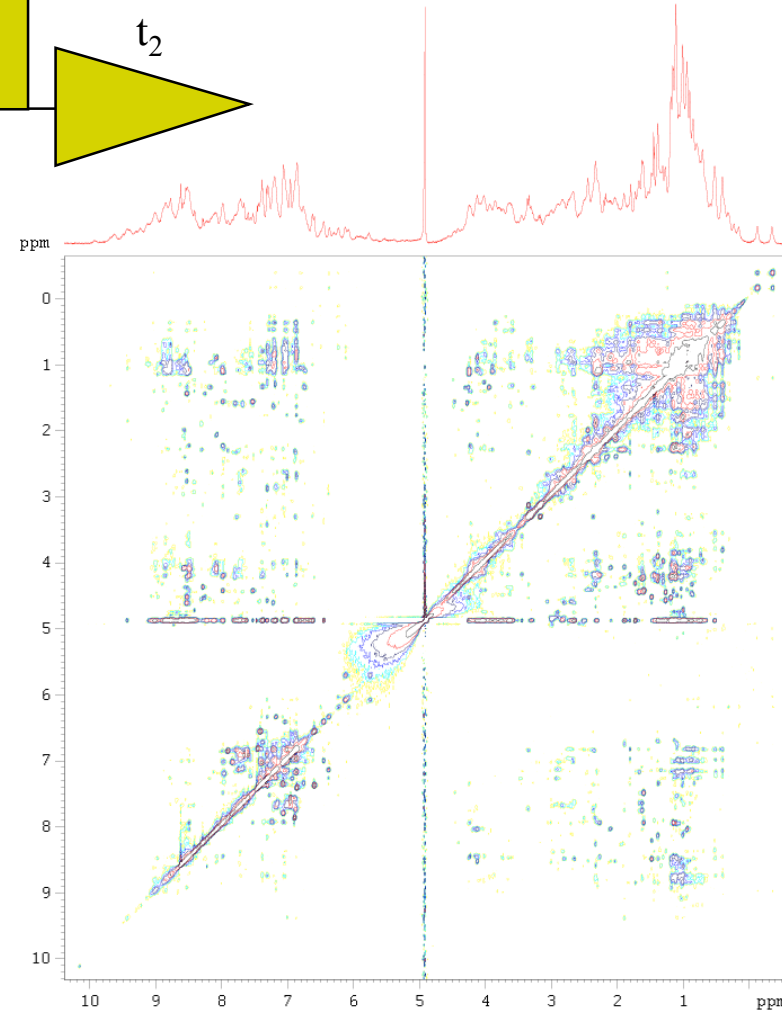


Transfert d'aimantation par voie dipolaire : NOESY



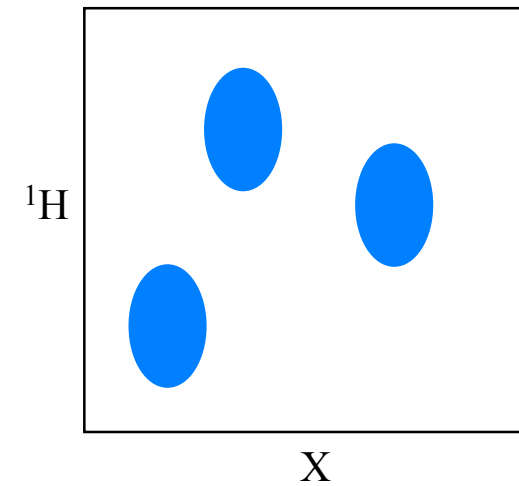
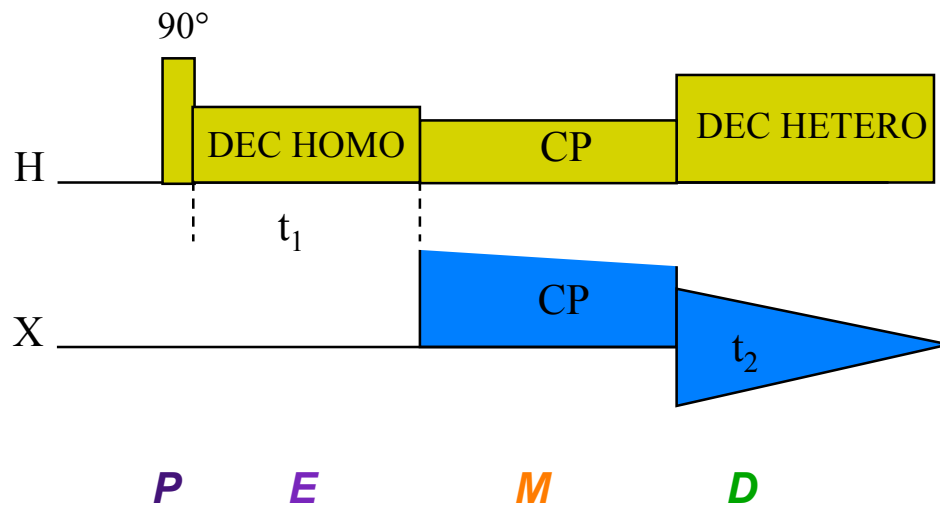
τ_m : temps de mélange (centaines de ms)

- **P**réparation: après retour à l'équilibre, l'aimantation est de nouveau perturbée ($I_z \rightarrow I_{xy}$)
- **E**volution: création de la seconde dimension par la précession des spins à leur fréquence de résonance (I_{xy})
- **M**élange: des transferts d'aimantation (non cohérents) se produisent pour la partie longitudinale par relaxation croisée ($I_z \rightarrow I'_z$)
- **D**étection (de I_{xy})



En RMN du solide

Ex: CPMAS : corrélation hétéronucléaire



Ordre des cohérences

- Pour aller plus loin dans l'analyse de situations complexes, il est utile d'introduire la notion de cohérence
- Une cohérence d'ordre p est définie par ce qui lui arrive lors d'une évolution sous l'effet Zeeman

$$pQ \xrightarrow{\phi I_z} pQ \exp(-ip\phi)$$

Rotation
d'un angle
 $\phi = \omega_0 t$
autour de z

- Une cohérence d'ordre p est p fois plus sensible qu'une cohérence d'ordre 1 aux inhomogénéités de champ magnétique
- Une impulsion rf peut faire changer les cohérences d'un ordre à l'autre, la précession libre ne change pas cet ordre



Ordre des cohérences

- Cohérence d'ordre +1:

$$I^+ = I_x + iI_y \quad \text{Démo: } I^+ \xrightarrow{90^\circ I_z} -iI^+$$

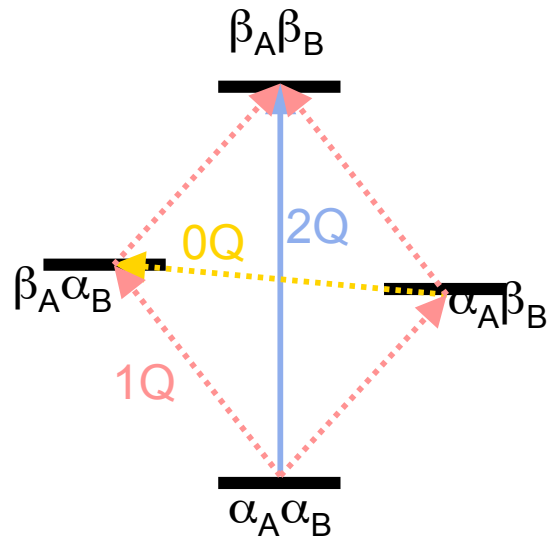
- Cohérence d'ordre -1:

$$I^- = I_x - iI_y \quad \text{Démo: } I^- \xrightarrow{90^\circ I_z} iI^-$$

Cohérences

Système à deux spins couplés A et B

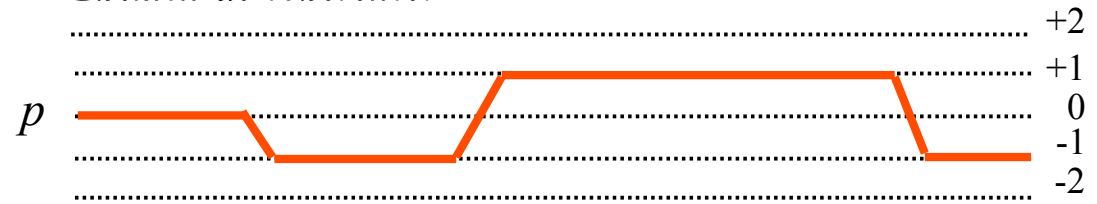
- Cohérences 0 quantum: $2I_A^+I_B^-$; $2I_A^-I_B^+$; I_{Az} ; I_{Bz} ; $2I_{Az}I_{Bz}$
- Cohérences 1 quantum: I_A^+ ; I_B^+ ; I_A^- ; I_B^- ; $2I_A^+I_{Bz}$; ...
- Cohérences 2 quanta: $2I_A^+I_B^+$; $2I_A^-I_B^-$



Séquence:



Chemin de cohérence:



Cyclage de phase

- Dimension directe, correction de 3 types d'imperfections:

- Mauvaise orthogonalité des récepteurs
- Mauvaise balance entre les récepteurs
- Courant continu en absence d'aimantation transversale

} CYCLOPS

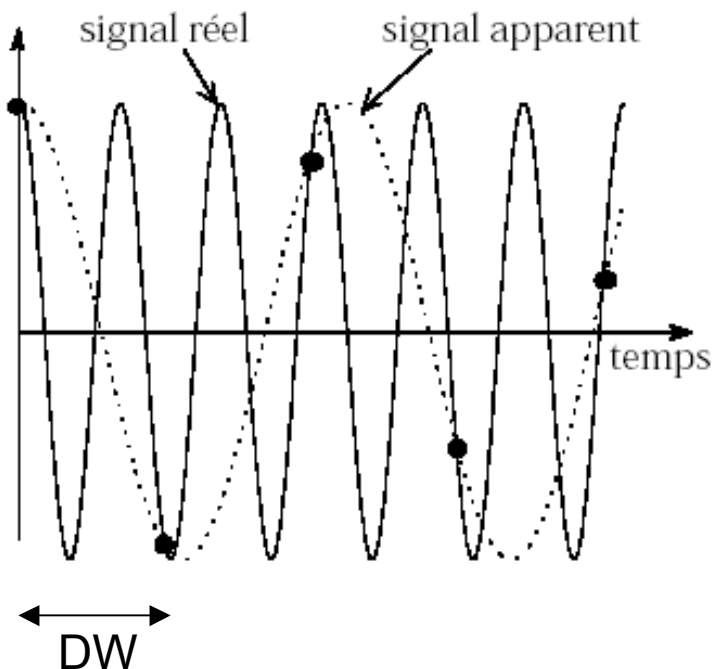
- Dimension indirecte:

- Réalisation de la quadrature
- Suppression des pics axiaux

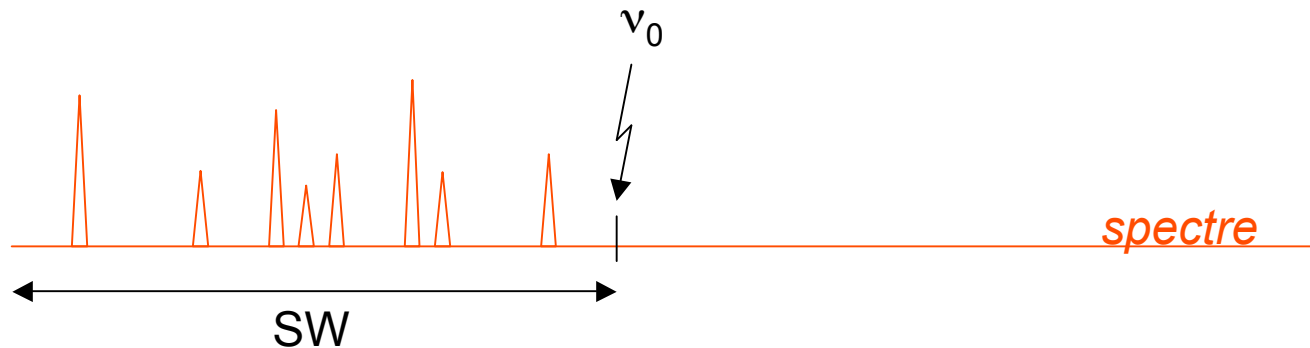
States, TPPI, States-TPPI,
Echo-Antiecho...

Echantillonnage

- Th. de Nyquist : l'échantillonnage d'un signal sinusoïdal doit contenir au moins 2 points par période.
- Un signal temporel pour lequel cette règle n'est pas respectée apparaîtra comme replié sur le spectre (fréquence fausse).

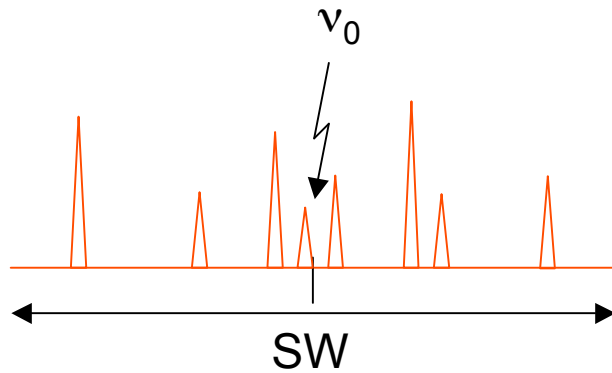


Détection simple



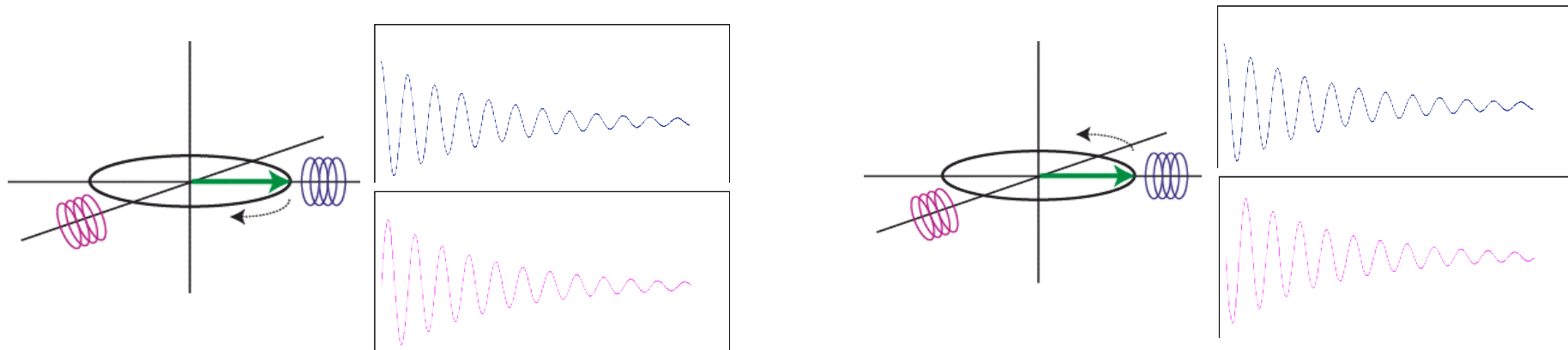
- Gaspillage de l'impulsion rf qui doit couvrir 2 x SW
- Perte en S/N par récupération du bruit de la partie droite du spectre réellement excité
- Nécessité d'échantillonner le FID à une vitesse 2 x supérieure à celle qui serait utilisable si la porteuse était placée au centre du spectre. Peut poser des problèmes sur de grandes largeurs spectrales (nécessairement $DW \leq 1/(2 \cdot SW)$).

Détection simple

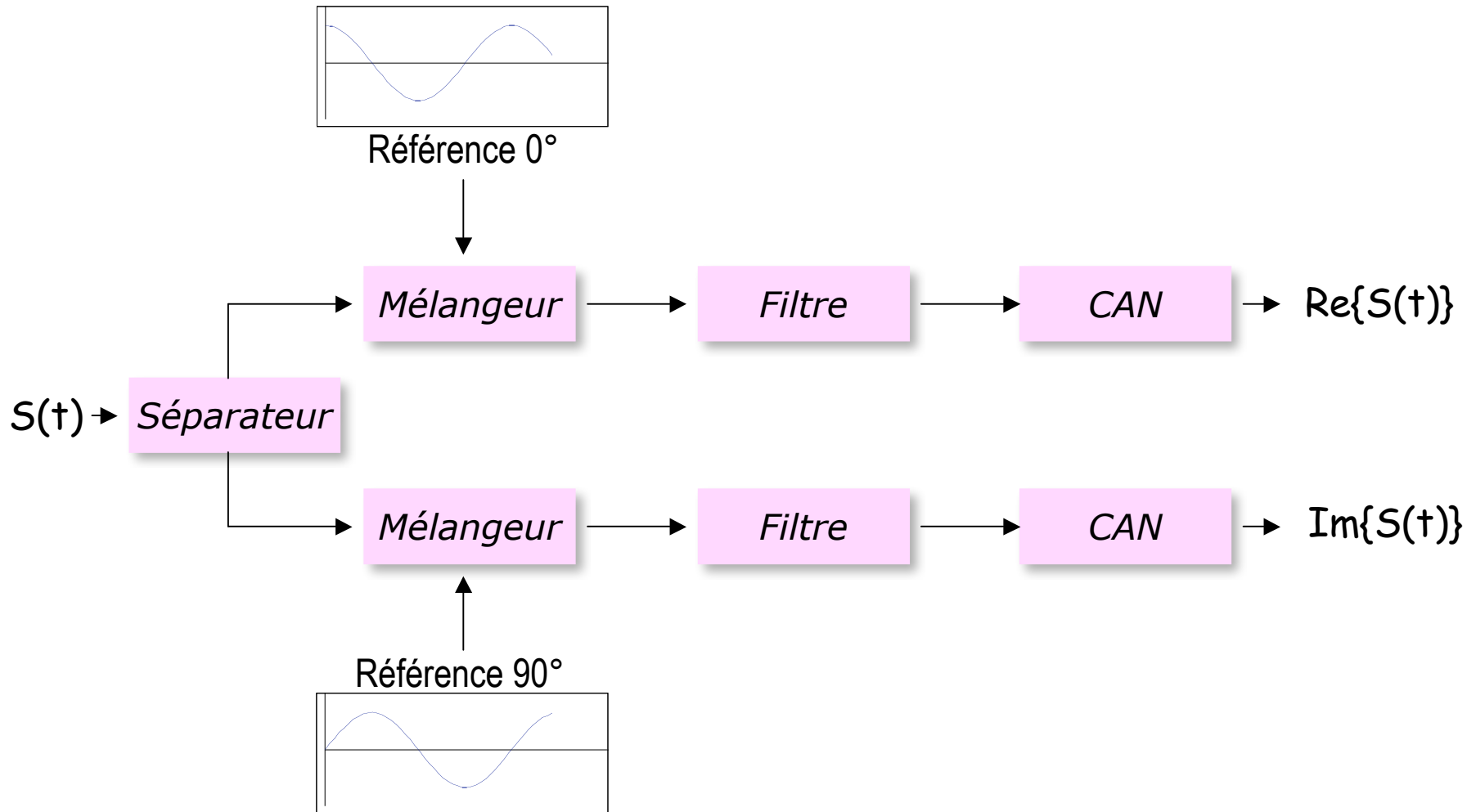


Problème: si on place la porteuse au centre du spectre, il faut pouvoir distinguer les fréquences positives des fréquences négatives (tel quel, 2 pics à des fréquences symétriques par rapport à la porteuse ne pourront pas être différenciés).

Détection en quadrature



Détection en quadrature





Détection en quadrature

SEPARATEUR:

$$\overset{\text{MHz}}{\downarrow} \cos(\omega_0 t) \longrightarrow \cos(\omega_0 t) - i \cos(\omega_0 t)$$

MELANGEURS:

$$\begin{aligned} &\longrightarrow \cos(\omega_0 t) \cos(\omega_{\text{ref}} t) - i \cos(\omega_0 t) \sin(\omega_{\text{ref}} t) \\ &= \frac{1}{2} \cos((\omega_0 + \omega_{\text{ref}})t) + \frac{1}{2} \cos((\omega_0 - \omega_{\text{ref}})t) - \frac{i}{2} \sin((\omega_0 + \omega_{\text{ref}})t) + \frac{i}{2} \sin((\omega_0 - \omega_{\text{ref}})t) \end{aligned}$$

FILTRES AUDIO:

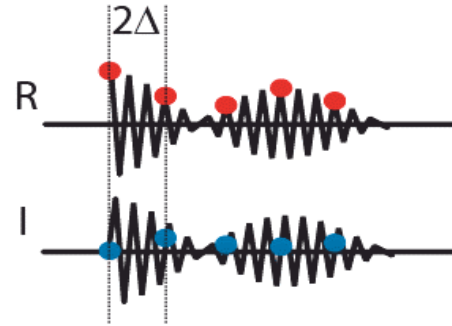
$$\begin{aligned} &\longrightarrow \frac{1}{2} \cos((\omega_0 - \omega_{\text{ref}})t) + \frac{i}{2} \sin((\omega_0 - \omega_{\text{ref}})t) \\ &= \frac{1}{2} \exp(i(\omega_0 - \omega_{\text{ref}})t) \end{aligned}$$

Hz à kHz

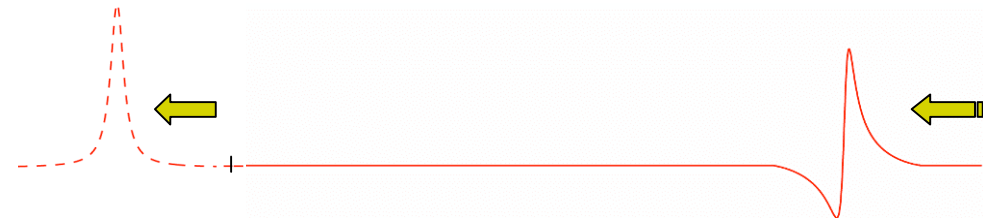
Modes de quadrature

A. Détection simultanée

→ TF complexe

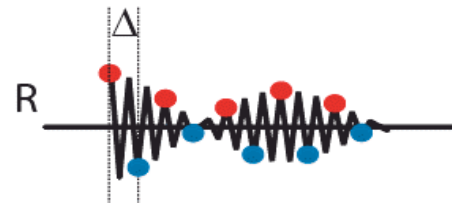


repliement :

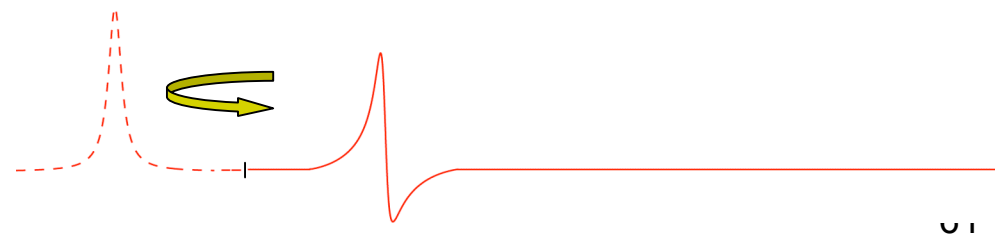


B. Détection alternée

→ TF réelle

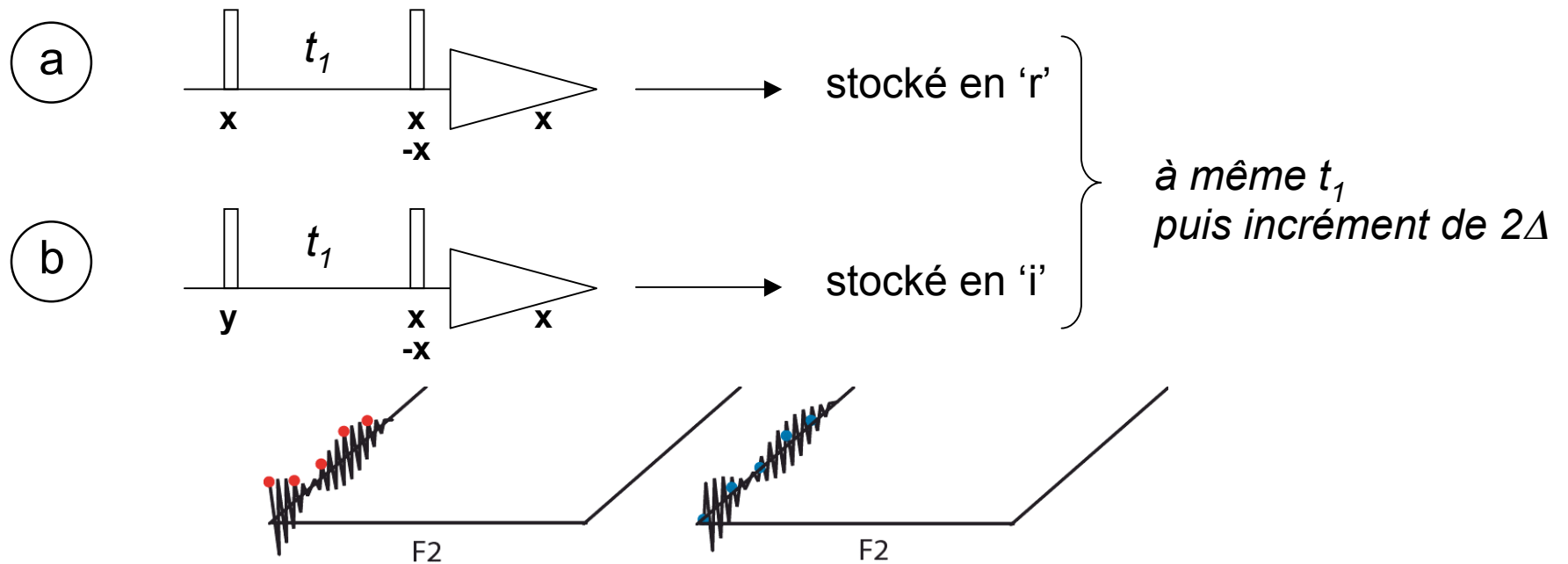


repliement :



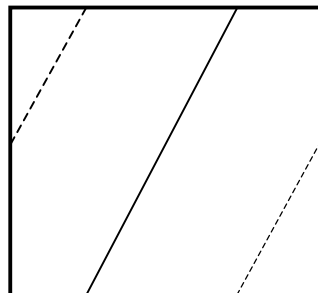
2D phase-sensitive

- **States:**



→ FT complexe

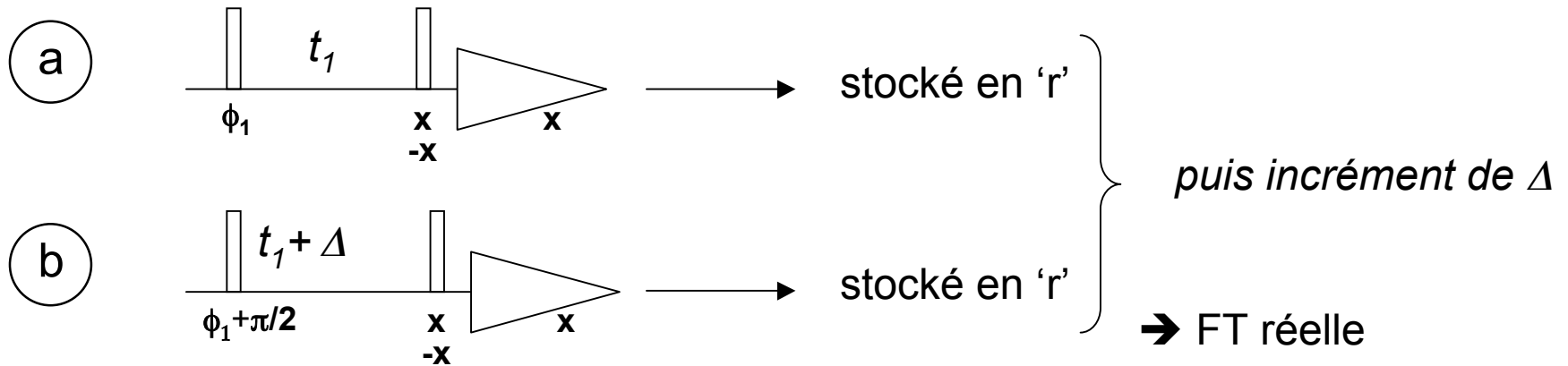
→ repliements en F1:



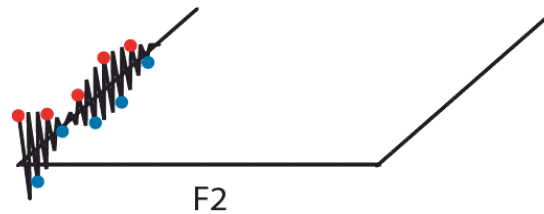
analogue à la détection simultanée
en F2

2D phase-sensitive

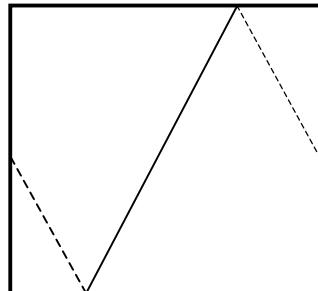
- **TPPI:**



analogue à la détection alternée en F2



→ repliements en F1:



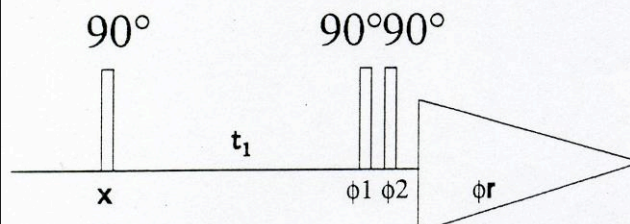
Intérêt du cyclage de phase

- correction des imperfections des impulsions, des récepteurs ...
- réalisation de la quadrature dans la dimension indirecte
- suppression des pics axiaux
- sélection de cohérence

La même séquence (mêmes délais, mêmes impulsions) peut donner un résultat différent selon le cyclage de phase

**Inconvénient du cyclage de phase:
nombre de scans élevés**

EX :

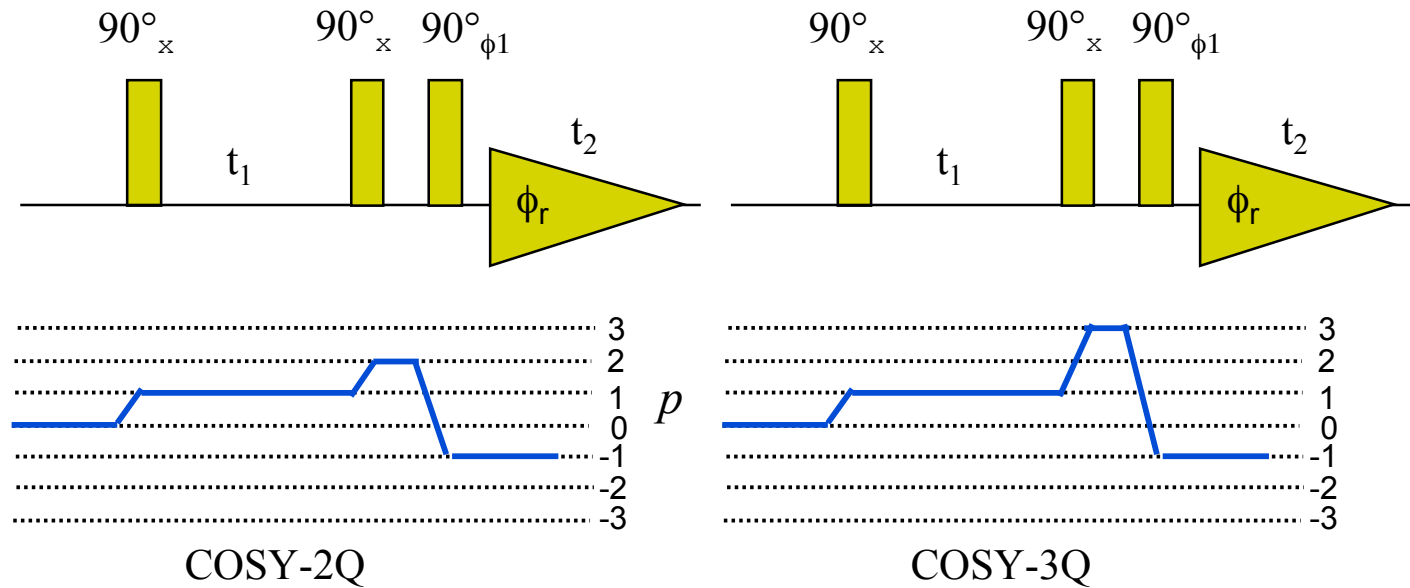


a) $\phi_1 : 0^\circ$
 $\phi_2 : 0^\circ 270^\circ 180^\circ 90^\circ$
 $\phi_r : 0^\circ 90^\circ 180^\circ 270^\circ$
==> sélection des cohérences à 2 quanta

b) $\phi_1 : 0^\circ$
 $\phi_2 : 0^\circ 60^\circ 120^\circ 180^\circ 240^\circ 300^\circ$
 $\phi_r : 0^\circ 240^\circ 120^\circ 0^\circ 240^\circ 120^\circ$
==> sélection des cohérences à 3 quanta

Calcul d'un cyclage de phase

Si une impulsion cause un changement d'ordre de cohérence de p_1 à p_2 , alors changer sa phase d'une valeur $\Delta\phi$ résulte en une cohérence acquérant un déphasage de $\Delta\phi(p_1 - p_2)$.



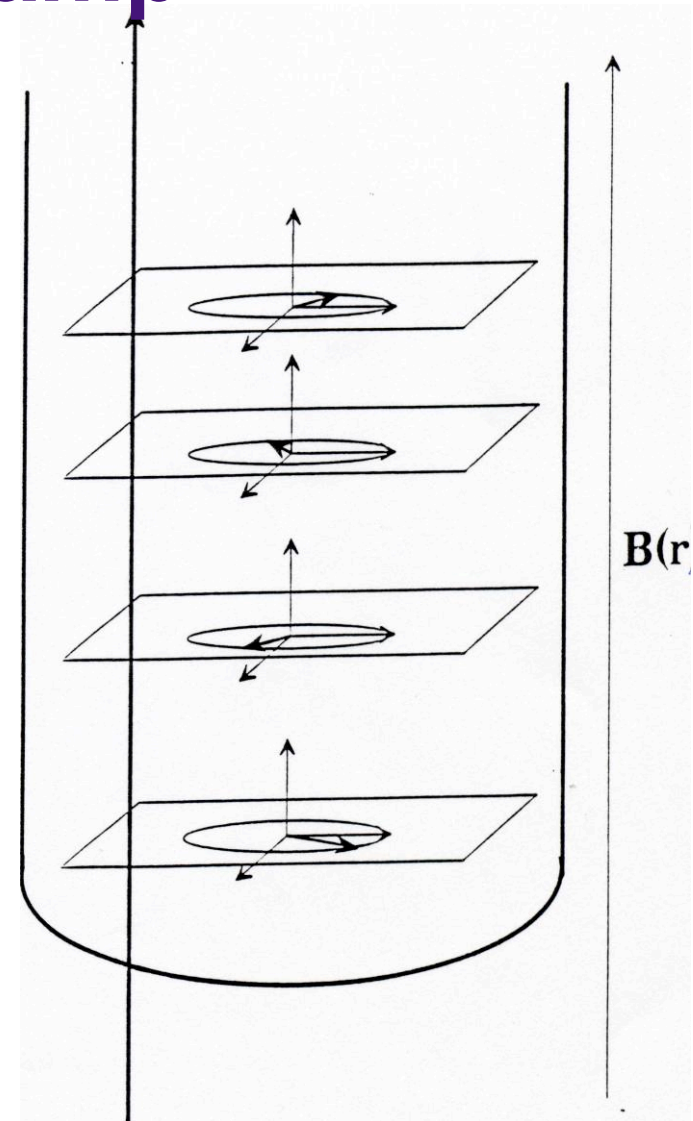
Scan	ϕ_1	$3\Delta\phi$	equiv
1	0°	0°	0°
2	90°	270°	270°
3	180°	540°	180°
4	270°	810°	90°

$\rightarrow \phi_r$

Scan	ϕ_1	$4\Delta\phi$	equiv
1	0°	0°	0°
2	60°	240°	240°
3	120°	480°	120°
4	180°	720°	0°
5	240°	960°	240°
6	300°	1200°	120°

Gradients de champ

- On crée une variation linéaire du champ magnétique le long d'une direction dans l'espace. Ainsi, un spin situé à la position r le long de l'axe du gradient subit le champ $B(r) = B_0 + rG$, donc il possède sa propre fréquence de Larmor fonction de r , et donc après impulsion sa propre phase. Les différentes composantes de l'aimantation dans le plan xOy s'annulent, le signal RMN est très large voire nul.
- Cependant, un gradient de même durée, d'intensité égale, mais de sens opposé annule le déphasage → écho de gradient.
- La sensibilité des transitions RMN aux variations de champ magnétique (inhomogénéité, impulsion) est proportionnelle à leurs ordres de cohérence





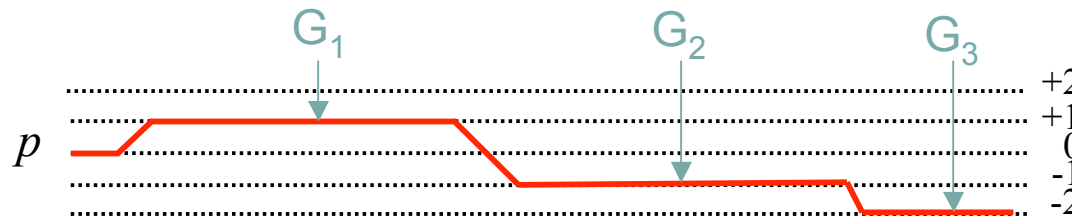
Sélection de cohérence par les gradients

- La condition pour qu'un chemin de cohérence donné soit retenu est :

$$\sum_i \gamma_i p_i G_i = 0$$

γ_i : rapport gyromagnétique du noyau i
 p_i : ordre de cohérence
 G_i : amplitude du gradient i

Ex: au cours de la séquence d'impulsions

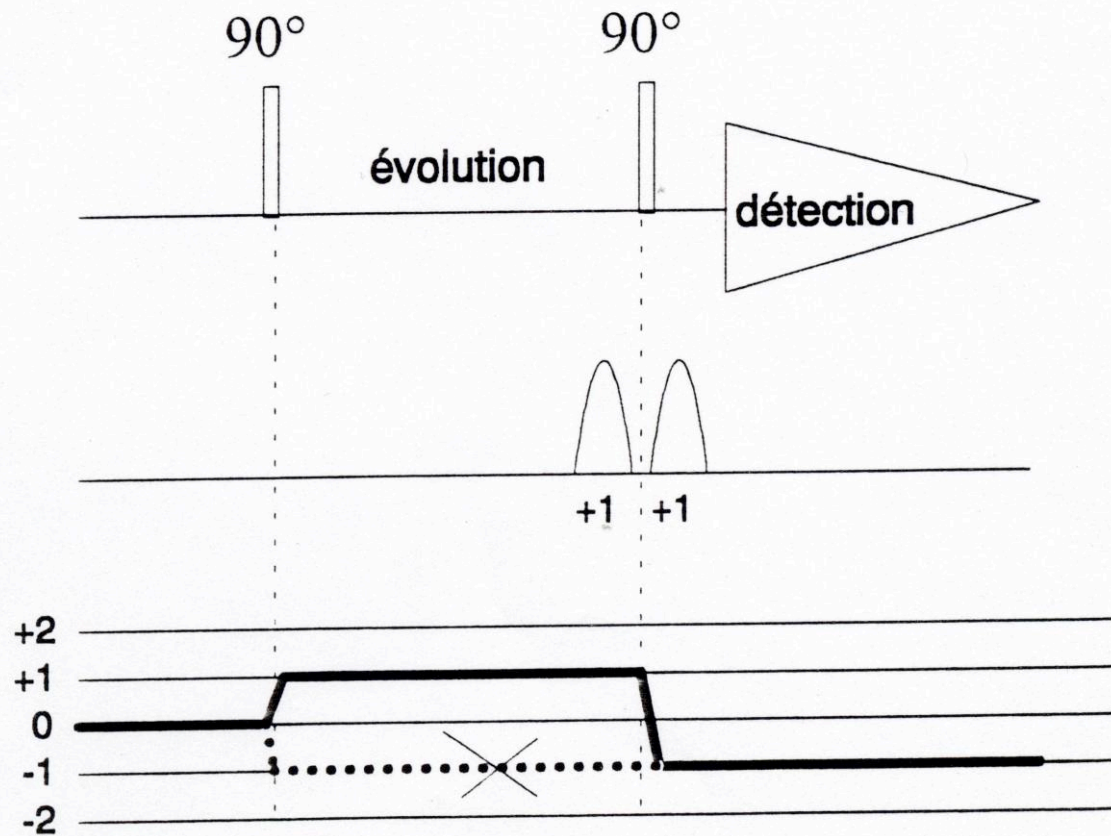


$$G_1 - G_2 - 2G_3 = 0$$

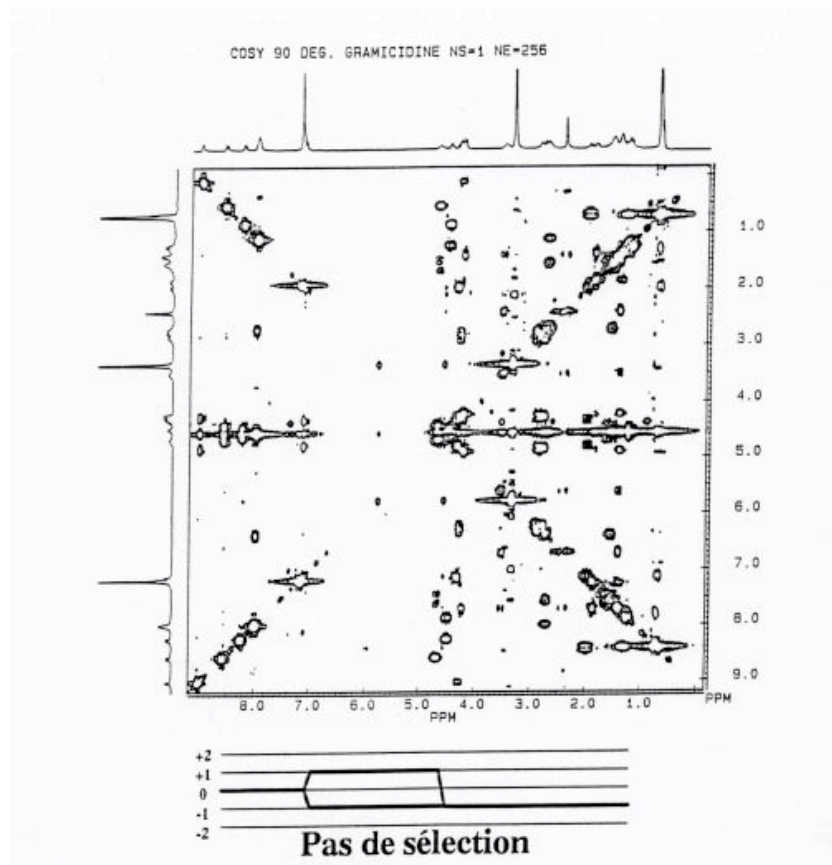
- Tous les autres chemins de cohérence sont éliminés



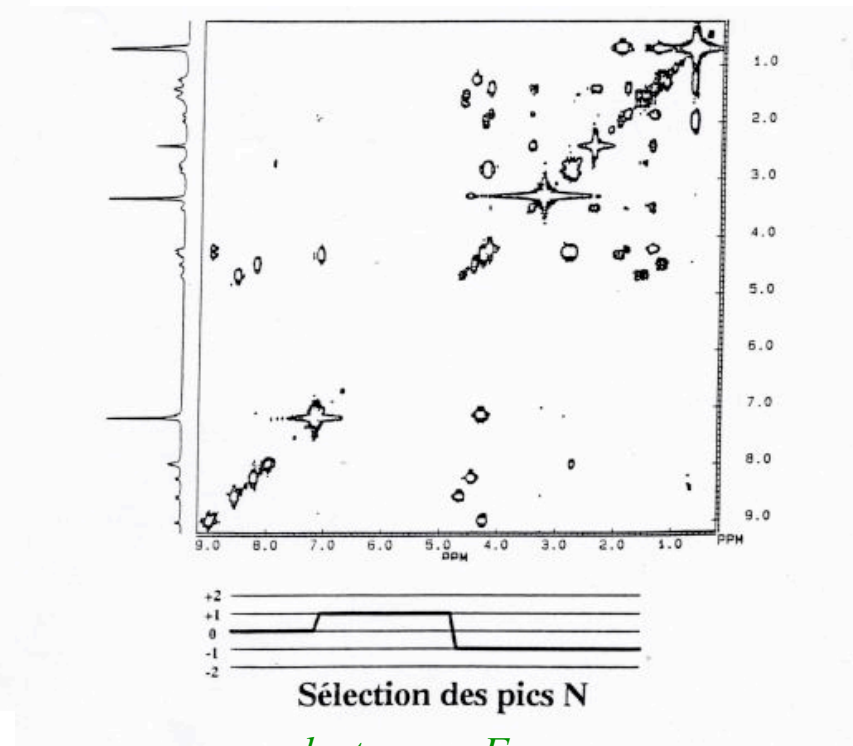
COSY: Sélection des pics N



Utilisation des gradients COSY 1 scan



pics P + pics N + pics axiaux !

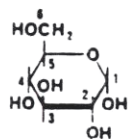


- quadrature en F_1
- suppression des signaux non modulés en F_1



Utilisation des gradients

HMQC 1 scan



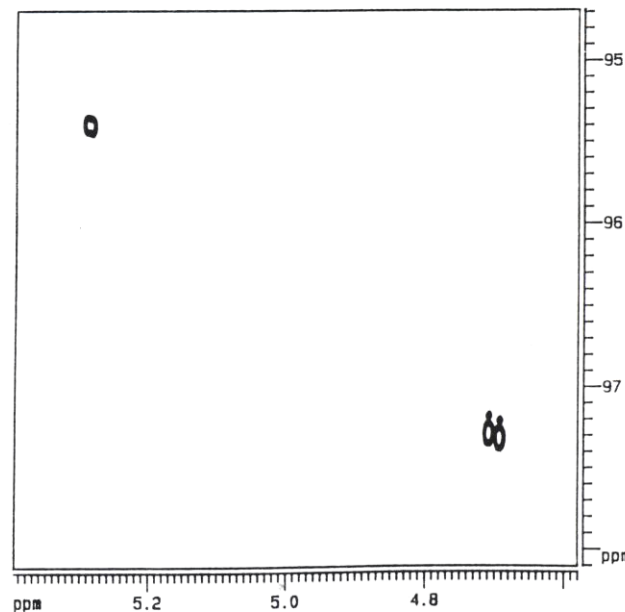
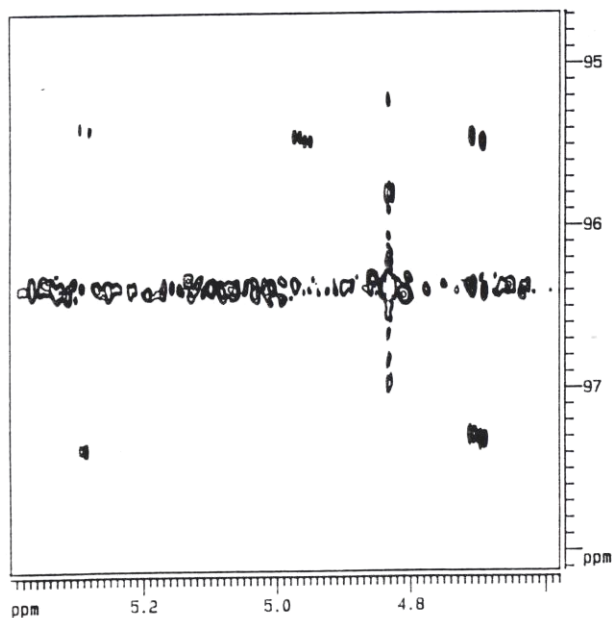
α



β

Sans gradient

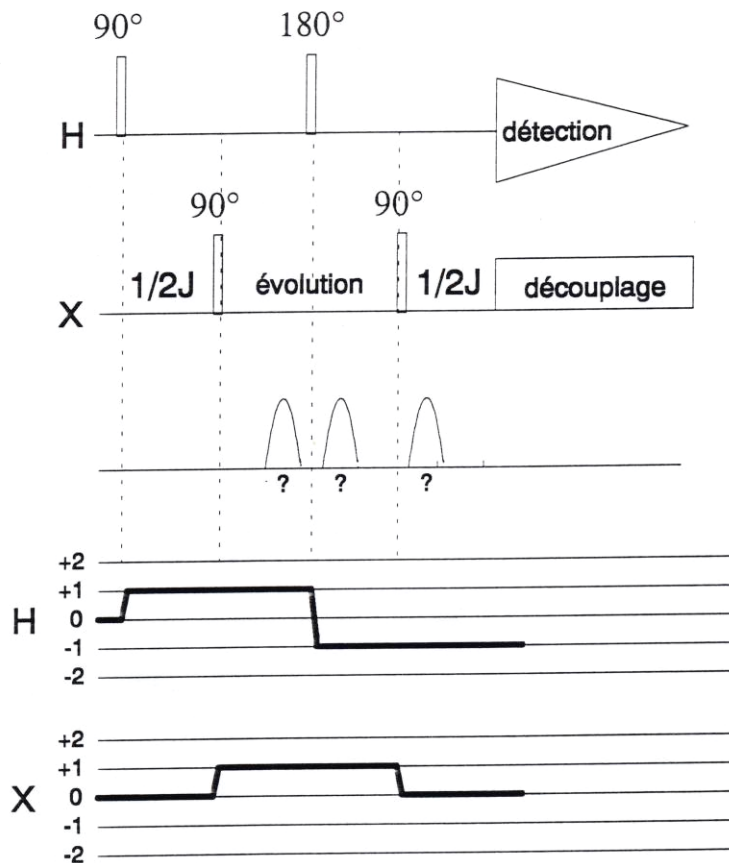
Avec gradients



HMQC

Sélection des pics N

2ème Ex : HMQC



^{13}C :

$$\gamma_H = 4\gamma_C$$

$$G_1(\gamma_H + \gamma_C) + G_2(-\gamma_H + \gamma_C) + G_3(-\gamma_H) = 0$$

$$5G_1 - 3G_2 - 4G_3 = 0$$

→ 1 solution est

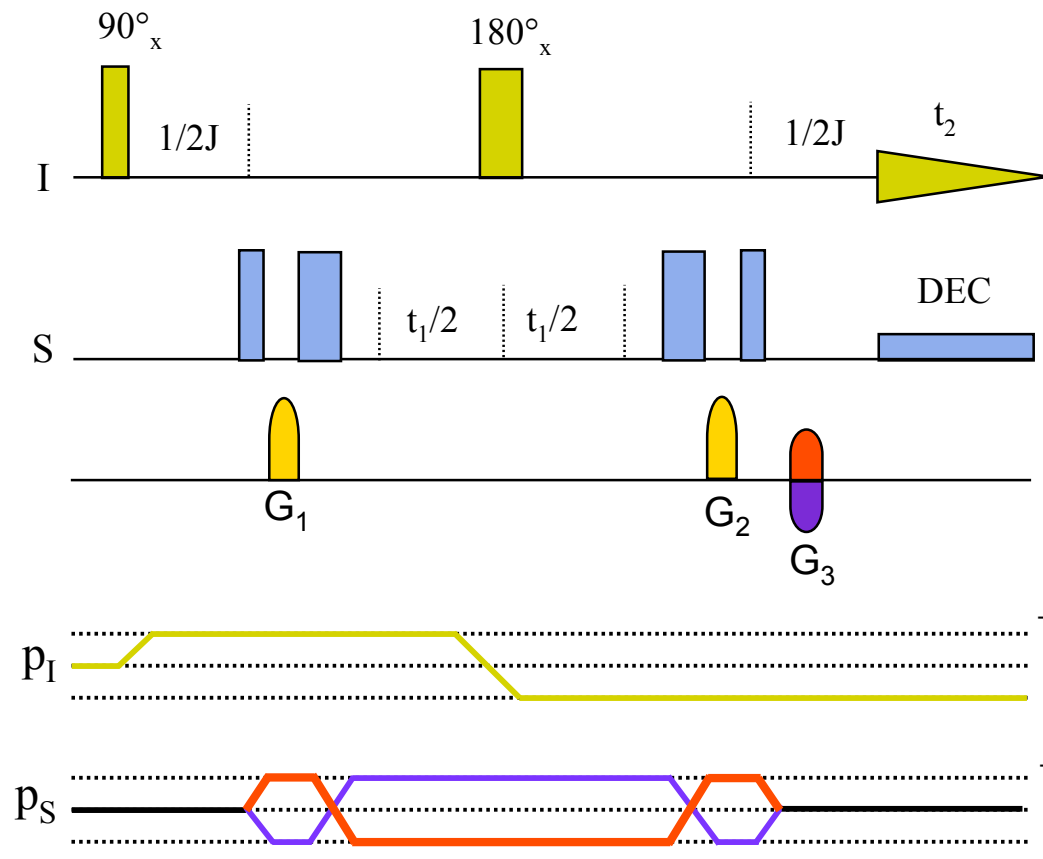
$$G_1 = 20 ; G_2 = 20 ; G_3 = 10$$

^{15}N :

$$\gamma_H = -10\gamma_N$$

→ ?

HMQC écho-antiécho



- Inversion du signe du gradient G_3 un scan sur 2
→ sélection des 2 chemins de cohérence:



Pics N = echo ($G_1:G_2:G_3 = 2:2:1$ en ^{13}C)

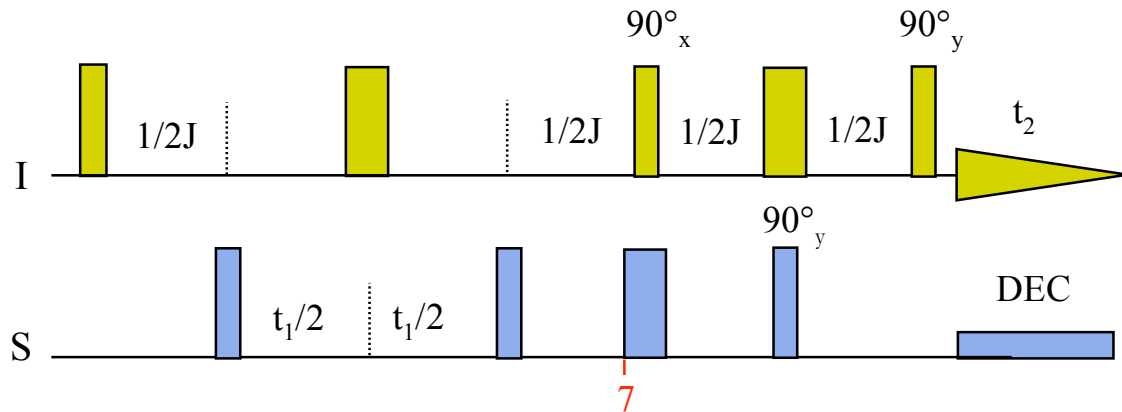


Pics P = antiecho ($G_1:G_2:G_3 = 2:2:-1$)

- La combinaison des pics N et P par la méthode écho-antiécho génère des spectres en pure phase, ce qui permet la représentation en mode absorption (au détriment d'une perte de S/B de $\sqrt{2}$ / HSQC classique sans gradient de sélection).

- Pour pouvoir phaser, il est nécessaire de refocaliser l'évolution par déplacement chimique de S pendant l'application des gradients G_1 et G_2 . Ceci est réalisé par un écho de spin, placé avant et après t_1 .

PEP - HMQC

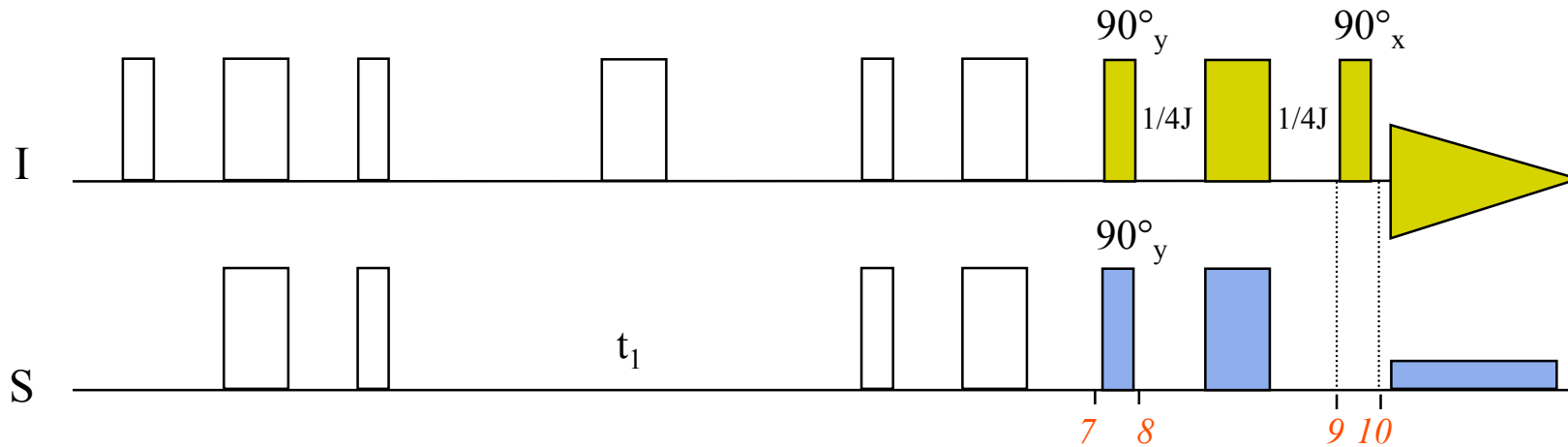


La présence des sandwiches t - 180° - t rajoutés permet de s'affranchir de l'évolution par déplacement chimique

$$\begin{array}{l}
 \text{7 : } -I_y \cos(\omega_s t_1) + 2I_x S_x \sin(\omega_s t_1) \xrightarrow{I_x} I_z \cos(\omega_s t_1) + 2I_x S_x \sin(\omega_s t_1) \xrightarrow{2I_z S_z} \text{invariant} \\
 \quad \quad \quad \text{non} \\
 \quad \quad \quad \text{observable} \xrightarrow{S_y} I_z \cos(\omega_s t_1) - 2I_x S_z \sin(\omega_s t_1) \\
 \quad \quad \quad \xrightarrow{2I_z S_z} I_z \cos(\omega_s t_1) - I_y \sin(\omega_s t_1) \\
 \quad \quad \quad \xrightarrow{I_y} I_x \cos(\omega_s t_1) - \underline{I_y \sin(\omega_s t_1)}
 \end{array}$$

- récupération d'un facteur $\sqrt{2}$ en signal/bruit par rapport à l'HMQC classique
- facteur 2 en signal/bruit par rapport à l'HMQC écho-antiécho !

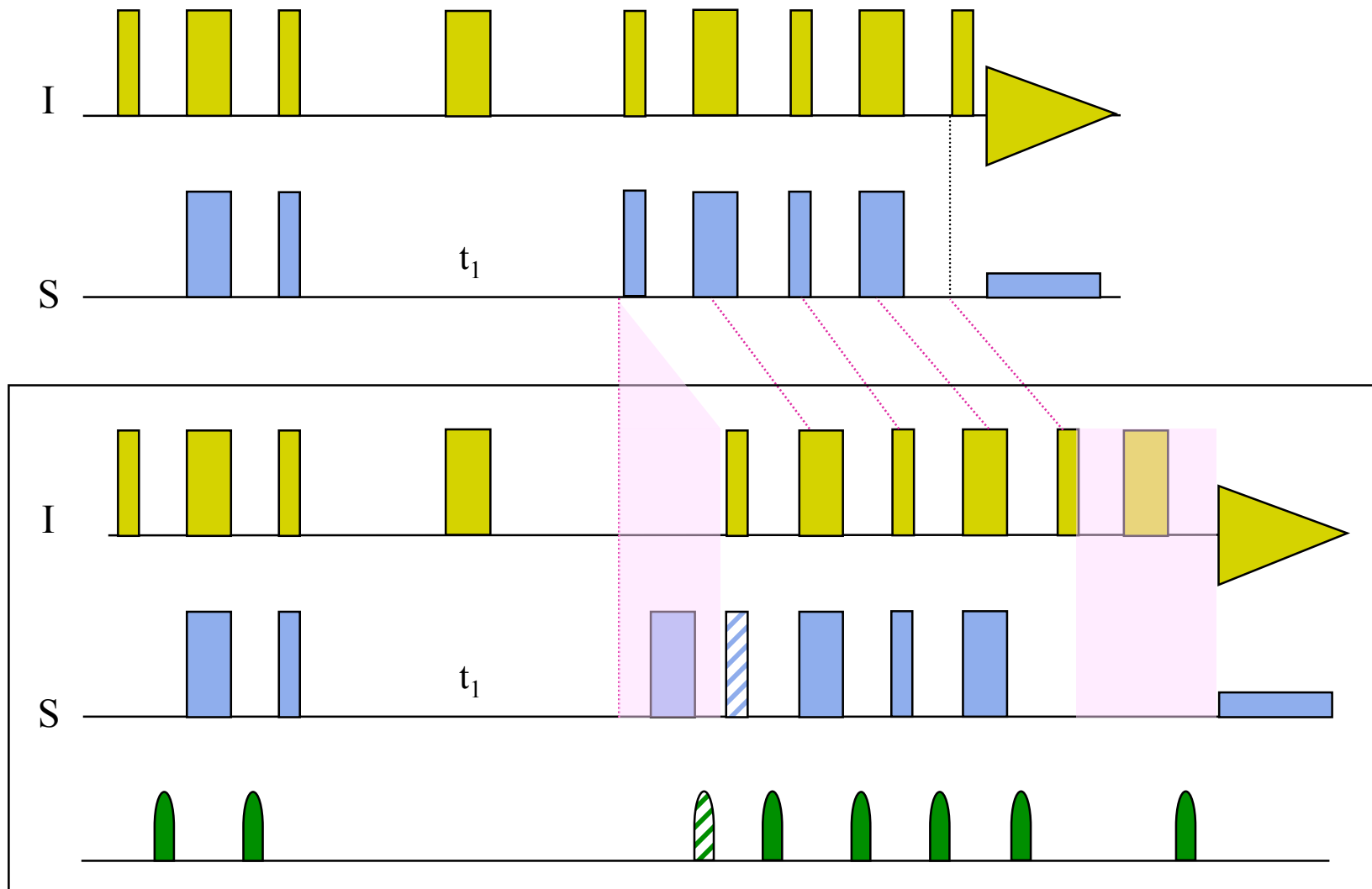
PEP - HSQC



$$\begin{array}{lcl}
 \overset{7}{I_x \cos(\omega_s t_1) + 2I_y S_x \sin(\omega_s t_1)} & \longrightarrow & -I_z \cos(\omega_s t_1) - 2I_y S_z \sin(\omega_s t_1) \quad 8 \\
 \text{non observable} & & \\
 & \longrightarrow & -I_z \cos(\omega_s t_1) + I_x \sin(\omega_s t_1) \quad 9 \\
 & \longrightarrow & I_y \cos(\omega_s t_1) + \underline{I_x \sin(\omega_s t_1)} \quad 10
 \end{array}$$

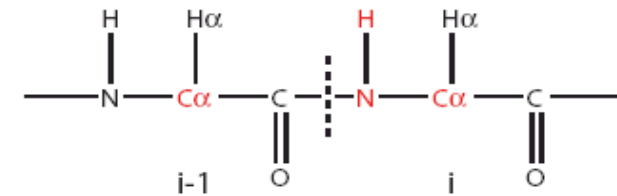
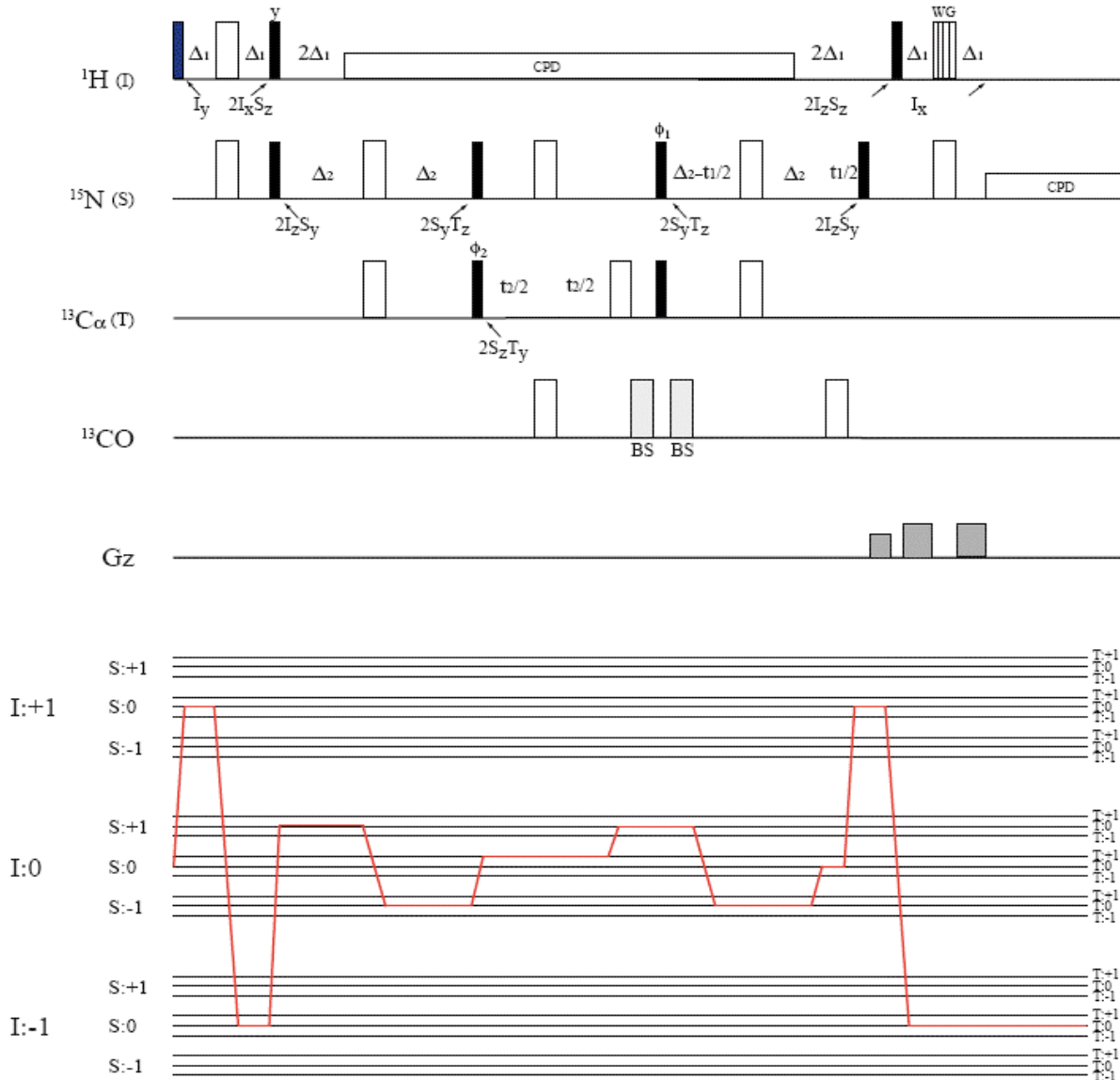
- récupération d'un facteur $\sqrt{2}$ en signal/bruit par rapport à l'HSQC classique
- facteur 2 en signal/bruit par rapport à l'HSQC écho-antiécho !

PFG - PEP - HSQC



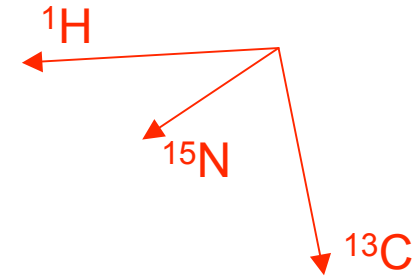
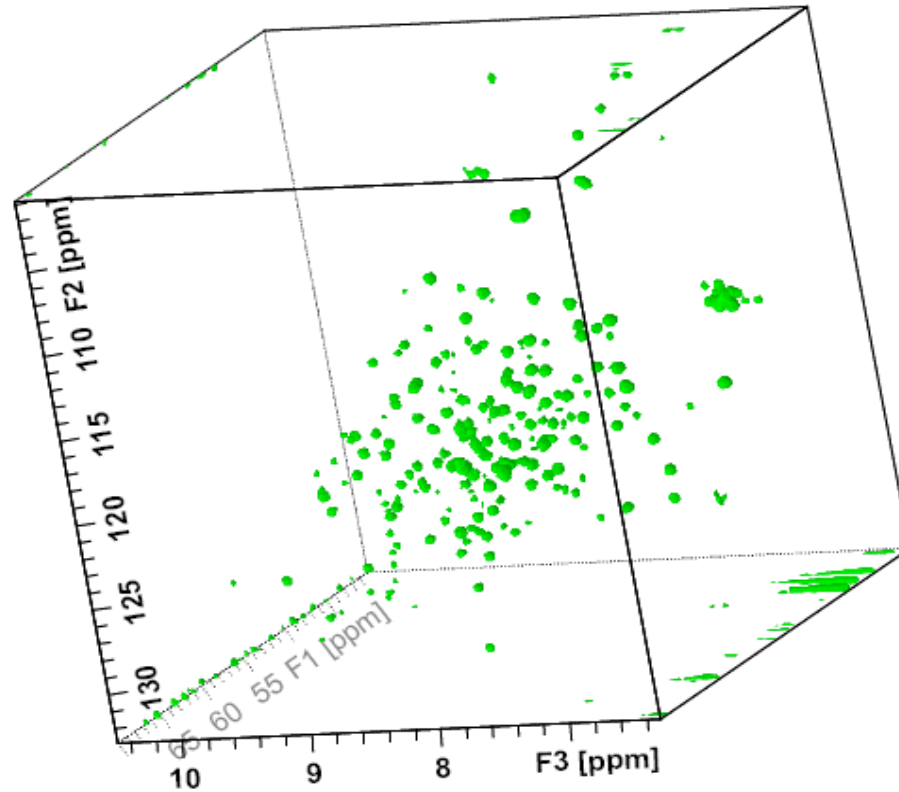
Expérience triple résonance

HNCA





Expérience triple résonance : HNCA



Protéine U [^{15}N , ^{13}C]
156 AA