

Métodos de RMN de “desplazamiento puro”

Pure shift NMR



Laura Castañar Acedo

NMR Methodology group
The University of Manchester, UK

Reunión de RMN Experimental - Hidalgo, México, 2018

I - Introducción:

Pure shift: generalidades

Métodos de adquisición

Métodos de “Reenfoque de espines activos”

Implementación metodológica

II - Aplicaciones

Análisis estructural

Estudios de difusión

Medidas de constantes de acoplamiento

Análisis de mezclas

Estudios enantioméricos

Procesos dinámicos

III – Aspectos prácticos:

Sensibilidad

Calidad espectral

I - Introducción:

Pure shift: generalidades

Métodos de adquisición

Métodos de “Reenfoque de espines activos”

Implementación metodológica

II - Aplicaciones

Análisis estructural

Estudios de difusión

Medidas de constantes de acoplamiento

Análisis de mezclas

Estudios enantioméricos

Procesos dinámicos

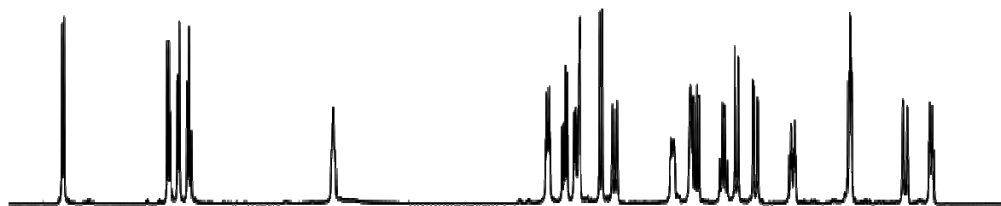
III – Aspectos prácticos:

Sensibilidad

Calidad espectral

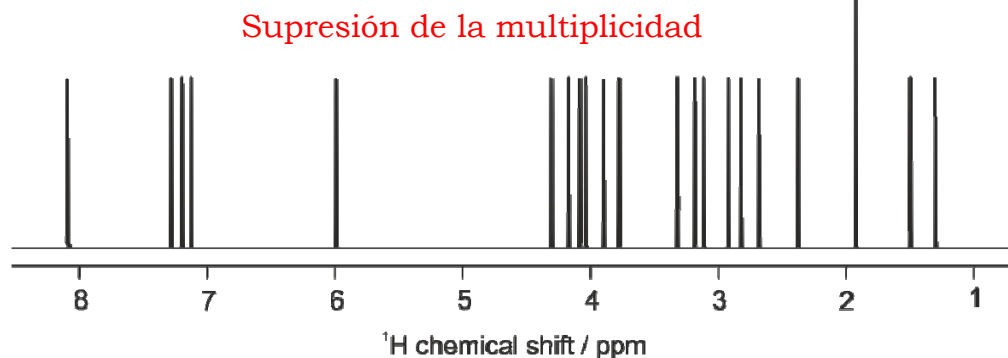
¿Qué es RMN de “desplazamiento puro”?

^1H RMN convencional



- ✓ Desplazamiento químico (δ)
- ✓ Acoplamiento escalar homonuclear (J_{HH})

Pure shift “ideal”

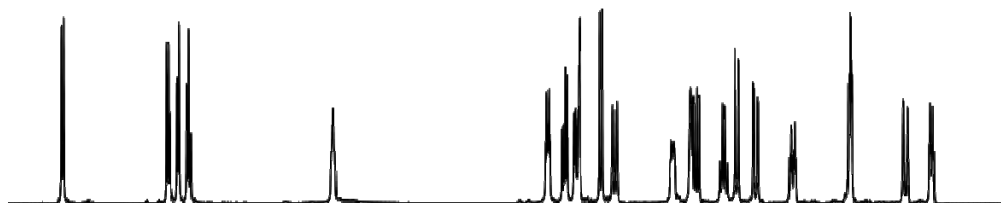


- ✓ Desplazamiento químico (δ)
- ✗ Acoplamiento escalar homonuclear (J_{HH})

Un espectro de “desplazamiento puro” (*pure shift*) es aquel en el que la posición de las señales de RMN está únicamente determinada por el desplazamiento químico

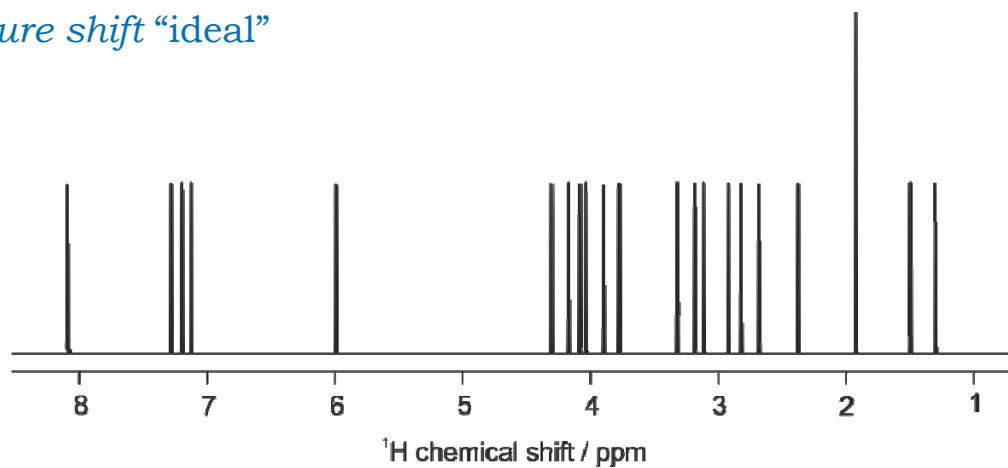
¿Por qué es útil la RMN de “desplazamiento puro”?

^1H RMN convencional



- ✗ Solapamiento de señales
- ✗ Baja resolución espectral
- ✗ Difícil análisis espectral

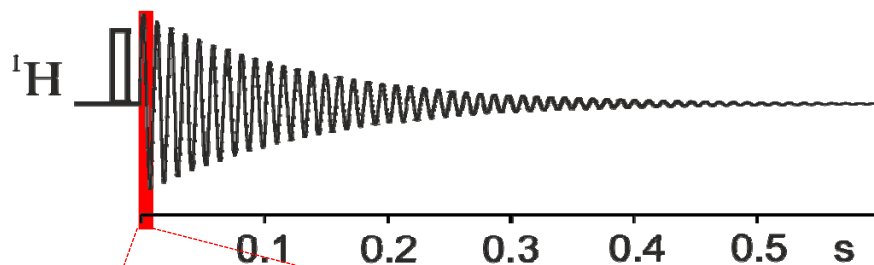
Pure shift “ideal”



- ✓ Reducción de la complejidad
- ✓ Mejora de la resolución
- ✓ “Fácil” análisis espectral

¿Cómo podríamos obtener un espectro *pure shift* “perfecto”?

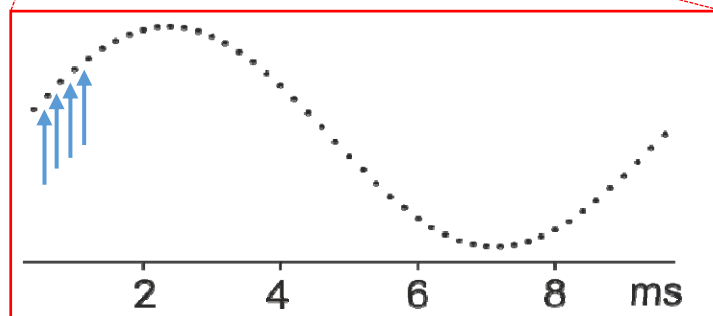
Experimento ^1H RMN convencional



Evolución durante la FID

δ	J_{HH}
✓	✓

Experimento ^1H RMN *pure shift* “ideal”



✓	✗
---	---

Aplicar un elemento de desacoplamiento (μs) después de cada punto de adquisición:

- Reenfocar J_{HH}
- Permitir la evolución del δ

No es posible (actualmente)

Perfección vs Realidad

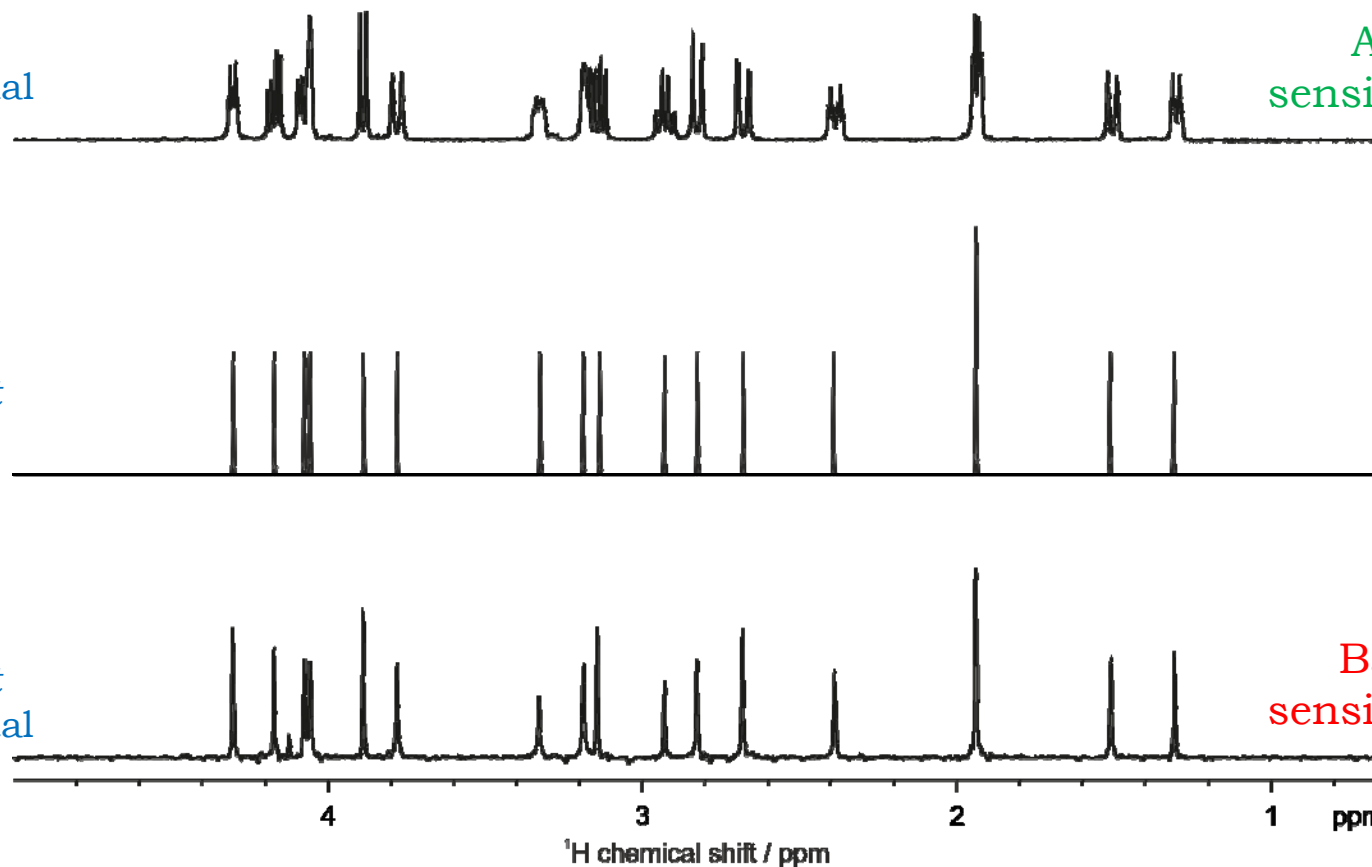
^1H RMN
convencional

Alta
sensibilidad

Pure shift
"ideal"

Pure shift
experimental

Baja
sensibilidad



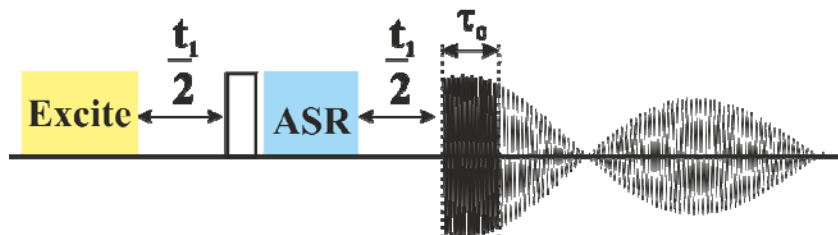
En un sistema molecular con acoplamiento homonuclear, conseguir un espectro *pure shift* perfecto es una idea inalcanzable

Lo único que podemos hacer es aproximarnos a esta idea lo más posible

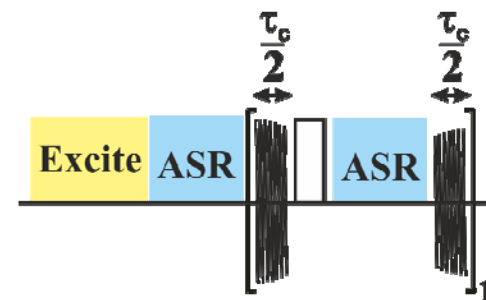
¿Cómo obtenemos un espectro *pure shift* experimentalmente?

Modo de adquisición

Interferograma

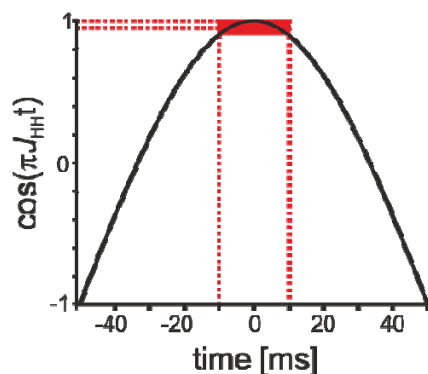


Real-time



Adquisición de la FID por trozos

Duración del trozo (*chunk*) de FID (τ_c)



Sistema de espín AX

$$J_{HaHx} = 10 \text{ Hz}$$

$$1/J_{HaHx} = 100 \text{ ms}$$

$$\tau_c \approx 20 \text{ ms}$$

J_{HH} evolución $\approx 5\%$

Si $\tau_c \ll 1/J_{HH}$ la evolución de J_{HH} durante τ_c puede considerarse despreciable

Elemento de reenfoque de J_{HH}

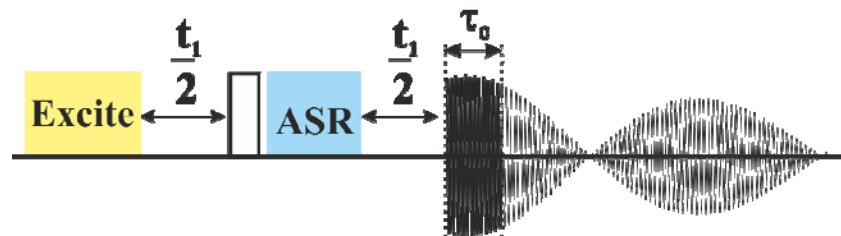
	hard 180° pulse		active spin refocusing			
	τ_1	τ_1	τ_2	ASR	τ_2	
δ	+	+	-	-	+	+
J	-	-	-	-	+	+

Separa el efecto del δ y de J_{HH} :
 δ evoluciona y J_{HH} es reenforcada

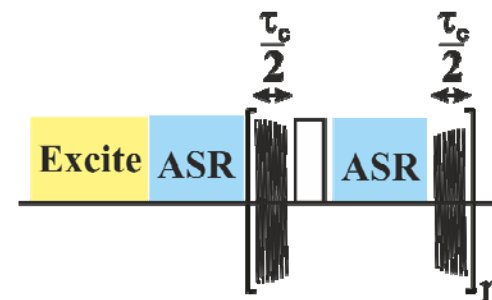
¿Cómo obtenemos un espectro *pure shift* experimentalmente?

Modo de adquisición

Interferograma

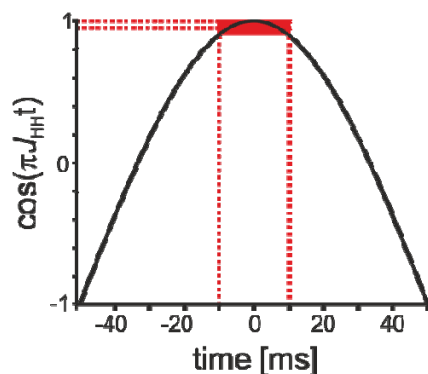


Real-time



Adquisición de la FID por trozos

Duración del trozo (*chunk*) de FID (τ_c)



Sistema de espín AX

$$J_{HaHx} = 10 \text{ Hz}$$

$$1/J_{HaHx} = 100 \text{ ms}$$

$$\tau_c \approx 20 \text{ ms}$$

J_{HH} evolución $\approx 5\%$

Si $\tau_c \ll 1/J_{HH}$ la evolución de J_{HH} durante τ_c puede considerarse despreciable

Elemento de reenfoque de J_{HH}

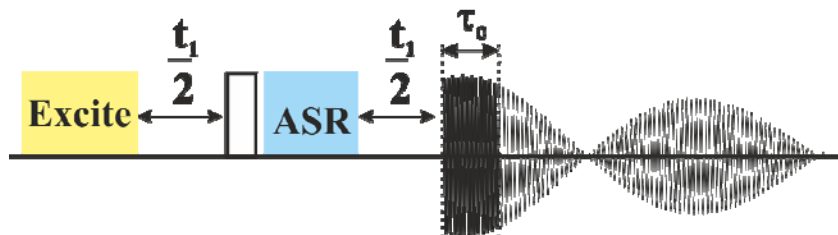
	hard 180° pulse		active spin refocusing			
	τ_1	τ_1	τ_2	ASR	τ_2	
δ	+	+	-	-	+	+
J	-	-	-	-	+	+

Separa el efecto del δ y de J_{HH} :
 δ evoluciona y J_{HH} es reenfocada

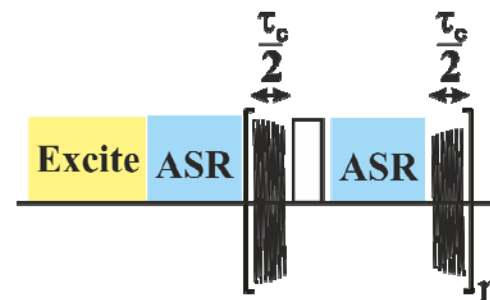
¿Cómo obtenemos un espectro *pure shift* experimentalmente?

Modo de adquisición

Interferograma

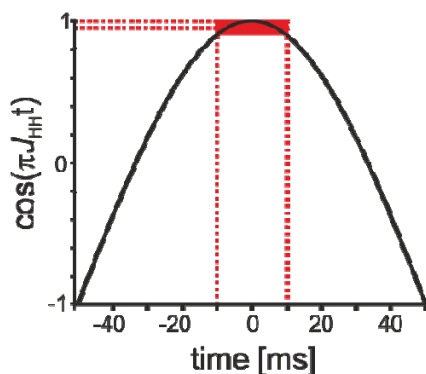


Real-time



Adquisición de la FID por trozos

Duración del trozo (*chunk*) de FID (τ_c)



Sistema de espín AX

$$J_{HaHx} = 10 \text{ Hz}$$

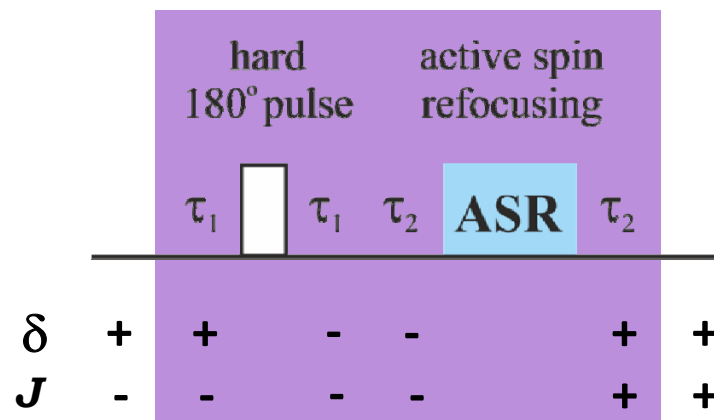
$$1/J_{HaHx} = 100 \text{ ms}$$

$$\tau_c \approx 20 \text{ ms}$$

J_{HH} evolución $\approx 5\%$

Si $\tau_c \ll 1/J_{HH}$ la evolución de J_{HH} durante τ_c puede considerarse despreciable

Elemento de reenfoque de J_{HH}

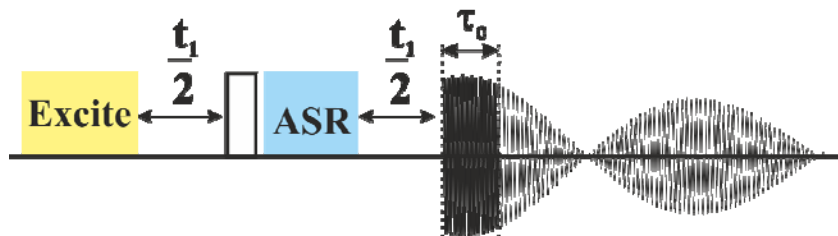


Separa el efecto del δ y de J_{HH} :
 δ evoluciona y J_{HH} es reenfocada

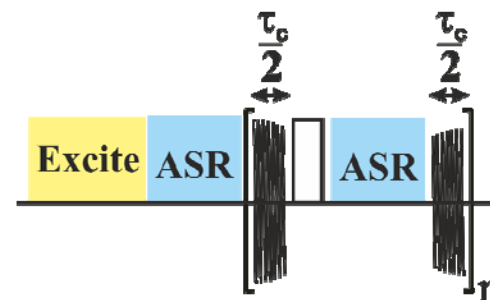
¿Cómo obtenemos un espectro *pure shift* experimentalmente?

Modo de adquisición

Interferograma

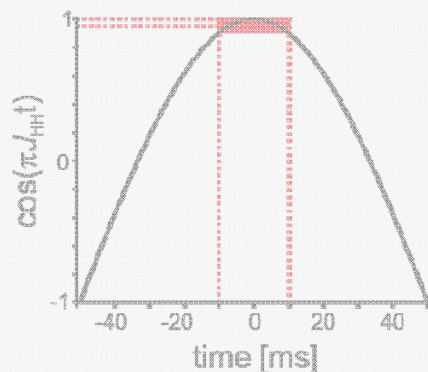


Real-time



Adquisición de la FID por trozos

Duración del trozo (*chunk*) de FID (τ_c)



Sistema de espín AX

$$J_{HaHx} = 10 \text{ Hz}$$

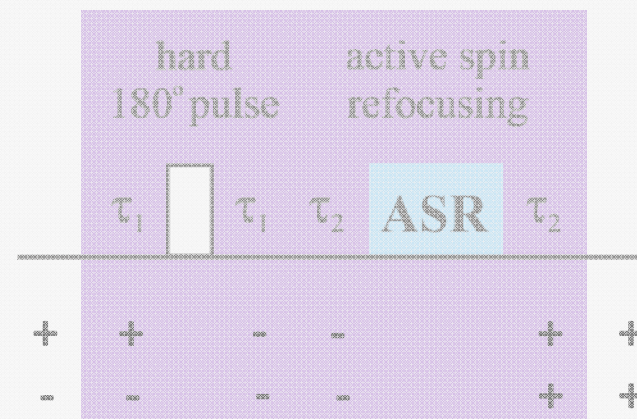
$$1/J_{HaHx} = 100 \text{ ms}$$

$$\tau_c \approx 20 \text{ ms}$$

J_{HH} evolución $\approx 5\%$

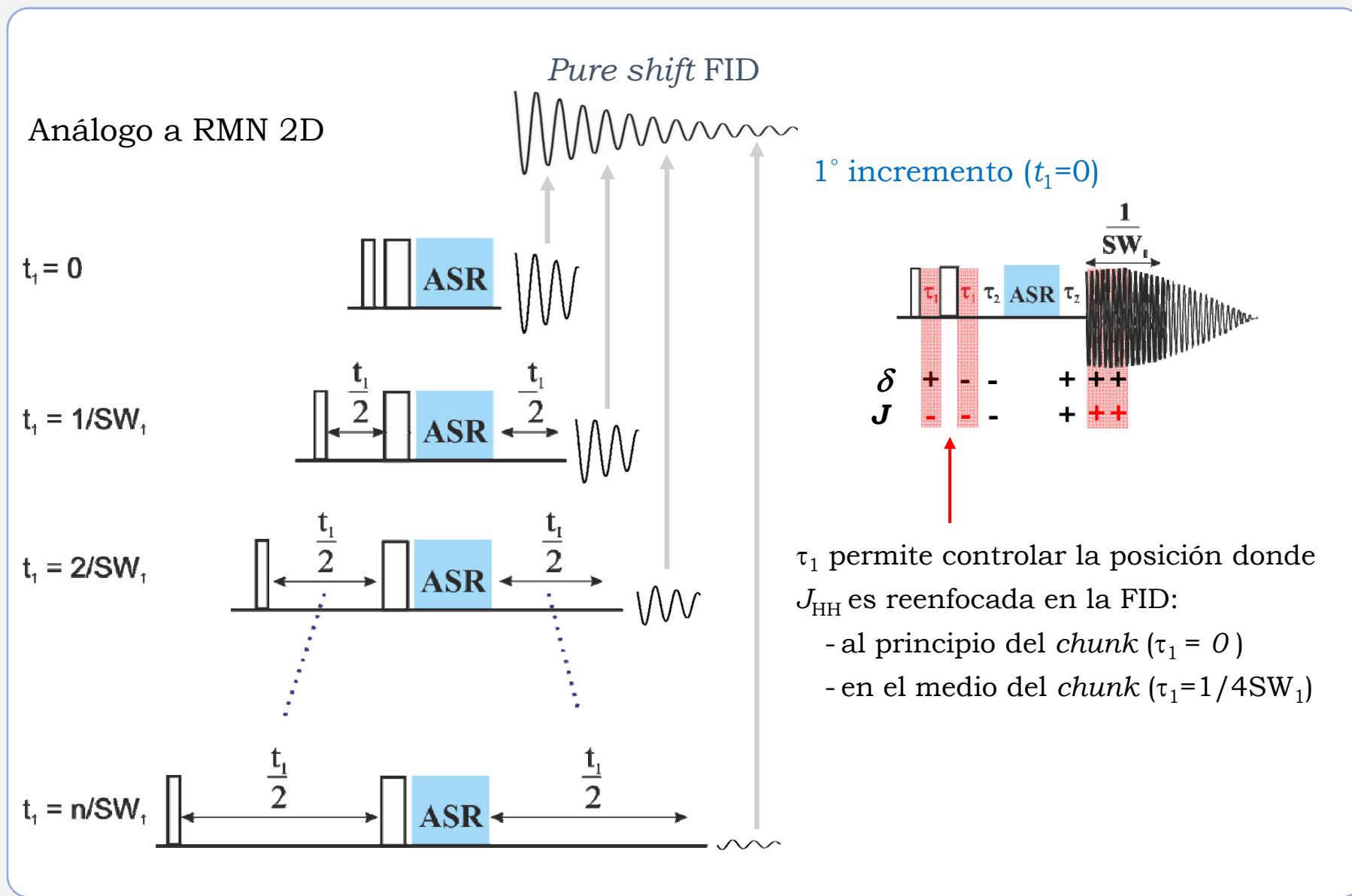
Si $\tau_c \ll 1/J_{HH}$ la evolución de J_{HH} durante τ_c puede considerarse despreciable

Elemento de reenfoque de J_{HH}

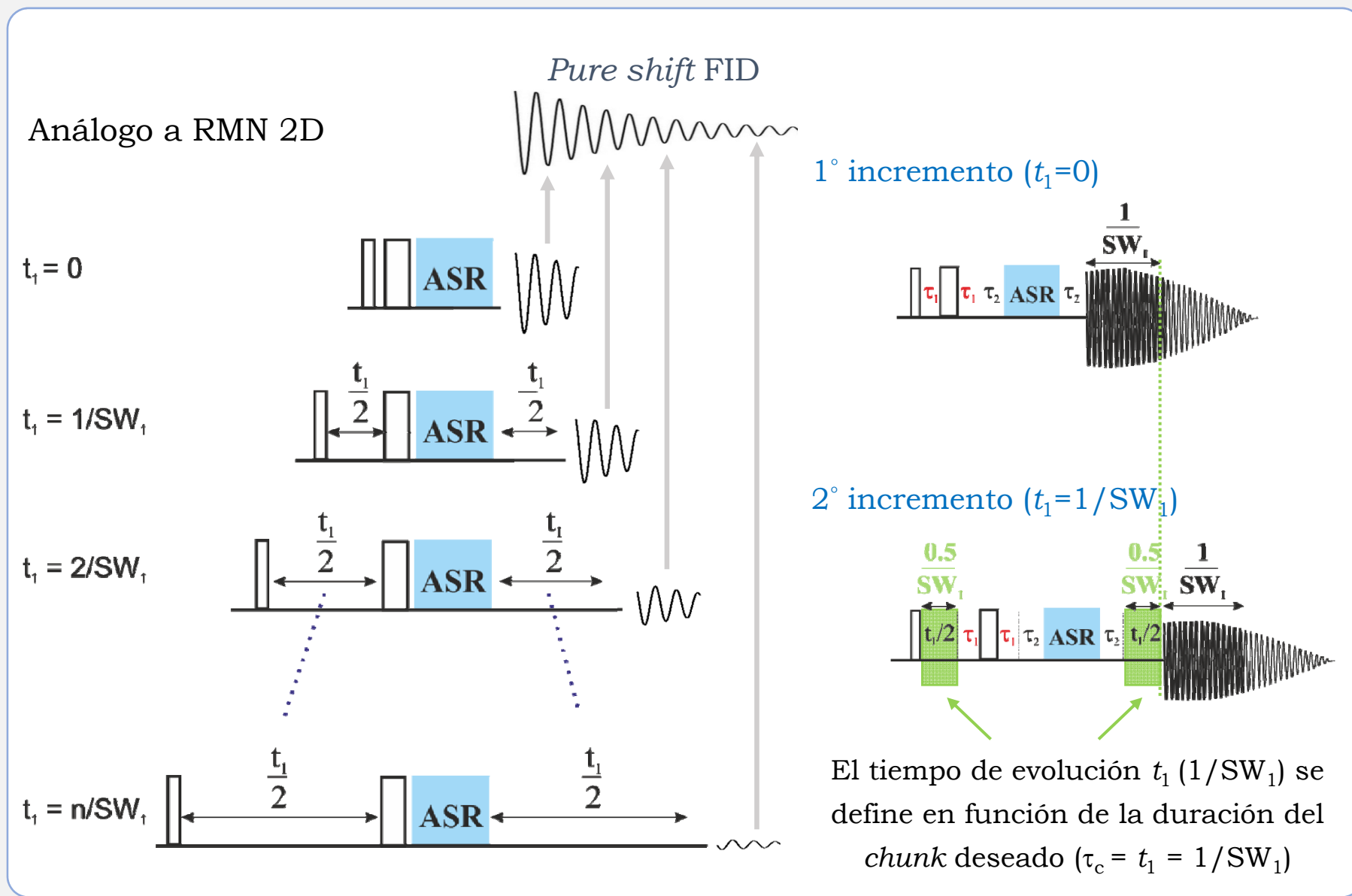


Separa el efecto del δ y de J_{HH} :
 δ evoluciona y J_{HH} es reenfocada

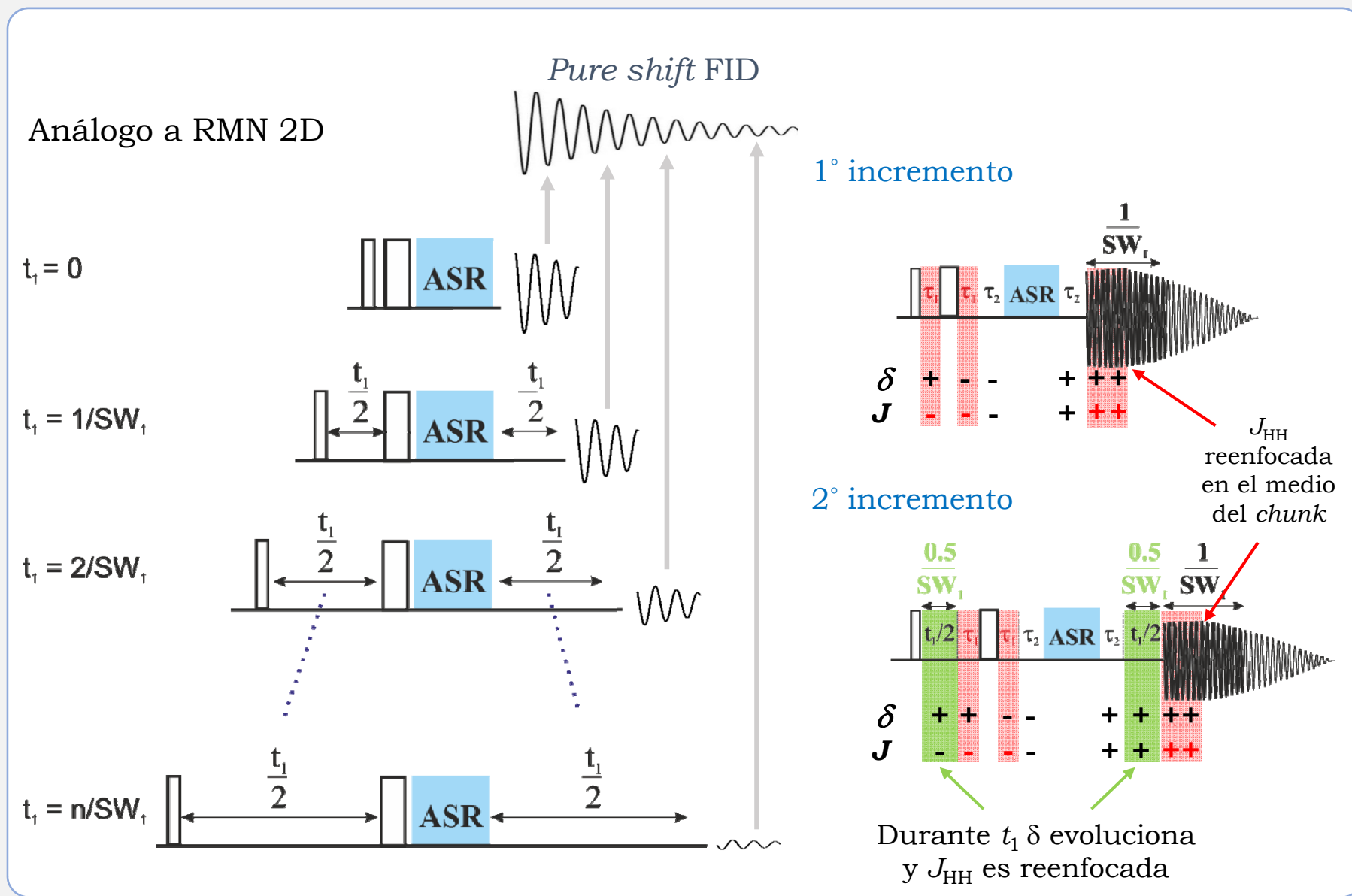
Interferograma – Adquisición 2D



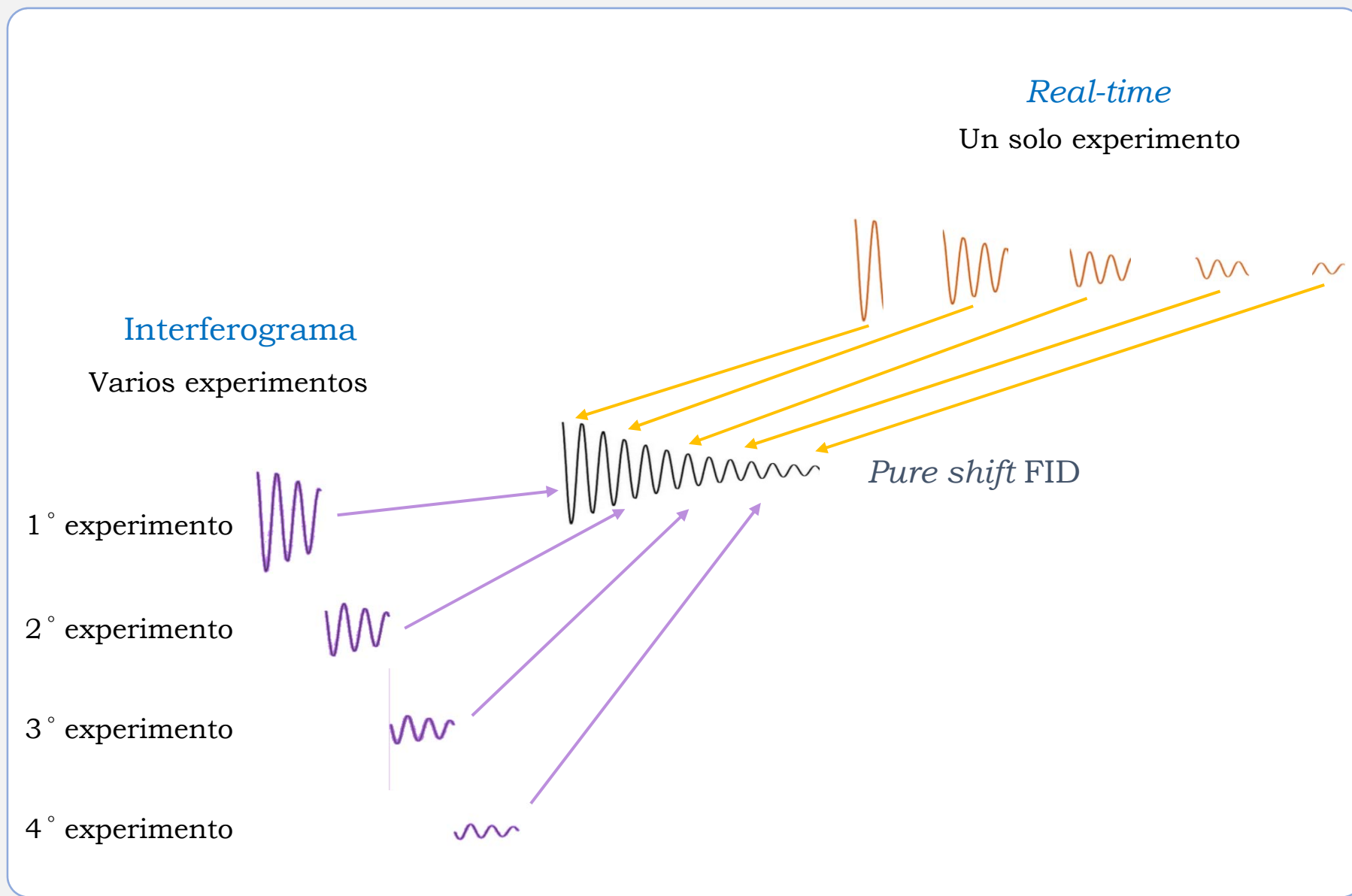
Interferograma – Adquisición 2D



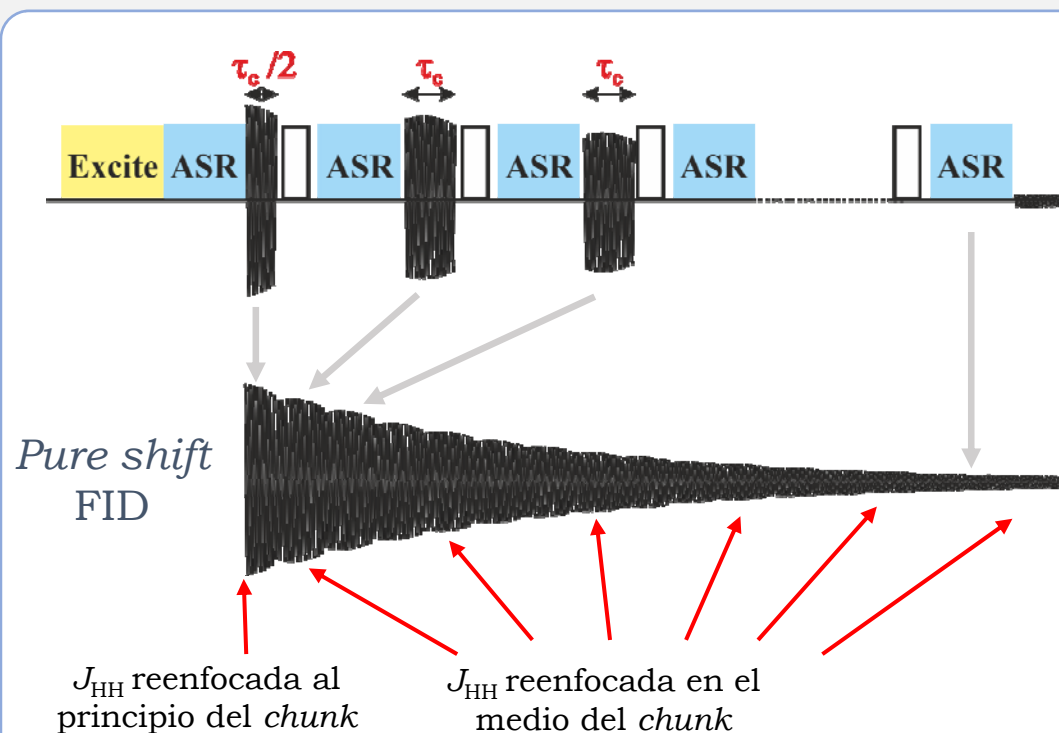
Interferograma – Adquisición 2D



¿Cómo poder disminuir el tiempo de adquisición?

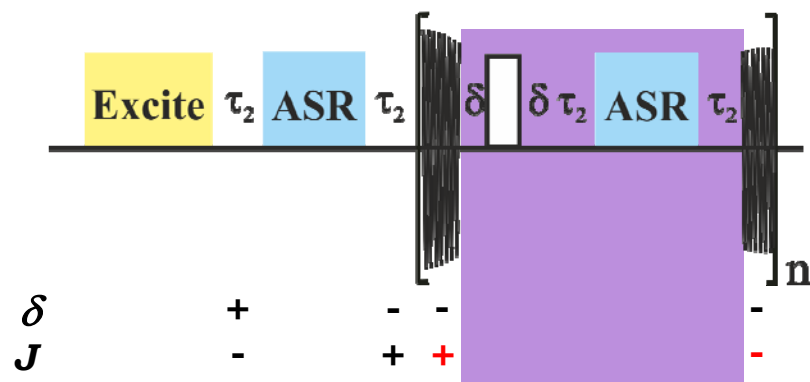


Adquisición en tiempo real (*real-time*) – Experimento 1D



Todos los *chunks* son adquiridos en solo experimento

En la mayoría de los experimentos con adquisición en tiempo real la duración del primer *chunk* es la mitad que la del resto de *chunks*



El número de *chunks* (n) depende de:

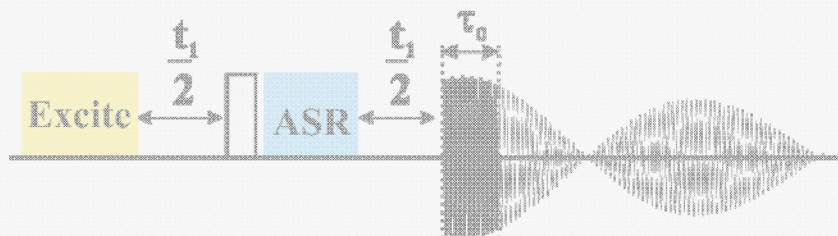
- la duración del *chunk* (τ_c)
- del tiempo de adquisición (AQ)

$$n = \tau_c \text{AQ}$$

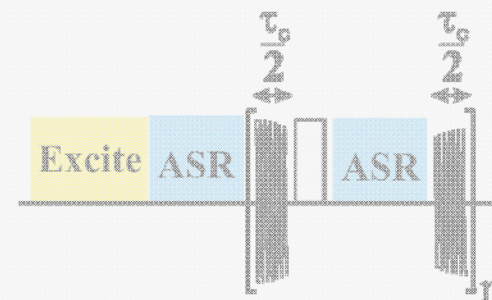
¿Cómo obtenemos un espectro *pure shift* experimentalmente?

Modo de adquisición

Interferograma

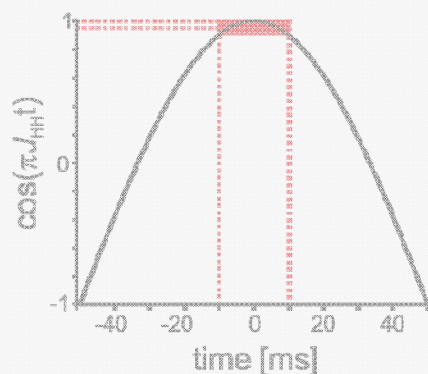


Real-time



Adquisición de la FID por trozos

Duración del trozo (*chunk*) de FID (τ_c)



Sistema de espín AX

$$J_{HaHx} = 10 \text{ Hz}$$

$$1/J_{HaHx} = 100 \text{ ms}$$

$$\tau_c \approx 20 \text{ ms}$$

J_{HH} evolución $\approx 5\%$

Si $\tau_c \ll 1/J_{HH}$ la evolución de J_{HH} durante τ_c puede considerarse despreciable

Elemento de reenfoque de J_{HH}

		hard 180° pulse	active spin refocusing				
		τ_1	τ_1	τ_2	ASR	τ_2	
δ	+	+	-	-		+	+
J	-	-	-	-		+	+

Separa el efecto del δ y de J_{HH} :
 δ evoluciona y J_{HH} es reenfocada

Mecanismo general de reenfoque de J_{HH}

hard 180° pulse active spin refocusing

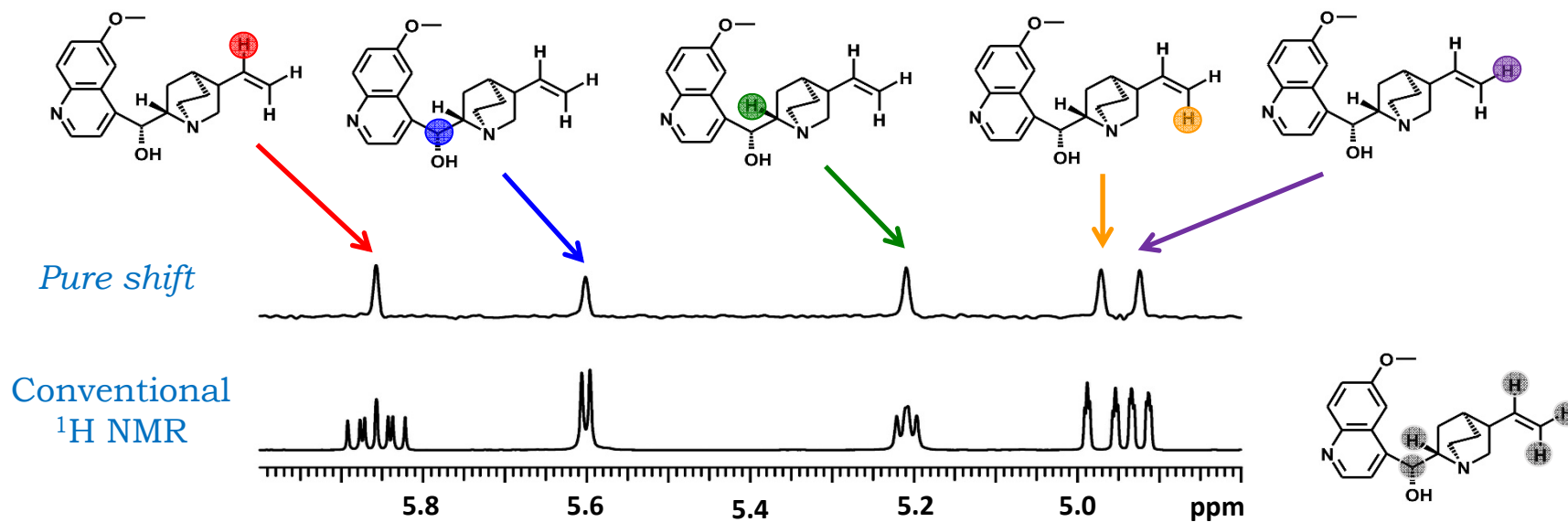


δ	+	-	-	+
J	-	-	-	+

El elemento de reenfoque separa el efecto del δ y de J_{HH}

- El pulso duro de 180°: revierte el efecto de δ pero no de J_{HH}
- El elemento de reenfoque de spines activos (ASR): revierte el efecto de ambos δ y J_{HH} **solo** en los espines activos, dejando los espines inactivos sin perturbar

El concepto de espines activos y pasivos

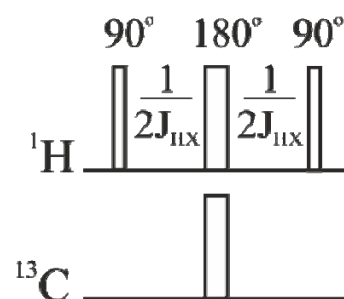


Elementos de reenfoque de spines activos (ASR)

El elemento ASR divide los espines disponibles en:

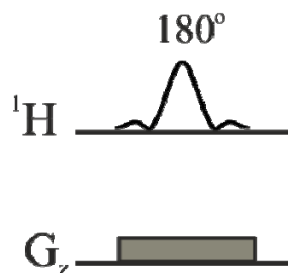
- Activos: espines observados
- Pasivos: espines manipulados para eliminar el efecto del acoplamiento

BIRD



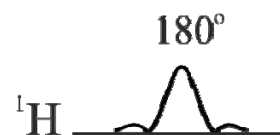
Rotación de 180° de los ^1H acoplados a ^{13}C

Zangger-Sterk (ZS)



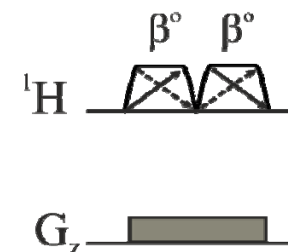
Rotación de 180° selectiva según la posición y la frecuencia

Band-selective (BS)



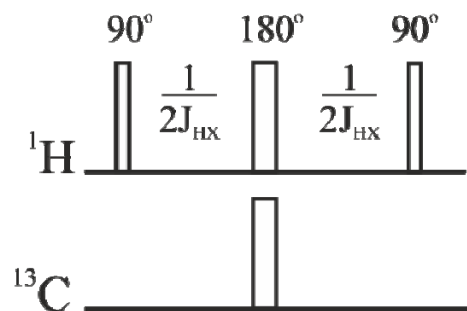
Rotación de 180° selectiva según la frecuencia

PSYCHE



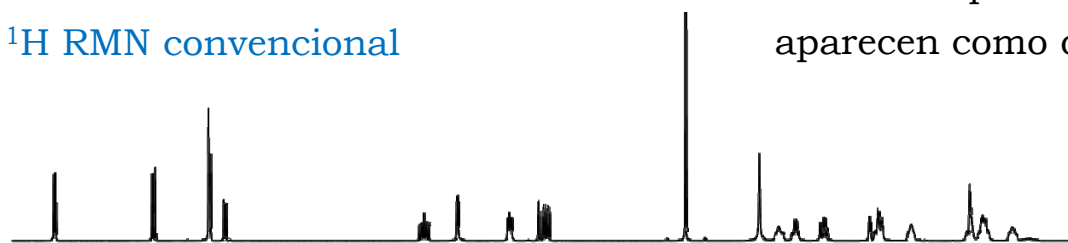
Rotación de β° de una fracción de espines $\sin^2\beta$

Bilinear rotation decoupling (BIRD)

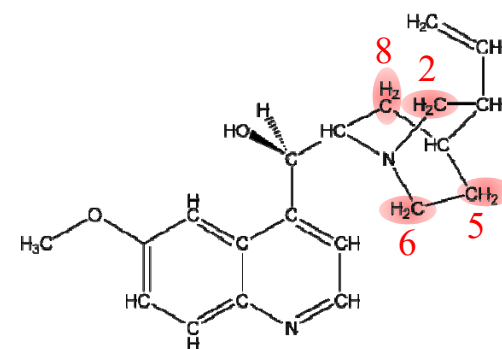
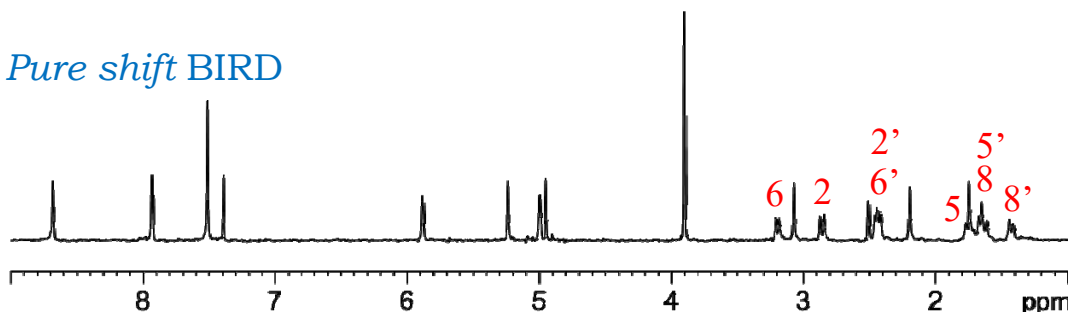


- BIRD_d invierte solo ¹H directamente acoplados a ¹³C (o ¹⁵N) – espines activos
- La dilución isotópica del ¹³C asegura que el resto de protones acoplados al ¹H de interés no son invertidos – espines pasivos
- Compatible con ambos tipos de adquisición
- Baja sensibilidad: limitada por la abundancia natural del ¹³C (1.1 %) o del ¹⁵N (0.37 %)
- Los ¹H acoplados al mismo ¹³C no se desacoplan y aparecen como dobletes

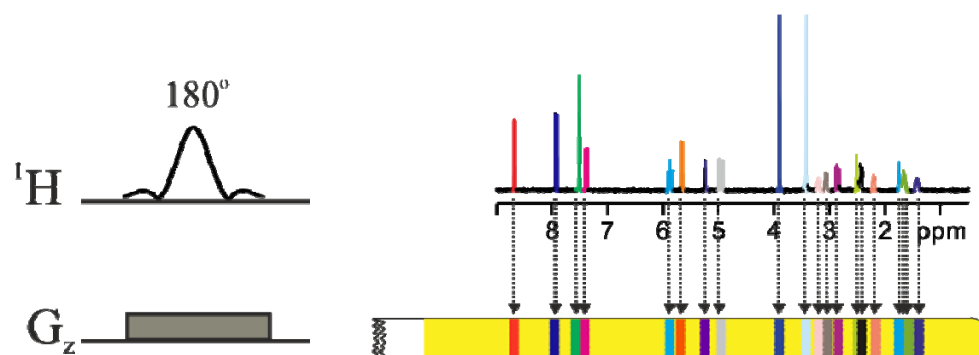
¹H RMN convencional



Pure shift BIRD

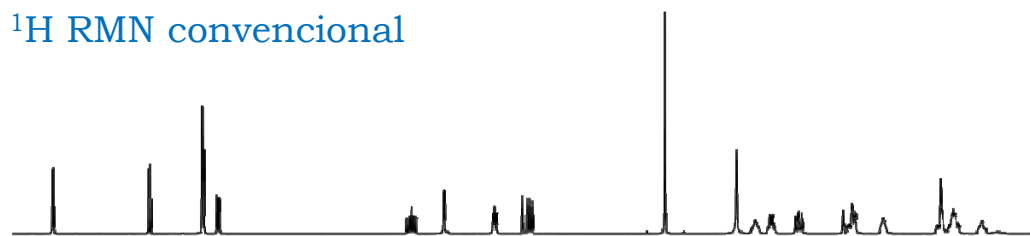


Zangger-Sterk (ZS)

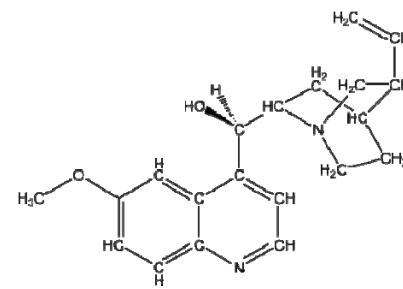
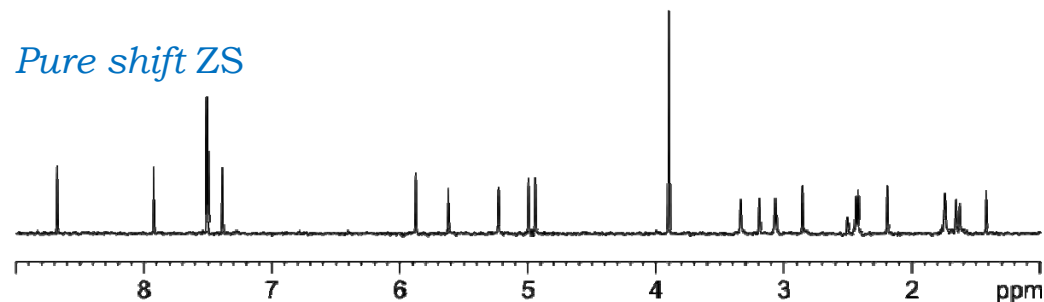


- Aplicación simultanea de un pulso de 180° selectivo y un gradiente de campo magnético débil
- Selección de frecuencia y posición simultáneamente
- Cada espín activo es invertido en una porción de la muestra diferente
- Compatible con ambos tipos de adquisición
- Baja sensibilidad: proporcional al ancho de la porción de muestra invertida para cada espín (0.5-10 %)

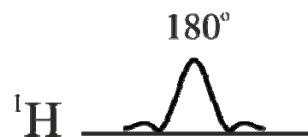
^1H RMN convencional



Pure shift ZS

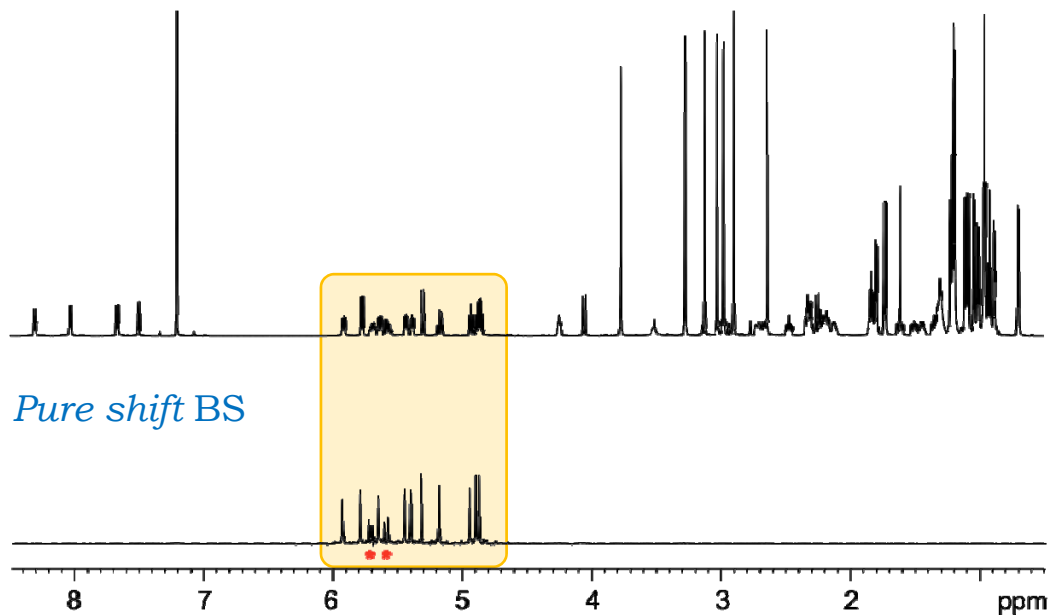


Band-selective (BS) – HOBS, BASH, BASHD

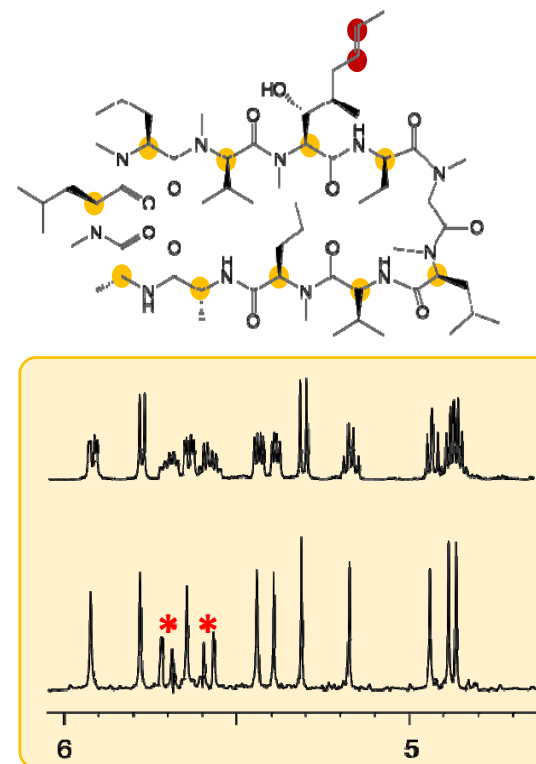


- El pulso selectivo de 180° invierte solo los espines en su ancho de banda – espines activos
- Una o varias resonancias pueden ser desacopladas al mismo tiempo siempre y cuando no están acopladas entre ellas.
- Compatible con ambos tipos de adquisición
- Excelente sensibilidad: el colapso del multiplete ($\geq 100\%$)

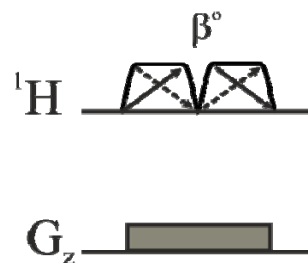
^1H RMN convencional



Pure shift BS

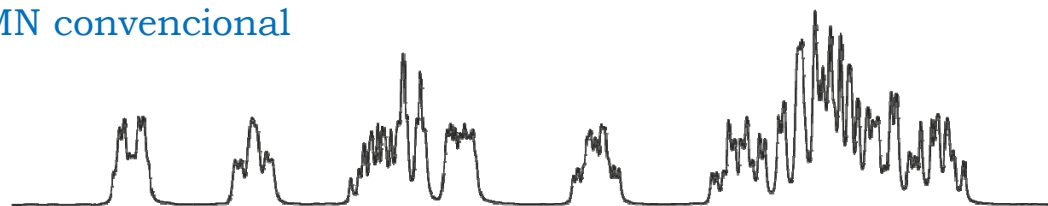


Pure shift yield by chirp excitation (PSYCHE)

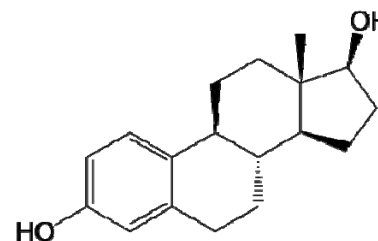
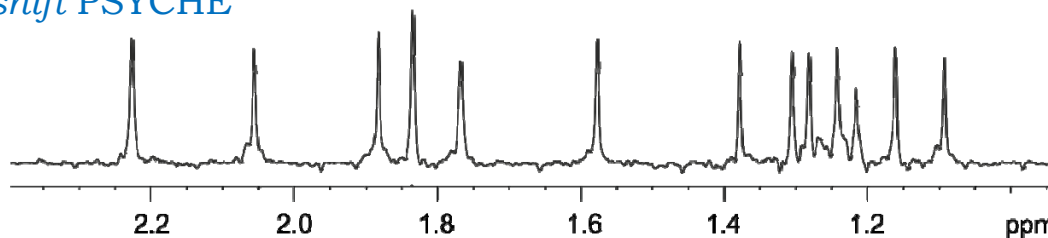


- Aplicación simultánea de un pulso saltire chirp de β° ($\beta=5-20$) y un gradiente de campo magnético débil
- Simplificación del patrón de acoplamiento mediante el uso de pulsos de bajo ángulo (similar al experimento anti-z-COSY)
- Solo una fracción de los espines proporcional a $\sin^2\beta$ es invertida – espines activos
- Baja/media sensibilidad: proporcional a $\sin^2\beta$ (3-20 %)
- Solo compatible con la adquisición en interferograma

^1H RMN convencional



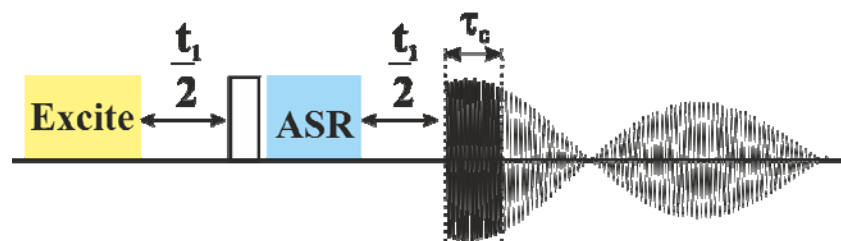
Pure shift PSYCHE



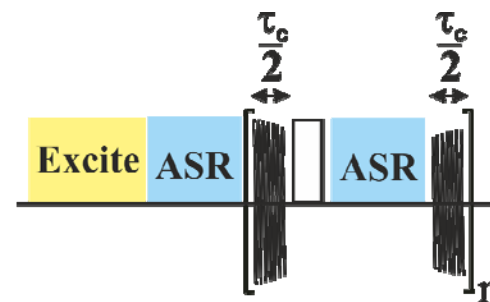
¿Cómo podemos combinar todos los elementos?

Métodos de adquisición

Interferogram

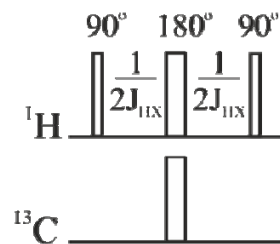


Real-time

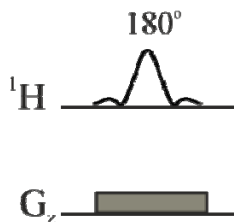


Métodos de reenfoque de los espines activos

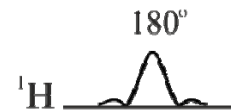
BIRD



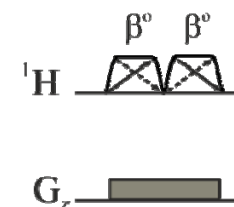
ZS



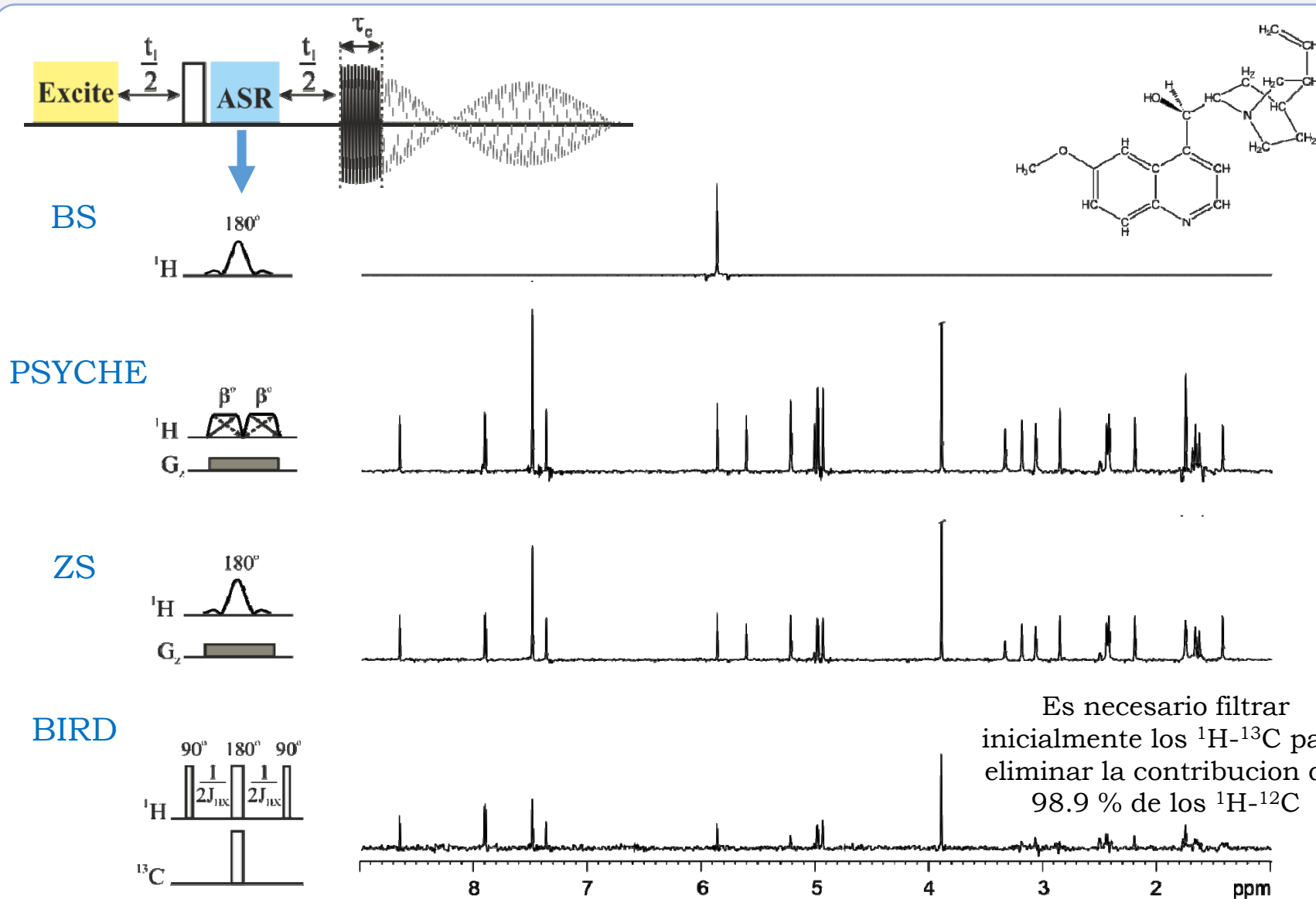
BS



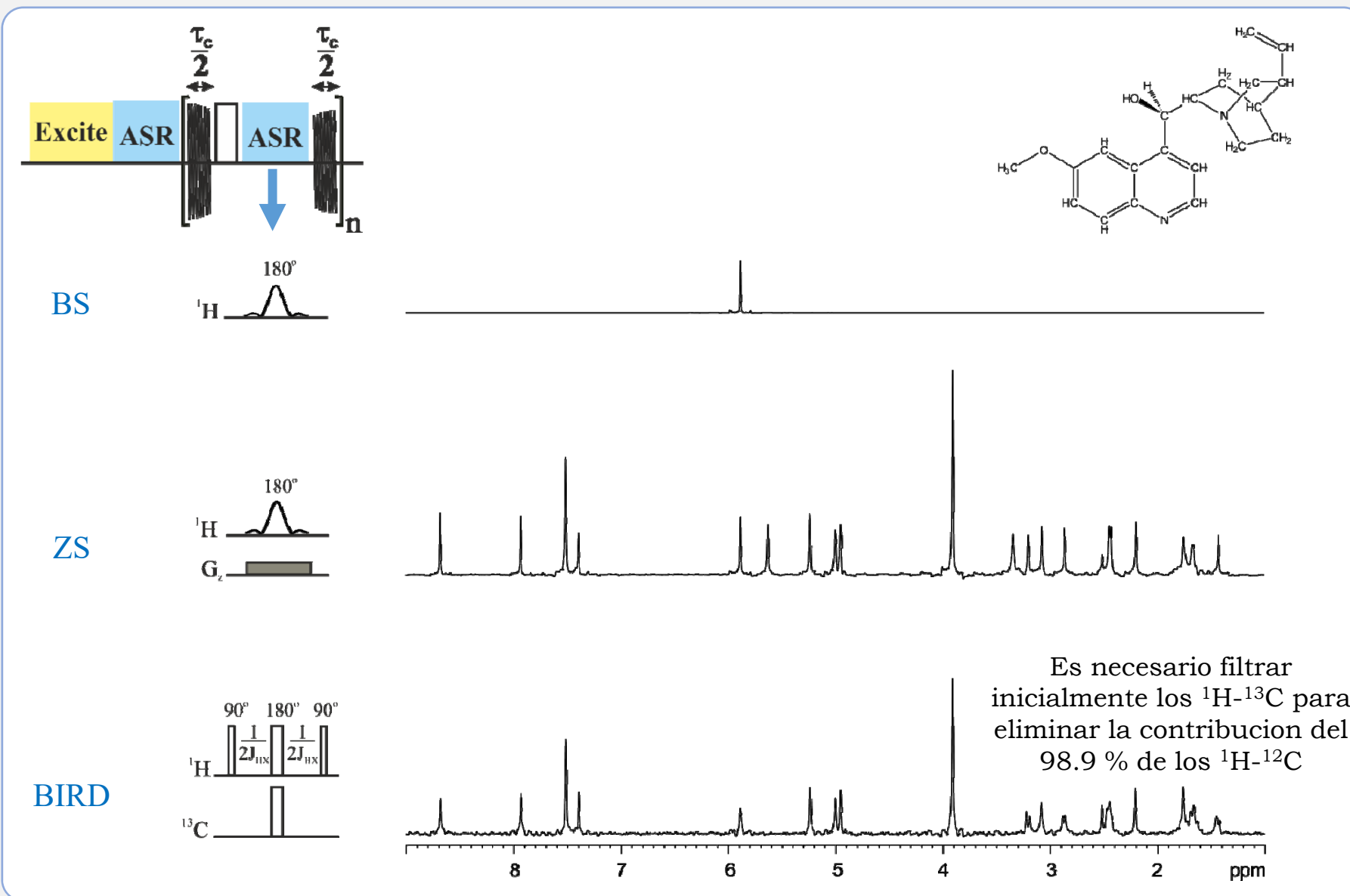
PSYCHE



Pure shift con adquisición en interferograma

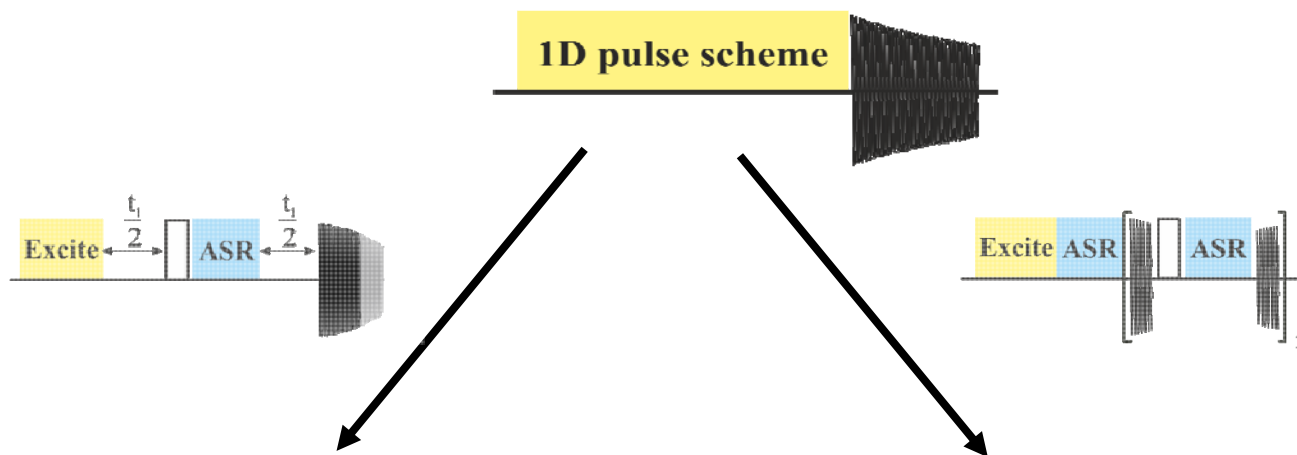


Pure shift con adquisición en tiempo real (*real-time*)

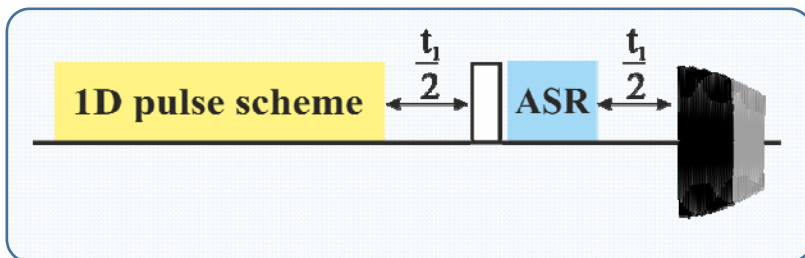


Implementación en experimentos 1D convencionales

1D Convencional



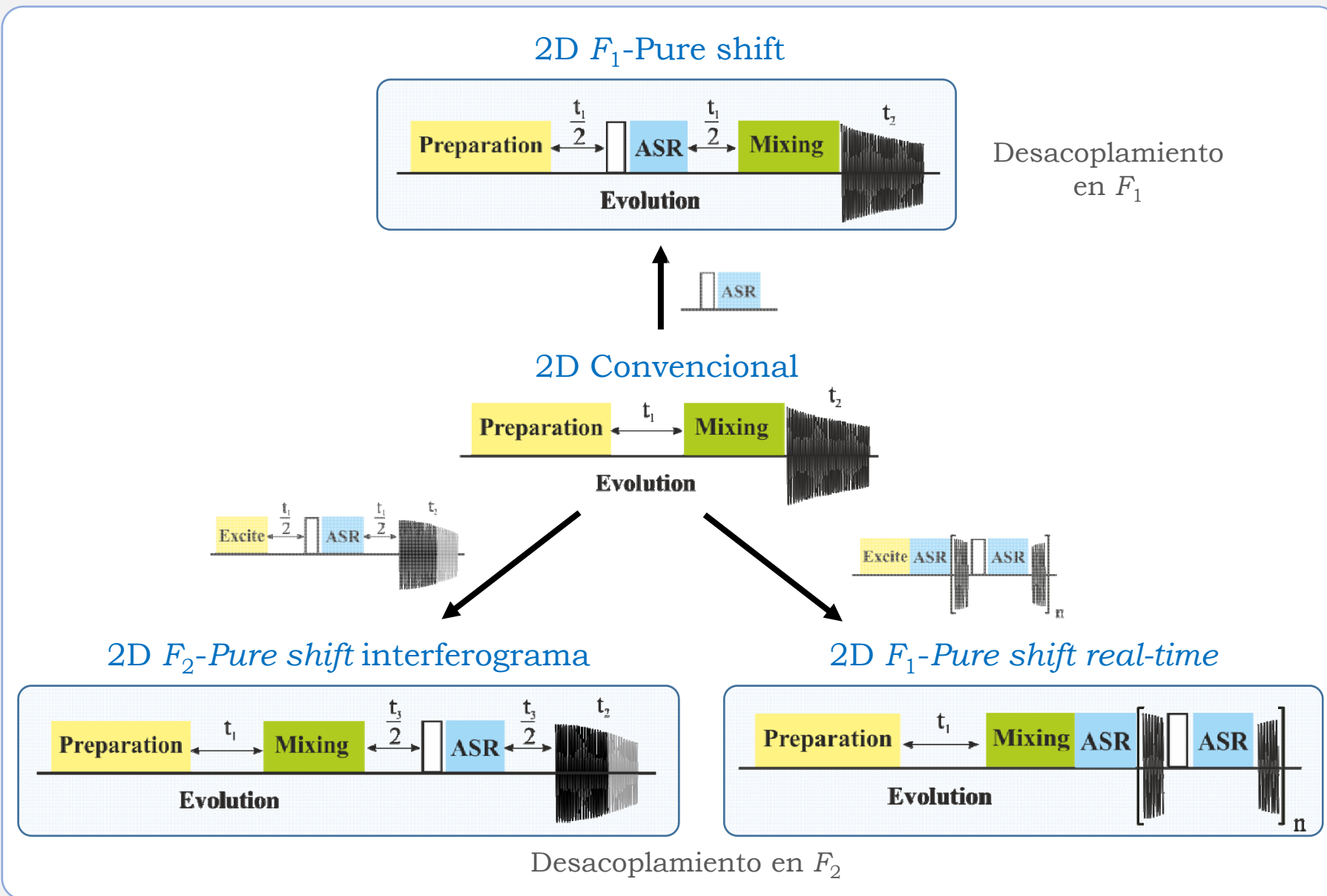
1D *Pure shift* interferograma



1D *Pure shift* real-time



Implementación en experimentos 2D convencionales



I - Introducción:

Pure shift: generalidades

Métodos de adquisición

Métodos de “Reenfoco de espines activos”

Implementación metodológica

II - Aplicaciones

Análisis estructural

Estudios de difusión

Medidas de constantes de acoplamiento

Análisis de mezclas

Estudios enantioméricos

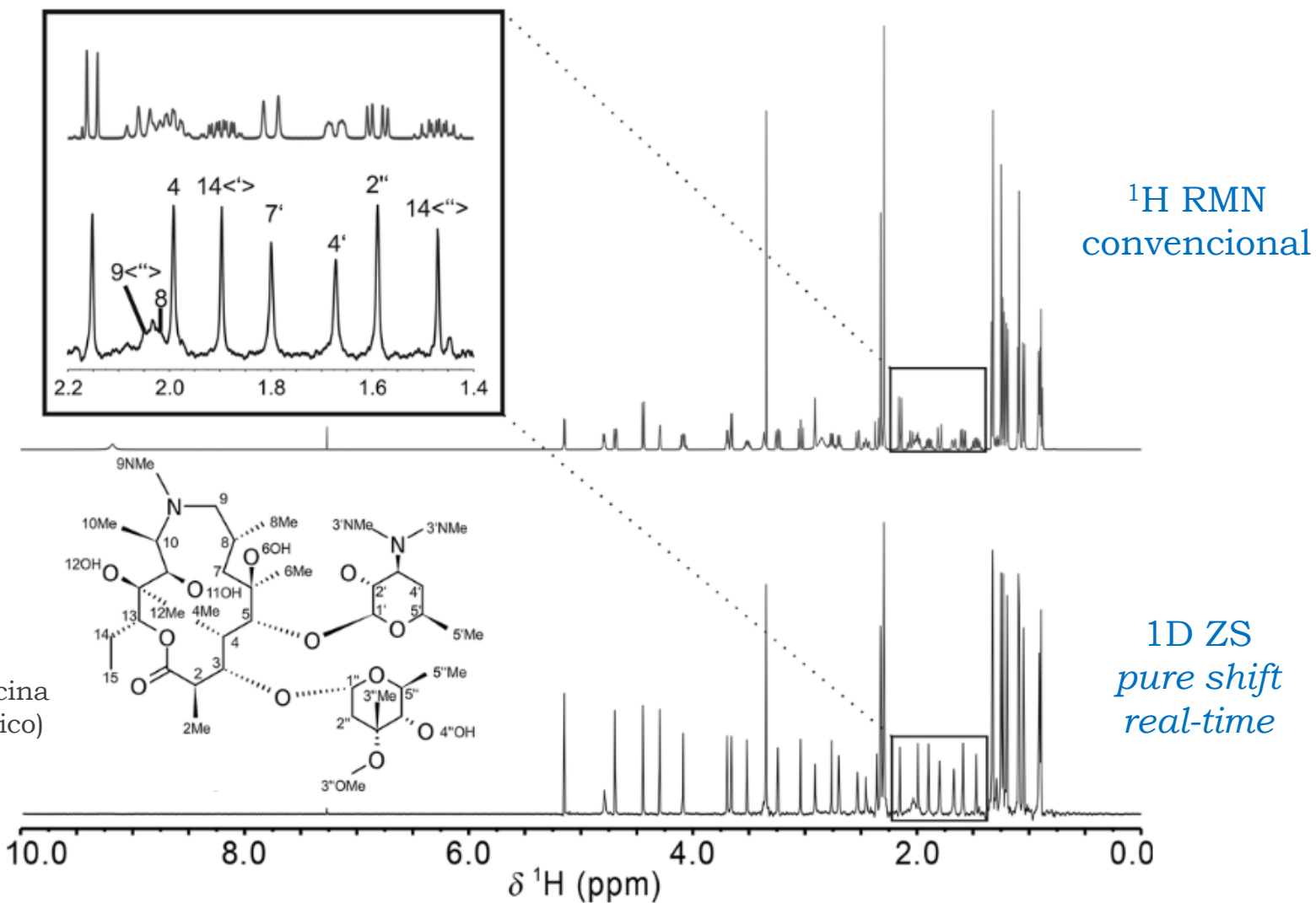
Procesos dinámicos

III – Aspectos prácticos:

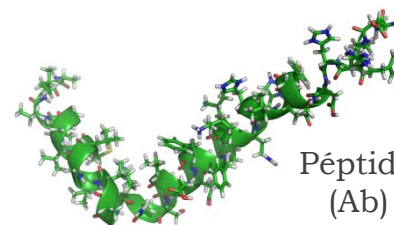
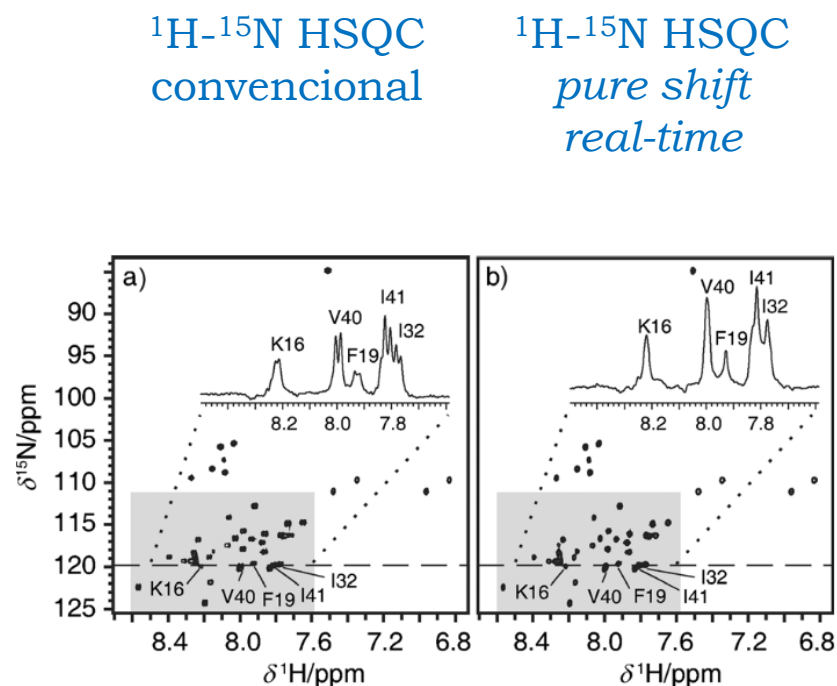
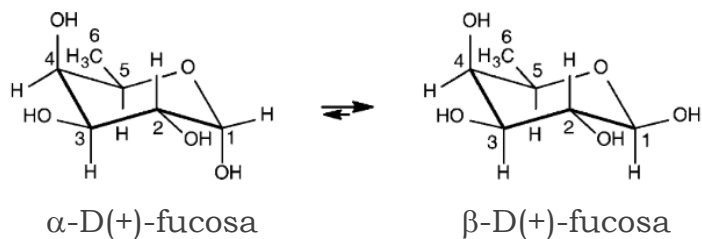
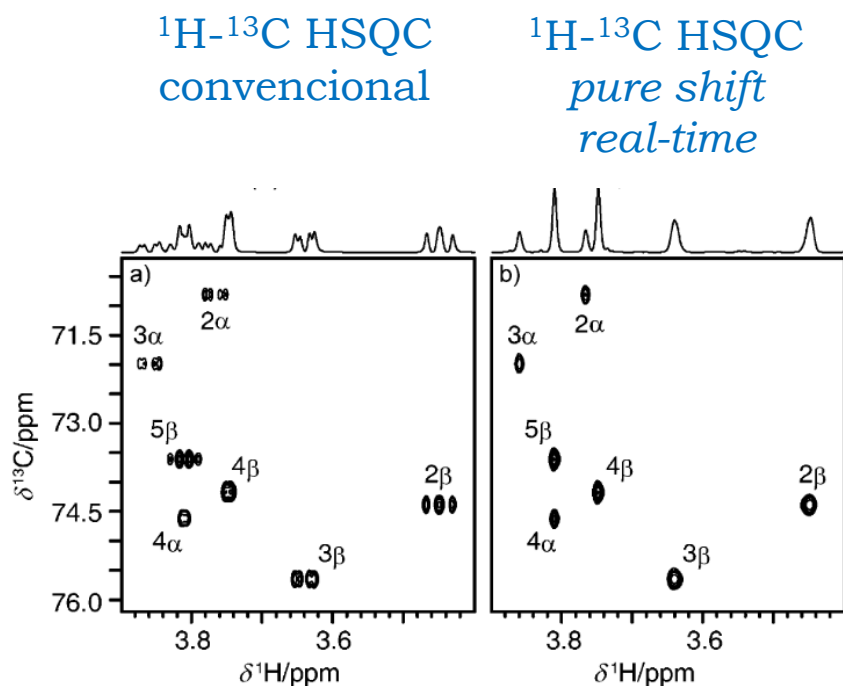
Sensibilidad

Calidad espectral

1D *pure shift* para el análisis estructural de moléculas pequeñas

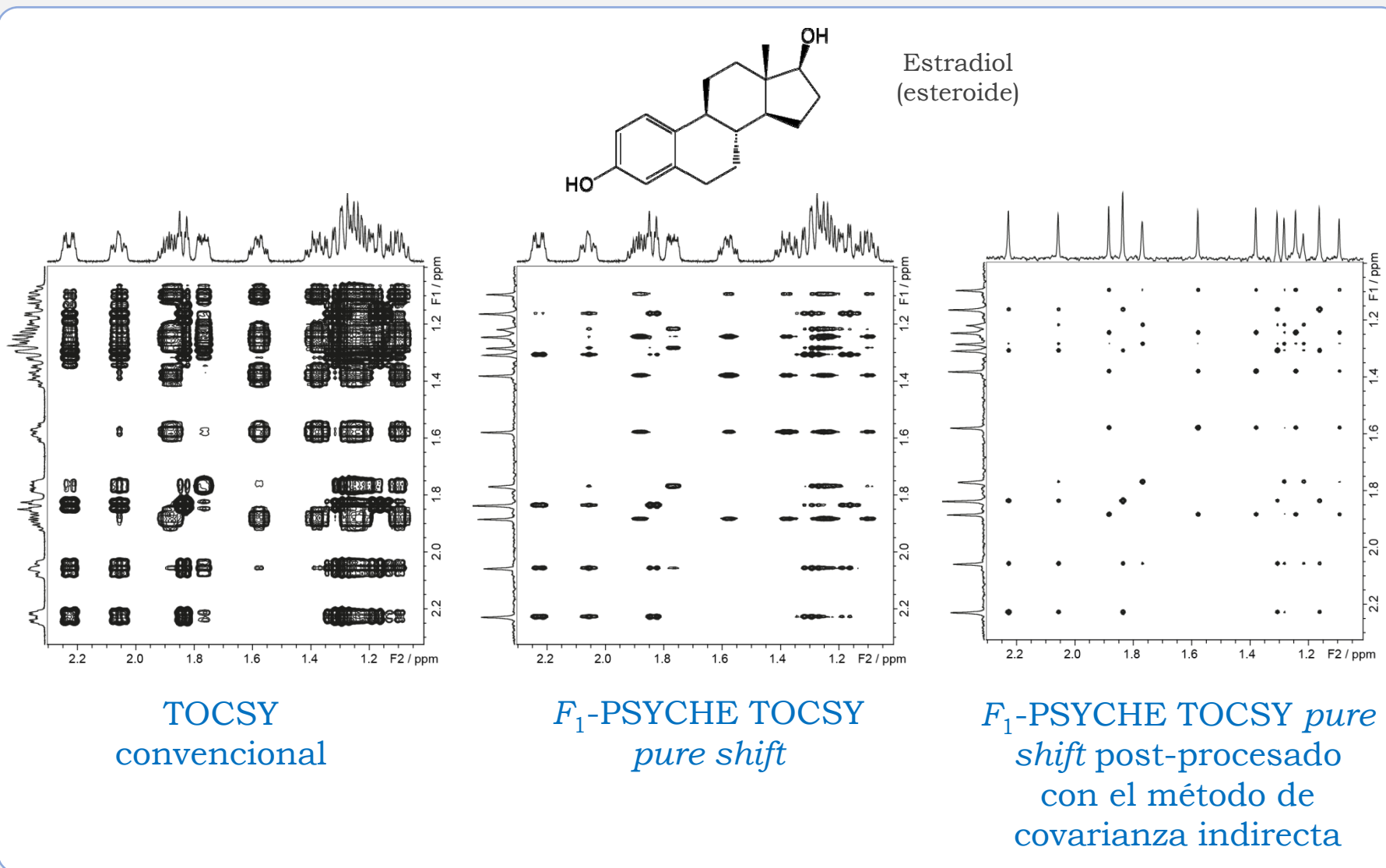


2D *pure shift* heteronuclear para el análisis estructural de moléculas pequeñas



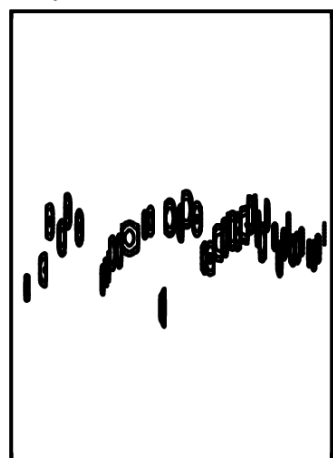
Péptido beta-amiloide 1-42
(Ab) ^{15}N isotópicamente
marcado

2D *pure shift* homonuclear para el análisis estructural de moléculas pequeñas



Espectroscopia de RMN de difusión de ultra-alta resolución

DOSY
Conventional

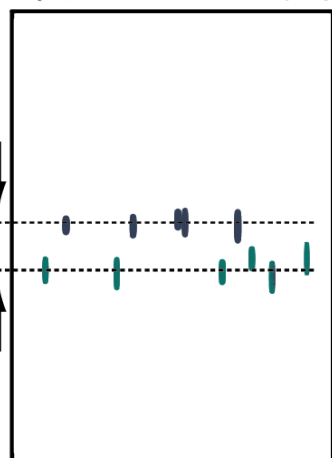


Chemical shift

Diffusion

PSYCHE

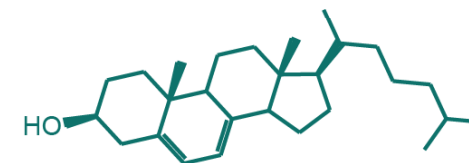
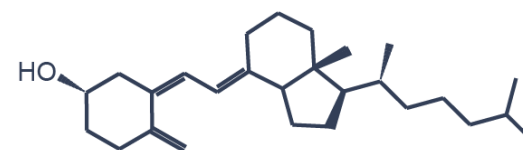
PSYCHE-iDOSY
pure shift
interferograma



Chemical shift

Diffusion

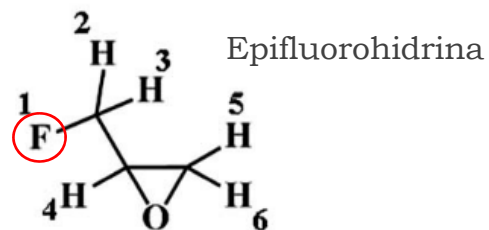
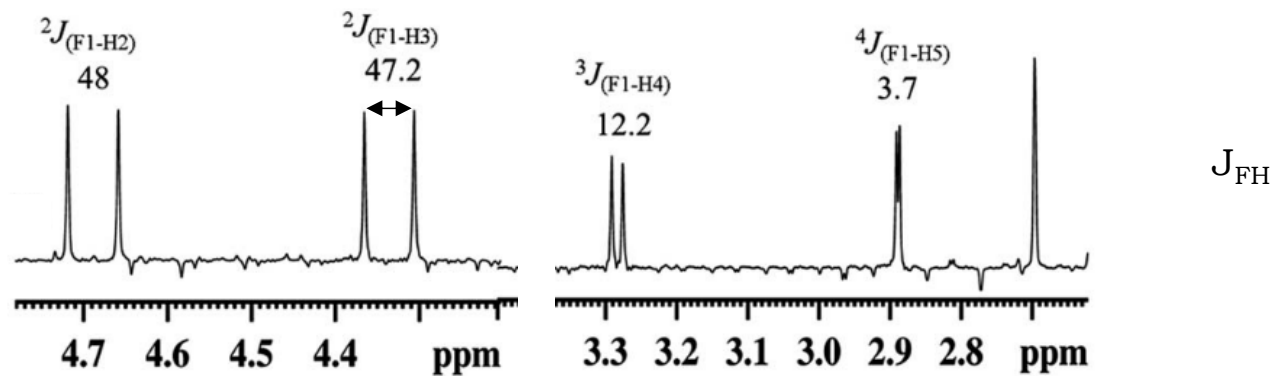
Vitamina D₃
(secosteroide)



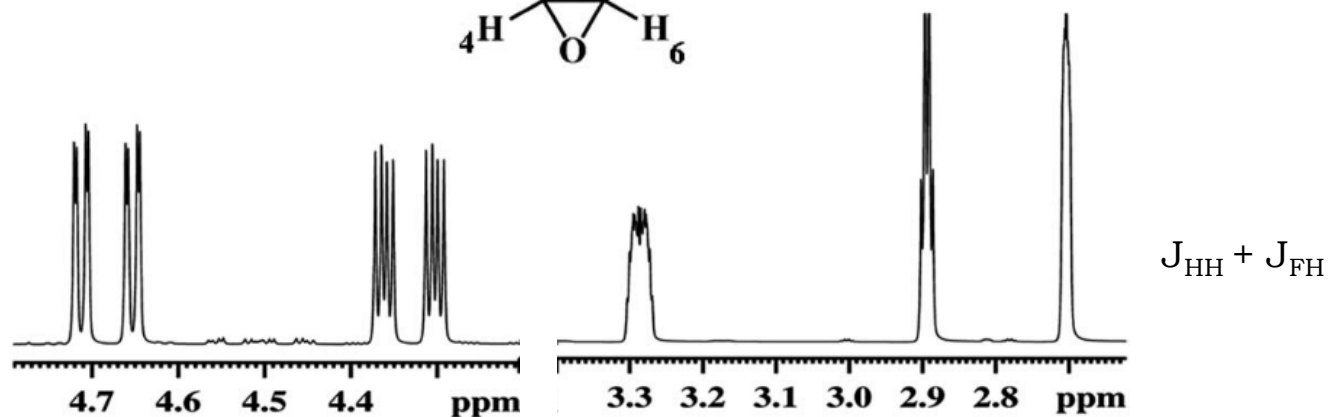
Provitamina D₃
(zoosterol)

1D *pure shift* para determinación precisa de constantes de acoplamiento heteronucleares

ZS *Pure shift*
interferograma



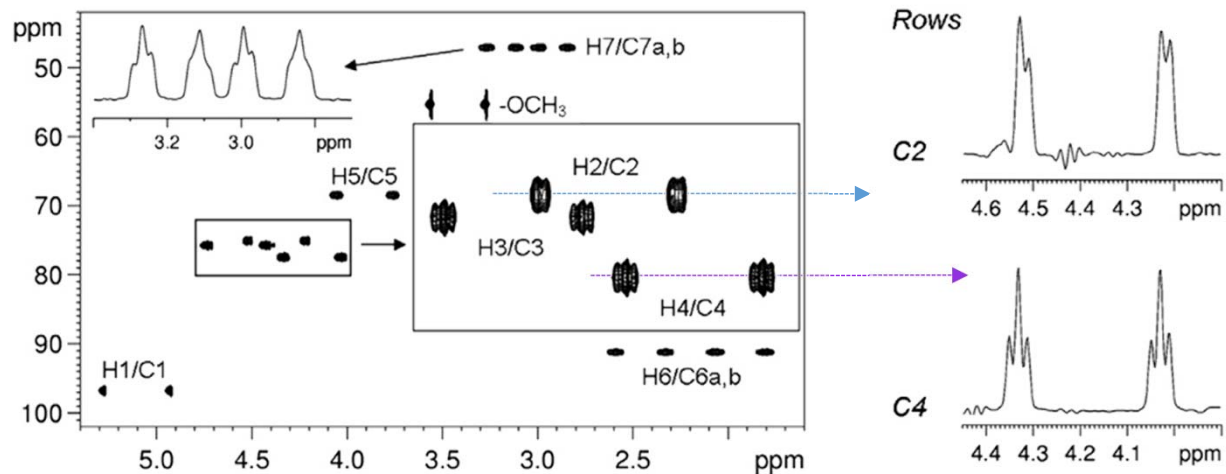
${}^1\text{H}$ NMR
convencional



2D *pure shift* heteronuclear para determinación precisa de constantes de acoplamiento a un enlace

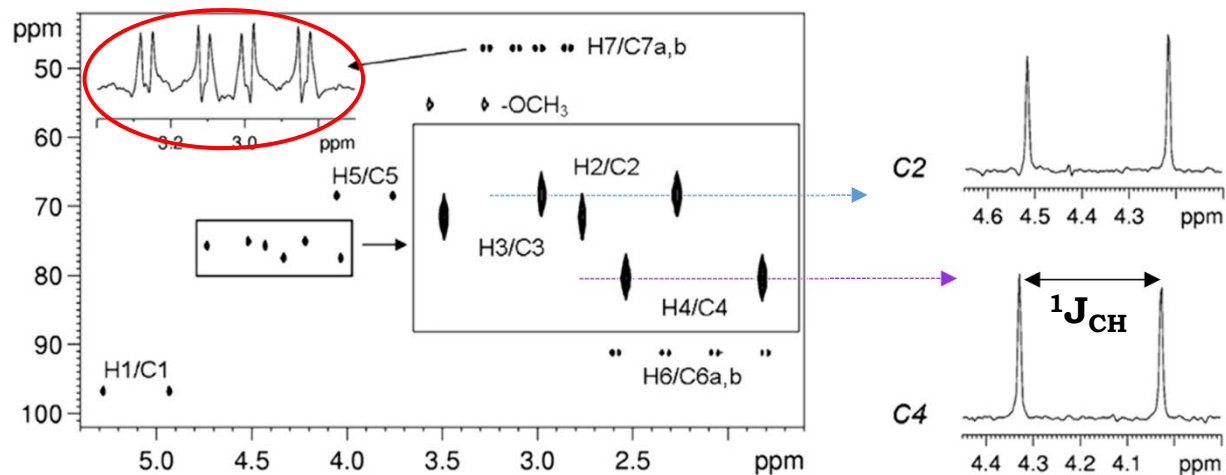
^1H - ^{13}C CLIP-HSQC convencional

$$J_{\text{HH}} + {}^1J_{\text{CH}}$$



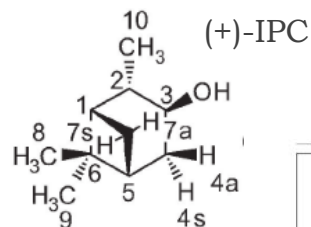
^1H - ^{13}C CLIP-HSQC *pure shift* interferograma

$${}^1J_{\text{CH}}$$

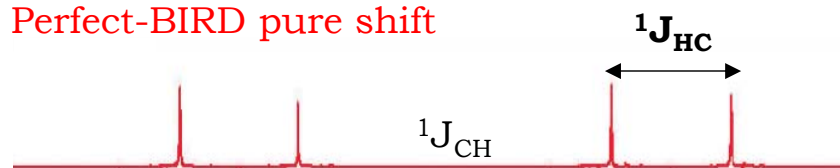


2D *pure shift* heteronuclear para determinación precisa de constantes de acoplamiento a un enlace en CH₂ diastereotópicos

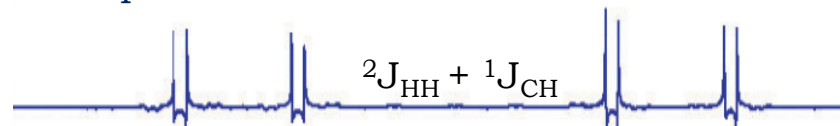
Perfect-BIRD
¹H-¹³C CLIP-HSQC
pure shift interferograma



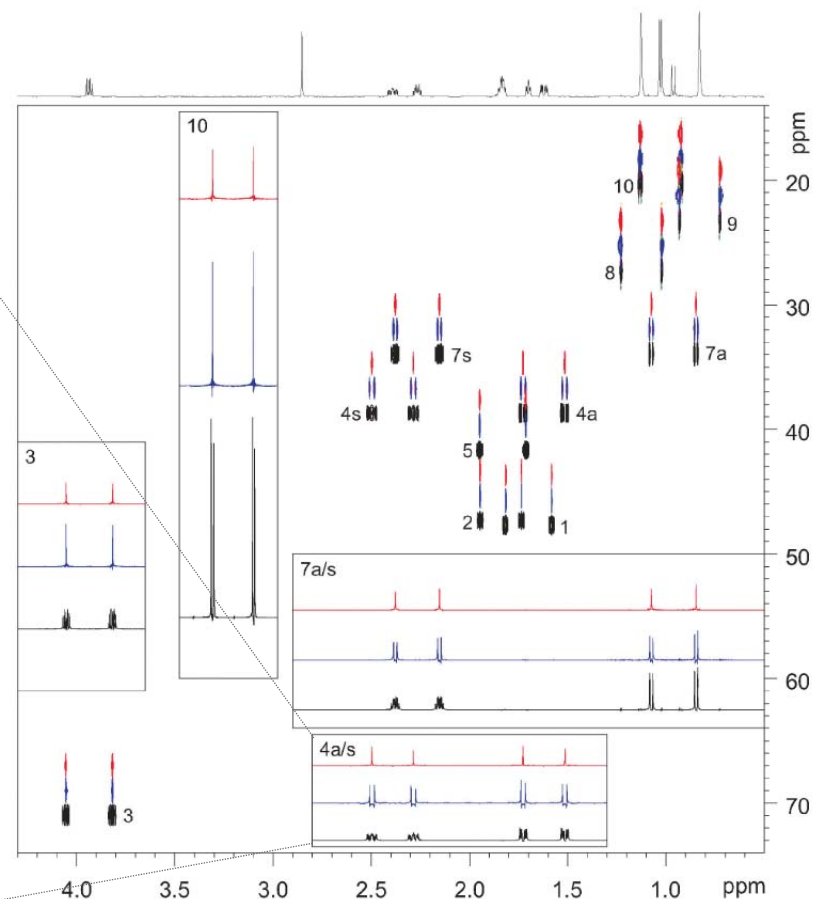
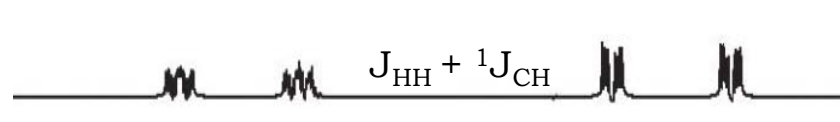
Perfect-BIRD *pure shift*



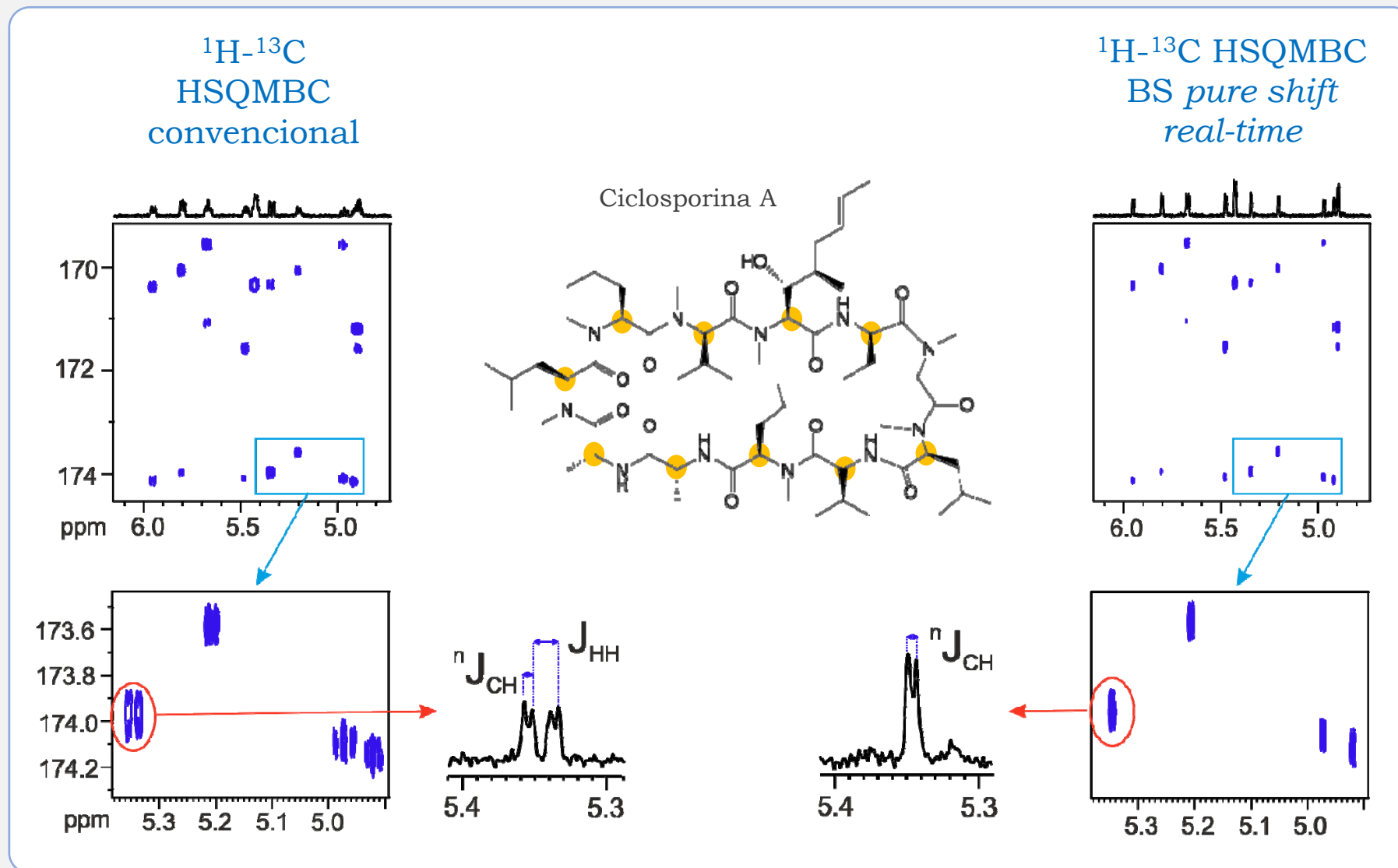
BIRD *pure shift*



Convencional



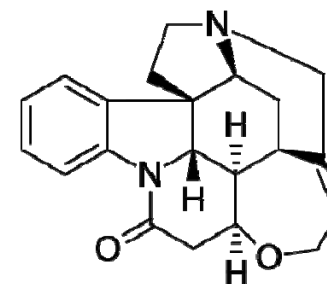
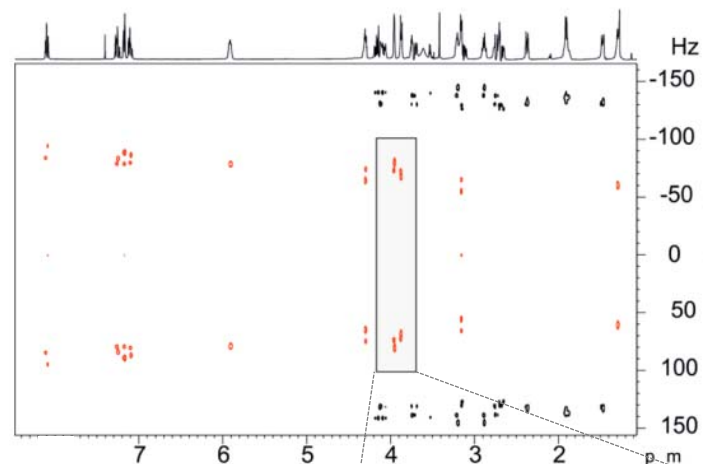
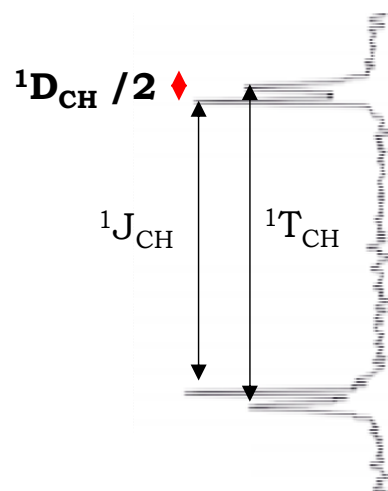
2D *pure shift* heteronuclear para determinación precisa de constantes de acoplamiento a larga distancia



2D *pure shift* heteronuclear para determinación precisa de constantes de acoplamiento residuales (RDCs)

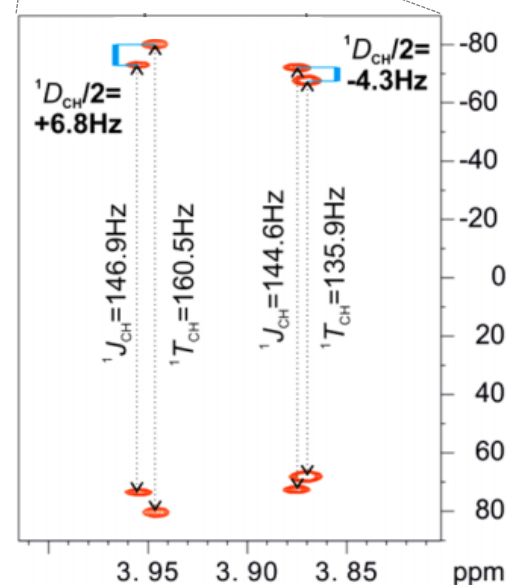
2D *J*-resuelto
 ^1H - ^{13}C HSQC
pure shift
real-time

$$^1J_{\text{CH}} + ^1T_{\text{CH}} + ^1D_{\text{CH}}$$



Estricnina

proyección
 en F_1

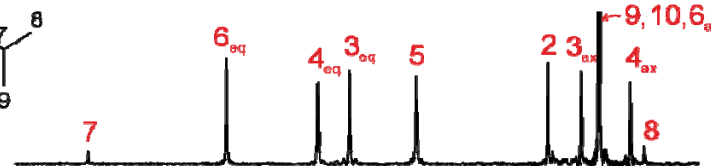
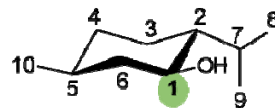
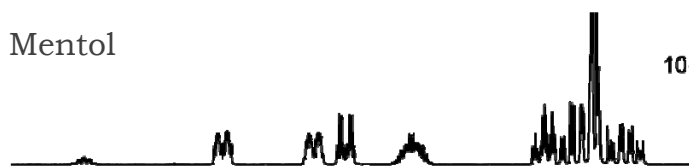


1D *pure shift* en el estudio de mezclas complejas

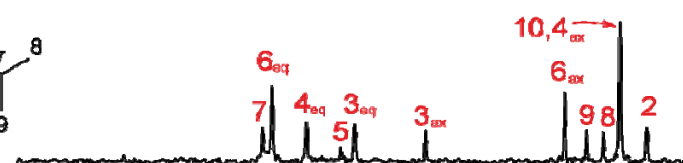
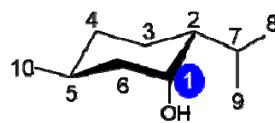
1D TOCSY selectivo
convencional

1D PSYCHE-TOCSY selectivo
pure shift interferograma

Mentol



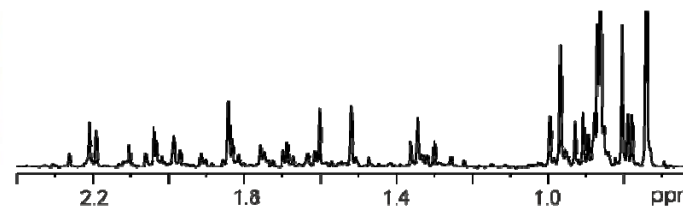
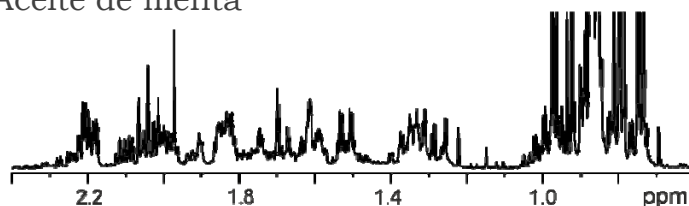
Neomentol



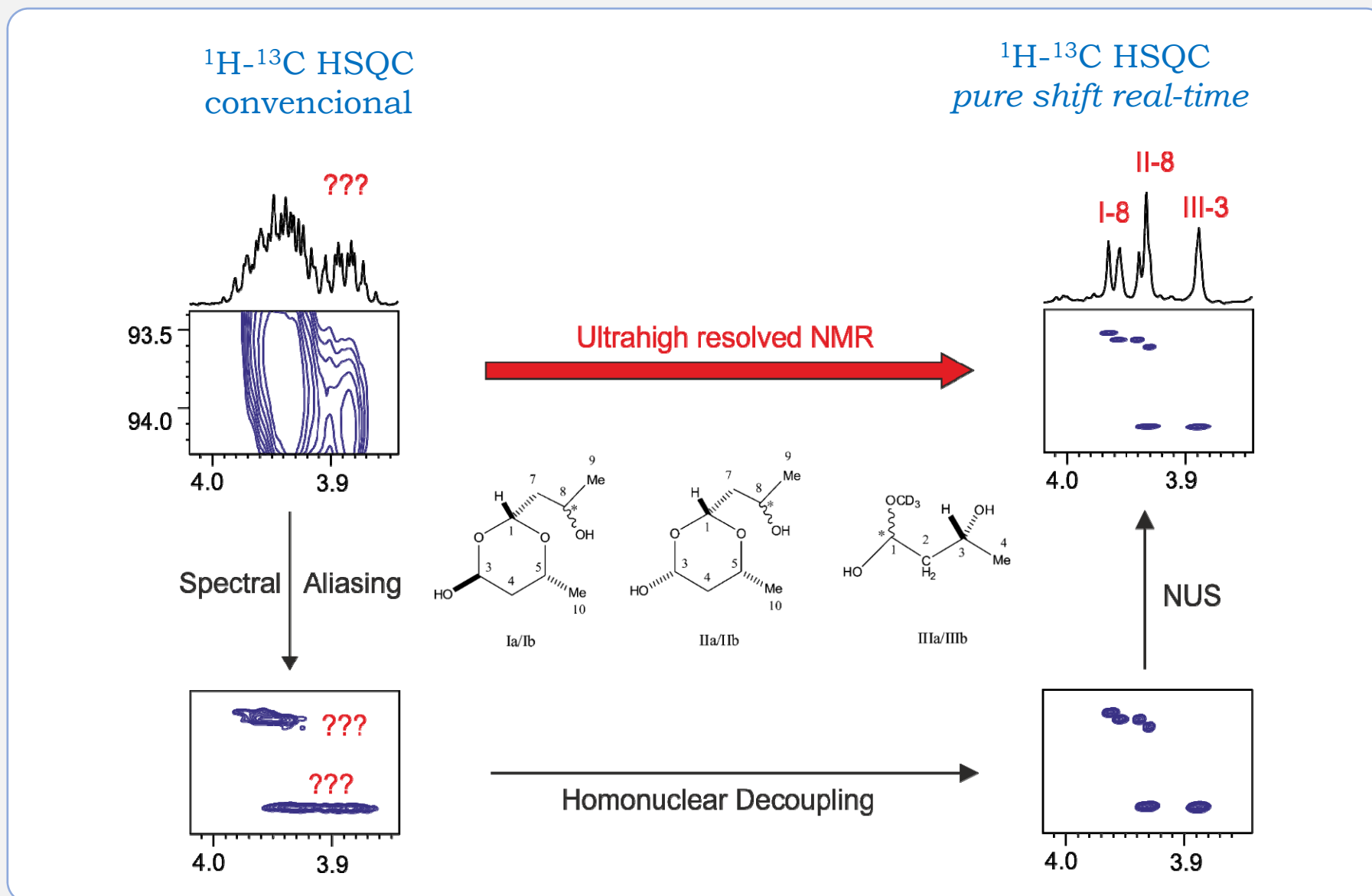
Mentona



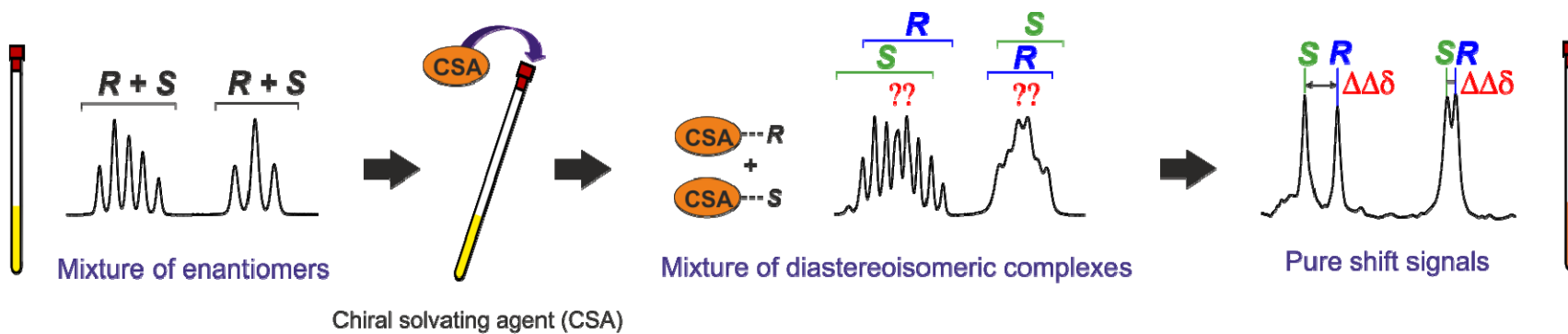
Aceite de menta



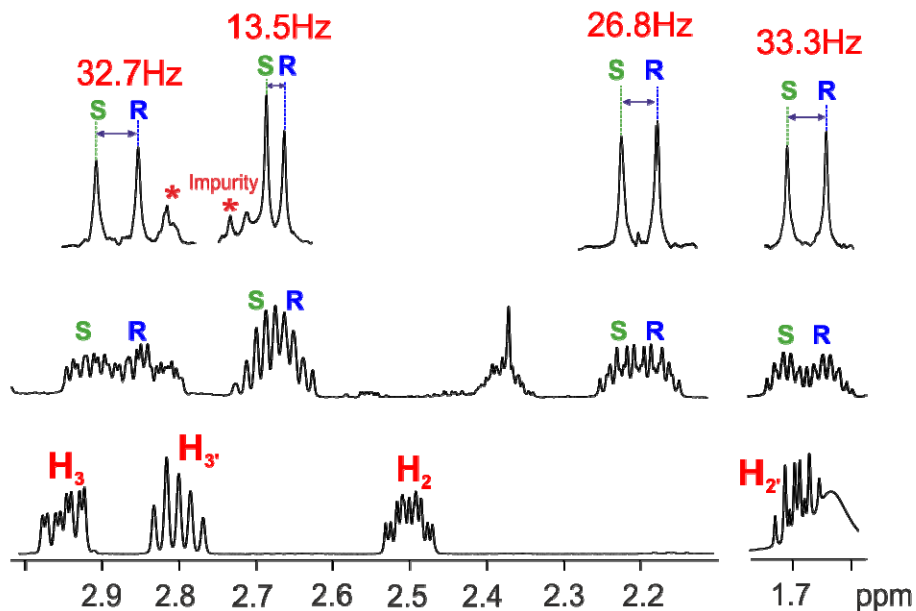
2D *pure shift* en el estudio de mezclas complejas



1D pure shift en el estudio de enantiómeros

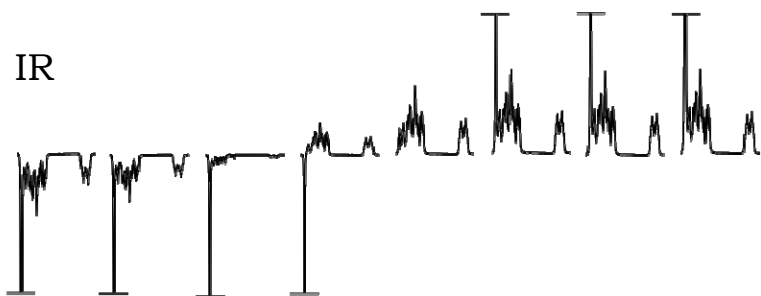


BS pure shift
real-time



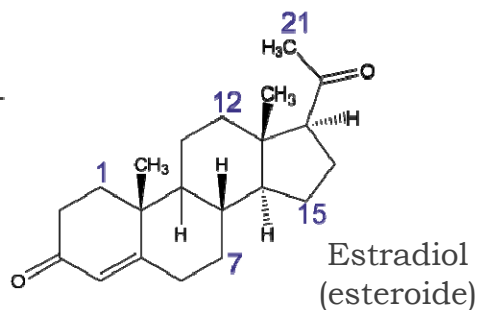
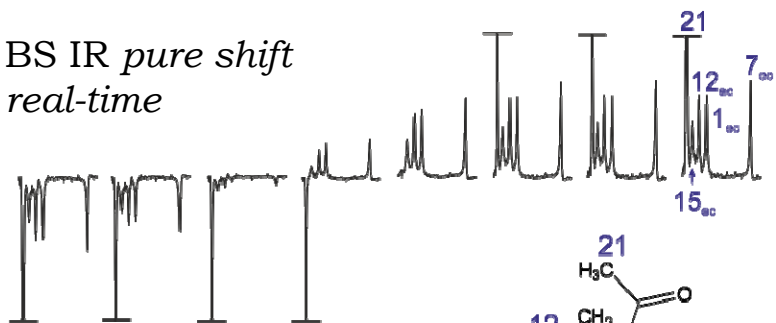
1D *pure shift* para la medida de constantes de relajación

Medida de tiempos de relajación longitudinal, T_1

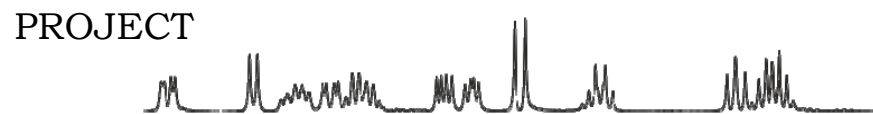


τ 0.05s 0.1s 0.25s 0.5s 1s 2s 4s 8s

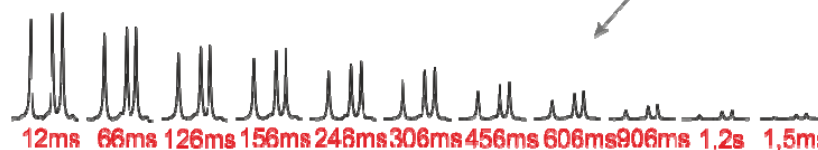
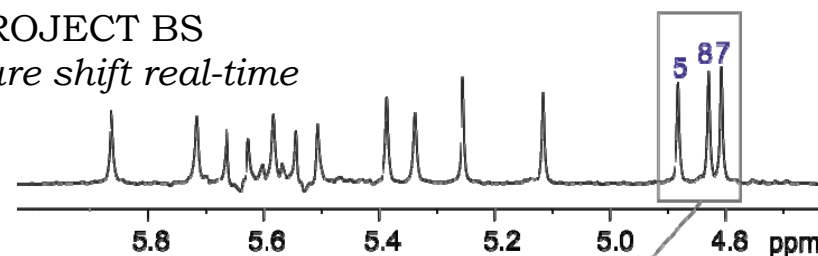
BS IR *pure shift*
real-time



Medida de tiempos de relajación transversal, T_2

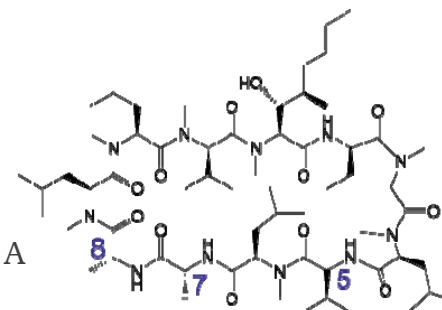


PROJECT BS
pure shift real-time



Total echo time (τ_e)

Ciclosporina A (péptido)



I - Introducción:

Pure shift: generalidades

Métodos de adquisición

Métodos de “Reenfoco de espines activos”

Implementación metodológica

II - Aplicaciones

Análisis estructural

Estudios de difusión

Medidas de constantes de acoplamiento

Análisis de mezclas

Estudios enantioméricos

Procesos dinámicos

III – Aspectos prácticos:

Sensibilidad

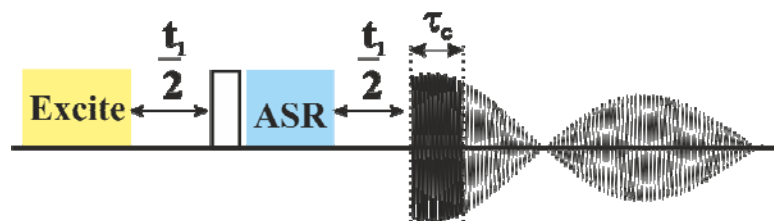
Calidad espectral

Sensibilidad
de los
experimentos
Pure shift

Sensibilidad asociada a cada elemento

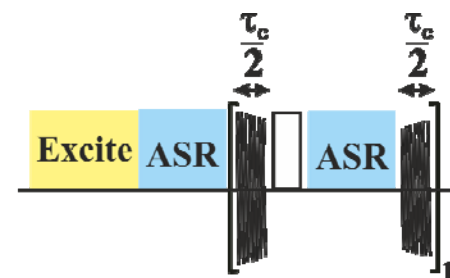
Métodos de adquisición

Interferogram



$$\propto \frac{1}{\sqrt{n^\circ \text{ incrementos}}}$$

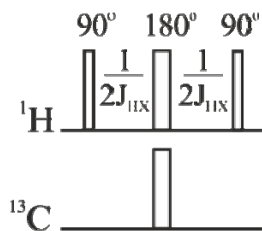
Real-time



100 %

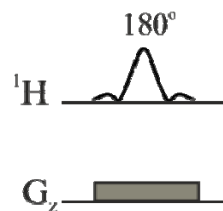
Métodos de reenfoque de los espines activos

BIRD



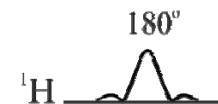
1.1 %

ZS



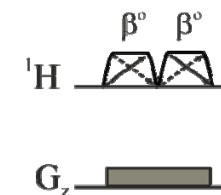
0.5 - 10 %

BS

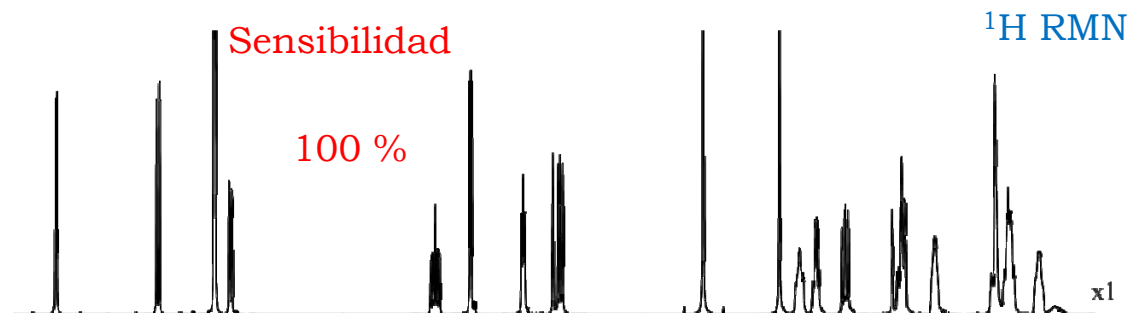
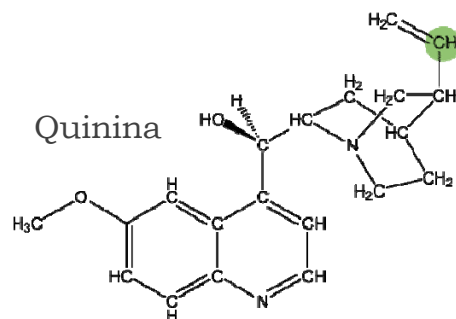
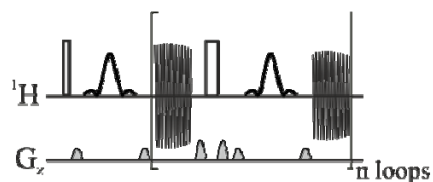


≥ 100 %

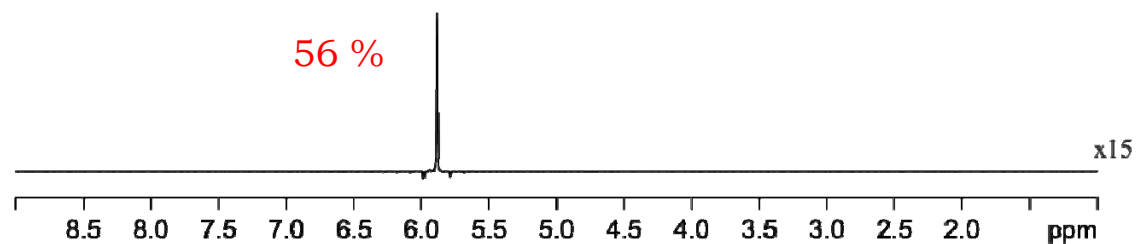
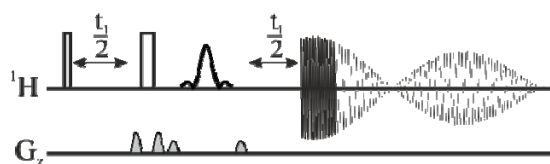
PSYCHE



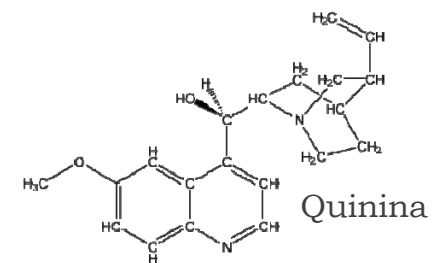
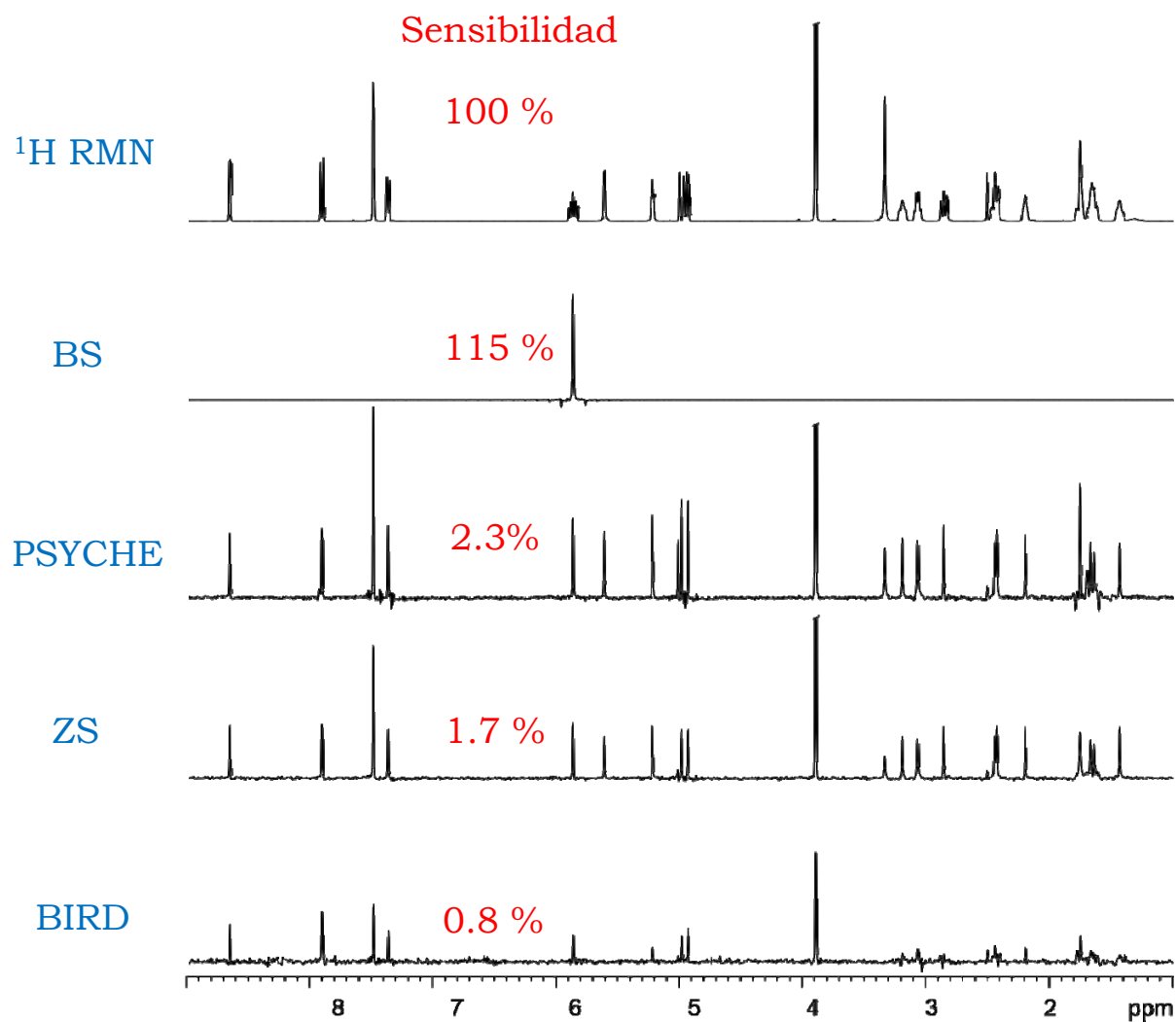
3 - 20 %

Interferograma vs *Real-time**Real-time*

Interferograma



Todos los experimentos fueron adquiridos en el mismo tiempo experimental (3 min). En ambos experimentos BS *pure shift* se usó un pulso selectivo Rsnob de 20 ms y en la versión interferograma 20 incrementos

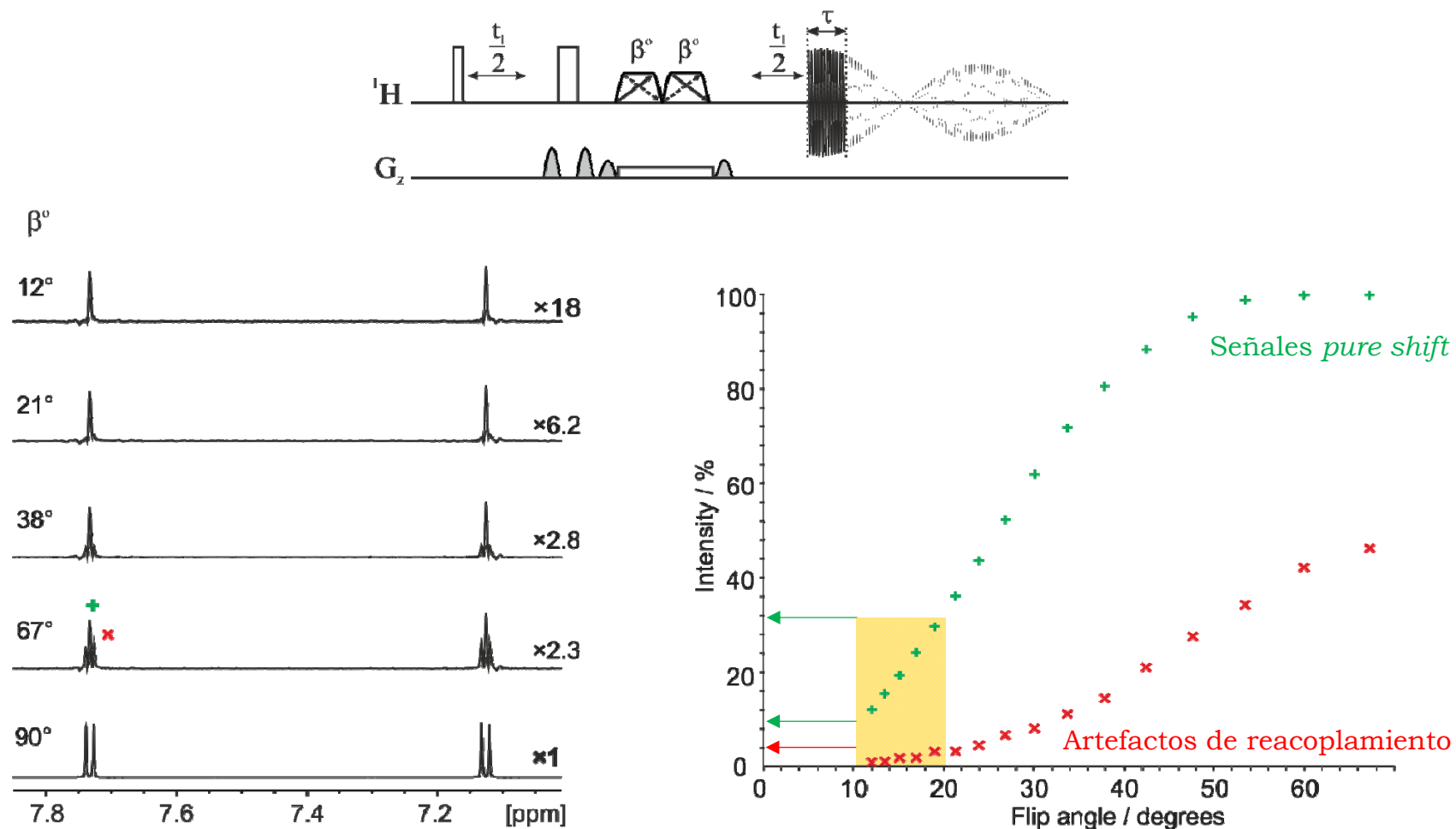
BIRD vs ZS vs BS vs PSYCHE

Máxima sensibilidad

Limitada por el ángulo del pulso saltire ($\beta=15^\circ$)Limitada por el ancho de la porción (*slice*) de muestra invertidaLimitada por la abundancia natural del ¹³C

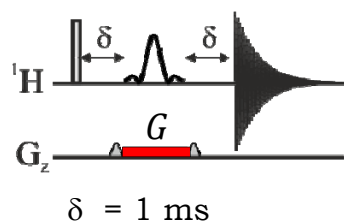
Todos los experimentos fueron adquiridos con 4 scans en un tiempo experimental de 1 min (¹H RMN) y 5 min (*pure shift*)

PSYCHE

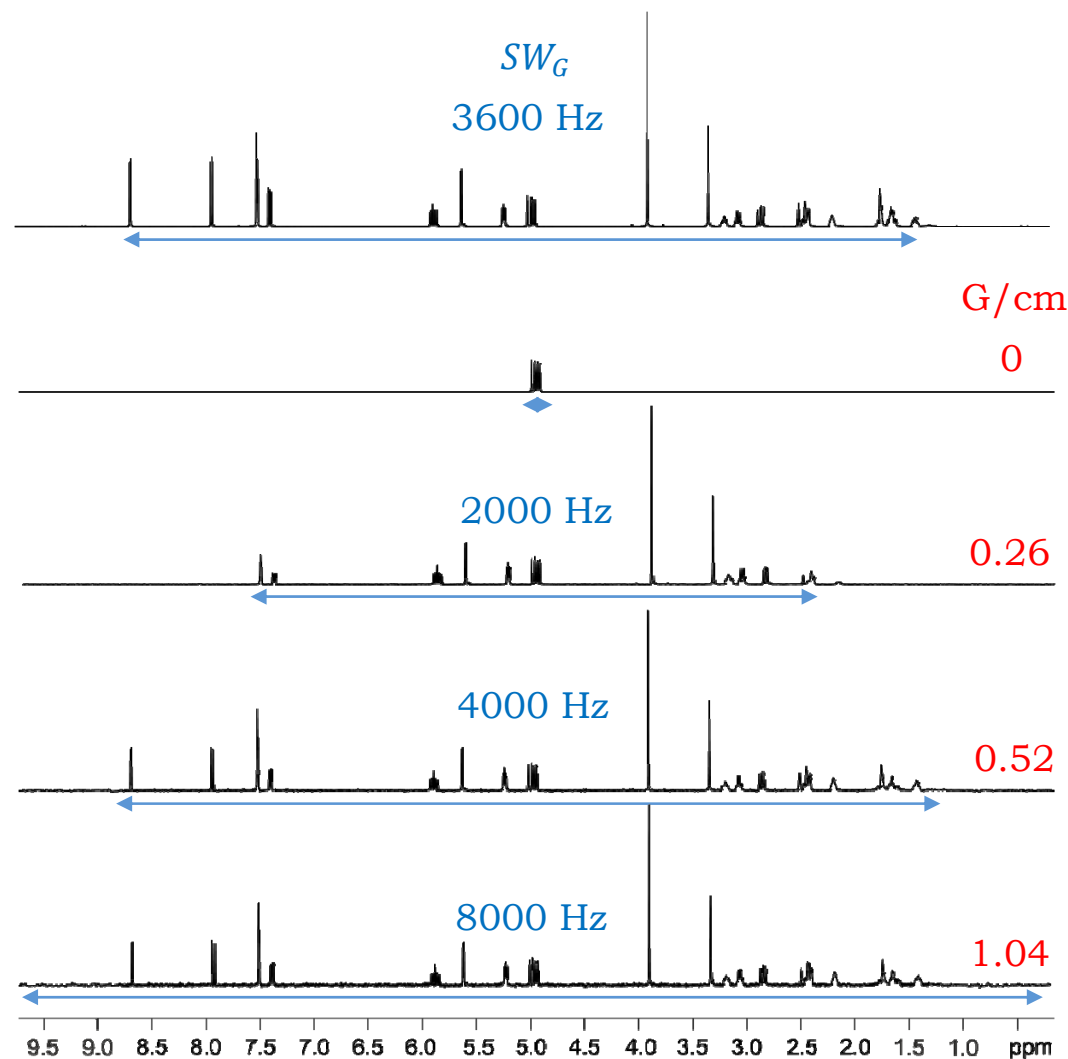


Ajustar el valor de β para obtener la mayor relación señal-ruido posible compatible la relación señal-artefacto aceptada (dependiendo del sistema de espín y de la aplicación)

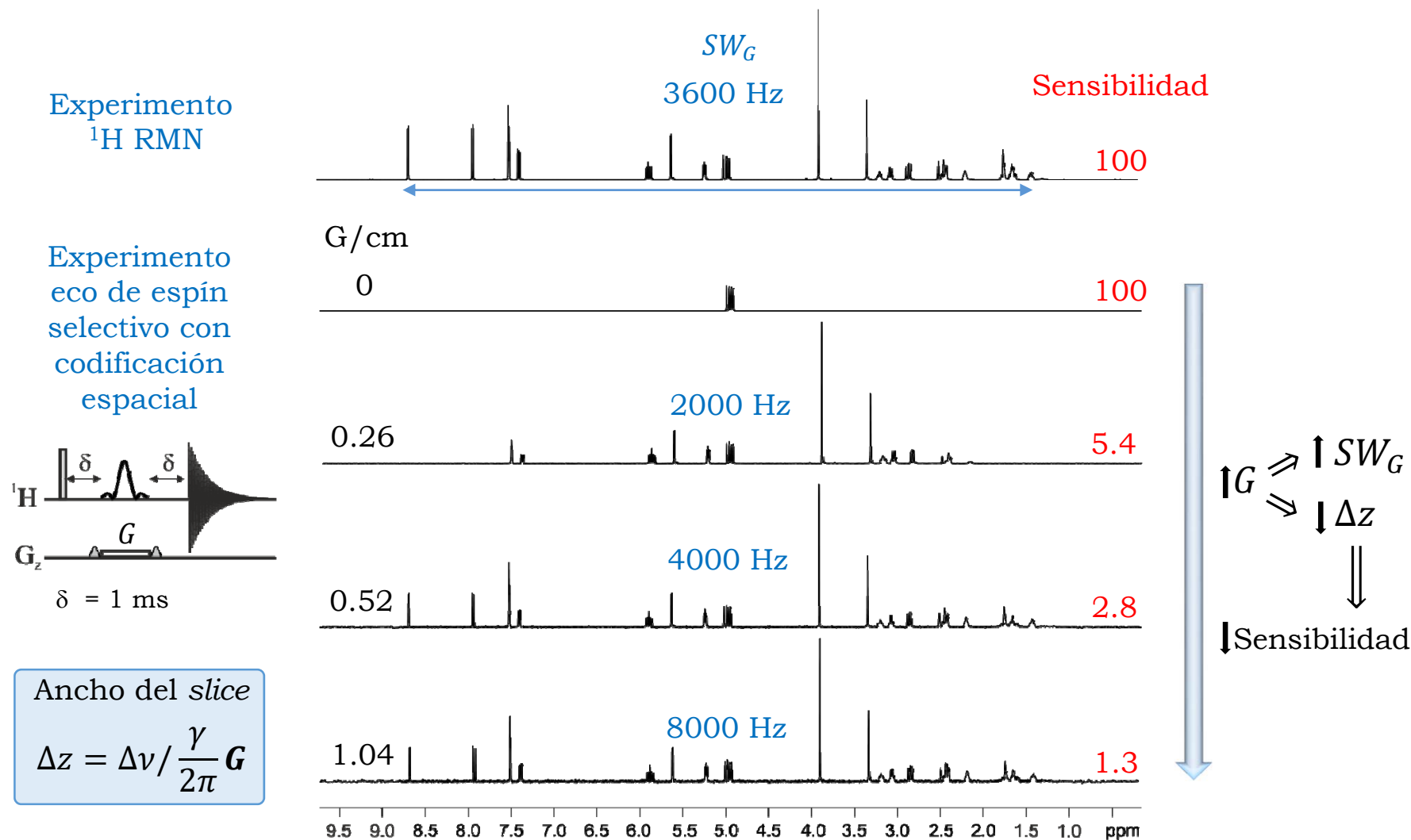
Zangger-Sterk (ZS)

¿Qué gradiente de codificación (G) utilizar?Experimento
 ^1H RMNExperimento
eco de espín
selectivo con
codificación
espacial

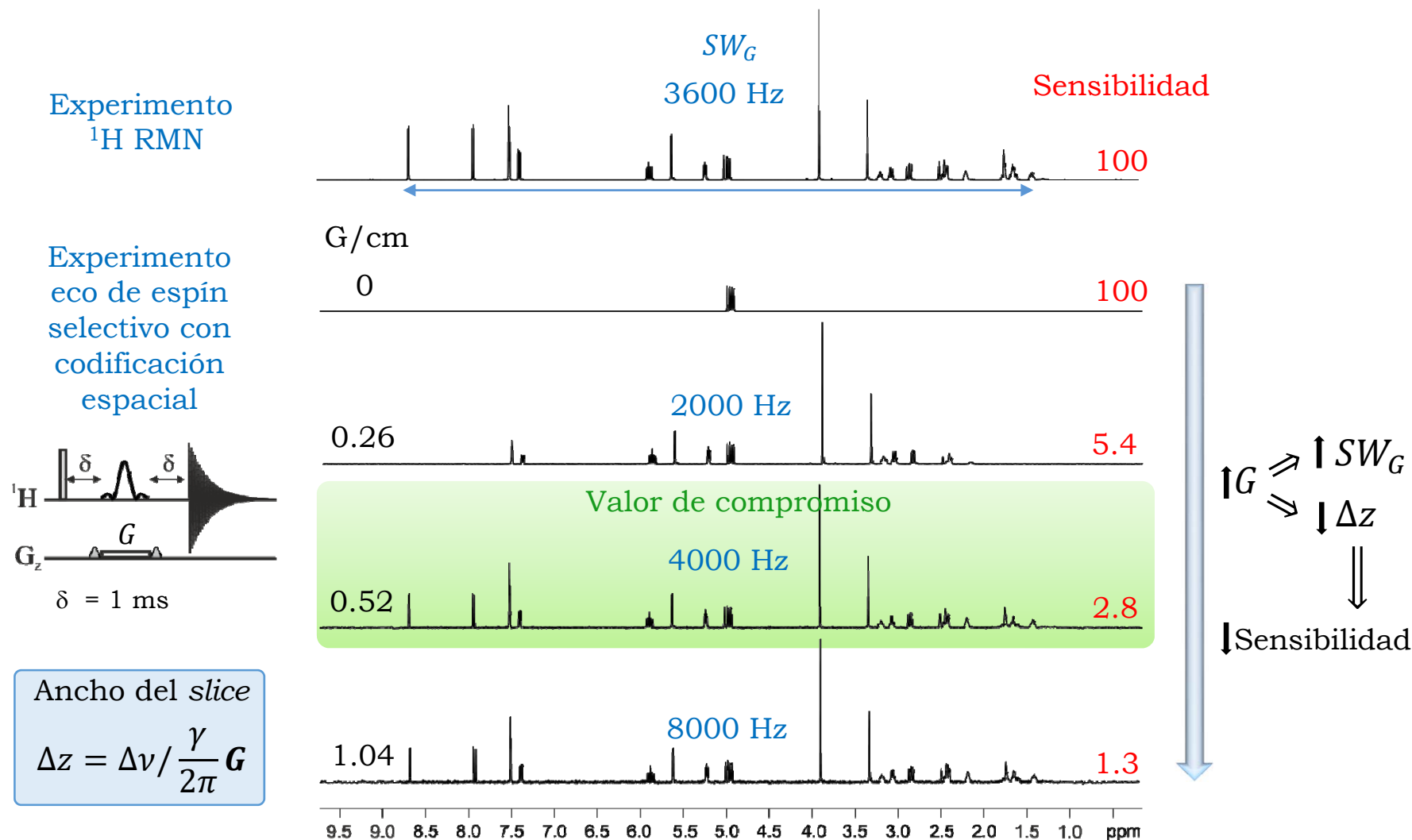
$$G = \frac{2\pi SW_G}{\gamma L}$$

 $\uparrow G \Rightarrow \uparrow SW_G$

Zangger-Sterk (ZS)

Ancho del *slice* vs Sensibilidad

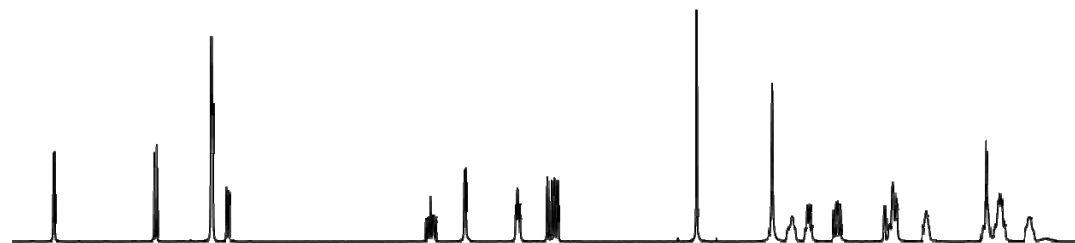
Zangger-Sterk (ZS)

Ancho del *slice* vs Sensibilidad

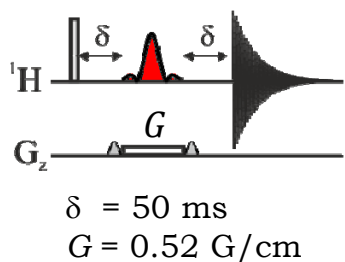
Zangger-Sterk (ZS)

¿Cómo saber la selectividad del pulso ($\Delta\nu$) requerida?

Experimento ^1H RMN



Experimento eco de espín selectivo con codificación espacial

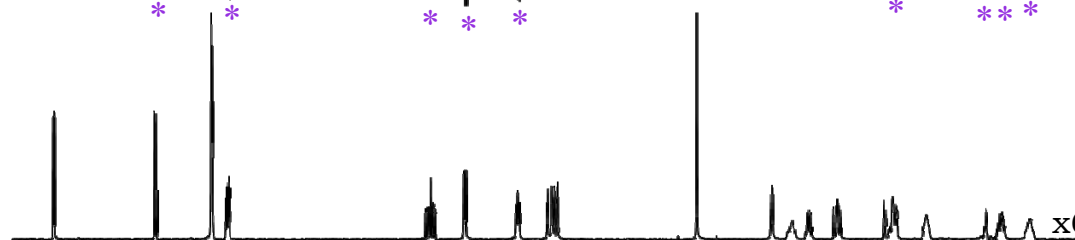


Señales moduladas por J_{HH}

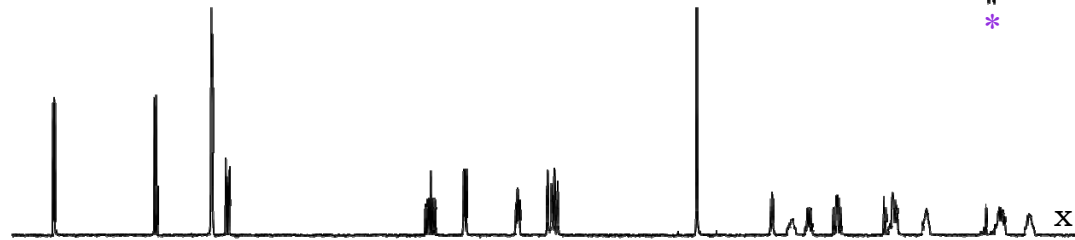


Rsnob

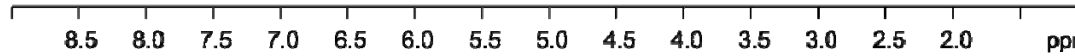
5 ms
 $(\Delta\nu = 466 \text{ Hz})$



30 ms
 $(\Delta\nu = 78 \text{ Hz})$



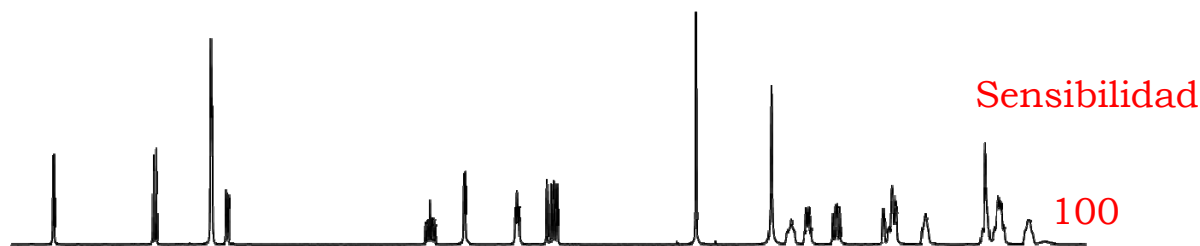
50 ms
 $(\Delta\nu = 47 \text{ Hz})$



Zangger-Sterk (ZS)

Ancho del slice vs Sensibilidad

Experimento
 ^1H RMN

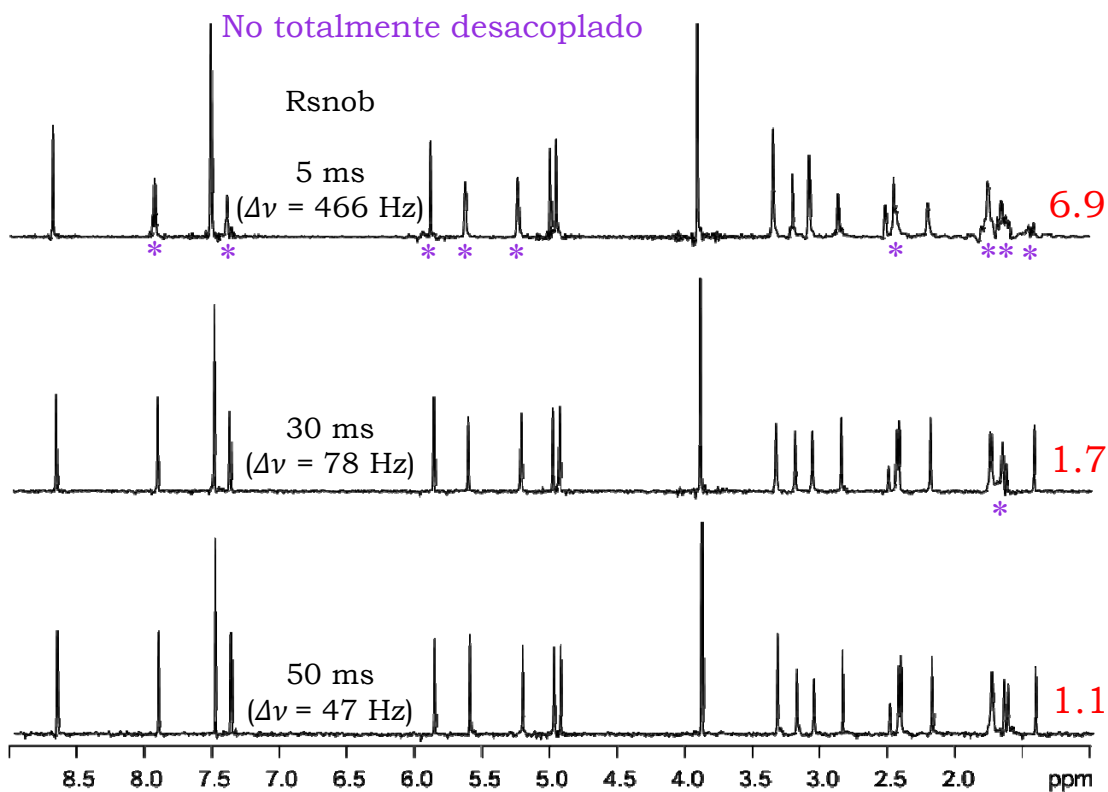


ZS pure shift
interferograma

Ancho del slice

$$\Delta z = \Delta\nu / \frac{\gamma}{2\pi} G$$

Todos los experimentos fueron adquiridos con 2 escaneos en un tiempo experimental de 8 s (^1H RMN) y 2 min (*pure shift*)

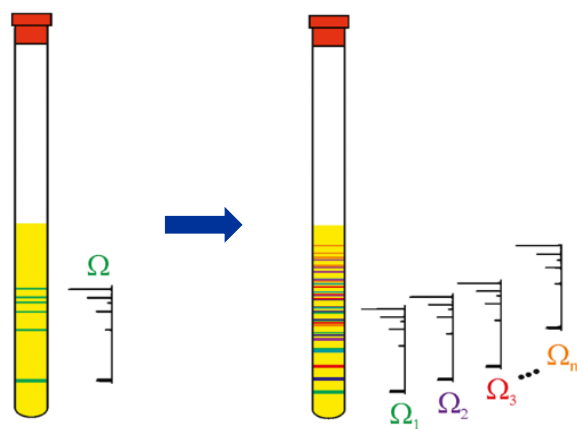


Zangger-Sterk (ZS)

¿Cómo aumentar la sensibilidad?

Utilizando pulsos selectivos de multi-frecuencia

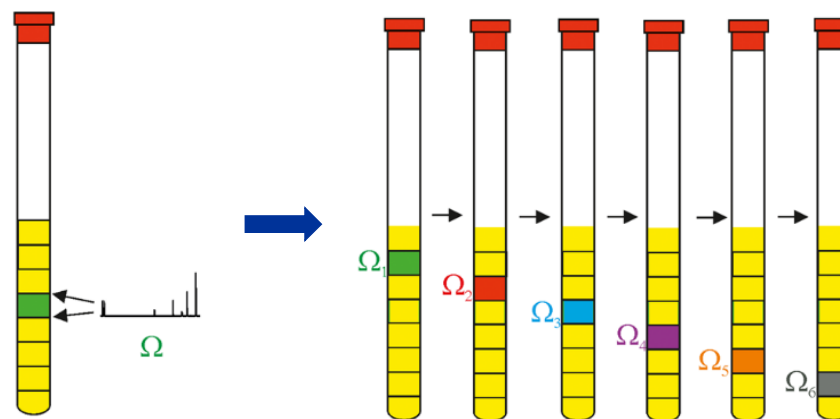
Excitación y detección simultánea
de los diferentes *slices*



Equidistante *Chem. Eur. J.* 19, 15472 (2013)

No equidistante *Angew. Chem. Int. Ed.* 54, 6016 (2015)

Excitación y detección secuencial
de los diferentes *slices*

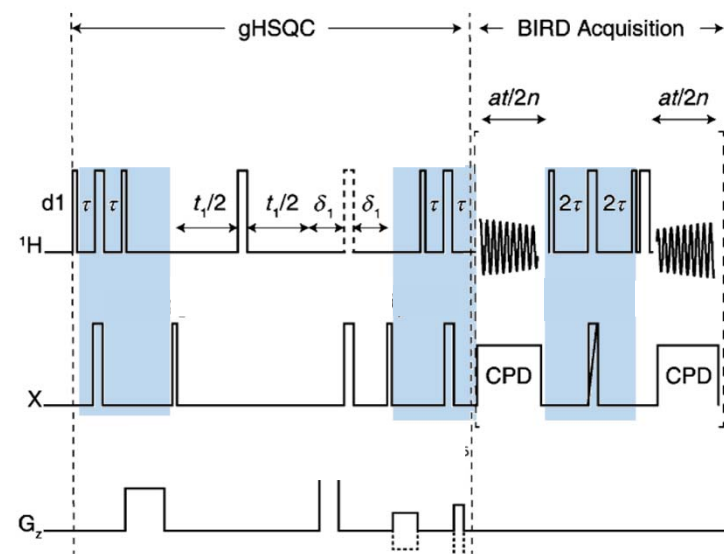
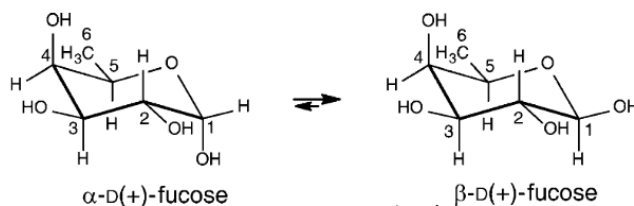
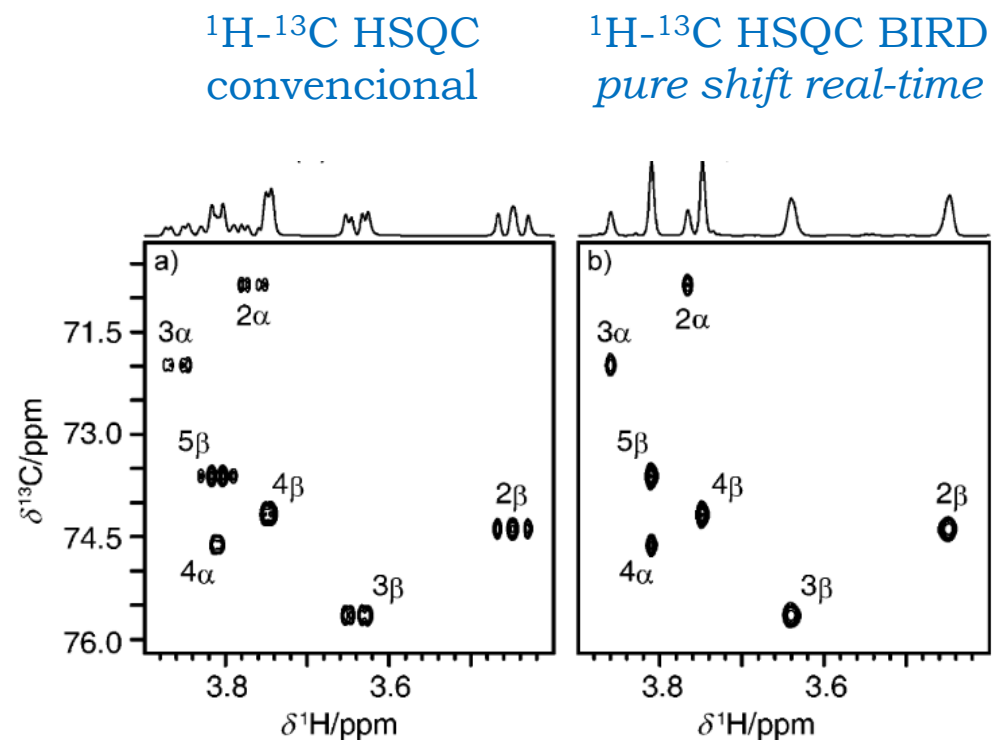


J. Magn. Reson. 233, 92 (2013)

Transfiriendo magnetización desde los protones no utilizados (pasivos)
a los excitados (activos)

Chem. Commun. 50, 8550 (2014)

2D HSQC BIRD pure shift real-time

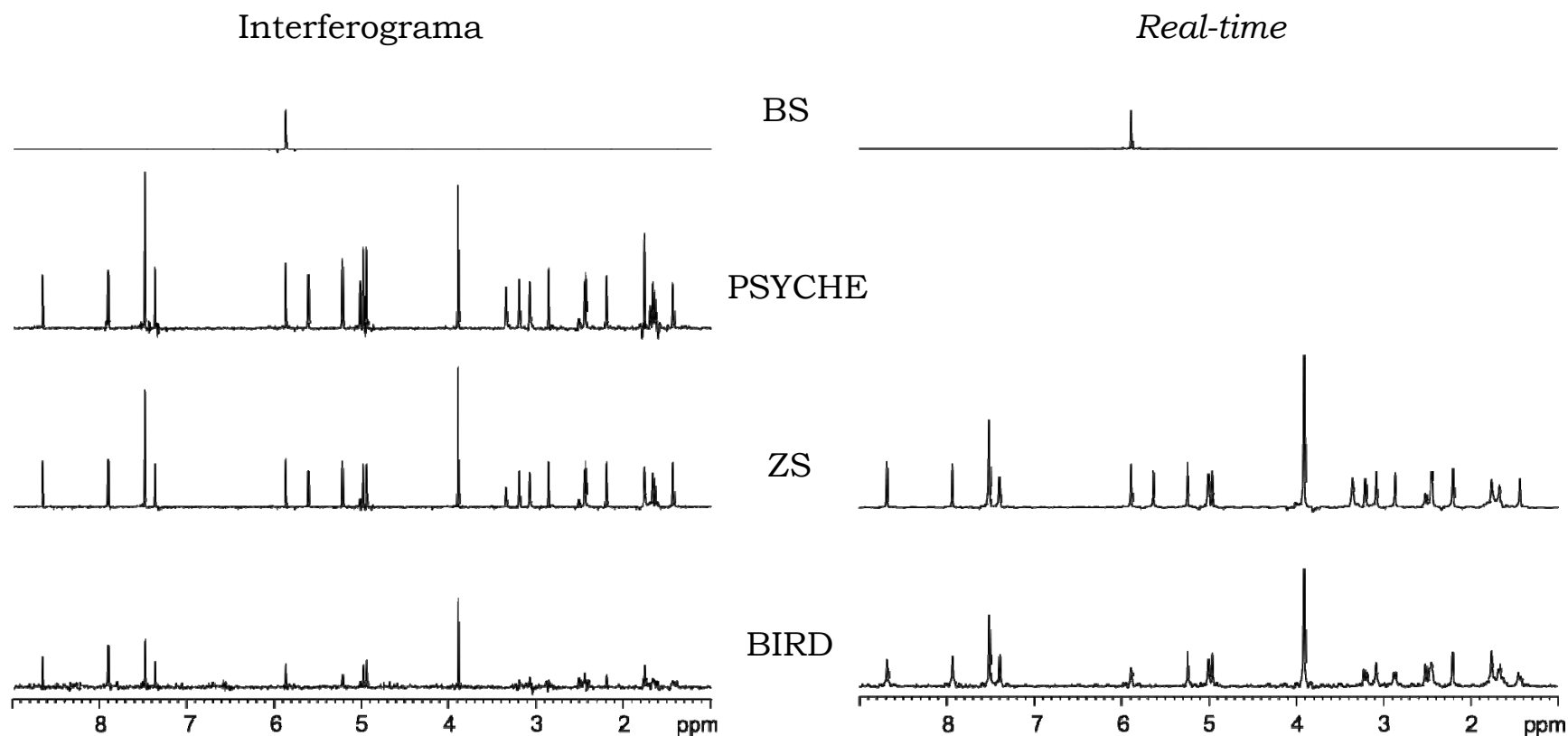


Secuencia de pulsos del experimento
 ^1H - ^{13}C HSQC BIRD *pure shift real-time*

Aumento simultaneo de la sensibilidad y la resolución espectral

Calidad espectral
de los
experimentos
Pure shift

¿Qué debemos considerar cuando hablamos de calidad espectral?



Resolución

Resolución digital
Ancho de línea

Artefactos

Troceado de la FID
Filtro digital
Discontinuidad de la fase
Pulsado rápido

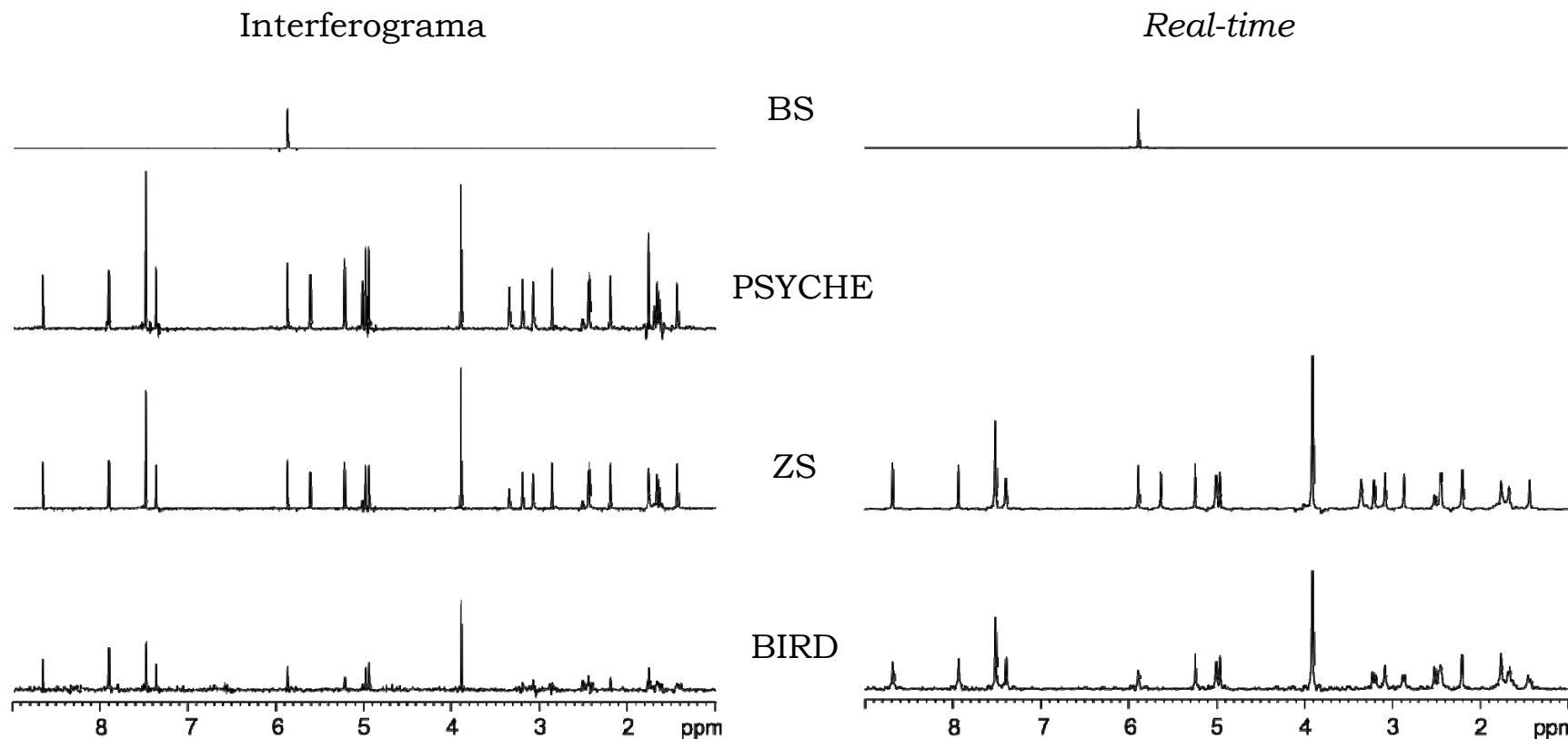
Señales no deseadas

Re-acoplamiento
Acoplamiento fuerte

Efectos no deseados

Calibración pulso
Pulsos imperfectos
Homogeneidad del pulso

¿Qué debemos considerar cuando hablamos de calidad espectral?



Resolución

- Resolución digital
- Ancho de línea

Artefactos

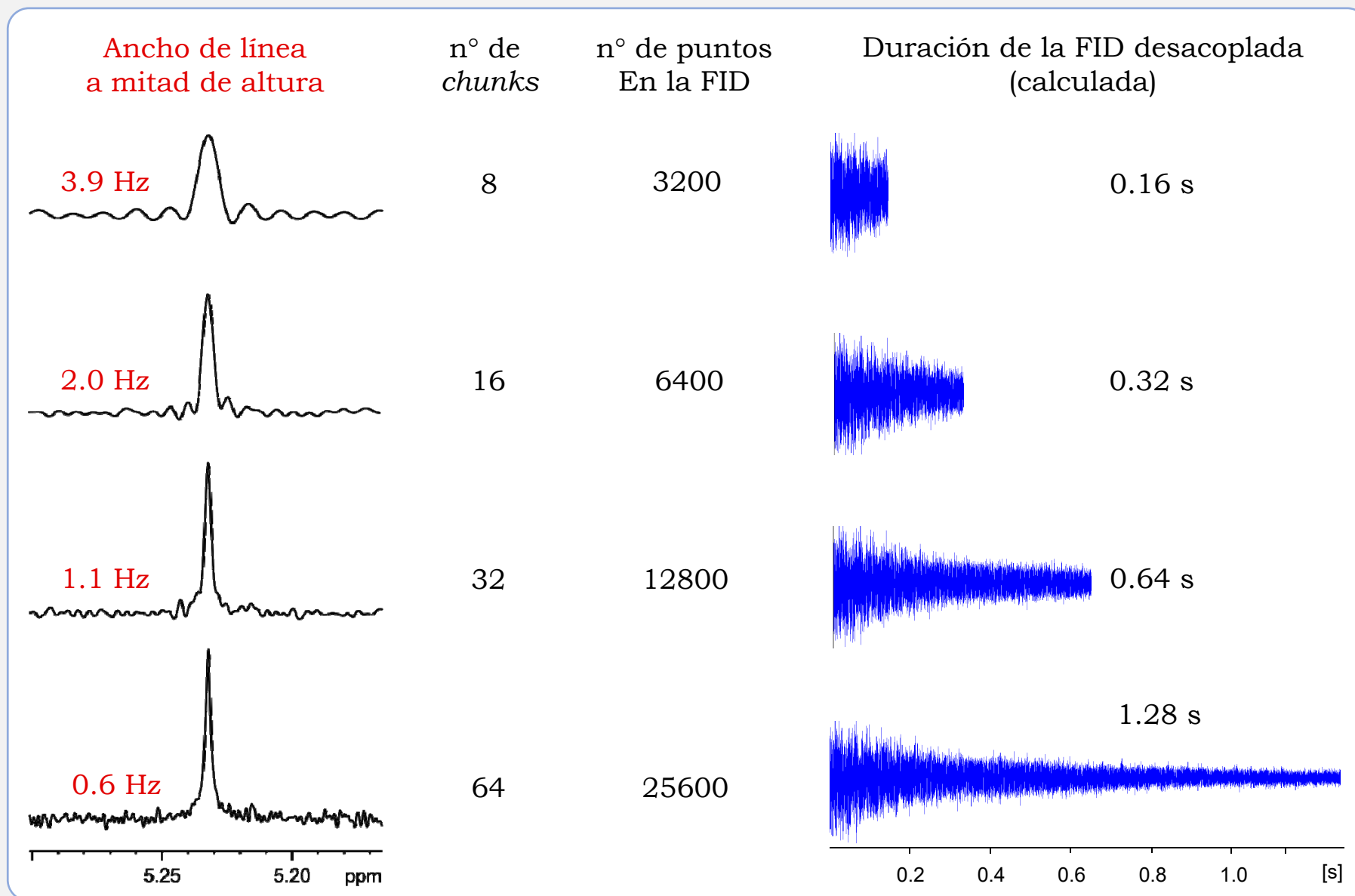
- Troceado de la FID
- Filtro digital
- Discontinuidad de la fase
- Pulsado rápido

Señales no deseadas

- Re-acoplamiento
- Acoplamiento fuerte

Efectos no deseados

- Calibración pulso
- Pulsos imperfectos
- Homogeneidad del pulso

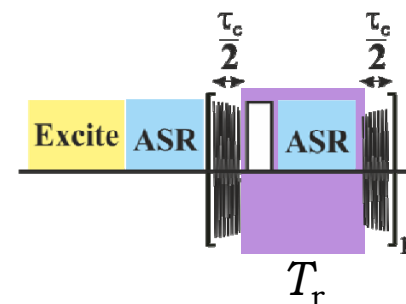
Pure shift interferograma: resolución de las señales

Pure shift real-time: resolución de las señales

La resolución de las señales depende de:

Resolución de la FID

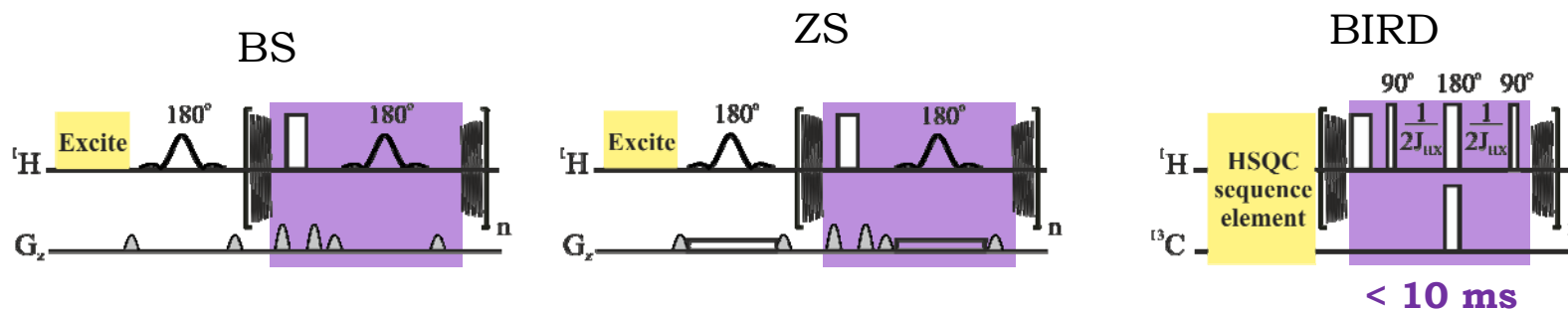
$\uparrow AQ \Rightarrow \uparrow FID_{res} \Rightarrow \uparrow \tau_c (n = cte) \Rightarrow \uparrow$ Modulación de J_{HH}
 $\Rightarrow \uparrow n (\tau_c = cte) \Rightarrow \uparrow$ Problemas asociados a la falta de reproducibilidad entre *chunks*



Duración del elemento de reenfoque (J_r)

$\uparrow T_r \Rightarrow \uparrow$ Pérdida de señal por $T_2 \Rightarrow \uparrow$ Discontinuidad de la FID
 Relajación transversal durante el *chunk*

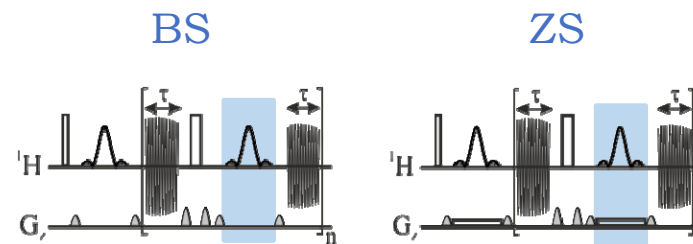
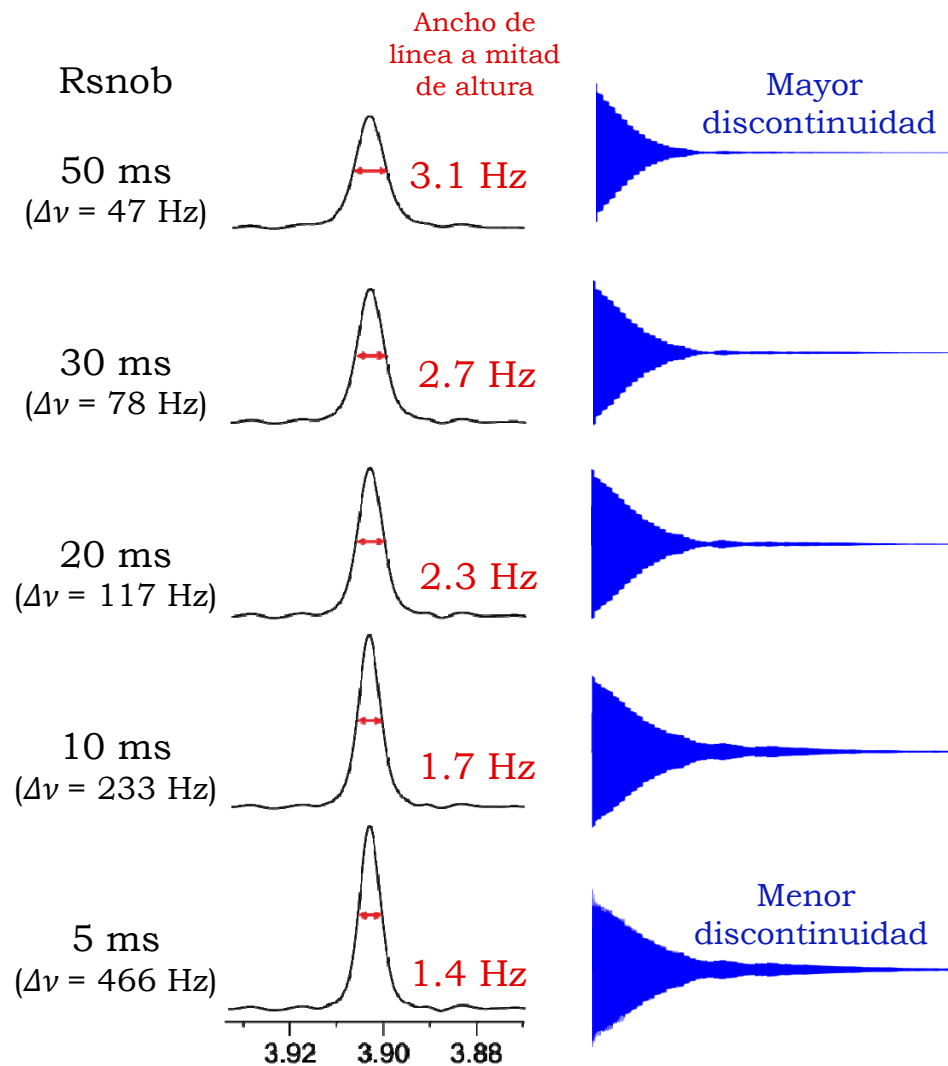
$\Rightarrow \uparrow$ Ancho de las señales
 La FID decae más rápido
 $\Rightarrow \uparrow$ Artefactos debidos troceado de la FID



La duración del elemento de reenfoque depende de la duración del pulso selectivo (de la selectividad requerida)

$< 10 \text{ ms}$
 $^1J_{CH} = 120 - 200 \text{ Hz}$
 $1 / (2 \ ^1J_{CH}) = 4 - 2.5 \text{ ms}$

BS y ZS *pure shift* real-time: resolución de las señales



Cuanto más selectivo es el pulso mayor es su duración

↓
Aumenta el tiempo entre los *chunks* de la FID

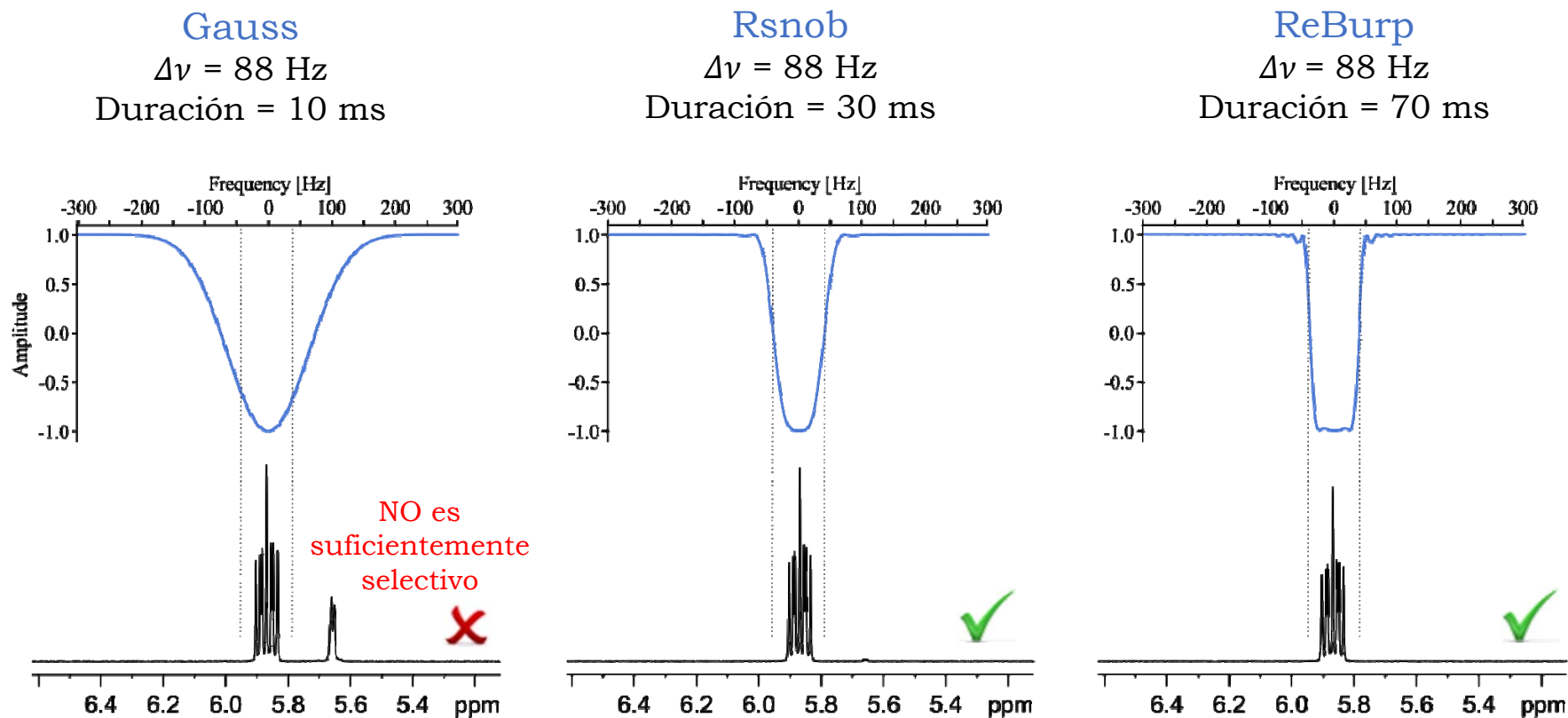
↓
Mayor discontinuidad en la FID

↘
La FID decae más rápido

↓
Mayor ancho de línea

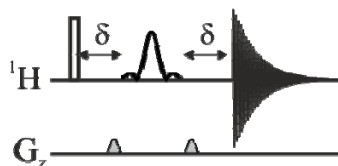
↘
Mayor intensidad de los artefactos debidos al troceado de la FID

BS y ZS *pure shift*: duración y forma del pulso selectivo



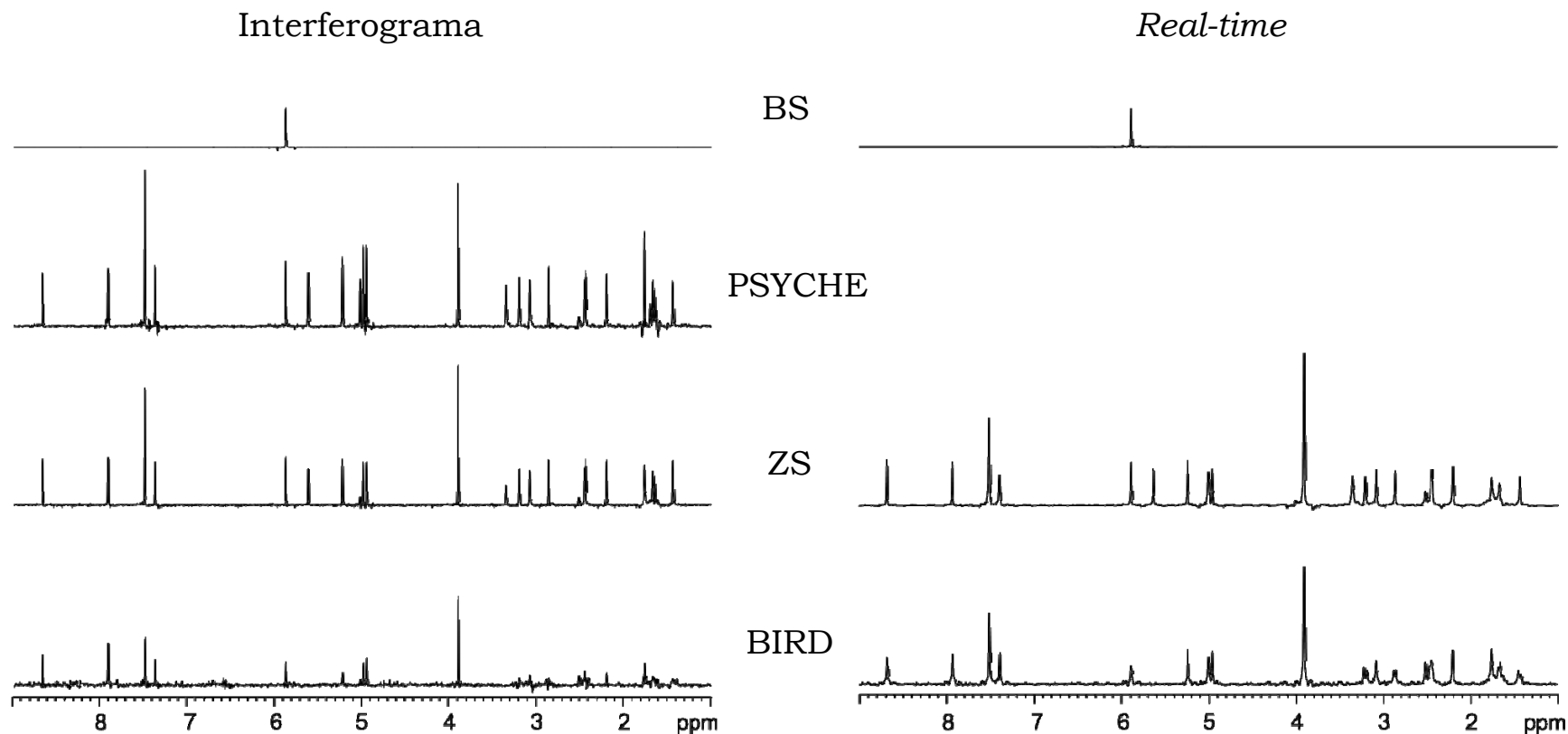
Nota: Para desacoplar señales fuertemente acopladas es necesario usar pulsos muy selectivos

Secuencia de pulsos utilizada:
eco de espín selectivo



Bruker pp: selgpse

¿Qué debemos considerar cuando hablamos de calidad espectral?



Resolución

Resolución digital
Ancho de línea

Artefactos

Troceado de la FID
Filtro digital
Discontinuidad de la fase
Pulsado rápido

Señales no deseadas

Re-acoplamiento
Acoplamiento fuerte

Efectos no deseados

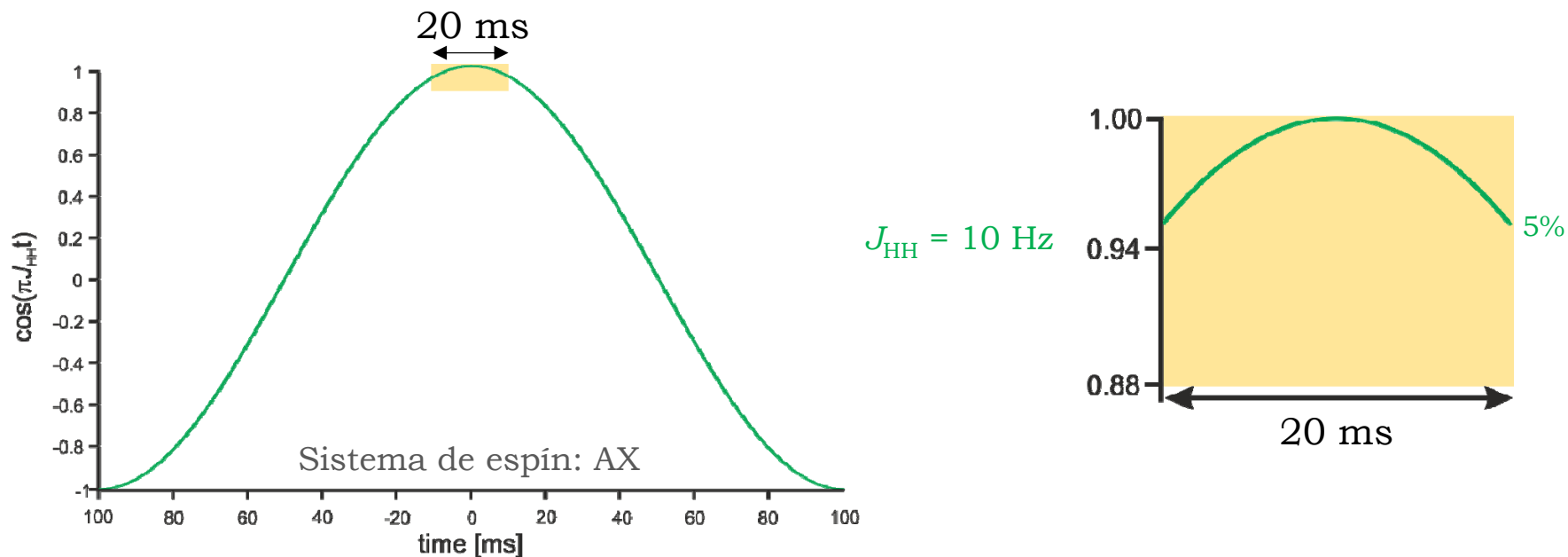
Calibración pulso
Pulsos imperfectos
Homogeneidad del pulso

El origen de los artefactos debidos al troceado de la FID

Chunking sidebands

Aproximación:

Si la duración del *chunk* es $\ll 1/J_{HH}$ el efecto de la evolución de J_{HH} es despreciable



En los experimentos *pure shift* la duración del *chunk* (τ_c) utilizada es $\approx 20\text{-}40 \text{ ms}$

Adquisición interferograma: $\tau_c = 1/SW_1$

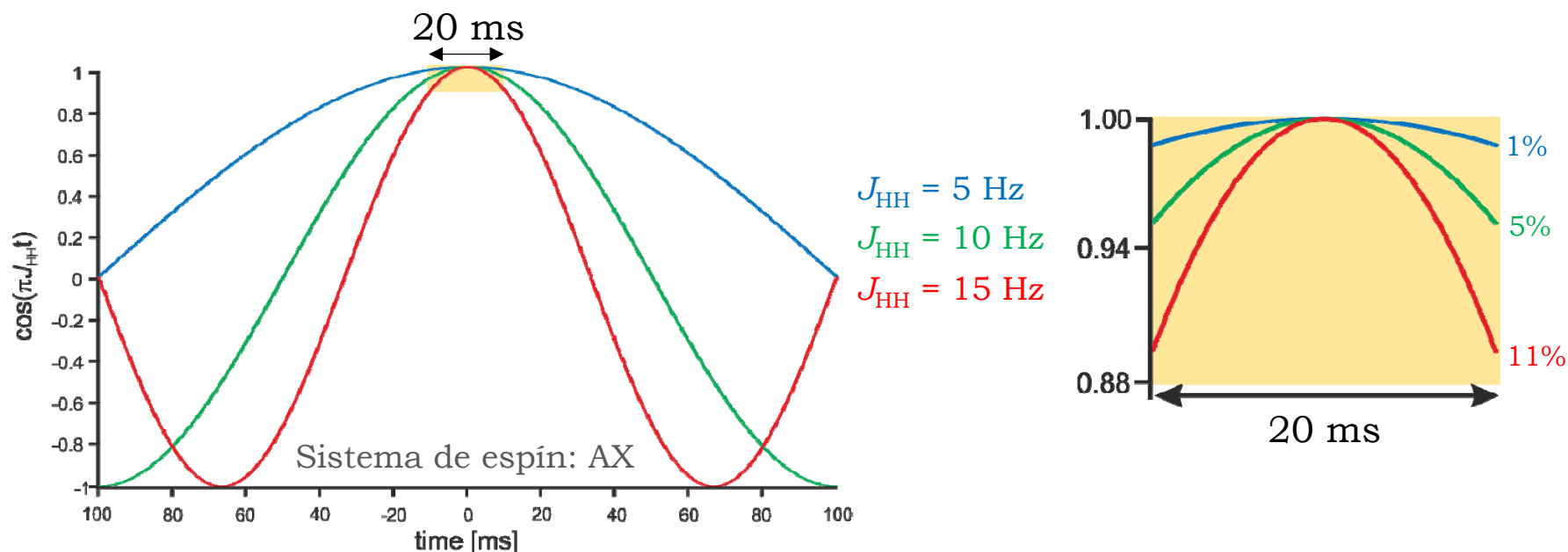
Adquisición *real-time*: $\tau_c = AQ/n$

El origen de los artefactos debidos al troceado de la FID

Chunking sidebands

Aproximación:

Si la duración del *chunk* es $\ll 1/J_{HH}$ el efecto de la evolución de J_{HH} es despreciable



En los experimentos *pure shift* la duración del *chunk* (τ_c) utilizada es ≈ 20 -40 ms

Adquisición interferograma: $\tau_c = 1/SW_1$

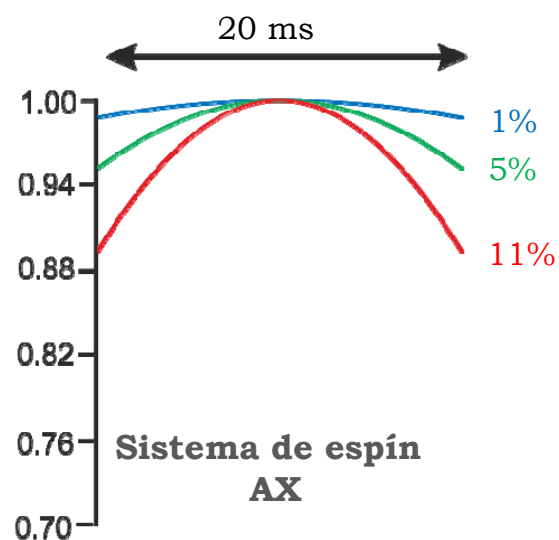
Adquisición *real-time*: $\tau_c = AQ/n$

El origen de los artefactos debidos al troceado de la FID

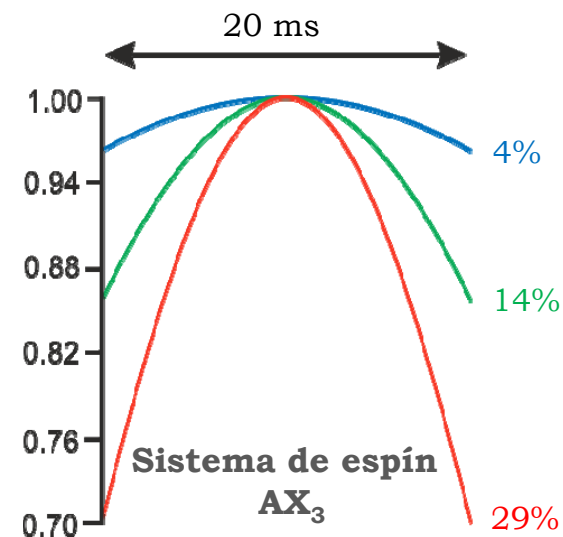
Chunking sidebands

Aproximación:

Si la duración del *chunk* es $\ll 1/J_{HH}$ el efecto de la evolución de J_{HH} es despreciable



$J_{HH} = 5$ Hz
 $J_{HH} = 10$ Hz
 $J_{HH} = 15$ Hz



En los experimentos *pure shift* la duración del *chunk* (τ_c) utilizada es ≈ 20 -40 ms

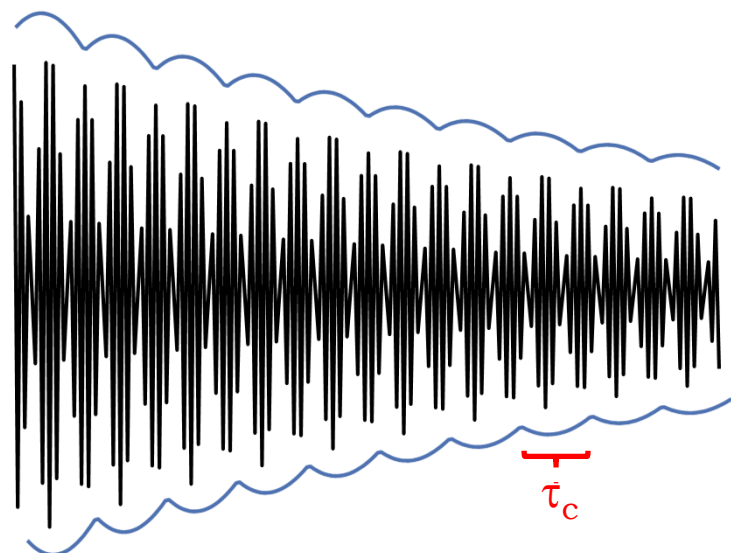
Adquisición interferograma: $\tau_c = 1/SW_1$

Adquisición *real-time*: $\tau_c = AQ/n$

Efecto debidos al troceado de la FID en el espectro

La adquisición de los datos en *chunks* de duración τ_c (s) da lugar en el espectro a bandas laterales (*chunking sidebands*) espaciadas $1/\tau_c$ (Hz)

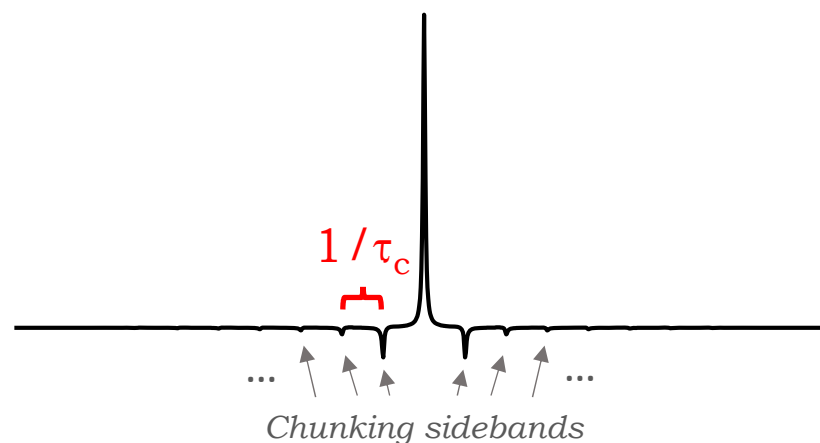
FID *pure shift*



Interferogram: $\tau_c = 1/SW_1$
Real-time: $\tau_c = AQ/n$

FT

Espectro *pure shift*

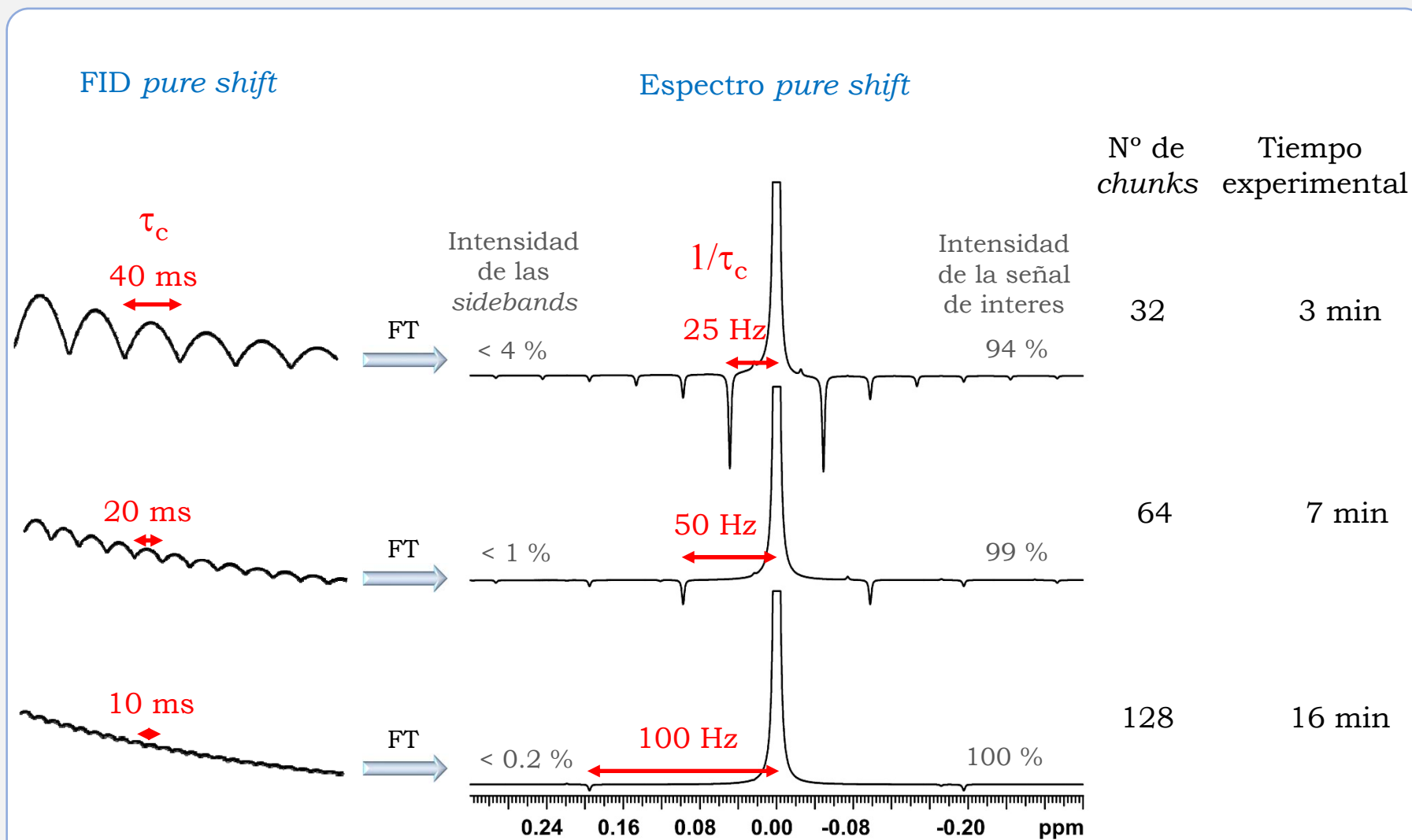


La amplitud de la banda lateral de orden m para un sistema de espines AX es:

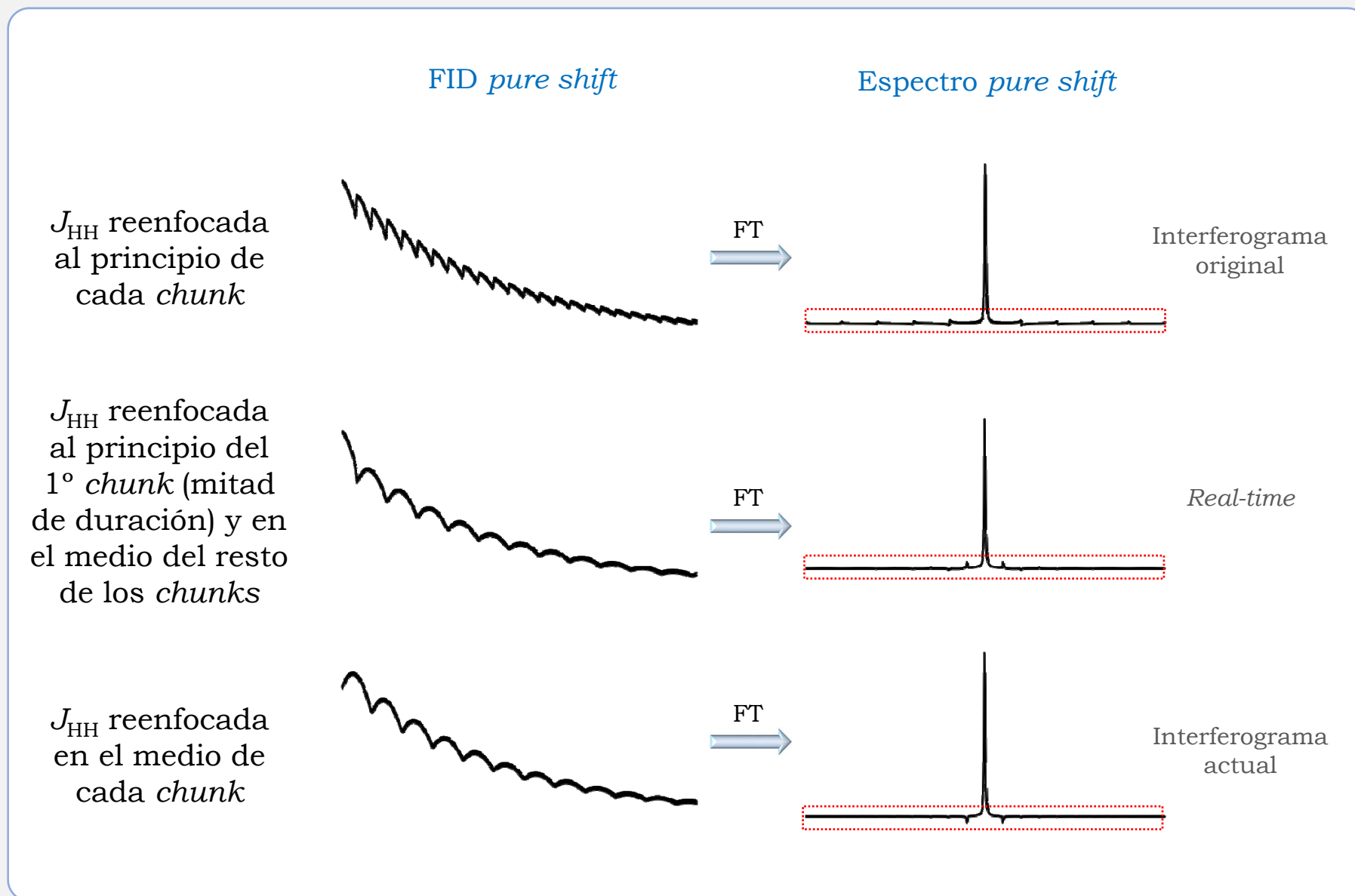
$$(\cos^2[\pi m] - \alpha m \cot[\pi/2\alpha] \sin[2\pi m]) / (1 - 4\alpha m^2)$$

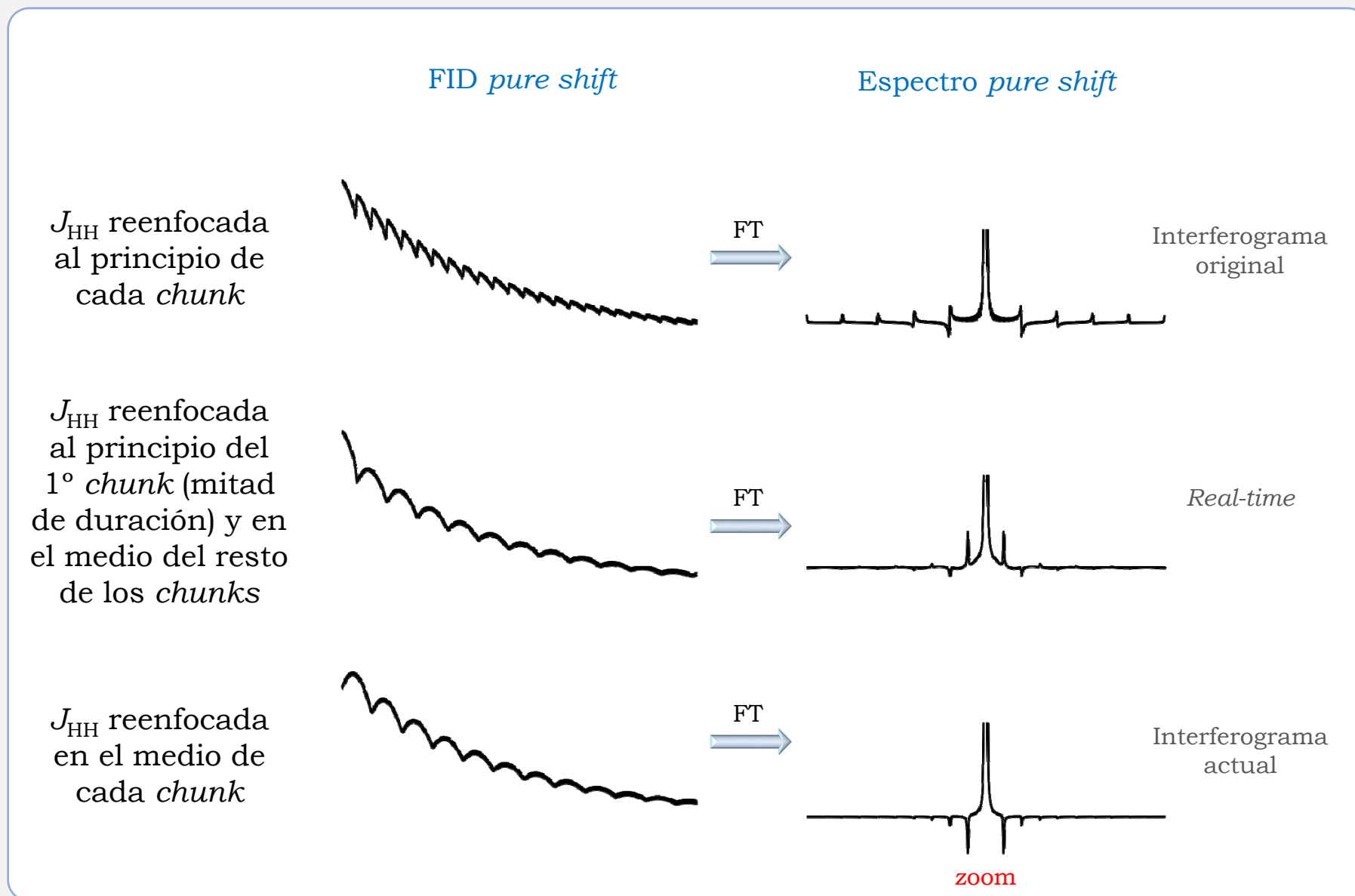
donde $\alpha = 1/(J_{HH} \tau_c)$

Efecto la duración del *chunk*



Espectros BS *pure shift* interferograma. Sistema de espines AX ($J_{AX} = 10$ Hz)
 En todos los casos la duración de la FID *pure shift* es 1.3 s, $d_1=2$ s y $ns=2$.

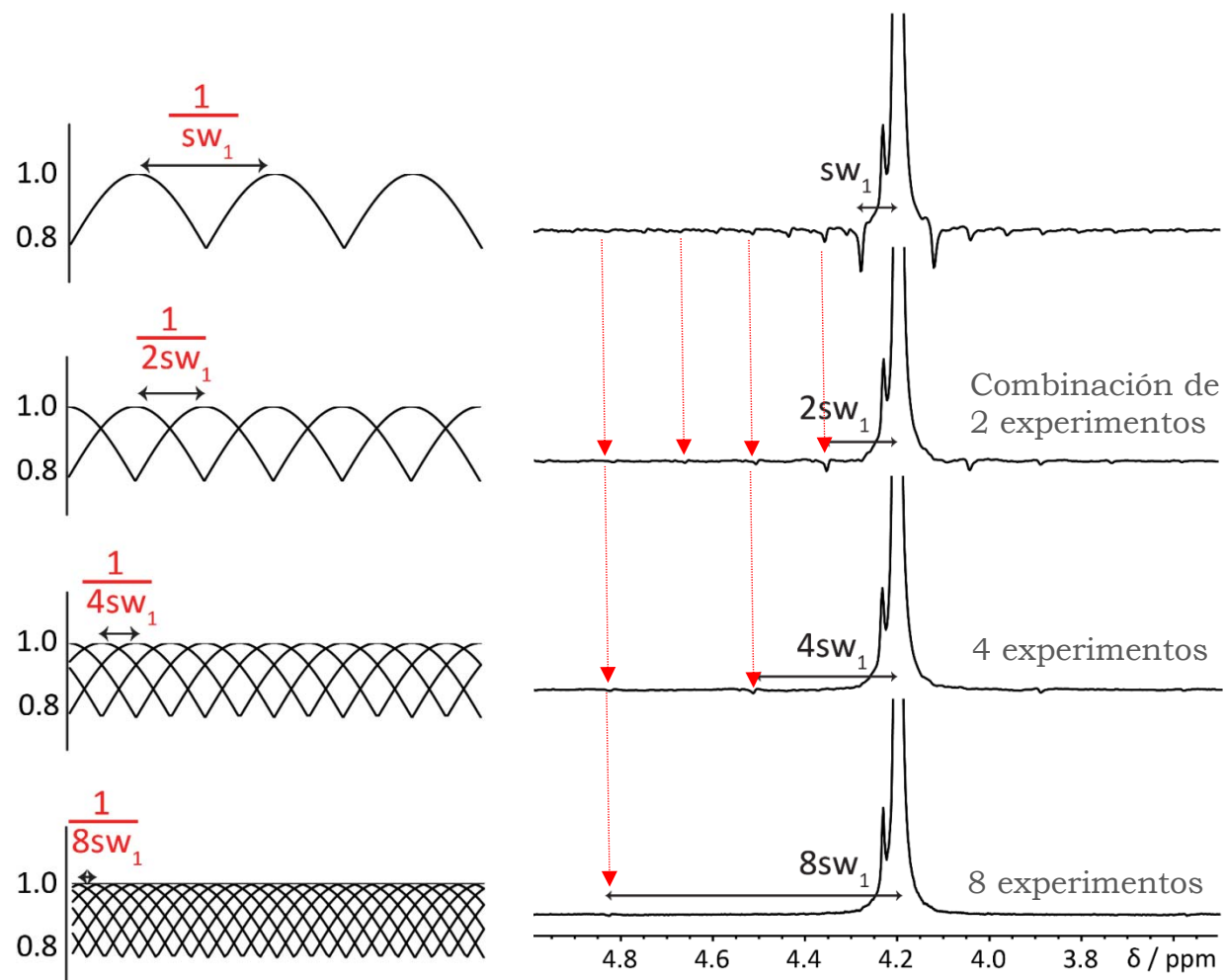
Efecto de la posición en el *chunk* donde J_{HH} es reenforcada

Efecto de la posición en el *chunk* donde J_{HH} es reenfocada

¿Cómo suprimir los artefactos debidos al troceado de la FID?

SAPPHIRE: Sideband Averaging by Periodic Phase Incrementation of Residual J evolution

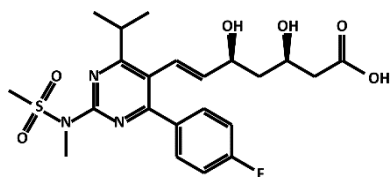
Variando sistemáticamente la duración del primer *chunk* en sucesivos experimentos y combinando las FIDs *pure shift* es posible suprimir la mayoría de las *chunking sidebands*



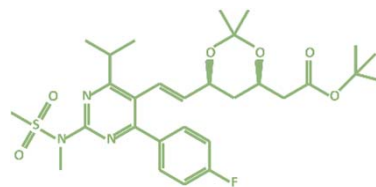
¿Cómo suprimir los artefactos debidos al troceado de la FID?

SAPPHIRE: Sideband Averaging by Periodic Phase Incrementation of Residual J evolution

Rosuvastatina
(97.2 %)

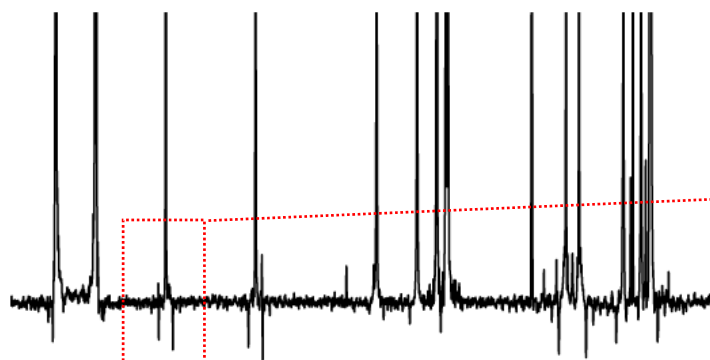


+



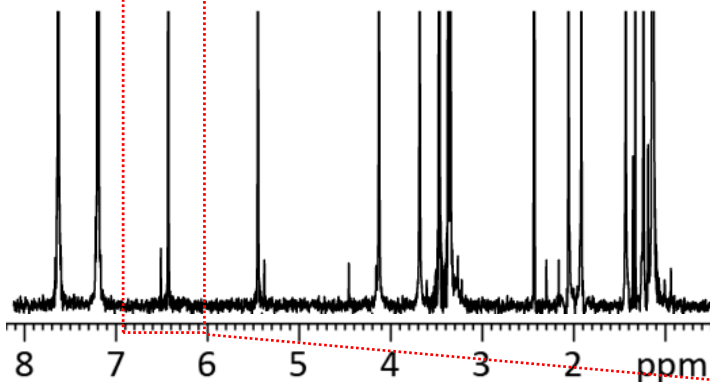
BEM
(2.8 %)

1D ZS
pure shift
interferograma
convencional

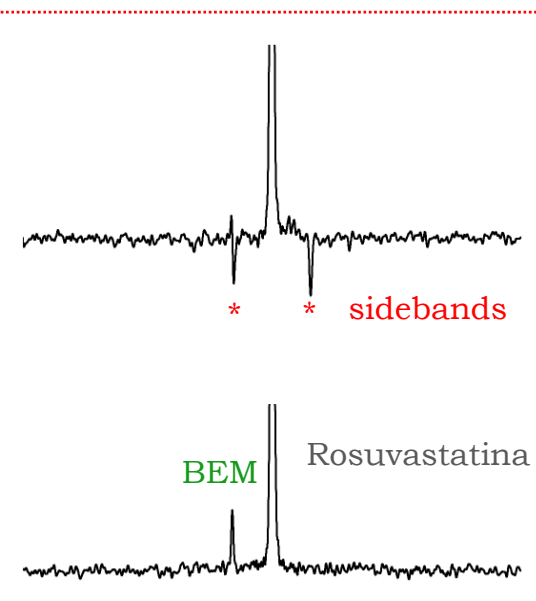


1D ZS
pure shift
interferograma
Sapphire

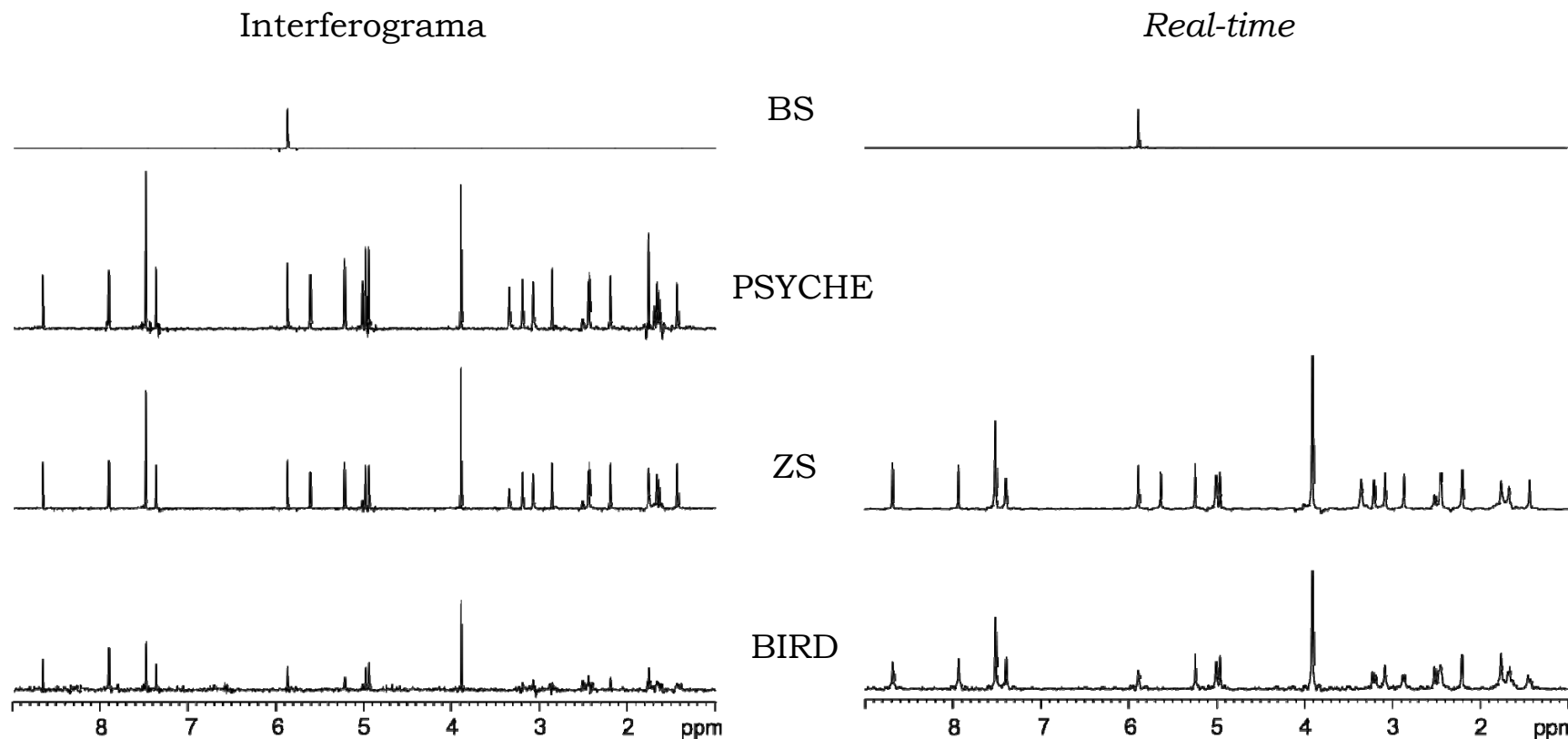
Combinando
8 experimentos



Una señal del BEM es cancelada
accidentalmente debido al solapamiento
con una banda lateral negativa



¿Qué debemos considerar cuando hablamos de calidad espectral?



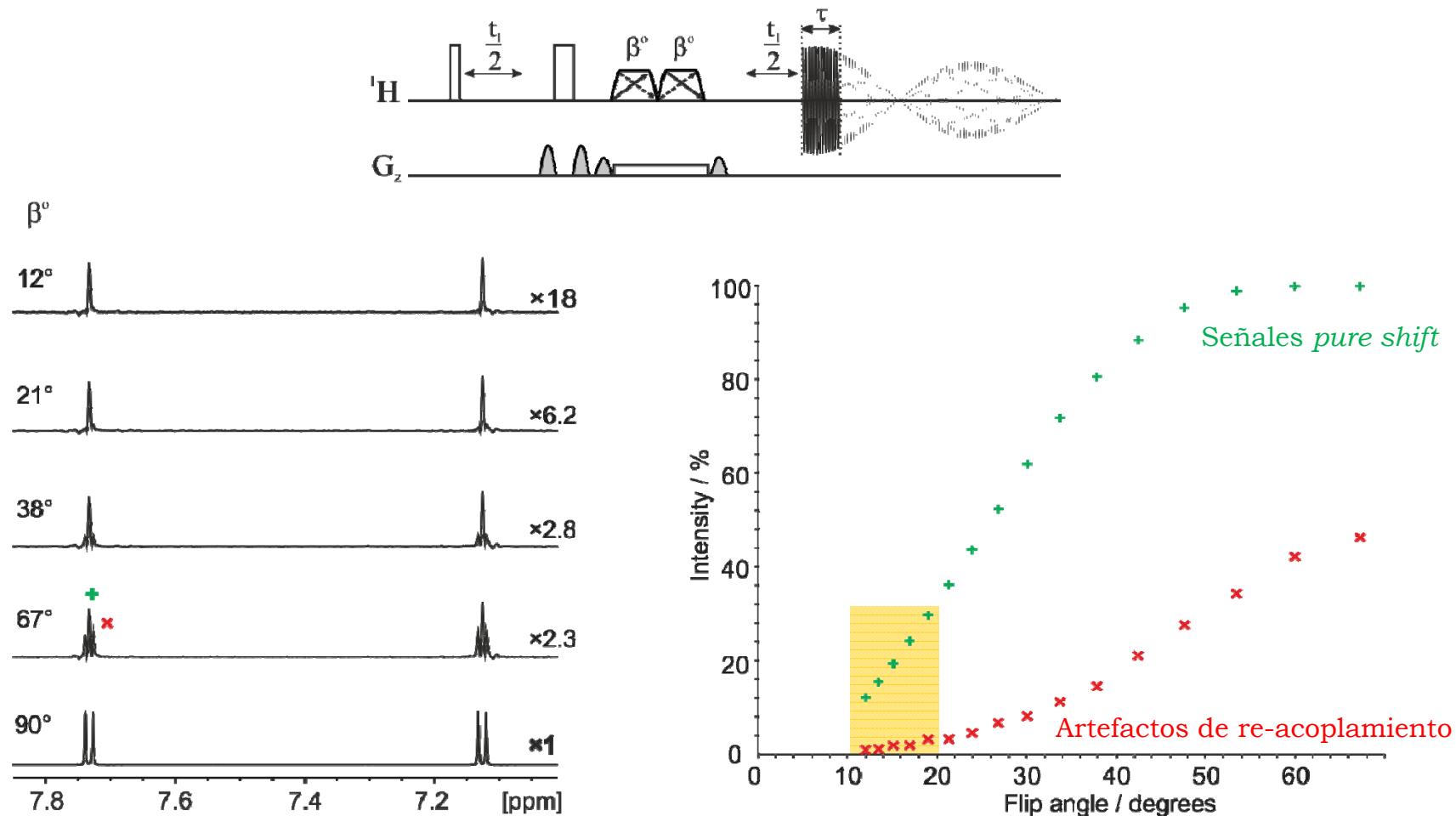
Resolución
 Resolución digital
 Ancho de línea

Artefactos
 Troceado de la FID
 Filtro digital
 Discontinuidad de la fase
 Pulsado rápido

Señales no deseadas
 Re-acoplamiento
 Acoplamiento fuerte

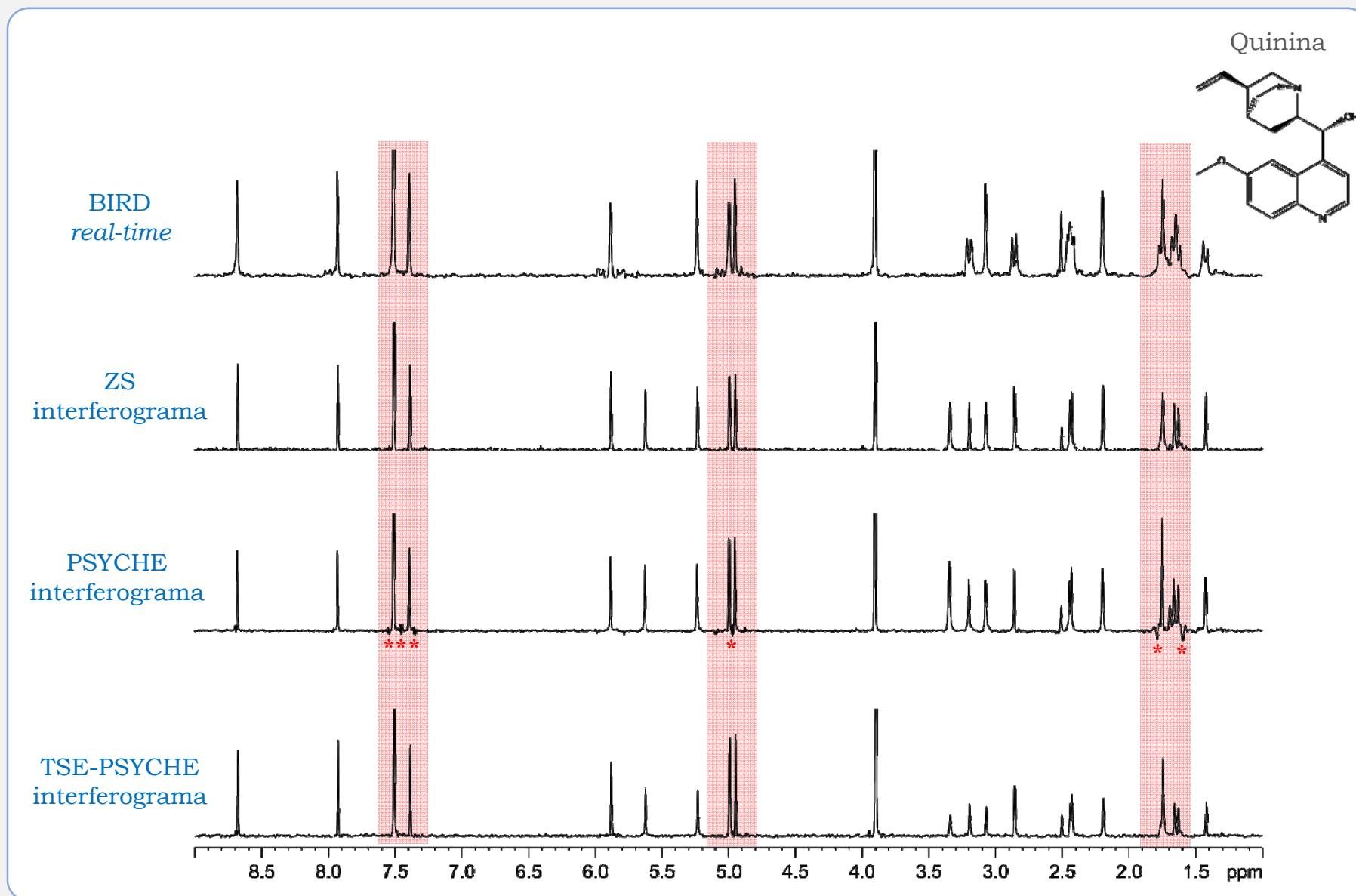
Efectos no deseados
 Calibración pulso
 Pulsos imperfectos
 Homogeneidad del pulso

Artefactos de re-acoplamiento en los espectros PSYCHE



Si una alta calidad espectral es deseada, es necesario reducir la presencia de los artefactos de re-acoplamiento. Cuanto menor es el valor de β mayor es la relación señal-artefacto (aunque disminuye la relación señal-ruido)

Artefactos de debido al acoplamiento fuerte de señales

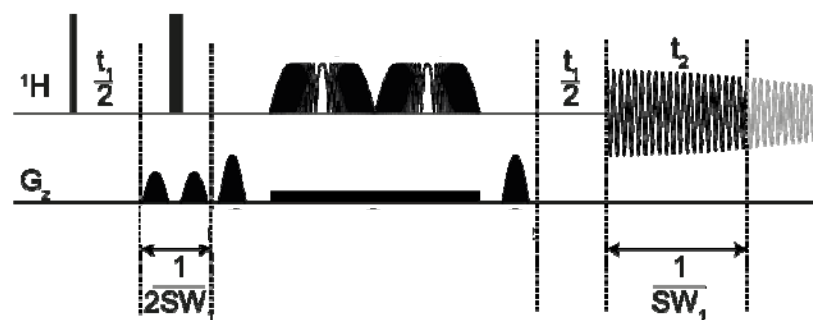


Artefactos de acoplamiento fuerte: PSYCHE vs TSE-PSYCHE

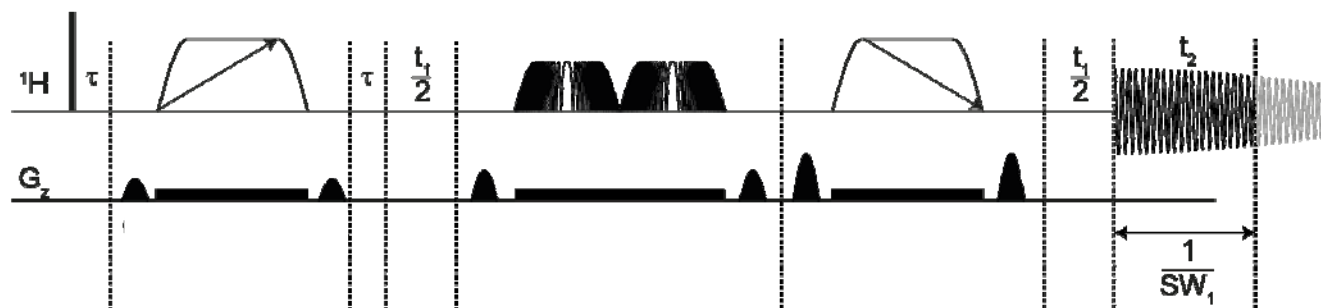
TSE-PSYCHE: *Triple Spin Echo PSYCHE*

En TSE-PSYCHE el uso de dos pulsos chirp de 180° extra en presencia de un gradiente de campo débil en lugar de un solo pulso duro de 180° mejora significativamente la calidad espectral

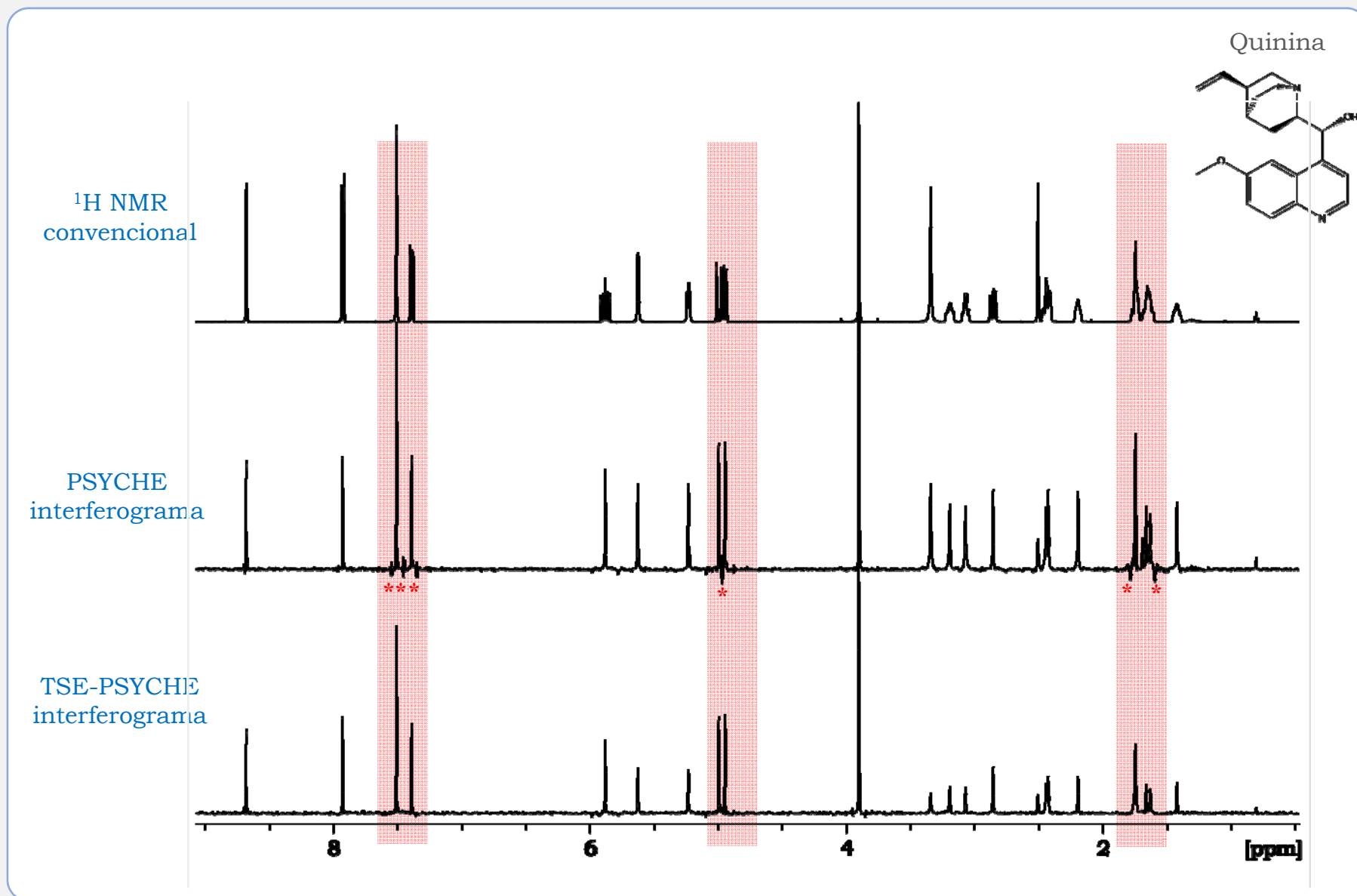
PSYCHE



TSE-PSYCHE



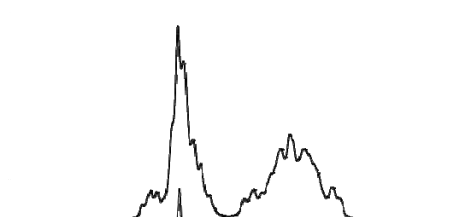
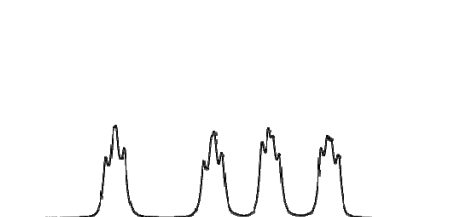
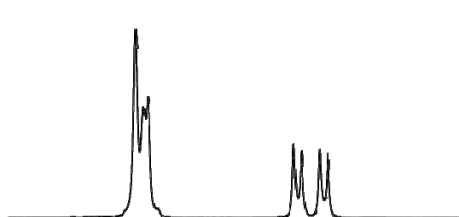
Artefactos de acoplamiento fuerte: PSYCHE vs TSE-PSYCHE



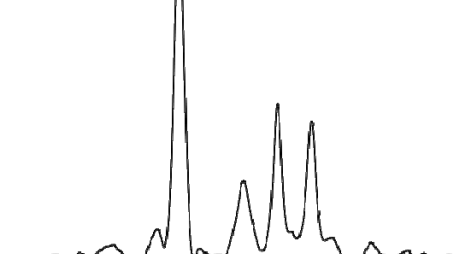
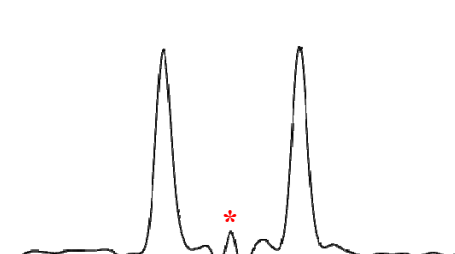
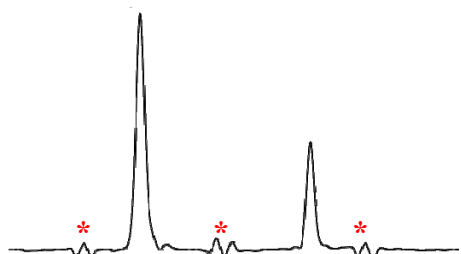
Artefactos de acoplamiento fuerte: PSYCHE vs TSE-PSYCHE

En general, la relación señal-ruido en TSE-PSYCHE es menor que en PSYCHE (debido a procesos de relajación y difusión durante los dos pulsos chirp de 180° extra), pero la relación señal-artefacto es mayor

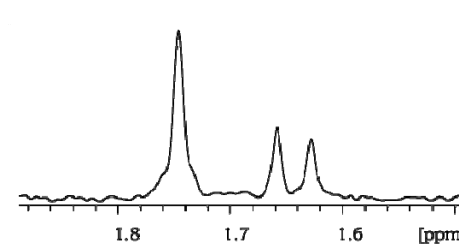
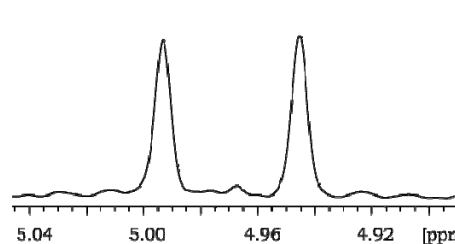
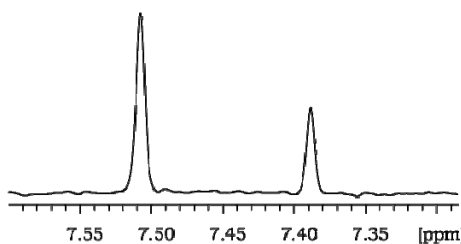
¹H NMR
convencional



PSYCHE
interferograma



TSE-PSYCHE
interferograma



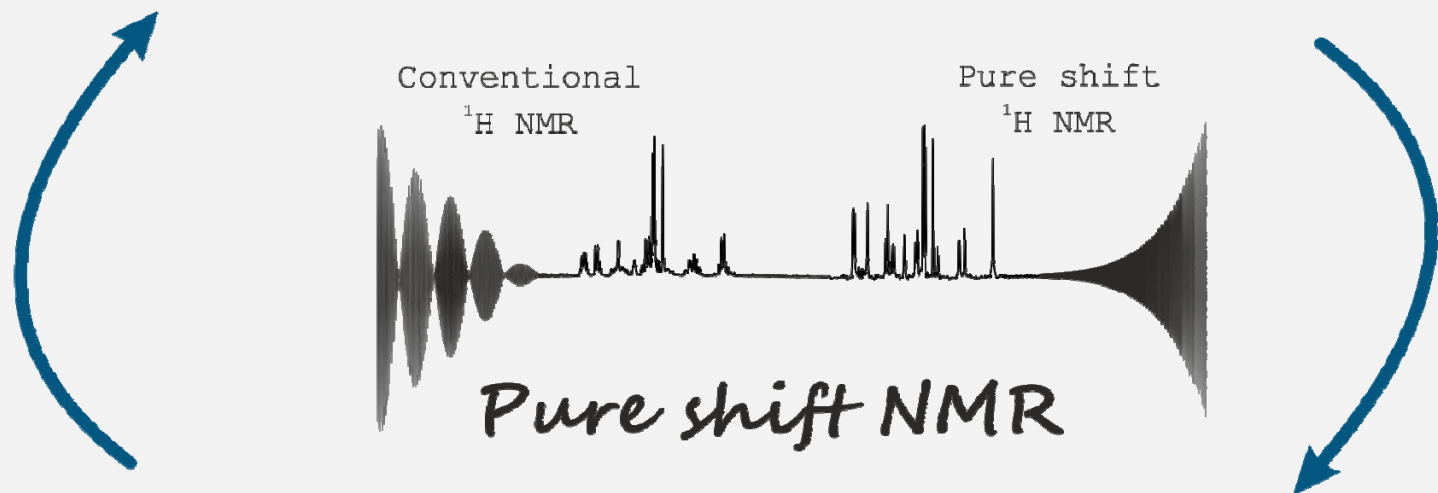
Sumario

Métodos

Modo de adquisición *Reenfoque de J*

Aplicaciones

Elucidación estructural *Relajación* *Análisis de mezclas* *Estudio de enantiómeros*



Aspecto prácticos

Artefacts *FWHM* *Sensitivity*

SNR 100, 5, 30

Implementación

$t = 10 \text{ ms}$ $t_d = 32$
 $p_{12} = 20 \text{ ms}$ $p_{40} = 30 \text{ ms}$ EXACT
 Spectral aliasing NUS 50% $n_s = 4$
 $L_1 = 40$ $b = 20^\circ$ $t_{\text{chunk}} = 2t$
 pshift $t_{\text{chunk}} \ll 1/J_{HH}$ Covariance
 $G_z = 3\%$ $t_{\text{chunk}} = 1/SW_1$ $aq = 1s$

Manchester NMR Methodology Group

Prof. Gareth A. Morris

Dr. Mohammadali Foroozandeh

Guilherme Dal Poggetto

Prof. Mathias Nilsson

Dr. Peter Kiraly

Pinelopi Moutzouri

Dr. Ralph Adams



Pure shift NMR spectroscopy

R. W. Adams, *EMagRes* **2014**, 3, 295-310.

Broadband ^1H homodecoupled NMR experiments: recent developments, methods and applications

L. Castañar and T. Parella, *Magn. Reson. Chem.* **2015**, 53, 399-426.

Pure shift NMR

K. Zangger, *Prog. Nucl. Magn. Reson. Spectrosc.* **2015**, 86-87, 1-20.

Pure shift ^1H NMR: what is next?

L. Castañar, *Magn. Reson. Chem.* **2017**, 55, 47-53.

PSYCHE pure shift NMR spectroscopy

F. Mohammadali, M. Gareth, N. Mathias, *Chem. Eur. J.* **2018**.

DOI: 10.1002/chem.201800524

Magnetic Resonance in Chemistry – October 2018



Mini-reviews

- Insight into old and new pure shift NMR methods for enantiodiscrimination
- Orchestrated approaches using pure shift NMR
- Broadband homonuclear decoupled HSQMBC methods

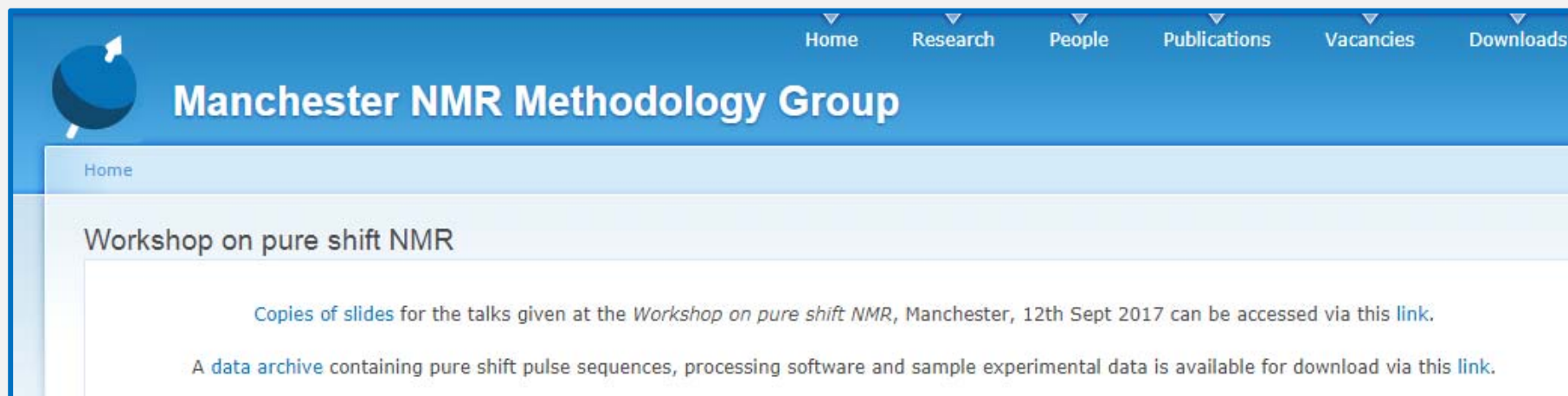
Research articles

- perfectBASH
- Extracting unresolved coupling constants from complex multiplets
- Selective Measurement of ^1H - ^1H Scalar Couplings
- Clean pure shift 2D J -resolved spectroscopy
- Combining pure shift and J -edited spectroscopies
- Real-time homonuclear broadband decoupled pure shift COSY
- High-resolution pure shift COSY NMR
- Multiplicity-edited ^1H - ^1H TOCSY experiments
- Combining *compressive sampling* and *Pure Shift* NMR Practical aspects of real-time pure shift HSQC experiments
- Homonuclear Decoupling by Projection Reconstruction
- ^{13}C Homonuclear decoupling in HSQC experiments for enriched compound
- homodecoupling in $^1\text{J}_{\text{CC}}$ 1,n-ADEQUATE experiment

Application letters

- Fast and unambiguous determination of diastereomeric excess
- Fast and simultaneous determination of ^1H - ^1H and ^1H - ^{19}F scalar coupling

<http://nmr.chemistry.manchester.ac.uk/pureshift>



The screenshot shows the website header with navigation links: Home, Research, People, Publications, Vacancies, and Downloads. The main heading is "Manchester NMR Methodology Group". Below it, a "Home" breadcrumb is visible. The main content area is titled "Workshop on pure shift NMR" and contains two paragraphs of text with links.

Workshop on pure shift NMR - downloads

Data Archives, including instructions, sequences, parameter files and example data.

Bruker

Software only (< 1 Mb): [Pure_shift_archive_Bruker_software_only.zip](#).

Full (262 Mb): [Pure_shift_archive_Bruker.zip](#).

Varian

Software only(< 1 Mb): [Pure_shift_archive_Varian_software_only.zip](#).

Full (26 Mb): [Pure_shift_archive_Varian.zip](#).

Manual: [UoM_PureShiftNMR_Varian_Manual_rev1.pdf](#).

External Contributions

DIAG package(< 1 Mb): [DIAG_package_Geneva.zip](#).

Workshop on pure shift NMR - slides

Gareth Morris - **Welcome, introduction and history** - [pdf](#) - [pptx](#)

Peter Kiraly - **Interferogram and real-time acquisition methods** - [pdf](#) - [pptx](#)

Laura Castañar - **Zangger-Sterk and band-selective methods** - [pdf](#) - [pptx](#)

Mohammadali Foroozandeh - **PSYCHE** - [pdf](#) - [pptx](#) - [zip including avi videos](#)

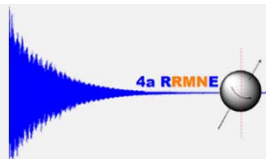
Ralph Adams - **Other pure shift and related methods** - [pdf](#) - [pptx](#)

Mathias Nilsson - **Practical implementation** - [pdf](#) - [pptx](#)

Adolfo Botana - **JEOL pure shift implementation** - [pdf](#) - [pptx](#)

Vadim Zorin - **MestreNova pure shift implementation** - [pdf](#) - [pptx](#)

Ēriks Kupče - **Bruker shaped pulse implementation** - [pdf](#) - [pptx](#)



Muchas gracias por su atención



Laura Castañar Acedo

laura.castanaracedo@manchester.ac.uk

 [@laura_castanar](https://twitter.com/laura_castanar)

NMR Methodology group

The University of Manchester, UK

Reunión de RMN Experimental - Hidalgo, México, 2018