

## SCUOLA NMR GIDRM – CORSO DI BASE (TORINO 3-7/7/2023)

Lunedì 3/7/23

### **9-10:45: Concetti di base. Interazione dello spin nucleare con $B_0$ e $B_1$**

**Marco Geppi, Dipartimento di Chimica e Chimica Industriale, Università di Pisa, Pisa**

In questa lezione verranno forniti i concetti di base per la comprensione del fenomeno NMR. In particolare, verrà introdotto il concetto di spin nucleare e spiegate le sue interazioni con il campo magnetico statico  $B_0$  (interazione Zeeman) e con il campo magnetico oscillante  $B_1$ , associato con la radiofrequenza. In particolare, queste interazioni saranno discusse facendo riferimento sia al modello quantistico che a quello classico in modo auto-consistente.

Nella prima parte della lezione sarà effettuato un breve excursus di concetti generali di spettroscopia (descrizione della radiazione elettro-magnetica, quantizzazione dell'energia, interazione radiazione-materia, distribuzione delle popolazioni all'equilibrio) e delle loro applicazioni all'NMR. La sensibilità della spettroscopia NMR sarà confrontata con quella delle altre tecniche spettroscopiche e discussa in riferimento ai diversi isotopi che possono essere studiati.

Saranno quindi affrontati argomenti indispensabili per comprendere la spettroscopia NMR a impulsi: magnetizzazione, precessione, sistema di riferimento ruotante, irraggiamento on- e off-resonance, effetto di un impulso di radiofrequenza.

L'obiettivo di questa lezione è quello di rendere accessibile a tutti gli studenti, indipendentemente dalle conoscenze pregresse, una comprensione corretta e approfondita delle basi dell'NMR.

### **11:15-13: Interazioni interne**

**Marco Geppi, Dipartimento di Chimica e Chimica Industriale, Università di Pisa, Pisa**

In questa lezione verranno introdotte le interazioni degli spin nucleari con i campi locali generati in prossimità dei nuclei studiati da parte di correnti elettroniche e di spin di elettroni e nuclei. Queste interazioni sono definite "interne" in contrasto con le interazioni con i campi "esterni"  $B_0$  e  $B_1$  affrontate nella lezione precedente.

Inizialmente le varie interazioni interne verranno introdotte in modo comune, discutendo in particolare come si può determinare il loro effetto sugli spettri NMR, sia in soluzione che allo stato solido. A questo scopo sarà introdotta la dipendenza di queste interazioni dall'orientazione molecolare (anisotropia) e dai moti molecolari.

Saranno quindi trattate in modo più specifico alcune interazioni interne, seppur con diverso grado di dettaglio: chemical shift, J-coupling, dipolare e quadrupolare. Gli effetti di ciascuna di queste interazioni sugli spettri di liquidi e solidi saranno mostrati e confrontati, con particolare riferimento alla risoluzione spettrale e alle informazioni ottenibili dagli spettri sperimentali. Sarà infine fornita una "lettura" di alcuni semplici esempi di spettri NMR in soluzione (mostrando in particolare gli effetti di chemical shift e J-coupling) e a stato solido.

Questa lezione ha come obiettivo la comprensione dei principali fenomeni responsabili della diversa forma degli spettri NMR in soluzione e a stato solido e, conseguentemente, dei diversi approcci sperimentali usati per studiare campioni liquidi e solidi mediante NMR.

### **14:30-16:15: Lo Spettrometro, segnale NMR e spettro**

**Giuseppe Pileio, School of Chemistry, University of Southampton, Southampton**

Nella prima parte di questa lezione costruiremo alla lavagna uno spettrometro NMR in tutte le sue parti: il magnete, il probe, le linee di trasmissione e ricezione, e il sistema di acquisizione del segnale. Per ogni componente partiremo dalla fisica che vogliamo studiare e ne descriveremo caratteristiche principali e funzionalità. Discuteremo del convertitore analogico digitale e del metodo dell'acquisizione in quadratura spiegandone i principi fisici e matematici. Successivamente, studieremo il processo di elaborazione digitale del segnale NMR. Iniziando dallo studio della trasformata di Fourier scopriremo a cosa è dovuta la forma dei segnali NMR. Discuteremo la correzione di fase, le tecniche di risoluzione digitale per migliorare la risoluzione, le tecniche di apodizzazione per migliorare la sensibilità o la risoluzione spettrale e infine vedremo come individuare (e correggere) dalla semplice osservazione dello spettro problemi nell'acquisizione del segnale.

### **16:45-18:15: Esercitazione: metodi di processing del segnale**

**Alessandro Barge, Federica Rossi, Dipartimento di Scienza e Tecnologia del Farmaco, Università di Torino, Torino (Jeol)**

Durante l'esercitazione si procederà al "processing" di alcuni FID, esplorando le diverse funzioni utili ad ottenere le informazioni desiderate. Saranno prese in considerazione le funzioni di apodizzazione e la trasformata di Fourier, lo zero filling e la linear prediction, la fase dello spettro, la misura del chemical shift dei segnali e delle costanti di accoppiamento, l'integrazione del segnale, l'eliminazione dei segnali indesiderati mediante filtri, la correzione della linea di base. Sarà possibile condurre tutte le operazioni in modo interattivo mediante il software Jeol DELTA.

**Martedì 4/7/2023**

**9-10:45: Parametri NMR: Chemical shift, J coupling, Dipolar coupling**

**Antonio Randazzo, Dipartimento di Farmacia, Università di Napoli Federico II, Napoli**

Questa lezione si focalizzerà principalmente sul chemical shift e sull'accoppiamento scalare (J coupling), con un accenno all'accoppiamento dipolare. In particolare, verranno analizzate in dettaglio le informazioni che si possono ottenere da posizione (ppm) e molteplicità dei segnali. Si introdurrà il concetto di schermo per effetto dei sostituenti e si analizzeranno alcuni effetti diamagnetici e paramagnetici. Si analizzeranno le correlazioni tra le J coupling e la struttura tridimensionale della molecola, e si presterà particolare attenzione all'equivalenza chimica e magnetica dei nuclei.

**11:15-13: Sequenze di impulsi**

**Cristina Airoidi, Dipartimento di Biotecnologie e Bioscienze, Università di Milano-Bicocca, Milano**

Nella lezione verranno introdotti i concetti base relativi alle sequenze di impulsi.

Verranno poi descritte le principali sequenze di impulsi per esperimenti 1D di base, tra cui direct excitation, disaccoppiamento di base omo ed eteronucleare, spin-echo, editing molteplicità con spin-echo (SEFT, APT) e polarization transfer (INEPT e DEPT).

**14:30-16:15: Rilassamento e NOE**

**Daniela Lalli, Dipartimento di Scienze e Innovazione tecnologica, Università del Piemonte Orientale, Alessandria**

Nella lezione verranno illustrati i principali meccanismi di rilassamento di spin nucleare.

In particolare verranno descritte: le interazioni magnetiche responsabili dei processi di rilassamento (spin-reticolo e spin-spin), i tempi che caratterizzano questi fenomeni (tempo di rilassamento longitudinale  $T_1$  e trasversale  $T_2$ ) e i metodi sperimentali per misurare i tempi di rilassamento  $T_1$  e  $T_2$  (inversion recovery e spin echo).

Successivamente verranno illustrati: il meccanismo di rilassamento incrociato tra nuclei accoppiati dipolarmente, l'effetto nucleare Overhauser (NOE) e i suoi metodi di misura (steady state e transient NOE).

I concetti teorici saranno supportati da esempi applicativi.

**16:45-18:15: Esercitazione: misure di J e NOE, calcolo  $T_1$  e  $T_2$**

**Francesca Benevelli, Bruker Italia**

Durante la sessione pratica si svolgeranno analisi di misure  $T_1$  e  $T_2$  con il SW Bruker Dynamic Center su spettri precedentemente acquisiti. Inoltre si fitteranno curve di build up del NOE transiente, evidenziando la parte iniziale della curva.

**Mercoledì 5/7/23**

**9-10:45: Solidi: tecniche in alta e bassa risoluzione**

**Roberto Gobetto, Dipartimento di Chimica e NIS Centre, Università di Torino, Torino**

Durante la lezione verranno trattati i seguenti argomenti: Interazione dipolare e anisotropia di chemical shift allo stato solido; Differenze tra spettri allo stato liquido ed allo stato solido; Spettri NMR allo stato solido in bassa risoluzione; Effetto del moto sulla larghezza di banda; Effetto del moto sui tempi di rilassamento; Come ottenere uno spettro NMR in alta risoluzione nei solidi; Disaccoppiamento ad alta potenza, angolo magico; Effetto della rotazione all'angolo magico sugli spettri di nuclei diluiti e di nuclei abbondanti; Probe per l'analisi dei solidi; Settaggio dell'angolo magico; Cross polarization; Applicazioni ed esempi.

**11:15-13: Solidi: esperimenti base per i nuclei rari a spin 1/2**

**Silvia Borsacchi, Istituto di Chimica dei Composti Organometallici del CNR (ICCOM-CNR), Pisa**

In questa lezione verranno illustrati i principali esperimenti di base per lo studio NMR di nuclei rari a spin  $1/2$  in sistemi solidi. Dopo una breve definizione introduttiva dei nuclei in esame e un riepilogo delle principali interazioni di spin che li caratterizzano, verranno presentati gli esperimenti fondamentali per l'ottenimento di spettri monodimensionali (1D) in alta risoluzione allo stato solido, ossia le sequenze di Direct Excitation e Cross Polarization, illustrandone aspetti teorici e pratici. Ampio spazio verrà quindi dato ad esempi di analisi di spettri 1D a stato solido, al fine di illustrare i diversi tipi di informazioni ottenibili dai chemical shift isotropi di sistemi reali. Come evoluzione verranno quindi presentati, sempre attraverso esempi reali, alcuni esperimenti 1D selettivi e di spectral editing, comunemente usati per l'ottenimento di informazioni strutturali e/o dinamiche. Infine saranno dati alcuni cenni di alcuni dei più utilizzati esperimenti bidimensionali.

**14:30-16:15: Solidi: esperimenti in alta risoluzione per nuclei abbondanti a spin 1/2**

***Michele R. Chierotti, Dipartimento di Chimica e NIS Centre, Università di Torino, Torino***

Nella lezione verranno introdotte le problematiche e le soluzioni per l'acquisizione di spettri di nuclei abbondanti (in particolare  $^1\text{H}$ ) allo stato solido. La lezione si divide in tre parti:

1) lo studio dell'interazione dipolare attraverso l'analisi delle varie parti dell'Hamiltoniano e del loro effetto sullo spettro; 2) le possibili soluzioni tecniche per mediare l'interazione dipolare ed acquisire spettri  $^1\text{H}$  in alta risoluzione allo stato solido; 3) le possibili applicazioni dell'acquisizione di spettri allo stato solido.

**16:45-18:15: Esercitazione: interpretazione di spettri 1D NMR in soluzione**

***Giuseppe Digilio, Dipartimento di Scienze e Innovazione Tecnologica, Università del Piemonte Orientale "A. Avogadro", Alessandria***

In questa esercitazione verranno affrontati problemi di interpretazione spettrale di difficoltà crescente. Saranno proposti esempi di spettri  $^1\text{H}$ -NMR di semplici molecole organiche da interpretare applicando i concetti di spostamento chimico, accoppiamento scalare, larghezza ed area del segnale introdotti a livello teorico nelle lezioni precedenti. Saranno considerati sia problemi di assegnazione spettrale che problemi di elucidazione strutturale. Infine, saranno dati cenni di interpretazione di spettri monodimensionali  $^{13}\text{C}$ -NMR disaccoppiati.

Giovedì 6/7/23

**9-10:45: Impulsi profilati e gradienti**

***Cristina Airoidi, Dipartimento di Biotecnologie e Bioscienze, Università di Milano-Bicocca, Milano***

Nella lezione verranno introdotti i concetti base relativi agli impulsi di gradiente di campo magnetico.

Verranno inoltre descritte alcune delle loro principali applicazioni, tra cui il loro impiego per distruggere magnetizzazioni non desiderate (spoil gradient / z-filter), sopprimere segnali indesiderati (es. soppressione del solvente), misurare coefficienti di diffusione, selezionare cammini di coerenza, Gradient Shimming

**11:15-13: Introduzione alla risonanza magnetica per Immagine (MRI)**

***Alberto Fringuello Mingo, Bracco Imaging Spa***

La tecnica di Risonanza Magnetica per Immagini (RMI o MRI) viene comunemente utilizzata in clinica per produrre immagini ad alta definizione del corpo umano. La scoperta e la successiva introduzione nella pratica clinica dell'imaging mediante Risonanza Magnetica ha profondamente modificato ed ampliato la diagnostica per immagini. L'MRI rappresenta infatti una metodica non invasiva e sostanzialmente sicura per il paziente poiché utilizza campi magnetici, quindi completamente priva di radiazioni ionizzanti, ed inoltre si basa sul principio fisico di Risonanza Magnetica Nucleare (RMN), ossia sulle proprietà fisiche dell'atomo di idrogeno sottoposto a campi magnetici ed impulsi a radio-frequenza. Nella lezione si affronteranno le seguenti tematiche: localizzazione spaziale (i.e. frequency e phase encoding), i principi dello spazio k, la slice selection, imaging 3D.

**14:30-16:15: Contrasto, pesatura delle immagini e spettroscopia in vivo**

***Francesca Reineri, Centro di Imaging Molecolare e Dipartimento di Biotecnologie Molecolari e Scienze per la Salute, Università di Torino, Torino***

Nella lezione si parlerà di come i tempi di rilassamento longitudinale e trasversale permettono di ottenere il contrasto in risonanza magnetica per immagini, cioè le immagini pesate in  $T_1$  o  $T_2$ . Verranno riportati esempi per illustrare il modo in cui si può agire sui parametri di acquisizione (tempo di ripetizione TR e tempo di eco TE) per migliorare il contrasto.

Nonostante la maggior parte delle immagini MRI venga acquisita sfruttando il segnale dell'acqua, esiste un tipo di esperimenti che permettono di ottenere informazioni riguardo la composizione chimica dei tessuti utilizzando il chemical shift di alcune molecole specifiche. Il chemical shift imaging (csi protonico o eteronucleare) è importante per le applicazioni diagnostiche e verrà trattato brevemente.

**16:45-18:15: Esercitazione: imaging**

***Walter Dastrù, Dario Longo, Centro di Imaging Molecolare e Dipartimento di Biotecnologie Molecolari e Scienze per la Salute, Università di Torino, Torino***

Durante la sessione pratica si svolgeranno acquisizioni di immagini di densità protonica,  $T_1$  e  $T_2$  pesate, esempi di acquisizioni di immagini mediante sequenze Spin Spin Echo e Gradient Echo, acquisizione e analisi di mappe  $T_1$  e  $T_2$ . Si descriveranno inoltre i parametri principali relativi all'acquisizione di immagini MRI e come questi influenzino la qualità dell'immagine e la risoluzione spaziale/temporale.

Venerdì 7/7/23

**9-10:45: Principi della spettroscopia 2D omo ed eteronucleare**

***Daniel O. Cicero, Dipartimento di Scienze e Tecnologie Chimiche, Università di Roma Tor Vergata, Roma***

Per molto tempo gli esperimenti NMR multidimensionali sono stati considerati come "d'avanguardia", richiedendo la loro comprensione una profonda conoscenza quantico-meccanica. In questa lezione cercheremo di mostrare come sia possibile comprendere l'importanza e il funzionamento degli esperimenti bidimensionali, che sono stati sviluppati 40 anni fa, senza ricorrere a una descrizione fisica dettagliata (quest'ultimo sarà uno degli argomenti principali della Scuola Avanzata). Descriveremo esperimenti di correlazione tra idrogeni, sia attraverso costanti scalari che dipolari. In una seconda parte, studieremo gli esperimenti di correlazione tra eteronuclei, principalmente  $^{13}\text{C}$  e  $^1\text{H}$ .

**11:15-13: Esercitazione: interpretazione spettri 2D NMR in soluzione**

***Daniel O. Cicero, Dipartimento di Scienze e Tecnologie Chimiche, Università di Roma Tor Vergata, Roma***

Durante l'esercitazione si vedranno diversi esercizi, con cui metteremo alla prova esperimenti 2D visti precedentemente per assegnare tutti gli atomi di idrogeno e di carbonio di molecole organiche.