



**DETERMINATION D'UN pKa PAR SPECTROMETRIE DE RMN 1H.**

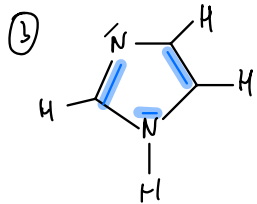
① Démonstration de la relation de Henderson à partir de la relation barycentrique

$$\delta = P_A \delta_A + P_B \delta_B \quad \text{avec} \quad P_A = \frac{[A]}{[A]+[B]} \quad \text{et} \quad P_A + P_B = 1.$$

$$\left. \begin{aligned} \delta - \delta_A &= (P_A - 1) \delta_A + P_B \delta_B = P_B (\delta_B - \delta_A) \\ \delta_B - \delta &= -P_A \delta_A + (1 - P_B) \delta_B = P_A (\delta_B - \delta_A) \end{aligned} \right\} \frac{[B]}{[A]} = \frac{P_B}{P_A} = \frac{\delta - \delta_A}{\delta_B - \delta}$$

$$\boxed{\text{pH} = \text{pKa} + \log \frac{[B]}{[A]} = \text{pKa} + \log \left( \frac{\delta - \delta_A}{\delta_B - \delta} \right)}$$

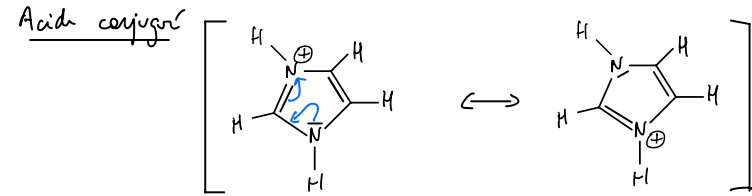
②  $\text{pH} = \text{pKa}$  si  $\frac{\delta - \delta_A}{\delta_B - \delta} = 1 \Rightarrow \delta = \frac{\delta_A + \delta_B}{2}$  pic moyen exactement entre les 2 pics  $\delta_A$  et  $\delta_B$ .



Les 3 doublets identifiés participent à un système de 6 e délocalisés sur l'ensemble du cycle ( $6 = 4n + 2$  avec  $n = 1$ ).  
Donc, le doublet non lié à l'atome d'azote inférieur contribue au caractère aromatique de l'espèce, ce qui se fait stabilisant.

La perte de ce doublet non lié par fixation d'un proton entraîne une perte de l'aromaticité, ce qui se fait particulièrement défavorable.

La protonation de l'autre atome d'azote ne fait pas perdre d'aromaticité.

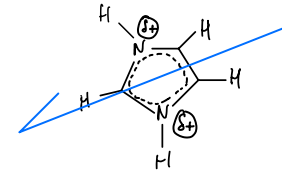


⚠ un argument plus satisfaisant issu d'une modélisation orbitalaire sera fourni plus tard dans l'année.

④ Les 2 formules mésonères traduisent des répartitions électroniques équivalentes. Aucune ne joue un rôle prépondérant dans la représentation de la doublet électronique au sein de l'acide conjugué.

L'hybride de résonance présente un plan de symétrie interne ce qui assure l'équivalence des atomes d'hydrogène  $H_4$  et  $H_5$ .

Hybride de résonance



⑤ Graphiquement, en dehors de  $\text{pH} = 5,7$ , le déplacement chimique ne varie plus : on peut considérer qu'une seule l'espèce acide est présente. De façon symétrique, au-delà de  $\text{pH} = 9,15$ , seule l'espèce basique est présente.

Signal du proton  $H_2$  :  $\delta_B = 7,75 \text{ ppm}$   
 $\delta_A = 8,65 \text{ ppm}$  } milieu :  $\delta_{1/2} = 8,2 \text{ ppm}$   
 $\Rightarrow \text{pH} \sim 7,2$  (grossier)

Signal des protons  $H_4/H_5$  :  $\delta_B = 7,15 \text{ ppm}$   
 $\delta_A = 7,5 \text{ ppm}$  } milieu :  $\delta_{1/2} = 7,3 \text{ ppm}$   
 $\Rightarrow \text{pH} \sim 7,2$  (grossier)

Les données sont concordantes mais la lecture imprécise : on peut l'améliorer en moyennant plusieurs valeurs expérimentales.

Autre méthode Utiliser l'expression  $pH = pK_a + \log\left(\frac{\delta - \delta_A}{\delta_B - \delta}\right)$

$$pK_a = pH + \log\left(\frac{\delta_B - \delta}{\delta - \delta_A}\right)$$

|                   |         |          |          |
|-------------------|---------|----------|----------|
| pH                | 7,85    | 7,25     | 6,44     |
| $\delta_{H_2}$    | 7,9 ppm | 8,12 ppm | 8,48 ppm |
| $pK_a$ calculé    | 7,2     | 7,1      | 7,1      |
| $\delta_{H_4M_1}$ | 7,2 ppm | 7,28 ppm | 7,42 ppm |
| $pK_a$ calculé    | 7,1     | 7,0      | 7,0      |

Valeur moyenne :  $pK_a = 7,1$  (cohérent avec la valeur de 7,08 annoncée)

- ⑥ L'enregistrement du spectre de RMN  $^1H$  d'une solution contenant de l'imidazole est une façon d'accéder au pH sans pH-mètre et électrode. En effet, l'identification du signal produit par les atomes  $H_4, H_5$  ou  $H_2$  permet d'accéder au pH:

$$pH = pK_a + \log\left(\frac{\delta - \delta_A}{\delta_B - \delta}\right) \quad \left( \begin{array}{l} \text{à condition d'avoir} \\ \text{prédéterminé } \delta_A \text{ et } \delta_B \\ \text{ainsi que le } pK_a \end{array} \right)$$

- ⑦ L'intégration d'un signal est proportionnelle au nombre d'atomes d'hydrogène responsables du signal.

La forte concentration de l'imidazole conduit à des signaux très intenses, bcp plus intenses que ceux des atomes d'hydrogène de l'histidine  $H_{162}$ .

pH élevés : Imidazole à 7,8 ppm et 7,4 ppm (spectre 9)

pH faibles : Imidazole à 8,63 ppm et 7,48 ppm (spectre 1)

- ⑧ Tableau demandé

$$pH = pK_a + \log\left(\frac{\delta - \delta_A}{\delta_B - \delta}\right)$$

|                |        |        |      |      |      |      |      |      |        |
|----------------|--------|--------|------|------|------|------|------|------|--------|
| Spectre        | 1      | 2      | 3    | 4    | 5    | 6    | 7    | 8    | 9      |
| $\delta$ (ppm) | 8,68   | 8,68   | 8,66 | 8,60 | 8,48 | 8,38 | 7,98 | 7,80 | 7,80   |
| pH             | < 5,43 | < 5,43 | 5,43 | 6,4  | 6,5  | 6,8  | 7,7  | 8,72 | > 8,72 |

Valeur de  $\delta_A$

Valeur de  $\delta_B$

manifestement, la donnée de référence d'origine relative à l'expérience 6 n'est pas cohérente avec le spectre fourni ( $\delta = 8,33$  ppm et non  $\delta = 8,13$  ppm).

(Cependant, le couple  $\delta = 8,13$  ppm et  $pH = 7,18$  est compatible avec les valeurs de  $pK_a$ ,  $\delta_A$  et  $\delta_B$ ).

Remarque  $pH = pK_a$  quand  $\delta = \frac{\delta_A + \delta_B}{2} = \frac{8,68 + 7,80}{2} = 8,24$ .

→ n'apparaît pas sur un spectre en particulier

- ⑨  $pH = pK_a + \log\left(\frac{\delta - \delta_A}{\delta_B - \delta}\right)$  ↑ avec  $\delta_A$  et  $\delta_B$  correspondant cette fois aux déplacements chimiques de  $H_4$  ou  $H_5$  de  $H_{162}$  (et non de l'imidazole)

On peut tracer  $pH - \log\left(\frac{\delta - \delta_A}{\delta_B - \delta}\right) = f(pH)$ . Si le modèle est adapté, le tracé doit être assimilable à une droite horizontale avec des résidus équitablement et aléatoirement répartis.

le tracé peut être effectué avec les déplacements chimiques relatifs à  $H_A$  ou à  $H_B$ . Je choisis  $H_B$  car si les écarts de déplacement chimique sont moins marqués (incertitude relative + forte), car avec le signal de  $H_A$ , la détermination de  $\delta_A$  n'est pas univoque (non constance du déplacement chimique par plusieurs spectres en milieu acide)

Par  $H_B$  :  $\delta_A = 7,3 \text{ ppm}$        $\delta_B = 6,94 \text{ ppm}$

Tableau de valeurs

| Spectre  | 4    | 5    | 6    | 7    |
|--|------|------|------|------|
| pH   | 6,1  | 6,5  | 6,8  | 7,7  |
| $\delta$ (ppm)   | 7,20 | 7,12 | 7,06 | 6,98 |
| $\text{pH} - \log\left(\frac{\delta - \delta_A}{\delta_B - \delta}\right)$ | 6,5  | 6,5  | 6,5  | 6,8  |

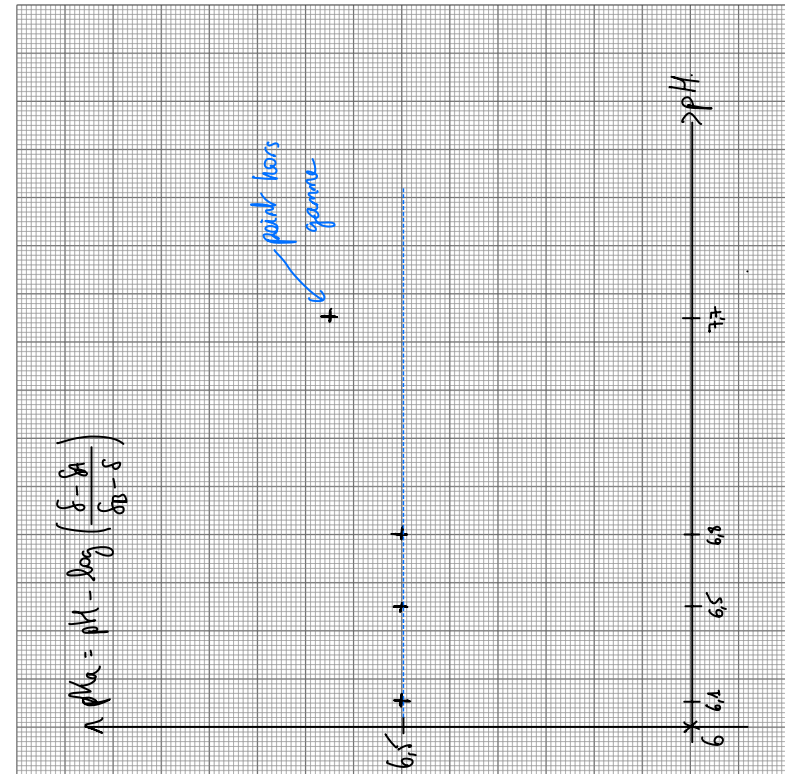
Intérêt du tracé mettre en évidence le caractère aberrant de la dernière mesure et en proposer une justification (la proximité de  $\delta$  et  $\delta_B$  fait diverger l'argument du log).

Conclusion méthode très efficace à condition de travailler à de pH intermédiaires pour que la mesure de  $\delta - \delta_A$  et  $\delta_B - \delta$  ne soit pas trop entachée d'incertitude.

Incrtitude :  $u(\delta - \delta_A) = \sqrt{u(\delta)^2 + u(\delta_A)^2}$

Incrtitude relative  $\frac{u(\delta - \delta_A)}{\delta - \delta_A} = \frac{\sqrt{u(\delta)^2 + u(\delta_A)^2}}{\delta - \delta_A}$  d'autant plus grande que  $\delta - \delta_A$  faible.

NOM :



1) Si un tracé est demandé, il faut :

- \* dilater les échelles pour mieux expliciter les variations
- \* matérialiser les échelles
- \* donner une image de travail soignée