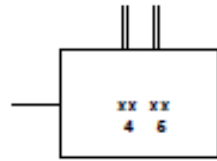
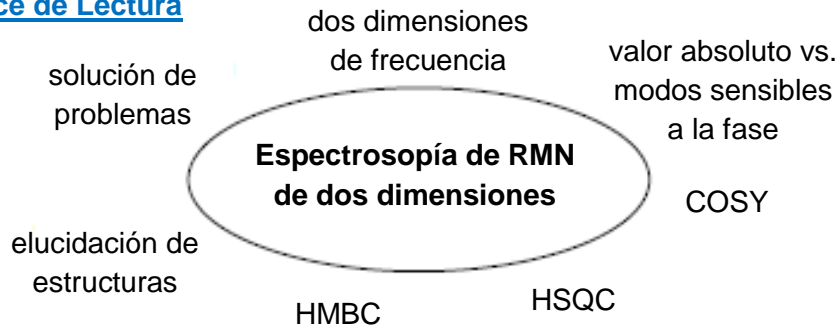


Espectroscopía RMN 2D

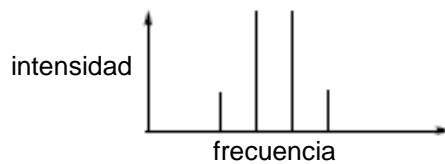


Alcance de Lectura



Dos Dimensiones de Frecuencia

Los espectros de RMN 1D se llaman "1D" porque tienen una dimensión de *frecuencia*, pero en verdad poseen una dimensión adicional, la intensidad:

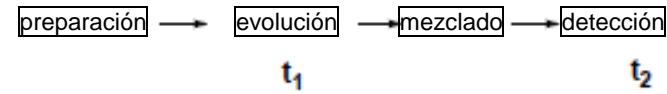


RMN 2D significa que hay **dos dimensiones de frecuencia**.

Los picos 1D dan información acerca de un sitio químico en particular: cómo es su ambiente químico, cuántos núcleos hay presentes, cuántos núcleos están cerca del sitio, etc.

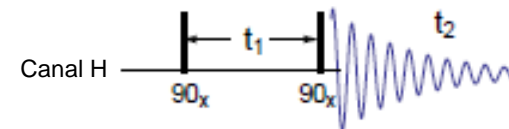
Pero no pueden informar nada acerca de cómo esos sitios se conectan entre sí, lo cual es muy útil si se quiere dilucidar la estructura de una molécula.

Todo experimento de RMN 2D tiene el mismo formato general:

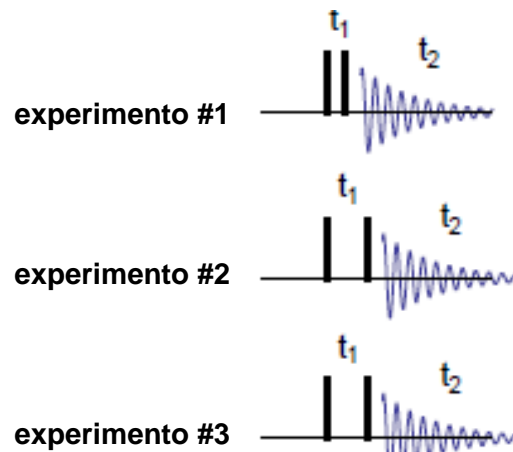


- (1) Preparación:** Se usan algunas secuencias de pulsos para generar estados capaces de interactuar. Generalmente se utiliza un pulso de 90° que genera una magnetización transversal.
- (2) Evolución:** Las resonancias se procesan en el marco de rotación de acuerdo a sus desplazamientos. Esto significa que la magnetización es una frecuencia que es función de t_1 .
- (3) Mezclado:** La magnetización se transfiere a través de los enlaces (o a través del espacio o por intercambio químico).
- (4) Detección:** La magnetización que no se transfirió durante el mezclado aparecerá a la misma frecuencia durante la detección. Estos son *picos diagonales* de frecuencia (Ω_A, Ω_A) . La magnetización que estaba en la frecuencia A y se transformó en la frecuencia B durante el mezclado se procesará como una frecuencia no-diagonal (Ω_A, Ω_B) .

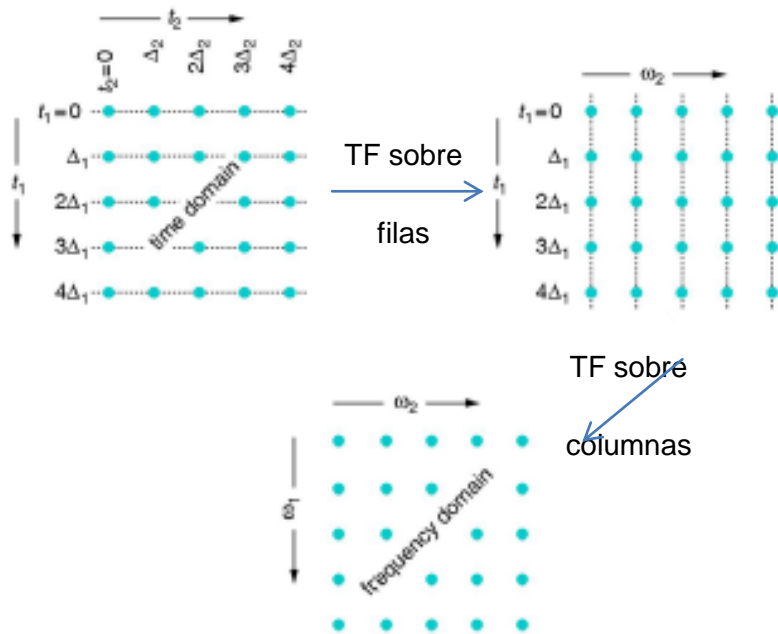
Esto se visualiza mejor con la **secuencia básica COSY-90:**



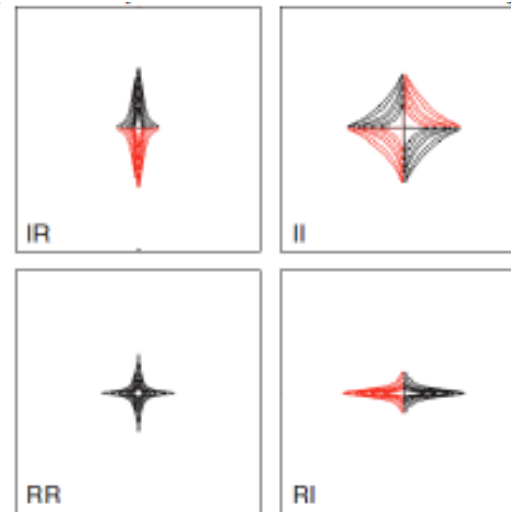
Por sus siglas en inglés, COSY significa CORelations SpectroscopY (espectroscopía de correlaciones) y es un método para encontrar **relaciones homonucleares, a través de un enlace** (hay otros métodos para encontrar relaciones heteronucleares, a través de un enlace). Implícitamente, el diagrama mostrado arriba significa que se corren una serie de experimentos, con un valor fijo de t_1 cada vez.



El experimento completo genera una matriz de datos 2D. La transformada de Fourier de las filas, seguida de la transformada de Fourier de las columnas, da el espectro final 2D.



- (1) Como en los espectros 1D, también podría haber intermediarios de llenado cero, apodización, o predicción lineal.
- (2) Detección de cuadratura, por ejemplo, la discriminación entre frecuencias positivas y negativas es factible y necesaria, pero es complicada de realizar y no se indicará cómo se hace en este documento.
- (3) Recuerde que los espectros 1D poseen una parte imaginaria y otra real y que la corrección de fase asegura que la parte real tenga una absorción totalmente lineal. En los espectros 2D, hay dos partes reales y dos imaginarias (una para cada dimensión). En un mundo ideal, la parte real de ambas dimensiones absorberían también:



(Rojo: curva negativa, negro: curva positiva)

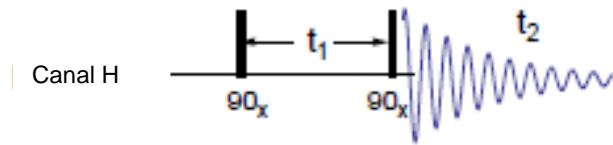
En este caso, podemos presentar los datos en forma de **fase sensible**. Sin embargo, en algunos experimentos esto es imposible, y es necesario mezclar las partes reales e imaginarias para obtener un **valor absoluto** de la forma:

$$\text{valor absoluto} = \sqrt{\text{real}^2 + \text{imaginario}^2}$$

Estos picos parcialmente absorptivos/dispersivos no poseen una forma estándar de Lorentzian, sino que están torcidos y son más anchos.

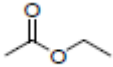
Características del COSY

La secuencia básica del COSY-90 es:



(5) Curvas 1D: No forman parte del experimento 2D. No hace falta que aparezcan en este nuevo espectro, pero se acostumbra dibujarlas como referencia. Estas curvas son “proyecciones” de los picos sobre los ejes. Como cuesta mucho aumentar la intensidad, su resolución es muy baja. Una alternativa es colocar el verdadero espectro 1D en los ejes (adquirido en un experimento diferente).

En el VNMR esta secuencia se solicita con el comando “gCOSY”. Se muestra aquí el espectro COSY-90 del acetato de etilo:

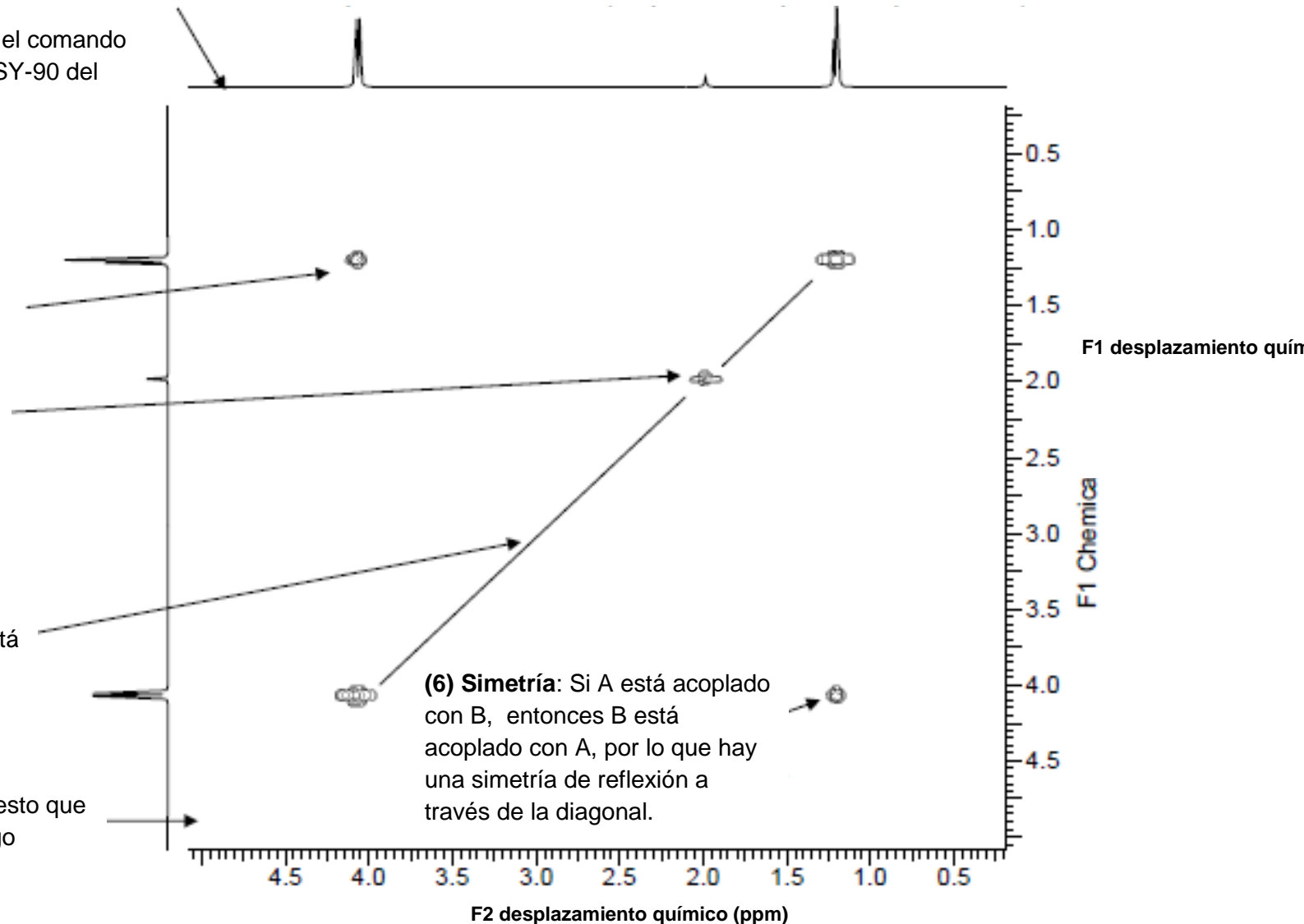


(1) Picos Cruzados: En el acetato de etilo, hay un grupo etilo, lo que significa que un grupo metilo y un grupo metileno están acoplados uno al lado del otro.

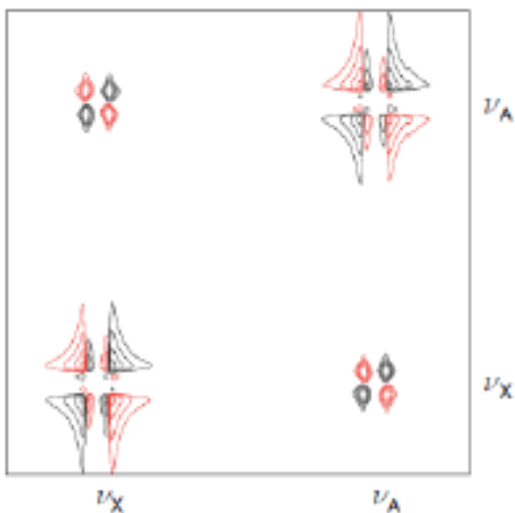
(2) Picos Aislados: No todos los acoplamientos son lo suficientemente grandes como para producir picos cruzados (como por ejemplo, este acetato). En general, un COSY muestra más que nada acoplamientos a 2J y a 3J .

(3) Diagonal: Lógicamente, cada protón está acoplado consigo mismo. No hay nada interesante que ver aquí.

(4) Forma: El espectro es un cuadrado, puesto que se está correlacionando un espectro consigo mismo.

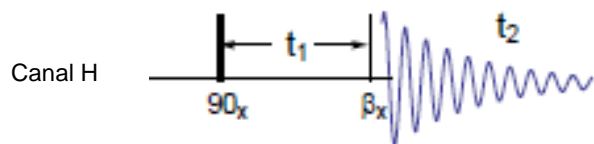


Un tratamiento mecano-cuántico detallado, que queda por fuera de los fines de este curso, muestra que para un sistema AX los picos cruzados tienen una forma doble absorptiva, pero los picos diagonales tienen una forma doble desortiva.



(Fuente: Claridge, pág. 140) Las colas largas de los picos dispersivos pueden interferir con otros picos fuera de la diagonal. Por lo tanto, la información del COSY-90 se presenta en forma de valor absoluto como fase cruzada.

Sólo porque algo es *popular*, no significa que sea *mejor*. Una versión popular de valor absoluto de COSY se llama COSY-β. Aquí, el segundo pulso de 90° es reemplazado por un pulso más pequeño de ángulo β. Típicamente, β vale 45° o 60°.



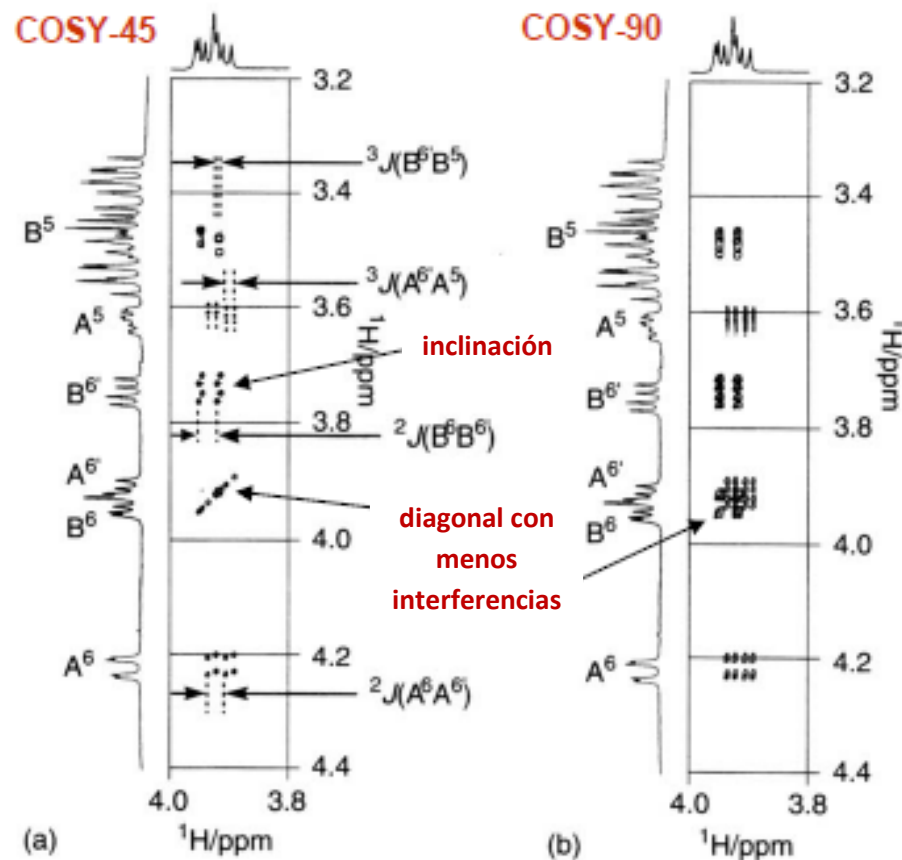
Esto trae importantes consecuencias:

(1) La diagonal se comprime. Como la diagonal no nos interesa, y como además puede interferir con los picos cruzados cercanos, esto es algo bueno.

(2) Con suficiente alta resolución, los picos cruzados se pueden inclinar. Típicamente, los acoplamientos a 1J aparecerán con pendiente positiva, mientras que los acoplamientos vecinales aparecerán con pendiente negativa. Sin embargo, debido a variaciones en los J, esto no siempre es cierto.

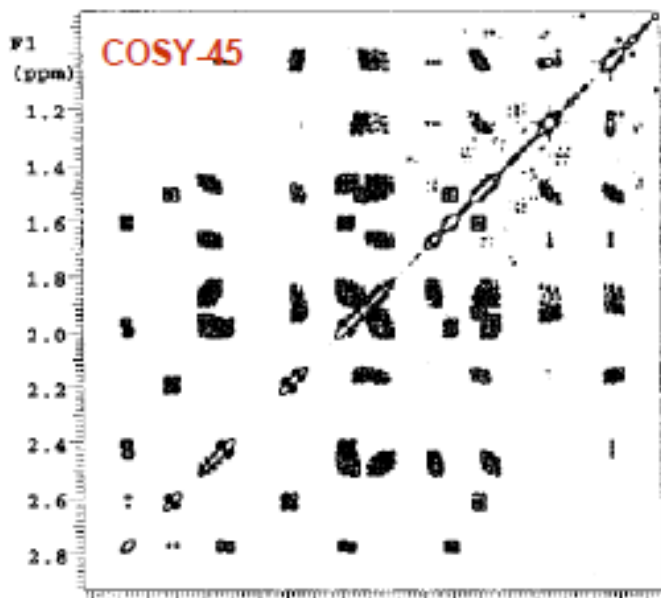
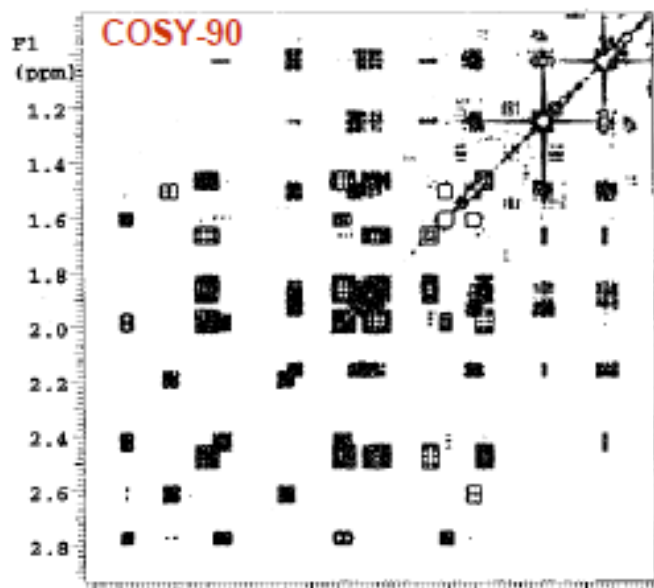
(3) El COSY-45 es un poco menos sensible que el COSY-90 (alrededor del 15%), pero como el COSY-90 es de por sí un experimento muy sensible, esto no es un problema. El COSY-45 es más sencillo que el COSY-60, por lo que se prefiere usarlo.

El COSY-45 es el experimento COSY de rutina con mejor valor absoluto y se utiliza en lugar del COSY-90. La versión PFG en el VNMR se solicita con el comando "gCOSY45".

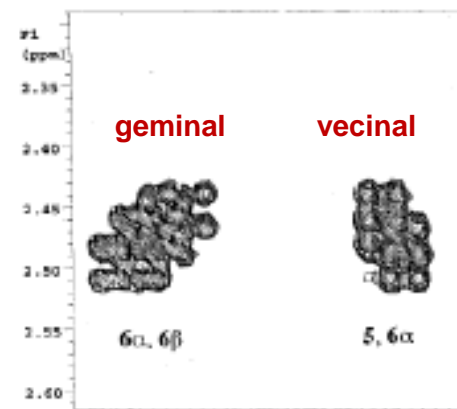


Características del COSY

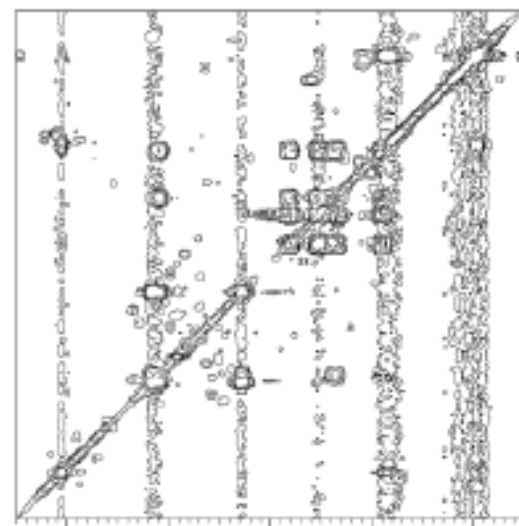
La diferencia entre los dos espectros COSY es particularmente evidente en este ejemplo de Reynolds y Enriquez:



Una expansión muestra claramente el efecto de inclinación:



Una estrategia de post-adquisición utilizada comúnmente para aumentar la relación S/R (señal/ruido) se llama “simetrización” y se basa en la idea de que el espectro debería tener simetría de reflexión en $f_1=f_2$ (VNMR: **foldt**). Sin embargo, como f_1 generalmente se mejor que f_2 , los picos cruzados están mejor resueltos en un lado de la diagonal. Por lo tanto, los picos que aparecen con más intensidad de un lado de la diagonal han de ser picos de largo alcance. Sumado a la pérdida de esta información, pueden aparecer falsos picos cruzados debido a la casual simetría del ruido t_1 :



Espectroscopía de Correlación Heteronuclear

Para realizar un experimento heteronuclear, uno puede elegir preparar, evolucionar o mezclar la magnetización tanto en el protón como en el carbono (el núcleo X).

estrategia vieja: detección “directa” del núcleo X (menos sensible)

estrategia nueva: detección “indirecta” del núcleo H (mejor)

Del Claridge, pág. 191:

	P	E	M	D	Sensibilidad relativa		
		t_1			$^1\text{H-}^{31}\text{P}$	$^1\text{H-}^{13}\text{C}$	$^1\text{H-}^{15}\text{N}$
H		↑			1	1	1
X		↓		→ t_2			
H		→			2.5	4	10
X		→		→ t_2	Tradicional		
H					4	8	30
X				→ t_2			
H		↓			10	32	300
X		↓		→ t_2	Inversa (moderna)		

En realidad, si se tienen en cuenta ciertas consideraciones experimentales se ve que la ventaja es menor de $32/4=8$. En general:

$$\frac{S}{R} = \alpha \gamma_{exc} \gamma_{obs}^{3/2}$$

donde *exc* es el spin inicial excitado y *obs* es el núcleo observado. En sondas de doble banda, siempre hay una bobina en el interior (más sensible) y otra en el exterior (menos sensible). En las sondas de detección inversa, la bobina de protones se encuentra en el interior; en las sondas de detección directa para carbonos la bobina se encuentra también en el interior.

A pesar del esquema de detección, el objetivo en estos experimentos es poder **conectar protones con carbonos**. A diferencia de los experimentos de correlación H-H (COSY, TOCSY), se tiene la posibilidad de ver protones enlazados directamente (un enlace) o remotamente (múltiples enlaces).

En un **experimento de detección inversa**, vemos carbonos que están directa o remotamente enlazados con protones:



un enlace (directo)

múltiples enlaces (remoto)

(Esto significa que los carbonos cuaternarios, que no están enlazados a ningún protón, no aparecerán en los experimentos de detección inversa). Las correlaciones remotas pueden transmitirse a través de heteroátomos, pero esto no es de ninguna manera un requisito.

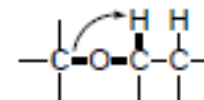
De manera contraria, en un **experimento de detección directa**, vemos protones que están directa o remotamente enlazados con carbonos:



un enlace (directo)

múltiples enlaces (remoto)

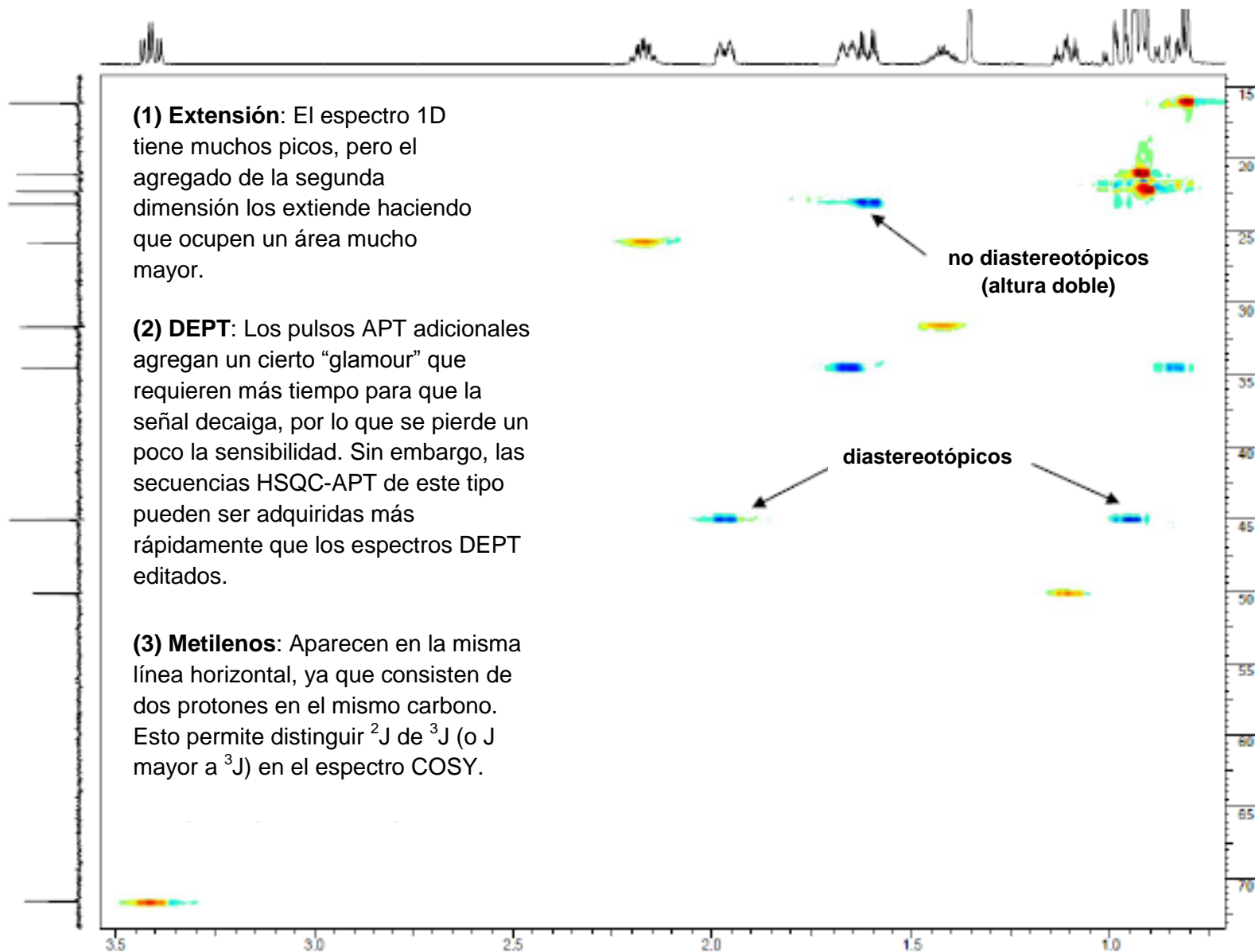
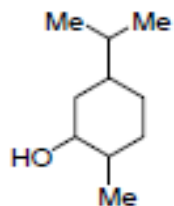
En este caso, sí aparecen los carbonos cuaternarios:



Sin embargo, los experimentos de correlación de detección directa de múltiples enlaces no son sensibles y tampoco se usan como experimentos de rutina.

HSQC – Heteronuclear Single Quantum Correlation Spectroscopy (Espectroscopía de Correlación Heteronuclear de un Único Cuanto)

Es un experimento de detección de protones que muestra los carbonos *directamente conectados* (un enlace). Los picos CH y CH₃ están arriba (rojo) mientras que los picos CH₂ están abajo (azul). Los espectros 1D son útiles, pero no son un requisito. Este es el espectro del mentol:

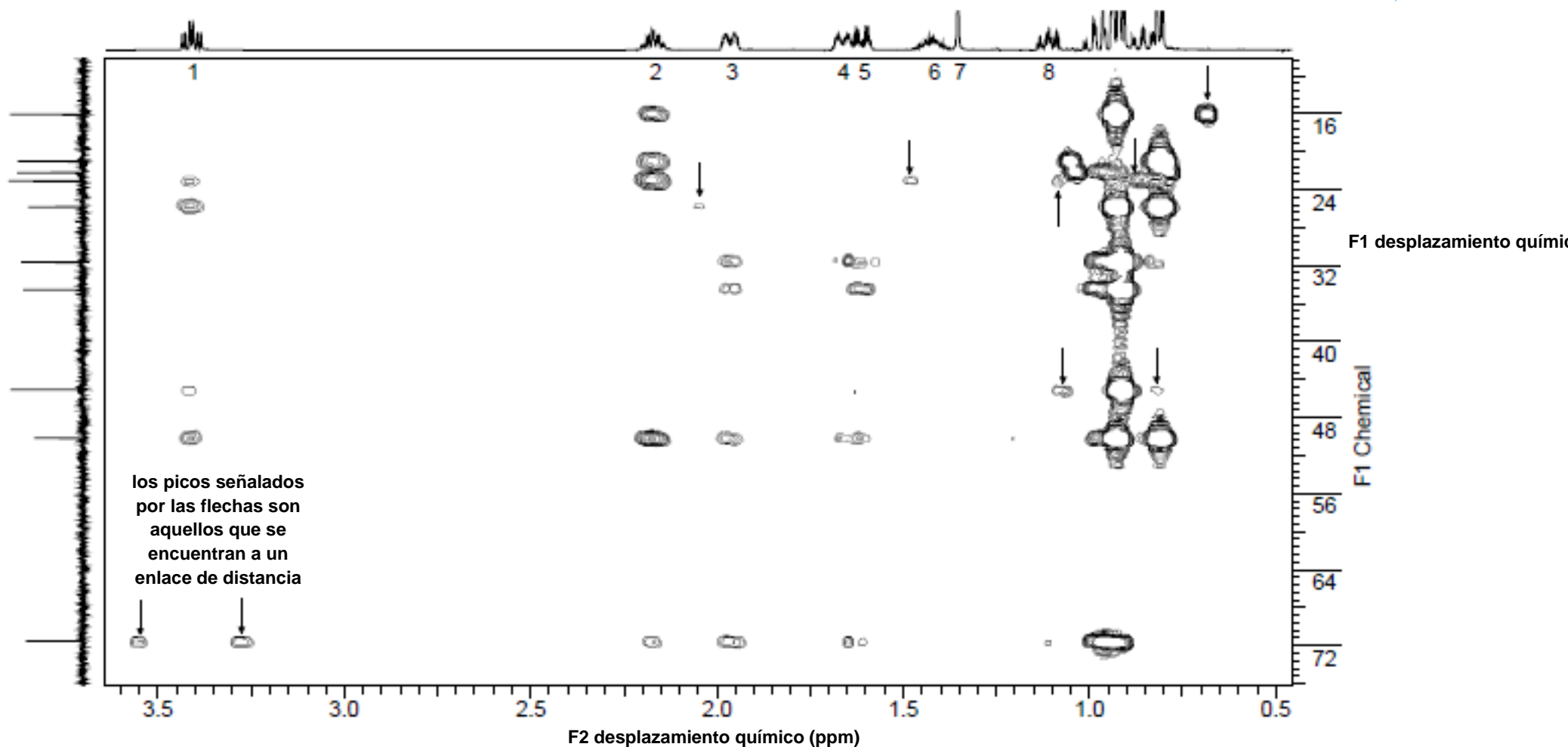


Espectros HMBC

Es un experimento de detección de protones que muestra los carbonos que se encuentran a 2 o 3 enlaces de distancia de los protones. Es de valor absoluto.

(1) Un artilugio común es lograr la aparición de correlaciones a un enlace. El HMBC se modifica para detectar acoplamientos pequeños comenzando por las interacciones a larga distancia, pero esto no funciona perfectamente. Estas señales a un enlace aparecen como dobletes en f_2 , con $J=^1J_{CH}$. Algunas veces, este doblete brinda de por sí información valiosa. Sin embargo, muchas otras esta variante se debe usar con precaución.

(2) El HMBC incorpora un retraso que, en condiciones ideales, es de $1/2J_{CH}$. Dado que los acoplamientos a larga distancia ocupan un rango relativamente grande de 5-25 Hz, este retraso se ajusta normalmente como 60 ms (8 Hz). Esto significa que no todas las correlaciones aparecerán, y tampoco con la misma intensidad. Además, normalmente los acoplamientos a 3 enlaces de distancia son más grandes que aquellos a dos enlaces.



Resumen de Experimentos de RMN 2D

1. HSQC: 1 enlace C,H - todos los experimentos detectan
2. COSY: 2,3 enlaces H,H protones
3. HMBC: 2,3 enlaces C,H

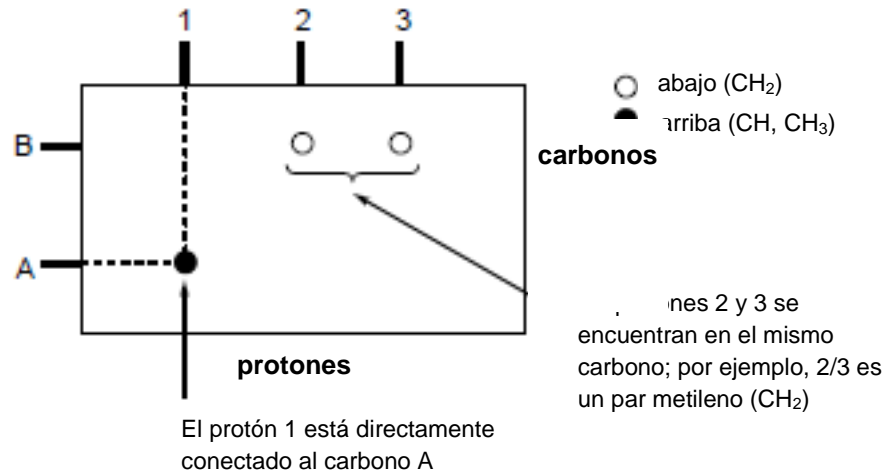
HSQC

Es por lejos el espectro más fácil de entender, por lo que se empieza por él.

ejes: protones, carbonos

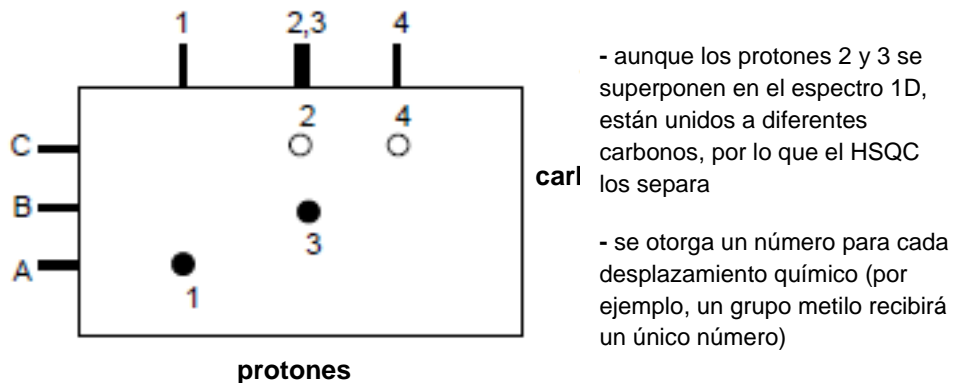
correlaciones: 1 enlace C,H acoplados

propósito: enumerar el espectro de protones, correlacionar cada protón con un carbono, identificar pares CH₂.



Enumerando el Espectro

Incluso si el espectro de protones se superpone, el HSQC podrá separar los picos lo suficiente como para poder enumerarlo (por convención: de izquierda a derecha).



COSY

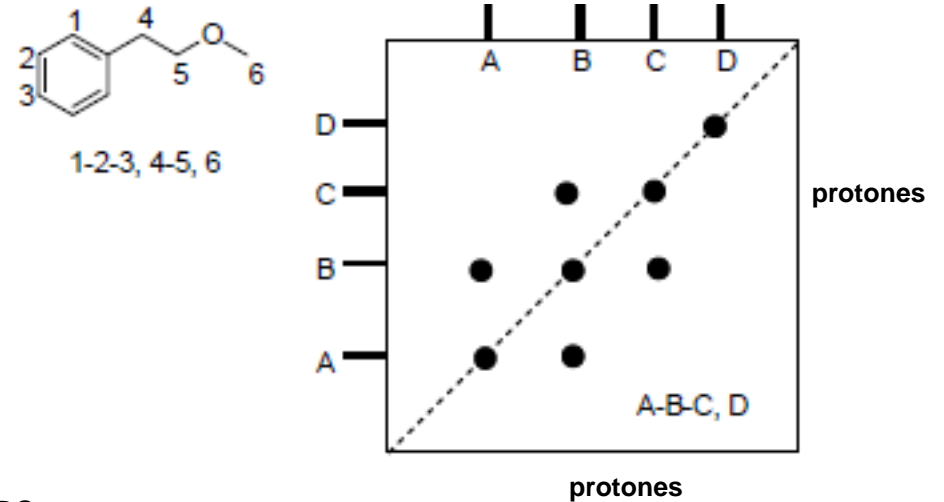
Luego, se usa el COSY para determinar la composición de cada sistema de spin.

ejes: protones, protones

correlaciones: los picos fuera de la diagonal tienen acoplamientos de 2,3 enlaces entre protones

propósito: asignar los protones a los sistemas de spin

sistema de spin: conjunto de protones que comparten acoplamientos entre enlaces (J)

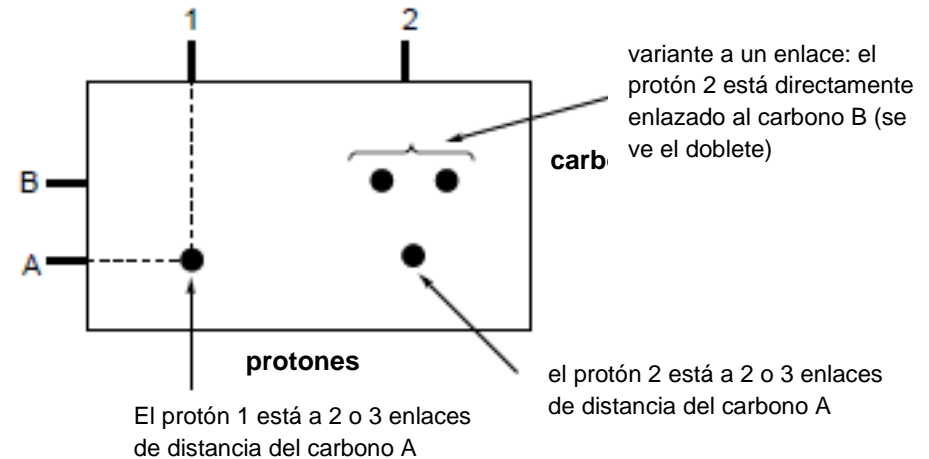


HMBC

ejes: protones, carbonos

correlaciones: acoplamientos de 2,3 enlaces entre protones

propósito: conectar los sistemas de spin



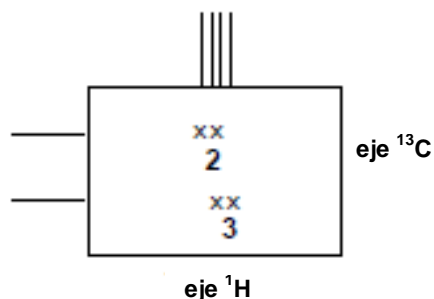
Pasos a Seguir para la Elucidación Estructural

(1) Comenzar con el HSQC para Enumerar el Espectro de Protones

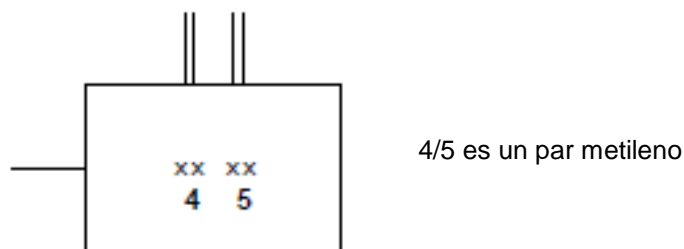
Aquí se muestra un espectro de protones hipotético, donde los picos 2 y 3 están muy próximos entre sí (los picos se enumeran de izquierda a derecha):



El espectro HSQC es muy simple porque extiende los picos sobre las dos dimensiones y presenta muy pocos multipletes:



Pueden identificarse los pares metileno, tanto por el color (recordar que los grupos CH y CH₃ aparecen opuestos al grupo CH₂) como por el hecho de que se encuentran en la misma línea. En este caso, los protones 4 y 5 forman aparentemente un par metileno. Los pares metileno comparten siempre un acoplamiento geminal. Con protones diastereotópicos, esto se traducirá en picos cruzados en el COSY, los que el HSQC ya identificará en una primera instancia.



(2) Tabular la Información

Nº	$\delta(^1\text{H})$	$\delta(^{13}\text{C})$	Hs	tipo	J(Hz)	COSY	HMBC
1	5.76	145.23	1	d	5.1	2	152.12
2	3.76	72.45	1	d	5.1	1,3	32.47
3	3.47	—	1	br s	—	—	202.57
...	etc ...						

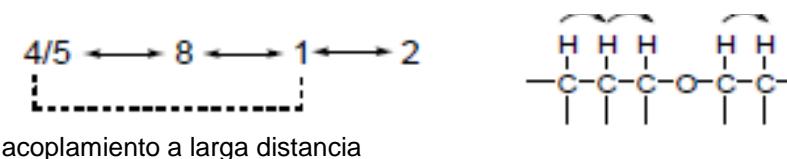
Carbonos cuaternarios: 35.57, 54.32, 202.57 ...

Pares CH₂: 4/5, ...

- los picos se enumeran de menor a mayor desplazamiento químico
- HSQC: se conecta cada protón con el carbono al que está directamente enlazado; se encuentran pares metileno
- COSY: si 1 está acoplado con 2, entonces hay que verificar que 2 esté acoplado con 1; no necesariamente los dos pares del grupo metileno muestran los mismos acoplamientos (pico 3)
- los protones intercambiables no aparecen en el HSQC
- los carbonos cuaternarios aparecen en el HMBC o en el espectro 1D de carbonos
- HMBC: buscar acoplamientos a un enlace; los picos más intensos, como los de los grupos metilo, tienen más probabilidad de mostrar acoplamientos a larga distancia; sistemas sp²: ²J es pequeño, pero el ³J es grande (mayor en sistemas anti que en sistemas syn)

(3) Formar los Sistemas de Spin

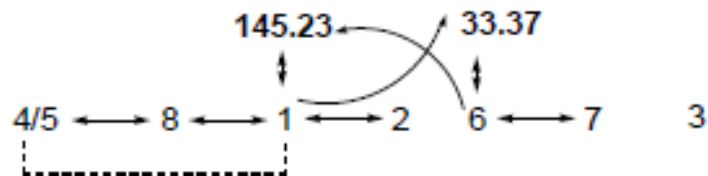
- Usar el COSY para construir los sistemas de spin. Cada "componente" del sistema de spin es un grupo metilo, un par metileno, o un grupo metino (que se ve en el HSQC). Las flechas dobles representan los grupos vecinales y las líneas punteadas muestran los acoplamientos a larga distancia.



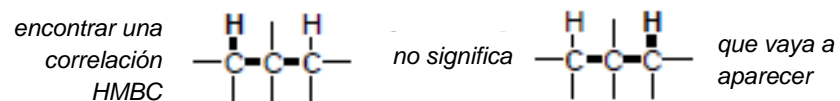
(Quizás no se sepa a priori cuáles son de larga distancia. Hay que usar la intuición química y ver las intensidades de los picos y las asimetrías alrededor de la diagonal. Tal vez haya que cambiar las predicciones si resultan ser inconsistentes).

(4) Conectar los Sistemas de Spin

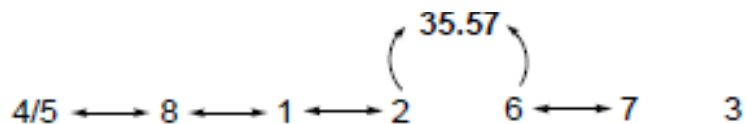
Buscar las correlaciones HMBC que conectan a un protón en un sistema de spin con un carbono en otro sistema de spin:



Las flechas curvas indican correlaciones HMBC. Si se encuentran tales correlaciones, esto quiere decir que los sistemas de spin han de estar adyacentes de la forma mostrada. Nótese que estas correlaciones no son necesariamente mutuas, como los acoplamientos COSY:



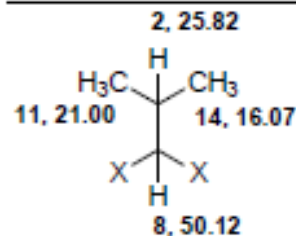
Si esto no resulta, se puede buscar un carbono, posiblemente cuaternario, que tenga las mismas correlaciones HMBC con los protones de los dos sistemas de spin:



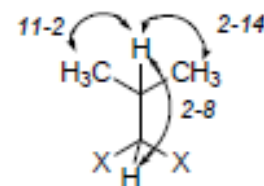
(5) Generar los Fragmentos

En muchas ocasiones, las señales complejas o superpuestas prevendrán dibujar todos los sistemas de spin de la molécula. En particular, la elucidación estructural requerirá la generación y conexión de fragmentos, que se unen entre sí por lo que se ve en el sistema de spin y en el HMBC. A continuación se muestra como elucidada la estructura del mentol, que posee muchas señales superpuestas y un sistema de spin continuo:

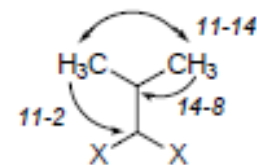
Estructuras de Fragmentos



Correlaciones COSY Vecinales



Correlaciones HMBC Claves



Evidencia Clave

- metilos 11, 14: COSY a 2
- 2: COSY a 8
- HSQC: 2,8 = CH
- 11, 14: mismo HMBC
- 11, 14: HMBC a 2, 8

- HMBC: las doble flechas curvas indican las correlaciones comunes; las flechas simples curvas indican correlación en un único sentido

- Si se siente seguro, puede escribir "11-2" en lugar de "11-25.82" para acelerar el proceso, pero recuerde que las correlaciones HMBC se dan desde protones hacia carbonos

- Xs representan sustituyentes que no son protones

Escriba su razonamiento (aunque sea aburrido). Por su naturaleza, estos problemas son bastante complicados y hay un 99.9% de probabilidad de que no pueda recordar qué pico está a 16.07 ppm dentro de muchos años. Si escribe lo que piensa, usted u otros podrán seguir su razonamiento sin necesidad de repetir el análisis. Además, es probable que cometa errores, los que serán más fáciles de corregir de esta manera.

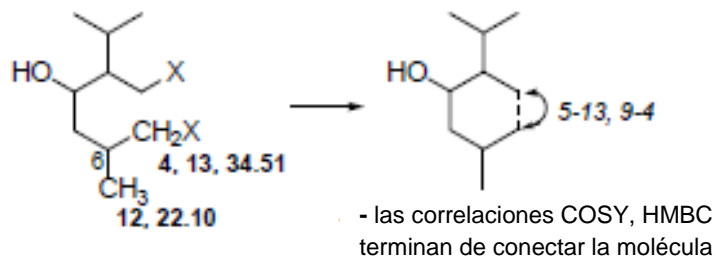
(6) Puntos de Partida

Cuando analice un espectro COSY o HMBC, verá una gran cantidad de señales. ¿Dónde hay que comenzar a generar los fragmentos? Por regla general: se empieza por aquellas señales claramente resueltas, sin ambigüedades o con desplazamientos químicos característicos. Como ser:

- regiones carbonílicas
- anillos aromáticos y olefinas
- grupos metilo
- carbonos cuaternarios

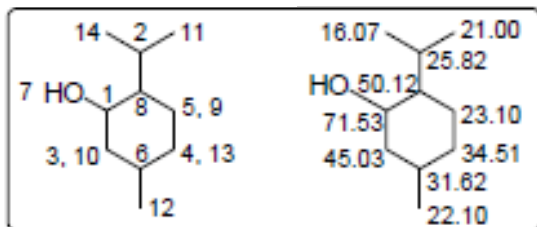
(7) Extender y Conectar Fragmentos

No quiera abarcar mucho de una sola vez. Arme un fragmento pequeño con correlaciones de las que se sienta seguro al asignarlas. Luego, continúe con otro punto de partida y genere un nuevo fragmento. Los fragmentos con correlaciones inciertas son difíciles de usar. Una vez que haya agotado toda la información que es fácil de elucidar, trabaje con el resto de las señales para expandir los fragmentos ya hallados y, si es posible, para conectarlos.



(8) Ver las Asignaciones Completas

Lo siguiente no necesita explicación:



Guarde todas las FIDs y los apuntes de todos los pasos que ha seguido en la elucidación en el mismo lugar. Si cree que este compuesto formará parte de su tesis, tómese el tiempo de escribirlo en formato de paper.