

Fundamentos de RMN

La materia está hecha de átomos y moléculas, los cuales están conformados principalmente por electrones y dentro de sus núcleos por protones y neutrones. Los núcleos, además de tener masa y carga, poseen *espín nuclear* y *momento magnético*, propiedades que no son correctamente explicadas por la física clásica, pero bajo las condiciones adecuadas, estas propiedades proveen a los científicos de una valiosa herramienta para conocer y entender la estructura microscópica de las sustancias sin alterarla.

A través de pulsos de radiofrecuencia y dentro de un campo magnético constante y muy intenso, núcleos *magnéticamente activos*, como ^1H , ^{13}C , ^{15}N , ^{19}F , ^{31}P , ^{195}Pt , etc, pueden absorber radiación electromagnética que va comúnmente desde los 10 a 900 MHz. La frecuencia de absorción (ec. 1) es función de la constante giromagnética (γ_x), de los diferentes núcleos (isótopos) y de la intensidad del campo magnético (B_0) al cual fueron sometidos. Este fenómeno es la base de la espectroscopía de RMN, al igual que muchas técnicas espectroscópicas, su espectro es un gráfica de intensidad de emisión en función de su frecuencia de absorción.

$$\nu_x = \frac{\gamma_x}{2\pi} B_0 \quad \text{ec. (1)}$$

Por ejemplo, un conjunto de núcleos de espín $\frac{1}{2}$ sometidos a un campo magnético intenso tienden a comportarse como imanes y adoptan una de las dos posibles orientaciones, α , a favor de campo B_0 (atracción) y β , en contra del campo magnético (repulsión). La diferencia de energía (ΔE) entre los dos estados depende de la intensidad del campo magnético B_0 , a mayor intensidad del B_0 mayor diferencia energética entre los estados. Figura 1.

Entonces, para que el fenómeno espectroscópico se lleve a cabo, es necesario que núcleos en el estado α seas excitados, por *pulsos* cuantizados de radiofrecuencia, al estado β . Esto es, la frecuencia de resonancia de la ecuación 1 debe igualar a la ΔE de la figura 1.

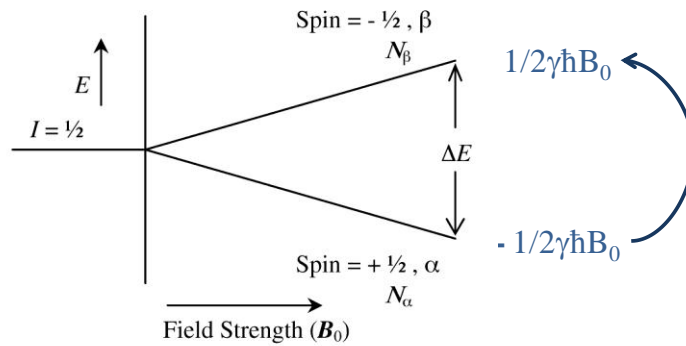


Figura 1. Esquema de los niveles energéticos para espines nucleares de $1/2$ como función del campo magnético externo.

Dado que sólo las transiciones $\alpha \rightarrow \beta$ son observadas, la sensibilidad del experimento dependerá de la diferencia en distribución de los núcleos (N_α y N_β) entre estos los dos estados, la cual es calculada por la distribución de Boltzman (ec. 2)

$$\frac{N_\beta}{N_\alpha} = e^{-\Delta E/kT} \quad (\text{ec. 2})$$

donde k es la constante de Boltzman, T la temperatura del sistema y ΔE es la *diferencia de energía* entre los dos estados. Del análisis de la ecuación 2 puede concluirse que a mayor campo magnético mayor diferencia poblacional y por consecuencia mayor sensibilidad. Por ello, se ha buscado afanosamente construir espectrómetros con campos magnéticos cada vez más intensos.

La señal de RMN

Una señal de RMN es el resultado de la relajación del sistema (relajación transversal) posterior a su excitación. La magnetización transversal decae lentamente con el tiempo, este fenómeno se conoce como decaimiento homogéneo y es función del tamaño de las moléculas y tipo de núcleos que las conforman. La magnetización transversal aunque es muy pequeña, es detectable ya que esta oscilando a una frecuencia bien definida. A través de las ecuaciones de Maxwell es posible asociar el campo magnético generado por la rotación de la magnetización transversal con una corriente eléctrica cercana. La corriente eléctrica es generada por una bobina que se encuentra perpendicular al campo magnético, esta recoge la información generada por la precesión transversal a través de un detector sensible de radiofrecuencias. El resultado es una señal o FID (Free-Induction Decay). Figura 2.

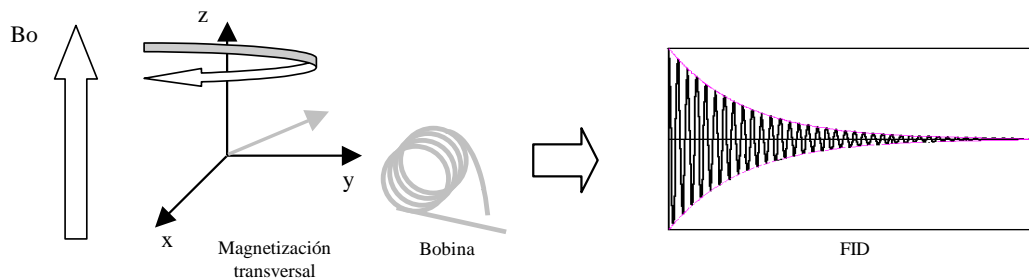


Figura 2. Inducción de una señal de RMN

Hasta este momento se ha considerado que un mismo tipo de núcleos absorben la misma energía (poseen la misma frecuencia de resonancia); sin embargo, en una molécula estos núcleos pueden tener distintos entornos magnéticos, estas pequeñas variaciones originan que los núcleos posean una frecuencia de resonancia ligeramente diferente. El resultado es la suma de todos los FID's individuales y se le conoce como interferograma. El cual resulta muy sencillo interpretar si se encuentra en función de las frecuencias. La conversión es posible porque tiempo y frecuencia se encuentran relacionados entre sí. Para realizar la conversión, es necesario realizar la transformada de Fourier (TF):

$$g(\nu) = \int_{-\infty}^{+\infty} f(t) e^{-i\nu t} dt \quad \text{ec. (3)}$$

donde $f(t)$ corresponde al espectro en el dominio del tiempo, y $g(\nu)$ al espectro en el dominio de las frecuencias, $g(\nu)$ en una función compleja que consiste de una parte real y una parte imaginaria y difieren entre ellas 90° . La componente imaginaria es obtenida en modo de dispersión y la componente real es obtenida en modo de absorción. En principio, cualquiera de ambas partes puede ser usada para mostrar el espectro, pero comúnmente los espectros en 1D son representados por la parte real. El resultado de aplicar la TF al FID es un espectro como el que se observa en la figura 3.

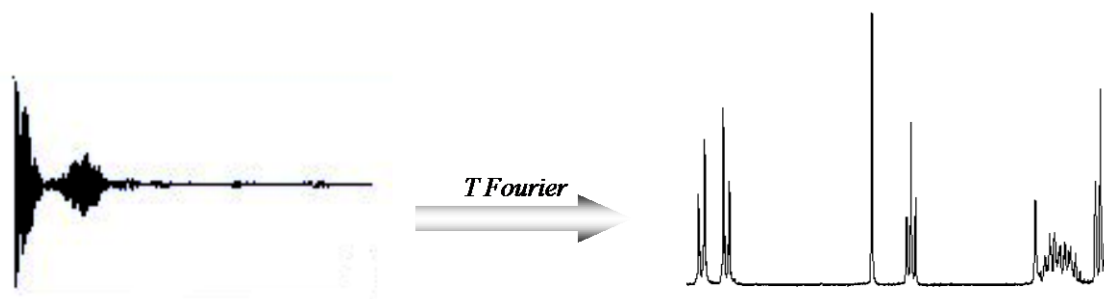


Figura 3 Transformada de Fourier del interferograma.

Desplazamiento químico (δ_A)

Como ya se comentó, las frecuencias de resonancia de un mismo isótopo son ligeramente diferentes. Estas pequeñas diferencias son las que permiten identificar, por ejemplo, a los protones del CH_3 , de los protones del CH_2 y del OH en el espectro de RMN- ^1H del etanol. La frecuencia de resonancia o frecuencia Larmor (ν_L) de un núcleo se define como:

$$\nu_A = \frac{\gamma_A}{2\pi}(1-\sigma)B_0 \quad \text{ec. (4)}$$

donde B_0 es el campo magnético al que fue sometida la muestra, γ es la constante giromagnética del núcleo A y σ que se conoce como la constante de apantallamiento, cuyo valor depende de la densidad electrónica que rodea al núcleo. Sin embargo, como se observa en la ecuación 4, las frecuencias de resonancia dependen de la inducción del campo magnético externo al que fueron sometidos los núcleos y eso hace impráctica la interpretación de las señales en los espectros. El desplazamiento químico (δ_A) es una expresión independiente de la intensidad de B_0 , se reporta en ppm y mide el *desplazamiento relativo* a un compuesto estándar, se calcula como:

$$\delta_A(\text{ppm}) = \frac{\nu_A - \nu_{\text{referencia}}}{\nu_{\text{espectrómetro}}} \times 10^6 \quad \text{ec. (5)}$$

donde ν_A , $\nu_{\text{referencia}}$ y $\nu_{\text{espectrómetro}}$ son, las frecuencias del núcleo A, de referencia y del espectrómetro respectivamente. En experimentos de RMN- ^1H se emplea comúnmente el tetrametilsilano (TMS) como compuesto de referencia y se le asigna un desplazamiento químico $\delta_{\text{TMS}} = 0$.

El desplazamiento químico es una de las herramientas básicas para el análisis conformacional de moléculas orgánicas por RMN. Por ello, resulta de gran importancia analizar detalladamente dicho fenómeno.

Acoplamiento escalar ($^nJ_{A,X}$)

El acoplamiento es el intercambio de información magnética que surge entre los núcleos activos de una molécula y se manifiesta a través de dos mecanismos: 1) Directo o dipolar, si la interacción surge sólo entre los núcleos involucrados a través del espacio. 2) Indirecto o escalar, si

la interacción se transmite a través de los electrones de enlace. En RMN de líquidos, el primer mecanismo es comúnmente eliminado por los movimientos rápidos que las moléculas poseen en disolución, mientras que el segundo está presente en la mayoría de las moléculas y es el responsable de la multiplicidad de las señales en los espectros.

El acoplamiento escalar se manifiesta en los espectros como un desdoblamiento en las señales de los núcleos acoplados (fig. 4). El fenómeno surge por pequeñas variaciones en sus frecuencias de resonancia originadas por el efecto Zeeman. La *constante de acoplamiento* corresponde a la diferencia de frecuencias generada por el desdoblamiento, su valor es independiente de la frecuencia del espectrómetro y se reporta en Hertz (Hz), se denota como ${}^nJ_{AX}$ donde n es el número de enlaces que separan a los núcleos involucrados y A, X son los tipos de núcleos acoplados.

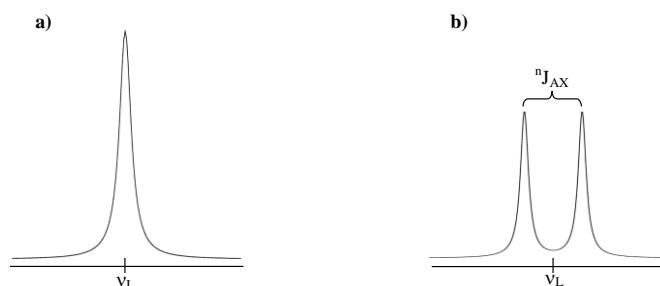


Figura 4 a) Señal de un núcleo no acoplado, b) Señal de un núcleo acoplado.

Las magnitudes de las constantes de acoplamiento dependen del tipo de núcleos involucrados, de la distribución electrónica y de la conformación molecular. Por ello, la medición de las constantes de acoplamiento y su correlación con la estructura han sido herramientas muy importantes en la determinación estructural y objeto de estudio desde hace más de cinco décadas.

La Resonancia Magnética Nuclear puede ser completamente explicada a través de la física cuántica, sin embargo, este análisis no es simple ni sencillo. En el presente texto introduce de manera muy general el fenómeno de la RMN con el objeto de familiarizarse con el lenguaje y los conceptos básicos para el análisis estructural.

El desplazamiento químico (δ_A) y el acoplamiento escalar (${}^nJ_{AX}$) se analizarán con mayor detalle durante el taller ya que son herramientas clave para el análisis estructural de moléculas.

Ernesto Sánchez Mendoza
Universidad Autónoma Metropolitana
Unidad Xochimilco

Glosario

➤ Experimentos homonucleares en 2D

COSY (Correlation Spectroscopy): Experimento que indica la correlación entre dos protones que se encuentran acoplados escalarmente entre ellos. Si la constante de acoplamiento es pequeña la correlación es pequeña. Si la constante de acoplamiento es grande, a pesar de existir más de 4 enlaces de distancia entre los núcleos involucrados, la correlación existe y es intensa.

DQ-COSY (Double Quantum Correlation Spectroscopy) o DQF-COSY (Double Quantum Filtered Correlation Spectroscopy): Experimento muy similar al COSY, solo que es 4 veces menos sensible, pero la intensidad de la señal de la diagonal se reduce en un factor de 8. Ideal para observar correlaciones cerca de la diagonal.

TOCSY (Total Correlation Spectroscopy) o HOHAHA (Homonuclear Hartman Hanh Experiment): Experimento que muestra la correlación de núcleos que se encuentran formando un sistema de espín.

NOESY (Two dimensional Nuclear Overhauser Spectroscopy): Experimento que muestra el efecto nuclear Overhauser entre dos protones. La intensidad de la señal depende de la masa molecular del compuesto. Este efecto es factible observarlo dado que requiere un tiempo muy largo que permita el intercambio de información sobre la proximidad de los núcleos que se encuentran cerca a través del espacio. A este tiempo se le llama de mezclado.

EXSY (Two dimensional Exchange Spectroscopy): Experimento similar al NOESY con tiempos de mezclado mayores a los utilizados en este experimento.

ROESY (Rotating-frame Overhauser Enhancement Spectroscopy): Experimento que muestra el efecto en el marco rotante de coordenadas, similar al NOE, solo que este efecto NO depende de la masa molecular del compuesto.

➤ Experimentos heteronucleares en 2D

HETCOR (Heteronuclear Correlation Spectroscopy): Experimento que detecta al núcleo menos sensible y muestra la correlación a un enlace de distancia entre núcleos distintos; esto es, muestra que núcleos están acoplados a un enlace de distancia.

COLOC (Correlated spectroscopy via Long range Coupling): Experimento de detección directa que determina las correlaciones a larga distancia entre protón y un heteronúcleo. No suprime las correlaciones a un enlace de distancia.

LRHETCOR (Long Range HETCOR): Experimento de detección directa que muestra las correlaciones a dos y a tres enlaces de distancia entre núcleos diferentes. Suprime las correlaciones a un enlace de distancia.

FLOCK (Multiple Bird long Range Correlation Spectroscopy): Experimento de detección directa que muestra la correlación a dos o a tres enlaces de distancia entre núcleos diferentes. Suprime las correlaciones a un enlace de distancia.

HMQC (Heteronuclear Multiple Quantum Correlation): Experimento que detecta al núcleo más sensible y muestra la correlación a un enlace de distancia entre núcleos distintos vía coherencia cuántica múltiple.

HSQC (Heteronuclear Single Quantum Correlation spectroscopy): Experimento de detección indirecta que muestra la correlación a un enlace de distancia entre núcleos distintos vía coherencia cuántica sencilla.

HMBC (Heteronuclear Multiple Bond Correlation): Experimento que detecta al núcleo más sensible y muestra la correlación a dos o a tres enlaces de distancia entre núcleos distintos vía coherencia cuántica múltiple.

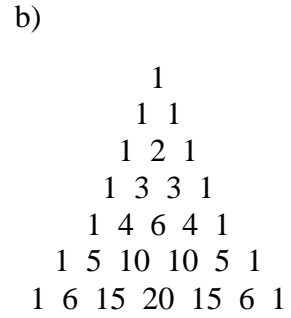
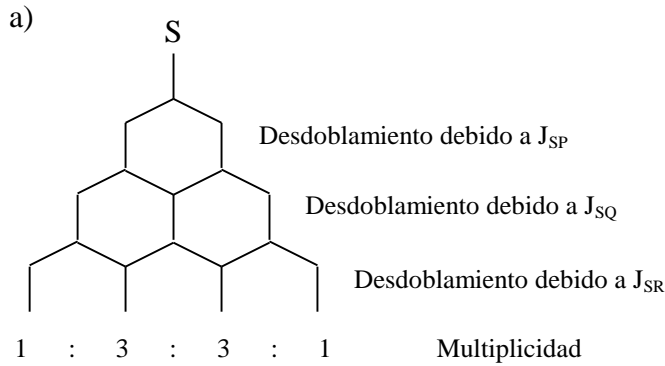
Algunos núcleos magnéticamente activos

Table 1.2 A selection of nuclear isotopes and their properties. A complete listing of nuclear spins, gyromagnetic ratios and Larmor frequencies (omitting the sign) may be found on the website www.webelements.com.

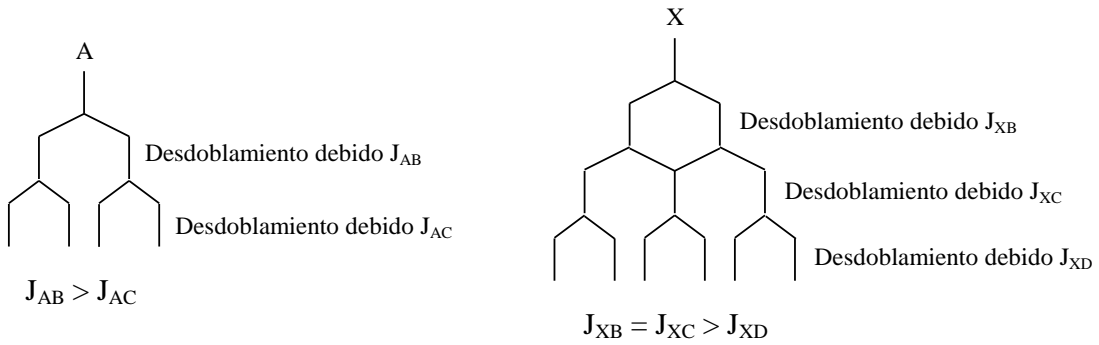
Isotope	Ground-state spin	Natural abundance/%	Gyromagnetic ratio $\gamma/10^6 \text{ rad s}^{-1} \text{ T}^{-1}$	NMR frequency at 11.74 T $(\omega^0/2\pi)/ \text{ MHz}$
^1H	1/2	~100	267.522	-500.000
^2H	1	0.015	41.066	-76.753
^3H	1/2	0	285.349	-533.320
^{10}B	3	19.9	28.747	-53.718
^{11}B	3/2	80.1	85.847	-160.420
^{13}C	1/2	1.1	67.283	-125.725
^{14}N	1	99.6	19.338	-36.132
^{15}N	1/2	0.37	-27.126	+50.684
^{17}O	5/2	0.04	-36.281	+67.782
^{19}F	1/2	~100	251.815	-470.470
^{23}Na	3/2	~100	70.808	-132.259
^{27}Al	5/2	~100	69.763	-130.285
^{29}Si	1/2	4.7	-53.190	+99.336
^{31}P	1/2	~100	108.394	-202.606
^{35}Cl	3/2	75.77	10.610	-48.990
^{37}Cl	3/2	24.23	8.832	-40.779
^{63}Cu	3/2	69.17	71.118	-132.577
^{65}Cu	3/2	30.83	76.044	-142.018
^{107}Ag	1/2	51.84	-10.889	+20.239
^{109}Ag	1/2	48.16	-12.518	+23.268
^{129}Xe	1/2	24.4	-74.521	+139.045
^{207}Pb	1/2	22.1	55.805	-104.603
^{12}C	0	98.9		
^{16}O	0	~100		

Acoplamiento escalar (Diagramas de árbol)

a) Constantes de acoplamiento iguales



b) Constantes de acoplamiento diferentes



Double-double-triplet: $J = 4.0, 3.0, 1.5$

