

CARRERA DE ESPECIALIZACION EN BIOTECNOLOGIA INDUSTRIAL FCEyN-UBA / INTI

Materia de Articulación CEBI_A3

QUIMICA ORGANICA DE BIOPROCESOS

Docente a cargo: **Dra. Silvia Flores**

CEBI_A3_ 6: Resonancia Magnética Nuclear

RMN

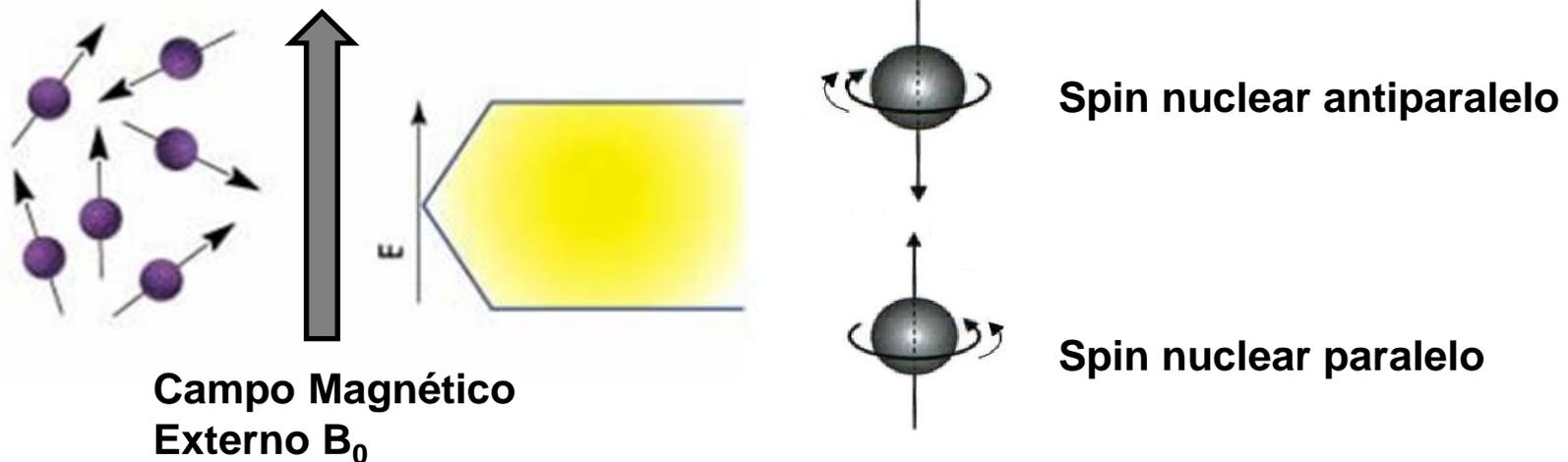
Fundamentos

Se requiere de elementos cuyos núcleos posean spin distinto de cero.

El spin es una propiedad mecanocuántica de las partículas elementales.

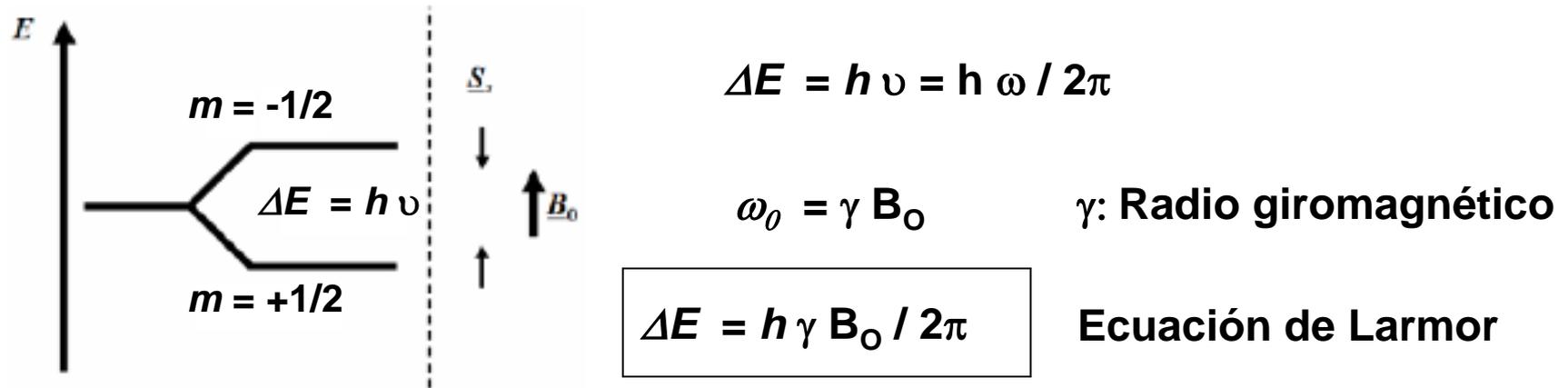
En este caso se origina un pequeño campo magnético representado por un vector, ***momento magnético nuclear***

Si se aplica un campo magnético externo (B_0), el momento magnético se alinea en forma paralela o antiparalela, dos estados de distinta energía.



RMN

La transición desde una orientación del spin nuclear a otra, bajo la acción de un B_0 , produce el fenómeno de resonancia.



¿Qué núcleos son activos en RMN?

- Si A (número másico) es impar, posee $I = n/2$ (I es el número cuántico de spin y n es impar)
- Si A es par y Z (número atómico) es impar, posee $I = n$
- Si A y Z son pares, posee $I = 0$

Resultan útiles: ^1H , ^{13}C , ^{15}N , ^{19}F , ^{31}P (todos con $I = 1/2$)

La sensibilidad de la técnica depende de:

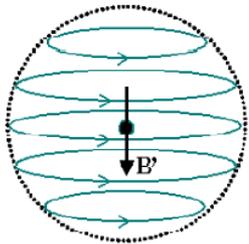
- Radio giromagnético (γ)
- Campo Magnético externo (B_0)
- Abundancia relativa de los isótopos

Núcleo	Relación giromagnética	Abundancia relativa (%)	Frecuencia a 23,49 KG (MHz)	Sensibilidad relativa (%)
^1H	26,75	99,99	100,000	100
^2H	4,11	0,015	15,352	0,96
^{13}C	6,73	1,1	25,147	1,59
^{19}F	25,168	100	94,087	83,4
^{31}P	10,829	100	40,485	6,64

RMN

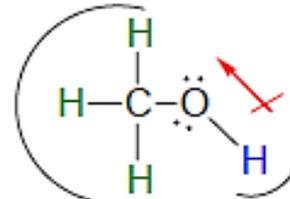
El entorno electrónico de un dado núcleo afecta su respuesta de resonancia.

Campos **magnéticos inducidos** por **electrones** en enlaces σ y π :
Apantallamiento (se opone, protección) o Desapantallamiento (se acopla, desprotección)

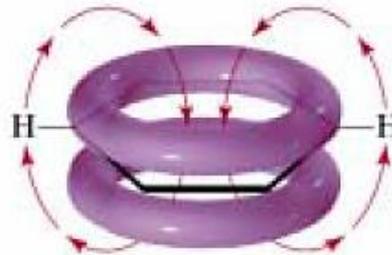


B_0

más apantallados:
absorben a campo más alto



menos apantallado:
absorbe a campo más bajo



campos magnéticos inducidos

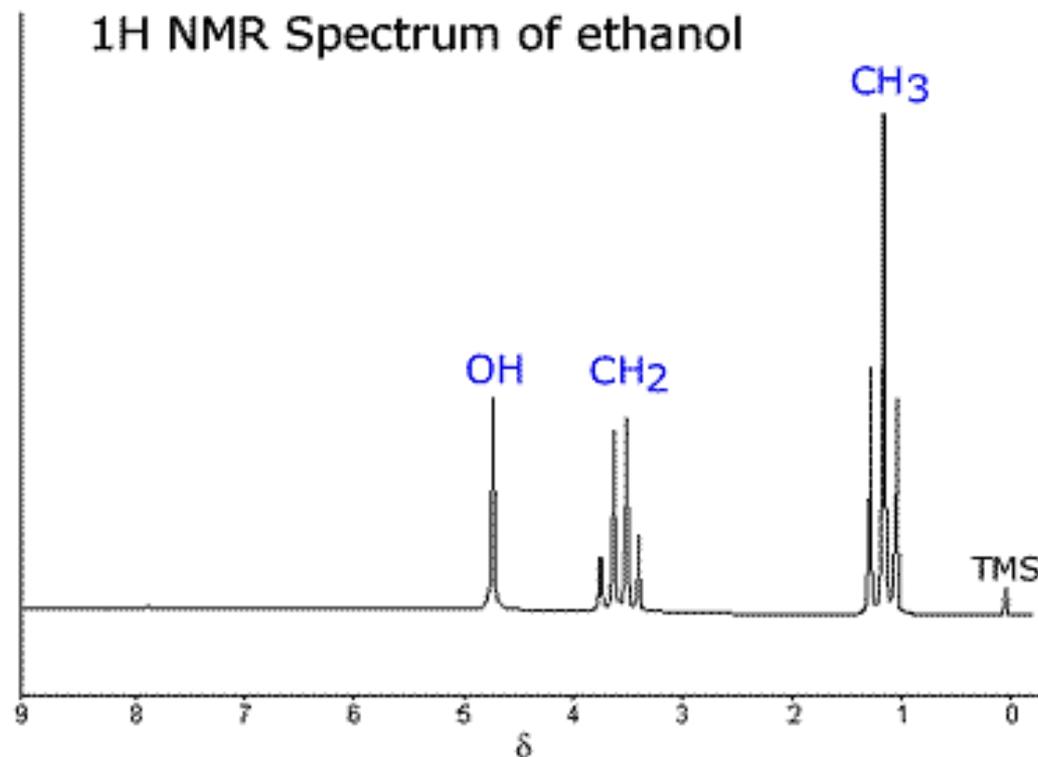
RMN

Desplazamientos químicos

El distinto apantallamiento de los núcleos genera variaciones en la frecuencia de absorción de RMN: desplazamientos químicos (δ , ppm)

$$\delta \text{ (ppm)} = \frac{\nu_{\text{muestra}} - \nu_{\text{referencia}}}{\nu_{\text{referencia}}} \times 10^6$$

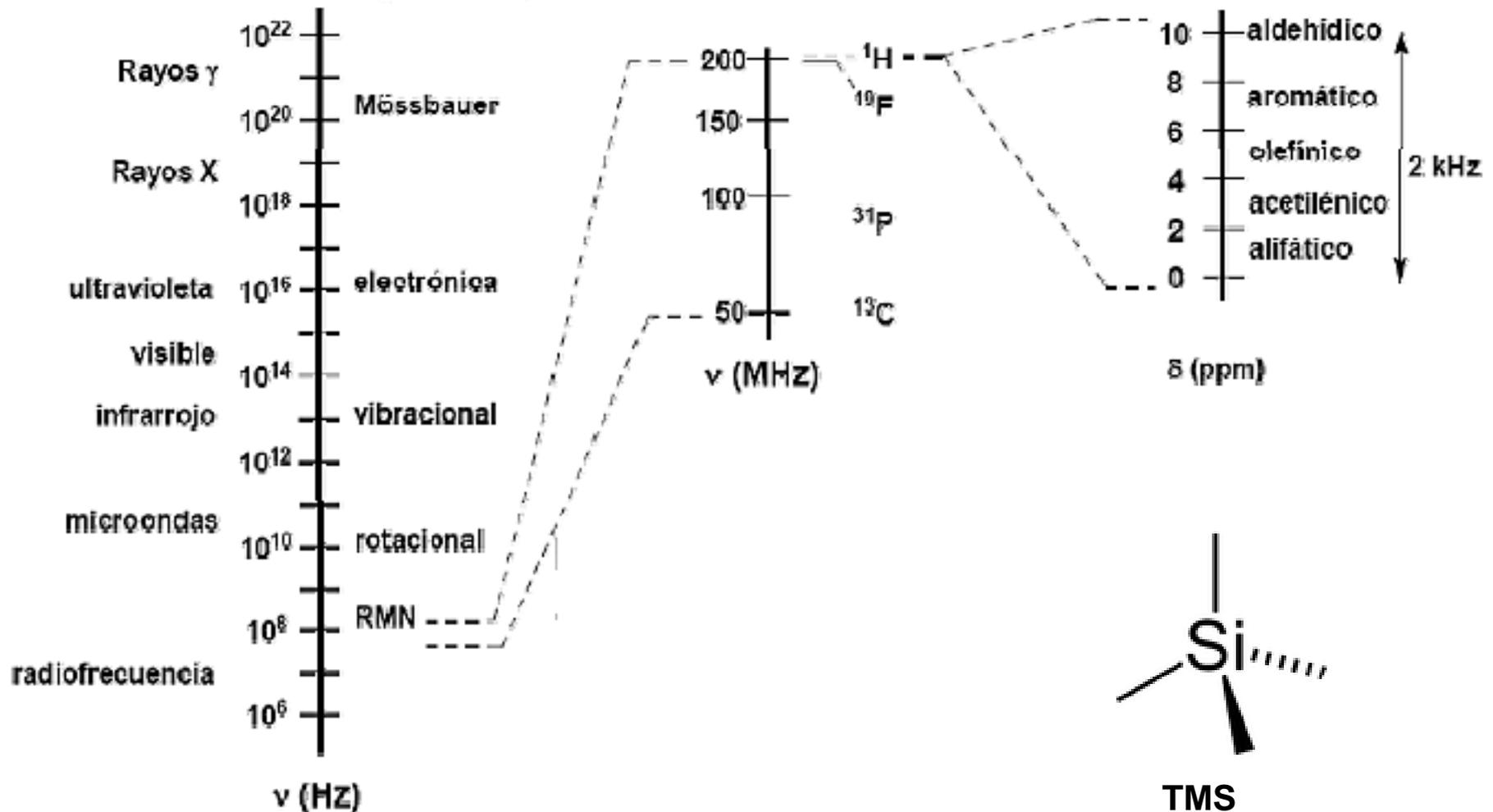
RMN- ^1H etanol

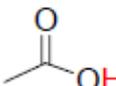
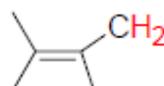
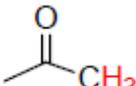
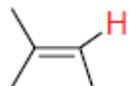


RMN

Desplazamientos químicos

RMN en un campo de 4,7 Tesla

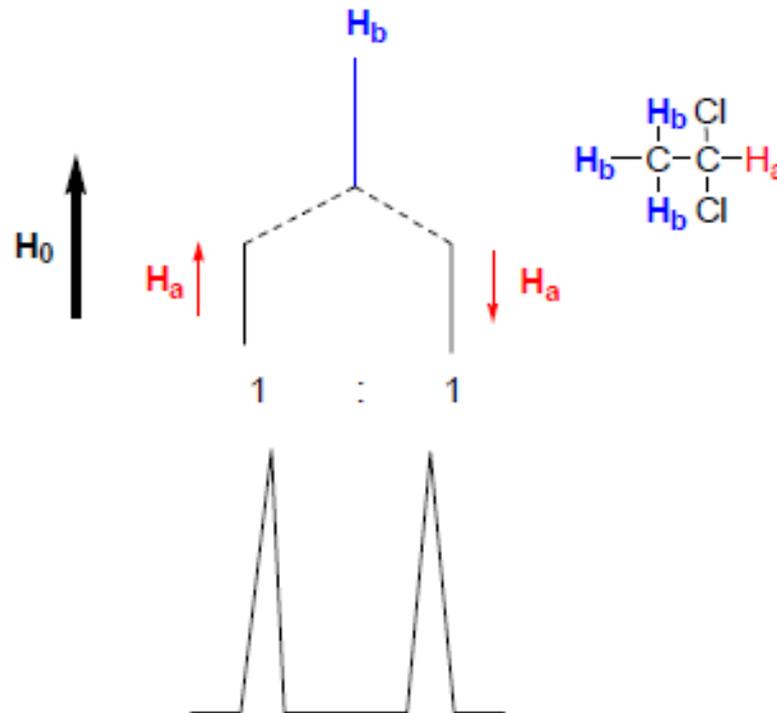


tipo de protón	Despl. químico (δ)	tipo de protón	Despl. químico (δ)
$-\text{CH}_3$	0.7-1.3		9.5-10.0
$-\text{CH}_2-$	1.2-1.4		10.0-12.0
$-\text{CH}$	1.4-1.7	$-\text{C}-\text{OH}$	1.0-6.0
	1.5-2.5	$\text{O}-\text{C}-\text{H}$	3.3-4.0
	2.1-2.6	$-\text{C}-\text{NH}_2$	1.5-4.0
$-\text{C}\equiv\text{C}-\text{H}$	2.5-3.1	$\text{Cl}-\text{C}-\text{H}$	3.0-4.0
$\text{Ar}-\text{H}$	6.0-9.0	$\text{Br}-\text{C}-\text{H}$	2.5-4.0
	4.5-6.5	$\text{I}-\text{C}-\text{H}$	2.0-4.0

RMN

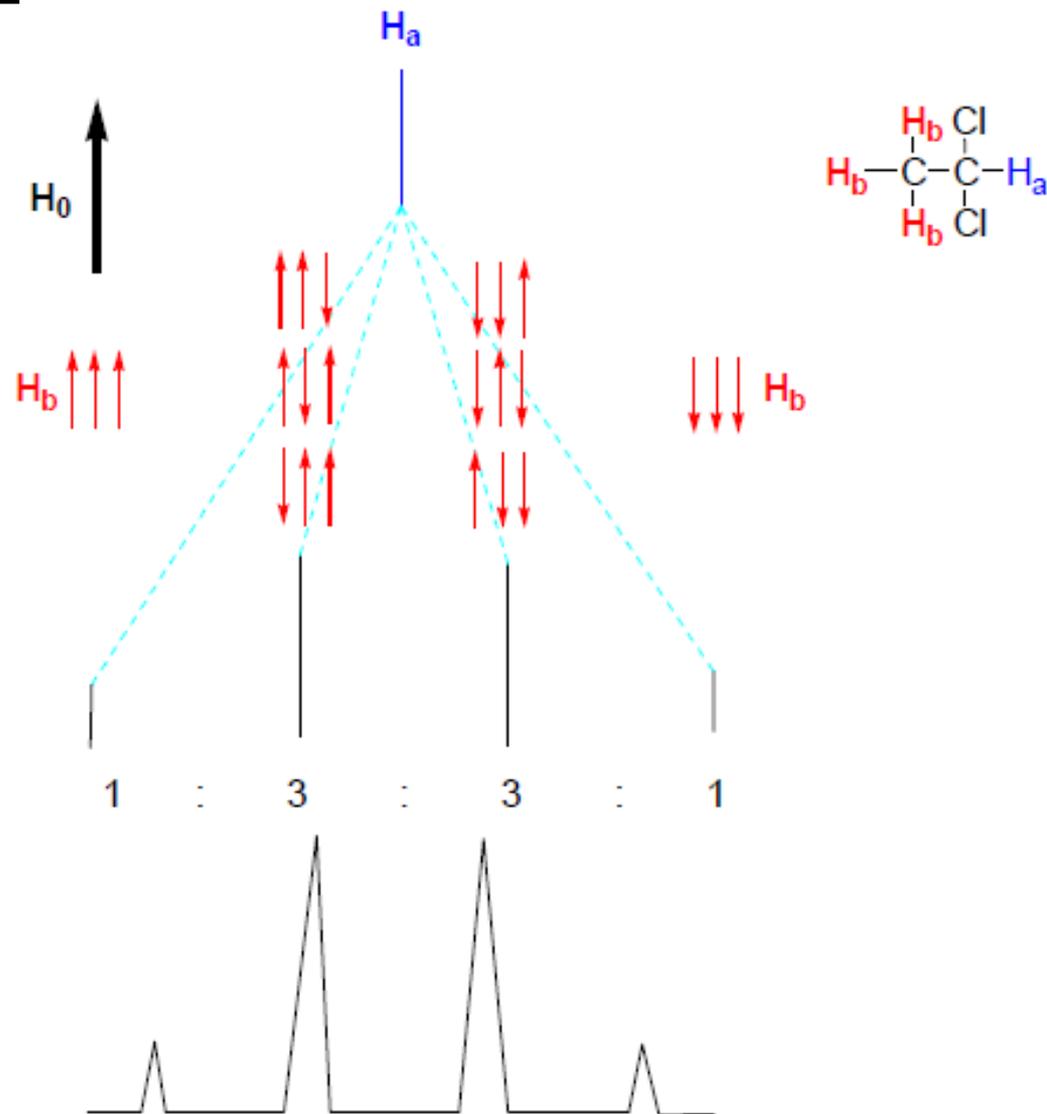
Acoplamiento spin-spin

La excitación o relajación de **núcleos** vecinos (por ejemplo H en carbonos adyacentes, no equivalentes al H en cuestión) en la molécula, provoca un desdoblamiento de la señal. Esto es resultado de la orientación de los spines de los distintos núcleos en presencia de H_0 .



RMN

Acoplamiento spin-spin



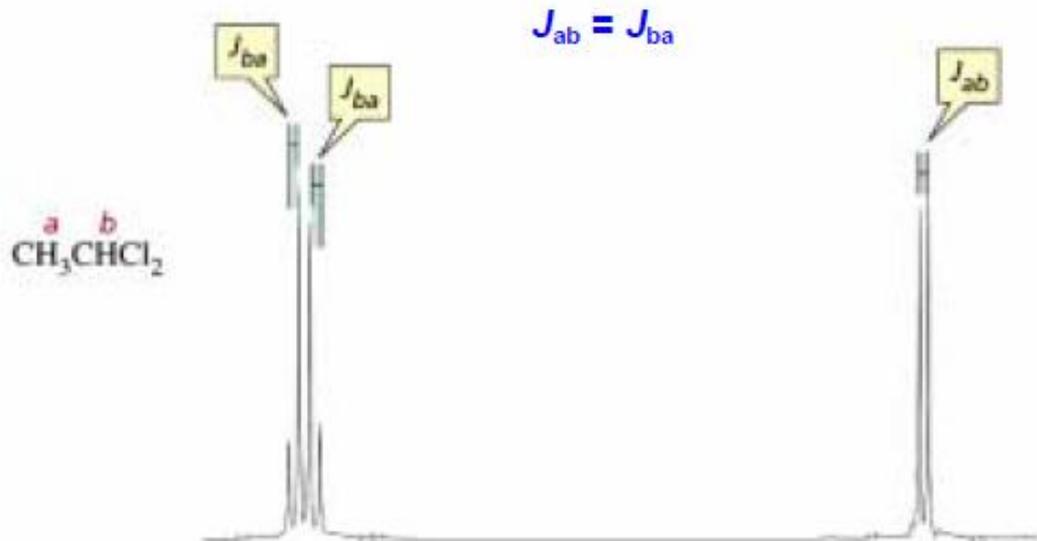
N. protones equivalentes	Número de picos (multiplicidad)	Relaciones de área (triángulo de Pascal)
0	1 (singulete)	1
1	2 (doblete)	1 1
2	3 (triplete)	1 2 1
3	4 (cuadruplete)	1 3 3 1
4	5 (quintuplete)	1 4 6 4 1
5	6 (sextuplete)	1 5 10 10 5 1

RMN

Constantes de acoplamiento J_{ab}

Es la separación entre picos en los multipletes (medida en Hz).

- ✓ Da información sobre el entorno nuclear (conectividad)
- ✓ Indica cuan fuertemente interactúan los núcleos en cuestión (geometría)
- ✓ El valor de J es independiente del B_0 aplicado ya que surge de la interacción entre espines nucleares entre sí
- ✓ J es igual para las señales correspondientes a los núcleos considerados



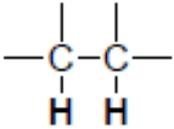
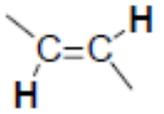
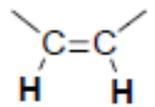
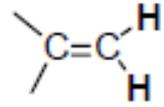
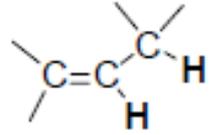
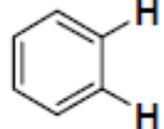
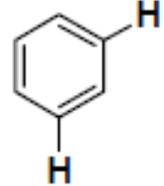
RMN

Constantes de acoplamiento J_{ab}

Muchos valores de J están tabulados.

Son característicos de cada sistema

Dependen de: tipo de hibridación, distancia entre enlaces, geometría

Estructura							
J (Hz)	7	15	10	2	6	8	2

$^1\text{H}-^1\text{H}$

H-C-H	-12 a -16 Hz
H-C-C-H	7 Hz
axial-axial	8 a 12 Hz
axial ecuatorial	2 a 3 Hz
ecuatorial-ecuatorial	2 a 3 Hz
alílico	1 a 2 Hz
aromáticos	
orto	8 Hz
meta	2 Hz
para	0,5 Hz

X- ^1H

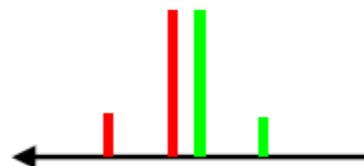
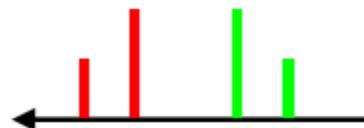
C(sp ³) -H	125 Hz
C(sp ²) -H	160 Hz
C(sp) -H	240 Hz
¹³ C-C-H	-5 a 5 Hz
¹³ C-C-C-H	0 a 5 Hz
¹⁵ N(sp ³) -H	61 Hz
¹⁵ N(sp ²) -H	91 Hz
³¹ P-H	200 a 700 Hz
³¹ P-X-X-H	6 Hz

RMN

Acoplamiento

Puede ocurrir si el Δv de la señal entre dos tipos de núcleos es chica respecto de la magnitud de sus J.

$\Delta v \gg J_i$ Acoplamiento débil



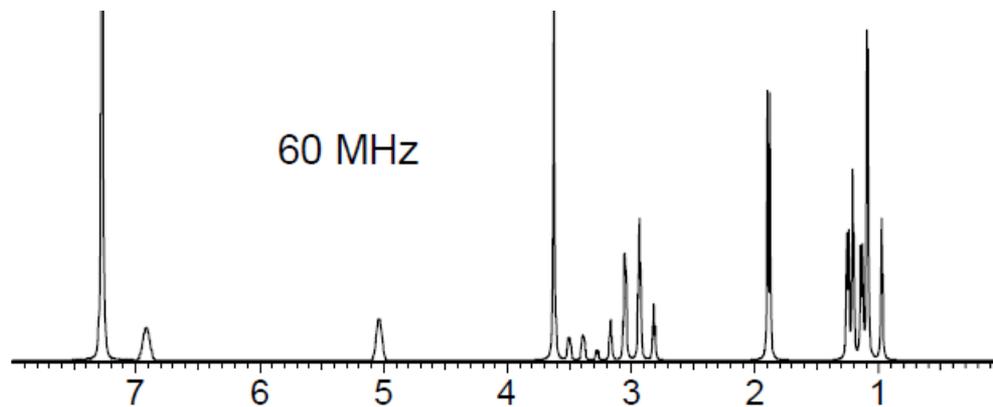
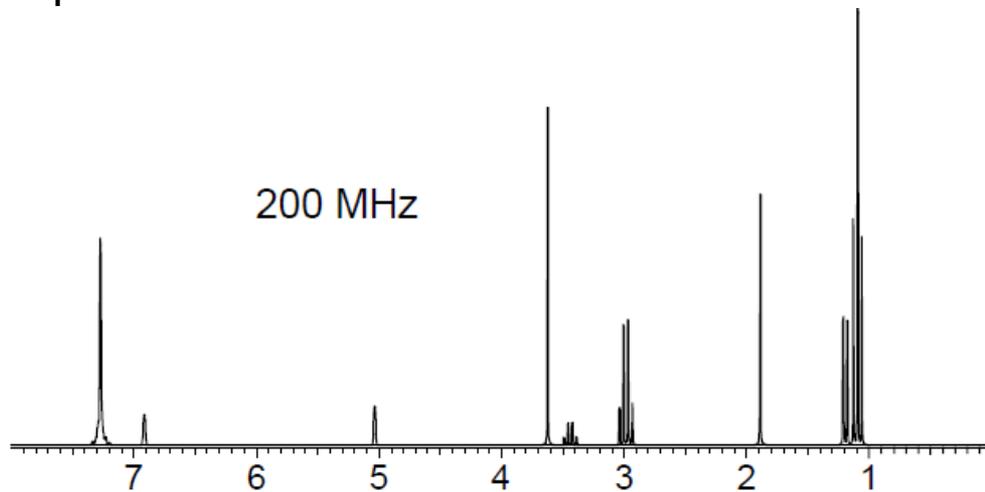
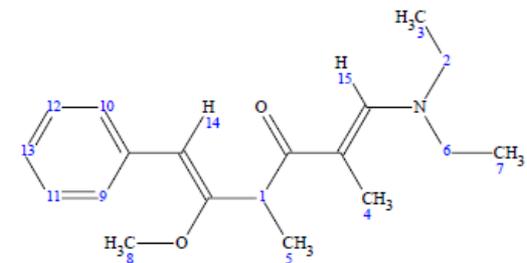
Acoplamiento fuerte



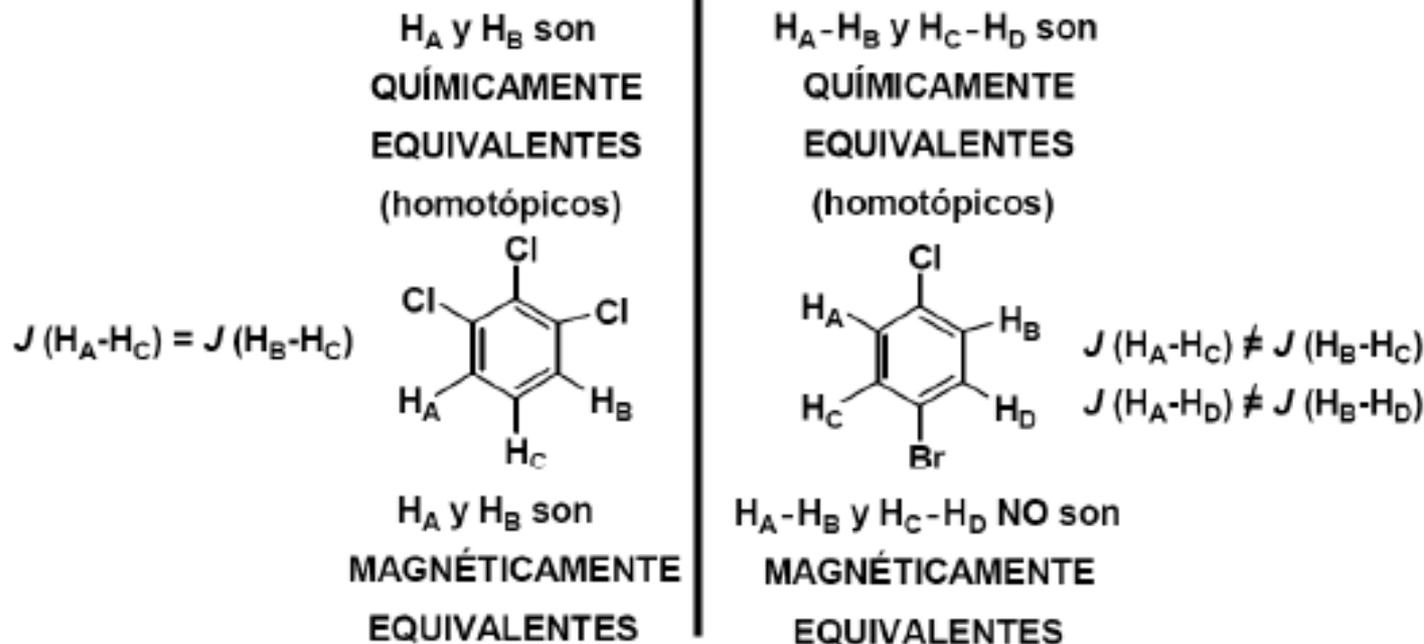
RMN

Acoplamiento

Los equipos de RMN, trabajan haciendo un barrido de campo (B_0) variable a una frecuencia constante. Cuanto mayor es esta frecuencia, las señales múltiples se estrechan, contribuyendo a simplificar las situaciones de acoplamiento de señales.



Group	nH	Shift	Error
1	1	3.439	0.34
2	2	2.984	0.39
3	3	1.096	0.21
4	3	1.888	0.1
5	3	1.197	0.22
6	2	2.984	0.39
7	3	1.096	0.21
8	3	3.622	0.45
9	1	7.265	0.27
10	1	7.265	0.27
11	1	7.287	0.16
12	1	7.287	0.16
13	1	7.242	0.17
14	1	5.033	0.22
15	1	6.912	0.58



Dos núcleos son químicamente equivalentes cuando pueden ser intercambiados en un molécula mediante una operación de simetría

Dos núcleos son magnéticamente equivalentes si presentan igual J con los demás núcleos de la molécula.

RMN

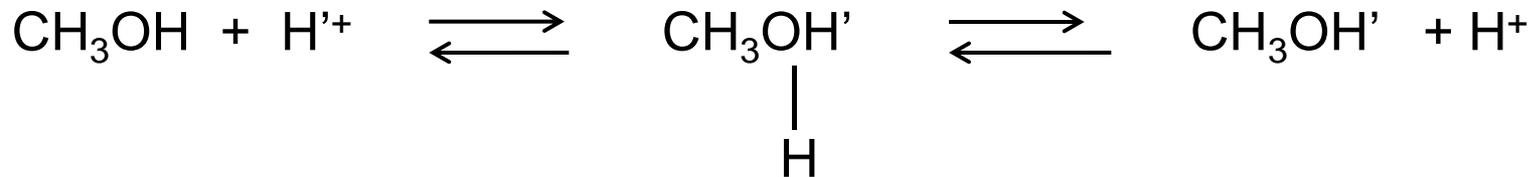
Solventes

Uso de solventes deuterados: CDCl_3 , D_2O , $\text{DMSO } d_6$

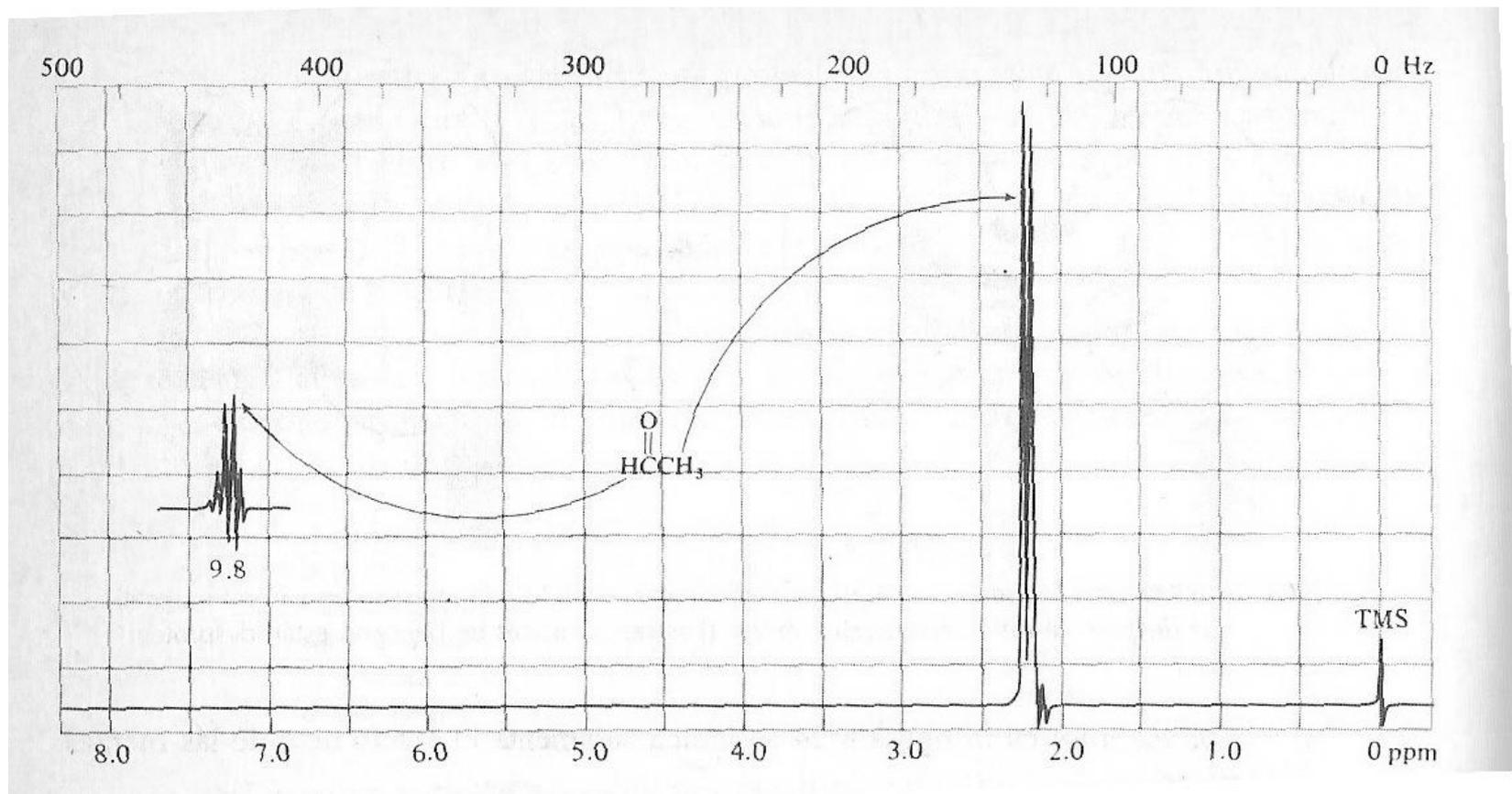
D posee spin nuclear y se utiliza como referencia interna para la homogeneidad del B_0

Solventes con electrones π : efecto de solvatación anisotrópico

Solventes próticos: supresión de señales por intercambio químico

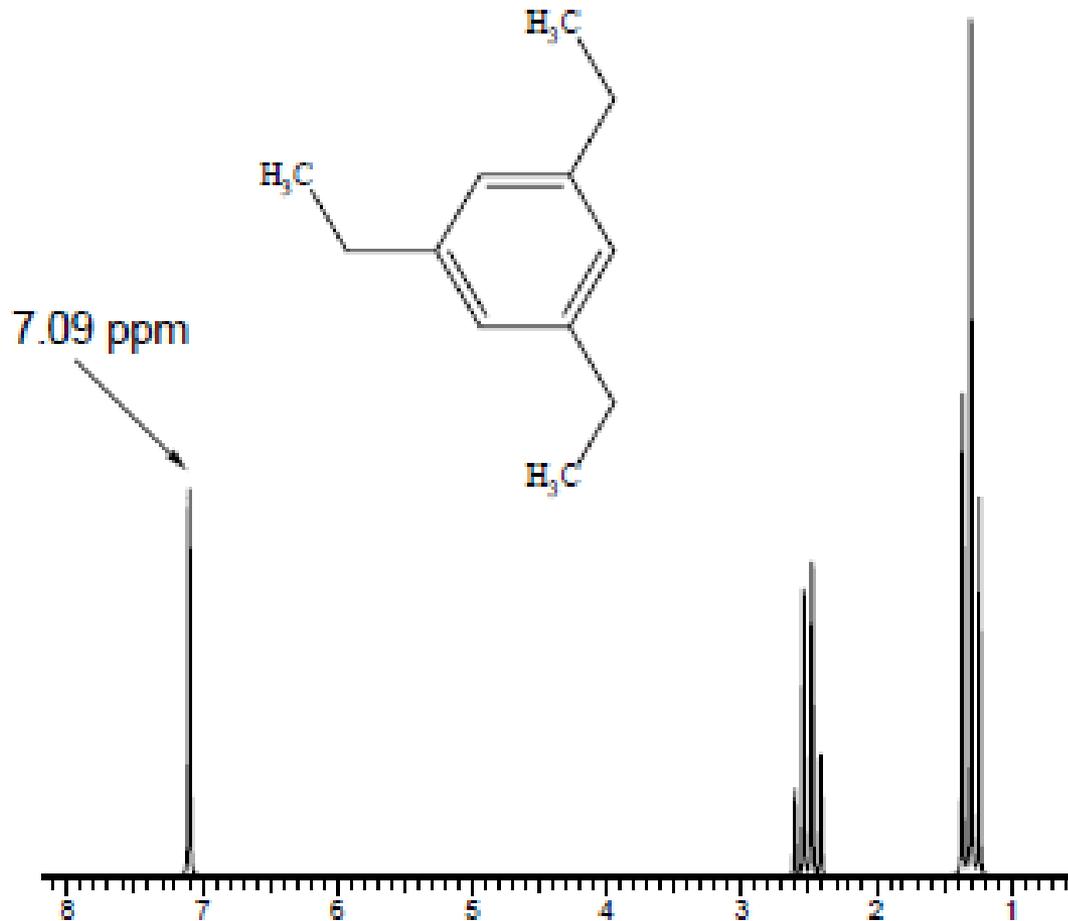


RMN-¹H



¹H acetaldehído

RMN-¹H



RMN – ¹³C

Proporcionan una descripción de los átomos de C en la molécula

Abundancia relativa muy baja (1.1%), requiere equipos más sensibles

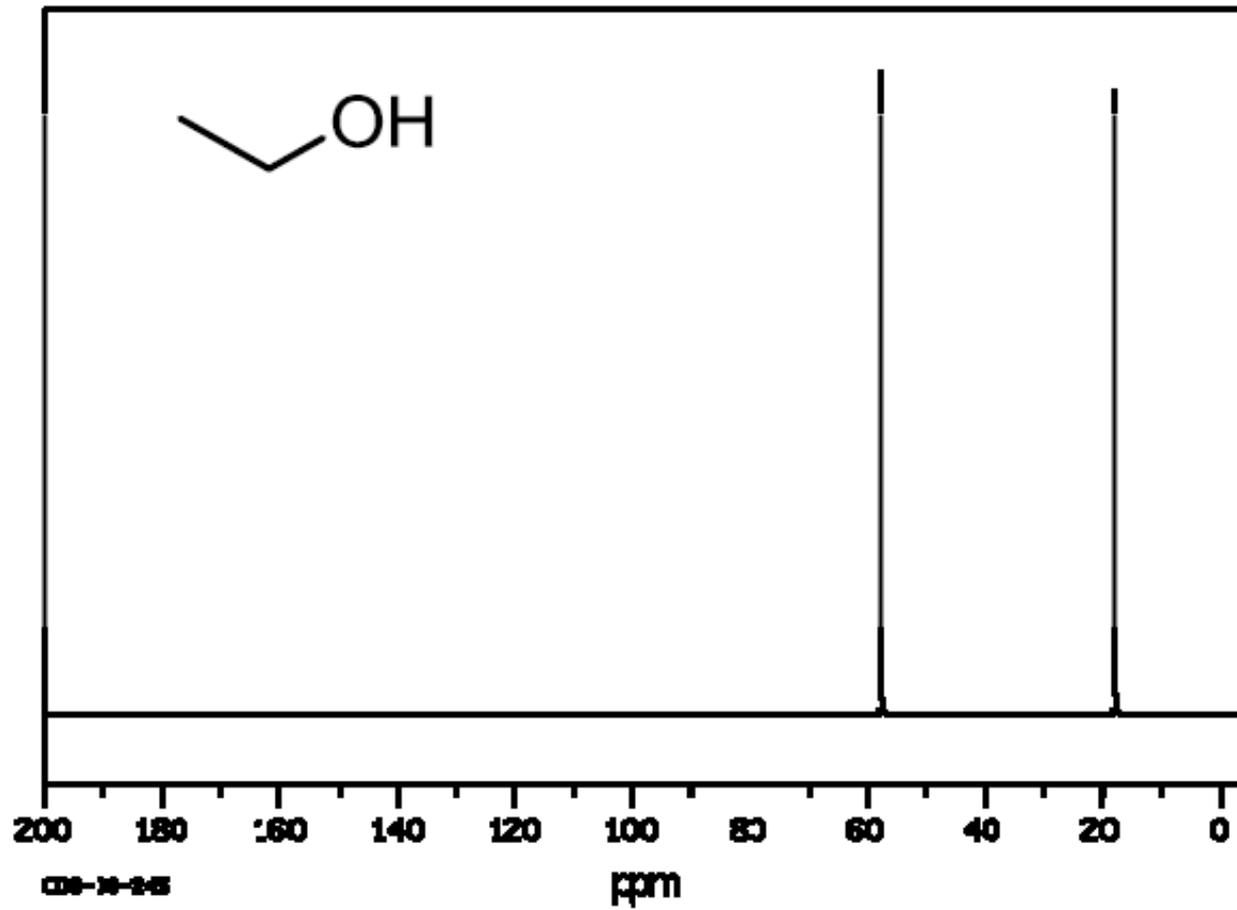
Debido a la baja abundancia, poco probable hallar dos ¹³C vecinos: no se observan desdoblamientos.

Los desplazamientos químicos son más grandes (-10 a 220 ppm respecto al TMS)

Espectros pueden mostrarse con o sin acoplamiento de ¹H

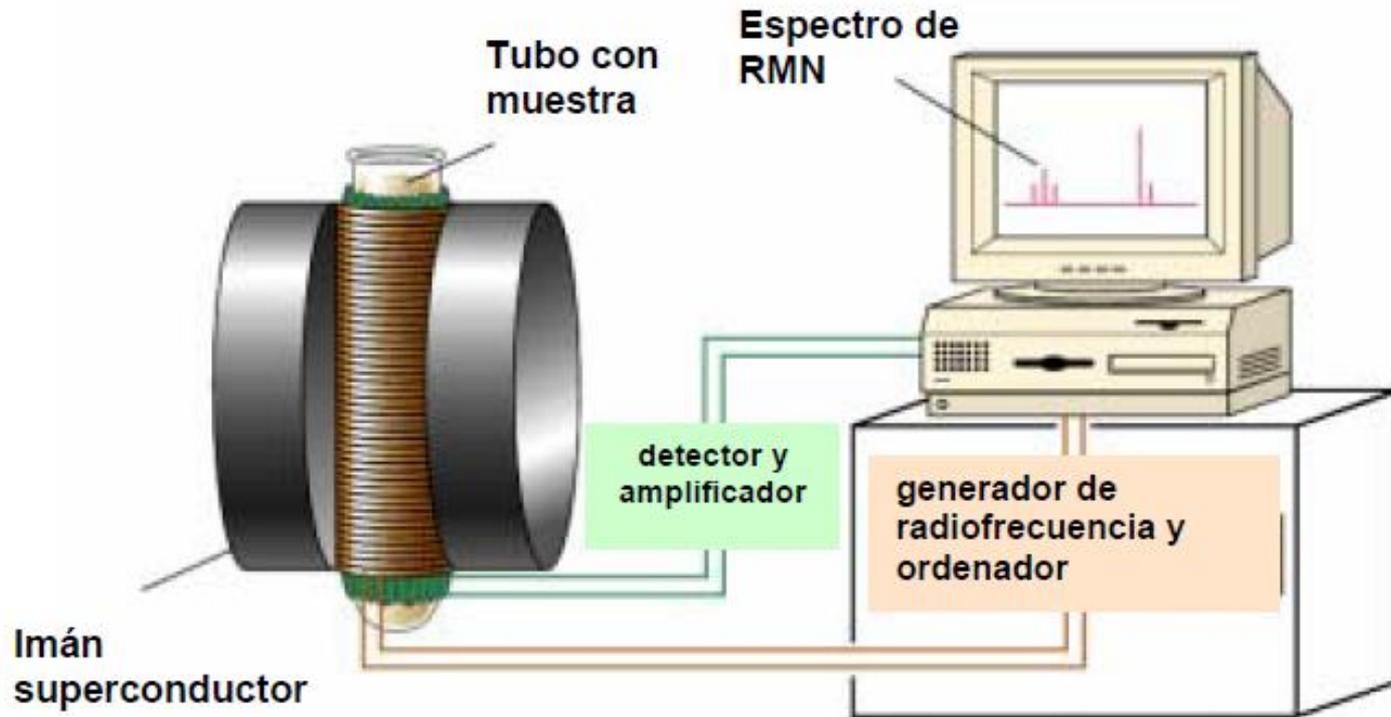
No se practica el análisis de áreas.

RMN-¹³C



¹³C metanol

RMN Equipamiento



Existen equipos de hasta 1GHz

Aporta información de:

- **Desplazamiento químico:** característico del entorno electrónico que acompañan al núcleo (grupos funcionales vecinos, geometría)
- **Constantes de acoplamiento (J):** característico del entorno nuclear del núcleo (conectividad, estereoquímica relativa y espacial).
- **Áreas:** el área de la señal es proporcional a su abundancia relativa (número de núcleos que genera esa señal).

Aplicaciones

- Análisis y caracterización estructural de compuestos orgánicos y biomoléculas (proteínas, ácidos nucleicos).
- Análisis cuantitativo en alimentos (humedad, lípidos, calidad de los AG).
- Identificación y cuantificación de principios activos
- Estudios dinámicos (químicos, conformacionales)
- Exploración no invasiva de dispositivos, tejidos y organismos.

Espectroscopía de RMN

Ventajas

Gran cantidad de información estructural
No requiere tratamiento previo de la muestra
No invasiva

Desventajas

Poco sensible
Depende de la presencia de átomos con spin nuclear
Empleo de sv deuterados
Alta pureza de la muestra a analizar
Tiempos de adquisición del orden de los segundos (no aplicable a procesos rápidos)

Variantes:

Espectros de correlaciones (enlaces o espacial) 2D y 3D, homonucleares y heteronucleares.