

CINCUENTA AÑOS DE RESONANCIA MAGNETICA NUCLEAR

por

Juan Crisóstomo Martínez Valderrama*

Resumen

Martínez V., J. C.: Cincuenta años de resonancia magnética nuclear. Rev. Acad. Colomb. Cienc. 21(80): 335-345, 1997. ISSN 0370-3908.

Se presenta una breve información de los principales desarrollos de la Resonancia Magnética Nuclear durante sus cincuenta años de existencia, ejemplificando con dos casos (HETCOR e INADEQUATE) la aplicación a la determinación estructural de compuestos orgánicos.

Palabras claves: RMN, HETCOR, INADEQUATE, Deducción estructuras.

Abstract

Short information about the main developments of Nuclear Magnetic Resonance during their fifty existence years is presented. Beside two examples of application (HETCOR and INADEQUATE) to the structural determination of organic compounds are described.

Key words: NMR, HETCOR, INADEQUATE, Structural determination.

Introducción

Desde el descubrimiento del fenómeno de la Resonancia Magnética Nuclear (RMN), en forma simultánea e independiente en 1946 por los profesores Purcell y Bloch en los laboratorios de Física de las Universidades de Harvard y Stanford respectivamente, esta técnica ha sufrido un desarrollo excepcional, hasta el punto que se le puede considerar como una disciplina científica madura de amplia utilización. Purcell et al. (1946) trabajaron so-

bre los núcleos de hidrógeno de ceras parafínicas utilizando una radiofrecuencia de 30 MHz con un campo magnético de 7 Kgauss. Bloch et al. (1946) trabajaron sobre una muestra de agua y operando a 7.8 MHz con un campo magnético de 1.8 Kgauss. Estos primeros trabajos fueron de interés para los físicos y estuvieron encaminados a la medida de propiedades nucleares, pero en 1951 Martín Packard y sus colaboradores (Arnold et al. 1951) en la universidad de Stanford publicaron, por primera vez, el espectro de RMN de hidrógeno (RMN¹H) del etanol como era observado en la pantalla del osciloscopio y estaba formado por tres picos con relación en áreas 1:2:3; también dieron los datos de RMN¹H de los cinco primeros alcoholes primarios. Esta comunicación es el punto de partida

* Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, A.A. 14490, Santafé de Bogotá, D.C., FAX (57-1)-3681530 E-mail: jumarva@ciencias.ciencias.unal.edu.co

en la aplicación de esta técnica a la elucidación estructural y revolucionó completamente el estudio de la química. Los desarrollos de la RMN fueron amplios y esto llevó a una enorme gama de aplicaciones en la Química Orgánica, Bioquímica, Química de Superficies, Industrias Agroalimentarias, Medicina, etc.

El que varios Físicos y Químicos hayan obtenido el premio Nobel por sus trabajos que tienen relación con la RMN, que se hayan escrito cerca de dos centenares de libros y que se tengan varias publicaciones periódicas de reconocido prestigio científico exclusivamente sobre este tema, da una idea de la enorme importancia y desarrollo de la RMN en sus cincuenta años de existencia. Las cinco revistas más difundidas son: *Journal of Magnetic Resonance* que inició publicando un volumen por año y fue aumentando a cinco volúmenes por año, *Organic Magnetic Resonance* que publica varios volúmenes por año y las publicaciones anuales; *Bulletin Magnetic Resonance*, *Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy* y *Annual Reports on NMR Spectroscopy*. Además, en casi todas las revistas que se publican deducciones estructurales se menciona algo sobre RMN. Como se puede observar, la literatura sobre este tema es muy amplia y con este escrito solamente se pretende dar una idea sobre los principales desarrollos de la técnica y en ningún momento hacer una revisión sobre la misma.

Generalidades

La RMN estudia la interacción de la radiación electromagnética, en la región de radio-frecuencias (rf), con los núcleos atómicos colocados en un campo magnético. Estos átomos a su vez hacen parte del armazón molecular por lo que este tipo de estudios ofrece información detallada sobre el ensamblaje atómico de las moléculas.

Los núcleos de los átomos están compuestos por protones, neutrones y otras subpartículas y asociado al núcleo hay un **número cuántico de espín nuclear (m)**. Los valores que **m** puede asumir para los diferentes núcleos son variados pero se pueden definir en función del **espín nuclear (I)**. Los valores de **I** son característicos para cada isótopo y pueden ser iguales a cero o diferentes de cero. Los isótopos están definidos por su número atómico (**Z**) y por su número de masa (**M**), y una regla empírica que permiten predecir si el espín nuclear de un isótopo es cero o diferente de cero se basa en estos dos números, así:

El núcleo de un isótopo para el cual los valores de **Z** y **M** son ambos pares debe tener un valor de **I = 0**. Ejemplo ^{12}C ($Z=6, M=12$), ^{16}O ($Z=8, M=16$), ^{18}O ($Z=8, M=18$), ^{32}S ($Z=16,$

$M=32$). Este tipo de núcleos no tiene propiedades magnéticas y por tanto no pueden ser detectados por la RMN.

El núcleo de un isótopo para el cual uno o ambos de los valores de **Z** y **M** es impar tiene un valor de **I = 0.5**. Los núcleos de aquellos isótopos para los cuales **I** es diferente de cero tienen un momento angular **p** y como son cargas giratorias tienen asociado un momento magnético nuclear μ . Estos valores están relacionados por la expresión $\mu = \gamma p$, donde γ es característica de cada núcleo y se conoce con el nombre de constante giromagnética. Ejemplo ^1H ($Z=1, M=1, I=1/2$), ^2H ($Z=1, M=2, I=1$), ^{10}B ($Z=5, M=10, I=3/2$), ^{11}B ($Z=5, M=11, I=3/2$), ^{13}C ($Z=6, M=13, I=1/2$), ^{14}N ($Z=7, M=14, I=1$), ^{15}N ($Z=7, M=15, I=1/2$), ^{17}O ($Z=8, M=17, I=5/2$), ^{19}F ($Z=9, M=19, I=1/2$), ^{31}P ($Z=15, M=31, I=1/2$). Este tipo de núcleos son detectables por RMN.

Los espines nucleares en ausencia de campo magnético no tienen una orientación preferida, están al azar, pero al ser sometidos a un campo magnético al momento magnético nuclear adquiere $2I+1$ orientaciones preferidas. Así, cuando un núcleo con $I=1/2$ es sometido a un campo magnético externo, H_0 , el momento magnético nuclear se orienta según dos direcciones que corresponden a dos niveles de energía, y estas orientaciones, con relación al sentido del campo magnético aplicado, pueden ser del mismo sentido (paralelas, menor energía) y de sentido opuesto (antiparalelas, mayor energía). A causa de la interacción del núcleo (carga en movimiento) con el campo magnético aplicado, se genera un movimiento precesional del momento magnético nuclear (μ) alrededor de H_0 , tal como se muestra en la figura 1, para un μ orientado en el mismo sentido de H_0 . La velocidad de precesión ν_p (frecuencia) es proporcional al campo magnético aplicado y a la constante giromagnética, según la expresión: $\nu_p = \gamma H_0 / 2\pi$. Puesto que cada isótopo tiene su propio γ , se encuentra que cada núcleo tiene su propia frecuencia de precesión para cada valor de H_0 . Al aplicar un radio frecuencia ν_1 , perpendicular a H_0 , se genera una componente magnética H_1 giratoria en el plano x-y. Cuando el campo magnético generado y la precesión nuclear están rotando a la misma velocidad, el núcleo absorbe la energía y cambia de orientación, ocurriendo el fenómeno de la Resonancia Magnética Nuclear. En otras palabras, cuando ν_1 es igual a la frecuencia de precesión del núcleo se observa la resonancia.

Desarrollo

En la década del 50 empieza a desarrollarse la técnica de RMN ^1H y aparecen en el mercado los primeros espectrómetros comerciales de 40 y 60 MHz que utilizan campos magnéticos bajos (10 y 14.1 Kgauss) y ope-

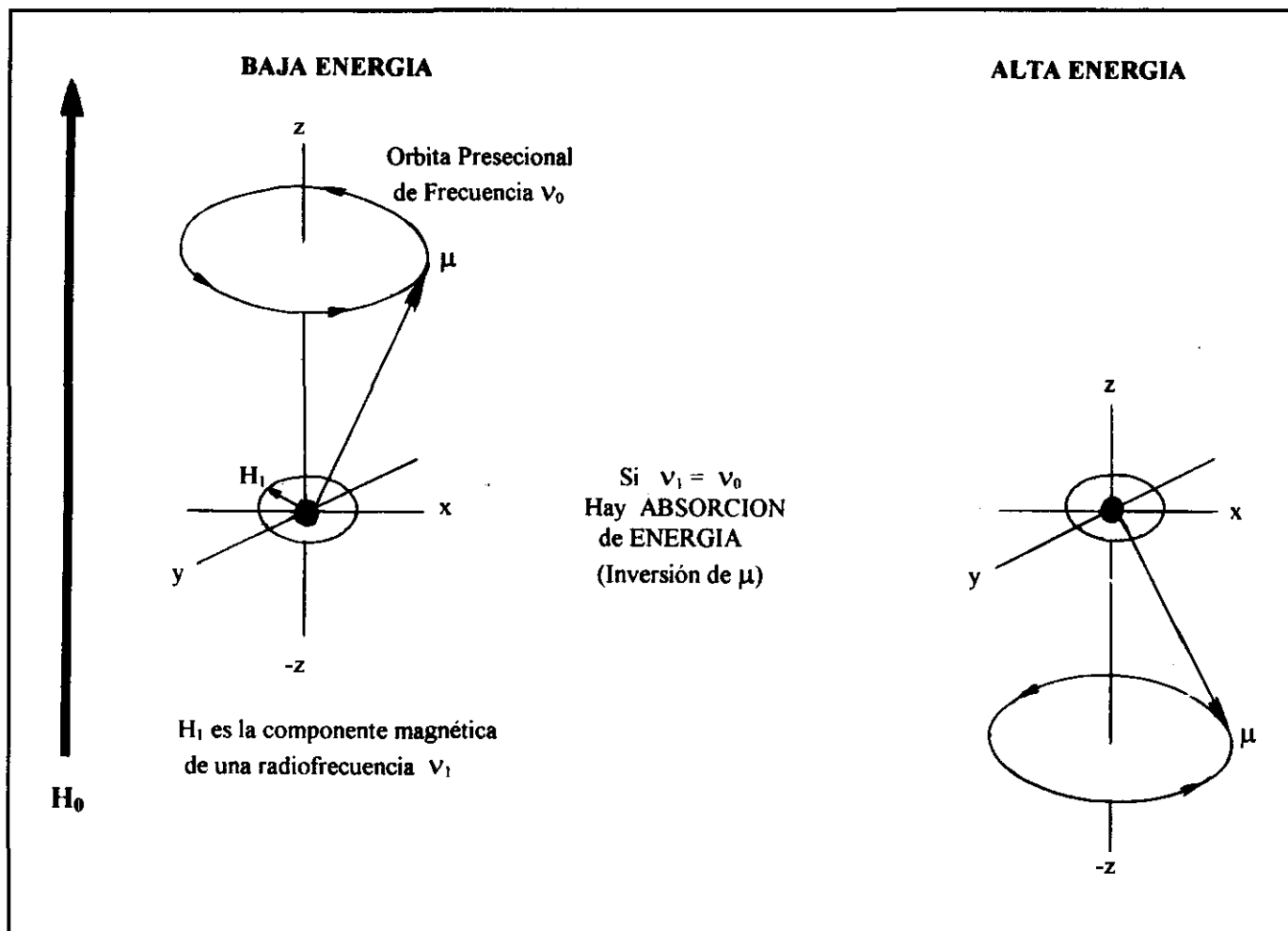


Figura 1. Absorción de la energía en R.M.N.

ran por el método de onda continua. En este tipo de equipos solamente se podían tomar buenos espectros de núcleo cuya detección fuese muy fácil (hidrógeno), mientras que los núcleos de muy baja sensibilidad no fue posible trabajarlos. Para solucionar los problemas de baja sensibilidad se recurrió al sistema CAT (Computer of Average Transients) que son equipos de onda continua y barrido acumulativo. En el sistema CAT el equipo de onda continua es conectado a un computador y a medida que se hace el barrido la señal es almacenada en el computador y se repite el barrido muchas veces, obteniéndose en el computador la suma de varios espectros que al final puede ser registrada en un papel. Puesto que las señales originadas por el ruido electrónico son al azar, ellas varían en intensidad y signo, y se cancelan, mientras que las señales debidas a absorción de RMN que son siempre del mismo signo se refuerzan; de tal manera que al

final de n barridos el aumento de la señal con relación al ruido es igual a raíz cuadrada de n . Con esta técnica se mejoró la sensibilidad pero a expensas de mayor tiempo y no fue suficiente para desarrollar la RMN de núcleos poco sensibles y de interés para la química orgánica, como ^{13}C , ^{17}O y ^{15}N cuyo grado de dificultad de detección con relación al ^1H es de 6000, 95000 y 265000 veces, respectivamente.

En los comienzos de la década del 70 hay un nuevo avance en la instrumentación de RMN, al salir al mercado equipos que, en lugar de utilizar onda continua, trabajan por el método de pulsos y subsecuente transformada de Fourier. En esta técnica se excitan simultáneamente todos los núcleos de interés, para lo cual se aplica un pulso de radiofrecuencia que tiene una duración de 1 a 100 microsegundos y una intensidad alta (de 10 a 100 w),

obteniéndose después del pulso una señal llamada "Free Induction Decay" (FID) que contiene toda la información del espectro (mezcla de ondas sinusoidales de diferentes frecuencias) y corresponde a un espectro en función del tiempo. Este no puede ser interpretado visualmente, siendo necesario transformarlo en un espectro en función de la frecuencia, lo cual se consigue mediante la transformada de Fourier. Cada FID, que es un espectro, puede ser obtenido en poco tiempo (1 a 5 segundos) y acumulando un gran número de ellos se aumenta enormemente la sensibilidad, en muy poco tiempo, de tal manera que esta técnica permitió el rápido desarrollo de la RMN de núcleos poco sensibles.

En las décadas del 60 y 70 se crearon técnicas experimentales cada vez más refinadas las cuales dieron un enorme avance a la RMN y su utilización para obtener información cada vez más detallada de las moléculas. Dentro de estas técnicas cabe mencionar las irradiaciones múltiples (Jackman & Sternhell 1969), la temperatura variable, el intercambio por deuterio y los reactivos de desplazamiento (Martínez et al. 1980).

Con relación a los campos magnéticos utilizados en la RMN también se presentaron desarrollos que mejoraron la aplicación de la técnica. Inicialmente se emplearon imanes permanentes que producían campos muy bajos (1 a 15 kG), como fueron los usados por Bloch (1.8 kG) y Purcell (7 kG) o los usados en los primeros espectrómetros comerciales de 30 y 60 MHz que corresponden a 7 y 14.1 kG, respectivamente. También se utilizaron electroimanes para operar equipos de 60, 80, 90 y 100 MHz cuya intensidad de campo magnético varía entre 14 y 23.5 kG. El último desarrollo corresponde a la utilización de superconductores que operan a 4.2 °K y producen campos magnéticos del orden de 50 a 150 kG utilizados en los equipos de 200 a 600 MHz. A finales de 1995 fue terminado de construir el equipo de mayor resolución que es de 800 MHz y utiliza un superconductor que produce un campo magnético de 200 kG.

El cambio revolucionario dado en la década del 70, por la introducción de pulsos como forma de excitación, continuó en la década del 80 en forma acelerada. El progreso en la tecnología de superconductores, en el procesamiento de datos y en la automatización instrumental en general, permitió el desarrollo de "nuevos experimentos" que cambiaron la forma en que los Químicos realizan la elucidación estructural. Estos "nuevos experimentos" tienen que ver con las formas o técnicas de generar la información espectroscópica, antes de la adquisición de la señal del FID. Las nuevas técnicas están basadas en combinaciones espe-

cíficas de pulsos, cambios de fases y tiempos de espera, cuyo conjunto se denomina SECUENCIA DE PULSOS. Variaciones en las secuencias de pulsos han permitido desarrollar una gran cantidad de experimentos para el registro de espectros en una, dos y tres dimensiones, de amplia utilización en la elucidación estructural. Dentro de las más utilizadas cabe mencionar las técnicas APT (Attached Proton Test) (Patt 1982), DEPT (Distortionless Enhancement Polarization Transfer) (Sadler 1988, Martínez 1991), COSY (Correlation Spectroscopy) Homonuclear (Turner 1984, Derome 1989), COSY Heteronuclear (Turner 1984, Derome 1989), NOESY (Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy) (Bax & Davis 1985, Derome 1989), INADEQUATE-2D (Incredible Natural Abundance Double Quantum Transfer Experiment 2-Dimension) (Bax et al. 1980, Bax et al. 1981), HMQC (Heteronuclear Multiple Quantum Coherence) (Martin & Crouch 1991), HMBC (Heteronuclear Multiple Bond Correlation) (Martin & Crouch 1991).

Hasta principios de la década de los 80, todos los espectros de RMN se tomaban en muestras líquidas o en soluciones y los intentos por examinar muestras en estado sólido daban espectros de baja resolución, con señales demasiado anchas que no permitían extraer ninguna información. Las razones para este comportamiento de los sólidos son dos: a) los efectos de anisotropía son muy grandes y b) las interacciones dipolo-dipolo se manifiestan muy fuertes. Afortunadamente estos inconvenientes fueron solucionados, construyendo equipos especiales en los cuales se trabaja la muestra en estado sólido rotándola a altísimas velocidades (4000 a 5000 revoluciones por segundo) en un ángulo especial con relación al campo magnético externo, que es conocido como "ángulo mágico" (54° 44') y en algunos casos usando técnicas de polarización cruzada. Estos espectros son conocidos como técnica CPMAS (Cross-Polarization, Magic Angle Spinning). Este avance instrumental es importante por permitir estudiar la naturaleza de la muestra en el estado sólido, la estructura de los cristales y las interacciones que cambian o desaparecen cuando la muestra es disuelta. Esta técnica tuvo rápida aplicación a la investigación de polímeros, carbones, catalizadores y cristales líquidos.

Otro de los desarrollos más interesantes de la RMN fue su aplicación a la Biología y a la Medicina. En el caso de la Biología se han realizado estudios de los procesos metabólicos en organismos vivos, exponiendo el organismo a un campo magnético y colocándole un pequeño embobinado transmisor-receptor en el sitio que se quiere estudiar, para obtener espectros de los núcleos cercanos a la superficie del embobinado. El núcleo más utilizado ha

sido el ^{31}P , por ser de especial importancia a los Bioquímicos, al hacer parte de muchos compuestos estratégicamente metabólicos (ATP, ADP, fosfocreatinina, etc.).

La aplicación de la RMN a la Medicina se inició a principios de la década del 80 y en un magnífico artículo de Ian Pykett (1982) se lee: "Una nueva técnica destinada a la observación de secciones transversales del cuerpo humano, que no expone al paciente a la acción de radiaciones ionizantes, está llamando a la puerta de la aplicación clínica: nos referimos a la formación de imágenes por resonancia magnética nuclear". Y el mismo autor escribía más adelante: "La formación de imágenes por RMN en medicina se encuentra en su infancia, por lo que hay que acumular un volumen sistemático de datos antes de asegurar su eficacia...". El desarrollo de la técnica conocida como MRI (Magnetic Resonance Imagin) (Andrews et al. 1986) o iconografía por RMN, en los últimos años, fue enorme y revolucionó el diagnóstico en la Medicina, teniendo limitaciones de aplicación solamente en pacientes con marcapasos, con clips vasculares y con prótesis metálicas. El hidrógeno es el átomo visualizado, porque está ampliamente distribuido en el cuerpo humano y porque su señal es fácilmente detectada. Evidentemente, la concentración de este átomo es esencial para la composición de la imagen; esta concentración es nula en el hueso, variable en los tejidos blandos, importante en los lípidos y altísima en el agua.

Ejemplos de aplicación

Dentro de los "nuevos experimentos" hay dos (COSY Heteronuclear e INADEQUATE-2D) sobre las cuales enfocaré la atención mostrando su utilización en la deducción rápida y segura de estructuras de compuestos orgánicos.

HETCOR

La técnica COSY Heteronuclear aplicada a carbono e hidrógeno (conocido como HETCOR) genera el espectro bidimensional que correlaciona ^{13}C y ^1H . En este espectro se observa en un eje el espectro de RMN^{13}C , en el otro eje el espectro de RMN^1H y en el centro las señales de correlación entre los carbonos y los hidrógenos (figuras 2 y 3). La correlación entre estos se busca trazando desde la señal de correlación las paralelas a cada uno de los ejes hasta las respectivas señales en cada uno de los espectros unidimensionales. La información obtenida es sobre el acoplamiento de ^{13}C - ^1H , y dependiendo de los parámetros experimentales utilizados, se pueden obtener correlaciones a una unión ($^1J_{\text{C-H}}$) o a larga distancia ($^2J_{\text{C-H}}$ o $^3J_{\text{C-H}}$) principalmente a tres uniones. Con la ayuda de estos es-

pectros, conocidos como HETCOR normal (correlaciones a una unión) y HETCOR LR (Long Rang, correlaciones a dos o tres uniones), se puede deducir con gran seguridad la fórmula estructural de moléculas orgánicas junto con la atribución inequívoca de las señales, como se muestra en el siguiente ejemplo.

En la figura 2 se muestra el espectro HETCOR normal del compuesto A aislado de las semillas de *Iryanthera laevis*. En el eje x se observa el espectro de RMN^{13}C y en el eje y el espectro de RMN^1H . Estos espectros indican que el compuesto es aromático ($\delta^{13}\text{C}$: señales entre 100 y 170; $\delta^1\text{H}$: señales entre 5.9 y 7.2) además de la presencia de un grupo C=O de cetona ($\delta^{13}\text{C}$ 205.1), dos grupos OCH_3 ($\delta^{13}\text{C}$: 56.1 y 55.3; $\delta^1\text{H}$: 3.74 y 3.88). De las señales de los carbonos aromáticos las cuatro que presentan tamaño grande son de carbonos que tienen hidrógeno directamente unido (δ : 91.8, 96.8, 114.5 y 130.1) por presentar señales de correlación, mientras que las seis de tamaño pequeño son de carbonos cuaternarios (δ : 105.7, 134.5, 158.8, 164.5, 165.5 y 168.3) por no presentar señales de correlación y de estas las cuatro últimas, por su desplazamiento mayor de 150, son de carbonos que tienen oxígeno directamente unido. En este espectro se observan en total ocho señales de correlación que indican las señales de los carbonos que están directamente unidos a hidrógenos y al mismo tiempo cual es la señal de los respectivos hidrógenos, lo cual permite elaborar parcialmente la tabla 1 (columnas 1 y 2). En esta

Tabla 1. Datos de RMN^1H del compuesto A y sus correlaciones con la RMN^{13}C obtenidas de espectros bidimensionales HETCOR

$\delta^1\text{H}$ en ppm	Correlación con ^{13}C a una unión. HETCOR normal (ppm)	Correlación con ^{13}C a dos o tres uniones. HETCOR LR (ppm)
2.87	30.6	130.1, 134.5 y 205.1
3.26	46.9	30.6, 46.9 y 205.1
3.74	55.3	55.3 y 158.8
3.88	56.1	56.1 y 164.5
5.95	96.8	91.8, 96.8, 105.7, 165.5 y 168.3
6.04	91.8	91.8, 96.8, 105.7, 164.5 y 165.5
—	105.7	—
6.82	114.5	114.5 y 134.5
7.15	130.1	114.5, 130.1 y 158.8
—	134.5	—
—	158.8	—
—	164.5	—
—	165.5	—
—	168.3	—
—	205.1	—
13.90	—	96.8, 105.7 y 168.3

Figura 2.
Espectro HETCOR normal ($^1J_{CH}$)
del compuesto A.

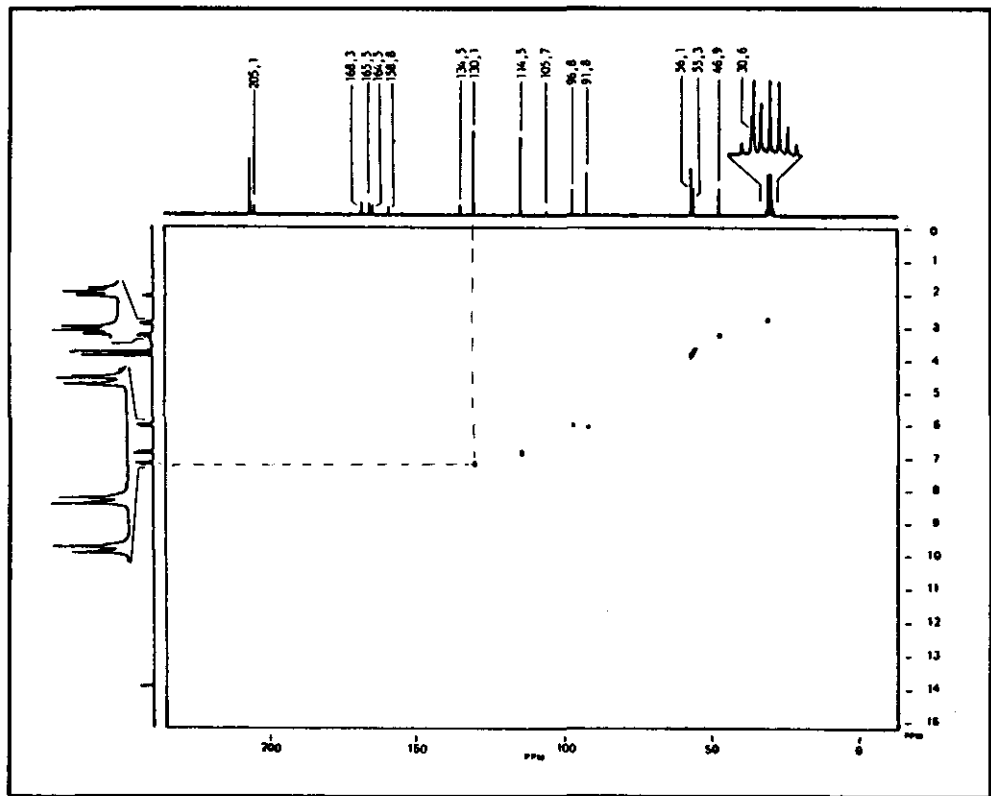


Figura 3.
Espectro HETCOR LR ($^2J_{CH}$ y $^3J_{CH}$)
del compuesto A.

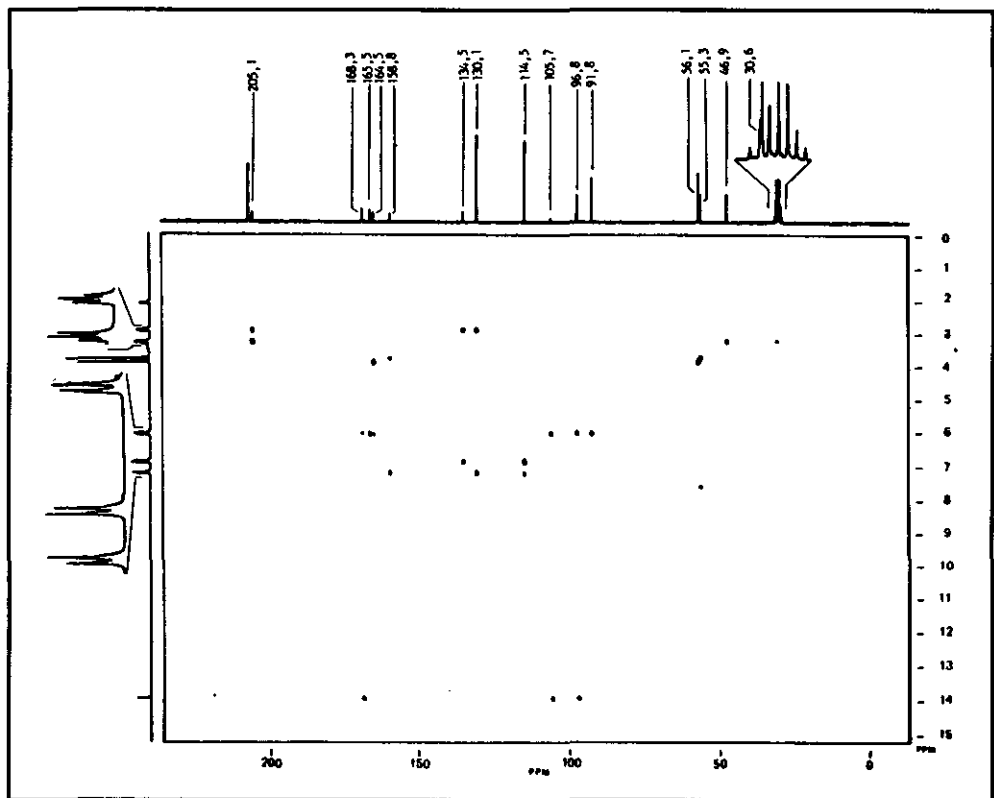
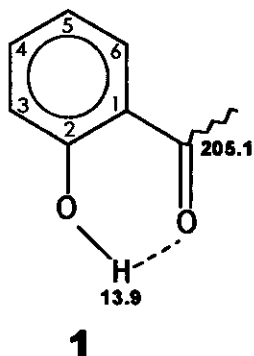
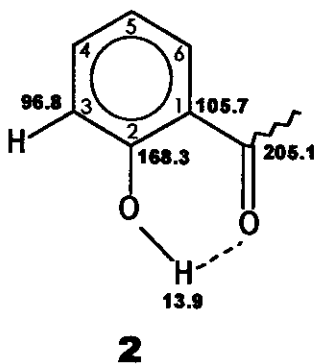


tabla también se muestran las correlaciones tomadas del espectro HETCOR LR (figura 3) las cuales corresponden a los ^1H y los ^{13}C que se encuentran a distancias de dos o tres uniones (en algunos casos se observa señal residual a una unión pero esas se pueden desechar por los datos de la segunda columna de la tabla).

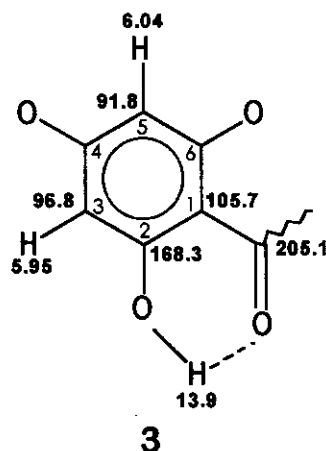
El espectro de RMN^1H indica la existencia de un grupo OH de fenol ($\delta^1\text{H}$: 13.90, no correlaciona a una unión con ningún carbono) que por su desplazamiento debe estar en posición *orto* al grupo carbonilo como se muestra en la fórmula 1.



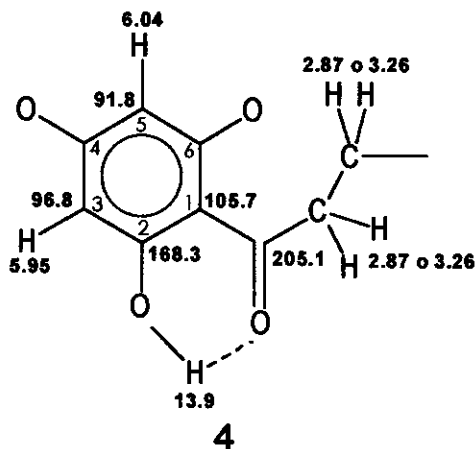
En el espectro HETCOR LR se observa correlación de la señal de ^1H en $\delta 13.9$ con las señales de ^{13}C en $\delta 168.3$, 105.7 y 96.8 las cuales deben corresponder a los carbonos 1, 2 y 3 (distancia entre el H y los carbonos deben ser de 2 o 3 uniones). De estas señales, la de mayor valor de desplazamiento debe corresponder al carbono que soporta el OH (carbono 2), la de 105.7 por ser de carbono cuaternario debe corresponder al carbono 1 y por tanto la de 96.8 es del carbono 3 (carbono con H), tal como se muestra en la fórmula 2.



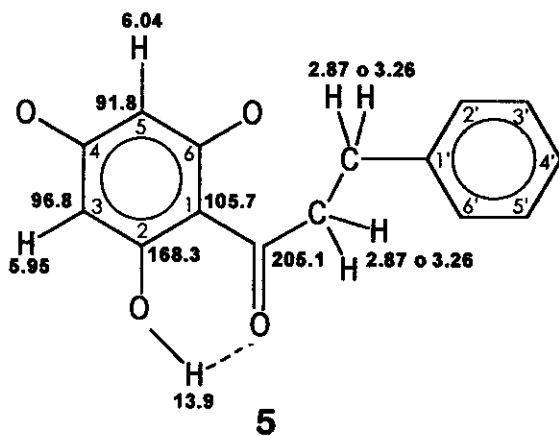
En el espectro HETCOR LR la señal de ^{13}C en $\delta 205.1$ no muestra correlación a 2 o 3 uniones con ningún hidrógeno aromático lo cual indica que en el carbono-6 no hay hidrógeno sino oxígeno y como para el carbono 2 ($\delta 168.3$) solamente se observan correlaciones con las señales de hidrógenos en $\delta 13.9$ (ya atribuido) y en $\delta 5.95$, esta última señal debe corresponder al hidrógeno del carbono 3, lo que está de acuerdo con la tabla 1 por correlacionar a una unión con el carbono en $\delta 96.8$. En el espectro de RMN^1H la señal en $\delta 5.95$ es un doblete con constante de acoplamiento 2 Hz (acoplamiento *meta*) y en ese mismo espectro la única señal con la misma constante está en $\delta 6.04$ lo que indica que esta señal corresponde al hidrógeno del carbono 5 y por tanto en el carbono 4 no hay hidrógeno sino oxígeno. De acuerdo con lo anterior la fórmula 2 se puede expandir para la fórmula 3.



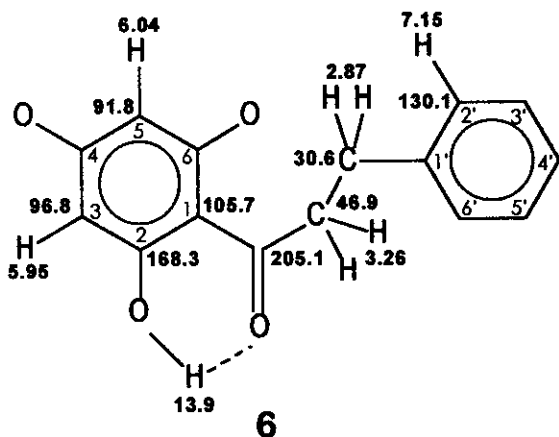
La señal del carbono carbonílico ($\delta 205.1$) únicamente correlaciona a larga distancia (Figura 3) con las señales de ^1H en $\delta 2.87$ y 3.26 . Como en el espectro de RMN^1H estas dos señales son tripletes y las únicas que están acopladas en la región alifática, deben corresponder a dos CH_2 directamente unidos y por tanto la fórmula 3 se puede expandir para la fórmula 4.



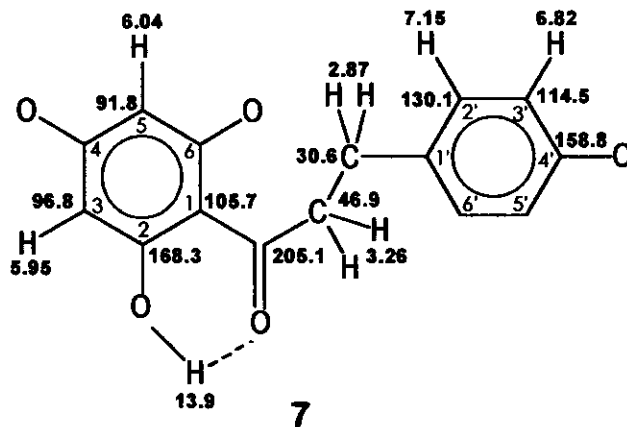
En el espectro HETCOR LR la señal ^1H en δ 2.87 correlaciona con las señales ^{13}C en δ 130.1, 134.5 y 205.1 ; como las dos primeras son de carbonos de anillo aromáticos y como ninguna de ellas corresponde al anillo de la fórmula 4 es necesario que exista otro anillo unido al CH_2 , como se muestra en la fórmula 5.



La señal de ^{13}C en δ 130.1 según el espectro HETCOR normal es de un carbono con hidrógeno directamente unido (^1H δ 7.15) y para que correlacione a dos o tres uniones con la señal de ^1H en δ 2.87 tiene que ser del carbono 2' o del 6' ; por lo tanto la señal en δ 2.87 tiene que ser de los hidrógenos del carbono directamente unido al anillo (carbono β al carbonilo) y la señal en δ 3.26 será de los hidrógenos del otro CH_2 (carbono α). De acuerdo con lo anterior y el espectro HETCOR normal (tabla 1, columnas 1 y 2), la señal del carbono α al carbonilo será la de δ 46.9 y la del carbono β será la de δ 30.5. Las anteriores asignaciones son mostradas en la fórmula 6.

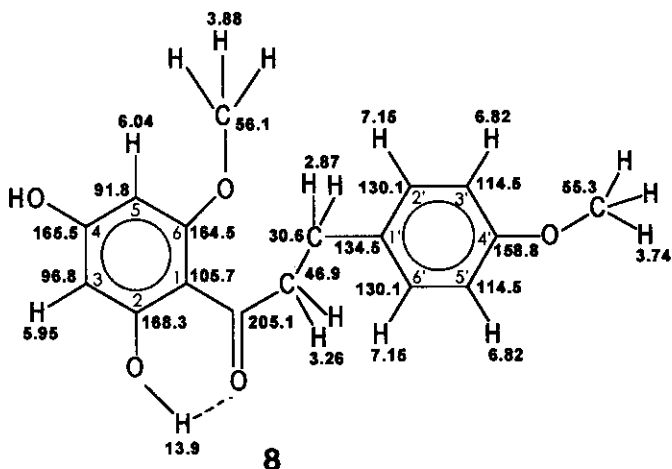


En el espectro de RMN^1H la señal en δ 7.15 es un doblete con constante de acoplamiento 9 Hz (acoplamiento *orto*) y en ese mismo espectro la única señal con la misma constante está en δ 6.82 lo que indica que en el carbono 3' hay hidrógeno y en el carbono 4' no hay hidrógeno. Como la señal de ^1H en δ 7.15 correlaciona a larga distancia con las señales de ^{13}C en δ 114.5, 130.1, 158.8 y como las dos primeras son de carbono con hidrógeno mientras que la última es de carbono con oxígeno, la fórmula 6 puede ser expandida para la fórmula 7 con las asignaciones indicadas.



La señal de ^{13}C en 134.5 correlaciona a larga distancia con las señales de ^1H en δ 2.87 y 6.82 por lo cual necesariamente esta señal debe ser del carbono 1'. En el espectro de RMN^1H y de RMN^{13}C no existen mas señales de hidrógenos y carbonos aromáticos que las ya asignadas por lo que los carbonos 2' y 6' así como 3' y 5' deben ser equivalentes lo mismo que sus respectivos hidrógenos. Finalmente solo faltan por asignar las señales de los dos grupos OCH_3 , ya mencionados (δ ^{13}C : 56.1 y 55.3 ; δ ^1H : 3.74 y 3.88). En el espectro HETCOR LR se observa que la señal ^1H en δ 3.74 correlaciona con la señal de ^{13}C en δ 158.8, lo cual indica que el carbono 4' soporta ese grupo OCH_3 , mientras que la señal en δ 3.88 correlaciona con la en δ 164.5. El grupo OCH_3 en δ 3.88 puede estar sobre el carbono 4 o sobre el carbono 6, esto se puede saber por las correlaciones a larga distancia teniendo en cuenta que la señal de ^1H en δ 6.04 (H-5) debe correlacionar con las señales de los carbonos 4 y 6 (solo faltan por asignar señales en δ 164.5, 165.5) mientras que la señal en δ 5.95 solamente debe correlacionar con la señal del carbono 4. En el espectro HETCOR LR se observa correlación de la señal en δ 5.95 con la señal en δ 165.5 (no se observa

correlación con señal en δ 164.5), lo que permite atribuir al carbono 4 la señal en δ 165.5 y al carbono 6 la señal en δ 164.5 y por tanto el grupo OCH_3 estará en el carbono 6. Por todo lo anterior la estructura del compuesto A corresponde a la fórmula 8 en la cual se muestran todas las asignaciones de las señales de RMN^1H y RMN^{13}C .



Inadequate-2D

Corresponde a un espectro bidimensional de RMN^{13}C obtenido con base en las interacciones de dos carbonos ^{13}C directamente unidos. Una presentación amplia sobre las bases teóricas y otras consideraciones sobre esta técnica se encuentra en dos publicaciones de Martínez (1986 y 1992). Aquí se presentan únicamente las consideraciones necesarias para entender el uso del espectro en la deducción de una estructura. Mediante el espectro INADEQUATE-2D se pueden obtener las conexiones entre cada uno de los carbonos que forman la molécula y por esto también se conoce con el nombre de espectro CCCP (Carbon-Carbon Connectivity Plots).

En la figura 4 se muestra el espectro CCCP del Cedrol que es un alcohol sesquiterpénico ($\text{C}_{15}\text{H}_{26}\text{O}$) aislado, junto con el Cedreno, a partir del aceite de madera de Cedro (*Juniperus virginiana*). En la parte superior de la figura 4 se encuentran numerados consecutivamente de 1 a 15 algunos de los picos del espectro normal de RMN^{13}C totalmente desacoplado, junto con la indicación de la multiplicidad (s = singlete, d = doblete, t = triplete y c = cuarteto), determinada en un espectro parcialmente desacoplado, las cuales indican el número de hidrógenos que soporta cada carbono así: singlete = C, doblete = CH, triplete = CH_2 y cuarteto = CH_3 . Para la interpretación de este espectro se deben tener en cuenta los siguientes puntos:

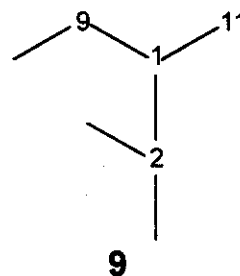
Las señales a tener en cuenta son aquellas que se presentan como dobletes y se encuentran debajo de la señal de cada carbono.

Dos carbonos están directamente unidos cuando sus dobletes caen en el mismo nivel horizontal (tiene la misma frecuencia cuántica doble) y están localizados simétricamente alrededor de la diagonal.

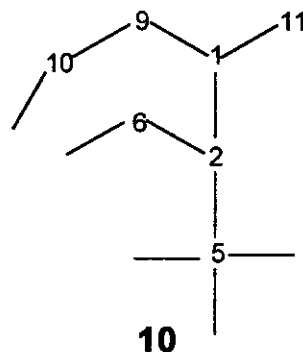
El número de dobletes para un carbono dado (señales en la misma vertical) indican el número de carbonos al cual dicho carbono está unido.

A continuación se muestra, en forma muy sencilla, como se puede deducir rápidamente la estructura del Cedrol utilizando el espectro de la figura 4.

Iniciando con la señal del carbono 1 se observa que tiene tres uniones que son con los carbonos 2, 9 y 11; además se observa que el carbono 2 tiene dos uniones más con carbonos, el carbono 9 tiene una unión más con otro carbono y el carbono 11 solo tiene esa unión. Esto nos permite dibujar la estructura 9 en la que los números representan carbonos.



El carbono 2 está unido a los carbonos 1, 5 y 6, mientras que el carbono 9 está unido a los carbonos 1 y 10 por lo que la estructura 9 se puede expandir para la estructura 10, teniendo en cuenta que el carbono 5 se une a tres carbonos más, y los carbonos 6 y 10 se unen cada uno a un carbono más.



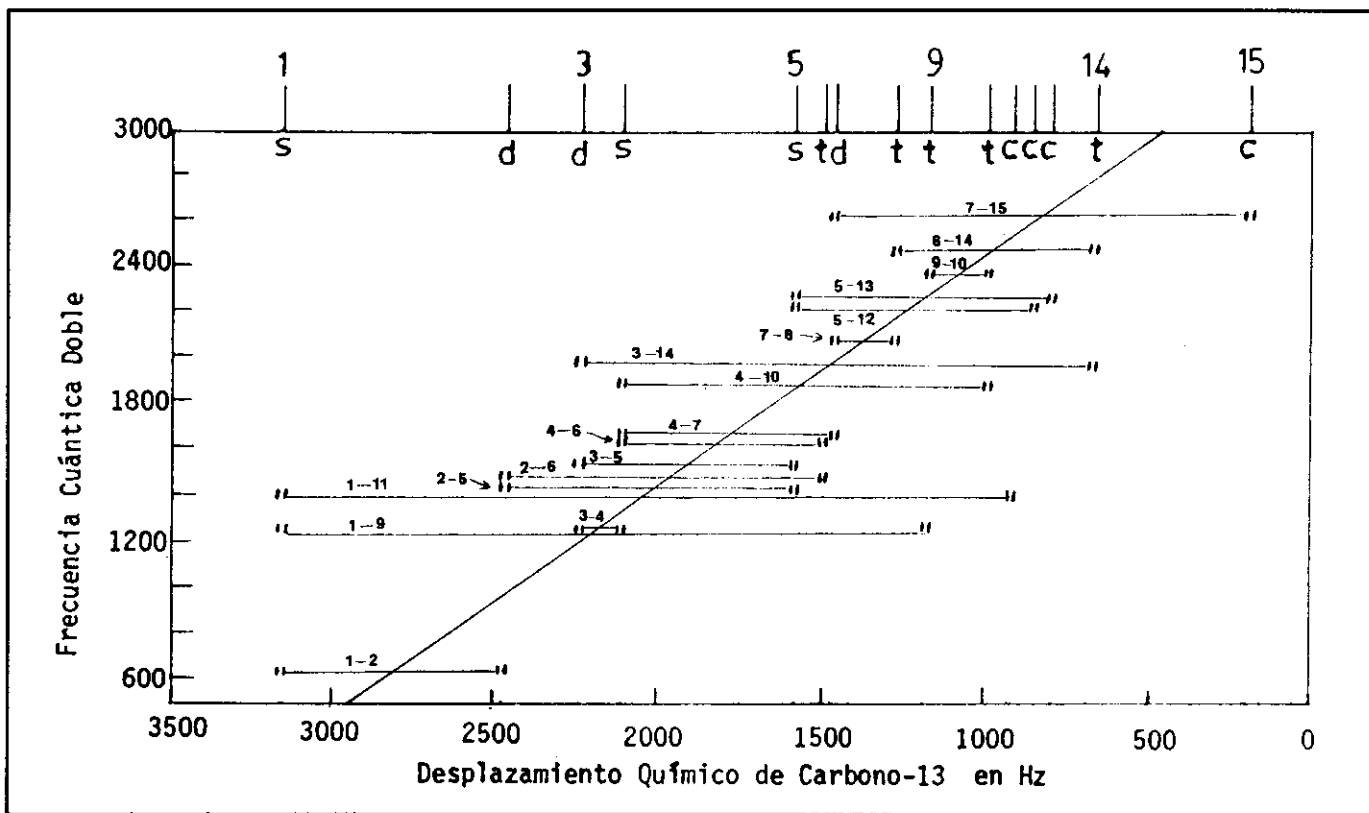
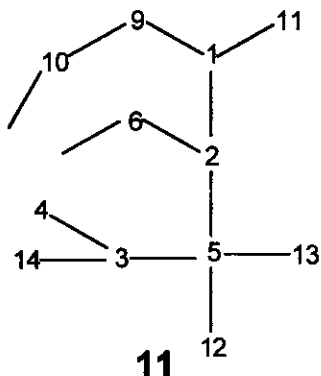


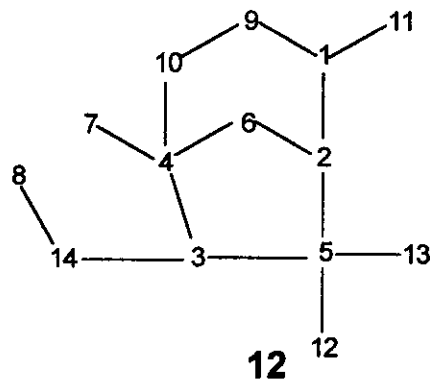
Figura 4. Espectro Inadequate del Cedrol tomado a 50 MHz.

El carbono 5 se une a los carbonos 2, 3, 12 y 13, pero los carbonos 12 y 13 solamente se unen con el carbono 5 mientras que el carbono 3 se une también a los carbonos 4, 5 y 14. Lo anterior permite expandir la estructura 10 para la estructura 11.



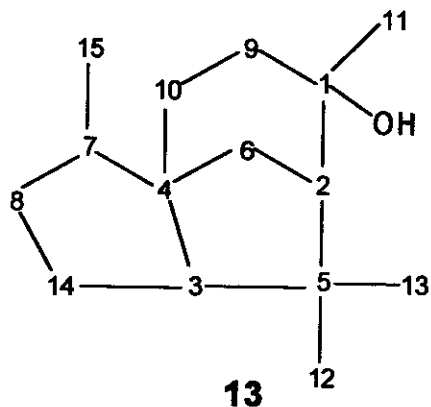
11

El carbono 4 se une a los carbonos 3, 6, 7 y 10 mientras que el carbono 14 se une al carbono 8 y este último solo tiene una unión con otro carbono más, de tal manera que la estructura 11 se puede expandir ahora para la estructura 12.

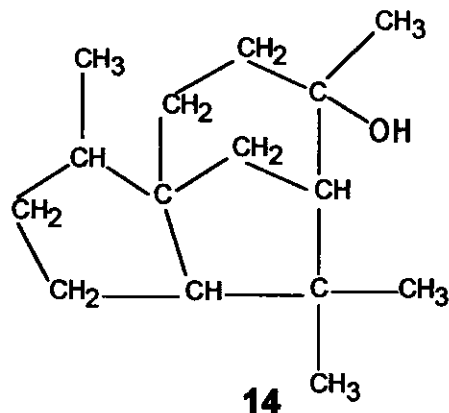


12

El carbono 7 se une a los carbonos 4, 8 y 15, mientras que este último solamente se une con el carbono 7. Como el carbono 1 es cuaternario y solamente se une con tres carbonos la unión de la cuarta valencia debe ser con un heteroátomo y como el compuesto es un alcohol entonces se une con un OH. Con estos últimos datos la estructura 12 se puede expandir para la estructura 13 en la cual ya están consideradas todas las uniones carbono-carbono indicadas por el espectro Inadequate-2D.



Al reemplazar en esta última estructura los números por carbono y colocarle a cada uno de ellos los hidrógenos necesarios para completar las cuatro valencias, se tiene la estructura 14 que corresponde al Cedrol quedando únicamente por definir la estereoquímica.



El Cedreno, que se puede obtener sintéticamente por la deshidratación del Cedrol, fue aislado por primera vez en 1841 y para la determinación de su estructura, por métodos clásicos (degradación e identificación de fragmentos), fue necesario el trabajo de varios grupos de Químicos durante más de cien años. Como se acaba de mostrar en la deducción rápida y sencilla de la estructura del Cedrol, ese arduo trabajo de los Químicos, hoy en día se ha facilitado enormemente con la ayuda de la RMN.

Bibliografía

Andrews, E. R., Young, I.R. & Bydder, G.M. 1986. in "NMR in the Life Sciences" (E. M. Bradbury and C. Nicolini, eds.). Plenum, New York.

- Arnold, J.T., Dharmatti, S.S. & Packard, M. 1951. "Chemical Effects Nuclear Induction Signals from Organic Compounds", *J. Chem. Phys.* 19: 507
- Bax, A. & Davis, D.G. 1985. "Practical Aspects of the Two-Dimensional Transverse NOE Spectroscopy", *J. Magn. Resonance* 63: 207-213
- Bax, A., Freeman, R. & Kempell, S.P. 1980. "Natural Abundance ^{13}C Coupling Observed via Double Quantum Coherence", *J. Am. Chem. Soc.* 102: 4849-4851
- _____ & Frenkiel T.A. 1981. "An NMR Technique for Tracing Out the Carbon Skeleton of an Organic Molecule", *J. Am. Chem. Soc.* 103: 2102-2104.
- Bloch, F., Hansen, W.W. & Packard, M. 1946. "Nuclear Induction", *Phys. Rev.* 69: 127
- Derome, A.E. 1989. "The Use of NMR Spectroscopy in the Structure Determination of Natural Products: Two-Dimensional Methods", *Nat. Prod. Reports* 6: 111-141
- Jackman, L.M. & Sternhell, S. 1969. "Applications of Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy in Organic Chemistry", Second Edition, Chapter 2-4 Theory and Applications of Multiple Irradiation, pp 151-157, Pergamon Press, Oxford.
- Martin, G.E. & Crouch, R.C. 1991. "Inverse-Detected Two-Dimensional NMR Methods: Applications in Natural Products Chemistry", *J. Nat. Products* 54 (1): 1-70.
- Martínez V., J.C., Yoshida, M. y Gottlieb, O.R. 1980. "Determinación de la configuración relativa de las Dihidro-mahuba Lactonas, utilizando reactivos de desplazamiento", *Revista Colombiana de Química* 10 (1): 9- 16.
- _____, 1986. "Evolución de los Métodos para la Determinación Estructural de Compuestos Orgánicos", Universidad Nacional de Colombia, pp 111-125, Bogotá, Colombia.
- _____, 1991: "Comportamiento de la Señal del Metilendioxio en la Secuencia de Pulsos DEPT", *Revista Colombiana de Química* 20 (1): 33-38.
- _____, 1992. "Espectroscopia de Satélites de Carbono-13", *Chymeia* 1 (1): 7-22
- Patt, S.L. & Shooley, J.N. 1982. "Attached Proton Test for Carbon-13 NMR", *J. Magn. Reson.* 46: 535-539
- Purcell, E.M., Torrey, H.C. & Pound, R.V. 1946. "Resonance Absorption by Nuclear Magnetic Moments in a Solid", *Phys. Rev.* 69: 37-38
- Pykett, I.L. 1982. "Imágenes por RMN en Medicina", *Scientific American* ed. en Español, julio, 32-43.
- Sadler, I.H. 1988. "The use of NMR Spectroscopy in the Structure Determination of Natural Products: One-Dimensional Methods", *Nat. Prod. Reports* 5: 101-127.
- Turner, C.J. 1984. "Multipulse NMR in Liquids", *Prog. Nucl. Magn. Reson. Spectrosc.* 16: 311-370.