

# IDENTIFICACION Y CUANTIFICACION DE ISOMEROS POR RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR (RMN)

Santos, Leandro N.; Della Vecchia, Miguel; Rillo, Sergio; Galetti, Mariana; Vigliocco Fabián;  
INTI Química – Lab. Productos Industriales Sintéticos  
santos@inti.gov.ar

## OBJETIVO

Ejemplificar las aplicaciones de la RMN para determinar la isomería de:

- Un ingrediente farmacéutico activo (IFA) del cual solo uno de sus cuatro isómeros tiene actividad farmacéutica.
- Una resina fenol-formaldehído, cuyas propiedades físicas dependen de las concentraciones relativas entre sus isómeros.

## DESCRIPCION

### Introducción

La Resonancia Magnética Nuclear (RMN) es una de las técnicas de análisis instrumental que más ha avanzado en los últimos 20 años gracias a los grandes desarrollos en materiales superconductores. Aunque actualmente se puede utilizar para realizar determinaciones cinéticas, dinámicas y metrológicas, su principal aplicación sigue siendo la caracterización de estructuras químicas de compuestos orgánicos, en particular la identificación y cuantificación de isómeros (moléculas que tienen la misma fórmula molecular pero distinta estructura química).

En este trabajo se ejemplificará con un IFA derivado de prostaglandinas, que posee cuatro isómeros, pero sólo uno de ellos es activo, mientras que los tres restantes actúan como impurezas. Por otro lado, también se analizará una resina fenol-formaldehído (Novolac) que posee varios isómeros dependiendo de la ubicación del puente metileno en relación al anillo fenólico cuyas propiedades físicas (y su precio de venta) depende principalmente de las relaciones de isómeros presentes (Ver Figura 1).

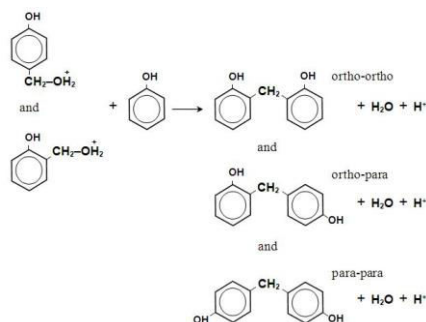


Figura 1: Diferentes isómeros de una resina de condensación tipo fenol-formaldehído.

## Materiales y métodos

Para obtener los tres isómeros restantes del IFA (impurezas A, B y C) se procedió a irradiar una muestra del ingrediente activo con diferentes longitudes de onda de radiación ultravioleta-visible (UV-VIs) a diferentes tiempos y temperaturas, lo que genera transposición de ciertos enlaces generando los diferentes isómeros. Las fracciones conteniendo los diferentes isómeros del IFA se separaron por HPLC preparativa, llevando los diferentes extractos a sequedad y luego re disueltos en cloroformo deuterado (CDCl<sub>3</sub>) para registrar los espectros de RMN <sup>1</sup>H.

Para el análisis de la muestra polimérica, una porción de resina se disolvió en una mezcla de 500 µl de tetrahidrofurano (THF) y 300 µl cloroformo deuterado (CDCl<sub>3</sub>), se registró el espectro de RMN <sup>13</sup>C de la solución, empleando una secuencia que elimina el efecto nuclear Overhauser (NOE) con el fin de obtener datos cuantitativos.

Todos los espectros de RMN se registraron en un espectrómetro Bruker Avance DPX400 que opera a 9,4 Tesla y 400MHz para la resonancia del <sup>1</sup>H y 100 MHz para <sup>13</sup>C, a una temperatura de 25 °C.

## Resultados y discusión

En la Figura 2 se observa como los cuatro isómeros dan patrones diferentes en una cierta región del espectro de RMN <sup>1</sup>H, lo que permite identificar el isómero con actividad farmacéutica de sus restantes isómeros de manera unívoca:

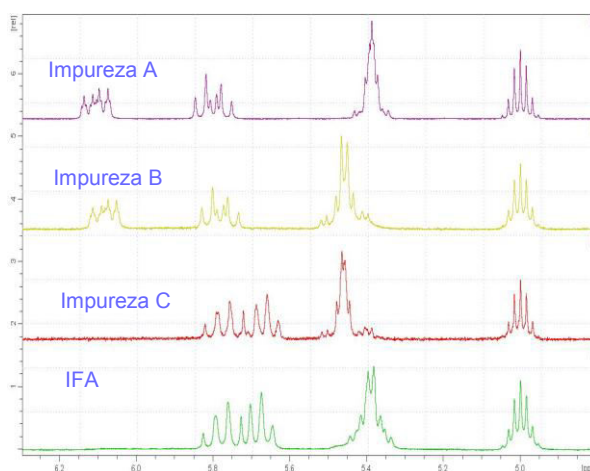
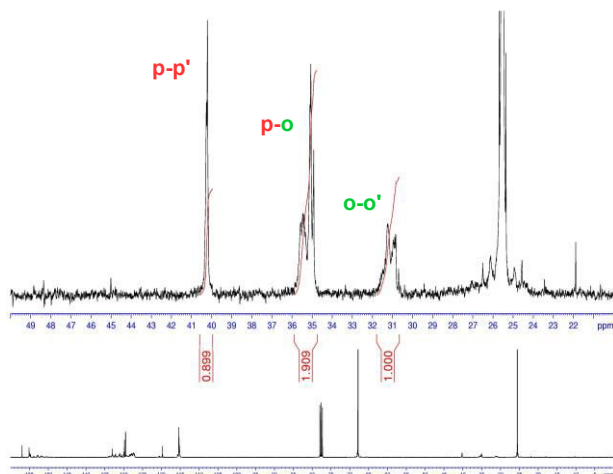


Figura 2: Región del espectro de RMN <sup>1</sup>H donde se evidencian las diferencias de estructura entre los isómeros de la prostaglandina.

En la Figura 3 se puede observar como las señales de RMN  $^{13}\text{C}$  de los diferentes puentes metilenos (correspondientes a los diferentes isómeros), originan diferentes señales que pueden integrarse por separado y calcular así la relación porcentual entre componentes.



**Figura 3:** Arriba: señales correspondientes a los puentes metilenos en posición para-para, para-orto, y orto-orto respectivamente y sus áreas relativas. Abajo: espectro completo de RMN  $^{13}\text{C}$  de la resina.

## **CONCLUSIONES**

Los estudios realizados por RMN permitieron identificar los isómeros de un ingrediente activo farmacéutico (IFA) y permite evaluar, de manera rápida y sencilla la posible presencia de impurezas. Por tratarse de un experimento sencillo, no destructivo y que requiere poca cantidad de muestra (del orden de los 15-20 mg), el ensayo resultó adecuado para la empresa farmacéutica usuaria del INTI para poder controlar la calidad del proceso de síntesis y purificación del IFA.

En el caso de la resina de fenol-formaldehído, además de verificar las diferentes estructuras presentes, se obtuvieron las relaciones cuantitativas de los isómeros en cuestión. Esto permitió a otra empresa usuaria del INTI comprobar la calidad del material producido, y verificar las características solicitadas para su comercialización en el exterior.

## **BIBLIOGRAFIA**

Gardziella, A., Knop, A., Pilato, L.A. (2000). *Phenolic Resins*. Berlín: Springer-Verlag