

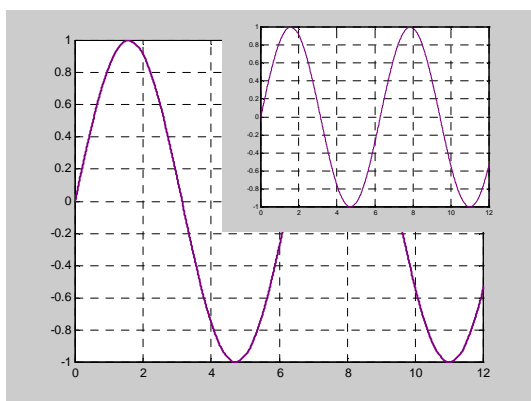


Implementación de gradientes de campo para la elucidación de estructuras químicas

Santos, Leandro Nahuel.⁽¹⁾
⁽¹⁾INTI-Química

Introducción

La resonancia magnética nuclear (RMN) es una de las principales herramientas para la caracterización de estructuras químicas, mediciones cinéticas, dinámicas, interacciones moleculares, etc. A lo largo del tiempo, las técnicas tradicionales de RMN se han ido optimizando para lograr obtener mayor y mejor información, utilizando menores tiempos de adquisición. En particular, el empleo de gradientes de campo adecuados permite conseguir información sumamente precisa de la muestra.



Un gradiente de campo puede definirse^[1] como un corto período de tiempo (en el orden de los milisegundos) en el que el campo magnético estático B_0 se hace espacialmente no-homogéneo en una dirección específica (usualmente el eje z). Luego de la aplicación de un gradiente τ la dependencia espacial $\phi(\tau, z)$ viene dada por la ec.(1). donde s es el factor de forma, G es la fuerza del gradiente (G/cm), z la posición en el eje z , p y γ son el orden de coherencia y la constante giro magnética respectivamente, de las especies nucleares individuales j que intervienen.

$$\phi(\tau, z) = s \cdot G \cdot z \cdot \tau \cdot \sum p_j \gamma_j \quad (1)$$

El presente trabajo busca evidenciar las ventajas en el empleo de gradientes de campo para caracterizar estructuras químicas así como la importancia en la correcta selección de los mismos. Para esto se ejemplificará con

experimentos de correlación homo nuclear ^1H - ^1H (COSY) sobre una muestra de una ciano-cobalamina.

Se seleccionó la vitamina B12 por poseer una estructura química compleja, además de presentar elevada solubilidad en cloroformo deuterado. Por otra parte, se elige para ejemplificar el experimento de correlación COSY, por ser uno de los experimentos 2D más sencillos (en cuanto a su secuencia de pulsos) y de mayor sensibilidad.

Metodología / Descripción Experimental

Se preparó una solución normalizada de la muestra en cloroformo deuterado (CDCl_3). Sobre esta solución se realizaron espectros 1D de hidrógeno (RMN ^1H) para controlar los parámetros de adquisición más significativos. Luego, a partir de los parámetros seleccionados, se adquiere el espectro de correlación homo nuclear ^1H - ^1H (COSY) tradicional, sin el empleo de gradientes. El tiempo de adquisición (Nº de scans) se ajustó de forma tal de poder obtener una buena resolución en las regiones que presentan las correlaciones más significativas.

Una vez finalizada esta adquisición, se buscó realizar idénticos espectros, con las mismas dimensiones, transformaciones de procesamiento, filtrado digital de la señal, pero ahora, incluyendo gradientes en el programa de pulso del experimento (ver Fig. 1)

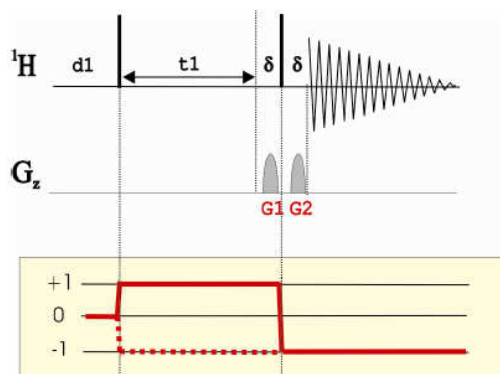
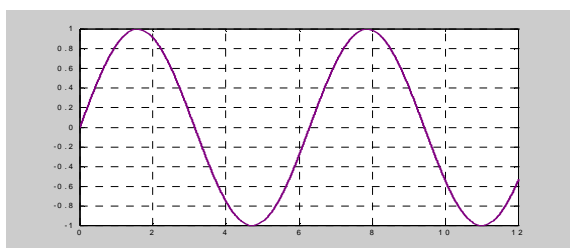


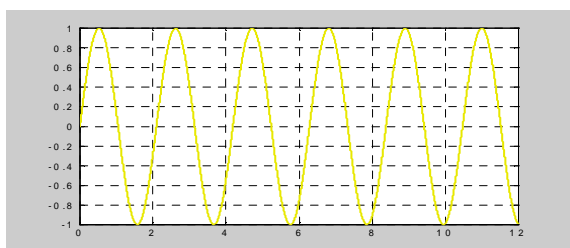
Fig. 1: Programa de pulsos para una secuencia COSY con gradientes y sus CTCs correspondientes

Los espectros fueron adquiridos en un espectrómetro de resonancia magnética nuclear por transformada de Fourier (FT-NMR) Bruker modelo DPX400, (a 400 MHz para la resonancia de ^1H), equipado con una sonda BBI y módulo de detección inversa, a 25°C en condiciones habituales.

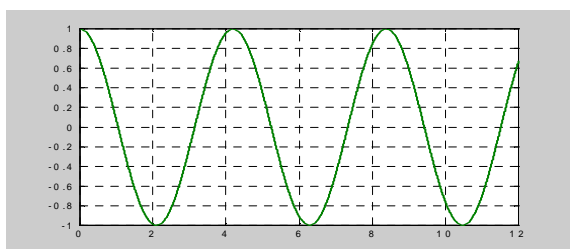
Además, para demostrar la funcionalidad que tiene la resolución de los experimentos con la forma de los gradientes empleados, se crearon y utilizaron diferentes formas (ver Figs. 2) que fueron las utilizadas en la adquisición de los experimentos bidimensionales con gradiente.



2.A: sinusoidal (sine shape)



2.B: sinusoidal (3sino)



2.C: sinusoidal desfasada.

Figs. 2 A, B y C: Algunas de las formas de gradientes estudiadas

Resultados

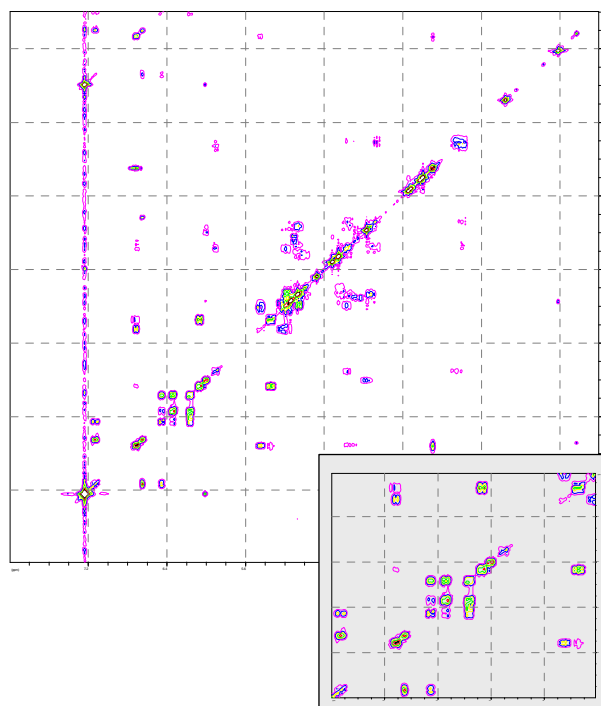
Luego de transformar los datos obtenidos se realizó el análisis comparativo entre la calidad de los espectros obtenido vs. la forma de gradiente utilizada (Ver Tabla I).

De este análisis se obtiene que para lograr una resolución similar al espectro COSY tradicional, la adquisición empleando gradientes insume casi 8 veces menos tiempo (15 minutos para el espectro con gradiente vs. 1 hora 50' para el tradicional).

Tabla I. Comparación de los resultados observados en los espectrogramas .

Forma	Espectro
sinusoidal (seno)	Elevado nivel de ruido. Presenta señales parásitas, que se pudieron filtrar digitalmente
sinusoidal (3seno)	Excelente relación señal-ruido. No se necesitaron tratamientos posteriores.
sinusoidal, desfasada	Presenta artefactos electrónicos que no pueden eliminarse por filtrado digital

Además, el espectro obtenido con gradientes presenta menor cantidad de artefactos eléctricos, mayor resolución en la zona de interés y menor nivel de ruido (Ver Fig. 3 y 4).



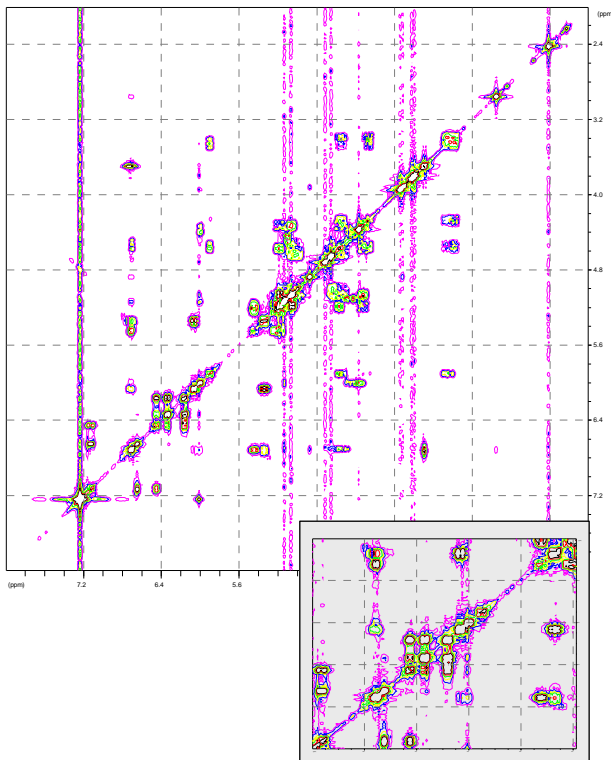


Fig.4: COSY tradicional, se observa poca resolución y elevado nivel de ruido que interfiere con la interpretación de los resultados

Conclusiones

Las ventajas en el empleo de gradientes en experimentos de resonancia magnética nuclear 2D son evidentes, se logra una notoria reducción en el tiempo total de adquisición, se incrementa la resolución además de lograr un espectro de mejor calidad, con menos nivel de ruido, artefactos eléctricos, etc.

También es destacable que no cualquier gradiente implica las mejoras antes mencionadas, de hecho, un error en la elección del gradiente (ó cualquiera de los parámetros de la ec. 1.) puede implicar ausencia de señales ó la generación de artefactos eléctricos que pueden ser fácilmente confundibles con señales. Este no es un tema menor, ya que cuando se trabaja con muestras de estructura desconocida sin duda va a originar serios inconvenientes al momento de elucidar la estructura química.

Referencias

- [1] Gradientes de campo en experimentos de 2D, Teodor Parella, Servei de RMN, Universitat Autònoma de Barcelona.
- [2] [1] E.Pretsch, P. Buhlmann, C. Affolter, A. Herrera, R. Martínez "Determinación estructural de compuestos orgánicos" Springer, 2001.

Para mayor información contactarse con:
Leandro Santos – santos@inti.gov.ar

Fig.3: COSY con gradientes 3seno.