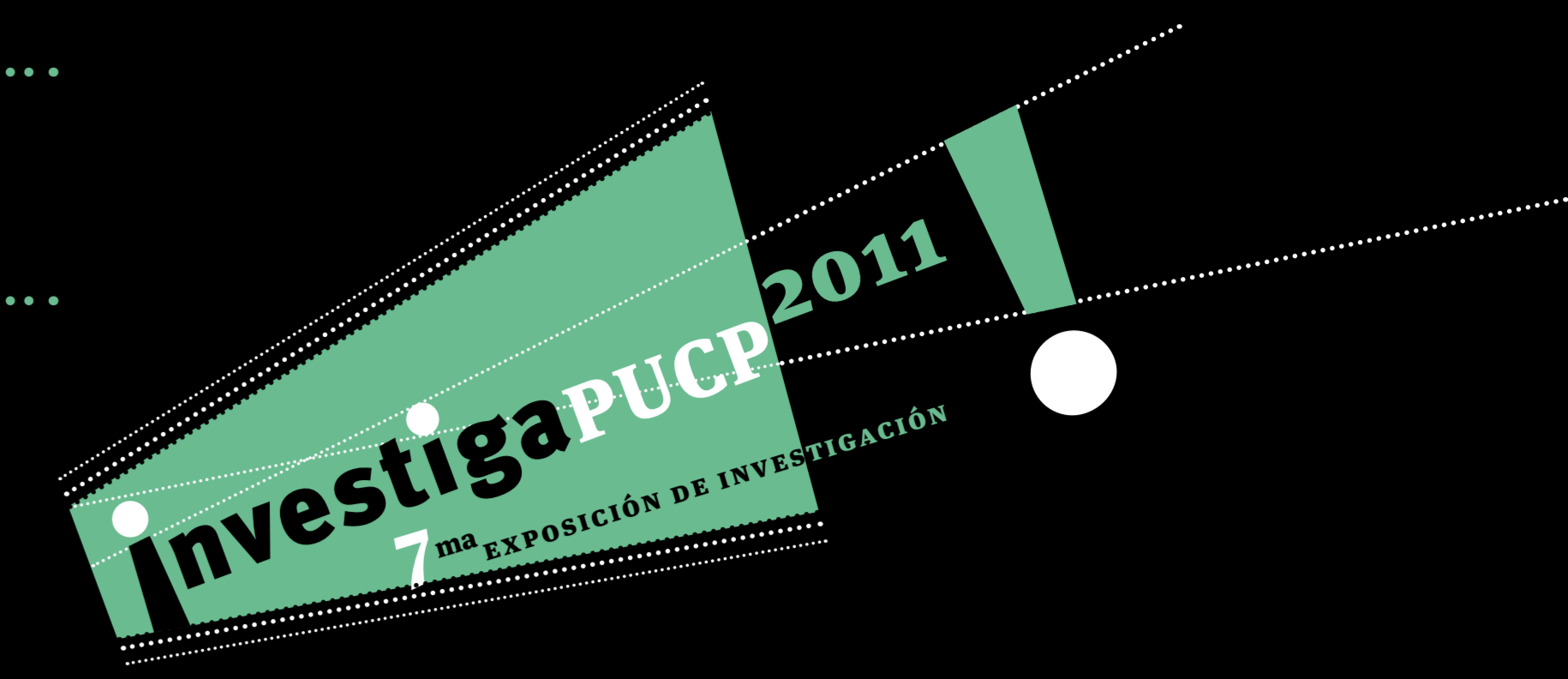


Modernización del único espectrómetro de Resonancia Magnética Nuclear (RMN) disponible en el Perú

CIENCIAS QUÍMICA



INVESTIGADOR RESPONSABLE → Helena Maruenda Castillo
 ASISTENTES DE INVESTIGACIÓN → Luis Alexander Nieva Chávez y Cristhian Luis Cañari Chumpitaz
 COFINANCIADO POR → Programa de Ciencia y Tecnología 096-FINCYT-EQUIP-2009

La resonancia magnética nuclear es una herramienta de uso diario en todas las áreas de la química, bioquímica y biología, tanto a nivel de ciencia básica como aplicada. El único instrumento de este tipo que existe en el Perú se encuentra en la Sección Química de la Pontificia Universidad Católica del Perú (PUCP).

La importancia de esta espectroscopia radica en la capacidad de señalar con precisión el tipo y la cantidad de átomos que componen una molécula específica. Esta información, complementada con el peso molecular, permite dilucidar la estructura de un compuesto. La técnica se basa en el diferente comportamiento de los núcleos atómicos, alineados éstos, ya sea paralelamente o contra un campo magnético dado (5.9T–21.1T), frente a un pulso de radiofrecuencia variable. El mejor manejo de los principios físicos en los que se basa esta interacción núcleo–energía ha permitido plantear sofisticadas secuencias de pulsos que facilitan el reconocimiento de núcleos; directamente unidos a otro, Attached Proton Test (APT), Distorsionless Enhancement by Polarization Transfer (DEPT), HETeronuclear CORrelation spectroscopy (HETCORR); cercanos entre sí, H–H Correlation Spectroscopy (COSY), correlaciones H–C Heteronuclear Multiple Quantum Correlation (HMQC) y Heteronuclear Single–Quantum Correlation (HSQC), y acoplado a través de hasta cuatro enlaces, TOtal Correlation Spectroscopy (TOCSY), Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy (NOESY) y Heteronuclear Multiple Bond Correlation (HMBC). Éstas y otras combinaciones como HMQC–COSY y HMQC–TOCSY, permiten confirmar con un alto grado de certeza la estructura de moléculas de peso molecular menor a 60,000 (dependiendo del campo magnético). En las figuras se muestra información básica de los experimentos más comunes en RMN. También se muestran, a modo de ejemplo, los distintos espectros obtenidos al analizar una molécula compleja como vancomicina.

La finalidad de este proyecto fue la de modernizar el espectrofotómetro de RMN disponible en la Sección Química, que si bien contaba con un potente imán superconductor (7.04 T) con una sonda multi–núcleos, la consola era antigua. A través del financiamiento FINCYT se pudo adquirir la más moderna en el mercado, SUPERCONDUCTING FOURIER NMR SPECTROMETER CONSOLE AVANCE III.

Nuestro laboratorio de Resonancia Magnética Nuclear brinda servicios a la Sección Química, a la comunidad PUCP, a varias otras universidades en el Perú y a la industria.

EXPERIMENTOS BÁSICOS DE RMN

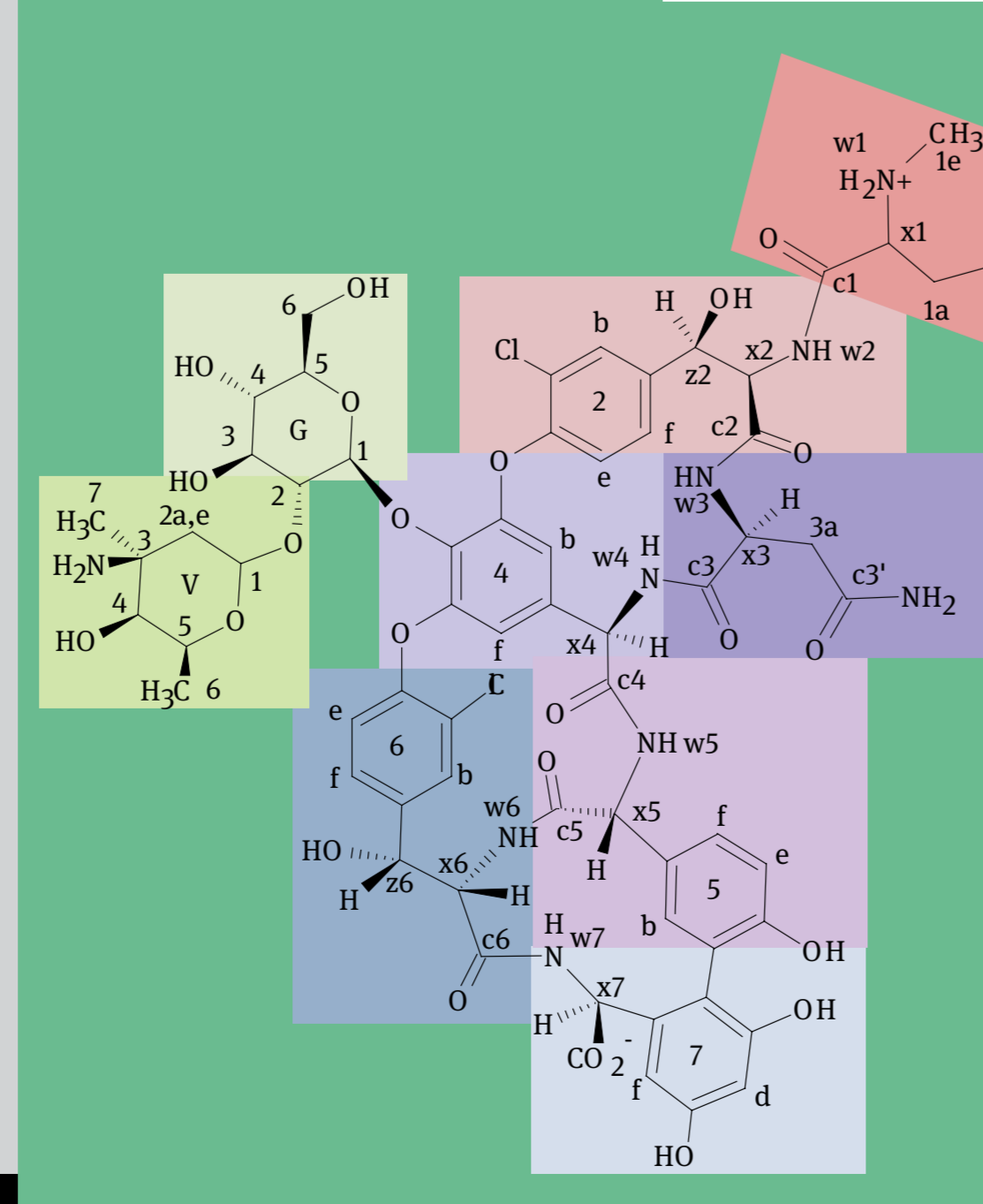
	2D
¹ H	El espectro proporciona información del número de hidrógenos (por integración) y de la posición por medio del cálculo de la constante de acoplamiento J, que abarca protones distanciados en dos y hasta tres enlaces. El rango de desplazamiento químico es de 0–20 ppm.
¹³ C	La abundancia del es de 1.1 % por lo que esta técnica es mucho menos sensible que la de ¹ H. Mediante el uso de un desacoplador para núcleos de ¹ H se observan señales individuales para cada carbono. El rango de desplazamiento químico es de 0–200 ppm.
¹⁵ N	Mucho menos sensible que ¹ H y ¹³ C por lo que se usa la correlación heteronuclear con ¹ H. Para observar la correlación el intercambio de los grupos NH debe ser muy lento por lo que deben usarse solventes que no lo permitan.
³¹ P	El ³¹ P tiene una abundancia de 100%, tiene un amplio rango de desplazamiento y requiere un desacoplador de ¹ H.
T ₁	Medición del tiempo de relajación, T ₁ , por medio de la técnica de Inversion Recovery Sequence, que consiste en variar el tiempo de delay aplicando una secuencia de pulsos de 180° y 90°.
Experimentos Selectivos	Selective COSY Permite observar el acoplamiento deseado con un tiempo de experimento menor a 2D COSY.
	Selective TOCSY Se observa el acoplamiento deseado dentro del mismo sistema de spin acoplado. Disminuye el tiempo del experimento de 1 hora en un TOCSY 2D a 10 minutos.
	Selective NOESY Permite observar la interacción por efecto NOE entre átomos de ¹ H excitados individualmente.

	2D	
2D HOMONUCLEAR	COSY Correlation spectroscopy 	Se observa el típico acoplamiento J entre protones distanciados por 2 y hasta 3 enlaces.
	TOCSY Total correlation spectroscopy 	Se pueden observar acoplamientos J entre protones que se encuentren dentro de un sistema de spin acoplado.
2D HETERONUCLEAR	NOESY Nuclear Overhauser effect spectroscopy 	Se observa correlación en el espacio debido al efecto NOE, aplicable a moléculas relativamente pequeñas. Útil para determinar la estereoquímica de una especie.
	¹ H–X HSBC Heteronuclear multiple–bond correlation 	Observación de acoplamiento J heteronuclear de largo alcance de un protón acoplado a un núcleo X.
	¹ H–X HSQC Heteronuclear single–quantum correlation 	Observación de acoplamiento J heteronuclear de corto alcance de un protón con un núcleo X.

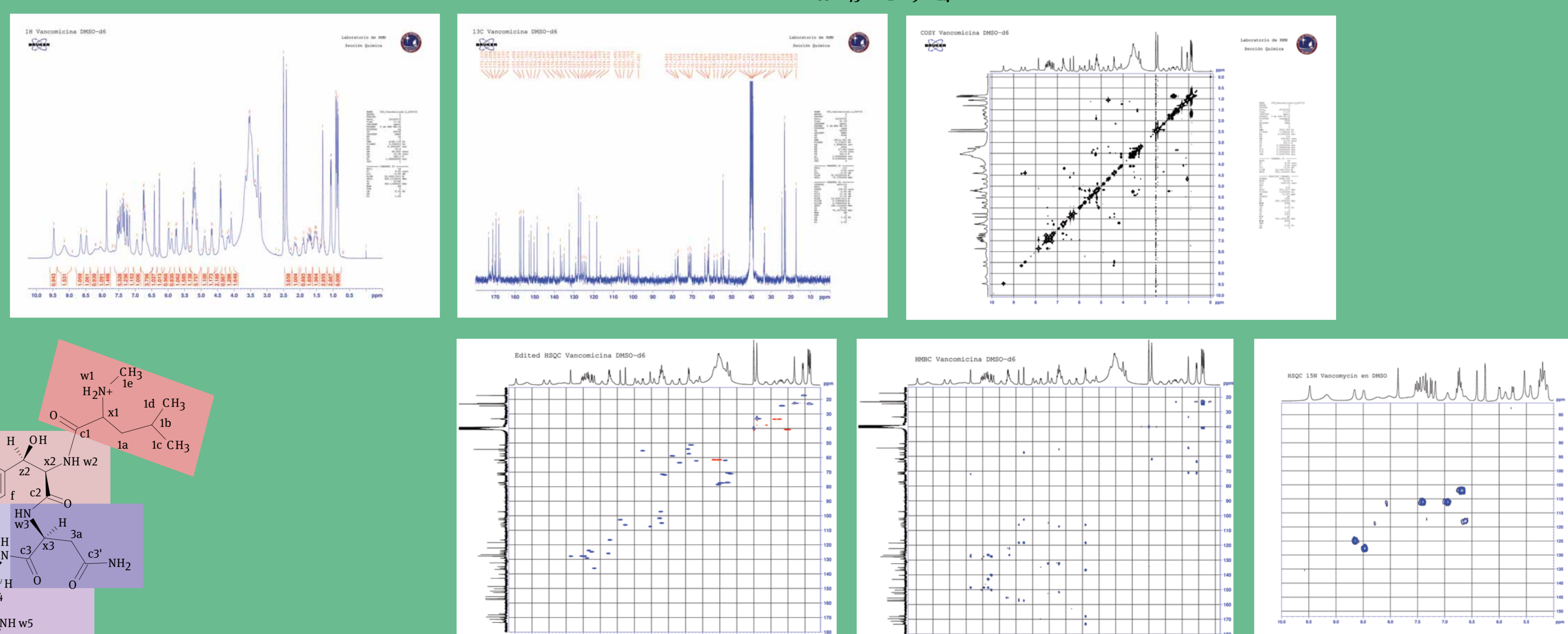
REFERENCIAS:
 • High–Resolution NMR Techniques in Organic Chemistry, Timothy D W Claridge, Elsevier, Second Edition 2009.
 • Pearce, C. M., Williams, D. H. 1995 Complete assignment of the ¹³C NMR spectrum of vancomycin. J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2, 153–157.
 Agradecimiento especial a Carolina Alva por la elaboración de los cuadros.

TABLA. ASIGNACIÓN DEL ¹H-NMR DE VANCOMICINA EN DMSO-D₆ A 298 °K

Protón	δH (multiplicidad, J/Hz)	Protones conectados por acoplamiento escalar	Protones conectados por acoplamiento dipolar
1c	0.85 (d, 6.4)	1b,1d	1a,1a',1b
1d	0.90 (d, 6.4)	1b,1c	1a,1a',1b,2f
1b	1.71 (m)	1a,1c,1d	1a,1a',1c,1d
1a	1.51 (m)	1a',1b,x1	1a,1a',1c,1d
1a'	1.47 (m)	1a,1b,x1	1b,1a',1c,1d
x1	3.33	1a, 1a'	1e
2e	7.25 (br d)	2f	4b
2f	7.52 (s d)	2b,2e	G ₁ ,V ₁ ,V ₂ ,V ₃ ,2f,4b
2b	7.39 (br s)	2f	x2,x2
z2	5.16 (br m)	x2, z2-OH	x6,z2-OH,2b
z2-OH	5.88 (br s)	z2	z2, Sat.transfer.al agua
x2	4.86 (br m)	z2, w2	z2,2b
w2	8.02 (v br)	x4	4b
3a'	2.12 (dd br)	3a, x3	3a
3a	2.42 (br s)	x3, 3a'	3a'
X3	4.36 (br q)	w3,3a,3a'	-
4b	5.54 (br s)	4f, x4	w4,x4,2e
4f	5.21 (br s)	4b, x4	w5,4b,x5,6e
X4	5.74	4b,4f	w5,4b,4f
5b	7.17 (br s)	5f	x7,5f
5f	6.75 (dd)	5b,5e	w5,x7,5e
5e	6.70 (br d)	5f	x7,5f
x5	4.42 (br d)	w5	x6,4f,5b
w5	8.63 (br s)	x5	x4,4f,5f
6e	7.34 (br d)	6f	G ₁ ,V ₁ ,V ₂ ,V ₃ ,V ₄ ,6f,6f
6f	7.46 (br d)	6e, 6b	x6,z2-OH,4f,6e,W6
6b	7.87 (br s)	6e	z6,x6,4f
z6	5.13 (br s)	x6,z6-OH	6f, 6e
z6-OH	5.98 (br d,6.4)	z6	z6,6f, Sat.transfer.al agua
x6	4.20 (br m)	w6, z6	w7,x5,z6,5b,6b
w6	6.65 (br s)	x6	x7,6f
w7	4.40 (d,5.6)	w7,7f	w6,w7,5e,6f,7d,7f
w7	8.47 (br d,5.6)	x7	x6,x7,26,4f,5b,6b,7f
7d	6.26 (d,2.1)	7f	x7
7f	6.41 (d,2.1)	7d	x4, x7
G ₁	3.66 (dd,10.9,3.2)	G ₂ , a', G ₃ -OH, G ₅	G ₁ ,G ₂ ,G ₃ ,a'
G ₂	3.52 (d, 5.0)	G ₁ , a, G ₃ -OH, G ₅	G ₁ ,G ₂ ,G ₃ ,a
G ₃ -OH	4.07 (t, 5.3)	G ₂ , a', G ₄	G ₂ ,G ₃ ,a', G ₄
G ₄	3.27 (o)	G ₂ , a', G ₄	G ₂ ,G ₃ ,a', G ₄
G ₅	3.39 (o)	G ₂ ,G ₃ -OH	G ₂ ,G ₃ ,a', G ₄
G ₃ -OH	5.11 (br s)	G ₁	Sat.transfer.al agua
G ₁	3.51 (t, 8.5)	G ₂ ,G ₃ -OH,G ₄	G ₁ ,G ₂
G ₂	3.56 (t, 8.5)	G ₁ ,G ₃	G ₁ ,V ₁ ,V ₂
G ₃	5.25 (d,7.8)	V ₃	G ₂ ,G ₃ ,V ₂ ,2e,6e
V ₁	1.06 (d, 6.3)	V ₂	V ₁ ,V ₂ ,2e,6e
V ₂	4.67 (q, 6.7)	V ₃ , V ₄	G ₁ ,G ₂ ,V ₁ ,V ₂ ,V ₃
V ₃	3.23 (br s)	V ₅	V ₁ ,V ₂ ,V ₃ ,7f
V ₃ ax	1.91 (br d)	V ₂ ax,V ₁	V ₁
V ₂ ax	1.75 (br d)	V ₂ ax,V ₁	V ₁
V ₁	1.32 (s)	V ₁ ,V ₂ ,V ₃ ,V ₄ ,V ₅ ,2e,6e	V ₁ ,V ₂ ,V ₃ ,V ₄ ,V ₅ ,2e,6e
V ₂	5.23 (d, 3.5)	V ₂ ax,V ₁	V ₁ ,V ₂ ,V ₃ ,V ₄ ,V ₅ ,2e,6e



MUESTRA CARACTERIZADA EN EL LABORATORIO DE RMN – VANCOMICINA C₆₆H₇₅Cl₂N₉O₂₄



- USUARIOS EXTERNOS
- Universidad Nacional de Ingeniería
 - Universidad Nacional Federico Villareal
 - Universidad Nacional Mayor de San Marcos
 - Universidad Peruana Cayetano Heredia
 - Universidad Nacional del Callao
 - Universidad Nacional San Luis Gonzaga de Ica
 - Universidad Católica de Santa María–Arequipa
 - Universidad Nacional de la Amazonia Peruana –Iquitos
 - Universidad Privada Antonio Guillermo Urrelo – Cajamarca
 - Corporación Medco S.A.C. Perú
 - Reactivos Nacionales S.A.
 - Pharmack Perú S.A.

VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN



PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL PERÚ