

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA

**PROPUESTA DE UN GENERADOR TEÓRICO DE ESPECTROS DE
CORRELACIÓN RMN HOMONUCLEAR DE ^{13}C**

Informe Final de Tesis

Presentado por

ABRAHAM ALEJANDRO VÁSQUEZ MENCOS

Previo a optar al Título de

Químico

Guatemala, 4 de noviembre de 2004.

JUNTA DIRECTIVA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA

M.Sc. Gerardo Leonel Arroyo Catalán	Decano
Licda. Jannette Sandoval Madrid de Cardona	Secretaria
Licda. Gloria Elizabeth Navas Escobedo	Vocal I
Licda. Liliana Vides de Urizar	Vocal II
Licda. Beatriz Eugenia Batres de Jiménez	Vocal III
Br. Roberto José Garnica Marroquín	Vocal IV
Br. Rodrigo José Vargas Rosales	Vocal V

DEDICATORIA

A Dios por su amor infinito. Por revelarse en Cristo Jesús. A los tres que son uno. Por manifestarse en el amor de mis abuelos y madre. Por permitirme maravillarme con grandeza de las cosas más pequeñas y contemplar la majestuosidad de su obra como pocos han tenido oportunidad de admirar. La maravilla más grande, haberte encontrado y descubrir que siempre estuviste aquí. He recorrido la gran carrera, he conservado la fé. A María por haber dicho hágase y ser modelo de castidad, obediencia, y fortaleza.

A mi Madre, María Verónica Mencos Santos, porque siendo mujer me enseñó a ser hombre, porque como dice el poema, pedazo a pedazo me ha dado su corazón entero, porque me enseñó a amar con sinceridad y a buscar la sabiduría y valorarla como el tesoro más grande. Gracias porque con paciencia, despertaste en mí la pasión por la ciencia.

A mi Abuelo, Pastor Gabriel Mencos Santos, por ser un modelo digno de imitar, por enseñarme el camino de la rectitud, por desarrollar en mí la sensibilidad humana y espiritual a través del arte, del arte que educa y liberará los más nobles y hondos sentimientos. Del arte que nos permite compartir nuestros sueños, porque compartir nuestros sueños es el primer paso para hacerlos realidad. Gracias por enseñarme el arte que me permite expresar lo que no se puede decir. Gracias por enseñarme a tener fé. ¡Si Dios también es artista!

A mi Abuela, Adriana de Jesús Santos Colindres de Mencos, por ser un modelo de prudencia y paciencia. Virtudes que nos salvan de cometer muchos errores. Gracias por tu amor, por llevarme de la mano por el camino de la vida hacia el templo del saber. Gracias por haber salvado mi vida.

A Glendy Catalina Herrera Can, por su sí, por su espera y sus desvelos, cuando he necesitado de su apoyo.

A mis tíos, Roberto, Ana, Rolando, Rubén, Manuel, Marta, Concepción, porque siempre han pensado y confiado en mí. Íntimamente ligados, también a mis primos, José, Edgar, Patricia Mencos, Ivonne, Sandra, Juan Carlos, Nelson, Manuel, Evelyn, Patricia Santos, Iván, a todos porque han estado conmigo aún en la soledad de la noche y los peligros de la calle. Porque han soportado junto a mí el frío viento que sopla en el cementerio.

A todos los hombres y mujeres de ciencia que dedican su esfuerzo diario a hacer de este mundo un sitio mejor para todos.

AGRADECIMIENTOS

Al Doctor Oscar Cobar Pinto por compartir su conocimiento sin egoísmo. Por haberme enseñado más que solo química orgánica y espectroscopia RMN. Y brindarme su amistad sincera y desinteresada.

Al Licenciado Santa Cruz por la confianza de prestarme sus libros, su apoyo y amistad franca.

A la licenciada Noemí Orozco por el curso de Química Orgánica IV, que fue el inicio de la cadena de eventos que llevaron al desarrollo de esta tesis.

A Juan Pérez, José Gavin, J. Manuel Amaro-Luis, Leira Mora y Alí Bahsas B. Y todos los participantes de Las II Jornadas de Resonancia Magnética Nuclear Estructural. Por compartir sus espectros RMN-2D, sus conocimientos y experiencia.

A todo el personal del Laboratorio de Productos Naturales en especial al licenciado Armando Cáceres y la licenciada Sully Cruz, por todo el conocimiento compartido de manera espontánea y desinteresada.

A todo los profesores de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala, y los Profesores del área de matemática de la Universidad del Valle de Guatemala.

INDICE

Resumen	1
Introducción	2
Antecedentes	3
1. Campos Magnéticos	3
2. Fundamentos de Resonancia Magnética Nuclear	5
2.1 Propiedades Mecánicas de los Núcleos Atómicos	5
2.2 Propiedades Eléctricas de los Núcleos Atómicos	6
2.2.1 El Fenómeno de RMN	6
3. Desplazamientos Químicos	10
4. RMN de Onda Continua y RMN de Transformada de Fourier	11
5. Pulsos de RF en RMN	11
6. Nomenclatura de Secuencias de Pulsos	13
7. La Generación de la Segunda Dimensión	13
8. Tipos de Experimentos RMN-Bidimensionales	15
8.1 COSY 90°	15
8.2 DQF-COSY	15
8.3 Delayed COSY	16
8.4 TOCSY	16
8.5 INADEQUATE	17
8.6 ADEQUATE	18
8.7 HMQC Y HSQC	19
8.8 HMBC	19
9. Tres Dimensiones y Más Allá	20
10. Matrices	20
10.1. Propiedades de las Matrices	21
11. Teoría de Grafos	22
12. Teoremas	26
13. Elucidación Estructural Asistida por Ordenadores	27
Justificación	29
Objetivo	30
Hipótesis	31
Materiales y Métodos	32

Resultados	36
Discusión	63
Conclusiones	64
Recomendaciones	65
Referencias	66
Anexos	69

RESUMEN

La resonancia magnética nuclear (RMN) estructural es una herramienta de elucidación molecular (permite conocer la composición y estructura de las moléculas), que se vale de la orientación magnética de los núcleos atómicos al ser expuestos a un potente campo magnético externo.

En el caso de las moléculas orgánicas, existen diferentes técnicas RMN que permiten conocer la relación de adyacencia entre pares de átomos hidrógeno-hidrógeno, hidrógeno-carbono, pero la técnica ideal sería aquella que permitiera establecer la relación de adyacencia entre carbono-carbono, la cual de hecho existe, pero tiene las desventajas de ser poco sensible, laboriosa, requiere cantidades de muestra que no siempre son fáciles de obtener en productos naturales, solventes apropiados para disolver las muestras, absorbe tiempo y dinero considerable.

El objetivo del presente trabajo fue desarrollar un algoritmo, que mediante la aplicación del álgebra lineal y la teoría de grafos, permitiera combinar matemáticamente espectros ^1H - ^1H COSY, HETCOR (HSQC, HMQC) y HMBC, que son más sencillos de obtener, para producir espectros RMN de correlación de ^{13}C - ^{13}C y se estableciera por lo menos de manera teórica si su obtención ahorraría tiempo y esfuerzo. Para el efecto se digitalizaron manualmente espectros de correlación RMN reales de moléculas ya elucidadas, que luego se combinaron matemáticamente para obtener espectros de correlación ^{13}C - ^{13}C y finalmente se determinó si la estructura derivada de análisis del espectro obtenido por el algoritmo coincidía con la estructura ya elucidada por los métodos convencionales de análisis.

Se llegó a la conclusión de que el método propuesto cumple con el objetivo, perdiendo en muy raras ocasiones señales de correlación importantes y simplificando de gran manera el trabajo de elucidación por parte del analista.

INTRODUCCIÓN

Los espectros RMN de correlación permiten establecer la relación posicional y espacial entre dos átomos de una molécula, por lo que son muy útiles para establecer la estructura inequívoca de una molécula. Para el estudio de moléculas orgánicas, el espectro INADEQUATE (Incredible Natural Abundance Double QUAntum Transfer Experiment) resultaría ideal, ya que permite establecer la relación de adyacencia entre dos átomos de ^{13}C vecinos en una molécula; desafortunadamente como el isótopo de ^{13}C no es abundante, la posibilidad de que dos átomos de ^{13}C estén vecinos en una molécula es remota; lo que se traduce en que se necesiten mayores cantidades de muestra para cubrir la posibilidad, y más tiempo para detectar la correlación; por tales razones la obtención del espectro no es práctica.

La presente investigación tiene como propósito el diseño de un algoritmo teórico que permita obtener la información que proporciona un espectro de correlación Carbono-Carbono (INADEQUATE) a partir de la combinación matemática de espectros RMN de correlación reales más sencillos de obtener. La importancia de desarrollar esta nueva técnica será que la obtención de espectros de correlación homonuclear de isótopos de ^{13}C se convierta en un análisis de rutina.

ANTECEDENTES

1. CAMPOS MAGNÉTICOS:

Los campos magnéticos son originados por cargas en movimiento. Por ejemplo la rotación de los electrones sobre su propio eje. La densidad de flujo magnético o inducción magnética es el vector del campo magnético fundamental y es denotado por \mathbf{B} .¹

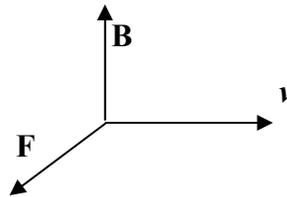
Para comprender que es \mathbf{B} , imaginemos una carga de prueba positiva Q que se mueve en el espacio a una velocidad \mathbf{v} y que en determinado momento pasa por el punto P. Si se observa una fuerza \mathbf{F} perpendicular a \mathbf{v} que actúa sobre Q , entonces se dice que un campo magnético \mathbf{B} perpendicular a \mathbf{F} esta presente en ese punto P. La fuerza \mathbf{F} que experimenta la carga Q puede calcularse mediante la **Ecuación 1**:¹

Ecuación 1

$$\mathbf{F} = Q\mathbf{v} \times \mathbf{B} = QvB\sin\theta$$

La ecuación indica claramente que el vector \mathbf{F} es tanto perpendicular a \mathbf{v} como a \mathbf{B} . En la **Figura 1.1** se muestra la dirección de los vectores \mathbf{F} , \mathbf{v} y \mathbf{B} .

Figura 1.1:



Si se considera una espira (lazo, círculo de un medio conductor sólido) delgada de corriente \mathbf{I} fluyendo por un círculo de área \mathbf{A} , para distancias grandes comparadas con el radio de la espira se encuentra que (**Ecuación 2**):¹

Ecuación 2

$$\mathbf{B} = \frac{\mu_0 \mu}{2\pi x^3}$$

Donde μ_0 es la permeabilidad del espacio libre, x la distancia al centro de la espira perpendicular al plano de la misma. La ecuación anterior es similar a la expresión para el campo eléctrico debido a un dipolo eléctrico ($\mathbf{E} = k_e \mathbf{p} / y^3$), donde \mathbf{p} es el momento del dipolo eléctrico. Es más, el momento de torsión sobre un lazo de corriente es (**Ecuación 3**):¹

Ecuación 3

$$\boldsymbol{\tau} = \mathbf{I}_q \mathbf{A} \times \mathbf{B}$$

Donde \mathbf{I} es la corriente a través del lazo y \mathbf{A} el área del mismo. La frecuencia con que aparecía el producto $\mathbf{I}\mathbf{A}$ dio lugar a desarrollar el concepto de momento dipolar magnético ($\boldsymbol{\mu}$), el cual tiene una magnitud igual al producto $\mathbf{I}\mathbf{A}$ y una dirección perpendicular al plano de la espira de corriente (**Ecuación 4**).¹

Ecuación 4

$$\boldsymbol{\mu} = \mathbf{I}_q \mathbf{A}$$

La espira delgada de corriente es el dipolo magnético que actúa como un imán ligero. Una barra magnética suspendida en un campo magnético externo tiene una orientación preferida, como una brújula en el campo magnético terrestre. Para sacar la aguja de su posición de equilibrio se necesita un gasto de energía. En conclusión, un dipolo magnético ($\boldsymbol{\mu}$) tiene una orientación de mínima energía con respecto a un campo magnético aplicado externamente y la energía potencial (V) de interacción entre $\boldsymbol{\mu}$ y \mathbf{B} viene dada por (**Ecuación 5**):¹

Ecuación 5

$$V = -\boldsymbol{\mu} \cdot \mathbf{B} = -\mu B \cos\theta$$

Donde θ es el ángulo entre μ y B y la orientación de mínima energía ocurre cuando tanto μ como B tienen la misma dirección.

2. FUNDAMENTOS DE RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR -RMN-

Los núcleos atómicos de los elementos tienen propiedades mecánicas y propiedades eléctricas², y para comprender el fenómeno de la RMN se deben de comprender primero estas dos propiedades.

2.1 Propiedades Mecánicas.

Si se considera al núcleo como una masa rígida en movimiento rotacional respecto a un eje imaginario, entonces necesariamente existe un momento angular I , que en mecánica cuántica se conoce como espín nuclear. Un núcleo posee dos números cuánticos de espín; I y M_I , los cuales son análogos a s y m_s del electrón. Los valores del momento angular de espín nuclear vienen dados por (**Ecuación 6**):¹

Ecuación 6

$$|I| = [I(I+1)]^{1/2} \hbar$$

y los valores de I_z están regidos por (**Ecuación 7**):¹

Ecuación 7

$$I_z = M_I \hbar$$

$$\text{Con } M_I = \{-I, -I+1, \dots, I-1, I\}$$

El espín nuclear es la resultante de los momentos de espín y angular orbital de los neutrones y protones (cada uno con un número cuántico de espín de $1/2$) que componen los núcleos, y varía de un elemento a otro y de un isótopo a otro, dependiendo de las características masa-carga de los átomos.^{2,3} Sus valores están dados por las siguientes reglas:

- 2.1.1 Núcleos con Número de masa A impar, independientemente de su número atómico Z tienen un espín nuclear I igual a un número impar dividido 2.³

- 2.1.2 Si el número másico y el número atómico son impares, entonces el valor de I es cero.²
- 2.1.3 Si el número másico es par y el número atómico es impar, entonces el valor de I es un número entero.²

2.2 Propiedades Eléctricas.

Los núcleos atómicos poseen carga, y como ésta se encuentra en movimiento, también posee un momento magnético nuclear asociado. Es importante mencionar que los neutrones dentro del núcleo también tienen momento magnético a pesar de que no poseen carga, encontrar una explicación a este fenómeno aún es un gran reto para la física. Además un núcleo puede poseer un momento eléctrico cuadrupolar, eQ , si no posee una distribución uniforme de carga sobre su superficie, el vector eQ depende de la dirección del acercamiento del núcleo a una carga dada.²

2.2.1 El fenómeno de RMN.

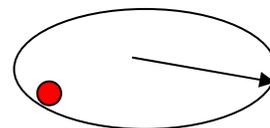
Si se considera una carga nuclear rotando sobre una órbita circular de radio r (**Figura 2.1**), su

período viene dado por $T = \frac{2\pi r}{v}$

Entonces la corriente generada vendría dada por

Figura 2.1

$$I_q = \frac{Q}{T} = \frac{Qv}{2\pi r} \quad \text{Como } \mu = I_q A \Rightarrow \mu = \pi r^2 I_q = \pi r^2 \frac{Qv}{2\pi r} = \frac{Qvr}{2}$$



Como el momento angular orbital es $L = mvr \Rightarrow v = L/mr$ por lo

que podemos escribir la **Ecuación 8**:¹

Ecuación 8

$$\mu = \frac{QrL}{2mr} = \frac{QL}{2m}$$

El momento angular orbital se relaciona con el momento de espín mediante la **Ecuación 9**:¹

Ecuación 9

$$L = g_N I$$

Donde g_N es el factor nuclear. De la sustitución de la ecuación 9 en la 8 se obtiene $g_N e I = \mu$, y podemos escribir la **Ecuación 10**:^{3,4}

$2m_p$

Ecuación 10

$$\frac{\mu}{I} = \frac{g_N e}{2m_p} = \gamma$$

Donde γ es la constante magnetogirica y puede interpretarse como una medida de la fuerza magnética del núclido. El hecho de que g_N no sea un número sencillo, indica para muchos que el núcleo tiene estructura interna. En la ecuación 10, al despejar μ y sustituir I por sus posibles valores, se obtiene la **Ecuación 11**.¹

Ecuación 11

$$\mu = \frac{g_N e [I(I+1)]^{1/2} \hbar}{2m_p}$$

El magnetón nuclear β_N esta definido como $\beta_N = eh/2m_p$, entonces μ puede ser expresado como

$$\mu = g_N \beta_N [I(I+1)]^{1/2}$$

En presencia de un campo magnético, los núcleos se alinean en un número discreto de orientaciones debido a que los estados energéticos se encuentran cuantizados (**Figura**

2.2), y la energía necesaria para sacar a μ de su posición de equilibrio que es $E = -\mu \cdot B$ puede expresarse como en la **Ecuación 12**:¹

Ecuación 12

$$E = -\frac{g_N e \mathbf{I} \cdot \mathbf{B}}{2m_p} = \frac{g_N e \hbar [I(I+1)]^{1/2}}{2m_p} \mathbf{B} = -g_N \beta_N \mathbf{B} M_I$$

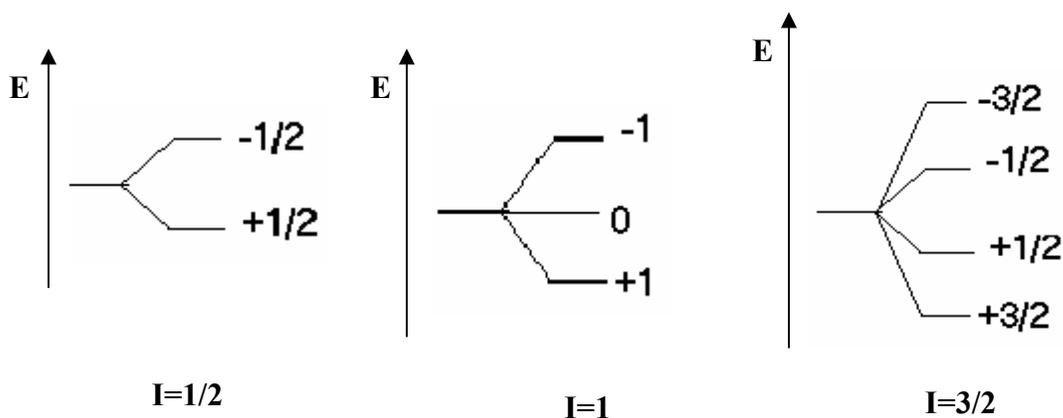
Lo que indica claramente que el espaciado entre los distintos niveles energéticos aumenta al aumentar la intensidad del campo magnético B como se muestra en la **Figura 2.2**.

Figura 2.2



Para un espín de número cuántico (I) existen $(2I+1)$ estados de espín posibles,⁴ como se muestra en la **Figura 2.3**.

Figura 2.3



Observemos que $\Delta M_I = \pm 1$, por lo que (**Ecuación 13**) solo ciertas frecuencias son absorbidas por el núcleo y son capaces de alterar la dirección de μ .

Ecuación 13

$$E = |\mathbf{g}_N| \beta_N \bullet \mathbf{B}$$

Para determinar esas frecuencias (llamada frecuencia de Larmor del núcleo en honor a su descubridor)³ debe recordarse que $\Delta E = h\nu$, por lo que (**Ecuación 14**),^{1,4}

Ecuación 14

$$\nu = \frac{|\mathbf{g}_N| \beta_N \bullet \mathbf{B}}{h} = \frac{\gamma \mathbf{B}}{2\pi}$$

Para un espectrómetro RMN que opere a 18.8 T (Teslas), la frecuencia de resonancia del protón es de aproximadamente 800MHz, lo cual cae en la región de radiofrecuencia del espectro electromagnético.

Si se considera una colección de núclidos con espín $\frac{1}{2}$ bajo la acción de un campo magnético externo, los núclidos pueden orientarse de una forma α , paralela al campo o de una forma β antiparalela al campo. La forma α , tiene ligeramente menor energía, por lo que existe un exceso de núclidos en esa forma. Dicho exceso de población puede ser estimado por la distribución de Boltzman (**Ecuación 15**):³

Ecuación 15

$$\frac{N_\alpha}{N_\beta} = e^{\Delta E/RT}$$

Donde $N_{\alpha,\beta}$ representan el número de núcleos que se encuentran en las respectivas orientaciones posibles. Las diferencias entre los niveles energéticos de espín son sumamente pequeñas y por ello la diferencia de poblaciones es de apenas 1 en 10^4 aún en los mayores campos magnéticos existentes. Este diminuto exceso de población se distribuye completamente al azar alrededor de un cono de precesión paralelo al eje Z, lo cual genera un vector de magnetización a lo largo de este eje (**Figura 2.4**).³

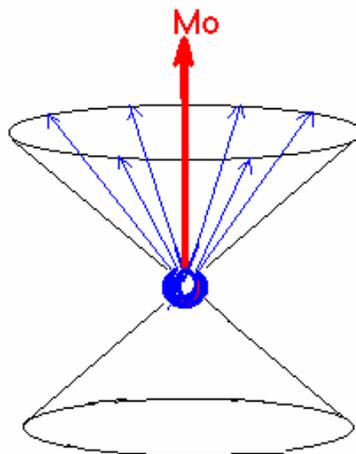


Figura 2.4: Magnetización neta a lo largo del eje z en un cono de precesión.

3. Desplazamientos Químicos

Si la **Ecuación 14** solamente diera las frecuencias de absorción para los núcleos, la técnica RMN no tendría mucho interés. Lo realmente trascendental es que el campo magnético real experimentado por un núcleo de una molécula, depende de la densidad electrónica que lo rodee, ya que los electrones también producen un campo magnético que tiene dirección contraria al campo magnético aplicado y su magnitud es proporcional a este. La contribución electrónica al campo magnético de un núcleo dado i es $-\sigma_i \mathbf{B}_0$, donde la constante de proporcionalidad σ_i se denomina constante de apantallamiento para el núcleo i . De manera que la **Ecuación 14** se convierte en la **Ecuación 16**:¹

Ecuación 16

$$\nu_i = \frac{|\mathbf{g}_N| \beta_N \bullet \mathbf{B}(1 - \sigma_i)}{h} = \frac{\gamma \mathbf{B}(1 - \sigma_i)}{2\pi}$$

La variación de ν_i debida al entorno electrónico del núcleo se denomina desplazamiento químico, el cual se define como (**Ecuación 17**),¹ donde la constante de apantallamiento de referencia corresponde a la del tetrametilsilano (TMS), $(\text{CH}_3)_4\text{Si}$.^{3,4}

Ecuación 17

$$\delta_i = (\sigma_{\text{ref}} - \sigma_i) \times 10^6$$

4. RMN de Onda Continua -OC- y RMN de Transformada de Fourier -TF-

La relación señal-ruido S/R es muy pequeña en la RMN, debido a:

- 4.1 La pequeña diferencia de poblaciones entre el estado base y el excitado.⁵
- 4.2 Es difícil discernir entre una señal verdadera y una fluctuación de la señal debida al sistema de amplificación del equipo.⁵
- 4.3 Que el núcleo tenga una baja abundancia natural o una relación magnetogámica desfavorable.⁶

Una solución a los problemas mencionados es la acumulación coherente de espectros, lo que hace aumentar la señal con el número de acumulaciones n mientras que el carácter aleatorio del ruido hace que este crezca sólo con \sqrt{n} . Así, la relación señal ruido crece con el número de acumulaciones según: $S/R = n/\sqrt{n} = \sqrt{n}$. Sin embargo, esto no sería práctico en la técnica tradicional de RMN a onda continua (RMN-OC), pues la adquisición de un espectro individual toma varios minutos y la acumulación de unos pocos cientos de espectros demoraría varias horas. La limitación fundamental radica en que, en la RMN-OC, la mayor parte del tiempo se emplea en medir la línea base del espectro que no contiene información útil. Este tipo de espectroscopía donde se mide la respuesta a una frecuencia y obtenemos el espectro secuencialmente, se denomina espectroscopia monocanal. En la RMN-TF, se emplea un solo pulso de rf de una sola intensidad y con una duración definida, lo suficiente larga para excitar todos los núcleos simultáneamente y luego se mide la respuesta de todos los núcleos mediante un interferograma, por lo que se denomina espectroscopia multicanal.⁵

5. Pulsos de RF en RMN:

Un "pulso" consiste en aplicar una onda de radiofrecuencia (rf) de amplitud y duración (t_p) definida a todos los núcleos en un campo magnético dado.³ El campo electromagnético producido por el pulso de radiofrecuencia, impone un torque al vector de magnetización nuclear en una dirección perpendicular a la dirección del pulso. La velocidad con que se mueve el vector de magnetización es proporcional a la fuerza del

pulso ($\gamma\mathbf{B}_1/2\pi$) y el ángulo θ que se aleja (\mathbf{M}_0 de \mathbf{B}_0) conocido como ángulo de nutación, el que depende tanto de la amplitud del pulso como de su duración, según la **Ecuación 18**.^{3,4,6}

Ecuación 18

$$\theta = 360 (\gamma\mathbf{B}_1/2\pi) t_p$$

Un pulso de 90° equivale a igualar las poblaciones, $\alpha=\beta$, haciendo a $\mathbf{M}_z=0$, pero debido al torque impuesto por \mathbf{B}_1 , hay un agrupamiento de μ con una proyección neta sobre el eje y y cuando \mathbf{B}_1 esta dirigido sobre el eje x., entonces se dice que los espines poseen coherencia de fase. Únicamente la magnetización sobre el plano x-y, es la capaz de inducir señal en la cubierta de detección (**Figura 5.1**).^{3,5} Los pulsos de 180° invierten las poblaciones de manera que $\beta>\alpha$ pero no inducen magnetización sobre el plano x-y.

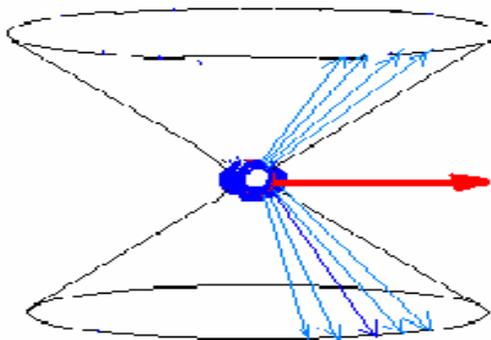
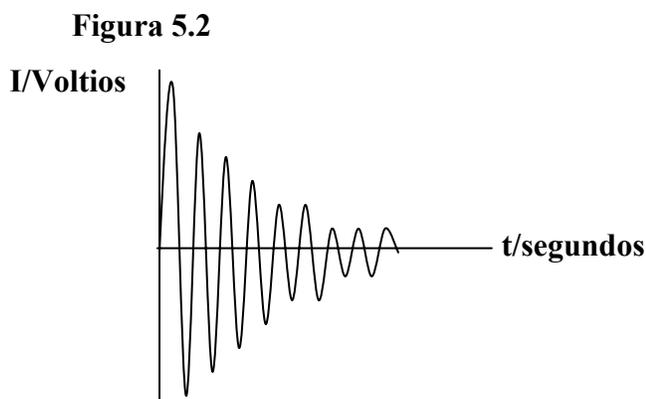


Figura 5.1. Coherencia de Fase

La idea de aplicar secuencias de pulsos de diferente ángulo de fase es sumamente importante, ya que de ello depende la información que obtenemos de ellas. A la forma de repetir los pulsos y la combinación de los datos colectados en forma apropiada se le llama ciclación de fase.⁶

Después de un pulso de 90° el momento magnético del núcleo se encuentra orientado sobre el eje y, fuera de su posición de equilibrio (cuando el campo magnético esta orientado sobre z y el pulso se da sobre el eje x), este vector magnético rotatorio induce un voltaje variable en la espira que rodea la muestra del mismo modo que lo haría el magneto rotatorio del dinamo de una bicicleta. Una vez cesa el pulso, el vector de magnetización tenderá a restablecer su posición de equilibrio, perdiéndose magnetización en el plano x-y y aumentando sobre el eje z nuevamente. Este proceso de regreso a la posición de equilibrio

se llama relajación y es el responsable del decaimiento de inducción libre (FID), que es el decaimiento exponencial de la señal de RMN en el tiempo, como se muestra en la **Figura 5.2**.^{3,4,6}



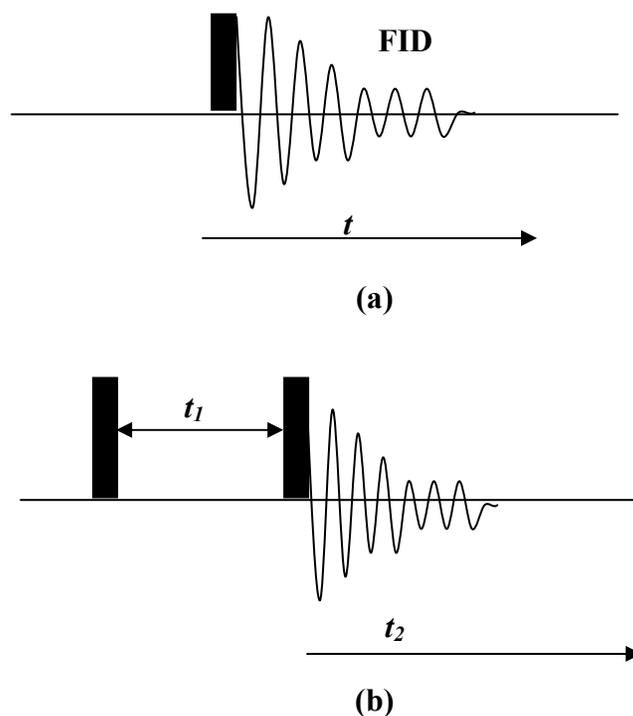
6. NOMENCLATURA DE SECUENCIAS DE PULSOS

Todos los experimentos de RMN pueden ser descritos en términos de secuencias de pulsos, lo cual es una notación pictórica que representa las secuencias de pulsos de radiofrecuencias y gradientes de campo, utilizados para manipular los espines nucleares, a fin de obtener determinada información del sistema. Por ejemplo, un pulso de 90° x significa que el espín nuclear ha sido obligado a girar 90 grados en torno al eje x (sus coordenadas en x no cambian), de manera que el espín queda orientado en la dirección de y y su campo asociado en la dirección de x . Pictóricamente, el pulso es representado por una barra oscura sobre la cual se suele escribir su duración y dirección. El sistema de representación resulta análogo al pentagrama musical, en el cual también se representan los tipos de sonidos y su duración. Los gradientes de pulsos son representados por semielipses.^{3,6}

7. LA GENERACIÓN DE LA SEGUNDA DIMENSIÓN

La **Figura 7.1a**, muestra un pulso de radiofrecuencia (rf) seguido de la observación de su respectivo FID, la transformada de Fourier de t en ν produce un espectro unidimensional. En la **Figura 7.1b**, se aplica un pulso, después de un tiempo t_1 , se aplica otro pulso y se observa el FID en función de t_2 . La transformada de Fourier en función de t_2 (como única variable) sigue produciendo un espectro unidimensional.

Figura 7.1



Si repetimos el experimento de la **Figura 7.1b**, con la diferencia de que cada vez que repetamos el experimento aumentamos ligeramente el tiempo t_1 entre los dos pulsos, los FID serán diferentes cada vez, pero estarán conectados por una función de dos variables de tiempo, t_1 y t_2 . Si efectuamos la transformada de Fourier de $f(t_1, t_2)$ integrando con respecto a t_1 y t_2 obtenemos un espectro de dos variables de frecuencia, ν_1 y ν_2 , el cual es un espectro bidimensional.¹

Todas las secuencias de dos dimensiones tienen el mismo formato básico, el cual puede ser subdividido en cuatro períodos: Preparación, evolución, mezcla y detección.^{3,4}

El período de evolución proporciona la clave para la generación de la segunda dimensión y se analizará pictóricamente en cada experimento.

El período de detección es análogo al de cualquier experimento monodimensional, en el cual se colectan todos los FID de los espines excitados al final de las secuencias de pulsos. El proceso de detección envuelve el muestreo o digitalización del FID a intervalos regulares de tiempo, los cuales deben cumplir con la condición Nyquist. El Teorema de Nyquist establece que para muestrear una señal oscilatoria, son necesarios por lo menos dos puntos por longitud de onda. Por ejemplo una señal de f Hz debe muestrearse a una

velocidad de por lo menos $2f$. En términos del ancho espectral (AE) podemos calcular los **intervalos de tiempo (IT)** a los que es necesario muestrear una onda según la **Ecuación 19**.^{3,4}

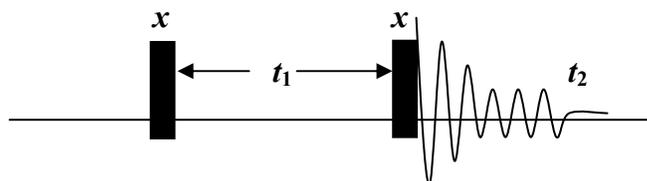
Ecuación 19

$$IT = \frac{1}{2AE}$$

8. TIPOS DE EXPERIMENTOS BIDIMENSIONALES

8.1 COSY-90 (COrrrelation SpectroscopY): Correlaciona espines homonucleares acoplados. Es típicamente utilizado para correlacionar protones vecinales (acoplados a 2 o 3 enlaces), o unidos a carbonos adyacentes, pero puede ser usado para cualquier núclido altamente abundante. Pictóricamente, su secuencia de pulsos es³ (**Figura 8.1**):

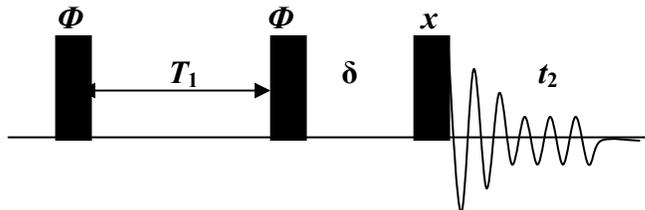
Figura 8.1



8.2 DQF-COSY: (Double Quantum Filtered COrrrelation SpectroscopY)

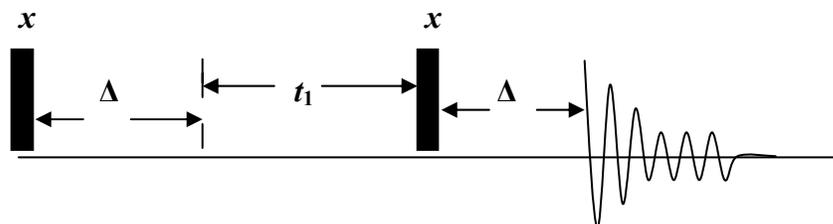
Correlaciona espines homonucleares acoplados. También es utilizado para correlacionar protones a 2 o 3 enlaces. Presenta mucha mejor resolución que el experimento COSY básico ya que los singletes se suprimen y se aumenta la claridad del espectro en las cercanías de la diagonal. Información adicional puede ser extraída del análisis de la estructura fina de los picos. La secuencia pictórica de pulsos para este experimento es la siguiente³ (**Figura 8.2**):

Figura 8.2



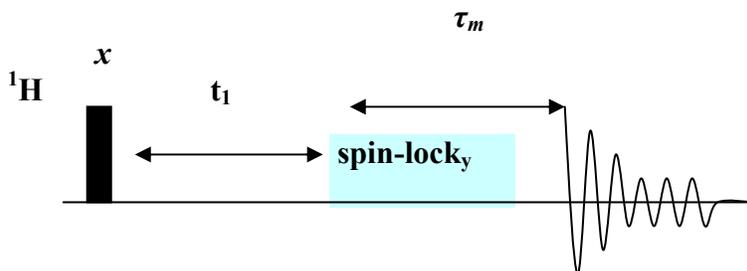
8.3 Delayed-COSY (Espectroscopía de Correlación Retardada): Correlaciona espines homonucleares con pequeñas constantes de acoplamiento. Es utilizado para identificar correlaciones de protones a través de múltiples enlaces (más de tres), por lo cual también es llamado **Long-range COSY**. Su secuencia pictórica de pulsos es la siguiente³ (**Figura 8.3**):

Figura 8.3



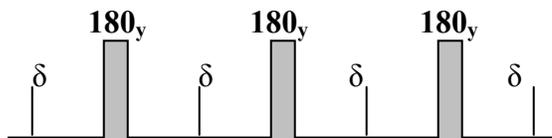
8.4 TOCSY (TOtal Correlation SpectroscopY): Correlaciona espines homonucleares acoplados y aquellos que residen en el mismo sistema de espines, pero que pueden no mostrar acoplamientos mutuos. Emplea la propagación de la magnetización a lo largo de cadenas continuas de espines y constituye una poderosa técnica para el análisis de espectros complejos de protón. La secuencia de pulsos de este experimento es la siguiente:^{3,4,5} (**Figura 8.4**)

Figura 8.4



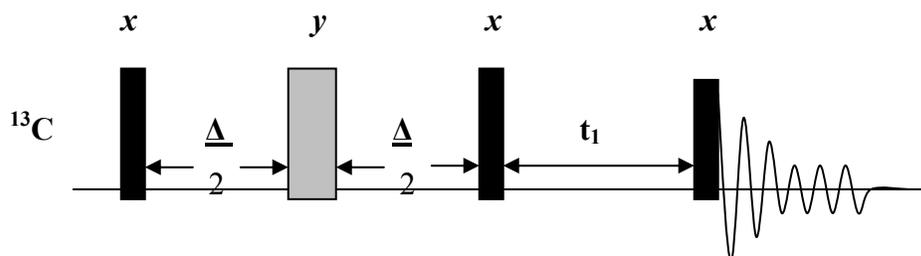
Donde la secuencia de fijación en y (Spin-lock $_y$) en su forma más simple, es una secuencia de pulsos de 180° separados por períodos infinitesimalmente pequeños, $(\delta)^{3,5}$ (Figura 8.5).

Figura 8.5



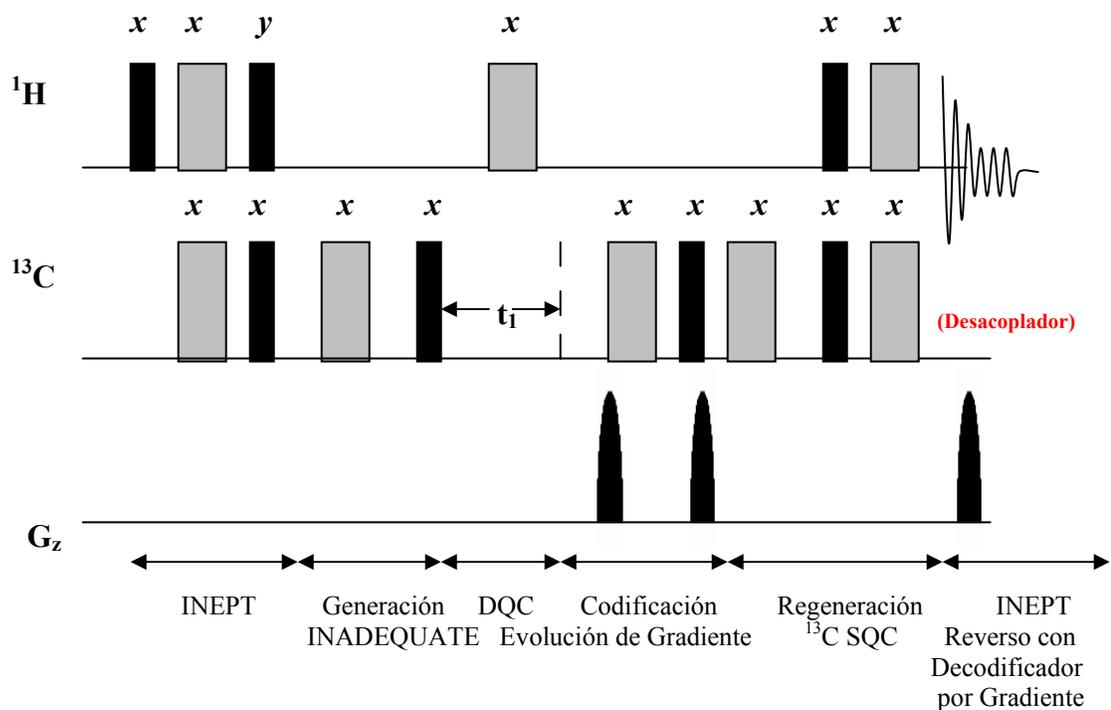
8.5 INADEQUATE: Su nombre se deriva de "Incredible Natural Abundance Double QUAntum Transfer Experiment". Correlaciona espines homonucleares acoplados de baja abundancia natural (menor del 20%), por ejemplo ^{13}C , ^{29}Si , ^{119}Sn , ^{183}W . Se utiliza comúnmente para correlacionar centros carbonados adyacentes, pero tiene muy baja sensibilidad. Cuando se trabaja con un isótopo poco abundante, las probabilidades juegan un papel importante. La cantidad de isótopos activos presentes será considerablemente pequeña, la probabilidad de que dos de estos isótopos estén en la misma molécula es escasa, y de que se encuentren en posiciones adyacentes en la misma molécula, es remota. Para complicar aún más el problema, debe tomarse en cuenta la interferencia causada por parejas resonantes dominantes con similares acoplamientos homonucleares y que no proveen información sobre la conectividad de los átomos. Para suprimir estas señales que carecen de valor informativo, se utiliza una filtración cuántica doble. Por todas estas razones, la técnica es poco sensible, requiere de tiempos de adquisición largos (24 horas o más) y solventes apropiados que disuelvan elevadas cantidades de muestra, así como de agentes que aceleren la velocidad de relajación de espines de centros cuaternarios como acetilacetato de cromo, oxígeno disuelto y trietilentetraminhexaacetato de gadolinio. La secuencia de pulsos de este experimento es la siguiente^{3,4} (Figura 8.6):

Figura 8.6



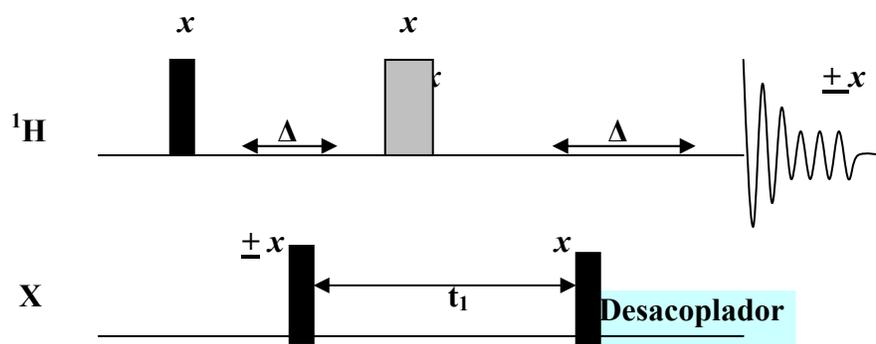
8.6 ADEQUATE: También conocido como INEPT-INADEQUATE. A fin de mejorar la sensibilidad de la técnica INADEQUATE, se ha combinado la secuencia de pulsos de la técnica INADEQUATE con la secuencia INEPT (Insensitive Nuclei Enhanced by Polarisation Transfer), a fin de producir una transferencia de fase de las correlaciones carbono-carbono hacia los hidrógenos directamente enlazados. El experimento muestra entonces las correlaciones de un hidrógeno (que como es más abundante conduce a un experimento más sensible) con el carbono al que está unido y al vecino de este. El experimento es ligeramente más sensible que INADEQUATE pero tiene el inconveniente que la obtención de un espectro típico toma entre 15 a 24 horas. Los algoritmos matriciales del presente trabajo explican muy bien como se pueden mezclar secuencias de pulsos para obtener experimentos híbridos. Su secuencia pictórica de pulsos es la siguiente:³ (Figura 8.7)

Figura 8.7



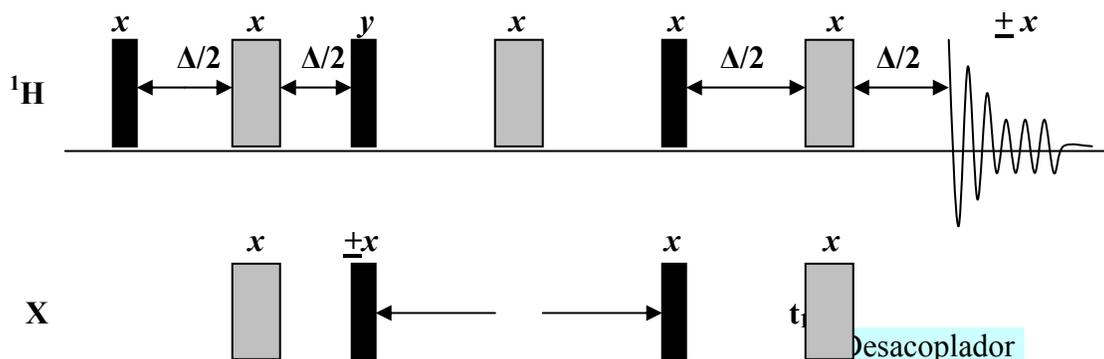
8.7 HMQC y HSQC: Las siglas HMBC significan en inglés "Heteronuclear Múltiple Quantum Correlation" y las siglas HSQC "Heteronuclear Single Quantum Coherence". Estas técnicas son comúnmente utilizadas para observar la correlación de un protón con el carbono al cual se encuentre directamente enlazado, pero también pueden establecer correlaciones con núclidos altamente sensitivos como ^{19}F y ^{31}P . La diferencia entre los dos experimentos radica en que el HMQC es una técnica más robusta (menos sensible a imperfecciones experimentales) pero tiene menor resolución que HSQC y además este último es más flexible y permite extender su secuencia según sea necesario. En Ambas técnicas se irradia carbono y se detecta hidrógeno. La secuencia de pulsos de HMQC es³ (**Figura 8.8**):

Figura 8.8



La secuencia de pulsos del experimento HSQC es^{3,5} (**Figura 8.9**):

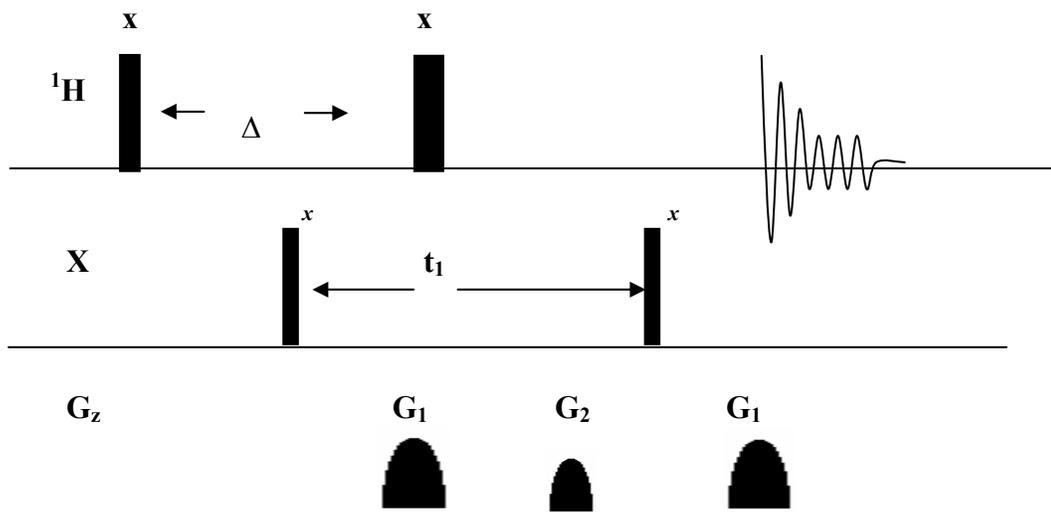
Figura 8.9



8.8 HMBC (Heteronuclear Multiple Bond Correlation): Con este experimento es posible observar las correlaciones de un hidrógeno con carbonos que se encuentren a dos o tres enlaces de distancia ($^n\text{J}_{\text{C-H}}$, $n=2,3$), pero presentan un severo problema

de ambigüedad, ya que no es posible distinguir fácilmente entre los carbonos que se entren a dos y los que se encuentren a tres enlaces. El experimento es capaz de captar correlaciones aún a través de heteroátomos presentes en el esqueleto. La secuencia pictórica de pulsos se este experimento es la siguiente³ (**Figura 8.10**):

Figura 8.10



9. TRES DIMENSIONES Y MÁS ALLÁ

Un espectro de correlación de RMN puede tener tantas dimensiones como se desee, aunque solo sea posible graficar tres, es posible operar matemáticamente infinitas. Así, con fines bioquímicos existen experimentos RMN capaces de desarrollar tres dimensiones, ${}^{13}\text{C}$, ${}^2\text{H}$ y ${}^{15}\text{N}$. También pueden tenerse espectros 3D entre (${}^{13}\text{C}$, ${}^1\text{H}$, ${}^{17}\text{O}$). Es más, pueden tenerse por lo menos en teoría, cualquier triada de elementos que presenten fenómeno RMN y tiempo como cuarta dimensión.⁷

10. MATRICES

Una matriz no es más que un arreglo o patrón ordenado de elementos, por ejemplo las tablas de multiplicación y división. Su concepto fue desarrollado por las investigaciones de los matemáticos Arthur Cayley y James Sylvester.⁸ El desarrollo de Cayley se debió al siguiente problema; supongamos que necesitamos cambiar las coordenadas de un punto en un sistema coordenado xy a otro sistema coordenado $x'y'$, las coordenadas del punto en el primer sistema se podrían correlacionar con las del mismo punto en el segundo sistema mediante:

$$x' = ax + by$$

$$y' = cx + dy$$

Ahora supongamos que necesitamos cambiar nuevamente de sistema coordenado:

$$x'' = Ax' + By'$$

$$y'' = Cx' + Dy'$$

Si nos enfrentamos al problema de convertir las coordenadas de nuestro punto en el primer sistema al tercer sistema coordenado directamente, podríamos aplicar el álgebra simple para obtener que:

$$x'' = (Aa + Bc)x + (Ab + Bd)y$$

$$y'' = (Ca + Dc)x + (Cb + Dd)y$$

Lo que descubrió Cayley fue que la primera transformación puede expresarse por un arreglo numérico:

$$\begin{pmatrix} a & b \\ c & d \end{pmatrix}$$

y la segunda por el arreglo:

$$\begin{pmatrix} A & B \\ C & D \end{pmatrix}$$

Observó posteriormente que estos arreglos pueden operarse de forma similar a los números reales para obtener resultados interesantes. Por ejemplo:

$$\begin{pmatrix} A & B \\ C & D \end{pmatrix} \times \begin{pmatrix} a & b \\ c & d \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} Aa + Bc & Ab + Bd \\ Ca + Dc & Cb + Dd \end{pmatrix}$$

Cayley y Silvestre extendieron su trabajo a espacios multidimensionales, proporcionando a los científicos una potente herramienta para trabajar este tipo de espacios, aunque geoméricamente sea imposible visualizar espacios de más de tres dimensiones.⁸

10.1 Propiedades de las Matrices:

10.1.1 Igualdad de dos Matrices.⁹ Se puede decir que dos matrices son iguales, si y solo si, tienen las mismas dimensiones y si sus elementos correspondientes son idénticos.

10.1.2 Suma de Matrices.⁹ La suma de una matriz A de $m \times n$ con elementos a_{ij} (Renglón i columna j) y otra matriz B de $m \times n$ con elementos b_{ij} es la matriz C de $m \times n$ con elementos $C_{ij}=a_{ij}+b_{ij}$.

10.1.3 Multiplicación de una matriz por un escalar.⁹ Si $A=(a_{ij})$ es una matriz de $m \times n$ y si α es un escalar, entonces la matriz $m \times n$, αA , está dada por $\alpha A=(\alpha a_{ij})$ es decir que equivale a multiplicar cada elemento de A por α .

10.1.4 Teorema.⁸ Sean A,B,C matrices de $m \times n$ y sean α y β dos escalares, entonces:

$$A+0=A; 0A=0.$$

10.1.5 Ley conmutativa para la suma de matrices.⁹ $A+B=B+A$.

10.1.6 Ley asociativa para la suma de matrices.⁹ $(A+B)+C=A+(B+C)$.

10.1.7 Ley distributiva para la multiplicación por un escalar.⁹ $\alpha(A+B)=\alpha A+\alpha B$.

10.1.8 $A=A$

10.1.9 $(\alpha+\beta)A=\alpha A+\beta A$

10.1.10 Producto Escalar.⁹ Sean $a=(a_1 \dots a_n)$ y $b=(b_1 \dots b_n) \Rightarrow a \bullet b = \sum_{i=1}^n a_i b_i$

10.1.11 producto de Matrices.⁹ De una matriz A de $m \times n$ por una matriz B de $n \times p$ es la matriz C de $m \times p$

$$\text{en que } C_{ij} = \sum_{k=1}^n a_{ik} b_{kj}.$$

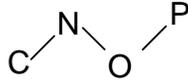
10.1.12 El producto de matrices no es conmutativo.⁹ $AB \neq BA$ salvo en casos muy particulares.

11. TEORIA DE GRAFOS

En 1736, el matemático Leonhard Euler publicó un artículo que trataba de resolver un problema de apariencia trivial, como conocer un conjunto de sitios turísticos conectados por puentes sin pasar dos veces por el mismo puente (Los Puentes de Koninsberg), y para ello desarrolló las bases fundamentales de lo que hoy se conoce como la teoría de grafos.⁸ Esta teoría permite representar por medio de una matriz una figura de n vértices.⁹ El principio consiste en escribir en el encabezado de las columnas y las filas todos los vértices de un grafo, luego escribir "1" en las intersecciones de las columnas y filas de los vértices que son adyacentes y "0" en aquellos que no lo son.^{10,11}

Actualmente se usa la teoría de Euler para resolver complicados problemas de telecomunicaciones, informática, física, matemática y química.^{12,13,14,15,16,17,18}

Ejemplo 11.1:



Grafo A

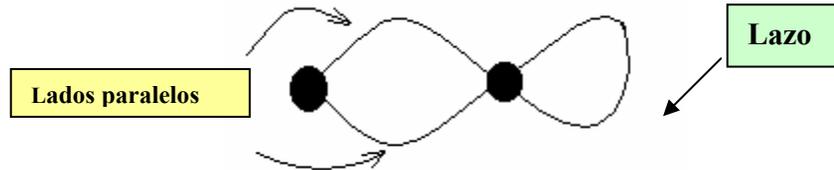
	C	N	O	P
C	0	1	0	0
N	1	0	1	0
O	0	1	0	1
P	0	0	1	0

Matriz de correlación de A

Ya que la teoría de grafos es relativamente reciente, no se ha alcanzado consenso con respecto a muchas definiciones, por ello a continuación se presenta una lista de los conceptos y definiciones extraídas de la referencia 8 que se utilizarán como punto de partida en este trabajo.

- 11.1 Grafo no dirigido:** Un grafo no dirigido G consiste de un conjunto V de vértices o nodos y un conjunto E de lados o ramas tales que cada lado $e \subseteq E$ esta asociado a un par no ordenado de vértices. Si el lado e esta asociado a un único par de vértices v y w , se escribe $e=(v,w)$ o $e=(w,v)$. En este contexto $e=(v,w)$ denota un lado de un grafo no dirigido y no un par ordenado de números.⁸
- 11.2 Grafo dirigido:** Un grafo dirigido o dígrafo G consiste en un conjunto V de vértices y un conjunto E de lados tales que cada lado $e \subseteq E$ está asociado a un par ordenado de vértices. Si un lado esta asociado a un único par ordenado de vértices v y w , se escribe $e=(v,w)$ según la dirección de la arista o lado.⁸ Se dice que un lado $e=(v,w)$ de un grafo (dirigido o no) es incidente en v y w . Se dice que los vértices v y w son incidentes en e , y también que son vértices adyacentes. Si G es un grafo (dirigido o no) con un conjunto de vértices V y un conjunto de lados E , se escribe $G=(V,E)$ y por lo general V y E se consideran conjuntos finitos.⁸
- 11.3 Lados Paralelos:** Dos lados distintos e_1 y e_2 que inciden en el mismo par de vértices.^{8,9}

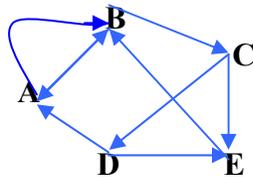
11.4 Lazos: Lados de la forma (v,v) .^{8,10} **Figura 11.1**



11.5 Grafo simple: Grafo que carece de lazos y lados paralelos.^{8,10}

11.6 Valencia: La valencia o grado de un vértice v , $\delta(v)$, es el número de lados incidentes en v . Por definición, cada lazo de v contribuye en 2 a la valencia de v .^{8,9}

Ejemplo 11.2: Equivalencia entre un grafo dirigido y una matriz.



Grafo Dirigido

	A	B	C	D	E
A	0	2	0	0	0
B	1	0	1	0	1
C	0	0	0	1	1
D	1	0	0	0	1
E	0	1	0	0	0

Matriz de adyacencia

11.7 Circuito Hamiltoniano: En un grafo G , es un camino que comienza y termina en el mismo vértice, pasando solamente una vez por cada vértice.⁸

11.8 Circuito de Euler. Grafo que cumple con la propiedad de que al elegir arbitrariamente un vértice puede recorrerse el grafo y terminar en el mismo vértice sin pasar más que una sola vez por cada lado. Todos los vértices deben tener valencia par.¹⁰

11.9 Grafo de Similaridad. Se construye con vértices de la forma $(v_1, v_2, v_3, \dots, v_i)$ donde v_i es el valor de la propiedad i de un objeto. Luego para un par de vértices $v=(v_1, v_2, v_3, \dots, v_i)$ y $w=(w_1, w_2, w_3, \dots, w_i)$ se establece una función s de la

forma: $s(v,w) = |v_1-w_1| + |v_2-w_2| + |v_3-w_3| + \dots + |v_i-w_i|$. Los valores de $s(v,w)$ son inversamente proporcionales a la similaridad de los vértices.⁸

- 11.10 Clase.** Es una agrupación de elementos que comparten una misma propiedad. En base a la definición 10.9, se dice que v y w están en la misma clase si $v=w$, o si existe una sucesión de la forma $(v,v_1),(v_1,v_2),\dots,(v_n,w)$.⁸
- 11.11 Reconocimiento de Patrones.** Consiste en utilizar propiedades de los datos para agruparlos en clases. El reconocimiento de patrones tiene mucho significado práctico. Algunos ordenadores han sido programados para detectar cáncer mediante examen con rayos X, analizar fotografías tomadas por satélite, reconocer texto y pronosticar el clima y fenómenos atmosféricos.⁸
- 11.12 Subgrafo.** Sean $G=(V,E)$ y $G'=(V',E')$ dos grafos. Si $V' \subseteq V$ y $E' \subseteq E$, se dice que G' es un subgrafo de G .⁸
- 11.13 Matriz de Incidencia.** Forma de representar un grafo en una matriz en la cual se asignan las marcas de los vértices a las filas y las marcas de los lados a las columnas. Un elemento de dicha matriz es uno si el lado incide en el vértice y cero en cualquier otro caso. Una columna que solamente posea un número uno representa un lazo y puede ser sustituido por un número dos para representar el aporte real a la valencia del vértice. La matriz de incidencia ofrece la ventaja de que se pueden representar lados paralelos y lazos simultáneamente. Además en un grafo sin lazos, cada columna tiene dos cifras uno y que la suma de cada fila da la valencia del vértice correspondiente.²
- 11.14 Camino de longitud n de v a w .** Es una sucesión de lados que va de v a w y la cual tiene n lados distintos entre sí.⁸
- 11.15 Grafo Conexo.** Grafo en que cualquier par de vértices v y w están conectados por un camino.²
- 11.16 Componente.** Es un subgrafo conexo G' de G que tiene la siguiente propiedad: Si G'' es un subgrafo de G , y G' es un subgrafo de G'' , entonces $G'=G''$. En otras palabras, un componente de un grafo G es un subgrafo conexo maximal de G .^{8,10}

11.17 Grafo ponderado. Es un grafo en el cual existen datos asociados a sus lados. El valor $w(i,j)$ asociado con el lado (i,j) se llama ponderación.^{8,10}

11.18 Isomorfismos Los grafos G_1 y G_2 son isomorfos si existe una función biyectiva f entre los vértices de G_1 y de G_2 , y una función biyectiva g entre los lados de G_1 y de G_2 , tales que un lado e es incidente a v y w en G_1 , si y solo si el lado $g(e)$ es incidente a los vértices $f(v)$ y $f(w)$ en G_2 . Al par de funciones f y g se les denomina isomorfismo. Además todo invariante de G_1 es válido en G_2 . La **Figura 11.18.1** ejemplifica un isomorfismo.^{8,10}

Figura 11.18.1



11.19 Invariante. Propiedad que se preserva ante isomorfismos. Por ejemplo, para un grafo G , si n y m son enteros no negativos, las propiedades "tiene n lados" y "tiene m vértices" son invariantes.^{8,10}

12 Teoremas

- 12.1 Un grafo tiene un circuito de Euler si y solo si es conexo y todos sus vértices tienen valencia par.⁸
- 12.2 Si G es un grafo con vértices $\{v_1, v_2, \dots, v_n\}$, la suma $\delta(v_1) + \delta(v_2) + \dots + \delta(v_n)$ es par.⁸
- 12.3 En cualquier grafo existe un número par de vértices con valencia impar.⁸
- 12.4 Un grafo tiene un camino de v a w ($v \neq w$) que contiene todos los lados y vértices, si y solo si es conexo y v y w son los únicos vértices de G con valencia impar.⁸
- 12.5 Si G es un grafo, los componentes de G forman una partición de G . Específicamente, si $G_i = (V_i, E_i)$, $i=1, \dots, n$ es el conjunto de los componentes de G , entonces $G = (\cup_{i=1}^n V_i, \cup_{i=1}^n E_i)$ y $V_i \cap V_j = \emptyset = E_i \cap E_j$, si $i \neq j$.⁸

- 12.6 Los grafos G_1 y G_2 son isomorfos si y solo si para alguna ordenación de los vértices y lados sus matrices de incidencia son iguales.⁸

13. Elucidación Estructural Molecular Asistida por Ordenadores

La elucidación estructural asistida por ordenadores tiene por objetivo, la generación libre de redundancias de todas las posibles estructuras moleculares que son consistentes con un conjunto de datos espectroscópicos, con la mínima participación humana. A continuación se presenta una clasificación y descripción de los programas para ordenadores que tratan de cumplir con el objetivo planteado.

13.1 Comparadores Espectrales. Programas que comparan el espectro de una muestra desconocida con una base de datos en la memoria del ordenador, para devolver la estructura y espectro que más se le asemejan.

13.2 Mezclador Espectral. Programa o algoritmo que es capaz de mezclar conjuntos de espectros previamente almacenados de acuerdo a reglas físicas y matemáticas, con la finalidad de generar un tercer tipo de espectro que contiene información estructural de mayor relevancia y que es más fácil de interpretar. El presente trabajo pertenece a esta categoría.

13.3 Generador Estructural. Programas que en función de la información que se le proporciona, generan un conjunto de estructuras (en el caso ideal solamente una) que cumplen con todas las características solicitadas en base a criterios humanos previamente programados.

13.4 Programas que utilizan teoría de grafos:

13.4.1 MOLGEN. Es un generador estructural que permite generar un conjunto de isómeros conexos que corresponden a una fórmula molecular, que satisfacen las valencias de los átomos y que está totalmente libre de redundancias. Además se puede reducir el número de isómeros propuestos imponiendo restricciones adicionales. Por ejemplo para $C_8H_{16}O_2$ Molgen propone 13190 isómeros conexos diferentes; si se le impone la restricción de contener un grupo carboxilo, solamente propone 39, si a esto se adiciona la restricción de contener un grupo isopropilo presentará solo 27. Algunas veces debido al número astronómico de soluciones para un problema, Molgen no es capaz de generar un conjunto solución de estructuras en

tiempo razonable. Molgen se encuentra disponible en los siguientes sistemas operativos: Silicon Graphics, Sun Solaris, Dec Alpha y Linux. Necesita de 40Mb de espacio en disco pero depende de la complejidad del problema. El concepto matemático detrás de Molgen es una mezcla de métodos combinatorios y algebraicos.²⁴

13.4.2 CISOC-SES (SAMS). Es un generador estructural que está construido alrededor del concepto de valencias insaturadas o "enlaces libres" para esquivar problemas de asignación de estados de hibridación. Los enlaces libres de cada componente son incluidos en la matriz de conexión de enlace libre, la cual es la base del generador. La información está codificada de la siguiente manera: Pares de átomos correlacionados están representados por ejemplo por 2 o 3 para datos obtenidos de un experimento HMBC; y para el tipo de enlace, 1 si se trata de un enlace simple, 2 si se trata de un enlace doble, etc., y 0 para datos del HMBC donde el tipo de enlace es desconocido. El experimento H-H COSY es utilizado para construir las correlaciones C-C a un enlace. Usando los espectros HMQC o HSQC en combinación con HMBC se obtienen las conectividades C-C a uno o dos enlaces, y la probabilidad de que dos carbonos, correlacionados de esta manera, estén conectados es de 0.5. El factor de peso es medido por esta probabilidad y por ello la matriz de enlace libre representa tanto las probabilidades y posibilidades de formación de un enlace entre dos componentes. El componente con el mayor factor de peso es elegido como punto de partida para el proceso de generación estructural. Cuando la conexión es formada entre dos componentes, la matriz de enlace libre y el factor de peso son dinámicamente actualizados. Los autores de CISOC-SES también han determinado que la ruta más rápida para completar estructuras es generar esqueletos completos primero antes que determinar la naturaleza de los enlaces (simple, doble, triple) y esto es una consecuencia directa del concepto de enlace libre.²⁴

JUSTIFICACIÓN

Los espectros RMN de correlación ^{13}C - ^{13}C son una potente herramienta para la elucidación inequívoca del esqueleto carbonado de una molécula orgánica. En la actualidad, la única técnica que permite obtener los mencionados espectros es el experimento INADEQUATE, sin embargo, éste presenta serias limitaciones que impiden que pueda utilizarse de manera rutinaria. El experimento es poco sensible, requiere de considerables cantidades de muestra, tiempos de adquisición largos y solventes apropiados, lo que conduce a elevados costos. Por lo anteriormente expuesto, se hace necesario desarrollar una nueva técnica que permita la obtención de tales espectros de una manera más rápida y económica.

OBJETIVO

Desarrollar los fundamentos matemáticos de una nueva técnica que permita generar espectros de correlación RMN Homonuclear de carbono 13.

HIPÓTESIS

Es posible generar espectros de resonancia magnética nuclear de correlación homonuclear de ^{13}C por medio de la combinación matemática de espectros más sencillos de obtener, ahorrando tiempo y recursos económicos.

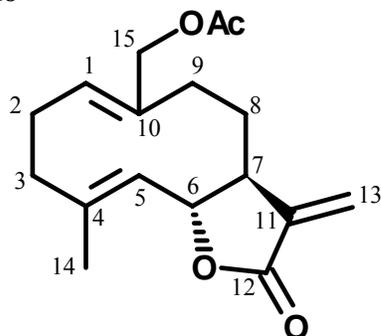
MATERIALES Y MÉTODOS

OBJETO DEL ESTUDIO.

UNIVERSO. Espectros RMN reales de moléculas orgánicas.

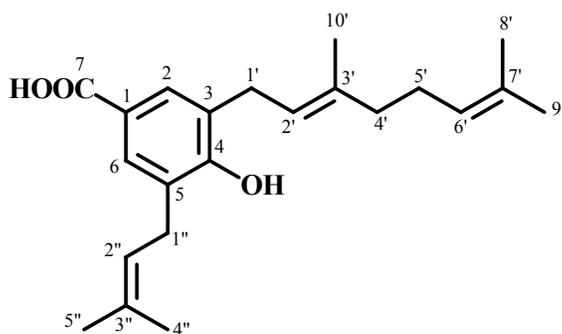
MUESTRA. Se han seleccionado moléculas de productos naturales cuyos espectros RMN bidimensionales están disponibles en la literatura ^{19,20,21,22,23} y que poseen riqueza de grupos funcionales.

Sujeto 1: 15-AcetoxiCostunolido ²¹



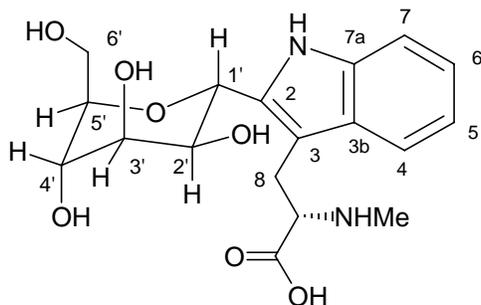
Criterio de selección: Posee ésteres cíclicos y no cíclicos, dobles enlaces endo y exocíclicos.

Sujeto 2: Ácido Geranilbenzoico (ÁCIDO 3-GERANIL-4-HIDROXI-5-(3'',3''-DIMETILALIL)-BENZÓICO)²²



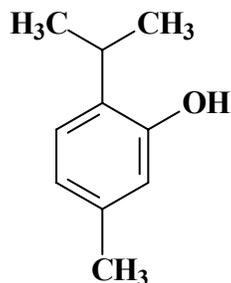
Criterio de selección: Posee un grupo funcional carboxilo, un fenol, dobles enlaces alifáticos y aromáticos y carbonos carentes de hidrógenos unidos a ellos.

Sujeto 3: Riterella (C²- α -D-manopiranosil-L-triptófano)²³



Criterio de selección: Aminoácido metilado, aromático y glicosidado. Posee aminas secundarias.

Sujeto 4: Timol, 2-isopropil-5metilfenol.



Criterio de selección: Fenol con elevada relación de carbonos cuaternarios, bastante cercanos entre sí.

MATERIALES

1. Papel
2. Lápiz
3. Ordenador de 300 MHz, procesador AMDK06, 32 Mb RAM, 4.5G ROM.
4. Software especializado: ChemOffice, ACD Labs, Scientific Notebook.
5. Espectros RMN: COSY, HETCOR, HMQC, HSQC, HMBC (Todos de moléculas reales).

MÉTODOS

1. Transformar los espectros RMN-2D, COSY, HETCOR, HMQC, HSQC y HMBC a sistemas matriciales. Escribiendo 1 cuando exista correlación entre dos átomos y 0 cuando no.
2. Crear matriz de conteo de hidrógenos unidos a cada carbono.

3. Crear matriz de conteo de enlaces encontrados. Sus valores inician con los valores de la matriz del paso 2.
4. En función del desplazamiento químico, crear la matriz de máximo número de enlaces que puede tener cada carbono.
5. Aplicar $[\mathbf{H-C}]^{J2} = [\mathbf{COSY}] \times [\mathbf{HMQC}] \approx [\mathbf{HMQC}] \times [\mathbf{C-C}]^{J1}$
6. Aplicar $[\mathbf{H-C}]^{J1,2,3} = ([\mathbf{COSY}]^2 \times [\mathbf{HMQC}] + [\mathbf{HMBC}]) \approx [\mathbf{HMQC}] \times [\mathbf{C-C}]^{J2}$
7. Aplicar $[\mathbf{C-C}]_f = [\mathbf{C-C}]^{J1} + [\mathbf{C-C}]^{J2}$
8. Marcar elementos de la matriz que ocupan filas y columnas de carbonos no hidrogenados.
9. Marcar filas y columnas de carbonos con desplazamiento químico menor de 15ppm.
10. Marcar filas y columnas de carbonos con desplazamiento químico mayor de 15 ppm y menor de 35ppm.
11. Marcar filas y columnas de carbonos con desplazamiento químico mayor de 35 ppm y menor de 105ppm.
12. Marcar filas y columnas de carbonos con desplazamiento químico mayor de 105 ppm y menor de 160ppm.
13. Marcar filas y columnas de carbonos con desplazamiento químico mayor de 160 ppm y menor de 195ppm.
14. Marcar filas y columnas de carbonos con desplazamiento químico mayor de 160 ppm y menor de 185.
15. Marcar filas y columnas de carbonos con desplazamiento químico mayor de 185 ppm y menor de 220.
16. Sean $C_\alpha, C_\beta, C_\gamma, C_\delta$ carbonos hidrogenados y $C_\epsilon, C_\kappa, C_\omega, C_\phi$ carbonos no hidrogenados. Aplicar los siguientes argumentos lógicos.
17. Si dos C_α y C_β marcados en 9 muestran que $(C_\alpha, C_\beta)=1$, $(C_\alpha, C_\epsilon)=1$, y $(C_\beta, C_\epsilon)=1$ y no existe ningún otro carbono no hidrogenado que haga correlación con C_α y C_β entonces transformar $(C_\alpha, C_\epsilon)=2$ y $(C_\beta, C_\epsilon)=2$.
18. Si C_α esta marcado en 9 y C_β está marcado en 10 y $(C_\alpha, C_\beta)=1$, $(C_\alpha, C_\epsilon)=1$, $(C_\beta, C_\epsilon)=1$ y no existe ningún otro carbono no hidrogenado que haga correlación con C_α y C_β , entonces transformar $(C_\alpha, C_\epsilon)=2$ y $(C_\alpha, C_\beta)=2$.

19. Si $C\alpha$ esta marcado en 9 y $C\beta$ esta marcado en 11 y $(C\alpha, C\beta)=1$, $(C\alpha, C\epsilon)=1$ y $(C\beta, C\epsilon)=0$ entonces transformar $(C\alpha, C\epsilon)=2$ y $(C\beta, C\epsilon)=2$.
20. Si $C\alpha$ y $C\beta$ están marcados en 10 y $(C\alpha, C\beta)=1$, $(C\alpha, C\epsilon)=1$, $(C\beta, C\epsilon)=1$, $(C\alpha, C\phi)=1$, $(C\beta, C\phi)=1$, identificar un $(C\alpha, C\gamma)=2$ o un $(C\beta, C\gamma)=2$ y si se cumple que $(C\gamma, C\phi)=0$, transformar $(C\alpha, C\epsilon)=2$ y $(C\beta, C\epsilon)=2$.
21. Si $C\alpha$, $C\beta$ y $C\epsilon$ están marcados en 11 y $(C\alpha, C\beta)=1$, $(C\alpha, C\epsilon)=0$, $(C\beta, C\epsilon)=0$, identificar un $(C\alpha, C\gamma)=2$ o un $(C\beta, C\gamma)=2$ y si se cumple que $(C\gamma, C\epsilon)=1$ y $C\gamma$ no muestra correlación con ningún otro C no hidrogenado marcado en 11, transformar $(C\alpha, C\epsilon)=2$ y $(C\beta, C\epsilon)=2$.
22. Si $C\alpha$, $C\beta$, están marcados en 9 o en 10 y $(C\alpha, C\beta)=0$, $(C\alpha, C\epsilon)=1$, $(C\alpha, C\phi)=1$, $(C\beta, C\epsilon)=1$, $(C\beta, C\phi)=1$, transformar $(C\epsilon, C\phi)=2$ e identificar un $(C\alpha, C\gamma)=2$ y si se cumple que $(C\gamma, C\epsilon)=1$ transformar $(C\alpha, C\epsilon)=2$ y $(C\beta, C\phi)=2$.
23. Si $(C\alpha, C\beta)=1$, $(C\alpha, C\epsilon)=1$, $(C\alpha, C\phi)=1$, $(C\beta, C\epsilon)=0$ y $(C\beta, C\phi)=1$, buscar $(C\beta, C\gamma)=2$, si se cumple que $(C\gamma, C\epsilon)=1$ y $(C\gamma, C\phi)=0$, transformar $(C\alpha, C\epsilon)=2$ y $(C\beta, C\epsilon)=2$.
24. Si $(C\alpha, C\beta)=1$, $(C\alpha, C\epsilon)=1$, $(C\alpha, C\phi)=1$, $(C\beta, C\epsilon)=1$ y $(C\beta, C\phi)=1$, buscar $(C\beta, C\gamma)=2$, si se cumple que $(C\gamma, C\epsilon)=1$ y $(C\gamma, C\phi)=0$, transformar $(C\alpha, C\epsilon)=2$ y $(C\beta, C\epsilon)=2$.
25. Restar 1 a todos los elementos de la matriz resultante.
26. Elevar al cuadrado la matriz obtenida en 25. El resultado debería ocupar con valores diferentes de 0 todas las posiciones ocupadas en la matriz 25 antes de haber restado 1.
27. Sumar uno a los elementos de la diagonal de la matriz 25.
28. Todo elemento igual o mayor de 2, traducirlo en un punto rojo, y todo elemento igual a uno en un punto azul. Los puntos rojos serán correlaciones a un enlace de distancia (J1) y los azules correlaciones a dos enlaces de distancia (J2).

Nota: Debido a que solamente las matrices cuadradas cumplen con la ley de la potencia, en los pasos 4 y 5 la suma por conveniencia está definida como $1+1=1$, $1+0=1$ y $0+0=0$. Finalmente se demuestra que la matriz resultante contiene la misma información que un espectro INADEQUATE.

DISCUSIÓN

Los resultados demuestran una buena correlación entre las matrices de correlación ^{13}C - ^{13}C producidas por el método planteado y las estructuras ya elucidadas por los métodos tradicionales. No se observaron señales fantasma, es decir señales que representarían una correlación directa entre dos átomos que realmente no existe. Tampoco se observaron falsos negativos. Por tanto puede aseverarse que el método planteado proporcionaría espectros de correlación ^{13}C - ^{13}C de gran calidad para moléculas que posean alcoholes primarios, secundarios, esterres alifáticos, lactonas, éteres, aminas primarias y secundarias, fenoles, sistemas aromáticos, dobles enlaces alifáticos, carbonos cuaternarios adyacentes y ácidos carboxílicos; aunque la fiabilidad del método disminuye con el aumento de la proporción de carbonos cuaternarios adyacentes en la molécula. Cabe discutir que el algoritmo propuesto no forma parte de un simulador espectral por las siguientes razones: Primero: No predice un espectro de correlación ^{13}C - ^{13}C a partir de una estructura que se alimente al algoritmo. Segundo: Cualquier perturbación aleatoria experimental que se produzca durante la obtención de los espectros COSY, HMQC y HMBC se traduce en una perturbación proporcional en la matriz ^{13}C - ^{13}C generada, es decir es sensible a variables experimentales. El procedimiento presente trabajo es análogo al obtener dos espectros UV-Vis de manera independiente de dos especies químicas diferentes, si las dos especies no interaccionan químicamente una con otra, el espectro de la mezcla sería el mismo que el que se obtendría de sumar punto por punto de ambos espectros obtenidos de manera independiente. Por tanto si en el algoritmo se trabaja con simulaciones de espectros el espectro ^{13}C - ^{13}C es una simulación pero si se trabaja con espectros reales se obtiene un espectro ^{13}C - ^{13}C real, cumpliéndose la ley de cerradura. Recordemos que se dice que un conjunto G cumple con la ley de cerradura con respecto a la suma o la multiplicación, si para cualquiera dos elementos que pertenezcan a G, se cumple que al sumarlos o multiplicarlos el resultado sigue perteneciendo al conjunto G, lo cual sucede exactamente con los espectros RMN multidimensionales.

CONCLUSIONES

1. El algoritmo planteado es capaz de producir espectros de correlación ^{13}C - ^{13}C J^1 de buena calidad, casi independientemente del tipo de grupos funcionales presentes en la molécula en menor tiempo que el experimento INADEQUATE.
2. Se demostró que $[\mathbf{H-H}]^{J^3} \times [\mathbf{H-C}]^{J^1} \approx [\mathbf{H-C}]^{J^1} \times [\mathbf{C-C}]^{J^1} = [\mathbf{H-C}]^{J^2}$, $[\mathbf{H-C}]^{J^1,2,3} = [\mathbf{H-C}]^{J^1} \times [\mathbf{C-C}]^{J^2}$, donde $[\mathbf{H-H}]^{J^3}$ representa un espectro de correlación hidrógeno-hidrógeno a tres enlaces químicos de distancia, $[\mathbf{H-C}]^{J^1}$ representa un espectro de correlación hidrógeno-carbono a un enlace químico de distancia, $[\mathbf{H-C}]^{J^2}$ representa un espectro de correlación hidrógeno-carbono a uno y dos enlaces químicos de distancia, $[\mathbf{H-C}]^{J^1,2,3}$ representa un espectro de correlación hidrógeno-carbono a uno, dos y tres enlaces químicos de distancia, $[\mathbf{C-C}]^{J^1}$ representa un espectro de correlación carbono-carbono a un enlace químico de distancia, $[\mathbf{C-C}]^{J^2}$ representa un espectro de correlación carbono-carbono a uno y dos enlaces químicos de distancia.
3. Las diferencias observadas entre los gráficos de las matrices obtenidas y un espectro INADEQUATE son: que las señales se observan como singletes y no como dobletes, son totalmente simétricos, se observan y distinguen claramente correlaciones a dos enlaces de distancia.
4. En una matriz equivalente a un espectro de correlación RMN homonuclear la diagonal presenta valores mayores que el resto de la matriz.
5. Toda matriz equivalente a un espectro de correlación RMN homonuclear es reducible a la forma escalonada.
6. Toda matriz equivalente a un espectro de correlación RMN homonuclear tiene un determinante diferente de 0.

RECOMENDACIONES

1. Desarrollar un programa de ordenador acoplado a un instrumento RMN que utilice el algoritmo planteado.
2. Desarrollar una interfase que permita el acoplamiento directo entre el programa de ordenador y el instrumento RMN, para digitalizar de manera interna los espectros obtenidos por el equipo.
3. Aumentar el nivel de los cursos de matemática con una unidad de Transformadas de Fourier e implementar un curso con la unidades de álgebra lineal, teoría de grafos, teoría grupos, y un curso de programación avanzada y química computacional en la carrera de Licenciatura en Química.

BIBLIOGRAFÍA

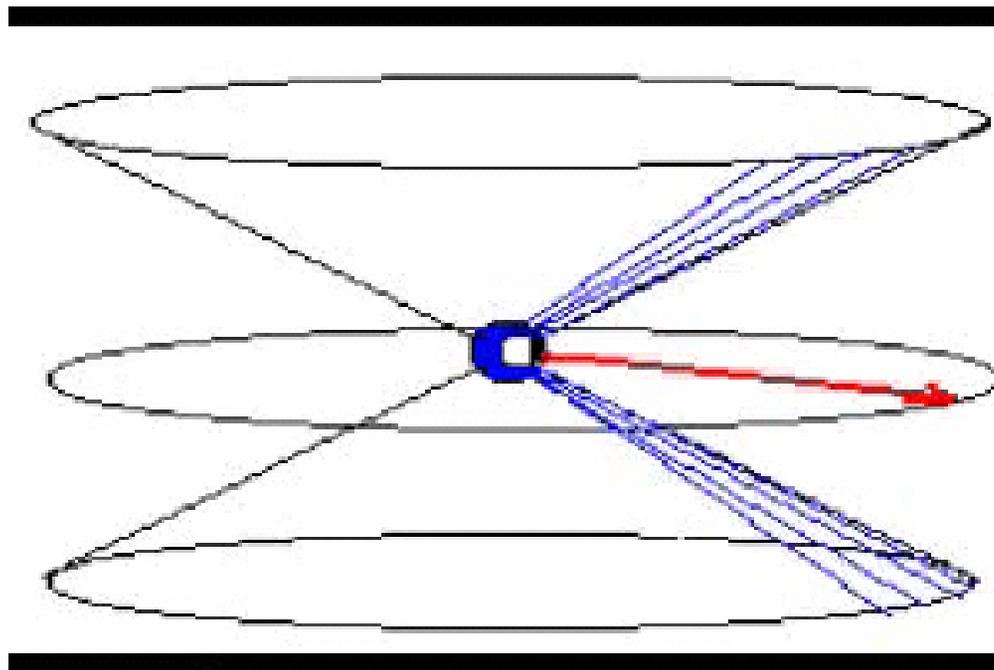
1. Levine, I. **FISICOQUÍMICA**. Editorial McGraw-Hill. Quinta Edición. Volumen 2. New York. 2001. 1287 pp.
2. Joseph-Nathan, P. y Diaz, E. **Elementos de Resonancia Magnética Nuclear de Hidrógeno**. Grupo editorial Iberoamérica. Segunda edición. Méjico.1993. 170pp.
3. Claridge, T. **HIGH RESOLUTION NMR TECHNIQUES IN ORGANIC CHEMISTRY**. Pergamon, Elsevier Science. 1999. 382pp.
4. Günter, H. **NMR SPECTROSCOPY**. 2da edición. Editorial John Wiley & Sons. E.E.U.U. 1996. 860 pp.
5. Perez, Carlos. **Principios de Resonancia Magnética Nuclear Bidimensional. Disertación durante las II Jornadas de Resonancia Magnética Nuclear Estructural**. Antigua Guatemala. Julio 2001.
6. Sandstron, J. **DYNAMIC NMR SPECTROSCOPY**. Segunda Edición. Academic Press. EEUU. 1982. 468 pp.
7. Yamazaky, T. et al. **A SUITE OF TRIPLE RESONANCE NMR EXPERIMENTS FOR THE BACKBONE ASSIIGNMENT OF ^{15}N , ^{13}C , ^2H LABELED PROTEINS WITH HIGH SENSITIVITY**. *Journal of American Chemical Society*. 1994, 116, 11655-11666.
8. Johnsonbaugh, R. **MATEMÁTICAS DISCRETAS**. Grupo Editorial Iberoamérica. Méjico. Capítulo 4. 60pp.
9. Grossman,S. **ÁLGEBRA LINEAL**. Editorial McGrawHill. Quinta dición. Capítulo 1. España. 1996. 780 pp.

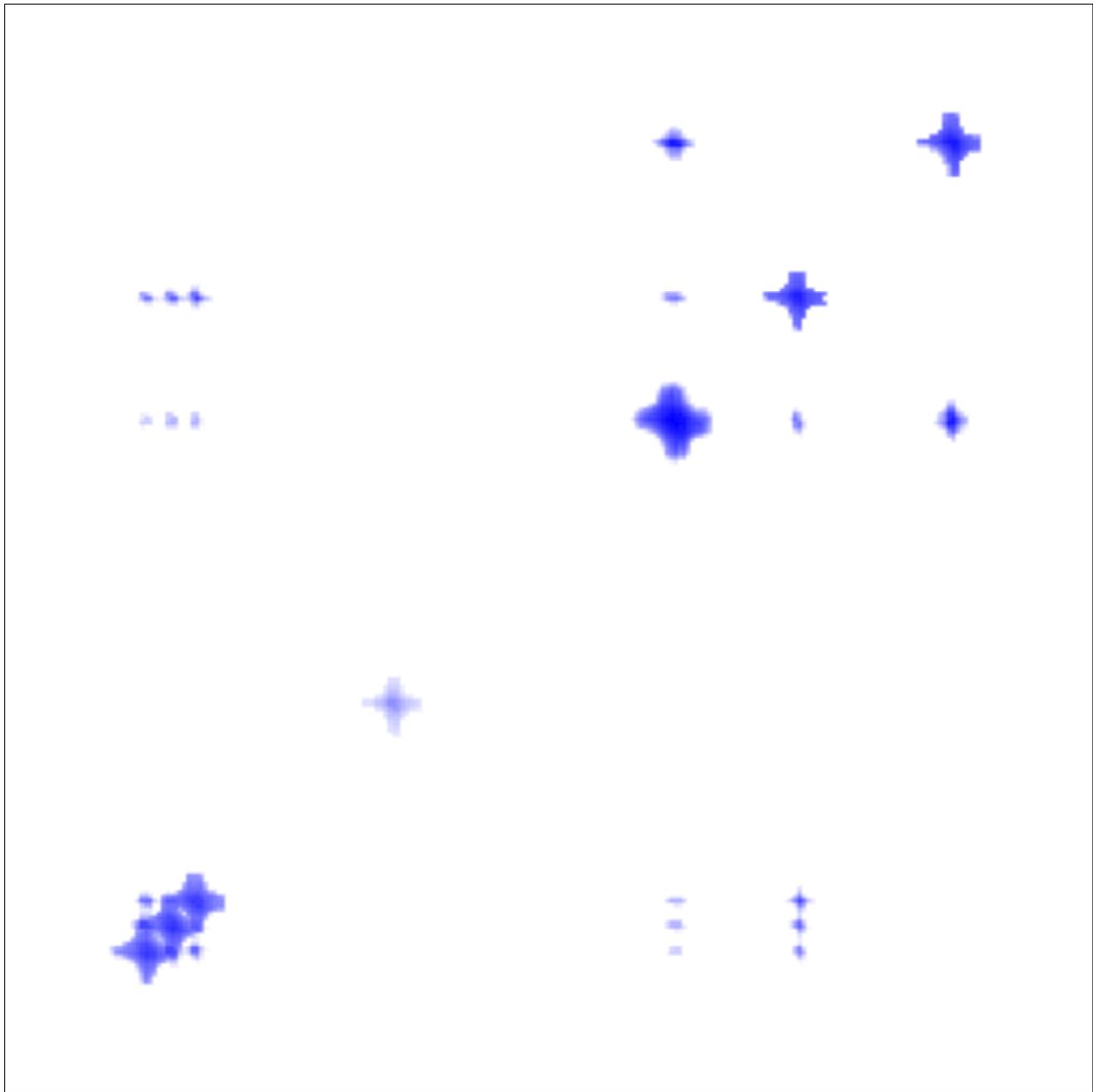
10. Berge, C. **GRAPHS**. 2da edición. Elsevier Science. EEUU. 1985. 250 pp.
11. Johson, J. **NUMERICAL METHODS IN CHEMISTRY**. Marcel Decker. 1980.
12. Meyer, B. **OBJECT-ORIENTED SOFTWARE CONSTRUCTION**. 2da edición. Prentice Hall. 1997. 540 pp.
13. Hu, T. **COMBINATORIAL ALGORITMS**. Addison Wesley. EEUU. 1982. 621 pp.
14. Dence, J. **TÉCNICAS MATEMÁTICAS APLICADAS A LA QUÍMICA**. Limusa. Méjico. 1978. 375 pp.
15. Balaban, A. **CHEMICAL APLICATION OF GRAPHS THEORY**. Academic Press. London. 1976. 60 pp.
16. Randié , M. **ON CHARACTERIZATION OF MOLECULAR BRANCHING**. *Journal of American Chemical Society*. Volumen 97, número 23, noviembre 12, 1975.
17. Emsley, L. & Bodenhausen, G. **SELECTIVE TWO-DIMENSIONAL NMR EXPERIMENTS FOR TOPOLOGICAL FILTRATION OF FRAGMENTS OF COUPLING NETWORKS**. *Journal of The American Chemical Society*. **1991**, *113*, 3309-3316.
18. Vincent, S. Bodenhausen, G. Zwalden, C. **SELECTIVE MAGNETIC RESONANCE CORRELATION SPECTROSCOPY WITH IN-PHASE MULTIPLETS**. *Journal of American Chemical Society*. **1993**, *115*, 9202-9209.
19. Chávez H., Callo N., Estévez-Braun A., Ravelo A.G., González A.G. *Journal of Natural Products*. **199**,62, 1576-1578.
- 20 Avilov SA, Antonov AS, Drozdova OA, Kalinin VI, Kalinovsky AI, Riguera R, Lenis LA, Jiménez C. *Journal of Natural Products*. **2000**, *63*, 1349-1355.

21. J. MANUEL AMARO-LUIS, LEIRA MORA y ALÍ BAHSAS B. **II JORNADAS IBEROAMERICANAS DE RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR ESTRUCTURAL**, Antigua. Guatemala 2001.
22. J. MANUEL AMARO-LUIS Y ALFONSINA CIANCI PERRINO. **JORNADAS IBEROAMERICANAS DE RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR ESTRUCTURAL**, Antigua Guatemala, 2001.
23. Garcia A, Lenis LA, Jiménez C, Debitus C, Quiñoa E, Riguera R. *Organic Letters* 2, 2765 (2000).
24. Jaspars, M. J. **Computer Assisted Structure Elucidation of Natural Products Using Two-Dimensional NMR Spectroscopy**. *Natural Products Reports*. 1999,16, 241-248.

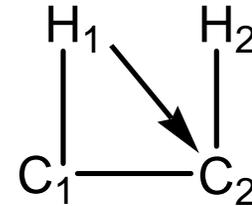
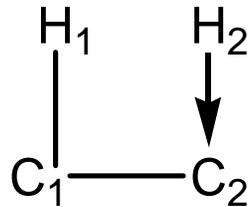
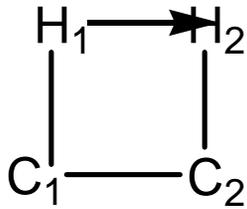
DESARROLLO DE UN
GENERADOR TEÓRICO DE
ESPECTROS DE
CORRELACIÓN RMN
HOMONUCLEAR DE ^{13}C

Precesión de un Nucleo en un Campo Magnético





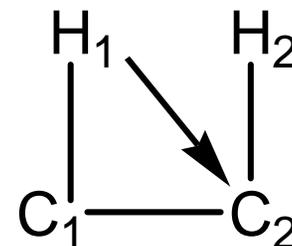
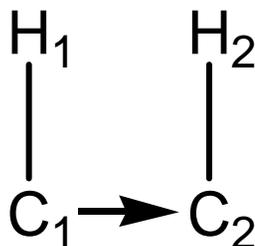
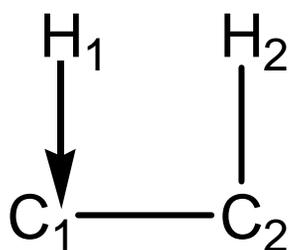
DEDUCCIÓN DEL PRINCIPIO MATEMÁTICO



$$[\mathbf{H-H}]^{J3} \quad \times \quad [\mathbf{H-C}]^{J1} \quad = \quad [\mathbf{H-C}]^{J2}$$

$$[\text{COSY}] \quad \times \quad [\text{HMQC}] \quad \approx \quad [\text{ADEQUATE}]$$

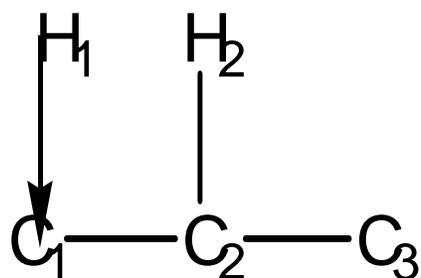
Deducción del Principio Matemático



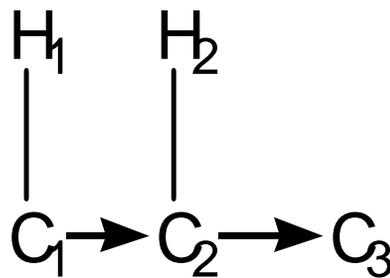
$$[\mathbf{H-C}]^{J1} \times [\mathbf{C-C}]^{J1} = [\mathbf{H-C}]^{J2}$$

Por tanto $[\mathbf{H-H}]^{J3} \times [\mathbf{H-C}]^{J1} \approx [\mathbf{H-C}]^{J2} = [\mathbf{H-C}]^{J1} \times [\mathbf{C-C}]^{J1}$

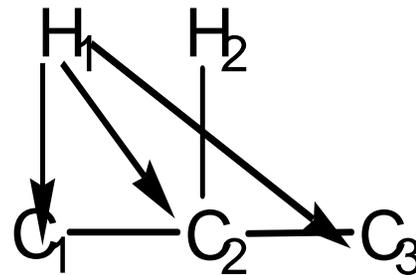
Deducción del Principio Matemático



$[\text{H-C}]^{J1}$



$[\text{C-C}]^{J2}$

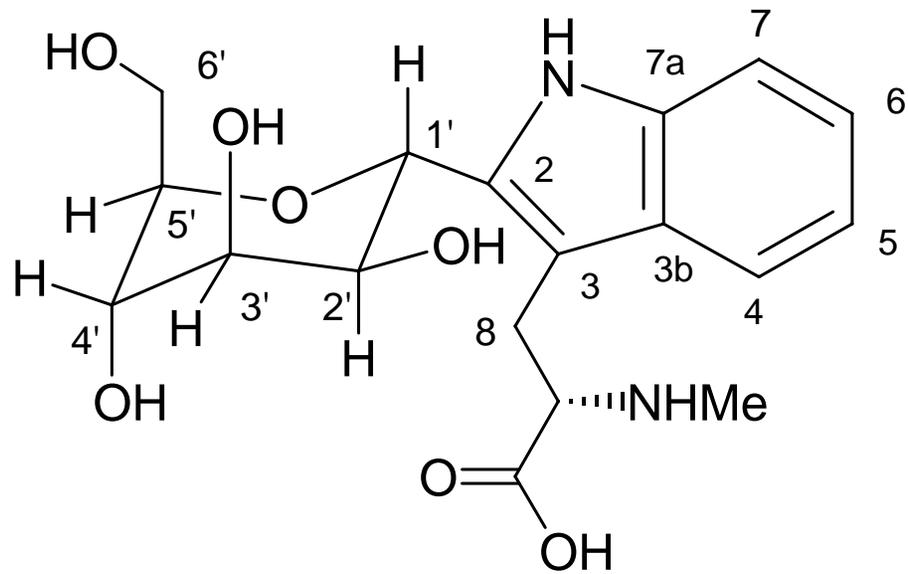


$[\text{H-C}]^{J1,2,3}$

\times $=$

$([\text{C-C}]^{J1}) = [\text{C-C}]^{J2}$

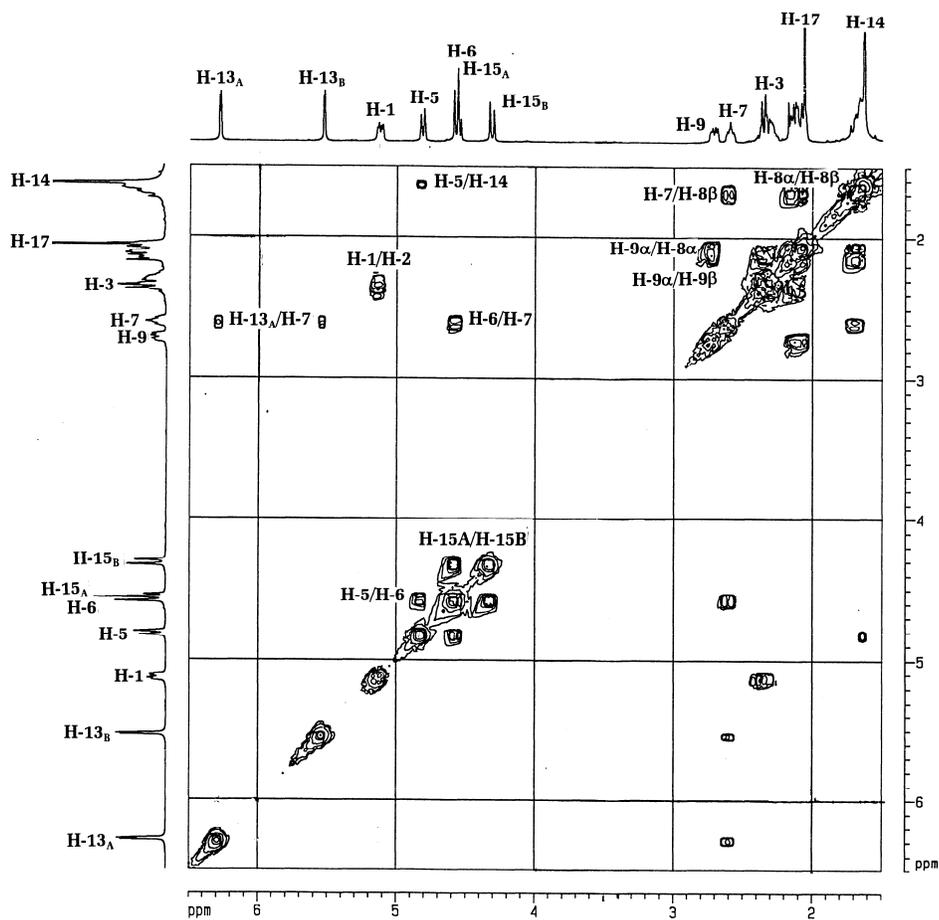
Riterella o C2- α -D-manopiranosil-L-triptófano



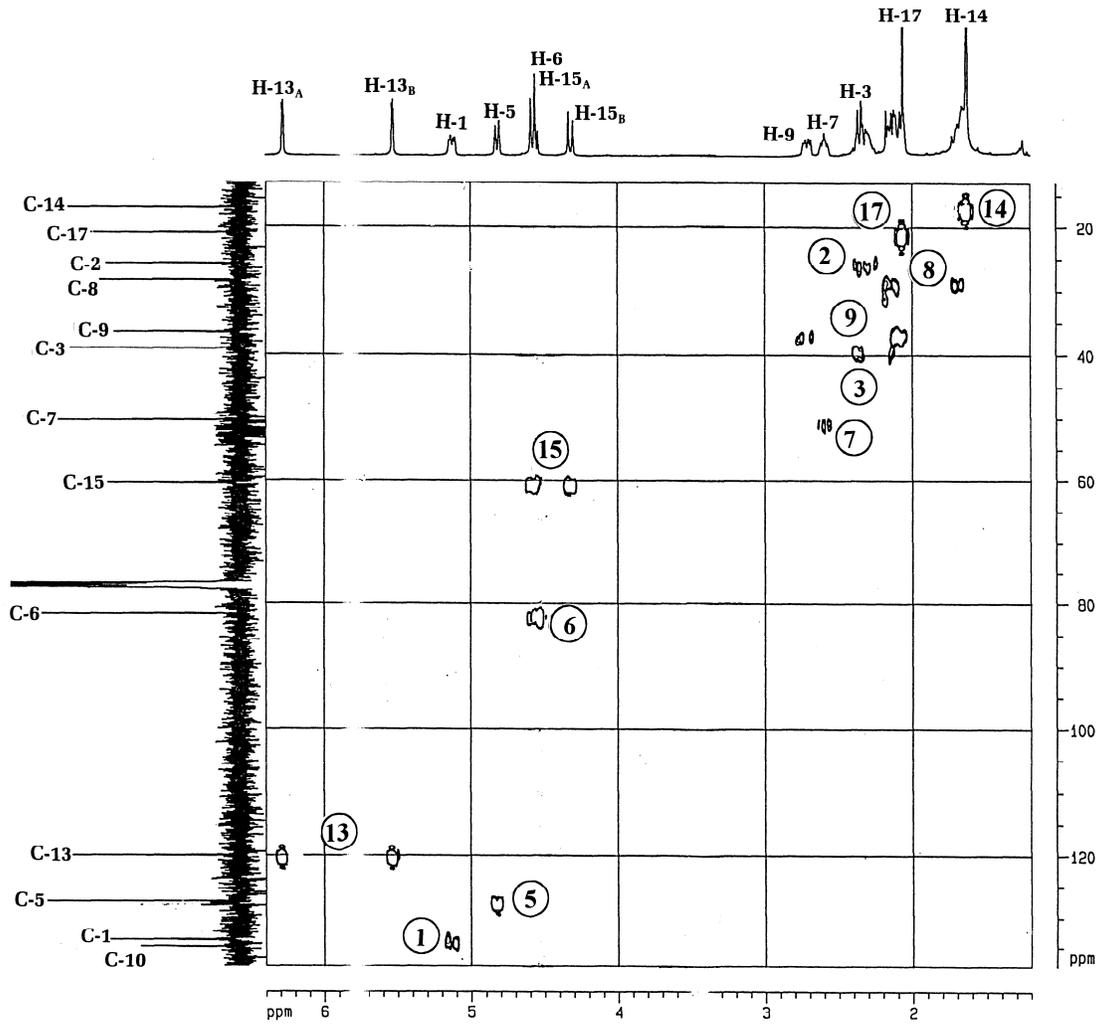
**MATRIZ EQUIVALENTE AL ESPECTRO COSY
DE LA MOLÉCULA RITERLLA**

ANEXOS

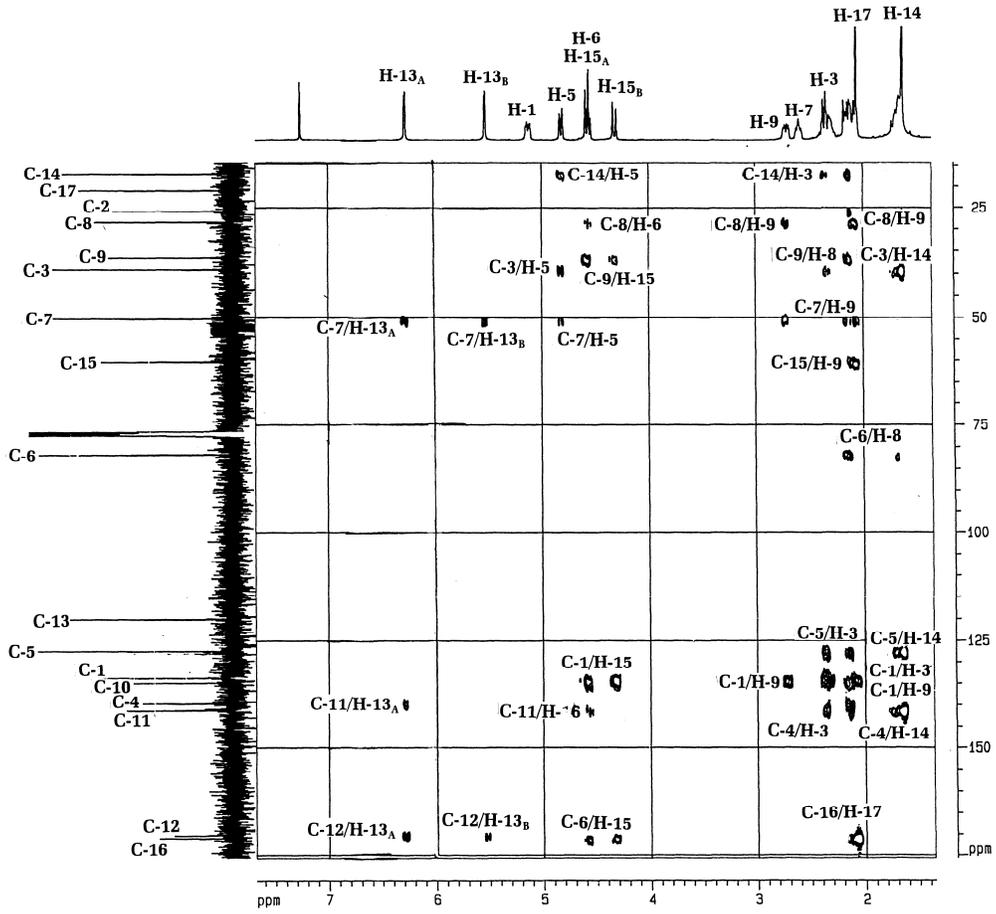
15-Acetoxycostunolido ESPECTRO H-H COSY EN CDCl₃



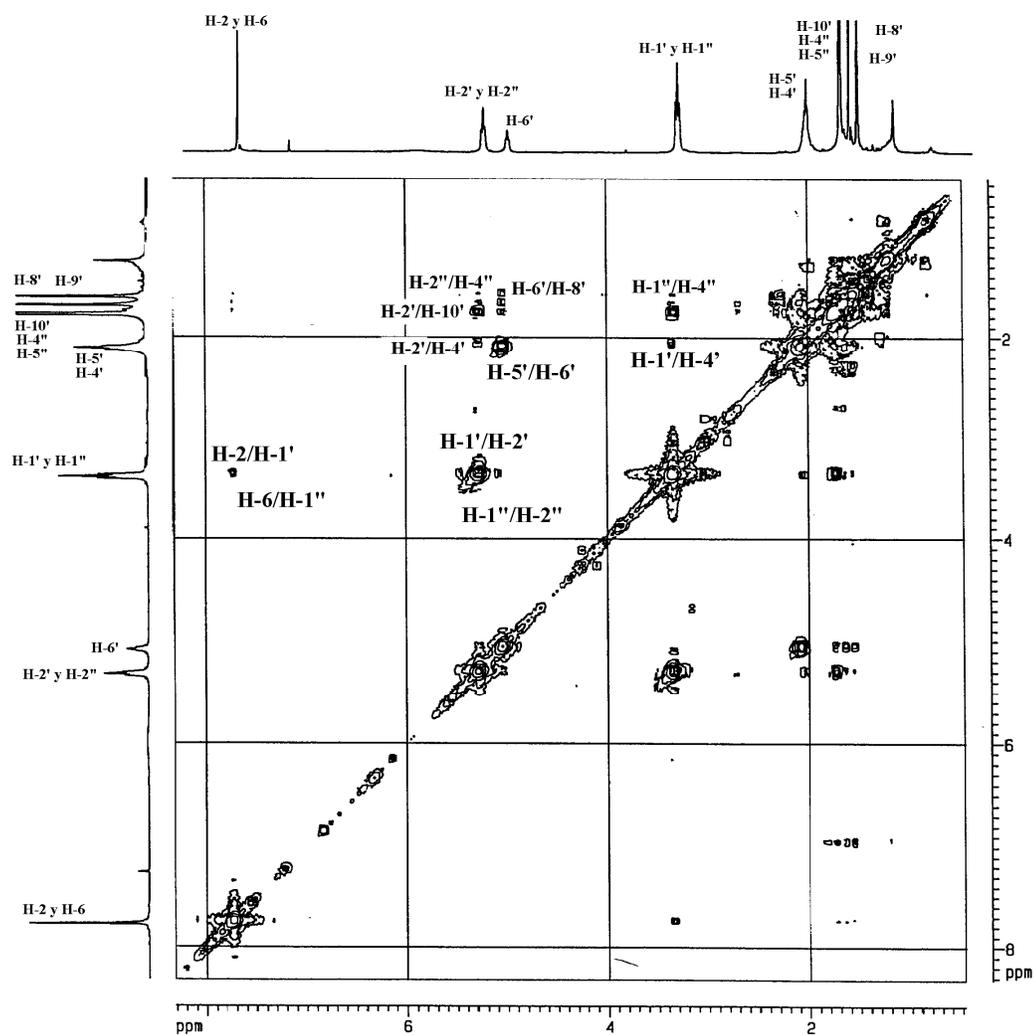
15-Acetoxycostunolido
ESPECTRO HMQC EN CDCl₃



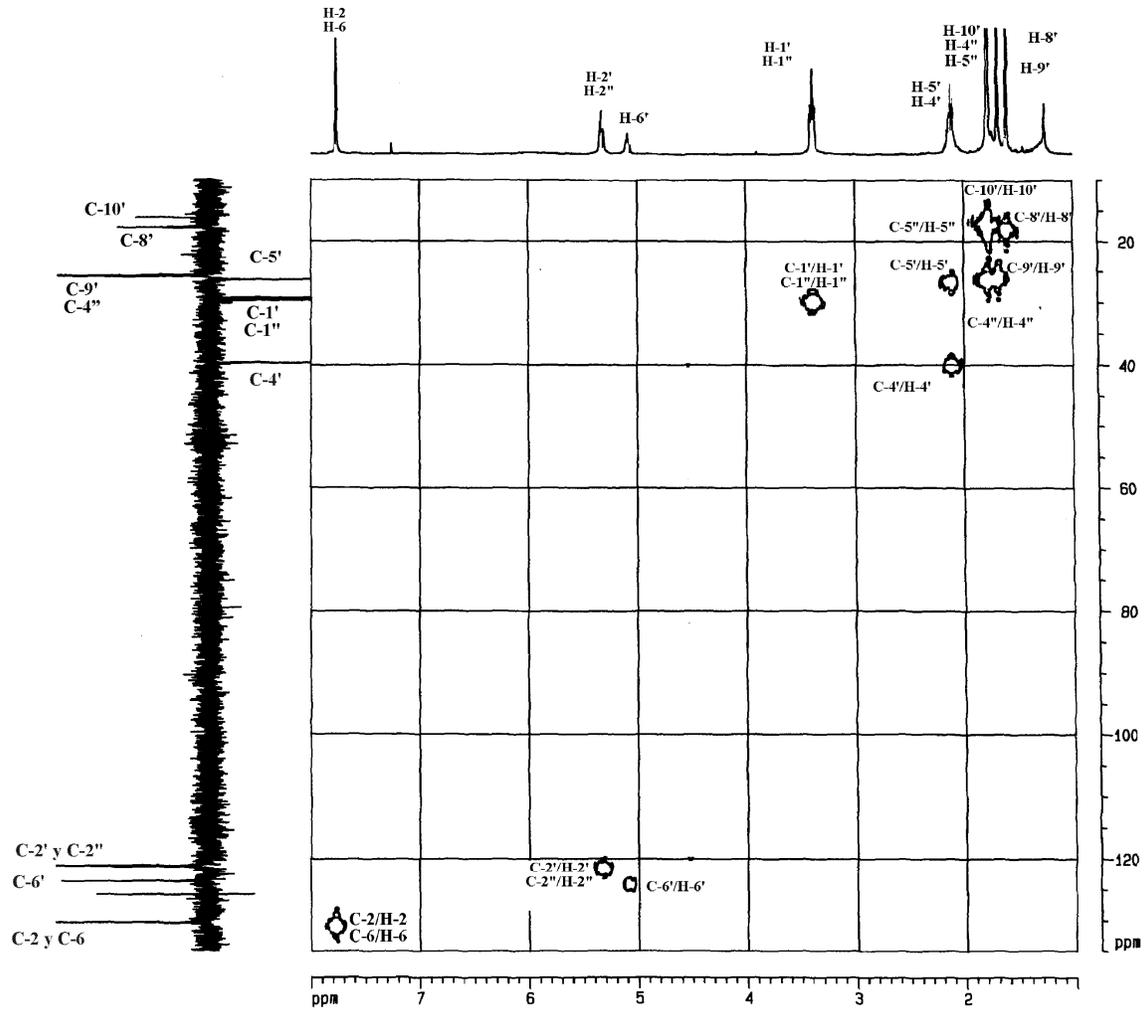
15-Acetoxycostunolido
ESPECTRO HMBC EN CDCl₃



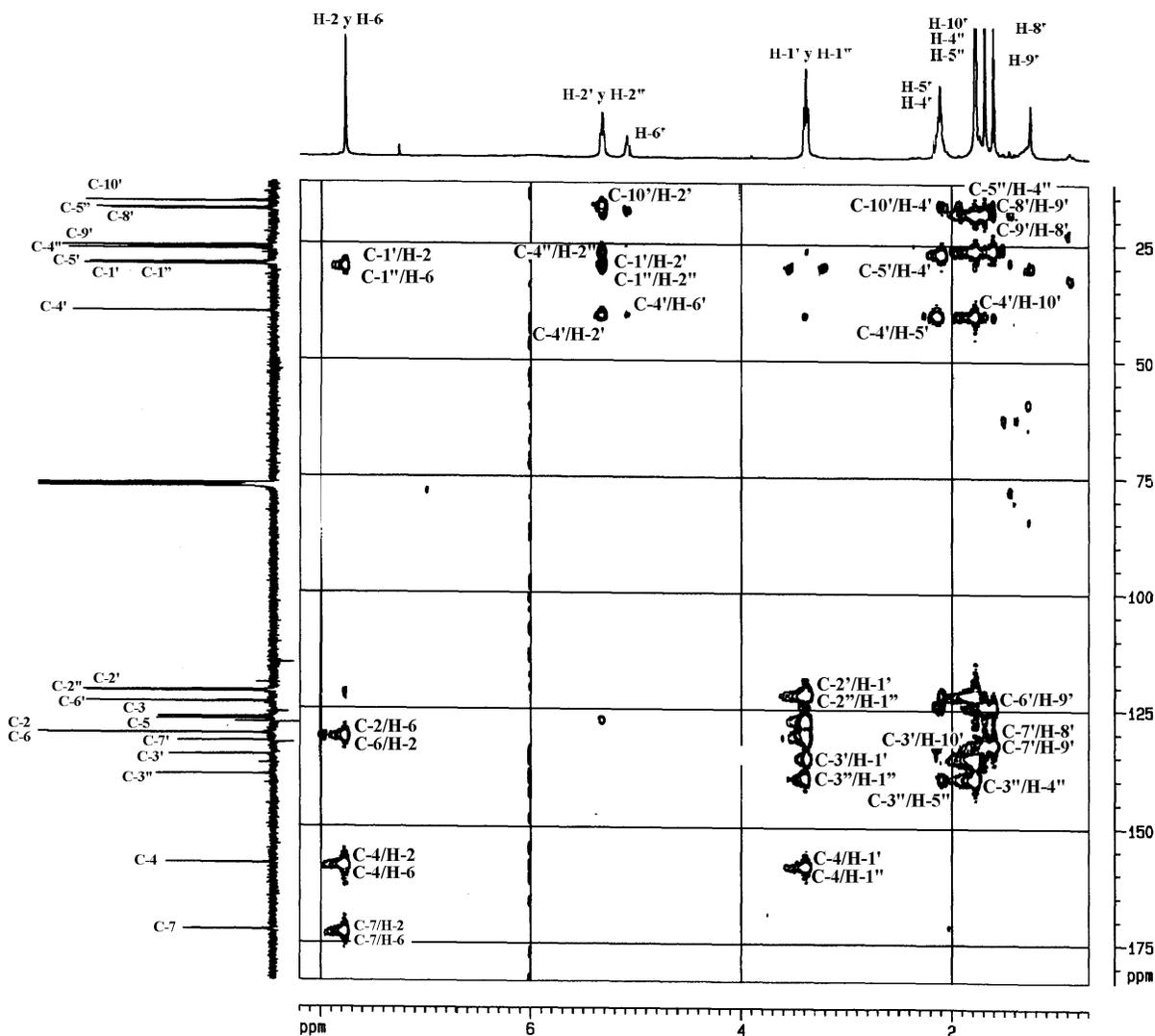
Ácido 3-Geranyl-4-Hidroxi-5-(3'',3''-Dimetilalil)-Benzóico
ESPECTRO H-H COSY EN CDCl₃



Ácido 3-Geranyl-4-Hidroxi-5-(3'',3''-Dimetilalil)-Benzóico
 ESPECTRO HMQC EN CDCl₃



Ácido 3-Geranyl-4-Hidroxi-5-(3'',3''-Dimetilalil)-Benzóico
ESPECTRO HMBC EN CDCl₃



Propuesta de un Generador Teórico de Espectros de Correlación RMN Homonuclear de ^{13}C .

Abraham Alejandro Vázquez Mencos

Escuela de Química, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia

Universidad de San Carlos de Guatemala

RESUMEN

La resonancia magnética nuclear (RMN) estructural es una herramienta de elucidación molecular (permite conocer la composición y estructura de las moléculas), que se vale de la orientación magnética de los núcleos atómicos al ser expuestos a un potente campo magnético externo. En el caso de las moléculas orgánicas, existen diferentes técnicas RMN que permiten conocer la relación de adyacencia entre pares de átomos hidrógeno-hidrógeno, hidrógeno-carbono, pero la técnica ideal sería aquella que permitiera establecer la relación de adyacencia entre carbono-carbono, la cual de hecho existe, pero tiene las desventajas de ser poco sensible, laboriosa, requiere cantidades de muestra que no siempre son fáciles de obtener en productos naturales, solventes apropiados para disolver las muestras, absorbe tiempo y dinero considerable. El objetivo del presente trabajo fue desarrollar un algoritmo, que mediante la aplicación del álgebra lineal y la teoría de grafos, permitiera combinar matemáticamente espectros ^1H - ^1H COSY, HETCOR (HSQC, HMQC) y HMBC, que son más sencillos de obtener, para producir espectros RMN de correlación de ^{13}C - ^{13}C y se estableciera por lo menos de manera teórica si su obtención ahorraría tiempo y esfuerzo. Para el efecto se digitalizaron manualmente espectros de correlación RMN reales de moléculas ya elucidadas, que luego se combinaron matemáticamente para obtener espectros de correlación ^{13}C - ^{13}C y finalmente se determinó si la estructura derivada de análisis del espectro obtenido por el algoritmo coincidía con la estructura ya elucidada por los métodos convencionales de análisis.

Introducción

Para el estudio de moléculas orgánicas, el espectro INADEQUATE (Incredible Natural Abundance Double QUantum Transfer Experiment) resultaría ideal, ya que permite establecer la relación de adyacencia entre dos átomos de ^{13}C vecinos en una molécula; desafortunadamente como el isótopo de ^{13}C no es abundante, la posibilidad de que dos átomos de ^{13}C estén vecinos en una molécula es remota; lo que se traduce en que se necesiten mayores cantidades de muestra para cubrir la posibilidad, y más tiempo para detectar la correlación; por tales razones la obtención del espectro no es práctica.

La presente investigación tiene como propósito el diseño de un algoritmo teórico que permita obtener la información que proporciona un espectro de correlación Carbono-Carbono (INADEQUATE) a partir de la combinación matemática de espectros RMN de correlación reales más sencillos de obtener. La importancia de desarrollar esta nueva técnica será que la obtención de espectros de correlación homonuclear de isótopos de ^{13}C se convierta en un análisis de rutina, facilitando la elucidación estructural de moléculas de interés por su actividad biológica y potencial uso farmacológico.

Además conociendo la estructura molecular de una sustancia, se tiene la posibilidad por medio de modelaje molecular de hacer modificaciones artificiales sobre la estructura para potencializar su actividad y disminuir sus efectos adversos.

MATERIALES Y MÉTODOS

OBJETO DE ESTUDIO.

UNIVERSO. Espectros RMN reales de moléculas orgánicas.

MUESTRA. Se han seleccionado moléculas de productos naturales cuyos espectros RMN bidimensionales están disponibles en la literatura^{19,20,21,22,23} y que poseen riqueza de grupos funcionales.

Sujeto 1: 15-AcetoxiCostunolido²¹(Figura 1)

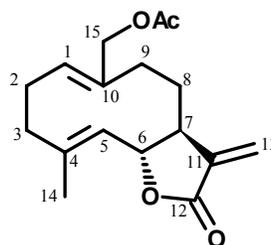
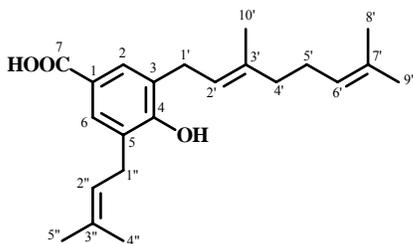


Figura 1

Criterio de selección: Posee ésteres cíclicos y no cíclicos, dobles enlaces endo y exocíclicos.

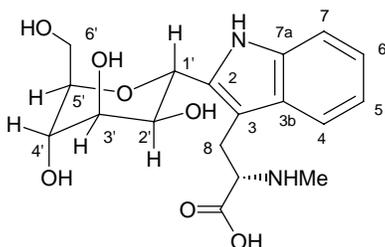
Sujeto 2: Ácido Geranilbenzoico (ÁCIDO 3-GERANIL-4-HIDROXI-5-(3'',3''-DIMETILALIL)-BENZÓICO)²² (Figura 2)



(Figura 2)

Criterio de selección: Posee un grupo funcional carboxilo, un fenol, dobles enlaces alifáticos y aromáticos y carbonos carentes de hidrógenos unidos a ellos.

Sujeto 3: Riterella (C²-α-D-manopiranosil-L-triptófano)²³ (Figura 3)



(Figura 3)

Criterio de selección: Aminoácido metilado, aromático y glicosidado. Posee aminas secundarias.

Sujeto 4: Timol, 2-isopropil-5metilfenol. (Figura 4)

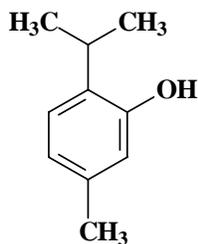


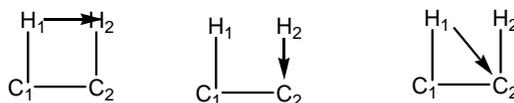
Figura 4.

Criterio de selección: Fenol con elevada relación de carbonos cuaternarios, bastante cercanos entre sí.

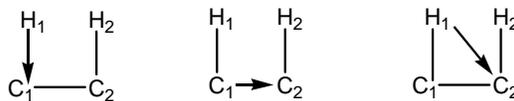
MATERIALES

1. Ordenador de 300 MHz, procesador AMDK06, 32 Mb RAM, 4.5G ROM.
2. Software especializado: ChemOffice, ACD Labs, Scientific Notebook.
3. Espectros RMN: COSY, HETCOR, HMQC, HSQC, HMBC (Todos de moléculas reales).

DEDUCCIÓN DEL PRINCIPIO MATEMÁTICO



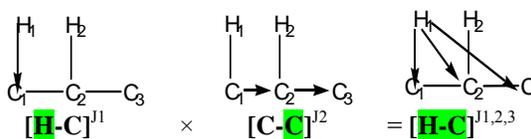
$$[\text{H-H}]^{J3} \times [\text{H-C}]^{J1} = [\text{H-C}]^{J2}$$



$$[\text{H-C}]^{J1} \times [\text{C-C}]^{J1} = [\text{H-C}]^{J2}$$

Por tanto $[\text{H-H}]^{J3} \times [\text{H-C}]^{J1} \approx [\text{H-C}]^{J2} = [\text{H-C}]^{J1} \times [\text{C-C}]^{J1} = [\text{H-C}]^{J2}$

Además como:



Entonces $([\text{C-C}]^{J1})^2 = [\text{C-C}]^{J2}$

MÉTODOS

1. Transformar los espectros RMN-2D, COSY, HETCOR, HMQC, HSQC y HMBC a sistemas matriciales. Escribiendo 1 cuando exista correlación entre dos átomos y 0 cuando no.
2. Crear matriz de conteo de hidrógenos unidos a cada carbono.
3. Crear matriz de conteo de enlaces encontrados. Sus valores inician con los valores de la matriz del paso 2.
4. En función del desplazamiento químico, crear la matriz de máximo número de enlaces que puede tener cada carbono.
5. Aplicar $[\text{H-C}]^{J2} = [\text{COSY}] \times [\text{HMQC}] \approx [\text{HMQC}] \times [\text{C-C}]^{J1}$
6. Aplicar $[\text{H-C}]^{J1,2,3} = ([\text{COSY}]^2 \times [\text{HMQC}] + [\text{HMBC}]) \approx [\text{HMQC}] \times [\text{C-C}]^{J2}$
7. Aplicar $[\text{C-C}]_f = [\text{C-C}]^{J1} + [\text{C-C}]^{J2}$

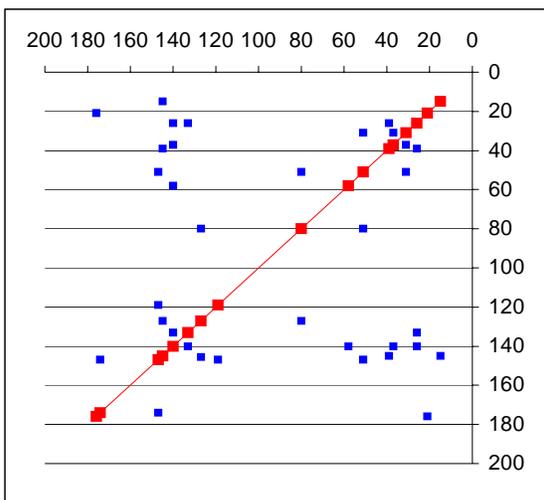
8. Aplicar argumentos lógicos sobre $[C-C]_f$ para completar señales faltantes.
9. Restar 1 a todos los elementos de la matriz resultante.
10. Elevar al cuadrado la matriz obtenida en 25. El resultado debería ocupar con valores diferentes de 0 todas las posiciones ocupadas en la matriz 25 antes de haber restado 1.
11. Sumar 1 a la diagonal.
12. Todo elemento igual o mayor de 2, traducirlo en un punto rojo, y todo elemento igual a uno en un punto azul. Los puntos rojos serán correlaciones a un enlace de distancia (J1) y los azules correlaciones a dos enlaces de distancia (J2).

Nota: Debido a que solamente las matrices cuadradas cumplen con la ley de la potencia, en los pasos 4 y 5 la suma por conveniencia está definida como $1+1=1$, $1+0=1$ y $0+0=0$. Finalmente se demuestra que la matriz resultante contiene la misma información que un espectro INADEQUATE.

RESULTADOS

Las matrices y espectros de correlación homonuclear $^{13}C-^{13}C$ generados por el algoritmo propuesto son congruentes con las estructuras reportadas en la literatura. Como se muestra a continuación.

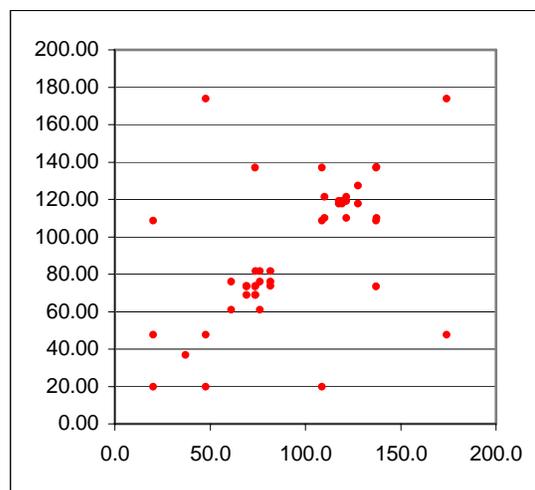
GRAFICO DE LA MATRIZ DE CORRELACIÓN $[C-C]_{J1}$ DE LA MOLÉCULA 15-ACETOXICOSTUNOLIDO EQUIVA-LENTE A ESPECTRO INADEQUATE



Los puntos azules corresponden a correlaciones

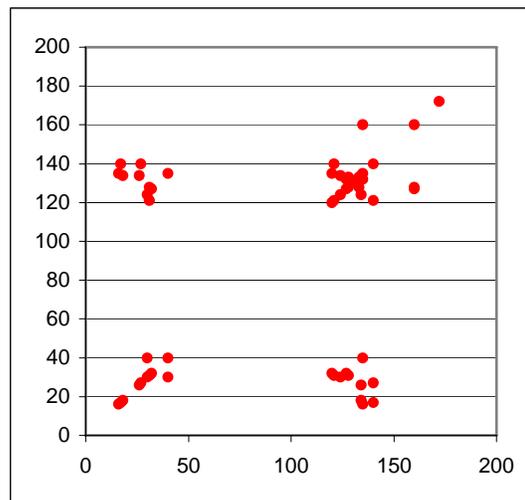
$^{13}C-^{13}C$ a un enlace químico de distancia. Todas las correlaciones observadas en la gráfica conducen a elucidar la misma molécula reportada en la literatura.

GRAFICO DE LA MATRIZ DE CORRELACIÓN $[C-C]_{J1}$ DE LA MOLÉCULA RITERELLA EQUIVA-LENTE A ESPECTRO INADEQUATE



Los puntos rojos corresponden a correlaciones $^{13}C-^{13}C$ a un enlace químico de distancia. Todas las correlaciones observadas en la gráfica conducen a elucidar la misma molécula reportada en la literatura.

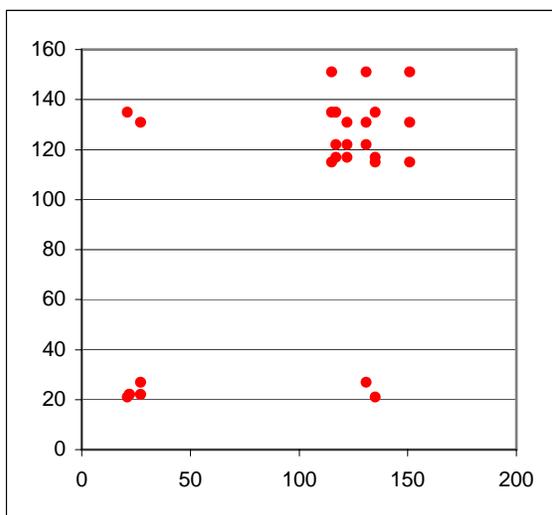
GRÁFICO DE MATRIZ DE CORRELACIÓN $[C-C]_{J1}$ DEL ÁCIDO 3-GERANIL-4-HIDROXI-5-(3'',3''-DIMETIL)-BENZÓICO EQUIVALENTE A UN ESPECTRO INADEQUATE



Los puntos rojos corresponden a correlaciones

^{13}C - ^{13}C a un enlace químico de distancia. Todas las correlaciones observadas en la gráfica conducen a elucidar la misma molécula reportada en la literatura.

**GRÁFICA DE LA MATRIZ DE
CORRELACIÓN
[C-C]^{J1} EQUIVALENTE A ESPECTRO
INADEQUATE
DE TIMOL**



CONCLUSIONES

1. El algoritmo planteado es capaz de producir espectros de correlación ^{13}C - ^{13}C ^{J1} de buena calidad, casi independientemente del tipo de grupos funcionales presentes en la molécula en menor tiempo que el experimento INADEQUATE.
2. Se demostró que los espectros de correlación homonuclear respetan la ley de la potencia, esto es por ejemplo $([\text{C-C}]^{\text{J1}})^2 = [\text{C-C}]^{\text{J2}}$.
3. Se demostró que $[\text{H-H}]^{\text{J3}} \times [\text{H-C}]^{\text{J1}} \approx [\text{H-C}]^{\text{J1}} \times [\text{C-C}]^{\text{J1}} = [\text{H-C}]^{\text{J2}}$, $[\text{H-C}]^{\text{J1,2,3}} = [\text{H-C}]^{\text{J1}} \times [\text{C-C}]^{\text{J2}}$, donde $[\text{H-H}]^{\text{J3}}$ representa un espectro de correlación hidrógeno-hidrógeno a tres enlaces químicos de distancia, $[\text{H-C}]^{\text{J1}}$ representa un espectro de correlación hidrógeno-carbono a un enlace químico de distancia, $[\text{H-C}]^{\text{J2}}$ representa un espectro de correlación hidrógeno-carbono a uno y dos enlaces químicos de distancia, $[\text{H-C}]^{\text{J1,2,3}}$ representa un espectro de correlación hidrógeno-carbono a uno, dos y tres químico de distancia,

$[\text{C-C}]^{\text{J1}}$ representa un espectro de correlación carbono-carbono a un enlace químico de distancia, $[\text{C-C}]^{\text{J2}}$ representa un espectro de correlación carbono-carbono a uno y dos enlaces químicos de distancia.

4. En una matriz equivalente a un espectro de correlación RMN homonuclear la diagonal presenta valores mayores que el resto de la matriz.
5. Toda matriz equivalente a un espectro de correlación RMN homonuclear es reducible a la forma escalonada.
6. Toda matriz equivalente a un espectro de correlación RMN homonuclear tiene un determinante diferente de 0.

BIBLIOGRAFÍA

1. Levine, I. FISICOQUÍMICA. Editorial McGraw-Hill. Quinta Edición. Volumen 2. New York. 2001. 1287 pp.
2. Joseph-Nathan, P. y Diaz, E. ELEMENTOS DE RESONANCIA MAGNÈTICA NUCLEAR DE HIDRÒGENO. Grupo editorial Iberoamérica. Segunda edición. Méjico.1993. 170pp.
3. Claridge, T. HIGH RESOLUTION NMR TECHNIQUES IN ORGANIC CHEMISTRY. Pergamon, Elsevier Science. 1999. 382pp.
4. Günter, H. NMR SPECTROSCOPY. 2da edición. Editorial John Wiley & Sons. E.E.U.U. 1996. 860 pp.
5. Perez, Carlos. PRINCIPIOS DE RESONANCIA MAGNÈTICA NUCLEAR BIDIMENCIONAL Disertación durante las II Jornadas de Resonancia Magnética Nuclear Estructural. Antigua Guatemala. Julio 2001.
6. Sandstron, J. DYNAMIC NMR SPECTROSCOPY. Segunda Edición. Academic Press. EEUU. 1982. 468 pp.
7. Yamazaky, T. et al. A SUITE OF TRIPLE RESONANCE NMR EXPERIMENTS FOR THE BACKBONE ASSIGNMENT OF ¹⁵N, ¹³C, ²H LABELED PROTEINS WITH HIGH SENSITIVITY. *Journal of American Chemical Society*. 1994, 116, 11655-11666.

8. Johnsonbaugh, R. **MATEMÁTICAS DISCRETAS.** Grupo Editorial Iberoamérica. Méjico. Capítulo 4. 60pp.
9. Grossman,S. **ÁLGEBRA LINEAL.** Editorial McGrawHill. Quinta edición. Capítulo 1. España. 1996. 780 pp.
10. Berge, C. **GRAPHS.** 2da edición. Elsevier Science. EEUU. 1985. 250 pp.
11. Johson, J. **NUMERICAL METHODS IN CHEMISTRY.** Marcel Decker. 1980.
12. Meyer, B. **OBJECT-ORIENTED SOFTWARE CONSTRUCTION.** 2da edición. Prentice Hall. 1997. 540 pp.
13. Hu, T. **COMBINATORIAL ALGORITMS.** Addison Wesley. EEUU. 1982. 621 pp.
14. Dence, J. **TÉCNICAS MATEMÁTICAS APLICADAS A LA QUÍMICA.** Limusa. Méjico. 1978. 375 pp.
15. Balaban, A. **CHEMICAL APPLICATION OF GRAPHS THEORY.** Academic Press. London. 1976. 60 pp.
16. Randié , M. **ON CHARACTERIZATION OF MOLECULAR BRANCHING.** *Journal of American Chemical Society.* Volumen 97, número 23, noviembre 12, 1975.
17. Emsley, L. & Bodenhausen, G. **SELECTIVE TWO-DIMENSIONAL NMR EXPERIMENTS FOR TOPOLOGICAL FILTRATION OF FRAGMENTS OF COUPLING NETWORKS.** *Journal of The American Chemical Society.* **1991**, *113*, 3309-3316.
18. Vincent, S. Bodenhausen, G. Zwalden, C. **SELECTIVE MAGNETIC RESONANCE CORRELATION SPECTROSCOPY WITH IN-PHASE MULTIPLETS.** *Journal of American Chemical Society.* **1993**, *115*, 9202-9209.
19. Chávez H., Callo N., Estévez-Braun A., Ravelo A.G., González A.G. *Journal of Natural Products.* **1999**,*62*, 1576-1578.
20. Avilov SA, Antonov AS, Drozdova OA, Kalinin VI, Kalinovsky AI, Riguera R, Lenis LA, Jiménez C. *Journal of Natural Products.* **2000**, *63*, 1349-1355.
21. J. MANUEL AMARO-LUIS, LEIRA MORA y ALÍ BAHSAS B. **II JORNADAS IBEROAMERICANAS DE RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR ESTRUCTURAL,** Antigua. Guatemala 2001.
22. J. MANUEL AMARO-LUIS Y ALFONSINA CIANCI PERRINO. **JORNADAS IBEROAMERICANAS DE RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR ESTRUCTURAL,** Antigua Guatemala, **2001.**
23. Garcia A, Lenis LA, Jiménez C, Debitus C, Quiñoa E, Riguera R. *Organic Letters* **2**, 2765 (2000).
24. Jaspars, M. J. **COMPUTER ASSISTED ELUCIDATION OF NATURAL PRODUCTS USING TWO-DIMENSIONAL NMR SPECTROSCOPY.** *Natural Products Reports.* **1999**,*16*, 241-248.