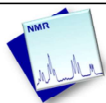


## Espectroscopia Molecular



### Ressonância Magnética Nuclear RMN

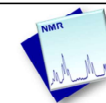
### Nuclear Magnetic Resonance (NMR)

Técnicas de transferência de polarização

Não presencial

Andreia Valente  
amvalente@ciencias.ulisboa.pt  
Gab - 8.5.34

## Espectros de NMR de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$



- ❑ Perde-se informação útil sobre a multiplicidade do carbono – n° de H ligados a cada C (regra n+1)...

Como obter a informação perdida?

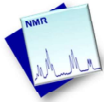


- ⇒ **Técnicas de transferência de polarização** permitem tirar partido da influência do próton nos tempos de relaxação do  $^{13}\text{C}$  e podem ser aplicadas de diversos modos, facilitando a atribuição dos sinais.

5

Como vimos na “aula” anterior o facto de fazermos espectro de  $^{13}\text{C}$  desacoplados de  $^1\text{H}$  ( $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ ) é para simplificar a interpretação dos espectros. No entanto, perdemos a informação acerca da multiplicidade dos sinais. Como é que podemos recuperar essa informação? Podemos usar técnicas de transferência de polarização que permitem tirar partido da influência do próton nos tempos de relaxação do  $^{13}\text{C}$ , ou seja, vamos poder perceber quais os prótons que influenciam determinados carbonos.

## NMR de $^{13}\text{C}$ e transferência de polarização



### Técnicas de transferência de polarização

São geralmente usadas para a observação de núcleos com razão magnetogírica pequena que estejam acoplados a  $^1\text{H}$  (o mais comum é  $^{13}\text{C}$ ):

**DEPT** - Distortionless Enhancement by Polarization Transfer

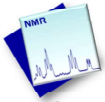
**INEPT** - Insensitive Nuclear Enhancement by Polarization Transfer

6

DEPT – tem-se revelado uma técnica superior a outras dando informação acerca dos prótons coordenados de forma eficiente, com grande seletividade e de confiança. Como é uma experiência de transferência de polarização, o DEPT é mais sensível do que as aquisições de carbono normais. Os impulsos podem ser ajustados para diferentes ângulos como já vamos ver à frente, o que nos permite obter informações distintas.

INEPT – é usado para transferir magnetização de um núcleo sensível ( $^1\text{H}$ ) para um núcleo menos sensível através da constante de acoplamento. O tempo de relaxação tem que ser otimizado para cada constante de acoplamento.

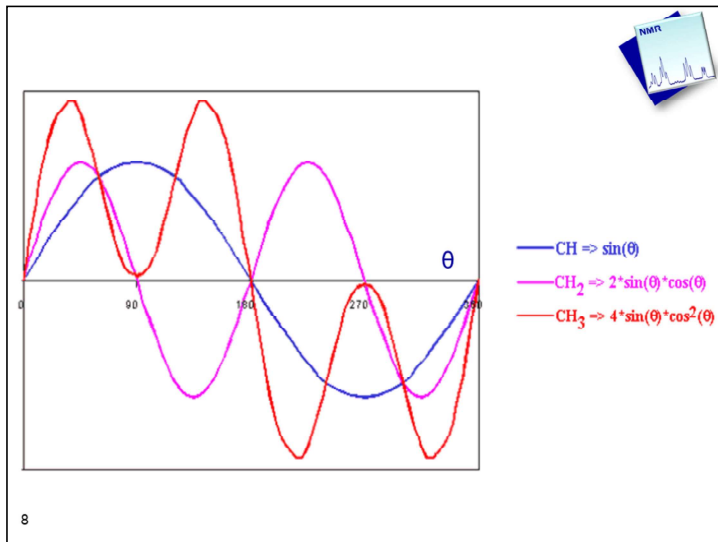
## NMR de $^{13}\text{C}$ e transferência de polarização



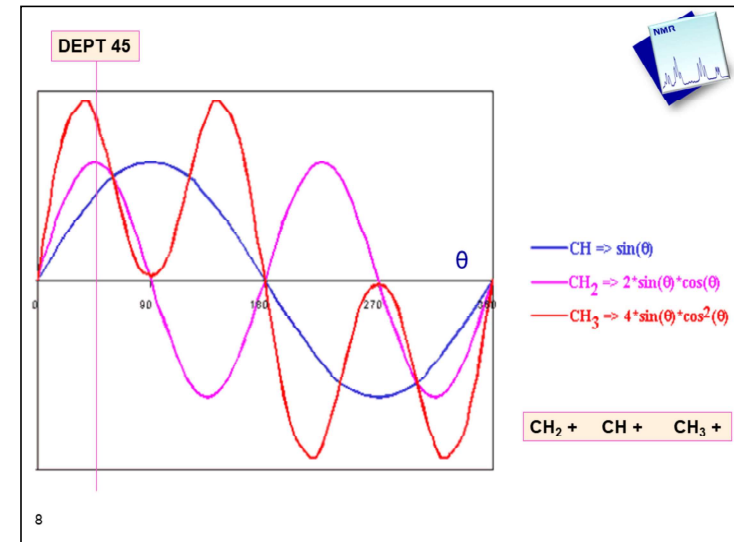
A amostra é submetida a uma sequência complexa de impulsos nos canais de  $^{13}\text{C}$  e  $^1\text{H}$ .

- Os sinais de  $^{13}\text{C}$  dos átomos de carbono da molécula vão apresentar **diferentes fases, dependendo do nº de H ligados a cada C**.
- Cada tipo de carbono vai ter comportamento ligeiramente diferente, consoante o ângulo  $\theta$  da sequência complexa de impulsos.
- Essas diferenças podem ser detectadas e dão diferentes espectros.

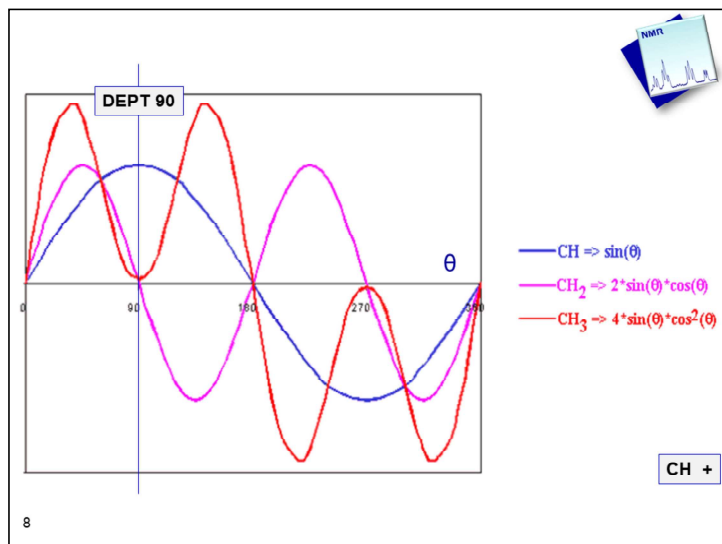
7



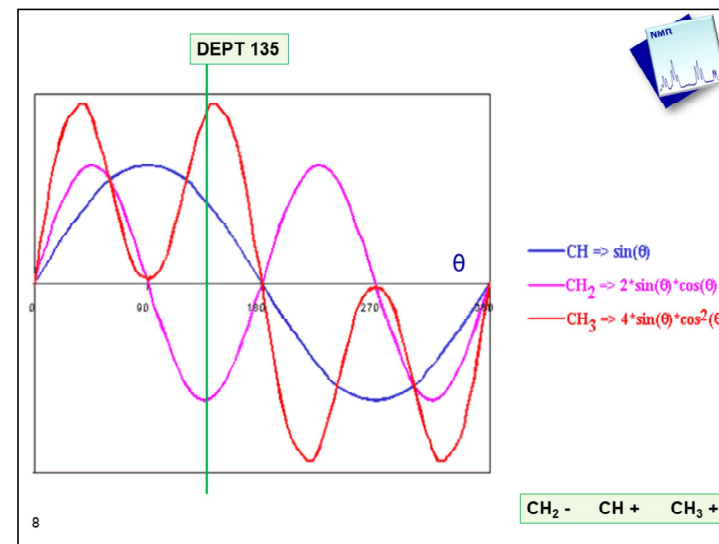
Cada tipo de carbono vai ter comportamento ligeiramente diferente, consoante o ângulo  $\theta$  da sequência complexa de impulsos.



No DEPT 45 todos os sinais ( $\text{CH}_2$ , CH e  $\text{CH}_3$ ) aparecem positivos.



No DEPT 90 o único sinal visível no espectro é o CH.



Finalmente, no DEPT 135 todos os CH e CH<sub>3</sub> aparecem positivos, enquanto que o CH<sub>2</sub> aparece negativo, permitindo desta forma distingui-los facilmente. Para além disso, no DEPT 135, o CH<sub>2</sub> tem um máximo negativo.

### Experiências de DEPT $^{13}\text{C}$

Carbonos quaternários não são observados porque a transferência de polarização utiliza a (elevada) constante de acoplamento  $J_{\text{CH}}$ .

⇒ existência de ligações C-H.

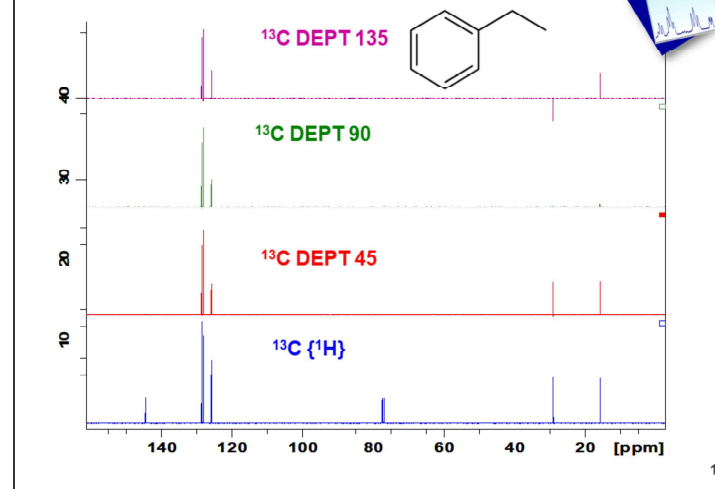
A intensidade dos sinais depende do ângulo  $\theta$  (p0)

- DEPT, INEPT 135     $\text{CH}_2$  -     $\text{CH}$  +     $\text{CH}_3$  +
- DEPT, INEPT 90                       $\text{CH}$  +
- DEPT, INEPT 45     $\text{CH}_2$  +     $\text{CH}$  +     $\text{CH}_3$  +

9

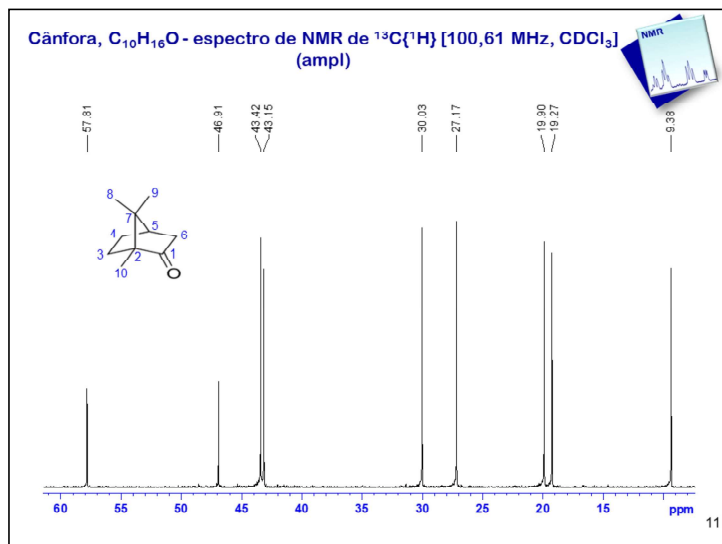
As experiências DEPT não permitem observar os carbonos quaternários, uma vez que esta técnica utiliza as constantes de acoplamento  $J_{\text{CH}}$ , desta forma, só se observam os carbonos ligados a H. Como vimos nos slides anteriores, a intensidade dos sinais depende do ângulo.

### NMR de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ - etilbenzeno

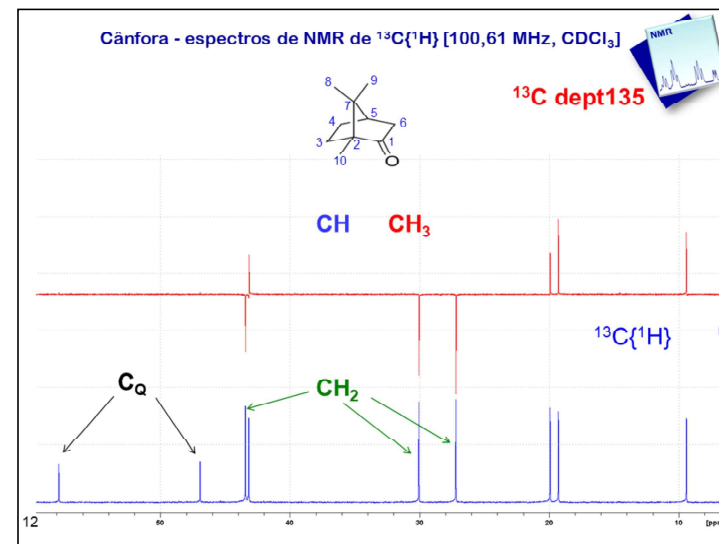


10

Neste exemplo, temos a azul um espectro de  $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$  RMN onde se podem ver todos os tipos de carbono. No DEPT 45 (vermelho) podem verificar o desaparecimento dos carbonos quaternários. No DEPT 90 (verde) apenas são visíveis os CH. Finalmente no DEPT 135 (roxo), os carbonos quaternários não se vêem, enquanto que os CH e CH<sub>3</sub> aparecem para cima (+) e os CH<sub>2</sub> para baixo (-).



Nesta imagem pode ver-se o espectro de <sup>13</sup>C{<sup>1</sup>H} RMN da cânfora (ampliação de 0-60 ppm).



Se fizemos um DEPT 135 conseguimos distinguir os carbonos quaternários (pois desaparecem), dos CH<sub>2</sub> (ficam para baixo). Falta apenas conseguir distinguir entre os CH e CH<sub>3</sub>.

## Outras experiências comuns de NMR de $^{13}\text{C}$

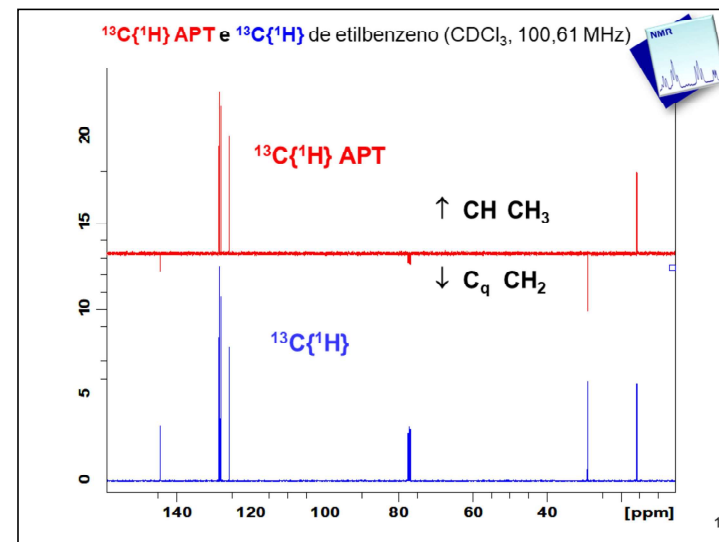
$^{13}\text{C}$  APT - Attached Proton Test

$^{13}\text{C}$  APT permite observar todos os carbonos:

X,  $\text{XH}_2$  têm sinal oposto a XH,  $\text{XH}_3$

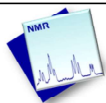
13

Há uma outra experiência comum de  $^{13}\text{C}$  RMN que é o  $^{13}\text{C}$  APT que permite observar todos os tipos de carbono e em que o C e  $\text{CH}_2$  têm sinal oposto a CH e  $\text{CH}_3$ .



Neste exemplo temos a comparação entre um  $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$  e um  $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$  APT em que podemos observar que o número de sinais é o mesmo, no entanto no APT podemos distinguir CH/ $\text{CH}_3$  de C/ $\text{CH}_2$ .

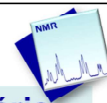
Resumo das experiências mais comuns de NMR de  $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$



$^{13}\text{C}$	$\text{C}_q$	CH	$\text{CH}_2$	$\text{CH}_3$
$^{13}\text{C}$ -APT	$\text{C}_q \downarrow$	CH $\uparrow$	$\text{CH}_2 \downarrow$	$\text{CH}_3 \uparrow$
DEPT-135		CH $\uparrow$	$\text{CH}_2 \downarrow$	$\text{CH}_3 \uparrow$
DEPT-90		CH $\uparrow$		
DEPT-45		CH $\uparrow$	$\text{CH}_2 \uparrow$	$\text{CH}_3 \uparrow$

15

Como obter a informação necessária para atribuir inequivocamente os sinais de ressonância de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ ?

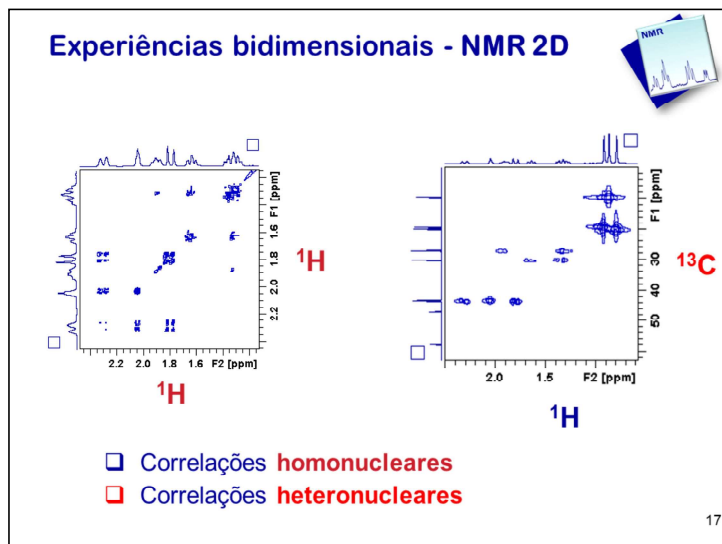


**NMR BIDIMENSIONAL**  
(NMR 2D)

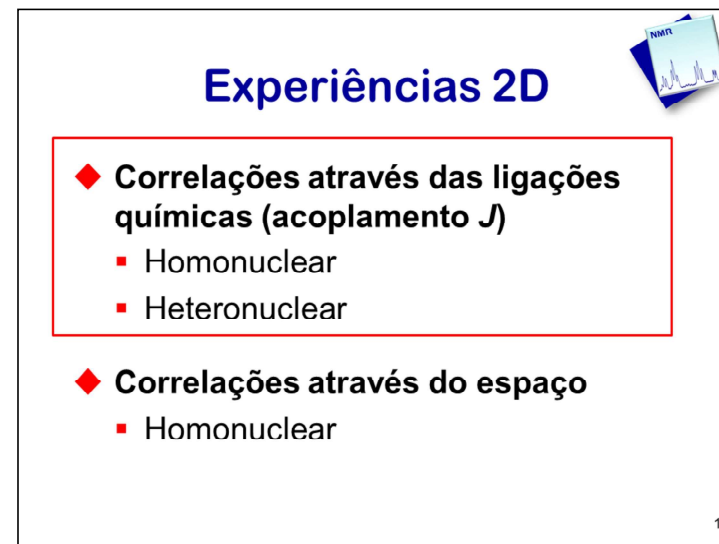
16

Como vimos nos exemplos até aqui, há constantemente sinais que não conseguimos distinguir inequivocamente. No entanto, há outras técnicas de RMN que o permitem fazer – técnicas bidimensionais (NMR 2D).



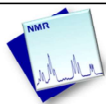


Há experiências bidimensionais homonucleares (em que em cada um dos eixos temos o mesmo núcleo; ex.:  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ ) ou heteronucleares (cada eixo apresenta o espectro de um núcleo diferente; ex.:  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ ).



Podemos ter experiências 2D em que as correlações são através das ligações químicas (ou seja acoplamento spin-spin) ou através do espaço (quando dois núcleos estão muito próximos). Só iremos falar das correlações através das ligações químicas.

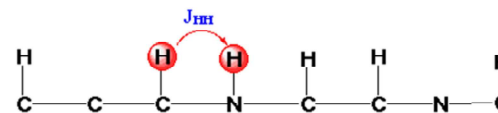
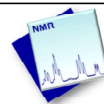
## RMN 2D



- As experiências **homonucleares 2D** são geralmente utilizadas para correlacionar spins de núcleos com grande abundância (o mais usual é o  $^1\text{H}$ )
- As técnicas **heteronucleares 2D** geram correlações espectrais 2D entre dois núcleos diferentes, tipicamente  $^1\text{H}$  e um núcleo menos sensível como o  $^{13}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}$ , etc.

19

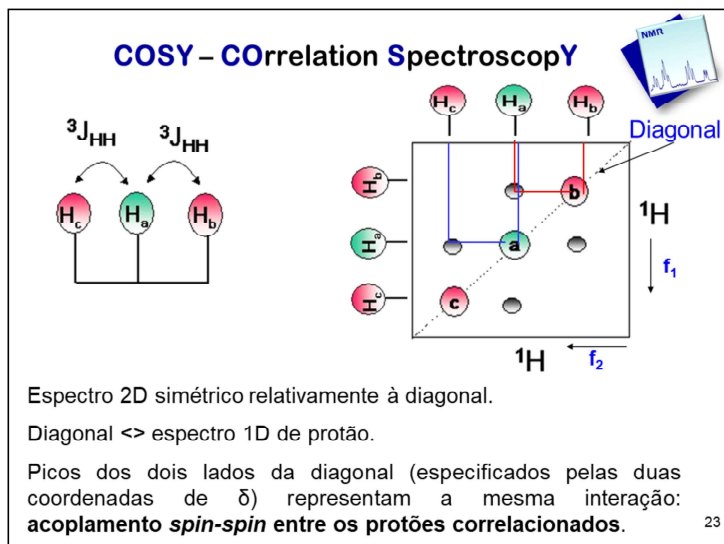
## COSY – COrrelation SpectroscopY



O COSY  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  (**CO**rrelation **S**pectroscop**Y**) é uma experiência 2D que permite identificar prótons acoplados entre si a 2 ou 3 ligações ( $^2J_{\text{HH}}$  e  $^3J_{\text{HH}}$ , respectivamente) sendo a técnica 2D mais utilizada.

Experiências **homonucleares 2D**

22

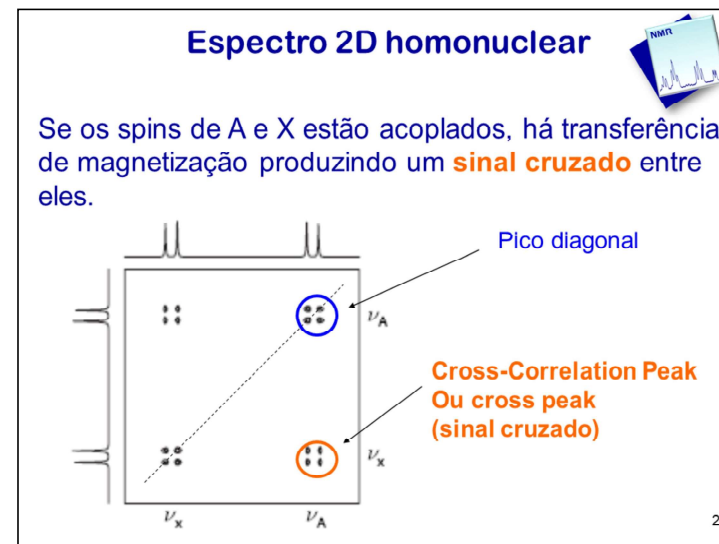


Na imagem podem ver o aspecto do espectro 2D homonuclear mais comum – COSY. Tanto eixo dos xx ( $f_2$ ) como no eixo do yy ( $f_1$ ) temos o espectro  $^1\text{H}$  da molécula em estudo.

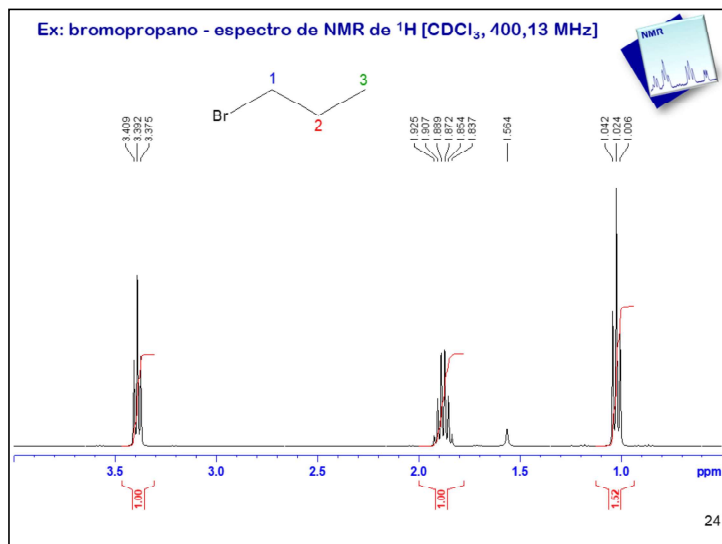
Para facilitar a interpretação destes espectros podem (e devem) traçar a diagonal que, na realidade, corresponde ao espectro 1D de protão.

Podem também verificar que ambos os lados da diagonal têm a mesma informação, por isso só nos devemos debruçar sobre um deles.

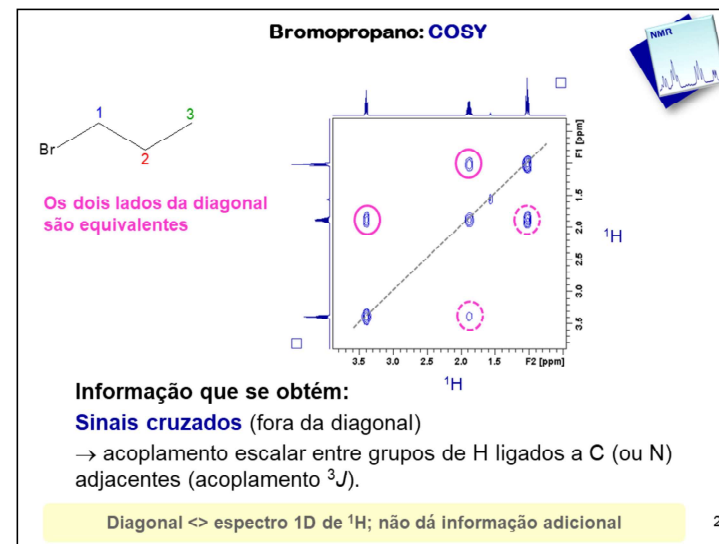
Os sinais que representam o acoplamento spin-spin entre prótons correlacionados aparecem como umas "manchas arredondadas". Se virem do exemplo da imagem, podem ver que  $\text{H}_a$  acopla com  $\text{H}_c$  e  $\text{H}_b$ , logo devemos conseguir observar 2 sinais no espectro 2D à direita.



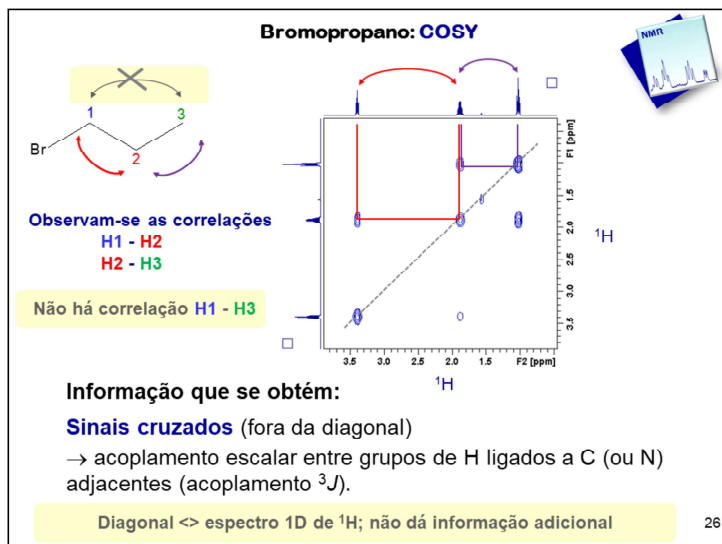
Na imagem podem ver o aspecto de um espectro 2D homonuclear (em geral) em que dois spins A e X estão acoplados. A diagonal corresponde à magnetização que não foi trocada (= espectro de  $^1\text{H}$  1D) e sinais cruzados (fora da diagonal) para os núcleos que trocaram magnetização através de acoplamento spin-spin.



Neste exemplo começamos por observar o espectro de  $^1\text{H}$  RMN do bromopropano.



Para analisar o COSY deve começar por traçar-se a diagonal. Seguidamente analisam-se os sinais cruzados (fora da diagonal), não esquecendo que os dois lados da diagonal dão a mesma informação e por isso devemos apenas debruçarmo-nos sobre um deles.



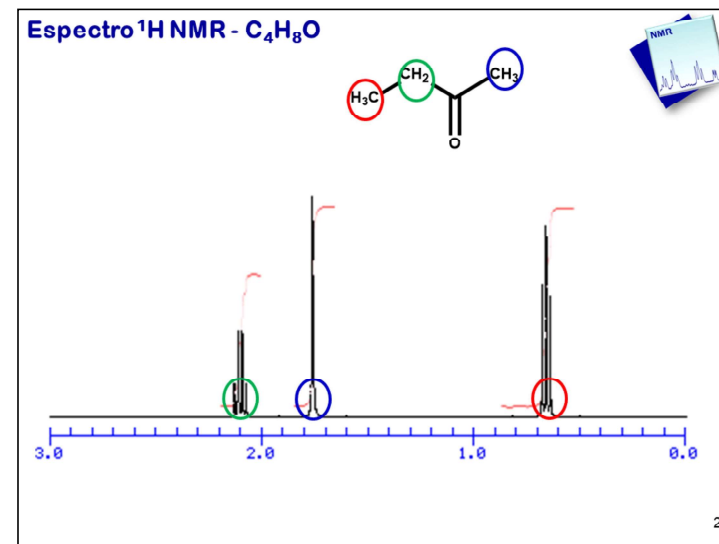
Olhando para o molécula podemos prever as seguintes correlações:

H1-H2

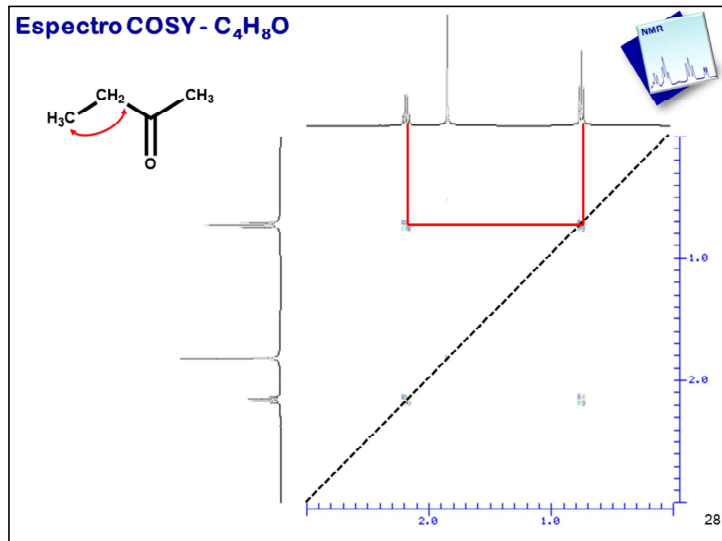
H2-H3

Como H1 já se encontra a 4 ligações de distância de H3 não se prevê que estes dois núcleos acoplem.

Podemos então desenhar no COSY as linhas correspondentes aos acoplamentos (linhas vermelha e roxa).



Neste 2º exemplo podemos prever que irá existir apenas uma correlação no COSY...

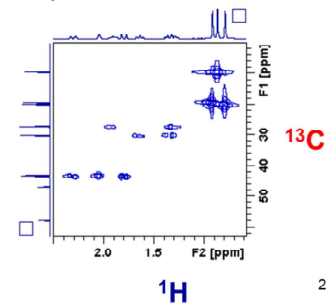


... entre o CH<sub>2</sub> e o CH<sub>3</sub>.

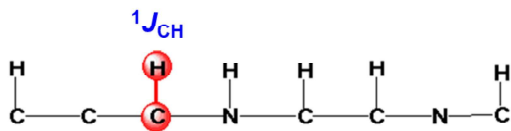
### Espectro 2D heteronuclear

- Os métodos heteronucleares usam a detecção de <sup>1</sup>H para se obter uma sensibilidade máxima, sendo geralmente referidos como “experiências inversas”.
- Nas experiências heteronucleares 2D não há diagonal, uma vez que os diferentes núcleos estão representados em duas dimensões.

O espectro de NMR de <sup>1</sup>H (o núcleo observado) encontra-se no eixo F<sub>2</sub> (x) e o NMR de <sup>13</sup>C no eixo F<sub>1</sub> (y).



### Correlações heteronucleares C-H diretas



Experiências mais comuns de **correlação** de desvio químico **C-H** entre **protões e carbonos diretamente ligados**:

**HMQC** - Heteronuclear **M**ultiple **Q**uantum **C**orrelation

**HSQC** - Heteronuclear **S**ingle **Q**uantum **C**orrelation

29

### HSQC / HMQC

- **HSQC** (ou HMQC) é o espectro mais simples de interpretar
- As correlações correspondem a acoplamentos C,H a uma ligação.
- As coordenadas de cada pico fazem corresponder a ressonância de cada protão à do carbono ao qual está ligado.

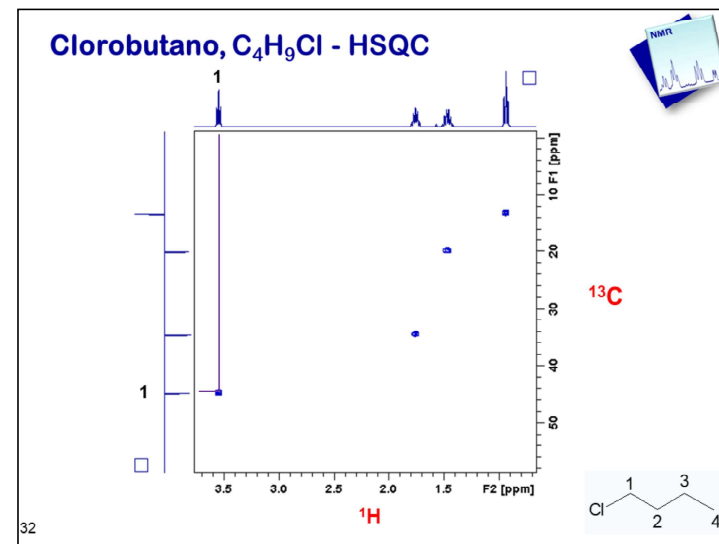
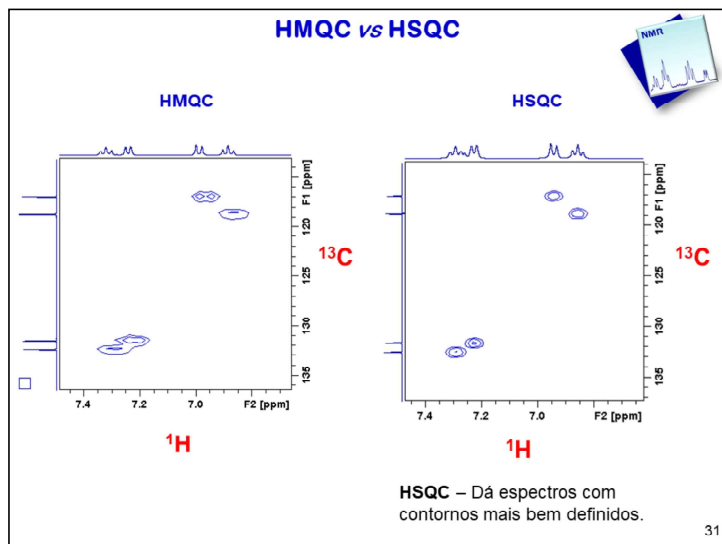
Eixo dos xx:  $\delta$   $^1\text{H}$

Eixo dos yy:  $\delta$   $^{13}\text{C}$

- Permite identificar grupos  $\text{CH}_2$  (pares de protões não equivalentes, com acoplamento geminal). Geralmente apresentam picos de COSY.
- etc...

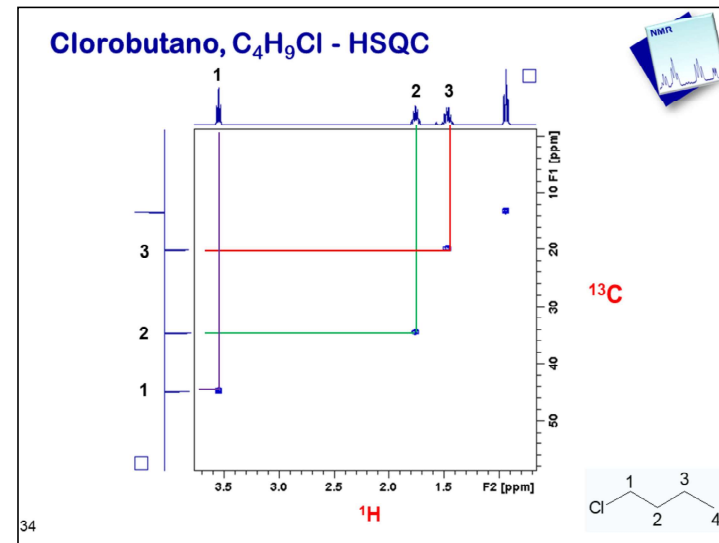
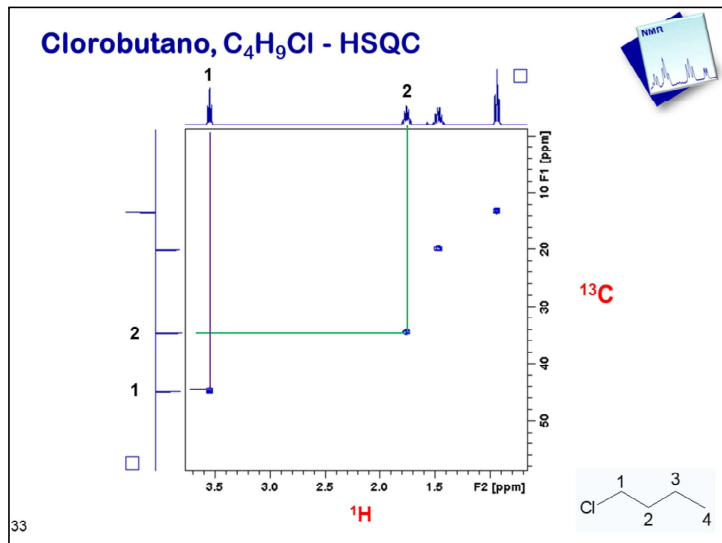
Mesmo quando há sobreposições no espectro de protão, os picos estão geralmente separados no HSQC

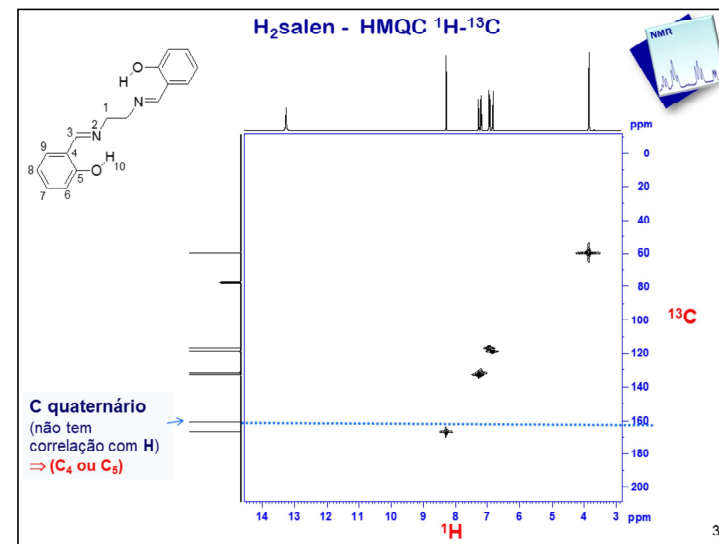
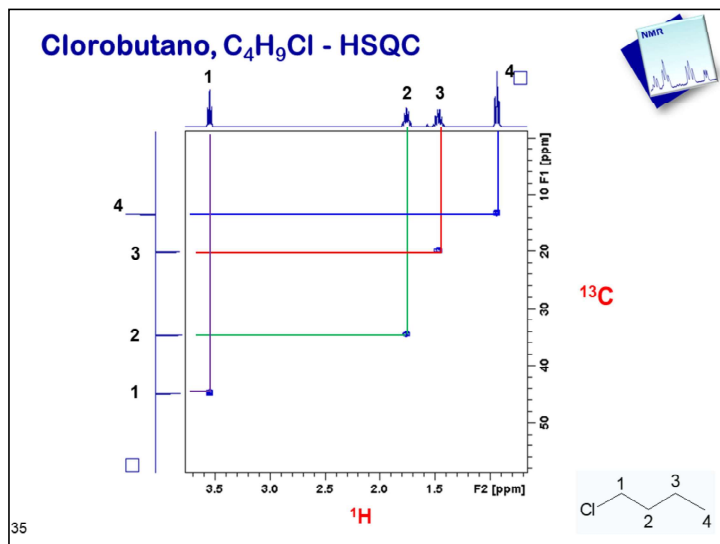
30



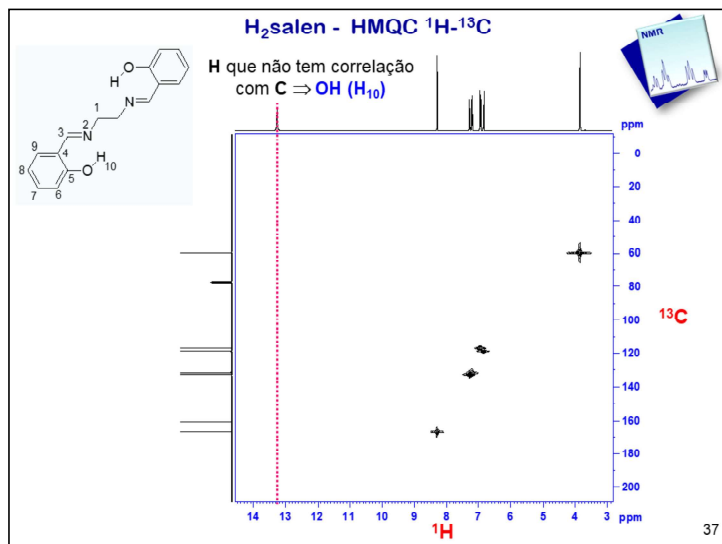
Como podemos ver neste exemplo para o clorobutano, a interpretação dos espectros de HSQC/HMQC é muito simples, pois basta fazer corresponder cada próton ao seu carbono diretamente ligado.







Neste exemplo podemos ver que o HSQC/HMQC também é útil para distinguir os carbonos quaternários, uma vez que estes não têm correlação com qualquer H.



Permite também a identificação de prótons em permuta rápida (ácidos): OH, NH, ... (*exchangeable protons*).

## Experiências 2D

- ◆ Correlações através de ligações químicas (acoplamento  $J$ )
  - Homonucleares
  - **Heteronucleares**

(C-H) a longa distância

38

**$^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  HMBC**  
[Heteronuclear Multiple Bond Correlation]

$2J_{\text{CH}} + 3J_{\text{CH}}$   
Long range coupling

$^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  HMBC é uma técnica de correlação a longa distância desenvolvida para detectar acoplamentos  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  a **duas ou três ligações** via  $^2J_{\text{CH}}$  e  $^3J_{\text{CH}}$  (que não podem ser diferenciados nesta experiência).

Permite detectar correlações com  $\text{C}_{\text{quat}}$  e através de heteroátomos, permitindo fazer a ligação entre sistemas de spins.

**Não se observam correlações C-H diretas ( $^1J_{\text{CH}}$ )**

39

Infelizmente este ano não teremos possibilidade de nos debruçar muito sobre as experiências bidimensionais a longa distância. No entanto, são muitas vezes estas experiências que nos permitem a atribuição inequívoca de todos os sinais de próton e carbono.

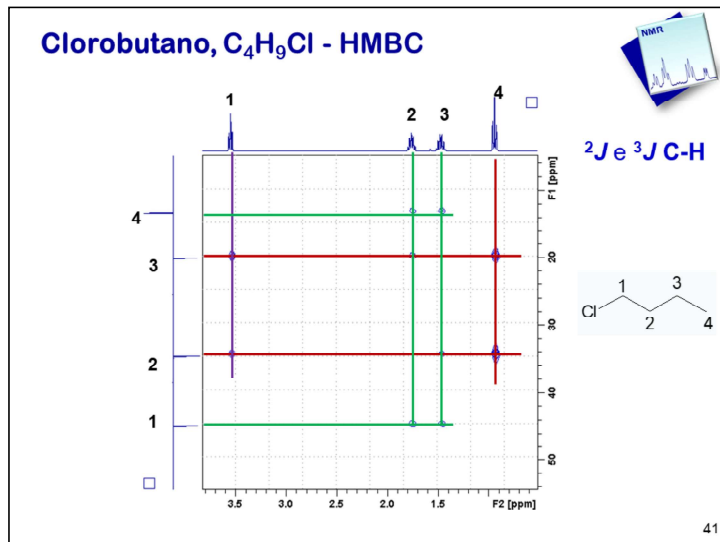
Nesta experiência podem-se detetar acoplamentos  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  a duas ou três ligações através das constantes de acoplamento, como está demonstrado na figura. Não se observam as correlações C-H diretas (para isso usa-se o HMQC/HSQC).

**$^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  HMBC**

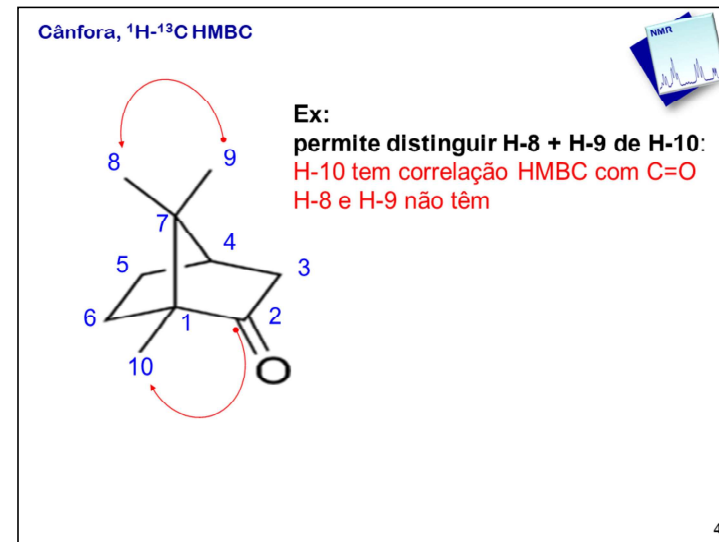
- O espectro 2D **HMBC** é semelhante a HSQC ou HMQC mas tem uma **aparência mais densa** – devido ao **maior número de correlações a longa distância** associados aos desvios químicos de cada próton e carbono.
- É uma experiência extremamente útil para fazer a ligação entre fragmentos de estruturas e é tipicamente utilizado para obter as **respostas finais relativamente a um problema de elucidação estrutural**.

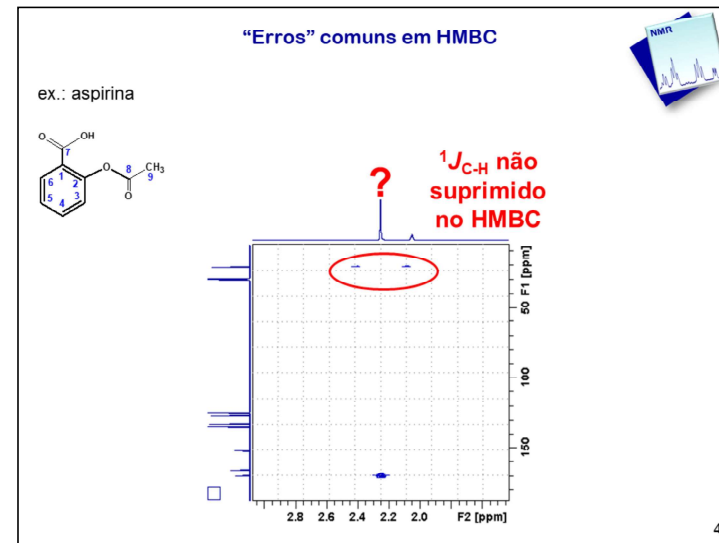
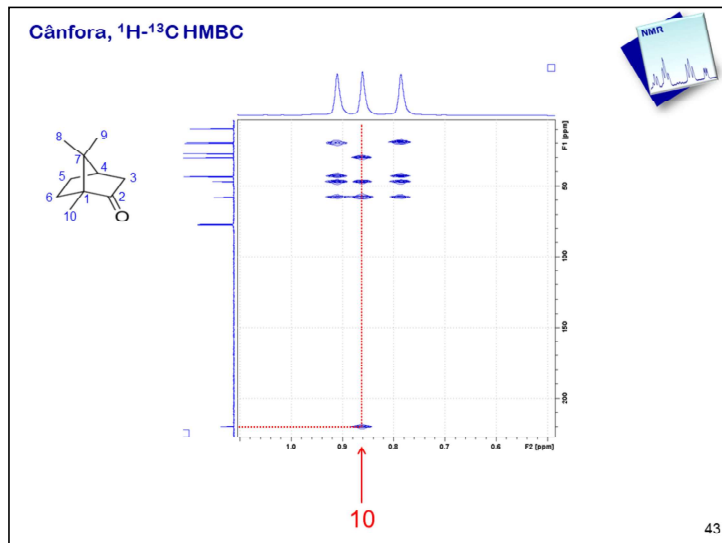
40

No entanto, por vezes podem aparecer algumas correlações não esperadas e em alguns casos correlações a 4 ligações podem aparecer.

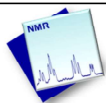


Voltando ao exemplo do clorobutano, podem ver que o HMBC apresenta muitas mais correlações que o HMQC/HSQC, pois estamos a ver as correlações a duas e três ligações de distância.





## Como organizar os dados de NMR?



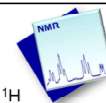
45

### Dados de NMR

**1**  
(Espectro  
de  $^{13}\text{C}$ )

**2**  
APT,  
DEPT  
HSQC

**3**  
HSQC + espectro de  $^1\text{H}$

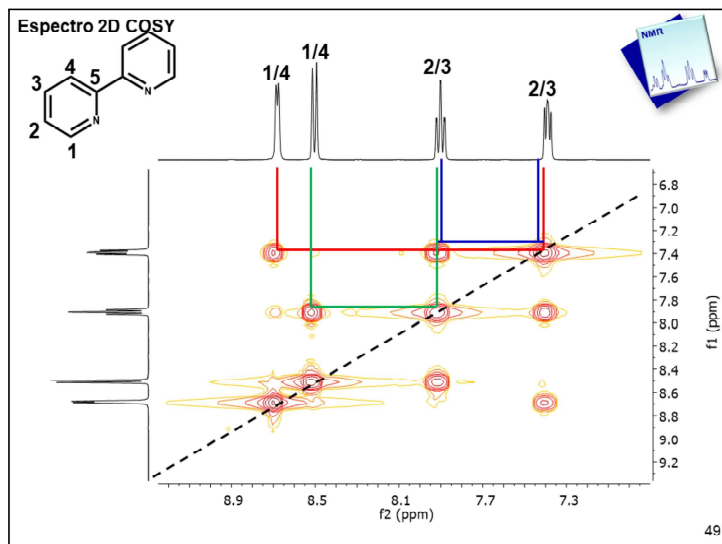


Sinais de $^{13}\text{C}$ $\delta$ (ppm)	Tipo de Carbono	Atribuição	Sinais de $^1\text{H}$ $\delta$ (ppm) /mult./ J (Hz)

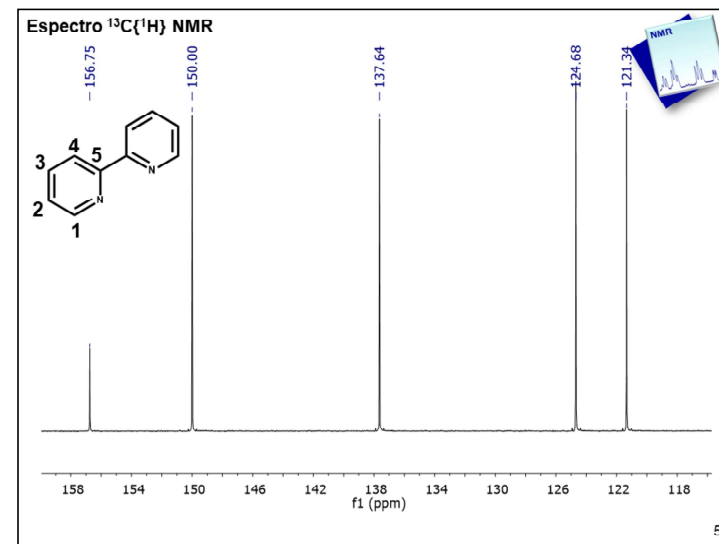
46





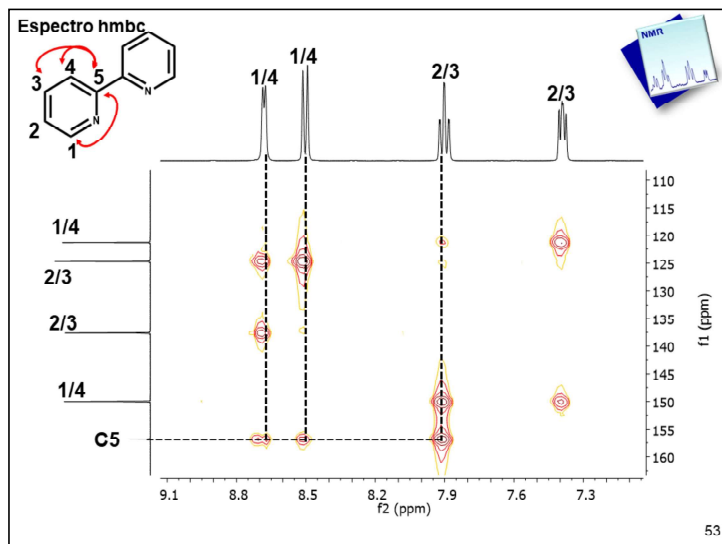


O COSY permite-nos identificar quais os prótons que estão a acoplar entre si.

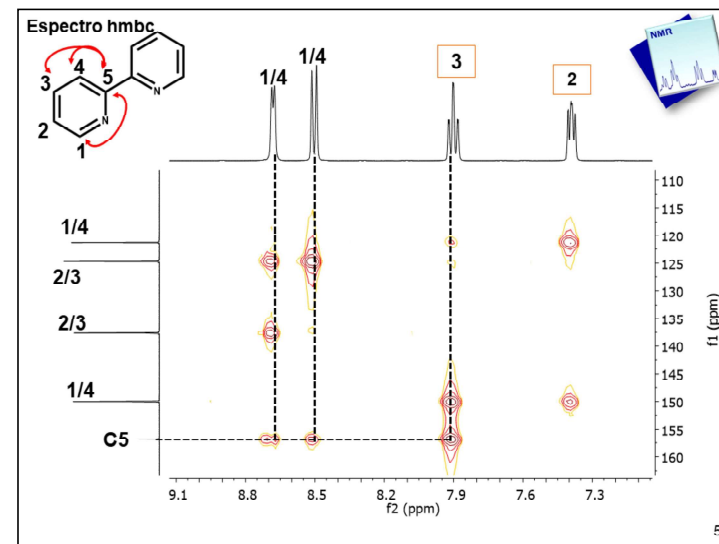


Aqui temos o espectro de  $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$  NMR.

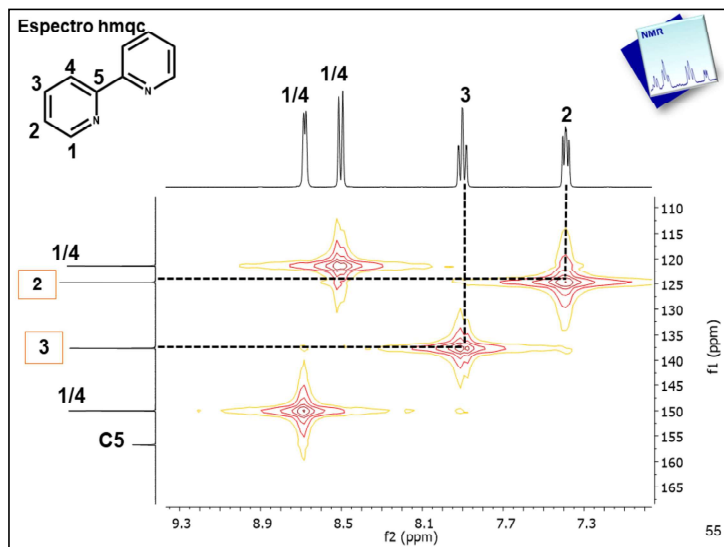




No HMBC (correlações a 2 e 3 ligações) podemos verificar que o C5 se correlaciona com 3 prótons: H1, H4 e H3.



Uma vez que apenas se correlaciona com um dos tripletos, podemos atribuir esse tripleto ao H3. Automaticamente o outro tripleto é o H2.



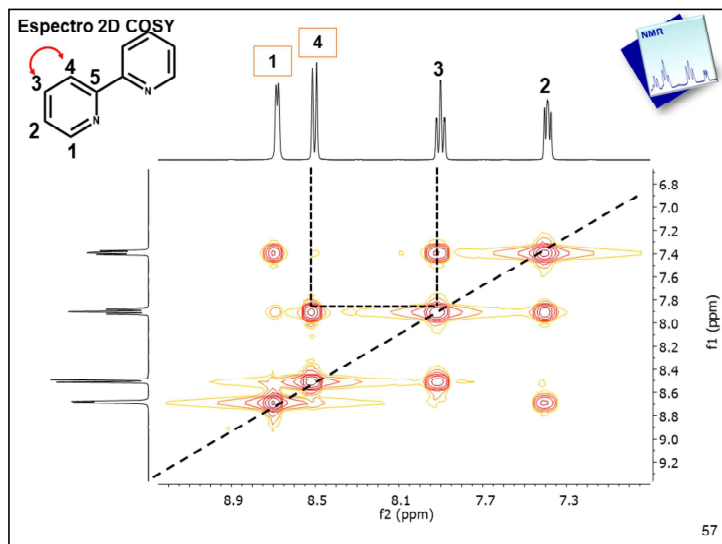
Uma vez que já sabemos quais são os prótons H3 e H2, podemos atribuir automaticamente os carbonos correspondentes através do HMQC.

Dados de NMR

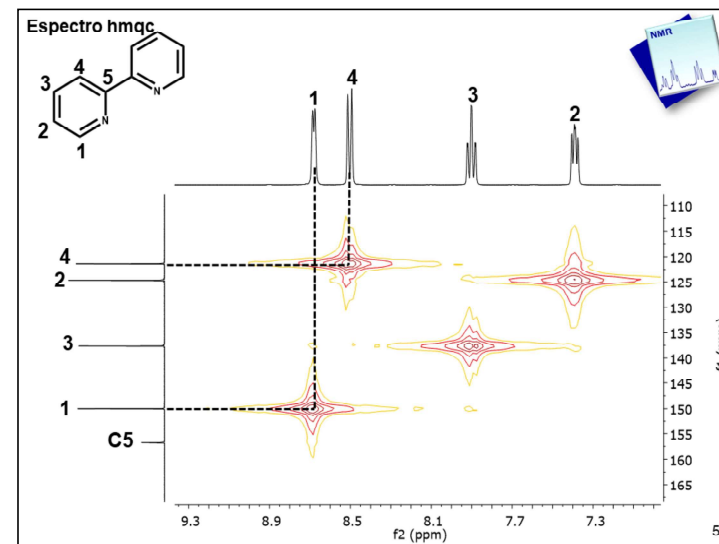
Legend:

- 1 (Espectro de  $^{13}\text{C}$ )
- 2 APT, DEPT, HSQC
- 4 COSY, HMBC, ...
- 3 HSQC + espectro de  $^1\text{H}$

Sinais de $^{13}\text{C}$ $\delta$ (ppm)	Tipo de Carbono	Atribuição	Sinais de $^1\text{H}$ $\delta$ (ppm) / mult. / J (Hz)
156,75	Quaternário	C5	-
137,64		C3	7,39 / t
124,68		C2	7,9 / t

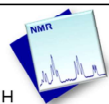


Podemos agora voltar a usar o COSY para ver qual o duplete que acopla com o H3 e assim conseguimos concluir a atribuição dos prótons, pois conseqüentemente o que falta é o H1.



Finalmente podemos voltar ao HMQC para ver a correspondência dos carbonos.

Dados de NMR



**1**  
(Espectro  
de <sup>13</sup>C)

**2**  
APT,  
DEPT  
HSQC

**4**  
COSY,  
HMBC,  
...

**3**  
HSQC + espectro de <sup>1</sup>H

Sinais de <sup>13</sup> C δ (ppm)	Tipo de Carbono	Atribuição	Sinais de <sup>1</sup> H δ (ppm) /mult./ J (Hz)
156,75	Quaternário	<b>C5</b>	-
137,64	CH	<b>C3</b>	7,39 / t
124,68	CH	<b>C2</b>	7,9 / t
121,34	CH	<b>C4</b>	8,69 / d
150,0	CH	<b>C1</b>	8,51 / d

Nota: Na tabela deveriam colocar ainda as constantes de acoplamento