

UTILIZACION DE ESPECTROS DE RMN, BIDIMENSIONALES EN LA DEDUCCION ESTRUCTURAL DE UNA PIRANOCOUMARINA

Juan C. Martínez Valderrama.

Departamento de Química, Universidad Nacional de Colombia, A.A. 14490,
Santafé de Bogotá, Colombia.

Keywords: Two-dimensional NMR, Pyranocoumarin, 5-methoxyseselin.

RESUMEN

Se ilustra la metodología para la deducción total de la estructura de una molécula orgánica desconocida, del tipo piranocoumarina (5-metoxiseselin), utilizando espectros de RMN bidimensionales de diferentes clases: COSY H-H, NOESY y HETCOR C-H a un enlace y a larga distancia.

ABSTRACT

The strategy for molecular structure determination of an organic compound, 5-methoxyseselin, is illustrated. Two-dimensional NMR spectra of different types is used: COSY H-H, NOESY, and HETCOR C-H to one bond and long range.

INTRODUCCION

La deducción de la estructura de un compuesto orgánico siempre ha sido un reto para los Químicos de todos los tiempos. Nuestros antepasados realizaban esta deducción por degradaciones del compuesto (mediante reacciones específicas) e identificación de los productos; esta metodología les llevaba muchos años de trabajo, antes de encontrar la estructura correcta y en algunos casos constituyó el trabajo de varias generaciones. En los últimos años, la aparición de métodos espectroscópicos ha facilitado y por ende aumentado la velocidad en la determinación estructural de compuestos orgánicos. Una de las espectroscopías que da más información y facilita la deducción estructural, es la Resonancia Magnética Nuclear de Hidrógeno y de Carbono-13 (RMN¹H y RMN¹³C). En la última década se ha desarrollado la RMN en dos dimensiones, tanto homonuclear como heteronuclear, lo cual ha mejorado enormemente la velocidad y seguridad en la deducción de una estructura, eliminando las posibilidades de error. Los espectros bidimensionales que se han desarrollado son muy variados (algunas decenas) y la mayoría de ellos se conocen por

acrónimos tales como: COSY (CORrelation SpectroscopY)(1), NOESY (Nuclear Overhauser Effect SpectroscopY)(2), HETCOR (HETeronuclear CORrelation)(3), COLOC (CORrelation spectroscopy via LONG-range Coupling)(4), INADEQUATE-2D (Incredible Natural Abundance Double QUantum Transfer Experiment 2-Dimensión)(5), HMQC (Heteronuclear Multiple QUantum Coherence)(6), HMBC (Heteronuclear Multiple Bond Correlation)(7)(8), etc.

En este trabajo, realizado con una piranocoumarina (5-metoxiseselin), se muestra la utilización de los espectros de RMN de correlación homonuclear ^1H - ^1H tipos COSY y NOESY, y de correlación heteronuclear ^{13}C - ^1H (HETCOR) usando variaciones en los parámetros experimentales que permiten correlaciones a un enlace y a varios enlaces.

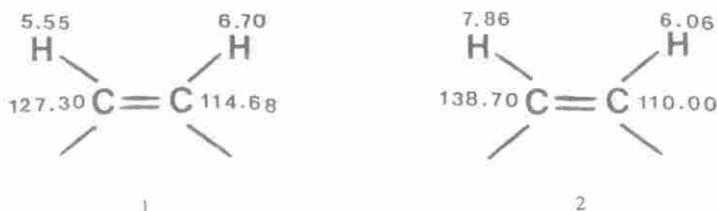
RESULTADOS Y DISCUSION

En los espectros COSY (fig 1) y NOESY (fig. 2), que muestran las correlaciones ^1H - ^1H , se tiene en el eje X y en el eje Y el espectro de RMN ^1H , de tal manera que las manchas en la diagonal corresponden a intersecciones de las proyecciones de las señales de las RMN ^1H de cada eje (son por tanto manchas debidas al mismo hidrógeno) y las manchas fuera de la diagonal corresponden a las correlaciones entre hidrógenos diferentes y se denominan señales de correlación. Las señales del espectro de RMN ^1H que correlacionan se buscan trazando desde la mancha de correlación las paralelas a cada uno de los ejes hasta encontrar la señal respectiva. Las señales de correlación en el espectro COSY se deben a interacciones de acoplamiento escalar (espín-espín) entre hidrógenos (a través de los enlaces), y cada señal de correlación indica las señales que están mutuamente acopladas. En el caso del espectro NOESY se observan las interacciones entre hidrógenos debidas a efectos dipolares (a través del espacio), por lo tanto la correlación entre dos señales indica que los hidrógenos, responsables de esta correlación, están cercanos en la estructura sin importar el número de uniones químicas que los separan.

En el espectro HETCOR (figs. 3 a 6), que correlaciona ^{13}C y ^1H , se observa en un eje el espectro de RMN ^{13}C , en el otro eje el espectro de RMN ^1H y en el centro las señales de correlación. Las señales de RMN ^{13}C y RMN ^1H que correlacionan se buscan trazando desde la señal de correlación las paralelas a cada uno de los ejes hasta las respectivas señales en los espectros unidimensionales. La información obtenida en este tipo de espectros es sobre el acoplamiento de ^{13}C - ^1H , y dependiendo de los parámetros experimentales utilizados, se pueden obtener correlaciones a una unión ($^1\text{J}_{\text{C-H}}$) o a larga distancia ($^2\text{J}_{\text{C-H}}$ o $^3\text{J}_{\text{C-H}}$) principalmente a tres uniones.

La piranocoumarina tiene por fórmula condensada $\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{O}_4$ y en las tablas 1 y 2 se encuentran los datos de RMN ^1H y RMN ^{13}C que indican que el compuesto es aromático además de la existencia de dos grupos metilo ($\delta^1\text{H} = 1.44$ y $\delta^{13}\text{C} = 27.92$), un grupo metoxi ($\delta^1\text{H} = 3.85$ y $\delta^{13}\text{C} = 55.76$) y un grupo C=O de éster ($\delta^{13}\text{C} = 160.93$). El espectro COSY (figura 1) muestra correlación entre los dobles en δ 5.55 y 6.70 ($J = 9.84$ Hz) y entre los dobles en δ 6.06 y 7.86 ($J = 9.70$ Hz), cada uno de los cuales integra para un hidrógeno (tabla 1). De estas correlaciones y de acuerdo con los desplazamientos químicos y las constantes de acoplamiento, se deduce la existencia de dos grupos CH=CH cuyos hidrógenos son CIS. En las tablas 1 y 2 también se muestran las correlaciones heteronucleares obtenidas de las

figuras 3 a 6. Estas correlaciones son de dos clases; la primera son correlaciones tomadas con un tiempo de espera ($1/2J$) correspondiente a la constante de acoplamiento a una unión ($^1J_{C-H}$ de 125 a 160 Hz) e indican las señales de los carbonos e hidrógenos que están directamente unidos; la segunda clase son de correlaciones a larga distancia y se toman con tiempos de espera ($1/2J$) correspondientes a tres uniones principalmente ($^3J_{C-H}$ de 5 a 10Hz). Sin embargo, en este último caso se observan algunas correlaciones a dos uniones, debido a que estas uniones pueden tener constantes de acoplamiento cercanas al valor usado y de la misma manera puede que no aparezcan algunas correlaciones a tres uniones porque la respectiva constante se aleja del valor usado experimentalmente; también pueden observarse correlaciones a una unión, pero éstas no tienen duda pues ya han sido establecidas con el otro espectro bidimensional (correlaciones con $J = 140$ Hz).



De acuerdo con las correlaciones heteronucleares observadas a una unión (tablas 1 y 2), se pueden asignar los desplazamientos químicos de los carbonos e hidrógenos de los grupos olefínicos que se dedujeron del espectro COSY. Los valores asignados se muestran en las fórmulas 1 y 2.

Tabla 1 . Datos de RMN¹H de la piranocoumarina obtenidos del espectro unidimensional y sus correlaciones con la RMN¹³C obtenidas de espectros bidimensionales*.

δ^1H	m (J en Hz)	N ¹ H	Correlaciones $^1J_{CH}$ J=140Hz	Correlaciones a larga distancia $^3J_{CH}$ J=8.5Hz
1.44	s	6	27.92	27.92, 77.72, 127.30
3.85	s	3	55.76	55.76, 156.27
5.55	d (9.84)	1	127.30	77.72, 102.24
6.06	d (9.70)	1	110.00	103.34, 110.00
6.17	s	1	95.11	95.11, 102.24, 103.34, 157.23
6.70	d (9.84)	1	114.68	77.72, 157.23
7.86	d (9.70)	1	138.70	150.75, 160.90

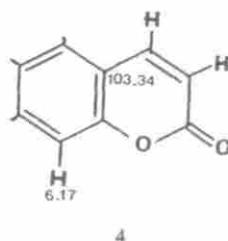
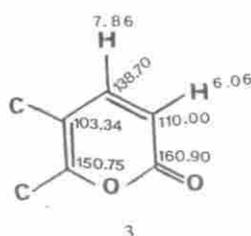
* Los desplazamientos químicos están en ppm. Las correlaciones (tomadas de las figuras 3, 4 y 5) corresponden a tiempos de espera diferentes según la constante de acoplamiento.

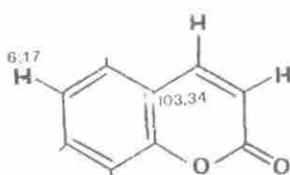
Tabla 2. Datos de RMN¹³C de la piranocoumarina y sus correlaciones con la RMN¹H obtenidas de espectros bidimensionales*.

δ . ¹³ C	Tipo de C según DEPT	Correlaciones ¹ J _{CH} J=140Hz	Correlaciones a larga distancia ³ J _{CH} J=8.5Hz
27.92	CH ₃	1.44	1.44
55.76	CH ₃	3.85	3.85
77.72	C	---	1.44, 5.55, 6.70
95.11	CH	6.17	6.17
102.24	C	---	5.55, 6.17
103.34	C	---	6.06, 6.17
110.00	CH	6.06	6.06
114.68	CH	6.70	---
127.30	CH	5.55	1.44
138.70	CH	7.86	---
150.75	C	---	7.86
156.27	C	---	3.85
157.23	C	---	6.17, 6.70
160.93	C	---	7.86

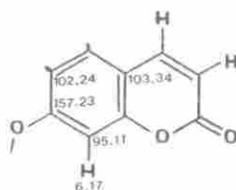
* Los desplazamientos químicos están en ppm. Las correlaciones (tomadas de las figuras 3, 4 y 5) corresponden a tiempos de espera diferentes según la constante de acoplamiento.

La señal en δ 7.86 muestra correlación a larga distancia (tres uniones) con las señales en δ 150.75 y 160.90 que son de carbonos cuaternarios. De estas dos señales la que presenta el mayor desplazamiento químico está en la región de C=O de éster y el desplazamiento químico de la otra señal indica un carbono sp² unido a un heteroátomo (en este caso oxígeno). Por lo tanto la fórmula 2 se puede expandir para la fórmula 3 en la cual se pueden hacer todas las atribuciones ya que la señal en δ 6.06 correlaciona con la señal en δ 103.34 (carbono cuaternario). Esta última señal (δ 103.34) también correlaciona con la señal en δ 6.17, que es un singlete, e indica que el hidrógeno responsable de la señal no tiene hidrógenos vecinos, lo cual conduce a ampliar la estructura 3 para 4 o 5 en las que los demás carbonos (del anillo aromático) son cuaternarios.



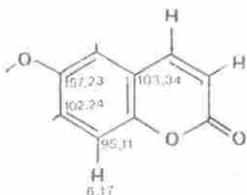


5

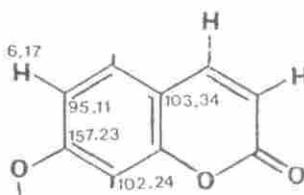


6

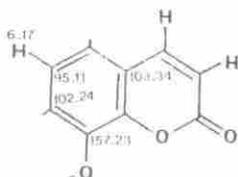
La señal en δ 6.17 correlaciona a una unión con la señal en δ 95.11 (debe corresponder al carbono que soporta el hidrógeno en δ 6.17) y a larga distancia con las señales en δ 102.24, 103.34 y 157.23 (todas de carbonos cuaternarios y la del último debe ser oxigenado). Estas correlaciones conducen a dar las atribuciones mostradas en **6** o **7** si se tratara de la fórmula **4**, o las mostradas en **8** ó **9** si se tratara de la fórmula **5**.



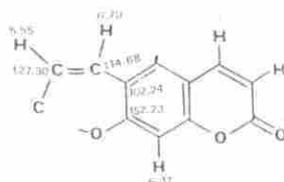
7



8

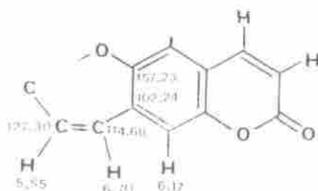


9

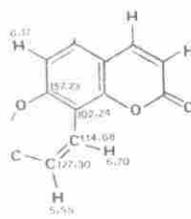


10

Las señales de los hidrógenos del otro sistema **CH=CH** correlacionan a larga distancia así: La de δ 5.55 con la señal en δ 102.24 y la de δ 6.70 con la señal en δ 157.23, por lo que las fórmulas **6**, **7**, **8** y **9** pueden ser expandidas para **10**, **11**, **12** y **13** respectivamente.

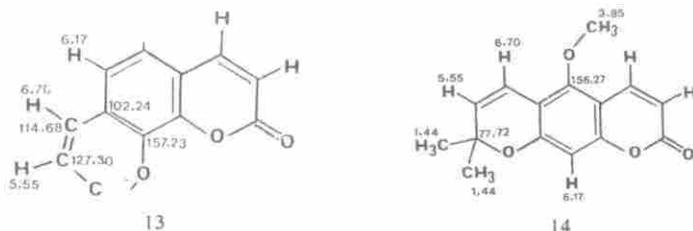


11



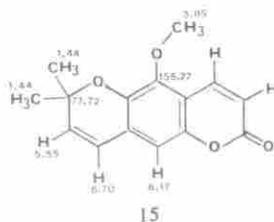
12

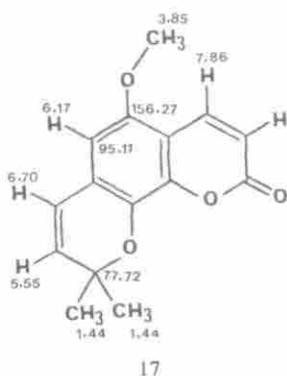
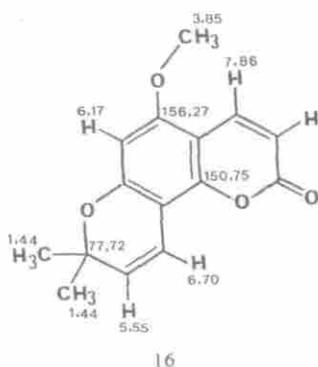
De las señales del espectro de RMN¹³C sólo falta por atribuir la de δ 156.27 que debe corresponder al carbono aromático que aún no ha sido asignado y como éste correlaciona a larga distancia con la señal de los hidrógenos del grupo metoxi (δ 3.85), dicho grupo debe encontrarse en ese carbono. Como la señal del carbono en δ 77.72 correlaciona con las señales en δ 1.44, 5.55 y 6.70, dicho carbono debe ser el alílico que a su vez soporta los dos grupo CH₃ (δ 1.44) y que por el desplazamiento químico a campo bajo estará unido a oxígeno. Por tanto las estructuras **10**, **11**, **12** y **13** pueden ser expandidas para **14**, **15**, **16** y **17** respectivamente.



La deducción sobre cuál de estas últimas cuatro estructuras son posibles se hace utilizando el espectro NOESY (fig 2), indicativo de que hay interacción a través del espacio. Según este espectro el grupo metoxi (δ 3.85) presenta correlación con las señales de los hidrógenos en δ 7.86 y 6.17, por lo cual dichos grupos deben estar cerca y esto ocurre sólo en las estructuras **16** y **17**.

Si la estructura correcta fuese la **16** deberían observarse las correlaciones a larga distancia de las señales en δ 7.86 con 156.27 y en δ 6.70 con 150.75, de la misma manera para la estructura **17** deberían observarse las correlaciones de las señales en δ 7.86 con 156.27 y en δ 6.70 con 95.11; ninguna de estas correlaciones se observa en el espectro HETCOR para $J = 8.5$ Hz (Figs 4 y 5). Como esto puede ser debido a que las constantes de acoplamiento entre estos grupos se alejan un poco de 8.5 Hz, se registraron espectros para varios valores de J y se encontró que en el espectro HETCOR para $J = 4$ Hz (fig 6) se observan las correlaciones de las señales en δ 7.86 con 156.27 y en δ 6.70 con 150.75, por lo cual se puede concluir que la estructura correcta es la **16**, que corresponde al 5-metoxiseselin.





PARTE EXPERIMENTAL

Los espectros fueron tomados en un espectrómetro JEOL EX90 con frecuencia de 89.45 MHz para ^1H y de 22.4 MHz para ^{13}C , utilizando una solución al 40% de la piranocoumarina en CDCl_3 , envasada en tubo de 5mm de diámetro.

Para el registro del espectro COSY H-H se utilizó la secuencia de pulsos $D_1-90^\circ-D_0-45^\circ$ -FID y para el NOESY la secuencia de pulsos $D_1-90^\circ-D_0-90^\circ-\Delta-90^\circ$ -FID. Para la adquisición de datos, en el período de evolución D_0 , se realizaron 128 experimentos con 8 barridos cada uno. El tiempo de recuperación, D_1 , fue de 2 segundos para el COSY y de 5 segundos para el NOESY y el valor de Δ fue 200 milisegundos.

Para el registro de los espectros HETCOR fue utilizada la secuencia de pulsos introducida por Freeman y Morris (3). La adquisición de datos se realizó durante 2 horas 50 minutos, para un total de 256 experimentos con 32 barridos cada uno y un tiempo de recuperación de 2 segundos, entre cada barrido. Para las correlaciones a una unión (fig 3) se utilizaron tiempos de espera t_1 de 3.6 milisegundos y t_2 de 1.8 milisegundos, correspondientes a un valor J promedio de 135 Hz. Para las correlaciones a larga distancia se utilizaron tiempos de espera t_1 de 60 milisegundos y t_2 de 30 milisegundos, correspondientes a valores de $J = 8.5$ Hz (figs 4 y 5), y tiempos de espera t_1 de 120 milisegundos y t_2 de 60 milisegundos correspondientes a valores $J = 4$ Hz (fig. 6).

AGRADECIMIENTOS

El autor manifiesta su gratitud al Departamento de Química de la Universidad Nacional de Colombia por la colaboración prestada y al Programa Fitoquímica de la Segunda Expedición Botánica- COLCIENCIAS por la ayuda financiera.

FIGURA 1.
ESPECTRO COSY DE LA PIRANOCOUMARINA

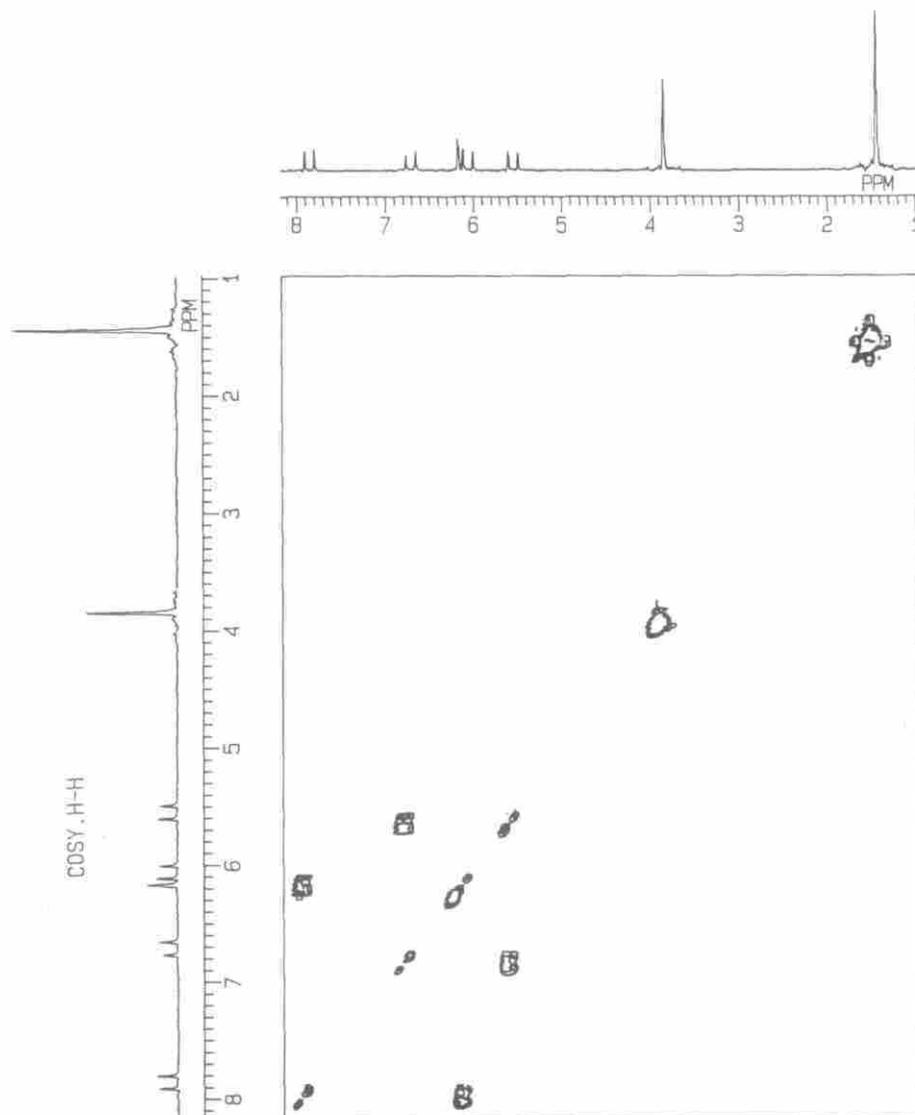


FIGURA 2.
ESPECTRO NOESY DE LA PIRANOCOUMARINA

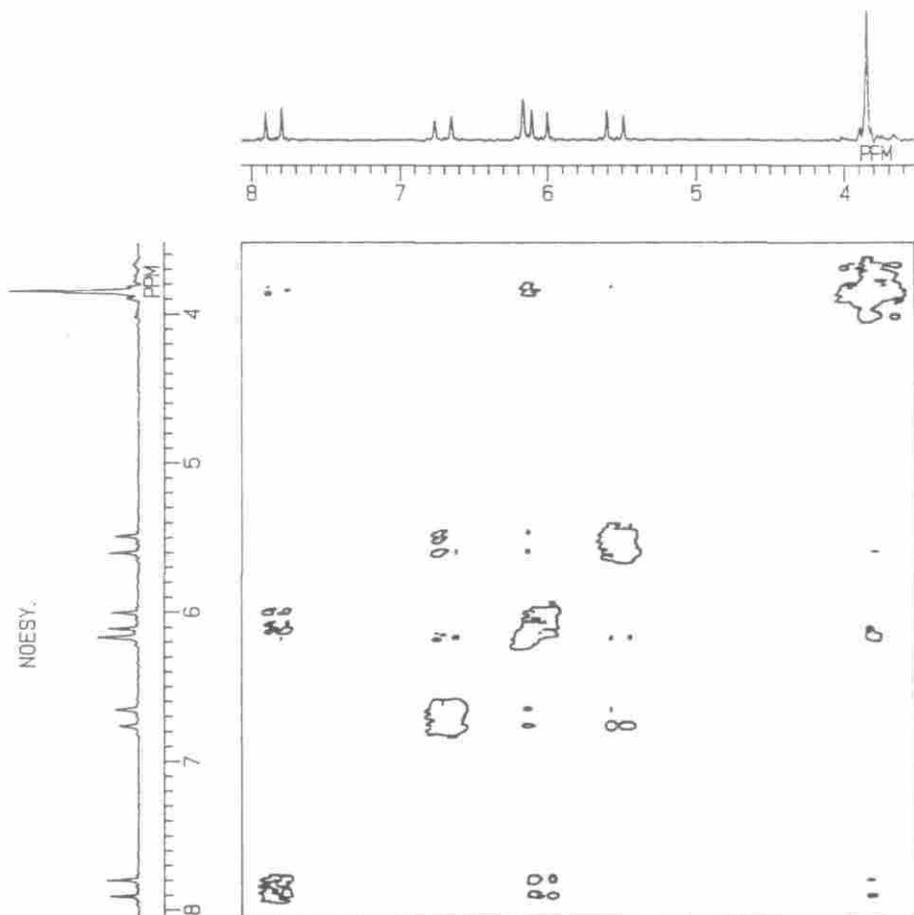


FIGURA 3.
ESPECTRO HETCOR DE LA PIRANOCOUMARINA
PARA $^1J = 140$ Hz

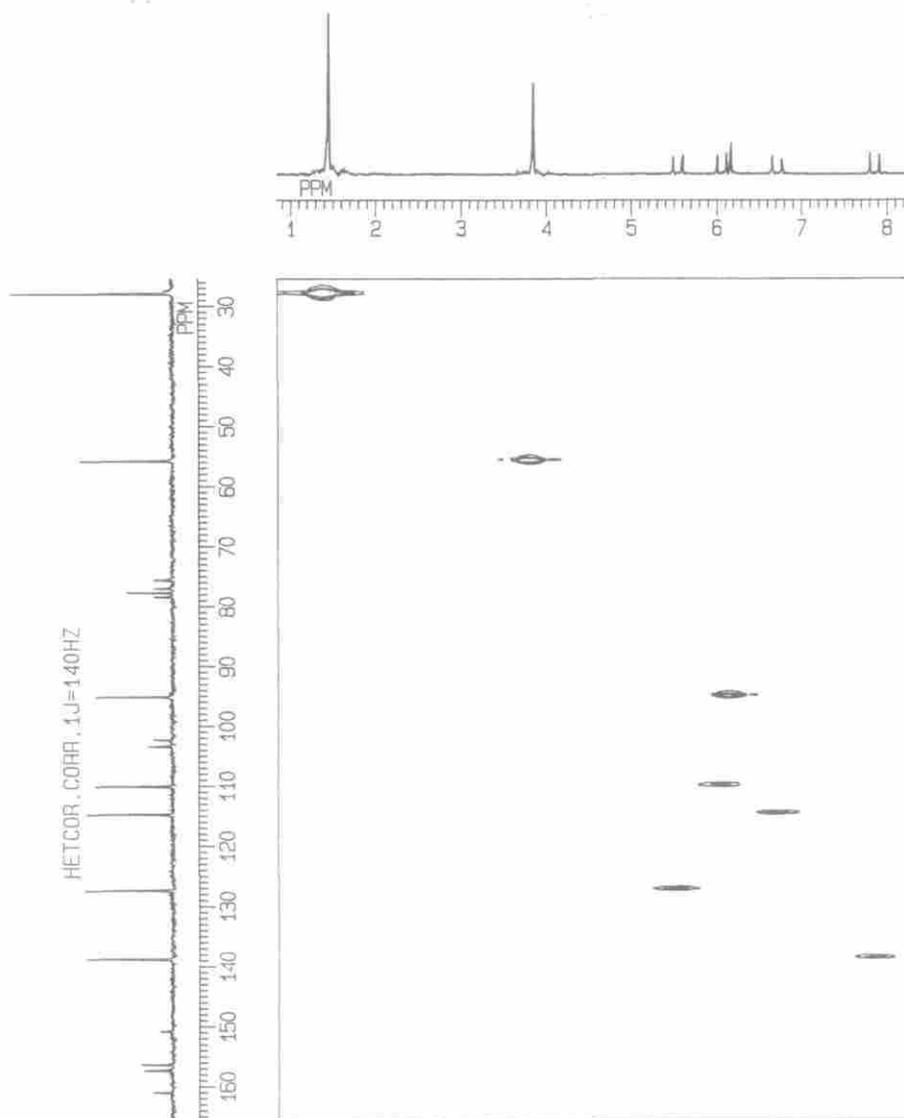


FIGURA 4.
 ESPECTRO *HETCOR* DE LA PIRANOCOUMARINA
 PARA $^3J = 8.5$ Hz

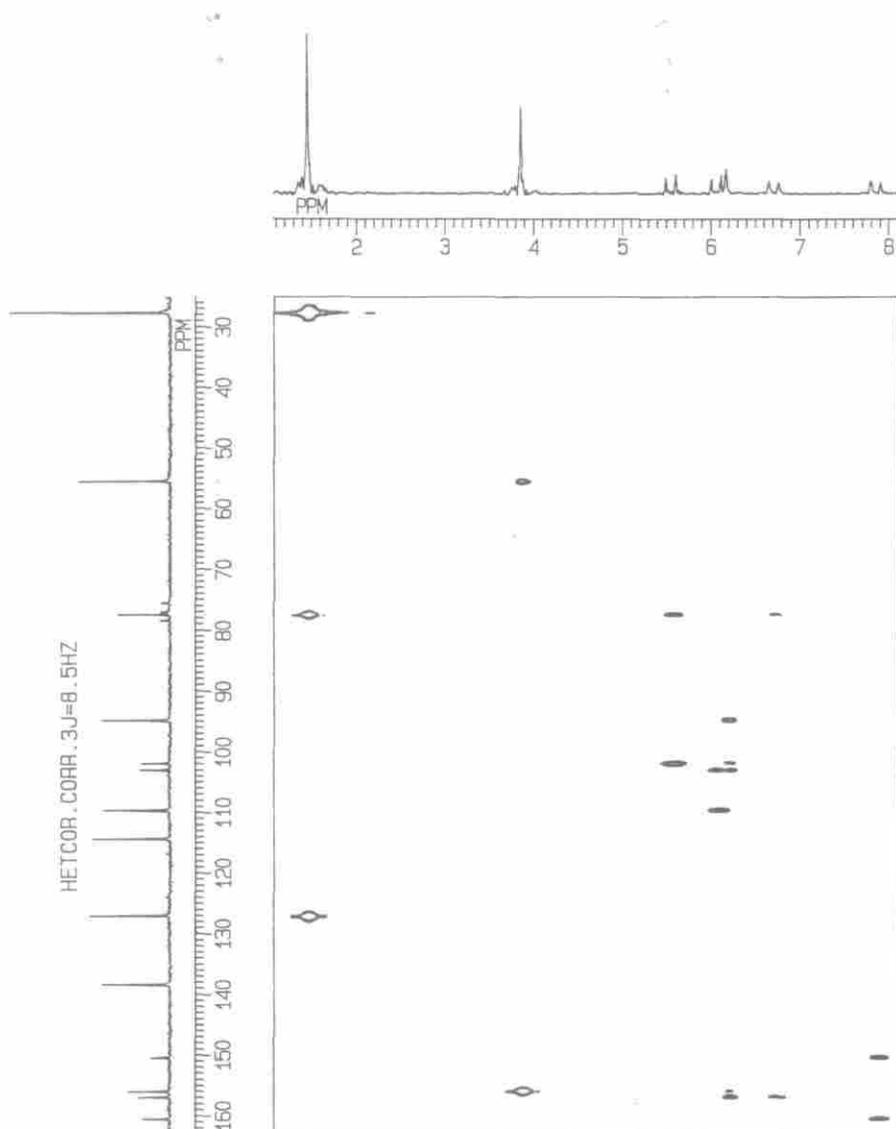


FIGURA 5.
PARTE AROMATICA DEL ESPECTRO *HETCOR*
DE LA PIRANOCOUMARINA PARA $^3J = 8.5$ Hz

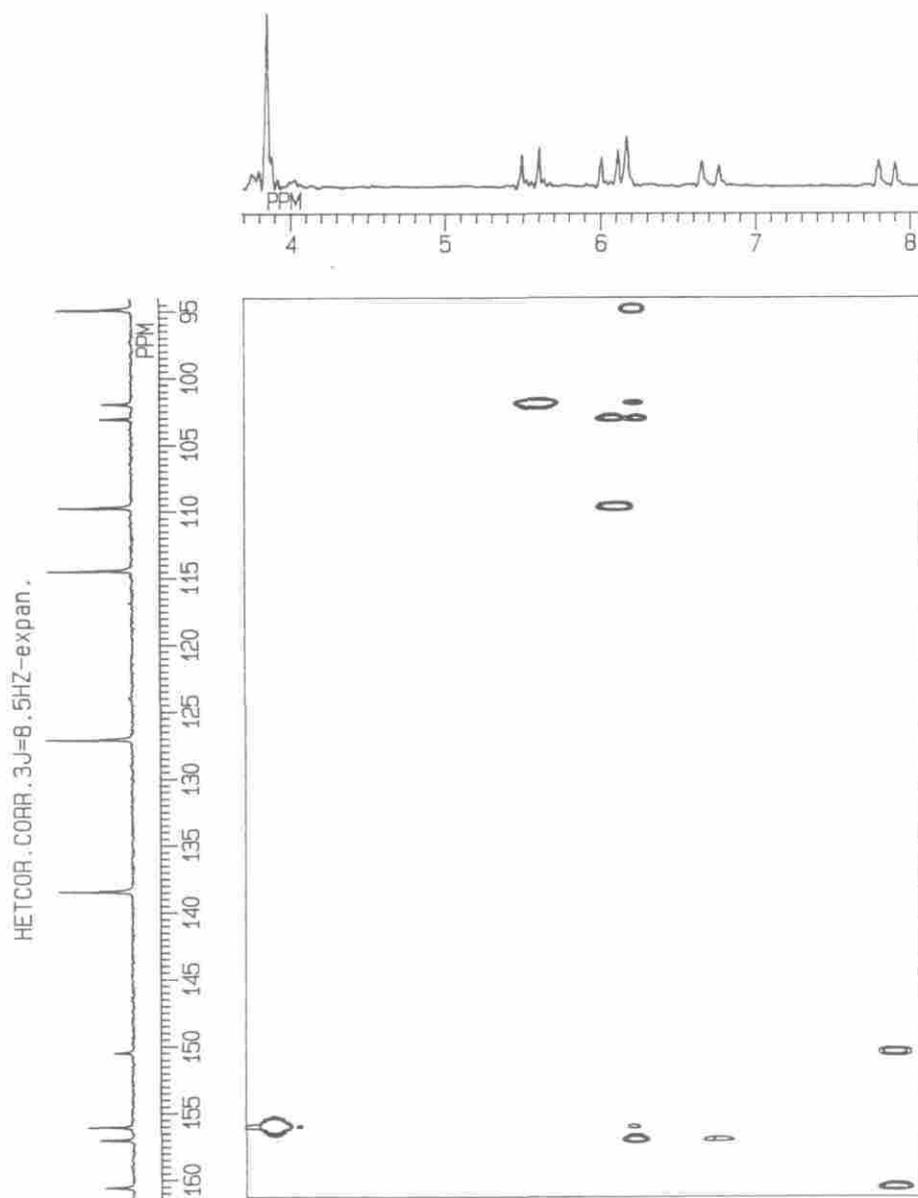
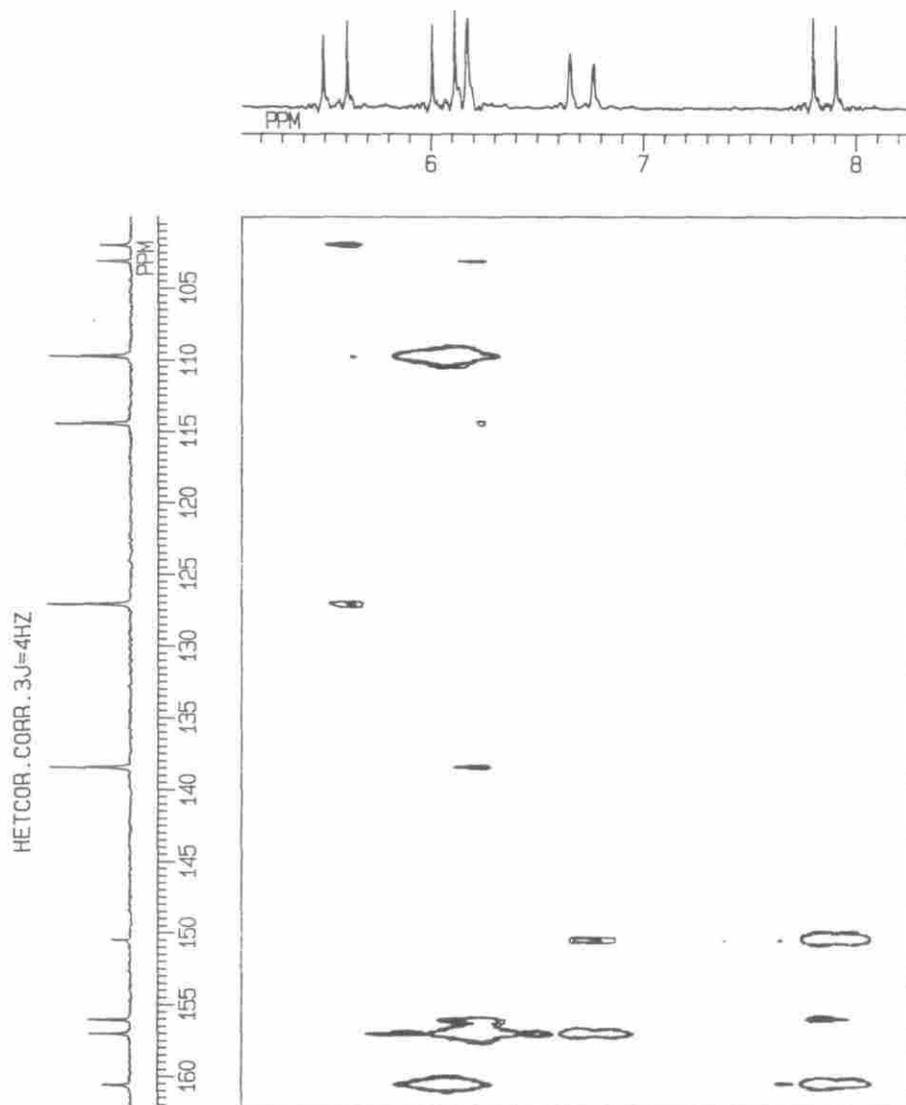


FIGURA 6.
PARTE AROMÁTICA DEL ESPECTRO *HETCOR*
DE LA PIRANOCOUMARINA PARA $^3J = 4$ Hz



BIBLIOGRAFIA

1. Bax, A.; Freeman, R.; Morris, G. A. *J. Magn. Reson.* **1981**, 42, 164.
2. Bodenhausen, G.; Ernst, R. R. *J. Am. Chem. Soc.* **1982**, 104, 1304.
3. Freeman, R.; Morris, G. A. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1978**, 684.
4. Kessler, H.; Griesinger, G. C.; Zarboch, J.; Loosli, H. R. *J. Magn. Reson.* **1984**, 57, 331.
5. Bax, A.; Freeman, R.; Frankiel, T. A.; Levitt, M. H. *J. Magn. Reson.* **1981**, 43, 478.
6. Bax, A.; Subramanian, S. J. *J. Magn. Reson.* **1986**, 67, 565.
7. Bax, A.; Summers, M. F. *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, 108, 2093.
8. Martin, G. E.; Crouch, R. C. *J. Nat. Prod.* **1991**, 54, 1.