

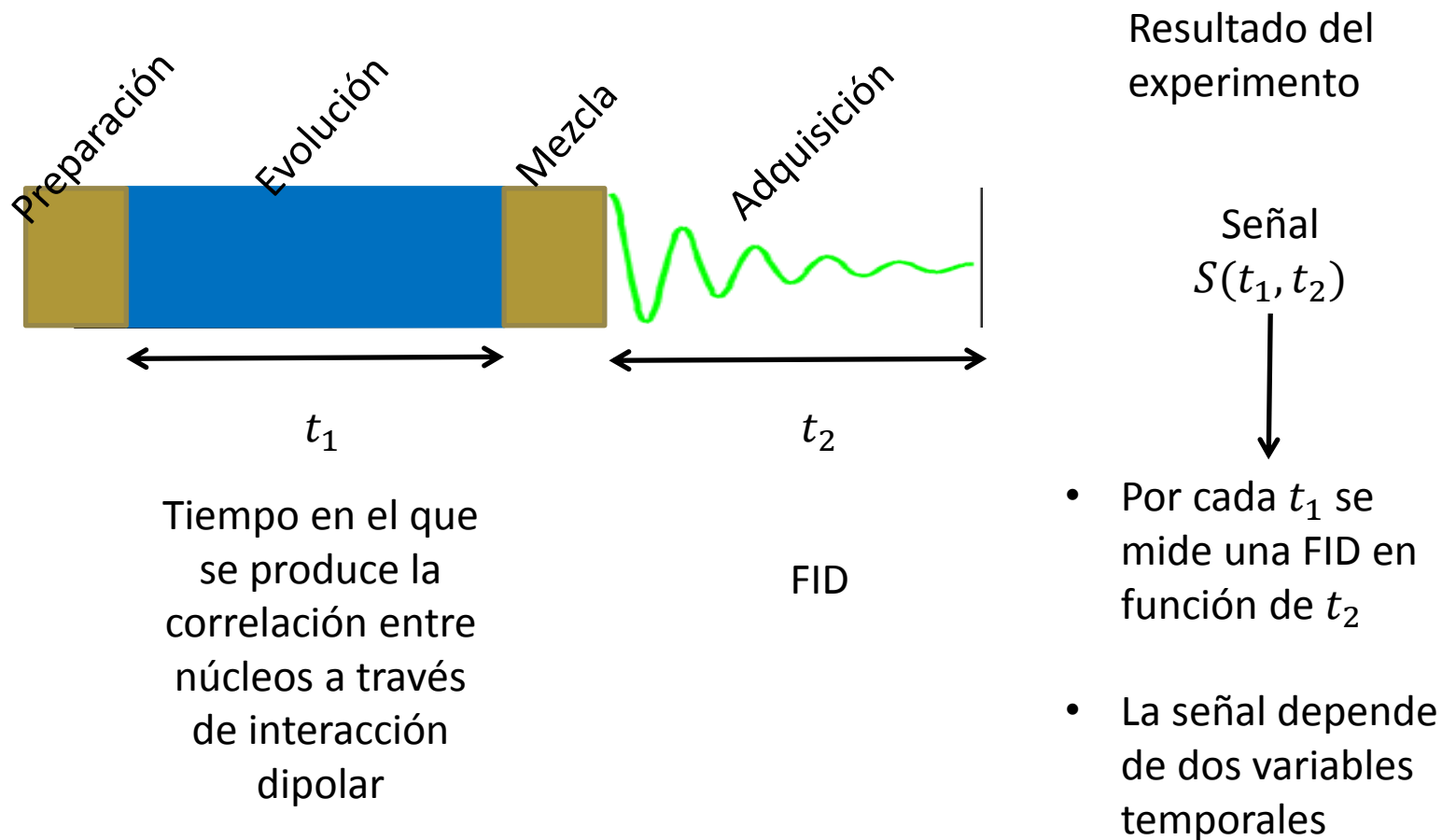
*Técnicas 2D (bi-
dimensionales)
en RMN en sólidos
para espines 1/2*

Objetivos

- ❖ Obtener correlaciones entre núcleos entre sitios específicos a través de interacción dipolar.
- ❖ Pueden ser homonucleares (misma especie) o heteronucleares (distintas especies)
- ❖ Obtener información adicional sobre la estructura molecular e interacciones y conformaciones en el sólido.
- ❖ Asignación de espectros
- ❖ Obtención de espectros de alta resolución en la segunda dimensión, cambios espectrales.
- ❖ Correlaciones entre núcleos por interacción dipolar (distancia).
- ❖ Interacciones **intramoleculares**: tautomerismo, puentes hidrógeno, carácter zwitteriónico de moléculas, etc.
- ❖ Interacciones **intermoleculares**: cercanía, distancia, disposición en fases cristalinas, puentes hidrógeno, distinción polimorfos, etc.

Secuencia de pulsos para obtener un espectro 2D

Figura 1. Forma general de una secuencia de pulsos 2D: períodos de preparación, evolución, mezcla, adquisición



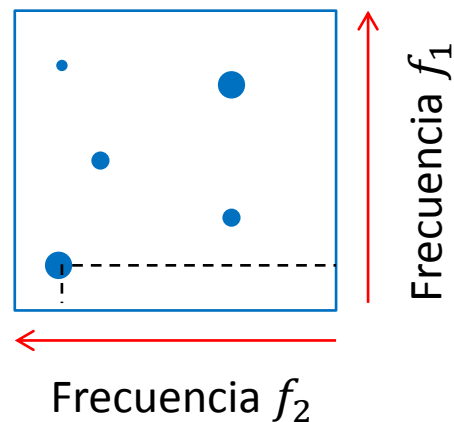
Señal en
dominio
temporal

$S(t_1, t_2)$ →

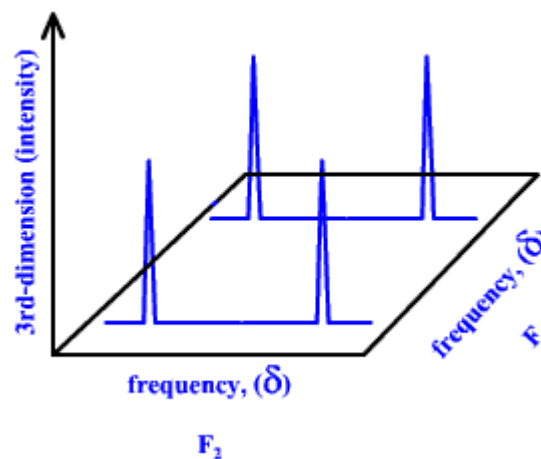
Transformada
Fourier 2D
(Doble
transformada)

Espectro 2D de
frecuencias

$\tilde{S}(f_1, f_2)$



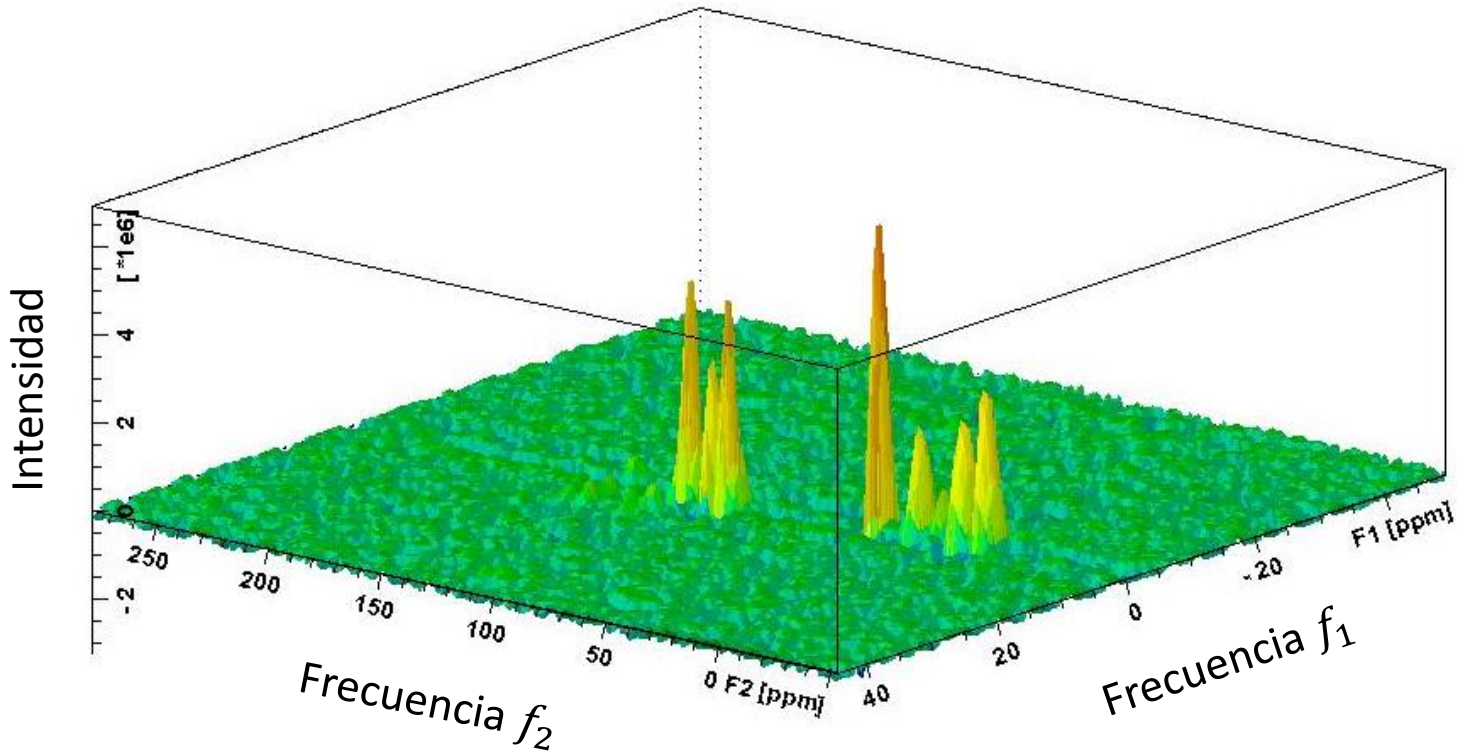
Esquemáticamente



Dimensión del
experimento
TD1xTD2xNS

Tiempo del
experimento:
TD1x(NSx4 T1)

Figura 2. Gráfico 3D . Intensidades en función de las frecuencias f_1 y f_2



Frecuencia f_2 : Dimensión directa (adquisición), corrimientos químicos

Frecuencia f_1 : Dimensión indirecta (correlación): corrimientos químicos, frecuencia del acople dipolar asociado, sumas de corrimientos químicos, etc

Tercera dimensión: intensidad de las correlaciones

Tabla 1. Algunas secuencias usadas frecuentemente en sólidos para espines 1/2

Nombre-Acrónimo	Objetivo, Nombre, Núcleos	Referencia	Condiciones experimentales	Resultado
2D HETCOR	<p>Heteronuclear correlation.</p> <p>Correlación heteronuclear por medio de interacción dipolar.</p> <p>$^1\text{H} - ^{13}\text{C}$ $^1\text{H} - ^{15}\text{N}$ $^1\text{H} - ^{19}\text{F}$</p>	<p>B.J. van Rossum, H. Forster, H.J.M. de Broot, J. Magn. Reson. 124 (2) (1997) 516–519.</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Abundancia natural. • Velocidades de rotación $\omega_R \sim 10$ kHz (alta res. ^{13}C) • Evolución con t1 desacople homonuclear (FSLG) • CP. Tiempo de contacto corto (100 us-500 us) solo primeros vecinos. • Duración total aprox. >12 hs. 	<ul style="list-style-type: none"> • En ambas dimensiones, espectros de alta resolución de los núcleos (^{13}C, ^1H) • Interacción por medio de distancia, • Asignaciones.

Nombre-Acrónimo	Objetivo, Nombre, Núcleos	Referencia	Condiciones experimentales	Resultado
REPT-HMQC	<p>Recoupled polarization transfer - heteronuclear multiple quantum correlation.</p> <p>Correlación heteronuclear por acople dipolar.</p> <p>Altas velocidades MAS.</p> <p>$^1\text{H} - ^{13}\text{C}$ $^1\text{H} - ^{15}\text{N}$ $^1\text{H} - ^{19}\text{F}$</p>	<p>K. Saalwächter, R. Graf, H.W. Spiess, J. Magn. Reson. 140 (2) (1999) 471–476.</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Abundancia natural. • Velocidades de rotación altas ($\omega_R > 30$ kHz) • Desacople homonuclear (por altas ω_R) • Recoupling de interacción dipolar heteronuclear con pulsos π • Dimensiones intercambiables. 	<ul style="list-style-type: none"> • En ambas dimensiones espectros de alta resolución de los núcleos. • Correlaciones dependen del tiempo de recoupling (un período, dos períodos).

Nombre-Acrónimo	Objetivo Nombre	Referencia	Condiciones experimentales	Resultado
<p>DQ-MAS</p>	<p>Double quantum MAS.</p> <p>Correlación homonuclear por medio de acople dipolar (coherencias dobles).</p> <p>$^1\text{H} - ^1\text{H}$ $^{31}\text{P} - ^{31}\text{P}$</p>	<p>Feike.. Spiess, et al., Journ. Magn. Reson. A, 122, pag. 214 (1996)</p> <p>S.P. Brown, H.W. Spiess, Chem. Rev. 101 (12) (2001) 4125–4156.</p> <p>S.P. Brown, Solid State Nuclear Magnetic Resonance 41(2012)1–27.</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Altas Velocidades de rotación ($\omega_R > 30$ kHz) y campo magnético alto (9 T o más) para obtener desacople homonuclear de ^1H. • Tiempo total del experimento 1h aprox. • Tiempos de excitación cortos. 	<ul style="list-style-type: none"> • Espectro de alta resolución en la dimensión single quantum (ω_1). • Segunda dimensión, suma de las frecuencias de núcleos que correlacionan ($\omega_1 + \omega_2$). • Diagonal, autocorrelación ($\omega_A, 2\omega_A$) • Correlación indica distancias entre 2-3.5Å

Nombre-Acrónimo	Objetivo, Nombre, Núcleos	Referencia	Condiciones experimentales	Resultado
<p>WISE</p>	<p>Wideline separation.</p> <p>Heterogeneidad en polímeros. Correlación de la dimensión de ^{13}C (cs) con movilidad segmental en la dimensión de ^1H (ancho de línea)</p> <p>$^1\text{H} - ^{13}\text{C}$</p>	<p>Schmidt-Rohr K, Clauss J, Spiess HW. <i>Macromolecules</i> 1992;25:3273.</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Abundancia natural. • Velocidades de rotación $\omega_R \sim 4-5$ kHz (para no afectar línea ^1H) • CP. Tiempo de contacto corto (100 us-500 us) • No hay desacople homonuclear. • Duración total aprox. 9 hs. 	<ul style="list-style-type: none"> • Espectro sólidos ^1H estático asociado a diferentes sitios. • Ancho de línea de ^1H relación con la interacción dipolar media entre ^1H (segundo momento)

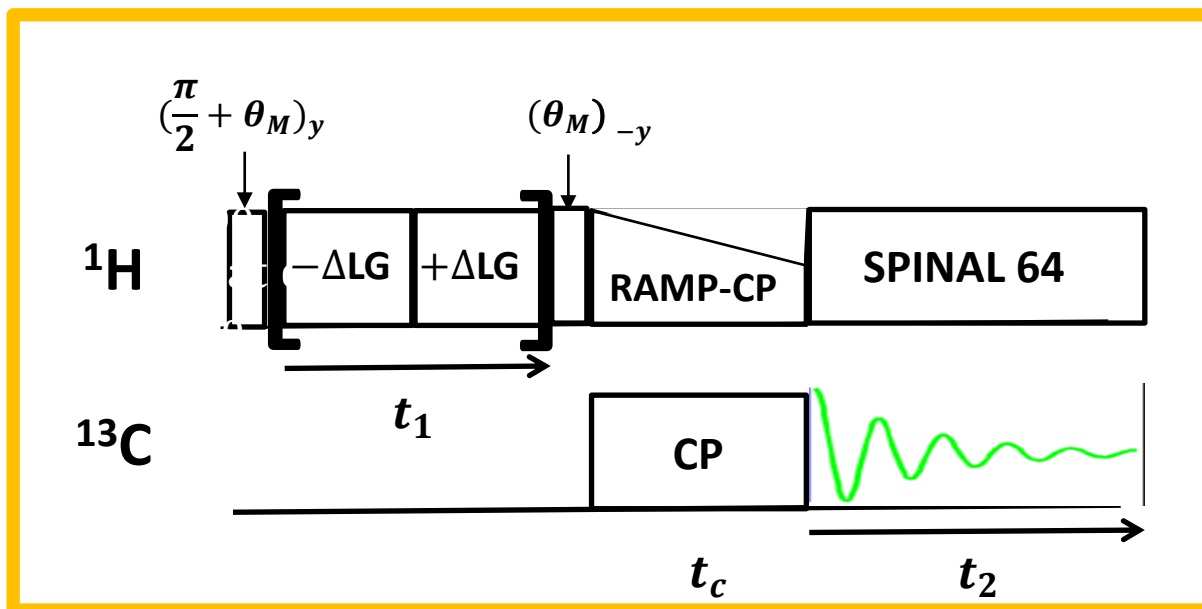


2D HETCOR Heteronuclear Correlation

^1H - ^{13}C HETCOR

La principal motivación para realizar un experimento 2D ^1H – ^{13}C HETCOR es la determinación e identificación de corrimientos químicos de los ^1H acoplados a carbonos particulares.

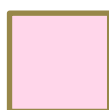
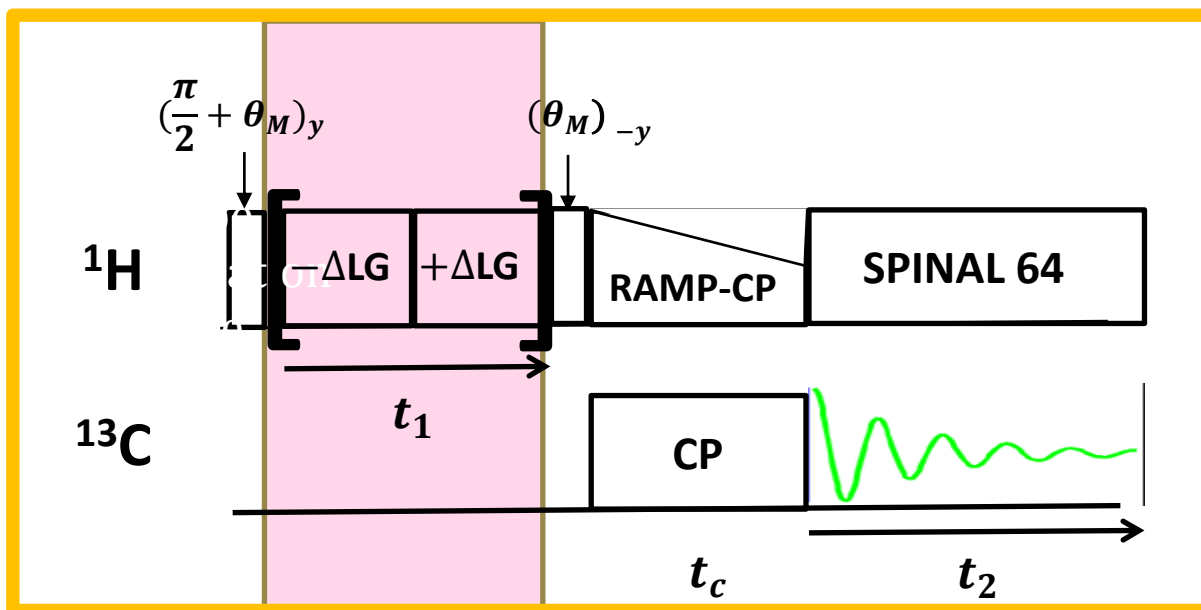
De esta forma, la correlación entre las señales de alta resolución de estos hetero-núcleos, se establece a partir de la observación de picos cruzados, lo que revela una proximidad especial entre los sitios correspondientes.



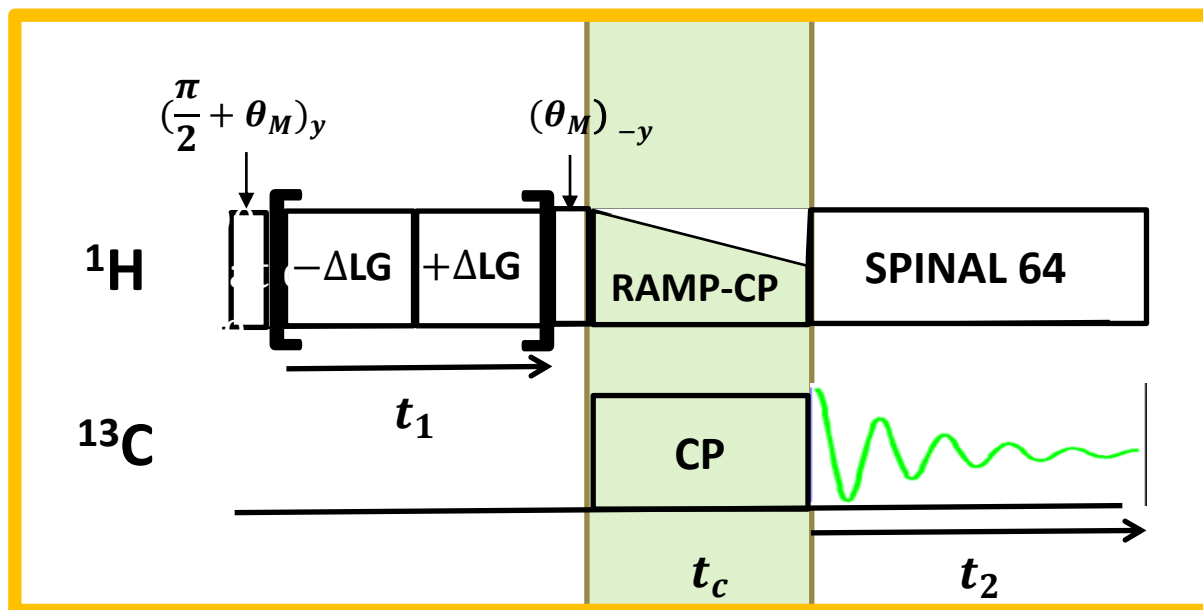
A tener en cuenta..:

- Se trabaja sobre dos núcleos diferentes: ^1H (H), ^{13}C (X). Distintas partes de la secuencia requieren la irradiación de dos núcleos diferentes a la frecuencia de Larmor de cada núcleo (300,13 para ^1H , 75,468 para ^{13}C a 7 T). Para ello se necesita un generador para dos frecuencias diferentes y un cabezal (probe) que permite sintonizar simultáneamente las dos frecuencias.
- Como en la CP, se adquiere sobre ^{13}C (t_2). Por eso, la dimensión directa (f_2) corresponde a la frecuencia de carbonos .
- El experimento se realiza rotando (MAS) para obtener alta resolución en el núcleo diluído (generalmente 10 kHz)

¿Qué realiza cada parte de la secuencia?

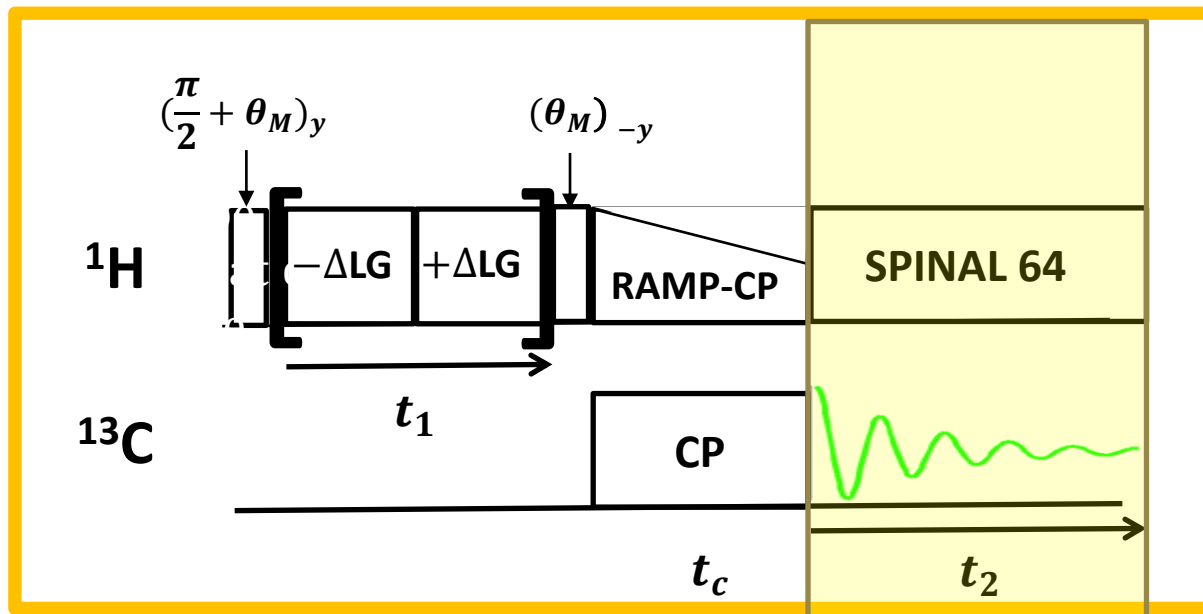



Evolución de la magnetización de ^1H en el plano xy durante un dado tiempo t_1 , en presencia de un campo magnético durante irradiación de Lee-Goldburg. Esta irradiación *off-resonance* permite el desacople homonuclear. Por lo tanto la magnetización de ^1H precesiona solamente con los corrimientos químicos y no con el acople dipolar. Eso permite que, al transformar Fourier, se obtenga un espectro de altas resolución de ^1H en la dimensión indirecta



- Se realiza un paso de polarización cruzada CP, para transferir la magnetización de ^1H a ^{13}C . El tiempo de contacto t_c es pequeño a fin de que se transfiera magnetización solo a los vecinos cercanos. Recordar que durante la CP está activa la interacción dipolar heteronuclear y es en este paso donde los ^1H se conectan y correlacionan con los ^{13}C cercanos.

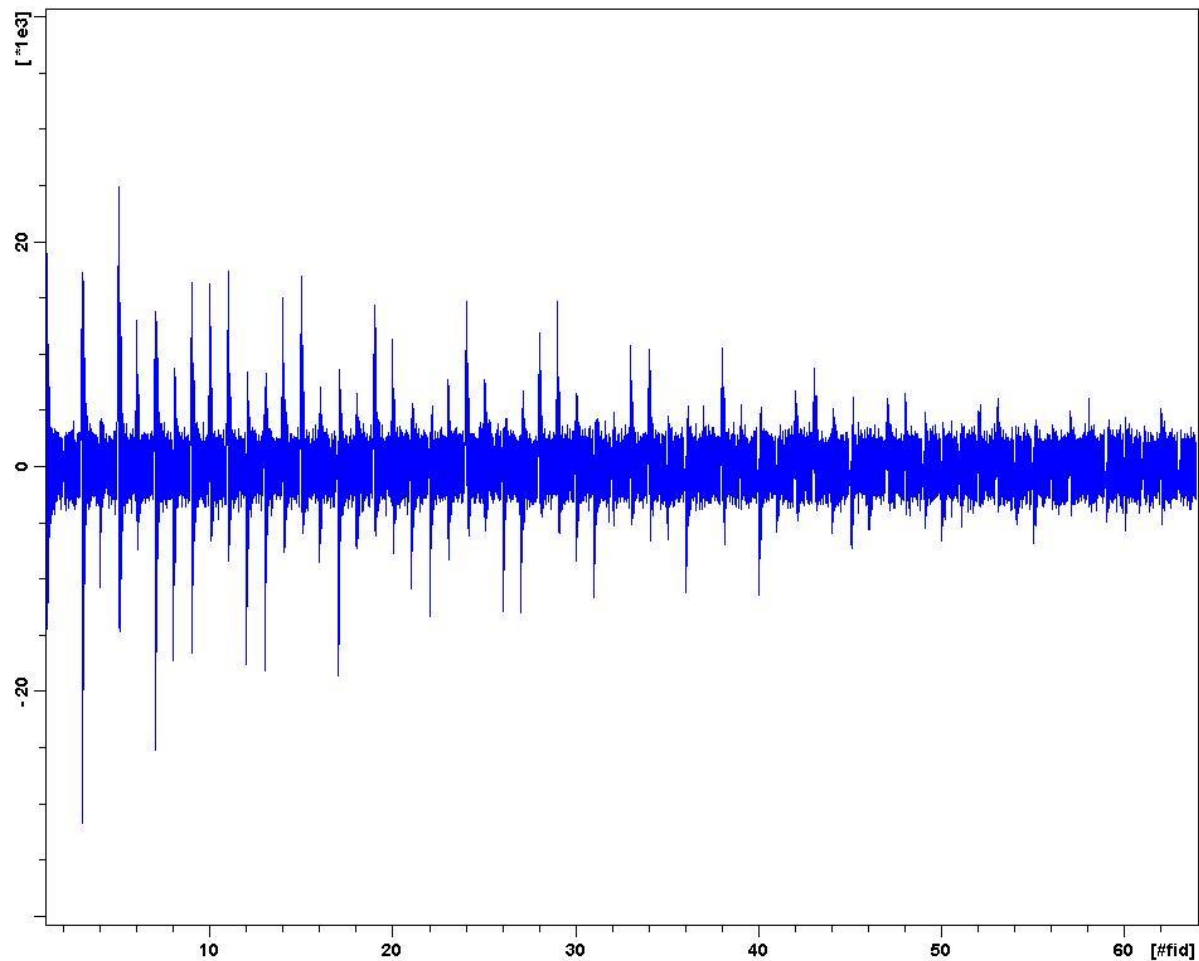
¿Qué realiza cada parte de la secuencia?



 Se adquiere la magnetización de ^{13}C con desacople heteronuclear durante t_2 para observar un espectro de alta resolución en ^{13}C .

- Velocidad de rotación (10 KHz)
- CP con tiempo de contacto usualmente corto (200 -500 μs)
- Irradiación de Lee-Goldburg (seteo en Glicina)
- Variación de t_1 , se hace en bloques $2\text{Pi}/\omega\text{LG}$, del orden de 7 μs . $\text{TD1} = 2^N$ (32, 64) para poder hacer transformada 2D.
- Secuencia de Desacople (SPINAL 64, TPPM) durante adquisición (t_2)
- Valor de T_1 (relajación spin-red de ^1H). Recycling-delay $D_1 = 5 * T_1$ (del orden de 5 seg)
- NS aprox 200. Número de escanes para obtener un espectro de ^{13}C aceptable con tiempo de contacto corto y que el exp total no sea excesivamente largo.
- Tiempo total del experimento: $\text{NS} * \text{TD1} * D_1 \sim 18 \text{ hs}$
- La resolución en ^1H no se logra por la vel. de rotación sino por el desacople homonuclear durante t_1

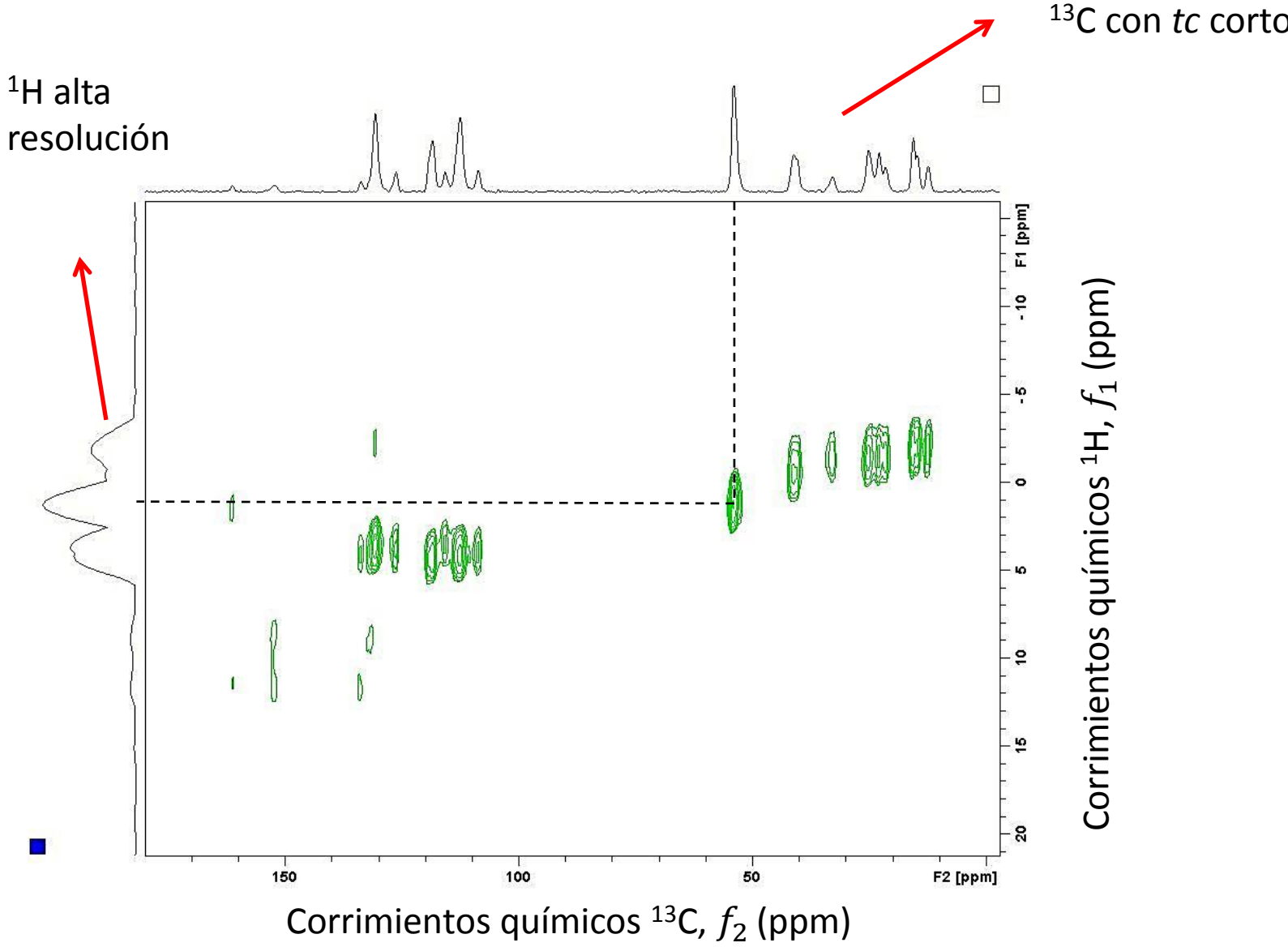
Resultado de un experimento



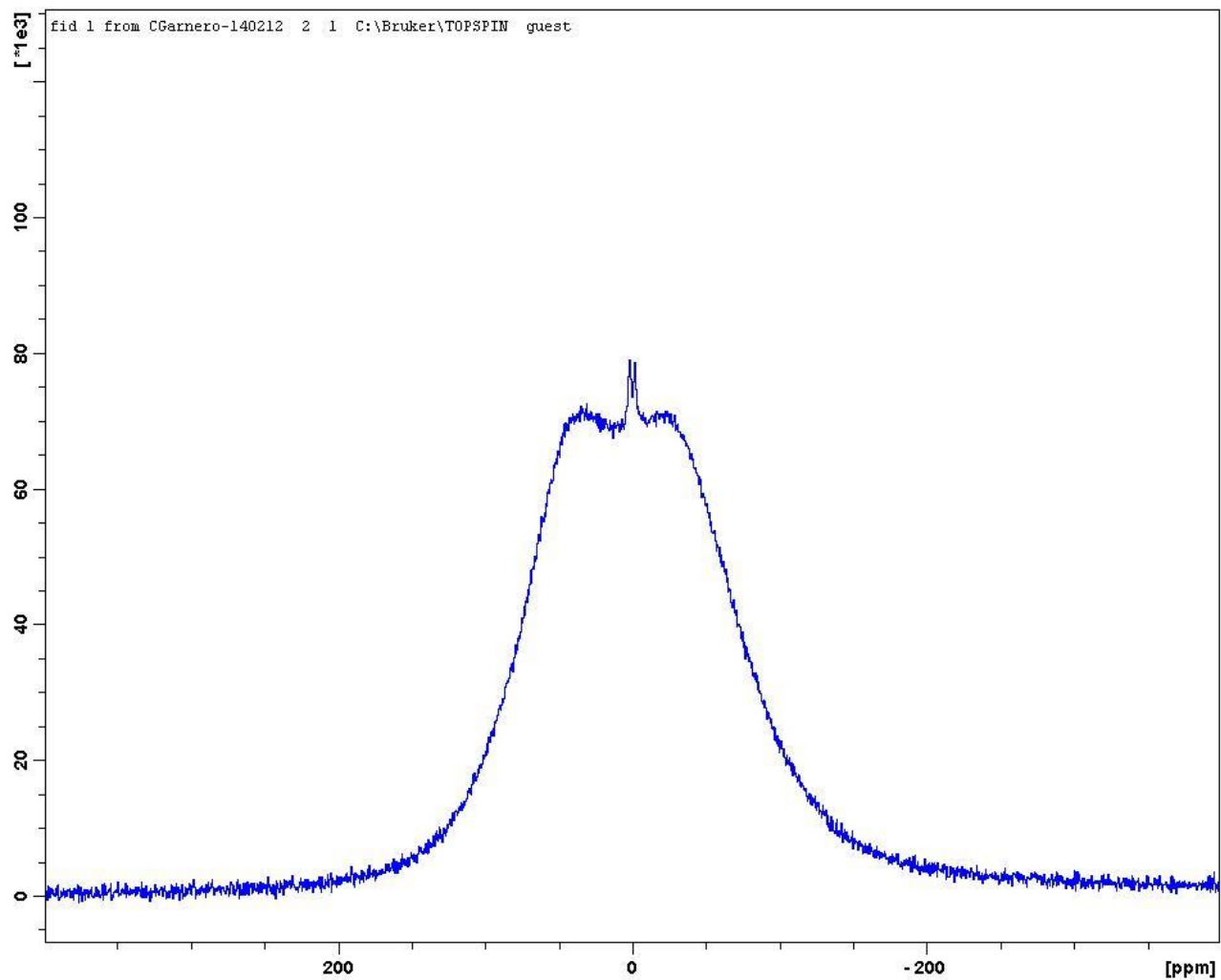
Una señal compuesta por (TD1) FIDs de ^{13}C

^1H - ^{13}C HETCOR

Haciendo la transformada de Fourier 2D...obtenemos



Espectro ^1H estático



Notar que...

- ✓ Es necesario referenciar el espectro HETCOR tomando un experimento de algo conocido (tirosina)
- ✓ Los corrimientos químicos de ^1H se obtienen proyectando los ppm de ^1H con mayor intensidad para una dada correlación (tienen un cierto margen de error).
- ✓ Al utilizar tiempos de contacto cortos, se observan solo los protones que tienen «cerca» un ^{13}C . Si no hay protones asociados a un cierto ^{13}C , el ^{13}C ni el ^1H se observan.
- ✓ La presencia de una correlación indica una interacción fuerte (y cercanía) entre los núcleos correspondientes.

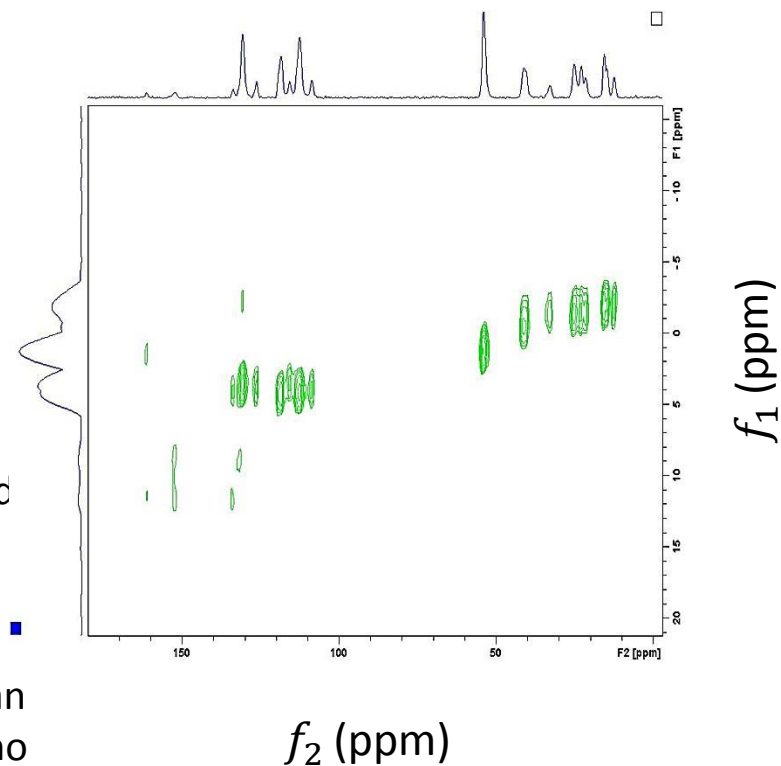


Tabla 1. Algunas secuencias usadas frecuentemente en sólidos para espines 1/2

Nombre-Acrónimo	Objetivo, Nombre, Núcleos	Referencia	Condiciones experimentales	Resultado
2D HETCOR	<p>Heteronuclear correlation.</p> <p>Correlación heteronuclear por medio de interacción dipolar.</p> <p>$^1\text{H} - ^{13}\text{C}$ $^1\text{H} - ^{15}\text{N}$ $^1\text{H} - ^{19}\text{F}$</p>	<p>B.J. van Rossum, H. Forster, H.J.M. de Broot, J. Magn. Reson. 124 (2) (1997) 516–519.</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Abundancia natural. • Velocidades de rotación $\omega_R \sim 10$ kHz (alta res. ^{13}C) • Evolución con t1 desacople homonuclear (FSLG) • CP. Tiempo de contacto corto (100 us-500 us) solo primeros vecinos. • Duración total aprox. >12 hs. 	<ul style="list-style-type: none"> • En ambas dimensiones, espectros de alta resolución de los núcleos (^{13}C, ^1H) • Interacción por medio de distancia, • Asignaciones.

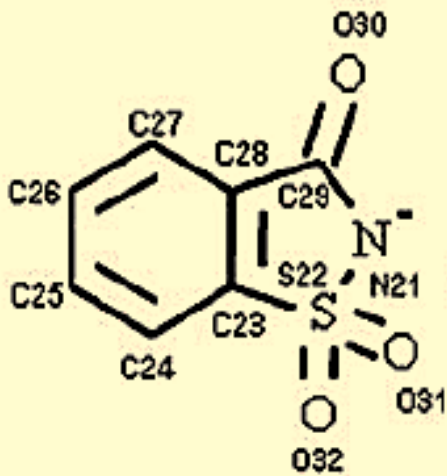


Aplicaciones

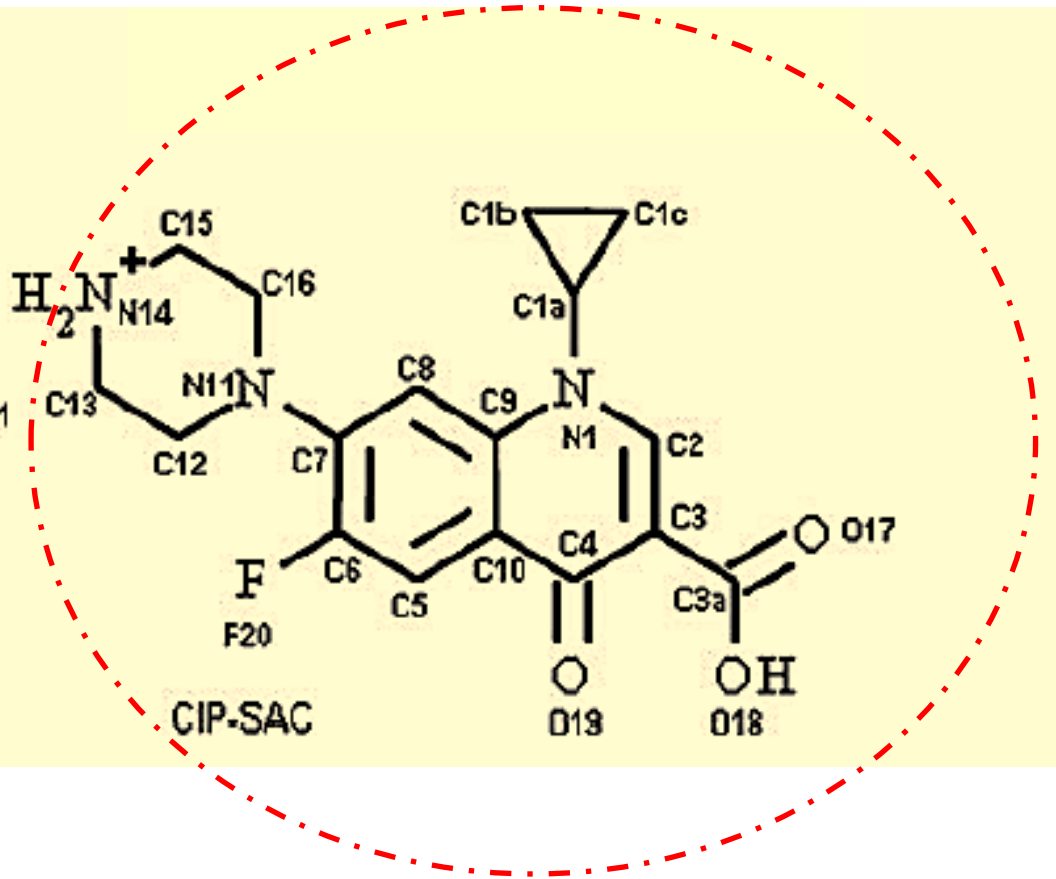
Aplicaciones de 2D HETCOR en sólidos:

- Principio activo, compuestos cristalinos o amorfos,
- Polimorfismo,
- Tautomerismo,
- Desmotropía,
- Compuestos multicomponentes; dispersiones, sales, co-cristales,
- Complejos de inclusión (fármaco-cyclodextrina)
- Polímeros,
- Complejos polímero-metales,
- etc,

1) Sacarinato de ciprofloxacina (CIP-SAC) (sales)



SACARINA



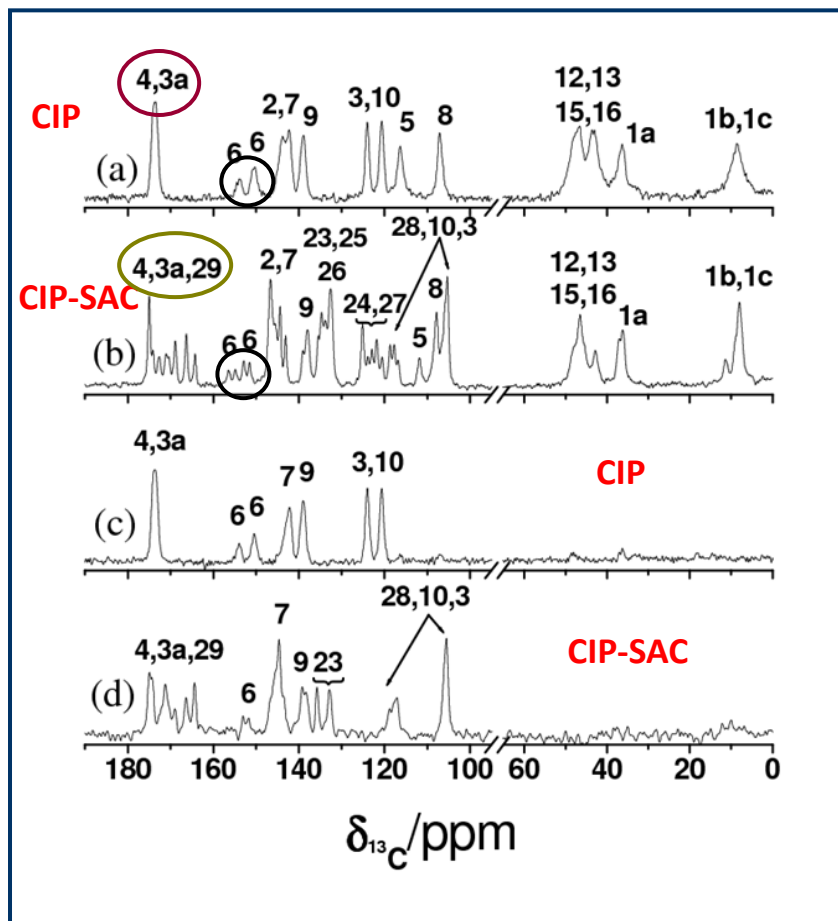
CIP-SAC

CIPROFLOXACINA

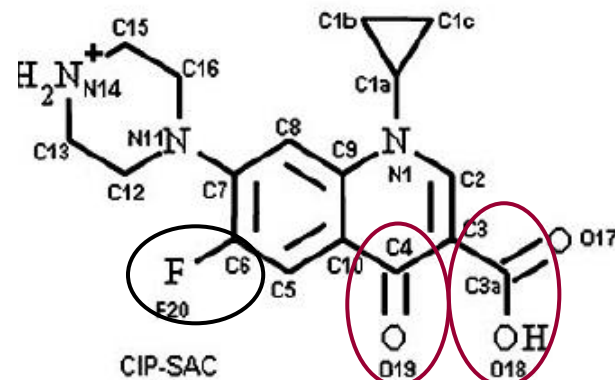
1) Sacarinato de ciprofloxacina (CIP-SAC)

- Ciprofloxacina es un antibiótico fluoroquinolónico de amplio espectro muy usado en el tratamiento de varios tipos de infecciones
- Baja solubilidad acuosa y gusto amargo limitan su biodisponibilidad
- Con el objetivo de superar estas desventajas se prepararon sales de sacarinato de ciprofloxacina
- Fueron exhaustivamente estudiadas en estado sólido (RX, FTIR, DSC-TGA, RMN)
- **Referencias: a)** C.B. Romañuk et al. / International Journal of Pharmaceutics 391 (2010) 197–202, **b)** C. B. Romañuk et al, Journ Pharm Sci, vol 98, pag 3788, (2009)

1) Sacarinato de ciprofloxacina (CIP-SAC)



(a,b) Espectros ^{13}C CP-MAS. (c,d) Espectros de edición de carbonos cuaternarios y CH_3 .



Cambios en multiplicidad y corrimientos químicos

Los sacarinos no son la suma de los precursores

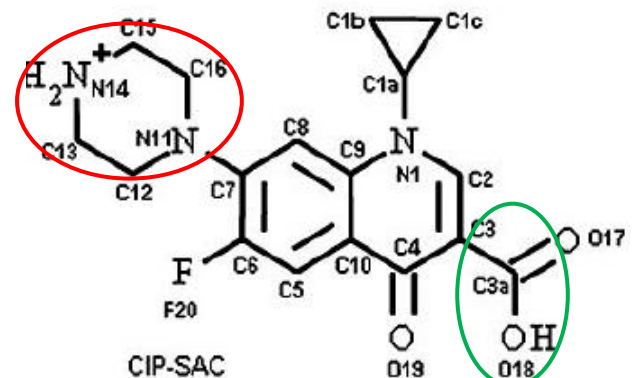
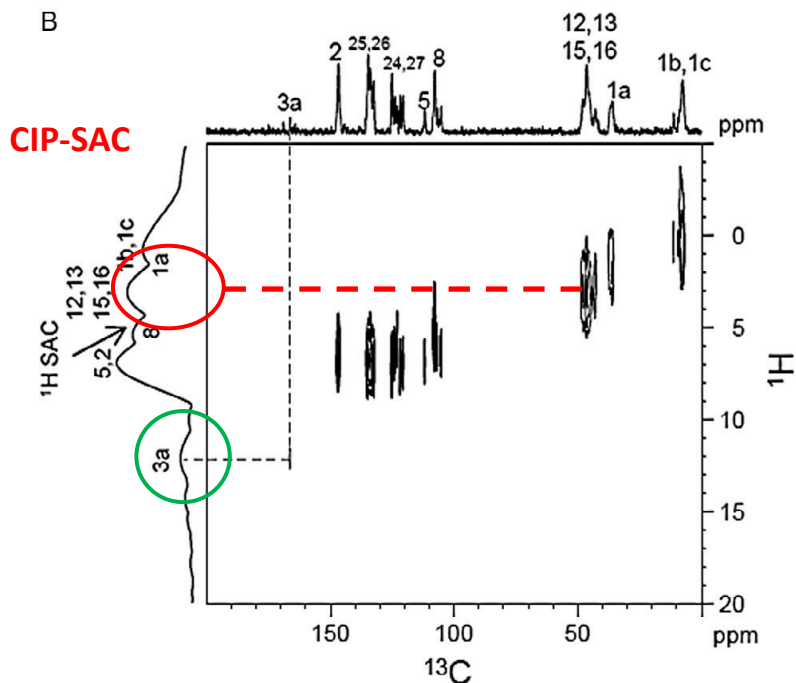
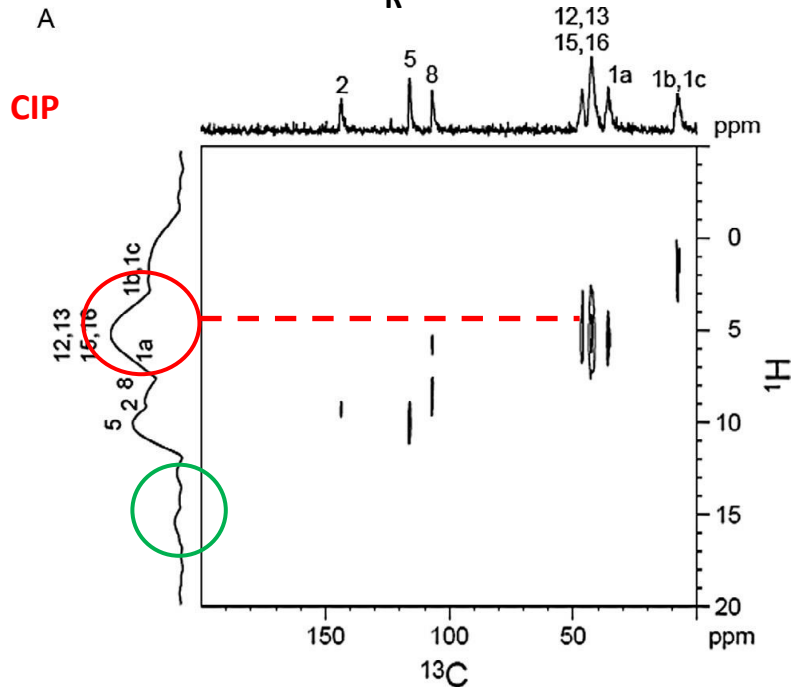
No se observan residuos de los precursores en los nuevos compuestos

Se puede observar un corrimiento a ppm más altos del carbonilo C(29) luego de la formación del sacarinato. Este corrimiento puede relacionarse con la formación de la sal, de acuerdo a los resultados obtenidos por FTIR

C(4) y C(3a) en CIP aparecen superpuestos indicando el carácter zwitterionico de CIP

Hay más de una molécula por celda asimétrica en CIP-SAC.

2D ^1H - ^{13}C HETCOR $\omega_R = 10$ kHz



- El protón del grupo carboxilato H(3a), aparece en CIP-SAC haciendo posible la asignación de C(3a).
- En el espectro de ^1H correspondiente a CIP, H(3a) no está presente, lo cual está de acuerdo con el carácter zwitteriónico del compuesto. Este protón del grupo carboxilato aparece en el espectro de CIP-SAC, confirmando que el carácter zwitteriónico es revertido luego de la formación de la sal.
- Notar que los H de grupos OH no son en general observados en solución debido a su rápido intercambio
- En el espectro de ^1H de CIP-SAC la señal del grupo piperazina está corrida a ppm más altos (alrededor de 1-2 ppm). Esto está de acuerdo con la interacción iónica previamente observada por IR.

1) Sacarinato de ciprofloxacina (CIP-SAC)

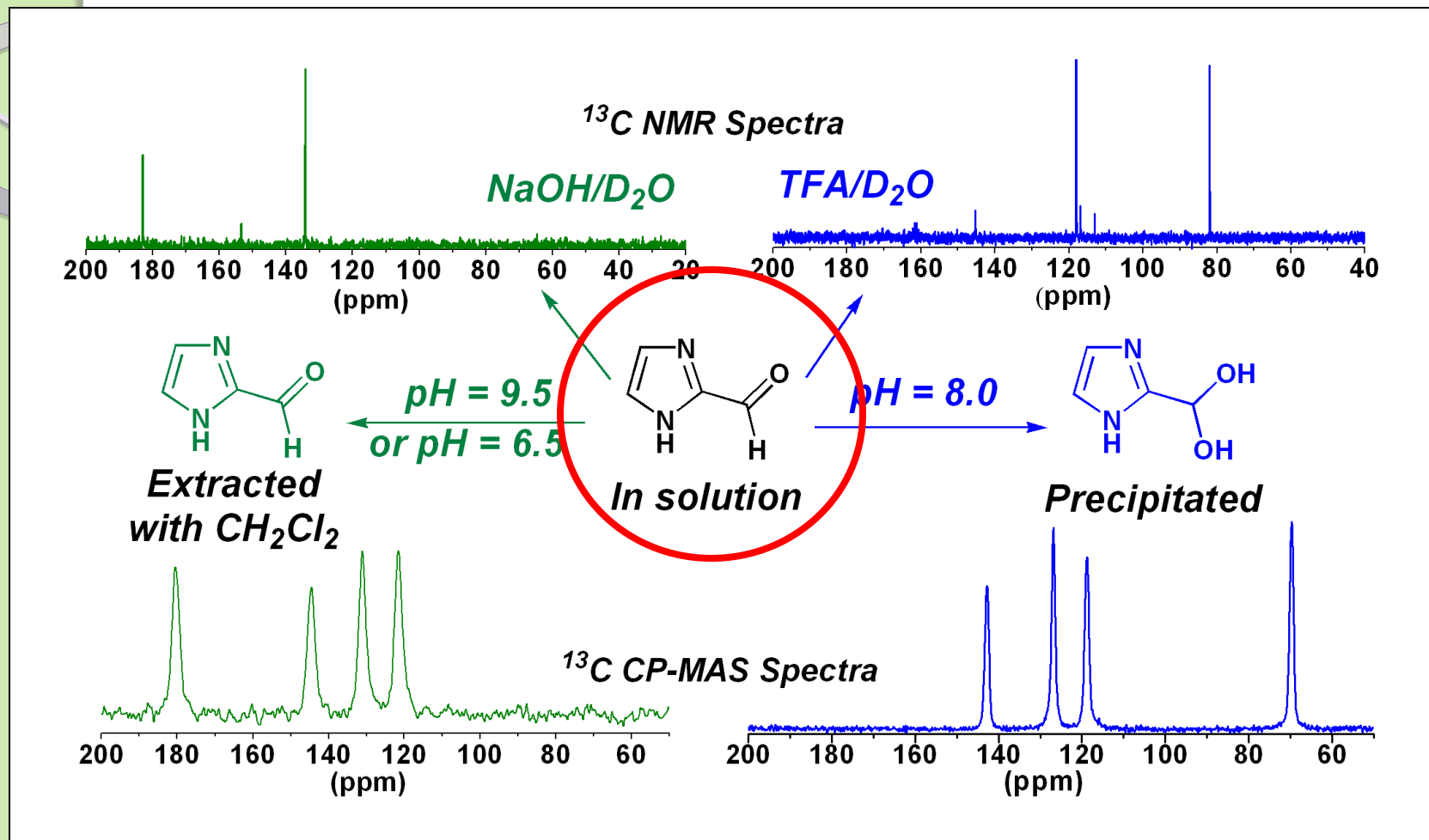
2) Imidazole-2-carboxaldehyde

- Muy utilizado en la síntesis de compuestos farmacéuticos
- Los derivados de Imidazole sintetizados a partir de **1** tienen relevancia en medicina - química.
- Se estudió la existencia y estabilidad de las formas **hidrato vs. aldehído**.
- **Referencia:** Juan Manuel Lázaro Martínez. *Journal of Organic Chemistry* 2010, 75, 3208-3213.

Imidazole-2-carboxaldehyde (1)

Forma Aldehido

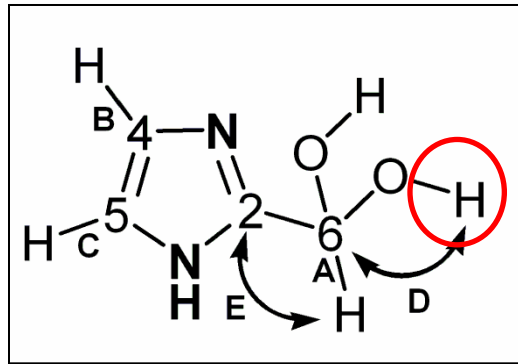
Forma Hidrato



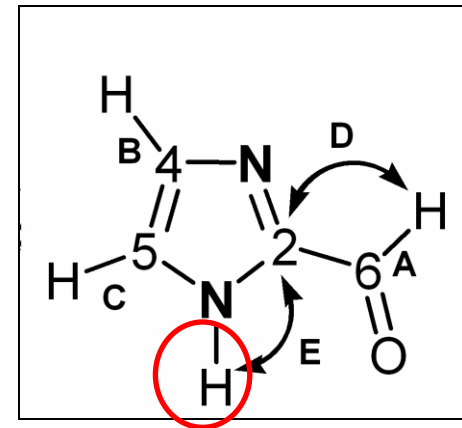
La forma hydrate (**1a**) es estable y precipitó en una solución a pH = 8.0, mientras que la forma aldehído fue aislada a pH = 6.5 and 9.5.

2) Imidazole-2-carboxaldehyde

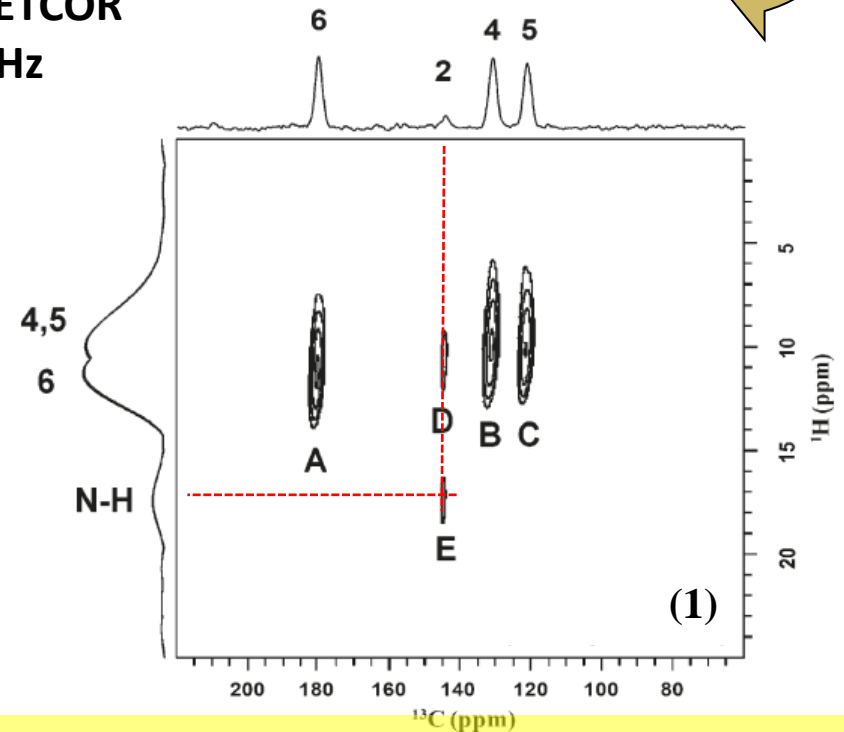
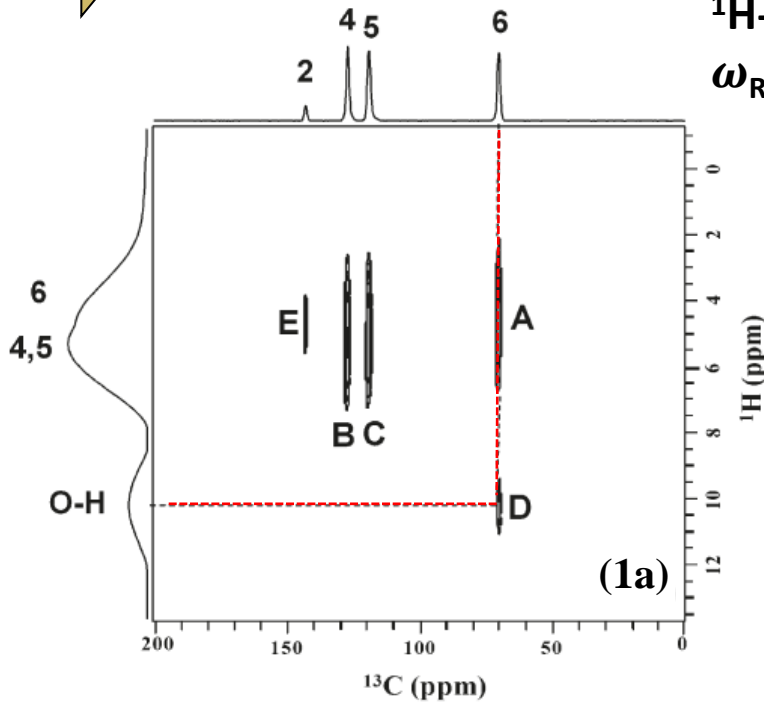
Hydrate Form



Aldehyde Form



^1H - ^{13}C HETCOR
 $\omega_R = 10 \text{ kHz}$



«C6 cambia de corrimiento químico y de correlaciones. HETCOR ayuda en asignación e identificación.»

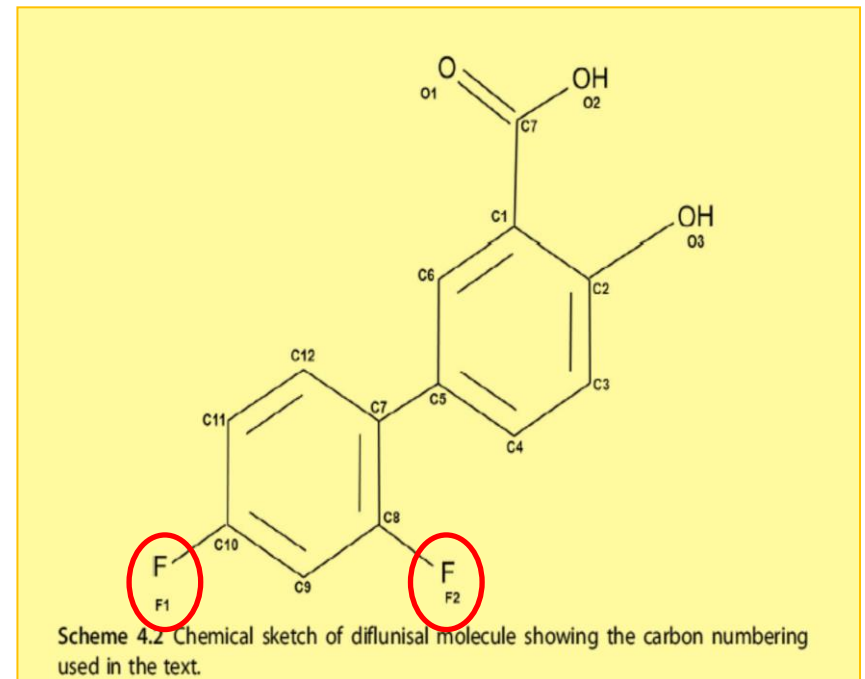
3) Complejos de inclusión Diflunisal y β -ciclodextrina (β -CD)



Estos complejos mejoran las propiedades de los fármacos: solubilidad, biodisponibilidad, estabilidad, etc

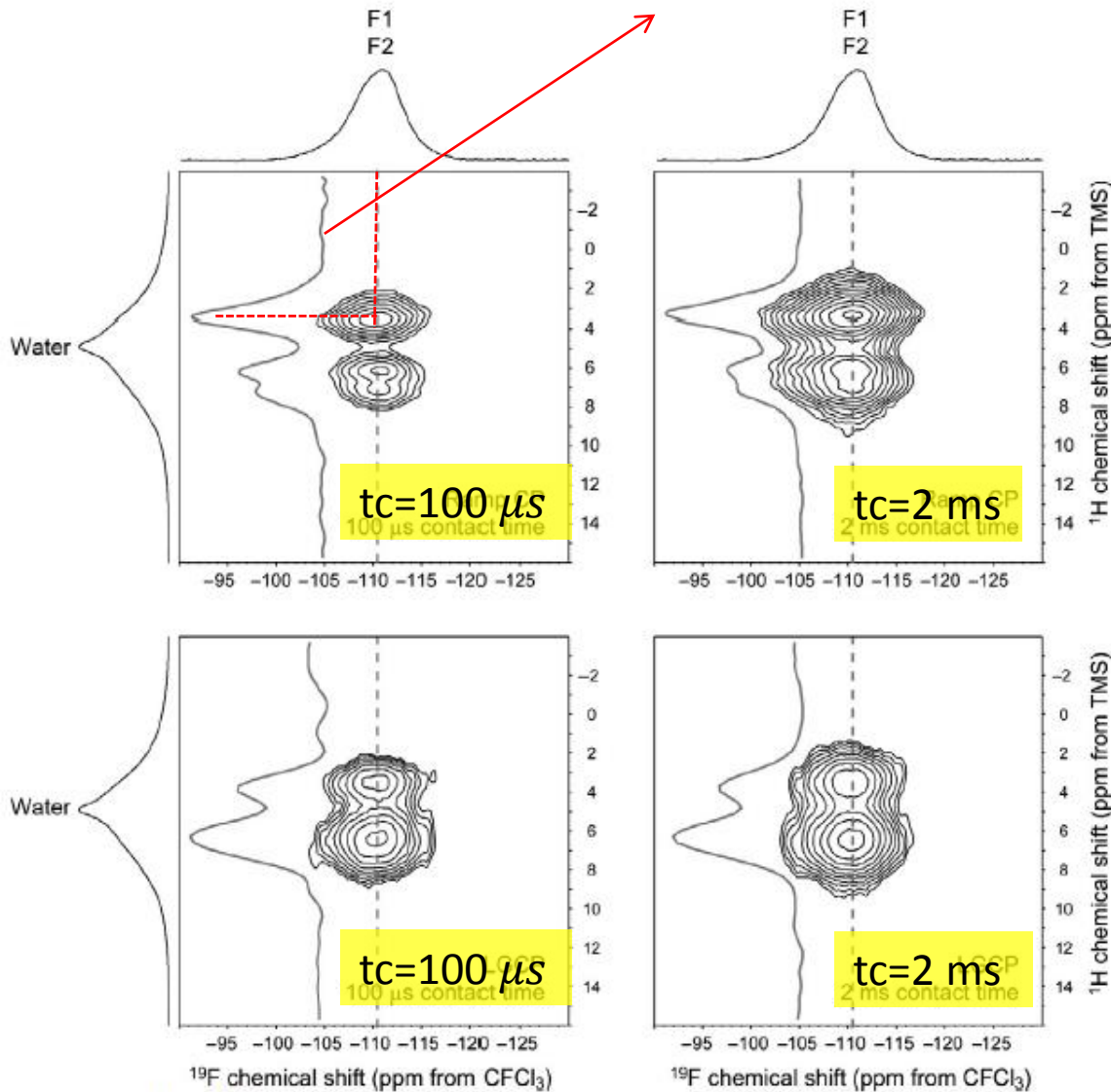
- Utilizan una serie de experimentos 2D heteronucleares y homonucleares en distintos núcleos para estudiar la *inclusión del fármaco en la cavidad de la CD*.
- Núcleos: ^1H , ^{13}C , ^{19}F , ^{31}P

Referencia: F. Vogt et al. Mol Pharm, vol. 9, pag. 3357, (2012)



3) Complejos 1:2 diflunisal/ β CD

Proyecciones



^1H - ^{19}F HETCOR
 $\omega_R = 15 \text{ kHz}$
11.2 T

^1H - ^{19}F LG
HETCOR
 $\omega_R = 30 \text{ kHz}$
11.2 T

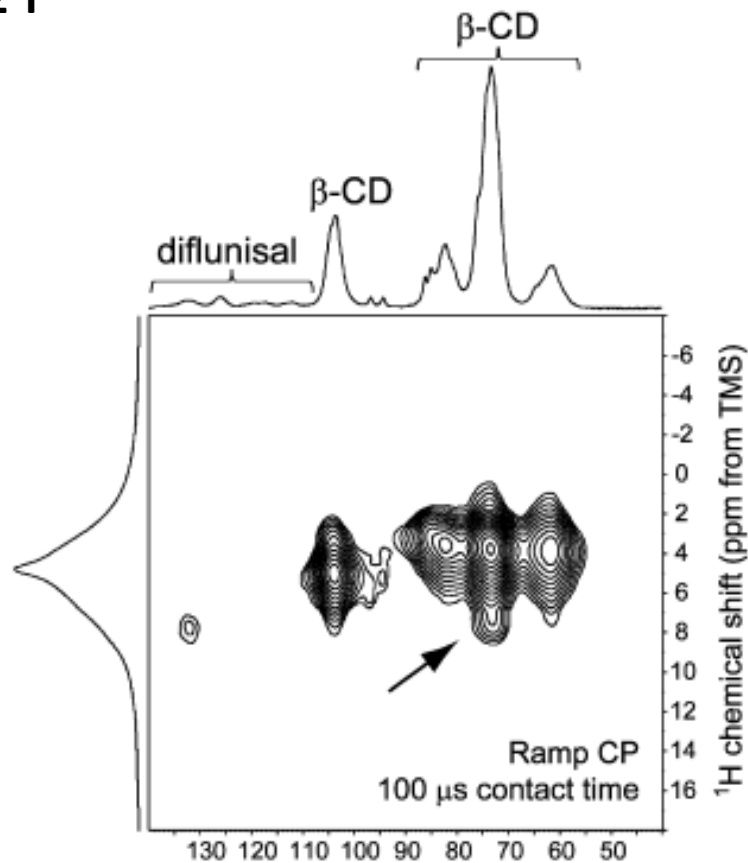
Correlaci3n a t_c bien cortos indica una fuerte cercan3a entre los 1H de la CD y F1 y F2 del Diflunisal

3) Complejos de inclusión Diflunisal y β -ciclodextrina (β -CD)

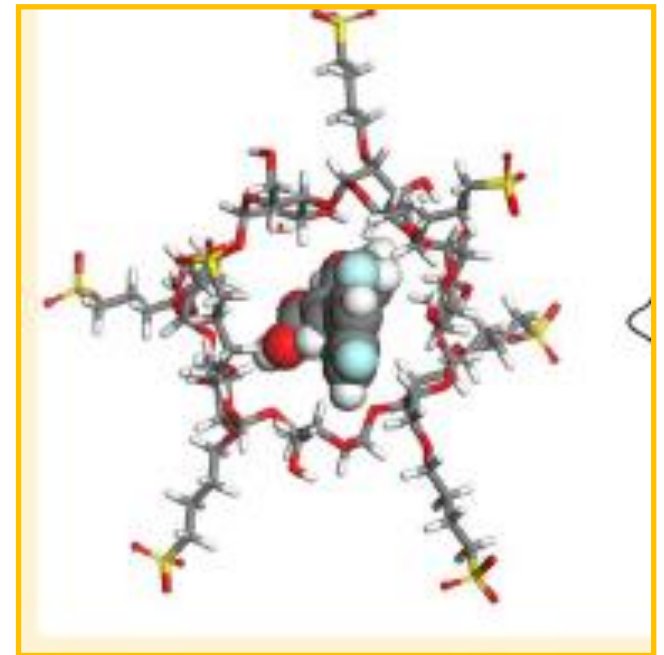
^1H - ^{13}C HETCOR

$\omega_R = 15$ kHz

11.2 T



La interacción de carbonos de bCD y ^1H del fármaco dan evidencia de inclusión



4) Co-cristales de tenoxicam y sacarina

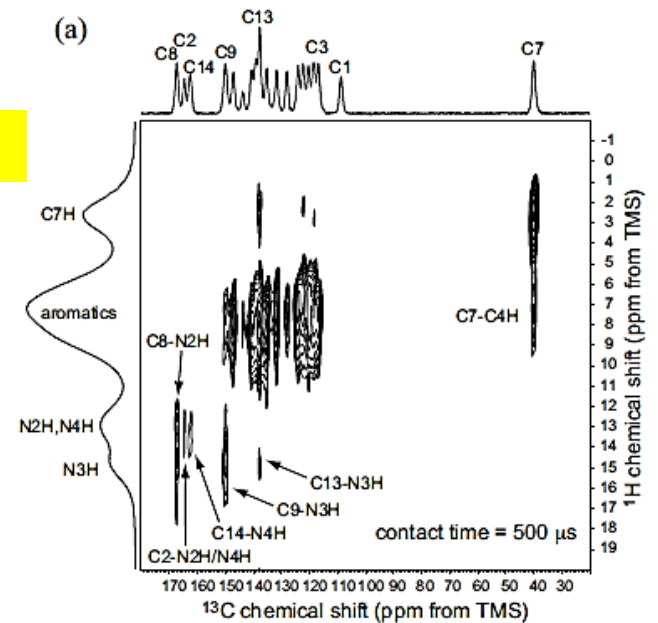
^1H - ^{13}C HETCOR

$\omega_R = 15$ kHz

11.2 T

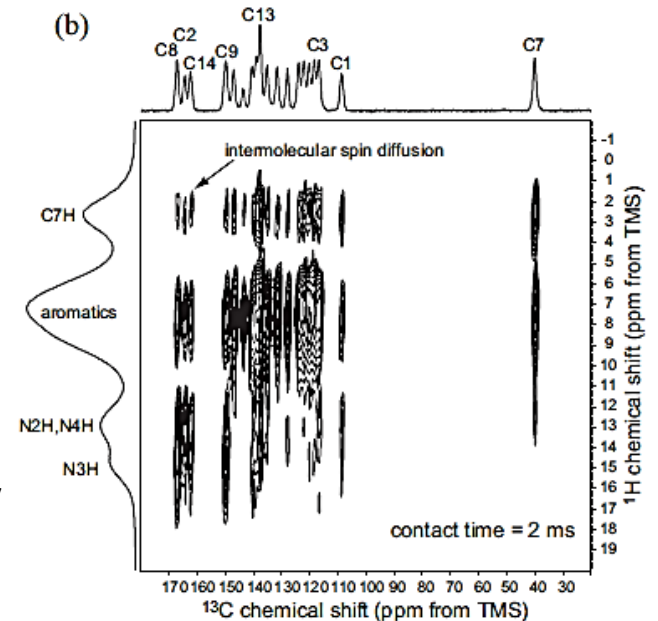
$$t_c = 500 \mu\text{s}$$

- Asociación del orden de 2A (primeros vecinos)
- Permite obtener asignación precisa de las señales
- identificar grupos NH que intervienen en puentes H



$$t_c = 2 \text{ ms}$$

- Asociación del orden de $\sim 11\text{A}$
- Correlaciones permiten observar difusión de espines y correlaciones intermoleculares entre el tenoxicam y sacarina

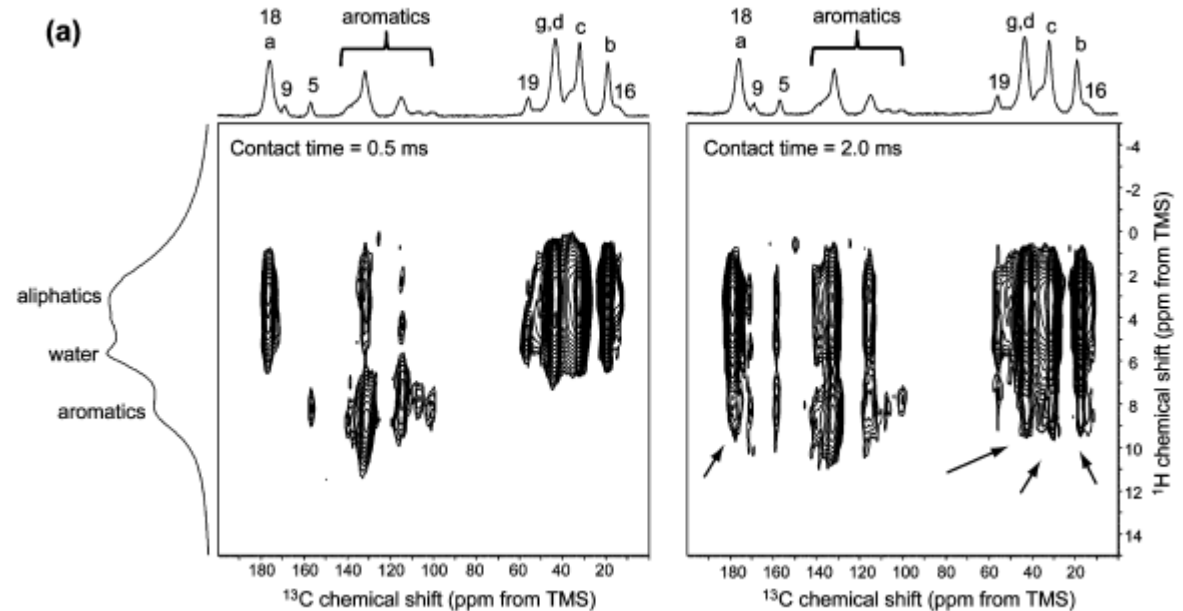


Referencia: J. R. Patel et. al, Int. J. Pharm., vol. 436, pag 685, (2012)

Fig. 7. 2D ^1H - ^{13}C CP-HETCOR spectra ($\nu_r = 12.5$ kHz) of tenoxicam-saccharin obtained at contact times of $500 \mu\text{s}$ (a) and 2 ms (b). The ^1H MAS ($\nu_r = 35$ kHz) and ^{13}C CP-TOSS ($\nu_r = 8$ kHz) spectra are plotted along the F_1 (vertical) and F_2 (horizontal) dimensions, respectively. Several key correlations are noted on the spectra (see text). Spectra were obtained at 9.4 T and 273 K.


5) Dispersiones amorfas de indometacina (III) en PVP

^1H - ^{13}C HETCOR
 $\omega_R = 15$ kHz
11.2 T



Los espectros 2D a dos tiempos de contacto diferentes ayudan en la asignación de señales
Y determinación de interacciones a corto alcance entre el fármaco y el polímero.

Referencia: Tran N. Pham et. al, Mol. Pharm.,
vol. 7, pag 1667, (2010)



2D REPT-HMQC



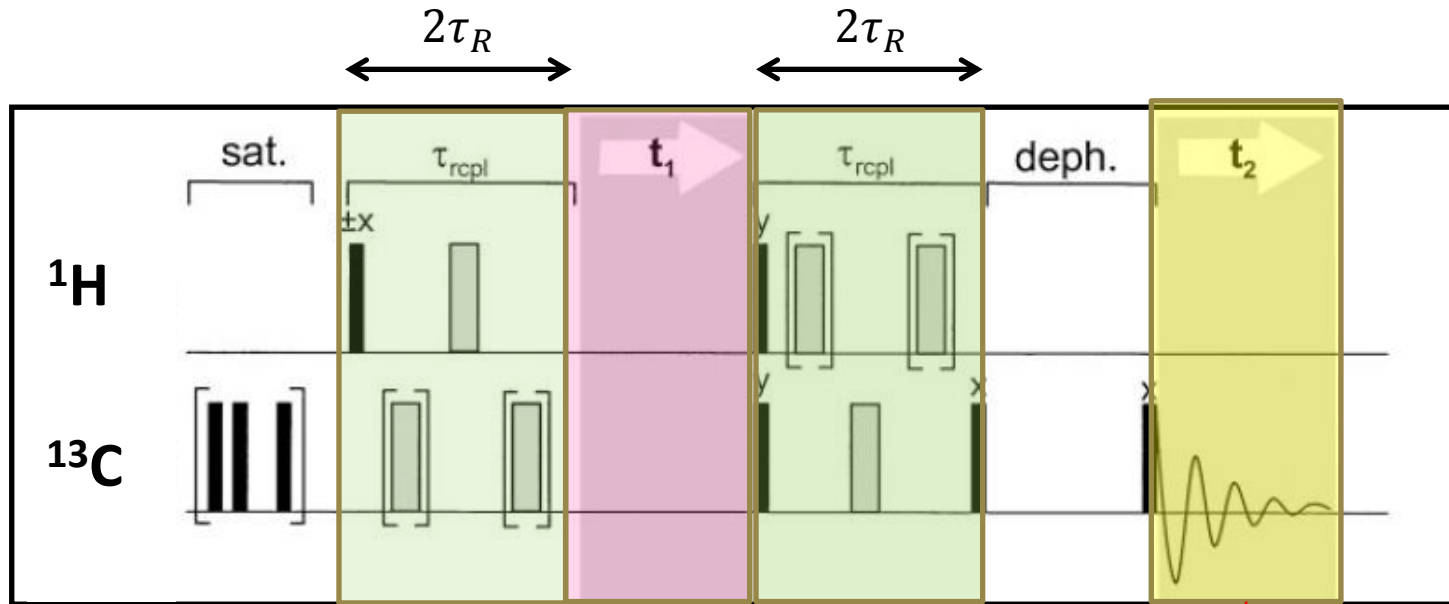
Objetivo similar a HETCOR:

1. Asignación de espectros
2. Obtención de alta resolución en ^1H
3. Correlaciones heteronuclear que permiten identificar interacciones intramoleculares e intermoleculares

Características:

1. Altas MAS $\omega_R > 25$ kHz (esto permite un desacople homonuclear y por otro lado es necesario re-introducir el acople heteronuclear)
2. Campo magnético alto
3. Tiempo de adquisición alrededor de 5 hs.

^1H - ^{13}C REPT-HMQC



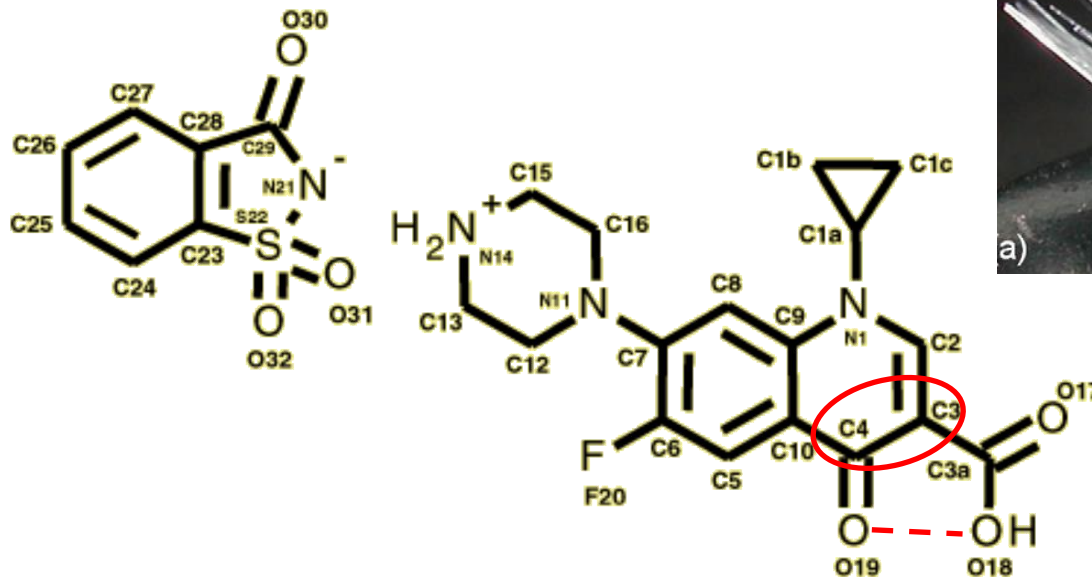
Evolución durante t_1 con CS de ^1H . Desacople homonuclear se produce por la alta ω_R

Los pulsos π re-introducen el acople dipolar heteronucler. Tiempo sincronizado con ω_R

Adquisición de ^{13}C durante t_2 (no es nec. desacople por altas ω_R)

Nombre-Acrónimo	Objetivo, Nombre, Núcleos	Referencia	Condiciones experimentales	Resultado
REPT-HMQC	<p>Recoupled polarization transfer - heteronuclear multiple quantum correlation.</p> <p>Correlación heteronuclear por acople dipolar.</p> <p>Altas velocidades MAS.</p> <p>$^1H - ^{13}C$ $^1H - ^{15}N$ $^1H - ^{19}F$</p>	<p>K. Saalwächter, R. Graf, H.W. Spiess, J. Magn. Reson. 140 (2) (1999) 471–476.</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Abundancia natural. • Velocidades de rotación altas ($\omega_R > 30$ kHz) • Desacople homonuclear (por altas ω_R) • Recoupling de interacción dipolar heteronuclear con pulsos π • Dimensiones intercambiables. 	<ul style="list-style-type: none"> • En ambas dimensiones espectros de alta resolución de los núcleos. • Correlaciones dependen del tiempo de recoupling (un período, dos períodos).

1) Aplicaciones: Polimorfismo en Sacarinato de Ciprofloxacina



CIP-SAC (II)

Existen dos polimorfos del compuesto multi-componente:

- CIP-SAC (I)
- CIP-SAC (II) (mono-cristal)

Referencia: Yamila Garro Linck et al, Phys. Chem. Chem. Phys., vol. 13, pag. 6590 (2011)

^1H - ^{13}C REPT – HMQC

$\omega_R = 25$ kHz

800 MHz

$$\tau_{recoupling} = \tau_R$$

- Correlaciones a distancia equivalente a 1 ligadura.
- Espectro de ^{13}C no muestra algunas señales.
- Asignación de espectro de ^1H .
- Se identificaron interacciones tipo $\pi - \pi$

$$\tau_{recoupling} = 2\tau_R$$

- Se observan e identifican carbonos cuaternarios.
- Interacción iónica CIP-SAC por corrimientos en grupo piperazina
- Puente H observado a través de C(3) y C(4)

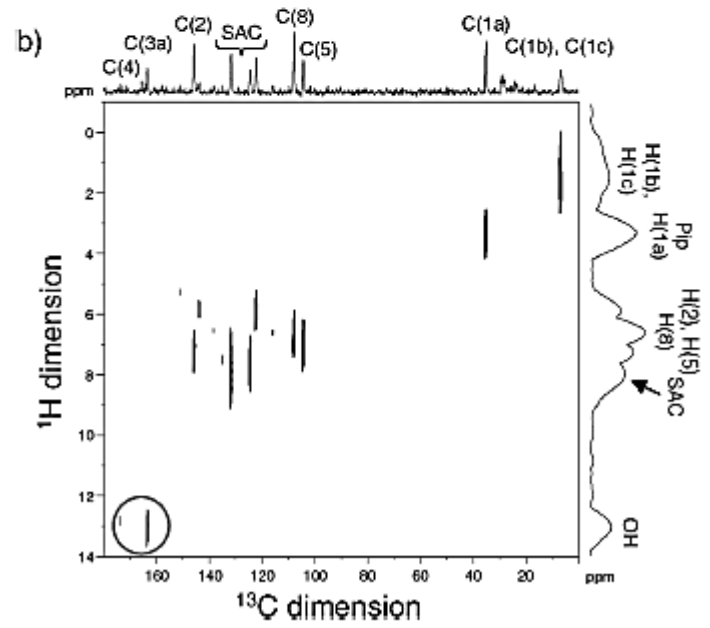
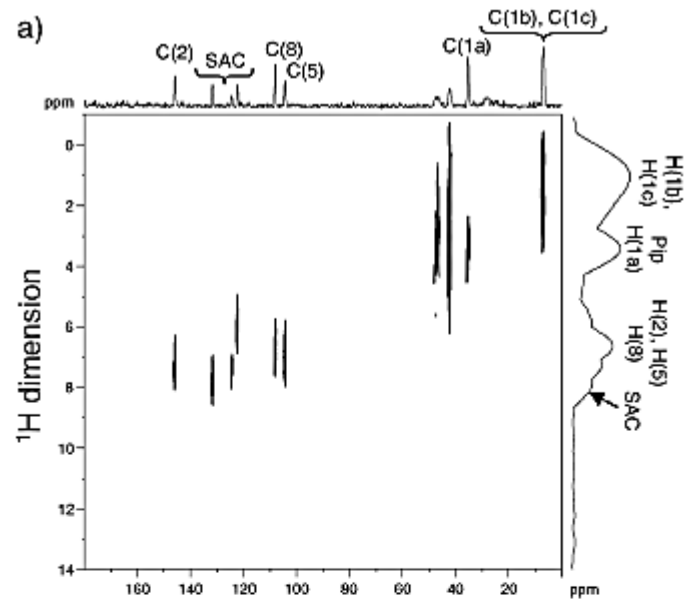


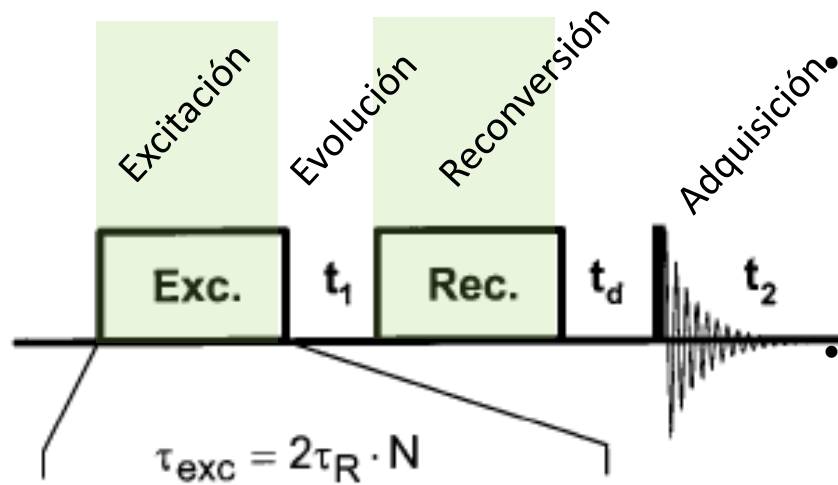
Fig. 4 ^1H - ^{13}C REPT-HSQC experiment for CIP-SAC (II). (a) One rotor recoupling period. (b) Two rotor recoupling periods.



DQ-MAS

^1H - ^1H DQ-MAS

- La principal motivación de esta secuencia es obtener correlaciones homonucleares entre protones por medio del acople dipolar entre los mismos.
- Esto nos permite la completa asignación de un espectro de alta resolución en sólidos de ^1H , y acceder a información relacionada con proximidad proton-proton, estructura 3D, distancias, puentes hidrógeno, tautomerismo, etc.
- Se realiza a altas velocidades de MAS para obtener desacople homonuclear en partes de la secuencia en donde la magnetización evoluciona con corrimientos químicos. En otra parte de la secuencia es necesario reintroducir ese mismo acople por medio de pulsos P_i .
- La interacción dipolar da lugar a «coherencias dobles» (double quantum, DQ) por ello los gráficos 2D son: SQ (corrimientos químicos)- DQ (suma de frecuencias)



Back-to-Back (BABA)

Tiempo total sincronizado con período de rotación

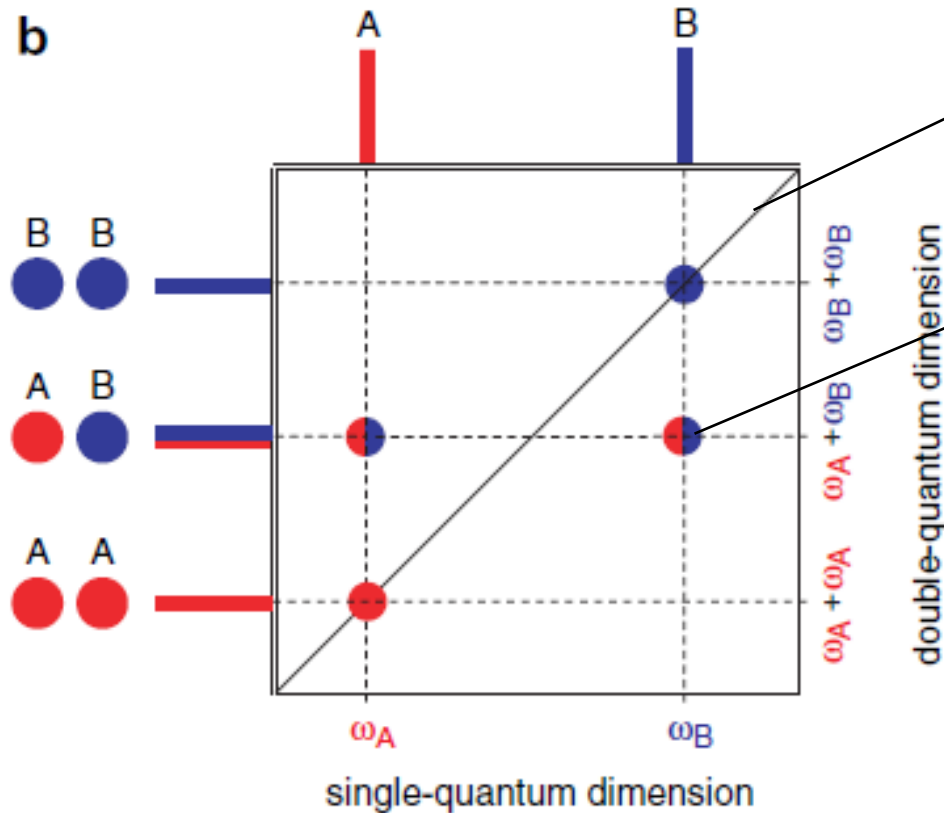
$$N \cdot 2\tau_R$$

Durante Excitación y Reconversión se generan las coherencias dobles. re-introduciendo acople dipolar (BABA).

- Esas coherencias dobles evolucionan durante t_1
- Durante t_2 se adquiere la señal de ^1H
- $\omega_R > 30 \text{ KHz}$
- Campo magnéticos altos (mayor resolución).
- La secuencia se aplica sobre ^1H . Como es un núcleo abundante, los tiempos totales de adquisición son alrededor de 1h.

Espectro 2D en un experimento DQ-MAS: (SQ,DQ)

b



Diagonal ($\omega_A, 2\omega_A$):
Autocorrelaciones
(nucleos cercanos con
similar c.s.)

Fuera de diagonal:
($\omega_A, \omega_A + \omega_B$) y
($\omega_B, \omega_A + \omega_B$)
aparece una correlación
a la suma de frecuencias
en la DQ dimensión

Presencia de una
correlación da evidencia
de cercanía del orden
de 2-3.5 A

Nombre-Acrónimo	Objetivo Nombre	Referencia	Condiciones experimentales	Resultado
<p>DQ-MAS</p>	<p>Double quantum MAS.</p> <p>Correlación homonuclear por medio de acople dipolar (coherencias dobles).</p> <p>${}^1\text{H} - {}^1\text{H}$ ${}^{31}\text{P} - {}^{31}\text{P}$</p>	<p>Feike.. Spiess, et al., Journ. Magn. Reson. A, 122, pag. 214 (1996)</p> <p>S.P. Brown, H.W. Spiess, Chem. Rev. 101 (12) (2001) 4125–4156.</p> <p>S.P. Brown, Solid State Nuclear Magnetic Resonance 41(2012)1–27.</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Altas Velocidades de rotación ($\omega_R > 30$ kHz) y campo magnético alto (9 T o más) para obtener desacople homonuclear de ${}^1\text{H}$. • Tiempo total del experimento 1h aprox. • Tiempos de excitación cortos. 	<ul style="list-style-type: none"> • Espectro de alta resolución en la dimensión single quantum (ω_1). • Segunda dimensión, suma de las frecuencias de núcleos que correlacionan ($\omega_1 + \omega_2$). • Diagonal, autocorrelación ($\omega_A, 2\omega_A$) • Correlación indica distancias entre 2-3.5Å



Aplicaciones

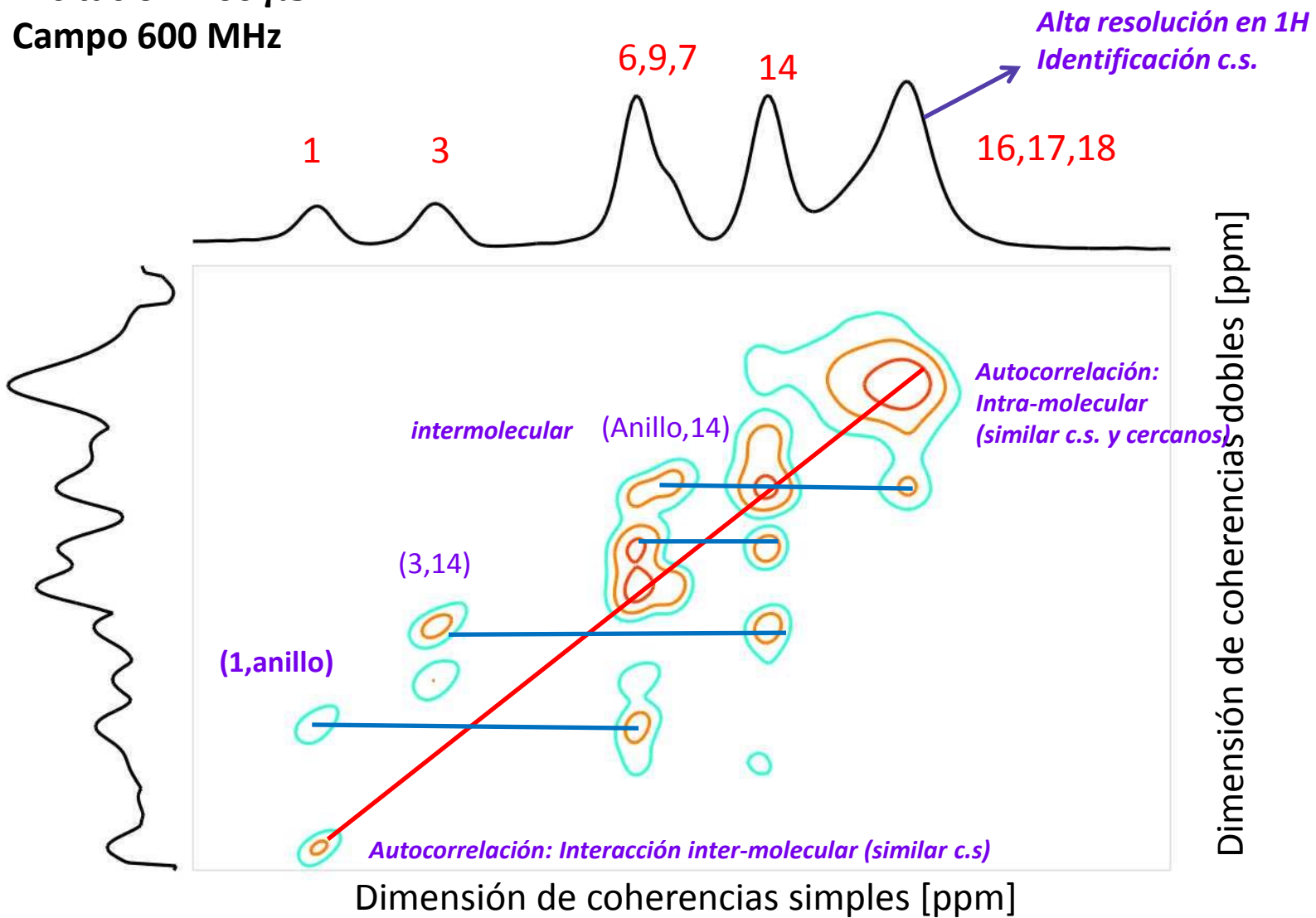
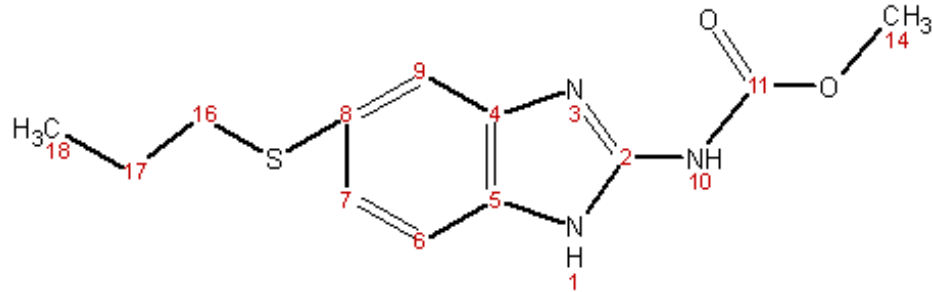
1) Albendazole (anti-parasitario)

^1H - ^1H DQ-MAS

$\omega_R = 50$ kHz

Excitación = $60 \mu\text{s}$

Campo 600 MHz



2) Polimorfismo en sacarinato de Ciprofloxacina

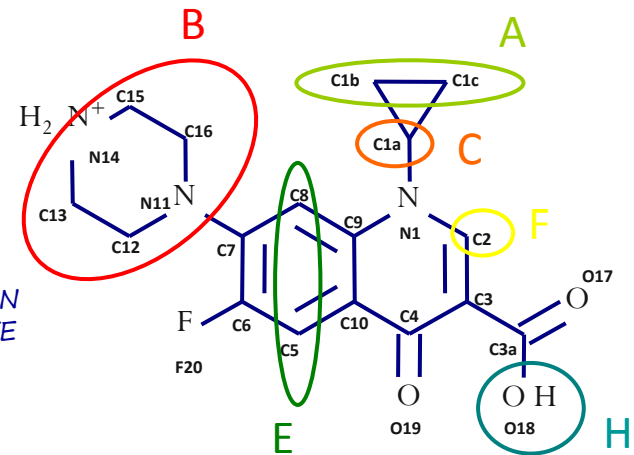
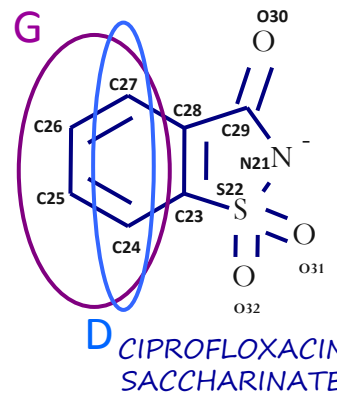
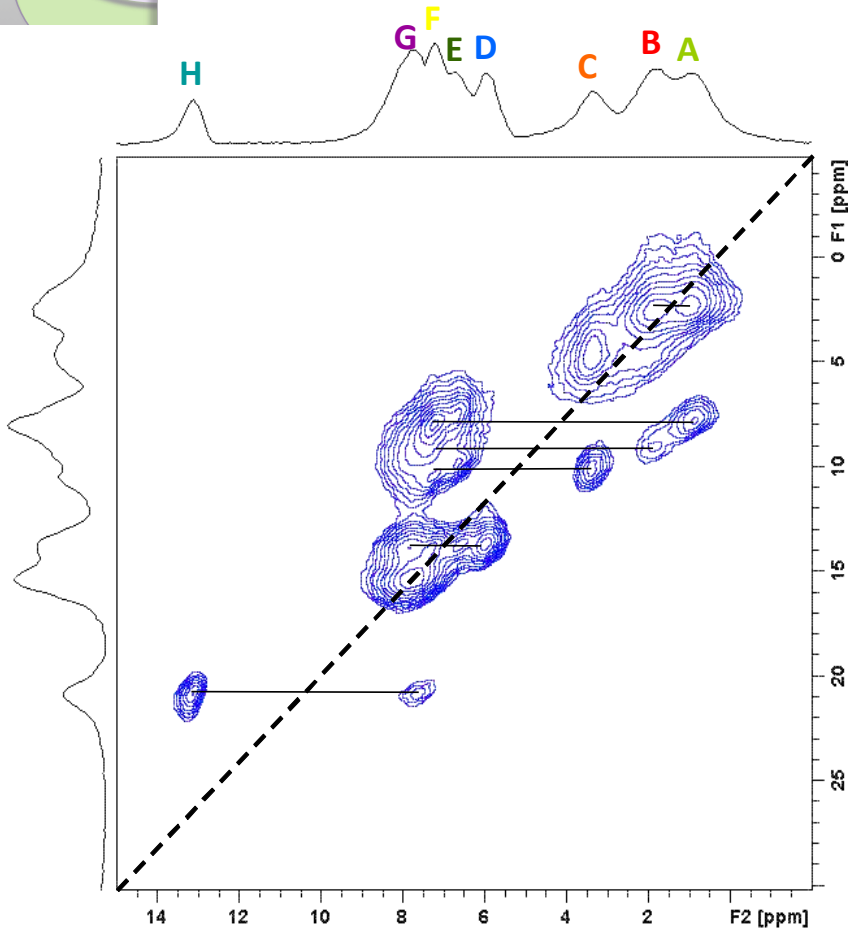
^1H - ^1H DQ-MAS

$\omega_R = 60 \text{ kHz}$

Excitación = $16.8 \mu\text{s}$

Campo 850 MHz

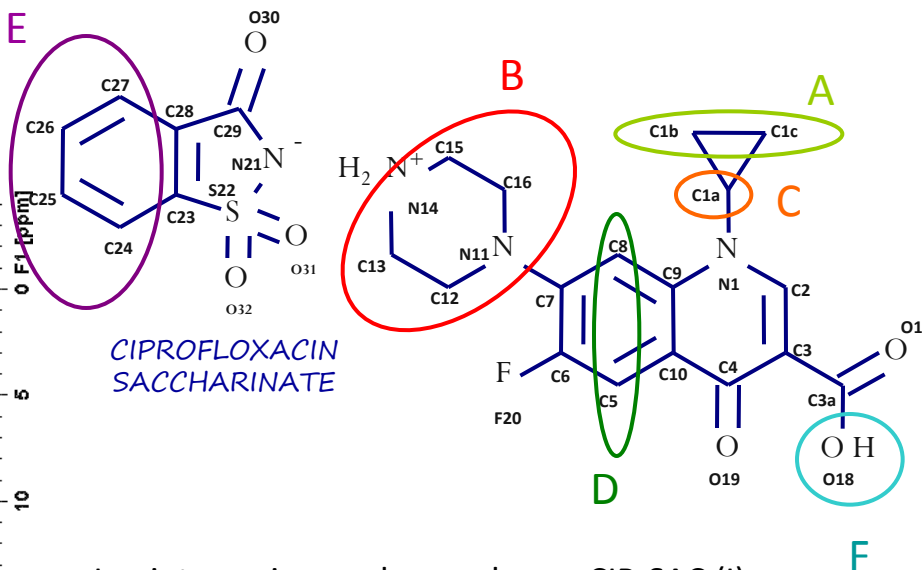
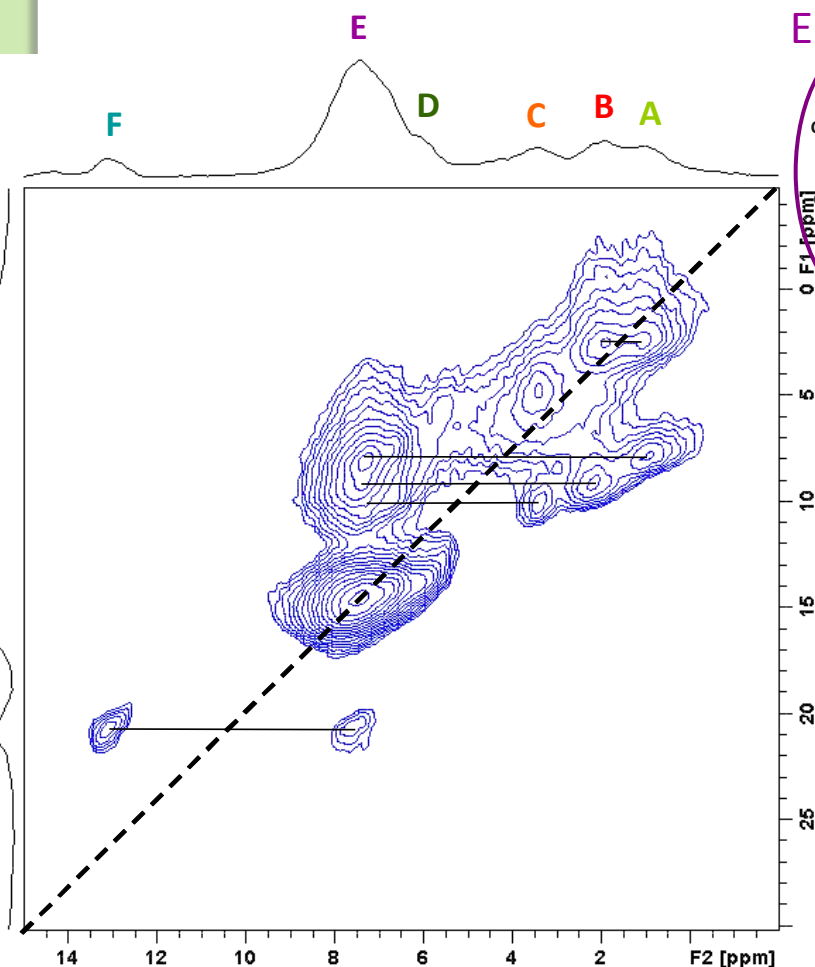
CIP - SAC (II)



- H(1b) y H(1c) pueden ser claramente identificados
- H(1b) y H(1c) muestran una fuerte interacción con los protones de la sacarina
- H(2) sólo muestra interacciones intramoleculares
- El protón acoplado con el N14 correlaciona con protones de sacarina
- H(1a) presenta interacciones con H(2) y H(8)
- H(3a) muestra una clara interacción con protones de sacarina

2) Polimorfismo en sacarinato de Ciprofloxacina

CIP - SAC (I)



Las interacciones observadas en CIP-SAC (I) son similares a las observadas en CIP-Sac (II). Se obtiene menos resolución en este caso, sin embargo se puede realizar una clara asignación en el espectro de ^1H .

Todos estos resultados están en concordancia con los resultados obtenidos por RX de single crystal

3) Dispersiones amorfas de indometacina (III) en PVP

^1H - ^1H DQ-MAS
 $\omega_R = 35$ kHz
Campo 9.4 T

- Dimensión F2 muestra espectro de alta resolución de ^1H
- Barras horizontales denotan correlaciones importantes entre componentes
- Distancias entre 2.4-3.5 Å confirmadas por rayos X

En compuestos multi-componentes confirma la formación del complejo

Referencia: Tran N. Pham et. al, Mol. Pharm., vol. 7, pag 1667, (2010)

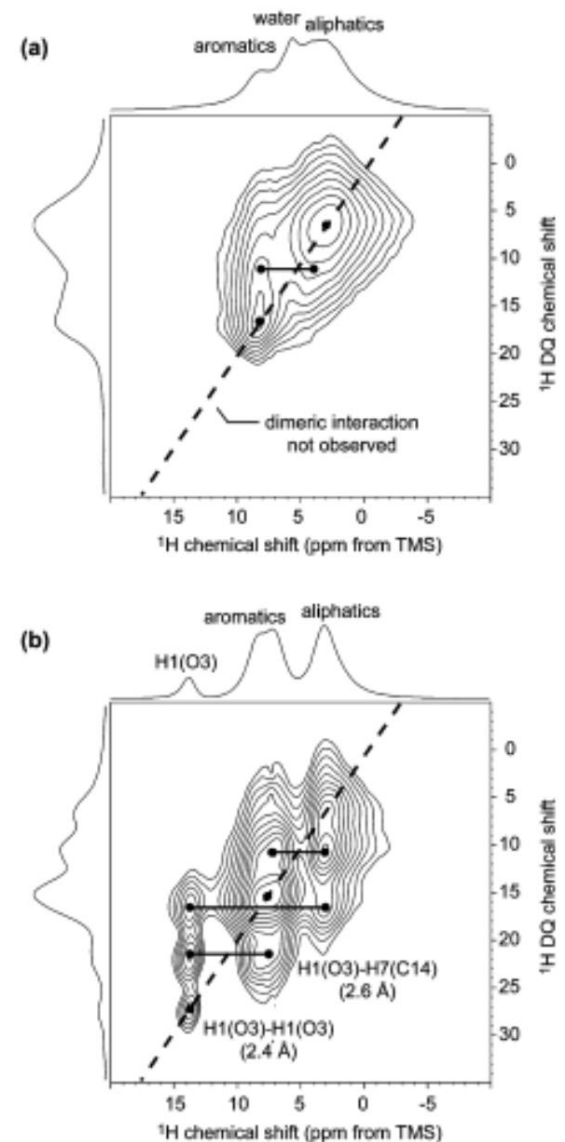


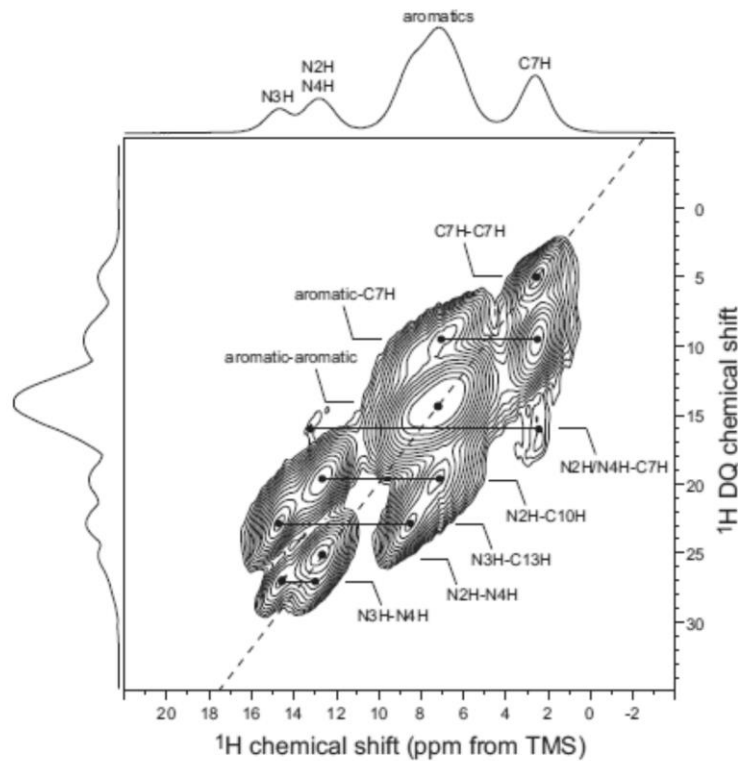
Figure 8. ^1H DQ-BABA spectra ($\nu_r = 35$ kHz) of (a) the 30% w/w amorphous dispersion of indometacin (III) in PVP and (b) the crystalline γ -form. The horizontal bars denote DQ correlations of interest (see text). The distances shown in (b) are taken from the crystal structure (ref 77). The ^1H MAS spectra ($\nu_r = 35$ kHz) are plotted along the F_2 axes and double-quantum skyline projections are shown along the F_1 axes. Spectra were obtained at 9.4 T and 273 K.

4) Co-cristales de tenoxicam y sacarina

^1H - ^1H DQ-MAS

$\omega_R = 35 \text{ kHz}$

Campo 500 MHz



- Dimensión F2 muestra espectro de alta resolución de ^1H
- Barras horizontales interacción intermolecular entre tenoxicam y sacarina que muestra la formación del co-cristal

Fig. 8. ^1H DQ-BABA spectrum ($\nu_r = 35 \text{ kHz}$) of tenoxicam saccharin. The ^1H MAS spectrum ($\nu_r = 35 \text{ kHz}$) is plotted along the F_2 (horizontal) axis and a double-quantum skyline projection is shown along the F_1 (vertical) axis. Several key correlations are noted on the spectrum (see text). Spectra were obtained at 11.7 T and 273 K.

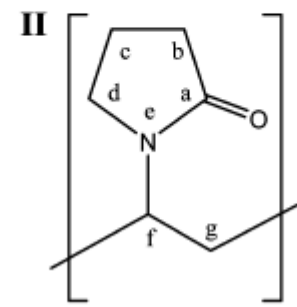
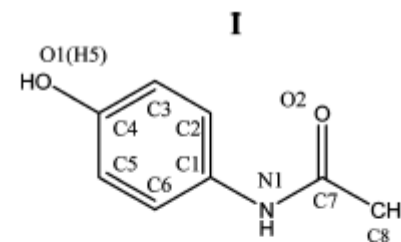


Ejercicios

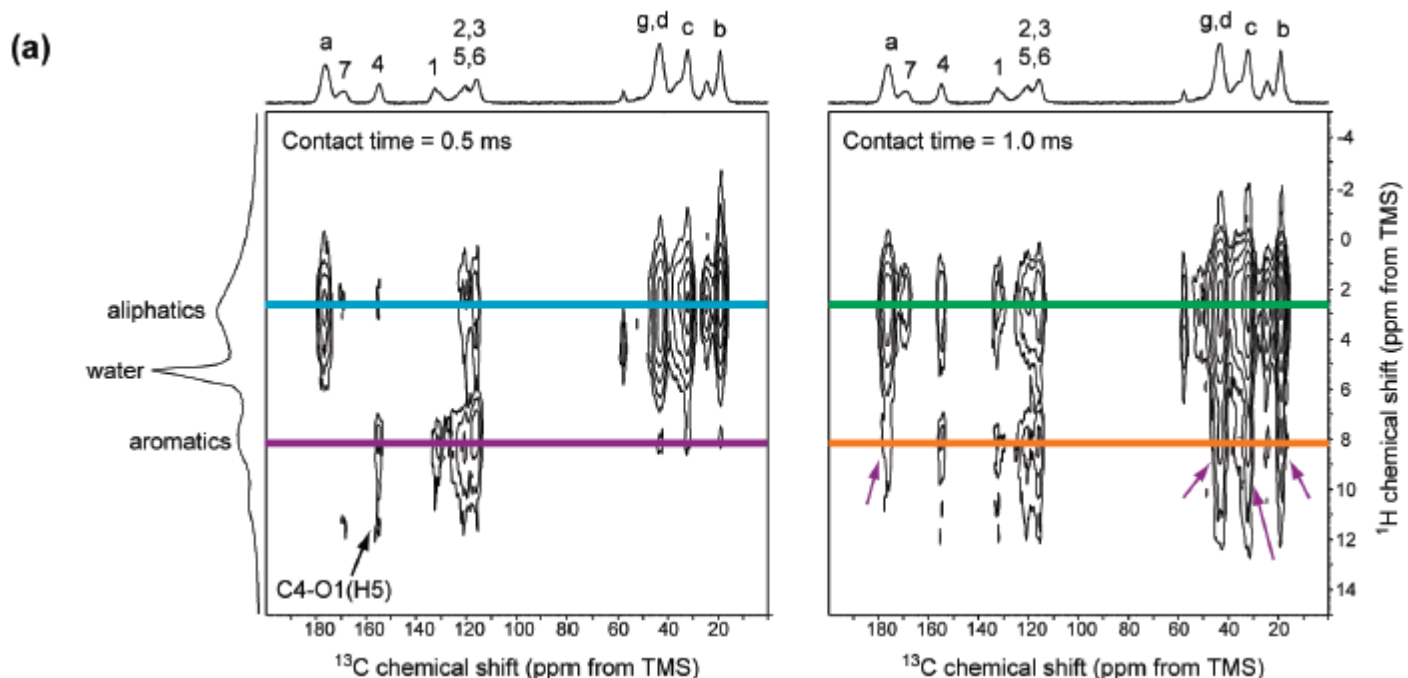
Preguntas

- 1) Se realiza un experimento 2D HETCOR con una duración total de 22 hs, en el cual la dimensión F1 consta de 64 FIDS, adquiridas con 240 scans cada una. Cual es el *recycling time* usado? Puede estimar el T1 de H?
- 2) En un experimento HETCOR cual debe ser el incremento del bloque de desacople homonuclear para poder tener un tiempo de adquisición total en la dimensión F1 de 600 us, siendo TD1=64.
- 3) Se quiere observar la correlación entre un carbono con su proton ligado en un anillo aromático (sin ver la correlación con otros protones segundos vecinos), Que tiempo de contacto conviene usar, 100 μ s o 1 ms?
- 4) Si quiero observar un carbono de un grupo COOH en un experimento HETCOR, que debo hacer, aumentar el número de escanes o cambiar el tiempo de contacto?
- 5) En un experimento 1H-1H DQ-MAS se observa una autocorrelación para un proton de un grupo NH, el cual es único en la molécula. Que puede estar indicando esto?

Ejercicio 1: Considere un compuesto multi-componente entre un fármaco (I) y un polímero (II). Se muestran los espectros 2D ^1H - ^{13}C HETCOR con dos tiempos de contacto 0.5 ms y 1 ms.

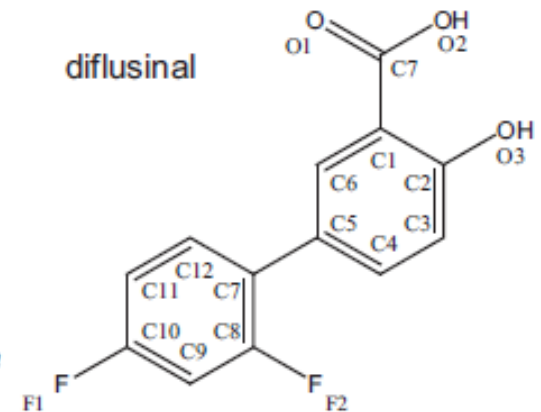
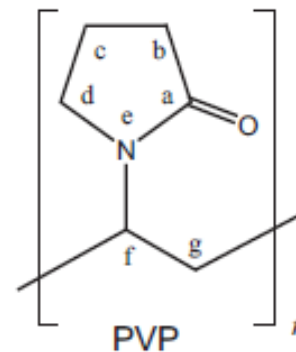
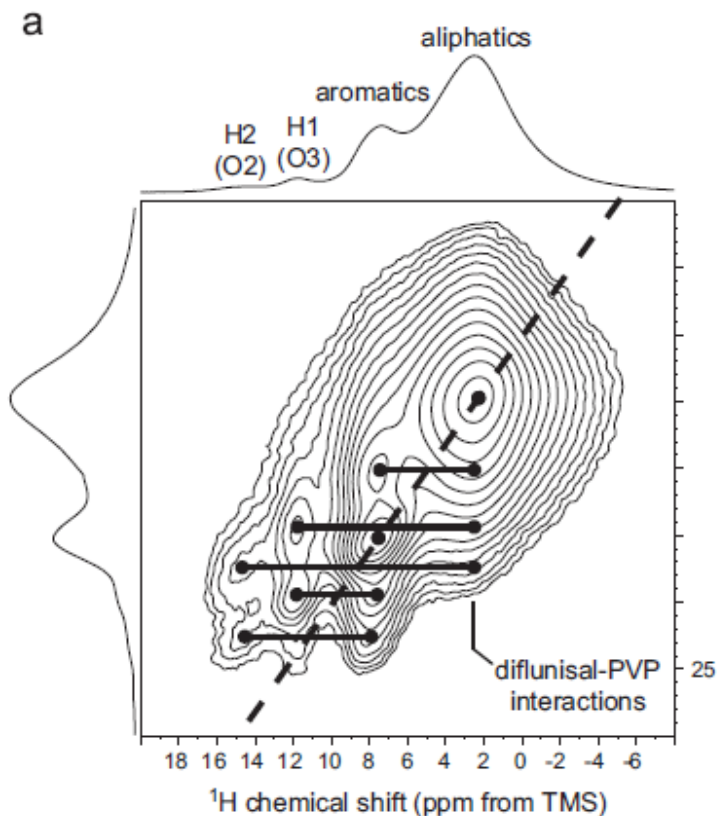


- (a) Indique cuales son las correlaciones que evidencian interacción intermolecular entre I y II (alifáticos de II con aromáticos de I)
- (b) Indique que cambios observa en las correlaciones o que nuevas aparecen, entre ambos espectros.



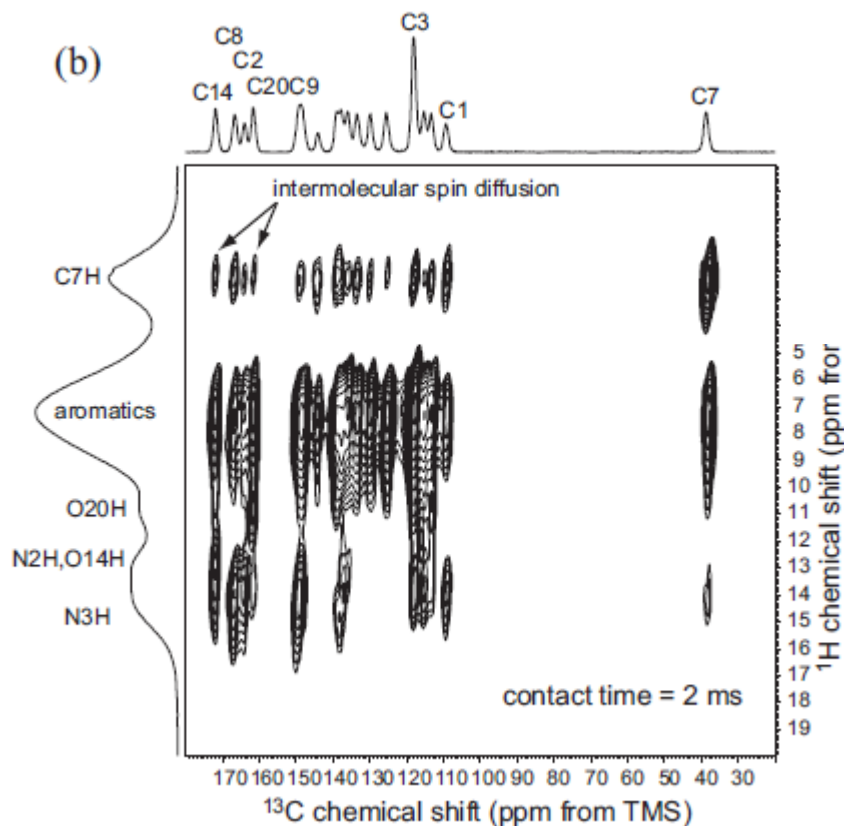
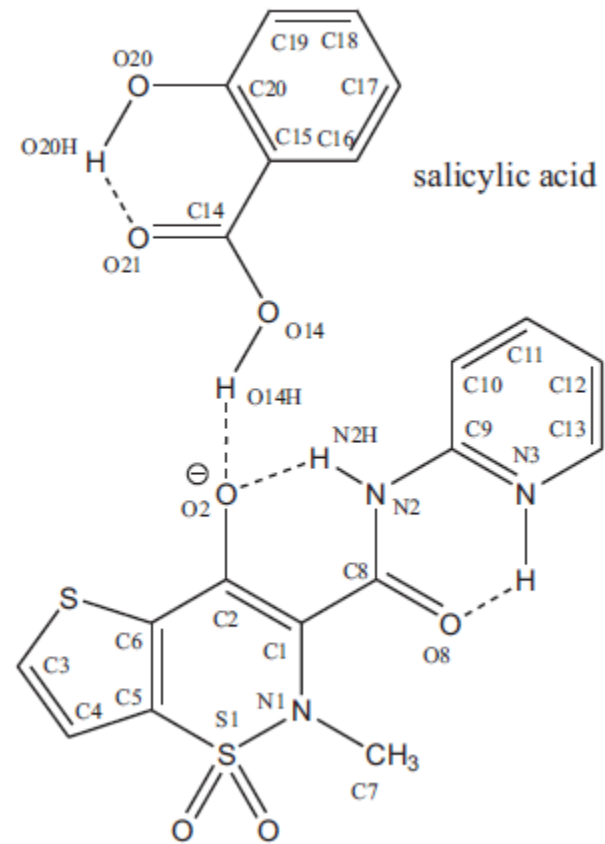
Ejercicio 2: Considere un compuesto multi-componente entre un fármaco (I) y PVP. Se muestran los espectros ^1H - ^1H SQ-DQ del complejo

- Indique cuales correlaciones indican cercanía entre los alifáticos de PVP con aromáticos del fármaco.
- Identifique las auto-correlaciones en la diagonal, a cuales protones corresponden?



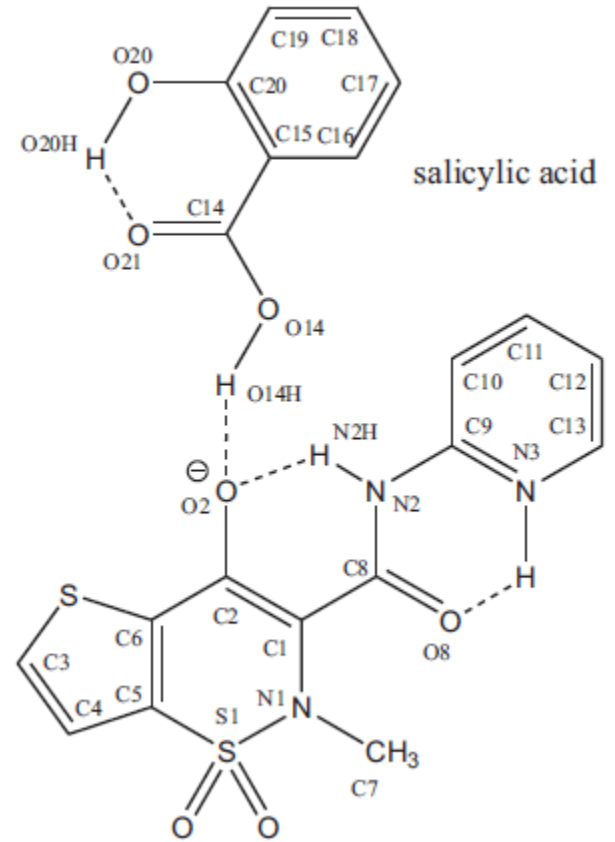
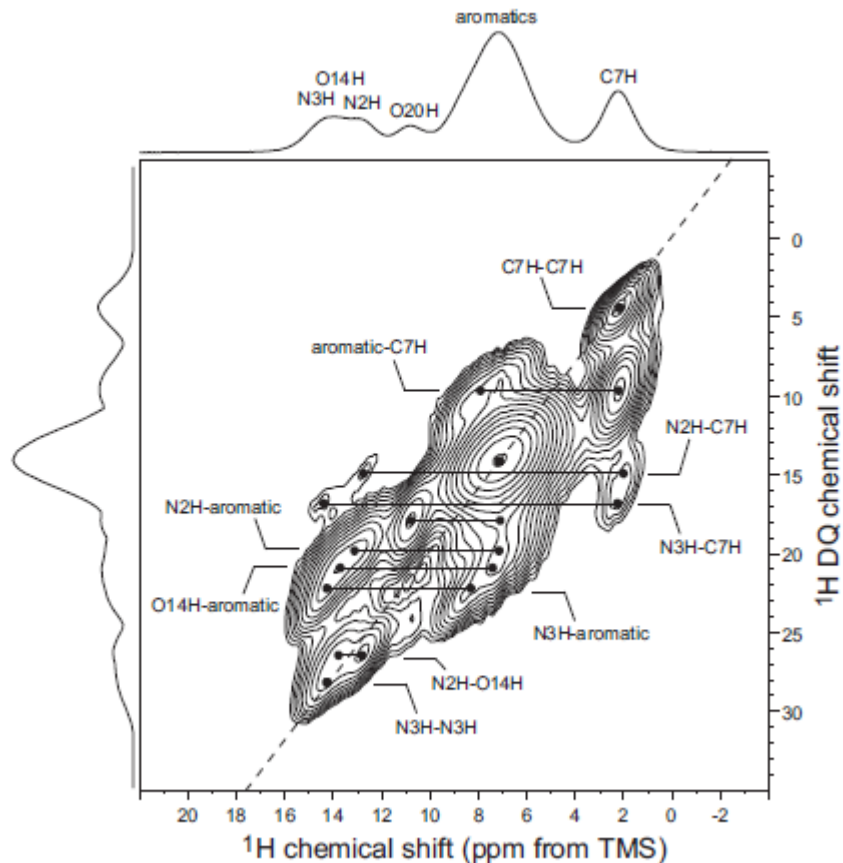
Ejercicio 3: Considere el siguiente co-cristal de ácido salicílico y un fármaco. Se muestra el espectro ^1H - ^{13}C HETCOR con tiempo de contacto de 2 ms.

(a) Identifique cuales son los núcleos que participan de la difusión de espines e indique porque eso da cuenta de asociación intermolecular



Ejercicio 4: Se muestra ahora el espectro ^1H - ^1H DQ-MAS.

- Identifique cuales son las correlaciones que dan lugar a los puentes hidrógeno mostrados en la figura.
- Hay alguna auto-correlación que puede estar dando lugar a la formación de dímero del fármaco?



Ejercicio 5: Se muestra un espectro 2D ^1H - ^{13}C HETCOR de un polímero. Identifique y asigne las correlaciones que aparecen e indique aproximadamente el corrimiento químico de los ^1H asociados a cada correlación.

