

11  
20



Universidad Nacional Autónoma de México  
Facultad de Química



NUMERACION MAL COMPROBADA

EXAMENES PROFESIONALES  
FAC. DE QUÍMICA

ELUCIDACION ESTRUCTURAL INEQUIVOCA DEL  
SABORIZANTE Y AROMATIZANTE 3 - METIL - 3 - FENIL -  
GLICIDATO DE ETILO Y DEL 3 - METIL - 3 - FENIL - GLICIDATO  
DE BENCILO A TRAVES DE METODOS ESPECTROSCOPICOS  
MODERNOS.

TESIS

Que para obtener el título de  
Química  
presenta

Virginia Jáuregui Villanueva

Dirección de Tesis: Dr. Raúl Enríquez Habib  
Asesor Externo: Prof. William Francis Reynolds



México, D. F.

1998

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

265816.



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

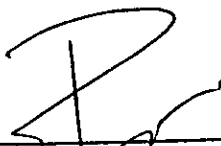
**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

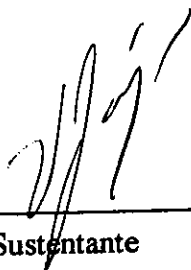
## Miembros del Jurado

Presidente: Dra. Elvira Santos Santos  
Secretario: Dr. Raúl Enríquez Habib  
Vocal: Q. Ernestina Cervera Flores  
1er. Suplente: Dra. Josefina DeGyves Marciniak  
2do. Suplente: M en C José Manuel Mendez Stivalet



Aesor de la Tesis

Dr. Raúl Guillermo Enríquez Habib



Sustentante

Virginia Jáuregui Villanueva

## Reconocimientos

Agradezco a las siguientes instituciones el apoyo económico y de infraestructura brindado en la realización de esta tesis.

**Instituto de Química, UNAM.**

Unidad de Servicios de Apoyo a la Investigación (USAI) de la **Facultad de Química** de la UNAM.

Administración Central de Laboratorio y Servicios Científicos.

Administración General de Aduanas. Sistema de Administración Tributaria (SAT).

Dirección General de Asuntos del Personal Académico (DGAPA).

Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT).

**Universidad de Toronto**, Departamento de Química, Toronto, Canadá.

International Flavor and Fragrances de Mexico (IFF), S.A. de C. V.

Hago un expreso reconocimiento al apoyo académico y asesoría recibidos en el desarrollo de esta tesis a:

**Dr. Dino Gnecco Medina**, Centro de Química del Instituto de Ciencias de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.

**Q. I. Fernando Jáuregui Zavala**, Administración Central de Laboratorio y Servicios Científicos. Administración General de Aduanas. Sistema de Administración Tributaria (SAT).

**Dr. Benjamín Ortíz Mendoza**. Instituto de Química de la UNAM.

Se agradece el apoyo del personal técnico del Instituto de Química y de la USAI, Facultad de Química:

M. en C. Isabel Chávez, Q. Marisela Gutiérrez, M. en C. Rubén Gaviño, M. en C. Nuria Esturau, M en C. José Luis Gallegos, Bruce Adams (Varian, New Jersey, USA).

# **GRACIAS**

A Dios

Por ser el principio y final de todo.

A mis padres

Por todo su apoyo, cariño y comprensión.

Papá, por todas esas tardes llenas de química y de consejos sabios. Por todos los esfuerzos y sacrificios que culminan con esta tesis. Gracias.

Mami, por esos días de soporte de histerias incontenibles, por ese amor que te caracteriza, y por tantas noches de pláticas y consejos. Gracias.

A mis vecinos de cuarto

Brothos gracias por todos los momentos hermosos que hemos vivido juntos. Gracias por todo su apoyo, son a todo dar. Los quiero mucho.

A mi familia regiomontana (y a la dispersa por el país): tíos, tías, primos, primas, etc.

Porque han contribuido a que mi idea de familia sea mucho más extensa y porque me han enseñado a valorar todo lo hermoso que da la vida.

Al Dr. Raúl Enriquez

Por haberme dado la oportunidad de crecer en ese laboratorio 1-5, y por todo el apoyo que siempre me ha dado. Gracias por creer en mi.

Al Dr. William Reynolds

Por todo el apoyo que me dio en esa bella tierra canadiense.

A Tina Cervera

Por haber compartido conmigo tu experiencia, amor y cariño. Sabes, eres como mi mamá de la Universidad. TQM.

# **GRACIAS**

A los miembros fundadores y honorarios del Delta-40, del Laboratorio Dancing Club, de las sesiones de tertulia, de las pintas incorregibles, de las comidas en la "Taris", de las traducciones de artículos en Ruso, del uso de los "ojos", de las sesiones de Dr. Corazón y del apoyo incondicional y siempre presente: Carlos, Ismael, Raúl, Julia, Mario y Claudia. Mil gracias por todo su cariño.

A Katia por todas esas pláticas y conversaciones maratónicas, y por todo lo hermoso que hemos pasado juntas.

A todo el personal de la USAI que hicieron que mi estancia por aquellos lares fuera de lo más enriquecedor. Nuri, Juan Pa, Marisela, etc. mil gracias por todo su apoyo y cariño.

A mis hermanos por transividad, que aunque no andan por aquí siempre están en mi corazón: Karina y Raúl. ¡Suerte en su doctorado!

A mis compañeros de generación, de consejo, de parrandas y de tanto bellos momentos juntos.

To all my friends from Irvine (or met there) who made me feel home, for the beautiful moments we spent together and for the great friendship we have know.

To Blanca, Suzanne and Ken, who always helped me in everything I needed in Toronto. Thanks a lot for the great time we had together.

A las Sores Salesianas por todas sus oraciones y su apoyo. Que Dios las bendiga.

A la Universidad Nacional Autónoma de México y a todo el personal docente y administrativo de la Facultad de Química que contribuyeron a mi formación académica.

Y a ti, que de alguna u otra manera has contribuido al desarrollo de esta tesis.

# Indice General

## Introducción

<i>I</i>	<i>Los Sabores en la Historia.</i>	16
<i>II</i>	<i>Sabores y Olores.</i>	16
<i>III</i>	<i>Saborizantes y Aromatizantes: su Clasificación.</i>	17
<i>IV</i>	<i>Aspectos Económicos.</i>	18
<i>V</i>	<i>Regulaciones Nacionales e Internacionales.</i>	19
	<i>V.1 Países que tienen listas de aditivos químicos permitidos para consumo en la comida.</i>	19
	<i>V.2 Países con lista de aditivos químicos prohibidos para consumo en la comida.</i>	19
	<i>V.3. Países con lista de productos permitidos y productos prohibidos.</i>	20
	<i>V.4. Países sin reglamentación específica.</i>	20
	<i>V.5. Países sin legislación específica.</i>	20
<i>VI</i>	<i>Importancia del 3-metil-3-fenil glicidato de etilo (glicidato de etilo).</i>	20

## Objetivos

### Capítulo 1

#### *Generalidades del 3-metil-3-fenil glicidato de etilo*

<b>1.1</b>	<b>Nomenclatura.</b>	22
<b>1.2</b>	<b>Estructura Química.</b>	22
<b>1.3</b>	<b>Métodos de Síntesis.</b>	23
	<i>1.3.1. Condensación de Darzen.</i>	23
	<i>1.3.2. Sintesis con Fosforanos.</i>	24
<b>1.4</b>	<b>Reacciones y Derivados.</b>	25
	<i>1.4.1. Compuestos Cíclicos de Guanidina.</i>	25
	<i>1.4.2. Obtención de 3-metil-3-fenil-glicidato de p-bromofenacilo.</i>	25
	<i>1.4.3. Hidrólisis del 3-metil-3-fenil glicidato de etilo.</i>	26
	<i>1.4.4. Reacciones de las sales alcalinas del 3-metil-3-fenil glicidato.</i>	26
	<i>1.4.4.1 Obtención del <math>\alpha</math>-fenilpropionaldehido.</i>	26
	<i>1.4.4.2 Obtención de la sal de plata.</i>	26
	<i>1.4.4.3 Obtención del 3-metil-3-fenilglicidato de amonio.</i>	27
	<i>1.4.4.4 Reacciones con compuestos organometálicos.</i>	27
	<i>1.4.5. Rearreglos del 3-metil-3-fenil-glicidato de etilo.</i>	27
<b>1.5</b>	<b>Extracción y Separación</b>	28

### Capítulo 2

#### *Técnicas Analíticas de Caracterización Estructural*

<b>2.1</b>	<b>Infrarrojo</b>	
	<i>2.1.1. Introducción.</i>	29
	<i>2.1.2. Consideraciones Teóricas.</i>	30
	<i>2.1.3. Instrumentación.</i>	31
	<i>2.1.4. Manejo de muestras.</i>	31
	<i>2.1.5. Interpretación.</i>	31

<b>2.2</b>	<b>Espectrometría de Masas.</b>	32
2.2.1.	<i>Sistema de introducción de muestras</i>	33
2.2.2.	<i>Ionización.</i>	34
2.2.3.	<i>Separación Másica</i>	35
2.2.4.	<i>Resolución en Espectrometría de Masas.</i>	35
<b>2.3</b>	<b>Resonancia Magnética Nuclear</b>	35
2.3.1.	<i>Desarrollo histórico de la RMN.</i>	36
2.3.2.	<i>Algunas consideraciones teóricas.</i>	36
2.3.2.1	<i>Concepto de magnetización macroscópica.</i>	38
2.3.2.2	<i>Relajación nuclear.</i>	39
2.3.2.3	<i>Obtención de señal.</i>	39
2.3.2.4	<i>Ángulo de pulso.</i>	39
2.3.3.	<i>Parámetros de análisis espectral.</i>	40
2.3.3.1	<i>Desplazamiento Químico.</i>	41
2.3.3.2 y 2.3.3.3	<i>Multiplidad y Constantes de Acoplamiento.</i>	42
2.3.3.4	<i>Integración (Área bajo la curva)</i>	42
2.3.4.	<i>Resolución en Resonancia Magnética Nuclear.</i>	42
2.3.5.	<i>Experimentos uni y bidimensionales en Resonancia Magnética Nuclear.</i>	42
i)	<i>Protónico Unidimensional.</i>	42
ii)	<i>Carbono-13 unidimensional.</i>	42
iii)	<i>1-D APT (Attached Proton Test)</i>	43
iv)	<i>DEPT (Distortionless Enhancement by Polarization Transfer)</i>	44
v)	<i>Experimentos bidimensionales.</i>	44
vi)	<i>Experimento bidimensional resuelto en la constante de acoplamiento (J).</i>	47
vii)	<i>Experimento bidimensional de correlación homonuclear COSY (Correlated Spectroscopy).</i>	49
viii)	<i>Experimento de correlación heteronuclear de detección directa, HETCOR (Heteronuclear Correlation Spectroscopy)</i>	49
ix)	<i>Experimentos de correlación heteronuclear de detección inversa de coherencia simple y múltiple cuántica HMQC, HMBC cHMQC y HSQC.</i>	51
a)	<i>HSQC (Heteronuclear correlation through single quantum coherence)</i>	51
b)	<i>HMBC (Heteronuclear correlation through multiple quantum coherence)</i>	52
c)	<i>HMBC (Heteronuclear multiple-bond correlation)</i>	53
d)	<i>cHMQC (HMQC acoplado)</i>	53
x)	<i>Espectroscopía de intercambio y efecto nuclear Overhauser (NOESY nuclear Overhauser and exchange spectroscopy)</i>	53

## Capítulo 3

### Reacciones en Microondas

<b>3.1</b>	<b>Reacciones en condiciones de microondas</b>	56
3.1.1.	<i>Reacciones Heterogéneas</i>	56
3.1.2.	<i>Reacciones Homogéneas</i>	57



## Capítulo 4

### Metodología

<b>4.1</b>	<b>3-metil-3-fenil glicidato de etilo.</b>	
	<i>4.1.1. Espectroscopía de Infrarrojo.</i>	58
	<i>4.1.2. Espectrometría de Masas.</i>	58
	<i>4.1.3. Resonancia Magnética Nuclear.</i>	58
<b>4.2</b>	<b>3-metil-3-fenil glicidato de bencilo</b>	58
	<i>4.2.1. Obtención de la sal de sodio</i>	59
	<i>4.2.1.1. Resonancia magnética nuclear</i>	59
	<i>4.2.2. Reacción de obtención del 3-metil-3-fenil glicidato de bencilo.</i>	59
	<i>4.2.2.1 Reacción vía microondas</i>	59
	<i>4.2.2.2 Resonancia Magnética Nuclear</i>	59

## Capítulo 5

### Discusión y Análisis de Resultados

<b>5.1</b>	<b>3-metil-3-fenil glicidato de etilo</b>	60
	<i>5.1.1. Espectroscopía de Infrarrojo</i>	60
	<i>5.1.2. Espectrometría de Masas</i>	
	<i>5.1.2.1. Introducción Directa FAB + ( Positive Fast Atom Bombardment)</i>	61
	<i>5.1.2.2. CG/EM Impacto Electrónico Baja Resolución</i>	61
	<i>5.1.2.3. CG/MS Impacto Electrónico Alta Resolución</i>	66
	<i>5.1.3. Resonancia Magnética Nuclear.</i>	
	<i>5.1.3.1. Espectros de hidrógeno unidimensional (60 MHz)</i>	68
	<i>5.1.3.2. Espectros de hidrógeno unidimensional (300 y 500 MHz)</i>	69
	<i>5.1.3.3. Desacoplamiento homonuclear (300 MHz)</i>	70
	<i>5.1.3.4. Espectro unidimensional de Carbono-13.</i>	71
	<i>5.1.3.5. Experimento APT (Attached Proton Test) unidimensional.</i>	72
	<i>5.1.3.6. Experimento DEPT (Distortionless Enhancement by Polarization Transfer)</i>	72
	<i>5.1.3.7. Espectro HOMO2DJ (homonuclear bidimensional J resuelta)</i>	74
	<i>5.1.3.8. Espectro Bidimensional de Correlación Homonuclear COSY (Correlated Spectroscopy)</i>	75
	<i>5.1.3.9. Espectro Bidimensional de Correlación Heteronuclear (HETCOR) de detección directa y de detección inversa de coherencia múltiple cuántica (HMQC).</i>	76
	<i>5.1.3.10. Experimento de Efecto Nuclear Overhauser unidimensional (Cyclenoe).</i>	77
	<i>5.1.3.11. Experimento de Efecto Nuclear Overhauser bidimensional (NOESY)</i>	79
	<i>5.1.3.12. Experimento HMBC de correlación heteronuclear de detección inversa a 2 y 3 enlaces.</i>	80
<b>5.2</b>	<b>3-metil-3-fenil glicidato de bencilo</b>	82
	<i>5.2.1. Resonancia Magnética Nuclear de la sal de sodio.</i>	82
	<i>5.2.1.1. RMN protónico de la sal de sodio.</i>	82
	<i>5.2.1.1. Espectro Cyclenoe (NOE unidimensional) de la sal de sodio.</i>	83
	<i>5.2.2. Resonancia magnética nuclear del 3-metil-3-fenil-glicidato de bencilo.</i>	83
	<i>5.2.2.1. Espectros de hidrógeno unidimensional de la mezcla del 3-metil-3-fenil-glicidato de bencilo (500 MHz)</i>	83

5.2.2.2. Espectro unidimensional de $^{13}\text{C}$ .	84
5.2.2.3. Espectro Bidimensional de Correlación Homonuclear COSY (Correlated Spectroscopy) a largo alcance.	85
5.2.2.4. Espectro Bidimensional de Correlación Heteronuclear de detección inversa (HSQC) de coherencia cuántica simple.	86
5.2.2.5. Experimento de efecto nuclear de Overhauser bidimensional (NOESY).	87
5.2.2.6. Banda 4 y 5 de la cromatografía en capa fina, comparada con la mezcla de los isómeros del 3-metil-3-fenil-glicidato de bencilo.	87
5.2.2.7. Banda 4 de la cromatografía en capa fina.	87
5.2.2.8. Banda 5 de la cromatografía en capa fina.	89
<b>Conclusiones</b>	94
<b>Bibliografía</b>	96

## *Introducción*

Dentro de las diferentes culturas, la gastronomía es una de las características medulares en el conocimiento de los hábitos y costumbres alimenticios de un pueblo. Existen sociedades en cuya gastronomía se incluye el uso extensivo de especias, mientras que otras incluyen el consumo de mariscos y pescado, otras más el de cereales, etc. En aspectos tan generales como la alimentación, cada cultura tiene sus propios parámetros y gustos por algunos alimentos más que por otros. Sin embargo, se ha observado que en niveles muy generales, para que la comida tenga aceptación y sea de agrado general, debe reunir 4 características principales: sabor, valor nutritivo, apariencia y consistencia en la boca.

El Instituto público de comercialización de la comida en Estados Unidos "Food Marketing Institute Public", llevó a cabo un estudio de mercado y publicó que los consumidores consideran que el sabor se encuentra en primer lugar de importancia dentro de las 4 características principales de los alimentos. Sin embargo, en estos últimos años, el valor nutritivo ha cobrado una enorme importancia y se ha colocado en un segundo lugar. El avance tecnológico en la medicina ha logrado crear conciencia de la calidad de la alimentación que debe tener el ser humano dentro de las sociedades modernas.

### *I. Los Sabores en la Historia.*

Desde tiempos muy remotos, los sabores fueron objeto de atención en las culturas por medio del uso de las hoy muy conocidas especias. Su utilización en la comida dando color, sabor o bien en el olor a la misma se reporta extensamente a través de la historia. Sin embargo, aún más importante que su utilización en la comida fue la naturaleza terapéutica que ellas presentaban y que hicieron de ellas sustancias muy útiles y apreciadas en la antigüedad.

Desde la antigua China, las especias formaban una parte importante en el comercio y este hecho influyó de tal modo, que, incluso durante el siglo XVIII, los países o zonas que controlaban el tráfico de especias eran, tanto económica como políticamente, las naciones más poderosas en aquella época. Desde entonces, los aromas, los colores y los sabores de las especias, y en general, cualquier sustancia con estas características, tienen una importancia comercial que trasciende hasta nuestros días.

### *II. Sabores y Olores*

El sabor se ha definido como una memoria y una experiencia. Es una relación entre la sensación física (la apariencia, textura y consistencia) y la sensación bioquímica (el olor). La "Society of Flavor Chemists" lo definen como la suma de las características de cualquier material en la boca que son percibidas principalmente por los sentidos del gusto y del olfato y que son procesados en el cerebro. Hasta el momento, se reconocen 4 sabores principales: salado, dulce, agrio y amargo. Algunos libros<sup>1</sup> consideran un quinto sabor, el sabor umami, que corresponde al sabor a carne.

---

<sup>1</sup> Enciclopedia Kirk Othmer.

Los sabores se perciben por medio de más de 10,000 papilas gustativas presentes en la lengua. Los compuestos químicos que presentan el sabor, reaccionan con los receptores en la superficie de las células sensoriales en las papilas gustativas, causando despolarizaciones eléctricas, es decir, caídas de voltaje a través de la membrana celular sensorial. A la serie de eventos bioquímicos que participan en este proceso se le llama transducción.

Muy relacionado con el sabor está el olor, al que se le ha considerado como 80% del sabor. Análogamente se considera que hay 7 olores básicos: etéreo, canforáceo, floral, mentolado, fétido, purgente y musty. Sin embargo, se han llegado a reconocer hasta  $10^4$  posibles sensaciones de olor.

La fisiología del olor es mucho más compleja que la del sabor. Se considera que para que una sustancia tenga olor debe llegar al epitelio olfativo en la parte superior de la nariz y se debe poner en contacto con los cilios membranales olfativos. Los receptores olfativos son moléculas proteicas localizadas en los cilios. Las sustancias deben ser lo suficientemente volátiles y con bajo peso molecular para que puedan entrar en los canales nasales por inhalación.

La isomería y la conformación espacial de las sustancias, son de las características más importantes en la cuestión del olor y de ahí se deriva la importancia estereoquímica dentro de los olores. Se conocen muchas sustancias químicas cuyos enantiómeros poseen diferentes olores.

El análisis y la identificación de los compuestos con olor no son, de ninguna manera, algo sencillo y desde los años 80 se hace por cromatografía de gases acoplado a olfatometría. Esta técnica se ha vuelto más cuantitativa y se basa en la detección de la intensidad del olor a través de medidores o detectores biológicos<sup>2</sup>. Las técnicas más modernas tienen su principio en la grabación computarizada de comparaciones de la percepción de la intensidad de los olores y surgen como alternativas de análisis más cualitativo y cuantitativo<sup>3</sup>.

### *III. Saborizantes y Aromatizantes: su Clasificación*

A cualquier sustancia química o mezcla de sustancias que provea de un cierto olor y/o cierto sabor se le llama saborizante. Hay varias clasificaciones de saborizantes, sin embargo una de las más utilizadas es la clasificación de acuerdo a su origen en: naturales y artificiales.

Los **saborizantes naturales** incluyen especias, hierbas, aceites esenciales y sus extractos, concentrados, frutas, jugos, esencia de frutas, materiales animales y vegetales y sus extractos, así como compuestos químicos aromáticos aislados por métodos físicos de productos naturales.

Los **saborizantes artificiales** incluyen compuestos alifáticos, aromáticos y terpénicos que son producidos sintéticamente. Los saborizantes artificiales son definidos dentro del Código de Regulaciones Federales de Estados Unidos de Norteamérica ("Code of Federal Regulations") como cualquier sustancia o sustancias cuya función es impartir

<sup>2</sup> López M., *Ciencia y Desarrollo*, V.XXIV,141, (1998), 42.

<sup>3</sup> Kirk Othmer, *idem*.

sabor y que no se deriva de productos naturales. Algunos de estos compuestos artificiales que dan esencialmente el sabor principal son muy utilizados dentro de la industria para dar el sabor a pastillas para la tos, pastas dentales, goma de mascar, dulces, bebidas refrescantes, repostería, gelatinas, helados, margarinas y quesos. El hecho de que sean sustancias artificiales no quiere decir que su valor nutritivo sea menor que el de las naturales.

Dentro de los saborizantes artificiales algunas las sustancias que imprimen sabor de piña y de fresa se presentan a continuación.

Sabor	Compuesto
Piña	Caproato alílico
	Butirato de Etilo
	$\beta$ -metil tiopropionato de metilo
Fresa	Cinamato de metilo
	4-hidroxi-2,5-dimetil-3(2H)-furanona
	Etil metil fenilglicidato ( $\beta$ -metil- $\beta$ -fenil oxirancarboxilato de etilo)
	Propionato de Metilo
	Butirato de Fenetilo
	3-fenilpropilisovalerato
	Acetato de piperonilo
	Isobutirato de Etilo
	Benzoato de Bencilo
	(+/-)-3-fenilglicidato de Etilo
maltolato de etilo	

Tabla x-1 Compuestos comerciales con propiedades organolépticas características.

Estos productos se pueden obtener de manera comercial a través de diferentes compañías reconocidas en el manejo de sustancias químicas puras<sup>4</sup>.

De manera comercial, la industria del sabor no solo considera un solo compuesto para obtener el sabor deseado. Las mezclas de diferentes compuestos dan lugar a diferentes variedades en el mismo sabor. Estas mezclas se pueden obtener a través de diferentes compañías especializadas<sup>5</sup>.

#### IV. Aspectos Económicos

De acuerdo con algunos estudios presentados en la literatura, la industria de extractos, saborizantes y jarabes emplea aproximadamente a 8200 personas dentro de 280 compañías solamente en Estados Unidos de Norteamérica. De estas 280 industrias, 99 de ellas emplean a más de 20 personas. El número de compañías ha disminuido desde 1972, sin embargo, debido a la presencia de las compañías grandes, el porcentaje no ha variado mucho con el tiempo.

4 Aldrich Flavor and Fragrances Catalog 1996.

5 (IFF) International Flavour and Fragrances Mexico S.A de C.V y Taste Maker.

<b>Año</b>	<b>Número de Compañías</b>	<b>Compañías con mas de 20 empleados (%)</b>
1972	400	115 (28.8)
1977	368	132 (35.9)
1982	343	131 (38.2)
1987	280	99 (35.4)

**Tabla x-2. Relación de número de compañías y números de empleados en diferentes años.**

### *V. Regulaciones Nacionales e Internacionales.*

Las reglamentaciones sobre sabores y saborizantes cambian de país a país, sin embargo, se han dado grandes avances en la armonización de las reglamentaciones en sustancias de importancia internacional.

Existen al menos 5 maneras en que los países pueden controlar y administrar las leyes de importación, exportación y uso de los saborizantes y sustancias aromáticas.

#### **V.1 Países que tienen listas de aditivos químicos permitidos para consumo en la comida.**

Cualquier sustancia que no esté presente en la lista no podrá entrar al país con fines comerciales. En Estados Unidos existe el llamado "Food Additive Petition" y la ruta GRAS ("Generally Recognized as Safe"). Las sustancias nuevas que deseen ingresar a Estados Unidos y que puedan ser utilizadas en la comida, si no encuentran su registro en la lista deberán someterse a alguno de estas 2 rutas con el fin de ser utilizados en ese país.

<b>Tabla x-3. Países con lista de sustancias químicas para comida permitidas</b>
Japón
Suiza
Estados Unidos de Norteamérica
La Ex- Unión Soviética

#### **V.2. Países con lista de aditivos químicos prohibidos para consumo en la comida.**

Cualquier sustancia que no está en la lista puede ser utilizada sin restricciones. Este sistema tiene la desventaja de que los productos nuevos no probados con anterioridad, pueden llegar a ser utilizados sin análisis previos.

<b>Tabla x-4. Países con lista de sustancias químicas para comida prohibidas</b>
Australia
Brasil
Canadá
Chile
India
Nueva Zelanda
Singapur

### V.3. Países con lista de productos permitidos y productos prohibidos.

Estos países poseen ambas listas y con ello todas las ventajas y las desventajas que ambos sistemas presentan.

Argentina
Alemania
Italia
España
Holanda

### V.4. Países sin reglamentación específica.

En estos países hay que consultar las agencias especializadas dedicadas a los sabores para poder conocer las restricciones que presenta el país para la exportación de saborizantes a dichos países.

Austria	Francia	Grecia	Reino Unido
Bélgica	Sudáfrica	Jamaica	Irlanda
Dinamarca	Portugal	Luxemburgo	Suecia
Noruega			

### V.5. Países sin legislación específica.

Algunos otros países piden aprobación previa por parte del gobierno de la agencia exportadora. Estos países no poseen legislaciones específicas y aceptan las legislaciones de otros países.

Finlandia	Polonia
Hungría	Bulgaria
Perú	

En México no se cuenta con reglamentación específica para la importación o exportación de productos químicos utilizados en los alimentos, y es a través de las grandes empresas comercializadoras de sabores o bien a través de empresas vendedoras de productos químicos puros, como se pueden obtener ciertos productos sin restricción alguna. En muchos casos, cuando existe una aceptación previa por parte del país importador, los procedimientos aduanales para su importación son mucho más sencillos.

## VI. Importancia del 3-metil-3-fenil glicidato de etilo (glicidato de etilo).

Dentro de las sustancias químicas artificiales que imparten sabor y olor a fresa se encuentra el éster etílico del ácido 3-metil-3-fenil-oxirancarboxílico, comúnmente llamado 3-metil-3-fenilglicidato de etilo, o bien simplemente glicidato de etilo. Esta sustancia se vende comercialmente como la mezcla de isómeros E y Z y se utiliza en repostería, bebidas alcohólicas, confitería, jarabes, dulces, etc. La FEMA (Flavour and

Extract Manufacturers Association) le ha otorgado una categoría de generalmente inofensivo (GRAS Generally Recognized As Safe). La IOFI (International Organization of Flavour Industry), el Código (Food Chemical Codex) y el Consejo Europeo en su publicación <*Natural Flavouring substances, Their Sources, and Added Artificial Flavouring Substances*> lo consideran apto para el consumo humano en las siguientes proporciones: Bebidas alcohólicas (5 mg/kg.), dulces (10 mg/kg.), repostería (10 mg/kg.).

Asimismo, se utiliza como agente encapsulante de gomas de mascar y en la industria de polímeros como agente aromatizante en espumas de poliuretanos.

La importancia de este producto no sólo es comercial *per se* sino que también presenta una estructura muy particular desde el punto de vista químico. Se trata de una mezcla isomérica (Z y E) que a su vez, debido a la presencia de centros quirales, también presentan enantiómeros para cada uno de los isómeros geométricos. De ahí que la mezcla de análisis se componga de 4 estereoisómeros diferentes. Más interesante aún es que se ha encontrado que solamente uno de los isómeros presentes en la mezcla es el que posee las propiedades organolépticas. De aquí se deriva el interés por aplicar técnicas analíticas que ayuden a caracterizar completamente la estructura química y conformacional de cada uno de los isómeros.



## ***Objetivos***

1. Diseñar una estrategia mediante el empleo de la Resonancia Magnética Nuclear uni y bidimensional para el reconocimiento de la estructura típica de los glicidatos de etilo.
2. Reconocer mediante las técnicas de espectroscopía moderna las especies diastereoméricas mediante la asignación inequívoca de las señales de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  en la mezcla de 3-metil-3-fenil glicidatos de etilo.
3. Analizar los efectos anisotrópicos en cada especie diastereomérica y sus consecuencias sobre los desplazamientos químicos observados en la mezcla.
4. Obtener derivados del 3-metil-3-fenil glicidato de etilo catalizadas por microondas, para su empleo como modelos que permitan profundizar en el estudio de los glicidatos de etilo.
5. Conocer la importancia económica y generalidades del 3-metil-3-fenilglicidato de etilo.

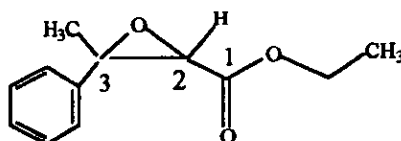
# Capítulo 1

## Generalidades del 3-metil-3-fenil glicidato de etilo

### 1.1 y 1.2) Nomenclatura y Estructura Química.

Son varios los nombres con los que se le conoce a la mezcla isomérica de glicidatos de etilo y se enlistan a continuación:

- Éster etílico del ácido  $\beta$ -metil- $\beta$ -fenil-oxirancarboxílico
- $\beta$ -metil- $\beta$ -fenil oxirancarboxilato de etilo
- 3-metil-3-fenil glicidato de etilo
- $\beta$ -metil- $\beta$ -fenil glicidato de etilo
- 3-fenil epoxibutanoato de etilo
- Comercialmente se le conoce como metil-fenil glicidato de etilo.
- Menos utilizado comercialmente es el nombre de aldehido-6
- Glicidatos de etilo



3-metil-3-fenil g licidato de etilo

Figura 1-1 Estructura general del 3-metil-3-fenilglicidato de etilo.

La presencia de 2 centros quirales en los carbonos 2 y 3, genera dos posibles isómeros por cada centro quiral, es decir  $2^n$  isómeros<sup>6</sup>, por lo que con  $n=2$  para este caso, se tienen 4 isómeros diferentes, (2R,3R), (2S,3S), (2R,3S) y (2S, 3R).

En general podemos diferenciar 2 diastereómeros principales el Z y el E (comúnmente llamados cis y trans) y a su vez cada uno tiene su correspondiente enantiómero.

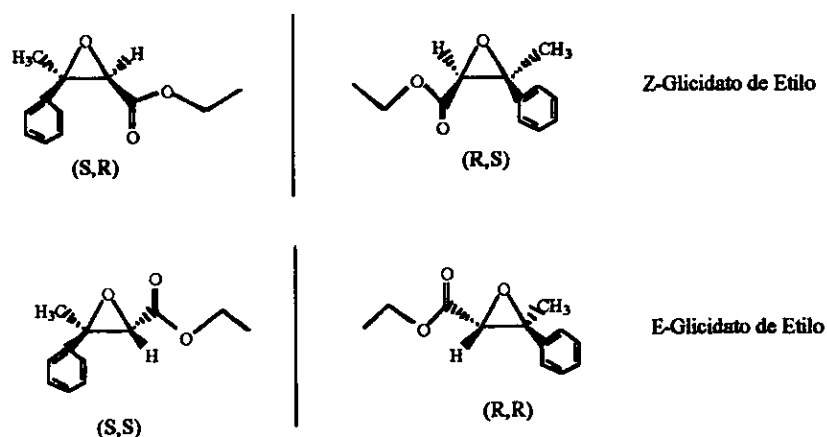


Figura 1-2 Estereoisómeros presentes en la mezcla del 3-metil-3-fenil-glicidato de etilo

<sup>6</sup> Morrison and Boyd, 5a Edición, Química Orgánica, Addison Wesley Iberoamericana, 1990

### 1.3) Métodos de Síntesis

La síntesis del 3-metil-3-fenil-glicidato de etilo se conoce desde finales de los años 50's y con el paso del tiempo se han mejorado los rendimientos de manera significativa. Una de las líneas importantes de investigación sintética, se centra en la obtención de compuestos enantioméricamente puros. Sin embargo, no se ha llegado a tener un método de síntesis directo para la obtención del isómero que posee las propiedades organolépticas de interés.

#### 1.3.1. Condensación de Darzen

En 1958, House *et al.*<sup>7</sup> publicaron la síntesis del 3-metil-3-fenil-glicidato de etilo a partir de la síntesis de Darzen.

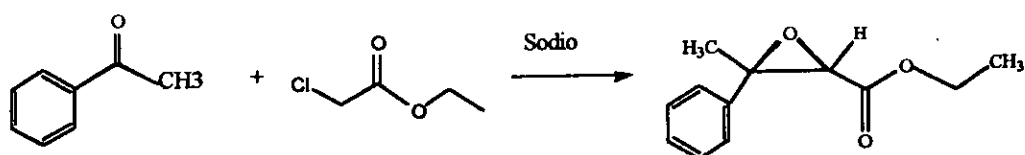


Figura 1-3 Síntesis de Darzen para la obtención del 3-metil-3-fenil-glicidato de etilo.

Desde el trabajo de House *et al.* la mayor parte de los cambios se deben a variaciones en las bases utilizadas y con ello variaciones en los rendimientos obtenidos.

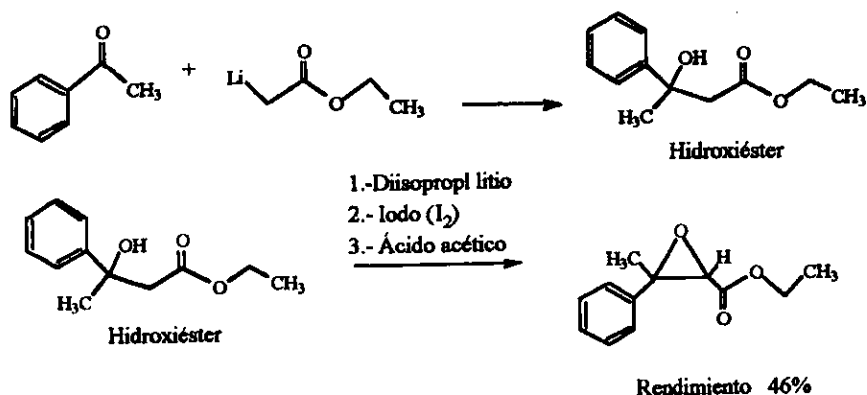
Condiciones	Referencia
CH <sub>3</sub> CN, NaH y 60°C Centígrados. Rendimiento 76% relación Z:E (45:55)	<i>Synth. Comm</i> 14(2) 121-125 (1984)
t-butóxido de potasio, t-butanol Rendimiento 81%	<i>JACS</i> 80,(1958), 6386. <i>J.Org.Chem</i> 44, 18, (1979)

Tabla I-1 Variaciones a la síntesis de Darzen para la obtención de glicidatos de etilo.

En 1977 surgieron algunas otras variaciones a la síntesis de Darzen<sup>8</sup> en donde se utilizaban diversos catalizadores y medios de reacción *v.gr.* yodo y ácido acético.

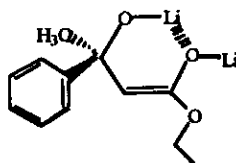
<sup>7</sup> House H., Blaker W & Madden D., *J.Am.Chem.Soc.* 80: 6386, (1958).

<sup>8</sup> Kraus G. & Taschner M., *Tetrahedron Letters* 52,4575 (1977).



**Figura 1-4** Diversas condiciones para la síntesis del 3-metil-3-fenil-glicidato de etilo.

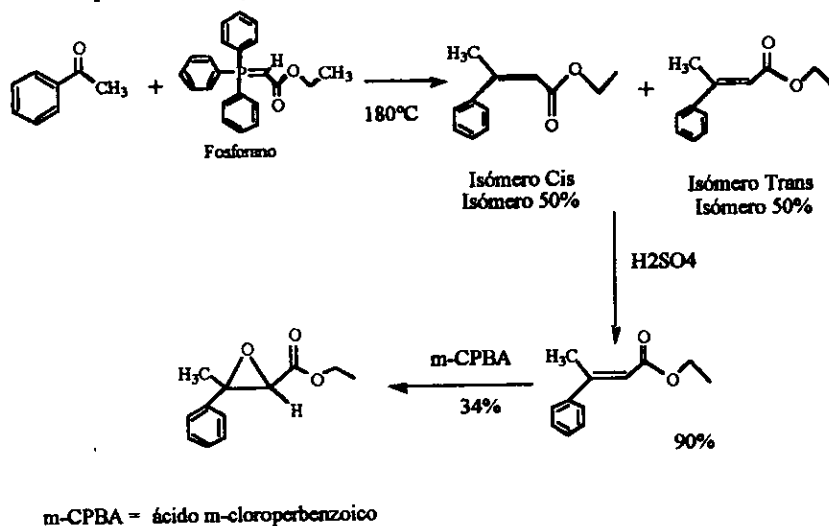
La reacción se explica a través de un intermediario que tiene una estructura como la que se presenta a continuación.



**Figura 1-5** Intermediario de reacción en la obtención del 3-metil-3-fenil glicidato de etilo empleando diisopropil litio como catalizador básico.

### 1.3.2. Síntesis vía Fosforanos

En la búsqueda de pureza enantiomérica, se propuso en 1979 la síntesis del 3-metil-3-fenil-glicidato de etilo a través del uso de fosforanos<sup>9</sup>, favoreciendo un 90% la formación de un alqueno trans y de ahí favorecer la formación del isómero E.



**Figura 1-6** Síntesis vía reacciones con fosforanos para la obtención de diasterómeros puros.

<sup>9</sup> Domagala J.M. & Bach R., *J.Org.Chem* 44, 18 (1979).

#### 1.4) Reacciones y Derivados.

##### 1.4.1. Compuestos Cíclicos de Guanidina

Algunos compuestos cíclicos de guanidina contienen anillos pirrólicos que son derivados biogénicamente de la oroidina y han sido obtenidos de organismos marinos<sup>10</sup>. Dentro de la síntesis de este tipo de compuestos, la materia prima ideal es el 3-metil-3-fenil glicidato de etilo y a través de esta síntesis, se logran obtener productos con estereoquímica o conformaciones deseadas.

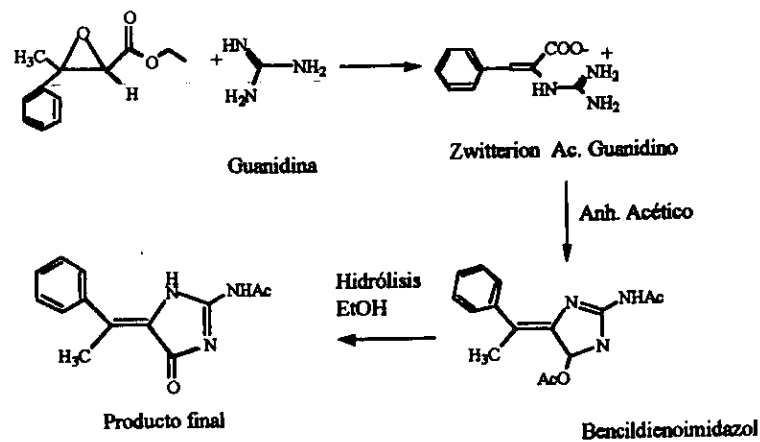


Figura 1-7 Obtención de anillos pirrólicos utilizando 3-metil-3-fenil glicidato de etilo como materia prima.

##### 1.4.2. Obtención de 3-metil-3-fenil-glicidato de p-bromofenacilo

Al hacer reaccionar el glicidato de etilo con etóxido de sodio se obtiene la sal correspondiente, misma que al reaccionar con bromuro de p-bromofenacilo, produce un sólido con punto de fusión de 75-90° C<sup>11</sup>.

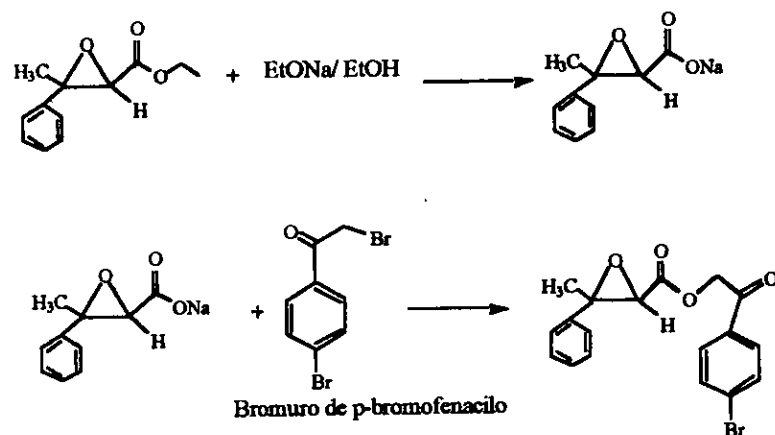


Figura 1-8. Obtención del Bromuro de p-bromofenacilo

<sup>10</sup> Prager R. & Tsopelas C., *Aust. J.Chem* 43 (2), 367 (1990).

<sup>11</sup> House H. & Blaker. J.W., *JACS* 80, 6398 (1958)

### 1.4.3. Hidrólisis del 3-metil-3-fenil glicidato de etilo.

Al agregar ácido al glicidato de etilo la apertura del anillo oxiránico es casi inmediata. Asimismo, al agregar ácido peryódico es posible obtener nuevamente la acetofenona de la que se partió<sup>12</sup>.

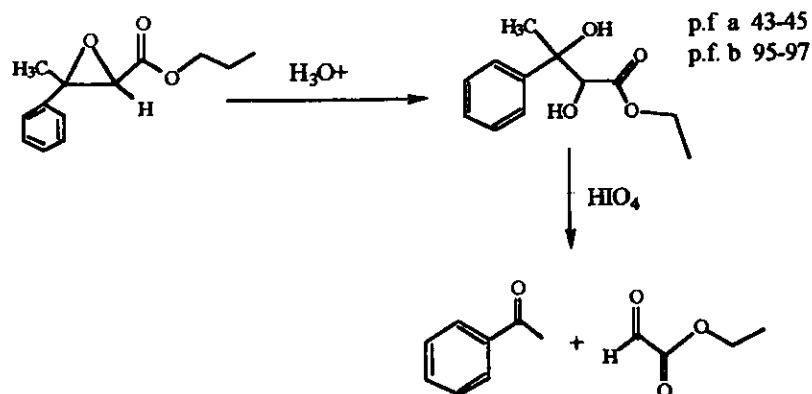


Figura 1-9 Hidrólisis ácida del 3-metil-3-fenil-glicidato de etilo.

### 1.4.4. Reacciones de las sales alcalinas del 3-metil-3-fenil glicidato.

Este tipo de reacciones se reportan en la literatura como pasos clave en la formación de compuestos intermediarios en secuencias sintéticas.

#### 1.4.4.1 Obtención del $\alpha$ -fenilpropionaldehido.

Al acidificar el medio se puede obtener acetofenona, sin embargo, también es posible la obtención del  $\alpha$ -fenilpropionaldehido al tener descarboxilaciones incluso a cero grados centígrados<sup>13</sup>.

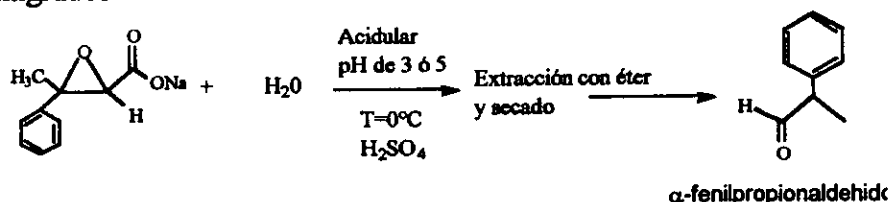


Figura 1-10 Obtención de  $\alpha$ -fenilpropionaldehido a través de hidrólisis ácida.

#### 1.4.4.2 Obtención de la sal de plata.

Al hacer reaccionar la sal de sodio con nitrato de plata acuoso se tiene un precipitado blanco bastante insoluble. Este precipitado blanco, la sal de plata, se oscurece con el aire fácilmente<sup>14</sup>.

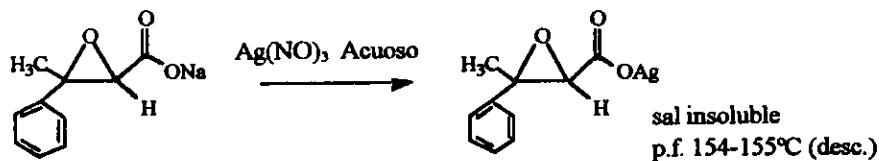


Figura 1-11 Obtención del 3-metil-3-fenil glicidato de plata.

<sup>12</sup> *Idem.*

<sup>13</sup> House H. & Blaker. J.W., *JACS* 80, 6398 (1958).

<sup>14</sup> *Idem.*

### 1.4.4.3 Obtención del 3-metil-3-fenilglicidato de amonio.

La sal de amonio se obtiene en dos pasos a través de la sal de la amina y una acidulación final<sup>15</sup>.

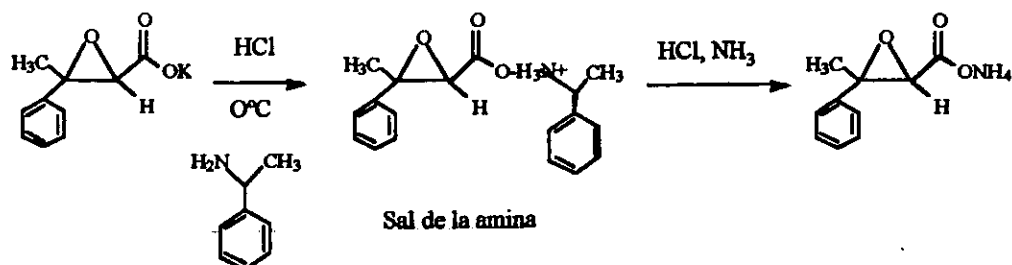


Figura 1-12 Obtención del 3-metil-3-fenilglicidato de amonio.

### 1.4.4.4. Reacciones con compuestos organometálicos.

En la obtención de un derivado cetónico del glicidato de etilo la utilización de compuestos organometálicos en una versión de reactivo de Grignard, encuentra una aplicación muy útil como se muestra en el esquema de reacción siguiente.<sup>16</sup>

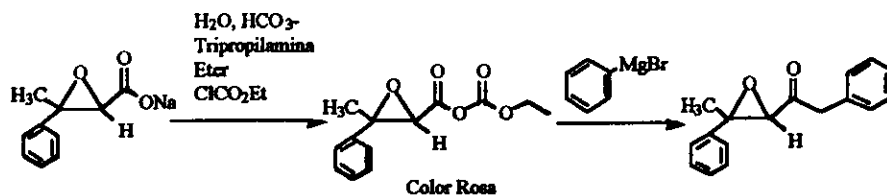


Figura 1-13 Reacciones con compuestos organometálicos.

### 1.4.5. Rearreglos del 3-metil-3-fenil-glicidato de etilo.

Dentro de las peculiaridades que muestra el glicidato de etilo está el presentar una serie de reagrupamientos y formación de ésteres o bien alcoholes dependiendo del medio, temperatura, etc.

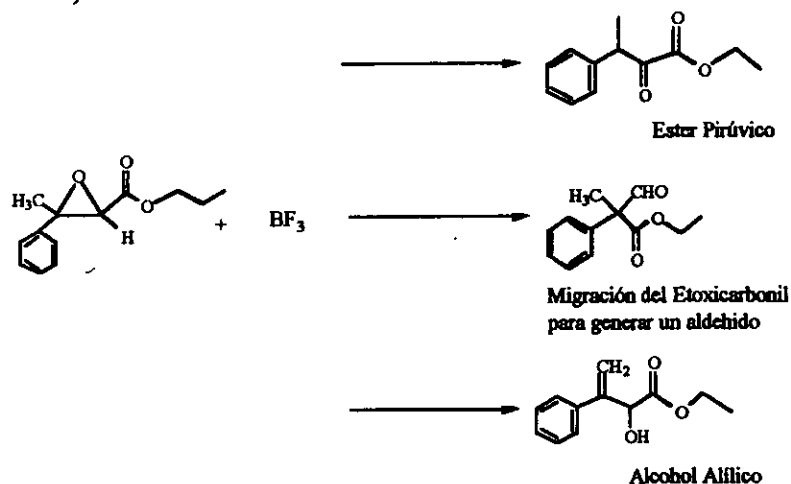


Figura 1-14 Rearreglos que presenta el 3-metil-3-fenil-glicidato de etilo al hacerlo reaccionar con  $\text{BF}_3$ , en diferentes medios, temperaturas, etc.

<sup>15</sup> Domagala J.M. & Bach R., *J.Org.Chem* 44(18): 3169, (1979).

<sup>16</sup> *Idem*

La temperatura juega un papel fundamental en el rearrreglo ya que a partir del alcohol alílico y  $\text{BF}_3$  se puede generar, a temperatura ambiente, el éster pirúvico y la migración del etoxicarbonilo para dar el aldehído. Al variar la temperatura se empiezan a obtener diferentes combinaciones de productos. Análogamente, el medio juega un papel fundamental ya que si se utiliza éter se tiene principalmente el alcohol alílico con un poco del aldehído y del éster pirúvico, mientras que en ácido acético, el único compuesto obtenido es el alcohol alílico. La posición 3 presenta una deficiencia de electrones y por ello los rearrreglos que se llevan a cabo son de tipo Wagner-Meerwein, en donde se tiene una conversión del catión menos estable al más estable. No es fácil de predecir este tipo de rearrreglo.

### 1.5) Extracción y Separación.

La cuantificación del 3-metil-3-fenil glicidato de etilo resulta importante en alimentos, ya que se comparan dichas cantidades con los parámetros que la legislación del país establece. A través de una extracción (o una dispersión) en medio acuoso ligeramente alcohólico seguido por extracción en un disolvente orgánico, se puede tener una recuperación de hasta 95 % del 3-metil-3-fenil-glicidato de etilo a partir de la muestra original.

Una de las técnicas utilizadas en la determinación cuantitativa de la cantidad de 3-metil-3-fenil glicidato de etilo en preparaciones alimenticias así como una técnica de separación de los isómeros presentes en la muestra, es la cromatografía de líquidos de alta eficiencia (CLAE/ HPLC *High Performance Liquid Chromatography*). Con una buena curva de calibración utilizando una columna RP 18 esférica/5 Brownlee ( $l=20$  cm, i.d. 2.1 mm) y un detector de uv-visible a  $\lambda = 230$  nm es posible cuantificar la cantidad de glicidato de etilo presente en las muestras<sup>17</sup>. Asimismo, una columna quiral de triacetato de celulosa empleando etanol como fase móvil, se puede lograr la separación de los diasterómeros y los enantiómeros presentes en la muestra<sup>18</sup>.

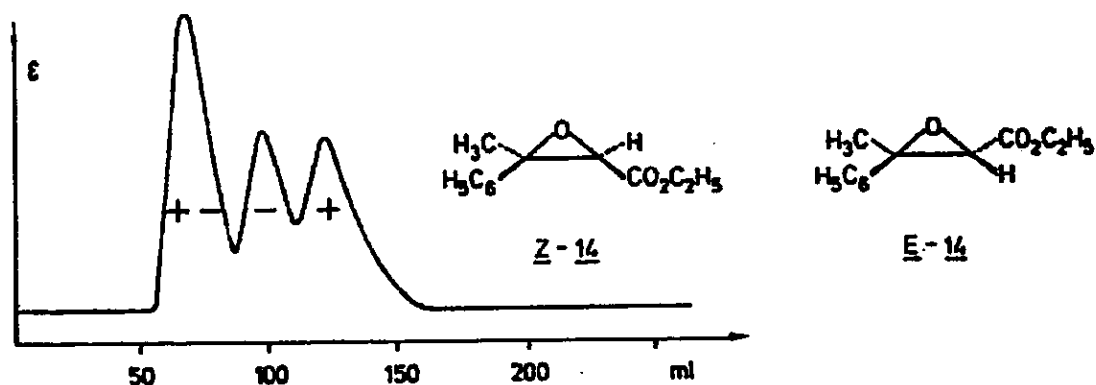


Figura 1-15. Cromatograma de separación enantiomérica utilizando una columna quiral de triacetato de celulosa y etanol como fase móvil<sup>18</sup>.

<sup>17</sup> Tateo F., Triangeli L. & Panna E., *Riv.Soc. Ital.Sci.Aliment.*, 17(3): 179 (1988) (Ital)

<sup>18</sup> Konrad G. & Musso H., *Liebigs Ann Chem* 11: 1956, (1986) (Ger)



## Capítulo 2

### Técnicas Analíticas de Caracterización Estructural

#### *Espectroscopia*

Existen diferentes formas de energía radiante, que se conoce como radiación electromagnética. Todas ellas se consideran como una dualidad partícula-onda que viaja con velocidad constante (la velocidad de la luz) y que sólo difieren en la longitud de onda y en su frecuencia. Las diferentes energías comprendidas en el espectro electromagnético pueden ser apreciadas en la figura siguiente.

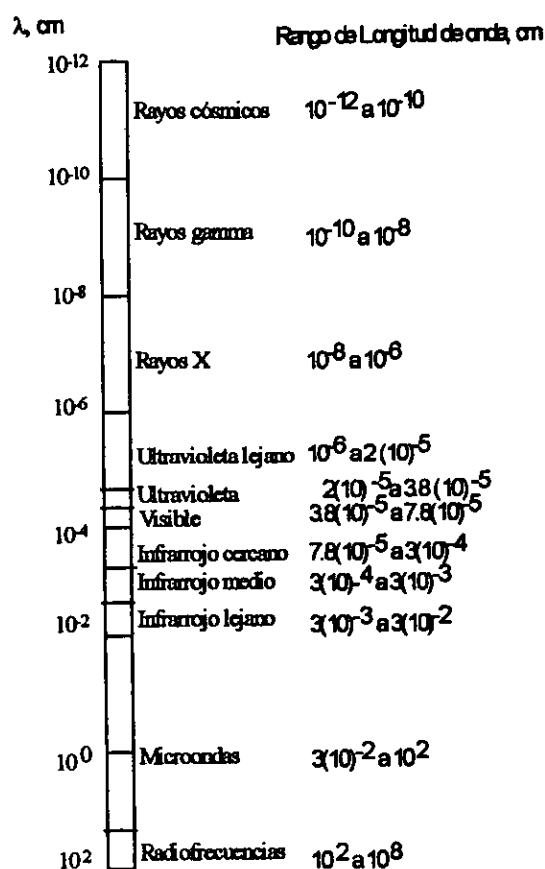


Figura 2-1. Diagrama del Espectro Electromagnético.

La espectroscopia es un campo de estudio donde se mide la cantidad de energía que una sustancia absorbe (o emite al relajarse) en varias longitudes de onda. A través de estos datos, se obtiene información estructural, conformacional, etc. de los compuestos químicos.

#### 2.1 Infrarrojo

##### 2.1.1. Introducción

La radiación infrarroja se encuentra dentro del espectro electromagnético entre el visible y la región de las microondas. De una forma convencional, a la zona de radiación infrarroja se le divide en 3 partes:

1. el IR cercano ( $\lambda = 0.78 - 3.0 \mu \nu = 12820 - 3333 \text{ cm}^{-1}$ ),
2. el IR medio ( $\lambda = 3 - 30 \mu \nu = 3333 - 333 \text{ cm}^{-1}$ )
3. y el IR lejano ( $\lambda = 30 - 300 \mu \nu = 333 - 33 \text{ cm}^{-1}$ ).

La zona de  $4000$  a  $400 \text{ cm}^{-1}$  es la zona mas utilizada para estudios de química orgánica ya que en ella se puede obtener la mayor cantidad de información referente a grupos funcionales presentes en los compuestos.

### 2.1.2. Consideraciones Teóricas

Las moléculas orgánicas absorben la radiación infrarroja de frecuencias menores a  $100 \text{ cm}^{-1}$  como energía de **rotación molecular**. Esta absorción está cuantizada y por lo mismo, el espectro de rotación molecular consiste en líneas discretas.

Cuando una molécula orgánica absorbe en la región de  $10,000$  a  $100 \text{ cm}^{-1}$  la radiación absorbida entra en resonancia con la radiación incidente provocando excitaciones a niveles superiores de energía vibracional. Esta absorción también está cuantizada, pero el espectro de vibración aparece en forma de bandas mas que de líneas ya que un solo cambio de energía vibracional está acompañado por una serie de cambios en la energía rotacional-vibracional. Estas bandas de rotación-vibración aparecen particularmente entre  $4000$  y  $400 \text{ cm}^{-1}$  y son de gran importancia para cuestiones estructurales. La frecuencia o longitud de onda de la absorción depende de la masa relativa, de las constantes de fuerza de los enlaces y de la geometría de los átomos.

De manera general, la posición de las bandas en infrarrojo se expresan en números de onda ( $\nu$ ) cuya unidad es el recíproco de  $\text{cm}$  ( $\text{cm}^{-1}$ ).

Una condición fundamental para que una molécula absorba en infrarrojo es el presentar variaciones en su momento dipolar. Existen tres vibraciones fundamentales en la espectroscopía de infrarrojo que pueden ilustrarse recurriendo a un sistema triatómico.

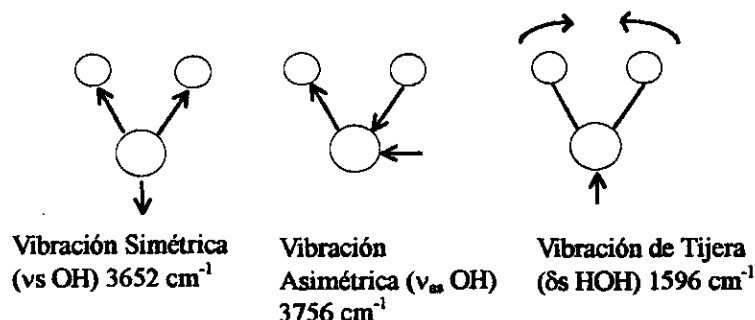


Figura 2-2 Modos de vibración, en el plano, presentes en moléculas triatómicas

Estas variaciones también pueden existir como vibraciones de deformación dentro y fuera del plano que, en ocasiones, son de gran valor en el proceso de elucidación estructural.

La asignación de las frecuencias originadas por la vibración molecular puede explicarse a través de la ley de Hooke, en donde los enlaces se consideran como osciladores armónicos en donde 2 masas están unidas por medio de un resorte. La ecuación que se deriva de estas consideraciones se muestra a continuación

$$v = 1/2\pi c [ f / (M_x M_y) / (M_x + M_y) ]$$

en donde  $v$  = frecuencia de vibración ( $\text{cm}^{-1}$ )  
 $c$  = Velocidad de la luz ( $\text{cm/s}$ )  
 $f$  = Constante de fuerza del enlace ( $\text{dinas/cm}$ )

### 2.1.3. Instrumentación

Actualmente se utilizan de manera regular espectrómetros de transformada de Fourier. En estos espectrómetros el haz que lleva la radiación infrarroja de longitudes de onda entre  $5000\text{--}400\text{cm}^{-1}$  es separado en 2 haces. Uno de los haces tiene una longitud fija y otra tiene longitud de onda variable a través de un espejo móvil. Cuando la diferencia en las correspondientes longitudes de onda es un múltiplo entero con respecto al haz que no varía existe una interferencia constructiva; de otra forma se tendría una interferencia destructiva. El resultado de la variación de intensidades es una serie de combinaciones oscilantes constructivas-destructivas, lo que genera un interferograma. La transformada de Fourier convierte al interferograma del dominio de tiempo al dominio de las frecuencias.

### 2.1.4. Manejo de muestras.

En Infrarrojo se pueden analizar sólidos, líquidos y gases ya que para cada uno de estos estados de agregación se tiene un sistema particular de introducción y análisis de muestra.

Las sustancias líquidas pueden ser analizadas aplicando una capa fina en una celda, simplemente presionando el líquido entre 2 superficies planas para tener  $0.01\text{ mm}$  de espesor. También se puede utilizar disoluciones siempre y cuando el disolvente no absorba en el infrarrojo. De los solventes más utilizados se encuentran el cloroformo, tetracloruro de carbono y el disulfuro de carbono.

Las sustancias sólidas suelen analizarse a través de pastillas. El sólido se mezcla con una pequeña cantidad de bromuro de potasio, se muelen en un mortero y en una prensa se comprime la mezcla hasta tener una pastilla translúcida, la cual será el soporte para el análisis de infrarrojo. También es posible utilizar suspensiones del sólido, sin embargo, los soportes utilizados tienen ciertas frecuencias de absorción bien conocidas. Uno de los más utilizados es el nujol, el cual absorbe intensamente por arriba de  $3000\text{cm}^{-1}$ , por lo que, el nujol es muy útil para ver frecuencias menores a  $3000\text{ cm}^{-1}$ . Por otro lado si se desea ver las bandas de hidrocarburos se utiliza como soporte el "flourolube" el cual está completamente halogenado y no interviene en la zona por arriba de  $3000\text{cm}^{-1}$ .

Cuando la sustancia se encuentra en estado gaseoso, existen celdas especiales en donde se inyecta el gas y se cierra herméticamente y se analiza directamente el gas. Las celdas deben estar hechas de un material que no absorba la radiación infrarroja.

### 2.1.5. Interpretación.

En cuestión de interpretación de espectros de infrarrojo, es muy importante contar con buenas tablas que ayuden a reconocer la frecuencia en la que los diferentes grupos funcionales absorben. En la literatura se cuenta con un sin fin de herramientas y sugerencias para la interpretación de las señales.

De una manera muy general se muestran a continuación algunas de las frecuencias de absorción de algunos de los grupos funcionales característicos.

Grupo	Alargamiento Asimétrico $\nu_s(\text{cm}^{-1})$	Alargamiento C-H Simétrico $\nu_s(\text{cm}^{-1})$	Vibración C-H fuera del plano ( $\text{cm}^{-1}$ ) $\delta$ (simétrico y asimétrico)
Metilos (-CH <sub>3</sub> )	C-H 2962	C-H 2872	C-H 1450 y 1375
Metilenos (-CH <sub>2</sub> )	C-H 2926	C-H 2853	C-H 1465
Alquenos	C-C 1667-1640	C-H Arriba de 3000	1416 y entre 1000-650
Alquinos	C-C 2260-2100	C-H 3333-3267	700-610 y sobretonos a 1370-1220
Epóxidos	C-O-C 950-810	C-O-C 1250 C-H 3050-2990	
Esteres	C=O 1750-1735 C-O-C 1275-1200	C-O-C 1075-1020	

Tabla II-1 Frecuencias de absorción de algunos grupos funcionales importantes<sup>19</sup>.

## 2.2 Espectrometría de Masas.<sup>20</sup>

El espectrómetro de masas es un instrumento que funciona al alto vacío ( $10^{-5}$ - $10^{-6}$  mm de Hg.) y que permite la ionización de una muestra en fase vapor y la separación y detección de los iones formados de acuerdo a su masa y su carga (m/z). La espectrometría de masas es una de las técnicas analíticas que da gran información al científico ya que permite analizar la composición cualitativa y cuantitativa de analitos orgánicos, organometálicos e inorgánicos en muestras complejas. Asimismo, es de importancia fundamental en la elucidación de estructuras moleculares y en la determinación exacta de relaciones isotópicas. De ahí, se puede comprender su invaluable aporte en la elucidación de estructuras químicas.

En una forma muy general, un espectrómetro cuenta con un sistema introductor de muestras, una cámara de ionización, varias rejillas de aceleración de iones, un separador másico, un detector y un sistema de manejo de datos.

### 2.2.1. Sistema de introducción de muestras.

Dentro de la espectrometría de masas la forma de introducir la muestra en el espectrómetro es muy variada. Dentro de las formas más comunes se encuentra el sistema acoplado cromatógrafo de gases-espectrómetro de masas (GC-MS). En este sistema se inyecta la muestra al cromatógrafo en donde se llevará a cabo una separación previa antes de llegar a la cámara de ionización del espectrómetro de masas. Este sistema muestra la enorme ventaja de análisis de mezclas, ya que antes de que entre el espectrómetro, se llevará a cabo su separación.

<sup>19</sup> Silverstein, Bassler & Morrill, *Spectrometric Identification of Organic Compounds*, 5th Edition, John Wiley & Sons, USA, 1991.

<sup>20</sup> Notas Jeol Ionization Methods in Mass Spectrometry- Microsoft Internet Explorer

Otra forma de introducción de muestras es vía la exposición directa de la muestra a la cámara de ionización a través de una sonda que se calienta muy rápidamente (DEP, direct exposure probe). Esta sonda se calienta en pocos segundos y así induce la evaporación de la muestra para su análisis. La forma de introducción de la muestra es a través del uso de una matriz inerte en forma de suspensión. A ésta técnica se le llama análisis espectrométrico por bombardeo de átomos rápidos (FAB).

Para el análisis de proteínas o aminoácidos, la introducción al espectrómetro se realiza mediante la técnica denominada "electrospray".

Existen otros métodos de introducción de muestras, sin embargo, en una forma muy general, se pueden considerar que los anteriores son los más importantes.

### 2.2.2. Ionización

Para que un compuesto pueda ser analizado por espectrometría de masas debe llevarse a una forma iónica, es decir, presentar una carga, ya sea positiva o negativa, para que se pueda detectar. Esto se hace fácilmente con moléculas gaseosas o bien con muestras volátiles. Sin embargo, hay muchas sustancias que son lábiles térmicamente, es decir, que se pueden descomponer con el calor. Para este tipo de sustancias es necesario utilizar otros métodos de ionización para que se puedan analizar por espectrometría de masas.

Existen varios métodos de ionización, uno de ellos es el llamado **método de ionización suave**. Este tipo de ionización tiende a generar espectros con muy poca fragmentación y en muchos casos se emplea para observar el ion molecular. El principio se basa en el incremento de la presión en la cámara de ionización a aproximadamente 0.75 Torr donde se pueden llevar a cabo cientos de colisiones ión-molécula antes de salir de la cámara y llegar al separador másico<sup>21</sup>. Un bombardeo de metano o cualquier otro gas a altas presiones en la cámara de ionización cerrada, produce una gran cantidad de iones "reactivo" como  $\text{CH}_5^+$ . Estos iones reaccionan con las moléculas de la muestra en estudio a través de reacciones ión-molécula. Ejemplos de este tipo de ionización son la ionización química, con el cual se pueden obtener iones positivos o bien negativos. Otros métodos de ionización suave son el FAB (Fast Atom Bombardment que utiliza xenón como átomos de bombardeo), el "electrospray" (utilizado en el estudio de macromoléculas), desorción de campo, y algunos más.

El **método de ionización fuerte** está representado por el impacto electrónico. Este es el método más utilizado y más aplicado de todos los métodos conocidos. Un haz de electrones atraviesa la muestra en fase gaseosa. El campo magnético y eléctrico del electrón ionizante puede interactuar con los campos de los electrones moleculares de la muestra, de tal forma que al aproximarse a medio angstrom se produce la expulsión y se genera un ion con carga positiva con un contenido específico de energía interna<sup>22</sup>. La ionización puede producir un ion molecular, (el ion que posee la composición elemental

<sup>21</sup> Mc. Lafferty F., Turecek F., Interpretation of Mass Spectra, 4<sup>th</sup> Edition, University Science Books, USA, 1993.

<sup>22</sup> J.Fernando Jáuregui Z., Notas del Curso Taller de Espectrometría de Masas, Maestría en Química Analítica, Facultad de Química, UNAM.

del analito) o bien, iones fragmento que corresponden a fragmentos de menor relación masa-carga.

### 2.2.3. Separación Másica

El haz de iones puede separarse de acuerdo a su relación masa/carga ( $m/Z$ ), empleando diversos métodos como: deflexión magnética, filtros cuadrupolares, trampas iónicas, "tiempo de vuelo" ("time of flight") y resonancia de ciclotrón, que son los separadores másicos más comunes en los espectrómetros comerciales.

Una de las técnicas más utilizadas y que produjo una gran cantidad de trabajos de investigación es la separación de iones a través de sectores magnéticos. Los iones formados en la cámara de ionización son acelerados de acuerdo con el principio de Lorentz de atracción-repulsión electrostática.

$$1/2 mv^2 = zV$$

El haz iónico penetra en un campo magnético homogéneo en donde cada ion tiende a describir una órbita circular, como resultado del equilibrio de la fuerza centrífuga debida a la aceleración del ion, y la fuerza centrípeta debida al efecto del campo aplicado:

$$mv^2/r = HzV \quad \text{donde:}$$

$m$  = masa del ion

$v$  = velocidad del ion

$r$  = radio de curvatura del analizador magnético

$H$  = Intensidad del campo magnético

$z$  = carga del ion

$V$  = potencial de aceleración.

Suponiendo que las diferencias de energía cinética son debidas a las diferencias de masa de los iones y que estos viajan esencialmente a la misma velocidad, al igualar las expresiones anteriores se tiene la siguiente expresión:

$$m/z = H^2 r^2 / 2V.$$

Esta expresión indica que para un radio de curvatura dado y un voltaje de aceleración constante, la variación de la intensidad de campo magnético traerá a foco a cada ion separado en forma logarítmica.

### 2.2.4. Resolución en Espectrometría de Masas

La resolución en espectrometría de masas puede tener diferentes definiciones y estas variaciones, en ocasiones, son características de los diferentes tipos de espectrómetros que hay en de manera comercial.<sup>23</sup>

a) **Resolución unitaria** se refiere a la separación de una unidad entera entre una masa y otra. Esto es, el poder distinguir a la masa 50 de la 51. Esta definición se utiliza comúnmente en espectrómetros cuadrupolares y en aquellos que usan trampas iónicas.

<sup>23</sup> Notas de Operación de JEOL <http://www.jeol.com/ms/resolution.html>

b) La **resolución en los espectrómetros de sector magnético** se define de acuerdo a la siguiente expresión:

$$\text{Resolución} = \frac{m}{\Delta m}$$

Usualmente en espectrómetros de sector magnético se considera que dos picos contiguos están resueltos cuando el valle entre ellos no sobrepasa el 10% de altura. Esta definición es muy útil en la resolución de los picos isotópicos.

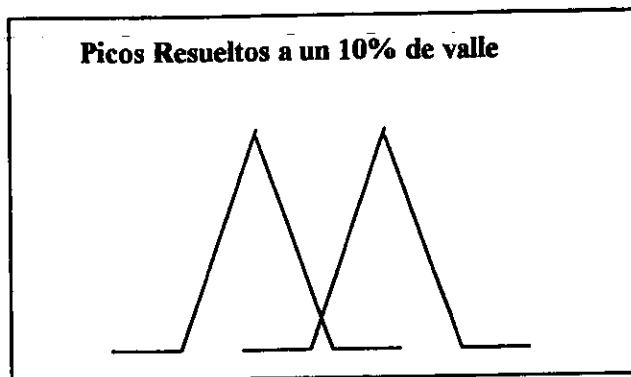


Figura 2-3. Resolución en espectrómetros de sector magnético.

Con base en las definiciones anteriores, si se tiene una resolución de 5000 en un equipo de sector magnético se puede separar la masa  $m/z=50,000$  de la masa  $m/z=50,010$ , mientras que la resolución unitaria haría la distinción de la masa 50 a la 51.

c) El concepto de **alta resolución** se refiere cuando un espectrómetro de masas puede llegar a dar espectros en donde se puede medir la masa exacta de un ion de tal manera que se puede distinguir su composición elemental (incluyendo la isotópica) con alto grado de precisión. Esta técnica permite distinguir un grupos como los que se muestran en la siguiente tabla.

Grupo	Relación $m/z$
$C_2H_3O^+$	43.0184
$C_3H_7^+$	43.0547
$C_2H_5N^+$	43.0421

Tabla II-2. Alta resolución en espectrometría de masas.

## 2.3) Resonancia Magnética Nuclear

### 2.3.1. Desarrollo histórico de la RMN

La primera demostración experimental de la cuantización direccional del espín electrónico se llevó a cabo en 1924 por Stern y Gerlach utilizando un haz de átomos de plata en estado gaseoso. Quince años mas tarde Rabi *et al.*, utilizando un haz de moléculas de cloruro de litio llevaron a cabo el primer experimento de resonancia magnética en el cual se evidenció el espín nuclear. Con el paso del tiempo varias observaciones se hicieron en este campo pero fue hasta que en 1945 Purcell, Bloch y colaboradores descubrieron el

efecto de resonancia nuclear en la materia condensada. Este descubrimiento les dio el premio Nobel de Física en 1952.

Estos experimentos empezaron a interesar a la comunidad química, sobre todo, con descubrimiento del desplazamiento químico. A partir de entonces se pensó en el uso de la resonancia magnética nuclear como una técnica espectroscópica con uso práctico en el estudio del análisis químico estructural.

El primer espectrómetro comercial se presentó a la comunidad científica en 1953 y desde entonces el crecimiento y desarrollo de esta técnica se ha dado a pasos agigantados. En un principio la resonancia protónica era la que se llevaba a cabo con mayor frecuencia, sin embargo otro de los grandes pasos se dio a principios de los años 70's cuando se obtuvieron espectros de  $^{13}\text{C}$  con una sensibilidad mejorada a pesar de que su descubrimiento se había dado anteriormente con Lauterbur desde 1957. Pero el avance continuó con el desacoplamiento protónico y la acumulación de datos lo que hizo posible el desarrollo de la estabilización de la frecuencia de campo usando una señal de resonancia del deuterio como señal de anclado.

Se debe a Ernst y Anderson seguidos por Lowe y Norberg la introducción de un cambio radical en la resonancia de  $^{13}\text{C}$  y esto se dió con el uso de pulsos y de la transformada de Fourier como la técnica matemática de procesamiento de datos. Desde entonces la resonancia de  $^{13}\text{C}$  ha formado parte de los espectros de rutina en el análisis estructural y en muy amplios campos de la química.

Durante el principio de los años 80's, los espectrómetros de la primera y de la segunda generación de transformadas de Fourier fueron cambiados por los espectrómetros modernos. El uso de imanes superconductores ha substituido el uso de los electroimanes, y el uso de estaciones de trabajo poderosas ha substituido a las antiguas computadoras utilizadas en el pasado.

## 2.3.2 Algunas Consideraciones Teóricas

### 2.3.2.1 Concepto de Magnetización Macroscópica

Un núcleo con espín nuclear diferente de cero, ( $I$ ), se comporta como una pequeña barra magnética, con un momento magnético  $\mu$  dado por  $\mu = (\gamma h [I(I+1)]^{1/2}) / 2\pi$ , donde  $h$  es la constante de Planck y  $\gamma$  es la constante giromagnética, una propiedad inherente del núcleo. El valor observado del momento magnético es la proyección de  $\mu$  sobre el eje  $z$ ,  $\mu_z$  (figura 2-5). De acuerdo a la mecánica cuántica  $\mu_z = m_I \gamma h / 2\pi$  donde  $m_I$  es el número cuántico magnético. Los valores permitidos para  $m_I$  son  $I, (I-1), \dots, (-I+1), -I$ , dando origen a  $2I+1$  posibles estados del núcleo. En ausencia de un campo magnético la energía del núcleo es independiente de  $m_I$  pero existe degeneración de los niveles de energía cuando se aplica un campo externo ( $B_0$ ).



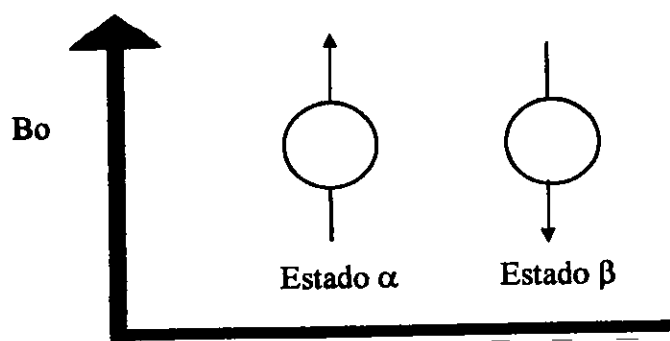


Figura 2-4. Orientaciones nucleares cuando el número cuántico de espín  $I=1/2$  dentro de un campo magnético. El número de orientaciones posibles es de  $2I+1$ .

En un campo de magnitud  $B_0$  y dirección sobre el eje  $z$  de un sistema de coordenadas cartesianas, las energías de los niveles están dadas por  $E = -\mu_z B_0$ . Para un núcleo con  $m_I = 1/2$ , se tienen dos posibles estados, la diferencia de energía entre los dos estados es  $\Delta E = \gamma \hbar B_0 / 2\pi$  lo cual corresponde a  $\nu_0 = \gamma B_0 / 2\pi$  (Hz).

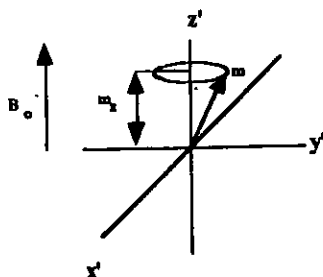


Figura 2-5. Movimiento de precesión de un momento magnético.

En un campo magnético externo, el momento magnético  $\mu$  se sitúa con un ángulo  $\theta = \hbar / \cos(\mu_z / \mu I)$  con respecto al campo. De acuerdo con la mecánica clásica la interacción del espín nuclear con el campo causa un movimiento de precesión alrededor de  $B_0$ . La frecuencia de este movimiento se conoce como *Frecuencia de Larmor* y es igual a  $\nu_0$ . Los dos estados de energía corresponden al movimiento de precesión de  $\mu$  alineado con el campo y otro contra el campo (figura 2-4).

Una muestra que contiene un conjunto de espines nucleares con valor de  $I=1/2$ , en equilibrio con  $B_0$ , tendrá un pequeño exceso poblacional en el estado de energía inferior, como lo predice la distribución de Boltzmann. Si  $\gamma$  es positiva, más de la mitad de los espines nucleares se alinearán con el campo aplicado. Este exceso poblacional genera una magnetización neta en la dirección  $+z$  que se conoce con el nombre de *Magnetización Macroscópica*  $M_0$ .

En un experimento de resonancia magnética nuclear se aplica un campo de radiofrecuencia,  $B_1$ , perpendicular a  $B_0$ . Esto se logra por el paso de una señal a través de una bobina situada en la dirección  $+x$  (figura 2-6a). Con el fin de que la señal de la magnetización neta sea detectada se requiere situarla sobre el plano horizontal. Cuando la frecuencia de  $B_1$  es igual a la frecuencia de Larmor de los espines nucleares modifican su orientación respecto a  $B_0$ , causando una absorción de energía por  $B_1$ . La componente

resultante en el plano  $xy$  puede ser detectada por la bobina situada en el plano horizontal (figura 2-6b).

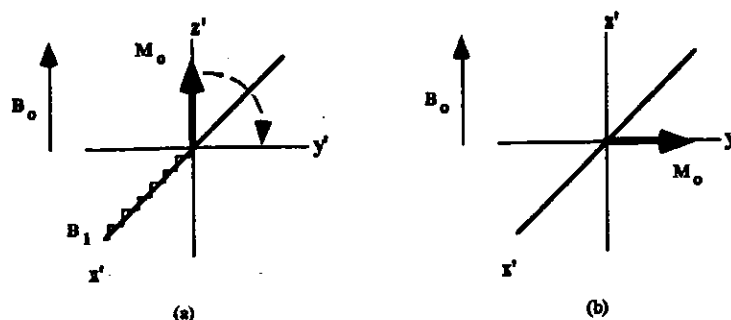


Figura 2-6. Detección de la componente de magnetización neta. a) Radiación incidente sobre el eje  $x'$ . b) Magnetización neta sobre el eje de las  $y'$  como resultado de la aplicación del pulso.

Las transiciones entre los niveles de energía superior e inferior son análogas a la absorción de fotones por un cromóforo en la región de UV/Vis, con la diferencia en la forma de emisión de energía. Un campo magnético  $B_1$  induce transiciones hacia el estado superior e inferior con igual probabilidad. Mientras más grande sea el número de núcleos en el estado de energía inferior, la absorción de energía excede a la emisión y se observa una señal. Existe un proceso (llamado relajación) que describe el retorno del núcleo a su estado de energía inferior, aún cuando la irradiación de  $B_1$  sea continua. Se considera que se alcanza la "saturación" cuando no hay detección de absorción de energía.

### 2.3.2.2 Relajación Nuclear

Una molécula en un medio no viscoso posee un movimiento denominado isotrópico (igualmente probable en todas direcciones). Este movimiento se describe matemáticamente por una gráfica en función del tiempo. Como en otros procesos físicos, la dependencia del movimiento molecular con el tiempo tiene una distribución de frecuencias que se correlaciona con la *transformada de Fourier*. El dominio del tiempo se describe frecuentemente en términos del *tiempo de correlación*,  $\tau_c$ , el cual se considera como el tiempo promedio en el cual la molécula mantiene un arreglo geométrico (en el orden de  $10^{-12}$  a  $10^{-10}$  s). Este movimiento molecular, en combinación con campos magnéticos locales permite al núcleo intercambiar energía con su alrededor (referido como "red") y retornar hacia el equilibrio poblacional. Este proceso de relajación "espín-red" (o longitudinal,  $T_1$ ) es una medida de la eficiencia del proceso de difusión de la energía absorbida.

En sistemas diamagnéticos, la principal fuente de campos magnéticos locales es la interacción a través del espacio de dos dipolos magnéticos nucleares, estos campos proporcionan un tipo de relajación llamado *Dipolar*. Otra fuente de campos magnéticos, que reducen  $T_1$ , es la presencia de sustancias paramagnéticas. Un par electrónico no apareado posee un momento magnético grande, por lo que es un medio efectivo de relajación. Por esta razón, el oxígeno atmosférico se elimina en experimentos sensibles a  $T_1$ . Por otro lado, la adición de pequeñas cantidades de compuestos paramagnéticos reduce tiempos largos de  $T_1$ . Para este propósito comúnmente se usa acetilacetato de Cr (III), Gd (III) y algunos lantánidos.

Otro tipo de proceso de relajación, que no implica transferencia de energía en su entorno, es la inhomogeneidad del campo magnético  $B_0$ , dando lugar a que la muestra perciba pequeñas diferencias de  $B_0$ . Este tipo de relajación se define con  $T_2$ , llamado *tiempo de relajación espín-espín*. Para líquidos  $T_1$  y  $T_2$  son usualmente iguales. Si  $T_1$  es muy corto, entonces  $T_2$  tendrá un valor pequeño y se observará un ensanchamiento de las señales en el espectro.

### 2.3.2.3 La señal

Las transiciones entre los niveles de energía se producen al aplicar una radiofrecuencia perpendicular al campo magnético principal. Cuando el valor de esta radiación electromagnética es igual a la frecuencia de precesión de los núcleos, ocurre una absorción de energía y el núcleo migrará del estado de energía inferior al superior. Mediante procesos de relajación espín-red ( $T_1$ ) y relajación espín-espín ( $T_2$ ), el núcleo en el estado de energía superior retorna al estado de energía inferior por emisión de energía a su alrededor o hacia núcleos cercanos. El detector mide la disminución exponencial causado por los procesos de relajación en forma de un patrón de atenuación conocido como *disminución de la inducción* (Free Induction Decay, FID), el cual se almacena en la memoria de la computadora para ser convertido a través de una operación matemática, conocida como *transformada de Fourier*, en una señal en el dominio de frecuencias.

### 2.3.2.4 Ángulo de Pulso

En el sistema de referencia estacionario, los ejes  $x$ ,  $y$ , y  $z$  se consideran estacionarios, y los vectores de magnetización precesionan en el plano  $xy$  alrededor del eje  $z$  con una velocidad angular  $\omega = \gamma B_0$ . En un marco de referencia rotante, el plano  $x'y'$  se considera que está rotando a la frecuencia de la referencia. Si se aplica un pulso de radiofrecuencia en la dirección  $x'$ , el vector de magnetización macroscópica  $M_0$  se inclinará (movimiento de precesión) del eje  $z$  hacia el eje  $y'$ . La amplitud de la inclinación de  $M_0$  depende de la potencia y duración del pulso. Por ejemplo, en un instrumento de 100 Mz (aplicando un campo de excitación de 25 gauss), un pulso de 5.5  $\mu$ s puede inclinar a  $M_0$  en un ángulo de aproximadamente  $90^\circ$  situándolo sobre el eje  $y'$  (figura 2-7a). Un pulso aplicado con el doble de duración, *i.e.* 11  $\mu$ s, inclinará a  $M_0$  en un ángulo de  $180^\circ$  situándolo sobre el eje  $-z$  (figura 2-7b). La elección de un *ancho de pulso* apropiado (tiempo de duración del pulso) puede inclinar al vector  $M_0$  en el ángulo deseado. El ángulo por el cual el vector  $M_0$  se inclina lejos del eje  $z$  se conoce como *ángulo de pulso*. Los espectrómetros normalmente detectan la componente de la magnetización sobre el eje  $y'$  y la presentan en forma de señales. Por lo tanto, el pulso sirve para convertir la *magnetización longitudinal* (por ejemplo la que está situada sobre el eje  $z$  antes de la aplicación del pulso) a una *magnetización transversal* detectable sobre el eje  $y'$ . La magnitud de la componente sobre el eje  $y'$  se calcula por medio de  $M_0 \sin \theta$  donde  $\theta$  representa el ángulo de inclinación hacia el eje  $y'$  del vector de magnetización.

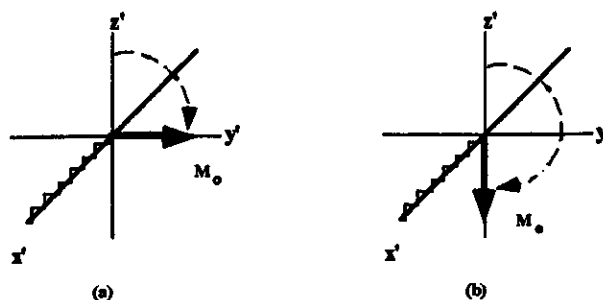


Figura 2-7. Dirección del vector de magnetización  $M_0$  después de un pulso.

Los pulsos pueden ser descritos como "duros" o "blandos" en función de su duración, ya que afecta la anchura de acuerdo a la relación  $\nu=1/\tau$ . La fuerza del campo  $B_0$  medido en Hz se relaciona con el ancho del pulso ( $t_\pi$ ) por  $t_\pi=1/(2B_0)$ . Por lo tanto, para producir un pulso de  $20 \mu\text{s}$  (un pulso "duro") se requiere un campo de fuerza  $B_1$  de 25 kHz. Una irradiación de 25 Hz producirá un pulso "suave" de 20 ms de ancho.

La RMN moderna posee un sin número de variantes, en las cuales, es posible abordar el estudio de las propiedades y estructura molecular, orgánica e inorgánica, principalmente en el estado líquido y sólido.

### 2.3.3. Parámetros de Análisis Espectral

#### 2.3.3.1 Desplazamiento Químico.

Este parámetro se relaciona con el entorno electrónico que rodea a un núcleo. Dentro de un campo magnético un núcleo está rodeado de electrones que, por su movimiento, inducen un campo magnético que se opone al campo magnético principal. Así, en la medida que este campo magnético varíe, la magnetización neta que sienta un núcleo cualquiera también variará.

$$B \text{ inducido} = -\sigma B_0$$

$$\sigma = \text{Constante de apantallamiento.}$$

En el *argot* de la resonancia se dice que un núcleo está protegido cuando el núcleo experimenta un campo magnético menor que el campo magnético principal. Este fenómeno se conoce como protección diamagnética y gracias a esto existen variaciones en la frecuencia necesaria para tener la condición de resonancia de cada núcleo. Estas variaciones frecuencia de resonancia dan el llamado desplazamiento químico.

La unidad en que se expresa el desplazamiento químico es de ppm y es una forma de estandarizar la frecuencia en la que un núcleo precesa en diferentes intensidades de campo magnético permitiendo el uso de una escala común aún en distintos valores de campo  $B_0$  de laboratorio.

### 2.3.3.2 y 2.3.3.3 Multiplicidad y Constantes de Acoplamiento.

En los espectros de resonancia magnética nuclear, las señales pueden aparecer como “singuletes” o como “multipletes”. La causa de las multiplicidades presentes se debe a acoplamientos espín-espín. Este acoplamiento se presenta cuando la interacción magnética de los núcleos individuales no se transmite a través del espacio sino a través de enlaces con los núcleos a los que están conectados.

El momento magnético de un núcleo  $A$  causa una polarización magnética débil de los electrones de enlace transmitida a través de traslape orbital con un núcleo  $X$ . Como consecuencia, dependiendo del estado de espín de  $A$  el campo magnético externo en  $X$  aumenta o bien disminuye, esto es, que el campo magnético local que hace resonar a  $X$  varía y de ahí que la señal se desdoble. Lo mismo sucede para el núcleo  $A$  y con ello se forma lo que se llama un sistema de espín. De una manera general, el número de líneas de un múltiple es el número de núcleos del grupo vecino más 1 para núcleos con  $I=1/2$ . Esto se puede entender mejor si se consideran las combinaciones posibles de los números cuánticos magnéticos  $M_I$  de los núcleos de cada grupo. Si se emplea  $\alpha$  y  $\beta$  como funciones de onda para la caracterización de los dos estados de espín posibles, se puede construir el siguiente diagrama<sup>24</sup>.

CH <sub>2</sub>		m <sub>I</sub>	CH <sub>3</sub>			m <sub>I</sub>
$\alpha\alpha$		+1	$\alpha\alpha\alpha$			+3/2
$\alpha\beta$	$\beta\alpha$	0	$\alpha\alpha\beta$	$\alpha\beta\alpha$	$\beta\alpha\alpha$	+1/2
$\beta\beta$		-1	$\alpha\beta\beta$	$\beta\alpha\beta$	$\beta\beta\alpha$	-1/2
			$\beta\beta\beta$			-3/2

Figura 2-8. Combinaciones posibles de los números cuánticos magnéticos  $m_I$ .

Los 3 protones del grupo metilo existen en 4 estados magnéticos diferentes por lo que se tiene un cuadruplete de intensidades 1:3:3:1.

De una manera general se consideran las siguientes aseveraciones:

1. Para núcleos con  $I=1/2$  la multiplicidad del desdoblamiento será  $n+1$ , siendo  $n$  el número de núcleos del grupo vecino. Si existen 2 ó más núcleos vecinos en ambientes magnéticos diferentes, se considera cada efecto de manera independiente.
2. La separación de las líneas (en Hz) corresponde a la constante de acoplamiento entre los núcleos en consideración.
3. Las intensidades relativas dentro de un multiplete están dadas por el coeficiente de expansión binomial, o bien se pueden determinar a través del triángulo de Pascal.
4. La magnitud del acoplamiento espín-espín entre protones en general decrece si el número de enlaces crece.
5. Los patrones de desdoblamiento de los multipletes son independientes de los signos de las constantes de acoplamiento.

<sup>24</sup> Günther Harald, NMR Spectroscopy. Basic Principles, Concepts and Applications in Chemistry, 2<sup>nd</sup> Edition, John Wiley & Sons, 1996, USA.

#### 2.3.3.4. Integración (Área bajo la curva).

Las mediciones cuantitativas utilizan el área bajo la curva en una señal de RMN como parámetro para determinar el número de núcleos que dan lugar a esa señal o para determinar la proporción de un compuesto en una mezcla.

#### 2.3.4 Resolución en Resonancia Magnética Nuclear

Al referirse a **baja resolución** en RMN se entiende al conocimiento de las propiedades generales de muestras de mezclas en estado líquido o sólido.

Por su parte, **alta resolución** se refiere a estudios más específicos de análisis estructural, cinéticas, y equilibrios de compuestos químicos y de mezclas.

#### 2.3.5 Experimentos uni y bidimensionales en Resonancia Magnética Nuclear.

##### i) Protónico Unidimensional.

A partir del desarrollo comercial de los imanes superconductores enfriados por helio líquido, los llamados imanes criogénicos, se ha hecho posible la obtención de espectros de RMN con campos magnéticos más intensos, de más de 14.1 Teslas que corresponden a la frecuencia de resonancia de 600 MHz.

Con el aumento en la intensidad del campo magnético se ha logrado aumentar la diferencia de poblaciones de los estados de espín de los núcleos activos en RMN incrementando con ello la sensibilidad intrínseca y con esto se ha logrado una reducción considerable del tiempo requerido para obtener razones de señal a ruidos mayores. Asimismo, al tener una mayor dispersión de campo se logra tener una mejor resolución de las señales con desplazamientos químicos similares mientras que las constantes de acoplamiento permanecen inalteradas.

##### ii) Carbono-13 unidimensional.

Los espectros de carbono-13 ahora se pueden obtener de manera rutinaria en los espectrómetros criogénicos. Generalmente se obtienen con desacoplamiento de banda ancha de protón ( $^1\text{H}$  broadband decoupling) con el fin de obtener una mejor razón señal/ruido y obtener singuletes en el espectro en lugar de los multipletes producto de acoplamientos característicos de la interacción  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ . Es importante mencionar que la presencia del efecto nuclear Overhauser también aumenta la intensidad de la señal hasta en un factor de 3, obteniéndose espectros de mejor calidad en menor tiempo<sup>25</sup>.

##### iii) 1-D APT (Attached Proton Test)

Si se apaga el desacoplador en uno de los intervalos tiempo ( $\tau$ ) dentro de la secuencia de espín-eco, y se prende en otro tiempo ( $\tau$ ), se produce un espectro donde la amplitud de la señal del carbono depende del valor de ( $\tau$ ). Como esta amplitud depende del tiempo, ocurre una modulación de la amplitud de la señal, que es una función solamente de la  $J_{\text{CH}}$  y del número de protones unidos. La evolución de los desplazamientos químicos no se da cuando se utiliza el efecto eco. En términos generales podemos decir que esta técnica ayuda a determinar si el carbono de una molécula tiene un número par o impar de protones unidos al él y con ello poder tener más información que la que proporciona el espectro unidimensional.

<sup>25</sup> Duddleck H., Dietrich W., Structure elucidation by Modern NMR. A workbook, 2nd, revised and enlarged edition, Steinkopff Verlag Darmstadt Springer-Verlag, Germany, 1992.

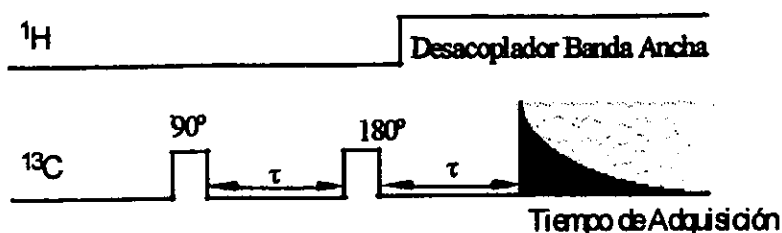


Figura 2-9. Secuencia de pulsos del experimento APT (attached proton test).

#### iv) DEPT (Distortionless Enhancement by Polarization Transfer)

El experimento DEPT tiene una secuencia que se muestra a continuación:

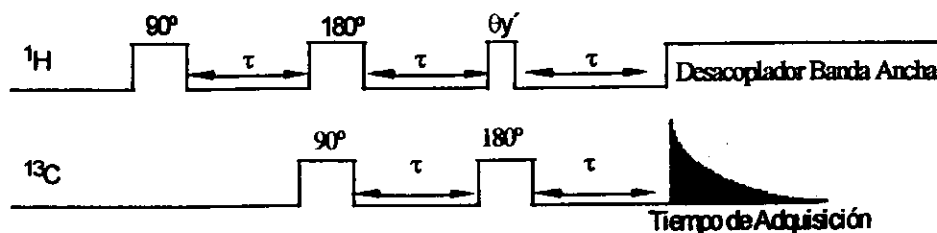


Figura 2-10. Secuencia de pulsos para la adquisición del DEPT

Este experimento utiliza un pulso de  $90^\circ$  en el canal de carbono que precede el pulso final  $\theta$  en el canal protónico. Utilizando el formalismo de productos de operadores, conviene analizar este experimento como de un sistema de dos espines I-S en donde I es un protón y S es un carbono. En un principio, al tener el sistema en equilibrio térmico, un pulso en el canal de protón creará una magnetización transversal para los protones:

$$I_z + S_z \longrightarrow -I_y + S_z$$

El sistema evoluciona influenciado por el efecto Zeeman y la descripción matemática de los vectores involucrados se hace cada vez más compleja. Es común que los valores de  $\tau$  utilizados sean los que maximizan la antifase del componente de la magnetización. Así el pulso de  $90^\circ$  final en el canal del carbono genera una coherencia cuántica múltiple que facilitará que al final el pulso de  $180^\circ$  en carbono no cause efecto en el sistema de dos espines. Sin embargo, en grupos  $\text{CH}_2$  y  $\text{CH}_3$  la aplicación de esos 2 pulsos finales crean una dependencia funcional diferente en función del ángulo  $\theta$ .

$$\begin{aligned} \text{CH} & \quad +/- 2I_z S_y \text{ sen}\theta \\ \text{CH}_2 & \quad +/- 4I_z I' z S_x \text{ sen}\theta \text{ cos}\theta \\ \text{CH}_3 & \quad +/- 8I_z I' z I'' z S_y \text{ sen}\theta \text{ cos}^2\theta \end{aligned}$$

De estas expresiones se puede ver que es posible diseñar experimentos para separar las señales de los metinos, metilenos y metilos haciendo combinaciones lineales apropiadas de los espectros para diferentes valores de  $\theta$ . Estos valores de  $\theta$  son  $\pi/4$ ,  $\pi/2$  y  $3\pi/4$ .<sup>26</sup> respectivamente.

<sup>26</sup> a) Bendall, M.R. & Pegg, D.T. *J.Magn.Reson.* 53: 272, (1983).

### v) Experimentos Bidimensionales.

El desarrollo más sobresaliente en los métodos espectroscópicos modernos es la Resonancia Magnética Nuclear Bidimensional, lo cual se debe principalmente a:

- a) las técnicas de pulsos que permiten la manipulación del espín nuclear; la introducción de tiempos de retardo en diferentes estados de evolución del vector de magnetización transversal antes de la detección de la señal,
- b) la disponibilidad de computadoras en las que se pueden almacenar y procesar FID por transformada de Fourier, y
- c) a los adelantos teóricos proporcionados por espectroscopistas para predecir el comportamiento del espín nuclear bajo la influencia de otros núcleos y a la rápida comprobación de estas predicciones. Además el desarrollo simultáneo de imanes superconductores que permiten lograr una mayor dispersión de las señales.

En un experimento unidimensional, el FID se obtiene y almacena inmediatamente después de la aplicación del pulso. Después de la obtención de un número suficiente de FIDs, la transformada de Fourier proporciona el espectro unidimensional. El intervalo de tiempo  $t_2$ , se mantiene constante durante la adquisición del FID ( $t_2$  se conoce como "periodo de detección").

La señal no se detecta inmediatamente después de la aplicación del pulso, lo cual requiere un cierto intervalo de tiempo,  $t_1$  (llamado "tiempo de evolución").  $T_1$  se incrementa obteniéndose un FID para cada valor del mismo y se detecta el vector de magnetización en varios estados de evolución, figura 2-11(a). La obtención del FID y la aplicación posterior de una transformada de Fourier a la suma total de ellos proporciona un espectro como función de  $t_1$  y del dominio de frecuencias  $\nu_2$ , figura 2-11(b). La descripción anterior corresponde a un espectro unidimensional normal (excepto que cada espectro muestra una modulación en las intensidades de los picos, debido a la influencia de otros núcleos durante el tiempo de evolución).

$$S(t_1, t_2) \xrightarrow{\text{T. F. sobre } t_2} S(t_1, \nu_2)$$





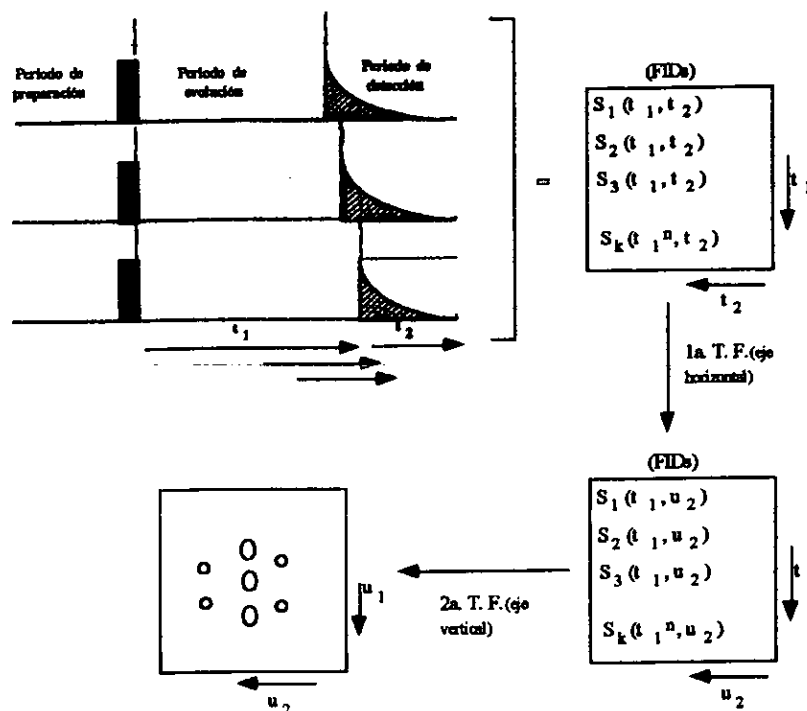


Figura 2-12. Representación de las etapas para la obtención de un espectro de RMN bidimensional.

El eje horizontal en este espectro bidimensional representa el eje de frecuencia  $\nu_2$ , mientras que el eje vertical representa el eje de frecuencias,  $\nu_1$ . Los datos son considerados como un conjunto de datos bidimensionales, ya que están en función de dos variables de tiempo,  $t_1$  y  $t_2$ , al contrario de un simple FID que sólo está en función de una variable de tiempo,  $t_1$ .

El tiempo en el que se realiza un experimento bidimensional, puede ser dividido en tres o cuatro periodos, figura 2-13. El periodo de *preparación* es un tiempo de retardo el cual es más grande que  $T_1$  permitiendo que todos los núcleos alcancen un estado de equilibrio antes de la aplicación de los pulsos, y además permite el restablecimiento de las condiciones de equilibrio. El periodo de preparación también puede consistir de una serie de pulsos que sirven para alinear el espín nuclear de una manera preferente. A este periodo le siguen uno o más pulsos de radiofrecuencia que alteran el equilibrio del vector de magnetización transversal. Durante el periodo de *evolución*,  $t_1$ , el vector de magnetización nuclear está sujeto a distintas interacciones incluyendo las de acoplamiento espín-espín con otros núcleos.

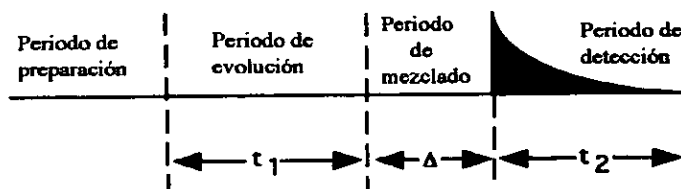


Figura 2-13. Etapas de un experimento bidimensional.

El periodo de *mezclado* continúa después del periodo de evolución, y consiste de un simple pulso selectivo a un núcleo (como en un espectro de correlación de desplazamiento homonuclear) o por diferentes pulsos selectivos para diferentes núcleos (como en un espectro de correlación de desplazamiento heteronuclear). El cuarto periodo,  $t_2$ , es el periodo de *detección*. Normalmente no se aplican pulsos en este periodo, no obstante se puede activar un dispositivo conocido como desacoplador el cual causa pérdida de multiplicidad de un núcleo en particular.

Los experimentos en resonancia magnética nuclear bidimensional se pueden dividir en diferentes clases:

- 1) espectros resueltos en J. En estos espectros se definen en un eje los desplazamientos químicos mientras que en el segundo se proporcionan las constantes de acoplamiento. Estas constantes pueden ser entre las mismas especies nucleares (espectro homonuclear resuelto en J) o entre diferentes especies (espectro heteronuclear resuelto en J)<sup>27,28</sup>,
- 2) espectros de correlación de desplazamientos, en los cuales los desplazamientos químicos se definen en ambos ejes. Si ambos ejes contienen desplazamientos químicos del mismo tipo de núcleo (por ejemplo  $^1\text{H}$ ) el espectro se llama espectro de correlación homonuclear. Por otro lado, si en los dos ejes se representan los desplazamientos químicos de dos diferentes tipos de núcleos (por ejemplo, en un eje los desplazamientos químicos de  $^1\text{H}$  y en el otro los de  $^{13}\text{C}$ ) se obtienen espectros de correlación de desplazamientos químicos heteronucleares. Estos espectros se originan por las interacciones de acoplamiento directo escalar entre los núcleos, o por la transferencia de magnetización a través de un núcleo intermedio que actúa como un acarreador temporal de magnetización.
- 3) espectros de correlación de desplazamientos 2D que implica una relajación cruzada (Nuclear Overhauser Enhancement Spectroscopy); las intersecciones en estos espectros se originan por el acoplamiento dipolar a través del espacio entre núcleos cercanos, al contrario de los espectros de correlación de desplazamiento donde las intersecciones representan acoplamientos escalares a través del enlace químico;
- 4) espectros de transiciones cuánticas múltiples que involucran la detección de los efectos producidos por este tipo de transiciones.

#### vii) Experimento bidimensional de correlación homonuclear COSY (Correlated Spectroscopy).

Los experimentos de correlación se distinguen de los de J resuelta en cuanto a que en ellos las dos dimensiones se encuentran expresadas en frecuencias (ppm)

<sup>27</sup> Bax, A. (1982) Two-dimensional NMR in liquids. Delft University Press, Dordrecht.

<sup>28</sup> Benn, R., Günther H., *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 22: 350, (1983).

mostrando los desplazamientos químicos en los que se encuentran las señales. A través de éste método, se pueden ver mas fácilmente las interacciones de átomos a 3 enlaces de distancia, es decir, que con ello podemos distinguir núcleos que se encuentran vecinos entre sí y que presentan un acoplamiento característico en el experimento de  $^1\text{H}$ -1D. A este tipo de espectroscopía se le llama de correlación, de ahí se deriva el nombre de COSY (Correlated Spectroscopy).<sup>29</sup>

Comúnmente se le considera como la técnica que identifica los pares de protones que están acoplados entre sí y esto abre un panorama de alternativas de identificación estructural.

La secuencia de pulsos que utiliza es la que se muestra a continuación.

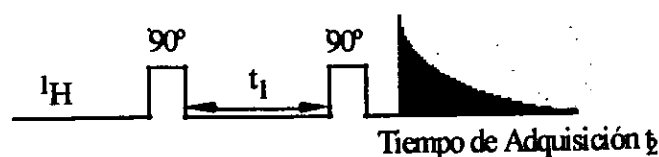


Figura 2-14. Secuencia de pulsos del experimento de correlación homonuclear COSY

La espera de relajación y el pulso de  $90^\circ$  preparan al sistema ya que cambian la magnetización del eje z al eje y. En este punto, la magnetización se puede describir matemáticamente como la suma de componentes, donde cada una, contiene la información del espín de sólo uno de los dos protones. Durante el periodo ( $t_1$ ), los espines evolucionan formando un "abanico" (fan-out). Bajo una concepción clásica, este abanico es el resultado de la precesión de los núcleos bajo las influencias de desplazamientos químicos y acoplamientos espín-espín entre ellos. Esta precesión es la que controla la señal que se observará, eventualmente, en el segundo periodo ( $t_2$ ).

Posteriormente viene el segundo pulso de  $90^\circ$  que tiene una parte esencial, el llamado tiempo de mezclado. Este pulso tiene como finalidad el provocar una distribución de la magnetización a lo largo de varios estados de espín de los núcleos acoplados. La interpretación matemática sería la de un sistema con la suma de grandes cantidades de términos lo cuales tienen componentes de magnetización que se pueden detectar. Esto es, incluyen coherencias múltiple cuánticas.

La magnetización se diferencia para ambos núcleos por medio del desplazamiento químico de uno de ellos en el tiempo  $t_1$  y, después del tiempo de mezclado, la precesión de otro de ellos ( $t_2$ ). El resultado de esto son las señales fuera de la diagonal en el espectro bidimensional, (señales de intersección) que muestran las correlaciones de los pares de núcleos vía acoplamientos espín-espín.

Las coordenadas de las señales en la diagonal, son las mismas en ambas direcciones y aparecen a la frecuencia de Larmor de los protones en la muestra. La proyección en cada eje es el espectro de  $^1\text{H}$  en una dimensión.

A lo largo de cada dimensión, el acoplamiento mutuo separa a cada resonancia de  $^1\text{H}$  a un doblete y como resultado se tienen cuatro puntos dispuestos en las esquinas de un cuadrado para cada señal en la diagonal. La información más importante viene de los

<sup>29</sup>Williams, K., King, R., *J. Chem. Educ.*, 67(5), A125 (1990).

cuadros simétricos de correlación que se encuentran fuera de la diagonal. Las coordenadas de las señales de intersección corresponden a los desplazamientos químicos de los núcleos que están acoplados entre sí.

### viii) Experimento de correlación heteronuclear de detección directa, HETCOR (Heteronuclear Correlation Spectroscopy)

Esta espectroscopía tiene analogía con la espectroscopía homonuclear, salvo que en esta ocasión se tienen 2 tipos de núcleos con diferentes frecuencias de Larmor involucradas. La más simple de las secuencias de pulsos se muestra en la figura siguiente.

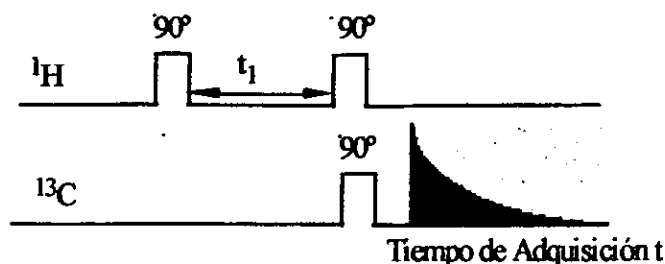


Figura 2-15. Secuencia de pulsos del experimento de correlación heteronuclear con detección directa.

Nuevamente el pulso de  $90^\circ$  lleva la magnetización al plano  $xy$ , *i.e.* la convierte en magnetización transversal. Durante el tiempo de evolución ( $t_1$ ) los espines de los protones precesan debido a los desplazamientos químicos y a su acoplamiento con otros núcleos, es decir, los acoplamientos  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ . El tiempo de mezclado, simultáneo a ambos canales, transfiere parte de la magnetización del protón a los carbonos. Como la magnetización está "diferenciada" por las frecuencias de precesión del protón durante  $t_1$ , la señal de  $^{13}\text{C}$  que se detecta durante  $t_2$  está modulada por el desplazamiento químico de los protones acoplados. El espectro de  $^{13}\text{C}$ , al ser adquirido en el  $t_2$ , se grafica a lo largo del eje  $F_2$  contra el espectro de  $^1\text{H}$  en el eje  $F_1$ .

La señal se presenta en la intersección de los desplazamientos químicos, tanto de  $^1\text{H}$  como de  $^{13}\text{C}$ , de los átomos que se encuentran directamente unidos. En este caso no hay señales diagonales como se presentan en el COSY y más aún no se tienen acoplamientos de espín a lo largo del eje  $F_2$  ya que, se enciende el desacoplador de banda ancha a lo largo de  $t_2$ .

### ix) Experimentos de correlación heteronuclear de detección inversa de coherencia simple y multiple cuántica HSQC, cHSQC, HMQC y HMBC.

En los experimentos de correlación heteronuclear de detección directa se adquieren espectros con gran número de puntos en  $F_2$  (la dimensión de  $^{13}\text{C}$ ) y con menos puntos en  $F_1$  (la frecuencia de  $^1\text{H}$ ), es decir, se tiene una mayor resolución digital en  $^{13}\text{C}$ . En ciertas ocasiones esto no es lo deseable ya que algunas veces se busca aprovechar la dispersión espectral de  $^{13}\text{C}$ . Una alternativa es detectar la correlación C-H a través del canal de protón (de mayor sensibilidad) aprovechando la resolución de la ventana de  $^{13}\text{C}$  y la mayor sensibilidad del núcleo de  $^1\text{H}$ .

Como la detección se hará a través del canal del  $^1\text{H}$ , una de las mayores dificultades técnicas que presenta la detección inversa, es la supresión de señales que no están acopladas a núcleos de  $^{13}\text{C}$ . Es decir, de todos los protones presentes en la muestra, se desea observar sólo un 1.1% de ellos y rechazar el otro 98.9%. Esto se puede lograr por transferencia de polarización del carbono al protón utilizando secuencias simples del tipo INEPT.

Antes de explicar cada uno de los diferentes experimentos que entran en esta categoría es importante hablar un poco sobre las transiciones y coherencias cero, simple y doble cuántica.

### *Transiciones y coherencias cuánticas cero, simple y múltiples.*<sup>30</sup>

Cuando un núcleo de espín 1/2 se somete a un campo magnético rompe su degeneración en dos niveles llamados  $\alpha$  y  $\beta$  siendo  $\alpha$  el de menor energía y  $\beta$  el de mayor energía. Si consideramos la idea de la distribución de poblaciones en ambos niveles de energía, la transición simple cuántica se da cuando un espín es promovido desde el nivel de baja energía hasta el nivel de alta energía por absorción de energía cuantizada apropiada. De hecho, no se detecta esta transición directamente, sino que se deja que la magnetización evolucione en el plano xy y es así como se detecta la coherencia simple cuántica creada por un pulso.

Cuando se trata de sistemas que se encuentran acoplados entre sí existen mas niveles de energía accesibles. Si por ejemplo se consideran 2 núcleos acoplados, se tienen 4 niveles disponibles de energía.

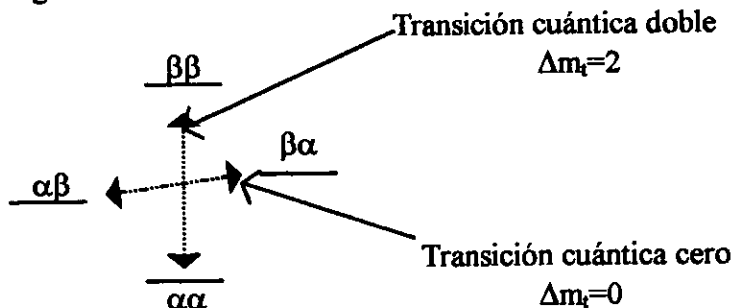


Figura 2-16. Diagramas de energía para un par de espines acoplados.

La transición doble cuántica es aquella que conecta el estado  $\alpha\alpha$  con  $\beta\beta$ , mientras que la cero cuántica conecta los estados  $\alpha\beta$  y  $\beta\alpha$ . Estas transiciones, que normalmente no se aprecian, se tienen cuando hay núcleos acoplados.

La magnetización se puede forzar a evolucionar a la frecuencia doble cuántica (o cero cuántica) durante el periodo que sigue a la secuencia de preparación. Esta evolución de coherencia doble cuántica no puede detectarse directamente pero se pueden ver sus efectos si se utilizan pulsos de mezclados y adquisiciones del FID adecuados.

<sup>30</sup> Sanders J. & Hunter B., Modern NMR Spectroscopy. A guide for chemists, 2nd. Edition Oxford University Press, US, 1994.

a) **HSQC** (Heteronuclear correlation through single quantum coherence)<sup>31</sup>

La mayoría de los experimentos HSQC son modificaciones de los experimentos propuestos por Bodenhausen y Ruben. Estos experimentos emplean 2 secuencias de transferencia del tipo INEPT, para transferir la magnetización de los protones a los núcleos poco sensibles, y después otra vez a los protones. La secuencia de pulsos emplea secuencias INEPT que transfieren magnetización  $^1\text{H}$  Iz al  $^{13}\text{C}$  en antifase. El desacoplamiento  $^1\text{H}$  durante  $t_1$  viene acompañado con la aplicación de un pulso de  $180^\circ$  a la mitad de  $t_1$ , con el fin de eliminar el acoplamiento heteronuclear no deseados en  $t_1$ . Una secuencia INEPT posterior, reconvierte la magnetización transversal de  $^{13}\text{C}$  a una magnetización observable de  $^1\text{H}$ .

En  $F_1$  el ancho de las líneas es significativamente más delgado en comparación con HSQC ya que no lo afecta el acoplamiento homonuclear ni el heteronuclear y minimiza las inhomogeneidades del campo estático, solo determina la razón de relajación del núcleo poco sensible y de la relajación espín-espín. Esta razón de relajación espín-espín corresponde a la suma de las razones de retorno al equilibrio del núcleo poco sensible (el recíproco del tiempo de relajación espín-espín del heteronúcleo) y la razón de relajación espín-lattice de  $^1\text{H}$ . La ventaja que da este experimento al tener líneas más delgadas en  $F_1$  es que se tiene un factor adicional que puede contribuir a aumentar la resolución digital en esta dimensión que es la que normalmente está definida por el menor número de puntos.

b) **HMQC** (Heteronuclear correlation through multiple quantum coherence)<sup>32</sup>

Este experimento HMQC también llamado de "eco prohibido" representa la clase de secuencias de pulsos de correlación inversa más utilizada en la actualidad. Los experimentos de detección inversa tienen una mayor sensibilidad ya que esta aumenta en un factor de  $(\gamma\text{H}/\gamma\text{X}^3)$  donde  $\gamma\text{H}$  y  $\gamma\text{X}$  son las constantes giromagnéticas de los respectivos núcleos. Sin embargo, se deben suprimir señales no deseadas que son hasta 100 veces más intensas que aquellas que si se desean (para  $^{13}\text{C}$ - $^1\text{H}$ )<sup>33</sup>.

Este experimento da correlaciones a 1 enlace de distancia (X-H) y utiliza un filtro múltiple cuántico para suprimir las señales de los protones que no se encuentran sobre  $^{13}\text{C}$ . Su secuencia de pulsos es la más simple de todos los experimentos de detección inversa y se muestra a continuación.

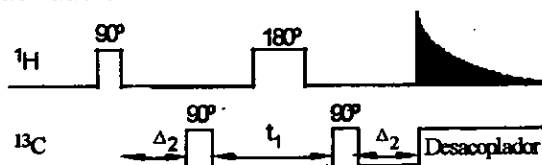


Figura 2-17. Secuencia de pulsos del experimento HMQC de detección inversa.

Existen acoplamientos  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  durante el tiempo de evolución que limitan la resolución, es por ello que se debe desfazar la magnetización en el canal de protón. Asimismo, la razón señal/ruido se incrementa en esos experimentos y se debe a que la

<sup>31</sup> Bodenhausen, G and Ruben, D.J., *Chem. Phys. Lett.* 69: 185, (1980).

Bax, A., Ikura, M., Kay, L.E., Torchia, D.A., and Tschudin, R. *J. Magn. Reson.* 86: 304, (1990).

<sup>32</sup> Norwood, T.J., Boyd, J., Heritage, J.E., Soffe, N., and Campbell, I.D. *J. Magn. Reson.* 87: 488, (1990).

<sup>33</sup> Notas del curso impartido por el Dr. Bruce Adams en el Instituto de Química, UNAM. Abril 1997.

señal depende de 2 factores principalmente, el grado de la magnetización y la razón de cambio (frecuencia de Larmor). La magnetización depende de la diferencia de poblaciones entre los estados de espín  $\alpha$  y  $\beta$ , así como el momento magnético de los núcleos individuales. Cada uno de esos factores es proporcional a la  $\gamma$  del núcleo observado. De aquí se deriva que la señal total se incrementa a la tercera potencia de  $\gamma$ . El ruido es proporcional a la raíz cuadrada de la frecuencia de Larmor, de ahí que la razón señal/ruido dependa de la raíz cuadrada de  $\gamma$  a la quinta potencia del núcleo observado. Con esto se logrará que para el acoplamiento  $^{13}\text{C}-^1\text{H}$  se de un incremento en la razón señal/ruido de un factor de 32 (comparado con el experimento unidimensional de  $^{13}\text{C}$ ), mientras que en el caso de núcleos poco sensibles como el  $^{15}\text{N}$ , el incremento para la correlación  $^{15}\text{N}-^1\text{H}$  sea de prácticamente 320.

Esta secuencia de pulsos contiene un ultimo tiempo ( $2\Delta$ ) que se ajusta dependiendo de la constante de acoplamiento de los grupos presentes en la molécula.

### c) HMBC (Heteronuclear multiple-bond correlation)<sup>34</sup>

La técnica HMBC es un método muy sensible en la detección de correlaciones heteronucleares de largo alcance (dos y tres enlaces). Esta técnica utiliza la misma secuencia de pulsos que HSQC o que HMQC en donde el único factor que se cambia es el tiempo final de  $1/(^2J_{\text{CH}})$  donde  $J = 5-10$  Hz. Esta mínima alteración es lo suficientemente sensible que logra detectar correlaciones incluso con carbonos cuaternarios.

La primera versión del experimento HMBC presenta la siguiente secuencia de pulsos.

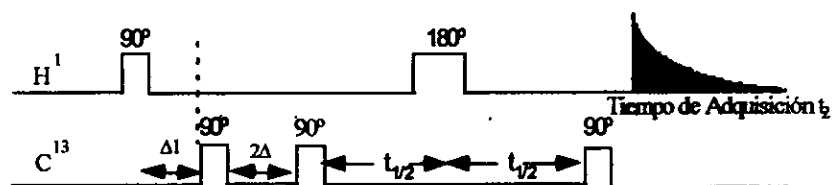


Figura 2-18. Secuencia de pulsos del experimento HMBC basado en la secuencia de HMQC. Los tiempos  $\Delta 1 = 1/(^2J_{\text{CH}})$  donde  $J_{\text{CH}}$  se refiere al acoplamiento a larga distancia y  $\Delta 2$  de 60 ms.

El primer pulso de  $90^\circ$  ( $^{13}\text{C}$ ) sirve como filtro de constantes de acoplamiento grandes, es decir, es aquí donde se eliminan las correlaciones a un enlace en el espectro bidimensional y deja pasar las correlaciones con constantes de acoplamiento pequeñas, es decir de 2 y 3 enlaces de distancia. Este pulso crea la coherencia múltiple cuántica heteronuclear para los protones que están directamente unidos a  $^{13}\text{C}$  los cuales se eliminan del espectro de 2D al alternar la fase del pulso de  $^{13}\text{C}$  a lo largo del eje +/- x sin cambiar la fase del receptor. El segundo pulso de  $90^\circ$  en  $^{13}\text{C}$  crea coherencia múltiple (cero y doble) cuántica para las conectividades a larga distancia. El pulso de  $180^\circ$  elimina efectivamente el desplazamiento de los protones de la frecuencia de modulación de  $t_1$  ya que intercambia las componentes cero y doble cuánticas. Después del pulso final de  $90^\circ$  ( $^{13}\text{C}$ ) las señales de protón que se originan de la coherencia múltiple cuántica de la unión  $^1\text{H}-^{13}\text{C}$  son moduladas por el desplazamiento químico de  $^{13}\text{C}$  y del acoplamiento homonuclear protónico. Las señales de los protones que no tienen acoplamiento a largo alcance con  $^{13}\text{C}$ , se eliminan por el ciclo de fase del segundo pulso de  $90^\circ$ . Ya que la señal detectada es

<sup>34</sup> Bax et al Idem.



modulada por la fase por el acoplamiento homonuclear escalar, el espectro bidimensional de absorción no se puede obtener así que se presenta siempre como un espectro de modo absoluto. En contraste con la versión HMQC, la versión HSQC tiene un tiempo  $\Delta$  que necesita ser optimizado para acoplamientos a un enlace. Por ello la versión es más corta que la de HMQC y con ello hay una menor atenuación en la magnetización final debida a la relajación. Con esto, es más fácil obtener constantes de acoplamiento heteronuclear a larga distancia con esta versión.

#### d) *cHSQC (HSQC acoplado)*

Con la secuencia de pulsos que se muestra en la siguiente figura, se obtiene un espectro HSQC en donde se tiene un acoplamiento  $^{13}\text{C}$  y en donde los protones unidos a  $^{12}\text{C}$  no se encuentran, de ahí que cada resonancia protónica se presente como un doblete y la separación es la constante de acoplamiento a un enlace entre el protón y el  $^{13}\text{C}$   $^1J_{\text{CH}}$ . En algunas ocasiones este tipo de experimentos puede ser muy útil en la elucidación estructural, sin embargo, generalmente se busca que no se presente el acoplamiento y sólo se tenga una señal para los protones.

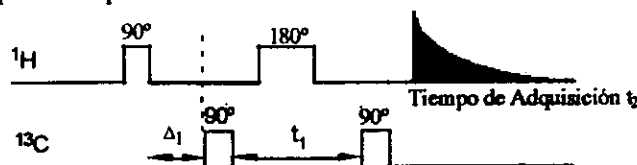


Figura 2-19. Secuencia de pulsos del HSQC acoplado.

#### x) *Espectroscopia de intercambio y efecto nuclear Overhauser (NOESY nuclear Overhauser and exchange spectroscopy)*

Las bases teóricas del ENO pueden ser ilustradas a partir del estudio original de la interacción núcleo-electrón. En un sistema cuántico compuesto de 2 niveles, en equilibrio, la igualdad de las transiciones entre ambos estados se representa como

$$E_p \rightarrow E_q = E_q \rightarrow E_p$$

En términos de estados propios:  $N_\alpha \cdot n_\beta \cdot W_{\alpha\beta \rightarrow \beta\alpha} = N_\beta \cdot n_\alpha \cdot W_{\beta\alpha \rightarrow \alpha\beta}$  (figura 2-20)

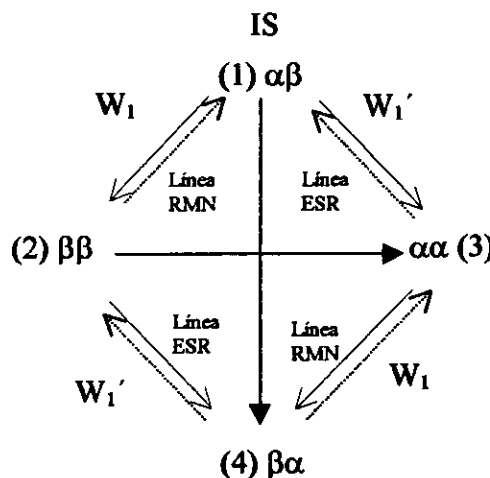


Figura 2-20. Diagrama Solomón para un sistema IS de dos espines, uno nuclear y uno electrónico. La línea de unión entre  $\alpha\beta$  y  $\beta\alpha$  es  $W_0$  y la de  $\beta\beta$  y  $\alpha\alpha$  es  $W_2$

De acuerdo a la relación de Boltzmann:

$$\frac{N_{\alpha} * n_{\beta}}{N_{\beta} * n_{\alpha}} = \frac{W_{\beta\alpha \rightarrow \alpha\beta}}{W_{\beta\alpha \rightarrow \beta\alpha}} = \exp\left(\frac{\Delta E}{RT}\right) = \exp\left(\frac{-h(\nu_s + \nu_l)}{RT}\right)$$

en condiciones de saturación de la resonancia electrónica  $n_{\alpha} = n_{\beta}$  y la expresión se convierte en:

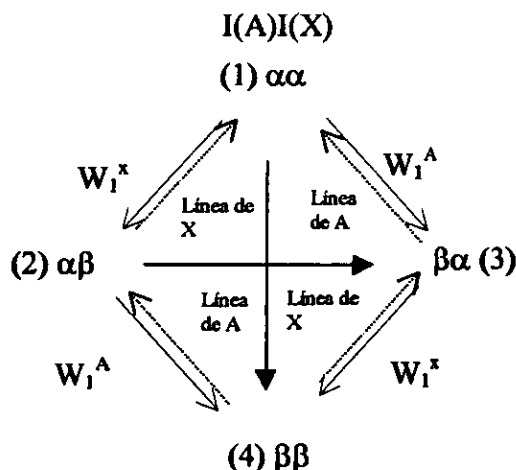
$$\frac{N_{\alpha}}{N_{\beta}} = \exp\left(\frac{-h(\nu_s + \nu_l)}{RT}\right) \quad \text{siendo } h\nu_s \gg h\nu_l$$

Normalmente la expresión

$$\frac{N_{\alpha}}{N_{\beta}} = \exp\left(\frac{-h\nu_l}{RT}\right)$$

cuando se refiere a los núcleos, debe considerar que  $h\nu_s$  como quien determina el factor  $-h\nu/RT$ . Por ello, la relación  $N_{\alpha}/N_{\beta}$  será tendrá un valor correspondientemente mucho mayor.

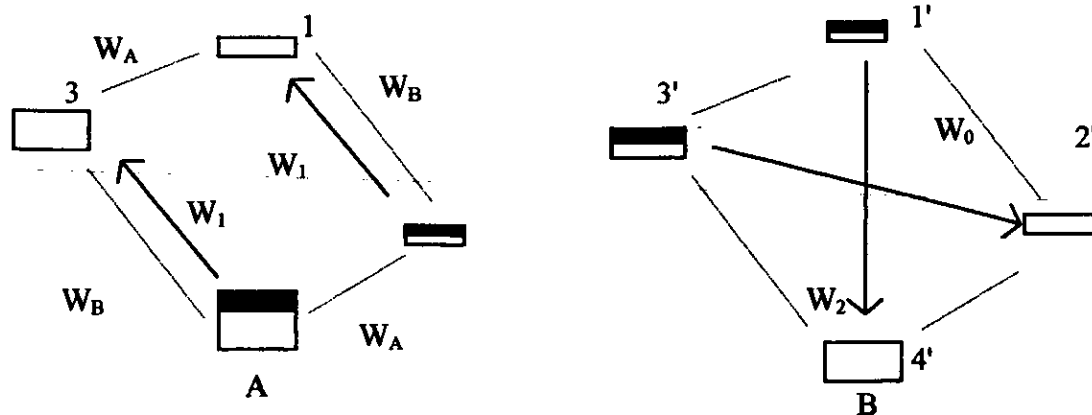
En el caso de espines nucleares se aplican consideraciones similares de acuerdo a la figura 2-21.



**Figura 2-21. Diagrama Solomon para un sistema dos espines nucleares. La línea de unión de Los sistemas  $\alpha\alpha$  y  $\beta\beta$  es  $W_1$  mientras que la unión  $\alpha\beta$  y  $\beta\alpha$  es  $W_0$ .**

En términos generales, el efecto nuclear de Overhauser se define como el cambio en la integral de la intensidad de absorción de la señal de resonancia de un espín nuclear cuando la absorción de resonancia de otro espín llega a la saturación.

Si se considera un sistema de dos espines A y B que no están acoplados entre sí, se pueden definir las probabilidades de transición ( $W$ ) por unidad de tiempo entre los estados, en donde el equilibrio poblacional de cada nivel está gobernado por la distribución de Boltzman.



**Figura 2.- Estados de espín y probabilidades de transición para un sistema A-B. El grosor de las líneas indica poblaciones relativas ocupando diferentes niveles de energía.**

Si el espín A y el B interactúan mediante las transiciones 4-2 y 3-1 entonces la intensidad de absorción de los espines del núcleo A debe ser proporcional a la diferencia de población neta de las transiciones importantes. Si la intensidad de absorción del núcleo B se satura por la aplicación de un campo intenso de radiofrecuencia en su frecuencia de Larmor, la población quedará igualada a través de las transiciones de B con el número de espines inalterado. Los cambios en la población no tienen efecto en la magnitud de la señal A, ya que sólo depende de la magnetización total  $M_A$ , la cual, no se afecta con la saturación de B. A través de procesos de relajación permitidos con las probabilidades  $W_2$  y  $W_0$  se establece un nuevo equilibrio con una distribución de población diferente. Estas transiciones 4-1 y 3-2 son espectroscópicamente prohibidas, y de ahí que no se puedan observar en RMN, sin embargo, sus efectos se pueden evidenciar a través de la relajación. La relajación vía  $W_2$  y  $W_0$  se da a través de interacciones dipolo-dipolo, y cuando no se tienen interacciones dipolares, la relajación se dará principalmente a través de  $W_1$ . El proceso de relajación vía  $W_2$  incrementa la población en 1' a expensas de 4'. Esto provoca un incremento en la diferencia de poblaciones de 1'-2' y 3'-4', lo que afecta la intensidad de las transiciones de A. Esto es, que se da un aumento en la intensidad de la señal, amplificándose hasta un 200% dependiendo de los núcleos involucrados. Para un NOE homonuclear de protón, el máximo incremento en el efecto NOE es de un 50%.

Las moléculas de bajo peso molecular presentan tiempos de correlación muy cortos, y es en éstos casos cuando  $W_2$  predomina sobre  $W_0$ , dando como resultado un efecto NOE positivo. Esto tiene sentido si se considera que el campo magnético de la radiofrecuencia necesita inducir la transición doble cuántica que debe contener las frecuencias cercanas a la suma de las frecuencias de Larmor de los núcleos involucrados A y B. Este hecho hace ver la dependencia del grado de amplificación del NOE con la intensidad de campo magnético, es decir, a mayor dispersión de campo, mejor la apreciación del NOE. En moléculas grandes con tiempos de correlación largos como ocurre con las macromoléculas, es  $W_0$  quien juega el papel más importante, lo que se refleja en el espectro como absorciones negativas.

Cabe mencionar que ya que este efecto no se transmite por los enlaces sino a través del espacio, este experimento resulta de gran utilidad en asignaciones estereoquímicas y conformacionales.

Otra ventaja del NOE es cuando se lleva a cabo un espectro unidimensional de  $^{13}\text{C}$ . Las señales de  $^{13}\text{C}$  crecen hasta por un factor de 3 cuando se irradian los protones con el desacoplador y, ya que los hidrógenos directamente unidos a los carbonos pueden ayudar a la relajación de los núcleos, se presenta el incremento en la intensidad de la señal y con ello el NOE. Esa es la razón por la cual los carbonos cuaternarios tienen señales muy débiles.

La forma bidimensional en la que se lleva a cabo este experimento es el llamado NOESY, y cuyo principio es muy similar al unidimensional. En este experimento, todos los protones presentes en una muestra se observan al mismo tiempo y con ello se reduce el tiempo de análisis drásticamente. Para esta técnica es muy importante que se tenga un tiempo de mezclado lo suficientemente grande para tener el máximo NOE posible y el tiempo de relajación debe ser suficiente para lograr una completa relajación de los núcleos.

La secuencia básica para NOESY se muestra a continuación.

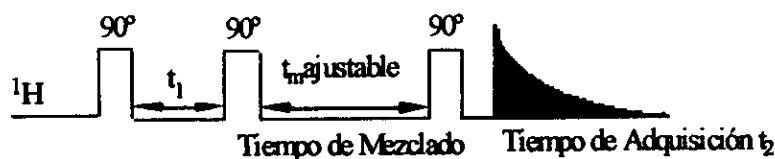


Figura 2-. Secuencia de pulsos del experimento NOESY

## Capítulo 3

### *Reacciones en Microondas*

Las reacciones químicas se pueden llevar a cabo tanto en medios homogéneos como en heterogéneos; sin embargo hay reacciones que debido a la naturaleza de los reactivos, del complejo activado o de la termodinámica de la reacción, necesitan condiciones drásticas para su desarrollo: altas temperaturas, altas presiones o bien largos tiempos de reacción.

Las microondas han surgido como una alternativa, ya que ofrece tiempos de reacción más cortos, altos rendimientos<sup>35</sup> y análogamente a las reacciones "convencionales", también se pueden emplear en condiciones homogéneas y heterogéneas.

#### *3.1 Reacciones bajo condiciones de microondas*

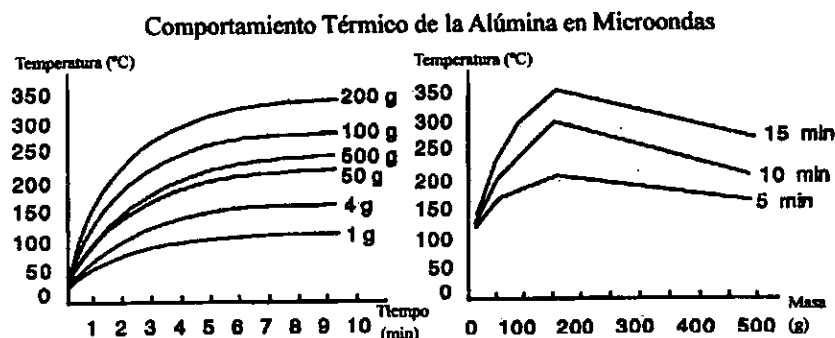
Generalmente las reacciones en microondas se llevan a cabo en tiempos cortos de reacción y los productos presentan una menor descomposición térmica y una presencia mínima de productos secundarios.

Una de las limitantes dentro de las reacciones en microondas es la presencia de disolventes ya que pueden alcanzar su punto de ebullición en periodos cortos de tiempo (+/- 1 min.) y desarrollar altas presiones dentro del horno causando daños a los recipientes o incluso al horno mismo.

#### *3.2.1. Reacciones Heterogéneas*

Dentro de las reacciones heterogéneas, el uso de reactivos inorgánicos sólidos como soportes de reacción se ha convertido en un recurso muy utilizado por los grupos de investigación.

Los óxidos inorgánicos como la alúmina y la sílica absorben las microondas a 2450 MHz de frecuencia y esa absorción se refleja en un incremento en la energía cinética de las moléculas que se irradia en forma de calor. Actualmente existen relaciones entre la cantidad de óxido, el tiempo de exposición a las microondas y la temperatura que se logra alcanzar dentro de los hornos de microondas convencionales<sup>36</sup>.



**Figura 3-1 Variación de la temperatura alcanzada con respecto a la cantidad de material utilizado.**

<sup>35</sup> Loupy.A., Pigeon.P., Ramdani.M., Jacquault.P., *Synth. Comm.*, 24(2): 159, (1994)

<sup>36</sup> Bram.G., Loupy.A., Majdoub.M., *Tetrahedron*, 46(15): 5167, (1990).

Un gramo de alúmina llega a 100°C con 10 min. de irradiación; con esto se podrían llevar a cabo reacciones a temperaturas cercanas a la temperatura del soporte. Sin embargo, se pueden provocar sobrecalentamientos en las paredes internas del horno y causar daños irreversibles al magnetrón. En algunos casos el uso combinado de alúmina con otros reactivos incrementa notablemente la temperatura. Este incremento es producto del cambio en las propiedades dieléctricas del medio y de interacciones reactivo-alúmina ya que la alúmina puede inducir disgregaciones o disociaciones iónicas parciales debido a su naturaleza polar.

La naturaleza de la fuente de radiación de microondas es un importante factor dentro de los rendimientos y la limpieza de las reacciones. La utilización de hornos de microondas comerciales o bien el uso de sistemas monomodales dan lugar a ciertas variaciones dentro de los rendimientos. Los mejores rendimientos se han dado cuando se utilizan sistemas monomodales<sup>37</sup>.

### 3.2.2. Reacciones Homogéneas

El disolvente es uno de los factores limitrofes dentro de las reacciones en microondas, sin embargo, si se logra controlar la temperatura interna y se evita la evaporación del disolvente, es posible su utilización como medios de reacción.

Se han utilizado disolventes tanto polares como apolares para reacciones tipo Diels Alder y se ha encontrado que los disolventes polares suelen absorber la energía de microondas y calientan el medio<sup>38</sup>, mientras que los apolares no llevan a cabo poco o ningún cambio en la temperatura. Asimismo, la naturaleza de los reactivos es un factor importante. Para reacciones tipo Diels Alder es mucho mejor usar dienófilos polares y dienos no polares que a la inversa, ya que el coeficiente de aceleración es mayor y con esto la polimerización no se presenta en tan alto grado como en condiciones normales.

Las cuestiones termodinámicas varían dentro de las reacciones en microondas. La  $\Delta G$  se modifica de una manera no clásica y se considera que los efectos energéticos de vibración-rotación pueden tener rotaciones moleculares favorables y choques eficaces que dan lugar a los productos. En una forma microscópica, un cambio en la  $\Delta S^*$  (activación) puede dar lugar a modificaciones en la solvatación de las especies (sobre todo en el estado de transición).

Se han desarrollado algunas teorías para explicar los rendimientos tan altos dentro de las reacciones en microondas. Una de ellas, la teoría de los "puntos calientes", considera los efectos no térmicos que desarrolla la radiación microondas y con ello justificar que los rendimientos obtenidos no solo se deben a la temperatura que se logra alcanzar dentro del sistema. Los "centros calientes" o "puntos calientes" son generados por la relajación dieléctrica en la escala molecular.

<sup>37</sup> Stambouli, A., Chatrette, M., Soufiaout, M., *Tetrahedron Letters*, **32**(14): 1723, (1991).

<sup>38</sup> Berlan, J., Giboreau, P., Lefevre, s., Marchand, c., *Tetrahedron Letters*, **32**(21): 2363, (1991).

## Capítulo 4

### Metodología

#### 4.1 3-metil-3-fenil glicidato de etilo

La muestra de 3-metil-3-fenil glicidato de etilo que se trabajó fue la muestra comercial que se utiliza en las preparaciones con olor y sabor a fresa. La industria IFF (International Flavour and Fragrances, México) proporcionó la mezcla de estudio y a partir de ella, sin purificación previa, se llevaron a cabo los análisis espectroscópicos necesarios para elucidar inequívocamente su estructura.

##### 4.1.1 Espectroscopía de Infrarrojo.

El espectro de infrarrojo se obtuvo en un equipo de transformada de Fourier Perkin Elmer Modelo 1605 con celdas de bromuro de potasio. Por tratarse de un líquido, se corrió en forma de película con un poco de tetracloruro de carbono como disolvente. El espectro se obtuvo en la Unidad de Servicios de Apoyo a la Investigación (USAI) de la Facultad de Química, Cd. Universitaria, UNAM.

##### 4.1.2 Espectrometría de Masas.

A través de la espectrometría de masas, en diversas modalidades, se llevó a cabo el análisis de la mezcla de glicidatos de etilo. Se llevaron a cabo 3 mediciones, la primera fue un experimento de ionización suave (FAB+) con una matriz de glicerol y el método de introducción fue directo. El segundo fue un experimento de espectrometría de masas de baja resolución empleando impacto electrónico y utilizando cromatografía de gases acoplado al sistema. El tercero fue un experimento de alta resolución gases-masas empleando impacto electrónico. El espectrómetro utilizado fue un JEOL JMS-SX 102 A de geometría inversa con sector magnético y sector eléctrico con una estación de trabajo HP apollo y un cromatógrafo de gases Hewlett Packard 5890 S-II

##### 4.1.3 Resonancia Magnética Nuclear.

Se llevaron a cabo una serie de experimentos unidimensionales y bidimensionales para la determinación estructural del 3-metil-3-fenil glicidato de etilo. El análisis del espectro protónico unidimensional a 60 MHz se llevó a cabo en un equipo Varian Serie XL en el Laboratorio de la Administración Central de Laboratorio y Servicios pertenecientes al SAT. El espectro unidimensional protónico,  $^{13}\text{C}$ , APT, DEPT editado, desacoplamiento homonuclear, espectro bidimensional con J resuelta, COSY, HETCOR, NOE unidimensional, se llevaron a cabo en los equipos de 300 MHz Varian UNITY INOVA con probe intercambiable (switchable) de detección directa en la Unidad de Servicios de Apoyo a la Investigación (USAI) de la Facultad de Química, Cd. Universitaria, UNAM. Asimismo los espectros unidimensionales  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , APT, COSY, HMQC, HMBC y NOESY se llevaron a cabo en un equipo Varian UNITY 500 MHz con probe de detección inversa en el Instituto de Química, UNAM.

#### 4.2 3-metil-3-fenil glicidato de bencilo.

##### 4.2.1 Obtención de la sal de sodio.

Para la obtención del derivado bencilado se llevó a cabo la formación de la sal de sodio a partir del 3-metil-3-fenil glicidato de etilo con etóxido de sodio recién

preparado. Tras 20 minutos de agitación constante a temperatura ambiente se presentó el precipitado blanco soluble únicamente en agua. Para recrystalizar la sal se utilizó etanol con suficiente agua para poder disolver en caliente. Cuando se filtró en caliente se obtuvieron cristales en el papel filtro y en las aguas madres.

#### 4.2.1.1 Resonancia magnética nuclear

Los espectros de resonancia que se trazaron fueron espectros unidimensionales de protón y un experimento NOE unidimensional en la USAI en un equipo de 300 MHz Varian UNITY INOVA.

#### 4.2.2 Reacción de obtención del 3-metil-3-fenil glicidato de bencilo.

##### 4.2.2.1 Reacción vía microondas.

El paso final de la obtención del derivado bencilado se llevó a cabo en un horno de microondas comercial Panasonic Modelo NN-S666BA. En él se hicieron reaccionar al glicidato de sodio disuelto en HMPA con una cantidad en exceso de bromuro de bencilo. La irradiación se dio en espacios de 15 segundos esperando a que se enfriara el HMPA con un tiempo final de reacción de 1 minuto. A lo largo de las irradiaciones se fue monitoreando la reacción por cromatografía en capa fina con acetato de etilo-hexano al 10% y se vió la aparición de un par de señales con  $r_f$  cercano a 0.5 y que se podría tratar del 3-metil-3-fenil-glicidato de bencilo. Tras una percolación se lograron obtener las 2 señales de  $r_f$  de 0.5 sin HMPA para su análisis por RMN.

Finalmente tras 2 eluciones de una cromatografía en capa fina preparativa se lograron obtener cada uno de los isómeros por separado: la banda 4 y la banda 5 respectivamente.

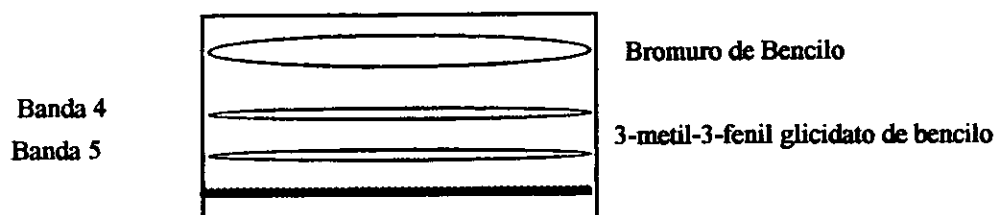


Figura 4.1 Cromatoplaqa preparativa para la obtención de los isómeros del 3-metil-3-fenil-glicidato de bencilo. Eluyente Acetato de Etilo-Hexano al 10%, revelado con luz U.V.

##### 4.2.2.2 Resonancia Magnética Nuclear

Los espectros de resonancia que se llevaron a cabo fueron espectros unidimensionales de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , COSY, DQCOSY, HSQC, cHSQC, HMBC, NOE diferencial y NOESY en espectrómetro Varian UNITY de 500 MHz con probe de detección inversa en el Departamento de Química de la Universidad de Toronto.



## Capítulo 5

### Resultados y Análisis de Resultados

#### 5.1. 3-metil-3-fenil glicidato de etilo

##### 5.1.1 Espectroscopía de Infrarrojo

El espectro de Infrarrojo muestra bandas que son características de los diferentes grupos funcionales que se encuentran en la mezcla de estudio.

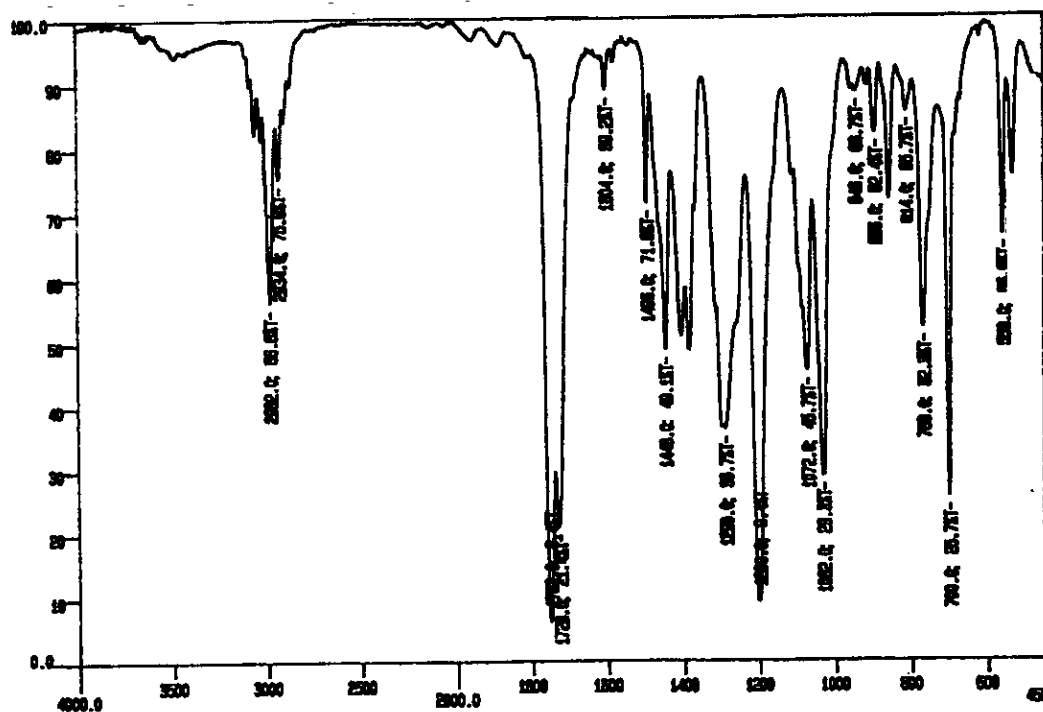


Figura 5-1. Espectro de Infrarrojo de la muestra problema de 3-metil-3-fenil glicidatos de etilo.

- \* Existen señales a frecuencias superiores a los  $3000\text{ cm}^{-1}$  características de grupos C-H de los anillos aromáticos presentes.
- \* A frecuencias menores de  $3000\text{ cm}^{-1}$  se tiene la absorción C-H alifáticos del metino base del epóxido así como de los metilos y metilenos presentes.
- \* Existen los sobretonos en la zona de  $1800$  a  $2000\text{ cm}^{-1}$  característicos de un sistema aromático monosustituido.
- \* En  $1752$  y  $1728\text{ cm}^{-1}$  se presentan dos señales muy intensas de absorción del carbonilo (C=O). Ese pequeño doblete puede ser debido a la mezcla de los isómeros y que cada uno contribuya a una absorción diferente. Sin embargo en la literatura<sup>39</sup> se hace mención de que la conformación podría ser un factor importante para que se llevara a cabo un desdoblamiento de la señal del carbonilo. Si el carbonilo se encuentra colocado en el mismo sentido que el oxirano el momento dipolar será mucho más grande que si se encontrara en sentidos opuestos.

<sup>39</sup> House Herbert and Blaker J. Warren, *J. Am. Chem. Soc.* 80: 6389, (1958).

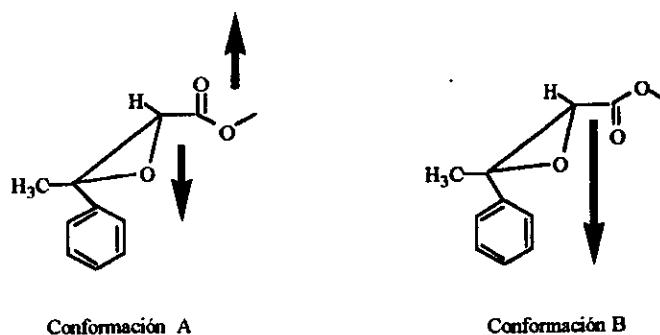


Figura 5-2 Conformaciones presentes en la mezcla de isómeros en Infrarrojo.

- \* La conformación B tiene un momento dipolar más grande que la conformación A y esto puede dar lugar a dos bandas diferentes para la absorción del carbonilo. Este hecho aunado a la mezcla isomérica fomenta la presencia de 2 bandas en la zona de los carbonilos.
- \* Las señales a 1604 y 1496  $\text{cm}^{-1}$  son características de las vibraciones C=C insaturados del anillo aromático.
- \* La banda de 1200  $\text{cm}^{-1}$  es característica de la absorción C-O del éster y del epóxido.
- \* Las bandas entre 1000 y 1400  $\text{cm}^{-1}$  pertenecen a la zona de las huellas digitales y esa zona es característica de cada sustancia.

### 5.1.2 Espectrometría de Masas

#### 5.1.2.1 Introducción Directa FAB +(Positive Fast Atom Bombardment)

Debido a que la muestra se introduce suspendida en una matriz de glicerol directamente a la cámara de ionización no hay una separación previa de los isómeros. Por ello, al tratarse de una mezcla, es muy difícil discriminar los iones generados por cada isómero. Sin embargo, sí se logró detectar al ion M+1 formado por transferencia de un hidrógeno de la matriz (glicerol) al analito y con ello se pudo conocer al ion molecular que es el mismo para ambas especies.

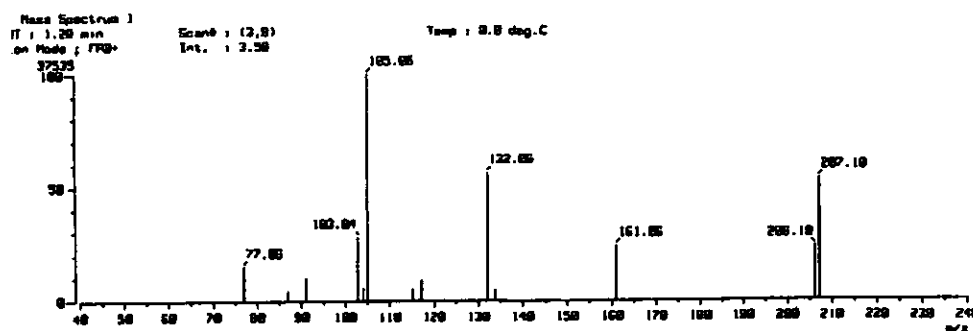


Figura 5-3 Espectro de Masas por bombardeo de átomos rápidos FAB+ utilizando glicerol como la matriz.

#### 5.1.2.2. CG/EM Impacto Electrónico Baja Resolución Cromatografía de Gases (CG).

A través de esta técnica se pudieron separar los dos isómeros el E y el Z de la mezcla de estudio. Asimismo, también se pudo detectar la presencia de 2 picos con

características muy similares a los glicidatos de etilo. El cromatograma obtenido muestra 4 picos con tiempos de retención diferentes.

Número	Tiempo de Retención (min)	Área %	Altura %
1	6.56	43.77	47.57
2	6.68	6.32	5.77
3	6.88	2.91	3.18
4	7.00	47.0	43.48

Tabla V-1 Tiempos de Retención de los picos de la mezcla de glicidatos de Etilo.

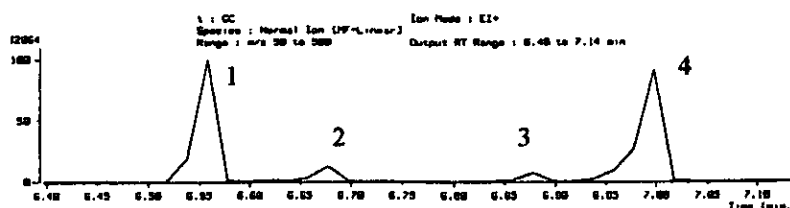


Figura 5-4 Cromatograma de la mezcla de isómeros del 3-metil-3-fenil-glicidato de etilo.

De acuerdo con el cromatograma se ve que los picos 1 y 4 son los más abundantes y que 2 y 3 son impurezas que trae la muestra. Estas aseveraciones se pudieron corroborar con los espectros de masas de cada una de las señales.

Los picos 1 y 4 corresponden a los isómeros E y Z de la mezcla de glicidatos de etilo. La polaridad de ambos isómeros no es la misma, y se justifica una diferencia en tiempos de retención para ambos isómeros. Sin embargo, al no contar con los estándares correspondientes, no es posible distinguir cual corresponde al Z y cual al E.

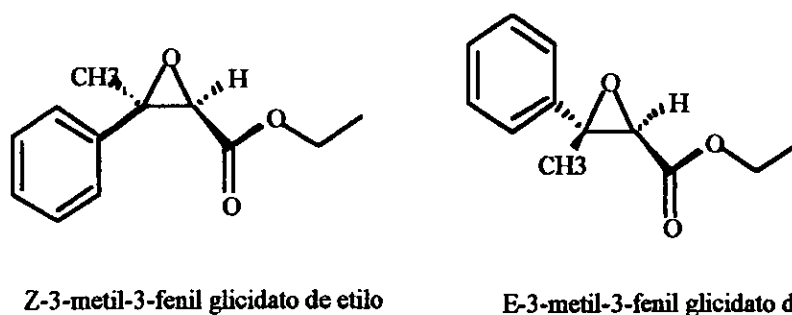
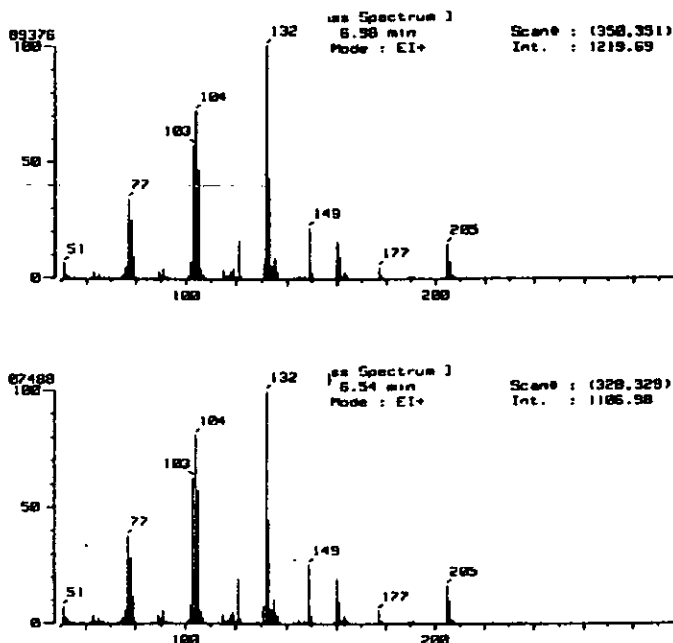


Figura 5-5 Estereoquímica de los isómeros E y Z del 3-metil-3-fenil-glicidato de etilo.

### *Espectrometría de Masas (EM).*

En la interpretación de los espectros de masas de las señales se observan datos muy interesantes.



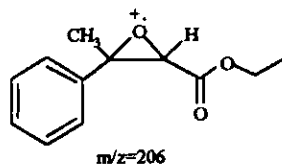
**Figura 5-6** Espectro de masas de los picos cromatográficos 1y 4 de la mezcla de glicidatos de etilo.

- \* Los espectros de masas de los picos cromatográficos número 1 y del 4 son idénticos en cambio los de 2 y 3 no son iguales entre sí ni con respecto a 1 ó 4. Sin embargo las fragmentaciones son muy parecidas y lo que en algunos casos varía, es la intensidad de las señales.
- \* En particular en los espectros 1 y 4 que corresponden a los isómeros E y Z del glicidato de etilo, llama mucho la atención el hecho de que el espectro de masas sea idéntico para ambos. Esto quiere decir que en este caso, para cuestiones de ionización y fragmentación, la orientación espacial no es un factor determinante.
- \* Asimismo, resalta el hecho de que el pico base (el más abundante del espectro) es de masa par, por lo que la generación de este ion se lleva a cabo a través de reagrupamientos y de rearrreglos.
- \* Algunos patrones de fragmentación probables para la generación de ciertos iones se muestran a continuación. Estas propuestas obedecen a las reglas de fragmentación conocidas en donde el director de las fragmentaciones es siempre el sitio radical, y las rupturas son generalmente beta al sitio radical.

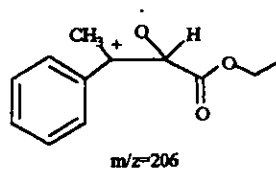
## Fragmentos Principales

$m/z$

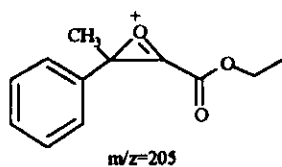
Ion molecular (M).....206



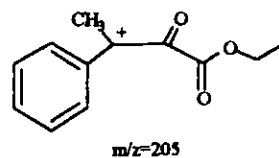
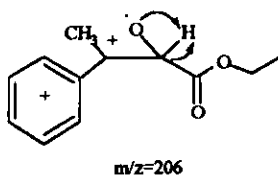
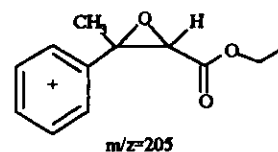
6



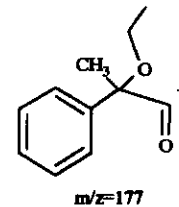
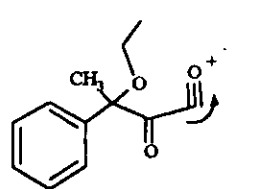
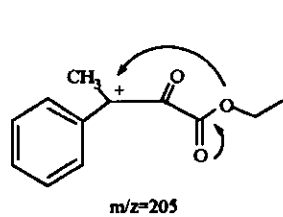
(M-1).....205



6

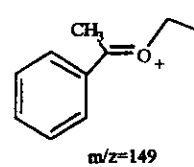
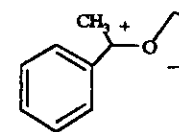
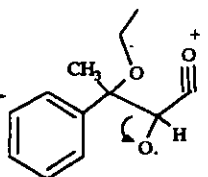
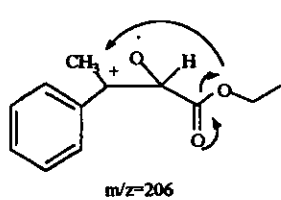


(M-29).....177



Rearreglo intramolecular\*

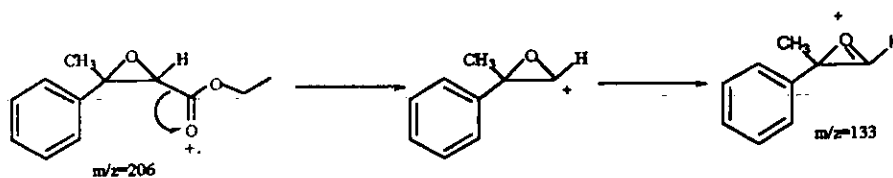
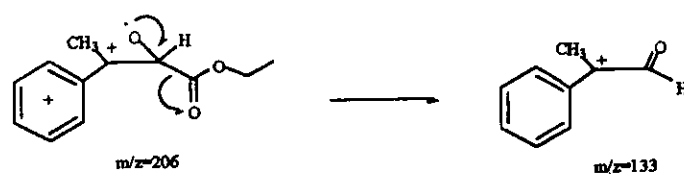
(M-57).....149



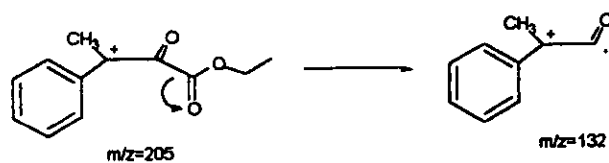
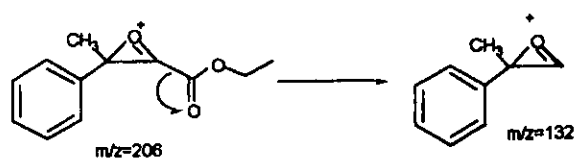
Rearreglo intramolecular\*

\* Anisimova et al., *Khim.Geterotsikl, Soedin*, 10: 1310 (1986) (Russ).

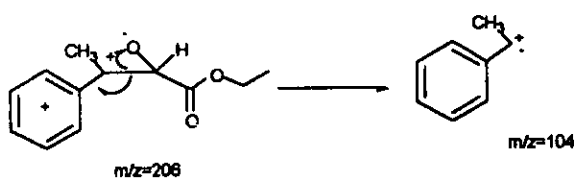
(M-73).....133



Pico Base (M-74)..... 132



(M-102).....104



(M-103).....103



(M-129).....77

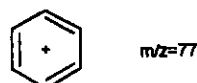


Figura 5-7 Fragmentos principales y probables rutas de fragmentación de los iones principales presentes en el espectro de masas. Las medias flechas indican el movimiento de un solo electrón.

\* Sin embargo espectrometría de masas no es la técnica adecuada para distinguir al isómero E del Z.

- \* Para la elucidación total del diagrama de fragmentación es necesario llevar a cabo otra serie de experimentos como el "linked scan", desfocamientos en la primera región libre de campo, masas-masas, etc.
- \* De acuerdo con los espectros de masas, las impurezas que se presentan dentro de la mezcla tienen estructuras muy semejantes a las de los glicidatos y pueden ser subproductos de la reacción de condensación de Darzen, sin embargo, cabe mencionar que no son materias primas.

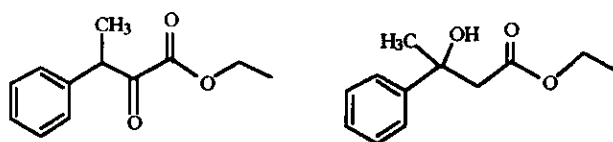
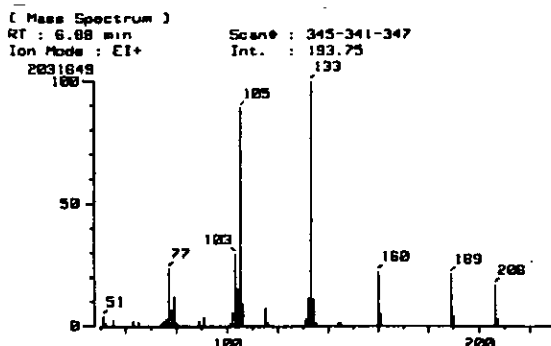


Figura 5-9 Impurezas presentes en la mezcla isomérica de los glicidatos de etilo.

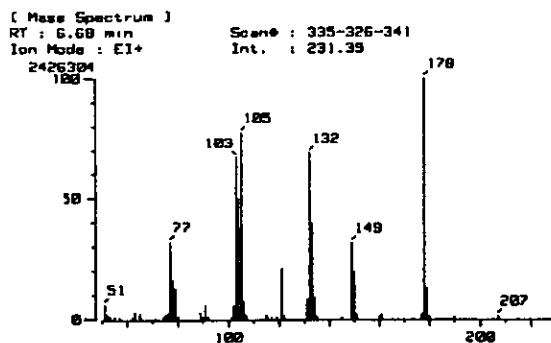


Figura 5-8. Espectros de masas de baja resolución de los picos 2 y 3 presentes como impurezas de la mezcla isomérica del 3-metil-3-fenil glicidato de etilo.

### 5.1.2.3. CG/MS Impacto Electrónico Alta Resolución

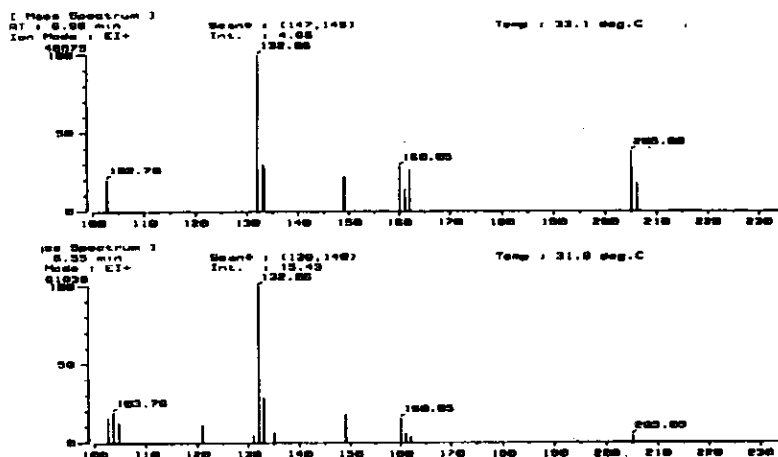


Figura 5-10 Espectro de masas de alta resolución de los picos 1 y 4 del cromatograma de la mezcla del 3-metil-3-fenil glicidatos de etilo.

A través de esta técnica se pudo comprobar el peso molecular de varios de los fragmentos antes presentados. Estos se resumen en la siguiente tabla.

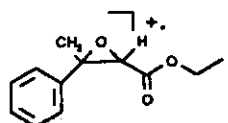
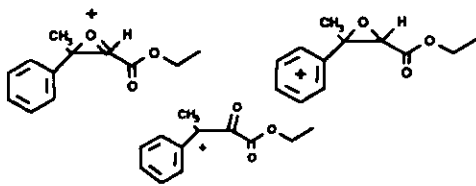
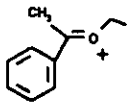
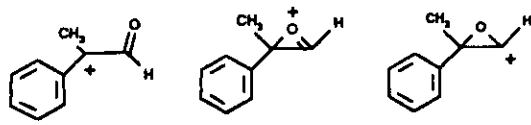
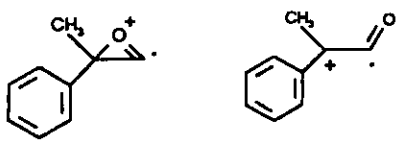
m / z	Composición	Estructura Probable
206.0952	$C_{12}H_{14}O_3$	
205.0868	$C_{12}H_{13}O_3$	
149.0677	$C_{12}H_{13}O_3$	
133.0616	$C_9H_9O$	
132.0576	$C_9H_8O$	

Tabla V-2 Relación de las masas exactas, fórmula mínima y estructuras probables.

Con espectrometría de masas de alta resolución no fue posible distinguir al isómero Z del E.



### 5.1.3) Resonancia Magnética Nuclear.

#### 5.1.3.1. Espectros de hidrógeno unidimensional (60 MHz)

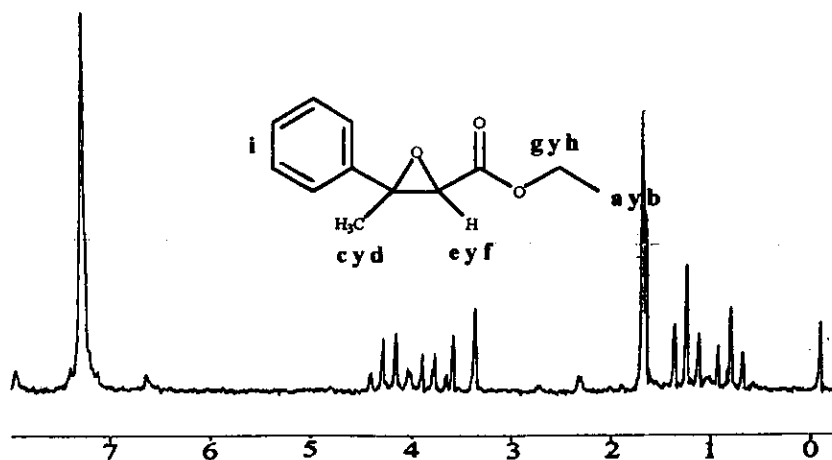


Figura 5-11. Espectro de RMN en 60 MHz de la mezcla de glicidatos de etilo.

A partir del espectro anterior, se pueden resumir los datos en la siguiente tabla.

	Desplazamiento químico ( $\delta$ )	Multiplicidad	Integración	Asignación
a	0.85	triplete	3	CH <sub>3</sub>
b	1.3	triplete	3	CH <sub>3</sub>
c	1.71	singulete	3	CH <sub>3</sub>
d	1.75	singulete	3	CH <sub>3</sub>
e	3.42	singulete	1	CH
f	3.62	singulete	1	CH
g	3.89	cuadruplete	2	CH <sub>2</sub>
h	4.3	cuadruplete	2	CH <sub>2</sub>
i	7.3	singulete	10	CH

Tabla V-3. Desplazamientos químicos en 60 MHz.

- Las 2 señales a y b presentes a alto campo (0.85 y 1.3 ppm) corresponden a metilos del éster presentes en la molécula.
- Las señales a 1.71 y 1.75 ppm corresponden a los metilos unidos a la base del epóxido.
- Las señales a 3.42 y 3.62 ppm son las señales de los metinos de la base del epóxido.
- Las señales en 3.89 y 4.3 ppm son los metilenos del éster presentes en la molécula.
- El singulete en 7.3 ppm correspondiente a los dos anillos aromáticos presentes en la mezcla de los 3-metil-3-fenil glicidatos de etilo.
- Aún cuando se pudieron asignar las señales, este experimento no logra asignar la estereoquímica final de cada una de ellas.

#### 5.1.3.2. Espectros de hidrógeno unidimensional (300 y 500 MHz)

El espectro de resonancia de 300 MHz se muestra a continuación.

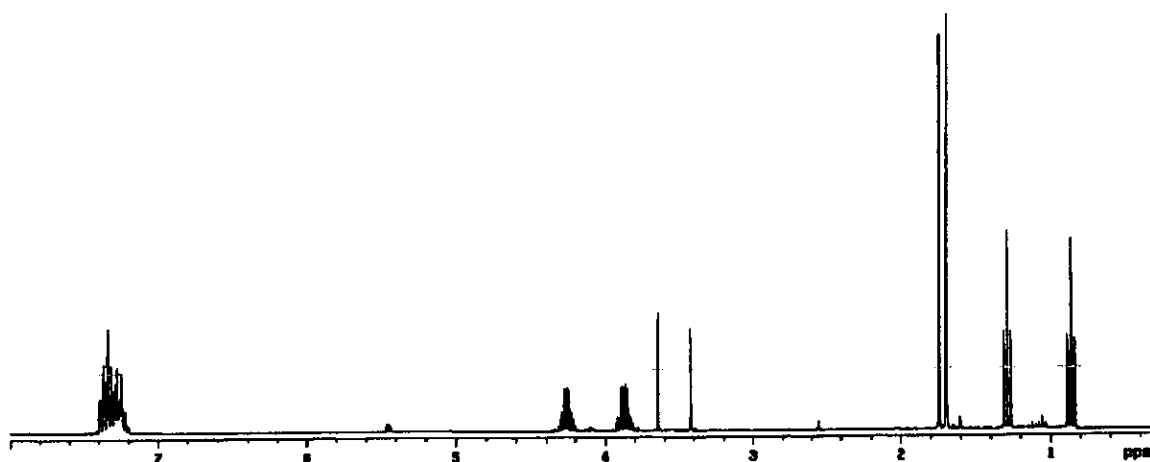


Figura 5-12 Espectro de Resonancia Magnética Nuclear protónico de 300 MHz.  
Los resultados se muestran en la siguiente tabla.

	Desplazamiento químico ( $\delta$ )	Multiplicidad	Integración
a	0.85	triplete	3
b	1.3	triplete	3
c	1.71	Singulete	3
d	1.75	singulete	3
e	3.42	singulete	1
f	3.62	singulete	1
g	3.89	doble cuadrupleteado	2
h	4.3	doble cuadrupleteado	2
I	7.3	multiplete	10

Tabla V-4 Resultados obtenidos en el espectro de resonancia unidimensional de 300 MHz.

De acuerdo con la tabla anterior, las observaciones más relevantes de estos espectros con respecto al de 60 MHz se presentan a continuación.

- \* Las señales en 3.89 y 4.3 ppm corresponden a los metilenos del éster presente en la molécula. Son multipletes complejos debido a la presencia de 2 centros quirales. Con esto, los hidrógenos del metileno se vuelven diastereoméricos y no son magnéticamente equivalentes. Considerando esto, se espera un doblete cuadrupleteado para cada señal.
- \* Las constantes de acoplamiento se determinaron directamente del espectro. El doblete cuadrupleteado tiene constantes de  $J = 11$  y  $7$  Hz. La constante de 11 Hz, es la esperada para una interacción gem de los 2 hidrógenos A-B del metileno y la de 7 Hz, la de interacción vicinal con los 3 hidrógenos del metilo. Es importante notar que la constante de acoplamiento para ambos metilos es muy similar sin embargo no es la misma ya que el patrón que presentan es notablemente diferente (figura 5-13).

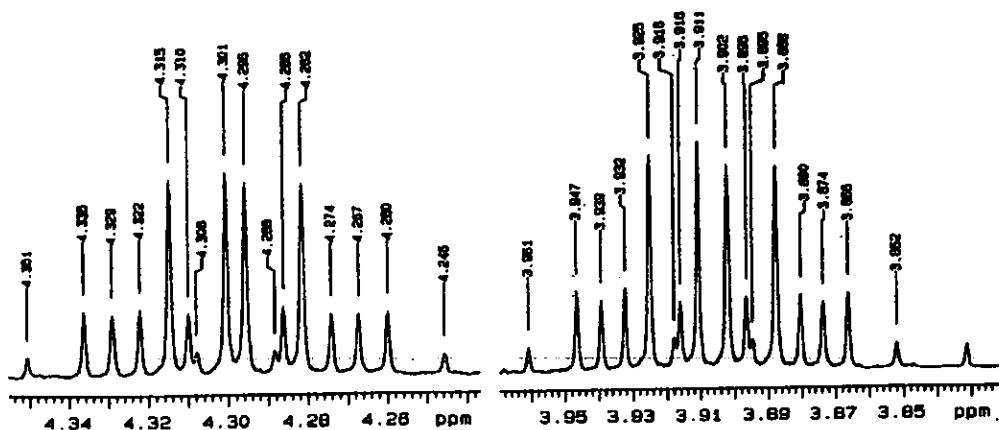


Figura 5-13. Ampliación del espectro unidimensional protónico en la región de 4.3 y 3.9 ppm.

- \* La señal en 7.3 ppm corresponde a los protones que se encuentran en los fenilos. Esta señal no es de primer orden y resulta muy compleja su interpretación. Sin embargo su integración ayuda a confirmar que se trata de 2 anillos aromáticos monosustituídos.

### 5.1.3.3. Desacoplamiento homonuclear (300 MHz).

Siguiendo la nomenclatura utilizada en la tabla V-4, para este experimento se saturó la señal *a* en 0.85 ppm y la señal que cambió notablemente fue la de *g* en 3.89 ppm.

Análogamente se saturó la señal *b* en 1.3 ppm y la señal que cambió fue *h* en 4.3 ppm. En el primer experimento, la señal de *g* no resultó en un singulete sino en dos dobletes (uno por cada isómero). Esto mismo se tuvo en el segundo experimento para la señal *h* en 4.3 ppm.

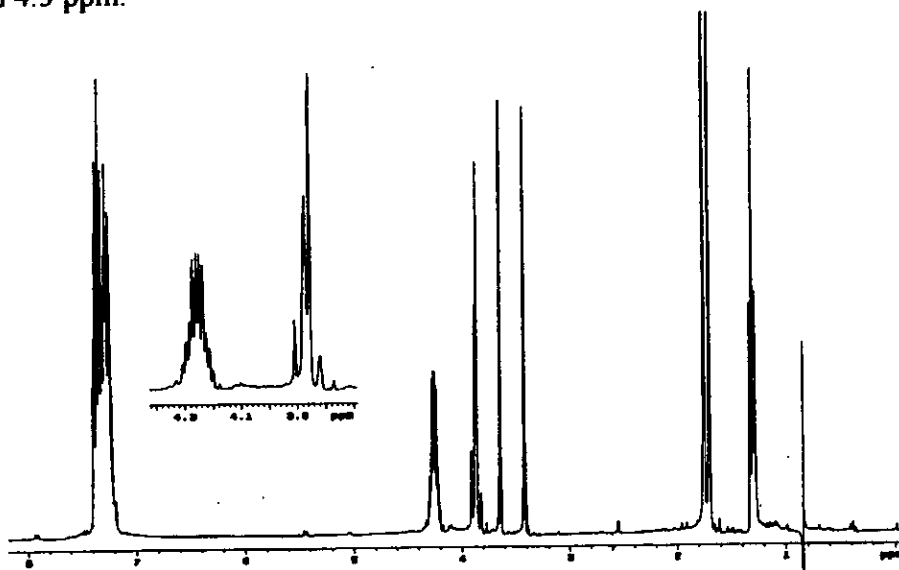


Figura 5-14 espectro de desacoplamiento homonuclear en a 300 MHz.

De lo anterior se pueden hacer notar una serie de observaciones importantes.

- La señal de metilo a más alto campo está acoplada con la señal de metileno a más alto campo (La señal *a* en 0.85 ppm con la señal *g* en 3.89 ppm).
- La señal de metilo a más bajo campo está acoplada a la señal de metileno a más bajo campo. (La señal *b* en 1.3 ppm con la señal *h* en 4.3 ppm).

- c) Al saturar las señales de los metilos, no se obtuvieron singuletes debido a la interacción gem presente en los hidrógenos del metileno. Se eliminó el acoplamiento metileno-metilo, pero no se eliminó el acoplamiento A-B gem de los hidrógenos metilénicos.
- d) Se pudo corroborar la no-equivalencia magnética de los hidrógenos del metileno al tener 2 dobletes.

#### 5.1.3.4. Espectro unidimensional de Carbono-13.

El espectro unidimensional de  $^{13}\text{C}$  de la mezcla de estudio se presenta a continuación.

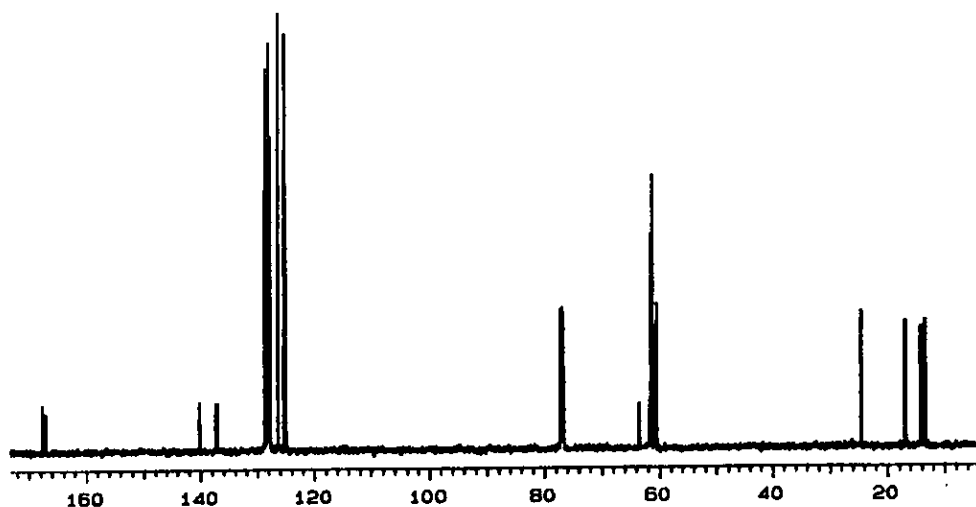


Figura 5-15. Espectro unidimensional de resonancia magnética nuclear de  $^{13}\text{C}$  de la mezcla de 3-metil-3-fenil glicidatos de etilo.

Los resultados se presentan a continuación en la siguiente tabla.

	Desplazamiento Químico
1	13.65
2	14.189
3	16.972
4	24.592
5	60.607
6	60.755
7	61.375
8	61.424
9	61.742
10	63.425
11	125.227
12	126.319
13	127.878
14	127.951
15	128.068
16	128.476

17	137.247
18	140.248
19	167.130
20	167.610

Tabla V-5 Resultados obtenidos en el espectro de resonancia unidimensional de  $^{13}\text{C}$  a 75 MHz. De este experimento podemos destacar algunos aspectos.

- Se obtuvieron solamente 20 señales de carbono, lo que indica que hay señales sobrepuestas.
- Hay 2 carbonilos presentes a bajo campo (167.130 y 167.610 ppm)

#### 5.1.3.5. Experimento APT (Attached Proton Test) unidimensional.<sup>40</sup>

Los resultados de este experimento se presentan en correlación a los obtenidos en  $^{13}\text{C}$ .

	Desplazamiento Químico	Datos del APT
1	13.65	$\text{CH}_3$ ó $\text{CH}$
2	14.189	$\text{CH}_3$ ó $\text{CH}$
3	16.972	$\text{CH}_3$ ó $\text{CH}$
4	24.592	$\text{CH}_3$ ó $\text{CH}$
5	60.607	$\text{CH}_3$ ó $\text{CH}$
6	60.755	$\text{CH}_2$ ó $\text{C}$
7	61.375	$\text{CH}_2$ ó $\text{C}$
8	61.424	$\text{CH}_3$ ó $\text{CH}$
9	61.742	$\text{CH}_3$ ó $\text{CH}$
10	63.425	$\text{CH}_2$ ó $\text{C}$
11	125.227	$\text{CH}_3$ ó $\text{CH}$
12	126.319	$\text{CH}_3$ ó $\text{CH}$
13	127.878	$\text{CH}_3$ ó $\text{CH}$
14	127.951	$\text{CH}_3$ ó $\text{CH}$
15	128.068	$\text{CH}_3$ ó $\text{CH}$
16	128.476	$\text{CH}_3$ ó $\text{CH}$
17	137.247	$\text{CH}_2$ ó $\text{C}$
18	140.248	$\text{CH}_2$ ó $\text{C}$
19	167.130	$\text{CH}_2$ ó $\text{C}$
20	167.610	$\text{CH}_2$ ó $\text{C}$

Tabla V-6 Resultados del experimento APT y su correlación con los desplazamientos químicos.

Correlacionando este experimento con  $^{13}\text{C}$ , se puede conocer si el número de hidrógenos unidos al carbono es par, non o bien cuaternario.

#### 5.1.3.6. Experimento DEPT (Distortionless Enhancement by Polarization Transfer)

Los resultados del análisis del experimento DEPT se muestran a continuación.

<sup>40</sup> Macomber.... Idem.

Asignación	Multiplicidad	Correlación	ppm	Intensidad
1	D	CH	127.951	71.025
2	D	CH	127.878	42.721
3	D	CH	126.319	69.923
4	D	CH	125.227	33.762
5	D	CH	63.425	71.024
6	D	CH	61.742	57.781
7	D	CH	61.424	27.193
8	T	CH <sub>2</sub>	61.375	8.939
9	T	CH <sub>2</sub>	60.755	40.556
10	D	CH	60.607	31.287
11	C	CH <sub>3</sub>	24.592	31.590
12	C	CH <sub>3</sub>	16.972	33.500
13	C	CH <sub>3</sub>	14.189	22.593
14	C	CH <sub>3</sub>	13.65	23.193

Tabla V-7 Datos del experimento DEPT con desplazamientos químicos e intensidades relativas.

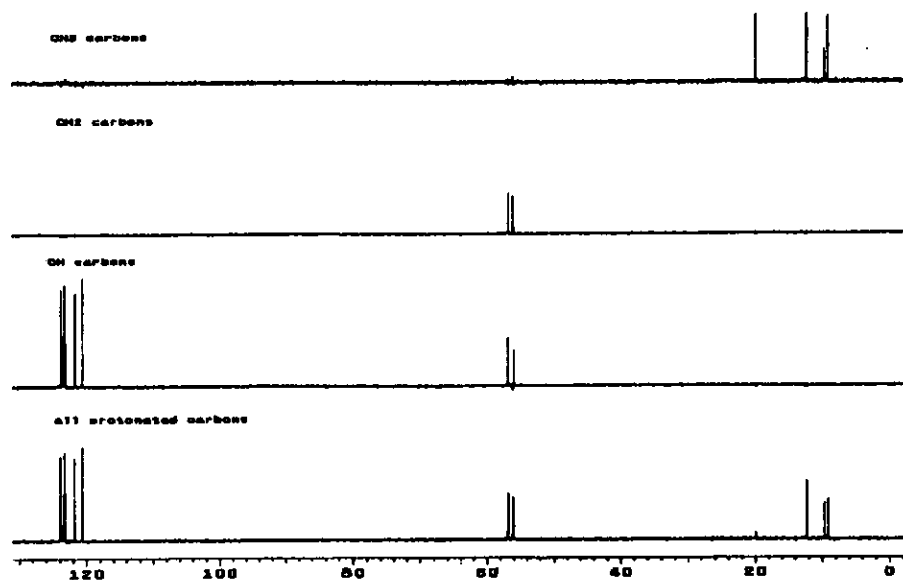


Figura S-16. Espectros del experimento DEPT una vez que ha sido editado.

De los resultados se pueden hacer algunas aseveraciones.

\* La asignación inequívoca de los carbonos se presenta a continuación.

	Desplazamiento Químico	Datos del APT	Datos del DEPT
1	13.65	CH <sub>3</sub> ó CH	CH <sub>3</sub>
2	14.189	CH <sub>3</sub> ó CH	CH <sub>3</sub>
3	16.972	CH <sub>3</sub> ó CH	CH <sub>3</sub>
4	24.592	CH <sub>3</sub> ó CH	CH <sub>3</sub>
5	60.607	CH <sub>3</sub> ó CH	CH
6	60.755	CH <sub>2</sub> ó C	CH <sub>2</sub>

7	61.375	CH <sub>2</sub> ó C	CH <sub>2</sub>
8	61.424	CH <sub>3</sub> ó CH	CH
9	61.742	CH <sub>2</sub> ó C	C
10	63.425	CH <sub>2</sub> ó C	C
11	125.227	CH <sub>3</sub> ó CH	CH
12	126.319	CH <sub>3</sub> ó CH	CH
13	127.878	CH <sub>3</sub> ó CH	CH
14	127.951	CH <sub>3</sub> ó CH	CH
15	128.068	CH <sub>3</sub> ó CH	CH
16	128.476	CH <sub>3</sub> ó CH	CH
17	137.247	CH <sub>2</sub> ó C	C
18	140.248	CH <sub>2</sub> ó C	C
19	167.130	CH <sub>2</sub> ó C	C
20	167.610	CH <sub>2</sub> ó C	C

Tabla V-8 Correlaciones del experimento de <sup>13</sup>C, APT y DEPT para la asignación inequívoca del espectro de <sup>13</sup>C.

- \* El número de carbonos que se detectan en los experimentos anteriores <sup>13</sup>C, APT y DEPT no concuerda con el número de carbonos esperados de acuerdo a la siguiente tabla.

Grupo Funcional	Uno de los isómeros	Mezcla de glicidatos Teórico	Resultados Experimentales
CH <sub>3</sub>	2	4	4
CH <sub>2</sub>	1	2	2
CH	6	12	8
C cuaternarios	3	6	6

Tabla V-9 Correlación del número de señales esperadas y las obtenidas en el experimento de <sup>13</sup>C.

- \* La tabla anterior muestra una diferencia en el número de metinos aromáticos, lo que confirma que hay una superposición de señales en la zona aromática.

#### 5.1.3.7. Espectro HOMO2DJ (homonuclear bidimensional resuelta en J)

El espectro de este experimento bidimensional se muestra a continuación.

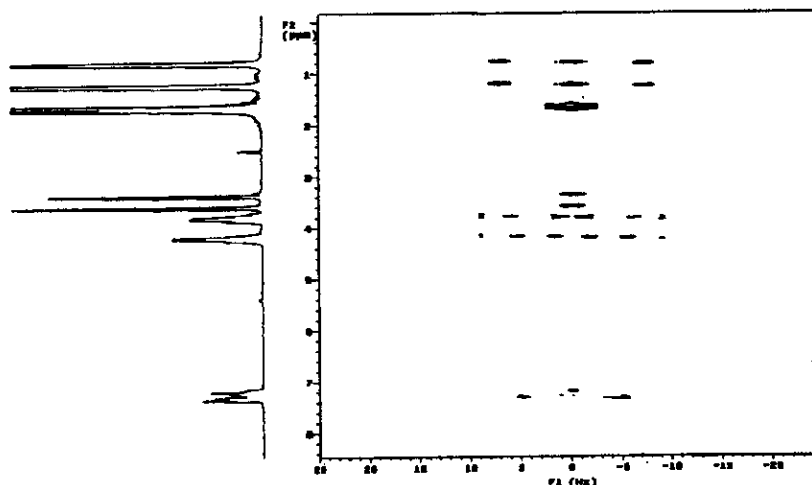


Figura 5-17. Espectro homonuclear bidimensional con la constante de acoplamiento resuelta.

Los resultados tabulados se presentan en la siguiente tabla.

	Desplazamiento químico ( $\delta$ )	Multiplicidad en HOMO2DJ	Constante de acoplamiento	
			1H	HOMO2DJ
a	0.85	Triplete	7.2	7
b	1.3	triplete	7.2	7
c	1.71	singulete	-	-
d	1.75	singulete	-	-
e	3.42	singulete	-	-
f	3.62	singulete	-	-
g	3.89	doble cuadrupleteado	7.2 y 11	Confuso
h	4.3	doble cuadrupleteado	7.2 y 10.5	Confuso
i	7.3	multiplere	Confuso	Confuso

Tabla V-10 Resultados del análisis del espectro homonuclear con la constante de acoplamiento resuelta así como algunas constantes de acoplamiento.

Al analizar los resultados de este experimento encontramos varios puntos interesantes.

- Las constantes de acoplamiento de *a* y *b* determinadas, se compararon con las de protón unidimensional; resultó más precisa la asignación vía espectro 1D.
- Las señales de 1.71 y 1.75 ppm sí corresponden a dos singuletes y no a un doblete como se pudo haber pensado.
- La multiplicidad de las señales *g* y *h* no se puede determinar con facilidad pero el espectro 1D permitió determinar las constantes de acoplamiento.
- La señal de 7.3 ppm muestra gran complejidad en la determinación de sus constantes de acoplamiento. No es un sistema de primer orden.

#### 5.1.3.8. Espectro Bidimensional de Correlación Homonuclear COSY (Correlated Spectroscopy)

En este experimento, las correlaciones encontradas fueron las del acoplamiento de *a* (0.85ppm) con *g* (3.89ppm) y de *b* (1.3ppm) con *h* (4.3ppm).

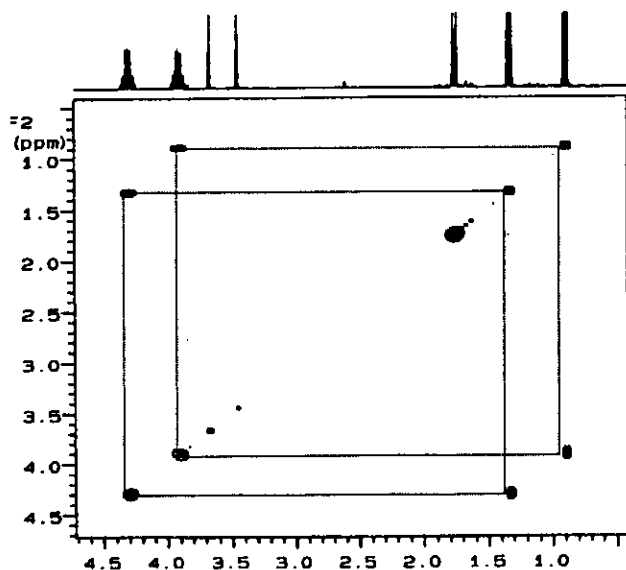


Figura 5-18. Espectro COSY de correlación homonuclear de la mezcla de isómeros del 3-metil-3-fenil-glicidato de etilo.



Las correlaciones más intensas son aquellas a 3 enlaces de distancia como las presentadas anteriormente.

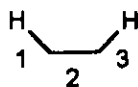


Figura 5-19. Correlaciones homonucleares a 3 enlaces de distancia.

### 5.1.3.9. Espectro Bidimensional de Correlación Heteronuclear (HETCOR, Heteronuclear Correlation) de detección directa y de detección inversa (HMQC, Heteronuclear Multiple Quantum Coherence).

El espectro de ambos experimentos da información muy similar, de ahí que se presenten los resultados de ambos experimentos juntos. El espectro HETCOR se muestran a continuación.

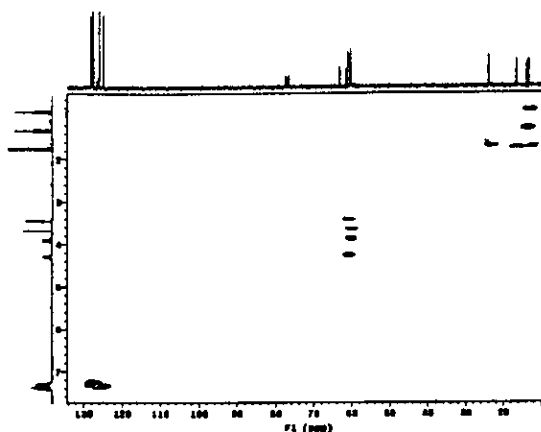


Figura 5-20. Espectro bidimensional HETCOR de la mezcla del 3-metil-3-fenil glicidato de etilo.

Los resultados de este experimento se muestran a continuación.

Protón	Desplazamiento químico ( $\delta$ ) Protón	Carbono	Desplazamiento químico Carbono	Datos de DEPT
a	0.85	1	13.65	CH <sub>3</sub>
b	1.3	2	14.189	CH <sub>3</sub>
c	1.71	4	24.592	CH <sub>3</sub>
d	1.75	3	16.972	CH <sub>3</sub>
e	3.42	8	61.424	CH
f	3.62	5	60.607	CH
g	3.89	6	60.755	CH <sub>2</sub>
h	4.3	7	61.375	CH <sub>2</sub>
i	7.3	11-16	125.227-128.476	CH
		9	61.742	C
		10	63.425	C
		17	137.247	C
		18	140.248	C
		19	167.130	C
		20	167.610	C

Tabla V-11 Tabla de correlaciones entre el espectro <sup>1</sup>H y <sup>13</sup>C dentro del experimento HETCOR.

De las zonas más confusas de asignar fueron las correspondientes a 60-63 ppm y la zona de los metinos aromáticos. El espectro HMQC ampliado de cada zona se presenta a continuación.

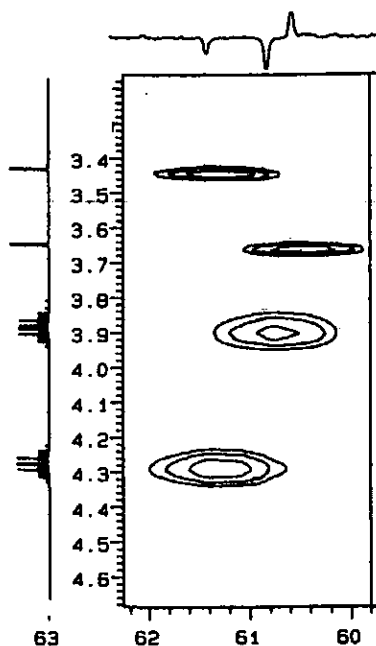


Figura 5-21. Ampliación del espectro HMQC en la zona de 60 a 62 ppm de la mezcla de 3-metil-3-fenil glicidatos de etilo.

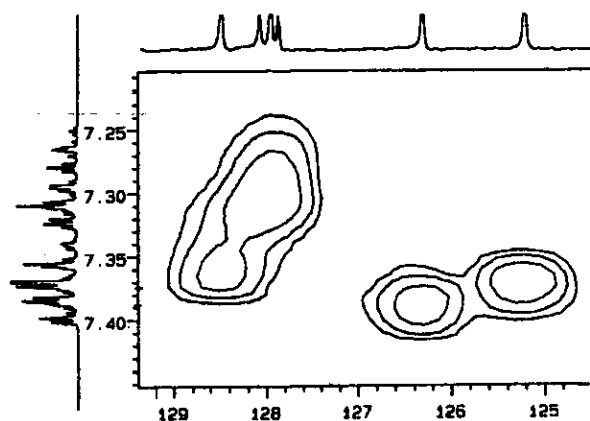


Figura 5-22. Ampliación del espectro HMQC en la zona de metinos aromáticos de la mezcla del 3-metil-3-fenil glicidatos de etilo.

Se puede ver que en la zona de los protones aromáticos, la asignación inequívoca se ve limitada. Es por ello que a pesar de utilizar un experimento de correlación inversa, la resolución no se alcanzó a maximizar para poder asignar cada uno de los metinos.

#### 5.1.3.10. Experimento de Efecto Nuclear Overhauser unidimensional (Cyclenoe).

En este experimento los resultados fueron muy interesantes.

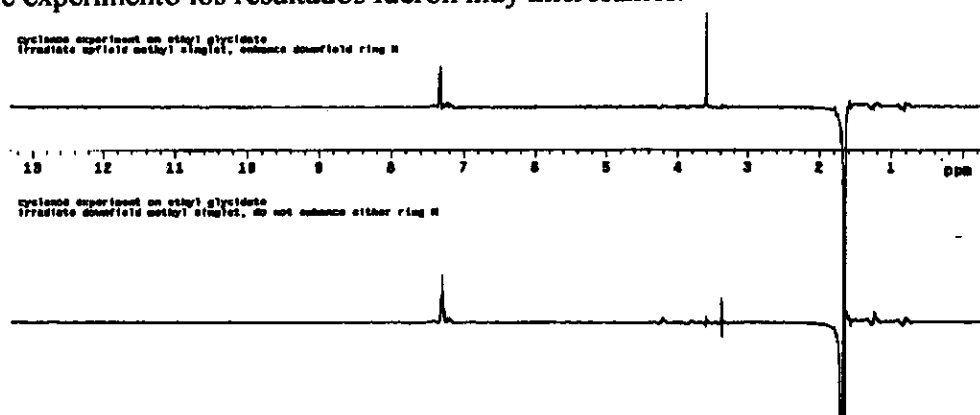


Figura 5-23. Espectro cyclenoe de la mezcla de 3-metil-3-fenil glicidatos de etilo.

- a) En el primer experimento se irradió la señal en 1.71 ppm en el espectro de  $^1\text{H}$  1D. El resultado de esa irradiación dió un efecto nuclear Overhauser positivo en la señal en 3.62 ppm. Con esto, la señal del metilo a más alto campo está cercano en el espacio del metino a más bajo campo. De estos datos, se puede pensar en una conformación Z ó cis como se muestra a continuación.

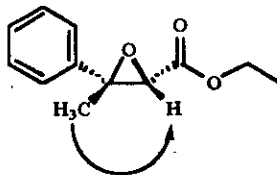


Figura 5-24. Isómero Z de la mezcla de glicidatos de etilo.

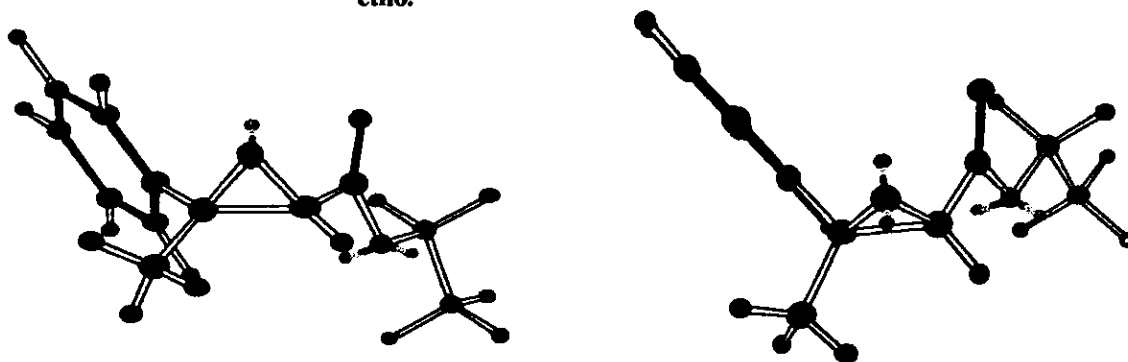


Figura 5-25. Conformaciones espaciales del Z-3-metil-3-fenil glicidato de etilo. Interacciones minimizadas.

Este experimento permite hacer conjeturas sobre la estereoquímica, ya que se puede establecer que el hidrógeno del metino está cerca en el espacio de los hidrógenos del metilo en 1.71 ppm. La razón por la que el metilo se encuentra a alto campo se debe a la protección anisotrópica que el anillo aromático ejerce sobre el singulete del metilo misma que no presenta el metino, por lo que está desplazado a más bajo campo. Asimismo, el anillo aromático presentó un efecto nuclear positivo, es decir que se encuentran espacialmente cercanos el metilo base del epóxido y el anillo aromático.

- b) En el segundo experimento se irradió la señal en 1.75 ppm, es decir, la señal del metilo del éster a más bajo campo. El único efecto positivo fue del anillo aromático. Ello sólo puede ocurrir si se trata de la conformación trans.

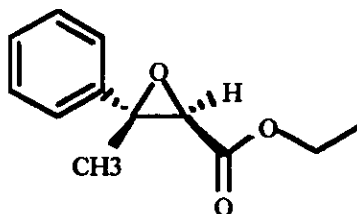


Figura 5-26 Isómero E de la mezcla de glicidatos de etilo.

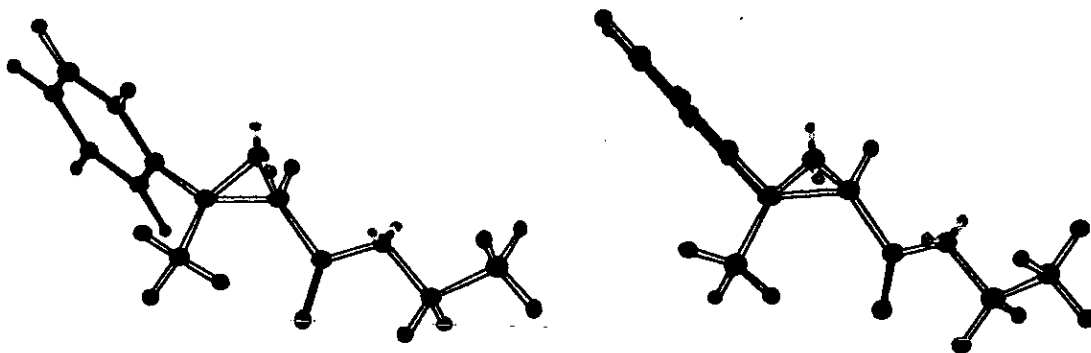


Figura 5-27. Conformaciones espaciales del E-3-metil-3-fenil glicidato de etilo.

### 5.1.3.11. Experimento de Efecto Nuclear Overhauser bidimensional (NOESY)

En este experimento se pudieron ver correlaciones importantes. Anteriormente se había visto una correlación espacial de la señal *c* con *f*. En este experimento se ve esa correlación así como la correlación de *e* con los protones aromáticos. Es decir, al irradiar la señal *e* se tuvo un incremento en la señal de los protones aromáticos. Con esto se puede asegurar que la señal *c* y *f* son del conformero Z mientras que *d* y *e* son del conformero E.

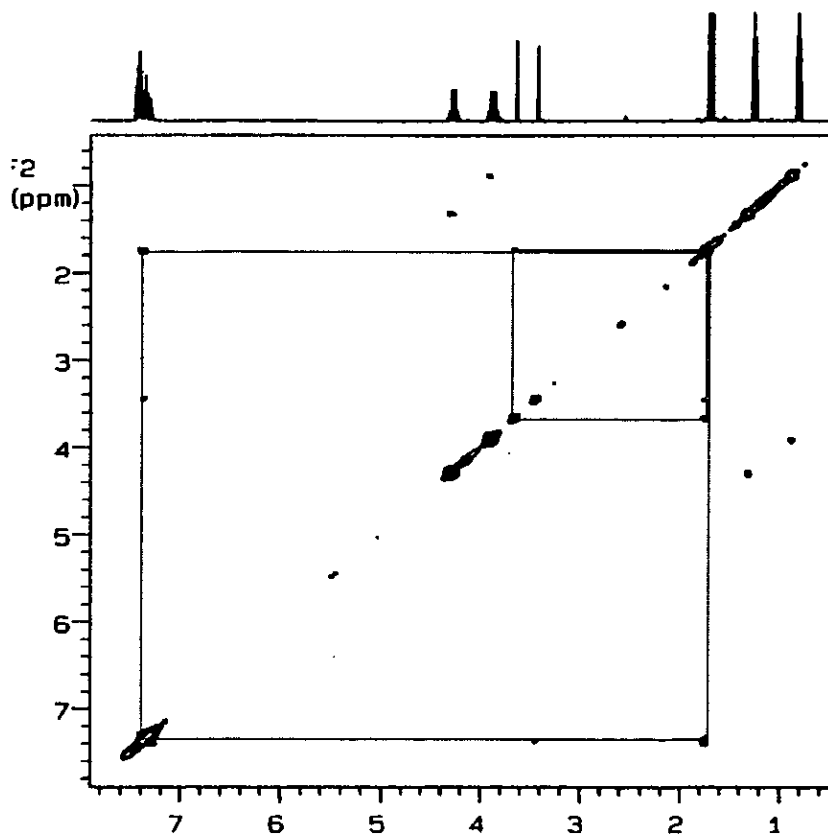


Figura 5-28. Espectro bidimensional del experimento nuclear de Overhauser (NOESY) de la mezcla de 3-metil-3-fenil glicidatos de etilo.

### 5.1.3.12. Experimento HMBC de correlación heteronuclear de detección inversa a 2 y 3 enlaces.

Este experimento ayudó a la asignación inequívoca de carbono e hidrógeno, ya que ayudo a correlacionar las 2 partes de la molécula que se tenían por separado, es decir, el anillo oxiránico ya asignado y el grupo etilo del éster. Aun cuando el espectro muestra mucho ruido  $t_1$ , existe una zona muy importante para la correlación inequívoca, la región de los carbonilos. Algunos espectros se presentan a continuación.

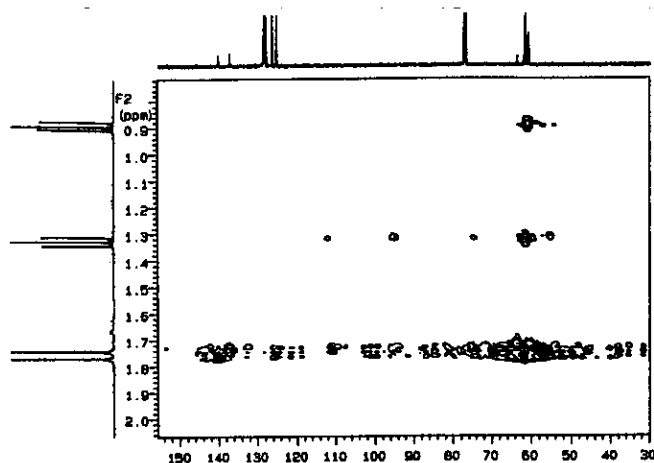


Figura 5-29. Espectro HMBC de correlación heteronuclear a 2 y 3 enlaces de distancia del 3-metil-3-fenil glicidato de etilo.

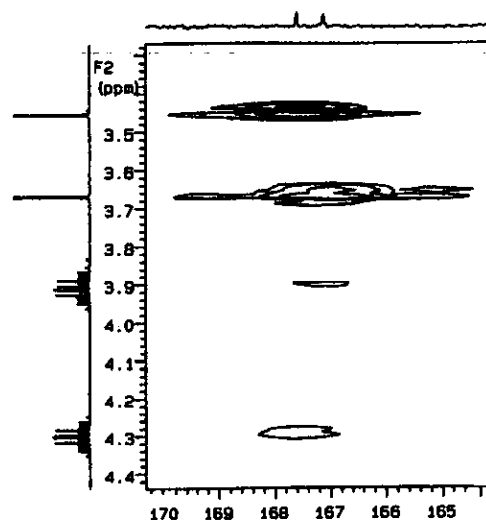


Figura 5-30 Espectro expansión HMBC de la mezcla de 3-metil-3-fenil glicidatos de etilo.

En la parte superior del espectro expandido, se encuentran las señales de los carbonilos. Hasta el momento, ninguna de las técnicas anteriores pudo discriminar qué carbono carbonílico correspondía al Z y que señal correspondía al E. Sin embargo, al asignar la señal Z y E de los metinos base del epóxido, se pudo encontrar la correlación de la señal E del metino (a más alto campo) con alguno de los carbonilos y se vio que el centro de la señal correlaciona con el carbonilo a más bajo campo. Análogamente la señal del metino Z correlaciona con el carbonilo a más alto campo. Así, con los carbonilos ya identificados, la correlación que siguió fue de estos mismos carbonilos con las señales de los metilenos del éster. De ahí se pudo concluir que la señal de los metilenos a más alto campo corresponde al isómero Z, y el metileno a más bajo campo corresponde al isómero E. A pesar del intenso ruido  $t_1$  se pudieron obtener las correlaciones que corresponden a los carbonos cuaternarios. Los cuaternarios a más alto campo (61.742 y 63.425 ppm) mostraron correlaciones con los singuletes de metilos a 1.75 y 1.71 ppm respectivamente. Asimismo se vió que de los cuaternarios a más bajo campo (137.247 y 140.248 ppm) correlacionaron con los singuletes de metilos a 1.71 y 1.75 ppm respectivamente.

Sin embargo, las señales que no pudieron ser asignadas completamente son las de los metinos aromáticos. Como las señales de ambos isómeros se sobreponen y no se logra una buena resolución, es muy difícil poder asignar estos metinos sin ambigüedad. Un resumen de los resultados obtenidos se muestra a continuación.

Protón	Desplazamiento químico ( $\delta$ ) Protón	Carbono	Desplazamiento químico Carbono	Datos de DEPT	Isómero
a	0.85	1	13.65	CH <sub>3</sub>	Z
b	1.3	2	14.189	CH <sub>3</sub>	E
c	1.71	4	24.592	CH <sub>3</sub>	Z
d	1.75	3	16.972	CH <sub>3</sub>	E
e	3.42	8	61.424	CH	E
f	3.62	5	60.607	CH	Z
g	3.89	6	60.755	CH <sub>2</sub>	Z
h	4.3	7	61.375	CH <sub>2</sub>	E
i	7.3	11-16	125.227-128.476	CH	?
		9	61.742	C	E
		10	63.425	C	Z
		17	137.247	C	Z
		18	140.248	C	E
		19	167.130	C	Z
		20	167.610	C	E

Tabla V-12 Tabla de correlaciones y asignaciones finales entre el espectro  $^1\text{H}$  y el de  $^{13}\text{C}$  con toda la información colectada por los espectros uni y bidimensionales.

Presentando los resultados obtenidos de todos los experimentos realizados de una manera esquemática se tiene la siguiente figura.

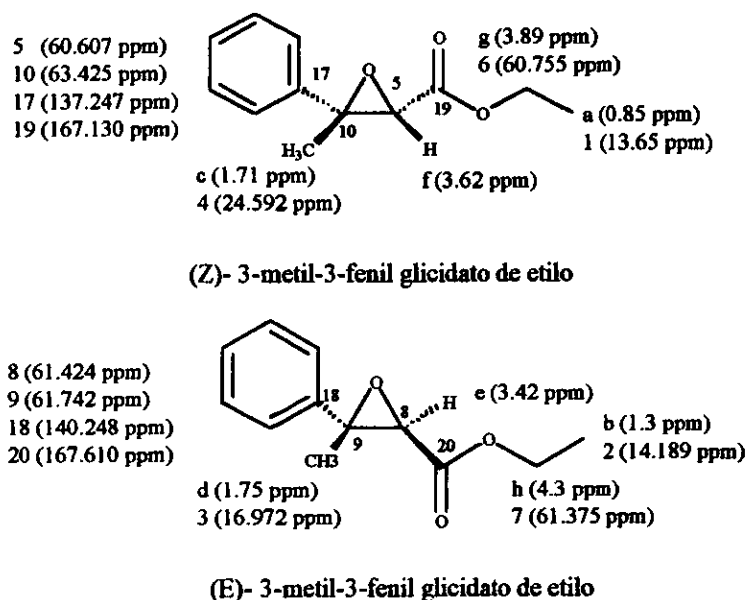


Figura 5-31. Asignación inequívoca de las señales de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ .

## 5.2. 3-metil-3-fenil glicidato de bencilo

### 5.2.1) Resonancia Magnética Nuclear de la sal de sodio.

#### 5.2.1.1. RMN protónico de la sal de sodio.

El espectro de resonancia se muestra a continuación.

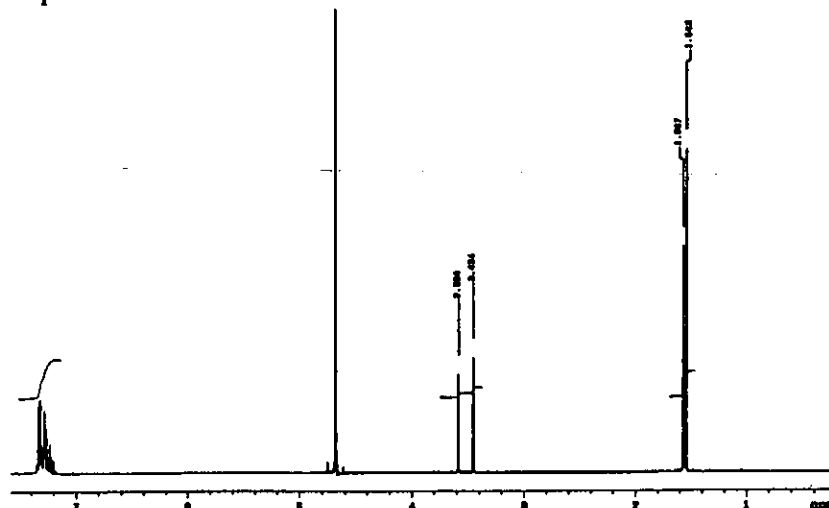


Figura 5-32. Espectro de resonancia en 300 MHz de la mezcla del 3-metil-3-fenil glicidatos de sodio.

Como se puede ver, solo se tienen las señales del metilo (singulete) y del metino base del epóxido (singulete). En este caso la relación entre las señales no se ve que sea 1:1, al contrario, la señal a más alto campo 1.543 ppm tiene una mayor área bajo la curva que la de 1.567 ppm. Análogamente la señal en 3.454 ppm y la de 3.584 ppm muestran el mismo fenómeno.

Esto lleva a pensar en que uno de los isómeros está en mayor proporción. Las señales del metilo de 1.543 ppm y el metino a 3.454 ppm son señales de uno de los isómeros presentes, y las otras señales a 1.567 ppm y 3.584 ppm son del otro isómero.

En la recristalización se obtuvieron cristales en el papel filtro así como en las aguas madres. El espectro de los cristales en el papel filtro se muestra a continuación.

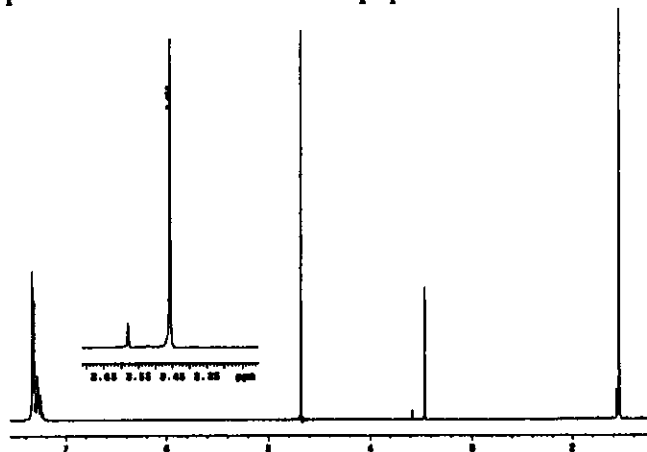


Figura 5-33. Espectro de resonancia en 300 MHz de la sal de sodio en el papel filtro.

Este espectro mostró datos muy interesantes. Uno de los isómeros se obtuvo en el papel filtro mientras que en las aguas madres se obtuvo el otro de manera enriquecida.

Asimismo, existe un pequeño remanente del otro isómero, lo que nos ayuda a asegurar que la señal del metilo a más alto campo y la del metino a más alto campo son señales del mismo isómero.

#### 5.2.1.1. Espectro Cyclenoe (NOE unidimensional) de la sal de sodio.

En el experimento NOE 1D se pudo confirmar que el isómero que se tuvo en el papel filtro es el E, pues el único efecto positivo lo presentaron los metinos aromáticos.

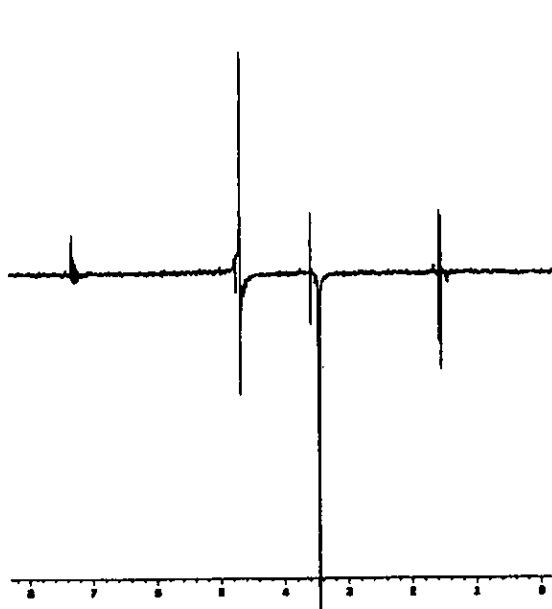


Figura 5-34. Espectro de resonancia cyclenoe de la sal de sodio cruda con conformación E presente en el papel filtro.

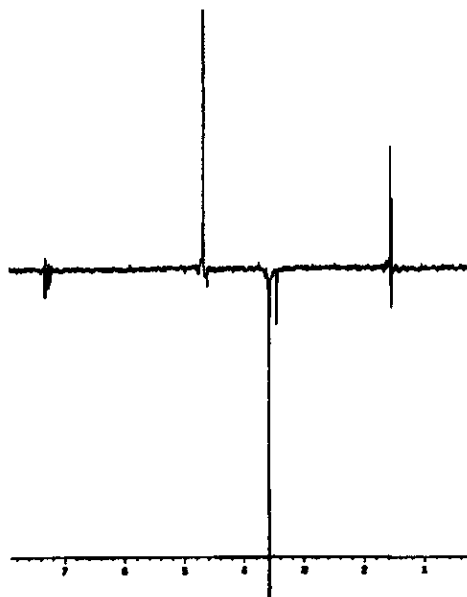


Figura 5-35. Espectro de resonancia cyclenoe de la sal de sodio con conformación Z presente en las aguas madres.

Con esto se puede ver que la sal menos soluble es la E que se retuvo en el papel filtro mientras que la Z se obtuvo en las aguas madres.

#### 5.2.2 Resonancia magnética nuclear del 3-metil-3-fenil-glicidato de bencilo.

##### 5.2.2.1. Espectros de hidrógeno unidimensional de la mezcla del 3-metil-3-fenil-glicidato de bencilo (500 MHz)

	Desplazamiento químico ( $\delta$ )	Multiplicidad	Integración	Asignación
a	1.711	singulete	3	CH <sub>3</sub>
b	1.733	singulete	3	CH <sub>3</sub>
c	3.483	singulete	1	CH
d	3.705	singulete	1	CH
e	4.47	singulete	2	CH <sub>2</sub>



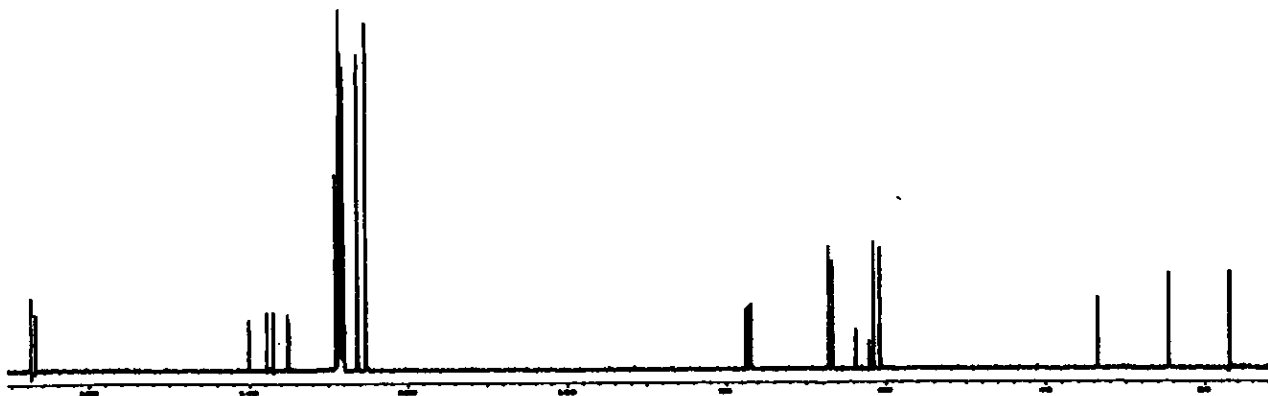
f	4.84 y 4.91	dos dobletes	2	CH <sub>2</sub>
g	5.22 y 5.28	dos dobletes	2	CH <sub>2</sub>
h	7.00	multipletos	2	2 CH
i	7.22-7.39	multipletos	aprox 15	CH

**Tabla V-13. Desplazamientos químicos del 3-metil-3-fenil glicidato de bencilo.**

- Las 2 señales *a* y *b* presentes a alto campo (1.711 y 1.733ppm) podrían confundirse con un doblete, sin embargo, corresponden a los metilos unidos a la base del epóxido.
- Las señales a 3.48 y 3.705 ppm son las señales de los metinos de la base del epóxido.
- La señal en 4.47 ppm es un singulete que integra para 2 hidrógenos y se trata de el exceso de bromuro de bencilo presente en la mezcla de reacción.
- Las señales en 4.88 y 5.26 ppm son las señales que originan los hidrógenos metilénicos diastereotópicos. Nuevamente se ve que al tener una mayor dispersión de campo es posible observar las inequivalencias magnéticas que presentan estos hidrógenos. De ahí que se distingan claramente dos dobletes para cada una de las señales en donde los desplazamientos químicos para ambos dobletes son ligeramente diferentes.
- La señal en 7.00 ppm integra para 2 hidrógenos y como se encuentra en la zona de metinos aromáticos es muy posible que se trate de metinos protegidos con respecto a los demás. En la señal I en 7.22-7.39 se tienen señales para 5 diferentes anillos aromáticos; 2 por cada isómero y uno mas del bromuro de bencilo.

### 5.2.2.2. Espectro unidimensional de <sup>13</sup>C.

Los resultados se presentan a continuación.



**Figura 5-36. Espectro de resonancia de <sup>13</sup>C de la mezcla de 3-fenil-3metil glicidatos de bencilo.**

	<b>Desplazamiento Químico</b>
1	16.936
2	24.608
3	33.545
4	60.681

5	61.437
6	63.746
7	66.73
8	67.17
9	125.182
10	126.255
11	127.927
12	128.029-128.974
13	134.920
14	135.110
15	136.945
16	137.727
17	140.017
18	166.916
19	167.446

**Tabla V-14. Resultados obtenidos en el espectro de resonancia unidimensional del  $^{13}\text{C}$  a 75 MHz del 3-metil-3-fenil-glicidato de bencilo.**

De este experimento podemos destacar algunos aspectos.

- a) Se obtuvieron solamente 19 señales de carbono, lo que indica que hay señales sobrepuestas, las cuales, principalmente se dan en la región aromática.
- b) Hay 2 carbonilos presentes a bajo campo (166.91 y 167.446 ppm)

### 5.2.2.3. Espectro Bidimensional de Correlación Homonuclear COSY (Correlated Spectroscopy) a largo alcance.

En este experimento, las correlaciones encontradas fueron a largo alcance ya que se ven las correlaciones que presentan los singuletes entre sí.

- a) Se alcanza a ver la interacción de *a* (1.711ppm) y *d* (3.705ppm) así como la interacción de *b* (1.733ppm) y *c* (3.483ppm).
- b) También se ve la interacción de *e* (4.47 ppm) que es el metileno del bromuro de bencilo con la señal que se encuentra en la señal *l* (7.22-7.39ppm).
- c) La señal de correlación de los H's diasterotópicos *f* (4.84 y 4.91ppm) y la de los H's de la señal *g* (5.22-5.28ppm) se ve pequeña pero se nota claramente.
- d) Finalmente una señal que llama la atención es la que se tiene entre la señal *h* (7.00ppm) y *f* (4.84 y 4.91ppm). Esta señal corresponde a uno de los isómeros el E o el Z el que tiene metinos a alto campo y que es diferente al otro de los isómeros. Más adelante se elucidará la estereoquímica final.

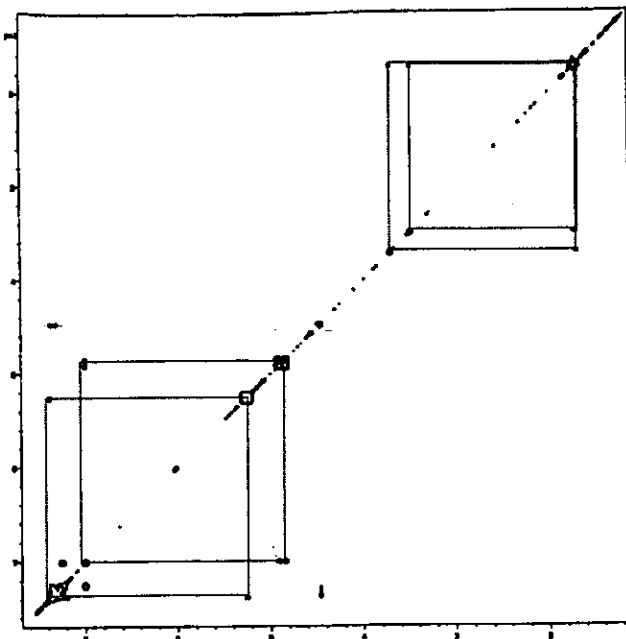


Figura 5-37. Espectro COSY de correlación homonuclear de la mezcla de isómeros del 3-metil-3-fenil glicidato de bencilo.

#### 5.2.2.4. Espectro Bidimensional de Correlación Heteronuclear de detección inversa (HSQC) de coherencia cuántica simple.

Los resultados de este experimento se muestran a continuación.

Nomenclatura en Protón	Desplazamiento químico ( $\delta$ ) Protón	Carbono	Desplazamiento químico Carbono
a	1.711	2	24.608
b	1.733	1	16.936
c	3.483	8	61.437
d	3.705	3	60.681
e	4.47	4	33.545
f	4.84 y 4.91	6	66.73
g	5.22 y 5.28	7	67.17
h	7.00	17	128.464
I	7.22-7.39	11-16	125.182
		9	126.255
		10	127.927
		17	128.029-128.974
		18	134.920
		19	135.110
			136.945
			137.727
			140.017
			166.916
			167.446

Tabla V-15. Tabla de correlaciones entre el espectro  $^1\text{H}$  y el de  $^{13}\text{C}$  dentro del experimento HSQC.

### 5.2.2.5. Experimento de efecto nuclear de Overhauser bidimensional (NOESY).

En este experimento los resultados ayudaron a tener la conformación de los isómeros de la mezcla.

- a) Existe la correlación entre la señal *a* (1.711ppm) y la señal *d* (3.705ppm) en el ámbito espacial. Esta correlación ya se había contemplado en el espectro COSY a largo alcance sin embargo, se corrobora con este experimento que la señal *a* y la *d* corresponden al isómero *Z* del 3-metil-3-fenil glicidato de bencilo.

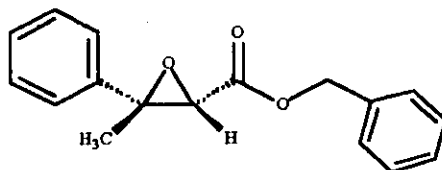


Figura 5-38. Isómero *Z* de la mezcla de 3-metil-3-fenil-glicidatos de bencilo.

- b) No existió ninguna correlación de otro tipo en este experimento, por lo que las señales *b* y *c* pertenecen al isómero *E* del 3-metil-3-fenil glicidato de bencilo.

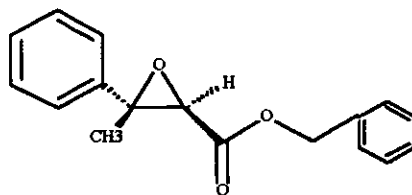


Figura 5-39. Isómero *E* de la mezcla de 3-metil-3-fenil-glicidatos de bencilo.

### 5.2.2.6. Banda 4 y 5 de la cromatografía en capa fina, comparada con la mezcla de los isómeros del 3-metil-3-fenil-glicidato de bencilo.

Una serie de experimentos uni y bidimensionales se utilizaron para la asignación inequívoca de las bandas 4 y 5 previamente separados en cromatografía en capa fina preparativa. Los resultados se muestran a continuación en una tabla.

Nomenclatura	Banda 4	Banda 5	Mezcla	
a	1.7468	1.7379	1.7524	1.7435
b	3.5046	3.7256	3.5097	3.7309
c	5.3254	4.9517	4.9578	5.3312
	5.2849	4.9109	4.9173	5.2907
	5.2584	4.8781	4.8840	5.2647
	5.2179	4.8373	4.8437	5.2241
d	7.3989-7.3507	7.0343-7.0026	7.00-7.39	
	Isómero E	Isómero Z		

Tabla V-16 Tabla de correlaciones finales de la banda 4 y 5 de los glicidatos de bencilo.

### 5.2.2.7 Banda 4 de la cromatografía en capa fina.

Dentro de los experimentos que se llevaron a cabo se utilizó el HSQC acoplado. Este experimento resultó muy útil ya que se muestra un acoplamiento grande debido a la interacción  $^{13}\text{C}-^1\text{H}$  y una pequeña que se debe a las interacciones  $^1\text{H}-^1\text{H}$ . Además, el

experimento HMBC fue fundamental para la asignación final. Los resultados se muestran a continuación.

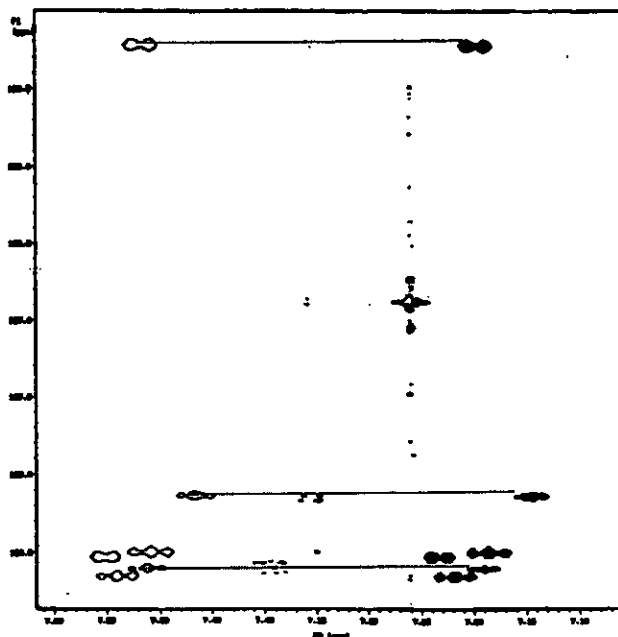
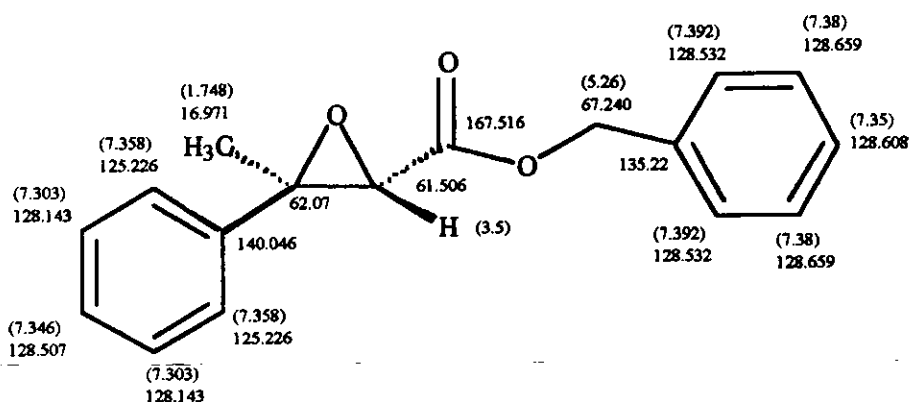


Figura 5-40. Espectro cHSQC del E-3-metil-3-fenil glicidato de bencilo.

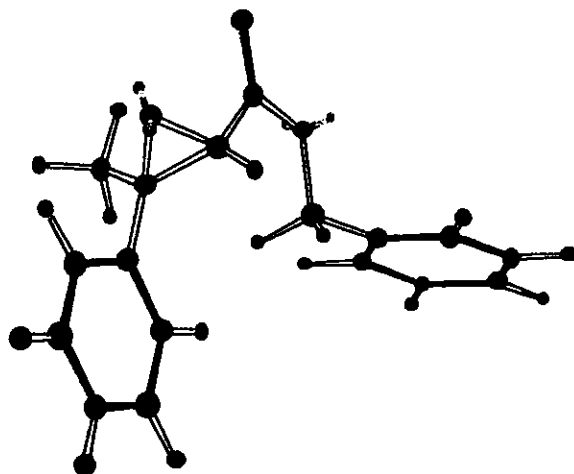
Desplazamiento en $^{13}\text{C}$ .	Desplazamiento en $^1\text{H}$ , dado por HSQC acoplado.		HMBC
16.971	1.748		140.23, 61.506 y 62.07
61.506	3.5		167.73 y 62.07
67.240	5.24 y 5.30		167.77 y 135.22
125.226	7.358	doblete	7.303
128.143	7.303	tripleto	7.358 y 7.346
128.507	7.346	tripleto	7.358
128.532	7.392	doblete	7.38
128.608	7.350	tripleto	7.392 y 7.38
128.659	7.380	tripleto	7.392 y 7.35
135.122	-		7.39
140.046	-		7.359
167.516	-		

Tabla V-17. Resultados obtenidos en diferentes experimentos 1D y 2D para el E-3-metil-3-fenil glicidato de bencilo.

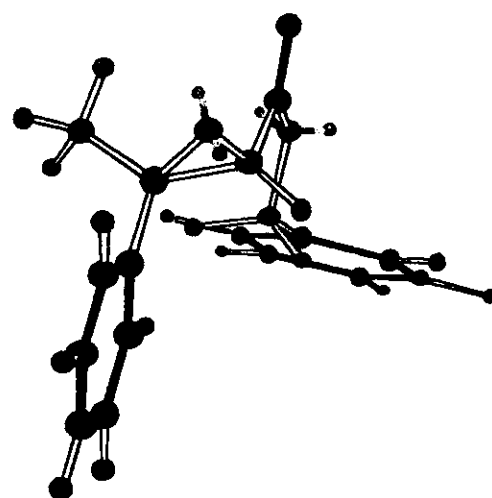


( ) Desplazamientos químicos de protón  
 Número Desplazamientos químicos de carbono 13

**Figura 5-41. Asignación completa de los protones y carbonos presentes en el isómero E. Representación tridimensional de los isómeros E y Z**



**Figura 5-42. Representación tridimensional del E-3-metil-3-fenil glicidato de bencilo. Interacciones estéricas minimizadas con Chem3D.**



**Figura 5-43. Variante de la representación tridimensional del E-3-metil-3-fenil glicidato de bencilo. Las interacciones estéricas fueron minimizadas con Chem3D.**

### 5.2.2.7 Banda 5 de la cromatografía en capa fina.

Nuevamente se llevaron a cabo una serie de experimentos uni y bidimensionales, sin embargo, en este caso no se llevó a cabo el experimento HSQC acoplado, de ahí que la elucidación completa no se pudo llevar a cabo. El experimento HSQC normal no logró diferenciar a los protones que estaban presentes en la zona de 7.25 ppm. Los resultados obtenidos de los diferentes experimentos se muestran a continuación.

Desplazamientos en $^{13}\text{C}$	Desplazamientos en $^1\text{H}$ en el experimento eHSQC	HMBC
24.686	1.75	137.19, 63.854 y 60.81
60.737	3.72	166.99 y 63.854
66.9	4.86 y 4.94	167.29, 135.04 y 128.602
126.285	7.353	(7.25) 134.94, 128.47 y 126.37
127.977	7.25	(7.26) 136.97, 128.47, 128.02 127.44 y 126.37
128.081	7.25	(7.28) 136.97, 128.02 y 126.37
128.271	7.25	(7.30) 128.06
128.368	7.25	(7.31) 128.06
128.427	7.04	66.89
134.927	-	
136.963	-	
166.999	-	

Tabla V-18. Resultados de los experimentos 1D y 2D del Z-3-metil-3-fenil glicidato de etilo.

Con base en lo anterior se muestran los desplazamientos químicos de este isómero en forma gráfica.

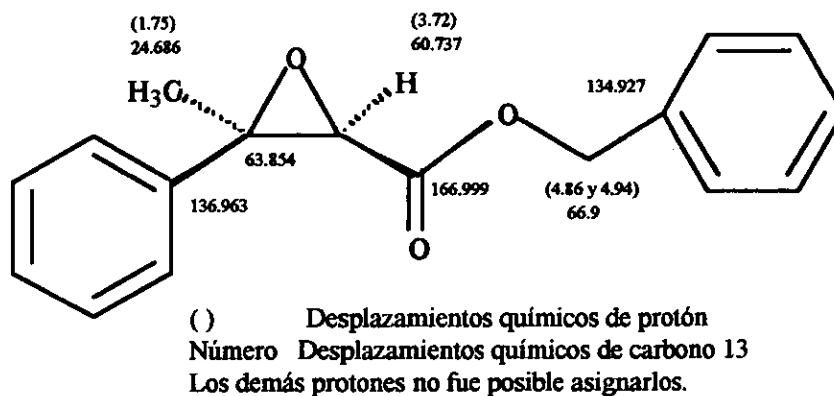
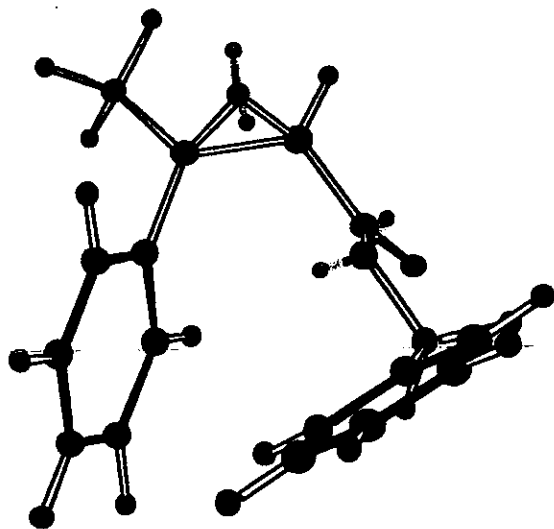
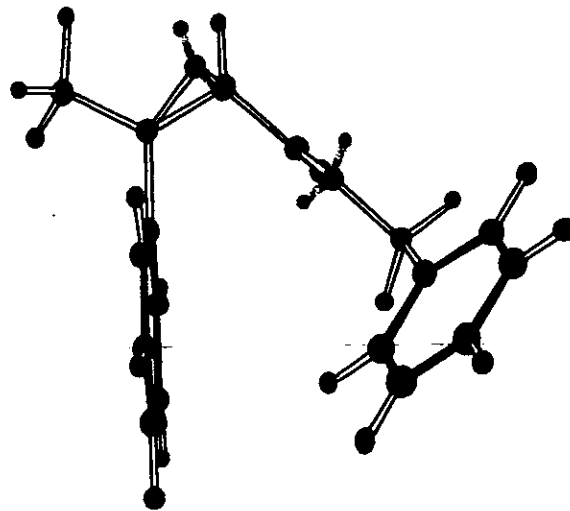


Figura 5-44. Asignación de protones y carbonos del Z-3-metil-3-fenil glicidato de bencilo.



**Figura 5-45.** Representación tridimensional del Z-3-metil-3-fenil glicidato de bencilo. Las interacciones estéricas se minimizaron.



**Figura 5-46.** Otra vista de la representación tridimensional del Z-3-metil-3-fenil glicidato de bencilo. Las interacciones estéricas se minimizaron.

En este caso se ve la clara protección anisotrópica que da uno de los anillos aromáticos sobre el otro de los anillos. Esto puede justificar la presencia de un par de hidrógenos aromáticos que se encuentran a alto campo, es decir, que están protegidos anisotrópicamente.

También se puede ver que a pesar de que en resonancia de  $^{13}\text{C}$  se diferencian 6 tipos de carbonos aromáticos, en el experimento HSQC, cuya resolución es mejor que el HMQC, no logró resolver satisfactoriamente a los 6 hidrógenos que se encuentran a 7.25 ppm. Esto tiene que ver con la naturaleza misma del experimento, ya que al ser un experimento de detección inversa, la mejor resolución se encuentra en el canal de los protones, no así en el caso de un experimento de detección directa, cuya máxima resolución se encuentra en  $^{13}\text{C}$ .

Hubiera sido conveniente el uso de un experimento de detección directa o bien, el uso de un espectrómetro con una mayor dispersión de campo.

*Algunas Observaciones sobre los resultados obtenidos en este capítulo.*

### **Espectroscopía de Infrarrojo**

A pesar de que es una técnica que logra ver diferencias tan sutiles como la presencia de isómeros, en este caso, debido a que no se tuvo una separación previa, la espectroscopía de infrarrojo no dio mayor información que la presencia de los diferentes grupos funcionales, así como la posibilidad de tener diferentes conformaciones con momentos dipolares particulares.



### **Espectrometría de Masas.**

Dentro de los resultados de espectrometría de masas hay varios factores que podrían ser considerados con mayor detalle.

- Llamen la atención los rearrreglos intramoleculares productos de la migración del grupo etoxilo al carbono 2 (considerando la apertura del oxirano). Dichos rearrreglos fueron propuestos anteriormente<sup>41</sup> en donde se utilizaron técnicas tipo DADI. Sin embargo, en la actualidad se pueden llevar a cabo otro tipo de análisis para la propuesta de la ruta de fragmentación. Algunas alternativas serían el análisis por desenfocamiento metaestable, y "linked-scan".
- Otro experimento que se podría llevar a cabo, sería la ionización a un menor voltaje a fin de analizar si los isómeros presentan diferencias en la ionización con esas variaciones.

### **Resonancia Magnética Nuclear**

- Uno de los aspectos importantes de esta técnica fue la versatilidad que presenta.
- El aumento en la dispersión de campo de 60 a 300 y 500 MHz, dio un cambio radical en la apariencia del espectro unidimensional.
- A una mayor dispersión de campo se logró evidenciar la inequivalencia magnética de los metilenos tanto del derivado de etilo como de bencilo.
- Asimismo se tuvo una señal compleja para los hidrógenos aromáticos, en donde se tenía la sobreposición de 2 anillos aromáticos de los isómeros en el derivado de etilo, así como de 2 tipos de anillos diferentes para cada isómero en el derivado de bencilo.
- El uso de la resonancia de <sup>13</sup>C mostró la sobreposición de señales presentes en la zona de los metinos aromáticos y en la zona de 60 ppm en el espectro del derivado de etilo. Esta sobreposición de las señales fue un factor importante en la elucidación estructural completa.
- A pesar de haberse llevado a cabo el experimento bidimensional resuelto en J, la determinación de la constante de acoplamiento vía el espectro unidimensional resultó más útil.
- El espectro COSY resultó útil solo en el caso del derivado de etilo.
- En la cuestión de los experimentos de correlación heteronuclear se pudo apreciar la deficiencia de resolución. En un equipo de 400 Mhz, el experimento HETCOR de correlación directa no tuvo la suficiente resolución para la asignación de los metinos aromáticos. En este caso hubiera sido recomendable el uso de un equipo de mayor dispersión de campo.
- En un equipo de 500 Mhz el experimento heteronuclear de detección inversa (HMQC) no logró la resolución deseada en la región de los protones y de los carbonos aromáticos.
- La utilización de HSQC en un equipo de 500 Mhz incrementó la resolución pero fue necesario el uso del HSQC acoplado para poder llevar a cabo la asignación completa de la zona aromática.

---

<sup>41</sup> *Khim. Geterotsikl. Soedin.*, 10: 1310, (1986), (Russ).

- El experimento de Efecto Nuclear Overhauser tanto uni como bidimensional resultaron fundamentales en la asignación de la estereoquímica del oxirano.
- Con el experimento HMBC se logró unir ambas partes de la estructura, el anillo oxiránico y el sustituyente del éster.
- Los resultados fueron congruentes con los resultados esperados, en donde el grupo etilo del isómero Z se encuentra a más alto campo debido a la protección anisotrópica que da el anillo aromático. Este mismo isómero tendrá el metino base del epóxido a menor campo que con respecto al isómero E.
- En el caso de la sal de sodio, el anillo aromático no presenta efectos de protección anisotrópica lo que provoca que el metino y el metilo a más alto campo pertenezcan al isómero Z mientras que los isómeros a más bajo campo pertenecen al isómero E.
- Las propiedades organolépticas se pierden al hacer el derivado bencilado.
- El isómero que tiene las propiedades organolépticas de olor y sabor a fresa es el (+)-(2R,3R)-3-metil-3-fenilglicidato de etilo (72691-66-8)<sup>42</sup>.

---

<sup>42</sup> Lebensmittelchem. Gerichtl. Chem., 39(2): 38, (1985) (Ger).

## Conclusiones

- A pesar de que se utilizaron la espectroscopía de infrarrojo y la espectrometría de masas fue a través de la resonancia magnética nuclear como se logró reconocer a las especies diastereoméricas presentes en la mezcla de estudio.
- La cromatografía de gases, a falta de estándares, no fue capaz de distinguir al isómero Z del E, sin embargo si fue posible hacer notar que se trataba de una mezcla y de la naturaleza de cada uno de los picos cromatográficos obtenidos. Es posible hacer conjeturas sobre el isómero más retenido en función de la estereoquímica pero estas consideraciones no tienen la solidez de las observaciones por RMN.
- Se utilizaron sondas de detección directa y de detección inversa con el fin de analizar las diferencias así como ventajas y desventajas de su utilización en la elucidación estructural. Se vio que a pesar de que la detección inversa es una alternativa muy eficaz para el estudio de productos naturales, etc. no logró dar una buena resolución aún en 500 MHz para poder llevar a cabo una asignación inequívoca en una zona espectral de alta sobreposición de señales. El experimento de detección directa en 500 MHz podría ser una buena opción de análisis.
- Las ventajas que presenta el experimento HSQC sobre el HMQC es su mejor resolución. Quizá su desventaja sea el uso de un gran número de pulsos dentro de su secuencia comparados con sólo 4 pulsos en el experimento HMQC.
- Para la asignación completa se recurrieron a diferentes tipos de experimentos bidimensionales como el DQCOSY y el cHSQC que no son utilizados normalmente sino cuando se necesitan espectros de muy alta resolución.
- Los experimentos de efecto nuclear de Overhauser dieron pie a la elucidación de la estereoquímica del anillo oxiránico y con el HMBC se logró determinar la unión al anillo oxiránico del sustituyente éster.
- La presencia de los anillos aromáticos generan protecciones anisotrópicas importantes, mismas que se corroboraron con modelos moleculares en donde se minimizó la energía y a interacciones estéricas con cálculos semiempíricos. En el derivado de etilo, las señales acopladas del metilo y metileno a más alto campo tienen una protección anisotrópica por parte del anillo aromático; en cambio, el metino base del epóxido, recibe una desprotección notable. Estos resultados concordaron con los datos del NOESY y mostraron que éste isómero corresponde al isómero Z. En el caso del derivado bencilado la protección anisotrópica por parte del derivado Z mostró un rasgo diferente. En este caso, la protección que generó el anillo aromático unido al oxirano se dio particularmente sobre 2 metinos del anillo aromático del éster. Esto se corroboró con los modelos y con minimizaciones semiempíricas.
- La obtención de los derivados del 3-metil-3-fenil glicidato de etilo se obtuvieron en una forma muy rápida (10 min. para la obtención de la sal y 1 min. de reacción de

la sal con el bromuro de bencilo) y de forma muy limpia (sin subproductos en gran concentración).

- El derivado de bencilo no posee olor alguno.
- El 3-metil-3-fenil glicidato de etilo se vende comercialmente como la mezcla de isómeros E y Z y posee un característico olor y sabor a fresa que lo hacen un compuesto muy utilizado dentro de diferentes áreas. No se conocen efectos adversos de los demás isómeros, lo que explica su uso comercial como mezcla diastereomérica. Probablemente a esto se deba también el hecho de que no se hayan desarrollado métodos sintéticos estereoselectivos con un costo apropiado para la obtención de un solo diastereoisómero.
- Su utilización en repostería, bebidas alcohólicas, confitería, jarabes, dulces, etc. está regulada por la **FEMA** (Flavour and Extract Manufacturers Association), La **IOFI** (International Organization of Flavour Industry), el **Código** (Food Chemical Codex) y el **Consejo Europeo**.
- Asimismo se le ha utilizado como agente encapsulante de gomas de mascar y en la industria de polímeros como agente aromatizante de espumas de poliuretanos
- El isómero de más alto punto de ebullición es el E mientras que el isómero de más bajo punto de ebullición es el Z. El isómero que posee las propiedades organolépticas es el (+)-(2R,3R)-3-metil-3-fenil glicidato de etilo (conformación E).
- El uso combinado de técnicas analíticas para abordar problemas químicos que tienen implicaciones múltiples a campos como la síntesis orgánica, síntesis asimétrica, el uso regulado de sabores y aromas en la industria, la composición y estructura molecular y otras, nos muestra que la RMN moderna es, para el campo científico, de la mayor importancia para un químico.
- Aún las más modernas aplicaciones de la RMN requieren de un uso estratégico adecuado para obtener de ellas su mejor rendimiento la aplicación de los nuevos métodos de RMN permite distinguir dos amplias vertientes:
  1. La aplicación sistemática de la RMN en la obtención de datos de uso simple y que demandan del usuario, un conocimiento elemental de la RMN. Con ello es posible proporcionar una base amplia de información sobre la estructura molecular de sustancias puras o de mezclas, lo que significa un gran apoyo para el químico no familiarizado con la RMN.
  2. El uso de la RMN como un cuerpo de conocimientos teóricos y experimentales, que permiten hacer aplicaciones y diseños metodológicos para el abordaje de problemas especiales que puedan llegar a ser retos científicos. Esto demanda del usuario un conocimiento más profundo y vinculado con campos teóricos como la fisicoquímica, la química teórica, la modelación computacional, la química orgánica, etc. Por esta razón la RMN moderna es *per se*, un campo de investigación analítica de gran relevancia para el desarrollo de la química y no se concibe ya un avance de ella separada de su uso adecuado.

## ***Bibliografía***

1. Enciclopedia Kirk Othmer.
2. López M., *Ciencia y Desarrollo*, V.XXIV, 141, 42 (1998).
3. Aldrich Flavor and Fragrances Catalog 1996.
4. (IFF) International Flavour and Fragrances de México S.A. de C.V. brochures.
5. Morrison and Boyd, 5a. Edición, **Química Orgánica**, Addison Wesley Iberoamericana, 1990.
6. House H., Blaker W., and Madden D., *J.AmChem.Soc.* **80**, 6386 (1958).
7. Kraus G. and Taschner M., *Tetrahedron Letters* **52**, 4575 (1977).
8. Domagala J.M. and Bach R., *J.Org.Chem*, **44(18)**,3169 (1979).
9. Prager R. and Tsopelas C., *Aust.J.Chem* **43 (2)**, 367 (1990).
10. House H. and Blaker J.W., *J.AmChem.Soc.* **80**, 6398 (1958).
11. Tateo F., Triangeli L. and Panna E., *Riv.Soc.Ital.Sc.Aliment.*, **17(3)**,179 (1988) (Ital).
12. Konrad G. and Musso H., *Liebigs.Ann.Chem* **11**,1956 (1986) (Ger).
13. Silverstein, Bassler & Morrill, **Spectrometric Identification of Organic Compounds**, 5<sup>th</sup> Edition, John Wiley & Sons, USA, 1991.
14. Notas Jeol Ionization Methods in Mass Spectrometry. Internet Search at Jeol's site. <http://www.jeol.com/ms/resolution.html>.
15. Mc. Lafferty F. and Turecek F., **Interpretation of Mass Spectra**, 4<sup>th</sup> Edition, University Science Books, USAm 1993.
16. Jáuregui J.F. Notas del Curso Taller de Espectrometría de Masas, Maestría en Química Analítica, Facultad de Química, UNAM.
17. Günter Harald, **NMR Spectroscopy. Basic Principles, Concepts and Applications in Chemistry**, 2<sup>nd</sup> Edition, John Wiley & Sons, 1996, USA.
18. Duddleck H. and Dietrich W., **Structure elucidation by Modern NMR. A workbook**, 2<sup>nd</sup>, revised and enlarged edition, Steinkopff Verlag Darmstadt Springer-Verlag, Germany, 1992.
19. Bendall, M.R, and Pegg D.T. *J.Magn.Reson.* **53**, 272 (1983).
20. Homans S.W. **A Dictionary of Concepts in NMR**, Oxford Science Publications, Clarendon Press, Oxford, UK 1992.
21. Bax, A. **Two-dimensional NMR in liquids**. Delft University Press, Dordrecht, 1982.
22. Benn R. and Günther H., *Angew.Chem.Int.Ed.Engl.*, **22**,350,(1983).
23. Williams K and King R., *J.Chem.Ed.* **67(5)**, A125 (1990).
24. Sanders J. And Hunter B. **Modern NMR Spectroscopy. A guide for chemists**, 2<sup>nd</sup> Edition Oxford University Press, UK,1994.
25. Bodenhausen G. and Reuben D., *J.Chem.Phys.Lett.*, **69**, 185 (1980).

26. Norwood T.J., Boyd J., Heritage, J.E., Soffe N. and Campbell I.D., *J.Magn.Reson.* **87**,488 (1990).
27. Bax A., Ikura M., Kay L.E., Torchia D.A., and Tschundin R., *J.Magn.Reson.*, **86**,304 (1990).
28. Notas del curso impartido por e Dr. Bruce Adams de Varian de México en el Instituto de Química, UNAM, Abril 1997.
29. Loupy A., Pigeon P., Ramdani M. and Jacquault., *Synth. Comm.*, **24(2)** 159,(1994).
30. Bram G., Loupy A. and Majdoub M., *Tetrahedron*, **46(15)**, 5167 (1990).
31. Stambouli A., Chatrette M. and Soufiaout M., *Tetrahedron Letters*, **32(14)**,1723 (1991).
32. Berlan J., Giboreau P., Lefeuvre S. and Marchand C., *Tetrahedron Letters*, **32(21)**, 2363 (1991).
33. Anisimova et al. *Khim.Geterotsikl*, Soedin, **10**, 1310 (1986) (Russ).
34. Reynolds W.F., Enríquez R., Yu M., **Are you using linear prediction or are you wasting your spectrometer time?**, *Magnetic Moments*, Varian Palo Alto.

## *Indice de Figuras*

### Capítulo 1

#### *Generalidades del 3-metil-3-fenil glicidato de etilo*

Figura 1-1	Estructura general del 3-metil-3-fenilglicidato de etilo.	22
Figura 1-2	Estereoisómeros presentes en la mezcla del 3-metil-3-fenil glicidato de etilo	22
Figura 1-3	Síntesis de Darzen para la obtención del 3-metil-3-fenil glicidato de etilo.	23
Figura 1-4	Diversas condiciones para la síntesis del 3-metil-3-glicidato de etilo.	24
Figura 1-5	Intermediario de reacción en la obtención del 3-metil-3fenil glicidato de etilo empleando diisopropil litio como catalizador básico	24
Figura 1-6	Síntesis vía reacciones con fosforanos para la obtención de diasterómeros puros.	24
Figura 1-7	Obtención de anillos pirrólicos utilizando 3-metil-3fenil glicidato de etilo como materia prima.	24
Figura 1-8	Obtención del Bromuro de p-bromofenacilo	25
Figura 1-9	Hidrólisis ácida del 3-metil-3-fenil glicidato de etilo.	26
Figura 1-10	Obtención de $\alpha$ -fenilpropionaldehido a través de hidrólisis ácida.	26
Figura 1-11	Obtención del 3-metil-3-fenil glicidato de plata.	26
Figura 1-12	Obtención del 3-metil-3-fenil glicidato de amonio.	27
Figura 1-13	Reacciones con compuestos organometálicos.	27
Figura 1-14	Rearreglos que presenta el 3-metil-3-fenil glicidato de etilo al hacerlo reaccionar con $BF_3$ en diferentes medios, temperaturas, etc.	27
Figura 1-15	Cromatograma de separación enantiomérica utilizando una columna quiral de triacetato de celulosa y etanol como fase móvil.	28

### Capítulo 2

#### *Técnicas Analíticas de Caracterización Estructural*

Figura 2-1.	Diagrama del Espectro Electromagnético	29
Figura 2-2	Modos de vibración, en el plano, presentes en moléculas triatómicas	30
Figura 2-3	Resolución en espectrómetros de sector magnético.	35
Figura 2-4.	Orientaciones nucleares cuando el número cuántico de espín $I=1/2$ dentro de un campo magnético. El número de orientaciones posibles es de $2I+1$ .	37
Figura 2-5.	Movimiento de precesión de un momento magnético.	37
Figura 2-6.	Detección de la componente de magnetización neta. a) Radiación incidente sobre el eje $x'$ . b) Magnetización neta sobre el eje de las $y'$ como resultado de la aplicación del pulso.	38
Figura 2-7.	Dirección del vector de magnetización $M_0$ despues de un pulso.	40
Figura 2-8.	Combinaciones posibles de los números cuánticos magnéticos $m_l$ .	41

Figura 2-9.	Secuencia de pulsos del experimento APT (attached proton test)	43
Figura 2-10.	Secuencia de pulsos para la adquisición del DEPT	43
Figura 2-11.	Obtención de un espectro de RMN bidimensional.	45
Figura 2-12.	Representación de las etapas para la obtención de un espectro de RMN bidimensional.	46
Figura 2-13.	Etapas de un experimento bidimensional	46
Figura 2-14.	Secuencia de pulsos del experimento de correlación homonuclear COSY	48
Figura 2-15.	Secuencia de pulsos del experimento de correlación heteronuclear con detección directa	49
Figura 2-16.	Diagramas de energía para un par de espines acoplados.	50
Figura 2-17.	Secuencia de pulsos del experimento HMQC de detección inversa.	51
Figura 2-18.	Secuencia de pulsos del experimento HMBC basado en la secuencia de HMQC. Los tiempos $\Delta 1 = 1/(^2J_{CH})$ donde $J_{CH}$ se refiere al acoplamiento a larga distancia y $\Delta 2$ de 60 ms.	52
Figura 2-19.	Secuencia de pulsos del HSQC acoplado	53
Figura 2-20.	Estados de espín y probabilidades de transición para un sistema A-B. El grosor de las líneas indica poblaciones relativas ocupando diferentes niveles de energía.	53
Figura 2-21.	Secuencia de pulsos del experimento NOESY	55

## Capítulo 3

### *Reacciones en Microondas*

Figura 3	Variación de la temperatura alcanzada con respecto a la cantidad de material utilizado.	56
----------	---	----

## Capítulo 4

### *Metodología*

Figura 4.1	Cromatoplaque preparativa para la obtención de los isómeros del 3-metil-3-fenilglicidato de bencilo. Eluyente Acetato de EtiloHexano al 10%, revelado con luz U.V.	59
------------	--	----

## Capítulo 5

### *Resultados y Análisis de Resultados*

Figura 5-1.	Espectro de Infrarrojo de la muestra problema de 3-metil-3-fenil glicidatos de etilo.	60
Figura 5-2	Conformaciones presentes en la mezcla de isómeros en Infrarrojo.	61
Figura 5-3	Espectro de Masas por bombardeo de átomos rápidos FAB+ utilizando glicerol como la matriz.	61
Figura 5-4	Cromatograma de la mezcla de isómeros del 3-metil-3-fenil-glicidato de etilo.	62
Figura 5-5	Estereoquímica de los isómeros E y Z del 3-metil-3-fenil-glicidato de etilo.	62
Figura 5-6	Espectro de masas de los picos cromatográficos 1y 4 de la mezcla de	63



	<b>glicidatos de etilo.</b>	
<b>Figura 5-7</b>	<b>Fragmentos principales y probables rutas de fragmentación de los iones principales presentes en el espectro de masas.</b>	<b>64</b>
<b>Figura 5-8.</b>	<b>Espectros de masas de baja resolución de los picos 2 y 3 presentes como impurezas de la mezcla isomérica del 3-metil-3-fenil glicidato de etilo.</b>	<b>66</b>
<b>Figura 5-9</b>	<b>Impurezas presentes en la mezcla isomérica de los glicidatos de etilo.</b>	<b>66</b>
<b>Figura 5-10</b>	<b>Espectro de masas de alta resolución de los picos 1 y 4 del cromatograma de la mezcla del 3-metil-3-fenil glicidatos de etilo.</b>	<b>66</b>
<b>Figura 5-11.</b>	<b>Espectro de RMN en 60 MHz de la mezcla de glicidatos de etilo</b>	<b>68</b>
<b>Figura 5-12</b>	<b>Espectro de Resonancia Magnética Nuclear protónico de 300 MHz.</b>	<b>69</b>
<b>Figura 5-13.</b>	<b>Ampliación del espectro unidimensional protónico en la región de 4.3 y 3.9 ppm.</b>	<b>70</b>
<b>Figura 5-14</b>	<b>espectro de desacoplamiento homonuclear en a 300 MHz.</b>	<b>70</b>
<b>Figura 5-15.</b>	<b>Espectro unidimensional de resonancia magnética nuclear de <sup>13</sup>C de la mezcla de 3-metil-3-fenil glicidatos de etilo.</b>	<b>71</b>
<b>Figura 5-16.</b>	<b>Espectros del experimento DEPT una vez que ha sido editado.</b>	<b>73</b>
<b>Figura 5-17.</b>	<b>Espectro homonuclear bidimensional con la constante de acoplamiento resuelta.</b>	<b>74</b>
<b>Figura 5-18.</b>	<b>Espectro COSY de correlación homonuclear de la mezcla de isómeros del 3-metil-3-fenil-glicidato de etilo.</b>	<b>75</b>
<b>Figura 5-19.</b>	<b>Correlaciones homonucleares a 3 enlaces de distancia.</b>	<b>76</b>
<b>Figura 5-20.</b>	<b>Espectro bidimensional HETCOR de la mezcla del 3-metil-3-fenil glicidato de etilo.</b>	<b>76</b>
<b>Figura 5-21.</b>	<b>Ampliación del espectro HMQC en la zona de 0 a 62 ppm de la mezcla de 3-metil-3-fenil glicidatos de etilo.</b>	<b>77</b>
<b>Figura 5-22.</b>	<b>Ampliación del espectro HMQC en la zona de metinos aromáticos de la mezcla del 3-metil-3-fenil glicidatos de etilo.</b>	<b>77</b>
<b>Figura 5-23.</b>	<b>Espectro cyclenoe de la mezcla de 3-metil-3-fenil glicidatos de etilo.</b>	<b>77</b>
<b>Figura 5-24.</b>	<b>Isómero Z de la mezcla de glicidatos de etilo.</b>	<b>78</b>
<b>Figura 5-25.</b>	<b>Conformaciones espaciales del Z-3-metil-3-fenil glicidato de etilo. Interacciones minimizadas.</b>	<b>78</b>
<b>Figura 5-26</b>	<b>Isómero E de la mezcla de glicidatos de etilo.</b>	<b>78</b>
<b>Figura 5-27.</b>	<b>Conformaciones espaciales del E-3-metil-3-fenil glicidato de etilo.</b>	<b>79</b>
<b>Figura 5-28.</b>	<b>Espectro bidimensional del experimento nuclear de Overhauser (NOESY) de la mezcla de 3-metil-3-fenil glicidatos de etilo.</b>	<b>79</b>
<b>Figura 5-29.</b>	<b>Espectro HMBC de correlación heteronuclear a 2 y 3 enlaces de distancia del 3-metil-3-fenil glicidato de etilo.</b>	<b>80</b>
<b>Figura 5-30</b>	<b>Espectro expansión HMBC de la mezcla de 3-metil-3-fenil glicidatos de etilo.</b>	<b>80</b>
<b>Figura 5-31.</b>	<b>Asignación inequívoca de las señales de <sup>1</sup>H y <sup>13</sup>C.</b>	<b>81</b>
<b>Figura 5-32.</b>	<b>Espectro de resonancia en 300 MHz de la mezcla del 3-metil-3-fenil glicidatos de sodio.</b>	<b>82</b>

<b>Figura 5-33.</b>	<b>Espectro de resonancia en 300 MHz de la sal de sodio en el papel filtro.</b>	<b>82</b>
<b>Figura 5-34.</b>	<b>Espectro de resonancia cyclenoe de la sal de sodio cruda con conformación E presente en el papel filtro.</b>	<b>83</b>
<b>Figura 5-35.</b>	<b>Espectro de resonancia cyclenoe de la sal de sodio cruda con conformación Z presente en las aguas madres</b>	<b>83</b>
<b>Figura 5-36.</b>	<b>Espectro de resonancia de <sup>13</sup>C de la mezcla de 3-fenil-3metil glicidatos de bencilo.</b>	<b>84</b>
<b>Figura 5-37.</b>	<b>Espectro COSY de correlación homonuclear de la mezcla de isómeros del 3-metil-3-fenil glicidato de bencilo.</b>	<b>86</b>
<b>Figura 5-38..</b>	<b>Isómero Z de la mezcla de 3-metil-3-fenil-glicidatos de bencilo</b>	<b>87</b>
<b>Figura 5-39.</b>	<b>Isómero E de la mezcla de 3-metil-3-fenil-glicidatos de bencilo.</b>	<b>87</b>
<b>Figura 5-40.</b>	<b>Espectro cHSQC del E 3-metil-3-fenil glicidato de bencilo.</b>	<b>88</b>
<b>Figura 5-41.</b>	<b>Asignación completa de los protones y carbonos presentes en el isómero E.</b>	<b>89</b>
<b>Figura 5-42.</b>	<b>Representación tridimensional del E-3-metil-3-fenil glicidato de bencilo. Interacciones estéricas minimizadas con Chem3D.</b>	<b>89</b>
<b>Figura 5-43.</b>	<b>Variante de la representación tridimensional del E-3-metil-3-fenil glicidato de bencilo. Las interacciones estéricas fueron minimizadas con Chem3D.</b>	<b>89</b>
<b>Figura 5-44.</b>	<b>Asignación de protones y carbonos del Z-3-metil-3-fenil glicidato de bencilo.</b>	<b>90</b>
<b>Figura 5-45.</b>	<b>Representación tridimensional del Z-3-metil-3-fenil glicidato de bencilo. Las interacciones estéricas se minimizaron.</b>	<b>91</b>
<b>Figura 5-46.</b>	<b>Otra vista de la representación tridimensional del Z-3-metil-3-fenil glicidato de bencilo. Las interacciones estéricas se minimizaron.</b>	<b>91</b>

## *Indice de Tablas*

### *Introducción*

Tabla x-1	Compuestos comerciales con propiedades organolépticas características	18
Tabla x-2	Relación de número de compañías y números de empleados en diferentes años	19
Tabla x-3	Países con lista de sustancias químicas para comida permitidas	19
Tabla x-4	Países con lista de sustancias químicas para comida prohibidas	19
Tabla x-5	Países con lista de sustancias químicas permitidas y prohibidas	20
Tabla x-6	Países sin reglamentaciones específicas	20
Tabla x-7	Países que aceptan la legislación de otros países	20

### Capítulo 1

#### *Generalidades del 3-metil-3-fenil glicidato de etilo*

Tabla I-1	Variaciones a la síntesis de Darzen para la obtención de glicidatos de etilo.	23
-----------	---	----

### Capítulo 2

#### *Técnicas Analíticas de Caracterización Estructural*

Tabla II-1	Frecuencias de absorción de algunos grupos funcionales importantes	32
Tabla II-2	Alta resolución en espectrometría de masas.	35

### Capítulo 5

#### *Resultados y Análisis de Resultados*

Tabla V-1	Tiempos de Retención de los picos de la mezcla de glicidatos de Etilo.	62
Tabla V-2	Relación de las masas exactas, fórmula mínima y estructuras probables.	67
Tabla V-3.	Desplazamientos químicos en 60 MHz.	68
Tabla V-4 $\sigma$	Resultados obtenidos en el espectro de resonancia unidimensional de 300 MHz.	69
Tabla V-5	Resultados obtenidos en el espectro de resonancia unidimensional de $^{13}\text{C}$ a 75 MHz.	72
Tabla V-6	Resultados del experimento APT y su correlación con los desplazamientos químicos.	72
Tabla V-7	Datos del experimento DEPT con desplazamientos químicos e intensidades relativas.	73
Tabla V-8	Correlaciones del experimento de $^{13}\text{C}$ , APT y DEPT para la asignación inequívoca del espectro de $^{13}\text{C}$ .	73

<b>Tabla V-9</b>	<b>Correlación del número de señales esperadas y las obtenidas en el experimento de <math>^{13}\text{C}</math>.</b>	<b>74</b>
<b>Tabla V-10</b>	<b>Resultados del análisis del espectro homonuclear con la constante de acoplamiento resuelta así como algunas constantes de acoplamiento.</b>	<b>75</b>
<b>Tabla V-11</b>	<b>Tabla de correlaciones entre el espectro <math>^1\text{H}</math> y <math>^{13}\text{C}</math> dentro del experimento HETCOR.</b>	<b>76</b>
<b>Tabla V-12</b>	<b>Tabla de correlaciones y asignaciones finales entre el espectro <math>^1\text{H}</math> y el de <math>^{13}\text{C}</math> con toda la información colectada por los espectros uni y bidimensionales.</b>	<b>81</b>
<b>Tabla V-13.</b>	<b>Desplazamientos químicos del 3-metil-3-fenil glicidato de bencilo.</b>	<b>84</b>
<b>Tabla V-14.</b>	<b>Resultados obtenidos en el espectro de resonancia unidimensional del <math>^{13}\text{C}</math> a 75 MHz del 3-metil-3-fenil-glicidato de bencilo</b>	<b>85</b>
<b>Tabla V-15.</b>	<b>Tabla de correlaciones entre el espectro <math>^1\text{H}</math> y el de <math>^{13}\text{C}</math> dentro del experimento HSQC.</b>	<b>86</b>
<b>Tabla V-16</b>	<b>Tabla de correlaciones finales de la banda 4 y 5 de los glicidatos de bencilo.</b>	<b>87</b>
<b>Tabla V-17.</b>	<b>Resultados obtenidos en diferentes experimentos 1D y 2D para el E-3-metil-3-fenil glicidato de bencilo.</b>	<b>88</b>
<b>Tabla V-18.</b>	<b>Resultados de los experimentos 1D y 2D del Z-3-metil-3-fenil glicidato de etilo.</b>	<b>90</b>