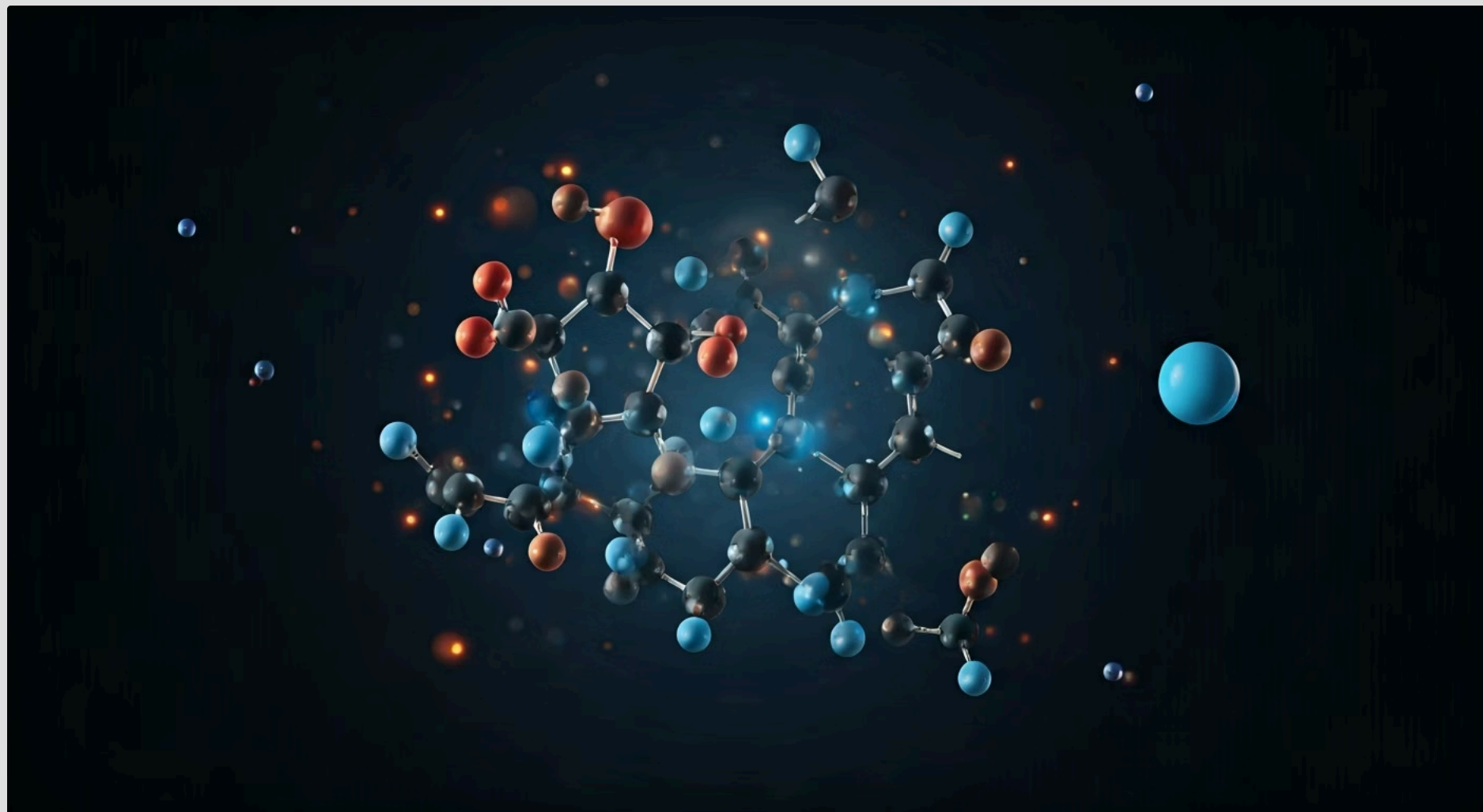


# Aula 12 – Ressonância Magnética Nuclear (RMN) – Parte 3: Espectros de $^{13}\text{C}$ e Técnicas 2D



Bem-vindo(a) à nossa jornada contínua pelo fascinante mundo da Ressonância Magnética Nuclear! Na aula anterior, desvendamos os segredos da RMN de prótons ( $^1\text{H}$ ), uma ferramenta poderosa para entender a estrutura de moléculas. Contudo, como um detetive que precisa de múltiplas pistas para resolver um caso complexo, a RMN de  $^1\text{H}$ , por si só, nem sempre é suficiente. Há um "esqueleto" fundamental em todas as moléculas orgânicas que ainda não exploramos em profundidade: o carbono.

Imagine que você está tentando montar um quebra-cabeça gigante, mas só tem as peças que representam as bordas. Você consegue ter uma ideia geral, mas o centro, a essência da imagem, permanece um mistério. A RMN de  $^{13}\text{C}$  e as técnicas bidimensionais (2D) são as peças que nos permitem preencher esse centro, revelando as conexões mais intrínsecas e a arquitetura tridimensional das moléculas. Elas são a chave para desvendar estruturas moleculares que seriam impossíveis de decifrar apenas com a RMN de prótons.

Nesta aula, nosso objetivo é equipá-lo(a) com o conhecimento para interpretar espectros de  $^{13}\text{C}$ , entender as técnicas que os tornam compreensíveis e, finalmente, mergulhar nas poderosas ferramentas 2D, como COSY e HSQC. Ao final, você será capaz de aplicar esses conceitos para elucidar estruturas moleculares complexas, uma habilidade inestimável tanto na academia quanto na indústria. Prepare-se para adicionar novas dimensões à sua compreensão da química estrutural, conectando o que você já sabe sobre prótons com o universo dos carbonos e suas interações.

# O Desafio do Carbono: Por que $^{13}\text{C}$ é Diferente?

Você já se perguntou por que, apesar de o carbono ser o pilar da química orgânica, a RMN de  $^{13}\text{C}$  não é tão intuitiva ou sensível quanto a de  $^1\text{H}$ ? A resposta reside em uma característica fundamental do núcleo de carbono: sua abundância isotópica. Enquanto quase 100% dos átomos de hidrogênio são o isótopo  $^1\text{H}$  (com spin nuclear  $I=1/2$ , ativo em RMN), apenas cerca de 1,1% dos átomos de carbono são o isótopo  $^{13}\text{C}$  (também com  $I=1/2$ ). A vasta maioria, 98,9%, é  $^{12}\text{C}$ , que não possui spin nuclear e, portanto, é "invisível" para a RMN.

- ❏ **Fato Importante:** A baixa abundância do  $^{13}\text{C}$  (apenas 1,1%) cria um desafio significativo de sensibilidade, exigindo mais tempo de aquisição e técnicas especiais para obter sinais detectáveis.

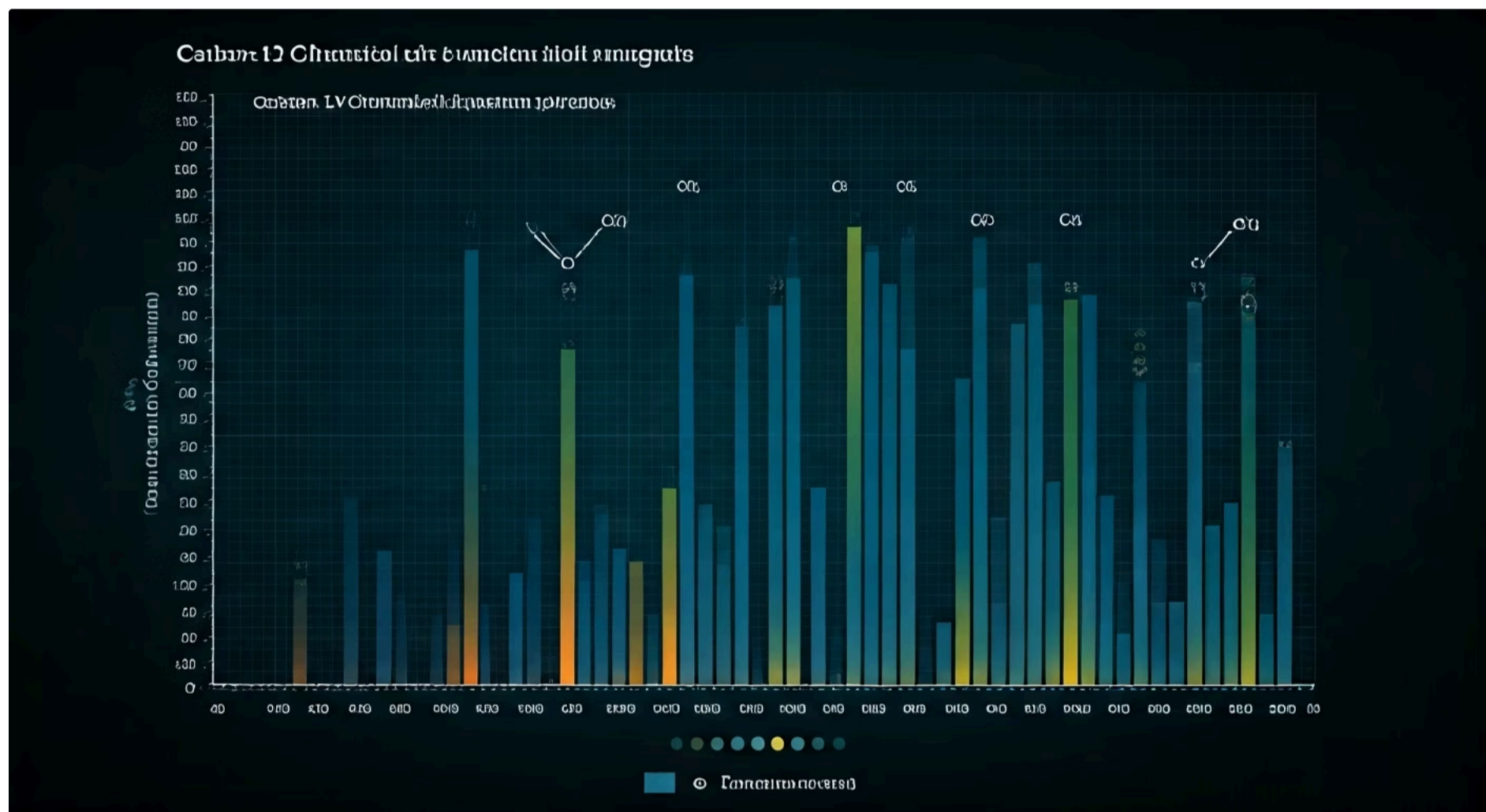
Essa baixa abundância do  $^{13}\text{C}$  cria um desafio significativo. É como tentar ouvir uma conversa em uma sala lotada onde apenas uma em cada cem pessoas está falando no volume normal, enquanto as outras estão sussurrando ou em silêncio. A sensibilidade do experimento é drasticamente reduzida, exigindo mais tempo de aquisição e técnicas especiais para obter um sinal detectável. Além disso, a probabilidade de encontrar dois núcleos de  $^{13}\text{C}$  adjacentes em uma mesma molécula é extremamente baixa, o que simplifica o espectro ao eliminar o acoplamento  $^{13}\text{C}$ - $^{13}\text{C}$ , mas também nos priva de algumas informações de conectividade direta.

Essa diferença fundamental nos força a abordar a RMN de  $^{13}\text{C}$  com estratégias distintas. Precisamos de métodos que compensem a baixa sensibilidade e que nos ajudem a extrair o máximo de informação possível, mesmo com a ausência de acoplamentos diretos entre carbonos. É aqui que as técnicas de desacoplamento e as RMN 2D entram em cena, transformando um desafio em uma oportunidade para uma análise estrutural mais profunda.



# Características dos Espectros de $^{13}\text{C}$ : Desvendando o Carbono

Ao olhar para um espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  pela primeira vez, você notará algumas diferenças marcantes em comparação com o de  $^1\text{H}$ . A escala de deslocamento químico ( $\delta$ ) é muito mais ampla, estendendo-se tipicamente de 0 a 220 ppm, em contraste com a faixa de 0 a 12 ppm para prótons. Essa amplitude maior é uma vantagem, pois reduz a probabilidade de sobreposição de sinais, tornando cada pico mais distintivo e fácil de atribuir a um tipo específico de carbono.



## Escala Ampla

0-220 ppm de deslocamento químico

Reduz sobreposição de sinais

## Picos Distintos

Cada carbono quimicamente distinto = 1 pico

Facilita a identificação

## Ambiente Eletrônico

Posição do pico indica grupos funcionais

Alifáticos: 0-60 ppm

Aromáticos/Carbonílicos:  $\delta$  elevados

Cada pico no espectro de  $^{13}\text{C}$  geralmente representa um carbono quimicamente distinto na molécula. A posição desse pico na escala de  $\delta$  é altamente influenciada pelo ambiente eletrônico do carbono, ou seja, pelos grupos funcionais e átomos eletronegativos próximos. Carbonos em ambientes alifáticos (cadeias de carbono simples) tendem a aparecer em  $\delta$  mais baixos (0-60 ppm), enquanto carbonos ligados a oxigênio, nitrogênio ou halogênios, ou aqueles em sistemas aromáticos e carbonílicos ( $\text{C}=\text{O}$ ), aparecem em  $\delta$  mais elevados, devido ao seu maior desblindagem eletrônica.

Uma característica crucial, e que simplifica muito a interpretação inicial, é a ausência de acoplamento  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  direto na maioria dos espectros de  $^{13}\text{C}$  que você encontrará. Isso ocorre porque, para simplificar o espectro e aumentar a sensibilidade, uma técnica chamada desacoplamento de prótons é quase sempre utilizada. Sem essa técnica, cada carbono acoplaria com os prótons a ele ligados, resultando em multipletos complexos e de baixa intensidade. Com o desacoplamento, cada carbono quimicamente distinto aparece como um singlete nítido, facilitando a contagem do número de carbonos diferentes na molécula.

# A Importância do Desacoplamento de Prótons em $^{13}\text{C}$

## Sem Desacoplamento


- Multipletos complexos (duplete, tripleto, quarteto)
- Sinais fracos e difíceis de detectar
- Intensidade dividida entre componentes
- Espectro extremamente complicado

## Com Desacoplamento

- Singletos nítidos para cada carbono
- Sinais intensos e fáceis de detectar
- Espectro simplificado
- Benefício do Efeito NOE

Imagine que você está em um concerto de rock, e o vocalista está tentando cantar uma melodia complexa, mas todos os outros instrumentos estão tocando notas aleatórias e muito alto. Seria quase impossível ouvir a melodia principal, certo? Essa é uma analogia para o que aconteceria se não usássemos o desacoplamento de prótons em RMN de  $^{13}\text{C}$ . Os prótons (os outros instrumentos) acoplariam com os carbonos (o vocalista), transformando cada sinal de carbono em um multiplet complexo e de baixa intensidade.

O acoplamento  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  é forte e, se não fosse suprimido, resultaria em espectros de  $^{13}\text{C}$  extremamente complicados, com cada carbono exibindo um multiplet (duplete para  $\text{CH}$ , tripleto para  $\text{CH}_2$ , quarteto para  $\text{CH}_3$ ). Além da complexidade, a intensidade de cada pico seria dividida entre os componentes do multiplet, tornando os sinais muito fracos e difíceis de detectar, especialmente dada a baixa abundância natural do  $^{13}\text{C}$ .

 **Efeito Nuclear Overhauser (NOE):** O desacoplamento de prótons não apenas simplifica o espectro, mas também transfere polarização dos prótons para os carbonos, aumentando significativamente a intensidade dos sinais de  $^{13}\text{C}$ .

Para resolver esse problema, os químicos desenvolveram técnicas de desacoplamento de prótons. O objetivo é "silenciar" os prótons, fazendo com que eles não interajam com os núcleos de  $^{13}\text{C}$  durante a aquisição do espectro. Isso tem dois benefícios principais: primeiro, simplifica o espectro, transformando todos os multipletos em singletos nítidos, um para cada carbono quimicamente distinto. Segundo, e igualmente importante, o desacoplamento de prótons aproveita um fenômeno chamado Efeito Nuclear Overhauser (NOE), que transfere polarização dos prótons para os carbonos, aumentando significativamente a intensidade dos sinais de  $^{13}\text{C}$  e melhorando a sensibilidade do experimento.

# Desacoplamento de Banda Larga (BB - BroadBand Decoupling)

A técnica mais fundamental e amplamente utilizada para simplificar os espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  é o Desacoplamento de Banda Larga de Prótons, ou BB (BroadBand Decoupling). Pense nisso como um "botão de silêncio universal" para todos os prótons na molécula. Durante a aquisição do espectro de  $^{13}\text{C}$ , uma irradiação contínua de radiofrequência é aplicada em todas as frequências de ressonância dos prótons. Essa irradiação faz com que os spins dos prótons mudem rapidamente entre seus estados, de modo que o núcleo de  $^{13}\text{C}$  "percebe" o próton como se ele não tivesse um spin definido.

## Simplificação Total

Todos os acoplamentos  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  são eliminados. Cada carbono quimicamente distinto aparece como um único pico (singleto), independentemente do número de hidrogênios ligados.

## Aumento de Intensidade

O Efeito Nuclear Overhauser (NOE) transfere polarização dos prótons para os carbonos, tornando os picos de  $^{13}\text{C}$  mais intensos e fáceis de detectar.

## Limitação

Perda de informação sobre o número de hidrogênios ligados a cada carbono. Não é possível distinguir CH, CH<sub>2</sub>, CH<sub>3</sub> ou Cquaternário apenas com BB.

O resultado é que todos os acoplamentos  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  são eliminados. Cada carbono quimicamente distinto, independentemente de quantos hidrogênios estejam ligados a ele (CH, CH<sub>2</sub>, CH<sub>3</sub>, ou Cquaternário), aparece como um único pico (singleto) no espectro de  $^{13}\text{C}$ . Isso simplifica drasticamente a interpretação, pois o número de picos no espectro corresponde diretamente ao número de carbonos quimicamente não equivalentes na molécula.

Além da simplificação, o desacoplamento BB também proporciona um aumento significativo na intensidade dos sinais de  $^{13}\text{C}$  devido ao Efeito Nuclear Overhauser (NOE). Esse efeito transfere a polarização dos prótons para os carbonos, tornando os picos de  $^{13}\text{C}$  mais intensos e, portanto, mais fáceis de detectar. A principal desvantagem, no entanto, é a perda de informação sobre o número de hidrogênios ligados a cada carbono. Não conseguimos distinguir um CH de um CH<sub>2</sub> ou um CH<sub>3</sub> apenas olhando para um espectro BB. Para isso, precisamos de técnicas mais avançadas, como o DEPT.

# DEPT (Distortionless Enhancement by Polarization Transfer): Contando Hidrogênios

Após obter um espectro de  $^{13}\text{C}$  com desacoplamento de banda larga, temos a localização de cada carbono quimicamente distinto, mas perdemos a informação vital sobre quantos hidrogênios estão ligados a cada um deles. É como ter um mapa que mostra todas as casas de uma cidade, mas sem indicar quantas pessoas moram em cada uma. Essa informação é crucial para a elucidação estrutural, pois nos ajuda a diferenciar grupos como metila ( $\text{CH}_3$ ), metileno ( $\text{CH}_2$ ) e metino ( $\text{CH}$ ).

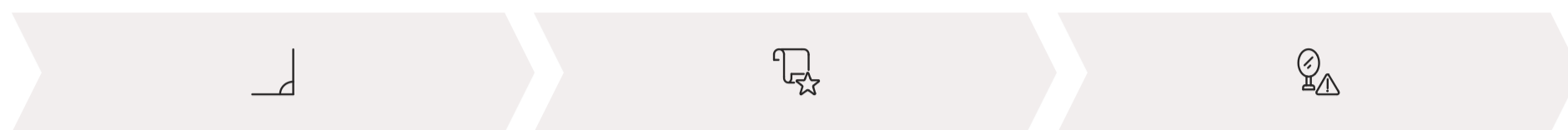
## O que é DEPT?

É aqui que entra a técnica DEPT (Distortionless Enhancement by Polarization Transfer). O DEPT é uma sequência de pulsos inteligente que, ao invés de simplesmente desacoplar os prótons, transfere a polarização dos prótons para os carbonos. O mais engenhoso é que, ao variar o ângulo do último pulso de  $90^\circ$  para  $45^\circ$ ,  $90^\circ$  ou  $135^\circ$ , podemos diferenciar os tipos de carbono com base no número de hidrogênios a eles ligados.

Pense no DEPT como um "filtro seletivo" que revela diferentes tipos de carbono. Ele nos permite "contar" os hidrogênios de forma indireta. Ao combinar os resultados de diferentes experimentos DEPT com o espectro de  $^{13}\text{C}$  de banda larga, podemos reconstruir a conectividade carbono-hidrogênio e, assim, ter uma imagem muito mais clara da estrutura molecular. Essa técnica é um pilar na análise de RMN de  $^{13}\text{C}$ , transformando a ausência de informação em uma fonte rica de dados estruturais.

# DEPT: Os Diferentes Ângulos e Suas Revelações

A beleza da técnica DEPT reside na sua capacidade de discriminar entre carbonos metílicos ( $\text{CH}_3$ ), metilênicos ( $\text{CH}_2$ ) e metínicos ( $\text{CH}$ ), além de identificar carbonos quaternários (Cquaternário). Isso é feito através da aquisição de três espectros DEPT diferentes, cada um com um ângulo de pulso final específico, que afeta a fase dos sinais dos carbonos de maneira distinta.



## DEPT-90

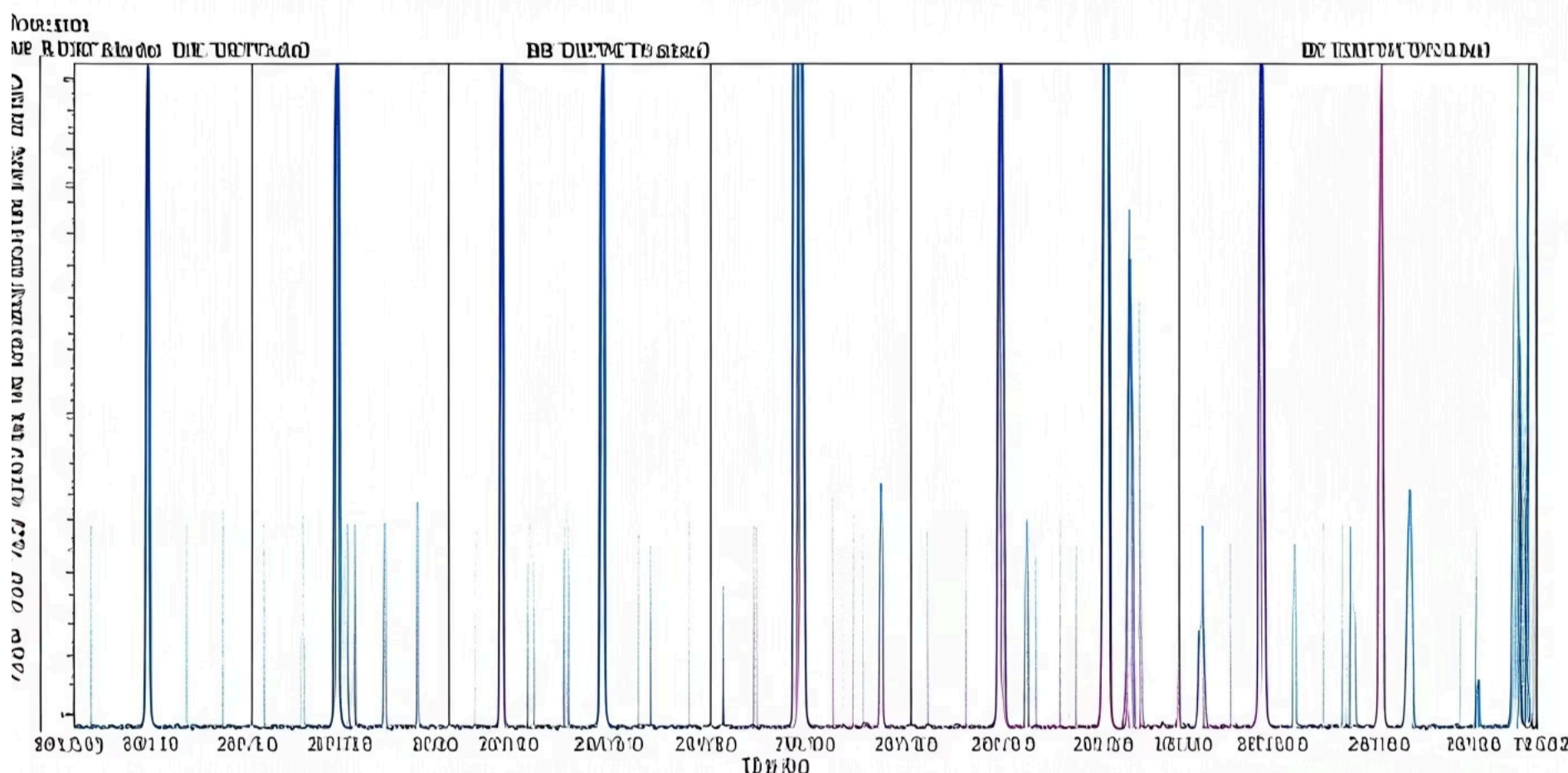
Apenas carbonos metínicos ( $\text{CH}$ ) aparecem como picos positivos. Filtro altamente seletivo para carbonos com um único hidrogênio.

## DEPT-135

$\text{CH}$  e  $\text{CH}_3$  aparecem positivos,  $\text{CH}_2$  aparecem negativos (invertidos). Cquaternário ausentes. O mais informativo dos espectros DEPT.

## DEPT-45

Todos os carbonos com hidrogênios ( $\text{CH}$ ,  $\text{CH}_2$ ,  $\text{CH}_3$ ) aparecem positivos. Cquaternário ausentes. Útil para confirmação.



## Tabela de Identificação

Tipo de Carbono	$^{13}\text{C}$ BB	DEPT-45	DEPT-90	DEPT-135	Identificação
Cquaternário	Presente (+)	Ausente	Ausente	Ausente	Apenas no BB
$\text{CH}$	Presente (+)	Presente (+)	Presente (+)	Presente (+)	Em todos
$\text{CH}_2$	Presente (+)	Presente (+)	Ausente	Invertido (-)	Negativo no 135
$\text{CH}_3$	Presente (+)	Presente (+)	Ausente	Presente (+)	Positivo no 135, ausente no 90

Ao comparar esses três espectros com o espectro de  $^{13}\text{C}$  de banda larga (onde todos os carbonos aparecem como picos positivos), podemos atribuir cada sinal de carbono ao seu tipo específico. Por exemplo, um pico que aparece no BB, no DEPT-45 e no DEPT-135 (positivo), mas não no DEPT-90, é um  $\text{CH}_3$ . Se aparece no BB, no DEPT-45, mas no DEPT-135 (negativo), é um  $\text{CH}_2$ . Se aparece em todos (BB, DEPT-45, DEPT-90, DEPT-135 positivo), é um  $\text{CH}$ . E se aparece apenas no BB, é um Cquaternário.

# Introdução à RMN 2D: Uma Nova Dimensão de Informação

## De 1D para 2D

Até agora, exploramos as técnicas de RMN unidimensionais (1D), como  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ , que nos fornecem informações valiosas sobre os ambientes químicos dos núcleos e, com o DEPT, sobre a conectividade carbono-hidrogênio.

Para moléculas mais complexas, com muitos prótons e carbonos, os espectros 1D podem se tornar densos e ambíguos, com muitos sinais se sobrepondo. É como tentar entender a planta de um arranha-céu olhando apenas para uma única parede.

É nesse ponto que a Ressonância Magnética Nuclear Bidimensional (RMN 2D) entra em cena, revolucionando a elucidação estrutural. As técnicas 2D não apenas mostram os deslocamentos químicos dos núcleos, mas também revelam as **correlações** entre eles. Em vez de um único eixo de frequência, temos dois eixos, e os sinais de correlação (chamados de "cross-peaks") aparecem onde os núcleos estão conectados ou próximos no espaço.



### Mapa de Conexões

A RMN 2D é como um mapa detalhado de uma cidade, mostrando não apenas as ruas (espectros 1D), mas também as pontes, túneis e rotas que conectam diferentes bairros.



### Construção Molecular

Permite construir a estrutura molecular "peça por peça", eliminando ambiguidades e confirmando atribuições com precisão.



### Ferramenta Indispensável

Essencial para desvendar a arquitetura molecular de compostos complexos, desde produtos naturais até novos fármacos e polímeros.

Essa capacidade de visualizar as conexões diretas e indiretas entre os átomos é o que torna a RMN 2D uma ferramenta indispensável para desvendar a arquitetura molecular de compostos complexos, desde produtos naturais até novos fármacos e polímeros. Ela nos permite construir a estrutura molecular "peça por peça", eliminando ambiguidades e confirmando atribuições.

# Fundamentos da RMN 2D: Como Funciona?

A ideia por trás da RMN 2D pode parecer complexa à primeira vista, mas o conceito central é bastante intuitivo: correlacionar as frequências de ressonância de dois núcleos (ou do mesmo núcleo) que estão de alguma forma conectados. Para fazer isso, o experimento de RMN 2D envolve uma sequência de pulsos de radiofrequência que manipula os spins nucleares em duas etapas principais, separadas por um período de tempo.

01

## Tempo de Evolução (t1)

Os spins são deixados para evoluir sob a influência de seus ambientes químicos. Durante esse tempo, os spins adquirem diferentes fases, dependendo de suas frequências de ressonância. Esse tempo t1 é sistematicamente variado em uma série de experimentos.

03

## Tempo de Detecção (t2)

Os sinais são detectados durante um tempo de detecção (t2), como em um experimento 1D convencional.

02

## Pulso de Mistura

Após o período de evolução, um pulso de mistura é aplicado para transferir a informação de magnetização entre os núcleos acoplados ou próximos.

04

## Transformada de Fourier 2D

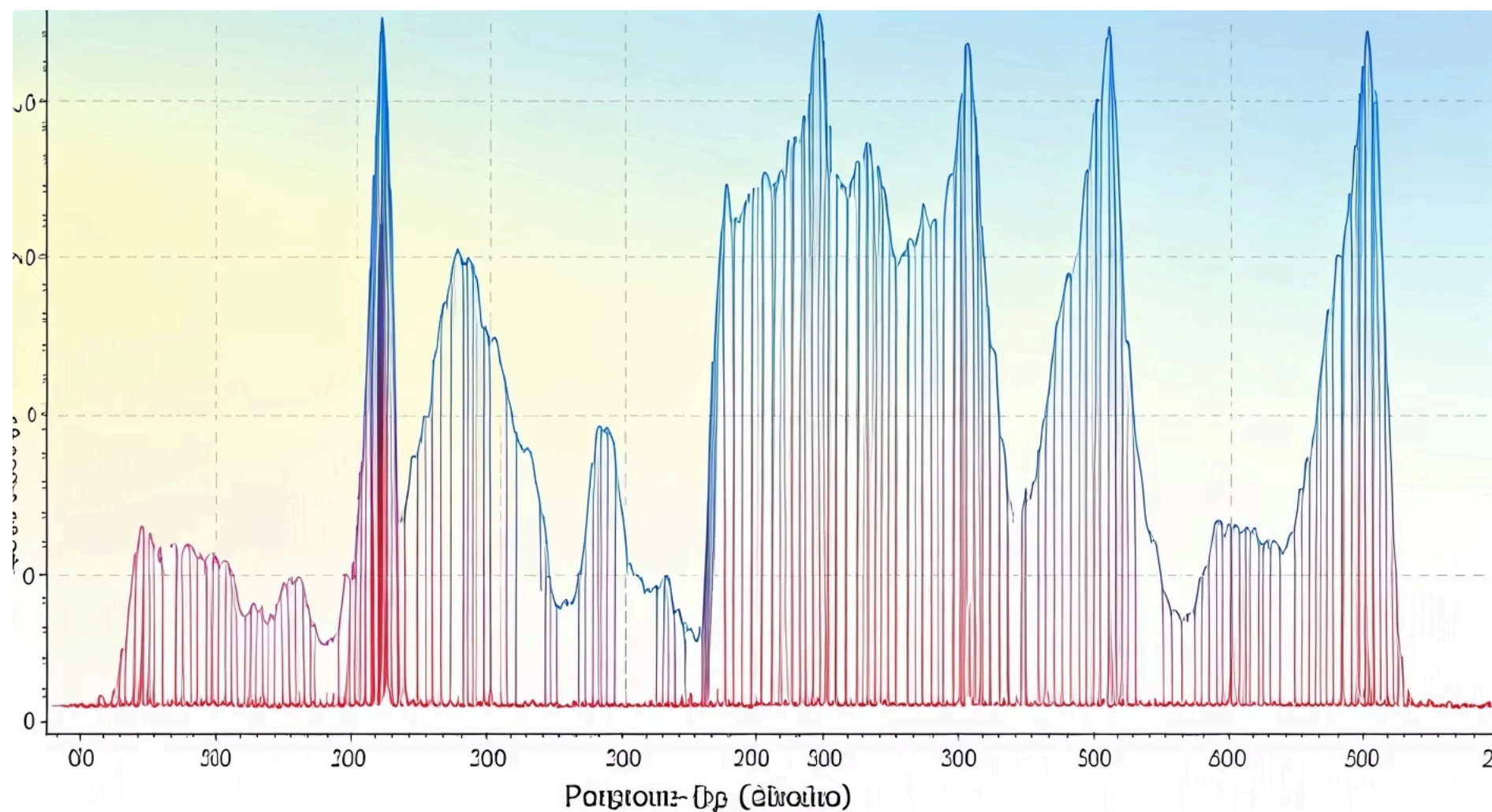
Aplicamos uma Transformada de Fourier em duas dimensões: uma para t2 (eixo F2) e outra para t1 (eixo F1), gerando uma matriz de dados bidimensional.

**Analogia Musical:** Imagine que você está gravando o som de uma orquestra. Em vez de gravar tudo de uma vez (1D), você grava cada instrumento separadamente por um tempo, depois os mistura e grava o resultado. Ao analisar como cada instrumento individual (t1) afeta o som final (t2), você pode identificar quais instrumentos estão tocando juntos e como eles se correlacionam.

O resultado não é um único espectro, mas uma série de espectros 1D, cada um correspondendo a um valor diferente de t1. Para transformar esses dados em um espectro 2D, aplicamos uma Transformada de Fourier em duas dimensões: uma para o tempo de detecção (t2), que nos dá o eixo de frequência F2, e outra para o tempo de evolução (t1), que nos dá o eixo de frequência F1. O resultado é uma matriz de dados bidimensional, onde os picos aparecem não apenas ao longo dos eixos, mas também como "cross-peaks" (picos cruzados) que indicam as correlações. Esses cross-peaks são a chave para desvendar as conectividades.

# COSY (Correlation Spectroscopy): Conectando Prótons a Prótons

A técnica COSY (Correlation Spectroscopy) é, sem dúvida, uma das mais fundamentais e amplamente utilizadas em RMN 2D. Seu propósito é simples, mas poderoso: revelar quais prótons estão acoplados uns aos outros, geralmente através de duas ou três ligações químicas (acoplamento J). É como ter um mapa que mostra não apenas onde cada pessoa mora, mas também quem é vizinho de quem.



## Picos Diagonais

Ao longo da diagonal principal (canto inferior esquerdo ao superior direito), encontramos os picos diagonais. Esses picos correspondem aos sinais do espectro  $^1\text{H}$  1D, ou seja, são auto-correlações de cada próton consigo mesmo.

## Picos Cruzados (Cross-Peaks)

A verdadeira informação reside nos picos cruzados, que aparecem fora da diagonal. Um pico cruzado em  $(\delta F1, \delta F2)$  indica que o próton com deslocamento químico  $\delta F1$  está acoplado ao próton com deslocamento químico  $\delta F2$ .

Em um espectro COSY, temos o espectro de RMN de  $^1\text{H}$  1D plotado tanto no eixo horizontal (F2) quanto no vertical (F1). Ao longo da diagonal principal, que vai do canto inferior esquerdo ao superior direito, encontramos os "picos diagonais". Esses picos correspondem aos sinais do espectro  $^1\text{H}$  1D, ou seja, são auto-correlações de cada próton consigo mesmo.

A verdadeira informação reside nos "picos cruzados" (cross-peaks), que aparecem fora da diagonal. Um pico cruzado em uma coordenada  $(\delta F1, \delta F2)$  indica que o próton com deslocamento químico  $\delta F1$  está acoplado ao próton com deslocamento químico  $\delta F2$ . Ao identificar esses cross-peaks, podemos construir cadeias de prótons acoplados, revelando fragmentos da estrutura molecular. Por exemplo, se um próton A está acoplado a um próton B, e B está acoplado a C, o COSY mostrará correlações A-B e B-C, permitindo-nos montar a sequência A-B-C. Essa capacidade de mapear a conectividade próton-próton é essencial para a elucidação de cadeias alifáticas, anéis e outros sistemas de spin.

# Decifrando um Espectro COSY

A interpretação de um espectro COSY é um processo sistemático que nos permite "montar" a conectividade próton-próton na molécula. Vamos imaginar um exemplo simples para ilustrar como isso funciona.

Considere uma molécula com três grupos de prótons: H<sub>a</sub>, H<sub>b</sub> e H<sub>c</sub>, com deslocamentos químicos distintos.



## Identifique os picos diagonais

Primeiro, localize os picos na diagonal. Eles correspondem aos deslocamentos químicos dos prótons no espectro 1D. Por exemplo, se H<sub>a</sub> ressoa a 1.0 ppm, H<sub>b</sub> a 2.5 ppm e H<sub>c</sub> a 4.0 ppm, você verá picos diagonais em (1.0, 1.0), (2.5, 2.5) e (4.0, 4.0).



## Procure os picos cruzados

Agora, o foco são os picos fora da diagonal. Se você encontrar um pico cruzado em (1.0, 2.5), isso significa que H<sub>a</sub> (1.0 ppm) está acoplado a H<sub>b</sub> (2.5 ppm). Da mesma forma, um pico em (2.5, 4.0) indicaria que H<sub>b</sub> (2.5 ppm) está acoplado a H<sub>c</sub> (4.0 ppm). Note que os picos cruzados são simétricos em relação à diagonal; se há um pico em (1.0, 2.5), haverá outro em (2.5, 1.0).



## Construa as cadeias

Com essas informações, você pode começar a montar os fragmentos. No nosso exemplo, H<sub>a</sub> está acoplado a H<sub>b</sub>, e H<sub>b</sub> está acoplado a H<sub>c</sub>. Isso sugere uma sequência de prótons H<sub>a</sub>-H<sub>b</sub>-H<sub>c</sub>. Se não houver um pico cruzado entre H<sub>a</sub> e H<sub>c</sub>, isso indica que eles não estão diretamente acoplados (ou seja, não estão em posições vicinais ou geminais).



**Dica Prática:** É como montar um quebra-cabeça onde cada peça (próton) tem encaixes que se conectam apenas com suas vizinhas diretas. O COSY é uma ferramenta poderosa para estabelecer a conectividade esquelética de hidrogênios, sendo um dos primeiros passos na elucidação de estruturas complexas.

Essa abordagem permite identificar sistemas de spin isolados e construir cadeias de prótons, fornecendo informações cruciais sobre a conectividade dentro da molécula. É como montar um quebra-cabeça onde cada peça (próton) tem encaixes que se conectam apenas com suas vizinhas diretas. O COSY é uma ferramenta poderosa para estabelecer a conectividade esquelética de hidrogênios, sendo um dos primeiros passos na elucidação de estruturas complexas.

# HSQC (Heteronuclear Single Quantum Coherence): Conectando Prótons a Carbonos

Se o COSY nos mostra quais prótons estão conectados entre si, o HSQC (Heteronuclear Single Quantum Coherence) nos oferece uma ponte ainda mais poderosa: ele correlaciona diretamente os prótons com os carbonos aos quais estão ligados. Em outras palavras, ele responde à pergunta crucial: "Qual próton está ligado a qual carbono?" Essa informação é fundamental para atribuir de forma inequívoca os sinais nos espectros de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ .

## Como Funciona o HSQC?

Em um espectro HSQC, o eixo horizontal (F2) corresponde aos deslocamentos químicos de  $^1\text{H}$ , e o eixo vertical (F1) corresponde aos deslocamentos químicos de  $^{13}\text{C}$ . Os picos cruzados (cross-peaks) aparecem nas coordenadas ( $\delta^1\text{H}$ ,  $\delta^{13}\text{C}$ ), indicando que o próton com deslocamento químico  $\delta^1\text{H}$  está diretamente ligado ao carbono com deslocamento químico  $\delta^{13}\text{C}$  (acoplamento de uma ligação,  $^1\text{JCH}$ ).



### Alta Sensibilidade

Oferece alta sensibilidade e clareza dos picos, sendo particularmente útil em moléculas grandes.



### Atribuição Direta

Permite associar cada próton ao seu carbono correspondente de forma inequívoca.



### Identificação de Grupos

Facilita a identificação de grupos CH, CH<sub>2</sub> e CH<sub>3</sub> com base em suas correlações diretas.

A grande vantagem do HSQC é sua alta sensibilidade e a clareza dos picos. Ele é particularmente útil em moléculas grandes, onde os espectros 1D de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  podem ser muito complexos e sobrepostos. Ao usar o HSQC, podemos "desdobrar" essa complexidade, associando cada próton ao seu carbono correspondente. Por exemplo, se temos um pico de  $^1\text{H}$  a 2.0 ppm e um pico de  $^{13}\text{C}$  a 30 ppm, um cross-peak no HSQC em (2.0, 30) confirma que esse próton está ligado a esse carbono. Essa atribuição direta é um passo gigantesco na construção da estrutura molecular, permitindo-nos identificar grupos CH, CH<sub>2</sub> e CH<sub>3</sub> com base em suas correlações.

# Interpretando um Espectro HSQC

A interpretação de um espectro HSQC é um processo direto e extremamente gratificante, pois ele nos permite conectar os "blocos de construção" de hidrogênios e carbonos. Vamos usar um exemplo prático para entender como extrair informações valiosas.

Imagine que você tem um espectro de  $^1\text{H}$  com um sinal em 1.2 ppm e outro em 2.5 ppm. No espectro de  $^{13}\text{C}$ , você tem um sinal em 15 ppm e outro em 40 ppm. Sem o HSQC, seria difícil saber qual próton está ligado a qual carbono.

1

## Localize os picos de $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$

Primeiro, identifique os deslocamentos químicos dos prótons (eixo F2) e dos carbonos (eixo F1) a partir dos seus respectivos espectros 1D.

2


## Encontre os cross-peaks

Agora, procure os picos cruzados no espectro HSQC. Se você encontrar um cross-peak nas coordenadas (1.2 ppm de  $^1\text{H}$ , 15 ppm de  $^{13}\text{C}$ ), isso significa que o próton que ressoa a 1.2 ppm está diretamente ligado ao carbono que ressoa a 15 ppm. Similarmente, se houver um cross-peak em (2.5 ppm de  $^1\text{H}$ , 40 ppm de  $^{13}\text{C}$ ), isso indica que o próton a 2.5 ppm está ligado ao carbono a 40 ppm.

3

## Atribua os sinais

Com essas correlações, você pode atribuir os sinais de forma inequívoca. Por exemplo, se o carbono a 15 ppm é um  $\text{CH}_3$  (confirmado pelo DEPT), então o próton a 1.2 ppm é um próton metílico.

 **Identificação de Carbonos Quaternários:** O HSQC é particularmente útil para identificar carbonos quaternários. Como eles não possuem hidrogênios diretamente ligados, eles não aparecerão no espectro HSQC, mesmo que estejam presentes no espectro  $^{13}\text{C}$  de banda larga. Isso serve como uma confirmação adicional para a presença de carbonos sem hidrogênios.

O HSQC é particularmente útil para identificar carbonos quaternários. Como eles não possuem hidrogênios diretamente ligados, eles não aparecerão no espectro HSQC, mesmo que estejam presentes no espectro  $^{13}\text{C}$  de banda larga. Isso serve como uma confirmação adicional para a presença de carbonos sem hidrogênios. A capacidade de correlacionar diretamente  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  é uma ferramenta indispensável para a elucidação de estruturas complexas, permitindo a construção de fragmentos moleculares com alta confiança.

# Outras Técnicas 2D e 3D (Breve Visão Geral)

O universo da RMN 2D e até 3D é vasto e oferece uma gama de ferramentas para desvendar as mais intrincadas estruturas moleculares. Embora COSY e HSQC sejam as mais fundamentais, existem outras técnicas que fornecem informações complementares e, muitas vezes, cruciais. A escolha da técnica depende da informação estrutural específica que se busca.



## HMBC (Heteronuclear Multiple Bond Correlation)

Diferente do HSQC, que mostra correlações de uma ligação ( $^1J_{CH}$ ), o HMBC revela acoplamentos de duas ou três ligações ( $^2J_{CH}$  e  $^3J_{CH}$ ). Isso significa que ele correlaciona um próton com carbonos que não estão diretamente ligados a ele, mas que são seus vizinhos próximos. O HMBC é inestimável para conectar fragmentos moleculares que foram identificados pelo COSY e HSQC, e para identificar carbonos quaternários, pois eles podem acoplar com prótons vizinhos.



## NOESY e ROESY (Nuclear/Rotating-frame Overhauser Effect Spectroscopy)

Estas técnicas não dependem de acoplamentos J, mas sim da proximidade espacial entre os núcleos. Um cross-peak em um espectro NOESY ou ROESY indica que dois núcleos (geralmente prótons) estão próximos no espaço, mesmo que não estejam diretamente conectados por ligações químicas. Isso é crucial para determinar a estereoquímica e a conformação de moléculas.



## TOCSY (Total Correlation Spectroscopy)

O TOCSY revela todos os prótons que pertencem ao mesmo sistema de spin acoplado. Em vez de mostrar apenas acoplamentos diretos (como COSY), ele mostra correlações entre todos os prótons dentro de uma cadeia, mesmo que estejam a várias ligações de distância.

Para moléculas extremamente complexas, como proteínas, as técnicas 3D (e até 4D) são empregadas. Elas adicionam uma terceira (ou quarta) dimensão de frequência, permitindo resolver a sobreposição de sinais e obter informações ainda mais detalhadas sobre a estrutura e dinâmica molecular. Cada uma dessas técnicas é uma "lente" diferente, e a combinação delas nos permite ter uma visão completa da molécula.

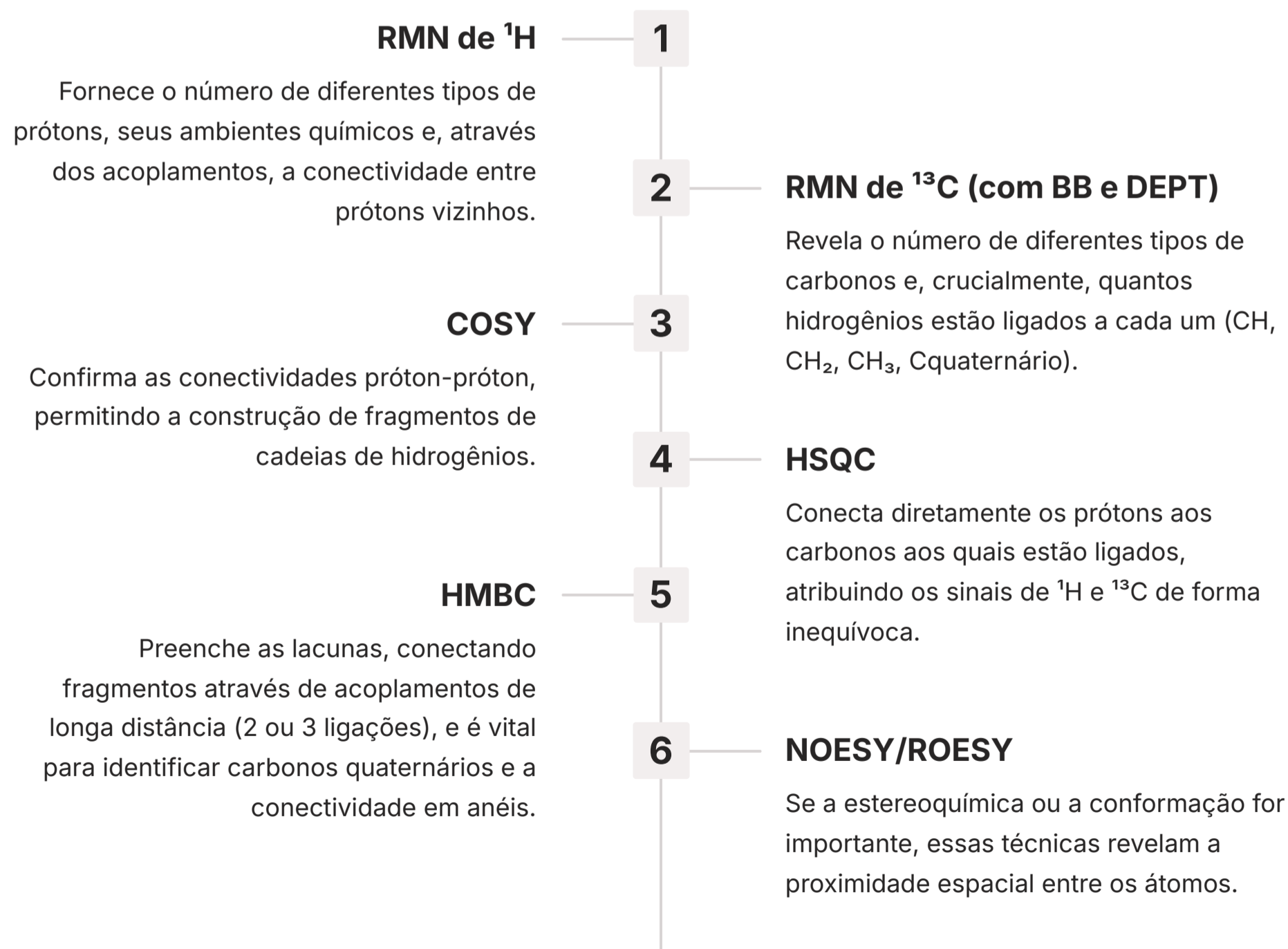
# Aplicações na Elucidação de Estruturas Moleculares Complexas

A verdadeira magia da RMN, especialmente com a integração das técnicas 1D e 2D, reside na sua capacidade de desvendar a estrutura de moléculas complexas. Em um laboratório de pesquisa ou na indústria farmacêutica, a determinação da estrutura exata de um novo composto é o primeiro e mais crítico passo. Sem essa informação, é impossível entender suas propriedades, sua reatividade ou seu potencial como medicamento.



Imagine que você isolou uma nova substância de uma planta ou sintetizou um novo composto no laboratório. Você tem uma fórmula molecular (obtida por espectrometria de massas), mas não sabe como os átomos estão arranjados. É como ter todas as peças de um Lego, mas sem o manual de instruções. **A RMN se torna o seu "manual de instruções" molecular.**

## Abordagem Sistemática



A combinação dessas informações permite aos químicos montar a estrutura molecular, como um detetive que reúne todas as evidências para resolver um mistério. Essa capacidade é indispensável no desenvolvimento de novos fármacos, na caracterização de produtos naturais, na análise de polímeros e em muitas outras áreas da química e bioquímica.

# Estudo de Caso: Elucidação de um Produto Natural

Para ilustrar o poder combinado das técnicas de RMN, vamos considerar um cenário comum na pesquisa de produtos naturais. Imagine que um pesquisador isolou um novo composto de uma espécie vegetal amazônica, e a espectrometria de massas indicou uma fórmula molecular de  $C_{10}H_{14}O_2$ . A estrutura é completamente desconhecida.



## RMN de $^1H$

O espectro mostra 5 sinais distintos, com integrações que somam 14 prótons. Os multipletos sugerem a presença de um anel aromático e algumas cadeias alifáticas.

## COSY

Um cross-peak entre um próton aromático (7.0 ppm) e outro (6.8 ppm) indica que são vizinhos no anel. Outros cross-peaks conectam um  $CH_2$  (2.5 ppm) a um CH (1.8 ppm), e este CH a um  $CH_3$  (0.9 ppm), formando uma cadeia alifática.

## HMBC

Agora, a peça-chave para conectar os fragmentos. Um cross-peak do  $CH_3$  (0.9 ppm) com um Cquaternário aromático (130 ppm) e com o  $CH_2$  (28 ppm) sugere que o grupo metila está próximo tanto do anel quanto da cadeia. Outro cross-peak do  $CH_2$  (2.5 ppm) com um carbono carbonílico (170 ppm) e com um Cquaternário aromático (130 ppm) revela a presença de um grupo éster ou ácido carboxílico ligado ao anel e à cadeia.

## RMN de $^{13}C$ (BB e DEPT)

O espectro BB mostra 10 picos de carbono, confirmando a fórmula. O DEPT-135 revela 2  $CH_3$ , 2  $CH_2$ , 3 CH e 3 Cquaternários. Isso já nos dá uma ideia da "contagem" de cada tipo de carbono.

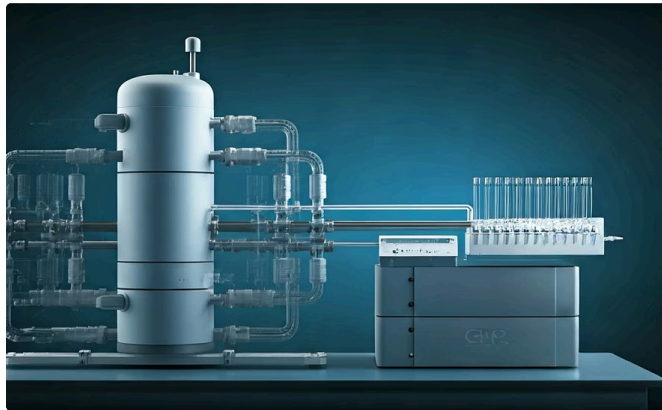
## HSQC

Este é um passo crucial. Ele correlaciona o  $CH_3$  (0.9 ppm) com o carbono a 18 ppm, o CH (1.8 ppm) com o carbono a 35 ppm, e o  $CH_2$  (2.5 ppm) com o carbono a 28 ppm. Os prótons aromáticos são correlacionados com seus respectivos carbonos aromáticos. Os 3 Cquaternários não aparecem no HSQC, como esperado.

**Conclusão do Estudo de Caso:** Ao combinar todas essas informações, o pesquisador pode propor uma estrutura para o novo produto natural, como um éster aromático com uma cadeia lateral alifática. Essa abordagem sistemática, utilizando a complementaridade das diferentes técnicas de RMN, é a espinha dorsal da elucidação estrutural moderna.

# Tendências e Inovações em RMN: O Futuro da Caracterização

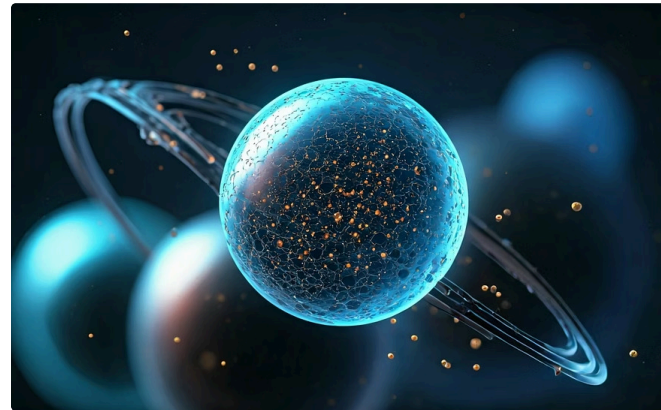
A RMN, longe de ser uma técnica estática, continua a evoluir, adaptando-se às novas demandas da pesquisa e da indústria. As tendências atuais focam em aumentar a sensibilidade, a resolução e a capacidade de analisar amostras cada vez mais complexas e em condições mais desafiadoras.



## Técnicas Hifenadas: LC-NMR

Uma das inovações mais impactantes são as Técnicas Hifenadas, onde a RMN é combinada com outras técnicas analíticas. Um exemplo proeminente é a LC-NMR (Cromatografia Líquida acoplada à RMN). Imagine poder separar uma mistura complexa de compostos por cromatografia líquida e, em tempo real, analisar a estrutura de cada componente à medida que ele elui, sem a necessidade de isolamento prévio. Isso é o que a LC-NMR oferece, sendo inestimável na análise de produtos naturais, metabólitos e impurezas farmacêuticas.

Essas tendências refletem a busca por uma abordagem mais multidisciplinar e integrada na pesquisa moderna, onde a combinação de diferentes ferramentas analíticas permite uma compreensão mais completa e robusta dos sistemas em estudo.



## Análise de Nanomateriais

Outra área em franca expansão é a Análise de Nanomateriais. A RMN está sendo adaptada para caracterizar a estrutura, a composição e as interações de nanopartículas, polímeros em nanoescala e outros materiais avançados. Isso inclui o estudo de revestimentos de superfície, a dinâmica de moléculas adsorvidas e a estrutura interna de materiais porosos. Os desafios são grandes devido à baixa concentração de material e à complexidade das interfaces, mas a RMN oferece insights únicos que outras técnicas não conseguem.

# Quimiometria e Análise de Dados em RMN

Na era do "Big Data", a quantidade de informações geradas por experimentos de RMN, especialmente os 2D e 3D, pode ser avassaladora. É como ter uma biblioteca gigantesca cheia de livros, mas sem um sistema de catalogação. A **quimiometria** surge como a solução, oferecendo um conjunto de ferramentas estatísticas e computacionais para extrair o máximo de informação de conjuntos de dados espectrais complexos.

## Capacidades da Quimiometria

### Identificação de Padrões

Em estudos de metabolômica, por exemplo, a RMN gera espectros de centenas de metabólitos. A quimiometria pode identificar padrões nos espectros que diferenciam amostras de indivíduos saudáveis de doentes, ou plantas tratadas de não tratadas.

### Classificação

Usar modelos estatísticos para classificar amostras com base em seus perfis espectrais, por exemplo, para autenticar a origem de um alimento ou identificar a presença de adulterantes.

### Quantificação

Determinar a concentração de múltiplos componentes em uma mistura complexa sem a necessidade de separação prévia, utilizando a intensidade dos sinais de RMN.

### Redução de Dimensionalidade

Simplificar a visualização de dados complexos, transformando um espectro com milhares de pontos em um gráfico 2D ou 3D que revela as principais variações.

A aplicação da quimiometria na RMN é essencial para a interpretação robusta de resultados, especialmente em áreas como a descoberta de biomarcadores, controle de qualidade, análise ambiental e caracterização de materiais. Ela transforma montanhas de dados brutos em insights significativos, permitindo que os cientistas tomem decisões informadas e descubram novas correlações que seriam invisíveis a olho nu. É o "tradutor" que nos ajuda a entender a linguagem complexa dos dados espectrais.

# RMN na Pesquisa e Indústria: Impacto Real

A Ressonância Magnética Nuclear, com suas capacidades 1D e 2D, transcende o ambiente acadêmico e tem um impacto profundo e tangível em diversas indústrias e campos de pesquisa. A habilidade de determinar a estrutura molecular com precisão é uma pedra angular para a inovação e o controle de qualidade em muitos setores.



## Desenvolvimento de Fármacos

No desenvolvimento de fármacos, a RMN é indispensável. Desde a identificação de novos compostos ativos em produtos naturais até a confirmação da estrutura de moléculas sintetizadas e a análise de impurezas, a RMN garante que os medicamentos sejam seguros e eficazes. Ela também é usada para estudar a interação de fármacos com proteínas, fornecendo insights sobre seus mecanismos de ação.



## Ciências dos Materiais

Em ciências dos materiais, ela ajuda a caracterizar polímeros, catalisadores e nanomateriais, entendendo sua estrutura em nível atômico para otimizar suas propriedades.



## Pesquisa Ambiental

A pesquisa ambiental emprega a RMN para caracterizar poluentes e entender ciclos biogeoquímicos, contribuindo para a sustentabilidade e proteção do meio ambiente.



## Indústria de Alimentos e Bebidas

Na indústria de alimentos e bebidas, a RMN é empregada para controle de qualidade, autenticação de produtos (por exemplo, verificar a origem de um azeite ou vinho), detecção de adulterantes e análise da composição nutricional.



## Análise Forense

A análise forense utiliza a RMN para identificar substâncias desconhecidas em cenas de crime, enquanto a pesquisa ambiental a emprega para caracterizar poluentes e entender ciclos biogeoquímicos.



## Oportunidades Profissionais

Em suma, o domínio das técnicas de RMN abre portas para uma vasta gama de oportunidades profissionais e contribuições científicas. É uma ferramenta que não apenas revela a estrutura, mas também impulsiona a inovação e a segurança em nosso mundo.

# Consolidação e Próximos Passos

Chegamos ao fim da nossa exploração da RMN de  $^{13}\text{C}$  e das técnicas 2D. Vimos como a baixa abundância do  $^{13}\text{C}$  exige abordagens especiais, como o desacoplamento de banda larga para simplificar os espectros e o DEPT para contar os hidrogênios ligados a cada carbono. Em seguida, mergulhamos no mundo bidimensional, onde o COSY nos permitiu mapear as conectividades próton-próton, e o HSQC nos deu a ponte crucial entre prótons e carbonos. Essas ferramentas, combinadas com outras técnicas 2D e 3D, são essenciais para desvendar a arquitetura de moléculas complexas, uma habilidade vital na pesquisa e na indústria.

## Em Prática: Pontos-Chave

**Sempre comece a análise de RMN de  $^{13}\text{C}$  com o espectro de banda larga para contar os carbonos.**

**Utilize o DEPT para classificar os carbonos em CH, CH<sub>2</sub>, CH<sub>3</sub> e Cquaternário.**

**Use o COSY para identificar sistemas de prótons acoplados.**

**Empregue o HSQC para correlacionar diretamente prótons e carbonos, atribuindo os sinais.**

**Considere o HMBC para conectar fragmentos e identificar carbonos quaternários.**

## Autoavaliação

- Qual das seguintes técnicas de RMN de  $^{13}\text{C}$  é utilizada para determinar o número de hidrogênios ligados a cada carbono (CH, CH<sub>2</sub>, CH<sub>3</sub>, Cquaternário)?
  - Desacoplamento de Banda Larga (BB)
  - COSY
  - DEPT
  - HSQC
- Em um espectro DEPT-135, qual tipo de carbono aparece como um pico invertido (negativo)?
  - CH
  - CH<sub>2</sub>
  - CH<sub>3</sub>
  - Cquaternário
- Qual técnica 2D é mais adequada para identificar prótons que estão acoplados entre si (geralmente até 3 ligações)?
  - HSQC
  - HMBC
  - COSY
  - NOESY
- Um pico cruzado em um espectro HSQC nas coordenadas ( $\delta^1\text{H} = 2.5$  ppm,  $\delta^{13}\text{C} = 30$  ppm) indica que:
  - O próton a 2.5 ppm está acoplado a um carbono vizinho a 30 ppm.
  - O próton a 2.5 ppm está diretamente ligado ao carbono a 30 ppm.
  - O carbono a 30 ppm está diretamente ligado a um próton a 2.5 ppm.
  - As opções b e c estão corretas.
- Explique como a combinação de espectros RMN 1D ( $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  com DEPT) e 2D (COSY e HSQC) permite a elucidação de estruturas moleculares complexas, destacando a contribuição única de cada técnica.

**Gabarito:** 1. c) / 2. b) / 3. c) / 4. d)

## Próxima Aula

Na nossa próxima aula, embarcaremos em uma nova aventura analítica com a **Aula 13 – Espectrometria de Massas (EM) – Parte 1: Ionização e Analisadores**. Prepare-se para aprender como as moléculas são "pesadas" e fragmentadas para revelar sua massa e composição, uma técnica complementar e poderosa à RMN.

## Recursos Adicionais

- Livros de RMN:** Para aprofundar os conceitos teóricos e práticos.
- Bancos de Dados Espectrais Online:** Para praticar a interpretação de espectros reais.
- Artigos Científicos:** Para ver aplicações avançadas das técnicas em pesquisa.