

Asignatura: Analítica Estructural Molecular



Carácter: optativa para posgrado.doctorado
Duración: 16 semanas (cuatrimestral)
Carga Horaria Semanal: 12 horas
Cantidad de ciclos de dictado anuales: 1 cuatrimestre.
Sistema de evaluación y promoción: Exámenes parciales y final.
Puntaje: 5 puntos.
Correlatividades: materia de doctorado
Responsables: Dra Rosa Erra-Balsells y Dr Javier Ramirez

FUNDAMENTOS Y OBJETIVOS

PROGRAMA

Espectroscopía de Resonancia Magnética Nuclear

INTERACCIÓN ENTRE EL SPIN NUCLEAR Y UN CAMPO MAGNÉTICO

Nociones de la descripción mecano-cuántica de la resonancia magnética. Población de los estados de spin. Efectos de relajación. Sensibilidad. Ecuación de Boltzmann. Influencia del campo magnético B_0 en la sensibilidad, resolución y claridad del espectro de RMN.

DESCRIPCIÓN CLÁSICA DE LA RESONANCIA MAGNÉTICA.

Modelo de vectores. Sistema de Coordenadas Rotante. Evolución de la Magnetización en el sistema de Coordenadas rotante. Diferencias de población en el sistema rotante. Saturación. Coherencia de fase. Descripción y propiedades de un pulso de Radiofrecuencia. Cambio de fase de un pulso de radiofrecuencia

TÉCNICAS OPERATIVAS Y PROCESAMIENTO:

Componentes Básicos de un Equipo de RMN moderno Muestreo de Datos Dominios de tiempo y frecuencia. FID. Transformaciones de Fourier. Descripción de funciones y propiedades. Detección en Cuadratura. Ciclado de fases. Técnica CYCLOPS. Método de Redfield (TPPI). Introducción a los Gradientes de Campo. Procesamiento de Datos. Truncado de una FID. Apodización. Función de pesado. Exponenciales y Gaussianas. Zero-filling. Corrección de Fase. Fase y forma de línea: modos magnitud y potencia.

PROCESOS DE RELAJACIÓN DEL SPIN NUCLEAR:

Relajación longitudinal y transversal. Tiempos de relajación T_1 , T_2 y T_2^* . Mecanismos de relajación. Interacción dipolar. Tiempo de correlación. Influencia del tiempo de correlación en T_1 y T_2 , relación con las características de la molécula. Relajación cuadrupolar. Interacción escalar. Medición de T_1 : método de inversión-recuperación. Medición de T_2 : ecos de spin. Propiedades de los Ecos de Spin: influencia del desplazamiento químico y del acoplamiento escalar en un eco de spin. Ecos de spin modulados por J : secuencia APT.

EFFECTO NUCLEAR OVERHAUSER

Definición. Origen. Rutas de relajación. Relajación cruzada: transiciones de orden dos y cero. NOEs positivos y negativos: relación con las rutas de relajación predominantes y las características moleculares. Relación del NOE con el tiempo de

QOR 2015
4

correlación. NOE máximo observable en distintos núcleos. Relación entre NOE y distancia interatómica. Cuantificación del NOE. Espectros NOE-difference.



TRANSFERENCIA DE POLARIZACIÓN:

Inversión selectiva de protón. Niveles de energía y población en sistemas heteronucleares. Transferencia selectiva de polarización. Transferencia no selectiva: INEPT. Secuencia, evolución de los vectores y resultados. INEPT reenfocado. Comparación de aumento de sensibilidad con NOE. Secuencia DEPT para caracterización de la multiplicidad en ^{13}C . Coherencia cuántica doble. Influencia del ángulo de pulso: variantes del DEPT.

INTRODUCCIÓN A LA RESONANCIA MAGNÉTICA BIDIMENSIONAL: Dimensiones F_1 y F_2 . Significado. Origen de la dimensión F_1 . Transformación de Fourier en dos dimensiones. Distinto tipo de señales: señales diagonales, axiales y de correlación. Etapas de un experimento de RMN 2D: preparación, evolución, mezcla y detección. Clasificación de los diferentes tipos de experimentos RMN 2D. Dimensiones F_1 y F_2 : número de puntos, tiempo y resolución. Detección de un espectro 2D. Detección en cuadratura en la dimensión F_1 . Funciones de pesado. Forma de señales. Espectros de valor absoluto. Espectros sensibles a la fase. Método Hipercomplejo. Método de Redfield (TPPI). Parámetros a determinar en un espectro 2D. Efecto de la relajación durante t_1 . Ruido en RMN 2D: simetrización de espectros.

EXPERIMENTOS DE RMN BIDIMENSIONAL

Espectros RMN 2D J-resueltos: Casos homonuclear y heteronuclear. Secuencias y explicación mediante el modelo de vectores. Ejemplos y utilidad.

Espectros de Correlación Heteronuclear con Detección Directa: transmisión de la información mediante pulsos. Secuencia HETCOR: desarrollo en pasos de la secuencia básica y explicación mediante vectores. Ejemplos. Correlación heteronuclear a larga distancia. Secuencia COLOC: particularidades, optimización y ejemplos.

Espectros de Correlación Homonuclear: COSY. Secuencia. Forma de las señales. Efecto de un tercer spin. Spins activos y pasivos. COSY 45. COSY a larga distancia. Influencia de la intensidad de las correlaciones con J y Ω . Ejemplos. COSY Phase Sensitive. Ciclado de fases. Características. Forma y fase de las señales. Identificación del acoplamiento activo.

Espectros de Correlación por NOE: Secuencia NOESY. Análisis mediante vectores. Origen de las señales. Influencia del tiempo de mezcla. Ejemplos. NOESY Phase sensitive: propiedades, forma y fase de las diferentes señales. Interpretación. Ejemplos. **Coherencia:** Definición. Matriz densidad. Orden de coherencia: propiedades. Coherencias cuánticas múltiples. Caminos de transferencia de coherencia. Filtros cuánticos. DQ-COSY. Propiedades. Fases y formas de las señales. Identificación y medición de los acoplamientos activos. Ejemplos. E-COSY. Definición, ventajas y desventajas respecto del DQ-COSY.

Transferencia Remota de coherencias: relayed coherence transfer (RCT). Secuencia. Fundamentación. Interpretación de los espectros. Múltiples relays.

Coherencia cuántica doble: Secuencia INADEQUATE Análisis de la secuencia. Optimización. Interpretación de resultados. Variantes de la secuencia. Problemas de sensibilidad y solubilidad

Spin-Lock. Definición. Implementación. Propiedades de los sistemas en spin-lock. Espectros de correlación total, Secuencia TOCSY- HOHAHA. Utilidad para el estudio de sistemas de spins cerrados: hidratos de carbono, péptidos y oligonucleótidos. Influencia del tiempo de mezcla y de las constantes de acoplamiento en la propagación. Complicaciones y artefactos. ROESY: NOE en el sistema rotante. Similitudes y diferencias con el NOE. Artefactos de la secuencia y falsas correlaciones.



DETECCIÓN INVERSA

Concepto. Problemas de Implementación. Comparación de sensibilidad relativa en experimentos de correlación heteronuclear. Correlación directa ^1H - ^{13}C mediante detección inversa. Secuencias HMQC HSQC. Descripción de las secuencias. Información que brindan. Ventajas y desventajas comparativas. Ejemplos. BIRD-HMQC. COSY X-H para correlación con núcleos X abundantes (^{31}P). Correlación heteronuclear a larga distancia mediante detección inversa: secuencia HMBC. Low-pass filter: funcionamiento. Ejemplos.

GRADIENTES DE CAMPO EN RMN BIDIMENSIONAL:

Implementación. Descripción y propiedades de los gradientes de campo. Giro de fase: dependencia con el orden de coherencia y constante magnetogirica. Reenfoco por gradientes opuestos. Utilización de los gradientes para selección del camino de Transferencia de Coherencia y como pulsos de purga. Condición de reenfoco. Comparación con el ciclado de fases. Experimentos RMN 2D con aplicación de gradientes de Campo: COSY-magnitud, COSY-MQF, COSYPH, TOCSY. Gradientes en sistemas heteronucleares: propiedades y ventajas. HMQC, HSQC y HMBC con gradientes. Variantes sensibles a la fase.

PULSOS SELECTIVOS:

Implementación. Características de los pulsos semiselectivos y selectivos. Problemas de fase. Eco de spin selectivo con gradientes de campo. Excitación selectiva. Excitación semiselectiva. Eliminación de la señal del solvente. Secuencia WATERGATE. Técnicas heteronucleares.

ESPECTROMETRÍA DE MASA

Parte 1:

Métodos de ionización y análisis de iones

- 1-El análisis de iones gaseoso moleculares como herramienta analítica, espectrometría de masa (MS). Análisis de biomacromoléculas por MS. Determinación de pesos moleculares y de estructura química. Fundamento de los métodos de ionización útiles basados en desorción (FD, FAB, SIMS, LD, MALDI, UV-MALDI, ELDI, SELDI, DIOS), en nebulización (API, ES, TESI, ESI, PESI) y en ambas (DESI, MALDESI, ELDI, SELDI, etc.), campo de aplicación de cada uno, ventajas y limitaciones. La problemática de preparación de las muestras para UV-MALDI-MS y ESI-MS.
- 2-UV-MALDI: Absorción de sólidos. Excitación con fuentes láser de 266 y 337 nm. Fenómeno de desorción / ionización. Análisis de los iones gaseosos generados. Espectrometría de masa por desorción láser (LD-MS). Uso de fotosensibilizadores (matrices) en la región UV para inducir desorción del aceptor (analito). Espectrometría de masa con desorción/ionización inducida por láser ultravioleta asistida por una matriz (fotosensibilizador) (UV-MALDI-MS). Propiedades de las matrices. Preparación de las muestras. Generación de ión molecular intacto e inducción de fragmentaciones.
- 3-FSI. Generación de iones moleculares policargados. Modelo de Dole (RMC) (Taylor; Coulomb; Raleigh). Desarrollos de Fenn. Determinación de la relación m/z . Influencia del medio en el proceso ESI (polaridad, pH, sales). Nano-ESI. Z-ESI.

4-Fundamento de los analizadores de iones gaseosos de uso actual (TOF, Q, IT, FTICR, orbiTrap), campo de aplicación, ventajas y limitaciones.

5-La fragmentación como herramienta analítica en espectrometría de masa. Formas de evitarla y formas de inducir. Accesorios o celdas CAD, CID, ECD, IRMPD, EI. Espectrometría de masa tandem (MS^n). Modo de operación PSD en el analizador de "tiempo de vuelo" (TOF). La fragmentación en procesos UV-MALDI y en ESI.

6-Equipamiento comercial actual por combinación de UV-MALDI y de ESI con diferentes analizadores de iones (i) solos (Q, TOF, IT, FTICR, OrbiTrap) o (ii) en tandem (QQQ, Q/TOF, Q/IT, IT/TOF, TOF/TOF, Q/FTICR). Criterio para seleccionar la combinación más ventajosa. Posibilidades y limitaciones.

7-Protocolos actuales de trabajo en proteómica y glicómica y otras "ómicas". Combinación de datos experimentales con banco de datos y programas de simulación ("a novo"). Protocolos de trabajo "bottom-up" y protocolos "top-down"

6-Conclusiones. UV-MALDI vs ESI en el campo de las macromoléculas, competencia o complementariedad?

Parte 2: Aplicaciones

Determinación de pesos moleculares y de estructuras de bio-macromoléculas (proteínas, nucleótidos, nucleósidos, vitaminas, etc.) y macromoléculas en general. Análisis de modificaciones postraduccionales en proteínas. Análisis de complejos moleculares nativos. Folding y unfolding de proteínas. Análisis de la composición de biopolímeros (oligosacáridos, polisacáridos y compuestos glicoconjugados), determinación de la estructura, del peso molecular y de la relación cuantitativa de los oligómeros. Comparación de UV-MALDI-MS y ESI-MS con otras técnicas de uso en la analítica de macromoléculas (espectrometrías de masa: FD-MS, FAB-MS, SELDI (SALDI), DIOS y SIMS; técnicas cromatográficas: SEC; técnicas electroforéticas). Aplicaciones concretas en el campo de la biología molecular, en el campo de control de calidad de alimentos, de monitoreo en librerías combinatorias, en organométálicos y en polímeros sintéticos.

Bibliografía:

- "Modern NMR Spectroscopy - A Guide for Chemists", J. Sanders, K. Hunter (Oxford University Press).
- "Modern NMR Techniques for Chemistry Research", A. Derome (Pergamon)
- "One - dimensional and Two - dimensional NMR Spectra by Modern Pulse Techniques", K. Nakanishi (University Science Books).
- "Two- Dimensional NMR Spectroscopy. Applications for Chemists and Biochemists" W. Croasmun, R. Carlson (VCH)
- "Structure Determination by NMR", B. Jaun (e-book).
- "High Resolution NMR Techniques in Organic Chemistry" T. Claridge (Pergamon)
- What is Mass spectrometry?, Am. Soc. Mass Spectrom., (1998).
- R.J. Cotter, Time-of-Flight Mass Spectrometry, ACS Symposium Books, 549, ACS (1994)
- R.J. Cotter, Time-of-Flight Mass Spectrometry. Instrumentation and Applications in Biological Research, ACS Professional Reference Books, ACS (1997)
- R.B. Cole (ed.), Electrospray Ionization Mass Spectrometry. J. Wiley & Sons, Inc. NY (1997).
- B.S. Larsen and C.N. McEwen (eds.). Mass Spectrometry of Biological Materials. Marcel Dekker, Inc., NY (1998).





- L. Gross (ed.). Mass Spectrometry in Biological Sciences: A Tutorial. NATO ASI Series, Series C, Vol. 353. Kluwer Acad. Pub., London (1990)
- F.W. McLafferty and F. Turecek, Interpretation of Mass Spectra, University Science Books, Mill Valley, California (1993).
- J.R. Chapman. Practical Organic Mass Spectrometry. Wiley, NY (1993).
- E.W. Schlag (ed.). Time-of-Flight Mass Spectrometry and its Applications. Elsevier, NY (1994).
- R. P. Newton and T. J. Walton, Applications of Modern Mass Spectrometry in Plant Science Research, Clarendon Press, Oxford, London (1996)
- D.C. Liebler, Introduction to Proteomics; Tools for the New Biology. Humana Press. Totowa, NJ (2002).
- M. Mann and O.N. Jensen, Proteomic analysis of post-translational modifications (www.nature.com/naturebiotechnology) Vol 21 March 2003
- J. Mass Spectrometry; Rapid Commun. Mass Spectrometry; Mass Spectrom. Rev.; J. Am. Soc. Mass Spectrom., Europ. J. Mass Spectrom.,
- R. Erra-Balsells, "Del volar de las proteínas y de como lograrlo (Espectrometría de masa UV-MALDI", Química Viva, 3 (2), abril 2004. www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar; ISSN 1666-7948
- R. Erra-Balsells, "Del volar de las proteínas y de como lograrlo (Espectrometría de masa ESI", Química Viva, 3 (3), septiembre 2004. www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar; ISSN 1666-7948
- J.B. Fenn, Electrospray Wings for Molecular Elephants, Nobel Lecture, <http://www.nobel.se>
- K. Tanaka, The origin of macromolecule ionization by laser irradiation, Nobel Lecture, <http://www.nobel.se>
- H. Budzikiewicz, C. Djerassi, and D.H. Williams, Mass spectrometry of organic compounds. San Francisco: Holden-Day, 1967
- H. Budzikiewicz, C. Djerassi, and D.H. Williams, Structure elucidation of natural products by mass spectrometry.
- E. de Hoffmann, V. Stroobant, Mass Spectrometry, Principle and Applications 3rd edition, Wiley, UK (2007).
- J.H. Gross, Mass Spectrometry, Springer, 2004.
- R.B. Cole Electrospray and MALDI Mass Spectrometry. Fundamentals, Instrumentation, Practicalities, and Biological Applications. 2nd edition. Wiley, UK (2010).
- R. Erra-Balsells, en Fundamentals of Mass Spectrometry, K. Hiraoka (ed.), Cap. 9, MALDI: A very Useful UV Light-Induced Process ... That Still Remains Quite Obscure. p.173-197. Springer, Science+Business Media New York 2013. ISBN: 978-1-4614-7232-2 ISBN 978-1-4614-7233-9 (eBook).

Dra. Alicia S. Cousto
Directora Adjunta
Dpto. Química Orgánica



Universidad de Buenos Aires
Facultad de Ciencias Exactas y Naturales

Referencia Expte. N° 504.526/15

Buenos Aires, 30 MAR 2015

VISTO:

la nota de la Dra. Alicia Couto, Directora Adjunta del Departamento de Química Orgánica, mediante la cual eleva la información del curso de posgrado **Análítica estructural molecular**, que será dictado durante el primer cuatrimestre de 2015 por la Dra. Rosa Erra Balsells y el Dr. Javier Ramirez

CONSIDERANDO:

lo actuado por la Comisión de Postgrado,
lo actuado por este Cuerpo en Sesión Ordinaria realizada en el día de la fecha,
en uso de las atribuciones que le confiere el Artículo N° 113° del Estatuto Universitario,

**EL CONSEJO DIRECTIVO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES
RESUELVE:**

Artículo 1°: Autorizar el dictado del curso de posgrado **Análítica estructural molecular**, de 120 horas de duración.

Artículo 2°: Aprobar el programa del curso de posgrado **Análítica estructural molecular** obrante a fs 5 a 9 del expediente de la referencia.

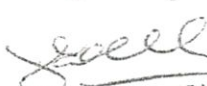
Artículo 3°: Aprobar un puntaje máximo de cinco (5) puntos para la Carrera del Doctorado.

Artículo 4°: Aprobar un arancel de 20 módulos, estableciendo que los montos recaudados serán utilizados conforme a lo dispuesto por Resolución CD N° 072/03.

Artículo 5°: Comuníquese a la Dirección de Movimiento de Fondos (Tesorería), a la Dirección de Presupuesto y Contabilidad y a la Dirección de Alumnos.

Artículo 6°: Comuníquese a la Dirección del Departamento de Química Orgánica, a la Biblioteca de la FCEyN y a la Secretaría de Postgrado (con fotocopia de los programas incluida, fs 5 a 9). Cumplido archívese.

Resolución CD N°
SP/iga 16/03/2015

0517

Dr. JOSÉ OLABE IPARRAGUIRRE
SECRETARIO DE POSGRADO
FCEN-UBA


Dr. JUAN CARLOS REBORADA
DECANO