

# Estudio conformacional del sistema anular de l-prolina mediante el uso de efectos de disolvente.

**Carlos Ernesto Lobato García \***

*Universidad "Juárez" Autónoma de Tabasco, DACB  
Carr. Cunduacán-Jalpa Km 1, Cunduacán Tabasco, México  
A.P. 24 C.P. 86690. Tel. (+52)914 336-0928*

**Raúl G. Enríquez**

*Instituto de Química. UNAM.*

**William F. Reynolds**

*Department of Chemistry. U. Toronto.*

*Dedicated to Professor*

---

Los espectros de RMN de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  del clorhidrato del éster metílico de L-prolina muestran cambios importantes (principalmente en el espectro de hidrógeno) debido a efectos del disolvente. Para los disolventes acetona y dimetilsulfóxido, estas variaciones pueden ser interpretadas en términos de asociaciones soluto/disolvente, mientras que en el caso de piridina se observan efectos anisotrópicos característicos. A pesar de la complejidad espectral resultado de los acoplamientos múltiples en los protones diastereotópicos de prolina, las modificaciones logradas en los desplazamientos químicos permiten la observación de preferencias conformacionales.

The  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  NMR spectra of L-proline methyl ester hydrochloride show important changes (mainly in the first case) due to solvent effects. These variations can be interpreted in terms of solute/solvent associations such as the formation of hydrogen bonding in those cases where the solvent is either dimethylsulfoxide or acetone, or due to the presence of anisotropic effects when the solvent is pyridine. Despite the complex NMR spectra resulting from multiple couplings of the ring protons of Proline, the modification of chemical shifts achieved in different solvents allow the observation of conformational preferences.

*Palabras clave: Análisis conformacional, Prolina, RMN de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ , Efectos solventes.  
Keywords: Conformational analysis, Proline,  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  NMR, Solvent effects.*

---

## 1. Introducción

El aminoácido L-prolina es objeto de numerosos estudios dada su importancia en el campo de la química orgánica y la bioquímica. Ello se comprende dadas las implicaciones fundamentales que sobre las propiedades moleculares tiene la presencia de este aminoácido.

Por ejemplo: se sabe que en la química de péptidos y proteínas, la prolina juega un papel determinante en la formación de estructuras secundarias de esas macromoléculas, dirigiendo las cadenas peptídicas a adoptar conformaciones que son determinantes en procesos biológicos,[1] su carácter cíclico imparte además características conformacionales *sui generis* importantes en la función biológica [2].

---

\* carlos.lobato@dacb.ujat.mx

Por otro lado, la prolina misma o los derivados de ella, se utilizan exitosamente en síntesis orgánica, tanto como material de partida en secuencias sintéticas [3] o en el diseño de catalizadores quirales útiles en síntesis asimétrica [4].

La elucidación estructural de prolina o sus derivados ha significado retos importantes tanto en Cristalografía [5] como en Resonancia Magnética Nuclear (RMN) [6] y Espectrometría de masas (Tsunematsu, H., *et al*, 1994) [7].

Por esta razón, el estudio del comportamiento conformacional de la prolina en diferentes condiciones está dado por la necesidad de profundizar en el conocimiento de una molécula aparentemente sencilla pero con implicaciones estructurales y actividad biológica sumamente interesantes.

El complejo sistema de spines acoplados presentes en la prolina, en condiciones especiales, constituye un sensor estructural que permite comprender diferentes estrategias que lleven a un mejor discernimiento de estructuras derivadas de este aminoácido, mediante estudios de resonancia magnética nuclear. Para ello, se llevó a cabo el estudio por RMN del clorhidrato del éster metílico de L-prolina en diferentes disolventes.

## 2. Resultados y Discusión

La estructura numerada empleada en la asignación espectral del clorhidrato del éster metílico de L-prolina, se muestra en la figura 1.

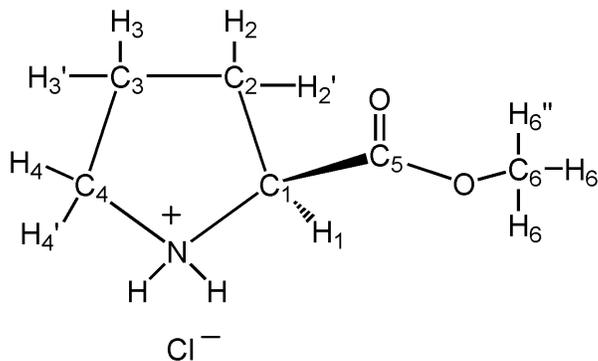
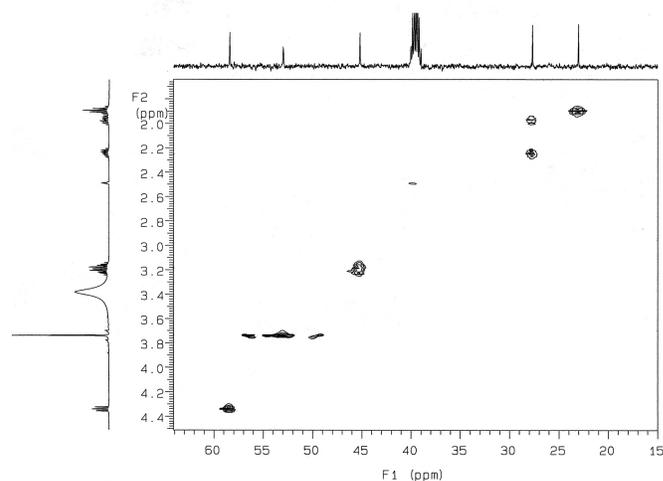


Figura 1.

### a) Asignación de los espectros de RMN en dimetilsulfóxido- $d_6$ .

Se obtuvieron los espectros unidimensionales de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ , así como el espectro COSY de correlación homonuclear y el HMQC de correlación heteronuclear.

El espectro de hidrógeno en dimetilsulfóxido deuteriado, muestra sobreposición de los protones de  $\text{C}_3$  y de  $\text{C}_4$ . Aunque en el experimento HMQC es posible asignar su posición (figura 2), no es posible discernir cuál de cada par de protones es *cis* al protón de la posición 1. El cuadro 1 resume el comportamiento espectral del compuesto en este disolvente.



**Figura 2.** Espectro HMQC del clorhidrato del éster metílico de L-prolina en dimetilsulfóxido- $d_6$ , en temperatura ambiente.

| Carbono ( $\delta$ )          | ( $\delta, n_H, m, J_{HH}$ ) <sup>*</sup>                         |
|-------------------------------|---|
| C <sub>1</sub> (58.4)         | H <sub>1</sub> (4.33, 1, dd, $J_1 = 8.5, J_2 = 7.5$ )             |
| C <sub>2</sub> (27.6)         | H <sub>2</sub> (2.23, 1, m); H <sub>2</sub> ' (1.99, 1, m)        |
| C <sub>3</sub> (23.0)         | H <sub>3</sub> , H <sub>3</sub> ' (1.91, 2, m)                    |
| C <sub>4</sub> (45.2)         | H <sub>4</sub> , H <sub>4</sub> ' (3.19, 2, m)                    |
| C <sub>5</sub> (169.2)        |   |
| C <sub>6</sub> (53.0)         | H <sub>6</sub> , H <sub>6</sub> ', H <sub>6</sub> '' (3.73, 3, s) |
| NH <sub>2</sub> <sup>++</sup> | 9.80 (2, ancha)   |

<sup>\*</sup> $\delta$ = ppm  $n_H$ = número de hidrógenos,  
m=multiplicidad,  $J_{HH}$ =constante de acoplamiento (Hz).

**Cuadro 1.** Asignación de los espectros de  $^1H$  y  $^{13}C$  del clorhidrato del éster metílico de L-prolina en dimetilsulfóxido- $d_6$  y temperatura ambiente.

#### b) Asignación de los espectros de RMN en acetona- $d_6$ .

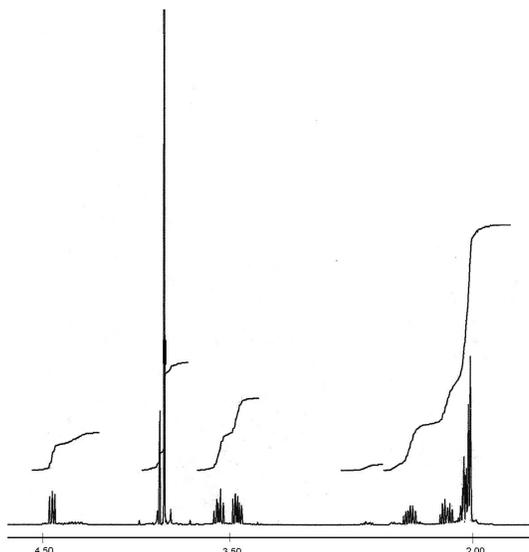
Se obtuvieron los espectros uni y bidimensionales de  $^1H$ , espectro unidimensional de  $^{13}C$  y el espectro de correlación heteronuclear HMQC.

En el espectro de hidrógeno, se observa la presencia de señales de un conformero minoritario en proporción aproximada 85:15, tomando como base para la cuantificación la proporción existente entre la integración de las señales en 3.83 y 3.84 ppm (ver figura 3).

A diferencia del dimetilsulfóxido, en acetona se observan dos señales bien definidas para los dos protones magnéticamente no equivalentes del carbono 4. Sin embargo, debido a la sobreposición de señales, los protones de los metilenos de las posiciones 2, 3 y 4 no fueron asignados como *cis* o *trans* con respecto al protón del carbono 1.

Para la asignación del espectro, sólo se consideraron las señales correspondientes al compuesto mayoritario. Los datos para la espectroscopía de hidrógeno,  $^{13}C$  y la correlación homonuclear se muestran en el cuadro 2.

#### c) Asignación de los espectros de RMN en cloroformo- $d$ .



**Figura 3.** Espectro de hidrógeno en acetona. Se observan las señales del conformero minoritario.

| Carbono ( $\delta$ )*  | ( $\delta, n_H, m, J_{HH}$ )*   | COSY   | NOESY                          |
|------------------------|---|--|--------------------------------|
| C <sub>1</sub> (59.6)  | H <sub>1</sub> (4.48, 1, dd, J <sub>1</sub> = 8.5, J <sub>2</sub> = 7.5)  | H <sub>2</sub> ,H <sub>2</sub> '   | H <sub>4</sub> '               |
| C <sub>2</sub> (29.0)  | H <sub>2</sub> (2.42, 1, m);<br>H <sub>2</sub> ' (2.21, 1, m)   | H <sub>3</sub> ,H <sub>3</sub> ',H <sub>1</sub><br>H <sub>3</sub> ,H <sub>3</sub> ',H <sub>1</sub> |                                |
| C <sub>3</sub> (24.2)  | H <sub>3</sub> , H <sub>3</sub> '(2.08, 2, m)   | H <sub>2</sub> ,H <sub>2</sub> ',H <sub>4</sub> ,H <sub>4</sub> '                                  |                                |
| C <sub>4</sub> (46.2)  | H <sub>4</sub> (3.52, 1, m, J <sub>1</sub> = 7.5, J <sub>2</sub> = 4);<br>H <sub>4</sub> ' (3.41, 1, m, J <sub>1</sub> = 7.5, J <sub>2</sub> = 4.5) | H <sub>3</sub> ,H <sub>3</sub> '<br>H <sub>3</sub> ,H <sub>3</sub> '                               | H <sub>1</sub>                 |
| C <sub>5</sub> (170.2) |   |  |                                |
| C <sub>6</sub> (53.4)  | H <sub>6</sub> , H <sub>6</sub> ', H <sub>6</sub> '' (3.73, 3, s)   |  | H <sub>1</sub> ,H <sub>4</sub> |

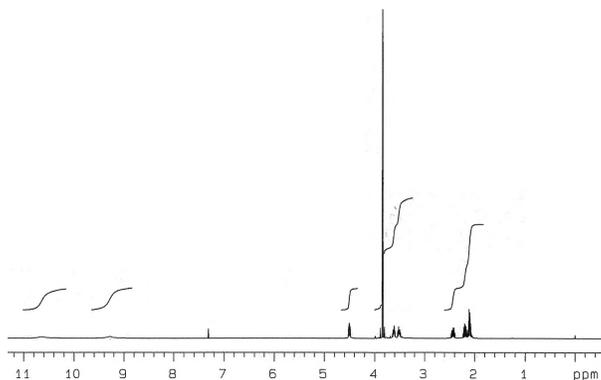
\* $\delta$ = ppm  $n_H$ = número de hidrógenos,  
m=multiplicidad,  $J_{HH}$ =constante de acoplamiento(Hz).

**Cuadro 2.** Desplazamientos químicos de <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C y correlaciones homonucleares del clorhidrato del éster metílico de L-prolina. Disolvente acetona-d<sub>6</sub>. Temperatura ambiente.

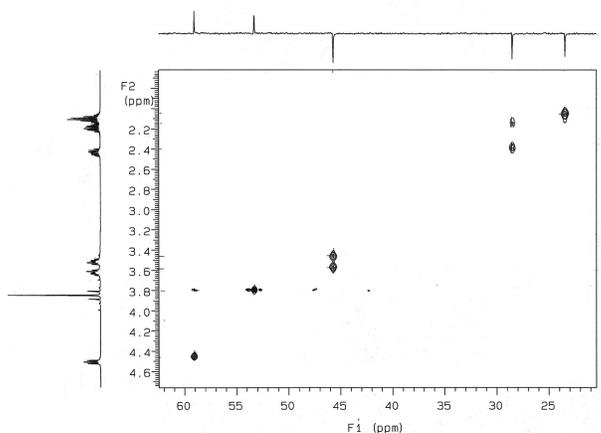
Se obtuvieron los espectros unidimensionales de <sup>1</sup>H y <sup>13</sup>C, y los bidimensionales de correlación homonuclear (COSY) y heteronuclear (HMQC y HMBC).

El espectro unidimensional de <sup>1</sup>H que se presenta en la figura 4, muestra sobreposición de señales para los protones del carbono 3. Por ello no se logró discernir la posición relativa *cis* o *trans* de cada par de protones de los metilenos con respecto al hidrógeno del carbono 1. En este espectro se observan dos señales separadas para los dos protones unidos a nitrógeno a 10.60 y 9.20 ppm respectivamente.

La asignación de los protones para cada carbono se efectuó mediante el experimento HMQC. Por otro lado, el experimento HMBC mostró las interacciones entre los protones de las posiciones 1, 2 y 6 con el carbono carboxílico. Los espectros se muestran en las figuras 5 y 6.



**Figura 4.** Espectro de  $^1\text{H}$  del clorhidrato del éster metílico de L-prolina en cloroformo-d. Se observan las dos señales para los protones unidos a nitrógeno.



**Figura 5.** Espectro HMQC en cloroformo-d en temperatura ambiente.

El cuadro 3 resume el análisis espectral de las señales para el compuesto analizado, empleando como disolvente al cloroformo-d.

**d) Elucidación de los espectros en piridina-d<sub>5</sub>**

Se obtuvieron los espectros unidimensionales de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ , y espectros bidimensionales de correlación homonuclear (COSY, NOESY) y de correlación heteronuclear (HMQC y HMBC).

En el espectro unidimensional (figura 7), se observa que los seis protones diastereotópicos de los tres metilenos del anillo de prolina, se encuentran bien definidos, habiendo sobreposición de señales únicamente entre un protón de la posición 4 y el singulete del metilo de la posición 6. Sin embargo, esta sobreposición no fue obstáculo para que mediante las interacciones observadas en el espectro NOESY (figura 8), pudiera asignarse la estereoquímica de cada par de protones diastereotópicos de los metilenos del sistema anular, en relación al protón de la posición 1.

El espectro NOESY muestra interacciones de la señal del protón de la posición 1 con los señales de los protones en frecuencia alta de las posiciones 3 y 4. Estas señales fueron asignadas a los protones *cis* al protón 1. Para el caso de la posición 2, se

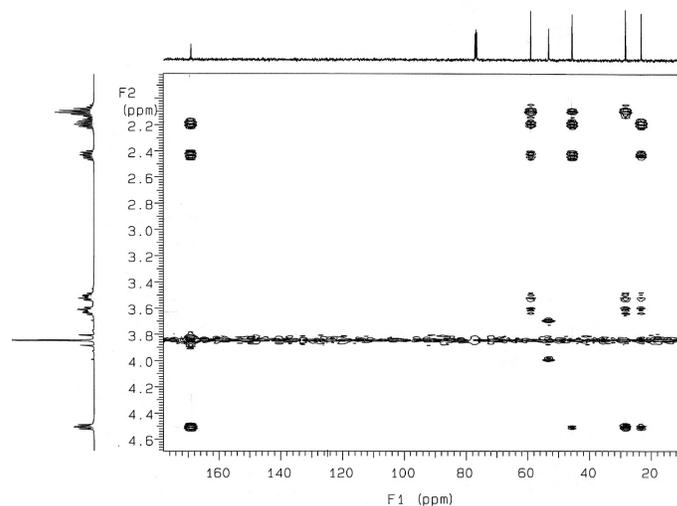
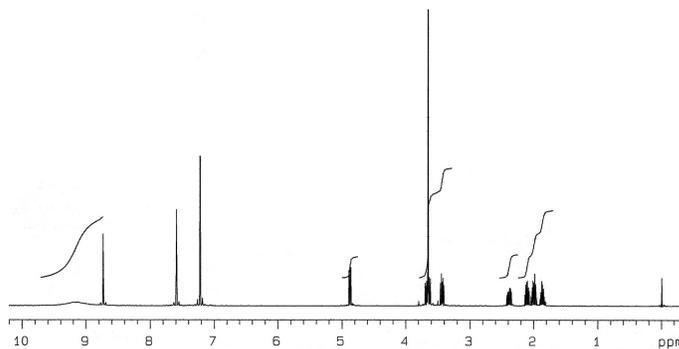


Figura 6. Espectro HMBC en cloroformo-d en temperatura ambiente.

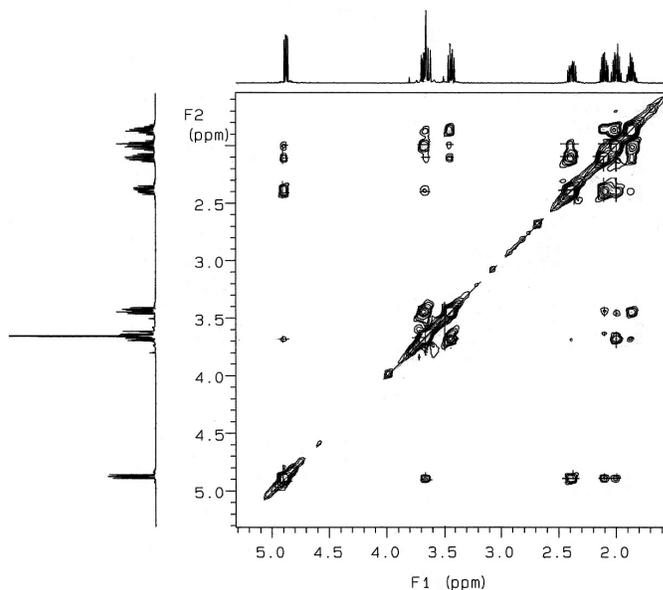
| Carbono ( $\delta$ )*         | Hidrógeno ( $\delta$ , $n_H$ , m, $J_{HH}$ )*                     | COSY   | HMQC  | HMBC  |
|-------------------------------|---|--|---|---|
| C <sub>1</sub> (59.1)         | H <sub>1</sub> (4.50, 1, dd, $J_1=8.5$ , $J_2=7.0$ )              | H <sub>2</sub> , H <sub>2</sub> '                                      | H <sub>1</sub>  | H <sub>2</sub> , H <sub>2</sub> '<br>H <sub>3</sub> , H <sub>3</sub> '<br>H <sub>4</sub> , H <sub>4</sub> ' |
| C <sub>2</sub> (28.5)         | H <sub>2</sub> (2.44) (1, m)                                      | H <sub>1</sub> , H <sub>2</sub> '<br>H <sub>3</sub> , H <sub>3</sub> ' | H <sub>2</sub> , H <sub>2</sub> '                     | H <sub>1</sub><br>H <sub>3</sub> , H <sub>3</sub> '<br>H <sub>4</sub> , H <sub>4</sub> '                    |
|                               | H <sub>2</sub> ' (2.19) (1, m)                                    | H <sub>1</sub> , H <sub>2</sub><br>H <sub>3</sub> , H <sub>3</sub> '   |   |   |
| C <sub>3</sub> (23.5)         | H <sub>3</sub> , H <sub>3</sub> ' (2.09, 2, m)                    | H <sub>2</sub> , H <sub>2</sub> '<br>H <sub>4</sub> , H <sub>4</sub> ' | H <sub>3</sub> , H <sub>3</sub> '                     | H <sub>1</sub><br>H <sub>2</sub> , H <sub>2</sub> '<br>H <sub>6</sub> , H <sub>6</sub> ', H <sub>6</sub> '' |
| C <sub>4</sub> (45.7)         | H <sub>4</sub> (3.62) (1, m, $J_1=7.5$ , $J_2=7$ )                | H <sub>3</sub> , H <sub>3</sub> '                                      | H <sub>4</sub> , H <sub>4</sub> '                     | H <sub>1</sub><br>H <sub>2</sub> , H <sub>2</sub> '<br>H <sub>3</sub> , H <sub>3</sub> '                    |
|                               | H <sub>4</sub> ' (3.51) (1, m, $J_1=7.5$ , $J_2=7.0$ )            | H <sub>3</sub> , H <sub>3</sub> '                                      |   | H <sub>1</sub><br>H <sub>2</sub> , H <sub>2</sub> '<br>H <sub>6</sub> , H <sub>6</sub> ', H <sub>6</sub> '' |
| C <sub>5</sub> (169.3)        |   |  |   |   |
| C <sub>6</sub> (53.3)         | H <sub>6</sub> , H <sub>6</sub> ', H <sub>6</sub> '' (3.84, 3, s) |  | H <sub>6</sub><br>H <sub>6</sub> ', H <sub>6</sub> '' |   |
| NH <sub>2</sub> <sup>++</sup> | NH (10.60, 1, ancha)<br>NH' (9.20, 1, ancha)                      |  |   |   |

\* $\delta$ = ppm  $n_H$ = número de hidrógenos, m=multiplicidad,  
 $J_{HH}$ =constante de acoplamiento(Hz).

**Cuadro 3.** Acoplamientos homo y heteronucleares del clorhidrato del éster metílico de L-prolina. Disolvente cloroformo-d. Temperatura ambiente.



**Figura 7.** Espectro unidimensional de <sup>1</sup>H del clorhidrato del éster metílico de L-prolina. Disolvente: piridina-d<sub>5</sub>. Temperatura ambiente.



**Figura 8.** Espectro NOESY del clorhidrato del éster metílico de L-prolina en piridina-d<sub>5</sub>. Temperatura ambiente.

observan interacciones entre 1 y las dos señales correspondientes a los protones de dicha posición, una de ellas (la de frecuencia alta) presenta una interacción más fuerte que la otra, asignándose consecuentemente como la de posición relativa *cis* al protón 1. Las interacciones entre los seis protones diastereotópicos, y los acoplamientos homo y heteronucleares confirman la asignación tal y como se muestra en el cuadro 4.

- e) **Variación en los desplazamientos químicos.** En los cuadros 5 y 6 se presentan respectivamente, las variaciones en desplazamientos químicos ( $\Delta\delta$ ) de <sup>1</sup>H y <sup>13</sup>C en los diferentes disolventes empleados. Se tomaron como referencia los desplazamientos químicos en cloroformo, considerando que éste es el disolvente más utilizado en RMN. El trazo de la señal doble de dobles correspondiente al protón de la posición 1, cambia sensiblemente dependiendo del disolvente. Este cambio tiene su origen en las variacio-

| Carbono ( $\delta$ )         | Hidrógeno ( $\delta$ , $n_H$ , $m$ , $J_{HH}$ )*                     | COSY   | NOESY   | HMQC   |
|------------------------------|--|--|---|--|
| C <sub>1</sub> (59.2)        | H <sub>1</sub> (4.88,1,dd, $J_1=9.0$ , $J_2=6.5$ )                   | H <sub>2</sub> , H <sub>2</sub> '                                      | H <sub>2</sub> , H <sub>3</sub> ,H <sub>4</sub>     | H <sub>1</sub>                                       |
| C <sub>2</sub> (29.2)        | H <sub>2</sub> (2.39,1,m, $J_1=7.0$ ) <sup>±</sup>                   | H <sub>1</sub> , H <sub>2</sub> '<br>H <sub>3</sub> , H <sub>3</sub> ' | H <sub>1</sub>                                      | H <sub>2</sub> , H <sub>2</sub> '                    |
|                              | H <sub>2</sub> '(2.10,1,m, $J_1=7.0$ )                               | H <sub>1</sub> , H <sub>2</sub><br>H <sub>3</sub> , H <sub>3</sub> '   | H <sub>3</sub> ', H <sub>4</sub> '                  |  |
| C <sub>3</sub> (24.0)        | H <sub>3</sub> (2.00,1,m, $J_1=7.0$ ) <sup>±</sup>                   | H <sub>2</sub> , H <sub>2</sub> '<br>H <sub>4</sub> , H <sub>4</sub> ' | H <sub>1</sub>                                      | H <sub>3</sub> , H <sub>3</sub> '                    |
|                              | H <sub>3</sub> '(1.86,1,m, $J_1=7.0$ )                               | H <sub>2</sub> ,H <sub>2</sub> '<br>H <sub>4</sub> , H <sub>4</sub> '  | H <sub>2</sub> 'H <sub>4</sub> '                    |  |
| C <sub>4</sub> (45.5)        | H <sub>4</sub> (3.66,1,m) <sup>±</sup><br>H <sub>4</sub> '(3.43,1,m) | H <sub>3</sub> , H <sub>3</sub> '<br>H <sub>3</sub> , H <sub>3</sub> ' | H <sub>1</sub><br>H <sub>2</sub> ' H <sub>3</sub> ' | H <sub>4</sub> , H <sub>4</sub> '                    |
| C <sub>5</sub> (170.5)       |  |  |   |  |
| C <sub>6</sub> (52.9)        | H <sub>6</sub> , H <sub>6</sub> ',H <sub>6</sub> ''(3.66,3,s)        |  |   | H <sub>6</sub> , H <sub>6</sub> ', H <sub>6</sub> '' |
| NH <sub>2</sub> <sup>+</sup> | NH, NH'(9.16,2,ancha)  |  |   |  |

\* $\delta$ = ppm  $n_H$ = número de hidrógenos, $m$ =multiplicidad,

$J_{HH}$ =constante de acoplamiento(Hz).

<sup>±</sup> Asignado como protón *cis* al protón de la posición 1.

**Cuadro 4.** Acoplamientos homo y heteronucleares para el clorhidrato del éster metílico de L-prolina. Disolvente piridina-d<sub>5</sub>.Temperatura ambiente.

| Protón   | CDCl <sub>3</sub> |            | DMSO-d <sub>6</sub> |            | Acetona-d <sub>6</sub> |            | Piridina-d <sub>5</sub> |  |
|--|-------------------|------------|---------------------|------------|------------------------|------------|-------------------------|--|
|  | $\delta^*$        | $\delta^*$ | $\Delta\delta^\pm$  | $\delta^*$ | $\Delta\delta^\pm$     | $\delta^*$ | $\Delta\delta^\pm$      |  |
| H <sub>1</sub>                                       | 4.51              | 4.33       | -0.18               | 4.48       | -0.03                  | 4.88       | 0.37                    |  |
| H <sub>2</sub>                                       | 2.44              | 2.23       | -0.21               | 2.42       | -0.02                  | 2.39       | -0.05                   |  |
| H <sub>2</sub> '                                     | 2.19              | 1.99       | -0.20               | 2.21       | 0.02                   | 2.10       | -0.09                   |  |
| H <sub>3</sub>                                       | 2.09              | 1.91       | -0.18               | 2.08       | -0.01                  | 2.00       | -0.09                   |  |
| H <sub>3</sub> '                                     | 2.09              | 1.91       | -0.18               | 2.08       | -0.01                  | 1.86       | -0.23                   |  |
| H <sub>4</sub>                                       | 3.62              | 3.19       | -0.43               | 3.52       | -0.10                  | 3.66       | 0.04                    |  |
| H <sub>4</sub> '                                     | 3.51              | 3.19       | -0.32               | 3.41       | -0.10                  | 3.43       | -0.08                   |  |
| H <sub>6</sub> ',H <sub>6</sub> '',H <sub>6</sub> '' | 3.84              | 3.73       | -0.11               | 3.84       |                        | 3.66       | -0.18                   |  |
| NH   | 10.60             | 9.80       | -0.80               |            |                        | 9.16       | -1.44                   |  |
| NH'  | 9.20              | 9.80       | 0.60                |            |                        | 9.16       | -0.04                   |  |

\*  $\delta$  (ppm)

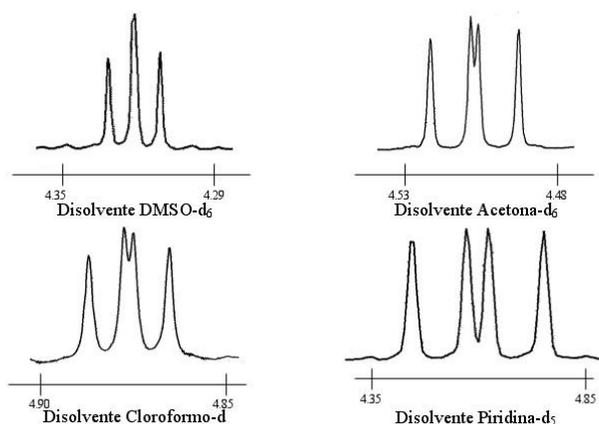
<sup>±</sup>  $\Delta\delta = \delta_{\text{disolvente}} - \delta_{\text{cloroformo}}$

**Cuadro 5.** Comparación de los desplazamientos químicos de <sup>1</sup>H del clorhidrato del éster metílico de L-prolina en diferentes disolventes. Temperatura ambiente.

nes de las constantes de acoplamiento del protón 1 con los dos protones diastereotópicos de la posición 2. Los valores se encuentran tabulados en la cuadro 7 y se presentan gráficamente en la figura 9.

Un aspecto importante de los espectros de protón del compuesto estudiado, en los diferentes disolventes, es el hecho de que en el caso de dimetilsulfóxido y la piridina, que son disolventes polares, los protones unidos a nitrógeno den una sola señal (a 9.80 y 9.16 ppm respectivamente) mientras que en el cloroformo, disolvente con carácter no polar, ambos protones, se encuentren separados en dos señales a 10.60 y 9.20 ppm. Esto puede atribuirse al hecho de que tanto el dimetilsulfóxido como la piridina pueden

| Carbono        | CDCl <sub>3</sub> | DMSO-d <sub>6</sub> |                    | Acetona-d <sub>6</sub> |                    | Piridina-d <sub>5</sub> |                    |
|----------------|-------------------|---------------------|--------------------|------------------------|--------------------|-------------------------|--------------------|
|                | $\delta^*$        | $\delta^*$          | $\Delta\delta^\pm$ | $\delta^*$             | $\Delta\delta^\pm$ | $\delta^*$              | $\Delta\delta^\pm$ |
| C <sub>1</sub> | 59.1              | 58.4                | -0.7               | 59.6                   | -0.5               | 59.2                    | 0.1                |
| C <sub>2</sub> | 28.5              | 27.6                | -0.9               | 29.0                   | 0.5                | 29.2                    | 0.7                |
| C <sub>3</sub> | 23.5              | 23.0                | -0.5               | 24.2                   | 0.7                | 24.0                    | 0.5                |
| C <sub>4</sub> | 45.7              | 45.2                | -0.5               | 46.2                   | 0.5                | 45.5                    | -0.2               |
| C <sub>5</sub> | 169.3             | 169.2               | -0.1               | 170.2                  | 0.9                | 170.5                   | 1.2                |
| C <sub>6</sub> | 53.3              | 53.0                | -0.3               | 53.4                   | 0.1                | 52.9                    | -0.4               |

\*  $\delta$  (ppm) $\pm \Delta\delta = \delta_{\text{disolvente}} - \delta_{\text{cloroformo}}$ **Cuadro 6.** Comparación de los desplazamientos químicos de <sup>13</sup>C del clorhidrato del éster metílico de L-prolina en diferentes disolventes. Temperatura ambiente.**Figura 9.** Señal doble de dobles del protón de la posición 1 en los diferentes disolventes empleados.

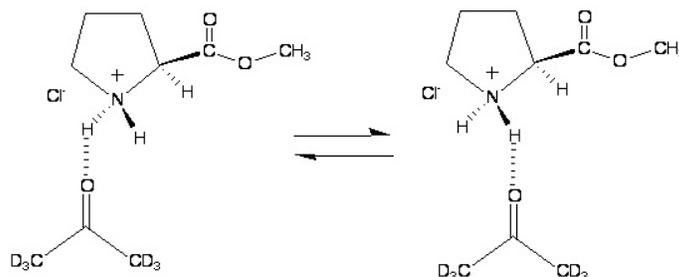
formar puentes de hidrógeno con estos protones, en un equilibrio rápido (figura 10) que rápidamente interconvierte a ambos protones y genera una sola señal, mientras que el carácter poco polar del cloroformo, impide la formación de puentes de hidrógeno, por lo que estos protones se encuentran fijos en su posición y pueden diferenciarse.

Debe recalarse que sólo en piridina se observan las seis señales de los protones diastereotópicos de los metilenos del ciclo bien separadas. Del análisis para este disolvente se encuentra que para un metileno del sistema de prolina, la señal en frecuencia alta es *cis* al protón 1 y la señal en frecuencia baja corresponde al protón en posición *trans* con respecto al mismo. En los demás disolventes, existe sobreposición de señales y aunque es posible la asignación de protones para cada carbono del sistema, no puede asignarse su posición relativa al protón 1.

Al comparar los desplazamientos químicos de protón en los diversos disolventes empleados para el estudio, puede observarse que existe un efecto ligero de la polaridad del disolvente sobre el valor de los desplazamientos químicos de los protones del sistema de prolina, en el caso de disolventes polares, existe una variación del desplazamiento químico ligeramente hacia frecuencias más bajas, como puede observarse en el caso del dimetilsulfóxido, donde existen variaciones en el desplazamiento químico de hasta 0.4 ppm. En el caso de piridina, las variaciones hacia frecuencias bajas pueden explicarse

| ${}^3J_H$           | Disolvente        |                     |                        |                         |
|---------------------|-------------------|---------------------|------------------------|-------------------------|
|                     | CDCl <sub>3</sub> | DMSO-d <sub>6</sub> | Acetona-d <sub>6</sub> | Piridina-d <sub>5</sub> |
| J <sub>1</sub> (Hz) | 8.5               | 8.5                 | 8.5                    | 9.0                     |
| J <sub>2</sub> (Hz) | 7.0               | 7.5                 | 7.5                    | 6.5                     |

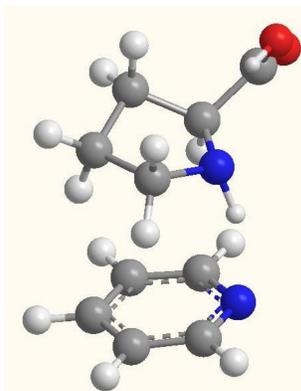
**Cuadro 7.** Variación de las constantes de acoplamiento del protón de la posición 1 con los dos protones diastereotópicos de la posición 2. Temperatura ambiente.



**Figura 10.**

además por efecto anisotrópico de protección del disolvente.

De hecho, para explicar las variaciones en el desplazamiento químico para el caso de piridina como disolvente, se propone la asociación de una molécula de piridina a través de puente de hidrógeno con la prolina, como se muestra en la figura 11, esta asociación es una fuente posible de interacciones para diferenciar el efecto anisotrópico preferencial sobre una de las caras del sistema de prolina.



**Figura 11.**

En el caso de la espectroscopía de  ${}^{13}\text{C}$ , se observan también efectos de variación en el desplazamiento químico de los diferentes carbonos, en DMSO, este efecto es hacia frecuencias más bajas, mientras que en piridina y acetona el efecto es hacia un desplazamiento hacia frecuencias más altas.

La variación encontrada en las constantes de acoplamiento de la señal doble de dobles

del protón 1 es sumamente importante. Para el caso del sistema anular de L-prolina, el acoplamiento más fuerte se presenta con el protón *cis*, mientras que el menos intenso se realiza con el protón *trans* [8]. Lo anterior puede explicarse en virtud de que el ángulo diedro entre los protones *cis* es pequeño, mientras que con el protón *trans* se acerca a un valor de  $90^\circ$  que implica un mínimo en el valor de la constante de acoplamiento de acuerdo con la ecuación de Karplus o sus versiones modificadas [9].

Con ello, puede deducirse que existen cambios importantes en la conformación del sistema anular de prolina por efecto del disolvente, de tal suerte que en piridina los carbonos 1 y 2 se encuentran más cercanos al plano (dentro del promedio de conformaciones posibles), puesto que en dicho disolvente se observan los valores máximo y mínimo de las constantes de acoplamiento del protón con los protones diasterotópicos de la posición 2.

### 3. Conclusiones

Se observaron variaciones importantes, en el espectro de RMN de  $^1\text{H}$  del clorhidrato del éster metílico de L-prolina por efecto del disolvente. De esta forma, la piridina resultó ser el mejor medio para poder asignar de manera inequívoca a los seis protones diasterotópicos de los metilenos del anillo. Al mismo tiempo este disolvente provoca efectos de protección anisotrópica sobre los protones de prolina, que induce un cambio en los desplazamientos químicos de protón hacia frecuencias más bajas.

Los cambios en las constantes de acoplamiento del protón 1 con los protones de la posición 2, sugieren variaciones sustanciales en la conformación del anillo de prolina por efectos de disolvente.

Se lograron condiciones que permiten la exploración de la conformación del sistema cíclico de prolina, resolviendo problemas de sobreposición espectral que normalmente dificultan la interpretación.

Las variaciones de desplazamiento químico y constantes de acoplamiento de prolina, en función del disolvente, muestran la utilidad de este sistema anular para conocer la conducta conformacional de sistemas más complejos.

Igualmente, los datos obtenidos se suman a los descritos en la literatura y que son importantes para explicar las variaciones en la estructura tridimensional de macroestructuras donde interviene el aminoácido L-prolina.

### Apéndice Sección experimental

El clorhidrato del éster metílico de L-prolina (Aldrich) se sometió a experimentos de resonancia magnética nuclear unidimensionales y de correlación homo y heteronuclear, en diferentes disolventes. Utilizando un espectrómetro Varian modelo Unity II de 500 MHz con sonda de detección inversa, acoplado a una estación de trabajo Sun. Los experimentos efectuados se resumen en el cuadro 8. Todos los experimentos se efectuaron en temperatura ambiente.

El clorhidrato del éster metílico de L-prolina (25 mg) se disolvió en 0.7 mL del disolvente correspondiente. Los desplazamientos químicos son mostrados tomando como referencia la señal del tetrametilsilano (TMS) a 0.00 ppm. Los parámetros de los experimentos de correlación homonuclear empleados se resumen en el cuadro 9.

| DISOLVENTE                             | EXPERIMENTOS  |
|--|---|
| Dimetilsulfóxido-d <sub>6</sub> (DMSO) | <sup>1</sup> H, COSY, <sup>13</sup> C, HMQC             |
| Acetona-d <sub>6</sub>                 | <sup>1</sup> H, COSY, <sup>13</sup> C, HMQC             |
| Cloroformo-d (CDCl <sub>3</sub> )      | <sup>1</sup> H, COSY, <sup>13</sup> C, HMQC, HMBC       |
| Piridina-d <sub>5</sub>                | <sup>1</sup> H, COSY, HMBC, <sup>13</sup> C, HMQC, HMBC |

**Cuadro 8.** Resumen de experimentos de RMN efectuados al clorhidrato del éster metílico de L-prolina.

| Parameters  | COSY   | NOESY  |
|---|--------|--------|
| Tiempo de adquisición (at)                                | 0.331  | 0.165  |
| Número de puntos (np)                                     | 2048   | 1024   |
| Ventana espectral (sw)                                    | 3097.2 | 3097.2 |
| Ancho del pulso (pw)                                      | 9.7    | 9.7    |
| ¿tiempo de mezclado? Mix                                  |        | 1.000  |
| Número de transientes (nt)                                | 16     | 16     |
| Ventana espectral para la adquisición bidimensional (sw1) | 3097.2 | 3097.2 |
| Ni  | 128    | 128    |
| Procesamiento sb1   | 0.021  |        |
| Procesamiento gf1   |        | 0.041  |

**Cuadro 9.** Resumen de parámetros empleados en los experimentos de RMN.

### Referencias

- [1] Williams, K.; Deber, Ch. *Biochemistry*, **1991**, *30*, 8919 – 8923.
- [2] Williamson, M. *Biochem. J.* **1994**, *297*, 249 – 260.
- [3] Bernotas, R.; S. Sabol, C. J.; Sing, L.; Friedrich, D. *Synlett.* **1999**, *5*, 653 – 655. Remuzon, P. *Tetrahedron.* **1996**, *52*, 13803 – 13835.
- [4] Gibson, C. L. *Tetrahedron Assym.* **1999**, *10*, 1551 – 1561. Shan, S.; Xiong, Y.; Zhao, D. *Tetrahedron.* **1999**, *55*, 3893 – 3896.
- [5] Milne, P.; Oliver, D.; Vanrooyen, P.; Roos, H. *J. Chem. Crystall.* **1997**, *27*, 167 – 175.
- [6] Derrick, T.; Larive, C. K. *Appl. Spectroscop.* **1999**, *53*, 1595 – 1600. Pogliani, L.; Ellenberger, M. *Org. Mag. Res.* **1975**, *7*, 61 – 71.
- [7] Tsunematsu, H.; Hanazono, H.; Horie, K.; Fukuda, T.; Yamamoto, M. *Org. Mass. Spectr.* **1994**, *29*, 197- 200.
- [8] De Tar, D.; Luthra, N. *J. Am. Chem Soc.* **1977**, *99*, 1232 – 1243
- [9] Karplus, M., *J. Am. Chem. Soc.* **1963**, *85*, 2870 – 2871.