

EXPERIMENTOS $^1\text{H}/^{19}\text{F}$ EN EL INOVA 300

Debido a la proximidad de las frecuencias de resonancia de ^{19}F y ^1H y a la configuración del equipo, los experimentos de desacoplamiento de uno u otro núcleo observando el restante no siempre pueden efectuarse del modo habitual (desacoplamiento homonuclear o heteronuclear). La utilización de una secuencia específica como la `homoband_da` simplifica la situación ya que permite la utilización del mismo canal, alternándose el muestreo de la adquisición con el funcionamiento del desacoplador.

Experimentos de ^{19}F con desacoplamiento de protón.

En función de las características del compuesto debe optarse por un desacoplamiento selectivo o bien de banda ancha (desacoplamiento de todas las frecuencias de protón).

Desacoplamiento ^1H selectivo

En el **Inova300**, el experimento puede realizarse con la secuencia `s2pul`, con solo ajustar las condiciones de desacoplador a ^1H . En la **Figura 1a** se muestra un ejemplo correspondiente a la irradiación (**cw**) del protón del 1,4-dibromo-2,5-difluorobenceno. Esta opción es válida en el caso de que sólo un protón acople con el ^{19}F o bien que quieran diferenciarse los distintos acoplamientos $^1\text{H}-^{19}\text{F}$, ya que el rango de desacoplamiento es muy limitado. En la **Figura 1b**, puede verse el efecto que produce la variación de la posición de desacoplamiento (incrementos de 5Hz). El rango efectivo es de unos 10 Hz y la anchura de la zona afectada de 20 Hz a cada lado de la señal. Si la posición o la potencia no son las adecuadas puede observarse una cierta multiplicidad residual en la señal.

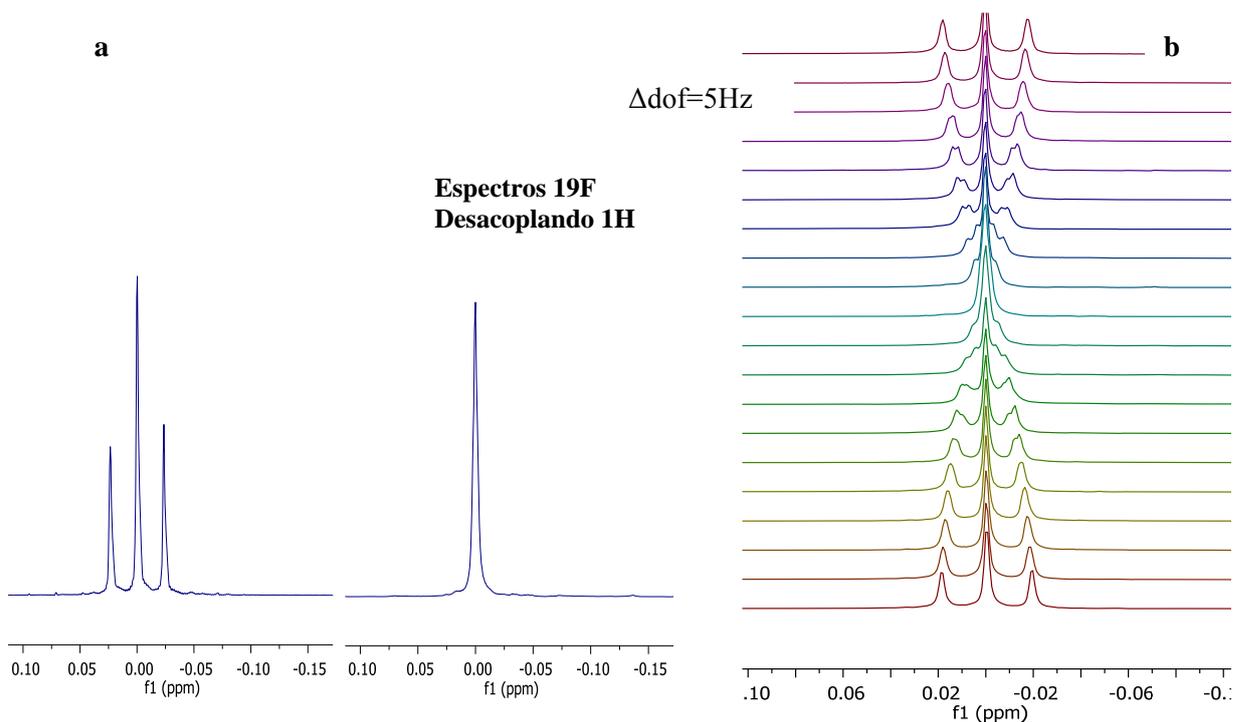
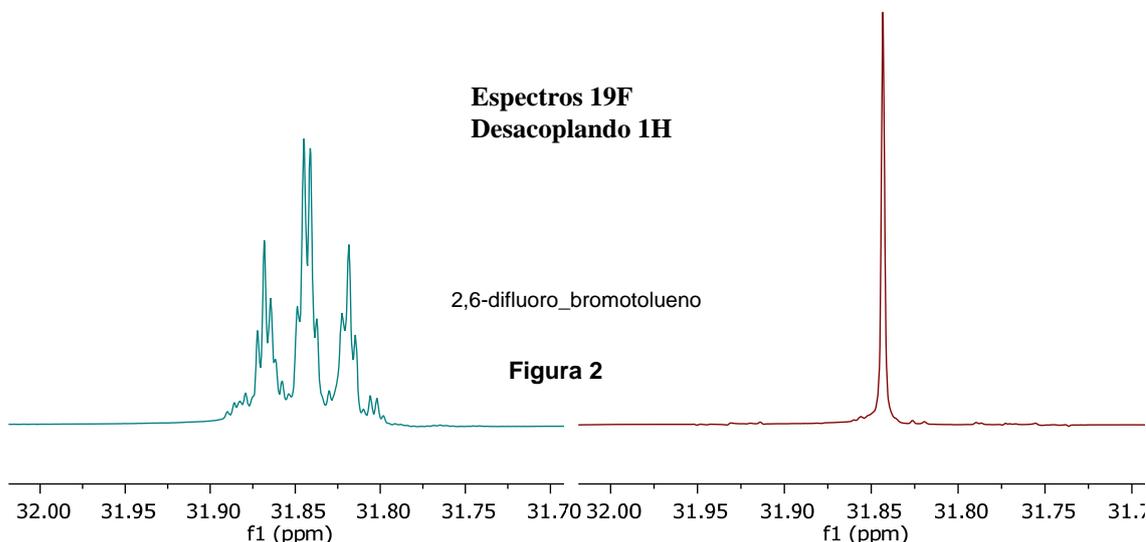


Figura-1

Este experimento se realiza de un modo similar al de los clásicos espectros de desacoplamiento homonuclear $^1\text{H}-^1\text{H}$. En este caso la posición del desacoplador debe fijarse con la ayuda de un espectro de protón y pasar los datos a las condiciones del espectro de ^{19}F .

Desacoplamiento ^1H banda ancha

En la mayoría de las situaciones es más conveniente utilizar un desacoplamiento de banda ancha para eliminar eficazmente todos los acoplamientos ^1H - ^{19}F , incluso a larga distancia. En este caso, la secuencia que debe utilizarse es la *homoband_da*. En la **Figura 2** se muestran los espectros de flúor del 2,6-difluoro-bromotolueno (sin y desacoplamiento). Con el Pbox se ha construido un modulo de desacoplamiento de banda ancha, que permite desacoplar totalmente los protones en un rango de casi 8 ppm.



En la **Figura-3** se muestra el perfil de desacoplamiento obtenido utilizando el modulo **H1dec_bcn1** con una potencia de **31 dB**. Como puede observarse la efectividad es más que suficiente para la ventana espectral Standard en ^1H en el equipo de 300 MHz a una potencia no muy elevada.

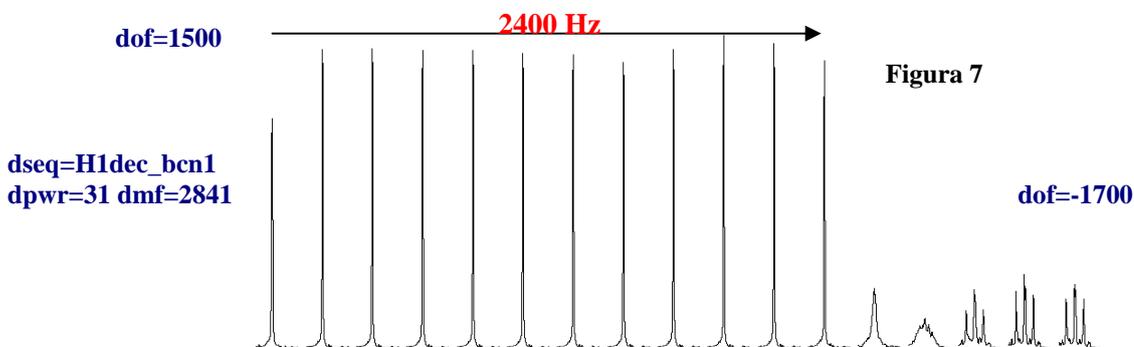


Figura 3

Construcción del módulo de desacoplamiento de ^1H BB.

En el Inova 300 el modulo de desacoplamiento se ha construido tomando como base la opción de CAWURST-40 y mediante los macros del Pandora Box en el VNMR 6.1C. La opción de construir el pulso con forma utilizando el sistema de menús del VNMR6.1C no ha dado resultados satisfactorios, debido a que no se pueden incorporar todas las opciones necesarias y utilizar el CAWURST-40. En la librería del menú sólo se encuentra en CAWURST (homodecoupling) o bien el WURST (decoupling).

```

opx('H1_bcn1.DEC')
setwave('CAWURST-40 3100/0.02')  → Crear la onda con las condiciones siguientes bw/pw, etc
pbox_rst                          → Abrir el programa de PBox
pboxpar('dcyc',0.2)
pboxpar('ref_pw90',9.8)
pboxpar('ref_pwr',53)             → Introducir parámetros
cpx                                → Cerrar programa
dshapef                          → Mostrar en la pantalla la onda creada
  
```

Experimentos de protón con desacoplamiento de ¹⁹F

La irradiación de uno o de todos los ¹⁹F presentes en el compuesto permite la simplificación del espectro de protón y/o la identificación de las posiciones de los ¹⁹F. Para ello son posibles dos alternativas:

Desacoplamiento ¹⁹F selectivo

En este caso no es posible la utilización de la secuencia **s2pul** y debe recurrirse a la **homoband_da**. De este modo el desacoplamiento ¹⁹F se efectúa con un pulso con forma de 1 ms longitud y una banda de aplicación de 250 Hz, (con 5ms el valor de bw será de 50 Hz).

En la **Figura-4** el espectro **a** corresponde al experimento de ¹H desacoplado en ¹⁹F (simplificación de los multipletes al quedar sólo los acoplamientos 1H-1H.). En el espectro **b** (dm=nnn) el desacoplador no actúa, observándose los acoplamientos de ¹H ¹⁹F. En **a** la señal del protón de la posición 4 de núcleo bencénico presenta una ligera distorsión en la intensidad de una de las líneas, probablemente debido falta de efectividad del desacoplamiento.

El modulo de desacoplamiento se ha construido con la ayuda del programa **Pbox**, utilizando la opción de desacoplamiento homonuclear y tomando como base una onda tipo **square** (opción de otras formas)

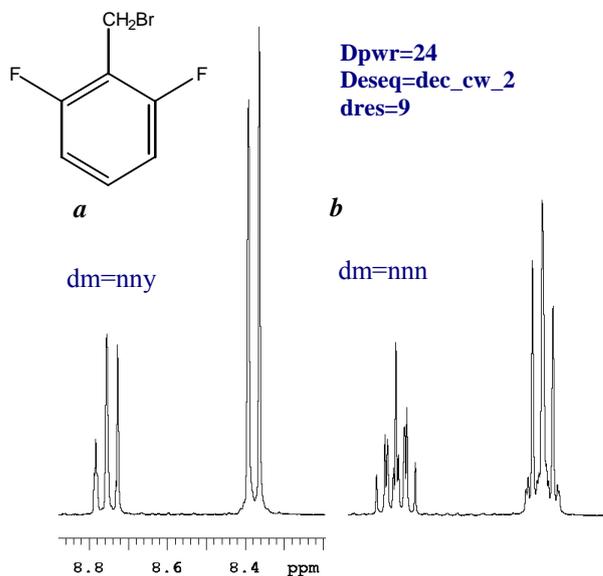


Figura 4

Generación de un pulso de desacoplador en onda continúa

Pbox → **Homodec** → **Options** {offset=0, pw=0.001} → **Other** {square}
 → **Name**{cwdecF19_bcn} → **Close** → (ref_pw90, ref_pwr)

Para construir este pulso es necesario conocer e introducir los valores de referencia del pulso de 90 de ¹⁹F

Información del pulso creado y utilizado en el exp anterior

```
# Pbox 1000.00 24 4095 9.0 2000 1.0000 0.26415 1
# VJ1.1C pw (us) pwr pwrf dres dmf dcyc B1max (kHz) Stype
# -----
# Pxsim 0.0010000 250.0000 0.000 6000.0 0.0000000 0.0000000 0.00
# data: pw (s) B1max (Hz) status sw (Hz) T1 (s) T2 (s) RDC (Hz)
# -----
# Pbox.inp data :
# -----Waves-----
# shape bw(/pw) ofs st ph fla trev d1 d2 d0 wrp php
# -----
# { square 1000.0 }
```

En este caso se ha optado por un pulso más corto, que proporciona una mayor zona de afectación (250 Hz) ya que sólo había una señal de ¹⁹F y se quería asegurar la máxima efectividad. En otros compuestos puede ser conveniente ajustar utilizar valores menores para asegurar la selectividad.

Desacoplamiento ^{19}F de banda ancha.

En ocasiones el desacoplamiento selectivo de ^{19}F en onda continua, puede no ser suficiente, en especial si hay varias señales de ^{19}F que pueden tener diferencias de desplazamiento químico de hasta 40.000 Hz. La alternativa es utilizar un sistema de desacoplamiento mucho más eficaz utilizando pulsos adiabáticos, construidos tomando como base formas como **wurst** o **Iburn**, etc. En la **Figura-5** se muestra el resultado obtenido al efectuar el desacoplamiento de ^{19}F con pulsos adiabáticos tipo **wurst**. Con ello se pueden obtener anchuras de desacoplamiento eficaz de más de **30000** Hz. En el espectro desacoplado (inferior) se puede ver que la forma del triplete del protón de la posición 4 es la adecuada.

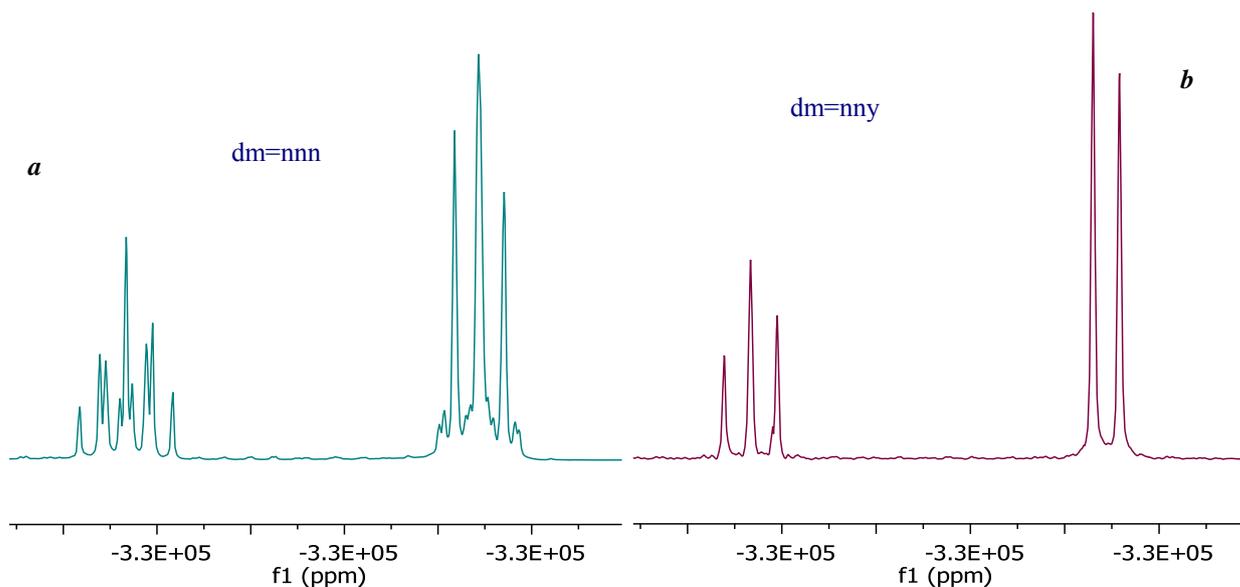


Figura 5

Generación de la onda del desacoplador en BB.

El pulso se ha construido utilizando los comandos del Pbox en el VNMR 6C, ya que permite una mayor flexibilidad y reproducir el pulso que se tenía como modelo.

```

opx('Fdec_2.DEC')
setwave('CAWURST-40 34307/0.02')
pbox_rst
pboxpar('deyc',0.2)
pboxpar('stepsize',2500)
pboxpar('sw',40000)
pboxpar('ref_pw90',15)
pboxpar('ref_pwr',60)
cpx
dshapef

```

→ Crear la onda con las condiciones siguientes bw/pw, etc
 → Abrir el programa de PBox
 → Introducir parámetros
 → Cerrar programa
 → Mostrar en la pantalla la onda creada

Para el desacoplador en banda ancha el esquema de la onda es :

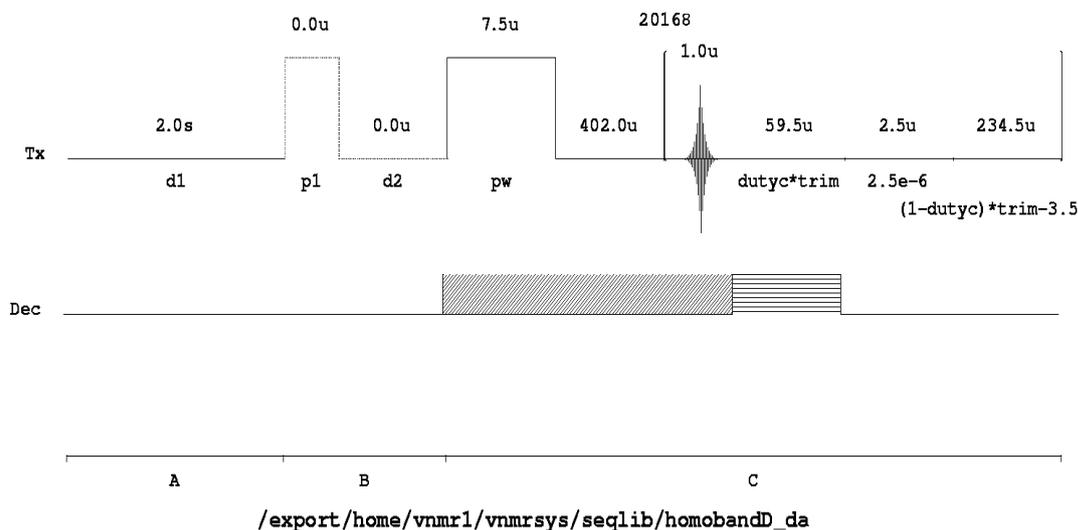
```
# Pbox 100000.00 42 4095 9.0 10000
0.2000 2.09821 6
# VJ1.1C pw (us) pwr pwrfl dres dmf
dcyc Blmax (kHz) Stype
# -----
# Pxsim 0.1000000 413.3910 0.000
90000.0 0.0000000 0.0000000 0.00
# data: pw (s) Blmax (Hz) status sw
(Hz) T1 (s) T2 (s) RDC (Hz)
# -----
# Pbox.inp data :
# ~~~~~Waves~~~~
# shape bw(/pw) ofs st ph fla
trev dl d2 d0 wrp php
# ~~~~~
# { CAWURST-40 15000.0/0.02 }
#
# type= d mod = n dres =n
# steps=n stepsize=n attn= i
# refofs= n wrap= n sfrq = n
# sucyc= d reps= 2 header= y

# bscor= n ad1=n ad2 =n
# bsim=n T1= n T2=n
# rdc= n dcyc=0.200000 sw= n
#
# RF Calibration Data : ref_pwr = 60
ref_pw90 = 15.00
# ~~~~~
###
# ----- Shape data --
# pwtot = 0.1000000 (total pw, s)
# power = 42 (power level, dB)
# pwrfl = 4095 (fine power)
# Blmax = 2.0982 (Blmax, kHz)
# duty cycle = 0.200
# dres = 9.0 deg
# dmf = 10000
# nptot = 10000 (total number of steps)
# stepsize = 10.00 (length of a
single step, us)
# maxamp = 1008.7 (max amplitude)
```

El parámetro de dutycles lo toma de la secuencia y es igual a 0.02

SECUENCIA HOMOBAND_DA

La secuencia homobandD_da, permite desacoplar fluor o protón durante la adquisición del otro núcleo. Debido a la similitud de frecuencias y a la configuración del equipo, el desacoplamiento debe efectuarse por el mismo canal, alternándose el muestreo de la adquisición con el funcionamiento del desacoplador.

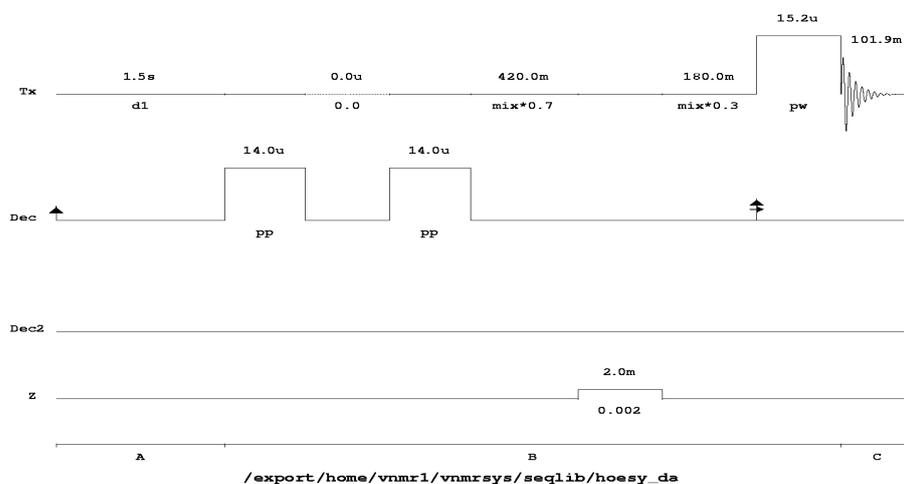


Parámetros principales de la secuencia homoband_da

```

/* homobandD_da - pulse sequence for bandselective homo decoupling
   during acquisition using the DECOUPLER channel
   standard two-pulse sequence with optional solvent presaturation
Parameters:
   satmode= 'y' : obs xmtr saturation at satfrq with power satpwr
               (use like dm, i.e. satmode='yyn' or 'ynn')
   satdly = presat time (part of d1)
   sspul = 'y' does trim(x)trim(y) to destroy all magnetization
   dm = 'nny' for decoupling 'nnn' for normal spectra
   dmm = 'c' (the modulation is set inside the sequence!)
   homo = 'n' (gating is done explicitly by the sequence)
   dutyc = dutycycle for homo decoupling (use 0.2)
   dpwr = power level for decoupling
   dseq = decupler pattern for banselective decoupling
           must exist as a .DEC file
           may be a phase shifted "SLP"-type file for off-res
           decoupling but may be an "on resonance" file
           when the center frequency is defined by dof
           use I-BURP1, I-BURP2, Q3 or G3 shapes and a +++- phase cycle
           create it by the Pbox program (available in userlib)
   dres = flip angle resolution for the programmed decoupler
           must be set to the same value as defined in the
           Pbox.inp file (the actual value is irrelevant)
           use a value between 1 and 90.
   dmf = dec modulation frequency (in other words it defines
           the lenght of a single step in decoupling scheme
           use the value given by the Pbox output info.
   the sequence requires Unity+ hardware plus a PPM module in the DECOUPLER channel
  
```

Experimento hoesy Noe 2D 1H -19F



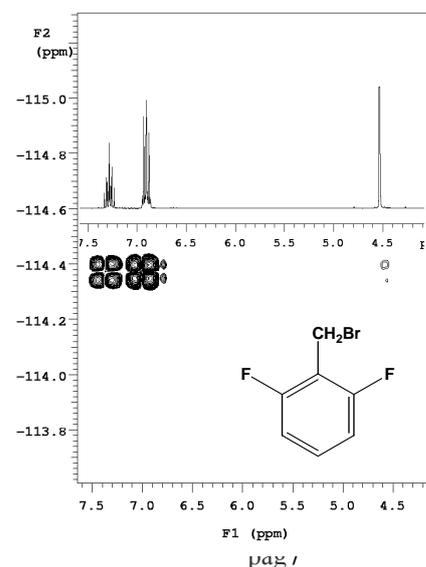
HOESY_DA

1. Adquirir un espectro de ^1H previo para ajustar la ganancia y seleccionar la ventana espectral (exp2).
2. Adquirir un nuevo espectro ^1H con condiciones ajustadas. Referenciar y ajustar la fase
3. En otro experimento (exp3) adquirir un espectro de ^{19}F . Ajustar la ventana espectral, dejando cierto margen en los dos extremos (200-300 Hz). Volver a adquirir el espectro con las nuevas condiciones, reverenciarlo y ajustar la fase
4. Copiar las condiciones de ^{19}F a un nuevo experimento mp(3,4), jexp4. En este nuevo experimento ejecutar el macro hoesy_da El macro pregunta donde está el experimento con las condiciones de protón. En este caso sería el 2.
5. Comprobar que las condiciones son correctas
 - gradtype='nnl'
 - sw (valor obtenido del espectro de ^{19}F)
 - tof (el valor obtenido en el espectro de ^{19}F)
 - d1=2-4 (1-3*T1)
 - sw1 (valor obtenido en el espectro de ^1H)
 - ni=64-128 (sw1/6 ?)

El experimento debe efectuarse con el giro del tubo parado, ajustar el valor de lockpower y lockgain, de modo que el lock no se pierda durante la realización del experimento

Procesado

El procesado se efectúa del mismo modo que el resto de los experimentos 2D sensibles a la fase. Previamente deben ajustarse o comprobarse las funciones de procesado. Es conveniente aplicar



la predicción lineal en la dimensión F1 y utilizar tiempos de adquisición acordes con la ventana espectral del 1