

Historias de la RMN

Jorge Santoro

7. El acoplamiento escalar

En el laboratorio de Felix Bloch se emprendió a finales de la década de los 40 del siglo pasado una determinación exhaustiva de los momentos magnéticos nucleares. Durante los trabajos que llevaban a cabo Warren G. Proctor y Fu Chun Yu en ese sentido, después de descubrir el desplazamiento químico, se encontraron con otra sorpresa. El espectro del antimonio en el compuesto NaSbF_6 en lugar de consistir en una única señal de resonancia poseía estructura, compuesta según los autores por cinco líneas de distinta intensidad (1). La estructura aparecía tanto para el isótopo ^{121}Sb como para el isótopo ^{123}Sb . Los autores atribuyeron ese desdoblamiento al acoplamiento dipolar con los espines del flúor, que por algún motivo en este caso no se promediaba a cero, tal y como era la norma en el caso de líquidos y disoluciones. Poco después Edward Raymond Andrew, que ya reconocía la existencia de siete líneas en el multiplete, hacía un análisis teórico (2) en el que suponía que la reorientación molecular se producía fundamentalmente alrededor de un único eje de simetría de orden cuatro. Proponía que esto se debía a la asociación del compuesto en largas cadenas, más o menos lineales, mediadas por el ácido fluorhídrico que habían usado Proctor y Yu en su muestra. Al tratarse de una reorientación anisótropa el acoplamiento dipolar no se promediaría a cero.

Herbert Gutowsky y David McCall mientras colectaban datos de desplazamientos químicos también habían observado desdoblamientos de señales. Al medir la resonancia de flúor del PF_3 , compuesto que habían sintetizado en su laboratorio, aparecieron dos líneas próximas de intensidad similar. Pensando que se trataba de una impureza repurificaron la muestra. Las dos líneas persistieron. Se intentó entonces con otra vía de síntesis y el resultado fue equivalente. Al medir la resonancia de flúor en PF_5 se obtuvieron también dos líneas próximas. Una explicación posible era que los tres núcleos de flúor ecuatoriales de la estructura bipiramidal trigonal tuvieran un desplazamiento químico diferente del de los dos apicales. Sin embargo, las dos líneas observadas tenían muy aproximadamente la misma intensidad. Durante meses ambos resultados permanecieron sin explicación. Cuando la resonancia de ^{31}P de POCl_2F también mostró un doblete, Gutowsky llegó a la conclusión de que se trataba de una interacción entre espines. En el caso del flúor el desdoblamiento se debía a los dos posibles estados del espín del fósforo, y en el caso del fósforo a los dos estados de espín del flúor. La confirmación la dio el espectro de fósforo del Me_3OPF_2 , un triplete 1:2:1 originado por los dos espines del flúor, cuyo momento angular de espín total puede ser +1 ($\alpha\alpha$), 0 ($\alpha\beta$ y $\beta\alpha$) o -1 ($\beta\beta$). En la publicación correspondiente (3) Gutowsky atribuía el desdoblamiento a una restricción apreciable de la rotación molecular: *In liquids, molecular rotation ordinarily produces a zero time average for the local fields and single, narrow lines result. The appearance of multiple nuclear magnetic resonance lines in particular liquids suggests an appreciable restriction of molecular rotation in the liquid state.* Es decir, al igual que Proctor y Yu, adjudicaba el origen del desdoblamiento al acoplamiento dipolar, que no se promediaba a cero. También incluía fórmulas para el número de componentes, $2nI + 1$ para el desdoblamiento producido por n núcleos de espín I idénticos, y para las intensidades relativas de estos, los coeficientes de desarrollo del binomio. Mientras que la primera fórmula es correcta, la segunda tan solo se cumple en el caso de núcleos con $I = 1/2$. En el caso general la fórmula apropiada corresponde a los coeficientes de

desarrollo del polinomio $(1 + x + x^2 + \dots + x^{2l})^n$. El término $a_m x^m$ del desarrollo corresponde a una línea del multiplete de intensidad relativa a_m , separada del centro en $(m-n) \cdot J$.

Paralelamente a la investigación de Gutowsky, James Arnold y Martin Packard habían observado desdoblamientos en el espectro de protón del etanol (4). Presentado este resultado en una reunión de la *American Physical Society*, durante la discusión posterior se había sugerido como posibles mecanismos la rotación restringida o la existencia de una interacción dipolar de segundo orden. Gutowsky analizó ambas posibilidades, descartándolas (5). En su lugar propuso una interacción de segundo orden entre los momentos magnéticos nucleares y algún campo magnético interno de la molécula. Apuntaba, acertadamente, que el acoplamiento probablemente se producía a través de los electrones y proponía que la interacción era de la forma $A \mu_1 \cdot \mu_2$, siendo A una constante independiente del campo magnético externo.

Como había predicho Bloch (6), el fenómeno de la inducción nuclear, tal y como lo denominaba él, podía originarse mediante la excitación con un pulso intenso de radiofrecuencia, es decir, sin necesidad de resonancia. En este caso se trata de observar una precesión libre de la magnetización y en el de onda continua (resonancia) de una precesión forzada. Erwin Hahn había demostrado experimentalmente la existencia del comportamiento predicho (7). Posteriormente, utilizando la técnica de pulsos había descubierto el fenómeno de los ecos de espín (8). En su investigación sobre ellos había observado ciertos batidos en los ecos que no había conseguido explicar de modo satisfactorio. Cuando conoció que en los espectros de onda continua se habían observado desdoblamientos de señales le resultó evidente que el origen de los batidos en los ecos se debía al mismo fenómeno. Está claro que a partir de esto Hahn y Gutowsky intercambiaron algunas ideas e información sobre el tema. El resultado fueron dos notas que se publicaron en *Physical Review*, una al lado de la otra. En la debida a Gutowsky (9) se mostraba que los ecos de espín de IF_5 y BrF_5 , cuyos espectros de ^{19}F presentan señales con desdoblamiento, exhibían los batidos descritos por Hahn. Suponiendo que la interacción entre espines se puede considerar proporcional a $I_{1z}I_{2z}$ se explicaban las características observadas en el eco. Hahn en su nota (10) discutía las posibles modulaciones de la envolvente del eco: una, debida a la diferencia en desplazamiento químico entre dos grupos de espines no equivalentes; la otra, a la que denominaba J, aparecía en aquellas moléculas en las que los núcleos con espín son vecinos suficientemente cercanos. Partiendo de un hamiltoniano para un sistema de dos espines, que además de los términos Zeeman incluía un término $J \cdot (\sigma_{1x}\sigma_{2x} + \sigma_{1y}\sigma_{2y} + \sigma_{1z}\sigma_{2z})$, donde σ_1 y σ_2 son las matrices de Pauli, calculaba los niveles de energía. En general, en el caso de dos espines 1/2 debían aparecer en el espectro dos dobletes con la misma separación. El cálculo de la forma del eco en esas condiciones coincidía con el observado experimentalmente. Para el caso en que la separación entre desplazamientos químicos es nula el desdoblamiento J debía desaparecer, lo que estaba de acuerdo con el hecho de que no se observaran desdoblamientos en el caso de dos núcleos equivalentes (5).

El término adicional del hamiltoniano que utilizaban tanto Gutowsky como Hahn reproducía los hechos experimentales. Sin embargo, su origen permanecía oscuro. Al igual que en el caso del desplazamiento químico fue Norman Ramsey quien, a partir de consideraciones mecanocuánticas, encontró explicación al fenómeno (11,12). Las interacciones magnéticas modifican ligeramente la energía electrónica. Considerando una perturbación de segundo orden, la contribución de cada pareja de espines nucleares a la energía es de la forma

$$\Delta E_{AB} = M_A^t K_{AB} M_B$$

donde M_A y M_B son los momentos magnéticos de los espines A y B, respectivamente, y K_{AB} es un tensor. Puesto que $M = \gamma \hbar$, el tensor de acoplamiento escalar, en unidades de frecuencia, es

$$J_{AB} = \gamma_A \gamma_B K_{AB} \hbar / 2\pi$$

y la constante de acoplamiento en el caso de gases, líquidos o disoluciones un tercio de la traza del tensor J_{AB} . La derivación de Ramsey de la expresión de K_{AB} indicó que existen varias contribuciones. Una es debida a la interacción con las partículas cargadas (electrones) que se mueven en el potencial del momento magnético nuclear. Se la suele denominar espín-órbita y contiene contribuciones diamagnéticas y paramagnéticas. Otra es debida a la interacción dipolar entre el espín nuclear y el electrónico. También hay en este caso dos contribuciones: la interacción a distancia, espín-dipolar, y la interacción en el núcleo, a distancia cero, conocida como de contacto de Fermi. De estas cuatro contribuciones la más importante suele ser la de contacto de Fermi, que es proporcional al carácter s de los enlaces (sólo los electrones s tienen probabilidad no nula de "encontrarse" en el núcleo). No sólo el cálculo de estas contribuciones, que estrictamente requeriría el conocimiento de todos los estados excitados, es complejo, sino que también su comprensión resultaba difícil. La situación en cuanto a la comprensión del origen del acoplamiento se vio facilitada posteriormente por la explicación en términos del modelo vectorial de Dirac realizada por Harden McConnell (13).

Establecido por Ramsey el origen del acoplamiento escalar, Hahn publicó un extenso artículo en el que trataba diversos aspectos en relación con las medidas de ecos de espín (14). De las conclusiones a las que llegaba conviene resaltar las siguientes. Cuando δ_{AB} , la separación en frecuencia entre las resonancias de los dos núcleos acoplados, es mucho mayor que J_{AB} , el acoplamiento escalar, se siguen las reglas dadas por Gutowsky. Sin embargo, si $\delta_{AB} \approx J_{AB}$ esas reglas no se cumplen. En esos casos es necesario recurrir a la determinación de los valores propios (niveles de energía) y vectores propios del operador hamiltoniano para explicar la frecuencia e intensidad de las líneas espectrales. Hahn presentaba este cálculo para el caso de dos espines 1/2 acoplados, sistema AB, y un caso de tres espines con dos de ellos idénticos, sistema AB₂. Con los resultados del sistema AB₂ justificaba sus observaciones experimentales de ecos en el caso del CHCl₂-CH₂Cl. Una segunda aportación importante se refiere al caso de equilibrio químico entre estados. En el caso de intercambio rápido los valores de desplazamiento químico y de acoplamiento escalar se promedian. Hahn justificaba con ello que el desplazamiento químico y el acoplamiento escalar aparecieran promediados sobre todos los isómeros rotacionales posibles en los casos de compuestos tipo etilo que se habían investigado. Una última observación importante se refiere a la influencia de la relajación sobre el acoplamiento escalar. Mostró que si la relajación de un núcleo es muy rápida los acoplamientos escalares con él desaparecen. Justificó con eso que en algunos de los compuestos estudiados que contienen cloro no se observaran efectos del acoplamiento escalar con este núcleo, cuyos dos isótopos poseen espín, pero presentan una relajación muy rápida debido al momento cuadrupolar eléctrico. Un ejemplo paradigmático, al que estamos acostumbrados en la actualidad, es el del espectro de protón del cloroformo. A pesar de la presencia de los tres cloros la señal de protón es un singlete.

También Gutowsky publicó un artículo (15) refiriendo las características del acoplamiento escalar. A diferencia del artículo de Hahn, Gutowsky hacía hincapié, en lugar de en la forma del eco,

en la apariencia del espectro. Sus conclusiones eran muy similares a las de Hahn, algo que resaltaba en el artículo: *Many of the conclusions reported in this paper concerning the nature of the nuclear interactions have been reached independently by Hahn and Maxwell. Although there has been considerable duplication of thinking, we feel that the independent and originally unrelated approaches have led to a deeper understanding of the phenomena.* Gutowsky además comprobó experimentalmente que la magnitud del acoplamiento, tal y como se esperaba, era independiente del campo magnético y de la temperatura. Intentó además encontrar correlaciones entre el acoplamiento escalar y el desplazamiento químico, puesto que ambos fenómenos están relacionados con la distribución electrónica.

A pesar de las dificultades que presentaba el cálculo teórico de los acoplamientos escalares a finales de la década de 1950 se realizaron varios intentos. Especialmente exitosos fueron los debidos a Martin Karplus. Utilizando la teoría del enlace de valencia calculó primero el acoplamiento geminal en el metano (16). El valor que obtuvo, +12,5 Hz, concordaba extraordinariamente bien con el deducido a partir del acoplamiento ^1H - ^2H determinado experimentalmente en CH_3D . En una segunda publicación (17) calculó el valor del acoplamiento vecinal protón-protón en fragmentos H-C-C-H en función del ángulo diedro, así como el valor de acoplamientos vecinales ^1H - ^1H , ^1H - ^{19}F y ^{19}F - ^{19}F en etanos, etilenos y fluoroetilenos. En el primer caso, $^3J_{\text{HH}}$, obtuvo una dependencia de la constante de acoplamiento con el ángulo diedro, ϕ , que se podía describir con dos ramas: $8,5 \cos^2\phi - 0,28$ Hz para $0^\circ \leq |\phi| \leq 90^\circ$ y $9,5 \cos^2\phi - 0,28$ Hz para $90^\circ \leq |\phi| \leq 180^\circ$. Este resultado mostraba una buena concordancia con los valores obtenidos experimentalmente por Raymond Lemieux en carbohidratos acetilados (18) en los que el acoplamiento axial-axial ($\phi = 180^\circ$) es unas tres veces mayor que el axial-ecuatorial o el ecuatorial-ecuatorial ($\phi = \pm 60^\circ$). También coincidía aceptablemente con el valor obtenido en etanos sustituidos considerando que el acoplamiento observado es el promedio del correspondiente a los tres rotámeros ($\phi = -60^\circ$, $\phi = 60^\circ$ y $\phi = 180^\circ$).

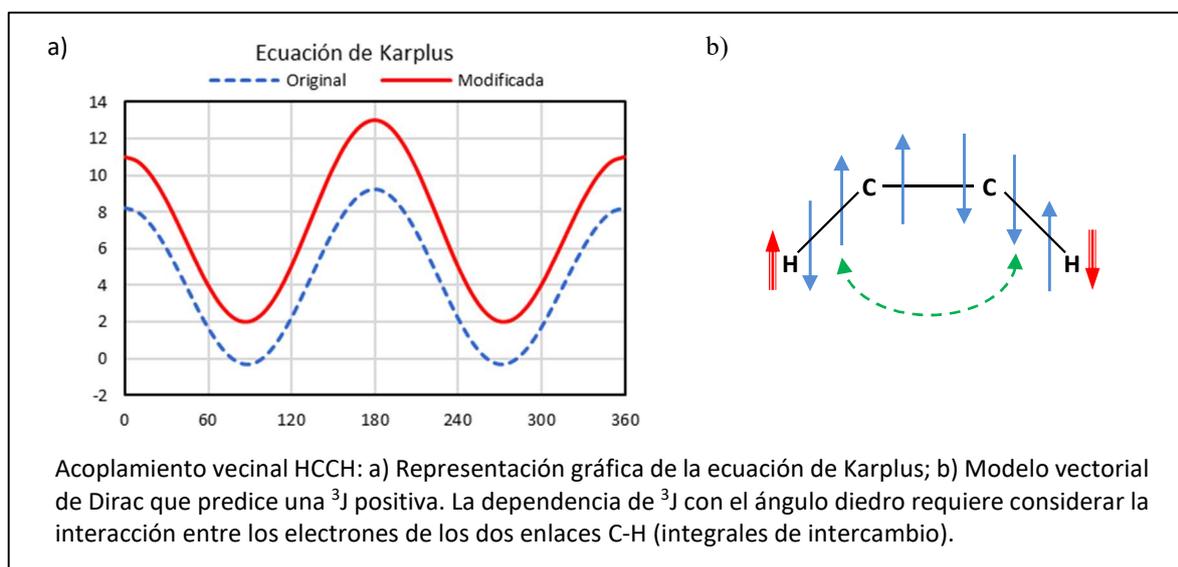
El análisis de diversos espectros demostró experimentalmente que, en contra de los resultados teóricos de Karplus, el acoplamiento geminal protón-protón era, en general, de signo contrario al vecinal (19, 20). Puesto que los espectros son invariantes ante el cambio de signo de todos los acoplamientos escalares no estaba claro cuál de los resultados de Karplus, el del acoplamiento geminal o el del vecinal, era el incorrecto. Karplus reexaminó sus cálculos (21) concluyendo que debía ser el acoplamiento geminal el incorrecto, puesto que el valor obtenido dependía de diversos términos de valor elevado y de signo contrario que prácticamente se cancelaban. En los cálculos del acoplamiento vecinal, por el contrario, eso tan solo sucedía para los correspondientes a un ángulo diedro próximo a 0° . Karplus, además, sugería un experimento para determinar el signo del acoplamiento geminal. Se trataba de determinar el signo relativo de los acoplamientos $^1J_{^1\text{H},^{13}\text{C}}$ y $^2J_{^1\text{H},^1\text{H}}$ mediante la técnica de doble resonancia selectiva de Maher y Evans (22). Puesto que no había dudas de que el acoplamiento a un enlace entre dos núcleos de constante giromagnética positiva era positivo, eso resolvería la incertidumbre. Casi inmediatamente Frank Anet publicó un trabajo (23) en el que determinaba el signo relativo de $^1J_{^1\text{H},^{13}\text{C}}$ y $^2J_{^1\text{H},^2\text{H}}$ en CH_2DOH mediante experimentos de doble resonancia selectiva. Ambos acoplamientos tenían signos contrarios, por lo que el acoplamiento a dos enlaces debía ser negativo y de los cálculos de Karplus sólo podía tomarse en consideración el correspondiente a los acoplamientos vecinales.

La fórmula de Karplus para los acoplamientos vecinales empezó a tener cada vez más importancia en los estudios conformacionales mediante RMN. Ante el peligro de sobreinterpretación

de sus resultados, Karplus publicó un trabajo (24) en el que describía diversos factores que, además del ángulo diedro, afectan al valor del acoplamiento vecinal en el fragmento H-C-C-H, tales como la electronegatividad de los sustituyentes, los ángulos de enlace HCC o la longitud del enlace C-C. Incluía además una nueva fórmula que reproducía mejor los valores calculados

$${}^3J = A + B \cos \phi + C \cos 2\phi$$

con $A = 4,22$ Hz, $B = -0,5$ Hz y $C = 4,5$ Hz. Los hallazgos experimentales concordaban cualitativamente con los cálculos. Sin embargo, la experiencia experimental demostró que los valores de 3J son entre de 2 y 4 Hz mayores de lo previsto usando los valores anteriores para A, B y C, y se han propuesto las nuevas constantes $A = 7$ Hz, $B = -1$ Hz y $C = 5$ Hz, que mejoran los resultados. La misma fórmula, con valores distintos de A, B y C, describe también el acoplamiento vecinal en otros fragmentos (HNCH, HCCC, CCCC, etc.), y tiene una enorme importancia en estudios conformacionales.



A pesar del éxito de Karplus, los cálculos teóricos de constantes de acoplamiento resultaban demasiado complejos y poco precisos. La alternativa a su cálculo fue la de establecer reglas más o menos empíricas sobre su dependencia de diversos parámetros (hibridación, ángulos de enlace, electronegatividad de sustituyentes, etc.), reglas que luego se intentaban justificar de modo teórico. Una de estas alternativas fue la generalización de la ecuación de Karplus, incluyendo más parámetros y haciendo depender estos, que se determinaban con datos empíricos, de la electronegatividad de los sustituyentes y de su posición relativa. En este sentido destacan los desarrollos efectuados por los grupos de Cornelis Altona y Ernesto Díez (25,26). Actualmente la situación ha cambiado y los cálculos teóricos, principalmente mediante la teoría del funcional de la densidad (DFT), proporcionan resultados muy aceptables.

Una idea general acerca de las constantes de acoplamiento es que estas son en general pequeñas, alcanzando en el caso de acoplamiento a un enlace un valor de como mucho unos cientos de hercios. En el caso de los núcleos habituales en Química Orgánica y Bioquímica (${}^1\text{H}$, ${}^{13}\text{C}$, ${}^{15}\text{N}$, ${}^{19}\text{F}$, ${}^{31}\text{P}$) esta idea es correcta. Sin embargo, en el caso de núcleos de átomos pesados la situación es muy diferente. Las constantes de acoplamiento pueden ser extremadamente grandes. Un caso extremo lo constituye el acoplamiento ${}^{199}\text{Hg}$ - ${}^{199}\text{Hg}$ a un enlace medido en un complejo asimétrico del ion

$[\text{Hg-Hg}]^{2+}$, que presenta un valor de 284 kilohercios (26). El hecho de que los acoplamientos entre átomos pesados unidos covalentemente sean tan grandes tiene que ver con términos relativistas en las expresiones mecanocuánticas para el acoplamiento escalar. Mientras que para los núcleos ligeros los términos relativistas son despreciables, en el caso de núcleos pesados se vuelven extremadamente importantes.

Otra idea acerca de los acoplamientos escalares es que transcurren exclusivamente a través de los enlaces covalentes, de modo que los acoplamientos a cuatro o más enlaces son pequeños; en general despreciables. Sin embargo, en el caso del flúor se han encontrado acoplamientos a cuatro y cinco enlaces de magnitud muy considerable, por ejemplo, $^4J_{\text{FF}}$ de 59 Hz en el 1,8-difluoro naftaleno (27) o $^5J_{\text{FF}}$ de 174 Hz en el 1-metil,4,5-difluoro fenantreno (28). La explicación es que el acoplamiento es debido a la interacción (solapamiento) entre orbitales con pares de electrones no compartidos. El solapamiento se produce cuando la distancia entre dos átomos es menor que la suma de sus radios van der Waals. En estos casos se suele hablar de acoplamiento a través del espacio (*through space coupling*). Posiblemente el caso más espectacular de este efecto sea el de la enzima dihidrofolato reductasa. La enzima nativa posee cuatro triptófanos que se reemplazaron por 6-fluorotriptófanos (29). En la estructura tridimensional de la proteína dos de los triptófanos, Trp-133 y Trp-158, se encuentran espacialmente muy próximos. El espectro de ^{19}F de la enzima con los cuatro triptófanos sustituidos por 6-fluorotriptófanos mostraba cuatro señales, dos singletes y dos dobletes con una constante de acoplamiento de 17 Hz. El camino más corto que conecta los dos átomos de flúor próximos espacialmente comprende 89 enlaces, por lo que considerar que la transmisión transcurre a través de estos resulta imposible. Además de acoplamientos a través del espacio por solapamiento entre pares aislados se han encontrado casos debidos a solapamiento entre un par aislado y un par enlazante (^1H - ^{19}F , ^{13}C - ^{19}F o ^{13}C - ^{31}P) e incluso entre dos pares enlazantes (^1H - ^1H). Estos acoplamientos a través del espacio son muy infrecuentes y en el caso ^1H - ^1H suelen ser de muy pequeña magnitud.

Otro acoplamiento escalar que no discurre a través de los enlaces covalentes habituales es el que implica a un enlace de hidrógeno. La primera propuesta de la existencia de este tipo de acoplamiento se debe a Frank Anet, que al observar acoplamientos entre protones separados por cinco o por seis enlaces sugirió que el acoplamiento tenía lugar a través de un enlace de hidrógeno (30). Durante los 30 años siguientes se encontraron algunos casos similares que se explicaban postulando la existencia de un enlace de hidrógeno, si bien sin confirmar la existencia del mismo por otros medios. En 1993 José Elguero describió otro ejemplo de acoplamiento a través de un enlace de hidrógeno que involucraba a dos átomos de ^{31}P y reportó la estructura de rayos X del compuesto, estructura que confirmaba la existencia del enlace de hidrógeno $\text{P}=\text{N}-\text{H}\cdots\text{N}=\text{P}$ (31). Aunque siguieron encontrándose casos en moléculas pequeñas fue su detección en macromoléculas, tanto en ácidos nucleicos (32) como en proteínas (33), lo que generó un interés creciente en los acoplamientos a través del enlace de hidrógeno, tanto desde un punto de vista experimental como teórico. Fruto de dicho interés la IUPAC (*International Union of Pure and Applied Chemistry*) incorporó a su definición del enlace de hidrógeno las características de la RMN (34): *The X-H \cdots Y-Z hydrogen bond leads to characteristic NMR signatures that typically include pronounced proton deshielding for H in X-H, through hydrogen bond spin-spin couplings between X and Y, and nuclear Overhauser enhancements*. Infortunadamente, la recomendación deja fuera otros acoplamientos escalares que, aunque suelen ser más débiles, están presentes en enlaces de hidrógeno: $^1J_{\text{HY}}$ (por ejemplo, en enlaces $\text{N}-\text{H}\cdots\text{N}$ entre pares de bases de ácidos nucleicos), $^2J_{\text{HZ}}$ y $^3J_{\text{XZ}}$ (ambos presentes en enlaces $\text{N}-\text{H}\cdots\text{O}=\text{C}$ en proteínas).

En el caso de espectros de primer orden (acoplamiento débil) los acoplamientos escalares se miden habitualmente por la diferencia de frecuencia entre dos líneas del espectro. Sin embargo, no siempre esta diferencia de frecuencias se corresponde con el valor real del acoplamiento. Un ejemplo de esto lo constituyen los espectros de ^1H y ^{13}C de los complejos de tris(pirazolil)hidroborato-talio (35). Los desdoblamientos de las señales de protón debidos al acoplamiento con el talio disminuyen a medida que se aumenta el campo magnético hasta desaparecer a 500 MHz. Los desdoblamientos de las señales de carbono también se reducen, aunque en menor proporción. La explicación a este comportamiento radica en la contribución de la anisotropía del desplazamiento químico a la relajación longitudinal del talio. En un campo magnético de 11,75 T la relajación es suficientemente rápida como para producir un auto-desacoplamiento en el caso del protón, de un modo similar al descrito por Hahn para acoplamientos con núcleos cuadrupolares (14). A campos menores o en los acoplamientos del talio con ^{13}C , mayores que con ^1H , el "auto-desacoplamiento" es solo parcial. Otro caso en el que se produce un fenómeno de este tipo se da cuando las velocidades de relajación de la magnetización en fase y de la magnetización en oposición de fase son muy diferentes (36). En esos casos el desdoblamiento de la señal es menor que el acoplamiento escalar verdadero y puede ser distinto en los dos espines acoplados (para el espín I el efecto depende de la relajación de I_x y de $2I_xS_z$ y para el espín S de la relajación de S_x y de $2S_xI_z$).

Referencias

1. W.G. Proctor, F.C. Yu, *On the Nuclear Magnetic Moments of Several Stable Isotops*, Phys. Rev., 81, 20-30, 1951.
2. E.R. Andrew, *Nuclear Magnetic Resonance Absorption in NaSbF₆*, Phys. Rev., 82, 443-444, 1951.
3. H.S. Gutowsky, D.W. McCall, *Nuclear Magnetic Resonance Fine Structure in Liquids*, Phys. Rev., 82, 748-749, 1951.
4. M.E. Packard, J.T. Arnold, *A fine structure in nuclear induction signals from ethyl alcohol*, Phys. Rev., 83, 210, 1951.
5. H.S. Gutowsky, D.W. McCall, C.P. Slichter, *Coupling among Nuclear Magnetic Dipoles in Molecules*, Phys. Rev., 84, 589-590, 1951.
6. F. Bloch, *Nuclear Induction*, Phys. Rev., 70, 460-474, 1946.
7. E.L. Hahn, *Nuclear Induction Due to Free Larmor Precession*, Phys. Rev., 77, 297-298, 1950.
8. E.L. Hahn, *Spin Echoes*, Phys. Rev., 80, 580-594, 1950.
9. E.B. McNeil, C.P. Slichter, H.S. Gutowsky, *"Slow Beats" in F19 Nuclear Spin Echoes*, Phys. Rev., 84, 1245, 1951.
10. E.L. Hahn, D.E. Maxwell, *Chemical Shift and Field Independent Frequency Modulation of the Spin Echo Envelope*, Phys. Rev., 84, 1246-1247, 1951.
11. N.F. Ramsey, E.M. Purcell, *Interactions between Nuclear Spins in Molecules*, Phys. Rev., 85, 143-144, 1952.
12. N. F. Ramsey, *Electron Coupled Interactions between Nuclear Spins in Molecules*, Phys. Rev., 91, 303-307, 1953.
13. H.M. McConnell, *Dirac Vector Model for Electron Coupled Nuclear Spin Interactions*, J. Chem. Phys., 23, 2454, 1955.
14. E.L. Hahn, D.E. Maxwell, *Spin Echo Measurements of Nuclear Spin Coupling in Molecules*, Phys. Rev., 88, 1070-1084, 1952.
15. H.S. Gutowsky, D.W. McCall, C.P. Slichter, *Nuclear Magnetic Resonance Multiplets in Liquids*, J. Chem. Phys., 21, 279-292, 1953.

16. M. Karplus, H.D. Anderson, *Valence-Bond Interpretation of Electron-Coupled Nuclear Spin Interactions; Application to Methane*, J. Chem. Phys., 30, 6-10, 1959.
17. M. Karplus, *Contact Electron-Spin Coupling of Nuclear Magnetic Moments*, J. Chem. Phys., 30, 11-15, 1959.
18. R.U. Lemieux, R.K. Kullnig, H.J. Bernstein, W.G. Schneider, *Configurational Effects in the Proton Magnetic Resonance Spectra of Acetylated Carbohydrates*, J. Am. Chem. Soc., 79, 1005-1006, 1957.
19. R.R. Fraser, R.U. Lemieux, J.D. Stevens, *Opposite Relative Signs of Geminal and Vicinal Proton-proton Coupling Constants in Saturated Organic Molecules*, J. Am. Chem. Soc., 83, 3901-3902, 1961.
20. H.S. Gutowsky, C. Juan, *Electron Coupling of Nuclear Spins. VI. Relative Signs of J_{gem}^{HH} , J_g^{HH} , and J_t^{HH} in (2.2) Metacyclophane*, J. Chem. Phys., 37, 120-124, 1962.
21. M. Karplus, *Comments on the Signs of Proton Coupling Constants*, J. Am. Chem. Soc., 84, 2458-2460, 1962.
22. J.P. Maher, D.F. Evans, *Proton Magnetic Resonance Spectra of Thallium Trialkyls; Chemical Exchange and Formation of Mixed Alkyls*, Proc. Chem. Soc., 208-209, 1961
23. F.A.L. Anet, *Signs of Proton Coupling Constants*, J. Am. Chem. Soc., 84, 3767-3768, 1962.
24. M. Karplus, *Vicinal Proton Coupling in Nuclear Magnetic Resonance*, J. Am. Chem. Soc., 85, 2870-2871, 1963.
25. C.A.G. Haasnot, F.A.A.M. de Leeuw, C. Altona, *The Relationship between Proton-Proton NMR Coupling Constants and Substituent Electronegativities, I. An Empirical Generalization of the Karplus Equation*, Tetrahedron, 36, 2783-2792, 1980.
26. E. Díez, J. San-Fabián, J. Guilleme, C. Altona, L.A. Donders, *Vicinal Proton-Proton Coupling Constants, I. Formulation of an Equation including Interactions between Substituents*, Mol. Phys., 68, 49-63, 1989.
27. R. Malleier, H. Kopacka, W. Schuh, K. Wurst, P. Peringer, *$^1J(^{199}\text{Hg}-^{199}\text{Hg})$ values of up to 284 kHz in complexes of $[\text{Hg}-\text{Hg}]^{2+}$ with crown ethers: the largest indirect coupling constants*, Chem. Commun., 51-52, 2001.
28. S.L. Manatt, M.A. Cooper, C.W. Mallory, F.B. Mallory, *Evidence for a Steric Effect on Directly Bonded Carbon-Fluorine and Carbon-Proton Nuclear Magnetic Resonance Couplings*, J. Am. Chem. Soc., 95, 975-977, 1973.
29. F.B. Mallory, C.W. Mallory, W.M. Ricker, *Nuclear Spin-Spin Coupling via Nonbonded Interactions. III. Effects of Molecular Structure on Through-Space Fluorine-Fluorine and Hydrogen-Fluorine Coupling*, J. Am. Chem. Soc., 97, 4770-4771, 1975.
30. B.J. Kimber, J. Feeney, G.C.K. Roberts, B. Birdsall, D.V. Griffiths, A.S.V. Burgen, B.D. Sykes, *Proximity of Two Tryptophan Residues in Dihydrofolate Reductase Determined by ^{19}F NMR*, Nature, 271 (5641), 184-185, 1978.
31. F.A.L. Anet, A.J.R. Bourn, P. Carter, S. Weinstein, *Effects of Steric Compression on Coupling Constants*, J. Am. Chem. Soc., 87, 5249-5250, 1965.
32. J. Laynez, M. Menéndez, J.L. Saiz Velasco, A.L. Llamas-Saiz, C. Foces-Foces, J. Elguero, P. Molina, M. Alajarín, A. Vidal, *Iminophosphorane-substituted Proton Sponges. Part 4. Comparison of X-Ray Molecular Structures with Solution Properties (pK_a , ^1H and ^{13}C NMR Spectroscopy)*, J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2, 709-713, 1993.
33. A.J. Dingley, S. Grzesiek, *Direct observation of hydrogen bonds in nucleic acid base pairs by internucleotide $^2J_{NN}$ couplings*, J. Am. Chem. Soc., 120, 8293-8297, 1998.

34. F. Cordier, S. Grzesiek, *Direct observation of hydrogen bonds in proteins by interresidue $^3J_{NC}$ scalar couplings*, J. Am. Chem. Soc., 121, 1601-1602, 1999.
35. E. Arunan, G.R. Desiraju, R.A. Klein, J. Sadlej, S. Scheiner, I.D.C. Clary, R.H. Crabtree, J.J. Dannenberg, P. Hobza, H.G. Kjaergaard, A.C. Legon, B. Mennucci, D.J. Nesbitt, *Definition of the hydrogen bond (IUPAC Recommendations 2011)*, Pure Appl. Chem., 83,1637-1641, 2011.
36. P. Ghosh, P.J. Desrosiers, G. Parkin, *Chemical Shift Anisotropy as a Mechanism for Modulating Apparent J_{TI-H} and J_{TI-C} Coupling Constants in Tris(pyrazolyl)hydroborato Thallium Complexes*, J. Am. Chem. Soc., 120, 10416-10422, 1998.
37. G.S. Harbison, *Interference between Couplings and Cross-Relaxation in Solution NMR Spectroscopy: Consequences for Macromolecular Structure Determination*, J. Am. Chem. Soc., 115, 3026-3027, 1993.