



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
INSTITUTO DE QUÍMICA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ORGÂNICA

Tese de Doutorado

**Método absoluto e geral para a avaliação estrutural direta de isômeros
constitucionais por espectrometria de massas pentaquadrupolar**

Autor: Mario Benassi Neto

Orientador: Prof. Dr. Marcos Nogueira Eberlin

Tese apresentada ao
Departamento de Química
Orgânica do Instituto de Química
da Universidade Estadual de
Campinas como requisito parcial
para a obtenção do título de
Doutor em Ciências

Campinas, 16 de Junho de 2010

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA DO INSTITUTO DE
QUÍMICA DA UNICAMP**

B431m	Benassi Neto, Mario. Método absoluto e geral para a avaliação estrutural direta de isômeros constitucionais por espectrometria de massas pentaquadrupolar / Mario Benassi Neto. -- Campinas, SP: [s.n], 2010. Orientador: Marcos Nogueira Eberlin. Tese - Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química. 1. Espectrometria de massas. 2. Reações íon/molécula. 3. Pentaquadrupolo. 4. Isômeros constitucionais. I. Eberlin, Marcos Nogueira. II. Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Química. III. Título.
-------	--

Título em inglês: Wide ranging method for direct structure assignment of constitutional isomers using pentaquadrupole mass spectrometry

Palavras-chaves em inglês: Mass spectrometry, Íon-molecule reaction, Pentaquadrupole, Constitutional isomers

Área de concentração: Química Orgânica

Titulação: Doutor em Ciências

Banca examinadora: Marcos Nogueira Eberlin (orientador), Luiz Alberto Beraldo de Moraes (FFCLRP/USP-Ribeirão Preto), Gilberto Alves Romeiro (IQ-UFF-RJ), Fábio Cesar Gozzo (IQ-UNICAMP), Paulo José Samenho Moran (IQ-UNICAMP)

Data de defesa: 16/06/2010

“A sabedoria e o amor são as duas asas dos anjos que alcançaram o trono divino. Mas, em toda parte, aquele que ama segue à frente daquele que simplesmente sabe.”

Neio Lúcio

(Psicografado por Chico Xavier)

*“Sucesso é a habilidade de ir
de um fracasso ao outro
sem perder o entusiasmo.”*

“Success is the ability to go from one
failure to another with no loss of
enthusiasm ”

Sir Winston Churchill
1874-1965

*Dedico esta tese a minha família.
Meu pai Mario, minha mãe Eliana,
minha irmã Paula e meu sobrinho Thales.
Pelo amor de vocês, eu consegui terminar.*

AGRADECIMENTOS

Esta tese representa o fim de um importante ciclo da minha vida. Durante os anos deste doutorado, muitas pessoas foram tão significativas ao meu crescimento como pessoa e espírito que seria injusto mencionar somente aqueles relacionados ao meu crescimento como cientista. É por isso que agradeço:

Acima de tudo, a Deus pela vida. Mesmo com os erros desta ou d'outras vidas Ele continua a me amar e perdoar para que eu possa crescer e um dia chegar à luz.

À meu orientador Marcos Nogueira Eberlin, que me acolheu com respeito e estima, permitindo meu crescimento a cada dia de nosso convívio.

À minha mãe Eliana, que sempre acreditou que eu era algo mais do que realmente sou e por seu amor incondicional que me fez sentir forte e feliz.

À meu Pai Mario, que com sua sabedoria me orienta nesta vida e me ampara nos momentos difíceis com palavras de amor e fortitude.

À minha querida irmã Paula que sempre me deu seu amor sem exigir nada em troca. Agradeço a benção de ter dado a luz a uma linda criança, meu amado sobrinho Thales, que trouxe alegria a minha vida.

À minha tia Denise e à vó Clarice que sempre foram compreensivas com meus defeitos e dão amor em abundância inundando a minha vida de felicidade.

Ao Dr. R. Graham Cooks, meu orientador nos Estados Unidos, que não só permitiu a realização de um antigo sonho de estudar numa universidade americana, como Purdue University, mas também permitiu meu crescimento como cientista, levando a conquista de um prêmio internacional, o *Journal of Mass Spectrometry Awards*.

À Minha família de Piracicaba e São Paulo: Marisa, Rob, Marcão, Adriana, Robertinho, Victor, Vinícius, Duda, Glauce, Márcio, Victória e Barbara que proporcionam carinho e atenção.

Aos meus amigos Nando, Kika, Danilo e Davi. Agradeço pelo amor, companheirismo e as horas de conversa. Vocês são o motivo de eu ter sido feliz em Campinas.

À amiga Regina Sparrapan que com sua amizade ajudou-me muito.

Aos amigos do Laboratório ThoMSon: Lygia, Adão, Heliara, Rodrigo, Alexandra, Dena, Patrícia Abdelnur, Sérgio, Rosy e Francesca.

Aos colegas do *Aston Laboratories* em Purdue: Livinha, Demian, Juan, Alessandra, Ayanna Jackson, Nate, Michael Volny, Abraham, Marco Pazzi, Marcela Nefliu, Andre Venter, Giussepe, Fabio Mazzoti, Nick Manicke, Scott Smith e Rob Noll.

Aos meus grandes amigos de Purdue, Thiago, Matheus e Maribel, pessoas fantásticas que tive o prazer de conhecer e agora considerar grandes amigos.

À memória da vó Amélia e do vô Clóvis.

À memória de Chet Baker, Louis Armstrong, Ella Fitzgerald e Lester Young, lendas do Jazz, que com sua música me ajudaram a inspirar e curtir momentos felizes.

Aos funcionários do Instituto de Química: Isabel Aquino Calasso, Pimpim, Dona Cida, Núbia Camila de Souza e José Luis Paz Jara pelo serviço competente e simpatia no convívio.

À Purdue University.

À UNICAMP.

À CAPES, pela bolsa de doutorado sanduíche.

E à FAPESP, pela bolsa de doutorado direto e por me financiar desde a iniciação científica na USP.

RESUMO

MÉTODO ABSOLUTO E GERAL PARA A AVALIAÇÃO ESTRUTURAL DIRETA DE ISÔMEROS CONSTITUCIONAIS POR ESPECTROMETRIA DE MASSAS PENTAQUADROPOLAR

Autor: Mario Benassi Neto

Orientador: Prof. Dr. Marcos Nogueira Eberlin

É proposto um método absoluto para diferenciação de isômeros constitucionais por espectrometria de massas, utilizando a reatividade em fase gasosa de fragmentos iônicos diagnósticos de estrutura (FIDE), gerados a partir de precursores isoméricos. Com apenas um espectro de massas é possível fazer a atribuição de configuração de um isômero, sem a necessidade de comparação com outros espectros de massas. Para provar o princípio foram testadas as seguintes classes de isômeros: acetonaftonas, alquilanilinas, carbeto xipiperidinas, metiltiofenos, ácidos ciclohexeno carboxílicos e metilpiperidinas. Os precursores foram submetidos a EI a 70 eV, e o comportamento dissociativo foi estudado com o intuito de se identificar o FIDE. É desejável que o FIDE tenha as seguintes características: i) seja formado por todos os isômeros dentro do conjunto, ii) mantenha a informação estrutural da molécula precursora, iii) seja estável em fase gasosa e iv) os FIDE's formados por cada um dos precursores devem ter estruturas diferentes e estes não podem interconverter-se. Para cada classe de isômeros foi selecionado a m/z do FIDE e este íon foi submetido à dissociação induzida por colisão (CID), esperando que sua dissociação seja distinta dependendo do precursor, e à reações íon/moléculas, esperando que FIDEs de precursores diferentes formem diferentes produtos iônicos. Foi utilizado um espectrômetro de massas pentaquadrupolar que permite experimentos de MS/MS/MS, que permitiu caracterizar os produtos iônicos formados nas reações, através de CID.

ABSTRACT

WIDE RANGING METHOD FOR DIRECT STRUCTURE ASSIGNMENT OF CONSTITUTIONAL ISOMERS USING PENTAQUADRUPOLE MASS SPECTROMETRY.

Author: Mario Benassi Neto

Advisor: Prof. Dr. Marcos Nogueira Eberlin

Herein, it's described an absolute method for structure assignment of constitutional isomers exploring the gas phase behavior of a structurally diagnostic fragment ion (SDFI) generated by each one of the precursor molecules within an isomeric set. This method allows the unequivocally assigning of the configuration of a precursor isomer with only one mass spectrum. To prove the principle the following isomeric sets were tested: acetone, acetophenone, alkylnilines, carbetoxy piperidines, methylthiophenes, cyclohexene carboxylic acids and methylpiperidines. All of the precursor isomers were submitted to 70 eV electron ionization (EI) with the intent of identifying the proper SDFI for each of the isomeric sets. Ideally, the SDFI should have the following characteristics: i) must be formed by all the isomers within the isomeric set, ii) retain the structural information of the precursor molecule, iii) be stable (long lifetime) and iv) the SDFI generated from different precursors must have different structures and must not interconvert into one another. The m/z of the SDFI is selected and then submitted to collision induced dissociation, hoping that the dissociative behavior is different depending on the precursor molecule, and ion/molecule reactions, hoping the bimolecular chemistry is different due to the formation of different ion products. For all the experiments it was used a pentaquadrupole mass spectrometer that allows MS/MS/MS, therefore allowing characterization of the ion products generated by ion/molecule reactions through collision induced dissociation.

CURRICULUM VITAE

1) *Dados Pessoais*

Nome: Mario Benassi Neto

Filiação: Mario Benassi Junior e Eliana Maria Gonçalves Oliveira Benassi

Data de Nascimento: 29 de Maio de 1981 **Local:** Piracicaba, SP – Brasil

Estado Civil: Solteiro **RG:** 27.092.712-8 **CPF:** 295.888.588-79

Endereço Profissional: Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química, Sala A6-111, Campinas-SP, CEP: 13083-970,

Endereço Residencial: Rua dos Gerânios, 148, Piracicaba-SP, CEP:13405-087

2) *Formação*

- 2.1) Doutorado Direto em Química Orgânica. Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP). 2010. Orientador: Prof. Dr. Marcos Nogueira Eberlin.
- 2.2) Doutorado Direto (*Não Completo*) em Energia Nuclear na Agricultura. Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA). Universidade de São Paulo. Janeiro a Dezembro de 2004. Orientadora: Profa. Dra. Maria Fernanda Giné Rosias.
- 2.3) Bacharelado em Química, com atribuições tecnológicas. Instituto de Química de São Carlos (IQSC). Universidade de São Paulo (USP). 2003.

3) *Experiência no Exterior*

Research Assistant/Visiting Scholar. Chemistry Department, Purdue University. Indiana. Estados Unidos da América. Orientador: Dr. R. Graham Cooks. Aston Laboratories for Mass Spectrometry, 03 de Janeiro de 2008 a 30 de dezembro de 2008. Estudos Fundamentais em desorption electrospray ionization (DESI) e low temperature plasma (LTP).

4) Publicações

- 4.1) **Benassi, M.**; Eberlin, M. N. Absolute Assignment of Constitutional Isomers via Structurally Diagnostic Fragment Ions: The Challenging Case of α - and β -Acyl Naphthalenes. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*. 2010. [Submetido]
- 4.2) Alberici, R. M.; Simas, R. C.; Sanvido, G. B.; Romão W.; **Benassi, M.**; Cunha, I. B. S.; Eberlin, M. N. Ambient mass spectrometry: bringing MS into the “real world”. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2010. [No Prelo]
- 4.3) Amarante, G. W.; **Benassi, M.**; Pascoal, R. N.; Eberlin, M. N.; Coelho, F. Mechanism and synthesis of pharmacologically active quinolones from Morita-Baylis-Hillman adducts. *Tetrahedron*. Vol. 66, 4370-4376, 2010.
- 4.4) **Benassi, M.**; Wu, C.; Nefliu, M.; Ifa, D.; Volny, M.; Cooks, R. G. Redox transformations in Desorption Electrospray Ionization. *International Journal of Mass Spectrometry*, Vol. 280, 1-3, 235-240. 2009.
- 4.5) **Benassi, M.**; Corilo, Y. E.; Uria, D.; Augusti, R.; Eberlin, M. N. Recognition and Resolution of Isomeric Alkyl Anilines by Mass Spectrometry. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*. Vol. 20, 2, 269-277, 2009.
- 4.6) **Benassi, M.**; Moraes, L. A. B.; Cabrini, L. G.; Dias, L. C.; Aguilar, A. M.; Romeiro, G.; Eberlin, L. S.; Eberlin, M. N. Recognition of Cyclic, Acyclic, Exocyclic, and Spiro Acetals via Structurally Diagnostic Ion/Molecule Reactions with the $(\text{CH}_3)_2\text{N}-\text{C}^+=\text{O}$ Acylium Ion. *Journal of Organic Chemistry*. Vol. 73,14, 5549–5557, 2008
- 4.7) **Benassi, M.**; Abdelnur, P. V.; Eberlin M. N.; Okazaki, T.; Laali, K. K. Intrinsic Gas-Phase Acidity and Electrophilicity of Model Heterocations and Carbocations Relative to Pyridine: Adduct Formation versus α - or β -(Proton Transfer) Elimination. *Applied catalysis A: General*. Vol. 336, Issue: 1-2, 116-127, 2008.
- 4.8) Amarante, G. W.; **Benassi, M.**; Milagre, H. M. S.; Braga, A. A. C.; Maseras, F.; Eberlin, M. N.; Coelho, F. Bronsted acid catalyzed Morita-Baylis-Hillman reaction: a new mechanistic view for thioureas revealed by ESI-MS(/MS) monitoring and

- DFT calculations. *Chemistry – A European Journal*. Vol. 45, 15, 12460-12469, 2009.
- 4.9)** Abella, C.; **Benassi, M.**; Santos, L.; Coelho, F.; Eberlin, M. N. The mechanism of Troger's Bases Formation Probed By Electrospray Ionization Mass Spectrometry. *Journal of Organic Chemistry*. Vol. 72, 11, 4048-4054, 2007.
- 4.10)** Cabrini, L. G.; **Benassi, M.**; Eberlin, M. N.; Okazaki, T.; Laali, K. $R(Ar)O-N_2^+$ vs. $R(Ar)-N_2O^+$: Are Alkoxy-(Aryloxy-) diazonium Ions or Alkyl-(Aryl-)N-nitroso-onium Ions Formed in the Gas-Phase Reactions of N_2O with H^+ , Me^+ , Ph^+ , $PhCH_2^+$, Tr^+ and $PhCO^+$? *European Journal of Organic Chemistry*. Vol 2007, 1, 70-77, 2007.
- 4.11)** Amarante, G. W.; **Benassi, M.**; Sabino, A.; Esteves, P.; Eberlin, N. M.; Coelho, F. Formation of substituted N-oxide hydroxyquinolines from o-nitrophenyl Baylis-Hillman adduct: a new key intermediate intercepted by ESI-(+)-MS(/MS) monitoring. *Tetrahedron Letters*. Vol. 47, 8427-8431, 2006.
- 4.12)** Lessa, J. A.; Horn, A.; Pinheiro, C. B.; Farah, L.; Eberlin, M. N.; **Benassi, M.**; Catharino, R. R.; Fernandes, C. Synthesis, solid-state and in-solution structures of a new seven coordinated manganese (II) complex via X-ray diffraction and electrospray ionization mass spectrometry. *Inorganic Chemistry Communications*. Vol. 10, 8, 863-866, 2007.
- 4.13)** Lessa, J. A.; Horn, A.; Bull, E. S.; Rocha, M. R.; **Benassi, M.**; Catharino, R. R.; Eberlin, M. N.; Casellato, A.; Noble, C. J.; Hanson, G. R.; Schenk, G. Silva, G. C.; Antunes, O. A. C.; Fernandes, C. Catalase vs Peroxidase Activity of a Manganese(II) Compound: Identification of a $Mn(III)-(\mu-O)_2-Mn(IV)$ Reaction Intermediate by Electrospray Ionization Mass Spectrometry and Electron Paramagnetic Resonance Spectroscopy. *Inorganic Chemistry*. Vol. 48, 4569 – 4579, 2009.
- 4.14)** Horn, A.; Firn, L.; Bortoluzzi, A. J.; Szpoganicz, B.; Silva, M.; Novak, M. A.; **Benassi Neto, M.**; Eberlin, L. S.; Catharino, R. R.; Eberlin, M. N.; Fernandes, C. Solid State and Solution characterization of a new dinuclear nickel (II) complex: the search for synthetic models for urease. *Journal of Molecular Structure*. Vol. 795, 154-164. 2006.

- 4.15)** Lanças, F. M.; **Benassi Neto, M.**; Silva, J. C. R.; Bicudo, R. C. A Química Analítica do Proteoma. Revista Analytica. Ano 2, N. 6, P. 60 – 66. 2003
- 4.16)** Furuya, S. M. B.; **Benassi Neto, M.**; Lima Neto, B. S.; Franco, D. W. Compostos Fenólicos em Bebidas II. Engarrafador Moderno. Ano X, N.º 83, P. 44 – 47. 2001.

5) Bolsas e Prêmios

- 5.1)** *PRÊMIO 1: Student Travel Award do Journal of Mass Spectrometry dado pela Sociedade Internacional de Espectrometria de massas.* Título do Trabalho: Ambient ion/molecule reactions using low temperature plasma probe. Apresentado no Congresso da sociedade internacional de espectrometria de massas, 30 de agosto a 4 de setembro de 2009 em Bremen, Alemanha.
- 5.2)** *PRÊMIO 2: Menção Honrosa. 8th Rio Symposium on Atomic Spectrometry.* "On line Isotope Dilution Performed by Coupling Sequential Injection Analysis (SIA) and ICP-MS for Routine Determination of Trace Elements", 2004.
- 5.3)** *Bolsa de Doutorado Sanduíche CAPES (PDEE)* Janeiro 2008 to Janeiro 2009. Projeto: Reações íon/molécula em um novo ambiente reacional explorando aplicações sintéticas e analíticas da espectrometria de massas a condições ambiente. Orientador Estrangeiro: Prof. Dr. R. Graham Cooks.
- 5.4)** *Bolsa de Doutorado Direto FAPESP.* Maio 2005 a Maio de 2010. Projeto: Método Absoluto e Geral para a avaliação estrutural direta de isômeros posicionais por espectrometria de massas de estágios múltiplos (MSⁿ). Orientador: Prof. Dr. Marcos N. Eberlin.
- 5.5)** *Bolsa de Iniciação Científica FAPESP.* Novembro de 2002 a Outubro de 2003. Projeto: Elaboração de um sistema de cromatografia líquida multidimensional para estudo do proteoma. Orientador: Prof Dr. Fernando M. Lanças.
- 5.6)** *Bolsa de Iniciação Científica CNPq.* Programa Institucional para Bolsas de Iniciação Científica (PIBIC). Março a Novembro of 2001. Projeto: Determinação de Flavonóides em bebidas nacionais e importadas utilizando cromatografia líquida de alta eficiência com detecção por arranjo de diodos.

6) Estágios

- 6.1)** Laboratório de Controle de Qualidade de suco concentrado de laranja. Sucorrico Industrial. Araras-SP. 30 Dias. (Janeiro/2001).
- 6.2)** Grupo de Cromatografia. Instituto de Química de São Carlos. Universidade de São Paulo. De Novembro de 2002 a Fevereiro de 2004. Análise de proteínas por cromatografia e espectrometria de massas.
- 6.3)** Laboratório para desenvolvimento da Química do Aguardente. Instituto de Química de São Carlos. Universidade de São Paulo. Abril de 2000 a Novembro de 2001. Análise de flavonóides em aguardentes por cromatografia líquida.

7) Experiência Profissional

T&E Analítica – Laboratório de Análises Químicas – Campinas – SP – Fevereiro a Julho 2005

8) Cursos Extracurriculares

- 8.1)** Quality and Metrology Concepts in Analytical Chemistry, ministrado pelo Prof. Dr. Peter Bode, com carga horária de 24 horas. Piracicaba – 5 a 8 de abril de 2004 – CENA-USP
- 8.2)** Symposium Course – 8th Rio Symposium on Atomic Spectrometry – Paraty – Agosto de 2004
- 8.3)** Espectrometria de Emissão Ótica e de Massas com Fonte de Plasma ICP-OES e ICP-MS, com carga horária de 20 horas. Piracicaba – 28 a 30 de julho de 2004 – CENA-USP
- 8.4)** Validação em Química Analítica, ministrado pelo Prof. Dr. Wagner Luiz Polito, realizado no Instituto de Química de São Carlos da Universidade de São Paulo de 02 a 06 de dezembro de 2002.

- 8.5)** A percepção da cor e sua medida, ministrado pelo Prof. Dr. Wagner Luiz Polito, realizado no Instituto de Química de São Carlos da Universidade de São Paulo de 02 a 06 de junho de 2003.
- 8.6)** A química no desenvolvimento de nanopartículas e nanoestruturas, ministrado pelos Profs. Drs. Elson Longo e Edson Leite, realizado no Departamento de Química da UFSCar, com carga horária de 40 horas – de 13 a 18 de Janeiro de 2003
- 8.7)** Introdução a reologia dos materiais de revestimento, ministrado pelo Prof. Dr. Wagner Luiz Polito, realizado no Instituto de Química de São Carlos da Universidade de São Paulo de 22 a 27 de setembro de 2003.
- 8.8)** “Análise Proteômica I – Conceitos e aplicações da análise Proteômica”, mini-curso do XIV encontro regional da SBQ, realizado no Instituto de Química de São Carlos – USP – 12 a 14 de novembro de 2003
- 8.9)** “Análise Proteômica II – Espectrometria de Massas”, mini-curso do XIV encontro regional da SBQ, realizado Instituto de Química de São Carlos – USP – 12 a 14 de novembro de 2003

9) Apresentações em Congressos

- 9.1)** *18th International Mass Spectrometry Conference (IMSC)*. Apresentação Oral na sessão do JMS Awards. Benassi M.; Garcia-Reyes, J. F.; Cooks, R. G. “Ambient Ion/Molecule reactions with Low temperature plasma probe”. Bremen, Alemanha, 2009.
- 9.2)** *56th Conference of the American Society for Mass Spectrometry (ASMS)*. Mario Benassi Neto; Marcos N. Eberlin. Distinction of Cyclic, Acyclic, Exocyclic and Spiro Exocyclic Acetals via Structurally Diagnostic Ion/Molecule Reactions with the $(\text{CH}_3)_2\text{N}-\text{C}=\text{O}^+$ Acylium Ion. Denver, EUA. 2008.
- 9.3)** *56th Conference of the American Society for Mass Spectrometry (ASMS)*. Michael Volny; Andre Venter; Mario Benassi; Scott A. Smith; Marco Pazzi; R. Graham Cooks. Surface Effects and Electrochemical Cell Capacitance in Desorption Electrospray Ionization. Denver, EUA. 2008.

- 9.4) *55th Conference of the American Society for Mass Spectrometry (ASMS)*. Mario Benassi, Marcos N. Eberlin. "Using structurally diagnostic fragment ions to distinguish constitutional isomers by MS²: The case of α -acylnaphthones and b-acylnaphthones". Indianapolis, EUA, 2007.
- 9.5) *55th Conference of the American Society for Mass Spectrometry (ASMS)*. Rodinei Augusti, Mario Benassi, Marcos N. Eberlin. Direct structural assignment of isomeric alkyl anilines via collision-induced dissociation and selective ion/molecule reactions of structurally-diagnostic ions (SDI). Indianapolis, EUA, 2007.
- 9.6) *12th Brazilian Meeting on Organic Synthesis*. The Mechanism of Troger's base formation probed by electrospray ionization Mass Spectrometry. Itapema-SC. 2007
- 9.7) *30th Annual Meeting of the Brazilian Chemical Society*. Síntese e caracterização de compostos de Zn_2^+ e Co_2^+ com o pró-ligante H₂BPCINOL. 2007.
- 9.8) *29th Annual Meeting of the Brazilian Chemical Society*. Síntese e caracterização por IV, UV-Vis e ESI-(+)-MS/MS de um novo complexo mononuclear de Ni(II) obtido com o ligante H₂BPCINOL. 2006. (Participações em eventos/Congresso).
- 9.9) *1st Conference of the Brazilian Society for Mass spectrometry*. Distinguishing Acyclic Acetals Using the Eberlin Reaction by MS³ Experiments. 2005.
- 9.10) *8th Rio Symposium on Atomic Spectrometry*. On line isotope Dilution Performed by Coupling Sequential Injection Analysis (SIA) and ICP-MS for Routine Determination of Trace Elements. 2004.
- 9.11) *11th International Symposium of the University of Sao Paulo on Scientific Initiation*. Implementação de um Sistema de Cromatografia Líquida Multidimensional para o estudo do proteoma. 2003.
- 9.12) *3rd Brazilian Meeting on Chemistry of Food and Beverages*. Analysis of Phenolic Compounds in Alcoholic Beverages. São Carlos-SP. 2000.

ÍNDICE

LISTA DE TABELAS	xxvii
LISTA DE FIGURAS	xxviii
LISTA DE ESQUEMAS.....	xxxvi
1 – Introdução	3
1.1 – Espectrometria de Massas	5
1.1.1 – Ionização por elétrons.....	10
1.1.2 – Analisador de Massas Quadrupolar.....	18
1.1.3 – Detector por multiplicação de elétrons.....	22
1.2 – Dissociação induzida por colisão (CID).....	24
1.3 – Reações íon/molécula	26
1.4 – Diferenciação de isômeros com MS.....	28
2 – Objetivos	37
2.1 – Objetivos Específicos	37
3 – Material e Métodos	41
3.1 – Reagentes	41
3.2 – Método absoluto e geral proposto	43
3.3 – Espectrômetro de Massas Pentaquadrupolar	46
3.3.1 – Formas de introdução de reagentes	49
3.3.2 – CID e reações íon/molécula com o pentaquadrupolo	53
3.3.2.1 – Obtenção de espectros de MS ²	53
3.3.2.2 – Obtenção de espectros de MS ³	58
3.4 – Simbologia da MS de múltiplos estágios	59
3.5 – Reações íon/molécula testadas	61
4 – Resultados e Discussão	65
4.1 – Acetonaftonas.....	65
4.1.1 – Reação com 2-metil-1,3-dioxolano – a reação de Eberlin	68
4.1.2 – Reação de cicloadição polar [4 + 2 ⁺]	71
4.1.3 – Reações com Nitrilas: Acetonitrila e Propionitrila	73
4.1.4 – Reações com Éteres Vinílicos	78

4.2 – Alquil-Anilinas	94
4.2.1 – Reação com 2-metil-1,3-dioxolano – a reação de Eberlin	97
4.2.2 – Reações de Cicloadição Polar	99
4.2.3 – Prova do princípio com moléculas teste	103
4.3 – Carbetoxipiperidinas.....	108
4.3.1 – Reação com 2-metil-1,3-dioxolano – a reação de Eberlin	112
4.3.2 – Reação com etil vinil éter	114
4.4 – Ácidos Ciclohexeno Carboxílicos	118
4.4.1 – Reação com 2-metil-1,3-dioxolano – a reação de Eberlin	121
4.4.2 – Reações de cicloadição polar	122
4.4.3 – Reações que exploram o caráter distônico do FIDE.....	129
4.5 – Metiltiofenos	135
4.5.1 – Reação com etil vinil éter	137
4.5.2 – Reação com 2,2-dimetil-1,3-dioxolano.....	139
4.5.3 – Reação com Isopreno	143
4.6 – Metilpiperidinas.....	146
4.6.1 – Reação com Etil Vinil Éter.....	152
4.6.2 – Reações com Nitrilas	155
4.6.3 – Reação com Isopreno	157
4.6.4 – Reação com Acetona.....	158
5 – Conclusão	163
6 – Perspectivas Futuras	169
7 – Referências Bibliográficas.....	173

LISTA DE TABELAS

TABELA 1	ISÔMEROS UTILIZADOS	41
TABELA 2	REAGENTES UTILIZADOS EM REAÇÕES ÍON/MOLÉCULA	42
TABELA 3	REAÇÕES ÍON/MOLÉCULA TESTADAS	61

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1	DIAGRAMA ESQUEMÁTICO DA ESPECTROMETRIA DE MASSAS.	8
FIGURA 2	GRÁFICO DE MASSA VERSUS POLARIDADE PARA A PRINCIPAIS TÉCNICAS DE IONIZAÇÃO EM ESPECTROMETRIA DE MASSAS.	8
FIGURA 3	CURVA DE DISTRIBUIÇÃO DE ENERGIA INTERNA DE UM ÍON.	11
FIGURA 4	DIAGRAMA DE TRANSIÇÃO ELETRÔNICA. ^{17,20}	12
FIGURA 5	DIAGRAMA ESQUEMÁTICO DA FONTE DE IONIZAÇÃO POR ELÉTRONS (EI)	15
FIGURA 6	FONTE DE IONIZAÇÃO POR ELÉTRONS PRESENTE NO PENTAQUADRUPOLO. A) VISÃO FRONTAL E B) VISÃO LATERAL.	15
FIGURA 7	DIAGRAMA ESQUEMÁTICO DE UM ANALISADOR DE m/z QUADRUPOLO. ⁵	19
FIGURA 8	DIAGRAMA DE ESTABILIDADE DE ÍONS EM CAMPOS ELÉTRICOS QUADRUPOLO.	20
FIGURA 9	DIAGRAMA ESQUEMÁTICO DE UMA MULTIPLICADORA DE ELÉTRONS. ²²	23
FIGURA 10	FOTOGRAFIA DE UMA MULTIPLICADORA DE ELÉTRONS COM DINÔDO CONTÍNUO.	23
FIGURA 11	DIAGRAMA ESQUEMÁTICO DA DISSOCIAÇÃO INDUZIDA POR COLISÃO NUM QUADRUPOLO RF-ONLY.	24
FIGURA 12	DIAGRAMA ESQUEMÁTICO DE UMA REAÇÃO ÍON/MOLÉCULA SENDO REALIZADA NUM QUADRUPOLO RF-ONLY.	27
FIGURA 13	ESPECTROS DE MASSAS DE VARREDURA OBTIDOS COM EI A 70 EV DOS ISÔMEROS 2-AMINOFENOL (A) E 3-AMINOFENOL (B).	28
FIGURA 14	DIAGRAMA ESQUEMÁTICO DO MÉTODO PROPOSTO. ETAPA 1: OBTENÇÃO DOS PADRÕES DOS PRECURSORES ISOMÉRICOS. ETAPA 2: OBTENÇÃO DOS ESPECTROS DE MASSAS DE VARREDURA PARA AMBOS OS PRECURSORES. ETAPA 3: SELECIONAR O FIDE. ETAPA 4: COM O FIDE PROMOVER EXPERIMENTOS DE DISSOCIAÇÃO (CID) E REAÇÕES ÍON/MOLÉCULA.	45
FIGURA 15	ESPECTRÔMETRO DE MASSAS PENTAQUADRUPOLO. Q_1 , Q_3 E Q_5 SÃO QUADRUPOLOS ANALISADORES DE MASSAS RF-DC. Q_2 E Q_4 SÃO QUADRUPOLOS REACIONAIS QUE OPERAM NO MODO DE TRANSMISSÃO DE ÍONS, RF-ONLY.	48
FIGURA 16	AMPOLA OU RETORTA UTILIZADA PARA INSERIR LÍQUIDOS NO PENTAQUADRUPOLO.	49
FIGURA 17	AMPOLA CONECTADA À VÁLVULA PARA GASES À BAIXAS PRESSÕES.	49
FIGURA 18	FONTE DE ÍONS MOSTRANDO O CAMINHO PERCORRIDO PELO GÁS GERADO A PARTIR DO PRECURSOR ISOMÉRICO NO ESTADO LÍQUIDO.	50
FIGURA 19	SONDA PARA INSERÇÃO DE SÓLIDOS NA FONTE DE IONIZAÇÃO (A) E A PARTE RETRÁTIL DA Sonda, DENTRO DA QUAL É ALOJADO O CADINHO COM O SÓLIDO DESEJADO (B).	51
FIGURA 20	CADINHO A SER COLOCADO DENTRO DA Sonda DE SÓLIDOS.	52
FIGURA 21	INSERÇÃO DA Sonda DE SÓLIDOS NO PENTAQUADRUPOLO. A) INÍCIO DO PROCEDIMENTO DE INSERÇÃO. B) Sonda TOTALMENTE INSERIDA.	52
FIGURA 22	INSERINDO Sonda DE SÓLIDOS NA FONTE DE ÍONS (A) E Sonda DE SÓLIDOS TOTALMENTE INSERIDA (B).	52
FIGURA 23	PROCEDIMENTO PARA OBTENÇÃO DE UM ESPECTRO DE MASSAS (MS2) DE CID PARA O FRAGMENTO DIAGNÓSTICO DE ESTRUTURA (FIDE).	54

FIGURA 24	INSERÇÃO DO GÁS DE COLISÃO, ARGÔNIO, EM q_4 PARA REALIZAÇÃO DE CID.	55
FIGURA 25	INSERÇÃO DE REAGENTE EM q_2 PARA OBTENÇÃO DE ESPECTROS DE MS^2 .	57
FIGURA 26	PROCEDIMENTO PARA OBTENÇÃO DE UM ESPECTRO DE MASSAS (MS^2) PARA REAÇÃO ÍON/MOLÉCULA.	57
FIGURA 27	PROCEDIMENTO PARA OBTENÇÃO DE UM ESPECTRO DE MASSAS (MS^3) DA DISSOCIAÇÃO INDUZIDA POR COLISÃO (CID) DOS PRODUTOS IÔNICOS FORMADOS NA REAÇÃO ÍON/MOLÉCULA EM q_2	58
FIGURA 28	SIMBOLOGIA UTILIZADA NA MS DE MÚLTIPLOS ESTÁGIOS E OS PRINCIPAIS TIPOS DE EXPERIMENTOS QUE PODEM SER REALIZADOS NO PENTAQUADRUPOLO. ⁷⁷	60
FIGURA 29	ESPECTROS DE MASSAS DE VARREDURA OBTIDOS COM EI A 70 EV DOS ISÔMEROS 1-ACETONAFTONA (A) E 2-ACETONAFTONA (B).	66
FIGURA 30	ESPECTRO DE MASSAS (MS^2) DA DISSOCIAÇÃO INDUZIDA POR COLISÃO (CID) DO ÍON NAFTÍLIO DE m/z 127 FORMADO A PARTIR DA 1-ACETONAFTONA (A) E 2-ACETONAFTONA.	67
FIGURA 31	ESPECTRO DE MASSAS (MS^2) DA DISSOCIAÇÃO INDUZIDA POR COLISÃO (CID) DO ÍON ACÍLIO DE m/z 155 FORMADO A PARTIR DA 1-ACETONAFTONA (A) E 2-ACETONAFTONA (B).	68
FIGURA 32	ESPECTRO DE MASSAS (MS^2) DA REAÇÃO ÍON/MOLÉCULA ENTRE 2-METIL-1,3-DIOXOLANO E O ÍON ACÍLIO DE m/z 155 FORMADO A PARTIR DA 1-ACETONAFTONA (A) E 2-ACETONAFTONA (B).	69
FIGURA 33	ESPECTROS DE MASSAS (MS^3) DO CID DO PRODUTO DE EBERLIN DE m/z 199 FORMADO A PARTIR DA REAÇÃO DE 2-METIL-1,3-DIOXOLANO (88 DA) COM O FIDE DE m/z 155 FORMADO A PARTIR DA 1-ACETONAFTONA (A) E 2-ACETONAFTONA (B).	70
FIGURA 34	ESPECTROS DE MASSAS (MS^2) DA REAÇÃO ÍON/MOLÉCULA ENTRE ISOPRENO (68 DA) E O FIDE DE m/z 155 GERADO A PARTIR DA 1-ACETONAFTONA (A) E 2-ACETONAFTONA (B).	72
FIGURA 35	ESPECTROS DE MASSAS (MS^3) DO CID PARA O CICLOADUTO DE m/z 223 FORMADO A PARTIR DA REAÇÃO ENTRE ISOPRENO (68 DA) E O FIDE DE m/z 155 GERADO A PARTIR DA 1-ACETONAFTONA (A) E 2-ACETONAFTONA (B).	72
FIGURA 36	ESPECTROS DE MASSAS (MS^2) DA REAÇÃO ENTRE ACETONITRILA (41 DA) E O FIDE DE m/z 155 GERADO A PARTIR DA 1-ACETONAFTONA (A) E 2-ACETONAFTONA (B).	74
FIGURA 37	ESPECTRO DE MASSAS (MS^3) DO CID PARA O PRODUTO IÔNICO DE m/z 168 FORMADO PELA REAÇÃO ENTRE ACETONITRILA E O FIDE DE m/z 155 GERADO A PARTIR DA 1-ACETONAFTONA.	75
FIGURA 38	ESPECTROS DE MASSAS (MS^2) DA REAÇÃO ENTRE PROPIONITRILA (55 DA) E O FIDE DE m/z 155 FORMADO A PARTIR DA 1-ACETONAFTONA (A) E 2-ACETONAFTONA (B).	76
FIGURA 39	ESPECTRO DE MASSAS (MS^2) PARA A REAÇÃO ÍON/MOLÉCULA ENTRE PROPIONITRILA (55 DA) E O ÍON NAFTÍLIO DE m/z 127 GERADO A PARTIR DA 1-ACETONAFTONA.	76
FIGURA 40	ESPECTROS DE MASSAS (MS^3) DO CID SOBRE O PRODUTO IÔNICO DE m/z 182 FORMADO A PARTIR DA REAÇÃO ENTRE PROPIONITRILA (55 DA) E O FIDE DE m/z 155 GERADO A PARTIR DA 1-ACETONAFTONA (A) E 2-ACETONAFTONA (B).	77
FIGURA 41	ESPECTROS DE MASSAS (MS^2) DA REAÇÃO ÍON/MOLÉCULA ENTRE ETIL VINIL ÉTER E O FIDE DE m/z 155 GERADO A PARTIR DA 1-ACETONAFTONA	78

	(A) E 2-ACETONAFTONA (B).	
FIGURA 42	ESPECTRO DE MASSAS (MS^3) PARA O CID SOBRE O PRODUTO IÔNICO DE m/z 253 FORMADO PELA REAÇÃO ÍON/MOLÉCULA ENTRE ETIL VINIL ÉTER (72 DA) E O FIDE DE m/z 155 GERADO A PARTIR DA 1-ACETONAFTONA (A) E 2-ACETONAFTONA (B).	81
FIGURA 43	ESPECTRO DE MASSAS (MS^3) PARA O CID DO PRODUTO IÔNICO DE m/z 165 FORMADO NA REAÇÃO ÍON MOLÉCULA ENTRE O FIDE DE m/z 155 GERADO A PARTIR DA 1-ACETONAFTONA E ETIL VINIL ÉTER.	81
FIGURA 44	ESPECTRO DE MASSAS (MS^3) PARA O CID DO PRODUTO IÔNICO DE m/z 181, FORMADO NA REAÇÃO ÍON MOLÉCULA ENTRE ETIL VINIL ÉTER E O FIDE DE m/z 155 GERADO A PARTIR DA 1-ACETONAFTONA.	82
FIGURA 45	ESPECTROS DE MASSAS (MS^2) PARA A REAÇÃO ÍON/MOLÉCULA DE PROPIL VINIL ÉTER (86 DA) COM O FIDE DE m/z 155 GERADO A PARTIR DA 1-ACETONAFTONA (A) E 2-ACETONAFTONA (B).	83
FIGURA 46	ESPECTRO DE MASSAS (MS^3) PARA O CID DO ÍON DE m/z 267 FORMADO PELA REAÇÃO ÍON/MOLÉCULA ENTRE PROPIL VINIL ÉTER E O FIDE DE m/z 155 GERADO A PARTIR DA 1-ACETONAFTONA.	83
FIGURA 47	ESPECTRO DE MASSAS (MS^2) PARA A REAÇÃO ÍON/MOLÉCULA ENTRE ETIL 1-PROPENIL ÉTER (86 DA) E O FIDE DE m/z 155 GERADO A PARTIR DA 1-ACETONAFTONA (A) E 2-ACETONAFTONA (B).	85
FIGURA 48	ESPECTROS DE MASSAS (MS^2) DA REAÇÃO ÍON/MOLÉCULA ENTRE 2-METOXIPROPENO (72 DA) E O FIDE DE m/z 155 GERADO A PARTIR DA 1-ACETONAFTONA (A) E 2-ACETONAFTONA (B).	86
FIGURA 49	ESPECTROS DE MASSAS (MS^2) DA REAÇÃO ÍON/MOLÉCULA ENTRE ETIL VINIL SULFETO E O FIDE DE m/z 155 GERADO A PARTIR DA 1-ACETONAFTONA (A) E 2-ACETONAFTONA (B).	87
FIGURA 50	ESPECTROS DE MASSAS (MS^2) DA REAÇÃO ÍON/MOLÉCULA ENTRE ISOBUTIL VINIL ÉTER E O FIDE DE m/z 155 GERADO A PARTIR DA 1-ACETONAFTONA (A) E 2-ACETONAFTONA (B).	88
FIGURA 51	ESPECTROS DE MASSAS (MS^2) DA REAÇÃO ÍON/MOLÉCULA ENTRE T-BUTIL VINIL ÉTER E O FIDE DE m/z 155 GERADO A PARTIR DA 1-ACETONAFTONA (A) E 2-ACETONAFTONA (B).	88
FIGURA 52	MOLÉCULA TESTE 4-(1-NAFTIL)-2,4-DIOXOBUTANOATO DE METILA	89
FIGURA 53	ESPECTRO DE MASSAS DE VARREDURA DA MOLÉCULA TESTE 4-(1-NAFTIL)-2,4-DIOXOBUTANOATO DE METILA OBTIDO COM EI A 70 EV.	90
FIGURA 54	ESPECTROS DE MASSAS (MS^2) PARA AS REAÇÕES ÍON/MOLÉCULA ENTRE O FIDE DE m/z 155 GERADO A PARTIR DA MOLÉCULA TESTE 4-(1-NAFTIL)-2,4-DIOXOBUTANOATO DE METILA COM OS ÉTERES VINÍLICOS: ETIL VINIL ÉTER (A), PROPIL VINIL ÉTER (B), ETIL 1-PROPENIL ÉTER (C) E 2-METOXIPROPENO (D).	91
FIGURA 55	ESPECTROS DE MASSAS (MS^2) PARA AS REAÇÕES ÍON/MOLÉCULA ENTRE O FIDE DE m/z 155, GERADO A PARTIR DA MLÉCULA TESTE 4-(1-NAFTIL)-2,4-DIOXOBUTANOATO DE METILA, E OS ÉTERES VINÍLICOS: ISOBUTIL VINIL ÉTER (A), TERC-BUTIL VINIL ÉTER (B), ALIL VINIL ÉTER (C) E ETIL VINIL SULFETO (D).	93
FIGURA 56	ESPECTROS DE MASSAS (MS) DE VARREDURA PARA A 4-BUTILANILINA (A) E N-BUTILANILINA (B). EXTRAÍDO DA BIBLIOTECA DE ESPECTROS DE MASSAS NIST/EPA/NIH.	95
FIGURA 57	ESPECTRO DE MASSAS (MS^2) DO CID PARA O FIDE DE m/z 106 FORMADO A PARTIR DA 4-BUTILANILINA(A) E N-BUTILANILINA (B).	96

FIGURA 58	ESPECTROS DE MASSAS (MS^2) DA REAÇÃO ÍON/MOLÉCULA ENTRE 2-METIL-1,3-DIOXOLANO E O FIDE DE m/z 106 FORMADO A PARTIR DA 4-BUTILANILINA (A) E <i>N</i> -BUTILANILINA (B).	97
FIGURA 59	ESPECTRO DE MASSAS (MS^3) PARA O CID DO PRODUTO IÔNICO DE m/z 150 FORMADO NA REAÇÃO ÍON/MOLÉCULA ENTRE 2-METIL-1,3-DIOXOLANO E O FIDE GERADO A PARTIR DA <i>N</i> -BUTILANILINA.	98
FIGURA 60	ESPECTRO DE MASSAS (MS^2) PARA A REAÇÃO ÍON/MOLÉCULA ENTRE ISOPRENO E O FIDE DE m/z 106 GERADO A PARTIR DA 4-BUTILANILINA (A) E <i>N</i> -BUTILANILINA (B).	100
FIGURA 61	ESPECTRO DE MASSAS (MS^3) DE CID PARA O CICLOADUTO DE m/z 174, PRODUTO IÔNICO DA REAÇÃO ÍON/MOLÉCULA ENTRE ISOPRENO E O FIDE DE m/z 106, FENILIMÔNIO, GERADO A PARTIR DA <i>N</i> -BUTILANILINA.	100
FIGURA 62	ESPECTROS DE MASSAS (MS^2) PARA A REAÇÃO ÍON/MOLÉCULA ENTRE ACROLEÍNA E O FIDE DE m/z 106 GERADO A PARTIR DA 4-BUTILANILINA (A) E <i>N</i> -BUTILANILINA (B).	101
FIGURA 63	ESPECTRO DE MASSAS (MS^3) DE CID PARA O CICLOADUTO DE m/z 162, PRODUTO IÔNICO DA REAÇÃO ÍON/MOLÉCULA ENTRE ACROLEÍNA E O FIDE DE m/z 106, FENILIMÔNIO, GERADO A PARTIR DA <i>N</i> -BUTILANILINA.	101
FIGURA 64	ESPECTROS DE MASSAS (MS^2) DA REAÇÃO ÍON/MOLÉCULA ENTRE ETIL VINIL ÉTER E O FIDE DE m/z 106, AMINOTROPÍLIO FORMADO A PARTIR DA 4-BUTILANILINA (A) E FENILIMÔNIO FORMADO A PARTIR DA <i>N</i> -BUTILANILINA (B).	102
FIGURA 65	ESPECTRO DE MASSAS (MS^3) DE CID PARA O CICLOADUTO DE m/z 178 FORMADO A PARTIR DA REAÇÃO ÍON/MOLÉCULA ENTRE ETIL VINIL ÉTER E O FIDE DE m/z 106, FENILIMÔNIO, GERADO A PARTIR DA <i>N</i> -BUTILANILINA.	103
FIGURA 66	MOLÉCULAS TESTES 4-PENTILANILINA (A) E <i>N</i> -ISOPENTILANILINA (B).	103
FIGURA 67	ESPECTROS DE MASSAS DE VARREDURA OBTIDOS POR EI A 70 eV PARA AS MOLÉCULAS TESTES 4-PENTILANILINA (A), <i>N</i> -ISOPENTILANILINA (B).	104
FIGURA 68	ESPECTROS DE MASSAS (MS) DE CID PARA O ÍON m/z 106 GERADO A PARTIR DA 4-PENTILANILINA (A) E <i>N</i> -ISOPENTILANILINA (B).	104
FIGURA 69	ESPECTROS DE MASSAS (MS^2) DA REAÇÃO ÍON/MOLÉCULA COM 2-METIL-1,3-DIOXOLANO E O FIDE DE m/z 106, AMINOTROPÍLIO, FORMADO A PARTIR DA 4-PENTILANILINA (A) E O FIDE DE m/z 106, FENILIMÔNIO, FORMADO A PARTIR DA <i>N</i> -ISOPENTILANILINA (B).	105
FIGURA 70	ESPECTRO DE MASSAS (MS^2) PARA A REAÇÃO ÍON/MOLÉCULA ENTRE ACROLEÍNA E O FIDE DE m/z 106, AMINOTROPÍLIO, GERADO A PARTIR DA MOLÉCULA TESTE 4-PENTILANILINA (A) E O FIDE DE m/z 106, FENILIMÔNIO, GERADO A PARTIR DA MOLÉCULA TESTE <i>N</i> -ISOPENTILANILINA (B).	106
FIGURA 71	ESPECTROS DE MASSAS (MS^2) DAS REAÇÕES ÍON/MOLÉCULA ENTRE ISOPRENO E O FIDE DE m/z 106, AMINOTROPÍLIO, FORMADO A PARTIR DA MOLÉCULA TESTE 4-PENTILANILINA E O FIDE DE m/z 106, FENILIMÔNIO, FORMANDO A PARTIR DA MOLÉCULA TESTE <i>N</i> -ISOPENTILANILINA.	107
FIGURA 72	ESTRUTURAS DOS PRECURSORES ISOMÉRICOS 2-CARBETOXIPERIDINA (A), 3-CARBETOXIPERIDINA (B) E 4-CARBETOXIPERIDINA (C).	108
FIGURA 73	ESPECTROS DE MASSAS DE VARREDURA OBTIDOS POR EI A 70 eV DO PRECURSORES ISOMÉRICOS 2-CARBETOXIPERIDINA (A), 3-CARBETOXIPERIDINA (B) E 4-CARBETOXIPERIDINA (C).	109
FIGURA 74	ESPECTROS DE MASSAS (MS^2) DE CID PARA O ÍON ACÍLIO DE m/z 112, GERADO A PARTIR DA 3-CARBETOXIPERIDINA (A) E 4-CARBETOXIPERIDINA (B).	110

FIGURA 75	ESPECTROS DE MASSAS (MS^2) DE CID PARA O ÍON DE m/z 128, GERADO A PARTIR DA 3-CARBETOXIPIPERIDINA (A) E 4-CARBETOXIPIPERIDINA (B).	111
FIGURA 76	ESPECTROS DE MASSAS (MS^2) DA REAÇÃO ÍON/MOLÉCULA ENTRE 2-METIL-1,3-DIOXOLANO E O ÍON ACÍLIO DE m/z 112, FORMADO A PARTIR DA 3-CARBETOXIPIPERIDINA (A) E 4-CARBETOXIPIPERIDINA (B).	112
FIGURA 77	ESPECTROS DE MASSAS (MS^3) DE CID PARA O PRODUTO IÔNICO DE m/z 158 FORMADO NA REAÇÃO ÍON/MOLÉCULA ENTRE 2-METIL-1,3-DIOXOLANO E O ÍON ACÍLIO DE m/z 112, GERADO A PARTIR DA 3-CARBETOXIPIPERIDINA (A) E 4-CARBETOXIPIPERIDINA (B).	113
FIGURA 78	ESPECTROS DE MASSAS (MS^2) PARA A REAÇÃO ÍON/MOLÉCULA ENTRE ETIL VINIL ÉTER E O ÍON ACÍLIO DE m/z 112 GERADO A PARTIR DA 3-CARBETOXIPIPERIDINA (A) E 4-CARBETOXIPIPERIDINA (B).	114
FIGURA 79	ESPECTRO DE MASSAS (MS^3) DE CID PARA O PRODUTO IÔNICO DE m/z 138 FORMADO NA REAÇÃO ÍON/MOLÉCULA ENTRE ETIL VINIL ÉTER E O ÍON ACÍLIO DE m/z 112, GERADO A PARTIR DA 3-CARBETOXIPIPERIDINA.	116
FIGURA 80	ESPECTROS DE MASSAS (MS^3) DE CID PARA O ADUTO DE m/z 184, FORMADO NA REAÇÃO ÍON/MOLÉCULA ENTRE ETIL VINIL ÉTER E O ÍON ACÍLIO DE m/z 112, GERADO A PARTIR DA 3-CARBETOXIPIPERIDINA (A) E 4-CARBETOXIPIPERIDINA (B).	116
FIGURA 81	ESPECTRO DE MASSAS (MS^3) DE CID PARA O PRODUTO IÔNICO DE m/z 158 FORMADO NA REAÇÃO ÍON/MOLÉCULA ENTRE ETIL VINIL ÉTER E O ÍON ACÍLIO DE m/z 112, GERADO A PARTIR DA 3-CARBETOXIPIPERIDINA (A) E 4-CARBETOXIPIPERIDINA (B).	117
FIGURA 82	ESPECTRO DE MASSAS (MS^3) DE CID PARA O PRODUTO IÔNICO DE m/z 156 FORMADO NA REAÇÃO ÍON/MOLÉCULA ENTRE ETIL VINIL ÉTER E O ÍON ACÍLIO DE m/z 112, GERADO A PARTIR DA 4-CARBETOXIPIPERIDINA.	117
FIGURA 83	ESTRUTURA MOLECULAR DO ÁCIDO 1-CICLOHEXENO-1-CARBOXÍLICO (A) E DO ÁCIDO 3-CICLOHEXENO-1-CARBOXÍLICO (B).	118
FIGURA 84	ESPECTROS DE MASSAS DE VARREDURA OBTIDO COM EI A 70 eV PARA OS ISÔMEROS ÁCIDO 1-CICLOHEXENO-1-CARBOXÍLICO (A) E DO ÁCIDO 3-CICLOHEXENO-1-CARBOXÍLICO (B).	119
FIGURA 85	ESPECTROS DE MASSAS (MS^2) DE CID PARA O ÍON DE m/z 108 GERADO A PARTIR DO ÁCIDO 1-CICLOHEXENO-1-CARBOXÍLICO (A) E DO ÁCIDO 3-CICLOHEXENO-1-CARBOXÍLICO (B).	120
FIGURA 86	ESPECTROS DE MASSAS (MS^2) PARA A REAÇÃO ÍON/MOLÉCULA ENTRE 2-METIL-1,3-DIOXOLANO E O ÍON DE m/z 108 GERADO A PARTIR DO ÁCIDO 1-CICLOHEXENO-1-CARBOXÍLICO (A) E DO ÁCIDO 3-CICLOHEXENO-1-CARBOXÍLICO (B).	122
FIGURA 87	ESPECTROS DE MASSAS (MS^2) PARA A REAÇÃO ÍON/MOLÉCULA ENTRE ISOPRENO E O ÍON DE m/z 108 GERADO A PARTIR DO ÁCIDO 1-CICLOHEXENO-1-CARBOXÍLICO (A) E DO ÁCIDO 3-CICLOHEXENO-1-CARBOXÍLICO (B).	123
FIGURA 88	ESPECTROS DE MASSAS (MS^2) PARA A REAÇÃO ÍON/MOLÉCULA ENTRE ACROLEÍNA E O ÍON DE m/z 108 GERADO A PARTIR DO ÁCIDO 1-CICLOHEXENO-1-CARBOXÍLICO (A) E DO ÁCIDO 3-CICLOHEXENO-1-CARBOXÍLICO (B).	124
FIGURA 89	ESPECTROS DE MASSAS (MS^2) DA REAÇÃO ÍON/MOLÉCULA ENTRE ETIL VINIL CETONA (84 DA) E O ÍON DE m/z 108, GERADO A PARTIR DO ÁCIDO 1-CICLOHEXENO-1-CARBOXÍLICO (A) E DO ÁCIDO 3-CICLOHEXENO-1-CARBOXÍLICO (B).	125
FIGURA 90	ESPECTROS DE MASSAS (MS^2) PARA A REAÇÃO ÍON/MOLÉCULA ENTRE 1-	126

	TRIMETILSILOXIL-1,3-BUTADIENO (142 DA) E O ÍON DE m/z 108 GERADO A PARTIR DO ÁCIDO 1-CICLOHEXENO-1-CARBOXÍLICO (A) E DO ÁCIDO 3-CICLOHEXENO-1-CARBOXÍLICO (B).	
FIGURA 91	ESPECTROS DE MASSAS (MS^2) PARA A REAÇÃO ÍON/MOLÉCULA ENTRE O DIENO DE DANISHEFSKY E O ÍON DE m/z 108 GERADO A PARTIR DO ÁCIDO 1-CICLOHEXENO-1-CARBOXÍLICO (A) E DO ÁCIDO 3-CICLOHEXENO-1-CARBOXÍLICO (B).	127
FIGURA 92	ESPECTROS DE MASSAS (MS^2) PARA A REAÇÃO ÍON/MOLÉCULA ENTRE O ETIL VINIL ÉTER E O ÍON DE m/z 108 GERADO A PARTIR DO ÁCIDO 1-CICLOHEXENO-1-CARBOXÍLICO (A) E DO ÁCIDO 3-CICLOHEXENO-1-CARBOXÍLICO (B).	128
FIGURA 93	ESPECTROS DE MASSAS (MS^2) DA REAÇÃO ÍON/MOLÉCULA ENTRE DIMETILSULFETO E O ÍON DE m/z 108 FORMADO A PARTIR DO ÁCIDO 1-CICLOHEXENO-1-CARBOXÍLICO (A) E DO ÁCIDO 1-CICLOHEXENO-3-CARBOXÍLICO (B).	130
FIGURA 94	ESPECTROS DE MASSAS (MS^2) DA REAÇÃO ÍON/MOLÉCULA ENTRE BROMETO DE ALILA E O ÍON DE m/z 108 GERADO A PARTIR DO ÁCIDO 1-CICLOHEXENO-1-CARBOXÍLICO (A) E DO ÁCIDO 1-CICLOHEXENO-3-CARBOXÍLICO (B).	128
FIGURA 95	ESPECTROS DE MASSAS (MS^2) DA REAÇÃO ÍON/MOLÉCULA ENTRE BROMETO DE ALILA E O ÍON DE m/z 80 GERADO A PARTIR DO ÁCIDO 1-CICLOHEXENO-1-CARBOXÍLICO (A) E ÁCIDO 1-CICLOHEXENO-3-CARBOXÍLICO (B).	133
FIGURA 96	ESPECTROS DE MASSAS (MS^2) DA REAÇÃO ÍON/MOLÉCULA ENTRE CLORETO DE ALILA E O ÍON DE m/z 108 FORMADO A PARTIR DO ÁCIDO 1-CICLOHEXENO-1-CARBOXÍLICO (A) E DO ÁCIDO 1-CICLOHEXENO-3-CARBOXÍLICO.	134
FIGURA 97	ESTRUTURAS DOS ISÔMEROS 2-METILTIOFENO (A) E 3-METILTIOFENO (B).	135
FIGURA 98	ESPECTROS DE MASSAS DE VARREDURA PARA OS PRECURSORES ISOMÉRICOS 2-METILTIOFENO (A) E 3-METILTIOFENO (B).	136
FIGURA 99	ESPECTROS DE MASSAS (MS^2) DE CID PARA O ÍON DE m/z 97 FORMANDO PELOS PRECURSORES ISOMÉRICOS 2-METILTIOFENO (A) E 3-METILTIOFENO (B).	136
FIGURA 100	ESPECTRO DE MASSAS (MS^2) DA REAÇÃO ÍON/MOLÉCULA ENTRE ETIL VINIL ÉTER E O ÍON DE m/z 97 FORMADO A PARTIR DOS PRECURSORES ISOMÉRICOS 2-METILTIOFENO (A) E 3-METILTIOFENO (B).	137
FIGURA 101	ESPECTROS DE MASSAS (MS^2) DA REAÇÃO ÍON/MOLÉCULA ENTRE 2,2-DIMETIL-1,3-DIOXOLANO E O ÍON TIOFORMILA DE m/z 45 FORMADO A PARTIR DOS PRECURSORES ISOMÉRICOS DE 2-METILTIOFENO (A) E 3-METILTIOFENO (B).	130
FIGURA 102	ESPECTROS DE MASSAS (MS^2) DA REAÇÃO ÍON/MOLÉCULA REALIZADA ENTRE 2,2-DIMETIL-1,3-DIOXOLANO E O ÍON DE m/z 53 FORMADO A PARTIR DOS PRECURSORES ISOMÉRICOS 2-METILTIOFENO (A) E 3-METILTIOFENO (B).	140
FIGURA 103	ESPECTROS DE MASSAS (MS^2) DA REAÇÃO ÍON/MOLÉCULA REALIZADA ENTRE 2,2-DIMETIL-1,3-DIOXOLANO E O ÍON DE m/z 69 FORMADO A PARTIR DOS PRECURSORES ISOMÉRICOS 2-METILTIOFENO (A) E 3-METILTIOFENO (B).	141
FIGURA 104	ESPECTROS DE MASSAS (MS^2) DA REAÇÃO ÍON/MOLÉCULA REALIZADA ENTRE 2,2-DIMETIL-1,3-DIOXOLANO E O ÍON TIOPIRÍLIO DE m/z 97 FORMADO A PARTIR DOS PRECURSORES ISOMÉRICOS 2-METILTIOFENO	142

	(A) E 3-METILTIOFENO (B).	
FIGURA 105	ESPECTROS DE MASSAS (MS^2) DA REAÇÃO ÍON/MOLÉCULA REALIZADA ENTRE ISOPRENO E O CÁTION TIOFORMILA DE m/z 45, FORMADO A PARTIR DOS PRECURSORES ISOMÉRICOS 2-METILTIOFENO (A) E 3-METILTIOFENO (B).	143
FIGURA 106	ESPECTROS DE MASSAS (MS^2) DA REAÇÃO ÍON/MOLÉCULA REALIZADA ENTRE ISOPRENO E O ÍON DE m/z 69, FORMADO A PARTIR DOS PRECURSORES ISOMÉRICOS 2-METILTIOFENO (A) E 3-METILTIOFENO (B).	144
FIGURA 107	ESPECTROS DE MASSAS (MS^2) DA REAÇÃO ÍON/MOLÉCULA REALIZADA ENTRE ISOPRENO E O ÍON TIOPIRÍLIO m/z 97, FORMADO A PARTIR DOS PRECURSORES ISOMÉRICOS 2-METILTIOFENO (A) E 3-METILTIOFENO (B).	145
FIGURA 108	ESTRUTURAS DOS ISÔMEROS 1-METILPIPERIDINA (A), 2-METILPIPERIDINA (B) E 3-METILPIPERIDINA (C).	146
FIGURA 109	ESPECTROS DE MASSAS DE VARREDURA OBTIDOS COM EI A 70 eV DOS ISÔMEROS 1-METILPIPERIDINA (A), 2-METILPIPERIDINA (B) E 3-METILPIPERIDINA (C).	147
FIGURA 110	ESPECTRO DE MASSAS (MS^2) DE CID PARA O FIDE DE m/z 70 FORMADO A PARTIR DA 1-METILPIPERIDINA (A), 2-METILPIPERIDINA (A), 3-METILPIPERIDINA (C).	151
FIGURA 111	ESPECTROS DE MASSAS (MS^2) DA REAÇÃO ÍON/MOLÉCULA ENTRE ETIL VINIL ÉTER E O ÍON AZABUTADIENO DE m/z 70 GERADO A PARTIR DA 1-METILPIPERIDINA (A), 2-METILPIPERIDINA (B), 3-METILPIPERIDINA (C).	152
FIGURA 112	ESPECTRO DE MASSAS (MS^3) DE CID PARA O PRODUTO IÔNICO DE m/z 142 FORMADO NA REAÇÃO ÍON/MOLÉCULA ENTRE ETIL VINIL ÉTER E O FIDE DE m/z 70 GERADO A PARTIR DA 1-METILPIPERIDINA.	153
FIGURA 113	ESPECTROS DE MASSAS (MS^3) DE CID PARA O PRODUTO IÔNICO DE m/z 103 FORMADO NA REAÇÃO ÍON/MOLÉCULA ENTRE ETIL VINIL ÉTER E O FIDE DE m/z 70 GERADO A PARTIR DA 1-METILPIPERIDINA (A), 2-METILPIPERIDINA (B) E 3-METILPIPERIDINA (C).	154
FIGURA 114	ESPECTROS DE MASSAS (MS^3) DE CID PARA O PRODUTO IÔNICO DE m/z 116 FORMADO NA REAÇÃO ÍON/MOLÉCULA ENTRE ETIL VINIL ÉTER E O FIDE DE m/z 70 GERADO A PARTIR DA 1-METILPIPERIDINA (A), 2-METILPIPERIDINA (B) E 3-METILPIPERIDINA (C).	154
FIGURA 115	ESPECTROS DE MASSAS (MS^2) DA REAÇÃO ÍON/MOLÉCULA ENTRE PROPIONITRILA E O FIDE DE m/z 70 FORMADO A PARTIR DA 1-METILPIPERIDINA (A), 2-METILPIPERIDINA (B) E 3-METILPIPERIDINA (C).	155
FIGURA 116	ESPECTROS DE MASSAS (MS^2) DA REAÇÃO ÍON/MOLÉCULA ENTRE ACRILONITRILA E O FIDE DE m/z 70 FORMADO A PARTIR DA 1-METILPIPERIDINA (A), 2-METILPIPERIDINA (B) E 3-METILPIPERIDINA (C).	156
FIGURA 117	ESPECTROS DE MASSAS (MS^2) DA REAÇÃO ÍON/MOLÉCULA ENTRE ISOPRENO E O FIDE DE m/z 70 GERADO A PARTIR DA 1-METILPIPERIDINA (A), 2-METILPIPERIDINA (B), 3-METILPIPERIDINA (C).	157
FIGURA 118	ESPECTROS DE MASSAS (MS^2) ENTRE ACETONA E O FIDE DE m/z 70 FORMADO A PARTIR DA 1-METILPIPERIDINA (A), 2-METILPIPERIDINA (B) E 3-METILPIPERIDINA (C).	158
FIGURA 119	ESPECTROS DE MASSAS (MS^3) DE CID PARA O PRODUTO IÔNICO DE m/z 128 FORMADO NA REAÇÃO ÍON/MOLÉCULA ENTRE ACETONA E O FIDE DE m/z 70 GERADO A PARTIR DA 1-METILPIPERIDINA (A), 2-METILPIPERIDINA (B), 3-METILPIPERIDINA (C)	159
FIGURA 120	ESPECTRO DE MASSAS (MS^3) DE CID PARA O PRODUTO IÔNICO DE m/z 114 FORMADO NA REAÇÃO ÍON/MOLÉCULA ENTRE ACETONA E O FIDE DE m/z	160

	70 GERADO A PARTIR DA 2-METILPIPERIDINA.	
FIGURA 121	ESPECTRO DE MASSAS (MS^3) DE CID PARA O PRODUTO IÔNICO DE m/z 158 FORMADO NA REAÇÃO ÍON/MOLÉCULA ENTRE ACETONA E O FIDE DE m/z 70 GERADO A PARTIR DA 2-METILPIPERIDINA.	160
FIGURA 122	FLUXOGRAMA PARA ATRIBUIÇÃO DE CONFIGURAÇÃO PARA ACETONAFTONAS.	163
FIGURA 123	FLUXOGRAMA PARA ATRIBUIÇÃO DE CONFIGURAÇÃO PARA ALQUIANILINAS.	164
FIGURA 124	FLUXOGRAMA PARA ATRIBUIÇÃO DE CONFIGURAÇÃO PARA CARBETOXIPERIDINAS.	165
FIGURA 125	FLUXOGRAMA PARA ATRIBUIÇÃO DE CONFIGURAÇÃO PARA METILPIPERIDINAS.	165

LISTA DE ESQUEMAS

ESQUEMA 1	FRAGMENTAÇÃO DA ACETONA POR PERDA RADICALAR (A) E DA 2-PENTANONA POR PERDA NEUTRA (B) EM EI A 70 eV.	17
ESQUEMA 2	FRAGMENTAÇÃO POR EI DAS ACETONAFTONAS.	65
ESQUEMA 3	MECANISMO DA REAÇÃO DE EBERLIN ⁸⁰ .	69
ESQUEMA 4	MECANISMO DA REAÇÃO DE EBERLIN ENTRE 2-METIL-1,3-DIOXOLANO E O FIDE DE m/z 155.	69
ESQUEMA 5	REAÇÃO DE CICLOADIÇÃO POLAR [4 + 2+].	71
ESQUEMA 6	MECANISMO DA REAÇÃO ENTRE ÍONS ACÍLIO E NITRILAS ⁸⁴ .	73
ESQUEMA 7	MECANISMO DA ADIÇÃO DE ACETONITRILA AO ÍON NAFTÍLIO DE m/z 127.	73
ESQUEMA 8	REAÇÃO ENTRE O FIDE DE m/z 155 E PROPIONITRILA	76
ESQUEMA 9	MECANISMO PROPOSTO PARA A REAÇÃO ENTRE ETIL VINIL ÉTER O FIDE DE m/z 155 GERADO A PARTIR DA 1-ACETONAFTONA.	80
ESQUEMA 10	MECANISMO DA REAÇÃO ÍON/MOLÉCULA ENTRE ETIL 1-PROPENIL ÉTER E O FIDE DE m/z 155 GERADO A PARTIR DA 1-ACETONAFTONA.	85
ESQUEMA 11	FORMAÇÃO DO FIDE DE m/z 106 A PARTIR DOS PRECURSORES ISOMÉRICOS 4-BUTILANILINA (A) E N-BUTILANILINA (B).	95
ESQUEMA 12	MECANISMO PROPOSTO PARA A REAÇÃO DE TRANSACETALIZAÇÃO POLAR COM O ÍON DE m/z 106 FORMADO A PARTIR DA N-BUTILANILINA.	98
ESQUEMA 13	PROPOSTA DO MECANISMO DE DISSOCIAÇÃO DO ÍON DE m/z 150.	98
ESQUEMA 14	REAÇÃO DE CICLOADIÇÃO POLAR [4 + 2+] COM ÍON FENILIMÔNIO DE m/z 106.	99
ESQUEMA 15	MECANISMO DE REAÇÃO ENTRE ETIL VINIL ÉTER E O FIDE DE m/z 106 FORMADO A PARTIR DA N-BUTILANILINA.	102
ESQUEMA 16	FRAGMENTAÇÃO DO ÍON MOLÉCULAR DE m/z 157 GERANDO O ÍON ACÍLIO DE m/z 112 A PARTIR DO PRECURSOR ISOMÉRICO 2-CARBETOXIPIPERIDINA (A), 3-CARBETOXIPIPERIDINA (B) E 4-CARBETOXIPIPERIDINA (C).	109
ESQUEMA 17	MECANISMO DA REAÇÃO DE EBERLIN PARA O ÍON ACÍLIO DE m/z 112 GERADO A PARTIR DE CARBETOXIPIPERIDINAS.	112
ESQUEMA 18	CAMINHOS DISSOCIATIVOS POSSÍVEIS PARTINDO DO ADUTO DE m/z 200.	113
ESQUEMA 19	ADIÇÃO NUCLEOFÍLICA DO ETIL VINIL ÉTER AO ÍON ACÍLIO DE m/z 112.	114
ESQUEMA 20	PROPOSTA DE FRAGMENTAÇÃO DO ÍON MOLECULAR DE m/z 126 DO ÁCIDO 1-CICLOHEXENO-1-CARBOXÍLICO FORMANDO O ÍON DE m/z 108.	119
ESQUEMA 21	PROPOSTA DE FRAGMENTAÇÃO DO ÍON MOLECULAR DE m/z 126 DO ÁCIDO 3-CICLOHEXENO-1-CARBOXÍLICO FORMANDO O ÍON DE m/z 108.	119
ESQUEMA 22	MECANISMO DA REAÇÃO DE EBERLIN PARA O ÍON DE m/z 108 FORMADO A PARTIR DO ÁCIDO 1-CICLOHEXENO-1-CARBOXÍLICO (A) E DO ÁCIDO 3-CICLOHEXENO-1-CARBOXÍLICO.	121
ESQUEMA 23	PROPOSTA DE MECANISMO PARA FORMAÇÃO DO ADUTOS DE ACROLEINA DE m/z 136 E m/z 192 A PARTIR DO ÍON DE m/z 80 GERADO A PARTIR DOS PRECURSORES ÁCIDO 1-CICLOHEXENO-1-CARBOXÍLICO (A) E DO ÁCIDO 3-CICLOHEXENO-1-CARBOXÍLICO (B).	124
ESQUEMA 24	REAÇÃO DE SUBSTITUIÇÃO (SH_2') ENTRE O ÍON DE m/z 80 GERADO A PARTIR DO ÁCIDO 1-CICLOHEXENO-1-CARBOXÍLICO COM BROMETO DE ALILA PROMOVENDO A ALILAÇÃO (A) E A BROMAÇÃO (B).	131
ESQUEMA 25	REAÇÃO DE SUBSTITUIÇÃO (SH_2') ENTRE O ÍON DE m/z 80 GERADO A PARTIR DO ÁCIDO 1-CICLOHEXENO-3-CARBOXÍLICO COM BROMETO DE	132

	ALILA PROMOVEDO A ALILAÇÃO (A) E A BROMAÇÃO (B).	
ESQUEMA 26	PROPOSTA DE FRAGMENTAÇÃO DO BROMETO DE ALILA POSITIVO RADICALAR GERANDO O RADICAL ALILA (A) E O CÁTION ALILA (B)	132
ESQUEMA 27	MECANISMO DE FORMAÇÃO DO ÍON TIOPIRÍLIO DE m/z 97	138
ESQUEMA 28	MECANISMO DA REAÇÃO DE EBERLIN ENTRE O CÁTION TIOFORMILA DE m/z 45 COM 2,2-DIMETIL-1,3-DIOXOLANO (102 DA).	140
ESQUEMA 29	MECANISMO DE FORMAÇÃO DO PRODUTO IÔNICO DE m/z 113 ATRAVÉS DA REAÇÃO DE EBERLIN.	141
ESQUEMA 30	PRINCIPAIS FRAGMENTAÇÕES DO ÍON DE m/z 99, GERADO A PARTIR DOS PRECURSORES ISOMÉRICOS 1-METILPIPERIDINA (A) 2-METILPIPERIDINA (B) E 3-METILPIPERIDINA (C).	148
ESQUEMA 31	PRINCIPAIS CAMINHOS DISSOCIATIVOS DA 1-METILPIPERIDINA	149
ESQUEMA 32	MECANISMO PROPOSTO PARA A ADIÇÃO DE ETIL VINIL ÉTER AO ÍON DE m/z 70.	153
ESQUEMA 33	REAÇÃO DO TIPO HETERO DIELS-ALDER ENTRE ACETONA E O ÍON AZABUTADIENO DE m/z 70, GERADO A PARTIR DA 1-METILPIPERIDINA (A), 2-METILPIPERIDINA (B) E 3-METILPIPERIDINA (C) FORMADO O CICLOADUTO DE m/z 128.	159

INTRODUÇÃO

1 – Introdução

A diferenciação de isômeros constitucionais que apresentam estruturas similares como a isomeria do tipo *cis-trans* ou *orto/meta/para* requer o uso de diferentes técnicas analíticas para caracterização e atribuição de configuração destes compostos. Os isômeros são normalmente diferenciados por espectroscopia na região do infravermelho (IV), ressonância magnética nuclear (RMN) e espectrometria de massas (MS)^a. A técnica de IV permite atribuir os grupos funcionais presentes na amostra, no entanto, não diferencia isômeros de forma absoluta como a RMN. Além disso, para IV é necessário obter o espectro para o padrão de cada isômero e compará-los.¹ A técnica de RMN consegue diferenciar isômeros e é a mais indicada para atribuições absolutas, no entanto, sua sensibilidade é várias ordens de grandeza menor que a MS.

Os isômeros apresentam estruturas e propriedades distintas, porém apresentam a mesma massa molecular. Como a MS analisa a relação massa-sobre-carga (m/z), quando se trata de íons monocarregados a m/z expressa a massa do composto analisado, portanto, quando se está analisando íons em fase gasosa, a MS não consegue distinguir isômeros.

Existem diferentes estratégias baseadas na correlação entre estrutura e propriedades físico-químicas que procuram suprir esta característica inerente da MS, como as estratégias que exploram a reatividade unimolecular ou bimolecular.² Mas estes procedimentos não são absolutos pois é necessário realizar a comparação entre os espectros de massas de varredura ou espectrometria de massas seqüencial^b (MS/MS). Para isso é necessário ter à disposição o conjunto de isômeros, cujas estruturas já foram investigadas por outras técnicas, e se obter os espectros de massas para cada isômero pertencente àquele conjunto, criando assim, um conjunto de espectros de referência. No entanto, mesmo quando se tem à disposição todos os isômeros,

^a Do inglês: Mass Spectrometry (MS)

^b Tradução para *Tandem* de acordo com a terminologia da língua inglesa.

os seus espectros de massas podem ser muito parecidos, não permitindo a diferenciação entre eles.

Logo, não é possível realizar a caracterização ou uma diferenciação de grande abrangência por MS, se não estiver à disposição o conjunto de isômeros dentro de uma mesma classe. Portanto, para uma nova molécula que apresenta isomeria constitucional, só o espectro de massas da molécula não permite uma atribuição de configuração inequívoca.

Este estudo visa mostrar a utilização de uma nova metodologia absoluta e geral para atribuição de isomeria constitucional utilizando espectrometria de massas. Para isso é proposta uma nova estratégia que procura caracterizar o precursor isomérico através do comportamento em fase gasosa de um fragmento iônico diagnóstico de estrutura (FIDE). Esta estratégia é baseada na expectativa de que cada uma das moléculas dentro de uma série de compostos isoméricos irá formar o FIDE através da técnica de ionização utilizada.

A principal característica do FIDE é que este deve reter a informação estrutural do precursor isomérico. O FIDE servirá como uma referência para a série de isômeros e, portanto, se estes íons apresentarem dissociação ou química bi-molecular características, logo se apresenta um método de grande abrangência para atribuição de isomeria constitucional, pois irá funcionar não só para os isômeros dentro da classe, mas para qualquer composto homólogo ou análogo à série de isômeros, partindo-se da premissa que cada um destes compostos, homólogos ou análogos, irão formar o FIDE.

1.1 – Espectrometria de Massas

É atribuído a Joseph John Thomson, o título de pai da espectrometria de massas, que com seus experimentos nos Laboratórios Cavendish da Universidade de Cambridge, construiu o primeiro espectrômetro de massas.

No entanto, foi Eugen Goldstein que deu os primeiros passos descobrindo os raios canais ou “*Kanalstrahlen*”, produzidos por uma descarga elétrica num gás mantido a baixa pressão dentro de um tubo de vidro equipado com um cátodo perfurado. Diferente dos raios catódicos, os raios canais formavam uma corrente de íons que saía do cátodo e se direcionava ao ânodo. Goldstein concluiu que estes raios eram compostos por partículas positivas.³

Em 1896, o físico alemão Wilhelm Wien mostrou que os raios canais podiam ser defletidos por fortes campos magnéticos e elétricos e que quando estes eram superpostos, diferentes gases apresentavam parábolas de diferentes relações de carga-e-massa (e/m).

Thomson se baseou nos experimentos de Wien para estudar os raios canais de Goldstein, construindo um tubo de vidro que operava com pressões menores que as de Wien, permitindo que os espectros produzidos apresentassem parábolas mais resolvidas e não tão difusas como as de Wien. Foi quando Thomson usou neônio como o gás de preenchimento, que grande dúvida surgiu. O espectro apresentava duas parábolas referentes a m/z 20 e m/z 22. Thomson acreditava que apenas a parábola de m/z 20 fosse referente ao neônio e a de m/z 22 fosse NeH_2 ou dióxido de carbono (CO_2) duplamente carregado e não acreditava que este poderia ser outro sinal de neônio referente ao seu isótopo de número de massa 22, que ainda não era conhecido na época.

Francis William Aston, aluno de Thomson, acreditava que o sinal de m/z 22 era de fato neônio, porém um isótopo do elemento. Aston solucionou definitivamente o problema, construindo um espectrógrafo com o campo magnético posicionado ao lado do campo elétrico (*tandem*) e com um sistema de colimação dos íons produzidos no tubo de vidro após a descarga. Isto permitiu um espectro mais resolvido, que ajudou a provar que o sinal era de fato

um isótopo de neônio.^{3,4} Parece estranho a descrença de Thomson, quanto à possibilidade do sinal de m/z 22 ser um isótopo, no entanto, na época de Thomson e Aston, não se sabia de existência de isótopos para elementos estáveis na natureza. Sabia-se apenas de isótopos de elementos radioativos gerados nos estudos de decaimento realizados pelo radioquímico inglês, Frederick Soddy, ganhador do prêmio Nobel em química de 1921, com seus estudos sobre substâncias radioativas. Soddy foi o primeiro a cunhar o termo isótopo para elementos de mesmo número de prótons mas diferentes número de nêutrons.³

Outros grandes cientistas contribuíram para o desenvolvimento da espectrometria de massas para que hoje esta chegasse a ser umas das técnicas analíticas de maior importância na ciência, movimentando um mercado bilionário em todo o mundo.⁵

Fundamentalmente, a espectrometria de massas é uma técnica analítica que permite discriminar íons de acordo com suas relações massa-sobre-carga (m/z). O valor m/z , atribuído a um íon, é um número adimensional, ou seja, m/z não é uma unidade e sim um adjetivo do íon.⁶ Isto é importante ressaltar pois o que é medido em espectrometria de massas é m/z e não a massa de um íon. Apenas para íons monocarregados, a m/z reflete a massa física do íon. Para íons multiplamente carregados isto não se aplica.

Além de discriminar íons, a MS é capaz de contar a quantidade de íons numa determinada m/z . A MS não analisa átomos neutros ou moléculas neutras. Antes de discriminar os íons é necessário, primeiramente, gerá-los utilizando um sistema de ionização ou fonte de íons. As diferentes ionizações existentes é que determinam a aplicabilidade da MS.⁷

A Figura 1 mostra um diagrama com os componentes mais importantes de um espectrômetro de massas. O primeiro deles é o sistema de ionização, que irá gerar íons na fase gasosa ou irá transferir espécies iônicas em solução para a fase gasosa. Estes íons são direcionados para o analisador de massas (m/z) que irá discriminar a população de íons de acordo com suas m/z 's. Depois de discriminar as m/z 's é necessário quantificar quantos íons referentes a uma

determinada m/z estão na população de íons e quem quantifica isto é o detector. Depois da detecção é necessário um sistema que trate as informações dadas pelo detector e as transforme num espectro de massas: um gráfico que no eixo das abscissas apresenta as diferentes m/z 's e no eixo das ordenadas indica a intensidade dos íons presentes na amostra.

O diagrama da Figura 1 também mostra que o analisador de massas e o sistema de detecção são mantidos sob vácuo e isto não necessariamente se aplica para os sistemas de ionização, pois alguns deles estão a pressão atmosférica, fato que revolucionou a espectrometria de massas.

Os sistemas de ionização determinam um espectro de aplicabilidade da MS, pois as fontes de íons determinam o tipo de analito que é possível ser analisado. A Figura 2 mostra a relação que existe entre polaridade de uma molécula e a massa molecular para as principais técnicas de ionização. A ionização por elétrons (EI^c) e a ionização química (CI^d) são técnicas que necessitam de moléculas neutras em fase gasosa e para isso deve-se aquecer a amostra. Para compostos termicamente estáveis, ou seja, que não degradam com aquecimento, EI e CI são adequadas para a ionização. Para biomoléculas, como proteínas e peptídeos, o uso de EI e CI é inadequado, pois estes não são termicamente estáveis e degradam com altas temperaturas, sendo melhor o uso de *Electrospray* (ESI), uma técnica de ionização à pressão atmosférica que transfere espécies carregadas em solução para a fase gasosa.^{8,9}

Além de EI e ESI, o diagrama da Figura 2 mostra outras técnicas de ionização importantes em MS, como a ionização/dessorção à “laser” assistida por matriz (MALDI^e), uma técnica de ionização mantida sob vácuo, importante para a análise de proteínas e polímeros,¹⁰ a ionização química à pressão atmosférica (APCI^f) e fotoionização à pressão atmosférica (APPI^g).

^c Do inglês: *Electron Ionization* (EI).

^d Do inglês: *Chemical ionization* (CI).

^e Do inglês: *Matrix assisted laser desorption/ionization* (MALDI).

^f Do inglês: *Atmospheric pressure chemical ionization* (APCI).

^g Do inglês: *Atmospheric pressure photoionization* (APPI).

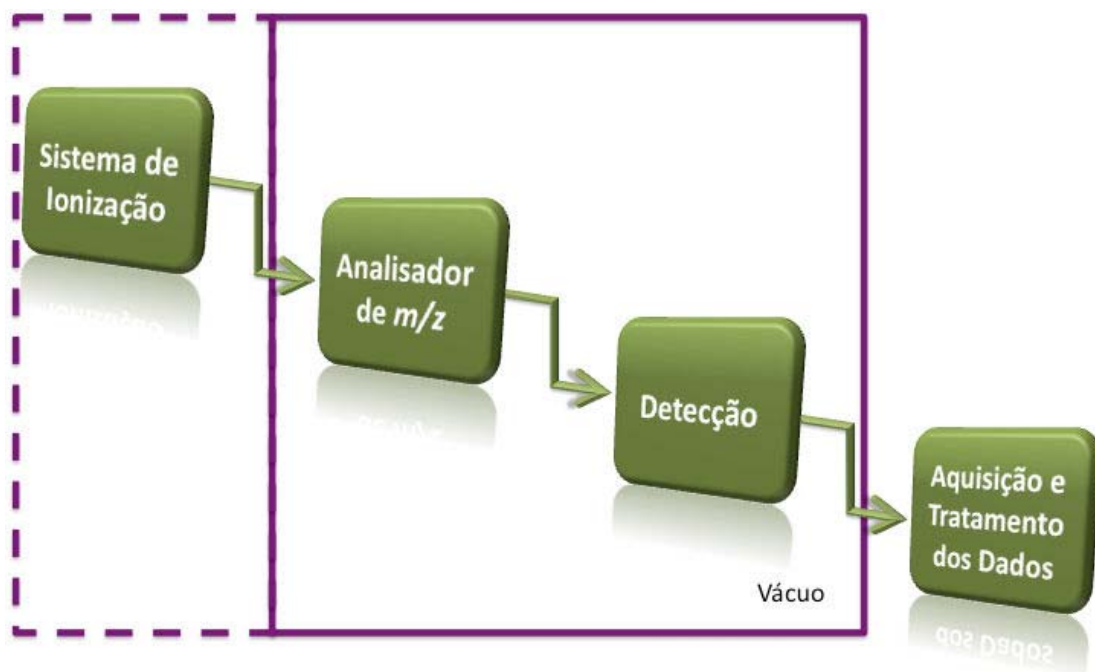


Figura 1 – Diagrama Esquemático da Espectrometria de Massas.

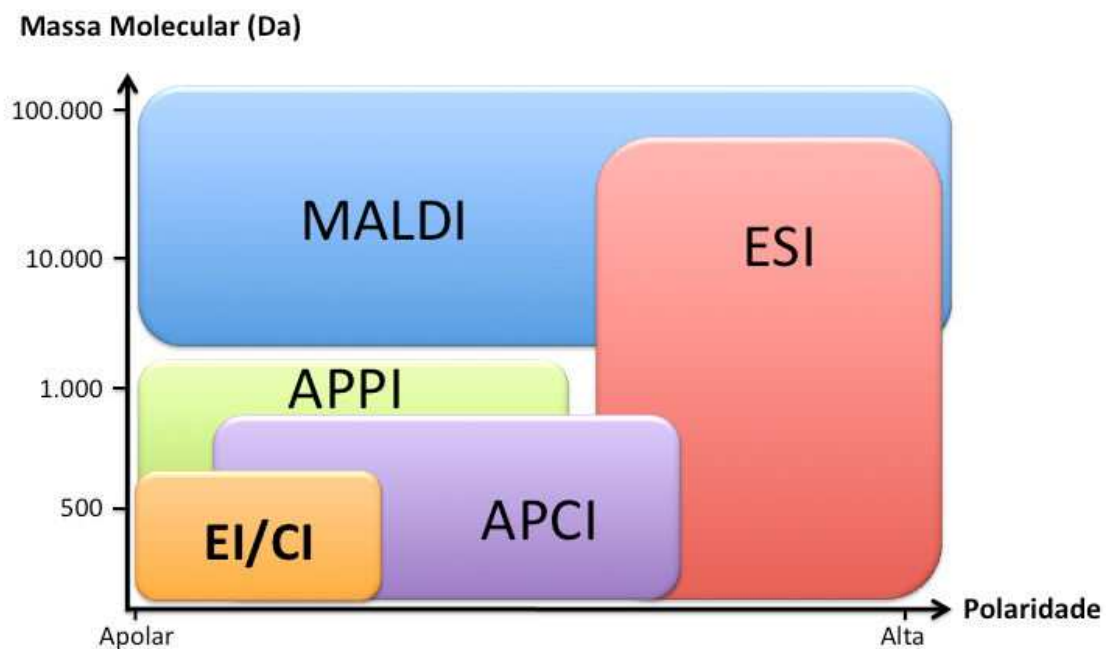


Figura 2 – Gráfico de massa versus polaridade para as principais técnicas de ionização em espectrometria de massas.

Existem diferentes estratégias para se discriminar íons dependendo do analisador de massas utilizado. O mais comum é o analisador quadrupolar e este é o analisador utilizado neste estudo.

Além dos quadrupolos, existem diversos tipos de analisadores como os analisadores por aprisionamento de íons ou *ion trap* (IT), analisadores por tempo-de-vôo (TOF^h), ressonância ciclotrônica de íons (ICRⁱ), Orbitrap, além de outros. O preço de um espectrômetro de massas está diretamente ligado ao tipo de analisador de massas utilizado, e também pelo número de analisadores de massas presentes num único equipamento, e.g., triploquadrupolos, Q-TOF, IT-Orbitrap, IT-ICR, IT-TOF dentre várias outras configurações que existem disponíveis no mercado. Estas diferentes combinações de analisadores surgem devido aos diferentes tipos de informações que diferentes tipos de analisadores de m/z fornecem, que por sua vez está relacionada a capacidade de cada tipo de analisador discriminar m/z . Dentre os diversos tipos de analisadores alguns tem a capacidade de fazer experimentos do tipo MS/MS,^{11,12} como os quadrupolos, IT's e ICR's; já analisadores como Orbitrap's e TOF's não permitem MS/MS. Um dos métodos mais comuns utilizados para se fazer experimentos de MS/MS em Quadrupolos e IT's é a dissociação induzida por colisão (CID^j) com um gás inerte.¹³ Em equipamentos modernos de FT-ICR^k, experimentos de dissociação podem ser realizados através da dissociação por captura de elétron (ECD^l),¹⁴ ou através da dissociação multifotônica na região do infravermelho (IRMPD^m).¹⁵

^h Do inglês: *Time-of-flight* (TOF)

ⁱ Do inglês: *Ion Cyclotron Resonance* (ICR)

^j Do inglês: *Collision induced dissociation* (CID)

^k Do inglês: *Fourier transformed – ion cyclotron resonance* (FT-ICR)

^l Do inglês: *Electron captured dissociation* (ECD)

^m Do inglês: *Infrared multi-photon dissociation* (IRMPD)

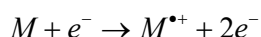
1.1.1 – Ionização por elétrons

A formação de íons é uma etapa crítica de qualquer aplicação da espectrometria de massas. Independente do analisador, a análise de massas requer íons. E uma das maneiras mais antigas e práticas de se converter moléculas neutras em íons é através de colisões com elétrons.

A primeira fonte de ionização por elétrons (EI) foi desenvolvida por Arthur Jeffrey Dempster, físico canadense da Universidade de Chicago. O trabalho de Dempster intitulado “*A new method of positive ray analysis*”, publicado no periódico *Physical Review* de 1913, mostra a primeira versão de uma fonte de ionização por elétrons, chamada por Dempster de bombardeamento de elétronsⁿ.

As versões modernas das fontes de EI são baseadas no design do físico Walker Bleakney, introduzido em 1929.¹⁶ No entanto, Nier¹⁷ fez importantes contribuições melhorando as versões de Bleakney e Dempster.

A Equação 1 é a equação primordial de EI e apesar de ser simples, ela apresenta um conceito muito importante: se um dos elétrons da fonte de ionização (e^-) se aproximar de um dos elétrons que estão orbitando uma molécula (M), estes irão repelir-se. Com isso o elétron da molécula será ejetado gerando um íon molecular carregado positivamente (M^{*+}).¹⁸



Equação 1

A amostra *per se*, ou os íon gerados a partir dela, devem primeiro ser levados à fase gasosa. Uma vez em fase gasosa, moléculas neutras entram na fonte de íons pelo sistema de entrada de amostra que é um orifício dentro da fonte. A interação do feixe de elétrons com as moléculas neutras levam à deposição de energia sobre estas e uma porcentagem muito pequena destas moléculas neutras recebem energia suficiente para ejetarem um elétron formando assim um íon. A maioria das moléculas com excesso de energia

ⁿ Tradução livre para *Electron Bombardment*.

fragmentam-se em íons, moléculas neutras e radicais. O que dita o comportamento do íon é a relação que existe entre a energia absorvida e a probabilidade deste íon adquirir determinada energia (Figura 3).

Uma ligação química apresenta energia de 3 a 4 eV. É nesta região de energia que se encontram a maioria dos íons formados por EI. A curva pontilhada mostra que existe uma grande probabilidade da deposição de energia interna ocorrer nesta região. Os íons formados por EI podem adquirir energias acima da região de 3 a 4 eV, no entanto, a curva de distribuição de energia interna (linha cheia) mostra que poucos íons adquirem energias por volta de 60 eV. Com o aumento da energia dos elétrons na fonte de EI, menor será a probabilidade de deposição desta energia pois será menor a probabilidade de transferência, mesmo com o maior número de estados de energia permitidos (curva traço dois pontos). Apesar de ser pouco provável, este processo não é inexistente. Energias em torno de 60 eV são suficientes para atomizar alguns elementos. É por isso que ao se aumentar o ganho do detector é possível ver o sinal do ^{12}C positivo radicalar de m/z 12 e seu dímero de m/z 24, no espectro de massas.

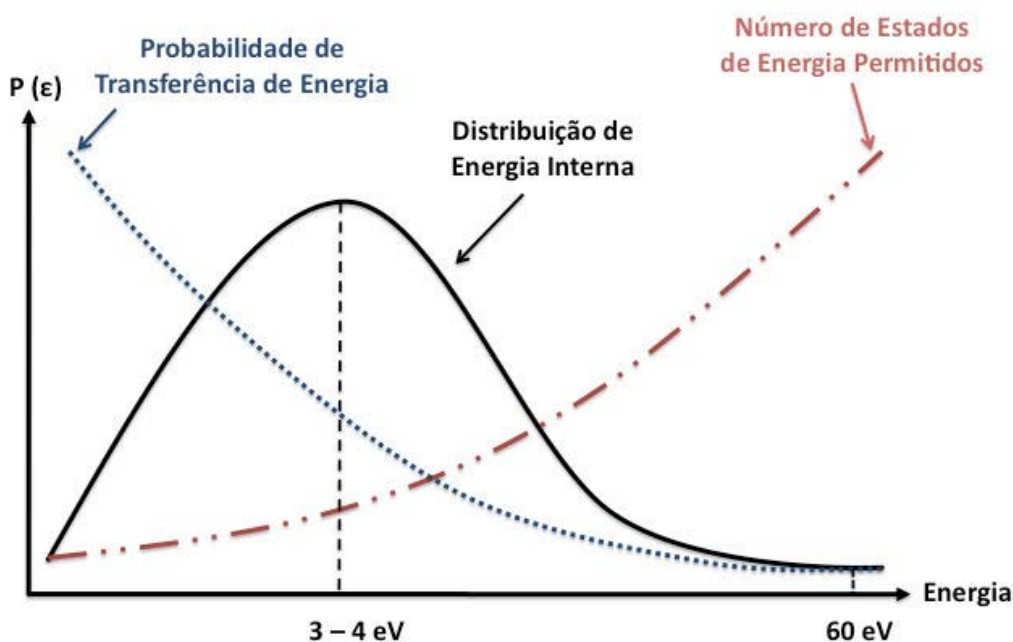


Figura 3 - Curva de distribuição de energia interna de um íon.¹⁹

A distribuição de energia interna (linha cheia) não é uma distribuição de Boltzmann, pois os íons na EI estão isolados, não havendo, à princípio, colisões, portanto, não há perda de energia. Numa distribuição de Boltzmann está envolvido um equilíbrio.

Para um melhor entendimento da distribuição de energia interna adquirida pelos íons em EI é importante compreender o diagrama de transições eletrônicas de uma molécula neutra (Figura 4).

Este diagrama (Figura 4) mostra que uma molécula neutra (M) precisa receber uma certa quantidade de energia para se tornar um íon positivo radicalar ($M^{+\bullet}$). A energia aparente (AE^0) representa a quantidade de energia necessária para se formar um íon, a partir da molécula neutra (M). A energia de ionização (IE^p) representa a quantidade de energia necessária para se remover um elétron da molécula neutra sendo definida para a temperatura de 0 graus Kelvin. Para a maioria das moléculas orgânicas, IE é por volta de 6 a 10 eV.²⁰ O termo ε é a energia crítica^q também sendo interpretada como a energia interna adquirida pelo íon e este é obtido subtraindo-se AE de IE (Equação 2).

$$\varepsilon = AE - IE$$

Equação 2

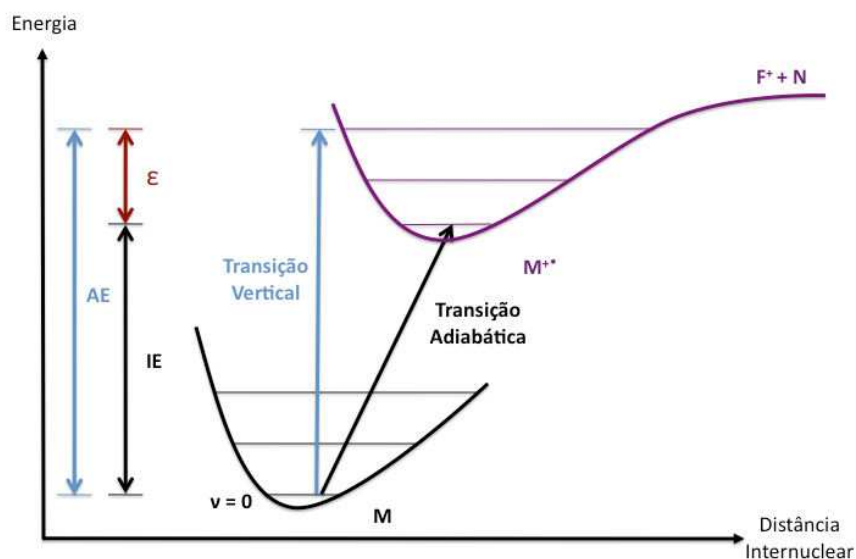


Figura 4 – Diagrama de Transição Eletrônica^{18,21}

^o Do inglês: *appereance energy* (AE)

^p Do inglês *ionization energy* (IE)

^q Tradução livre para o termo *critical energy*

O diagrama de transição eletrônica (Figura 4) exhibe duas possibilidades de transições eletrônicas: adiabática e vertical. O processo de ionização vertical é uma ionização que ocorre de acordo com princípio Franck-Condon,²¹ ou seja, a ionização é tão rápida que não ocorre mudanças nas coordenadas nucleares das entidades envolvidas durante o processo de ionização. Em EI, a ionização ocorre numa escala de tempo muito menor que a vibração de estiramento C-H, com um período de 10^{-14} segundos. Para um elétron com energia de 50 eV, movimentando-se a uma velocidade de $4,2 \times 10^8$ cm/s, este irá atravessar um diâmetro molecular de 10^{-7} cm em $2,4 \times 10^{-16}$ segundos, portanto, o tempo necessário para uma vibração é 100 vezes maior que o tempo necessário para a ionização. Isso mostra que os átomos da molécula submetida a ionização estão parados durante o processo. Este conceito é importante pois se exclui a possibilidade da ionização ser adiabática, que seria um processo de transição no qual não ocorre troca de calor com as redondezas e quando se trata de uma reação química, implica que o produto formado está no seu menor estado de energia (Figura 4).

A relação entre a distribuição de energia interna e as energias necessárias para se provocar uma ionização determinam o aspecto do espectro de massas de EI. Num sistema regido pela distribuição de Boltzmann, existe a redistribuição de energia devido ao equilíbrio térmico. Em EI, não existe equilíbrio térmico pelo fato dos íons formados estarem isolados na fase gasosa e sob vácuo (10^{-3} a 10^{-5} torr). Sob este vácuo é improvável ocorrer interações entre íons depois que estes são formados, logo, o espectro de massas de EI é reproduzível, pois se trata de um método físico de ionização, não ocorrendo reações químicas ou colisões dentro da fonte de íons.

A distribuição de energia interna mostra como os íons com diferentes energias internas apresentam diferentes comportamentos na fase gasosa. Algumas das moléculas neutras adquirem energia suficiente apenas para se tornarem íons moleculares.

Pelo fato de estarem em fase gasosa e não existir a possibilidade de perder esta energia através de colisões, outras moléculas com grande

quantidade de energia interna depositada perdem o excesso de energia através da fragmentação. Para diferentes energias internas, existem diferentes caminhos de fragmentação que podem ser acessados pelo íon. Portanto, o espectro de massas de EI fornece uma grande quantidade de informações como o peso molecular e a informação estrutural, devido aos diferentes caminhos de fragmentação que o íon gerado a partir da molécula pode acessar.

A fonte de íons por EI é basicamente composta por um cubo que apresenta alguns orifícios para entrada da amostra e algumas fendas para a passagem de elétrons e dos íons formados (Figura 5). O feixe de elétrons é injetado na fonte através de uma fenda de entrada em P_1 e atravessa a câmara de ionização (C) e sai pela fenda em P_2 . Estas fendas estão dispostas em lados opostos da câmara de ionização (C) e o eixo de feixe de elétrons forma um ângulo reto com o eixo-z do analisador de massas. Este feixe é produzido a partir de um filamento (F), colocado fora de C, que depois de aquecido emite elétrons. O material do filamento é tungstênio. Mas com o intuito de se obter maiores tempos de vida do filamento, usam-se revestimentos de tântalo ou rênio, que permitem a redução de sua temperatura de operação, logo, reduzindo problemas que podem surgir com pirólise.

Os elétrons emitidos pelo filamento são atraídos pela lente iônica L_1 que é mantida a um potencial positivo em relação ao filamento. A lente L_1 e a fenda de entrada em P_1 apresentam uma abertura pequena de 1 x 3 mm, permitindo que o feixe de elétrons seja colimado antes de entrar em C. A energia com que os elétrons são acelerados até a entrada da câmara de ionização é controlada pela redução da potencial elétrico entre o filamento e a lente L_1 . A princípio, não existe um campo elétrico dentro da câmara de ionização, pois P_1 e P_2 são mantidos no mesmo potencial. O elétrons que passam pela fenda de saída em P_2 são coletados por T, que é o ânodo de captura. Algumas fontes de EI não apresentam este eletrodo de captura como por exemplo a fonte de EI presente no pentaquadrupolo utilizado neste presente estudo (Figura 6).

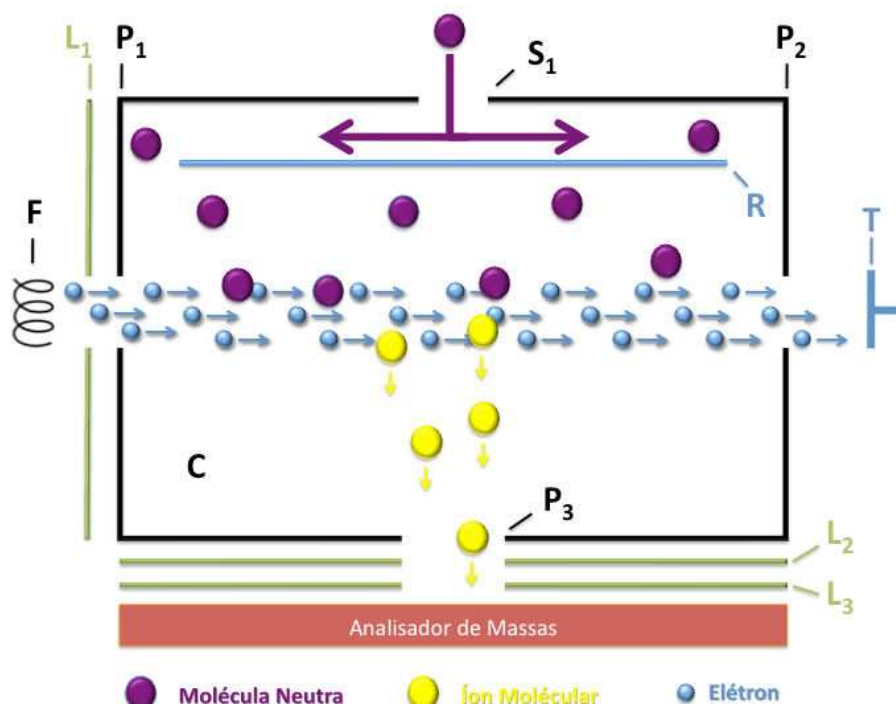


Figura 5 – Diagrama esquemático da fonte de ionização por elétrons (EI).

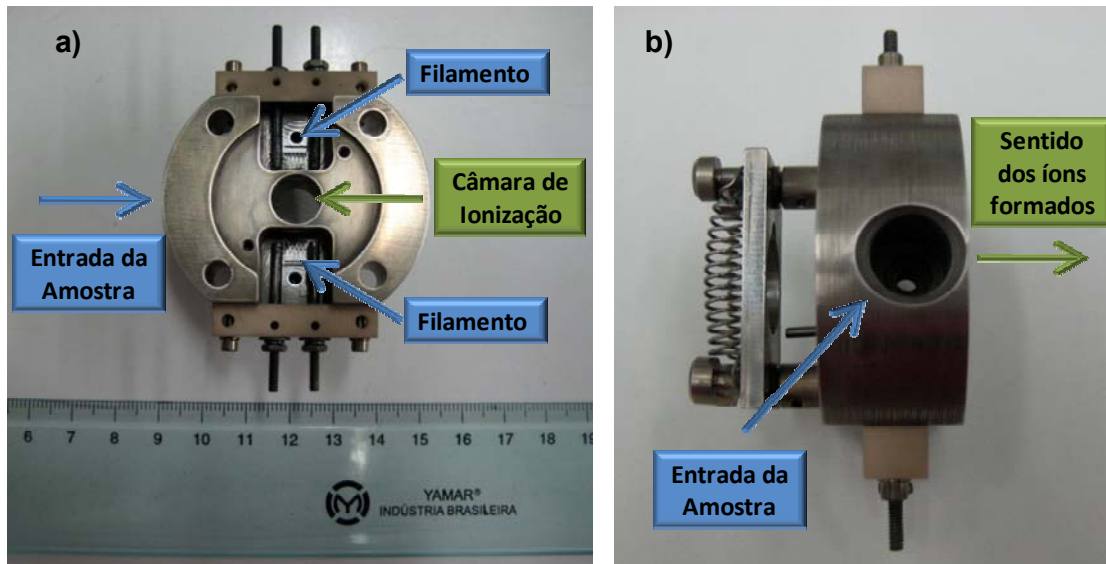
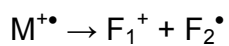


Figura 6 – Fonte de ionização por elétrons presente no pentaquadrupolo. a) Visão Frontal e b) Visão Lateral.

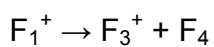
O processo de ionização ocorre na região delimitada entre a fenda de entrada em P_1 e a fenda de saída em P_2 , pois nela se tem o feixe de elétrons ionizantes que intercepta as moléculas neutras em fase gasosa.

O *repeller* (R) é um eletrodo colocado dentro de C, no lado oposto à fenda de saída dos íons em P_3 , que por sua vez está alinhada à entrada do analisador de massas. A função do repeller é impulsionar os íons formados dentro da câmara para a entrada do analisador de massas. Para isto usa-se um campo elétrico de baixa intensidade entre R e a fenda de saída em P_3 .

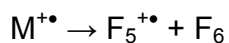
Os íons formados estão sujeitos a modificações antes de saírem da câmara de ionização, podendo fragmentar-se espontaneamente ou depois de certo tempo, em resposta ao excesso de energia interna adquirida durante o processo de ionização. Como o processo de deposição de energia é estatístico, dentro da população de moléculas neutras que adentram a câmara de ionização ocorrerá a formação de íons moleculares com diferentes energias internas e estes irão acessar diferentes caminhos dissociativos, ou seja, irão gerar diferentes fragmentos iônicos que ajudam a caracterizar a molécula inicial. O íon molecular pode fragmentar-se gerando um fragmento iônico positivo, F_1^+ , e um fragmento radicalar, $F_2^\bullet$ (Equação 3). Este tipo de fragmentação é conhecido como perda radicalar e o Esquema 1a) mostra este caminho dissociativo para a acetona. O fragmento iônico, F_1^+ , também pode continuar a se fragmentar dependendo da sua energia interna, gerando outro fragmento iônico positivo, F_3^+ , e um fragmento neutro, F_4 (Equação 4). Outro caminho dissociativo que o íon molecular ($M^{+\bullet}$) pode assumir é através da perda neutra, gerando um fragmento positivo radicalar, $F_5^{+\bullet}$, e um fragmento neutro, F_6 (Equação 5), que por sua vez pode se fragmentar por perda radicalar, gerando um fragmento positivo, F_7^+ e um fragmento radicalar, $F_8^\bullet$ (Equação 6). O íon molecular da 2-pentanona pode se fragmentar perdendo uma molécula de eteno, através de um rearranjo de hidrogênio seguido de uma clivagem homolítica levando ao íon positivo radicalar de m/z 58 (Esquema 1b). Este processo de fragmentação é conhecido como o rearranjo de McLafferty.²²



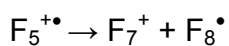
Equação 3



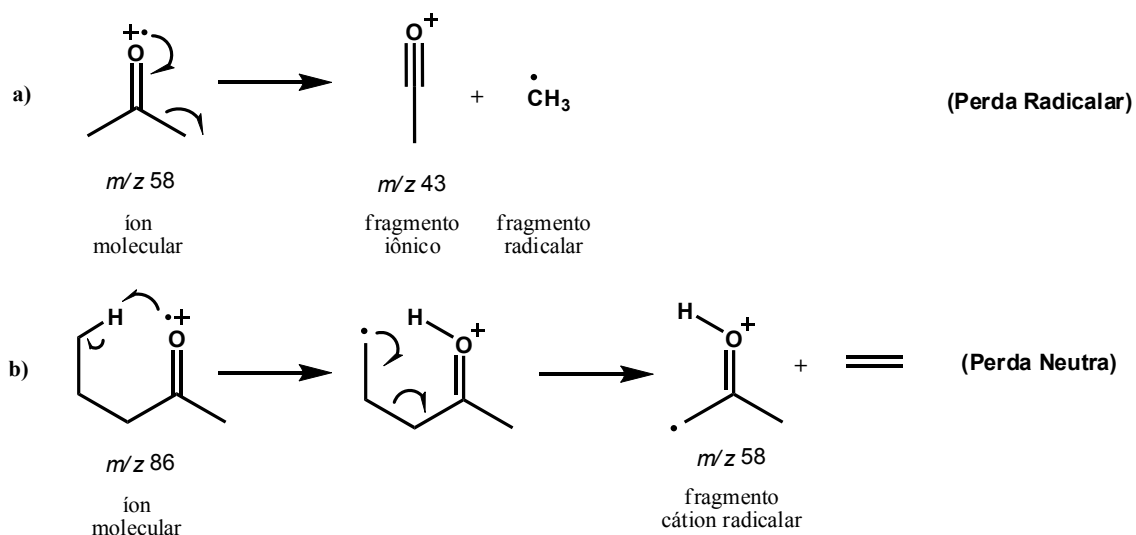
Equação 4



Equação 5



Equação 6



Esquema 1 – Fragmentação da acetona por perda radicalar (a) e da 2-pentanona por perda neutra (b) em EI a 70 eV.

1.1.2 – Analisador de Massas Quadrupolar

O quadrupolo é um dos analisadores de massas mais usados na espectrometria de massas, sendo constituído basicamente de quatro barras cilíndricas e paralelas (Figura 7) onde é aplicado uma combinação de campos elétricos de corrente contínua (DC^r) e de radiofrequência (*rf*), que permitem a passagem de íons pelo centro do quadrupolo através do eixo z, longitudinal, em órbitas estáveis de acordo com suas *m/z*'s.

O quadrupolo é um analisador de massas seqüencial, ou seja, apenas os íons de uma determinada *m/z* terão órbita estável para passar por todo o eixo longitudinal do quadrupolo, enquanto que as outras *m/z*'s não serão transmitidas. Por exemplo, para uma amostra que contem íons de *m/z* 50, *m/z* 100 e *m/z* 150, quando o quadrupolo estiver ajustado para analisar a *m/z* 50, os íons de *m/z* 100 e *m/z* 150 não serão transmitidos e serão perdidos, pois baterão nas barras e serão neutralizados. Quando o quadrupolo passar a analisar o íon de *m/z* 100, os íons de *m/z* 50 e *m/z* 150 não estarão mais em órbitas estáveis e serão perdidos.

Quando se quer obter um espectro de varredura, a eletrônica do equipamento é ajustada para fazer uma rampa nas voltagens *rf* e DC aplicadas no quadrupolo, para que esta rampa passe apenas pelo ápice das regiões de estabilidades (Figura 8) para cada *m/z*. É importante ressaltar que a rampa não é linear. Se fosse mantida um rampa linear o espectro de massas perderia em resolução para massas altas.⁶

^r Do inglês: Direct Current (DC)

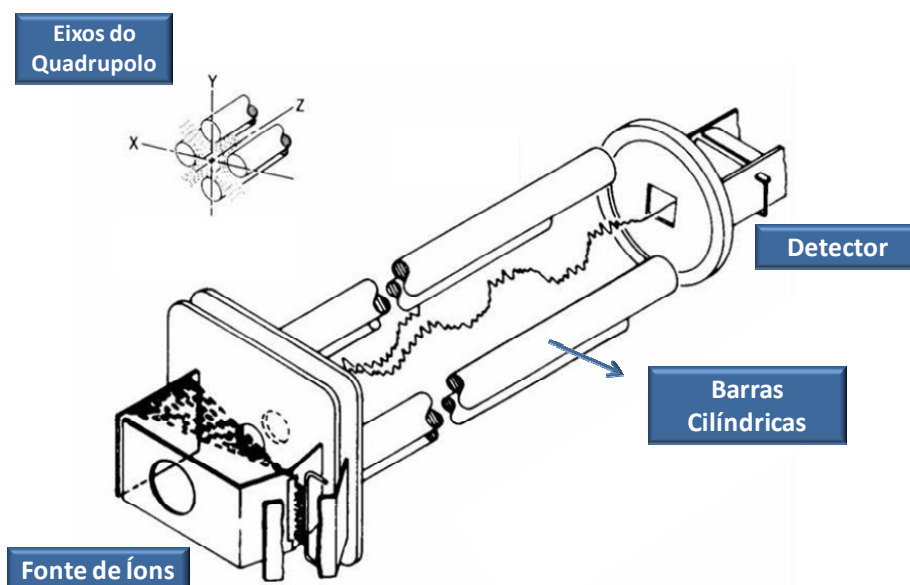


Figura 7 – Diagrama esquemático de um analisador de m/z quadrupolar.⁶

O comportamento físico de íons em campos elétricos quadrupolares é descrito pela Equação 7 que mostra a distribuição do potencial elétrico (Φ) no instante t . U é a intensidade da voltagem DC aplicada ao quadrupolo. V é a intensidade da voltagem rf aplicada ao quadrupolo cuja frequência angular (ω) é dada por $2\pi f$. A posição do íon em relação ao eixo cartesiano é dado por x e y e r_0 é a distância relacionada ao eixo- z . Sobre a Equação 7 é aplicada uma derivada parcial em relação aos eixos x e y de movimento dos íons levando a Equação 8 e a Equação 9 que definem os chamados parâmetros de Mathieu a e q .^{23,24} O parâmetro a está relacionado a voltagem DC e q está relacionado a voltagem rf . Um íon terá trajetória estável dentro do quadrupolo se estiver submetido a valores de a e q que correspondem a uma região de estabilidade para uma determinada m/z .

$$\Phi = [U + V \cos(\omega t)] \frac{x^2 - y^2}{2r_0^2} \quad \text{Equação 7}$$

$$a_x = -a_y = \frac{4zeU}{m^2 r_0^2} \quad \text{Equação 8}$$

$$q_x = -q_y = \frac{2zeV}{m^2 r_0^2} \quad \text{Equação 9}$$

O diagrama de estabilidade para um íon **A** tem limites definidos pelas linhas cheias (Figura 8). Fora da região delimitada, os íons de m/z **A** não são transmitidos pelo quadrupolo. Se aumentar os valores dos parâmetros de Mathieu para que a linha de operação seja a linha tracejada, o íon de m/z **A** não será transmitido. Se for reduzido o valor dos parâmetros a e q , a nova linha tracejada dois pontos de operação não irá passar pelo ápice da região de estabilidade e poderá começar a transmitir íons de outras m/z 's próximas de **A**, com isso o sinal no espectro de massas perderá em resolução.

Os quadrupolos tem dois modos básicos de operação: o modo de transmissão de íons e o modo que discrimina m/z . Esta classificação se dá de acordo com o tipo de voltagem que é aplicada ao quadrupolo.

Os quadrupolos com capacidade de discriminar m/z são aqueles sobre os quais são aplicados o campo de radiofrequência (rf) e DC às barras de aço, e por isso são conhecidos como quadrupolos rf & DC.

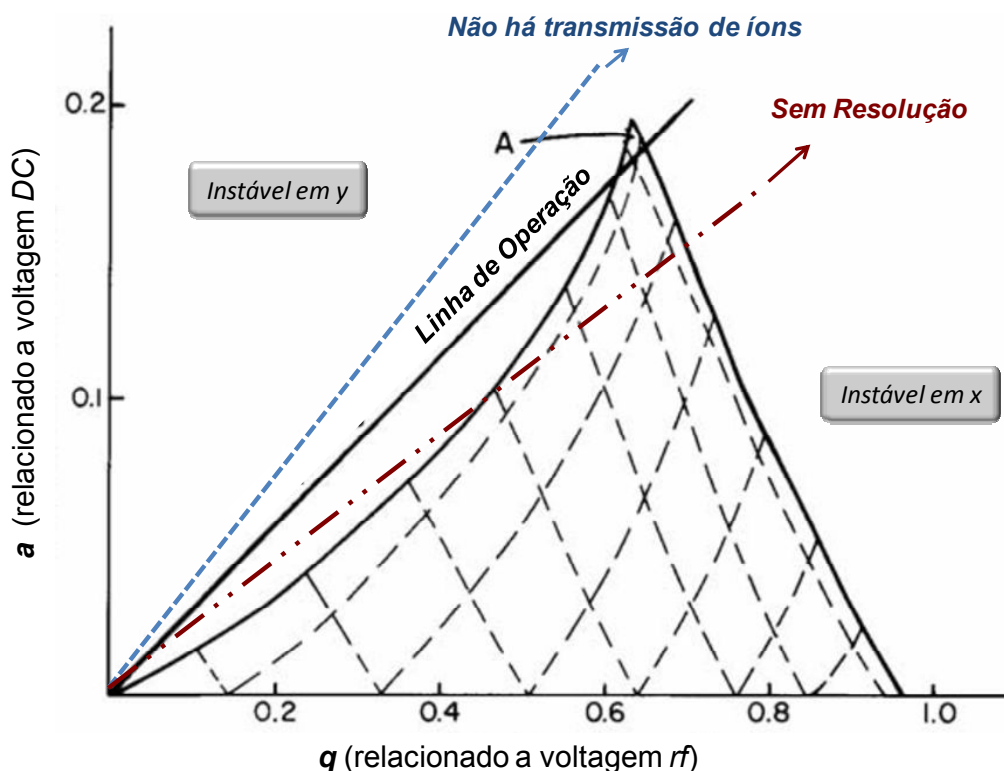


Figura 8 – Diagrama de Estabilidade de íons em campos elétricos quadrupolares.

Para o modo de operação por transmissão de íons, é aplicado apenas um campo de radiofrequência, e por isso também é chamado de *rf-only*, não apresentando a capacidade de discriminar m/z . Mas diferentemente dos quadrupolos rf & DC, os quadrupolos *rf-only* são capazes de manter íons dentro de uma determinada faixa de m/z em órbitas estáveis ao mesmo tempo, para que estes possam ser transmitidos por toda a extensão do quadrupolo e cheguem as outras regiões do espectrômetro de massas. São os quadrupolos *rf-only* que são usados em experimentos de dissociação e reações íon/molécula.

Depois do quadrupolo discriminar as m/z 's dos íons que estão vindos da fonte de ionização, estes ainda precisam ser contados e para isso são enviados ao detector descrito a seguir.

1.1.3 – Detector por multiplicação de elétrons

Os detectores por multiplicação de elétrons são os mais usados em MS²⁵ e existem dois tipos principais, a multiplicadora de elétrons (ME) com dinodos discretos e a ME com dinodo contínuo, sendo a última o tipo de detector presente no espectrômetro de massas pentaquadrupolar utilizado no presente estudo.

O funcionamento de uma ME é relativamente simples. Os íons que estão saindo do analisador de m/z atingem o primeiro dinodo, ou dinodo de conversão do detector, produzindo elétrons secundários que são direcionados ao segundo dinodo e ao colidir com este produzem mais elétrons que por sua vez são enviados ao dinodo seguinte e mais elétrons são produzidos. O processo se repete gerando uma grande quantidade de elétrons que são coletados pelo último dinodo produzindo uma corrente elétrica (I). Um único íon que atinge o dinodo conversor é amplificado em 10^5 vezes.⁶ A corrente elétrica gerada é proporcional a quantidade de íons de uma determinada m/z que atinge o dinodo conversor.

A ME com dinodo contínuo, também chamada de Channeltron[®], apresenta o mesmo princípio da ME anterior. Só que ao invés de se ter vários dinodos, existe uma única peça contínua com a forma de um tubo curvado que se afunila como mostra a Figura 9. Esta peça é feita de vidro dopado com chumbo que permite a multiplicação dos elétrons (Figura 10). Este tipo de ME é mais resistente que a ME com dinodos discretos.

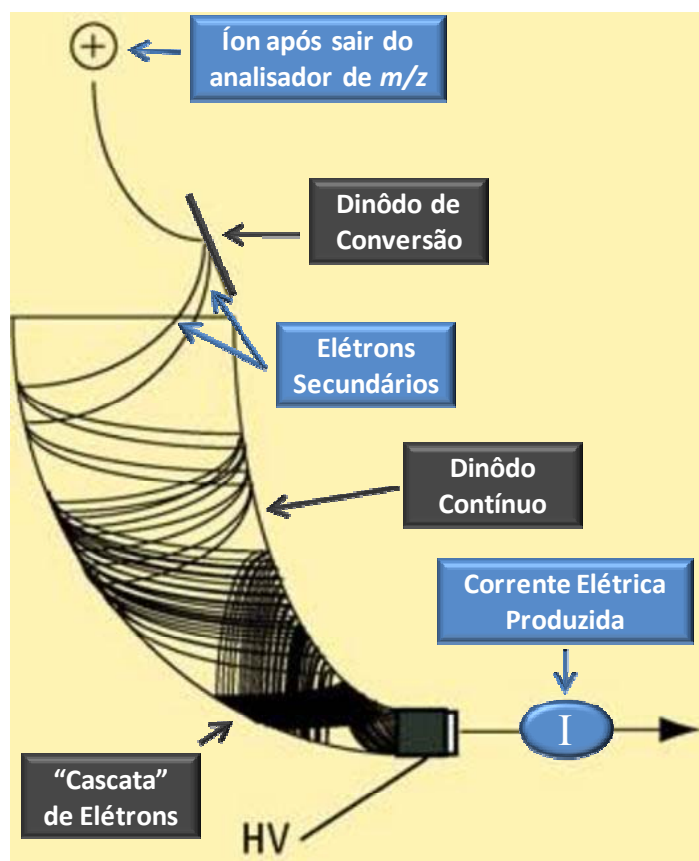


Figura 9 – Diagrama esquemático de uma multiplicadora de elétrons.²⁵

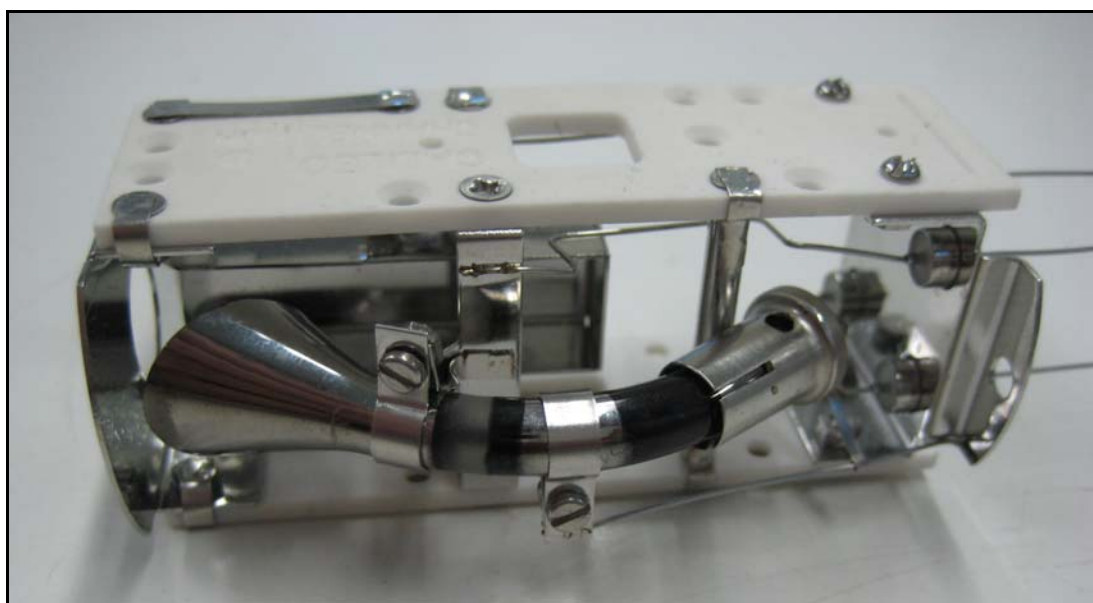


Figura 10 – Fotografia de uma multiplicadora de elétrons com dinôdo contínuo.

1.2 – Dissociação induzida por colisão (CID)

A Figura 11 mostra um diagrama esquemático da dissociação induzida por colisão onde um íon precursor encontra um gás inerte e através de colisões com este gás são formados fragmentos iônicos. Apesar de dois corpos estarem envolvidos, a dissociação se procede por cinética unimolecular, pois as colisões servem para ativar o íon para posterior dissociação.

CID é um dos métodos mais usados na espectrometria de massas para dissociação de um íon,¹² por auxiliar na caracterização do íon precursor através de seu comportamento dissociativo, que é característico dependendo dos grupos funcionais presentes no íon.

Diferente de EI, que ao ionizar uma molécula neutra também induz fragmentação, técnicas de ionização como ESI e MALDI, na maioria das vezes não induzem fragmentação, logo a CID pode ser utilizada para melhor caracterizar os íons formados nestas técnicas.

Quando se realizam reações íon/molécula, dentre os produtos iônicos formados podem surgir algumas dúvidas quanto à estrutura do produto. CID pode ser utilizado para se caracterizar estes produtos iônicos.

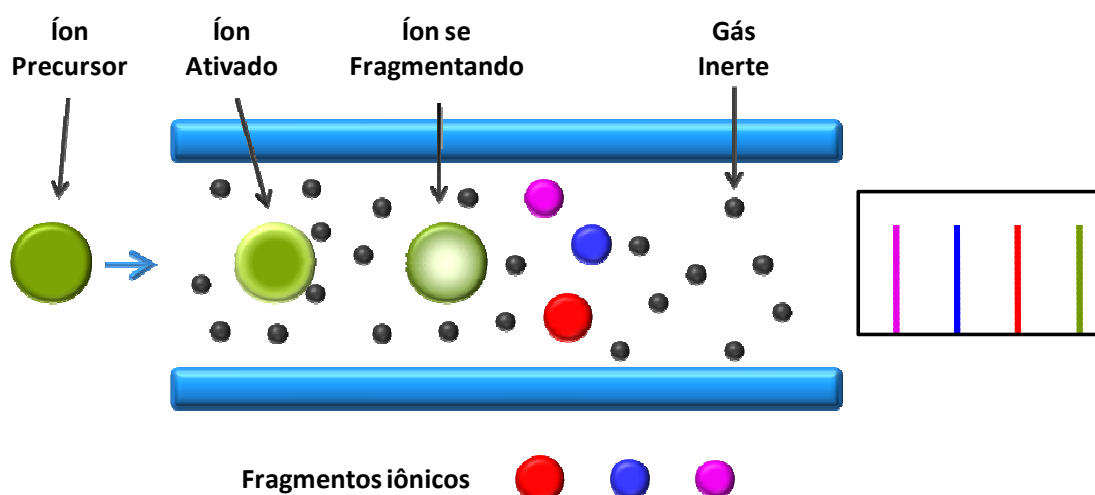
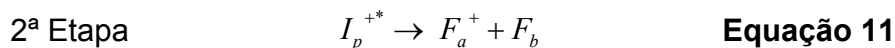
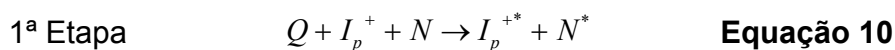


Figura 11 – Diagrama esquemático da dissociação induzida por colisão num quadrupolo *rf-only*.

McLukey¹³ define CID (ou CAD^s) como uma dissociação colisional que se processa em duas etapas. A primeira delas (Equação 10) é a etapa de ativação colisional onde um íon precursor (I_p^+) irá encontrar um alvo (N) que, geralmente, é um átomo ou uma molécula de um gás inerte, e, através da colisão, trocar energia levando à alteração de energia cinética do sistema (Q) e à formação do íon precursor ativado num estado pós-colisional (I_p^{+*}) e do alvo num estado pós-colisional (N^*). A segunda etapa (Equação 11) é a de dissociação unimolecular onde o íon precursor ativado irá se dissociar para um fragmento que carrega a carga (F_a^+) e outro fragmento neutro (F_b).



A ativação colisional permite a transferência da energia translacional cinética do íon precursor para energia interna. Como a maioria dos íons se comportam de maneira estatística, ou seja, a energia pode se transferir livremente entre os graus de liberdade, assim que o íon adquire esta energia interna, esta energia será redistribuída entre os graus de liberdade antes da dissociação unimolecular, mas será a partir dos estados vibracionais excitados do estado eletrônico fundamental que a dissociação irá ocorrer.¹³

A capacidade de se realizar experimentos de MS/MS é importante, pois as dissociações induzidas pelos diferentes métodos de MS/MS permitem uma caracterização estrutural do íon selecionado, no caso da química qualitativa, como também permite maior especificidade nos experimentos que demandam quantificação, assim como ocorre em estudos de bioequivalência farmacêutica.

^s Do inglês: Collisionally activated decomposition (CAD)

1.3 – Reações íon/molécula

As reações íon/molécula ajudam a entender processos fundamentais da natureza, como a formação da atmosfera de planetas e outros corpos estelares como luas,^{26,27,28} química envolvida na atmosfera terrestre,²⁹ química interestelar³⁰ e da química em solução,³¹ já que a interação entre íons e moléculas são comuns em solução. Além disto, as reações íon/molécula ajudam na elucidação de mecanismos de reações orgânicas,³² inorgânicas³³ e processos catalíticos,³³ estudando reações modelo na fase gasosa, ajudando a abstrair informações sobre a reatividade intrínseca das espécies de interesse, ou seja, sem a influência do solvente, como ocorre na química tradicional em solução.³⁴

Em reações íon/molécula é formado um complexo entre o íon e a molécula neutra que se mantém ligado através de diferentes tipos de interações, como: a) a ligação de hidrogênio, b) a interação da carga do íon com o sistema π da molécula neutra e c) através da atração íon-dipolo e íon dipolo-induzido.³⁵ A formação deste complexo íon-molécula neutra é entropicamente favorecido em fase gasosa e é a primeira etapa dentro da cinética envolvida numa reação íon/molécula.^{31,36,37} Em fase condensada, estes complexos íon-molécula também são formados, no entanto, a solvatação impede que estes complexos sejam estabilizados. A partir do complexo íon-molécula é que são formados os produtos iônicos da reação.

Os espectrômetros de massas também são usados para realizar as reações íon/molécula, pois permitem que íons sejam isolados na fase gasosa e tem a capacidade de selecionar a m/z do íon, cuja identidade química queira ser estudada. A molécula neutra utilizada na reação é inserida numa cela reacional podendo ser quadrupolos do tipo *rf-only*, *ion traps*, celas de ICR, entre outras técnicas descritas com maiores detalhes por **Farrar & Saunders**³⁸.

A Figura 12 mostra um diagrama esquemático de uma reação íon/molécula sendo realizada num quadrupolo *rf-only*, onde um íon reagente é direcionado para este quadrupolo preenchido com moléculas neutras em fase gasosa e a reação se processa, formando produtos iônicos diferentes que posteriormente são detectados gerando um espectro de massas.

A grande vantagem do uso das reações íon/molécula para se caracterizar íons é que esta abordagem é mais específica que a dissociação induzida por colisão. Para que uma reação íon/molécula ocorra é necessário que exista uma certa especificidade entre o íon e a molécula. Na CID não existe especificidade para se dissociar um íon através de colisões com um gás inerte.

É devido a esta maior especificidade que as reações íon/molécula foram utilizadas para se tentar diferenciar isômeros constitucionais através da reatividade de um fragmento iônico diagnóstico de estrutura com apenas um espectro de massas.

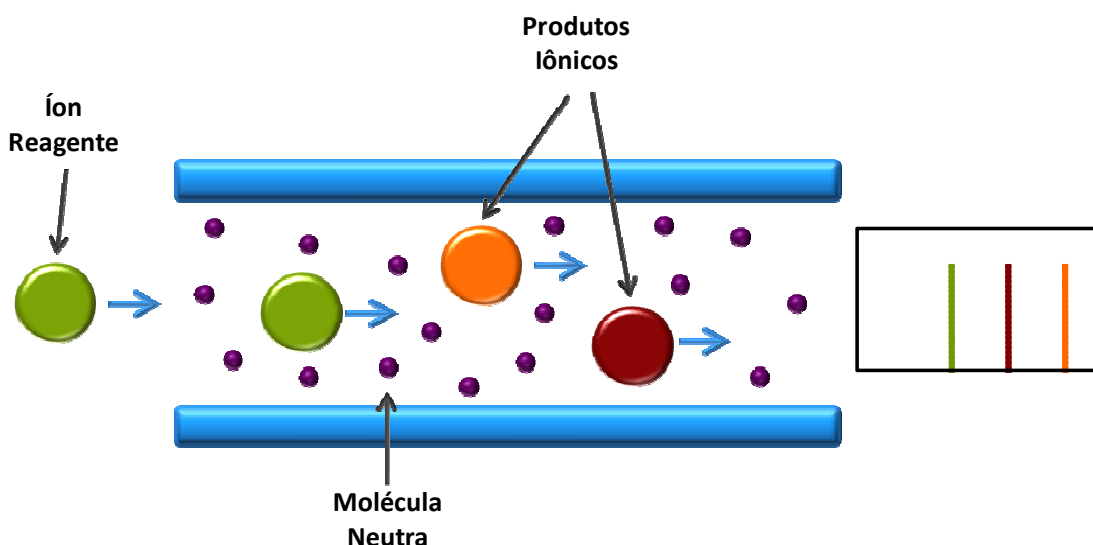


Figura 12 – Diagrama esquemático de uma reação íon/molécula sendo realizada num quadrupolo *rf-only*.

1.4 – Diferenciação de isômeros com MS

A palavra isômeros foi cunhada pelo químico sueco Jöns Jacob Berzelius. Sua origem vem da língua grega onde a palavra *isos* significa igual e *meros* significa partes.³⁹ Berzelius utilizou este termo para descrever compostos diferentes porém formados dos mesmos elementos e nas mesmas proporções.⁴⁰

Isômeros são compostos diferentes pois estes apresentam estruturas moleculares diferentes. A diferença estrutural pode levar a diferentes propriedades físico-químicas como: o estado físico, ponto de ebulição, ponto de fusão e pressão de vapor. No entanto, nem sempre as diferenças estruturais de isômeros levam a diferentes caminhos dissociativos quando submetidos a ionização por elétrons. Na verdade, em muitos casos alguns isômeros apresentam os mesmos caminhos dissociativos por MS. Por exemplo, os isômeros de 2-aminofenol e 3-aminofenol apresentam espectros de massas de EI a 70 eV com os mesmos caminhos dissociativos (Figura 13).

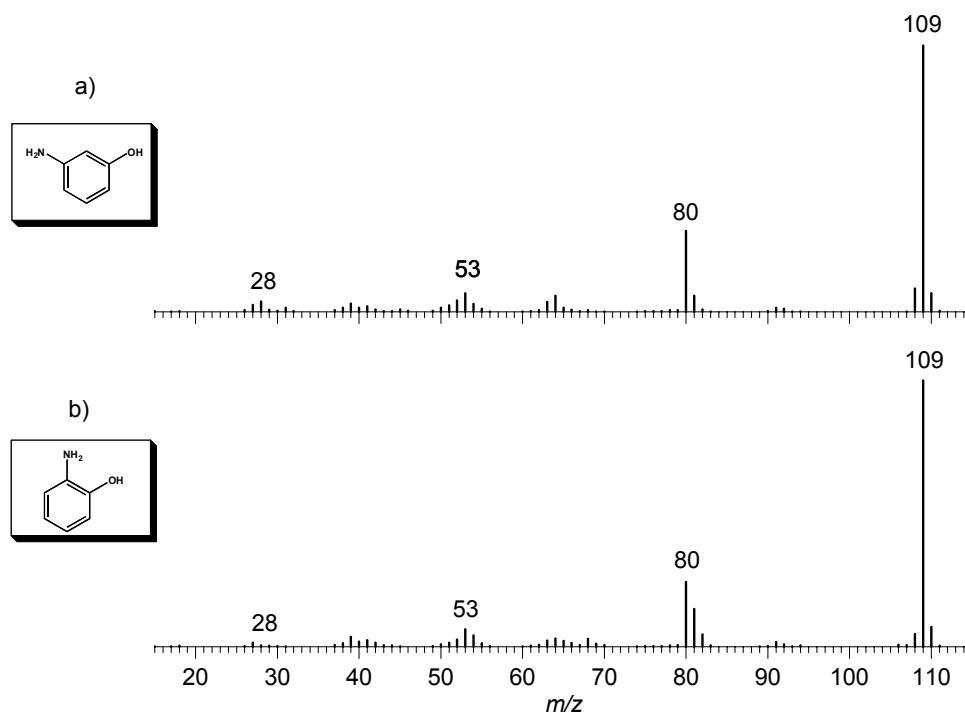


Figura 13 – Espectros de Massas de varredura obtidos com EI a 70 eV dos isômeros 2-aminofenol (a) e 3-aminofenol (b).

Existem diferentes tipos isomeria e estas são divididas em duas principais categoriais: a constitucional (ou estrutural) e a ótica. A isomeria constitucional refere-se a compostos que apresentam conectividades dos seus átomos diferentes.⁴¹ Onde conectividade é a ordem com que os átomos das moléculas estão ligados. No caso da isomeria ótica, os compostos apresentam as mesmas conectividades porém o arranjo espacial entre eles é diferente, ou seja, as suas estruturas tridimensionais são diferentes. Estes compostos são chamados de esteroisômeros e são definidos dois principais tipos: os enantiômeros e os diasteroisômeros. Enantiômeros são moléculas cujas estruturas são imagens especulares uma das outras. Já duas moléculas que são diasteroisômeros não são imagens especulares uma da outra.

O termo atribuição de configuração em química refere-se a determinação do tipo de isomeria que uma molécula possui, seja ela constitucional ou ótica. É importante não confundir os conceitos de configuração e conformação. Para se mudar a configuração de uma molécula é necessário que ligações químicas sejam quebradas para que outras sejam formadas originando uma nova configuração, ou seja, uma nova molécula. Numa mudança de conformação, uma molécula está sofrendo apenas rotações em suas ligações químicas gerando um novo arranjo espacial para ela. As conformações de uma molécula são facilmente interconvertidas.⁴²

Existem diferentes técnicas que permitem atribuir configuração de isômeros como ressonância magnética nuclear e espectrometria de massas. O presente estudo trata da diferenciação de isômeros por MS. Dentre as abordagens descritas na literatura pode-se destacar **Zheng et al**⁴³ que utilizaram a MS para discriminar diasteroisômeros de peptídeos utilizando electrospray.

Zaitso et al⁴⁴ discriminam seis isômeros constitucionais de trimetoxianfetamina utilizando separação por cromatografia gasosa e MS. Este método necessita o uso de padrões para se validar a separação cromatográfica. Além disso é necessário uma análise comparativa dos espectros de massas para discriminar os seis isômeros.

Filsinger et al⁴⁵ utilizam uma nova abordagem para diferenciar os isômeros *cis* e *trans* de 3-aminofenol através da aplicação do campo elétrico não homogêneo que permite a separação espacial dos isômeros antes de serem submetidos a ionização multifotônica intensificada por ressonância (REMPI)^t.

A espectrometria de mobilidade iônica acoplada a espectrometria de massas (IMS-MS)^u também permite a separação de isômeros. Para isso, íons gerados a partir de precursores isoméricos migram por uma cela preenchida com gás e submetida a um campo elétrico de baixa intensidade.⁴⁶ Depois de separados, o íons são discriminados de acordos com suas *m/z*'s pelo analisador de massas.

Plasencia et al⁴⁷ separaram e discriminaram isômeros de ovoalbumina N-glicana através de IMS-MS. **Dwivedi et al**⁴⁸ separaram os enantiômeros de interesse farmacêutico como atenolol e serina por IMS-MS. Os autores utilizaram o gás quiral (S)-(+)-2-butanol que induz a migração diferencial dos enantiômeros, permitindo assim a distinção entre eles. As separações de enantiômeros por IMS-MS permitem a distinção entre eles, no entanto, esta abordagem não é método absoluto e se usa padrões de referência para se validar a metodologia.

O escopo deste trabalho é diferenciar isômeros constitucionais de maneira absoluta, ou seja, sem a necessidade de se fazer a comparação de espectros de massas para se chegar a conclusão sobre a isomeria de uma molécula precursora.

Dentro deste ensejo, partiu-se dos resultados obtidos pelo Laboratório Thomson de Espectrometria de massas relacionados a íons diagnósticos de estrutura. **Carvalho et al**⁴⁹ começaram esta abordagem e investigaram o comportamento de íons pirimidilas, piridilas, furanilas e tiofenilas frente a CID de baixa energia e reações íon/molécula, com o intuito de se revelar a identidade de seus precursores isoméricos. Na reação íon/molécula com 2-metil-1,3-

^t Do inglês: *resonance-enhanced multiphoton ionization* (REMPI)

^u Do inglês: *ion mobility spectrometry-mass spectrometry* (IMS-MS).

dioxolano, cada íon, proveniente de cada precursor isomérico, apresenta comportamento característico.

O conceito de caracterização de compostos através de íons diagnósticos através de reações íon/molécula e CID já foi utilizado por **Gozzo & Eberlin**⁵⁰ para diferenciar íons piridila e pirimidila.

A abordagem para diferenciação de isômeros através de íons diagnósticos foi realizada com sucesso por **Sabino et al**⁵¹, que diferenciaram isômeros *orto/meta/para* de nitroacetofenonas através da dissociação unimolecular e química bi-molecular.

Rocha et al⁵² apresentaram a mesma abordagem para atribuição de isômeros posicionais (*orto*, *meta* e *para*) para anilinas e fenóis substituídos com grupos acila e amidila provocando as reações sobre íons diagnósticos do tipo acílio ($R-C^+=O$).

Os íons acílio são estáveis num ambiente livre de solventes, que é proporcionado em fase gasosa.⁵³ Estes íons quando em contato com moléculas neutras reagem prontamente e por diversos mecanismos.⁵³ Portanto, o estudo de um conjunto de isômeros constitucionais, que formam íons acílio, é favorável à atribuição de isomeria constitucional, pelo método baseado em íons diagnósticos, pois íons acílio são carbocátions comuns, estáveis e de fácil acesso.⁵⁴ Para isso, deve-se provocar reações íon/molécula ou dissociações sobre o íon acílio formado na fragmentação por EI do precursor isomérico.

Em fase gasosa, os íons acílio reagem de maneira semelhante a compostos carbonilados e estes reagem prontamente com nucleófilos. **Lemos et al**⁵⁵ mostram que íons acílio na presença de dienos conjugados sofrem cicloadição polar $[4 + 2^+]$.

Moraes et al⁵⁶ apresentam reações íon/molécula de acetais e cetais com íons acílio por transacetalização polar, reações estas que são diagnósticas de estrutura tanto para acetais e cetais como para os íons acílio utilizados. No mesmo ano, **Moraes & Eberlin**⁵⁷ apresentaram reações de transacetalização com o acetal 1,3-dioxano, utilizando homólogos sulforados dos íons acílio como os íons tioacílio ($R-C^+=S$) e íons sulfonila ($R-S^+=O$).

Eberlin & Cooks⁵⁸ estudaram a reatividade em fase gasosa de íons acílio através da reação de cicloadição de Diels-Alder [4 + 2⁺], sendo o isopreno um dos dienos utilizados nas reações íon/molécula. Posteriormente, **Lu et al**⁵⁹ reagiram íons carbonilados, submetidos à metilação e protonação por ionização química, para estudar sua reatividade por cicloadição de Diels-Alder com dienos, avaliando se estas reações ocorrem por demanda normal ou demanda inversa de elétrons.

Begala et al⁶⁰ diferenciaram isômeros *orto*, *meta* ou *para* de 6-fenil-dibenzo(*d,f*)(1,3)dioxepinas substituídos com metila, metoxila e grupo nitro, através da dissociação induzida por colisão (CID) sobre íons 2-fenilbenzo[*b*]furanos diagnósticos de estrutura das dioxepinas.

Benassi & Eberlin⁶¹ mostraram a diferenciação de isômeros de acetonaftonas através da reatividade bimolecular em fase gasosa do FIDE. Neste estudo, íons acílio foram gerados a partir dos precursores e postos a reagir numa cela de reação utilizando um espectrômetro de massas pentaquadrupolar.

Benassi et al⁶² diferenciaram isômeros de butilanilinas gerando o FIDE por EI a 70 eV e realizando reações íon/molécula com estes íons para se diferenciar os precursores isoméricos. No entanto, nesta abordagem não se utiliza íons acílio e sim, íons do tipo fenil-imônio gerados a partir de anilinas substituídas por um grupo alquila no nitrogênio e que apresentam reatividade distinta ao íon aminotropílio, gerado a partir de anilina substituída com grupo alquila no anel.

Benassi & Eberlin⁶³ diferenciaram isômeros de carbetoxipiperidinas utilizando a reação íon/molécula entre o íon acílio diagnóstico de estrutura gerado a partir dos precursores isoméricos e etil vinil éter. Também foi possível diferenciar os precursores isoméricos através da dissociação induzida por colisão sobre o íon diagnóstico de estrutura.

Além de íons acílio, outros tipos de íons podem ser utilizados para caracterizar os precursores isoméricos. Os íons azabutadienos são

relativamente estáveis em fase gasosa,⁶⁴ podendo ser utilizados como íons diagnósticos de estrutura.

Os íons azabutadienos *N*-protonados são formados através da fragmentação induzida por EI a 70 eV sobre as moléculas neutras precursoras como as alil-aminas e piperidinas.⁶⁵ Estes são dienos amplamente usados em sínteses de heterocíclis nitrogenados,⁶⁶ principalmente, através de reações de hetero-Diels-Alder^{67,68,69} e Diels-Alder intramolecular,⁷⁰ pois apresentam grande reatividade frente a dienófilos, podendo sofrer cicloadições polares $[4^+ + 2]$.⁷¹

Outra categoria de íons estáveis em fase gasosa é a dos íons do tipo acil-imínio. Estes são empregados em reações de alquilação α -amida⁷² ou condensações do tipo Mannich,⁷³ reações nas quais se formam ligações carbono-carbono via adição de enóis e enolatos.⁷⁴ Nos íons acilimínio, o grupo captor de elétrons, *N*-acila, aumenta bastante a velocidade da reação pelo fato de aumentar a eletrofilicidade do íon, fazendo a adição no carbono nucleofílico irreversível. **Tomazela et al**⁷⁵ formaram íons imínio e *N*-acilimínio por MS e realizaram reações íon/molécula com viniloxitrimetilsilano.

As abordagens apresentadas inspiraram o presente estudo, pois a maioria delas não permitem a atribuição de configuração de forma absoluta. Neste trabalho procurou-se encontrar novos casos para se determinar a isômeria de uma molécula neutra precursora de forma absoluta. Assim explorando a abordagem que utiliza fragmentos iônicos diagnósticos de estrutura (FIDE).

OBJETIVOS

2 – Objetivos

O principal objetivo deste estudo foi permitir a atribuição de configuração de isômeros constitucionais com apenas um espectro de massas, ou seja, eliminar a necessidade de análise comparativa de espectros de massas para se chegar a uma conclusão quanto a configuração de um isômero. Para isto, foi proposto um método absoluto e geral para diferenciar isômeros constitucionais, através da reatividade em fase gasosa de um fragmento iônico diagnóstico de estrutura (FIDE) formado por cada um dos precursores isoméricos, dentro de um conjunto de isômeros. Para isso tiveram-se os seguintes objetivos específicos.

2.1 – Objetivos Específicos

- 1) Caracterizar cada precursor isomérico através do espectro de massas de varredura,
- 2) Identificar o FIDE para o conjunto de isômeros,
- 3) Dissociar o FIDE formado por cada um dos precursores,
- 4) Realizar reações íon/molécula com o FIDE formado por cada um dos precursores,
- 5) Caracterizar os produtos iônicos das reações íon/molécula por experimentos de MS³,
- 6) Identificar os produtos iônicos e/ou de dissociação que diferem os isômeros constitucionais,
- 7) Viabilizar a metodologia testando-a com uma molécula diferente dos precursores isoméricos, seja ela, análoga ou homóloga, mas que possa formar um FIDE.

MATERIAL E MÉTODOS

3 – Material e Métodos

3.1 – Reagentes

Os precursores isoméricos utilizados são todos padrões de referência com alto grau de pureza e cujas especificações estão listados na Tabela 1. Estes reagentes precursores foram posteriormente submetidos a EI a 70 eV para se formar o fragmento iônico diagnóstico de estrutura (FIDE), que por sua vez é submetido a reações íon/molécula com os reagentes listados na Tabela 2.

Tabela 1 – Isômeros utilizados					
Precusores Isoméricos	PM (Da)	Fórmula Molecular	Tipo de FIDE	m/z do FIDE	Especificações
1-Acetonaftona	170,21	C ₁₂ H ₁₀ O	Acílio	155	98% - Aldrich (Milwaukee, EUA)
2-Acetonaftona	170,21	C ₁₂ H ₁₀ O	Acílio	155	99% - Aldrich (Milwaukee, EUA)
1-carbetoxipiperidina	157,21	C ₈ H ₁₅ NO ₂	Acílio	não forma	98% Alfa Aesar (Pelham, NH, EUA)
2-carbetoxipiperidina	157,21	C ₈ H ₁₅ NO ₂	Acílio	112	97% Alfa Aesar (Pelham, NH, EUA)
3-carbetoxipiperidina	157,21	C ₈ H ₁₅ NO ₂	Acílio	112	98% Alfa Aesar (Pelham, NH, USA)
Ác. 1-ciclohexeno-1-carboxílico	126,15	C ₇ H ₁₀ O ₂	Acílio	108	97% Aldrich (St. Louis, EUA)
Ác. 1-ciclohexeno-3-carboxílico	126,15	C ₇ H ₁₀ O ₂	Acílio	108	97% Aldrich (St. Louis, EUA)
N-Butilanilina	149,23	C ₁₀ H ₁₅ N	Imônio	106	97% Sigma-Aldrich (St. Louis, EUA)
4-Butilanilina	149,23	C ₁₀ H ₁₅ N	Aminotropílio	106	97% Alfa Aesar (Pelham, NH, EUA)
N-isopentilanilina	163,26	C ₁₁ H ₁₇ N	Imônio	106	N.D. Aldrich (Milwaukee, EUA)
4-pentilanilina	163,26	C ₁₁ H ₁₇ N	Aminotropílio	106	98% Aldrich (St. Louis, EUA)
1-metilpiperidina	99,17	C ₆ H ₁₃ N	Azabutadieno	70	97% Alfa Aesar (Pelham, NH, EUA)
2-metilpiperidina	99,17	C ₆ H ₁₃ N	Azabutadieno	70	98% - Aldrich (Milwaukee, EUA)
3-metilpiperidina	99,17	C ₆ H ₁₃ N	Azabutadieno	70	99% - Aldrich (Milwaukee, EUA)
2-metiltiofeno	98,17	C ₅ H ₆ S	Tiopírilio	97	98% Aldrich (Milwaukee, EUA)
3-metiltiofeno	98,17	C ₅ H ₆ S	Tiopírilio	97	98% Aldrich (Milwaukee, EUA)

N.D. – não determinado pelo fabricante.

Tabela 2 – Reagentes utilizados em reações ion/molécula

Reagente	P.M. (Da)	Fórmula Molecular	Especificações
2-metil-1,3-dioxolano	88,11	C ₄ H ₈ O ₂	99% - Aldrich (Milwaukee, EUA)
2,2-dimetil-1,3-dioxolano	102,1	C ₅ H ₁₀ O ₂	99% - Aldrich (Milwaukee, EUA)
Etil vinil éter	72,11	C ₄ H ₈ O	99% - Aldrich (Milwaukee, EUA)
Propil vinil éter	86,13	C ₅ H ₁₀ O	99% - Aldrich (Milwaukee, EUA)
Etil 1-propenil éter	86,13	C ₅ H ₁₀ O	98% - Aldrich (Milwaukee, EUA)
2-metoxipropeno	72,11	C ₄ H ₈ O	99% - Aldrich (Milwaukee, EUA)
Alil etil éter	86,13	C ₅ H ₁₀ O	95% - Aldrich (Milwaukee, EUA)
<i>t</i> -Butil vinil éter	100,16	C ₆ H ₁₂ O	98% - Aldrich (Milwaukee, EUA)
Isobutil vinil éter	100,16	C ₆ H ₁₂ O	99% - Aldrich (Milwaukee, EUA)
Etil vinil sulfeto	88,17	C ₄ H ₈ S	96% - Aldrich (Milwaukee, EUA)
Isopreno	68,12	C ₅ H ₈	99% Aldrich (Milwaukee, EUA)
Acroleína	56,06	C ₃ H ₄ O	99% Aldrich (Milwaukee, EUA)
Dieno de Danishefsky	172,30	C ₈ H ₁₆ O ₂ Si	98% Aldrich (Milwaukee, EUA)
1-Trimetilsiloxil-1,3-butadieno	142,27	C ₇ H ₁₄ OSi	99% Aldrich (Milwaukee, EUA)
Acetona	58,08	C ₃ H ₆ O	P.A. Vetec (Duque de Caxias, RJ)
Etil vinil cetona	84,12	C ₅ H ₈ O	98% Aldrich (Milwaukee, EUA)
Acetonitrila	41,08	C ₂ H ₃ N	HPLC/Spectro - Tedia (Fairfield, EUA)
Propionitrila	55,08	C ₃ H ₅ N	99% - Aldrich (Milwaukee, EUA)
Acrilonitrila	53,06	C ₃ H ₃ N	99% - Aldrich (Milwaukee, EUA)
Cloreto de alila	76,06	C ₃ H ₅ Cl	99% - Aldrich (Milwaukee, EUA)
Brometo de alila	120,98	C ₃ H ₅ Br	97% - Aldrich (Milwaukee, EUA)
Dissulfeto de metila	94,20	C ₂ H ₆ S ₂	99% - Aldrich (Milwaukee, EUA)

3.2 – Método absoluto e geral proposto

A principal meta do método proposto foi permitir a atribuição da isomeria constitucional de uma molécula com apenas um espectro de massas. No entanto, a diferenciação não foi realizada pelo comportamento dissociativo por EI a 70 eV dos isômeros, dentro de uma classe, mas pelo comportamento em fase gasosa de um fragmento iônico diagnóstico da estrutura (FIDE) formado pelo isômero. Para que um FIDE seja ideal é desejado que tenha as seguintes características:

- 1) ser formado por todos os isômeros dentro do conjunto em estudo,**
- 2) manter a informação estrutural da molécula neutra precursora,**
- 3) ser estável em fase gasosa, ou seja, tempo de vida longo,**
- 4) o FIDE formado por cada um dos precursores devem ter estruturas diferentes e estes não podem interconverter-se.**

Para uma classe de isômeros que se deseja estudar, para identificar o FIDE pertinente àquela classe é necessário adquirir os padrões de referência para um dos isômeros. Deve-se submeter cada um dos isômeros a ionização por elétrons (EI) a 70 eV para se adquirir os espectros de massas de varredura de cada um deles e avaliar se todos os isômeros do conjunto apresentam íon em comum, ou seja, mesma m/z . Uma vez identificado estes íons deve-se avaliar se estes são prováveis FIDE's, ou seja, carregam a informação estrutural da molécula precursora.

É utilizando a reatividade em fase gasosa deste FIDE que se conseguiu diferenciar os isômeros, seja realizando reações íon/molécula ou dissociação induzida por colisão (CID). É interessante ressaltar que não se utiliza o íon molecular do precursor, pois isto tiraria a generalidade do método, já que outros compostos análogos ou homólogos à série de isômeros teriam m/z 's diferentes para cada íon molecular. Quando se estuda íons diagnósticos, compostos análogos ou homólogos podem fragmentar-se e gerar o íon diagnóstico que terá

a mesma m/z da série estudada inicialmente, independente da massa do precursor.

Com o FIDE identificado, deve-se primeiro estudar sua dissociação induzida por colisão com dois propósitos em mente. O primeiro deles é retirar informações estruturais do FIDE, ou seja, verificar a estrutura do íon através de sua dissociação e o segundo propósito é verificar se existem diferenças nos caminhos dissociativos entre os FIDE's gerados por cada um dos precursores isoméricos da classe sob estudo. Se os íons dissociam de maneiras diferentes é possível atribuir a configuração da molécula precursora.

Se a abordagem por CID não funcionar, utilizam-se então as reações íon/molécula que apresentam maior especificidade. Para isso, ao invés de colidir o FIDE, gerado por cada um dos precursores, com um gás inerte, este é enviado para a cela de reação (q_2) que está preenchida com moléculas do reagente neutro na fase gasosa. Dentro da cela de reação (q_2) são formados os produtos iônicos que são direcionados até o Q_5 , que por sua vez irá discriminar os íons de acordo com suas m/z 's trabalhando no modo de varredura, enquanto Q_3 e q_4 deixam todos os íons passarem em órbitas estáveis. A Figura 14 exibe um diagrama esquemático do procedimento utilizado para o método proposto.

A idéia deste método é criar uma relação de íons diagnósticos que são gerais para uma classe de compostos e com este íon realizar reações íon/molécula ou dissociações induzida por colisão para se obter produtos ou fragmentos característicos a classe de isômeros. Por exemplo, se é separado um produto natural do qual se tem uma noção da classe a que pertence, mas não se tem certeza da isomeria constitucional e além disso não se tem uma quantidade suficiente para fazer RMN ou IV, poderia utilizar-se da MS. Esta apresenta maior sensibilidade, permite gerar o íon diagnóstico de acordo a classe do composto e verificar pelo seu comportamento em fase gasosa se este gera íons característicos a uma isomeria e não a outra(s).

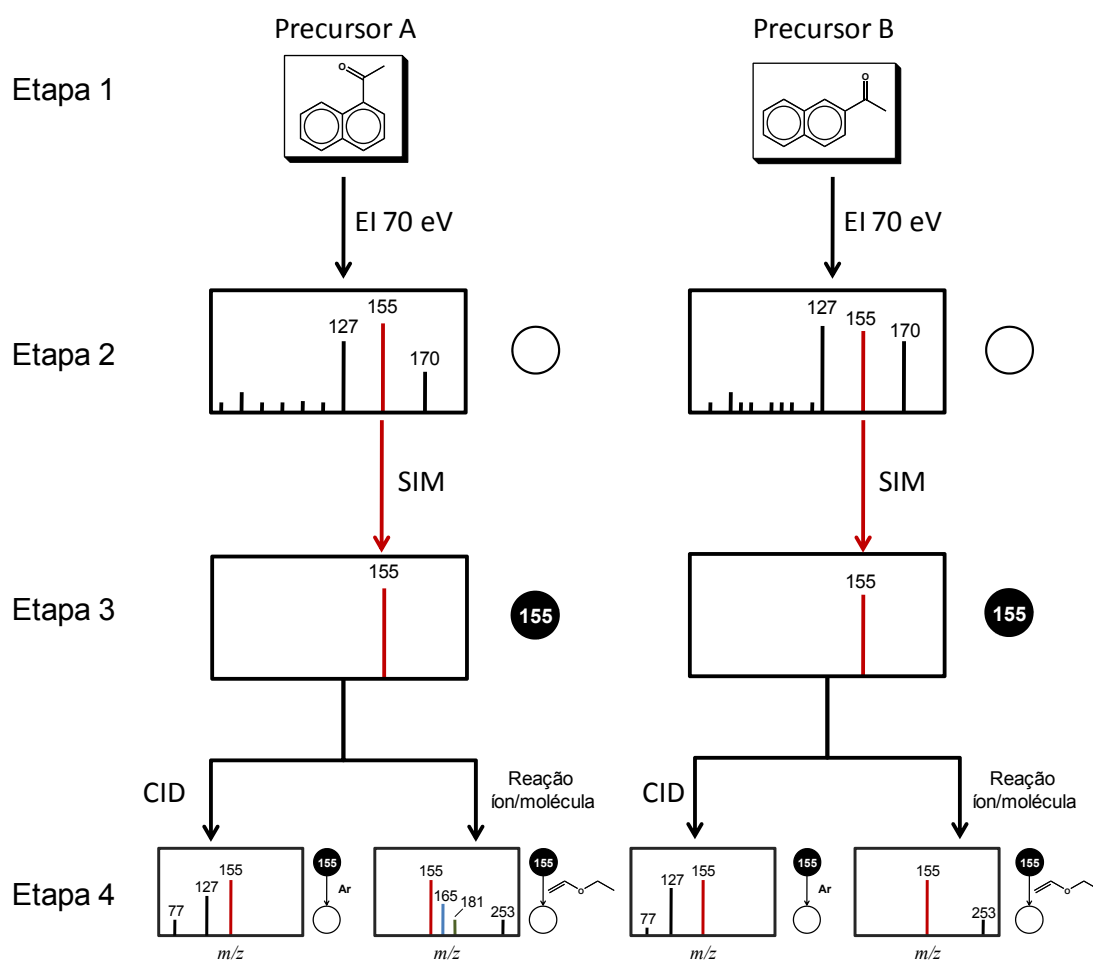


Figura 14 – Diagrama esquemático do método proposto. **Etapa 1:** Obter os padrões dos precursor isoméricos. **Etapa 2:** Obter os espectros de massas de varredura para ambos os precursor. **Etapa 3:** Selecionar o FIDE. **Etapa 4:** Com o FIDE promover experimentos de dissociação (CID) e reações íon/molécula.

3.3 – Espectrômetro de Massas Pentaquadrupolar

O espectrômetro de massas pentaquadrupolar^{76,77} utilizado neste estudo é um equipamento que permite realizar o estudo de reações íon/molécula e dissociação induzida por colisão (CID) com um gás inerte como argônio (Ar) ou nitrogênio (N₂). Características do equipamento:

- Fabricante: Extrel CMS, LLC (Pittsburgh, EUA).
- 3 Bombas Turbomoleculares Leybold
- 3 Bombas Mecânicas Boc-Edwards (Modelo: RV12)
- Medidor de Vácuo: PenningVac PM 31 Leybold (East Syracuse, EUA)
- 3 Controladoras de bomba turbomolecular Turbotronik NT 150/360
- Gás de colisão: Argônio (Air Liquide – São Paulo – Brasil)

Os espectrômetros de massas pentaquadrupolares (QqQqQ) também podem ser usados como equipamentos para estudos de reações íon/molécula, apresentando algumas vantagens, como o fato da análise de m/z não ser sensível a diferentes energias cinéticas dos íons, fornecendo resoluções unitárias antes e depois das colisões na câmara reacional. Outras vantagens relacionadas ao uso de analisadores de massas quadrupolares são a alta transmissão de íons realizada pelo quadrupolo que funciona como cela de colisão, tolerância a vácuos não tão bons, fácil operação e fácil controle por softwares.⁷⁸

O pentaquadrupolo, Q₁q₂Q₃q₄Q₅, utilizado nos experimentos possui uma fonte de íons que opera com ionização por elétrons (EI) e ionização química (CI). Dentre os cinco quadrupolos do equipamento, dois são quadrupolos reacionais (q₂ e q₄) que operam no modo para transmissão de íons chamado de *apenas- rf* , ou *rf -only*, utilizando a terminologia da língua inglesa. Os três quadrupolos restantes (Q₁, Q₃ e Q₅) são quadrupolos analisadores de massas e são estes que discriminam os íons de acordo com suas m/z 's. O software de aquisição desenvolvido no laboratório é descrito em detalhes por **Juliano**⁷⁹.

Por apresentar cinco quadrapolos, este espectrômetro de massas permite grande versatilidade de experimentos. Se é desejado dissociar uma molécula neutra e avaliar sua fragmentação por EI, basta inserir a molécula neutra na fonte de íons do pentaquadrapolo e deixar quatro dos quadrapolos operando no modo de transmissão de íons (*rf-only*), e um deles operando no modo de varredura. Geralmente o quadrapolo utilizado para isso é o Q₅, por discriminar *m/z* ao operar no modo *rf-DC*. Desta forma os íons produzidos por EI são transmitidos até o detector, constituindo assim um experimento de MS unidimensional.

Para realizar uma reação íon/molécula no pentaquadrapolo, os íons gerados na fonte de íons são filtrados em Q₁, que opera no modo de seleção de *m/z*, deixando passar apenas o íon de interesse, para que este possa reagir em q₂, com condições controladas, como por exemplo a energia de colisão e a concentração do gás reagente. Os produtos iônicos da reação são transmitidos por Q₃ e q₄ que operam no modo *rf-only* e são discriminados de acordo suas *m/z*'s por Q₅. Cada produto iônico da reação em q₂ pode ser selecionado em Q₃ e caracterizado estruturalmente através de dissociação induzida por colisão (CID) ou reação íon/molécula em q₄, e os produtos da reação ou dissociação neste quadrapolo são analisados por Q₅.

A Figura 15 mostra uma foto do pentaquadrapolo e como os quadrapolos estão alinhados em relação à fonte de íons e o detector. É possível observar que os quadrapolos reacionais (q₂ e q₄) são encapsulados por uma carapaça de aço, permitindo que o reagente neutro ou o gás de colisão sejam confinados dentro do quadrapolo, aumentando-se o seu tempo de residência, diferentemente dos quadrapolos analisadores de *m/z* (Q₁, Q₃ e Q₅), que são vazados.

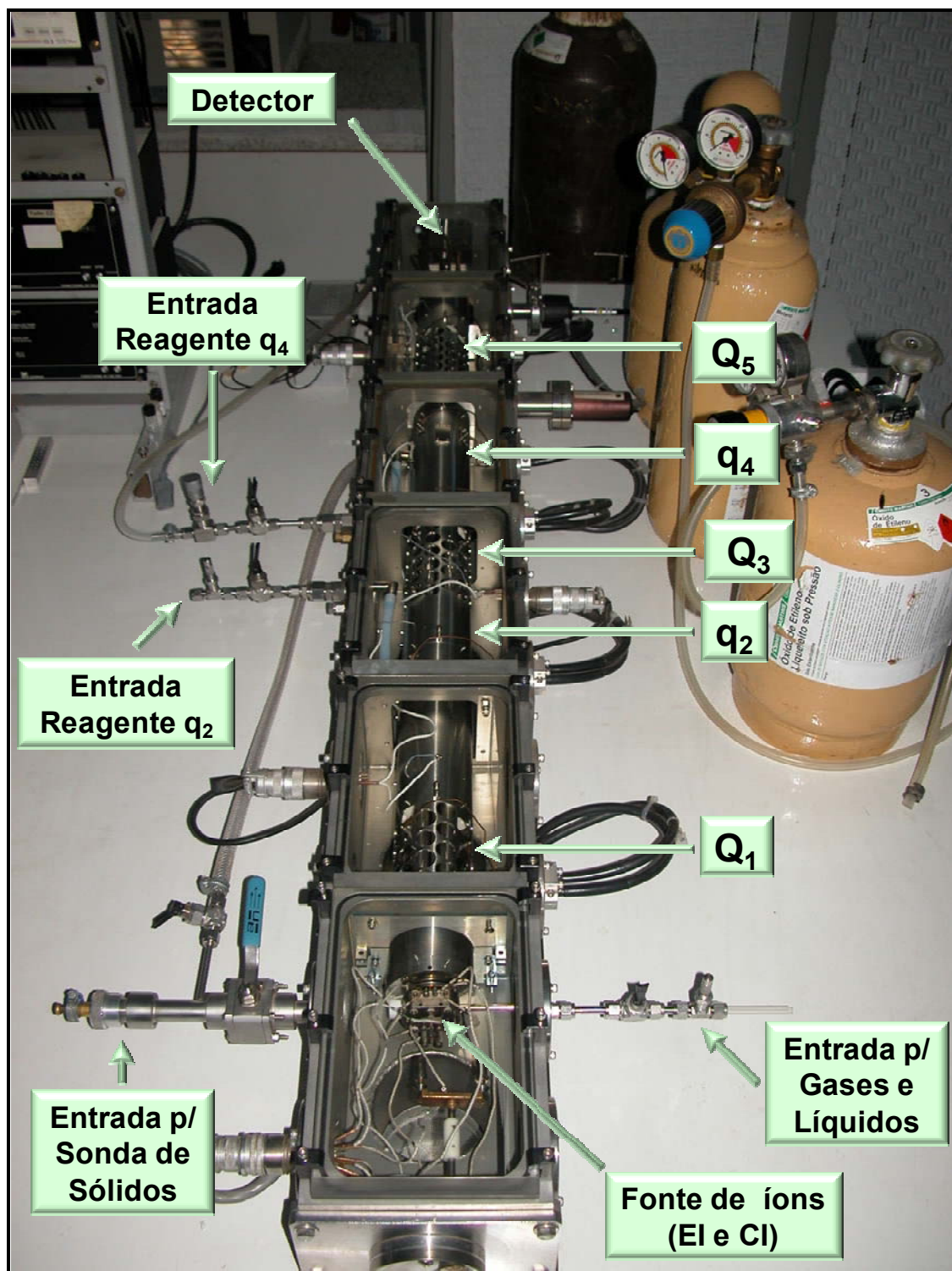


Figura 15 – Espectrômetro de massas pentaquadrupolar. Q_1 , Q_3 e Q_5 são quadrupolos analisadores de massas rf -DC. q_2 e q_4 são quadrupolos reacionais que operam no modo de transmissão de íons, rf -only.

3.3.1 – Formas de introdução de reagentes

Os precursores isoméricos utilizados são inseridos no equipamento de duas formas: utilizando a sonda de sólidos ou a entrada para gases e líquidos. A maioria dos precursores são líquidos voláteis e sólidos facilmente volatilizados com pouco aquecimento.

Para líquidos, utiliza-se uma ampola ou retorta (Figura 16) ligada a uma válvula reguladora para gases à baixas pressões (Figura 17). Dentro da ampola é colocado 500 μL do reagente no estado líquido.



Figura 16 – Ampola ou retorta utilizada para inserir líquidos no pentaquadrupolo.

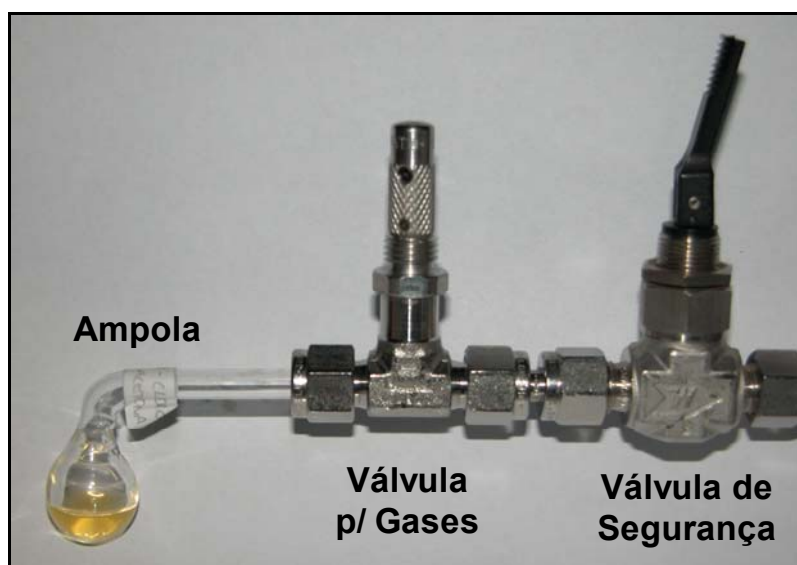


Figura 17 – Ampola conectada à válvula para gases à baixas pressões.

Ao ser aberta, a válvula reguladora para gases permite que a baixa pressão do vácuo do equipamento seja o suficiente para que o líquido contido dentro da ampola seja volatilizado. O gás formado encaminha-se até a região da fonte de íons onde se encontra o filamento de tungstênio, que emite os elétrons com energia de 70 eV (Figura 18).

Percebe-se que o líquido está mudando para a fase gasosa e entrando no equipamento devido ao aumento da pressão, que é indicado pelo sensor de vácuo (*ion gauge*). O espectrômetro de massas pentaquadrupolar opera a pressão de 10^{-7} torr ($\sim 1,31 \times 10^{-10}$ atm) e ao se abrir a válvula para a entrada do precursor opera a pressão de 8×10^{-6} torr ($\sim 8 \times 10^{-9}$ atm).

Para a introdução de sólidos utiliza-se uma sonda (Figura 19) do fabricante Vacumed (Ventura, CA, EUA), modelo 31622-H9, que permite inserir um cadinho (Figura 20) contendo a amostra sólida, no centro da fonte por EI. Para as amostras sólidas que não volatilizam com a ação do vácuo ou com o aquecimento proporcionado pelo filamento de tungstênio, é possível induzir uma volatilização através do sistema de aquecimento da sonda. No entanto, nenhum dos precursores isoméricos utilizados necessitou de aquecimento.

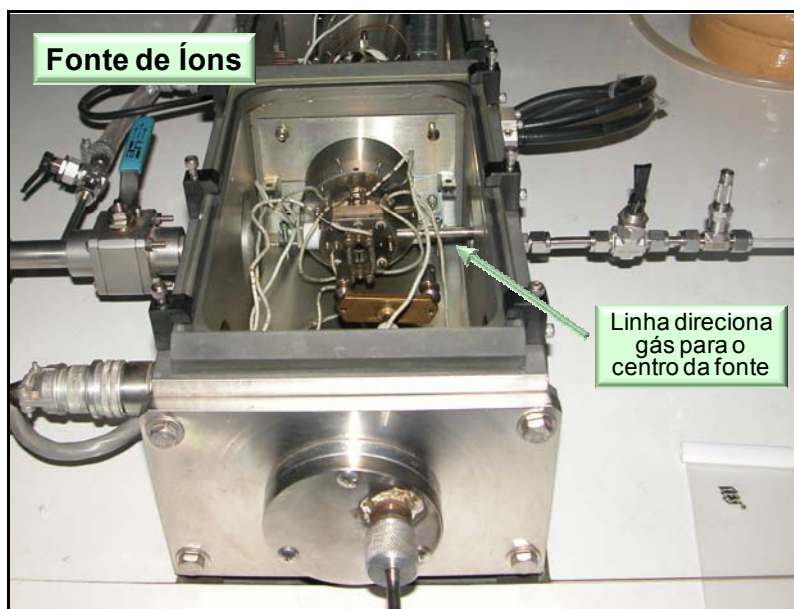


Figura 18 – Fonte de íons mostrando o caminho percorrido pelo gás gerado a partir do precursor isomérico no estado líquido.



Figura 19 – Sonda para inserção de sólidos na fonte de ionização (a) e a parte retrátil da sonda, dentro da qual é alojado o cadinho com o sólido desejado (b).

A sonda de sólidos também pode ser usada para inserir líquidos que não são facilmente volatilizados com a ação da pressão baixa do vácuo do equipamento. Para se obter sinais intensos utilizando ampolas com líquidos não tão voláteis é preciso abrir bastante a válvula reguladora e isto pode sujar a fonte de íons. Para limpar é necessário deixar o filamento de tungstênio funcionando por longos períodos de tempo até que todo o contaminante seja aquecido e eliminado pelo sistema de vácuo. Com a utilização do cadinho, a quantidade de líquido que se usa é reduzida pois se insere direto na fonte de íons além de reduzir a contaminação. Com esse procedimento o tempo necessário para eliminar a contaminação é de 10 a 20 minutos, o que antes não levava menos de uma hora. Depois de colocar o sólido dentro do cadinho, é colocado um pouco de lã de vidro sobre o sólido para impedir que este seja retirado do cadinho pela ação do vácuo, ao entrar no equipamento. O cadinho é inserido na sonda de sólidos e esta por sua vez é inserida diretamente na fonte de íons como mostram a Figura 21 e a Figura 22.

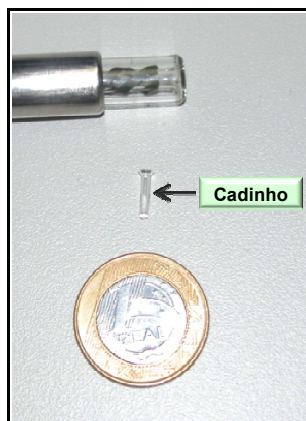


Figura 20 – Cadinho a ser colocado dentro da sonda de sólidos.

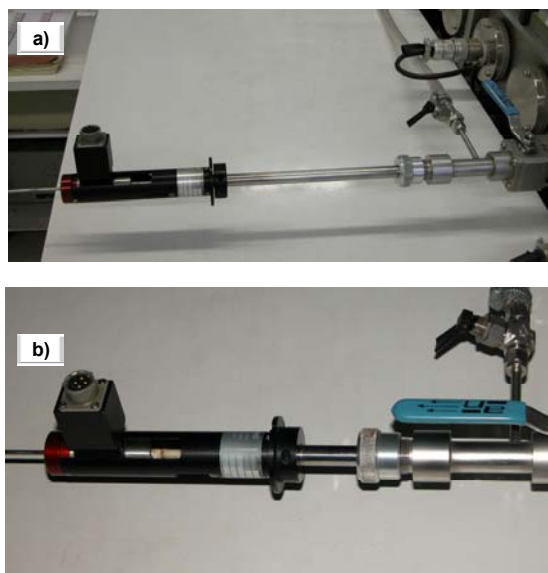


Figura 21 – Inserção da sonda de sólidos no pentaquadrupolo. a) Início do procedimento de inserção. b) sonda totalmente inserida.

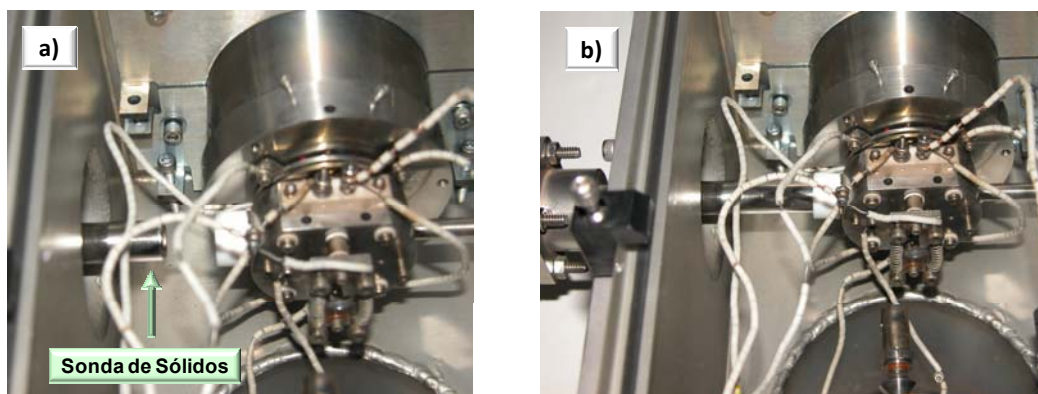


Figura 22 – Inserindo sonda de sólidos na fonte de íons (a) e sonda de sólidos totalmente inserida (b).

3.3.2 – CID e reações íon/molécula com o pentaquadrupolo

O pentaquadrupolo permite a realização de reações íon/molécula e CID nos quadrupolos reacionais em q_2 e q_4 . No entanto, realizá-las em q_2 permite que os produtos iônicos possam ser submetidos a experimentos subsequentes como CID e novas reações íon/molécula em q_4 . Com isso mais informações relacionadas à reatividade e à dissociação dos produtos iônicos levam a uma caracterização estrutural fidedigna.

3.3.2.1 – Obtenção de espectros de MS^2

Denominam-se espectros de MS^2 que são obtidos depois de duas etapas em que íons precisam ser discriminados antes da detecção. Em se tratando do pentaquadrupolo, isso quer dizer que dois quadrupolos precisaram discriminar m/z durante o experimento, ou seja, um quadrupolo (Q) precisa selecionar um íon enquanto outro quadrupolo (Q) discrimina os produtos formados num dos quadrupolos reacionais (q).

Para se obter um espectro de MS^2 para um experimento de CID (Figura 23) deve-se, primeiro, inserir o reagente precursor na entrada da fonte de íons e permitir que moléculas em fase gasosa sejam ionizadas por EI. Segundo, se dentre os fragmentos produzidos por EI existe um íon que se deseja caracterizar, a m/z deste íon é selecionada por Q_1 , permitindo que apenas o íon de interesse possa seguir até o quadrupolo *rf-only* (q) dentro do qual será realizada a dissociação. Em todos os experimentos, q_4 é o quadrupolo escolhido para realizar os experimentos de CID, portanto, para que os íons da m/z selecionada cheguem até q_4 , estes devem passar por q_2 e Q_3 , que estão operando no modo de transmissão de íons, logo não estão discriminando m/z . Terceiro, para realizar o CID é necessário ajustar a corrente iônica total (TIC) do íon selecionado. Quarto, com a TIC otimizada, deve-se abrir a válvula reguladora que permite a entrada do gás de colisão, argônio, para se induzir a dissociação do íon selecionado. E por último, os fragmentos iônicos produzidos

por CID são enviados até o Q_5 , que irá discriminá-los quanto às suas m/z 's antes de atingirem o detector. Este procedimento é utilizado para caracterizar o possível FIDE como mostra a Figura 23.

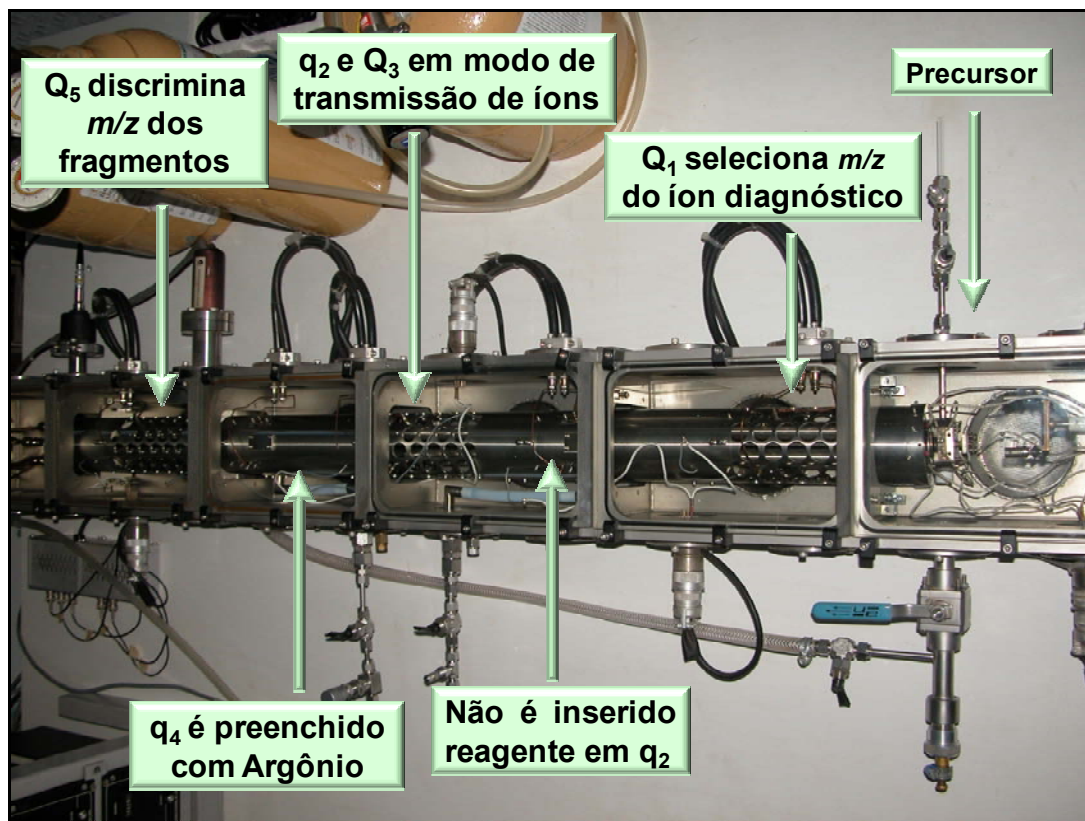


Figura 23 – Procedimento para obtenção de um espectro de massas (MS^2) de CID para o fragmento diagnóstico de estrutura (FIDE).

A Figura 24 mostra como o argônio é inserido em q_4 . A válvula com regulador Vernier controla a entrada do gás com maior precisão. Se a válvula abrir demais, ou de forma não controlada, se grandes quantidades de gás entrar, o vácuo do equipamento será prejudicado. Com isso as bombas turbomoleculares tentariam compensar o vácuo girando mais rápido, o que poderia levar a um aquecimento e conseqüentemente à dilatação das pás giratórias. Antes que isso aconteça, o equipamento desliga ao atingir pressão de 10^{-4} torr ($1,31 \times 10^{-7}$ atm) como modo de segurança, no entanto, desligadas bruscas podem prejudicar a parte eletrônica do equipamento.

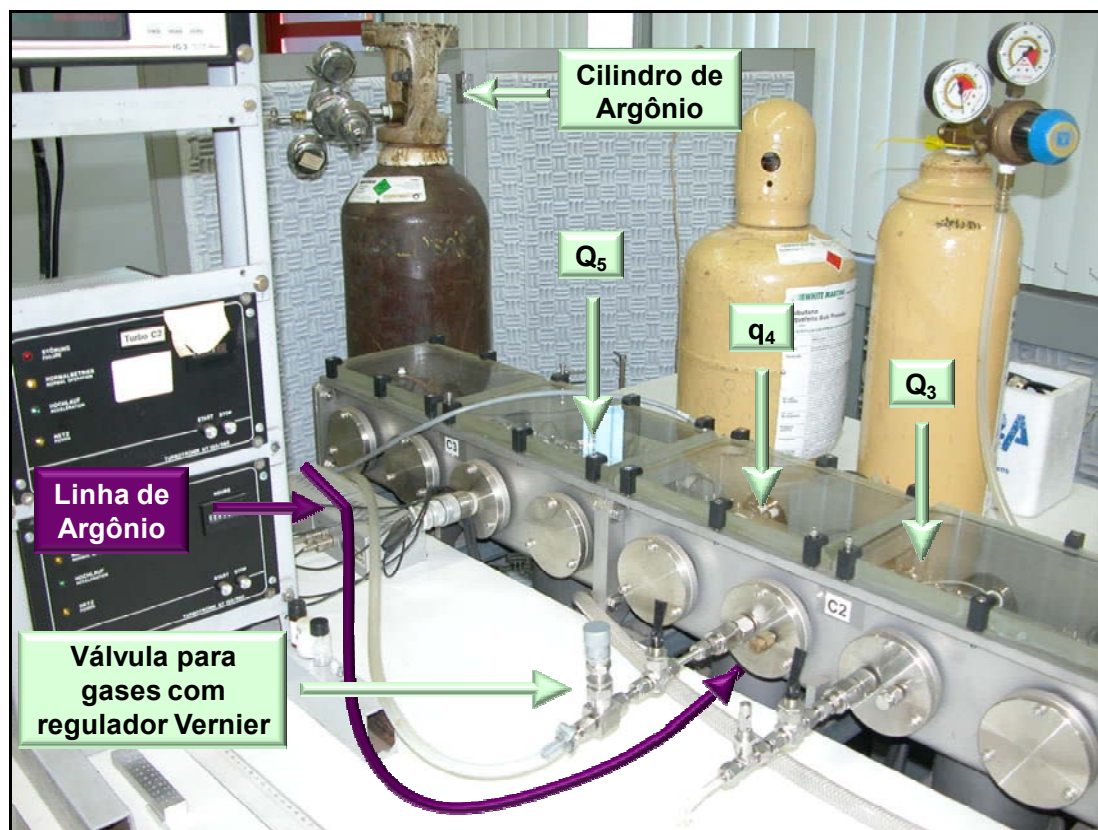


Figura 24 – Inserção do gás de colisão, argônio, em q_4 para realização de CID.

Para se obter um espectro de MS^2 para reações íon/molécula deve-se inserir o reagente neutro em q_2 , e este precisa ser um gás ou um líquido que seja facilmente volatilizado pelo vácuo do equipamento. Portanto, não é possível inserir sólidos ou líquidos não voláteis em q_2 . Se o reagente neutro for um gás basta acoplar a saída do cilindro de gás à entrada do reagente em q_2 e controlar a vazão do gás pelo regulador de pressão ligado ao cilindro de gás reagente e também com a válvula reguladora na entrada de reagentes em q_2 . A quantidade de gás que entra é acompanhada através do aumento da pressão do equipamento, assim como foi realizado para o controle da entrada do precursor na fonte de íons. A pressão geral do equipamento, com precursor, é de aproximadamente 8×10^{-6} torr. Com o reagente neutro preenchendo q_2 é permitido ao equipamento trabalhar com pressão aproximada de 4×10^{-6} torr ($5,2 \times 10^{-9}$ atm), podendo aumentar-se a pressão se o rendimento da reação for

baixo, ou seja, se o sinal do íon reagente no espectro de massas for bem maior que os sinais provenientes de produtos iônicos da reação.

Se o reagente for líquido, este é colocado dentro de uma ampola e acoplado à entrada de reagente em q_2 (Figura 25). Abre-se a válvula reguladora para que o reagente volátil preencha o quadrupolo reacional (q_2). A quantidade de reagente que entra também é controlada pela alteração da pressão total do equipamento, sendo normalmente mantida a 4×10^{-6} torr.

A Figura 26 mostra o procedimento para o estudo de reações íon/molécula. Os íons gerados na fonte são filtrados em Q_1 , deixando-se passar apenas os íons com a m/z que se deseja estudar a reatividade em fase gasosa. Os íons com a m/z do íon selecionado são direcionados até q_2 , que está preenchido com moléculas neutras do reagente. Dentro de q_2 é permitido que a reação ocorra. Os produtos iônicos são enviados até Q_5 , onde serão discriminados de acordo com suas m/z 's, passando por Q_3 e q_4 , que estão no modo de transmissão de íons permitindo que todos íons passem, sem discriminá-los, até chegarem ao Q_5 . O quadrupolo reacional, q_4 , não deve conter reagente ou gás de colisão, permitindo que os íons passem sem interagir com qualquer espécie em fase gasosa e cheguem intactos até o detector. Para que uma reação íon/molécula ocorra, é necessário que a energia translacional dos íons reagentes chegando em q_2 esteja ajustada para uma energia próxima de 1 eV. Desta forma garante-se que os íons tenham energia suficiente para colidir com o reagente e reagir. Com energia de 1eV, impede-se que os íons reagentes colidam com as moléculas neutras em q_2 e sejam ativados para um caminho dissociativo, assim como ocorre em CID, que exige uma energia de aproximadamente 15 eV.

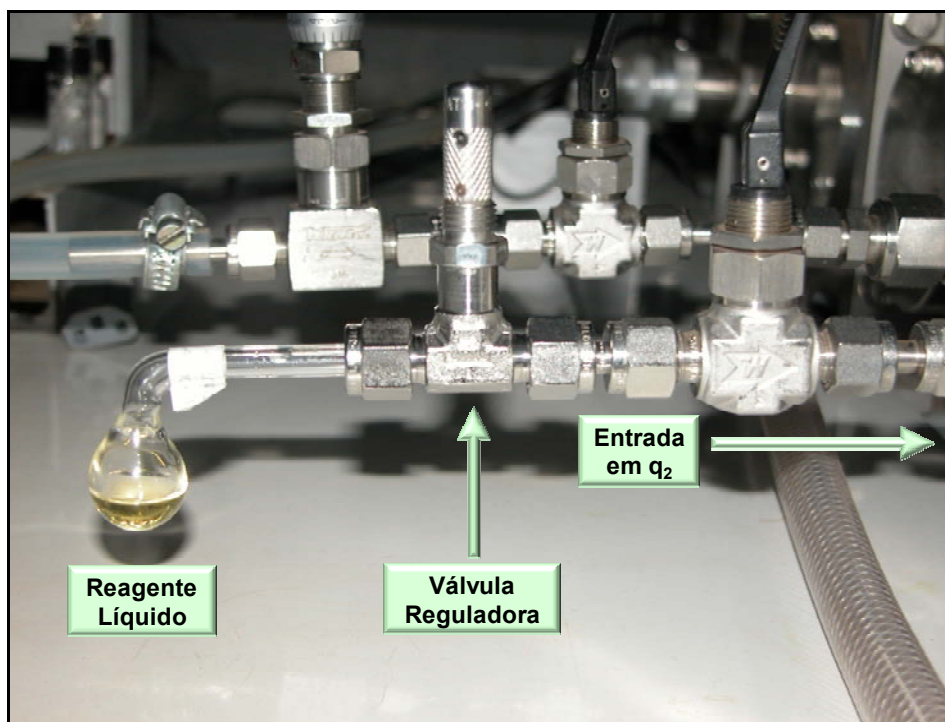


Figura 25 – Inserção de reagente em q_2 para obtenção de espectros de MS^2 .

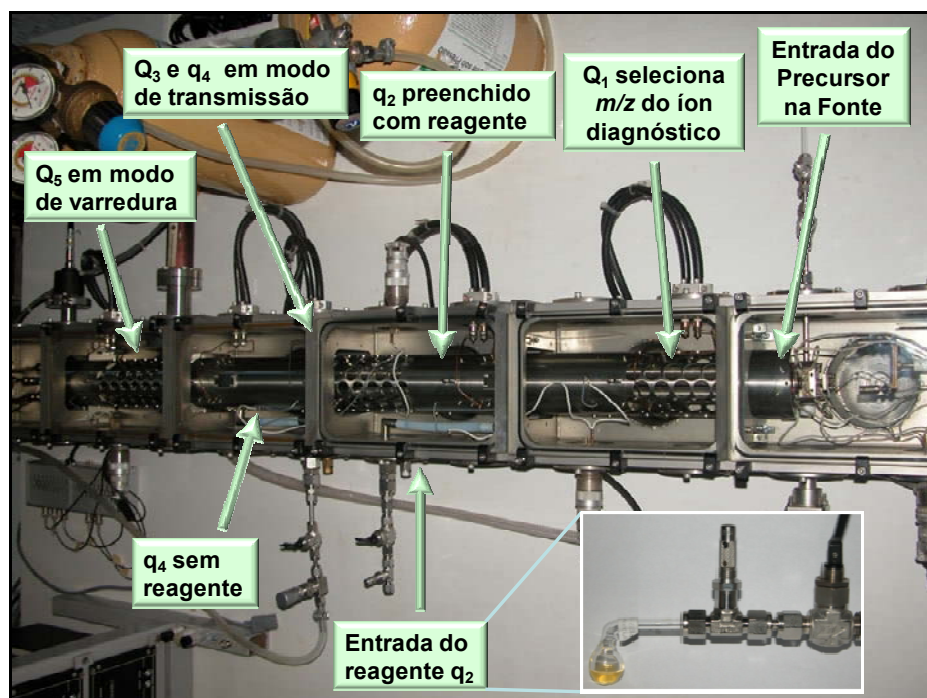


Figura 26 – Procedimento para obtenção de um espectro de massas (MS^2) para reação íon/molécula.

3.3.2.2 – Obtenção de espectros de MS³

Depois de se realizar reações íon/molécula e algumas dúvidas persistirem quanto à estrutura dos produtos iônicos formados, experimentos de dissociação induzida por colisão (CID) podem ser realizados para caracterizá-los através de suas fragmentações. Neste tipo de experimento (Figura 27), um dos produtos formados na reação íon molécula em q_2 é selecionado em Q_3 e direcionado a q_4 com energia translacional de 15 eV para que possam ocorrer colisões com o argônio que resultem em fragmentações do íon, diferente do procedimento para reação íon/molécula no qual a energia do íon é ajustada para próximo de 1 eV. A medida que os fragmentos são formados em q_4 estes são direcionados a Q_5 que trabalha em modo de varredura e analisa os fragmentos iônicos de acordo com sua m/z . Experimentos em que se obtém espectros de MS³, também são chamados de triplo estágio ou múltiplos estágios.⁷⁸

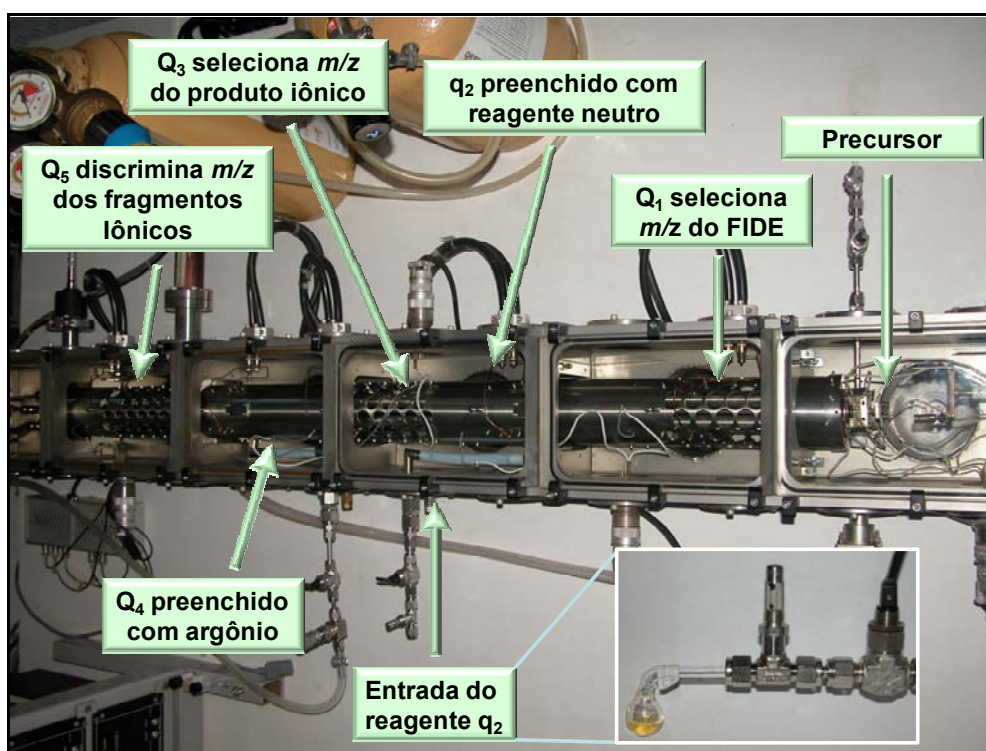


Figura 27 – Procedimento para obtenção de um espectro de massas (MS³) da dissociação induzida por colisão (CID) dos produtos iônicos formados na reação íon/molécula em q_2 .

3.4 – Simbologia da MS de múltiplos estágios

Schwartz et al⁸⁰ elaboraram a simbologia utilizada para representar os tipos de experimentos que podem ser realizados em MS de múltiplos estágios. Nesta simbologia, cada analisador de massas é representado por um círculo como mostra a Figura 28.

Um círculo vazio (○) indica que o analisador está varrendo todas as m/z , ou seja, está discriminando todos os íons que chegam até ele, porém não está selecionando nenhuma m/z .

Um círculo cheio (●) indica que o analisador está fixo em uma única m/z , ou seja todos os íons de determinada m/z são transmitidos pelo analisador e todos os íons de outras m/z não são transmitidos.

As flechas (↓) indicam os quadrupolos reacionais que apenas transmitem íons e não discriminam m/z 's, ou seja operam no modo *rf-only*.

Esta simbologia funciona também para outros tipos de analisadores e outros tipos de experimentos que levam à dissociação como ECD, IRMPD e ETD. Portanto, cada etapa em que íons são discriminados de acordo com suas m/z 's, é representada por um círculo. Para equipamentos triploquadrupolares ou pentaquadrupolares, cada círculo será um quadrupolo, já que estes analisadores fazem dissociação no espaço. No entanto, analisadores do tipo *ion trap* (IT), fazem experimentos de dissociação no tempo,^{11,81} e cada etapa em que se discrimina m/z dentro do *trap* também é representada por um círculo.

A Figura 28 também exhibe os principais tipos de experimentos que podem ser realizados com o espectrômetro de massas pentaquadrupolar, desde experimentos de MS^2 , como CID (Figura 28d) no qual se usa um gás de colisão, ou reação íon/molécula (Figura 28e) até experimentos de MS^3 , mostrando a simbologia para os principais tipos de experimentos MS^3 que podem ser realizados com o pentaquadrupolo. O experimento **h** é o mais utilizado por permitir a caracterização dos produtos iônicos através de CID. Existem muitas possibilidades para experimentos de MS^3 , que são descritas com maiores detalhes por **Eberlin**⁷⁸ e por **Schwartz et al**⁸⁰.

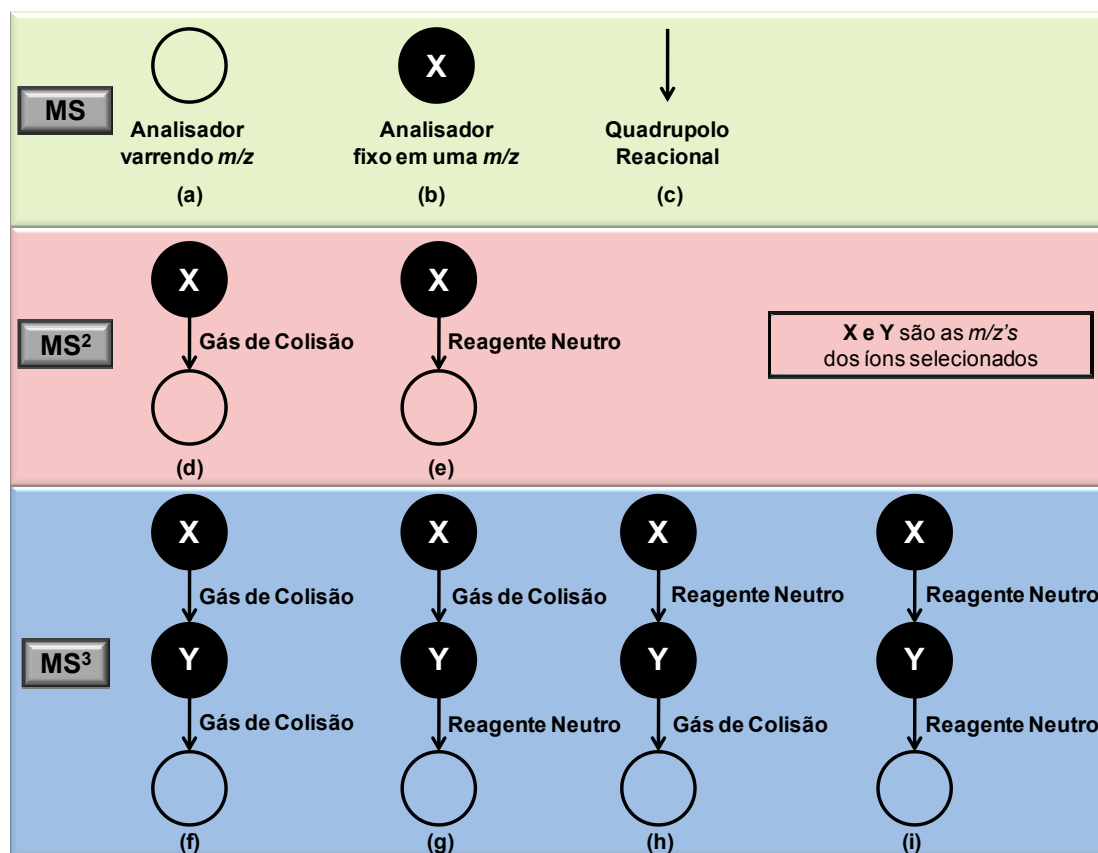


Figura 28 – Simbologia utilizada na MS de múltiplos estágios e os principais tipos de experimentos que podem ser realizados no pentaquadrupolo.⁸⁰

3.5 – Reações íon/molécula testadas

A Tabela 3 mostra as reações íon/moléculas testadas para cada classe de isômeros, onde o reagente neutro inserido em q_2 é posto a reagir com o FIDE produzido a partir dos precursores isoméricos listado na Tabela 1. As reações foram realizadas com os FIDE gerados a partir de cada um dos precursores isoméricos pertencente a classe. Os resultados referentes a todas as reações íon/moléculas testadas são apresentados a seguir na seção de resultados e discussão.

Tabela 3 – Reações íon/molécula testadas		
Classe de Isômeros	<i>m/z</i> do FIDE	Reagente Neutro (q_2)
Acetonaftonas	155	2-metil-1,3-dioxolano
		Isopreno
		Acetonitrila
		Propionitrila
		Etil vinil éter
		Propil vinil éter
		Etil 1-propenil éter
		2-metoxipropeno
		Etil vinil sulfeto
		Alil etil éter
		Isobutil vinil éter
		<i>t</i> -butil vinil éter
AlquilAnilinas	106	2-metil-1,3-dioxolano
		Isopreno
		Acroleína
		Etil vinil éter
Carbetoxipiperidinas	112	2-metil-1,3-dioxolano
		Etil vinil éter
Ácidos Ciclohexeno Carboxílicos	108	2-metil-1,3-dioxolano
		Isopreno
		Acroleína
		Etil vinil cetona
		1-trimetilsiloxil-1,3-butadieno
		<i>trans</i> -1-metoxi-3-(trimetilsiloxil)-1,3-butadieno
		Etil vinil éter
		Dimetildissulfeto
Metiltiofenos	45	Etil vinil éter
	69	2,2-dimetil-1,3-dioxolano
	97	Isopreno
Metilpiperidinas	70	Etil vinil éter
		Propionitrila
		Acrilonitrila
		Isopreno
		Acetona

RESULTADOS E DISCUSSÃO

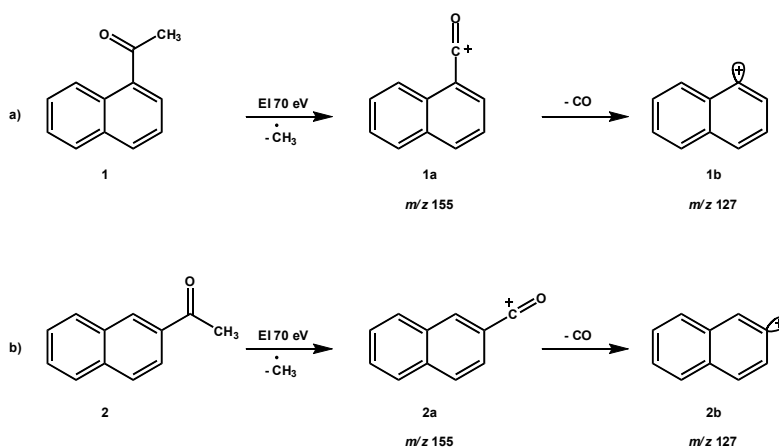
4 – Resultados e Discussão

4.1 – Acetonaftonas

Os isômeros constitucionais 1-acetonaftona e 2-acetonaftona apresentam como núcleo estrutural um anel naftaleno e uma carbonila ligada a ele (Esquema 2). Os espectros de massas de EI a 70 eV (Figura 29) de ambos isômeros apresentam os mesmos caminhos dissociativos. Dentre eles, o íon molecular de m/z 170 fragmenta-se por clivagem alfa liberando metila radicalar gerando o íon acílio de m/z 155. O íon de m/z 127 é o íon naftílio gerado pela perda neutra de CO (28 Da) a partir do íon acílio de m/z 155.

Dentre os íons observados nos espectros de massas da Figura 29, pode-se destacar dois possíveis FIDEs que apresentam a mesma m/z e carregam a informação estrutural do precursor isomérico e são: o íon acílio de m/z 155 e o íon naftílio de m/z 127, formados por ambos precursores.

Com o FIDE, são realizados dois tipos de experimentos: a dissociação induzida por colisão (CID) e reações íon/molécula. O experimento de dissociação sobre o FIDE foi realizado primeiro com dois propósitos: o primeiro deles foi caracterizar estruturalmente o FIDE através dos seus caminhos dissociativos e o segundo propósito foi avaliar se os precursores isoméricos são diferenciados pela presença de fragmentos iônicos distintos.



Esquema 2 – Fragmentação por EI da 1-acetonaftona (a) e 2-acetonaftona (b).

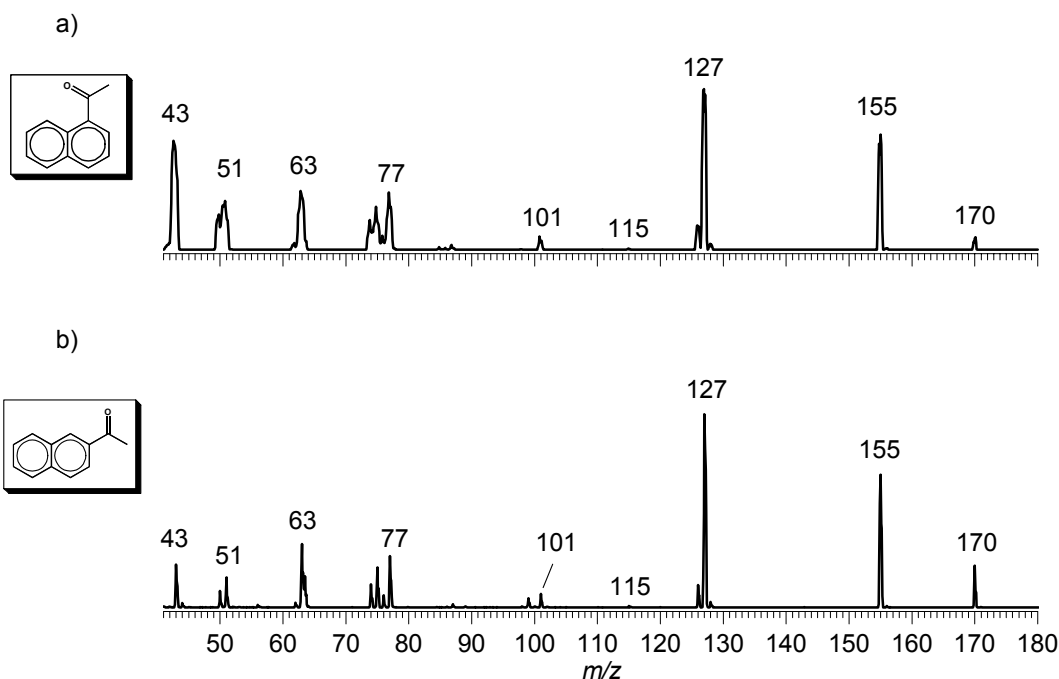


Figura 29 – Espectros de massas de varredura obtidos com EI a 70 eV dos isômeros 1-acetonaftona (a) e 2-acetonaftona (b).

Os espectros de massas da Figura 30 mostram o comportamento dissociativo do íon naftílio de m/z 127 formado por ambos os precursores isoméricos. Este íon apresenta dois principais caminhos dissociativos: o primeiro deles é a perda de hidrogênio radicalar levando ao íon de m/z 126 e o segundo é a formação do cátion fenila de m/z 77, que é o íon base para ambos os espectros de massas. Além desses dois processos, é possível observar o fragmento de m/z 51 gerado a partir do cátion fenila de m/z 77 através da perda neutra de etino (26 Da). O íon de m/z 103 é um fragmento de baixa intensidade gerado a partir da perda de 24 Da do íon de m/z 127. Pelo fato de ambos os espectros de CID do íon naftílio de m/z 127 serem parecidos, ou seja, não apresentarem fragmentos iônicos distintos, esta abordagem não permitiu a diferenciação dos precursores isoméricos.

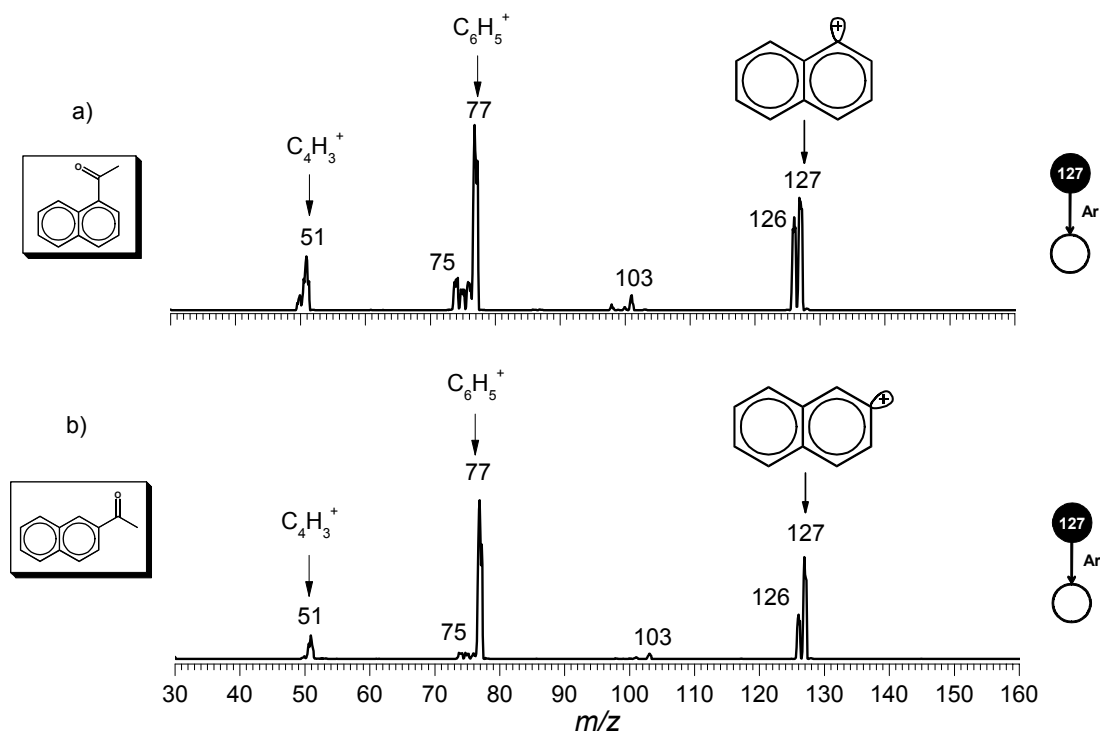


Figura 30 – Espectro de Massas (MS^2) da dissociação induzida por colisão (CID) do íon naftílio de m/z 127 formado a partir da 1-acetonaftona (a) e 2-acetonaftona.

A Figura 31 mostra a dissociação do íon acílio de m/z 155 e observa-se que este íon fragmenta-se através da perda neutra de CO (28 Da) gerando o íon naftílio de m/z 127. Também é observado o fragmento iônico de m/z 77 referente ao cátion fenila, porém em baixa intensidade. A dissociação do íon de m/z 155, gerado por ambos precursores isoméricos, é similar e não permite a diferenciação entre eles.

Além da dissociação induzida por colisão pode-se realizar reações íon/molécula com os íons diagnósticos. A vantagem de se usar reações íon/molécula está na maior especificidade deste método. Pelo fato do íon de m/z 155 ser um íon acílio, este apresenta reatividade em fase gasosa similar a compostos carbonilados em solução. Com este íon realizou-se uma série de reações íon/molécula discutidas a seguir.

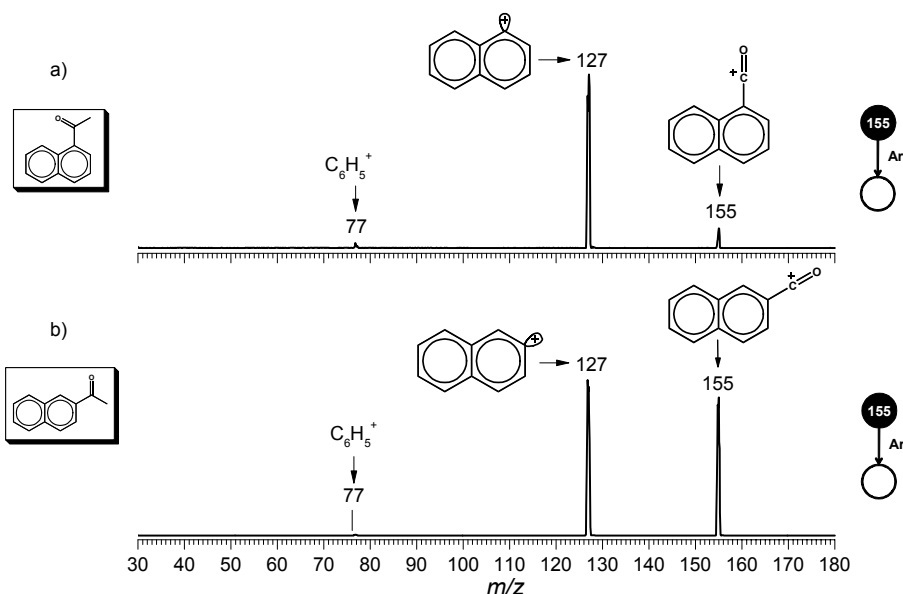
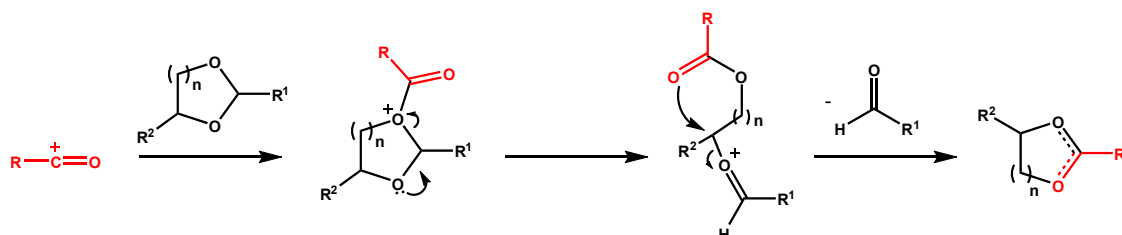


Figura 31 – Espectro de Massas (MS^2) da dissociação induzida por colisão (CID) do íon acílio de m/z 155 formado a partir da 1-acetonaftona (a) e 2-acetonaftona (b).

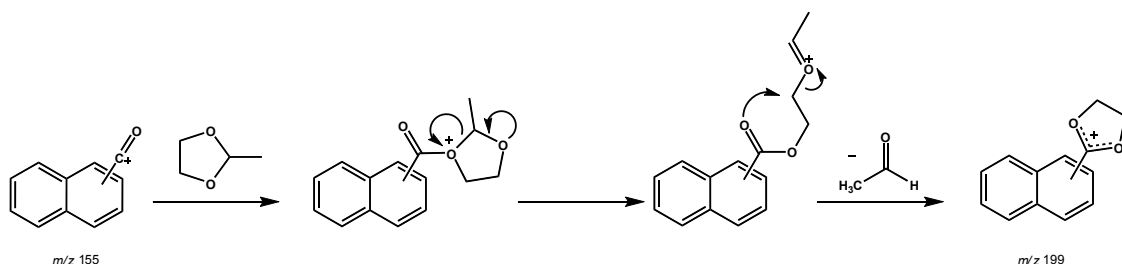
4.1.1 – Reação com 2-metil-1,3-dioxolano – a reação de Eberlin

Ao se reagir um íon acílio com um acetal cíclico neutro forma-se um acetal iônico estabilizado por ressonância, através da eliminação de uma molécula neutra de aldeído ou de cetona. Esta reação foi observada em fase gasosa por **Eberlin & Cooks**⁸² ficando conhecida como a reação de Eberlin. O mecanismo da reação de Eberlin⁸³ inicia-se por uma O-acilação seguida de uma etapa rápida de abertura de anel termodinamicamente favorável. Em seguida, ocorre uma reciclagem liberando o composto carbonilado neutro protegido pelo acetal, formando um íon 1,3-dioxanílio cíclico estabilizado por ressonância (Esquema 3). A reação de Eberlin permite a diferenciação de isômeros de acetais cíclicos.⁵⁶ No entanto, não foi utilizada para diferenciar íons acílios que são formados a partir de precursores isoméricos. Desta forma, os íons acílio de m/z 155, formado por ambos os precursores, foram submetidos a reação de Eberlin com o acetal 2-metil-1,3-dioxolano e ambas as reações apresentaram reatividades semelhantes formando o produto de Eberlin, o íon 1,3-dioxanílio cíclico estabilizado por ressonância de m/z 199 (Esquema 4).

Em ambos os espectros de massas da reação íon/molécula entre 2-metil-1,3-dioxolano e o FIDE de m/z 155 (Figura 32) são observados o íon naftílio de m/z 127, o íon de m/z 89, referente a molécula protonada de 2-metil-1,3-dioxolano, o íon de m/z 87, referente a perda de hidreto da molécula 2-metil-1,3-dioxolano e o íon de m/z 171 formado através da perda neutra de eteno (28 Da) a partir do produto de Eberlin de m/z 199.



Esquema 3 – Mecanismo da Reação de Eberlin.⁸³



Esquema 4 – Mecanismo da reação de Eberlin entre 2-metil-1,3-dioxolano e o FIDE de m/z 155.

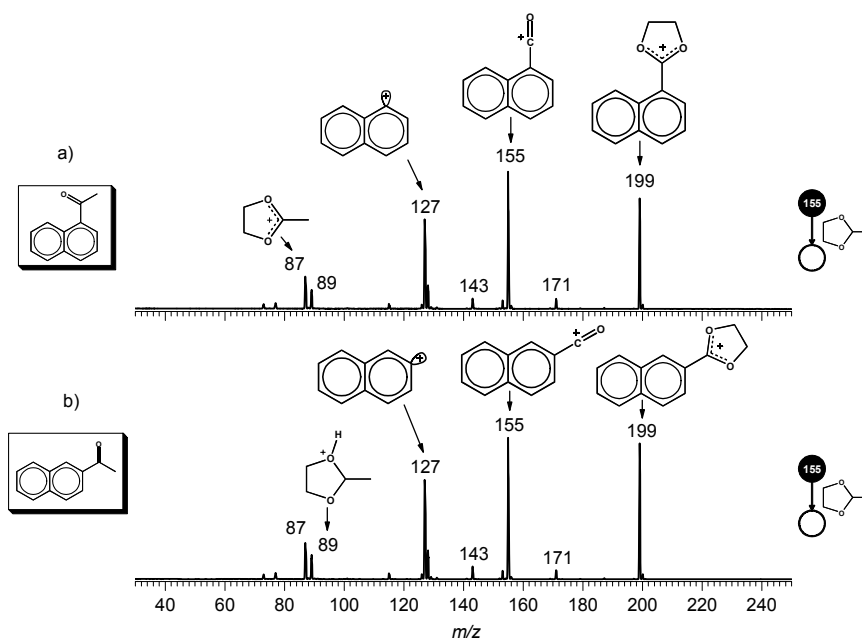


Figura 32 – Espectro de massas (MS^2) da reação íon/molécula entre 2-metil-1,3-dioxolano e o íon acílio de m/z 155 formado a partir da 1-acetonaftona (a) e 2-acetonaftona (b).

Os produtos de Eberlin de m/z 199 foram selecionados e submetidos a experimentos de CID (MS^3) e estes apresentam a dissociação típica dos produtos de Eberlin através da perda neutra de acetaldeído (44 Da), regenerando o íon acílio de m/z 155 (Figura 33). Também é observado o íon naftílio de m/z 127, resultado da perda neutra de CO a partir do íon de m/z 155. Esta abordagem não permitiu a diferenciação dos precursores isoméricos.

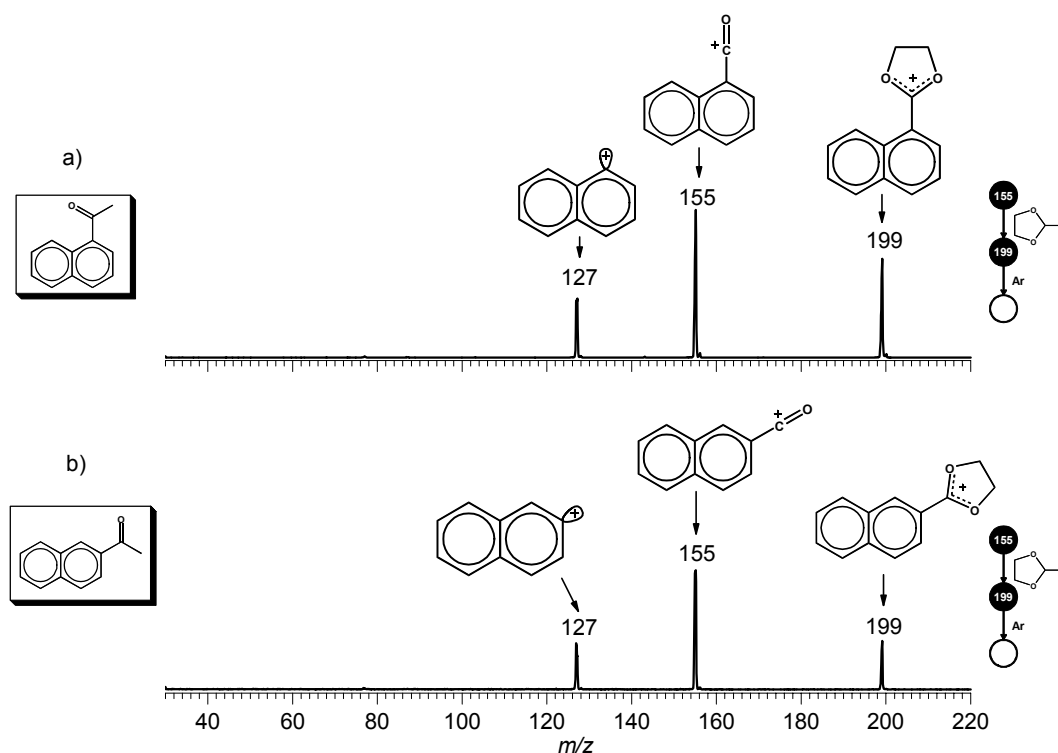
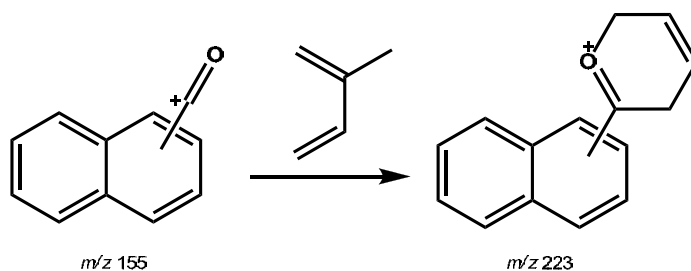


Figura 33 – Espectros de Massas (MS^3) do CID do produto de Eberlin de m/z 199 formado a partir da reação de 2-metil-1,3-dioxolano (88 Da) com o FIDE de m/z 155 formado a partir da 1-acetonaftona (a) e 2-acetonaftona (b).

4.1.2 – Reação de cicloadição polar [4 + 2⁺]

Íons acílio reagem prontamente com dienos através de reações de cicloadição.⁸⁴ **Eberlin & Cooks**⁵⁸ estudaram a reatividade de diferentes tipos de íons acílio com isopreno e observaram que estes reagem por cicloadição polar de Diels-Alder [4 + 2⁺]. Íons acílio ao reagirem com O-heterodienos sofrem mono e dupla cicloadição de Diels-Alder [4 + 2⁺].⁸⁵ **Eberlin et al**⁸⁶ mostraram que cicloadições polares podem ser estruturalmente seletivas para íons acílio como já se mostrou funcionar para o cátion acetila e outros isômeros de C₂H₃O⁺. Portanto, esta abordagem foi aplicada aos íons acílio de *m/z* 155 gerados a partir dos precursores isoméricos 1-acetonaftona e 2-acetonaftona.

Os espectros de massas (Figura 34) para a reação íon/molécula entre isopreno e o FIDE de *m/z* 155 mostram a formação do íon de *m/z* 223, o cicloaduto formado de acordo com o mecanismo evidenciado no Esquema 5. Mais uma vez é observado o íon naftílio de *m/z* 127, que se fragmenta prontamente por perda neutra de CO (28 Da) assim que o reagente isopreno é inserido em q₂.



Esquema 5 – Reação de cicloadição polar [4 + 2⁺].

Os espectros de massas dos experimentos de CID (Figura 35) realizados sobre o cicloaduto de *m/z* 223 mostram como principal caminho dissociativo a restauração do íon acílio de *m/z* 155 através da perda de uma molécula neutra de isopreno (68 Da). A abordagem através da reação de cicloadição polar não permitiu a diferenciação do isômeros de acetonaftonas.

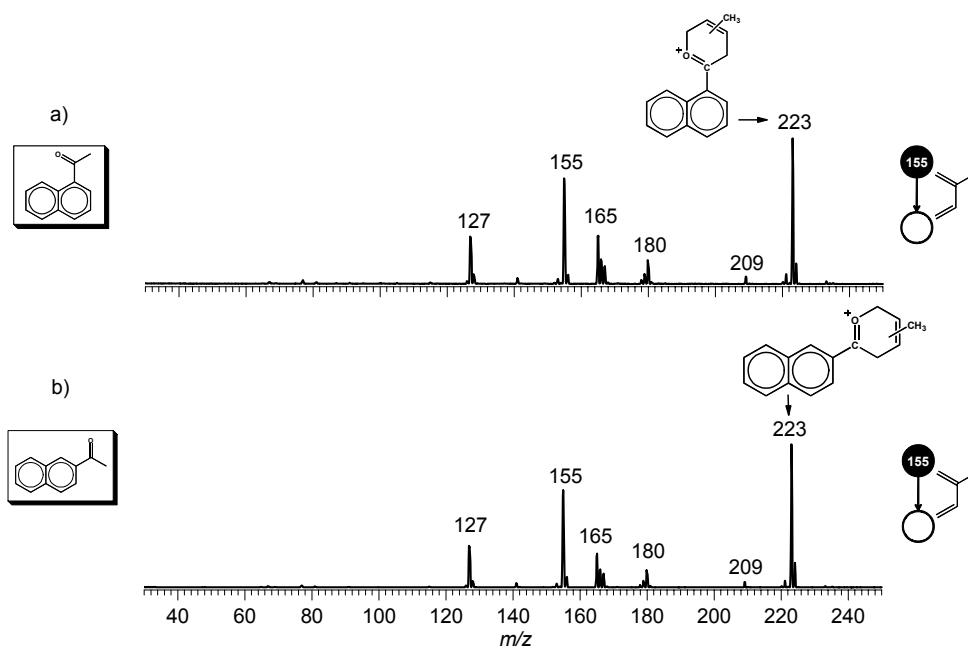


Figura 34 – Espectros de massas (MS²) da reação íon/molécula entre isopreno (68 Da) e o FIDE de *m/z* 155 gerado a partir da 1-acetonaftona (a) e 2-acetonaftona (b).

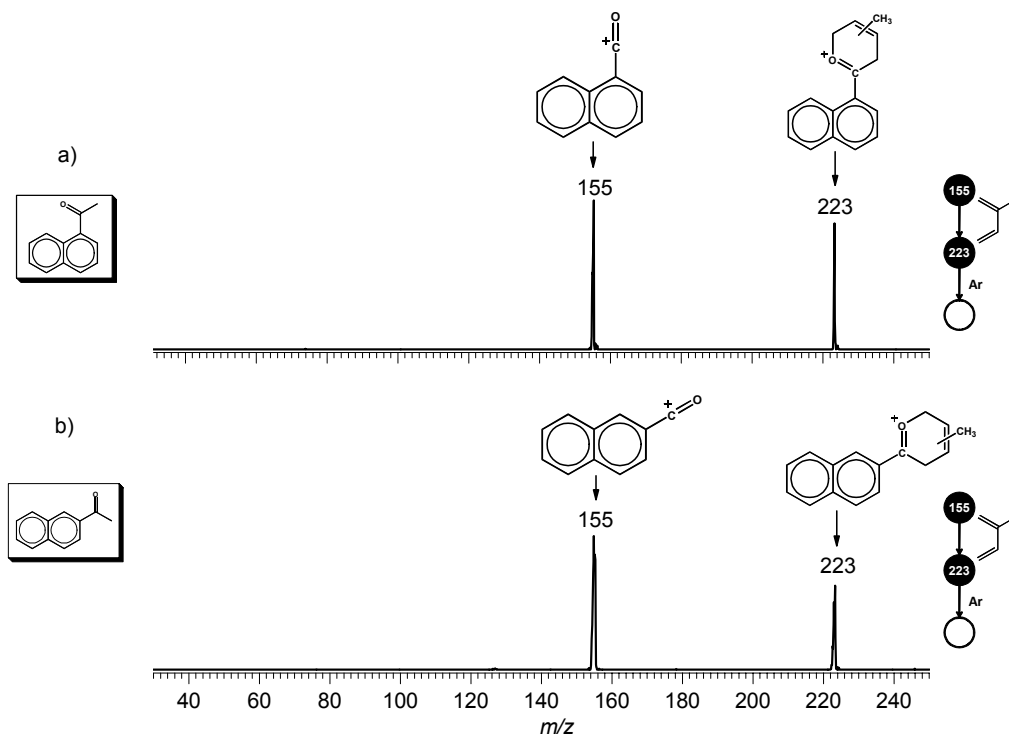
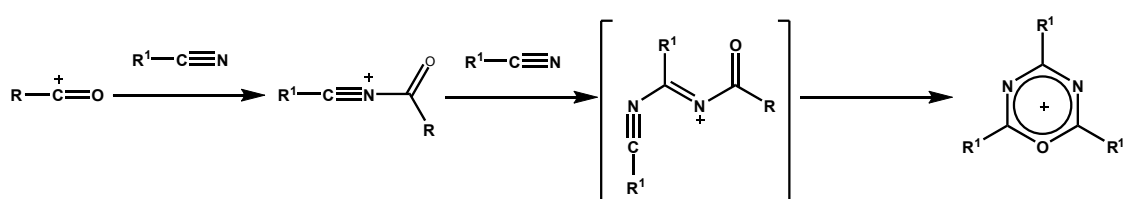


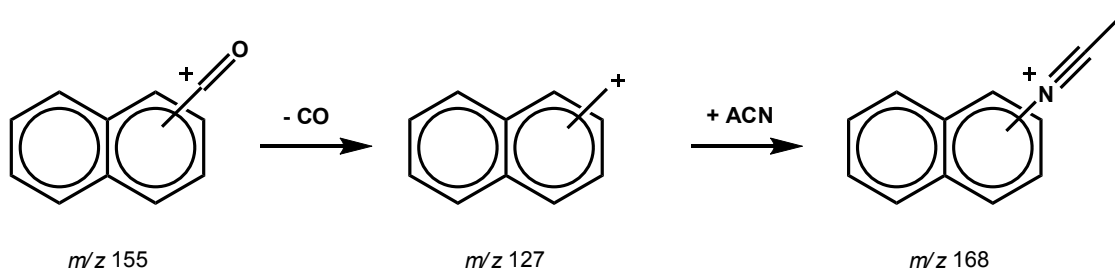
Figura 35 – Espectros de Massas (MS³) do CID para o cicloaduto de *m/z* 223 formado a partir da reação entre isopreno (68 Da) e o FIDE de *m/z* 155 gerado a partir da 1-acetonaftona (a) e 2-acetonaftona (b).

4.1.3 – Reações com Nitrilas: Acetonitrila e Propionitrila

Meurer et al⁸⁷ estudaram a reatividade de diferentes nitrilas com diferentes tipos de íons acílio. O Esquema 6 mostra o mecanismo de reação na qual o par de elétrons não compartilhado em ligação ataca o carbono da carbonila no íon acílio formando o aduto, e este por sua vez sofre a adição de mais uma molécula neutra de nitrila levando à formação do íon 1,3,5-oxidiazínio cíclico. No entanto, quando submetido a reação com acetonitrila, o íon acílio de m/z 155, formado por ambos precursores isoméricos, não reage de acordo com o mecanismo exibido no Esquema 6. O íon de m/z 155 se dissocia prontamente através da perda neutra de CO (28 Da) gerando o íon naftílio de m/z 127 e é este íon que reage com acetonitrila formando o aduto de m/z 168 (Esquema 7 e Figura 36). Apesar da energia translacional com que o íon reagente chega até a cela de reação (q_2) ser relativamente baixa, por volta de 5 eV, esta energia é suficiente para induzir a dissociação do íon reagente de m/z 155, assim que o reagente neutro é inserido em q_2 , levando à formação do íon naftílio de m/z 127 e do cátion fenila de m/z 77. O cátion fenila de m/z 77 também reage com acetonitrila levando à formação do aduto de m/z 118. O produto iônico de m/z 142 surge da adição de metila ao íon naftílio de m/z 127.



Esquema 6 – Mecanismo da reação entre íons acílio e nitrilas.⁸⁷



Esquema 7 – Mecanismo da adição de acetonitrila ao íon naftílio de m/z 127.

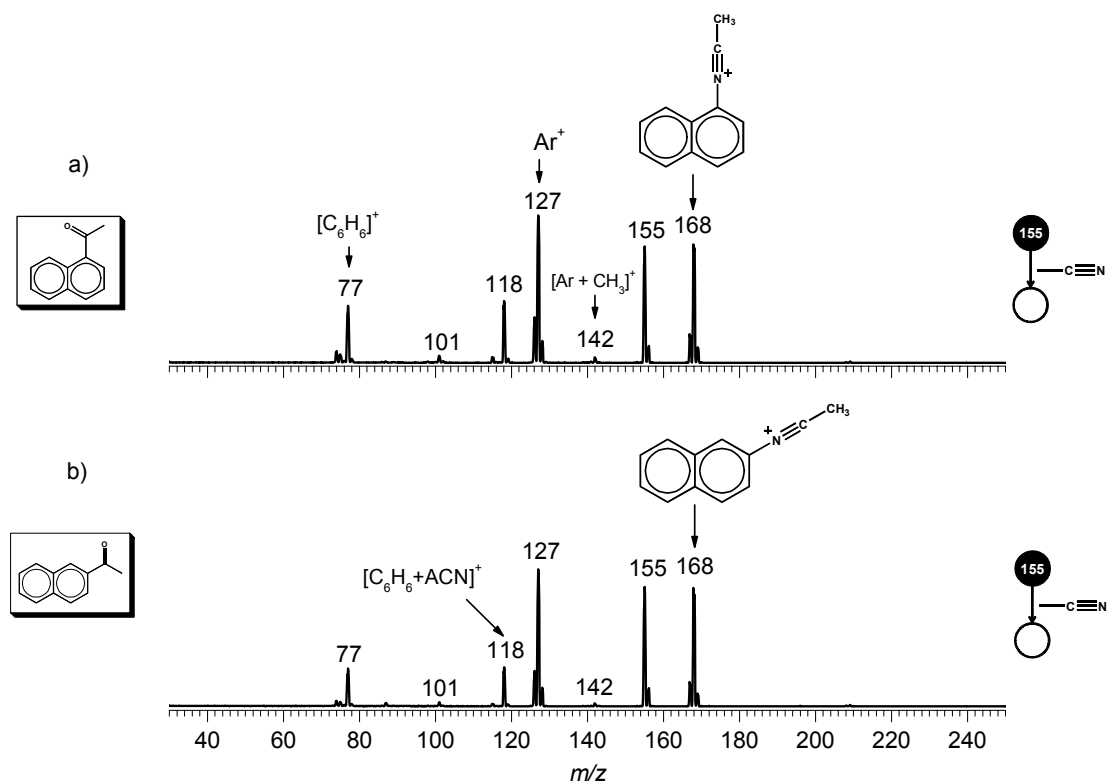


Figura 36 – Espectros de massas (MS^2) da reação entre acetonitrila (41 Da) e o FIDE de m/z 155 gerado a partir da 1-acetonaftona (a) e 2-acetonaftona (b).

Ao ser submetido a experimentos de dissociação em q_4 , o íon de m/z 168 se dissocia através da perda neutra de uma molécula de acetonitrila (42 Da) restaurando o íon naftílio de m/z 127 (Figura 37). O espectro de massas também mostra como fragmento iônico, o cátion fenila de m/z 77.

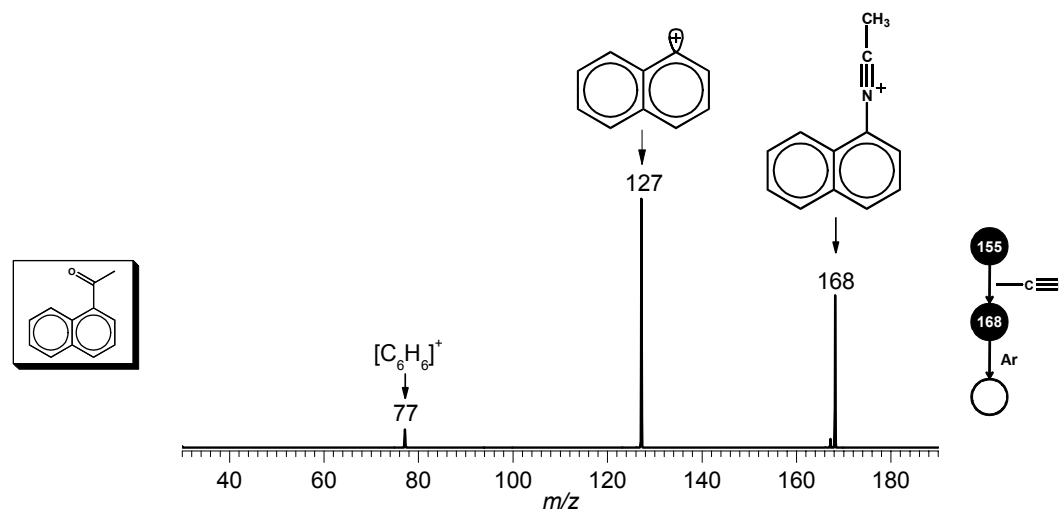


Figura 37 – Espectro de Massas (MS^3) do CID para o produto iônico de m/z 168 formado pela reação entre acetonitrila e o FIDE de m/z 155 gerado a partir da 1-acetonaftona.

Ao se reagir com propionitrila, o íon acílio de m/z 155 mais uma vez se dissocia através da perda neutra de CO (28 Da), levando à formação do íon naftílio de m/z 127, que por sua vez reage com propionitrila levando ao produto iônico de m/z 182 (Figura 38 e Esquema 8). Em ambas as reações ocorre a formação do aduto de m/z 182 e este se dissocia prontamente por perda radicalar de metila (15 Da) gerando o íon de m/z 167 (Figura 38). Para se confirmar que a reação ocorre com o íon de m/z 127, este foi selecionado em Q_1 e reagido com propionitrila em q_2 . O espectro de massas da Figura 39 mostra que o íon de m/z 127 reage prontamente com propionitrila gerando o aduto de m/z 182, que também se dissocia por perda radicalar de metila gerando o íon de m/z 167. Os espectros de CID para aduto de m/z 182 (Figura 40) mostram como principal caminho dissociativo a perda neutra de propionitrila, levando ao íon naftílio de m/z 127. Como caminhos dissociativos menos favoráveis estão a perda radicalar de metila levando ao íon de m/z 167 e a formação do cátion fenila de m/z 77 (Figura 40).

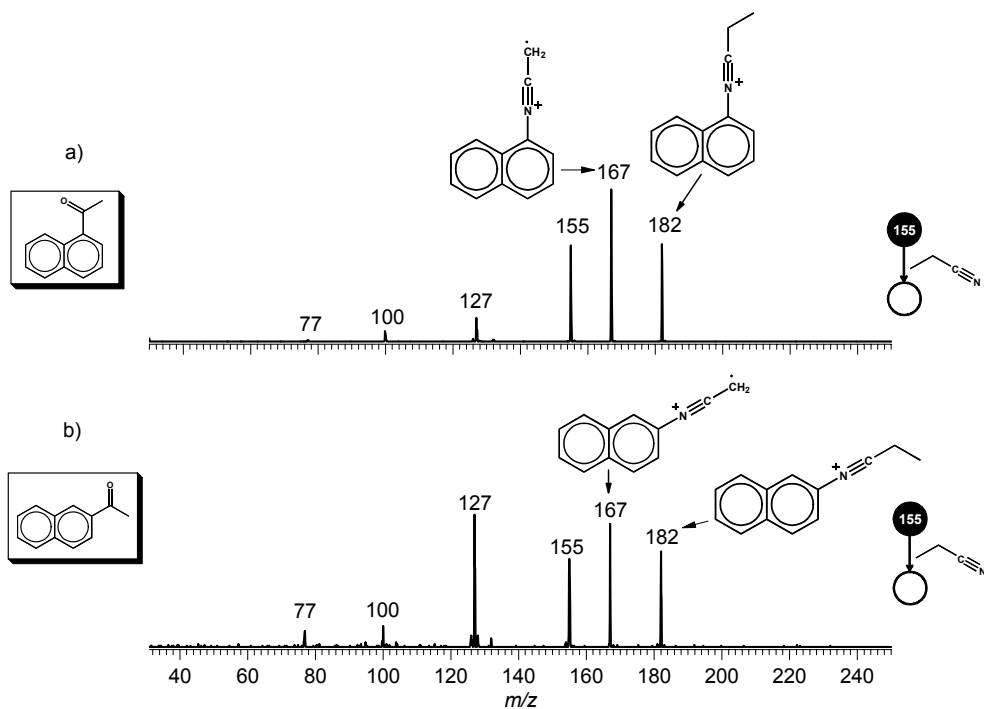


Figura 38 – Espectros de Massas (MS²) da reação entre propionitrila (55 Da) e o FIDE de m/z 155 formado a partir da 1-acetonaftona (a) e 2-acetonaftona (b).

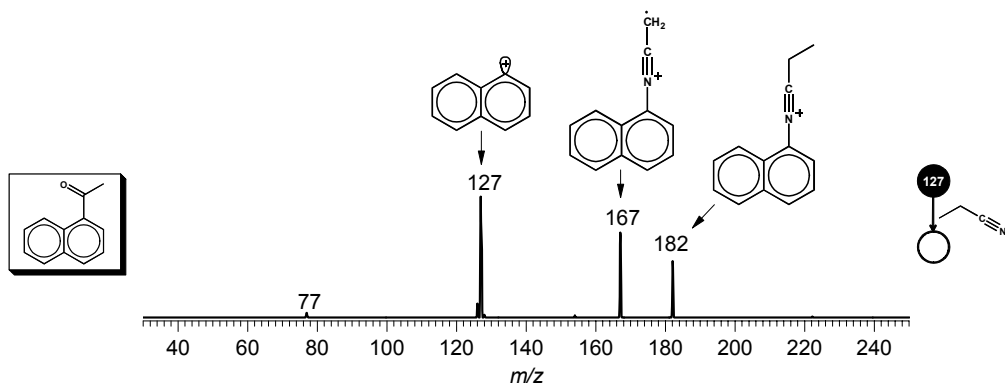
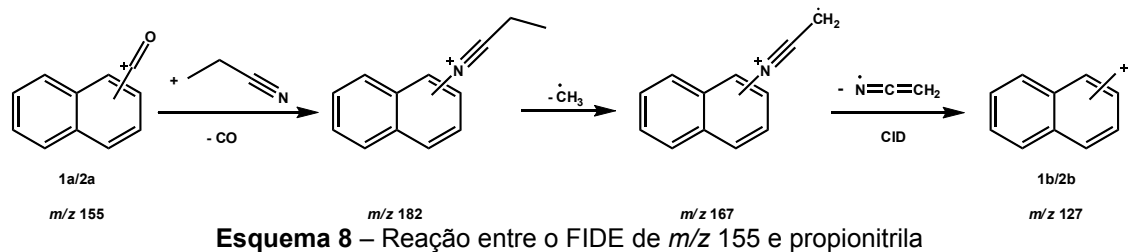


Figura 39 – Espectro de Massas (MS²) para a reação íon/molécula entre propionitrila (55 Da) e o íon naftílico de m/z 127 gerado a partir da 1-acetonaftona.

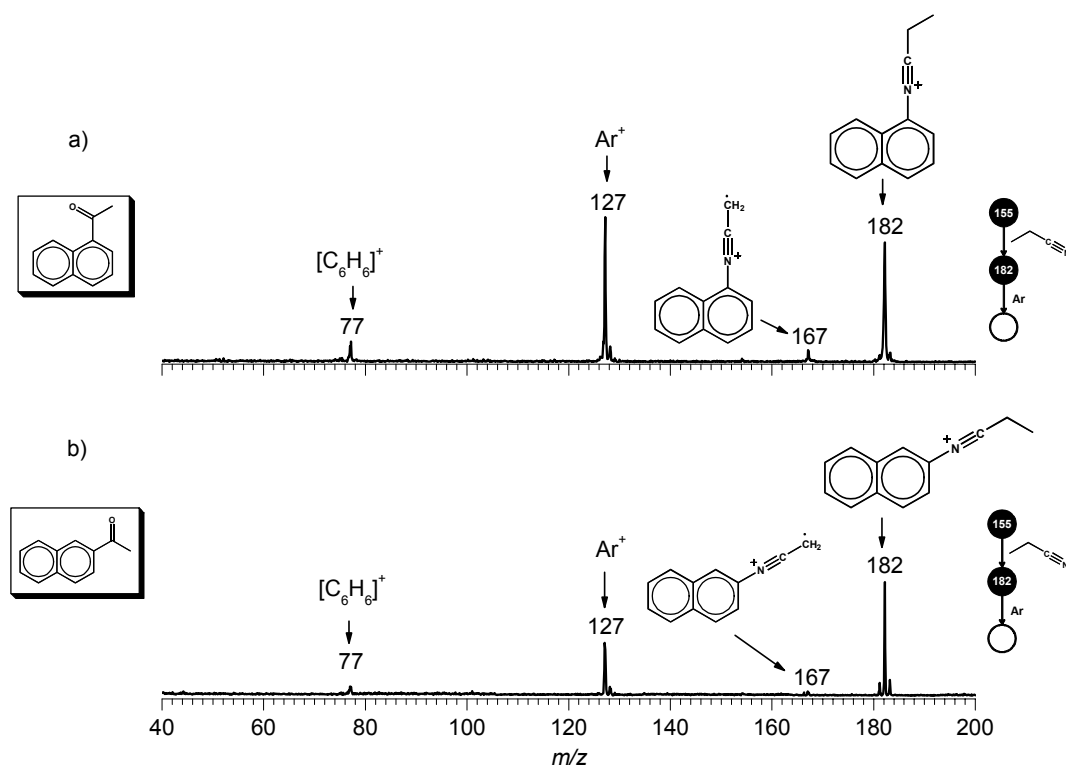


Figura 40 – Espectros de Massas (MS^3) do CID sobre o produto iônico de m/z 182 formado a partir da reação entre propionitrila (55 Da) e o FIDE de m/z 155 gerado a partir da 1-acetonaftona (a) e 2-acetonaftona (b).

4.1.4 – Reações com Éteres Vinílicos

O primeiro éter vinílico testado foi o etil vinil éter por se tratar de um dienófilo que reage tipicamente por cicloadição polar com cátions azabutadienílicos. **Meurer et al**⁷¹ mostraram que este tipo de reação íon/molécula permite retirar informações estruturais dos precursores de cátions azabutadienos. Portanto, o etil vinil éter foi utilizado esperando que este reagisse através de cicloadição polar. Os espectros de massas da Figura 41 mostram os produtos iônicos de m/z 165 e m/z 181, quando o FIDE de m/z 155 gerado a partir da 1-acetonaftona reage com etil vinil éter, e estes são os íons diagnóstico da estrutura do precursor, pois não são formados na reação do FIDE gerado a partir da 2-acetonaftona.

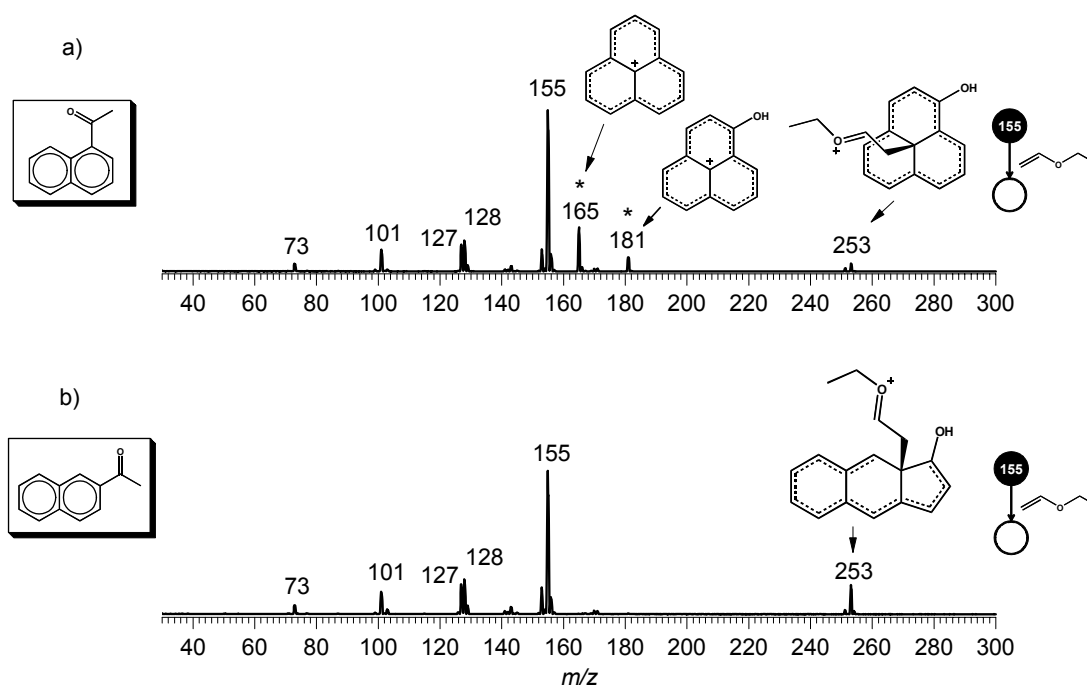
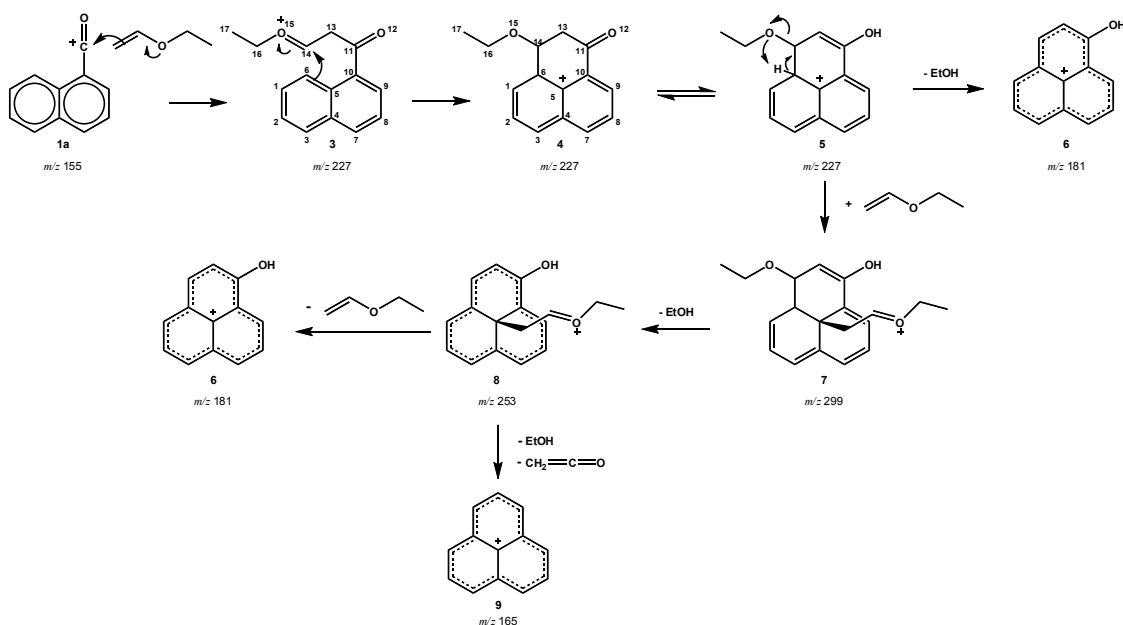


Figura 41 – Espectros de Massas (MS^2) da reação íon/molécula entre etil vinil éter e o FIDE de m/z 155 gerado a partir da 1-acetonaftona (a) e 2-acetonaftona (b).

O produto iônico de m/z 253 é formado por ambas as reações. O Esquema 9 mostra o mecanismo proposto para a reação entre o íon acílio de m/z 155 gerado a partir da 1-acetonaftona e etil vinil éter onde este éter vinílico ataca o íon acílio formando o aduto de m/z 227, que não é detectado pelo espectrômetro de massas. O par de elétrons da dupla ligação C5=C6 ataca o C13 da ligação dupla C13=O14 e o par de elétrons compartilhado é conjugado para O14 deixando para o C5 carregar a carga positiva. O íon **4** permite o tautomerismo ceto-enólico formando a espécie **5**, que sofre a perda neutra de uma molécula de etanol (46 Da) levando à formação do íon de m/z 181. Uma molécula de etil vinil éter pode se adicionar a C5 do íon de m/z 227 levando à formação da espécie **7** de m/z 299, não detectada pelo espectrômetro de massas. O íon de m/z 299 sofrer uma perda neutra de etanol formando o íon de m/z 253 (**8**). A partir deste íon são possíveis dois caminhos dissociativos: o primeiro deles é a formação do cátion fenaleno de m/z 165 (**9**) a partir das perdas de neutras de etanol (46 Da) e de ceteno (42 Da) e o segundo que leva a formação do íon de m/z 181 (**6**) devido a perda neutra de uma molécula e etil vinil éter .

O CID do produto iônico de m/z 253, gerado a partir do FIDE proveniente da 1-acetonaftona, se dissocia formando os íons diagnósticos de m/z 165 e m/z 181, que não são formados na dissociação do íon de m/z 253, formado pelo FIDE proveniente da 2-acetonaftona (Figura 42).



Esquema 9 – Mecanismo proposto para a reação entre etil vinil éter o FIDE de m/z 155 gerado a partir da 1-acetonaftona.

O íon fenaleno de m/z 165 ao ser submetido à dissociação com argônio não apresenta fragmentos detectáveis (Figura 43) mesmo utilizando altas pressões de argônio em q_4 e aumentando-se a energia com que o íon chega à cela de colisão.

O íon fenaleno hidroxilado de m/z 181 também foi submetido a CID este pouco se fragmenta, apresentando apenas um caminho dissociativo no qual é restaurado o íon naftilacílio de m/z 155 de baixa intensidade (Figura 44).

As reações com etil vinil éter foram testadas com o íon naftílio de m/z 127, mas este íon formado por ambos os precursores mostrou-se não reativo em fase gasosa, pois não foram observados produtos iônicos nos espectros de massas.

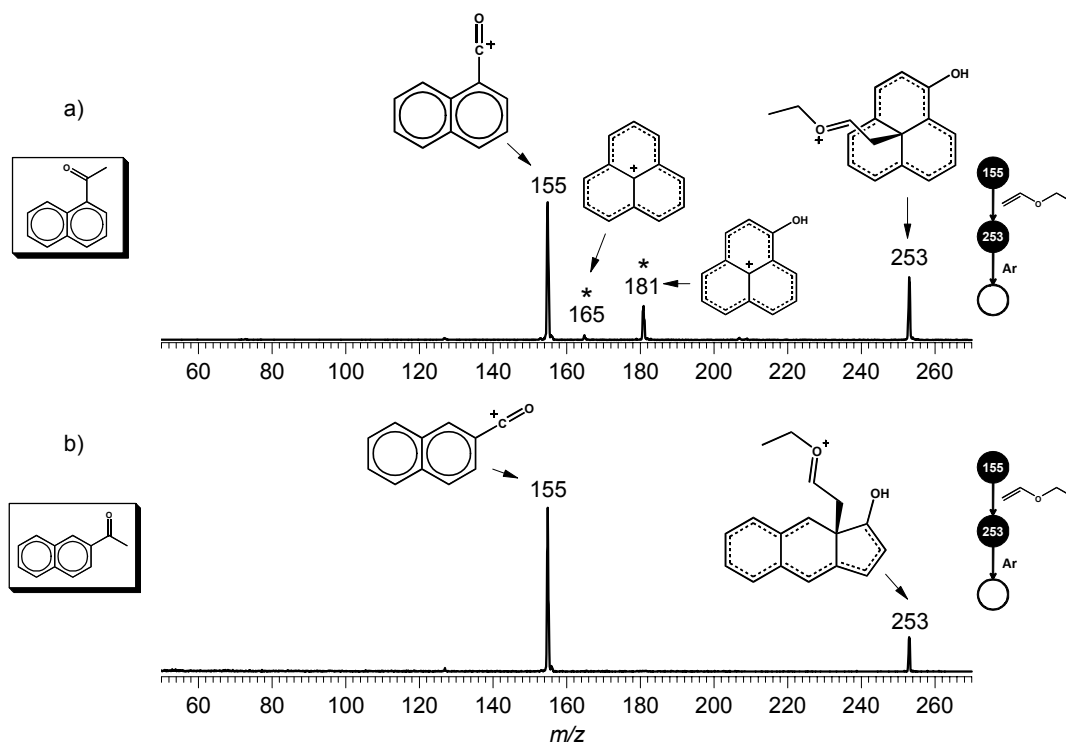


Figura 42 – Espectro de Massas (MS³) para o CID sobre o produto iônico de m/z 253 formado pela reação íon/molécula entre etil vinil éter (72 Da) e o FIDE de m/z 155 gerado a partir da 1-acetonaftona (a) e 2-acetonaftona (b).

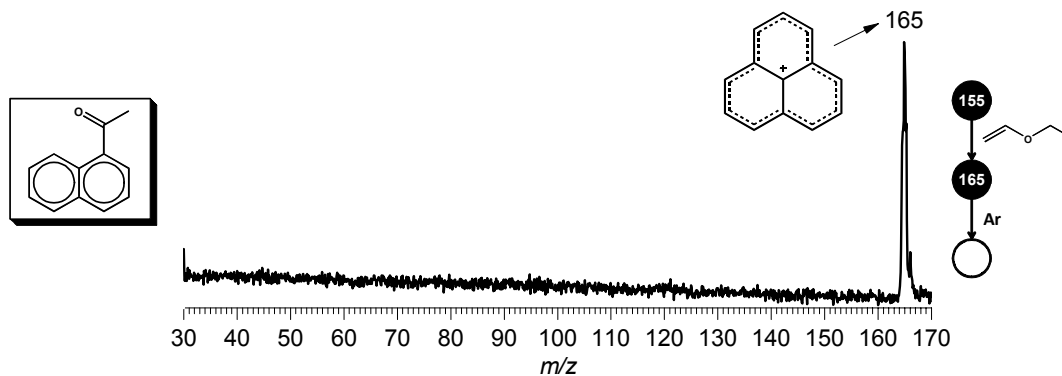


Figura 43 – Espectro de Massas (MS³) para o CID do produto iônico de m/z 165 formado na reação íon molécula entre o FIDE de m/z 155 gerado a partir da 1-acetonaftona e etil vinil éter.

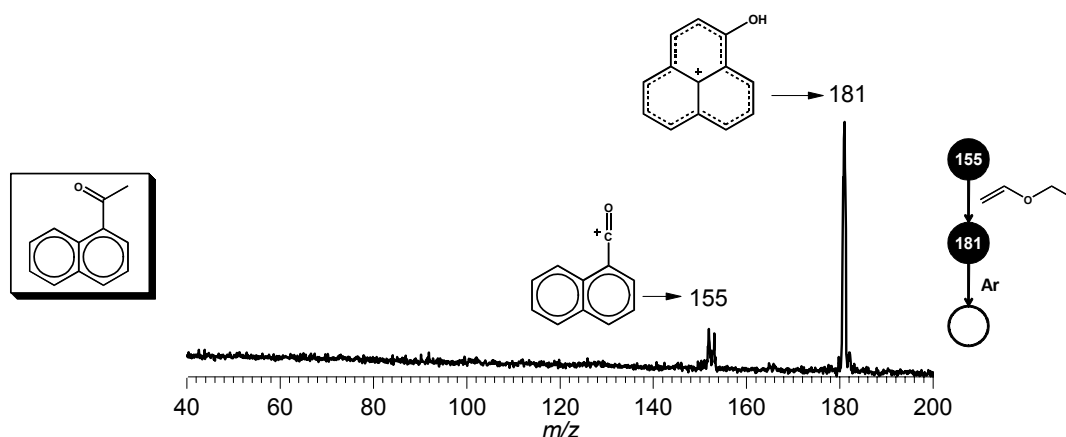


Figura 44 – Espectro de Massas (MS^3) para o CID do produto iônico de m/z 181, formado na reação íon molécula entre etil vinil éter e o FIDE de m/z 155 gerado a partir da 1-acetonaftona.

Com o intuito de se obter maiores evidências quanto ao mecanismo proposto para a reação do FIDE de m/z 155, este foi submetido a reações íon/molécula com diferentes éteres vinílicos. Dentre os novos éteres vinílicos testados, procurou-se mudar as características estruturais do substituintes ligados tanto a ligação dupla quanto a grupo conectado ao oxigênio do éter.

O primeiro teste foi realizado com propil vinil éter e a Figura 45 mostra a formação do cátion fenaleno de m/z 165 e o cátion fenaleno hidroxilado de m/z 181, para a reação com o FIDE gerado a partir da 1-acetonaftona. Na reação com o FIDE, gerado a partir na 2-acetonaftona, não são produzidos os íons diagnósticos de m/z 165 e m/z 181 (Figura 45b). Além desses é observado o íon m/z 267, um íon homólogo ao íon de m/z 253, formado na reação com etil vinil éter. Ao se dissociar o íon de m/z 267 (Figura 46) produzido pela reação do FIDE de m/z 155, gerado a partir da 1-acetonaftona, são formados os fragmentos iônicos de m/z 165 e m/z 181 assim como ocorre na dissociação do íon de m/z 253 formado na reação com etil vinil éter (Figura 42).

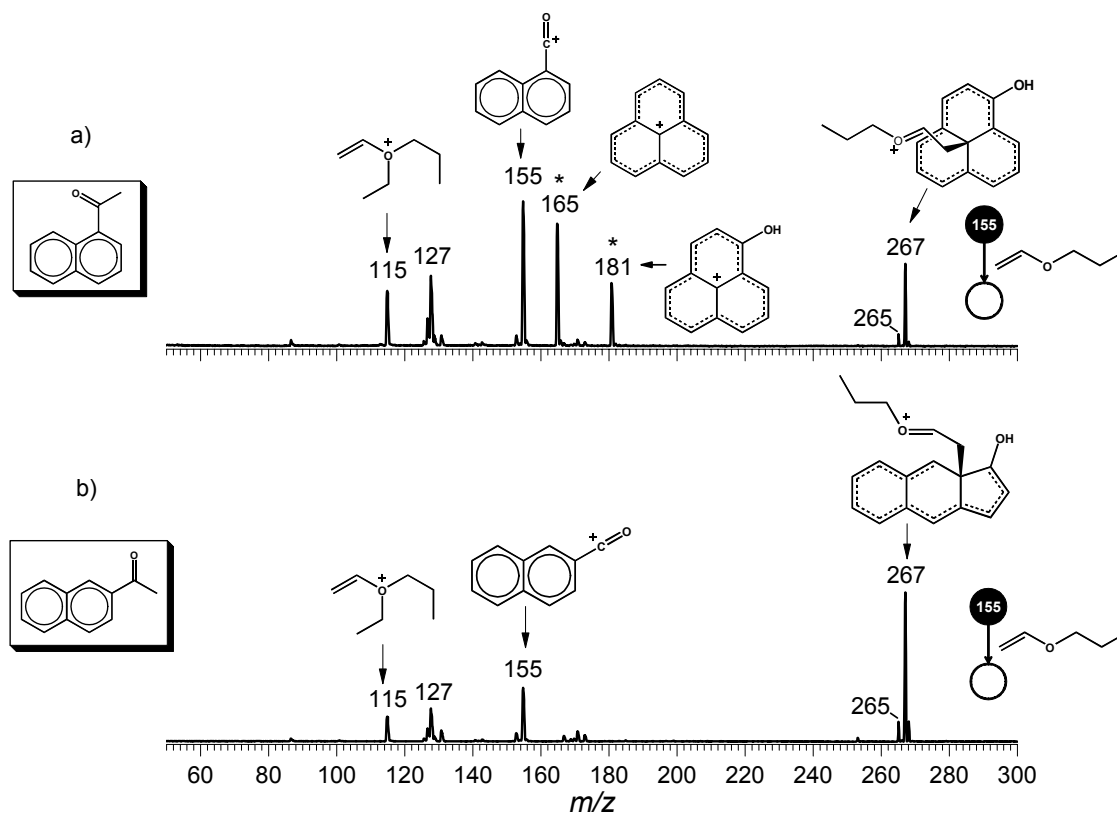


Figura 45 – Espectros de Massas (MS^2) para a reação íon/molécula de propil vinil éter (86 Da) com o FIDE de m/z 155 gerado a partir da 1-acetonaftona (a) e 2-acetonaftona (b).

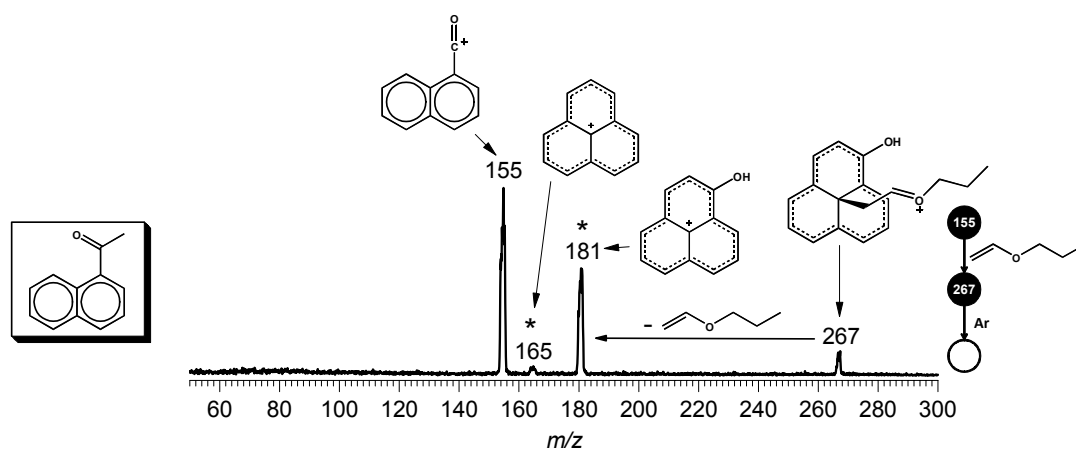


Figura 46 – Espectro de Massas (MS^3) para o CID do íon de m/z 267 formado pela reação íon/molécula entre propil vinil éter e o FIDE de m/z 155 gerado a partir da 1-acetonaftona.

A reação com propil vinil éter mostrou que o aumento de um metileno (14 Da) na estrutura do éter vinílico, quando comparado ao etil vinil éter, levou ao aumento de 14 unidades na m/z do aduto referente a adição do éter vinílico ao íon fenaleno hidroxilado de m/z 181, *vis-à-vis* o íon de m/z 253 formado na reação com etil vinil éter passar a ser o íon de m/z 267 na reação com propil vinil éter.

Dentro deste ensejo, foi realizada a reação com o éter vinílico etil 1-propenil éter que apresenta um grupo metila ligado ao carbono β da dupla ligação. Sua reatividade é mostrada nos espectros de massas da Figura 47.

A reação entre etil 1-propenil éter e o FIDE de m/z 155, gerado a partir da 1-acetonaftona, mostra os produtos iônicos de m/z 179 e m/z 195 que não são formados na reação do FIDE de m/z 155, gerado a partir da 2-acetonaftona. O íon de m/z 179 é 14 unidades maior que o íon fenaleno de m/z 165, formado nas reações anteriores. Isto indica que o íon de m/z 179 é o íon fenaleno metilado na posição C13 como mostra a proposta de mecanismo do Esquema 10. Assim como o íon de m/z 195 também é 14 unidades maior que o íon fenaleno hidroxilado de m/z 181 formado nas reações anteriores, indicando que este é o íon fenaleno hidroxilado e metilado na posição C13 como mostra o Esquema 10.

Para a reação com o FIDE de m/z 155 gerado a partir da 2-acetonaftona, é observado o íon de m/z 281 que é resultado da adição de etil 1-propenil éter ao íon fenaleno hidroxilado e metilado de m/z 195, como mostra o Esquema 10.

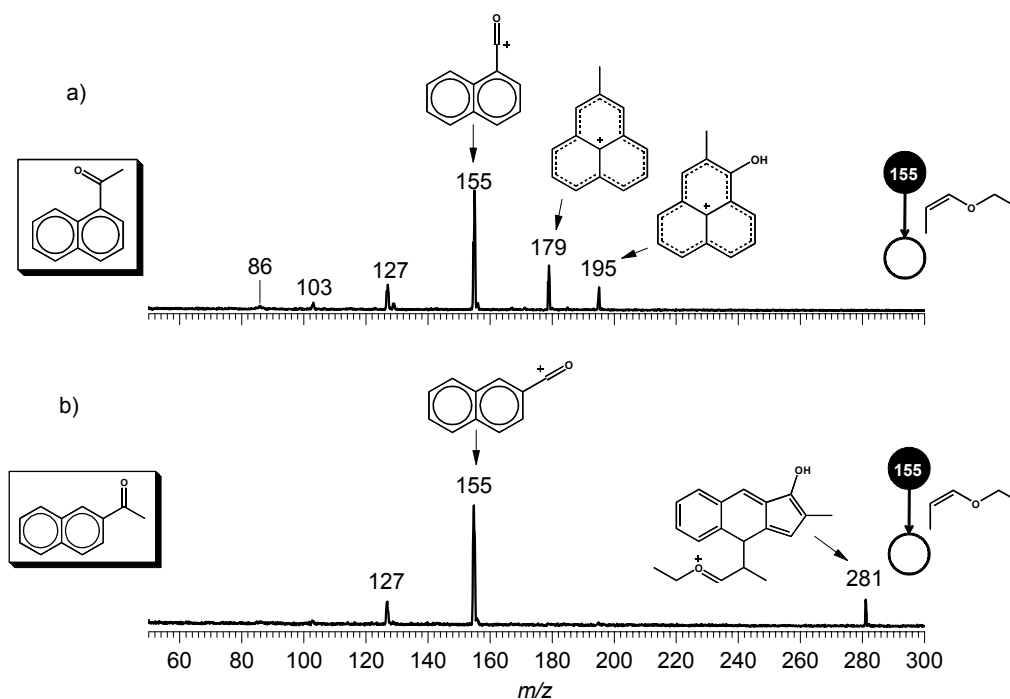
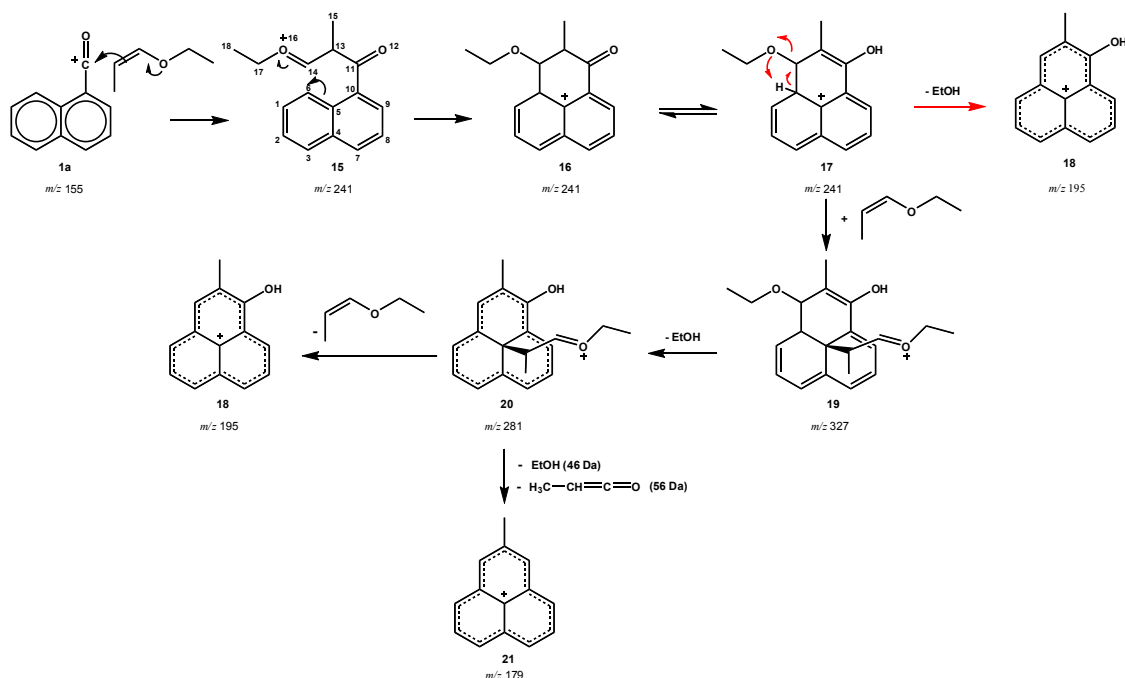


Figura 47 – Espectro de Massas (MS^2) para a reação íon/molécula entre etil 1-propenil éter (86 Da) e o FIDE de m/z 155 gerado a partir da 1-acetonaftona (a) e 2-acetonaftona (b).



Esquema 10 – Mecanismo da reação íon/molécula entre etil 1-propenil éter e o FIDE de m/z 155 gerado a partir da 1-acetonaftona.

O éter vinílico 2-metoxipropeno apresenta uma metila ligada ao carbono α da dupla ligação, diferente do reagente etil 1-propenil éter que apresenta uma metila ligada ao carbono β . Esta mudança estrutural faz com que o reagente 2-metoxipropeno não apresente um hidrogênio α ao oxigênio. Isto influencia a reatividade pois os espectros de massas da reação com FIDE de m/z 155 não apresentam produtos iônicos de reação. É apenas observado o íon de m/z 73 resultado da protonação do éter vinílico (Figura 48).

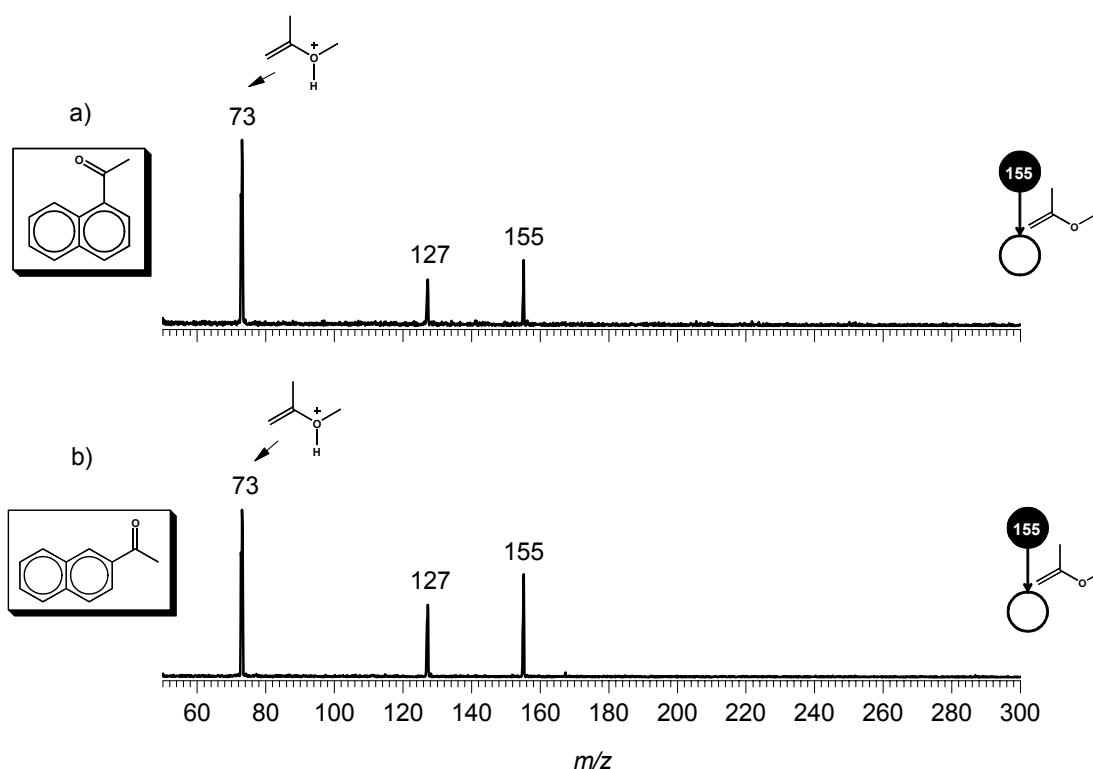


Figura 48 – Espectros de Massas (MS^2) da reação íon/molécula entre 2-metoxipropeno (72 Da) e o FIDE de m/z 155 gerado a partir da 1-acetonaftona (a) e 2-acetonaftona (b).

A reação íon/molécula com o tioéter etil vinil sulfeto e o FIDE de m/z 155 gerado a partir da 1-acetonaftona apresenta como produtos iônicos de reação os íons de m/z 165 e m/z 181 (Figura 49a), que também são formados nas reações com os éteres vinílicos, etil vinil éter e propil vinil éter. Na reação com o FIDE gerado a partir da 2-acetonaftona, estes íons não são formados (Figura 49b).

Para ambos os espectros é possível observar o íon de m/z 117, referente ao etil vinil sulfeto etilado, um íon análogo aos íons de m/z 101 e m/z 115 referentes ao etil vinil éter etilado e propil vinil éter etilado, respectivamente.

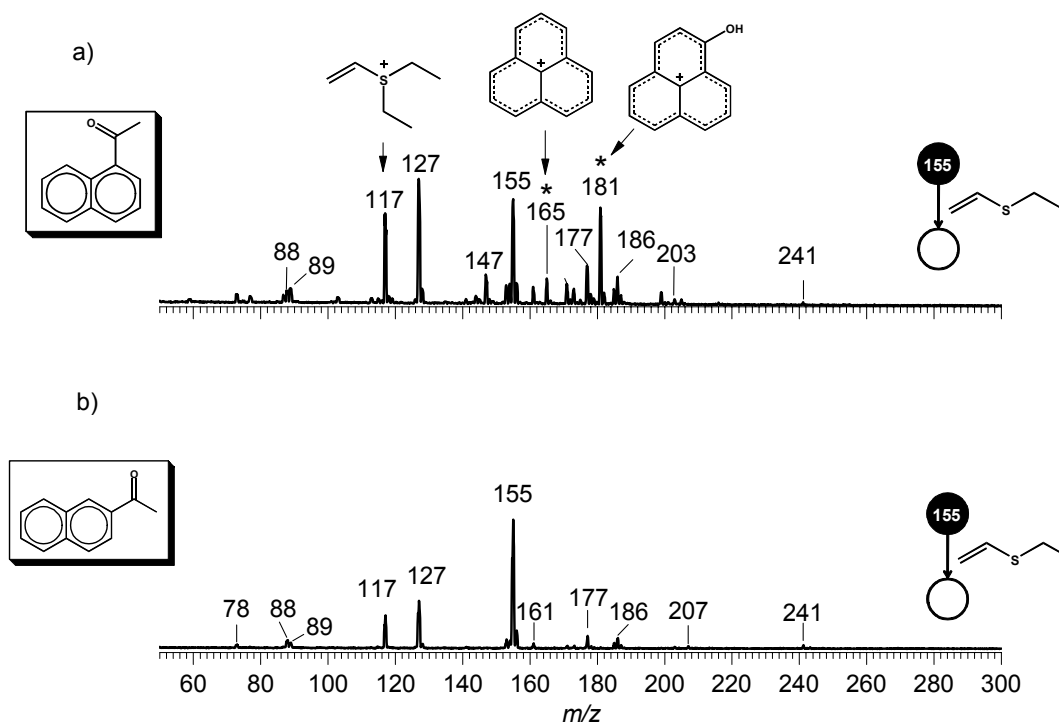


Figura 49 – Espectros de Massas (MS^2) da reação íon/molécula entre etil vinil sulfeto e o FIDE de m/z 155 gerado a partir da 1-acetonaftona (a) e 2-acetonaftona (b).

As reações íon/molécula com isobutil vinil éter e *t*-butil vinil éter avaliam a influência de grupos volumosos como substituintes ligados ao oxigênio do éter. Para o isobutil vinil éter, a reação íon/molécula com o FIDE de m/z 155 gerado a partir da 1-acetonaftona permite a diferenciação dos precursores isoméricos pois são formados os produtos iônicos de m/z 165 e m/z 181, os íons fenanaleno e fenaleno hidroxilado, respectivamente (Figura 50a). Estes íons não são formados na reação com o FIDE gerado a partir da 1-acetonaftona (Figura 50b). Para ambas as reações é possível observar o íon de m/z 281, produto da adição do isobutil vinil éter ao íon fenaleno hidroxilado de m/z 181 (Figura 50).

A reação com *t*-butil vinil éter não permite a diferenciação dos precursores isoméricos, pois ambas as reações apresentam os mesmos produtos iônicos de reação (Figura 51). É observado o íon de m/z 281, isômero do íon de m/z 281 formado na reação com isobutil vinil éter. O íon de m/z 227 é formado em ambas as reações e se trata da adição de *t*-butil vinil éter ao íon naftílio de m/z 127.

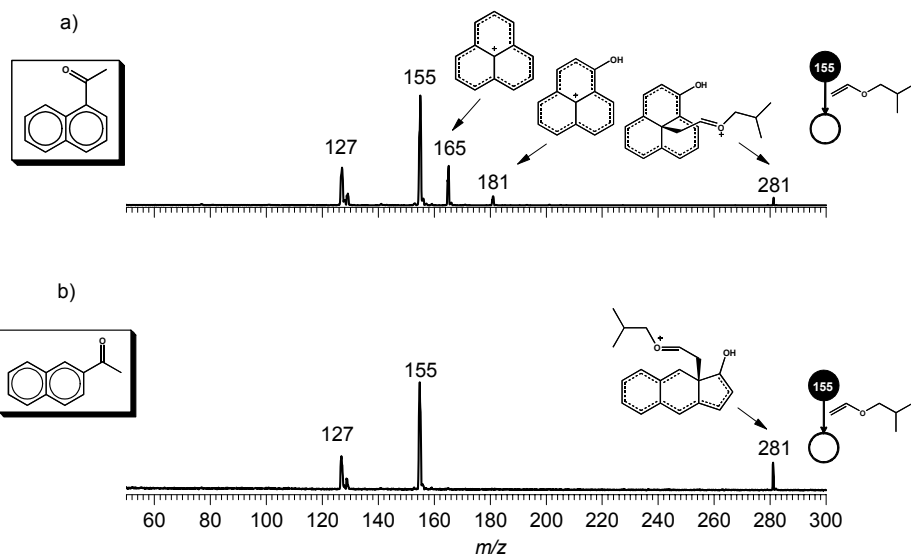


Figura 50 – Espectros de Massas (MS^2) da reação íon/molécula entre isobutil vinil éter e o FIDE de m/z 155 gerado a partir da 1-acetonaftona (a) e 2-acetonaftona (b).

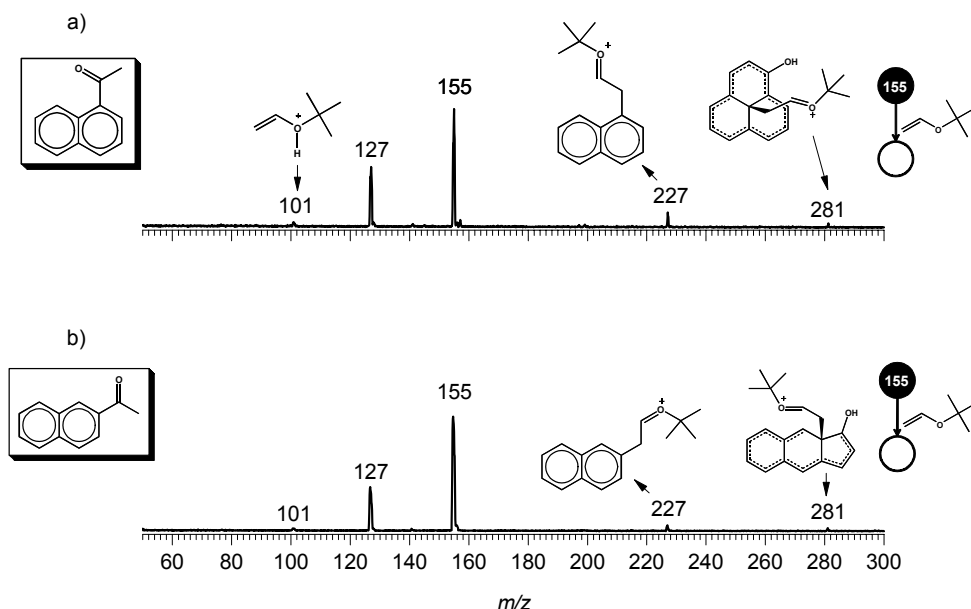


Figura 51 – Espectros de Massas (MS^2) da reação íon/molécula entre *t*-butil vinil éter e o FIDE de m/z 155 gerado a partir da 1-acetonaftona (a) e 2-acetonaftona (b).

4.1.5 – Prova do princípio com a molécula teste

O uso de uma molécula teste permite que a metodologia seja testada por uma molécula diferente dos precursores isoméricos. A característica mais importante desta molécula é a possibilidade de formar o FIDE de m/z 155 quando submetida à ionização por elétrons a 70 eV. A molécula teste utilizada para a classe das acetonaftonas foi a 4-(1-naftil)-2,4-dioxobutanoato de metila (Figura 52), que ao ser submetida a EI com 70 eV apresenta no seu espectro de massas de varredura o íon acílo de m/z 155, como o íon base (Figura 53). Este íon é selecionado em Q_1 e submetido à dissociação induzida por colisão (CID) em q_4 , para provar que este íon é realmente o fragmento iônico diagnóstico de estrutura (FIDE). O espectro de massas de CID mostra que o íon acílio de m/z 155 se dissocia por perda neutra de CO (28Da) formando o íon naftílio de m/z 127 e o cátion fenila de m/z 77 com baixa intensidade.

O principal objetivo deste teste é atribuir a isomeria constitucional através de um único espectro de massas. Como foi mostrado com os resultados obtidos para os padrões dos isômeros, os íons naftilacilio substituídos na posição 1 formam produtos iônicos característicos e que diagnosticam a estrutura do precursor.

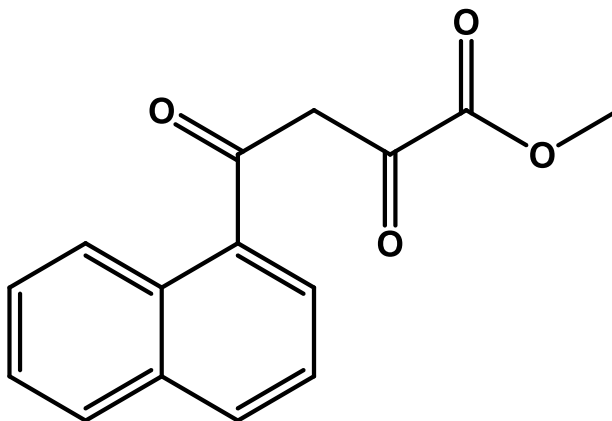


Figura 52 – Molécula teste 4-(1-naftil)-2,4-dioxobutanoato de metila

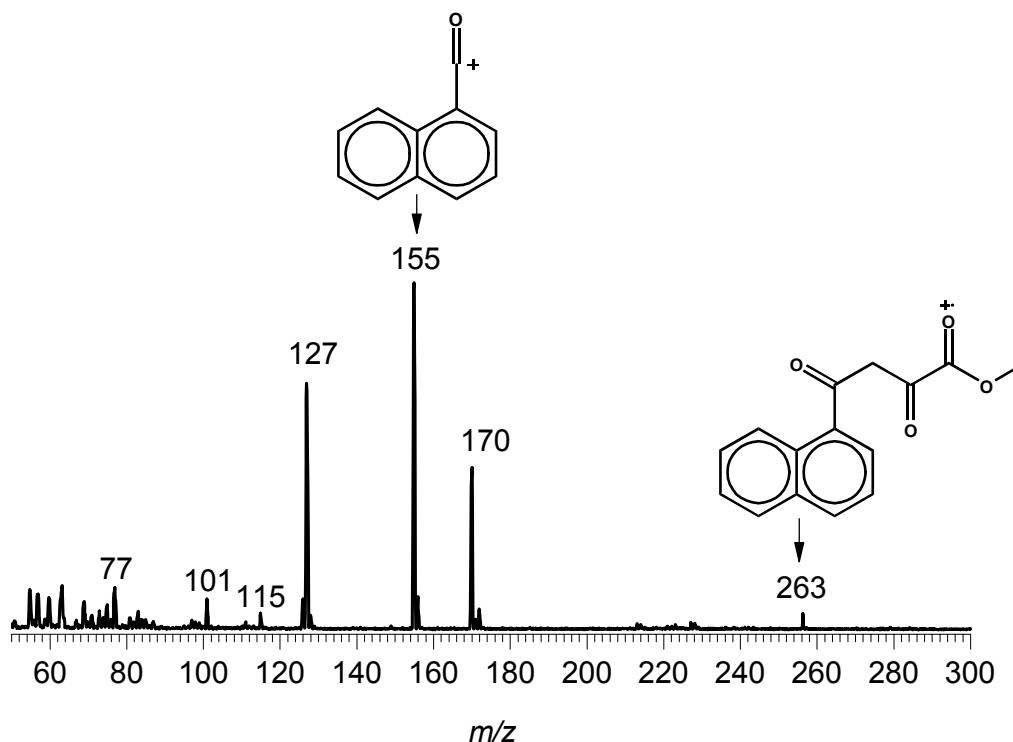


Figura 53 – Espectro de Massas de varredura da molécula teste 4-(1-naftil)-2,4-dioxobutanoato de metila obtido com EI a 70 eV.

Quando o íon acílio de m/z 155, gerado a partir da molécula teste, é submetido à reação íon/molécula com etil vinil éter (Figura 54a), são formados os produtos iônicos de m/z 165 e m/z 181, que permitem a atribuição de isomeria constitucional do precursor como sendo um anel naftaleno substituído com uma carbonila na posição 1 do anel. Portanto, com apenas um espectro de massas é possível atribuir a isomeria do precursor.

Os testes com os outros éteres vinílicos servem para corroborar as conclusões tiradas com a reação de etil vinil éter. A Figura 54 mostra os espectros de massas das reações íon/molécula entre o FIDE de m/z 155 gerado a partir da molécula teste e os éteres vinílicos: propil vinil éter, etil 1-propenil éter e 2-metoxipropeno (Figura 54).

A reação com propil vinil éter mostra os íons diagnósticos de m/z 165 e m/z 181, assim como ocorre na reação com etil vinil éter, permitindo, portanto, a atribuição de configuração da molécula precursora.

A reação com etil 1-propenil éter apresenta os íon diagnósticos de m/z 179 e m/z 195 que também permitem a atribuição de configuração da molécula precursora.

A reação com 2-metoxipropeno não permite a atribuição de configuração, mas esta foi realizada para se corroborar as informações extraídas com os padrões de acetonaftonas realizadas anteriormente.

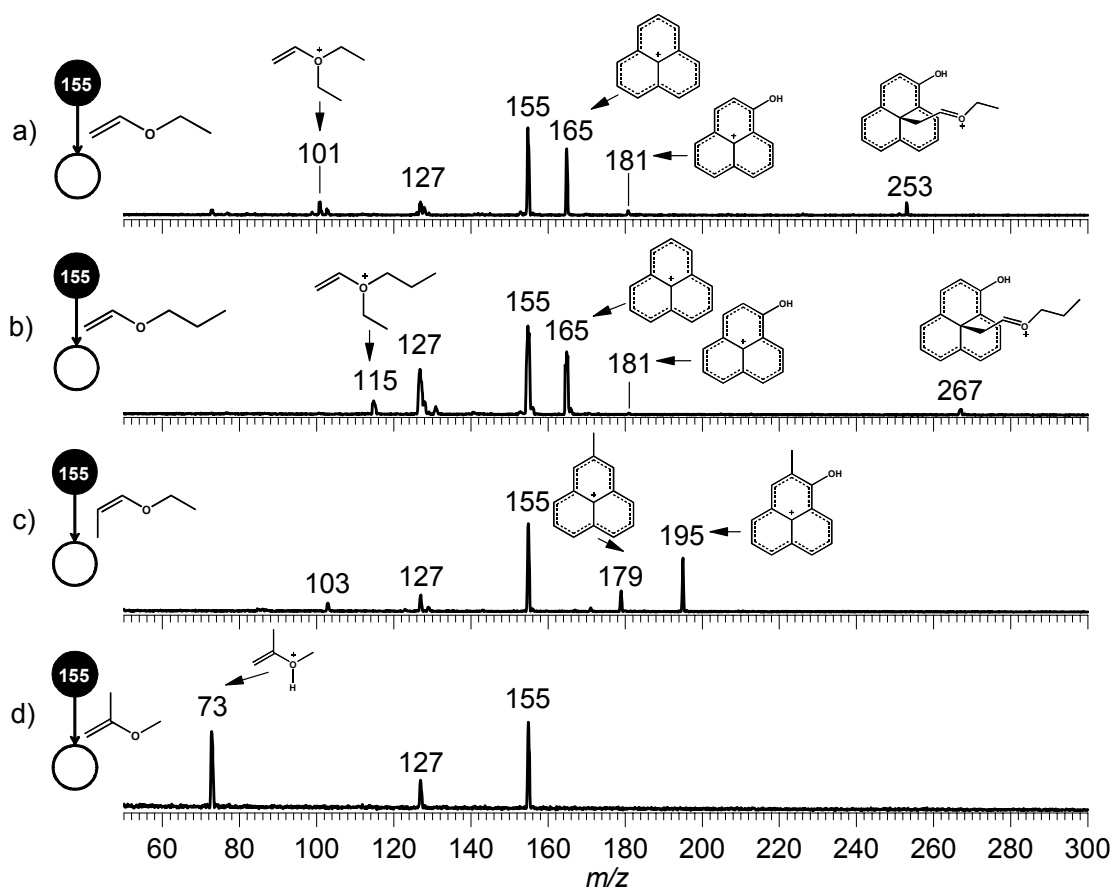


Figura 54 – Espectros de Massas (MS^2) para as reações íon/molécula entre o FIDE de m/z 155 gerado a partir da molécula teste 4-(1-naftil)-2,4-dioxobutanoato de metila com os éteres vinílicos: etil vinil éter (a), propil vinil éter (b), etil 1-propenil éter (c) e 2-metoxipropeno (d).

Os espectros de massas da Figura 55 mostram os resultados com o restantes do éteres vinílicos testados com os padrões de acetonaftonas, porém desta vez os resultados mostrados são referentes às reações íon/molécula com o FIDE de m/z 155, gerado a partir da molécula teste 4-(1-naftil)-2,4-dioxobutanoato de metila.

A reação com isobutil vinil éter permite a atribuição de configuração da moléculas teste já que o espectro de massas (Figura 55a) exhibe os produtos iônicos de m/z 165 e m/z 181 diagnósticos de estrutura.

As reações com *t*-butil vinil éter e alil etil éter (Figura 55b e c) foram realizadas com os padrões de acetonaftonas e não permitiram atribuição de configuração. A reação com o FIDE gerado a partir da molécula teste também não permite a atribuição de configuração mas permite validar os resultados mostrados com os padrões.

A reação com o tioéter, etil vinil sulfeto (Figura 55c), permite a atribuição de configuração da molécula teste através da reatividade do FIDE de m/z 155 assim como foi mostrado para os padrões.

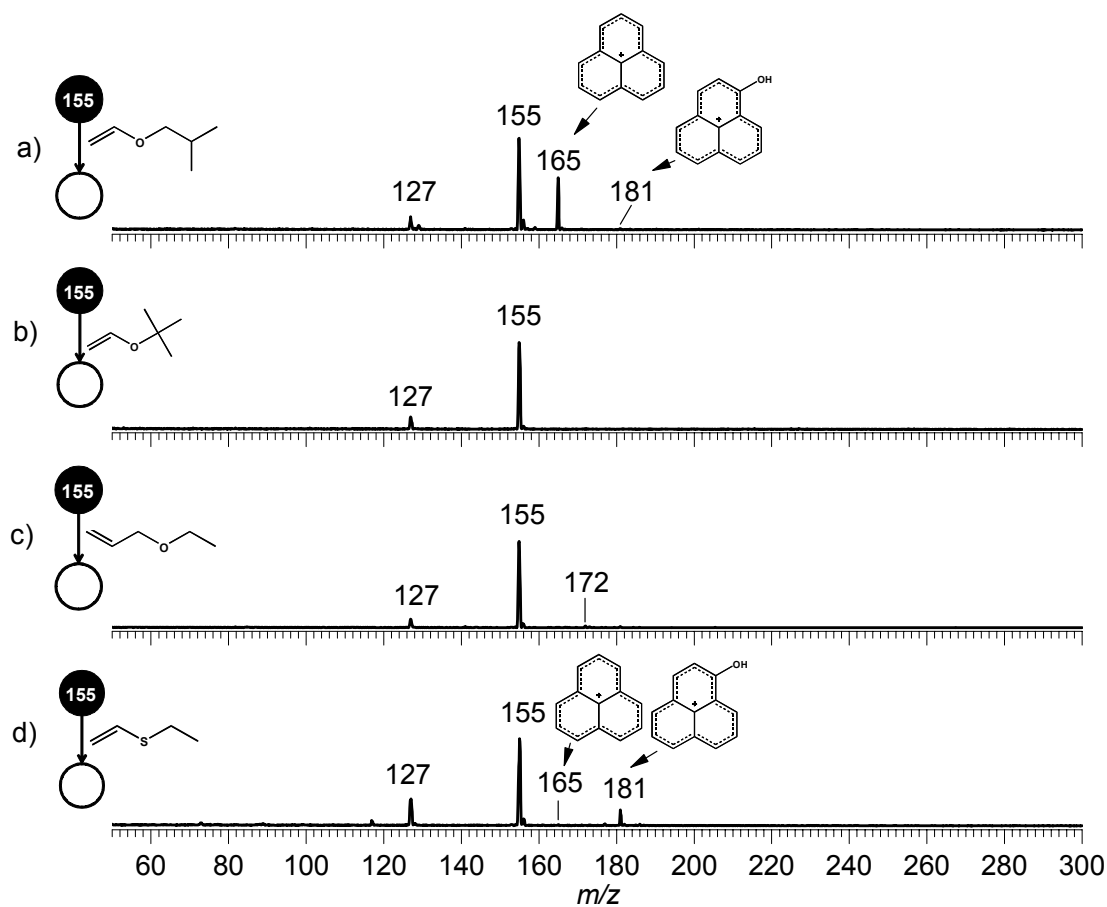


Figura 55 – Espectros de Massas (MS^2) para as reações íon/molécula entre o FIDE de m/z 155, gerado a partir da molécula teste 4-(1-naftil)-2,4-dioxobutanoato de metila, e os éteres vinílicos: isobutil vinil éter (a), *t*-butil vinil éter (b), alil etil éter (c) e etil vinil sulfeto (d).

4.2 – Alquil-Anilinas

Os espectros de massas de varredura obtidos com EI a 70 eV (Figura 56) dos precursores isoméricos 4-butilanilina e *N*-butilanilinas são praticamente idênticos, não permitindo a distinção entre eles observando-se apenas o comportamento dissociativo por EI. Em ambos os espectros de massas observam-se o íon molecular de m/z 149 e o íon base m/z 106 que surgem da fragmentação por perda radicalar de *n*-propila (43 Da) a partir do íon molecular. O íon de m/z 106, gerado na fragmentação da 4-butilanilina, pode apresentar a estrutura de um cátion 4-aminobenzila. No entanto, estudos⁸⁸⁻⁹² mostram que este íon isomeriza para o cátion aminotropílio (Esquema 11a) estabilizado por ressonância, enquanto que o íon de m/z 106, gerado a partir da fragmentação da *N*-butilanilina, tem a estrutura de um íon fenilimônio (Esquema 11b), um dienófilo que pode reagir através de cicloadição polar com dienos. Devido a estas diferenças estruturais do íon de m/z 106, gerados por diferentes precursores isoméricos, este íon é um candidato a fragmento iônico diagnóstico de estrutura (FIDE), pois pode apresentar reatividades em fase gasosa distintas, diferenciando alquilanilinas substituídas no anel das alquilanilinas *N*-substituídas.

O íon de m/z 106 gerado a partir da 4-butilanilina e *N*-butilanilina são submetidos à dissociação induzida por colisão (CID) com o intuito de caracterizar o FIDE e também para avaliar se o comportamento dissociativo por CID é capaz de diferenciar os precursores. Apesar das diferenças estruturais entre os FIDE's, estes apresentam os mesmos caminhos dissociativos, como mostram os espectros de massas da Figura 57. Tanto o íon aminotropílio quanto o íon fenilimônio se dissociam formando os íons de m/z 79 e m/z 77, através da perda neutra de HCN (ou HNC) e subseqüentemente a perda neutra de H₂ gerando o cátion fenila de m/z 77.

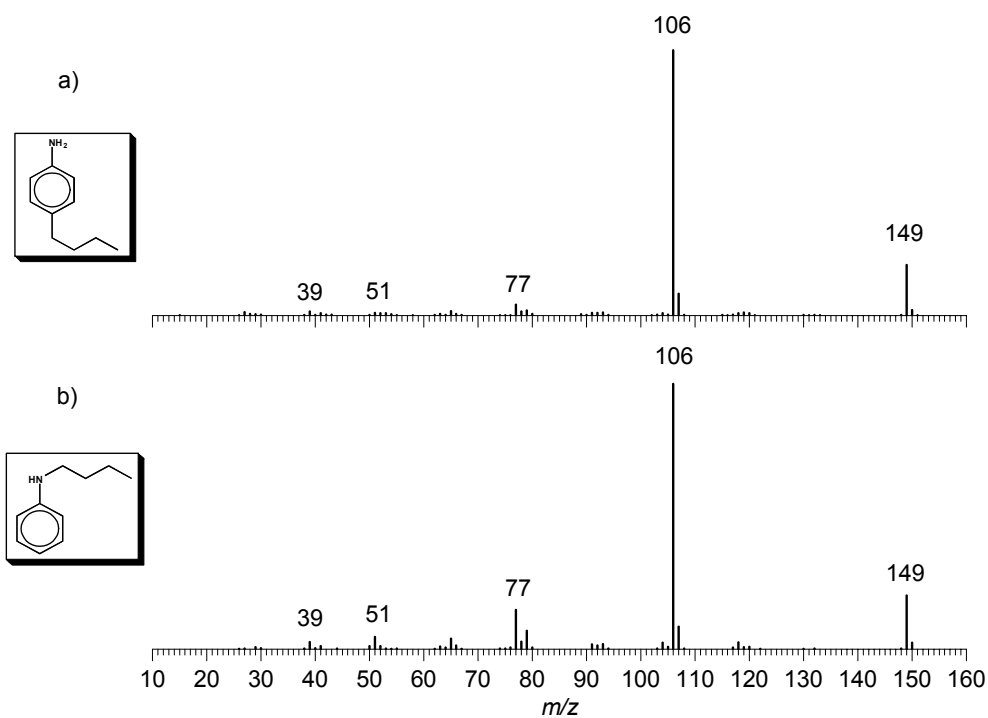
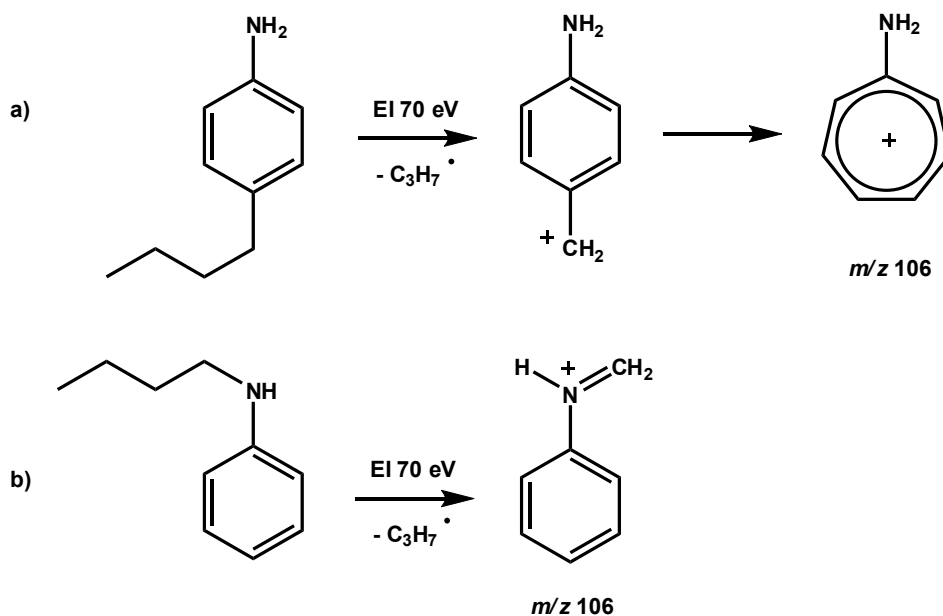


Figura 56 – Espectros de Massas (MS) de Varredura para a 4-butilanilina (a) e *N*-butilanilina (b).



Esquema 11 – Formação do FIDE de m/z 106 a partir dos precursores isoméricos 4-butilanilina (a) e *N*-butilanilina (b).

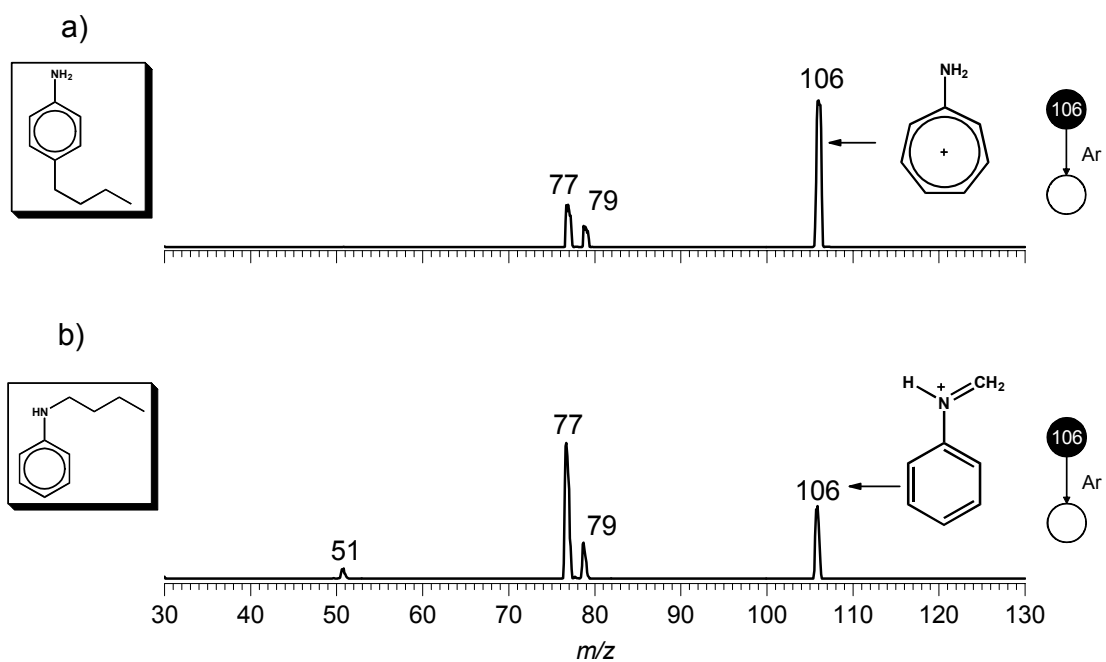


Figura 57 – Espectro de massas (MS^2) do CID para o FIDE de m/z 106 formado a partir da 4-butilanilina(a) e *N*-butilanilina (b).

4.2.1 – Reação com 2-metil-1,3-dioxolano – a reação de Eberlin

Apesar de apresentarem comportamentos dissociativos idênticos, os íons de m/z 106 apresentam reatividades bimoleculares contrastantes. O primeiro teste com 2-metil-1,3-dioxolano mostra que o íon aminotropílio gerado a partir da 4-butilanilina não apresenta produtos iônicos de reação detectáveis (Figura 58a), enquanto que o íon fenilimônio reage prontamente por transcetalização polar,⁸³ formando o produto iônico de m/z 150 (Figura 58b e Esquema 12). O espectro de massas (MS^3) da Figura 59, mostra o CID do produto iônico de m/z 150 e seus caminhos dissociativos são consistentes com a estrutura proposta (Esquema 13). Apesar do íon aminotropílio ser muito menos reativo, este não é totalmente inerte frente a 2-metil-1,3-dioxolano, formando um produto de abstração de hidreto de m/z 87 de baixa intensidade (Figura 58a).

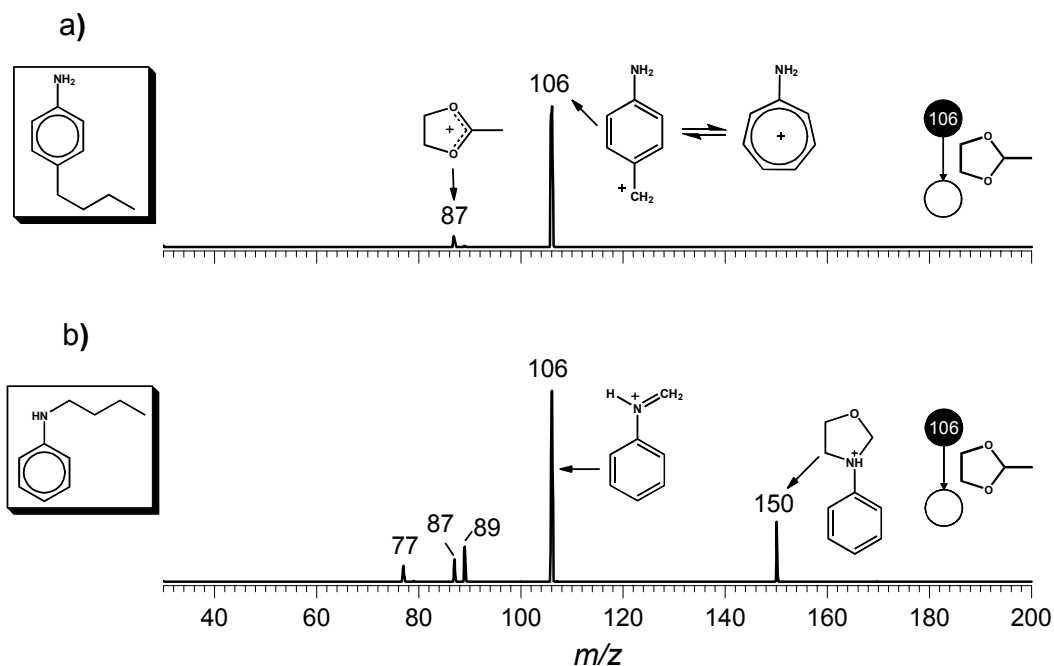
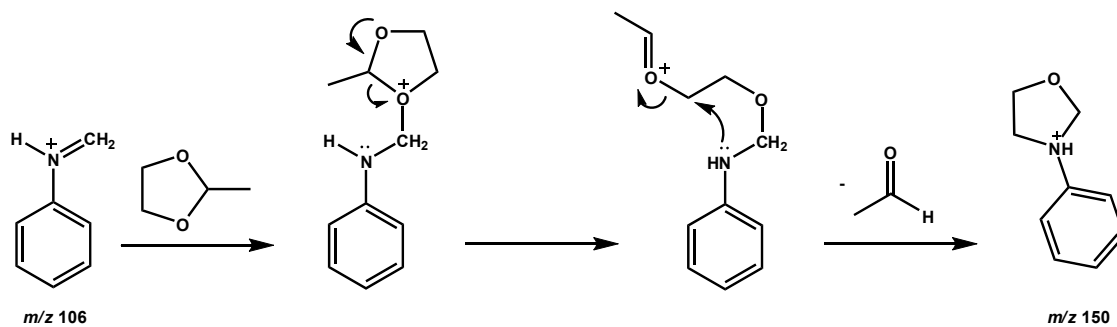


Figura 58 – Espectros de Massas (MS^2) da reação íon/molécula entre 2-metil-1,3-dioxolano e o FIDE de m/z 106 formado a partir da 4-butilanilina (a) e *N*-butilanilina (b).



Esquema 12 – Mecanismo proposto para a reação de transacetalização polar com o íon de m/z 106 formado a partir da *N*-butilanilina.

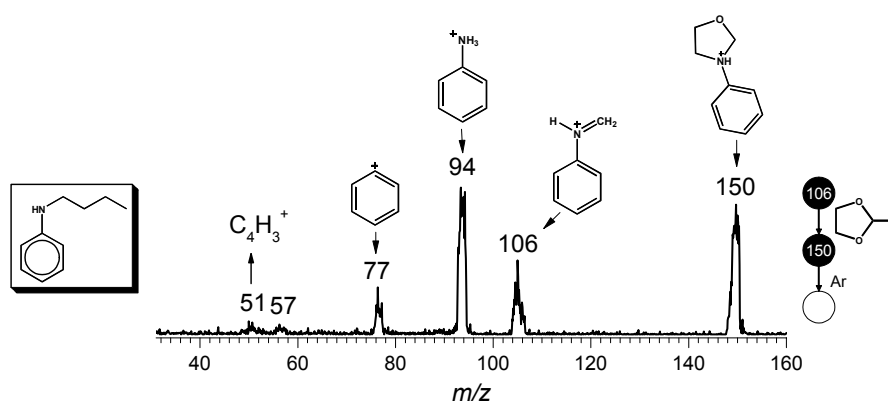
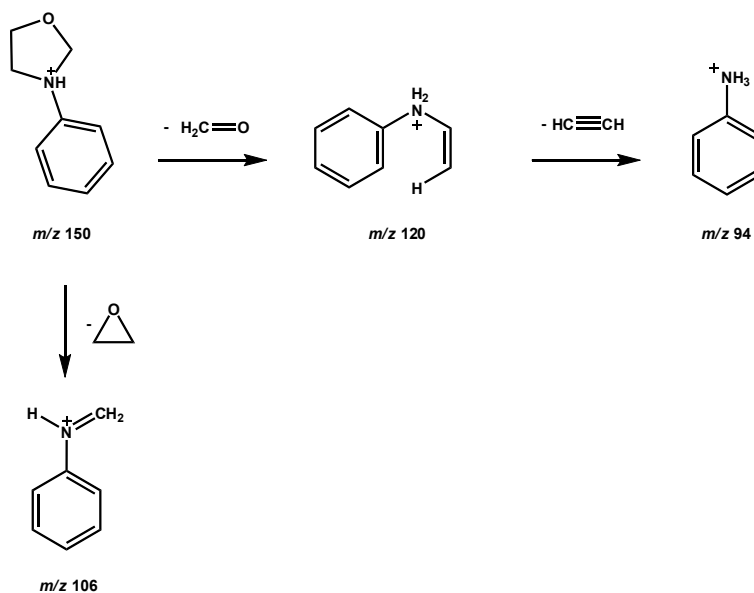


Figura 59 – Espectro de Massas (MS^3) para o CID do produto iônico de m/z 150 formado na reação íon/molécula entre 2-metil-1,3-dioxolano e o FIDE gerado a partir da *N*-butilanilina.

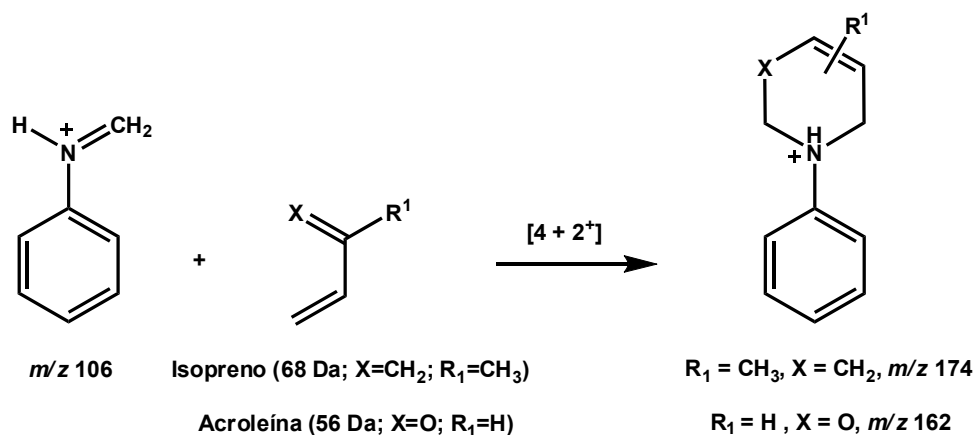


Esquema 13 – Proposta do mecanismo de dissociação do íon de m/z 150.

4.2.2 – Reações de Cicloadição Polar

Eberlin et al⁹³ estudaram o comportamento de íons imônio quando submetidos à reação de cicloadição polar $[4 + 2^+]$. A seguir é mostrado o uso desta abordagem pois espera-se que o íon aminotropílio seja mais uma vez praticamente inerte e o íon fenilimônio reaja prontamente com dienos gerando cicloadutos (Esquema 14).

Os espectros de massas da Figura 60 mostram a reação íon/molécula do FIDE de m/z 106 com isopreno: como se esperava o FIDE de m/z 106 aminotropílio, gerado a partir da 4-butilanilina, é praticamente inerte, não apresentando produtos de reação detectáveis (Figura 60a). Já o FIDE de m/z 106 fenilimônio, gerado a partir da *N*-butilanilina, reage com isopreno formando o cicloaduto de m/z 174. Ao ser submetido à CID, o cicloaduto de m/z 174 restaura o íon reagente fenilimônio de m/z 106 através da perda neutra de isopreno (Figura 61). Para confirmar este comportamento, foi utilizada a abordagem de **Meurer et al**⁸⁵ que realizaram reações íon/molécula com heterodienos, como a acroleína. Portanto, ao se reagir com o dieno acroleína, o FIDE de m/z 106, aminotropílio, não apresentou produtos iônicos detectáveis (Figura 62a), enquanto que o FIDE de m/z 106, fenilimônio, reagiu com acroleína formando o cicloaduto de m/z 162 (Figura 62b). Ao ser submetido a CID, o íon de m/z 162 fragmenta-se por perda neutra de acroleína, restaurando o íon fenilimônio de m/z 106 (Figura 63).



Esquema 14 – Reação de cicloadição polar $[4 + 2^+]$ com íon fenilimônio de m/z 106.

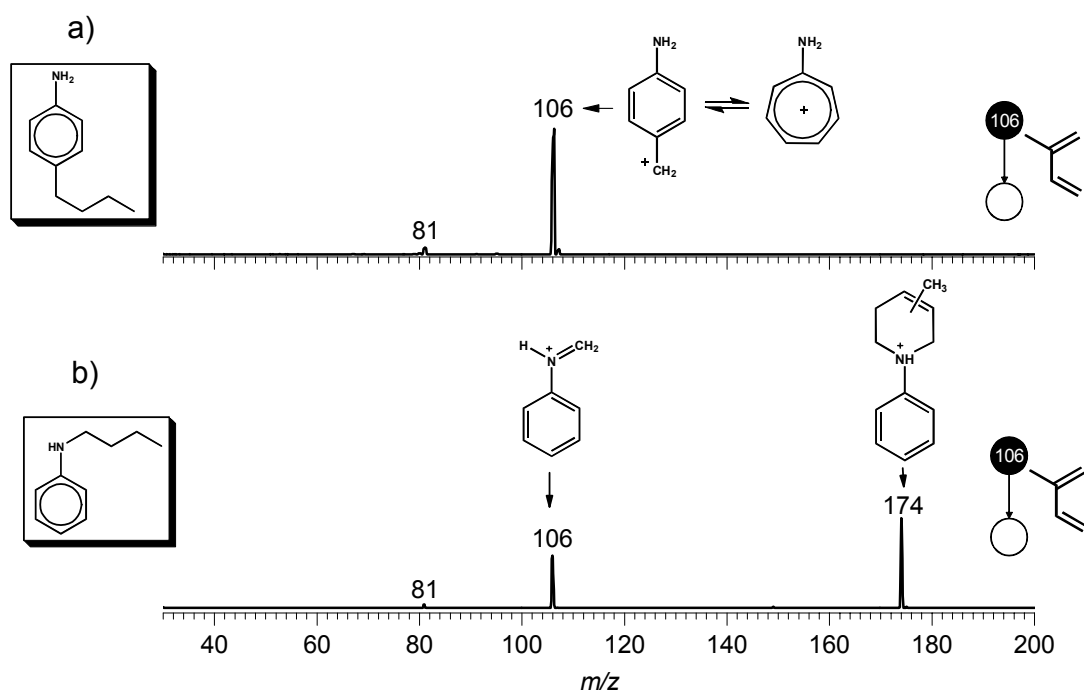


Figura 60 – Espectro de Massas (MS²) para a reação íon/molécula entre isopreno e o FIDE de *m/z* 106 gerado a partir da 4-butilanilina (a) e *N*-butilanilina (b).

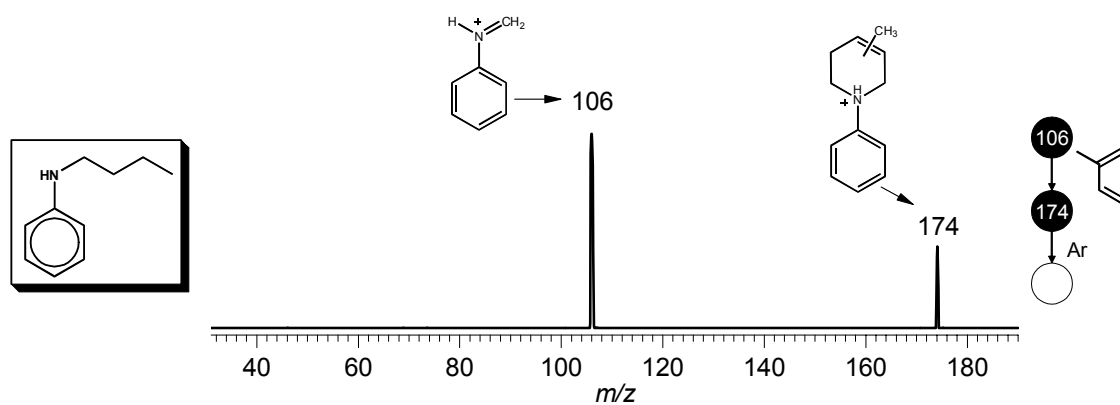


Figura 61 – Espectro de Massas (MS³) de CID para o cicloaduto de *m/z* 174, produto iônico da reação íon/molécula entre isopreno e o FIDE de *m/z* 106, fenilimônio, gerado a partir da *N*-butilanilina.

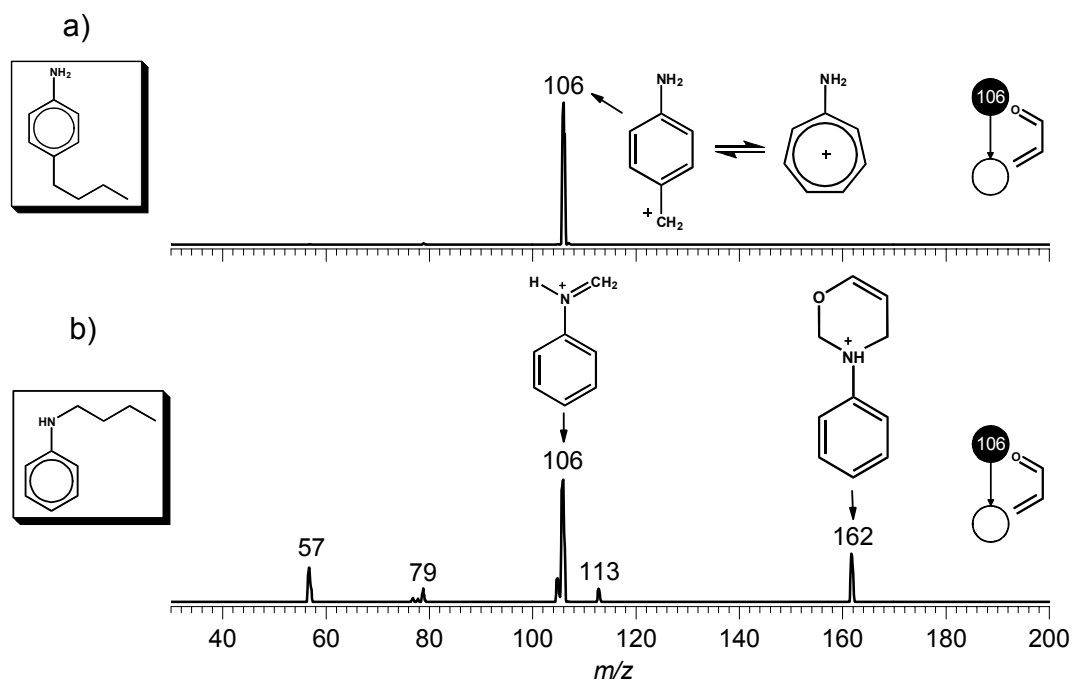


Figura 62 – Espectros de Massas (MS²) para a reação íon/molécula entre acroleína e o FIDE de m/z 106 gerado a partir da 4-butilanilina (a) e *N*-butilanilina (b).

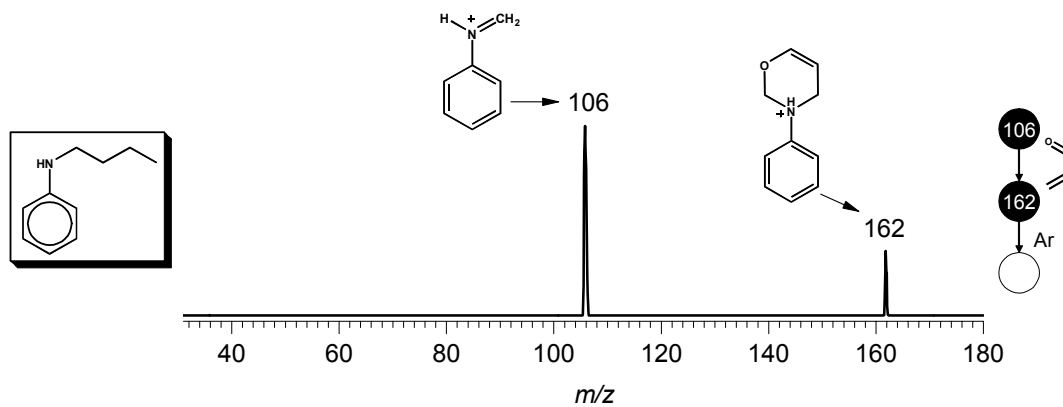


Figura 63 – Espectro de Massas (MS³) de CID para o cicloaduto de m/z 162, produto iônico da reação íon/molécula entre acroleína e o FIDE de m/z 106, fenilimônio, gerado a partir da *N*-butilanilina.

A reação íon/molécula com etil vinil éter foi utilizada para testar se o íon fenilimônio de m/z 106 reagiria por cicloadição $[4^+ + 2]$.⁸⁴ Os espectros de massas da Figura 64 mostram que o FIDE aminotropílio é pouco reativo e mais uma vez não apresenta produtos iônicos detectáveis. O FIDE de m/z 106, fenilimônio, reage por cicloadição $[4^+ + 2]$ e forma o cicloaduto de m/z 178. Este cicloaduto de m/z 178 apresenta a típica dissociação de baixa energia dos cicloadutos provenientes de enol éteres,⁶⁴ perdendo etanol (46 Da) para formar o íon de m/z 132 (Esquema 15 e Figura 64).

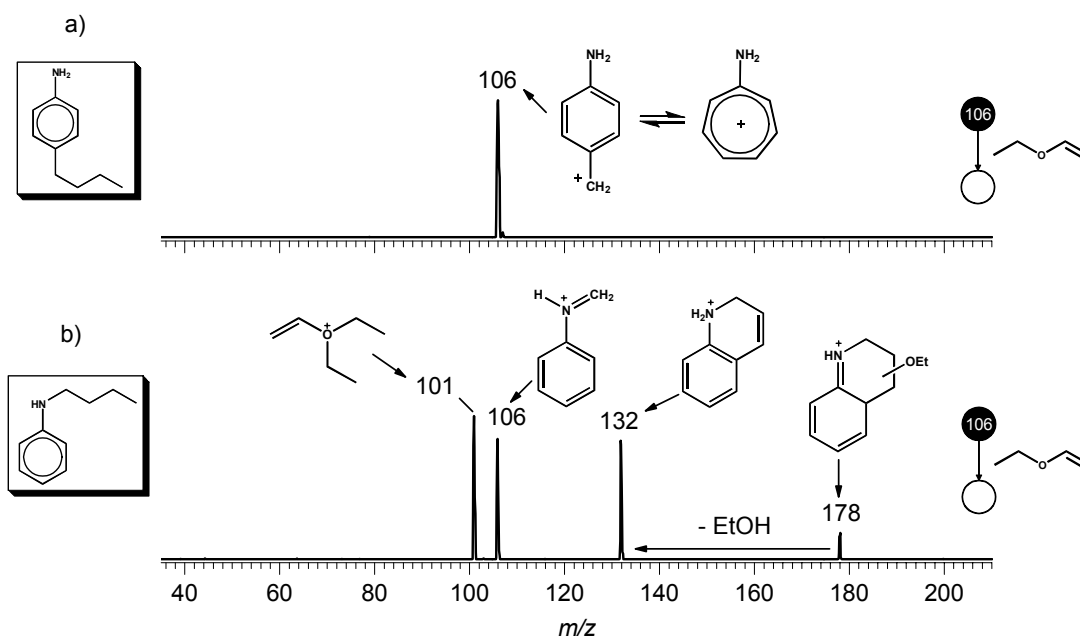
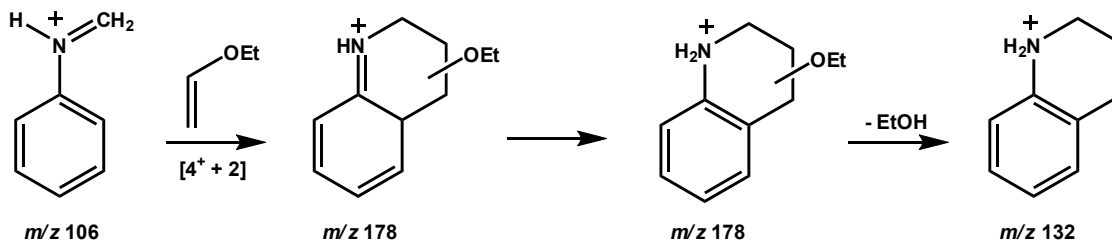


Figura 64 – Espectros de Massas (MS^2) da reação íon/molécula entre etil vinil éter e o FIDE de m/z 106, aminotropílio formado a partir da 4-butilanilina (a) e fenilimônio formado a partir da *N*-butilanilina (b).



Esquema 15 – Mecanismo de reação entre etil vinil éter e o FIDE de m/z 106 formado a partir da *N*-butilanilina.

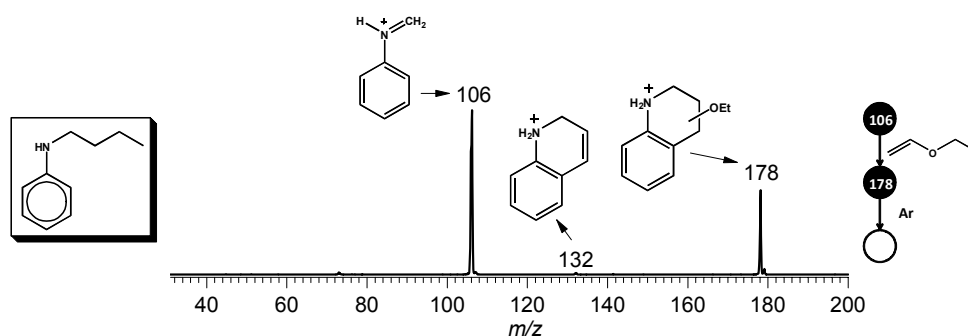


Figura 65 – Espectro de Massas (MS^3) de CID para o cicloaduto de m/z 178 formado a partir da reação íon/molécula entre etil vinil éter e o o FIDE de m/z 106, fenilimônio, gerado a partir da *N*-butilanilina.

4.2.3 – Prova do princípio com moléculas teste

Para provar que o método proposto funciona para a atribuição de configuração de alquilanilinas foram realizadas as reações íon/molécula com as moléculas teste 4-pentilanilina e *N*-isopentilanilina (Figura 66).

Os espectros de massas de varredura para ambas as moléculas teste mostram como íon base, o íon de m/z 106 (Figura 67). Para confirmar que realmente se trata de um íon gerado a partir de alquil anilinas, o íon de m/z 106, formado por ambos os precursores, é submetido à dissociação induzida por colisão (CID) e através de seu comportamento dissociativo é possível verificar que realmente se trata do FIDE da classe de alquil anilinas. Os espectros de massas da Figura 68 mostram o CID do íon de m/z 106, que apresenta como principal caminho dissociativo a formação do cátion fenila de m/z 77, além da formação do íon de m/z 79 e de m/z 51.

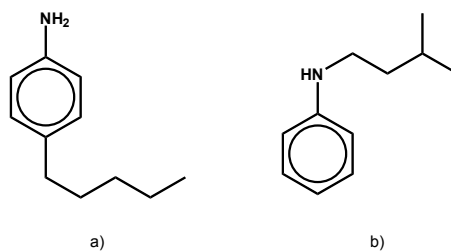


Figura 66 – Moléculas testes 4-pentilanilina (a) e *N*-isopentilanilina (b).

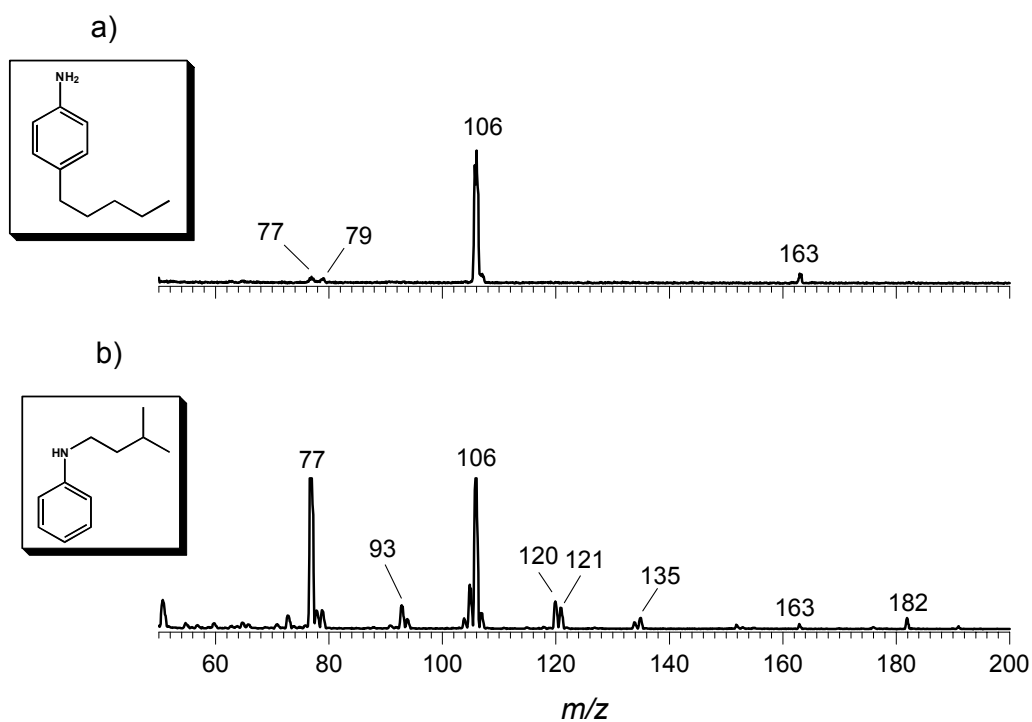


Figura 67 – Espectros de massas de varredura obtidos por EI a 70 eV para as moléculas testes 4-pentilanilina (a), *N*-isopentilanilina (b).

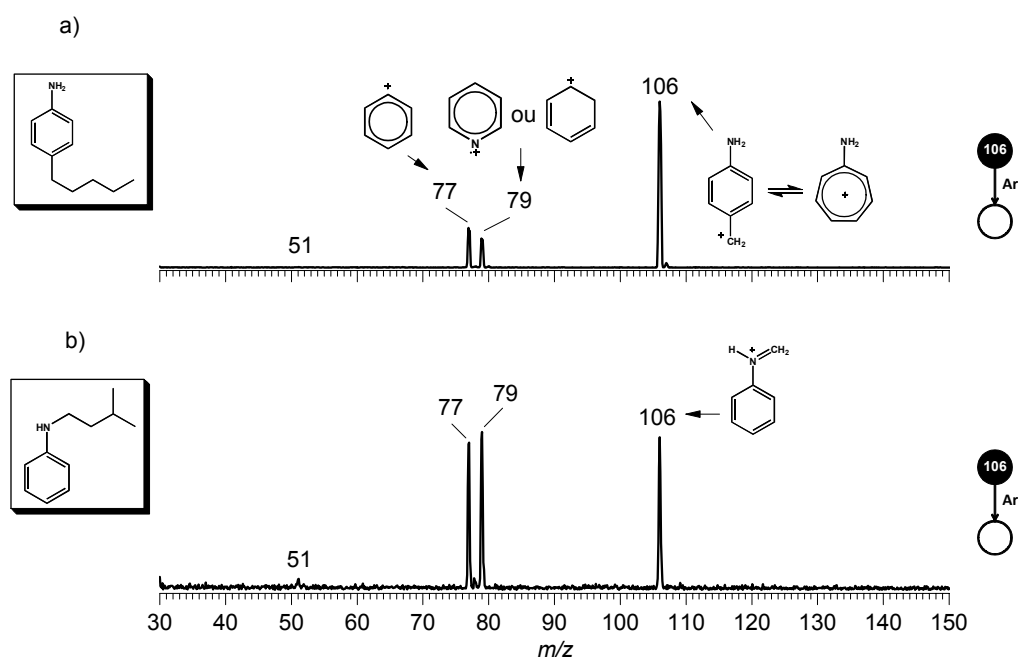


Figura 68 – Espectros de Massas (MS) de CID para o íon m/z 106 gerado a partir da 4-pentilanilina (a) e *N*-isopentilanilina (b).

A reação de Eberlin com o reagente 2-metil-1,3-dioxolano permite a atribuição de configuração da molécula precursora. Quando se trata da reação com o íon de m/z 106, gerado a partir da 4-pentilnilina, o espectro de massas não apresenta produtos iônicos detectáveis (Figura 69a), logo pode-se inferir que o FIDE é o íon aminotropílio pouco reativo que só é formado por anilinas substituídas por um grupo alquila ligado ao anel. Para o FIDE de m/z 106, gerado a partir da *N*-isopentilnilina, a reação com 2-metil-1,3-dioxolano surpreendentemente não formou o esperado produto de Eberlin de m/z 150. Ao invés disso foi observado o produto iônico de m/z 194, resultado de uma simples adição do reagente 2-metil-1,3-dioxolano ao íon de m/z 106. O íon de m/z 177 é resultado da perda neutra de uma molécula de NH_3 a partir do aduto de m/z 194.

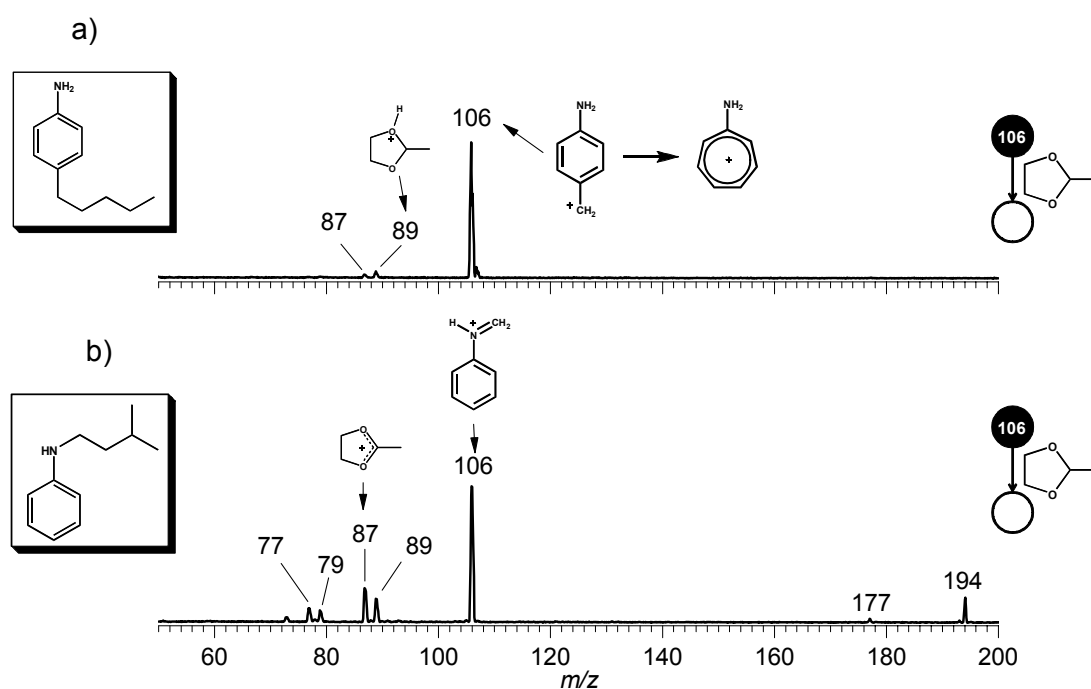


Figura 69 – Espectros de Massas (MS²) da reação íon/molécula com 2-metil-1,3-dioxolano e o FIDE de m/z 106, aminotropílio, formado a partir da 4-pentilnilina (a) e o FIDE de m/z 106, fenilimônio, formado a partir da *N*-isopentilnilina (b).

A reação com acroleína permite a atribuição de configuração para ambas as moléculas teste. O FIDE de m/z 106, gerado a partir da 4-pentilanilina, ao reagir com acroleína não apresenta produtos iônicos detectáveis (Figura 70a), por se tratar do íon aminotropílio aromático e pouco reativo. Já o FIDE de m/z 106, gerado a partir da *N*-isopentilanilina, como esperado, se trata do íon fenilimônio que reage por cicloadição polar $[4 + 2^+]$ gerando o produto iônico de m/z 162 (Figura 70b), assim como aconteceu para a reação com o padrão de *N*-butilanilina. Estes dados corroboram os resultados obtidos com os padrões de butilanilinas.

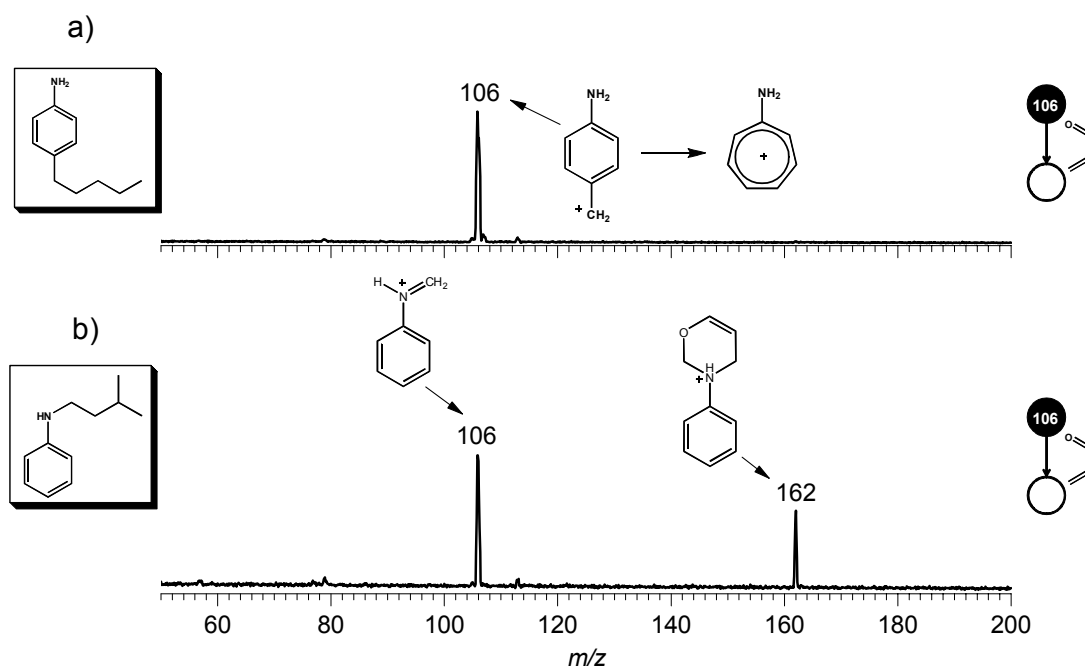


Figura 70 – Espectro de Massas (MS^2) para a reação íon/molécula entre acroleína e o FIDE de m/z 106, aminotropílio, gerado a partir da molécula teste 4-pentilanilina (a) e o FIDE de m/z 106, fenilimônio, gerado a partir da molécula teste *N*-isopentilanilina (b).

Na reação com isopreno, o íon de m/z 106 gerado a partir da *N*-isopentilanilina reage por cicloadição polar $[4 + 2^+]$, gerando o cicloaduto de m/z 174, assim como ocorre na reação com o FIDE de m/z 106 gerado a partir da *N*-butilanilina (Figura 60b). Enquanto que o íon de m/z 106 gerado a partir da 4-pentilanilina, por se tratar do íon aminotrópílio pouco reativo, apresenta o íon de m/z 174, porém em baixa intensidade (Figura 71). É possível que a fonte de íons estivesse contaminada com o outro isômero, *N*-isopentilanilina, em quantidade suficiente para levar a formação do cicloaduto.

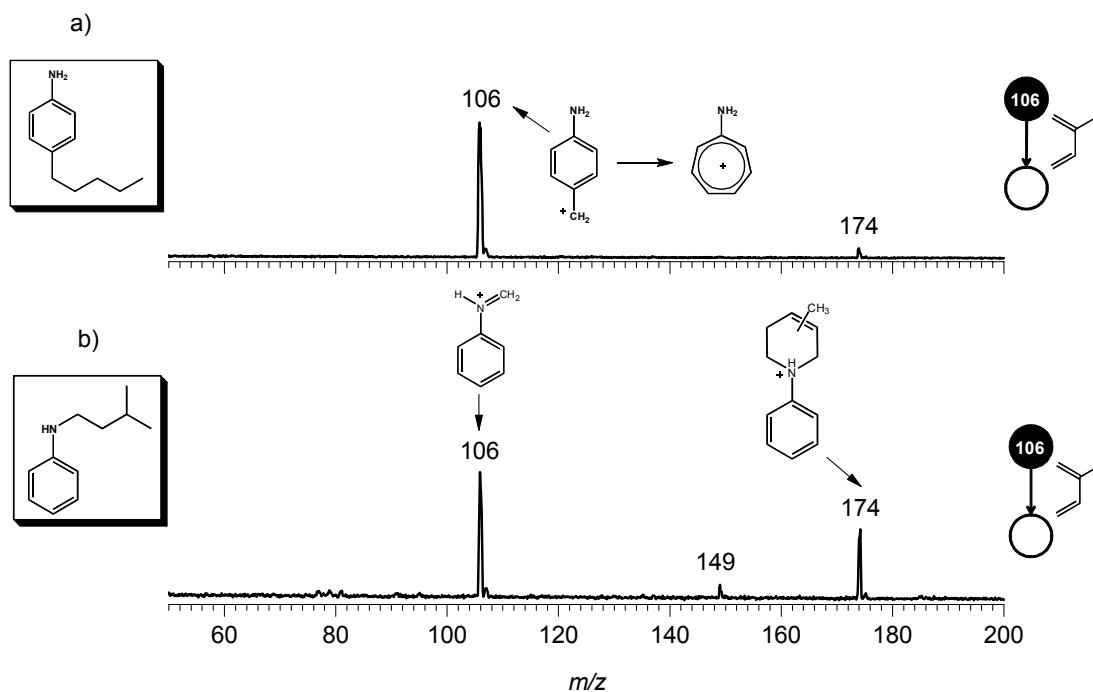


Figura 71 – Espectros de Massas (MS^2) das reações íon/molécula entre isopreno e o FIDE de m/z 106, aminotrópílio, formado a partir da molécula teste 4-pentilanilina e o FIDE de m/z 106, fenilimônio, formando a partir da molécula teste *N*-isopentilanilina.

4.3 – Carbetoxipiperidinas

As carbetoxipiperidinas são compostos constituídos por anéis piperidínicos substituídos por um grupo carboxilato em diferentes posições do anel piperidínico, como mostra a Figura 72.

Os espectros de massas de varredura para os precursores isoméricos são apresentados na Figura 73. De acordo com a estrutura dos isômeros espera-se que todos os precursores formem o íon acílio de m/z 112 através de perda de etoxila radicalar, a partir do íon molecular de m/z 157 (Esquema 16). No entanto, o isômero 2-carbetoxipiperidina não forma o íon acílio de m/z 112, sendo seu principal caminho dissociativo a formação do íon de m/z 84, o anel piperidínico (Figura 73a).

Os precursores 3-carbetoxipiperidina e a 4-carbetoxipiperidina formam o íon acílio de m/z 112 e o íon carboxilato de m/z 128. Este último é resultado da perda de etila radicalar (29 Da) a partir do íon molecular de m/z 157.

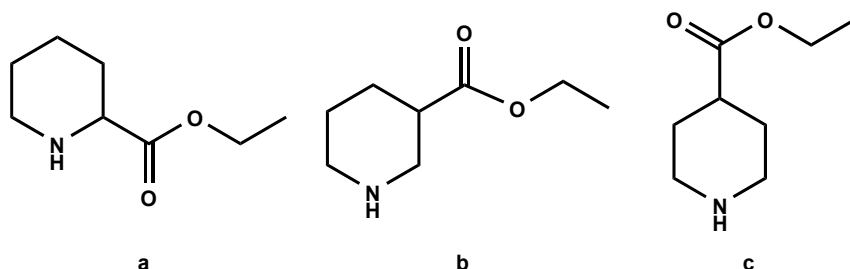


Figura 72 – Estruturas dos precursores 2-carbetoxipiperidina (a), 3-carbetoxipiperidina (b) e 4-carbetoxipiperidina (c).

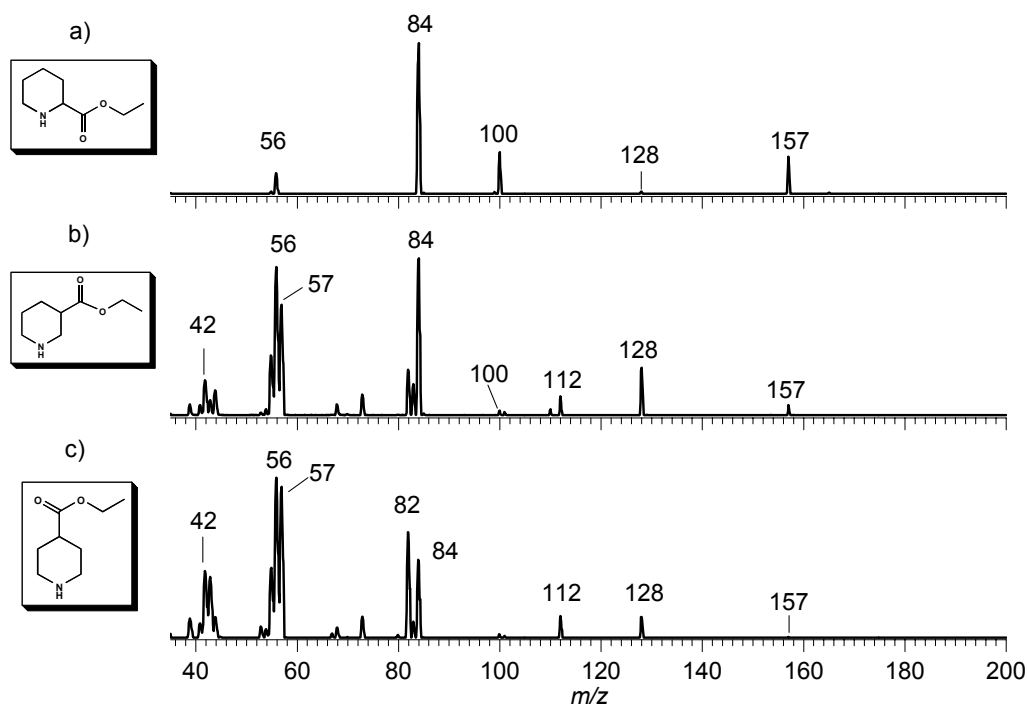
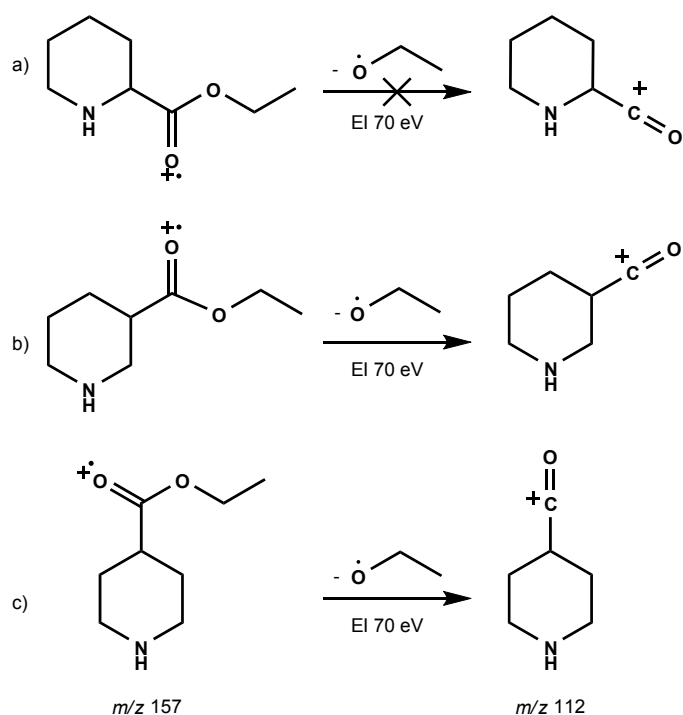


Figura 73 – Espectros de Massas de Varredura obtidos por EI a 70 eV do precursor isomérico 2-carbetoxipiperidina (a), 3-carbetoxipiperidina (b) e 4-carbetoxipiperidina (c).



Esquema 16 – Fragmentação do íon molecular de $m/z\ 157$ gerando o íon acílio de $m/z\ 112$ a partir do precursor isomérico 2-carbetoxipiperidina (a), 3-carbetoxipiperidina (b) e 4-carbetoxipiperidina (c).

Apesar do isômero 2-carbetoxipiperidina não formar o íon acílio de m/z 112, os outro dois precursores isoméricos o formam, logo, o íon de m/z 112 foi selecionado em Q_1 e submetido a experimentos de CID em q_4 , com o intuito de se avaliar sua estrutura. Os espectros de massas da Figura 74 mostram que este íon acílio apresenta caminhos dissociativos semelhantes apesar de serem originados de precursores diferentes. A principal via de fragmentação é a perda neutra de CO (28 Da) gerando o íon de m/z 84.

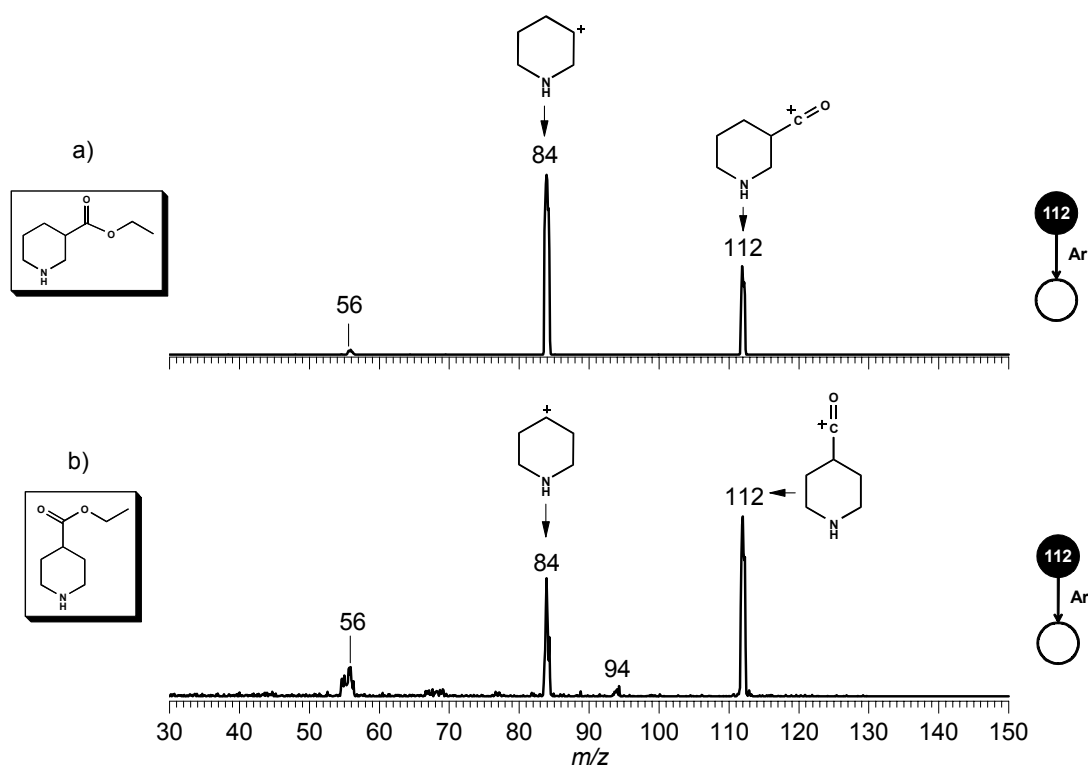


Figura 74 – Espectros de massas (MS²) de CID para o íon acílio de m/z 112, gerado a partir da 3-carbetoxipiperidina (a) e 4-carbetoxipiperidina (b).

O íon carboxilato de m/z 128 também foi submetido a experimentos de CID com o intuito de avaliar sua estrutura, como também para avaliar se este íon permite a distinção entre os isômeros através de seu comportamento dissociativo. O CID do íon gerado a partir da 3-carbetoxipiperidina fragmenta-se principalmente para o íon de m/z 82 através da perda neutra de ácido fórmico (46 Da). No entanto, é formado o íon de m/z 84 (Figura 75a) que não é formado

na dissociação do íon de m/z 128, gerado a partir da 4-carbetoxipiperidina (Figura 75b). Logo, a presença do fragmento iônico de m/z 84 permite a atribuição de configuração para carbetoxipiperidinas substituídas na posição 3 do anel piperidínico.

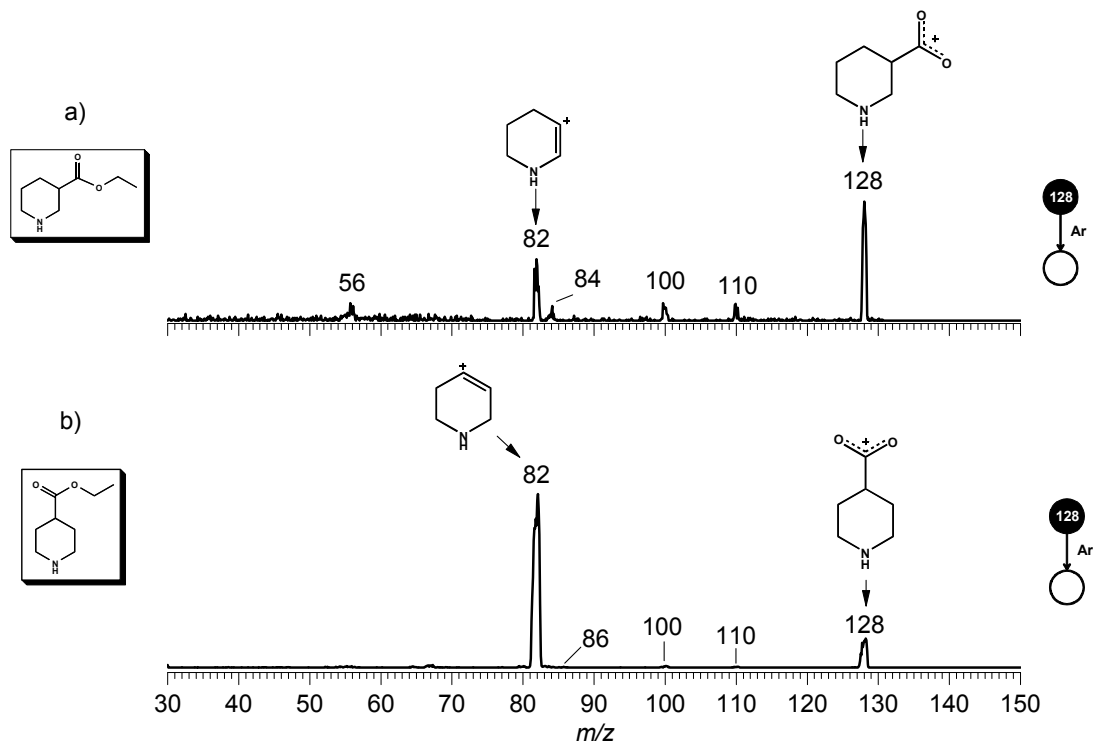
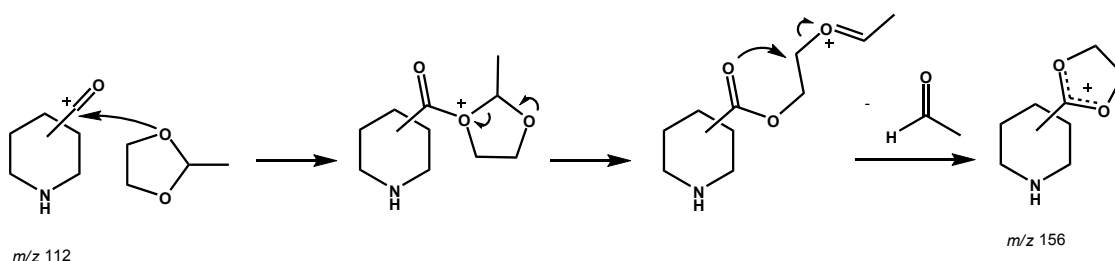


Figura 75 – Espectros de massas (MS^2) de CID para o íon de m/z 128, gerado a partir da 3-carbetoxipiperidina (a) e 4-carbetoxipiperidina (b).

4.3.1 – Reação com 2-metil-1,3-dioxolano – a reação de Eberlin

O íon acílio de m/z 112 foi selecionado em Q_1 e submetido à reação íon/molécula em q_2 com o reagente neutro 2-metil-1,3-dioxolano com intuito de verificar se o íon acílio reage através da reação de Eberlin (Esquema 17). No entanto, como mostram os espectros de massas da Figura 76, o produto iônico esperado de m/z 156, o produto de Eberlin, não é detectado pelo espectrômetro de massas.



Esquema 17 – Mecanismo da reação de Eberlin para o íon acílio de m/z 112 gerado a partir de carbetoxipiperidinas.

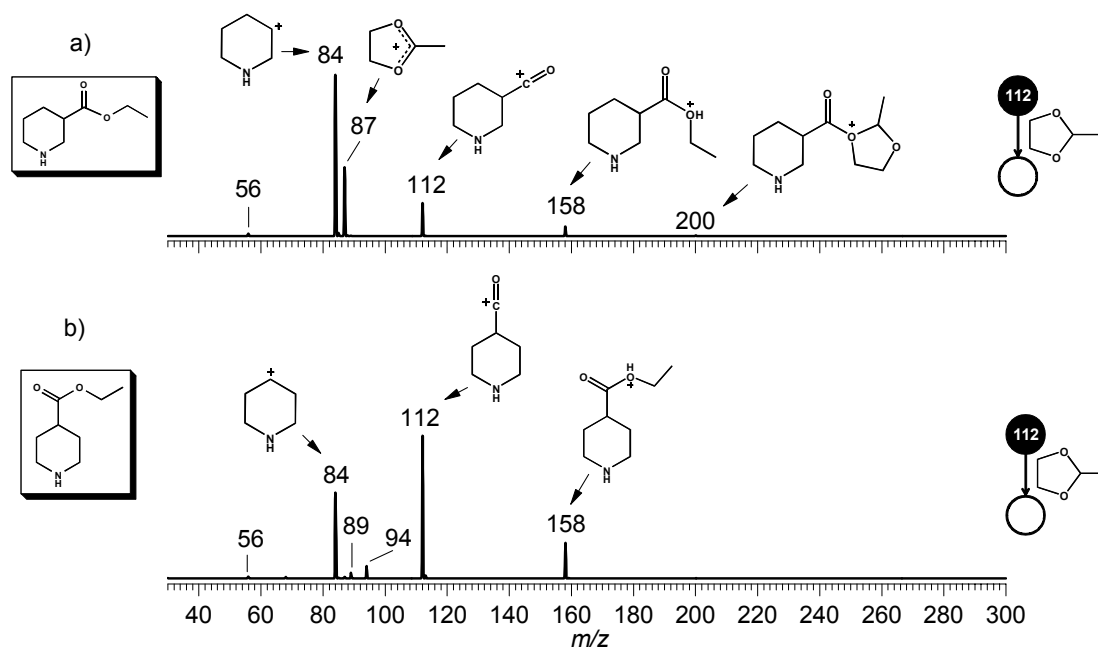
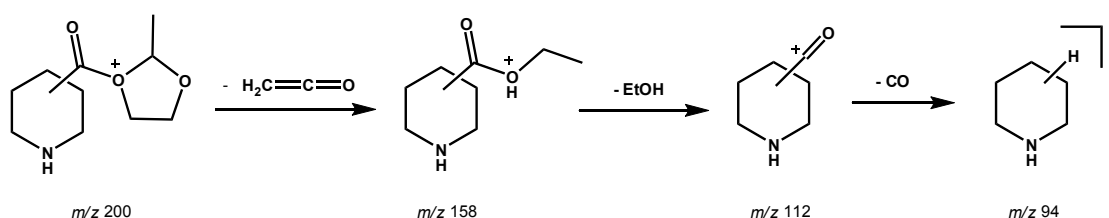


Figura 76 – Espectros de Massas (MS^2) da reação íon/molécula entre 2-metil-1,3-dioxolano e o íon acílio de m/z 112, formado a partir da 3-carbetoxipiperidina (a) e 4-carbetoxipiperidina (b).

Para a reação com o íon de m/z 112 formado por ambos os precursores é formado o íon de m/z 158, resultado da perda neutra de ceteno (42 Da) à partir do aduto de m/z 200 (Esquema 18). O aduto de m/z 200 não é observado na reação com o íon de m/z 112, gerado à partir da 4-carbetoxipiperidina. Os espectros de massas de CID (Figura 77) do íon de m/z 158 corroboram o mecanismo de dissociação proposto no Esquema 18, onde este íon sofre a perda neutra de etanol (46 Da) restaurando o íon acílio de m/z 112, que por sua vez sofre a perda neutra de CO (28 Da) levando à formação do íon de m/z 84.



Esquema 18 – Caminhos dissociativos possíveis partindo do aduto de m/z 200.

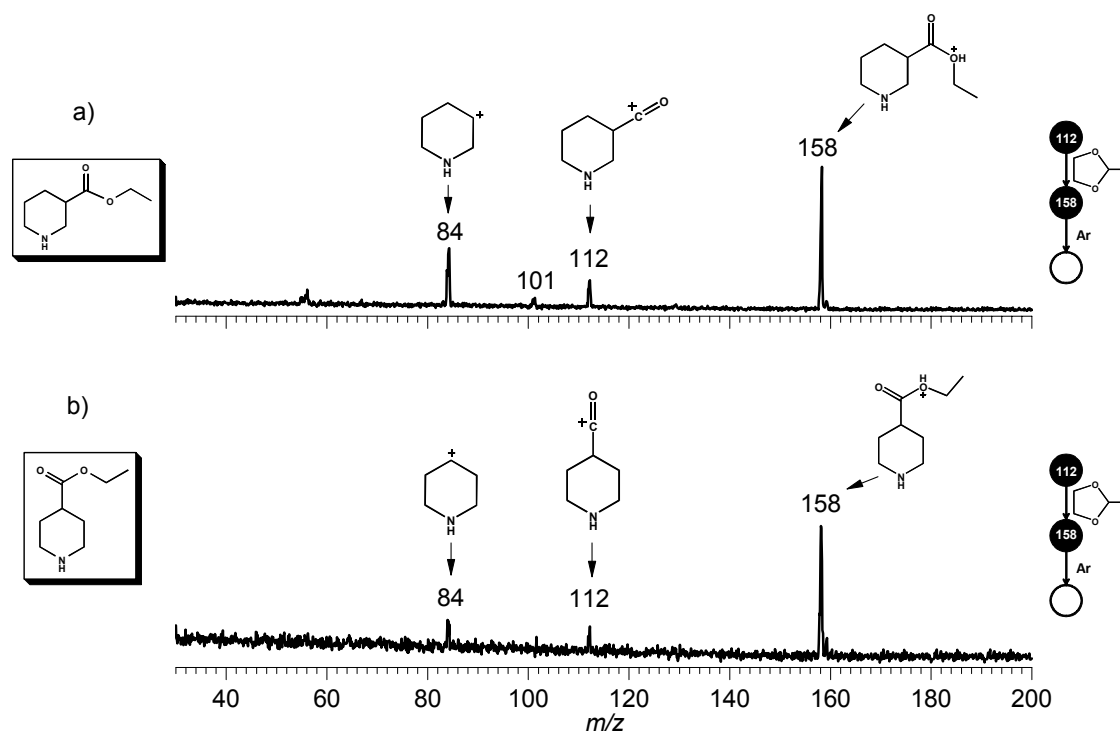
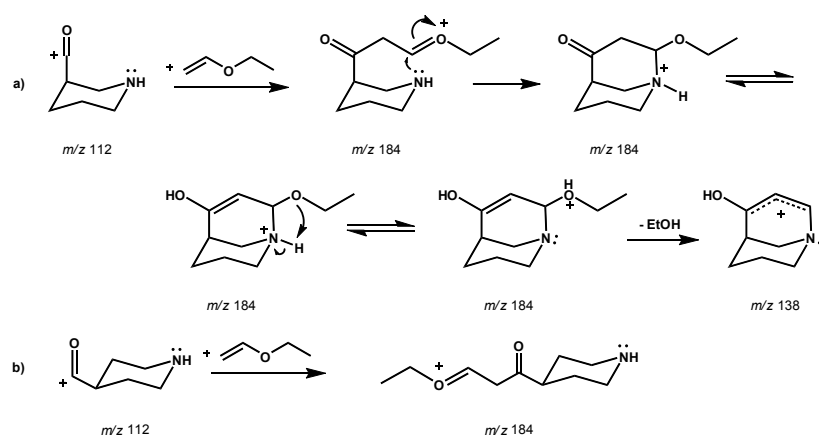


Figura 77 – Espectros de Massas (MS^3) de CID para o produto iônico de m/z 158 formado na reação ion/molécula entre 2-metil-1,3-dioxolano e o íon acílio de m/z 112, gerado a partir da 3-carbetoxipiperidina (a) e 4-carbetoxipiperidina (b).

4.3.2 – Reação com etil vinil éter

Ao reagir um éter vinílico com o íon acílio de m/z 112, ocorre a adição gerando o aduto de m/z 184 (Esquema 19) como mostram os espectros de massas da Figura 78. O aduto é formado em ambas as reações, no entanto, na reação com o íon acílio gerado a partir da 3-carbetoxipiperidina, é formado o íon de m/z 138, que não é formado na reação com o íon acílio de m/z 112, gerado a partir da 4-carbetoxipiperidina.



Esquema 19 – Adição nucleofílica do etil vinil éter ao íon acílio de m/z 112.

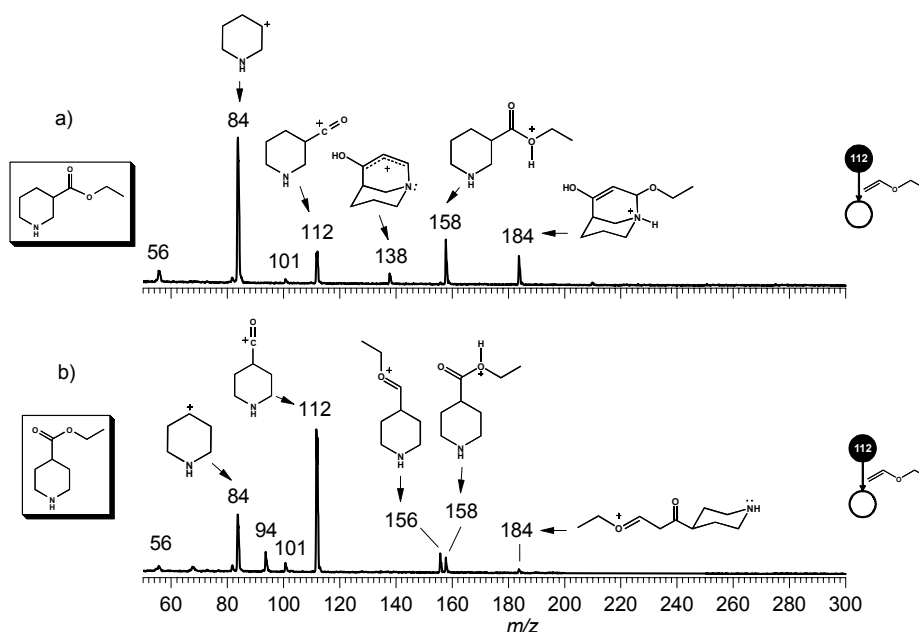


Figura 78 – Espectros de Massas (MS^2) para a reação íon/molécula entre etil vinil éter e o íon acílio de m/z 112 gerado a partir da 3-carbetoxipiperidina (a) e 4-carbetoxipiperidina (b).

O íon de m/z 138 surge da perda neutra de etanol (46 Da) à partir do aduto de m/z 184. Quando foi submetido à CID, este se dissocia por perda neutra de eteno (28 Da) levando à formação do íon de m/z 110 (Figura 79). A dissociação do íon de m/z 138 não restaura o acílio de m/z 112, pois este não aparece no espectro de massas. A presença do íon de m/z 138 é diagnóstico de estrutura para anéis piperidínicos substituídos na posição 3.

O aduto de m/z 184 é formado em ambas as reações. O CID deste íon (Figura 80) apresenta caminhos dissociativos distintos de acordo com o íon acílio de m/z 112 posto a reagir. O aduto de m/z 184 formado na reação com o íon acílio, gerado a partir da 3-carbetoxipiperidina, ao ser submetido à CID produz o fragmento iônico de m/z 138 (Figura 80a) através da perda neutra de etanol, o mesmo íon que é exibido no espectro da reação íon/molécula (Figura 78a) e é o íon diagnóstico de estrutura. Enquanto que o CID do aduto de m/z 184, formado na reação com o íon acílio de m/z 112, gerado a partir da 4-carbetoxipiperidina, não apresenta este caminho dissociativo (Figura 80b).

O íon de m/z 158 é formado por ambas as reações íon/molécula e este é resultado da perda neutra de etino (26 Da) a partir do aduto de m/z 184. Os espectros de CID para o íon de m/z 158 (Figura 81) mostram os mesmos caminhos dissociativos, nos quais o íon de m/z 158 perde um molécula de etanol (46 Da) gerando o fragmento iônico de m/z 112 que por sua vez sofre a perda neutra de CO (28 Da) levando à formação do íon de m/z 84. O fragmento iônico de m/z 56 é formado a partir da perda neutra de eteno (28 Da) do íon de m/z 84.

Na reação com o íon acílio de m/z 112, gerado a partir da 4-carbetoxipiperidina, é formado o íon de m/z 156 (Figura 78b), que não é formado na reação com o íon acílio de m/z 112, gerado a partir da 3-carbetoxipiperidina. Este íon de m/z 156 surge da reação de adição entre etil vinil éter e o íon de m/z 84, este por sua vez é resultado da dissociação por perda neutra de CO (28 Da) a partir do íon acílio de m/z 112. O comportamento dissociativo do íon de m/z 156 corrobora esta proposta pois seu espectro de massas de CID exhibe como principal fragmento o íon de m/z 84 (Figura 82). O íon de m/z 156 é diagnóstico de estrutura para anéis piperidínicos substituídos na posição 4.

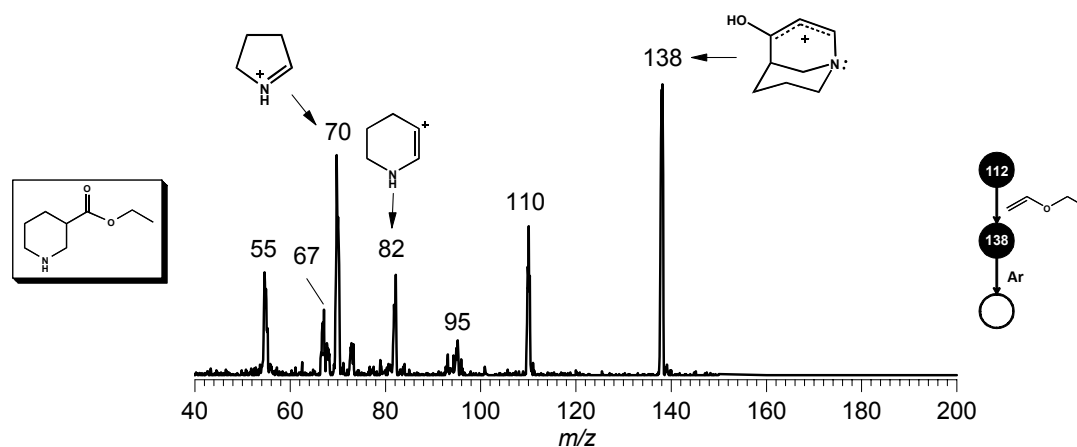


Figura 79 – Espectro de Massas (MS^3) de CID para o produto iônico de m/z 138 formado na reação íon/molécula entre etil vinil éter e o íon acílio de m/z 112, gerado a partir da 3-carbetoxipiperidina.

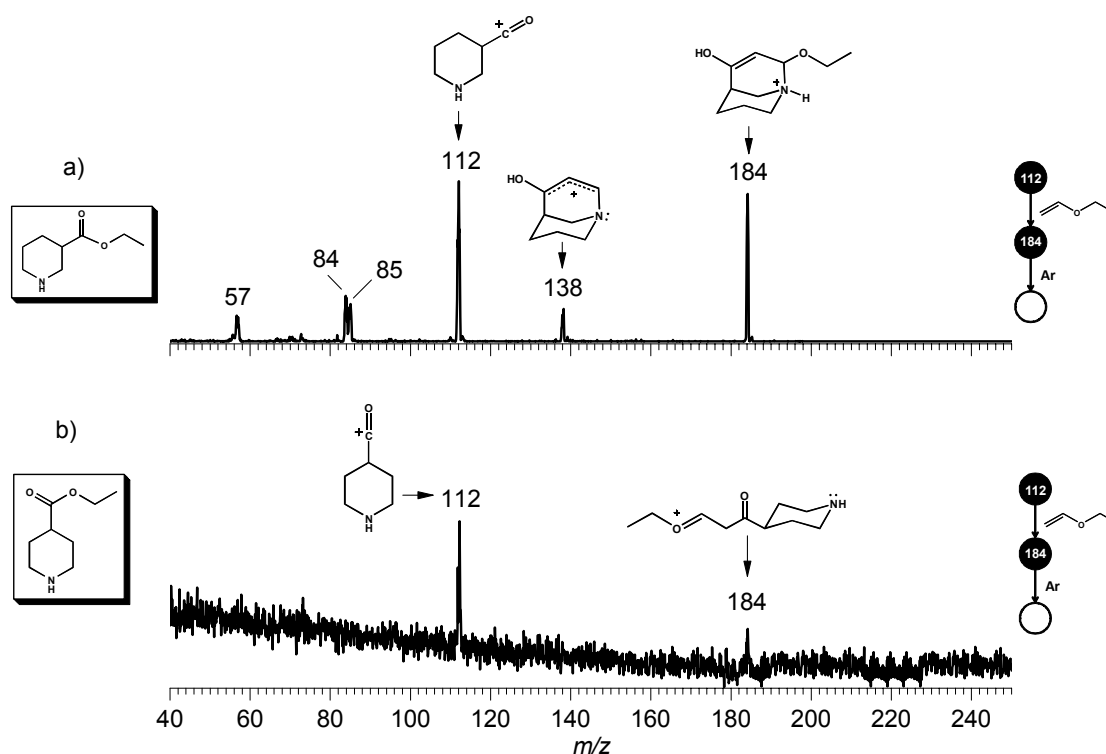


Figura 80 – Espectros de Massas (MS^3) de CID para o aduto de m/z 184, formado na reação íon/molécula entre etil vinil éter e o íon acílio de m/z 112, gerado a partir da 3-carbetoxipiperidina (a) e 4-carbetoxipiperidina (b).

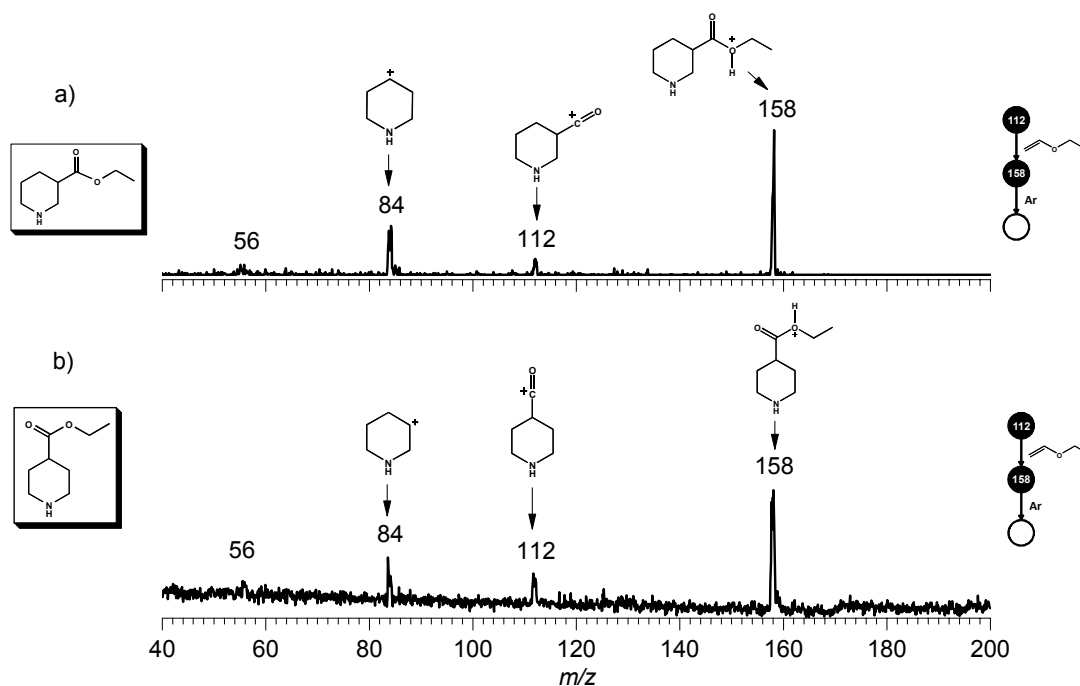


Figura 81 – Espectro de Massas (MS^3) de CID para o produto iônico de m/z 158 formado na reação íon/molécula entre etil vinil éter e o íon acílio de m/z 112, gerado a partir da 3-carbetoxipiperidina (a) e 4-carbetoxipiperidina (b).

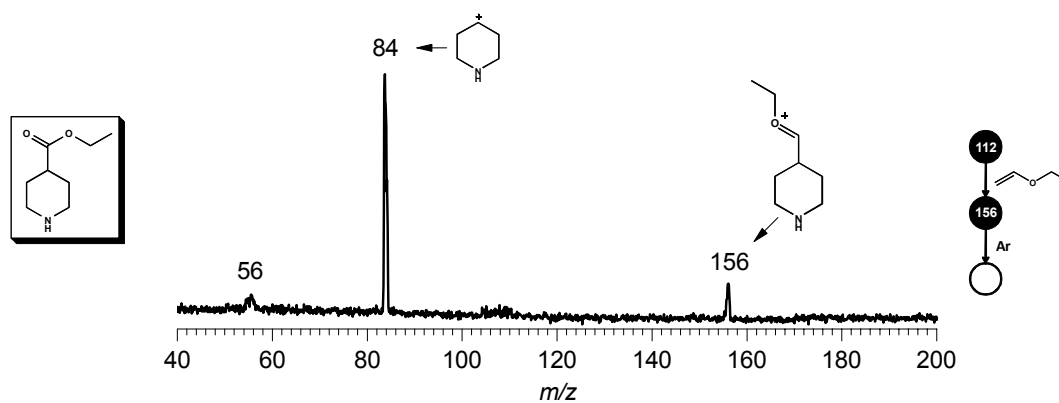


Figura 82 – Espectro de Massas (MS^3) de CID para o produto iônico de m/z 156 formado na reação íon/molécula entre etil vinil éter e o íon acílio de m/z 112, gerado a partir da 4-carbetoxipiperidina.

4.4 – Ácidos Ciclohexeno Carboxílicos

Esta classe é composta por dois isômeros que apresentam em comum um anel ciclohexeno e um grupo ácido carboxílico ligado a este anel. A diferença entre eles está na posição que a insaturação está no anel em relação a posição que o grupo carboxilílico está ligado (Figura 83).

Os espectros de massas de varredura (Figura 84) mostram que o sinal do íon molecular de m/z 126 não é observado para o isômero ácido 1-ciclohexeno-1-carboxílico e é observado com baixa intensidade para o isômero ácido 3-ciclohexeno-1-carboxílico, que se dá pela favorável perda neutra de H_2O (18 Da), levando à formação do cátion radicalar de m/z 108 que pode ter as seguintes estruturas propostas no Esquema 20, para o íon de m/z 108 formado a partir do ácido 1-ciclohexeno-1-carboxílico e no Esquema 21, para o íon de m/z 108 formado a partir do ácido 3-ciclohexeno-1-carboxílico.

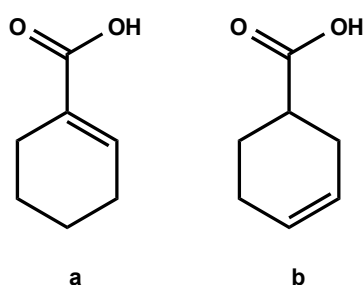


Figura 83 – Estrutura molecular do ácido 1-ciclohexeno-1-carboxílico (a) e do ácido 3-ciclohexeno-1-carboxílico (b).

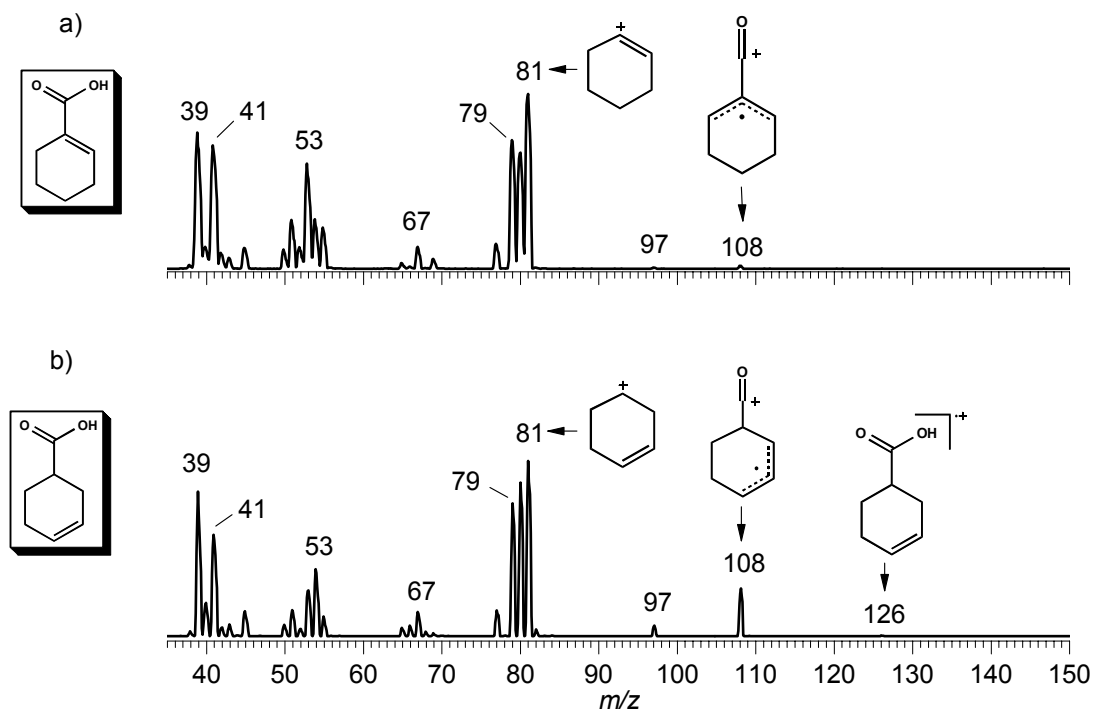
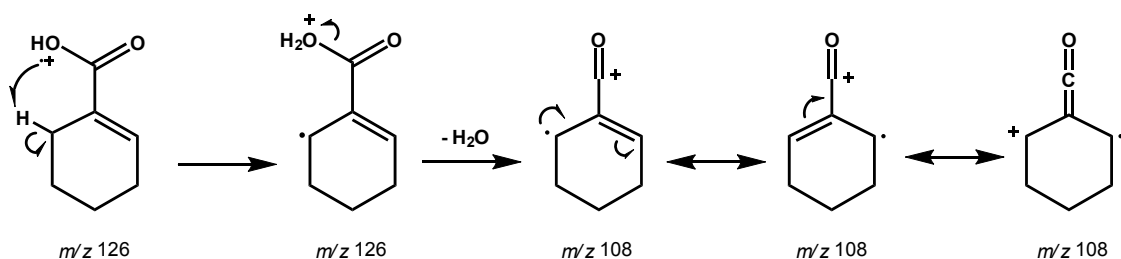
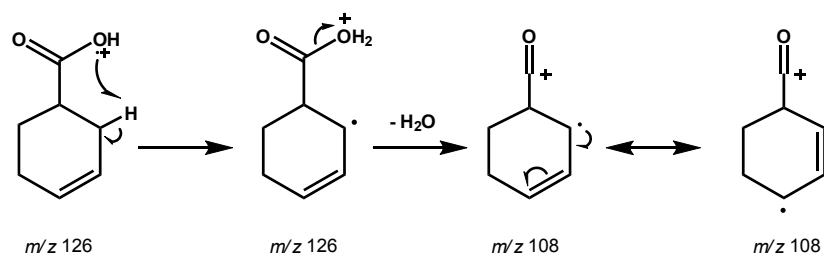


Figura 84 – Espectros de massas de varredura obtido com EI a 70 eV para os isômeros ácido 1-ciclohexeno-1-carboxílico (a) e do ácido 3-ciclohexeno-1-carboxílico (b).



Esquema 20 – Proposta de fragmentação do íon molecular de m/z 126 do ácido 1-ciclohexeno-1-carboxílico formando o íon de m/z 108.



Esquema 21 – Proposta de fragmentação do íon molecular de m/z 126 do ácido 3-ciclohexeno-1-carboxílico formando o íon de m/z 108.

O íon de m/z 108 é um candidato à FIDE para a classe de isômeros pois é formado por ambos os precursores isoméricos e podem ter estruturas em fase gasosa distintas, o que pode levar a reatividades contrastantes. O primeiro passo foi realizar a CID para o candidato a FIDE para se obter informações estruturais e para verificar se estes dissociam de formas distintas, o que permitiria a atribuição de configuração do precursor.

Os espectros de massas de CID (Figura 85) para o íon de m/z 108, formados por ambos os precursores isoméricos mostram um único caminho dissociativo no qual o íon de m/z 108 sofre a perda neutra de CO levando à formação do íon de m/z 80. O CID não permite a diferenciação dos precursores isoméricos.

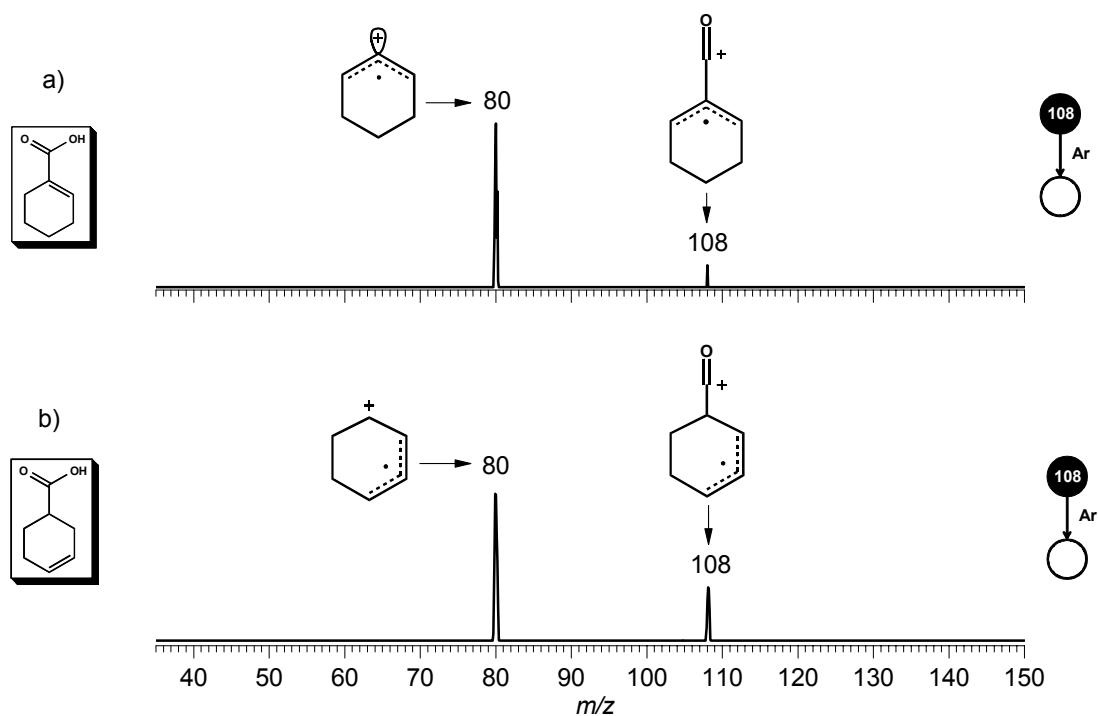
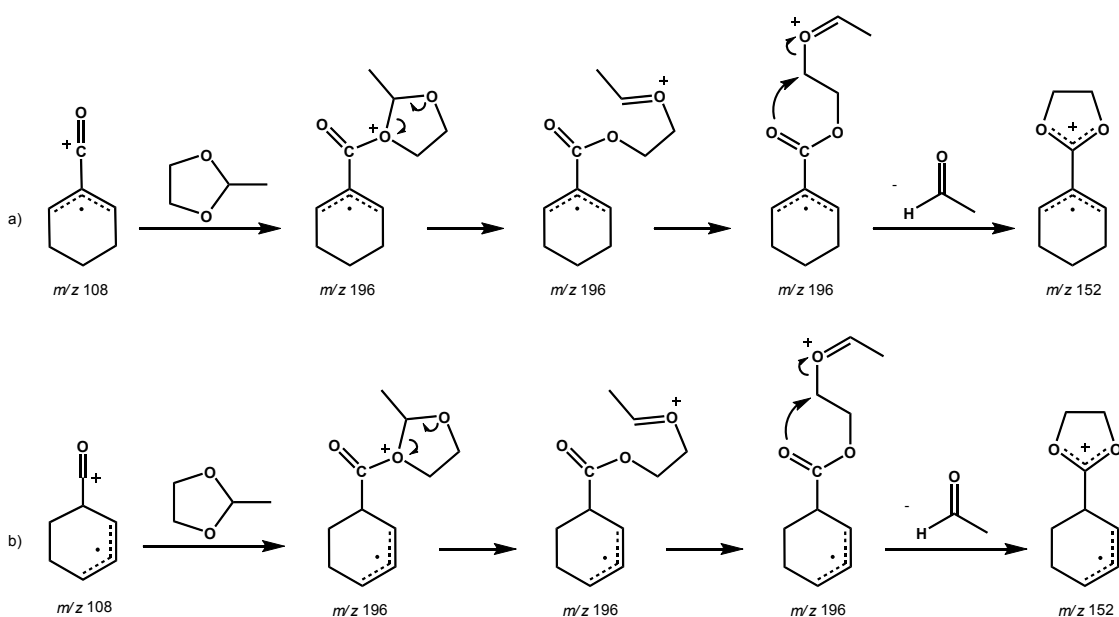


Figura 85 – Espectros de Massas (MS^2) de CID para o íon de m/z 108 gerado a partir do ácido 1-ciclohexeno-1-carboxílico (a) e do ácido 3-ciclohexeno-1-carboxílico (b)

4.4.1 – Reação com 2-metil-1,3-dioxolano – a reação de Eberlin

Apesar de se tratar de um cátion radicalar e possivelmente um íon distônico, o íon de m/z 108 é um íon acílio, que pode reagir por transacetalização polar com 2-metil-1,3-dioxolano, a reação de Eberlin⁸³ (Esquema 22). Pelo fato de ambos os íons de m/z 108 apresentarem estruturas diferentes, era possível que estes reagissem de maneiras distintas. No entanto, os espectros de massas da reação íon/molécula apresentam o mesmo produto de reação, o íon de m/z 152 (Figura 86). Os espectros exibem o sinal proveniente da fragmentação do íon de m/z 108, formando o íon de m/z 80. Também é possível observar os sinais referentes ao reagente 2-metil-1,3-dioxolano, onde o íon de m/z 89 é o reagente protonado e o íon de m/z 87 refere-se a perda de hidreto. A abordagem da reação de Eberlin não permitiu a distinção entre os isômeros.



Esquema 22 – Mecanismo da reação de Eberlin para o íon de m/z 108 formado a partir do ácido 1-ciclohexeno-1-carboxílico (a) e do ácido 3-ciclohexeno-1-carboxílico.

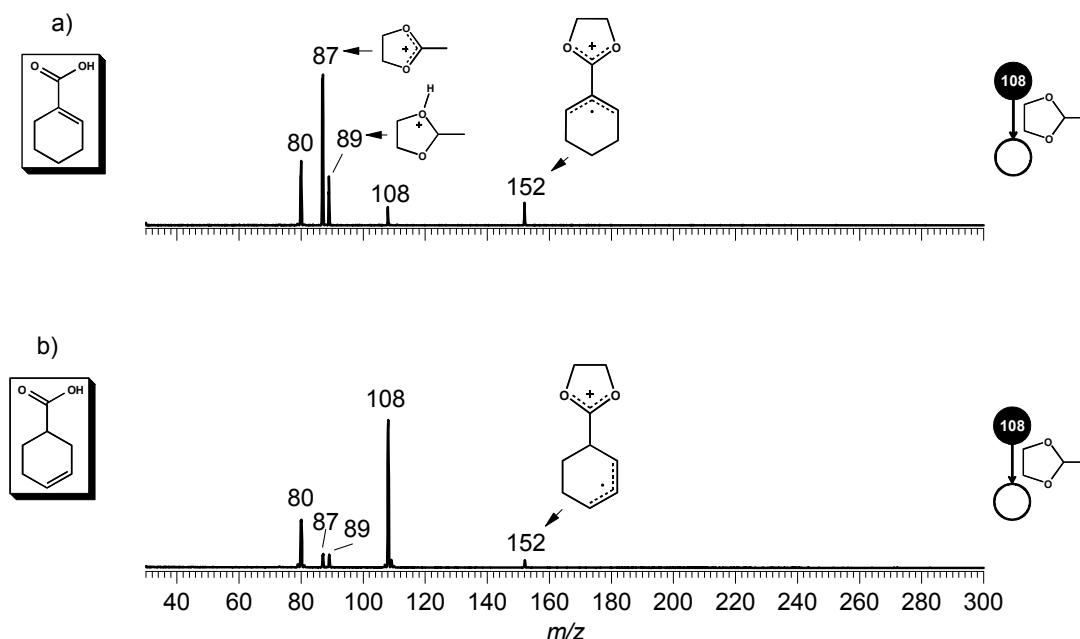


Figura 86 – Espectros de Massas (MS²) para a reação íon/molécula entre 2-metil-1,3-dioxolano e o íon de m/z 108 gerado a partir do ácido 1-ciclohexeno-1-carboxílico (a) e do ácido 3-ciclohexeno-1-carboxílico (b).

4.4.2 – Reações de cicloadição polar

A seguir são apresentadas reações íon/molécula com diferentes tipos de dienos, procurando explorar a reatividade do íon reagente de m/z 108 quando submetido à uma abordagem por cicloadição polar. O primeiro teste foi realizado com o dieno isopreno utilizado com o intuito de se reagir este dieno com o íon de m/z 108 através de cicloadição polar, formando o cicloaduto de m/z 176. No entanto, este íon não é observado nos espectros de massas (Figura 87). É observado o íon de m/z 149, que surge da polimerização de isopreno em fase gasosa. O íon base para ambos os espectros é o sinal de m/z 80, proveniente da perda neutra de CO (28 Da) a partir do íon de m/z 108.

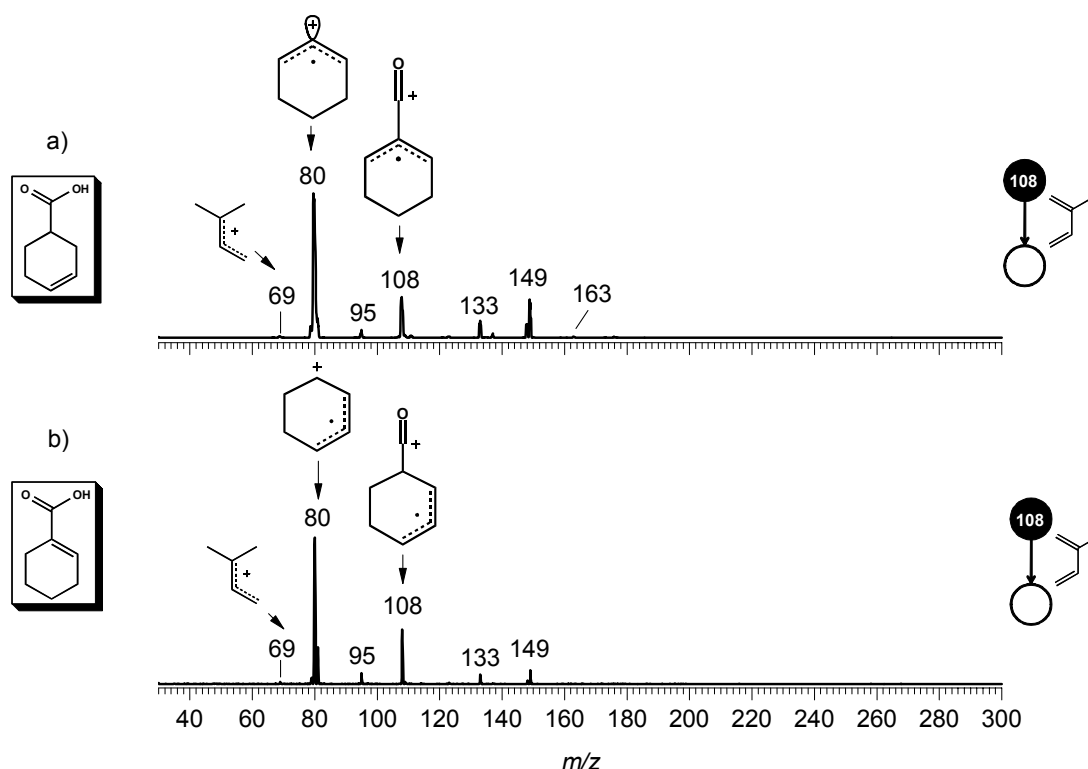


Figura 87 – Espectros de Massas (MS^2) para a reação íon/molécula entre isopreno e o íon de m/z 108 gerado a partir do ácido 1-ciclohexeno-1-carboxílico (a) e do ácido 3-ciclohexeno-1-carboxílico (b).

A Figura 88 mostra a reatividade do heterodieno, acroleína, frente ao íon de m/z 108 selecionado em Q_1 , formado a partir dos isômeros de ácidos ciclohexeno carboxílicos. Os espectros de massas mostram que o reagente neutro acroleína, ao ser inserido, provoca a dissociação do íon de m/z 108, que através da perda neutra de CO (28 Da) leva à formação do íon de m/z 80 e é este íon que reage por cicloadição com acroleína, gerando o cicloaduto de m/z 136, que por sua vez reage com uma segunda molécula de acroleína formando o duplocicloaduto de m/z 192 (Esquema 23). Os espectros de massas também exibem o sinal de m/z 57, referente a acroleína protonada, $[M + H]^+$, e o dímero de acroleína, $[2M + H]^+$, de m/z 113. Esta abordagem não permitiu a diferenciação dos precursores isoméricos.

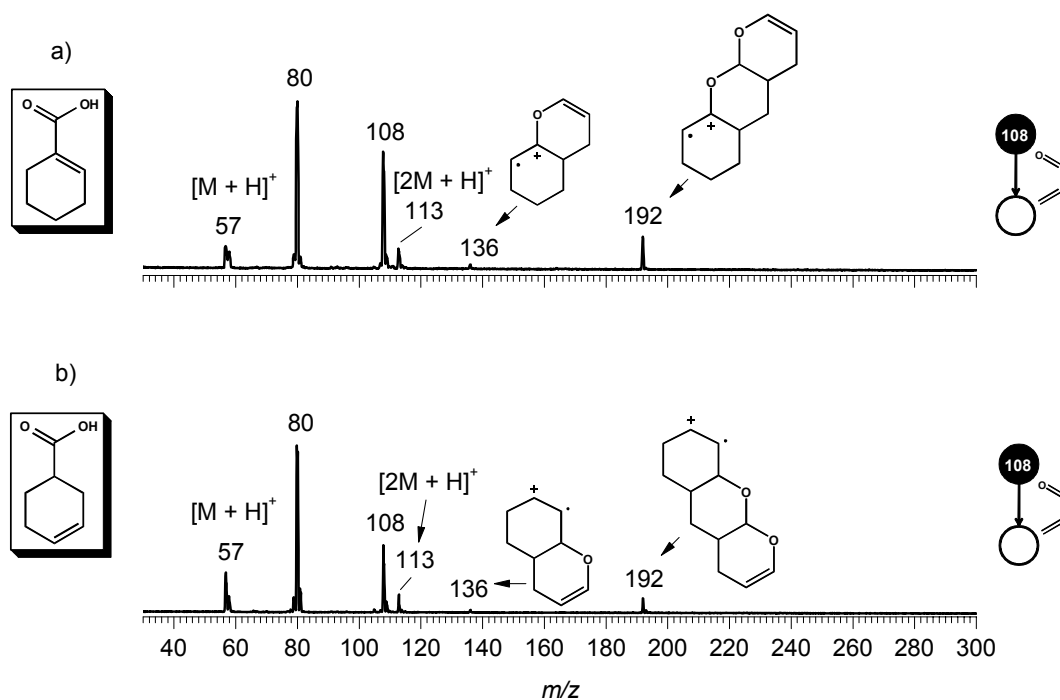
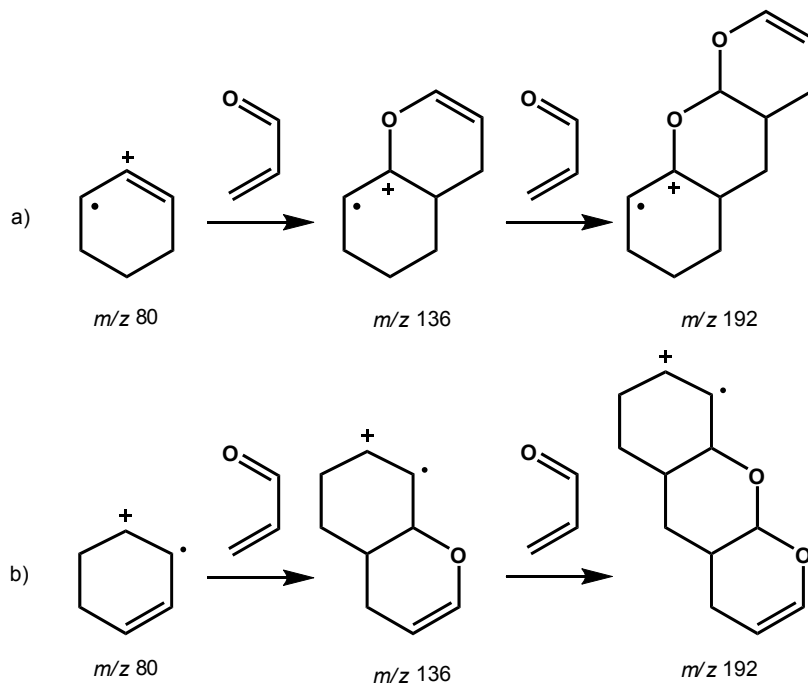


Figura 88 – Espectros de Massas (MS^2) para a reação íon/molécula entre acroleína e o íon de m/z 108 gerado a partir do ácido 1-ciclohexeno-1-carboxílico (a) e do ácido 3-ciclohexeno-1-carboxílico (b).



Esquema 23 – Proposta de mecanismo para formação do adutos de acroleína de m/z 136 e m/z 192 a partir do íon de m/z 80 gerado a partir dos precursores ácido 1-ciclohexeno-1-carboxílico (a) e do ácido 3-ciclohexeno-1-carboxílico (b).

A Figura 89 mostra os espectros de massas referentes à reação íon/molécula com etil vinil cetona (84 Da), que não apresentou produtos iônicos detectáveis. Foi observado como íon base para ambos os espectros o íon de m/z 80, dissociação favorável por perda neutra de CO, a partir do íon reagente de m/z 108, selecionado em Q_1 para reagir com etil vinil cetona em q_2 . Os espectros de massas ainda exibem o sinal de m/z 85, referente a etil vinil cetona protonada, $[M + H]^+$, e o seu dímero, $[2M + H]^+$ de m/z 169. Pelo fato de ambos os espectros apresentarem os mesmo sinais e de não terem sido formados produtos iônicos de reação detectáveis, esta abordagem não permitiu a distinção dos isômeros constitucionais.

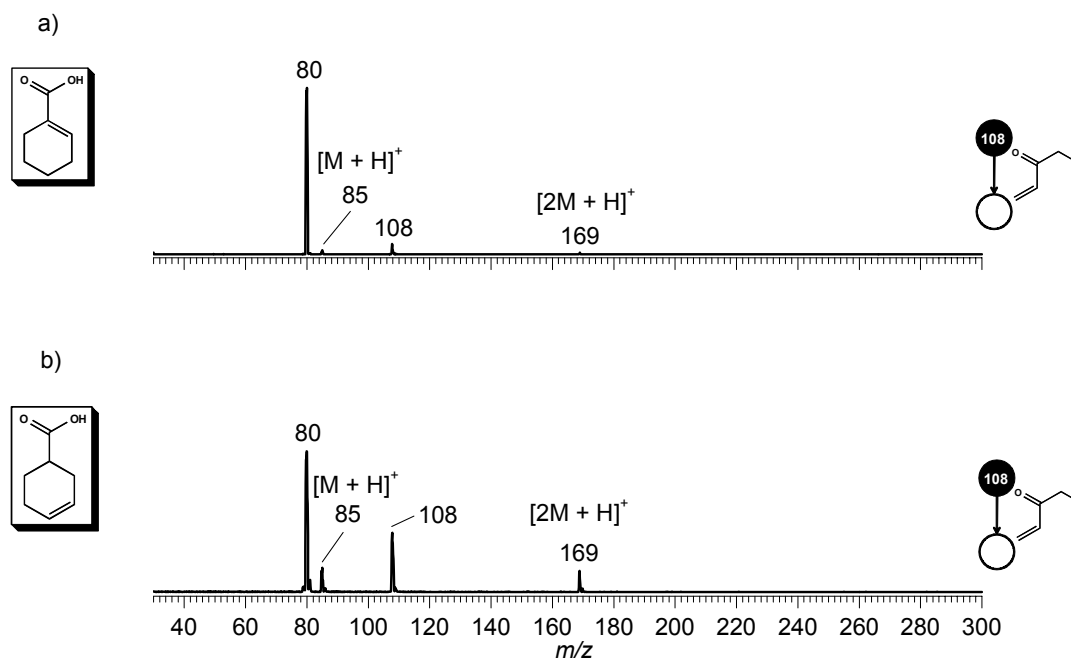


Figura 89 – Espectros de Massas (MS^2) da reação íon/molécula entre etil vinil cetona (84 Da) e o íon de m/z 108, gerado a partir do ácido 1-ciclohexeno-1-carboxílico (a) e do ácido 3-ciclohexeno-1-carboxílico (b).

A Figura 90 mostra os espectros de massas para a reação íon/molécula entre o íon de m/z 108 e o dieno 1-trimetilsiloxil-1,3-butadieno (142 Da), que ao reagir por cicloadição polar deveria formar o cicloaduto de m/z 250.⁵⁵ No entanto, este produto não é detectado pelo espectrômetro de massas. Os espectro de massas para ambas as reações apresentam os mesmo sinais, sendo observado o íon de m/z 143, referente ao dieno 1-trimetilsiloxil-1,3-butadieno protonado, $[M + H]^+$ e o íon de m/z 80 resultado da perda neutra de CO (28) a partir do íon reagente de m/z 108.

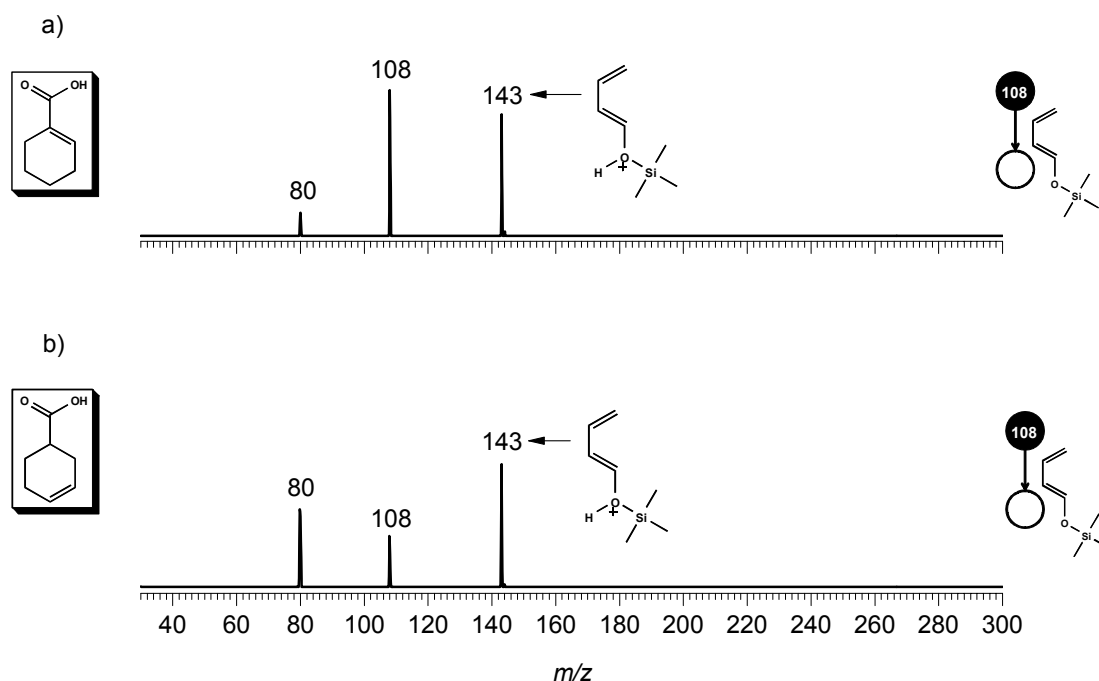


Figura 90 – Espectros de Massas (MS^2) para a reação íon/molécula entre 1-trimetilsiloxil-1,3-butadieno (142 Da) e o íon de m/z 108 gerado a partir do ácido 1-ciclohexeno-1-carboxílico (a) e do ácido 3-ciclohexeno-1-carboxílico (b).

A Figura 91 mostra os espectros de massas para a reação com o dieno *trans*-1-metóxi-3-(trimetilsilóxi)-1,3-butadieno (172 Da), também conhecido como o dieno de Danishefsky.⁹⁴ Este dieno apresenta um grupo trimetilsilóxi, que ativa o dieno para uma reação de Diels-Alder. Esta abordagem já foi utilizada por **Lemos et al**⁵⁵ que observaram a reação de cicloadição deste dieno a íons acílio. No entanto, a reação com o dieno de Danishefsky não apresenta produtos iônicos detectáveis quando é reagido com o íon de m/z 108. Os espectros de massas exibem o íon de m/z 173, referente ao dieno de Danishefsky protonado, o íon de m/z 101, referente a perda do grupo trimetilsilano (72 Da) a partir do íon de m/z 173 e o íon de m/z 201, possivelmente um dímero de próton do dieno com um grupo OH no lugar do grupo trimetilsiloxil.

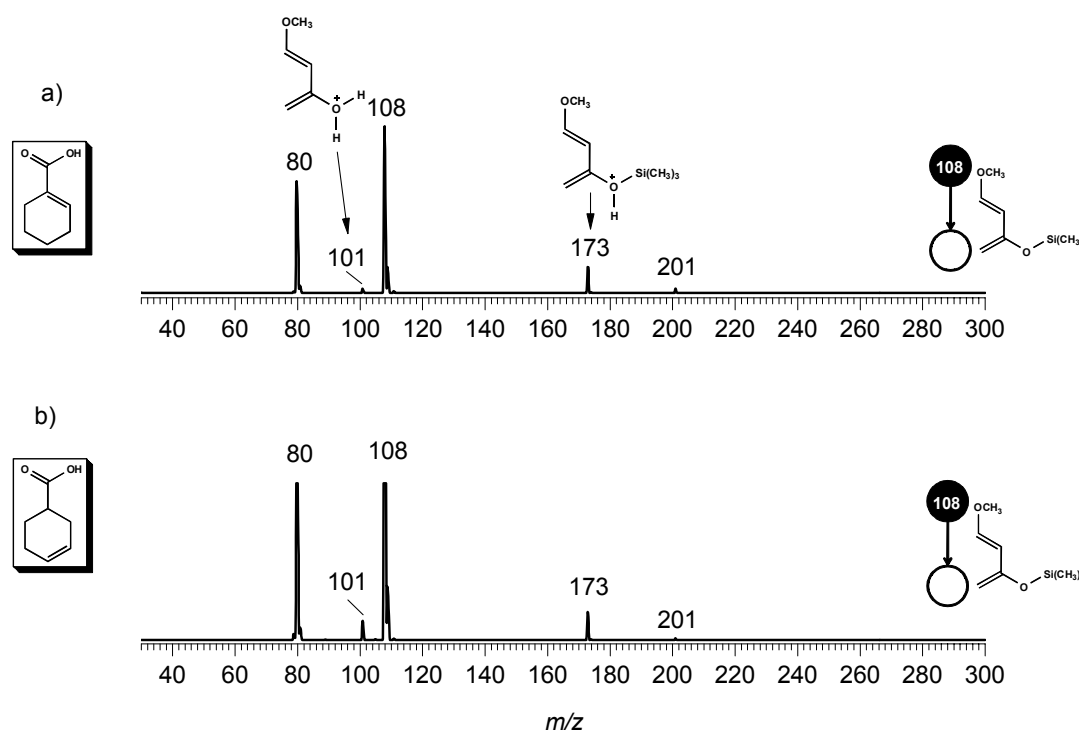


Figura 91 – Espectros de Massas (MS^2) para a reação íon/molécula entre o dieno de Danishefsky e o íon de m/z 108 gerado a partir do ácido 1-ciclohexeno-1-carboxílico (a) e do ácido 3-ciclohexeno-1-carboxílico (b).

O último teste foi realizado com o dienófilo etil vinil éter (72 Da) que ao invés de reagir por cicloadição polar $[4 + 2^+]$, reagiria por $[4^+ + 2]$ gerando o cicloaduto de m/z 180. No entanto, os espectros de massas da Figura 92 não exibem tal aduto. São observados os sinais do íon de m/z 101, referentes ao etil vinil éter etilado, e o fragmento iônico de m/z 80, resultado da perda neutra de CO à partir do íon de m/z 108. Nenhum dos testes que procuraram explorar a reatividade do íon de m/z 108 através de cicloadição polar com dienos permitiu a diferenciação dos isômeros de ácidos ciclohexeno carboxílicos.

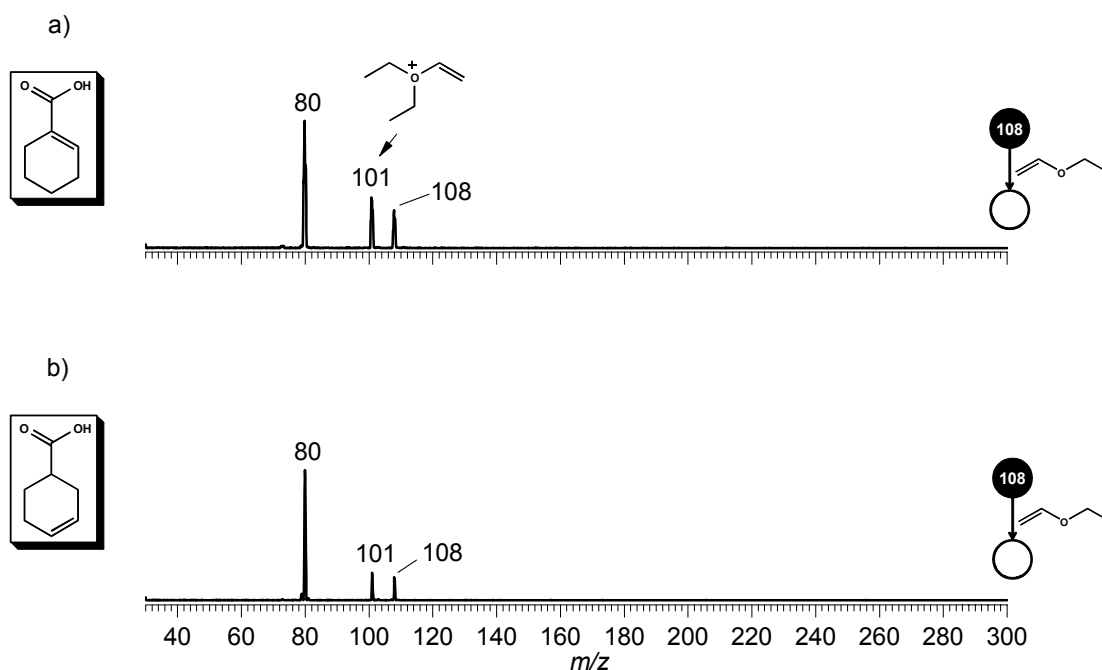


Figura 92 – Espectros de Massas (MS^2) para a reação íon/molécula entre o etil vinil éter e o íon de m/z 108 gerado a partir do ácido 1-ciclohexeno-1-carboxílico (a) e do ácido 3-ciclohexeno-1-carboxílico (b).

4.4.3 – Reações que exploram o caráter distônico do FIDE

O Esquema 20 e o Esquema 21 mostram as propostas de formação dos íons de m/z 108 gerados por diferentes precursores e estes podem assumir estruturas de íons distônicos.

Os íons distônicos são cátions ou ânions radicalares no quais o sítio de carga está espacialmente separado do sítio radicalar. Esta característica leva a uma reatividade diferenciada onde o íon distônico pode reagir apenas como um íon, apenas como um radical, ou reagir como ambos.⁹⁵

Stirk et al⁹⁶ apresentaram uma abordagem para determinar se um íon é distônico através da reação íon/molécula com o dissulfeto de metila (CH_3SSCH_3). O reagente CH_3SSCH_3 (94 Da) pode reagir com um cátion radicalar através de transferência de elétron. Se este cátion radicalar não for um íon distônico este transferirá um elétron ao reagir com o CH_3SSCH_3 gerando um cátion radicalar $\text{CH}_3\text{SSCH}_3^{+\bullet}$. Se o cátion radicalar for de fato um íon distônico este irá abstrair o radical $\bullet\text{SCH}_3$ do reagente neutro dimetilsulfeto. Esta abordagem também foi utilizada por **Gozzo et al**⁹⁷ para se confirmar se uma espécie isolada na fase gasosa era de fato um íon distônico.

Os íons de m/z 108 formados a partir de ambos os ácidos ciclohexeno carboxílicos foram submetidos a reação com CH_3SSCH_3 para verificar se ambos eram íons distônicos. Verificou-se também se estes poderiam reagir de maneiras distintas permitindo a diferenciação dos precursores isoméricos.

Os espectros de massas (Figura 93) exibem o íon de m/z 80, resultado da fragmentação por perda neutra de CO a partir do íon de m/z 108. Os espectros de massas mostram que ambos os íons de m/z 108 transferem um elétron para o reagente CH_3SSCH_3 gerando o íon de m/z 94 positivo radicalar. Isto indica que o íon de m/z 108 pode ser apenas um cátion radicalar, onde o sítio de carga e o sítio radicalar estão no mesmo átomo. Porém, não se pode concluir que os íons realmente não são distônicos já que a energia de ionização do CH_3SSCH_3 é 8,1 eV e a energia de ionização dos íons de m/z 108 podem ser maior que este valor.

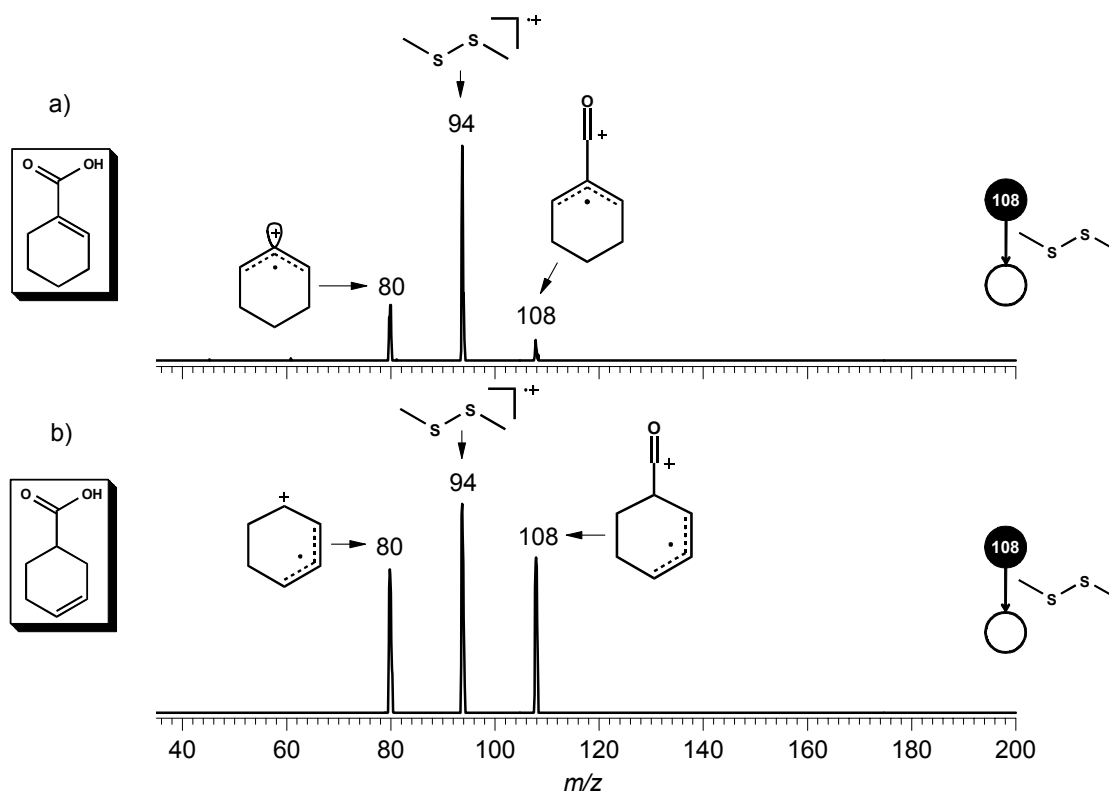


Figura 93 – Espectros de Massas (MS^2) da reação íon/molécula entre dimetilsulfeto e o íon de m/z 108 formado a partir do ácido 1-ciclohexeno-1-carboxílico (a) e do ácido 1-ciclohexeno-3-carboxílico (b).

Outra abordagem utilizada para verificar se um íon é de fato distônico é através da reação com um haleto de alila, como o brometo de alila.^{95,97,98} Os espectros de massas da Figura 94 mostram a reação íon/molécula entre o brometo de alila (120/122 Da) e o íon de m/z 108 formado a partir de ambos os precursores isoméricos. O íon de m/z 108 fragmenta-se prontamente para o íon de m/z 80 através da perda neutra de CO. O íon de m/z 80 reage através da reação de substituição do tipo $\text{S}_\text{H}2$ ⁹⁹ gerando o produto iônico da abstração do radical alila de m/z 121 (Esquema 24a), e o produto iônico da abstração de brometo radicalar de m/z 159 (Esquema 24b) e seu isotópologo de m/z 161. Este produtos iônicos são característicos da reatividade de íons distônicos.^{97,98}

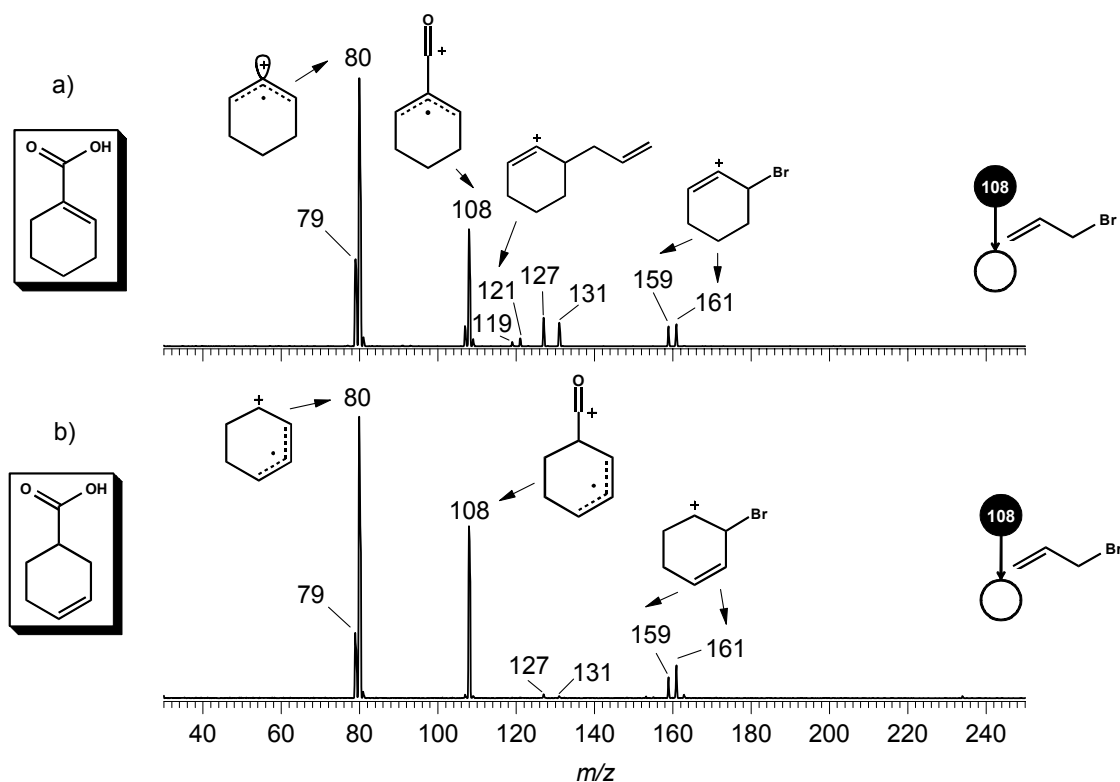
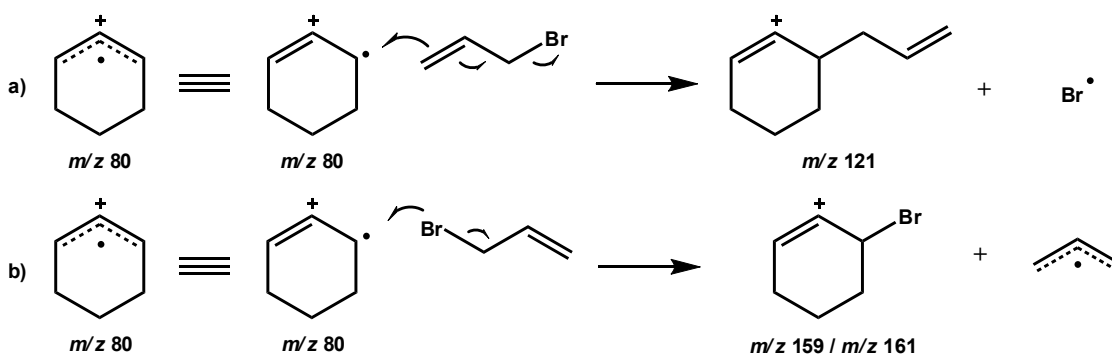
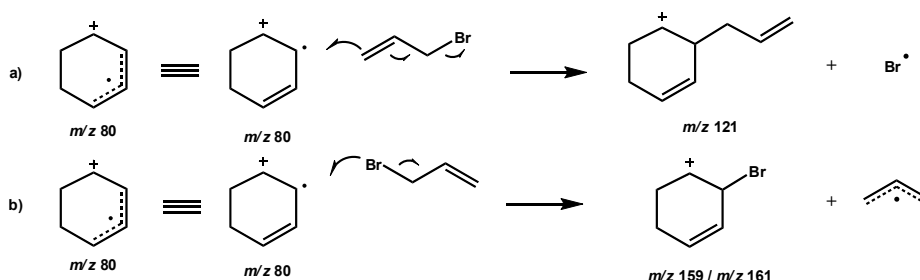


Figura 94 – Espectros de massas (MS^2) da reação íon/molécula entre brometo de alila e o íon de m/z 108 gerado a partir do ácido 1-ciclohexeno-1-carboxílico (a) e do ácido 1-ciclohexeno-3-carboxílico (b).

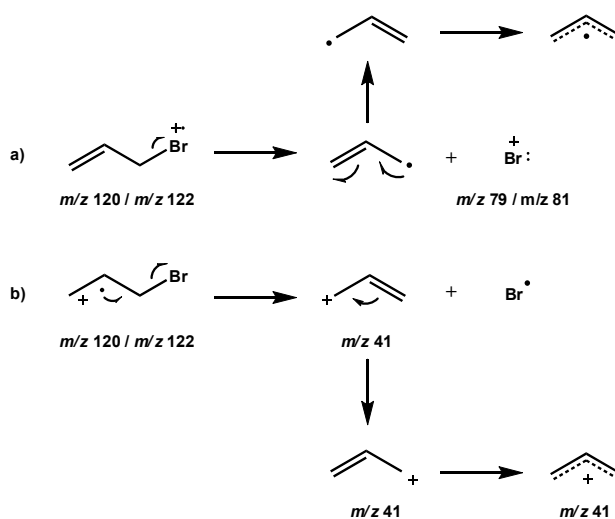


Esquema 24 – Reação de substituição (S_H2') entre o íon de m/z 80 gerado a partir do ácido 1-ciclohexeno-1-carboxílico com brometo de alila promovendo a alilação (a) e a bromação (b).

Como os produtos iônicos formados na reação com o íon de m/z 108 surgem da reação com o fragmento iônico de m/z 80, os espectros de massas da Figura 95 mostram a reatividade do íon de m/z 80 frente ao Brometo de alila. É interessante observar que não são formados os produtos iônicos de m/z 121 e m/z 159 esperados (Esquema 24 e Esquema 25). Porém, os espectros de massas exibem o cátion alila de m/z 41 e os íons de m/z 79 e m/z 81 referentes aos isotopólogos do bromo positivo radicalar. Estes provavelmente surgem da fragmentação do brometo de alila positivo radicalar de m/z 120 e m/z 122 de acordo com o mecanismo do Esquema 26. O Brometo de alila positivo radicalar não é observado nos espectros de massas. No entanto, são observados os íon de m/z 119 e m/z 121 provenientes do brometo de alila após abstração de hidreto.



Esquema 25 - Reação de substituição (S_H2) entre o íon de m/z 80 gerado a partir do ácido 1-ciclohexeno-3-carboxílico com brometo de alila promovendo a alilação (a) e a bromação (b).



Esquema 26 – Proposta de fragmentação do Brometo de alila positivo radicalar gerando o radical alila (a) e o cátion alila (b)

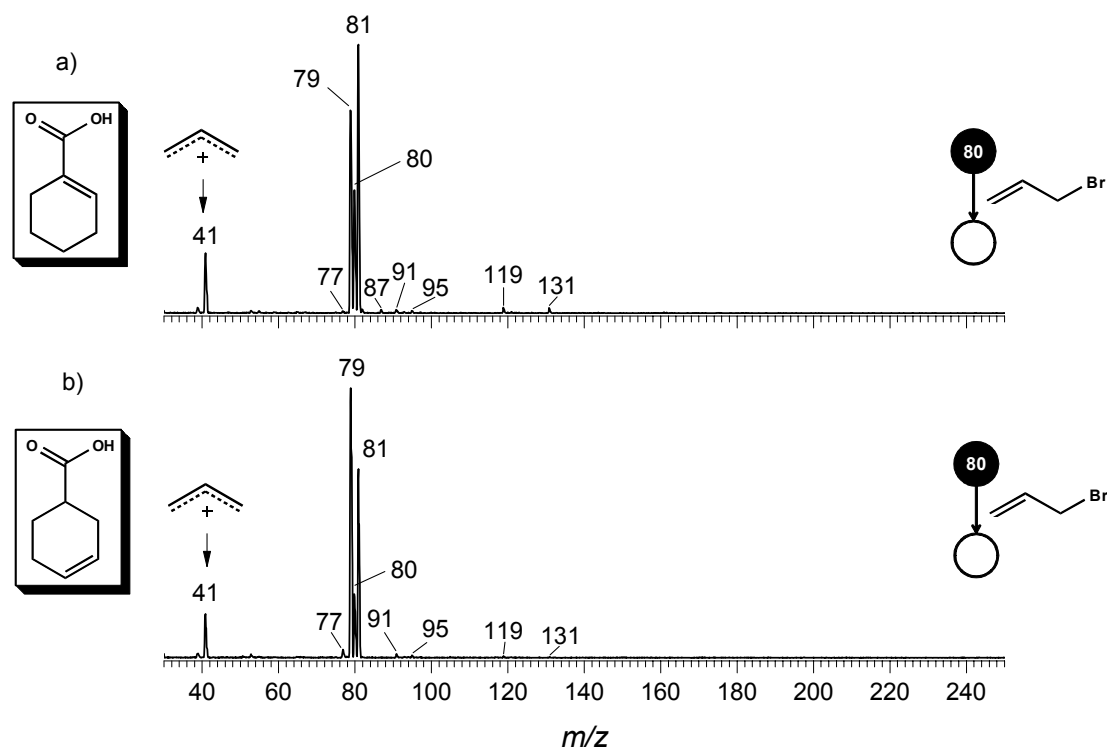


Figura 95 – Espectros de massas (MS^2) da reação íon/molécula entre brometo de alila e o íon de m/z 80 gerado a partir do ácido 1-ciclohexeno-1-carboxílico (a) e ácido 1-ciclohexeno-3-carboxílico (b).

Realizou-se um teste com o cloreto de alila para ver se este composto reagiria com maior rendimento que o brometo de alila. No entanto, os espectros de massas da Figura 96 mostram que o íon de m/z 108 é praticamente inerte ao cloreto de alila. Sendo observado apenas a típica fragmentação por perda neutra de CO gerando o íon de m/z 80.

Esperava-se que o íon de m/z 108 ou seu fragmento iônico de m/z 80 reagisse com o cloreto de alila de acordo com os mesmos mecanismos propostos para a reação com o brometo de alila (Esquema 24 e Esquema 25). No entanto, não são observados os produtos iônicos de m/z 121 e m/z 115 referentes a alilação e cloração do íon de m/z 80, respectivamente.

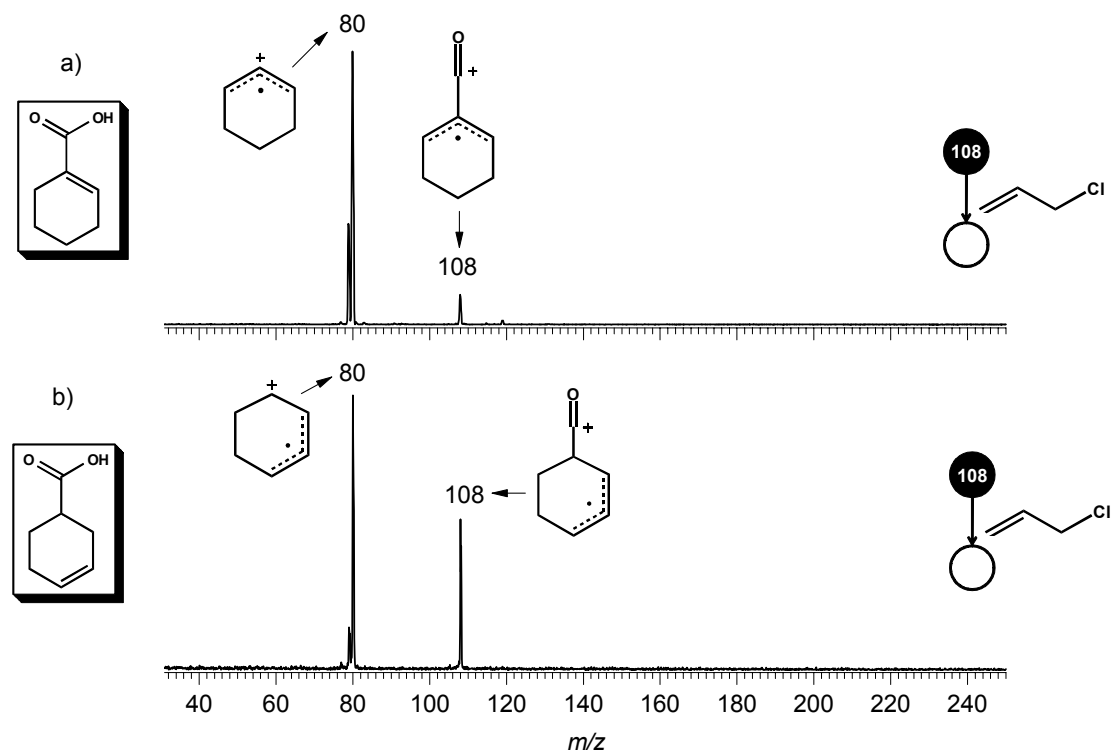


Figura 96 – Espectros de Massas (MS^2) da reação íon/molécula entre cloreto de alila e o íon de m/z 108 formado a partir do ácido 1-ciclohexeno-1-carboxílico (a) e do ácido 1-ciclohexeno-3-carboxílico.

4.5 – Metiltiofenos

Os isômeros de metiltiofenos diferem quanto à posição que o grupo metila está ligado ao anel (Figura 97). Os espectros de massas de varredura para ambos os isômeros (Figura 98) não permitem a distinção entre eles devido aos semelhantes caminhos dissociativos. O íon base, em ambos os espectros, é o íon de m/z 97, formado a partir da perda de um hidrogênio radicalar do íon molecular de m/z 98.

O íon de m/z 97 é um candidato a fragmento iônico diagnóstico de estrutura (FIDE). O primeiro passo foi submetê-lo à dissociação induzida por colisão para primeiro avaliar sua estrutura e segundo verificar se pelo comportamento dissociativo é possível diferenciar os precursores isoméricos. Portanto, o íon de m/z 97 foi selecionado em Q_1 e submetido a colisões com argônio em q_4 . Os espectros de massas de CID da Figura 99 mostram o comportamento dissociativo para o íon de m/z 97 formado por ambos os isômeros.

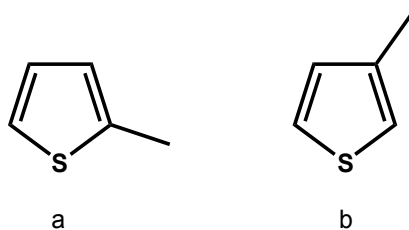


Figura 97 – Estruturas dos isômeros 2-metiltiofeno (a) e 3-metiltiofeno (b).

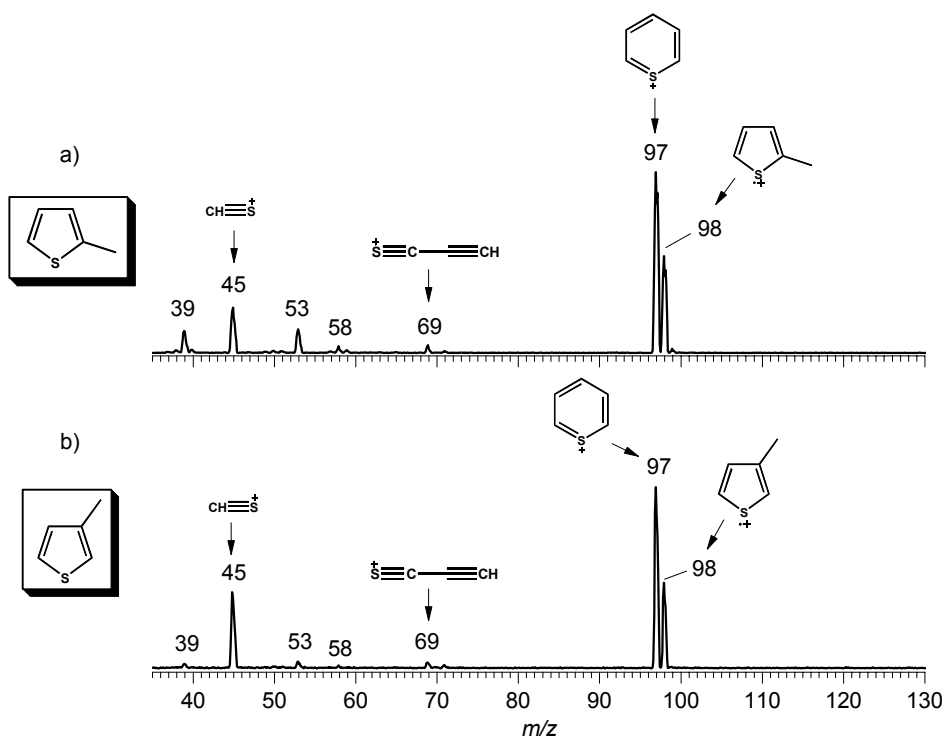


Figura 98 – Espectros de massas de varredura para os precursores isoméricos 2-metiltiofeno (a) e 3-metiltiofeno (b).

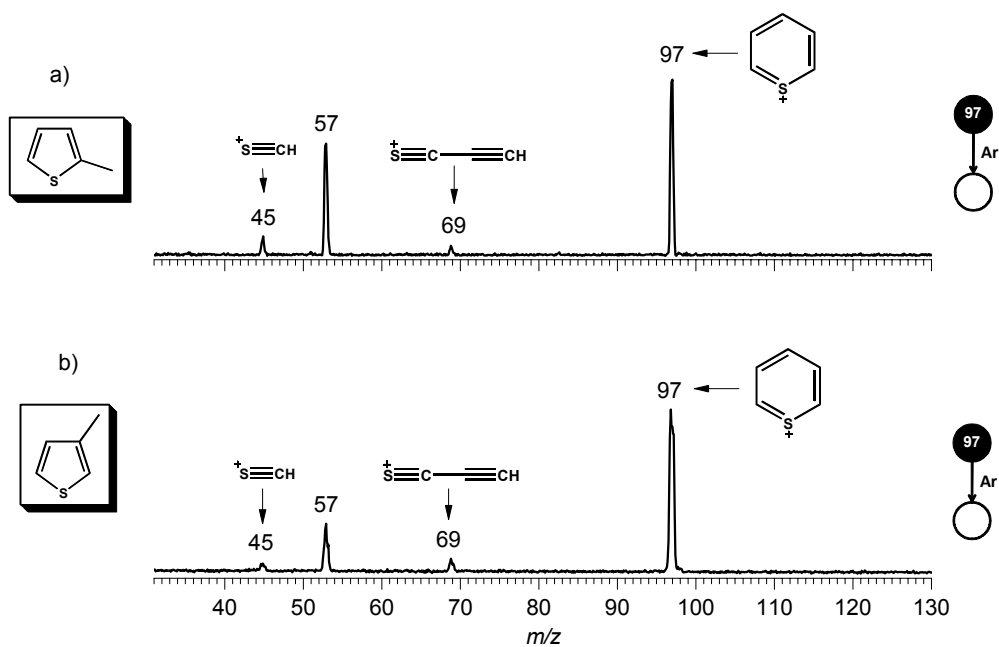


Figura 99 – Espectros de Massas (MS^2) de CID para o íon de m/z 97 formando pelos precursores isoméricos 2-metiltiofeno (a) e 3-metiltiofeno (b).

4.5.1 – Reação com etil vinil éter

A primeira abordagem foi a realização da reação entre o íon de m/z 97 com etil vinil éter. Os espectros de massas da Figura 100 exibem a pouca reatividade do íon de m/z 97 com o reagente neutro etil vinil éter. O espectro de massas da Figura 100a mostra o sinal de m/z 53 referente à dissociação do íon reagente de m/z 97. O sinal de m/z 101 trata-se do produto iônico formado pela reação entre duas moléculas de etil vinil éter já descrito por **Kenttämäa et al**¹⁰⁰

A ausência de reatividade surge da isomerização em fase gasosa após a perda radicalar de hidrogênio resultado da clivagem beta, levando à formação do íon tiopirílio de m/z 97 como mostra o Esquema 27. O íon tiopirílio¹⁰¹ é um anel de seis membros estabilizado por ressonância que o torna não reativo ao reagente neutro testado.

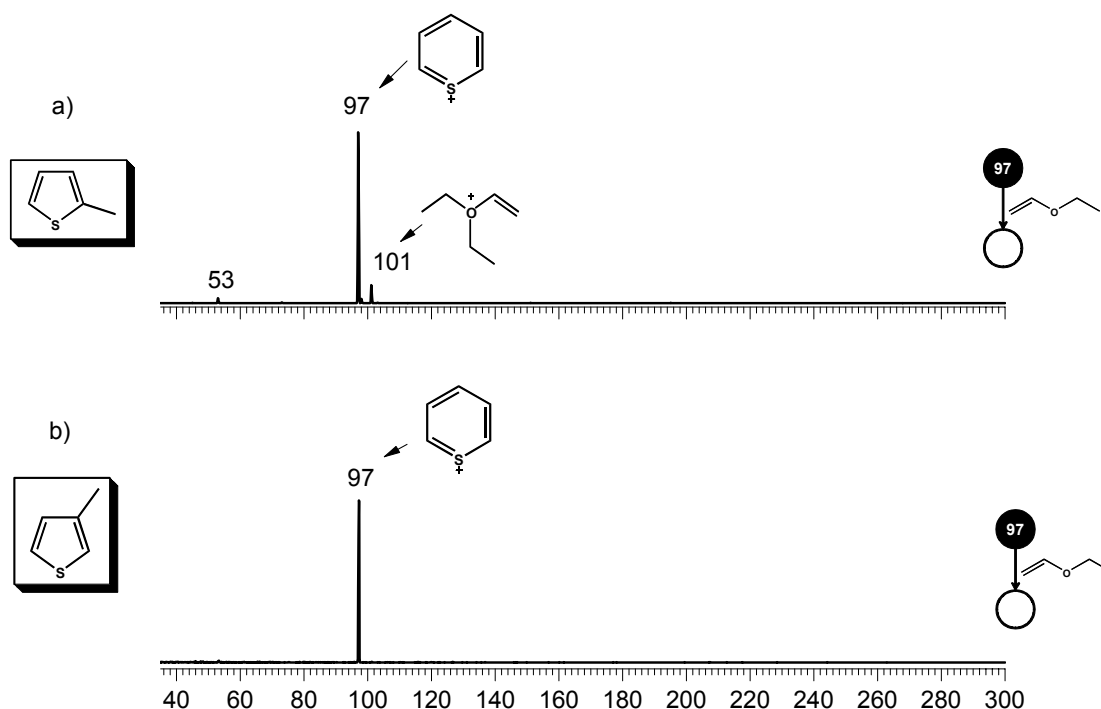
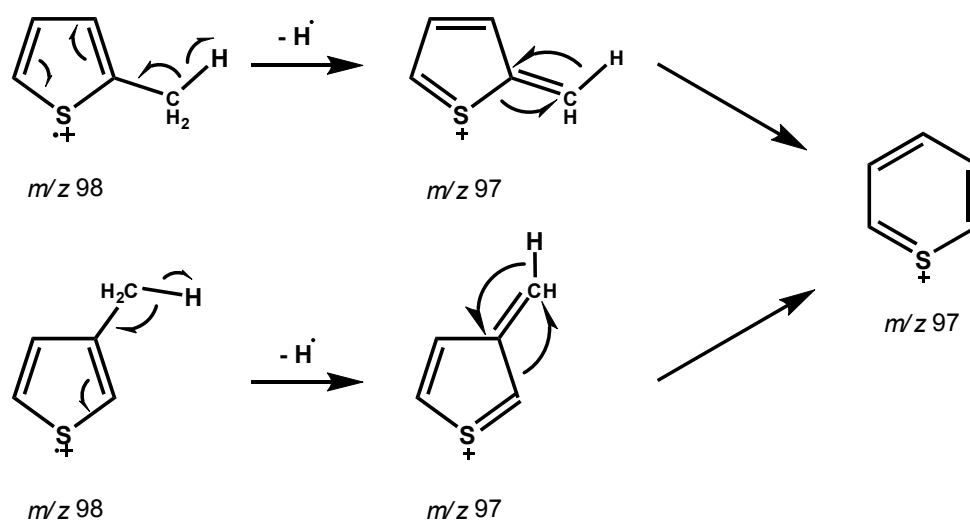


Figura 100 – Espectro de Massas (MS^2) da reação íon/molécula entre etil vinil éter e o íon de m/z 97 formado a partir dos precursores isoméricos 2-metiltiofeno (a) e 3-metiltiofeno (b).



Esquema 27 – Mecanismo de formação do íon tiopirílio de m/z 97.

Voltando-se aos espectros de massas de varredura (Figura 98), é possível encontrar outros íons comuns a ambos os precursores isoméricos e que podem ser mais reativos frente a reagentes neutros. A seguir estão os estudos de reatividade dos íons de m/z 45, m/z 53, m/z 69 e m/z 97 formados a partir do 2-metiltiofeno e 3-metiltiofeno reagindo com diferentes moléculas neutras como 2,2-metil-1,3-dioxolano e Isopreno.

4.5.2 – Reação com 2,2-dimetil-1,3-dioxolano

Nos estudos com o reagente 2,2-dimetil-1,3-dioxolano procurou-se avaliar se o íons de m/z 45, m/z 53, m/z 69 e m/z 97 reagiriam pela reação de Eberlin⁸³ e se a reatividade destes seriam contrastantes em fase gasosa, permitindo a diferenciação dos precursores isoméricos.

O espectro de massas da Figura 101 mostra a reatividade do íon de m/z 45 frente ao reagente 2,2-dimetil-1,3-dioxolano. O íon base deste espectro é a molécula de 2,2-dimetil-1,3-dioxolano protonada. O íon de m/z 45 é o cátion tioformila $\text{CH}\equiv\text{S}^+$, que pode reagir com 2,2-dimetil-1,3-dioxolano de maneira análoga ao íon acílio através da reação de Eberlin, gerando o produto iônico de m/z 89, que se trata de um íon oxationílio,^{57,102} como mostra o mecanismo do Esquema 28. O íon de m/z 87 é o íon dioxanílio formado depois da perda de uma metila do reagente 2,2-dimetil-1,3-dioxolano. Para ambos os isômeros, a reatividade do cátion tioformila é a mesma, não permitindo a diferenciação da isomeria constitucional.

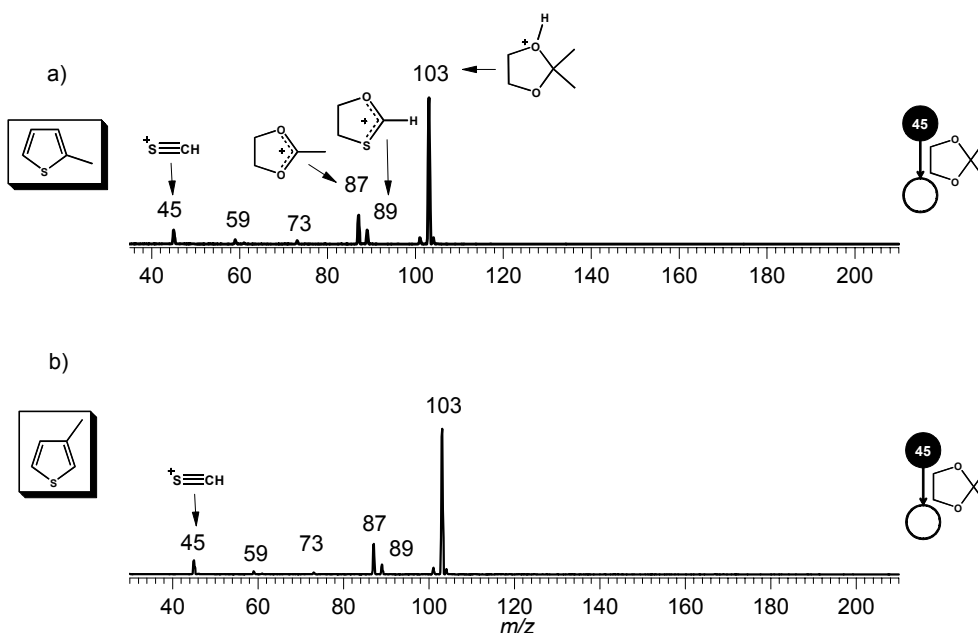
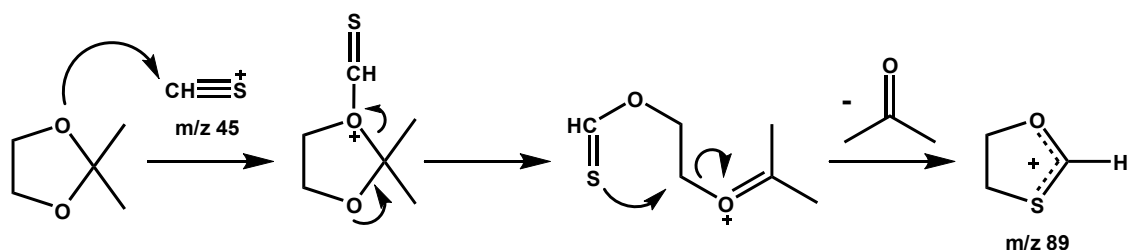


Figura 101 – Espectros de Massas (MS^2) da reação íon/molécula entre 2,2-dimetil-1,3-dioxolano e o íon tioformila de m/z 45 formado a partir dos precursores isoméricos de 2-metiltiofeno (a) e 3-metiltiofeno (b).



Esquema 28 – Mecanismo da reação de Eberlin entre o cátion tioformila de m/z 45 com 2,2-dimetil-1,3-dioxolano (102 Da).

O íon de m/z 53 também foi testado com o reagente 2,2-dimetil-1,3-dioxolano, como mostram os espectros de massas da Figura 102. Este íon apresentou pouca reatividade frente ao reagente neutro, sendo possível observar a molécula protonada de 2,2-dimetil-1,3-dioxolano evidenciada pelo sinal de m/z 103 e o íon de m/z 87, resultado da perda de metila do íon de m/z 103. Ambos os espectros apresentaram os sinais de mesma m/z , não permitindo a diferenciação dos precursores isoméricos.

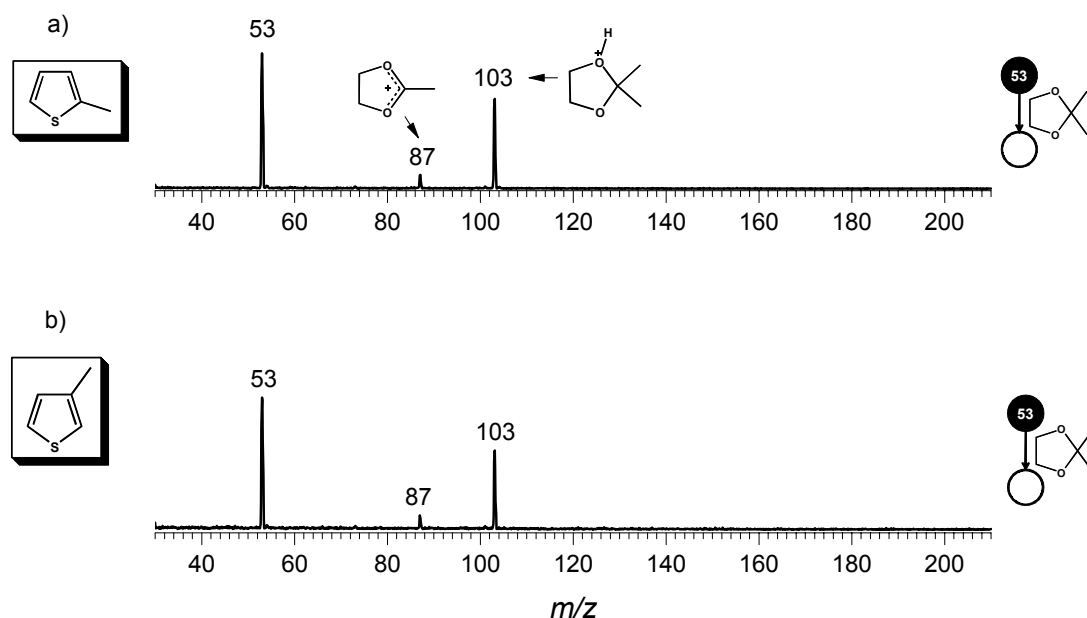
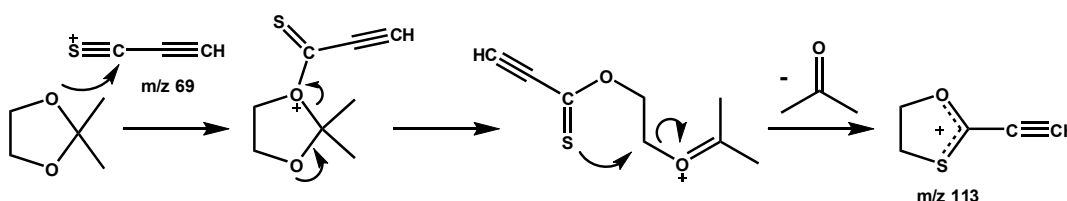


Figura 102 – Espectros de massas (MS²) da reação íon/molécula realizada entre 2,2-dimetil-1,3-dioxolano e o íon de m/z 53 formado a partir dos precursores isoméricos 2-metiltiofeno (a) e 3-metiltiofeno (b).

Para o íon de m/z 69 é possível observar o produto iônico de m/z 113 formado pela reação de Eberlin entre o íon de m/z 69 e 2,2-dimetil-1,3-dioxolano, com mostra o mecanismo do Esquema 29. Além deste produto iônico, estão presentes os sinais já observados anteriormente, da molécula protonada de 2,2-dimetil-1,3-dioxolano e o fragmento de m/z 87 resultado da perda de metila do reagente neutro (Figura 103). O íon de m/z 69 formado por ambos os isômeros apresenta a mesma reatividade frente ao reagente neutro, não permitindo a diferenciação dos precursores isoméricos.



Esquema 29 – Mecanismo de formação do produto iônico de m/z 113 através da reação de Eberlin.

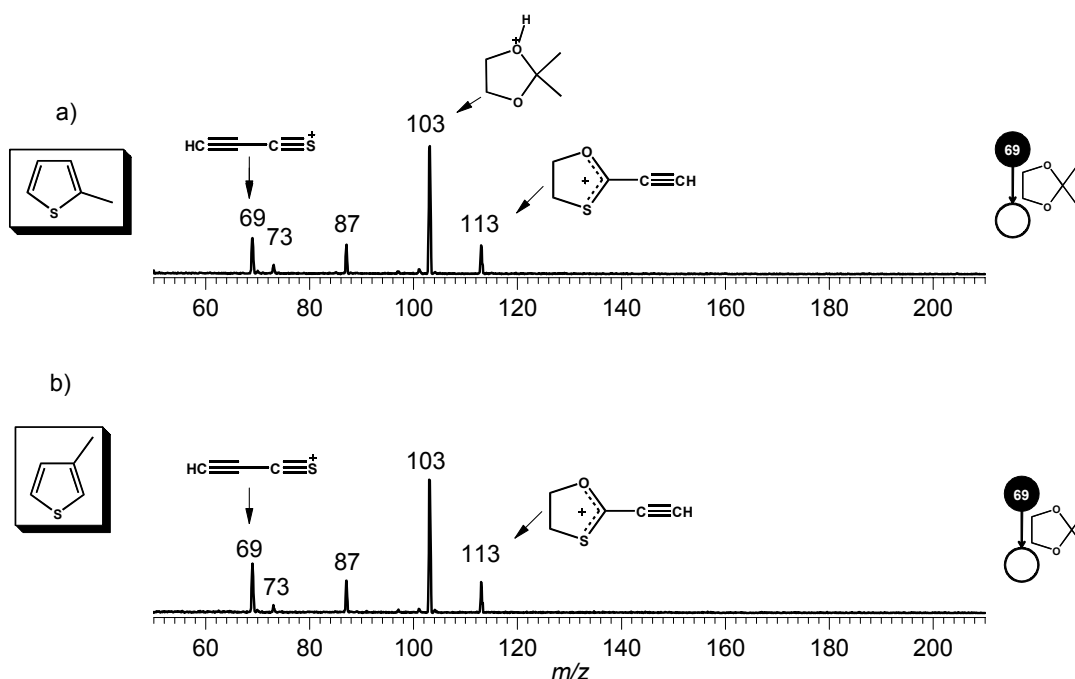


Figura 103 – Espectros de massas (MS^2) da reação íon/molécula realizada entre 2,2-dimetil-1,3-dioxolano e o íon de m/z 69 formado a partir dos precursores isoméricos 2-metiltiofeno (a) e 3-metiltiofeno (b).

Mais uma vez, foi testada a reatividade do íon tiopirílio de m/z 97 frente ao reagente 2,2-dimetil-1,3-dioxolano. Os espectros de massas da Figura 104 mostram o quanto este íon é inerte, pois quase não há formação de produtos iônicos, com a exceção do sinal de m/z 103, que se trata da molécula protonada de 2,2-dimetil-1,3-dioxolano (102 Da).

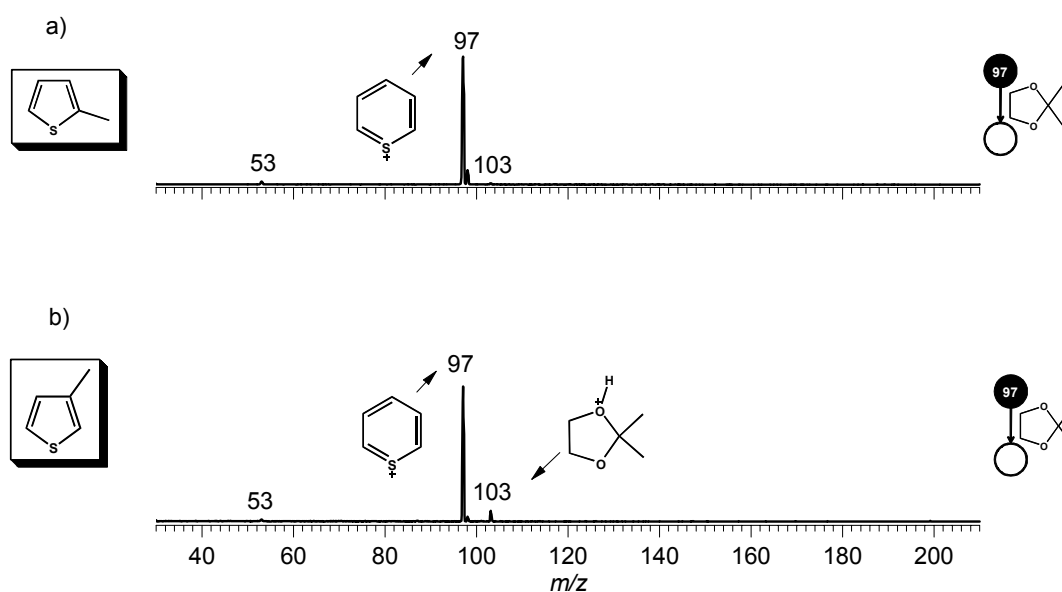


Figura 104 – Espectros de massas (MS^2) da reação íon/molécula realizada entre 2,2-dimetil-1,3-dioxolano e o íon tiopirílio de m/z 97 formado a partir dos precursores isoméricos 2-metiltiofeno (a) e 3-metiltiofeno (b).

4.5.3 – Reação com Isopreno

Mudando-se a abordagem, os testes a seguir mostram a reatividade dos íon de m/z 45, m/z 69 e m/z 97 frente ao dieno isopreno. A Figura 105 mostra os espectros de massas da reação entre o cátion tioformila de m/z 45 formado a partir de ambos os precursores isoméricos, 2-metiltiofeno e 3-metiltiofeno, com o reagente neutro. Uma vez em fase gasosa, dentro da cela de reação em q_2 , ocorre a polimerização do isopreno evidenciado pelos sinais de m/z 81, m/z 95, m/z 121, m/z 135, m/z 147 e m/z 149, que são descritos por **Eberlin & Cooks**⁵⁸. O sinal de m/z 67 é referente à molécula desprotonada de isopreno e o íon de m/z 69 é a molécula protonada de isopreno. Ao se comparar os espectros vê-se que o íon de m/z 45 é pouco reativo frente ao isopreno e não permite a diferenciação dos isômeros.

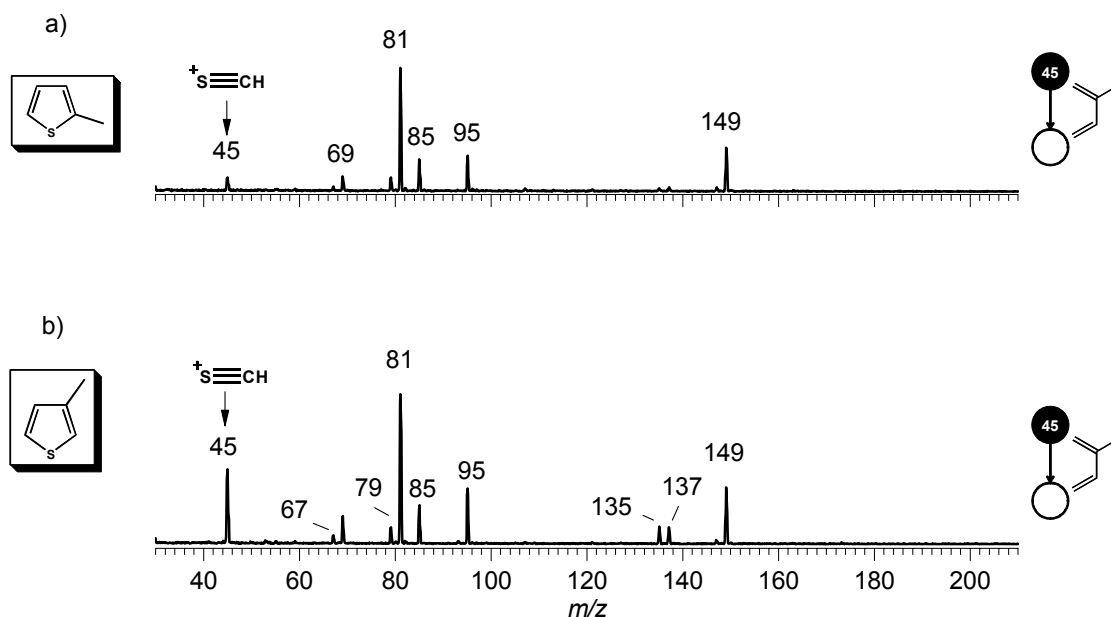


Figura 105 – Espectros de massas (MS^2) da reação íon/molécula realizada entre isopreno e o cátion tioformila de m/z 45, formado a partir dos precursores isoméricos 2-metiltiofeno (a) e 3-metiltiofeno (b).

Os espectros de massas da Figura 106 mostram a reação entre o isopreno e o íon de m/z 69, que mostrou ser pouco reativo. Mais uma vez apenas os sinais dos produtos iônicos da polimerização em fase gasosa do isopreno estão presentes nos espectros de massas. Não foi possível a diferenciação dos isômeros pela reatividade deste íon.

Por último foi realizado um teste com o íon tiopirílio de m/z 97 reagindo-o com isopreno. A Figura 107 mostra os espectros de massas para ambos os precursores isoméricos. Apesar de ser pouco reativo foi possível observar o produto iônico de m/z 165, fruto da cicloadição [4 + 2] de uma molécula de isopreno ao íon tiopirílio de m/z 97.

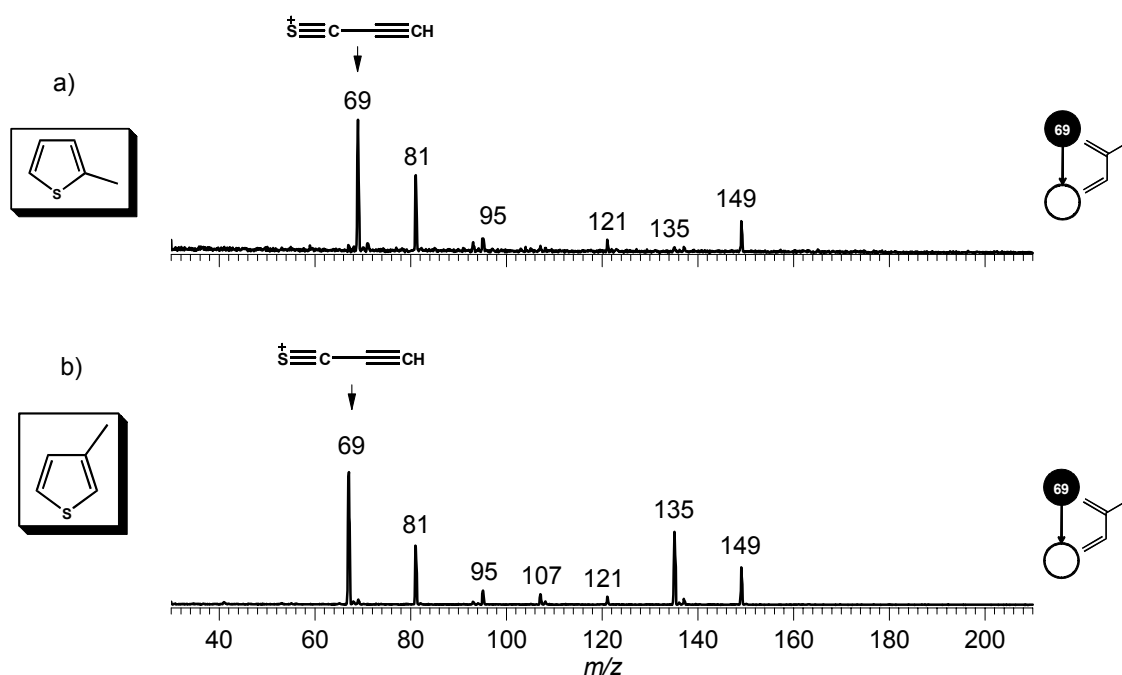


Figura 106 – Espectros de massas (MS^2) da reação íon/molécula realizada entre isopreno e o íon de m/z 69, formado a partir dos precursores isoméricos 2-metiltiofeno (a) e 3-metiltiofeno (b).

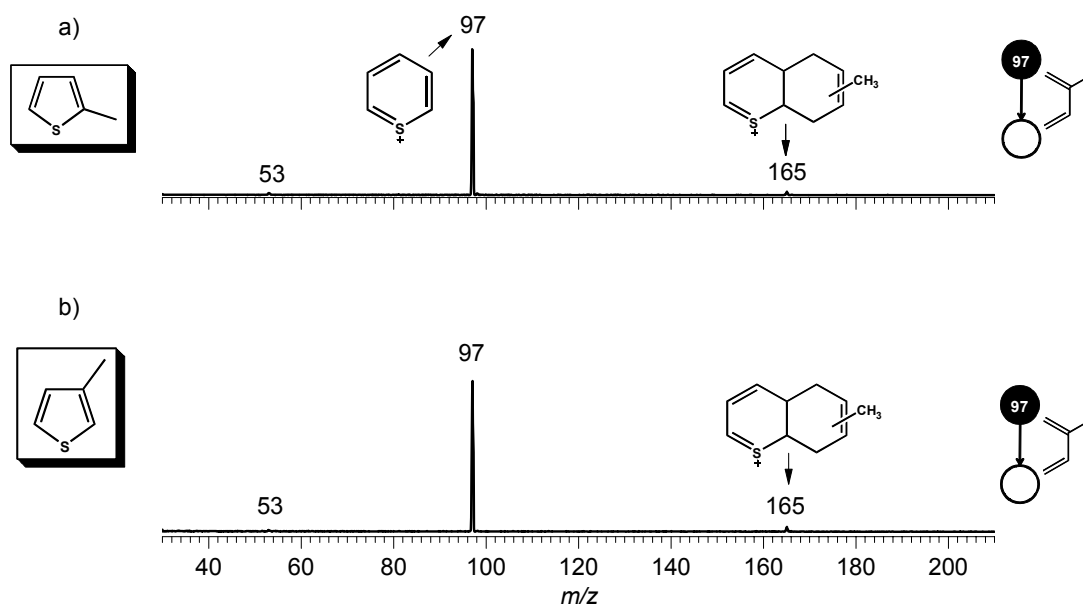


Figura 107 – Espectros de massas (MS²) da reação íon/molécula realizada entre isopreno e o íon tiopirílio m/z 97, formado a partir dos precursores isoméricos 2-metiltiofeno (a) e 3-metiltiofeno (b).

4.6 – Metilpiperidinas

Os isômeros de metilpiperidinas diferenciam-se de acordo com o grupo metila que está ligado ao anel piperidínico (Figura 108). As metilpiperidinas ao se dissociarem formam íons azabutadienos em fase gasosa e estes íons são estáveis no ambiente livre de solvente que é proporcionado pelo pentaquadrupolo. Além disso são íons que não sofrem rearranjo em fase gasosa, característica importante para manter a informação estrutural do precursor isomérico.

Augusti et al⁶⁴ estudaram a reatividade de íons azabutadienos em fase gasosa e observaram que estes reagem por cicloadição polar. Mais tarde, **Meurer et al**⁷¹ observaram a reatividade de diferentes tipos de íons 2-azabutadienílicos frente a etil vinil éter, explorando a reatividade destes íons através de cicloadição polar $[4^+ + 2]$. No entanto, os estudos citados não exploraram a possibilidade de diferenciar as moléculas precursoras isoméricas que possam gerar íons azabutadienos. Baseado neste estudos foi selecionado o conjunto das metilpiperidinas, por ser uma classe de isômeros que geram íons azabutadienos.

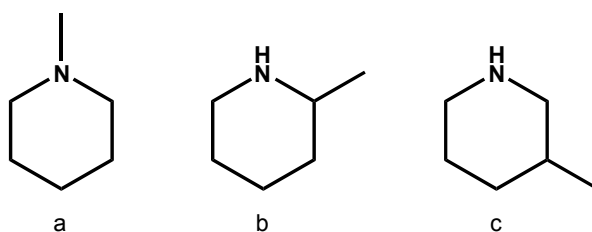


Figura 108 – Estruturas dos isômeros 1-metilpiperidina (a), 2-metilpiperidina (b) e 3-metilpiperidina (c).

Os espectros de massas de varredura (Figura 109) para os três isômeros mostram os mesmos caminhos dissociativos. Para todos os isômeros, o íon molecular de m/z 99 fragmenta-se por perda de hidrogênio radicalar formando o íon de m/z 98, que é o íon base no espectro de massas de varredura para a 1-metilpiperidina. Outro caminho dissociativo do íon de m/z 99 é através de perda de metila radicalar gerando o íon de m/z 84 (Esquema 30), gerado por todos os isômeros, sendo o íon base apenas no espectro de massas de varredura da 2-metilpiperidina.

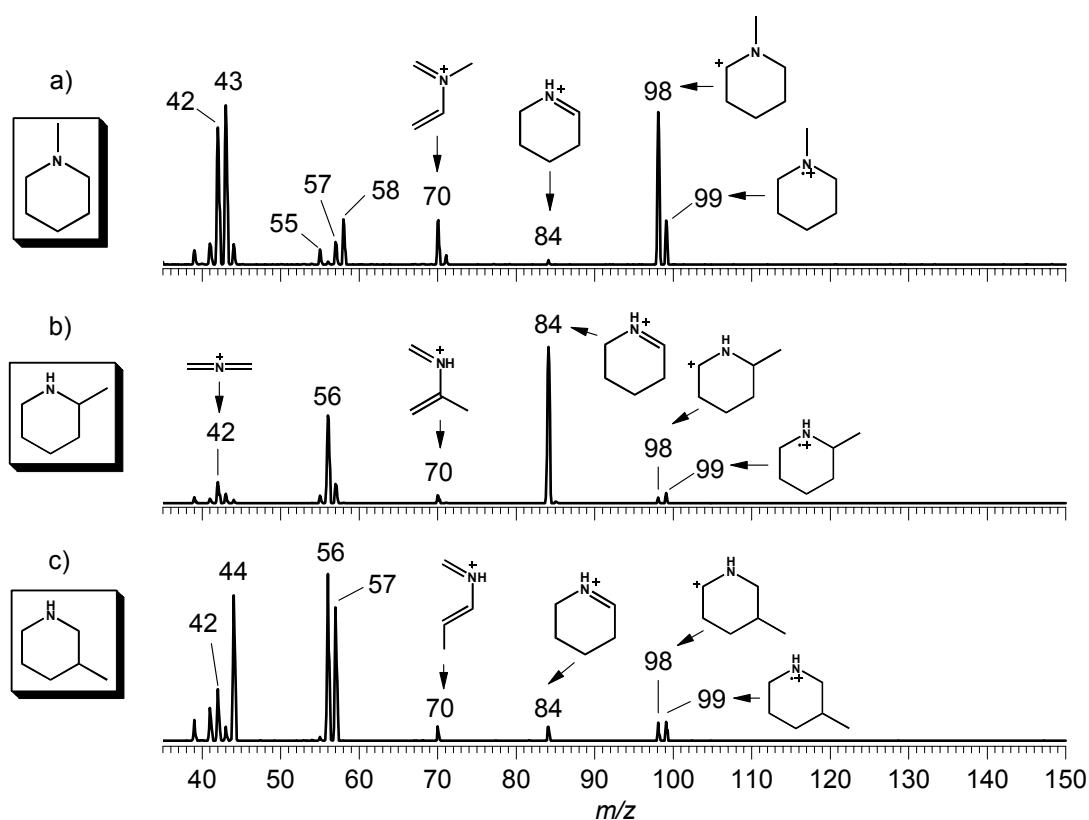
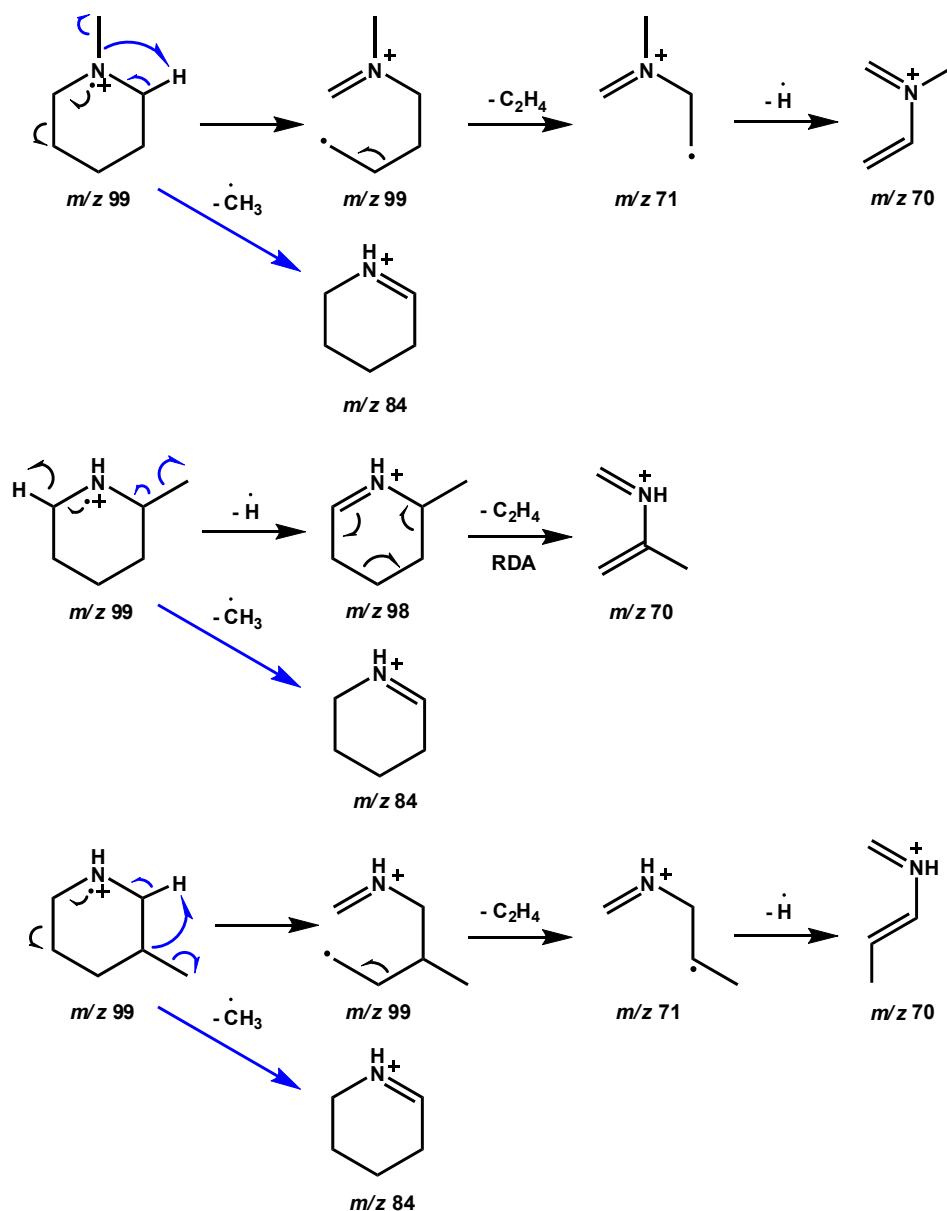


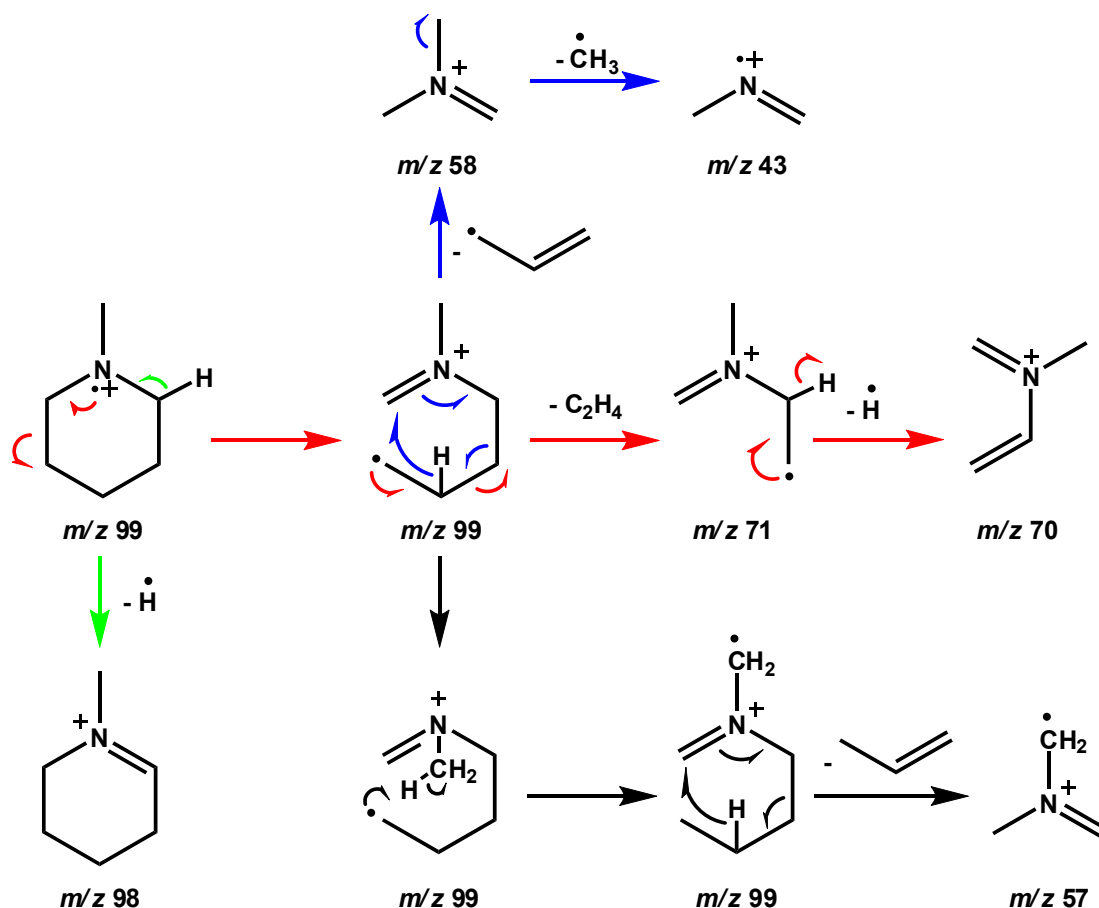
Figura 109 – Espectros de Massas de varredura obtidos com EI a 70 eV dos isômeros 1-metilpiperidina (a), 2-metilpiperidina (b) e 3-metilpiperidina (c).

O íon de m/z 70 é um íon azabutadieno formado através da perda de eteno (28 Da) a partir do íon de m/z 98 (Esquema 30). Espera-se que o íon de m/z 70 seja o fragmento iônico diagnóstico de estrutura (FIDE), pois este pode ter diferentes estruturas químicas de acordo com o precursor isomérico que o gera e isto pode levar a reatividades distintas em fase gasosa.



Esquema 30 – Principais fragmentações do íon de m/z 99, gerado a partir dos precursores isoméricos 1-metilpiperidina (a) 2-metilpiperidina (b) e 3-metilpiperidina (c).

O Esquema 31 é baseado nas propostas de **Budzikiewicz et al**¹⁰¹ e mostra os principais caminhos dissociativos da 1-metilpiperidina. A formação do íon azabutadieno de m/z 70 se dá pela perda de eteno (28 Da) gerando o íon de m/z 71 que por sua vez sofre uma perda radicalar de hidrogênio levando ao íon azabutadieno. A partir do íon de m/z 99 três caminhos de fragmentação são possíveis. Um deles é através da perda de radical alila levando ao íon de m/z 58, que por sua vez perde metila radicalar levando ao íon de m/z 43. O segundo é através da perda neutra de propeno (42 Da), levando ao íon de m/z 57. E o terceiro caminho dissociativo é através da perda de hidrogênio radicalar levando ao íon de m/z 98.



Esquema 31 – Principais caminhos dissociativos da 1-metilpiperidina.

Como já foi mostrado no Esquema 30b, a 2-metilpiperidina fragmenta-se por clivagem alfa perdendo hidrogênio radicalar, e gerando o íon de m/z 98. De acordo com **McLafferty & Turececk**²², este íon de m/z 98 sofre uma perda neutra de eteno através de Retro-Diels-Alder (RDA) levando ao íon m/z 70.

Ao ser submetido à dissociação induzida por colisão, o íon de m/z 70 formado a partir da 1-metilpiperidina (Figura 110a) sofre perda neutra de eteno (C_2H_2), gerando o fragmento iônico de m/z 42, que é o íon base do espectro. Também são observados os fragmentos iônicos de m/z 43, referente ao cátion isopropila e o íon de m/z 56, com um sinal de baixa intensidade.

O íon de m/z 70 formado a partir da 2-metilpiperidina (Figura 110b) sofre a perda neutra de HCN ou HNC (27 Da), gerando o cátion isopropila de m/z 43. No espectro de massas (Figura 110b) também é possível observar o íon de m/z 56, porém este é um caminho dissociativo favorável, diferente da dissociação do FIDE de m/z 70 gerado a partir da 1-metilpiperidina. O íon de m/z 42 também é observado no espectro de massas.

A fragmentação do FIDE de m/z 70, gerado a partir da 3-metilpiperidina (Figura 110c), apresenta dois caminhos dissociativos que não são observados nas dissociações anteriores: a formação dos fragmentos iônicos de m/z 39 e m/z 41. O íon de m/z 41 é o cátion propenílio formado a partir da perda neutra de uma metanimina (29 Da). O íon de m/z 39 é o cátion propildienílico, formado através da perda neutra de metilamina (31 Da). O espectro de massas exhibe os mesmos caminhos dissociativos dos isômeros anteriores, ou seja, são observados os íons de m/z 42, m/z 43 e m/z 56.

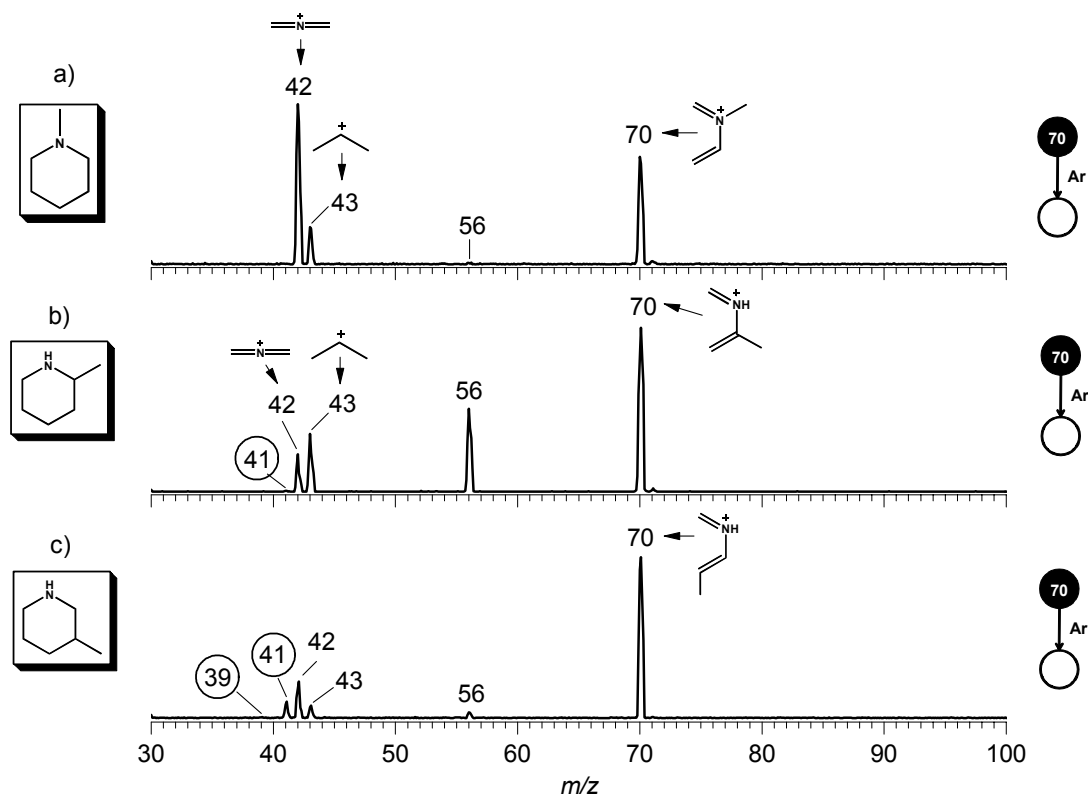


Figura 110 – Espectro de Massas (MS^2) de CID para o FIDE de m/z 70 formado a partir da 1-metilpiperidina (a), 2-metilpiperidina (a), 3-metilpiperidina (c).

Os experimentos de CID permitiram a atribuição de configuração dos precursores isoméricos. Se o FIDE de m/z 70 não formar os íons de m/z 39 e m/z 41 ao se dissociar, o precursor isomérico é uma metilpiperidina substituída na posição 1. Se o FIDE de m/z 70 formar o fragmento iônico de m/z 41 mas não formar o íon de m/z 39, trata-se de íon azabutadieno gerado a partir da 2-metilpiperidina. E se ambos os fragmentos iônicos de m/z 39 e m/z 41 forem formados na dissociação do íon de m/z 70, pode-se inferir que o precursor isomérico é uma metilpiperidina substituída na posição 3.

Apesar de haver diferenças nas intensidades dos fragmentos iônicos, para os espectros de CID apresentados, este método não procura atribuir configuração por análise comparativa. Os dados de CID são conclusivos para se atribuir configuração metilpiperidinas com apenas um espectro de massas.

4.6.1 – Reação com Etil Vinil Éter

O reagente etil vinil éter foi utilizado nesta abordagem por já ter sido mencionado nos estudos anteriores realizados por **Augusti et al**⁶⁴, **Meurer et al**⁷¹ e **Meurer & Eberlin**⁸⁵.

Os espectros de massas da Figura 111 mostram a reatividade do FIDE de m/z 70 gerado por diferentes precursores isoméricos com o dienófilo etil vinil éter. É possível observar o aduto de m/z 142, resultado da adição entre o íon de m/z 72 e o etil vinil éter (Esquema 32). Os espectros de massas de CID para o íon de m/z 142 mostram como principal caminho dissociativo a perda neutra de etanol (46 Da), fragmentação esta típica dos adutos de éteres vinílicos,⁶⁴ além de restaurar o íon azabutadieno de m/z 70. O íon de m/z 101 é o etil vinil éter etilado já discutido anteriormente.

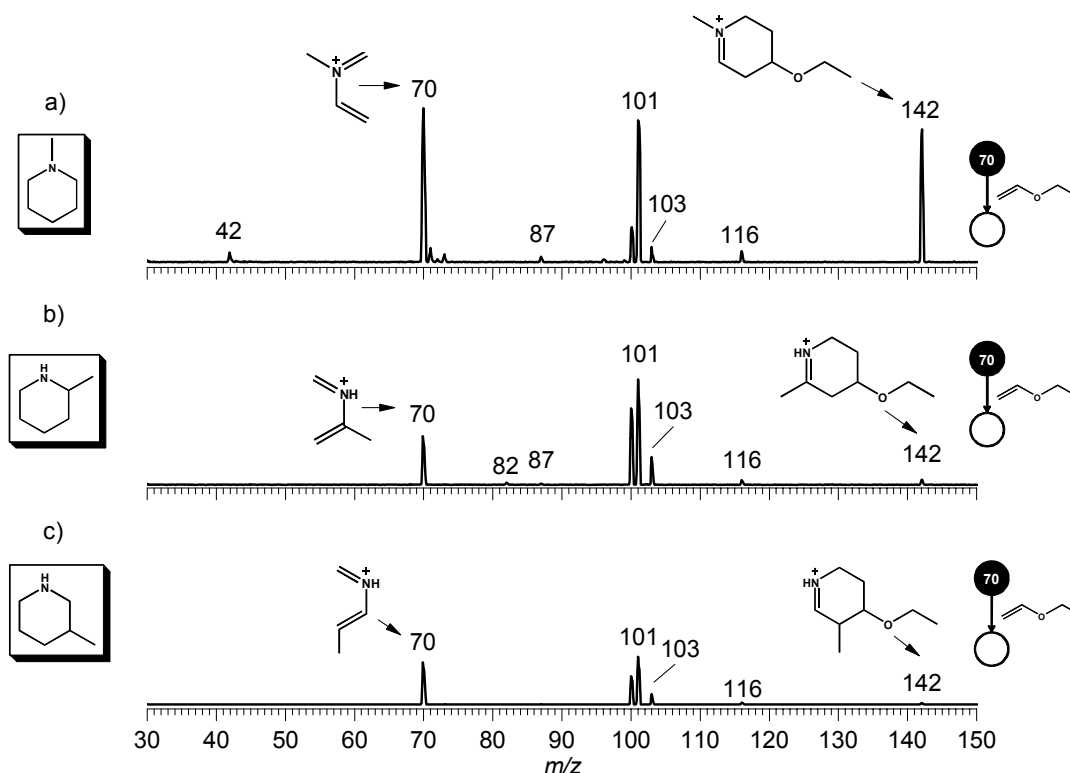
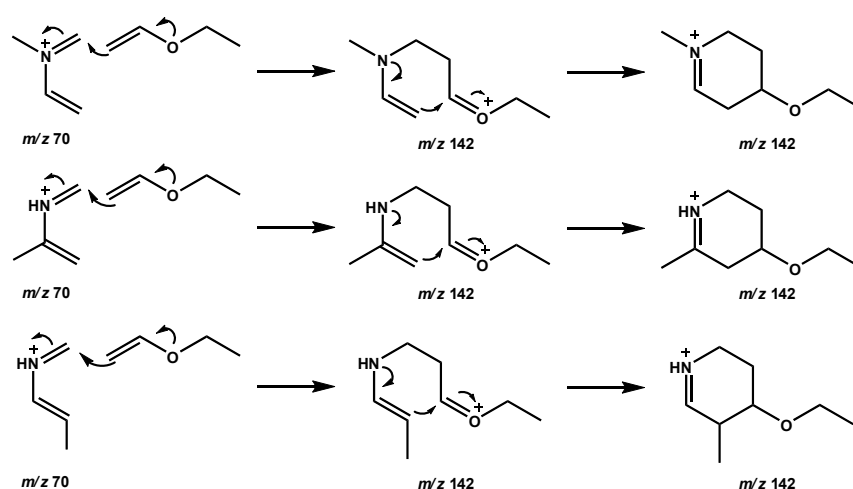


Figura 111 – Espectros de massas (MS^2) da reação íon/molécula entre etil vinil éter e o íon azabutadieno de m/z 70 gerado a partir da 1-metilpiperidina (a), 2-metilpiperidina (b), 3-metilpiperidina (c).



Esquema 32 – Mecanismo proposto para a adição de etil vinil éter ao íon de m/z 70.

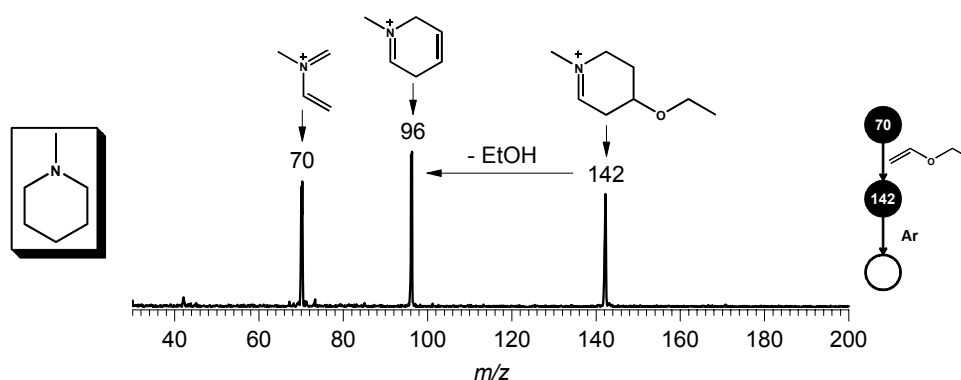


Figura 112 – Espectro de Massas (MS^3) de CID para o produto iônico de m/z 142 formado na reação íon/molécula entre etil vinil éter e o FIDE de m/z 70 gerado a partir da 1-metilpiperidina.

Não foi possível identificar os íons de m/z 103 e m/z 116, formados nas três reações. Os espectros de massas de CID para o íon de m/z 103 mostram sucessivas perdas de eteno (28 Da), gerando os fragmentos de m/z 75 e m/z 47 (Figura 113). O mesmo comportamento é observado para o íon de m/z 116 que perde eteno (28 Da) gerando o fragmento iônico de m/z 88, que por sua vez perde eteno formando o íon de m/z 60 (Figura 114).

Nesta abordagem são formados produtos iônicos de mesma m/z para as três reações mostradas (Figura 111). Logo, não é possível atribuir a isomeria constitucional dos precursores através da reação com etil vinil éter.

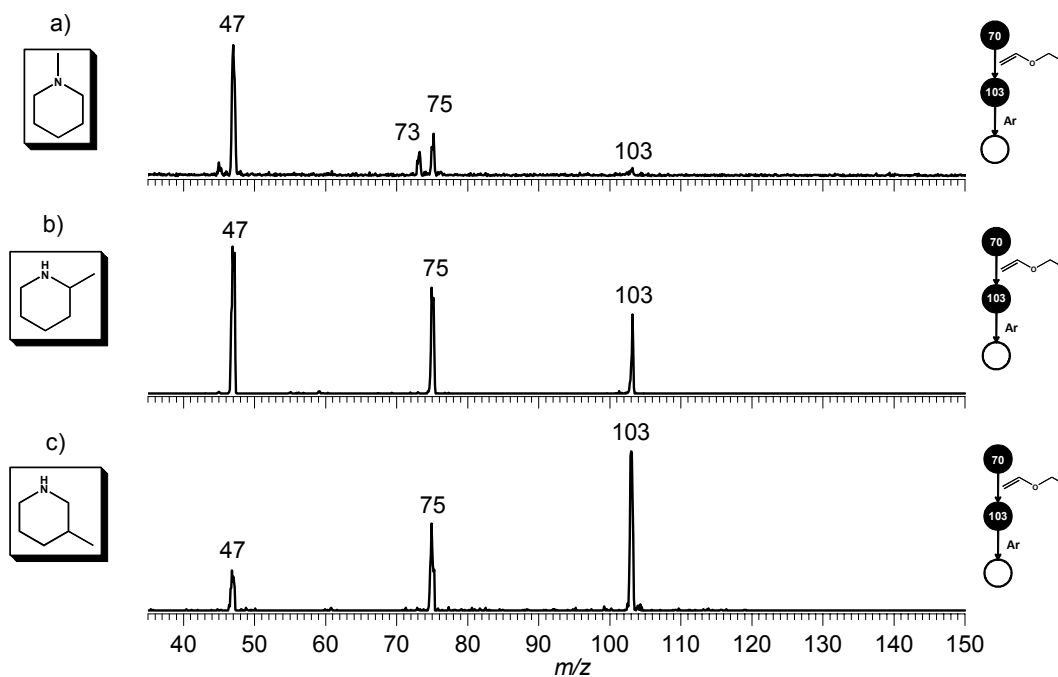


Figura 113 – Espectros de massas (MS³) de CID para o produto iônico de m/z 103 formado na reação íon/molécula entre etil vinil éter e o FIDE de m/z 70 gerado a partir da 1-metilpiperidina (a), 2-metilpiperidina (b) e 3-metilpiperidina (c).

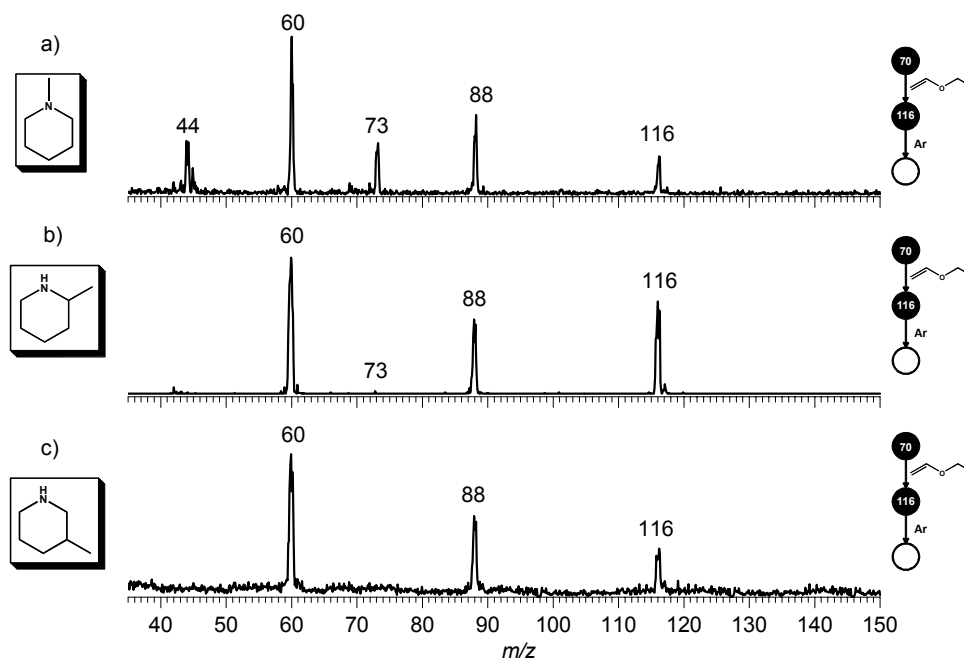


Figura 114 – Espectros de massas (MS³) de CID para o produto iônico de m/z 116 formado na reação íon/molécula entre etil vinil éter e o FIDE de m/z 70 gerado a partir da 1-metilpiperidina (a), 2-metilpiperidina (b) e 3-metilpiperidina (c).

4.6.2 – Reações com Nitrilas

Foram testadas duas nitrilas, a propionitrila e acrilonitrila, reagindo com o íon de m/z 70, formado pelos três precusores isoméricos. Os íons azabutadienos podem reagir por cicloadição com nitrilas e de fato este comportamento foi observado nos espectros de massas da Figura 115, onde o íon de m/z 70 reage com uma molécula de propionitrila (55 Da), formando o cicloaduto de m/z 125, que é observado em todos os espectros. O íon de m/z 56 pode ser um fragmento gerado a partir do íon de m/z 70, no entanto, é mais provável que este sinal seja a propionitrila protonada, $[M + H]^+$ e o sinal de m/z 111 seja o dímero de propionitrila. O íon de m/z 155 surge da adição de uma propionitrila ao íon de m/z 100. Devido à reatividade dos diferentes íons azabutadienos mostrarem produtos iônicos de mesma m/z , esta abordagem não permite a diferenciação dos precusores isoméricos.

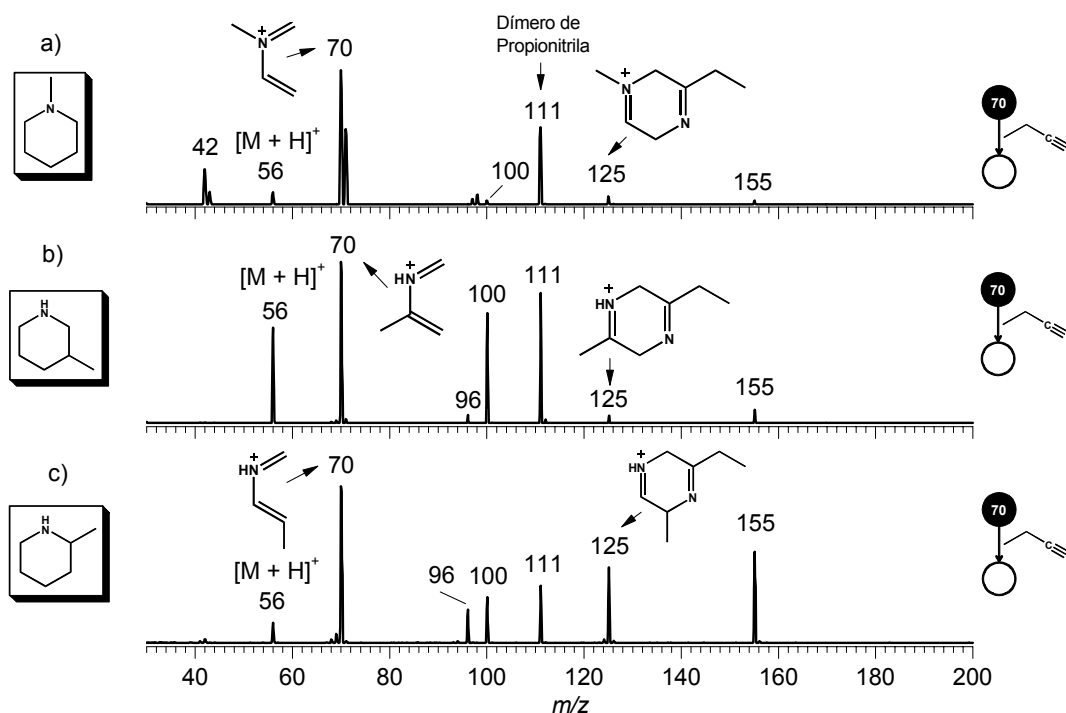


Figura 115 – Espectros de Massas (MS^2) da reação íon/molécula entre propionitrila e o FIDE de m/z 70 formado a partir da 1-metilpiperidina (a), 2-metilpiperidina (b) e 3-metilpiperidina (c).

Na reação do íon azabutadieno de m/z 70 com acrilonitrila (53 Da) é formado o cicloduto de m/z 123 (Figura 116). Apesar dos parâmetros da cela de colisão estarem ajustados para reação íon/molécula, o íon azabutadieno de m/z 70 dissocia-se para os fragmentos iônicos de m/z 56 e m/z 42. O fragmento de m/z 56 reage com uma molécula de acrilonitrila formando o aduto de m/z 109. O íon de m/z 54 é o reagente acrilonitrila protonado, $[M + H]^+$, e o íon de m/z 107 é o dímero de acrilonitrila, $[2M + H]^+$. O íon de m/z 153 surge da adição de acrilonitrila ao íon de m/z 100. Este íon de m/z 100 é observado nas reações anteriores e também é observado nas reações descritas a seguir. Como as metilpiperidinas apresentam massa molecular de 99,07 Da é possível que o íon de m/z 100 seja a forma protonada das metilpiperidinas que são formadas na fonte e conseguem chegar ao detector apesar das seleções ao longo da câmara de vácuo. As reações com acrilonitrila não permitiram a distinção entre as moléculas precursoras de metilpiperidinas.

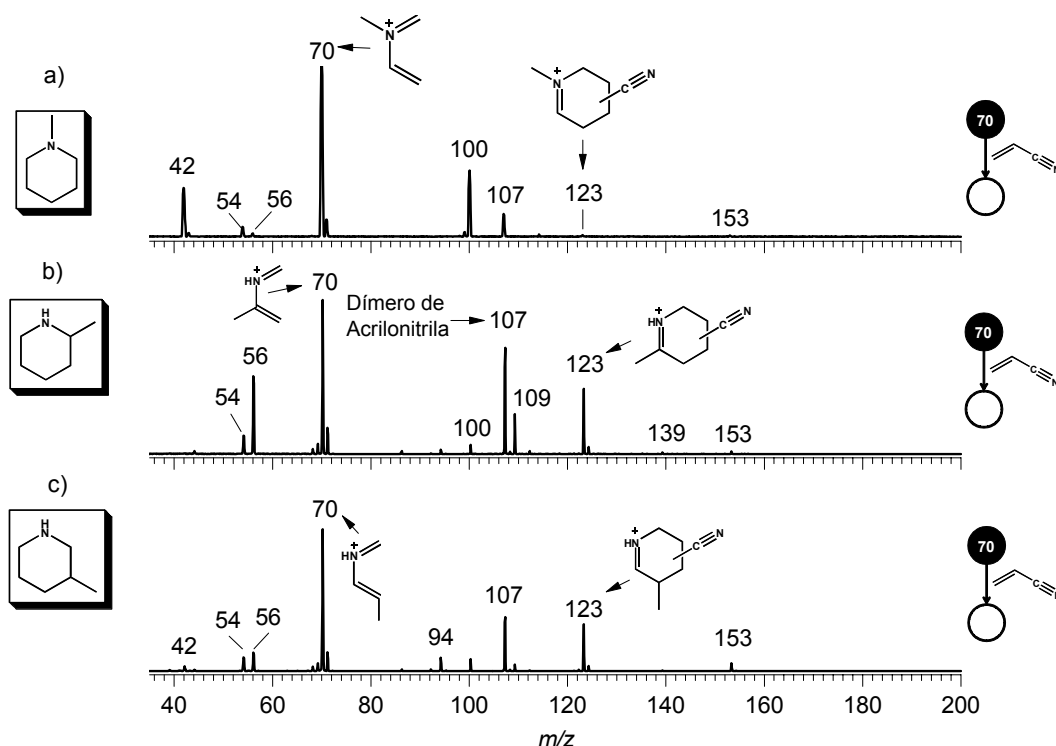


Figura 116 – Espectros de massas (MS²) da reação íon/molécula entre acrilonitrila e o FIDE de m/z 70 formado a partir da 1-metilpiperidina (a), 2-metilpiperidina (b) e 3-metilpiperidina (c).

4.6.3 – Reação com Isopreno

Os espectros da Figura 117 mostram que os íons azabutadienos de m/z 70 não reagem por cicloadição com isopreno, por não ser observado o cicloaduto esperado de m/z 138. No entanto, o fragmento iônico de m/z 56, gerado a partir do íon de m/z 70, reage com isopreno gerando o aduto de m/z 124. Os íons de m/z 81, m/z 121, m/z 135, m/z 137 e m/z 149 são produtos de polimerização em fase gasosa de isopreno.⁸⁶

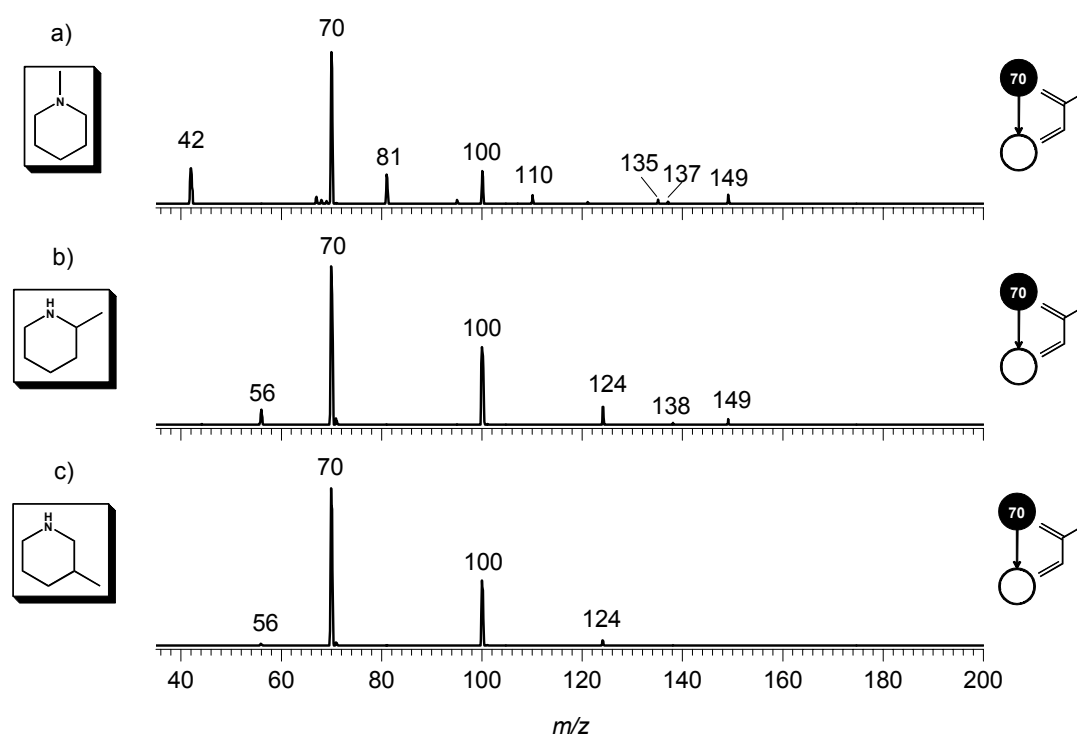


Figura 117 – Espectros de Massas (MS^2) da reação íon/molécula entre isopreno e o FIDE de m/z 70 gerado a partir da 1-metilpiperidina (a), 2-metilpiperidina (b), 3-metilpiperidina (c).

4.6.4 – Reação com Acetona

A acetona foi utilizada como um dienófilo para se realizar uma reação do tipo hetero Diels-Alder. O FIDE de m/z 70 reage por este tipo de reação gerando o produto iônico de m/z 128 (Figura 118), um cicloaduto como mostra o Esquema 33. O íon de m/z 128 apresenta a típica fragmentação de um cicloaduto, através de retro Diels-Alder, restaurando o íon reagente de m/z 70 (Figura 119) através da perda neutra do dienófilo acetona (58 Da). São observados os sinais referentes a acetona protonada, o íon de m/z 59 e o dímero de acetona de m/z 117.

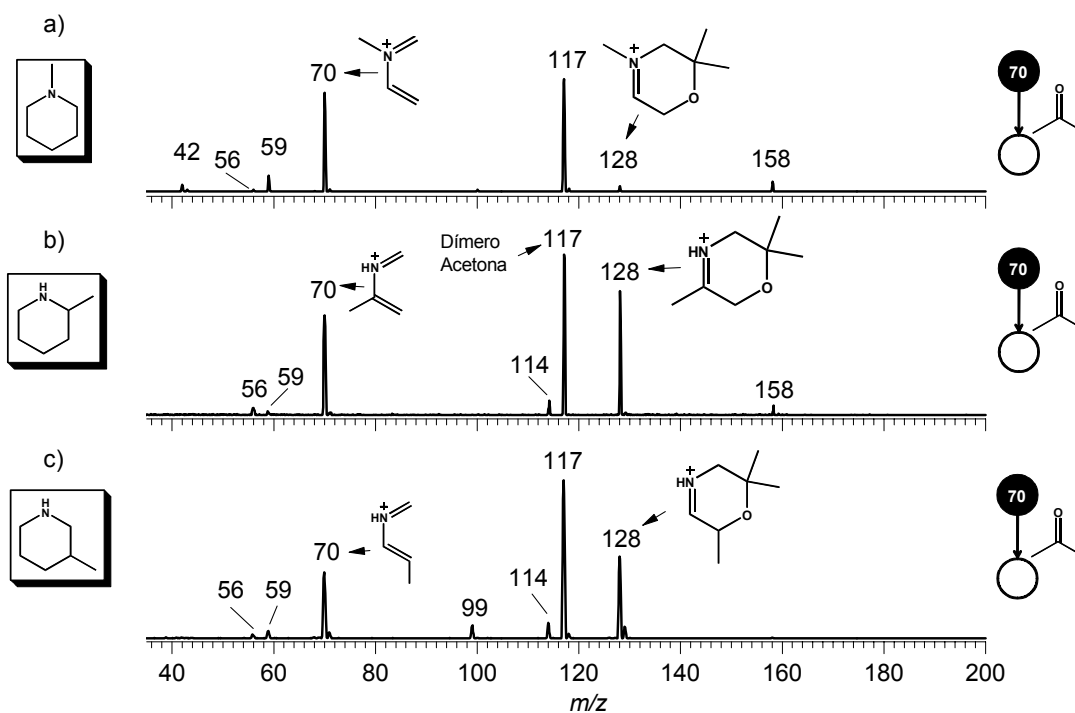
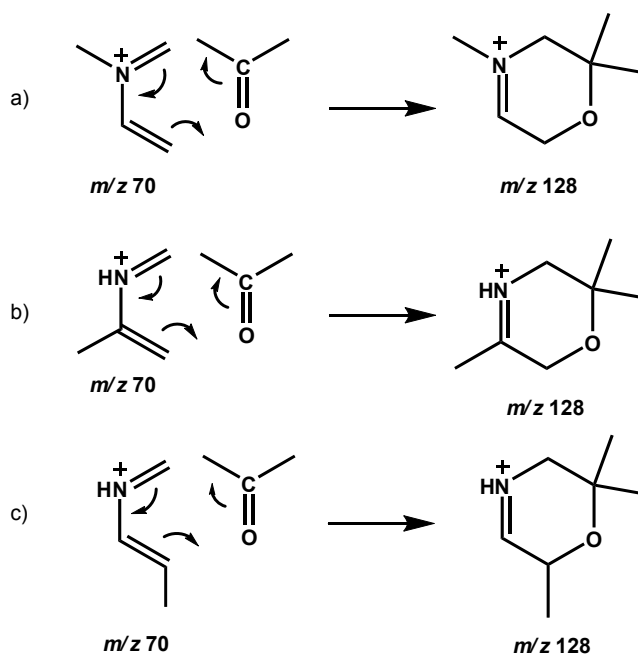


Figura 118 – Espectros de Massas (MS^2) entre acetona e o FIDE de m/z 70 formado a partir da 1-metilpiperidina (a), 2-metilpiperidina (b) e 3-metilpiperidina (c).



Esquema 33 – Reação do tipo hetero Diels-Alder entre acetona e o íon azabutadieno de m/z 70, gerado a partir da 1-metilpiperidina (a), 2-metilpiperidina (b) e 3-metilpiperidina (c) formado o cicloaduto de m/z 128.

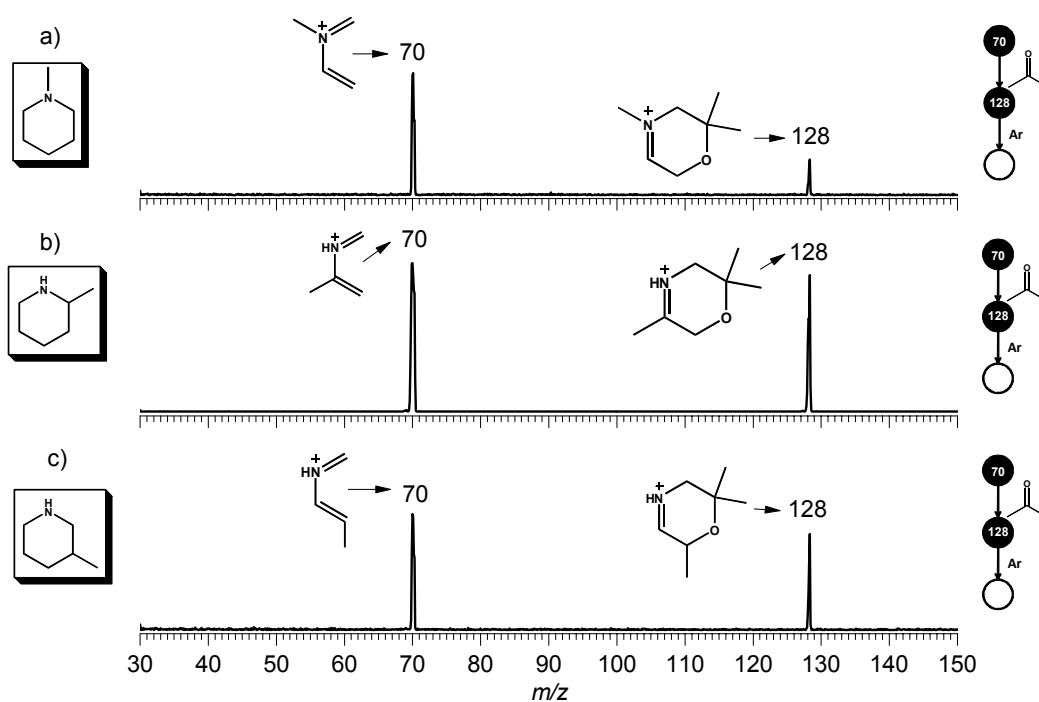


Figura 119 – Espectros de Massas (MS^3) de CID para o produto iônico de m/z 128 formado na reação íon/molécula entre acetona e o FIDE de m/z 70 gerado a partir da 1-metilpiperidina (a), 2-metilpiperidina (b), 3-metilpiperidina (c)

Todas as reações com acetona apresentam o produto iônico de m/z 114, resultado da adição de acetona sobre o íon de m/z 56, confirmado pelo espectro de massas de CID (Figura 120), no qual o íon de m/z 114 ao ser dissociado com argônio restaura o íon de m/z 56.

O produto iônico de m/z 158 é formado na reação com o FIDE de m/z 70 gerado a partir da 2-metilpiperidina. A Figura 121 mostra o CID do íon de m/z 158, que se dissocia para o íon de m/z 100 através da perda neutra de uma molécula de acetona (58Da).

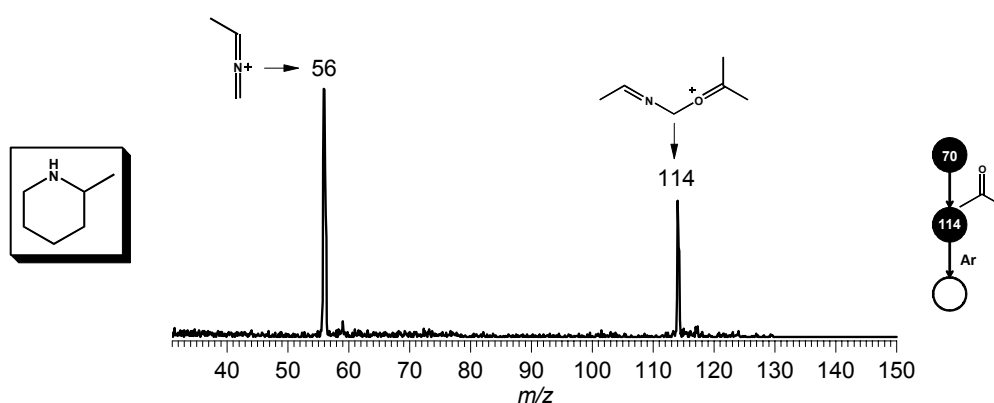


Figura 120 – Espectro de massas (MS^3) de CID para o produto iônico de m/z 114 formado na reação íon/molécula entre acetona e o FIDE de m/z 70 gerado a partir da 2-metilpiperidina.

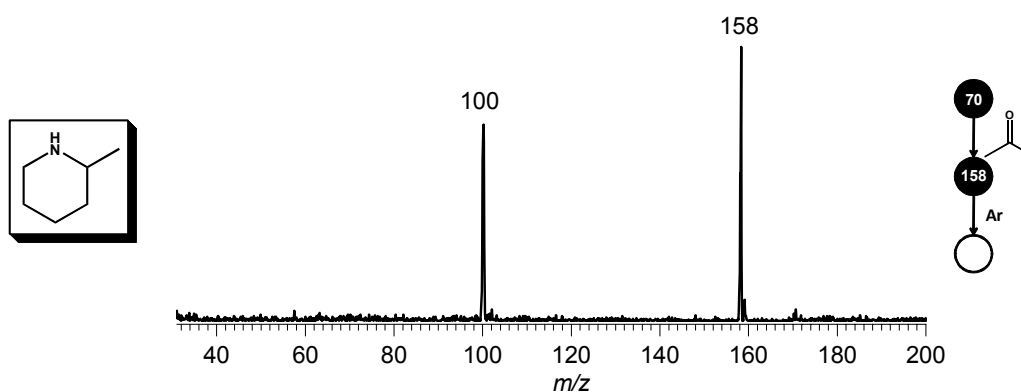


Figura 121 – Espectro de Massas (MS^3) de CID para o produto iônico de m/z 158 formado na reação íon/molécula entre acetona e o FIDE de m/z 70 gerado a partir da 2-metilpiperidina.

CONCLUSÃO

5 – Conclusão

O método proposto permite realizar a atribuição de configuração para isômeros constitucionais com apenas um espectro de massas. Este é obtido por experimentos bidimensionais em MS, ou seja, por reação íon/molécula entre o fragmento iônico diagnóstico de estrutura (FIDE) e o reagente neutro ou através da dissociação induzida por colisão sobre o mesmo FIDE.

Dentre as classes de isômeros estudadas, as acetonaftonas e as alquilanilinas permitiram inequivocamente a atribuição de suas isomerias através de reações íon/molécula sobre os FIDEs de m/z 155 e m/z 106, respectivamente. Para as acetonaftonas, a Figura 122 mostra um fluxograma que permite atribuição da isomeria constitucional de moléculas precursoras “desconhecidas” que possuem o núcleo estrutural das acetonaftonas. A Figura 123 mostra um fluxograma para a atribuição de configuração de moléculas desconhecidas que possuem o núcleo estrutural das alquilanilinas.

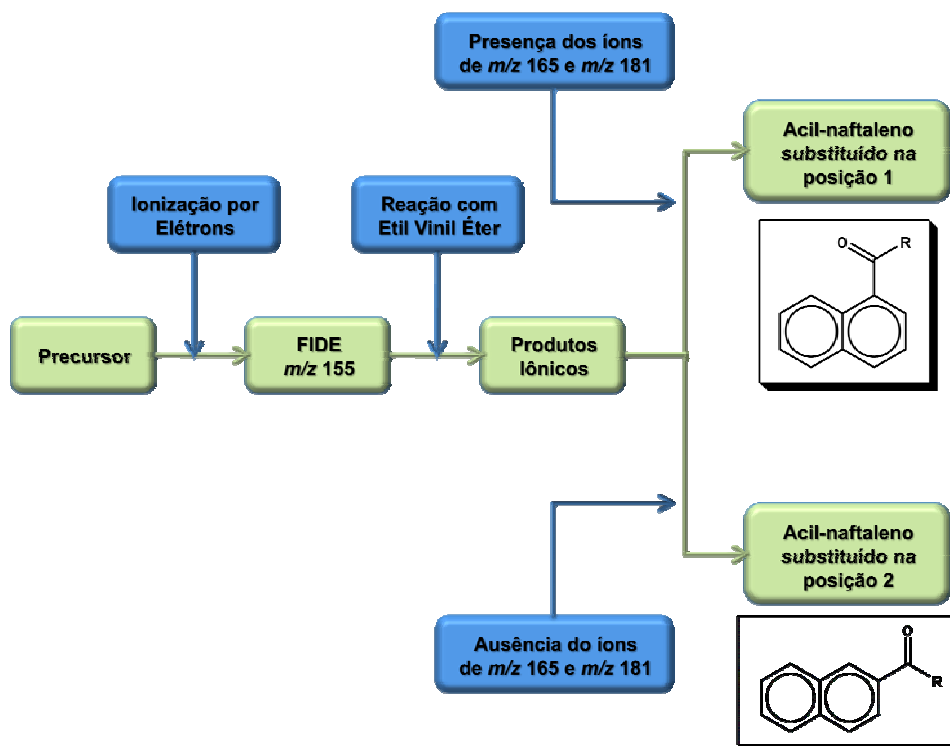


Figura 122 – Fluxograma para atribuição de configuração para acetonaftonas.

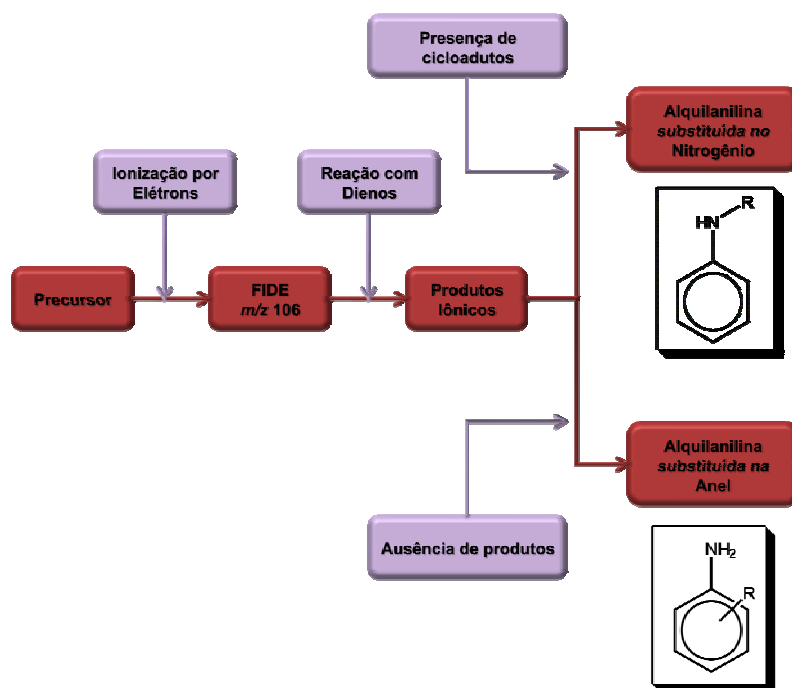


Figura 123 – Fluxograma para atribuição de configuração para Alquilanilinas

As classes de isômeros das carbetoxipiperidinas e metilpiperidinas permitiram atribuição de configuração para uma parte dos isômeros pertencentes ao conjunto. No caso das carbetoxipiperidinas, dentre os três precursores isoméricos, apenas dois dos precursores formaram o FIDE de m/z 112, e estes são a 3-carbetoxipiperidina e a 4-carbetoxipiperidina. Através da reação íon/molécula entre o íon acílio de m/z 112 e etil vinil éter é que se consegue atribuir a configuração de ambos. A Figura 124 mostra um fluxograma para a atribuição de configuração da isomeria de uma molécula desconhecida que possui em sua estrutura um núcleo carbetoxipiperidínico. No caso das metilpiperidinas, é possível fazer a atribuição de configuração utilizando o espectro de massas de CID para o FIDE de m/z 70. Se não for observado os íons de m/z 39 e m/z 41, a molécula precursora é uma metilpiperidina substituída na posição 1. Se o FIDE de m/z 70 formar o fragmento iônico de m/z 41 mas não formar o íon de m/z 39, trata-se de íon azabutadieno gerado a partir da metilpiperidina substituída na posição 2. E se for observado ambos os

fragmentos iônicos de m/z 39 e m/z 41 pode-se inferir que o precursor isomérico é uma metilpiperidina substituída na posição 3.

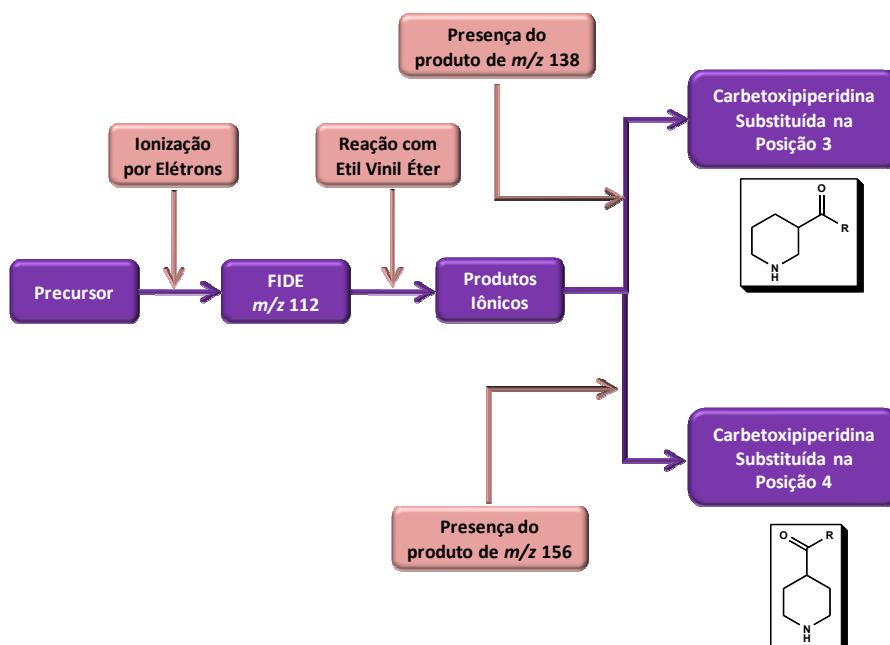


Figura 124 – Fluxograma para atribuição de configuração para carbetoxipiperidinas.

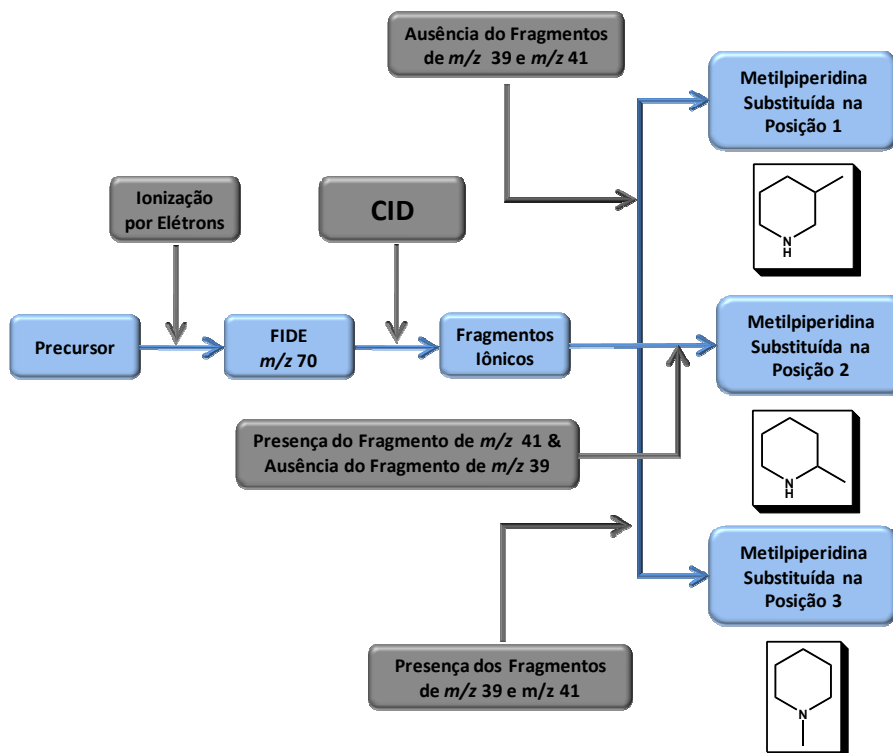


Figura 125 – Fluxograma para atribuição de configuração para metilpiperidinas.

Os metiltiofenos e os ácidos ciclohexeno carboxílicos não permitiram a atribuição de configuração com apenas um espectro de massas, pois em nenhuma das abordagens utilizadas nas reações íon/molécula e nem o CID formaram produtos iônicos ou fragmentos iônicos que permitissem a diferenciação dos precursores isoméricos.

Portanto, dentro dos casos apresentados com sucesso, se for necessário determinar a isomeria constitucional de um composto isolado, como por exemplo, um produto natural, e não se dispuser de quantidade suficiente para se realizar RMN, é possível utilizar o método desenvolvido no presente estudo. A alta sensibilidade da MS pode ajudar a desvendar a isomeria do composto desconhecido sem utilizar grandes quantidades e sem a necessidade de se obter um padrão de referência pelo fato de ser um método absoluto. Como se usa fragmentos iônicos diagnósticos de estrutura e não íon moleculares, o método é geral, pois irá servir para compostos com qualquer tipo de substituinte, desde que estes ao serem submetidos à ionização por elétrons formem o íon diagnóstico ao núcleo estrutural em estudo.

PERSPECTIVAS FUTURAS

6 – Perspectivas Futuras

O grande passo a ser dado é tentar diferenciar isômeros que não precisem ser voláteis e termicamente estáveis, como os isômeros utilizados neste estudo, devido aos requisitos da ionização por elétrons. Para que isso seja possível é interessante utilizar sistemas de ionização a pressão atmosférica, como *Electrospray* e APCI, já que estas técnicas de ionização permitem que compostos não voláteis e nem termicamente estáveis sejam ionizados e analisados por MS.

Existem muitos casos de compostos que ao serem submetidos a APCI, fragmentam-se na fonte de ionização. Este processo é chamado de *in-source* CID, de acordo com a terminologia da língua inglesa. Para testar o método proposto nesta tese seria interessante encontrar casos em que isômeros ao serem submetidos a APCI, possam ser dissociados na fonte e que formem um FIDE. Com isto, o FIDE gerado na fonte pode ser submetido a um novo CID, na cela de colisão, ou até mesmo à uma reação íon/molécula, em espectrômetros de massas que permitam este tipo de experimentos. *In-source* CID é menos comum em ESI, mas não é um processo ausente, podendo ser encontrado casos em que isto é possível. A utilização de técnicas de dessorção no ambiente (*Ambient MS*) também podem ser testadas como *Desorption Electrospray Ionization* (DESI), *Low Temperature plasma* (LTP), dentre outras.

Quando se trata do espectrômetro de massas, seria interessante testar a metodologia proposta em equipamentos recentes, como triploquadruplos, *ion traps*, ICRs e Q-TOF's, já que o pentaquadrupolo do Laboratório ThoMSon é o único do mundo que está funcionando. Para uma metodologia ser aceita e difundida é importante testá-la em equipamentos disponíveis para outros pesquisadores.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

7 – Referências Bibliográficas^v

- 1 ZAHEDI-TABRIZI, M.; FARIBA, T.; MOOSAVI-TEKYEYEH, Z.; ALIREZA, J.; TAYYARI, S.F. Structure and vibrational assignment of the enol form of 1,1,1-trifluoro-2,4-pentanedione. **Spectrochimica Acta, Part A. Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, Oxford; v. 65, p. 387–396, 2006.
- 2 TAO, W. A.; GOZZO, F. C.; COOKS, R. G. Mass spectrometric quantitation of chiral drugs by the kinetic method. **Analytical Chemistry**, Washington; v. 73, p. 1692-1698, 2001.
- 3 GRAYSON, M. A. **Measuring mass**: from positive rays to proteins. Philadelphia: Chemical Heritage Press, 2002. 149 p.
- 4 DOWNARD, K. M. Cavendish's crocodile and dark horse: the lives of Rutherford and Aston in parallel. **Mass Spectrometry Reviews**, Hoboken, v. 26, p. 713-723, 2007.
- 5 FOUST, D. The business week 50. **Business Week**, New York, 26 Mar. 2009. Disponível em: <http://images.businessweek.com/ss/09/03/0326_bw50/19.htm>. Acesso em: 04 maio 2010.
- 6 WATSON, J. T.; SPARKMAN, O. D. **Introduction to mass spectrometry**: instrumentation, application and strategies for data interpretation. 4th ed. West Sussex: John Wiley & Sons Ltd., 2007. 819 p.
- 7 HOFFMAN, E.; STROOBANT, V. **Mass Spectrometry**: principles and applications. 3rd ed. West Sussex: John Wiley & Sons, 2007. 499 p.
- 8 COLE, R. B. **Electrospray ionization mass spectrometry**: fundamentals, instrumentation, and applications. New York: John Wiley & Sons, 1997. 577 p.
- 9 FENN, J.; MANN, M.; MENG, C.K.; WONG, S.F.; WHITEHOUSE, C.M. Electrospray ionization for mass spectrometry of large biomolecules. **Science**, Washington, v. 246, 64-71. 1989
- 10 KARAS, M.; BAHN, U.; GIEBMANN, U. Matrix-assisted laser desorption ionization mass spectrometry. **Mass Spectrometry Reviews**, Hoboken, v. 10, p. 335-357, 1991
- 11 BUSCH, K. L.; GLISH, G. L.; MCLUCKEY, S. A. **Mass Spectrometry/mass spectrometry**: techniques and application of tandem mass spectrometry. New York: VCH Publishers, 1988. 333 p.
- 12 SLENO, L.; VOLMER, D. Ion activation methods for tandem mass spectrometry. **Journal of Mass Spectrometry**, West Sussex, v. 39, p. 1091-1112, 2004.

^v De acordo com as normas da ABNT: **NBR 6023**.

- 13 MCLUCKEY, S. A. Principles of collisional activation in analytical mass spectrometry. **Journal of the American Society for Mass Spectrometry**, San Diego, v. 3, p. 599-614, 1992.
- 14 ZUBAREV, R.A.; HORN, D. M.; FRIDRIKSSON, E.K.; KELLEHER, N.L.; KRUGER, N.A.; LEWIS, M.A.; CARPENTER, B. K.; MCLAFFERTY, F. W. Electron capture dissociation for structural characterization of multiply charged protein cations. **Analytical Chemistry**, Washington, v. 72, p. 563-573. 2000.
- 15 LITTLE, D. P.; SPEIR, J. P.; SENKO, M. W.; OCONNOR, P.B.; MCLAFFERTY, F.W. Infrared multiphoton dissociation of large multiply-charged ions for biomolecule sequencing. **Analytical Chemistry**, Washington, v. 66, p. 2809-2815, 1994.
- 16 BLEAKNEY, W. The ionization of hydrogen by single electron impact. **Physical Review**, Melville, v. 35, p. 1180-1186, 1930.
- 17 NIER, A. O. A Mass Spectrometer for routine isotope abundance measurements. **Review of Scientific Instruments**. Woodbury, v. 11, p. 212-216, 1940.
- 18 COOKS, R. G; BEYNON, J. B.; CAPRIOLI, R. M.; LESTER, G. R. **Metastable ions**. Amsterdam: Elsevier, 1973. 296 p.
- 19 COOKS, R. G. **Apontamentos de aula da matéria de pós-graduação Particle Spectroscopy**. Chemistry Department, Purdue University. Matéria ministrada por COOKS, R. G. 1º semestre de 2008. West Lafayette, IN, EUA.
- 20 HAM, B. M. **Even electron mass spectrometry with biomolecule applications**. Hoboken: John Wiley & Sons, 2008. 421 p.
- 21 KISER, R. **Introduction to mass spectrometry and its applications**. Englewood Cliffs: Prentice-Hall, 1965. 356 p.
- 22 MCLAFFERTY, F. W.; TURECEK, F. **Interpretation of mass spectra**. 4th ed. Sausalito: University Science Books, 1993. 371 p.
- 23 LEARY, J. J.; SCHMIDT, R. L. Quadrupole mass spectrometers: an intuitive look at the math. **Journal of Chemical Education**, Washington, v. 73, p. 1141-1144, 1996.
- 24 MILLER, P. E.; DENTON, M. B. The quadrupole mass filter: basic operating concepts. **Journal of Chemical Education**, Washington, v. 63, p. 617-623, 1986.
- 25 KOPPENAL, D. W.; BARINAGA, C. J.; DENTON, M. B.; SPERLINE, R. P.; HIEFTJE, G. M.; SCHILLING, G. D.; ANDRADE, F.J.; BARNES, J. H. MS detectors. **Analytical Chemistry**, Washington, v. 21, p. 418A-427A, 2005.
- 26 ANICICH, V. G.; WILSON, P.; MCEWAN, M. J. A SIFT ion-molecule study of some reactions in Titan's atmosphere. reactions of N^+ , N_2^+ , and HCN^+

- with CH₄, C₂H₂, and C₂H₄. **Journal of the American Society for Mass Spectrometry**, San Diego, v. 15, p. 1148-1155, 2004.
- 27 WAITE, J. H.; NIEMANN, H.; YELLE, R. V.; KASPRZAK, W. T.; CRAVENS, T. E.; LUHMANN, J.G.; MCNUTT, R. L.; IP, W. H.; GELL, D.; DE LA HAYE, V.; MULLER-WORDAG, I.; MAGEE, B.; BORGGREN, N.; LEDVINA, S.; FLETCHER, G.; WALTER, E.; MILLER, R.; SCHERER, S.; THORPE, R.; XU, J.; BLOCK, B.; ARNETT, K. Ion Neutral Mass Spectrometer results from the first flyby of Titan. **Science**, Washington, v. 308, p. 982-986, 2005.
- 28 KELLER, C.N.; CRAVENS, T.E.; GAN, L. A model of the ionosphere of titan. **Journal of Geophysical Research-Space Physics**. Washington, v. 97, p. 12117-12135, 1992.
- 29 FERGUSON, E. E. Mass spectrometry in ionospheric research. **Mass Spectrometry Reviews**, Hoboken, v. 26, p. 142-149, 2007.
- 30 HERBST, E. Chemistry in the interstellar medium. **Annual Review of Physical Chemistry**. Palo Alto, v. 46, p. 27-53, 1995.
- 31 MORAES, L. A. B. **Íons Acílio: estrutura e reatividade na fase gasosa**. 1999. 260 f. Tese (Doutorado em Química)—Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas. Campinas, 1999.
- 32 GRONERT, S. Mass spectrometric studies of organic ion/molecule reactions. **Chemical Reviews**. Washington, v. 101, p. 329-360, 2001.
- 33 BHÖME, D.K.; SCHWARZ, H. Gas-Phase Catalysis by Atomic and Cluster Metal Ions: The Ultimate Single-Site Catalysts. **Angewandte Chemie International Edition**, Weinheim, v. 44, p. 2336-2354, 2005.
- 34 ARMENTROUT, P. B.; BAER, T. Gas-Phase Ion dynamics and Chemistry. **Journal of Physical Chemistry**, Washington, v. 100, p. 12866-12877, 1996.
- 35 TORTAJADA, J.; BERTHOMIEU, D.; MORIZUR, J.,P.; AUDIER, H. E. [Acylium Ketene] Ion-Neutral Complexes in the Gas Phase. **Journal of the American Chemical Society**, Washington, v. 114, p. 10874-10880, 1992.
- 36 GOZZO, F. C. **Síntese, estrutura, reatividade e propriedades de íons convencionais, distônicos, e não clássicos na fase gasosa: aplicações da espectrometria de massas pentaquadrupolar**. 2000. 127 f. Tese (Doutorado em Química)—Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas. Campinas. 2000.
- 37 MEURER, E. C. **Técnicas modernas em espectrometria de massas: aplicações analíticas e no estudo de reações íon/molécula na fase gasosa**. 2003. 122 f. Tese (Doutorado em Química)—Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2003
- 38 FARRAR, J. M.; SAUNDERS JR, W. H. **Techniques for the study of ion-molecule reactions**. New York: John Wiley & sons, 1988. 652 p.

-
- 39 ROBERTS, R. M. **Descobertas acidentais em ciências**. Campinas: Papirus, 1993. 326 p.
- 40 MORRISON, R. T.; BOYD, R. N. **Organic Chemistry**. 3rd ed. Boston: Allyn and Bacon, 1978, 1258 p.
- 41 LOUDON, G. M. **Organic Chemistry**. 4th ed. New York: Oxford University Press, 2002, 1353 p.
- 42 CLAYDEN, J. D.; GREEVES, N.; WARREN, S.; WOTHERS, P. **Organic Chemistry**, Oxford: Oxford University Press, 2001, 1512 p.
- 43 ZHENG, B.; LIU, Y.; LI, H.; YE, Y.; GAO, X.; YUAN, G. Discrimination of cyclic peptide diastereomers by electrospray ionization tandem mass spectrometry. **Journal of Mass Spectrometry**, West Sussex, v. 44, p. 1478-1481, 2009.
- 44 ZAITSU, K.; KATAGI, M.; KAMATA, H.; KAMATA, T.; SHIMA, N.; MIKI, A.; IWAMURA, T.; TSUCHIHASHI, H. Discrimination and identification of the six aromatic positional isomers of trimethoxyamphetamine (TMA) by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). **Journal of Mass Spectrometry**, West Sussex, v. 43, p. 528-534, 2008.
- 45 FILSINGER, F.; KÜPPER, J.; MEIJER, G.; HANSEN, J. L.; MAURER, J.; NIELSEN, J. H.; HOLMEGAARD, L.; STAPELFELDT, H. Pure Samples of Individual Conformers: The Separation of Stereoisomers of Complex Molecules Using Electric Fields. **Angewandte Chemie-International Edition**, Weinheim, v. 48, p. 6900-6902, 2009.
- 46 KANU, A. K.; DWIVEDI, P.; TAM, M.; MATZ, L.; HILL JR., H. H. Ion mobility-mass spectrometry. **Journal of Mass Spectrometry**, West Sussex, v. 43, p. 1-22, 2008.
- 47 PLASENCIA, M. D.; ISAILOVIC, D.; MERENBLOOM, S. I.; MECHREF, Y.; NOVOTNY, M. V.; CLEMMER, D. E. Resolving and Assigning N-linked Glycan Structural Isomers from Ovalbumin by IMS-MS. **Journal of the American Society for Mass Spectrometry**, San Diego, v. 19, p. 1706-1715, 2008.
- 48 DWIVEDI, P.; WU, C.; MATZ, L. M.; CLOWERS, B. H.; SIEMS, W. F.; HILL, H. H. Gas-phase chiral separations by ion mobility spectrometry. **Analytical Chemistry**, Washington, v. 78, p. 8200-8206, 2006.
- 49 CARVALHO, M.; GOZZO, F. C.; MENDES, M. A.; SPARRAPAN, R.; KASCHERES, C.; EBERLIN, M. N. Locating the Charge Site in Heteroaromatic Cations. **Chemistry: A European Journal**, Berlin, v. 4, p. 1161-1168, 1998.
- 50 GOZZO, F. C.; EBERLIN, M. N. 2-Pyridyl and 2-Pyrimidyl Cations. Stable o-Hetarynium Ions in the Gas Phase. **Journal of Organic Chemistry**, Washington, v. 64, p. 2188-2193, 1999.

-
- 51 MORAES, L. A. B.; SABINO, A. A.; MEURER, E. C.; EBERLIN, M. N. Absolute configuration assignment of ortho, meta, or para isomers by mass spectrometry. **Journal of the American Society Mass Spectrometry**, Hoboken, v. 16, p. 431-436, 2005.
- 52 ROCHA, L. L.; SPARRAPAN, R.; AUGUSTI, R.; EBERLIN, M. N. Direct assignment of positional isomers by mass spectrometry: *ortho*, *meta* and *para* acyl and amidyl anilines and phenols and derivatives. **Journal of Mass Spectrometry**, West Sussex, v. 39, p. 1176-1181, 2004.
- 53 MORAES, L. A. B.; EBERLIN, M. N. Ketalization of gaseous acylium ions. **Journal of the American Society for Mass Spectrometry**, Hoboken, v. 12, p. 150-162, 2001.
- 54 OLAH, G. A.; GRAMAIN, A.; WHITE, A. M. **Carbonium ions**. New York: Wiley, 1976. 462 p.
- 55 LEMOS, A. B.; SPARRAPAN, R.; EBERLIN, M. N. Reactions of gaseous acylium ions with 1,3-dienes: further evidence for polar $[4 + 2^+]$ Diels-Alder cycloaddition, West Sussex, **Journal of Mass Spectrometry**, West Sussex, v. 38, p. 305-314, 2003.
- 56 MORAES, L. A. B.; GOZZO, F. C.; VAINIOTALO, P.; EBERLIN, M. N. Transacetalization with Acylium Ions. A Structurally Diagnostic Ion/Molecule Reaction for Cyclic Acetals and Ketals in the Gas Phase. **Journal of Organic Chemistry**, Washington, v. 62, p. 5096-5103, 1997.
- 57 MORAES, L. A.; EBERLIN, M. N. Transacetalization of 1,3-dioxane with acylium and sulfinyl cations in the gas phase. **Journal of Chemical Society - Perkin Transactions**. Cambridge, v. 2, p. 2105-2111, 1997.
- 58 EBERLIN, M. N.; COOKS, R. G. Polar $[4 + 2^+]$ Diels-Alder Cycloadditions of Acylium Ions in the Gas Phase. **Journal of the American Chemical Society**, Washington, v. 115, p. 9226-9233, 1993.
- 59 LU, L.; YANG, S. S.; WANG, Z.; COOKS, R. G.; EBERLIN, M. N. Normal and inverse electron demand diels-alder cycloaddition of protonated and methylated carbonyl-compounds in the gas-phase. **Journal of Mass Spectrometry**, West Sussex, v. 30, p. 581-594, 1995.
- 60 BEGALA, M.; TOCCO, G.; MELI, G.; PODDA, G.; URRU, S. A. M. Formation of 2-substituted benzofuran fragment ions from 6-alkyl and 6-aryldibenzo(d,f)(1,3)dioxepine derivatives under electron ionization – a useful precursor ion for isomeric differentiation. **Journal of Mass Spectrometry**, West Sussex, v. 44, p. 245-251, 2009.
- 61 BENASSI, M.; EBERLIN, M. N. Using structurally diagnostic fragment ions to distinguish constitutional isomers by MS²: The case of α -acylnaphthones and β -acylnaphthones. In: AMERICAN SOCIETY FOR MASS SPECTROMETRY CONFERENCE, 55., 2007, Indianapolis. **Anais eletrônicos**...Santa Fe: ASMS, 2007. 1 CD-ROM.

-
- 62 BENASSI, M.; CORILO, Y. E.; URIA, D.; AUGUSTI, R.; EBERLIN, M. N. Resolution and recognition of isomeric alkyl aniline by mass spectrometry. **Journal of the American Society for Mass Spectrometry**, San Diego, v. 20, p. 269-277, 2009.
- 63 BENASSI, M.; EBERLIN, M. N. Structurally Diagnostic Fragment ions (SDFI): Distinction of Constitutional Isomers via Mass Spectrometry and Ion/Molecule Reactions. CONGRESSO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ESPECTROMETRIA DE MASSAS, 2., 2007, Campinas. **Anais eletrônicos**...Campinas: BrMASS, 2007. 1 CD-ROM.
- 64 AUGUSTI, R.; GOZZO, F. C.; MORAES, L. A. B.; SPARRAPAN, R.; EBERLIN, M. N. The simplest azabutadienes in their N-protonated forms. Generation, stability, and cycloaddition-reactivity in the gas phase. **Journal of Organic Chemistry**, Washington, v. 63, p. 4889-4897, 1998.
- 65 MEURER, E. C.; EBERLIN, M. N. Gas-phase polar [4+2] cycloaddition of cationic 2-azabutadienes with enol ethers. **International Journal of Mass Spectrometry**, Amsterdam v. 210, p. 469-482, 2001.
- 66 SCHNERMANN, M. J.; ROMERO, F. A.; HWANG, I.; NAKAMARU-OGISO, E.; YAGI, T.; BOGER, D. L. Total synthesis of Piericidin A1 and B1 and Key Analogues. **Journal of the American Chemical Society**, Washington, v. 128, p. 11799-11807, 2006.
- 67 TIETZE L. F.; KETTSCHAU, G. Hetero Diels-Alder reactions in organic chemistry. In: **Stereoselective heterocyclic synthesis 1**. Berlin: Springer-verlag v. 189, 3919-3926, 1997.
- 68 VENTURINI, A.; JOGLAR, J.; FUSTERO, S.; GONZALEZ, J. Diels-Alder reactions of 2-azabutadienes with aldehydes: Ab initio and density functional theoretical study of the reaction mechanism, regioselectivity, acid catalysis, and stereoselectivity. **Journal of Organic Chemistry**. Washington, v. 62, 3919-3926, 1997.
- 69 ZHAO, F. L.; LIU, J. T. Unexpected formation of polysubstituted 1-azabutadienes and 1,3-dioxanes from the reaction of 3-fluoroalkyl-3-arylaminoacrylic acid esters with formaldehyde. **Journal of Organic Chemistry**, Washington, v. 70, p. 3801-3805, 2005.
- 70 BARLUENGA, J.; TOMAS, M.; BALLESTEROS, A.; LOPEZ, L. A. Intramolecular Diels-Alder Reactions of 1-Thia-3-azabutadienes. One-Pot Synthesis of Annulated Thiazines from N-(Trimethylsilyl)imines and isothiocyanates. **Journal of Organic Chemistry**, Washington, v. 56, p. 5680-5684, 1991.
- 71 MEURER, E. C.; SPARRAPAN, R.; EBERLIN, M. N. Gas-phase polar [4 +2] cycloaddition with ethyl vinyl ether: a structurally diagnostic ion-molecule reaction for 2-azabutadienyl cations. **Journal of Mass Spectrometry**, West Sussex, v. 38, p. 1075-1080, 2003

-
- 72 BEN OTHMAN, R.; AFFANI, R.; TRANCHANT, M. J.; ANTONIOTTI, S.; DALLA, V.; DUNACH, E. *N*-Acyliminium Ion Chemistry: Highly Efficient and Versatile Carbon-Carbon Bond Formation by Nucleophilic Substitution of Hydroxy Groups Catalyzed by $\text{Sn}(\text{NTf}_2)_4$. **Angewandte Chemie-International Edition**, Weinheim, v. 49, p. 776-780, 2010.
- 73 AREND, M.; WESTERMANN, B.; RISCH, N. *Angewandte Chemie-International edition*. **Angewandte Chemie-International Edition**. Weinheim, v. 37, p. 1044-1070, 1998.
- 74 D'OCA, M. G. M.; MORAES, L. A. B.; PILLI, R. A.; EBERLIN, M. N. Intrinsic gas-phase electrophilic reactivity of cyclic *N*-alkyl- and *N*-acyliminium ions. **Journal of Organic Chemistry**. Washington, v. 66, p. 3854-3864, 2001.
- 75 TOMAZELA, D. M.; MORAES, L. A. B.; D'OCA, M. G. M.; PILLI, R. A.; EBERLIN, M. N. Mannich-Type Reactions in the Gas-Phase: The Addition of Enol Silanes to Cyclic *N*-Acyliminium Ions. **Journal of Organic Chemistry**. Washington, v. 67, p. 4652-4658, 2002.
- 76 SCHWARTZ, J. C.; SCHEY, K. L.; COOKS, R. G. A pentaquadrupole instrument for reaction intermediate scans and other MS-MS-MS experiments. **International Journal of Mass Spectrometry and Ion Processes**. Amsterdam, v. 101, p. 1-20, 1990.
- 77 JULIANO, V. F.; GOZZO, F. C.; EBERLIN, M. N.; KASCHERES, C.; DO LAGO, C. L. Fast multidimensional (3D and 4D) MS^2 and MS^3 scans in a high-transmission pentaquadrupole mass spectrometer. **Analytical Chemistry**, Washington, v. 68, p. 1328-1334, 1996.
- 78 EBERLIN, M. N. Triple Stage pentaquadrupole (QqQqQ) mass spectrometry and ion/molecule reactions. **Mass Spectrometry Reviews**, Hoboken, v. 16, p. 113-144, 1997.
- 79 JULIANO, V. F. **Controle, aquisição e tratamento de dados para espectrometria de massas sequencial em aparelho pentaquadrupolar: Espectros multidimensionais MS^n ($n=1,2,3$) e monitoramento de íons em função do tempo e potencial de ionização**. 1996. Tese (Doutorado em Química)–Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1996.
- 80 SCHWARTZ, J. C.; WADE, A. P.; ENKE, C. G.; COOKS, R. G. Systematic delineation of scans modes in multidimensional mass spectrometry. **Analytical Chemistry**, Washington, v. 62, p. 1809-1818, 1990.
- 81 MARCH, R. E. An introduction to quadrupole ion trap mass spectrometry. **Journal of Mass Spectrometry**, West Sussex, v. 32, p. 351-369. 1997.
- 82 EBERLIN, M., N.; COOKS, R. G. Gas-phase oxirane addition to acylium ions on reaction with 1,3-dioxolanes elucidated by tandem and triple stage mass spectrometric experiments. **Organic Mass Spectrometry**, West Sussex, v. 28, p. 679-687. 1993.

-
- 83 COOKS, R. G.; CHEN, H.; EBERLIN, M. N.; ZHENG, X.; TAO, W. A. Polar Acetalization and Transacetalization in the Gas Phase: The Eberlin Reaction. **Chemical Reviews**, Washington, v. 106, p. 188–211, 2006.
- 84 EBERLIN, M. N. Gas-phase polar cycloadditions. **International Journal of Mass Spectrometry**, Amsterdam, v. 235, p. 263–278, 2004.
- 85 MEURER, E. C.; EBERLIN, M. N. Mono and double polar [4+2+] Diels-Alder cycloaddition of acylium ions with O-heterodienes. **Journal of Mass Spectrometry**, West Sussex, v. 37, p. 146–154, 2002.
- 86 EBERLIN, M. N.; MAJUMDAR, T. K.; COOKS, R. G. Structures and Mechanisms of Reactions of Isomeric $C_2H_3O^+$ and $C_2H_3S^+$ Ions Revealed through Ion/Molecule Reactions in Conjunction with 2D and 3D Mass Spectrometry. **Journal of the American Chemical Society**, Washington, v. 114, p. 2884–2896, 1992.
- 87 MEURER, E. C.; MORAES, L. A. B.; EBERLIN, M. N. Cyclization of acylium ions with nitriles: gas-phase synthesis and characterization of 1,3,5-oxadiazinium ions. **International Journal of Mass Spectrometry**, Amsterdam, v. 212, p. 445–454, 2001.
- 88 MALOW, M.; PENNO, M.; WEITZEL, K. M. The kinetics of methyl loss from ethylbenzene and xylene ions: The tropylium versus benzylium story revisited. **Journal of Physical Chemistry A**, Washington, v. 107, p. 10625–10630, 2003.
- 89 MOON, J. H.; CHOE, J. C.; KIM, M. S. Kinetic energy release distribution in the dissociation of toluene molecular ion. The tropylium versus benzylium story continues. **Journal of Physical Chemistry A**, Washintgon, v. 104, p. 458–463, 2000.
- 90 SMITH, B. J.; HALL, N. E. G2(MP2,SVP) study of the relationship between the benzyl and troyl radicals and their cation analogues. **Chemical Physics Letters**, Amsterdam, v. 279, p. 165–171, 1997.
- 91 NICOLAIDES, A.; RADOM, L. Seven-membered ring or phenyl-substituted cation—relative stabilities of the tropylium and benzyl cations and their silicon analogs. **Journal of the American Chemical Society**, Washington, v. 116, p. 9769–9770, 1994.
- 92 CONE, C.; DEWAR, M. J. S.; LANDMAN, D. Gaseous ions. 1. MINDO-3 study of rearrangement of benzyl cation to tropylium. **Journal of the American Chemical Society**, Washington, v. 99, p. 372–376, 1977.
- 93 EBERLIN, M. N.; MORGON, N. H.; YANG, S. S.; SHAY, B. J.; COOKS, R. G. Polar [4 + 2⁺] Diels-Alder cycloaddition to nitrilium and immonium ions in the gas-phase—applications of multiple stage mass-spectrometry in a pentaquadrupole instrument. **Journal of the American Society for Mass Spectrometry**, San Diego, v. 6, p. 1–10, 1995.

-
- 94 DANISHEFSKY, S.; KITAHARA, T. A useful diene for Diels-Alder Reaction. **Journal of the American Chemical Society**, Washington, v. 96, p. 7807-7808, 1974.
- 95 KENTTÄMAA, H. I. Ion-molecule reactions of distonic radical cations. In: GROSS, M. L. (Org.); CAPRIOLI, R. M. (Org.); NIBBERING, N. M. M. (Vol. Editor). **The encyclopedia of mass spectrometry**. 1st ed. Oxford: Elsevier, v. 4, Fundamentals of and applications to organic (and Organometallic) compounds, 2005. p. 160-165.
- 96 STIRK, K. M.; ORLOWSKI, J. C.; LEECK, D. T.; KENTTÄMAA, H. I. The identification of distonic radical cations on the basis of a reaction with dimethyl disulfide. **Journal of the American Chemical Society**, Washington, v. 114, p. 8604-8606, 1992.
- 97 GOZZO, F. C.; MORAES, L. A. B.; EBERLIN, M. N.; LAALI, K. K. The first nonclassical distonic ion. **Journal of the American Chemical Society**, Washington, v. 122, p. 7776-7780, 2000.
- 98 HARMAN, D. G.; BLANKSBY, S. J. Investigation of the gas phase reactivity of the 1-adamantyl radical using a distonic radical anion approach. **Organic & Biomolecular Chemistry**. Cambridge, v. 5, p. 3495-3503, 2007.
- 99 RUSSELL, G. A.; NGOVIWATCHAI, P.; WU, Y. W. Allylic and propargylic substitution reactions involving radical generated from alkylmercury halides. **Journal of the American Chemical Society**, Washington, v. 111, p. 4921-4927, 1989.
- 100 KENTTÄMAA, H. I.; PACHUTA, R. R.; ROTHWELL, A. P.; COOKS, R. G. Experimental study of the potential energy surface of the protonated cyclohexene oxide/cyclohexanone system. Isomerization, dissociation, and ion-molecule reactions of the isolated ions in the gas phase. **Journal of the American Chemical Society**, Washington, v. 111, p. 1654-1665, 1989.
- 101 BUDZIKIEWICZ, H.; DJERASSI, C.; WILLIAMS, D. H. **Mass spectrometry of organic compounds**. San Francisco: Holden-Day, Inc. 1967. 690 p.
- 102 MORAES, L. A. B.; MENDES, M. A.; SPARRAPAN, R.; EBERLIN, M. N. Transacetalization with Gaseous Carboxonium and Carbosulfonium Ions. **Journal of the American Society for Mass Spectrometry**, San Diego, v. 12, p. 14-22, 2001.